

## 研究課題別事後評価結果

### 1. 研究課題名： ナノ生物物理化学アーキテクチャの構築と応用

### 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

北森 武彦 (東京大学大学院工学系研究科 教授)

主たる共同研究者

金 幸夫 (茨城大学理学部化学コース 教授)

馬渡 和真 ((財)神奈川科学技術アカデミー 光科学重点研究室 研究員)

### 3. 研究内容及び成果

#### 3 - 1. 研究課題全体

ナノとマイクロの中間領域(10-100nmスケール)を拡張ナノ空間と名付け、その空間における流体の特性や構造を解明して、この空間応用のためのアーキテクチャを構築し、その空間を応用した高機能デバイスを構築しようとする意欲的な研究課題である。

このチームは、石英上に20nm のチャンネルを作成するなど、微細加工についてはトップクラスの実力を持っており、その技術を応用して作成した拡張ナノ空間NMRセルを用いて、生体の基本的な溶媒である水の構造や運動性について解析を行っている。ナノ - 拡張ナノ空間においては、水の分子構造は変わらないが運動性やプロトン交換速度は大きく変化することなど、この空間では従来のバルクの流体力学が適用出来ないことを明らかにした。また、物質移動速度が単に移動距離だけで予測されるものより速いことなどの現象の解明を進めている。拡張ナノ空間における化学反応についても検討しており、500nm 以下の空間では、ケト - エノール反応平衡がエントロピー減少の方向へずれることなどの非常に興味深い現象を確認している。

この空間を分析などに応用する場合の機能素子として細胞の利用を考え、細胞培養について多くの検討が加えられている。例えば、ナノ・ストライプパターンの制御により、細胞の接着や配向性の制御が可能であることなどは新しい知見であり、コントロールされた培養による分析用デバイスなどの創製は今後の課題であろう。当領域の平成13年度採択の岡野教授とのコラボレーションによって、疑似心臓デバイスや疑似血管デバイスのプロトタイプの前作製にも成功している。これらを応用した実用的なデバイスの作製も、これからの研究によらなければならないが、基本的な部分で得た多くの成果が、今後の展開に更なる期待を持たせるものとなった。

3グループの研究成果を融合して、ナノイムノアッセイデバイスの基盤技術を構築できたといえる。これらの技術をさらに展開し、拡張ナノ空間の特徴を活かした単一分子分析・単一細胞分析やそれらを応用した医療診断、空間サイズや表面性状に応じて変化する溶液物性を利用した新しい分離分析・細胞間相互作用解析など、極めて広い応用が期待される。

#### 3 - 2. グループ別

##### 1) 北森グループ

マイクロ空間ナノインフラストラクチャの構築および高機能デバイスの開発を担当。

このグループの微細加工技術は定評のあるもので、電子線描画とプラズマエッチングによって、ガラス基板などに数 100nm から20nm までのナノ流路の作成に成功している。この分野で最先端をいくこれらの技術を用い拡張ナノ空間の細胞培養において、ストライプパターンと培養細胞の成長の関係を解析し、ナノパターン表面上での細胞の接着・配向を制御できることを確認している。また、熱応答性ポリマーや光感

受性化合物を導入したパターンニングを行い、生体分子を任意の場所に固定化することを可能とし、抗体反応などを用いた分析手法の基礎を築いている。

マイクロ空間において、細胞レベルの種々の解析がリアルタイムで行えれば、その迅速性や経済性から広範な応用が可能と考えられるが、閉鎖的且つ微小空間での細胞培養には、閉鎖性ゆえの物質供給の困難さなどの障害がある。これらの障害を、培養条件のみならず表面改質などの条件を整えて、細胞機能を保持したままの肝細胞培養に成功している。

マイクロ空間内での血管内皮細胞の培養や、動脈硬化の原因といわれている白血球の血管壁への接着現象をマイクロチップ上で観察することにも成功しており、その応用範囲は広い。また、当領域の岡野チームより提供された培養心筋シートを用いたアクチュエーターの作製にも成功しており、その成果がNature の Research Highlight や Scientific American の News Scan に取り上げられている。この技術は、マイクロ流路における流量制御というまだ誰も成功していない技術への期待を抱かせるものであり、この分野の発展に大きく寄与すると思われる。

## 2) 金グループ

このグループは、拡張ナノ空間の物理化学現象の解明を担当。石英ガラス基板上に作製した拡張ナノ空間における水分子の構造と運動を、NMRを用いて解析している。ナノ空間においても水分子は液状で構造そのものは変化していないが、相互作用は大きく変化していることを明らかにした。流路の幅が800nm 以下になると並進運動、プロトン電荷分布、プロトン移動に変化が現れる。水の緩和速度の空間サイズ依存には、800nm, 200nm, 40nm 付近に複数の変曲点が存在しており、バルク相や分子細孔中の吸着相とは異なる中間移動相が存在していることを明らかにした。これらは、初めて解明された重要な成果であり、この空間ではプロトン移動が速く、タンパク質の水和構造や水 - タンパク質間相互作用にバルク空間とは異なった空間サイズ効果が存在することを予言しており、この成果が、Angewante Chemie (2007年2月) の裏表紙を飾っている。

