

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：13801

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K05243

研究課題名(和文)脂質キュービック相の単結晶領域の作製と相転移研究への応用

研究課題名(英文)Preparation of single crystal region of lipid cubic phase and its application to phase transition studies

研究代表者

岡 俊彦(Oka, Toshihiko)

静岡大学・電子工学研究所・准教授

研究者番号：60344389

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：脂質と水など2成分で構成されるリオトロピック液晶キュービック相の相転移、構造解析などを行った。キュービック相から別のキュービック相への相転移について、相転移前後での方位関係を明らかにした。これをもとに相転移のモデルを構築した。また世界で初めてキュービック相のX線単結晶構造解析を行い、得られた電子密度図から2分子膜のゆらぎが場所に依存することを示した。リオトロピック液晶ヘキサゴナル相の単ドメインの作成法についても研究を行った。

研究成果の概要(英文)：Lyotropic liquid crystal is composed of two components such as lipid and water. Phase transition and structural analysis of lyotropic liquid crystal cubic phase were carried out. For the phase transition from cubic phase to another cubic phase, the orientational relationship before and after the phase transition was clarified. Based on this, a model of phase transition was constructed. Moreover, I did X-ray single crystal structural study of the cubic phase for the first time in the world and showed that the fluctuation of the bilayer membrane depends on the place from the obtained electron density map. I also studied how to create a single domain of lyotropic liquid crystal hexagonal phase.

研究分野：ソフトマター物理・生物物理

キーワード：リオトロピック液晶 キュービック相 相転移 単結晶作成 X線結晶構造解析

1. 研究開始当初の背景

三重周期極小曲面は3次元的に無限に繰り返す極小曲面である。そのうち結晶系が立方晶である、D曲面、P曲面、G曲面の三種類は脂質-水系を含む多くのリオトロピック液晶系で観測され、キュービック相(Q相)と呼ばれる。Q相は種々の細胞の中でも見出されている。これらは条件が変われば平面二重膜の液晶相(L相)やヘキサゴナルII相(HII相)など、その他の相に転移する。

Q相に関する相転移を研究する有力な手法としてX線小角散乱法(SAXS)がある。この手法は経時的な相変化を直接観測できることから、脂質膜の相の研究に数多く用いられてきた。研究代表者もこの手法を用いて、pH変化後のL相から、Q相の一つであるQIID相への転移過程で、中間状態としてHII相が現れることを明らかにしてきた。SAXSは脂質膜の相転移の研究において非常に有効な手法であるが、試料として用いる脂質膜の相の方位を得ることは難しい。これは試料が微小な領域を持つ多結晶試料となっているため、脂質膜の相の転移における方位の情報が失われるからである。この方位の情報は他の測定方法でも得ることは難しい。

研究代表者は前述の研究において、HII相からQIID相への転移過程を考えていく中で、転移前のある結晶方位が転移後の特定の方位に変換される epitaxial relation が存在するのではないかと考えた。これは相転移のさいに一部の構造が保たれて新たな構造ができていき、そのほうがエネルギー的に有利なのではないかという考えに基づく。またこれまでに3種類のQ相間での転移に関して、方位がどのように変換されるかも議論されていた(Squires et al., Phys. Rev. E 72, 011502, 2005)。この3種類のQ相間の転移では、QIID-QIIG転移とQIIP-QIID転移において、格子定数の比がそれぞれ $a(G)/a(D)=1.576$ 、 $a(P)/a(D)=1.279$ となることが示されている(Templer et al., Biophys. Chem., 1994, 49, 1)。この比は他の実験でも保たれており、QIID-QIIG転移とQIIP-QIID転移では、格子が完全に崩れるといったことはなく、方位の情報を残して相転移が起こっていることを示唆していると考えられた。またこのQ相間の転移は膜が繋がったまま相転移すると考えられており、数学的にも非常に興味深いものであった。しかしそれまでの測定技術では相転移時の方位を調べることが難しいため、明確な結果を出すことは難しかった。

これまで基板上にL相の脂質二重膜を配向させ、他の相へ転移させるSAXSの研究は行われてきており、YangとHuangはHII相への転移の過程でstalk構造と呼ばれる中間体構造が存在することを明らかにした(Science, 2002, 297, 1877)。この研究ではL

相を配向させたことにより、中間体構造を明瞭に捉えることに成功している。つまり新

たな技術を開発したことによって、重要な発見がなされたわけである。

研究代表者は脂質の相転移の研究に応用する目的で、脂質のQ相を配向させる研究に着手した。本研究の開始までに脂質モノオレインを用いて、X線回折実験などに適したミリメートルサイズのQIID相の単結晶領域を作成することに成功していた。

