

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23340121

研究課題名(和文) 脂質複合膜の変形ダイナミクス

研究課題名(英文) Deformation dynamics of composite lipid membranes

研究代表者

谷口 貴志(Taniguchi, Takashi)

京都大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60293669

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,500,000円、(間接経費) 4,650,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、人工的に作られたモデル複合膜に対する理論モデルの構築と独自の数値計算方法でのシミュレーション解析により、生体膜が示す多様で複雑な変形現象を、物理学の観点から明らかにすることを目的として研究をおこなった。膜内部自由度が本質的に重要となる、様々な系(二成分穴あきベシクルのダイナミクス、ベシクル周囲及び膜上での流体力学効果がダイナミクスに及ぼす影響、二重膜の内外膜の応力非対称の効果など)の問題の理論モデルを構築し、その数値計算から実験で観測されている現象を再現し、その起源を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this project, we have addressed a construction of a minimum theoretical model to describe dynamics of artificial multi-component lipid membranes and vesicles. By using the model, we performed numerical simulations to reveal the physical origin of various phenomena seen in biomembranes from physical points of view. We investigated various membrane systems (for example, dynamics of a pore-rim-rolled vesicle, effect of hydrodynamic flow inside and outside of vesicle and effect of intra-membrane hydrodynamics on their dynamics, and effect of asymmetric distribution of stress between two leaflets in lipid bilayer), where intra-membrane degree of freedom play essential role.

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：物理学・生物物理・化学物理

キーワード：脂質二重膜 流体膜 相分離 ベシクル 多成分脂質膜 相転移 非対称膜 ラフト

### 1. 研究開始当初の背景

赤血球に代表される生体内の脂質二重膜は、ある温度領域において構成分子が膜上を自由に拡散する流体膜である。この流体膜、特にその閉曲面体であるベシクルが呈する多様な形態は一見複雑な機構で決定されているように思えるが、膜を一様な性質を持った弾性面であるとした「曲げ弾性モデル」によって説明できることが1970年代以降の研究によって明らかにされてきた。このモデルは赤血球の中央の凹んだ円盤状の形や膜外部の溶液の浸透圧や温度による変形を説明する。しかし近年、膜の内部自由度(組成や面内の配向秩序など)が膜変形に及ぼす影響に興味注がれている。というのは、従来のモデルは膜を一様な性質を持った弾性膜であるとしており、膜面内の局所構造が反映される形態変形の現象(例えば赤血球に見られるechinocytosisのような変形)を説明できないことが分かってきたためである。このような局所構造が反映される形態変形の現象は膜の「芽状突起変形」や膜内の異質物を排出する機構と密接な関係があると考えられており、細胞間の情報伝達の際の膜変形に膜面の内部自由度が重要な役割をしていると認識されつつあるためである。以上のような背景から、近年、膜の内部自由度が膜変形に及ぼす影響に興味注がれてきている。これは、膜形成技術と直接観察技術の著しい向上により人工的に作られたモデル膜の内部自由度と膜の形とのカップリングによる膜変形ダイナミクスが直接観察できるようになり、現実の生体膜との関連が研究できるようになってきたためでもある。

### 2. 研究の目的

本研究は人工的に作られたモデル複合膜(例えば、二成分モデル脂質膜や高分子を含む膜)に対する理論モデルの構築と「独自の数値計算方法」でのシミュレーション解析により、生体膜が示す多様で複雑な変形現象を、物理学の観点から明らかにすることを研究目的としている。「多成分脂質膜」のみならず「高分子がグラフトした膜」のような脂質複合膜の構造と変形ダイナミクスを解明するために(a)出来る限りシンプルな理論モデルを構築し(b)数値シミュレーションにより現象を統一的に再現し(c)統計物理学の観点から理論的にその起源を明らかにすることを研究目的とする。また、近年、実験的に新たに分かってきた現象のモデル化の試みもおこなう。生体脂質膜は、脂質分子の炭素鎖を互いに内向きに、極性基であるヘッド部を外向きにした二重膜を形成する。通常、膜は縁(Edge)を持つことを嫌い、膜が閉じたベシクルという形態をとるのであるが、近年、多成分膜の場合に、ある不安定性により縁が形成され、それが安定に存在することが実験により観測されている。この事実は多成分系の場合には膜の縁を安定化するある機構が

