

自己組織化の科学と水

— 水は生命現象とどのように関わっているのか —

東京理科大学 理学部第一部 化学科 准教授 ひしだ まふみ
菱田 真史

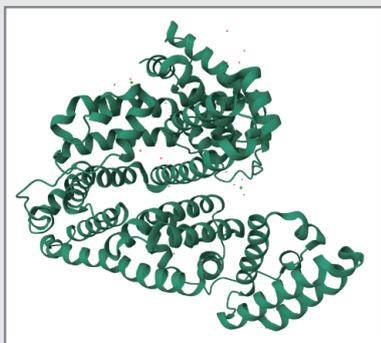
■ 自己組織化の科学と生命

世界は様々な形、模様、動きにあふれています。雲が作る様々な形、川や谷が作る渓谷、様々な木の形、雪の結晶、動物の模様など、完全なランダムではない、何らかの秩序を持った構造が自発的（自己組織的）に生まれることが世界を豊かにしています【図1】。

こういった様々な形、模様、動きが生まれる原理を



【図1】マクロな自己組織化の例（雪の結晶、動物の模様、砂漠の風紋など）



【図2】タンパク質（ウシ血清アルブミン）の折り畳み構造

理解しようとするのが広い意味での「自己組織化の科学」です¹⁾。

先に挙げたマクロな現象だけではなく、ミクロな現象の中にも自己組織化現象は数多く見られます。生命の成り立ちも自己組織化現象の一種とみることができます。物質は放っておくとばらばらになってしまう性質（エントロピー増大の法則）があるにもかかわらず、

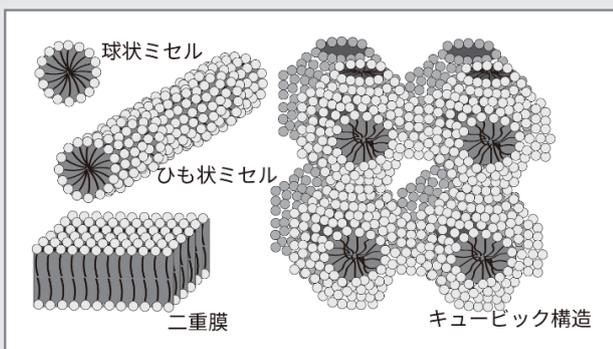
生命（細胞）は秩序を持った構造を形成し、決まった動きや機能を発現しているわけです。様々な要因が複雑に絡み合って「生きている」細胞が成り立っていると考えられますが、まだその全貌は明らかになっていないと言えるでしょう。

その中で一つ重要なのがミクロなレベルでの自己組織化です【図2、図3】。細胞の中ではタンパク質やDNA、細胞膜などの生体分子が自己組織化し、ある決まった構造を形成することによってそれぞれの機能を発揮しています。この構造が少し変化するだけで、生体分子の機能は大きく変化し、細胞死にいたり、病気になったりと、生命現象に不具合をきたします。そのため、ミクロ（ナノメートル～マイクロメートル）な世界での生体分子の自己組織化のメカニズムを解明することは、生命現象をミクロなレベルから理解するために非常に重要です。我々は、この解明を目標に、生体膜やタンパク質の自己組織化構造形成のメカニズムを化学や物理学的な視点から理解することを目指して研究を行っています。生体分子のミクロな性質を扱うので化学は当然重要ですし、構造形成の物理的なメカニズムを理解することを目指している（普遍的な自己組織化の機構が知りたい）ので、物理学の知見や考え方も重要です。すなわち、化学と物理学、生物学の中間の領域で研究を展開していると言えます。

■ 水の役割と水和

地球上でもっともありふれた物質のひとつであり、また、生命現象に不可欠な物質は、水です。でもなぜ、生命現象に水は欠かせないのでしょうか。我々は最近、生体分子の自己組織化に水が深く関与しているのではないかと考え、その関係性を調べています。

生体分子の自己組織化に対する水の役割として最もよく知られたものは、疎水性相互作用です。生体分子の多くは、分子内に親水性の部分（水となじみやすい部分）と疎水性の部分（水となじみにくい部分）を併せ持っています。この分子が水に溶けると、疎水性の部分



