

非平衡トラップ場が作る μm スケール非平衡開放系： リン脂質チューブ揺動運動の数理モデル

原田 崇広 (Takahiro HARADA)

京都大学大学院理学研究科 物理学・宇宙物理学専攻 吉川研究室

Department of Physics, Faculty of Science, Kyoto University

概要

μm サイズのリン脂質のチューブ状構造物はある条件で近赤外レーザー光線を照射することにより自発的な揺動運動を行う。ビームを集光レンズに入射する際の角度をわずかにずらすことによって、ビームが2本に分裂した状態をつくることができるが、我々はこの条件でリン脂質チューブをトラップするとチューブが光軸のまわりで揺動運動するという現象を見出した[1]。この振動現象は μm スケールの非平衡開放系における時間並進対称性の破れの良い例になっていると考えられる。本稿ではこの実験系のあらましを紹介し、振動のメカニズムを考察し、現象を再現する最も簡単なモデルの構成を述べる。

はじめに

熱平衡条件下にある系ではあらゆる揺らぎは減衰し、時間・空間的に均一な状態へと向かって緩和していくが、外界と物質・エネルギーのやり取りをし、平衡から遠く隔たった系では特定の波長の微小な揺らぎが不安定化し、系にマクロな秩序が生まれることがある。このようにして生み出されたマクロな時空間構造は散逸構造と呼ばれ、平衡条件下で出現するミクロな構造とは区別される[2]。生命現象に目を向ければ散逸構造の例は至るところに見受けられる。心臓の拍動[3]・呼吸[4]・概日性周期[5]などのように個体レベルにおいて時間並進対称性を破った運動（振動）、表皮の模様[6]・形態形成[7]などのように空間並進対称性を破った構造（チューリングパターン）、あるいは細胞のレベルにおいても細胞周期[8]・神経細胞の発火[9]・細胞内代謝のネットワーク[10]など、枚挙に暇がない。

このように多彩でダイナミックな生命現象を理解したいという動機からも非平衡開放系の自己組織化現象について理論的・実験的研究が過去数十年にわたって行われてきた。ここで注目しなければならないのは、実験的研究については多くが cm スケール以上の系について行われてきており、 mm ～サブ mm の系についても最近になっていくつかの報告が出始めている段階であるということである。しかし生命

の最小単位である細胞内部のメカニズムを考えようとするとき、そのようにマクロな系と μm ～サブ μm のメソスケールの系とでは性質が大きく異なる可能性がある。例えば、

- ・体積に対する表面積の効果が非常に大きくなる
- ・細胞のような液層中では特に、熱揺らぎの効果が顕在化してくる

というような効果が考えられる。実際非平衡の実験系としてポピュラーなBZ反応系では、システムサイズに依存して系の振舞が定性的に変化するという結果が得られてきている。相原ら[11]は陽イオン交換樹脂のビーズに触媒である鉄錯イオンを吸着させたものを反応溶液中に浸し、ビーズ直径を変化させた場合の反応系の振舞を系統的に調べた。その結果ビーズ径が小さくなると進行波が見られなくなって一様な発火にスイッチすることや、さらに小さなビーズ径では反応が停止するということを明らかにしている。また一野らは油の中に浮かべたBZ反応液滴のサイズを変化させることで反応の様子を解析している。それによると液滴のサイズが小さくなると振動反応の周期が速くなり、さらに小さくなると反応が停止してしまうという結果を得てきている[12]。このようにシステムサイズの低下に伴って系の振舞が定性的に変化するということが実験的にも示唆されてきているが、これらの研究でもサブmmのスケールまでしか見られていない。

最近になって我々のグループでは集光したレーザー光線と誘電体物質との相互作用によって μm スケールにおいても自律的振動現象が起こるということを見出し、真山らはポリエチレングリコールを含む溶媒中に分散させた長鎖DNA分子を近赤外集光レーザー光線によりトラップすることで、DNA分子が自律的に凝縮-脱凝縮を繰り返すという現象を発見した[13]。また馬籠らは溶媒中に分散させたサブ μm 径のラテックスビーズに集光レーザー光線を照射すると多数のビーズが凝集-発散を繰り返すという現象を発見し、解析している[14]。こうした系では従来知られている非平衡実験系を単純にスケールダウンするだけでは実現することが難しい μm ～サブ μm スケールの非平衡自己組織化現象を詳細に調べることが可能になるので、上述したメソスケール特有の効果を実験的に調べることができ、細胞レベルの生命現象のメカニズムの解明に寄与することができると期待される。

本稿では、集光レーザー光線を用いた μm スケールの非平衡自己組織化現象のもう一つの例である、リン脂質チューブの自発的揺動運動について紹介する[1]。リン脂質は生体膜を構成する両親媒性分子であり、水溶液中では分子同士が疎水基を接してミセル、小胞などの構造を形成する。我々はチューブ状の多層膜小胞をある条件で集光レーザー光線によりトラップすると、チューブが光軸にそって配向し、さらに光軸のまわりで揺動運動を行なうという現象を見出している。ここではそのメカニズムを考察し、現象を再現する簡単な数理モデルの構成について述べる。

リン脂質チューブは巨大リポソームの調整法を改変して得た。egg-yolk PCあるいはdioleoyl-phosphatidylcholine 10mMを含む $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 溶液を直径1mmのガラス細管内に入れ、真空中で6時間乾燥させてガラス管内壁に脂質の薄膜を形成した。その後ガラス管内に緩衝液 (HEPES 10mM, MgCl_2 10mM, $\text{pH} = 7.1$) を入れ、室温で10分置いた後、内容物をスライドガラス上に押し出した。この方法により直径1~3 μm の多層膜 (ミエリン鞘) のチューブ状構造物を得た。

