

平成30年9月4日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H03540

研究課題名(和文) 温度可変高速AFMの開発と温度依存的ATPaseの構造機能相関の解明

研究課題名(英文) Development of variable-temperature high-speed AFM and its application to temperature-dependent ATPases

研究代表者

内橋 貴之 (UCHIHASHI, TAKAYUKI)

名古屋大学・理学研究科・教授

研究者番号：30326300

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,900,000円

研究成果の概要(和文)：室温から約45℃の温度制御可能な高速AFMシステムを開発した。実際に、41度で固相から液相に相転移する脂質二重膜(DPPC)を用いて高温観察の評価を行い、相転移温度以上で膜の流動性が増加し脂質二重膜の形状が変化する様子を確認できた。温度制御システムを使って、べん毛の輸送タンパク質の一部であるFlilの観察を行ったところ、モノマーから六量体形成していく過程やFlil六量体の構造が変化する様子も観察できた。シアノバクテリアの概日周期タンパク質であるKaiCとKaiAの結合解離過程の温度依存性の測定にも成功した。

研究成果の概要(英文)：We have developed variable-temperature high-speed atomic force microscopy (VT-HS-AFM) with which the experimental temperature can be controlled ranging from a room temperature to around 40℃. The performance of VT-HS-AFM was confirmed by observation of fluidity of DPPC lipid bilayer with the phase-transition temperature of 41℃ from gel phase to liquid crystal phase. We applied the VT-HS-AFM system to observation of a flagellar protein, Flil, which is an ATPase with the activity optimum temperature over 40℃. HS-AFM images captured oligomerization processes of the Flil monomers to the hexamer and also conformational changes of the oligomers. Also we observed temperature dependent interaction between KaiC and KaiA which are proteins responsible to the circadian rhythm of Cyanobacteria.

研究分野：生物物理学

キーワード：高速原子間力顕微鏡 タンパク質 一分子計測

1. 研究開始当初の背景

タンパク質が機能を発揮するためには、基質の結合とそれによりトリガーされるドメイン内の局所構造変化や分子間の結合・解離など動的過程を経るのが一般的である。それ故、タンパク質の機能発現機構を理解するためには、タンパク質が動作している様子を高い時空間分解能で観察することが最も直接的かつ本質的である。我々は、これまで高速原子間力顕微鏡(AFM)を用いて様々なタンパク質の機能動態を可視化することに成功し、高速 AFM がタンパク質のダイナミクス観察に極めて有効な手法であることを示してきた。2011年に回転軸の無い F_1 -ATPase が回転触媒を有することを発見して (Uchihashi: *Science* 2011) 以来、リング状 ATPase の協同的構造変化の研究に注力してきた。具体的には分子シャペロン ClpB や回転モーター V_1 -ATPase、鞭毛輸送装置の一部である FliI などの六量体 ATPase の構造ダイナミクス観察を推進してきた。これら ATPase の観察において、好熱菌由来で極めて安定なタンパク質は高速 AFM 観察に適しているが、その多くは酵素活性が最大となる至適温度が 30~50°C にあり、室温では活性が著しく低下する。そのようなタンパク質では、室温観察しか出来ない高速 AFM で機能動態を観察することは困難であった。また、室温から 50°C 程度の温度範囲で分子間相互作用が変化するタンパク質は多く存在するが、従来装置では温度依存的相互作用の計測も出来なかった。このことから、観察溶液の温度制御が可能な高速 AFM 開発の必要性が高まっていた。

2. 研究の目的

本申請研究では、温度制御可能な高速 AFM を装置開発し、その装置を用いてタンパク質 (FliI と KaiC) の機能機序解明を行うことを目的としている。

I. 温度可変高速 AFM の開発 :

室温から 50°C までの範囲で温度制御可能な高速 AFM 用観察セルを開発する。次いで、室温から 4°C までの低温観察用セルを開発し、最終的に 4°C から 50°C までの範囲で連続的に温度可変な高速 AFM システムを完成させる

