単一粒子反応場を用いたナノ材料創成

関　修平*　佃　諭志[1)**]　田中俊一郎[2)**]　杉本正樹***

1. はじめに

機能性微細構造の形成において，Top-Down 型微細加工技術と Bottom-Up 型自己集合技術の連携の重要性が叫ばれて久しい．リソグラフィー技術に代表される半導体超微細加工の分野においても，Direct Self Assembly (DSA)技術開発の波は確実に押し寄せており，従来型の光リソグラフィーを一定の微細構造を有するプラットフォームとし，その先の最微細構造形成のための核技術となることが期待されている[(1)]．最小 20～30 nm 程度(素子としては 100 nm レベルであるが)の微細構造の 2 次元あるいは部分的に 3 次元の集積が進む中，従来型の Top-Down 型加工手法の問題点の多くは，面内集積を進めるあまりに，微細構造の空間スケール，特にアスペクト比の限界に由来するものが多い．

自然界に存在する機能性界面の多くは，このアスペクト比の観点において，従来型の Top-Down 型加工の限界をはるかに凌駕し，かつ高集積化を同時に達成しており，これは，蓮の葉の超撥水性や，ヤモリ，さらに細菌(直径 3～10 nm，長さ 0.2～2 μm の高アスペクト比繊毛によるアクチュエータ動作)[(2)-(6)]などの例を紐解くまでもなく，明快な「自然微細構造形成プロセスの優位性」である．このような微細構造を有することによる生物の機能発現を模倣して，均一かつ精密にサイズ制御されたナノ・マイクロ構造の大面積形成がこれまで多く試みられている[(7)-(11)]．例えば東北大学の下村らによるハニカム状構造の超撥水性[(8)]，Manchester 大学の Andre Geim らによる密集剛毛を有する表面の吸着性[(9)]などが挙げられる．

一方でアクチュエータとして機能する微細構造の模倣はマイクロサイズのものに留まっており，均一なナノアクチュエータ形成は困難とされてきた．これは力学機能の利用において，高アスペクト比かつ柔軟性・強度(強じんであること)も両立が必要であったことによる[(11)]．我々はこれまで，一つの粒子(Os^{30+} などの単一イオン)が起こす架橋反応を利用して，均一な一次元ナノ構造体(1-D ナノゲル)を大面積・均一に形成することに成功している[(12)-(16)]．この単一粒子ナノ加工法(Single Particle Nano-fabrication Technique (SPNT))(図 1)は，これ以上分けることのできない，たった一つの粒子から一本の 1-D ナノゲルを形成する手法である．高分子架橋反応の誘導を，外部入射する粒子に担わせるために，Top-Down 型の加工と捉えられがちであるが，構造形成のための高分子架橋反応点の分布・サイズ・反応効率はすべてターゲット材料により決定されるため，形成機構はむしろ Bottom-Up 型に近い．単一粒子による反応であるため，微細加工のための「集束」という概念がそもそも存在せず，本質的に「世界で最も細いビーム」と捉えることできる．また，「集束」しなければそもそも「散逸」も存在しないため，「一つの粒子はどこまで進んでも一つの粒子」である．これは，SPNT 法によって超高アスペクト比を示す材料形成に最適であること示唆している．1-D ナノゲルの長さは粒子の通過距離である高分子膜の膜厚に一致し，太さは架橋

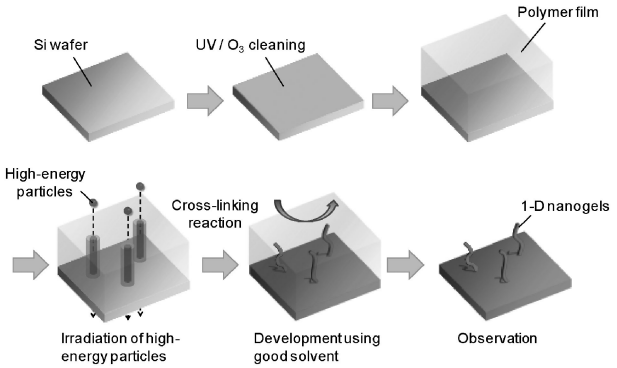


図 1　単一粒子ナノ加工法による 1-D ナノゲルの形成過程．

* 大阪大学大学院工学研究科教授；応用化学専攻
** 東北大学多元物質科学研究所；1)助教　2)教授(〒980-8577 仙台市片平 2-1-1)
*** 日本原子力研究開発機構；副主任研究員
Formation of 1-D Nano-materials by Single Particle Nano-fabrication Technique; Shu Seki*, Satoshi Tsukuda**, Shun-Ichiro Tanaka** and Masaki Sugimoto***(*Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Osaka University, Suita. **Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University, Sendai. ***Quantum Beam Science Directorate, Japan Atomic Energy Agency, Takasaki)
Keywords: *single nanoparticle fabrication technique, 1-d nanogel, protein, Enzyme-degradable, hybrid, metal nano-particle*
2014年 6 月10日受理[doi:10.2320/materia.53.520]

