

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24540437

研究課題名(和文) 生体系の機能発現による秩序構造の形成と変化

研究課題名(英文) Formation and change of ordered structures by functional expression in biological system

研究代表者

浦上 直人(Naohito, Urakami)

山口大学・理工学研究科・准教授

研究者番号：50314795

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：生体内で観察される物理的な現象を理解するために、ゲスト分子による秩序構造変化、および分子認識による秩序構造形成・変化に焦点をあて研究を行った。ゲスト分子による秩序構造変化では、高分子鎖によって誘起される油中水滴型ドロップレットの形状を調べ、球状から棒状、枝分かれ構造への形状変化メカニズムを明らかにした。また、様々なベシクルの形状変化をコンピュータシミュレーションで再現し、今後ゲスト分子を内包したベシクルの形状変化を調べる上で重要な知見を得た。分子認識による秩序構造形成・変化については、修飾シクロデキストリンが形成する様々な包接化合物形成を再現し、その形成メカニズムを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In order to understand physical phenomena observed within an organism, I studied on the formation and change of ordered structures induced by guest molecules or molecular recognition. For the change of ordered structures induced by guest molecules, I focused on the shape changes of water-in-oil microemulsion droplets induce by addition of polymer chains. The shape change of droplets from sphere to rod and branch was reproduced and the mechanism was elucidated. In addition, I carried out DPD and MD simulations in order to investigate the shape change of vesicles without guest molecules and reproduced various shapes of vesicles. The result will give us the knowledge of the shape changes of vesicles including guest molecules. For the formation and change of ordered structures by molecular recognition, I investigated the formation of various inclusion complexes of modified cyclodextrins by carrying out Brownian dynamics simulations and elucidated the formation mechanism.

研究分野：計算物理学、ソフトマターの物理

キーワード：生物物理 計算物理 高分子構造・物性 超分子科学 分子認識

1. 研究開始当初の背景

生体内では、分子レベルのナノスケールから個体レベルのメートルスケールに至る様々な階層において、秩序構造が形成され、組織化・機能化が行われている。例えば、タンパク質の会合体形成、脂質分子の自己組織化による生体膜形成、さらには、細胞小器官の形成や組織の形成が行われ、生命活動を維持するために必要な種々の機能を発現させている。生体内では、複数のソフトマターが複合することで多種多様な秩序構造を形成し、また必要に応じてその構造を変化させている。このような秩序構造の形成・変化は、ある特定の分子(ゲスト分子)の変化により引き起こされていることが多い。そのため、ゲスト分子によるミクロな構造変化が、スイッチとして機能し、マクロな構造変化を引き起こすメカニズムを調べることは、生体分子が機能を発現する過程を明らかにする上で重要となる。

2. 研究の目的

本研究では、ソフトマターが形成する秩序構造形成・変化を引き起こすゲスト分子の機能を調べるために、次の3つのテーマをもとに研究を進めた。

(1) 油中水滴型ドロップレットの形状変化

水・油・界面活性剤系で観察される油中水滴型ドロップレットに、水溶性高分子鎖を添加すると、ドロップレットの形状が球状から棒状に変化することが実験的に分かっている。このドロップレットの形状変化は添加した高分子鎖がスイッチとして働くことで誘起されていると考えられる。そのため、高分子鎖によるドロップレットの形状変化を分子動力学シミュレーションにより再現し、その形状変化のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

(2) ベシクルの形状変化

脂質分子のみで構成されるベシクルは、生体膜と類似部分が多く、ベシクルの形状変化を調べることは、生命現象を理解する上で重要となる。ここでは、ゲスト分子を内包したベシクルの形状変化を調べるための必要な知見を得るために、まずはゲスト分子を持たないベシクルの形状変化過程を調べることを目的とした。

(3) 分子認識による秩序構造形成および変化

生体内では、特定の分子が認識されることにより、非常に高度の秩序構造が形成される。これらの構造を形成するには、分子認識がスイッチとして機能することが重要であると考えられる。そのため、修飾シクロデキストリンによる複雑な秩序構造形成のメカニズムを、シミュレーションを行うことで調べた。

