A113

暗視野顕微鏡法による走磁性細菌の挙動可視化

高橋 秀治[○] (東工大院), 木倉 宏成 (東工大), 岩佐 達郎 (室蘭工大)
渡辺 真悟 (室蘭工大), 有富 正憲 (東工大)

Visualization of Magnetotactic Bacteria Behavior using Dark-field Microscopy

Hideharu TAKAHASHI, Hiroshige KIKURA, Tatsuo IWASA
Shingo WATANABE and Masanori ARITOMI

ABSTRACT

Magnetotactic bacteria are a class of bacteria that has nano sized magnetic crystals inside their body and respond to geomagnetic field. This paper reports the experimental research on visualization of magnetotactic bacteria "*Magnetospirillum Magnetotacticum*" behaviors under no/DC/AC magnetic field. The motion of magnetotactic bacteria was observed using an optical dark-field microscope system. The images were taken using cameras, and measured by image processing techniques. Applying DC/AC magnetic field, it was observed that magnetotactic bacteria rotated in the direction of magnetic field.

Keywords: Magnetotactic bacteria, Magnetosome, Ferromagnetic nano-particles, Dark-field microscopy, Magnetic field

1. はじめに

ナノテクノロジーの発展に伴い, Micro Total Analysis System (μ -TAS) や Micro Electro-Mechanical System (MEMES) などのマイクロ・ナノデバイスに関する研究開発が盛んに行われている. このようなデバイス中においてマイクロスケールでの流動制御を目的とし, 近年, 外部磁場による非接触制御が可能な磁気機能性流体あるいは強磁性微粒子をこれらデバイス中で応用する研究がなされている. また, この磁気に応答する機能性を持つ材料をドラッグデリバリー, バイオスクリーニング, MRI 造影剤, ハイパーサミア等の医療分野へ応用するという研究もまた期待され活発に行われている¹⁾.

かかる状況下, 著者らはマイクロデバイス中での流れ場制御を外部磁場により効率良く行えるマイクロ流動制御技術を開発することを目的に, 磁気機能性流体として水ベース磁性流体に着目し, 特に, 静磁場作用下における, 強磁性ナノ微粒子の振る舞いに関して研究を行ってきた.

一方, 人工的に作製される磁性流体中の強磁性ナノ微粒子とは異なり, 粒子径 50~150nm ほどの強磁性ナノ微粒子を体内で生成する走磁性細菌が発見され²⁾, その強磁性ナノ微粒子の生成過程に関する研究や, その細菌

自身の行動特性・材料特性に関する研究が活発に行われている^{3,4)}. 走磁性細菌はマグネトソーム(Magnetosome)と呼ばれるマグネタイト(Fe_3O_4)微粒子の連なりを体内に生成し, このマグネトソームを磁気センサーとして地磁気の方向を認識することで自身の成長に理想的な環境である微好気条件下を目指し移動することができる.

著者らは, 走磁性細菌の中でも, 特に螺旋形状の走磁性細菌 *Magnetospirillum magnetotacticum* に着目した. 本報告においては, 無磁場下・磁場作用下におけるこの細菌の挙動を解明することを目的とし, 暗視野顕微鏡法を用い挙動可視化・観察を行った結果について述べる.

2. 実験装置及び方法

Fig. 1 に実験装置の概略図を示す. 本実験においては, 走磁性細菌 *Magnetospirillum magnetotacticum* をワルフのビタミン溶液及びミネラル溶液を含む培養液中に分散させ, その溶液を 76×26×1mm のスライドガラス上にマイクロピペットで 5 μ l 添加し, 22×22×0.17mm のカバーガラスで挟み込み薄膜状にした. これを試料とし光学顕微鏡(Olympus BX50)を用いて可視化, 観察を試みた. 細菌を精細かつ高コントラストに可視化するため, 光学顕微鏡に油浸式暗視野コンデンサレンズ(OLYMPUS U-DCW)を取り付け, サンプルからの散乱光のみを対物

Fig. 1 Schematic diagram of experimental apparatus

Fig. 2 Visualized images of magnetotactic bacteria under DC magnetic field (permanent magnet)

レンズを通して結像させる暗視野法により可視化を行った。円筒型誘導電磁石を試験領域両サイドに設置し、無磁場下（本実験条件においては、微小な地磁気の影響は除外して考えている。）だけでなく、DC 磁場、AC (Sin 波形) 磁場作用下における細菌の挙動も観察した。可視化画像は、鏡塔に設置したカメラ (NIKON D-50) 及び、ビデオカメラ (OLYMPUS CSS-330, WATEC NEPTUNE-100) を用いて撮像され、その後パーソナルコンピュータに取り込まれ画像処理計測された。

3. 実験結果及び考察

暗視野法により、螺旋形状の走磁性細菌がコントラストよく可視化できた。無磁場下では、走磁性細菌はブラウン運動をしながら、ある場所に定位するか、鞭毛運動をしている様子が観察された。DC 磁場(永久磁石)作用下では、多くの走磁性細菌が磁力線方向に配向する様子が観察された (Fig. 2)。AC 磁場作用下では、走磁性細菌が周波数に依存し、時計回りあるいは反時計回りに回転する様子が観察された (Fig. 3)。図中 T は周期 ($=1/\text{周波数}$) である。磁場周波数が増加するに伴い、その回転の応答性は悪くなった。この現象は細菌体内のマグネトソームの外部磁場に対する磁化の緩和時間が関係していると考えられ、外部磁場作用下におけるこの回転応答とマグネトソーム量の関係について、今後、調べる必要がある。

Fig. 3 Visualized images of magnetotactic bacterium rotation under AC magnetic field (1Hz)

4. おわりに

走磁性細菌の挙動可視化に関して、暗視野顕微鏡可視化システムの適用性が示された。また、可視化観察により、走磁性細菌の挙動が外部磁場により影響されることが判った。今後、定量的評価を導き出すために、細菌の寿命や培養方法による影響等も踏まえた挙動観察を行う予定である。

参考文献

- 1) Ito A. *et al*: Medical Application of Functionalized Magnetic Nanoparticles, J. Biosci. Bioeng., Vol.100, No.1 (2005) pp.1-11.
- 2) Blakemore R.: Magnetotactic Bacteria, Science, Vol.190, No.4212 (1975) pp.377-379.
- 3) Schuler D., Frankel R. B.: Bacterial magnetosomes: microbiology, biomineralization and biotechnological applications, Appl. Microbiol. Biotechnol., Vol.52, No.4 (1999) pp.464-473.
- 4) Matsunaga T. *et al*: Drug delivery by magnetoliposomes containing bacterial magnetic particles, Cell. Eng., Vol.2, (1997) pp.7-11.