

「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有機系一次元孤立微小空間構造（特に、脂質ナノチューブ類）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、その他、ナノ微粒子などの極微小物質をゲストとする、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16年度は、脂質ナノチューブのサイズ次元を制御するために、自己集合時の外部環境因子（熟成温度、熟成時間、液晶-ゲル相転移温度付近での冷却速度など）の影響を検討し、調製条件の最適化を行った。また、新たに設計合成したジアセチレン基を含む重合性アミド型糖脂質や非対称双頭型糖脂質分子の水中での自己集合挙動とナノチューブ形成能を調べた。その結果、得られたチューブ状分子集合マトリクスを用いた重合反応によって形成する高分子ナノチューブの熱的安定性が飛躍的に向上することを見いだした。また、脂質ナノチューブの中心コア部に存在する10-100 nm径の親水性中空シリンダーを用いて、メゾスケール系（10-100 nm）のゲスト物質（種々のサイズの金ナノ粒子、フェリチンなど）の包接化を検討した。その結果、それらゲスト物質が中空シリンダーの径サイズによって制御されて、種々の一次元的な束縛的組織化を起こすことが明らかとなった。

2. 研究実施内容

昨年度は、不飽和の疎水鎖を有する種々の糖脂質に関して、不飽和二重結合の導入位置や導入数を系統的に変化させて、ナノチューブ形成用糖脂質の構造最適化を行った。今年度は、最適化された糖脂質を用いて、脂質ナノチューブの外径や内径などのサイズ次元を制御するためのナノチューブ調製時の自己集合条件、すなわち温度や冷却速度など外部環境因子の最適化を検討した。これまでは、構造最適化されたアミド型糖脂質 **1** (図1) を水中で還流下、分散させた後、徐冷放置してナノチューブ形成を行っていた。今回は、水

中において糖脂質 **1** が高温側での液晶相から低温側のゲル相へ転移する際（約71℃付近）の冷却速度条件、あるいはゲル相へ転移した直後の保持温度を一定にした自己熟成時間の影響などを詳細に検討した。その結果、徐冷（-0.033℃/min）の場合は中空シリンダー空間がほぼ詰まった肉厚のロッド状構造を与えた。冷却速度を、準徐冷（-2.5℃/min）、準

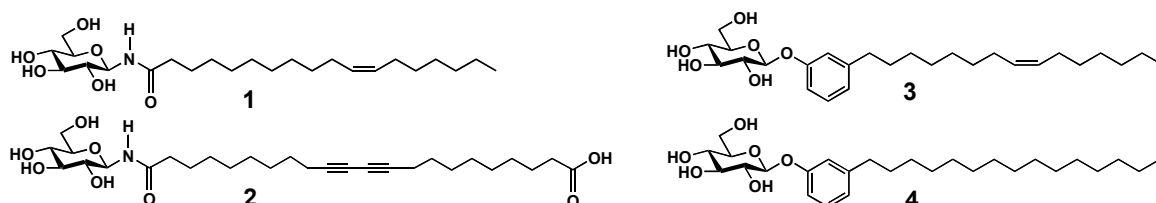


図1 ナノチューブ調製用の種々の合成糖脂質

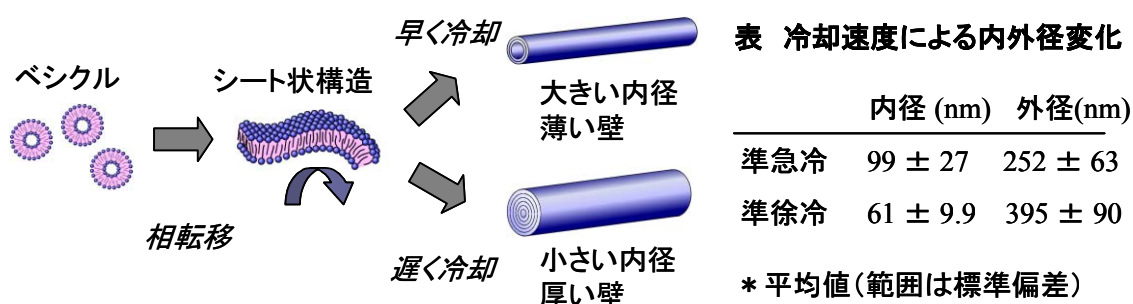


図2 ゲル-液晶相転移温度付近での冷却速度の内外径に与える影響

急冷（-5℃/min）と高めるにつれ、内径が大きくまた膜厚が薄いナノチューブ構造が形成することを見いだした（図2）。こうして、冷却速度を変化させることによって数十nm刻み程度で内外径を制御できることがわかった。さらに、熟成時間を変化させることによっても、脂質ナノチューブの長さ、外径、および内径の大きさ、およびそれらの標準偏差が変化するという現象を見いだした。

