

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 15 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24740289

研究課題名(和文)「水和」から眺める脂質の自己組織化

研究課題名(英文) Role of hydration water on the self-assembly of lipids

研究代表者

菱田 真史 (Hishida, Mafumi)

筑波大学・数理物質系・助教

研究者番号：70519058

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：生体分子をはじめとするソフトマターが水中で自己組織化し構造を形成する際に、周囲の水はこれまでただのバックグラウンドであると考えられてきた。本研究ではテラヘルツ分光およびX線散乱法によって生体膜の基本構造であるリン脂質二重膜の水和状態と構造をそれぞれ観測した結果、膜の構造が変化する際に水和水が関与していることが分かった。さらに、膜の積層構造の依存性から、膜同士の相互作用に対しても「水」が役割を持つことが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：For long, water has been considered as just a background medium for the self-assembly of soft matter including biomolecules. However, the present study clarified that structural changes of phospholipid bilayers strongly depends on their hydration states from the measurements of terahertz spectroscopy and small angle-X-ray scattering. Further, ion-dependence of stacking structure of phospholipid membranes revealed that water has some "role" for the interactions between the membranes.

研究分野：ソフトマター物理化学

キーワード：水の役割 自己組織化 脂質膜 水和状態 テラヘルツ分光 X線小角散乱

1. 研究開始当初の背景

これまでソフトマターの自己組織化は粗視化したモデルにより多くが記述されてきた。なかでも溶媒は均一な媒質として塗りつぶされてきた。しかし我々のこれまでの研究から、特に生体膜の基本構造であるリン脂質二重膜表面には不均一な水(水和水)が 1 nm もの長距離にわたって存在していることが分かってきた (M. Hishida and K. Tanaka, *Phys. Rev. Lett.* 2011)。これは膜の自己組織化に関わる相互作用 (e.g. van der Waals 相互作用) が働く距離と同等のスケールであるため、こういった相互作用に水の状態が関わっている可能性が大きい。

2. 研究の目的

そこで本研究では、リン脂質二重膜を中心に、水中でのソフトマターの自己組織化に対して周囲の水がどのように関わりを持っているのかを明らかにすることを目的として研究を進めた。

3. 研究の方法

初めに注目したのは脂質や界面活性剤の自己組織化構造間の相転移に対する水の関わりについてである。例えばリン脂質二重膜は温度や湿度変化とともにラメラ相から逆へキサゴナル相へと相転移する。この相転移は生体中での膜融合に関与していると考えられている。水和状態変化をテラヘルツ分光により、構造変化を X 線小角散乱により測定し、それらの相関を調べた。また、膜間相互作用に対する水の影響を調べるために、脂質膜水溶液に塩を添加し、そのイオン種依存性を調べた。価数は同じであってもイオン種によって膜間相互作用が異なれば、水の水素結合状態が相互作用に関与していることの間接的な証拠となる。

4. 研究成果

本研究の中で最も重要な結果は生体膜融合に対して水が協同的な役割を持っているということを示した点 (M. Hishida et al., *J. Phys. Soc. Jpn.*, 2014) にある。ここではテラヘルツ分光を用いることで膜表面の水和状態の脂質依存性をしらべ、さらに微入射小角 X 線散乱を用いることで、水和状態を無理やり変えた時の膜構造の変化を調べた (図 1)。するとそこには強い相関があることが分かった。つまり、水和水の多い場合には膜同士が接近しにくく、膜融合が起きにくいこと、その水和水の量は脂質分子の化学構造によって決まることがわかり、化学構造が物理的相互作用を決定し、それが膜融合という生命現象を司るといった学際的知見が得られた。このように生体分子の機能に対して水が役割を持つということ自体が新しい知見であり、当該分野における更なる研究の進展を促すものである。そのため本研究は、広く注目を集め、日本化学会コロイド界面化学会の部会誌 (菱田真史, *C&I Commun.*, 2014) にて解説記事としても発表している。

