

## 高圧力顕微鏡

### High-pressure Microscope

西山 雅祥<sup>1,2</sup>, 木村 佳文<sup>3</sup>

<sup>1</sup>京都大学 白眉センター, <sup>2</sup>京都大学 物質-細胞統合システム拠点,

<sup>3</sup>同志社大学 理工学部 機能分子・生命科学科

<sup>1</sup>The HAKUBI Center, Kyoto University

<sup>2</sup>Institute for Integrated Cell-Material Sciences (WPI-iCeMS), Kyoto University,

<sup>3</sup>Department of Molecular Science and Biochemistry, Faculty of Science and Engineering,  
Doshisha University

Hydrostatic pressure is one of the thermodynamic parameters that characterize the physical and chemical properties of targeted systems. Here, we report a high-pressure microscope that enables us to acquire high-resolution microscopic images up to 150 MPa. The developed device allowed us to study how the pressure affects the properties in the system, e.g. bacterial motility.

#### 1. はじめに

百聞は一見に如かず, という諺が示唆するように, 調べたいものを「みる」ことで多く情報を直接得ることができる. そして, 「みる」ことで得られる情報が分野を問わず重要であることは, 見る, 観る, 覧る, 診る, といった豊かな語彙にもよくあらわれている. 光学顕微鏡は, 手軽にマイクロメートルスケールの物体を「みる」ことができる有用なツールである. 誰しも子どもの頃に一度は触った経験のある身近な道具であり, かつ, 様々な研究開発分野で汎用的に使われている理化学機器でもある. ライフサイエンスの分野では, 細胞などをカバーガラスの間に挟み込むことで, 顕微鏡下で観察を行う. 観測対象を光学窓をもつ金属容器に封入することで, 高圧力をかけながら顕微観察を実施できるようにしたのが, 高圧力顕微鏡である. 高圧力をかけると, タンパク質と水との相互作用が変化するため, 分子構造や酵素活性が変化することが知られている[1, 2]. また, 複雑な構造体であるほど, 反応過程に関与する分子種が多い複雑な生命現象であるほど, 比較的低い圧力で影響が出ることが知られている. 我々は, 高圧力によってタンパク質の構造や機能を変調させ, その応答を計測する事で, タンパク質の動作機構を調べる研究を行ってきた.

高圧力下での顕微観測は歴史が古い. 1880年代後半には, すでに, 深海から採取された海洋小生物を高圧容器に封入し, その挙動についての報告例がみられる [1]. その後も, 大腸菌に代表されるバクテリアや, 酵母, 培養細胞, 筋肉や神経などの生体組織といった, 多種多様な生物サンプルを対象として, 圧力の応答をみる研究が行われてきた[1-4]. 高圧力下にあるサンプルを実時間で観察するため, これまでにも, 顕微観測を目的とした様々な高圧力チャンバーが報告されてきた[5-7]. しかしながら, その多くは, 顕微鏡としての性能を犠牲にしても耐圧性能を重視することが多かったのが実状である. 一般に高圧容器の観測窓 (および, その周辺) は, 加圧時に破損しやすい場所であり, 高圧装置

全体の耐圧性能を左右しかねない重要な部位となる[8, 9]. つまり、耐圧性能を重視すると、必然的に、開口径を小さくし、厚くて硬い光学基盤で塞ぐことになる。これでは、観測対象から発せられる光を幅広い角度から集めることが困難となり（開口数が狭められ）、解像度が下がることになる。つまり、吸光光度計や蛍光光度計などの分光装置と異なり、高圧力チャンバーと顕微鏡の相性は原理的にかなり悪いと言えよう。

筆者らは、今日に至るまで、高圧力チャンバーの耐圧性能維持と高解像度の顕微観測という相反する要請を満たす新しい分析装置を開発し、分子モーターの動作機構を明らかにする研究を行ってきた[10–14]. 本稿では、筆者らが開発した高圧力下にある分子や細胞を観察できる顕微鏡について、その装置構成と性能評価について紹介する。

## 2. 高圧力顕微鏡の構成

我々が開発した高圧力顕微鏡は、研究対象となるサンプルを封入し圧力をかける高圧機器と、光学顕微鏡から構成されている。前者は、光学顕微鏡用の高圧力チャンバー（2.1, 図1A）、圧力変換器

