

「プロセスインテグレーションによる機能発現ナノシステムの創製」
平成21年度採択研究代表者

H24 年度 実績報告

北森武彦

東京大学大学院工学系研究科・教授

拡張ナノ空間特異性を利用した革新的機能デバイスの創成

§1. 研究実施体制

(1)「共通技術・エネルギーデバイス」グループ

① 研究代表者:北森 武彦 (東京大学大学院工学研究科、教授)

② 研究項目

デバイス共通技術の確立・エネルギーデバイスの創成および全体の統括

- ・室温での基板接合を用いた拡張ナノ空間への機能付加法、マイクロ空間と拡張ナノ空間を繋ぐインターフェイス等、デバイス開発のための共通基盤技術
- ・極限分析デバイスおよびエネルギーデバイスの創成・最適化

(2)「バイオデバイス」グループ

① 主たる共同研究者:佐藤 香枝 (日本女子大学理学部物質生物科学科、准教授)

② 研究項目

- ・単一細胞・単一分子分析システムの開発

§ 2. 研究実施内容

本研究は、研究代表者らが見出してきた 10・1000 nm の「拡張ナノ空間」において発現する流体や化学の特異性を用いた新たなデバイス工学に焦点を絞り、化学、バイオ、エネルギー分野に貢献する新機能次世代ナノデバイスを創成することを目的としている。具体的には、デバイス開発に伴う共通基盤技術を確立し、拡張ナノ空間を用いた極限分析デバイス(研究項目 A)およびエネルギーデバイス(研究項目 B)を創成する。

デバイス創成の基本戦略として、デバイスの構成部品に相当する単位操作を確立し、これらを集積化してデバイスを開発し、機能を実証する。最初に、超微小体積や水の特異物性といった拡張ナノ空間の特異性を利用した新規単位操作の確立に重点的に取り組む。続いて、これまでに研究代表者らが培ってきた集積化の方法論を用いて拡張ナノ単位操作を集積化する。

平成24年度は、平成23年度までに確立したさまざまな拡張ナノ単位操作を集積化し、デバイス化することに着手した。例えば、エネルギーデバイスでは光燃料電池デバイスを実際に製作し、動作することを初めて確認した。また、極限分析デバイスの応用展開として単一細胞を生きたまま分析する単一細胞分析ステーションの構想を立ち上げた。

【共通基盤技術】

平成23年度までにガラス基板の低温接合法を確立し、マイクロ・拡張ナノ流路内に固定化した生体分子や触媒の機能を保持したままデバイスを作製することに成功した。平成24年度はこの手法を更に発展させた。極限分析デバイスでは、拡張ナノ流路内に生体分子を付着させる手法において抗体を導入する濃度や流速を最適化し、狙った位置だけに均一に固定する方法を確立した。この際、分析に利用しない部分に対して、ポリエチレングリコールを修飾することによって生体分子の非特異吸着を97%抑制することに成功した。エネルギーデバイスでは、フォトリソグラフィで作製したパターン上に触媒(TiO_2)をスパッタリングし、リフトオフすることによってマイクロ流路内への触媒の集積化に成功した。この際、フォトレジストを破壊しないために低温で、かつ基盤と触媒との接着を強固にするためにTiから TiO_2 まで組成を連続的に変化させながらスパッタリングする方法を開発した。以上のように、ボトムアップ手法による生体分子および触媒の集積化法を進化させ、これまでに確立してきたトップダウン手法と融合させることで、実際に機能するデバイスの作製技術を確立した。

【研究項目 A: 極限分析デバイス】

A-1. 単一細胞・単一分子分析

平成23年度までに、拡張ナノ流路内に部分修飾したDNA分子を用いて分子捕捉の拡張ナノ単位操作を確立した。平成24年度は、部分修飾した抗体分子を用いて抗原抗体反応による抗原分子の捕捉に成功し、拡張ナノ空間を用いた免疫分析デバイスを初めて開発した[9]。今後は、平成22年度までに開発したマイクロ・拡張ナノインターフェースと組み合わせることによって細胞から分析ができることを実証する。

