

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：12201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K14374

研究課題名(和文)ベシクル内・外部のこみあいによる細胞モデル変形への系統的アプローチ

研究課題名(英文)The approach of the statistical mechanics of vesicle dynamics by internal and external crowding

研究代表者

夏目 ゆうの (Natsume, Yuno)

宇都宮大学・共同教育学部・助教

研究者番号：10706831

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：エントロピックな相互作用である排除体積効果を示すモデルに、大小2種類のポリスチレンビーズを閉じ込めたベシクル(袋状脂質2分子膜)がある。我々は、大粒子が小粒子よりも高い体積分率で内包されたベシクル系において、小粒子のベシクル内膜近傍への偏在を得た。大粒子の数および体積分率が高い系においてはその統計集団としての効果のため、小粒子がエントロピックな作用である枯渇力を受けることが見積もられた。加えて、ビーズ内包型ベシクルを用いた自己再生産モデルを提案した。膜分子に類似した構造を持つ分子を加えることで、ビーズ内包型ベシクルは膜面積の増加と分裂を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞内部では生体高分子鎖や細胞小器官が高密度に閉じこめられており、それを緩和するために生じるエントロピックな相互作用が、種々の細胞機能の発現に寄与している。本系のようなモデルに生じる偏在や変形は、特定の物質にのみ生じる作用に依らないため、ベシクルと薬剤からなるドラッグデリバリーシステム構築や、ソフトマテリアルから成るマイクロデバイスの基盤理論などに対する基礎的な研究として、社会的意義を持つ。

研究成果の概要(英文)：Depletion interaction caused by entropic interaction in enclosed space has attracted much attention. Recently, in a lot of work, this effect was discussed crowding phenomena inside cells.

In our study, when two kinds of particles with different sizes were encapsulated into identical giant vesicles (GV), the small particles were localized near the inner membrane. We conclude that small particles can be more accessible to the inner membrane, under the characteristic condition, where not only small but large particles are also considered as statistical ensembles contributing to the depletion force.

We proposed a self-reproducing model by GVs encapsulating particles. The GV self-reproduced after the addition of molecules with structures similar to membrane molecules. It was suggested that in addition to the increase in the number of membrane molecules, growth and division of the vesicle have occurred due to nonspecific interactions such as the entropic effect of inner particles.

研究分野：細胞のこみあった構造を模したソフトマター複合体の秩序形成や膜変形の研究

キーワード：ソフトマターの物理 生物物理 ベシクル コロイド粒子 排除体積効果 物性実験 統計力学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

細胞内部では生体高分子鎖や細胞小器官が高密に閉じこめられており、それを緩和するために生じるエントロピックな相互作用が、種々の細胞機能の発現に寄与している。生体高分子が自由に動ける領域を増大するように、高分子自身や周囲の構造を変化させる、このエントロピックな作用は「排除体積効果」と呼ばれている [R. J. Ellis et al, *Nature*, **425**, 27–28 (2003)]。これに関する研究成果を、以下の2つにわけて報告する。

- (1) 大小2種粒子を内包したベシクルにおけるこみあいと自発的偏在
- (2) 内部のこみあいによるベシクルの肥大・分裂挙動

2. 研究の目的

- (1) 大小2種粒子を内包したベシクルにおけるこみあいと自発的偏在

排除体積効果を示すモデルに、大小2種類のポリスチレンビーズを閉じ込めたベシクル(袋状脂質2分子膜)がある[A. D. Dinsmore et al. *Phys. Rev. Lett.* **80**, 2(1998)]。この系では、大粒子に比べて小粒子が高密かつ多数内包されており、小粒子のエントロピーを増大するように大粒子のベシクル内膜への偏在が起こった。一方で、大粒子が小粒子よりも高い体積分率(ベシクル容積に占める粒子の総体積)で内包されたベシクル系は実現されておらず、細胞様膜内における排除体積効果について総合的な知見を得るには、この系の実現が望まれていた。本研究で我々は、大粒子を高密に内包したベシクルを作成し、その挙動を粒子集団の自由エネルギー変化に基づき解析した。

