

プローブ顕微鏡によるプラズマ照射下の細胞膜形状変化の評価

Elucidation of cell surface topography with plasma irradiation by scanning probe microscopy

金沢大・ナノ生命¹、金沢大・WPI-NanoLSI²、名城大³,

○(M1) ゲンジャハン¹、スンリンハオ²、北崎 竜也、熊谷 慎也³、渡邊 信嗣²

Grad. Sch. Nano Life Sci., Kanazawa Univ.¹, WPI-NanoLSI, Kanazawa Univ.², Meijou Univ.³

○(M1) Han Gia Nguyen¹, Linhao Sun, Tatsuya Kitazaki³, Shinya Kumagai³, Shinji Watanabe²

E-mail: han.nguyengia@stu.kanazawa-u.ac.jp

細胞への高効率な物質導入は生命科学において強く望まれている技術である。近年、非平衡大気圧プラズマを用いた細胞への高効率な物質導入手法が報告され注目を集めている。しかし、その導入メカニズムは未解明な点が多く、プラズマを用いた遺伝子やタンパク質の導入制御に向けて導入メカニズムの解明が待たれている。我々はプラズマ照射によって細胞膜にどのような変化が生じているのか明らかにするために、これまでに、蛍光色素を利用してプラズマ照射による物質導入量の違いを調べ[1]、プラズマ照射後における細胞膜の電子顕微鏡 (SEM) 観察[2]を行ってきた。プラズマ照射により細胞膜に数 10 nm 程度の微細孔が多数形成され、それらが十数時間にわたって保持されていることを示唆する結果が得られている。本研究では SEM 観察の前処理 (凍結乾燥) に伴う細胞膜への損傷の影響を低減し、プラズマ照射により形成される微細孔の形状と物質導入量の関係をより詳細に調べることを目的とし、溶液環境下で走査プローブ顕微鏡による評価を行ったので報告する。

プラスチックディッシュにて培養したマウス線維芽細胞 L929 にプラズマジェット (He ガス 2 slm, 10 kV, 9 kHz) を 0 秒、13 秒、50 秒間照射し、その後それぞれ直ちに培養液をグルタルアルデヒド含有リン酸緩衝液に置換して細胞固定化を行った。そのまま細胞を乾燥させることなく走査型イオン伝導顕微鏡により液中で細胞表面形状計測を行った。プラズマ未照射(Fig.1a)の細胞表面には微細孔がほとんど確認されなかったが、プラズマ照射した細胞表面には数 10 から数 100 nm 程度の微細孔 (赤矢印で示す) や、これまでの SEM 観察[2]では見られなかった亀裂 (白矢印で示す) のような構造が確認された。また、プラズマ照射時間を長くするとそれらのサイズと密度

は増加する様子が確認された。これらは我々が以前に報告した結果と概ね矛盾しない結果であると考えている。講演では細胞膜上での微細孔や亀裂の空間的な分布の詳細を示し、それらと細胞膜の物質透過性の関連を議論したい。

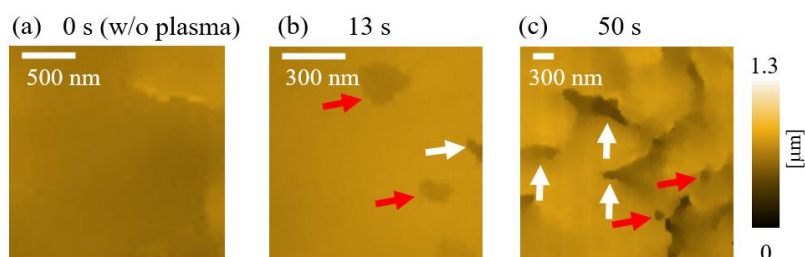


Fig. 1 Topographic images of cell surfaces applied plasma jet for (a) 0, (b) 13, and (c) 50 s.

【参考文献】 [1]第 81 回応用物理学会秋季学術講演会, 11a-Z12-6, (2020). [2]第 82 回応用物理学会秋季学術講演会, 13p-N107-9, (2021).