II. FliI のダイナミクス観察 :

FliI はバクテリアのべん毛基部にあるタンパク質輸送装置の一部で、単独で六量体リング構造を形成する ATPase である。リング中心に FliJ が突き刺さった複合体を形成している。一方、回転モーターとして知られている F_1 や V_1 -ATPase は、二種類のタンパク質でヘテロ六量体リングを形成し、リング中心の軸状サブユニットを ATP 加水分解により一方向へ回転させる。結晶構造解析により FliJ の構造が F_1 -ATPase の回転軸である γ の構造と類似してい

ることが示され、FliI リングが回転モーターの固定子として機能する可能性が示唆されてきた。しかしながら、回転モーターである直接的な証拠はこれまで提示されていない。安定な六量体を形成する好熱菌由来の FliI では、ATPase 活性の至適温度が 40°C 付近にあり室温では活性が著しく低下するために、40°C 付近の至適温度で FliI 六量体の構造変化を観察することで、リング内で協同的構造変化は生じるのか？その構造変化は回転遷移していくのか？の 2 点を明らかにする。

III. Kai タンパク質複合体の温度依存性の計測 :

KaA KaiB, KaiC はシアノバクテリアの概日時計システムを司るタンパク質群であり、KaiC は六量体リングを形成してリン酸化状態が概日周期的に変動することが知られている。Kai システムのユニークな点は温度補償能を有している点であり、温度に依存せず概日周期が維持される。しかしながら、温度補償能の分子機構は明らかになっていない。温度可変高速 AFM により、KaiC-KaiA 間あるいは KaiA-KaiB 間相互作用の温度依存性を計測し、Kai システムの温度補償能の分子メカニズムを探る。

3. 研究の方法

I. 室温~50°C 範囲の温度可変溶液セルの開発

高速 AFM の観察溶液セルの昇温には 2 種類の方法 (ITO 膜ガラスとマイクロセラミックヒーター) を並行して検討する。ITO 膜ガラスを用いた昇温はレーザー透過用ガラスを部分的に置き換えることで行う。この方法では、プール内溶液の全体を昇温できるため、対流によるカンチレバーの揺動を抑制できると期待される。一方、ITO 膜ガラスではレーザー光の透過率が低下するために AFM の変位検出感度の低下が懸念される。透過率の低下を防ぐため、カンチレバー直下のみ ITO 膜を蒸着しないようなパターン形成を検討する。セラミックヒーターによる温度制御では、溶液に温度勾配が生じ対流が起こる可能性があるが、ヒーターの配置や昇温の速度を最適化することで、できるだけ温度勾配が発生しないよう工夫する。これら 2 つの昇温方法で溶液セルを作成した後、実際に 40°C 以上の高温で高速 AFM 観察を行い、どちらの方法が最適かを決定する。温度制御はセルに配置した樹脂内包小型サーミスタによる温度計測と PID 制御による電流調整で行い、 $\pm 0.5^\circ\text{C}$ 以下の精度を目指す。サーミスタは溶液プールの中心、試料近傍に配置し、実際の試料周辺の温度との誤差が発生しないようにする。

高速 AFM はその構造上密閉型セルでの観察は困難で、オープン構造を採らざるを得ない。そのため、温度上昇による水溶液の蒸発は pH や塩濃度、ATP などの基質濃度の変動を招き、規定環境での観察が困難になる。温度毎に

らかじめ蒸発速度を計測しておき、その速度に応じてシリンジポンプで常に水を注入することで、蒸発による液量変化を補償する。

高温セルの完成後、温度制御の精度と高速 AFM の分解能に関して性能評価を行う。評価用試料として、溶液温度により固相-液相転移が生じ、膜の流動性から温度上昇を確認できる脂質二重膜を用いる。

II. 4°C～室温での観察が可能な温度可変溶液セルの開発：低温環境実現のためにペルチェ素子と冷水循環の2通りの冷却法を検討する。ペルチェ素子背面の放熱のためのヒートシンクをカンチレバーホルダー背面に設置する。一方、高温観察に ITO 膜ガラスの方が適している場合には、冷却水循環による観察溶液の冷却を検討する。効率的な冷却と流水による振動を抑制するため、循環パイプの構造と流量制御の最適化を行う。

