

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：82118

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25400433

研究課題名(和文) 中性子スピネコーを用いた生理活性を持つリン脂質二分子膜のメソスコピック物性研究

研究課題名(英文) Properties of Hybrid Liposomes Investigated with Neutron Spin Echo

研究代表者

遠藤 仁 (Endo, Hitoshi)

大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・准教授

研究者番号：40447313

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、リン脂質と界面活性剤から成る人工小胞体であるハイブリッドリポソーム(HL)を生体膜のモデルとし、その動的静的構造を、中性子・エックス線小角散乱法、動的散乱法などによって調査した。その結果、界面活性剤の比率が増えるに従って粒径が小さくなり、界面活性剤濃度を上げていくと、温度を変化させることでラメラ相へ転移することが判明した。これらのことから、HLの構造及びその安定性は界面活性剤の比率と共に温度も重要な要因であることが新たに示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, the structures of hybrid liposomes (HL) with lipid and non-ionic surfactant were investigated by small-angle neutron scattering, small-angle X-ray scattering, dynamic light scattering, and so on. As the results, the structures of HL are affected by the ratio of non-ionic surfactant as well as temperature. The effect of the temperature has been newly found by this research, which should be deeply studied further.

研究分野：中性子散乱

キーワード：中性子小角散乱 リポソーム 界面活性剤 マイクロエマルジョン 相転移 構造解析

1. 研究開始当初の背景

リン脂質と界面活性剤から成る人工小胞体であるハイブリッドリポソーム (HL) は、ガン細胞の細胞膜と強く相互作用し、自発的細胞死 (アポトーシス) を誘導することが報告された。しかしながら、その分子論的な反応経路は未だ解明されていない。

2. 研究の目的

本研究において、メゾスコピックな時空間スケール (本報告書における「メゾスコピックな時空間スケール」とは、空間において 1~100 ナノメートル程度, 時間において 1~100 ナノ秒程度のスケールと定義する) で物質のダイナミクスを測定できる中性子・X線・光散乱法を組み合わせ、HL を機能性多成分脂質膜のモデル系として用い、その機能と構造及びダイナミクスの関連を分子論的に検証することを主な目的とする。

3. 研究の方法

本研究は動的散乱 (DLS), 中性子小角散乱 (SANS), X線小角散乱 (SAXS) 測定によって HL のナノメートルオーダーの構造解析を、界面活性剤の比率と温度をパラメータとして行った。構造解析は散乱理論を厳密に計算することで、詳細な構造情報を得ることを試みた。

4. 研究成果

本研究は 3 年の期間で行った。初年度では、ハイブリッドリポソーム (HL) のリン脂質の種類及び界面活性剤の配合比を大きく変え、動的散乱 (DLS) 及び中性子小角散乱 (SANS) 測定によって HL のナノメートルオーダーの構造解析を行った。2 年目は DLS を用い、各種 HL の粒径及び安定性の確認を行った。最終年度は HL の界面活性剤の比率及び測定温度を変えて X 線小角散乱 (SAXS) を行い、構造が温度によっても大きく影響を受けることを確かめた。

図 1 に SAXS の測定結果 (2 次元プロファイル) を示すが、界面活性剤の比率を 20mol% 以上に高めると、高温でラメラ相に由来するものと思われるピークが観測された。この高温領域におけるラメラ相は、これまで報告例がなく、HL の構造は界面活性剤の比率だけではなく、温度も重要な要因となることが判明し、新たな研究課題を見出した。

研究計画で挙げていた中性子スピネコー測定であるが、日本で唯一測定が可能である分光装置 iNSE が設置されている JRR3 が東日本大震災以来稼働しなかったため、残念ながら行うことができなかった。この点も今後の課題として残された。

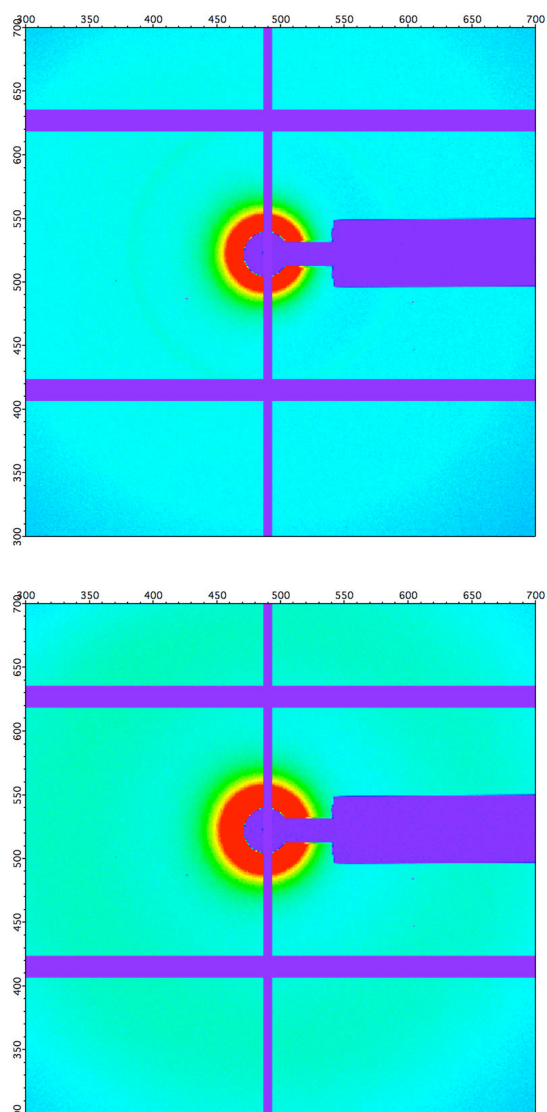


図 1 : HL (界面活性剤の比率 20wt%) の SAXS プロファイル. 上: 測定温度 36.7°C, 下: 測定温度 20.0°C. 高温においてラメラ構造に由来するものと思われるピークが観測された。

