

平成30年6月25日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2016～2017

課題番号：16H05973

研究課題名(和文)2次元原子薄膜上の自己集合ペプチドと脂質二重膜によるイオン制御

研究課題名(英文)Control of Ions by planer lipid layer on the interface of 2D nanomaterials and self-assembled peptides

研究代表者

早水 裕平 (Hayamizu, Yuhei)

東京工業大学・物質理工学院・准教授

研究者番号：80443216

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 20,300,000円

研究成果の概要(和文)：原子薄膜を生体分子で修飾した新しいセンサ界面の構築を目指した本研究では、ペプチドだけでなく脂質がMoS₂原子薄膜の電子状態にどのような影響を与えるのかについての基礎情報を得ることに成功した。特に、MoS₂がその界面における電気化学的なイオンの状態に敏感に反応し、その電子状態を変調させることがわかった。その変調は、表面の自己組織化ペプチドによっても変化することがわかり、ペプチドによる界面設計の可能性が示された。

今後は、より実用的なセンシングを可能にするため、形成する平面脂質膜をより多様な組成で形成する。その脂質膜に他の生体分子を修飾し、さらなる機能を付加するなどの工夫が必要と考える。

研究成果の概要(英文)：The aim of this work was to establish a sensing interface consisting of 2-dimensional nanomaterials and biomolecules. We have formed a new type of interface using self-assembled peptides on MoS₂ (2D nanomaterial) and have succeeded to obtain fundamental information about its physical properties by using optical and electrical measurements. The properties of MoS₂ is sensitive to the condition of interface such as ion concentration, pH, and species of ions. It is also modified by the self-assembled peptides. These results open a new door for an establishment of bio-nano interface based on designed peptide toward more functional bio-active interface.

研究分野：バイオ・ナノ界面

キーワード：ペプチド 原子薄膜 バイオセンサ 平面脂質膜 二硫化モリブデン

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

グラフェンや二硫化モリブデン (MoS_2) に代表される近年の二次元原子薄膜の研究は、基礎物理やエレクトロニクスの観点から世界的に著しい進捗を見せている。ひとつの方向性としては、二次元原子薄膜の表面を有機分子等で修飾することによるハイブリッドシステムの構築があった。さらに、有機分子に加えて、生体分子を修飾したバイオセンサの開発も行われてきた。グラフェンを用いたバイオセンサは安定した動作と高感度を実現している。最近では二次元金属カルコゲン系の MoS_2 などの半導体二次元原子薄膜を用いたバイオセンサが、グラフェンの74倍もの感度を実現している。一方で、二次元材料のもう一つの利点は、その表面の高い平坦性である。古くからグラファイトや MoS_2 などの層状物質は有機分子の表面自己組織化を研究する基板として多く用いられてきた。この清浄で平坦な表面を精緻に設計された多種多数の生体分子が自己集合する場として使用し、同時に原子薄膜をエレクトロニクス素材として使用すれば、分子スケールで制御された人工生体膜によって、実際の生体活動をより模倣した選択性と高感度を有するバイオエレクトロニクス・デバイスの創出が期待される。

一方で、二次元原子薄膜表面における生体分子の自己組織化の研究も盛んになされてきた。申請者はこれまでの自身の研究を通して、米国の共同研究者とともに、グラファイト基板上で特異なナノ構造を形成する数種のペプチドを発見した[ACS Nano, 6 (2) 1648-1656 (2012)]。このペプチドはグラファイトに選択的に吸着するだけでなく、基板上で水平方向に数百 nm の長周期構造を形成し、一定の結晶方向に沿って整列する。申請者はこれらのペプチドを足がかりとして、近年注目を集めている種々の単層の二次元層状物質表面で自己集合構造を形成するペプチドの開発に成功した。同時に、ペプチドによる原子薄膜の電子特性変化についても理解が進み、ペプチドによってグラフェンの正の電荷である正孔濃度が増加する化学ドーピングの効果が発見された。

