

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：32678

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25420840

研究課題名(和文)リン脂質の巨大分子集合体を基盤とする新規フォトニックソフトマテリアルの創製

研究課題名(英文)Development of novel photonic softmaterials using phospholipid-based giant molecular aggregates

研究代表者

黒岩 崇 (Kuroiwa, Takashi)

東京都市大学・工学部・准教授

研究者番号：60425551

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)：生体由来のリン脂質を主成分とした巨大分子集合体を基盤とする構造発色性フォトニックソフトマテリアルの開発に向けた基礎的検討を行った。リン脂質やコレステロールを含む有機相と電解質を含む水相からなる2相溶液系を利用した独自の分子集合体形成プロセスにより、直径が1mm以上に達し、青色(波長約450 nm)から赤色(波長約650 nm)まで広範な発色性を発現する新規な巨大分子集合体の作製に成功した。

研究成果の概要(英文)：Development of a novel photonic softmaterial showing structural color based on giant molecular aggregates mainly consisting of phospholipid were investigated. Giant molecular aggregates larger than 1 mm in their diameter was successfully prepared via a formation process using a biphasic solution system consisting of an organic phase containing lipids and an aqueous solution containing electrolytes. The color of the obtained giant molecular aggregates was tunable in the range from blue to red (from 450 to 650 nm in wavelength).

研究分野：生物化学工学、生体分子機能化学、分子集合系材料工学

キーワード：自己組織化 表面・界面物性 分子集合材料 バイオ機能材料 フォトニック材料 リン脂質

1. 研究開始当初の背景

昆虫の翅・表皮や鳥の羽に見られる色彩は「構造色」と呼ばれる。構造色は、これらの素材がもつナノレベルの微細構造に照射された光が回折、散乱、干渉などを起こし、特定の波長の光が強められた結果として観察されることが知られている。構造色は一般に鮮やかな光沢を持ち、退色しにくい性質を持つ。そこで、微細加工技術を応用して様々な材質に構造色を発現するような微細構造を形成させ、これを用いて新しい表示材料や色彩材料を開発する試みが展開されている。

近年では、構造発色材料として、分子集合体やゲルなどのソフトマテリアルが注目されている。ソフトマテリアルの特徴である柔軟さ、すなわち作製条件や外部環境に応じて構造や特性を柔軟に変化させる性質を活かし、これを構造発色材料に応用すれば、発色特性を自在に制御できるスマートなフォトニック材料の開発が可能になると期待される。しかし、構造発色性を示すソフトマテリアルの開発例は限られており、発色機構の解明や材料への応用に向けた研究も十分進んでいない。そのため、より広範な素材、特にこれまで見出されていない新しい素材による構造発色材料の作製とその発色メカニズムに関する研究が必要とされている。

研究代表者は、ソフトマテリアルを基盤とする新しいフォトニック材料の開発に向けて、リン脂質やコレステロールをはじめとする生体由来の脂質分子からなる分子集合体に着目した。生体膜の主要構成成分であるリン脂質やコレステロールなどの脂質分子は、濃度や環境条件によりミセルやベシクルをはじめとする様々な分子集合体を形成することが知られている。これらは通常、分散微粒子として様々な場面での応用展開が検討されている。脂質分子の集合状態を制御することで、目視可能なレベルで連続体としての取り扱いが可能な大きな脂質分子集合体を得られれば、ナノオーダーの分子配列に基づくマイクロな内部構造の変化を活かしてマクロな物性・機能性を自在に変調できるユニークなフォトニック材料への展開が期待できるとの着想を得て、本研究を始めるに至った。

2. 研究の目的

本研究では、生体由来の脂質分子が形成する分子集合体を用いた新しい機能材料の創製に向けて、従来検討されてこなかったミリメートル以上の大きさをもつ巨大な分子集合体の作製およびそのフォトニック材料としての特性評価を行うことを目的とした。構造発色性リン脂質分子集合体の作製条件(脂質組成、水相組成、温度、pHなど)と、得られる集合体の微細構造および発色性との関連を調べることで発色性能を制御するための操作因子を明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

(1) 生体リン脂質を主成分とするミリメートルサイズの巨大分子集合体の作製
卵黄由来のホスファチジルコリン(EPC)、コレステロール(Chol)および添加剤(Add)として種々のモノアルキル化合物を用い、EPC:Chol:Add=5:5:1のモル比でヘキサンに溶解して脂質溶液とした。この脂質溶液を水相(NaCl水溶液または種々のpHに調整した緩衝液)上に静かに積層した。このとき、脂質溶液と水相との体積比は1:2とした。室温下で24時間静置してヘキサンを蒸発除去することで水相中に巨大分子集合体を得た。