A-2. スーパークロマトグラフィー

平成23年度までに、カラム分離の拡張ナノ単位操作を主要な分離モード(順相、親水性相互作用、逆相)全てについて確立した[11]。また、これまでの粒子充填型クロマトグラフィーの試料量(nL)、分離時間(100s)、分離能(50,000 段/m)と比較して、試料量(aL)、分離時間(s)、分離能(7,000,000 段/m)を実現するクロマトグラフィーを開発した[2][3]。このような従来と比較して桁違いの進歩は、クロマトグラフィーの歴史の中でも類を見ない革新的なものである。平成24年度は、並行して進めていた JSPS 特別推進研究において開発した微分干渉熱レンズ顕微鏡(DIC-TLM)と組み合わせることで、非蛍光分子の分離・検出を集積化した分離分析デバイスを初めて開発した。

DIC-TLM の検出条件をクロマトグラフィー用に最適化したところ、検出器として十分に利用可能であることが分かった。分離分析デバイスとしては、 $\mu\text{M}\cdot\text{mM}$ のオーダーで定量が可能であり、最小で 5 fL 中の 10^5 分子の分離・検出が可能であることが分かった。以上より、これまで検出が困難だった非蛍光分子の分離分析を初めて可能にし、単一細胞中の生体分子の網羅的分析に向けて大きく前進した。今後は、特別推進研究が終了するにあたり、本事業で紫外型の DIC-TLM を開発してタンパク質の分離分析を実証する。

研究項目 A の今後の展開:単一細胞分析ステーション

近年、同一の遺伝的集団であっても細胞ごとに遺伝子の発現プロファイルが異なることが指摘されており、細胞を一つ一つ分析することが生命機能の解明に不可欠であると考えられるようになってきた。一方拡張ナノ空間は体積が aL-fL で、単一細胞(pL)の 1/1000 以下の空間であるため、細胞中の物質を非侵襲的に分析できる可能性を秘めている。そこで、単一細胞を生きたまま分析するための単一細胞ステーションの構想を立ち上げた。具体的には、生細胞から aL-fL の試料を採取するマイクロ-拡張ナノインターフェースを開発し、採取した試料を拡張ナノ流路に導入して免疫分析やクロマトグラフィーで分析する。来年度以降、これらの計画を実行に移していく。

【研究項目 B:エネルギーデバイス】

B-1. 無電力冷却デバイス(拡張ナノヒート-パイプ)

平成23年度までに、拡張ナノピラーを用いた水の高速度凝縮という単位操作を確立してきた。平成24年度は、より小さい拡張ナノピラーを用いて凝縮を更に加速させると同時に、凝縮速度と熱輸送効率の関係性を明らかにしてデバイスの構造を設計した。

B-2. 光燃料電池

平成23年度までに、光触媒のナノ構造体を用いた水素・酸素生成や拡張ナノ流路を用いた高速プロトン輸送[1]といった拡張ナノ単位操作を確立してきた。平成24年度はこれらの単位操作を集積化した、燃料生成デバイスおよび燃料電池デバイスを初めて作製した[7][14]。

燃料生成デバイスでは、水素・酸素の生成と分離機構を集積化した。光触媒を固定化したマイ

クロ流路の隣に表面を疎水修飾した浅いマイクロ流路を作製することで、発生したガスのみを浅いマイクロ流路に分離する気液分離を実現した。その結果、擬似太陽光の照射下で数時間以上安定して動作する燃料生成デバイスの開発に初めて成功した。また、拡張ナノ流路をプロトン伝導体として集積化した燃料電池デバイスを初めて作製し、特性を評価した。今後は、燃料生成デバイスと燃料電池デバイスの集積化に取り組み、光と水のみで燃料電池デバイスが自律駆動することを実証する。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