2. 研究の目的

体内の細胞膜では生体分子が多種多様な機能を持ち、細胞の活動を維持している。その中でも、イオンや電子の輸送は、生体現象の核となる細胞膜の最も重要な機能のひとつである。その機能を固体と生体材料の界面で人工的に再現することができれば、新たなバイオとエレクトロニクス間のコミュニケーション手段ができると考えられる。本研究では、この細胞膜の機能を模倣した人工的な界面を、グラフェンや二硫化モリブデンといった二次元原子薄膜上にペプチドや脂質分子などの生体分子の自己集合に

よって形成する技術を開発する。この人工膜の特性や機能は、原子薄膜の光および電子特性を顕微分光測定および電界効果型トランジスタの伝導特性を評価することにより行う。具体的には、二次元原子薄膜表面に脂質二重膜を形成する手段として自己組織化ペプチドを用いる。また、ペプチドや脂質膜の自己組織化に伴い、原子薄膜の電子状態の変化を上述の物性計測によって理解する。最終的には、原子薄膜近傍の電解質イオンの挙動を原子薄膜の電子特性変化から捉えられる系を開発する。

3. 研究の方法

これまでの研究では、自己集合ペプチドが原子薄膜の表面に形成された後、乾燥した環境で電子状態を評価してきた。これに対し、バイオセンサにおける液中の二次元原子薄膜を考えた場合、固液界面の原子薄膜の電子状態と吸着する生体分子による電子状態の詳細は、いまだに理解されていない。さらに、平面内の生体分子の空間的な分布による原子薄膜内の電子状態の変化も液中で検証する必要がある。これらの技術的な問題を克服して初めて、上記の人工生体膜を用いたバイオセンサが形成可能となる。

上記の研究目的を達成するために、本研究では、ペプチド-脂質膜複合システムの構築、脂質膜中のイオンチャンネルを介したイオン伝導の計測、の2つの大きなテーマに分けて研究を遂行する。では、いかにペプチドの自己集合膜を均一に形成するか、またその膜上にいかに脂質二重膜を均一に形成するか、について研究を行なう。上記テーマはイオンチャンネルを介したイオン伝導の観察において、イオンの脂質膜におけるリークを防ぐために不可欠な技術課題である。では、光学測定と電気測定を組み合わせ、イオン伝導の空間的な情報(光学イメージング)とイオン濃度等の定量的な情報(電気測定)を統合的に獲得する技術を開発する。これにモデル計算を併せて行い、全体の機構をより多方面から検証する。

4. 研究成果

(1) 自己集合ペプチドの空間制御: 脂質膜を支持するためのペプチドを空間的な均一に整列させるためには、自己集合させる環境条件を整える必要がある。ペプチドは二次元原子薄膜にファンデルワールス力や電子相互作用などの非共有結合性の相互作用によって吸着しているが、同時に水素結合などのペプチド間の相互作用も制御する必要がある。これらをアミノ酸配列によって系統的に制御するため、絹糸に含まれるタンパク質のアミノ酸配列を模倣した人工的に配列を設計した。このペプチドはシート型の自己集合構造を形成することが

期待され、実際に MoS₂ 表面で規則正しい構造へと自己組織化することがわかった。このペプチドは、アミノ酸配列の長さを制御することにより、シートを形成するペプチド間の水素結合数を制御し、その相互作用を自由に設計することができると考えられる。アミノ酸数が 8 から 12 までの関連のペプチドを設計したところ、すべてのペプチドが自己組織化構造体を形成することがわかった。また、アミノ酸数の多いペプチドの方がより低濃度でも自己組織化することがわかった。これらのペプチド自己集合構造体の評価は原子間力顕微鏡で行なった。

(2) 自己集合ペプチドの安定性制御：足場となるペプチド構造体の安定性は固定される脂質二重膜の流動性を制御することに繋がる。個々のペプチドは、原子薄膜に非共有結合性の相互作用によって吸着しているので、液中においては一定の割合で絶えず吸着脱離を繰り返し平衡状態を保つ。前節の絹糸由来のペプチドは、一度自己組織化構造を形成すると、その後純水や電解水などで洗浄してもペプチドが表面から脱離しないことがわかった。強い水素結合によってペプチド間が強固に結合しているため自己組織化ペプチドが安定な分子薄膜を形成しているためであると考えられる。