3. 研究の方法

研究目的で示した3つの研究課題に対し、以下のような粗視化モデルを使用し、シミュレーションを行った。

(1) 油中水滴型ドロップレットの形状変化

水・油・界面活性剤の3成分系において、水、油を1粒子とし、界面活性剤は親水基を1粒子、疎水基を3粒子で、高分子鎖は親水性粒子10モノマーでモデル化した。シミュレーションで使用する分子数は、油3700粒子、界面活性剤300分子(1200粒子)とし、水、高分子鎖については、合計粒子数を600と一定に保ち、高分子鎖の本数を変化させた。界面活性剤頭部と高分子鎖間、および水と高分子鎖間の引力相互作用を変更し、温度一定、圧力一定の条件でシミュレーションを行った。

(2) ベシクルの形状変化

脂質を親水性1粒子と疎水性3粒子、水は親水性の1粒子としてモデル化した。脂質分子10,000本、水分子400,000個とし、粒子全体の濃度を3.0となるようにシミュレーションボックスサイズを定めた。ベシクルの形状変化を調べるため、2分子膜外側と内側を構成する脂質分子数の差 ΔN とベシクル内の水分子数 N_w を変化させ、散逸粒子動力学によりシミュレーションを行った。

(3) 分子認識による秩序構造形成および変化

α -CDに疎水性の高分子鎖を結合させ、修飾シクロデキストリンのモデルを構築した。 α -CD部分は24粒子からなる環状分子として粗視化し、内側に疎水性粒子、外側に親水性の粒子を配置した。修飾部分の高分子鎖は疎水性粒子からなる鎖状分子として粗視化した。修飾部分の高分子鎖長を変え、ブラウン動力学シミュレーションを行うことで、包接化合物の形成シミュレーションを行った。

4. 研究成果

(1) 油中水滴型ドロップレットの形状変化

高分子鎖数の増加にともなう油中水滴型ドロップレットの形状変化の様子を図1に示す。高分子鎖数が少ない5本の場合は、図1(a)に示したように、球状のドロップレットが複数観察された。高分子鎖数を増やした15の場合では、球状と棒状のドロップレットの形成を確認することができた(図1(b))。高分子鎖数を30まで増やすと、ドロップレット数は減少し、棒状ドロップレットが長く伸びた紐状のドロップレット(図1(c))が観察された。さらに、高分子鎖数を45まで増やすと、紐状ドロップレットが枝分かれした構造(図1(d))を確認することができた。この構造は、実験で観察されているネットワーク構造に近いと言える。以上の結果から、高分子鎖数

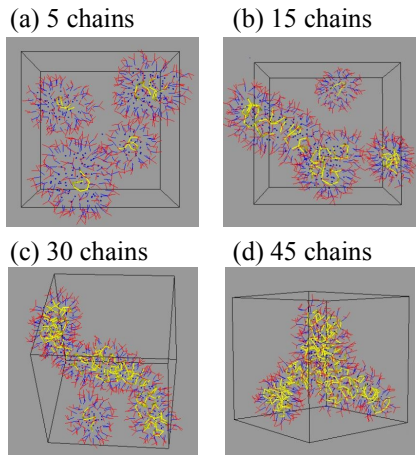


図 1 高分子鎖数の変化によるドロップレットの形状変化。高分子鎖数は、それぞれ 5(a)、15(b)、30(c)、45(d)である。

の増加にともない、球状、棒状、紐状、枝分かれ構造(ネットワーク構造)へと変化する結果を得た。今回のシミュレーションでは、水と高分子鎖間の相互作用を変更にともない、これまで得られなかった紐状や枝分かれ構造を得ることができ、より実験結果に近い状態を再現できたと言える。