反応効率・分子量(材料依存)・エネルギー付与①密度(入射粒子依存)によりほぼ完全に制御されるため，高い均一性を担保し得る．また，1-D ナノゲルの数は照射した粒子数と一致するために，入射粒子の数によって 1-D ナノゲルの面積密度を自由に制御できる．SPNT の最大の特徴は，架橋することのできる分子であればどんな分子でもナノ構造化できることである．一般的なナノ構造体形成手法で必要とされる自己集合性のための高度な分子設計への要求に対し，SPNT に必要な条件は架橋反応を起こすことだけである．本研究では，このような MeV 級高エネルギー荷電粒子が物質中を通過した際に生み出される「励起反応場」を直接化学反応に転じることによって可能となった，いわば「究極に小さい」，低次元ナノ構造体の形成について論じてみたい．

2. 生体適合性高分子 1-D ナノゲルの形成

生体高分子の一種として知られるタンパク質は，単純なアミノ酸を繰り返す構造をもち，生体内で要求される複雑な機能を発現させている．一方で単純な構造のため，タンパク質を任意に配列・集合させることは困難である．そこで，タンパク質を複雑な化学・遺伝子学的な手法を用いることなくナノ構造化することができれば医学・生理学分野において多くの知見を得ることが期待できる．本項では複雑な操作，添加剤を一切用いずタンパク質のみから構成されるタンパク質ナノ構造体形成を目的とし，SPNT による一次元タンパク質ナノ構造体の形成，およびナノ構造体の内部構造，表面上の機能性タンパク質の活性評価について紹介してみたい．

SPNT を用いて人由来血清アルブミン(human serum albumin, HSA)からナノ構造体形成を試みた結果，1-D ナノゲルの AFM 画像が観察された．さらに，HSA 以外のタンパク質，牛由来血清アルブミン(bovine serum albumin: BSA)，卵白アルブミン，アビジンからも同様に 1-D ナノゲルの形成が確認された(**図 2**)．この結果から SPNT は合成高分子だけでなく様々なタンパク質をベースとするナノ構造体形成が可能であることを明らかにした．SPNT で形成される 1-D ナノゲルのサイズ，特に断面半径はターゲットとなる高分子材料の架橋効率に依存することが確認されており，詳細な理論モデルの提案をすでに行っている[12][13][15]．そこで BSA の架橋効率を算出し，タンパク質が SPNT を利用したナノ構造体形成の優れたベース材料になりうるかの評価を行った．形成された 1-D ナノゲルは基板上で表面相互作用により変形していることから，楕円変形モデルを適用し断面半径：12 nm を得た．BSA の放射線照射に対する架橋効率 $G(x)$ は 1.2(100 eV)$^{-1}$ と算出され，これは高い架橋効率を示すことが知られているポリ(4-ブロモスチレン)が示す 0.3-1.2(100 eV)$^{-1}$ に匹敵している[17]．

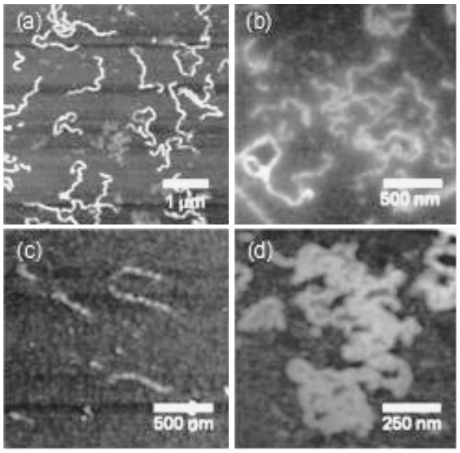


図 2　タンパク質 1-D ナノゲル(a) HSA, (b) BSA, (c) ovalbumin, (d) avidin の AFM 像.