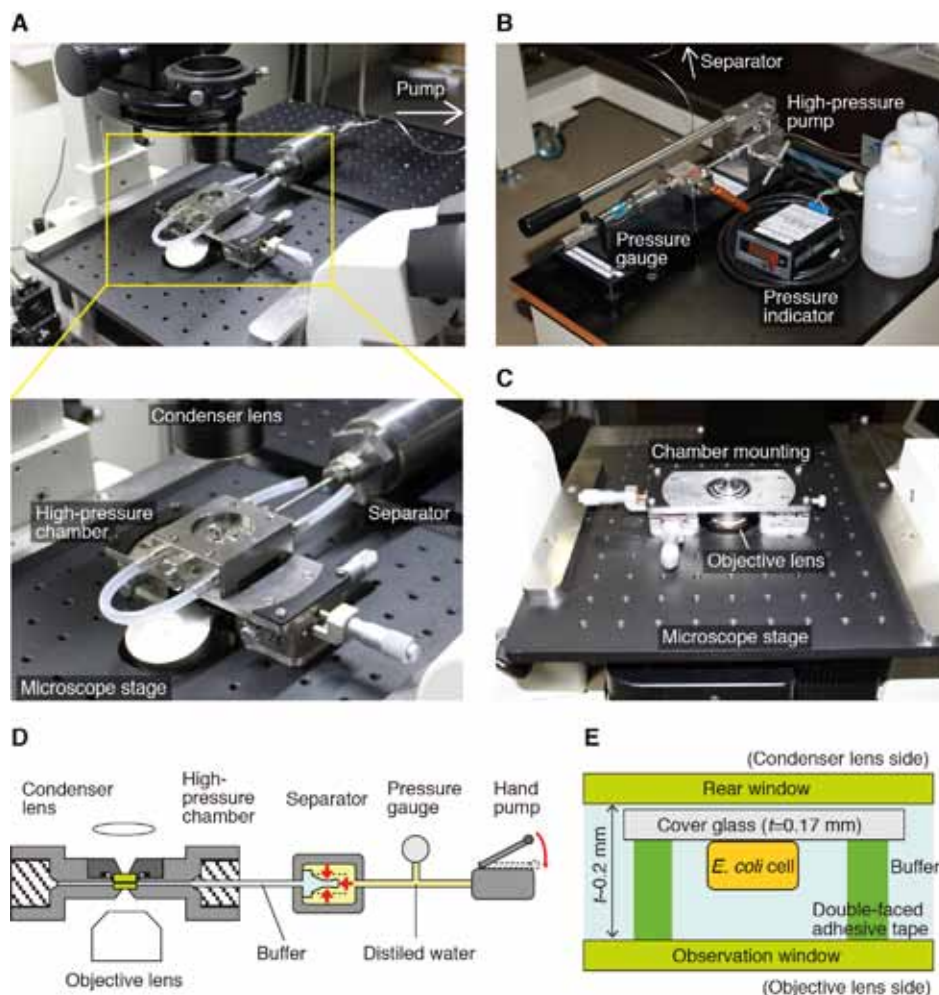


図1 高圧力顕微鏡 (A)光学顕微鏡にマウントした高圧力チャンバーとセパレーター。(B)高圧ポンプ, 圧力ゲージ, 表示器。(C)自作の顕微鏡ステージ（希望者には部品図を提供いたします）。(D) 装置構成図。(E)高圧力チャンバー内部に構築したフローセル。通常の顕微観測と同様にバッファー交換可能であり、自由に実験系を構築できる。あらかじめ、カバーガラスの表面処理を行うことで、細胞なども固定可能となる。

(=セパレーター) (2.2, 図1A), 高圧力ポンプと圧力計など (2.3, 図1B) に大きくわけられる。これらの高圧装置を市販の倒立型顕微鏡 (2.4, 図1C) と組み合わせて、高圧力下においても高解像度の光学顕微観測を行える装置を開発した (図1D) [12].

## 2.1. 高圧力チャンバー

高圧力チャンバーは、高圧力顕微鏡の構築にあたり、最も重要な部品となる。高圧容器として耐圧性能を維持することと、光学顕微鏡として開口数を拡大することを両立させる必要がある。その設計

