1P337

走査型プローブ顕微鏡SISモードによる染色体観察

○繁野 雅次、井上 明 (セイコーインスツル)

走査型プローブ顕微鏡 (SPM) は、溶液中 (生きた状態) での試料観察が可能な顕微鏡である。今回液中の軟らかな状態の染色体を、新しく開発した SIS 制御をもちいて、観察を行なったので報告する。走査型プローブ顕微鏡は、SPA400 (エスアイアイ・ナノテクノロジー製) へ SIS (Sampling Intelligent Scan) 制御機構を搭載し、Q 値制御・共振モードで測定を行った。試料は、ヒトのリンパ球の同調培養したものを使用し (試料提供: 新潟大学・牛木教授)、培養液中にて観察を行った。図は、通常の制御と SIS 制御の測定結果である。(培養液中、走査エリア: $1.5 \mu\text{m}$) 溶液中での生体試料は、軟らかな突起状の形状が表面をおおっている場合が多く、Q 値制御や、微小振幅による弱い力での測定を行っても、横方向の走査を行う時に、探針が引っかかってしまう場合がある。SIS 制御は、探針が各測定点でのみ、直上より接近し測定を行い測定後は離れ、その後移動するように制御されているため、軟らかな突起などの影響を受けずに測定が可能となる。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。

M. Shigeno, A. Inoue: Observation of the chromosome by SPM SIS mode

1P339

ミトコンドリア内 Mg^{2+} 濃度変化の可視化

○新藤 豊¹、久保田 健¹、小松 広和²、堀田 耕司¹、鈴木 孝治^{2,3}、小川 宏人⁴、岡 浩太郎¹ (¹慶大院・基理工・生命システム情報、²慶大院・基理工・応化、³JST-CREST、⁴埼玉大・生物)

マグネシウムイオン (Mg^{2+}) は細胞内に最も多く存在する 2 価陽イオンであり、細胞機能調節において重要な役割を果たしている。 Mg^{2+} は数百もの酵素反応にかかわっており、また細胞内濃度変化は生理的に妥当な範囲内において様々なイオンチャネルの調節に役立っている。また、細胞内 Mg^{2+} 濃度は ATP と Mg^{2+} が結合することから、ATP 濃度の影響を受け、エネルギー代謝と関連する。細胞内 Mg^{2+} 濃度の調節には TRPM7 チャネルによる細胞内への Mg^{2+} 輸送が関与し、急激な細胞質 Mg^{2+} 濃度上昇は細胞膜上の $\text{Na}^+/\text{Mg}^{2+}$ 交換体によるイオン輸送経路により緩和される。しかしながら、細胞内 Mg^{2+} 濃度変化をもたらす経路の詳細については未だ知られていないことが多い。最近になって我々はミトコンドリアが細胞内で Mg^{2+} 濃度変化を引き起こすソースとなることを示した (Kubota et al. 2005)。今回我々は、新規に開発した Mg^{2+} 感受性蛍光色素、KMG-301 Rhodamine を用いてミトコンドリア内の Mg^{2+} 濃度変化を可視化することに成功した。まず、単離ミトコンドリアを用いてこの色素がミトコンドリアに局在すること、およびミトコンドリア内の Mg^{2+} 変化を可視化できることを示した。次に PC12 細胞をこの色素で染色することで、生細胞においてミトコンドリア内 Mg^{2+} 濃度変化を可視化した。ミトコンドリア内膜の脱共役剤である FCCP で PC12 細胞を刺激すると、細胞質で Mg^{2+} 濃度が上昇することは我々の先行研究で知られていたが、今回ミトコンドリア内で Mg^{2+} 濃度が減少することを直接示すことができた。このことは Mg^{2+} がミトコンドリアから細胞質へ放出されていることを示している。

Y. Shindo, T. Kubota, H. Komatsu, K. Hotta, K. Suzuki, H. Ogawa and K. Oka: Visualization of intramitochondrial magnesium concentration

1P338

生細胞の伸縮変形に対する力学的応答: 走査型プローブ顕微鏡を用いた測定系の開発

○田村 和志、水谷 武臣、芳賀 永、川端 和重 (北大院・理・生物科学)

生命体が内部の状態を一定に保とうとする機構はホメオスタシスと呼ばれており、生命を維持する上で重要な役割を果たしている。このような適応機構は一細胞レベルにおいても見られる。例えば、細胞内ではカルシウムイオン濃度が上昇するとそれを能動的に細胞外へ排出し、濃度が一定な状態に保たれている。走査型プローブ顕微鏡 (SPM) を用いた実験により、個々の細胞には細胞内張力を一定値に調節する張力ホメオスタシス機構が存在することが明らかになっている。細胞が形態を維持し特有の機能を発現する上で、これは重要な機構であるが、張力応答の詳細についてはほとんど明らかになっていない。本研究では、変形に対する力学的応答を一細胞レベルでさらに詳しく調べることを目的として、細胞内張力を反映する弾性率をイメージングする SPM と、表面に細胞を培養した弾性基盤を可変な変形量で伸縮できる装置とを組み合わせた測定系を開発した (図)。この測定系を用いて、培養した繊維芽細胞 (NIH-3T3) を 8% 伸縮変形させた時の弾性率応答について報告する。さらに、伸縮変形を繰り返した際の履歴応答についても報告する予定である。

図 生細胞の伸縮変形に対する力学的応答の測定系 (模式図)

K. Tamura, T. Mizutani, H. Haga and K. Kawabata: Mechanical responses of single living cells to elongation and contraction: Development of a measuring system using SPM

1P340

生体分子の低温観察のための原子間力顕微鏡の改良

○森 辰也、山本 大輔、五藤 俊明、神山 勉 (名大院・理・物質理学)

生体分子に対してのナノメートルからマイクロメートルレベルでのアプローチとして、近年では走査型プローブ顕微鏡 (SPM) や電子顕微鏡、蛍光顕微鏡などが存在している。なかでも SPM のひとつ、原子間力顕微鏡 (AFM) は天然の状態での生体分子の表面構造を直接観察できるツールとして確立している。また、その測定手法の簡易さから、多種多様な機能を付随したものの開発も進んでいる。そのうち低温測定は、主に試料を急速凍結させることでの構造の維持と、ヤング率の上昇による高分解能化というアドバンテージが生じるとし、我々は開発を行ってきた。今回はその低温測定において更なる飛躍を探索すべく、新たな測定手法に取り組んだ。その手法とは低温液中観察である。一般に液中観察は常温測定の際に最も自然な状態での測定ができる測定方法である。それに対し低温液中観察とは低温下 (-100°C 付近) において乾燥凍結させた試料と探針間を冷却した液体で満たした状態での観察である。液体にはエタノールを採用した。この方法によって、低温下ではむしろ増大していた AFM 測定において通常障害となる試料表面の探針に対する吸着力を消去することができた。ただし、冷却エタノールは粘度が高く、それに由来するノイズが高分解能観察を妨げている。現在、この問題を克服するための改良を行っている。

T. Mori, D. Yamamoto, T. Goto, T. Kouyama: Improvement of a cryo atomic force microscope for structural analysis of biomolecules