プラズマ活性培養液中の HeLa 細胞の動的観察

Dynamic Behavior of Mammalian (HeLa) Cells in Plasma-Activated Medium

○古田 凌 [1]、橋爪 博司 [1]、石川 健治 [1]、田中 宏昌 [1]、竹田 圭吾 [1]、
太田 貴之 [2]、近藤 博基 [1]、伊藤 昌文 [2]、関根 誠 [1]、堀 勝 [1](1. 名大院工 2. 名城大)
°Ryo Furuta[1], Hiroshi Hashizume[1], Kenji Ishikawa[1], Hiromasa Tanaka[1], Keigo Takeda[1],
Takayuki Ohta[2], Hiroki Kondo[1], Masafumi Ito[2], Makoto Sekine[1] and Masaru Hori[1]
(1.Nagoya Univ. 2.Meijo Univ.)
E-mail: furuta.ryou@j.mbox.nagoya-u.ac.jp

はじめに　近年、非平衡大気圧プラズマ（NEAPP）のバイオ医療応用が盛んに研究されている。我々は、プラズマ照射した溶液内で出芽酵母の細胞死に至る過程で生じる細胞膜や細胞内器官の変化をマルチプレックスコヒーレントアンチストークスラマン散乱（CARS）顕微鏡で解析してきた[1]。今回、NEAPP を培養液に照射したプラズマ活性培養液（PAM）によるがん細胞の選択的殺傷効果の報告[2,3]に注目し、PAM と子宮頸がん細胞（HeLa 細胞）との相互反応メカニズムの解明に向け、PAM が HeLa 細胞にアポトーシスを誘導する機序について調べたので報告する。

実験方法　8 ml の細胞培養液（DMEM）に、大気圧 Ar プラズマ（60 Hz, 9 kV, 2 slm）を照射距離 3 mm として 5 分間照射した後、DMEM で希釈し、種々の希釈率の PAM を作成して HeLa 細胞を 24 時間培養した。トリパンブルーや微分干渉（DIC）顕微鏡、アポトーシスマーカー（CellEvent Caspase-3/7 green）と蛍光顕微鏡、CARS 顕微鏡を用いて、HeLa 細胞の細胞生存率やその動的挙動への影響を調べた。

実験結果　図 1 に、PAM の希釈率に対する 24 時間培養後の HeLa 細胞の細胞生存率を示す。希釈率を上げると生存率が上昇し、64 倍希釈 PAM で細胞生存率が約 50 %に達した。図 2 に、48 倍希釈 PAM で培養開始直後と 24 時間培養後の HeLa 細胞について、アポトーシスマーカーの蛍光像と DIC 像を重ね合わせた画像を示す。講演では、アポトーシス誘導をおこす希釈 PAM 内での HeLa 細胞の動的挙動の観察結果を詳細に議論する。

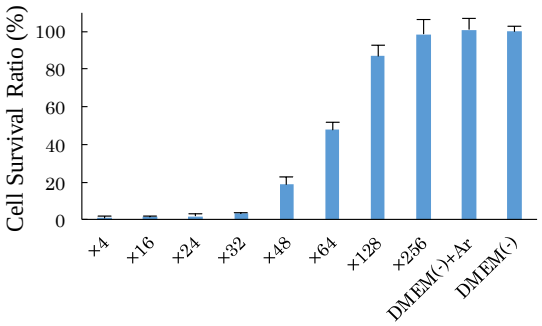

Fig.1 Cell survival ratio of HeLa cells at 24 h after the addition of the diluted PAM.

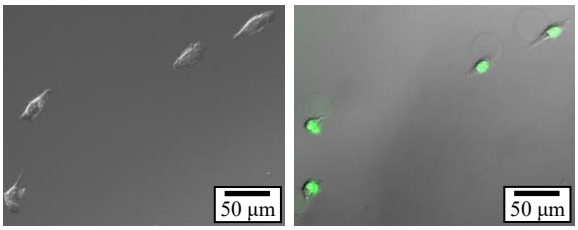

Fig.2 Merged DIC and fluorescence images of HeLa cells observed at 0 h (left) and 24 h (right) elapsed after the addition of PAM (×48 dilution).

謝辞　本研究は KAKENHI の助成を受けた。

参考文献

[1]古田ら、第 62 回春季応物 (2015) 13a-A28-11.
[2]F. Utsumi *et al.*, PLoS one 4 (2013) e81576.
[3]H. Tanaka *et al.*, Plasma Medicine 3 (2013) 265.

© 2016年 応用物理学会