

電場中における細胞間相互作用と膜電位

電気的方法による細胞融合への一考察

滝沢辰洋・内藤勝之・松瀬丈浩・鈴木昭弘
信州大学繊維学部共通講座

遺伝子工学、細胞工学の分野の中で細胞融合は中心的技術の一つである。特に、植物細胞の融合は主に育種技術として現在用いられており、交配不可能な植物間でも、その遺伝形質の改変を行うことが可能である。よく知られた例として、ジャガイモとトマトの雑種であるポマトの製作をあげることができる。我が国でも、大学等の研究機関で細胞融合による新しい交配雑種の研究が進展してきている。¹⁾ 細胞融合技術の中で最も収率の高いものとして Zimmermann が 1985 年に大阪で開催された生物工学に関する国際会議で報告した電氣的融合法をあげることができる。²⁾ 細胞接着、膜融合は共に、電場泳動、電氣的膜離断と、細胞に対する電氣的効果を巧みに用いた物である。この方法は前に述べたように融合収率が高いことその他に、化学的方法と異なり、細胞種を問わないことや非生理的な融合誘起剤を必要としないことなど有利な特徴をもっている。

電場中における細胞の運動と細胞膜の電位差の理論的定式化を行うことは、細胞接着、膜融合に対し、簡単な目安を与え、電氣的細胞融合法の理解に大きな助けに成るであろう。これまで最も簡単なモデルは Pohl の教科書にふれられている。³⁾ また Holzapfel たちは交流場中における細胞の運動について詳細な検討を加えている。⁴⁾ 本稿では私達の考察の一步として、静電場中の二個の細胞について取り上げる。特に膜電位を意識して議論を展開する。この点は膜融合から膜離断に対する理解を深めることになる。

1. 電場中における二個の細胞間相互作用

まず、細胞融合のために細胞を含む培養液にかける一様な電場を E_0 としよう。簡単のため静電場としその方向は二つの細胞の中心線に一致させる。二つの細胞はそれぞれ球とし、図 1 のように座標をとる。二つの細胞は大きさ、膜の厚さ、ともに異なっていると仮定して定式化を進める。

外場 E_0 による電位 $\phi^{(ex)}$ は

$$\phi^{(ex)} = -E_0 r_1 \cos\theta_1 = -E_0 (R + r_2 \cos\theta_2) \quad (1)$$

と書ける。細胞が外場中で誘起する電位を多重極展開し、近似的に双極子までとれば、第一の細胞が作る電位は、細胞外、膜内、細胞内にわければ次のように表せる。

$$\phi_1^{(0)} = \frac{a_1^3}{r_1^2} A^{(1)} \cos\theta_1, \quad r_1 \geq a_1 \quad (2-a)$$

$$\phi_1^{(I)} = [B^{(1)} r_1 + C^{(1)} \frac{1}{r_1}] \cos\theta_1, \quad a_1 \geq r_1 \geq b_1 \quad (2-b)$$

$$\phi_1^{(II)} = D^{(1)} r_1 \cos\theta_1, \quad b_1 \geq r_1 \quad (2-c)$$

もし係数、 $A^{(1)}$ 、 $B^{(1)}$ 、 $C^{(1)}$ 、 $D^{(1)}$ 、を決定することができれば、第一の細胞が作る電位が求められるわけである。まず細胞膜の内側 ($r_1 = b_1$) において、電位と電束密度が連続なので $C^{(1)}$ 、 $D^{(1)}$ 、は $B^{(1)}$ によって書き直すことができる。

$$C^{(1)} = \frac{1 - k_1^{(I)}}{2 + k_1^{(I)}} b_1^3 B^{(1)}, \quad (3-a)$$

$$D^{(1)} = \frac{3}{2 + k_1^{(I)}} B^{(1)}, \quad (3-b)$$

ここで、 $k_1^{(I)}$ は細胞膜と細胞の誘電率の比である：

$$k_1^{(I)} = \varepsilon_1^{(II)} / \varepsilon_1^{(I)}. \quad (3-c)$$

細胞膜内の電位 $\phi_1^{(I)}$ をあらためて書き直せば

$$\phi_1^{(I)} = B^{(1)} \left[r_1 + \frac{(1 - k_1^{(I)}) b_1^2}{(2 + k_1^{(I)}) r_1} \right] \cos\theta_1 \quad (4)$$