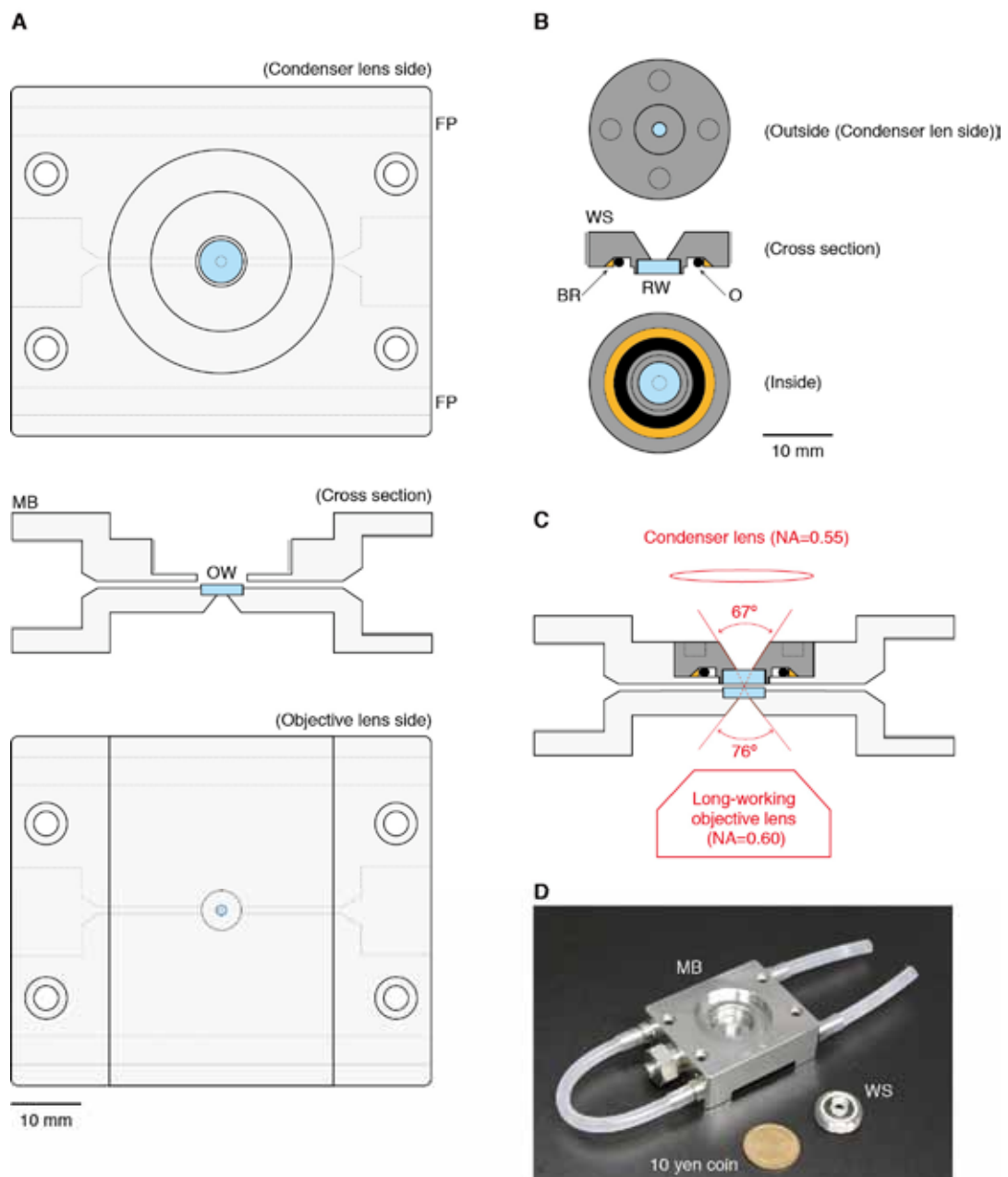


図2 高圧力チャンバー (A) チャンバー本体 (MB) の部品図. OW, 対物レンズ側の光学窓; FP, 流路. (B)コンデンサー側のウィンドウ支持台 (WS) の部品図. RW, 集光レンズ (コンデンサー) 側の光学窓; BR, バックアップリング; O, Oリング. (C)組み合わせ図. (D)高圧力チャンバーの写真.

時には、カバーガラスの厚み補正のある対物レンズの選択からはじめることになる。ここで、重要なのは、まず開口数、次に対応できるガラスの厚み、最後に作動距離となる。なお、倍率については、カメラとの間に中間変倍レンズを入れることで調節できるため重視する必要はない。一般に、生物顕微鏡用の対物レンズは、ガラスの屈折率 ( $n_e=1.526$ ) にあわせて設計されている。そのため、通常の高圧力容器で窓剤として使用される光学基盤 (ダイヤモンド ( $n_e=2.424$ ), サファイヤ ( $n_e=1.771$ ), 石英 ( $n_e=1.458$ )) とは相性が悪く、結像能の低下を招いてしまう。筆者らは、ガラス基板 (BK7,  $n_e=1.519$ ) を光学窓として採用することで、高解像度の顕微観察を可能とする高圧力チャンバーの開発に取り組んだ。

図2に高圧力チャンバーの部品図と写真を示す[12]。チャンバーは、本体 (MB;  $60 \times 50 \times 20$  mm, 図2A) と、集光レンズ (コンデンサー) 側のウィンドウ支持台 (WS,  $\phi=20$  mm,  $t=5$  mm, 図1B) から構成されており、それぞれ、加圧時に生じる歪みに対して可塑的に変形できるように、ニッケル合金 (Hastelloy C276) を用いて製作した (笹原技研, 京都)。MB と WS の側面にはネジ溝を設けてあり、O-ring (O, P10) とバックアップリング (BR, PEEK) で簡便に圧力シールを施せる仕様とした。チャンバーの内容積は $\sim 50$   $\mu$ l 程度である。MB には、外径 1/4 と 1/8 インチの高圧配管を接続できるように接続ポートを設けた。MB の外縁部に流路をつくり (FP, 図2A), 恒温槽の循環水を通過させることで、チャンバー内部の温度を調節できるようにした。

チャンバーには、対物レンズ側とコンデンサー側には開口部を設けた。対物レンズ側の開口径は 1.5 mm, テーパー角は  $76^\circ$ , コンデンサー側の開口径は 2 mm, テーパー角は  $67^\circ$  とした (図2C)。これらの開口部には、ガラス製 (BK7) の光学窓 (OW,  $\phi=6$  mm,  $t=1.5$  mm; RW,  $\phi=6$  mm,  $t=2.0$  mm, 笹原光学, 京都) をエポキシ系樹脂で固定した。光学特性として、チャンバー中央部では、対物レンズ側の開口数は  $NA=0.60$ , コンデンサー側は  $NA=0.55$  となる。このように両側の開口数を上げたことで、従来までの高圧力チャンバーでは困難であった位相差像の取得も可能にした。

