細胞間接着力計測を目指したカップ形状 AFM チップの作製

Fabrication of Cup-Shaped AFM Chip for Measurement of Cell-Cell Adhesive Force

産総研バイオメディカル研究部門 [1], 東京農工大院工学府 [2]

○金 賢徹 [1], 山岸 彩奈 [1], 今泉 美玖 [2], 中村 史 [1,2]

Biomed. Res. Inst., AIST[1], Grad. Sch. Eng., Tokyo Univ. Agric. Technol.[2]

°Hyonchol Kim[1], Ayana Yamagishi[1], Miku Imaizumi[2], Chikashi Nakamura[1, 2]

E-mail: kim-hc@aist.go.jp

細胞間接着力を定量的に測定することは、組織の形成やがん転移など様々な生命現象を理解する上で必須であり、これまでにいくつかの方法が開発されている。原子間力顕微鏡（AFM）は探針先端に取り付けた物質と試料表面に存在する物質の間の結合力を定量的に計測できるツールであり、レクチンなど細胞表面物質と結合する分子で AFM チップをコートしてそこに細胞を結合させることにより、細胞間接着力を測定する方法がこれまでに報告されているが、実際の AFM チップへの細胞取り付け作業は容易でなく、如何に簡便に細胞をチップ側に取り付けて細胞間接着力を計測できるようにするかが、ひとつの課題となっていた。本研究では、カップ形状微粒子を利用して AFM による簡便な細胞間接着力測定法を開発したので、その詳細について報告する。

カップ形状微粒子の作製方法は次のとおりである。細胞と同程度のサイズかそれよりやや大きいポリスチレン球（直径 10 µm - 25 µm）を平坦な基板上に配置した後、その上に適当な材料（本研究ではニッケルを利用）の薄膜を真空蒸着により形成する。その後、粒子を高温焼成してポリスチレン球を取り除くことにより、お椀のような形状をしており、真空蒸着した材料で構成されたカップ形状微粒子を作製できる。作製したカップ形状微粒子をマイクロマニピュレータで一粒拾い、AFM カンチレバー先端部分にエポキシを介して糊付けすることにより、先端部分にカップ形状微粒子が付いた AFM チップ（以下、「カップチップ」）を作製することに成功した。

取り付けたカップは細胞と同程度の内径を有しているので、カップ内側の窪みに細胞を捕獲して拾うことができると期待された。それを確認するために、ディッシュ内に細胞懸濁液を滴下し、細胞がディッシュ底面に沈殿した後、底面に細胞が接着する前の段階でカップチップを細胞に接触させ、数秒から数十秒程度静置した後、カップチップをディッシュ底面から遠ざけることで、細胞をカップチップに捕獲することに成功した。さらに、細胞を捕獲した状態のままカップチップを近隣の細胞に接触させることにより、捕獲した細胞と接触させた細胞間のフォースカーブ測定を行うことに成功した。すなわち、カップチップを用いると、細胞を容易に AFM チップ側に捕獲することが可能で、かつ捕獲した細胞と他の細胞間の接着力を簡便に測定できることが分かった。発表では、カップチップ作製方法の詳細と応用についての紹介、および、カップチップを用いた細胞間接着力測定法による計測結果の例について紹介する予定である。

© 2016年 応用物理学会