

## 金沢大学 WPI-NanoLSI 2022 年度 Bio-SPM 技術共同研究課題 募集要項

金沢大学ナノ生命科学研究所(WPI-NanoLSI)では、Bio-SPM 技術の共同研究課題の募集を下記の通りに行います。

### 1. 募集の趣旨

金沢大学では、超解像 AFM(FM-AFM 及び 3D-AFM)、高速 AFM、走査型イオン伝導顕微鏡(SICM)といった独創的な Bio-SPM 技術を世界に先駆けて開発し、生命科学に応用してきました。

金沢大学 WPI-NanoLSI においては、個々の大学や研究機関の枠を超えて、これらの Bio-SPM 技術を利用した共同研究を推進することで、ナノ生命科学の発展に貢献することも目標に掲げています。本事業で募集するのは、これらの装置を利用して、所内の受け入れ教員の協力を得て、申請者が自ら行う研究課題です。今年から細胞測定 AFM を利用した研究課題も募集します。ただし、上記装置に限らず、本拠点が保有する Bio-SPM 技術付帯設備を利用するのも含みます。

※本募集は、共同研究課題を募集するものであり、受託分析を募集するものではありません。

### 2. 応募資格

国公立大学、国の研究機関、一般企業、海外の研究機関等の研究者・技術者とし、その所属組織は問いません。ただし、所属組織によっては、共同研究契約等を締結する必要がある場合があります。学生は申請者(実験責任者)としての申請はできません。但し、実験組織に学生(大学院生および学部学生)を含めることができます。)

### 3. 研究期間

第1回、第2回採択者:選考・手続き完了後、2023 年 3 月 31 日までの期間

第3回採択者:選考・手続き完了後、2023 年 3 月 31 日以降も可能

※採択後、1 ヶ月以内に来所日程を決定していただきます。

### 4. 研究方法

#### 1) 来所による共同研究

金沢大学 WPI-NanoLSI に来所していただき、受け入れ教員の協力を得て、研究課題を実施していただきます。

#### 2) 試料の送付による共同研究

採択者が NanoLSI に来所することなく試料だけを送っていただき、受け入れ研究者が実験を進めます。但し、新型コロナウイルス感染拡大防止のため、来所が難しい場合に限りです。また、応募前に受け入れ研究者からの了承を得ることとします。

### 5. 応募方法

申請者は、申込み前に研究課題、来所予定期間と研究スケジュール等について、所内の受け入れ教員と

打ち合わせを行っている場合は、その旨、申請書に記載してください。

#### 【応募書類】

|                                                                                                                                                                                                                     |                                           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| (様式 1)                                                                                                                                                                                                              | 「2022 年度 Bio-SPM 技術共同研究課題 申請書 兼 共同研究員承諾書」 |
| (様式任意)                                                                                                                                                                                                              | 「申請者(実験責任者)の研究経歴書」                        |
| ※(様式 1)は指定様式あり。下記ホームページ(HP)よりダウンロードしてください。<br>Bio-SPM 技術共同研究 HP <a href="https://nanolsi.kanazawa-u.ac.jp/ja/research/applications/bio-spm/">https://nanolsi.kanazawa-u.ac.jp/ja/research/applications/bio-spm/</a> |                                           |

#### 【提出期限】

第1回 2022 年 5 月 31 日(火)17 時【必着】

第2回 2022 年 7 月 29 日(金)17 時【必着】

第3回 2022 年 10 月 31 日(月)17 時【必着】

\* 2023 年度第 1 回の締め切りは、2023 年 5 月 31 日(水)17 時【必着】を予定しています

※緊急で実験を希望される場合には、提出期限に関わらず受け付けることがありますので、下記「6. 研究内容等についての問い合わせ先」にご相談ください。

#### 【提出先】

金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当 池元・国岡  
 〒920-1192 石川県金沢市角間町 Tel: 076-234-3866  
 E-mail: [bio-spmscr\\_nano@ml.kanazawa-u.ac.jp](mailto:bio-spmscr_nano@ml.kanazawa-u.ac.jp)

### 6. 研究内容等についての問い合わせ先

希望する Bio-SPM 技術の種類(超解像 AFM(FM-AFM 及び、3D-AFM)、高速 AFM、走査型イオン伝導顕微鏡(SICM))、細胞測定 AFM を明記の上、問い合わせ窓口にメールでお問い合わせ下さい。後ほど、担当者より回答します。

問い合わせ窓口: [bio-spmscr\\_nano@ml.kanazawa-u.ac.jp](mailto:bio-spmscr_nano@ml.kanazawa-u.ac.jp)

### 7. 採否

金沢大学 WPI-NanoLSI 専門委員会の議を経て所長が採否を決定し、申請者に通知します。

### 8. 研究成果報告(採択された場合のみ)

2023 年 5 月 8 日(月)までに下記の書類(様式 2 及び様式 3)を提出してください。ご提出いただいた書類のうち、【様式 3】については、2023 年度中に金沢大学 WPI-NanoLSI の HP にて公開します。

|                                |                                  |
|--------------------------------|----------------------------------|
| 【様式 2】                         | 2022 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業 研究成果報告書 |
| 【様式 3】                         | 2022 年度 Bio-SPM 技術共同研究事業 研究成果の概要 |
| ※上記の様式については、HP からダウンロードしてください。 |                                  |

