

## A03 プローブ顕微鏡による細胞間力学的相互作用の時空間揺らぎの研究

北海道大学大学院情報科学研究科 岡嶋孝治

北海道大学大学院情報科学研究科 末岡和久

### はじめに

細胞に働く力学的相互作用は、細胞システムの構造・機能の安定性に決定的な役割をする。多数の細胞からなる細胞システムに内在する時空間揺らぎを実験的に抽出するためには、個々の細胞の揺らぎを精密に計測し、その物性を理解することがまず必要である。単一細胞の複素弾性率において、その貯蔵弾性率およびその揺らぎ（偏差）の定量化は既に可能となった [1,2]。しかし、これまで細胞内局所領域の細胞レオロジーの精密計測は困難であり、これが細胞の時空間揺らぎ計測の主な律速になっていた。本研究では、多重周波数プローブ顕微鏡技術による細胞レオロジーの空間揺らぎ計測 [3]および細胞膜揺らぎ計測[4]が可能なイオンコンダクタンス顕微鏡を用いた細胞形態の時間発展測定[5]を行った。

### 多重周波数フォースモジュレーション法を用いた細胞内構造の揺らぎ計測

図1に、本研究で用いた原子間力顕微鏡（AFM）を用いた多重周波数フォースモジュレーション法を示す[3]。これまでも、単一周波数を用いたフォースモジュレーション法は、様々なソフトマターの力学計測に広く用いられている。しかし、既存のフォースモジュレーション法は、力学特性の周波数特性を計測することができなかった、または、弾性率の周波数特性を測定しようとする、極めて長時間の計測が必要になり、細胞のようなアクティブなサンプルには適用不能であった。この問題を解決した多重周波数フォースモジュレーション法は、複数の周波数を用いて AFM カンチレバーを振動させて、各周波数の細胞レオロジー応答を高速に計測することが可能である。細胞内の局所領域の複素弾性率の周波数特性をマッピングし細胞内の力学構造の揺らぎを計測することが可能になる。

図1 多重周波数フォースモジュレーション法の概念図。複数個（ $n$ 個）の周波数信号を重畳した励振信号をカンチレバーに印加し、1回の押し込み測定における細胞変形の周波数応答を多重ロックインアンプより検波し、その測定点における細胞の複素弾性率の周波数特性を測定する。

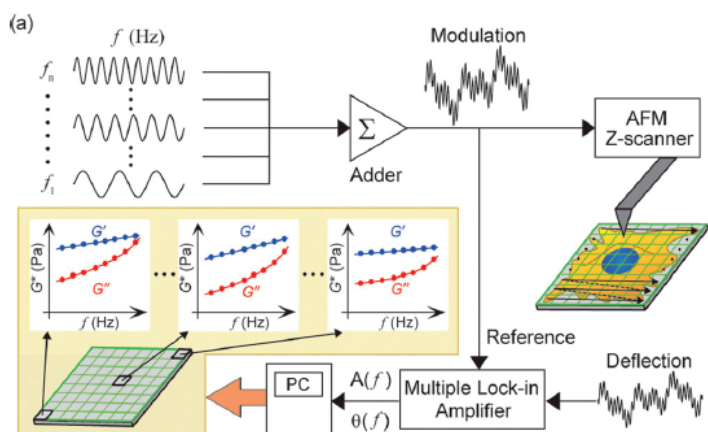
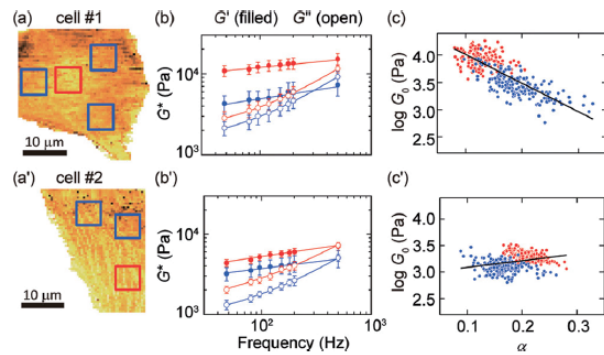


