

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月20日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23654146

研究課題名（和文）人工鞭毛により駆動するベシクル

研究課題名（英文）Swimming vesicle driven by artificial flagella

研究代表者

今井 正幸（IMAI MASAYUKI）

東北大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：60251485

研究成果の概要（和文）：

生体系では自らを駆動する為に、外部からの化学エネルギーを様々な形で力学的エネルギーに変換している。そのような化学刺激を力学的エネルギーへと変換する機構について2つの観点から検討を行った。1つは、化学エネルギーをチューブ状ベシクルの螺旋運動へと転換し、そこから駆動力を得る機構、もう1つは化学刺激によって得られるベシクル膜の表面エネルギーの勾配を使って駆動する系である。前者については、脂肪酸分子集合体が螺旋運動を行なう条件を見出した。後者については化学刺激によって、ベシクルがその刺激の源に集まる chemophoresis (chemotaxis) 現象を見出した。

研究成果の概要（英文）：

In the living cellular systems, in order to propel the entities the chemical energy supplied through the medium is transformed to the mechanical energy using a various types of chemical engines. In this research we have investigated the mechanisms of prototypes of the chemical engines from the following two points of view; 1) screw motion of tubular vesicle triggered by chemical stimuli, and 2) asymmetry of the surface energy of vesicle triggered by chemical stimuli. For the former mechanism, we succeeded to reproduce the screw motion of fatty acid vesicles and for the latter mechanism, we found so-called chemophoresis (chemotaxis) of vesicles where neutral vesicles swim toward the source of the chemical stimulus.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：物理学・ソフトマターの物理

キーワード：生命現象の物理

1. 研究開始当初の背景

細菌の様に水中を動き回るマイクロメータースケールの物体を創成する事は古くからの流体力学の重要な問題として提議され、理論・実験の立場から研究がなされてきた。そのような系では非常に Reynolds 数が小さく、粘性による減衰が系を支配している為、マクロな系が用いている運動様式は役に立たな

い。そこで、低 Reynolds 系でも推進力が得られる様々な機構が提案されている。これらの機構はすべて、実際に生物が行なっている鞭毛運動や繊毛運動を基本にしているが、単純な分子集合体でそのような運動様式を再現した例は今までない。一方で、マランゴニ対流を利用した自己駆動する油滴など鞭毛運動とは異なる自己駆動系の研究も近年盛

んに研究をされている。これら2つの研究のはいずれも化学エネルギーを力学エネルギーに変換する点は同じであるが、推進力を得る方法が異なっている。

2. 研究の目的

両親媒性分子が自己集合化したベシクルは最も単純な細胞モデルであり、このベシクルを駆動させる事ができれば、現在様々な生物が持っている自己推進能力の物理的な起源の解明に繋がる。本研究では、ベシクルを駆動させる為の2つの機構 1) チューブ状分子集合体(ベシクル)に化学刺激(pH変化)を与えて、チューブ状構造かららせん構造へと変形させ、その時に観察される Screw運動による分子集合体の駆動、2) 球状のベシクルに化学刺激をあたえて、ベシクルの表面エネルギーの非対称性を作り出し、それによるベシクルの駆動、について実験的に検討を加え、最も単純な駆動系分子集合体の創成に結びつける。

3. 研究の方法

上記2つの観点から駆動する分子集合体の創成とその機構解明を目指した。具体的な研究手法を以下に示す。

(1) 脂肪酸であるオレイン酸は親水基としてカルボキシル基を、疎水基として一本のアルキル鎖をもつ両親媒性分子である。このオレイン酸は水中で分子集合体を形成するが、その分子集合体の構造は溶媒の pH によって大きく変化する。pH が低い場合、カルボキシル基は殆ど解離せず酸の状態で存在する為疎水性が強く水中では油滴状構造を作る。徐々に pH を上げていくと解離の割合が増加し、両親媒的な性質が増加するため、2分子膜をベースとしたベシクル状構造、さらにそれが長ネギ状にパックした多層チューブ状ミセル、球状ミセル構造へと転移する。これら一連の転移において、特定の pH でオレイン酸はらせん構造を持つチューブベシクルを形成することが報告されている。この構造変化はおもに親水基部の静電相互作用のより実効的なサイズと疎水部のアルキル鎖のコンフォメーションによる幾何学的サイズのバランスで分子のパッキングが決定されるからである。そこで、まず観察されるベシクル分子集合体の構造を pH の関数として調べ、螺旋状構造が形成される領域を特定した。次に、その領域および近傍の領域で溶液の pH をマイクロインジェクションにより変調させ、それによる局所的な構造変化が screw運動をもたらすかどうかを確認した。