## 9. 学術論文での本研究による成果の発表(採択された場合のみ)

本事業の効果指標とするため、成果として論文発表された場合は、ご報告下さいますようお願い申し上げます。研究実施後 3 年間は、毎年 6 月ごろに本事業に参画された実験責任者にメールによる照会をさせていただきます。

## 10. その他

- ① 上記 1.の設置目的に沿った課題を優先的に採択します。申請に当たっては、Bio-SPM 観察に向けた試料調製を既に済ませ、ある程度の予備実験(生化学実験や観察条件の検討、顕微鏡(光学顕微鏡、電子顕微鏡、SPM 等)観察など)を開始していることが望まれます。ただし、予備実験結果のない申請に関しても、内容に応じて採択されることがあります。
- ② Bio-SPM での実績がまだあまりない試料や測定方法について、「予備検討」として採択する場合があります。予備検討では、専門の技術職員が測定条件の検討のための予備実験を行います。測定条件が定まり、提案内容が実施可能と判断されましたら、本格研究に移行します。
- ③ 本研究課題が採択された場合、実験責任者及び共同実験者は、金沢大学 WPI-NanoLSI 共同研究員になっていただきます。本学の宿泊施設(角間ゲストハウス: <http://guesthouse.w3.kanazawa-u.ac.jp/index.html>)を利用することができます。本学宿泊施設に空きがない場合は、民間の宿泊施設をご利用下さい。
- ④ 来所に伴う旅費(交通費、宿泊費等)を自己負担できない場合は、様式 1 の該当する欄にチェックを入れてください。審査の結果、WPI-NanoLSI から 1 申請あたり国内からの申請者 20 万円、海外からの申請者 35 万円を上限として、本学旅費規程に従った額の旅費を支援する場合があります。試料の送付による共同研究では、試料の送料は WPI-NanoLSI が負担します。
- ⑤ 応募課題のうち、がんに関連する研究テーマで特に優れた研究提案に対しては、審査により金沢大学がん進展制御研究所から 1 申請あたり国内からの申請者 20 万円、海外からの申請者 35 万円を上限として、本学旅費規程に従った額の旅費の支援を行います。支援対象の成果を論文として発表する場合には、謝辞として「金沢大学がん進展制御研究所における共同研究による」旨の文章( This work was partly supported by Extramural Collaborative Research Grant of Cancer Research Institute, Kanazawa University. )の記載をお願いします。
- ⑥ 実験組織に学生(大学院生および学部学生)を含めることができます。その際、指導教員の承認を得る(応募書類の(様式 1)「2022 年度 Bio-SPM 技術共同研究課題 申請書 兼 共同研究員承諾書」に承諾の署名欄があります)とともに、所属大学において「学生教育研究災害障害保険」等に参加してください。なお、学生の旅費支援については、大学院生のみ対象となります(学部学生には支給しません)。
- ⑦ 上記において、「学生の取り扱いについての誓約書」欄に署名された指導教員等が異動等になった場合は、新たな指導教員等の承認が必要となりますので、その際は、金沢大学 WPI-NanoLSI Bio-SPM 技術共同研究事業担当まで、お問い合わせ願います。

### 【補足事項】

- ・ 申請書内の生年月日、年齢、性別 欄について  
文部科学省への評価調書提出時に、共同研究員の「若手研究者数」、および「性別研究者数」を報告する必

要があるため、本欄を設けています。本欄の記入内容が採否に影響することはありません。なお、記入内容は個人情報として取扱いに十分留意することを申し添えます。

- ・ 申請書の記入にあたっての注意事項について  
各欄、スペースが不足する場合は、適宜追加の上、記入してください。全体のページ数が増加しても構いません。

## 【各 Bio-SPM 技術の概要】

### ● 超解像 AFM (FM-AFM 及び、3D-AFM)

FM-AFM (Frequency-modulation AFM) は、水溶液中で生体分子の表面構造をサブナノメートルスケールで観察することができます。また、3 次元走査技術と組み合わせることにより、固液界面における水和構造やフレキシブルな構造体の分布を 3 次元で取得することができます (3D-AFM)。FM-AFM と 3D-AFM の画像取得レートは一般的に 1 min/frame です。観察条件を最適化できたときの空間分解能は、横方向に 0.3 nm、縦方向に 0.01 nm となります。しかし、生体分子の観察における実際の空間分解能は、装置がもつ空間分解能よりも、観察対象の表面構造のゆらぎによって決まってしまうます。詳細は以下の文献をご覧ください。

1. H. Asakawa, S. Yoshioka, K. Nishimura, T. Fukuma, "Spatial Distribution of Lipid Headgroups and Water Molecules at Membrane/Water Interfaces Visualized by Three-Dimensional Scanning Force Microscopy", **ACS Nano** 6, 9013-9020 (2012).
2. H. Asakawa, K. Ikegami, M. Setou, N. Watanabe, M. Tsukada, T. Fukuma, "Submolecular-Scale Imaging of  $\alpha$ -Helices and C-Terminal Domains of Tubulins by Frequency Modulation Atomic Force Microscopy in Liquid", **Biophys. J.** 101, 1270-1276 (2011).
3. T. Fukuma, "Water distribution at solid/liquid interfaces visualized by frequency modulation atomic force microscopy", **Sci. Technol. Adv. Mater.** 11, 033003 (18 pages) (2010).

