

レーザー光散乱を利用した細胞からの顆粒放出の観察

Observation of granule release from living cells by laser scattering

久留米高専¹, 久留米大学² 築島 沙季¹, 園井 柁平¹, 内山 貴行¹, 平川 靖之¹太田 啓介², 中村 桂一郎²NIT, Kurume Coll.¹, Kurume Univ.²: S. Tsukijima¹, S. Sono¹, T. Uchiyama¹, Y. Hirakawa¹,K. Ohta², K. Nakamura²

E-mail: hirakawa@kurume-nct.ac.jp

1. はじめに

我々の研究グループでは、細胞にレーザー光を照射すると観察されるレーザースペックル(LS)により細胞状態を評価するLS顕微鏡の研究を進めている。今回、LS揺動による細胞観察と同時に、照射レーザー光の散乱により、顆粒放出現象を観察できたので以下に報告する。

2. 実験方法

実験装置を Fig. 1 に示す。波長 635 nm の半導体レーザー

から出力された光を先端加工したシングルモード光ファイバーを用いて、35 mm ディッシュ中の細胞に照射した。細胞には、ダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)により培養したヒト癌細胞を使用した。細胞の Ca イオンチャネルの透過性を高めるカルシマイシンを投与すると、細胞上で LS が観察されると同時に、培地中の粒子による光散乱が観察された。また、顆粒放出時の様子を走査型電子顕微鏡(SEM)で観察した。

3. 実験結果・考察

Fig. 2 に、カルシマイシン投与後にレーザー照射して得られた画像例を示す。(1)部に細胞によるLS揺動が観察されると同時に、(2)部に細胞から放出されたと考えられる顆粒による散乱像が小さな複数の輝点として確認された。この状態を固定し SEM で観察した画像例を Fig.3 に示す。投与したカルシマイシン濃度依存性やその粒径などから、細胞内から放出されたエキソソーム(寸法: 40 nm~150 nm 程度) と呼ばれる膜小胞ではないかと考えられる。詳細は講演にて報告する。

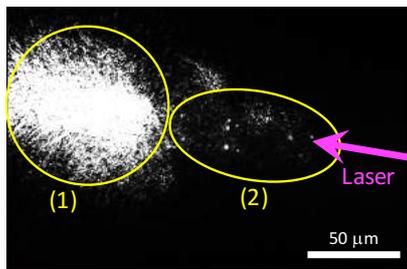


Fig. 2 Experimental image obtained by laser irradiation. (1) part is the laser speckle cellular image, and (2) area indicates scattering due to granules.

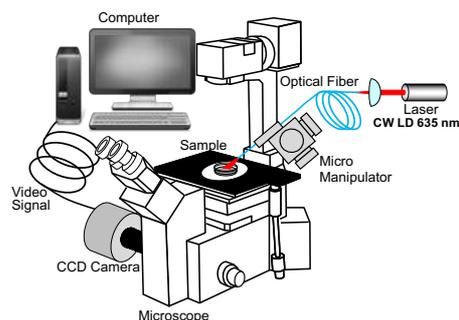


Fig. 1 Experimental setup

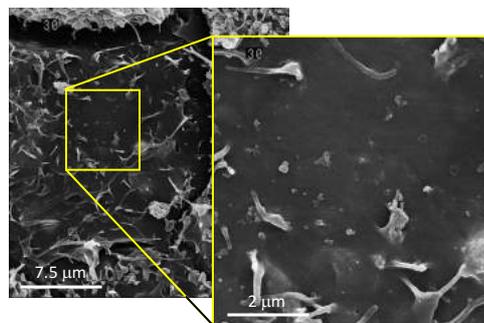


Fig. 3 SEM images of cellular surface. Several small granules are recognized in the expanded image (right side).