

令和元年6月3日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19189

研究課題名(和文)「ナノ3Dペン」による機能的ナノ構造の造形

研究課題名(英文) Structure formation of functional nano-sized structure by nano 3D pen

研究代表者

鳥谷部 祥一 (TOYABE, Shoichi)

東北大学・工学研究科・准教授

研究者番号：40453675

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、これまで開発してきた「コロイド粒子3Dプリンタ」技術と、温度勾配を用いて小さい粒子を凝集させる技術を組み合わせることで、ペンで描くようにナノ構造を造形できる「ナノ3Dペン」の開発を目指した。この技術により、動的で多様な機能を持つナノ分子ロボットや、生体分子や細胞を任意のパターンで空間配置するプラットフォームが実現すると期待している。本課題では、「ナノ3Dペン」技術の基礎となる、レーザー走査による構造体形成の技術を確立した。一方で、その造形速度に課題が残り、溶液条件の最適化や接着剤として使用するヘアピンDNAの配列設計において工夫が必要であることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ナノ構造の形成には、一般にリソグラフィ技術が使われており、非常に微細な構造を並列で大量に作る事ができる。一方で、ナノロボットなど、ナノサイズの動く構造体を作るうえでは、動的な構造が必要で、リソグラフィ技術では難しい。また、生体内で動くナノロボットでは、たんぱく質やDNAなどの生体分子と相互作用する必要があり、多様な化学的表面を持つ構造が必要である。本課題で目指したナノ3Dペン技術は、多様な化学的表面を持ち動的に動かすことのできる構造の作製技術として期待される。本研究課題では、その最も基本的な技術の実証に成功した。しかし、「使える技術」にするためにはさらなる発展が必要である。

研究成果の概要(英文)：In this research project, we aimed to develop a novel "nano 3D pen" technology by combining the "colloidal particle 3D printer" technology developed we developed previously and the technology to aggregate small particles using a temperature gradient. We expect that the "nano 3D pen" will realize a dynamic and diverse function nano-molecule robot and a platform for spatially arranging biomolecules and cells in an arbitrary pattern. In this project, we established the technology of structure formation modified by hairpin DNA strands by laser scanning, which is the core of "nano 3D pen" technology. On the other hand, the problem remains in the shaping speed, and it is necessary to devise the optimization of the solution conditions and the sequence design of the hairpin DNA used for connecting particles.

研究分野：生物物理学

キーワード：分子ロボット DNAナノテクノロジー Soret効果 バクテリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ナノ構造の形成には、一般にリソグラフィー技術が使われており、ナノスケールの微細な構造を並列で大量に作る事ができる。一方で、生体内で働くナノロボットなど、ナノサイズの動く構造体を造るうえでは、動的で、また、たんぱく質や DNA などの生体分子と相互作用する必要がある、多様な化学的表面を持つ構造が必要である。このような構造の形成は、リソグラフィー技術が苦手とする。

このような多様な化学的表面を持ち動的に動かすことのできる構造の作製技術として、研究代表者らは、すでに「コロイド粒子 3D プリンタ」の開発に成功している(図1, Sakamoto and Toyabe, *Sci. Rep.* (2017))。この技術では、レゴブロックのように機能性粒子を1つずつ接着して微小構造を造形でき、動的で機能的な構造を造形可能である。しかし、粒子を1つずつ捕捉してつなげていくので、操作が難しく、熟練しても1つの構造を造るのに1時間ほどかかる。この欠点を克服し「使える技術」として発展させる必要がある。

2. 研究の目的

本研究課題は、これまで開発してきた「コロイド粒子 3D プリンタ」技術(Sakamoto and Toyabe, *Sci. Rep.* (2017))を大幅に発展させ、ペンで描くようにナノ構造を自在に造形できる「ナノ3Dペン」を開発し、動的で多様な機能を持つナノ分子ロボットや、生体分子や細胞を任意のパターンで空間配置するプラットフォームを実現することを目的とする(図1)。

このために、2つの技術を融合してナノ3Dペンを実現する。1つは、上記の「コロイド粒子 3D プリンタ」である(図1左上)。加熱時のみ糊として働くヘアピン状の DNA を用い、微小粒子同士を接着する。もう1つは、高分子溶液中でのレーザー局所加熱による粒子凝集技術である(図1左下, Jiang *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* (2009))。温度勾配に沿って粒子や分子が移動する Soret 効果を応用し、高分子存在下で、通常の光ピンセットでは補足困難な 100 nm 程度の微小粒子をエントロピー力により1点に集めることが可能である。

