

令和元年6月24日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2018

課題番号：26707020

研究課題名(和文) 駆動するバイオ・ソフトマター - シンプルな界面現象からのアプローチ -

研究課題名(英文) Active bio & soft matters studied through interface-induced phenomena

研究代表者

市川 正敏 (Ichikawa, Masatoshi)

京都大学・理学研究科・講師

研究者番号：40403919

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,000,000円

研究成果の概要(和文)：ソフトマターやバイオマターにおける非平衡な界面が誘起するマクロな運動現象を対象に研究を行い、様々なモデル実験系を創り出すと共に、その駆動メカニズムを明らかにした。特に以下の成果が得られた。光熱変換で誘起したマランゴニ効果で駆動される液滴の直進・回転運動の運動モード分岐。脂質一分子膜でコートした油中水滴の中で駆動するアクトミオシンの自発的構造形成とその構造がもたらす界面の非熱的ゆらぎ。油中水滴界面を座屈変形させるコルテックスの再構成。コヒーレントレゾナンス現象(ノイズとの共鳴)によるリミットサイクル振動の誘起。遊泳単細胞微生物テトラヒメナが壁に集積する現象のメカニズム解明。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ソフトマテリアルやバイオマテリアルを用いて生物の細胞の様に自発的にマクロな運動を行うモデル系を創り出し、その運動メカニズムを研究しました。得られた成果は、界面科学やソフトマター物理の発展に寄与し、細胞運動を物理学的に理解する事に資するほか、ナノ・マイクロマシンの動力源や動作原理の基礎研究としての意義を持ちます。本研究でも、このような自発運動モデルの生物への応用として、水棲微生物である繊毛虫が栄養摂取に有利な固体壁面を好む生態の物理的・流体力学的なメカニズムを明らかにしました。この知見は湖や川などの淡水環境の生態系をうまく制御する術の一つとして役立っていきます。

研究成果の概要(英文)：We conducted research on macroscopic transfer phenomena induced by nonequilibrium interfaces in soft-matters and bio-matters, and created various model experimental systems and clarified their driving mechanisms. In particular, the following results have been obtained: motion bifurcation between straight and rotational motions of droplets driven by thermal Marangoni effect under light-to-heat conversion; spontaneous structure formation of actomyosin emerged inside a water-in-oil droplet coated with a lipid monolayer to induce non-thermal fluctuation of the interface; cortex reconstruction that causes buckling deformation of the interface; induction of limit cycle oscillations by coherent resonance; and elucidation of the accumulation mechanism of swimming unicellular microorganisms Tetrahymena near a wall.

研究分野：ソフトマター物理学

キーワード：アクティブマター マランゴニ効果 アクトミオシン 人工細胞 リミットサイクル 繊毛虫

1. 研究開始当初の背景

自発的な運動という生物運動が思いつく。花粉内顆粒の運動を発見した Robert Brown は、これが生命の能動性の起源ではないかと直感した。後にこれは生命では無く、平衡条件下における分子の熱運動の顕れとして、A. Einstein によって定式化された。この Brown 運動の理論は、ゆらぎと拡散、摩擦と粘性、といったミクロとマクロな階層を結び付けるメソスコピックな物理法則として、現在でも輝きを失っていない。それから 100 年経った近年、今度は「真に自発的に動く粒子・物体」の運動がにわかに注目されている。熱揺らぎなどの外的要因によって運動するのではなく、内部の反応や散逸によって動くそれらは、アクティブマターとも呼ばれている。現在、100 年前と同様に、その多種多様なアクティブマター個々の興味深い性質についての実験的研究と共に、普遍則を探る理論的な試みが精力的に展開されており、現代物理の大きな課題の一つになっている。

2. 研究の目的

自己駆動するソフトマターやバイオマターから成る新奇な再構成系の実現と、その動的性質の解明を通じて、ミクロなレベルでの非平衡なゆらぎや力発生がマクロな秩序運動を引き起こす、基本的な枠組みを導き出すことを目的に研究を行った。