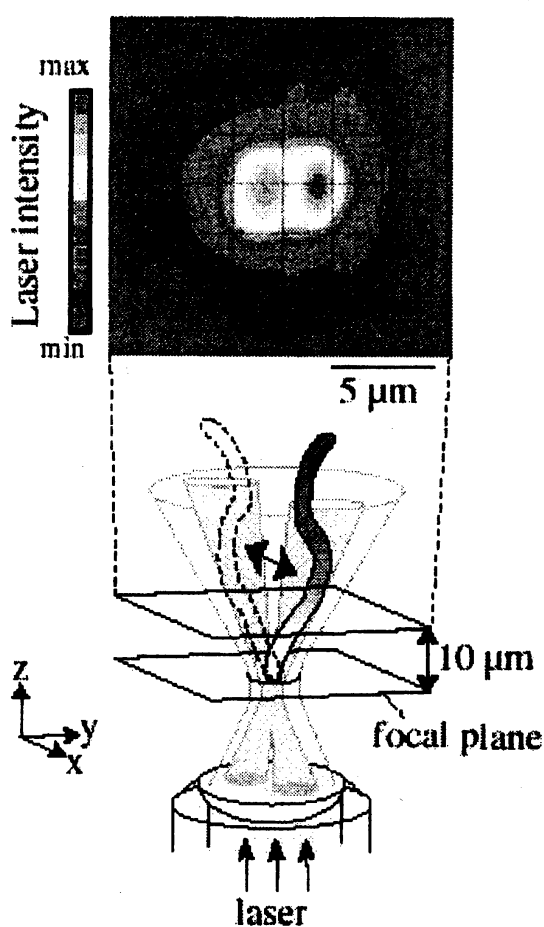


図1. 実験で使用した光学系の一部と、トラップされるリン脂質チューブの模式図。焦点の上方で測定したレーザー強度の空間プロファイルも示す。文献[1]より改変。

光学系は $\text{Nd}^{3+}:\text{YAG}$ レーザー (SL902T, cw in TEM_{00} mode, 波長1064 nm, Spectron) を倒立顕微鏡 (TE-300, Nikon) に導入し、対物レンズ (Nikon Plan Fluor, 100 \times , N.A. 1.30) により集光して試料に照射した。レーザー光線の空間プロファイルはビームアナライザー (13KP503, Melles Griot KK) で測定した。実験は全て室温 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ で行った。脂質チューブの運動はCCDカメラ (CS8210,

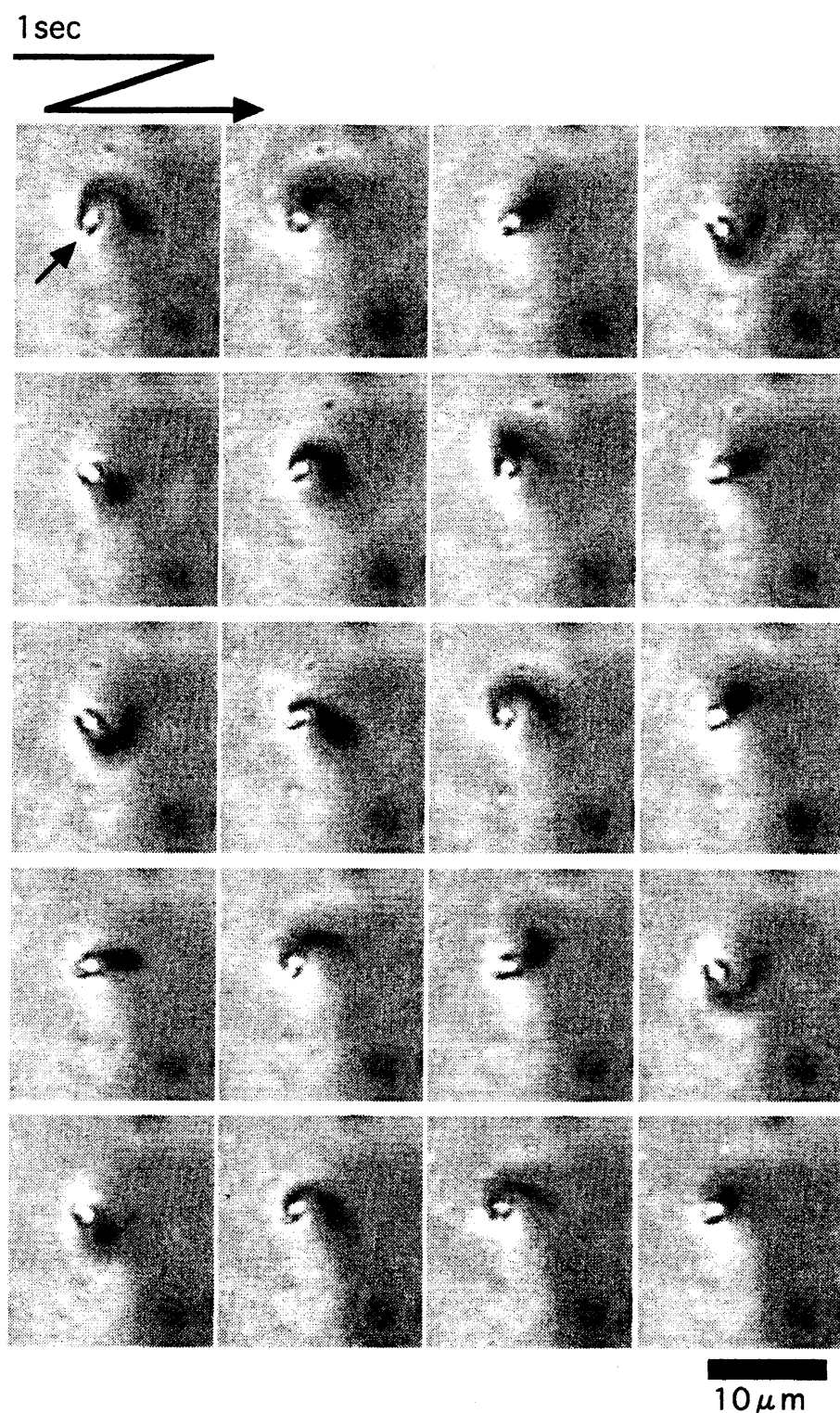


図2. リン脂質チューブの揺動運動の明視野顕微鏡像。左上から横向きに1秒毎のスナップショットを示す。ビームは紙面手前側から入射しており、最左上のコマの矢印の位置に焦点がある。入射ビーム強度は100mWである。

