科学研究費助成事業 研究成果報告書



平成 26 年 6月19日現在

機関番号: 82110 研究種目:挑戦的萌芽研究 研究期間:2011~2013

課題番号: 23654139

研究課題名(和文)フレーリッヒの細胞モデルの物理的核心部分の検証

研究課題名(英文) Validation of the physical essence of Frohlich's cell model

研究代表者

村上 洋 (MURAKAMI, HIROSHI)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門 量子ビーム応用研究センター・研究員

研究者番号:50291092

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文): フレーリッヒの細胞モデルは、生物機能が示す秩序性や効率の良さについて統一的な理解に導くモデルであるが、未だ実証されていない。このモデルの核心部分は、細胞全体に渡るテラ(10の12乗)ヘルツ周波数領域の電気的振動という動的秩序状態の存在である。本研究の目的は、逆ミセルという細胞類似無生物試料と高強度テラヘルツ波発生及び検出技術を用いたモデル検証である。そのための分光装置の開発を行った。一方、逆ミセルの性質を調べ、逆ミセル内部の状態転移現象や逆ミセルからの水流出現象などを明らかにした。検証実験は現在進行中である。

研究成果の概要(英文): A model of living cells proposed by Frohlich leads to a unified understanding of the order and high efficiency in biological functions. Nevertheless, the validity of the model has not been verified for several decades. The essence of the model is the existence of a coherent longitudinal electric mode in a terahertz frequency range in living cells. The purpose of this study is to verify the essence by use of generation and detection techniques of intense terahertz electric waves and reverse micelles that are regarded as a model system of cells. To that end, a spectroscopy system has been developed and its application to reverse micelles is in progress. On the other hand, the physical properties of reverse micelles have been studies, and phase transition-like changes and water shedding from the reverse micelle have been found.

研究分野: 数物系科学

科研費の分科・細目: 物理学・数理物理・物性基礎

キーワード: 細胞モデル フレーリッヒ マイクロ波 非平衡 非線形

1.研究開始当初の背景

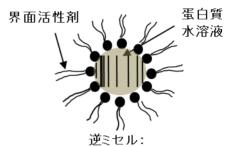
今から数十年以上前、超伝導の理論等で有 名なフレーリッヒは、「細胞は、イオン、蛋白 質、脂質分子などを含み、電荷や電気双極子 で満ちた不均一な誘電体とみなせる。そのよ うな系で、長波長電気的振動モードと熱浴と の非線形相互作用により、代謝によるエネル ギー注入がある閾値を超えると、10¹²Hz (=THz、テラヘルツ)領域に細胞全体にわた る動的秩序とも言えるコヒーレント縦型電気 振動が起こり、これが、細胞の様々な代謝活 動に基盤を提供している。」という細胞モデル を提案した。モデル提案当時の実験である、 Webbらの細菌の代謝産物量等の照射マイクロ 波周波数依存性の結果や細胞の状態に依存し て観測されるラマン散乱の結果などは、その モデルを支持しているように思えるが、この モデルは未だ実証されていない。その理由の 一つは、フレーリッヒモデルは細胞の物性物 理的考察に基づくものであり、実際の細胞に 適用しモデルの妥当性を検証するのが難しく、 その後の研究展開に結び付かなかったことで ある。

2.研究の目的

研究目的は、フェムト秒レーザーを用いた 高強度THz波発生及び検出技術を用い、蛋白質 逆ミセル等の無生物試料を対象に、フレーリ ッヒモデルの物理的核心部分の検証を行うこ とである。その物理的な核心部分とは、エネ ルギー注入がある閾値を超えると、系内にわ たるコヒーレント縦型電気振動という動的秩 序が現れることである。この研究の着想は、 Webbらによる細胞のマイクロ波照射効果の結 果に基づく。横波であるマイクロ波と縦型電 気振動との相互作用は非常に弱いはずである から、照射マイクロ波エネルギーはまず細胞 を構成する蛋白質分子などが吸収するはずで ある。さらに、エネルギーを吸収した蛋白質 分子などの振動運動が縦型電気振動と最終的 に結合する機構が系に存在するはずである。

そこで、マイクロ波や逆ミセル内に導入した プローブ分子のレーザー光励起をエネルギー 源とし、蛋白質などの細胞構成要素を含む細 胞類似の無生物系で上記検証が可能と考えた (下図参照)

