

外力に対する細胞のカルシウムシグナル応答の 細胞形状依存性

Shape dependent cellular mechanoresponses triggered by femtosecond laser impulse

奈良先端大物質, °宇野 花香, 山田 壮平, 岡野 和宣, 安國 良平, 細川 陽一郎

Div. Mat. Sci. NAIST, °Hanaka Uno, Sohei Yamada, Kazunori Okano, Ryohei Yasukuni,

Yoichiroh Hosokawa

E-mail: uno.hanaka.uc7@ms.naist.jp

生体内で細胞は種々の外力にさらされており、外力の作用強度や周期が細胞の機能発現に大きな影響を与えることが知られている。我々は単一細胞レベルで外力に対する生理応答を評価するための手段として、空間制御性に優れたフェムト秒レーザー誘起衝撃力を利用している。フェムト秒レーザーを対物レンズにより水溶液中に集光すると、水の多光子吸収に起因して発生したキャビテーションバブルの急激な膨張に伴い周囲の物体に衝撃力が作用する。この衝撃力に対する細胞の生理応答として、細胞内 Ca^{2+} 濃度が増加するが、その応答は細胞ごとに大きく異なる。本発表ではこのようなフェムト秒レーザー誘起衝撃力に対する細胞応答のばらつきの起源を明らかにする一環として、細胞形状が細胞内 Ca^{2+} 濃度変化に与える寄与について調べた結果を報告する。

細胞試料としてイヌ腎臓尿管上皮細胞(MDCK)を使用し、通常の培養条件に加えて MPC ポリマーを用いたパターンニングにより直径 18 μm の円形接着領域に細胞を培養することで細胞形状のばらつきを制御した。フェムト秒チタンサファイア再生増幅器($\lambda = 800 \text{ nm}$)のシングルパルス(270 nJ/pulse)を、20 倍対物レンズ($\text{NA} = 0.8$)を用いて MDCK 細胞から 20 μm の培養液中に集光し、外力を細胞に作用させた。外力による細胞内 Ca^{2+} 濃度変化は、細胞へ取り込ませた蛍光性 Ca^{2+} 指示薬 Fluo-8AM の蛍光強度の変化として測定した。

ガラスボトムディッシュと接着領域をパターンニングしたディッシュ上での細胞のアスペクト比(図 1(c))を比較するとパターンニングにより細胞形状のばらつきの程度は減少している。これらの細胞に衝撃力を作用させた場合、 Ca^{2+} 濃度の上昇量のばらつきと細胞形状のばらつきに明確な相関は見られなかった。これは外力に対する細胞の Ca^{2+} 濃度変化は細胞形状によりむしろ細胞の生理状態に依存していることを示している。講演ではさらに細胞の 3 次元形状と Ca^{2+} 濃度変化に関してその関係を議論する。

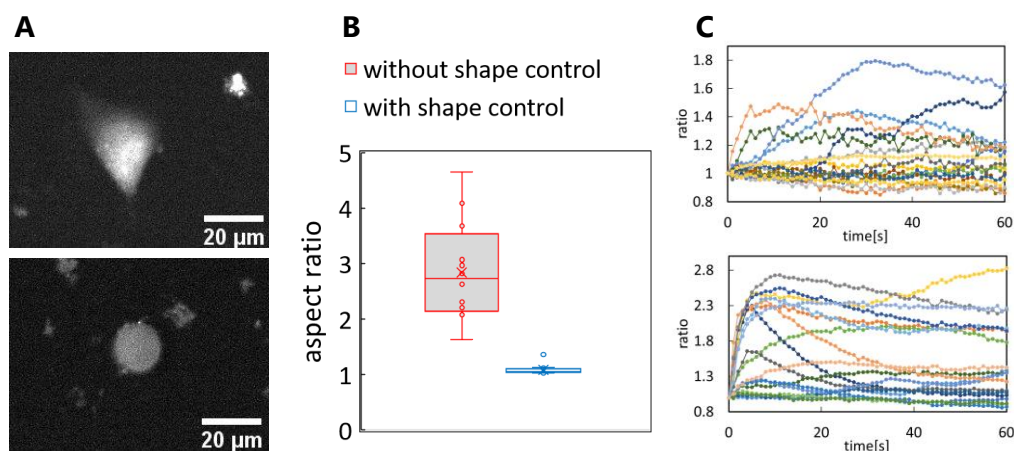


Figure 1. (A) Fluorescence images of MDCK cells with (Upper) and without (Lower) shape control. (B) Aspect ratio of cell shape with and without shape control. (C) Time varying of Ca^{2+} response induced by the femtosecond laser impulse for individual cells with (Upper) and without (Lower) shape control.