3. 研究の方法

マイクロメートルからセンチメートルのスケールで示される流体や柔らかな物体の運動をリアルタイム計測するために、光学顕微鏡やマクロレンズを付けたビデオカメラを用いて物体の運動を取得。画像解析からその運動や変化を解析することで、自己駆動物体が見せる自律的な運動様相の変化を系統的に計測する。蛍光プローブを入れた分光観察や粒子対流測定などの実験測定、理論との比較、結果を説明するシンプルな数理モデルを構築することで、運動様相変化のメカニズムの解明にあたった。

具体的には、研究開始時に設定した以下の 3 つの系の実験から開始し、その結果を受けて研究を進展させた。

- 1) 光照射によるマクロ物体の運動とモード分岐
- 2) アメーバ細胞とアクトミオシン小胞の両面からのブレブ運動の解明
- 3) 実空間ミクロ limit cycle 運動の熱ゆらぎによる確率共鳴駆動

上記の 3 つのテーマは順に、運動モード転移する自己駆動物体、細胞サイズの運動小胞、非線形振動素子、となっており、それぞれの階層を仮に生物に当てはめれば、個体、細胞、運動分子に対応するモデルとなっている。

4. 研究成果

1) 自己駆動液滴の運動モード分岐の解明

液体の表面に表面張力の勾配を発生させると、マランゴニ対流が誘起される。球の形をとる液滴などの閉じた境界条件では、この対流によって液滴自身が並進運動を行う。図 1 (a) の様に、液滴表面の張力勾配の維持にレーザー光による局所加熱を利用した。レーザー出力を連続的に変化させることで、勾配の大きさを制御できる実験系を作った。この系では空間的に固定したレーザー光の照射点に対して液滴が引き寄せられるので、液滴半径方向に沿った運動が安定な状態(図 1 (b) 中段)から液滴の淵に沿った接線方向の運動(図 1 (b) 下段)への転移を、精度良く観察する事が出来た。推進力が大きくなることで、直進運動を誘起するマランゴニ対流パターンから、回転運動に対応する対流パターンへ転移する事が示され、先行研究の理論が実証された[]。

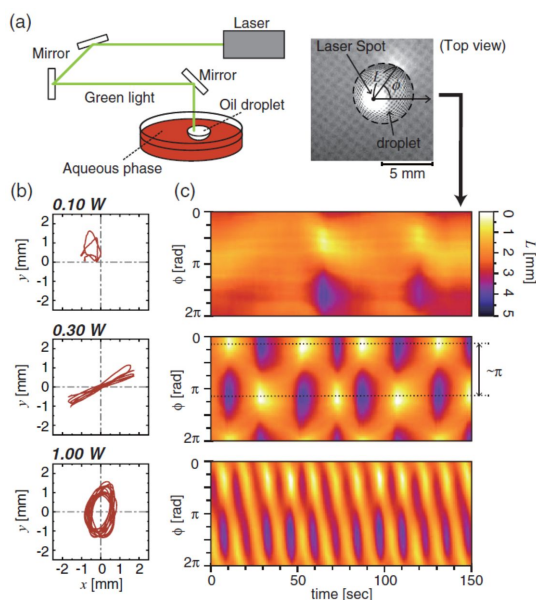


図 1. レーザー光によって遠隔加熱された液滴。液滴は光からは運動量をもらっておらず、液滴自身の界面に発生した張力勾配によって動くため、自己駆動液滴と同じ要件を備える。(a)実験の模式図。(b)重心位置の時間変化。原点は加熱位置。(c)液滴位置の時空間プロット。運動の対称性が変わった事が目で見える。論文[]より。