ドロップレットの構造が変化するメカニズムを調べたところ、高分子鎖数の増加にともない、高分子鎖が界面活性剤膜に吸着する傾向が強くなることが分かった。これは、高分子鎖の粒子数と水分子数を一定にしているため、高分子鎖数が増加すると、高分子鎖のまわりに存在する水分子が減少し、その結果、エネルギーを下げるために、高分子鎖は界面活性剤頭部と相互作用し、膜に吸着する。高分子鎖が界面活性剤膜の表面に吸着することによるドロップレットの形状変化メカニズムは、以前の研究(T. Kurokawa, et al., *Soft matter*, 2011, 7, 7504-7510)で明らかにしており、今回のシミュレーションでも同様なメカニズムで形状変化することが説明できることが分かった。

以上の結果から、ドロップレット内の高分子鎖がドロップレットの形状変化というマクロな変化を引き起こすことを示すことができた。

(2) ベシクルの形状変化

ゲスト分子を含まないベシクルの形状変化を調べることは、ゲスト分子によるベシクルの形状変化を明確にする上で重要である。ベシクルの形状は、現在、ADE モデル(U. Seifert, *Adv. Phys.*, 46, 13 (1997))により、ベシクル内の体積、および 2 分子膜内外を構成する脂質分子数差により、様々な形状が出現することが説明されている。そのため、本課題研究では、ベシクル内の水分子数 N_w と 2 分子膜内外の脂質分子数差 ΔN を変化させシミュレーションを行った。

まず、球状ベシクルからベシクル内の水粒

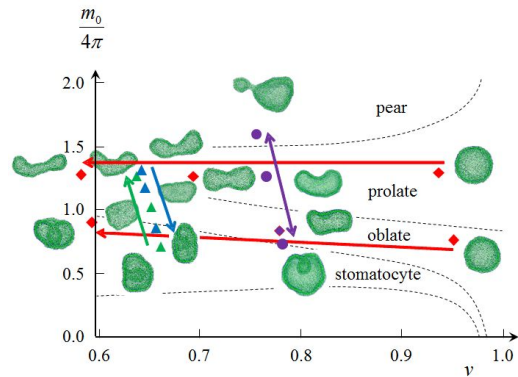


図 2 シミュレーションで得られたベシクルの形状と ADE モデルとの比較

子のみを減らし、形状変化を調べた。2 分子膜内外の脂質分子数差 ΔN が大きい場合は、球状から棒状、チューブ状へ形状変化した。一方、 ΔN が小さい場合は、球状から円盤状、ストマトサイト型へ変化した。次に、ストマトサイト型からベシクル内の水分子数を一定にし、脂質分子を強制的にフリップフロップさせることにより、2 分子内外の脂質分子数差 ΔN を大きくした。その結果、ベシクルは円盤状、棒状、チューブ状へと変化した。チューブ状ベシクルから逆に ΔN を小さくした場合、ベシクルの形状は、棒状、円盤状、ストマトサイト型への形状変化が観察された。これらの形状変化は実験で観測されるベシクルの形状変化と良く一致している。また、シミュレーションで得られたベシクルの形状から reduced volume(v)と intrinsic area difference($m_0/4\pi$)を計算し、ADE モデルと比較したところ、図 2 に示したようにベシクルの形状が良く一致することが分かった。また、図 2 に示したベシクルの形状以外にもヒトデ型やトーラス型のベシクルをシミュレーションで得ており、今後、ゲスト分子によって引き起こされるベシクルの形状変化を調べる上で重要な知見を得ることができた。

ベシクルの形状変化については、今後、様々な系への適応を考えた時に散逸粒子動力学法では限界がある。そのため本課題研究では、分子動力学シミュレーションによるベシクルの形状変化についても並行して研究を行った。その結果、散逸動力学法では再現できなかったベシクルの分裂過程を再現することに成功した。今後、本研究の継続課題である「ソフトマターの機能発現によるベシクルの形状変化：単細胞生物の運動理解へ」(基盤研究(c)・15K05247)で引き続き研究を行い、ベシクルの形状変化と運動との関係性を明確にしていく予定である。