Tokyo Electric Industry) で撮影しビデオ録画したものを画像解析 (Cosmos, LIBRARY) した。

本実験ではビームの空間プロファイルを通常のTEM₀₀モードより改変している。対物レンズに入射する前の光線をガルバノミラーを使って 2×10^{-5} radだけ傾けると、対物レンズの特性により光線が図1に示すように2本に分裂する。この状態で脂質チューブをトラップするとチューブの一端が焦点に固定され、残りの部分が光線に沿って図1に示すように配向する。この条件で実験を行った。

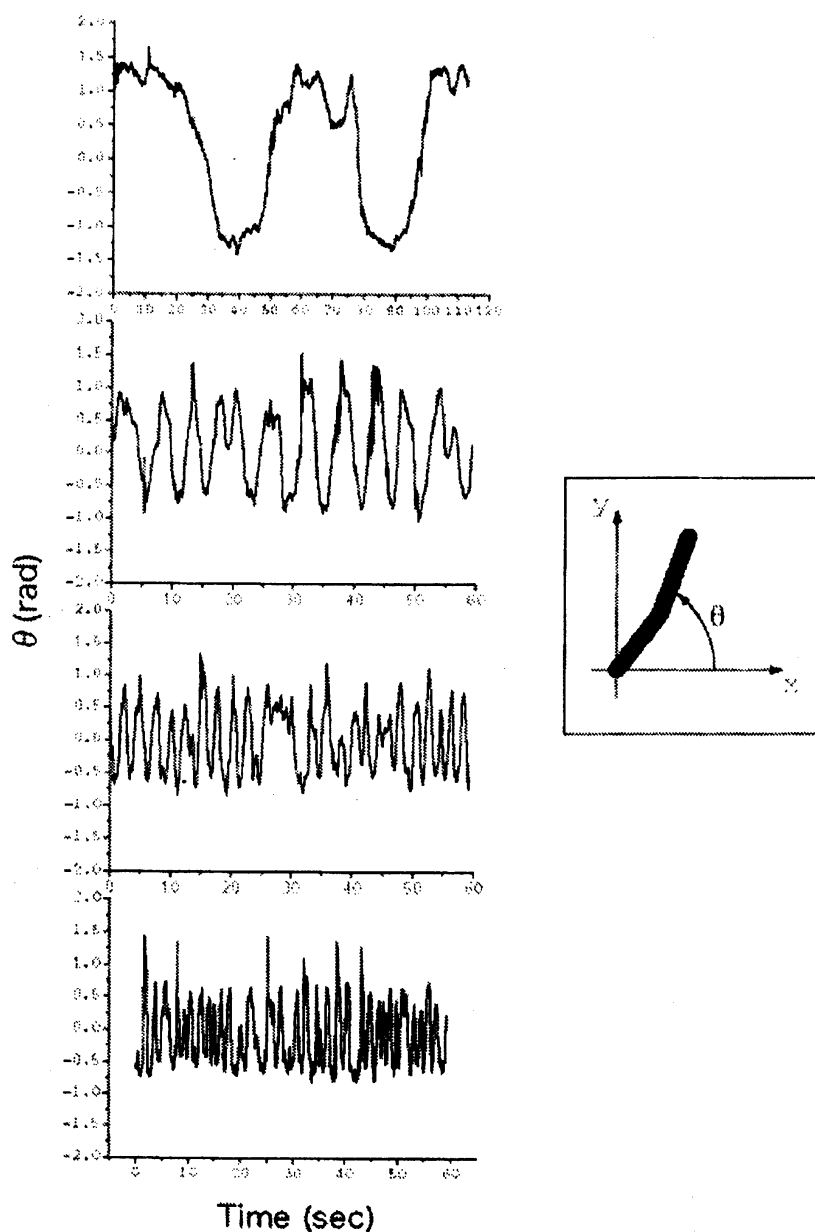


図3. 焦点面に射影したチューブの配向角の時系列。角度 θ は右の模式図のように定義し、図2のような画像について各時刻で θ を計算した。上からビーム強度が50 mW、100 mW、150 mW、190 mWの場合を示す。

レーザー光線によりトラップされたリン脂質チューブは、その一端が焦点に固定され残りの部分は光軸に沿って配向する。配向したリン脂質チューブは光軸のまわりで図2に示すような揺動運動を行った。このようなチューブの運動において、焦点面に射影したチューブの角度の時系列を各ビーム強度について図3に示す。この時系列に見られるようにビーム強度が大きくなるにつれて揺動運動の周期が短くなり、また乱雑さが増していることが分かる。平均周波数と入射ビーム強度の関係は図4に示すように線形になった。

