

3D-AFM による染色体内部計測のためのカーボンナノチューブ探針の開発

○寺前 奎吾^{1*}, 宮澤 佳甫^{1,2}, 児島 亮平¹, 平原 佳織³, 堀家 慎一⁴, 福間 剛士^{1,2}

¹金沢大学自然科学研究科, ²金沢大学 WPI-NanoLSI, ³大阪大学大学院工学研究科,
⁴金沢大学疾患モデル総合研究センター

Development of a CNT tip for internal chromosome measurement by 3D-AFM

○Keigo Teramae^{1*}, Keisuke Miyazawa^{1,2}, Ryohei Kojima¹, Kaori Hirahara³,
Shin-Ichi Horike⁴ and Takeshi Fukuma^{1,2}

Graduate School of Natural Science and Technology, Kanazawa University¹,
WPI-NanoLSI, Kanazawa University², Graduate School of Engineering, Osaka University³,
Research Center for Experimental Modeling of Human Disease, Kanazawa University⁴

3次元原子間力顕微鏡(3D-AFM)は、AFM探針を固液界面で3次的に走査し、探針が受ける相互作用力の3次元分布を取得することで、試料の表面・界面の3次元揺動分子構造をサブナノスケールで可視化できる手法である。これまでの先行研究で、3D-AFMを用いて、原子・分子レベルで平坦な基板表面の水和・揺動分子構造の観察が達成されており、今後は産業やバイオなど様々な分野に実用的に応用されることが検討されている。そのような背景の中で、生物・医学分野では、細胞・細胞核・染色体などの厚みのある立体的な生体試料の3次元内部構造の計測に応用されることが期待されている。これを実現するためには、生体試料内部に非侵襲的に侵入できる極限まで細長く尖らせた尖鋭プローブの開発が必要である。そのため、本研究では、現在様々な手法や材料を用いて、本手法の基盤となる尖鋭プローブの開発を行っている。染色体は、DNAとタンパク質によって形成される直径約30nm程度のクロマチン繊維が3次的に折り畳まれて構成されている。これまでに電子顕微鏡や走査型プローブ顕微鏡を用いて染色体の表面と内部の観察が行われてきたが、未だにクロマチン繊維の詳細な折り畳み構造やその形成メカニズムは明らかになっていない。そこで、本研究では、3D-AFMで染色体の3次元折り畳み構造を可視化するために、カーボンナノチューブ(CNT)を用いた尖鋭プローブの作製手法を確立した(図1a)。本研究では、電子顕微鏡内部のマニピュレーター機能を使用し、AFM探針先端にCNTを取り付け、CNTに電流を流して加熱することで先端を切断し、長さ約500nm、直径約20nmの尖鋭プローブを作製した(図1b)。また、染色体は、ヒトのがん細胞であるHeLa細胞から抽出し、ガラス基板上に固定した。作製した尖鋭プローブを使用して、染色体の直上でフォースカーブ(周波数シフト曲線)を取得した(図1c)。図1cから、フォースカーブは、染色体表面から500nmまでの深さの範囲で振動的な挙動を示した。この500nm深さはCNT探針の長さと同様で、このことから、少なくともCNT探針は染色体の内部に挿入され、その内部情報を反映した力分布が取得できた可能性が高いと考えられる。現在、我々は3D-AFM計測も行っており、染色体表面および内部の3次元像の取得にも成功している。一方で、空間分解能や計測手法には改善の余地が残されており、現在これらの課題に取り組んでいる。本手法で計測できる生体試料は、染色体だけではなく、細胞核・オルガネラ・細胞など応用範囲は多岐に渡り、実用性の高い計測手法となることが考えられる。今後、尖鋭プローブを用いた3D-AFM計測が生命科学分野に応用され、生体試料内部の様々な構造や動態をナノスケールで直接観察されることで、各分野の研究の進展に貢献されることが期待される。

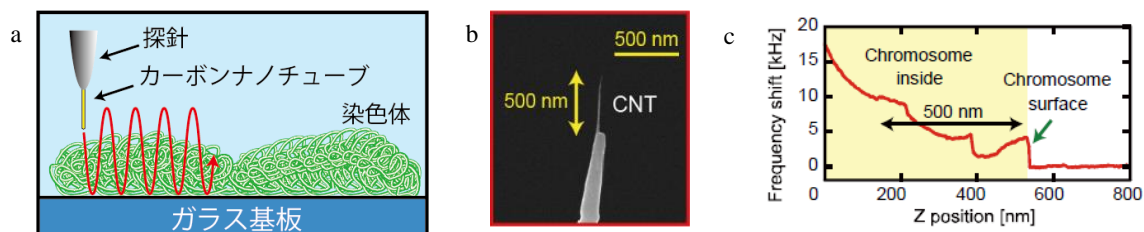


図1: (a)染色体の3D-AFM計測の概要図。(b)本研究で作製したCNT探針の走査型電子顕微鏡像。(c)(b)を用いて染色体の直上で取得した周波数シフト曲線。

*E-mail: keitera0831@stu.kanazawa-u.ac.jp