

平成21年5月12日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19510126

研究課題名（和文）

ナノヒーターの製作とその局部温度センシングによる分子熱力学的メカニズム分析

研究課題名（英文）

Fabrication of Nanowire heater and its temperature sensing for bio-thermal mechanism

研究代表者

金 範ジュン (KIM Beomjoon)

東京大学・生産技術研究所・准教授

研究者番号：60334356

研究成果の概要：本研究の目的は、単分子の熱力学的反応計測用センサーおよび温度可変ソースとして“シリコンおよび金属ナノワイヤーのヒーター”を製作、評価する研究である。

実際ナノワイヤーの温度測定を行うため、金属ナノワイヤーを製作し、その上に量子ドットを固定させ、温度変化によって変わる量子ドットからの蛍光スペクトルのマッピングにより温度分布の領域を検出した。量子ドットの代わりに蛍光性色素であるローダミン B を用いてナノワイヤーの温度分布の計測を行う実験に取り組んでより安定で金属ナノワイヤーの温度分布マッピング（25度より90度レベルにて5度程度の分解能）に成功した。一方、量子ドットによるナノヒーターの温度分布計測だけではなく、既存の SThM による、ナノヒーターの温度計測を行い、ナノ領域にて温度計測及び熱伝導特性を評価した。さらに安価でかつハイスループットの単結晶シリコンのナノワイヤーを製作し、作製したナノワイヤーをヒートソースとして利用するため、その温度制御ができることを確認した。特に、気中環境下の計測だけではなく、液中でのナノワイヤー温度計測を行った。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学／ナノ材料・ナノバイオサイエンス

キーワード：1分子ナノ計測、分子温度計測、ナノ加工技術

1. 研究開始当初の背景

(1) 蛋白質の構造形成は、アミノ酸配列としてコードされた一次元的な遺伝情報が、蛋白質としての機能を持った三次元の特異的な天然立体構造に変換される過程であり、遺伝情報発現の最終段階とみなすことができ、

生命現象における自己組織化の最も要素化された過程で、純粋に物理化学的な過程であることが知られており、構造形成の分子機構の解明は、生物物理学の重要な課題の一つである。しかし、細胞内のような極めてタンパク質濃度の高い環境では、新たに作られたポ

リペプチドが自然に折り畳まれて（フォールディング）、正しい構造をとることは困難であり、実際の細胞内では、分子シャペロンと呼ばれる一群のタンパク質が、正しいフォールディングを助けていることが明らかになってきた。また、新生タンパク質は、合成されてのち、それが機能する「場」へと正しく輸送されることが必要である。分子シャペロンは、このようなタンパク質の細胞内輸送にも必須の因子として働いている。分子シャペロンの多くは、これまでストレスタンパク質と呼ばれてきたものであり、細胞内に熱ショックをはじめとする各種ストレスがかかったとき、一時的に急激に合成誘導され、タンパク質を熱ストレスなどによる変性から防御する役割も担っている。それで、日本国内でも既に、分子シャペロンと基質との相互作用を構造面および機能面から解析し、細胞内の種々のタンパク質の機能制御におけるその役割を分子レベルで明らかにするとともに、その基盤の上に立って、細胞の種々の機能発現における分子シャペロンの本質的な役割を追究することを多くの研究者らが行ってきた。そこでこの研究では、蛋白質フォールディングがどのように安定化・機能化されるのかをナノスケールのヒーターやセンサーを用いて熱測定を駆使して明らかにしようとしている。

(2) 最近、タンパク質がどのように折りたたまれて（フォールディング）、”はたらく形”が安定化・機能化されるのかを明らかにしようとして多くの研究者グループが研究している。現在、主に数値解析や各種分光学的測定法、X線溶液散乱法、流体力学的測定法などの物理的測定手段とともに遺伝子操作実験などの分子生物学的手法も用いて Bulk Study としてサブピコ秒までの非常に瞬間的の生じるフォールディングなどの情報を得るために生化学的なアプローチで研究されている。しかし、FRET (Fluorescence resonance energy transfer, 蛍光共鳴エネルギー移動法)と蛍光干渉顕微鏡を用いて人工膜間の相互作用ダイナミクスをナノスケールで観察した例が最近報告されているが、局所的な (ナノスケール) ナノ構造デバイスとマイクロ流路の融合による単分子レベルでの観測は行っていない。

