

「分子複合系の構築と機能」
平成12年度採択研究代表者

清水 敏美

(独立行政法人 産業技術総合研究所
界面ナノアーキテクトニクス研究センター 研究センター長)

「一次元孤立微小空間構造の組織化と機能発現」

1. 研究実施の概要

本研究では、ナノメートルサイズの内孔をもち、長い中空シリンダー状形態をもつ一次元孤立微小空間構造（脂質ナノチューブ）を非共有結合的に構築し、そのファブリケーションとマニピュレーションに取り組んでいる。さらに、このチューブ構造内部に形成されるナノスケール微小空間をナノキャピラリーやナノ反応容器に見立て、DNAや有用たんぱく質などの巨大分子をゲストとする、従来全く研究例がない「メゾ系ホストゲスト化学」および「液相ナノ空間科学」を取り扱い、基礎科学としての新たな領域を開拓することを目指している。

平成14年度は、100%の完全収率で脂質ナノチューブを得るために、特に合成糖脂質に焦点をあて、疎水部長鎖炭化水素部位中での不飽和結合の有無と導入数、導入位置を系統的に変化させ、ナノチューブ自己集合用の分子構築単位の最適化と計算化学的裏付けを検討した。さらには、これらの研究過程で得られた種々の一次元有機ナノ構造を鋳型にしたゾルーゲル重合反応により、ナノスペースが種々の三次元配置で特異的に配置された一次元無機ナノ構造を創製し、それら新材料が有する特異的な機能評価を開始した。また、マイクロインジェクション法を用いて脂質ナノチューブを基板上に配列させ、光リソグラフィ技術と組み合わせて極微小流路を作製することを試みた。さらに、脂質ナノチューブ内外表面付近に存在する水分子の特性や状態分析を行い、バルク水とは異なる水分子の存在を明らかにした。

2. 研究実施内容

我々は最近、再生可能な植物資源であるカルダノールとグルコースを原料に用いて得た単糖単鎖型合成糖脂質成分1が水中で、軸比の高い（1000以上）、内径が約10nmの均一な中空シリンダー状脂質ナノチューブを形成することを見いだした。本年度は、疎水部を構成する長鎖炭化水素鎖の不飽和度とナノチューブ形成能との相関関係を詳細に検討するために、疎水部の不飽和度が異なるカルダニルグルコシド系4成分2-5、*p*-位に長鎖アルキルアミドを含み、二重結合の導入数が異なるフェニルグルコシド系糖脂質6-9を合成

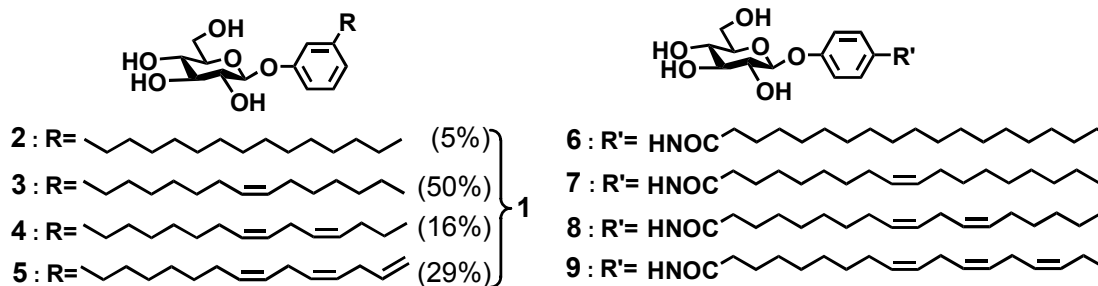


図1 自己集合ナノチューブ形態に関連する種々の合成糖脂質

し、計8種類の合成糖脂質の水中での自己集合挙動を詳細に検討した。その結果、飽和型成分2は自己集合によりねじれ状ファイバーを形成し、長期間放置後もナノチューブ構造への形態変化は認められなかった。一方、モノエン型成分3はきつく巻きあがったコイル状リボンかナノチューブ形態に集合し、二重結合1個の導入により二分子膜構造の曲率の大幅な変化が認められた。これに対し、ジエン型成分4、トリエン型成分5の水和結晶は室温条件で液晶状態をとり、明確な集合形態を検出することはできなかった。そこで、2と3の2成分の混合比を連続的に変化させてコンビナトリアル的な自己集合を詳細に行った結果、飽和型成分2にモノエン型成分3を順次ドーピングするに従い、ねじれ状、ゆるいコイル状、きついコイル状、チューブ状と形態を制御できることを初めて見いだした。

