

令和元年6月14日現在

機関番号：32702

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K05759

研究課題名(和文) ケージド脂肪酸油滴が示す内部応答と連動した走光性

研究課題名(英文) Phototaxis of Oil Droplets Comprising a Caged Fatty Acid Working with Internal Response

研究代表者

鈴木 健太郎 (Suzuki, Kentaro)

神奈川大学・理学部・准教授

研究者番号：60512324

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)：紫外線照射によって反応制御できるケージド脂肪酸からなる油滴が、紫外線の照射方向に向かって自走する走光性を示すことを見いだした。油滴に照射した紫外線は、油滴内部を透過する際に減衰するので、紫外線照射面とその逆側の面とで光分解反応効率が異なる。このことが、運動の方向性を決めている。また、化学反応進行とともに、油滴内部に対流が出現し、これが自らの運動の持続、安定化に寄与することを明らかにした。さらに、光応答性を持たないベシクル内部に本油滴を封入することで、油滴単独とは運動機構は異なるものの、ベシクル全体に運動を誘起しうることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

光照射によって化学反応を制御できるケージド化合物の特徴を利用して、外的刺激によってその運動性や方向性を制御できる自走油滴という新しい系の構築に成功した。この走光性の発現には、単なる外的刺激応答だけでなく、自らの動きを安定化・持続化する機構を有しており、研究当初に目指した「刺激によって活性化した内部応答により自律的に運動を作り出す生物の示す動きに通じる特性」を有し興味深い。さらに、作られた油滴を駆動源として、本来動きを持たないベシクルに動きをもたらすことにも成功した。従来自走性油滴の運動は、自らを動かすことのみ使われるが、本手法を利用することで、新しい物質輸送系にまで展開できるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：We found that novel sub-millimeter-sized phototactic oil droplets of oleic acid bearing a photolabile protecting group, 2-nitrobenzyl oleate, in basic water exhibited unidirectional motion toward a UV light source. This unidirectional motion can be explained by anisotropic photolysis on a surface of the droplet with low permeability for UV light. This characteristic dynamics, which is derived from a supramolecular machinery system towards the external stimulus with an inner convection structure as a self-assistance, may be similar to the phototaxis of a living cell. Additionally, a self-propelled giant vesicle (GV) containing the oil droplets as a driving source was constructed prepared by using the centrifugal precipitation. Major dynamics of the GVs containing the droplets under UV irradiation was a self-propelled motion, and their migration direction was independent of the position of the UV light source unlike in the free phototactic droplet.

研究分野：有機物理化学

キーワード：自己駆動 走光性 油滴 ジャイアントベシクル 両親媒性分子 ケージド化合物

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

「うごき」は生命現象を特徴付ける重要なダイナミクスである。原始的な水生微生物であっても、自ら動くことによって外敵から逃れたり、生育に有利な環境へと自らを移動させたりする。この生物を参考に、自ら動きを示す人工の分子システムを実現することができれば、生命現象を支える物理現象の理解が深まるだけでなく、従来の物質科学にはない新しい方法論に基づく物質輸送システムの構築につながり興味深い。さまざまな自走性油滴が報告されてきたなかで、研究代表者らは、オレイン酸のカルボン酸部が光分解性保護基で保護されたケージドオレイン酸 NBO(図1)からなる油滴が、照射された紫外線の方に向かって駆動する「走光性」という、従来にない挙動を示すことを見いだした(図2)。紫外線照射の有無によって反応制御が容易なケージド化合物の性質を利用すれば、従来にない新しい自走系への展開が期待される。

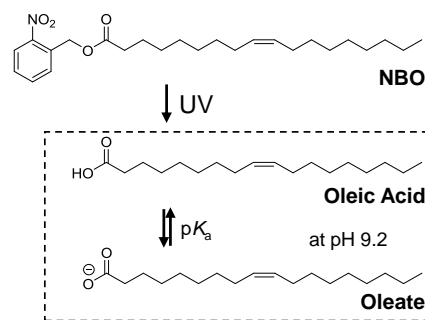


図1 ケージドオレイン酸 NBO およびその光分解反応

2. 研究の目的

ケージド脂肪酸からなる油滴が紫外線照射下で示す、光源に対する高い指向性を持った運動やその発現機構に着目し、このような系を生物が示す走光性にみられる「刺激によって活性化した内部応答により自律的に運動を作り出す仕組み」を持った分子システムを担うのに最適な分子系を構築する。これら油滴が示すダイナミクスの顕微鏡観察から、本ダイナミクスにおける油滴に内部状態とマクロな運動ダイナミクスの関連性を明確にする。さらに、このような油滴を、細胞と同程度の大きさを持った微小空間内に封入し、油滴の作り出した運動を、別の物質を動かす動力源として利用するための手法の構築を目指した。

