

機関番号：12608

研究種目：新学術領域研究（研究課題提案型）

研究期間：2008～2010

課題番号：20200004

研究課題名（和文）プログラム可能な自己組織化成長プロセスを用いた革新的機能を有する集積体の創製

研究課題名（英文）Fabrication of innovative functional assemblies using programmed self-organizational processes

研究代表者

石川 正道（ISHIKAWA MASAMICHI）

東京工業大学・大学院総合理工学研究科・教授

研究者番号：60376952

研究成果の概要（和文）：

核酸高分子による自己組織化原理に従って構造間結合のオン・オフをあらかじめプログラム可能な DNA プログラミングの手法とコロイド結晶成長理論に基づいて、革新的機能を有する新機能性薄膜を大面積、無欠陥に形成するプロセスを構築した。具体的には、電荷を有する基板において荷電粒子（コロイド粒子、DNA 集積体など）が対イオンを介して相互作用することによって、大面積かつ無欠陥の集積構造を発現することをはじめて明らかにした。さらにこの集積原理は、DNA 構造体を用いたフォトニック結晶およびメタマテリアルとして知られる新奇な物性を発現する回路素子の成膜技術に応用できることを示した。

研究成果の概要（英文）：

Fabrication processes of formulating large-area and defect-free assemblies for new functional materials were constructed based on programmed DNA self-organization and colloidal crystal theory. It was clearly presented that charged particles, e.g. colloidal particles and DNA assemblies, were self-organized into the crystalline structures of high perfection and large-area on charged substrates, such as glass and mica. The newly found mechanism was applied to fabricate thin-film photonic materials and meta-materials with noble optical properties.

交付決定額

（金額単位：円）

|         | 直接経費       | 間接経費      | 合計         |
|---------|------------|-----------|------------|
| 2008 年度 | 8,200,000  | 2,460,000 | 10,660,000 |
| 2009 年度 | 7,900,000  | 2,370,000 | 10,270,000 |
| 2010 年度 | 8,000,000  | 2,400,000 | 10,400,000 |
| 年度      |            |           |            |
| 年度      |            |           |            |
| 総計      | 24,100,000 | 7,230,000 | 31,330,000 |

研究分野：「工学」および「総合領域」

科研費の分科・細目：「応用物理学・工学基礎」および「情報学」

キーワード：結晶成長、DNA コンピューター、自己組織化、フォトニック結晶、メタマテリアル、ナノデバイス、成膜プロセス、相分離

## 1. 研究開始当初の背景

ナノテクノロジーには、マクロスケールのものを小さく加工するトップダウン型技術と、ナノスケールあるいはそれ以下のサイズのものを組み上げてマクロスケールの構造を創出するボトムアップ型技術とがある。ボトムアップ型技術は、ナノスケールで物質を物理的あるいは化学的に制御して、有用な構造へと自己組織化(Self-organization)させ、機能を発現させるところに特徴があり、21世紀のプロセス技術として注目されている。しかしながら、ボトムアップ型は、ほとんどあらゆるスケールのナノマテリアルの利用が可能一方で、自己組織化の結果できあがるパターンがあいまいであり、意図する構造を実現する手法としては程遠いのが現状である。ナノマテリアルを活用したボトムアップ型ナノテクノロジーが発展するためには、精密なパターン意のままに形成することを可能とする精密製造(Exact manufacturing)の技法が見出される必要がある。

## 2. 研究の目的

核酸高分子(DNA)間の相補的塩基結合の演算規則に基づく自己組織化を利用すれば、目的に応じたデバイス構造をナノスケールで形成できることが明らかにされてきた。本研究は、このような原理を用いたプログラム可能なDNA構造体を用いて、基板表面上にて10ナノメートル以下の分解能で金などの微粒子を結合、配置することによって、革新的な機能を有するデバイスを大面積かつ無欠陥の薄膜状に製造することを可能とする汎用的な成長プロセス技術を開発することを目的とする。具体的には、この基板上製膜技術の手法を活用してフォトニック結晶および可視光域で負の屈折率を発現するメタマテリアルの作製に必要な基盤技術の開発を行う。本研究は、次の3つサブテーマより構成される。

### (1) 結晶成長論に基づく集積体の大面積化および欠陥率の低減

これまでのDNAの自己組織化による集積体の作製は、要素となるDNA分子を調整し、これを90°C程度から室温まで単純にアニーリングだけのプロセスでつくられるため、結晶化条件を試行錯誤的に求めるしかなかった。このようなワンポット反応では、成長条件に合わせて最適化することが困難であり、結晶欠陥が多発することになる。ここでは、その場観察が可能なコロイド系を用いて、DNA構造体が集積するメカニズムを検討し、集積体の完全性を向上するための指針を得