(3) 脂質二重膜の固定に必要なペプチドおよび脂質の選定：上記の絹糸由来のペプチドの両端に電荷を有するアミノ酸を導入することによって脂質膜がより相互作用しやすい界面を形成することに成功した。より具体的には、正の電荷を有するアミノ酸を導入したところ、脂質膜の自己組織化率が向上した。脂質膜は、既存のラプチャー法を用いてリポソームからペプチド自己組織化膜上に直接、脂質平面膜を形成した。

(4) 2次元ナノ空間におけるイオン伝導観測（光学測定）：原子薄膜と溶液の界面におけるイオンによる原子薄膜の電子物性変化を最も簡便に観測する方法は光学測定である。油浸レンズを用いた MoS₂ の高空間分解発光イメージングと分光を行った。測定に用いた MoS₂ は電気化学セル内に固定され、MoS₂ と溶液に含浸されている白金電極の間に電圧を印加することにより MoS₂ 界面のイオンを人工的に増減させることによって、MoS₂ の電子状態がどう変化するかを観測した。MoS₂ からの発光スペクトルを観測することにより、イオンによって MoS₂ 内の電子状態が受ける変調を励起子や荷電励起子などの発光ピークから検証した。

測定結果から、まず MoS₂ が電解質の pH によってその発光強度を変化させることがわかった。さらに、印加する電圧に従って発光強度が増減し、その閾値電圧が pH によって変化することも発見した。

次に、表面をペプチド自己組織化膜で修飾した後に、同様の実験を行ったところ、やはり閾値電圧が変化することがわかった。

pH だけでなく、電解質に用いるイオン種を Ca, Na, K などに変化させて実験を行ったところ、イオン種によっても発光共同の変化があることがわかった。

発光スペクトル測定からは、発光強度の変化は、自由励起子、荷電励起子にかかわらず全ての発光ピークが同様に界面環境の変化に伴って発光強度が変化していることがわかった。

(5) MoS₂ の電気化学的電界効果型トランジスタ（電気測定）：将来のバイオセンサ応用を考える際、勘弁かつ迅速な検出手段である電気伝導によるセンシングは不可欠である。そのため、原子薄膜の電気化学的電界効果型トランジスタ構造を形成した。これは、液中に白金参照電極を挿入し、原子薄膜に電圧を印加することによって、原子薄膜内の電子濃度を変調し、デバイスのスイッチングを行うものである。ペプチドの吸着によって、MoS₂ のゲート応答における閾値電圧が変化し、MoS₂ 内の電子濃度が増加することを観測した。同様に、pH やイオン濃度の変化によっても、しきい値電圧が変化することも観測に成功した。

ペプチド自己組織化膜の吸着によって閾値電圧が変化はするが、一方でトランジスタ移動度が低下しないことがわかった。これはセンサとしての能力が表面修飾によって低減しないことを示す。さらに脂質二重膜をペプチド自己組織化膜表面に形成したところ、やはりトランジスタ特性に変化が見られたが、やはりしきい値電圧の変化は見られるものの、移動度は変化しないことがわかった。

(結論)

原子薄膜を生体分子で修飾した新しいセンサ界面の構築を目指した本研究では、ペプチドだけでなく脂質が MoS₂ 原子薄膜の電子状態にどのような影響を与えるのかについての基礎情報を得ることに成功した。特に、MoS₂ がその界面における電気化学的なイオンの状態に敏感に反応し、その電子状態を変調させることがわかった。

今後は、より実用的なセンシングを可能にするため、形成する平面脂質膜をより多様な組成で形成する、またその脂質膜に他の生体分子を修飾することによってさらなる機能を付加するなどの工夫が必要と考える。

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4件)

