

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20H00345

研究課題名(和文) 生細胞表面におけるタンパク質動態の分子分解能計測技術の開発とそれががん研究への応用

研究課題名(英文) Development of molecular-resolution imaging technique for proteins on a live cell surface and its application to cancer research

研究代表者

福間 剛士 (Fukuma, Takeshi)

金沢大学・ナノ生命科学研究所・教授

研究者番号：90452094

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、生細胞表面を高分解能観察するための原子間力顕微鏡(AFM)技術を開発した。この技術では、直径数ミクロンの孔を多数有する窒化シリコン薄膜の上に細胞を培養し、その孔に露出した細胞基底面をAFM観察する。これにより細胞膜の揺動や膜内の分子拡散が抑制され、数nm程度の分子スケール観察が可能となった。さらに、本技術を用いることで、生細胞と化学固定された細胞の表面構造をナノスケールで比較することで、一般に使われる化学固定法ではタンパク質が凝集してしまうため、分子スケールの細胞表面構造が大きく変化してしまうことを明らかにした。その他に、MET受容体が細胞表面構造に与える影響なども明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した技術により、生細胞表面の分子スケール観察が実現した。今後、この技術と分子修飾探針などを融合することで、特定の分子のナノ動態を細胞表面で追うことができるようになり、細胞機能やその疾患による変化の分子レベルでの理解が進むものと期待される。また、本研究により、細胞の化学固定によって、細胞表面の分子が凝集し、表面構造が変化してしまうことが明らかになった。この発見は、これまで生命科学分野で広く使われてきた化学固定をつかった細胞表面分析法の問題点を明らかにし、過去の研究成果の見直しや今後の生命科学の改善を促すものであり、当該分野の発展に大きく貢献するものと期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we developed an atomic force microscopy (AFM) technique for high-resolution observation of living cell surfaces. In this technique, cells are cultured on a silicon nitride thin film with many pores of several microns in diameter, and the cell basal surface exposed through the pores is observed by AFM. This suppresses cell membrane fluctuation and molecular diffusion within the cell membrane, enabling molecular-scale (< 10 nm) observation. Furthermore, by comparing the surface structures of live and chemically fixed cells at the nanoscale using this technique, it was found that the commonly used chemical fixation method results in aggregation of proteins, which significantly alters the cell surface structure at the molecular scale. Other findings include the effect of MET receptors on cell surface structure.

Translated with DeepL.com (free version)

研究分野：ナノ計測工学

キーワード：原子間力顕微鏡(AFM)

1. 研究開始当初の背景

(1) 生きた真核細胞表面における分子分解能観察の可能性

細胞表面には、受容体やチャネルなどの多様なタンパク質が存在し、それらが細胞間コミュニケーション、物質輸送、シグナル伝達、接着、遊走など様々な細胞機能を制御している。したがって、細胞表面上で直接タンパク質のナノ動態を分子分解能観察できれば、それらの細胞機能のメカニズムを分子レベルで理解するための重要な手がかりが得られる。しかしながら、このような計測は未だ実現できていない。例えば、蛍光顕微鏡により、蛍光分子を化学修飾したタンパク質の位置や分布は生細胞表面で直接観察できるが、蛍光修飾されていない多くの分子の位置や、タンパク質自体の形状を観ることはできない。そのため、例えばタンパク質が複数会合して形成する多量体の形状を観ることはできない。

一方、細胞外においては、原子間力顕微鏡 (AFM) によりそのような計測が実現されている。この方法では、平坦な基板上に直接タンパク質を固定するか (図 1a)、基板上に作製した脂質膜中もしくは膜上に固定することで (図 1b)、タンパク質の動きを適度に抑制する。そして、鋭くとがった探針で試料の表面をなぞるように走査し、その際の探針の軌跡から表面形状像を得る。しかしこの方法には、そのようにして基板上で測定したタンパク質ナノ動態が、本当に細胞上での現象を再現しているのかという重大な懸念がある。この懸念を解消するために、これまでに世界中で数多くの研究者が生細胞表面での高分解能 AFM 観察に取り組んできた。その結果、比較的硬い細胞膜を持つ細菌上では分子分解能観察の成功例が報告されている。しかし、それに比べて格段に柔らかい真核細胞の表面上では、膜の上下方向の揺動や、膜内分子の流動のために、未だ分子分解能観察は実現されていない。

