

脂質および界面活性剤の自己組織化における水の役割

Cooperative role of water on the self-assembly of lipids and surfactants

菱田真史*

筑波大学数理物質系化学域, 〒305-8571 つくば市天王台 1-1-1

Mafumi Hishida*

Department of Chemistry, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, 305-8571, Japan

1 はじめに

脂質や界面活性剤、高分子、液晶、ゲルといったソフトマターは溶媒中で自己組織化し、ミセルや膜といった特徴的な構造を作ることが知られている。たとえば種々の生体分子は水中で決まった構造を作ることによってその機能を発現していることが知られる。生体分子を含むソフトマターの物性や機能を理解する上で、それらがどのように自己組織化するのかそのメカニズムを明らかにすることが重要である。

これまで自己組織化構造形成は構造間に働く相相互作用 (e.g. van der Waals 相互作用) が決定づけていると考えられてきた。しかし一方で、溶媒中に分散したソフトマターは溶媒和を受け、その周囲にはバルクとは異なる溶媒が存在すると考えられている。このバルクとは異なる溶媒が存在することが、自己組織化に対してどのように影響しているのかについては全く分かっていなかった。そこで今回はもっとも一般的な溶媒である水を用い、バルクとは異なる水、つまり水和水が脂質および界面活性剤の自己組織化構造形成にどのように関わっているのかを明らかにするために実験を行った。

水と状態と構造形成の相関を観測するためには複数の実験を組み合わせたことが重要である。我々は水と状態を観測するために、近年急速に発展しつつあるテラヘルツ分光法を用いた。我々はこれを用いることによって脂質の詳細な水と状態を観測できることを先に示しており、その水と状態が nm スケールに及ぶことも示している[1]。この距離スケールは自己組織化構造が変化する際に重要な種々の相互作用が働く距離と同等のため、水と状態がこういった構造変化や相互作用に影響を持つ可能性を示唆している。水と状態の観測と平行して、自己組織化構造の変化がどのように起こるのかを X 線小角散乱法を用いて観測した。それらの結果を組み合わせることで水と状態と構造形成に相関があるのかどうかを観測した。

脂質および界面活性剤の二つの系においてこの相関を研究した。一つ目は、温度変化によってヘキサゴナル構造—ミセル構造—ラメラ構造と自己組織化構造の相転移を見せる非イオン性界面活性

剤を用い、これらの相転移の際に水と状態がどのように変わるのかを調べた。二つ目に、ラメラ相から逆ヘキサゴナル相へと相転移する二種類の中性脂質を用い、それぞれの水と状態の違いを調べた。さらにその違いがそれぞれの脂質における相転移とどのように関わっているのかを調べた。

2 実験

X 線小角散乱は Photon Factory BL6A で行った。カメラ長は約 1 m で X 線の波長は 1.5 Å、検出器は CCD (浜松ホトニクス) を用いた。試料の温度制御はメトラートレド社製の FP900 温度制御システムを X 線散乱用に改良したものをを用いた。また二つ目の実験で行った微小角入射 X 線小角散乱 (GISAXS) は台湾の放射光施設 NSRRC の BL23A で行った。X 線の波長は 0.82 Å、入射角は 0.2° で固定して測定した。カメラ長は約 1.8 m、検出器は CCD (Marreseach) を用いた。サンプルの温度および湿度コントロールはビームライン備え付けのものをを用いた。

水と状態の観測に用いたテラヘルツ時間領域分光装置は京都大学 iCeMS 田中グループで作成したものをを用いた。これは我々がこれまでも用いてきたもの[1]と同じであり、バルク水によるテラヘルツ光の吸収を防ぐために全反射分光法を用いて観測を行った。

一つ目の実験では C₁₂E₅ を非イオン性界面活性剤として用いた。水に対する濃度を 45 wt% に固定した。二つ目の実験では中性のリン脂質 POPC (PC 脂質) と POPE (PE 脂質) を用いた。これらの二つの脂質は疎水基が全く同じであり、親水基頭部の化学構造がわずかに異なる。

3 結果および考察

3.1 非イオン性界面活性剤の構造相転移に伴う水と状態の転移[2]

はじめに非イオン性界面活性剤 C₁₂E₅ の水と状態の温度依存性についてテラヘルツ分光法を用いて測定した。温度は 10~70 °C の範囲で 5 °C 刻みで測定を行った。テラヘルツ時間領域分光法では 0.5~2.6 THz の周波数領域で複素誘電率の実部と虚部を決めることができた。純水の結果から虚部の

