

アクティブガラスのダイナミクス及びレオロジー  
アクティビティ依存性

浜 勇二郎

指導教官：水野 大介 教授

九州大学大学院 理学府 物理学専攻

複雑生命物性研究室

2026年2月2日

水野 大介

## 要旨

高密度コロイド系において、乱雑な配置のまま流動性を失うガラス状態は、物理学における重要な研究対象である。近年では、自己駆動粒子が混み合ったアクティブガラスと呼ばれる系が、アクティブマターとガラス物理が交差する文脈で盛んに研究されている。これまでの研究により、古典的なガラス状態で凍結していたダイナミクスが、自己駆動力（アクティビティ）により流動化することが、実験および数値シミュレーションの両面から報告されている。一方、レオロジーの観点からは、アクティビティの存在下で複素弾性率  $G(\omega)$  が本質的に変化する。具体的には、 $G'(\omega) \propto \omega^0$  に特徴づけられる固体的な応答（弾性プラトー）が消失し、 $G'(\omega), G''(\omega) \propto \omega^{1/2}$  に従うべき則的レオロジーが現れる。このようなべき則的応答は、揺らぎダイナミクスを持たない仮想的な媒質のジャミング臨界点で出現すると考えられてきた。しかし、揺らぎダイナミクスを本質的に含むアクティブガラスにおいて、同様のべき則的応答が広く観測される物理機構は未解明である。

これまでアクティブガラスの粘弾性は、アクティビティの有無といった二値的条件下で計測され、アクティビティの連続的な変化に対する依存性は十分に調べられていない。そこで本研究では、自己駆動粒子から成る高密度アクティブ系を対象とし、アクティビティの変化がダイナミクスおよびレオロジー特性に与える影響を調べた。具体的には、遊走性を持つ大腸菌と遊走性を持たない大腸菌の混合比をアクティビティの指標として制御した実験系を構築した。さらに、Active Brownian Particle (ABP) モデルを用いた数値シミュレーションを併用し、実験とシミュレーションの両面からアクティブガラスの性質を比較・検討した。

アクティブな混み合い状態を実現するため、培地との物質交換を可能とする交換チャンバーを作成し、長時間測定を行った。試料のアクティビティ指標として、溶媒中で測定した単一大腸菌の遊走速度から定義したペクレ数 ( $Pe$ ) を、試料中の遊走菌の割合で重み付けした平均ペクレ数を用いた。レオロジー特性は、光ピンセットを用いたマイクロレオロジーにより評価し、粒子の揺らぎおよび外力応答から粘弾性特性を求めた。

その結果、マイクロレオロジー測定により揺らぎと応答を比較すると、 $Pe = 3$  というわずかなアクティビティ下でも、10 Hz 以下の周波数領域において揺動散逸定理が破れることを確認した。これは、遊走大腸菌の鞭毛回転によって系が非平衡に駆動されていることを示している。この非平衡状態においてダイナミクスを解析すると、構造緩和時間および動的不均一性が、アクティビティの増加に伴いほぼ単調に低下することが明らかになった。また、複素弾性率に関しては、アクティビティがゼロの状態では低周波数領域に弾性プラトーが観測されたのに対し、 $Pe \geq 3$  においては  $G^*(\omega) \propto \omega^{1/2}$  に従うレオロジーが現れた。

ABP のシミュレーションにおいても、ペクレ数をアクティビティ指標としてダイナミクスおよび複素弾性率を求めた。 $Pe = 0$  で固化した系のダイナミクスは、実験と同様に、アクティビティの付与に伴って構造緩和が促進し、動的不均一性が消失した。複素弾性率については、 $Pe < 10$  ではアクティビティの増加に伴って弾性プラトーが徐々に低下し、固体的に振る舞う周波数域が低周波側に移動した。代わって、 $G^*(\omega) \propto \omega^{1/2}$  のべき則的応答が中間周波数域に現れた。他方で  $Pe > 20$  では、弾性プラトーは消失し、系の流動化を示すマクスウェル緩和が見られた。 $Pe$  が増大するに従い、緩和周波数は高周波側に移動した。一方、実験においては  $3 \leq Pe \leq 60$  の条件までロバストに  $1/2$  乗則が観測され、マクスウェル緩和が見られなかった。すなわち、系は固体-液体の中間状態に留まり、更なる流動化は生じなかったと解釈できる。これらの結果から、現実のアクティブガラスは、自己組織的に固体-液体間の臨界的な状態に遷移している可能性が示唆される。

# 目次

1	イントロダクション	3
1.1	ガラス物理学	3
1.2	アクティブマター	6
1.3	アクティブガラス	7
1.4	アクティブガラスのレオロジー	10
1.4.1	アクティブガラスのべき則的レオロジー	10
1.4.2	ジャミング転移点におけるレオロジー	12
1.5	本研究の目的	14
2	方法論 1: 実験手法	16
2.1	試料作製	16
2.1.1	大腸菌	16
2.1.2	培養方法	16
2.1.3	大腸菌の長さおよび遊走能	17
2.1.4	OD と濃度の関係	19
2.1.5	体積分率の見積もり	19
2.1.6	遊走用培地	20
2.1.7	屈折率マッチング	20
2.1.8	試料作製方法	21
2.1.9	混合系の作成	21
2.1.10	交換チャンバー	22
2.2	画像解析	22
2.2.1	構造緩和の解析	22
2.2.2	PIV 解析	23
2.2.3	ドリフト処理	24
2.3	マイクロレオロジー	25
2.3.1	光ピンセット法による外力印加	25
2.3.2	Back-focal-plane laser interferometry (BFPLI) 法による粒子追跡	25
2.3.3	Passive MR	26
2.3.4	Active MR	26
2.3.5	キャリブレーション	29
2.3.6	Stage Feedback MR	31
2.3.7	Force-clamp MR	35
2.3.8	揺動散逸定理の破れ	36
3	方法論 2: 数値シミュレーション	38
3.1	数値モデリングおよび系の詳細	38
3.2	数値実験で用いる方程式の無次元化	40

3.3	境界条件	41
3.4	隣接粒子リスト	41
3.5	定常状態	43
3.6	アクティブマイクロレオロジー	44
3.7	外力由来のドリフト除去	45
4	<b>結果と考察</b>	46
4.1	集団ダイナミクス	46
4.2	非平衡揺らぎ	48
4.3	緩和ダイナミクス	52
4.4	Force-clamp MR による粘性測定	53
4.5	複素弾性率	54
4.6	数値計算より求めたダイナミクス	56
4.7	数値実験により求めた複素弾性率	59
5	<b>考察</b>	62
5.1	遊走大腸菌のペクレ数見積もり	62
5.2	非熱揺らぎに関する考察	62
5.2.1	非熱揺らぎの見積もり	62
5.2.2	原田佐々関係式を応用したエネルギー散逸の定量化	64
5.3	シミュレーションにおける緩和挙動の考察	67
5.4	実験とシミュレーションの比較	73
5.5	先行研究との定量的不一致の考察	75
6	<b>結論</b>	77
7	<b>付録</b>	79
7.1	大腸菌に添加する Ficoll 量の計算方法	79
7.2	自己拡散と共同拡散	80
7.3	数値計算により求めた複素弾性率（補足データ）	82

# 1 イントロダクション

## 1.1 ガラス物理学

ガラスとは、その構成要素が乱雑な配置のまま固まったものの総称を指す。窓ガラスや食器のガラスはガラスの代表格である。しかし構成要素が原子や分子である必要はなく、コロイドや高分子のような比較的大きなものであっても、それがランダムに固まっていればガラスと言ってよい。このように定義すると、例えば、歯磨き粉や化粧品、ペンキなどは 100 nm 程度の大きさのコロイド粒子を構成要素とするガラスである。ヨーグルトや豆腐、マヨネーズも、エマルジョンのような柔らかい粒子からなるガラスと呼べる。砂山やボトルに入った錠剤もランダムな状態で流れないため、広い意味でガラスと呼べる [1]。例えば、図 1.1 にある 4 つの物体は全てガラス、ということができる。

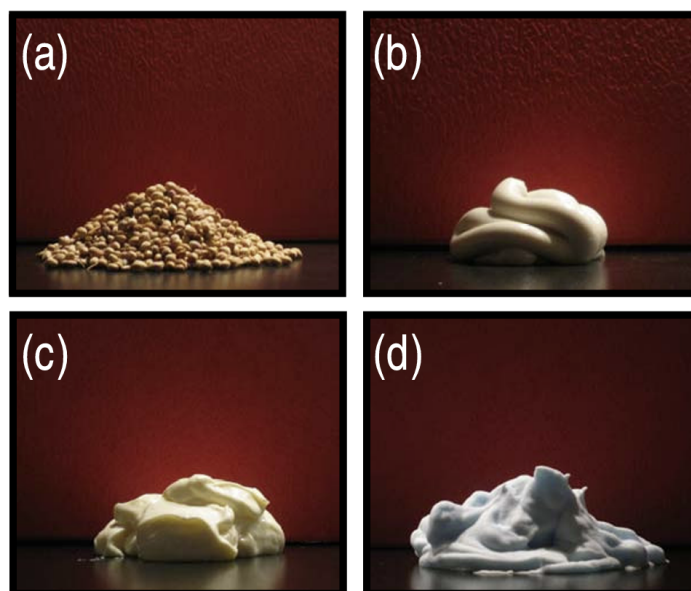


図 1.1 (a)~(d) は、日常的に見られるガラスの例である。(a) は気体または真空中に存在する固体粒子群からなる粒状体 (granular media)、(b) は流体中に高密度に詰まった (コロイド状) 粒子系である歯磨き粉 (toothpaste)、(c) は相分離した流体中に高密度に分散した油滴からなるエマルジョン (マヨネーズ)、(d) は流体中に高密度に詰まった気泡から構成される泡 (シェービングフォーム) をそれぞれ示している [2]。

ガラスと呼ばれる状態は、液体の温度を急激に低下させたり (過冷却液体)、多分散系コロイドの体積分率を上昇させることで実現する。図 1.2(a) はその模式図である。液体がガラス化する際、ある体積分率 (温度) において急激に粘性が上昇し、観測できる範囲内では系のダイナミクスが凍結され構造緩和が生じなくなる。このような現象をガラス転移と呼び、ガラス転移が生じる体積分率 (温度) をガラス転移点と呼ぶ。図 1.2(b) は剛体球コロイドの粘性である [3]。これを見ると、体積分率が 50% を超えた所で粘性が急激に上昇

し、58% あたりでデータ点がなくなる、すなわち粘性が測定できなくなっている。このように実験の観測範囲内で粘性の発散、あるいはダイナミクスの凍結などが生じ、あたかも固体のように振舞う現象はガラス転移と呼ばれる。

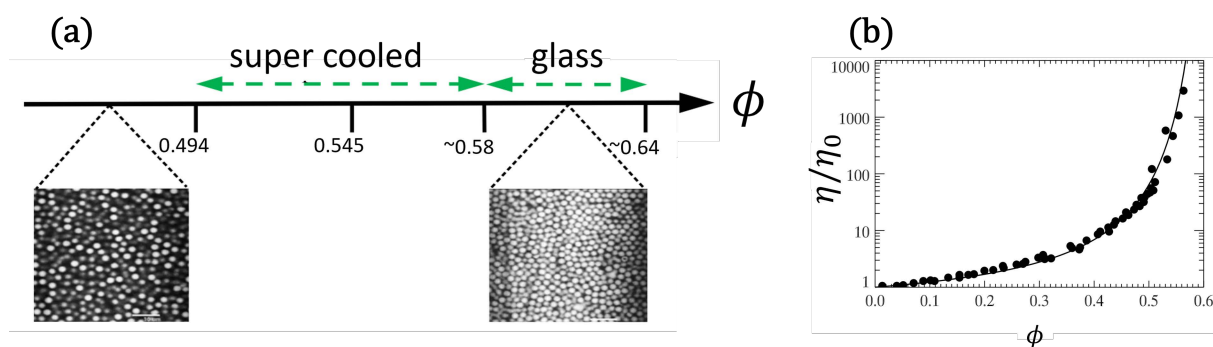


図 1.2 (a) 剛体球コロイド懸濁液の相図とその相に対応する顕微鏡画像 ([3] より一部改変)。多分散系のコロイドを高密度に積みあわせることで、乱雑に固まったガラス状態になることを表している。(b) 剛体球コロイド懸濁液の粘性 ([3] より一部改変)。

このように、ガラス転移の特徴は、粘性や構造緩和時間が実験時間スケールで実質的に無限大となる点にある。しかし興味深いことに、粒子の空間構造、すなわち動径分布関数や構造因子などの静的な観測量は、ガラス化に近づいても大きな変化を示さない (図 1.3(a))。すなわち、巨視的な力学的性質が劇的に変化する一方で、平均的な構造にはほとんど違いが見られないという「静的構造とダイナミクスの乖離」が存在する。

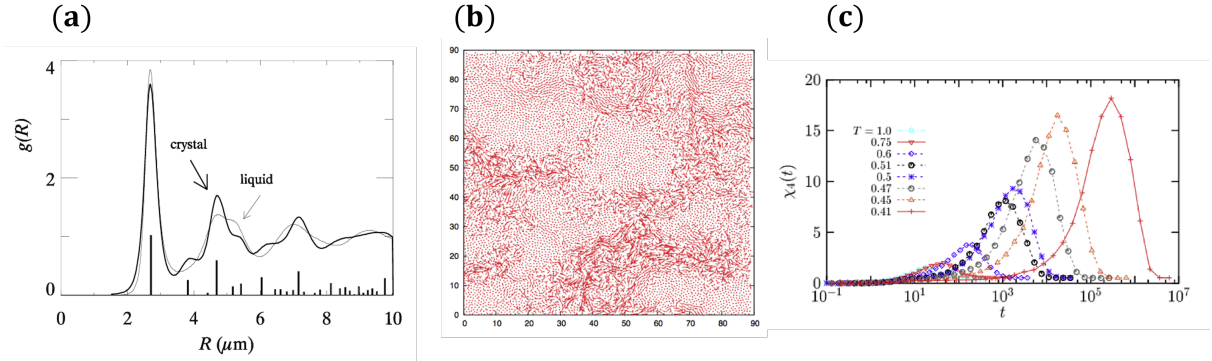


図 1.3 (a) 体積分率  $\phi = 0.48$  (液体相) および  $\phi = 0.57$  (結晶相) における PMMA コロイド粒子の動径分布関数  $g(r)$  [3]。 (b) 二次元 Lennard-Jones 模型の数値シミュレーションにおける各粒子の変位ベクトルの空間分布。矢印は構造緩和時間程度の時間における粒子変位を表しており、粒子の運動性が空間的に関連していることを示している [4]。 (c) 過冷却液体における四点感受率  $\chi_4(t)$  の時間依存性。温度低下に伴うピークの成長と遅延は、動的不均一性の発達を示している [4]。

この乖離を説明するために注目されてきたのが、粒子運動の空間的不均一性である。近年の顕微鏡観察や数値シミュレーションにより、ガラス転移点近傍では粒子の運動が空間的に極めて不均一になることが明らかにされている。この現象は動的不均一性 (dynamical heterogeneity) と呼ばれ、ガラス転移研究の中心的な概念の一つとなっている。

図 1.3(b) は、過冷却液体のシミュレーションにおいて、その粒子変位をプロットしたものである。これを見ると、均一に緩和するのではなく、その変位の大きさには偏りがあり、かつその変位が大きい部分が共同的に動いていることが見て取れる。

この揺らぎの不均一性を定量的に評価する量として、 $\chi_4$  がある [4]。以下、 $\chi_4$  と、ガラス系でその量が動的不均一性を表す理由を簡潔に述べる。

まず、時間区間  $[0, t]$  における粒子  $i$  の並進変位の大きさを定量化するために、モビリティ (mobility) と呼ばれる局所量  $c_i(t, 0)$  を導入する。典型的には、粒子変位  $\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(0)$  を用いて

$$c_i(t, 0) = \exp\left[-\frac{|\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(0)|^2}{d^2}\right] \quad (1.1)$$

と定義する。ここで  $d$  は粒径程度の長さであり、粒子がほとんど動いていない場合には  $c_i \simeq 1$ 、大きく移動した場合には  $c_i \ll 1$  となる。

この局所モビリティから、モビリティ場

$$c(\mathbf{r}; t, 0) = \sum_{i=1}^N c_i(t, 0) \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i(0)) \quad (1.2)$$

を定義し、その空間相関として四点動的相関関数

$$G_4(r; t) = \langle c(\mathbf{r}; t, 0)c(\mathbf{0}; t, 0) \rangle - \langle c(\mathbf{r}; t, 0) \rangle^2 \quad (1.3)$$

を導入する。ここで  $r = |\mathbf{r}|$ 、 $\langle \dots \rangle$  はアンサンブル平均を表す。

この相関関数を空間積分した量

$$\chi_4(t) = \int d^d r G_4(r; t) \quad (1.4)$$

が四点感受率 (four-point susceptibility) である。 $\chi_4(t)$  は、時間  $t$  においてどの程度の空間領域が協調して緩和しているかを表す指標と解釈できる。

実際には、 $\chi_4(t)$  は全モビリティ

$$C(t, 0) = \int d^d r c(\mathbf{r}; t, 0) \quad (1.5)$$

の揺らぎとして

$$\chi_4(t) = N (\langle C(t, 0)^2 \rangle - \langle C(t, 0) \rangle^2) \quad (1.6)$$

と等価に表される。

一般に、ガラス転移に近づくにつれて  $\chi_4(t)$  は顕著なピークを示し、そのピーク値は増大しつつ長時間側へとシフトすることが知られている。図 1.3(c) は、過冷却液体のシミュレーションにおいて、 $\chi_4$  の温度依存性を表している。温度が小さくなるにつれて  $\chi_4$  のピークが大きくなっているのは、過冷却液体がガラス転移点に近づき、動的不均一性の空間スケールが成長していることを反映している。

以上のことから、 $\chi_4$  はガラスにおいて動的不均一性を表す指標だと言える。

## 1.2 アクティブマター

アクティブマター (active matter) とは、外部からの駆動や力の印加に依存せず、構成要素自体が内部的なエネルギー変換を通じて自律的に運動したり、力を発生させたりする非平衡系の総称である。すなわち、アクティブマターは構成要素が常にエネルギーを散逸しながら活動しており、その結果として系全体が熱平衡から恒常的に逸脱している。このような特徴をもつアクティブマターは、近年、非平衡統計物理学の文脈で盛んに研究が行われている。

アクティブマターの本質は、構成要素が持続的にエネルギーを取り込み、運動へと変換する点にある。各粒子が自らの内部エネルギー源によって運動するため、系は常に内部駆動型の非平衡状態にある。この非平衡性が、平衡状態には見られない多様な現象を生み出す。

アクティブマター系を多数集めると、個々の単純な運動則の組み合わせにもかかわらず、しばしば巨視的な秩序や協調運動が自発的に生じる。鳥や魚、アリなどの昆虫の群れは代表的な例である (図 1.4)。このような秩序化は熱平衡系では現れない現象であり、アクティブマターの非平衡性に起因する特徴的なダイナミクスである。

(a)



(b)



(c)



図 1.4 (a) 鳥の群れの写真 (Wikipedia「鳥類」より引用)。(b) イワシの群れの写真 (Wikipedia「イワシ」より引用)。(c) ヒアリの群れの写真 [5]。

アクティブマター研究の目的の一つは、このような非平衡系の普遍的法則を明らかにすることである。すなわち、構成要素の自律運動と相互作用が生み出す非平衡揺らぎや、マクロな輸送特性・力学応答の関係を理解することは、生命現象やソフトマター物理、さらには社会的・生物的集団運動の理解にもつながる。アクティブマターは、このような非平衡現象の統一的理解を目指す上での「モデル系」として位置づけられている。

### 1.3 アクティブガラス

近年、アクティブガラスと呼ばれる、自己駆動粒子が乱雑に混みあった系の振る舞いが、アクティブマターおよびガラス物理学の文脈で盛んに研究されている [6]。Mandal らは、自己駆動粒子の混み合い系をモデルとして、アクティブガラスのダイナミクスを数値的に調べた (図 1.5(a) [7])。各粒子の運動は ABP (Active Brownian Particle) と呼ばれる代表的なモデル [8] を用いており、以下の方程式で記述される。

$$m\ddot{\mathbf{r}}_i = -\gamma\dot{\mathbf{r}}_i + \sum_{j(\neq i)} \mathbf{f}_{ij} + f\mathbf{n}_i + \boldsymbol{\vartheta}_i \quad (1.7)$$

$$\dot{\theta}_i = \xi_i, \quad \mathbf{n}_i = (\cos \theta_i, \sin \theta_i) \quad (1.8)$$

で与えられる。ここで  $\gamma$  は摩擦係数、 $\mathbf{f}_{ij}$  は粒子間相互作用、 $\boldsymbol{\vartheta}_i$  は熱揺らぎを表す。熱揺らぎは  $\langle \boldsymbol{\vartheta}_i(t) \rangle = \mathbf{0}$ 、 $\langle \vartheta_{i\mu}(t)\vartheta_{j\nu}(t') \rangle = 2k_B T \gamma \delta_{ij} \delta_{\mu\nu} \delta(t-t')$  を満たす。自己駆動項  $f\mathbf{n}_i$  が系のアクティビティに対応し、 $f$  がその強さを表す。自走方向を表す  $\theta_i$  の回転拡散は  $\langle \xi_i(t)\xi_j(t') \rangle = 2\tau_p^{-1} \delta_{ij} \delta(t-t')$  で記述され、 $\tau_p$  は推進方向の持続時間である。

図 1.5(b) は、アクティビティ  $f$  に対する自己オーバーラップ関数  $Q(t)$  を示している。 $Q(t)$  は、時刻  $t_0$  における各粒子の位置  $\mathbf{r}_i(t_0)$  が、時間  $t$  後にどの程度保たれているかを表す指標であり、

$$Q(t) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N q(|\mathbf{r}_i(t_0) - \mathbf{r}_i(t_0 + t)|) \quad (1.9)$$

と定義される。ここで  $q(r)$  は

$$q(r) = \begin{cases} 1, & r \leq b, \\ 0, & r > b, \end{cases} \quad (1.10)$$

で与えられる窓関数であり、 $b$  は論文中で  $b = 0.3$ 、すなわち粒径の 30% と設定されている。 $Q(t)$  は短時間では  $Q(t) \simeq 1$  を保ち、粒子がケージから脱出して構造緩和が進行するとともに減衰する。従って、緩和時間は粒子がケージから抜け出すのにかかる時間を反映しており、ガラス的ダイナミクスの指標として用いられる。 $f$  が小さい領域では測定範囲内で十分に緩和していないのに対し、 $f$  が大きくなるにつれて  $Q(t)$  が減衰する時間が早くなる。すなわち、アクティビティの増加により構造緩和が促進されていることが分かる。

図 1.5(c) は、四点感受率  $\chi_4(t)$  を示している。論文中には  $\chi_4(t)$  は以下の式のように、 $Q(t)$  の分散として定義されている。

$$\chi_4(t) = \langle Q^2(t) \rangle - \langle Q(t) \rangle^2 \quad (1.11)$$

なお、四点感受率  $\chi_4(t)$  にはいくつかの慣用的な定義が存在する。[7] では自己オーバーラップ関数  $Q(t)$  の揺らぎとして定義しているが、前節で述べたモビリティ場の相関に基づく定義 (1.6 式) とは正規化や局所量の取り方が異なる。これらはいずれも動的不均一性の強さを定性的には同様に捉える指標であるが、異なる定義間での数値の直接比較には注意が必要である。

$f$  の値が大きくなるにつれて  $\chi_4(t)$  のピーク値が減少しており、これはアクティビティの増加によって、ガラス特有の動的不均一性が抑制され、液体的なダイナミクスへと移行していることを示している。

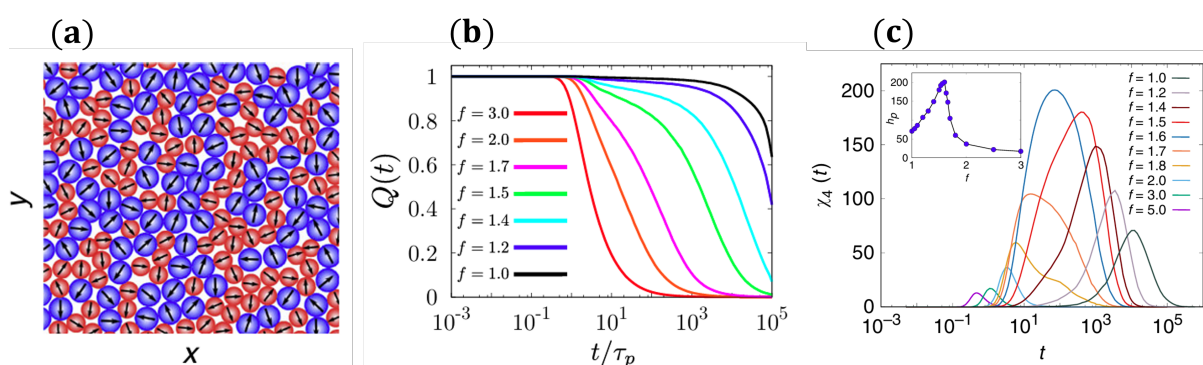


図 1.5 (a) アクティブ混み合い系の模式図。(b) 構造緩和のアクティビティ依存性を示すグラフ。横軸は persistence time に対する時間、縦軸は自己オーバーラップ関数  $Q(t)$  を表す。(c) 四点感受率  $\chi_4(t)$  を時間に対してプロットしたグラフ。図中左上の挿入図は、各  $f$  における  $\chi_4(t)$  のピーク値を示している。(a)、(c) は [7] より、(b) は同論文の Supplementary Information より引用。

このように、アクティビティの増加によってガラス転移が生じていた系が流動化する現象は、アクティブ流動化と呼ばれる。アクティブ流動化はこれまで主に構造緩和や揺らぎといったダイナミクスの観点から研究されている。また、その多くは数値シミュレーションによるものであり、実験的検証の例は少ない。

次に、数少ないアクティブガラスの実験例について述べる。自己駆動粒子のモデルとして、バクテリア [9, 10] や、ヤヌス粒子 [11] を用いた研究が報告されている。これらはいずれも二次元系 (quasi - 2D) で行われており、そのダイナミクスに主眼が置かれている。

Klongvessa らはヤヌス粒子を用いて、アクティビティを制御しながら流動のダイナミクスを計測した [11]。ヤヌス粒子とは、粒子表面が二つの異なる物質から構成された人工コロイドであり、化学反応や外場によって

自己駆動するアクティブ粒子として広く研究されている。図 1.6(a),(b) は、高密度条件下におけるヤヌス粒子系の緩和ダイナミクスを示している。各色で示された  $T_{\text{eff}}/T_0$  は、希薄極限における拡散係数から求められた有効温度であり、この系におけるアクティビティの指標に対応する。図 1.6(a) ではアクティビティの増加に伴い緩和時間が単調に減少しているのに対し、より高密度な条件である図 1.6(b) では、弱いアクティビティによって緩和時間がむしろ増大している。この結果は、アクティビティによる流動化の効果が系の密度や相互作用といった詳細に依存することを示唆している。

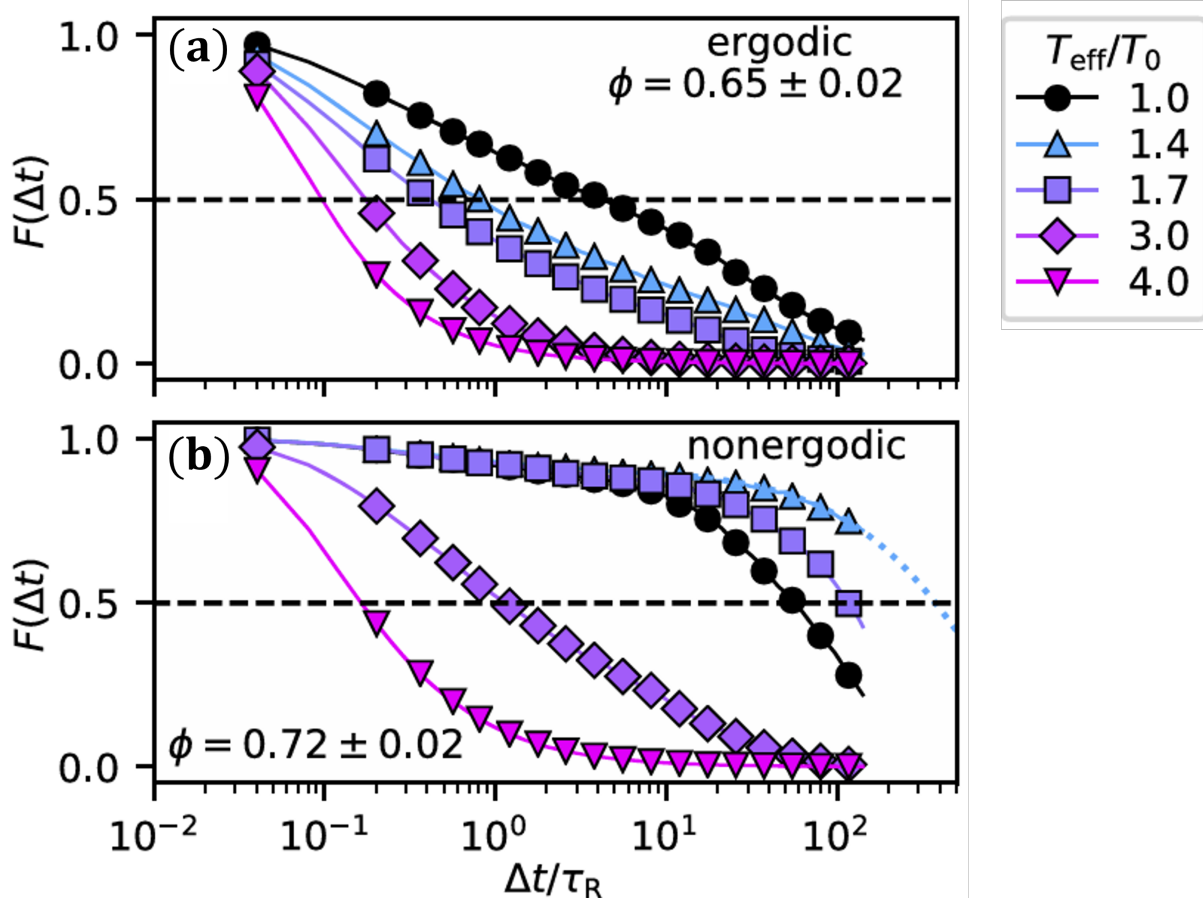


図 1.6 (a) 密度  $\phi = 0.65 \pm 0.02$  における、異なるアクティビティに対する緩和関数  $F(\Delta t)$ 。横線は緩和時間  $\tau$  の定義  $F(\tau) = 0.5$  を示す。(b) 密度  $\phi = 0.72 \pm 0.02$  における緩和関数  $F(\Delta t)$ 。点線はストレッチ指数関数によるフィッティングを表す。(a),(b) ともに [11] より引用。

## 1.4 アクティブガラスのレオロジー

### 1.4.1 アクティブガラスのべき則的レオロジー

一方で、ダイナミクスではなく物性に着目した研究も存在する。Tennenbaum らは、ヒアリの凝集体 (図 1.4(c)) の力学特性が、アクティビティによって変化することを報告した [12]。彼らはレオメータを用いて、試料の力学応答を測定している。図 1.7(a) は、外部せん断応力を 0 Pa に保ったまま、ヒアリ集合体が上板に及ぼす法線力  $F_N$  の時間変化を測定した結果である。これを見ると、法線力が大きな状態と小さな状態とが周期的に繰り返されていることが分かる。この法線力はヒアリの活動に起因するものであり、周期的なピークの有無は、系が活性状態または非活性状態にあることを反映している。彼らは活性状態、非活性状態における系の力学応答を、周期的なせん断を加えることで調べ、複素弾性率を測定した。ここで用いる複素弾性率  $G^*(\omega)$  は、試料に微小な振動せん断ひずみを与えた際の線形応答として定義される量であり、 $G^*(\omega) = G'(\omega) + iG''(\omega)$  と表される。実部  $G'(\omega)$  は弾性的なエネルギー蓄積を、虚部  $G''(\omega)$  は粘性的なエネルギー散逸をそれぞれ表す。以下では、 $G^*(\omega)$  の周波数依存性を通して、アクティビティが系の力学応答に及ぼす影響を議論する。

活性状態において測定した結果が図 1.7(b) であり、非活性状態において測定した結果が図 1.7(c) である。図 1.7(c) では、複素弾性率の実部が虚部よりも大きく、かつ周波数依存性が弱いことから、典型的な固体的応答を示していることが分かる。このような低周波数領域における  $G'(\omega)$  の周波数に依らない振る舞いは、弾性プラトーと呼ばれ、粒子配置が長時間にわたって保たれ、系全体が弾性的に振舞うことを意味している。一方で、図 1.7(b) では実部と虚部の大きさがほぼ同程度であり、その周波数依存性は角周波数の  $1/2$  乗に近いべき則に従っている。このような複素弾性率の周波数依存性は非自明であり、単純な固体や液体のいずれにおいても見られない特徴的な振る舞いである。

Sugino らは、アクティブガラスのモデル系として遊走大腸菌を、対応する受動的ガラスのモデルとして遊走しない大腸菌を用い、それぞれのレオロジー特性を測定した [13]。図 1.8(a), (b) は、それぞれ遊走大腸菌懸濁液および非遊走大腸菌懸濁液における複素弾性率の測定結果を示している。両図において、点線は角周波数の  $1/2$  乗に比例する関数を表している。これを見ると、図 1.8(a) では測定された周波数範囲において  $1/2$  乗則に近い振る舞いが見られる一方、遊走しない系では、高密度条件において弾性プラトーが現れている。これらの結果は、アクティビティによって系の力学応答が変化すること、またアクティブな混みあい系において  $1/2$  乗則が特徴的な振る舞いとして現れる可能性を示唆している。

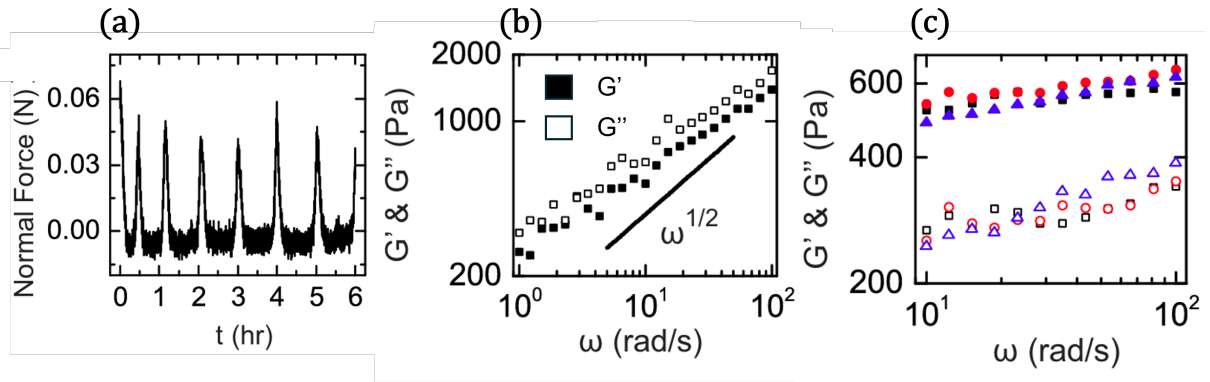


図 1.7 (a) クリープ試験に対応して測定された法線力 (normal force) の時間変化。系には 0 Pa のせん断応力が加えられており、測定された法線力は試料固有の応答を反映している。(b), (c) それぞれ活性状態および非活性状態において測定された複素弾性率。塗りつぶされた点は実部、中抜きの方は虚部を表す。横軸はレオメータによるせん断の角周波数である。

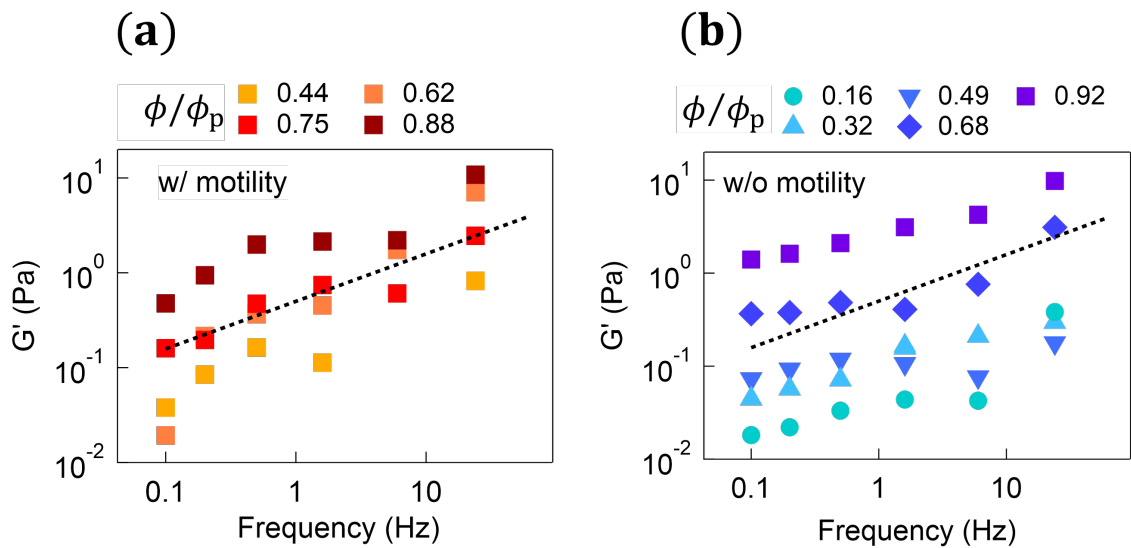


図 1.8 (a), (b) それぞれ遊走大腸菌懸濁液および非遊走大腸菌懸濁液における、複素弾性率の実部の周波数依存性。各曲線の色は図中上部に示された試料濃度に対応しており、濃度指標  $\phi/\phi_p$  はペレットに対する相対濃度を表している。

### 1.4.2 ジャミング転移点におけるレオロジー

ここで、先に述べた  $G^*(\omega) \propto \omega^{1/2}$  というレオロジー特性が、ジャミング転移点という特殊な条件下で実現することを簡単に述べる。

ジャミング転移とは、温度がゼロの条件下、すなわち熱揺らぎが存在しない状態において、粒子系が体積分率の増加に伴い、流動的な状態から剛体的な状態へと転移する現象である。図 1.9 は、ジャミング系の模式図である。ここでは、斥力のみが働く柔らかい粒子からなる系を考え、その圧縮過程における力学的性質に着目する。充填密度  $\phi$  が臨界密度  $\phi_c$  未満では、エネルギー最小化後の静的配置においては、粒子間に力を伝達する接触は存在せず、圧力はゼロとなる。 $\phi = \phi_c$  では、全粒子が変形することなく互いにちょうど接触し、系全体にわたって接触ネットワークが形成され剛体的な応答が生じ始める。この点をジャミング転移点と呼ぶ。さらに  $\phi > \phi_c$  では、粒子が変形し、過剰な接触を伴う状態となり、有限の圧力を持つジャミング状態が実現する。