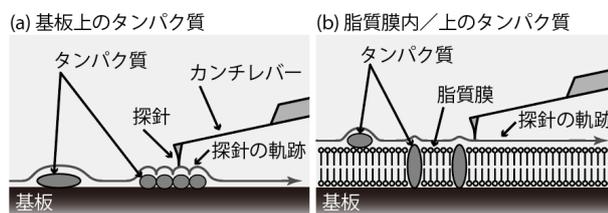


図 1. 従来のタンパク質や細胞の AFM 観察法

(2) 肺がん細胞の薬剤耐性獲得とそれが誘導する MET 増幅の因果関係

「がん」は我が国における最大の死因であり、毎年約 3 人に 1 人が「がん」で亡くなっている。「がん」とは、細胞が異常増殖を繰り返し、細胞集団 (腫瘍) を形成し、それが周囲の組織に浸潤、転移して人を死に至らしめる疾患である。がんの克服は人類全体の至上命題の一つであり、世界中でがんの発生および悪性化のメカニズムや、診断・治療法が盛んに研究されている。その中で、今日のがん研究における最重要課題の一つが薬剤耐性の克服である。がんの治療薬を継続的に使用すると、徐々にがん細胞がその薬剤に対する耐性を獲得し、薬が効かなくなってくる。これはがんの悪性化の主要なメカニズムの一つとされ、がんの完治を妨げる深刻な問題である。この問題を解決するためには、がん細胞が薬剤耐性を獲得する分子機構を詳細に理解する必要があるが、計測技術の限界によりそれが妨げられている場合が多くある。

上皮成長因子 (EGF) は、上皮細胞表面に存在する EGF 受容体 (EGFR) に結合することで、信号伝達カスケードを開始して、最終的に細胞増殖を誘導する。がん細胞では、このような正常細胞における自律的な制御機構が破綻しているものが多くある。たとえば、ヒト肺腺癌細胞 (PC-9) では、遺伝子変異のために、常に EGFR が開始する信号伝達カスケードが活性化されており、異常増殖を示す (図 2a)。これに対し、EGFR の働きを阻害して異常増殖を抑制するイレッサなどの抗がん剤が開発され、実用化されている (図 2b)。この分子標的薬は劇的な効果をもたらすが、継続的な使用によりがん細胞が徐々に耐性を獲得し、効き目が低下することが問題となっている。このような薬剤耐性を獲得した PC-9 の一部には、肝細胞増殖因子 (HGF) と呼ばれる別の成長因子の受容体である MET が細胞表面に異常に多く発現している。これは MET 増幅と呼ばれ、通常 2 つしか存在しないはずの MET 遺伝子のコピー数が 10 以上に増幅されているために生じる現象である。この薬剤耐性獲得と MET 増幅という 2 つの現象の因果関係を説明するために、MET が細胞表面で多量体を形成し、それにより信号伝達カスケードが常時活性化されているとするモデルが提案されている (図 2b)。しかし、これを直接確認することは現在の計測技術では難しく、未だ確認されてはいない。

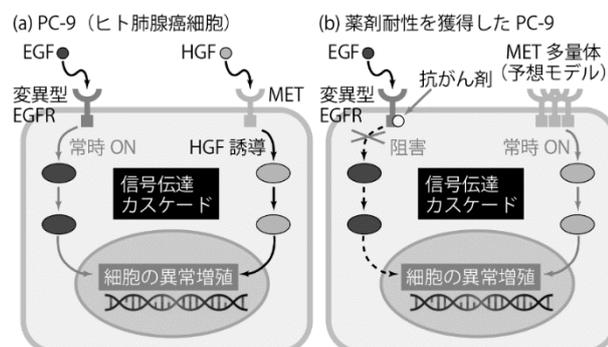


図 2. PC-9 の薬剤耐性獲得前後の異常増殖機構

2. 研究の目的

生きた真核細胞の表面で直接タンパク質のナノ動態を分子分解能観察できる AFM 技術を開発する。さらに、それを分子レベルのがん研究に応用し、開発した技術が生命科学における重要な課題の解決に役立つことを実証する。具体的には、薬剤耐性を獲得したヒト肺腺癌細胞 (PC-9) の表面において、過剰発現した MET の集合状態を直接観察し、薬剤耐性獲得に至る分子機構を解明する。