(2) 我々は、中性リン脂質 DOPC からなるベシクルに 10 mM の NaOH 水溶液をマイクロインジェクションしたところ、ベシクルがマイクロピペットの先端 (NaOH 水溶液の

吹き出し口) に向かって移動する現象 (chemophoresis) を観察した。本萌芽研究では、この新しく見出された化学刺激により駆動されるベシクルの機構を、ベシクル膜の表面エネルギーの勾配によるものと考え、ベシクルの移動速度と溶媒中の化学物質の伝搬の関係、ベシクル膜と溶媒の親和性 (表面エネルギー) の関係、様々な化学種とベシクル駆動の関係を系統的に調べ、その結果を理論モデルと比較することにより、ベシクル駆動機構の解明を行なった。

4. 研究成果

上記2つの研究課題に対して以下の研究成果が得られた。

(1) 今回、オレイン酸の分子集合体を作製する為に、超音波でオレイン酸を緩衝溶液中に分散させ、その後自発的に自己集合化を待つ方法を開発した。その結果、我々の実験から観察されたオレイン酸分子集合体のらせん構造を図1に示す。を形成する pH は 8.12 から 8.18 までの非常に限られた領域であり、それより低い pH ではベシクル上の分子集合体がそれより高い pH では棒状の分子集合体が観察されることを見出した。



図1 pH8.14 の溶媒中で観察されたオレイン酸分子種剛体のらせん構造

このオレイン酸分子集合体に異なる pH をもつ水溶液をマイクロインジェクションし、局所的な pH 変化による分子変形が分子集合体を伝搬する事により Screw運動を誘起する事を試みた。

まず、最初にインジェクションにより、溶液の pH がどの程度変化するかを、蛍光色素のマイクロインジェクション実験とそれに基づく理論予測により評価した。塩基性溶液をマイクロインジェクションしたとき、溶液は拡散が支配する等方的な伝搬をおこない、溶液の pH はマイクロピペットから離れるに従って急激に減衰し、例えば 15 μm 離れた棒状の分子集合体の pH を変化させてらせん構造に転移させる為には pH が 12 以上の塩基性溶液をインジェクションする必要がある事が判明した。この様な予備実験により、

インジェクション条件を確定した後、棒状の分子集合体に pH 12 の塩基性溶液をマイクロインジェクションする実験を行なった。棒状分子集合体はインジェクションにより様々な変形を行なう事がわかり、その中には Screw 運動を示す分子集合体を観察することもできたが、マイクロインジェクションに伴うサンプル内の対流の為にベシクルの駆動を誘起している事を確認するには至らなかった。今後は、ベシクルをマイクロピペットで弱く吸引することにより固定した上で、マイクロインジェクションを行ない、化学刺激と screw 運動の定量的な関係の解明を行なうとともに、対流の影響を抑えられるサンプルセルの設計を行ない、化学刺激を分子変形を通して screw 運動に転換し、自己駆動するベシクルの開発に向けて研究を進める。

(2) pH=12 の NaOH 水溶液をマイクロインジェクションした時に観察されたベシクルの駆動の様子を図 2 に示す。NaOH 溶液をインジェクションするとともにベシクルはマイクロピペットの先端（溶液の吹き出し口）に向かって直線的に動き始める。動き始めは 1~2 $\mu\text{m/s}$ 程度の速度であるがマイクロピペットの先端に近づくにつれて加速し、先端付近では数十 $\mu\text{m/s}$ に達した。このベシクルが駆動されている途中でマイクロインジェクションを止めると、ベシクルの動きも止まり、再度マイクロインジェクションを開始すると、ベシクルもマイクロピペットの先端に向けて動き始める事から、このベシクルの駆動がマイクロインジェクションにより誘起されていることがわかる。