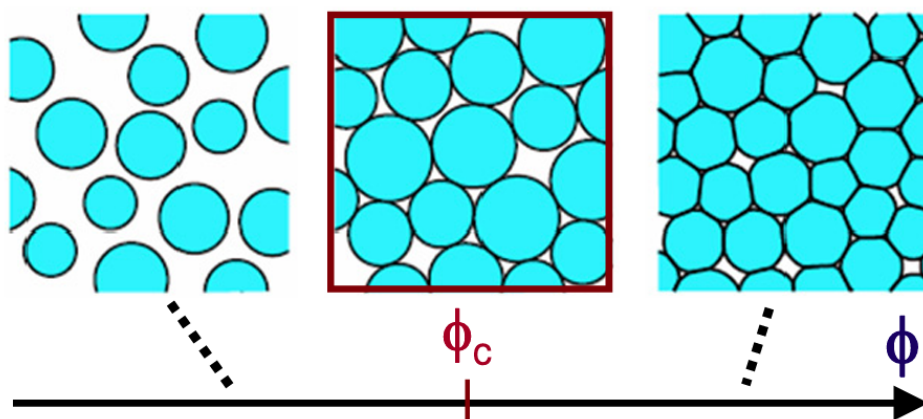


図 1.9 充填密度  $\phi$  の関数として示した、摩擦のない柔らかい粒子系の状態 [2]。左： $\phi < \phi_c$  では圧力はゼロで、粒子は接触せず不安定な状態。中央： $\phi = \phi_c$  では粒子は接触するが変形しない。右： $\phi > \phi_c$  では粒子が変形し、有限圧力を持つ過剰接触状態となる。

ジャミング転移点では、粒子配置は力学的に安定ではあるものの、余分な拘束を持たない等方剛性状態であり、わずかな摂動に対しても大きな応答を示す限界安定 (marginally stable) な状態となる。図 1.10(a) は、数値シミュレーションにより求められたアモルファス固体の振動状態密度を示しており、各曲線はジャミング転移点からの距離  $\Delta\phi = \phi - \phi_c$  の異なる状態に対応している。 $\Delta\phi = 0.1$  の場合には、低周波数領域においてデバイ則に近い  $D(\omega) \propto \omega^2$  の振る舞いが見られる一方、ジャミング転移点に近づくにつれて低周波数側の振動モードが顕著に増大していることが分かる。これは、低エネルギーで励起されやすいソフトな振動モードが増加していることを意味しており、アモルファス固体に特有の力学的な不安定性を反映している。

このような低周波数モードの増大は、粒子系の変形応答の空間構造にも明確に現れる。図 1.10(b)~(e) は、摩擦のない 1000 個の粒子からなるジャミング系に対して圧縮またはせん断を加えた際の粒子変位場を示したものである。図 1.10(b),(c) はジャミング転移点から十分離れた高密度状態 (平均接触数  $z = 5.78$ ) に対応し

ており、粒子の変位は外部から与えられた変形に対しておおむね一様に従っている。このように、粒子の変位が系全体の一様な変形によって近似的に記述できる場合、その変形はアフィン変形と呼ばれ、典型的な固体において支配的な振る舞いとして知られている。一方、図 1.10(d),(e) はジャミング転移点近傍（平均接触数  $z = 4.09$ ）の状態に対応しており、粒子の変位は空間的に大きくばらつき、局所的な回転や集団的な再配置を伴う不均一な変形が支配的となっている。このように、粒子の変位が外部から与えられた一様な変形から大きく逸脱する場合、その変形は非アフィン変形と呼ばれ、ジャミング転移点近傍において顕著に現れる特徴である。

このように、ジャミング転移点に近づくにつれて、低周波数のソフトな振動モードが増大し、それに対応して変形応答は著しく非アフィンな性質を示す。この力学的な臨界性が、ジャミング近傍において複素弾性率が  $G^*(\omega) \propto \omega^{1/2}$  という特徴的なべき則を示す起源として理解されている。実際、この 1/2 乗則は、ジャミング転移点近傍の受動的粒子系において、理論および数値シミュレーションの双方から報告されている [14,15]。

この 1/2 乗則は、単純な弾性体や粘性流体では説明できない、臨界的な力学応答を反映したものであり、ジャミング特有の粘弾性スケーリングとして理解されている。

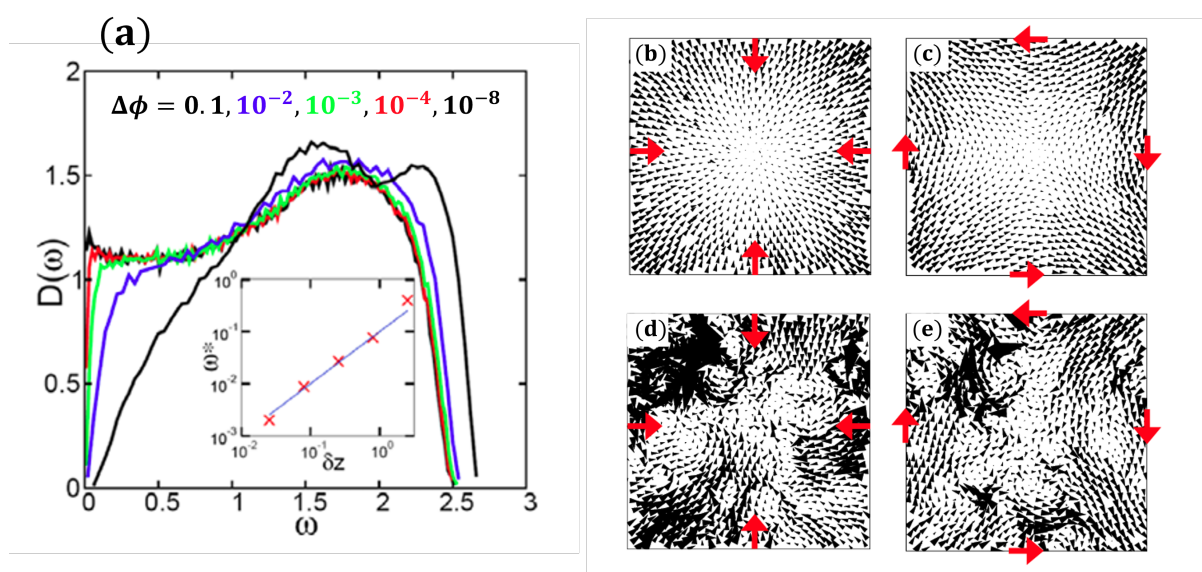


図 1.10 (a) アモルファス固体における、振動状態密度の振る舞い ([16] より一部改変)。(b) ジャミング状態の、圧縮下における変位場の図 [2]。摩擦のない 1000 個のディスクの変位場を表したもの。赤色の矢印は系にかかっている圧縮、またはずりの方向を表す。(b),(c) はジャミング転移点も強く混み合った状態における変位場 (平均接触数:  $z = 5.78$ ) であり、(d),(e) はジャミング転移点に近い充填率 (平均接触数:  $z = 4.09$ ) における変位場。図 (b)~(e) の条件下において、ジャミング転移点は  $z = 4$  の時に生じる。

Roland らは、ジャミング転移点近傍におけるアクティブガラスの降伏応力を数値的に評価した [17]。彼らは三次元 Active Brownian Particle モデルにずり場をかけ、温度、体積分率、および移流と拡散の比であるペクレ数を制御パラメータとして力学特性を調べている。降伏応力とは、系が弾性的応答を保てなくなり、

流動化が生じ始める最小のずり応力である。図 1.11(a) は、複数の温度およびペクレ数に対する降伏応力の体積分率依存性を示している。黒の点線は  $T = 0$ ，すなわちジャミング状態における理論値である。

この図から、主に二つの特徴が読み取れる。第一に、 $Pe = 0, 1$  といったアクティビティの弱い条件では、ジャミング転移点以下の体積分率においても降伏応力が観測される。これは、熱揺らぎによって実効的な粒子接触が生じ、弾性的応答が発現した結果であり、エントロピー弾性として理解される。第二に、ペクレ数が大きい条件では、降伏応力が測定される最小の体積分率，すなわち液体相から固体相への転移点，が、アクティビティの増加に伴って高体積分率側へと移動している。この傾向は、特に  $T = 10^{-4}$  における図 1.11(b) の  $Pe = 10, 30$  のデータにおいて顕著である。

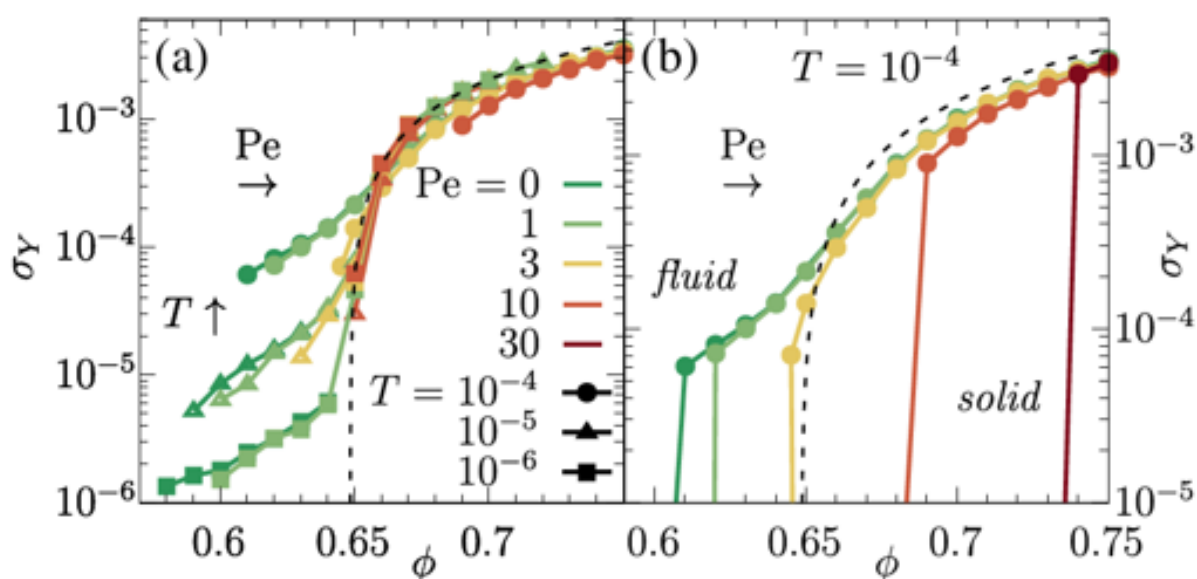


図 1.11 (a) アクティブガラスの数値シミュレーションにより求められた降伏応力。(b) (a) のうち、 $T = 10^{-4}$  のデータを抜粋したもの。

## 1.5 本研究の目的

以上のように、アクティブガラスは、従来の受動的なガラス系とは異なるダイナミクスを示すことが、近年明らかになってきた。特に、自己駆動粒子が高密度に混みあったアクティブガラスにおいては、アクティビティの増加に伴う構造緩和の加速や、動的不均一性の変化といった現象が、主として数値シミュレーションを通じて報告されている。

一方、レオロジーの観点からの研究では、アクティビティの変化に伴う降伏応力の変化や、複素弾性率の周波数依存性が質的に変化することが報告されてきた。中でも、複素弾性率が周波数の  $1/2$  乗に比例するというべき則は、単純な固体の応答や液体的応答のいずれにも分類されない非自明な力学応答であり、アクティブガラスの物性を理解する上で重要な特徴の一つとして注目されている。

このような  $1/2$  乗則は、受動的な粒子系においても、ジャミング転移近傍で現れることが知られており、臨界的な力学応答を反映したスケーリングとして理解されている。しかしながら、アクティブガラスにおいて観測される同様のべき則が、受動系のジャミングと同一の物理機構に由来するのか、あるいはアクティビティに特有の非平衡効果によって新たに生じたものなのかについては、現時点では明確になっていない。

さらに、これまでに報告されている複素弾性率の測定の多くは、系がアクティブであるか非アクティブであるかといった二値的な条件下で行われたものであり、アクティビティを連続的に制御した条件下においてレオロジー応答を系統的に調べた実験例はほとんど存在しない。そのため、アクティビティの強さが変化する過程で、 $1/2$  乗則に代表される非自明な力学応答がどのように現れ、あるいは消失するのかについては、未解明な点が多く残されている。

本研究の目的は、アクティビティを制御した混みあい系において、アクティビティが系のダイナミクスおよびレオロジー特性にどのような影響を与えるのかを調査することである。特に、これまで主にダイナミクスの観点から議論されてきたアクティブガラスに対し、複素弾性率に代表されるレオロジー応答のアクティビティ依存性に着目する。

そのために本研究では、遊走・非遊走大腸菌を用いた実験系を構築し、アクティビティの違いが構造緩和挙動および粘弾性応答に及ぼす影響を測定する。さらに、Active Brownian Particle (ABP) モデルを用いた数値シミュレーションを併用することで、実験結果の解釈に必要な最小限の理論的視点を与え、アクティビティと力学応答の関係について定性的な理解を得ることを目指す。

## 2 方法論 1: 実験手法

### 2.1 試料作製

#### 2.1.1 大腸菌

本研究では、遊走性を持つ微生物として大腸菌を用いた。大腸菌の学名は *Escherichia coli* であり、一般的に *E. coli* と表記される。大腸菌は総称的な呼び方であり、異なる菌株を含む多様な性質を持つ。例えば、病原性を有することで知られる O157 もその一つである。

大腸菌はクラミドモナスに比べてサイズが小さく、さらに高濃度条件下においても遊走することができる。通常、大腸菌は遊走中に tumble と呼ばれる進行方向をランダムに変える運動を行う。本研究では、直進的な遊走運動に着目するため、tumble を行わない直進性変異体である RP4979 株 [18] を用いた。また、RP4979 株の大きさは、長軸がおおよそ 3–4  $\mu\text{m}$ 、短軸がおおよそ 1  $\mu\text{m}$  である。

一方、SHU321 株は RP4979 株のゲノムに存在する、遊走に必要なタンパク質をコードする *motA* および *motB* 遺伝子を欠失させた菌株である [19]。この欠失により SHU321 株の鞭毛は回転せず、遊走しない。RP4979 株と SHU321 株の懸濁液中での測定結果を比較することで、アクティビティの有無が系に与える影響を調べることが可能である。本研究では、これら 2 種の大腸菌株を用いた。

RP4979 の水中における典型的な遊走速度は約 20  $\mu\text{m/s}$  であり [20]、これは本研究室で測定された値ともおおよそ一致している [21]。

#### 2.1.2 培養方法

本研究では、大腸菌 RP4979 株を以下の手順で培養した。まず、グリセリン 20% を含む LB 培地 (1% tryptone, 0.5% yeast extract, 0.5% NaCl) 中で  $-80^{\circ}\text{C}$  にて冷凍保存されている株を、振とう機能付きインキュベーター (Multi-shaker oven HB, Taitec 社) を用いて、 $37^{\circ}\text{C}$ 、75 rpm の条件で 12~16 時間培養した。その後、培養液を LB 寒天培地 (1% tryptone, 0.5% yeast extract, 0.5% NaCl, 1.5% Bacto agarose) 上に播種した。

播種の際には、ピペットで約 3  $\mu\text{L}$  を採取し、セルスプレッダー (AS ONE 社製) の T 字型先端に付着させ、寒天表面を傷つけないように塗り広げた。その後、 $37^{\circ}\text{C}$  で一晩静置することで、単一の大腸菌が分裂して形成された単クローン性コロニーが多数得られる。この寒天培地は冷蔵条件下で約 1 ヶ月保存可能である。

実験前夜に、得られたコロニーをピペットチップで回収し、LB 培地に接種して  $37^{\circ}\text{C}$  で一晩振とう培養した。この一晩培養した懸濁液を採取し、溝付きの 3 L 三角フラスコに TB 培地 (1% tryptone, 0.5% NaCl) 1 L を加え、 $30^{\circ}\text{C}$  で培養した。振とう条件は 75 rpm とした。三角フラスコの口にはアルミホイルを被せ、爪楊枝で穴を開けることで空気交換を可能にした。この条件で数時間培養すると、大腸菌は遊走能を獲得し、実験に必要な量の遊走状態の大腸菌が得られる。

本節の最後に、LB 培養を行う際の注意点を述べる。LB 培養時の培養容器には、50 mL 遠心チューブ (Centrifuge Tube 50 mL, NICHIRYO 社) や、バツフル付きフラスコ (BSF-50-SCI, Hario 社) など、底面積の大きい容器を用いる必要がある (図 2.1)。以前は培養容器として 14 mL チューブを用いていたが、底面積が小さいため十分な振とうが行えず、培養後にチューブ底部に大腸菌の凝集物が形成されていた。また、十分な振とうが行われない場合、分裂に失敗した大腸菌が多くなり、系のダイナミクスやレオロジー特性に影響を与える可能性がある。

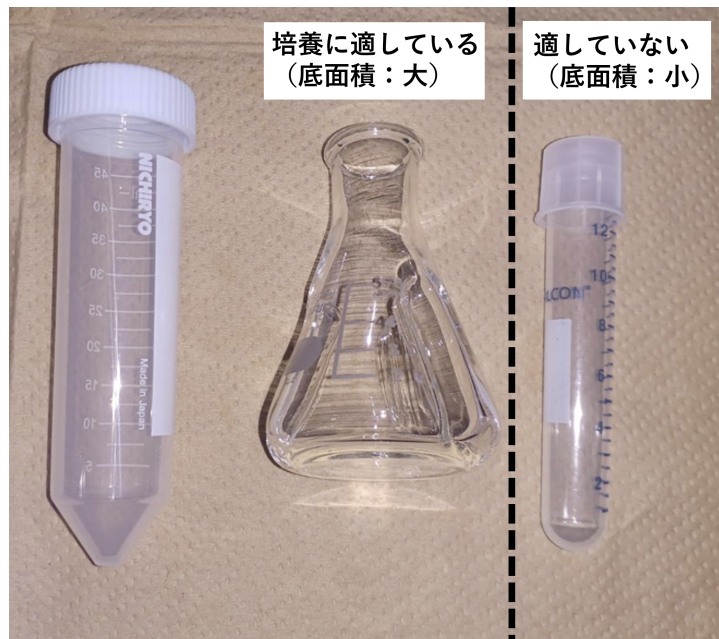


図 2.1 LB 培養時に用いる培養容器の写真。左から 50 mL チューブ、バッフル付きフラスコ、14 mL チューブ。実際の培養では、50 mL チューブまたはバッフル付きフラスコを用いる。

### 2.1.3 大腸菌の長さおよび遊走能

試料を作成するうえで、大腸菌の長さは系の性質に関わる重要なパラメータとなりうる。例えば Martin らは、アクティブガラスを構成するバクテリアの長さによってガラス転移密度が変化することを報告している [10]。したがって、長さの制御は系の性質を保つために必須であると考えられる。

本研究では、TB 培養の時間によって大腸菌の長さを制御している。図 2.2(a) は、TB 培養時における  $OD_{600}$  (次章で述べる) の培養時間依存性、および大腸菌の長さの培養時間依存性を示している。

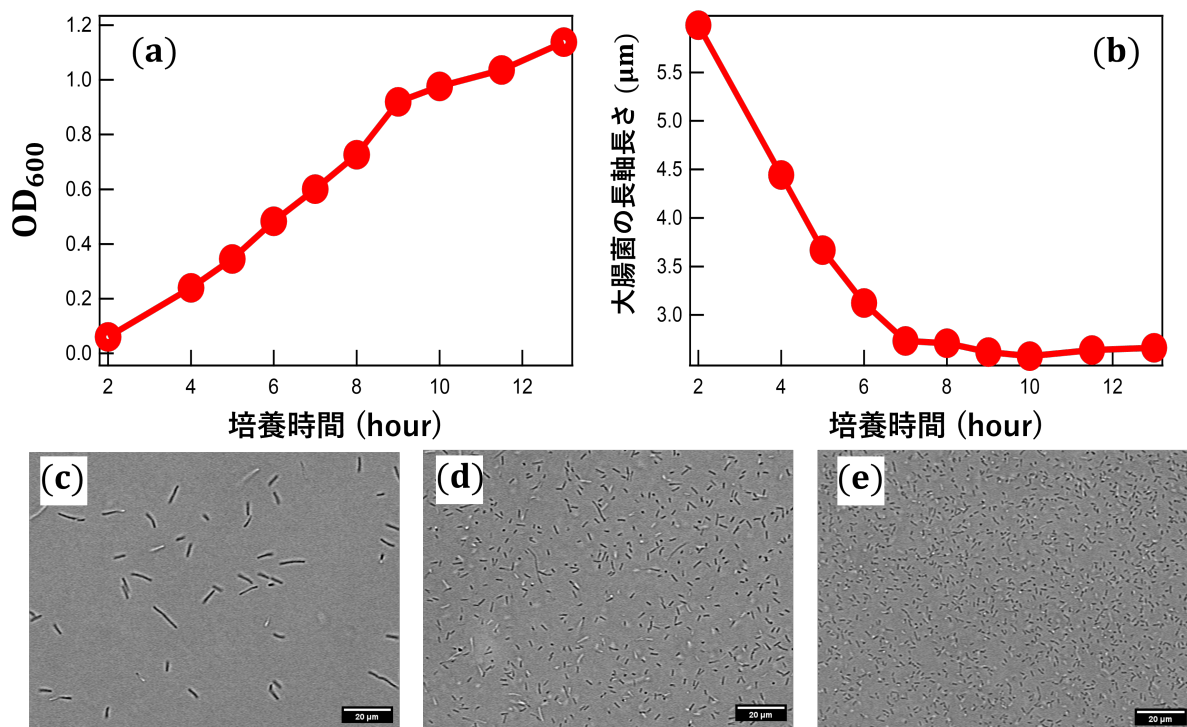


図 2.2 (a) TB 培養時の OD<sub>600</sub> の培養時間依存性。(b) TB 培養時における大腸菌の長軸長の培養時間依存性。長さは ImageJ を用いて顕微鏡画像を解析することで求めた。(c)~(e) TB 培養時の大腸菌の顕微鏡画像。すべての画像は 40 倍の倍率で撮影されており、(c)、(d)、(e) はそれぞれ培養時間 2 時間、6 時間、13 時間に対応する。培養時間が長くなるにつれて、大腸菌が短くなっている様子が分かる。

図 2.2(b) より、培養開始直後には大腸菌が非常に長く、時間の経過とともに短くなっていくことが分かる。先行研究 [13] では、OD<sub>600</sub> がおよそ 0.4 程度に達した段階で TB 培養を終了しており、このときの大腸菌の長さはおおよそ 3 μm である。

培養を早い段階で終了し、大腸菌が長い条件で試料を作成すると、通常とは異なり、配向が揃ったようなダイナミクスが観測される。例えば図 2.3 は、同程度の濃度で長さの異なる大腸菌懸濁液の顕微鏡画像（以下、特に断らない限り明視野顕微鏡像を指す）を示している。(a) は先行研究における典型的な長さの条件、(b) は大腸菌が長い条件であり、(a) と比較して (b) では配向が揃っているように見える。

このような長さの違いはレオロジー特性にも影響を与えるため、同じ特性をもつ試料を作成するためには、培養時間あるいは OD<sub>600</sub> を揃えた条件で試料を作成する必要がある。

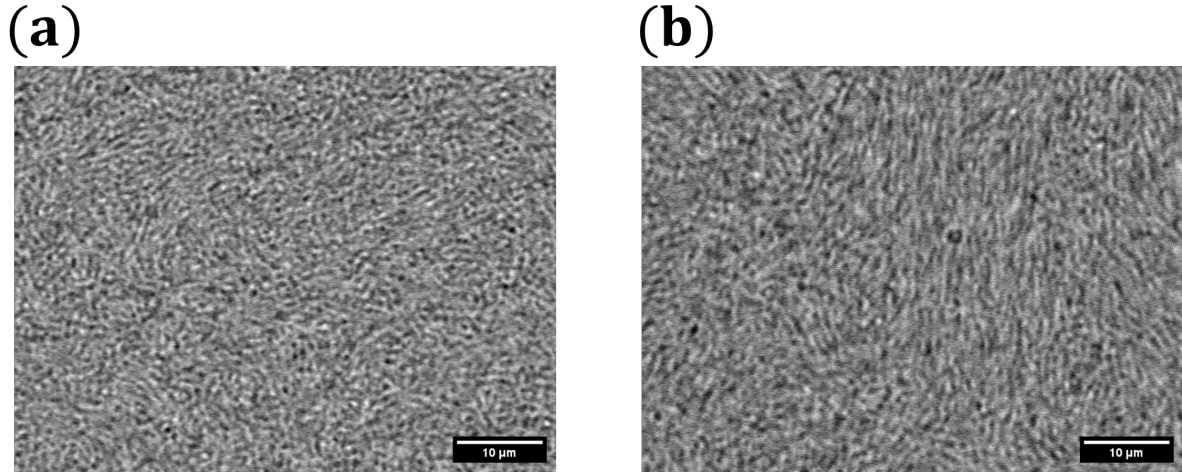


図 2.3 長さが異なる濃厚大腸菌懸濁液の顕微鏡画像。(a), (b) ともにはほぼ同じ濃度 ( $\phi/\phi_p = 0.65$ ) であり, (a) は平均長さが約  $3.2 \mu\text{m}$ , (b) は平均長さが約  $4.6 \mu\text{m}$  である。画像は 100 倍の顕微鏡像であり, スケールバーは  $10 \mu\text{m}$  に対応する。

#### 2.1.4 OD と濃度の関係

本研究で作成した試料は三次元系であるため, 顕微鏡画像から直接濃度を求めることはできない。そこで, 本研究では濁度 (Optical Density; OD) を用いて濃度を評価する。

OD は特定波長の光の吸収度合いを表す量であり, 透過率を用いて次式で定義される。

$$\text{OD} = -\log_{10} \left( \frac{I}{I_0} \right) \quad (2.1)$$

ここで,  $I_0$  は試料に入射する前の光の強度,  $I$  は試料を透過した後の光の強度である。

ランベルト・ベールの法則より, OD は次式のように表される [22]。

$$\text{OD} = \varepsilon cl \quad (2.2)$$

ここで,  $\varepsilon$  は比吸光度,  $c$  は媒質のモル濃度,  $l$  は光路長である。したがって, OD は数密度に比例する。

実際の測定では, 試料を希釈することにより,  $0.2 < \text{OD} < 1$  の範囲に収まるよう調整して吸光度を測定した。本研究で用いた大腸菌懸濁液では, 数百倍に希釈することでこの範囲に収まった。なお, 波長  $600 \text{ nm}$  における吸光度は  $\text{OD}_{600}$  と表記する。

#### 2.1.5 体積分率の見積もり

本研究では, OD を用いて試料中の体積分率を評価した。従来は, 先行研究により報告されている  $\text{OD}_{600}$  と数密度の関係 [23] を用いて体積分率を算出していた。その際, 大腸菌の体積を  $4 \times 10^{-18} \text{ m}^3$  と近似していた。

この値は, 大腸菌を長軸  $4 \mu\text{m}$ , 短軸  $1 \mu\text{m}$  の直方体と仮定して求めたものであり, 粗い近似である。そこで現在は, 異なる方法で体積分率を推定している。

具体的には、作成した試料を遊走用培地で希釈し、 $0.2 < OD < 1$  の範囲で OD を測定する。この値を、あらかじめ測定しておいたペレット（遠心分離後の沈殿物）の OD で割ることで、ペレットに対する相対濃度を定義する。式で表すと、

$$\frac{\phi}{\phi_p} = \frac{OD_{\text{sample}}}{OD_{\text{pellet}}} \quad (2.3)$$

となる。ここで、 $\phi/\phi_p$  はペレットに対する相対濃度、 $OD_{\text{sample}}$  は試料の OD、 $OD_{\text{pellet}}$  はペレットの OD を表す。本研究では、先行研究 [13] に基づき、 $OD_{\text{pellet}} = 420$  を用いた。

### 2.1.6 遊走用培地

大腸菌は通常の培養条件下において、約 20 分ごとに分裂することが知られている [24]。そのため、長時間の測定では、測定中に試料の濃度が増加する問題が生じる。

この問題を防ぐため、本研究では分裂を抑制する遊走用培地を用いた。遊走用培地の組成は、10 mM  $K_2HPO_4$ 、0.1 mM EDTA、0.2 wt% グルコースであり、pH は 8.2 に調整されている [25]。

実際の測定では、まず TB 培地で目標の  $OD_{600}$  になるまで培養を行い、その後、遠心分離によって上澄み液を除去した。得られたペレットを遊走用培地に再分散させることで、長時間の測定においても試料中の大腸菌濃度が変化しない、安定した測定を実現した。

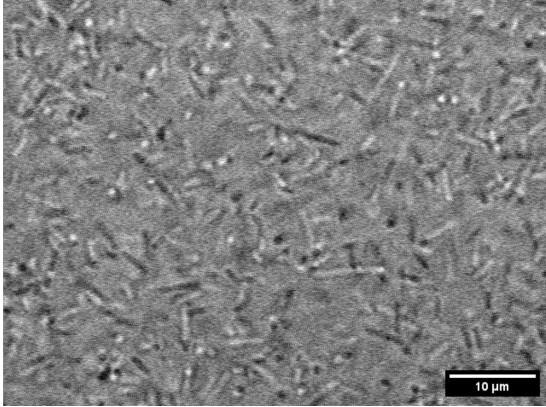
### 2.1.7 屈折率マッチング

大腸菌の濃度が高い懸濁液では、レーザー光が十分に透過しないため、光ピンセットやレーザー干渉法による測定が困難となる。この問題を解決するため、本研究では遊走培地に Ficoll を加え、溶媒と大腸菌の屈折率を整合させた。Ficoll は高分子多糖を基にした水溶性ポリマーであり、本研究では平均分子量 70 kDa のものを用いた。培養液の屈折率を大腸菌の屈折率に近づけることで、両者の屈折率差を低減した。

Ficoll の封入濃度を増加させると、試料の粘性は上昇し、大腸菌の遊走速度は低下するが、遊走そのものが阻害されることはない。一方で、屈折率を整合させると、大腸菌による光散乱が抑制されるため、顕微鏡観察では大腸菌が確認しづらくなる。

顕微鏡観察および濁度測定の結果、屈折率が整合する Ficoll 濃度を 0.25 g/mL と決定した。図 2.4 は、Ficoll による屈折率マッチングの有無による顕微鏡画像を示している。遊走培地内に Ficoll を添加することで、大腸菌と溶媒の屈折率が近づき、大腸菌が見えにくくなっている様子が、(a)、(b) を比較することで分かる。この条件において、プローブ粒子をレーザーでトラップし、マイクロレオロジー測定を実施することが可能であった。

(a)



(b)

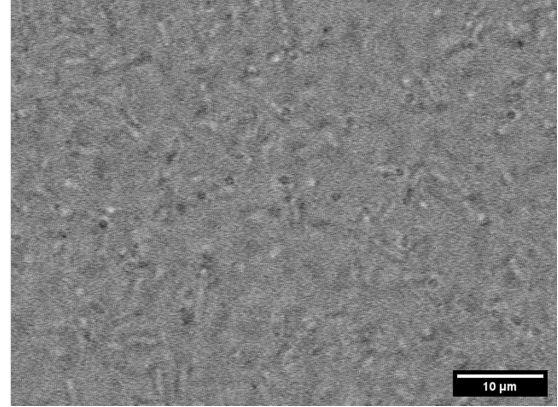


図 2.4 屈折率マッチングによる大腸菌の見え方の違い。(a), (b) ともにペレットを 40 倍希釈した試料の 100 倍顕微鏡画像である。(a) は遊走培地中の画像（屈折率マッチングなし）、(b) は Ficoll 0.25 g/mL を添加した遊走培地中の画像（屈折率マッチングあり）を示す。

### 2.1.8 試料作製方法

本節では、TB 培養後から試料作製までの手順を述べる。TB 培養後、培養液を 500 mL の遠心チューブ (Nalgene 社) に移し、大型遠心分離機 (H-7000SL, Kokusan 社) を用いて、室温で 5000 rpm、10 分間の遠心分離を行った。その後、上澄み液を除去し、得られたペレットの質量を基に遊走培地を添加することで、遊走大腸菌懸濁液を作成した。

レオロジー測定を行う際には、直径  $3\ \mu\text{m}$  のメラミン粒子を同時に添加した。ここで用いたメラミン粒子は、あらかじめ遠心分離によって上澄み液を除去し、Ficoll 入り遊走培地に再分散させたものである。また、粒子と大腸菌などが付着しないよう、粒子表面はポリエチレングリコール (PEG) でコーティングされたものを用いた [26]。

作製した試料は、自作の交換チャンバー（後述）に封入した。試料作製から交換チャンバーへの封入までに時間がかかりすぎると、大腸菌の遊走が低下したり、部分的な凝集が生じる。本研究では、試料作製後 30 分以内を目安として測定を行い、それ以上時間が経過した試料については測定を行わなかった。

### 2.1.9 混合系の作成

本研究では、系のアクティビティを制御するため、RP4979 と SHU321 の 2 種類の菌株を混合して用いた。試料作製にあたっては、同一の遠心チューブ内に所定の混合比となるよう各菌株を分注し、遠心分離を行った。

なお、培養終了時点において、両菌株の増殖量は必ずしも等しいとは限らない。そのため、試料作製直前にそれぞれの OD を測定した。得られた OD 値に基づいて混合量を調整し、目標とする混合比を実現した。

### 2.1.10 交換チャンバー

本節では、交換チャンバー（図 2.5）について説明する。高濃度条件では、物質交換のない閉鎖系チャンバーを用いた従来の試料作製法では、酸素や栄養の枯渇により短時間で遊走が停止するという問題があった。そこで、本研究ではチャンバーの改良を行った。

透析に用いられる半透膜を使用することで、測定中も培養液の交換が可能な構造とした。半透膜には、分画分子量（MWCO）が 12–14 kDa の再生セルロース（RC）膜（Spectrum 社）を用いた。半透膜に異物が付着していると、それが試料中に混入し、集団遊走の障害物となる。これを防ぐため、実験前に半透膜を中性洗剤で浸漬洗浄し、使用直前に超純水ですすいだ。

底面の広いガラスボトムディッシュ（D11130H, 松浪硝子工業）に、直径 2 mm の穴を開けた両面テープを貼り付けた。

本研究では、厚さ 20  $\mu\text{m}$  の PET フィルム両面テープ（寺岡製作所 7053#4）を用いた。

穴の内部に試料を載せ、半透膜を貼り付けることで試料を封入した。半透膜は濡れると伸びる性質を持つため、あらかじめ湿潤状態でテンションをかけ、伸ばした状態で貼り付けた。半透膜を適切な大きさに切り出し、試料部分に重ならないよう、アロンアルファで固定した。さらに、中心に直径 3 mm の穴を開けた直径 2 cm、厚さ 0.2 mm のアクリル板（アクリルショップはざいや）を上から配置し、半透膜の剥離を防止した。

最後に遊走用培地を約 4 mL 加えることで、測定中も培養液の交換が可能なチャンバーを完成させた。また、系のドリフトを防ぐため、内液と外液の浸透圧が整合するよう、外液には BSA を添加した。

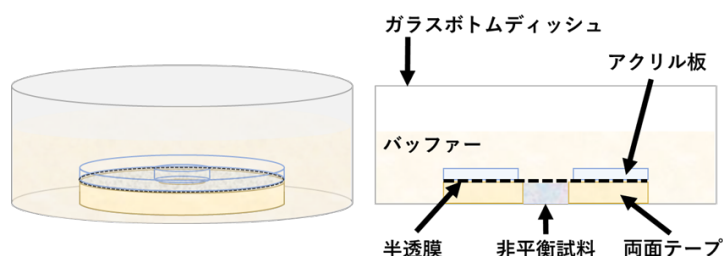


図 2.5 交換チャンバーの模式図。

本章では主に試料作製方法について述べた。次章では、作製した試料のダイナミクスおよびレオロジー特性を測定・解析する方法について述べる。

## 2.2 画像解析

### 2.2.1 構造緩和の解析

本研究では、大腸菌集団の遊走挙動および構造緩和のダイナミクスを調べるため、顕微鏡観察によって得られた画像データを解析した。顕微鏡画像におけるピクセル輝度  $I(\mathbf{r})$  の揺らぎは、大腸菌の存在およびその運動に起因する光学的コントラストの変化を反映しており、大腸菌の配置や集団運動に由来する揺らぎと関連していると考えられる [27]。

系の時間発展を定量的に評価するため、画像強度から中間散乱関数を算出した。中間散乱関数は、粒子系における密度揺らぎの時間相関を通じて、構造緩和や拡散といったダイナミクスを波数  $\mathbf{k}$  に対応する長さスケールで特徴付ける指標である。以下では、中間散乱関数の定義を明確にするため、単原子分子系を例としてその定式化を簡単に述べる。単原子分子系を考えたとき、合計  $N$  個の各分子が  $\mathbf{r}_i(t)$  に位置しているとする、その密度場は

$$\rho(\mathbf{r}, t) = \sum_{i=1}^N \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i(t)) \quad (2.4)$$

と表される。この密度場をフーリエ変換すると、

$$\rho(\mathbf{k}, t) = \sum_{i=1}^N \exp[i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}_i(t)] \quad (2.5)$$

が得られ、その時間相関として中間散乱関数

$$F(k, t) = \frac{1}{N} \langle \rho(\mathbf{k}, t) \rho(-\mathbf{k}, 0) \rangle \quad (2.6)$$

が定義される [28]。ここで  $\langle \dots \rangle$  は初期時刻 0 と  $\mathbf{k}$  の角度成分に関するアンサンブル平均を表し、 $k \equiv |\mathbf{k}|$  とする。

本研究では、実空間の密度場の代わりに画像のピクセル強度を用いた。具体的には、画像強度  $I(\mathbf{r})$  に対して二次元フーリエ変換を施し、その結果得られる  $\tilde{I}(\mathbf{k})$  を解析に用いた。画像パターンは統計的に等方的であったため、 $\tilde{I}(\mathbf{k})$  に対して角度平均を行い、 $k = |\mathbf{k}|$  のみの関数として  $\tilde{I}(k)$  を定義した。

中間散乱関数  $F(k, t)$  は、 $\tilde{I}(k)$  の時間相関として算出した：

$$F(k, t) = \langle \tilde{I}(k, t_0) \tilde{I}(k, t_0 + t) \rangle \quad (2.7)$$

ここで、 $\langle \dots \rangle$  は初期時刻  $t_0$  に関する時間平均を表す。

解析に用いる波数  $k$  は、大腸菌の代表的な大きさ ( $\sim 1 \mu\text{m}$ ) に対応する値を選択した。密度揺らぎの緩和時間  $\tau_\alpha$  は、得られた中間散乱関数に対して stretched exponential 関数

$$F(k, t) \simeq \exp \left[ - \left( \frac{t}{\tau_\alpha} \right)^B \right] \quad (2.8)$$

( $B$  は伸長指数) を当てはめることで評価した。この関数形は、ガラス形成液体や混み合った粒子系において、構造緩和が単一の緩和時間では記述できないことを反映する経験的な表現として広く用いられている。

さらに、密度揺らぎの動的不均一性を評価するため、等方平均を行わない中間散乱関数を用いて、動的感受率

$$\chi_4(k, t) = N \left[ \langle F^2(k, t) \rangle - \langle F(k, t) \rangle^2 \right] \quad (2.9)$$

を算出した。

## 2.2.2 PIV 解析

また、集団遊走の平均速度を求めるため、速度場の解析を行った。流速場の解析には、MATLAB ベースのオープンソースソフトウェア PIVlab を用いた。解析には FFT ウィンドウ変形法を適用し、最終的な格子分割は  $32 \times 32 \text{ pixel}^2$ 、オーバーラップ率は 50% とした。

解析結果に対しては、標準偏差フィルタおよび局所メディアンフィルタを用いて信頼性の低い大きな速度ベクトルを除去した。また、欠損したベクトルについては補間処理を行った。

### 2.2.3 ドリフト処理

実際には、試料のリークなどにより系にドリフトが生じる場合がある。ドリフト下の試料をそのまま解析すると、本来より緩和時間が短く見積もられるなどの問題が生じる。顕微鏡観察中に生じる視野全体の並進ドリフトを除去するため、本研究では画像相関に基づくドリフト補正を行った。

時間の異なる2枚の画像を重ね合わせた際に、画素強度パターンが最もよく一致する相対変位を視野全体のドリフト量とみなし、その時間積算として各フレームの並進変位を推定した。得られた変位を各フレームから差し引くことで、観測系に起因するゆっくりとしたドリフトを除去し、大腸菌集団自身の動的揺らぎのみを抽出した。

