

平成30年6月4日現在

機関番号：24403

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K13653

研究課題名(和文)3Dナノ空間新規ケージ効果の解明と液相におけるナノ粒子のアレイ化

研究課題名(英文)Elucidation of the 3D nanospace cage effect and arraying of nanoparticles in liquid phase

研究代表者

許岩(Xu, Yan)

大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：90593898

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、研究代表者が発見した開放的3Dナノ空間に存在する新規ケージ効果(=3Dナノ空間ケージ効果)を、空間内にトラップされたナノ粒子のダイナミック挙動及び空間壁面との相互作用の解析により解明した。さらに、この新規ケージ効果に基づいて液相中ナノ粒子の高秩序化させるナノ流体やナノ空間構造などの条件を独創的な実験系で明らかにした。これにより、液相中ナノ粒子の1粒子精度、長時間安定なアレイ化に取り組んだ。本研究の成果は、ナノ粒子の時空的精密制御に役に立ち、ナノ粒子とその特性を利用する分析化学、光デバイス、エネルギーやバイオ、医療などの幅広い科学分野へ波及効果は大きいと期待される。

研究成果の概要(英文)：A new cage effect existing in an open 3D nanospace was previously observed by us. We named this new cage effect as 3D nanospace cage effect. In this study, to elucidate the mechanism of the effect, the dynamic behaviors of single nanoparticles trapped in 3D open nanospaces within nanochannels were investigated, and the interactions between the trapped nanoparticles and the surface walls of the open nanospaces were clarified. Furthermore, to achieve single nanoparticle arrays in the liquid phase based on the elucidated mechanism, the optimal trapping conditions associated with nanofluids and nanospace structures were clarified by using our original experimental system. These results are very useful to achieve spatiotemporal precision control of nanoparticles in liquid phase, which will significantly improve the performances of a variety of applications utilizing nanoparticles in the fields of analytical chemistry, optical devices, energy, bioengineering and medicine.

研究分野：ナノ化学システム

キーワード：ナノ流体デバイス 3Dナノ空間ケージ効果 ナノ粒子 アレイ化 Nano-in-Nano集積化 ナノ流路

### 1. 研究開始当初の背景

ナノ粒子は、様々な物理的、化学的特性を示すため、幅広い分野で研究利用が盛んに進められている。しかしながら、時空間的にナノ粒子を精密制御することがナノ粒子の特性の最大限発揮と新規機能の発見を左右する重要な課題となっている。特に、液相においてナノ粒子を利用する機会が極めて多いが、ナノ粒子が活発なブラウン運動を行うため、液相におけるナノ粒子の時空制御は極めて難しい。

この一方で、研究代表者はガラスナノ流体チップ内に作製した Nano-in-Nano 構造 (\*Xu Y., *Lab Chip*, 2015, 15, 1989) とナノ流体の特徴 (\*Xu Y., *Adv. Mater.*, 2018; Xu Y., *Anal. Bioanal. Chem.*, 2012, 402, 99) を利用することで、液相においてナノ粒子のトラップを迅速かつ1粒子精度で実現した (\*Xu Y., *Proc. MicroTAS*, 2015, 1556)。この研究で用いた Nano-in-Nano 構造は、配列させたナノ流路内に更にナノウェルのアレイを高密度に配置した構造からなる。

研究代表者は、この Nano-in-Nano 構造にあるナノウェルが開放的 3D ナノ空間 (高さ、幅、長さが全部ナノ領域) であるにもかかわらず、ナノ粒子が一旦その内にトラップされると、その開放的空間内に制限される現象を発見することに成功した。原子及び分子レベルではケージ効果 (cage effect) が存在することはすでに知られているが、この発見は孤立した単一分子から凝集相へ過渡的サイズ領域でもケージ効果が存在することが示唆された。研究代表者はこの新規ケージ効果を 3D ナノ空間ケージ効果と命名した。研究代表者はこの新規ケージ効果が開放的 3D ナノ空間の表面効果の重ね合せとナノ粒子の相互作用により生じた現象ではないかと考える。そのメカニズムの解明には更なる研究が必要である。