高圧力チャンバー内で、OW と RW の間には、光軸に沿って約 0.2 mm の隙間をもうけた。カバーガラス ( $t \sim 0.17$  mm) の小片をつくり、2つの両面テープで OW 表面に貼り付けることで、チャンバー内にフローセルを構築できる (図1E)。これにより、通常の実験試料の調整の際によく行う緩衝液 (バッファー溶液) の交換や実験系の構築を簡便に行えるようにした。内挿するカバーガラスは必要に応じて、あらかじめ表面処理が可能なので、例えば、アミノシラン処理を施しておけば、大腸菌などを効率よく表面に固定することができる。通常顕微観察で行ってきた実験系をそのまま高圧力下に持ち込めることが重要な点である。また、フローセルの構築が必要ない場合は、RW の厚さを少し厚くして、OW と RW 間の距離を狭めれば (現時点で $\sim 50$   $\mu$ m を達成), バックグラウンドを下げることもできる。つまり、顕微観察用の高圧力チャンバーにもとめられるのは、耐圧性能や開口数といった基本スペックのみではない。観察対象をチャンバーに封入してフタをしめればいいのではなく、チャンバー内で、サンプル調整作業を行い、観察に適した実験系を構築することで、本当に見たい現象を見ることが可能となる。

## 2.2. セパレーター

タンパク質や細胞などの生体試料の実験では、pH やイオン強度などをはじめとする溶液組成の調整が必要不可欠となる。こうしたバッファー溶液を圧力媒体として、高圧力ポンプや圧力ラインに充填し、実験することは不可能ではないものの、貴重な (高価な) 試薬を大量に用意しなければならなく

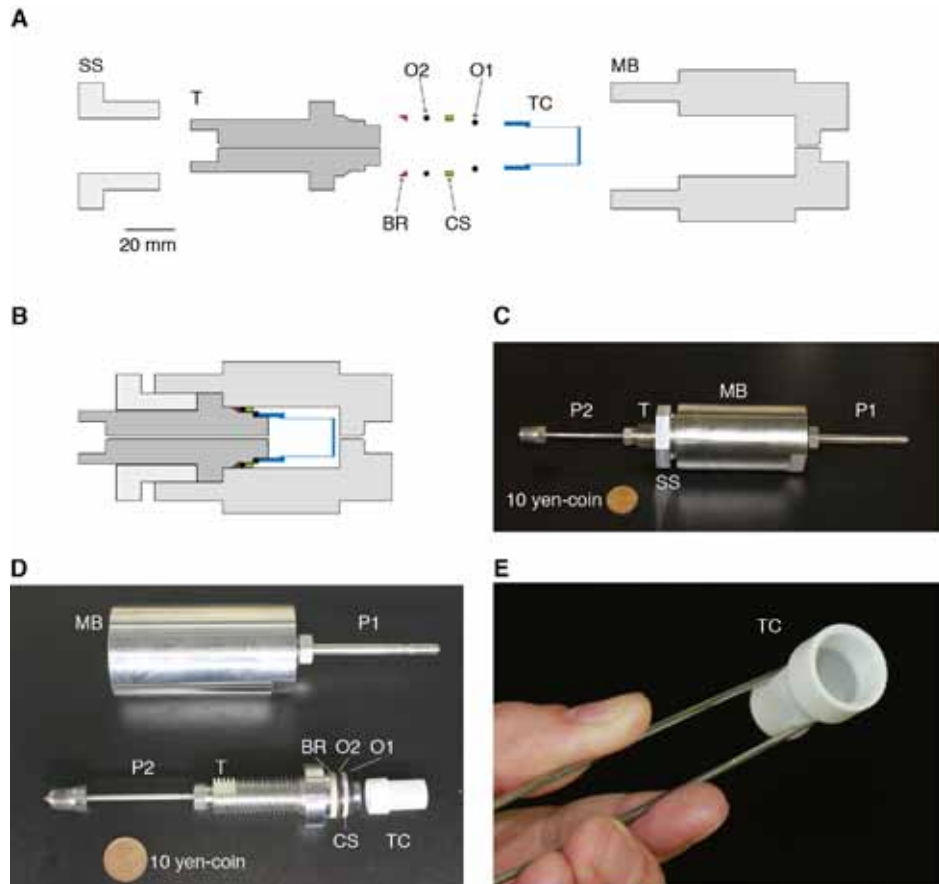


図3 セパレーター (A) セパレーターの部品図. MB, 本体; TC, テフロンキャップ; O1, O-ring; CS, キャップスクリュー; O2, O-ring; BR, バックアップリング; T, トランスデューサー; SS, サポートスクリュー. (B) 組み合わせ図. (C & D) セパレーターの写真. P1, ハンドポンプへの高圧配管; P2, 高圧力チャンバーへの高圧配管. (E) TC の写真. 厚さが 0.2 mm であり, 軽くつまむだけで簡単に変形し, 内部に圧力を伝えることができる.