【図3】界面活性剤や脂質などの両親媒性分子が作る自己組織化構造の例。生体膜は脂質分子の二重膜構造を基本構造として成り立つ。

水を水から遠ざけるように自己組織的に凝集構造が形成されます。疎水性の部分の水から遠ざける力を疎水性相互作用と呼びます。たとえば、生体膜の基本構造であるリン脂質膜は、疎水性の鎖を内側に向けた二重膜構造をしています。この膜構造ができるのは、周囲に水が存在して疎水性相互作用が働いているからであり、膜の形成に水は不可欠と言えます。それ以外にも、タンパク質の自己組織化構造にも疎水性相互作用が重要です。タンパク質はアミノ酸がつながった鎖ですが、多くのタンパク質はその鎖の中に疎水性の部分を持ち、その疎水性の部分が水に触れないように内側に折り畳んだ構造を自発的に形成します。このようにしてある決まった構造が形成されることで初めて機能を持つタンパク質は非常に多くあり、その折り畳みのメカニズムは広く研究されています。

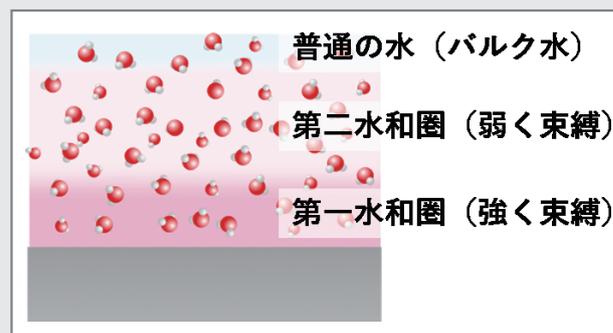
しかし、生体分子の自己組織化に対する水の重要性で注目されている現象は疎水性相互作用だけではありません。それが「水和」です。生体分子に限らず、溶質が水に溶けると、溶質分子と水分子が相互作用します。多くの場合、水と溶質の間に水素結合を形成したり、電氣的に相互作用したりすることが考えられます。このように溶質と相互作用した水は、普通の水とは性質が大きく異なるのではないかと考えられています。たとえば、粘性や導電性などの性質が大きく変化するという事です。仮に溶質と強く結合した場合、水の運動性が大きく低下するであろうことは容易に想像されます。しかし、水和という現象はさらに複雑です。それは、水は水分子同士でも水素結合を形成し、お互いを束縛しあっているからです。そのため、もしも溶質との相互作用が弱くても、溶質の周辺で水同士の水素結合が変化すると、それによって水の物理・化学的な性質が変化することは大いにあってよいことだと言えます。

また、水和には階層性があるということも、物事を複雑にしています。溶質表面で直接相互作用している水だけでなく、その外側に存在している水でも弱く溶質の影響を受けており、性質が普通の水と異なる場合があります。これには、溶質との相互作用が長距離に及び得るからという理由と、水同士の水素結合を介して溶質の影響が遠くまで及ぶからという理由と、両方が考えられます。溶質と直接相互作用する水を「第一水和圏（殻）」、その外側にあるが、普通の水とは異なる水を「第二水和圏（殻）」と呼んだりします【図4】。このような階層的で複雑な水和のモデルは1950年代から提唱されてきました²⁾。このモデルでは、特に

第二水和圏の水において、運動が束縛されるだけでなく、普通の水よりも運動が速くなる可能性についても提唱されてきました。

このように、水に溶けた溶質の表面には、「水和水」と呼ばれる水がたくさん存在していると考えられています。この水は、分子の運動性が低かったり（運動が遅い）、もしくは運動性が高かったり（運動が普通の水よりも速い）、0°Cでは凍らなくなったりします。しかし、実際には、この水和水の運動性や様々な性質については間接的にしか観測されていないなどで、よく分かっていないことが多くあります。第一水和圏と第二水和圏でどの程度束縛された水が存在するのか、なぜ凍る温度が変化するのか、溶質によってそれらが異なるのはなぜか、そして、その水和水が溶質の自己組織化とどう関わるのかなど、よく分かっていないことがほとんどです。当然、水なので、世界中の研究者が研究をしていますが、それでも水は観測が難しく、研究者ごとに観測している現象や物理量が異なるために、同じものでもまったく異なる結果になるなどして、統一的な見解には至っていないのが現状です。それが原因で、いまだに水和水の定義すらもあいまいなままになっています。これだけ科学が発展した今、水という最も身近な物質の性質がそこまで分かっていないというのも不思議なものです。

