

生体ソフトマターの非平衡力学計測

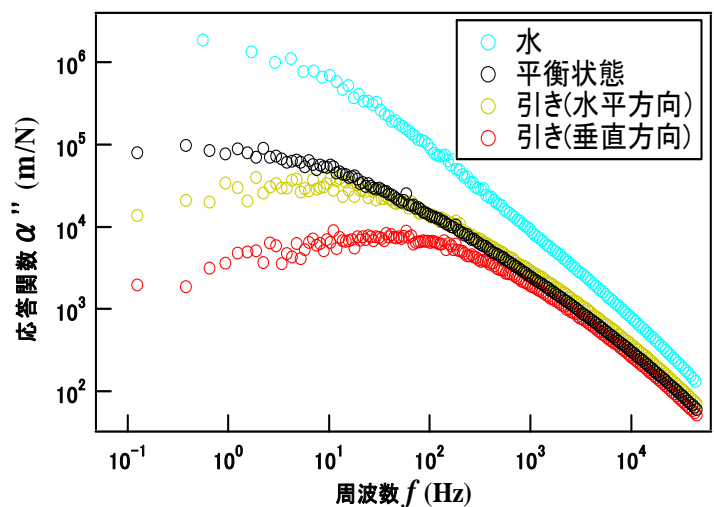
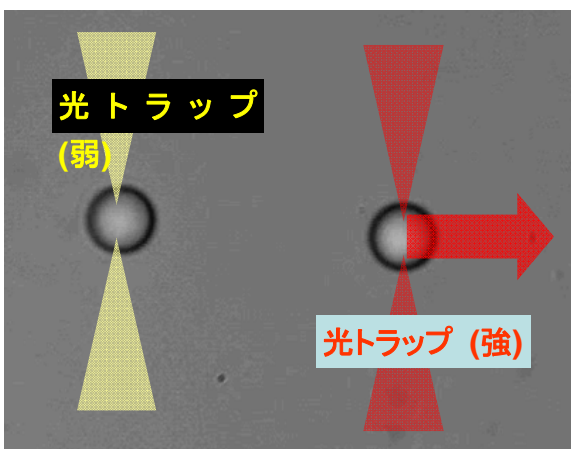
九州大学 高等研究院 特別准教授 水野 大介

真核細胞の内部は細胞骨格と呼ばれる繊維状たんぱく質（アクチン、微小管、中間径フィラメント）からなるネットワークが張り巡らされており、この構造が各細胞に固有の形状や力学的性質を決定している。細胞骨格は一般にきわめてダイナミックな構造体であり、細胞内で重合による形成と脱重合による破壊を繰り返し、さらにモーターたんぱく質により生成された力を伝達することで細胞の移動・変形運動や細胞増殖、分化など多様な細胞の機能に重要な役割を果たしている。このような強い非平衡環境下におかれた生体物質（ソフトマター）は、周囲の媒質や自分自身の非平衡度に依存してその性質を大きく変化させる。本研究では試料の非平衡度を制御しつつその力学的性質を計測することで、その詳細なメカニズムを解明する。

1. Vimentin ネットワークのマイクロレオロジー

Vimentin は、中間径フィラメントと呼ばれる細胞骨格を形成する蛋白質の一つであり、主に間葉系細胞中に大量に存在しているが、その力学的性質や生理的役割については不明な部分が多い。そこで我々は、マイクロレオロジーと呼ばれる手法(コロイド粒子の熱揺らぎから周囲の媒質の粘弾性を求める)を利用して、vimentin ネットワークの力学的性質を広帯域計測 ($10^{-1} - 10^5$ Hz) した。

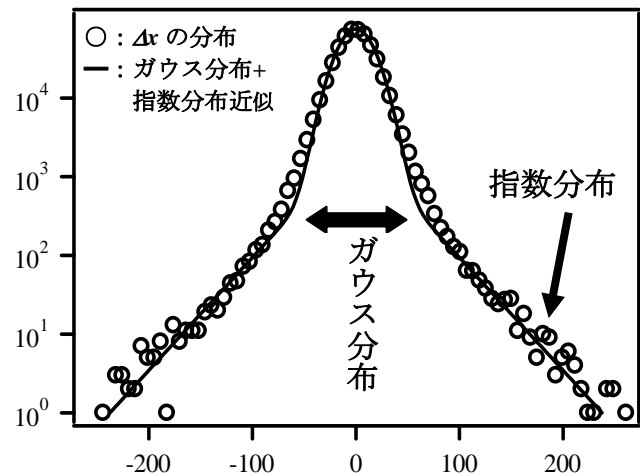
下図は、光トラップにより媒質中のコロイド粒子に力を加え (92pN)、vimentin ネットワークに局所的な応力を印加しつつ、 $14\mu\text{m}$ 離れた別のコロイド粒子の応答性(熱揺らぎ)を「レーザーインターフェロメトリー法」により広帯域計測した結果である。vimentin ネットワークは印加された応力に強く依存して非線形かつ異方的な力学応答を示すことが分かった。



2. 生きた細胞骨格の非平衡揺らぎ

本研究では、細胞骨格の構成要素のひとつであるアクチンフィラメントの架橋ネットワークと、モータータンパク質であるミオシン凝集体からなる簡単な *in vitro* モデル(非平衡ゲル)を作製し細胞骨格内部における非平衡状態を再現させた。このゲル中に分散させたコロイド粒子の非平衡揺らぎの顕微鏡観察を行った。

観測した非平衡揺らぎの統計的性質を明らかにするために、 Δt 間のコロイド粒子の変位 $\langle \Delta x \rangle$ を計測し、その分布 (van Hove 自己相関関数) を求めた (下図)。得られた分布の中心付近はガウス関数、裾の部分は指数関数によりあてはめることができた。フィッティングに使用したパラメータの時間依存性を求めたところ、時間 Δt とともにガウス関数の半値幅は大きくなる一方、指数分布の特徴的な減衰距離には顕著な時間変化は見られなかった。裾の部分の指数依存性はミオシンがアクチンフィラメント上を走る距離 (run length) の統計的性質を反映しており、アクチンからのミオシンの脱離がポアソン過程であることを示唆している。



3. ビデオホログラフィックマイクロスコープを用いた 3次元粒子位置計測

細胞骨格は外部から加えられた力もしくは内部で自ら生成した力学刺激に対して生理学的に応答するが、そのメカニズムを理解するには、まず応力の存在下における細胞骨格の微視的な力学応答を調べる必要がある。

生体を始めとする軟らかい媒質の微視的な力学応答は、試料中に分散させたコロイド粒子の熱運動から求めることができ、マイクロレオロジーと呼ばれる。特に異方性のある媒質中では、コロイド粒子の熱運動はそれぞれの方向の力学特性を反映する。そこで本研究では、細胞内部に最も多量に存在するアクチンからなる細胞骨格ゲルにずり応力を加えつつ、ビデオホログラフィックマイクロスコープを用いてゲル中に分散させたコロイド粒子の3次元位置情報を得た。ホログラフィックマイクロスコープでは、コロイド粒子にコリメートされたレーザーを照射することで透過光および散乱光からなる干渉縞を作り、そのパターンを解析することでコロイド粒子の3次元位置を求める。

従来から応力が加えられた方向に対する細胞骨格ゲルの力学応答は調べられており、非線形に応答して硬化することがマクロレオメータを用いて確認されてきた。本手法を用いれば、印加したずり応力方向に依存して細胞骨格の力学物性に異方性が生じているか調べることができると期待される。