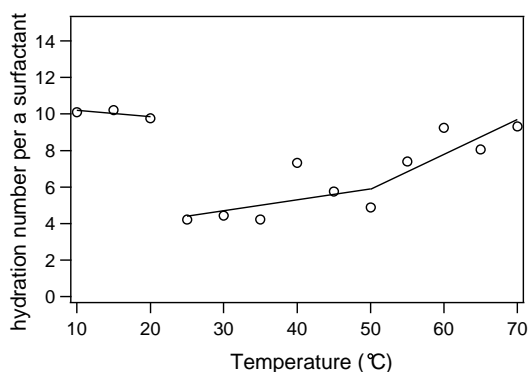


図 1: テラヘルツ分光法によって求めた $C_{12}E_5$ の水和数の温度依存性

スペクトルがどれだけ減少したかを見積もることで、どの程度の量のバルク水が水和水になったかを知ることができる。この手法を用いて界面活性剤一分子に対する水和水の量を求めたものを図 1 に示す。温度変化によって水和水の量が変化していることが分かる。とくに 20 ~ 25 °C において水和数に大きな飛びが、50 °C 付近で傾きが変化していることが分かる。つまりこの 2 点において水和状態が相転移的な挙動を示していると言える。

そこで次に界面活性剤の自己組織化構造が温度変化によってどのように変化するかを X 線小角散乱を用いて調べた。その結果を図 2 に示す。20 °C 以下ではヘキサゴナル相、25~50 °C ではミセル相、50 °C 以上ではラメラ相を示すプロファイルが得られた。

注目すべき点はこの自己組織化構造の相転移温度 (25 °C、50 °C) が先に得られた水和状態の転移温度とよく合うことである。つまりこのことは、界面活性剤の構造相転移に伴って周囲の水の状態

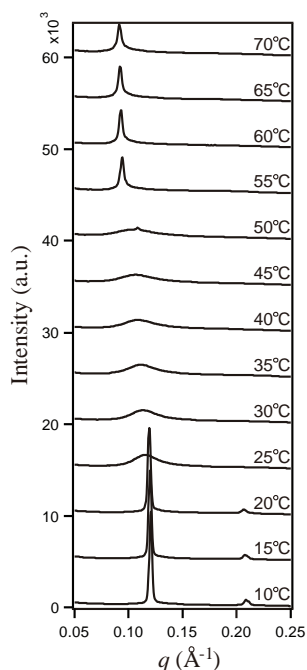


図 2: $C_{12}E_5$ 溶液の X 線小角散乱プロファイルの温度依存性

も転移しているということを示唆している。水和状態の転移が構造の転移を引き起こすのか、その逆なのかは不明であるが、これまでに考えられていたように水はただの均質な溶媒であって、構造の変化には関係がないという考え方は正しくないということが明らかになった。

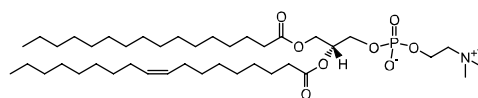
3.2 PC 脂質および PE 脂質の水和状態の違いとそれによって異なる相転移挙動[3]

上記の界面活性剤の結果から、自己組織化構造と水和状態の間には相関があることが分かった。そこで次に、水和状態が異なると構造の変化の様子にどのような違いがみられるのかを中性のリン脂質を用いて実験を行った。PC 脂質と PE 脂質では図 3 のように親水基頭部の構造がわずかに異なる。そこでまずこの二つのリン脂質の水和状態がどのように異なるのかをテラヘルツ分光法を用いて観測した。その結果、そのスペクトルは同じ濃度、同じ温度であっても大きく異なることが明らかになった。これは親水基頭部の化学構造がわずかに異なるだけで水和状態が長距離に渡って大きく異なっていることを示している。

そこでこの水和状態の違いが脂質のラメラ構造の形成およびその構造相転移にどう変わるのかを調べるために、X 線小角散乱によって完全に水和された状態 (バルクに過剰な水が十分ある状態) での膜間距離を、微小角入射 X 線小角散乱によって湿度を変化させて水和状態を無理矢理変化させたときの構造変化の様子を観測した。

まず図 4 に完全水和した条件で、それぞれの脂質のラメラ相での水相の厚みを示す。PC 脂質と PE 脂質では脂質膜の構造は似通っているのにかかわらず、その間に挟まれた水の量は平衡状態で大きく異なることが分かる。次に、それぞれの脂質をフィルム状に基板に作成し、周囲の湿度をコントロールすることによって水和状態を変化させながら膜の構造変化を観察したところ、どちらの脂質でも湿度が高いときにはラメラ相、湿度を下げていくとあるところから逆ヘキサゴナル相が現れることが分かった。なお、このラメラ-ヘキサゴナル相転移は、細胞分裂の際などに生体膜同士が融合する過程の中間状態であると考えられており、そのメカニズムを理解することは重要である。

