

連続誘電測定によるミドリムシの細胞動態の解析

福泉 翔¹, 榎本 淑恵¹, 枝松 緑¹, 洲崎 敏伸², 安藤 元紀¹
 (¹岡山大・院教育・細胞生理, ²神戸大・院理・生物)

Continuous dielectric measurement system for monitoring cell-shape dynamics in the flagellate *Euglena gracilis*

Sho FUKUIZUMI¹, Toshie ENOMOTO¹, Midori EDAMATSU¹, Toshinobu SUZAKI² and Motonori ANDO¹ (¹Lab. Cell Physiol., Grad. Sch. Edu., Okayama Univ., ²Dept. Biol., Grad. Sch. Sci., Kobe Univ.)

SUMMARY

Dielectric monitoring is a non-invasive technique that can characterize the passive electrical properties of biological cells and tissues. The present study was undertaken to examine whether dielectric measurements can be used to report on cell-shape dynamics in real time in the flagellate *Euglena gracilis*. *Euglena* cells were subjected to alternating conditions (control 'rod-shaped' and mechanically-induced 'spherical-shaped'), and the cell suspensions (volume fraction, 6%) were allowed to flow through an impedance-measurement cell. Data acquisition was completed within 0.3 s for each frequency point. When examined over the range 1 kHz to 100 MHz, low-frequency relative permittivity was found to be a suitable measure of *Euglena* cell-shape change. The relative permittivity at 10 kHz stayed at ~3000 for the rod-shaped cell suspension, but it declined to ~2000 for the spherical-shaped one. The electrical method presented here appears to be applicable for describing cell-shape dynamics in real time.

【目的】我々は昨年の本大会において、誘電解析法によりミドリムシの細胞動態を電気的パラメータの変化として捉えることが可能であることを報告した¹⁾。本研究では、連続測定可能な誘電測定システムを開発することを目的として、流動型測定セルを考案し細胞の形態変化に対応した誘電パラメータの実時間測定を試みた。

【材料と方法】ミドリムシ (*Euglena gracilis*) は、無菌培養開始後7日目を用いた。細胞の体積分率を高めるために、マイクロフィルター濾過法により細胞懸濁液の濃縮を行った。測定セルは平行板コンデンサー型で、電極分極を軽減させるため白金黒を被覆した一対の白金電極とアクリルパイプから構成され、セルの内容量は576 μ lとした。測定にはYHP社(現 Agilent 社)インピーダンスアナライザー(4294A)を用いた。細胞懸濁液は、流動型測定セル上部の送出入用のチューブを介して微量ポンプにより、流速2 ml/minで送入了。測定用セルに流入する手前30 cmのチューブに機械的振動装置を接触させ、2分間隔で30秒間の機械的刺激を加えた。インピーダンス測定は10秒間隔でおこなった。非刺激時(棒状)と刺激時(球状)の細胞懸濁液が測定セルに交互に流入することになる。

【結果と考察】昨年発表より、ミドリムシ懸濁液は少なくとも2つの誘電分散からなることが判明した。

全体の誘電分散を低周波側と高周波側の2つの分散に分離し、低周波側の分散を分散1、高周波側の分散を分散2とすると、細胞の形態変化に応じて分散1が減少し、分散2が増大することがわかった。特に、分散1の誘電率の差は顕著であり、連続誘電測定に適用可能な電気的パラメータの一つになり得ることが分かった。低周波側の誘電率の差が極大となる10 kHzを連続誘電測定に使用する周波数とした。流動する細胞懸濁液に対する誘電率と導電率の変化を調べた。2分おきに入力される機械的刺激に対応して誘電率が増減することが確認された。細胞の球形化によりその誘電率が減少することから、測定セル内の棒状細胞と球状細胞の体積分率の比に応じて、誘電率が増減していると推測された。

新たに開発された連続誘電測定システムにより細胞動態を実時間でモニター可能であった。低周波側の誘電率は細胞の形態変化に強く依存し、経時的モニタリングを行う際の適切な指標の一つになると考えられた。今後は、ミドリムシ細胞分散系に有害物質を含む試験水を混合する流動型測定セルを考案し、本システムが水質モニターの一次スクリーニングとして有用であるかを検討する。

【文献】

1) Fukuizumi S. et al., 2008, Jpn. J. Protozool., 41:55-57.