

課題番号 : F-20-KT-0087
 利用形態 : 機器利用
 利用課題名(日本語) : 細胞の機能解析
 Program Title (English) : Functional analysis of cells
 利用者名(日本語) : 竜瑞之, 稲田太一
 Username (English) : M. Ryu, T. Inada
 所属名(日本語) : サラヤ株式会社
 Affiliation (English) : SARAYA Co., Ltd
 キーワード/Keyword : 形状・形態観察、共焦点レーザー顕微鏡、コラーゲン

1. 概要(Summary)

抽出したコラーゲンの足場材料としての機能を評価するために、細胞接着に関与する因子の蛍光標識を行い、共焦点レーザー顕微鏡を用いて細胞内局在解析を実施した。

抽出コラーゲンで培養した細胞では伸展が見られており、その中でアクチンは細胞全体に分布していた。また、Rac1は周縁部に局在している様子が観察された。一方でネイティブコラーゲンおよび未処理区では伸展はほとんど見られず、アクチン、Rac1ともに細胞の周縁部に局在している様子が観察された。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

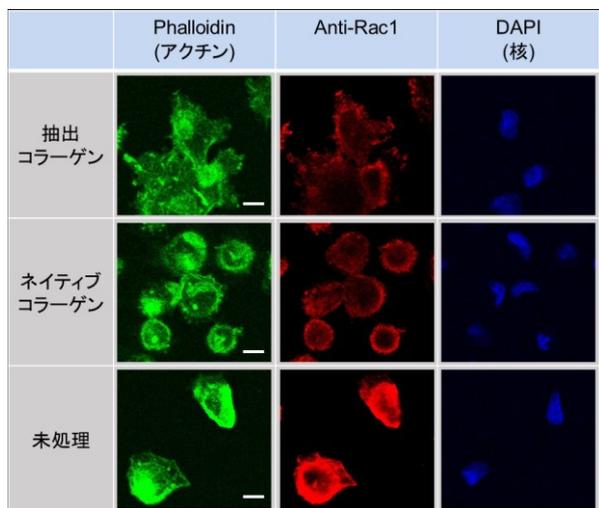
共焦点レーザー走査型顕微鏡

【実験方法】

抽出コラーゲンおよびネイティブコラーゲンをコーティングしたカバーガラス上で線維芽細胞を 30 分間培養した。細胞を 3.7% ホルムアルデヒド固定液、0.5% Triton-X-100 透過液の順で処理後、蛍光試薬を用いてアクチン細胞骨格、Rac1、核を蛍光標識した。サンプルを共焦点レーザー顕微鏡で観察し、標的タンパク質の細胞内局在を解析した。

周縁部へのアクチンおよび Rac1 の集積は細胞が伸展する際に見られることから、30 分の培養において抽出コラーゲンではすでに伸展の過程が完了していることが示唆された。ネイティブコラーゲンおよび未処理区では 30 分以降で接着と伸展過程が生じることが予想される。コラーゲン上での培養時間を検討することでより詳細なメカニズムを明らかにできるものと考えられる。

3. 結果と考察(Results and Discussion)



4. その他・特記事項(Others)

なし。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation)

なし。

6. 関連特許(Patent)

なし。

Fig. 1 Immunofluorescence staining for actin and Rac1 in fibroblasts.