ついで我々は、水中を遊泳する球形液滴や[]、外部揺動によって運動するダンベル形状物体の運動モード転移のメカニズムを調べた[]。

2) 遊泳微生物の行動原理の解明

上記の系を検討する一方で、外部溶液を見た場合に前出の液滴と相似の対流パターンを示す微生物に着目し、同様の運動モード分岐が見られると期待して実験を行った。この単細胞の微生物はテトラヒメナと呼ばれる淡水域に生息する繊毛虫である。テトラヒメナは体表面に生えた多数の繊毛という毛を駆動する事で水中を遊泳する。テトラヒメナが遊泳しているとき、特に固体壁面で回転運動を示すので、この動きに着目した。粒子流動解析や蛍光顕微鏡による繊毛の直接観察などを通じて、運動モードとテトラヒメナの遊泳挙動の詳細を突き合せたところ、壁付近の運動は前出に類する運動モード転移ではなく、繊毛が持つ力学応答に由来する事を発見した。これを流体中の自己駆動物体として解釈すると、壁に接触した領域のみの推進力が抑制された自己遊泳モデルに対応する。ライブイメージング画像から解析された推進力の抑制領域と微生物形状、それを当てはめた時に発生するトルクバランスを検討すると、実験と流体モデルによる数値シミュレーションとが非常に良い一致を見せた。これにより、壁付近でテトラヒメナが見せるスライド運動が、1本1本の繊毛駆動の壁接触抑制である事を解明した[]。テトラヒメナは壁付近をスライド運動してそこに有る栄養を摂取するという生態を持っている。結果を照らし合わせると、繊毛という駆動機械の1本1本に内在する力学的な応答反応によって、神経系や走化性などを用いずに栄養が多い場所に自動的に居つくという生態機能が実現されていることが分かる。生物進化の最適化の一端を示す興味深い示唆となっている。

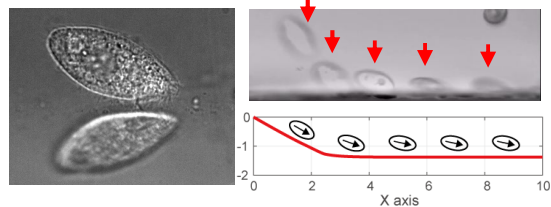


図2 繊毛虫テトラヒメナの壁付近の遊泳。(左)側面からの観察。下に見える細胞体はガラスに反射した鏡像。(右上)壁に入射する様子のコマ送り像を重ねたもの。矢印の先にテトラヒメナ。(右下)実験を再現した流体シミュレーション[]。

更に、上記の現象の普遍性を確認するために、類似の繊毛虫であるゾウリムシも調べ、同じ現象が起きている事を見出した[]。また、別種の微生物の運動や集団運動に関して検討した結果をそれぞれ報告した[]。

以上の様に、様々な流体系で自己駆動する物体の運動様相の変化を調べた。基本の遊泳モデルに対流モードの分岐や生物的な特徴などを付加する事で、それぞれの運動の特徴を良く説明できること。運動様相に加えて、微生物の生態を含めても流体力学的・物理学的に整合性がある事を示し、運動変化の機構が生き物にうまく利用されている事を明らかにした。

3) 細胞サイズ運動液滴の実現と動的物性解析

細胞を動かす駆動力発生機構の一つとして、アクチン繊維とミオシン分子からなる生体分子モーターが有名である。それらを用いた最も原始的な細胞運動様式として、プレブ運動という湧き出し運動が知られている。しかし、その原始的なプレブ運動が生まれるミニマルな要素や創発性。言い換えると、不規則でミクロな力発生が細胞レベルの運動へと導かれる、その原始的な機構が良く分かっていない。それを実空間モデルで調べ、自己駆動物体の枠組みで捉える為に、細胞サイズの膜空間にアクチンとミオシン、ATP等の溶液を封入した系をつくり、駆動される膜界面の物性を調べた[]。

