

AFMによるゼブラフィッシュ成魚の心臓の弾性率評価

Evaluation of elastic modulus of adult zebrafish heart by AFM

青学大理工, °(B)松木 翔, (M1)渡辺 隆太, 守山裕大, 三井 敏之

Aogaku Univ., °Sho Matsuki, Ryuta Watanabe, Yuuta Moriyama, Toshiyuki Mitsui

E-mail: mitsui@phys.aoyama.ac.jp

1. 背景

細胞や細胞組織など生体試料の機械的特性評価の際、試料に対して大きなダメージを与えず、可能な限り生理的環境下で観察を行うことは、定量的な評価をするために必要不可欠である。近年、非破壊で、幅広い観察環境にも対応できる原子間力顕微鏡(AFM)による生体試料の機械的特性評価が注目を浴びている[1]。AFMはカンチレバー先端に付いた探針を走査させ、nmオーダーの分解能で試料表面の凹凸を評価する装置だが、レバーのしなりから局所的な弾性の測定も可能である。生体試料などのソフトマテリアルの場合は、試料の接触面積が探針の押し込む深さにより変化するので、針先へのビーズの付加[1]や Oliver and Pharr のインデントモデルなどによる評価が弾性率を定量的に得るのに必要となる[2]。この弾性率の評価は、真骨魚類の心臓の細胞の運命を決定するメカニズムの解明に役立つと考えられる。特に細胞外マトリックスの粘弾性が心臓発生に与える影響についてのエビデンスは揃ってきた[3]。そこで、真骨魚類であるゼブラフィッシュ成魚の心臓組織の局所的な物性を、AFMを用いて測定し、心臓の形態変化や細胞の分化と細胞外マトリックスの粘弾性の関係性を評価したい。

2. 実験方法

ゼブラフィッシュ成魚の心臓に固定処理を行い、25 μm の切片を作成した後、液中 AFM により Force curve を測定した。今回、深度の高い PZT スキャナを搭載した島津製作所製 AFM の SPM9700 を用いた。カンチレバーは、NanoAndMore 社のレバー先端に 10.8 μm ビーズが付いた CP-PNPL-PS-D ($k = 0.08 \text{ N/m}$) を使用した。心臓の弾性率は Oliver and Pharr のインデントモデルを用いて、Force curve から見積もった。

3. 実験結果

ゼブラフィッシュ成魚の心室、動脈球の測定部位と Force curve を Fig. 1 に示す。

Fig. 1 より各心臓部位の弾性率を調べて比較することで、細胞分化への細胞外マトリックスの粘弾性の影響について評価し報告する。

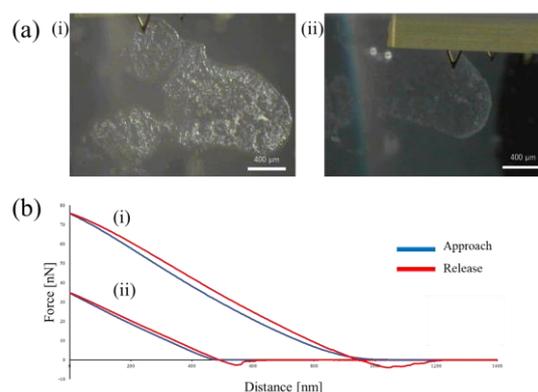


Fig. 1. (a) Image of a section of bulbus arteriosus (i) and ventricle (ii) from an adult zebrafish. (b) Force curve of bulbus arteriosus (i) and ventricle (ii).

[1] Okajima *et al.*, *Soft Matter*. **16**,11-26 (2020)

[2] Oliver and Pharr, *J. Mater. Res.* **19**, 3-20 (2004)

[3] Moriyama *et al.*, *Nature Communications*, **7**, 10397 (2016)