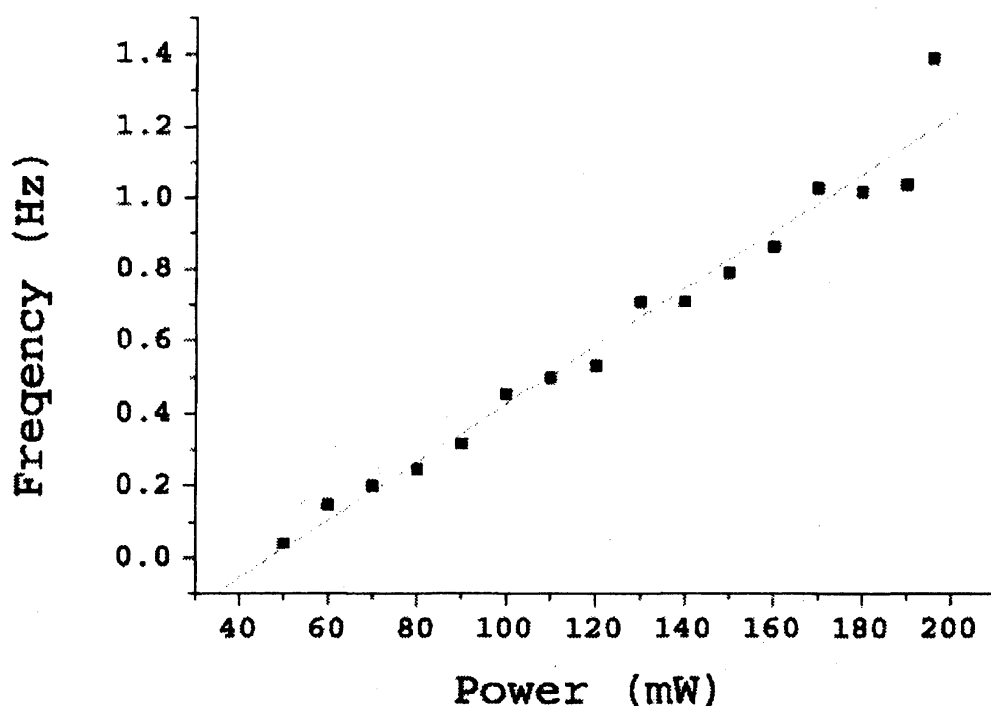


図4. チューブ揺動運動の平均周波数と入射ビーム強度の関係。

考察

リン脂質と集光レーザー光線との電磁相互作用は、 μm サイズの誘電体と光の電磁場との相互作用の問題と考えられる。この種の問題は物体が光線の波長に比べて非常に小さい場合 (Rayleigh領域) は単一の誘起ダイポールと電磁場の相互作用として、逆に物体が波長よりも非常に大きい場合 (Mie領域) では幾何光学の問題として扱うことができるため、比較的簡潔に理解できる[15]。今の場合には誘電体の大きさが光の波長 (1064nm) と同程度であるため、多数の誘起ダイポールによる散乱光の干渉の効果が無視せず、厳密な取り扱いが非常に困難になる。それでもビームが非常に強く集光されていることからRayleigh領域に類似した取り扱いが可能になる[16]。それによると誘電体と集光レーザー光線との相互作用により、

$$U = \left(\frac{\varepsilon}{\varepsilon_0} - 1 \right) \int \frac{I(r)}{2c} dV \quad (1)$$

というポテンシャルが発生する。ここで ε と ε_0 はそれぞれ誘電体と溶媒の誘電率、 c は光速、 $I(r)$ は局所的な光強度で、積分は誘電体の占める体積全体について行う。今の場合、ビームは図1のような強度分布を持っているので $I(r)$ は

$$I(r) = C(z)P \left\{ \exp \left(-\frac{2\{(x - \tan \beta z)^2 + y^2\}}{w_0^2 + \tan^2 \beta z^2} \right) + \exp \left(-\frac{2\{(x + \tan \beta z)^2 + y^2\}}{w_0^2 + \tan^2 \beta z^2} \right) \right\} \quad (2)$$

$$C(z)^{-1} = \pi(w_0^2 + \tan^2 \beta z^2)$$

と近似することができる。上式で β は2本のビームがそれぞれ光軸となす角度、 β はそれぞれのビームの集光角、 w_0 は焦点における最小ビーム径を表す。

ここでチューブの運動を最も簡単にモデル化するために、連続的に曲がるチューブの代わりに1ヶ所で折れ曲がることのできる棒を考える(図5)。

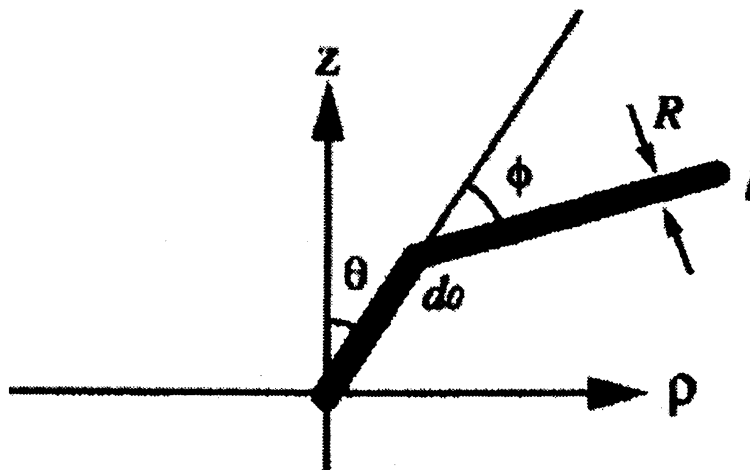


図5. 1折点連結剛体棒モデルの模式図。

このモデルでは棒は長さ l 、直径 R 、端から d_0 のところで折れ曲がることができる。一端は原点(ビーム焦点に対応)に固定され、 z 軸(光軸に対応)に対して θ だけ傾いている。また折点における折れ角を ϕ とする。このような棒が(2)式で表されるような光の場の中に置かれた場合のポテンシャルエネルギーを(1)式から計算することができて、図6に示すように θ と ϕ の関数になる。図6より、この関数形を簡単に

$$U(\theta, \phi) = P \left(\frac{a}{4} \theta^4 - \frac{\theta_0}{2} \theta^2 + b \theta \phi \right) \quad (3)$$

