



令和 3 年 2 月 4 日
国立大学法人弘前大学

報道関係各位

ナノ接触界面の電気化学的な 3 次元観察に成功 について

【本件のポイント】

- ・脂質膜は、細胞の内側と外側を隔てる細胞膜を構成し、われわれの体の中の細胞の機能や形をつくるうえで不可欠ですが、脂質膜が物と接触している界面がどのような状態で存在しているのか観察することは困難でした。
- ・今回、バーチャル電極ディスプレイの上に置いた試料との界面に仮想的なナノ電極を発生させ、3 次元的な形態を電気化学的に観察する手法を開発し、水溶液中の脂質膜のナノ界面を観察することに成功しました。
- ・本手法を利用することで、これまで観察が困難であった細胞が物と接着する接触界面の状態を観察することができるようになり、新しい細胞組織工学の研究が加速できると期待されます。

【本件の概要】

弘前大学大学院 理工学研究科の星野 隆行 准教授、東京大学大学院 情報理工学研究科 遠山 渉 大学院生（研究当時）、宮廻 裕樹 大学院生（研究当時、現 同大学院 助教）の研究グループは、水溶液中にある脂質膜が物と接触している接触界面を、脂質膜に何も手を加えずにナノメートルの分解能で可視化することに成功しました。

脂質膜はわれわれの体を構成している細胞の内外を隔てる細胞膜の主な成分であり、細胞膜は細胞内外の物質のやりとりや細胞同士の接着など、体の機能や形をつくる上でとても大切な役割を持っています。細胞が物に接着しているときのすきまは100 nm以下と極めて狭いため、脂質膜がどのような状態で物と接触しているか観察することが困難でした。これまでの研究では、光を用いる方法では、蛍光色素を脂質分子などに標識することで接触している状態を計測することができましたが、細胞膜に何も手を加えずに接触領域の3次元的な構造を観察することは不可能でした。

今回の研究では、電気化学反応で生じる反応物質の拡散がすきまの厚さにより変わることを利用したバーチャル電極走査電気化学顕微鏡（VC-SECM）を開発しました（図1）。通常の走査電気化学顕微鏡（SECM）では走査プローブ電極を試料の接触領域に入れることができないため、今回、バーチャル電極を走査プローブの代わりに用いました。接触領域にバーチャル電極（VC）を生成することで接触領域の3次元的な様子（図



5) や脂質膜の状態 (図7) を観察することに成功しました。

本手法を細胞膜の観察に利用することで、これまで観察が困難であった細胞が物と接着する接触界面の状態を観察することができるようになり、新しい細胞組織工学の研究が加速できると期待されます。

本研究成果は2021年1月27日 (スイス時間) に科学誌「Sensors and Actuators B: Chemical」オンライン版に掲載されました。

【内容の詳細】

●研究の背景

脂質膜はわれわれの体を構成している細胞の内外を隔てる細胞膜の主な成分であり、細胞膜は細胞内外の物質のやりとりや細胞同士の接着など、体の機能や形をつくる上でとても大切な役割を持っています。細胞が物に接着しているときのすきまは100 nm以下と極めて狭いため、脂質膜がどのような状態で物と接触しているか観察することが困難でした。これまでの研究では、光を用いる方法では、蛍光色素を脂質分子などに標識することで接触している状態を計測することができましたが、細胞膜に何も手を加えずに接触領域の3次元的な構造を観察することは不可能でした。

●研究の成果

弘前大学大学院 理工学研究科の星野 隆行 准教授、東京大学大学院 情報理工学研究科 遠山 渉 大学院生 (研究当時)、宮廻 裕樹 大学院生 (研究当時、現 同大学院 助教) の研究グループは、水溶液中にある脂質膜が物と接触している接触界面を、脂質膜に何も手を加えずにナノメートルの分解能で可視化することに成功しました。