> レーザーを用いた エネルギー注入 〜縦波発生



細胞を単純化、無生物試料

3.研究の方法

本研究で用いる THz 波はマイクロ波の高周 波数帯側に位置する。具体的研究内容は以下 の通りである。(1)逆ミセルの物性を Thz 分光及び紫外可視分光を用いて調べる。THz 分光は THz時間領域分光法を用い、試料の THz 領域の光学定数の取得を行う。このとき、 参照及び信号用試料がそれぞれ封入された 一体型のタンデム型セルの開発を行い、自動 ステージを用い交互に測定することにより レーザー光の長周期揺らぎに起因するスペ クトル歪みの抑制を行う。また、逆ミセル中 への蛋白質分子導入の効果を調べるために、 蛋白質分子の代わりに色素分子を導入し、色 素分子の紫外可視吸収分光により導入分子 の周りの状態を調べる。(2)高強度 THz波 パルス発生装置の開発を行う。そのために、 再生増幅器付きフェムト秒レーザーを光源 として用い、ニオブ酸リチウム結晶と波面傾 斜法を用いた光学系の構築を行う。また、TH z波パルス及びレーザー光注入装置、実時間 THz 分光及び紫外可視吸収・蛍光分光装置の 構築を行う。また、実時間紫外・可視吸収分 光のために白色光パルス発生装置、実時間 TH z分光のためにフェムト秒チャープパルス

法を用いた装置の構築を行う。(3)色素分子や色素蛋白質導入逆ミセルを主な対象に適宜構築した装置を組み合わせ実験を行い、コヒーレント電気振動出現に伴う逆ミセル内部の状態変化を調べるため、逆ミセルのTHz分光やプローブ分子の吸収・蛍光分光を行う。

4. 研究成果

(1)Webbらが蛋白質や水などで観測した 0.06から0.08THzの吸収スペクトルの構造の 存在を実験的に再検討した。逆ミセル溶液を 対象に THz 分光を実施した。 逆ミセルのサイ ズ(半径:0.5nm~4nm)を変えて測定を行っ た結果、逆ミセル内部の水がバルク状態水か ら束縛水までのどの状態であってもその周 波数領域に水や界面活性剤に起因する有意 なスペクトル構造は確認できなかった。これ まで、水や生体関連分子の THz 分光はおよそ 0.1THz 以上の領域で測定されてきたが、吸収 スペクトルは連続的に広がり、共鳴的なピー ク構造は見られない。理論的にもこの周波数 領域には多数の振動状態が連続的に存在す ることが示されている。0.1THz 以下でも同じ 結果であり、Webb らの結果は再現されなかっ

(2)逆ミセル中に導入した色素分子の周りのダイナミクスを調べた。逆ミセルの半径1nm 程度以下の場合、色素分子の周りの水の拡散的運動が室温で凍結しているという結果を得た。そして、逆ミセルに分子を導入したときの内部の状態が逆ミセルサイズに顕著に依存することが明らかになった。さらに温度を下げていくと、凍結していた拡散運動がある温度で活性化した。これは、色素分子が水と共に逆ミセルから流出することにより起こると考えられる。

(3)逆ミセル中の水の THz 分光により、 半径 10nm 程度以上の粒径の逆ミセルでは、 室温付近で水の流出が起こるとともに、ピコ 秒領域の水の運動が急激にスローダウンすることが分かった。このような TH z 波周波数 領域の水の運動と逆ミセルの安定性の関係 は、フレーリッヒの細胞モデルの検証実験のための基礎データを与えるだけでなく、細胞崩壊の機構を考えるときに、重要な情報を与えるかもしれない。

(4)高強度 THz波発生実験において、数 百 μ ₩ の出力を得た。入射フェムト秒光パル スからの変換効率は、先行研究と同等であっ た。そして、発生 THz 波の時間波形計測のた めの光学系の構築を行い、単一サイクルの TH z波パルスが発生されていることを確認し た。また、試料位置での集光スポットサイズ は波長程度であり、試料位置までの光学系が ほぼ最適化されていることが分かった。一つ のレーザー光を二つに分けてそれぞれを、試 料へのエネルギー注入と注入後の試料状態 計測に用いる。試料計測側のレーザー強度は 弱い。そのため、実時間紫外・可視吸収分光 用に、白色光パルス発生効率の高い光ファイ バー光学系を用いた装置を構築したが、安定 な出力は得られなかった (現在光学系再検討 中)。水を用い安定な白色光を得ることがで きたのでそれを利用している。現在、色素分 子導入逆ミセルを対象に検証分光実験を行 っており、今後は蛋白質逆ミセルなど細胞類 似試料を対象にした実験を行い、フレーリッ ヒの細胞モデルの検証を行う。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に は下線)

