

フェムト秒レーザー誘起衝撃力によるビオチン修飾基板-アビジン修飾 微小球間の接着力評価

Estimation of adhesion between avidin-modified microsphere and biotin-modified substrate by the femtosecond laser impulse

奈良先端大 物質創成, °丸山 彰大, 山川 健, 上段 寛久, 飯野 敬矩, 細川 陽一郎

NAIST, °Akihiro Maruyama, Takeshi Yamakawa, Hirohisa Uedan, Takanori Iino, Yoichiroh Hosokawa

E-mail: maruyama.akihiro.lp2@ms.naist.jp

細胞は生体内において独立して存在することではなく、多くの細胞同士が接着し相互作用することで機能しており、その接着の物理的・生物学的メカニズムの解明が古くから重要な課題とされている。我々はフェムト秒レーザーを水中に集光照射したときに引き起こされるマイクロメートルスケールの爆発現象に伴う衝撃力を利用して、任意の細胞を培養基板や細胞集団から引き剥がし、その接着力を測定する新規手法の開発に取り組んできている。この方法により、従来法では難しかった個々の細胞間・細胞-基板間の接着を簡便に評価できるようになることが期待される。本研究ではこの方法の確立を目的とし、基板に接着させたポリスチレン微小球を擬似細胞試料として用い、衝撃力により引き剥がされた微小球の運動を解析することで、この方法の妥当性と定量性について検討する。

ストレプトアビジンを修飾したポリスチレン微小球($\phi = 6 \mu\text{m}$)を、ビオチンを修飾したガラス基板の上に撒いた。これによりアビジン-ビオチン間の特異的結合が形成され、微小球は基板に接着する。水に浸した基板を倒立顕微鏡に配置しフェムト秒レーザー(200 nJ / pulse, 800 nm, 150 fs)を 20 倍($\text{NA} = 0.46$)の対物レンズにより集光照射した。を照射した。レーザーによる接着剥離実験は 2 つの手順で評価した。手順 1 では、1 つの標的の微小球を定めて、それに対して十分遠方の位置にレーザーを照射し、微小球が動かなかった場合、レーザー照射位置を微小球に向かって徐々に近づけていき、接着の引き剥がしが誘導される閾値となる距離を見積もった。この測定を 50 個の微小球に対して行いヒストグラムを作成した。手順 2 では、複数の微小球が観察できる条件で微小球の近傍に単発のレーザーを集光照射し、微小球に同時に衝撃力を作用させ、近傍にある全ての微小球の位置変化(ΔX)を測定した⁽¹⁾。レーザー集光点とレーザー照射前の微小球間の距離(初期位置)と ΔX の関係を約 300 個の微小球に対して調べた。

図 1 に得られた結果を示す。ヒストグラムの中央値は約 $20 \mu\text{m}$ であり、この距離が引き剥がしの閾値となる。青色のドットは手順 2 による結果であり、この結果も微小球の初期位置がレーザー集光点より $20 \mu\text{m}$ 以上の時、引き剥がしがほとんど誘導されないことを示している。手順 1 より得られたヒストグラムは微小球と基板間の接着強度の分布を反映していると考えられる。微小物体の動きを示す運動方程式を構築し、この接着強度の分布を考慮することにより、手順 2 の結果を数値的に再現することができる。講演ではレーザー強度依存性、レーザー集光位置依存性も踏まえ、アビジン-ビオチン相互作用による接着メカニズムについて議論する。

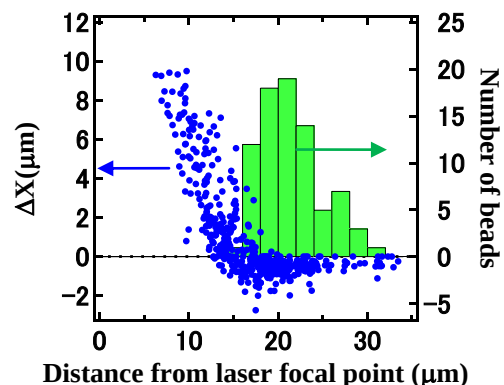


Fig.1 Detachment of avidin modified microsphere from biotin modified substrate. Histogram and blue dots indicate estimations by procedure 1 and 2, respectively.

(1) 上段寛久, 飯野敬矩, 細川陽一郎: 応用物理学会秋季学術講演, 16a-P1-4 (2013)