

A03 プローブ顕微鏡による細胞間力学的相互作用の時空間揺らぎの研究

北海道大学大学院情報科学研究科 岡嶋孝治

北海道大学大学院情報科学研究科 末岡和久

はじめに

細胞に働く力学的相互作用は、細胞システムの構造・機能の安定性に決定的な役割をする。多数の細胞からなる細胞システムに内在する時空間揺らぎを実験的に抽出するためには、個々の細胞の揺らぎを精密に計測し、その物性を理解することがまず必要である。単一細胞の複素弾性率において、その貯蔵弾性率およびその揺らぎ(偏差)の定量化は可能である[1]。そこで、本研究では、異なる細胞サンプルにおいて見られる揺らぎの計測精度を調べた[2]。

実験方法

原子間力顕微鏡 (AFM) を用いて単一細胞 (マウス胎児線維芽細胞、NIH3T3 細胞) の貯蔵弾性率 G' を測定した。個々の細胞はマイクロアレイに配列し、細胞の形状と接着位置を制御し、細胞内の測定位置決めを行った。マイクロアレイの中心 (center) とそこから数 μm 離れた位置 (off-center) で測定を行った。

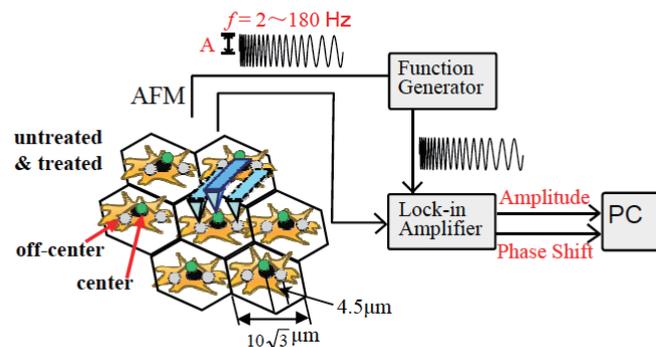


図1 AFMによるマイクロアレイ上に播種した細胞の複素粘弾性測定方法。周波数モジュレーションにより、個々の細胞の貯蔵弾性率の周波数特性を計測した。マイクロアレイの中心 (center) と中心から $4.5\mu\text{m}$ 離れた距離 (off-center) で測定を行った。

実験結果

マイクロアレイ上に播種した細胞の測定結果の1例を図2に示す。貯蔵弾性率の細胞数分布は、測定位置、周波数によらずに対数正規分布をとった (図2a)。また、アクチン骨格脱重合により弾性率は減少するが、対数正規分布は維持された。また、揺らぎ(標準偏差)はアクチン脱重合により減少した (図2a)。幾何平均の周波数特性は、単一べき関数で表された (図2b)。これらの結果は、普遍的に見られる現象である[1]。

複数の細胞サンプルで測定した、揺らぎを図3aと3bに示す。細胞サンプルごとに、揺らぎは大きく変化し、同じ細胞種であっても大きく変化することが分かった。一方で、周波数 ($\log f$) に対して揺らぎが単調に減少する性質は常に見られた。空間依存性は常に中心位置において揺らぎが大きいことなり (図3c)、図2bで見られた細胞骨格構造に依存しない弾性率と周波数である、赤線と青線の交点は、細胞サンプルにより大きく変化するが、測定位置に対しては不変であることが分かった (図3d-g)。そして、揺らぎの周波数依存成分を抽出

することにより [1]、サンプルに依存せずに揺らぎの位置依存性を定量化できることが分かった

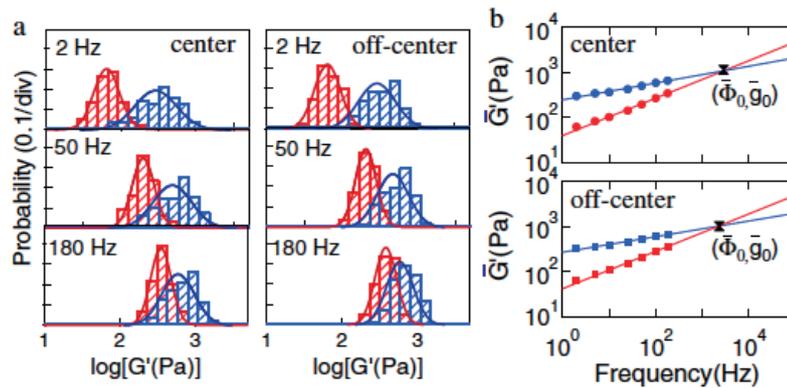


図2 (a) 貯蔵弾性率の細胞数分布。(b) 貯蔵弾性率の幾何平均の周波数依存性。

た (図3 h-i)。

まとめ

以上のように、細胞の貯蔵弾性率の揺らぎ(標準偏差)はサンプルごとに大きくばらつくが、その周波数依存成分の周波数特性は普遍性を有することが分かった。

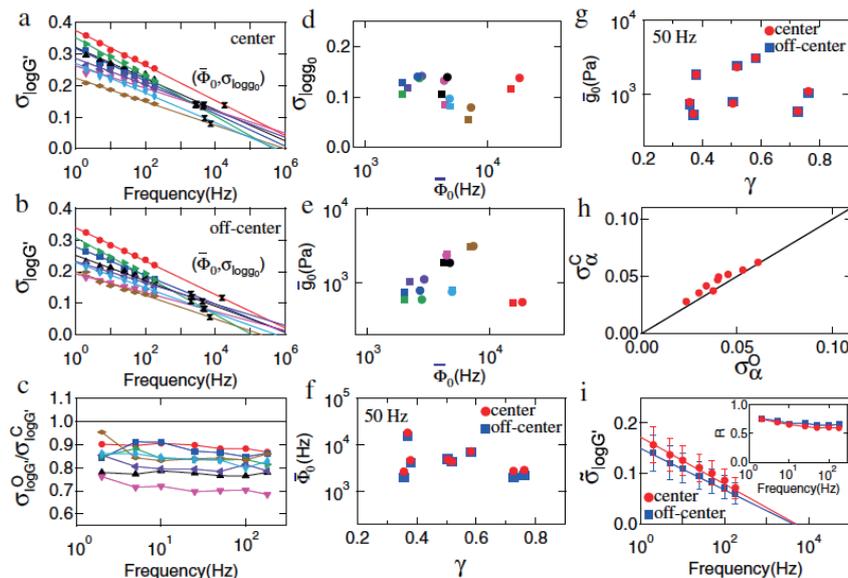


図3 細胞の貯蔵弾性率の標準偏差 (中心(a)と非中心 (b))。異なる測定位置の標準偏差の比 (c)。異なる細胞骨格で不変な仮想的な弾性率 (e)、その標準偏差 (d)、周波数 (f)。細胞内の弾性率の相関関数 γ と仮想的な弾性率との関係 (g)。単一べき関するの標準偏差の空間依存性 (h)。細胞の貯蔵弾性率 (i) の標準偏差とその空間依存性の比 (挿入図)。色の違いはサンプルの違いを意味する。

参考文献:

- (1) P.G. Cai, Y. Mizutani, M. Tsuchiya, J. M. Maloney, B. Fabry, K. J. Van Vliet, T. Okajima, Biophys. J 105, 1093 (2013).
- (2) P.G. Cai, T. Okajima. Jpn. J. Appl. Phys. 54, 037001 (2015).