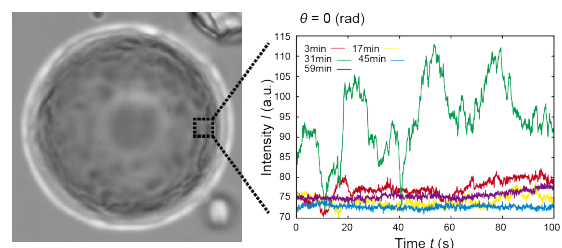


図3 液滴界面に誘起されたなみうち。左の写真の濃淡が界面の凸凹に対応しており、それをプロットした右図の3分始点の時系列グラフは他の時間帯に比べて激しいなみうちが繰り返した事を示している[]。

液滴の中に入れられたアクチンとミオシンは、最初は一樣であったものが徐々に自己組織化していき、数十分程で図3にあるような膜界面の激しいゆらぎを引き起こした。膜とアクチンとの接着性の相互作用を抑制した対照実験では、アクチンとミオシンの自己組織化は見られるものの、熱ゆらぎを超えた激しい膜のゆらぎは観察されなかったため、膜界面がアクチン・ミオシンに牽引される事が重要だと分かる。このゆらぎの時間スペクトル等を計測すると、時間方向にはポアソンプロセスで牽引イベントが起きており確率的に一樣だが、牽引中心の対称性が破れる事があり、その際にはゆらぎの振幅なども非対称性が生じる事が明らかになった[]。

また、同じ実験系で長時間の変化の方に着目すると、膜界面にアクチンとミオシンから成る殻構造が形成され、それが徐々に座屈変形していった。弾性変形エネルギーの釣り合いの式をたて、変形の空間周波数の分布などから、殻の厚さや収縮力比を導き出した[]。プレブ運動ではこの殻の収縮力が運動機構の中心だと言われており、その物性パラメータを得ることができた。

一連の研究では、細胞サイズの空間に生体分子を高濃度で封入する手法の技術開発や、そこにかかる現象のメカニズムの解明も行った[]。

4) 実空間リミットサイクル振動のコヒーレントレゾナンス駆動

生体分子モーターは熱ゆらぎのみから仕事を取り出していないが、熱ゆらぎを利用していると理解されている。これをヒントに、熱ゆらぎの様な等方的な揺動を利用して、規則運動などの仕事を取り出す系の創出と、その実証を目指した。

実験は図5にあるような観察系で実施した。油中に浮遊水滴を形成し、その水滴を対面させたマイクロニードルで挟む。波形発生器で直流成分とノイズ成分を任意の比率で加算し、出力した電圧信号をバイポーラ電源によって昇圧して、ニードル間に印加する。水滴が電気・誘電泳動を起こす条件付近に昇圧と電極間距離を調整しておき、電圧とノイズ強度を振って、水滴の運動をハイスピードマイクروسコープで取得し、水滴の運動を画像解析から求めた。電源等の機器の周波数特性も含んだノイズスペクトルは、水滴運動の特徴的な周波数領域ではガウシアンホワイトノイズであった。

図6に示したように、ノイズが0では運動も弱く規則的な振動運動も起きないが、ノイズが徐々に大きくなるにつれて水滴が電極間を往復運動するという規則運動の強度が強くなり、更に大きくなると運動はするが不規則性が大きくなり振動成分は逆に小さくなるという結果が得られた。この挙動により、リミットサイクル振動子にノイズ的な揺動が加えられた際に、振動への分岐点に達しない条件でも共鳴的にリミットサイクル振動が誘起されるコヒーレントレゾナンス現象であることが実証された[]。コヒーレントレゾナンスは確率共鳴現象の仲間として研究されてきたもので、ノイズとリミットサイクル振動子との共鳴現象がそう呼ばれている。ランダムなゆらぎによって規則運動領域が拡張されるものであり、このことはマイクロ・ナノメートル領域のアクチュエータなどの駆動機械の補助システムとして有用である事を示している。

