

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H04818

研究課題名(和文)高速イオン伝導顕微鏡による生細胞界面のナノスケール物理動態の可視化

研究課題名(英文) Visualization of dynamics of nanoscale physical properties of living cell surface probed by high-speed ion conductance microscopy

研究代表者

渡邊 信嗣 (Watanabe, Shinji)

金沢大学・ナノ生命科学研究所・准教授

研究者番号：70455864

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、生細胞表層に生じるナノスケールの物理動態を可視化可能な走査プローブ顕微鏡技術を開発することである。細胞表層を低侵襲で計測するために、ナノピペットをプローブとして利用する走査型イオン伝導顕微鏡の基本性能を飛躍的に向上させることで目的達成を目指した。高速スキャナの開発とその制振制御、高解像プローブの信号雑音比の改善、イオン伝導計測の安定性を向上する技術をなどの開発によって、細胞表層のナノ構造形状動態を数秒/画面程度で計測できるようになり、時空間分解能は類似技術の中で世界最高を達成した。更に、細胞表層の形状動態と同時に局所弾性率、局所表面電荷を高速に計測する技術の開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物の境界の世界である、細胞表層で生じている様々な物理動態を計測する技術は、生命現象を理解ための重要な計測技術となるに違いない。本研究は、細胞表層のナノ形状動態の可視化技術や、ナノ物性の動態を計測する技術の開発を推進し、従来計測技術の性能を大きく向上した。これによって、従来は捉えることが不可能だった細胞表層の生命現象を計測できる可能性を大きく広げた。

研究成果の概要(英文)：This study is to develop a scanning probe microscopy technique that can visualize the nanoscale physical dynamics occurring in the living cell surface. In order to visualize and measure the cell surface without damage, we significantly improved in actual performances of scanning ion conductance microscopy. By developing a high-speed scanner and its vibration control technique, improving the signal-to-noise ratio of the high-resolution nanopipette probe, and improving the stability of the ion conduction measurement, we were able to visualize the dynamics of the nanostructures on living cell surfaces within a few seconds per frame. The spatiotemporal resolution of our developed system demonstrated the highest performance than other existing similar scanning probe techniques. Furthermore, we have succeeded in developing a technique to simultaneously measure the topography of cell surface and physical properties, such as the local mechanical properties and local surface charge density.

研究分野：物性計測

キーワード：プローブ顕微鏡 ナノピペット ナノポア 生細胞イメージング イオン伝導顕微鏡

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

生命現象の理解は、その学術的興味にとどまらず、人類社会が発展していくために欠かせない多様な革新的技術が生み出される基盤であると認識されており、生命科学の推進は社会的な要請となっている。生命現象の物理的実体は、ミクロにはタンパク質の機能（分子構造やその構造変化プロセス）であり、単離・精製した個々のタンパク質に関する機能解析手法の多くが確立されつつある現在、近い将来には、単離・精製系の理解を超える、細胞といった生体高次構造上で実際に機能するタンパク質の挙動や、それらが引き起こす物理現象を解析することが、より複雑かつ自然な生命現象へと迫る重要なテーマに必ずなる。そこでは、細胞の隔壁である生体膜などのナノスケール界面が主要な研究の舞台である。細胞界面は、物質の選択的な吸着や輸送により細胞内部を適切な状態に保ち、外部環境の情報のモニタおよび、他の細胞と情報交換も司る、細胞生命システムにとって必須の構成要素である。このような細胞界面に特異な機能は、個々のタンパク質の単独の機能として説明が難しく、タンパク質の協同的な働きや、タンパク質とそれを支持する生体膜のナノ構造との相互作用が重要であると認識されている。このような複雑な現象の解析には、界面で時々刻々と進行する物理プロセスのありのままを分子レベルで映像化・可視化し、仮定のない極めて明瞭な形として直接観察することが、まずは有用なアプローチであると考えられる。ところが、分子認識や時間分解能で優れるがナノレベルの構造情報が失われる蛍光/ラマン顕微鏡や、詳細な構造情報は得られるがダイナミクスが失われる電子顕微鏡など、現在のバイオ研究で華々しく活躍している先端計測技術でも、細胞界面のナノ動態の可視化問題に対しては歯が立たない。このため、全く新しいナノ計測技術によって従来の限界を突破せねばならない。

2. 研究の目的

本研究では、研究代表者が有する高速イオン伝導顕微鏡技術を発展させ、従来不可能だった細胞界面のナノスケールの動的物理プロセスの可視化に挑む。これにより、生細胞界面のナノ計測技術を世界に先駆けて開拓する。

