

課題番号 : F-14-HK-0011
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : 細胞メカニクス計測のための細胞パターンニング基板の開発
Program Title (English) : Development of micro-patterned substrate for cell mechanics
利用者名(日本語) : 岡嶋孝治
Username (English) : T. Okajima
所属名(日本語) : 北海道大学大学院情報科学研究科
Affiliation (English) : Graduate School of Information Science and Technology, Hokkaido University

1. 概要(Summary)

細胞内に存在する細胞核やミトコンドリア等の細胞内小器官は時空間変動をしている。そのダイナミクスは、細胞運動や細胞分裂等の様々な細胞機能と密接に関係していると考えられている。実験系において、細胞内小器官の時空間挙動を測定する場合、細胞全体の運動性を制限して測定する必要がある。そこで、本研究では、細胞内小器官のダイナミクス計測に適した細胞パターンニング基板を作製し、細胞核運動の時間発展を追跡した。

2. 実験(Experimental)

・利用した主な装置

電子ビーム描画装置 ELS-3700、両面マスクアライナー MA-6、スパッタ SPF-210H、EB 加熱・抵抗加熱蒸着装置 EBX-8C

・実験方法

スパッタまたは EB 加熱抵抗加熱蒸着装置を用いて、ガラス基板上に金・クロム蒸着膜を形成し、電子ビーム描画装置により作製したマスク等を用いて、両面マスクアライナーおよびその後のエッチング処理によりマイクロパターン基板を作製した。作製したマイクロパターン基板は、多数の細胞が独立に培養できるサイズになっており、細胞の運動性を制限しながら、細胞内小器官の運動観察が可能である。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

細胞の接着領域と形状が異なるマイクロパターン基板を作製し、細胞の形状が長時間一定で、細胞計測に最適なサイズを決定した。また、形状は、点对称の円形と線対称の正方形を用いた。細胞には、マウス線維芽細胞を用いた。本実験では、特に、細胞核の運動性に着目した計測を中心に行った(Fig. 1)。その結果、細胞核の並進運

動が自由拡散運動から大きくずれること、また、その並進運動が細胞骨格の1つであるアクチン繊維構造と密接に関係していることを明らかにした。

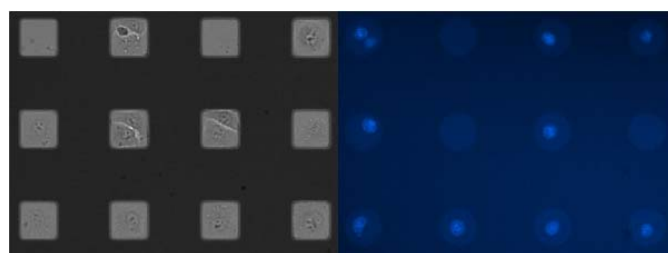


Fig. 1 Phase contrast image (left) and fluorescent image (right) of cell nucleus of cells cultured on developed micro-patterned substrate in physiological conditions.

4. その他・特記事項(Others)

・参考文献

- (1) R.Takahashi, S. Ichikawa, A. Subagyo, K. Sueoka, and T. Okajima*, Atomic force microscopy measurements of mechanical properties of single cells patterned by microcontact printing, *Advanced Robotics* 28, 449-455(2014)
- (2) K. Kuribayashi-Shigetomi, R. Takahashi, A. Subagyo, K. Sueoka, T. Okajima, High-throughput measurements of single cell rheology by atomic force microscopy (Bio-assembler (tentative) Chapter 4, Springer)in press

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

- (1) 朱キン峰, 繁富(栗林)香織, 蔡萍根, スバギョ・アグス, 末岡和久, 岡嶋孝治, マイクロパターン上に培養した単一細胞の細胞核の動態, (第 52 回日本生物物理学会年会, 2014.9.25-27,札幌)

(2) R. Tanaka*, J. Kikkawa, Y. Fujii, K. Kuribayashi-Shigetomi, A. Subagyo, K. Sueoka, T. Okajima, Atomic force microscopy for mapping mechanical property of whole cell assembly (25th 2014 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science, Nov 9-12, Nagoya)

(3) R. Takahashi*, K. Kuribayashi-Shigetomi, A. Subagyo, K. Sueoka, T. Okajima, Quantitative rheological measurements of confluent cell using atomic force microscopy (25th 2014 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science, Nov 9-12, Nagoya)

(4) P.G. Cai*, R. Takahashi, K. Kuribayashi-Shigetomi, A. Subagyo, K. Sueoka, T. Okajima, Temporal and Spatial Variations of Single Cell Rheology Investigated by Atomic Force Microscopy (25th 2014 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science, Nov 9-12, Nagoya)

(5) 高橋亮輔*, 繁富(栗林)香織、スバギョ・アグス、末岡和久、岡嶋孝治, 多重周波数モジュレーション原子間力顕微鏡: 単一細胞レオロジーの高速測定 (第52回日本生物物理学会年会, 2014.9.25-27, 札幌)

6. 関連特許 (Patent)

なし