と近似することができる。

さて、チューブがここで求めたようなポテンシャルによって運動しているというだけでは、エネルギーの散逸によってポテンシャルの極小に対応する配向に落ち着

いてしまうので、実験でみられたような振動は起こらない。振動が起こるためにはエネルギーの注入を伴う何らかの非平衡性が必要になる。

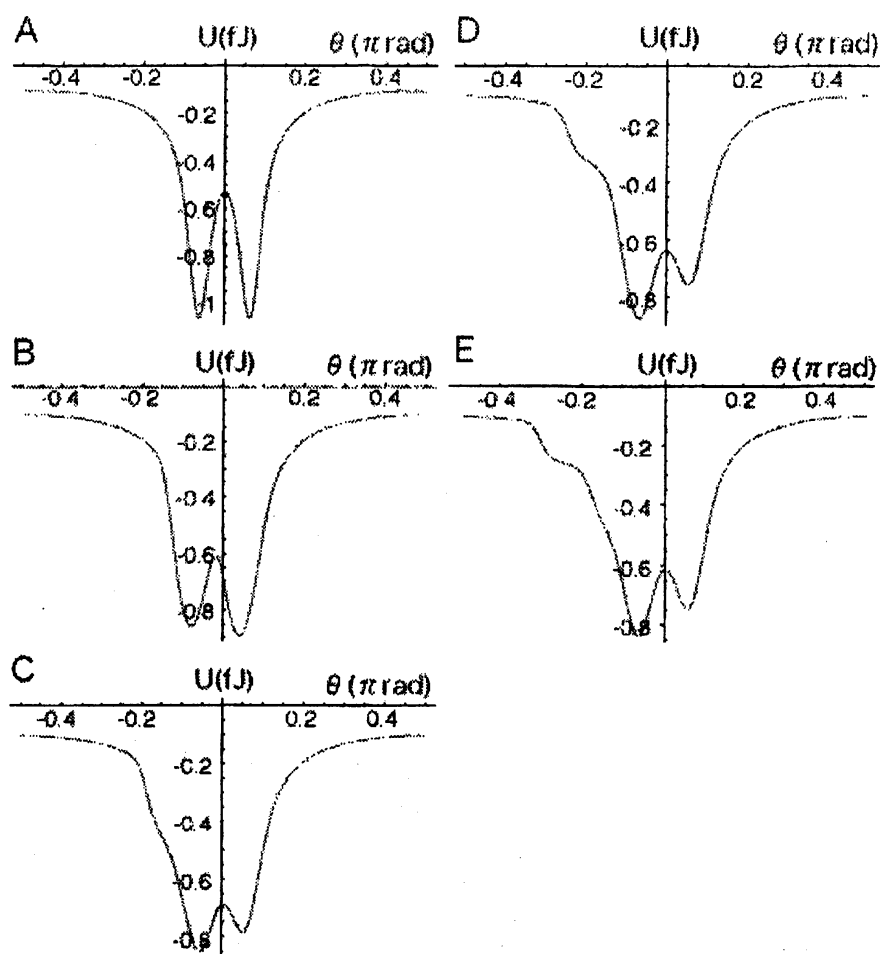


図6. 1接点剛体棒モデルに対するポテンシャルエネルギーの計算結果。それぞれは異なる ϕ の値に対応し、A： $\phi = 0\pi$ rad、B： $\phi = 0.1\pi$ rad、C： $\phi = 0.2\pi$ rad、D： $\phi = 0.3\pi$ rad、E： $\phi = 0.4\pi$ radの場合を示す。

今の系の場合それはレーザー光線が溶媒を局所的に過熱することによる温度効果であることが以下のようにして分かる。この系で用いているレーザーの波長は1064nmであるが、これは H_2O のO-H伸縮振動の3倍波に相当するため、溶媒が光を吸収して加熱される。これに対して D_2O では誘電率などの物性は H_2O と同じであるが、波長1064nmには吸収がないためビームにより加熱されない。そこでリン脂質チューブを D_2O 中に分散させ、上と同様の実験をおこなったところチューブの自発的揺動運動は起こらなかった。従ってチューブの揺動運動には溶媒によるレーザー光の吸収の効果が効いていることが分かる。

次に実際に溶媒がどの程度加熱されているのかをEu-TTA錯体を用いて調べた。Eu-TTAは燐光を発する物質であるが、温度が上昇するとその燐光の強度が落ちるとい性質がある。これを利用して、文献[1]に述べられている方法によりEu-TTA錯体を埋め込んだジャイアントリポソームを調製し、このリポソームをトラップすることで焦点付近の温度上昇を測定した。測定結果は図7のようになり、焦点部では約1 μm の範囲で約10 $^{\circ}\text{C}$ の温度上昇が認められた[17]。

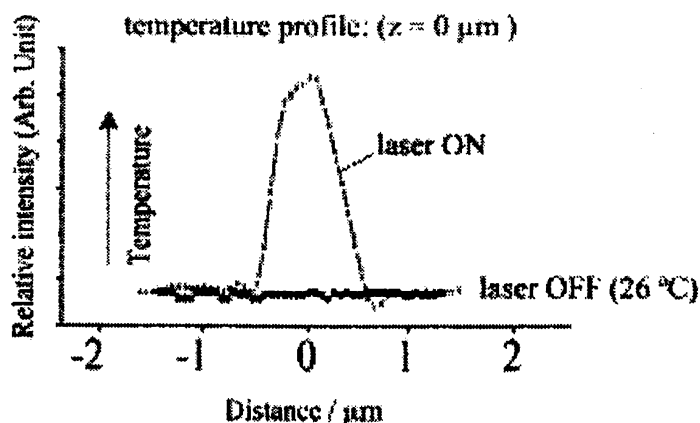


図7. Eu-TTA色素法により測定したレーザー光焦点付近での温度プロファイル。文献[1]より引用。

ここで測定された温度分布を簡単に近似すると、

$$T(\rho, z) = \kappa P \exp\left(-2\frac{\rho^2}{\rho_0^2} - 2\frac{z^2}{z_0^2}\right) + T_R \quad (4)$$