アミド基を新たに導入した同族体6-9は、対応する2-5と比較して約40~80℃ほどゲル-液晶相転移温度が高くなり、室温条件で全て固相状態で存在することがわかった。さらに、二重結合の導入数が増加するにつれ、チューブ状態に集合しやすい傾向を示した(図2)。形成した一次元ナノ構造体の円偏光二色性スペクトルは、8や9が形成する脂質集合体の方が固体二分子膜のキラリティーが増大することを示した。したがって、不飽和度の高い分子がよりキラルにパッキングし、ナノチューブ形成を容易にしていることが推定できた。

脂質ナノチューブを始めとして、ナノファイバー、ナノコイルなど有機分子が自発的に集合して形成する一次元ナノ構造は、従来法では不可能であった多様な三次元形態を有する無機ナノ構造を創成するためのナノ鋳型として重要な役割を果たすことを昨年見いだした。特に、水溶媒だけでなく数種類の有機溶媒中でナノファイバー構造を形成し、その中に溶媒成分を抱き込むことにより系全体をゲル化させることがわかった長鎖アルカノイルアミノフェノールを疎水部にもつ単糖単鎖型、双頭単鎖型の4種類の合成糖脂質のうち、水/アルコール混合溶媒系で、添加成分としてアミノフェニルグルコピラノシド誘導体が存在すると、直径が3~25nmの二重らせんひも構造からなるゲルを与えることがわかった。この二成分系ゲルシステムを用いて、シリカの前駆体モノマーであるテトラエトキシシラン (TEOS) を用いてゾルゲル反応を行い、引き続き焼成反応を行った結果、特徴ある二重らせん構造をもち、かつ中空シリンダーを有するシリカ構造を得た(図3)。添加成分が存在しない場合、シリカナノチューブへの形態転写が全く行われなことから、添加成

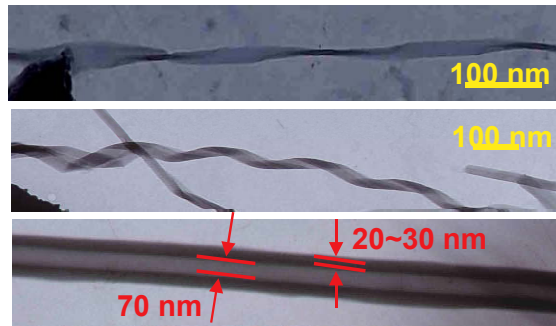


図2 合成糖脂質7-9における二重結合の導入数とナノチューブ形成能との相関関係
 (上) 7が形成するねじれ状、(中) 8が形成するコイル状、(下) 9が形成する
 チューブ状

