

## 研究課題別事後評価結果

### 1. 研究課題名： ナノケミカルプローブの創製とバイオ・医療計測

### 2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

#### 研究代表者

鈴木 孝治 (慶應義塾大学大学院理工学研究科 教授)

#### 主たる共同研究者

丹羽 修 ((独)産業技術総合研究所生物機能工学研究部門 研究副部門長)

岩崎 弦 (日本電信電話株式会社 マイクロシステムインテグレーション研究所 主任研究員)

伊藤 健 (神奈川県産業技術センター 電子技術部 主任研究員)

### 3. 研究内容及び成果

#### 3 - 1. 研究課題全体

この研究は、ボトムアップ型の分子・ナノ材料設計をベースに新規なケミカルプローブを創製し、単一細胞の内外の現象を統合的に判断する「細胞のリアルタイム測定」と細胞への外的刺激に対する応答(イオン放出等)を検出する「細胞応答観察システム」の基盤技術を確立し、単一細胞レベルの動態解析を目標としている。

生体内での金属イオンは、微量で重要な働きを持っていることはよく知られている。その金属生体内の一つであり、近年注目されてきているマグネシウムの細胞内での動態を観察出来る、高性能の蛍光プローブの創製に成功した。また、マグネシウムとカルシウムを同時測定出来る蛍光プローブを合成し、細胞内での $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$ の同時測定で実証した。また、走査型顕微鏡用のプローブとして、原子間力(物理情報)、

電気化学(電気シグナル情報)、近接場光(発光情報)を同時に測定出来るマルチモードプローブを開発し、システムを組み上げて、SECM, NSOM, AFMの同時イメージングに成功している。さらに、分子量をタグとする新たなマスプローブ(反応性の分子)を創出し、マトリックスなしで、MALDI TOF-MS が行えることを示すなど、新しい分析手法を開発している。

一方では、微細加工技術を駆使してナノドット基板を作成し、MALDI TOF-MSの再現性の向上や、SPRセンサーへの応用などで、生体分子の計測に成功するなど、多くの新規分析手法を開発している。このチームは、それぞれのグループが得意な技術を持ち寄って、ターゲットを攻略するシステムとなっているため、グループ毎のターゲットを明確に定義することは難しい面もある。以下に述べるグループ別の成果は、技術の確立に主な寄与をしたグループの成果として記述するが、他のグループの寄与も大きいケースが多い。

#### 3 - 2. グループ別

##### 1) 慶応大学グループ( 神奈川産技センターを含む)

主にマルチ蛍光プローブやMSプローブの開発を担当。

マグネシウムは生体内で重要な役割を担っていることが分かっており、これを観測する多くの手法が開発されてきているが、その挙動はまだ解明されていない点がある。生体内で他の物質との共存下での挙動を計測出来る手法が開発されていなかったことも、その原因の一つといえるであろう。マグネシウムの生体内での挙動は、カルシウムと密接な関係に有るとも言われており、このグループが開発した、マグネシウムとカルシウムの2つの金属を同時に観測出来る手法は、非常に有用なものとなる可能性がある。このプローブを用いて、細胞内の $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$  の同時測定に成功している。また、マグネシウム用のプローブKMG-301

を用いて、ミトコンドリア内の $Mg^{2+}$ の動態を観測することにも成功している。

MALDI TOF-MSの欠点であるイオン化効率の悪い化合物に適用出来る技術を開発した。これらのイオン化効率の悪い化合物に結合させて、測定時に一価イオン分子にするマスプローブを開発している。これを用いたイオン化法をMPAI法(Mass-Probe Aided Ionization)と名付けて、多くの実用的なマスプローブを設計・合成している。このプローブを用いて、MALDI TOF-MSの装置でマトリックスなしでレーザー脱離照射のみで、蛋白質などをイオン化して分析することが可能であることを示した。この応用範囲は広いものになりそうである。