POPC



POPE

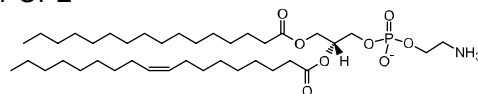


図 3: 中性リン脂質 POPC (PC 脂質) および POPE (PE 脂質) の分子構造

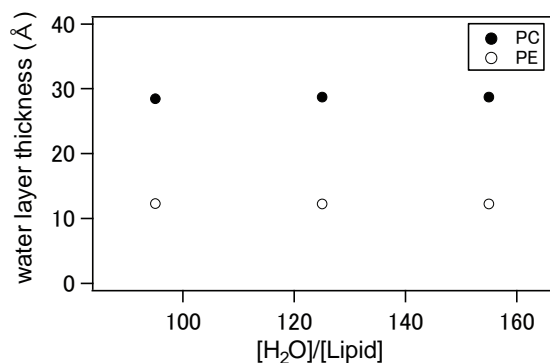


図 4：完全水和条件 ($[H_2O]/[Lipid] > 40 \text{ mol/mol}$)における各脂質ラメラ相での水相の厚み

図 5 に示すのは、湿度を変化させた時のそれぞれの脂質の相転移点での散乱プロファイルである。ここで重要なのは、PC 脂質では湿度が 65%程度で相転移しているのに対して、PE 脂質ではそれが 86%程度と高いこと、また、相転移点での散乱パターンが似たパターンを示していることである。つまり、湿度を下げた時に膜間距離があるところより小さくなったときにこの相転移が起こるが、その膜間距離への達しやすさは各脂質によって異なるということを示している。

先ほどのテラヘルツ分光による水和状態の観測結果と合わせると次のようなことが考えられる。つまり、リン脂質の親水基頭部のわずかな化学構造の違いが長距離に渡って水和状態の変化を引き起こす。その水和状態の違いによって水和水の化学ポテンシャルは当然異なることになる。その結果、完全水和の条件でも膜間に入っていく水の量が大きく異なることになる。さらにそこから湿度を下げたときにも膜間からの水の抜けやすさが異なり、同じ湿度でも到達できる膜間距離が異なることになる。ある膜間距離に到達することがラメラ相から逆ヘキサゴナル相への相転移に重要であるので、水和状態の違いによってこの膜間距離への到達しやすさが大きく異なることになる。つまりまとめると、水和状態が相転移挙動に大きく関わっているということが出来る。

4 まとめ

X 線小角散乱、テラヘルツ分光、微小角入射 X 線小角散乱を相補的に用いることで、界面活性剤および脂質の自己組織化構造の相転移に周囲の水がどのように関わっているのかを調べた。その結果、いずれの場合でも構造相転移と水和状態には大きな相関があることが分かった。これまでソフトマターの自己組織化において水はただのバックグラウンドとして扱われてきたが、実際には積極的に自己組織化に関わっていると言え、それは生体分子にも当てはまると言える。つまり生体中での水の役割の一端を理解したともいえる。しか

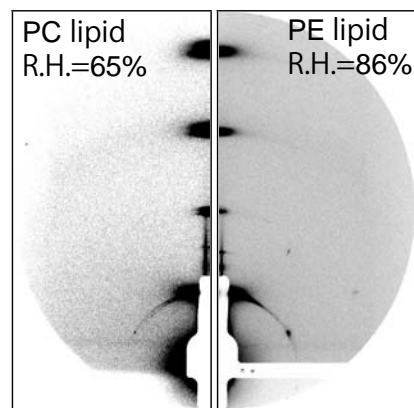


図 5：ラメラ逆ヘキサゴナル相転移点での各脂質の GISAXS プロファイル

し現時点では構造形成と水和状態の間に相関があることが分かっただけで、詳しい関係性についてはほとんど分からない。今後水和状態を取り入れた構造間の相互作用モデルの構築など、理論面も含めた幅広い研究が必要となると考えられる。

謝辞

X 線小角散乱実験は Photon factory BL6A で行われました (課題番号 2009G602 および 2011G516、2011G550)。その際、五十嵐教之准教授 (KEK)、清水伸隆特別准教授 (KEK) には実験サポートで大変お世話になりました。微小角入射 X 線小角散乱は NSRRC (台湾) の BL23A で行われました (課題番号 2011-1-150-5)。その際の実験のサポートでは山田悟史助教 (KEK)、U-Ser Jeng 博士 (NSRRC) に大変お世話になりました。またテラヘルツ分光実験は京都大学 iCeMS 田中グループにて行われました。その際に田中耕一郎教授には実験を教わるどころから結果についての議論まで大変お世話になりました。また各 X 線散乱の実験結果、および全体をまとめた実験結果の考察については筑波大学の齋藤一弥教授、山村泰久准教授と議論させていただき、有意義なご意見を多数頂きました。みなさま大変ありがとうございました。

参考文献

- [1] M. Hishida, K. Tanaka, *Phys. Rev. Lett.* **106**, 158102, (2011).
- [2] M. Hishida, K. Tanaka, *J. Phys.: Condens. Matter* **24**, 284113, (2012).
- [3] M. Hishida, K. Tanaka, Y. Yamamura, K. Saito *submitted*.

成果 (オプショナル)

- 1 日本分光学会テラヘルツ分光部会 ポスター奨励賞

* hishida@chem.tsukuba.ac.jp