これ以下の公表を差し控える。

3. 研究の方法

公表を差し控える。

4. 研究成果

公表を差し控える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sun Linhao, Shigyou Kazuki, Ando Toshio, Watanabe Shinji	4. 巻 91
2. 論文標題 Thermally Driven Approach To Fill Sub-10-nm Pipettes with Batch Production	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 14080 ~ 14084
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.9b03848	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Watanabe Shinji, Kitazawa Satoko, Sun Linhao, Kodera Noriyuki, Ando Toshio	4. 巻 90
2. 論文標題 Development of high-speed ion conductance microscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Review of Scientific Instruments	6. 最初と最後の頁 123704(14pp)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5118360	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shinji Watanabe, and Toshio Ando	4. 巻 111
2. 論文標題 High-speed XYZ-nanopositioner for scanning ion conductance microscopy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Applied Physics Letters	6. 最初と最後の頁 113106-1(4pp)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.4993296	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shigyou Kazuki, Sun Linhao, Yajima Riku, Takigaura Shohei, Tajima Masashi, Furusho Hirotoishi, Kikuchi Yousuke, Miyazawa Keisuke, Fukuma Takeshi, Taoka Azuma, Ando Toshio, Watanabe Shinji	4. 巻 92
2. 論文標題 Geometrical Characterization of Glass Nanopipettes with Sub-10 nm Pore Diameter by Transmission Electron Microscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 15388 ~ 15393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.0c02884	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計51件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 18件）

