

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2010～2014

課題番号：22246031

研究課題名(和文) 生体高分子とMEMS加工の融合によるナノパターン自己創製技術

研究課題名(英文) Self positioning of nanowires by a combination of DNA and MEMS fabrication

研究代表者

初澤 毅 (Hatsuzawa, Takeshi)

東京工業大学・精密工学研究所・教授

研究者番号：70272721

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 36,900,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝情報物質であるDNAは、直径2nmの極小のナノメカ部品であり、自動整合・解離性など優れた特長を持っている。これを応用すると20nmと言われていた光学リソグラフィーの限界を超える次世代ナノ電子配線技術としての応用可能性が拓け、バイオチップ用センサや電子デバイス用ナノワイヤ等への産業応用が期待される。そこで本研究では、ナノ自動配線技術の基礎として、DNAを用いて実験的な検証を行い、所期の成果を得た。

研究成果の概要(英文)：The genetic information carrier – DNA has special features such as a base sequence pitch of 0.34nm, automatic base pairing, dissociation and many observation, which is attractive from the viewpoint of nano-mechanism assembling. Particularly, DNA has an application possibility for the nano-wiring technology in the next generation lithography. Therefore, 4 elemental technology has been experimentally examined to examine the feasibility of nano-wiring for the application of electronic circuits wiring. 1) Nano anchor formation by AFM lithography with a chemical modification and fixed technology, 2)* Nanowire plating by cisplatin as a catalyst, 3) Extension of DNA by dielectrophoresis and meniscus height control, and 4) Design and fabrication of electrodes for the DNA positioning and observation with fluorescent markers.

研究分野：知能機械学・機械システム

キーワード：マイクロ・ナノデバイス バイオMEMS DNA ナノワイヤ 位置決め

1. 研究開始当初の背景

ナノメカニズムの自動組立て技術は、ボトムアップ的な超精密加工・組立一体技術として注目されるとともに、電子デバイス、医療診断チップ、創薬・バイオサイエンス解析ツールなどのへの応用が期待されている。一般にナノレベルの部品を個別に取り扱うことは不可能であるので、材料や基板の物理的、化学的な性質を用いた自動組立てが行われる。中でも生体高分子は、それ自身がナノ材料あるいはナノマシンとして機能し、生体中で行われる複雑な物質生成・解体等が、周辺温度や化学物質濃度を制御することにより自動的に進行する特長を有する。生体高分子の中でも遺伝情報物質である DNA は、0.34nm の塩基配列ピッチ、自動整合・解離性、バイオテクノロジーによる塩基列の加工手法、各種観察・標識方法の充実といった特長を有するため、ナノメカニズムの自動組立て用材料として注目されている。特に DNA 自身の直径が 2nm であることと塩基の対合性を用いた自己認識位置決め機能は、20nm と言われていたリソグラフィーの限界を打ち破るナノ子配線技術としての応用可能性があり、バイオチップ用センサや電子デバイス用ナノワイヤ等への産業応用が期待された。

2. 研究の目的

本研究では上記背景を基に、以下の4項目の個別技術について、ナノワイヤ自己位置決め配線技術(図1)の基礎を実験的に検証することを目的とする。

- (1) DNA をシリコンやマイカ基板に固定するための基板表面処理、ナノパターン形成技術
- (2) 特定の場所に DNA を選択的に固定するとともに、2点間に DNA を橋渡し(ブリッジ)するために必要な DNA 塩基配列の設計製作および自動パターン生成技術
- (3) 枝分かれなどの高次構造を実現するための生体高分子との複合技術、粒子固定技術

