

SPM

走査型プローブ顕微鏡

SCANNING PROBE MICROSCOPE

No.D5

生きた培養細胞のAFM観察

AFM Observation of a Living Cell

これまで細胞の観察は、光学顕微鏡や走査電子顕微鏡 (SEM) などを使ってきましたが、SEMでは生きたままの姿を直接観察するのではなく、観察の前に固定や脱水などの処理を行っていました。そのため、前処理に時間を要したり、観察できても処理による変形を避けられませんでした。

そこで、生きている細胞がそのまま観察できるならば、前処理の手間を省けるだけでなく、処理による変形も少なく生体内の細胞の姿に より近い像が得られるのでは

ないでしょうか。

ここでその一つの解答として、新しく開発された顕微鏡である原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscope) の、液体中の試料も観察可能という機能を使って、生きている培養細胞の観察を試みました。対照実験として従来の固定と乾燥の処理を行った細胞を観察した結果、従来の手法では収縮などがあり、生きた細胞を観察することの意義が認められました。

AFMによる生きた細胞の液中観察

AFM Observation of a Cell in the Solution

Fig.1(a)は、培養液を注入した溶液セルの中で、コンタクトモードにより捉えられたヒトの臍静脈^{きい}の培養内皮細胞です。この細胞は、カバーガラス上でウシの胎児血清を含む基礎培地で培養され、カバーガラスのまま大

気に触れることなく、直接AFMの溶液セルに取り込み観察したものです。溶液セルの中には同じ基礎培地が充填されており、細胞は観察中も同じ環境で活動しており、その結果、従来とまったく違った美しい形で観察されました。

Fig.1(b)で断面形状の測定をしています。三次元データを解析した結果、細胞体(核を中心として辺縁部を除いた部分)の大きさは $71\mu\text{m} \times 25\mu\text{m}$ で、高さは $1.75\mu\text{m}$ とわかりました。長手方向の立ち上がりは角度は、 3.0 度と図中より読めます。

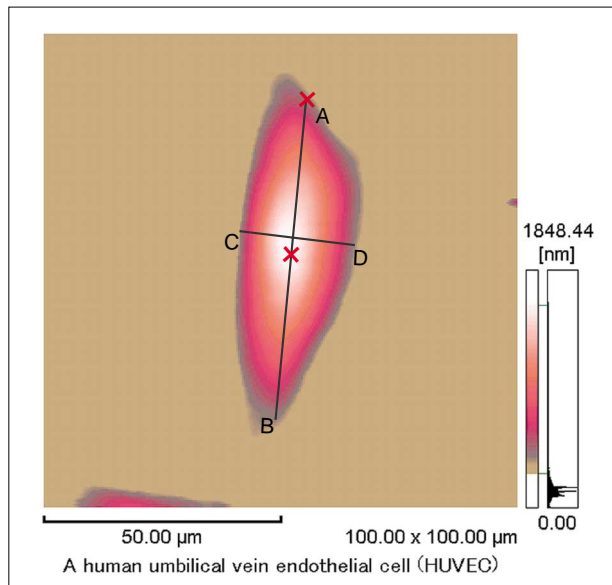


Fig.1(a) 生きた細胞の液中観察
AFM observation of a cell still living

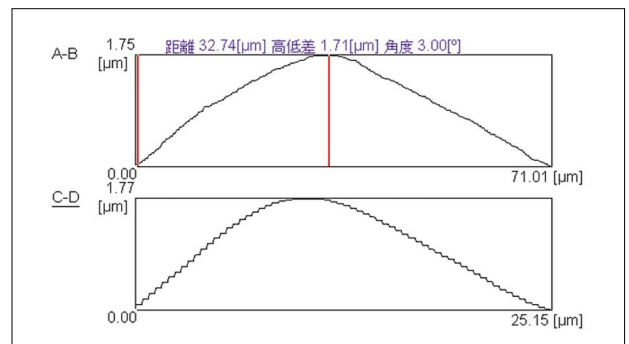


Fig.1(b) 断面形状表示
Cross section measurement of a cell

Fig.1(c)は、(a)を三次元表示したもので内皮細胞の全体像が、形良く捉えられています。AFMの画像処理の機能で、三次元データを基にSEMでは味わえない自由な表

