マルチプレックス CARS によるプラズマと細胞の相互作用の観察

Multiplex coherent anti-Stokes Raman analysis of plasma-cells interactions

名古屋大学[1], 名城大学[2]　古田 凌[1], ○石川 健治[1], 橋爪 博司[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]

Nagoya Univ.[1], Meijo Univ.[2] Ryo Furuta[1], ○Kenji Ishikawa[1], Hiroshi Hashizume[1], Hiromasa Tanaka[1], Keigo Takeda[1], Takayuki Ohta[2], Hiroki Kondo[1], Masafumi Ito[2], Makoto Sekine[1], and Masaru Hori[1]

E-mail: ishikawa.kenji@nagoya-u.jp

はじめに　近年、非平衡大気圧プラズマによるがん細胞の選択的殺傷効果の報告がなされ、その作用機序が注目されている[1]。我々はプラズマ照射した溶液内の出芽酵母のマルチプレックス・コヒーレントアンチストークスラマン散乱(CARS)顕微鏡による細胞内分子の非染色解析をしてきた[1]。前回、プラズマ活性培養液（PAM）による子宮頸がん細胞（HeLa 細胞）のマルチプレックス CARS 観察結果について報告した[2]。今回、PAM がアポトーシス誘導した HeLa 細胞について、蛍光ラベル観察と併せて、細胞内分子の振る舞いを調べたので報告する。

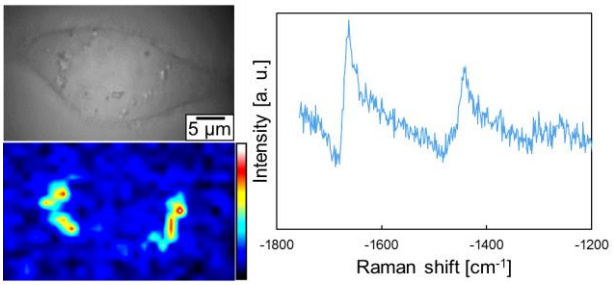

Fig. 1 (upper left) Bright field image of a HeLa cell; (lower left) CARS mapping of the Raman shift at the 1665 cm^{-1}; and (right) CARS spectrum at the point with the strongest intensity in the Raman band at 1665 cm^{-1}.

実験方法　細胞培養液(DMEM)に、大気圧 Ar プラズマ（60 Hz, 9 kV, 2 slm）を照射した後、DMEM で種々の希釈率をもつ PAM を作成して HeLa 細胞を培養した。アポトーシス検出試薬（CellEvent Caspase 3/7 green）、活性酸素（ROS）検出試薬（CM-H_2DCFDA）、脂質／脂質過酸化検出試薬（BODIPY 581/591 C11）と蛍光顕微鏡、並びにマルチプレックス CARS（1064nm, スーパーコンテニューム光レーザー1100～1650 nm）顕微鏡を用いて、HeLa 細胞の動的挙動を調べた。

実験結果　HeLa 細胞の顕微鏡像を図 1 左上に示す。マルチプレックス CARS 顕微鏡による第 3 次の非線形感受率の観測結果（図 1 右）にはリン脂質とトリグリセドに由来する 1665 と 1440cm^{-1} に応答が検出された。1665cm^{-1} の応答強度をマッピングした像を図 1 左下に示す。脂質検出試薬と顕微鏡像から裏付けられるように、細胞内の脂肪滴の非染色マッピングが得られた。この脂肪滴像に着目し、PAM で培養した HeLa 細胞内の脂肪滴の動的挙動の観察を行い、過酸化脂質の総量増加の結果を交え、PAM による細胞内分子の挙動、プラズマと細胞との相互作用を考察する。

謝辞　本研究の一部は科研費（24108002）の支援を受けた。

参考文献　[1] F. Utsumi *et al.*, PLoS ONE **4** (2013) e81576; H. Tanaka *et al.*, Plasma Medicine **3** (2013) 265.　[2] 古田ら、第 62 回春季応物 (2015) 13a-A28-11; R. Furuta *et al*, under review.　[3] 古田ら、第 63 回春季応物 (2016) 21a-W621-8.

© 2017年 応用物理学会