

小角散乱により明らかとなった
界面活性剤ラメラの構造転移と自発的油水界面運動
Spontaneous motion of oil-water interface induced by the transition of surfactant
lamellar structure unveiled by small-angle scattering

住野豊

東京理科大学理学部第一部応用物理学科, 〒125-8585 東京都葛飾区新宿 6 - 3 - 1

Yutaka Sumino

Faculty of Science, Tokyo University of Science, Katsushika, Tokyo 125-8585, Japan

1 はじめに

生命の特徴の1つとして等温状態での化学-力学エネルギー変換, すなわち代謝が挙げられる. 我々のような高等生物は, 筋肉というマルチスケールに組織化された器官を用いて力学エネルギーの生成を行っている. 一方, アメーバのような細胞レベルのエネルギー変換に関しては, アクトミオシンゲルと呼ばれる不定形のゲルにより行われている[1]. しかしながら並進運動のような秩序有る運動を生み出すには, このようなゲルは不定形であるため更なるトリックが必要である. とはいえ, このようなトリックにトップダウンの制御機構は不要である. 過去の研究より, 並進運動や振動運動・回転運動を生み出すためには, 自発的対称性の破れと呼ばれる物理的な機構で十分であることが, 見出されている[2]. ひるがえってみると, 細胞において物理的な機構のみで多様な運動相が実現できるのであれば, 同様の観点から, 並進・振動・回転のような多様な運動様相を示す非生命系が構築できると期待される.

このような問題に対し, 我々はこれまで α ゲルと呼ばれる界面活性剤2種(塩化ステアリルトリメチルアンモニウム:STAC, パルミチン酸:PA)・水の混合系を界面にて生成する油水系に着目し研究を行ってきた. α ゲルとは L_{β} 相, すなわちアルキル鎖の凍結した界面活性剤2重膜が繰り返されたラメラ構造からなっており, 降伏応力までズリ応力を保つ弾性体として振舞う[3]. 我々はこの α ゲルの要素であるSTACを水相に, PAをテトラデカンからなる油相に混合することで, 油水系を構築した. 水相中ではSTACは球状ミセルを構築しており, PAはテトラデカン中ではモノマーで分散していると考えられる. PAは水相への溶解度が低いいため, 油水相を接触させると, 油水界面近傍で α ゲル, すなわち界面活性剤2重膜が生成される(図1(a)) [4]. この系では, 界面上で α ゲルが生成するのに伴い, 油水界面が自発的に変形を繰り返す(図1(b)). また, α ゲルは弾性を有することから, リステリアと呼ばれる微生物の運動機構と同様に, 弾性体の生成による応力生成の観点で運動が説明されるとしてきた[5].

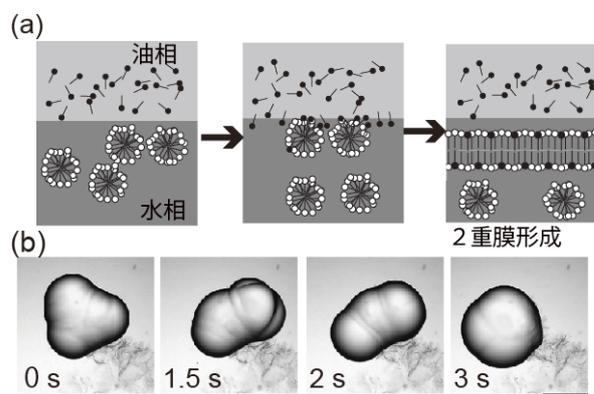


図1 (a)油水界面での想定されていた α ゲル生成機構. 白丸と棒からなるものはSTAC, 黒丸と棒からなるものはPAの分子をそれぞれあらわしている. (b) 油水界面の自発運動の様子, 水相表面での0.5 μ Lの油滴の様子. $C_s = 20$ mM
スケールバー 0.5 mm.

以上の油水界面の自発運動系であるが, α ゲルの典型的な弾性, 見積もられる油水界面の界面張力や系のサイズといった物性値を理論式に代入すると, ゲル相の厚みが薄すぎ, 変形を引き起こすほどの応力が生み出せないことが明らかとなった. つまり, 油水界面運動を説明するには, 単純な弾性をもつ α ゲル生成では説明がつかないことが示された.