今回の研究では、電気化学反応で生じる反応物質の拡散がすきまの厚さにより変わることを利用したバーチャル電極走査電気化学顕微鏡 (VC-SECM) を開発しました (図1)。通常の走査電気化学顕微鏡 (SECM) では走査プローブ電極を試料の接触領域に入れることができないため、今回、バーチャル電極を走査プローブの代わりに用いました。接触領域にバーチャル電極 (VC) を生成することで接触領域の立体構造や脂質膜の状態を観察することに成功しました。

バーチャル電極ディスプレイは、厚さ100 nmの窒化シリコン薄膜を電場パターン呈示のディスプレイ面にしており、上面に置いた水溶液中の試料の接触領域に対して下面から電子線を走査することで、バーチャル電極を自在な位置に励起し走査できるものです (図2)。図3に示すように、バーチャル電極では水溶液中に電気化学反応が生じますが、すきまが狭くなると反応物質の拡散が抑制され電気化学反応による電流が減少するため、この電流の計測からすきまの大きさを推定することができます (図4)。直径 15 μm のポ



リスチレン球の球面をバーチャル電極により計測した実験により、1点あたり半径約90 nmの領域の立体構造を観察できることを確認しました。これを連続して走査することにより接触界面の3次元的な様子を可視化することにはじめて成功しました（図5，6）。また、この技術を使い脂質膜の接触界面を撮影することにも成功しました（図7）。

●今後の展望

脂質分子はわれわれの体を構成している細胞膜の主成分ですが、その接触界面がどのような状態で存在しているのか分からないことが多くありました。今回開発した手法では、接触している細胞膜をそのままの状態を観察することに1歩近づいたと言えます。本手法を細胞膜の観察に利用することで、これまで観察が困難であった細胞が物と接着する接触界面の状態を観察することができるようになり、新しい細胞組織工学の研究が加速できると期待されます。

【論文情報】

雑誌名： 「Sensors and Actuators B: Chemical」（1月27日オンライン版）

論文タイトル： Electrochemical imaging of contact boundary by using electron-beam addressing of a virtual cathode display

著者： Takayuki Hoshino, Wataru Tooyama, Hiroki Miyazako（星野 隆行，遠山 渉，宮廻 裕樹）

DOI： 10.1016/j.snb.2021.129558

【取材に関するお問い合わせ先】

（所属） 弘前大学大学院 理工学研究科

（役職・氏名） 准教授・星野隆行

（電話・FAX） 0172-39-3516

（E-mail） thoshino@hirosaki-u.ac.jp

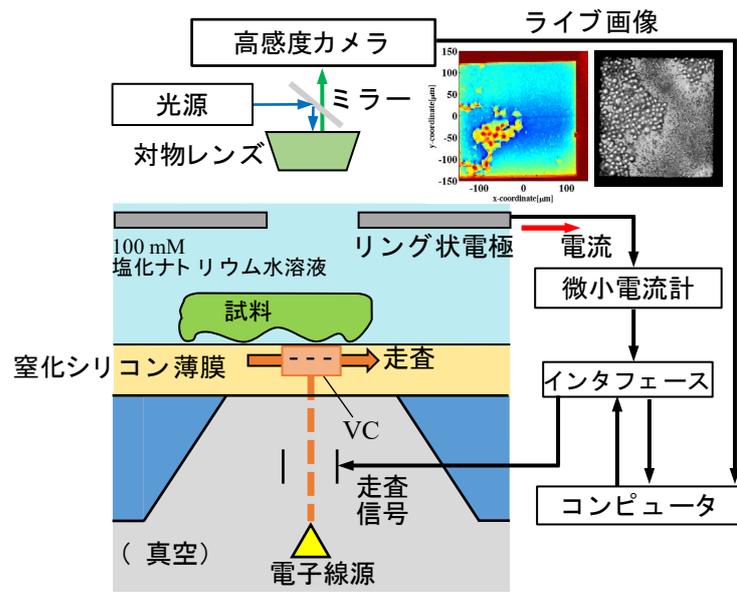


図1：バーチャル電極走査電気化学顕微鏡の構造。脂質膜などの試料を窒化シリコン薄膜の上面に置き、下面から電子線を走査することで窒化シリコン薄膜上にバーチャル電極が形成される。このとき、上面からは同軸の蛍光顕微鏡で試料の観察がリアルタイムでできる。バーチャル電極で生じた電流は水溶液を經由してリング状電極から微小電流計で計測される。走査位置ごとの電流を記録することで試料の接触界面を可視化することができる。