となる。第二の細胞に対しても全く同じ取り扱いとなり、 $r_1 \rightarrow r_2$ 、 $k_1 \rightarrow k_2$ 等の置きかえをすればよい。

外場による電位と、それぞれの細胞が誘起する電位の記述がなされたので、細胞外の電位は重ね合せの原理により、

$$\phi = \phi^{(ex)} + \phi_1^{(0)} + \phi_2^{(0)} \quad (5)$$

二番目の細胞が作る電位 $\phi_2^{(0)}$ を、第一の細胞の座標 r_1 、 θ_1 と細胞間距離 R を用いて次のように書いてみよう。

$$\phi_2^{(0)} = \frac{a_2^3}{r_2^2} A^{(2)} \cos\theta_2 = a_2^3 F_2(r_1, R) \cos\theta_1. \quad (6)$$

未知数 $F_2(r_1, R)$ は、幾何学的関係から

$$\frac{\cos\theta_2}{r_2^2} = \frac{r_1 \cos\theta_1 - R}{(r_1^2 + R^2 - 2Rr_1 \cos\theta_1)^{3/2}} \quad (7)$$

を用い、式(6)の両辺に $\cos\theta_1$ をかけ角積分を行えば、^(*) 62頁注参照

$$F_2(r_1, R) = -\frac{2r_1}{R^3} A^{(2)}. \quad (8)$$

細胞外の電位は次のように表すことができる。

$$\phi = \left[-E_0 r_1 + \frac{a_1^3}{r_1^2} A^{(1)} - \frac{2a_2^3 r_1}{R^3} A^{(2)} \right] \cos\theta_1. \quad (9)$$

この式は第一の細胞の表面付近 ($R \geq r_1$) の細胞外で成立するものである。

同様に r_2 、 θ_2 により第二の細胞の表面付近 ($R \geq r_2$) の電位を記述すれば、

$$\phi = \left[-E_0 r_2 + \frac{a_2^3}{r_2^2} A^{(2)} - \frac{2a_1^3 r_2}{R^3} A^{(1)} \right] \cos\theta_2 - E_0 R. \quad (10)$$

以上、述べたことから、未知の量は $A^{(1)}$ 、 $B^{(1)}$ 、 $A^{(2)}$ 、 $B^{(2)}$ であることが明らかであろう。これらは、細胞膜の境界における電位、電束密度に対する連続性を考慮すれば、次の連立一次方程式の型に書くことができる。

$$\begin{bmatrix} 1 & M_1 & -X_1 & 0 \\ -2 & N_1 & -X_1 & 0 \\ -X_2 & 0 & 1 & M_2 \\ -X_2 & 0 & -2 & N_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} A^{(1)} \\ B^{(1)} \\ A^{(2)} \\ B^{(2)} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} E_0 \\ E_0 \\ E_0 \\ E_0 \end{bmatrix}. \quad (11)$$

各行列要素は形式的に書かれているので、幾何学的、物理学的定数を用いてあらわに書けば次の

よくなる。

$$M_i = -1 - \frac{1 - k_i^{(1)}}{2 + k_i^{(1)}} \cdot \frac{b_i^3}{a_i^3} \quad , \quad (12-a)$$

$$N_i = \left[-1 + \frac{2(1 - k_i^{(1)})}{(2 + k_i^{(1)})} \cdot \frac{b_i^3}{a_i^3} \right] k_i^{(0)} \quad , \quad (12-b)$$

$$X_i = \frac{2 a_i^3}{R^3} \quad . \quad (12-c)$$

ここで、 $k_i^{(0)}$ は、 $k_i^{(0)} = \varepsilon_i^{(1)} / \varepsilon_0$ である。また i は 1 または 2 である。

式(11)の解は、次のように簡単に表現することができる。

$$A^{(i)} = (N_i - M_i) [H_j + (N_j - M_j) X_i] E_0 / G \quad ,$$

$$B^{(i)} = 3 [H_j + (N_j - M_j) X_i] E_0 / G \quad , \quad (13)$$

ただし、 $(i \neq j)$, $(i, j = 1, 2)$.

