

Application  
News

No. S38

走査型プローブ顕微鏡

SPM による細胞の観察と測定 (I)  
～ iPS 細胞と HeLa 細胞の観察 ～

■ 概要

近年の iPS 細胞を用いた再生医療の進歩は目覚ましく、臨床研究も報告されています。その中で iPS 細胞は株由来や培養法によりコロニー形状や増殖速度などの性質が異なり(図1)、場合によっては癌細胞になってしまうという指摘があります。個性とも言える iPS 細胞の違いは多様な細胞への分化を左右するファクターの1つと推測でき、個性の解明は再生医療における革新技術となり得えます。しかし、何が個性をもたらしているのか未解明な部分が大きく、iPS 細胞の利用において障害となっています。

そこで、我々はこれまで報告されていない走査型プローブ顕微鏡 (Scanning Probe Microscope: SPM) による細胞形状観察を試みました。試料は、未分化である iPS 細胞と、その対極である癌化している HeLa 細胞を用いました。

HeLa 細胞はドーム形状であるのに対し、iPS 細胞は平坦で細胞間接着がネットワーク構造であることを明らかにしました。

A. Kogure, T. Maruo, K. Hoshino,  
K. Yamasaki, H. Nakajima

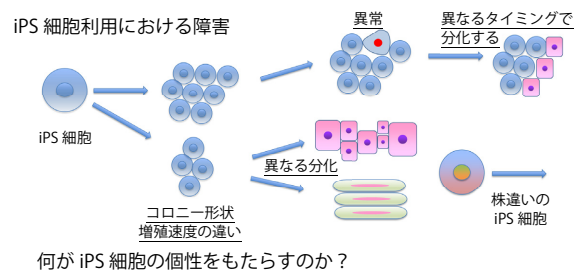


図1 iPS 細胞利用における障害

■ HeLa 細胞と iPS 細胞の形状像

図2に SPM 形状像の HeLa 細胞 (a)・iPS 細胞 (b) と、それぞれの光学顕微鏡位相差像 (c), (d) を示します。SPM 形状像は明るいところが凸、暗いところは凹を示しています。図中矢印位置における断面形状プロファイルを (e), (f) に示します。HeLa 細胞は1つ1つの細胞がドーム状に観察されるのに対して、iPS 細胞は相対的に平坦であることが分かりました。さらに細胞同士の境界に着目すると、HeLa 細胞は凹ですが、iPS 細胞は凸でネットワークを形成しているように見えます。これは細胞間接着の違いを示すと考えられ、HeLa 細胞は接着が弱く、iPS 細胞は強いことを示唆していると考えています。