1. 発表者名 渡邊信嗣
2. 発表標題 SICM による生細胞膜ナノ物性の定量評価
3. 学会等名 第68回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 辰田貴哉, 渡邊信嗣
2. 発表標題 走査プローブ顕微鏡の性能向上を目指した機械学習によるノイズ処理の検討
3. 学会等名 第68回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 辰田貴哉, 渡邊信嗣
2. 発表標題 走査プローブ顕微鏡計測における機械学習によるノイズ処理の検討
3. 学会等名 NANOSPEC 2021 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shinji Watanabe
2. 発表標題 Probing and characterizing nano-bio interfaces by scanning ion conductance microscopy
3. 学会等名 4th NanoLSI Symposium (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢島陸, 渡辺信嗣
2. 発表標題 走査型イオン伝導顕微鏡探針のイオン電流検出感度の向上
3. 学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sun Linhao, 芳坂綾子, 渡辺信嗣
2. 発表標題 高速イオン伝導顕微鏡による生細胞表層ナノ物性の時空間動態解析
3. 学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡辺信嗣
2. 発表標題 オープニング：多次元計測技術とデータサイエンスの融合によるバイオイメージング・センシング技術の進展
3. 学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡辺信嗣
2. 発表標題 高速SICMによる生細胞イメージング
3. 学会等名 学振167委員会 第91回研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺信嗣
2. 発表標題 高速イオン伝導顕微鏡による生細胞のナノ計測
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第75回学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinji Watanabe
2. 発表標題 High-speed ion conductance microscopy for probing nanoscale surface properties of live cells
3. 学会等名 M&BE10（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺信嗣
2. 発表標題 高速イオン伝導顕微鏡で計測する生細胞界面のナノスケールの物理挙動
3. 学会等名 第9回分子モーター討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 矢島 陸, 渡辺信嗣
2. 発表標題 ガラスナノピペットを用いた非標識単分子検出センサーの開発
3. 学会等名 第9回分子モーター討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 開発 秀星, 執行 航希, 安藤 敏夫, 渡辺 信嗣
2. 発表標題 高速走査型イオン伝導顕微鏡による表面電荷イメージング
3. 学会等名 第80回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北澤 怜子, Sun Linhao, 芳坂 綾子, 中山 隆宏, 紺野 宏記, 柴田 幹大, 渡辺 信嗣
2. 発表標題 走査型イオン伝導顕微鏡による生細胞表面の機械的性質のマッピング
3. 学会等名 第80回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 開発 秀星, 執行 航希, 安藤 敏夫, 渡辺 信嗣
2. 発表標題 Mapping of surface charge by high speed ion conductance microscopy
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北澤 怜子, Sun Linhao, 芳坂 綾子, 中山 隆宏, 紺野 宏記, 柴田 幹大, 渡辺 信嗣
2. 発表標題 Mapping of mechanical property on live cell surface by scanning ion conductance microscope
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺信嗣
2. 発表標題 高速イオン伝導顕微鏡による生細胞表層のナノスケール物性マッピング
3. 学会等名 2019年日本表面真空学会学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 L. Sun, S. Kitazawa, S. Watanabe
2. 発表標題 Morphological Dynamics and Mechanics of Drug-Stimulated Living Cell Visualized by High Speed Scanning Ion Conductance Microscope (HS-SICM)
3. 学会等名 33rd International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2020) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinji Watanabe
2. 発表標題 Nanoscale visualization of live cell surface by high-speed ion conductance microscopy
3. 学会等名 Joint USBI-NanoLSI workshop (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Kaihatsu, K. Shigyou, T. Ando, S. Watanabe
2. 発表標題 Visualization of nanomechanical responses of living cell surface captured by high-speed ion conductance microscope
3. 学会等名 ICSPM27 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Kitazawa, L. Sun, A. Housaka, T. Watanabe-Nakayama, H. Konno, S. Watanabe
2. 発表標題 Visualization of surface charge difference of lipid bilayers on mica substrate by scanning ion conductance microscopy
3. 学会等名 ICSPM27 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 執行 航希, Sun Linhao, 滝ヶ浦 尚平, 矢島 陸, 田嶋 将, 田岡 東, 宮澤 佳甫, 福間 剛士, 渡邊 信嗣, 安藤 敏夫
2. 発表標題 Sub-10nmナノピペットのTEM観察とその電気抵抗の理論解析
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢島 陸, 執行 航希, 安藤 敏夫, 渡邊 信嗣
2. 発表標題 ガラスナノピペットを用いた探針増強ラマン散乱
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Linhao Sun, 開発 秀星, 北澤 怜子, 芳坂 綾子, 渡邊信嗣
2. 発表標題 高速イオン伝導顕微鏡による細胞表層物性のナノスケールマッピング
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡辺 信嗣
2. 発表標題 高速イオン伝導顕微鏡の開発
3. 学会等名 M&BE分科会6月研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺 信嗣
2. 発表標題 バイオ物質をリアルタイムで観察する！
3. 学会等名 新潟大学振興会技術講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 開発 秀星、執行 航希、安藤 敏夫、渡辺 信嗣
2. 発表標題 Development of nanoscale mapping of surface charge density of lipid membranes by high-speed ion conductance microscopy
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北澤 怜子、芳坂 綾子、中山 隆宏、紺野 宏記、渡辺 信嗣
2. 発表標題 Observation of Morphological Changes in Nanostructures on Live Cell Surfaces by High Speed Ion Conductance Microscopy
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北澤 怜子、芳坂 綾子、中山 隆宏、紺野 宏記、渡辺 信嗣
2. 発表標題 高速イオン伝導顕微鏡による細胞表面のナノ構造体の形態変化の観察
3. 学会等名 第79回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 開発 秀星、執行 航希、安藤 敏夫、渡辺 信嗣
2. 発表標題 走査型イオン伝導顕微鏡による脂質膜の表面電荷密度の高速検出
3. 学会等名 第79回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Kaihatsu, K. Shigyo, T. Ando, S. Watanabe
2. 発表標題 Nanoscale Mapping of Surface Charge Density of Lipid Membranes by Scanning Ion Conductance Microscopy
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 開発 秀星、執行 航希、安藤 敏夫、渡辺 信嗣
