

「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」
平成14年度採択研究代表者

北森 武彦

(東京大学大学院工学系研究科 教授)

「ナノ生物物理化学アーキテクチャの構築と応用」

1. 研究実施の概要

研究代表者らは化学システムをマイクロチップに集積する技術を開発してきた。本研究では、この μm スケールの化学システムに、物理化学や生物化学を活用したボトムアップナノテクを融合し、マイクロの建屋にナノのインフラを構築する。これにより、メソ・ナノ空間領域の物理化学を究明し、化学・バイオ機能の発現機序となる秩序性や階層構造を人為構築し、高度疾病センサーや選択的機能人工臓器デバイスなど高機能化学・バイオ素子の創出を目指す。平成16年度には、トップダウン的加工技術を用いてマイクロ・ナノ複合構造の作製に成功し、ナノ流体を制御することを可能にした。また、100nmオーダーのナノパターン上への自己組織化単分子膜および細胞接着性タンパクの選択的な修飾に成功した。このパターン形状に依存して細胞形態が変化することを見出した。さらに、石英ガラスナノ空間中の水物性については、核磁気共鳴(NMR)測定および蛍光測定により、水分子間のプロトン移動反応が物性の空間サイズ効果に重要な役割を果たしていることを見出した。平成17年度以降は、確立したマイクロ・ナノ加工技術を元に、ナノ空間溶液の物理化学現象の解明および細胞培養とナノパターンニング・マイクロ流体との関係の解明を目指す。また、マイクロ空間に化学・バイオ機能を組み込んだ階層構造の構築を目指す。

2. 研究実施内容

A) チャンネル内マイクロ空間で用いるトップダウン手法の検討

電子線描画装置・ドライエッチング装置を用いて加工領域・精度が3桁のオーダーで異なるナノ流路とマイクロ流路を融合し、マイクロ・ナノ複合構造を作製することに成功した。

B) ナノパターンニング手法の検討

金属ナノパターンニングの作製と、ナノパターン上への自己組織化単分子膜および細胞接着性タンパクの選択的な修飾に成功した。

C) チャンネル内マイクロ空間における細胞培養・制御法の検討

100nmオーダーにナノパターンニングした接着分子上で細胞培養を行い、細胞の形態がパターンサイズだけでなくパターン形状(ラインやドット)にも依存性を持つことを見

出した。現在、これらナノパターン上の表面性状や自己組織化ドメインの構造と細胞機能発現との関係を検討している。

D) ナノ物理化学現象の特性評価と現象解明-1

石英ガラス中ナノ空間中の純水の物性について主に核磁気共鳴 (NMR) 法により解析した。水の構造は変化しないが、分子間相互作用・プロトン電荷分布・活性化エネルギーに変化が現れることを明らかにした。ガラス壁面のシラノール基が水のプロトン移動度に影響を与え、その効果が100nmスケールの水分子まで波及しているためと考えている。この推察の妥当性は、塩添加効果や水素結合性溶媒・非水素結合性溶媒の空間サイズ依存性の結果からも確認できた。また、蛍光測定により、励起状態プロトン移動反応にも空間サイズ効果が現れることを見いだした。

E) ナノ物理化学現象の特性評価と現象解明-2

マイクロ・ナノ空間への溶液導入法を開発し、背圧調整器を用いたナノ流体制御法を確立した。これにより、ナノチャンネル内溶液にp1/minオーダーの低流量で安定した圧力をかけることが可能となった。Y字型ナノチャンネル内への二つの異なる蛍光溶液を導入・混合することに成功した。また、圧力駆動実験によりナノ流体の圧力-流量関係を調べたところ、ハーゲンポアズイユの式から予測される理論値より2~3倍程度の流量減少が確認された。この結果はナノ流体の粘性増加を示唆している。

3. 研究実施体制

ナノ加工・バイオグループ

- ① 研究分担グループ長：北森 武彦（東京大学大学院工学系研究科、教授）
- ② 研究実施項目：ナノ加工設備の整備
チャンネル内マイクロ空間で用いるボトムアップ手法の検討
マイクロ空間内における細胞培養・制御法の検討