(4) ナノデバイス用ワイヤとして用いるための DNA メッキ技術

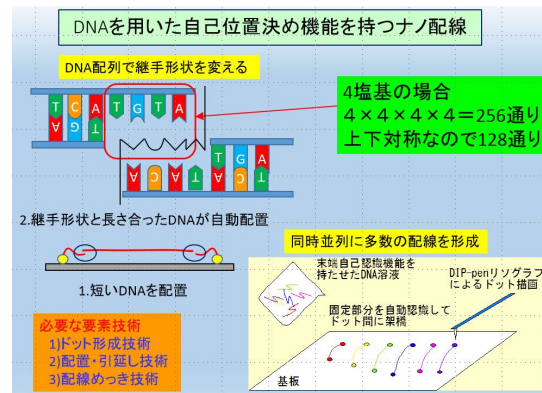


図1. 研究目的の概略図

3. 研究の方法

(1) 研究組織

MEMS からバイオに至る横断的な分野で有の出、下記の担当者、補助者によりそれぞれの専門性を生かしつつ研究を進めた。

柳田保子(准教授・東工大)

DNA 配列設計, 関連実験

西迫貴志(助教・東工大)H23年度まで

DNA 伸展技術の補助

朴鍾湻(助教・東工大)H25年度より

位置決め観察技術の補助

(2) 研究計画

各サブテーマごとに目標を設定し、以下の課題について取り組んだ。

【ナノアンカー形成技術】

DNA 断片を固定するため、シリコン基板上に AFM リソグラフィーを用いて数十 nm 程度のナノアンカーを形成する。

【DNA の伸長・固定技術】

アンカーに固定した DNA を一方向に伸長するため、重力、メニスカス力などを応用した計を構築する。

【めっき技術】

DNA に導電性を持たせるため、固定後に基板上で選択的にめっきを行う。

【観察確認技術】

配置した DNA が所定の位置に固定されているかどうかを蛍光標識等により確認する。

4. 研究成果

各設定テーマごとの成果を以下に示す。

【ナノアンカー形成技術】

基板上に固定する短いアンカーDNAは、化学的な結合を用いて所定位置に配置するため、あらかじめナノアンカーを形成する。このため AFM を用いて通電し、局所の酸化により突起状のアンカーを形成するが、従来、基板上に様に多数のアンカーを成長させることが難しかった。そこで AFM 探針を振動させながら酸化する方法を試みると(図2)、安定して 100nm 程度のナノアンカーを形成することが出来た。これは振動により局所の化学反応が効率的に進むためと考えられる。

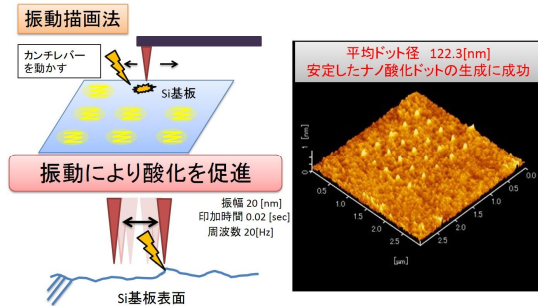


図2. 振動描画によるナノアンカー形成

【DNAの伸長・固定技術】

上記ナノリソグラフィーで形成したアンカーに化学的な就職を施し、長鎖DNAをナノワイヤとして直線的に配置する試みを行った。はじめにDNA溶液をアンカー上に滴下し、その乾燥メニスカスを応用したところ図3のような架橋構造が観察され、この手法の有効性が確認された。しかし液滴の形状に沿って同心円状に伸長されるので、一方向にのみ伸長可能な方法を検討した。

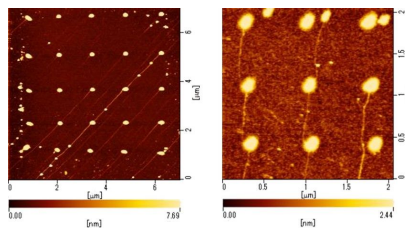


図3. 液滴メニスカスを用いたDNA伸長結果

そこでメニスカスおよび誘電泳動を用いて一方向に伸ばす手法として、図4のような基板に交流電界を掛けながらDNA溶液面を下げる実験系を構築して確認のところ、アンカー部が一方向にのみ伸長する様子が確認できた。