### 2. 研究の目的

本研究では、研究代表者が発見した開放的 3D ナノ空間に存在する新規ケージ効果 (= 3D ナノ空間ケージ効果) を、空間内にトラップされたナノ粒子のダイナミック挙動及び空間壁面との相互作用の解析により解明する。さらに、この新規ケージ効果に基づいて液相中ナノ粒子の高秩序化させるナノ流体やナノ空間構造などの条件を独創的な実験系で明らかにする。これにより、液相中ナノ粒子の1粒子精度、長時間安定なアレイ化を実現させることを目指している。

### 3. 研究の方法

図1に本研究の基本実験手法を示す。ナノ流体チップ (図1) は、Nano-in-Nano 構造を有する。具体的には、真ん中に配列した複数のナノ流路が左右にある2本のマイクロ流路に架橋した構造となる。各ナノ流路には、たくさんのナノウェル、即ち、開放的 3D ナ

ノ空間のアレイが配列される (nano-in-nano アレイ)。図1に示す通り、マイクロ流路を通じて蛍光ナノ粒子の溶液をナノ流路に導入することにより、ナノ粒子を開放的 3D ナノ空間にトラップまたはアレイ化させた。また、流体導入などの操作に関して、圧力コントローラを用いて、空気圧によってナノ粒子溶液をナノ流体チップに導入した。

粒子の挙動は、正立蛍光顕微鏡に取り付けられた EM-CCD カメラを用いて、高倍率・長作動対物レンズにより、リアルタイムで観察、撮影、録画した。本研究で用いた EM-CCD カメラは、高速に極微弱光領域の現象を超高感度で捉えることができる。この EM-CCD カメラを用いて、各ピクセルの輝度変化からナノ粒子の位置と運動の速さをリアルタイムで定量的に特定、解析できる高感度ハイスピード蛍光イメージング手法の確立に取り組んだ。この高感度ハイスピード蛍光イメージング手法を用いてナノ粒子の運動軌道空間分布確率を可視化した (図2)。

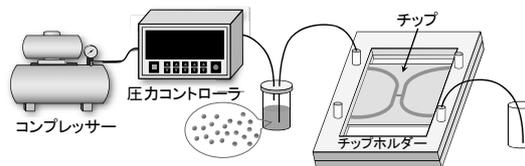


図1.

### 基本実験手法と実験セットアップ

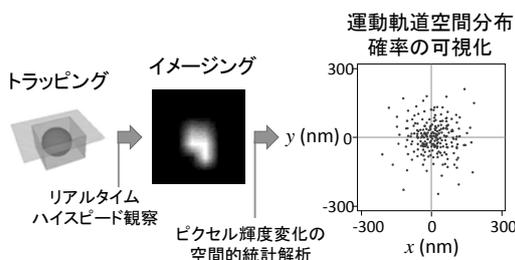


図2. 3D ナノ空間内ナノ粒子のダイナミック挙動解析

### 4. 研究成果

#### ① 3D ナノ空間ケージ効果の解明

本研究の基礎となる開放的 3D ナノ空間ケージ効果の解明に重点的に取り組んだ。具体的には、3D ナノ空間におけるナノ粒子の運動を追跡できる提案として高感度ハイスピード蛍光イメージング手法 (図2) を確立した。この手法はナノ粒子のダイナミック挙動の観察・解析に非常に適合する。この手法を用いて、ナノ粒子、3D ナノ空間及び分散相の様々な因子を調整しながら、3D ナノ空間内ナノ粒子のダイナミック挙動を解析した。

