

フェムト秒レーザーを用いたゼブラフィッシュ胚の 発生初期段階における細胞間機械特性の評価

Evaluation of mechanical properties of zebrafish embryos with a femtosecond laser processing

奈良先端大物質¹, 奈良先端大バイオ², [○]弘永 海人¹, 山田 壮平¹,

別所 康全², 松井 貴輝², 細川 陽一郎¹

Div. Mat. Sci. NAIST¹, Div. Bio. Sci. NAIST², [○]Kaito Hironaga¹, Sohei Yamada¹,

Bessho Yasumasa², Matsui Takaaki², Yoichiro Hosokawa¹

E-mail: hironaga.kaito.hd3@ms.naist.jp

初期発生段階に起こるダイナミックな形態変化は、細胞同士の接着を足場に生まれる張力や圧力などの機械的な力によって駆動される。動物の形態形成を理解するには細胞レベルでの機械的な相互作用を理解し、その要因となる分子や遺伝子の包括的な調査をする必要がある。このような細胞間の機械特性は、これまで細胞接着面をレーザーアブレーションによって切断し、その後の動態を解析することで調べられている。特に、3次元的に高精度に切断位置を制御でき、熱による影響が少ないフェムト秒レーザーは、そのための有効な手段である。我々は、この方法を形態形成に関わる各種分子を阻害処理したゼブラフィッシュ胚に対して適用し、各々の場合における機械特性を解析することで、その制御機構を明らかにしようとしている。

実験試料として、受精から6時間経過したゼブラフィッシュ胚を用い、その胚の細胞骨格や接着に関わる分子を薬剤によって阻害処理した。細胞骨格を形成するアクチン繊維は蛍光標識されており、共焦点顕微鏡により、胚上皮の細胞形状を観察できる。この共焦点顕微鏡により、フェムト秒チタンサファイアレーザー増幅器から出力されるシングルパルス (120 fs, 800 nm, 20 nJ/pulse) を、100 倍の対物レンズ (NA=1.25, oil) で集光し、胚上皮の細胞接着面を切断した。レーザー照射後、切断面の両端を、変位が治まるまで1秒間隔で観察し、変位量や緩和時間により機械特性を解析した。

Fig. 1 に、薬剤により処理をしていないゼブラフィッシュ胚の観察結果を示す。レーザー照射後に、接着面の両端が近づく動態が確認された。過去に研究されたモデル生物であるショウジョウバエ^[1]やツメガエル^[2]は、両端が広がる性質を持っており、ゼブラフィッシュは、それらと異なる特有の性質を持つことが示唆される。発表では形態形成に関わる分子を阻害処理した胚の結果と比較し、その制御機構について議論する。

[1] Fernandez-Gonzalez, R., et al., Dev. Cell 17, 736–743 (2009).

[2] Arnold, Torey R, et al., eLife, 8:e39065, (2019).

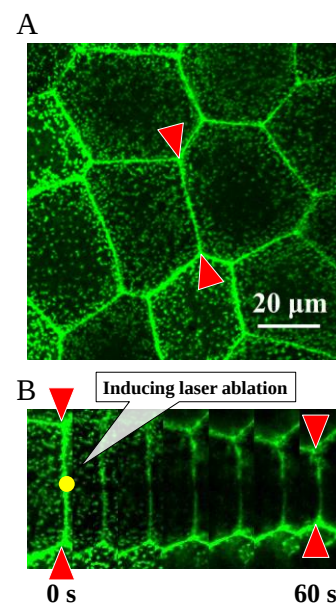


Fig. 1 Confocal images of epidermal cells in zebrafish embryos. The cell-cell adhesion interface arrowed in (A) is enlarged in (B). The temporal evolution of the interface after the laser ablation is shown sequentially from left to right at 10-second intervals.