ナノ物理化学グループ

- ① 研究分担グループ長：金 幸夫（東京大学大学院工学系研究科、助教授）
- ② 研究実施項目：ナノ物理化学計測に向けた基礎検討

マイクロ加工・流体グループ

- ① 研究分担グループ長：渡慶次 学（（財）神奈川科学技術アカデミー、研究室長）
- ② 研究実施項目：マイクロナノ加工法融合に向けた基礎検討

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

- Micro thermal lens optical systems

- M. Tokeshi, J. Yamaguchi, A. Hattori, T. Kitamori
Anal. Chem., 77, 626 - 630 (2005).
- Tunable thermal lens spectrometry utilizing microchannel-assisted thermal lens spectrometry
E. Tamaki, A. Hibara, M. Tokeshi, T. Kitamori
Lab on a Chip, 5, 129 - 131 (2005).
- Optimization of An Interface Chip for Coupling Capillary Electrophoresis with Thermal Lens Microscopic Detection
K. Uchiyama, M. Tokeshi, Y. Kikutani, A. Hattori, T. Kitamori
Anal. Sci., 21, 49-52 (2005).
- Surface Modification Method of Microchannels for Gas-Liquid Two Phase Flow in Microchips
A. Hibara, S. Iwayama, S. Matsuoka, M. Ueno, Y. Kikutani, M. Tokeshi, T. Kitamori
Anal. Chem., 77(3), 943-947 (2005).
- Photocatalytic Redox-Combined Synthesis of L-Pipecolinic Acid with a Titania-modified Microchannel Chip
G. Takei, T. Kitamori, H.-B. Kim
Catal. Commun., 6, 357-360 (2005).
- Spectroelectrochemical detection using thermal lens microscopy with a glass-substrate microelectrode-microchannel chip
H.-B. Kim, T. Hagino, N. Sasaki, N. Watanabe, and T. Kitamori
J. Electroanal. Chem., 577(1), 47-53 (2005).
- Development of a Microchip-based Bioassay System Using Cultured Cells
M. Goto, K. Sato, A. Murakami, M. Tokeshi, T. Kitamori
Anal. Chem., 77, 2125-2131 (2005).
- Drug Response Assay System in a Microchip Using Human Hepatoma Cells
Yuki Tanaka, Kiichi Sato, Masayuki Yamato, Teruo Okano, Takehiko Kitamori
Anal. Sci., 20, 411-423 (2004).
- Micro Wet Analysis System Using Multi-Phase Laminar Flows in Three-Dimensional Microchannel Network
Yoshikuni Kikutani, Hideaki Hisamoto, Manabu Tokeshi and Takehiko Kitamori
Lab on a Chip, 4 (4), 328 - 332 (2004)
- Measurement of pH field of chemically reacting flow in microfluidic devices by laser-induced fluorescence
Kiyosuke Shinohara, Yasuhiko Sugii, Koji Okamoto, Haruki Madarame, Akihito Hibara, Manabu Tokeshi, Takehiko Kitamori

Mesurement Science and Technology, 15, 955-960 (2004).

- Capillary-assembled microchip for universal integration of various chemical functions onto a single microfluidic device
H. Hisamoto, Y. Nakashima, C. Kitamura, S. Funano, M. Yasuoka, K. Morishima, Y. Kikutani, T. Kitamori, S. Terabe
Anal. Chem., 76 (11): 3222-3228 (2004).
- High-speed micro-PIV measurements of transient flow in microfluidic devices
K. Shinohara, Y. Sugii, A. Aota, A. Hibara, M. Tokeshi, T. Kitamori, K. Okamoto
Mesurement Science and Technology, 15, 1965-1970 (2004).
- Rapid proton diffusion in microfluidic devices by means of micro-LIF technique
K. Shinohara, Y. Sugii, A. Hibara, M. Tokeshi, T. Kitamori, K. Okamoto
Experiments in Fluids, in press (2004).
- Microchip-based enzyme-linked immunosorbent assay (microELISA) system with thermal lens detection
K. Sato, M. Yamanaka, T. Hagino, M. Tokeshi, H. Kimura, T. Kitamori
Lab on a Chip, 4, 570 - 575 (2004).

(2) 特許出願

H16年度特許出願件数：28件（CREST研究期間累積件数：54件）