水和水の性質はまだまだ分かっていないことが多いですが、それでも水和水の状態（分子の運動性や水素結合構造、融点など）が、生体分子の自己組織化に関わっているとする研究は多くあります。たとえば、タンパク質の折り畳み構造の安定性には水和水が深く関与していると言われていました。また、医療材料にも使われる高分子材料では、水和水でも弱く束縛された水（＝第二水和圏の水？）が多いほど、生体親和性が高くなり、表面に異物が吸着しにくくなったり、摩擦が低減したりすることが知られています。この性質を利用して、人工心肺装置の内壁として利用されたり、人工関節の

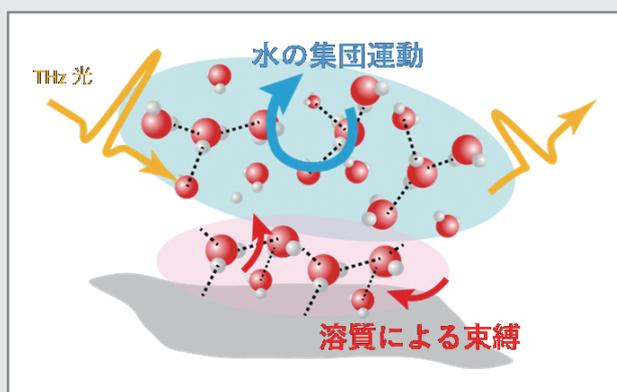


【図4】生体分子の水和とその階層性

材料として利用されたりしています³⁾。しかし、なぜこのような性質が生まれるのか、そのメカニズムはまだほとんど分かっていません。これもやはり、水和水の性質が分かっていないことによるものでしょう。

■ 水和水の観測

このような背景のもと、我々は様々な生体分子や界面活性剤、高分子などの材料の水和状態計測と、自己組織化との関係解明に向けた研究を行ってきました。様々な実験手法で得られる水の状態変化を統合しながら研究を行っていますが、なかでも、水の運動性の変化を主として水和水を調べています。そこでは、テラヘルツ分光法と呼ばれる特殊な分光法（光を周波数ごとに分解し、周波数ごとの光吸収などを見る方法）を採用しています。この手法では、テラヘルツ光（周波数がテラヘルツ（ 10^{12} Hz）の光＝波長が 300 μm 程度の光）がどのように吸収されるかを観測します。この周波数には、水が水素結合で集団となったときの、集団的な回転運動が存在しているので、この運動と共鳴することで光が吸収されます【図5】。すなわち、この光の吸収の度合いの変化から、水の集団運動の変化を知ることができ、水和水によってどの程度の水が束縛されたのかを定量的に知ることができます。またこの手法では、集団的な運動を観測するので、溶質表面の第一水和水の水だけではなく、第二水和水の水まで含めた水和水量が求められると考えられています。第二水和水の水を直接観測できるのは、現在でも本手法だけです。それだけではなく、本手法では、溶質の効果によって普通の水よりも運動しやすくなった水の存在も観測することができます。しかし、この手法を利用した水和水状態計測は世界的にもまだあまり行われておらず、第二水和水の水の状態や、なぜ水の運動が普通の水よりも



【図5】テラヘルツ分光による水の運動性の観測。水の集団的な運動が変化すると、テラヘルツ光の吸収のされ方が変化する。これをスペクトルとして得ることで、水和水状態を評価する。

速くなることがあるのか、などについては分かっていないことがほとんどです。

■ 生体膜の水和と自己組織化

上述した通り、我々は水の集団的な運動性の変化から、「溶質表面の第二水和水の水」＝「弱く影響を受けている水」まで含めた水和水量の測定を行ってきます。このような長距離におよぶ水和水と生体膜の自己組織化がどう関係しているのかを調べた結果についてお話します⁴⁾。

生体膜はリン脂質と呼ばれる一種の界面活性剤（両親媒性分子）が二重の膜を自己組織的に形成することで成り立っています【図3】。リン脂質は比較的大きな親水基と二本の疎水鎖で成り立っています。その膜の中に、コレステロールやビタミン類をはじめとした脂溶性の物質や、膜タンパク質などが埋め込まれた形で膜としての機能を果たしています。物理化学的な視点から生体膜の自己組織化機構を理解するには、その基本となるリン脂質の作る二重膜の構造形成について知ることが重要であり、1980年代ごろから、広く研究が行われています。しかし、そこでも水和水については深く研究されてきませんでした。いくつかの手法で第一水和水の水を観測した結果、膜表面で強く束縛された水はわずか（表面1層程度）しか存在しないとされてきたためです。