(2) 分析方法

巨大分子集合体の外観は、偏光観察ユニットを備えたデジタルマイクロスコープにより観察した。分子集合体の光透過・反射特性は、紫外可視分光光度計による透過率測定および光ファイバ分光器を用いた可視反射スペクトル測定により評価した。

巨大分子集合体の微細構造を調べるために、高エネルギー加速器研究機構放射光研究施設(PF、BL-6A)を利用した小角・広角X線散乱測定を行った。得られた二次元散乱データに対して、画像解析ソフトを用いて散乱パターンの解析を行った。

水相中の塩濃度は、電導度の測定値を基準としてあらかじめ作成した検量線を用いて算出した。

4. 研究成果

初年度(平成25年度)の検討では、本法における構造発色性リン脂質分子集合体の発現条件と、得られる集合体の構造および特性との関連を明らかにし、リン脂質分子集合体による構造発色性の発現機構の解明に向けた検討を行った。まず、リン脂質、コレステロールをはじめとする両親媒性脂質を含む有機溶媒相と、電解質を含む水相とからなる2相溶液系から穏やかな条件下で有機溶媒を除去する独自の自己組織化プロセスにより、直径が数ミリメートルに達し、かつ鮮やかな発色を示す巨大分子集合体(図1)を形成できる手法を確立した。

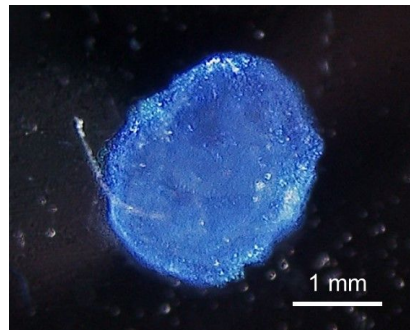


図1. 本研究で作製した、青色に発色するリン脂質巨大分子集合体。

さらに、本分子集合体においては、温度および水相の組成により、その形状および光学特性が変化することを見出した。特に、構造発色性の発現には外水相中の電解質濃度が顕著な影響を及ぼすことを明らかにし(図2)、当初目標であった青色(波長約450 nm)~淡赤色(波長約650 nm)にわたる波長範囲で色彩を制御することに成功した(図3)。

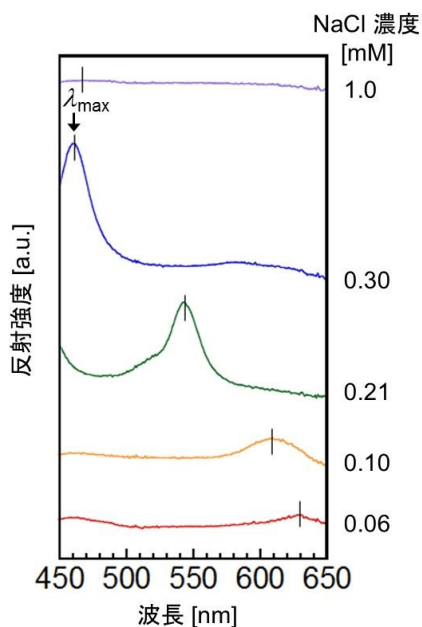


図2. 外水相の NaCl 濃度を種々変化させて作製した発色性巨大分子集合体の可視反射スペクトル. 色彩の変化に対応して最大反射波長(λ_{\max})がシフトしていることがわかる.

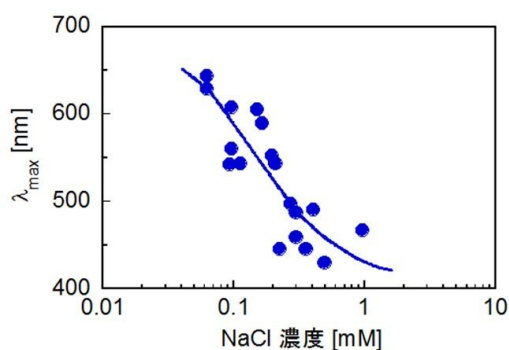


図3. 発色性巨大分子集合体の最大反射波長に対する NaCl 濃度の影響.

続く平成26年度の検討では、まず、巨大分子集合体の形成挙動ならびに微細構造に対する構成成分の影響について調べた。初年度の検討で、分子集合体の構成脂質を含む有機溶媒と、水相の電解質濃度が巨大分子集合体の形成および発色に影響を及ぼすことを明らかにした。そこで、電解質溶液中で形成する本分子集合体内部での分子の配列状態や相構造に関する知見を得るため、偏光顕微

鏡および小角X線散乱測定を利用した分子集合体の構造評価を行った。図4に示すように、様々な条件を変えることで分子集合体内の相構造を反映したX線散乱パターンが得られた。解析の結果、本巨大分子集合体は、構成脂質組成および温度により、キュービック相、ヘキサゴナル相、ラメラ相といった多形相構造をとることが明らかとなった。偏光顕微鏡観察ならびに水分含有量測定からも、これらの相構造の発現を支持する結果が得られた。