例えば図 2.6 は、ドリフト除去処理前、除去処理後の中間散乱関数のグラフである。ドリフト除去なしのデータを見ると、1~10 秒ほどで中間散乱関数が不自然に急減し、また値が 0 になった後も振動している。これは並進ドリフトの影響を受けた結果であると考えられる。一方、ドリフト除去を行った後を見ると、除去なしと比べて緩やかに緩和している。このように明らかにドリフトの影響を受けていると考えられる試料の画像解析に対しては、ドリフト除去処理を行った。

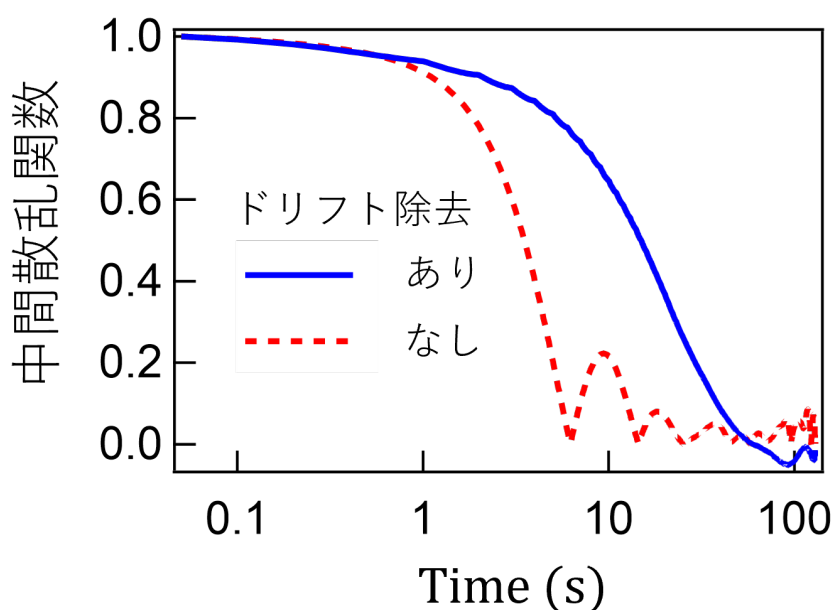


図 2.6 中間散乱関数のドリフト除去の有無のグラフ。横軸は時間 (秒) で、縦軸は波数  $2\pi/(1.08 \mu\text{m})$  における中間散乱関数である。赤の点線がドリフト除去前のデータで、青の実線がドリフト除去後のデータである。試料は、 $\phi/\phi_p = 0.55$  の SHU321 である。

## 2.3 マイクロレオロジー

本研究では、試料の複素粘弾性率  $G^*(\omega)$  を計測する手法として、マイクロレオロジー (Micro-Rheology: MR) 法を用いた。MR 法とは、試料中に分散させた数 nm ~ 数  $\mu\text{m}$  程度の大きさの微小プローブ粒子の変位から粘弾性を評価する手法である [29,30]。MR 法には、プローブ粒子の熱揺らぎから粘弾性を計測する Passive MR と、レーザーなどでプローブ粒子に外力を加えた際の応答から粘弾性を計測する Active MR の 2 種類が存在する。本研究では、光ピンセットによるプローブ粒子への外力印加と、レーザー干渉法によるプローブ粒子の変位計測を組み合わせた MR 計測を行った。

### 2.3.1 光ピンセット法による外力印加

試料中に分散させたプローブ粒子に対して、対物レンズで集光したレーザーを照射すると、その集光点に捕捉されるような力が粒子に働く。これは、プローブ粒子と周囲媒質の屈折率が異なるため、粒子表面で光が屈折・散乱し、その際の光の運動量変化を補償する形で力が生じるためである (図 2.7 (a))。

### 2.3.2 Back-focal-plane laser interferometry (BFPLI) 法による粒子追跡

プローブ粒子の変位計測には、Back-focal-plane laser interferometry (BFPLI) 法を用いた [31–35]。対物レンズでレーザーを急峻に集光し、その集光点にプローブ粒子を捕捉する。図 2.7 (b) に示すように、プローブ粒子によってレーザー光が屈折・散乱され、透過光と散乱光の干渉によってコンデンサーレンズの後側焦点面に干渉パターンが形成される。この干渉パターンの変化を 4 分割光ダイオード (Quadrant Photodiode: QPD) で検出することにより、粒子変位を高い時空間分解能で計測することが可能である。

QPD は図 2.7 (c) に示されるように、 $x$  軸、 $y$  軸に対して A~D の 4 つのフォトダイオードが配置されており、粒子変位を 2 次元平面内の座標として検出できる。粒子の動きに伴って干渉パターンが変化し、それに応じて各フォトダイオードが受光するレーザー強度も変化する。したがって、各フォトダイオードに流れる電流の差を演算することで粒子変位を算出できる。例えば  $x$  軸方向に粒子が移動した場合、左右のフォトダイオードの検出強度に差が生じ、その差分信号から  $x$  方向変位が求まる。

A, B, C, D 各ダイオードに流れる電流を  $I_A, I_B, I_C, I_D$  とすると、 $x$  軸方向の信号  $I_x$  は次式で与えられる。

$$I^+ \equiv I_A + I_B, \quad I^- \equiv I_C + I_D \quad (2.10)$$

$$I_x = \frac{I^+ - I^-}{I^+ + I^-} \quad (2.11)$$

$I_x$  は粒子変位に応じて図 2.7 (d) で示すように変化し [33]、中心付近の線形領域において精度良く変位を計測できる。同様に  $y$  軸方向についても  $I_y$  を求めることで、粒子変位を 2 次元で検出可能である。

実際の計測では利便性のため、電流信号を電圧信号に変換し、 $V_x, V_y$  を取得する。これらにキャリブレーションファクター  $C$  [m/V] を乗じることで、光軸から  $x, y$  方向の実空間変位が得られる。

このように、BFPLI 法では粒子によるレーザーの回折が QPD 上に干渉縞を形成するため、粒子の微小な揺らぎも高感度に検出できる。また、QPD の応答速度は非常に速いため、測定の時間分解能は電子増幅器や AD 変換器の性能に依存し、本研究で使用した装置では 200 kHz までの応答が可能である。

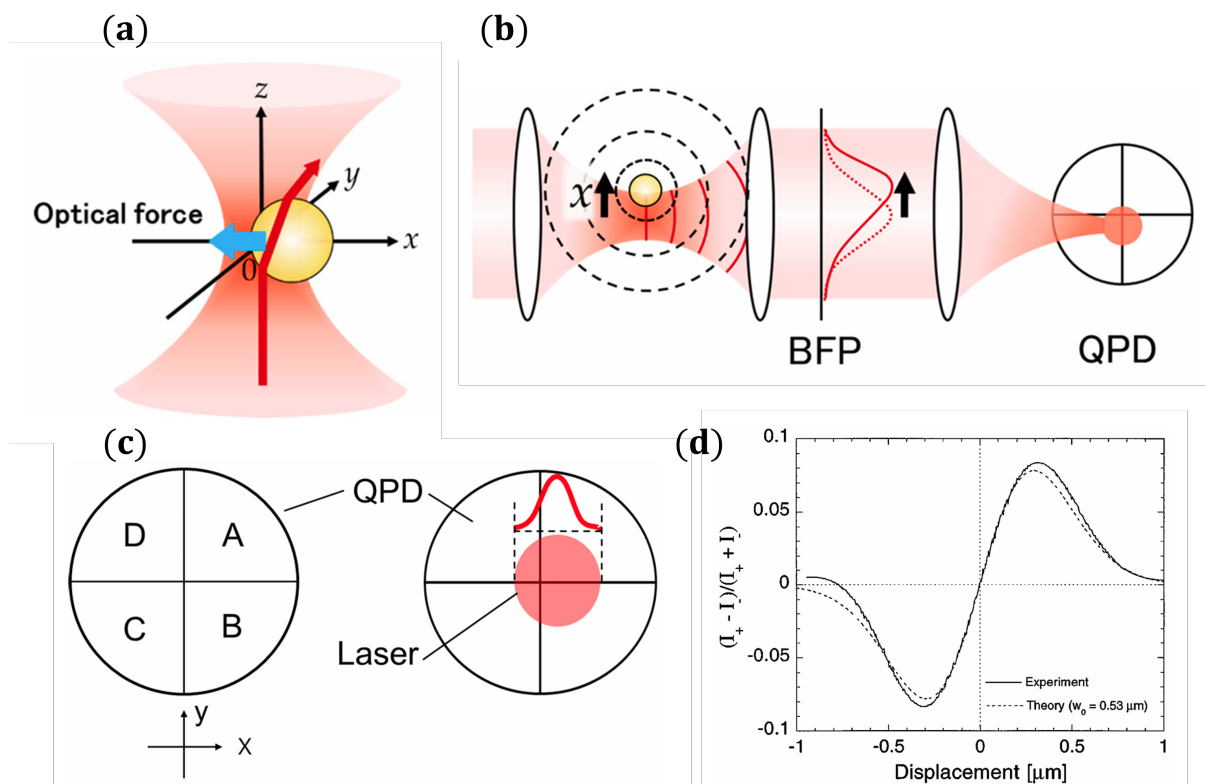


図 2.7 (a) 光ピンセット法の概念図。(b)BFPLI 法の概念図。(c)QPD による粒子変位検出の概念図。(d) 粒子変位に対する  $I_x$  の変化を表したグラフ [33]。

### 2.3.3 Passive MR

Passive microrheology (PMR) は、観測用レーザーを用いて試料中に分散したコロイド粒子の熱揺らぎを測定する手法である。本研究では、観測用レーザー（波長  $\lambda = 830 \text{ nm}$ ）を用いてプローブ粒子をトラップし、その揺らぎに伴う散乱光を QPD で検出することで、粒子変位  $u(t)$  を取得した。

取得した粒子変位をフーリエ変換して  $u(\omega)$  を求め、周波数空間において微分することで揺らぎ速度  $v(\omega) = i\omega u(\omega)$  を算出した。揺らぎの指標として、速度のパワースペクトル密度 (PSD: power spectral density) を以下の式により評価した。

$$\langle |\tilde{v}(\omega)|^2 \rangle = \int_{-\infty}^{\infty} \langle v(t)v(0) \rangle e^{i\omega t} dt \quad (2.12)$$

### 2.3.4 Active MR

Active microrheology (AMR) は、外力に対するプローブ粒子の応答を測定することで、媒質の力学応答を評価する手法である [36]。本研究では、駆動用レーザー ( $\lambda = 1064 \text{ nm}$ ) によりプローブ粒子に外力を印加し、観測用レーザー ( $\lambda = 830 \text{ nm}$ ) により粒子の変位を検出した。

駆動用レーザーは音響光学回折器 (AOD) を用いて進行方向を変調し、光ピンセット効果により粒子に正

弦波的な外力を加えた (図 2.8 (c))。

次に, AMR (Active Microrheology) において, ロックイン検出によって得られたプローブ粒子の変位応答から複素弾性率  $G^*(\omega)$  を求める手順について説明する。図 2.8 (b) に示すように, 観測用レーザーに対する粒子変位を  $u(t)$ , 観測用レーザーに対する駆動用レーザーの変位を  $Le^{-i\omega t}$  と定義する。

ここで, 実際の計測において  $u(t)$  は, ロックイン検出によってプローブ粒子変位の正弦波成分の振幅および位相遅れが, 複素振幅  $\hat{u}(\omega)$  として検出されることに注意する。また, 駆動用レーザーによってプローブ粒子に印加される外力の正弦波成分  $F(t)$  は, トラップ力  $k_d$  を用いて

$$F(t) = k_d L e^{-i\omega t} \quad (2.13)$$

と表される。

複素粘弾性率  $G^*(\omega)$  を求めるため, まず以下の式で定義される応答関数  $A^*(\omega)$  を求める必要がある。ただし,  $A^*(\omega)$  はレーザーによるトラップ力の影響下での応答関数である。

$$\hat{u}(\omega) = A^*(\omega) \hat{F}(\omega) \quad (2.14)$$

式 (2.14) から分かるように, 応答関数は正弦的外力に対する粒子変位の応答の大きさを表している。ここで,  $\hat{F}(\omega)$  は複素振幅であるが, 実際の計測では加えた外力に対する位相遅れを検出しないため,  $\hat{F}(\omega)$  は実数として扱われる。したがって, 応答関数は

$$\hat{u}(\omega) = A^*(\omega) k_d L \quad (2.15)$$

として求められる。

このとき, 観測用レーザーおよび駆動用レーザーの影響により, プローブ粒子が実際に受ける力は

$$-(k_p + k_d)u(t) + k_d L e^{-i\omega t} \quad (2.16)$$

である。ここで,  $k_p$  および  $k_d$  はそれぞれ観測用レーザーおよび駆動用レーザーのトラップ力である。したがって, 試料内部で熱揺らぎを受けるプローブ粒子が従うランジュバン方程式は

$$k_p u(t) + \int_{-\infty}^t \gamma(t-t') \dot{u}(t') dt' = k_d (L e^{-i\omega t} - u(t)) + \zeta(t) \quad (2.17)$$

と書ける。

ここで,  $\zeta(t)$  は熱的揺動力,  $\gamma(t)$  は摩擦係数である。また, プローブ粒子の質量は十分小さいとして慣性項は無視している。

プローブ粒子の変位

$$u(t) = \hat{u}(\omega) e^{-i\omega t} \quad (2.18)$$

および正弦的外力

$$F(t) = k_d L e^{-i\omega t} = \hat{F}(\omega) e^{-i\omega t} \quad (2.19)$$

を上式に代入すると,

$$k_t \hat{u}(\omega) = \hat{F}(\omega) + i\omega \hat{u}(\omega) \int_{-\infty}^t \gamma(t-t') e^{i\omega(t-t')} dt' = \hat{F}(\omega) + i\omega \hat{u}(\omega) \tilde{\gamma}(\omega) \quad (2.20)$$

を得る。ここで  $k_t \equiv k_p + k_d$  とし,  $\tilde{\gamma}(\omega)$  は  $\gamma(t)$  のフーリエ変換である。

以上より,  $\hat{u}(\omega)$  について整理すると,

$$\hat{u}(\omega) = \frac{\hat{F}(\omega)}{k_t - i\omega\tilde{\gamma}(\omega)} = A^*(\omega)\hat{F}(\omega) \quad (2.21)$$

となる。したがって, ランジュバン方程式に従う系の応答関数は

$$A^*(\omega) = \frac{1}{k_t - i\omega\tilde{\gamma}(\omega)} \quad (2.22)$$

である。

粒子が受けるトラップ力  $k_t$  の影響を除いた真の応答関数  $\alpha^*(\omega)$  は, 上式において  $k_t = 0$  とすることで

$$\alpha^*(\omega) = \frac{1}{-i\omega\tilde{\gamma}(\omega)} \quad (2.23)$$

と求められる。これを用いると,

$$\alpha^*(\omega) = \frac{A^*(\omega)}{1 - k_t A^*(\omega)} \quad (2.24)$$

と書き直せる。

最後に, 一般化された Stokes の関係式 [32, 35] を用いることで, 真の応答関数  $\alpha^*(\omega)$  から複素ずり弾性率は

$$G^*(\omega) = \frac{1}{6\pi a\alpha^*(\omega)} \quad (2.25)$$

と求められる。ここで  $a$  は計測用粒子の半径である。

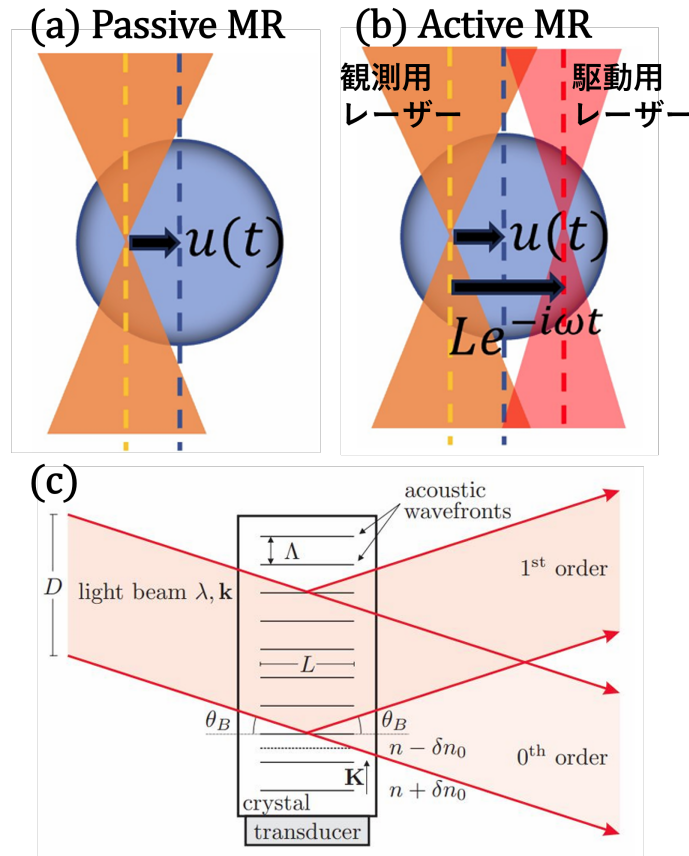


図 2.8 (a)Passive MR の概略図 (b)Active MR の概略図 (c)AOD の概略図

### 2.3.5 キャリブレーション

レーザー干渉法で観測する信号は粒子変位  $u(t)$  に比例した電圧信号  $V(t)$  である。従って、そのスケール変数  $C$  [m/V] を用いて、電圧信号を変位へ変換する必要がある。また、Active MR における印加外力の大きさや、トラップ力の補正を行うためには、レーザー光のトラップ力に対応するバネ定数 (trap stiffness)  $k$  [N/m] の値が必要となる。本節では、スケール変数  $C$  [m/V] およびトラップ力  $k$  [N/m] を求める方法について説明する。

#### 屈折率が既知な試料

屈折率が既知な場合、屈折率が等しい完全粘性体とみなせる試料を用いて PMR を行い、Lorentzian 関数によるフィッティングを行うことで  $C$  および  $k$  を求めることができる。屈折率が同一の試料では、光の散乱特性も等しいと考えられるため、 $C$  および  $k$  は等しい値をとるとみなせる。

ここで、ブラウン運動する光トラップされたプローブ粒子のパワースペクトル密度  $\langle |\tilde{u}(\omega)|^2 \rangle_{\text{trap}}$  は

$$\langle |\tilde{u}(\omega)|^2 \rangle_{\text{trap}} = \frac{2k_B T}{\omega} A''(\omega) \quad (2.26)$$

で与えられる。また、応答関数は

$$A^*(\omega) = \frac{1}{k_t - i\omega\tilde{\gamma}} \quad (2.27)$$

と表される。

ここで、完全粘性体において摩擦係数  $\tilde{\gamma}$  は実数であり、Stokes の関係式から

$$\gamma = 6\pi\eta a \quad (2.28)$$

と書ける。従って、プローブ粒子のパワースペクトル密度  $\langle |\tilde{u}(\omega)|^2 \rangle_{\text{trap}}$  は、以下の Lorentzian 形式で表される。

$$\langle |\tilde{u}(\omega)|^2 \rangle_{\text{trap}} = \frac{2k_B T}{\gamma(\omega_c^2 + \omega^2)} \quad (2.29)$$

ここで

$$\omega_c = \frac{k}{\gamma} \quad (2.30)$$

は Lorentzian のコーナー周波数である。 $\eta$  [Pa·s] は試料の粘性率、 $a$  [m] は観測用粒子の半径を表す。このように、粒子半径  $a$  [m] および室温  $T$  [K] が既知であれば、粘性率  $\eta$  が既知である試料中での PMR 計測から  $C$  [m/V] と  $k$  [N/m] を求めることができる。

### 屈折率が未知かつ、かたい試料

レーザー光は、観測用粒子と試料との屈折率差によって回折される。すなわち、レーザー光の回折強度は試料の屈折率に依存し、これを四分割フォトダイオードで検出する際の感度を表す  $C$  [m/V] の値も、試料の屈折率の影響を受ける。そのため、試料の屈折率が水より大きい場合には、水中で測定した  $C$  [m/V] を用いることができない。このような場合には、測定対象である試料中において、直接  $C$  [m/V] を見積もる手法を用いる。

試料が硬い場合、レーザートラップによって画像で検出可能な振幅で粒子を正弦駆動することが困難であるため、別の手法が必要となる。まず、レーザーの集光位置と観測用粒子の中心を一致させる。このとき、レーザーのトラップ強度を十分に小さくし、Piezo ステージを正弦駆動させることで、観測用粒子を Piezo ステージとともに正弦的に駆動する。この状態で、四分割フォトダイオードの出力電圧を測定するとともに、カメラによって粒子の軌跡を撮影する。四分割フォトダイオードの出力電圧  $V(t)$  [V] と、画像解析から得られる粒子変位  $u(t)$  [m] を比較することで、 $C$  [m/V] を見積もった。この測定を二本のレーザーそれぞれについて行うことで、各レーザーに対応する  $C$  [m/V] を求めることができる。また、二本のレーザーを同時に入射し、それぞれの四分割フォトダイオードの出力電圧  $V(t)$  [V] を同時に測定することで、一度の測定で両方の  $C$  [m/V] を得ることも可能である。

### 大腸菌試料内でのトラップ強度 $k$ [N/m]

力学的に非平衡な試料や、非常に硬い試料に対しては、トラップ強度  $k$  [N/m] を直接見積もることが困難である。そこで、レーザー強度を一定に保った場合、異なる屈折率をもつ試料間においても、スケーリング変数  $C$  [m/V] とトラップ強度  $k$  [N/m] の積が一定となることを利用し、 $C$  [m/V] から  $k$  [N/m] を見積もる。

まず、上述の手法を用いて試料中の  $C$  [m/V] を求める。次に、粘性率が既知である平衡試料を用いて Passive MR 計測を行い、パワースペクトル密度  $\langle |\tilde{u}(\omega)|^2 \rangle_{\text{trap}}$  を式 (2.1.21) によってフィッティングすることで、 $C_{\text{eq}}$  [m/V] および  $k_{\text{eq}}$  [N/m] を求める。試料中におけるトラップ強度  $k$  [N/m] は、

$$k = k_{\text{eq}} C_{\text{eq}} / C \quad (2.31)$$

として与えられる。

ただし、本手法によって求めたトラップ強度は、高精度に決定できない場合がある点に注意が必要である。そのため、本研究における Active MR 測定では、高周波領域においてトラップの影響が無視できると仮定し、Active MR と Passive MR の測定結果が一致する条件を基準として、1064 nm レーザーの光強度を決定した。

### 2.3.6 Stage Feedback MR

Stage Feedback MR は、ピエゾステージを用いて試料を移動させながら MR 計測を行う手法である。ピエゾステージでフィードバック制御を行うことで、プローブ粒子をレーザー集光点に常に捕捉し続けることが可能となる。そのため、遊走大腸菌懸濁液のように大きな揺らぎや流動が生じる非平衡試料においても、プローブ粒子がレーザーのトラップ領域から外れることを防ぐことができる。

また、集光点に対してプローブ粒子の高さが変化すると、キャリブレーションファクター  $C$  が変化するため、高精度の計測には高さ方向の制御も重要である (図 2.9 (a), (b)) [37]。本研究では、この Stage Feedback MR を用いて試料の複素弾性率を計測した。

ピエゾステージは  $x$  軸,  $y$  軸,  $z$  軸方向に対してフィードバック制御され、3 次元的に粒子を追跡できる (図 2.9 (c))。  $x$  軸および  $y$  軸については、QPD から得られる変位情報をもとに、粒子位置が常に 0 となるように PID 制御を行う。大腸菌試料の流動は長時間スケールで起こるため、実際には I 制御のみで行った。  $z$  軸方向はカメラ画像から得られる輝度分布を用いて PID 制御を行ったが、これも実際には PI 制御で行った。本節では、これらの制御手法および解析方法について示す [38]。

#### $x, y$ 軸方向のフィードバック制御

Stage Feedback MR では、電圧制御可能なピエゾステージの  $x, y$  方向をそれぞれ PID 制御しながら測定を行う。本研究では、スタンフォードリサーチ社製 PID コントローラ (SIM960) を使用した。

レーザー光の集光位置に計測用粒子がある状態で、PID コントローラのセットポイントを 0 に設定する。四分割フォトダイオードの出力電圧を PID コントローラに入力し、その出力電圧 (PID 制御電圧) を Mad City Labs 社製ピエゾステージ (Nano-LP200) に入力する。これにより、ゆっくりとした大きな粒子揺らぎに対してピエゾステージが応答し、粒子を常にレーザー焦点に保持できる。

PID コントローラの一般的な出力は次式で表される。

$$\epsilon(t) = P(V - s) + I \int (V - s) dt + D \frac{d}{dt}(V - s) \quad (2.32)$$

ここで、 $\epsilon(t)$  は PID コントローラの出力電圧、 $V$  は入力電圧、 $s$  はセットポイントである。本研究では  $P = D = 0$  とし、I 制御のみでフィードバック制御を行った。

QPD で検出した粒子変位を  $u_{\text{QPD}}$ 、ピエゾステージの制御電圧から得られるステージ変位を  $u_{\text{stage}}$  とすると、試料中における粒子の変位  $u$  は

$$u = u_{\text{QPD}} + u_{\text{stage}} \quad (2.33)$$

と表される。

Stage Feedback Passive MR では、この  $u = u_{\text{QPD}} + u_{\text{stage}}$  を用いて複素弾性率を算出する。

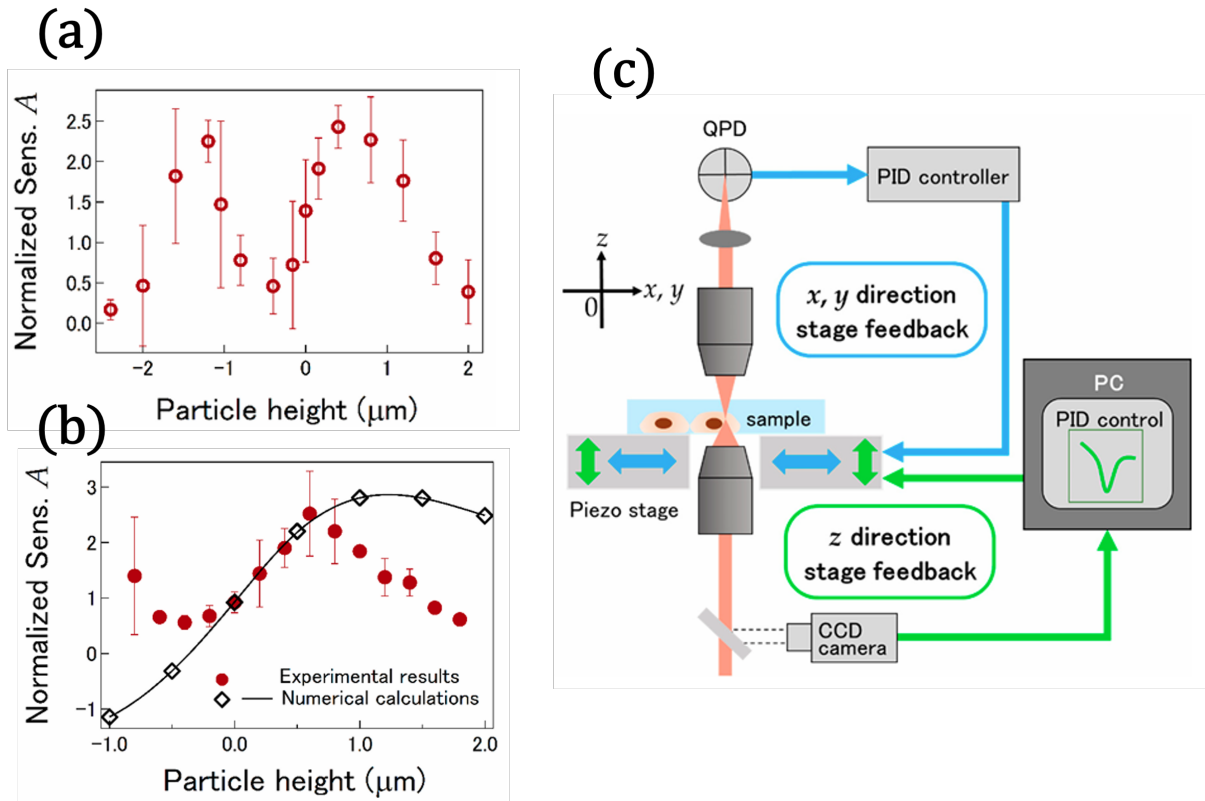


図 2.9 (a) 計測感度  $\frac{1}{C}$  の粒子高さ依存性の図。試料はアガロースゲル。(b) 生細胞内部における、計測感度  $\frac{1}{C}$  の粒子高さ依存性の図。(c) Stage Feedback MR の概略図。(a)–(c) の図は、すべて [37] からの引用である。

### $z$ 軸方向のフィードバック制御

$z$  軸方向のステージ制御は、カメラで撮影した粒子の輝度分布を用いて PID 制御を行った。計測用粒子の顕微鏡画像は National Instruments 社製のイメージキャプチャボード (IMAQ PCI-1408) により取得し、同社のソフトウェア (LabVIEW 8.6) でリアルタイム解析した。

図 2.10 (a) に示すように、粒子の高さに応じて画像の輝度分布は変化する。LED 照明 (Audio-Q 社製白色 LED, NVSW119BT) により、粒子が集光点より上にある場合は中心が明るく、下にある場合は暗く見える。

まず、粒子中心位置を画像パターンから検出し、中心対称な濃淡分布を中心から動径方向  $\rho$  に沿って計算する (図 2.10 (b))。粒子高さの変化に応じて輝度に変化する 2 点の座標  $\rho$  を選び、それらの輝度差  $\Delta I$  を制御信号としてピエゾステージ ( $z$  軸) を PID 制御する。

### シャープカットフィルターによる高周波ノイズ除去

粒子変位は

$$u = u_{\text{QPD}} + u_{\text{stage}} \quad (2.34)$$

で与えられるが、ステージ信号には高周波ノイズが含まれるため注意が必要である。

図 2.11 に、PMR 計測におけるステージ変位のパワースペクトル密度 (PSD) の一例を示す。ピエゾステージの応答は数十 Hz 程度であるため、高周波側の信号は電氣的ノイズによるものと考えられる。

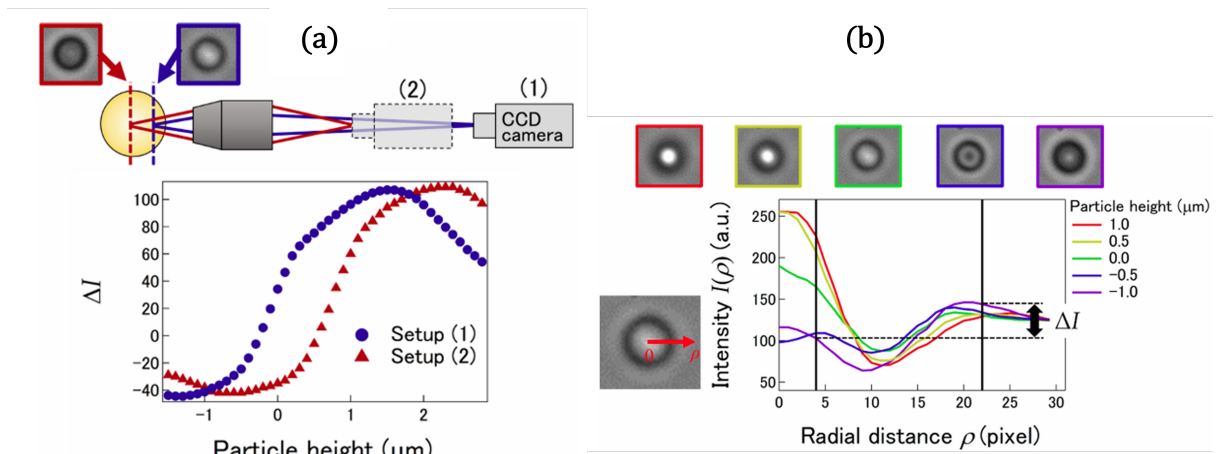


図 2.10 (a) 異なる高さで撮影した粒子の画像 [37]。(b) 粒子の動径方向の輝度分布 [37]。

ステージ信号の高周波ノイズは、シャープカット（ローパス）フィルターによって除去した。このフィルターは、変位信号をフーリエ変換し、任意のカットオフ周波数  $\omega_c$  より高い周波数成分をゼロとした後、逆フーリエ変換を行う。

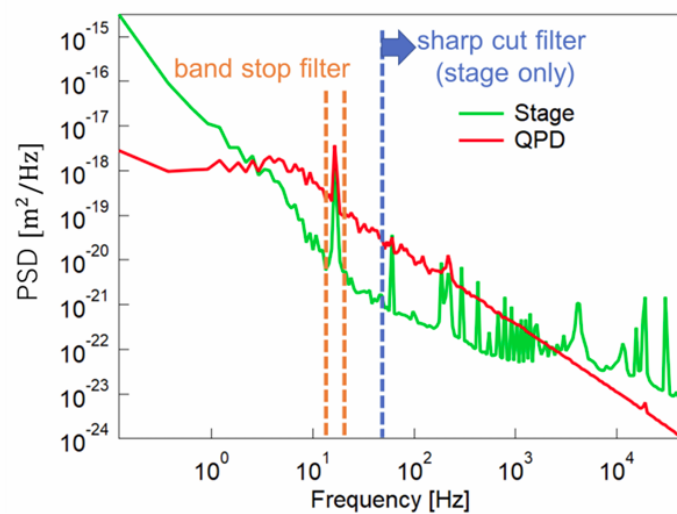


図 2.11 QPD から計測した変位と、ステージ変位のパワースペクトル密度の測定例。

## Stage Feedback Active MR

Feedback 制御下での Active MR の測定原理を説明する。試料中での計測粒子変位は  $u = u_{\text{QPD}} + u_{\text{stage}}$  と表される。粒子が受けるトラップ力は  $k_d L e^{-i\omega t} - (k_d + k_p) u_{\text{QPD}}$  であり、運動方程式は次式で与えられる。

$$k_p u_{\text{QPD}}(t) + \int_{-\infty}^t \gamma(t-t') \dot{u}(t') dt' = k_d (L e^{-i\omega t} - u_{\text{QPD}}(t)) + \zeta(t) \quad (2.35)$$

これをフーリエ変換すると、Feedback 下での粒子応答は

$$\langle \hat{u}(\omega) \rangle_{\text{FB}} = \langle \hat{u}_{\text{QPD}}(\omega) \rangle + \langle \hat{u}_{\text{stage}}(\omega) \rangle = \alpha^*(\omega) \left[ \hat{F}(\omega) - (k_d + k_p) \langle \hat{u}_{\text{QPD}}(\omega) \rangle \right] \quad (2.36)$$

ここで、添字 FB は Feedback 制御下における粒子の合計変位を表す。

PID コントローラの出力電圧  $\epsilon(t)$  は、入力電圧  $V(t)$  およびセットポイント  $s(t)$  に対して、

$$\epsilon(t) = P(V - s) + I \int (V - s) dt + D \frac{d}{dt} (V - s) \quad (2.37)$$

で与えられる。本研究では  $P = D = 0$ 、 $s(t) = 0$  とし、積分制御 (I 制御) のみを用いた。このとき、

$$\epsilon(t) = I \int V(t) dt \quad (2.38)$$

となる。

ピエゾステージの変位は、出力電圧  $\epsilon(t)$  に比例すると仮定し、

$$u_{\text{stage}}(t) = B \epsilon(t) \quad (2.39)$$

と表される。ここで  $B = u_{\text{stage}}/\epsilon = 5.4 \times 10^{-6}$  [m/V] である。したがって、

$$u_{\text{stage}}(t) = BI \int V(t) dt = \frac{BI}{C} \int u_{\text{QPD}}(t) dt = \frac{1}{\tau} \int u_{\text{QPD}}(t) dt \quad (2.40)$$

が得られる。ただし、

$$\tau \equiv \frac{C}{BI} \quad (2.41)$$

は Feedback 系の有効遅れ時間を表す。

正弦駆動に対するステージ応答は、周波数空間において

$$\hat{u}_{\text{stage}}(\omega) = -\frac{1}{i\omega\tau} \hat{u}_{\text{QPD}}(\omega) \quad (2.42)$$

と書ける。

ここで、Feedback 制御下での全体の応答関数を

$$A_{\text{FB}}^*(\omega) \equiv \frac{\langle \hat{u}(\omega) \rangle_{\text{FB}}}{\hat{F}(\omega)} \quad (2.43)$$

と定義する。式 (2.36) および式 (2.42) を用いると、

$$A_{\text{FB}}^*(\omega) = \frac{\alpha^*(\omega)}{1 + \beta \alpha^*(\omega)} \quad (2.44)$$

が得られる。ここで、

$$\beta \equiv \frac{k_t}{1 - 1/(i\omega\tau)} \quad (2.45)$$

は Feedback による補正パラメータである。

したがって、試料本来の応答関数  $\alpha^*(\omega)$  は、

$$\alpha^*(\omega) = \frac{A_{\text{FB}}^*(\omega)}{1 - \beta A_{\text{FB}}^*(\omega)} = \frac{\langle \hat{u}(\omega) \rangle_{\text{FB}}}{\hat{F}(\omega) - \beta \langle \hat{u}(\omega) \rangle_{\text{FB}}} \quad (2.46)$$

と表される。

得られた  $\alpha^*(\omega)$  から、複素弾性率  $G^*(\omega)$  は、一般化 Stokes の関係式 (式 2.25) を用いて算出した。

### 2.3.7 Force-clamp MR

Force-clamp MR とは、試料中のプローブ粒子に一方方向かつ一定の外力を印加し、その際に得られる粒子の定常速度から、試料のレオロジー特性を評価する手法である [13, 39]。図 2.12(a) に Force-clamp MR の模式図を示す。本手法により、プローブ粒子の周囲媒質のせん断粘性を評価することができる。

具体的には、プローブ粒子に一定の牽引力  $F$  を加え、そのときの定常的な牽引速度  $v$  を測定する。低レイノルズ数条件下では、粒子に作用する抵抗力はストークスの式に従うため、得られた速度を以下の関係式に代入することで、試料の粘性  $\eta$  を算出することができる。

$$\eta = \frac{F}{6\pi a v} \quad (2.47)$$

ここで、 $a$  はプローブ粒子の半径である。

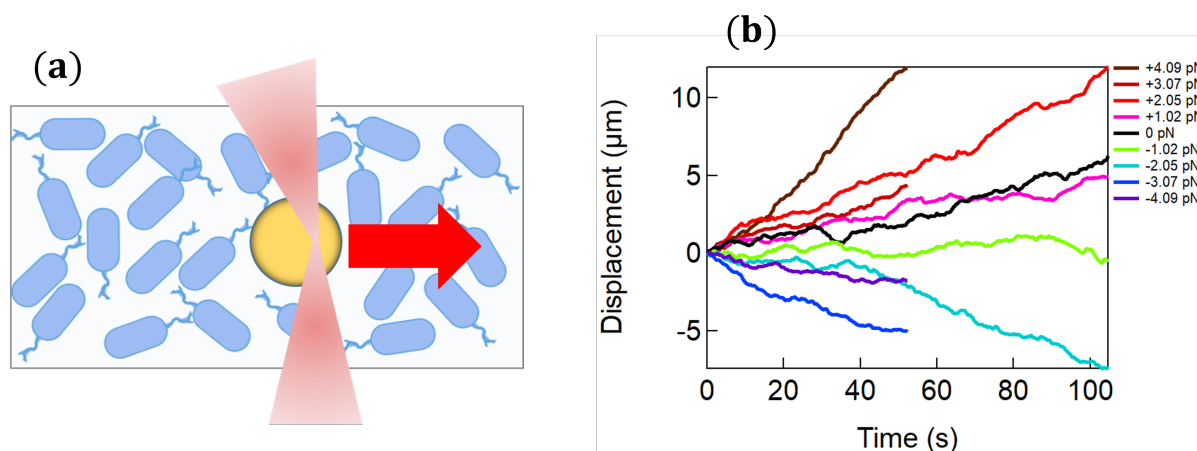


図 2.12 (a) Force-clamp MR の模式図. (b) 遊走大腸菌懸濁液中における Force-clamp MR の測定結果 [13]. 横軸は牽引力を印加してから時間、縦軸は対応するプローブ粒子の変位を表す。各色は、プローブ粒子に印加された力の大きさを示している。