この問題を解く手がかりとして, 我々は本研究において, 高濃度の界面活性剤を用いた際, 界面変形が停止することに着目した. このような高濃度界面活性剤を用いた際の界面では, 運動時に見られる半透明な会合体とは異なり, 白色の会合体が生成していることが報告されていた[6]. しかしながら, マクロな外見上の差異にもかかわらず, ミクロな構造変化としては, 微小な膜間距離の変化が小角散乱により観察されるのみであった[6]. 以上の過去の研究では会合体構造の時間変化・空間変化に関し, 特に省みられていなかったことが変化を見つけれなかった要因であると考えた. そこで本研究では, これまで生成後, 特に変化を示さない単純な α ゲルと見なしていた会合体に関して, 界面運動が見られる際と

界面運動が停止する際の界面近傍での会合体の詳細な観察を行った。中でも本研究では特に会合体の構造の時間変化に関して着目し測定を行った。

2 実験

実験系としては油水 2 相系を用い、小角 X 線散乱 (SAXS) 観察に加え小角中性子散乱 (SANS) 観察を行った。条件を統一するため水相の溶媒としては重水 (D_2O) (99.9%) を用いた。また、油相の溶媒としてはテトラデカン ($C_{14}H_{30}$) を主に用いたが、SANS 観察の空間スキャン時には重水素化したテトラデカン ($C_{14}D_{30}$) を用いた。水相の STAC 濃度 (C_s) は 20 mM (界面運動)、もしくは 50 mM (界面運動停止) を用いた。油相の PA 濃度は 20 mM で一定とした。水相中での STAC の臨界ミセル濃度は室温で 0.3 mM であることから、今回用いた濃度では水相中にミセルが存在する条件となっている。また、テトラデカン中での PA の飽和濃度は室温で 25 mM 程度であることから、油相は PA で飽和しておらず析出は見られなかった。図 2 に示すように、 $C_s = 20$ mM では界面運動が観察された一方、 $C_s = 50$ mM では界面が、白色の凝集体で覆われ運動が停止した。

SANS 観察は米国のオークリッジ国立研究所、High Flux Isotope Reactor の CG-2 を利用して行われた。セルとしては、厚さ 2 mm のクォーツセル (HELLMA USA (#120-2mm)) を用い 300 μ L の水相上に 150 μ L の油相を導入して 12 時間置いたものを用いて観察した。サンプルとしては $C_s = 20$ mM とし界面運動が見られるものを用いた。このようなセルを用いた際、生成した会合体は界面近傍で生成し、水相中下方へと押し出されることが明らかにされている。この事実を利用し、SANS 観察では油相中の会合体の空間スキャンを行うことで会合体の構造の生成後の時間変化を観察した。また、サンプル位置でのビーム径は 2 mm であった。また、界面運動の有無と会合体の様子を比較するため、界面近傍にビーム位置を据えた観察も行った。この際は、 $C_s = 20$ mM と 50 mM のものを用い、油水界面接触後 2 時間のサンプルを用いた。以上の SANS 観察では 1 つの

