

| | |
|--------------|--|
| Title | An AFM study of cell surface mechanics and its correlation with cell physiology and cytoskeleton |
| Author(s) | Seyed, Mohammad Ali Haghparast |
| Citation | 大阪大学, 2012, 博士論文 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/24734 |
| rights | |
| Note | |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

| | |
|------------|--|
| 氏名 | ハグバラスト セイェド モハンマド アリ HAGHPARAST SEYED MOHAMMAD ALI |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士 (工学) |
| 学位記番号 | 第 25684 号 |
| 学位授与年月日 | 平成24年9月25日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科機能創成専攻 |
| 学位論文名 | An AFM study of cell surface mechanics and its correlation with cell physiology and cytoskeleton (原子間力顕微鏡を用いた細胞の機械特性の計測と細胞機能及び細胞骨格との関連性についての研究) |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 三宅 淳 (副査) 教授 荒木 勉 教授 和田 成生 教授 大竹 久夫 |

論文内容の要旨

Distinct mechanical properties of each cell are now regarded as novel biomarkers. These properties which denote cell state, function and fate are regulated by cytoskeleton. The main components of the cytoskeleton are actin filaments (F-actin). They are bundled and crosslinked by actin-binding proteins into higher-order types of actin networks and structures such as 'stress fibers, filopodia, lamellipodia, cortical actin, basal actin and perinuclear actin cap which together are referred to as actin cytoskeleton. These biopolymer microstructures dynamically contribute to cellular mechanics and processes under different physiological conditions.

In fact cells sense and respond to forces in the environment through organizing diverse actin microstructures according to their functional demands. Such polymorphism in F-actin organization requires spatial and temporal variations in actin cytoskeleton architecture and results in heterogeneity of mechanical properties across cell surface. Therefore the key cytoskeletal determinants for cell mechanics and morphology probably vary across different cells, and it is essential to determine the dominant actin cytoskeleton assemblies which provide mechanical properties and specific morphology in each cell type and state.

Several techniques have been successfully employed to study cell mechanical properties, including micropipette aspiration, magnetic twisting cytometry, optical traps, and atomic force microscopy (AFM). In particular, AFM can be used to analyze live cells and to investigate their mechanical properties in physiological conditions in a relatively non-destructive manner. A common experimental strategy in studying the cell mechanics with cytoskeleton involvement is to combine AFM with Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM) and actin cytoskeleton modifying drugs which rendering a comprehensive mechano-structural overview of the cells.

The work contained in this thesis focuses on detailed mechanical and cytoskeletal characterization of normal and cancer cell types under both adherent and suspended states, and clarifies the alterations of actin cytoskeleton and elastic modulus during cell cycle. It also provides better insights into the possible links between actin cytoskeleton structures, mechanical features and physiological states of the cells. In addition development of a virtual reality system for displaying the mechanical properties of diverse cells

and broad distribution of elastic values is explained. The presented findings are expected to have prime implications for biomedicine, biotechnology and biomechanics.

論文審査の結果の要旨

細胞はアクチン分子などによる細胞内骨格を形成することで形を保ち、特定の機能を実現している、しかし、これまで細胞の持つ状態・形態の多様さ、評価の困難さ等が、計測と理解を困難にしていた。

ハグバラスト セイェド モハンマド アリ君の研究は、力学特性の観点から細胞機能の総合的な理解に資することを目的とし、新たな方法の開発と幾つかの重要な細胞の評価を行ったものである。本研究における力学特性測定には、非破壊で直接測定可能な原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscopy; AFM) を用いた。細胞の力学的特性を定量的に表現する方法を確立したことで、機能と構造の相関や細胞種間の比較検討を可能にしたものである。

同君はAFMによって細胞を対象としてもピコニュートンレベルでの測定が確実に実行可能であることを示し、多数の測定を行って再現性を確かめた上で、力学的特性をヤング率として表現することで細胞の特性を評価可能であることを実験的に示した。

細胞の取り扱いとして固定系や浮遊系を検討したが、常に正常細胞に比べてがん細胞は柔らかく、幹細胞は硬いことが見いだされた (ヤング率としてそれぞれ一桁以上異なる)。より詳細な検討として、間葉系幹細胞を用いた実験で、正常な細胞では、高度に発達した核周囲のアクチン・キャップが高い表面張力を生成することで、細胞の高さが低くヤング率が高くなる傾向があり、対照的に、ストレス・ファイバーの形成を阻害した細胞では、ヤング率が低くなることを見だし、上記細胞種のヤング率の違いが、細胞内分子の存在様式と矛盾なく説明されうることを明らかにした。即ち、細胞の内部の分子状態を力学的に評価することができること、その結果が、よりマクロな細胞機能と結び付けることのできることを示されたことで、これまで計測困難であった特性の評価が可能となった。

本研究では、がん細胞や再生医療等で用いられる幹細胞などに関してその特性の理解を深め、細胞の評価・解析における力学特性の重要性が示されたことで、疾病の診断や安全性の確保に重要な知見を与えたと考えられる。当該研究・技術の発展が、将来的に細胞特性の詳細説明や医療分野へ繋がっていくと期待されることから、博士 (工学) の学位論文として価値のあるものと認める。