III. 温度可変高速 AFM のタンパク質観察への応用：開発した温度可変高速 AFM を Flii および Kai タンパク質のダイナミクス観察に応用し、開発したシステムの有用性を示す。

4. 研究成果

I. 昇温システムの開発：ITO ガラスヒーターを使用する方法を検討した。ITO ガラスヒーターはソーダガラスを基材としたものを用いた。温度上昇に伴うヒーターの熱膨張を考慮すると、ソーダガラスより熱膨張係数の低い石英ガラスなどが適しているが、石英ガラスを基材とした小さなガラスヒーターを作製することが困難であるということから、ソーダガラスを基材に選んだ。従来の観察チャンバーに用いられるガラスの厚みは 0.25 mm であるのに対し、ソーダガラスを基材とした ITO ガラスヒーターは 0.7 mm、電極は 0.2 mm であるため、従来の HS-AFM とはカンチレバーの焦点の位置がずれてしまう。この焦点ズレを考慮した観察チャンバーの固定ベースを再設計した。さらに、観察チャンバーの材質を熱膨張係数の低いインバーにすることで、昇温時の熱膨張に起因するドリフトを大幅に軽減させることができた。

ITO 昇温チャンバーを用いて観察溶液を目標温度に設定するためには、ヒーターに印加する電圧に応じて、温度がどの程度上昇するか把握する必要がある。そこで、印加する電圧に対する溶液の温度を測定し、グラフにプロットした。温度制御 HS-AFM による観察時には 80 μ l の観察溶液を用いるので、観察溶液として 80 μ l の Milli Q Water を昇温チャンバーのプールに満たし、熱電対によってその温度を測定した。電圧を印加してから約 200 秒後には温度が安定し、フィッティングの結果から、

$$\text{ヒーター電圧 [V]} = \frac{\text{目標温度 [}^\circ\text{C]} - 8.9}{11.9}$$

の式が得られた。観察溶液の温度はこの関数に従って制御した。

昇温時には溶液の蒸発によりスキナーのピエゾ素子に水が付着し、破損しすることがわかった。これに対応するために防水スキナーを新たに製作した。完成した防水スキナーの特性は通常のスキャナーとほぼ同等であることを確認した。また、昇温中の溶液超変化を補填するため、あらかじめ測定した水蒸発速度(2.7 μ l/min)に調整して、シリンジポンプによって Milli Q Water をチャンバープールに供給することにした。これにより、溶液温度を温度によらず一定に維持できるようになった。温度上昇がカンチレバーのノイズへの影響をカンチレバーの熱振動で評価したところ、室温から 50°C までノイズは大きく増加しないことを確認できた。

昇温システムの動作確認に、41°C にゲル相から液晶相へ相転移する脂質 DPPC のマイカ基板に形成した二重膜の観察を行った(図1)。室温では、脂質二重膜端の形状が時間に対して不変なのに対して、43°C では大きく揺らぎ、流動的な液晶相に転移していることがわかる。さらに、溶液量補償システムにより高温でも1時間以上わたって安定に観察し続けることが出来ることも確認できた。

次いで、4°C までの低温観察に向けた検討と装置設計を進めている。まず、ペルチェ素子による冷却を検討し、現在、ペルチェ素子組み込み可能な観察チャンバーの設計を行った段階で、未だ完成していない。

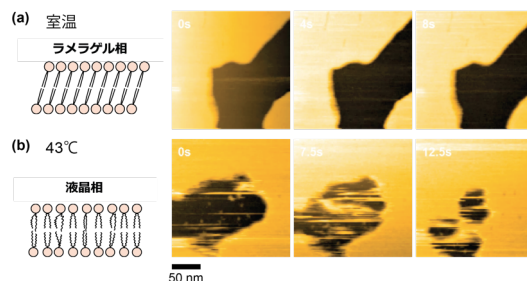


図1 昇温高速 AFM による脂質二重膜 DPPC の観察. (a)室温と(b)43°Cでの観察.