現が可能となり、高さデータのカラー変換で、さらに細胞がリアルな像となりました。

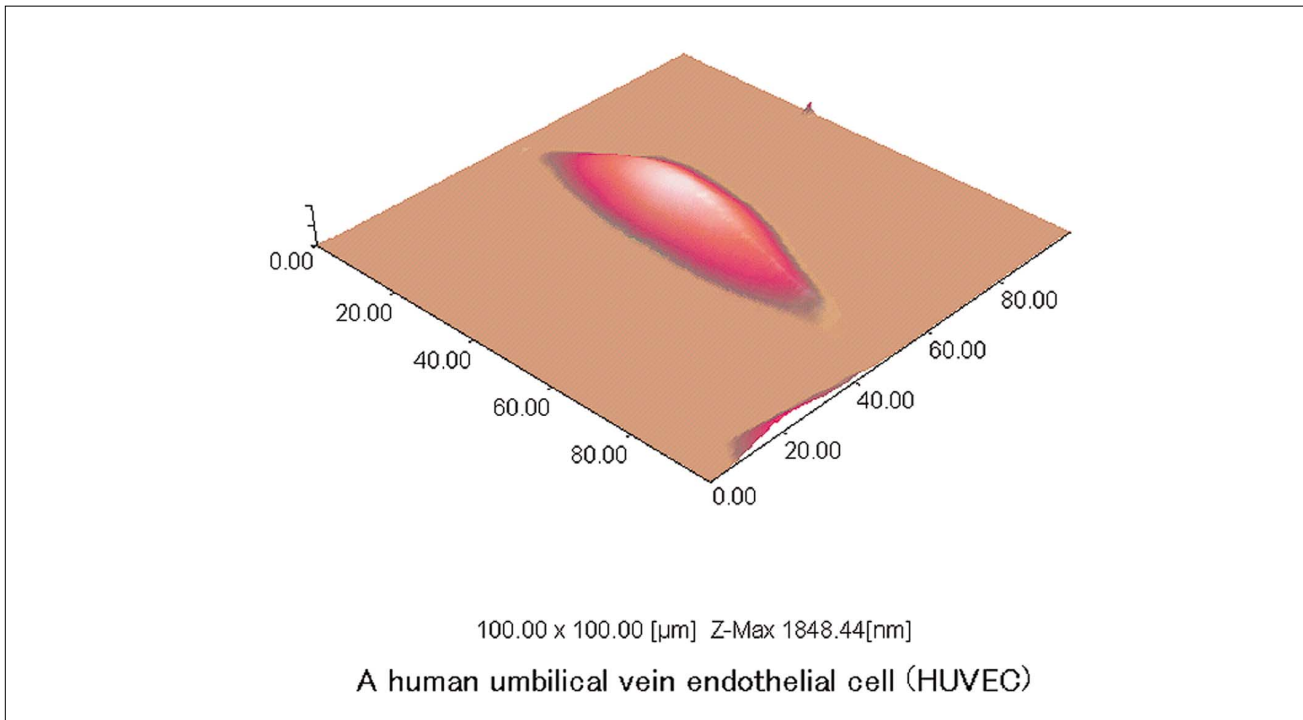


Fig.1(c) 三次元表示
A 3-Dimensional image

細胞を前処理してAFMで大気中観察(従来の方法)

AFM Observation of a Cell in the Air

Fig.2は、カバーガラス上に置かれた培養細胞を、グルタルアルデヒドで2時間固定を行い、手早く風乾のみでAFMで観察したものです。固定あるいは風乾による影響で、表面に微細な凹凸が現れて細胞が明らかに変形しています。そして、細胞の高さは、最大でも457nmと低く、Fig.1の生きた状態と比較して約四分の一に収縮した結果が得られ、従来の観察手法での問題点が明らかになりました。

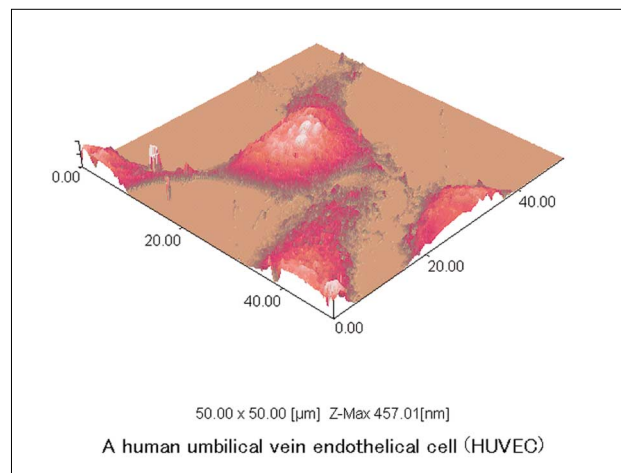


Fig.2 処理後の細胞の観察
AFM observation of a cell after treatment

* 臍静脈：ヒトの臍帯(へその緒)には二本の動脈と一本の静脈が通っています。内皮細胞の分離には、太い径を持つこの静脈がよく使われます。この試料については、インフォームドコンセントを得ています。

日本医科大学解剖学第一講座の杉本先生と武政先生にご指導をいただきました。

 島津製作所 表面・半導体機器部

● 東京カスタマーサポートセンター 259-13 神奈川県秦野市堀山下380-1 ☎(0463)88-8660

SHIMADZU CORPORATION
INTERNATIONAL MARKETING DIVISION

3, Kanda-Nishikicho 1-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 101, Japan
Phone : (03) 3219-5641 FAX : (03) 3219-5710
Cable Add. : SHIMADZU TOKYO
Oversease Telex No. : 0232-3291(SHMDT J)