

2021年10月14日

大阪府立大学

科学技術振興機構（JST）

ナノスケールで物質の濃縮効果を発見 —ナノ流体デバイスによる超微小気液界面の作製と効果—

<発表のポイント>

- ◆髪の毛の数百分の1の太さの流路を持つナノ流体デバイス(注1)で、ナノスケールの気体と液体が接する界面(超微小気液界面、注2)を作製することに成功した。
- ◆ナノスケールの超微小気液界面で物質が濃縮される現象を見いだした。
- ◆今後、極微量の物質やウイルスなどの生体試料を濃縮するなど、化学工学、材料合成、生命科学、創薬、エネルギー、環境などの幅広い分野における新たな分離分析および合成技術として期待できる。

研究者からのコメント：

許 岩 准教授



“Small devices, big impacts”。気液界面の微小化は、化学、生物学、材料学、医学、薬学、エネルギー学、環境学といったあらゆる分野で既存の手法の限界を超える手段として注目されています。今回の成果は、気液界面の微小化範囲をナノスケールにまで拡張し、ナノスケールプロセスの可能性を切り拓きました。特にナノスケールでは、これまでの微小化の単なる延長ではなく、ナノ空間にしか存在しない特別な物理化学効果が起こることで全く新しい現象が発見されたり、たった1つの分子を操作することが可能になったりするため、既存スケールの化学、バイオプロセスとは一線を画す新たな領域となることが期待されています。

大阪府立大学（学長：辰巳砂 昌弘）大学院工学研究科 化学工学分野の許 岩 准教授、川岸 啓人 大学院生および量子放射線工学分野の川又 修一 教授の共同研究グループは、独自のナノ流体デバイス工学技術を駆使して、髪の毛の数百分の1の太さであるナノ流路に、極めて高精度、均一かつ安定にナノスケールで気体と液体が接する界面（超微小気液界面）を作製することに成功しました。この超微小気液界面はナノ流路内に並べることができ、また任意な位置に移動することもできます。さらに、この超微小気液界面ができる際に、物質が濃縮される現象を新たに発見しました。この現象はナノ空間の特別な物理化学に起因すると考えられます。

気液界面は、濃縮、反応、分離、冷却、脱塩、ガス吸収、エネルギー輸送などの化学、物理、バイオのプロセスを行う場として、幅広い分野で利用されています。近年では、様々な物質や生体試料を極微量かつ高効率で単離、操作、分析、合成するために、気液界面をナノ

メートルスケールまで微小化することが求められています。しかし、その界面をナノスケールで精密に制御して作製することは難しく、挑戦的な課題となっていました。本研究では、ナノ流体デバイスという最先端のデバイスを用いてこの課題を解決し、気液界面をこれまででない超微小サイズ（数百 nm スケール）かつ超高精度（界面位置は誤差数十 nm 以下）で作製できるようにしました。今後、この技術は化学、物理、バイオ、創薬などの分離分析および合成において画期的な革新をもたらすと予測されます。例えば、極微量の生体試料から未知のウイルスやエクソソーム（注3）、様々な疾患のバイオマーカー（注4）などの生体分子を簡便かつ高精度に分離分析できる医療機器や診療技術のための新たな基盤技術として寄与することが期待できます。

本研究成果は、2021年10月14日（日本時間）に、米国科学雑誌「Nano Letters」のオンライン速報版で公開されます。

<研究背景>

気液界面は、化学工学、材料合成、生命科学、医療、製薬、エネルギー、環境などといった領域において幅広く利用されています。近年、ウイルスやエクソソームなどの生体ナノ物質、および量子ドット（注5）やナノダイヤモンド（注6）、ナノ粒子などの人工合成ナノ物質を極微量、高効率で単離、操作、分析、合成するために、気液界面をナノメートル（nm、1nmは10億分の1メートル）スケールまで微小化することが求められています。しかし、その作製と精密制御は困難が伴うため、挑戦的な課題となっています。

