

誘電解析法を用いたミドリムシの細胞変形能の解析

福泉 翔¹, 枝松 緑¹, 洲崎 敏伸², 安藤 元紀¹ (¹岡山大・教育・生物, ²神戸大・理・生物)Dielectric analysis for monitoring cell shape changes in the flagellate
*Euglena gracilis*Sho FUKUIZUMI¹, Midori EDAMATSU¹, Toshinobu SUZAKI² and Motonori ANDO¹ (¹Laboratory of Cell Physiology, Department of Science Education, Okayama University, ²Department of Biology, Faculty of Science, Kobe University)

SUMMARY

To examine the correlation between the passive electrical properties of the flagellate *Euglena gracilis* and its cell shape changes, we examined the dielectric behavior of a cell suspension under control 'rod-shaped' and mechanically-induced 'spherical-shaped' conditions, over a frequency range of 10^2 – 10^8 Hz. Dielectric parameters were estimated by a two-term Cole-Cole equation. In the rod-shaped cells, the dielectric dispersions with a permittivity increment ($\Delta\epsilon$) of 3650 were of the β -type and had two separate characteristic frequencies (f_{c1} and f_{c2}) around 12 kHz and 250 kHz (volume fraction, 6%). In the spherical-shaped cells; however, both $\Delta\epsilon$ and f_{c2} were about half of the values found for the rod-shaped cells. Data were also analyzed based on one-shell ellipsoidal and one-shell spherical models. Simulations using these models revealed that the gross dielectric behavior of *Euglena* cell suspensions could be predicted by taking the cell length into account. These results indicate that dielectric spectroscopy is a useful tool for monitoring cell-shape changes in living organisms.

[目的]

誘電解析法は、非破壊的に細胞や組織の電気的性質を調べることができる。これまでに本法が生体試料に適用された例として、筋肉¹⁾、肺²⁾、肝臓³⁾、血液⁴⁾、顎下腺⁵⁾、甲状腺⁶⁾、水晶体⁷⁾などがある。本

研究では、誘電解析法により細胞の形態変化を電氣的に検出可能かどうか調べることを目的とし、ミドリムシの細胞変形能とそれに対応する誘電パラメータの変化について検討した。

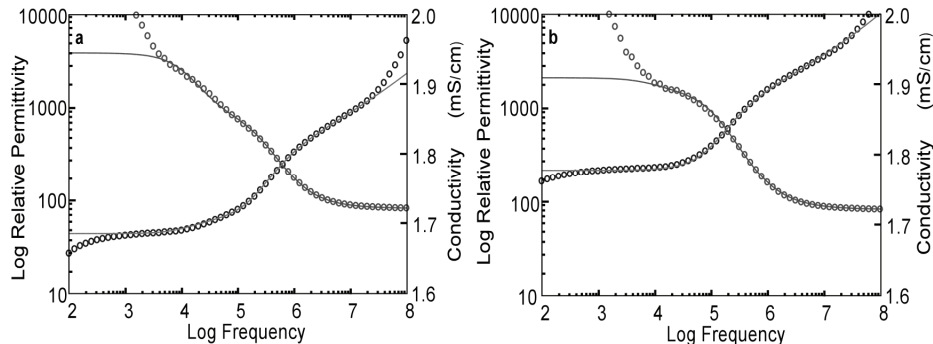


図1 誘電解析の典型例
(a)非刺激群(棒状)の周波数依存性. (b)刺激群(球状)の周波数依存性. ○, 実測値. 実線, 2項 Cole-Cole式から得られた理論値.

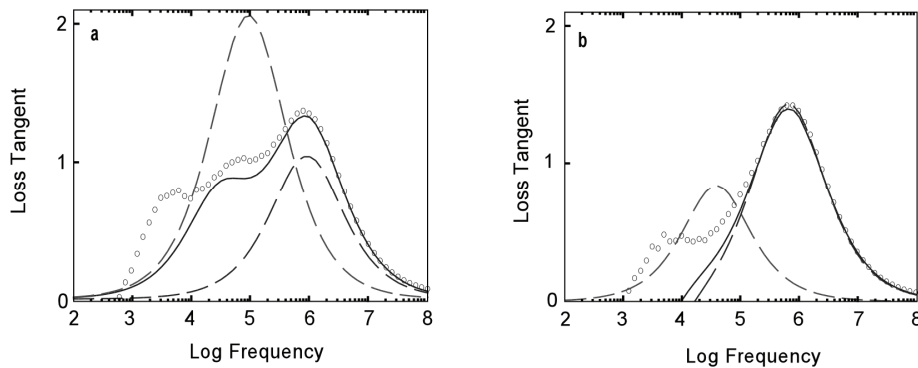


図2 Loss tangentプロット
(a)非刺激群(棒状). (b)刺激群(球状). ○, 実測値. 実線, 2項Cole-Cole式から得られた理論値. 破線, 分散1(低周波側), 分散2(高周波側).

