



2020年7月27日

## 生きた細胞の機能を“観る”・“操る”

～生命の神秘を解き明かす “神の眼”、“神の手” の創成を目指して～

### <概要>

豊橋技術科学大学 機械工学系 柴田隆行教授らの研究グループは、原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscopy、AFM) を高機能化することで、生きたままの細胞をナノ空間に制御した光触媒酸化反応を利用して低侵襲に加工し、細胞内部の生体分子の動的な情報を可視化することに成功しました。細胞の機能発現過程を高度に制御・可視化する本提案技術は、生命の神秘を解き明かす強力なナノ加工・計測システムとしての高いポテンシャルを秘めています。

### <詳細>

医療・医薬分野のさらなる発展には、生命現象の統合的理解とその制御が必要不可欠となります。このためには、ゲノム、タンパク質、糖鎖などの生体分子の構造・機能解明に加えて、生命活動の基本単位である細胞の機能を解き明かすことが、ライフ・イノベーション創出の命題となります。そこで、私たちは、生きた細胞を対象として、分子レベルで細胞を低侵襲に加工（細胞の機能を操る神の手）することや、細胞内の生体分子の動態変化や細胞膜タンパク質の状態を一分子レベルで可視化（細胞の機能を観る神の眼）するための技術を確立することで、生命の神秘を解き明かす革新的なナノ加工・計測プラットフォームの提供を目指しています。

今回、私たちの研究チームでは、原子間力顕微鏡 (AFM) <sup>注1)</sup> に新たに2つの機能を搭載することに成功しました。一つ目は、光触媒として知られる酸化チタン (TiO<sub>2</sub>) 薄膜を AFM プロブの探針先端に被覆するアイデアです。この方法によって、光触媒反応を探針の極先端近傍のナノ空間 (100 ナノメートル領域) に局在化することで、低侵襲な細胞膜穿孔を実現しました。その結果、細胞膜の穿孔確率は 100% となり、細胞の生存確率も 100% と低侵襲に加工が行えることを実証することができました。二つ目は、銀 (Ag) ナノ粒子を被覆した AFM プロブの探針先端を生きた細胞内に挿入することで、タンパク質、DNA、脂質などに起因する高感度なラマンスペクトル (チップ増強ラマン分光法: Tip-Enhanced Raman Spectroscopy、TERS) の取得に成功しました。この方法によって、細胞内部の情報として、細胞核と細胞質での生体分子の構成比率の違いの可視化や、細胞内部の生体分子の時系列変化として、タンパク質とグリコーゲン (動物デンプンとも呼ばれる) の増減に逆相関 (一方が増加すると一方が減少する現象) があることを見出しました。

注1) 原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscopy、AFM) は、探針先端と試料表面に作用する原子間力を検出するタイプの顕微鏡で、1985年に当時 IBM チューリッヒ研究所のゲルト・ビー

ニッヒ (Gerd Binnig) 博士らによって発明されました。AFM は、原子・分子像を直接観察でき、かつ摩擦力、硬さなどの機械的特性や電氣的・磁氣的・熱的特性をナノメートルレベルの空間分解能で評価できる強力なツールであり、今日のナノテクノロジーを牽引する基盤技術となっています。さらに、大気中のみならず液中での観察も行えることから、生命科学・バイオテクノロジー分野での応用も盛んに行われています。

### <今後の展望>

今後は、ナノ加工・計測機能を同時に実現するために、TiO<sub>2</sub> 光触媒 AFM プローブの表面に Ag ナノ粒子を被覆させることで、光触媒酸化反応に基づく有機物の分解反応過程（分子の構造変化）を加工プロセス中で可視化できるラマン分光（TERS）機能を確立します。さらに、抗原抗体反応の高い分子認識機能を利用することで、標的となる細胞の膜タンパク質の一分子計測手法の実現と、それによって特定した標的膜タンパク質の選択的な一分子ナノ加工技術の確立に向けてさらなる進化を目指します。本提案技術は、生命機能メカニズムの解明ならびに新規医薬品の開発などへの応用展開が期待できます。