ナノ3Dペンは、実現すれば、レーザーをスキャンすると、ペンでなぞるように高速・簡単・安価に大きな構造(100 μm 程度)を造形できる。これにより質的に全く異なった新次元の造形が可能となる。特に、PC 制御による自動化を行い、高速、簡単、安価での造形という、研究室で実際に「使える技術」に発展させる。多様な機能的粒子が売られているが、ナノ3Dペンは、これらを構造に自由に組み込むことができる。たとえば、抗体付粒子を用いて、生体分子や細胞を任意のパターンに整理し、分子同士、細胞同士、細胞と分子の間の相互作用を測定する基板を造ることができる(図2)。

3. 研究の方法

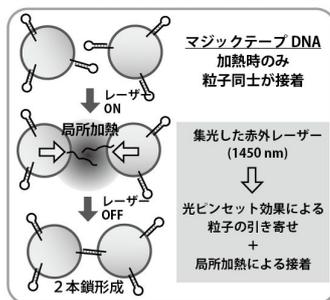
本技術のコアとなるのは、(1)「マジックテープ」として働くヘアピン状 DNA と、(2) サブミクロンサイズの粒子を集める粒子凝集法である。波長 1450 nm 程度の赤外光は水が吸収しやすく、顕微鏡下で集光すれば局所的に加熱できる。高分子とコロイド粒子の溶液中で局所加熱すると、エントロピー力により、粒子をレーザー集光点に凝集させられる (Jiang *et al.*, *PRL*(2009))。一方、ヘアピン状の DNA は「マ

2つの技術を融合し、ナノ粒子 3D ペンを開発。

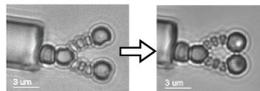
1. コロイド粒子 3D プリンタ

(Sakamoto and Toyabe, *Sci. Rep.* (2017))

レゴブロックのように粒子を1つずつ接着して自在に造形



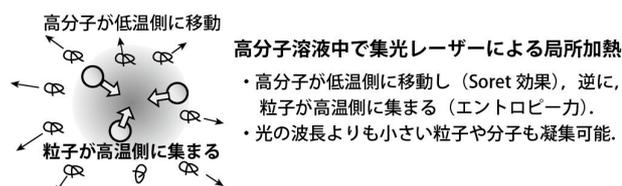
磁石で動くマイクロロボットアーム (2 μm と 1 μm のポリスチレン粒子および磁性粒子を組み合わせて構造形成した)



多様な粒子を自在に接着できるが、粒子を1個ずつ捕捉して接着するので、構造形成には熟練と時間が必要。

2. 温度勾配による微小粒子の凝集

(Jiang, Sano, *Phys. Rev. Lett.* (2009))

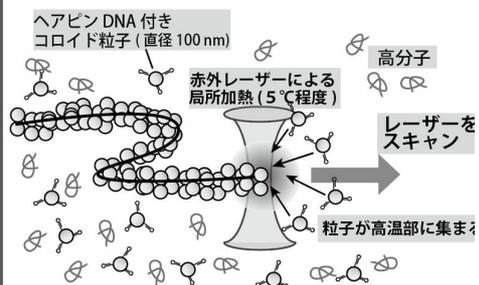


ナノ粒子 3D ペンの開発

高分子溶液中での赤外レーザー (1450 nm) による局所加熱

⇒ 粒子を集める (エントロピー力による凝集)
⇒ DNA 2重らせんによる粒子同士の接着 (加熱した時のみ粒子同士が接着する)

レーザー集光点の軌跡が構造として現れる。



高速・簡便・安価に機能的な構造を造形可能

図1: 本研究課題では「ナノ粒子 3D ペン技術」の開発を目指した。そのために、コロイド粒子の接着技術および、高分子溶液中での温度勾配による微粒子凝集技術を組み合わせた。

ジックテープ」として働き、粒子表面をこの DNA で修飾すると、加熱時のみ粒子同士を DNA を介して接着できる (Sakamoto and Toyabe, Sci. Rep. (2017)). レーザー集光点を動かすと、粒子が凝集して接着していくので、ペンで絵を描くように自在に造形できる。さらに、溶液の交換により多様な機能性粒子を1つの構造に組み込むことができ、複雑な機能的構造を造形することが可能である。

コロイド粒子 3D プリントでは、相補的な DNA 鎖 A と B が付いた2種類の粒子を交互に1つずつ接着していた。この方法では、1粒子接着するたびに溶液を交換する必要がある。ナノ粒子 3D ペンでは、A と B の両鎖を混ぜてコートした粒子を用い、1種類の粒子同士の接着を行う。これにより、粒子を次々に接着することが可能となる。さらに、生体分子や細胞に無害な高分子(ポリエチレングリコール)の溶液中でレーザーを集光し、サブミクロンサイズの粒子のトラップを試みる。以上により、本課題の要素技術を実証する。

さらに、構造体の効率的な造形のため、ガルバノミラーを用い、レーザー光を走査する。これを PC 制御することで、任意の構造を簡単に造形する。特に、(1) 100 μm 程度の大きな構造の造形、および、(2) 複数個の構造の同時造形を試みる。概念の実証として、ロボット形状等の複雑な構造を造形する。