(3) 分子認識による秩序構造形成および変化

分子認識による秩序構造形成に関する理解は、生命現象を知る上で重要である。そこで、本課題研究では、修飾シクロデキストリンのモデルを構築し、包接化合物形成を再現する

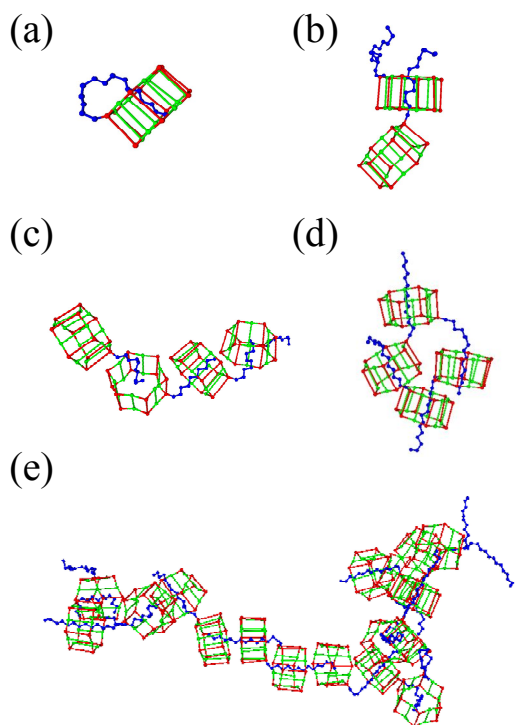


図 3 修飾シクロデキストリンによって形成される包接化合物。(a)分子内包接化合物、(b)分子間包接化合物、(c)線状包接化合物、(d)環状包接化合物、(e)複雑な包接化合物

ことで、その形成メカニズムを明らかにした。

まず、シミュレーションで得られた包接化合物の構造を図 3 に示す。修飾シクロデキストリンの修飾部分が自分自身のシクロデキストリン内に包接する分子内包接(図 3(a))、また修飾部分が他の修飾シクロデキストリンに包接した分子間包接を確認した(図 3(b))。複数の修飾シクロデキストリンが分子間包接をすることで、線状に連なった包接化合物(図 3(c))、さらに、線状包接化合物の端に位置する修飾シクロデキストリンが包接することで環状の包接化合物(図 3(d))を形成した。また、包接化合物を形成する修飾シクロデキストリン数が増えると、より複雑な包接化合物形成(図 3(e))を確認することもできた。このような包接化合物の構造は、修飾する部分の鎖の長さ、および修飾シクロデキストリンの濃度である程度制御することが可能である。

例えば、修飾部分の高分子鎖が短いと、線状や環状の包接化合物を形成しやすく、高分子鎖長が長くなると、複数の修飾シクロデキストリンが 1 つの修飾部分に包接するため、その部分が枝分かれし、より複雑な構造(図 3(e))を形成しやすくなる。修飾部分の高分子鎖長が長い場合、修飾シクロデキストリンの濃度が低いと、他の修飾シクロデキストリンと分子間包接化合物を形成し難くなり、結果として、分子内包接化合物を形成する。一度、分子内包接化合物を形成すると解離しないため、結果的に大きな包接化合物は観察され

にくくなる。一方、濃度が高いと分子内包接化合物を形成する前に、分子間包接化合物を形成するため、大きな包接化合物を形成しやすくなる。

以上、本研究で明らかにした包接化合物の構造形成のメカニズムは、今後、タンパク質などによって形成される複雑な構造形成のメカニズムを理解する上で必要な知見を与えることが期待できる。

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 2 件)

N. Urakami, A. Takaki, M. Imai, and T. Yamamoto, Molecular dynamics simulation for shape change of water-in-oil droplets, *Molecular Simulation*, 41 (2015) 986-992. 査読あり