この解析を通じて、3D ナノ空間ケージ効果に関わる自由エネルギーによる保存力の効果や、粘度などの散逸的な効果及び Coulomb 的な効果を識別し、その支配度を初めて明らかにした。これにより、開放的 3D ナノ空間に存在する新規ケージ効果のメカニズム解明に近づき、過渡的ナノ空間の特異性原理の大きな発展にもつながったと言える

さらに、確立した高感度ハイスピード蛍光イメージング手法を用いて、環境温度と 3D ナノ空間内ナノ粒子のダイナミック挙動の関係を、実験と理論計算の両方により解析した。その結果、3D ナノ空間にブラウン運動の抑制効果が存在することがさらに確認でき、開放的 3D ナノ空間ケージ効果の原理解明にせまった。

#### ②液相におけるナノ粒子のアレイ化

3D ナノ空間ケージ効果の原理解明により明らかにしたナノ粒子長時間トラップの最適化ケージ効果条件を用いて、Nano-in-Nano 構造や、ナノ粒子及びナノ流体のパラメータの検討実験を行い、ナノウェルのナノ粒子トラップ率(=粒子ありナノウェル数/全ナノウェル数, %)の各種パラメータ依存性を実験で調べた。これにより、液相中ナノ粒子の1粒子精度、長時間安定なアレイ化の手法の創出に取り組んだ。

#### ③ナノ粒子によるナノ流路の詰まりの解消

しかしながら、実験中ナノ粒子によるナノ流路の詰まりが問題として見つかった。詰まりは粒子のアレイ化に影響すると考えられ、本研究の最終目標をより早く実現するため、上述の当初の計画を推進しながら、ナノ流路詰まりの解消にも取り組んだ。そこで、ナノ流路構造の最適化、ナノ流路の修飾、粒子がナノ流路に入る前の流線制御、詰まった後の粒子ブラウン運動の促進などの方法を提案して、流路詰まりの解消実験を行った。ナノ流路詰まりの解消はまだ完全に解決できていないものの、これらの試みにより、ナノ流路詰まりの解消の糸口を見出した。

以上により、提案した高感度ハイスピード蛍光イメージング手法を確立した上で、この手法を用いて 3D ナノ空間内にトラップされたナノ粒子のダイナミック挙動及び空間壁面との相互作用を解析することができた。これにより 3D ナノ空間ケージ効果に関わる各力学効果の支配度を明らかにすることができた。3D ナノ空間ケージ効果の解明は、量子サイズ効果からマクロな力学へと移行する過渡的空間の特異性原理を初めて 3D ナノ空間へと発展させる学術的意義がある。また、液相中ナノ粒子の1粒子精度、長時間安定なアレイ化の手法の創出は、ナノ粒子の時空的精密制御に役に立ち、ナノ粒子とその特性を利用する分析化学、触媒化学、光デバイス、

エネルギーやバイオ、医療などの幅広い科学分野へ波及効果は大きいと期待される。

#### 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 Yan Xu, Nanofluidics: a new arena for materials science, *Advanced Materials*, 査読有, 2018, 30, 1702419 (doi:10.1002/adma.201702419)
- ② Yan Xu, Bridging world-to-nanofluidics interfaces through nano-in-nano integration technology, *IEEE MHS*, 査読有, 2016, 16603900, 159-160 (doi:0.1109/MHS.2016.7824225)
- ③ 許岩, 1 兆分の 1 mL の水を自在に制御できる技術, *自動車技術*, 査読無, 2016, 70 (9), 122-123 [http://www.jsae.or.jp/e07pub/yearbook\\_e/2016/index.html](http://www.jsae.or.jp/e07pub/yearbook_e/2016/index.html)
- ④ Yan Xu, Wu Qian, Antifouling surface modification of nanochannels using a silanized phospholipid monomer, *Proceedings of Micro Total Analysis Systems*, 査読有, 2016, 1152-1153.