そこで、許准教授らの共同研究グループはこの課題を解決するために、極微量のナノスケールの流体と溶液を取り扱うことが可能なナノ流体デバイスという最先端技術に着目しました。ナノ流体デバイスとは、ナノメートルサイズの流路（ナノ流路）が彫り込まれた数センチ四方のガラス板のことで、極微小の流体実験環境として近年多くの注目を集めています。ナノ流体デバイスは、化学、バイオ技術に従来のセンチメートル、マイクロメートル（マイクロ流体デバイスやマイクロリアクターなどが代表例）からナノメートルへのオーダーシフト革命をもたらし、化学、バイオ諸分野で基礎から応用まで新しい研究領域を開拓しつつあります。しかし、ナノ流体デバイス内で、気液界面を精密に制御するためには、ナノ流路内で気液界面を形成、安定化できるような技術が求められていました。

<研究内容>

本研究では、ナノスケールの気液界面を作製するため、ナノ流路内へさらに超精密なナノパターンを作製することが可能な独自のNano-in-Nano集積化技術（注7）と、ナノ流路に最適化した表面修飾技術（注8）を組み合わせ、疎水性ナノ流路内へ超精密に配置された親水性表面（親水/疎水ナノパターン）を有するナノ流体デバイスを構築しました（図1、2）。この特別なナノ流路内では、局所的に蒸発しやすい領域としにくい領域が存在することを明らかにしました。また、このナノ空間にある流体を精密に操作することで、蒸発しやすい領域としにくい領域の境界においてナノスケールの気液界面が形成できることを明らかにしました（図3）。この新しい原理に基づいて、ナノ流体デバイス内に高精度、均一かつ安定に超微小気液界面の作製に成功し、それらをナノ流路内で配列や移動ができることを

確認しました(図3)。さらに、気液界面が形成する過程において物質の濃縮効果があることを明らかにしました(図4)。

具体的には、Nano-in-Nano 集積化技術を用いて、ナノ流路内に誤差数十ナノメートルの位置決め精度でナノサイズの金表面を配置したナノ流体デバイスを作製しました(図2)。このナノ流体デバイスに、トリクロロメチルシランという、ガラス表面を特異的に疎水化可能な分子の溶液を加えて反応させ、余分な分子を除去しました。このナノ流路は閉じられており、流路の内部表面を直接測定するのは困難なので、ナノ流路と同様の処理を行った基板に対し表面濡れ性の測定を行ったところ、金表面は親水性で、ガラス表面のみが疎水性に変化していることを確認しました。これらの結果から、本研究の手法によってナノ流路内に親水/疎水ナノパターンが形成できるということを明らかにしました。

ナノスケールの気液界面を作製するため、親水/疎水ナノパターンを形成したナノ流路に、溶液を外部からの圧力によって導入し、その後空気を導入しました。空気を導入すると、導入側から気液界面が進行しますが、(1)親水/疎水ナノパターンのないナノ流路では、流路全体を空気が満たしてしまったのに対し、(2)親水/疎水ナノパターンのあるナノ流路では、あらかじめ形成しておいた全ての親水/疎水ナノパターンの境界部分で気液界面が静止し、かつ界面の形成が1時間以上保持されることを顕微鏡の観察によって確認しました(図3)。親水/疎水ナノパターン部分の有無で気液界面の形成と保持に違いが見られたことから、ナノスケールの気液界面の形成と維持には、蒸発のしやすい領域としにくい領域を持ったナノ流路が有効に作用していることを明らかにしました。さらに、作製されたナノスケールの気液界面に対し、さらに高い圧力で空気を導入すると、ナノ流路内を気液界面が移動し、界面の移動速度が空気を加える圧力に依存するという関係性を明らかにしました。

次に、化学やバイオ分野で蛍光プローブとして頻繁に用いられる蛍光分子ローダミンBを用いて、ナノスケールの気液界面における物質の動きを調べました。この分子はある波長の光を吸収すると特定波長の光で発光するため、分子の存在や濃度を蛍光の強さから知ることができます。その結果、ナノスケールの気液界面上でローダミンB分子由来の蛍光が局所的に増加することが蛍光顕微鏡の観察によって確認されました。この現象は、ローダミンB分子の濃縮を示しており、今回作製したナノスケールの気液界面のもつ能力の1つとして、この濃縮効果を発見しました(図4)。

