

S11-03

高速AFMによる細菌表面タンパク質の構造と機能解析

○田岡東^{1,2}、OestreicherZachery¹、山下隼人³、福森義宏^{1,2}¹金沢大学理工研究域、²金沢大学理工研究域バイオAFM先端研究センター、³慶應義塾大学医学部薬理学教室

原子間力顕微鏡 (AFM) は、基板に固定した試料の表面をナノサイズの探針でなぞり、試料の構造を可視化する。緩衝液などの溶液中で観察を行うことができるため、生理的条件下での生体分子の観察に用いられている。金沢大学の安藤教授らが開発した高速AFMは、探針の走査速度を飛躍的に向上させることで、生体分子の構造とその動態を高い空間時間分解能で観察できる。本研究では、高速AFMを用いて生きた細菌の表層構造を観察し、これまで静止画像でのみ観察されてきた細胞表層構造とダイナミクスをナノオーダーの解像度でとらえた。観察試料として、磁性細菌 *Magnetospirillum magneticum* AMB-1、光合成細菌 *Rhodobacter shaeroides*、*E. coli* の3種類のプロテオバクテリア門に属する細菌を用いた。細胞をポリ-L-リジンとグルタルアルデヒドで処理したマイカ基板に固定した。基板上での細胞の生存は、生・死二重蛍光染色キットにより確認した。液体培地中で細胞表層をAFM観察したところ、細胞表層は網目状の構造により被われていた。網目状構造の直径は約7 nm、深さは約1 nmで、観察した3種類の細菌でほぼ等しい大きさであったことから、この構造がプロテオバクテリア門に保存されていることが示唆された。精製外膜を用いてAFM探針による微解剖実験を行ない、網目状構造の構成分子を調べたところ、ポーリン分子により構成されることが明らかになった。また、網目状構造の動態を観察した結果、細胞表面をランダムに移動していた。高速AFMにより細胞表層に観察されたその他の構造についても紹介する。

S11-04

AFMナノマニピュレータ

○岩田太^{1,2}¹静大院・工機械工学専攻、²静岡大学電子工学研究所

走査型プローブ顕微鏡は今日、観察手段のみでなく、微細加工やマニピュレータとしての技術開発が盛んに行われている。われわれはこれまで、プローブ顕微鏡を用いて様々な微細加工/マニピュレーション技術を開発している。こうした加工ツールとしてのプローブ技術について、本稿では特にバイオ試料への応用を考慮したマニピュレータ開発に関して最近の成果を紹介する。1) ナノピペットを有するSPMによるマニピュレーション

ナノスケールで物質を堆積できれば、デバイス作製やバイオ試料の高密度アレイ、細胞への試薬注入など様々な応用が期待できる。これまでわれわれはプローブの先端に微細な開口を有するナノピペットプローブを用いたSPM微細加工装置の開発に取り組んでいる。ナノピペットとは極細なキャピラリーガラス管であり、バイオの分野では細胞操作や微量試料採取など広く用いられている。われわれはこのナノピペットプローブを微細加工用ツールとし、様々な液体を充填することで表面に堆積塗布する装置の開発に取り組んでいる。ここではこれを用いた単一細胞への分子導入への応用例について述べる。2) 原子間力顕微鏡(AFM) マニピュレータによる顕微解剖

走査型電子顕微鏡(SEM)との複合化装置としてSEMの真空チャンバー内ステージ上に搭載可能な小型のAFM型マニピュレータの開発について紹介する。本装置はSEM観察しながらAFM観察が可能である。また、AFMをマニピュレータとして微細加工に用いる際にもSEM観察でモニタリングしながら動作可能であり、高い操作性を有している。ここでは、本装置を用いた顕微解剖例について紹介する。