また、光によって軌道角運動量を与える事でコロイド粒子間にリミットサイクル振動が起きる系の異方的多体相互作用を検討した研究や[]、ロッド形状のコロイド粒子が引き起こす特異な界面集積構造の研究も行った[]。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計17件)

Y. Nishigami, T. Ohmura, A. Taniguchi, S. Nonaka, J. Manabe, T. Ishikawa, M. Ichikawa,

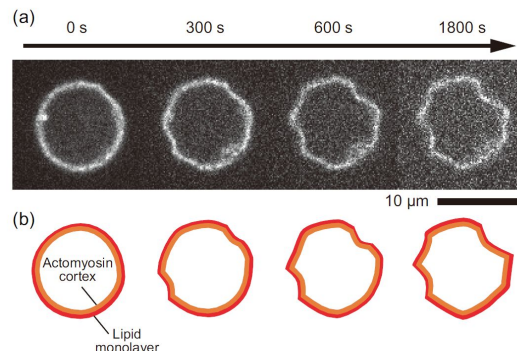


図4 . 殻の座屈変形。界面のゆらぎ運動が収まった時間帯から更に30分程度掛けて、準静的に見える変形が起きた[]。

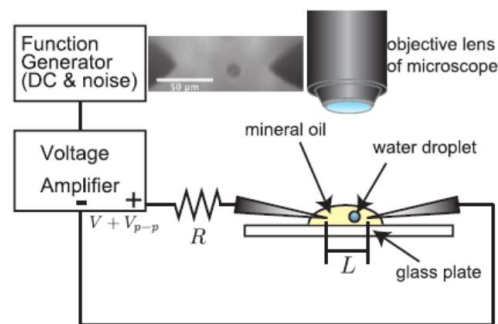


図5 . 電極間液滴振動の実験の模式図。定常電場にガウスの電場ノイズを加算する系をつくり、その電圧がかかったマイクロニードル間に挟みこんだ液滴の並進運動を観察した[]。

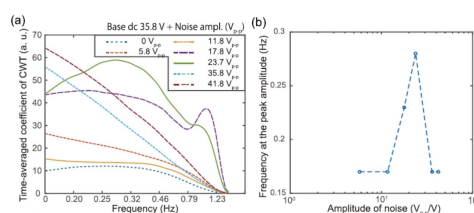


図6 . 運動の解析からコヒーレントレゾナンスの様子を示したグラフ。(a) ノイズ強度に応じた、液滴振動をウェーブレット変換したものの周波数スペクトル。(b) ノイズ比と特徴的な振動モードの強度の関係をプロットしたものの。あるノイズ強度の領域で規則運動が共鳴的に強く出ている事を示している[]。

"Influence of cellular shape on sliding behavior of ciliates" *Comm. & Integ. Biol.* 11:4, e1506666/1-5 (2018).

M. Suga, S. Suda, M. Ichikawa, and Y. Kimura, "Self-propelled motion switching in nematic liquid crystal droplets in aqueous surfactant solutions" *Phys. Rev. E* 97, 062703/1-8 (2018).

T. Ohmura, Y. Nishigami, A. Taniguchi, S. Nonaka, J. Manabe, T. Ishikawa, M. Ichikawa, "Simple mechanosense and response of cilia motion reveal the intrinsic habits of ciliates" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 115, 3231-3236 (2018).

R. Yanase, Y. Nishigami, M. Ichikawa, T. Yoshihisa and S. Sonobe, "The neck deformation of *Lacrymaria olor* depending upon cell states" *J. Protistology* 51: e001/1-6 (2018).

H. Ito, M. Makuta, Y. Nishigami, M. Ichikawa, "Active Materials Integrated with Actomyosin" *J. Phys. Soc. Jpn.*, 86, 101001/1-6 (2017).

K. Beppu, Z. Izri, J. Gohya, K. Eto, M. Ichikawa and Y. T. Maeda, "Geometry-driven collective ordering of bacterial vortices" *Soft Matter*, 13, 5038-5043 (2017).