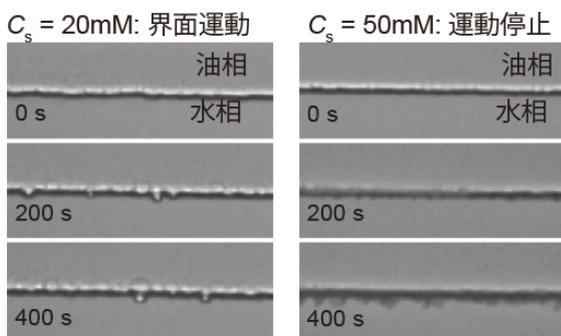


図 2 溶液濃度による界面運動の変化。厚さ 2 mm のセル内部に油水相を導入し、横方向から観察したもの (スケール: 5mm)。

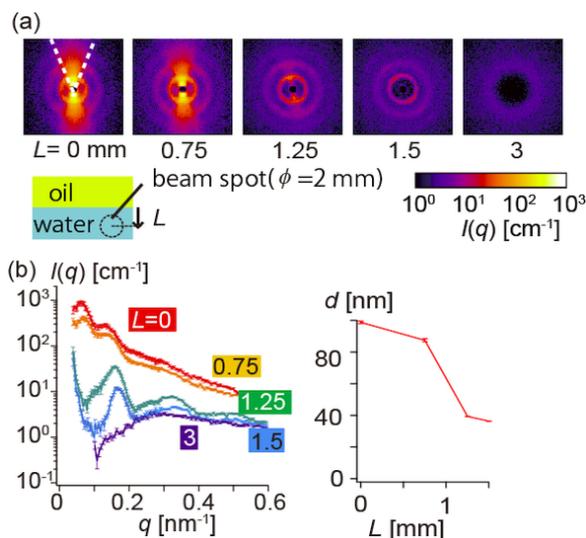


図 3 (a) 界面位置からの距離 (L) に応じた SANS パターン。 (b) (a) の破線内部をセクター平均した散乱強度 $I(q)$ の q 依存性。第一ピークの位置 q_1 より、 $d = 2\pi/q_1$ で見積もった繰り返し距離を d として示した。

SANS パターンを得るのに 10 分間の露光時間を用いた。

SANS 観察ではビームのサイズや露光時間の影響で、空間・時間ともに大きなスケールで平均化されてしまうため、本研究では SAXS 観察により短露光時間、小さなビームサイズでの観察も行った。SAXS 観察は、Photon Factory BL6A を用いて行った。セルの側面は X 線を透過するポリイミドのフィルムとした。セルのサイズは厚さ 2 mm、幅 40 mm、高さ 25 mm とした。SANS 観察同様、セルには 600 μ L の水相を導入した後、水相の上方に 300 μ L の油相を導入した。観察は油水相が接触した後、2 時間後にスタートした。サンプル位置でのビーム径は 0.25 mm \times 0.5 mm、測定時間は 5 s であった。

3 結果および考察

図 3 に SANS 測定の結果を示す。ここでは $C_s = 20$ mM の界面運動が見られたサンプルを用いた。界面からのビームスポットの位置を L とすると、図に見られるように、界面から離れた場所 ($L = 3$ mm) では、均一かつ単一のリング構造が現れた。これは、水相中では STAC の球状ミセルが存在し、ミセル間の相関に起因する構造因子が見られていると考えられる。また、ラメラ構造に起因する繰り返しあるリングパターンがみられなかった。スポットサイズを考慮すると、界面位置より 2 mm 以上はなれた部分ではラメラ構造を持つ α ゲルが存在しなかったことがわかる。

一方、 $L = 1.25$ mm, 1.5 mm すなわちビーム径内に油水界面が含まれない領域で測定した SANS 像には、ラメラ構造を示す周期的なリングが現れた。この際

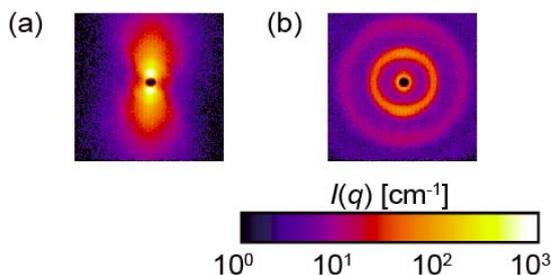


図 4 (a) $C_s = 20$ mM の界面運動が見られたサンプルと (b) $C_s = 50$ mM の白色凝集体に多いわれたサンプルの界面位置上にビームを照射した際の SANS パターン。

の第一ピーク位置 q_1 はおよそ 0.17 nm^{-1} 程度であり、対応する繰返し周期 d は $d = 2\pi/q_1$ より、およそ 36 nm 程度とこれまでの報告と矛盾しない測定結果となった。

ところが、ビームが油水界面を通過する、 $L = 0 \text{ mm}$, 0.75 mm では様子が大きく異なった。SANS パターンのセクター平均を取ると、油水界面と垂直方向に、より小さい $q_1 = 0.064 \text{ nm}^{-1}$ 程度にピークをもつシグナルが得られた。このピークに対応する繰返し周期 d は 99 nm 程度となる。このような巨大な繰返し距離を持つラメラの存在は、これまでの過去の観察では見出されていなかった。本研究により、界面運動が見られる条件では、界面近傍でのみ 100 nm 程度の繰返し距離を持つラメラ構造が見られることが初めて明らかとなった。

