

フェムト秒レーザーに誘起される 異なる力学作用に対する細胞の Ca^{2+} 応答

Cellular Ca^{2+} Response Depending on Different Mechanical Stimuli

Induced by Femtosecond Laser

奈良先端大物質, °小谷 健太郎, 宇野 花香, 岡野 和宣, 安國 良平, 細川 陽一郎

Div. Mat. Sci. NAIST, °Kentaro Odani, Hanaka Uno, Kazunori Okano, Ryohei Yasukuni,

Yoichiroh Hosokawa

E-mail: odani.kentaro.ok5@ms.naist.jp

生体内の細胞は重力や血流のような力学刺激に応答して機能調整を行うことが知られている。しかし単一細胞レベルで力学刺激を高精度に制御する手法の欠如により、様々な力学作用による刺激と誘導される生理応答の関係には未だ不明な点が多い。我々は力学刺激に対する単一細胞の生理応答を調べる手法として時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きた。近赤外のフェムト秒レーザーパルスを手溶液中に集光すると、発生したキャビテーションバブルの急激な膨張に伴い集光点近傍の物体に衝撃力が作用するほか、集光点から離れた場所にも高速な水の流れが発生する。本発表ではこのようなフェムト秒レーザーに誘起される異なる力学作用による刺激が、細胞に誘導する生理応答を調べた結果を報告する。

細胞試料としてガラスベースディッシュに培養したイヌ腎臓尿管上皮細胞(MDCK)を使用した。フェムト秒チタンサファイア増幅器のシングルパルス($\lambda = 800 \text{ nm}$, 150 nJ/pulse)を、20倍対物レンズ($\text{NA} = 0.8$)を用いて細胞から20~50 μm 離れた培養液中に集光し、力学刺激を作用させた。力学刺激に対する細胞の生理応答として Ca^{2+} シグナル伝達応答を蛍光性 Ca^{2+} 指示薬Fluo-8AMの蛍光強度変化より計測した。

Fig. 1A に示すようにフェムト秒レーザーを細胞から 20 μm の位置に集光すると、細胞内の蛍光強度が増加し、細胞内の Ca^{2+} 濃度が上昇していることがわかる。レーザー集光点を細胞から 20, 30, 40 μm と変化させたときの蛍光強度の時間変化を Fig. 1B に示す。距離 20, 30 μm での蛍光強度変化と比較して距離 40 μm では時間とともに増加する成分が顕著に表れている。これはキャビテーションバブル半径に近い距離 20, 30 μm では大きな衝撃力の作用による細胞膜の変形が Ca^{2+} シグナル伝達応答を誘導したのに対し、バブル半径の外側である距離 40 μm では高速の流れ刺激が応答を誘導した可能性がある。講演ではさらに、レーザー集光点と細胞の距離を一定にして、レーザーパルス強度を変化させた場合の細胞の Ca^{2+} シグナル伝達応答と合わせて議論する。

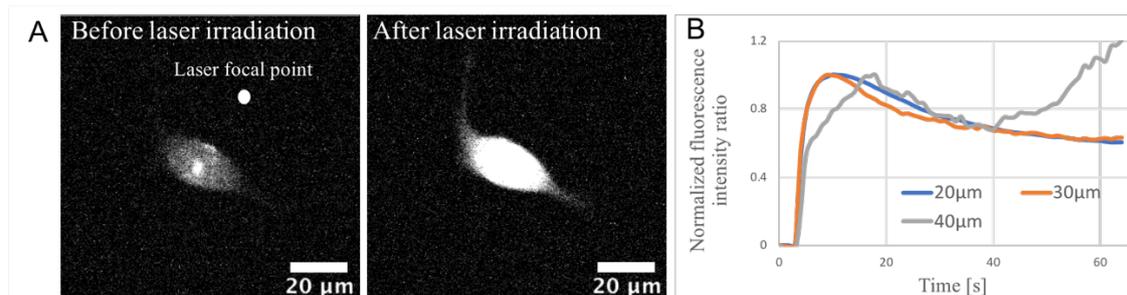


Figure 1. (A) Fluorescence images of a MDCK cell before and after the femtosecond laser irradiation. (B) Temporal changes of intracellular fluorescence intensity when the laser pulse is focused at 20, 30 and 40 μm far from a cell.