図 2.12(b) は、遊走大腸菌懸濁液中において Force-clamp MR を行った際の、プローブ粒子の変位の時間発展を示している [13]。この変位を時間に対して線形フィッティングすることで粒子の牽引速度  $v$  を求め、式 (2.44) に代入することで試料の粘性を算出した。

試料に一定の牽引力を印加するため、本研究では 2.3.6 節で述べたステージフィードバック制御を用いた。具体的には、PID コントローラーのセットポイントに電圧を設定することで、QPD の出力電圧がその値に一致するようにピエゾステージの位置が制御される (式 (2.26))。このフィードバック制御により、プローブ粒子の中心から一定の距離に集光点が維持され、粒子に一定の牽引力が印加される。

プローブ粒子に作用する力は、以下の手順で評価した。まず、試料内における Force-response (pN/V) を求めた。Force-response は、スケーリング係数  $C$  とトラップ強度  $k$  の積として定義される量である。この Force-response に、ピエゾステージのセットポイントとして与えた電圧を乗じることで、プローブ粒子に作用する力を算出した。実際の評価には、セットポイント電圧を印加した際の QPD 出力 (図 2.13) を用いた。

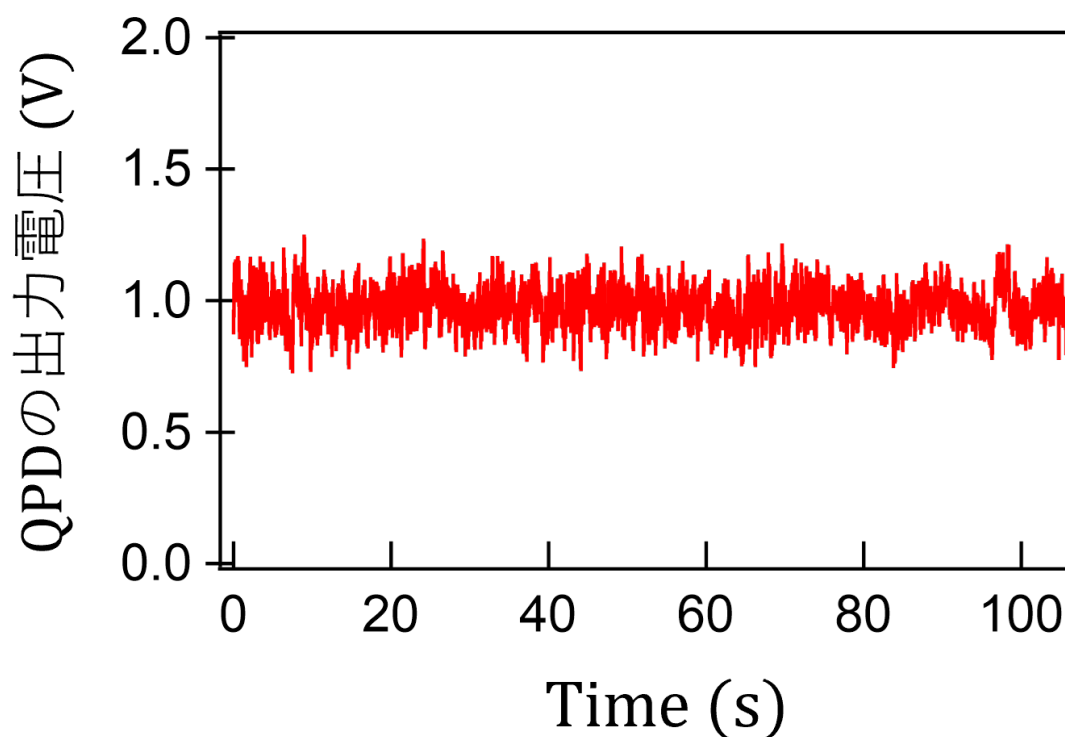


図 2.13 ピエゾステージのセットポイントに 1 V を入力した際の、830 nm 検出用 QPD の出力。

最後に、Force-clamp MR における注意点について述べる。試料内にドリフトが存在する場合や、粒子トラップ時にオフセットが生じている場合には、上述の方法で評価した力および速度が正確でない可能性がある。本研究では、測定時間内においてオフセットおよびドリフトが一定であると仮定し、同じ大きさの力を正負二方向に印加して粒子を牽引し、その差分から定常速度  $v$  を求めた。

例えば、図 2.12(b) に示すように、セットポイント電圧が 0 V の場合であっても、粒子変位が一方向に生じることがある。このような状況で、一方向の変位のみを用いて速度を評価すると、牽引速度が過大に見積もられ、結果として粘性が過小評価される可能性がある。これを避けるため、正負両方向に同じ大きさの力を印加し、その平均値を用いて解析を行った。

### 2.3.8 揺動散逸定理の破れ

遊走大腸菌懸濁液では、大腸菌の遊走に伴い、熱揺らぎに加えて非熱的 (non-thermal) な揺らぎが生じうる。実際に本研究室において、MR により揺動散逸定理の破れ、すなわち非熱的な揺らぎが存在することを確認している [13, 21]。このような系において、熱的揺らぎと非熱的揺らぎの間に相関が無いと仮定すると、試料内で観測される速度揺らぎのパワースペクトル密度  $\langle |v(\omega)|^2 \rangle$  は、熱的揺らぎ成分と非熱的揺らぎ成分の和とし

て次のように表すことができる

$$\langle |v(\omega)|^2 \rangle = \langle |v(\omega)_{\text{thermal}}|^2 \rangle + \langle |v(\omega)_{\text{non-thermal}}|^2 \rangle. \quad (2.48)$$

ここで、式 (2.48) における試料の全揺らぎ  $\langle |v(\omega)|^2 \rangle$  は、Passive MR により得られた速度のパワースペクトル密度 (式 (2.12)) に対応する。一方、試料内部の熱的揺らぎ成分は、Active MR および Force-clamp MR により測定された力学応答に対して、揺動散逸定理を適用することで見積もることができる。

具体的には、プローブ粒子に加えた外力  $F(t)$  とそれに対する速度応答  $v(t)$  の関係から、次式で定義される易動度  $R(t)$  を導入する：

$$v(t) = R(t)F(t). \quad (2.49)$$

式 (2.49) の両辺をフーリエ変換すると、

$$v(\omega) = R^*(\omega)F(\omega) \quad (2.50)$$

が得られる。ここで、 $R^*(\omega)$  は複素易動度を表す。

Active MR においては、 $\omega$  は試料に印加した正弦波外力の角周波数を表す。一方、Force-clamp MR では、低周波極限の応答を観測しているとみなすことができ、

$$v(0) = R^*(0)F(0) \quad (2.51)$$

が成り立つ。ここで、 $v(0)$  および  $F(0)$  は、Force-clamp MR における定常牽引速度および牽引力を表す。

このようにして求めた複素易動度に対して、平衡系では揺動散逸定理 (第 2 種) より、速度揺らぎと応答関数の実部の間に

$$\langle |\tilde{v}(\omega)_{\text{thermal}}|^2 \rangle = 2k_{\text{B}}T R'(\omega) \quad (2.52)$$

の関係が成り立つ。

したがって、非熱的揺らぎが存在する場合には、

$$\langle |\tilde{v}(\omega)|^2 \rangle \neq 2k_{\text{B}}T R'(\omega) \quad (2.53)$$

となり、揺動散逸定理の破れが観測される。この揺動散逸定理からのずれを定量的に評価することで、試料内に存在する非熱的揺らぎの大きさを見積もることが可能となる。

### 3 方法論 2: 数値シミュレーション

本章では、本研究で行った数値実験の方法論について説明する。3.1 節では、本研究で用いた自走粒子モデルおよびシステムの詳細について述べる。なお、本研究で用いる数値シミュレーション手法は、大山ら [40] によるモデルを一部改変したものである。

#### 3.1 数値モデリングおよび系の詳細

本研究では、アクティブな混みあい系のモデルとして、自走粒子が高密度に分散した二次元系を考える。具体的には、粒径の異なる二種類の粒子からなる合計 1000 粒子を用い、任意の充填率において混みあい状態を形成する数値シミュレーションを行う。二分散系を採用する理由は、系の結晶化を抑制するためである。

図 3.1 に、本研究で作成した系の模式図を示す。大きな粒子および小さな粒子の基準半径をそれぞれ  $\sigma_L^0, \sigma_S^0$  とすると、 $\sigma_L^0 = \sigma_0, \sigma_S^0 = 0.71\sigma_0$  であり、それぞれの構成比は 2:3 とした（シミュレーション内では  $\sigma_0 = 1$  としている）。

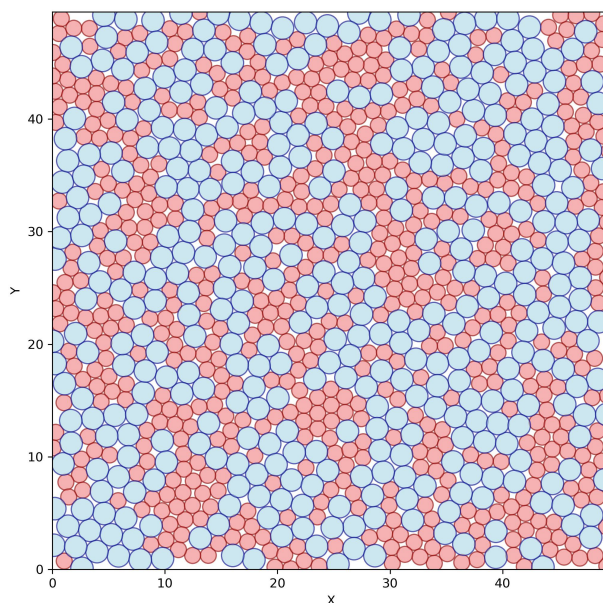


図 3.1 数値実験で作成した系のイラスト。このイラストにおける充填率は 90% であり、青色の粒子が大きい粒子、赤色の粒子が小さい粒子を表している。

本研究では、自走粒子のモデルとしてアクティブ・ブラウン粒子（Active Brownian Particles: ABP）モデルを採用する。ABP は自己推進を行う粒子の代表的なモデルの一つであり、非平衡統計力学、ソフトマター

物理学, 生物物理学の分野で広く用いられている [8]。

本シミュレーションにおいて, 各粒子は次の運動方程式に従う。

$$\gamma \frac{\partial \mathbf{r}_i}{\partial t} = - \sum_{i \neq j} \frac{\partial V(r_{ij})}{\partial \mathbf{r}_i} + f \mathbf{n}_i + \boldsymbol{\xi}_i \quad (3.1)$$

$$\frac{d\theta_i}{dt} = \eta_i \quad (3.2)$$

ここで,  $\mathbf{r}_i = (x_i, y_i)$  は粒子  $i$  の位置,  $\theta_i$  はその配向角を表す。式 (3.1) は慣性項を無視した ABP の運動方程式であり, 右辺第 1 項は後述する粒子間相互作用ポテンシャルに由来する力, 第 2 項は自己推進による力, 第 3 項は熱揺らぎを表す確率力である。また,  $\gamma$  は摩擦係数,  $f$  は自己推進力の大きさを表す定数,  $\mathbf{n}_i \equiv (\cos \theta_i, \sin \theta_i)$  は粒子  $i$  の自己推進方向を表す単位ベクトルである。

熱揺らぎを表す確率力  $\boldsymbol{\xi}_i$  は, 揺動散逸定理により次の相関を満たす。

$$\langle \boldsymbol{\xi}_i(t) \boldsymbol{\xi}_j(t')^T \rangle = 2k_B T \gamma \delta_{ij} \mathbf{1} \delta(t - t') \quad (3.3)$$

ここで,  $T$  は温度,  $k_B$  はボルツマン定数,  $\delta_{ij}$  および  $\delta(t - t')$  はクロネッカーのデルタ関数,  $\mathbf{1}$  は単位行列を表す。

一方, 配向角  $\theta_i$  の時間発展に現れる確率項  $\eta_i$  は, 次の相関を満たすガウシアンノイズである。

$$\langle \eta_i(t) \eta_j(t') \rangle = 2D_r \delta_{ij} \delta(t - t') \quad (3.4)$$

ここで  $D_r$  は回転拡散係数である。

本研究では慣性項を無視した運動方程式を用いている。これは, 本研究の数値シミュレーションが大腸菌の混みあい系を念頭に置いており, 粒子サイズが数マイクロメートル程度であるため, 慣性の影響が無視できると考えられるためである。

粒子間相互作用としては, 調和反発ポテンシャルによる斥力のみを考える。ポテンシャルは次のように与えられる。

$$V(r_{ij}) = \frac{\epsilon}{2\sigma_0^2} (\sigma_{ij} - r_{ij})^2 \Theta(\sigma_{ij} - r_{ij}) \quad (3.5)$$

ここで,  $r_{ij}$  は粒子  $i$  と  $j$  の中心間距離,  $\sigma_{ij} = (\sigma_i + \sigma_j)/2$  は両粒子の半径の平均である。したがって,  $\sigma_{ij} - r_{ij} > 0$  の場合に粒子間でオーバーラップが生じる。

$\Theta(x)$  はヘヴィサイドの階段関数であり, 次のように定義される。

$$\Theta(x) = \begin{cases} 1 & (x \geq 0) \\ 0 & (x < 0) \end{cases} \quad (3.6)$$

すなわち, 粒子同士が接触している場合にのみ, 式 (3.5) で与えられる相互作用力が働く。

本研究では計算コストの観点から, 粒子同士が重なり得る変形可能粒子を採用している。粒子の有効的な硬さは, ポテンシャル係数  $\epsilon$  によって制御される。

充填率  $\varphi$  を決定するため, 系の一辺の長さ  $L$  は次式から逆算的に決定する。

$$\varphi = \frac{\pi}{L^2} (400\sigma_L^2 + 600\sigma_S^2) \quad (3.7)$$

例えば, 図 3.1 に示した  $\varphi = 0.9$  の場合, 式 (3.7) より  $L \approx 49.5\sigma_0$  となる。

最後に、物理量の無次元化に用いる基準量を定義する。長さの基準として  $\sigma_0$ 、エネルギーの基準として  $\epsilon$ 、時間の基準として

$$\tau_0 = \frac{\gamma\sigma_0^2}{\epsilon} \quad (3.8)$$

を用いる。 $\tau_0$  は散逸の時間スケールを表す。数値積分は、時間刻み  $\Delta t$  を用いたオイラー法によって行った。

## 3.2 数値実験で用いる方程式の無次元化

3.1 節で定義した基準量  $\sigma_0$ ,  $\epsilon$ ,  $\tau_0$  を用いて、式 (3.1) の無次元化を行う。以下では、無次元化された物理量にはすべてチルダを付して表す。

まず、式 (3.1) を次のように書き直す。

$$\gamma \frac{\partial \mathbf{r}_i}{\partial t} = - \sum_{i \neq j} \frac{\partial V(r_{ij})}{\partial \mathbf{r}_i} + f \mathbf{n}_i + \sqrt{2k_B T \gamma} \zeta_i \quad (3.9)$$

ここで、 $\zeta_i$  は平均 0、分散 1 のガウシアンノイズである。

ポテンシャルを  $V = \epsilon \tilde{V}$  とスケールリングすると、無次元化された運動方程式は次のようになる。

$$\frac{\partial \tilde{\mathbf{r}}_i}{\partial \tilde{t}} = - \frac{\epsilon \tau_0}{\gamma \sigma_0^2} \sum_{i \neq j} \frac{\partial \tilde{V}(\tilde{r}_{ij})}{\partial \tilde{\mathbf{r}}_i} + \frac{f \tau_0}{\gamma \sigma_0} \mathbf{n}_i + \sqrt{\frac{2k_B T \tau_0}{\gamma \sigma_0^2}} \tilde{\zeta}_i \quad (3.10)$$

ここで  $\tau_0 = \gamma \sigma_0^2 / \epsilon$  を代入すると、

$$\frac{\partial \tilde{\mathbf{r}}_i}{\partial \tilde{t}} = - \sum_{i \neq j} \frac{\partial \tilde{V}(\tilde{r}_{ij})}{\partial \tilde{\mathbf{r}}_i} + \frac{f \sigma_0}{\epsilon} \mathbf{n}_i + \sqrt{\frac{2k_B T}{\epsilon}} \tilde{\zeta}_i \quad (3.11)$$

無次元温度

$$\tilde{T} = k_B T / \epsilon \quad (3.12)$$

およびペクレ数

$$Pe = f \sigma_0 / (k_B T) \quad (3.13)$$

を導入すると、

$$\frac{\partial \tilde{\mathbf{r}}_i}{\partial \tilde{t}} = - \sum_{i \neq j} \frac{\partial \tilde{V}(\tilde{r}_{ij})}{\partial \tilde{\mathbf{r}}_i} + Pe \tilde{T} \mathbf{n}_i + \sqrt{2\tilde{T}} \tilde{\zeta}_i \quad (3.14)$$

となる。

このとき、無次元化されたポテンシャルは

$$\tilde{V} = \frac{1}{2} (1 - \tilde{r}_{ij})^2 \Theta(1 - \tilde{r}_{ij}) \quad (3.15)$$

と表される。

また、自己推進方向を表す配向角  $\theta_i(t)$  の時間発展は

$$\frac{d\theta_i}{d\tilde{t}} = \sqrt{2D_r \tau_0} \tilde{\zeta} \quad (3.16)$$

で与えられる。

以上より、本研究で用いる ABP 系は、無次元温度  $\hat{T}$  とペクレ数  $Pe$  の二つの無次元パラメータによって記述される。

最後に、本研究の数値シミュレーションでは、確率項に含まれるガウシアンノイズを、C++ 標準ライブラリに実装されている Mersenne Twister 法 (`std::mt19937`) を用いて生成した。乱数生成器はシミュレーション開始時に固定したシード値で初期化しており、各時間ステップにおいて正規分布  $\mathcal{N}(0, 1)$  に従う乱数を逐次生成し、確率微分方程式の雑音項として用いた。このため、同一の初期条件および数値パラメータのもとでは、乱数の実現も含めて完全に再現可能なシミュレーション結果が得られる。

### 3.3 境界条件

ここでは、系が物質表面から十分離れた内部（バルク系）であると仮定し、その状況を模擬するための周期的境界条件（periodic boundary condition, PBC）の設定方法について述べる。

いま、 $N$  個の粒子が一辺  $L$  の正方形容器内で運動しているとする。正方形の一つの頂点  $O$  を原点とし、そこから交わる二辺を  $x, y$  軸に一致させた直交座標系を用いる。各粒子の座標を  $(x_i, y_i)$  とすると、粒子は

$$0 \leq x_i, y_i \leq L, \quad i = 1, 2, \dots, N \quad (3.17)$$

を満たす。この場合、容器の壁が存在するため、粒子は壁から力を受けることになる。壁で粒子が弾性反射する場合を **固定弾性壁の境界条件** と呼ぶ。粒子数が少ない場合には、壁の影響が顕著に現れてしまう。

一方、表面の影響を排除し、バルクの状態を模擬する条件が**周期的境界条件**（PBC）である。PBC では、粒子が容器の境界に到達しても壁から力を受けることなく、そのまま容器外に突き抜け、対向する壁の対応位置から同じ速度で再び出現する（図 3.2(a)）。例えば、粒子  $i$  の座標が  $\mathbf{r}_i$  から  $\mathbf{r}_i + \Delta\mathbf{r}_i$  に変化したとき、もし  $x$  成分が領域外に出た場合には

$$x_i + \Delta x_i > L \Rightarrow x_i + \Delta x_i \rightarrow x_i + \Delta x_i - L \quad (3.18)$$

$$x_i + \Delta x_i < 0 \Rightarrow x_i + \Delta x_i \rightarrow x_i + \Delta x_i + L \quad (3.19)$$

と置き換える。図 3.2 (a) は式 (3.18) のケースに相当する。この操作により、粒子数が少ないシミュレーションにおいても、バルク系の性質を再現できる。

さらに、本研究で用いるような粒子間相互作用が距離の関数で与えられる場合には、周期境界を考慮してもポテンシャルエネルギーが不変であることが重要である。そのため、基本セルを囲むイメージセルを考え（図 3.2(b)）、基本セル境界近くの粒子はイメージセル中の粒子とも相互作用すると仮定する。ただし、相互作用の二重計算を避けるため、実粒子とイメージセル粒子を含めて、最も近いペアのみの相互作用を考慮する必要がある。

### 3.4 隣接粒子リスト

本研究で用いる相互作用（式 (3.5)）は接触粒子間にも働く。そのため、各ステップで全粒子ペアの相互作用を計算すると計算コストが過大となる。これを回避するために、**隣接リスト**（neighbor list, NL）を導入

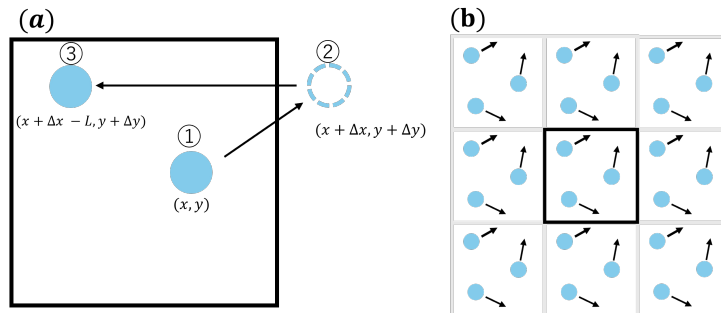


図 3.2 (a) 周期境界条件を表す模式図。① の状態の粒子が移動しセルの外に出たとき (② の状態), 周期境界条件の式に従って, セルの中に平行移動する (③ の状態)。 (b) 基本セル (中央の黒色の縁で囲まれた領域) とイメージセル (基本セルを囲む灰色の縁の領域) の模式図。イメージセル内の粒子と接触している基本セル内の粒子は, そのイメージセルの粒子からも相互作用を受ける。

入し, 計算負荷を軽減した [41]。以下では隣接リストの構築と更新の流れを説明する。

### 隣接リストの構築

隣接リストは以下の手順で構築した。1. **初期化**: 隣接リスト用の変数を初期化し, 各粒子  $i$  に対して隣接粒子数  $nn[i]$  と, 隣接リストにおける格納位置  $np[i]$  を準備する。2. **セル分割法の適用**: シミュレーションボックスを格子状のセルに分割し, 各粒子を対応するセルにマッピングする。これにより探索範囲を自セルとその周囲のセルに限定でき, 計算量を削減できる (図 3.3)。3. **周期的境界条件の適用**: ボックス端の粒子に対しても PBC を適用し, 正しい距離計算を保証する。4. **隣接リストの作成**: 探索範囲内の粒子間距離を計算し, カットオフ距離未満であれば隣接リストに登録する。この際,  $nn[i], np[i]$  を更新する。

### 隣接リストの更新

粒子が移動するにつれ, 隣接リストは更新が必要になる。その処理の流れは以下の通りである。1. **移動距離の計算**: 各粒子の現在位置と, 隣接リスト作成時の基準位置  $(x_0, y_0)$  との差を計算する。2. **閾値判定**: この移動距離が設定閾値を超える場合, 隣接リストを再構築する。3. **再構築**: 新しい座標を基準として記録し, リストを再作成する。

本研究で実装した隣接リストアルゴリズムはセル分割法を併用することで, 計算量を  $O(N)$  に近づけ, 高密度かつ動的な粒子系においても効率的に相互作用計算が可能となった。さらに, PBC の導入により, シミュレーションボックス端においても正確な粒子挙動を再現できる。以上により, 計算効率と正確性を両立している。

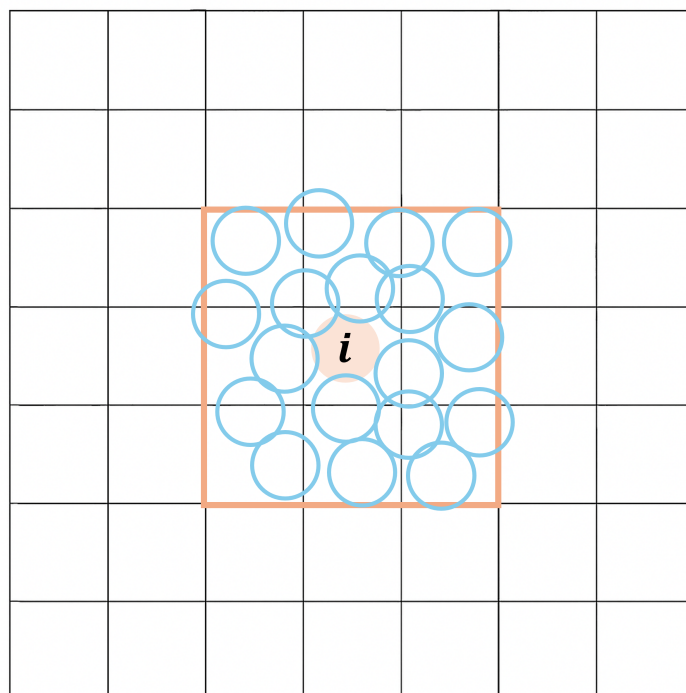


図 3.3 隣接粒子リストのイメージ図。粒子  $i$  の相互作用を計算する際、隣接するセル内のみを考慮して計算する。これにより、計算回数が大きく減り、計算コストや計算時間が減少する。

### 3.5 定常状態

本研究では、式 (3.7) で決めた体積分率のもと、1000 粒子の初期配置や配向（自走の向き）を決定し、そこから計算を開始する。しかしながら、計算して得られる物理量が初期条件によって異なると、正しく系の性質を評価できない。そこで、定常状態になるまでシミュレーションを実行し、観測時点依存性を排除する必要がある。

定常状態の特徴は、**時間推進対称性**を満たすことである。すなわち、系の物理量が観測時刻に依存しないことを意味する。

$$A(t_0, t_0 + t) = A(0, t) \quad (3.20)$$

ここで、 $A$  は初期時刻  $t_0$  とそこから  $t$  経過した時刻  $t_0 + t$  の 2 変数関数であるが、時間推進対称性が成立すれば、この関数は差分  $t$  のみに依存するようになる。この性質を利用して、系が定常状態に達したかどうかを判定できる。

具体的には、 $\Delta t$  の時間幅で平均二乗変位（mean square displacement, MSD）や中間散乱関数の自己部分（self-part of the intermediate scattering function, SISF）を計算する。そして、終状態から再度  $\Delta t$  の時間幅で同様の物理量を計算し、結果が一致すれば（すなわち、プロットした曲線が重なる場合）、系は定常状態に達したとみなす。

### 3.6 アクティブマイクロレオロジー

アクティブマイクロレオロジー (Active Micro-Rheology, AMR) は、ミクロスケールにおける物質の流動特性や力学応答を調査する手法の一つである [36]。この手法では、外部から制御可能な力を特定のプローブ粒子に加え、その応答関数  $\alpha^*(\omega)$  を測定する。

#### 応答関数の定義

プローブ粒子の変位のフーリエ変換を  $x(\omega)$ 、外力のフーリエ変換を  $F(\omega)$  とすると、応答関数  $\alpha^*(\omega)$  は次式で定義される。

$$\alpha^*(\omega) = \frac{x(\omega)}{F(\omega)} \quad (3.21)$$

この応答関数から、一般化ストークスの関係式 [31, 35]

$$G^*(\omega) = \frac{1}{6\pi r \alpha^*(\omega)} \quad (3.22)$$

を用いて、複素弾性率  $G^*(\omega)$  を算出することができる。ここで、 $r$  はプローブ粒子の半径である。

#### 解析手順

本研究における複素弾性率  $G^*(\omega)$  の算出手順を以下に示す。まず、 $N$  個の粒子の中からランダムに比較的大きい粒子を 1 個選び、それをプローブ粒子とする。この粒子に対し、振動外力

$$\mathbf{F}_{\text{ex}}(t) = f \sin(\omega t) \mathbf{e}_x \quad (3.23)$$

を加える。ここで、 $\mathbf{e}_x$  は  $x$  方向の単位ベクトルである。プローブ粒子については、式 (3.9) から自走項を除いた運動方程式に従う。

#### 運動方程式

プローブ粒子の運動方程式は、

$$\gamma \frac{\partial \mathbf{r}_p}{\partial t} = - \sum_{p \neq j} \frac{\partial V(r_{pj})}{\partial \mathbf{r}_p} + \sqrt{2K_B T \gamma} \boldsymbol{\zeta}_p + \mathbf{F}_{\text{ex}}(t) \quad (3.24)$$

で表される。ここで、 $\gamma$  は摩擦係数、 $V(r_{pj})$  は粒子間相互作用ポテンシャルである。他の  $N - 1$  個の媒質粒子の時間発展については、式 (3.1)、(3.2) と同様であるため割愛する。

#### 応答関数の算出

外力が角周波数  $\omega = \omega_f$  で振動している場合、系の応答が線形であると仮定すると、応答関数  $\alpha^*(\omega)$  の実部および虚部はそれぞれ

$$\alpha'(\omega_f) = \frac{\langle x(t) \sin(\omega_f t) \rangle}{f} \quad (3.25)$$

$$\alpha''(\omega_f) = \frac{\langle x(t) \cos(\omega_f t) \rangle}{f} \quad (3.26)$$

として求められる。ここで、 $\langle \dots \rangle$  は時間平均を示す。

### 複素弾性率の算出

最終的に、得られた応答関数  $\alpha^*(\omega_f)$  を一般化ストークスの関係式 (式 3.21) に代入することで、複素弾性率  $G^*(\omega_f)$  を算出する。

### 3.7 外力由来のドリフト除去

本章の最後に、AMR における外力印加に伴うドリフト補正について説明する。外力印加によって生じる系全体のドリフトを除去するため、各粒子の速度から一様な重心速度を差し引く補正を行った。補正速度  $v_n^{\text{corr}}$  は

$$v_n^{\text{corr}} = v_n - \frac{F_{\text{ex}}}{\gamma N} \quad (3.27)$$

と定義され、このとき系の重心運動は常にゼロとなる。本研究では、シミュレーション後に速度を補正し、その時間積分から得られる補正変位を用いて複素弾性率を算出した。なお、本補正は外力  $F_{\text{ex}}$  に起因する一様な重心移動のみを対象としており、溶媒粒子の自走運動に由来するドリフト成分に対しては一切の補正を行っていない。

## 4 結果と考察

### 4.1 集団ダイナミクス

本節では、局所的なレオロジー応答や緩和ダイナミクスを議論する前段階として、本研究で用いる遊走大腸菌系が示す集団運動の基本的な特徴を整理する。特に、濃度に依存した集団遊走の変化を概観し、後の議論において前提となる濃度領域および運動状態を明確にする。

まず、遊走大腸菌の集団遊走の濃度依存性を調べた。交換チャンバーを用いて厚み  $20\ \mu\text{m}$  の空間内に試料を封入し、三次元空間内を遊走する集団運動を画像解析により評価した。

図 4.1(a) は、集団遊走の濃度依存性を示した相図である。横軸はペレットに対する相対濃度  $\phi/\phi_p$  を表し、左縦軸は PIV 解析により求めた集団遊走速度を示している。集団遊走速度は、 $0.3 \leq \phi/\phi_p \leq 0.5$  の濃度領域において増加し、中間濃度付近で最大値をとることが分かる。

この濃度領域における PIV のスナップショットを図 4.1(b) に示す。矢印は集団遊走の方向を表し、その大きさおよび色は速度の大きさに対応している。図から、空間的に渦状の構造を伴う集団運動が形成されていることが確認できる。このような渦構造を伴う集団運動はアクティブ乱流 (active turbulence) と呼ばれ、遊走大腸菌を含む微生物懸濁液においてこれまでも報告されている [42, 43]。この運動はマクロなスケールでは連続体理論により記述される一方で、そのミクロな起源については、流体的相互作用やネマチックな配向相互作用など、複数の機構が関与すると考えられており、現在も議論が続いている。本研究において観測された渦構造は、 $x$ - $y$  平面内に形成され、その大きさや発生位置は時間とともに変化する。

一方、 $\phi/\phi_p > 0.6$  の高濃度領域では、集団遊走速度は大きく低下する。この濃度領域では、混み合いによる斥力的相互作用の影響が増大し、大腸菌の遊走が拘束されるため、集団運動が抑制されていると考えられる。

試料厚みが  $20\ \mu\text{m}$  に制限された拘束条件下では、渦状集団運動の代表的な長さスケールは試料厚みと同程度に制限されることが知られている [44]。そこで本研究では、 $20\ \mu\text{m}$  の構造スケールにおける集団的運動を定量的に評価する指標として、波数  $k = 2\pi/(20\ \mu\text{m})$  における動的感度率  $\chi_4$  (式 (2.9)) を用いた。

図 4.1(c) は、 $\phi/\phi_p = 0.45$  (乱流相) および  $\phi/\phi_p = 0.65$  (やや高濃度相) における  $\chi_4(k, t)$  の時間発展を示している。乱流相では、 $t \sim 10$ – $100$  s の時間領域において  $\chi_4$  が顕著なピークを示しており、 $20\ \mu\text{m}$  スケールにおける共同的な運動が発達していることを示している。一方、高濃度条件では、 $\chi_4$  のピークは全体として低下しており、集団的な運動の強さが抑制されていることが分かる。

さらに、図 4.1(d) に示す非遊走株 SHU321 における  $\chi_4$  では、測定した時間領域にわたって明瞭なピークは観測されなかった。この結果は、図 4.1(c) において観測された  $\chi_4$  のピークが、単なる密度揺らぎではなく、遊走に起因する共同的な運動を反映していることを示している。

図 4.1(a) の右縦軸には、各濃度における  $\chi_4$  のピーク値を集団運動の指標 (collectivity) として示している。 $\chi_4$  のピーク値は濃度に対して非単調な依存性を示し、中間濃度領域において最大となる。これは、乱流的な集団運動が特定の濃度範囲で最も発達し、低濃度および高濃度の両極限では抑制されることを示している。高濃度側における  $\chi_4$  の減少は、混み合いによる運動の拘束や斥力的相互作用の増大に起因すると考えられる。

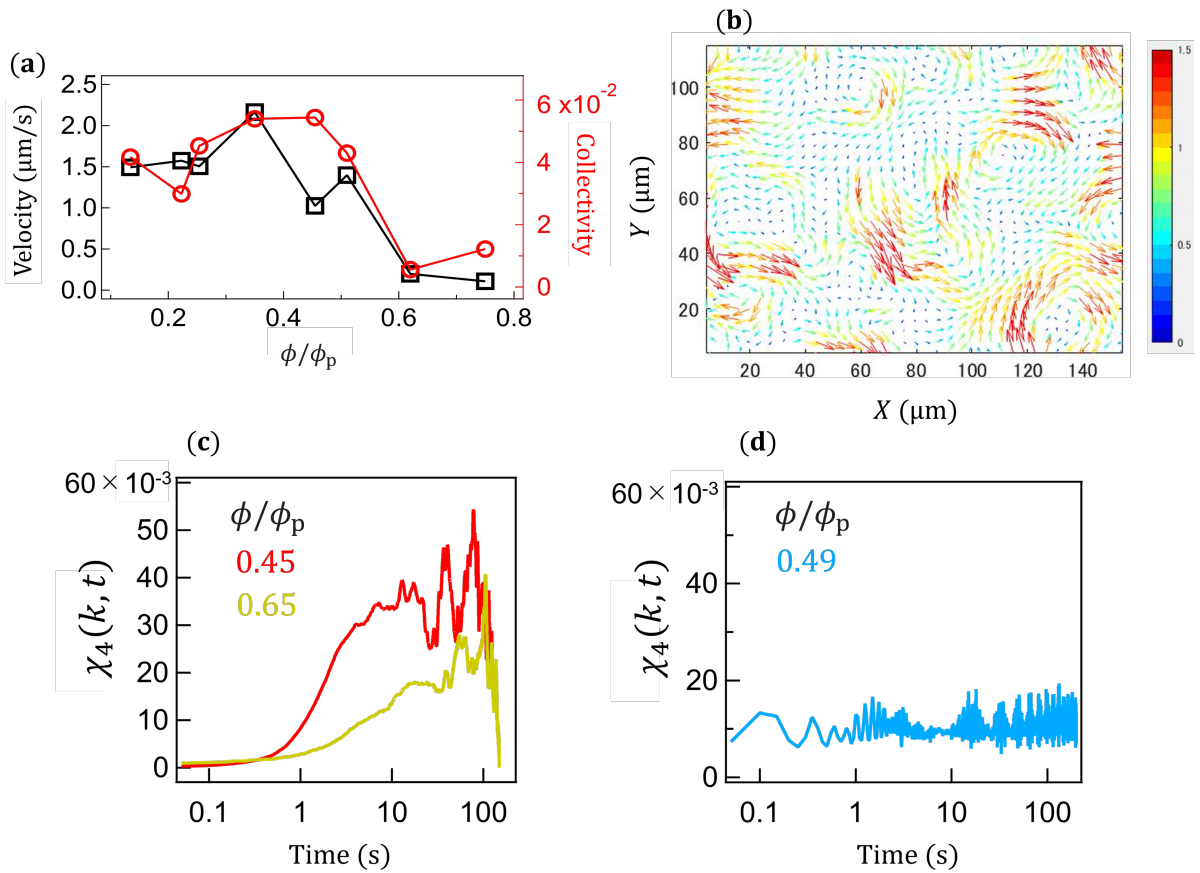


図 4.1 (a) 遊走大腸菌の集団遊走の相図。横軸はペレットに対する濃度であり、左縦軸（黒線）は集団遊走の速度、右縦軸は波数  $\frac{2\pi}{20} \mu\text{m}^{-1}$  で計算した  $\chi_4$  の最大値をプロットしている。(b)  $\phi/\phi_p = 0.37$  における遊走大腸菌の PIV スナップショット。(c)  $\phi/\phi_p = 0.45$  (赤線) および  $\phi/\phi_p = 0.65$  (黄色線) における  $\chi_4$  (式 2.9) のグラフである。10~100 秒にかけてピークが見えており、 $20 \mu\text{m}$  において共同的な揺らぎが存在することを示す。また、その揺らぎはピーク値から濃厚な相のものの方が共同的な揺らぎが抑制されることが分かる。(d)  $\phi/\phi_p = 0.49$  における  $\chi_4$  のグラフである。ピークを示さないことから、遊走しない大腸菌は  $20 \mu\text{m}$  スケールの共同的な揺らぎ構造を有していないことを示す。

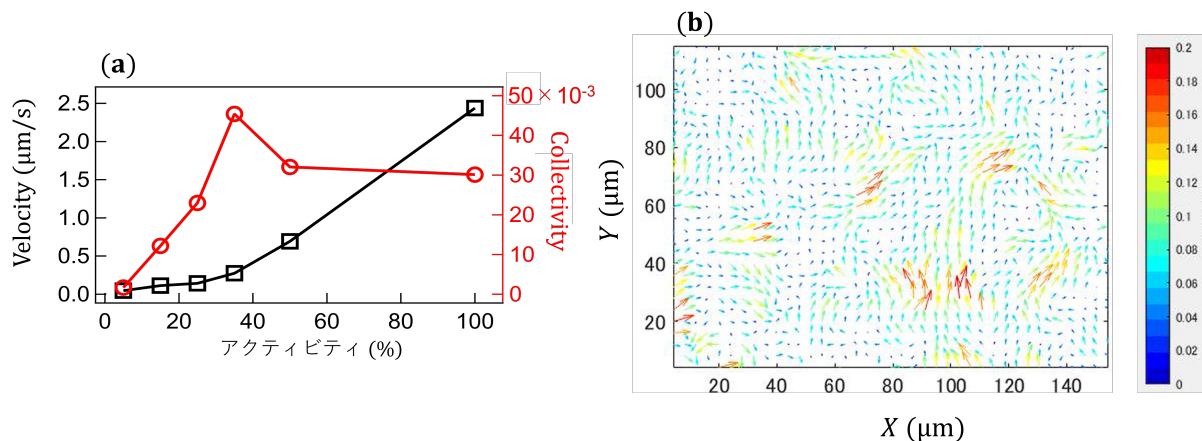


図 4.2 (a) アクティビティを変化させたときの集団遊走の相図。横軸は系の中の遊走大腸菌の比率をアクティビティとして記載したものであり、縦軸は図 4.1(a) と同じである。(b) アクティビティが 5 の場合の PIV スナップショット。各グラフ右側のカラーバーは、矢印の色と速度 ( $\mu\text{m/s}$ ) の対応を示している。

