

課題番号 : F-20-HK-0008
利用形態 : 共同研究
利用課題名(日本語) : 1 細胞・多細胞計測用のマイクロ加工基板の作製
Program Title (English) : Fabrication of micro-fabricated substrates for the measurement of single and multiple cells
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院
Affiliation (English) : Graduate School of Information Science and Technology, Hokkaido University
キーワード/Keyword : 形状・形態観察、接着細胞、力学計測

1. 概要(Summary)

細胞の力学物性は、その生物学的機能と密接に関係している。したがって、細胞物性の精密計測は、細胞機能の解明に欠かせない。これまで、細胞周期が細胞力学物性と関係することが報告されてきたが、細胞弾性率との関係は不明な点が多い。本課題では、マイクロ加工基板を用いて細胞の形状を人為的に制御し、細胞周期に対して細胞の弾性率がどのような影響をもつのかを1細胞レベルおよび多細胞レベルで調べることを目的とした。細胞の力学物性の計測には、原子間力顕微鏡法(AFM)を用いた。

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 MA-6、スパッタ装置 SSP3000Plus、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およびその後のエッチング処理により金蒸着のマイクロパターン基板を作製した。

マイクロパターン基板上に自己組織化膜および接着タンパク質をコートし、その基板に細胞周期に依存して蛍光が変化する NMuMG-Fucci 細胞(RIKEN)を用いた。8時間の培養後、1つのパターンに単数または複数の細胞が接着している。その細胞の弾性率を正立型光学顕微鏡に設置した AFM を用いて、応力緩和測定を行った。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

細胞をパターン化することにより、全ての細胞に対して、

細胞内の同じ位置で AFM 測定を行うことができ、測定データの定量化が可能になった。本実験では、30 μ m 四方のパターンを用いた。1細胞の細胞周期 G1 期と S/G2 期とを蛍光観察により同定し、それらの細胞の緩和弾性率を AFM で測定した。その結果、これらの細胞期に対する緩和弾性率に有意な差は見られなかった。また、1つのパターンに細胞が複数接着し細胞間接着を形成している多細胞系の力学特性についても、特徴的な細胞周期依存性は見られなかった。

上記のように、細胞の緩和弾性率に細胞周期依存性が存在しない理由として、(1)細胞周期によって細胞の力学特性は変化しない、(2)パターン化したことにより細胞周期に依存する細胞力学特性の変化が観察されなくなった、(3)細胞の力学特性の変化は微小であり、サンプルサイズが十分でない、ことが考えられる。これらについて今後も検討していく予定である。

4. その他・特記事項(Others)

・共同研究者

末岡和久教授:北海道大学大学院情報科学研究院

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

・岡嶋孝治、AFM による細胞・組織の力学情報の定量化、2020 年第 81 回応用物理学会秋季学術講演会・多次元計測技術とデータサイエンスの融合によるバイオイメージング・センシング技術の進展(オンライン、2020.9.9)

6. 関連特許(Patent)

なし。