

A03 高分子溶液を内包したベシクルの外部揺動に伴う内部粘弾性と形の揺らぎ

東京農工大学院工学研究院 柳澤実穂

本研究では、細胞がみせる形態変化を、様々なゆらぎのもとで、粘弾性体である細胞質と細胞膜が強く関連する「ゆらぎ・構造相関」の視点から解析することを目的としている。本目的のために、高濃度の高分子溶液を内包したリン脂質膜小胞（ベシクル）やリン脂質で覆われたエマルジョン（マイクロ液滴）を細胞モデルとして用い、熱的・非熱的ゆらぎを与えた際の高分子の粘弾性と膜形態の変化を解析する。今年度は、(a) ベシクル内部空間に該当するマイクロ液滴への閉じ込めによる高分子溶液の分子拡散挙動、(b) 粘性流体を内包したりポソームの形態変形、(c) 非熱的ゆらぎを与えた際のベシクルの形態変化について実験を行い、以下の結果を得たので報告する。

(a) 細胞サイズ空間に閉じ込められた高分子の異常拡散

細胞内部は、タンパク質をはじめとする多量の生体高分子で満たされている。このような高分子で混雑した環境下における分子拡散は、平均二乗変位が時間に対して線形に増大せず、冪数 α ($\alpha \neq 1$) をともなう異常拡散となることが数多く報告されている^{1,2}。本研究では、高分子混雑および細胞サイズ空間への閉じ込めが高分子拡散に対して及ぼす影響を分離して解析することを目指した。本目的のために、高分子溶液を油中液滴としてリン脂質膜により覆われたマイクロ液滴とし、蛍光相関分光法 (Fluorescence correlation spectroscopy, FCS) により分子拡散を測定した。拡散分子に緑色蛍光タンパク質 (Enhanced green fluorescent protein, EGFP) を、高分子溶液には水溶性鎖状高分子であるポリエチレングリコール (polyethylene glycol, PEG) を用い、高分子鎖の重なり合い濃度 c^* の前後の濃度で実験を行った。その結果、Fick の法則 ($\alpha = 1$) を仮定して求めた 0.1 ms 以上の長時間スケールでの拡散係数 D は、 c^* 以上の高分子濃度において液滴直径 d と強く関連することを見出した。さらに、Fractal Brownian Motion (FBM) を仮定したフィット式³により自己相関関数を解析したところ、 c^* 以上の高分子濃度において、冪数 α に対しても閉じ込めサイズ d への強い依存性が現れることが明らかになった。以上から、微小空間への閉じ込めと高分子混雑環境とが互いに強く関連することで、細胞内の異常拡散を生みだしていることが示唆された (Watanabe & Yanagisawa, 論文投稿準備中)。

(b) 高分子溶液を内包したベシクルの高浸透圧下での変形

我々はこれまでに、高粘性流体である高分子溶液を内包したベシクルを高浸透圧環境に置くと、内部粘性に依存して膜小胞形成 (budding) かチューブ状突出形成 (tubing) が現れることを報告している⁴。しかし、これらの変形を決定付ける、内部粘度の閾値が不明であった。そこで本研究では、粘度が既知の高分子溶液をベシクルに内包し、その後高浸透圧下に置くことで粘度の閾値を実験的に見出した。その結果、粘度値は約 2 mPa·s であり、変形開始前の初期内部粘度が最終的な変形パターンを決定することを突き止めた。

(公募班 A03・慶応義塾大学・藤原慶氏との共同研究)

(c) ベシクルの一次的な強制変形とその履歴

細胞膜は代謝などの細胞活動にともない、絶えず外部からの力にさらされながら、機能や環境に応じて多様な形へと変化する。こうした細胞膜のモデルとして汎用されてきたベシクルを高浸透圧環境下に置くと、ベシクル内の水が膜外へ流出するのに伴い、様々に変形する。浸透圧差が小さく脱水速度が遅い場合には、リポソームは膜の弾性エネルギーが最小となる熱平衡形状を取るようにある決まった変形経路を示すことが知られている。しかし、例えばレーザーによって局所的に熱ゆらぎを与えると、この膜変形経路は容易に変化する。本研究では、非熱的ゆらぎを加えた細胞サイズのベシクル形態変化の解析を目的とした。本目的のために、細胞サイズの単一成分ベシクルを作成し、非熱的ゆらぎとしてマイクロピペット吸引による外力を与えることで、上記の膜形状経路が変化する様を解析した。その結果、従来得られていた浸透圧分岐過程形状とは異なる、チューブをとともなう不可逆な膜変形が生じることを見出した。今後は、光ピンセットを導入し、ベシクル内に閉じ込めたビーズを牽引することで、膜に与える力や領域の違いが膜形態へ及ぼす影響を解明する。

参考文献：

1. F. Hofling and T. Franosch, Rep Prog Phys 76 (4), 046602 (2013).
2. R. Metzler, J. H. Jeon, A. G. Cherstvy and E. Barkai, Phys Chem Chem Phys 16 (44), 24128-24164 (2014).
3. D. S. Banks and C. Fradin, Biophys J 89 (5), 2960-2971 (2005).
4. K. Fujiwara and M. Yanagisawa, ACS Synth Biol 3 (12), 870-874 (2014).