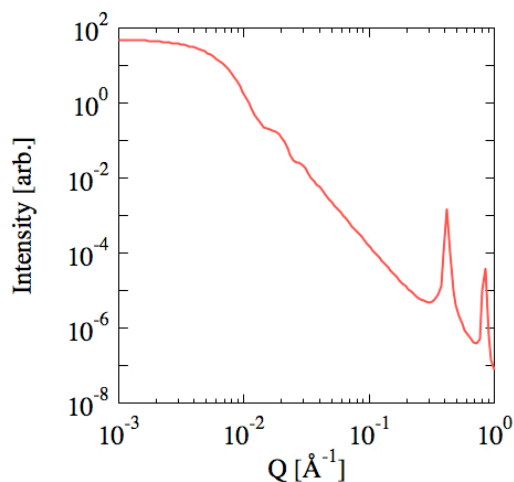


図 2 : ラメラ構造に由来する散乱強度の理論計算結果。

ラメラ相に由来する小角散乱強度に関しては、詳細な理論計算を行い、応用例として粘土鉱物の積層構造に適用し、実験結果を良好に再現することを確かめた。図 2 に計算したプロファイルの一例を示す。理論計算には、(i)ランダム配向、(ii)装置分解能、(iii)層の構造(円盤状と仮定して厚みと半径及びその分布)(iv)積層数とその分布を考慮した。

今回の研究において未解明であった点は、今後も継続して検証を続けていく予定である。

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 9 件)

- ① Yusuke Nambu, Jason S. Gardner, Douglas E. MacLaughlin, Chris Stock, Hitoshi Endo, Seth Jonas, Taku J. Sato, Satoru Nakatsuji, Collin Broholm, “Spin Fluctuations from Hertz to Terahertz on a Triangular Lattice” *Physical Review Letters* 115, 127202: 1-5 (2015). 査読有り
- ② 遠藤 仁, “中性子準弾性散乱による高分子溶液ダイナミクスの研究” *RADIOISOTOPES* 64, 577-587 (2015). 査読有り
- ③ 遠藤 仁, “中性子スピンエコー測定で何が分かるのか?” 波紋 24, 206-209 (2014). 査読有り
- ④ 瀬戸 秀紀, 遠藤 仁, 鳥飼 直也, “中性子を利用したナノ構造解析” *科学と工業* 88, 96-103 (2014). 査読有り
- ⑤ K. Sadakane, H. Endo, K. Nishida, H. Seto, “Lamellar/Disorder Phase Transition in a Mixture of Water/2,6-Dimethylpyridine/Antagonistic Salt” *Journal of Solution Chemistry* 43, 1722-1731 (2014). 査読有り
- ⑥ Ryuhei Motokawa, Hitoshi Endo, Shingo Yokoyama, Hiroki Ogawa, Tohru Kobayashi, Shinichi Suzuki, Tsuyoshi Yaita, “Mesoscopic Structures of Vermiculite and Weathered Biotite Clays in Suspension with and without Cesium Ions” *Langmuir* 30, 15127-15134 (2014). 査読有り
- ⑦ Ryuhei Motokawa, Hitoshi Endo, Shingo Yokoyama, Shotaro Nishitsuji, Tohru Kobayashi, Shinichi Suzuki, Tsuyoshi

Yaita, “Collective Structural Changes in Vermiculite Clay Suspensions Induced by Cesium Ions” *Scientific Reports* 4, 6585: 1-6 (2014). 査読有り

- ⑧ Koichiro Sadakane, Michihiro Nagao, Hitoshi Endo, Hideki Seto, “Membrane formation by preferential solvation of ions in mixture of water, 3-methylpyridine, and sodium tetraphenylborate” *The Journal of Chemical Physics* 139, 234905: 1-11 (2013). 査読有り
- ⑨ Hitoshi Endo, “Dynamics of Polystyrene in a Theta Solvent Investigated by Neutron Spin Echo” *Journal of the Physical Society of Japan* 82, SA014: 6 pages (2013). 査読有り

[学会発表] (計 6 件)

- ① Hitoshi Endo, “Mesoscopic structure of nanogels studied by small-angle neutron scattering and computer simulation” *JCNS Workshop 2015*, 2015年10月5日-8日, Tutzing (Germany).
- ② 遠藤 仁, “中性子小角散乱と計算機シミュレーションを組み合わせたナノゲルの構造解析” 第65回高分子討論会, 2015年9月14日-16日, 東北大学川内キャンパス(宮城県仙台市).
- ③ Hitoshi Endo, “Neutron Resonance Spin Echo Spectrometers, VIN ROSE, at J-PARC” *QENS2014/WINS2014*, 2014年5月11日-16日, Aufrans (France).
- ④ Hitoshi Endo, “Structure and Dynamics of Protein in Solution Investigated by Neutron Scattering” *13th Japan-Korea Meeting on Neutron Scattering*, 2014年2月16日-18日, Bueyo (Korea).
- ⑤ 遠藤 仁, “中性子スピンエコーを用いたタンパク質溶液のダイナミクス評価” 日本中性子科学会年会, 2013年12月12日-13日, ちば県民プラザ(千葉県柏市).
- ⑥ 遠藤 仁, “中性子スピンエコー法を用いたタンパク質の水溶液中のダイナミクス研究” 第62回高分子討論会, 2013年9月11日-13日, 金沢大学角間キャンパス(石川県金沢市).

〔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〕

ホームページ等

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

6. 研究組織

(1)研究代表者

遠藤 仁 (ENDO Hitoshi)

高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学
研究所

准教授

研究者番号：40447313