ここで係数 H_i と行列式 G はそれぞれ

$$H_i = N_i + 2M_i \quad , \quad G = H_1 H_2 - (N_1 - M_1)(N_2 - M_2) X_1 X_2 \quad (14)$$

である。 X_1 , X_2 のみが細胞間の距離の変数であることに注意すれば $R \rightarrow \infty$ では

$$\bar{A}^{(i)} = (N_i - M_i) E_0 / H_i \quad , \quad \bar{B}^{(i)} = 3 E_0 / H_i \quad ; \quad (i = 1, 2) \quad (15)$$

となり、電場中の孤立した細胞の結果に一致していることがわかる。

式(15)の結果 \bar{A}_i, \bar{B}_i を用いれば式(13)は次のように書き直すことができる。

$$A^{(i)} = \bar{A}^{(i)} \left(1 + \bar{A}^{(j)} \frac{X_i}{E_0} \right) H_1 H_2 / G \quad , \quad (16)$$

$$B^{(i)} = \bar{B}^{(i)} \left(1 + \bar{A}^{(j)} \frac{X_i}{E_0} \right) H_1 H_2 / G \quad , \quad (i \neq j) \quad , \quad (i, j = 1, 2)$$

$$G = \left(1 - \bar{A}^{(1)} \bar{A}^{(2)} \frac{X_1 X_2}{E_0^2} \right) H_1 H_2 \quad . \quad (17)$$

※) 右辺の角積分は初等的手法で実行できる。結果は、

$$\int_{\Omega_1} \frac{\cos\theta_2}{r_2^2} \cos\theta_1 d\Omega_1 = -\frac{4\pi}{3} \cdot \frac{2r_1}{R^3}$$

である。

2. 細胞の双極子表現と膜電位

外場 E_0 により細胞が誘起する電位は式 (2-a) であり、等価な双極子モーメント P は次のように書ける。

$$P = 4\pi\epsilon_0 a^3 A \quad (18)$$

孤立した細胞の双極子モーメントをその分極率 α を用いて表せば

$$\bar{P}_i = 4\pi\epsilon_0 a_i^3 \bar{A}^{(i)} = \alpha_i E_0, \quad (i = 1, 2) \quad (19)$$

であり、この表現により、外場中で二個の細胞が誘起される双極子モーメントは、それぞれ次の式となる。

$$P_i = \bar{P}_i \left[1 + \frac{2\bar{\alpha}_j a_j^3}{4\pi\epsilon_0 a_j^3} \cdot \frac{1}{R^3} \right] / \left(1 - \frac{4\bar{\alpha}_i \bar{\alpha}_j}{(4\pi\epsilon_0)^2} \cdot \frac{1}{R^6} \right),$$

$$(i \neq j), (i, j = 1, 2). \quad (20)$$

P_1, P_2 は細胞間の距離の関数として表せることが理解できよう。最も簡単な例として、二つの細胞が同じ大きさ、同じ電気的性質をもつものであれば次のようにかける。

$$P = \bar{P} / \left(1 - \frac{2\bar{\alpha}}{4\pi\epsilon_0} \cdot \frac{1}{R^3} \right) \quad (21)$$

³⁾ この式は Pohl の教科書に一致するものである。また双極子モーメントが求められたので二つの細胞からなる系の静電エネルギーは、

$$U = -\frac{1}{4\pi\epsilon_0} \cdot \frac{2P_1P_2}{R^3} \quad (22)$$

と表せる。\$P_1, P_2\$ もまた距離 \$R\$ の関数であることに注意を要する。この式は細胞が互いに接触する直前までにあてはまる式である。

これまで述べてきたことから理解されるように膜電位は

$$\Delta V_i = \phi_i^{(I)}(a_i) - \phi_i^{(II)}(b_i), \quad (i = 1, 2) \quad (23)$$

と定義することができるので

$$\Delta V_i = B^{(I)} \left[(a_i - b_i) - \frac{1 - k_i^{(I)}}{2 + k_i^{(I)}} \left(b_i - \frac{b_i^3}{a_i} \right) \right] \cos\theta_i, \quad (24)$$

$$(i = 1, 2)$$

である。

この式から、電場中に孤立した細胞がうる膜電位と他の細胞が存在する場合の膜電位とは明らかに異なり、孤立系のそれより大きいことが期待される。また二つの細胞の最も近いところで、大きな膜電位を得ることも理解できよう。

3. ま と め

電場中における細胞間相互作用の特徴と膜電位について見てきた。細胞融合のメカニズムを理解する上でも電氣的細胞融合は細胞接近から膜離断に至る過程を詳しく観測することが可能であるという利点を持っている。また実用面でも最も高収率であることが知られている。本稿はその理論的端緒を示したものであるが、今後、交流を含む一般の電磁場中における細胞間相互作用及び膜電位についてふれていく予定である。またこの取り扱いには細胞に限らず、電場中の粒子、例えば丸い高分子や超微粒子間相互作用の問題にも共通であることを指摘しておこう。