1. T. Seki, C. R. So, T. R. Page, D. Starkebaum, Y. Hayamizu, and M. Sarikaya, "Electrochemical Control of

- Peptide Self-Organization on Atomically Flat Solid Surfaces: A Case Study with Graphite.” *Langmuir* 34(5), 1819-1826 (2018) 査読有り
2. H. Masujima, T. Mori, and **Y. Hayamizu**, “Conductivity Modifications of Graphene by Electron Donative Organic Molecules” *J. Electron. Mater.*, 46(7), 4463-4467 (2017) 査読有り
 3. L. Sun, T. Narimatsu, S. Tsuchiya, T. Tanaka, P. Li, **Y. Hayamizu**, “Water stability of self-assembled peptide nanostructures for sequential formation of two-dimensional interstitial patterns on layered materials” *RSC Adv.*, 6, 96889-96897 (2016) 査読有り
 4. **Y. Hayamizu**, C. R. So, S. Dag, T. S. Page, D. Starkebaum, M. Sarikaya, “Bioelectronic interfaces by spontaneously organized peptides on 2D atomic single layer materials” *Sci. Rep.* 6, 33778; doi:10.1038/srep33778 (2016). 査読有り

〔学会発表〕（計 11 件）

1. 2017/12/21 Peiyang Li, Linhao Sun, **Yuhei Hayamizu** “Exploration of fluorescent-tagged peptides diffusing on boron nitride by single molecular imaging” The First International Workshop by the 174th Committee JSPS on Symbiosis of Biology and Nanodevices
2. 2017/11/21 Peiyang Li, Linhao Sun, **Yuhei Hayamizu** “Exploration of fluorescent-tagged peptides diffusing on boron nitride by single molecular imaging” 5th International Research Conference, RIKEN Centennial Anniversary & Surface and Interface Spectroscopy
3. 2017/9/6 野口紘長 谷津一希 関貴一 **早水裕平** 「自己組織化ペプチドを介して形成されるグラフェン上の脂質二重膜」第 78 回応用物理学会秋季学術講演会
4. 2017/09/07 手塚沙也可 関貴一 **早水裕平** 「ペプチド修飾 MoS₂センサーを用いた乳酸菌の活動観察」第 78 回応用物理学会秋季学術講演会
5. 2017/09/07 谷津一希 関貴一 **早水裕平** 「多層 MoS₂ トランジスタを用いたペプチド自己組織化膜の電解質水溶液中での電気応答観察」第 78 回応用物理学会秋季学術講演会
6. 2017/09/08 関貴一 **早水裕平** 「半導体ナノシート電気化学トランジスタの発光観察によるペプチド薄膜のイオン応答性評価」第 78 回応用物理学会秋

季学術講演会

7. 2017/08/19 **早水裕平** 「2次元ナノシート表面に"整列"するペプチドを開発 タンパク質がグラフェンのエレクトロニクスを制御する」2017年真空・表面科学合同講演会、招待講演
8. 2017/05/23 成松拓馬 **早水裕平** 「自己組織化ペプチド薄膜のプロトン伝導」化学とナノ・マイクロシステム学会第 35 回研究会
9. 2017/03/16 成松拓馬 **早水裕平** 「proton conductivity in a thin film of self-assembled peptides」第 64 回応用物理学会春季学術講演会
10. 2016/08/15 Peiyang Li, Linhao Sun, **Yuhei Hayamizu** “Observation of Fluorescent-Tagged Peptides Diffusing on Boron Nitride in Real-time” 2016 International Materials Research Congress
11. 2016/03/30 Peiyang Li, Linhao Sun, **Yuhei Hayamizu** “In-Situ Observation of Fluorescent-Tagged Peptides Diffusing on Boron Nitride by Single Molecule Tracking” 2016 MRS Spring Meeting & Exhibit

6. 研究組織

(1) 研究代表者

早水 裕平 (HAYAMIZU, Yuhei)
東京工業大学・物質理工学院・准教授
研究者番号：80443216