存在し、その縁を介して二重膜の上側膜と下側膜の間で脂質の輸送が行われている可能性を示唆している。今迄の理論の多くが上下膜間の脂質の輸送やそれに伴って生じる膜の局所的な非対称性は考慮できていない。そこで、膜の二重膜性とその各膜面での内部自由度の時間変化を取り入れた理論モデルの構築を行う。

### 3. 研究の方法

来の理論研究の多くが、膜の平衡状態を対象としているのに対して、本研究では動的過程の解明することが、生体内で起こっていることを理解する上で非常に重要であると考え、このような系の動的過程を、今まで本研究者が開発してきた独自の数値計算手法を拡張して研究を行う。従来の数値計算による研究が粗視化分子動力学、粗視化粒子モンテカルロ法や散逸粒子動力学(DPD)法などの粒子法に基づいているのに対し、本研究で行った独自の数値計算手法とは、微分幾何を用いて表わされた膜の方程式を直接解く方法である。粗視化粒子法で扱える系は、膜の厚さに対するシステムサイズ比が実際の系とは掛け離れており、実際の系を十分に解析できるものとは言い難い。そこで新たな方法として、従来、微分幾何により表現されてきた膜の方程式を直接解く方法の開発を行った。この方法が可能となれば計算可能なシステムサイズや精度の面で秀でるためである。

### 4. 研究成果

[二成分穴あきベシクルのダイナミクス]  
(論文, 学会発表)

生体脂質膜は、脂質分子の炭素鎖を互いに内向きに、極性基であるヘッド部を外向きにした二重膜を形成する。通常、膜は縁(Edge)を持つことを嫌い、膜が閉じたベシクルという形態をとるのであるが、近年、多成分膜の場合に、ある不安定性により縁が形成され、それが安定に存在することが実験により観測されている。Sakumaらが行った実験では、DPPCとDHPCから成るベシクルをある混合比で形成させた後、温度を上下させるとベシクルに穴が開き、その穴の周辺の膜がロールのように巻があがる図1のような形の変形が引き起こされることが観測された。

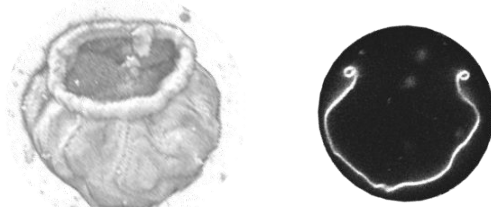


図1. DPPCとDHPC混合ベシクルで観測されたRim-rolledベシクルの三次元画像とその断面図

この実験事実は膜が多成分からなる場合には膜に穴が開いた場合に膜の縁を安定化する

ある機構が存在し、その縁を介して二重膜の上側膜と下側膜の間で脂質の輸送が行われている可能性を示唆していた。今迄の理論の多くが上下膜間の脂質の輸送やそれに伴って生じる膜の局所的な非対称性は考慮できていない。そこで膜の二重膜性とその各膜面での内部自由度の時間変化を取り入れた理論モデルの構築を行った。詳しくは「上下の膜の各々に対する内部自由度」と「上下の膜間の相互作用」を考慮することで上下膜の非対称性を正確に表せる理論モデルの構築を行った。

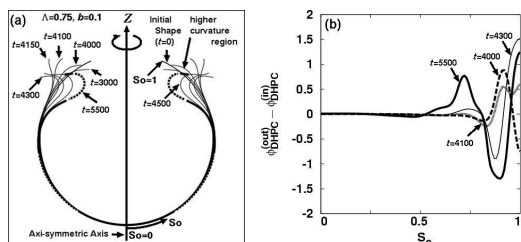


図 2. 理論モデルの数値計算に求めた穴が開いた直後から縁にロールが形成される時間発展ダイナミクス(左), 対応す状態で、外側と内側の膜での DHPC の分率の差の時間発展 (右)

この理論モデルを用いて数値計算を行った結果実験、実験で観測された穴の縁が巻き上がったベシクルを再現することができた(図2)。これは、DHPC分子が炭素鎖の部分で頭よりも大きな逆コーン型をしているため、DHPCは穴が形成される前には空間的に一様に分布していたが、穴が形成されることで、まず縁を覆い穴の縁を安定化させ、その縁の部分を通してDHPCがよりエネルギー的に安定的な外側膜に移動することで、外膜と内膜に非対称性が生じ、局所的な自発曲率が発現したためであることを明らかにした。

