原子間力顕微鏡を用いた光屈性に呼応するシロイナズナ細胞の堅さ解析

Analysis of Cell Stiffness of Arabidopsis with Phototropic Responses Evaluated by Atomic Force Microscopy

奈良先端大物質 [1]，奈良先端大バイオ [2]　°渡辺 てい [1]，上村 祥 [2]，南野 大樹 [1]，飯野 敬矩 [1]，山口 暢俊 [2]，伊藤 寿朗 [2]，細川 陽一郎 [1]

Grd. Sch. Mat. Sci. NAIST [1], Grd. Sch. Bio. NAIST [2], °Tei Watanabe[1], Akira Uemura[2], Daiki Minamino[1], Takanori Iino[1], Nobutoshi Yamaguchi[2], Toshirou Itou[2], Yoichiroh Hosokawa[1]

E-mail: watanabe.tei.wl2@ms.naist.jp

高等植物は、個体を形成する細胞の内部を陽圧にし、細胞を覆う堅い細胞壁が膨らんだ状態に保つことにより、その構造を保持している。植物個体の生長や形態変化は、この様な力学状態を周囲の環境に応じて変化させることにより引き起こされると考えられる。ゆえに、植物個体の形態変化と細胞ごとの力学状態の時空間変化の関連性を理解することは、植物の生理メカニズムを理解するうえで、本質的な課題である。しかし、生きた植物個体内の細胞の力学状態を精密に評価することは極めて難しく、未だその手法は確立されていない。我々は、原子間力顕微鏡（AFM）、微細加工技術を用いた精密な試料固定、レーザーを用いた細胞操作を駆使することにより、植物細胞の力学状態を調べる新たな手法の確立に挑もうとしている。本研究では、AFM を用いて植物細胞の生理的屈曲に伴う細胞壁の堅さ変化を調べた結果を報告する。

試料には、代表的なモデル植物であるシロイヌナズナ（*Arabidopsis Thaliana*）を用いた。シロイヌナズナの種子（7 個）を寒天培地上に播種し、発芽時期を揃えるため、暗室にて 4℃で 3 日間保管した。さらに、暗室にて 22℃で 3 日間保管することで、種子を発芽させ、その芽生えを 1.5 cm 程度まで生長させた。この芽生えに一方向から蛍光灯の光を 2 時間または 3 時間照射し、芽生えを光源方向に屈曲させた（光屈性）（Fig.1a）。屈曲した芽生えをスライドガラス上に固定し、光を照射した側（照射側）（Fig. 1b）と照射していない側（非照射側）（Fig. 1c）の茎部（ϕ: 300 μm）に AFM 探針を接触させ、細胞のフォースカーブを計測し、ヘルツの接触理論から細胞の弾性率を算出した。AFM 探針先端には直径 20 μm のガラス微小球を接着し、フォースカーブ計測時に細胞が損傷しないようにした。

各光照射時間における試料 3 個に対して 3 点ずつ計測した 9 つのデータから弾性率の平均値と偏差を算出した。その偏差は極めて大きかったものの、光照射 2 時間と 3 時間の両方で、非照射側の弾性率の方が照射側の弾性率よりも高い傾向が示された。植物が光の方向に屈曲するには、非照射側の細胞が照射側よりも早く生長する必要がある。そのために、非照射側の細胞は細胞内の膨圧を上げ、細胞壁の伸長を促進させた結果、非照射側の弾性率が高くなり、上記に示す傾向が得られたと考えられる。発表では、さらに微細加工による精密な試料固定を組み合わせて、堅さを評価した結果について述べる。

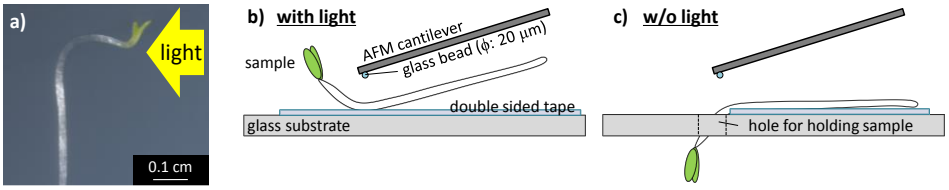

Fig. 1 a) Photograph of *Arabidopsis thaliana* growing to the light source. b) and c) show experimental setup to measure force curve at the sides with light irradiation and without light irradiation, respectively.

© 2017年 応用物理学会