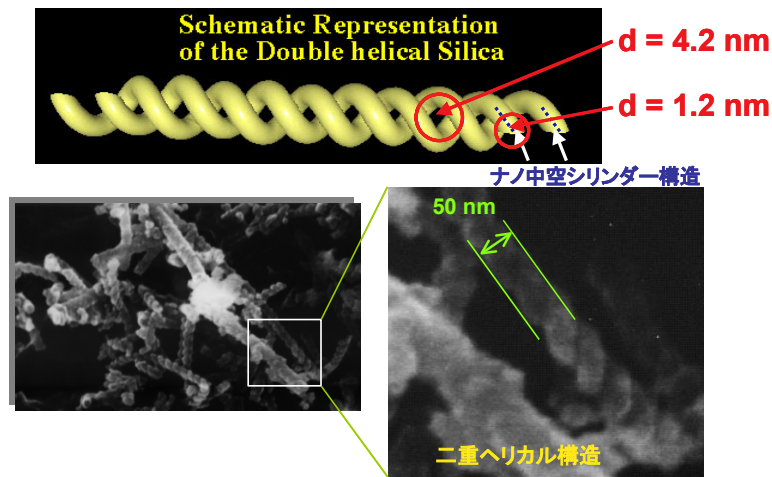


図3 二重ヘリカルシリカナノチューブの模式図と電子顕微鏡写真

分のアミノ基がTEOSオリゴマーの吸着結合サイトとして機能していることが示唆された。

電子線分光器を備えた透過型電子顕微鏡 (EELS-TEM) により観察を行なった結果、無機/有機ハイブリッド構造体は無機材料の層がテンプレートである有機ゲル化剤の層をはさむように成長している事が確認された。これは有機ゲルを基本構造として無機材料が吸着・重合して形成されたものであることを裏付けている。またハイブリッド構造体を500℃で加熱焼成すると、テンプレートの有機材料は除去され、完全な無機材料の構造体を得られることが確認された。ただしチタン化合物での場合、加熱焼成では有機材料除去に加え、無機材料の非晶質-結晶相転移も引き起こされていることが確認できた。

自己集積性の分子が非共有結合的に集合して形成した一次元ナノ構造体の機械的物性評価に関しては従来全く報告例がない。昨年度末、カルダニルグルコシドから自己集合して形成した内径約10nm、外径が約50nmのサイズ次元をもつ独立した脂質ナノチューブ1本の曲げ弾性率を評価する手法を開発した。その結果、水中での脂質ナノチューブ1本の曲げ

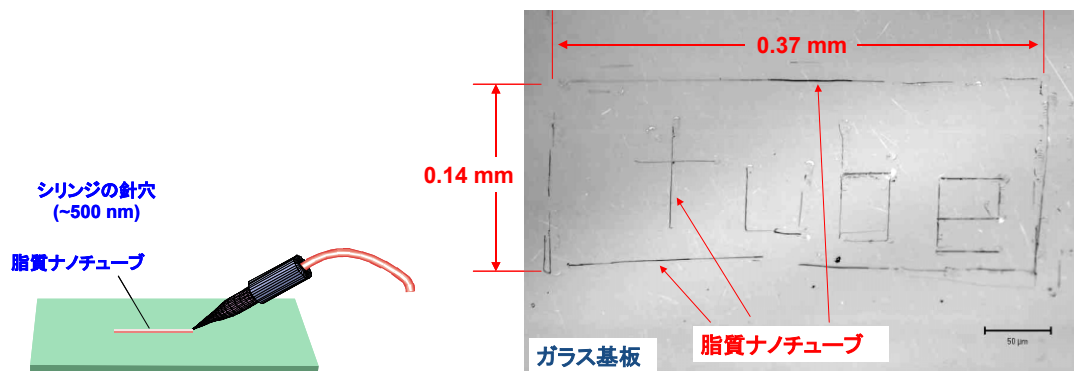


図4 マイクロインジェクション法の模式図（左）とガラス基板上に描画された脂質ナノチューブからなる文字配列と枠（右）

弾性率から誘導したヤング率は720MPaであり、生体中でチューブリントパク質が自己集合して形成する直径が約25nmである微小管1本のヤング率1000MPaと同程度であることを再現性と信頼性をもって初めて評価することに成功した。得られた適度な曲げ弾性率をもつ脂質ナノチューブの特性を利用する目的から、基板上に脂質ナノチューブを1本ずつ自在に配向、配置可能なマニピュレーション技術を検討した。その結果、分散した脂質ナノチューブを含む水分散液を内径約500nmのガラスキャピラリー（市販名：FemtoChip®先端から射出する方法（マイクロインジェクション法）を用いることで、脂質ナノチューブを1本ずつ基板上で配向させることに成功した（図4）。言い換えれば、ナノチューブをインク代わりに用いて、つけペンのようにナノチューブで文字を描画可能である。そのデモ実験として、枠付の“tube”の文字を0.37mmのサイズ領域に描画した。さらに、脂質ナノチューブを用いたDNAチップの開発を目指し、光リソグラフィを用いてナノサイズの流路を作成する実験に着手した