2. 研究の目的

研究の当初目標は主に下記の二つであった。

(a)脂質などの両親媒性分子と水が作るQ相などの単結晶領域を作成し、手法として確立すること。

(b)Q相やその他の相などの単結晶領域を用いて相を転移させ、転移前後での結晶方位の変換、中間体の有無の確認・同定などを行う。

(a)に関しては、すでに脂質モノオレインのQIID相の単結晶領域は得られている。このため他の試料や相に関しても、単結晶(領域)作成の技術を応用・開発していくことを目標とした。

(b)は(a)の技術を用いて、相転移現象を解明していくことを目的としている。すでに(a)の一部は達成されていることから、(b)のほうがより重要な目的と考えていた。具体的には、脂質モノオレインのQIID相から別の相への転移過程の前後で、どのように結晶方位が変換されているか、または中間体が存在するか、ということを中心に、Q相などの相転移機構の解明をもう一つの目標とした。

3. 研究の方法

論文にまとめた研究について記述していく。

(1) QIIDからQIIGへの相転移

すでに得られている脂質モノオレインのQIID相の単結晶領域を用いて、相転移の測定を行った。相転移の研究は、単結晶試料の一部のみを相転移させ、相転移していない部分との方位の比較をする方法で行った。実験に適した試料として、直径0.2~0.5mmの細管中で単結晶領域を作成した。転移前後の相の同定は、大学所有の小角X線散乱測定装置を用いて行った。またこの際に試料は回転させながら測定した。QIIDからQIIGへの転移はPEG4000存在下などで、水分量が低下させて起こした。

(2) ヘキサゴナル相の単ドメインの作成

グリセリルモノオレイルエーテル(GME)を用いて作成した。石英細管にGMEを入れ、純粋に浸しておくことで単ドメインが得られた。この資料を用いて大型放射光施設でX線回折測定を行った。

(3) QII相のX線単結晶構造解析

脂質モノオレインの3種類のQII相の単結晶領域を作成し、単結晶を回転させて測定し、X線回折強度を測定した。構造を復元するためには、X線回折強度情報のみでは難しく、

位相を推定する必要がある。このため既知の情報を用いてモデルを作成した。脂質は二重膜を形成し、極小曲面上に位置するとした。また脂質頭部と尾部および水の電子密度は過去の文献値を用いた。モデルを用いて実験データに対して最適化を行ったところ、良好な結果が得られ、位相を得ることができた。X線回折強度と位相を用いて電子密度図を作成した。

4. 研究成果

(1) QIID から QIIG への相転移

QIID の単結晶から、一部を QIIG へ相転移させた。この相転移の界面付近で X 線回折測定を行い、それぞれの相での単結晶の方位を調べた。この結果相転移の前後で特定の軸の方位に対応が見られる epitaxial relation が存在した。QIID 相の単結晶の [111] 方向と [1-10] 方向が、QIIG 相の [202] 方向と [0-40] 方向に対応していた。脂質のキュービック相では脂質二重膜が極小曲面上に位置する。二重膜以外のところには水が存在するが、二重膜によって分けられることにより結合・分岐を持つ二つの水路を形成する。相転移の前後においてこの水路の複数の方向のうち、一つが相転移前後で保たれていることが分かった。これをもとに相転移モデルを作成した。

(2) ヘキサゴナル相の単一ドメインの作成

ヘキサゴナル相は 2 次元面内 (a 軸 b 軸で作る面) において六方晶の繰り返し構造を持つが、残りの一次元方向 (c 軸) には同じ構造がつながっている。

単一ドメインの作成は石英細管中で行った。得られた単一ドメインは X 線回折測定の結果 2 種類あることが判明した。石英細管の内径が 0.5 から 1mm 程度の時は石英細管の長軸方向に c 軸がほぼ平行であった。石英細管の内径が 0.2mm 程度の時は石英細管の外壁の円周方向に沿って、c 軸がドーナツのように円を描いていた。これは外壁に沿ってヘキサゴナル相が形成されるためと考えられ、直径が小さいときにエネルギー的に不安定なヘキサゴナル相の先端が反対側の先端と閉じて、円を形成すると考えられた。直径が 0.1mm 程度の円の曲率では、c 軸方向の構造エネルギーに大きな影響は与えないと推測できる。石英細管の長軸方向に c 軸がほぼ平行な場合で c 軸の波うちが観測されたが、同じ理由と考えられる。

