

原子間力顕微鏡 (AFM) を用いたバイオマテリアルの液中観察

In Situ Observation of Biomaterials Using Atomic Force Microscope

村司雄一

Toray Research Center, Inc.

E-mail: Yuichi_Muraji@trc.toray.co.jp

【はじめに】

原子間力顕微鏡 (AFM) は今や広く普及しており、観察対象や測定環境の制限が少ないこともあって活躍の場をますます広げている。大気中で使用されることが多いが、液中でも観察できる利点があるため、バイオマテリアルの観察に適した手法と言える。ただ、液中では大気中よりもケアしなければいけない点が多く、クオリティの良いデータを取得するのは難しい。ここでは、AFM によるバイオマテリアルの液中観察事例としてリポソームや細胞の観察を取り上げ、前処理なども含めて紹介する。

【実験方法・結果と考察】

<リポソーム懸濁液の調製・基板前処理について>

リン脂質としてジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC)、ジステアロイルホスファチジルグリセロール (DSPG) を用い、DSPC/DSPG/コレステロールを 66.7 : 3.3 : 30 のモル比率で混合した試料でリポソーム懸濁液を調製した。本試料はアニオン性リポソームのため、基板に固定 (吸着) して AFM で観察するためには正に帯電した基板を用いる必要がある。ここでは、基板に水酸基を導入した後 3-アミノプロピルトリエトキシシラン (APTES) で反応させシラン化することで、基板を液中で正に帯電させた。

<AFM 観察結果・リポソームの粒子径分布解析について>

シラン化基板にリポソーム懸濁液を滴下し、AFM を用いて室温下で液中観察を行った。得られた AFM 像 (下図・左) より、リポソームのベシクル構造が基板に吸着したと考えられる球状構造が数多く存在している様子が観察された。

リポソームの粒子径を調べるため、得られた AFM 像からベシクルと判断できるものを粒子として抽出し、画像解析を行った。AFM 高さ像における粒子の面積から、円と仮定した時の直径 (円相当径) を算出し、分散をヒストグラムで表示した (下図・右)。なお、粒子径は探針先端径の分だけ大きく見積もられているため、その影響を除いて再評価した結果についても当日紹介する。

(※試料ご提供：京都大学木村俊作教授)