リン脂質だけでなく、非イオン性界面活性剤についても調べると、相転移に伴って自己組織化構造が変化する際に水和状態も相転

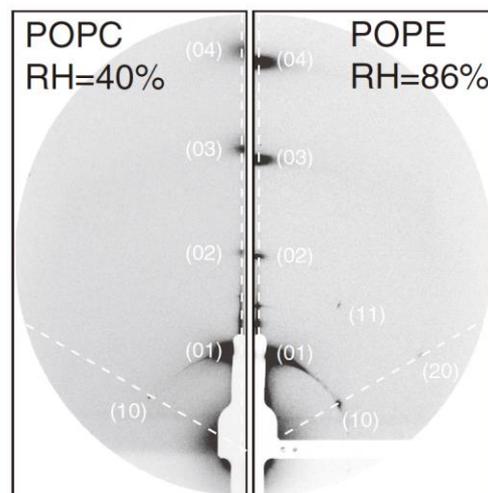


図 1: 二種類のリン脂質薄膜を湿度変化させた時の微小角入射 X 線小角散乱プロファイル。相転移する際の湿度が大きく異なる。

移的挙動を示すことが分かった (M. Hishida and K. Tanaka, *J. Phys. Condens. Matter* 2012)。

そのほかにも、本研究では膜間相互作用に対する塩のイオン種依存性を調べることから、やはり膜間相互作用にも水が役割を持つことを間接的に示すことができた (M. Hishida et al., *Langmuir*, 2014)。また膜表面での水の配向性がイオン種によって異なること (M. Hishida et al., *submitted*, 2015) がこの原因である可能性が高いことも見出した。

そのほかにも膜の自己組織化構造に対する添加分子の影響を明らかにすることもできた (K. Nakazawa, M. Hishida et al., *Chem. Lett.* 2014, M. Hishida et al., *submitted*, 2015)。

これらの成果を総括すると、やはり当初の予想通り、水の状態 (水和状態) は脂質や界面活性剤の自己組織化構造の形成と密接に関わっていることが明らかになった。これまで長い間、水はただのバックグラウンドとしての溶媒であると考えられてきたが、この仮定が正しくないことを示している。水は物理・化学・生物にわたるもっとも普遍的な溶媒であり、今後、ソフトマターや生体分子の自己組織化に対する役割を分子レベルで理解していくことは大変重要となってくるであろう。本研究はその重要性を提起するものであり、広くにわたる研究の足掛かりとなると期待される。

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 5 件)

- 1) Mafumi Hishida, Yasuhisa Yamamura, Kazuya Saito, "Salt Effects on Lamellar Repeat Distance Depending

on Head Groups of Neutrally Charged Lipids", *Langmuir*, **30**, 10583–10589 (2014). DOI: 10.1021/la502576x

- 2) Koyomi Nakazawa, Mafumi Hishida, Shigenori Nagatomo, Yasuhisa Yamamura, Kazuya Saito, "Interplay between Phase Transition of DPPC Bilayer and Photoisomerization of Doped Stilbene Molecule", *Chem. Lett.*, **43**, 1352-1354 (2014). DOI: 10.1246/cl.140398

- 3) 菱田真史, 「リン脂質・界面活性剤の水和状態と構造形成の相関」 *C&I Commun.* (日本化学会コロイド界面化学部会誌), **39**, 17-19, (2014).

- 4) Mafumi Hishida, Koichiro Tanaka, Yasuhisa Yamamura, Kazuya Saito, "Cooperativity between Water and Lipids in Lamellar to Inverted-Hexagonal Phase Transition", *J. Phys. Soc. Jpn.*, **83**, 044801 (2014). DOI: 10.7566/JPSJ.83.044801

- 5) M. Hishida, K. Tanaka, "Transition of the hydration state of a surfactant accompanying structural transitions of self-assembled aggregates", *J. Phys.: Condens. Matter* **24**, 284113 (2012). DOI: 10.1088/0953-8984/24/28/284113

[学会発表] (計 24 件)

- 1) 菱田真史, 柳澤隆大, 山村泰久, 齋藤一弥, 「アルカンの添加によるリン脂質膜ベシクルの硬化と破裂」、第 70 回日本物理学会年次大会、2015/3/21--3/24、早稲田大学早稲田キャンパス (東京都新宿区)、口頭