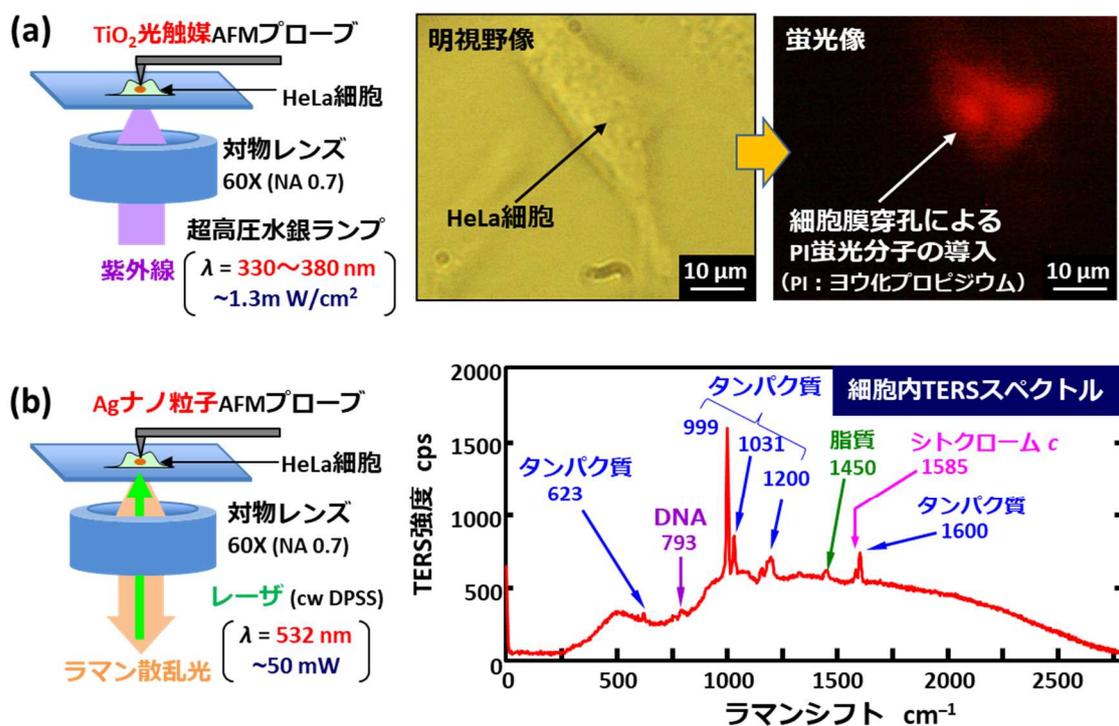
### <論文情報>

Takayuki Shibata, Hiromi Furukawa, Yasuharu Ito, Masahiro Nagahama, Terutake Hayashi, Miho Ishii-Teshima, and Moeto Nagai. (2020) Photocatalytic Nanofabrication and Intracellular Raman Imaging of Living Cells with Functionalized AFM Probes. *Micromachines*, 11(5), 495. 10.3390/mi11050495.

Takayuki Shibata, Naohiro Iio, Hiromi Furukawa, and Moeto Nagai. (2017) Nanofabrication Technique Based on Localized Photocatalytic Reactions Using a TiO<sub>2</sub>-coated Atomic Force Microscopy Probe. *Applied Physics Letters*, 110(6), 063701. 10.1063/1.4976199.

本研究は、JSPS 科研費 挑戦的研究（萌芽） JP18K18805 の助成を受けて実施しました。ここに深く謝意を表します。

機能化 AFM プローブを応用した生細胞のナノ加工・計測技術



光触媒 AFM プローブを用いた生細胞のナノ化学加工（細胞膜穿孔）（上）  
Ag ナノ粒子担持 AFM プローブを用いた細胞内 TERS イメージング（下）

本件に関する連絡先

広報担当：総務課広報係 前田・高柳・杉村 TEL:0532-44-6506