

様式2

平成28年度 生体医歯工学共同研究実施報告書

受理年月日	
受理番号	2015

平成29年 3月31日

生体医歯工学共同研究拠点 研究所長会議 議長 殿

共同研究代表者  
 所属機関 鈴鹿工業高等専門学校  
 職 名 准教授  
 氏 名 平井 信充 印  
 勤務先所在地 〒510-0294  
 鈴鹿市白子町  
 電話番号 059-368-1823  
 FAX番号 059-368-1820  
 E-mailアドレス : hirai@chem.suzuka-ct.ac.jp

下記により、共同研究の実施報告を致します。

記

研究題目	(和)バイオフィーム生成超初期過程の走査型プローブ顕微鏡を用いた観察 (英)Observation of initial growth process of biofilms using scanning probe microscopy		
研究領域	1. 生体材料に関する基礎・応用研究 2. 生体工学に関する基礎・応用研究 3. 生体機能分子に関する基礎・応用研究 ④化学・電気・機械・材料工学の生体応用研究		
研究期間	平成 28 年 6 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日		
研究組織			
氏 名	所属機関・部局等	職 名	役割分担
平井信充 岩田 太	鈴鹿工業高等専門学校 生物応用化学科 静岡大学 電子工学研究所	准教授 教授	研究総括・実験 装置開発・実験
所要経費			
旅費総額	研究・会議費総額	消耗品費総額	
100,000 円	0 円	100,000 円	
生体医歯工学共同研究拠点内対応教員	(共同研究をした教員名を記載) 岩田 太		
共同研究継続の希望について	④ ・ 無	平成28年度研究費 総額(千円)	200,000 円
		※継続を希望される場合記入してください	

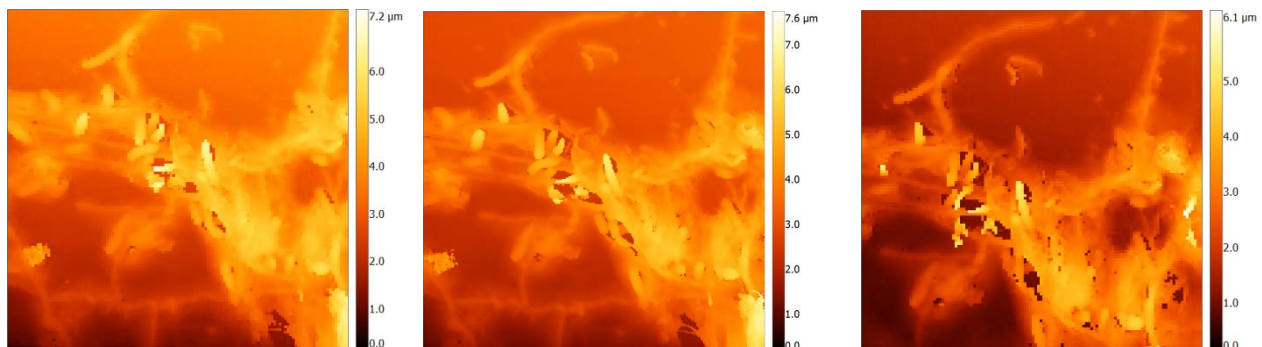
## 研究成果

バイオフィームとは、水のあるあらゆる場所に存在しており、自然界にも広く存在する。細菌の作用により各種材料表面に膜状に形成され、様々な悪影響を引き起こす。例えば、金属表面に形成されると腐食、歯の表面に形成されると虫歯、病院内で形成されると院内感染の原因となる。そのため、バイオフィームの生成を抑制する材料の開発が強く望まれているものの、材料との相互作用の影響を最も受けるバイオフィーム生成の超初期過程について、その観察手法は確立されていないのが現状である。本研究の目的は、水中での細胞等の形態観察に用いられてきた走査型イオン伝導顕微鏡(Scanning Ion Conductance Microscopy：以下 SICM)を用いた、基板上に生成した常在菌バイオフィーム形状の水中その場観察である。

実験室バイオフィーム加速生成機(Laboratory Biofilm Reactor：以下 LBR) (図 1) にガラス板(10mm x 10mm x 1mm) をセットし、希釈した人工海水(塩分濃度約 1%) を 30 °C で 1 週間循環させてガラス板表面に常在菌バイオフィームを成長させた後、SICM に導入し、生理食塩水中でその表面を観察した。結果を図 2 に示す。走査領域は 40 × 40 μm、画素数は図 2(a) および (c) は 128 × 128、図 2(b) は 256 × 256 である。また、画像を 1 枚撮影するのに必要な時間は、図 2(a) および (c) は約 30 分、図 2(b) は約 2 時間である。図において、より明るい部分がより高く、より暗い部分がより低いところを表している。図の上部および左下部にみられる平坦なガラス基板上に、図の中央部および右部にみられるバイオフィームが成長していることがわかる。今回観察できたバイオフィームは 1~2 μm 程度の太さを有する紐状のものが絡み合った構造をしており、微生物の一種である藻類が主要な構成物質ではないかと考えている。以上、SICM を用いて、ガラス基板上に生成した常在菌バイオフィームを生理食塩水中においてその場観察する手法の確立に成功した。今後、本手法を用いて単一菌バイオフィームの観察に展開したいと考えている。



図 1 実験室バイオフィーム加速生成機の外観写真



(a) SICM に導入して 3-4 時間後 (b) SICM に導入して 4-6 時間後 (c) SICM に導入して 16-17 時間後  
図 2 ガラス板表面上に形成した常在菌バイオフィームの SICM 像(ほぼ同一箇所)

### 使用した設備・資料・試料等

走査型イオン伝導顕微鏡、実験室バイオフィーム加速生成機、走査型電子顕微鏡、原子間力顕微鏡、光学顕微鏡、ラマン分光分析装置、マイクロピペットプラー

### 本研究成果に関連する論文発表状況

得られた研究成果について直接関連している発表は主に以下の通りである。

- 1) 材料表面分析としての SPM と最近の話題(招待講演), 平井 信充, 日本溶射学会中部支部第13期・第5回溶射技術研究会 2016年8月23日
- 2) Trial of In-situ Observation on Indigenous Bacterium Biofilm in Aqueous Solution by means of Scanning Ion Conductive Microscopy (ポスター発表), N Hirai, S. Iida, M. Yoshioka, Y. Eguchi, F. Iwata, H. Ikegai, H. Kanematsu, International Symposium on Biomedical Engineering 2016年11月10日
- 3) SICM による常在菌バイオフィーム形態観察の試み(ポスター発表), 平井信充, 飯田壮葵, 吉岡正義, 江口由祐, 岩田太, 生貝初, 兼松秀行, 第36回表面科学学術講演会 2016年11月29日  
なお、近々論文投稿を行う予定である。