

走査型イオン伝導顕微鏡を用いたバイオフィルムの3D可視化

Visualization of Biofilms Using Scanning Ion Conductance Microscopy

静大工¹, 鈴鹿高専², 静大電研³, 服部 俊大¹ 三輪有平², 平井信充², 中澤謙太, ○岩田 太^{1, 3}

E-mail: iwata.futoshi@ipc.shizuoka.ac.jp

バイオフィルムとは、物質表面に付着した細菌などの微生物が集団化し、細胞外高分子物質 (Extracellular polymeric substances : EPS)等から形成した膜状の三次元構造材料のことである¹⁾。バイオフィルム中の微生物は、抗生物質や宿主免疫などの外部環境に対する耐性があり、金属表面での微生物による腐食、医療における感染危険性、食品表面の腐敗を引き起こす可能性がある。一方、バイオフィルム形成は悪影響を及ぼすだけでなく、発酵食品や発酵飲料、排水処理、海洋の石油汚染分解、土壌のバイオレメディエーションなど、バイオフィルムを積極的に利用することで、恩恵を受けられる側面もある。よって、バイオフィルムの形成を制御することは非常に有用であり、その構造の観察や物性の評価および形成メカニズムの解明などが求められている。現在、共焦点レーザー顕微鏡 (Confocal Laser Scanning Microscopy : CLSM)を用いたバイオフィルムの3Dイメージングが実現されている²⁾が、バイオフィルムへの染色の必要性や光学顕微鏡の回折限界による分解能の制限が課題である。ナノスケールでの生体試料の観察手法として、走査型プローブ顕微鏡の一種である走査型イオン伝導顕微鏡 (Scanning Ion Conductance Microscope : SICM)³⁾が開発されている。SICMは、培養液などの電解液中でイオン電流を信号として検出することで、非接触・低侵襲で試料表面の観察が可能である。よって SICM は生きた状態での生体試料の観察に適しており⁴⁾、バイオフィルムにおいても SICM のナノスケール計測が期待できる。しかしながら、表面の境界が曖昧なバイオフィルムでは、試料表面を検出して画像化する SICM の計測原理上、イメージングが困難であり、計測手法の改良が望まれる。

本研究では、SICMによる試料表面近傍の3Dイメージング法を開発し、表面の境界が曖昧なバイオフィルムの可視化を目的とした。SICMのホッピングモードにおいてプローブをバイオフィルムにアプローチさせる際のイオン電流の微弱な変化を高感度に検出し、記録および表示することで、バイオフィルムのイメージングを可視化した結果について報告する。

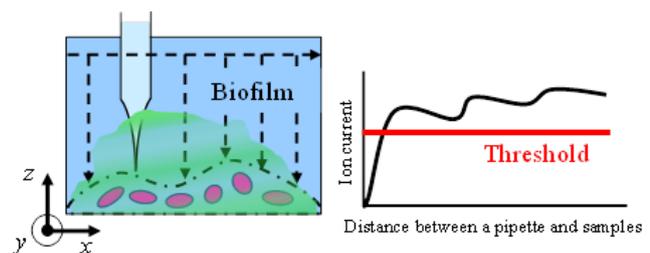


Fig. 2 Current imaging using SICM
(a) Approaching using a nanopipette,
(b) Approach curve measured on biofilms

1) N. Tanaka, *et al.*, *Sci. Rep.* **9** (2019) 8070

2) Y. Liu, *et al.*, *ACS Nano* **10** (2016) 4779-4789

3) P. K. Hansma, B. Drake, O. Marti, S. A. C. Gould, and C. B. Prater, *Science* **243** (1989) 641-643

4) T. Ushiki, M. Nakajima, M. Choi, S. J. Cho and F. Iwata, *Micron* **43** (2012) 1390-1398