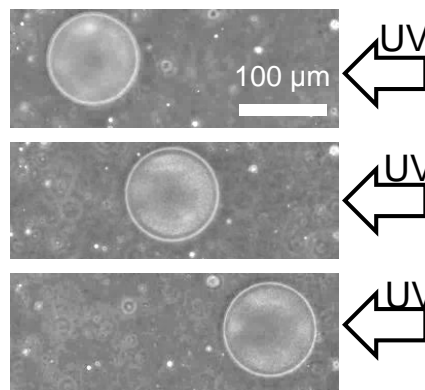


図2 走光性を示す NBO 油滴

3. 研究の方法

(1) 合成したケージドオレイン酸 NBO を主成分とする油滴が、紫外線照射下で示すダイナミクスをリアルタイム計測、紫外線照射前および照射中、照射後の油滴の動きと内部状態を観測した。紫外線照射方向や強度に対する油滴の駆動状態の変化や、分光学的手法を用いた紫外線照射下での反応進行についての観測結果から、光分解反応と動きの関連性を明らかにした。

(2) 照射された紫外線に対する応答性の向上を目的に、無置換のニトロベンジルアルコールよりも吸光係数の大きいケージド脂肪酸を合成した。また、反応進行時の分子分布等の情報を得るために、蛍光性置換基を導入したケージド脂肪酸も合わせて合成した。

(3) パラフィン中に形成したリン脂質を界面活性剤とする水/油エマルジョンを水層に浮かべ、遠心分離によりベシクルを調整する遠心沈降法は、ベシクルの内/外水相構成成分を区別することが可能な優れた方法である[1]。この方法を拡張して、NBO の光分解反応に適した紫外線に対して応答性を持たないリン脂質ベシクル内部に、NBO 油滴を封入した「油滴封入ベシクル」の調整を行い、紫外線照射下での挙動を観察した。

(4) 本研究で用いた有機合成法や、油滴封入ベシクルをつくるために最適化した遠心沈降法などの調整手段を活用して、化学反応に基づく分子集合体ダイナミクスに関連する研究を展開した。

4. 研究成果

(1) 紫外線照射前/照射中および照射後の NBO 油滴の駆動およびその内部状態の観察から、NBO 油滴が示す走光性は、次の機構で説明できることを明らかにした(図3)。i) 油滴内部を透過する紫外線はその距離に応じて減衰するので、十分大きな油滴では、油滴の紫外線照射面と、その逆側とで光分解反応の効率が異なり、照射面でより多くのオレイン酸が生じる(図3b)。ii) 油滴表面のオレイン酸は酸解離により界面活性のあるオレートとなり表面張力を低下させる。iii) 反応効率の違いによる表面張力勾配が、油滴の紫外線照射面を上流とする水流を生み出す(図3c)。iv) 油滴表面のオレート濃度が閾値を超えると、過剰なオレイン酸で覆われた微小水滴が油滴後方から取り込まれるようになり、周辺のオレート濃度を低下させる(図3d)。v) 水相同様に表面張力勾配で生じた油相中の流れが、油滴後方からの水滴の取り込みを促進し、油滴の駆動を安定化させる。このことから、NBO 油滴にみられる走光性は、外的刺激としての光照射だけでなく、油滴自らが作り出した内部構造(対流)も利用した動きであると見なせる。

これはまさに、「刺激によって活性化した内部応答により自律的に運動を作り出す仕組み」と言え、走光性微生物の運動との関連性が興味深い。

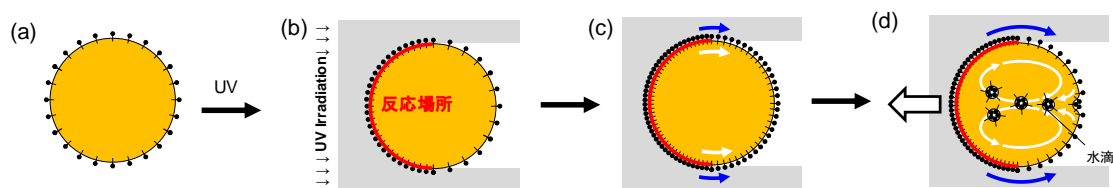


図3 油滴の駆動に関する模式図

(2) 油滴が駆動性を示すには、照射面の及びその逆側での光分解反応効率の違いに基づく対称性の破れが重要である。無置換の NBO で調整した油滴では、紫外線の透過性が高く、粒径 $50\ \mu\text{m}$ 以下では駆動性（走光性）を示さない。一方、新たに合成した DM-NBO（ベンゼン環上に二個のメトキシ基を有する）は、NBO の約 30 倍の吸光係数を持つため、粒径 $10\ \mu\text{m}$ 以下の油滴でも走光性を示すことが確認された。また、光反応生成物の空間分布を知るためのプローブとして、ケージド脂肪酸疎水基末端に蛍光性置換基を導入した分子の合成にも成功した。