カルダニルグルコシド系糖脂質の水和状態の違いや飽和、不飽和アルキル鎖がナノ構造に与える影響を、赤外スペクトル測定と、分子軌道計算で得られた熱力学的に安定な構造の振動スペクトルの比較により解析した。その結果、飽和アルキル鎖では結晶に近い $all-trans$ 構造が、不飽和結合鎖を含む場合には液体的なひずんだ構造及び無秩序なコンフォメーションが支配的になることがわかった。さらに、不飽和アルキル鎖は飽和型に比べて糖末端をより水和しやすいこと、相転移に関連して水和状態の変化が起きるとき糖末端が再配向することなどが示唆された。さらに、疎水性アルカンチオールで修飾された金基板と脂質ナノチューブの相互作用についてATR-IR法で検討した。水溶液中にナノチューブを注入したとき、糖脂質は単量体に分解し、基板のアルキル末端に末端を交互に配列した多層膜を形成することが示唆された。その際、疎水性界面に存在していた水素結合していない水分子が検出された。

時間分解レーザー蛍光法を用い、脂質ナノチューブ内の水分子の挙動、特に、化学反応の理解にとって重要な水の溶媒極性を検討した。その結果チューブ内空間に、極性が短鎖

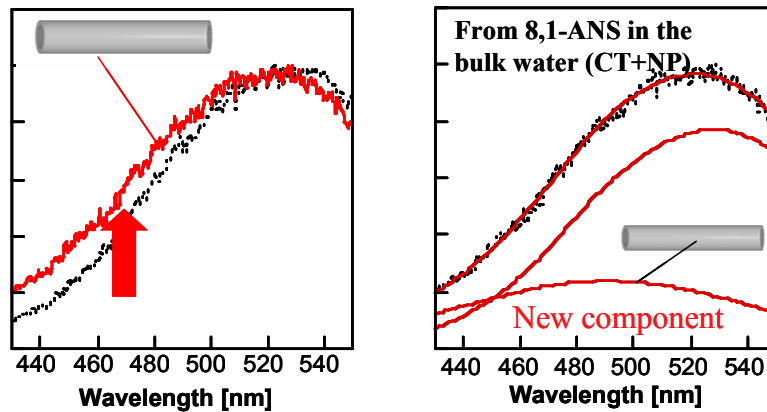


図5 (左) バルク水中および脂質ナノチューブ存在下での8,1-ANSの時間分解蛍光スペクトルの比較、(右) 後者の時間分解蛍光スペクトルの成分分解

アルコール程度まで低下している水の領域が存在することを明らかにした(図5)。さらに凍結乾燥法と赤外吸収測定を組み合わせることで、チューブ内外に、氷様に水素結合が発達した束縛水の領域が存在することを明らかにした。また一本のナノチューブの局所分光・局所光化学修飾を目指した新規顕微レーザー分光システムを開発し、チューブ一本の蛍光分光分析、レーザートラップによる水中でのチューブ1本の3次元(水平・垂直)ハンドリングを可能にした。

脂質ナノチューブの構造物性評価手法の開発と位置づけ、液中ラマン分光近接場光学顕微鏡の開発と陽電子励起脱離イオン化法の開発を行った。前者では、液中基板に局所的に配列した脂質ナノチューブの光学特性を高空間分解能で測定することを狙い、近接場領域での金属探針増強共鳴ラマン散乱光の測定に成功し、現在二次元分布測定に取り組んでいる。後者では、脂質ナノチューブなどのマクロ分子の表面吸着物の同定のための質量分析

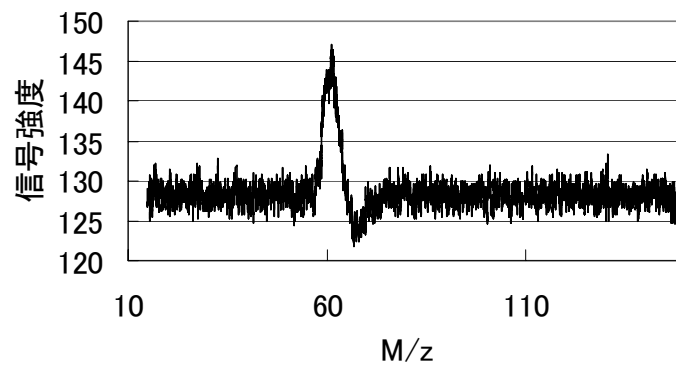


図6 陽電子励起脱離質量スペクトル(試料: 金に吸着したエタンチオール分子)