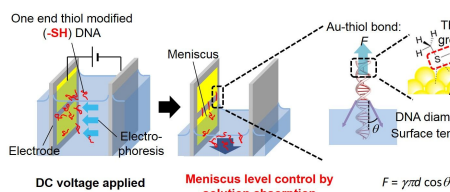


図4. 誘電泳動とメニスカス引下げを用いたDNAナノワイヤ伸長系

【めっき技術】

DNAのめっき技術には各種の方法が提案されているが、ここでは銀橋反応を用いためっきを試みた。めっき反応を促進するため、触媒として白金ベースの抗がん剤(シスプラチン)をDNA鎖内に装填した。この際、DNAの位置決め前と位置決め後では装填率が異なったため実験的に検討を行い、事前に作用させる方法が優れることを確認した(図5)。

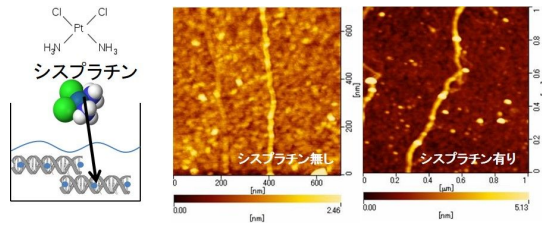


図5. シスプラチンの有無によるDNAの銀メッキの様子。

【観察確認技術】

DNAナノワイヤが所定の位置に固定されているかを確認するため、蛍光標識により標識を行った。観察の便宜のためあらかじめ電極形状について電界分布のシミュレーションを行い、鋭角の電極を対向させた配置を用いて、DNAを電極間に集中させる観察系を設計した。次にYoYo-1などの装填型蛍光標識を用いて実験的に確認を行った。

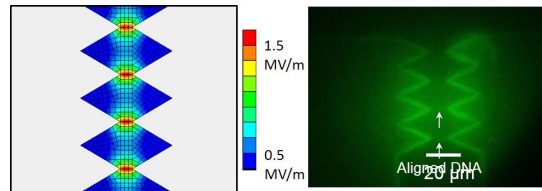


図6. 電極の電界シミュレーションと蛍光標識による観察の様子。

本研究の最終段階として、断端形状の異なるDNAを選択的に位置決めする実験を行い、共通の一本鎖アンカーに対して、異なる断端を持つ断片を対合させて、2種類のDNA継手(カブラ)を準備した。このアンカーに対して2種類のDNAナノワイヤ(長鎖)を準備し、それぞれ異なる蛍光標識を施した。両者を混合してアンカーに滴下後観察すると、それぞれが所定の場所を選択固定されている様子が観察された(図7)。

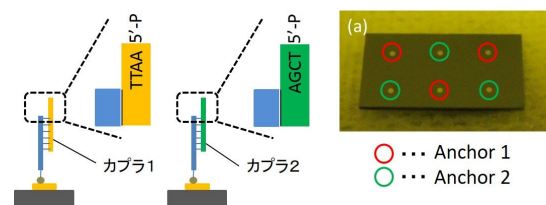


図7. 2種類のカブラの構築法と蛍光標識を用いた位置決め確認の様子。

【成果のまとめ】

DNA の断端自己認識機能をナノワイヤ自動配線技術として応用するため、以下の要素技術の開発を行った。

- ・AFM リソグラフィと化学的修飾を用いたナノアンカー形成・固定技術
- ・シスプラチンを触媒として用いためっき技術と高効率化
- ・誘電泳動とメニスカス高さ制御による DNA の一方向への伸長固定
- ・観察用電極形状の設計と蛍光標識による DNA ナノワイヤの位置決め検証技術

今後はこれらを統合し、DNA ナノワイヤ配置技術としてさらに発展させていきたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

- 1)精密工学を応用したバイオデバイス製作, 初澤, 柳田, 精密工学会誌, 80(4), pp.365-368(2014)【査読無し】
- 2)メカとバイオの混成チームで新分野に挑戦, 初澤, 精密工学会誌, 78(4), pp.305-306(2012)【査読無し】