このような水分子の挙動は反応にも影響を与えており、アセチルアセトンのケト - エノール平衡について解析して、バルク空間とは異なった平衡値を示すことを明らかにした。即ち、500nm 以下のナノ空間において、より安定なケト体構造の方へ平衡がシフトしていく現象が起こっていることを示した。空間が狭くなると自由エネルギーの減少によってエントロピーの減少が起こる方向へ反応がシフトしていることは極めて興味深い結果である。拡張ナノ空間におけるケミストリーは、バルク空間とは異なることを明かとしたが、この成果は細胞内や毛細血管中などの生命体内の現象の解析にも影響を与えるものであり、波及効果は極めて大きいといえる。

## 3) 馬渡グループ

このグループは、ナノ空間における流体制御法の開発と熱レンズ顕微鏡(TLM)の高度化による新規ナノ空間計測法の開発を担当。流体制御については、マイクロ - ナノ加工技術と静水圧・背圧調整・空圧調整の各種方法を使い分けることで、溶液の滞留時間をミリ秒から分オーダーまで制御することに成功しているが、さらに改良が必要であろう。TLMの応用においては、流路を狭くすることによって単一分子の検出が可能であることを明らかにしており、励起波長の検討により、定量化できる可能性を示した。まだ改良の余地が多いと思われるが、TLMを利用したELISA法にも成功している。単一分子クロマトグラフィーや単一分子イムノアッセイへの展開により、微量サンプルによる迅速な分析に繋がるものであり、今後の展開に期待したい。

#### 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<br>(原著) |    | 口頭<br>(ポスター) |     | 講演 |     | その他<br>(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 |
| 67         | 0  | 198          | 181 | 81 | 144 | 10            | 66 | 2    | 52 |

論文・ポスター発表共に十分になされており、国内外での招待講演の多いことがこの分野をリードしていることを顕著に表している。特許も十分に出願されているが、国際特許が少ない点が多少気に掛かる点ではある。

まだ誰も手を付けていなかった拡張ナノ空間の物理化学に取り組み、バルク空間とは異なる挙動を示すことを明らかにした意義は非常に大きいものといえる。流路壁面の影響は大きいものと思われてはいたが、壁面からの距離やプロトン移動度の観測など、新しいデータを提供している。今後のマイクロ・ナノ空間利用の指針となるものと思われる。

マイクロ流路における細胞の培養については、流路表面との関係を検討した成果が新しい知見である。今後の展開に期待したい。

また、ケト・エノールの平衡を用いた化学反応の解析では、ナノ空間でより安定な構造へと平衡のずれることがエントロピーの減少に繋がることを明らかにしており、自由エネルギーの減少という意味からは当然の結果ともいえるが、実験データで明らかにしたことは非常に興味深い。

この空間の利用法としては、分析デバイスとすることの研究が盛んであるが、単一分子クロマトグラフィー、単一分子イムノアッセイへのデータを示していることも今後の指針となりうるものと言えよう。

##### 4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

拡張ナノ空間の新しいサイエンスの基礎となる成果を得ており、インパクトが極めて大きい。成果としては、その結果のみならず新しい手法の開発・提案という点からも非常に優れており、この分野を先導している。拡張ナノ空間の概念は、MEMSの極微小分析デバイスなどに適用出来るのみでなく、生体の細胞内や、毛細血管などの微小な器官内の現象の解析にとっても重要な意味を持つものであるが、これまで有効な実験ツールが無く、解明されていなかった。この成果によって、微小空間の不可思議とされてきた現象の解明が進むことを期待している。

拡張ナノ空間における高機能デバイスの構築については、高機能デバイスとして今後の利用が必須になってくるものと思われる細胞の制御された培養を指向しており、TLMを用いたクロマトグラフィーやELISA法の基盤技術を構築することに成功するなどの成果を挙げて、今後の方向性を示している。特に、医療ゲノム分野でニーズの高い単一分子イムノアッセイ、新たな分離分析手法としての単一分子クロマトグラフィー、単一細胞プロテオミクスなどの新分野に繋がる基盤技術としての期待が大きい。

##### 4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

受賞 北森 武彦(第23回 日本化学会学術賞)

田中 陽(日本放送賞 第20回独創性を拓く先端技術大賞)

金 幸夫 准教授(平成18年度より、茨城大学理学部教授に就任)

1. シンポジウム「マイクロ科学チップ研究開発の全容」を主催(北森グループの発表)

神奈川サイエンスパークにて、530名の参加を得た。

2 . International Symposium on Microchemistry and Microsystems 2006

運営スタッフと発表を担当

3 . The 10<sup>th</sup> International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science

運営スタッフと発表を担当 北森教授がチェアマンを勤める。

北森 武彦:平成15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 マイクロ化学グループ グループリーダー

北森 武彦:H18-H19 JST 戦略的国際科学技術研究推進事業「単一細胞生物学研究のためのマイクロ流体デバイス」(研究代表者)

若手研究者が多くの講演・ポスター賞を受賞している。