3. 研究の方法

生細胞表面での高分解能観察を難しくしている原因として、細胞膜の揺動や膜内の分子の拡散が挙げられる。本研究では、これらを抑制する手段として、窒化シリコン製のマイクロポラスメンブレン (MPM) (図 3) を用いる方法を提案する。ここで用いる MPM は、もともと透過型電子顕微鏡 (TEM) のサンプル作製用に開発、販売されている商品であり、厚さ 200 nm 程度の窒化シリコン膜に数 μm 程度の穴がアレイ状に設けられているものである。この MPM 上に細胞を培養すると、細胞の基底面は概ね窒化シリコン膜によって支持されるが、一部だけ穴を通して露出する。そこに AFM 探針をアライメントすることで、細胞の基底面を観察できる。この時、穴の周囲は膜で支持されているため、膜の揺動や分子の拡散速度もある程度抑制できるものと期待できる。このような方法を開発することで、生細胞表面における分子スケール ($< 10 \text{ nm}$) イメージングを実現する。

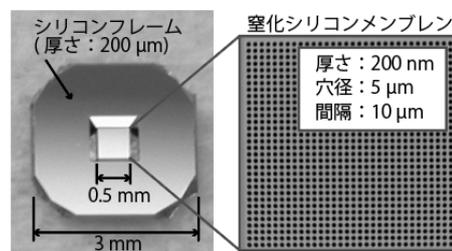


図 3. 窒化シリコンメンブレン

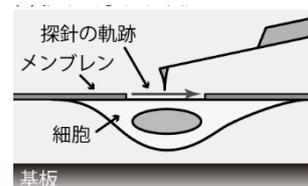


図 4. 提案する細胞 AFM 観察法の原理

4. 研究成果

(1) 生細胞表面における高分解能 AFM 観察技術の開発

上述した方法を用いて、生きた大腸がん細胞の表面を AFM 観察した結果を図 5a に示す。この図に矢印で示した通り、連続して取得した複数の AFM 像に共通して、凸構造が観察されている。図 5b に示した高さプロファイルから、これらのピークの幅は数 nm 程度であり、これは一般的なタンパク質 1 分子程度の大きさに相当する。この結果から、本手法により生細胞表面においても分子スケールの高分解能観察が可能であることが示された。

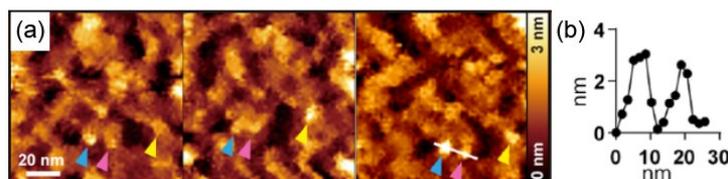


図 5. (a) 提案法によって取得した生きた大腸がん細胞 (DLD-1) 表面の連続 AFM 観察像. (b) (a) に示した線分に沿って取得した高さプロファイル [1].

(2) 化学固定法が細胞表面構造に与える影響

当初予定にはなかったが、研究を進めていく間に得られた重要な知見として、細胞の化学固定が細胞表面構造に与える影響が挙げられる。蛍光顕微鏡観察などの際に、細胞を固定して高分解能観察するために、グルタルアルデヒド (GA) やパラフォルムアルデヒド (PFA)、メタノールなどを用いて細胞を化学固定する方法が広く用いられている。本研究の最終目標は生細胞の高分解能観察であったが、第一歩として、固定細胞を用いた計測を試みたところ、予想に反して、生細胞の方が微細な構造が観察されることが分かった。その後、様々な検証を行った結果、これは化学固定によってタンパク質が凝集し、表面におけるタンパク質分布が大きく変化してしまうためであることが分かった (図 6)。細胞膜内を拡散する分子が衝突した際に、通常は結合することなく分離するが、PFA、GA 存在下では化学的に架橋され、凝集構造を形成する。メタノールの場合は、疎水性相互作用によるものではあるが、同様の過程で凝集構造の形成が促進されるものと予想される。これらの化学架橋法は、これまで数多くの生命科学研究で用いられて