る。

### (2) フォトニック結晶のためのコロイド結晶構造の制御

フォトニック結晶は、光の波長程度の周期で3次的に誘電率が変調した光学構造体であり、特定の波長範囲で光子の伝播を禁制するフォトニック・バンドギャップを示す。従来は、リソグラフィーの手法によるフォトニック結晶の作製が試みられてきたが、3次元構造を形成するには工程が複雑化しすぎるという問題を抱えている。このため、容易に3次元構造を形成できるコロイド粒子の自己集積を利用して3次元構造を形成するアプローチが注目されている。本研究では、DNAのもつ相補的塩基結合の特性を利用して、コロイド表面および基板にDNAを修飾することによって、コロイド結晶の第1層を基板上に選択的に成長させる。次いで、これを繰り返すことによって、粒子を一層毎に3次的に成長させる技術を開発する。

### (3) メタマテリアルのための金属リング構造の作製

メタマテリアルとは、微細な金属ユニットが集合し自然界には存在しない光学的、電磁気的な性質を持つ材料を指す。金属ユニットは、電磁波(光波)の波長より十分小さく、金属ユニットが持つインダクタンス(L)やキャパシタンス(C)成分による共振回路が負の屈折率や巨大屈折率、空間的屈折率変調などの性質をもつため、完全レンズやクロッキング(物質の透明化技術)など革新的な機能が期待されている。これまで構造の作製が容易であるという理由で、光より波長の長いマイクロ波領域で検証が行われてきた。近年は、可視光領域のメタマテリアル作製への展開が期待されるようになったが、それらの構造作製にはFIBやEBを用いるしかなく、極めて困難な工程を実現しなければならない。本研究では、DNA構造体を用いてナノサイズの回路要素を作製し、これを上述した結晶論的手法を利用して基板上に大面積に集積することによって、複雑な加工プロセスに頼ることなく可視光領域で負の屈折率をもつメタマテリアルの作製を可能とする自己組織化プロセスを開発する。

## 3. 研究の方法

### (1) 結晶成長論に基づく集積体の欠陥率の低減及び大面積化

用いた粒子は、1及び3 $\mu$ m直径のポリスチレン粒子(Duke社製)、密度1.05 g/cm<sup>3</sup>である。コロイド粒子は、Bio-Rad社製イオン交

換樹脂を用いて脱塩したものを用いた。コロイド集積の観察は、直径 10 mm、深さ 0.5 mm のガラス製セルに試料を充填して光学顕微鏡にて観察することによって行った。集積相の定量的評価は、コロイド集積相の画像上での輝度が高いことを利用して、観察像を 2 値化して行った。重力効果は、沈降平衡理論に基づいて水-エタノール混合溶媒の組成比を変化することによって制御した。

#### (2) フォトニック結晶のためのコロイド結晶構造の制御

表面に DNA を固定化したポリスチレンコロイド粒子 (PS、直径  $1\mu\text{m}$ ) を、同じく DNA を固定化した金ナノ粒子 (以下、GNP と表記、直径 10 nm) を介して選択的に結合させながらコロイド粒子を結晶化させた。この方法により、コロイド粒子同士は結合しないがコロイド粒子と GNP は結合することができ、コロイド粒子の堆積と GNP の堆積を交互に繰り返すことにより、結晶を一層ずつ成長させることを可能とした。

#### (3) メタマテリアルのための金属リング構造の作製

従来の構造モチーフは、いずれも一種類の核酸分岐の組み合わせをその設計の基本としたため、分岐構造と分子そのものがもつ性質による設計上の制約および自己集合法に起因する成長サイズの問題があった。本研究では、従来構造の制約を解決する T 字分岐とこれを利用したモチーフ群の設計により、メタマテリアル実現のための回路要素となるリング構造を有する DNA 構造体を作製した。リング構造はコロイド結晶成長の手法に基づいて基板上にて集積させた。併せて、DNA 構造体が基板上に固定されるための機構を検討することにより、高完全な集積構造を得るためのシミュレーション技術を開発した。

### 4. 研究成果

#### (1) 結晶成長論に基づく集積体の欠陥率の低減および大面積化

##### ① 二次元集積系における気液固相分離現象の発見

粒子は、観察セルに充填後、約 1 時間で沈降平衡に到達し、その後さらに 20 時間以上にわたって基板上のコロイド粒子が水平方向集積する現象を見出した。集積が平衡に達した状況では、容器の中心部に粒子が高密度に集積した液体相が見出された。特に初期粒子濃度が高い場合には、粒子が秩序化した結晶相を中心に液体相共存した。また、集積領域の外周部には粒子が希薄な気相領域も見出され、明瞭な気液固相分離が観察された。

##### ② 基板上の液固相図の作成

コロイド粒子数を一定として、塩濃度を变化させたことによって、粒子密度-塩濃度平面上にて、液固相図の作成を行った。密度は、顕微鏡による観察面積に見出される粒子数をカウントし、一粒子層を形成するとして、粒子の充填率として求めた。また、塩濃度の調整は、KCl を添加することによって行った。得られた相図を図 1 に示す。固相の密度は、塩濃度の低い条件から増加する傾向を示し、 $10^{-5}\text{M}$  濃度以上では、結晶相は観察されなかった。一方、液相の密度は塩濃度の変化に対して一定であり、固相に対して密度ギャップを示した。