- 2) M. Hishida, A. Endo, R. Yanagisawa, K. Nakazawa, Y. Yamamura, K. Saito, "Stiffening of Lipid bilayer by n-alkane", Physics of Structural and Dynamical Hierarchy in Soft Matter, 2015/3/16--3/18, 東京大学生産技術研究所 (東京都目黒区)、ポスター
- 3) 菱田真史, 遠藤麻未, 柳澤隆大, 中澤暦, 山村泰久, 齋藤一弥, 「リン脂質二重膜に対するアルカンの添加効果: 膜の硬化と破裂」、第 4 回ソフトマター研究会、2015/1/6--1/8, 名古屋大学東山キャンパス (愛知県名古屋市)、ポスター
- 4) 菱田真史, 遠藤麻未, 柳澤隆大, 山村泰久, 長友重紀, 齋藤一弥, 「リン脂質二重膜に対するアルカンの添加効果: 頭部構造依存性と膜の硬化」、第 50 回記念熱測定討論会、2014/9/28--9/30, 大阪大学豊中キャンパス (大阪府豊中市)、口頭
- 5) 菱田真史, 遠藤麻未, 柳澤隆大, 山村泰久, 長友重紀, 齋藤一弥, 「リン脂質膜のゲル液晶相転移に対する添加アルカンの効果」、日本物理学会 2014 年秋季大会、2014/9/7--9/10, 中部大学 (愛知県春日井市)、ポスター
- 6) 菱田真史, 「脂質の水和状態と構造形成の相互連関」、"CROSS 研究会: CROSSroads of Users and J-PARC 第 10 回「生体膜・コロイド研究の最前線」", 2013/12/18--12/19, J-PARC (茨城県東海村)、口頭、招待講演
- 7) 菱田真史, 山村泰久, 齋藤一弥, 「中性リン脂質二重膜の膜間相互作用に対する塩の添加効果」、日本物理学会第 69 回年次大会、2014/3/27--3/30, 東海大学 (神奈川県平塚市)、口頭
- 8) 菱田真史, 山村泰久, 齋藤一弥, 「脂質膜の長距離水和層における水の熱的状态」、第三回ソフトマター研究会、2013/12/13--12/15, 首都大学東京 (東京都八王子市)、ポスター
- 9) 菱田真史, 山村泰久, 長友重紀, 齋藤一弥, 「リン脂質二重膜表面において長距離に渡って存在する水の水の熱的状态」、第 49 回熱測定討論会、2013/10/31--11/2, 千葉工業大学 (千葉県習志野市)、ポスター
- 10) 菱田真史, 田中耕一郎, 山村泰久, 齋藤一弥, 「Water-lipid cooperativity upon lipid membrane fusion」、第 51 回日本生物物理学会年会、2013/10/28--10/30, 京都国際会館 (京都府京都市)、ポスター
- 11) Mafumi Hishida, Yasuhisa Yamamura, Kazuya Saito, "Thermal property of water in the long-range hydration layer of phospholipid membrane", The Fifth International Symposium on the New Frontiers of Thermal Studies of Materials, 2013/10/28--10/29, 横浜情報文化センター (神奈川県横浜市)、poster
- 12) 菱田真史, 田中耕一郎, 山村泰久, 齋藤一弥, 脂質膜の膜融合に際する水の協同性、第 64 回コロイドおよび界面化学討論会、2013-9-18--9-20, 名古屋工業大学 (愛知県名古屋市)、口頭
- 13) 菱田真史, 瀬戸秀紀, 山村泰久, 齋藤一弥, 「添加塩のイオン種に依存した中性リン脂質の膜間相互作用の変化」、日本物理