## 2) 産総研グループ

原子間力・電気・光化学プローブ、ECR薄膜電極を担当。

原子間力、電気化学、近接場光の3つの測定原理で同時にイメージングできる走査型顕微鏡用のマルチモードプローブを創製した。このマルチモードプローブは、光ファイバーの先端をフッ酸でエッチングして先鋭化し、表面に金をスパッタする。その後表面にアクリル系ポリマーを電着して、乾燥する際のポリマーの熱収縮を利用して、このプローブの先端のみを微小電極とするという巧みな設計によるものである。この光ファイバーをベント化(曲げ)して、AFM測定を可能にした。これによって、SECM, NSOM, AFMの同時測定が可能となり、形状と同時に神経伝達物質やイオンの挙動の相関性など、従来観察出来なかったものが測定可能になるものと思われる。また、従来の金属やカーボン電極では測定困難な酸化電位の高い生体分子の検出や濃度分布のイメージングが可能な材料として、電子サイクロトロン共鳴スパッタ法(ECR法)によるナノカーボン薄膜電極を開発した。この膜は、ナノレベルでの平坦性がよく、数nmの電極膜も形成可能であり、極めて広い電位窓と低ノイズを有し、かつ表面酸素濃度が低く酸化されにくい特性を持つため、ポロンドーパダイヤモンド電極を超える画期的な材料として期待される。この膜電極を用いて、全核酸塩基の計測や、吸着性の高いINADHなどを安定に計測できることを実証し、高い生体適合性と安定性を有するプローブ開発の可能性を示した。その他にもナノサイズの金属を埋め込んだカーボン電極、選択応答性を有するアモルファスITO(インジウムスズ酸化物)電極などの特徴ある分析素材の作製を行なっている。

## 3) NTTグループ

このグループは、ナノパターンSPRの開発を担当。

島構造(ナノドットパターン)の金薄膜LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance)では、透過型又は反射型光学系による測定が可能であり、島構造の形状によって感度が大きく変化することを利用して、吸収スペクトルの変化と反射光の位相シフトの両方を測定する。100nm以下のドットを波長程度の周期構造に配した金薄膜(ナノドットパターン)を作製し、マイクロ流路に埋め込んだ。このマイクロ流路に、抗体固定化や抗原が結合することによってスペクトルのシフトが見られ、生体分子の特異的結合測定が可能であることを示している。また、このナノドットチップをMALDI TOF-MSのターゲットプレートとして用いることにより、DNAの質量解析の再現性が大幅に向上する(14 ~ 68 ~ 84%)という結果を得ており、微細加工したターゲットプレートの表面の構造が再現性の向上に寄与しているらしいことを突き止めている。この手法で、アルブミン、インターロイキンなどの生体分子の測定に成功している。

## 4. 事後評価結果

### 4 - 1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

論文 (原著)		口頭 (ポスター)		講演		その他 (著作など)		特許出願	
国際	国内	国際	国内	国際	国内	国際	国内	国際	国内
48	0	41	83	9	17	1	1	2	23

論文の量、掲載誌の質、共に十分であり招待講演も多い。

マルチモード (SECM, NSOM, AFM の同時測定) 走査型顕微鏡や、Mg、Ca イオンの同時蛍光測定、マスプローブなど、新規な技術が提案され、技術として確立された点を高く評価したい。ナノパターンLSPR、ナノドットターゲットプレートなども優れた成果である。チームの合成技術・微細加工技術が遺憾なく発揮された結果と言えよう。当初提案された個別の技術開発目標は達成されている。

これらの技術は他の研究課題とは異なり、実用化に非常に近い位置にある。実用性の面からはユーザーの評価が不可欠であり、チームとしても共同研究の形で取り組みつつある。今後はさらにユーザへのアプローチや用途の提示を行い、評価を高めていく努力が必要と思われる。

#### 4 - 2 . 成果の戦略目標・科学技術への貢献

細胞内物質の動態解析については、蛋白質や核酸については盛んに研究されているが、本研究のように、金属イオンを対象とするものは余り見掛けない。その意味では、Ca、Mg 同時測定などは、その可能性に大いに期待したいところである。また、マルチモード走査型溶液顕微鏡も、新しい発見に貢献出来る技術であると考えられる。適切な用途に合致した場合には、必要かくべからざる解析法になる可能性があり、重要な成果といえる。著名な学術雑誌に掲載されていることも、その期待が大きいことを物語っているといえる。

生体内物質の測定は、多くの研究がなされているが、本研究は分子プローブやナノドットなどの各種の新規ケミカルプローブを軸とした分析化学の分野からの視点での研究であり、従来にない成果が得られている。ただし、実用面での評価はこれからであり、さらなる発展を期待している。

#### 4 - 3 . その他の特記事項(受賞歴など)

丹羽 修:平成15年度 日本化学会学術賞

鈴木 孝治:平成17年 日立環境賞 優良賞

鈴木 孝治:平成17年 (社)日本空気清浄協会賞・技術賞

鈴木 孝治:平成19年 日本分析化学会 学会賞

鈴木 孝治:H17-H19 JST 大学発ベンチャー創出推進事業「医療・食品・環境計測に向けたマルチケミカルセンシングデバイスの開発と実用化」(開発代表者)

鈴木 孝治:平成19年度より、神奈川科学技術アカデミー イノベーションセンター

光化学重点研究室 ナノフォトバイオグループ グループリーダー