＜今後の展開と一般へのアピールポイント＞

今後は、極微量の生体試料から未知のウイルスやエクソソーム、様々な疾患のバイオマーカーなどの生体ナノ物質を簡便かつ高精度で分離、濃縮、検出、分析できるようにするための革新的な技術と医療機器の開発に展開し、基礎生物学研究およびがん、感染症の超早期臨床診療技術の開発に寄与することが期待できます(注9、10)。

さらに、本研究のさらなる展開として、ナノスケール気液界面の精密制御技術をナノ物質の人工合成に応用することが考えられます。ナノスケール気液界面の精密制御を行うことで、気液界面上で生じる化学反応や結晶化もナノスケールで制御できる可能性があり、気液界面での物質合成を1分子レベルで制御ができるような革新的な化学合成技術の開発に繋がるかもしれません。このような合成技術は、医薬品に使用されるような医薬化合物や、量子ドット、ナノダイヤモンド、ナノ粒子に代表される量子ナノ材料といった、極微量でも価値が高く精密な合成が必要とされる分野に大きな貢献を果たすと期待されます。

<発表雑誌>

<雑誌名>

本研究成果は、2021年10月14日（日本時間）に、米国科学雑誌「Nano Letters」のオンライン速報版で公開されます。

<論文タイトル>

Fabrication of nanoscale gas-liquid interfaces in hydrophilic/hydrophobic nanopatterned nanofluidic channels

（親水/疎水ナノパターン化されたナノ流路内によるナノスケール気液界面の作製）

<著者>

川岸啓人¹、川又修一¹、許岩^{1、2、3*}

（¹大阪府立大学院工学系研究科、²JST さきがけ、³大阪府立大学 NanoSquare 拠点研究所、*責任著者）

<DOI 番号> 10.1021/acs.nanolett.1c02871

<SDGs 達成への貢献>

大阪府立大学は研究・教育活動を通じて SDGs（持続可能な開発目標）の達成に貢献をしています。

本研究は SDGs17 のうち、「3：すべての人に健康と福祉を」「7：エネルギーをみんなにそしてクリーンに」「9：産業と技術革新の基盤をつくろう」等に貢献しています。



<研究助成資金等>

本研究は、科学研究補助金・挑戦的萌芽研究（26630403）、基盤 B（18H01848）、基盤 A（21H04640）、学術変革領域研究 A（21H05231）など 8 件、JST 戦略的創造研究推進事業 さきがけ「生体における微粒子の機能と制御」研究領域 研究課題「aifA によるエクソソームの 1 ステップ単離配列と 1 粒子統合解析」（JPMJPR18H5）、および大阪府立大学 SiMS プログラム（注 11）からの支援を受けて行われました。