II. タンパク質の動態観察への応用

開発した昇温型高速 AFM をタンパク質の観察に応用した。Flii のオリゴマー形成過程および構造変化の観察を試みた。ATP 存在下で 40°C の溶液温度で観察を行ったところ、Flii の単量体が集合し、六量体リングを形成する過程を可視化することができた(図2a)。また、形成された六量体がクローバー型からリング型に構造変化する様子も観察できた(図2b)。

次に、Kai タンパク質の観察を行った。KaiC 六量体を CII リング側を上向きにマイカ基板に固定して、KaiA ダイマーとの結合・解離を観察した。室温と 40 度で KaiC と KaiA の結合時間に明瞭な差が見られた。高温では KaiA が KaiC に結合する時間が室温の場合に比べ

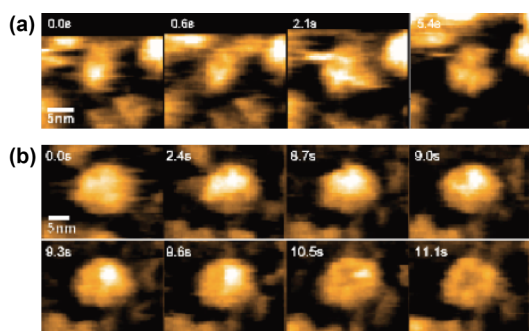


図 2 FliII の動態観察。(a) 六量体形成過程と (b) 六量体の構造変化。溶液温度 43°C, ATP 2mM.

て短くなった。一方で、KaiA が KaiC に結合する頻度は多くなった。このことから、Kai システムの温度補償性は、Kai タンパク質間の温度依存的な複合体形成のキネティクスに起因する可能性が示唆されており、現在詳細な解析を進めている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 27 件)

