

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）やリン脂質膜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した。(a) 細胞サイズ空間に閉じ込められた高分子の異常拡散、(b) 高粘性な高分子溶液を内包したベシクルの脱水変形、(c) 非熱的ゆらぎを与えた際のベシクルの形態変化、について得られた結果を報告する。

(a) 細胞サイズ空間に閉じ込められた高分子の異常拡散

細胞は、高濃度の高分子溶液を、主にリン脂質からなる膜でマイクロメートルスケールの空間に閉じ込めている。細胞内では絶えず拡散によって物質輸送が行われており、分子拡散は生命維持に欠かせない現象である。近年、高分子で混雑した環境下では、分子拡散が抑制されることが明らかになってきているが、細胞サイズ閉じ込めや膜が、分子拡散へ及ぼす影響は明らかになっていない。そこで本研究では、高分子混雑および細胞サイズ閉じ込めが分子拡散へ及ぼす影響を解明することを目的とした。

高分子溶液を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) により分子拡散を測定した。拡散分子には、緑色蛍光タンパク質 (green fluorescent protein, GFP) を、混雑高分子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^* の前後で液滴半径 r を変化させる実験を行った。その結果、 c^* 以上の混雑環境かつ $r < 30 \mu\text{m}$ の小さな閉じ込め空間において、速い異常拡散となることが分かった。またこの拡散挙動は、サブミリ秒スケールで振る舞いが変化したことから、サブマイクロスケールの不均一な高分子構造形成が関与していると考えられる。また、高分子混雑環境と微小空間への閉じ込めが互いに強く関連することで、複雑な細胞内分子拡散を生みだしている可能性が示唆された [1]。

一方で細胞内には、PEG のような鎖状高分子だけではなく、多様な形状の高分子が含まれている。分子拡散に対する混雑分子形状の影響を導くために、球状タンパク質であるウシ血清アルブミン (Bovine Serum Albumin, BSA) 溶液中の GFP 拡散を測定した。まず、バルクにおける GFP 拡散の BSA 濃度依存性を解析したところ、BSA 間距離が GFP 直径以下になることで急激に低下することが明らかになった。これは、混雑する BSA 間の隙間を GFP がすり抜けて拡散することを意味する。次に、液滴中での GFP 拡散を測定したところ、高濃度 BSA 溶液中において、液滴半径 r の減少に伴う拡散係数の低下が観察された。上記の PEG 添加系とは異なるこの拡散低下の原因を解明するため、拡散係数の膜界面距離依存性を解析した。その結果は、膜界面近傍で GFP 拡散係数は低下し、またこの拡散低下は PEG 添加系では見られなかったことから、膜界面と混雑した BSA との相関により拡散係数が低下したと言える。今後より詳細な解析を行い、高分子混雑および細胞サイズ閉じ込めが分子拡散へ及

ぼす影響を解明したい。

(渡邊千穂, ポスター賞受賞, International Symposium on Fluctuation and Structure out of Equilibrium 2017, 2017年11月24日)

(b) 高粘性な高分子溶液を内包したベシクルの脱水変形

我々はこれまでに、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、初期の内包高分子濃度が上昇するのに伴い、膜小胞形成 (budding) からチューブ状突出形成 (tubing) へ転移することを報告した。しかし、これらの変形を決定付ける物理的要因が不明であった。そこで、本研究では、粘度が既知の BSA 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内部の初期粘度と膜変形との相関関係を実験的に解析した。その結果、初期の内部粘度が水の約 2 倍となることで、budding から tubing へ転移することを見出した [2]。また、膜と高分子との相互作用を介したベシクルへの細胞骨格モデルの付与や、新たな粘弾性測定法の確立にも成功してきている [3-4]。今後は、これらの手法を用いて、内部の粘弾性変化に伴うベシクルの変形挙動を解明したい。

(公募班 A03・慶応義塾大学・藤原慶氏との共同研究)

(c) 非熱的ゆらぎを与えた際のベシクルの形態変化

細胞膜の形態は、絶えず外部環境に応じて多様な形へと変化する。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に伴い様々に変形する。この変形は、膜内外の浸透圧差に依って変化し、浸透圧差が小さく脱水速度が遅い場合には、ベシクル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である決まった変形経路を示すことが知られている。一方で、浸透圧差が大きく脱水速度が速い場合には、ベシクル内部に多数の小胞が形成されることが知られている。

本研究では、非熱的ゆらぎを加えたベシクル形態変化の解析を目的とした。本目的のために次の 2 つの実験を行った。1 つ目は、均一相ベシクルに小さな浸透圧差を加え、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子を解析した。その結果、従来得られていた脱水変形とは異なり、吸引部分でのチューブ形成を伴う不可逆な膜変形が観察された。2 つ目は、二相分離ベシクルに大きな浸透圧差を与えた際の脱水変形である。2 相のうち、弾性率の小さな片方の相のみが内部に陥入し、多数の小胞を形成した。今後、これらのベシクルの変形履歴を解析し、非熱的ゆらぎがベシクル形態に与える効果を解明したい。

参考文献：

- [1] C. Watanabe & M. Yanagisawa, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, *in press*.
- [2] K. Fujiwara & M. Yanagisawa, *Soft Matter*, **13**, 9192-9198 (2017).
- [3] C. Kurokawa, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 7228-7233 (2017).
- [4] A. Sakai, et al., *ACS Central Science*, 2018, *in press*.