

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14018

研究課題名(和文) 分子探針を用いた電気伝導度計測によるグルコース単分子検出法の開発

研究課題名(英文) Single-molecule detection of glucose based on conductance measurements using molecular tips

研究代表者

西野 智昭 (Nishino, Tomoaki)

東京工業大学・理学院・准教授

研究者番号：80372415

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、分子探針を用いた走査型トンネル顕微鏡(STM)に立脚し、グルコースの単分子検出法を開発した。極めて簡便な単分子接合の電気伝導度の計測のみにより検出を行う。これにより、迅速な電気計測に基づく超高感度なグルコースセンシング技術の開発を目指した。本技術は単分子の高感度を有するため、血液よりもグルコース濃度の著しく低い唾液等の漿液を試料とした血糖測定が可能となり、採血不要な非侵襲血糖測定が実現できる。また検出は簡便な電気計測に基づいており、測定装置の小型化、低コスト化が容易である。以上により、糖尿病患者の身体的、および経済的負担が大幅に軽減されQOLの向上につながる。

研究成果の概要(英文)：In the present research project, we developed a novel method for single-molecule detection of glucose. The detection is achieved through the simple rapid measurements of conductance for a single-molecule junction containing the analyte. Since the methodology developed in the present work allows for extremely sensitive detection of glucose, the blood glucose monitoring using saliva, which contains glucose in a low concentration compared with blood, would become possible. This opens up a way for realizing technology for glucose monitoring in a non-invasive way without blood sampling. Furthermore, the present measurement protocol is suitable for miniaturization and cost reduction of the analytical device. Consequently, the methodology contributes to the decrease in physical and economic burden for diabetic patients toward enhancing the quality of life.

研究分野：分析化学

キーワード：分子探針 走査型トンネル顕微鏡 単分子接合 グルコース 超分子化学

1. 研究開始当初の背景

糖尿病の患者数は、潜在患者を含めると国内だけでも2,050万人にも達し、食生活などの生活環境の変化に伴い今後益々の増加が予想される。糖尿病は完全治癒が困難であり、健康維持のためには長期間にわたる血液中グルコース濃度、すなわち血糖のモニタリングに基づく管理が不可欠である。患者の身体的負荷を低減し、生活の質(QOL)を向上させるために、血糖測定を試料量削減、さらに非侵襲計測が強く求められている。そのために、グルコースの高感度検出法の開発が喫緊の課題である。血糖測定に関する従来法として最も広汎に用いられている手法は、グルコースオキシダーゼなどの酵素を利用したバイオセンサーである。その性能向上には酵素を遺伝子工学に基づき改変する必要があり大幅な性能改善は極めて困難であり、新たな原理に基づく高感度なグルコースの検出法を創案、開発する必要がある。

我々はこれまで、走査型トンネル顕微鏡(STM)の探針を機能性有機分子で化学修飾した探針(分子探針)を創案し、単分子に対する種々の新規分析法を開発してきた。分子探針を用いてSTMによる観察を行うことによって特定の化学種を選択的に可視化できる。さらにごく最近では、分子探針を用いた、単分子-単分子間に生起する電子移動の直接検出法を開発した。また我々は、単分子の電子移動、すなわち電気伝導度は、その分子構造に依存することに着目し、伝導度計測に基づき単分子検出が達成できる可能性を着想した。すでにDNAの単分子検出により実証研究を行い、成果を得ている。

2. 研究の目的

本研究では、これまで開発し多数の研究実績を有する分子探針を用いたSTMに立脚し、グルコースの単分子検出法を開発する(図1)。従来のSTMイメージングとは異なり、極めて簡便な単分子接合の電気伝導度の計測のみにより検出を行う。これにより、迅速な電気計測に基づく超高感度なグルコースセンシング技術の開発を目指す。本技術は単分子の高感度を有するため、血液よりもグルコース濃度の著しく低い唾液等の漿液を試料とした血糖測定が可能となり、採血不要な非侵襲血糖測定が実現できる。また検出は簡便な電気計測に基づいており、測定装置の小型化、

