

## 生きた細胞内部の三次元構造を可視化するナノ内視鏡の開発

### Development of nano-endoscopy for visualizing 3D internal structures of living cells

金大院<sup>1</sup>, WPI-NanoLSI<sup>2</sup>, 産総研<sup>3</sup>, 東京農工大<sup>4</sup>,

宮澤 佳甫<sup>1,2</sup>, Marcos Penedo Garcia<sup>2</sup>, 城川 哲也<sup>1</sup>, 岡野 直子<sup>2</sup>, 古庄 公寿<sup>2</sup>, 市川 壮彦<sup>2</sup>,

宮田 一輝<sup>1,2</sup>, 中村 史<sup>3,4</sup>, 福間 剛士<sup>1,2</sup>

Kanazawa Univ.<sup>1</sup>, WPI-NanoLSI<sup>2</sup>, AIST<sup>3</sup>, Fac. Eng., Tokyo Univ. Agri. Tech.<sup>4</sup>

Keisuke Miyazawa<sup>1,2</sup>, Marcos Penedo Garcia<sup>2</sup>, Tetsuya Shirokawa<sup>1</sup>, Naoko Okano<sup>2</sup>, Hirotochi

Furusyo<sup>2</sup>, Takehiko Ichikawa<sup>2</sup>, Kazuki Miyata<sup>1,2</sup>, Chikashi Nakamura<sup>3,4</sup>, Takeshi Fukuma<sup>1,2</sup>

E-mail: k.miyazawa@staff.kanazawa-u.ac.jp

人体を構成する基本単位である細胞の表面や内部において、たんぱく質や核酸等のナノ動態を理解することは様々な生命現象を理解するために重要である。従来、電子顕微鏡や超解像顕微鏡で細胞表面や内部の観察が行われてきたが、それらの動作環境や分解能には制限があり、未解明のナノ動態は数多く残されている。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) に着目し、従来の手法では困難であった非染色での細胞内部の三次元構造観察を実現する「ナノ内視鏡」の開発に取り組んでいる。

本研究で開発している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。本研究では、探針を細胞の内部に挿入する必要があるが、一般に AFM で使用される探針は長さ 10  $\mu\text{m}$  前後の円錐形状であり、探針を細胞内部にダメージを与えることなく挿入することは困難である。そのため、図 1a のように、細長い探針 (例: 直径 200 nm 以下、長さ 5  $\mu\text{m}$  以上) を作製する必要がある。我々は、再現性良く細胞内に挿入できる探針の作製法として、Si 探針を FIB-SEM で加工して先鋭化させる方法 (I. obataya et al., Nano Lett., 5(1) (2005) 27) を確立した (図 1b)。図 1c-d は、開発した探針を用いて取得した生きた HeLa 細胞 (ヒトのがん細胞) の 3D-AFM 像であり、細胞表面や内部に存在する微細な繊維状の構造や、細胞核が三次元的に可視化されていることが分かる。また、AFM 計測後には蛍光顕微鏡観察により細胞が生細胞の状態を維持していることを確認した。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、本手法により実際に細胞内部の構造を生きたまま可視化できることを実証した。本手法では、細胞内部を非染色かつナノレベルで可視化できる可能性があり、また、光学的手法では測定できない細胞内部の力学的な物性情報も直接測定できる可能性がある。さらに、細胞内に探針を再現性良く挿入できる手法の確立は、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、超解像顕微鏡では見ることはできない 10 nm 以下のナノ動態を可視化できる可能性が拓かれた。本手法で得られる新たな知見は、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。

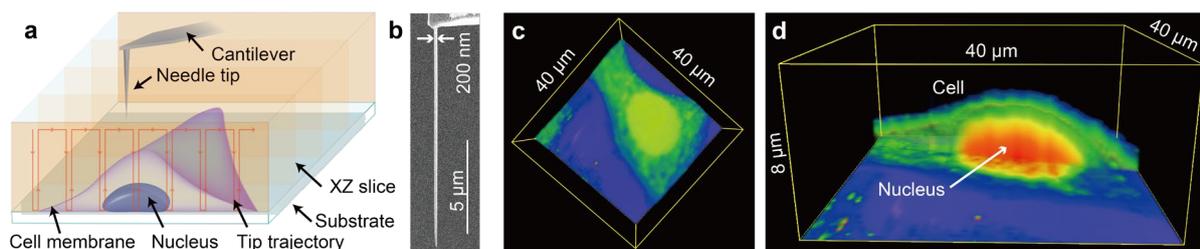


Figure 1: (a) Schematic illustration of the nano-endoscopy. (b) SEM image of the needle tip fabricated by FIB-SEM. (c-d) 3D force distribution images of the HeLa cell obtained by the developed nano-endoscopy.