一方、製作しようとするナノワイヤーを含むこの温度制御デバイスは、今まで実現されていないナノスケールの空間において局所的のナノヒーターとしての今後様々な応用が期待できる。さらに、ナノスケールでの温度測定の研究例も少ない状況である。従来の微小スケール温度計測法は、赤外線サーモグラフィや集光したレーザーによるマイクロラマン法、反射率温度計測法といった遠視野光学的手法であり、その空間分解能は回折限界に

より利用する光の波長程度に制限されていた。これらの背景から最近原子間力顕微鏡をプラットフォームにし、温度計測や加熱機能をもつカンチレバーを用いた SThM (Scanning Thermal Microscope)が開発されているが、まだ熱物性計測では定量性など課題が多い。そして、今回のデバイスを用いた計測は、その温度の分布や非常に早い温度変化の応答など、ナノデバイスにての様々な熱に関する研究に発展する可能性が高い。最近様々なナノワイヤー製作関連の研究が進んでいるが、主に選択成長させるナノチューブや導電性高分子、金属ワイヤー等の例が多く、その応用もバイオ物質への温度センサーやヒーターとしての研究はされていない。そこで、本研究で提案するデバイスは、ナノスケールでの温度ソース及びその温度の計測ができるものとして、まったく新しいナノヒーターであると言える。

2. 研究の目的

本研究の目的は、様々な生体分子、特に生体機能分子であるタンパク質を対象に単分子レベルでその温度条件による反応および分子間相互作用を調べ、さらに分子の構造や反応機構、ダイナミクスを明らかにすることを目指して、その新しい手法として単分子の熱力学的反応計測用センサーおよび温度可変ソースとして“シリコンおよび金属ナノワイヤーのヒーター”を製作、評価する研究である。特に、熱力学的にコントロールされる蛋白質のフォールディング状態をナノワイヤーのセンサーを用いて単分子レベルで計測を試みる事が最終の目的である。

3. 研究の方法

安価でかつハイスループットの種々な新規加工方法により、シリコン或いは金属のナノワイヤーを製作し、作成したナノワイヤーをヒートソースとして利用するため、その温度制御ができることを確認する。条件としては、ナノワイヤーの電極部分にて一定、均一温度分布になること、最大5度以内での温度分解能がある温度可変制御および出来るだけ早い速度の応答を持つことなどが必要になる。実際ナノワイヤーの温度測定を行うため、量子ドットを固定させ、温度変化によって変わる量子ドットからの蛍光スペクトルのマッピングにより温度分布の領域を検出する。図1にデバイスの概念を示す。最終的には、ナノワイヤーに蛋白質を固定させて温度変化による蛋白質の反応を観察する。具体的方法として、最初は乾燥した大気中で温度計測を行い、徐々に液中にて計測をする。基板の上にはPDMS (ポリジメチルシロキサン) などを用いてマイクロ流路デバイス化に実装し、液中での温度変化による蛋白質の反応を計測

する。

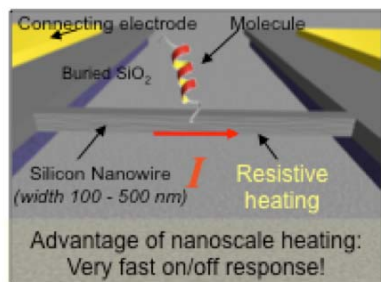


図1. ナノヒーターの温度計測.