[学会発表] (計 26 件)

- ① Yan Xu, NanoBioChem integration at femtoliter, attoliter, and single-molecule scales through nanofluidics, *11th Shenzhen Symposium on Biomedical and Health Engineering(SSBHA)*, 2018 Jan., (Shenzhen, China) (招待講演)
- ② Yan Xu, Nanofluidics: a new arena for chemistry, biology, and materials science, *Invited Seminar of Shenzhen University*, 2018 Jan., (Shenzhen, China) (招待講演)
- ③ Yan Xu, NanoBioChem integration at femtoliter, attoliter, and single-molecule scales through nanofluidics, *Invited Seminar of Shanghai Jiao Tong University*, 2017 Dec., (Shanghai, China) (招待講演)
- ④ Yan Xu, Nanofluidics: a new arena for chemistry, biology, and materials science, *Invited Seminar of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine*, 2017 Dec., (Shanghai, China) (招待講演)
- ⑤ Hiroto Kawagishi, Suichi Kawamata, Yan Xu, Fabrication of hydrophilic/hydrophobic

- interfaces in nanochannels for molecular manipulation, *2017 SIAT-OPU Workshop on Nanofluidics and Biomedical Engineering*, 2017 Sep., (Shenzhen, China)
- ⑥ Yan Xu, NanoBioChem integration at femtoliter, attoliter, and single-molecule scales through nanofluidics, *Invited Seminar of Southern University of Science and Technology*, 2017 Sep., (Shenzhen, China) (招待講演)
- ⑦ Yan Xu, Nanofluidics: a new arena for chemistry, biology, and materials science, *2017 SIAT-OPU Workshop on Nanofluidics and Biomedical Engineering*, 2017 Sep., (Shenzhen, China) (基調講演)
- ⑧ Satoshi Nishioka, Yan Xu, Size separation of nanoparticles by using aifA, *2017 SIAT-OPU Workshop on Nanofluidics and Biomedical Engineering*, 2017 Sep., (Shenzhen, China)
- ⑨ Taichi Nakajima, Yan Xu, In-situ electrical measurements in 2D nanochannels, *2017 SIAT-OPU Workshop on Nanofluidics and Biomedical Engineering*, 2017 Sep., (Shenzhen, China)
- ⑩ Takato Fujimoto, Qian Wu, Yan Xu, Digital nanochannel technology for single molecule counting in a single cell, *2017 SIAT-OPU Workshop on Nanofluidics and Biomedical Engineering*, 2017 Sep., (Shenzhen, China)
- ⑪ Yan Xu, Nanofluidics for single-cell proteomics with single-molecule sensitivity, *The 7th International Multidisciplinary Conference on Optofluidics 2017 (IMCO 2017)*, 2017 July (Singapore) (招待講演)
- ⑫ 川岸啓人、山口晃司、川又修一、河村裕一、許岩、Nano-in-Nano 集積化による 1 分子液滴の作製、化学とマイクロ・ナノシステム学会第 35 回研究会、2017 年 5 月、(東京)
- ⑬ 藤本学都、呉情、許岩、デジタルナノチャンネルを用いた細胞死に関わるタンパク質の 1 分子検出、第 77 回分析化学討論会、2017 年 5 月、(京都)
- ⑭ 中嶋太一、許岩、ナノ流路 in-situ での電氣的な温度測定・制御、第 77 回分析化学討論会、2017 年 5 月、(京都)
- ⑮ 許岩、超微量流体を制御する Nano-in-Nano 集積化技術を駆使したナノ化学システム、*JST オープンイノベーションフェア WEST2017 ～関西発 大学技術シーズ見本市～*、2017/2/22-2/23、ブリーゼプラザ (大阪府大阪市北区) (依頼講演)
- ⑯ 許岩、究極化学に向けた極微量フロー制御と計測、第 106 回テクノラボツアー・最新『フロー合成プロセス技術』の紹介、2017 年 5 月、(大阪) (依頼講演)
- ⑰ 許岩、極微量流体を制御する Nano-in-Nano 集積化技術を駆使したナノ化学システム、第 107 回テクノラボツアー:『夢を実現する工学-化学工学分野の最先端研究』、2017 年 7 月、(大阪) (依頼講演)
- ⑱ Yan Xu, Beyond the Bare Nanochannels: Exploring the Possibilities of Nanofluidics through Nano-in-Nano Integration, *State Key Laboratory of Analog and Mixed-Signal VLSI (AMSV) Distinguished Lecture*, 2016/12/28, Macau University (Macau, China) (招待講演)
- ⑲ Yan Xu, Femtoliter-Scale Nanofluidic Analysis Enabled by Nano-in-Nano Integration Technology, *3rd Asian Symposium for Analytical Sciences (3rd ASAS)*, 2016/9/14, 北海道大学工学部(北海道札幌市) (招待講演)
- ⑳ Yan Xu, Nanobio interfaces innovation enables nanofluidics: general methodology, critical techniques, and nanobio applications, *Invited Seminar of Sichuan University*, 2016/7/22, (Chengdu, China) (招待講演)
- 21 許岩、Nano-in-Nano 集積化技術を駆使したナノ化学システムの開発、化学工学会 関西支部 第 4 回技術シーズフォーラム、2016/10/7、同志社大学室町キャンパス(京都府京都市) (依頼講演)
- 22 島谷雄士、許岩、Nano-in-Nano 集積化技術を用いたナノ粒子のアレイ化、日本分析化学会第 65 年会、2016/9/14-9/16、北海道大学工学部 (北海道札幌市)
- 23 Yan Xu, Bridging World-to-Nanofluidics Interfaces through Nano-in-Nano Integration Technology, *27th 2016 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (From Micro & Nano Scale Systems to Robotics & Mechatronics Systems) (MHS2016)*, 2016/11/28-11/30, 名古屋大学野依記念学術交流館 (愛知県名