1. M. Hosoyamada, N. Yanai, K. Okumura, T. Uchihashi and N. Kimizuka, "Translating MOF chemistry into supramolecular chemistry: soluble coordination nanofibers showing efficient photon upconversion", *Chem. Commun.* (in press).
2. H. Tsukamoto, M. Higashi, H. Motoki, H. Watanabe, C. Ganser, K. Nakajo, Y. Kubo, T. Uchihashi and Y. Furutani, "Structural properties determining low K^+ affinity of the selectivity filter in the TWIK1 K^+ channel", *J. Biol. Chem.* (in press).
3. 内橋貴之, 「高速原子間力顕微鏡によるタンパク質の動態可視化と画像解析」, *J. Comp. Chem. Japan* 17 巻 (2018), 20-30 (2018).
4. 内橋貴之, 「高速原子間力顕微鏡によるタンパク質の動画撮影」, *パリティ* 2018-01, 71-73 (2018).
5. T. Maruno, H. Watanabe, T. Uchihashi, S. Adachi, K. Arai, T. Sawaguchi and S. Uchiyama, "Sweeping of adsorbed therapeutic proteins on prefillable syringe enhances subvisible particles generation", *J. Pharm. Sci.* (in press).
6. T. Umakoshi, H. Udaka, T. Uchihashi, T. Ando, M. Suzuki, T. Fukuda, "Quantum-dot antibody conjugation visualized at the single-molecule scale with high-speed atomic force microscopy", *Colloids. Surf. B: Biointerfaces* **167**, pp. 267-274 (2018).
7. N. Terahara, Y. Inoue, N. Kodera, Y. V. Morimoto, T. Uchihashi, K. Imada, T. Ando, K. Namba, and T. Minamino, "Insight into structural remodeling of the FlhA ring responsible for bacterial flagellar type III protein export", *Sci. Adv.* **4**, eaao 7054 (2018).
8. A. Oda, S. Nagao, M. Yamanaka, H. Watanabe, T. Uchihashi, I. Ueda, N. Shibata, Y. Higuchi, and S. Hirota, "Construction of a Triangle-Shaped Trimer and a Tetrahedral Structure Using an α -Helix-Inserted Circular Permutant of Cytochrome c555", *Chem. Asian J.* **13**, pp. 964-967 (2018).
9. T. Haruyama, T. Uchihashi, Y. Yamada, N. Kodera, T. Ando and H. Konno, "Negatively charged lipids are essential for functional and structural switch of human 2-Cys peroxiredoxin II", *J. Mol. Biol.* **430**, pp. 602-610 (2018).
10. T. Takeda, T. Kozai, H. Yang, D. Ishikuro, K. Seyama, Y. Kumagai, T. Abe, H. Yamada, T. Uchihashi, T. Ando and K. Takei, "Dynamic clustering of dynamin-amphiphysin helices regulates membrane constriction and fission coupled with GTP hydrolysis", *e-Life* **7**, e3024 (2018).
11. M. Yagi-Utsumi, A. Sikdar, T. Kozai, R. Inoue, M. Sugiyama, T. Uchihashi, T. Satoh and K. Kato, "Conversion of functionally undefined homopentameric protein PbaA into a proteasome activator by mutational modification of its C-terminal segment conformation", *Protein Eng. Des. Sel.* **31**, pp. 29-36 (2018).
12. A. Nakamura, T. Tasaki, Y. Okuni, C. Song, K. Murata, T. Kozai, M. Hara, H. Sugimoto, K. Suzuki, T. Watanabe, T. Uchihashi, H. Noji and R. Iino, "Rate constants, processivity, and productive binding ratio of chitinase A revealed by single-molecule analysis", *PCCP* **20**, pp. 3010-3018 (2018).
13. T. Uchihashi and S. Scheuring, "Review: Applications of high-speed atomic force microscopy to real-time visualization of dynamic biomolecular processes", *BBA Gen. Sub.* **1862**, pp. 229-240 (2018).
14. T. Kozai, T. Sekiguchi, T. Satoh, H. Yagi, K. Kato and T. Uchihashi, "Two-step process for disassembly mechanism of proteasome $\alpha 7$ homo-tetradecamer by $\alpha 6$ revealed by high-speed atomic force microscopy", *Sci. Rep.* **7**, 15373 (2017).
15. N. Terahara, N. Kodera, T. Uchihashi, T. Ando, K. Namba and T. Minamino, " Na^+ -induced structural transition of MotPS for stator assembly of Bacillus flagellar motor", *Sci. Adv.* **3**, eaao 4119 (2017).
16. M. Shibata, H. Watanabe, T. Uchihashi, T. Ando, and R. Yasuda, "High-speed atomic force microscopy imaging of live mammalian

