フェムト秒レーザー誘起衝撃力に誘引される細胞内 pH 応答
Intracellular pH Modulation Triggered by Femtosecond Laser Impulse

奈良先端大物質，○植栗 陽一，岡野 和宣，山田 壮平，安國 良平，細川 陽一郎
Div. Mat. Sci. NAIST, °Y. Uekuri, Y. Oshikawa, K. Okano, S. Yamada, R. Yasukuni, Y. Hosokawa
E-mail: uekuri.yoichi.un2@ms.naist.jp

はじめに：細胞は生体内外からの様々な機械刺激に曝されており、細胞はこれらの機械刺激を検出して発生や分化などの細胞機能の調整を行っている。このような機械刺激に対する細胞の生理応答を研究する手法として、我々は水中に集光されたフェムト秒レーザーが誘起するマイクロスケールの応力波及びキャビテーションバブルを用いる方法を提案している。本研究ではレーザーが誘起する衝撃力を細胞に作用させ、機械刺激に対する細胞の生理応答を細胞内 pH 変化に着目して評価した。

実験方法：光源としてフェムト秒チタンサファイア再生増幅器(130 fs, 800 nm, 150 nJ/pulse)を用いた。機械シャッターにより切り出したシングルパルスのフェムト秒レーザーを倒立顕微鏡に導入し、20 倍対物レンズ(NA=0.5)を用いて培養したマウスの筋芽細胞 (C2C12) 近傍の液中に集光した。C2C12 にはあらかじめ蛍光性 pH 指示薬である SNARF-1AM (λex = 488 nm)を導入し、波長 640 nm と 587 nm における SNARF-1 の蛍光強度比から細胞内 pH を同定した。

実験結果：レーザー照射前後において測定した細胞内 SNARF-1 の蛍光スペクトルを Fig. 1(B)に示す。レーザー照射に伴って SNARF-1 の蛍光スペクトルは、波長 640 nm に対する 587 nm の蛍光強度が増加し、これは細胞内 pH の減少を示している。同様のレーザー照射条件における 10 個の細胞の蛍光強度比（I_{640}/I_{587}）の時間変化を調べた結果（Fig. 1(C)）、レーザーによる機械刺激によって細胞内 pH が上昇する場合と下降する場合があることが示された。これまでに同様のレーザーによる機械刺激によって、機械刺激受容チャネルを介した細胞外部からの Ca^{2+}流入をトリガーとした細胞内小胞体からの Ca^{2+}放出を報告している。[1] 一方で、細胞内 pH 変化は細胞外の Ca^{2+}を除去した状態でも誘導されることから、機械刺激に対する細胞内 pH の変化は、Ca^{2+}とは機械刺激に対するシグナル伝達経路が異なることを示唆している。細胞内 pH は上昇する場合と下降する場合が混在し、その影響は個々の細胞状態に依存すると考えられる。発表では細胞の状態として細胞周期に着目し、機械刺激に対する細胞内 pH 応答と細胞周期の関係性を議論する。

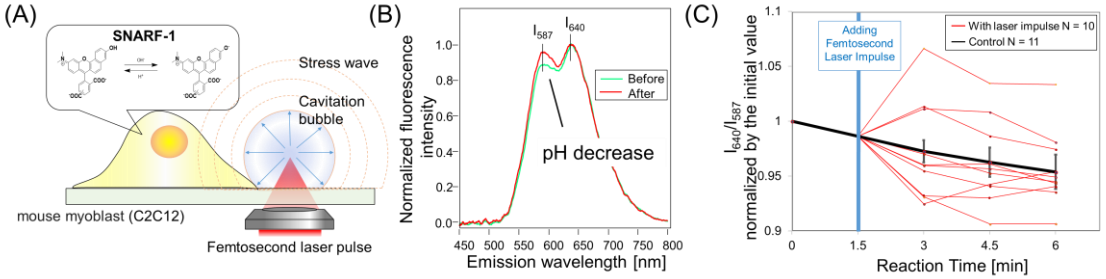

Fig. 1 (A)Experimental schematic to monitor intracellular pH modulation of C2C12 triggered by adding femtosecond laser impulse as mechanical stimulation. (B)Fluorescence spectra of SNARF-1 in C2C12 before and after the mechanical stimulation. (C)Temporal change of intracellular pH (I_{640}/I_{587}) in C2C12 after the mechanical stimulation.

[1]押川悠城 他, 電気学会研究会資料, OQD-17-022

© 2018年 応用物理学会