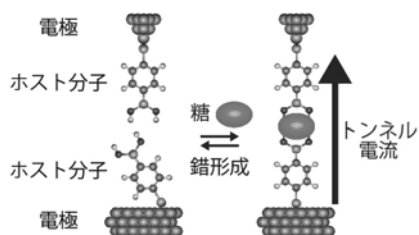


図1. STM分子探針を用いたグルコースの単分子検出。

低コスト化が容易である。以上により、糖尿病患者の身体的、および経済的負担が大幅に軽減されQOLの向上につながる。

検出原理として、電極間(STM探針-基板間)に形成された分子単一集合体から構成される分子接合の電気伝導を利用する。現在、単一分子を介した電気伝導は、分子エレクトロニクスへの興味の高まりから盛んに研究されている。単一分子の電気伝導は、分子構造に依存するため、分析化学応用が期待される。しかし、選択性、すなわち分子による電気伝導の差異は十分でないことが多い。そこで、これまで開発したSTM分子探針を宿主分子として利用する(図1)。分子探針と検出対象分子との選択的結合が生じた際のみトンネル電流が検出され、選択的な単分子検出が達成される。我々は先行研究において、このような原理に基づきDNAの単分子検出を行った。プローブDNAをSTM探針に固定したDNA探針と検体DNAから二本鎖DNAを形成する。これに伴いトンネル電流が増加することを利用して単分子検出を実証した。この例では、DNAの二本鎖形成、すなわち生体内における分子認識を利用した。本研究では、超分子化学における分子認識を利用する。具体的には、宿主分子を分子探針として用いると共に、同一、または異種の宿主分子を基板に修飾する。これらの宿主分子がかご状分子認識場を形成するため、特異な分子認識が実現される(図2)。本研究では、グルコースを検出対象とし、溶液中にて糖レセプターの認識サイトとして広く用いられているフェニルボロン酸を宿主分子として用いる。フェニルボロン酸のチオール誘導体をSTM探針、およびAu基板に修飾、固定し、各々分子探針、修飾基板として用い、これらのグルコースとの錯形成に基づき単分子検出を実現する。

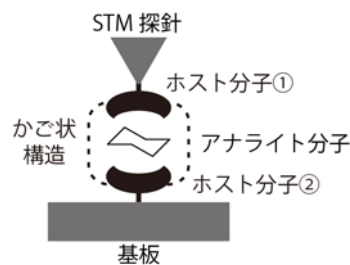


図2. 分子探針、修飾基板によるかご状分子認識場。

3. 研究の方法

本研究では、我々がこれまで開発した、STM分子探針を用いた単分子間における電子移動の計測法を大きく発展させ、グルコースの単分子検出法を開発することを目的とする。この研究目的を達成するために、本研究では、始めにグルコースなどの糖と可逆的に結合を形成できる分子探針を開発する。単

糖誘導体をモデル試料分子として用い、分子探針と糖との可逆的錯形成を評価し、実証する。次いで、分子探針、および修飾基板を用いることによって、図 2 に模式的に示したようなかご状構造の分子認識場を形成し、誘導体化を施さない、天然のグルコースの検出を行い、選択的なグルコースの単分子検出法を確立する。

〔分子探針の開発〕

グルコースなどの糖と可逆的に結合を形成できる分子探針を開発する。ボロン酸は糖のジオールと可逆的にボロン酸エステルを形成することが知られており (図 3), 溶液中にて糖レセプターの認識サイトとして広く用いられている。そこで、本研究では、フェニルボロン酸のチオール誘導体 (4-メルカプトフェニルボロン酸, MPBA) を探針分子として用いる。チオール基は Au 表面に自発的、強固に化学吸着するため、Au 製 STM 探針を MPBA の溶液に浸漬するのみで分子探針を容易に作製することができる。試料として、グルコースにリンカーを介してチオール基を導入した誘導体をモデル分子として用い、これを Au 基板に吸着させてトンネル電流測定を行う。チオール-Au の強固な化学吸着によって、グルコース部位が表面に固定化できるため、MPBA 分子探針とグルコースとの錯形成のみを評価することができる。