- cells", *Biophys. Physicobiol.* **14**, pp. 127-135 (2017).
17. M. Shibata, H. Nishimasu, N. Kodera, S. Hirano, T. Ando, T. Uchihashi and O. Nureki, "Real-space and real-time dynamics of CRISPR-Cas9 visualized by high-speed atomic force microscopy", *Nat. Commun.* **8**, 1430 (2017).
 18. T. Satoh, C. Song, T. Zhu, T. Toshimori, K. Murata, Y. Hayashi, H. Kamikubo, T. Uchihashi and K. Kato, "Visualisation of a flexible modular structure of the ER folding-sensor enzyme UGGT", *Sci. Rep.* **7**, 12142 (2017).
 19. H. Harada, A. Onoda, T. Uchihashi, H. Watanabe, N. Sunagawa, M. Samejima, K. Igarashi, and T. Hayashi, "Interdomain Flip-flop Motion Visualized in Flavocytochrome Cellobiose Dehydrogenase Using High-speed Atomic Force Microscopy during Catalysis", *Chem. Sci.* **8**, pp. 6561-6565 (2017).
 20. S. Matsui, T. Kureha, S. Hiroshige, M. Shibata, T. Uchihashi, and D. Suzuki, "Fast Adsorption of Soft Hydrogel Microspheres on Solid Surfaces in Aqueous Solution", *Angew. Chem. Int. Edit. (Communication)* **56**, pp. 12146-12149 (2017).
 21. J. J. Keya, D. Inoue, Y. Suzuki, T. Kozai, D. Ishikuro, N. Kodera, T. Uchihashi, A. Md. R. Kabir, M. Endo, K. Sada, A. Kakugo, "High-Resolution Imaging of a Single Gliding Protofilament of Tubulins by HS-AFM", *Sci. Rep.* **7**, 6166 (2017).
 22. M. Mohamed, A. Kobayashi, A. Taoka, T. Watanabe-Nakayama, Y. Kikuchi, M. Hazawa, T. Minamoto, Y. Fukumori, N. Kodera, T. Uchihashi, T. Ando and R. Wong, "High-Speed Atomic Force Microscopy Reveals Loss of Nuclear Pore Resilience as a Dying Code in Colorectal Cancer Cells", *ACS Nano* **11**, pp. 5567-5578 (2017).
 23. A. Sumino, T. Uchihashi and S. Oiki, "Oriented Reconstitution of the Full-Length KcsA Potassium Channel in a Lipid Bilayer for AFM Imaging", *J. Phy. Chem. Lett.* **8**, pp. 785-793 (2017).
 24. K. Inoue, S. Itoh, Y. Kato, Y. Nomura, M. Shibata, T. Uchihashi, S. Tsunoda and H. Kandori, "Natural light-driven inward proton pump", *Nat. Commun.* **7**, 13415 (2016).
 25. T. Uchihashi, H. Watanabe, S. Fukuda, M. Shibata and T. Ando "Functional extension of high-speed atomic force microscopy", *Ultramicroscopy* **160**, pp. 182-196 (2016).
 26. W. Sriwimol, A. Aroonkesorn, S. Sakdee, C. Kanchanawarin, T. Uchihashi, T. Ando and C. Angsuthanasombat, "Potential pre-pore trimer formation by the Bacillus thuringiensis mosquito-specific toxin: Molecular insights into a critical prerequisite of membrane-bound monomers", *J. Biol. Chem.* **290** (34), pp. 20793-20803 (2015).
 27. S. Fukuda, T. Uchihashi, T. Ando, "Method of mechanical holding of cantilever chip for tip-scan high-speed atomic force microscopy", *Rev. Sci. Instrum.* **86**, 063703 (2015).
- [学会発表] (計 15 件)
(国際会議・招待講演)
1. T. Uchihashi, "Direct observation of self-assembly process of biological and artificial fibrils using high-speed atomic force microscopy", Interhierarchical understanding of materials and life through molecular observation (Okazaki, Japan, March 24, 2018)
 2. T. Uchihashi, "High-speed atomic force microscopy: A tool for visualizing dynamic behavior from proteins to cells", The 28th 2017 International Symposium on Micro-NanoMechanical and Human Science (Nagoya, Japan, December 4 - 6, 2017).
 3. T. Uchihashi, "Visualization of Single-Molecule Dynamics Using High-Speed Atomic Force Microscopy", The 2nd Korea-Japan Joint Symposium on Single-Molecule Biophysics 2017 (Seoul, Korea, November 8 - 10 2017).
 4. T. Uchihashi, "Direct observation of single molecule dynamics at work with high-speed atomic force microscopy", Frontier in Single Molecule Biophysics 2017 (Tel Aviv, Israel, October 15 - 17, 2017)
 5. T. Uchihashi, "High speed atomic force microscopy for a tool to visualise dynamic events on biological systems from single molecules to living cells", Workshop on "Nanofluidics in Biological Systems" (Durham, UK, September 13 - 15 September, 2017)
 6. T. Uchihashi, "Oligomeric state and conformational dynamics of eubacterial ion-pumping rhodopsin studied by high-speed AFM", KAKENHI International Symposium on "Studying the Function of Soft Molecular Systems" (Sapporo, Japan, June 26 - 28, 2017).
 7. T. Uchihashi, "Direct visualization of single molecule dynamics by high-speed atomic force microscopy" Telluride Science Research Center Workshop on Protein Dynamics, (Telluride, USA, July 4 - August 30, 2017)
 8. T. Uchihashi, "Direct visualization of dynamic molecular interactions using HS-AFM", Frontier Bioorganization Forum 2017: Dynamical ordering and integrated functions of biomolecular systems (Taipei, Taiwan, April 24-26, 2017).
 9. T. Uchihashi, Y. Watanabe, R. Iino, and T.