<解説図>

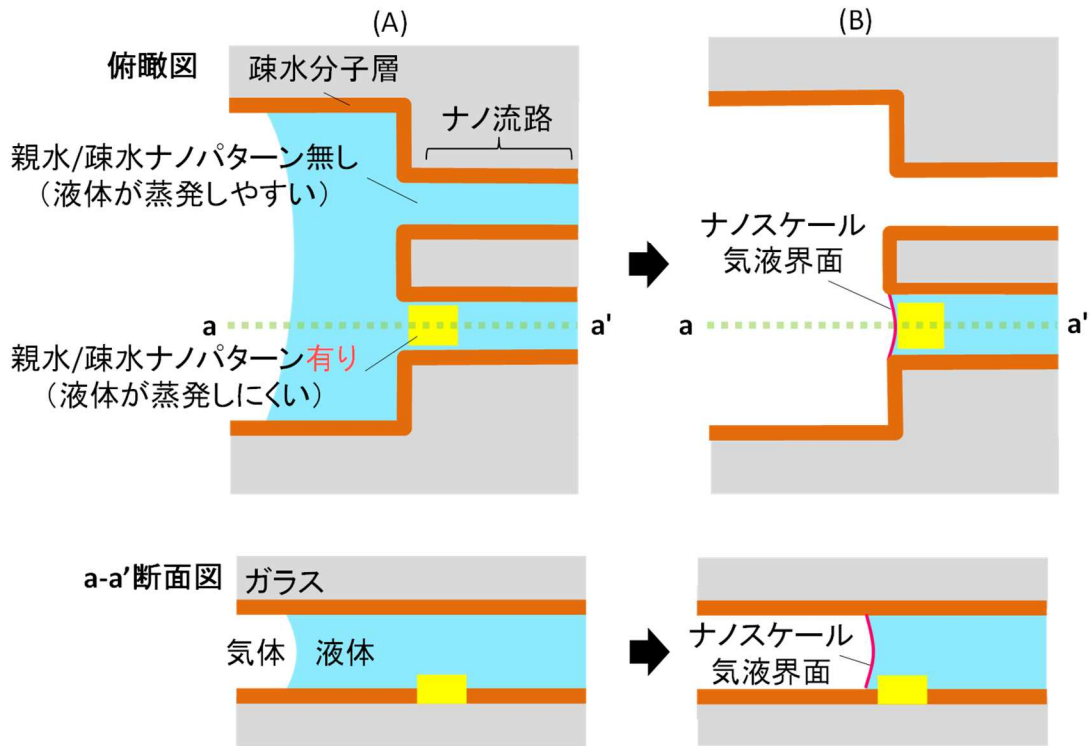


図1、親水/疎水ナノパターンをもつナノ流路内におけるナノスケール気液界面の作製法
ナノ流路に (A) 溶液を外部からの圧力によって導入し、(B) その後空気を導入した。