- (2) 内部のこみあいによるベシクルの肥大・分裂挙動

近年、特異的な分裂機構を持たずとも細胞が分裂する現象が報告されており、それと相補的に分裂するベシクル型モデル細胞をつくる試みが注目されている。非特異的な相互作用によるベシクルの分割として、高分子鎖[T. Okano et al., *ACS Synth Bio*, **7**(2), 739-747 (2018)] やポリスチレンビーズ [Y. Natsume et al, *Soft Matter*, **6**(21), 5359 (2010)] を閉じ込めたベシクルの分割がある。これらは、内包物がより大きな自由体積を得る形へと膜が変形する「排除体積効果(こみあい効果)」によると説明されている。膜面積が一定下で生じるため、分割後に元のベシクルよりも小さなベシクルが形成される。一方で、ベシクル内で膜分子を合成することで、ベシクルの肥大と分裂をともに生じさせる系がある。肥大と分裂がともに生じることが、細胞分裂の様な自己再生産する挙動において非常に重要である。そこで我々は、膜面積増加下における内包物のこみあいの効果を明らかにするために、膜面積の増加と内部のこみあいが協同する系を構築し、その分裂挙動を調べた。

3. 研究の方法

- (1) 大小2種粒子を内包したベシクルにおけるこみあいと自発的偏在

油中水滴遠心沈降法(図1)を用いて、ビーズを内包したリン脂質ベシクルを調製した。小粒子(直径0.1 μmの赤色蛍光ポリスチレンビーズ)は体積分率1.0 vol%、大粒子(直径1.0 μmの緑色蛍光ポリスチレンビーズ)は様々な体積分率で内包した。

- (2) 内部のこみあいによるベシクルの肥大・分裂挙動

油中水滴遠心沈降法(図1)を用いて、直径1 μmのポリスチレンビーズを内包したリン脂質ジヤイアントベシクルに、膜分子に類似した構造を持つ分子を加えることで膜変形を誘起した。

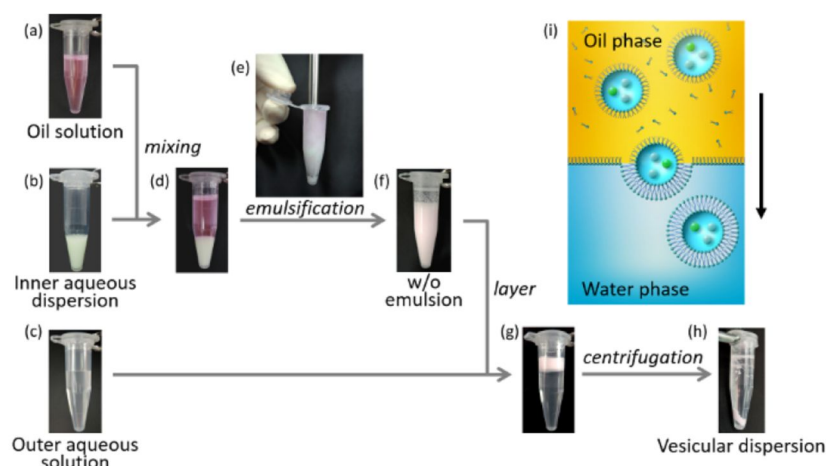


図1. 油中水滴遠心沈降法の流れ(a)-(b)と模式図(i) Y. Natsume et al, *JOVE*, **119**, e55282 (2017) から引用。

4. 研究成果

(1) 大小2種粒子を内包したベシクルにおけるこみあいと自発的偏在

直径 $0.1\ \mu\text{m}$ (赤色蛍光、図2(b)) と直径 $1.0\ \mu\text{m}$ (緑色蛍光図2(d)) をともに内包したベシクルにおいて、小粒子はベシクル内膜近傍に継時的に安定して偏在した(図2(c))。ベシクル内で粒子が占める体積分率は大粒子のほうが小粒子よりも大きかった。そこで、小粒子の偏在が生じたベシクルにおける、粒子数及び体積分率から偏在によって大粒子が受ける枯渴力(排除体積効果による力)を求めた。このとき、小粒子の偏在による自由体積の増加量は幾何的に見積もった。さらに、大粒子が偏在した場合を仮定し同様に小粒子が受ける枯渴力を求め、比較した。計算結果は、粒子が膜に最接近できる距離において、小粒子は大粒子と同程度に枯渴力を受けることを示した。これは、排除体積による小粒子の偏在を指示する結果と言える。