古屋市) (基調講演)

- 24 Yan Xu、 Qian Wu、 Antifouling surface Modification of Nanochannels Using a Silanized Phospholipid Monomer、 *The 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2016)*、 2016/10/9-10/13、 Convention Center Dublin (Dublin, Ireland)
- 25 Shimatani Yuji、 Yan Xu、 Fabrication of nanoparticle arrays by using nano-in-nano integration technology、 *RSC Tokyo International Conference 2016*、 2016/9/8-9/9、 Makuhari-Messe (Chiba, Japan)
- 26 Yan Xu、 Fabrication of smart biointerfaces in nanochannels with a thiolated temperature-responsive polymer、 *10th World Biomaterials Congress (WBC2016)*、 2016/5/17-5/22、 Montreal Convention Center (Montreal, Canada)

[図書] (計 2 件)

- ① 許岩、講談社サイエンティフィック、1細胞内環境の特徴を有するナノチャネルを用いた細胞死に関わる生体分子の1分子計測、in「ナノメディシンの分子科学」、in press
- ② Yan Xu、 Madoka Takai、 Kazuhiko Ishihara、 Elsevier、 Functional Coatings for Lab-on-a-Chip Systems Based on Phospholipid Polymers、 in 'Handbook of Modern Coating Technologies. Future Perspectives and Advanced Applications, Volume 5'、 in press

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：粒子捕捉装置及び粒子捕捉方法

発明者：許岩

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2017-098247

出願年月日：2017年5月17日

国内外の別：国内

○取得状況 (計 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

大阪府立大学・許研究室 HP

<http://www.chemeng.osakafu-u.ac.jp/group8/index.html>

許研究室HPには本研究の最新の研究結果に関して随時発信しています。

6. 研究組織

(1)研究代表者

許 岩 (XU, Yan)

大阪府立大学大学院工学研究科・准教授

研究者番号：90593898

(4)研究協力者

島谷 雄士 (SHIMATANI, Yuji)

川端 利幸 (KAWABATA, Toshiyuki)

辻川 健寛 (TSUJIKAWA, Takehiro)