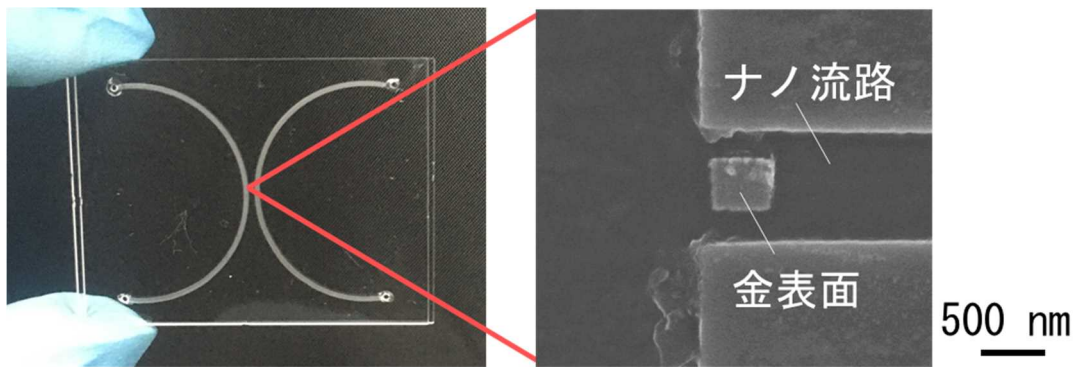


図2、作製したナノ流体デバイス(左)と Nano-in-Nano 集積化構造を持つナノ流路

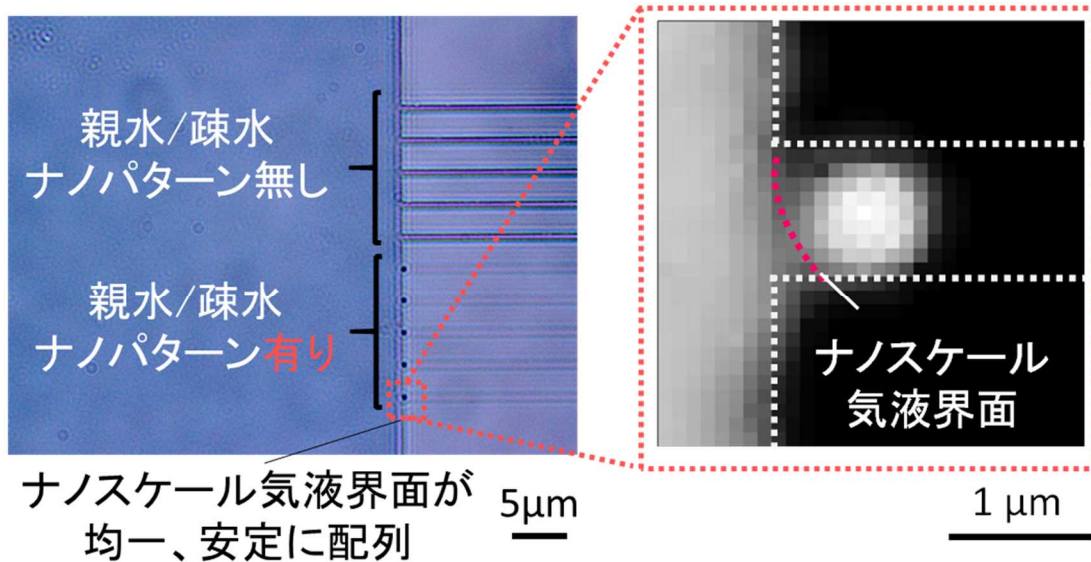


図3、ナノスケール気液界面の作製

親水/疎水ナノパターン無しのナノ流路（上5本）では、空気が流路全体を満たしたのに対し、親水/疎水ナノパターン有りのナノ流路（下5本）ではナノスケール気液界面の形成を確認。

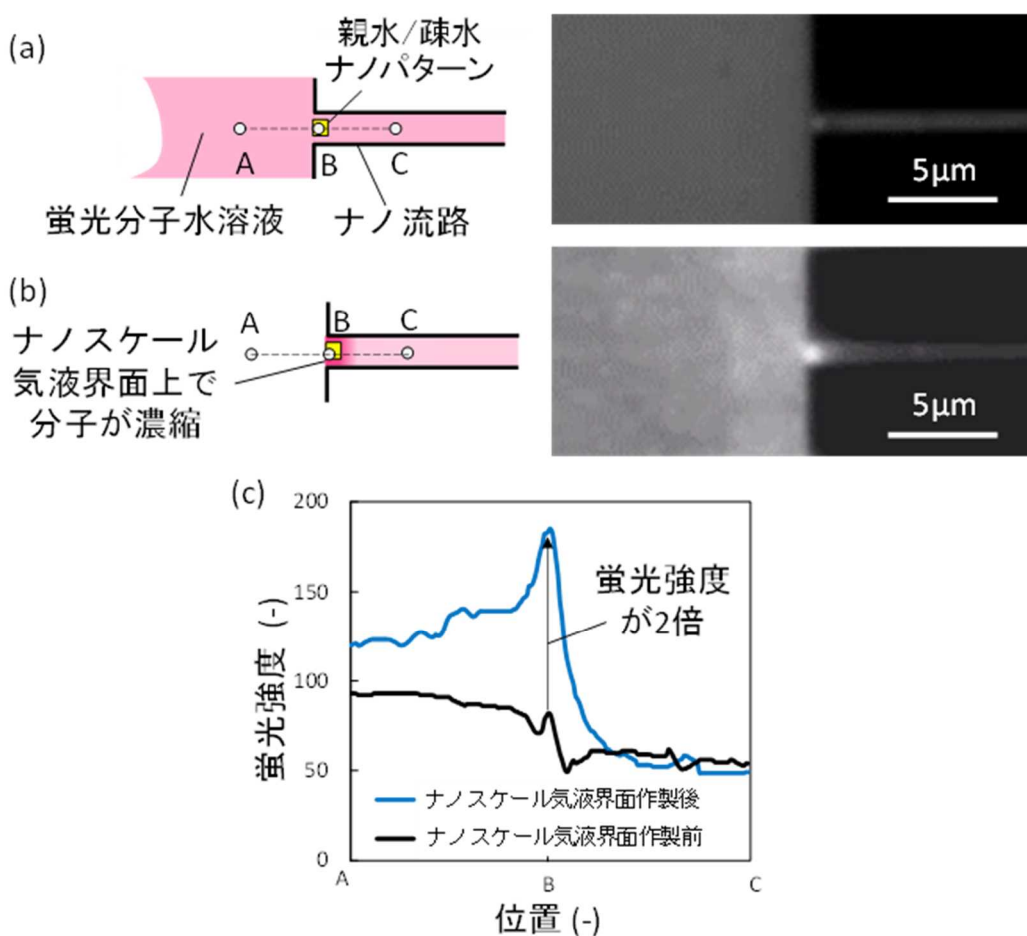


図4、ナノスケール気液界面を用いた蛍光分子（ローダミンB）の濃縮。

(a) ナノスケール気液界面作製前の模式図と蛍光顕微鏡画像、(b) ナノスケール気液界面作製後の模式図と蛍光顕微鏡画像、(c) (a)と(b)の蛍光強度プロファイル