- Ando, "Structural Flexibility and Chaperone Activity of TClpB revealed by High-Speed AFM", XIX. Annual Linz Winter Workshop (Sommerhotel Julius-Raab-Heim, Linz, Austria, February 3-6, 2017).
10. T. Uchihashi, "Direct Visualization of Single Molecule Dynamics at Work with High-Speed Atomic Force Microscopy", BioNANO 2016 (Jagiellonian University, Krakow, Poland, November 22-23, 2016)
 11. T. Uchihashi, "Dynamic interaction between Kai proteins dependent on phosphorylation states of KaiC revealed by HS-AFM", 4th Kanazawa Bio-AFM Workshop 2016 (KKR Hotel, Kanazawa, Japan, September 3-6, 2016)
 12. T. Uchihashi, N. Kodera and T. Ando, "Direct Visualization of Single Molecule Dynamics with High-Speed Atomic Force Microscopy", Gordon Research Conference, Single Molecule Approaches to Biology (Hong Kong, China, July 3-8, 2016)
 13. T. Uchihashi, "Direct Observation of Single Molecule Dynamics at Work with High-Speed Atomic Force Microscopy", Les Houches-TSRC Workshop on Protein Dynamics (Ecole de Physique des Houches, France, April 3-8, 2016)
 14. T. Uchihashi, "Direct Visualization of Single Molecule Dynamics at Work with High-Speed Atomic Force Microscopy", The 15th KIAS Conference on Protein Structure and Function (Seoul, Korea, September 17-19, 2015)
 15. T. Uchihashi, "High-speed atomic force microscopy: A new tool for studying protein dynamics at work", IMS Asian International Symposium", Supramolecular Dynamics at the Interface of Chemistry and Biology" (Okazaki, Japan, June 12-13, 2015)

〔図書〕 (計 2 件)

1. T. Uchihashi, "High-Speed Atomic Force Microscopy": pp. 263-267 in Compendium of Surface and Interface Analysis (The Surface Science Society of Japan, Eds), Springer (2018).
2. 内橋貴之, 「光と生命の事典」: 第 5 章 「光による生命現象の計測」 177 節 高速原子間力顕微鏡, 真嶋哲郎, 七田芳則, 飯野盛利, 藤堂剛 編), 朝倉書店, 2016 年 02 月 25 日

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 3 件)

名称: 走査型プローブ顕微鏡
 発明者: 内橋貴之, 柴田幹大, 古寺哲幸
 権利者: 金沢大学

種類: 特願

番号: 2016-234584

出願年月日: 2016 年 12 月 1 日

国内外の別: 国内

名称: チャンバーアレイの製造方法

発明者: 古寺哲幸, 豊田貴大, 内橋貴之

権利者: 金沢大学

種類: 特願

番号: 2016-232100

出願年月日: 2016 年 11 月 30 日

国内外の別: 国内

名称: 昇温ホルダおよびプローブ顕微鏡

発明者: 内橋貴之, 足立慧, 古寺哲幸

権利者: 金沢大学

種類: 特願

番号: 2016-233494

出願年月日: 2016 年 11 月 30 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://d.phys.nagoya-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

内橋 貴之 (UCHIHASHI TAKAYUKI)

名古屋大学・理学研究科・教授

研究者番号: 30326300

(2)連携研究者

今田 勝己 (KATSUMI IMADA)

大阪大学・理学研究科・教授

研究者番号: 40346143

(3)連携研究者

横山 謙 (KEN YOKOYAMA)

京都産業大学・総合生命科学部・教授

研究者番号: 70271377