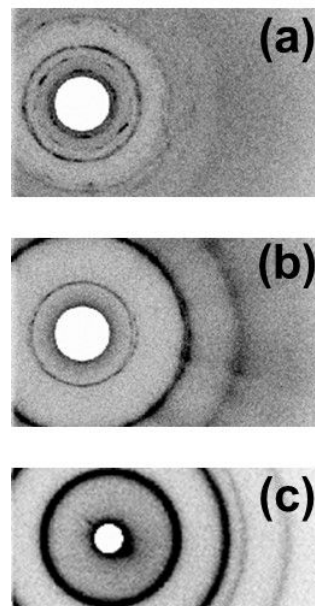


図4. 種々の脂質組成および温度で作製した巨大分子集合体の小角X線散乱パターン.

- (a) EPC:Chol:Stearylamine=5:5:1, 40 °C
- (b) EPC:Chol:Stearylamine=5:5:1, 15 °C
- (c) EPC:Chol:Stearic acid, 40 °C

さらに、電解質濃度の調製による、本巨大分子集合体の発色特性についてもより詳細な検討を行った。初年度の検討で青色(波長450 nm程度)から淡赤色(波長650 nm程度)の範囲で色彩を制御できたことを受け、色彩の角度依存性および温度依存性について実験データを蓄積することを試みた。電解質濃度、観察角度および温度により巨大分子集合体の色彩が変化することを明らかにすることができ、フォトニックマテリアルとしての基礎特性に関する有意義な知見が得られた。

最終年度となる平成27年度には、前年度までの検討に続き、リン脂質とコレステロールを主成分とする巨大分子集合体について、巨大分子集合体の微細構造に基づく巨視的な特性(形状、光学特性)の制御を実現するための検討を行った。

前年度までの検討で明らかにした、巨大分子集合体の多形相構造について詳細に調べることで、分子集合体内での脂質分子の配列状態が明らかになり、これを制御できれば多様な特性を引き出せると考え、小角/広角X線散乱測定、偏光顕微鏡測定および蛍光偏光

解消測定による相挙動の評価を行った。リン脂質とコレステロールに加えて、重量割合として5%に満たない微量の第3成分を添加することで、キュービック相、ヘキサゴナル相、ラメラ相など、分子集合体の相構造を制御でき、さらに球状やフィルム状といった異なる形態の分子集合体を得られることを明らかにした。さらに、水相のpHによっても、分子集合体の相構造および巨視的な形状が異なることが示され(図5)分子集合体材料への展開に向けた作製特性ならびに特性制御に向けた操作因子を明らかにできた。

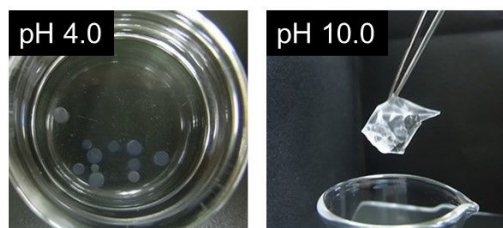


図5. 異なるpHで作製した球状(pH 4.0)および膜状(pH 10.0)の巨大分子集合体。用いた脂質組成はEPC:Chol:Stearylamine = 5:5:1。

以上のように、本研究では、リン脂質とコレステロールを主成分とし、構造発色に基づくユニークな発色特性を示す新しい分子集合体の作製方法を提案するとともに、その発色特性と微細構造の評価を行った。以下に具体的な成果を要約する。

(1) リン脂質とコレステロールに少量のモノアルキル化合物を添加した脂質混合物を用いて、大きさがミリメートル以上に達するこれまでにない分子集合体の作製方法を確立した。

(2) 本巨大分子集合体は、外部水相の電解質濃度や温度に応答して青色(波長450nm程度)から淡赤色(波長650nm程度)の可視光線を選択的に反射することを明らかにし、新規フォトニック材料への展開が期待できる全く新しい素材であることを示した。

(3) 小角/広角X線散乱、各種顕微鏡観察および分光学的な種々の測定により、本巨大分子集合体が多形の液晶相構造を示すことを明らかにし、その相構造は集合体を構成する脂質組成や温度、pHといった外部条件によって変化することを明らかにした。

これまでにリン脂質を中心とする生体脂質成分を利用したフォトニック材料に関する研究は見当たらず、本研究により生体脂質成分の生体適合性や構造多様性を活かした新ジャンルの材料へと展開できる可能性が示され、有意義な研究成果を得ることができた。

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6件)