一方で我々がテラヘルツ分光法を用いてこれを観測すると、これまで考えられていたものの4~5倍もの量の水が運動を束縛された水になっているということが分かりました^{4,5)}。これは大体1 nmに及びます。すなわち、これまであまり調べられることがなかった第二水和水の水が、実は表面に大量に存在していることを意味しています。この距離は、膜同士であったり、膜とタンパク質などの異分子であったりが相互作用するときの力（静電的な力や van der Waals 力）が及ぶ距離と同等です。すなわち、長距離に及ぶ水和水の状態が、膜同士の相互作用やそれによってもたらされる自己組織化構造に大きく関与している可能性を示唆しています。

そこで我々は、異なる構造を形成することが知られている二種類のリン脂質に対して水和水状態を解析し、構造形成と水和水の関係を探りました。比較したのは PC (Phosphatidylcholine) と呼ばれる親水基を持つリン脂質と、PE (Phosphatidylethanolamine) と呼ばれる親水基を持つリン脂質の二種類です【図6】。この

二つのリン脂質は生体中では異なる役割を持っています。PC リン脂質は生体膜中に最も多く含まれるリン脂質であり、膜中に広く分布しています。一方でPE リン脂質は生体膜の膜融合に特異的な役割を持つことが知られています。たとえば、細胞分裂をする際には、細胞膜同士が一度くっついてから切れる必要があります。この際に膜が逆ヘキサゴナル構造という構造に一度変化するのですが、その構造変化の際にPE リン脂質が必須であることが分かっています（PC リン脂質だけだと膜融合ができず、細胞分裂が完了しない）。我々はこの膜融合過程に水が関わっているのではないかと考え、実験を行いました。なぜなら、膜融合が起こるためには、膜同士が接近し、膜の間に含まれる水が排除される必要があるからです。ちなみに、二つの分子構造を見ると、PC では親水基の先端にあるN⁺のところにメチル基（-CH₃）が三つついているので、一見、PE リン脂質よりも疎水的に見えます【図6】。先に述べた結果（1 nm におよんで水が束縛されるという結果）はPC リン脂質の場合でした。

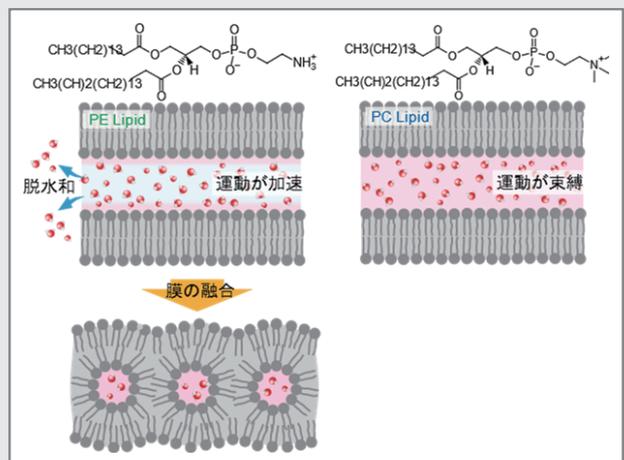
テラヘルツ分光でこの二つのリン脂質の水和状態を観測すると、とても面白いことが分かりました。PC リン脂質の場合、先ほども述べた通り、水4~5層にわたって水の運動性が下がっています。一方で、PE リン脂質の場合、水は束縛されるのではなく、むしろ普通の水よりも運動性が上がるということが分かりました⁶⁾。一見、より親水的に見えるPE リン脂質が水を束縛するわけではないというのは、「親水的=水和しやすい=水の束縛」というイメージを打ち壊すとても意外な結果です。

なぜこのようなことが起こるのかを知るために、今度はコンピューターシミュレーション（分子動力学シミュレーション）を行いました。すると、PE リン脂質では、分子構造からも推察される通り、直接的な水との相互作用はPC と比べてかなり強く、第一水和圏の水の束縛は強いということが分かりました。しかし面白いのは、第二水和圏では、水分子同士の水素結合が切れてしまい、水が運動しやすくなっていたのです⁷⁾。おそらく、第一水和圏で水がリン脂質に強く引き付けられすぎた結果、水同士の水素結合が破壊されたのではないかと考えています。このように、第二水和圏まで含めた水の状態を観測すると、これまでの常識を覆すまったく新しい描像が見えてきました。そもそも、物質が水に溶けるという現象は物理化学的にどのように理解するのか、親水的、疎水的とはどのようにして生まれる性質なのか、改めて考え直さないといけない

