

課題番号 : F-21-KT-0053
利用形態 : 機器利用
利用課題名(日本語) : 培養細胞の力学特性測定
Program Title (English) : Force measurement of cultured animal cells
利用者名(日本語) : 吉村成弘、Jiang Zixian
Username (English) : S.H. Yoshimura, J. Zixian
所属名(日本語) : 京都大学大学院生命科学研究科
Affiliation (English) : Graduate School of Biostudies, Kyoto University
キーワード/Keyword : 形状・形態観察、力学測定、心筋細胞、バイオ&ライフサイエンス

1. 概要(Summary)

培養細胞や動物組織から取り出した細胞の核の硬さを原子間力顕微鏡を用いて計測し、野生株と変異株とで比較解析をおこなう。細胞はシャーレ底に接着培養し、培養液中でフォースカーブを取得する。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

走査型プローブ顕微鏡システム

【実験方法】

正常マウスおよびトランスジェニックマウスから摘出した心筋細胞を培養皿に播種し、光学顕微鏡で観察する。トランスジェニックに関しては、蛍光タンパク質(mCherry)が発現しているので、蛍光観察も行う。タンパク質の発現を確認した後に、原子間力顕微鏡を用いて細胞の力学測定を行う。これには、直径 $5\ \mu\text{m}$ のコロイドが先端に付いたカンチレバープローブ (sQube 社製, CP-CONT-BSG-A-5, バネ定数 $0.2\ \text{N/m}$) を使用する。核の上部やそれ以外の場所にもアプローチすることで、細胞の硬さのマッピングをおこなう。得られたフォースカーブからヤング率をもとめ、正常とトランスジェニックとの間で比較する。また、*in vivo* イメージングで核の変形過程を撮影し、そこから求められる核の硬さと、力測定で求められるヤング率から、核の力学性質を総合的に評価する。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

マウスの心臓を摘出し、collagenase で処理することで心筋細胞をバラバラに分離し、 $30\ \text{mm}$ のガラスボトムディッシュに播種した。まず、蛍光顕微鏡による観察で、トランスジェニック細胞での蛍光タンパク質の発現を確認した。この時、細胞核の位置を確認した。引き続き、コロイダル

プローブにより、力測定をおこなった。カンチレバーを原子間力顕微鏡のヘッドに装着し、細胞核の真上と、それ以外の場所で、それぞれフォースカーブを 20 回取得した。野生型と変異型、それぞれについて 10 細胞以上でデータを取得することに成功した。得られたフォースカーブからヤング率を求めたところ、野生型と変異型とで優位な差が見られた。現在、さらに解析を進めているところである。

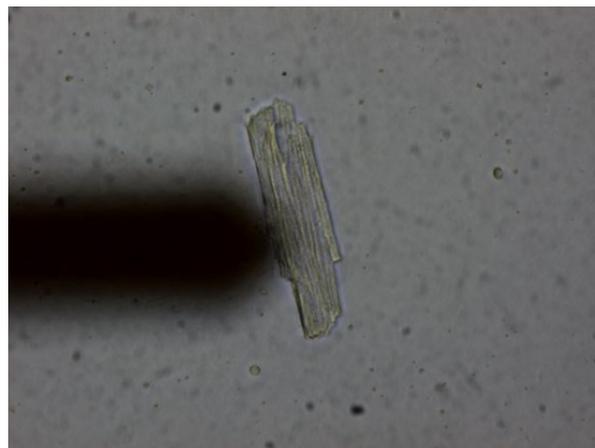


Figure 1 A light microscope image of a cardiac cell and a cantilever.

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