なる. しかもその大部分は, 顕微観測には関係のない部分 (デッドボリューム) にとどまることとなり, その効率は極めて悪いと言えよう. そこで, 我々は, 圧力ラインに充填するバッファー溶液の量を減らし, 効率的 (経済的) に研究を実施するため, セパレーター (圧力変換器) を作製した.

図3に, セパレーターの部品図と写真を示す[10]. セパレーターは内容積が大きいため, 安全面を考慮して SUS630 に焼きつけ処理を行ってから部品加工を行った. セパレーター本体は円筒形状 (MB, SUS630,  $\phi=50$  mm,  $L=94$  mm) であり, その内部は, うすいテフロン製のキャップ (TC, テフロン,  $t=0.2$  mm, 内容積  $\sim 5$  ml) で2つの空間に分けられる. TC は, トランスデューサー (T, SUS630,  $\phi=34$  mm,  $L=76$  mm) に取り付けられ, O-ring (O1, P12) でシールされる. これらの部品 (T, TC, O1) は, サポートスクリュー (SS, SUS630) で MB に固定された. セパレーター外部との圧力シールは, キャップスクリュー (CS, SUS630) で T に取り付けられた O-ring (O1, P16) とバックアップリング (BR, PEEK) で行った.

TC と T の内部はバッファー溶液, TC の外部は蒸留水 (後述する高圧力ハンドポンプの圧力媒体) で満たされる. ハンドポンプを用いて加圧することで, 蒸留水がセパレーターへと流入し, TC を外部から押しつぶすことで (図3E), バッファー溶液の圧力へと適切に変換される. 高圧容器内に充填

されるバッファー溶液の大部分は TC 内に存在するため、実験時には~7 ml 程度のバッファー溶液を毎回用意すればよいことになる。

### 2.3. 高圧ハンドポンプ

高圧力チャンバーとセパレーター以外で、主な高圧器具として、小型高圧ハンドポンプ（HP-150, Max 150 MPa, 蒸留水, シンコーポレーション, 図 1 B）が挙げられる。ハンドポンプは簡便に圧力容器に加圧できる手法として、これまでからよく使用されてきた。我々が使用しているハンドポンプの吐出量は 1 ストロークあたり約 500  $\mu$ l であり、最大 150MPa まで使用できる。圧力媒体として蒸留水を利用しており、その静水圧を圧力ゲージ（PG-2TH, Max 200MPa, 共和電業）で計測し、表示器（WGI-400A, 共和電業）で確認できる。圧力ラインに加圧する際はハンドポンプを動かし、また、減圧時には調節バルブ（710.4341, Max 200 MPa, SITEC）を利用して、高圧ラインの圧力を下げることができる。

### 2.4. 光学顕微鏡

上述の高圧力チャンバーとセパレーターは、電動倒立型顕微鏡（Ti-E, ニコン）と組み合わせ（図 1 A）、防振台（AS-II 1809TM, 日本防振工業）に据え付けた。ハンドポンプは防振台から分離して設置し（図 1 B）、コイル状に丸めた長い 1/16 インチ高圧配管でセパレーターに連結することで、操作の度に顕微鏡に機械振動が伝わるのを防いだ。高圧力チャンバー内部の観察には、長作動距離の対物レンズ（ELWD ADM40 $\times$ C, NA=0.60, WD=3.6–2.8 mm, カバーガラスの厚み=0–2.0 mm, ニコン）を用いた。高圧力チャンバーの固定と操作を自由に行うため、チャンバーの位置決めを行える自作ステージを作製した（図 1 C）。高圧力チャンバーは、2つの手動 X Y ステージ（BSS23-40A, 駿河精機）を連結させたプレート上に固定する仕様となっている[12]。

図 1 D に、我々が開発した高圧力顕微鏡の概念図を示す。この光学顕微鏡に CCD カメラ（WAT-120N+, 撮像素子 1/2 インチ, WATEC）を搭載させると、高圧チャンバー内の 150  $\times$  100  $\mu$ m 程度の領域を録画できる。当然ながら、対物レンズとカメラの間には中間変倍レンズなどの光学系を内挿することで倍率は変更できる。自作ステージを動かすことで、観察場所は変えることはできるが、チャンバー開口部分の機械的な制約により、位相差観察が可能な範囲は、おおよそ直径 700  $\mu$ m 程度の領域に限定される。最後に、今回開発した高圧力チャンバーなどは、市販の正立型顕微鏡とも組み合わせることができることを追記しておく。

## 3. 高圧力顕微鏡の性能評価

### 3.1 高圧力容器としての性能評価

ここでは、第 2 章で紹介した高圧力下の顕微観測システムについて、高圧力容器、および、光学顕微鏡としての性能についてまとめる。まず、高圧力チャンバー内に蒸留水を充填し、ハンドポンプの圧力上限値となる 150 MPa まで加圧した所、圧力漏れが生じることなく、長時間にわたって安定して高圧力環境を維持できた[12]。この耐圧性能は、地球上で最も深い場所である太平洋のマリアナ海溝チャレンジャー海淵最深部（10,924 m, 日本の海上保安庁の観測船による測定）の静水圧~110 MPa よりも高い値となっている。つまり、深海で生息する微生物について、採取された際の圧力環境を概ね実験室で再現できることになる。また、一般に、100 MPa の圧力環境では、タンパク質内部のキャビティにまで水分子は侵入せず、タンパク質表面にある親水性や疎水性残基と水分子との相互作用が変