(2) 内部のこみあいによるベシクルの肥大・分裂挙動

直径 $1\ \mu\text{m}$ のポリスチレンビーズを内包したリン脂質ジャイアントベシクルに、膜分子に類似した構造を持つ分子を加えたところ、球状ベシクルが膜面積の増加を伴い、2つの球状ベシクルに分割した。空のベシクルでは、膜面積の増加は観察されたが、ベシクルが分割の様子は観察されなかった。

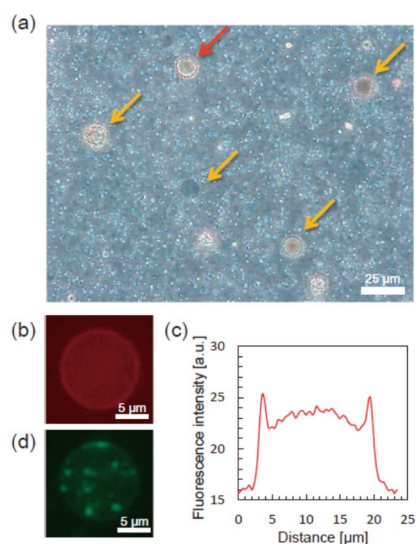


図2. (a) 油中水滴遠心沈降法を用いて作成したベシクル(黄色矢印)。白い粒子は直径 $1.0\ \mu\text{m}$ のポリスチレンビーズ。(b)図(a)の赤矢印のベシクルの蛍光顕微鏡像。(c)図(b)の蛍光強度分布。小粒子(赤色)がベシクル膜近傍に偏在している。(d)図(b)のベシクルの蛍光顕微鏡像。緑色粒子は大粒子。Y. Natsume et.al, *J. Phys. Soc. Jpn*, **88**, 03 3001 (2019) から引用。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Natsume Yuno, Komori Yoko, Itoh Kazumi, Kurihara Kensuke	4. 巻 43
2. 論文標題 Spontaneous localization of two kinds of hard spheres in giant vesicles	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Transactions of the Materials Research Society of Japan	6. 最初と最後の頁 333 ~ 338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14723/tmrsj.43.333	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Natsume Yuno, Noguchi Erika, Kurihara Kensuke	4. 巻 88
2. 論文標題 Spontaneous Localization of Particles in Giant Vesicles Owing to Depletion Force	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of the Physical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 033001-1 ~ 5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7566/JPSJ.88.033001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Itoga Hibiki, Morikawa Ryota, Ueta Tsuyoshi, Miyakawa Takeshi, Natsume Yuno, Takasu Masako	4. 巻 99
2. 論文標題 Effect of particles with repulsive interactions enclosed in both rigid spherical shells and flexible fluid vesicles studied by Monte Carlo simulation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 042418-1 ~ 12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevE.99.042418	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Y. Natsume, H. Wen, Z. Tong, K. Itoh, L. Sheng, K. Kurihara	4. 巻 119
2. 論文標題 Preparation of giant vesicles encapsulating microspheres by centrifugation of a water-in-oil emulsion	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 55282
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3791/55282	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 夏目ゆうの
2. 発表標題 A study of crowding effect in a cell model using a statistical mechanics approach
3. 学会等名 日本生物物理学会第57回年次大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 夏目 ゆうの, 松尾 宗征, 栗原 顕輔
2. 発表標題 内部のこみあいによるベシクルの肥大・分裂挙動
3. 学会等名 日本物理学会第75回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 夏目ゆうの、栗原顕輔
2. 発表標題 コロイド粒子を内包したベシクルにおける内部構造と膜変形
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会11.0
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 夏目ゆうの、温欣宜、伊藤一実、栗原顕輔
2. 発表標題 大小2種の球状コロイド粒子を内包したベシクルにおける自発的な小粒子偏在
3. 学会等名 日本物理学会第72回年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Y. Natsume and K. Kurihara
2. 発表標題 The study of phase separation between small and large microspheres in vesicles for excluded volume effect by osmotic equilibrium model
3. 学会等名 IUMRS-ICAM 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 夏目ゆうの、小森陽子、栗原顕輔
2. 発表標題 大小2種粒子を内包したベシクルにおける混みあいと自発的偏在
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会10.0
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yuno Natsume, Yoko Komori, Kazumi Itoh and Kensuke Kurihara
2. 発表標題 Spontaneous Localization of Two Kinds of hard spheres in Vesicles
3. 学会等名 International Symposium on Fluctuation and Structure out of Equilibrium 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------