2. 発表標題 走査型イオン伝導顕微鏡による脂質膜の表面電荷密度の高速検出
3. 学会等名 第ACSIN-14 & ICSPM26 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Kitazawa, A. Housaka, T. W. Nakayama, H. Konno, S. Watanabe
2. 発表標題 Morphological Changes in Nanostructures on Living Cell Surface Captured by High-Speed Ion Conductance Microscopy
3. 学会等名 第ACSIN-14 & ICSPM26 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinji Watanabe
2. 発表標題 Visualization and Characterization of Biological Membrane Structures using High-Speed Ion Conductance Microscopy
3. 学会等名 The 2nd NanoLSI International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Linhao Sun, Kazuki shigyou, Toshio Ando, Shinji Watanabe
2. 発表標題 Modulated $1/f^\alpha$ Noise Behavior by Bias Voltage and Concentration Gradient in Conically Shaped Quartz Nanopipettes
3. 学会等名 2019年第66回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺 信嗣, 開発 秀星, 北澤 怜子, 田嶋 将, Sun Linhao, 芳坂 綾子, 執行 航希, 安藤 敏夫
2. 発表標題 高速イオン伝導顕微鏡による脂質膜のナノ計測
3. 学会等名 2019年第66回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Linhao Sun, Kazuki Shigyo, Shohei Takigaura, and Shinji Watanabe
2. 発表標題 Exploring 1/f noise behavior of ion current in a single channel of conically shaped pipette filled with electrolyte solution
3. 学会等名 第65回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 執行 航希、Yao Yun-Chiao、Noy Aleksandr
2. 発表標題 カーボンナノチューブを利用したSICMプローブの作成
3. 学会等名 第65回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北澤怜子、渡辺 信嗣
2. 発表標題 イオン伝導顕微鏡による生細胞表面の観察
3. 学会等名 日本生物物理学会中部支部講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 開発秀星、渡辺 信嗣
2. 発表標題 走査型プローブ顕微鏡の時間分解能向上に向けた水平走査制御手法の開発
3. 学会等名 日本生物物理学会中部支部講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinji Watanabe
2. 発表標題 High-speed Ion Conductance Microscope
3. 学会等名 The 1st NanoLSI International Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺 信嗣
2. 発表標題 ガラスピペットを用いたナノ解像顕微鏡の開発
3. 学会等名 第8回ライフサイエンス研究交流セミナー
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shinji Watanabe
2. 発表標題 Improvements in Fundamental Performance of Scanning Ion Conductance Microscope for Visualizing Morphological Changes in Biological Samples with Nanoscale
3. 学会等名 25th International Colloquium on Scanning Probe Microscopy (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺 信嗣
2. 発表標題 高速イオン伝導顕微鏡による液中ナノイメージング技術とその応用
3. 学会等名 日本表面科学会中部支部研究会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shinji Watanabe
2. 発表標題 Development of High-Speed Ion Conductance Microscopy for Visualizing Morphological Changes in Biological Samples with Nanoscale Resolution
3. 学会等名 SFS2017 International Symposium on Fluctuation and Structure out of Equilibrium 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shinji Watanabe
2. 発表標題 High-speed ion conductance microscopy for visualizing morphological changes in biological samples with nanoscale resolution
3. 学会等名 International Symposium on Atomic Force Microscopy at Solid-Liquid Interfaces (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shohei Takigaura, Azuma Taoka, Yousuke Kikuchi, Keisuke Miyazawa, Takeshi Fukuma, and Shinji Watanabe
2. 発表標題 Controlling Inner Diameter of Nanopipette Tip for High-Resolution Ion Conductance Microscope
3. 学会等名 International Symposium on Atomic Force Microscopy at Solid-Liquid Interfaces (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Linhao Sun, and Shinji Watanabe
2. 発表標題 A novel approach for making electrical contact of pipettes for high spatial resolution scanning ion conductance microscopy
3. 学会等名 International Symposium on Atomic Force Microscopy at Solid-Liquid Interfaces (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺 信嗣
2. 発表標題 高速イオン伝導顕微鏡の開発とその応用展開
3. 学会等名 第13回固体イオニクスセミナー（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 滝ヶ浦尚平、田岡東、菊池洋輔、宮澤佳甫、福間剛士、Linhao Sun、渡辺信嗣
2. 発表標題 高解像イオン伝導顕微鏡のためのナノピペットの先端形状制御
3. 学会等名 2017年第64回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shinji Watanabe
2. 発表標題 Nanoscale imaging of biological samples using high-speed ion conductance microscopy
3. 学会等名 ゆらぎと構造の協奏 第4回領域研究会（国際学会）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 渡辺信嗣	4. 発行年 2018年
2. 出版社 公益社団法人 応用物理学会 有機分子・バイエレクトロニクス分科会	5. 総ページ数 6
3. 書名 「有機分子・バイエレクトロニクスの未来を観る」、高速イオン伝導顕微鏡の開発	

1. 著者名 渡辺信嗣	4. 発行年 2020年
2. 出版社 公益社団法人 応用物理学会 有機分子・バイオエレクトロニクス分科会	5. 総ページ数 6
3. 書名 「細胞の物理計測・制御技術の新技术」、走査型イオン伝導顕微鏡を利用した細胞メカニクス計測	

〔出願〕 計3件

産業財産権の名称 表面計測方法、イオン伝導顕微鏡およびプローブ	発明者 渡辺信嗣, 安藤敏夫	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-172666	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 液体充填方法、SICM用プローブの製造方法、SICM用プローブ及びSICM	発明者 Sun Linhao, 執行航希, 渡辺信嗣, 安藤敏夫	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-245642	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 SICM用プローブの製造方法及びSICM用プローブ	発明者 滝ヶ浦尚平, 渡辺信嗣	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-33897	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------