● 論文詳細情報

1. Hiroyuki Chinen, Kazuma Mawatari, Yuriy Pihosh, Kyojiro Morikawa, Yutaka Kazoe, Takehiko Tsukahara and Takehiko Kitamori, “Enhancement of Proton Mobility in Extended-Nanospace Channels”, *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 51, No. 15, pp.3573-3577, 2012 (DOI:10.1002/anie.201104883)
2. Ryo Ishibashi, Kazuma Mawatari and Takehiko Kitamori, “Highly Efficient and Ultra-small Volume Separation by Pressure-Driven Liquid Chromatography in Extended Nanochannels”, *Small*, vol. 8, No. 8, pp.1237-1242, 2012 (DOI: 10.1002/sml.201102420)
3. Ryo Ishibashi, Kazuma Mawatari and Takehiko Kitamori, “High resolution separation by pressure-driven liquid chromatography in meander extended nanochannels”, vol. 1238, pp.152-155, 2012 (DOI: 10.1016/j.chroma.2012.03.057)
4. Naoki Sasaki, Mika Shinjo, Satoshi Hirakawa, Masahiro Nishinaka, Yo Tanaka, Kazuma Mawatari, Takehiko Kitamori and Kae Sato, “A palmtop-sized microfluidic cell culture system driven by a miniaturized infusion pump”,
5. Kihoon Jang, Yan Xu, Kae Sato, Yo Tanaka, Kazuma Mawatari and Takehiko Kitamori, “Micropatterning of biomolecules on a glass substrate in fused silica microchannels by using photolabile linker-based surface activation”, *Microchim. Acta*, vol. 179, No. 1-2, pp.49-55, 2012 (DOI: 0.1007/s00604-012-0856-8)
6. Kihoon Jang, Yo Tanaka, Jun Wakabayashi, Reina Ishii, Kae Sato, Kazuma Mawatari, Mats Nilsson, and Takehiko Kitamori, “Selective cell capture and analysis using shallow antibody-coated microchannels ” *Biomicrofluidics*, vol. 6, No. 4, 044117, 2012 (DOI: doi/10.1063/1.4771968)
7. Yuriy Pihosh, Kazuma Mawatari, Ivan Turkevych, Thu Hac Huong Le, Yasuhito Kajita, Hiroyuki Chinen, Masahiro Tosa and Takehiko Kitamori, “Hierarchical

- TiO₂ Brush Type Nanostructures for Efficient Photoelectrochemical Water Splitting”, Proceedings of Micro Total Analysis System (μTAS), 148-150 (2012).
8. Xiaofang Gao, Kazuma Mawatari, Yutaka Kazoe, Yo Tanaka and Takehiko Kitamori, “Creation of a Cell-Based Separation Microdevice Using Human Renal Proximal Tubule Epithelial Cells”, Proceedings of Micro Total Analysis System (μTAS), 602-604 (2012).
 9. Kentaro Shirai, Kazuma Mawatari and Takehiko Kitamori, “Patterning of Biomolecules in Extended Nanochannel Using Low-Temperature Bonding”, Proceedings of Micro Total Analysis System (μTAS), 713-715 (2012).
 10. Yan Xu, Kazuma Mawatari, Tomohiro Konno, Kazuhiko Ishihara and Takehiko Kitamori, “Temperature-Flexible Cell Microcontainers Fabricated with a Phosphorylcholine Polymer Hydrogel on Chip”, Proceedings of Micro Total Analysis System (μTAS), 1048-1050 (2012).
 11. Ryo Ishibashi, Hisashi Shimizu, Kazuma Mawatari and Takehiko Kitamori, “Attoliter Liquid Chromatography Using Extended-Nano Channels For Separation of Proteins in a Single Cell”, Proceedings of Micro Total Analysis System (μTAS), 1162-1164 (2012).
 12. Tadahiro Yamashita, Kazuma Mawatari, Yo Tanaka, Takehiko Kitamori, “Smooth Muscle Cell Culture in Microchannel Toward Construction of Multilayered Vascular Tissue in Micro-Scale”, Proceedings of Micro Total Analysis System (μTAS), 1708-1710 (2012).
 13. Tatsuro Nakao, Kazuma Mawatari, Kae Sato and Takehiko Kitamori, “Highly Specific Zept-Mole Level DNA Detection by Combination of Thermal Lens Microscope and Rolling Circle Amplification”, Proceedings of Micro Total Analysis System (μTAS), 1984-1986 (2012).
 14. Yasuhito Kajita, Yuriy Pihosh, Kazuma Mawatari, Takehiko Kitamori, “Development of Light-Driven H₂/O₂ Generation Chip for Micro Fuel Cell Devices”, Proceedings of Micro Total Analysis System (μTAS), 2005-2007 (2012).

(3-2) 知財出願

- ① 平成 24 年度特許出願件数(国内 2 件)② CREST 研究期間累積件数(国内 3 件)