化する程度である。我々の研究では、タンパク質構造を破壊するのではなく、タンパク質構造や機能活性に変調をかけて、その応答を調べることが目的であるため、耐圧性能としては十分である。

### 3.2 光学顕微鏡としての性能評価

次に、今回開発した高圧力顕微鏡について、加圧時における顕微鏡としての性能を評価した[12]。加圧前 (0.1 MPa 時) の段階で、高圧力チャンバーの観測窓のほぼ中央に吸着した直径  $1\ \mu\text{m}$  のビーズにピントを合わせた。ハンドポンプを動かして圧力を増加させたところ、高圧力チャンバーの変形に伴い、フォーカスがずれた。対物レンズの位置を下げて (チャンバーから遠ざける方向に) 再調整したところ、ビーズの顕微観察像は再び正常にフォーカスできた。この圧力変化に伴うフォーカス位置は、圧力に比例してシフトし、100 MPa では  $20.6 \pm 0.3\ \mu\text{m}$  (mean  $\pm$  SD,  $n=5$ ) に達した。このフォーカスのズレには再現性があるため、あらかじめ圧力変化後のフォーカス位置を予測することも可能である。次に、ビーズの水平方向へのズレについてまとめると、圧力を 0.1 MPa から 100 MPa に変化させた際に、X 方向に  $5.6 \pm 2.8\ \mu\text{m}$ 、Y 方向に  $0.4 \pm 0.2\ \mu\text{m}$  (mean  $\pm$  SD,  $n=5$ ) の変位が見られた。これらの変位量は、CCD カメラの観察範囲 ( $\sim 150 \times 100\ \mu\text{m}$ ) と比べて極めて小さいため、チャンバー内に固定した分子や細胞が圧力に対してどのように応答するのか、ひとつひとつ追跡できる。

次に、加圧時における結像能について精査した。ビーズを観測窓に固定し、同一のビーズについて、100 MPa で明視野、暗視野、位相差、落射蛍光像を取得できた (図 4 A)。暗視野像については、通常の暗視野コンデンサーは利用できないため、コンデンサー側から平行光 (低開口数) でビーズを照明し、その散乱光のうち高開口数側に散乱された光のみをカメラに投影させた[15]。図 4 A で矢印で示したビーズの強度プロファイルをもとめたところ、圧力値に関わらずよく一致した (図 4 B)。これは、高圧力下にあっても結像能に影響はないことを意味する。

最後に、高圧力下での顕微鏡の安定性について調べた。100 MPa 条件下で、ビーズの位相差像を長

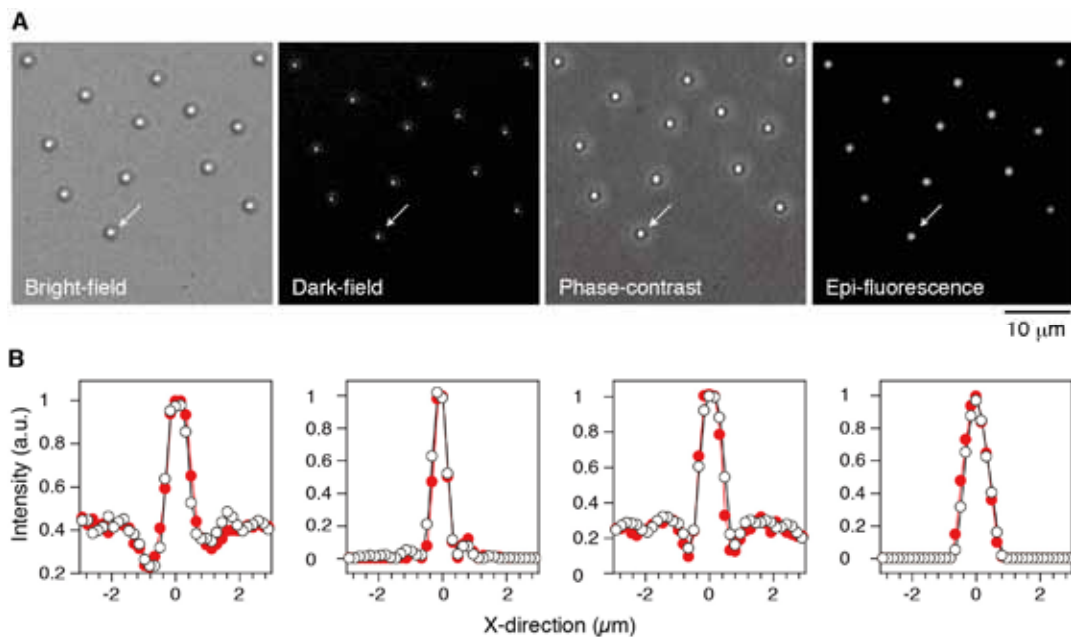


図 4 高圧力顕微鏡の解像度評価。(A)100 MPa 下での各種顕微観察像。(B)ビーズの光強度プロファイル (●, 100 MPa, ○, 0.1 MPa)。図 A において矢印で示したビーズを画像解析し、ピーク強度で規格化を行った。