ようです。

ではこのような大きな水和状態の違いは膜融合の過程に関わるのでしょうか。我々はこの二つのリン脂質の膜を基板上に作成し、それを徐々に乾燥させていくことで膜表面からむりやり水を奪っていく（脱水和）という実験を行いました。すると、どちらのリン脂質もある程度まで水が奪われると膜同士が接近して膜融合が起こることが分かりました。ただ、PC リン脂質の場合には周囲の湿度を大きく下げないとそもそも水が揮発しないのに対して、PE リン脂質の場合には高湿度下でも水が容易に揮発し、膜融合が起こることが分かりました⁶⁾。PC リン脂質では長距離にわたって多くの水を束縛しているのが水が揮発しにくい一方で、PE リン脂質では水素結合が壊されて水が運動しやすくなっているため、揮発もしやすくなっている可能性が考えられます。生体中ではタンパク質を用いて膜同士を無理やり近づけるといことが行われていますが、その際にも表面から水が排除されるのには水和状態が大いに関与している可能性があります。

PC やPE というリン脂質の分子構造（化学）が水和を決定し、それが膜の構造変化（物理）を決定し、生体膜の膜融合（生物）に関わるということを見出した本研究は「水」をキーワードにまさに分野の壁を超えるような研究といえます。リン脂質は生体膜の材料であるとともに、界面活性剤の一種です。そこで現在、化粧品や洗剤などに使用される合成界面活性剤でも同じように自己組織化に水が重要な役割を果たしているのかを調べています。たとえば乳液の保湿性などに深く関わりそうです。界面活性剤は非常にバラエティーに富んだ様々な自己組織化構造を形成しますが【図3】、やはりこの構造によって水和状態が異なり、構



【図6】リン脂質の分子構造によって異なる水和状態と膜融合との関係。PEリン脂質（左）では水和によって水の運動が加速された結果、脱水和が容易となり膜融合が進む^{6,7)}。

造形成に水和が関与しているようです。ただ、まだ詳しいことは分かっていません。

■ タンパク質の折り畳み構造の安定性と水和

次に、タンパク質について調べた結果を話します。生体中の多くのタンパク質は、ある決まった折り畳み構造【図2】を形成することで、個々の機能を発現しています。この構造が壊れるとその機能を失うため、どのようなメカニズムで決まった折り畳みがなされるのか、その折り畳み構造の安定性はどのようにして決まるのか、長く研究が続けられています。

我々はこのタンパク質の折り畳み構造の安定性と水和の関係について、やはり第一水和圏・第二水和圏の観点から調べています。タンパク質はある温度以上になると、変性し、折り畳み構造が壊れます。すると、内側に折りたたまれていた疎水性の部位が外側にも出てきて、水にさらされることとなります。変性したタンパク質同士は絡み合ってゲル状態になります。(卵の白身がゆで卵にすると白く固まるのがそれです。)そこで、タンパク質の折り畳み構造の安定性を調べるには、どのくらい変性しにくいのか、変性はなぜ起こるのかを調べることが重要です。これまでも、これらに水が関わっていると言われてきていましたが、実際にどう水和状態が変化するかなどのミクロな情報は分かっていないままで、タンパク質の安定性と水和水の関係はまだ十分に分かっていない状況でした。

我々は、まずタンパク質の変性に伴って水和状態がどのように変化するのか、テラヘルツ分光法と、熱測定、赤外分光法という手法を合わせることで調べました。熱測定では、溶液を冷却し、水が凍る過程を調べます。タンパク質に強く束縛されている第一水和圏の水は、その束縛の効果によって -70°C 程度まで冷却しても凍ることができません。そのため、凍ることができない水(不凍水)の量を調べると、第一水和圏の水の量が分かります。テラヘルツ分光では、第一水和圏だけでなく第二水和圏の水も合わせた水和水の量が分かるので、この二つを合わせると、第一水和圏と第二水和圏の水を分けて調べることができます。一方で赤外分光法では、水分子のOHの結合の振動を調べます。そこから、水分子がどの程度強く水素結合をしているのかを調べることができます。

