

## 走査型イオン電導顕微鏡(SICM)による芽胞発芽の評価—ナノイオンプローブを用いた新規顕微鏡による生物計測技術の新展開

中西 弘一<sup>1</sup>、桑名 利津子<sup>2</sup>、高松 宏治<sup>2</sup>

1: ナノ・マイクロバイオ研究所—中西技術士事務所、2: 摂南大学薬学部

### 1. 背景

走査型プローブ顕微鏡(SPM: Scanning Probe Microscopy)は微小探針で試料をなぞって、その形状や性質を電子顕微鏡以上の高解像倍率で観察することができる。試料を凍結などの処理を施さずそのまま観察できるという長所のため生物分野でも広く利用され始めている。我々はこれら種々の SPM を用いて、その表面接触機能を利用して、細胞1個の立体形状の観察や様々な物理的評価を行う技術で、培養や芽胞調製などをせずに、そのまま評価ができる「ナノサーチ技術」を開発してきた。しかし、これまでの技術では、気相中で観察を行うため培養経過の細胞の観察は難しく、培養中の細胞を探針でなぞるため、細胞表面を傷つけるなどの課題も多かった。

### 2. 目的

走査型イオン電導顕微鏡(SICM: Scanning Ion Conductance Microscopy)はマイクロガラスピペット電極を探針として使用し、液相中で試料と非接触により微小観察ができる新しいタイプの SPM で、柔らかい生物試料を液相中で立体観察できる道具として期待できる。また、液中でのイオン電流を信号としてとらえるというその原理から、生物試料の表面電位も観察と同時に計測でき、いろいろな研究の応用に利用できる可能性がある。本報告では、芽胞形成細菌の芽胞を試料として用いて、どのような観察や計測が可能か紹介する。

### 3. 方法

SICM の原理は、内部を電解質で満たしたマイクロガラスピペット電極を探針として、観察のためのチャンバー内の液中に留置した対照電極との間に生じたイオン電流を信号としてとらえ、画像化する。このマイクロガラスピペット電極は中空の内部に塩化銀でコートした銀電極を挿入して、電解質液で満たしたものである。一方、試料を浸した電解質溶液中には別の銀電極が対照電極として留置されているので、二つの電極間に電圧を加えるとイオン電流が生じ、このイオン電流を測定しながらピペットを試料に近づけると、ピペットが試料に接近したある時点から、ピペット先端が遮断され、イオン電流が減少する。ピペットと試料の間の距離の変化によってイオン電流が変化する量を電流アンプで動きを制御し、試料表面の形状を画像化したり、試料の表面電位をモニターした。試料としては *Bacillus* 属細菌 3 株の芽胞を用い、その発芽並びに栄養細胞の増殖過程における表面電位を測定し変化を求めた。

#### 「結果」

SPMよりも画像鮮明さが落ちるものの、イオン電流の変化を画像化することができた。芽胞などの休止細胞は表面電位が低く、発芽や増殖を行っている栄養細胞の表面では高かった。生菌数の増殖曲線と表面電位の増加を比較すると必ずしも時間的に一致せず、表面電位はその時点の細胞の増殖能の有無を反映しているのではなく、代謝性状に関する活性を示していると推定される。