重合可能なジアセチレン基をもつ1, 10-ドコサジインジオン酸の片端に1-D-グルコースがアミド結合を介して連結した非対称双頭型脂質 **2** を合成した。水中での自己集合挙動、得られた自己集合体を分子マトリクスとする重合反応によるポリジアセチレンナノチューブ形成の可能性、得られたポリマーナノチューブの熱的安定性について検討した。その結果、非対称双頭型脂質 **2** は、主生成物として外径が70-140 nm、内径40-100 nmのナノチューブ構造を与えることを見い出した。精製したナノチューブを含む透明な分散液にアルゴン雰囲気下、紫外線を照射すると赤紫色（吸収極大：494、534 nm）への呈色を示し、1, 4-付加型の重合反応が起きていることを示唆した。熱的安定性に対する重合反応の効果は、自己集合性ナノチューブは60℃付近で溶解するのに対し、重合後のナノチューブは

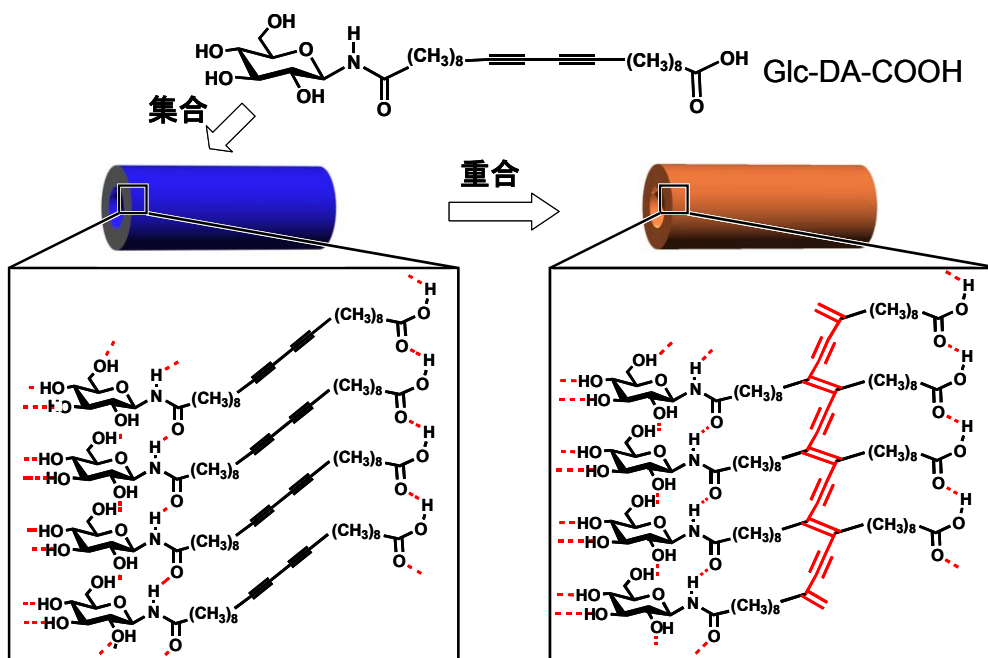


図3 自己集合ナノチューブを分子マトリクスとする高分子ナノチューブの合成

100°Cで1時間加熱してもチューブ状構造を安定に維持することがわかった。さらにジアセチレン基を含む重合性のアミド型糖脂質分子についても、紫外線照射によりジアセチレン基が重合し、有効共役が生じたために脂質ナノチューブが青、紫、赤などに着色することを見いだした。

脂質ナノチューブが中心コア部として特異的に有する親水性中空シリンダー中に束縛された水の構造および動的物性が細胞中の水のそれに類似していることを昨年度見いだした。したがって、中空シリンダー内部は、メズスケール (10–100 nm) の球状タンパク質、 dendrimer 分子、球状ウイルス、ナノ微粒子など、従来のホスト–ゲスト化学で用いられてきた低分子ゲストに比較して巨大なゲストの安定な保存空間あるいは選択的包接空間を提供すると考えられる。今年度は、サイズの異なる金ナノ粒子を用いて脂質ナノチューブの包接現象を検討した結果、例えば、30–50 nmの内径をもつ糖脂質ナノチューブが種々の径サイズをもつ金ナノ粒子をどのように包接可能か検討した結果、3–10 nmの金ナノ粒子は束縛的に組織化し、15 nm粒子は一次元的に配列化し、50 nm以上の粒子は包接されないことがわかった。さらに、フェリハイドライトコアを内部に有する球状タンパク質であるフェリチン分子 (コア径7 nm、外径12 nm) が脂質ナノチューブという人工ホスト中で束縛的に包接化される現象を世界で初めて見いだした (図4)。