(3) 遠心沈降法により調整した油滴封入ベシクルに紫外線を照射した場合のベシクル全体の挙動を顕微鏡観察したところ、観察したベシクルの約八割（測定数: 76）で、位置の変化が観測された。ただし、油滴単独の場合と異なり、その移動方向に、紫外線源との関連性はみられなかった。ベシクル中に多数の NBO 油滴を封入した場合、紫外線照射によりベシクルの破裂が観測されることから、光分解反応によって生じたオレイン酸の一部は、ベシクル内水相に溶け出し、さらにベシクル膜へと作用するものと考えられる。このとき、オレイン酸によるベシクル表面の表面張力に不均一性が生じ、それが動きに繋がったものと解釈された。

(4) 本研究課題に関連して、ベシクル内部に油滴の代わりに光開孔性ベシクルを封入した二重ベシクルのダイナミクス、膜生産反応の速度に応じて出現するマクロ形態のことなるベシクル自己生産系、およびベシクル型人工細胞に封入する DNA 鎖長の違いによる自己生産過程の影響に関する研究について成果をあげた。

<引用文献>

[1] S. Pautot, B.J. Frisken, D.A. Weitz, *Langmuir* **19**, 2870–2879 (2003).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 12 件）

- ① Ibuki Ishii, Yuka Ominato, Akane Karasawa, Tatsuya Takahashi, Muneyuki Matuo, Kentaro Suzuki, Tadashi Sugawara, Morphological Changes of Kinetically Trapped Tubular Vesicles Driven by the Production of Synthetic Phospholipids in a Vesicular Membrane, *Chem. Lett. in press* (2019) 査読あり
DOI:10.1246/cl.190260
- ② Muneyuki Matsuo, Yumi Kan, Kensuke Kurihara, Takehiro Jimbo, Masayuki Imai, Taro Toyota, Yuiko Hirata, Kentaro Suzuki, Tadashi Sugawara, DNA Length-dependent Division of a Giant Vesicle-based Model Protocell, *Sci. Rep.* **9**, 6916 (2019) 査読あり
DOI:10.1038/s41598-019-43367-4
- ③ Muneyuki Matsuo, Shota Ohyama, Kotoba Sakurai, Taro Toyota, Kentaro Suzuki, Tadashi Sugawara, A Sustainable Self-reproducing Liposome Consisting of a Synthetic Phospholipid, *Chem. Phys. Lipids* **222**, 1-7 (2019) 査読あり
DOI:10.1016/j.chemphyslip.2019.04.007
- ④ Kentaro Suzuki, Kotaro Machida, Kazuo Yamaguchi, Tadashi Sugawara, Photo-triggered Recognition between Host and Guest Compounds in a Giant Vesicle Encapsulating Photo-Pierceable Vesicles, *Chem. Phys. Lipids* **210**, 70-75 (2018) 査読あり
DOI:10.1016/j.chemphyslip.2017.11.008
- ⑤ Kentaro Suzuki, Tadashi Sugawara, Phototaxis of Oil Droplets Comprising a Caged Fatty Acid Tightly Linked to Internal Convection, *ChemPhysChem* **17**, 2300-2303 (2016) 査読あり
DOI: 10.1002/cphc.201600273

〔学会発表〕（計 29 件）

- ① 鈴木健太郎, 菅原 正, 山口和夫, 紫外線照射下での化学反応を利用したソフトマターのダイナミクス, 第 8 回ソフトマター研究会 (2018).
- ② Kentaro Suzuki, Self-Propelled Oil Droplet of Caged Fatty Acid toward UV Light Source, 13th

International Symposium on the Kanagawa University - National Taiwan University Exchange Program 2017 (2018).

- ③ Kentaro Suzuki, Naoyuki Nakayama, Masayuki Iguchi, Tadashi Sugawara, Photo-sensitive Encapsulated Oil-droplets Causing Dynamics of Giant Vesicle, Internal Symposium on Fluctuation and Structure out of Equilibrium 2017 (2017)
- ④ 鈴木 健太郎, 中山 直之, 菅原 正, ベシクル内部に封入した走光性油滴, 第 26 回有機結晶シンポジウム(2017)
- ⑤ 中山 直之, 鈴木 健太郎, 山口 和夫, 菅原 正, 吸光係数の大きなケージドオレイン酸からなる微小油滴の走光性, 第 27 回基礎有機化学討論会 (2016)

[その他]

<http://suzukiscientia.web.fc2.com>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：菅原 正

ローマ字氏名：(SUGAWARA, tadashi)

所属研究機関名：神奈川大学

部局名：理学部化学科

職名：特任教授

研究者番号 (8 桁)：50124219

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。