提出日:2025年5月9日

2024 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業

研究成果の概要

実験課題名		繊維凝集性微生物 Geotrichum sp.の細胞表面構造の解析	
申請者(実験責任者)	氏名	中村彰宏	
	所属機関名•部局名	長岡技術科学大学・技術科学イノベーション系	
	職名	助教	
			原子分解能/3D-AFM
利用した Bio-SPM 技術			高速 AFM
(該当の技術の右欄に〇)			SICM
		\circ	細胞測定 AFM
NanoLSI 受入担当教員名		宮澤佳甫 助教	

繊維凝集性微生物 Geotrichum sp. M111 株は、焼酎残渣の固形物に強く吸着してセルロース系繊維を凝集することで、効率的な固液分離を可能にする微生物として分離された。これまでに Geotrichum sp. M111 株の吸着には、細胞壁表面のタンパク質が関与していることが示唆されているが、実際にタンパク質が関与するのか、表面構造の関与など、未だに吸着に関連する因子は同定されていない。本課題では AFM を用いた Geotrichum sp. M111 株の細胞壁表面構造観察の予備検討を実施した。

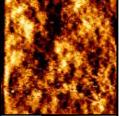
AFM による構造観察は、JPK NW4 装置を用いて大気中および液中で実施した。寒天平板培地由来の菌体は大気中かつスライドガラス上で観察されたが、乾燥に伴う収縮と変形が認められ、節状構造が強調されていた。一方、液体培養した菌体の液中 AFM 観察では、全体が膨張したような形態を示した。また液中菌体は、ポリLリジン処理ガラスボトムディッシュを用いることで、菌体が安定して吸着/固定され、AFM により表面構造情報を得ることができた。この際、240AC カンチレバーは菌体の移動を引き起こし、測定不可であったが、AC40カンチレバーでは安定した測定が可能であった。液中での菌体は、弾性率が低く、表面は平滑で欠陥も少なく、10-20 nm 程度のラフネスを示した。また本菌は胞子形態と糸状形態を示すが、形態ごとの表面

構造の違いは観察されなかった (図 1)。さらに、プロテアーゼ処理による表面タンパク質の除去実験では、液中でのポリ L リジン処理ガラスボトムディッシュへの吸着量が著しく減少する様子が観察された一方で、AFM 計測ではプロテアーゼ処理の有無による表面構造の違いは見られなかった。

以上の結果から、本課題では Geotrichum sp. M111 株の AFM を用いた表面構造の観察法を確立し、表面構造の観察に 至った。今後、吸着に関与する分子の同定と吸着機構の解明 に向けたより詳細な解析が求められる。

2<u>00 nm</u> 0 10 nm

胞子形態



糸状形態

図 1 胞子形態および糸状形態細胞の表 面構造

200 nm 0

※本様式3は、"事業成果報告"として、NanoLSI Web サイトにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限:2025 年 5 月 9 日(金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先: 金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当係 国岡 E-mail: nanolsi openf01@ml.kanazawa-u.ac.jp