糖脂質 3 や糖脂質 4 をモデル分子に用いて、脂質ナノチューブを構成するキラル二分子膜の弾性特性を評価するための理論的手法の開発を目指した。すなわち、1つの二分子膜の局所ポテンシャルエネルギー密度と局所的な形態あるいは結晶格子パラメータとを関連づける電子密度関数をそれぞれの脂質に対して得た。こうして、二分子膜リボンのある短

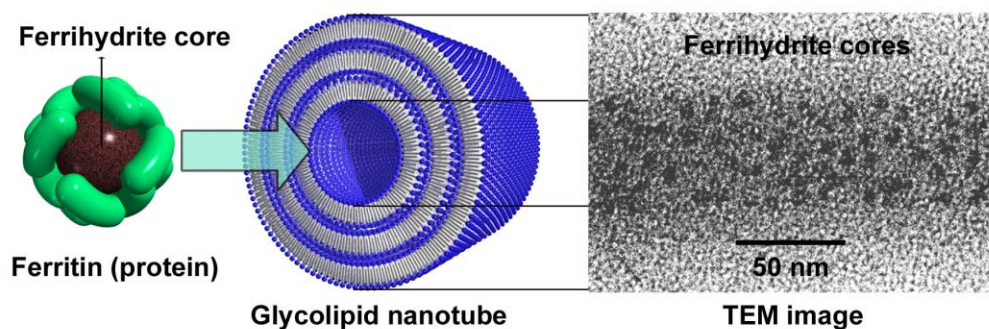


図4 鉄貯蔵タンパク質フェリチン分子の脂質ナノチューブ中空シリンダー中への包接

い切片に関して、リボンのエッジ曲率とリボン形態の相関関係、分子動力学から得たそれぞれのリボン形態のポテンシャルエネルギーを求めることができた。また、脂質ナノチューブ内に導入した金、銀ナノ粒子の形状・サイズを制御することにより、超高感度SERS分光法を適用したチューブ内部と外部の詳細な状態分析を試みた。さらに、近接場ラマン分光法を脂質ナノチューブ系に適用し、局所的な振動スペクトル測定を行った。その結果、金属ナノ粒子の形状・サイズを制御した上で、脂質ナノチューブ内孔及び外壁への導入を行い、金ナノ粒子とカルボニル基の直接相互作用を示すマーカーとなるラマンバンドを見出した。さらに、脂質ナノチューブの振動スペクトルが、金ナノ粒子の表面プラズモンを励起したとき、バルクとは異なることを見出した。これを利用して、チューブ内孔及び外壁の識別と詳細な状態分析が可能であることが明らかになった。

脂質ナノチューブの内部に機能性物質を内包させた機能化脂質ナノチューブを用いて電極間を配線した新しい電子デバイス実装技術を確立することを目指した。今年度は、脂質ナノチューブの中空シリンダー中に金ナノ粒子を内包させた機能化脂質ナノチューブを作製し、マイクロマニピュレーションを用いてこの金ナノ粒子内包ナノチューブを基板上に自由に配置、配列することを検討した。その結果、基板上的微細電極を橋渡すように機能化脂質ナノチューブを配置することに成功した(図5)。さらに、焼成して外側の有機チューブ成分を除いた後、電気特性の測定を行ったところ、有意な電流-電圧特性を得ることができた。これにより、容易かつ設計自由度の高いナノレベルの回路・電子デバイス作製に関する新しい方法論を提案した。

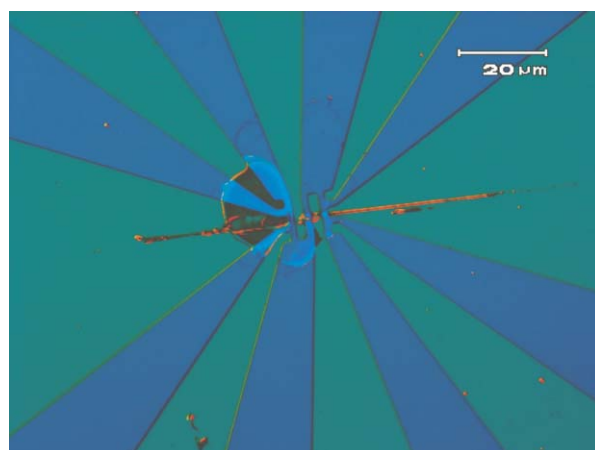


図5 マニピュレーション手法を用いて微細電極上に配置した金ナノ粒子内包脂質ナノチューブ

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 下村武史（東京大学大学院新領域創成科学研究科助手）
 - 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) 論文発表