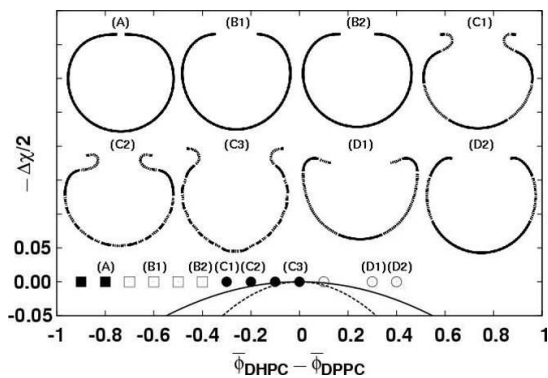


図 3 DHPC の組成と無次元温度の空間でのベシクル形状の相図

またDHPCの組成の分率を系統的に変化させる計算も行い、実験で捉えられている相図と定性的に同じ相図を再現することにも成功した(図3)。

[ベシクル周囲及び膜上での流体力学効果がダイナミクスに及ぼす影響]

(論文, 学会発表, )  
生体組織の変形、流動を知るためには、流動場下でのベシクルに対する知見を深めることが不可欠である。これまで、せん断下や毛細管内での挙動については実験、シミュレーションの双方から研究が進められてきた。一方、径が一定でない毛細管や急縮小部での変形挙動についてはまだほとんど未着手である。そこで、膜外の流体力学効果や膜のトポロジー変化を考慮可能な数値計算手法の開発もおこなった。結晶成長での界面の記述に有効な方法であるフェーズ・フィールド(PF)法を膜の動力学的記述に応用し、自由エネルギーにベシクルの弾性的性質を導入した。また、膜内外の流体力学方程式を解くために格子ボルツマン法を用いた。この計算法は PF法を応用しているため、トポロジー変化のダイナミクスにも適応可能である。この方法を用いて、毛細管内や急縮小部での挙動に注目してシミュレーションを試みた。

#### (毛管内での挙動)

毛細管内での挙動を調べるため、計算領域の上下に壁を導入し、左右は周期境界条件と共に圧力差を与えてシミュレーションを行った場合の結果を図4と5に示す。

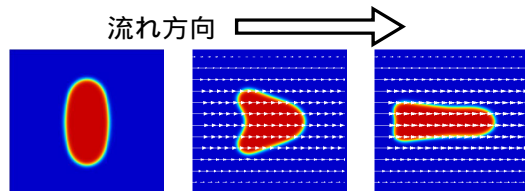


図 4 流れに垂直に配置した場合の挙動  $\alpha = 0.8$

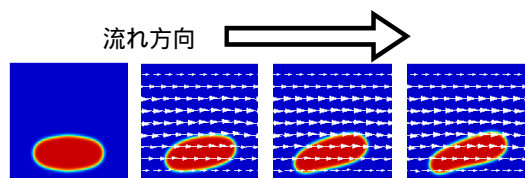


図 5 シグマ効果( $\alpha = 0.8$ )

初期状態として、計算領域の中心に流れ方向に対して垂直にベシクルを配置した場合の結果を図4に示す。弾性力を持ちながら流体から抵抗力を受けることで、ベシクルはパラシュート型に変形する。圧力差を大きくしていくとパラシュート型から、より流体抵抗を受けにくい、流れ方向に対して平行な向きに変形していく。

次に初期状態として、計算領域のやや下部に流れ方向に対して平行にベシクルを配置した場合の結果を図5に示す。ポアズイユ流れにおいて中央部は流速が速く、ベシクルの流路中央に近い部分は速く流されていく。ここで、周長さを一定に保とうとする力がはたらきベシクル全体が中央部へ引き寄せられる。これはシグマ効果と呼ばれ、実験的にも観測されている現象である。

(急縮小部での挙動)