4. 研究成果

(1) 実際ナノワイヤーの温度測定を行うため、既存の EB リソグラフィ装置を用いて金属ナノワイヤーを製作し、その上に量子ドットを固定させ、温度変化によって変わる量子ドットからの蛍光スペクトルのマッピングにより温度分布の領域を検出した。量子ドットからのフォトブリーチング現象や安定性に問題が発生して、蛍光性色素であるローダミンBを用いてナノワイヤーの温度分布の計測を行う実験に取り組んでより安定で金属ナノワイヤーの温度分布マッピング(25度より90度レベルにて5度程度の分解能)に成功した。

(2) 一方、量子ドットによるナノヒーターの温度分布計測だけではなく、既存の SThM による、ナノヒーターの温度計測を行い、ナノ領域にて温度計測及び熱伝導特性を評価した。

(3) さらに安価でかつハイスループットの単結晶シリコンのナノワイヤーを製作し、作製したナノワイヤーをヒートソースとして利用するため、その温度制御ができることを確認した。特に、気中環境下の計測だけではなく、液中でのナノワイヤー温度計測を行った。液中環境下の実験ではシリコンナノワイヤーは溶液中にさらされるため、ローダミンBの溶液中での温度上昇による拡散を防ぐために、ローダミンBはシリコンナノワイヤー表面上に安定した状態で固定されなければならない。そこでローダミンBのみを単体で直接的に固定せず、ビオチン (biotin) - ストレプトアビジン (streptavidin) 間の結合を利用して間接的にローダミンBをシリコンナノワイヤー表面上に取り付ける手法を用いた。

気中環境下において、ローダミンB分子を表面修飾したシリコンナノワイヤーは0Vから13Vの電圧によってジュール加熱を行った(図2)。左図のシリコンナノワイヤーに電圧を加えていない状態では比較的はっきりとシリコンナノワイヤーが確認できる。一方で中央図の電圧をかけた状態では、ジュール加熱によりシリコンナノワイヤーの表面温度が上昇し、ローダミンBの蛍光強度は減少す

る。その結果、蛍光強度が高く白色であったシリコンナノワイヤー部分は蛍光強度の低い黒色へと変化する。ローダミンBの温度による蛍光強度比率の計測曲線を用いることにより、電圧を加えたときのシリコンナノワイヤー表面温度を計算することができた。

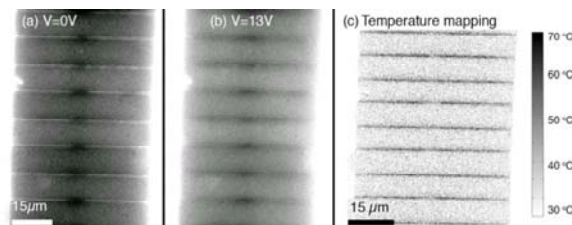


図2. 蛍光顕微鏡による気中でのシリコンナノワイヤー(長さ50μm)。電圧0V(a)、電圧13V(b)。蛍光強度は温度上昇に伴い減少する。

最後に2年間の研究成果としてまだバイオ物質(タンパク質)を用いた研究目標までは達成できなかったが、今後、シリコンナノワイヤーの上に表面処理を行い生体分子・たんぱく質などを固定し、上記の実験で調べたナノヒーターの温度条件とともに、その蛋白質の温度変化による反応を調査する予定である。

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6件)

- ① Y. T. Cheng, Y. H. Cho, N. Takama, P. Löw, C. Bergaud, and B. J. Kim: Simple fabrication of Si nanowire and its biological application, *Journal of Physics*, conference series, Vol. 152, 012048 (7pp), (2009) 査読の有
- ② Peter Löw, Beomjoon Kim, Nobuyuki Takama, and Christian Bergaud: High spatial resolution surface temperature mapping using fluorescent thermometry, *Small*, 4, No. 7, pp. 908-914, (2008) 査読の有
- ③ B. Samson, L. Aigouy, P. Low, C. Bergaud, B. J. Kim, M. Mortier: AC thermal imaging of nanoheaters using a scanning fluorescent probe, *Applied Physics Letters*, 92, 023101 (3 pages), (2008) 査読の有
- ④ Peter Löw, Bruno Le Pioufle, Beomjoon Kim, Christian Bergaud: Assembly of CdSe/ZnS Nanocrystals on Microwires and Nanowires for Temperature Sensing, *Sensors and Actuators B*, Vol 130/1 pp. 175-180, (2008) 査読の有
- ⑤ B. Samson, L. Aigouy, G. Tessier, P. Löw, B. J. Kim, C. Bergaud, and M.

