

A03 ミトコンドリア分裂過程におけるナノスケール力学機械特性の時間空間ダイナミクスの検出

金沢大学バイオ AFM 先端研究センター 渡邊信嗣

1. 研究目的

本研究は、液中にある生物試料の生体膜のナノレベルの動きを可視化する計測技術の確立に挑むものである。単離したミトコンドリアが示すナノレベルの膜変形、ゆらぎのダイナミクスを個体の全領域で可視化することを本研究の目的としている。

2. 2016 年度の成果

本年度は、当初の計画のとおり、液中において脆弱な生体膜を破壊せず、膜の変位をナノレベルの空間解像度で捉えることが可能な技術の開発を推進した。我々が本研究において採用するイオン伝導顕微鏡という走査プローブ顕微鏡技術により膜変位の動きを捉えるには、十分高速な探針の垂直位置制御が必要となる。一方で計測したい試料の局所領域へ速やかに探針をアプローチできる技術も要請される。また、多量の溶液を含む試料の測定系は、探針に比較して大きくかつ重量がある。このような事情により、本研究の目標であるナノレベルの膜変位を捉えるには、従来に無い探針走査型の高速位置制御装置（ナノポジショナー）の開発を行う必要があった[図 1(a)]。ナノポジショナーの機械設計とともに、探針の高速走査を可能とする位置制御手法も開発した。開発した技術の有効性を実証すべく、サブ 10nm サイズの形状を有する試料を溶液中にて形状イメージングした。開発の概要は以下のとおりである。

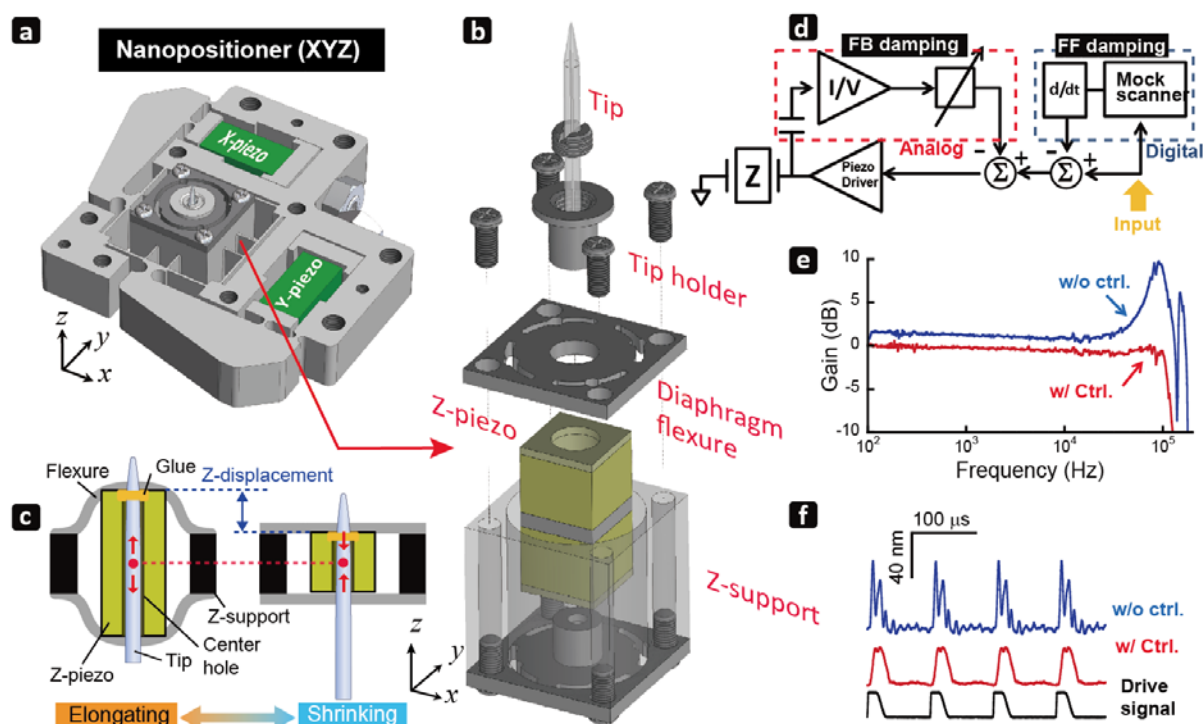


図 1. (a)探針走査型ナノポジショナーの全体像。(b) 垂直方向走査機構の分解図。(c)垂直走査機構の仕組み。(d)振動抑制制御の概要。(e)振動抑制制御の結果(周波数領域)。(f)振動抑制制御の結果(時間領域)。

