

細胞蛍光顕微鏡観察が可能な牽引力顕微鏡の評価

Traction force microscopy with simultaneous acquisition of fluorescence images

北大・情報科学¹, [○]坂井 譲¹, 武蔵 湧貴, 朱 鑫峰, 土屋 雅博, 岡嶋 孝治Hokkaido Univ., [○]Yuzuru Sakai¹, Yuki Musashi, Zhu Xinfeng, Masahiro Tsuchiya, Takaharu Okajima

E-mail: y-sakai@ist.hokudai.ac.jp

【緒言】

接着性の細胞は細胞外基質 (ECM) や隣接した細胞と接着することにより、様々な細胞機能を発現する。接着点には牽引力が働き、この力学的相互作用によって細胞分裂などの様々な機能を調整していると考えられている。したがって、細胞自身が発生する牽引力の精密計測は、細胞力学特性と細胞機能の関係を解明するために重要である。細胞牽引力顕微鏡法は、基板に接着した細胞の牽引力を調べる手法として広く用いられている[1]。本手法は、蛍光ビーズを内包した高分子ゲル基板に播種した細胞の牽引力を、蛍光ビーズの変位から算出する。

様々な細胞機能の中で、細胞分裂は重要な動的な細胞機能の一つである。細胞周期と細胞力学特性との関係は基本的に重要であるが、細胞分裂期以外の細胞周期における細胞力学特性は不明な点が多い。

近年、細胞周期を可視化する蛍光タンパク質 fluorescent ubiquitination-based cell cycle indicator(fucci)技術を用いて、細胞周期のステージを確認することが可能になった。本研究では、細胞牽引力顕微鏡を用いて fucci 導入細胞の牽引力測定を行った。細胞蛍光顕微鏡観察が可能な牽引力顕微鏡を試作し、その性能を評価した。

【方法】

倒立光学顕微鏡のステージに装着した自作の小型インキュベータを用いた。5%のア

クリルアミドゲルに粒径 1.0 μm の赤色蛍光ビーズを包埋した。40 倍の対物レンズを用いて撮影し、その変位分解能は 0.16 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ である。その後細胞を取り去り、再度蛍光観察し蛍光ビーズの変位を FFT 解析[2]により計測した。

【実験結果】

タイムラプス蛍光観察により、ゲル内の蛍光ビーズと Fucci 蛍光の蛍光観察、および微分干渉顕微鏡観察を自動化した牽引力顕微鏡システムを試作した。HeLa-Fucci (RIKEN) 細胞を測定した結果、細胞間期の G1 期と S/G2 期において、細胞牽引力分布およびその大きさが変化することがわかった。当日はこれら細胞牽引力分布と大きさの性質について詳細に報告する予定である。

【謝辞】

HeLa-fucci, COS-Fucci, NMuMG-fucci cells (RIKEN) に関して、宮脇敦史博士に感謝いたします。

参考文献

- [1] Micah Dembo et al. Stresses at the Cell-to-Substrate Interface during Locomotion of Fibroblasts Biophysical Journal Volume 76 (1999) 2307-2316
- [2] James P Butler et al. Traction fields, moments, and strain energy that cells exert on their surroundings Am J Physiol Cell Physiol 282 (2002) C595-C605