(3) Q 相の X 線単結晶構造解析

脂質モノオレインで QIID 相の単結晶につづき、QIIP 相、QIIG 相の単結晶領域の作成に成功した。この試料を用いて X 線単結晶構造解析を行った。これまでリオトロピック液晶キュービック相では X 線粉末回折測定法が用いられてきたが、X 線単結晶構造解析の技術を用いたのは世界初となる。得られた三種類の相の単結晶領域からの X 線回折はどれも良好であった。この X 線回折をソフトウェアで処理することにより、高い精度で X 線回

折強度データを得ることができた。これをもとに構造因子の振幅を計算した。X 線回折測定では構造因子の位相が失われる。位相を求めるための手法として様々なものが多くの分野で考案されている。一方で Q 相の構造は中心対称性を持つため、原理的に位相は 0 または π のいずれかとなる。このため取りうる位相の選択肢は大幅に狭まる。私は Q 相の既知の構造情報をもとにモデルを構築し、その電子密度をフーリエ変換した情報と X 線データから得られた情報を最適化することにより、位相情報を得ることに成功した。この位相と X 線データから得られた構造因子の振幅とを用いて、Q 相の電子密度図を得た。

電子密度図からは電子密度の高い脂質の頭部領域、低い脂質の尾部領域が判別でき、また水のみ領域も見分けられた。脂質は 2 分子膜を形成し、三重周期極小曲面が理論的に位置する場所上にあった。電子密度を詳細にみていくと、脂質尾部の低い電子密度領域では場所に依存して電子密度が変化していることが分かった。低電子密度領域においてガウス曲率が 0 のところで電子密度が低くなり、幅が狭くなっていた。ガウス曲率が最も小さいところでは電子密度が高くなり、幅が広がっていた。検討の結果、これが脂質二重膜のゆらぎによると結論付け、モデル計算を行ったところ、予想と一致する結果が得られた。脂質二重膜のゆらぎはガウス曲率が 0 のところで小さくなり、ガウス曲率が最も小さいところで大きくなる、と結論付けられた。

今回の研究は Q 相の X 線単結晶構造解析として世界で初めてのものではあったが、構造に関する新たな知見が得られた。この手法で今後も新たな知見を得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 3 件)

T. Oka, Small-Angle X-ray Crystallography on Single-Crystal Regions of Inverse Bicontinuous Cubic Phases: Lipid Bilayer Structures and Gaussian Curvature-Dependent Fluctuations, The Journal of Physical Chemistry B 121 11399-11409 (2017 年) 査読有、10.1021/acs.jpcc.7b08589

T. Oka, N. Ohta, Two distinct cylinder arrangements in monodomains of a lyotropic liquid crystalline hexagonal II phase: monodomains with straight cylinders and ringed cylinders in capillaries, Langmuir 32 7613-7620 (2016 年) 査読有、10.1021/acs.langmuir.6b00996

T. Oka, Transformation between Inverse Bicontinuous Cubic Phases of a Lipid from Diamond to Gyroid, Langmuir 31 11353-11359

(2015年) 査読有、
10.1021/acs.langmuir.5b02180

〔学会発表〕(計8件)

岡 俊彦、脂質キュービック相の小角X線結晶構造解析、第68回コロイドおよび界面化学討論会、2017年

岡 俊彦、脂質キュービック相の構造解析、日本物理学会 第72回年次大会、2017年

T. Oka, Orientational Relationships In Transformations Between Three Inverse Bicontinuous Cubic Phases of a Lipid、第54回日本生物物理学会年会、2016年

T. Oka, Single Crystallization of an Inverse Bicontinuous Cubic Phase of a Lipid and Applications to Phase Transition Studies、Boden Research Conference 2016, Animal Vegetal Mineral?、2016年

岡 俊彦、脂質モノオレインのキュービック相間転移における方位関係:ダイヤモンド-ジャイロイド転移、日本物理学会 第71回年次大会、2016年

岡 俊彦、リオトロピック液晶 型キュービック相の単結晶領域作成、第5回ソフトマター研究会、2015年

T. Oka, Transformation between inverse bicontinuous cubic phases of a lyotropic liquid crystal、The 17 Takayanagi Kenjiro Memorial Symposium、2015年

岡 俊彦、リオトロピック液晶 型キュービック相の単結晶領域作成とその相転移研究への応用、日本学術振興会 情報科学用有機材料第142委員会 合同研究会、2015年

〔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〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡 俊彦 (OKA, Toshihiko)

静岡大学・電子工学研究所・准教授

研究者番号: 60344389