

# Universal Glass-Forming Behavior of Driven and Crowded Cytoplasm : Feedback-Controlled Microrheology

西澤, 賢治

<https://doi.org/10.15017/1931700>

---

出版情報 : Kyushu University, 2017, 博士 (理学) , 課程博士  
バージョン :  
権利関係 :

氏 名 : 西澤 賢治

論 文 名 : Universal Glass-Forming Behavior of Driven and Crowded Cytoplasm:  
Feedback-Controlled Microrheology  
(細胞内部における力学駆動された混み合い効果の  
フィードバックマイクロレオロジー測定)

区 分 : 甲

### 論 文 内 容 の 要 旨

レオロジーは物質が持つ最も基礎的な性質であり、基礎研究のみならず工業製品・食品等に至るまで様々なところで、試料の特性を知るための非常に重要な物性量である。したがって、私たちの体の基本的な構成単位である細胞の性能や機能を評価するためにも、当然計測することが望まれてきた。しかしながら、これまでマイクロスケールにおけるレオロジー測定の多くは静的な状態で行われており、生きた細胞内部のように流れや擾乱が生じている力学的に非平衡な状態での測定は非常に困難であった。静的な状態と力学的に非平衡な状態のレオロジーが大きく異なることがあるのは、巨視的なスケールでは広く知られている(液状化現象・ダイラタンシー等)。このような巨視的なスケールに現れる事象の根源を明らかにするためにも、マイクロスケールでのメカニズムを研究することが必要になる。そこで本研究では、マイクロスケールでの力学的に非平衡な状態のマイクロレオロジー測定を可能にし、細胞内部のレオロジーを明らかにした。

細胞は生命の基本単位であり、生命現象の多くは細胞の振る舞いに帰着する。さらに、細胞運動・細胞内物質輸送等の物理的なメカニズムは細胞内部のレオロジーに帰着する。細胞内部は様々な高分子や器官・コロイドでとても混み合っており、またモータータンパク質が生み出す力や代謝によって駆動された力学的に非平衡な状態にある。そのため、マイクロスケールで力学駆動された混み合い状態にある「生き物」のレオロジーは単純な「もの」とは異なっており、未だそのレオロジーが決定される物理的機構・要因に関しては不明な点が多い。本研究では、混み合いの影響と力学駆動の影響を調整した試料を作成し、そのレオロジーを比較検討することで、これら混み合い効果・力学駆動が細胞内部の非平衡なレオロジーに与える影響を明らかにした。

マイクロレオロジー測定では一般的に、プローブ粒子を試料の中に入れ、その揺らぎの大きさから周囲の媒質のレオロジーを求めることが多い。プローブ粒子の変位をレーザーを用いて測定することで、広帯域・高解像度で測定することができる。しかし、細胞内部は力学的に非平衡な状態にあるので、撃ち込んだ粒子が、熱揺らぎ(ブラウン運動)のみではなく、むしろ非熱的な力によって駆動されている。従って粒子が大きく揺らぐからといって、細胞が柔らかいとは言えない。そのため本研究では、プローブ粒子の揺らぎを測定するほかに、プローブ粒子にレーザーで力を与えたときの応答から、細胞のレオロジーを求めた。揺らぎと応答を同時に測定することで、細胞が生み出している力学駆動の大きさも分かる。

まず、力学駆動の影響を除去した細胞抽出液を用意した。細胞抽出液とは細胞の膜を壊して中身だ

けを取り出したもので、小分子の生理活性が除去されているために内部で力学駆動は無い。この細胞抽出液に含まれる中身の固形物濃度を変化させながらレオロジーを測定すると、わずかな濃度の増加で粘性率が急激に上昇(発散)し、固化することが分かった。驚くことに、抽出された細胞の種類(原核細胞である大腸菌、真核細胞である HeLa 細胞とカエルの卵)に依らず、粘性率は固形物濃度の増加に伴い同じように変化し、生きた細胞内の固形物濃度( $\approx 300\text{mg/ml}$ )よりも低い濃度で固化することも分かった。

次に、生きた細胞内部で混み合い効果・力学駆動がレオロジーに与える影響を明らかにすることを試みた。細胞内部では力学駆動による激しい揺らぎが生じているため、粒子位置の正確な長時間計測や、激しく揺らぐ粒子に任意の外力を加えて応答を計測することは困難であった。これまで細胞のレオロジーを測定する際には、細胞の表面に外側から外力を加えた際の応答を計測することで、細胞膜近辺を調べる手法(AFM 等)が一般的に用いられてきた。細胞内部の性質を計測できないことは、細胞の振る舞いに不明な点が多く残る一つの原因となっている。我々は、生きた細胞の中に小さな粒子を撃ち込み、Feedback 制御を用いて細胞質流動に伴う激しい粒子の動きに時々刻々追従することで、細胞内部の粒子の位置を常にナノメートル以下の精度で検出できる Feedback マイクロレオロジー測定システムを開発した。本研究では、細胞内部の高分子混み合いの影響を見るため、生きた細胞内部の固形物濃度を変化させながら Feedback マイクロレオロジー測定を行った。細胞内部の固形物濃度は、細胞周りの浸透圧を変化させ、細胞を濃縮することで制御した。

生きた細胞内部も抽出液と同様に固化してしまうと、内部での合成反応や、物質の輸送が出来なくなる。測定の結果、生きた細胞内部では抽出液と内容物は全く同じであるにもかかわらず、流動性を保っていた。また、細胞内部粘性率の固形物濃度依存性も細胞抽出液とは全く違った。細胞抽出液では粘性率が内部固形物濃度に対して Super-exponential 的に増加する (Fragile glass) のに対し、生きた細胞内部では粘性率が濃度に対して Exponential 的に増加した (Strong glass)。得られた結果をさらに詳しく解析することで、生きた細胞と抽出液の違いを生み出す原因が、細胞内部の力学駆動にあることが分かった。