### ● 高速 AFM

高速 AFM は水溶液中で動いている対象を動画観察することができます。画像取得レートは一般的に 100 ms/frame です。空間分解能は横方向に 2-3 nm、縦方向に 0.15 nm となります。機能中のタンパク質分子が高速 AFM で観察できた場合、それらの機能メカニズムに関わる重要な知見が得られることがあります。詳細は以下の文献をご覧ください。

1. T. Ando, T. Uchihashi, S. Scheuring, "Filming biomolecular processes by high-speed atomic force microscopy", **Chem. Rev.** 114, 3120-3188 (2014).
2. T. Ando, T. Uchihashi, N. Kodera, "High-speed AFM and applications to biomolecular systems", **Annu. Rev. Biophys.** 42, 393-414 (2013).
3. T. Uchihashi, N. Kodera, T. Ando, "Guide to video recording of structure dynamics and dynamic processes of proteins by high-speed atomic force microscopy", **Nature Protocols** 7, 1193-1206 (2012).

## ● 走査型イオン伝導顕微鏡

SICM (Scanning Ion Conductance Microscope) は、ナノ開口を通過するイオン電流を計測するという特徴的な計測原理を持つため、活きた単一細胞を対象に、AFM 計測ではできないナノスケールでの局所刺激や非接触イメージングが可能です。画像取得レートは一般的に 30-300 s/frame です。空間分解能は横方向に 10 nm、縦方向に 5 nm となります。詳細は以下の文献をご覧ください。

1. P. Novak, C. Li, A. I. Shevchuk, R. Stepanyan, M. Caldwell, S. Hughes, T. G. Smart, J. Gorelik, V. P. Ostanin, M. J. Lab, G. W. J. Moss, G. I. Frolenkov, D. Klennerman, and Y. E. Korchev, “Nanoscale live-cell imaging using hopping probe ion conductance microscopy”, **Nat. Methods** 6, 279-281 (2009).
2. V. O. Nikolaev, A. Moshkov, A. R. Lyon, M. Miragoli, P. Novak, H. Paur, M. J. Lohse, Y. E. Korchev, S. E. Harding, and J. Gorelik, “beta(2)-Adrenergic Receptor Redistribution in Heart Failure Changes cAMP Compartmentation”, **Science** 327, 1653-1657 (2010).
3. Y. Zhou, M. Saito, T. Miyamoto, P. Novak, A. Shevchuk, Y. Korchev, T. Fukuma, Y. Takahashi, “Nanoscale Imaging of Primary Cilia with Scanning Ion Conductance Microscopy”, **Anal. Chem.** 90, 2891-2895 (2018).

## ● 細胞測定 AFM

NanoLSI では、高速 AFM や 3D-AFM を基盤として、細胞の表面や内部における構造や動態、あるいは力学物性をナノスケールで計測するための AFM 技術も開発しています。高速 AFM では、細菌の分子スケール表面構造や神経細胞の末端部のナノ運動を可視化することに成功しています。また、3D-AFM を基盤に開発したナノ内視鏡 AFM 技術では、生細胞内部の細胞核やアクチン繊維の 3 次元観察や、細胞膜の裏打ち構造の 2 次元ナノ動態計測、細胞核表面の硬さ計測などに成功しています。詳細は、以下の文献をご覧ください。

1. H. Yamashita, A. Taoka; T. Uchihashi, T. Asano, T. Ando, Y. Fukumori, “Single-molecule imaging on living bacterial cell surface by high-speed AFM”, **J. Mol. Biol.** 422 (2), 300-9 (2012).
2. M. Shibata, T. Uchihashi, T. Ando, R. Yasuda, “Long-tip high-speed atomic force microscopy for nanometer-scale imaging in live cells”, **Sci. Rep.**, 5, 8724 (2015).
3. M. Penedo, K. Miyazawa, N. Okano, Furusho, H. Ichikawa, T. S. Alam Mohammad, K. Miyata, C. Nakamura, T. Fukuma, “Visualizing intracellular nanostructures of living cells by nanoendoscopy-AFM”, **Sci. Adv.** 7 (52), eabj4990 (2021).
4. K. Kobayashi, N. Kodera, T. Kasai, YO. Tahara, T. Toyonaga, M. Mizutani, I. Fujiwara, T. Ando, M. Miyata. “Movements of Mycoplasma mobile gliding machinery detected by high-speed atomic force microscopy”, **mBio** 12: e00040-21 (2021).