最後に細胞融合技術の現状について私達に暖かく御教示して頂いた押金健吾助教授、また大阪で開催された生物学の国際会議に関する資料を提供して下さいました岡崎光雄教授に感謝します。

Reference

- 1) • 遺伝子組換え実用化技術 3、サイエンスフォーラム、(1982)。
• 植物バイオ工学、細胞育種技術実験法、山田、大山、サイエンスフォーラム、(1985)。
その他の文献は、この中に引用されている。
• 押金健吾：生物工学から見たクワ細胞育種の基礎的研究、昭和60年度科学研究費補助金研究成果報告書、(1986)。
- 2) U. Zimmermann, W.M. Arnold, Abstracts of the 1st International Conference of Biotechnology, Osaka, Japan, (1985), 10-4. その他の文献はこの中に引用されている。
- 3) A. H. Pohl, Dielectrophoresis.
Cambridge University Press, (1978), 34.
- 4) C. Holzapfel, J. Vienken, and U. Zimmermann, J. Membrane Biol, 67, (1982), 13.

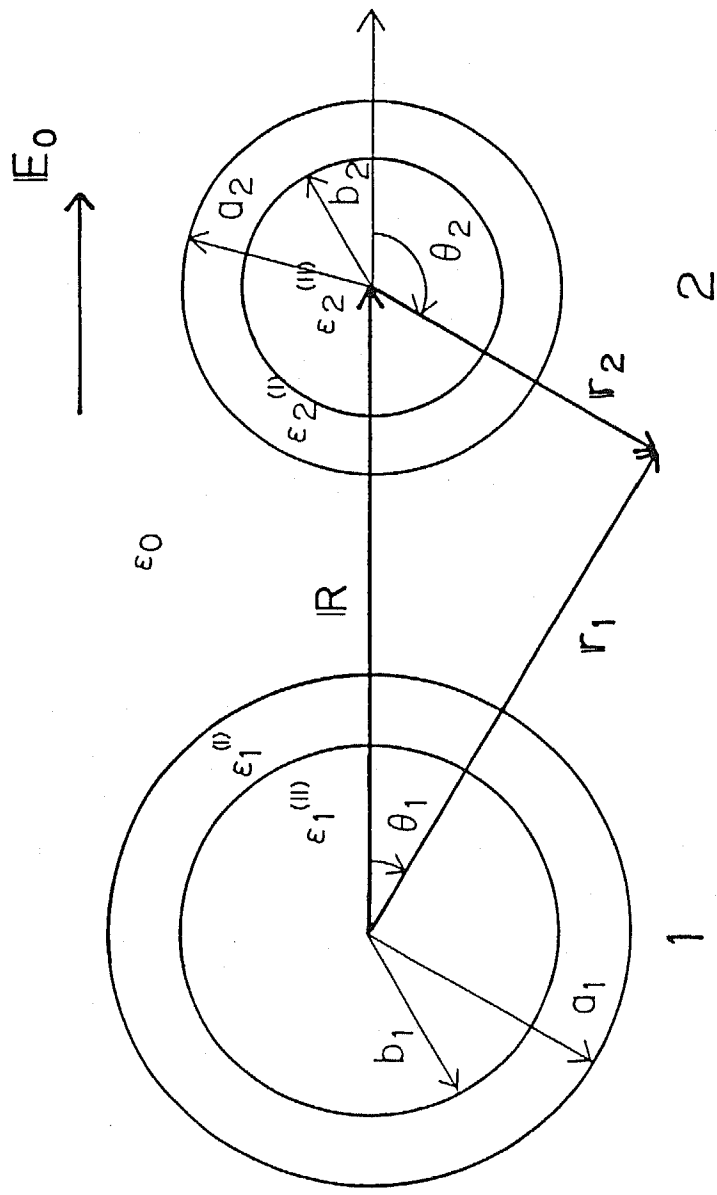


図 1

E_0 は一様な外電場、 R は細胞間距離である。
 ϵ_0 は細胞外の誘電率、 $\epsilon_i^{(I)}$ 、 $\epsilon_i^{(II)}$ ($i = 1, 2$) はそれぞれの細胞内の誘電率である。