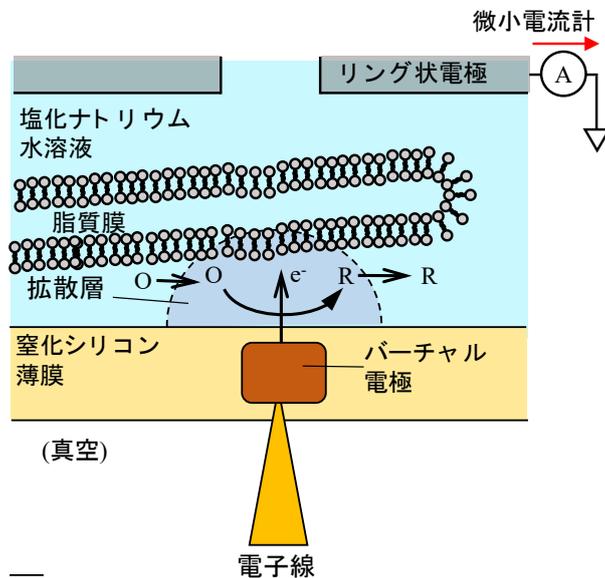


図2：バーチャル電極走査電気化学顕微鏡の原理。窒化シリコン薄膜の下面から照射された電子線は窒化シリコン薄膜に帯電し、バーチャル電極を形成する。バーチャル電極から流れる電流は水溶液中で電気化学反応を起こし、反応物質が周囲に拡散する（拡散層）。このとき、バーチャル電極と脂質膜とのすきまが狭いため、反応物質の拡散は抑制されリング状電極で計測される電流も減少する。バーチャル電極を走査しながら位置ごとの電流を計測することで、電流とすきまの大きさとの関係からすきまの3次元形状が可視化できる。

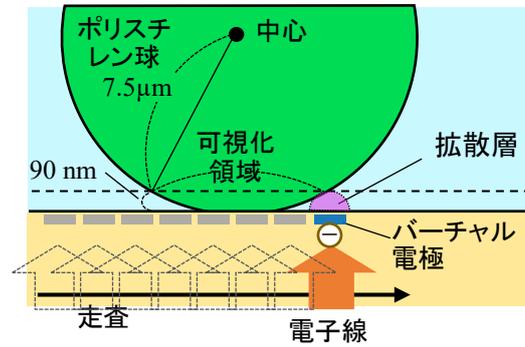


図3：バーチャル電極走査電気化学顕微鏡によるポリスチレン球の観察。バーチャル電極を走査することで、窒化シリコン薄膜上に置かれたポリスチレン球の球面が観察できる。球面のすきまが約90 nmまで狭くなると拡散層が阻害され、球面の形状が電流の変化として捉えることができる。

