

原生動物細胞の形態的・生理学的特性をモニターするための 誘電解析プログラムの開発

洲崎敏伸（神戸大学・理・生物）

A dielectric analysis program for monitoring morphological and physiological properties of protozoan cells

Toshinobu SUZAKI (Dept. Biol., Grad. Sch. Sci., Kobe Univ.)

SUMMARY

A computer program was developed (using Visual Basic 6.0) to facilitate the calculation of dielectric behavior of biological cells in suspension. The program is based on our original NEC's N88Basic program, which was upgraded to include other computer operating systems and improve its versatility in the use of calculation algorithms for simulation analysis. With the aid of this program, it is now possible to quantify and monitor various morphological and electrical parameters of living cells, including free-living protozoans.

[目的] 誘電解析法は、細胞の形態変化や細胞膜などの電気的特性の変化を追跡することのできる実験手法で、原生動物の細胞にも適用できる。この方法には、細胞が生きたままの状態で、細胞の内部構造の形態的・電気的な特性を定量的に推定・解析できるという特徴がある。測定法は簡単で、生きた細胞を一対の電極で挟み、電極間のインピーダンスを広い周波数域で測定する。測定したデータから細胞の各部分の電気的・形態的なパラメータを推定するには、コンピュータを用いた数値解析が必要となるが、これに用いることのできるプログラムは、我々が以前に開発した NEC 社の PC-9801 シリーズコンピュータに対応したプログラムのみであった¹⁾。また、そこで利用可能な細胞モデルの選択も、以前のプログラムでは限りがあった。そこで今回は、誘電測定データを理論的に数値解析するための汎用性の高いソフトウェアを、Visual Basic 6.0 (Windows XP) を用いて新たに開発した。

[プログラムの内容]

1. 理論解析の概要：今回開発した誘電解析プログラムでは、実験データとして、様々な周波数において測定された細胞懸濁液の誘電率と導電率のリストを、テキストデータとして読み込む。誘電率と導電率のデータから成る細胞懸濁液の複素誘電率 (ϵ^*) は、希薄な球形体の懸濁系においては以下の Wagner 式²⁾によって計算できる。

$$\epsilon^* = \epsilon_a^* \frac{2(1-\Phi)\epsilon_a^* + (1+2\Phi)\bar{\epsilon}_p^*}{(2+\Phi)\epsilon_a^* + (1-\Phi)\bar{\epsilon}_p^*} \quad (1)$$

ここで、 ϵ_a^* は外液の複素誘電率、 $\bar{\epsilon}_p^*$ は球形体が細胞であるなら、細胞膜を含む細胞全体の等価的複素誘電率（細胞を均一な状態とみなした場合の複素誘電率）である。また、 Φ は、球形体の占める体積分率である。濃厚な細胞懸濁系においては、(1)式に代わって Hanai³⁾ 式が用いられる。

$$\left(\frac{\varepsilon^* - \bar{\varepsilon}_p^*}{\varepsilon_a^* - \bar{\varepsilon}_p^*} \right) \left(\frac{\varepsilon_a^*}{\varepsilon^*} \right)^{1/3} = 1 - \Phi \quad (2)$$

(1)式と(2)式を組み合わせることにより、球形の細胞内部に様々な大きさの球形のオルガネラが「入れ子」になって入っている複雑な細胞のモデルを構築することができる。さらに、これらの式に代わるものとして、楕円体に対応する理論式も準備されている¹⁾。これらを自由に組み合わせれば、球体と楕円体から構成される、様々な細胞の形状を表現するモデルができる。このようなモデルに、様々なパラメータ（具体的には、それぞれの相、たとえば細胞膜や細胞内液などの相に固有のものとして、それらの部分の誘電率と導電率）を仮定すれば、細胞懸濁液が全体として示す誘電率と導電率を任意の周波数条件で算出することができる。これと、実際に測定したデータとを比較し、カーブフィッティングを行うことで、上述のパラメータの推定値を算出することができる。以前のプログラムでは、細胞のモデルとして選択できるものの種類が限られていた。しかし、今回新たに開発したプログラムでは、上の式

の組み合わせかたがまったく自由であり、任意の個数の異なる大きさと形状のオルガネラを細胞内部に配置することが可能となった。

2. 実測データの解析：実測データは、低周波域における電極分極のアーティファクトを周波数変化法 (frequency-variation method)⁴⁾ により補正した後、解析に用いられる。カーブフィッティングは、理論曲線と実際の測定データとの一致性を画面上で確認しながら、指定された周波数域における理論値と実測値の残差を目安にしつつ、理論モデルのパラメータを少しづつ変化させていくことによって行われる。最終的に得られた理論曲線は、Excel 形式のデータとして出力することができる。

[文献]

- 1) Irimajiri, A., Suzaki, T. and Asami, K. (1991) Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ., 69: 421-438.
- 2) Wagner, K.W. (1914) Arch. Electrotech, 2: 371-387.
- 3) Hanai, T. (1960) Kolloid Z., 171: 23-31.
- 4) Raicu, V., et al. (1998) Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 47: 325-332.