<用語解説>

(注1) ナノ流体デバイス

ナノメートルサイズの流路(ナノ流路)が彫り込まれた数センチ四方のガラス板のことで、極微小流体実験環境として近年多くの注目を集めています。ナノ流体デバイスは、化学、バイオ技術に従来のセンチメートル、マイクロメートル(マイクロ流体デバイスやマイクロリアクターなどが代表例)からナノメートルへのオーダーシフト革命をもたらし、化学、バイオ諸分野で新しい科学と工学を開拓しつつあります。

(注2) 気液界面

気体と液体との境界を指します。例えば、水面や泡といったもので、自然界、産業界、人体も含めた生体内と、あらゆる場所に存在しています。気液界面では、物質や熱の移動、化学反応、光や波の変化といった、様々な現象が起こることが知られており、これらの現象を上手く利用して既に多くの応用がされています。

(注3) エクソソーム

細胞から放出される、大きさが100ナノメートル前後の細胞外小胞のこと。その表面および内部に様々なタンパク質や、mRNA、miRNAを含み、細胞間のコミュニケーションやがんの転移にも重要な役割を果たすことが近年明らかになってきました。このため、エクソソームは各種疾患の非侵襲性の診断バイオマーカーや治療ツールにもなりうることで期待されます。

(注4) バイオマーカー

体内の正常な生理現象プロセスや病的プロセス、あるいは治療の程度を客観的に測定、評価するための指標のことです。バイオマーカーには、血糖値やコレステロール値をはじめとして、タンパク質やRNAなど体液中に含まれる物質の情報だけでなく、心電図や血圧、X線画像なども含まれます。医薬品開発では、患者の様子ではなく、バイオマーカーを用いることで、客観的、迅速、簡便、高精度に治療の効果を測定することができます。また、バイオマーカーは個人ごとの頻繁な測定を可能にし、個人差に合わせて治療を細かく変えられるような個別化医療、病気になる予兆から対処を行う予防医療など、次世代医療の重要な要素として注目が集まっています。

(注5) 量子ドット

電子が三次元すべての方向から閉じ込められている状態のこと、あるいはこのような状態を示す物質のこと。こうした量子ドットの材料としては、半導体ナノ粒子が注目されています。量子ドットは、中の電子が離散的なエネルギー準位をとり、高い光放出効率、高い温度安定性、優れたスペクトル純度、単一光子の発生などの特異な性質を持ちます。こうした特徴は、次世代のディスプレイ、レーザー、光検出器、量子暗号通信素子、量子コンピュータ、太陽電池など数多くの応用が可能であるとして、近年世界中で集中的に研究が進められています。

(注6) ナノダイヤモンド

ナノメートルスケールまで小さくしたダイヤモンドのナノ粒子。ダイヤモンドは硬度を

はじめとして、熱伝導性、絶縁性、生体適合性、屈折率などにも優れた素材です。ナノダイヤモンドはこれらの特徴に加え、ナノサイズ、表層の酸素系表面官能基、ゼータ電位に起因する高い分散性といった、特徴が発見されています。特に、表面官能基の存在は、ナノダイヤモンドの化学修飾による高機能化を可能にしており、生体適合性もあることから、体内への薬物輸送、医療デバイスのコーティング、バイオセンサーへの応用が研究されています。さらに近年、ダイヤモンド内の窒素と空孔が、量子センサーとして機能することも分かっており、量子デバイス素子としても注目されています。

(注7) Nano-in-Nano 集積化技術

本研究グループによって開発された超高精度のパターニング技術。本技術を用いると、ナノ流路のような閉じられた微小空間に、高精度（数十ナノメートル程度）で形状や作製位置を制御した、ナノパターンを作製することができます。この技術の詳細は、本研究グループが発表した論文（Lab on a Chip, 2015, 15, 1989-1993; Small, 2015, 11, 6165-6171; Micromachines, 2021, 12, 775）および出願特許（許岩, 流路構造体および流路構造体の製造方法, 特願 2014-101461 号）をご参照ください。