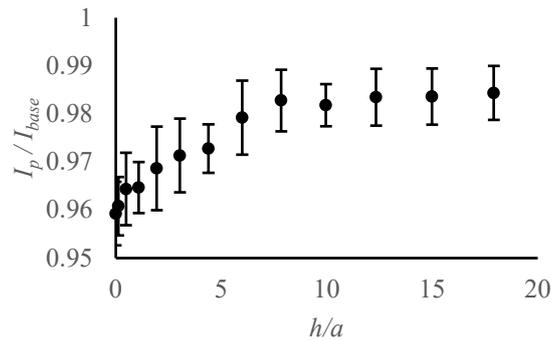


図4：すきまの大きさ（横軸）と電流量（縦軸）の関係。すきまが狭くなると電流量が減少することがわかる。

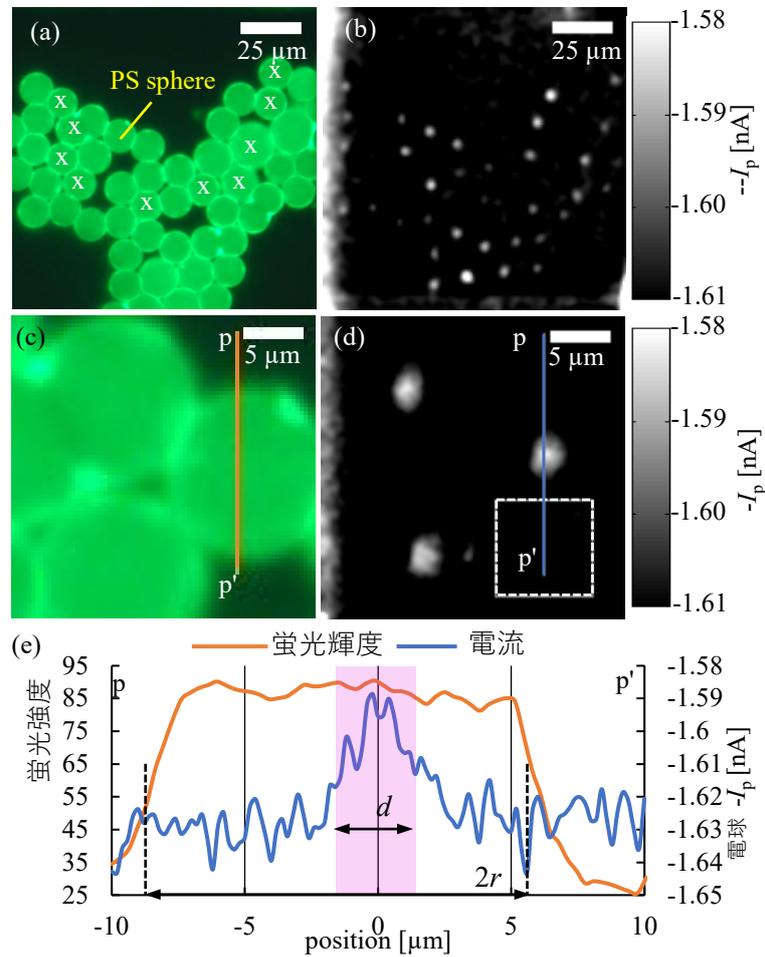


図5：直径 15 μm のポリスチレン球の観察結果。(a)ポリスチレン球の蛍光顕微鏡像。(b)同領域のVC-SECM像。球の接触領域にのみ電流量が減少し白く見えている。(c)蛍光像の拡大図。(d)VC-SECM像の拡大図。線p-p'の電流プロファイルと蛍光像を(e)に示す。蛍光顕微鏡で確認した球の接触領域にあわせて電流像が観察されていることが分かる。

