

2P272 キトサンまたはレクチンで被覆した金ナノ粒子と細菌との相互作用解析

(宇都宮大院・工) ○齊藤タ希也, 畠山雄斗, 奈須野恵理, 飯村兼一, 加藤紀弘
(信州大・織) 佐藤高彰

【緒言】金ナノ粒子 (AuNP) は、表面プラズモン共鳴に基づく特異的な光学特性や優れた電気伝導性などの性質に加え、粒子径や形状の制御や表面修飾が容易であることから、バイオセンサーやドラッグデリバリーシステムなどバイオテクノロジー分野へも応用されている。本研究では、AuNP の新たな用途として細菌 (バクテリア) の捕集剤あるいはセンシングへの応用を目指し、キトサンとレクチンを被覆材として合成した AuNP の細菌表面との相互作用を評価した。キトサンはエビやカニ由来のキチンを脱アセチル化して得られる多糖類であり、正電荷を有することから負に帯電している細菌と静電的に相互作用することが期待される。一方、特定の糖鎖を認識し結合するタンパク質であるレクチンは、細胞表面に露出した糖鎖との相互作用により細胞表面に吸着するものと期待される。

【実験方法】本研究では、桿菌である *Serratia marcescens* をモデル細菌として、AuNP との相互作用による菌体同士の凝集特性への影響や細胞表面構造の変化を評価した。凝集特性は、細菌が 1 μm の単一細胞または数十 μm の凝集体として存在する割合をレーザー回折/散乱式粒子径測定により評価した。*S. marcescens* の培養液を遠心分離後 (8,000 rpm, 10 min)、上清を除去した菌体ペレットにキトサンまたはレクチンであるコンカナバリン A (ConA) で被覆した AuNP の分散液を添加し、1 h 激しく振とうすることによって、菌体を再懸濁すると同時に AuNP と菌体の相互作用を促した後、粒径測定を実施した。一方、細胞表面構造の変化は、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて観察した。*S. marcescens* の菌体ペレットに 2 種類の AuNP 溶液をそれぞれ 4 mL 添加して 30 min 激しく振とうした菌体懸濁液を再び遠心分離し上清を除去後、菌体ペレットを 2.5% グルタルアルデヒド溶液に 1 h 浸漬して細胞の状態を固定化し、上澄み液を静かに除去した。菌体ペレットに添加するエタノール濃度を段階的に増加させて細胞内の水分を除去した後、二酸化炭素を溶媒として用いて臨界点乾燥し、得られた菌体粉末をプラチナでコートし SEM 観察試料を作製した。

【結果と考察】キトサンまたは Con A で被覆された AuNP の分散液を菌体懸濁液と混合すると、どちらの場合でも凝集体の形成が誘導された。クエン酸被覆 AuNP では凝集が起こらなかったことから、細胞表面に AuNP が吸着することで表面特性が変化し凝集したものと考えられる。*S. marcescens* の

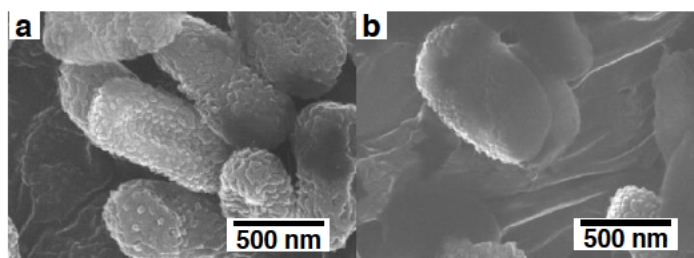


Fig. 1 AuNP 溶液混合時の *S. marcescens* の SEM 画像.

(a) キトサン被覆 AuNP, (b) Con A 被覆 AuNP.

SEM 画像では、キトサンまたは Con A で被覆した AuNP 存在下で細胞表面に約 50 nm の凹凸が観察された (Fig. 1)。キトサン被覆 AuNP では菌体表面との静電的相互作用によって、また Con A 被覆 AuNP では細胞表面の糖鎖に Con A が結合することにより吸着したものと考えられる。

Interaction analysis between bacteria and gold nanoparticles coated by chitosan or lectin. Yukiya SAITO¹, Yuto HATAKEYAMA¹, Eri NASUNO¹, Ken-ichi IIMURA¹, Norihiro KATO¹, Takaaki SATO², ¹Department of Material and Environmental Chemistry, Graduate School of Engineering, Utsunomiya University, 7-1-2 Yoto, Utsunomiya, Tochigi 321-8585, Japan, Tel: 028-689-6154, Fax: 028-689-6154, E-mail: mt186323@cc.utsunomiya-u.ac.jp, ²Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University.