(注8) 表面修飾技術

特定の物質表面に対し機能性を持った分子を反応または吸着させ覆うことで、表面を機能化する技術。表面修飾により、本研究のようにナノ流路内にある液体の蒸発しやすさを制御できるほか、反応させる分子を選択すれば、分子が流路表面に吸着するのを抑制したり、特定の分子を捕捉したりすることも可能です。

(注9)

検体から未知のウイルスの分離、濃縮は、ウイルスの感染機構および病原性の解析、臨床診断法、抗ウイルス薬、ワクチンなどの開発において欠かすことのできないものです。未知ウイルスの同定、臨床診断および基礎研究の現場では、検体を接種されたウイルスを感受性のある細胞を培養増殖して分離、濃縮するという手法に依存しています。しかしながら、この方法は、感受性のある細胞の開発が必要、細胞培養期間（週単位）が長い、煩雑な操作による操作者に感染リスクが高い、といった短所があるため、今回の新型コロナウイルスのような新型感染症による突発的なアウトブレイクへのタイムリーな対応が困難です。ウイルス粒子の大きさは本研究で作製した気液界面と同じナノスケールであるため、本研究成果を用いれば簡便な操作で極微量（数マイクロリットル）の検体から迅速的なウイルス粒子の濃縮が可能となることが期待され、上記のウイルスの研究と応用における難題を解決することにつながります。

(注10)

細胞外小胞であるエクソソームは、その表面および内部に様々なタンパク質や、mRNA、miRNA を含み、細胞間のコミュニケーションやがんの転移にも重要な役割を果たすことが近年明らかになってきました。このため、エクソソームは各種疾患の非侵襲性の診断バイオマーカーや治療ツールにもなりうることを期待されます。しかしながら、エクソソームの定量解析は、粒径の小ささ（100 nm 前後）から、既存の技術では煩雑な分離、濃縮操作と高価な実験設備を必要とする短所があるだけでなく、分離、濃縮効率の低さや正確な解析が十

分にできないこと等の多くの課題があります。これらの技術的な障壁があるため、エクソソームの形成、伝搬機序や生物学的意義、およびその機能についていまだに不明な点が多く、エクソソームを対象とした診療技術の開発が遅れていることが現状です。エクソソームの大きさは本研究で作製した気液界面と同じナノスケールであるため、本研究成果を用いれば簡便な操作で極微量（数マイクロリットル）の検体から迅速的なエクソソームの濃縮が可能となることが期待され、上記のエクソソームの研究と応用における難題を解決することにつながります。

(注11) SiMS プログラム

(システム発想型物質科学リーダー養成学位プログラム)

産業界でイノベーションを起こせる人材、物質科学とシステムとを融合した「システムの発想」を持つ「ことづくり」ができる人材を養成することを目的としたプログラムです。府立大学と市立大学が共同で、先端研究と自負する物質科学を中心に据えてこのプログラムを申請し、文科省に認可されました。

<参考 URL 等>

▼大阪府立大学大学院 工学研究科 物質・化学系専攻 化学工学分野
ナノ化学システム工学グループ（許研究室）
<http://www.chemeng.osakafu-u.ac.jp/group8/index.html>

▼国立研究開発法人 科学技術振興機構(JST)
<https://www.jst.go.jp/>

▼システム発想型物質科学リーダー養成学位プログラム
<http://sims-program.osakafu-u.ac.jp/>

【研究内容に関するお問合せ】

大阪府立大学大学院 工学研究科
准教授 許 岩（しゅう いえん）
TEL：072-254-7813
Email: xu[at]chemeng.osakafu-u.ac.jp

【ご取材に関するお問合せ】

大阪府立大学 広報課
担当：荒岸 奈緒子（あらぎし なおこ）
TEL：072-254-9103
Email: opu-koho[at]ao.osakafu-u.ac.jp

【JST 事業に関するお問合せ】

科学技術振興機構 戦略研究推進部
保田 睦子（やすだ むつこ）
TEL：03-3512-3526
Email: presto[at]jst.go.jp

【ご取材に関するお問合せ】

科学技術振興機構 広報課
TEL：03-5214-8404
Email: jstkoho[at]jst.go.jp