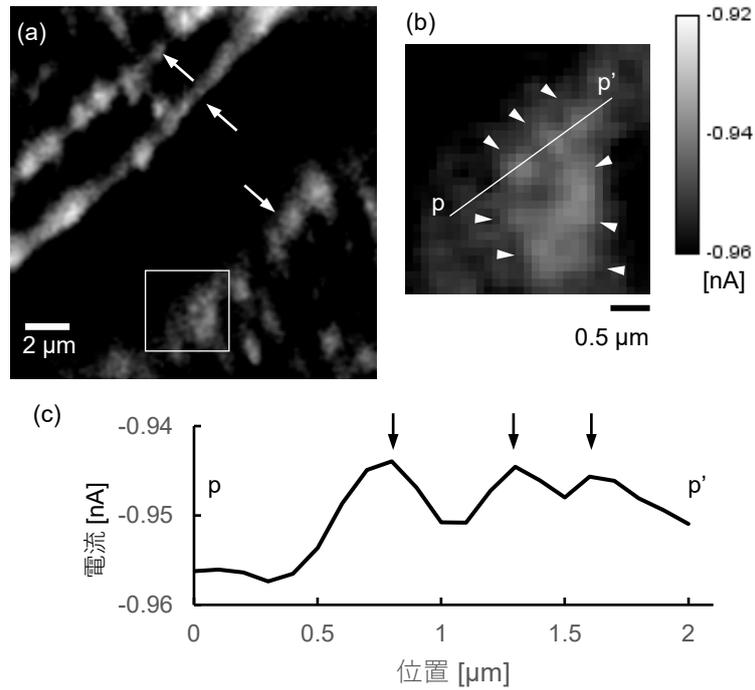


図6：直径 0.49 μm のポリスチレン球のVC-SECM観察結果。(a) 自己集合した球の集団が観察できる。白い四角で示す領域を拡大したのが(b)であり、個々の球（白い矢頭で示す）が確認できる。(c) 線p-p' の電流プロファイル，球が3つ並んでいるのが確認できる。

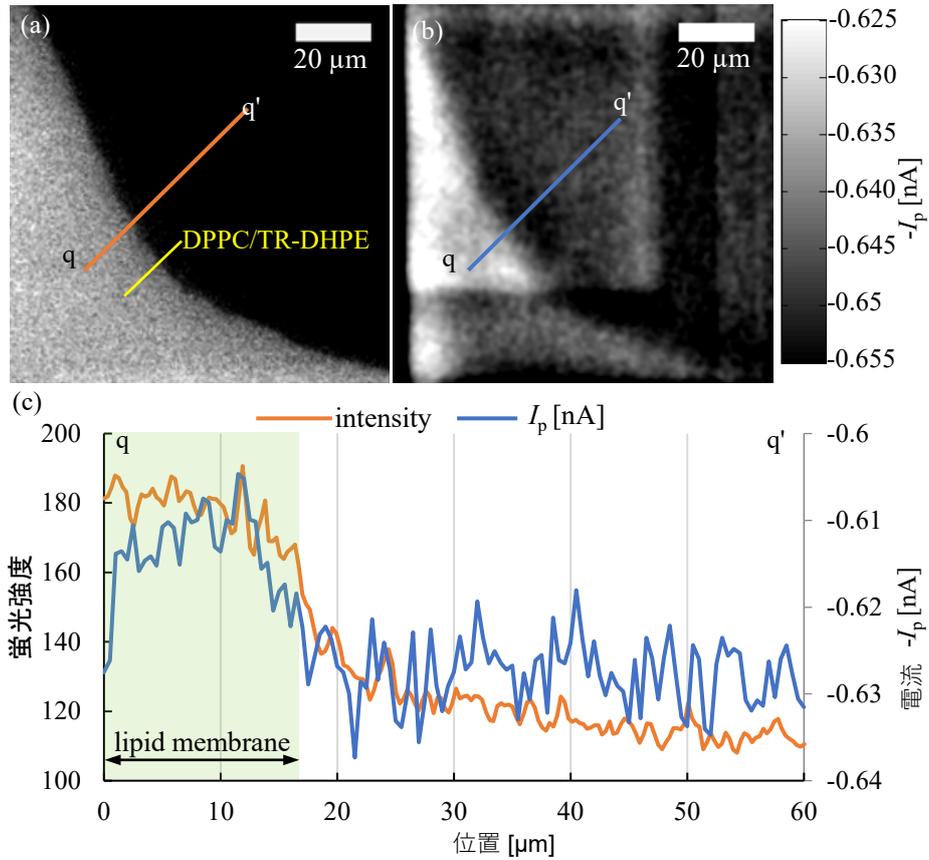


図7：脂質膜のVC-SECM観察結果。(a)自発展開した脂質膜(DPPC/TR-DHPC)の蛍光顕微鏡像。(b)同領域のVC-SECM像。(c)線q-q'の電流と蛍光プロファイル。脂質膜が接触している領域が電流像として可視化されていることが分かる。