

# 走査型イオン電導顕微鏡(SICM)を用いた、芽胞菌に対する静菌剤の静菌作用の観察と評価 —ナノイオンプローブを用いた生物観測技術の新展開

中西 弘一<sup>1</sup>、桑名 利津子<sup>2</sup>、高松 宏治<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>: ナノ・マイクロバイオ研究所—中西技術士事務所、<sup>2</sup>: 摂南大学薬学部)

## 1. 目的・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 SPM の表面接触機能を利用して、細胞 1 個で培養や調製などをせずに、立体形状の観察や様々な物理的評価ができる「ナノサーチ技術」を開発してきた。昨年の研究会では、液相中で試料と非接触により細胞表面を傷つけることなく微小観察ができ、液中での細胞表面のイオン電流を信号としてとらえる走査型イオン電導顕微鏡 (SICM : Scanning Ion Conductance Microscopy) による観察例と培養経過における細菌の細胞表面電位変化について報告した。

今年の研究会では、SICM を用いて静菌剤であるナイシン A やモノグリセリン脂肪酸エステルの芽胞形成細菌に対する静菌作用の影響を、細胞や芽胞の活性を示す表面電位の変化を調べることで観察した結果を報告する。

## 2. 方法

走査型イオン電導顕微鏡 (SICM) は柔らかい生物試料を液相中で立体観察できるマイクロガラスピペット電極を探針として使用し、生物試料の表面電位も観察と同時に計測できる。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、電解質液で満たしている。一方、試料を浸した電解質溶液中に別の銀電極が対照電極として設置しているので、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、ある距離まで接近すると、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るイオン電流の変化量を電流アンプでそのピペットの動きを制御する。イオン電流の変化量から試料表面の形状を画像化し、表面電位をモニターした。供試菌株としては *Bacillus* 属細菌 3 株を用い、その栄養細胞並びに芽胞にナイシン並びにショ糖脂肪酸エステルを作用させその表面電位を測定し変化を求めた。

## 3. 結果

栄養細胞並びに芽胞のイオン電流の変化を求めた結果、静菌剤との接触により栄養細胞は細胞の形態が破壊され、表面電位も急激に下がった。芽胞の表面電位は変化せず、また静菌剤と接触中は発芽や増殖も行わなかった。静菌剤と接触した芽胞を洗浄し、培地に加えると表面電位は上昇し、発芽や増殖を行った。昨年の結果では、表面電位は代謝性状に関する活性を示していると推定されたが、その結果から考えても今回用いた静菌剤は従来から報告があるように、栄養細胞には作用するが、芽胞には直接作用しないことが確認できた。