

キャピラリーを用いた層流制御システムによる単一細胞刺激

Single Cell Stimulation using Laminar-Flow Confinement System

都立大院都市環 ○(M2) 遠山 万理乃, 河西 奈保子, 中嶋 秀, 加藤 俊吾, 内山 一美, 毛 思鋒

Tokyo Metropolitan Univ., °Marino Toyama, Nahoko Kasai, Hizuru Nakajima, Shungo Kato,

Katsumi Uchiyama, Sifeng Mao

Email: maosifeng@tmu.ac.jp

培養細胞中の個々の細胞を対象にした単一細胞解析や単一細胞制御は、生体の機能の理解やその利用のために重要である。PC12 細胞は神経成長因子(NGF)により神経細胞様に分化し神経回路を形成するが、培養細胞中の任意の単一細胞を分化させることや、その細胞の周囲への影響についてはほとんど検討されていない。

我々は、複数のキャピラリーを用いた層流制御システムにより、その先端の局所において溶液を制御し、基板上への金属ナノワイヤ描画[1-4]や単一細胞ラベリング[5]を行ってきた。本研究では、4本のキャピラリーを用いた層流制御システムを構築し、NGFによる単一細胞への刺激印加を試みた。

倒立顕微鏡下で、PC12 細胞を培養したディッシュ中にキャピラリーの先端を固定し、4本のキャピラリーのうち相対する2本から、それぞれ培養液と NGF を含む培養液を送液し、その他の2本のキャピラリーで溶液を吸引した(Fig 1(a))。送液・吸引流量と、先端と細胞との距離を調整することで、キャピラリー先端でマイクロメートルスケールの層流の NGF 領域を形成した(Fig 1(b))。これを用いて細胞に NGF 刺激を印加した。

NGF 領域の安定性および細胞へ与える応力から、送液速度と吸引速度の最適化を行った。また、計算により送液する NGF の濃度を求めた。その後、NGF 領域を PC12 細胞上に形成し、NGF 領域内外の細胞について形態変化及び細胞小器官の局在変化を検討した結果、NGF 領域内の細胞の形態変化、リソソームの局在変化が見られ、NGF による局所分化誘導が確認された。

本研究により任意の単一細胞の分化が可能となり、周囲の細胞への影響を明らかにする可能性が示された。

- [1] Mao, S., et al. *Chemphyschem* 2017, **18**, 2357-2363. [2] Zhang, Y., et al. *Chem. Commun.* 2018, **54**, 719-722.
[3] Lin, H. et al. *Anal. Chem.* 2019, **91**, 7346-7352. [4] Nishitani, Y., et al. *Chem. Commun.* 2022, **58**, 4208-4311.
[5] Zhou, L. et al. *Anal Chem.* 2021, **93**, 8680-8686.

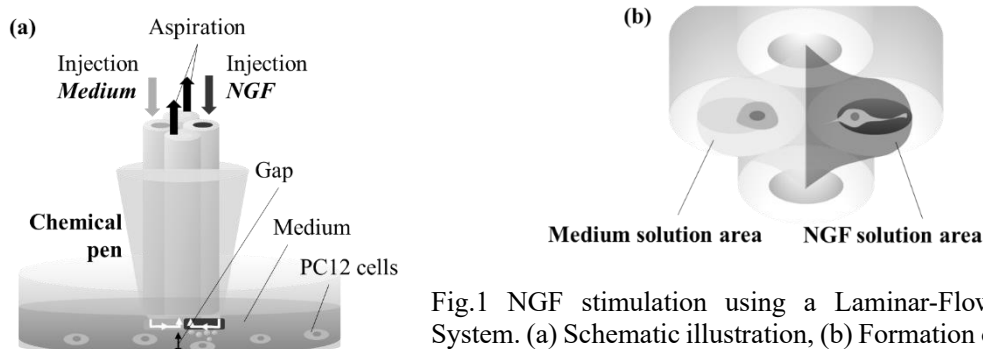


Fig.1 NGF stimulation using a Laminar-Flow Confinement System. (a) Schematic illustration, (b) Formation of solution area.