となる。さらに、1折点モデルの折点における温度は、

$$\begin{aligned} T(\theta) &= \kappa P \exp\left(-2\frac{d_0^2}{\rho_0^2} \sin^2 \theta - 2\frac{d_0^2}{z_0^2} \cos^2 \theta\right) + T_R \\ &= \kappa P \exp\left(-2\frac{d_0^2}{z_0^2}\right) \exp\left\{-2d_0^2\left(\frac{1}{\rho_0^2} - \frac{1}{z_0^2}\right) \sin^2 \theta\right\} + T_R \\ &= \kappa' P \exp\left(-2\frac{\theta^2}{\theta_1^2}\right) + T_R \end{aligned} \quad (5)$$

と書くことができる。

最後にチューブの弾性の効果を考える。振動現象をモデル化するためには最低2次元の力学系が必要である。この系のように、 μm スケールの水溶液環境中でsecの時間スケールの運動が起こっている場合には、慣性に比べて溶液の粘性の効果が非常に大きいため、運動方程式の慣性項が落ちる。そのためこのような系で振動が起きるためにはチューブの配向角 θ の他に最低もう一つ変位の自由度が必要である。実験で見られるチューブの運動には必ずチューブの曲がりに伴っていることから、メモリーとしての曲がりの効果を簡単な形でモデルに取り入れれば良いと予想され

る。これが折れ角 ϕ を持つ 1 折点連結剛体棒モデルを選んだ理由である。実際に、チューブが曲がるのが重要であることを確認するため、チューブと同じような大きさの微小なガラス棒をトラップする実験を行った。このガラス棒はリン脂質チューブと同じように光軸に沿ってトラップされるが、硬いので折れ曲がることはない。結果として、ガラス棒は自発的揺動運動を起こさなかったため、チューブが曲がるという効果が効いていることが分かる。

曲がりが起こる理由としては次のように考えられる。ビームの焦点付近では図 7 のような温度勾配が形成されているので、光軸に沿って配向しているリン脂質チューブの両側面において温度が異なると考えられる。そのためチューブの両側面で異方向的に熱膨張が起こり、チューブが曲がるものと考えられる。このことを 1 折点連結剛体棒モデル内で定式化すると、次のようになる。棒の折点での温度は(5)式で与えられるが、折点の両側面での温度差は

$$\Delta T(\theta) = T(\theta + \Delta\theta) - T(\theta - \Delta\theta) \quad (6)$$

となる。この温度差により棒が折点で曲がるので、曲がり ϕ に対する弾性復元力の平衡点がシフトすることになる。従って棒の曲がりに対する弾性復元力は、

$$F(\theta, \phi) = -\chi\Delta T(\theta) - \eta P\phi \quad (7)$$

と書ける。

以上を総合して 1 折点モデルに対する発展方程式は

$$\begin{cases} \tau_1 \dot{\theta} = -\frac{\partial U(\theta, \phi)}{\partial \theta} \\ \tau_2 \dot{\phi} = -\frac{\partial U(\theta, \phi)}{\partial \phi} + F(\theta, \phi) \end{cases} \quad (8)$$

という形式になるから、

$$\begin{cases} \tau_1 \dot{\theta} = -P(a\theta^3 - \theta_0^2\theta + b\phi) \\ \tau_2 \dot{\phi} = -Pb\theta - P\left[\chi\kappa' \left\{ \exp\left(-2\frac{(\theta + \Delta\theta)^2}{\theta_1^2}\right) - \exp\left(-2\frac{(\theta - \Delta\theta)^2}{\theta_1^2}\right) \right\} + \eta\phi \right] \end{cases} \quad (9)$$

で与えられることになる。

以下で方程式(9)の解の構造を調べる。パラメータがいくつかあるが、その値によって相空間の構造は次の 3 つに分けられる。

I. 不動点 3 つの場合: $(\theta, \phi) = (0, 0)$, $(\pm\theta_A, \pm\phi_A)$ (ただし $0 < |\theta_A|$) に不動点を持ち、 $(0, 0)$ が鞍点、 $(\pm\theta_A, \pm\phi_A)$ が沈点になる。この場合、解は初期条件によって $(\pm\theta_A, \pm\phi_A)$ のどちらかに吸い込まれてしまい振動は起こらない。

II. 不動点 5 つの場合: $(\theta, \phi) = (0, 0)$, $(\pm\theta_A, \pm\phi_A)$, $(\pm\theta_B, \pm\phi_B)$ ($0 < |\theta_A| < |\theta_B|$) に不動点を持ち、 $(0, 0)$ が湧点、 $(\pm\theta$

$A, \pm \phi_A$ が鞍点、 $(\pm \theta_B, \pm \phi_B)$ が沈点になる。この場合でも初期条件により $(\pm \theta_B, \pm \phi_B)$ のどちらかに吸い込まれてしまう。