形成される 1-D ナノゲルの数密度は入射粒子数によってコントロールされる．照射線量を 1.0×10^8，3.0×10^8，5.0×10^8 ions cm^{-2} と制御し，形成されるタンパク 1-D ナノゲルの数密度の比較を行った．AFM 観察より 1.0×10^8 ions cm^{-2} の照射線量を示すサンプルからは，23個のナノ構造体が確認され，照射線量から計算される 25 μm^2 あたりの25個とほぼ一致した(**図 3**(a))．同様に他のサンプルからもそれぞれの照射線量に対応した表面数密度の 1-D ナノゲルが確認された(図 3(b),(c))．この結果から照射線量により構造体の数密度の制御が可能であり，ナノ構造体の基板との一端固定が有効に作用していることが確認された．さて，SPNT により形成された 1-D ナノゲルの内部構造はどのように変質しているかについて，酵素反応によるタンパクナノ構造体の加水分解反応の適用を試みた．酵素反応にはアミノ酸の一種であるリジン・アルギニン残基の C 末端側のペプチド結合を選択的に切断するトリプシンを用いた．反応時間の経過とともにナノ構造体の断片化が進行し，酵素反応開始20分後ではナノ構造体は完全に消失した(**図 4**)．これは，SPNT で形成されるタンパクナノ構造体はタンパク質の基本構造であるペプチド結合を保持した状態でナノ構造化していることを示唆している．

SPNT により形成されるタンパク質 1-D ナノゲルの表面活性評価について以下の検証を行った．蛋白質分子であるアビジンはビオチン分子と高い相互作用($K_d\approx10^{-15}$ M)を示す

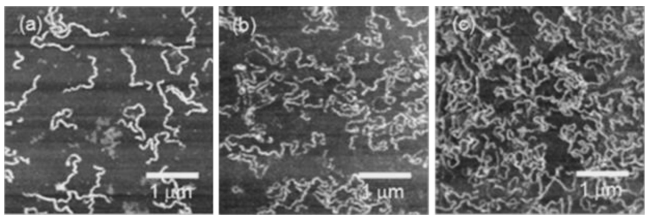


図 3　HAS 1-D ナノゲルの AFM 像．HAS 薄膜(膜厚 1200 nm)に 490 MeV $^{192}Os^{30+}$ ビームを(a) 1.0×10^8，(b) 3.0×10^8，(c) 5.0×10^8 ions cm^{-2} の線量で照射し作製した．

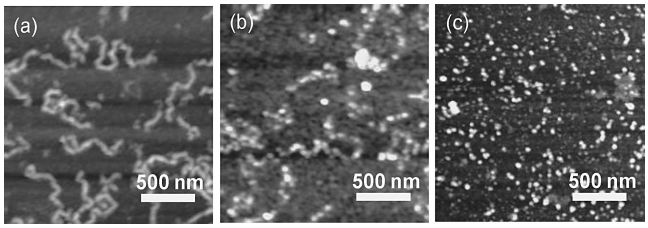


図 4　HAS 1-D ナノゲルの加水分解過程.

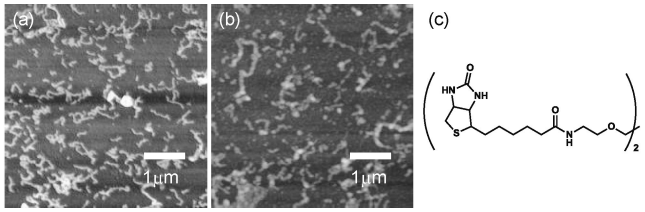


図5　(a) HAS-Avidin 1-D ナノゲルの AFM 像．490 MeV $^{192}Os^{30+}$ ビームを 3.0×10^8 ions cm^{-2} 照射して形成した．(b) Dibiotinyl linker と avidin 溶液に交互に3回浸漬後の HAS-Avidin 1-D ナノゲル．(c) Dibiotinyl linker の化学構造．

ことが知られている．アビジン由来のナノ構造体形成後，両末端にビオチン分子を持つリンカー化合物(**図5**(c))を利用し，アビジンとリンカー化合物溶液に交互に浸漬した場合に生じるナノ構造体の断面半径の変化を確認した．操作を3回繰り返した場合，構造体の一部に断面半径が修飾前の1.4倍に達する20 nm のナノ構造体が確認された(図5(b))．この結果から，SPNT では，ビオチン-アビジンの相互作用といった単純タンパク質機能であれば十分に保持したまま構造体を形成可能であることを明らかとした．これらの反応を用いたナノ構造体の表面機能化の過程において，決まった種類の酵素を，決まった量だけ固定することにも成功し，将来の薬剤放出材料としての応用に期待がされている[(18)-(21)]．

