

# 岛津扫描探针显微镜观测诱导多能干细胞和海拉细胞

GADC-S38

**摘要：**诱导多能干细胞 (iPS Cells) 技术是指通过导入特定的转录因子将终末分化的体细胞重编程为多能性干细胞。iPS Cells 的出现，在干细胞、表观遗传学以及生物医学等研究领域都引起了强烈的反响，使人们对多能性的调控机制有了突破性的新认识，进一步拉近了干细胞和临床疾病治疗的距离。在对活细胞进行研究时，往往需要同时获得细胞整体的形状和表面细节，因此扫描探针显微镜 (SPM) 成为了首选。但在对细胞这样的大面积不规整性的软样品进行 SPM 观测时，会不可避免的刮伤或划破细胞表面，难以获得正常的形貌。为解决上述问题，本文采用力曲线模式，首次实现了液体环境中诱导多能干细胞和海拉细胞的无损伤 SPM 观测。

**关键词：**扫描探针显微镜 诱导多能干细胞 海拉细胞 力曲线 形貌观察

诱导多能干细胞在再生医学中的应用已获得巨大进步，且已有相关临床报道。研究表明，诱导多能干细胞的特征，如菌落形状、增殖速率，取决于细胞系来源及培养方法(图1)，且在特定情况下可形成癌细胞。因此可推测诱导多能干细胞的差异，即个体性，是决定其分化为不同细胞的重要因素之一。阐明该细胞的个体性有望成为再生医学的新技术。然而，目前仍

存在许多对细胞的个体性产生影响的不确定性因素，这已阻碍了诱导多能细胞的应用。

本文借助扫描探针显微镜 (SPM) 观测细胞形状，所用样品为无差别的诱导多能干细胞，同时以癌变的海拉细胞 (Hela Cells) 作为反例。实验证明海拉细胞为圆形，而诱导多能干细胞呈扁平状且细胞间的黏连作用使之形成网络结构。

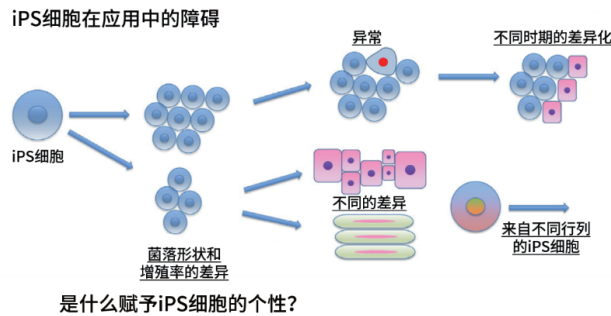


图 1 阻碍诱导多能干细胞应用的因素

## 1、诱导多能干细胞和海拉细胞的形貌图

图 2 为诱导多能干细胞 (a) 和海拉细胞 (b) 的 SPM 图，光学显微镜观察到的相应的相差图如图 (c) 和 (d) 所示。在 SPM 形貌图中，明亮区域代表凸出部分，黑暗区域代表凹陷部分。箭头标记部分的形貌高度曲线如图 (e) 和 (f) 所示。单个的海拉细胞为圆形，相反，诱导多能干细胞相对较扁平。仔细观察细胞间的界面发现，海拉细胞间的界面为凹面，而诱导多能干细胞间的界面为凸面且形成了网状结构。这意味着细胞间具有不同的黏连相互作用，并且说明海拉细胞间的黏连作用较弱，而诱导多能干细胞间具有较强的黏连作用。