この三つの手法を使ってタンパク質(ここではウシ血清アルブミンを使用)の変性に伴う水和状態変化を調べると、第一水和圏の水の量は変性でわずかに減るが、

第二水和圏の水は変性ととも大きく増えるということが分かりました⁸⁾。さらにそれに伴って水同士の水素結合が増えることも分かりました【図7】。このことは、次のように解釈できます。すなわち、変性に伴って疎水性の部位が水にさらされるとその周辺では第二水和圏の水(=弱く束縛されている水)のみが増えるが、それは水同士で多く水素結合を形成してお互いに運動を束縛しあっているからであると。

また過去の熱力学的な研究から、変性で水和水が増えることがタンパク質の安定性に深く寄与しているということが分かっているため、今回の結果は、第二水和圏の水がこれを担っているということを意味しています。このように疎水性の分子や官能基の周りで水が構造化することは「疎水性水和」と呼ばれ昔から研究されてきていますが、今回の我々の結果から、この疎水性水和は、第二水和圏の水の違いとして観測され、それこそがタンパク質の安定化を決定づける大きな要因だと言えそうです。

そこで我々はさらに、タンパク質溶液に様々な添加物を加える実験を行いました。古くから、様々な有機分子(糖や尿素など、オスモライトと呼ばれる)を添加すると、タンパク質の折り畳み構造が安定化したり、不安定化したりすることが知られていますが、いまだにそのメカニズムは十分に分かっていません。オスモライトの分子とタンパク質が相互作用することが重要なのではと考える研究者が多いですが、そのほかにも様々な機構が提案されています。我々は先ほどの研究から、タンパク質の安定性を決める要因として第二水和圏の水があると分かってきましたので、これらのオスモライトが水の状態を変化させることでタンパク質の安定性に寄与しているのではないかと考えて実験を行いました。

テラヘルツ分光法で様々なオスモライト溶液中の水の運動性を測定したところ、分子によって水の運動を束縛するものや、運動をしやすくする(リン脂質研究のPEリン脂質と同じ現象)ものなど、分子によって水に対する効果が全く異なることが分かりました。さらに、これらの分子をタンパク質溶液に加えたときの、タンパク質の変性温度を調べると、水の運動をよく束縛するものほどタンパク質の変性温度を上げ、折り畳み状態を安定化するのに対し、水の運動をしやすくするオスモライトでは変性温度を下げ、折り畳み状態を不安定化することが分かりました⁹⁾。10種類以上のオスモライトで同じ相関がみられたことから、オスモライトによる水の状態変化がタンパク質の安定性を決

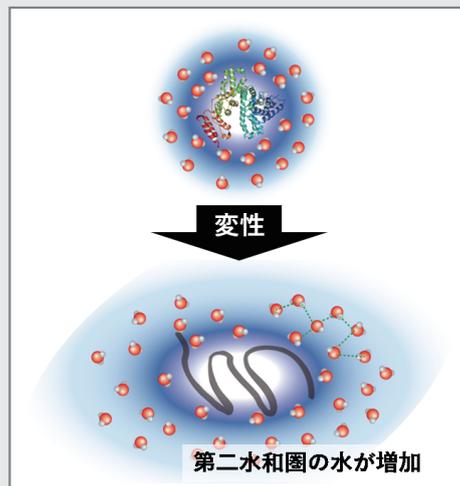
めている可能性が高いと考えられます【図8】。すなわち、オスマライトは直接タンパク質に作用するのではなく、むしろ水の状態変化を通して間接的にタンパク質の安定性に寄与している可能性が高いと言えます。

生体中には種々のオスマライトやイオンが非常に多く存在しています。タンパク質に対する様々なイオンの効果も「水」を介して理解できる可能性もあり、現在研究を進展させているところです。それらの生体中での役割が分かれば、タンパク質をより安定化させる方法の開発などにつながり、食品や医薬品への広い応用が期待されます。

