

## 様式2

## 平成28年度 生体医歯工学共同研究実施報告書

受理年月日	
受理番号	2016

平成 29 年 3 月 31 日

生体医歯工学共同研究拠点 研究所長会議 議長 殿

共同研究代表者

所属機関 新潟大学

職 名 教授

氏 名 牛木 辰男

印

勤務先所在地 〒〒951-8510 -

新潟市中央区旭町通1-757

電話番号 025-227-2062

FAX番号 025-224-1767

E-mailアドレス : t-ushiki@med.niigata-u.ac.jp

下記により、共同研究の実施報告を致します。

記

研究題目	(和) 走査型イオン伝導顕微鏡による生体組織イメージング法の基礎研究 (英) Study of imaging techniques for biological tissue samples by scanning ion conductance microscopy		
研究領域	1. 生体材料に関する基礎・応用研究 2. 生体工学に関する基礎・応用研究 3. 生体機能分子に関する基礎・応用研究 4. 化学・電気・機械・材料工学の生体応用研究		
研究期間	平成 28 年 6 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日		
研究組織			
氏名	所属機関・部局等	職名	役割分担
牛木 辰男 岩田 太 水谷祐輔	新潟大学大学院医歯学総合研究科 静岡大学 電子工学研究所 新潟大学大学院医歯学総合研究科	教授 教授 助教	研究総括・実験 装置開発・実験 試料調整・実験
所要経費			
旅費総額	研究・会議費総額	消耗品費総額	
133,800 円	0 円	66,200 円	
生体医歯工学共同研究拠点内対応教員	(共同研究をした教員名を記載) 岩田 太		
共同研究継続の希望について	有 ・ 無	平成29年度研究費 総額(千円)	200 千円
		※継続を希望される場合記入してください	
研究成果			

生体医学分野において、生体試料を生きたまま顕微鏡で観察するバイオイメーキング技術に注目が集まっている。生体試料を生きたまま、かつ非破壊的な状況で観察することは、医学・生物学の進展において重要かつ不可欠な要素である。走査型イオン伝導顕微鏡 (Scanning Ion Conductance Microscopy : SICM) は、電解液中でのイオン電流を検出することによりプローブを制御し、試料の表面形状を取得するバイオイメーキングデバイスであり、生体試料を生きたまま培養液中で観察することが期待される。しかしながら組織構造をイメージングしている例は少ない。本研究はこの SICM に注目し、従来用いられてきた原子間力顕微鏡(AFM)では解析が困難だった細胞・組織構造イメージングを可能とすることを目標として取り組まれた。

**研究成果**

1) 生体組織のイメージングに適した SICM 装置構成の検討

組織切片に観察に適した走査範囲や位置決め技術,取得時間などを精査し,SICM 装置を改良した。

一般に SICM の測定において,プローブであるナノピペットの先端と試料の位置決めは倒立型顕微鏡を用いて試料下方より観察しながら行われている.しかし,この場合,組織切片などある程度の厚さがあり,光学的に不透明な試料では位置決めが困難である.そこで本研究ではナノピペット先端に曲げ加工を施したベント型ナノピペットを用い,ピペット先端と試料を実体顕微鏡にて上方より観察することで光学的に不透明な生体試料においてもピペットの位置決めが可能な装置を開発した。

2) SICM の生物試料イメージングに必要な測定環境の検討

実際の試料で SICM の測定環境と測定条件を解析し,イメージングの信頼度と精度を高める。

開発した本装置を用いて観察する不透明な試料として,ラット腎臓の組織を用いた.アプローチ位置は腎臓の糸球体と呼ばれる部位とした.ラット腎臓は試料表面凹凸がはっきりとしており,糸球体はそのスケールが約 100 μm と大きいため光学顕微鏡像から位置決めを行った.ラット腎臓糸球体へのアプローチ時のナノピペットと試料との位置関係において,試料に焦点を合わせた状態ではナノピペットの観察が困難である.これは,光学顕微鏡で観察されるベント型ナノピペットの曲げ部と実際に試料にアプローチするナノピペット先端部との距離が 60 μm 離れていることが原因である.そこで,ナノピペット先端部と試料とを交互に観察しナノピペットを移動させることによりピペット先端の試料への正確な位置決めを実現した.このように開発した SICM を用いることで腎臓糸球体部にナノピペットを正確に位置決めでき,鮮明なラット腎臓糸球体の観察を実現できた。

<p><b>使用した設備・資料・試料等</b></p>	<p>走査型イオン伝導顕微鏡 走査型電子顕微鏡 マイクロピペットプラー</p>
-----------------------------	---

**本研究成果に関連する論文発表状況**

1. 牛木 辰男, 岩田 太, 水谷 祐輔, 吉岡 正義, "走査型イオン伝導顕微鏡による生体組織イメージング法の開発", ポスター番号 2-06 pp.58, 平成 28 年度生体医歯工学共同研究拠点成果報告会, 2017.03.24(東京医科歯科大学)
2. 白澤 樹, 江口 由祐, 水谷 祐輔, 牛木 辰男, 岩田 太, "シータ管ナノピペットを用いた走査型イオン伝導顕微鏡による試料表面帯電を相殺した計測法の開発"講演番号 224 2 ページ, 日本機械学会東海支部第 66 期総会・講演会, 2017.03-14-15(静岡大学浜松キャンパス)
3. 白澤 樹, 江口 由祐, 水谷 祐輔, 牛木 辰男, 岩田 太, "走査型イオン伝導顕微鏡イメージングにおける複数開口ナノピペットを用いた試料表面帯電の影響低減", 講演番号 1Dp01S pp.10, 2016 年真空・表面科学合同講演会 ,2016.11.29-12.01(名古屋国際会議場)
4. 白澤 樹, 江口 由祐, 水谷 祐輔(新潟大), 牛木 辰男(新潟大), 岩田 太, "複数開口プローブを有する走査型イオン伝導顕微鏡を用いた帯電試料イメージング", 講演番号 15a-A32-7 pp.05247, 第 77 回応用物理学会秋季学術講演会, 2016.09(朱鷺メッセ 新潟県新潟市)
5. 白澤 樹, 江口 由祐, 水谷 祐輔(新潟大), 牛木 辰男(新潟大), 岩田 太, "複数開口プローブを有する走査型イオン伝導顕微鏡を用いた帯電試料のイメージング", 講演番号 M04 pp.47, 2016 年度精密工学会秋季大会, 2016.09.06(茨木大学 水戸キャンパス)