次に、集団遊走に対するアクティビティ依存性を調べた。ここでアクティビティとは、系中に存在する遊走大腸菌の割合として定義する。これは、系中に存在する遊走大腸菌の割合が、集団スケールで観測される運動にどのような影響を与えるかを明らかにすることを目的としている。図 4.2(a) の横軸はアクティビティを、縦軸は図 4.1(a) と同様に、PIV 解析により求めた集団遊走速度および Collectivity を表している。また、アクティビティ依存性に着目するため、全ての系列において、濃度はおおよそ同一 ( $\phi/\phi_p \approx 0.55$ ) に統一している。本節以降、ダイナミクスやレオロジーのアクティビティ依存性に関するデータが現れた際には、全て濃度が統一されたものである。図から、アクティビティの低下に伴って集団遊走速度は単調に減少する一方で、Collectivity は、アクティビティがある程度低下した条件においても有限の値を保っていることが分かる。

図 4.2(b) は、アクティビティ 5 における PIV の速度場スナップショットである。この条件では、乱流的な渦構造は消失しているものの、速度場には依然として空間的な不均一性や共同的な運動が確認される。このような揺らぎの特徴は、ガラス系における粒子変位の振る舞い (図 1.3(b) [4]) と類似しており、低アクティビティ条件における混合系がガラス系として振る舞う可能性を示唆している。

## 4.2 非平衡揺らぎ

本研究では、大腸菌懸濁液中にコロイド粒子を分散させ、その揺らぎおよび力学応答を調べた。以下では、本研究の結果を示す前に、先行研究において報告されている、遊走株および非遊走株大腸菌懸濁液における揺らぎおよび力学応答測定の結果を概観する [13]。

図 4.3(a) は、MR (Microrheology) 実験の模式図を示している [13]。Passive MR により、試料内の揺らぎである速度のパワースペクトル密度 (PSD, 式 (2.12)) を測定し、Active MR および Force-clamp MR により、外力に対する試料の応答 (式 (2.50)) を測定することで、熱的揺らぎに起因する成分を評価する。これらの結果を組み合わせることにより、揺動散逸定理の破れを観測し、試料内に存在する非熱的揺らぎを見積もることができる。

図 4.3(b), (c) は、それぞれ非遊走株 SHU321 および遊走株 RP4979 における MR 測定の結果を示し

ている。実線は、Passive MR により求めた速度のパワースペクトル密度 (PSD) を表しており、丸点は、Active MR により得られた各周波数における力学応答  $2k_B T R'(\omega)$  を示している。また、左端に示した太線は、Force-clamp MR により求めた低周波極限における力学応答  $2k_B T R'(0)$  を表している。

ここで、 $R'(0)$  は Force-clamp MR により求めた粘性係数  $\eta$  を用いて、以下の関係式から算出した。

$$R'(0) = \frac{F}{v} = \frac{1}{6\pi\eta a} \quad (4.1)$$

ここで、 $a$  はプローブ粒子の半径である。

まず、図 4.3(b) に示した非遊走株 SHU321 の結果に着目する。この条件では、実線で示した揺らぎと点で示した力学応答が測定した周波数領域にわたって良く一致している。このことから、観測した周波数範囲において揺動散逸定理の破れは認められず、SHU321 は熱的揺らぎによって駆動された混み合い系であることが分かる。

一方、図 4.3(c) に示した遊走株 RP4979 の結果では、およそ 10 Hz 以下の低周波領域において、揺らぎと力学応答の間に差が生じており、揺動散逸定理が破れていることが確認される。この結果は、大腸菌の遊走により非熱的な揺らぎが導入され、系が非平衡状態に置かれていることを示している。

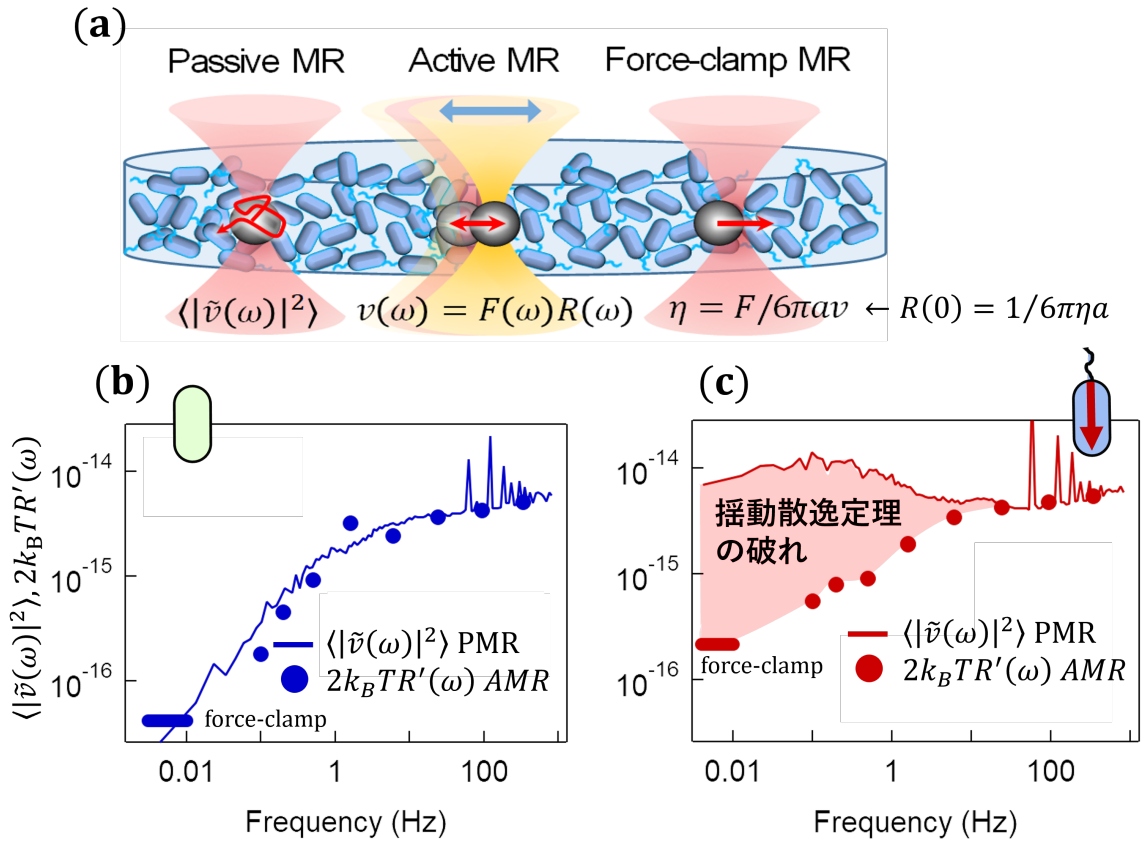


図 4.3 (a) Passive MR (PMR), Active MR (AMR) および Force-clamp MR の測定原理を示した模式図。(b) 非遊走株 SHU321 における揺らぎおよび外力応答の測定結果。実線は Passive MR により求めた速度のパワースペクトル密度 (PSD) を表し、丸点は Active MR により求めた力学応答  $2k_B T R'(\omega)$  を示している。また、太線は Force-clamp MR により求めた低周波極限における力学応答  $2k_B T R'(0)$  を表す。このときの粒子密度は  $\phi/\phi_p = 0.68$  である。(c) 遊走株 RP4979 における揺らぎおよび外力応答の測定結果。各線および点の意味は (b) と同様であり、粒子密度は  $\phi/\phi_p = 0.75$  である。(a)–(c) は文献 [13] の図を一部改変して引用したものである。

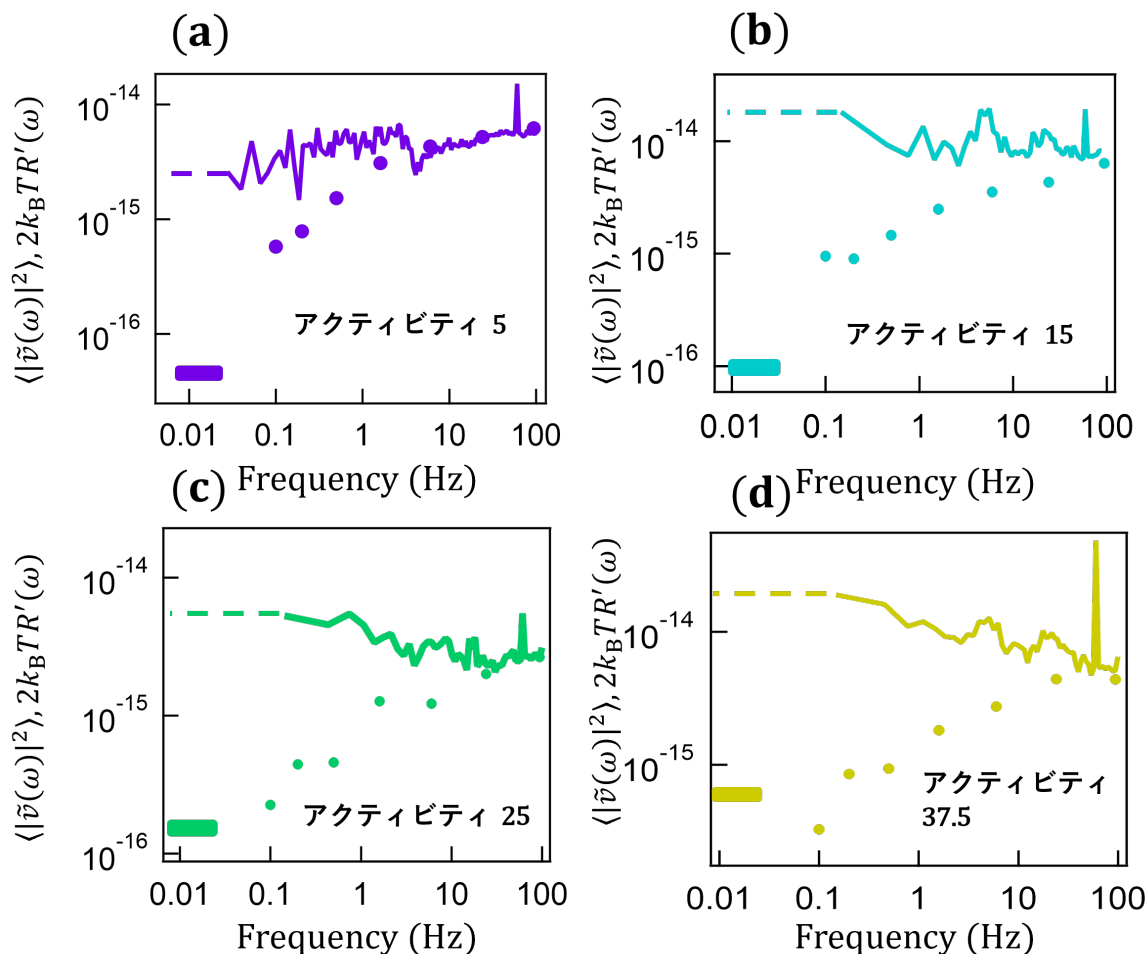


図 4.4 Passive MR (PMR), Active MR (AMR) および Force-clamp MR を用いて測定した、揺らぎおよび外力応答のアクティビティ依存性を示した結果。(a)~(d) は、それぞれアクティビティが 5, 15, 25, 37.5 の条件に対応している。各系列における線および記号の意味は、図 4.3(b), (c) と同様である。

次に、アクティビティを変化させた条件における揺らぎおよび外力応答の測定結果について示す。図 4.4(a)~(d) は、それぞれアクティビティが 5, 15, 25, 37.5 の条件に対応する結果である。

これらの結果から、アクティビティが 5, すなわち遊走大腸菌を 5% 系に混合した条件においても、揺動散逸定理の破れが観測されることが分かる。さらに、他の条件においても、いずれの系列においておおよそ 10 Hz 以下の低周波数領域では、揺動散逸定理の破れが確認される。

このことは、系中に存在する遊走大腸菌が非熱的な揺らぎを生成し、その結果として系が非平衡状態に駆動されていることを示している。一方で、非熱揺らぎの大きさとアクティビティとの関係を、これらの図から直接読み取ることは難しい。系のアクティビティと非熱揺らぎとの関係については、考察の章において詳しく議論する。

### 4.3 緩和ダイナミクス

次に、構造緩和ダイナミクスのアクティビティ依存性を調査した。緩和ダイナミクスを評価するため、大腸菌の顕微鏡画像から得られた輝度分布の時間相関を用いて、密度揺らぎの時間発展を表す中間散乱関数（式(2.7)）を算出した。

図 4.5(a) は、各アクティビティ条件における中間散乱関数を示している。ここで用いた波数は、大腸菌の短軸程度の長さスケールに対応する  $k = 2\pi/(1.08 \mu\text{m})$  である。この波数における中間散乱関数は、密度揺らぎが大腸菌一個体分の空間スケールにおいて相関を失うまでの時間スケールを反映している。また、構造緩和ダイナミクスのアクティビティ依存性を抽出するため、系の濃度は  $\phi/\phi_p \simeq 0.55$  に固定した。

図 4.5(a) から、アクティビティの増加に伴って中間散乱関数の減衰が速くなっていることが分かる。図 4.5(a) に示した中間散乱関数の減衰挙動を定量的に比較するため、その時間減衰を stretched exponential 関数（式(2.8)）でフィッティングし、緩和時間を算出した。stretched exponential 関数は、ガラス形成液体や混み合った粒子系において、構造緩和が単一の緩和時間では記述できないことを反映する経験的な表現として広く用いられている。

図 4.5(b) は、算出した中間散乱関数をフィッティングし、得られた緩和時間をプロットしたものである。この結果から、系の緩和時間はアクティビティの増加に伴って概ね単調に減少することが確認された。これは、系のアクティビティが構造緩和を促進していることを示している。

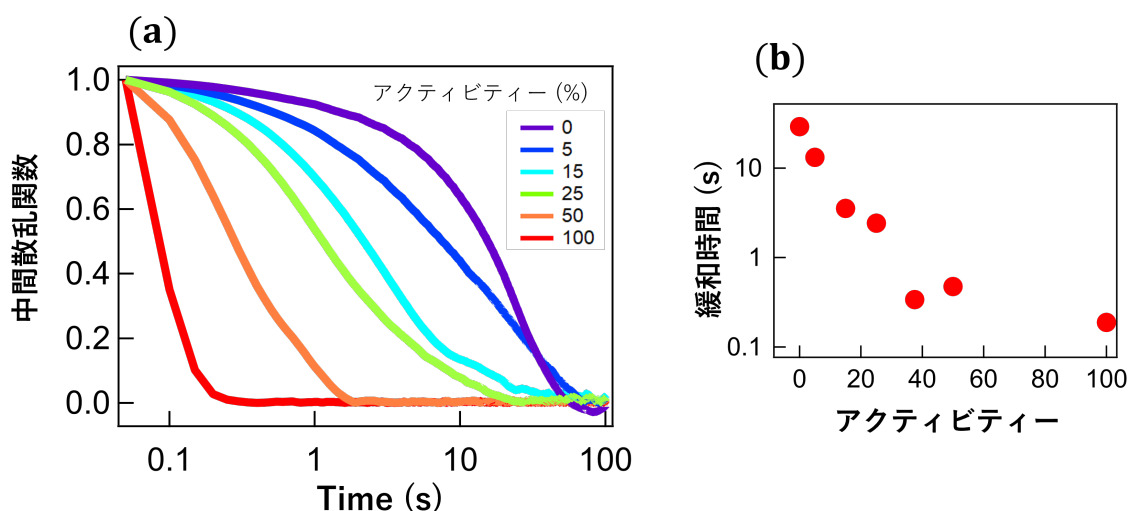


図 4.5 (a) 中間散乱関数のアクティビティ依存性を示す。横軸は時間、縦軸は波数  $k = \frac{2\pi}{1.08} [1/\mu\text{m}]$  における中間散乱関数である。各線の色は、系中における遊走大腸菌の比率を表しており、本研究ではこれをアクティビティと呼ぶ。(b) 各アクティビティにおける緩和時間のグラフ。緩和時間は、得られた中間散乱関数を stretched exponential 関数でフィッティングして求めた。

1.1 節でも述べた通り、ガラス形成物質において、揺らぎの空間的不均一性（動的不均一性）は重要な概念

である [4]。しかし、先に求めた中間散乱関数は空間的に平均された二点相関関数であるため、動的不均一性を直接評価することはできない。そこで、動的不均一性を定量的に評価する指標として、先に求めた中間散乱関数の分散から四点相関感受率  $\chi_4$  を算出した (式 (2.9))。4.1 節では渦構造に代表される共同的な運動を抽出する目的で  $\chi_4$  を評価したのに対し、本節では、構造緩和の不均一性を抽出するため、 $\chi_4$  を評価する波数として、中間散乱関数と同様に  $k = 2\pi/(1.08 \mu\text{m})$  を採用した。図 4.6(a) は、各アクティビティ条件における動的感受率  $\chi_4$  の時間発展を示している。アクティビティが 0 の場合には、系の緩和時間に対応する時間スケールにおいて  $\chi_4$  が顕著なピークを示しており、本研究で用いた非遊走株 SHU321 の混みあい系がガラス的に振る舞っていることを示唆している。

一方、アクティビティの増加に伴って、 $\chi_4$  のピークは次第に低下している。さらに、図 4.6(b) に示すように、 $\chi_4$  の最大値はアクティビティに対して概ね単調に減少している。これらの結果は、アクティビティの増加によってガラス系に特有な集団的緩和の不均一性が抑制されるという、先行研究で報告されているアクティブガラスの流動化挙動と整合的であり [7]、本研究で用いた大腸菌混合系が、アクティブガラスとしての性質を有していることを示唆している。

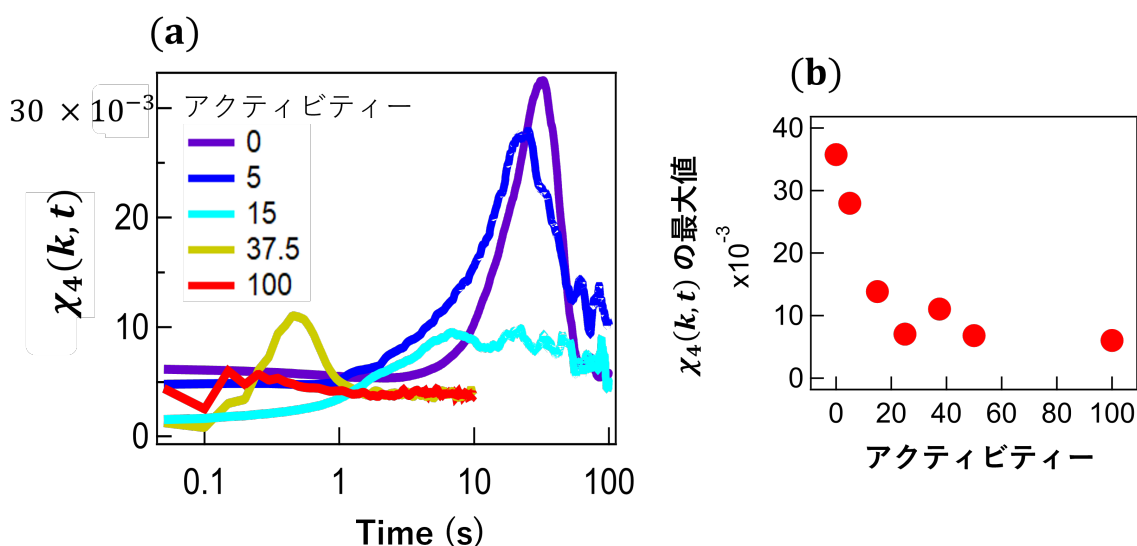


図 4.6 (a) 各アクティビティに対する  $\chi_4$  のグラフ。波数は、 $k = \frac{2\pi}{1.08} [1/\mu\text{m}]$  を選択している。(b)  $\chi_4$  の最大値をアクティビティに対してプロットしたグラフ。

#### 4.4 Force-clamp MR による粘性測定

これまで本章では、中間散乱関数および  $\chi_4$  の解析を通じて、アクティビティが構造緩和ダイナミクスに及ぼす影響を示してきた。本節以降では観点を換え、レオロジー測定に基づいて系のアクティビティ依存性を調査する。本節では、Force-clamp MR によるレオロジー測定の結果を示す。実験では、試料中に直径  $3 \mu\text{m}$  の

プローブ粒子を添加し、一定の外力を印加した際の粒子の定常速度を測定することで、試料の粘性を評価した(式(2.47))。図4.7は、定常牽引実験から得られた粘性のアクティビティ依存性を示す。縦軸は、溶媒であるFicoll溶液(0.25 g/ml)に対する比粘性である。なお、アクティビティ100における値は、先行研究[13]で報告されている参考値である。図4.7から、アクティビティの増加に伴って、系の粘性が概ね単調に減少していることが分かる。この結果は、前節で示した構造緩和時間の短縮と整合的であり、アクティビティの増加によって、系がダイナミクスの観点だけでなく、レオロジーの観点からも流動化していることを示している。

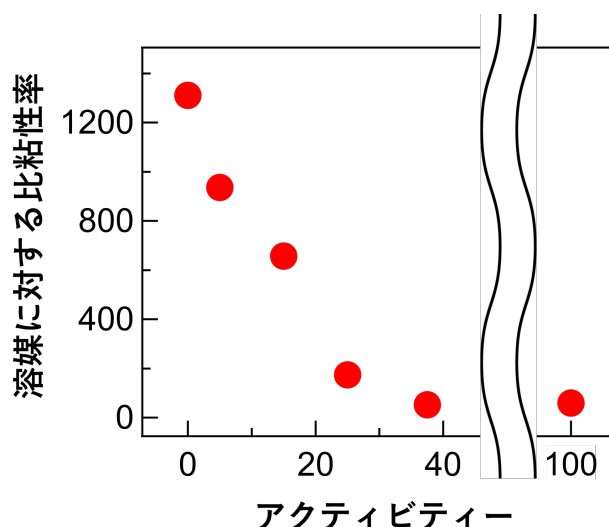


図 4.7 Force-clamp MR によって得られた、各アクティビティにおける比粘性のアクティビティ依存性。比粘性は、ストークスの公式(式(2.47))から求めた系の粘性を、Ficoll 溶液(0.25 g/ml)の粘性で正規化したものである。

#### 4.5 複素弾性率

最後に、Active MR により得られた複素弾性率について議論する。複素弾性率  $G^*(\omega)$  は、試料の周波数依存の粘弾性応答を表す量であり、その実部  $G'(\omega)$  および虚部  $G''(\omega)$  は、それぞれ弾性的および粘性的応答を反映する。本研究の結果を示す前に、先行研究[13]において報告されている SHU321 および RP4979 の複素弾性率を概観し、非平衡な揺らぎがレオロジーに与える影響について整理する。図 4.8(a), (b) は、それぞれ HU321 および RP4979 における  $G'(\omega)$  の周波数依存性を示している。各データ系列の色および記号は、試料の濃度  $\phi/\phi_p$  に対応している。

まず濃度依存性に着目すると、SHU321, RP4979 のいずれの系においても、濃度の増加に伴って  $G'(\omega)$  の値が全体として増加していることが確認される。これは、濃度上昇に伴う混み合いの増大により、弾性的な応答が強まっていることを反映している。

次に周波数依存性に着目すると、1.4 節で述べた通り、高濃度の SHU321 では低周波領域において弾性プ

ラトーが観測される一方、RP4979 では  $G'(\omega) \propto \omega^{1/2}$  に従うべき則的挙動が現れている。このことは、遊走に伴う非平衡な揺らぎの存在が、系の力学応答を質的に変化させていることを示唆している。

さらに、複素弾性率の実部と虚部の比  $G'(\omega)/G''(\omega)$  は、試料において弾性的応答と散逸的応答のどちらが支配的であるかを示す指標である。図 4.8(c), (d) は、それぞれ SHU321 および RP4979 における  $G'(\omega)/G''(\omega)$  の周波数依存性を示している。SHU321 の場合、低濃度では全周波数域において  $G'(\omega)/G''(\omega) < 1$  であるのに対し、高濃度では低周波領域において  $G'(\omega)/G''(\omega) > 1$  となり、弾性的応答が支配的となる。一方、RP4979 では、いずれの濃度においても多くの周波数領域で  $G'(\omega)/G''(\omega) < 1$  が保たれている。これは、遊走に起因する非平衡な揺らぎによって、弾性的な応答が減少していることを示している。

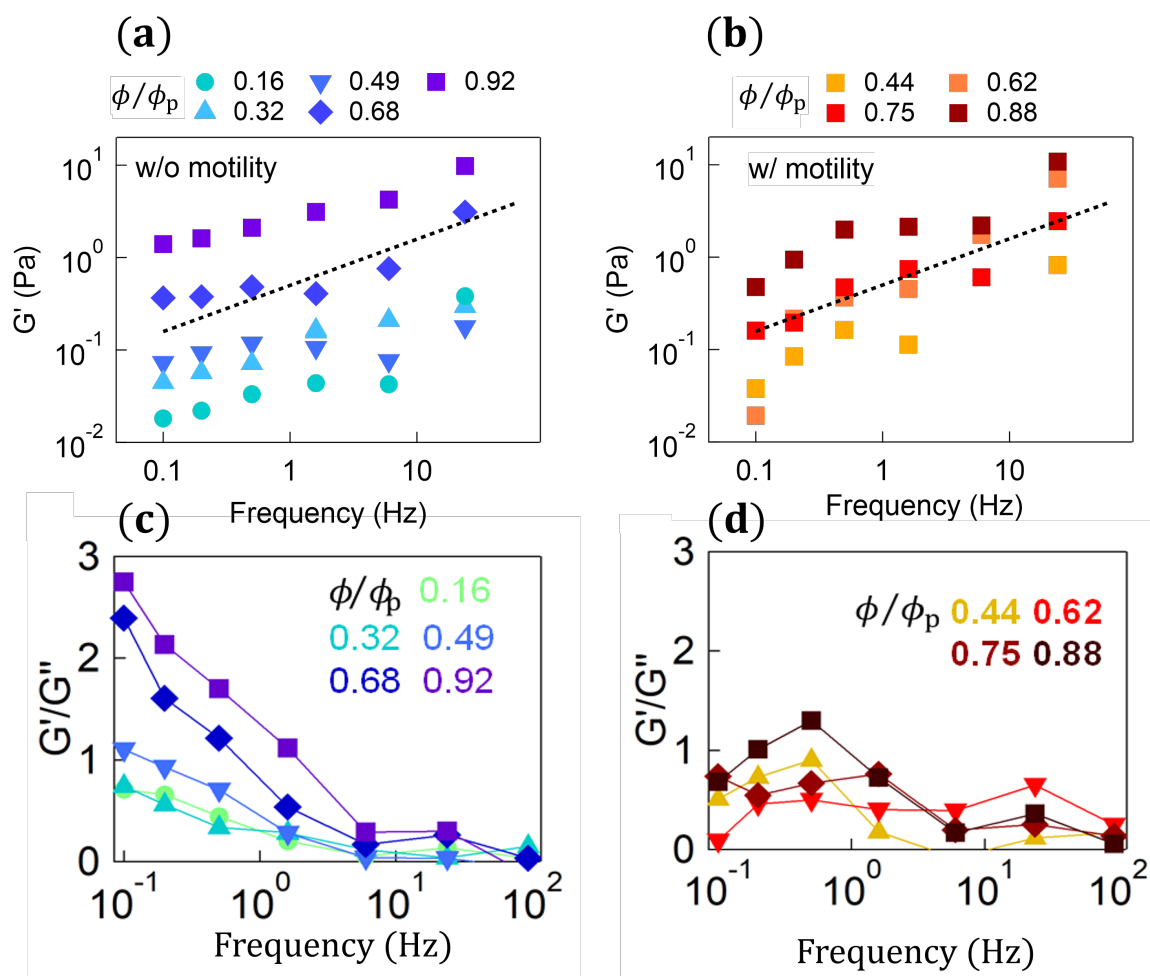


図 4.8 (a), (b) それぞれ SHU321(遊走なし) および RP4979(遊走あり) における、複素弾性率の実部の周波数依存性。各曲線の色は図中上部に示された試料濃度に対応しており、濃度指標  $\phi/\phi_p$  はペレットに対する相対濃度を表している。(c),(d) それぞれ SHU321,RP4979 における複素弾性率の実部と虚部の比。いずれのグラフも [13] より引用。

以上の先行研究を踏まえ、以下では本研究の結果である、複素弾性率のアクティビティ依存性を調べた。図

4.9(a) は、各アクティビティ条件における複素弾性率の実部  $G'(\omega)$  を示している。まず、アクティビティ 0 の場合に注目すると、10 Hz 以下の低周波領域において、 $G'(\omega)$  が周波数にほとんど依存しない弾性プラトーが観測される。この振る舞いは、先行研究と同様である。一方、アクティビティが 0 より大きい条件では、測定した周波数範囲において  $G'(\omega)$  が周波数の 1/2 乗に比例するべき則的挙動を示すことが分かる。すなわち、アクティビティの有無によって、低周波における  $G'(\omega)$  の支配的な周波数依存性が、 $G'(\omega) \propto \omega^0$  から  $G'(\omega) \propto \omega^{1/2}$  へと変化していることが分かる。図 4.9(b) は、複素弾性率の実部と虚部の比  $G'(\omega)/G''(\omega)$  を各アクティビティ条件についてプロットしたものである。低周波領域において、アクティビティの増加に伴い  $G'/G''$  の値が低下していることが確認される。これは、アクティビティの増加に伴い、系における弾性的な応答が減少していることを示している。

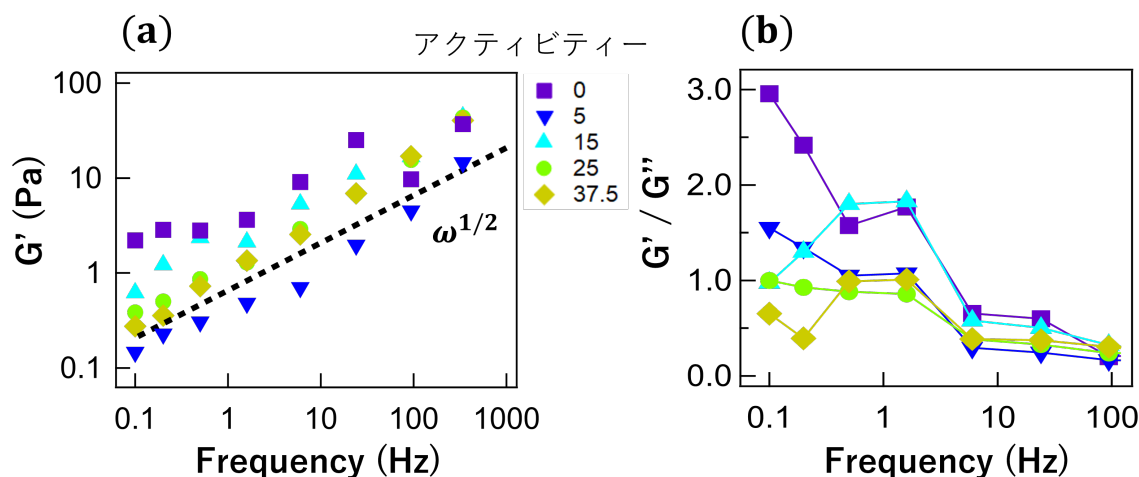


図 4.9 (a) 各アクティビティ条件において測定した複素弾性率の実部  $G'(\omega)$ 。横軸は外力の周波数、縦軸は複素弾性率の実部を表す。図中の点線は、周波数の 1/2 乗に比例するべき則を示している。各系列の色および記号は、図右上に示したアクティビティに対応する。(b) 各アクティビティ条件における複素弾性率の実部と虚部の比  $G'(\omega)/G''(\omega)$ 。各系列は (a) と同一である。

なお、本研究で得られた  $G'(\omega)$  の絶対値は、同程度の濃度条件における先行研究と比較して、全体としてやや高い値を示している。この差異は、本研究で用いた試料が先行研究に比べて過剰に培養されていたことに起因している可能性がある。この点については、第 5 章の考察において詳しく議論する。

#### 4.6 数値計算より求めたダイナミクス

これまで、実験により得られた結果について述べてきた。本節では、二次元系における高充填率条件下で、自走粒子モデルである Active Brownian Particle (ABP) を用いた数値シミュレーションにより、アクティブガラス系を構成する。このような系に対して、自走強度を系統的に変化させながらダイナミクスおよびレオロジーを解析することで、アクティビティが系の緩和挙動に与える影響について、実験結果との比較を行う。

なお、本研究では、アクティビティの指標としてペクレ数（式 (3.13)）を用いる。まず、系のダイナミクスを評価するため、中間散乱関数（式 (2.6)）の自己部分  $F_s(k, t)$  を用いる。中間散乱関数の自己部分は、各粒子の自己相関のみを取り出した量であり、波数  $k$  に対応する空間スケールにおいて、粒子の位置相関が失われるまでの時間発展を反映している。

自己部分の瞬時量  $\hat{F}_s(\mathbf{k}, t)$  は、各粒子の変位に基づいて以下の式で定義される：

$$\hat{F}_s(\mathbf{k}, t) = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \exp[i\mathbf{k} \cdot (\mathbf{r}_j(t) - \mathbf{r}_j(0))] \quad (4.2)$$

ここで、 $\mathbf{r}_j(t)$  は時刻  $t$  における  $j$  番目の粒子の位置ベクトル、 $\mathbf{k}$  は観測する空間スケールを決める波数である。

通常用いられる自己中間散乱関数  $F_s(\mathbf{k}, t)$  は、この瞬時量を時間平均した量として、

$$F_s(\mathbf{k}, t) = \langle \hat{F}_s(\mathbf{k}, t) \rangle \quad (4.3)$$

と定義される。

本研究では、構造緩和ダイナミクスを抽出するため、粒子直径に対応する空間スケールを選び、波数として  $k = \pi$  を用いて解析を行った。

図 4.10 は、数値計算により求めた中間散乱関数を示している。まず、図 4.10(c) に示される充填率  $\phi = 0.74$  の条件に着目すると、 $Pe = 0$  においても中間散乱関数が十分に減衰しており、熱揺らぎのみで系が流動化していることが分かる。

本研究では、アクティビティによるガラスの流動化に着目するため、数値計算においては系がガラス化している  $\phi \geq 0.81$  の条件を主な解析対象とする。これらの条件においては、いずれの場合もアクティビティ ( $Pe$ ) の増加に伴って、緩和時間が概ね単調に減少していることが確認される。

次に、充填率依存性に着目する。例えば、図 4.10(a), (b) における  $Pe = 10$  の結果を比較すると、 $\phi = 0.81$  では  $t \sim 10^5$  程度で  $F_s(k, t) \approx 0$  に達しているのに対し、 $\phi = 0.83$  では  $F_s(k, t) \approx 0$  に達するまでに  $t \sim 10^6$  程度を要している。このことから、充填率の増加に伴い、系が流動化しにくくなっていることが分かる。

さらに、無次元化温度  $\tilde{T}$ （式 (3.12)）の影響も顕著である。 $\tilde{T}$  は、熱揺らぎと粒子間の弾性的エネルギーの比を表す無次元量であり、 $\tilde{T}$  が小さいほど、熱揺らぎの寄与が相対的に小さいことを意味する。図 4.10(a) と (d) における  $Pe = 30$  の結果を比較すると、(a) に比べて (d) では、 $F_s(k, t) \approx 0$  に達するまでの時間が約 1 桁長くなっていることが分かる。これは、 $\tilde{T}$  の低下により、粒子間反発エネルギーに対する熱揺らぎの寄与が相対的に小さくなり、粒子がケージ構造から脱出しにくくなった結果として、構造緩和が抑制されたためであると解釈できる。

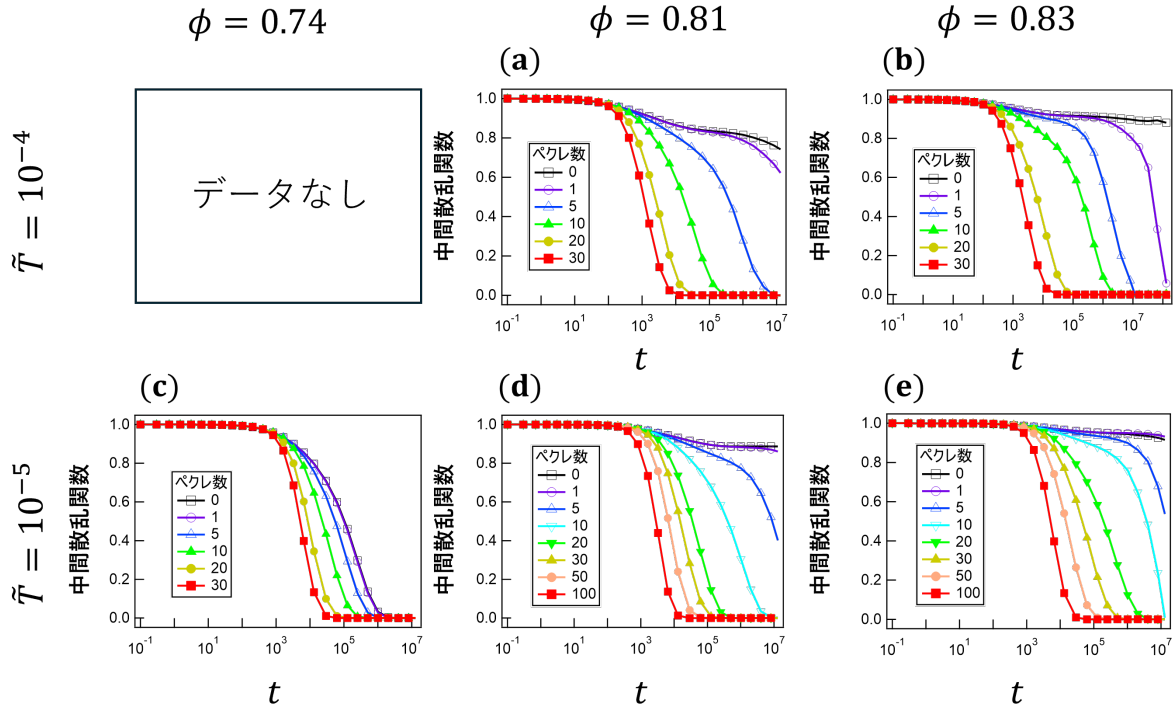


図 4.10 数値実験により求められた中間散乱関数。系 5 条件で載せており、それぞれ (a)  $\tilde{T} = 10^{-4}$ ,  $\phi = 0.81$  (b)  $\tilde{T} = 10^{-4}$ ,  $\phi = 0.83$  (c)  $\tilde{T} = 10^{-5}$ ,  $\phi = 0.74$  (d)  $\tilde{T} = 10^{-5}$ ,  $\phi = 0.81$  (e)  $\tilde{T} = 10^{-5}$ ,  $\phi = 0.83$  である。また、 $\tilde{T} = 10^{-4}$ ,  $\phi = 0.74$  のデータはない。