図2は、2つの単一細胞（マウス線維芽細胞、NIH3T3細胞）内のレオロジー特性を示している。細胞内においても、細胞レオロジーのべき乗則が満足することが分かる（図2bとb'）。一方で、過去の細胞アンサンブル測定 [1]から分かっていた、細胞のべき乗レオロジーの冪指数と弾性率との間に存在する普遍関係は必ずしも単一細胞では成り立たないことが分かった。

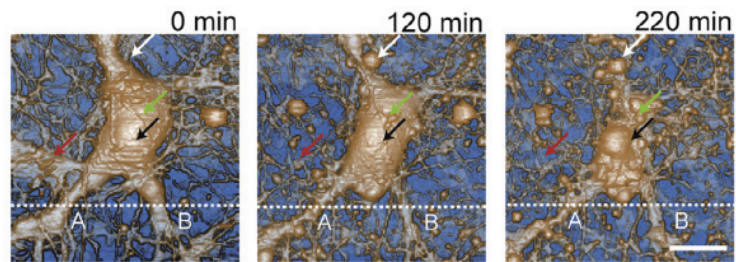
図2 2個の単一細胞（aとa'）の空間平均の複素弾性率（貯蔵弾性率  $G'$  と損失弾性率  $G''$ ）（bとb'）。赤色と青色はそれぞれの領域に対応している。曲線はべき乗レオロジー則[1]でフィットした結果を示す。弾性率  $G_0$  (1Hz) と冪指数  $\alpha$  との関係（cとc'）において直線はフィットした曲線を示す。細胞集団において、反比例の関係を示すことが知られている。



### イオンコンダクタンス顕微鏡による細胞形態の時間発展測定

細胞膜揺らぎを計測可能なイオンコンダクタンス顕微鏡[4]を用いて生細胞形状イメージングが極めて難しい神経細胞のタイムラプスイメージングに成功した[5]。ホスファチジルセリン転座前後の神経細胞のブレビングのイメージングに成功した（図3）。さらに、SICMの神経細胞のタイムラプスイメージングから、神経細胞の細胞形態と細胞機能との間の関係を明らかにした[5]。

図3 イオンコンダクタンス顕微鏡によるホスファチジルセリン転座の前後の生きた神経細胞のタイムラプスイメージング。矢印はブレビングの生成を示す。



### まとめ

AFMに基づく多重周波数フォースモジュレーション法を用いて細胞内の局所構造の空間分布の計測に成功した。そして、多重周波数フォースモジュレーション AFM法を用いて、細胞間力学的相互作用が支配的なコンフルエント細胞の細胞レオロジーの空間計測が可能になってきた（論文投稿中）。また、SICMを用いて神経細胞の細胞形態の時間発展計測に成功した。上記の成果より、ex vivo組織の細胞力学の時空間揺らぎ計測を行う技術に発展中である。

### 参考文献:

- (1) P.G. Cai, Y. Mizutani, M. Tsuchiya, J. M. Maloney, B. Fabry, K. J. Van Vliet, T. Okajima, *Biophysical Journal* **105**, 1093 (2013).
- (2) P.G. Cai, T. Okajima, *Japanese Journal of Applied Physics* **54**, 037001 (2015).
- (3) R. Takahashi, T. Okajima, *Applied Physics Letters* **107**, 173702 (2015).
- (4) Y. Mizutani, M.-H. Choi, S.-J. Cho, T. Okajima, *Applied Physics Letters* **102**, 173703 (2013).
- (5) A. Tanaka, R. Tanaka, N. Kasai, S. Tsukada, T. Okajima, K. Sumitomo, *Journal of Structural Biology* **191**, 32–38 (2015).