4. 研究成果

高分子(ポリエチレングリコール)溶液中で、直径 500nm の微小粒子を長波長(1440nm)の赤外レーザーで加熱し、粒子が凝集することを確認した。その後、ヘアピン DNA で修飾した微小粒子を凝集させることで、赤外レーザーを照射した箇所でのみ粒子の塊が形成させることに成功した。さらに、レーザー位置を手動で動かすことで、ガラスキャピラリー上に任意の構造を造形することに成功した(図2上)。さらに、ガルバノミラーを導入し、赤外線レーザーを PC 制御で走査できる実験系を組んだ。これを利用し、ガラスキャピラリー上で自動制御で構造を造形することに成功した(図2)。特に、単に一方向に走査するのではなく、折り返しを行いながら走査することで、構造を確実に造形できることを発見した。このように、ナノ3D ペンの基本的な原理を実証することができた。

一方で、現状では構造形成にかかる時間が長く、効率が悪い。特に、高分子濃度を濃くすれば凝集力が強まるが、一方で、溶液の粘弾性が強くなり構造体形成が困難になる。また、レーザー強度が弱すぎると粒子を補足できず、一方で、レーザー強度を上げすぎると対流が生じてしまうといったジレンマがある。

今後、溶液条件およびガラス表面の化学修飾法の最適化を行うことで、以上のジレンマを解決し、より効率的な構造体形成が期待できると考えている。

並行して、コロイド粒子ではなく、自ら遊泳するアクティブな粒子であるバクテリアを材料とする構造体形成の可能性について調査した。シリコンゴムで作製した薄いチャンバー(高さ数 μm 程度)にバクテリア(サルモネラ)溶液を流し、赤外レーザーを照射すると、サルモネラが照射部分に強く凝集することが分かった(図3)。これは、サルモネラが温かいところに集まる温度走性を持つことを表している。また、レーザーを走査することで、任意の(2次元の)形状にバクテリアを集合できることを発見した。コロイド粒子の Soret 効果によるレーザー凝集では、条件の細かいチューニングが必要となるが、バクテリアの場合、1 - 2 程度の温度上昇でも自ら遊泳して凝集体を容易に形成するので、構造形成に向けて有力な系となりうるということが分かった。今後の課題として、菌体表面にヘアピン DNA を修飾し、バクテリア同士を特異的に接着させる技術を確立する必要がある。

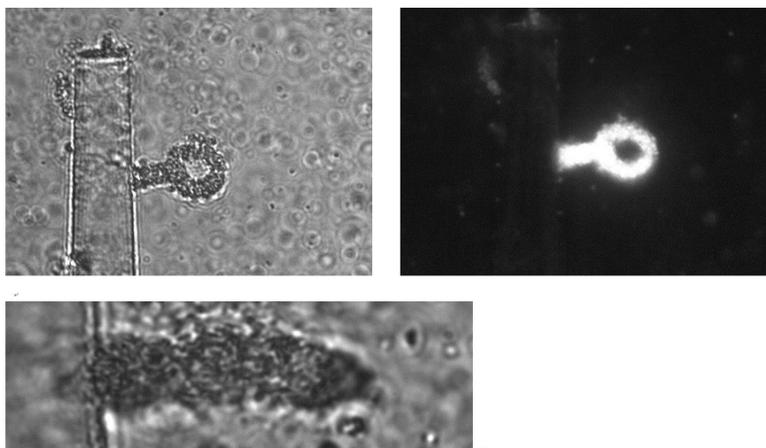


図2: ガラスキャピラリー上に形成した構造体。レーザーをマニュアル(上)もしくは自動で(下)走査し、直径 500 nm の粒子を DNA を用いて接着して構造体を形成した。左上: 明視野像。右上: 蛍光像。

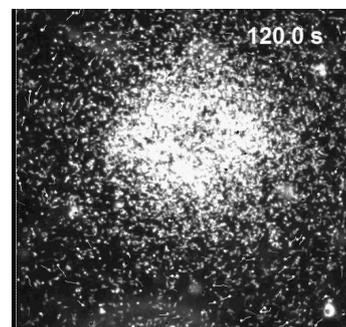


図3: バクテリア(サルモネラ)がレーザー焦点周りに集まる様子。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 2 件)

鳥谷部 祥一, 集団運動による機能発現 - バクテリア走性を例に -, ワークショップ「Collective motion and functional dynamics in molecular engines」 (令和元年)

甲斐 達朗, バクテリア集団の揺らぎと応答の測定, 第 57 回日本生物物理学会年会 (令和元年)

6. 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名: 坂本 雄貴

ローマ字氏名: (SAKAMOTO, yuki)

研究協力者氏名: 甲斐 達朗

ローマ字氏名: (KAI, tatsuro)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。