時間にわたって録画を行ったところ、ビーズの重心位置はほとんど変化しないことが明らかになった (X 方向,  $7.9 \pm 4.6 \text{ nm min}^{-1}$ ; Y 方向,  $8.6 \pm 4.4 \text{ nm min}^{-1}$  (mean  $\pm$  SD,  $n=10$ )). 同様の結果は, 0.1 MPa 下でも得られているため, 高圧力によるチャンバーのひずみなどにより, 安定性が損なわれるわけではないことになる. 以上の結果は, 我々が開発した高圧力顕微鏡は, 高圧力下であっても十分な解像度で対象を観察することが可能であり, また, その位置をナノメートルレベルの精度で測定できることを示すものである.

### 3.3 高圧力下での水溶液の物性変化

3.2 とは異なり, ここでは, 光学顕微鏡下では直接「みる」ことが難しいバッファー溶液の物性変化についてまとめる. 圧力は熱力学的なパラメーターであるため, 観測対象となる分子や細胞のみならず, チャンバー内のバッファー溶液それ自体の性質まで変化させてしまう. 我々は, 100 MPa の圧力条件下で温度, 粘度, pH がどのように変化するかを調べた (表 1) [10, 12]. まず, 高圧力チャンバー内の溶液温度は, 熱電対をチャンバーの空きポートに内挿し測定したところ, 100 MPa の加圧により 0.1 °C 温度が上昇し約 30 秒で緩和した. 次に, 粘度については, 1  $\mu\text{m}$  ビーズのブラウン運動を蒸留水中で観察し, 並進運動における拡散係数の変化から算出した. その結果, 23 °C では, 加圧により (100 MPa) +5 % の粘度上昇がみられた. 最後に, バッファー溶液の pH については, 10 mM Good's buffer (Tris, PIPES, HEPES, MES (pH 7 at 0.1 MPa)) 中にある pH 指示薬 (bromothymol blue or *p*-nitrophenol) の吸収スペクトルを測定し, ピーク強度の変化から算出した. Good buffer の pH が +0.1 と変化が小さかったのに対して, 10 mM のリン酸バッファーでは -0.3 と比較的大きな変化が見られた.

Table 1 Pressure-induced changes in buffer solution

Application of 100 MPa of pressure	
Temperature	+0.1 °C
Viscosity	+5 %
pH	+0.1

これらの実験を通じて, 100 MPa の加圧により, バッファー溶液の物性は大きく変化しないことを確認できた. 仮に, 表 1 に示すようなわずかな物性変化が, 観測対象となる分子や細胞に大きな変化を引き起こしてしまう場合は, 高圧力の影響を調べる研究対象としてふさわしくないことになる.

### 4. まとめと展望

本稿では, 我々が開発してきた高圧力顕微鏡の構成と性能評価について紹介してきた. これまで開発してきた高圧力顕微鏡を用いれば, 体長が 1  $\mu\text{m}$  程度の大腸菌であっても, その運動機能をはっきりと検出することが可能である. 現在, 大腸菌のべん毛モーターを研究対象として, 高圧力下でどのようにトルク発生過程や回転機構が影響を受けるのかその仕組みを調べているところである[12-14].

残された技術的な課題としては, 圧力ラインのデッドボリュームと開口数の問題が挙げられる. 前者については, 昨年, セパレーター機能を内蔵した高圧力チャンバーを開発し, バッファー溶液の容積を 100  $\mu\text{l}$  にまで減らすことに成功した[13]. ただ, このチャンバーは, コンデンサー側の開口数に大幅な制約を受けており, 顕微鏡としての性能には制約がある. 今後, 改良を加える事により, 本稿で解説したような各種の顕微鏡観察像を取得できる汎用性の高い仕様にできると期待される.

後者の開口数については, 依然として深刻な課題である. 現在の高圧力顕微鏡では, 対物レンズの開口数は 0.6 であり, 特に蛍光観察に際して, 観測対象の選択に大幅な制約を受けているのが実状で



ある。今後、100 MPa 程度の耐圧性能を維持しながら、開口数がより大きな油浸対物レンズを利用できる装置開発に取り組みたい[16]。これが実現すれば、最先端の顕微鏡技術を導入することができる。例えば、光ピンセットを組み合わせれば[17–21]、高圧力チャンバー内部にあっても、分子や細胞を操作し、力学計測を行う事も可能である。また、全反射照明を導入できれば、高圧力によってもたらされる構造変化や機能変調について、1分子イメージング[22–24]を実施できるようになる。いかにして、高圧力容器の耐圧性能を維持しながら、開口数を広げるのか、高圧力研究の古くて新しい課題がここにある。今後の技術開発の進展に期待したい。