$\alpha = 1.0$  に設定した球状ベシクルを、直径の半分の幅の急縮小部へ圧力差によって流入させるシミュレーションを行った。図6に示すように圧力差が大きいと、弾性エネルギーよりも流れからくる力の方が大きくなり、周長さがエネルギー的に最も好まれる値からずれて変形を起こしながら縮小部を抜けて行く。一方、図7のように圧力差が小さいと、流れからくる力と縮小部入口での局所的な変形に対する復元力とが釣り合い、ベシクルは流路入口で止まった。また、Fig.7 の状態から圧力差は変えずに曲げ弾性率だけを小さくし、変形しやすくすると再び縮小部を通過するようになった。

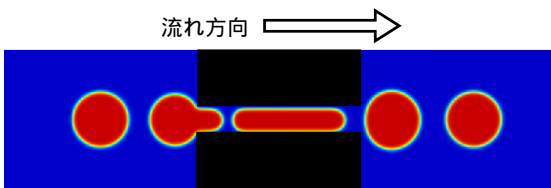


図6 急縮小部流れ(圧力差大)



図7 急縮小部流れ(圧力差小)

以上のように、格子ボルツマン法による二相流のシミュレーションに、ベシクルの力学的性質を導入することで、膜弾性と流動の双方を考慮した形状の変化を再現できることを示した。毛細管内の流れならびに急縮小部でのシミュレーションを可能にし、直径よりも小さい急縮小部にベシクルが流入する場合における、閉塞が生じるときの圧力差と曲げ弾性係数の関係を明らかにした。

#### [二重膜の内外膜の応力非対称の効果]

(論文) 近年、脂質二重膜を構成する2つの膜の非対称性を考慮したモデルが提案されている。この研究では、数学的な理論に基づいて導出された粗視化ポテンシャルとそれを用いた分子動力学シミュレーションによって、様々な原因によって引き起こされる膜間の非対称性が脂質二重膜のゲル相と流体相との間の相転移に及ぼす影響について議論した。ここで行った数値計算によって二重膜の二つの膜の脂質の非対称分布により、非一様な応力分布が引き起こされ二つの膜それぞれでのゲル相-液体相間の相転移温度にずれが生じることを明らかにした(図8)。また、この理論をベシクル系に適用し、二つの膜の応力非対称性が異常凝固現象を引き起こすこと、また、これが凝固点での脂質分子のTailの伸長に由来するものであることを示した。加えて、今まで知られていなかった脂質二重膜の各膜の表面張

力の温度依存性を粗視化分子動力学シミュレーションにより予測した。この応力の非対称性が誘起する異常凝固現象の物理的な機構は、温度によって応答するタンパク質のチャンネルの通門に重要な役割を果たしていると考えられる。

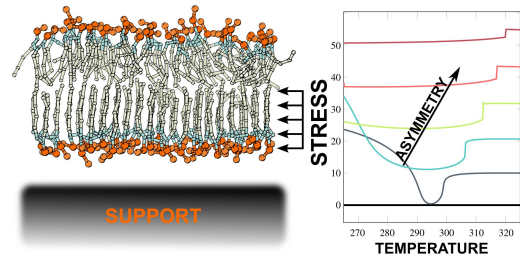


図8. 基板上に置かれた脂質二重膜の様子(左)。基板から離れた側(上側の膜)は、分子鎖が無秩序状態(流動相)にあるが、基板に近い側(下側の膜)は秩序状態(ゲル相)にある。表面張力の温度依存性(右)。色の違いは非対称性の違いで、黒から赤へ向かうにつれ非対称性が大きくなっている。

#### 高分子の存在の効果に対する基礎研究

(論文, 学会発表)

生体内部では細胞の周囲には多種類の高分子が存在する。このような状況を考えるためには、高分子溶液中に置かれたベシクルがどのような影響を受けるかを研究する必要がある。特に、ベシクル外部の溶液に高分子が存在するとベシクルの周囲に高分子の枯渇領域が形成されるため、コロイド物理で重要な枯渇効果は生体系においても働く。具体的には、ベシクルの周囲に存在する物質場(例えば高分子の濃度場)により生ずる動的な枯渇効果を正確に扱えるようにすることが必要となる。このことから高分子溶液中の固体粒子の運動を方法の研究も同時に進めた。その結果、外部から印加された流れの下での、枯渇領域の動的な変化が弾性体の流体力学的抵抗力に大きな影響を及ぼすことが分かった。

#### [GPI 刺激によるミクロドメイン形成]

(学会発表)