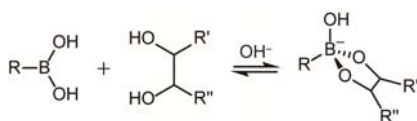


図 3. ボロン酸とジオールとの可逆的錯形成。

〔天然グルコースの検出〕

誘導体化を施さない天然のグルコースに対する単分子検出法を開発する。すなわち、上記と同様に MPBA 分子探針を用いるとともに、基板も MPBA を用い同様に修飾する。グルコースを含む溶液中にて MPBA 分子探針と MPBA 修飾 Au 基板を近接させ、探針を鉛直上方に引き上げ、探針-試料間の距離を増加させながらトンネル電流を計測する。これにより、溶液中でよく知られているように、分子探針および修飾基板の MPBA 2 分子とグルコースとからサンドイッチ型 1:2 錯体が形成されると考えられる (図 1)。その結果、この錯体が単一分接合を成すため、探針と基板とが架橋されることによるトンネル電流上昇が観測され、グルコースの単分子検出が達成できないか検証する。

4. 研究成果

〔分子探針の開発〕

分子探針として MPBA, また試料として、チオール基を導入したグルコースにより修飾した Au 基板を用い、電流-移動距離曲

線を測定した。すなわち、MPBA 分子探針を試料上の任意の位置で静止させた後、試料表面の数 Å 程度のごく近傍まで近接させた。その後、探針を鉛直上方に引き上げ、探針-試料間の距離を増加させながらトンネル電流を計測した。その結果得られた電流-移動距離 ($I-z$) 曲線には、探針の距離の増加にもかかわらず電流が一定となるプラトーが再現性良く観察された。 $I-z$ 曲線の各データ点の電流値からヒストグラムを作成するとプラトーに対応する電流値に明瞭なピークが見られた (図 4)。対照実験等の結果から、これは MPBA 分子探針とグルコース部位からなる単一分子接合が形成され、その結果、分子探針の下地金属探針と Au 基板とが架橋されたためであると結論づけた。

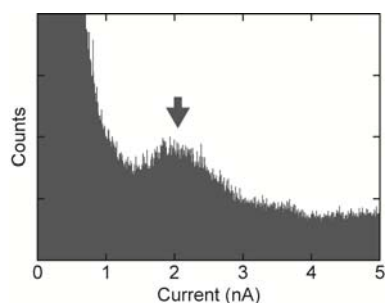


図 4. 準備研究の成果. 分子探針とグルコースとの錯形成に伴うトンネル電流 (矢印) が測定された。

〔天然グルコースの検出〕

グルコースを含む溶液中にて MPBA 分子探針と MPBA 修飾 Au 基板を近接させたのち、 $I-z$ 曲線を計測した。その結果、プラトーが観測され、ヒストグラムにおいて明瞭なピークとして検出が可能だった。未修飾探針などを用いた対照実験等による検討から分子探針および修飾基板の MPBA 2 分子とグルコースとからサンドイッチ型 1:2 錯体が形成され、この超分子接合を介した電気伝導が生じたためと結論づけた。なお、グルコースの存在下であっても、探針の MPBA と基板上の MPBA とが水素結合によってダイマーを形成し、これにより接合が形成されたことに起因するピークもヒストグラムでは観察された。次に選択性について検討した。ガラクトースなどの単糖の存在下で、MPBA 分子探針、および MPBA 修飾基板を用いて $I-z$ 曲線を計測した。グルコースを用いた場合とは全く異なり、MPBA-単糖-MPBA の接合に起因する電気伝導は観察されず、グルコースを特異的に単分子検出できることが明らかになった。この特異性は、グルコースのみが 2 対のシスジオール基を有することに起因すると考えられる。

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 27 件)

① Fluctuation in Interface and Electronic Structure of Single-Molecule Junctions Investigated by Current versus Bias Voltage Characteristics. Y. Isshiki, S. Fujii, T. Nishino, and M. Kiguchi, *J. Am. Chem. Soc.*, 査読あり, **140**, 3760–3767 (2018).

DOI: 10.1021/jacs.7b13694.

② Formation of a Chain-like Water Single Molecule Junction with Pd Electrodes. R. Fukuzumi, S. Kaneko, S. Fujii, T. Nishino, M. Kiguchi, *J. Phys. Chem. C*, 査読あり, **122**, 4698–4703 (2018).

DOI: 10.1021/acs.jpcc.7b12605.

③ Highly-conducting molecular circuits based on antiaromaticity. S. Fujii, S. Marques-Gonzalez, J. Y. Shin, H. Shinokubo, T. Masuda, T. Nishino, N. P. Arasu, H. Vazquez, M. Kiguchi, *Nat. Commun.*, 査読あり, **8**, 15984 (2017).