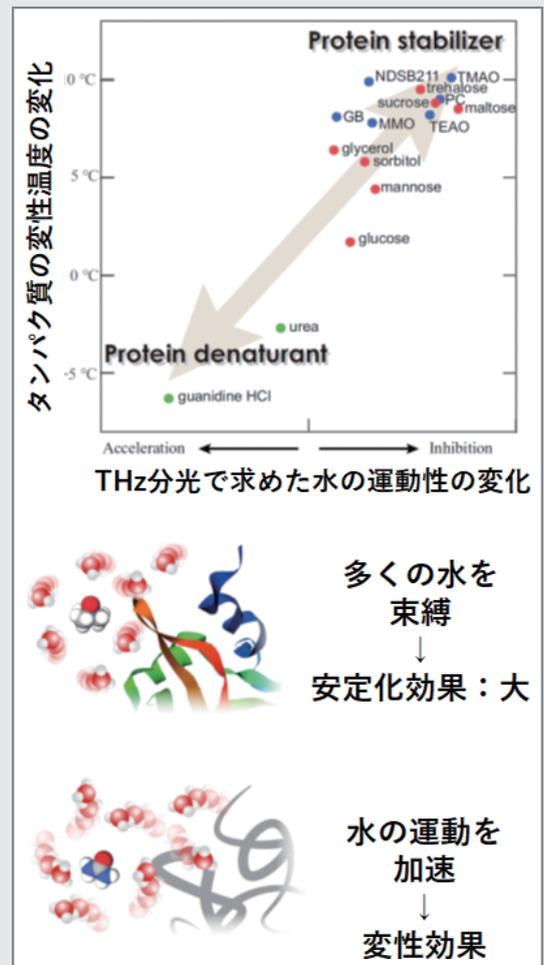
現時点では相関性があるというのが分かっただけで、実際にどのように安定性を変えているのかについて、そのメカニズムについては分かっていません。現在、そのメカニズムを理解するべく、研究を続けています。そのなかで、強いテラヘルツ光をタンパク質にあてることで周りの水の状態を変化させることができ、それによってタンパク質の安定化の過程を制御できる可能性も見えてきました¹⁰⁾。水を制御することで、生体分子の機能を制御するという新しい考え方ができそうです。

■ 自己組織化と水のこれから

生体分子や高分子、界面活性剤などの自己組織化構造形成は、生命現象だけではなく化粧品や医薬品など様々な場面で重要です。我々の研究では、そこに水、なかでも第二水和圏の水、が大きな役割を持っているということを見出しつつあります。しかし、この研究は始まったばかりであり、分からないことばかりです。なぜ水の状態によってタンパク質の構造安定性に違いが生まれるのか、水の運動が束縛される場合と速くなる場合では何が異なるのか、そもそも物質が水に溶けるといことはどういうことか、束縛される水が多くなるとなぜ生体親和性が高いのか、など疑問は尽きません。水はほんとうに不思議な物質です。化学、物理学、生物学、工学の分野を超え、今後多方面にわたって広く



【図7】タンパク質の変性に伴う水和水の変化。変性で第二水和圏の水が増えることがタンパク質の構造安定性に深く関与する⁹⁾。



【図8】オスマライトによる水の状態変化とタンパク質の安定化/不安定化。水の束縛が強いほどタンパク質を安定化し、水を運動しやすくするのはタンパク質を不安定化する⁹⁾。

研究されていくことで、水の重要性や面白さがもっともっと分かってくるのが期待されます。

参考文献

- 1) 下村政嗣, 山口智彦, 国武豊喜, 己組織化ハンドブック, エヌ・ティー・エス, (2011).
- 2) パスカル マントレ, 細胞の中の水, 東京大学出版会, (2006)
- 3) 菱田真史, 膜, 45, 206(2020), 溶液化学研究会誌, 3, 32, (2023).
- 4) 田中賢, 高分子, 68, 311(2019).
- 5) Hishida M., Tanaka K., *Phys. Rev. Lett.*, 106, 158102 (2011).
- 6) Hishida M., Tanaka K., Yamamura Y., Saito K., *J. Phys. Soc. Jpn.*, 83, 044801 (2014).
- 7) Higuchi Y., Asano Y., Kuwahara T., Hishida M., *Langmuir*, 37, 5329 (2021).
- 8) Hishida M., Kaneko A., Yamamura Y., Saito K., *J. Phys. Chem. B*, 127, 6296 (2023).
- 9) Hishida M., Anjum R., Anada T., Murakami D., Tanaka M., *J. Phys. Chem. B*, 126, 2466 (2022).
- 10) Sugiyama, J., Tokunaga, Y., Hishida, M., Tanaka, M., Takeuchi, K., Satoh, D., Imashimizu, M., *Nat. Commun.*, 14, 2825 (2023).