課題申請後の新たな展開として、同大学内で生体細胞を研究している実験研究者と多成分膜について共同研究を行った。この共同研究により、細胞内外の情報伝達のプラットフォームと考えられているラフトのダイナミクスを記述するモデル方程式の構築とシミュレーションを行った。

その結果、(a)リガンドの刺激によって GPI (glycosyl-phosphatidyl-inositol) 受容体分子の周囲にある種類の脂質が集りメソスケールで動的なドメインが形成されること、(b)それが GPI 粒子間に引力的な相互作用を引き起こすこと、(c)上下膜間の相互作用でそれが更に強められることが分かってきた。この研究は現在も進行中である。



5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 12 件)

- M. Karzar-Jeddi, R. Tuinier, T. Taniguchi and T.-H. Fan, "Stochastic interactions of two Brownian hard spheres in the presence of depletants", *Journal of Chemical Physics*, 査読有り **140**, 2014, 214906 (13 pages)  
DOI:10.1063/1.4880199
- A. Lamberg and T. Taniguchi, "Freezing of stressed bilayers and vesicles", *Soft Matter* 査読有り **10**, 257-261 (2014).  
DOI:110.1039/c3sm52432a
- P. Gong, T. Taniguchi and M. Ohshima, "Nanoporous structure of the cell walls of polycarbonate foams", *Journal of Materials Science* 49, 2014, 2605-2617  
DOI:10.1007/s10853-013-7959-4
- Kenji Yoshimoto and Takashi Taniguchi "Large-scale dynamics of directed self-assembly defects on chemically pre-patterned surface", *Alternative Lithographic Technologies V (Proc. SPIE)* 査読有り, 8680, 2013, 86801  
DOI:10.1117/12.2011826
- Kenji Yoshimoto and Takashi Taniguchi, "Large-scale simulations of directed self-assembly with simplified model", *Journal of Photopolymer Science and Technology* 査読有り **26**, 2013, 809-816  
DOI:10.2494/photopolymer.26.809
- M. Fujino, T. Taniguchi, Y. Kawaguchi, and M. Ohshima, "Mathematical models and numerical simulations of a thermally expandable microballoon for plastic foaming", *Chemical Engineering Science* 査読有り **104**, 220-227 (2013),  
DOI:10.1016/j.ces.2013.09.010
- Y. Sakuma, T. Taniguchi, T. Kawakatsu M. Imai, "Tubular membrane formation of binary giant unilamellar vesicles composed of cylinder and inverse-cone shaped lipids", *The Biophysical Journal*, 査読有り **105**, 2013, 2074-2081.  
DOI:10.1016/j.bpj.2013.09.021
- T. Murashima, T. Taniguchi, "Multiscale simulation of history dependent flow in entangled polymer melt", *Journal of the Physical Society of Japan*, 査読有り, 2012, **81**, SA013 (7 pages),  
DOI: 10.1143/JPSJS.81SA.SA013
- T. Taniguchi, Y. Arai, R. Tuinier, T.-H. Fan, "How flow changes polymer depletion in a slit", *The European Physical Journal E*, 査読有り, **35**, 2012, 88 (12 pages),  
DOI: 10.1140/epje/i2012-12088-7
- P. Gin, N. Jiang, C. Liang, T. Taniguchi, B.

- Akgun, S. K. Satija, M.K. Endoh, T. Koga, "Revealed architectures of adsorbed polymer chains at solid-polymer melt interfaces", *Physical Review Letters*, 査読有り, **109**, 2012, 265501 (5 pages),  
DOI: 10.1103/PhysRevLett.109.265501
- T. Murashima, S. Yasuda, T. Taniguchi, R. Yamamoto, "Multiscale modeling for polymeric flow: particle-fluid bridging scale methods", *Journal of the Physical Society of Japan*, 査読有り, **82**, 2013, 12001 (7 pages),  
DOI: 10.7566/JPSJ.82.012001
- Y. Ishimoto, T. Murashima, T. Taniguchi, R. Yamamoto, "Two-dimensional lattice liquid models", *Physical Review E*, 査読有り, **86**, 2012, 31124 (13 pages),  
DOI:10.1103/PhysRevE.86.031124.

