



細胞の生存率を格段に向上させる 超急速凍結装置(原理)

森田 真人 応用物理学科 特任助教 / 坂本 哲夫 応用物理学科 教授

キーワード: 急速凍結、細胞分析、顕微鏡、凍結保存

概要

細胞のように多量の水分を含んだ試料は、電子顕微鏡のような真空を必要とする装置での観察が困難です。そのため、細胞を凍結したまま測定したり、あるいは凍結乾燥や化学固定することで水分を除去して観察されることが多いです。また、細胞は培養して継代し続けられない限り、常温では保存するとはできません。細胞を長期間保存するためには、凍結保存液中で凍結させ保管することが一般的ですが、解凍した際に全ての細胞が生存しているわけではなく、生存率を向上させる必要があります。細胞の凍結において最も重要なことは、細胞内外の水分が結晶化せずにガラス状の氷のまま凍結されることです。つまり、物質移動が起こらない速度で瞬時に凍らせることが重要です。

アピールポイント

- ◆ 凍結速度の格段の向上
- ◆ 培養液中の細胞の急速凍結が可能
- ◆ 凍結保存液が不要
- ◆ 基板の材質・形状を問わない
- ◆ 電子顕微鏡等でそのまま分析可能

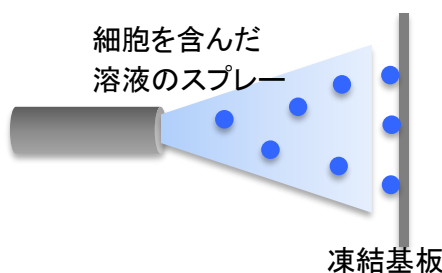
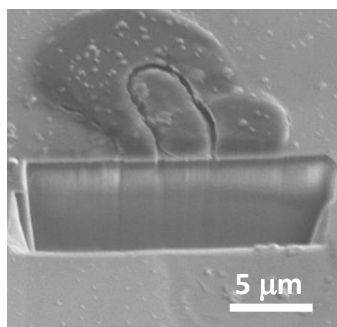
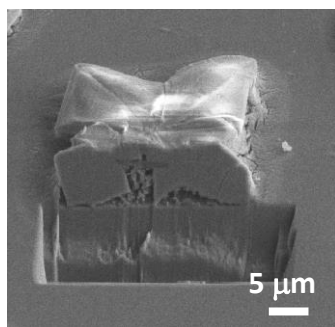


図1 開発した急速凍結の模式図

室温導入した赤血球



氷が結晶化した赤血球



急速凍結した赤血球

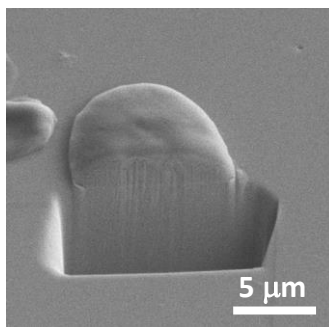


図2 真空中に導入した赤血球の電子顕微鏡像

利用・用途 応用分野

- ◆ 水分を含んだまま、細胞の顕微イメージング・成分分析を行いたい場合
- ◆ 凍結保存液等の余計な成分を除去して分析したい場合
- ◆ 細胞の生存率を向上させたい場合

関連情報

- 知的財産権 = 急速凍結装置、及び急速凍結方法 (特願2020-121736)
- 関連論文 = K. Tamura, M. Morita et al., Evaluation of Internal Distribution and Extracellular Action of the Cell via TOF-SIMS, Anal. Sci., 37(4), 619-623 (2021).
K. Kanenari, M. Morita et al., Development of a Simple System for the Analysis of Water-Containing Biological Samples by TOF-SIMS, eJSSNT, 14, 131-135 (2016).
- 関連 URL = <http://www.ns.kogakuin.ac.jp/~wwc1045/page/instruments.html>

細胞の生存率を格段に向上させる 超急速凍結装置(応用)