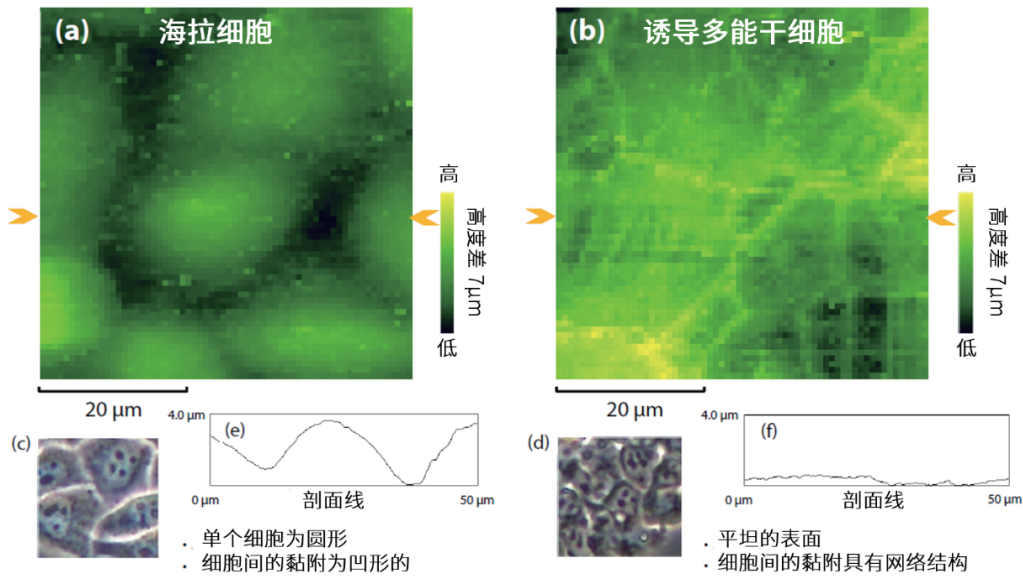


图 2 海拉细胞和诱导多能干细胞的形貌图

## 2、细胞的 SPM 观察

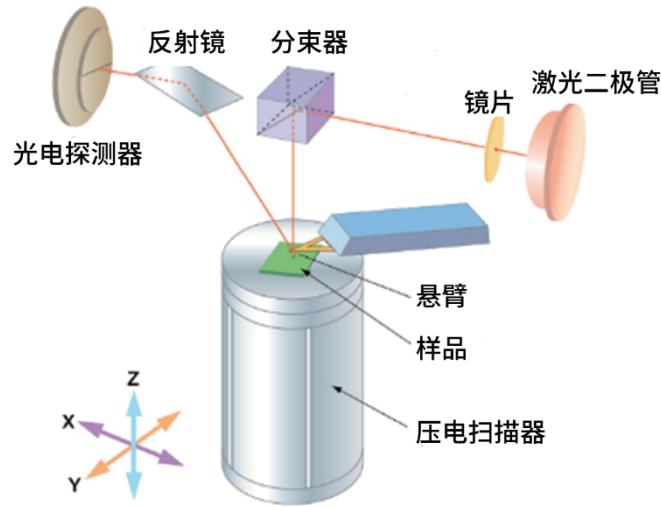


图 3 SPM 的构造图

图 3 为 SPM 的构造图，图 4 为在溶液中进行观测的仪器构造图。虽然与光学显微镜和电子显微镜不同，SPM 在观测过程中无需使用光束及透镜，但其分辨率与透射电子显微镜 (TEM) 相当。SPM 利用探针扫描样品，并探测探针与样品间的微弱作用力作为悬臂梁反馈，从而获得样品的形貌 (1)。接触模式和动态模式为常规观测模式，其通过在水平方向扫描样品表面获得形貌图，但当扫描具有大面积不平整性的软样品，如细胞时，细胞的表面可能会被划破，难以获得正常的形貌。为解决上述问题，可采用力曲线模式进行测量。图 5 为力曲线模式的测量示意图 (1)。在该模式下，探针与样品间的距离不断改变的同时，得到力曲线 (2-4)。由于该操作不涉及水平扫描，因此在不损坏细胞的前提下，可观测到具有大面积不平整性的软样品。在本实验中，施加于细胞上的压力 (排斥力) 为 2.5 nN。