【材料と方法】 ミドリムシ (*Euglena gracilis*) は、培養開始後 7 日目を用いた。細胞の洗浄と体積分率の増大 (~6%) を目的として、マイクロフィルター濾過法による細胞の濃縮を行った。誘電測定セルは平行板コンデンサー型で、白金板電極の直径 8 mm、極板間距離 11 mm とした。電極分極を軽減させるために電極表面に白金黒を被覆した。測定には YHP 社 (現 Agilent 社) インピーダンスアナライザー (4294A) を用い、測定周波数範囲は 10^2 Hz ~ 10^8 Hz とした。電気容量とコンダクタンスから誘電率と導電率を算出する。

正常の細胞懸濁液のインピーダンス測定を行い、次に機械刺激を加えて細胞体の球形化を誘発した細胞懸濁液の測定を行った。一回の周波数走査は約 50 秒で完了した。測定データについて、2 項 Cole-Cole 式によるカーブフィッティング (現象論解析) を行った後、2つの分散に分解し Loss Tangent 値を算出し、非刺激群 (棒状) と刺激群 (球形状) の比較を行った。また、殻付き回転楕円体モデルによる理論

解析により、細胞膜や細胞質の電気的パラメータの推定を試みた。

【結果と考察】 図 1 はミドリムシの形態が棒状 (非刺激群, 図 1a) と球状 (機械的刺激群, 図 1b) のときの誘電測定データの実測値, および 2 項 Cole-Cole 式による理論解析値を同一平面にプロットしたものを示す。誘電率と導電率はともに周波数依存性を示した (誘電分散現象)。実測値の低周波側 (10^4 Hz 以下) の巨大な誘電率は電極分極によるアーチファクトと考えられる。この低周波側の電極分極と高周波側 (10^7 Hz 以上) を除いて、棒状・球状ともに実測値と理論値はよく一致し、ミドリムシ懸濁液は少なくとも 2 つの誘電分散からなることがわかった。体積分率が 6% の実験例では、細胞体が棒状から球状に変化すると 2 項 Cole-Cole 式の理論解析に用いた誘電パラメータのひとつである誘電率増分 ($\Delta\epsilon$) が 3650 から 1780 に変化した。低周波側の分散を分散 1, 高周波側の分散を分散 2 とすると、細胞の形態

変化により、分散 1 の $\Delta\epsilon$ が減少し、分散 2 の $\Delta\epsilon$ が増加していることがわかった。また分散 2 の緩和周波数 (f_0) は、低周波側にシフトしていた。図 2 は loss tangent プロットを示す。ミドリムシの形状が棒状から球状に変化すると、分散 1 のピーク値が減少し、分散 2 のピーク値は増大した。細胞の長軸、および短軸の長さがそれぞれの分散に関係していると考えられた。

次に、殻付き回転楕円体モデルによる理論解析を試みた。現象論解析で求めた低周波側および高周波側の収斂値を目標値としてカーブフィッティングを行った。その理論値は現象論解析ほど一致しなかったが、ミドリムシの細胞膜および細胞質の誘電パラメータを個別に推定可能であった。誘電体モデルによる理論値と実測値の隔たりは実測値の broadening 現象に起因すると考えられる。その要因として、測定時のミドリムシは棒状、球状の 2 種類だけでなくその中間体も存在すること、細胞内小器官などの膜構造の影響が考えられる。今後、ミドリムシの形態に分布を持たせた理論解析をしていく必要がある。

誘電解析法によりミドリムシの形態変化を電氣的

に検出可能であった。誘電パラメータである誘電率増分と高周波側の分散の緩和周波数は、ミドリムシの形態変化に応じて鋭敏に反応し、細胞の形状を推定するためのインデックスとして最適であることが示唆された。今後は、誘電分散の変化が顕著に現れる周波数帯域を絞り込み、細胞形態変化を経時的にモニタリング可能なシステムを開発する予定である。

[文献]

- 1) Sekine K. et al. (2007) *Bioelectrochemistry*, 70, 532-541.
- 2) Yamashiro T. et al. (2005) *Respir Physiol Neurobiol*, 145(1), 91-100.
- 3) Raicu V. et al. (2000) *Phys Med Biol*, 45, 1397-1407.
- 4) Irimajiri A. et al. (1996) *Biochim Biophys Acta*, 1290, 207-209.
- 5) Chinzei K. (1993) *日本生理学雑誌*, 55, 100-114.
- 6) Kozakura K. (1992) *日本生理学雑誌*, 54, 353-371.
- 7) Watanabe M. et al. (1991) *Biophys J*, 59, 139-149.