今回見出したベシクルの駆動が、従来観察さ

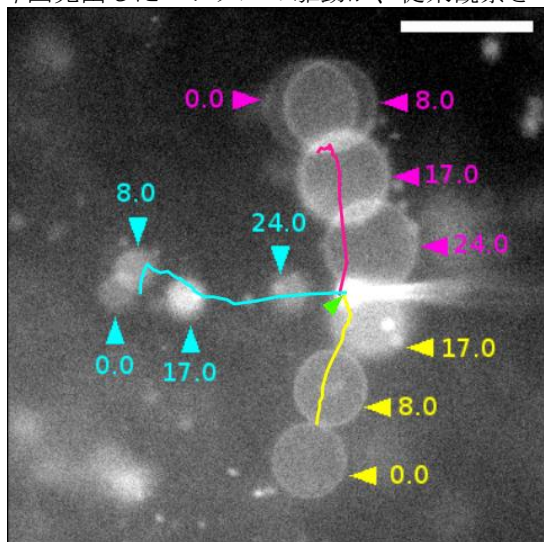


図 2 NaOH 溶液のマイクロインジェクションにより誘起されるベシクルの駆動現象。受注の数字は陰ジェク村を開始後の時間 (秒)。スケールバーは 30 μm 。

れているマランゴニ対流を用いたものかどうかについて、ベシクル内に閉じ込められた小ベシクルの動きによりに検討した。その結果、このベシクルの駆動はマランゴニ対流を伴わない新規な駆動ベシクル系である事がわかった。また、マイクロインジェクションに伴う、溶液の流れによりベシクルが駆動されていないことを、蛍光物質をマイクロインジェクションし、ピペット先端近傍での流れを可視化することにより確認した。そこで、このベシクルの駆動の機構として、化学刺激によって得られるベシクル膜の表面エネルギーの勾配を使って駆動するモデルを提案した。

膜の表面張力が pH に依存する事は、支持基盤上に作製した 2 分子膜に対する様々な pH 溶液の接触角を測定することにより評価した。また文献からもリン脂質膜の界面エネルギー密度が pH に依存する事が報告されている。この表面エネルギー密度の pH 依存性およびマイクロインジェクションした $[\text{OH}^-]$ の分布の広がりからベシクル表面での表面エネルギーの非対称性を評価し、このモデルが予想するベシクルの駆動速度を求めた。一方、実験からベシクルがピペットの先端に向かって駆動する速度を測定し、上記理論モデルと比較すると、よい一致が見られた。このような表面エネルギーの非対称性を駆動力としてベシクルが移動する事を見出したのは、我々が初めてである。

さらに、ベシクルが球形ではなく、余剰の面積をもつ場合、この表面エネルギーの非対称性によりベシクルにかかる力がベシクルの変形をもたらす事を明らかにした。図 3 にそのような変形の例を示す。この場合はベシクルは最初、内部にチューブ状構造を内包しているが、NaOH 溶液をマイクロインジェクションすると、内部のチューブ

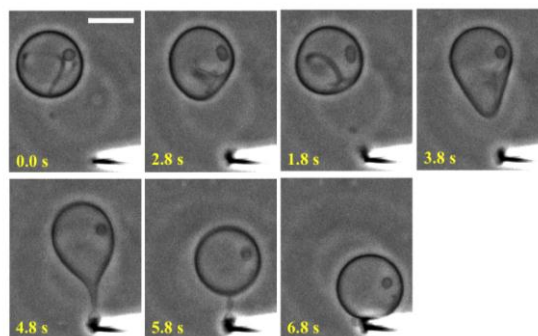


図 3 NaOH 水溶液のマイクロインジェクションにより観察されたベシクルの駆動 Chemophoresis とベシクルの変形。

状構造は次第に退化し、かわってベシクルのピペットに向かった先端部が突出しチューブが伸びる現象が確認された。この変形は、表面エネルギーの非対称に基づく力がベシクルを引っ張っていると考えると、その牽引力は 10 pN となり、ベシクルからチューブを突出させるのに必要な力と同程度であった。

さらに、表面エネルギーの非対称性がベシクルの駆動の原因であると考え、その化学物質は NaOH だけに限らない。実際、様々な物質をマイクロインジェクションしてベシクルの駆動の様子を測定すると、2 価のイオンでも強くベシクルを駆動する事がわかった。この化学種の効果は Hofmeister 列と呼ばれる、イオンの水和構造の安定性を表す化学種の系列とその傾向がよく一致する事から、化学種の水倭冠像の変調が表面エネルギーの変化をもたらす、その結果ベシクルが駆動されるようになると考えられる。

この様に、今回観測された chemophoresis は、表面エネルギーの非対称性がもたらすものと考え、実験結果をよく説明する事ができ、分子集合体がある化学物質に向かって移動する chemotaxis の原型モデルとしても非常に興味深いものである。

以上、本萌芽研究によって分子集合体を駆動する機構について道筋が見えるようになってきた。これらの成果については現在投稿準備中であり、さらにこの成果を基に研究様々にイオン性を変えたリン脂質でも行い、化学刺激が駆動するベシクルの全体像にを明らかにする予定である。

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)

[学会発表] (計 2 件)

1) 中性リン脂質ベシクルの化学駆動

兒玉篤治, 佐久間由香, 今井正幸, 川勝年洋
日本物理学会第 68 回年次大会 (口頭)

2013. 3. 28, 広島

2) Vesicle Dynamics Triggered by Chemical Stimuli, M. Imai, A. Kodama, Y. Sakuma and T. Kawakatsu

German-Japan Workshop "Soft Matter in Nonequilibrium" (invited)

2013. 2. 16, Kyoto, Japan

[その他]

ホームページ等

<http://www.bio.phys.tohoku.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今井 正幸 (IMAI MASAYUKI)

東北大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号 : 60251485