

ナノポーラス金上での HeLa 細胞の活性

Activity of HeLa cells on nanoporous gold

平成 24 年度入学 ミネラルプロセッシング分野 新宮 淳平

1. 研究背景

ナノポーラス金属とはポーラス(多孔質)構造を有する金属材料であり、ナノメートルオーダーの非常に小さいリガメント径・孔径を有していることから、バルク材料にはない様々な特性を発揮する。その特性の一つとして、(ナノポーラス構造を有しない)平滑な金の上と比べると、ナノポーラス金上の細菌が死滅するという実験結果が確認されている。本研究ではその応用として、ヒト細胞の一種である接着性の HeLa 細胞をナノポーラス金上で培養し、平滑金上とナノポーラス金上の死細胞率・細胞の接着率の違いを評価した。

2. 実験方法

実験試料としてナノポーラス金と平滑金を用意した。ナノポーラス金は、スパッタリングにより金薄膜(厚さ 300 nm)をガラスディッシュ上に積層した後、その上から Au_{0.3}Ag_{0.7}合金薄膜(厚さはポア径により異なる)を積層し、HNO₃水溶液(69 mass%)で自然腐食して作製した。孔径は、自然腐食の時間調整および熱処理によって制御した。また、平滑金はスパッタリングにより金薄膜(厚さ 300 nm)をガラスディッシュ上に積層して作製した。

理研バイオリソースセンター分譲の HeLa 細胞を、滅菌済液体培地(組成 DMEM 100 mL, FBS 10 mL, 抗生物質 1 mL)により、上記のディッシュで培養した(37°C、5 vol% CO₂)。死細胞率は、細胞を培養開始後~96 時間後に、上澄み液に含まれる細胞、またディッシュ底に接着している細胞について、遠心・トリプシン処理等適切な処理を行ったうえで、血球計算板と倒立型顕微鏡を用いて生細胞と死細胞の数を数えて算出した。また接着率については、正立型顕微鏡を用いて細胞を各ディッシュ上で培養開始してから~48 時間後に観察した顕微鏡像から、浮いている細胞と接着している細胞の数を数えて算出した。本稿では、上澄み液中の HeLa 細胞の死細胞率について結果を示す。

3. 実験結果および考察

図 1 に上澄み液中の細胞の死細胞率を示す。上澄み液中の HeLa 細胞の死細胞率は、いずれの培養時間においても平滑金に比べナノポーラス金のほうが 20%以上高かった。HeLa 細胞は接着性の細胞であるので、ディッシュ底のナノポーラス金基板の影響を受けて死に、上澄み液中に浮いたと考えられる。

ナノポーラス金の表面は平滑金と大きく異なる電子状態を持ち、近傍の物質の化学結合の安定性を変える(Angew. Chem. Int. Ed. **45** (2006) 8241, Catal. Sci. Technol. **2** (2012) 1814 など)。今回の場合、表面の電子状態の違いが細胞膜の極性タンパク質、例えばイオンチャネル等に働き、イオンチャネルが失活して細胞内外のイオンバランスが崩れ、膜電位が消失して細胞死に至った可能性がある。

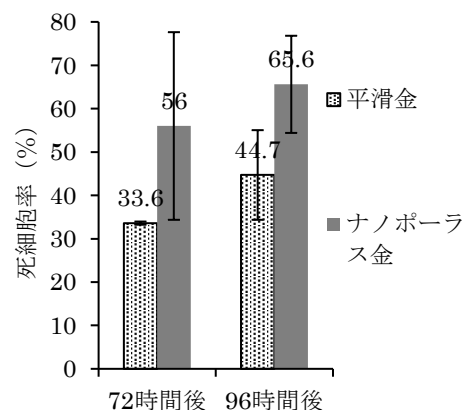


図1 上澄み液中のHeLa細胞の死細胞率(エラーバーは標準偏差)