3P301

走査型プローブ顕微鏡による生体試料観察の課題と可能性

○繁野 雅次、二瓶 亜三子、松澤 修、渡邊 直哉、白川部 喜春、井上 明 (SIINT)

走査型プローブ顕微鏡 (SPM) は、大気、ガス、溶液、真空中などの様々な環境で動作が可能であるため、湿潤状態の試料の高倍率観察や、溶液中 (生きた状態) での試料変化、「硬さ」、「吸着」、「摩擦」等の局所物性観察、ナノメートルスケールでのマニピュレーションなどへの応用に期待がよせられている。細胞の培養液中その場観察など、バイオ分野への応用を実現するためには、溶液中での測定技術を向上させて行く必要がある。顕微鏡との複合化、探針試料間距離の制御方式、溶液セルの特性など、いくつかの重要な要素があるが、今回、液中DFM (共振モード) のカンチレバー特性について検討したので報告する。測定に使用したSPMは、SPI4000 (SIINT製)、イオンビームによりシリコン製カンチレバーを加工し、液中共振特性の比較を行った。レバー先端部分のカットが効果的であることや、レバー・試料間距離により特性に大きな影響を与えることが確かめられた。本研究の一部はNEDO基盤技術研究促進事業の委託を受けて行なった。

左図は培養液中のヒト胎心臓を、右図は大気中にて固定処理後のヒト胎心臓を、SPMにより観察した形状像である。溶液中で生化学的に活性な試料を、高倍率で観察できる特長を持っている。

M.Shigeno, A.Nihei, O.Matsuzawa, N.Watanabe, Y.Shirakawabe, A.Inoue: The subject and the possibility of biomaterial observation by SPM

3P303

水溶液中でのカーボンナノチューブの可視化

○清水 彬生¹、曾和 義幸¹、永井 萌土²、斎藤 弥八¹、新井 史人²、石島 秋彦^{1,3} (¹名大院・工・応用物理、²名大院・工・マイクロ、³科技振さきがけ21)

カーボンナノチューブ (CNT) はその物理的・化学的・電気的特性、形状、ナノレベルの構造であることから従来のカンチレバー、ポリスチレンビーズでは困難であった新しい計測ができる可能性がある。

今までCNTは主に原子間力顕微鏡 (AFM)、電子顕微鏡 (EM) を用いて真空中で観察されてきた。CNTを生体分子の計測に応用するためには、真空中ではなく水溶液中で観察・操作することが必要になってくる。今回、我々は水溶液中で一本のCNTを光学顕微鏡で観察することを目指した。

これまでに水溶液中で直径40nm程度、長さ10~30 μ m程度の本の多層カーボンナノチューブ (MWNT) を暗視野顕微鏡で観察することに成功した。また、MWNTの表面を1-pyrenebutanoic acidで化学修飾することによってアミノ基を表面に持つポリスチレンビーズがMWNTに付着することを確認した。

CNTを蛍光標識し一本のCNTを蛍光顕微鏡で確認することができれば、様々な光学システムでCNTを用いた計測が可能になる。今後、CNTを蛍光標識すること、装置を改良し単層CNTを蛍光顕微鏡、暗視野顕微鏡で同時観察することを目指し、その結果を報告するとともにCNTの生体分子への応用について議論する予定である。

CNTの暗視野像

ビーズ付CNTの暗視野像

A.Shimizu, Y.Sowa, M.Nagai, Y.Saito, F.Arai, A.Ishijima: Visualization for carbon nanotube in aqueous solution.

3P302

Au(111) 基板に発生するナノバブルの計測

○亀田 直樹¹、中林 誠一郎¹、大塚 一郎² (¹埼玉大・理・基礎化学、²奥羽大・歯・生体材料)

大気を飽和した水中に浸した疎水性基板上にnmスケールの泡・ナノバブルが存在することが報告されている。本研究では、Au(111)面に発生するナノバブルに注目し、AFMの液中測定により泡の性質や発生理由を解明することを目的とする。AFMの液中測定において、液中セルに水を満たした時Au(111)基板上に、直径約25nm、高さ約2.0nmの泡・ナノバブルを観測した (図1)。タッピング・モードAFMとQ値制御法を併用することにより、探針が泡に及ぼす力を弱くして、ナノバブルのより正確な形状の測定が可能となった。ナノバブルの観測結果からナノバブルの安定性について考察した。微小気泡において、気-液-固の三相が交わる接触線では、その形状を保つために線張力が働いている。ナノバブルの観測結果から線張力を見積もった。曲率半径が100nm以上のナノバブルは負の線張力が三相界面における界面張力のつり合いに寄与してナノバブルが安定化することが明らかになった。一方曲率半径が1-10nmのナノバブルについては正の線張力が得られた。正の線張力はナノバブルを不安定化する。ナノバブルの大きさによって、線張力が全く異なる寄与を及ぼすことが明らかとなった。

図1

N.Kameda, S.Nakabayashi, I.Otuka: Observation of nanobubbles on Au(111) surface

3P304

単一生細胞内 mRNA の経時計測法の改良

○河野 博信¹、金 賢徹¹、鈴木 郁郎¹、岡野 和宣¹、長田 俊哉²、猪飼 篤²、安田 賢二¹ (¹東大院・総合文化、²東工大院・生命理工)

外部からの入力に対して示す細胞のダイナミックな応答を分子レベルで理解するためには、刺激に応じて順次生産される mRNA を経時的に観察する方法が有効である。細胞核で生産され細胞質で機能分子に翻訳される mRNA を、一細胞単位で経時計測することが、本研究の目的である。

多くの細胞から mRNA を抽出し解析する従来の生化学的方法は、結果が複数の細胞の平均となり一細胞の情報を得ることができない。一細胞単位で mRNA の発現を解析する従来法もあるが、細胞を破碎し解析するため、経時観測が不可能である。原子間力顕微鏡 (AFM) を用いて微量の mRNA を採取し解析する方法 (図) は、細胞を破碎することなく生きたまま、経時的に観測できるため有効な方法であるが、採取した mRNA がスプライシングされる前か後かを判断することが難しい。本研究では、上記のような問題点を考慮したうえで、一細胞単位で mRNA を経時計測する方法の改良を試みたので、その詳細を報告する。

H.Kohno, H.Kim, I.Suzuki, K.Okano, T.Osada, A.Ikai and K.Yasuda: Improvement of method for time-lapse measurement of mRNA in single live cell