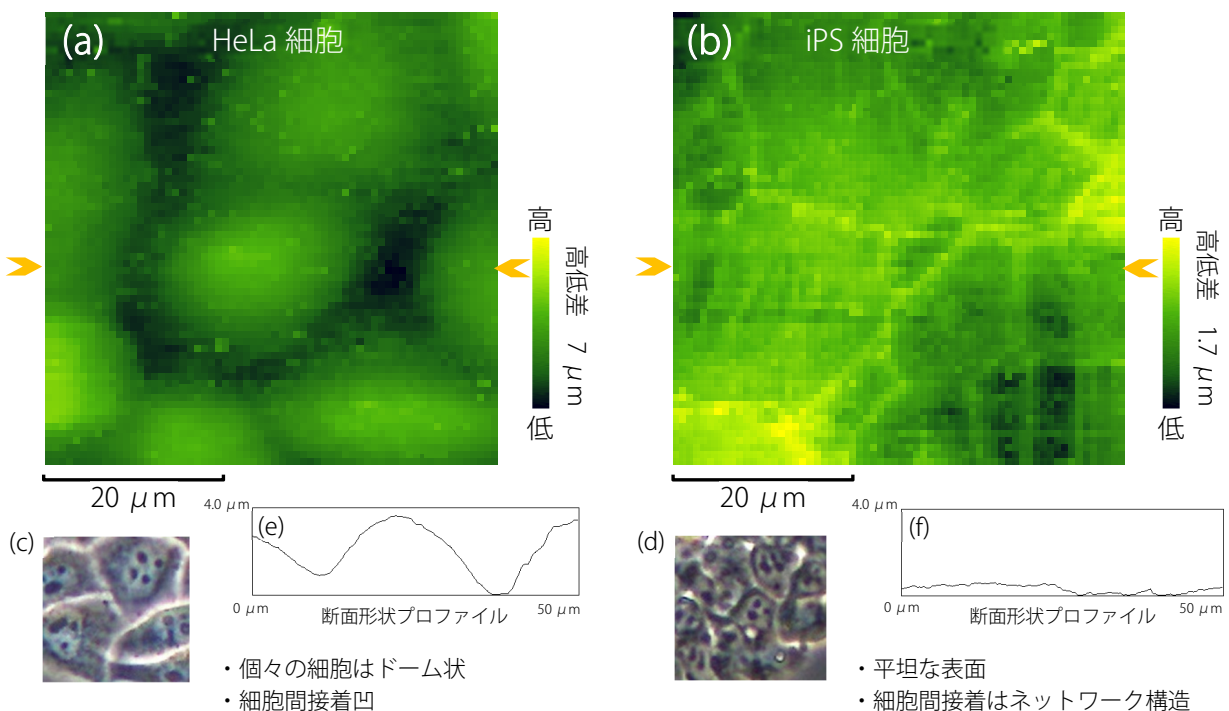


図2 HeLa 細胞と iPS 細胞の形状像

## ■ SPM による細胞観察

図3にSPM構成図を、図4に液中観察構成図を示します。SPMは観察にビームやレンズを使用しない点において光学顕微鏡や電子顕微鏡と異なりますが、分解能は透過電子顕微鏡に匹敵します。SPMは微小な針（探針）で試料をなぞり、探針-試料間に働く微小な力をカンチレバーのたわみとして検出することで形状を得ることができます<sup>1)</sup>。従来の観察法であるコンタクトモード、ダイナミックモードでは試料表面を横方向に走査し形状像を得ますが、細胞のように柔らかく大きい凹凸の場合は細胞表面を引っ掻いてしまい正常な形状を得ることが困難でした。その解決方法としてフォースカーブ測定を利用しました。図5にフォースカーブ測定説明図を示します<sup>1)</sup>。フォースカーブ測定は探針-試料間距離を変えながら力をプロットする測定で<sup>2)3)4)</sup>、横方向走査をしない動作のため細胞を引っ掻くことなく、柔らかく大きい凹凸も観察できます。今回、細胞への押し付け力（斥力）を2.5 nNとしました。

測定エリアを64×64点でマッピング測定後、得られたボリュームデータから形状像を形成しました。カンチレバーはオリンパス社製 OMCL-TR800PSA・バネ定数 0.15 N/m を用い、測定は培養液中で細胞が生きた状態で行いました。

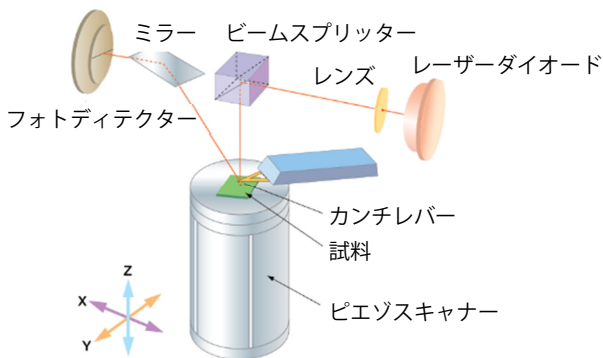


図3 SPM構成図

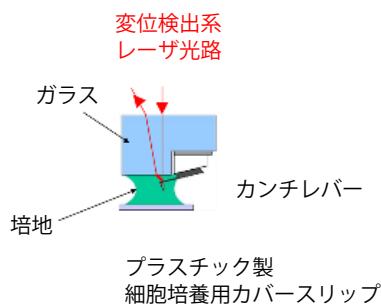
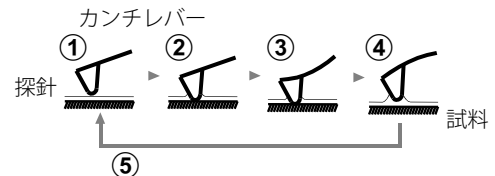
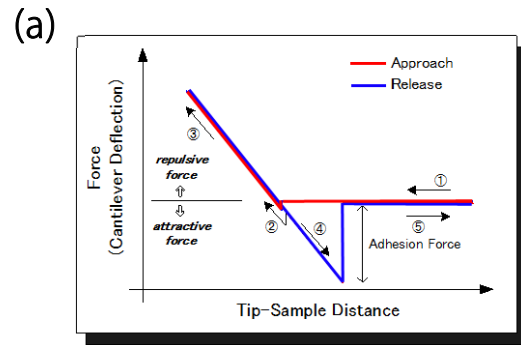


図4 液中観察構成図  
本構成で液中観察しました。



(b)



図5 フォースカーブ測定説明図

- (a) 探針-試料間距離を変えながら、探針にかかる力を計測します。2.5 nNに達したところで押込み（Approach）をとめ、引き離します（Release）。2.5 nNに到達したZ位置をマッピングすると形状像が形成されます。
- (b) 指で押してボールの形状を探ることをイメージするとわかりやすい。

## ■ まとめ

SPM測定によってHeLa細胞とiPS細胞の形状を生きたままの状態を得ることができました。HeLa細胞はドーム形状であり、iPS細胞は平坦で細胞間接着はネットワーク構造であることを明らかにしました。この細胞間接着ネットワーク構造はiPS細胞の未分化維持や多能性に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられます。

### <参考文献>

- 1) 秋永広幸監修、走査型プローブ顕微鏡入門、オーム社、2013。
- 2) 竹下文隆、小暮亮雅、藤井岳直、本橋憲行、落谷孝広、走査型プローブ顕微鏡によるエクソソーム表面の物性解析、細胞工学、Vol.32 No.1、2013。
- 3) 浅川雅、岡嶋孝治、大西洋、走査型プローブ顕微鏡、共立出版、2017。
- 4) Koichi Nakanishi, Akinori Kogure, Takenao Fujii, Ryohei Kokawa and Keiji Deuchi, Development of method for evaluating cell hardness and correlation between bacterial spore hardness and durability, *Journal of Nanobiotechnology*, 2012.

### 試料ご提供

東京慈恵会医科大学 再生医学研究部 岡野ジェイムス洋尚教授、原央子助教

その他、本書に掲載されている会社名、製品名、サービスマーク、およびロゴは、各社の商標および登録商標です。なお、本文中にはTM、®マークを明記していない場合があります。

**株式会社 島津製作所** 分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2019年4月

島津コールセンター ☎0120-131691  
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。