1. Takashi Kuroiwa, Kaname Horikoshi, Akihiko Suzuki, 他6名: Efficient encapsulation of a water-soluble molecule into lipid vesicles using W/O/W multiple emulsions via solvent evaporation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **93**, 421-430, 2016. (査読有)
DOI: 10.1007/s11746-015-2777-2
2. Takashi Kuroiwa, Isao Kobayashi, 他3名: Formulation and stabilization of nano-/microdispersion systems using naturally occurring edible polyelectrolytes by electrostatic deposition and complexation. *Adv. Colloid Interf. Sci.*, **226A**, 86-100, 2015. (査読有)
DOI: 10.1016/j.cis.2015.09.003
3. Goran T. Vladisavljević, Nauman Khalid, Marcos A. Neves, Takashi Kuroiwa, 他4名: Industrial lab on a chip: design, applications and scale up for drug discovery and delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **65**, 1626-1663, 2013. (査読有)
DOI: 10.1016/j.addr.2013.07.017

[学会発表](計59件)

1. 端山琢人他3名: 「リン脂質/コレステロール/水系における非ラメラ相形成に及ぼす添加成分とpHの影響」, 日本膜学会第38年会, 早稲田大学(東京都新宿区), 2016年5月10日~11日.
2. Akihiko Suzuki 他4名: Controlled preparation of lipid vesicles as carriers for hydrophilic drugs with high encapsulation efficiency by using water-in-oil-in-water multiple emulsions. 5th World Engineering Conference & Convention, 国立京都国際会館(京都府京都市), 2015年11月30日~12月2日.
3. 端山琢人他3名: 「リン脂質とコレステロールからなる非ラメラ液晶が示す相挙動の小角X線散乱分析」, 量子ビームサイエンスフェスタ2015, つくば国際会議場エポカルつくば(茨城県つくば市), 2016年3月14日.
4. 端山琢人他3名: 「リン脂質巨大分子集合体の液晶多形構造に対する影響因子」, 第64回高分子討論会, 東北大学(宮城県仙台市), 2015年9月15日~17日.
5. 鈴木亮彦他4名: 「多相エマルションから作製した脂質ベシクルの物質担持・内包挙動に対する影響因子」, 日本食品工学会第16回(2015年度)年次大会, 広島市立大学(広島県広島市), 2015年8月10日~11日.

6. 端山琢人他 3 名: 「リン脂質/コレステロール/水系で得られる巨大分子集合体の多形構造に対する添加成分の影響」, 日本膜学会第 37 年会, 早稲田大学(東京都新宿区), 2015 年 5 月 14 日~15 日.
7. 端山琢人他 3 名: 「リン脂質/コレステロール/水系で形成する多形構造の小角および広角 X 線散乱解析」, 物構研サイエンスフェスタ 2014, つくば国際会議場エポカルつくば(茨城県つくば市), 2015 年 3 月 17 日.
8. 端山琢人他 3 名: 「リン脂質とコレステロールを主成分とする巨大分子集合体が発現する多形構造の解析」, 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~26 日.
9. 端山琢人他 3 名: 「リン脂質とコレステロールを主成分とする巨大分子集合体の作製と相構造解析」, 日本膜学会第 36 年会, 早稲田大学(東京都新宿区), 2014 年 5 月 12 日~13 日.
10. 黒岩崇他 3 名: 「リン脂質とコレステロールを主成分とする巨大分子集合体の小角・広角 X 線散乱による構造解析」, 物構研サイエンスフェスタ 2013, つくば国際会議場エポカルつくば(茨城県つくば市), 2014 年 3 月 18 日.
11. Takashi Kuroiwa 他 4 名: Preparation of phospholipid-based giant liquid crystalline aggregates and their optical properties. NEXT Symposium: "Membranome" for "Bio-Inspired Chemical Engineering", 大阪大学(大阪府大阪市), 2013 年 9 月 13 日.
12. 黒岩崇他 3 名: 「外部刺激によるリン脂質巨大分子集合体の微細構造および光学特性の変化」, 日本膜学会第 35 年会, 早稲田大学(東京都新宿区), 2013 年 5 月 20 日~21 日.

〔図書〕(計 1 件)

1. 市川創作, 黒岩崇: シーエムシー出版, 『食品素材のナノ加工を支える技術』, pp. 17-28, 2013 年.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)
取得状況(計 0 件)

〔その他〕

1. 東京都市大学工学部エネルギー化学科高分子・バイオ化学研究室(機能性バイオ分子)ホームページ:
<http://www.es.e.tcu.ac.jp/labs/bio>
2. 東京都市大学研究者情報データベースホームページ:
<http://www.risys.gl.tcu.ac.jp/>

6. 研究組織

- (1) 研究代表者

黒岩 崇 (Takashi Kuroiwa)
東京都市大学・工学部・准教授
研究者番号: 60425551

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者
なし