この 100 nm 程度の繰返し距離を持つラメラ構造と界面運動とのかかわりを明らかにするため、 $C_s = 20 \text{ mM}$ の界面運動が見られたサンプルと、 $C_s = 50 \text{ mM}$ の白色凝集体に覆われたサンプルに関して、油水界面近傍を油水接触後 120 min. 後に測定した結果を図 4 に示す。図 3 同様、 $C_s = 20 \text{ mM}$ の条件(図 4(a))においては縦方向に大きくひずんだパターンが見られ、界面と垂直方向に関しては、繰返し距離 $d = 96 \text{ nm}$ に相当するピークが見られた。また界面と平行方向に関しては、 $d = 49 \text{ nm}$ 程度とこれまでの報告[7]でも見られた程度の繰返し距離の会合体が見られた。一方、 $C_s = 50 \text{ mM}$ の条件(図 4(b))においては、等方的なリングパターンが見られ、繰返し距離 $d = 27 \text{ nm}$ に相当する位置にピークが見られた。これは過去の報告と一致している[7]。

以上の観察結果より、 100 nm 程度の繰返し距離を持つラメラ構造は、 $C_s = 20 \text{ mM}$ の運動界面の油水界面近傍に置いてのみ観察されることが明らかとなった。一方これまでの報告同様、 $C_s = 50 \text{ mM}$ での動かない界面上の白色凝集体や、界面から離れた領域での会合体は、 $30 - 50 \text{ nm}$ 程度の繰返し距離を持つラメラ構造を持つことが示された。過去の研究は主に SAXS 観察がなされており、 d が 100 nm 程度の繰返しを持つラメラ構造は報告されていない。これは、SANS 観察は、ビームスポットが大きく(直径

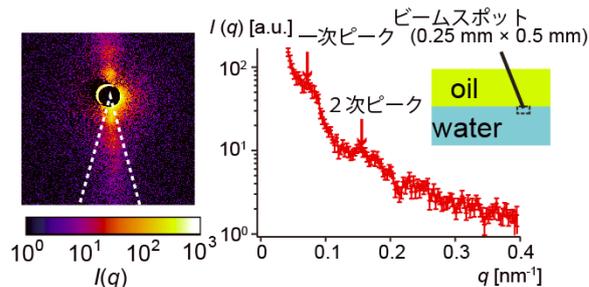


図 5 $C_s = 20 \text{ mM}$ の界面運動が見られたサンプルとの界面位置上にビームを照射した際の SAXS パターンと、その点線内部のセクター平均より得られた、散乱強度 $I(q)$ の q 依存性。

2 mm)、測定時間が長い(5 min.)ため、大きな時空間内のアンサンブル平均を取っていることに理由があると考えられる。これまでの SAXS 観察では運動する油水界面近傍にビームを照射することが困難であるため、十分な会合体が集積するまでの時間をとった後、油水界面から離れた位置(界面より 2 mm 下方)で SAXS 観察を行っていた。SANS 観察では大きな時空間のアンサンブル平均を取れたため、界面近傍という局所領域にのみ存在する会合体の存在を浮き彫りにしたと考えられる。その一方で、SANS 観察の結果に関しては時空間的なあいまいさが存在しているのも事実である。そこで、我々はより小さなビームサイズ($0.25 \text{ mm} \times 0.5 \text{ mm}$)と測定時間(5 s)である、SAXS 観察を、油水界面近傍で重点的に行うことで、界面近傍に $d = 100 \text{ nm}$ 程度の会合体が存在することを確認した。サンプルとしては、 $C_s = 20 \text{ mM}$ の油水界面の運動が見られる系を用いた。すると図 5 に示すように、油水界面近傍では、第一ピーク位置 q_1 が 0.071 nm^{-1} 、対応する繰返し距離 $d = 89 \text{ nm}$ と SANS 実験で運動する油水界面近傍で確認されたラメラ構造と同等のものが観察された。