III. 不動点1つの場合： $(\theta, \phi) = (0, 0)$ に不動点があり、不安定渦点になっている。この場合は外側にリミットサイクル解が存在し、系が振動する。

各場合について適当なパラメータをとり、4次のRunge-Kutta法により積分した結果と、nullclineを含む相空間の様子を図8に示す。

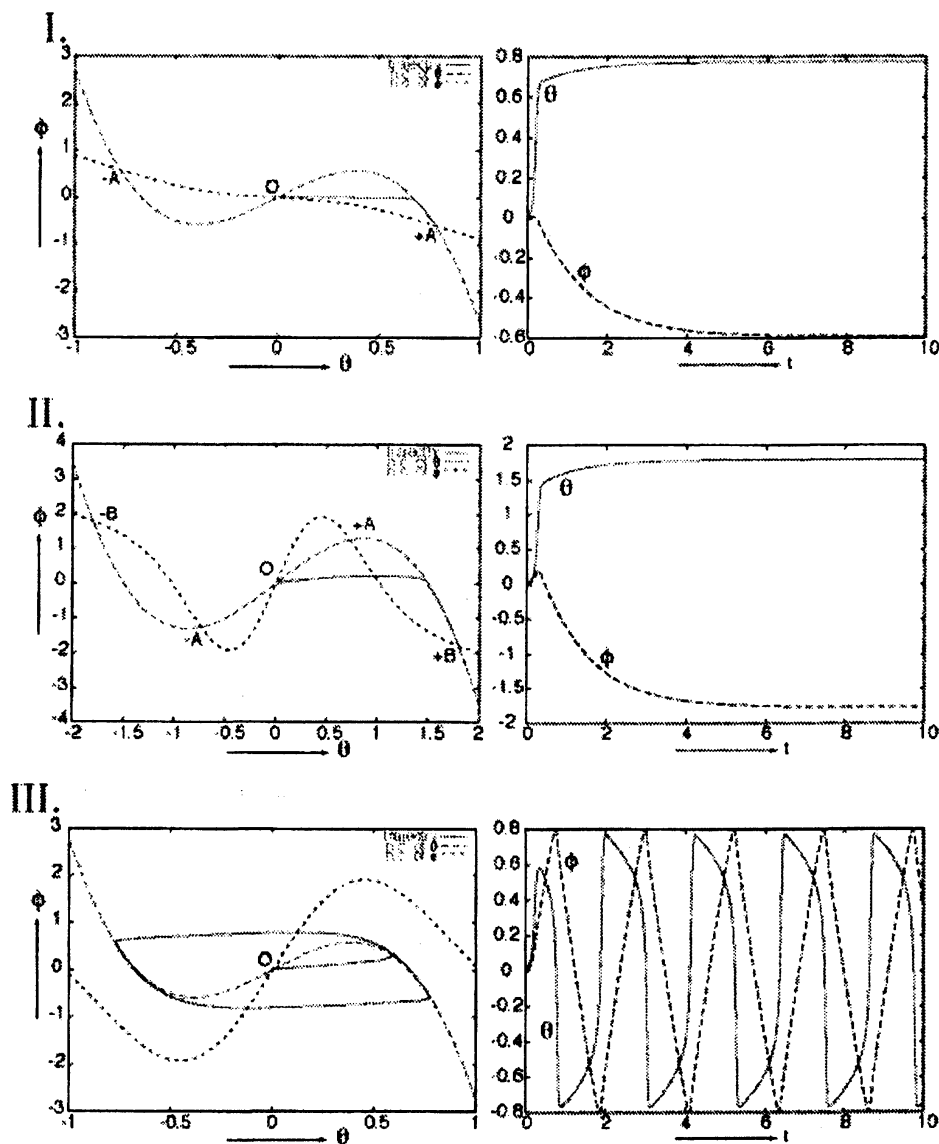


図8. 1折点モデルの発展方程式の3種類の解。左側は相空間の構造で、緑の破線が θ のnullcline、青の破線が ϕ のnullcline、赤の実線が原点の傍から出発した解の軌道を表す。O、 $\pm A$ 、 $\pm B$ は不動点を表す。右側は左側で書かれた軌道についての θ と ϕ の時系列で、赤実線が θ 、青破線が ϕ の時間発展を表す。

IIIのパラメータ領域ではリミットサイクル振動の周期はビーム強度 P に比例する。これは方程式(9)の右辺が P に比例しているため、 P を変化させることは時間スケールを線形に取り直すことに対応しているから明らかである。実際IIIの領域での振動周期のビーム強度 P 依存性は図9に示すように線形になることが数値計算からも示される。