- 学会 2013 年秋季大会、2013/9/25--9/28、
徳島大学（徳島県徳島市）、ポスター
- 14) M. Hishida, K. Tanaka, Y. Yamamura,
S. Nagatomo, K. Saito, "Cooperativity
between water and lipid upon lipid
membrane fusion", Light and Particle
Beams in Materials Science 2013:
LPBMS2013, 2013/8/28--8/31、つくば
国際会議場（茨城県つくば市）、poster
- 15) 菱田真史、田中耕一郎、山村泰久、長友
重紀、齋藤一弥、「中性リン脂質のラメラ
構造に対する添加塩の効果：イオン種依
存性」、第 12 回関東ソフトマター研究会、
2013/8/24、お茶の水大学（東京都文京区）、
ポスター
- 16) 菱田真史、田中耕一郎、山村泰久、長友
重紀、齋藤一弥、「脂質膜の融合に際する
水の協同性」、日本物理学会第 68 回年次
大会、2013/3/28--3/28、広島大学（広島
県東広島市）、口頭
- 17) 菱田真史、田中耕一郎、山村泰久、長友
重紀、齋藤一弥、「リン脂質二重膜の膜融
合に際する水の協同性」、物構研サイエン
スフェスタ、2013/3/14--3/15、つくば国
際会議場（茨城県つくば市）、ポスター
- 18) M. Hishida, K. Tanaka, Y. Yamamura,
S. Nagatomo, K. Saito, "Water
cooperativity upon lipid membrane
fusion"、Self-organization and
Emergent Dynamics in Active Soft
Matter、2013/2/18--2013/2/20、京都大
学（京都府京都市）、Poster
- 19) M. Hishida, K. Tanaka, Y. Yamamura,
S. Nagatomo, K. Saito, "Water
cooperativity upon lipid membrane
fusion" 筑波大学戦略イニシアティブ(A)
機能物質創製研究拠点主催「第 3 回国際
シンポジウム」、2012/12/10--2012/12/11、
筑波大学（茨城県つくば市）、Poster
- 20) 菱田真史、田中耕一郎、山村泰久、長友
重紀、齋藤一弥、「脂質・界面活性剤の水
和状態と構造形成：テラヘルツ分光法を
用いた研究から」、日本液晶学会 液晶物
理・物性フォーラム／ソフトマターフォ
ーラム共催研究会、2012/11/2--11/2、東
陽テクニカ本社（東京都中央区）、口頭、
招待講演
- 21) 菱田真史、田中耕一郎、「テラヘルツ分光
法により見える生体分子の自己組織化に
おける水の役割 ～脂質・界面活性剤の構
造化と水分子ダイナミクス～」、テラヘル
ツ分光法の最先端 VI ～ここまできたテ
ラヘルツ時間領域分光～、
2012/10/25--10/26、筑波大学（茨城県つ
くば市）、ポスター、ポスター賞
- 22) 菱田真史、田中耕一郎、山村泰久、長友
重紀、齋藤一弥、「脂質・界面活性剤の水
和状態と構造形成：テラヘルツ分光法を
用いた研究から」つくばソフトマター研
究会 2012、2012/8/31、J-PARC（茨
城県東海村）、口頭、招待講演
- 23) M. Hishida, K. Tanaka, "Correlation
between hydration states and
self-assembled structures of
amphiphilic molecules studied by THz
spectroscopy"、14th International
Conference on Organized Molecular
Films、2012/7/10--2012/7/13、サンペー
ル研究所（フランス、パリ）、Poster

2012年8月18日

24) M. Hishida, K. Tanaka, "Hydration states of lipid and surfactant depending on their self-assemble structures and chemical species of the head groups"、International Association of Colloid and Interface Scientists, Conference、2012/5/13--5/18、仙台国際センター(宮城県仙台市)、口頭選抜

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

○取得状況 (計 0件)

[その他]

ホームページ

<https://sites.google.com/site/mafumihishida>

受賞 (計 1件)

- 1) 日本分光学会テラヘルツ分光部会 ポスター奨励賞、菱田真史、田中耕一郎、「テラヘルツ分光法により見える生体分子の自己組織化における水の役割 ～脂質・界面活性剤の構造化と水分子ダイナミクス～」2012年10月

アウトリーチ活動 (計 3件)

- 1) 菱田真史、國府理、「「未来のいえ」トークイベント」、西宮市大谷記念美術館、2013年7月21日
- 2) 菱田真史、菱田一仁、「本を楽しむ、科学と遊ぶワークショップ 第三弾」、京都府立図書館、2013年1月13日
- 3) 菱田真史、國府理、「「ここから 何処かへ」トークイベント」、京都芸術センター、

6. 研究組織

研究代表者：

菱田真史 (HISHIDA, Mafumi)

筑波大学数理物質系・助教

研究者番号：70519058