

背景・目的

バクテリアは細胞表面から生えたべん毛を回転させて水の中を泳ぐ。回転を生み出しているのは、細胞膜内に埋め込まれたバクテリアモーターである。バクテリアモーターは固定子と回転子が分離し、一方向に回り続けられるという自然界では非常に珍しい回転機構である。バクテリアモーターは細胞膜内に流れ込むイオンの自由エネルギーをトルクに変換している。本研究では、細胞膜内外の環境制御とべん毛の運動観察を可能にするデバイスを作製し、モーター特性を調べることを目指す。

マイクロ流路デバイス

このデバイスは、微細オリフィスシートを挟んで上下に微小空間を構築し、それらを独立して液置換できるデバイスである。図 1 は作製したデバイスの断面図と上面図である。このデバイスは倒立顕微鏡での観察を想定し、下から薄いガラス基板、主流部、オリフィスシート、チャンバーを重ね合わせた構造になっている。バクテリアは菌体を伸長化した後に、主流部に流してチャンバーから吸引し、微細オリフィスに菌体をはめ込むことで固定する。

べん毛の抗体染色と細胞膜破壊

べん毛は非常に細いため蛍光抗体染色で可視化を行う。オリフィスに固定した菌体に対し、流路で抗体の溶液を流すことで染色する。また細胞膜内の環境を再現するため、チャンバー側の液置換で細胞膜を破壊する。この両方を行った結果が図 2 である。a では細胞膜破壊を示す YO-PRO-1 の蛍光、b はべん毛の蛍光である。これらの結果から、べん毛の鮮明な観察と細胞膜の破壊を確認することができた。

菌体への電圧印加

菌体を固定した状態でオリフィスシートの上下に電圧を印加した。しかし電圧印加によるべん毛の回転はまだ見られていない。電圧印加に反応するような動きは見られるが、明らかなべん毛の回転は見られなかった。回転できなかった原因としては、べん毛同士での吸着が起こり、回転できるべん毛の数が著しく減っている可能性が考えられる。

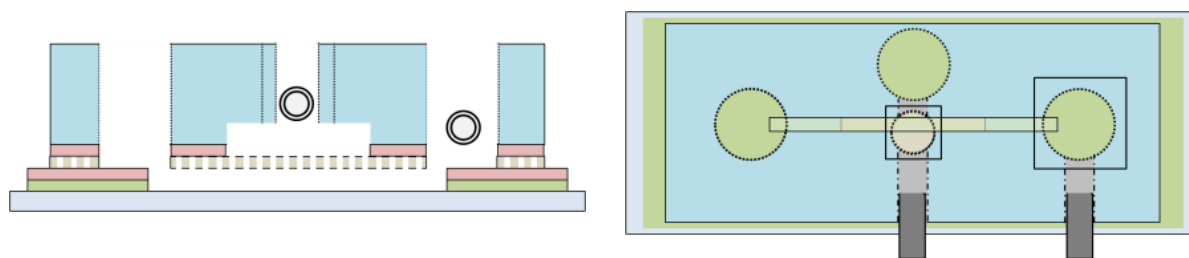


図 1 マイクロ流路デバイス

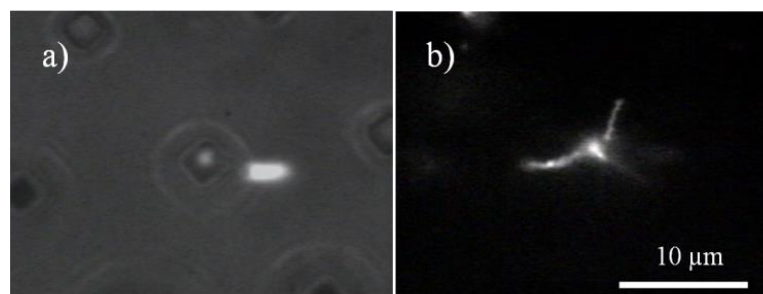


図 2 吸引固定した菌体での細胞膜破壊(a)とべん毛染色(b)