

生細胞内部の三次元立体構造を可視化するナノ内視鏡の開発

Development of nano-endoscopy for visualizing three-dimensional structures of live cells

金沢大¹, 金大 WPI-NanoLSI², 産総研³, 東京農工大⁴

◎城川 哲也¹, Alam Mohammad Shahidul¹, Hosain Mohammad Mubarak¹,

Marcos Penedo Garcia², 宮澤 佳甫^{1,2}, 中村 史^{3,4}, 福岡 剛士^{1,2}

Kanazawa Univ.¹, WPI-NanoLSI², AIST³, Tokyo Univ. Agric. & Technol.⁴,

◎Tetsuya Shiokawa¹, Alam Mohammad Shahidul¹, Hosain Mohammad Mubarak¹,

Marcos Penedo Garcia², Keisuke Miyazawa^{1,2}, Chikashi Nakamura^{3,4}, Takeshi Fukuma^{1,2}

E-mail: tetsuya4180@stu.kanazawa-u.ac.jp

人体を構成する基本単位である細胞には多数のタンパク質や核酸が存在し、細胞の代謝やシグナル伝達などに作用することから、これらの動態を理解することは人間の様々な生命現象のメカニズムを解明するカギと考えられている。従来、これらの生体分子は電子顕微鏡や超解像顕微鏡を用いて観察されてきたが、それらの動作環境や分解能には制限があり、未だ観ることのできないナノレベルの動態は数多く存在する。そこで我々は液中でナノスケールの三次元立体構造を計測できる三次元原子間力顕微鏡 (3D-AFM) を基盤技術とした「ナノ内視鏡」を開発し、細胞内部を非染色でナノスケール観察することを目標に取り組んできた。

本研究で開発したナノ内視鏡の概要図を図 1a に示す。3D-AFM では、探針を試料内部に挿入し、探針が受ける相互作用力の三次元分布を取得することにより三次元立体構造を可視化する。細胞内部観察の場合、探針を細胞内部に挿入し細胞に低侵襲で観察する必要があるため、従来のピラミッド形の AFM 探針ではこの問題を克服することは困難である。本研究では、AFM 探針を FIB-SEM で加工した後に、EBD 法と呼ばれる電子線堆積法を用いて直径 100 nm 以下、長さ 4 μm 以上の形状の EBD カーボン探針の作製方法を確立した (図 1b)。図 1c はこれらのカーボン探針を線維芽細胞内部で 3 次元走査して取得した 3 次元力分布像である。この 3 次元力分布像から、細胞内部の立体繊維構造や細胞膜が可視化されていることが分かる。また、計測後の細胞のカルシウムイオン濃度の変化や細胞分裂周期の変化がほとんど見られないことから、これらの計測が細胞に与えるダメージが小さいことも確認済みである。以上のように、本研究では 3D-AFM をベースに「ナノ内視鏡」を開発し、細胞の内部構造を生きたまま観察することに成功した。今回の実験の結果から、本手法は蛍光顕微鏡では見ることのできない非染色のナノ構造や力学的な物性を直接計測できることが示され、これは今後の細胞内における局所的な 2 次元・3 次元 AFM 計測の実現につながるため、本手法により超解像顕微鏡では見ることのできない 10 nm 以下のナノ動態を可視化できる可能性が拓かれた。この計測によってもたらされる新たな知見は、細胞の基礎機能や、疾患、薬剤効果などのナノレベルでの理解の改善と、それに基づく医学・薬学技術の発展につながるものと期待される。

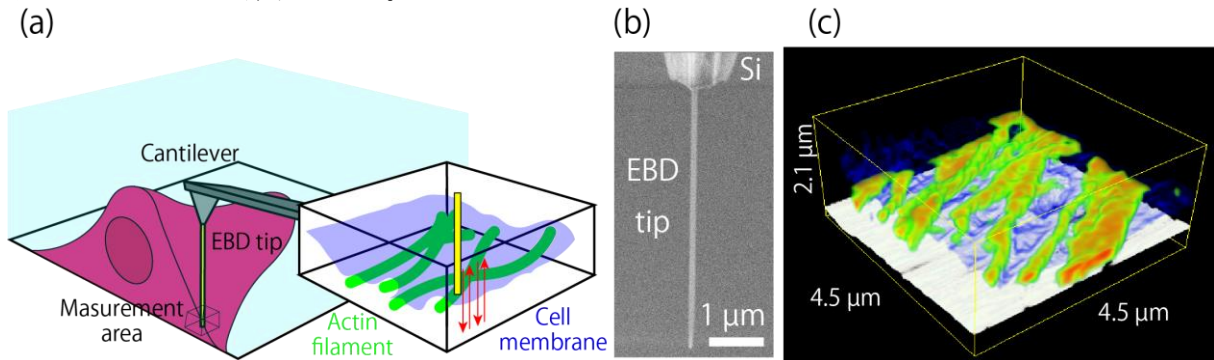


Fig. 1: (a) Schematic images of nano-endoscopy (b) Tip used for measurement, (c) The fiber structure inside Fibroblast cell from 3D AFM image without killing cell.