[学会発表](計13件)

・国際会議(3件)

- 1) Application of DNA base-sequence identification function for nano-mechanism fabrication, Color and Physiological Optica, T.Hatsuzawa, 2013.3.1, Suzukakedai(Japan)
 - 2)DNA Nanowire Alignment Device Using Meniscus Level Control, J.Hatayama, Y.Yanagida and T.Hatsuzawa, ASPEN 2013, 112/1296, p.124, 2013.11.14, Taipei(Taiwan)
 - 3) Nanowire Fabrication by DNA Metallization and Positioning: H.W.Guan, S.C.Liu, Y.Yanagida and T.Hatsuzawa, ICPE2012, B10, pp.604-609, 2012.11.8, Awajishima(Japan)
- ・国内学会(10件)
- 4) 一分子DNAの伸長固定のためのマイクロナノデバイスの製作, 竹山, 朴, 柳田, 初澤, 日本化学会第95春季年会, 2PB-084, 2015.3.27, 東洋大(東京都)
 - 5) エピジェネティクス解析のためのマイクロナノ流体デバイス(第1報), 竹山, 朴, 柳田, 初澤, 2015年度精密工学会春季大

会学術講演会論文集, L61, 2015.3.19, 東洋大(東京都)

- 6) 金-チオール結合を用いた DNA の選択的位置決め手法の研究, 大野, 西迫, 初澤, 2014年度精密工学会秋季大会学術講演会論文集, B48, 2014.9.17, 鳥取大(鳥取市)
- 7) フォトニック結晶を用いたDNA蛍光測定チップの製作プロセスの簡易化, 柳澤, 朴, 柳田, 初澤, 2014年度精密工学会秋季大会学術講演会論文集, B47, 2014.9.17, 鳥取大(鳥取市)
- 8) フォトニック結晶を用いたDNA蛍光測定チップの製作プロセスの簡易化, 柳澤, 朴, 柳田, 初澤, 2014年度精密工学会秋季大会学術講演会論文集, B47, 2014.9.17, 鳥取大(鳥取市)
- 9) メニスカスを利用したDNAナノワイヤ整列装置(第2報), 畑山, 柳田, 初澤, 2013年度精密工学会秋季大会学術講演会論文集, P19, 2013.9.12, 関西大(吹田市)
- 10) メニスカスを利用したDNAナノワイヤ整列装置, 畑山, 柳田, 初澤, 2013年度精密工学会春季大会学術講演会論文集, E43, 2013.3.14, 東工大(東京都)
- 11) ナノ配線ためのアンカーとDNAの製作, 関, 柳田, 初澤, 2012年度精密工学会秋季大会学術講演会論文集, M02, 2012.9.14, 九州工大(北九州市)
- 12) DNA ナノワイヤの整列とメッキ技術, 劉, 柳田, 初澤, 2011年度精密工学会秋季大会学術講演会論文集, H68, 2011.9.22, 金沢大(金沢市)
- 13) DNA によるナノ電子配線の形成(第一報)アンカー部分製作, 前田, 遠藤, 柳田, 初澤, 2010年度精密工学会春季大会学術講演会論文集, J04, 2010.9.27, 名古屋大(名古屋市)

[図書](計1件)

[産業財産権]
出願状況(計1件)

名称: 光測定装置
発明者: 柳田保子, 今井泰徳, 初澤 毅, 遠藤達郎
権利者: 東京工業大学
種類: 特願
番号: 2012-022437
出願年月日: 2012/2/4
国内外の別: 国内

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pme.pi.titech.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

初澤 毅 (HATSUZAWA Takeshi)
東京工業大学・精密工学研究所・教授
研究者番号：70272721

(2) 研究分担者

柳田 保子 (YANAGIDA Yasuko)
東京工業大学・精密工学研究所・准教授
研究者番号：10282849