[学会発表](計 14 件) 6 件招待講演  
下線が発表者

- 谷口貴志, "物体周りの高分子流体の流れと分散粒子ダイナミクス" (招待講演), 日本接着学会関西接着ワークショップ第4回研究会, 1014年3月19日, おうばくプラザ京都大学化学研究所
- 谷口貴志, "Force acting on a moving colloidal particle in a polymer solution", 第3回ソフトマター研究会, 2013年12月13-15日, 首都大学東京
- 谷口貴志, 物体周りの高分子流体の流れ - 高分子サイズのスケールからマクロスケールまで - (招待講演), 第46回文体系学会「数値紛体力学研究会」講演会, 2013年12月3日, 同志社大学
- T. Taniguchi, Y. Arai, R. Tuinier, T.-H. Fan, "Frictional force on a moving spherical particle in a polymer solution", レオロジー学会 第61回レオロジー討論会, 2013年9月25日-27日, 山形大学工学部
- T. Taniguchi, "Dynamics of two component membrane" (招待講演) International Workshop "From Soft Matter to Protocell", 2013年9月18日-20日, Tohoku University.
- 谷口貴志, 高瀬知大, "高分子溶融体流れのマルチスケールシミュレーション --- 溶融紡糸への応用 ---", 高分子学会第62回高分子討論会, 2013年9月11日-13日, 金沢大学
- T. Taniguchi, Y. Arai, T.-H. Fan, R. Tuinier, "Change of Polymer Depletion near Solvent Permeable Flat Wall by Hydrodynamic Flow (II)", 第二回ソフトマター研究会, 2012年09月19日, 九州大学西新プラザ.
- T. Taniguchi, GPI-anchored proteins induced micro-scale domains and their interaction, Self-organization and emergent dynamics in active soft matter

2013年02月18日, Yukawa Inst. Kyoto, Japan.

T. Taniguchi, "Rolled-rim formation in a two component vesicle with a single pore", The Fourteenth International Membrane Research Forum, Featuring Meso-Scale Molecular Complexes and Domains and their Functions in the Membrane (招待講演) 2013年03月16日, iCeMS Main Building, Kyoto University, Japan.

T. Taniguchi and T. Murashima, "Multiscale simulation of flow in entangled polymer melts around a cylindrical obstacle", The 28th International Conference of the Polymer Processing Society, 2012年12月12日, Pattaya Thailand.

T. Taniguchi, "Softmatter physics: Multiscale simulations for polymer melt flow", Kyoto University-Durham University Joint International Symposium 2012: Emergence and Feedback in Physical and Social Systems (招待講演) 2012年11月28日, Institute of Chemical Research, Seminar Hall, Kyoto, Japan.

T. Taniguchi, Y. Arai, R. Tuinier, and Tai-Hsi Fan, "Flow-distorted polymer depletion between solvent permeable walls", International Congress of Rheology 2012, 2012年08月07日, The Belem Cultural Center, Lisbon, Portugal.

T. Taniguchi, "Dynamics of shape deformation and phase separation in two component vesicle", KITPC: Membrane Biophysics | Theory and Experiment (招待講演) 2012年05月21日, Kavli Institute for Theoretical Physics, Beijing, China.

T. Taniguchi and A. Kusumi, "Formation of stimulation-induced meso-scale membrane domains", 国際会議: Phase Transition Dynamics in Soft Matter: Bridging Microscale and Mesoscale, 2012年2月21日, Yukawa Institute for Theoretical Physics, Kyoto, Japan.

〔図書〕(計 1件)

谷口貴志, "高分子ナノテクノロジー", 8ページ(817-824), 2014, 発行所: 株式会社エヌ・ティー・エス

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

Outreach 研究成果の紹介

<http://www-tph.cheme.kyoto-u.ac.jp/p/taniguch/Activity/Outreach.html>

研究代表者のホームページ

List of Publication

<http://www-tph.cheme.kyoto-u.ac.jp/p/taniguch/Activity/ListOfPublication.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

谷口貴志 (TANIGUCHI, Takashi)  
京都大学・大学院工学研究科・准教授  
研究者番号: 60293669

### (2) 研究分担者

山本量一 (Yamamoto, Ryoichi)  
京都大学・大学院工学研究科・教授  
研究者番号: 10263401

ただし、H24年度から分担者から外れる。

### (3) 連携研究者

該当なし