在对测试区域的 64 x 64 点进行扫描后，根据获取的大量数据形成形状图像。本次测试所用的悬臂为奥林巴斯公司生产的 OMCL-TR800PSA，弹性系数为 0.15 N/m。测试是在存活细胞的培养液中进行的。

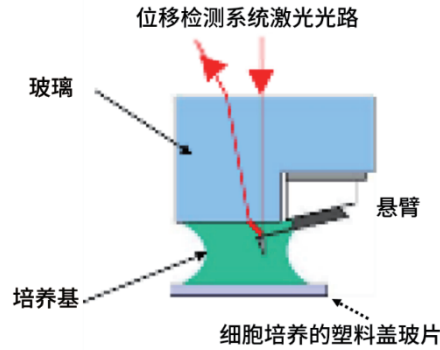


图 4 溶液中进行样品观测的仪器构造图

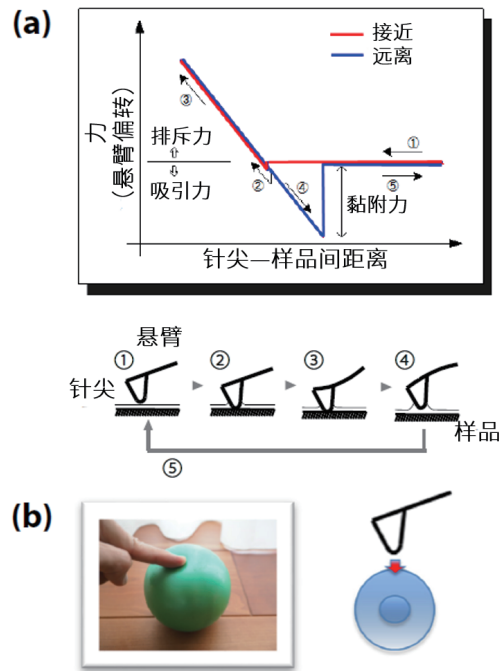


图 5 力曲线测试示意图

- (a) 在改变探针与样品间的距离的同时测量施加在探针上的力。当力达到 2.5 nN 时，停止施加压力，探针缩回。通过扫描作用力为 2.5 nN 时的 Z 方向位置，即可获得形貌图。
- (b) 通过手指按压球来感受球的形状，此图易于理解力曲线测试原理

## 结论

海拉细胞和诱导多能干细胞在存活状态下的形貌可通过 SPM 进行测试。SPM 的测试结果证明了海拉细胞为圆形，而诱导多能干细胞呈扁平状且细胞间的黏连作用使之形成网络结构。通常认为细胞间黏连作用所形成网络结构对保持诱导多能干细胞的无差别状态及多功能性具有重要作用。

### 参考文献

- (1) Hiroyuki Akinaga, General Editor, Introduction to Scanning Probe Microscopy, Ohmsha, Ltd., 2013.
- (2) Fumitaka Takeshita, Akinori Kogure, Takenao Fujii, Noriyuki Motohashi, Takahiro Ochiya, Analysis of Exosome Surface Properties Using a Scanning Probe Microscope, Cell Technology, Vol. 32, No. 1, 2013.
- (3) Hitoshi Asakawa, Takaharu Okajima, Hiroshi Onishi, Scanning Probe Microscopy, Kyoritsu Shuppan Co., Ltd. 2017.s

(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.

注：样品由纪庆大学医学院再生医学部的 Hirotaka James Okano 教授和 Chikako Hara 助理研究员提供。

岛津应用云



 **岛津企业管理(中国)有限公司分析中心**  
Shimadzu(China)CO.,LTD. Analytical Applications Center

上海市徐汇区宜州路180号B2栋  
Building B2, No.180 Yizhou Road, Shanghai

咨询电话：021-34193996  
Hotline：021-34193996

<http://www.shimadzu.com.cn>