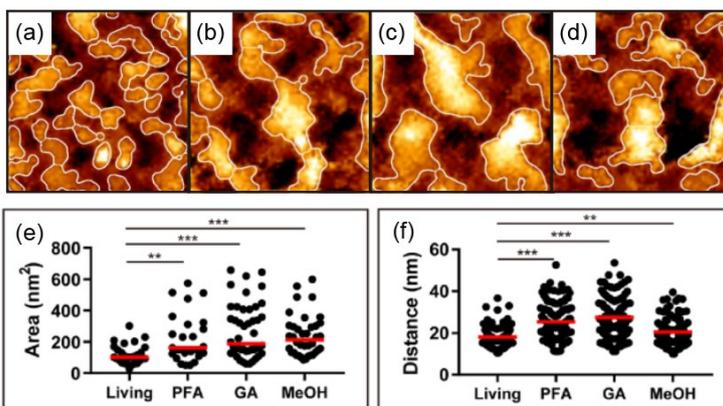


図 6. (a-d) 提案法によって取得した MET を過剰発現させた CHO 細胞表面の AFM 像. (a) 生細胞. (b) PFA 固定. (c) GA 固定. (d) メタノール固定. (e-f) AFM 像に見られる凸構造の面積と相互距離の比較 [1].

これらの化学架橋法は、これまで数多くの生命科学研究で用いられて

きたものであり、今回の発見は、それらの解釈に一石を投じるものであり、極めて重要な発見と言える。また、このような分析も、分子スケールの分解能で生細胞表面を観察できたからこそ実現できたものであり、提案法の有用性を実証する研究成果と言える。

(3) MET 分子の生細胞表面における高分解能観察

当初、MET 分子をノックアウトした PC9 細胞 (PC9/KO) と、そこに MET 分子をノックインした細胞 (PC9/KI) の表面構造を比較する実験を

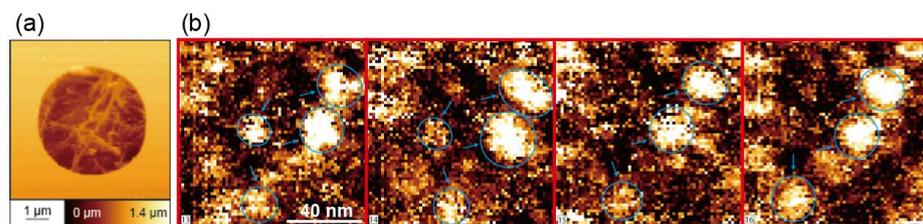


図 8. 提案法で取得した CHO/KI 細胞の AFM 像. (a)MPM の孔とその周囲. (b)MPM の孔の内部で取得した連続 AFM 像 (20 s/frame).

実施した。しかし、少なくとも当時の観察技術では、違いを見出すことが困難であった。そこで、比較的単純な表面構造を持つことが知られている CHO 細胞に着目し、これに MET 分子を KO および KI した細胞を準備して、その表面構造を比較した。図 8a に示す通り、MPM の内部に細胞の基底面の構造が観察されている。そこをズームアップして取得した連続 AFM 像が図 8b である。この図から、10-20 nm 程度の凸構造とその動きが観察されていることが分かる。これらはタンパク質分子 1 個から数個程度の大きさであり、分子スケールにせまる分解能が得られていることが分かる。ただし、まだこのような計測の再現性は十分ではなく、十分な信頼性をもって CHO/KO と CHO/KI 細胞を比較することはできていない。この再現性を向上させるために、細胞表面でフォースカーブを様々な条件で取得して、最も高分解能計測に適した条件を見出すための努力を続けており、それが実現できれば、2 種類の細胞の比較が可能となり、MET 分子に由来する構造を同定できる可能性が出てくる。一方で、細胞表面に存在する分子は非常に多いので、どの凸構造が MET 分子に相当するのかを同定することは困難であるようにも思われる。この問題を解決するために、分子修飾探針などを使った分子認識イメージングや[2]、DNA 折り紙を使った分子標識など、いくつかの方法を試しているが、いずれもまだ成功には至っていない。これらは非常に困難な目標ではあるが、今後も継続的に取り組んでいく予定である。