DOI: 10.1038/ncomms15984.

④ Specific single-molecule detection of glucose in a supramolecularly designed tunnel junction. T. Nishino, H. Shiigi, M. Kiguchi, T. Nagaoka, *Chem. Comm.*, 査読あり, **53**, 5212–5215 (2017).

DOI: 10.1039/c6cc09932g.

⑤ Single-molecule conductance of DNA gated and ungated by DNA-binding molecules. T. Harashima, C. Kojima, S. Fujii, M. Kiguchi, T. Nishino, *Chem. Commun.*, 査読あり, **53**, 10378–10381 (2017).

DOI: 10.1039/c7cc02911j.

⑥ Controlling the thermoelectric effect by mechanical manipulation of the electron's quantum phase in atomic junctions. A. Aiba, F. Demir, S. Kaneko, S. Fujii, T. Nishino, K. Tsukagoshi, A. Saffarzadeh, G. Kirzenow, M. Kiguchi, *Sci. Rep.*, 査読あり, **7**, 7949 (2017).

DOI: 10.1038/s41598-017-08553-2.

⑦ Atomic and Electronic Structures of Single Oxygen Molecular Junction with Au, Ag and Cu Electrodes. Y. Li, S. Kaneko, Y. Komoto, S. Fujii, T. Nishino, M. Kiguchi, *J. Phys. Chem. C*, 査読あり, **120**, 16254–16258 (2016).

DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b04862.

⑧ Scanning Tunnelling Microscopy Analysis of Octameric o-Phenylenes on Au(111). S. Marques-Gonzalez, S. Fujii, T. Nishino, Y. Shoji, F. Ishiwari, T. Fukushima, M. Kiguchi, *RSC Adv.*, 査読あり, **6**, 55970–55975 (2016).

DOI: 10.1039/c6ra07173b.

⑨ Resolving metal-molecule interfaces at

single-molecule junctions. Y. Komoto, S. Fujii, H. Nakamura, T. Tada, T. Nishino, M. Kiguchi, *Sci. Rep.*, 査読あり, **6**, 26606 (2016).

DOI: 10.1038/srep26606.

⑩ Site selection in single-molecule junction for highly reproducible molecular electronics. S. Kaneko, D. Murai, S. Marques-Gonzalez, H. Nakamura, Y. Komoto, S. Fujii, T. Nishino, K. Ikeda, K. Tsukagoshi, M. Kiguchi, *J. Am. Chem. Soc.*, 査読あり, **138**, 1294–1300 (2016).

DOI: 10.1021/jacs.5b11559.

[学会発表] (計 11 件)

① 伝導度計測に基づく単分子接合の熱力学的安定性の定量評価, 長谷川 雄祐, 原島 崇徳, 西野 智昭, 日本表面科学会第 3 回関東支部講演大会, 東京工業大学大岡山キャンパス (東京都目黒区), 2018 年 4 月 7 日.

② Control of Electronic Property of Single DNA Molecule by Intercalation, T. Harashima, T. Nishino, 25th International Colloquium on Scanning Probe Microscopy (ICSPM25), Shizuoka, Japan, Dec. 7, 2017.

③ 伝導度計測に基づくペプチドのリン酸化の単分子検出, 原島崇徳, 西野智昭, 日本分析学会第 66 回年会, 東京理科大学葛飾キャンパス (東京都葛飾区), 2017 年 9 月 12 日.

④ STM 分子探針を用いた生体分子の単分子電気伝導度測定, 小塚隆史, 西野智昭, 日本化学会第 97 春季年会 2017. 慶應義塾大学日吉キャンパス (神奈川県横浜市), 2017 年 3 月 18 日.

⑤ 超分子接合を利用したグルコースの特異的単分子検出, 西野智昭, 日本分析化学会第 65 年会, 北海道大学 (北海道札幌市), 2016 年 9 月 14 日.

[図書] (計 1 件)

① Electrochemical Scanning Tunneling Microscopy. T. Nishino, *Compendium of Surface and Interface Analysis*, Springer, 87–90, 4 pages (2018).

[その他]

ホームページ等

<http://www.chemistry.titech.ac.jp/~kiguti/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西野 智昭 (NISHINO, Tomoaki)

東京工業大学・理学院・准教授

研究者番号: 80372415