

細胞膜の形状と分子パッキングを同時計測可能な 新規光学顕微システムの開発

Development of new optical microscopy system for the clarification of morphology and molecular packing of cell membranes

埼玉大院理工¹, 埼玉大理² ○(M1)野呂 捷太¹, 渡部 舞美¹, 東郷 祥大¹, 藤井 真衣²,
菅沼 雅美¹, 小林 成貴¹, 川村 隆三¹, 松崎 賢寿¹, 中林 誠一郎¹, 吉川 洋史¹

Saitama Univ. °Hayata Noro, Mami Watanabe, Shodai Togo, Mai Fujii,

Masami Suganuma, Naritaka Kobayashi,

Ryuzo Kawamura, Takahisa Matsuzaki, Seiichiro Nakabayashi, Hiroshi Y. Yoshikawa

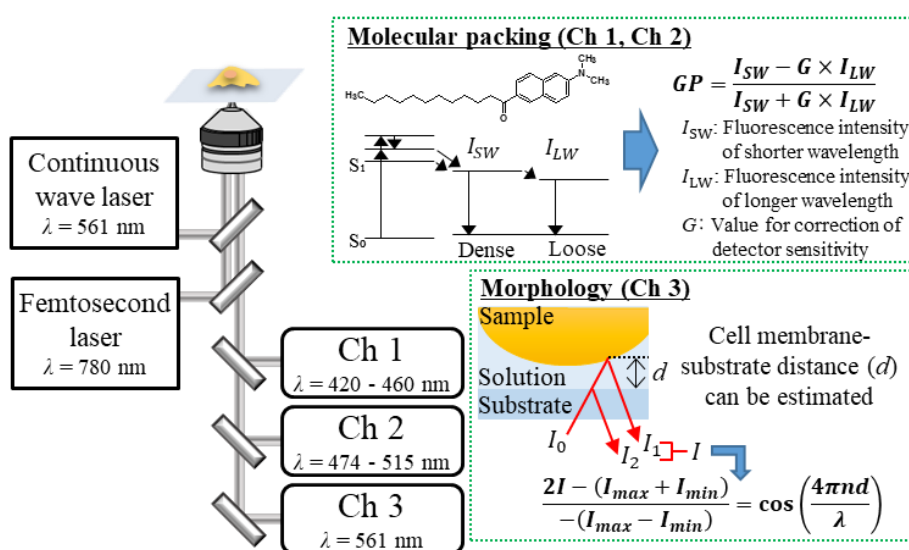
E-mail: h.noro.132@ms.saitama-u.ac.jp

【序論】がん細胞の細胞膜は、不飽和アシル鎖を有する短鎖のリン脂質を多く含むことが知られており、正常細胞の膜より流動的であることが示唆されている[1, 2]。しかし、このような細胞膜の流動性の違いが、接着や運動などのがん細胞の動態に与える影響については不明な点が多い。そこで本研究では、がん細胞膜の動態と分子構造との定量相関を明らかにすることを目的に、細胞膜の形状と分子パッキングを同時に測定できる光学顕微システムを開発したので報告する。

【実験】共焦点蛍光顕微法と反射型光干渉法を組み合わせた光学顕微システムを新規構築した (Fig. 1(a))。蛍光計測では、6-dodecanoyl-2-dimethylaminonaphthalene (Laurdan) と呼ばれる極性感受性色素を用いた。Laurdan は脂質分子間に局在し、周囲の極性溶媒分子量に応じて短波長側 (440 nm 付近) と長波長側 (490 nm 付近) の蛍光ピーク波長の強度比が変化する。そこでピーク強度比の指標として、Generalized Polarization (GP) を定義し (Fig. 1 (a)右上), 膜の分子パッキングを評価した。一方、光干渉計測では、細胞膜-溶液界面および基板-溶液界面からの反射光の干渉シグナル I を測定した。得られたシグナルの最大値 $I_{\max}$ と最小値 $I_{\min}$ を用いて細胞膜-基板間距離 (d) を計算し (Fig. 1 (a)右下), 細胞膜の形状を評価した。細胞は、転移能の異なる2種類のマウスメラノーマ (B16-F1, B16-F10) を用い、それをフィブロネクチン修飾したガラス基板に播種・染色 (Laurdan 終濃度: $\sim 10 \mu\text{M}$) して計測した。

【結果・考察】Fig.1(b)に B16-F1 細胞の GP 像と反射干渉像を示す。それぞれの像から、細胞膜の分子パッキングおよび形状が空間的に不均一であることがわかる。GP 値は、脂質分子間に存在する極性溶媒分子量を反映しており、GP 値が大きいほど膜中の脂質分子のパッキングが堅固であることを意味する。得られた GP 像と反射干渉像の相関を解析したところ、細胞膜の分子パッキングが、細胞-基板間距離 (d) に応じて変化することがわかった。発表では、この解析結果の詳細について説明するとともに、他の細胞種の結果についても紹介する予定である。

(a)



(b)

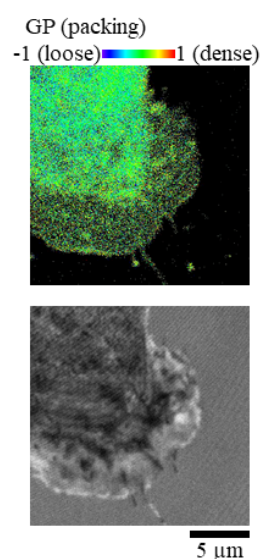


Fig.1 (a) New optical microscopy system. (b) GP image (top) and interference reflection image (bottom).
[1] J. K. Selkirk et al., *Cancer Res.*, **31**, 28-30 (1971). [2] K. Kojima, *J. Med. Sci.*, **56**, 2 (1993).