(4) MET 分子の生細胞表面構造に与える影響

上記の通り、分子スケールの表面観察については、未だ定量的な比較を行うまでには至っていないが、その一方で、ナノスケールの表面構造については明確な違いを見出している。図 7 に、MET-KO および MET-KI した CHO 細胞の表面構造を AFM 観察した結果を示す。これらの結果は、通常通り培養した細胞の頂端面を観察することで取得した。これらの結果から、MET-KI 細胞の方が、MET-KO 細胞より大きな凸構造が多く観察されていることが分かる。この凸構造は、微絨毛に相当するものと考えられる。この面積を定量的に比較すると、図 8c

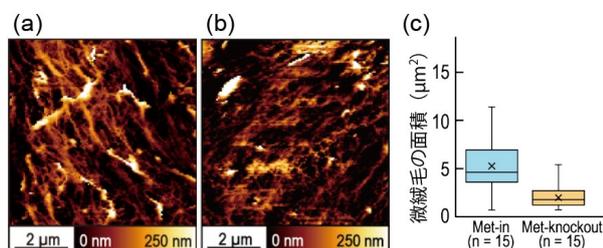


図 7. (a)MET-KI 細胞と、(b)MET-KO 細胞の AFM 像. いずれも生細胞の頂端面を観察した結果. (c)AFM 像に見られる微絨毛と思われる構造の面積の比較.

に示す通り、MET-KI 細胞の方が、MET-KO 細胞に比べて、微絨毛と思われる構造の占める面積が大きいことが分かる。また、MET 分子の阻害剤を添加すると、短時間の間に微絨毛の占める面積が減少することも確認している。これらの結果から、活性な MET 分子の影響で、微絨毛が増えることが確認できた。微絨毛の増加は、細胞の遊走性、浸潤性の向上、ひいては転移能の獲得につながるものと考えられ、MET 分子の過剰発現が誘導するがん悪性化と直接関係するものと考えられる。このような MET 分子の働きと細胞表面のナノ構造との相関はこの研究によってはじめて明らかになったものであり、がん悪性化メカニズムのナノレベルでの理解に寄与するものと言える。