法の開発を狙い、世界で初めて陽電子プローブ励起によって金に吸着したアルカンチオール分子の分子イオンの検出に成功した (図6)。

3. 研究実施体制

(1) 「産業技術総合研究所 界面ナノアーキテクトニクス研究センター」研究グループ

① 清水敏美 (産業技術総合研究所界面ナノアーキテクトニクス研究センター、研究センター長)

② 研究項目：一次元孤立微小空間構造の組織化

有機ナノチューブの形態・構造制御と高次組織化、メゾ系ホスト-ゲスト化学に関する研究

(2) 「東京大学大学院新領域創成科学研究科」研究グループ

① 澤田嗣郎 (東京大学大学院新領域創成科学研究科教授)

② 研究項目：一次元孤立微小空間構造の機能発現

有機ナノチューブを利用したマイクロ包接・分離・放出機能、液相ナノ空間科学に関する研究

4. 主な研究成果の発表 (論文発表および特許出願)

(1) 論文 (原著論文) 発表

- M. Futamata, Y. Maruyama, M. Ishikawa, "Single Molecule Detection with SERS", *Anal. Sci.*, **17**, i1181-i1183 (2002).
- T. Shimizu, "Bottom-Up Synthesis and Structural Properties of Self-Assembled High-Axial-Ratio Nanostructures", *Macromol. Rapid Commun.* (Feature Article), **23**, 311-331 (2002)..
- J.H. Jung, H. Kobayashi, K.J.C. van Bommel, S. Shinkai, and T. Shimizu, "Creation of Novel Helical Ribbon and Double-Layered Nanotube TiO₂-Structures Using an Organogel Template" *Chem. Mater.*, **14**, 1445-1447 (2002).
- M. Futamata, S. Masuda, "ATR-SNOM-Raman Spectroscopy using Surface-Plasmon-Polariton", *Anal. Sci.*, **17**, i103-i106 (2002).
- M. Futamata, "ATR-SNOM-Raman Spectroscopy", *Anal. Sci.*, **17**, i693-i696 (2002).
- J.H. Jung, S. Shinkai, and T. Shimizu, "Spectral Characterization of Self-Assemblies of Aldopyranose Amphiphilic Gelators; What is the Essential Structural Difference Between Simple Amphiphiles and Bolaamphiphiles", *Chem. Eur. J.*, **8**, 2684-2690 (2002).
- H. Uzawa, S. Kamiya, N. Minoura, H. Dohi, Y. Nishida, K. Taguchi, S.

- Yokoyama, H. Mori, T. Shimizu, and K. Kobayashi, "A Quartz Crystal Microbalance Method for Rapid Detection and Differentiation of Shiga Toxins by Applying a Monoalkyl Globobioside as the Toxin Ligand" *Biomacromolecules*, 2002, **3**, 411-414.
- R. Iwaura, K. Yoshida, M. Masuda, K. Yase, and T. Shimizu, "Spontaneous Fiber Formation and Hydrogelation of Nucleotide Bolaamphiphile" , *Chem. Mater.*, **14**, 3047-3053 (2002).
- M. Ishikawa, Y. Maruyama, M. Futamata, "Single-molecule imaging and spectroscopy of adenine and an analog of adenine using surface enhanced Raman scattering and fluorescence" , *J. Lumin.*, **98**, 81-89 (2002).
- M. Futamata, C. Nishihara, N. Goutev, "Electrochemical Reduction of PNTP-SAM Films on Au(111) Surface and Coadsorption of Anions and Water molecules" , *Surf.*, **514**, 241-248 (2002).
- M. Futamata, "Highly-efficient and aberration corrected polychroator for advanced Raman spectroscopy" , *Appl. Opt.*, **41**, 4655-4665 (2002).
- M. Futamata, Y. Maruyama, M. Ishikawa, "Microscopic morphology and SERS activity of Ag colloidal particles" , *Vibr. Spectr.*, **30**, 17-23 (2002).
- J.H. Jung, G. John, K. Yoshida, and T. Shimizu, "Self-Assembling Structures of Long Chain Phenyl Glucoside Influenced by the Introduction of Double Bonds" *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 10674-10675 (2002).
- M. Kogiso, K. Yoshida, K. Yase, and T. Shimizu, "One-dimensional organization of copper nanoparticles by chemical reduction of lipid-copper hybrid nanofibers" , *Chem. Commun.*, **2002**, 2492-2493.
- R. Iwaura, M.O-Kameyama, M. Yoshida, and T. Shimizu, "Detection of Complementary Hydrogen Bond Complex in Water by Electrospray Ionization-Fourier-Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry" , *Chem. Commun.*, **2002**, 2658-2659.
- J.H. Jung, K. Yoshida, and T. Shimizu, "Creation of Novel Double-Helical Silica Nanotubes Using Binary Gel System" , *Langmuir*, **18**, 8724-8727 (2002).
- G. John, J.H. Jung, H. Minamikawa, K. Yoshida, and T. Shimizu,