森田 真人 応用物理学科 特任助教 / 坂本 哲夫 応用物理学科 教授

キーワード: 急速凍結、細胞分析、顕微鏡、凍結保存

概要

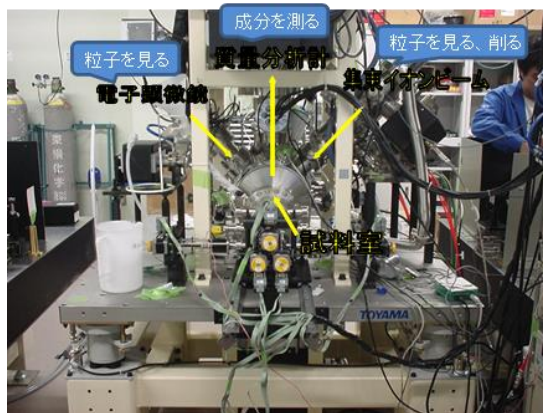
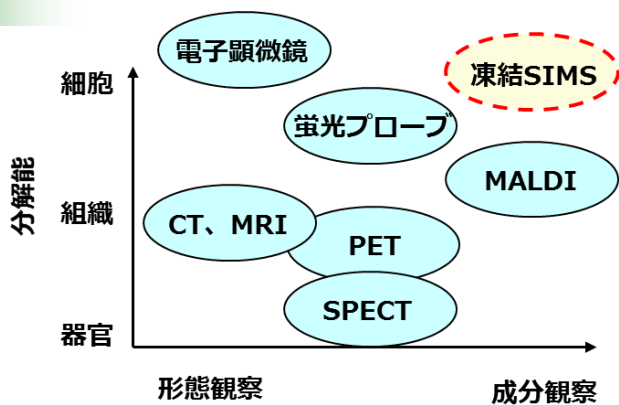


図3 他の分析法と比較した凍結SIMS(二次イオン質量分析法)の応用先と装置の写真

細胞内の無機イオンは生命活動に重要な役割を担っている。二次イオン質量顕微鏡は、細胞内の成分を高感度で網羅的に可視化できる可能性を有しているが、適切な試料作成法が確立できていないため、生きている状態と等しい成分分布を得ることができなかった。

分析例

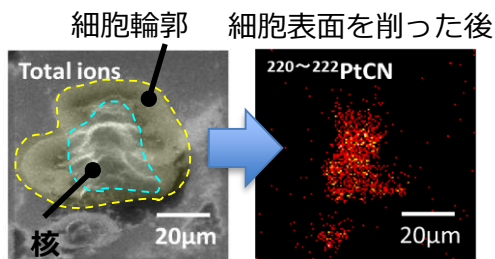


図4 抗がん剤(シスプラチン)の分布

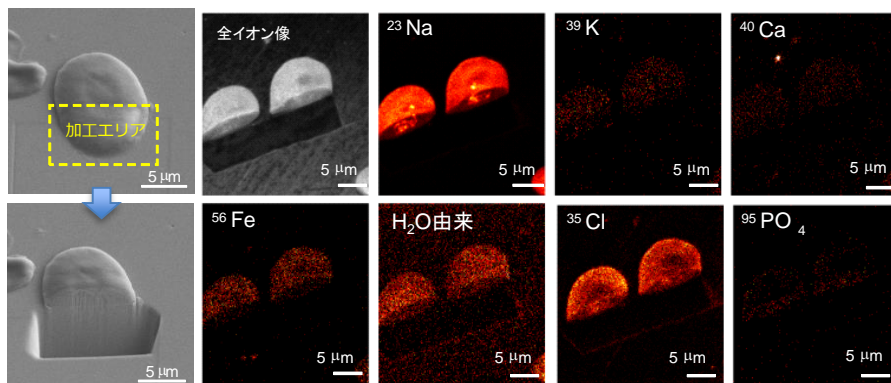


図5 カエル赤血球の成分分布

細胞の断面

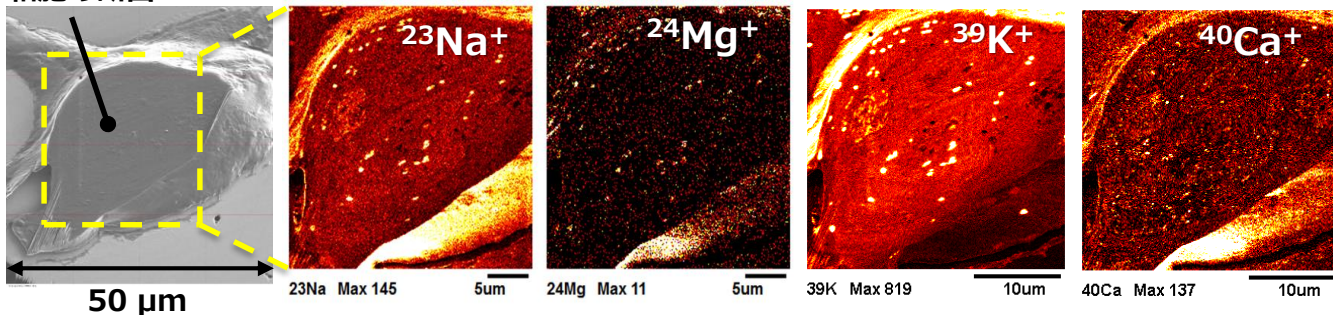


図6 口腔細胞内の成分分布