<引用文献>

1. Ichikawa, T.; Wang, D.; Miyazawa, K.; Miyata, K.; Oshima, M.; [Fukuma, T.](#), Chemical fixation creates nanoscale clusters on the cell surface by aggregating membrane proteins. *Commun Biol* **2022**, *5* (1), 487.
2. Puppulin, L.; Kanayama, D.; Terasaka, N.; Sakai, K.; Kodera, N.; Umeda, K.; Sumino, A.; Marchesi, A.; Weilin, W.; Tanaka, H.; [Fukuma, T.](#); Suga, H.; Matsumoto, K.; Shibata, M., Macrocyclic Peptide-Conjugated Tip for Fast and Selective Molecular Recognition Imaging by High-Speed Atomic Force Microscopy. *ACS Appl Mater Interfaces* **2021**, *13* (46), 54817-54829.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Hayakawa Yuuki, Takaine Masak, Ngo Kien Xuan, Imai Taiga, Yamada Masafumi D, Behjat Arash Badami, Umeda Kenichi, Hirose Keiko, Yurtsever Ayhan, Kodera Noriyuki, Tokuraku Kiyotaka, Numata Osamu, Fukuma Takeshi, Ando Toshio, Nakano Kentaro, Uyeda Taro QP	4. 巻 6
2. 論文標題 Actin-binding domain of Rng2 sparsely bound on F-actin strongly inhibits actin movement on myosin II	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Life Science Alliance	6. 最初と最後の頁 e202201469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26508/lisa.202201469	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yurtsever Ayhan, Wang Pei-Xi, Priante Fabio, Morais Jaques Ygor, Miyazawa Keisuke, MacLachlan Mark J., Foster Adam S., Fukuma Takeshi	4. 巻 8
2. 論文標題 Molecular insights on the crystalline cellulose-water interfaces via three-dimensional atomic force microscopy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabq0160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abq0160	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yurtsever Ayhan, Wang Pei Xi, Priante Fabio, Morais Jaques Ygor, Miyata Kazuki, MacLachlan Mark J., Foster Adam S., Fukuma Takeshi	4. 巻 6
2. 論文標題 Probing the Structural Details of Chitin Nanocrystal-Water Interfaces by Three Dimensional Atomic Force Microscopy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Small Methods	6. 最初と最後の頁 2200320 ~ 2200320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/smt.202200320	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sumikama Takashi, Federici Canova Filippo, Gao David Z., Penedo Marcos, Miyazawa Keisuke, Foster Adam S., Fukuma Takeshi	4. 巻 13
2. 論文標題 Computed Three-Dimensional Atomic Force Microscopy Images of Biopolymers Using the Jarzynski Equality	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 5365 ~ 5371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcllett.2c01093	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ngo Kien Xuan, Nguyen Phuong Doan N., Furusho Hirotooshi, Miyata Makoto, Shimonaka Tomomi, Chau Nguyen Ngoc Bao, Vinh Nguyen Phuong, Nghia Nguyen Anh, Mohammed Tareg Omer, Ichikawa Takehiko, Kodera Noriyuki, Konno Hiroki, Fukuma Takeshi, Quoc Nguyen Bao	4. 巻 112
2. 論文標題 Unraveling the Host-Selective Toxic Interaction of Cassiicolin with Lipid Membranes and Its Cytotoxicity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Phytopathology	6. 最初と最後の頁 1524 ~ 1536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1094/PHYTO-09-21-0397-R	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ichikawa Takehiko, Wang Dong, Miyazawa Keisuke, Miyata Kazuki, Oshima Masanobu, Fukuma Takeshi	4. 巻 5
2. 論文標題 Chemical fixation creates nanoscale clusters on the cell surface by aggregating membrane proteins	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 487
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-03437-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yurtsever Ayhan, Yoshida Takeshi, Badami Behjat Arash, Araki Yoshihiro, Hanayama Rikinari, Fukuma Takeshi	4. 巻 13
2. 論文標題 Structural and mechanical characteristics of exosomes from osteosarcoma cells explored by 3D-atomic force microscopy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nanoscale	6. 最初と最後の頁 6661 ~ 6677
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0nr09178b	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 Penedo Marcos, Shirokawa Tetsuya, Alam Mohammad Shahidul, Miyazawa Keisuke, Ichikawa Takehiko, Okano Naoko, Furusho Hirotooshi, Nakamura Chikashi, Fukuma Takeshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Cell penetration efficiency analysis of different atomic force microscopy nanoneedles into living cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7756
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-87319-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Penedo Marcos, Miyazawa Keisuke, Okano Naoko, Furusho Hirotoishi, Ichikawa Takehiko, Alam Mohammad Shahidul, Miyata Kazuki, Nakamura Chikashi, Fukuma Takeshi	4. 巻 7
2. 論文標題 Visualizing intracellular nanostructures of living cells by nanoendoscopy-AFM	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabj4990
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abj4990	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Penedo Marcos, Yurtsever Ayhan, Miyazawa Keisuke, Furusho Hirotoishi, Ishii Kiyoo-Aki, Fukuma Takeshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Photothermal excitation efficiency enhancement of cantilevers by electron beam deposition of amorphous carbon thin films	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17436
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-74433-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyazawa Keisuke, Tracey John, Reischl Bernhard, Spijker Peter, Foster Adam S., Rohl Andrew L., Fukuma Takeshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Tip dependence of three-dimensional scanning force microscopy images of calcite-water interfaces investigated by simulation and experiments	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nanoscale	6. 最初と最後の頁 12856 ~ 12868
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0nr02043e	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hirata Kaito, Igarashi Takumi, Suzuki Keita, Miyazawa Keisuke, Fukuma Takeshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Wideband Magnetic Excitation System for Atomic Force Microscopy Cantilevers with Megahertz-Order Resonance Frequency	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-65980-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fukuma Takeshi	4. 巻 69
2. 論文標題 Improvements in fundamental performance of in-liquid frequency modulation atomic force microscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 340 ~ 349
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfaa045	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 Fukuma Takeshi	4. 巻 48
2. 論文標題 Subnanometer-scale imaging of nanobio-interfaces by frequency modulation atomic force microscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical Society Transactions	6. 最初と最後の頁 1675 ~ 1682
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1042/bst20200155	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27件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 14件)