Mortier: Thermal imaging of nickel wires with a fluorescent nanoprobe, *Journal of Physics: Conference Series* 92, 012089, (2007) 査読の有

- ⑥ Peter Löw, Nobuyuki Takama, Beomjoon Kim, and Christian Bergaud: Measurement of the temperature distribution of resistively heated nanowires using CdSe/ZnS nanocrystals, *SEISAN-KENKYU*, Vol. 59, No. 6, pp. 510-513, (2007) 査読の無

[学会発表] (計 8 件)

- ① S. Akiyama, Y. T. Cheng, J. Fattaccioli, N. Takama, P. Löw, C. Bergaud and B.J. Kim: Surface-temperature control of silicon nanowires in dry and liquid conditions, *22nd. IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2009)*, Sorrento, Italy, *Proc. of the IEEE Int. Conf. on MEMS 2009*, pp. 567-570, 2009 (poster presentation)
- ② Y.T. Cheng, J. Fattaccioli, S. Akiyama, N. Takama, Y. Akagi, S. J. Cho, P. Low, C. Bergaud, and B.J. Kim: Surface-temperature mapping on suspended silicon nanowire using fluorescent thermometry under dry and liquid conditions, 34th. International conference on Micro and Nano engineering 2008 (*MNE2008*), Athens, Greece, Abstract book, pp.127, 15-18 September, 2008 (oral presentation)
- ③ Y.T. Cheng, Y.H. Cho, N. Takama, and B.J. Kim: Simple fabrication of Si nanowire and its biological application as nanoscale heat source, *MRS International Materials Research Conference*, Chongqing, China, Abstract book, pp.170, June 9-12, 2008 (oral presentation)
- ④ Benjamin Samson, Erika Saidi, Lionel Aigouy, Peter Low, Beomjoon Kim, Christian Bergaud, Michel Mortier: Scanning thermal microscopy with a fluorescent nanoprobe, *2008 APS (American Physical Society) March Meeting*, New Orleans, Louisiana, USA, March 10-14, V36.00011, 2008 (oral presentation)
- ⑤ Y. T. Cheng, Y. H. Cho, K. Nakagawa, N. Takama, H. Kawakatu, S. J. Cho, Y. Akagi, B. J. Kim: Novel Fabrication of Si nanowire and its biosensor application

(Si ナノワイヤーの製作及びバイオセンサーへの応用), *2008 年春期第 5 5 回 応用物理学関係連合講演会、講演予稿集*, 2008 年 3 月 27 日-30 日, 日本大学理工学部船橋キャンパス, No. 3, pp. 1414 (28p-ZM-18), 2008

- ⑥ Peter Löw, Nobuyuki Takama, Beomjoon Kim and Christian Bergaud: High spatial resolution thermometry using fluorescent nanoprobe in dry and liquid media, *7th France-Japan Workshop on Nanosciences and Nanomaterials*, Strasbourg, France, 24-26, Oct. 2007 (poster presentation)
- ⑦ B. Samson, L. Aigouy, G. Tessier, P. Low, B. Kim, C. Bergaud, M. Mortier: Thermal imaging of nickel wires with a fluorescent nanoprobe, *12th International Conference on Phonon Scattering in Condensed Matter (Phonons 2007)*, Paris, July 15-20, pp.173-174, 2007
- ⑧ Peter Löw, Nobuyuki Takama, Beomjoon Kim, and Christian Bergaud: Using dried Rhodamine B fluorescence for temperature characterization of sub-micron scale devices, *The 14th. International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers '07 - Lyon)*, Lyon, France, 10-14, June, 2007, Digest of Technical papers, Vol. 1, pp. 1055-1058, 2007

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.kimlab.iis.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金 範ジュン (KIM BEOMJOON)

東京大学・生産技術研究所・准教授

研究者番号：60334356

(2) 研究分担者

高間 信行 (TAKAMA NOBUYUKI)

東京大学・生産技術研究所・技術専門員

研究者番号：00396912