

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

| | | | | | |
|--|---------|--|---------|-------------|-------------|
| 研究テーマ (和文) AB | | 非平衡度を制御した人工細胞の力学・代謝応答調節機構の解明 | | | |
| 研究テーマ (欧文) AZ | | Mechanical and physiological response of nonequilibrium artificial cells | | | |
| 研究氏代表名者 | カナ字 CC | 姓) | 名) | 研究期間 B | 2007～2008 年 |
| | 漢字 CB | 水野 | 大介 | 報告年度 YR | 2009 年 |
| | ローマ字 CZ | Mizuno | Daisuke | 研究機関名 | 九州大学 |
| 研究代表者 CD 所属機関・職名 | | | | | |
| 概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。) | | | | | |
| <p>本研究の目標は、培養細胞の力学知覚活動(力学刺激に対する生理的・代謝的応答)と、細胞の活動度(非平衡度)の間連性を定量的に計測することで、両者を結びつける非平衡(生物)物理を構築するための基礎的知見を得ることである。</p> <p>1) (人工)細胞に力学刺激を加えつつその力学特機能および生理的応答の変化を検出することができる計測システムの開発を行った。本システムは AFM および光トラップを利用してバイオリクターに力学刺激を加えつつ、マイクロレオロジーと呼ばれる手法を用いて細胞の非平衡力学特性(力生成および粘弾性の周波数スペクトル)の変化を検出し、また、蛍光計測により生理的応答を検出するものである。</p> <p>2) 開発したシステムの性能を評価するために、力学刺激を感知することが既知である細胞(骨細胞様細胞株: MLO-Y4)の力学機能の試験を行った。力学刺激に対して MLO-Y4 が一酸化窒素(NO)を放出する様子を蛍光観察した。NO は力学知覚に関わる重要なセカンドメッセンジャーであるため、本手法は(人工)細胞による力学知覚の検出に使用できることが明らかとなった。</p> <p>3) 2)で使用した蛍光指示薬 DAR-4M は細胞内に取り込まれた後、NOと結合してトリアゾール化合物となり、発色する。DAR-4M がNOと結合して生成されるトリアゾール化合物は極めて安定であり、実質的にNOは再脱離しない。従ってNO指示薬で標識された細胞の蛍光強度 f は一定濃度のNO存在下で指数関数的にある一定値 f_{max} に向かって飽和する; $f = f_{max} \{1 - \exp(-\gamma[NO]t)\}$。この場合、NO濃度(以下[NO])は、蛍光強度の相対的な時間変化率に比例する(厳密には $[NO] = -1/\gamma \cdot d \ln(f_{max} - f) / dt$)。これにより、細胞内蛍光強度の時間変化から、骨細胞ネットワークの各部位におけるNO濃度の経時変化を秒単位で観測した。</p> | | | | | |
| キーワード FA | 非平衡 | 力学応答 | 力学知覚 | セカンドメッセンジャー | |

(以下は記入しないでください。)

| | | | | | | | | | | | | | |
|------------|--|--|--|--|-----------|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 助成財団コード TA | | | | | 研究課題番号 AA | | | | | | | | |
| 研究機関番号 AC | | | | | シート番号 | | | | | | | | |

| 発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。） | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|---------|---|--------|--|--|--|--|---------|--|
| 雑誌 | 論文標題 GB | | | | | | | | |
| | 著者名 GA | | 雑誌名 GC | | | | | | |
| | ページ GF | ～ | 発行年 GE | | | | | 巻号 GD | |
| 雑誌 | 論文標題 GB | | | | | | | | |
| | 著者名 GA | | 雑誌名 GC | | | | | | |
| | ページ GF | ～ | 発行年 GE | | | | | 巻号 GD | |
| 雑誌 | 論文標題 GB | | | | | | | | |
| | 著者名 GA | | 雑誌名 GC | | | | | | |
| | ページ GF | ～ | 発行年 GE | | | | | 巻号 GD | |
| 図書 | 著者名 HA | | | | | | | | |
| | 書名 HC | | | | | | | | |
| | 出版者 HB | | 発行年 HD | | | | | 総ページ HE | |
| 図書 | 著者名 HA | | | | | | | | |
| | 書名 HC | | | | | | | | |
| | 出版者 HB | | 発行年 HD | | | | | 総ページ HE | |

欧文概要 EZ

1) It is known that cells can sense the externally applied force and also probe mechanical properties of outside world. It is likely that they do this by actively exerting force to surrounding matrices and react with chemical signals. These processes collectively referred to as mechanosensing play critical role for cell migration, proliferation, differentiation etc. Thus cell mechanics, force generation and mechano-sensing has elicited large interest from industry, as well as science field, such as tissue engineering, drug delivery and regenerative medicine.

However, understanding of exact and quantitative mechanism of mechano-sensing/cell mechanics requires breakthroughs/advances in both experimental and theoretical physics. That is partly because active force generation inherently drives cells far from equilibrium, where a direct and intimate connection between forces and mechanics are expected.

In this study, we develop an experimental system to accurately probe the cellular traction force of mechano-sensitive cells with controlled morphology. Our approach (simultaneous active/passive microrheology) and definition of active cellular force depend on the extension of fluctuation-dissipation theorem, one of the most fundamental principles for equilibrium systems, into nonequilibrium. This approach allowed us access to the physical mechanism for the transmission of intracellularly generated force into mechano-sensors.

Based on the quantitative observation reported here, we propose that cells explore the mechanical property of surroundings by using their own stiffness as reference.

2)

Nitric oxide (NO) has recently found to have key signaling functions in and between cells, particularly in higher organisms. One example we are interested in is load-controlled remodeling of bone structure, which is effected by mechanosensitive osteocytes communicating via NO to other cells. Measuring NO production on the level of cells is a pivotal step to understand these complex regulatory systems. It has, however, been difficult until now to monitor NO production on the cellular level, mainly because of the highly reactive character of NO. In this study, we demonstrate a fluorescence-based method to quantify the spatio-temporal distribution of intracellular NO in mechanically stimulated osteocyte-like cells.