1. 発表者名 Takeshi Fukuma
2. 発表標題 Visualizing Inside of 3D Self-Organizing Systems by 3D Atomic Force Microscopy
3. 学会等名 2022 JAIST International Symposium of Nanomaterials and Devices Research Area (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takeshi Fukuma
2. 発表標題 Intracellular Structures and Mechanics of Living Cells Investigated by Nanoendoscopy-AFM
3. 学会等名 6th NanoLSI International Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takeshi Fukuma
2. 発表標題 Introduction to Research Activities at Nano Life Science Institute (WPI-NanoLSI)
3. 学会等名 The Computational Biophysics of Atomic Force Microscopy (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福間剛士
2. 発表標題 Development of Cross-Scale In-cell AFM Technologies for Elucidating Intra-Cellular Structures and Dynamics
3. 学会等名 学術変革領域A第2回領域会議 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takeshi Fukuma
2. 発表標題 Nanoendoscopy AFM for visualizing nanodynamics and nanomechanics inside living cells
3. 学会等名 Engineering Mechanics of Cell & Tissue Morphogenesis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福間剛士
2. 発表標題 世界トップレベル研究拠点プログラム - 金沢大学ナノ生命科学研究所 -
3. 学会等名 NanoLSI Special Seminar at Takaramachi Campus (招待講演)
4. 発表年 2022年