次に、実験と同様に、中間散乱関数の分散として四点相関感受率  $\chi_4(k, t)$  を算出した。 $\chi_4(k, t)$  は、自己中間散乱関数の時間ゆらぎの大きさを表す量であり、以下の式で定義される：

$$\chi_4(k, t) = N \left( \left\langle \hat{F}_s(k, t)^2 \right\rangle - \left\langle \hat{F}_s(k, t) \right\rangle^2 \right). \quad (4.4)$$

ここで、本研究で用いた  $\chi_4(k, t)$  は、自己中間散乱関数の分散として定義された量であり、Berthier らによって導入された四点相関関数に基づく  $\chi_4$  [4] と数学的に同一の定義ではない。しかしながら、いずれの  $\chi_4$  も構造緩和に伴う集団的な揺らぎの大きさを定量化する指標であり、緩和の協同性や空間的不均一性を捉えるという点で、物理的な解釈は定性的に共通している。

図 4.11 は、数値計算により得られた動的感受率  $\chi_4(k, t)$  の時間発展を示している。

まず、充填率  $\phi = 0.74$  を除く条件では、 $Pe = 0$  あるいは  $Pe = 1$  において、測定時間内に系の構造緩和が完了していないため、対応する時間スケールにおける  $\chi_4(k, t)$  の明瞭なピークは観測されていない。

一方で、いずれの充填率条件においても、アクティビティの増加に伴って  $\chi_4(k, t)$  のピーク値が減少する傾向が確認される。また、同一のアクティビティ条件で比較すると、充填率が高くなるにつれて  $\chi_4(k, t)$  のピーク値が増加する傾向も見られる。これらの挙動は、4.3 節で示した遊走大腸菌実験におけるダイナミクスの振る舞いと定性的に一致している。

無次元化温度  $\tilde{T}$  に対する依存性については、観測時間の制約により明確な系統性を議論することは難しい

が、図 4.11(a) と (d) における  $Pe = 5$  の結果を比較すると、 $\tilde{T}$  が小さい条件の方が  $\chi_4(k, t)$  の値が大きい傾向が示唆される。

以上より、数値計算においても、アクティビティの増加に伴って緩和時間および動的感受率のピーク値が概ね単調に減少することが示された。

#### 4.7 数値実験により求めた複素弾性率

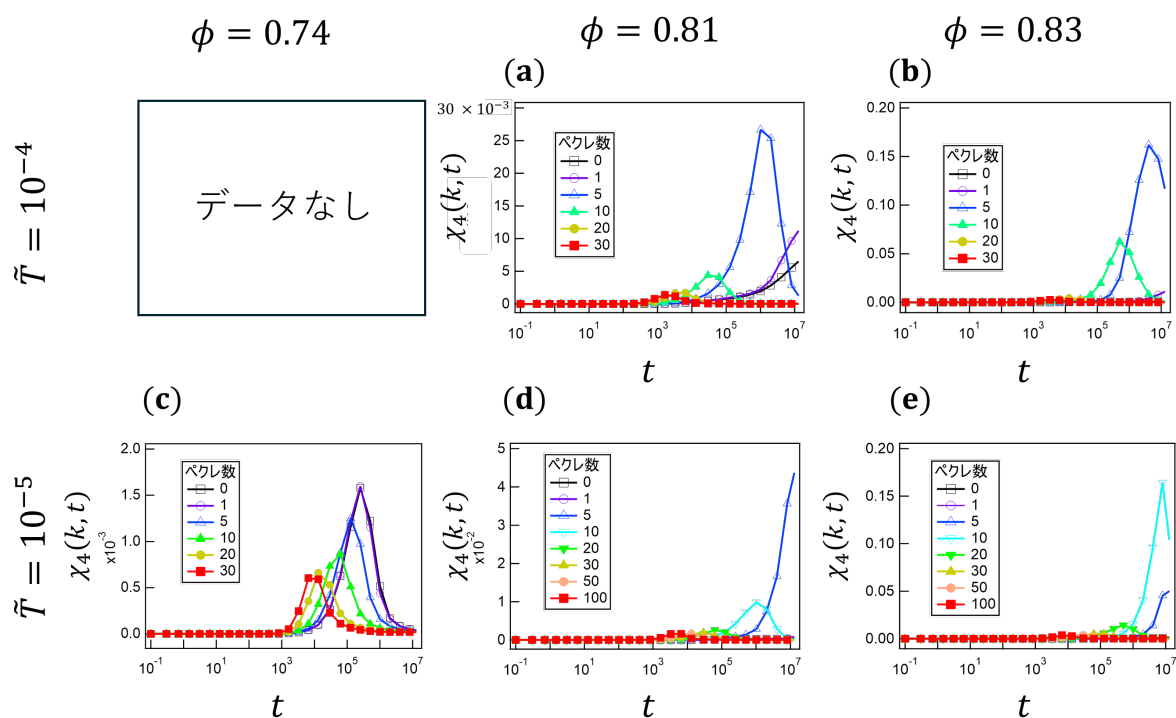


図 4.11 数値実験により求められた動的感受率。系 5 条件で載せており、それぞれ (a)  $\tilde{T} = 10^{-4}, \phi = 0.81$  (b)  $\tilde{T} = 10^{-4}, \phi = 0.83$  (c)  $\tilde{T} = 10^{-5}, \phi = 0.74$  (d)  $\tilde{T} = 10^{-5}, \phi = 0.81$  (e)  $\tilde{T} = 10^{-5}, \phi = 0.83$  である。また、 $\tilde{T} = 10^{-4}, \phi = 0.74$  のデータはない。

次に、数値計算により Active microrheology (Active MR) を用いて複素弾性率を算出した結果について述べる。数値計算における Active MR は、3.6 節で述べた手法に基づき、プローブ粒子に正弦波的な外力を印加し、その線形応答から複素弾性率  $G^*(\omega)$  (式 (3.22)) を算出するものである。

本研究では、 $\phi = 0.81, \tilde{T} = 10^{-4}, \phi = 0.83, \tilde{T} = 10^{-4}, \phi = 0.81, \tilde{T} = 10^{-5}, \phi = 0.83, \tilde{T} = 10^{-5}$  の 4 条件について解析を行った。本シミュレーションでは、アクティビティによるガラス状態の流動化過程に着目するため、アクティビティが無い状態において弾性プラトーが最も明瞭に観測される  $\phi = 0.81, \tilde{T} = 10^{-4}$  の結果を本文中に示す。他の条件における結果は Appendix に掲載する。

図 4.11 は、数値計算から求めた複素弾性率の周波数依存性を示している。赤四角は実部  $G'(\omega)$ 、青丸は虚部  $G''(\omega)$  を表す。また、黒線は  $\omega^{1/2}$ 、茶色の線は  $\omega^1$  に比例するガイドラインである。各条件について 8 粒子分の測定を行い、平均値および標準偏差をエラーバーとして示している。なお、 $Pe = 10, 20, 30$  における最低周波数点の実部については、ばらつきが大きく対数プロット上でエラーバーが表示できなかったため、中央値のみをプロットし、エラーバーは省略した。

まず、アクティビティによらず、高周波数極限において  $G''(\omega) \propto \omega$  のべき則が観測される。この挙動は、溶媒摩擦を直接反映するものではなく、ABP モデルにおける過減衰運動の摩擦項に由来する即時的なエネルギー散逸を表している。同じく高周波数領域では、 $G'(\omega)$  が負の値をとる場合が多く観測された。これは、本数値計算における時間刻みが  $t = 0.1$  と比較的大きく、最高周波数付近では 1 周期あたりのステップ数が十分でなかったことに起因すると考えられる。そのため、該当する高周波数点の実部については、解析から除外した。

次に、ペクレ数が小さい領域 ( $Pe = 0, 1$ ) に注目する。この領域では、低周波数側において  $G'(\omega)$  が周波数にほとんど依存しない明瞭な弾性プラトーを示している。これは、混み合い系がレオロジー的に弾性的な応答を示していることを意味する。一方、 $Pe = 5$  とアクティビティが増大するにつれて、弾性プラトーの値は低下し、弾性的応答が支配的となる周波数領域は低周波側へと移動する。

さらに  $Pe = 10$  では、弾性プラトーは明瞭ではなくなり、中間周波数領域において  $G^*(\omega) \propto \omega^{1/2}$  に従うべき的応答が現れる。すなわち、濃厚遊走大腸菌懸濁液にみられるような、アクティブな混み合い系における  $G^* \propto \omega^{1/2}$  のべき則応答を数値計算でも見ることができた。更にペクレ数が十分大きい領域 ( $Pe \gtrsim 20$ ) では、低周波数領域における弾性プラトーは完全に消失する。この条件下では、低周波においては  $G'(\omega) \propto \omega^2$  および  $G''(\omega) \propto \omega^1$  に近いべき則を示す。これは、マクスウェル緩和と呼ばれる周波数依存性をであり、系が、構造緩和を伴う液体的なレオロジーへと遷移していると解釈できる。(マクスウェル緩和の詳細については、5.2 節に後述)

また、ペクレ数の増加に伴い、Maxwell 緩和に対応する特性周波数は高周波側へと移動している。これは、アクティビティの増大によって緩和時間が短縮されていることを意味しており、アクティビティが系のレオロジー的流動化を定量的に制御していることを示唆している。

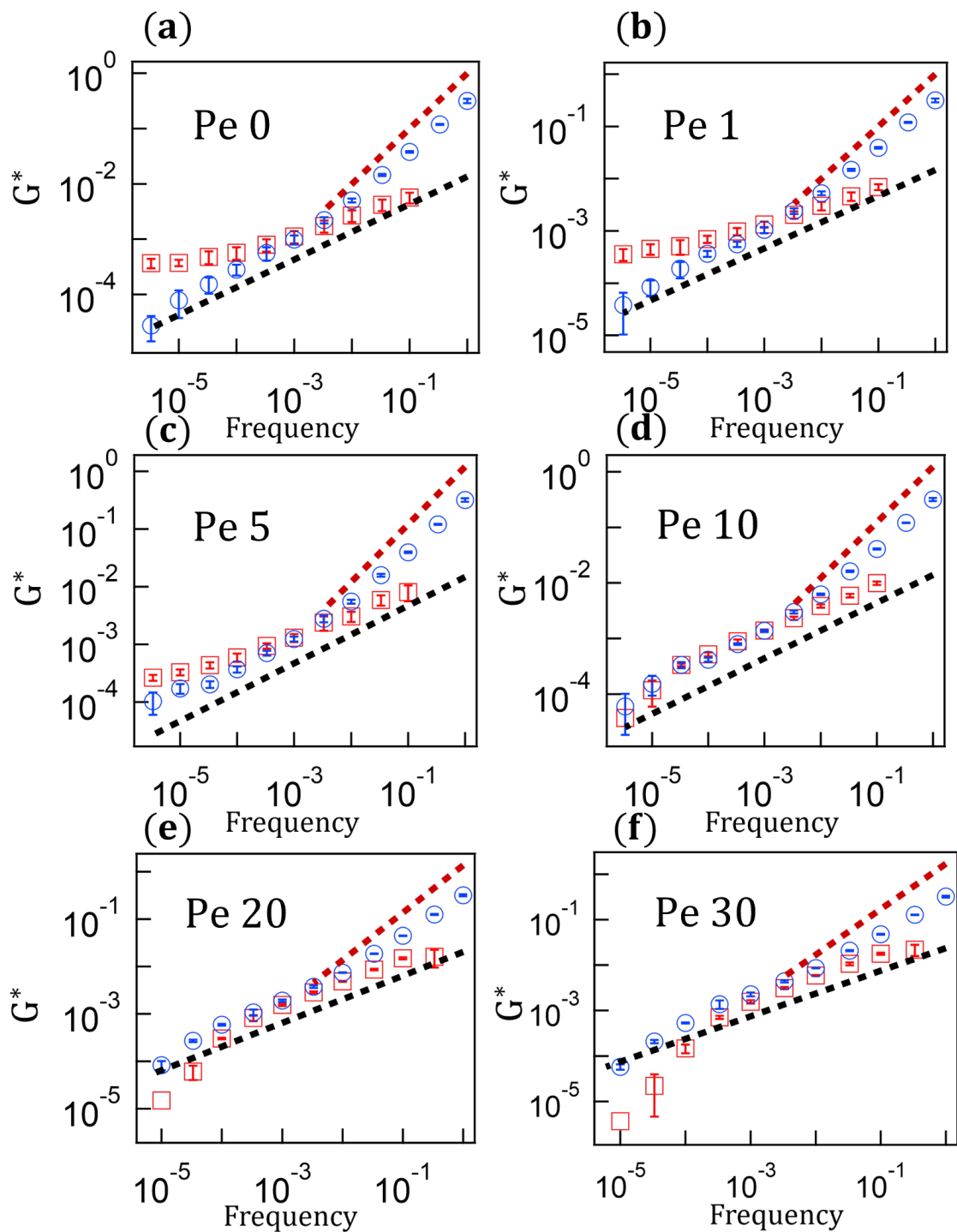


図 4.11 数値計算により求めた複素弾性率の周波数依存性。横軸は加えた外力の周波数，縦軸は複素弾性率を表す。赤色の四角は実部  $G'(\omega)$ ，青色の丸は虚部  $G''(\omega)$  を示している。すべてのデータは  $\tilde{T} = 10^{-4}$ ， $\phi = 0.81$  の条件で得られたものである。黒の点線は周波数の  $1/2$  乗を表し、茶色の点線は周波数の  $1$  乗を表す。

## 5 考察

### 5.1 遊走大腸菌のペクレ数見積もり

4.6～4.7 節において、本シミュレーションでは、ペクレ数

$$Pe = \frac{f\sigma_0}{k_B T} \quad (5.1)$$

を制御しながらそのダイナミクスやレオロジーを見た。これらの結果と実験結果を比較すべく、遊走大腸菌のペクレ数の見積もりを試みた。以下、その見積もり方法について説明する。

本研究で用いた溶媒 (Ficoll, 0.25 g/mL) の粘性は

$$\eta = 0.0103 \text{ Pa} \cdot \text{s} \quad (5.2)$$

である。また顕微鏡観察から、この溶媒中における *E. coli* (RP4979) の代表的な遊泳速度が

$$v \simeq 5 \mu\text{m/s} \quad (5.3)$$

であることを求めた。さらに、大腸菌の短軸長はおおよそ  $1.08 \mu\text{m}$  であることから、球近似として粒子半径を

$$a = 0.54 \mu\text{m} \quad (5.4)$$

と仮定する。

低レイノルズ数条件下では、粒子が速度  $v$  で運動する際に受ける抵抗力はストークス公式

$$f = 6\pi\eta av \quad (5.5)$$

で与えられる。この式を用いることで、観測された定常速度を維持するために必要な、有効な推進力の大きさは

$$f \simeq 5.24 \times 10^{-13} \text{ N} \quad (5.6)$$

と見積もられる。

以上より、RP4979 のペクレ数は、実験時の温度  $T = 30^\circ\text{C}$  を用いると、

$$Pe \sim 67.6 \quad (5.7)$$

と評価される。以上の見積もりから、本研究で扱う実験条件における大腸菌 1 細胞あたりの自己推進強度は、 $Pe \sim O(10^1)$  と評価できる。

### 5.2 非熱揺らぎに関する考察

#### 5.2.1 非熱揺らぎの見積もり

4.2 節では、PMR により試料の全揺らぎを測定し、AMR および Force-clamp MR によって得られた力学応答と比較することで、遊走大腸菌懸濁液における揺動散逸定理 (FDT) の破れを観測した。本節では、この非平衡揺らぎをより定量的に評価するとともに、その物理的解釈について考察する。

図 5.1(a) は、遊走大腸菌懸濁液の複素弾性率を示したものである。グラフ中の実線および点の意味は図 4.3(b),(c) と同様であり、実線は PMR によって得られた揺らぎ成分、点は AMR および Force-clamp MR によって得られた力学応答を表している。

まず速度のパワースペクトル密度 (PSD) に着目すると、低周波領域 (およそ 0.1 Hz 以下) において周波数依存性が失われ、ほぼフラットな振る舞いを示していることが分かる。これは、熱揺らぎに加えて非熱的な揺らぎを含んだ系全体の運動が、この時間スケールにおいて拡散的に振る舞っていることを示唆している。そこで本研究では、この低周波極限における速度揺らぎから、非熱揺らぎを含んだ実効的な拡散係数としてアクティブ拡散係数  $D_A$  を以下のように定義する。

$$2D_A = \lim_{\omega \rightarrow 0} \langle |v(\omega)|^2 \rangle \quad (5.8)$$

このアクティブ拡散係数をアインシュタインの関係式およびストークスの公式に基づいて解釈することで、次式により実効温度  $T_{\text{eff}}$  を導入する。

$$D_A = \frac{k_B T_{\text{eff}}}{\gamma} = \frac{k_B T_{\text{eff}}}{6\pi\eta a} \quad (5.9)$$

ここで  $\gamma$  は摩擦係数であり、式 (5.9) の左辺はアインシュタイン関係式に対応している。摩擦係数  $\gamma$  は易動度  $R$  の逆数であるため、Force-clamp MR によって測定された静的応答  $R(0) = v/F$  を用いることで、 $\gamma = 6\pi\eta a$  と書き換えられる。

このようにして求めた実効温度  $T_{\text{eff}}$  のアクティビティ依存性を図 5.1(b) に示す。アクティビティ 15 の条件でやや高い値を示すものの、構造緩和時間や粘性に見られたような顕著なアクティビティ依存性は、全体としては観測されない。

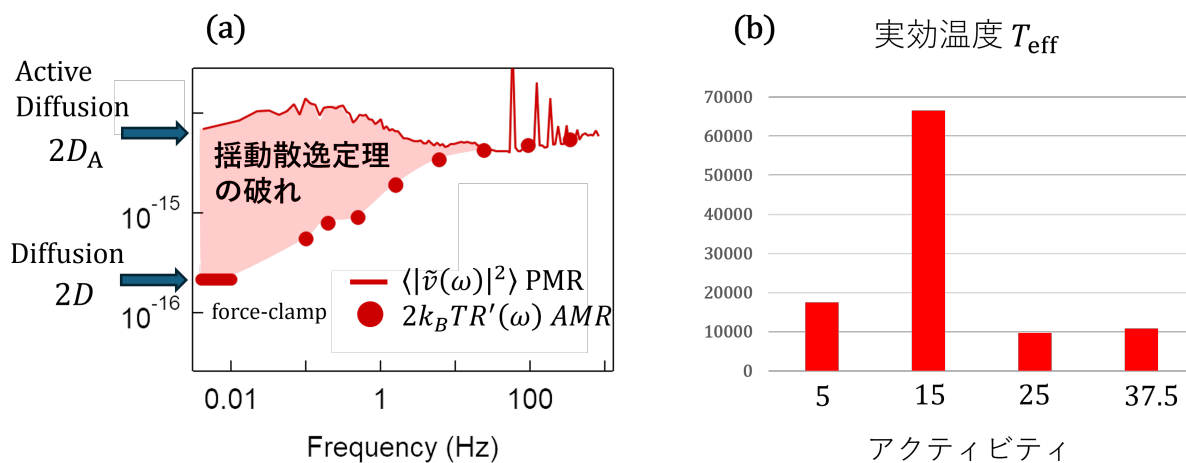


図 5.1 (a) RP4979 における揺らぎおよび力学応答の測定結果。低周波数領域における揺らぎ成分からアクティブ拡散係数を見積もり、その値を用いて実効温度を算出した ([13] より一部改変)。(b) 式 (5.9) に基づいて算出した実効温度のアクティビティ依存性を示す棒グラフ。

この結果を踏まえ、以下のような仮説を立てる。4.3 節および 4.4 節で示したように、ダイナミクスおよびレオロジーの両面から、アクティビティの増加に伴って系全体が流動化していることが確認された。系が流動

化することで、遊走大腸菌が周囲の媒質やプローブ粒子に力を伝搬する効率が低下し、結果としてプローブ粒子を通して観測される揺動散逸定理の破れは、アクティビティに対して強い依存性を示さなかった可能性がある。

この観点から、次節では低周波極限の揺らぎに基づく実効温度評価に加えて、周波数ごとの揺らぎと応答を用いた散逸量の評価、すなわち原田-佐々の関係式に基づく非平衡散逸の定量化を行い、アクティブ揺らぎのエネルギー的側面についてさらに議論する。

### 5.2.2 原田佐々関係式を応用したエネルギー散逸の定量化

前章では、遊走微生物懸濁液中のアクティビティの大きさに関して、観測するプローブ粒子の揺動散逸定理の破れの大きさを議論した。一方で、Active microrheology および Passive microrheology によって求められる揺動散逸定理の破れの大きさは、原田-佐々関係式を用いることで、系からの非平衡散逸と結び付けられることが知られている [45]。以下では、この散逸と遊走微生物懸濁液中の力学環境の関係について議論する。

まず、プローブ粒子の運動が以下のランジュバン方程式に従う場合を考える。

$$\gamma \dot{x}(t) = F(x(t), \sigma(t)) + \xi(t) + \varepsilon f^p(t) \quad (5.10)$$

ここで  $\gamma$  は摩擦係数であり、 $F(x(t), \sigma(t))$  は粒子が受ける力を表す。 $\xi(t)$  は平均 0、分散  $2\gamma k_B T$  を持つ熱雑音であり、 $\varepsilon f^p(t)$  は系の応答を測定するための微小外力である。

このようなモデルにおいて、速度の相関関数および応答関数を計算すると、エネルギー散逸率  $J$  を求めることができ、以下の原田-佐々関係式が成立することが知られている。

$$J = \gamma \int_{-\infty}^{\infty} \left[ \tilde{C}(\omega) - 2k_B T \tilde{R}'(\omega) \right] \frac{d\omega}{2\pi} \quad (5.11)$$

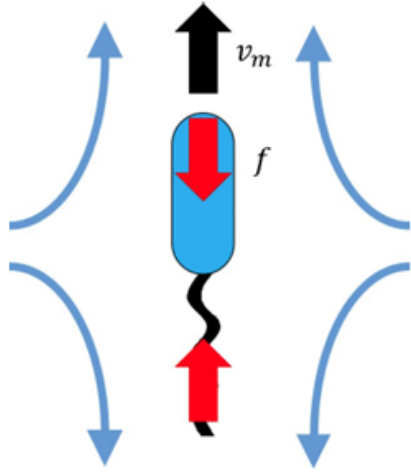
ここで  $\tilde{C}(\omega)$  は速度揺らぎのパワースペクトル密度、 $\tilde{R}'(\omega)$  は速度の応答関数の実部を表す。この式の右辺は、平衡状態では揺動散逸定理により 0 となるが、アクティビティが存在する非平衡系においては有限の値を取り、揺動散逸定理の破れの度合いを表す。

この散逸は、プローブ粒子に直接力が加わったときに、系から周囲媒質へのエネルギー散逸率を意味し、揺動散逸定理の破れと直接的に結び付いている。媒質が単なる水ではなく、高分子溶液やゲル状のような粘弾性的振る舞いを示す場合には、粒子に働く抵抗が媒質の緩和時間に依存し、記憶効果が生じる。すなわち、ランジュバン方程式は相関を持つ熱雑音を含む形へと拡張される。

この場合の原田-佐々関係式は、Deutsch らによって以下のように一般化されている [46]。

$$J = \int_{-\infty}^{\infty} \gamma'(\omega) \left[ \tilde{C}(\omega) - 2k_B T \tilde{R}'(\omega) \right] \frac{d\omega}{2\pi} \quad (5.12)$$

このように、原田-佐々関係式では、プローブ粒子にかかる力と速度の関係からエネルギー散逸率を求めることができる。次に、大腸菌のような力生成体に着目し、エネルギー散逸を考える。遊走微生物のようなマイクロスケールで運動する生体は、粘性に比べて慣性が無視できるほど小さい。つまり遊走微生物が鞭毛による乱す駆動力と、遊走微生物にかかる摩擦抵抗力が釣り合い、合力 0 で周囲の媒質に直接影響せず遊走していると考えられ遊走微生物は力の双極子とみなすことができる (図 5.2)。以降この描像を、力の双極子モデルと呼ぶ。力の双極子モデルに基づく、流体中を遊泳する生体と周囲流体との相互作用を簡潔に表現することが可能となる。図 5.2 の赤い矢印は大腸菌が流体中を力の双極子として泳ぎまわるときの周りの流体との相互作用を表している。



$\kappa \equiv f \cdot d$  : 非平衡揺らぎを生み出す力の双極子  
 $d$  : 力の双極子のサイズ  
 $f$  : 力生成体が生み出すマイクロな非平衡力  
 $v_m$  : ミクロな力生成に伴う速度  
 $\xi$  : ミクロな摩擦関数  
 以下の線形応答関係が満たされているとする。

$$f = \int_{-\infty}^t \xi(t-t')v_m(t')dt'$$

$a$  : プローブ粒子のサイズ  
 $c$  : 力生成体の数密度  
 $x$  : プローブ粒子の変位(揺動散逸定理を破る非熱的な揺らぎ)  
 $\gamma$  : プローブ粒子の摩擦関数

図 5.2 力の双極子モデルの概念図。図は [21] より引用。

ここで、力の双極子として力生成体は懸濁液中に等方かつ均一に分散している状況を考えるとき、参考文献 [47] より、この時のプローブ粒子の変位のパワースペクトルは以下のように書ける。

$$\langle |\tilde{x}(\omega)|^2 \rangle = \frac{c \langle |\tilde{\kappa}(\omega)|^2 \rangle}{90\pi |G(\omega)|^2 a} \quad (5.13)$$

ここで、上式に現れる  $\tilde{\kappa}(\omega)$  について補足する。 $\kappa(t)$  は力生成体の力双極子モーメント (force dipole moment) を表し、大きさ  $f(t)$  の力が距離  $d$  だけ離れた 2 点において反対向きに作用する力配置に対して、

$$\kappa(t) = f(t) d \quad (5.14)$$

と定義される量である。 $\tilde{\kappa}(\omega)$  はそのフーリエ変換であり、 $\langle |\tilde{\kappa}(\omega)|^2 \rangle$  は単一の力生成体による力双極子モーメント揺らぎのパワースペクトルを表す。 $\sim$  はフーリエ変換を表す。1 つの力生成体によるエネルギー散逸率  $J'$  は、 $\langle f \circ v_m \rangle$  と見積もることができ、大腸菌のような力生成体の実態が比較的明瞭な系では、以下の通りに観測量から  $J'$  を見積もることが期待できる。

$$J' = \langle f \circ v_m \rangle = \int \tilde{\xi}' \langle |v_m(\omega)|^2 \rangle \frac{d\omega}{2\pi} = \int \frac{\tilde{\xi}'}{|\tilde{\xi}|^2 d^2} \langle |\tilde{\kappa}(\omega)|^2 \rangle \frac{d\omega}{2\pi} = \int \frac{\tilde{\xi}' 90\pi |G|^2 a \langle |\tilde{x}(\omega)|^2 \rangle}{c |\tilde{\xi}|^2 d^2} \frac{d\omega}{2\pi} \quad (5.15)$$

ここで、摩擦関数に関して、スケール関係  $\gamma : \xi = a : d$  が成立することを仮定し、 $|G|^2 = \frac{\omega^2 |\tilde{\gamma}|^2}{(6\pi a)^2}$ 、 $\langle |\tilde{x}(\omega)|^2 \rangle = \frac{\langle |\tilde{v}(\omega)|^2 \rangle}{\omega^2}$

を用いて以下のように変形できる。

$$J' = \langle f \circ v_m \rangle \sim \frac{5}{2\pi} \int \frac{\tilde{\gamma}''(\omega) |\tilde{v}(\omega)|^2}{cd^3} \frac{d\omega}{2\pi} \sim \int \frac{\tilde{\gamma}''(\omega) |\tilde{v}(\omega)|^2}{cd^3} \frac{d\omega}{2\pi} = \frac{J}{cd^3} \quad (5.16)$$

ここで  $c$  は力生成体の数密度、 $d$  は力双極子のサイズを表す。

## エネルギー散逸率 $J'$ (J/s)

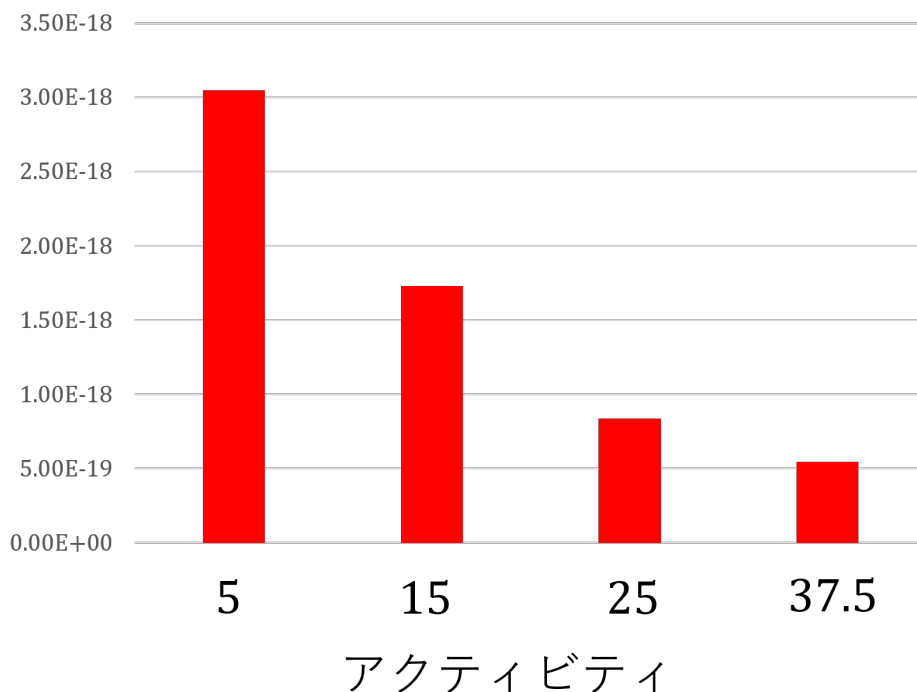


図 5.3 式 (5.18) より算出した、遊走大腸菌一匹当たりのエネルギー散逸率。

すなわち、原田-佐々関係式を用いることで、生体が系に供給するエネルギー散逸率を、プローブ粒子の揺らぎおよび応答の測定から定量的に評価できる。本研究では、4.2 節で得られた実験結果に対してこの関係式を適用し、遊走大腸菌による非平衡散逸の評価を行った。式 (5.16) を用いて算出したエネルギー散逸率  $J'$  を図 5.3 に示す。

ここで、試料内の大腸菌の数密度は、従来、当研究室で用いられてきた光学濃度  $OD_{600}$  から数密度を見積もる手法 [21, 23] により評価した。本研究で扱った試料はいずれも  $\phi/\phi_p \simeq 0.55$  の条件にあり、遊走株と非遊走株を含む大腸菌の総数密度に大きな差は存在しない。本解析において重要なのは、力生成体として機能する遊走大腸菌の数密度  $c$  である。そのため、全大腸菌数密度に対して、試料中の遊走大腸菌の混合比を乗じた値を  $c$  として定義した。

図 5.3 から分かるように、アクティビティの増加に伴い、遊走大腸菌一個体あたりのエネルギー散逸率は単調に低下している。この結果は、遊走大腸菌が系に対して発揮する力がアクティビティに対して一定ではなく、系の流動化が進むにつれて有効的に低下している可能性を示唆している。

なお、原田-佐々関係式は、各力生成体が互いに独立にプローブ粒子へ作用する状況を仮定して導出されている。したがって、混み合いによって力生成体間の相互作用が顕著となる系において、本関係式がどの程度まで適用可能であるかについては、今後さらなる検討の余地があることを付記しておく。

### 5.3 シミュレーションにおける緩和挙動の考察

ABP を用いたアクティブガラスの数値シミュレーションにおいて、図 4.11 の結果から、複素弾性率の周波数に対する振る舞いが求まった。具体的には、高周波の虚部では  $G''(\omega) \propto \omega$ 、中間周波数では  $G^*(\omega) \propto \omega^{1/2}$ 、低周波域において低アクティビティでは弾性プラトー、高アクティビティではマクスウェル緩和的挙動が見られている。

ここで、マクスウェル緩和とは、弾性要素（ばね）と粘性要素（ダッシュポット）を直列に結合したマクスウェルモデルで記述される粘弾性緩和を指す（図 5.4(a)）。このモデルにおいて、ばね弾性率  $G$ 、粘性  $\eta$  のダッシュポットを考えたとき、その複素弾性率は次の式のように書ける。

$$G^*(\omega) = \frac{i\omega\eta G}{G + i\omega\eta} = G \frac{i\omega\tau}{1 + i\omega\tau} \quad (5.17)$$

ここで、 $\tau = \frac{\eta}{G}$  はマクスウェル緩和時間であり、弾性的な応答と粘性的な応答が切り替わる時間スケールに対応する。

このモデルでは、低周波数領域において粘性的応答が支配的となり、 $G'(\omega) \propto \omega^2$ 、 $G''(\omega) \propto \omega$  といった特徴的な周波数依存性を示す。このようなマクスウェルモデルは、単一の緩和時間によって特徴づけられる粘弾性応答を与えることから、多くの場合、系における構造緩和過程を最も単純化した形で表現するモデルとして経験的に用いられている。特に、低周波数領域において弾性的応答が失われ、粘性的流動が支配的となる挙動は、構造の再配置や緩和に起因するレオロジー応答を反映しているものと解釈されることが多い。

これらの結果を考察するために、ジャミング的な粘弾性応答とマクスウェル的な粘弾性応答を独立な寄与の和として仮定し、以下の式によるフィッティングを行った。

$$G^*(\omega) = G_p + K(i\omega)^{1/2} + G_0 \frac{i\omega\tau}{1 + i\omega\tau} + i\omega\eta_s \quad (5.18)$$

ここで、上記の式の右辺第 3 項にある  $\eta_s$  は、高周波領域で支配的となる虚部の応答を表すために導入した有効粘性であり、ABP モデルにおいては、粒子と溶媒との摩擦的相互作用を粗視化した量とみなせる。従って、この  $\eta_s$  と、図 5.4(a) のダッシュポット由来の粘性  $\eta$  を混同しないよう注意が必要である。

図 5.5 は、式 (5.18) を用いて測定された複素弾性率をフィッティングした結果を示している。図 5.5(a), (b), (c) はそれぞれ  $Pe = 0, 10, 20$  に対応する。 $Pe = 0$  の場合 [図 5.5(a)] には、データとフィッティング曲線がよく一致しており、フィッティングは良好である。一方で、 $Pe = 10, 20$  [図 5.5(b), (c)] では、マクスウェル緩和に特徴的な挙動が現れる周波数領域においてフィッティング精度が低下している。これは、上記のフィッティング式を用いた場合、低周波領域の実部において  $G'(\omega)$  への  $\omega^{1/2}$  項の寄与が過度に大きくなり、マクスウェル緩和に由来する応答を十分に表現できないためである。この問題を解決するため、次節ではフィッティングに用いるモデル式の改善を試みた。

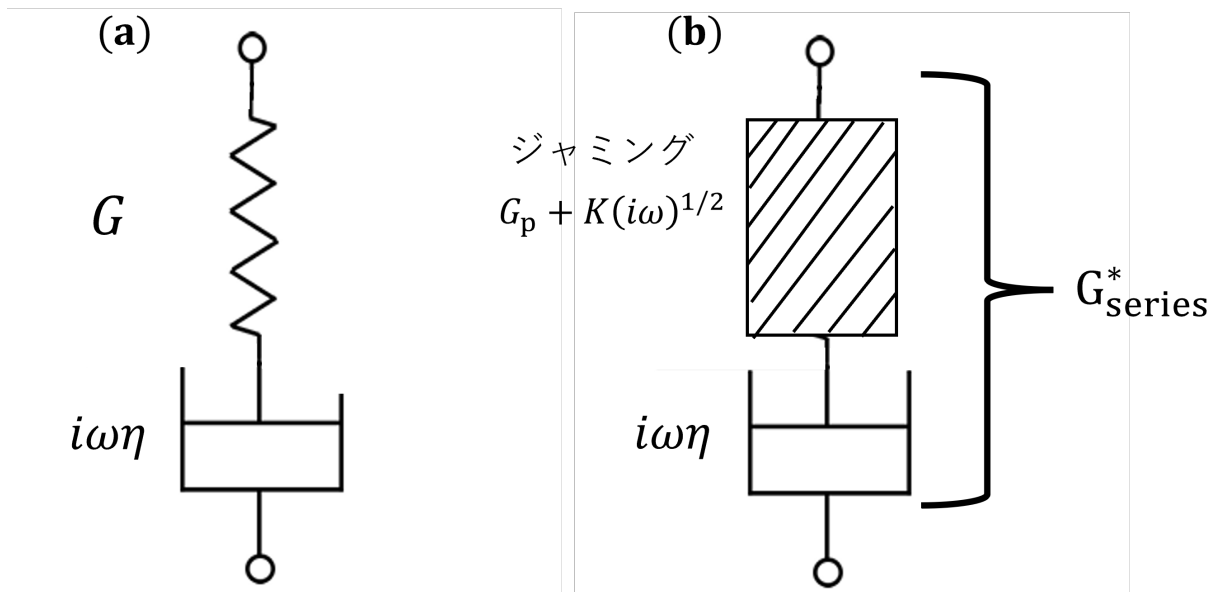


図 5.4 (a) マクスウェル模型のイラスト図。ばね定数  $G$  のばねと、粘性  $\eta$  のダッシュポットが直列につながった形をしている。(b) ジャミング系における粘弾性応答の物体とダッシュポットが直列につながった模型のイラスト図。ジャミング系における粘弾性  $G_p + K(i\omega)^{1/2}$  と粘性  $\eta$  のダッシュポットが直列につながった形をしている。

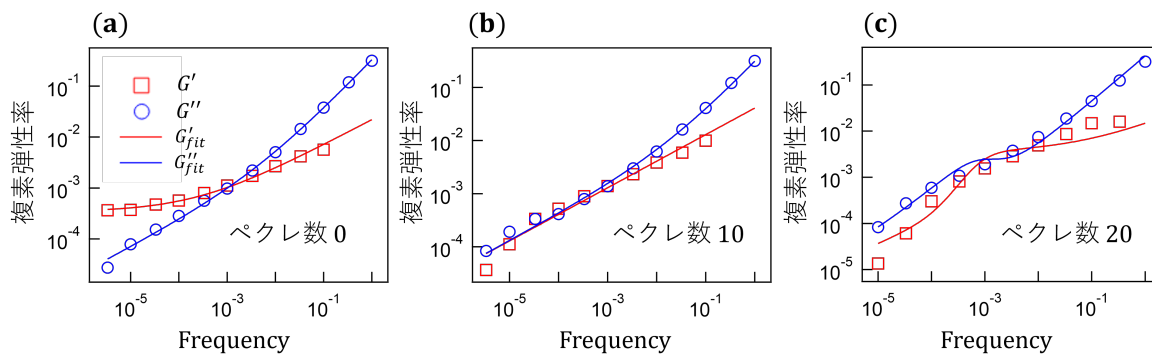


図 5.5 式 (5.18) で複素弾性率をフィッティングを行った結果。赤色の四角が貯蔵弾性率  $G'$ 、青色の丸が損失弾性率  $G''$  を表す。赤色、青色の線はそれぞれ  $G'$ 、 $G''$  のフィッティング結果をプロットしたものである。条件は図 4.11 と同様  $\tilde{T} = 10^{-4}$ 、 $\phi = 0.81$  である。(a)、(b)、(c) はそれぞれペクレ数 0、10、20 である。

次に、ジャミング系においてよく知られる粘弾性である、弾性プラトーと臨界的な周波数依存性を併せ持つ応答

$$G_J^*(\omega) = G_p + K(i\omega)^{1/2} \quad (5.19)$$

を有するジャミング粘弾性要素に対して、流動を担うダッシュポット（粘性係数  $\eta$ ）がマクスウェル模型的に直列に接続されている仮想的なモデルを考える（図 5.4(b)）。