4 まとめ

以上の結果より、運動する界面の油水界面近傍においてのみ、 100 nm 程度の大きな繰返し距離を持つラメラ構造が存在する会合体が生成しており、この会合体が油水界面から離れることで、短周期の繰返し距離を持つラメラ構造の会合体へと転移することが明らかとなった。また、白色凝集体に覆われた界面では、短周期の繰返し距離を持つラメラ構造が界面上で見られており、運動する界面近傍で見られる会合体の転移は存在していないことが見出された。このことから、本系で油水界面運動を引き起こす際の必要条件として、ラメラ構造の繰返し距離の急減に特徴付けられる会合体の転移があることが判った。

本研究の結果明らかとなった会合体の転移と界面運動を結びつけるアイデアとして、会合体が転移により収縮力が生じる能動的なゲルと見なすことが考

えられる。この仮説が成立するならば、本系は計らずして、ATP を消費して収縮力を生み出すアクトミオシンゲルと同等のものを構築していたこととなる。とはいえ、この仮説を示すには多くのステップが残されている。例えば、ラメラ構造の転移($< \mu\text{m}$)とマクロな会合体($\sim \text{mm}$)の間に空間スケールの相違が存在しているため、顕微鏡観察等を含めたスケール間をつなぐ研究が必要である。

謝辞

ここに山田悟史氏(KEK), 長尾道弘氏 (NIST, インディアナ大), 北畑裕之氏(千葉大), 瀬戸秀紀氏(KEK)に有意義な議論をしていただいたことを感謝します。

本研究は科学研究費学術研究助成基金助成金挑戦的萌芽研究 "遊走細胞の集団運動を意識した実験・数理モデル系の構築と解析" 16K13866, (2016年4月-2018年3月), 二国間交流事業共同研究 "自己駆動素子による自律制御型情報ネットワークシステムの構築", (2015年4月-2017年3月), 平成28年度物質・デバイス領域共同研究拠点共同研究 "境界面に追従する保存量が生み出す時空間構造の理論・実験的探索-這行細胞運動の理解", (20161033: 2016年4月1日-2017年3月), 平成27年度物質・デバイス領域共同研究拠点共同研究 "界面近傍の弾性体生成が引き起こす界面形状不安定性の解析", (2015053:2015年4月1日-2016年3月)の助成を受けたものです。SANS 観察は, 658 HFIR (Cycle 445 CG-2; IPTS-7094)の下で行われました。更に, BL6A, 10C の実験環境の整備に関して五十嵐教之准教授, 清水伸隆氏准教授(KEK)のご尽力に感謝します。

最後になりましたが, 論文の共著者であり, SANS 観察にご協力をいただきました Yuri B. Melnichenko 氏に哀悼の意を表します。

参考文献

- [1] M. M. Kozlov, M. M. Mogilner, *Biophys. J.* **93**, 3811–3819 (2007).
- [2] T. Ohta and T. Ohkuma, *Phys. Rev. Lett.* **102**, 154101 (2009).
- [3] Y. Yamagata and M. Senna, *Colloids Surf., A* **132**, 251–256 (1998).
- [4] Y. Sumino, H. Kitahata, H. Seto and K. Yoshikawa, *Phys. Rev. E* **76**, 055202 (2007).
- [5] Y. Sumino, H. Kitahata, H. Seto and K. Yoshikawa, *Soft Matter* **7**, 3204–3212 (2011).
- [6] Y. Sumino, H. Kitahata, H. Seto, S. Nakata and K. Yoshikawa, *J. Phys. Chem. B* **113**, 15709–15714 (2009).
- [7] Y. Sumino, H. Kitahata, Y. Shinohara, N. L. Yamada and H. Seto, *Langmuir* **28**, 3378–3384 (2012).

成果

- [1] Y. Sumino, N. L. Yamada, M. Nagao, T. Honda, H. Kitahata, Y. B. Melnichenko and H. Seto, *Langmuir* **32**, 2891–2899 (2016).

- [2] 第9回 (2015年) 日本物理学会若手奨励賞 (日本物理学会) 「非平衡ソフトマター系における自発運動の実験・理論的研究」

* ysumino@rs.tus.ac.jp