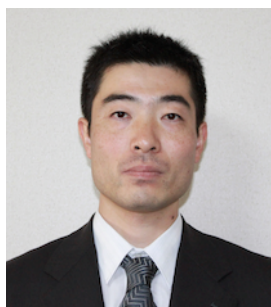
## 謝辞

本稿を査読してくださり有益なコメントを頂きました海洋研究開発機構の小山純弘主任研究員、加藤千明上席研究員、青山学院大学の阿部文快准教授、京都大学の片山弘一博士にお礼申し上げます。

## 参考文献

- [1] 毛利信男 編, 新しい高圧力の科学, 講談社 (2003).
- [2] 阿部文快, 化学と生物, **42**, 573 (2004).
- [3] S. Koyama S, M. Aizawa, *Extremophiles*, **6**, 413 (2002).
- [4] F. Abe, *Biochem. Biosci. Biotechnol.* **71**, 2347 (2007).
- [5] E. D. Salmon, G. W. Ellis, *J. Cell Biol.* **65**, 587 (1975).
- [6] H. Vass, S. L. Black, E. M. Herzig, F. B. Ward, P. S. Clegg, R. J. Allen, *Rev. Sci. Instrum.* **81**, 053710 (2010).
- [7] 出口茂, 辻井薫, 堀越弘毅, 405, 微生物利用の大展開 (今中忠行 監修), NTS (2002).
- [8] 網田富士嗣, 梶本興重 編著, 高圧力実験装置の設計と工作, 京都大学物理化学研究会 (2005).
- [9] 八木健彦, 超高压の世界, 岩波書店 (2002).
- [10] M. Nishiyama, Y. Kimura, Y. Nishiyama, M. Terazima, *Biophys. J.* **96**, 1142 (2009).
- [11] M. Nishiyama, Y. Shimoda, M. Hasumi, Y. Kimura, M. Terazima, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1189**, 86 (2010).
- [12] M. Nishiyama, Y. Sowa, *Biophys. J.* **102**, 1872 (2012).
- [13] M. Nishiyama, S. Kojima, *Int. J. Mol. Sci.* **9**, 9225 (2012).
- [14] M. Nishiyama, Y. Sowa, Y. Kimura, M. Homma, A. Ishijima, M. Terazima, *J. Bacteriol.* **195**, 1809 (2013).
- [15] T. Masaïke, F. Koyama-Horibe, K. Oiwa, M. Yoshida, T. Nishizaka, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **15**, 1326 (2008).
- [16] 西山雅祥, 光学顕微観察用高圧力試料容器, 特許第 5207300 号
- [17] K. Svoboda, & Block S.M., *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **23**: 247 (1994).
- [18] 西山雅祥, 岡本憲二, *LTM センター誌* **7**, 26 (2005).
- [19] A. Ashkin, *Optical Trapping and Manipulation of Neutral Particles Using Lasers: A Reprint Volume With Commentaries*, World Scientific Pub. Co. Inc. (2004).
- [20] 石島秋彦, 井上裕一, *バイオニクス*, **8**, 70 (2006).
- [21] 石島秋彦, 井上裕一, *バイオニクス*, **9**, 68 (2006).
- [22] 御橋廣眞 編, 蛍光分光とイメージングの手法, 学会出版センター (2006).
- [23] P. R. Selvin, T. Ha, *Single-Molecule Techniques: A Laboratory Manual*, CSHL Press (2007).
- [24] T. Yanagida, Y. Ishii eds., *Single Molecule Dynamics in Life Science*, Wiley-VCH (2008).

## 著者略歴



西山 雅祥 (Masayoshi NISHIYAMA) 京都大学 白眉センター 特定准教授  
2001 大阪大学博士 (理学)  
2001~2002 科学技術振興事業団 国際共同研究 1 分子過程プロジェクト  
博士研究員  
2002~2007 京都大学 大学院理学研究科 助手  
2007~2011 京都大学 大学院理学研究科 助教  
2007~2011 (兼任) 科学技術振興事業団 さきがけ研究員  
2012~現在 現職  
2012~現在 (兼任) 京都大学 物質-細胞統合システム拠点 連携准教授



木村 佳文 (Yoshifumi KIMURA) 同志社大学 理工学部 教授  
1992 京都大学博士 (理学)  
1992~1995 京都大学理学部助手  
1995~2001 京都大学大学院理学研究科助手  
2001~2007 京都大学国際融合創造センター助教授  
2007~2012 京都大学大学院理学研究科准教授  
2012~2013 法政大学生命科学部環境応用化学科教授  
2013~現在 現職

## 正誤表

論文名：高圧力顕微鏡

引用：LTM センター誌 22, 18-27 (2013)

著者名：西山雅祥, 木村佳文

正誤表 ver1.0, 160118

頁	場所	行	誤	正
19	本文	2	光学基盤	光学基板
21	本文	5	光学基盤	光学基板
22	本文	5	焼き付け処理	熱処理（時効硬化後 HRC39~41）
		8	O-ring (O1, P12)	O-ring (O1, P16)
		10	O-ring (O1, P16)	O-ring (O2, P20)
25	本文	13	約 30 秒で緩和	約 10 秒で緩和

追加コメントです。

頁	場所	行	注釈
21	本文	13	バックアップリングをなくしても耐圧性能に大きな影響はない。