3. 金属ナノ粒子-高分子ハイブリッドナノワイヤーの形成

SPNT を利用することにより，精密にサイズ制御された導電性，光学特性，外場刺激応答性などを有する1次元ナノ構造体を容易に作製することが可能である[(13)(22)]．本項では，上記手法で形成した高分子1次元ナノ構造体に無機粒子を融合させることにより，高分子単体では発現が困難である機能の付与，また高分子が有する特性と無機粒子の特性を融合させた新規機能発現を目指し，高分子に金属塩を混ぜ込んだ複合膜より直接ハイブリッド化する粒子内包型と，高分子ナノワイヤー形成後，表面に粒子を析出させる表面修飾型の2種のハイブリッド化手法について紹介する(**図6**)．

(1) 粒子内包型ハイブリッド化

ポリヒドロキシスチレン(PHS)と金ナノ粒子の前駆体となる $HAuCl_4$ の共溶解液より作製した PHS/Au 複合膜へ SPNT を適用した．単一粒子飛跡に沿ったエネルギー付与場において，高分子の架橋反応と還元反応が同時に引き起こされることにより，金ナノ粒子を内部に取り込んだ PHS とのハイブリッドナノワイヤーの形成が確認された(**図7**)．TEM 像より内部に固定化された金ナノ粒子も観察され，ナノワイヤー内部の架橋3次元ネットワーク構造がナノ粒子を強く束縛していることが示唆される．また，内包する金ナノ粒子のサイズ，粒子数は，薄膜形成時の $HAuCl_4$ の添加量に依存して増加する．一方で，$HAuCl_4$ の添加量は，ハイブリッドナノワイヤーの形状，特にワイヤー径に影響をおよぼす．ポリビニルピロリドン(PVP)と金ナノ粒子のハイブリッドワイヤーを例に挙げると，$HAuCl_4$ の添加量の増加に従い，ワイヤー断面半径が減少した(**図8**)．形状も $HAuCl_4$ 添加量が 1.25 wt%の場合は，連続的な形状を保持しているが，7.5 wt%においては部分的な切断が生じ，不連続な形状として AFM で観察された．SPNT においては，単一粒子により付与された局所的なエネルギー反応場で架橋反応が引きこされるため，ワイヤーの断面半径は，イオン種のエネルギー，高分子の架橋効率，分子量に強く依存する[(14)(15)(22)]．入射粒子の飛跡を中心とした局所領域には，付与されたエネルギーによりラジカルを含む中間活性種が高密度に生成する．これら中間活性種は，PVP 同士の架橋反応を引き起こし，架橋点を形成するが，金属イオンが存在する有機無機複合膜中では，生じた中間活性種が金属イオンの還元に使用される分，PVP 同士の架橋反応が阻害され，結果として PVP の架橋効率が減少し，形成されるワイヤー半径の減少が引き起こされたと示唆される．粒子内包型ハイブリッド化に際しては，内包粒子とワイヤー径のサイズが競合するため形成に関しては

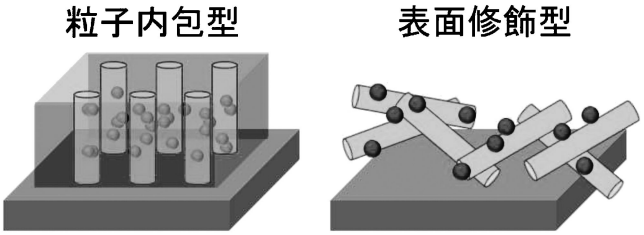


図6　SPNT を基盤としたハイブリッド化手法．

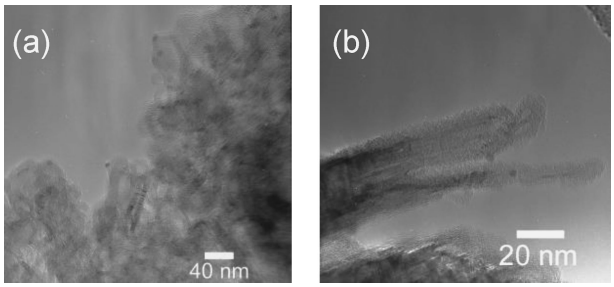


図7　490 MeV $^{192}Os^{30+}$ ビーム照射により形成された Au ナノ粒子を内包した PHS ナノワイヤーの TEM 像(a)ワイヤー凝集状態，(b)単離状態(Au ナノ粒子内包)．