ダッシュポットの複素弾性率は

$$G_D^*(\omega) = i\omega\eta \quad (5.20)$$

で与えられる。

直列接続では応力が共通であり、全ひずみが各要素のひずみの和として与えられるため、全体の複素コンプライアンスは各要素の複素コンプライアンスの和として書ける。

$$\frac{1}{G_{\text{series}}^*(\omega)} = \frac{1}{G_J^*(\omega)} + \frac{1}{G_D^*(\omega)} \quad (5.21)$$

ここで、

$$\tau_1 \equiv \left(\frac{K}{G_p}\right)^2, \quad \tau_2 \equiv \frac{\eta}{G_p} \quad (5.22)$$

と定義すると、ジャミング要素の複素弾性率は

$$G_J^*(\omega) = G_p \left[1 + (i\omega\tau_1)^{1/2}\right] \quad (5.23)$$

と書き換えられる。

これらを用いると、直列接続された部分の複素弾性率は

$$G_{\text{series}}^*(\omega) = \frac{G_p(i\omega\tau_2) \left[1 + (i\omega\tau_1)^{1/2}\right]}{1 + (i\omega\tau_1)^{1/2} + i\omega\tau_2} \quad (5.24)$$

と求まる。

さらに、高周波領域において支配的となる粘性的な応答を、

$$G_s^*(\omega) = i\omega\eta_s \quad (5.25)$$

として並列に加える。並列接続ではひずみが共通であり、応力が加算されるため、最終的な全体の複素弾性率は

$$G^*(\omega) = G_{\text{series}}^*(\omega) + i\omega\eta_s \quad (5.26)$$

と表される。

本研究では、式 (5.26) をフィッティング関数として用い、ジャミングに由来する弾性成分、流動緩和、および高周波粘性の寄与をそれぞれ分離して評価した。

式 (5.28) を用いたフィッティングの結果を図 5.6 に示す。図 5.6(a)~(f) は異なるペクレ数に対応しており、低ペクレ数領域における弾性プラトーから、高ペクレ数領域で顕在化するマクスウェル緩和的挙動に至るまで、測定データを良好に再現できていることが分かる。このことから、式 (5.26) を用いることで、式 (5.18) と比較してフィッティングに用いるパラメータ数を一つ減らし、かつ広いペクレ数範囲にわたる粘弾性応答を記述できることが示された。

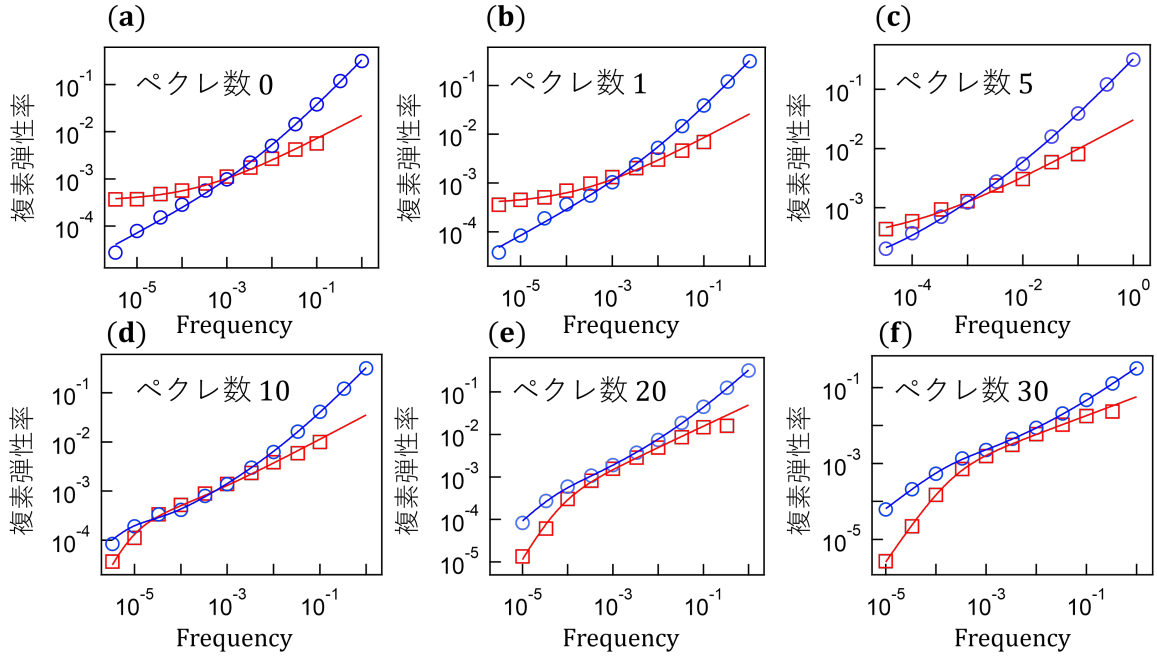


図 5.6 式 (5.17) を用いて複素弾性率をフィッティングした結果。図中の記号および実線の意味，ならびにシミュレーション条件は図 5.5 と同一である。(a)～(f) はそれぞれペクレ数 0, 1, 5, 10, 20, 30 に対応するフィッティング結果を示す。

図 5.7 は，フィッティングによって得られた各パラメータのペクレ数依存性を示している。ここでは， $G_p$ ， $K$ ， $\tau_2$ ，および  $\eta$  に注目する。まず，図 5.7(a) に示す  $K$  は，ペクレ数の増加に伴って単調に増加している。この  $K$  の増加は，アクティビティの増大により，観測周波数範囲において  $\omega^{1/2}$  項に由来する粘弾性応答の寄与が相対的に大きくなっていることを示唆する。実際に，アクティビティの増加に伴って  $G^*(\omega) \propto \omega^{1/2}$  のスペクトルが観測される周波数範囲が拡大していることから，この  $K$  の振る舞いは直観的に理解できる。次に，図 5.7(b) に示す  $G_p$  のペクレ数依存性について述べる。 $0 \leq \text{Pe} \leq 10$  の範囲では， $G_p$  はペクレ数の増加に伴って概ね単調に減少している。これは，アクティビティの増大により，低周波領域における弾性プラトーが低下していることを反映している。一方， $\text{Pe} \geq 20$  の高ペクレ数領域では， $G_p$  は再び増加する傾向を示す。しかしながら，この領域では明瞭な弾性プラトーはもはや観測されておらず， $G_p$  を弾性プラトーの大きさと直接対応づけて解釈することは困難である。

図 5.7(c) は，フィッティングによって得られた緩和時間  $\tau_2$  のペクレ数依存性を示している。 $\text{Pe} = 0, 1$  の低ペクレ数領域では， $\tau_2$  は非常に大きな値を取っている。これは，観測周波数範囲において

$$G^*(\omega) = G_j^*(\omega) + i\omega\eta \quad (5.27)$$

で記述される応答のみが支配的であり，マクスウェル緩和に特徴的な挙動が明瞭には観測されていないためである。その結果，式 (5.17) によるフィッティングでは， $\tau_2$  を十分大きく取ることでのこの挙動を再現していると解釈できる。実際に，式 (5.15) において， $\tau_2 \rightarrow \infty$  極限を取ると，以下ようになる。

$$G_{\text{series}}^*(\omega) = G_p[1 + (i\omega\tau_1)^{1/2}] \quad (5.28)$$

したがって、この領域では  $\tau_2 \gg 1$  であるという事実のみが意味を持ち、 $\tau_2$  の具体的な数値そのものに定量的な物理的意味を与えることは難しい。

一方、 $Pe \geq 5$  の領域では、 $\tau_2$  はペクレ数の増加に伴って単調に減少している。これは、アクティビティの増大により、マクスウェル緩和的な挙動が顕在化し、その特徴的な周波数が高周波側へと移行していることを反映している。さらに、このような緩和時間の短縮は、レオロジーの観点からは、アクティビティによる系の流動化が生じていることを示唆する結果と解釈できる。

図 5.7(d) は、 $\eta_s$  のフィッティング結果を示している。 $\eta_s$  はペクレ数に対して顕著な依存性を示さず、ほぼ一定の値とみなせる。このことは、高周波領域における散逸の応答が、アクティビティの強さにほとんど影響されず、主として溶媒摩擦や粒子-溶媒間の局所的な相互作用によって支配されていることを示唆している。

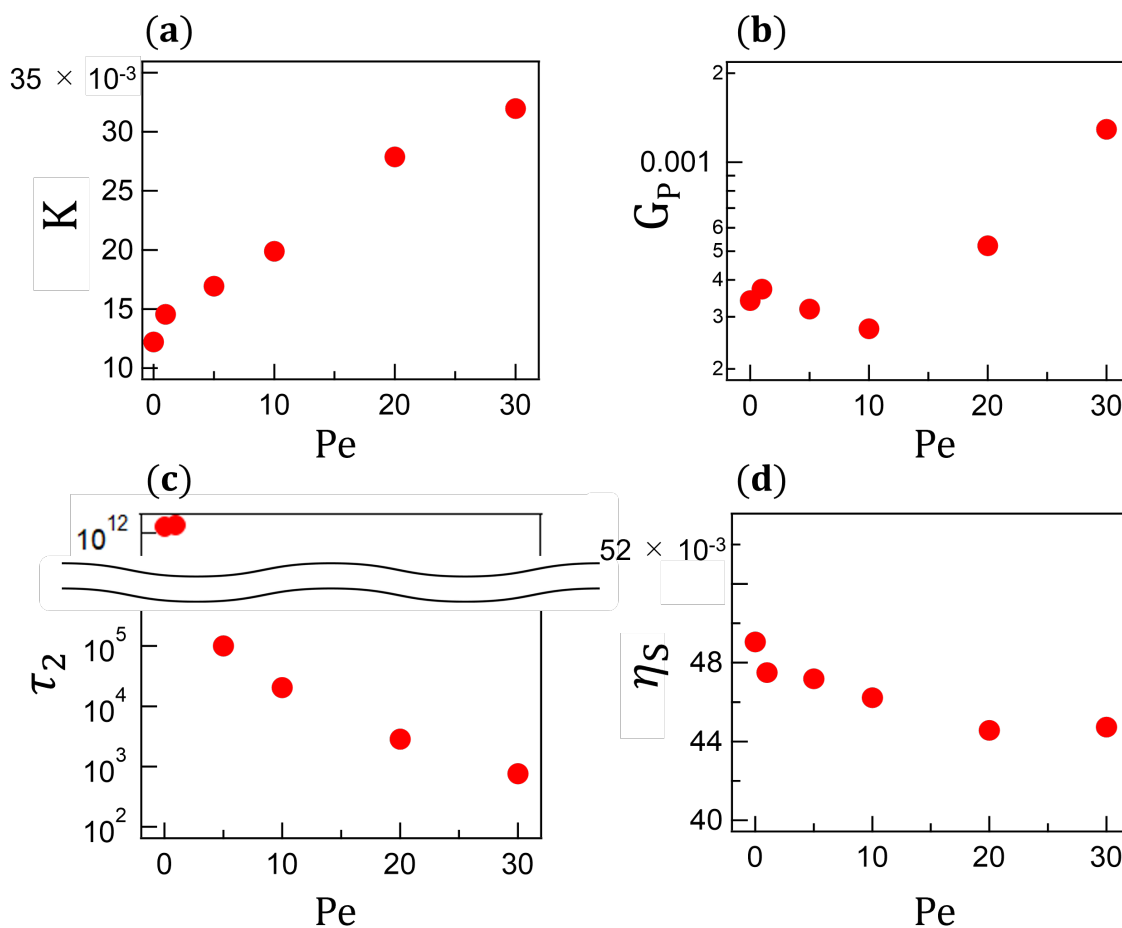


図 5.7 式 (5.26) で複素弾性率をフィッティングした結果。(a)  $K = G_p \sqrt{\tau_1}$  のペクレ数依存性。(b)  $G_p$  のペクレ数依存性。(c)  $\tau_2$  のペクレ数依存性。(d)  $\eta_s$  のペクレ数依存性。

また、複素弾性率から推定される緩和時間と、粒子ダイナミクスに基づく緩和時間を比較するため、同一系

件下で測定した中間散乱関数（図 4.9(a)）に注目した。本研究では，中間散乱関数が初期値の  $1/e$  に減衰するまでの時間を，ダイナミクスにおける緩和時間として定義した。

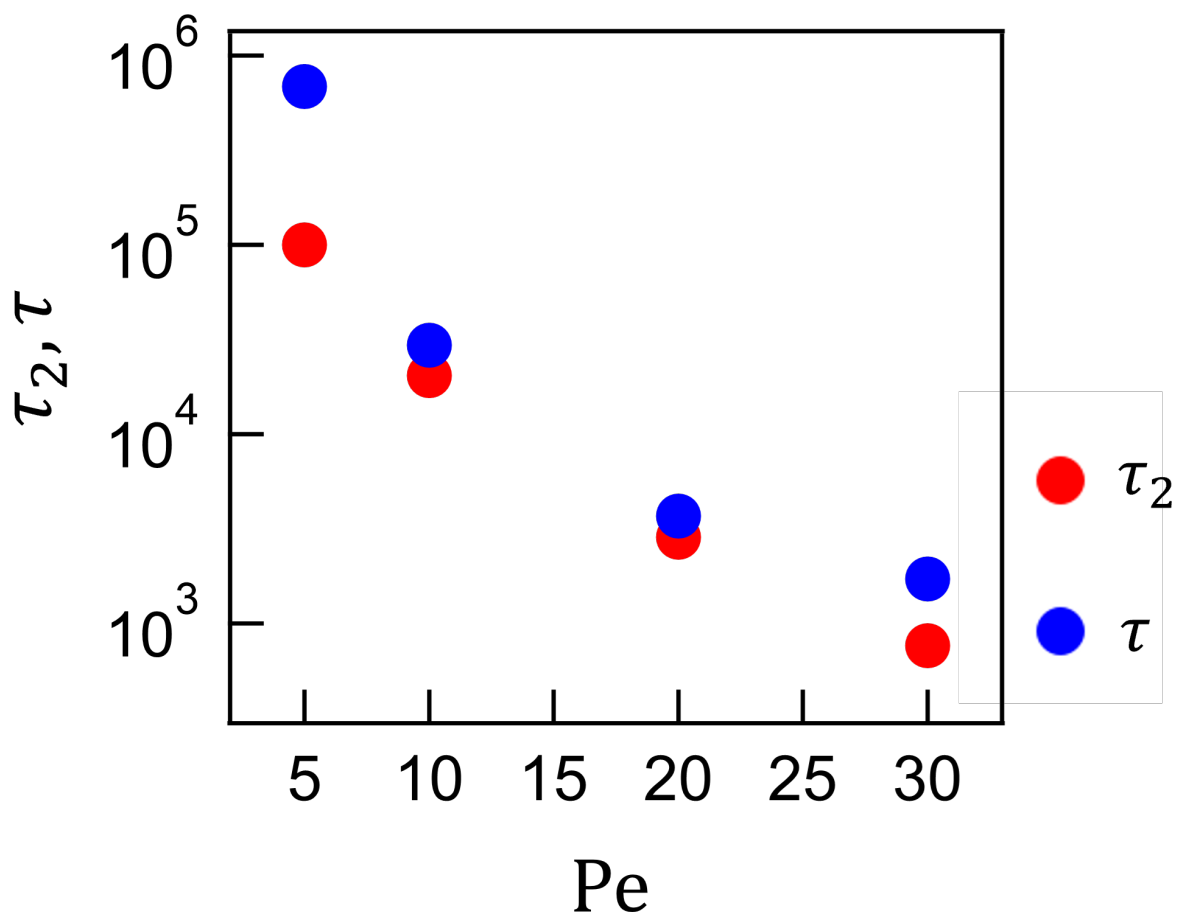


図 5.8 複素弾性率から求めた緩和時間  $\tau_2$  と，中間散乱関数から求めた緩和時間  $\tau$  を比較した結果。赤色の丸は  $\tau_2$ ，青色の丸は  $\tau$  をそれぞれ表す。

図 5.8 は，複素弾性率のフィッティングによって得られた緩和時間  $\tau_2$  と，中間散乱関数から求めたダイナミクスの緩和時間  $\tau$  を比較した結果を示している。Pe = 0, 1 の場合には，測定時間範囲内で中間散乱関数の十分な緩和が観測されていないため， $\tau$  を定義することができない。Pe = 5 では， $\tau_2 < \tau$  となっていることが分かる。一方で，Pe  $\geq$  10 の範囲，すなわち観測周波数内においてマクスウェル緩和的挙動が明瞭に現れている領域では， $\tau$  と  $\tau_2$  は互いに近い値を示している。

ダイナミクスから求めた緩和時間  $\tau$  と，レオロジー測定から得られた  $\tau_2$  を単純に同一視できるかどうかについては議論の余地がある。しかしながら，本研究の結果からは，少なくともマクスウェル緩和が観測周波数

範囲に現れている条件において、 $\tau_2$  が系の構造緩和に関連する時間スケールをある程度反映していることが示唆される。

#### 5.4 実験とシミュレーションの比較

これまで、4.1～4.5 節では実験におけるダイナミクスおよびレオロジーについて、4.6～4.7 節および 5.3 節ではシミュレーションにおけるダイナミクスおよびレオロジーについて議論してきた。本節では、これらの結果を総合的に踏まえた考察を行う。

まず、実験とシミュレーションの結果を同一の指標で比較するため、両者に共通なアクティビティ指標としてペクレ数を用いる。実験に関しては、5.1 節で評価したペクレ数 ( $Pe \sim 60$ ) を基準とする。また、遊走・非遊走大腸菌からなる混合系については、系全体の平均ペクレ数を用いて整理する。例えば、アクティビティが 5% の場合、系の平均ペクレ数は

$$60 \times 0.05 = 3$$

となる。

図 5.9 は、実験において測定された複素弾性率のペクレ数依存性を示している。 $Pe > 0$  の領域では、およそ 6 Hz 以下の周波数領域において

$$G^*(\omega) \propto \omega^{1/2}$$

に特徴づけられる粘弾性応答がロバストに観測されており、マクスウェル緩和に特徴的な挙動は明瞭には現れていない。一方、シミュレーション結果では、 $Pe \geq 10$  の領域において、マクスウェル緩和的な挙動が観測されている。このように、同程度のペクレ数で整理した場合であっても、実験系とシミュレーション系とでは、観測される粘弾性応答の性質に定性的な違いが存在することが分かる。

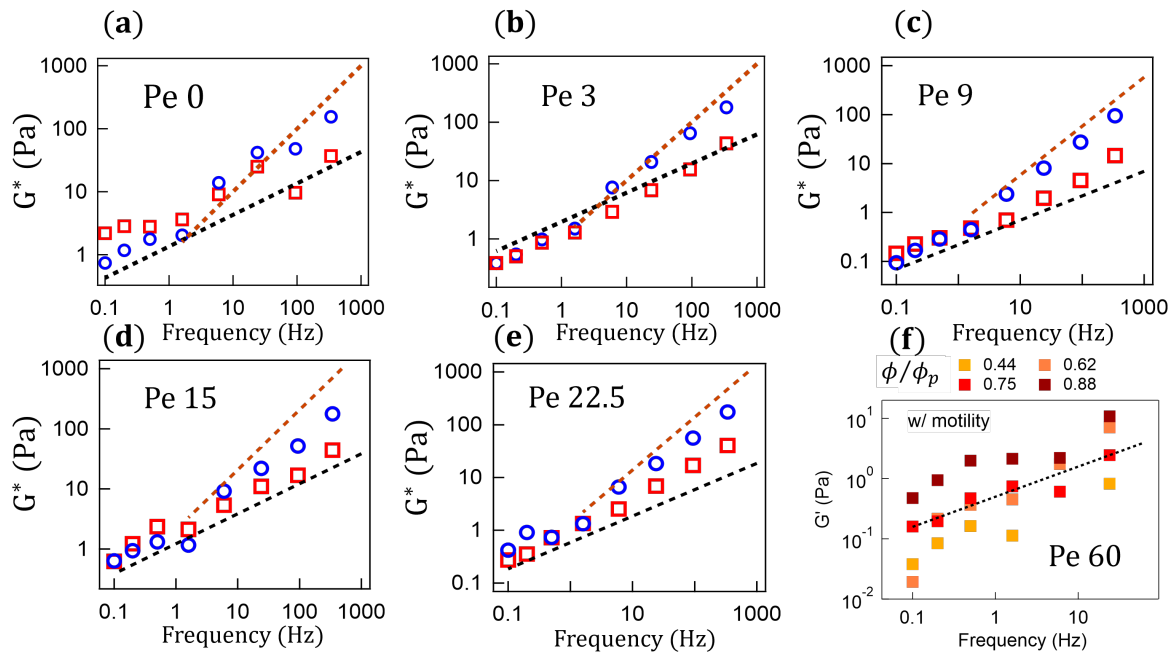


図 5.9 実験により得られた複素弾性率。(a)~(e) において、赤色の四角は貯蔵弾性率  $G'(\omega)$ 、青色の丸は損失弾性率  $G''(\omega)$  をそれぞれ表す。黒色および茶色の点線は、それぞれ  $\omega^{1/2}$  および  $\omega$  に比例するガイドラインである。ペクレ数は、希薄系において見積もられた遊走大腸菌のペクレ数 ( $\sim 60$ ) に、試料中のアクティビティ (%) を乗じることで定義した。(f) は、先行研究により得られた遊走大腸菌の複素弾性率の実部  $G'(\omega)$  を示している ([13])。各色は、図中上部に記載した濃度条件に対応している。黒色の点線は  $\omega^{1/2}$  に比例するガイドラインを表す。

1.4 節でも述べたように、 $\omega^{1/2}$  に特徴づけられる複素弾性率のべき則的応答は、ジャミング転移点近傍において現れる特異な振る舞いであり、固体と液体の境界に対応する臨界的な状態を反映したものと考えられている。このような観点から見ると、シミュレーション系では、限られた条件下においてのみ、広い周波数範囲にわたるべき則応答が実現していることが分かる。

一方で、実験系においては、アクティビティの導入によって比較的広い条件範囲でべき則応答が観測され、さらにアクティビティが増大した後も、その応答がロバストに維持されている。この差異は、ミクロスケールで見た場合に、力生成体が混み合い環境中で発生させる力の性質が、実験系とシミュレーション系とで異なることに起因している可能性がある。

ABP の数値シミュレーションにおいては、粒子の運動は式 (3.14) によって与えられており、各粒子は常にペクレ数に応じた一定の力を常に生成する。一方、現実の大腸菌系では、周囲の環境に依存して、単一の大腸菌が周囲に対して行う仕事量に変化しうることが、5.2 節の結果から示唆されている。すなわち、周囲媒質が「硬い」場合には比較的大きな力を発生させ、一方で媒質が「柔らかい」場合には十分な力を発生させないといった、力生成に関するフィードバック機構が存在する可能性が考えられる。

以上の結果は、現実のアクティブガラス系が、自己組織的に固体-液体境界に対応する臨界的な状態へと近づいている可能性を示唆している (図 5.10)。

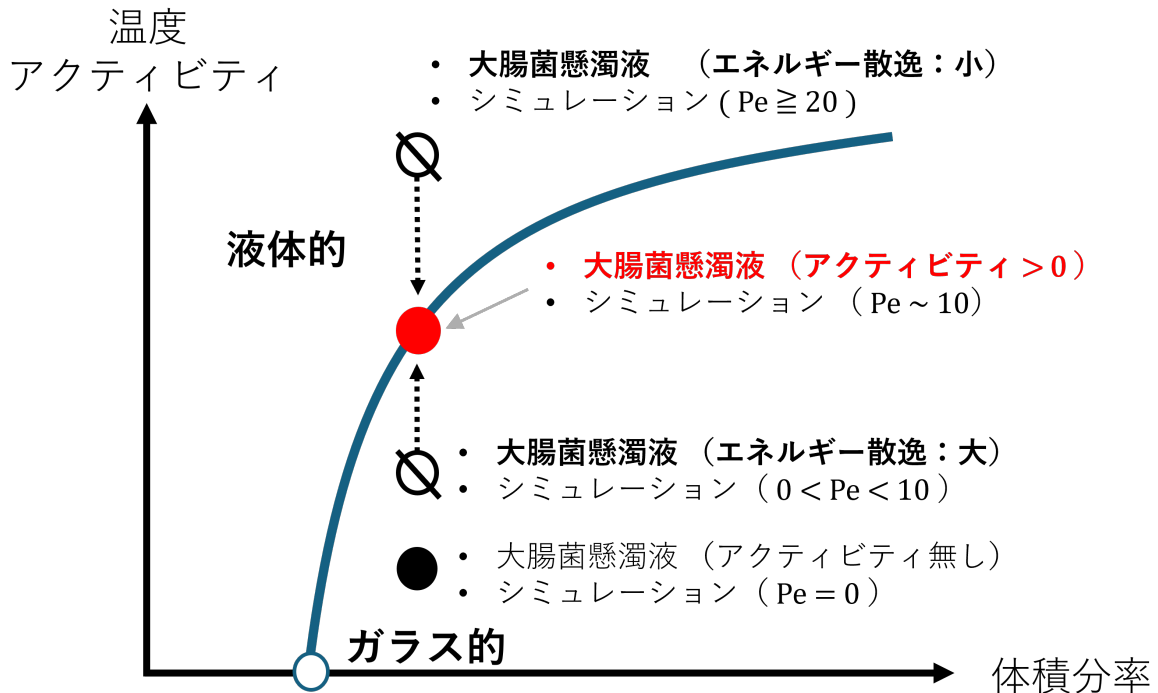


図 5.10 本研究により考察されるアクティブガラスの描像を表す模式図。アクティブ大腸菌懸濁液が、力生成の環境依存性を通じて、自己組織的に固体-液体境界近傍の臨界状態へと引き寄せられる様子を示す。

## 5.5 先行研究との定量的不一致の考察

本実験において Active MR (AMR) により測定された複素弾性率  $G^*(\omega)$  の絶対値は、先行研究 [13] と比較して系統的に高い値を示していた。4.5 節において述べたように、定性的な振る舞いは先行研究と一致しているものの、定量的な一致は得られていない。本節では、この差異が実験試料に用いた大腸菌の過剰培養に起因する可能性について考察する。

大腸菌の菌体長が培養時間に依存しうることについては、2.1.3 節において詳述した。培養時間が短すぎる場合、先行研究と比較して大腸菌の菌体長が長くなり、そのダイナミクスが変化することが知られている (図 2.3)。このため本研究では、少なくとも 6 時間以上培養した試料を用いて実験を行っていた。一方で、長時間培養に関しては十分な制御が行われていなかった。

特に本研究において、先行研究と比較して  $G'(\omega)$  の値が 1 桁程度大きいデータが 2 系列観測された。これらの試料はいずれも光学濃度が  $OD \simeq 0.8$  であり、 $OD \simeq 0.4$  を目安として培養を終了していた先行研究と比較すると、過剰に培養された条件に対応している。

図 5.10 は、先行研究と近い濃度帯における非遊走株 SHU321 の複素弾性率を示したものである。図 5.10(a) は、先行研究における  $\phi/\phi_p = 0.49$  のデータであり、図 5.10(b) は、本研究で測定した 2 系列の SHU321 の結果である。便宜上、これらを試料 A および B として区別する。試料 A は  $OD \simeq 0.4$ 、試料 B は  $OD \simeq 0.8$  の条件で調製されたものである。

これらの結果を比較すると、濃度に多少の差は存在するものの、低周波数領域における弾性率の値は約 1 桁異なっていることが分かる。一方で、溶媒の粘性を反映していると考えられる高周波数領域における虚部  $G''(\omega)$  の値には、大きな差は見られない。このことから、観測されたレオロジーの差異は、溶媒条件ではなく、大腸菌試料そのものの違いに起因するものであると考えるのが自然である。

以上の結果から、試料を過剰に培養したことにより、 $G^*(\omega)$  の絶対値が先行研究よりも大きくなり、定量的な再現性が得られなかった可能性が示唆される。

過剰培養が粘弾性の増大につながった要因については、いくつかの可能性が考えられる。例えば、大腸菌の平均サイズが小さくなったことにより、同じ  $\phi/\phi_p$  においても実効的な充填率が上昇している可能性がある。また、長時間培養により一部の細菌が死滅し、系の性質が変化している可能性も考えられる。しかしながら、現時点では、その詳細な機構を断定するには至っていない。

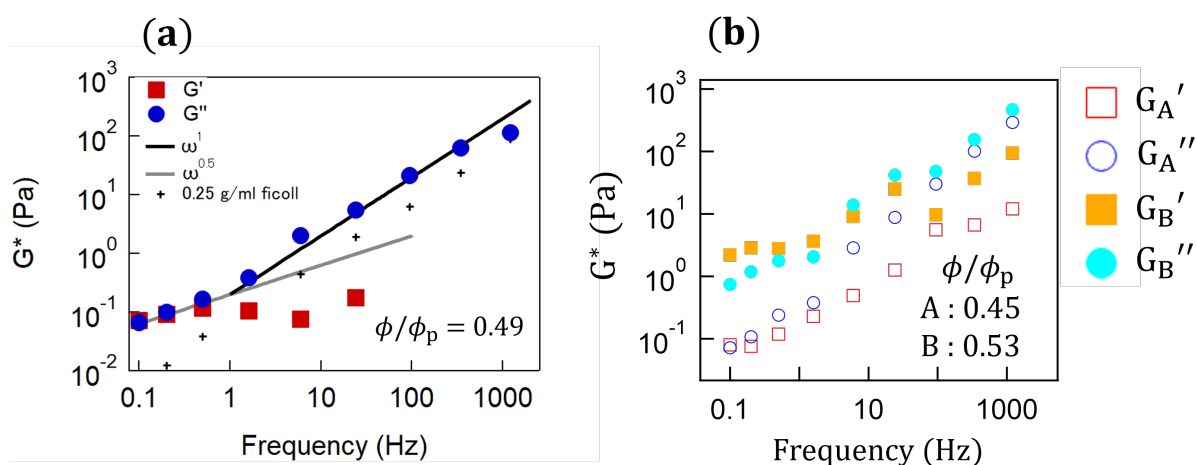


図 5.10 (a) 先行研究における非遊走株 SHU321 の粘弾性測定結果。粒子濃度は  $\phi/\phi_p = 0.49$  である。グラフ中の黒線は周波数の 1 乗に比例するスケールリングを、灰色の線は周波数の  $1/2$  乗に比例するスケールリングを表している。また、黒色の  $\times$  印は、溶媒である Ficoll 溶液 (0.25 g/ml) の粘性から算出した  $G''(\omega)$  を示している。

(b) 本研究において測定された非遊走株 SHU321 の粘弾性測定結果。系列 A の粒子濃度は  $\phi/\phi_p = 0.45$  であり、赤色の四角は貯蔵弾性率  $G'(\omega)$ 、青色の丸は損失弾性率  $G''(\omega)$  を表している。系列 B の粒子濃度は  $\phi/\phi_p = 0.53$  であり、橙色の四角は  $G'(\omega)$ 、水色の丸は  $G''(\omega)$  を表している。

## 6 結論

### 本研究の結論

本研究では、高密度に混み合った自己駆動系であるアクティブガラスを対象とし、アクティビティがダイナミクスおよびレオロジー特性に与える影響を、遊走・非遊走大腸菌の混合系実験と、Active Brownian Particle (ABP) モデルに基づく数値シミュレーションの両面から調べた。特に、複素弾性率に代表されるレオロジー特性に関しては、先行研究においてアクティビティが二値的に扱われる場合が多く、その連続的な依存性は十分に検討されてこなかった。そこで本研究では、アクティビティを連続的に制御することにより、複素弾性率のアクティビティ依存性を系統的に明らかにすることを目的とした。

まず実験において、交換チャンバーを用いることで高密度条件下においても長時間にわたりアクティブ状態を維持し、マイクロレオロジー (PMR / AMR / Force-clamp MR) により揺らぎと応答を測定した。その結果、遊走菌割合がわずか 5% の条件においても、10 Hz 以下の低周波数域で揺動散逸定理の破れが観測され、遊走大腸菌が系を非平衡に駆動していることが確認された。さらに、顕微鏡画像から算出した中間散乱関数の解析より、アクティビティ (系における遊走菌の混合比) の増加に伴って構造緩和時間が短縮し、四点相関感受率  $\chi_4$  のピーク値が低下することが示された。これらの結果はアクティブガラスの流動化挙動と整合的であり、本研究で作成した大腸菌混合系がアクティブガラスとしての性質を有することを示唆している。また、Force-clamp MR による粘性評価においても、アクティビティの増加に伴い粘性が単調に減少し、レオロジーの観点からも流動化が生じていることが確認された。

次に、Active MR により複素弾性率  $G^*(\omega)$  を評価した結果、アクティビティがゼロの非遊走系では低周波数域に弾性プラトーが観測された一方、アクティビティ  $i > 0$  の条件では、低周波数域を含む広い周波数範囲にわたり  $G^*(\omega) \propto \omega^{1/2}$  に特徴づけられるべき則的レオロジー応答がロバストに現れることが明らかになった。本研究の実験条件においては、アクティビティがどれだけ増大してもマクスウェル緩和に特徴的な明瞭な流動応答は観測されず、系は固体・液体のいずれにも単純には分類できない中間的な粘弾性応答にとどまることが示された。

一方、ABP シミュレーションにおいても、ダイナミクスに関しては、アクティビティの指標であるペクレ数  $Pe$  の増加に伴って緩和時間が短縮し、 $\chi_4$  のピーク値が低下するという点で、実験と定性的に一致する流動化挙動が得られた。レオロジーに関しては、低ペクレ数のシミュレーションでは弾性プラトーが観測され、 $Pe \sim 10$  付近において中間周波数領域に  $\omega^{1/2}$  の応答が現れた。しかし、高ペクレ数 ( $Pe \gtrsim 20$ ) では弾性プラトーが消失し、低周波数域において  $G'(\omega) \propto \omega^2$ 、 $G''(\omega) \propto \omega$  に近い周波数依存性を示すマクスウェル緩和が顕在化した。さらに、緩和の特性周波数はペクレ数の増加とともに高周波側へ移動し、ABP 系においては、アクティビティがレオロジー的流動化 (すなわち緩和時間の短縮) を定量的に制御していることが示された。

以上を踏まえ、本研究の主要な結論は以下の三点にまとめられる。

1. 遊走・非遊走大腸菌の混合系において、低いアクティビティであっても揺動散逸定理の破れが生じ、アクティブガラスが非平衡に駆動されていることが確認された。また、アクティビティの増加に伴い、緩和時間および動的不均一性が単調に低下し、粘性も減少することから、ダイナミクスおよびレオロジーの両面において流動化が進行することが示された。
2. 一方で、レオロジーの周波数依存性は単純な液体の応答へと移行するわけではなく、実験においては  $Pe > 0$  の広い条件範囲にわたり、 $G^*(\omega) \propto \omega^{1/2}$  のべき則的応答がロバストに維持され、マクスウェル

ル緩和は明瞭には現れなかった。すなわち、実在するアクティブガラスは、固体-液体境界近傍に特徴的な臨界的粘弾性応答を広いアクティビティ範囲にわたって示す。

3. ABP シミュレーションでは、 $G^*(\omega) \propto \omega^{1/2}$  のべき的応答が中間周波数域に現れつつも、高ペクレ数ではマクスウェル緩和が顕在化して液体的応答へ移行した。この実験との定性的差異は、ABP では粒子が常にペクレ数に応じた一定の力を生成するのに対し、実験系では力生成体（遊走大腸菌）が周囲の力学環境に依存して発揮する力・仕事量に変化しうることに起因する可能性がある。実際、本研究では原田-佐々関係式の枠組みに基づき、プローブ粒子の揺らぎと応答から遊走大腸菌一匹あたりの散逸率を評価し、アクティビティ増加に伴って一匹あたりのエネルギー散逸率が低下する傾向を得た。これは、系が流動化するにつれて力の伝達が弱まり、力生成が環境依存的に変調される可能性を示唆する。

以上より、本研究は、アクティブガラスにおける  $\omega^{1/2}$  に特徴づけられるべき則的レオロジーが、単なる「流動化の途中段階」ではなく、現実系においては広い条件でロバストに維持され得ることを示した。さらに、実験と ABP モデルの比較を通じて、力生成の環境依存性が存在する場合、系が自ら固体-液体境界近傍の臨界状態へ引き寄せられるという描像を提示した。この結果は、アクティブガラスにおける臨界的粘弾性の物理機構を理解する上で、力生成体と混み合い媒質の相互作用という観点が重要であることを示すものである。

## 将来の展望

本研究で行った実験においては、AMR 測定の最低周波数は 0.1 Hz に限られていた。一方、構造緩和時間 (4.3 節) は  $10^{-1} \sim 10^1$  s 程度であった。したがって、本系のダイナミクスおよびレオロジー特性を定量的に比較・評価するためには、レオロジー測定において少なくとも  $10^{-2}$  Hz 程度までの低周波領域における AMR 測定が必要である。さらに、系の粘弾性が本質的に固体-液体間の臨界的状態にあるか否かを検証する上でも、より低周波数での AMR 測定は重要である。以上より、今後の課題として、低周波領域へ測定範囲を拡張した AMR 計測の実現を第一に挙げる。

次に、培養時間を統一した条件下での計測が重要な課題として挙げられる。培養時間によって系のダイナミクスやレオロジー特性が変化し得ることは、2.1.3 節および 5.5 節で述べた。本研究においては、培養条件が先行研究と必ずしも一致しておらず、そのことがアクティビティ依存性を調査する上での系統的なばらつき要因となっていた可能性は否定できない。今後、同様の実験あるいは本研究を発展させた研究を行う際には、研究目的に応じて培養時間を厳密に制御することが不可欠であることを強調しておく。

## 7 付録

### 7.1 大腸菌に添加する Ficoll 量の計算方法

資料を作成する際、大腸菌懸濁液内の Ficoll 濃度を  $0.25\text{g/ml}$  にするには、ペレット内の水分により Ficoll が希釈されることも考慮する必要がある。本研究では、目標とする体積分率に応じて、遊走培地の初期濃度を決定し、測定されたペレットの質量から Ficoll 入り遊走培地の添加量を決定している。以下、その計算方法について述べる。最初に、必要となる物理量、パラメータを、表 7.1 に記す。

表 7.1 計算で用いる物理量及びパラメータ一覧

記号	意味	備考・単位
$\phi_e^V$	試料中の大腸菌体積分率	—
$\phi_s^V$	試料中の溶媒体積分率	—
$\phi_{ep}^V$	ペレット中の大腸菌体積分率	—
$\phi_{sp}^V$	ペレット中の溶媒体積分率	—
$\phi_e^m$	試料中の大腸菌重量分率	—
$\phi_s^m$	試料中の溶媒重量分率	—
$\phi_{ep}^m$	ペレット中の大腸菌重量分率	—
$\phi_{sp}^m$	ペレット中の溶媒重量分率	—
$c_{\text{final}}$	Ficoll または BSA の最終濃度	g/ml
$c$	Ficoll または BSA の初期濃度	g/ml な
$m_p$	ペレット重量	g
$l$	Ficoll または BSA を溶かした遊走培地の体積	ml

大腸菌の比重を 1.1 と仮定して、以下計算を行う。はじめに、目標とする体積分率に応じた Ficoll の初期濃度  $c$  を求める方法を解説する。試料の大腸菌体積分率  $\phi_e^V$  は、試料における大腸菌体積が  $\phi_{ep}^m m_p / 1.1$  で表されることから、

$$\phi_e^V = \frac{\phi_{ep}^m m_p / 1.1}{\phi_{ep}^m m_p / 1.1 + \phi_{sp}^m m_p + l} \quad (7.1)$$

となる。

なお、ペレット中の溶媒の比重（TB 培地比重）を 1 としているため、ペレット中の溶媒体積は  $\phi_{sp}^m m_p$  と書ける。ここで Ficoll または BSA の最終濃度  $c_{\text{final}}$  は、Ficoll 重量を試料の溶媒体積で割ることで

$$c_{\text{final}} = \frac{cl}{\phi_{sp}^m m_p + l} \quad (7.2)$$

と表される。この式を  $m_p$  について解くと

$$m_p = \frac{cl/c_{\text{final}} - l}{\phi_{sp}^m} \quad (7.3)$$

である。これを先の式に代入すると、試料の大腸菌体積分率は

$$\phi_e^V = \frac{\phi_{ep}^m}{\phi_{ep}^m + 1.1 \phi_{sp}^m \left(1 + \frac{c_{\text{final}}}{c - c_{\text{final}}}\right)} \quad (7.4)$$