- Jong Hwa Jung, Shin Sung Lee, Seiji Shinkai, Rika Iwaura, and Toshimi Shimizu, Novel Silica Nanotubes Using a Library of Carbohydrate Gel Assemblies as Templates for Sol-Gel Transcription in Binary Systems, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **25**, 63–68 (2004).
- Masayuki Futamata, Yoshihiro Maruyama, and Mitsuru Ishikawa, Metal Nanostructures with Single Molecule Sensitivity in Surface Enhanced Raman Scattering, *Vib. Spectrosc.*, **35**, 121–129 (2004).
- Qingmin Ji, Rika Iwaura, and Toshimi Shimizu, Controlling Wall Thickness of Silica Nanotubes within 4-nm Precision, *Chem. Lett.*, **33**, 504–505 (2004).
- Masaki Kogiso, Kiyoshi Yase, and Toshimi Shimizu, Metal-Complexed Nanofiber Formation in Water from Dicarboxylic Valylvaline Bolaamphiphiles, *J. Colloid Interface Sci.*, **273**, 394–399 (2004).
- 石川満, 二又政之, 単一分子計測・イメージング技術, *応用物理*, **73**, 711–724 (2004).
- Mitsutoshi Masuda and Toshimi Shimizu, Lipid Nanotubes and Microtubes: Experimental Evidence for Unsymmetrical Monolayer Membrane Formation from Unsymmetrical Bolaamphiphiles, *Langmuir*, **20**, 5969–5977 (2004).
- Rika Iwaura, Hiroyuki Minamikawa, and Toshimi Shimizu, Sodium Chloride-Induced Self-Assembly of Microfibers from Nanofiber Components,

- J. Colloid Interface Sci.*, **277**, 299–303 (2004).
- Yang Bo, Shoko Kamiya, Naoto Koshizaki, Yoshiki Shimizu, and Toshimi Shimizu, Glycolipid Nanotube Hollow Cylinders as Substrates: Fabrication of One-Dimensional Metallic–Organic Nanocomposites and Metal Nanowires, *Chem. Mater.*, **16**, 2826–2831 (2004).
 - Masaru Aoyagi, Hiroyuki Minamikawa, and Toshimi Shimizu, Templated Assembly of a Monolayer Consisting of a Coordination Nanobox at Air–Water Interface, *Chem. Lett.*, **33**, 860–861 (2004).
 - Masayuki Futamata, Yoshihiro Maruyama, and Mitsuru Ishikawa, Adsorbed Sites of Individual Molecules on Ag Nanoparticles in Single Molecule Sensitivity–Surface Enhanced Raman Scattering, *J. Phys. Chem. B.*, **108**, 13119–13127 (2004).
 - Hiroharu Yui, Daisuke Sawada, Shoko Kamiya, Tsuguo Sawada, and Toshimi Shimizu, Self-Assembly and Subsequent Accumulation of Lipid Nanotubes at Oil/Water Interfaces, *Anal. Sci.*, **20**, 1549–1552 (2004).
 - Masayuki Futamata, Yoshihiro Maruyama, and Mitsuru Ishikawa, Critical Importance of the Junction in Touching Ag Particles for Single Molecule Sensitivity in SERS, *J. Mol. Struct.*, **735–736**, 75–84 (2005).
 - Hiroharu Yui, Yanli Guo, Kana Koyama, Tsuguo Sawada, George John, Yang Bo, Mitsutoshi Masuda, and Toshimi Shimizu, Local Environment and Property of Water inside the Hollow Cylinder of a Lipid Nanotube, *Langmuir*, **21**, 721–727 (2005).
 - Shoko Kamiya, Hiroyuki Minamikawa, Jong Hwa Jung, Yang Bo, Mitsutoshi Masuda, and Toshimi Shimizu, Molecular Structure of Glucopyranosylamide Lipid and Nanotube Morphology, *Langmuir*, **21**, 743–750 (2005).
 - Qingmin Ji, Shoko Kamiya, Jong Hwa Jung, and Toshimi Shimizu, Self-assembly of Glycolipids on Silica Nanotube Templates Yielding Hybrid Nanotubes with Concentric Organic and Inorganic Layers, *J. Mater. Chem.*, **15**, 743–748 (2005).
 - Hiroharu Yui, Yoshiki Shimizu, Shoko Kamiya, Ichiro Yamashita, Mitsutoshi Masuda, Kohzo Ito, and Toshimi Shimizu, Encapsulation of Ferritin within a Hollow Cylinder of Glycolipid Nanotubes, *Chem. Lett.*, **34**, 2, 232–233 (2004).
 - Masakatsu Hato, Hiroyuki Minamikawa, Rajesh A. Salkar, Sanae Matsutani,

Phase Behavior of Phytanyl-Chained Alkylglycoside/Water Systems.

Progr. Colloid Polym. Sci., **123**, 56–60 (2004)

- Bulgarevich Sergeenich Dmitry, Masayuki Futamata, Apertureless Tip-enhanced Raman Microscopy with Confocal Epi-illumination/Collection Optics, *Appl. Spectrosc.* **58**, 757–761 (2004).

(2) 特許出願

H16年度特許出願件数：2件（CREST研究期間累積件数：21件）