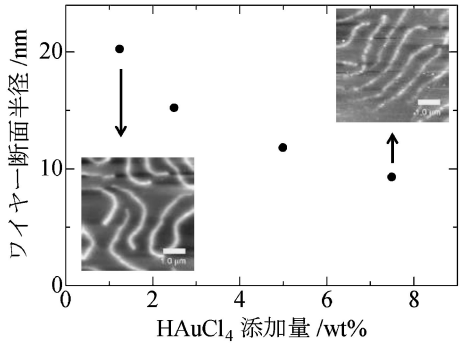


図8　PVP/Au ハイブリッドナノワイヤー形成における塩化金酸添加量対するワイヤー径依存性．

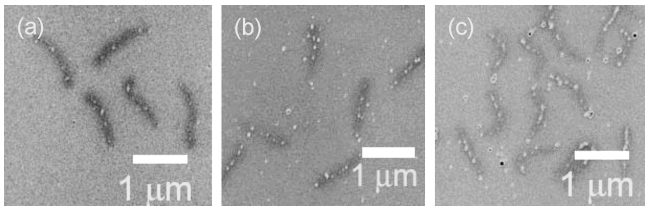


図9　PVPナノワイヤー表面に析出したAgナノ粒子のSEM像．490 MeV $^{192}Os^{30+}$ビームをPVP薄膜に照射し，PVPナノワイヤーを形成した後，硝酸銀水溶液中で(a) 600，(b) 18000，(c) 3600 s間反応を行った．

金属塩の混合比を考慮する必要がある．

(2) 表面修飾型ハイブリッド化

ここでは，高分子ナノワイヤー上に金属ナノ粒子を修飾するため，SPNT用いてPVPナノワイヤーを形成した後，硝酸銀水溶液中での熱還元反応を行った．**図9**に示すように，PVPナノワイヤー上にAgナノ粒子が形成されていることがSEM観察により確認され，液中での還元反応により容易にPVP/Agハイブリッド化が可能であることが明らかとなった．また，Agナノ粒子の形成は，PVPワイヤー上から優先的に起きていることが観察される．上記ナノワイヤーは，金属ナノ粒子の保護剤としても広く利用されているPVPの架橋構造体で構成されているため，密に存在するPVP高分子鎖がAgナノ粒子の保護剤として作用し，選択的にワイヤー上にAg粒子を析出，固定化することに成功したことが示唆される．また，反応時間が600, 1800, 3600 sと増加するに従い，ナノワイヤー表面に析出するナノ粒子数，サイズが増加した．硝酸銀濃度の増加においても同様の傾向が示されており，還元反応時間，金属塩濃度の調整で，容易に表面修飾するAg粒子のサイズ・数を制御できる．

以上のように，SPNTを基盤とした2種のハイブリッド化手法を紹介したが，高分子と金属ナノ粒子の組み合わせは多種多様であり，任意に材料設計を行うことにより，環境適応型触媒，外場応答性センサー材料など他分野への応用展開が期待される．

4. おわりに

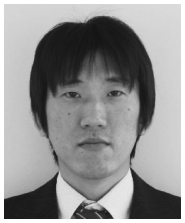
単一粒子の形成する励起反応場の中での化学反応は，従来のナノ構造形成の概念を覆し，物質・材料を自由に選択してナノ構造化できる可能性があることを示している．タンパク質・高分子・低分子，またそれらのナノ構造中に自由に金属を埋め込んだ材料の形成は，端的に本手法の汎用ナノ構造形成技術としての高い潜在性を示している．今後，“狙った材料を確実にナノ構造化する”技術として，さらに磨きをかけていきたい．

文　献

(1) http://www.itrs.net/Links/2012ITRS/Home2012.htm
(2) W. Barthlott and C. Neinhuis: Planta, **202**(1997), 1–8.
(3) K. Autumn, A. Y. Liang, T. S. Hsieh, W. Zesch, P. W. Chan, W. T. Kenny, R. Fearing and J. R. Full: Nature, **405**(2000), 681.
(4) H. Ghiradella, D. Aneshansley, T. Eisner, E. R. Silberglied and E. H. Hinton: Science, **178**(1972), 1214.
(5) B. P. Clapham and C. M. Hutley: Nature, **244**(1973), 281.
(6) A. M. Sleigh, R. J. Blake and N. Liron: Am. Rev. Respir. Dis., **137**(1988), 726.
(7) W. Chen, Y. A. Fadeev, C. M. Hsieh, D. Oner, J. Youngblood and J. T. McCarthy: Langmuir, **15**(1999), 3395.
(8) H. Yabu, Y. Hirai, M. Kojima and M. Shimomura: Chem. Mater., **21**(2009), 1787.
(9) K. A. Geim, V. S. Dubonos, V. I. Grigorieva, S. K. Novoselov, A. A. Zhukov and Y. S. Shapoval: Nat. Mater., **2**(2003), 461.
(10) M. Sitti and S. R. Fearing: J. Adhes. Sci. Technol., **17**(2003), 1055.
(11) P. Lalanne and M. G. Morris: Nanotechnology, **8**(1997), 53.
(12) S. Seki, K. Maeda, Y. Kunimi, S. Tagawa, Y. Yoshida, H. Kudoh, M. Sugimoto, Y. Morita, T. Segchi, T. Iwai, H. Shibata, K. Asai and K. Ishigure: J. Phys. Chem. B, **103**(1999), 3043.
(13) S. Seki, K. Maeda, S. Tagawa, H. Kudoh, M. Sugimoto, Y. Morita and H. Shibata: Adv. Mater., **13**(2001), 1663.
(14) S. Tsukuda, S. Seki, S. Tagawa, M. Sugimoto, A. Idesaki, S. Tanaka and A. Oshima: J. Phys. Chem. B, **108**(2004), 3407.
(15) S. Seki, S. Tsukuda, K. Maeda, Y. Matsui, A. Saeki and S. Tagawa: Phys. Rev. B, **70**(2004), 144203.
(16) Y. Maeyoshi, A. Saeki, S. Suwa, M. Omichi, H. Marui, A. Asano, S. Tsukuda, M. Sugimoto, A. Kishimura, K. Kataoka and S. Seki: Sci. Rep., **2**(2012), 600.
(17) M. Omichi, A. Asano, S. Tsukuda, K. Takano, M. Sugimoto, A. Saeki, D. Sakamaki, A. Onoda, T. Hayashi and S. Seki: Nature Commun., **5**(2014), 3718.
(18) S. Seki, A. Saeki, W. Choi, Y. Maeyoshi, M. Omichi, A. Asano, K. Enomoto, C. Vijayakumar, M. Sugimoto, S. Tsukuda and S. Tanaka: J. Phys. Chem. B, **116**(2012), 12857–12863.
(19) M. Omichi, H. Marui, K. Takano, S. Tsukuda, M. Sugimoto, S. Kuwabata and S. Seki: ACS Appl. Mater. Interfaces, **4**(2012), 5492–5497.
(20) A. Asano, M. Omichi, S. Tsukuda, K. Takano, M. Sugimoto, A. Saeki and S. Seki: J. Phys. Chem. C, **116**(2012), 17274–17279.
(21) M. Omichi, K. Takano, T. Satoh, T. Kamiya, Y. Ishii, T. Ohkubo, M. Koka, W. Kada, M. Sugimoto, H. Nishikawa and S. Seki: J. Nanosci. Nanotechnol., **12**(2012), 7401–7404.
(22) S. Tsukuda, S. Seki, S. Tagawa and M. Sugimoto: Appl. Phys. Lett., **87**(2005), 233119.

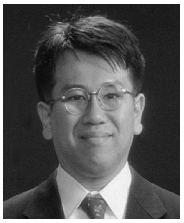
関　修平

★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★
平成3年　東京大学工学部卒業
平成5年　東京大学大学院工学系研究科原子力工学専攻修士課程修了
平成6年　アルゴンヌ国立研究所研究員
平成7年　東京大学大学院工学系研究科システム量子工学専攻博士課程中退
平成7年　大阪大学産業科学研究所　助手
平成13年　デルフト工科大学研究員
平成15年　大阪大学産業科学研究所　助教授
平成19年　大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻准教授
平成20年　JSTさきがけ「物質と光作用」研究者
平成21年　大阪大学大学院工学研究科　応用化学専攻　教授
平成13年　博士(工学)
専門分野：高分子科学　放射線物質科学　物性化学
◎疑うがゆえに知り，知るがゆえに疑う．
★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★



佃　諭志

田中俊一郎



杉本正樹