[雑誌論文](計 2 件)

H. Murakami, T. Sada, M. Yamada, M. Harada, "Nanometer-scale water droplet free from the constraint of reverse micelles at low temperatures." Physical Review E 88、2013、pp.052304-1-8、査読有り

<u>H. Murakami</u>, Y. Toyota, T. Nishi, and S. Nashima, "Terahertz Absorption Spectroscopy of

Protein-Containing Reverse Micellar Solution", Chemical Physics Letters 519-520, 2012, pp.105-109、査読有り

[学会発表](計 10 件)

村上 洋、逆ミセル中の蛋白質と水のテラ ヘルツ分光、第2回 Neutrons in Biology 研 究会2014年3月28日、発表場所(茨城県 東海村、日本原子力研究開発機構 原子力 科学研究所)

村上 洋、逆ミセルにより空間拘束された水及び蛋白質の分光研究、第10回「生体膜・コロイド研究の最前線」2013年12月19日、発表場所(茨城県東海村、いばらき量子ビーム研究センター)

村上 洋、逆ミセル中ナノ拘束水のテラヘルツダイナミクスの温度依存性 第51回日本生物物理学会、2013年10月28日、発表場所(京都府京都市、国立京都国際会館)村上 洋、逆ミセル拘束水のテラヘルツダイナミクスの温度変化、第64回コロイドおよび界面化学討論会、2013年9月20日、発表場所(愛知県名古屋市、名古屋工業大学)村上 洋、佐田 智子、山田真紗子、原田雅史、逆ミセル溶液中の水のダイナミクスの温度変化、第64回コロイドおよび界面化学討論会、2013年9月19日、発表場所(愛知県名古屋市、名古屋工業大学)

村上 洋、ナノ拘束水のテラヘルツダイナミクスの温度変化の異常性、日本物理学会2013 秋季大会、2013 年 9 月 26 日、発表場所(徳島県徳島市、徳島大学)

Hiroshi MURAKAMI, Terahertz spectroscopy of nanometer water droplet in a wide temperature range, 7th International Discussion Meetings on Relaxations in Complex systems, 2013 年 7月 24日、発表場所(スペイン、バルセロナ、カタルニア工科大学)

村上洋、ナノ拘束水のテラヘルツ分光の温度変化測定、日本物理学会第68回年次大会

2013年3月27日、発表場所(広島県東広島市、広島大学)

村上洋、佐田 智子、山田真紗子、原田 雅 史、逆ミセル内部のダイナミクスの温度変化、 日本物理学会 2012 秋季大会、2012 年 9 月 20 日、発表場所(神奈川県横浜市、横浜国立 大学)

Hiroshi Murakami, Terahertz Absorption Spectra of nanometer-confined water at low temperatures, 37th International Conference on Infrared, Millimeter and Terahertz Waves, 2012 年 9 月 25 日、発表場所(オーストラリア、ウーロンゴン、ウーロンゴン大学)

[図書](計 1 件)

H. Murakami, "Protein and Water Confined in Nanometer-Scale Reverse Micelles Studied by Near Infrared, Terahertz, and Ultrafast Visible Spectroscopies." Advances in Protein Chemistry and Structural Biology vol.93, Biomolecular Spectroscopy: Advances from Integrating Experiments and Theory (C.Christov, ed. Elsevier Oxford, 2013), pp. 183-212.

〔産業財産権〕

取得状況(計 2 件)

名称:テラヘルツ測定装置、時間波形取得

発明者:村上 洋

法及び検査装置

権利者:独立行政法人日本原子力研究開発機

構

種類:特許

番号:特許第5213167号

取得年月日: March 8, 2013

国内外の別: 国内

名称:テラヘルツ測定法

発明者:村上 洋

権利者:独立行政法人日本原子力研究開発機

構

種類:特許

番号:特許第5510851号

取得年月日: April 4, 2014

国内外の別: 国内

6 . 研究組織

(1)研究代表者

村上 洋 (MURAKAMI, Hiroshi) 独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子 力科学研究部門・量子ビーム応用研究セン ター・研究員

研究者番号:50291092