- “Morphological Control of Helical Solid Bilayers in High-Axial-Ratio Nanostructures Through Binary Self-Assembly” ,
Chem. Eur. J., **8**, 5494-5500 (2002).
- J.H. Jung and T. Shimizu, “Sol-Gel Replication of the Self-Assembled Nanostructure Modified with H-Bond Functionalities” ,
Chem. Lett., **2002**, 1246-1247.
 - M. Ishikawa, Y. Maruyama, M. Futamata, “Single-molecule imaging and spectroscopy using fluorescence and surface-enhanced Raman scattering” ,
J. Biol. Phys., **28**, 573-585 (2002).
 - H. Yui, K. Kanoh, H. Fujiwara, T. Sawada, “Stimulated Raman Scattering of Liquid Water under the Strong Focusing Condition: Analysis of Local Hydration Network Environments in Dilute Ethanol Solutions” ,
J. Phys. Chem. A, **106**, 12041-12044 (2002).
 - H. Yui, M. Takei, Y. Hirose, T. Sawada, “Ultrafast transient lens spectroscopy of photoisomerization dynamics of azocompounds in confined nanospace of cyclodextrins” ,
Rev. Sci. Instr., **74**, 907-909 (2003).
 - Y. Hirose, H. Yui, M. Fujinami, T. Sawada, “Ultrafast dynamics of aqueous solutions in size-controlled reverse micelles” ,
Rev. Sci. Instr., **74**, 898-900 (2003).
 - H. Yui, T. Sawada, “Nonlinear vibrational spectroscopy of water structures utilizing laser-induced phase transition phenomena in liquid water” ,
Rev. Sci. Instr., **74**, 456-458 (2003).
 - T. Shimizu, “Bottom-Up Synthesis and Morphological Control of High-Axial-Ratio Nanostructures through Molecular Self-Assembly” ,
Polymer J., **35**, 1-22 (2003).
 - H. Furusawa, A. Fukagawa, K. Ito, G. John, and T. Shimizu, “Aligning a single-lipid nanotube with moderate stiffness”
Angew. Chem. Int. Ed., **42**, 72-74 (2003).
 - R. Iwaura, K. Yoshida, M. Masuda, M. O-Kameyama, M. Yoshida, and T. Shimizu, “Oligonucleotide-Templated Self-Assembly of Nucleotide Bolaamphiphiles: DNA-like Nanofibers Edged by Double-Helical Arrangement of A • T Base Pairs” ,
Angew. Chem. Int. Ed., **42**, 1009-1012 (2003) .
 - H. Yui, T. Nakajima, K. Hirao, T. Sawada, Enhancement of the stimulated Raman Scattering of Benzene-toluene Mixtures under Strong excitation condition in the Liquid Phase,
J. Phys. Chem. A, **107**, 968-973 (2003).

- T. Takahashi, H. Yui, T. Sawada, “Direct Observation of Dynamic Molecular Behavior at a Water/Nitrobenzene Interface in a Chemical Oscillation System”,
J. Phys. Chem. B, **106**, 2314–2318 (2002).

(2) 特許出願

H14年度特許出願件数：7件（国内）、4件（外国）

（研究期間累積件数：国内17件 外国8件）