T. Kurimura, Y. Takenaka, S. Kidoaki, and M. Ichikawa, "Fabrication of Gold Microwires by Drying Gold Nanorods Suspensions" *Adv. Mater. Interfaces* 4, 1601125/1-5 (2017).

T. Kurimura and M. Ichikawa, "Noise-supported actuator: Coherent resonance in the oscillations of a micrometersized object under a direct current-voltage" *Appl. Phys. Lett.* 108, 144101/1-4 (2016).

S. F. Shimobayashi, M. Ichikawa and T. Taniguchi, "Direct observations of transition dynamics from macro- to micro-phase separation in asymmetric lipid bilayers induced by externally added glycolipids" *Eurphys. Lett.* 113, 56005/1-6 (2016).

S. F. Shimobayashi, M. Hishida, T. Kurimura and M. Ichikawa, "Nanoscale hydration dynamics of DNA-lipid blend dry films: DNA-size dependency" *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 18, 31664-31669 (2016).

Y. Nishigami, H. Ito, S. Sonobe & M. Ichikawa, "Non-periodic oscillatory deformation of an actomyosin microdroplet encapsulated within a lipid interface" *Sci. Rep.* 6, 18964/1-11 (2016).

H. Ito, Y. Nishigami, S. Sonobe & M. Ichikawa, "Wrinkling of a spherical lipid interface induced by actomyosin cortex" *Phys. Rev. E* 92, 062711/1-8 (2015).

S. Okubo, S. Shibata, Y. S. Kawamura, M. Ichikawa, and Y. Kimura, "Dynamic clustering of driven colloidal particles on a circular path" *Phys. Rev. E* 92, 032303/1-11 (2015).

T. Hamada, R. Fujimoto, S. F. Shimobayashi, M. Ichikawa and M. Takagi, "Molecular behavior of DNA in a cell-sized compartment coated by lipids" *Phys. Rev. E* 91, 062717/1-5 (2015).

Y. Kubo, S. Inagaki, M. Ichikawa, and K. Yoshikawa, "Mode bifurcation of a bouncing dumbbell with chirality" *Phys. Rev. E* 91, 052905/1-9 (2015).

S. F. Shimobayashi and M. Ichikawa, "Emergence of DNA-Encapsulating Liposomes from a DNA-Lipid Blend Film" *J. Phys. Chem. B* 118, 10688-10694 (2014).

F. Takabatake, K. Yoshikawa, and M. Ichikawa, "Communication: Mode bifurcation of droplet motion under stationary laser irradiation" *J. Chem. Phys.* 141, 051103 (2014).

〔学会発表〕(計 102 件)

2018年度 17件

(うち 招待講演 2件 / 国際学会 3件)

2017年度 27件

(うち 招待講演 3件 / 国際学会 6件)

2016年度 22件

(うち 招待講演 2件 / 国際学会 4件)

2015年度 29件

(うち 招待講演 3件 / 国際学会 20件)

2014年度 7件

(うち 招待講演 0件 / 国際学会 2件)

〔図書〕(計 2 件)

栗村朋、市川正敏、瀧ノ上正浩, "静電位によって駆動される微小水滴" 材料表面の親水・親油の評価と制御設計, 第5章/第6節 (テクノシステム 2016).

市川正敏, 原生生物をより深く理解するための物理, 原生生物フロンティア, 第2章 (化学同人 2014).

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 1 件)

名称: 耐熱性が向上した易熱変性物質内包リポソーム、及び複数のリポソームを内包する保護カプセル

発明者: 市川正敏、吉川研一、他

権利者: 京都大学、同志社大学、ピカソ美化学

番号：201310430679.3

取得年：2018年

国内外の別：国外

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.chem.scphys.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：西上幸範

ローマ字氏名：Yukinori Nishigami

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。