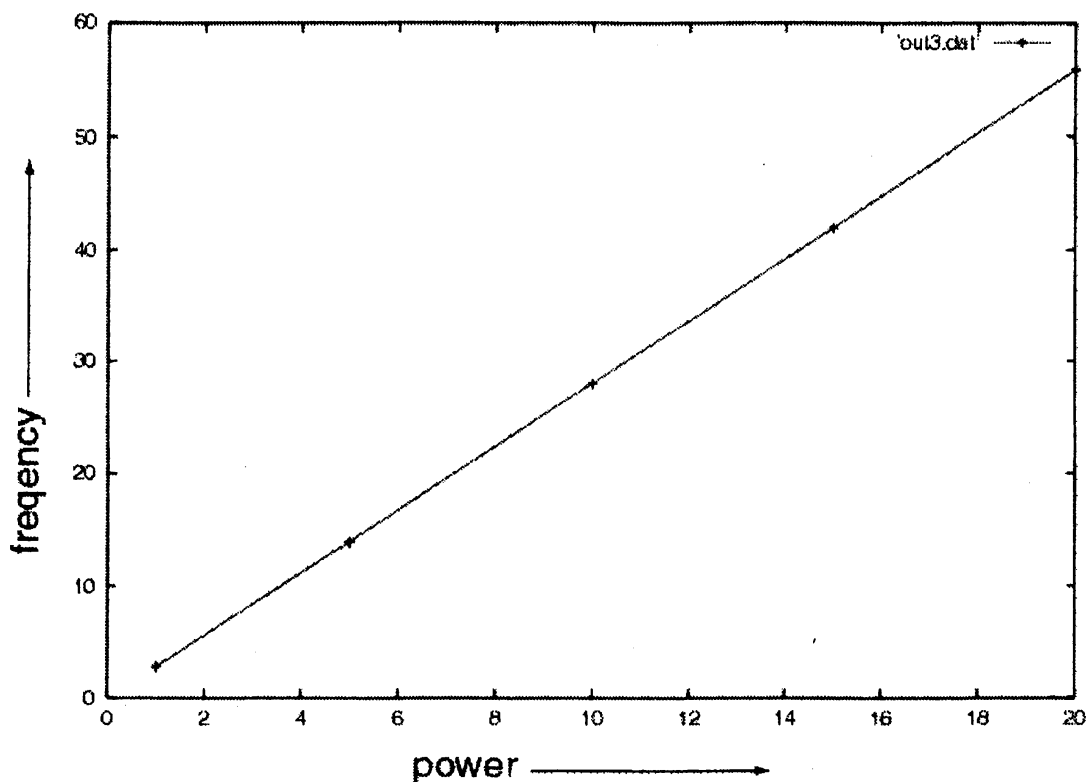


図9. IIIのパラメータ領域におけるリミットサイクル振動の周波数とビーム強度 P の関係。

以上の結果を物理的に解釈すると、次のようになる。パラメータ領域IIIになるためにはパラメータが次の条件を満たしていれば良い。

$$\frac{8\chi\kappa\Delta\theta}{\theta_1^2} \exp\left(-2\frac{\Delta\theta^2}{\theta_1^2}\right) > \frac{\eta}{b}\theta_0^2 + b \quad (10)$$

$$\frac{1}{b}(a\theta_1^3 - \theta_0^2\theta_1) > \frac{1}{\eta} \left[b\theta_1 + \chi\kappa \left\{ \exp\left(-2\frac{(\theta_1 + \Delta\theta)^2}{\theta_1^2}\right) - \exp\left(-2\frac{(\theta_1 - \Delta\theta)^2}{\theta_1^2}\right) \right\} \right]$$

これは一見複雑であるが、 $\Delta\theta \propto$ チューブ径、 $\eta \propto$ チューブの弾性率、 $\chi \propto$ チューブの熱膨張率であるので、これらに着目すると比較的簡潔に解釈できる。第一式が成立するためにはチューブ径は温度上昇領域の大きさよりも小さく、チューブが温度効果で曲げられる位柔らかく、熱膨張率が十分大きい必要がある。また第二式が

成立するためにはチューブ径は両側面で十分な温度差がつく位太く、光との電磁相互作用に抗するだけの弾性率があり、熱膨張率が十分大きい必要がある。これらの条件が満たされていれば、チューブと光の電磁相互作用のポテンシャルが局所的な温度効果によって不安定化され、振動が起こると解釈することができる。

結論と展望

本稿では集光レーザー光線を使って非平衡開放条件をつくり出し、 μm スケールの非平衡現象を起こすことができる新しい実験系の一つとして、リン脂質チューブの自発的揺動運動について述べ、そのメカニズムを考察し、現象を再現する最も簡単なモデルの構成について述べた。今後こうした実験系についての知見は μm スケールで起こる様々な生命現象のメカニズムに光を当てることになると期待される。

ただし現段階では現象を大胆に粗視化したモデリングであることは否定できない。本稿のはじめに述べた μm スケールで特異的に起こりうる諸効果を明示的にとり込んでいる訳ではないので、たとえば図3に見られるようなビーム強度に依存して振動の不規則性が変化するという現象などは無視されている。このような現象の本質を説明するためには、非平衡条件下で起こる揺らぎをきちんと特徴付けることや、チューブの運動の自由度をもっとたくさん考慮する必要があると思われるが、これらは今後のチャレンジングな課題である。

謝辞

本稿に述べられている全ての実験は共同研究者の野村 M. 慎一郎博士によるものです。また指導教官である吉川研一教授にはモデルの基本的なアイデアを含む有意義な議論を負っています。

参考文献

- [1] S. -i. M. Nomura, T. Harada and K. Yoshikawa, *Phys. Rev. Lett.* **88**, 093903 (2002).
- [2] G. Nicolis and I. Prigogine, *Self-Organization in Nonequilibrium Systems* (John Wiley & Sons, New York, 1977).
- [3] L. Glass, P. Hunter and A. McCulloch, *Theory of Heart* (Springer-Verlag, New York, 1990).
- [4] C. Graves, L. Glass, D. Laporta, R. Meloche and A. Grassino, *Am. J. Physiol.* **250**, 902 (1986).
- [5] D. Whitmore, N. S. Foulkes and P. Sassone-Corsi, *Nature*, **404**, 87 (2000).
- [6] S. Kondo and R. Asai, *Nature* **376**, 765 (1995).
- [7] A. Turing, *M. Phil. Trans. R. Soc. B* **237**, 37-72 (1952).

- [8] A. W. Murray and M. W. Kirschner, *Science*, **246**, 614 (1989).
- [9] A. L. Hodgkin and A. F. Huxley, *J. Physiol.* **117**, 500 (1952).
- [10] A. Gosh and B. Chance, *Biochim, Biophys. Res. Commun.* **16**, 174 (1964).
- [11] R. Aihara and K. Yoshikawa, *J. Phys. Chem. A* **105**, 8445 (2001).
- [12] T. Ichino *et al.* in preparation.
- [13] H. Mayama, S. M. Nomura, H. Oana and K. Yoshikawa, *Chem. Phys. Lett.* **330**, 361 (2000).
- [14] N. Magome, H. Katahata, M. Ichikawa, S. -i. M. Nomura and K. Yoshikawa, *Phys. Rev. E*, **65**, 045202 (2002).
- [15] K. Svoboda and S. M. Block, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **23**, 247 (1990).
- [16] T. Tlusty, A. Meller and R. Bar-Ziv, *Phys. Rev. Lett.* **24**, 1738 (1998).
- [17] M. Ishikawa *et al.* *Biophys. J.* **74**, 82 (1998).