となる。この記述では、Ficoll 初期濃度  $c$  以外は既知のパラメータであるため、実験前に目標とする体積分率に向けた初期濃度  $c$  を計算によって決定できる。

次に、ペレット重量  $m_p$  の計測後に、Ficoll または BSA を溶かした遊走培地の添加量  $l$  を算出する方法について述べる。上の式を  $l$  について解くと、

$$l = \frac{c_{\text{final}} \phi_{sp}^m m_p}{c - c_{\text{final}}} \quad (7.5)$$

と書ける。この関係式を用いて、遊走培地の添加量  $l$  を決定する。

## 7.2 自己拡散と共同拡散

先行研究 [13] では、自己拡散および共同拡散が評価されている。自己拡散とは、懸濁液中の **単一粒子の運動** に着目した拡散過程であり、他の粒子の存在を平均化した有効的な背景の中で、一つの粒子がどのようにランダムに移動するかを記述する量である。通常、平均二乗変位やトレーサー粒子の運動から定義され、希薄系においては粒子間相互作用の影響が小さいため、自己拡散係数は系の基本的な輸送係数として解釈できる。

一方、共同拡散とは、**粒子密度の空間的ゆらぎ** の緩和として定義される拡散過程であり、多数の粒子が協調的に運動することによって生じる集団的ダイナミクスを反映する。顕微鏡観察や散乱実験から得られる中間散乱関数の緩和時間は、特定の波数における密度ゆらぎの減衰速度を表しており、共同拡散の指標として広く用いられている。

希薄懸濁液においては、自己拡散と共同拡散は等価となるが、濃厚系や非平衡な活性系においては、粒子間相互作用や集団運動の影響により、両者は一般に異なることが知られている [48]。

図 7.1(a) は、希薄系における SHU321 試料の自己拡散係数および共同拡散係数を示したものである。この図から分かるように、希薄系では自己拡散と共同拡散は良く一致している。

一方で、先行研究において特に注目すべき結果が図 7.1(b) に示されている。図 7.1(b) は、高濃度状態における遊走系の自己拡散および共同拡散を示したものである。このうち、 $\phi/\phi_p = 0.75$  のデータに着目すると、高密度な遊走系においても、自己拡散と共同拡散がほぼ一致していることが分かる。すなわち、高密度条件下におけるアクティブな揺らぎが拡散的に振る舞っていることを示唆している。このような自己拡散と共同拡散の一致は、先行研究以前にはほとんど報告されておらず、興味深い結果である。

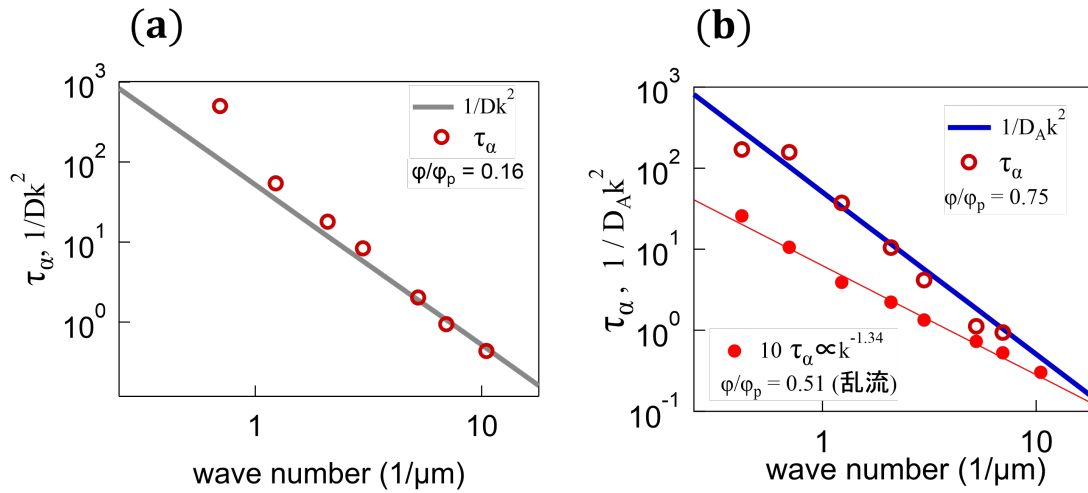


図 7.1 (a) 希薄系 SHU321 における自己拡散および共同拡散を示したグラフ ([13] より一部改変)。密度は  $\phi/\phi_p = 0.16$  である。赤丸は横軸に対応する波数における緩和時間を示し、実線は  $1/(Dk^2)$  を表している。ここで拡散定数  $D$  は、Force-clamp MR によって求められた値である。

(b) RP4979 における自己拡散および共同拡散を示したグラフ ([13] より一部改変)。濃度は  $\phi/\phi_p = 0.51$  および  $0.75$  である。中空の赤丸は  $\phi/\phi_p = 0.75$  における緩和時間を示し、青線は PMR により求めたアクティブ拡散係数  $D_A$  を用いた  $1/(D_A k^2)$  のプロットである。塗りつぶしの赤丸は  $\phi/\phi_p = 0.51$  における緩和時間を 10 倍した値を示している。また、赤線は  $k^{-1.34}$  に比例するべき則を表している。

以下に、本研究で得られた画像解析データの結果を示す。図 7.2(a) は、SHU321 試料における共同拡散および自己拡散を示したものである。この図から分かるように、自己拡散と共同拡散は一致しておらず、この結果は理論的予測および過去の実験結果と整合的である [13, 48]。

一方、系にアクティビティを付与した場合に、自己拡散と共同拡散が一致する例を図 7.2(b) に示す。この一致が生じる詳細なメカニズムについては現時点では明らかではないが、高密度な非平衡系においては、自己拡散と共同拡散が一致する挙動が普遍的に現れる可能性が示唆される。

さらに、図 7.2(c) はアクティビティ 25% の条件における結果を示したものである。この場合、緩和時間の波数依存性が  $k^{-1}$  に近いべき則を示しており、系全体が一方向にドリフトしていることを反映していると考えられる。ただし、このドリフトの起源が乱流的な流動によるものなのか、あるいは試料のリークに起因するものなのかについては、現時点では特定できていない。

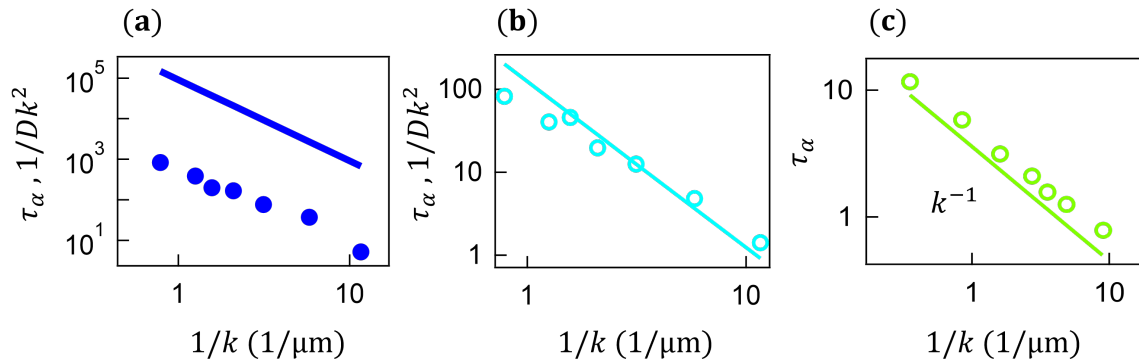


図 7.2 (a) 濃厚系における SHU321 の自己拡散および共同拡散を示したグラフ。点線は各波数における緩和時間を表し、実線は拡散定数  $D$  を用いた  $1/(Dk^2)$  のプロットである。

(b) アクティビティ 15% における自己拡散および共同拡散を示したグラフ。データ系列の意味は (a) と同様である。

(c) アクティビティ 25% における自己拡散および共同拡散を示したグラフ。点は緩和時間を表し、実線は  $k^{-1}$  に比例するべき則を示している。

### 7.3 数値計算により求めた複素弾性率（補足データ）

本文中では、複素弾性率の結果として、 $\tilde{T} = 10^{-4}$ ,  $\phi = 0.81$  の条件におけるデータのみを示した。本節では、これ以外の条件において得られた複素弾性率のフィッティング結果を示す。具体的には、 $\tilde{T} = 10^{-4}$ ,  $\phi = 0.83$ ,  $\tilde{T} = 10^{-5}$ ,  $\phi = 0.81$ , および  $\tilde{T} = 10^{-5}$ ,  $\phi = 0.83$  の各条件について結果を掲載する。

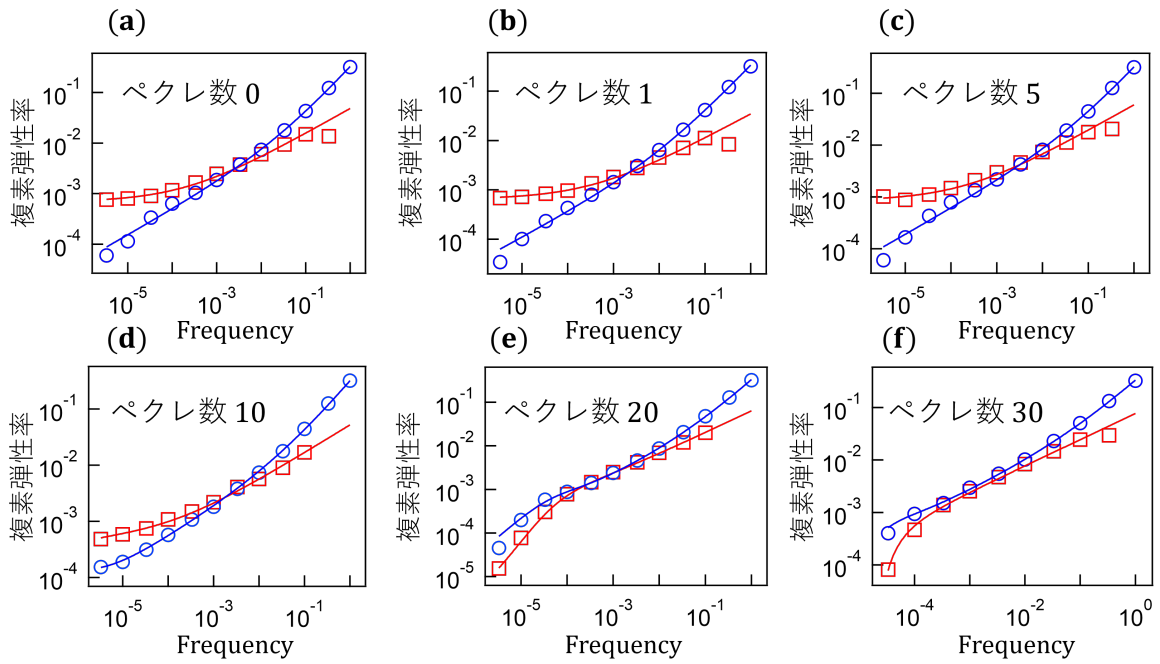


図 7.3  $\tilde{T} = 10^{-4}, \phi = 0.83$  におけるフィッティング結果。

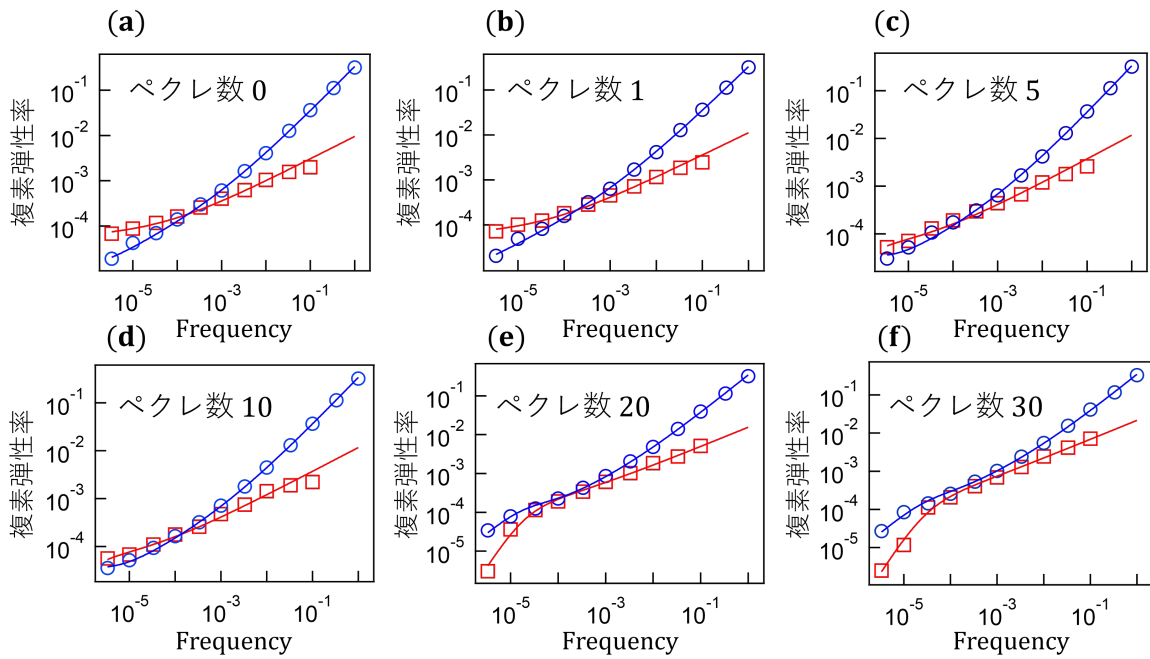


図 7.4  $\tilde{T} = 10^{-5}, \phi = 0.81$  におけるフィッティング結果。

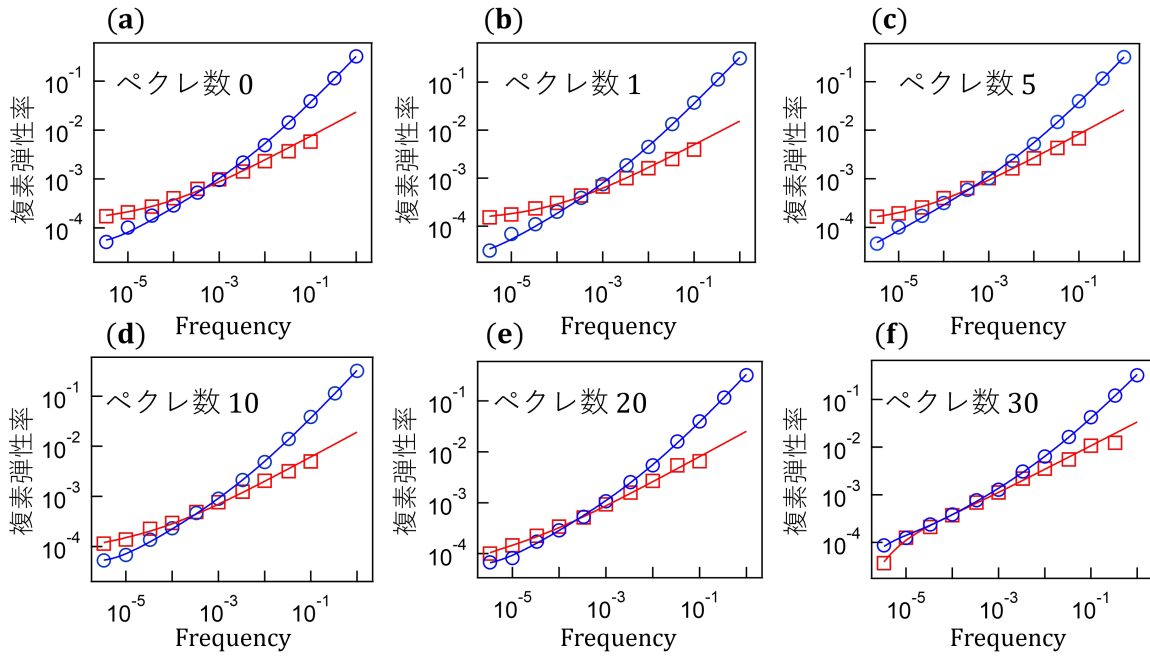


図 7.5  $\tilde{T} = 10^{-5}, \phi = 0.83$

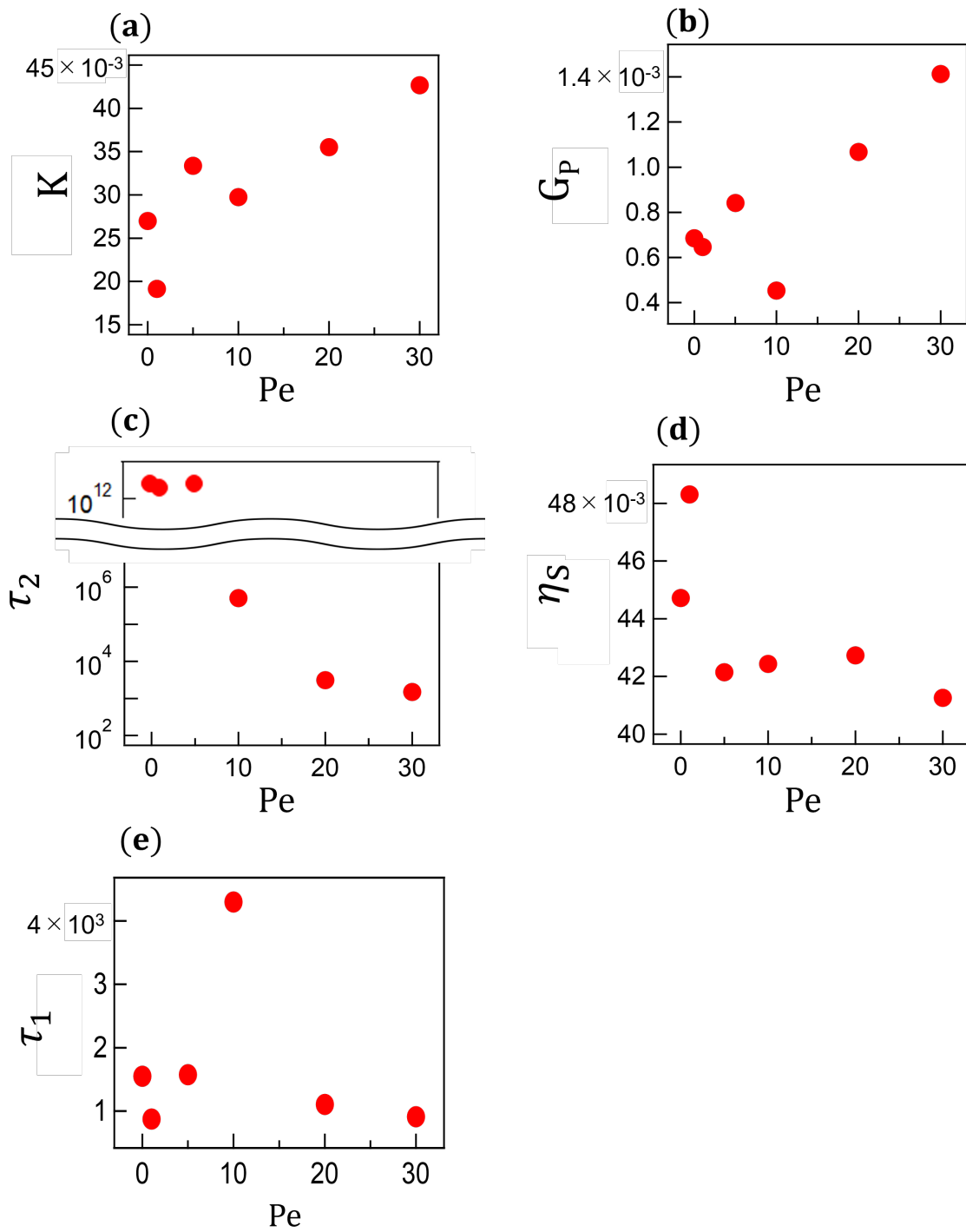


図 7.6  $\tilde{T} = 10^{-4}$ ,  $\phi = 0.83$  におけるフィッティングパラメーター。

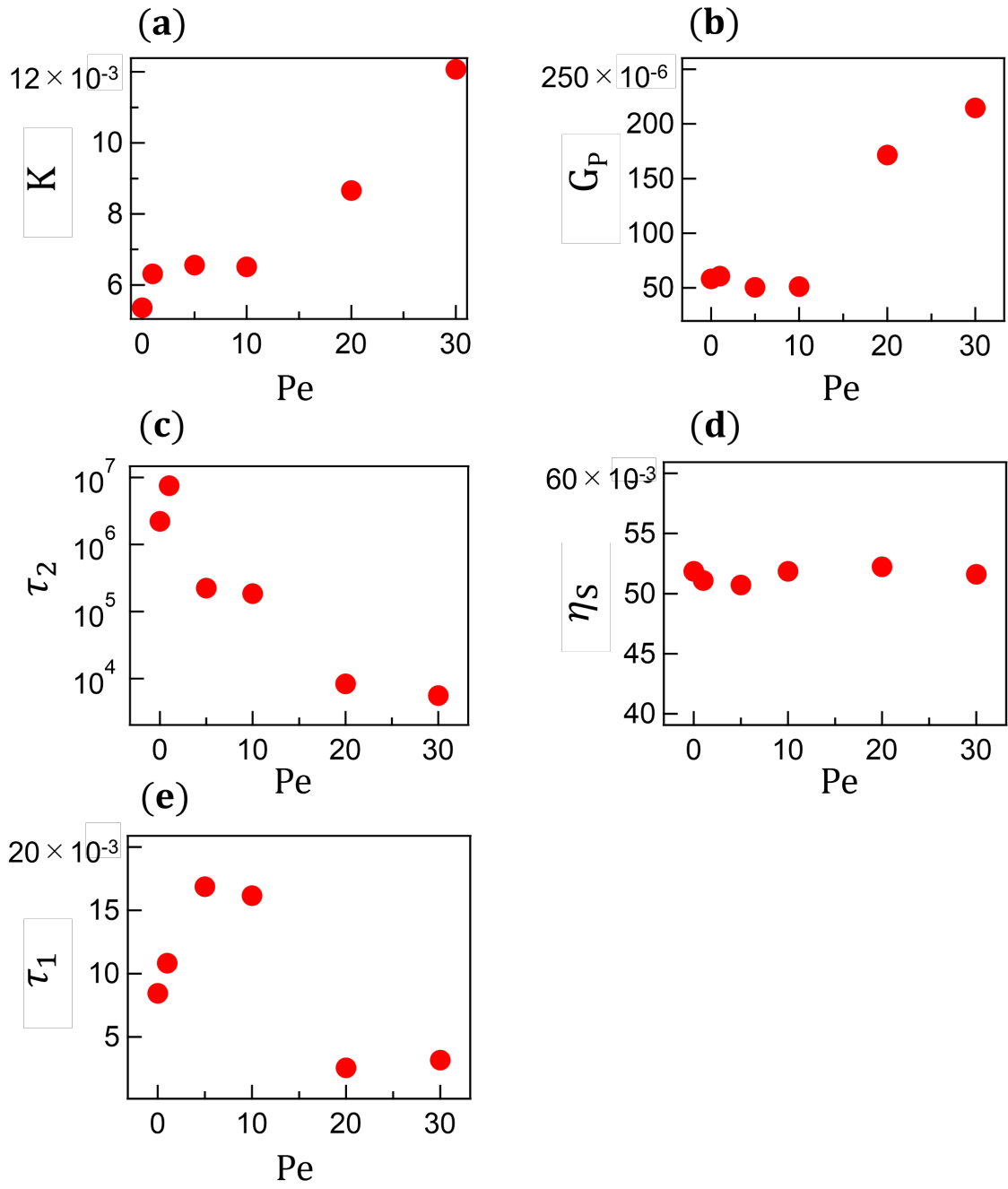


図 7.7  $\tilde{T} = 10^{-5}$ ,  $\phi = 0.81$  におけるフィッティングパラメーター。

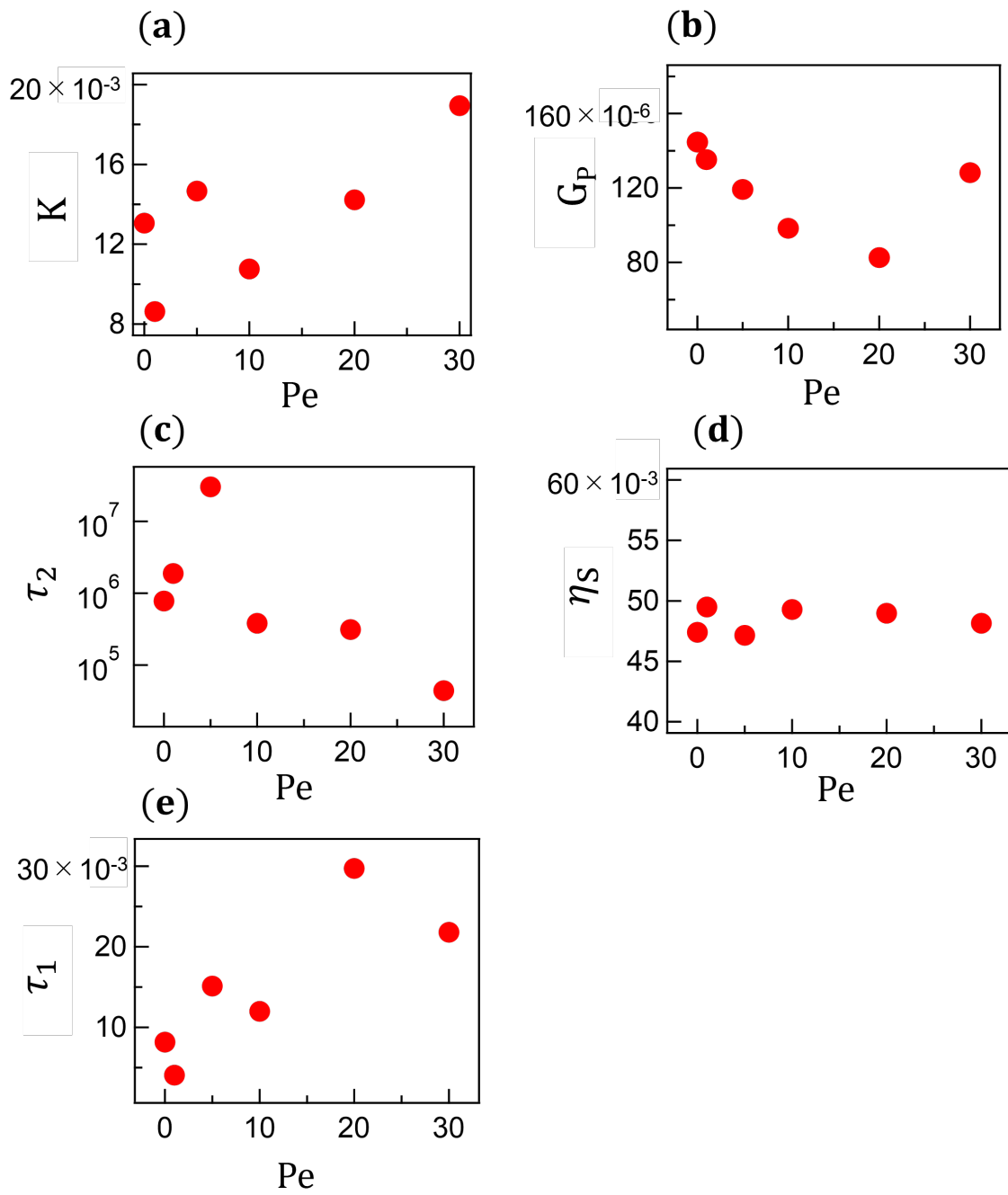


図 7.8  $\tilde{T} = 10^{-5}$ ,  $\phi = 0.83$  におけるフィッティングパラメーター。

## 参考文献

- [1] 宮崎州正. 〈講義ノート〉 ガラス転移の統計物理. 2015.
- [2] M van Hecke. Jamming of soft particles: geometry, mechanics, scaling and isostaticity. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 22:033101, 2010.
- [3] Gary L Hunter and Eric R Weeks. The physics of the colloidal glass transition. *Reports on Progress in Physics*, 75(6):066501, may 2012.
- [4] Ludovic Berthier and Giulio Biroli. Theoretical perspective on the glass transition and amorphous materials. *Reviews of Modern Physics*, 83(2):587–645, 2011.
- [5] Michael Tennebaum, Zhongyang Liu, David Hu, and Alberto Fernandez-Nieves. Activity-driven changes in the mechanical properties of fire ant aggregation. *Physical Review E*, 15:54–59, 2017.
- [6] Liesbeth M. C. Janssen. Active glasses. *Nature Reviews Physics*, 1:425–439, 2019.
- [7] Rituparno Mandal, Pranab Jyoti Bhuyan, Pinaki Chaudhuri, Chandan Dasgupta, and Madan Rao. Extreme active matter at high densities. *Nature communications*, 11:2581, 2020.
- [8] P. Romanczuk, M. Bär, W. Ebeling, B. Lindner, and L. Schimansky-Geier. Active brownian particles: From individual to collective stochastic dynamics. *The European Physical Journal Special Topics*, 202(1):1–162, March 2012.
- [9] Hisayama Lama, Masahiro J Yamamoto, Yujiro Furuta, Takuro Shimaya, and Kazumasa A Takeuchi. Emergence of bacterial glass. *Proceedings of the National Academy of Sciences Nexus*, 3:238, 2024.
- [10] Martin Maliet, Nicolas Fix-Boulier, Ludovic Berthier, and Maxime Deforet. Bacterial glass transition. *arXiv preprint*, 2025. arXiv:2504.04205.
- [11] Natsuda Klongvessa, Félix Ginot, Christophe Ybert, Cécile Cottin-Bizonne, and Mathieu Leocmach. Active glass: Ergodicity breaking dramatically affects response to self-propulsion. *Physical Review Letters*, 123(24):248004, 2019.
- [12] Hans M. Wyss, Kunimasa Miyazaki, Johan Mattsson, Zhibing Hu, David R. Reichman, and David A. Weitz. Mechanics of fire ant aggregation. *Nature materials*, 96:052601, 2017.
- [13] Yujiro Sugino, Hiroyuki Ebata, Yoshiyuki Sowa, Atsushi Ikeda, and Daisuke Mizuno. Non-equilibrium fluidization of dense active suspension. *arXiv preprint*, 2024. arXiv:2401.15658.
- [14] Brian P Tighe. Relaxations and rheology near jamming. *Physical Review Letters*, 107:158303, 2011.
- [15] Yusuke Hara, Ryosuke Matsuoka, Hiroyuki Ebata, Daisuke Mizuno, and Atsushi Ikeda. A link between anomalous viscous loss and the boson peak in soft jammed solids. *nature physics*, 21:262–268, 2025.
- [16] Matthieu Wyart. Geometric origin of excess low-frequency vibrational modes in amorphous solids. *Europhysics Letters*, 72(3):486–492, 2005.
- [17] Roland Wiese, Klaus Kroy, and Demian Levis. Fluid-glass-jamming rheology of soft active brownian particles. *Physical Review Letters*, 131:178302, 2023.
- [18] Birgit E. Scharf, Karen A. Fahrner, Linda Turner, and Howard C. Berg. Control of direction of flagellar rotation in bacterial chemotaxis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(1):201–206, 1998.
- [19] Kirill A. Datsenko and Barry L. Wanner. One-step inactivation of chromosomal genes in escherichia

- coli k-12 using pcr products. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(12):6640–6645, 2000.
- [20] Masayoshi Nishiyama and Yoshiyuki Sowa. Microscopic analysis of bacterial motility at high pressure. *Biophysical Journal*, 102:1872–1880, 2012.
- [21] 福本 昂平. 混み合い遊走微生物懸濁液のアクティブレオロジー. 修士論文, 九州大学大学院 理学府 物理学専攻, 2020.
- [22] Brian Mohlenhoff, Melissa Romeo, Max Diem, and Bayden R. Wood. Mie-type scattering and non-beer-lambert absorption behavior of human cells in infrared microspectroscopy. *Biophysical Journal*, 88(5):3635–3640, 2005.
- [23] 諸留 寛太. 遊走微生物が生み出す流体揺らぎの統計分布. 修士論文, 九州大学大学院 理学府 物理学専攻, 2017.
- [24] Charles E. Helmstetter. Rate of dna synthesis during the division cycle of escherichia coli b/r. *Journal of Molecular Biology*, 31(3):507–518, 1968.
- [25] D. T. N. Chen, A. W. C. Lau, L. A. Hough, M. F. Islam, M. Goulian, T. C. Lubensky, and A. G. Yodh. Fluctuations and rheology in active bacterial suspensions. *Physical Review Letters*, 99(14):148302, 2007.
- [26] M. T. Valentine, Z. E. Perlman, M. L. Gardel, J. H. Shin, P. Matsudaira, T. J. Mitchison, and D. A. Weitz. Colloid surface chemistry critically affects multiple particle tracking measurements of biomaterials. *Biophysical Journal*, 86(6):4004–4014, 2004.
- [27] Roberto Cerbino and Veronique Trappe. Differential dynamic microscopy: Probing wave vector dependent dynamics with a microscope. *Phys. Rev. Lett.*, 100(18):188102, 2008.
- [28] 金 鋼 and 齊藤 真司. ガラス転移の動的不均一性とその時間スケール：多時間相関関数による解析. *アンサンプル*, 12(4):16–21, 2010.
- [29] F. C. MacKintosh and C. F. Schmidt. Microrheology. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 4(4):300–307, 1999.
- [30] Pietro Cicuta and Athene M. Donald. Microrheology: a review of the method and applications. *Soft Matter*, 3:1449–1455, 2007.
- [31] B. Schnurr, F. Gittes, F. C. MacKintosh, and C. F. Schmidt. Determining microscopic viscoelasticity in flexible and semiflexible polymer networks from thermal fluctuations. *Macromolecules*, 30(25):7781–7792, 1997.
- [32] Thomas G. Mason, Kavita Ganesan, J. Harry van Zanten, Denis Wirtz, and Scott C. Kuo. Particle tracking microrheology of complex fluids. *Physical Review Letters*, 79(17):3282–3285, 1997.
- [33] Frederick Gittes and Christoph F. Schmidt. Interference model for back-focal-plane displacement detection in optical tweezers. *Optics Letters*, 23(1):7–9, 1998.
- [34] John C. Crocker, Megan T. Valentine, Eric R. Weeks, Thomas Gisler, Peter D. Kaplan, Arjun G. Yodh, and David A. Weitz. Two-point microrheology of inhomogeneous soft materials. *Physical Review Letters*, 85(4):888–891, 2000.
- [35] Thomas G. Mason and David A. Weitz. Optical measurements of frequency-dependent linear viscoelastic moduli of complex fluids. *Physical Review Letters*, 74(7):1250–1253, 1995.
- [36] Daisuke Mizuno, Catherine Tardin, C. F. Schmidt, and F. C. MacKintosh. Nonequilibrium mechan-

- ics of active cytoskeletal networks. *Science*, 315:370–373, 2007.
- [37] Yujiro Sugino, Masahiro Ikenaga, and Daisuke Mizuno. Optimization of optical trapping and laser interferometry in biological cells. *Sciences*, 2(3):91–103, 2020.
- [38] Kenji Nishizawa, Marcel Bremerich, Heev Ayade, Christoph F. Schmidt, Takayuki Ariga, and Daisuke Mizuno. Feedback-tracking microrheology in living cells. *Science Advances*, 3(9):e1700318, 2017.
- [39] Hiroyuki Ebata, Kohei Nishizawa, F. A. S. van Esterik, Y. Tao, S. Inokuchi, H. Ise, and Daisuke Mizuno. Single power-law rheology of crowded cytoplasm in living cells. *arXiv preprint*, 2025. arXiv:2504.18922 [physics.bio-ph].
- [40] Norihiro Oyama, Takeshi Kawasaki, Hideyuki Mizuno, and Atsushi Ikeda. Glassy dynamics of a model of bacterial cytoplasm with metabolic activities. *Physical Review Research*, 1:032038, 2019.
- [41] Steve Plimpton. Fast parallel algorithms for short-range molecular dynamics. *Journal of Computational Physics*, 117(1):1–19, 1995.
- [42] Henricus H. Wensink, Jörn Dunkel, Sebastian Heidenreich, Knut Drescher, Raymond E. Goldstein, Hartmut Löwen, and Julia M. Yeomans. Meso-scale turbulence in living fluids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(36):14308–14313, 2012.
- [43] Jörn Dunkel, Sebastian Heidenreich, Knut Drescher, Henricus H. Wensink, Markus Bär, and Raymond E. Goldstein. Fluid dynamics of bacterial turbulence. *Physical Review Letters*, 110(22):228102, 2013.
- [44] Shuo Guo, Devranjan Samanta, Yi Peng, Xinliang Xu, and Xiang Cheng. Symmetric shear banding and swarming vortices in bacterial superfluids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(28):7212–7217, 2018.
- [45] Takahiro Harada and Shin-ichi Sasa. Equality connecting energy dissipation with a violation of the fluctuation-response relation. *Physical Review Letters*, 95(13):130602, 2005.
- [46] J. M. Deutsch and Onuttom Narayan. Energy dissipation and fluctuation response for particles in fluids. *Physical Review E*, 74(2):026112, 2006.
- [47] D. A. Head and D. Mizuno. Nonlocal fluctuation correlations in active gels. *Physical Review E*, 81(4):041910, 2010.
- [48] C. W. J. Beenakker. The effective viscosity of a concentrated suspension of spheres (and its relation to diffusion). *Physica A*, 128(1):48–81, 1984.

## 謝辞

本研究の遂行ならびに修士論文の執筆にあたり、多くの方々に多大なるご協力を賜りましたことを、ここに深く感謝申し上げます。指導教員である水野大介教授には、私が大学院に入学してからの2年間にわたり、懇切丁寧なご指導を賜り、心より感謝申し上げます。研究の方向性について悩んでいた際には何度も相談に乗っていただき、そのたびに道筋を示していただきました。実験技法に関する指導に加え、プレゼンテーションの構成や発表方法、修士論文の文章添削に至るまで、多岐にわたるご助言をいただきましたことに、深く感謝いたします。江端宏之准教授には、研究内容に関して非常に有益なご助言を数多くいただきました。特に、レーザー技術やシミュレーション実装に関する質問に対して、常に分かりやすく丁寧にご説明いただき、大変勉強になりました。大阪大学へご異動後も、定期的なミーティングの機会を設けていただき、シミュレーション研究に関する助言を賜りましたことに、心より感謝申し上げます。曾和義幸教授には、本研究で使用した大腸菌試料をご提供いただき、誠にありがとうございました。RP4979 および SHU321 は、アクティブマターおよびガラス物理の研究において非常に有用なモデル生物であり、このように興味深い研究に取り組むことができたのも、曾和先生のご協力のおかげです。産総研の大山倫弘さんには、本研究で用いたシミュレーションコードをご提供いただきました。ここに深く感謝申し上げます。栗栖実助教には、3か月間という短い期間ではありましたが、プレゼンテーションスライドや修士論文に関して多くの貴重な助言をいただきました。ここに感謝申し上げます。趙松川さんには、半年ほどという短い期間ではありましたが、発表構成に関する助言など、多くの面で助けていただきました。ありがとうございました。杉野裕次郎さんには、お忙しい中、大腸菌の培養方法や試料作製に関する助言を賜り、心より感謝申し上げます。また、この2年間、水野研究室で楽しく研究活動を行うことができたのは、先輩方、同期、後輩の皆様のおかげです。中でも、濱田さんには、大腸菌を扱う先輩として研究を共に進めていただき、多くの助言とご協力を賜りました。濱田さんの支えがあったからこそ、修士論文を完成させることができました。ここに深く感謝いたします。