(1) 垂直方向探針位置制御機構の開発

ナノポジショナーは積層ピエゾ素子による圧電効果によりナノレベルの変位制御を行う。ナノポジショナーは、このピエゾ素子の変位を探針の変位に変換し、さらには変位の発生に伴う好ましくない振動成分を除去せねばならない。さらに時間変化の速い現象を捉えるにはナノポジショナーの共振周波数が大きいことも要請される。我々は、変位発生とともに生じるピエゾ素子の慣性力を相殺する機構を有したナノポジショナーを設計し[図 1(b)、(c)]、高いナノポジショナーの共振周波数を実現した[参考文献(1)、(2)]。

(2) 振動抑制技術

開発したナノポジショナーの垂直変位に関する伝達関数は、100 kHz 程度に共振ピークを有する[図 1(e)w/o ctrl.]。このピークを完全に抑制するフィードフォワードとフィードバックを駆使した制御手法を開発した[図 1(d)、(e)w/ctrl.]。この結果、ナノポジショナーの時間応答特性が $10\mu\text{s}$ 以下に劇的に改善された[図 1(f)] [参考文献(3)]。これらの成果により、類似の従来型走査プローブ顕微鏡よりも 100 倍程度高速に探針の垂直位置制御を行うことが可能になった。

(3) 水平方向探針制御機構の開発

ナノポジショナーの水平方向に大きな変位を発生する設計を検討し、設計では、望まない振動を抑えるために全体の寸法を出来る限りコンパクトに抑えることが重要になる。このために、ナノポジショナーの構造がある程度複雑になることが避けられない。複雑な構造体の機械特性を十分よく設計するために、有限要素法(FEM)を用いたシミュレーションを採用した。ナノポジショナーの寸法、材料、達成できる機械加工精度などを検討しつつ、FEM シミュレーションと突き合わせながら、開発を進め、最終的に水平方向に $34\mu\text{m} \times 34\mu\text{m}$ の変位を達成した。単離したミトコンドリア(直径 $\sim 1\mu\text{m}$)を捉えるには十分である。

上記の開発した技術技術を組込んだナノポジショナーにより、厚さ 5nm の脂質膜上の直径 7nm のアクチン繊維を明瞭に解像できた(図 3)。また、垂直方向の変位ノイズはサブ nm を達成した。

参考文献：

- (1) 渡辺信嗣、安藤敏夫 「プローブ走査機構、プローブ装置および走査型プローブ顕微鏡」 出願日：2016-11-22, 出願番号：PCT/JP2016/084534
- (2) S. Watanabe, and T. Ando, submitted
- (3) S. Watanabe, N. Kodera, T. Ando in preparation.

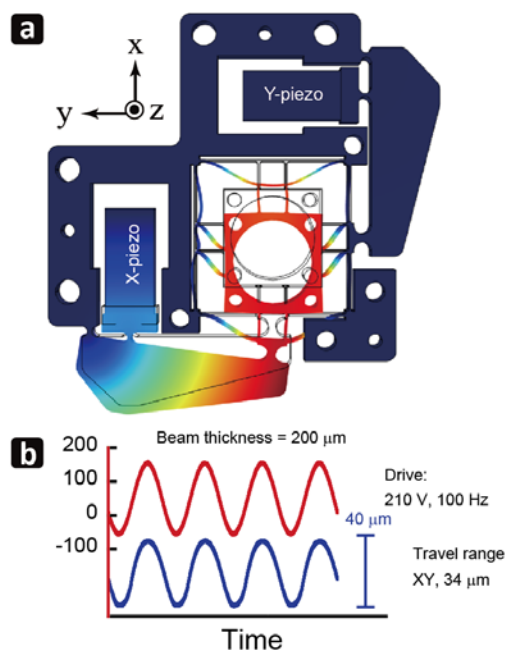


図 2. (a)FEM 解析による水平方向変位の様子。(b)実測した水平方向変位。

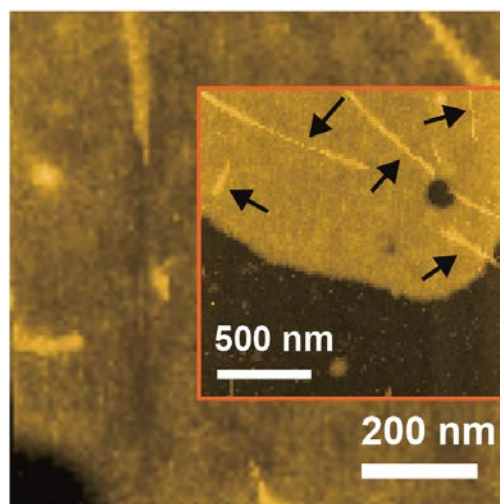


図 3. 脂質膜上の直径 7nm のアクチン繊維の観察結果