Y. Oofuji, N. Urakami, M. Imai, and T. Yamamoto, Dissipative Particle Dynamics Simulation for Vesicle Shape Change, *Proceeding of International Conference on Artificial Life and Robotics (ICAROB)* (2014) 308-311. 査読あり

〔学会発表〕(計 15 件)

浦上直人、今井正幸、ベシクルの分裂シミュレーション、日本物理学会第 71 回年次大会(東北学院大学・宮城県仙台市) 2016 年 3 月 22 日

浦上直人、今井正幸、ベシクルの分裂に関する分子動力学シミュレーション、第 5 回ソフトマター研究会(東北大学・宮城県仙台市)2015 年 12 月 18 日

N. Urakami, Molecular simulations of shape changes of vesicles, *International Workshop on Challenge to Synthesizing Life(ホテル花月園・神奈川県足柄下郡箱根町)* 2015 年 8 月 26 日

大藤義之、浦上直人、今井正幸、山本隆、ベシクルの多様な形状変化過程とメカニズムの解析、第 64 回高分子学会年次大会(札幌コンベンションセンター・北海道札幌市) 2015 年 5 月 29 日

大藤 義之、浦上直人、今井 正幸、山本 隆、ベシクルの形状変化メカニズムの解析、第 4 回ソフトマター研究会(名古屋大学・愛知県名古屋市) 2015 年 1 月 7 日

大藤 義之、浦上直人、今井 正幸、山本 隆、ベシクルの形状変化メカニズムの解析、第 28 回分子シミュレーション研究会(仙台市民会館・宮城県仙台市) 2014 年 11 月 13 日

大藤 義之、浦上直人、今井 正幸、山本 隆、散逸粒子動力学法によるベシクルの形状変化、第 63 回高分子討論会(長崎大学・長崎県長崎市) 2014 年 9 月 24 日

大藤義之、浦上直人、今井正幸、山本隆、散逸粒子動力学シミュレーションによるベシクルの形状変化メカニズム、第63回高分子学会年次大会(名古屋国際会議場・愛知県名古屋市)2014年5月29日
Y. Oofuji, N. Urakami, T. Yamamoto, Dissipative Particle Dynamics Simulation of shape changes of vesicle, The International Conference on Artificial Life and Robotics(コンパルホール・大分県大分市)2014年1月13日

大藤 義之、浦上 直人、今井 正幸、山本 隆、余剰面積と面積差に関するベシクルの形状変化、第3回ソフトマター研究会(首都大学東京・東京都八王子市)2013年12月14日

N. Urakami, Akio Takaki, Masayuki Imai, Takashi Yamamoto, Molecular dynamics simulation for shape change of water-in-oil droplets, 3rd International Conference on Molecular Simulation(神戸コンベンションセンター神戸国際会議場・兵庫県神戸市)2013年11月18日

浦上直人、高木 彬生、今井 正幸、山本隆、油中水滴型ドロップレットの形状変化メカニズム、第62回高分子討論会(金沢大学・石川県金沢市)2013年9月11日

高木彬生、浦上直人、今井正幸、山本隆、高分子鎖によって誘起される油中水滴型ドロップレットの形状変化、第2回ソフトマター研究会(九州大学・福岡県福岡市)2012年9月25日

高木彬生、浦上直人、今井正幸、山本隆、高分子鎖の影響による油中水滴型ドロップレットの形状変化、第61回高分子討論会(名古屋工業大学・愛知県名古屋市)2012年9月21日

高木彬生、浦上直人、今井正幸、山本隆、高分子鎖を内包した油中水滴型ドロップレットの融合・分裂シミュレーション、第61回高分子学会年次大会(パシフィコ横浜・神奈川県横浜市)2012年5月31日

〔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〕

<http://www.mms.sci.yamaguchi-u.ac.jp/~urakami/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

浦上 直人 (URAKAMI NAOHITO)
山口大学・大学院理工学研究科・准教授
研究者番号：50314795

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし