

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04803

研究課題名(和文) ナノワイヤ/ポアデバイスによる物質の選択的分離・段階的脱離・1分子検出法の創成

研究課題名(英文) Nanowire/pore device for selective particle separation, stepwise particle desorption, and single particle detection

研究代表者

安井 隆雄 (Yasui, Takao)

名古屋大学・工学研究科・准教授

研究者番号：00630584

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々の身の回りには様々な大きさの極微量有害・危険物質が多数存在しており、それら物質を同定する技術が強く求められている。しかし、既存技術ではその要求に答えられていないため、我々は以前として、それら物質に対する漠然とした不安を抱いている。本研究では、ナノワイヤ/ポアデバイスによる物質の選択的分離・段階的脱離・1分子検出法を創成し、多種多様な夾雑物が混在する「真の」リアルサンプルから極微量有害・危険物質の複数種同時検知の実現を目標とした。本手法により、身の回りの細胞外微粒子の検知を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的な特色・独創的な点は、本手法でしか成し得ない物質の選択的分離・段階的脱離・1分子検出法を、ナノワイヤ/ポアデバイスを集積化した1つのデバイスにより創出するとともに、多種多様な夾雑物が混在するサンプルから極微量有害・危険物質(PM2.5/細菌/ウイルス等)の同時検知を実現するシステムを開発するところにある。また、本研究成果の社会的意義は、身の回りに存在する多種多様な極微量有害・危険物質に対する漠然とした不安を取り除き、これまでの有害・危険物質に対する認識を根底から覆すといった波及効果である。

研究成果の概要(英文)：Since a number of extracellular micro/nanoparticles with various size distribution are hazardous to our health, a way to identify these hazardous particles is strongly desired. However, conventional methodologies could not satisfy the requirement to identify the hazardous micro/nanoparticles, and we still feel vaguely insecure about the particles. In this research, we proposed a methodology to demonstrate selective separation, stepwise desorption, and single molecule detection using a nanowire/pore device. And then, we had a goal to achieve detection of the hazardous particles from "real" samples with various contaminants. Finally, the proposed methodology allows us to detect extracellular particles in our surroundings.

研究分野：ナノ空間科学

キーワード：ナノワイヤ マイクロ/ナノポア ナノ材料 ナノ空間 1分子計測

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

複数種の目的物質を選択的に分離し、任意のタイミングで段階的に脱離し、それぞれを1粒子検出する同定技術は、我々の身の回りに存在する0.1-10  $\mu\text{m}$ の極微量有害・危険物質 (PM2.5/細菌/ウイルス等)の検出の実現に向けた重要な課題である。身の回りに存在する多種多様な極微量有害・危険物質は、様々な夾雑物と共に存在しており、「真の」リアルサンプルは計測すべき物質が非常に多くの夾雑物の中に混在している。コールターカウンター(*US patent, 1953, 2, 656, 508*)やナノポア (*Nat. Nanotech., 2016, 11, 117-126*)等に代表される電流計測システムは、物質の1粒子検出が可能であるが、得られるデータは物質のサイズ・表面電位等に基づいた情報であり、目的物質が夾雑物かを判断することが極めて困難である。アフィニティクロマトグラフィに代表される分離・脱離技術は、目的物質が複数存在する場合において、それぞれの選択的な分離は複数種の分子 (抗体/タンパク質等)により可能であるが、溶液交換に基づいた脱離であるため、段階的脱離が本質的に困難であるという問題がある。また、極微量な有害・危険物質を検出することが極めて困難である。本申請においては、これまでの研究成果を発展させることにより、ナノワイヤ/ポアデバイスによる物質の選択的分離・段階的脱離・1分子検出法を開発し、多種多様な夾雑物が混在するサンプルから極微量有害・危険物質 (PM2.5/細菌/ウイルス等)の複数種同時検出の実現を目指した。

申請者はこれまでに、酸化ナノワイヤによる超高性能生体分子解析デバイス (*ACS Nano, 2011, 5, 7775; ACS Nano, 2013, 7, 3029; Sci. Rep., 2014, 4, 5252; Sci. Rep., 2015, 5, 10584; Nano Lett., 2015, 15, 3445*)、高アスペクト比ポアによる細菌検出デバイス (*Micro Total Anal. Syst., 2014, 1, 2161-2163; Micro Total Anal. Syst., 2015, 1, 314-316; Micro Total Anal. Syst., 2016, 1, 100-101*)の研究を進めてきた。本研究では、これまでの研究成果を踏まえ、酸化ナノワイヤとマイクロ/ナノポア構造体を1つのデバイス内に集積化することで、物質の選択的分離・段階的脱離・1分子検出法の可能性を着想した。これまでの研究成果を発展させ、酸化ナノワイヤの表面修飾による選択的分離を、酸化ナノワイヤの電気伝導度を制御した自己加熱による表面分子の熱失活と段階的脱離を、脱離した物質の自己拡散移動とナノワイヤに近接して作製したポア構造体による1分子検出の達成を目標とした。

### 2. 研究の目的

ナノワイヤ/ポアデバイスによる物質の選択的分離・段階的脱離・1分子検出法の創成のために、

- (1) 分子認識能を有する表面修飾ナノワイヤの開発
- (2) 表面修飾ナノワイヤに自己加熱能を付与
- (3) 自己加熱・表面修飾ナノワイヤにポアデバイスの融合

を着想した。ナノワイヤの表面修飾は、両末端に機能を有するペプチド(片末端を酸化物認識、もう片末端を分子認識)の表面修飾により行う。自己加熱能を有するナノワイヤの開発は、マイクロヒーター上にナノワイヤの作製、あるいは電極間に酸化物薄膜とナノワイヤの作製により行う。ナノワイヤ/ポアデバイスの融合は、ナノワイヤを作製した熱伝導性の低いガラス等の基板へ、シリコーンゴム(PDMS等)製ポアデバイスの接着により行う。開発するデバイスは、ナノワイヤ表面修飾部で選択的分離を、ナノワイヤ自己加熱部で段階的脱離を、ポア電流検出部で1分子検出を達成する。

本研究の学術的な特色・独創的な点は、本手法でしか成し得ない物質の選択的分離・段階的脱離・1分子検出法を、ナノワイヤ/ポアデバイスを集積化した1つのデバイスにより創出するとともに、多種多様な夾雑物が混在するサンプルから極微量有害・危険物質 (PM2.5/細菌/ウイルス等)の同時検出を実現するシステムを開発するところにある。従来の手法は、選択性の無い1分子検出法 (電流検出技術)、あるいは、複数の目的物質に対応していない選択的分離・脱離法 (アフィニティクロマトグラフィ)であった。これらは、多種多様な夾雑物が混在するサンプルから複数種の極微量有害・危険物質を同時検出することが極めて困難であった。本研究で創成する手法は、複数の目的物質に対して、選択的分離はナノワイヤの表面修飾で、段階的脱離はナノワイヤの自己加熱で、1分子検出はポアの電流検出で可能にすることで、多種多様な夾雑物が混在するサンプルから複数種の極微量有害・危険物質を選択的分離・段階的脱離・1分子検出するところが大きな特色である。予想される結果は、身の回りの「真の」リアルサンプルから複数種の極微量有害・危険物質の検出を一度に達成する成果である。本研究成果は、身の回りに存在する多種多様な極微量有害・危険物質に対する漠然とした不安を取り除き、これまでの有害・危険物質に対する認識を根底から覆すといった波及効果をもたらすと期待される。

### 3. 研究の方法

ナノワイヤ/ポアデバイスによる物質の選択的分離・段階的脱離・1分子検出法の創成のために、

- (1)分子認識能を有する表面修飾ナノワイヤの開発
  - (2)表面修飾ナノワイヤに自己加熱能を付与
  - (3)自己加熱・表面修飾ナノワイヤにマイクロ/ナノポアデバイスの融合
- を行った。本研究で用いるナノワイヤは、「これ以上酸化しないため、液中での安定性が高い」

「キャリア濃度の制御が可能のため、自己加熱のチューニング可能」の利点より酸化ナノワイヤを使用した。また、マイクロ/ナノポアデバイスは最終的な融合プロセスでの利点より、シリコーンゴム(PDMS)を使用した。

(1) 物質の選択的分離：分子認識能を有する表面修飾ナノワイヤの開発

平成 29 年度は物質の選択的分離に向け、分子認識能を有する表面修飾ナノワイヤの開発をナノワイヤにペプチドの修飾を行なった。本研究で用いるナノワイヤは、液中での安定性や自己加熱能の付与を鑑み、酸化ナノワイヤを使用した。表面修飾には、両末端に機能を有するペプチドを用いた。このペプチドは片末端が酸化物を認識するように、もう片末端が細菌類を認識するような配列とした。研究代表者は予備研究成果として、両末端(片末端：酸化亜鉛、もう片末端：グラム陰性菌の表層リポ多糖認識)に機能を有するペプチドを合成し、酸化亜鉛ナノワイヤに大腸菌の捕捉に成功していた (*Micro Total Anal. Syst.*, 2016, 1, 1156; 特願 2016-046302 号)。しかし、本ペプチドは酸化亜鉛への強い結合のため、次年度以降の熱による脱離が困難であるという問題点があった。本研究では、酸化亜鉛ナノワイヤへの結合性を段階的に弱くし、熱での段階的脱離が可能となるペプチドの開発を行った。既知のペプチドの配列を変化させ、体系的にペプチドの結合力を弱くし、酸化亜鉛ナノワイヤへの結合力が段階的に異なるペプチド配列の開発を行なった。また、複数種の有害・危険物質を分離するために、PM2.5 や細菌、ウイルスを認識するペプチドの配列検討を行なった。最終的には、酸化亜鉛ナノワイヤへの結合力が段階的に異なるペプチドと PM2.5 や細菌、ウイルスを認識するペプチドを組み合わせ、酸化亜鉛-PM2.5、酸化亜鉛-細菌、酸化亜鉛-ウイルスのペプチドを合成した。

(2) 物質の段階的脱離：分子認識能を有する表面修飾ナノワイヤに自己加熱能を付与

平成 30 年度は物質の段階的脱離に向け、分子認識能を有する表面修飾ナノワイヤに自己加熱能の付与を検討した。自己加熱能を有するナノワイヤの開発は、マイクロヒーター上にナノワイヤの作製、あるいは電極間に酸化物薄膜とナノワイヤの作製により行った。研究代表者は予備研究成果として、酸化亜鉛ナノワイヤに電流を印加し、ナノワイヤ周りの温度を制御することに成功していた。しかし、本予備成果は空気中で行った実験であり、水中での実施例は達成されていなかった。水中ではジュール加熱のバランス[ $I \cdot V$  (電力) × 時間 - (逃げる熱) / (熱容量)]が空気中より困難であると予想された。そこで、本研究では、水中でのナノワイヤの温度制御を行うと共に、参照電極をマイクロヒーター近傍に設けることで、ナノワイヤ近郊の温度を水の抵抗値より計測を行い、ナノワイヤ近郊の温度と印加電流との相関を得ることを目的とした。また、平成 29 年度に開発した酸化亜鉛ナノワイヤへの結合力が段階的 (4 段階程度) に異なるペプチド配列に対して、ペプチドの脱離温度 (印加電流) の検討を行い、各電流値における段階的脱離を検討した。

(3) 物質の 1 分子検出：自己加熱・表面修飾ナノワイヤにポアデバイスの融合

平成 30 年度・令和元年度は物質の 1 分子検出にむけ、自己加熱・表面修飾ナノワイヤにポアデバイス(0.1-10  $\mu\text{m}$  のサンプルを電流検出可能)の融合を行った。ナノワイヤ/ポアデバイスの融合は、ナノワイヤを作製したガラス等の基板へ、シリコーンゴム(PDMS 等)製ポアデバイスの貼付けにより行った。研究代表者は予備研究成果として、PDMS 製ポアデバイスをガラス基板に貼付け、0.2-10  $\mu\text{m}$  のサンプルの電流検出に成功していた (*Micro Total Anal. Syst.*, 2015, 1, 314; PCT/JP2015/79532)。本研究では、PDMS ポアデバイスのポアの直前部に自己加熱・表面修飾ナノワイヤが入るような空間を設けることで、ナノワイヤ/ポアデバイスの融合を検討した。ナノワイヤ加熱の水の温度上昇による抵抗値変化が、ポアデバイスの電流検出に影響を及ぼすと予想されるため、脱離の際に必要な電流をパルス印加して、脱離可能かつ電流検出に最も影響を及ぼさない条件検討を行なった。最後に、平成 28 年度に開発した酸化亜鉛(結合力 1)-PM2.5、酸化亜鉛(結合力 2)-細菌、酸化亜鉛(結合力 3)-ウイルスのペプチドを用いて、ナノワイヤ表面修飾部で選択的分離を、ナノワイヤ自己加熱部で段階的脱離を、ポア電流検出部でそれぞれの 1 分子検出を検討した。

#### 4. 研究成果

##### [平成 29 年度]表面修飾ナノワイヤの開発

平成 29 年度は物質の選択的分離に向け、分子認識能を有する表面修飾ナノワイヤの開発を達成した。本研究で用いたナノワイヤは、液中での安定性や自己加熱能の付与を鑑み、酸化ナノワイヤを使用した。表面修飾には、両末端に機能を有するペプチドを用いた。このペプチドは片末端が酸化物を認識するように、もう片末端が細菌類を認識する配列を用いた。この時、酸化亜鉛への結合能が強い場合は、次年度以降の熱による脱離が困難であるという問題点が考えられたため、本研究では、酸化亜鉛ナノワイヤへの結合性を段階的に弱くし、熱での段階的脱離が可能となるペプチドの開発を行った。既知のペプチドの配列を変化させ、体系的にペプチドの結合力を弱くし、酸化亜鉛ナノワイヤへの結合力が段階的に異なるペプチド配列の設計を開始した。詳細は以下[平成 29 年度～令和元年度]にて述べる。赤外分光法と赤外多角入射分解分光法を駆使し、ペプチド配列が及ぼす酸化亜鉛ナノワイヤへの配向性と結合量の系統的な成果より、酸化

亜鉛ナノワイヤへの結合力が段階的に異なるペプチド配列を決定した。また、複数種の有害・危険物質を分離するために、PM2.5 やウイルスを認識するペプチド配列も着手した。これらペプチド配列に対しても、酸化亜鉛ナノワイヤに対する結合性を評価し、両末端に機能を有するペプチドの配列を決定した。酸化亜鉛ナノワイヤへの結合力が段階的に異なるペプチドと PM2.5 や細菌、ウイルスを認識するペプチドを組み合わせ、酸化亜鉛(結合力 1) PM2.5、酸化亜鉛(結合力 2) 細菌、酸化亜鉛(結合力 3) ウイルスのペプチド配列を決定し、それらペプチドを用いた時に捕捉量の評価を行なった。

[平成 30 年度] ナノワイヤへの自己加熱能の付与

平成 30 年度は物質の段階的脱離に向け、分子認識能を有する表面修飾ナノワイヤに自己加熱能の付与を達成した。酸化ナノワイヤの自己加熱には以下の 2 つの利点があった。

熱伝導率が金属より低いため、条件によっては熱をより高く上昇させることが可能。

ナノワイヤ内のキャリア濃度の制御が可能のため自己加熱をチューニング可能(金属は電気伝導度をコントロール不可)。

4 パターンの自己加熱能を有するナノワイヤの開発を行った。それらは、マイクロヒーター上のナノワイヤ、電極間の酸化物薄膜より成長させたナノワイヤ、電極間ナノワイヤ、ペルチェ素子上のナノワイヤである。最初に、空気中での酸化物ナノワイヤへの電流印加とナノワイヤ周辺の温度変化を赤外線カメラによって計測した。印加電圧に応じてナノワイヤとその周辺温度の制御が可能であり、電圧印加より数十秒で目的とする温度に到達することを確認した。次に水中での温度計測として、DNA を用いた温度計測法を考案した。DNA は溶媒の温度によって 2 本鎖が 1 本鎖に変性することが知られており、その 1 本鎖になる温度も配列によって制御可能である。2 本鎖 DNA の吸着とその DNA の 1 本鎖化により、水中での温度計測を実証した。また、参照電極をマイクロヒーター近傍に作製し、ナノワイヤ近郊の温度を水の抵抗値より計測を行い、ナノワイヤ近郊の温度と印加電流との相関を得ることに成功した。その後、前年度に開発した酸化物ナノワイヤへの結合力が段階的に異なるペプチド配列に対して、ペプチドの脱離温度(印加電圧)の検討を行った。さらに、酵母細胞の破碎にもナノワイヤの自己加熱能の展開を行った。柔軟な構造を有するナノワイヤに自己加熱能を付与し、細菌・酵母をナノワイヤに絡みつかせることで、ナノワイヤより細菌・酵母へ直接熱を与え、ナノワイヤを経由した効率的な熱破碎を達成した。この技術は、従来必要であった特殊な破碎溶液を必要とせず、水中に分散させた細菌・酵母をナノワイヤに導入するだけで、細菌・酵母の効率的な破碎が可能であった。これらの成果より、自己加熱能を有するナノワイヤは

捕捉物質の脱離

熱による細胞破碎

と印加温度によって様々な役割を果たすことが可能であることを実証した。

[平成 31 年度・令和元年度] ナノワイヤ/ポアデバイス構造の開発

平成 31 年度・令和元年度は物質の 1 分子検出にむけ、自己加熱能を付与する表面修飾ナノワイヤ構造と直径 0.2-10  $\mu\text{m}$  サンプルの電流を検出するポア構造を融合するナノワイヤ/ポアデバイス構造の開発を行った。直径 0.2-10  $\mu\text{m}$  サンプルを電流検出可能なポア構造を作製するために、シリコーンゴム(PDMS 等)製ポア構造の開発に着手した。PDMS 製ポア構造をガラス基板と貼り合わせ、0.2-10  $\mu\text{m}$  のサンプルの検出を達成した。サンプル検出時の印加電圧値を調整することで、大きなポア形状を用いて小さなサンプルの計測に成功し、幅広いサイズに適応可能なポア構造を開発した。さらに、当該ポア構造は、サンプルのそれぞれの直径に応じた電流値の変化を検出ことができ、電流値変化の検量線よりサンプルの直径の定量に成功した。次に、ナノワイヤ/ポアデバイス構造の融合に着手した。PDMS 製ポア構造を貼り合わせるガラス基板に、自己加熱能を持つ表面修飾ナノワイヤ構造を作製し、ポア構造の直前にナノワイヤが設置されるようにガラス基板と PDMS を貼り合わせることで、ナノワイヤ/ポアデバイス構造の融合を達成した。ナノワイヤの加熱時における水の温度上昇と抵抗値変化がポアデバイスの電流検出に影響を及ぼすことは開発当初より予想されていたが、マイクロ流路による効率的な熱の拡散の影響により、温度上昇による抵抗値変化が抑えられることを確認した。その後、マイクロ流路へのサンプル導入、ナノワイヤによるサンプル捕捉、加熱によるナノワイヤからのサンプル脱離、サンプルの電流値検出を同一デバイスで行った。脱離には、キレート剤などによる脱離条件の検討も行い、効率的な脱離方法を見出した。最後に、初年度に開発したペプチドを用い、表面修飾ナノワイヤによる選択的分離、ナノワイヤの自己加熱能による段階的脱離、ポア電流検出部によるサンプルの 1 分子検出を達成した。

[平成 29 年度～令和元年度] 酸化亜鉛ナノワイヤへのペプチド吸着の定量的評価

酸化亜鉛ナノワイヤとペプチドの結合については、新たな知見が得られたため、全研究期間において継続して行なった。最初は、基板上へ吸着したペプチドの測定に向けた酸化亜鉛ナノワイヤの作製と、酸化亜鉛ナノワイヤの有用性を示すため酸化亜鉛フィルム基板との比較評価を行った。それぞれの基板を作製後ペプチドの修飾を行い、赤外分光法で得られたスペクトル強度を比較した。分析場として用いる酸化亜鉛ナノワイヤは、水熱合成法を用いて作製した。配向分析を行う際ナノワイヤ傾きが分析へ影響を与えられられるため、シード層膜厚を厚くするこ

とでナノワイヤ垂直性が高くなるようにした。作製したナノワイヤ上へ濃度調整した酸化亜鉛結合性ペプチド溶液を滴下し浸漬することで、ペプチド修飾ナノワイヤとした。ナノワイヤによる表面積向上で期待できるペプチド吸着量増加効果を確認するため、基板として酸化亜鉛ナノワイヤと酸化亜鉛フィルムを使用し比較を行った。ナノワイヤとフィルムともにスペクトル中の  $1680\text{ cm}^{-1}$  付近と  $1525\text{ cm}^{-1}$  付近にピークが見られた。それぞれ C=O 伸縮振動と N-H 変格振動によるものと考えられ、この 2 つのピークからナノワイヤ上にペプチドが吸着していることが示唆された。ナノワイヤとフィルムそれぞれの吸着量を比較するため、ピーク面積 ( $1800\text{ cm}^{-1} \sim 1400\text{ cm}^{-1}$  の領域) を測定し比較した。基板としてフィルムに比べてナノワイヤを用いることにより 7.8 倍に増大させることに成功した。

また、ペプチドがナノワイヤの形状に対して非特異的に吸着していないか確認するため、酸化亜鉛結合性ペプチドを酸化亜鉛ナノワイヤと  $\text{SiO}_2$  ナノワイヤのそれぞれに対して吸着させ、比較を行った。上記と同様にピークサイズを比較すると、 $\text{SiO}_2$  ナノワイヤへの吸着は酸化亜鉛ナノワイヤと比較して 6.48% であり吸着量が大きく減少した。このことからペプチドはナノワイヤ形状ではなく素材に対して吸着していることが示された。以上のことから酸化亜鉛の形状をナノワイヤとすることで、ペプチドの吸着量の増大と IR シグナル増強に成功した。

酸化亜鉛ナノワイヤへの結合力が段階的に異なるペプチドの評価には、同様に赤外分光法を用いた。酸化亜鉛結合性ペプチドとそのペプチドの側鎖をアラニン (A) へ変化させたペプチドと吸着量を比較することにより主鎖のナノワイヤへの吸着寄与について調べた。それぞれのペプチドをナノワイヤ上へ修飾し、赤外分光法により得られたスペクトル中の  $1800\text{ cm}^{-1} \sim 1400\text{ cm}^{-1}$  の領域のピーク面積により比較した。アミノ酸 1 残基の A への変化により元の配列と比較して 45% 以上の吸着量減少が見られた。ペプチドの酸化亜鉛への吸着へはヒスチジン (H) のイミダゾール環不対電子による寄与が大きい、特に配列中の先頭の H を A へ変化させることで 89.9% の吸着量減少が見られ先頭の H の寄与の大きさが示唆された。また、A へ置き換える数を増加させるとナノワイヤ上への吸着はほとんど起こらなくなった。以上のことから、側鎖が吸着へ大きな寄与を与えることが示唆された。

側鎖のみの寄与で酸化亜鉛ナノワイヤへの吸着が起こっているかを確認するため、酸化亜鉛吸着への大きな寄与が見られた H をアミノ酸単体酸化亜鉛へ浸漬し吸着の確認を行った。また、酸化亜鉛結合配列中に含まれるバリン (V) についても同様に実験を行った。浸漬方法は前述のナノワイヤへのペプチド修飾と同様に行ったが、アミノ酸濃度  $100\text{ }\mu\text{M}$ ,  $10\text{ mM}$  とともに赤外分光法によるピークが見られなかった。ナノワイヤ上にあるアミノ酸由来のピークが赤外分光法により観察できることを確認するため、アミノ酸濃度を  $10\text{ mM}$  としさらにナノワイヤへの浸漬後純水洗浄を行わないサンプルを作成し測定を行った。使用したアミノ酸がヒスチジン、バリンの場合においても C=O 結合と N-H 結合に由来すると考えられるピークが確認できたが、酸化亜鉛結合性ペプチドによるピークと比較するとかなり小さくなった。よって、ナノワイヤ上へ吸着したアミノ酸はごくわずかであり、ペプチドの酸化亜鉛ナノワイヤ上への吸着にはアミノ酸が連なっていることや主鎖も寄与していることが示唆された。

ペプチド修飾ナノワイヤを赤外多角入射分解分光法によって測定することにより、OP (面外) スペクトルと IP (面内) スペクトルを取得し配向分析を試みた。得られた MAIRS スペクトルの水蒸気補正及びベースライン補正を行い、OP、IP 両スペクトルを比較すると形状の違いが観察された。このことからペプチドはナノワイヤ上でランダム吸着ではなく吸着に傾向を持っていることが示唆された。ペプチド吸着様式を詳細に推定するため、以下 3 つの条件も加味した。アミド平面...ペプチド中の 1 アミノ酸内の C=O, N-H 結合は同方向である。

酸化亜鉛結晶構造...酸化亜鉛ナノワイヤにおいて最も広い表面積を持つ酸化亜鉛結晶 m 面の酸化亜鉛サイト密度は方位によって異なっている。

ペプチド側鎖の寄与...ペプチドが酸化亜鉛へ吸着する際には、主鎖ではなく側鎖の寄与が大きい。

得られた OP スペクトルについて IP スペクトルと比較すると、C=O 伸縮振動由来のピークは左側へシフトしていることが明らかとなった。水素結合が形成された時、C=O 伸縮結合によるアミド ピークは右方向にシフトが起こり、N-H 変格振動によるアミド ピークは左方向にシフトが起こる。そのため、OP 方向の結合成分において C=O 結合は水素結合を多く形成していると考えられた。一方、N-H 結合は IP 方向と比較してピークシフトが起きておらず形成された水素結合量が少ないと考えられた。ペプチド内の水素結合のみの場合は C=O、N-H の両結合で水素結合シフトが起こるため、ナノワイヤに対して主鎖が IP 方向となり C=O、N-H 結合が OP 方向になるように吸着していると考えられた。OH 基と CO 基の水素結合は、両基が直線状になるように形成されるため、ペプチド主鎖中の C=O 結合は酸化亜鉛表面上にある OH 基と水素結合の形成が示唆された。N-H 結合は酸化亜鉛表面上にある O 基と水素結合を形成しようとする、 $90^\circ$  となるため不安定となる。結果として、ペプチド主鎖中の C=O 結合は水素結合を形成し、N-H 結合は水素結合を形成できず、前者のみでピークシフトが大きく観察されたと考えられた。得られた IP スペクトルについて OP スペクトルと比較すると、N-H 変格振動由来のピークが右へシフトしていることが明らかとなった。ナノワイヤ上の吸着ペプチド形状についてこの条件は平面・シート状では満たせず、より複雑な構造をとっていることが考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Akihiro, A. Nagashima, K. Hosomi, T. Kanai, M. Anzai, H. Takahashi, T. Zhang, G. Yasui, T. Baba, Y. Yanagida, T.	4. 巻 4
2. 論文標題 Water-organic cosolvent effect on nucleation of solution-synthesized ZnO nanowires	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 8299-8304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.9b00945	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hattori, Y. Shimada, T. Yasui, T. Kaji, N. Baba, Y.	4. 巻 10
2. 論文標題 Micro- and Nanopillar Chips for Continuous Separation of Extracellular Vesicles	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 6514-6521
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.8b05538	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sakai, D. Nagashima, K. Yoshida, H. Kanai, M. He, Y. Zhang, G. Z. Zhao, X. X. Takahashi, T. Yasui, T. Hosomi, T. Uchida, Y. Takeda, S. Baba, Y. Yanagida, T.	4. 巻 9
2. 論文標題 Substantial Narrowing on the Width of "Concentration Window" of Hydrothermal ZnO Nanowires via Ammonia Addition	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-50641-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Sano, M. Kaji, N. Rowat, A. C. Yasaki, H. Shao, L. Odaka, H. Yasui, T. Higashiyama, T. Baba, Y.	4. 巻 91
2. 論文標題 Microfluidic Mechanotyping of a Single Cell with Two Consecutive Constrictions of Different Sizes and an Electrical Detection System	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 12890-12899
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.9b02818	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Wang, C. Hosomi, T. Nagashima, K. Takahashi, T. Zhang, G. Kanai, M. Zeng, H. Mizukami, W. Shioya, N. Shimoaka, T. Tamaoka, T. Yoshida, H. Takeda, S. Yasui, T. Baba, Y. Aoki, Y. Terao, J. Hasegawa, T. Yanagida, T.	4. 巻 19
2. 論文標題 Rational Method of Monitoring Molecular Transformations on Metal-Oxide Nanowire Surfaces	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nano Letters	6. 最初と最後の頁 2443-2449
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.nanolett.8b05180	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki, T. Kaji, N. Yasaki, H. Yasui, T. Baba, Y.	4. 巻 92
2. 論文標題 Mechanical Low-Pass Filtering of Cells for Detection of Circulating Tumor Cells in Whole Blood	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 2483-2491
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.9b03939	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Zhao, X. X. Nagashima, K. Zhang, G. Z. Hosomi, T. Yoshida, H. Akihiro, Y. Kanai, M. Mizukami, W. Zhu, Z. T. Takahashi, T. Suzuki, M. Samransuksamer, B. Meng, G. Yasui, T. Aoki, Y. Baba, Y. Yanagida, T.	4. 巻 20
2. 論文標題 Synthesis of Monodispersedly Sized ZnO Nanowires from Randomly Sized Seeds	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nano Letters	6. 最初と最後の頁 599-605
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.nanolett.9b04367	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yasui Takao, Yanagida Takeshi, Shimada Taisuke, Otsuka Kohei, Takeuchi Masaki, Nagashima Kazuki, Rahong Sakon, Naito Toyohiro, Takeshita Daiki, Yonese Akihiro, Magofuku Ryo, Zhu Zetao, Kaji Noritada, Kanai Masaki, Kawai Tomoji, Baba Yoshinobu	4. 巻 13
2. 論文標題 Engineering Nanowire-Mediated Cell Lysis for Microbial Cell Identification	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 2262-2273
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.8b08959	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yasaki Hirotoishi, Yasui Takao, Yanagida Takeshi, Kaji Noritada, Kanai Masaki, Nagashima Kazuki, Kawai Tomoji, Baba Yoshinobu	4. 巻 260
2. 論文標題 A real-time simultaneous measurement on a microfluidic device for individual bacteria discrimination	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sensors and Actuators B: Chemical	6. 最初と最後の頁 746 ~ 752
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.snb.2018.01.079	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimada Taisuke, Yasui Takao, Yokoyama Asami, Goda Tatsuro, Hara Mitsuo, Yanagida Takeshi, Kaji Noritada, Kanai Masaki, Nagashima Kazuki, Miyahara Yuji, Kawai Tomoji, Baba Yoshinobu	4. 巻 18
2. 論文標題 Biomolecular recognition on nanowire surfaces modified by the self-assembled monolayer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 3225 ~ 3229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c8lc00438b	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 SHIMADA Taisuke, YASAKI Hirotoishi, YASUI Takao, YANAGIDA Takeshi, KAJI Noritada, KANAI Masaki, NAGASHIMA Kazuki, KAWAI Tomoji, BABA Yoshinobu	4. 巻 34
2. 論文標題 PM <sub>2.5</sub> Particle Detection in a Microfluidic Device by Using Ionic Current Sensing	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1347 ~ 1349
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.18C018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yasaki Hirotoishi, Yasui Takao, Yanagida Takeshi, Kaji Noritada, Kanai Masaki, Nagashima Kazuki, Kawai Tomoji, Baba Yoshinobu	4. 巻 139
2. 論文標題 Substantial Expansion of Detectable Size Range in Ionic Current Sensing through Pores by Using a Microfluidic Bridge Circuit	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 14137 ~ 14142
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.7b06440	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -



1. 著者名 Yasaki Hirotoishi, Shimada Taisuke, Yasui Takao, Yanagida Takeshi, Kaji Noritada, Kanai Masaki, Nagashima Kazuki, Kawai Tomoji, Baba Yoshinobu	4. 巻 3
2. 論文標題 Robust Ionic Current Sensor for Bacterial Cell Size Detection	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS Sensors	6. 最初と最後の頁 574 ~ 579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssensors.8b00045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yasaki Hirotoishi, Yasui Takao, Yanagida Takeshi, Kaji Noritada, Kanai Masaki, Nagashima Kazuki, Kawai Tomoji, Baba Yoshinobu	4. 巻 260
2. 論文標題 A real-time simultaneous measurement on a microfluidic device for individual bacteria discrimination	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sensors and Actuators B: Chemical	6. 最初と最後の頁 746 ~ 752
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.snb.2018.01.079	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yasaki, H. Yasui, T. Yanagida, T. Kaji, N. Kanai, M. Nagashima, K. Kawai, T. Baba, Y.	4. 巻 47
2. 論文標題 Effect of Channel Geometry on Ionic Current Signal of a Bridge Circuit Based Microfluidic Channel	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 350 ~ 353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.171139	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 17件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Takao Yasui
2. 発表標題 Nanowires meet microarray and AI for urine liquid biopsy
3. 学会等名 Nanowire week 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 ナノワイヤチップによる尿中microRNAの抽出と機械学習解析によるがん診断
3. 学会等名 JASIS PAI-NET マーケットトレンドセミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 尿中microRNA解析によるがん診断
3. 学会等名 大阪大学ナノ理工学人材育成産学コンソーシアム 令和元年度 第2回ナノ理工学情報交流会 「人生100年時代に求められるヘルステック」 （招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 ナノ空間制御と尿中microRNAの網羅的解析
3. 学会等名 2019年度第2回バイオ単分子研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 pMAIRS 法による生体関連物質吸着の配向/無配向分析とその応用
3. 学会等名 第4回MAIRSワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 ナノデバイスとリキッドバイオブシー
3. 学会等名 KISTEC教育講座（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takao Yasui
2. 発表標題 Urinary microRNA ensemble biomarkers for medical checkups
3. 学会等名 The 23rd SANKEN International Symposium -The 18th SANKEN Nanotechnology International Symposium- “Scientific and Industrial Research for Space Age”（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 尿中microRNAのアンサンプルマーカーによる疾病検出
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 尿中マイクロRNAの機械学習解析によるがん診断
3. 学会等名 PMEワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 ナノ空間制御による生体分子解析
3. 学会等名 SCE2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 ナノ空間制御による尿を使った肺がん診断法の創出
3. 学会等名 第4回四国オープンイノベーションワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 医療応用を志向したナノデバイスの創製
3. 学会等名 東北大学セミナー (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 ナノデバイスによる尿中の細胞外小胞体の分離手法開発とmicroRNA解析
3. 学会等名 「体液中マイクロRNA測定技術基盤開発」第7回ユーザーフォーラム報告会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 ナノワイヤのバイオ・医療応用
3. 学会等名 第65回応用物理学会春季学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 ナノ空間制御とバイオ分析法
3. 学会等名 SCE2017（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 安井隆雄
2. 発表標題 ナノ構造特有の新規分離・検出原理発見と高性能生体分子解析
3. 学会等名 日本分析化学会第66年会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 T. Yasui
2. 発表標題 Oxide nanowires for bio-applications from molecular to cellular levels
3. 学会等名 ICAPMA2017（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

## 〔図書〕 計4件

1. 著者名 安井隆雄, 馬場嘉信	4. 発行年 2018年
2. 出版社 株式会社蔭書房	5. 総ページ数 5
3. 書名 尿中マイクロRNAから「がん」を特定	

1. 著者名 安井隆雄	4. 発行年 2018年
2. 出版社 新東工業株式会社	5. 総ページ数 2
3. 書名 酸化ナノワイヤを用いた非侵襲がん診断技術の創製	

1. 著者名 安井隆雄	4. 発行年 2018年
2. 出版社 加工技術研究会	5. 総ページ数 5
3. 書名 尿1mL中のマイクロRNAから、がんの有無特定	

1. 著者名 Takao Yasui	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Converting Technical Institute	5. 総ページ数 6
3. 書名 Using zinc oxide nanowires to identify cancer from microRNA found in 1 mL of urine	

## 〔出願〕 計8件

産業財産権の名称 分析用デバイス	発明者 安井隆雄, 馬場嘉信	権利者 名古屋大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-049067	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 デバイスの製造方法、および、デバイス	発明者 安井隆雄, 馬場嘉信, 池田宗和, 新井正雄	権利者 名古屋大学, 東 レエンジニアリ ング株式会社
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-048933	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 細胞外小胞体を捕捉するために用いられるデバイス	発明者 安井隆雄, 馬場嘉信, 古賀大尚	権利者 名古屋大学, 大 阪大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-36490	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 分析用デバイスの製造方法、分析方法、および、分析用デバイス	発明者 安井隆雄, 馬場嘉信	権利者 名古屋大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-36489	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 マイクロRNAを含む体液抽出物	発明者 安井隆雄, 馬場嘉信, 竹下大貴	権利者 名古屋大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-248924	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 サンプル中の元素の質量分析方法、該質量分析方法に用いる分析用デバイス、および、サ ンプル捕捉用キット	発明者 安井隆雄, 馬場嘉信, 青木元秀, 梅村知也	権利者 名古屋大学, 東 京薬科大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-210123	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 miRNAの抽出方法、および、miRNAの解析方法	発明者 安井隆雄, 馬場嘉信	権利者 名古屋大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-203527	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 細胞外小胞体分離用デバイス、および、細胞外小胞体分離用デバイスの作動方法	発明者 安井隆雄, 馬場嘉信	権利者 名古屋大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-169369	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

## 6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----