1 . 発表者名 R. Kojima, K. Miyazawa, K. Teramae, T. Sumikama, M. Meguro, K. Imadate, N. Okano, S. Horike, K. Hirahara T. Fukuma
2 . 発表標題 Development of a Method for Visualizing Nanometer-Scale Three-Dimensional Structures of Chromosomes by Three-Dimensional Atomic Force Microscopy
3 . 学会等名 ISSP Workshop 「機能的走査プローブ顕微鏡の新展開」 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 M. S. Alam, T. Shirokawa, T. Ichikawa, K. Miyazawa, K. Miyata, T. Fukuma
2 . 発表標題 Direct observation of focal adhesion by nanoendoscopy-AFM in live cells
3 . 学会等名 AVS 68th INTERNATIONAL SYMPOSIUM & EXHIBITION (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 M. S. Alam, M. Penedo, T. Shirokawa, T. Ichikawa, M. M. Hosain, K. Miyazawa, K. Miyata, T. Fukuma
2 . 発表標題 Direct observation of focal adhesions by nanoendoscopy-AFM in live cells
3 . 学会等名 The 22nd international vacuum congress IVC-22 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 K. Miyazawa, M. Penedo, N. Okano, H. Furusho, T. Ichikawa, M. S. Alam, K. Miyata, C. Nakamura, T. Fukuma
2 . 発表標題 Development of nanoendoscopy-AFM for visualizing intracellular nanostructures of living cells
3 . 学会等名 The 22nd International Vacuum Congress (IVC-22) (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 T. Kawabata, K. Takeuchi, M. Toyoda, F. Komatsu, M. Harada, M. Suzuki, N. Ohara, K. Miyata, K. Miyazawa and T. Fukuma
2 . 発表標題 Development of Humidity-controlled Atomic Force Microscopy for measurement of Humidity Dependence of Elasticity Distribution of a Single Human Corneocyte
3 . 学会等名 AFM BioMed Conference 2022 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 M. S. Alam, T. Shirokawa, T. Ichikawa, K. Miyazawa, C. M. Franz and T. Fukuma
2 . 発表標題 Visualizing focal adhesion by nanoendoscopy-AFM in live cells
3 . 学会等名 AFM BioMed Conference 2022 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 R. Kojima, K. Miyazawa, A. M. Shahidul, K. Sivashanmugan, T. Sumikama, R. Omura and T. Fukuma
2 . 発表標題 Visualizing 3D internal structure of cell nucleus by 3D-AFM
3 . 学会等名 AFM BioMed Conference 2022 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 T. Ichikawa, D. Wang, K. Miyazawa, K. Miyata, M. Oshima, T. Fukuma
2 . 発表標題 Chemical fixation creates nanoscale clusters on the cell surface by aggregating membrane proteins
3 . 学会等名 AFM BioMed Conference 2022 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1. 発表者名 H. Furusho, KX. Ngo, NB. Quoc, T. Fukuma,
2. 発表標題 Low-voltage Cryo Scanning Electron Microscopy Imaging of Rubber Leaves with <i>Corynespora Cassiicola</i>
3. 学会等名 The 78th Annual Meeting of The Japanese Society of Microscopy (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 H. Furusho, MS. Alam, R. Kojima, T. Shirokawa, MM. Hosain, K. Teramae, Y. Asano, K. Hirata, K. Miyazawa, T. Fukuma
2. 発表標題 A Self-making TEM Holder Designed for Evaluating Cantilevers of Scanning Probe Microscopy
3. 学会等名 The 78th Annual Meeting of The Japanese Society of Microscopy (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松森海晴、宮澤佳甫、熊倉直祐、白須賢、福間剛士
2. 発表標題 原子間力顕微鏡を用いたウリ類炭疽病菌の付着器の膨圧計測
3. 学会等名 第70回 応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 市川 壮彦, Dong Wang, 宮澤 佳甫, 宮田 一輝, 大島 正伸, 福間 剛士
2. 発表標題 化学固定は膜タンパク質を凝集することにより細胞表面にナノスケールのクラスターを形成する
3. 学会等名 定量生物学の会第十回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 市川 壮彦, Marcos Penedo, 宮澤 佳甫, 古庄 公寿, Alam Mohammad Shahidul, 宮田 一輝, 中村 史, 福間 剛士
2. 発表標題 原子間力顕微鏡を用いた生きた細胞のナノスケール表面構造体及び内部構造体観察方法の開発
3. 学会等名 第60回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 児島 亮平, 宮澤 佳甫, Alam Mohammad Shahidul, Kundan Sivashanmugan, 炭竈 享司, 太村 理沙, 福間 剛士
2. 発表標題 細胞核内部の3次元構造を可視化する3D-AFMの開発
3. 学会等名 第83回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takeshi Fukuma
2. 発表標題 Visualizing Unexplored Nanoworld by Innovative In-liquid AFM Technologies
3. 学会等名 The 99th CEMS Colloquium (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福間剛士
2. 発表標題 革新的液中原子間力顕微鏡技術による未踏ナノ領域の可視化
3. 学会等名 ナノ科学シンポジウム2021 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福間剛士
2. 発表標題 金沢大学ナノ生命科学研究所における活動の紹介
3. 学会等名 ナノプローブテクノロジー第167委員会第98回研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福間剛士
2. 発表標題 革新的ナノプローブ技術によるナノ生命科学研究所の新展開
3. 学会等名 第73回日本細胞生物学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 市川 壮彦, Dong Wang, 宮澤 佳甫, 宮田 一輝, 大島 正伸, 福間 剛士
2. 発表標題 化学固定は膜タンパク質を凝集することにより細胞表面にナノスケールのクラスターを形成する
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北村 太樹, 福田 康二, 宮澤 佳甫, 日笠山 拓, 原田 昌征, 矢野 聖二, 福間 剛士
2. 発表標題 液中AFMによる肺がん細胞の薬剤耐性獲得に伴うナノスケール表面構造変化の解明
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福間剛士
2. 発表標題 液中AFMによる界面現象や生命現象のオペランド計測と「次世代」の方向性
3. 学会等名 JST-CRSD科学技術未来戦略ワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

金沢大学福間研究室ホームページ http://fukuma.w3.kanazawa-u.ac.jp/ 金沢大学ナノ生命科学研究所 https://nanolsi.kanazawa-u.ac.jp/
--

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
研究協力者	市川 壮彦 (Ichikawa Takehiko) (10462201)	金沢大学・ナノ生命科学研究所・特任助教 (13301)	
研究協力者	宮澤 佳甫 (Miyazawa Keisuke) (40845525)	金沢大学・理工研究域・助教 (13301)	
研究協力者	宮田 一輝 (Miyata Kazuki) (10788243)	金沢大学・ナノ生命科学研究所・准教授 (13301)	

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
---------	---------