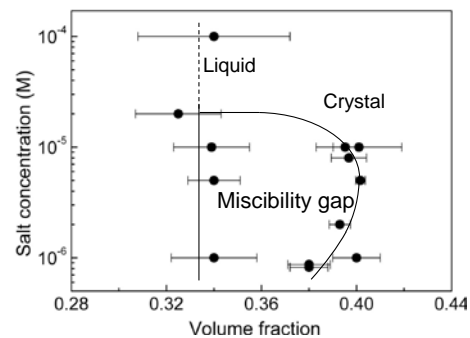


図 1 二次元集積系における液固相分離相図。

##### ③ コロイド固相の結晶性の向上

結晶相の安定性と塩濃度との相関を調べるために、各塩濃度における結晶相の完全性を評価した。結晶の完全性は、基板上で六方配列をすることから、固相状態 (動径分布関数の測定によって判定) での粒子の中心位置を結ぶことによって得られるドロネー (Delanay) の三角形を求め、三角形の全数 ( $N_{\text{all}}$ ) に対する正三角形の数 ( $N_{\text{regular}}$ ) の比によって定義される秩序度 (Regularity) を測定することによって評価した。このような方法によって求められた、秩序度の塩濃度依存性を図 2 に示す。塩濃度の増加によって結晶の安定性が高まり、 $10^{-5}\text{M}$  に近づくに従って極大となり、それ以上の濃度では、結晶相は消滅することが分かった。

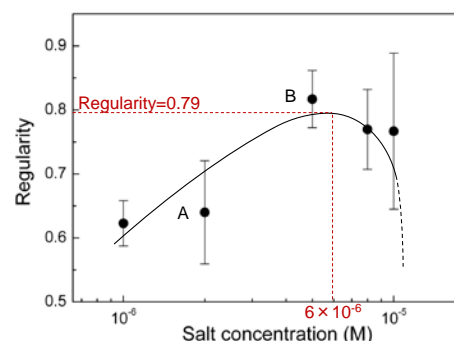


図 2 二次元集積系における結晶性と塩濃度との相関。赤字は結晶性の極大値。

#### ④まとめ

従来、コロイド結晶の安定性は塩の混入によって損なわれることが報告されている。本研究においても、 $10^{-5}\text{M}$ 以上の塩濃度では結晶は存在することができず従来の知見と一致する。しかしながら、本研究により、塩の存在は、コロイド結晶相の安定性を高めるようにも作用することが分かった。従来、コロイド結晶の安定性を高める塩の役割に関しては報告がなく、この結果は、コロイド粒子と同様に負の電荷をもつDNA構造体が、同種電荷による反発相互作用のみではなく、引力的な相互作用によっても支配されることを示唆するものである。実際にこの現象がDNAモチーフによるナノ構造作製に応用できることは、(3)項にて述べる。

#### (2) フォトニック結晶のためのコロイド結晶構造の制御

階層的な結晶成長の制御を、次の一連のステップにより行った。テンプレート基板上にマイクロ粒子を沈降させ、規則的に配列させる。この際テンプレート基板とマイクロ粒子は非特異的接着により基板上に固定する(①)。固定化されていないマイクロ粒子を洗い流して、一層目を完成させる(②)。一層目の上からナノ粒子を結合させる。ナノ粒子はDNAのハイブリダイゼーションを介して一層目上に固定化する(③)。固定化されていないナノ粒子を除去して、ナノ粒子層を完成させる(④)。ナノ粒子層上にマイクロ粒子を沈降させ、ハイブリダイゼーションを介してナノ粒子層上に固定化する(⑤)。固定化されていない二層目以降のマイクロ粒子を除去して二層目を完成させる(⑥)。以下、ナノ粒子層、三層目、ナノ粒子層、四層目・・・と同様の手順を繰り返すことにより階層的結晶成長制御を実施する。

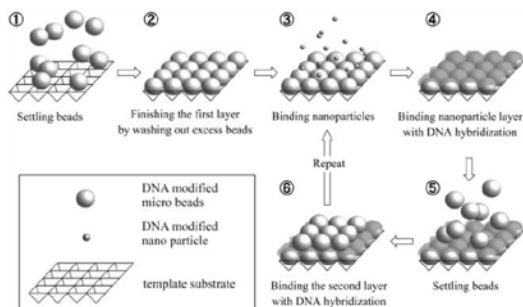


図3 階層的結晶成長制御の概念図。

次に、以上のステップを実施した結果を示す(図4参照)。

①テンプレート基板。シリコンゴムの一種であるポリジメチルシロキサン(PDMS)のモールドイングにより製作したテンプレート基板の顕微鏡写真を図4aに示す。フーリエ

解析の結果、設計値の $1\mu\text{m}$ よりやや小さい約 $0.94\mu\text{m}$ ピッチの直交した周期性が観察された。

②一層目。作製した一層目の顕微鏡写真を図4bに示す。PS粒子の配列はテンプレート基板の逆ピラミッド形状を反映したものである。フーリエ解析の結果、約 $1\mu\text{m}$ ピッチの直交した周期性が観察され、ほぼPS粒子径に等しい周期性となっていることがわかった。

③GNP層。GNP層を製作した結果の蛍光顕微鏡写真を図4cに示す。蛍光物質であるFITCを末端に持つDNAを修飾した直径10nmのGNPを結合したあと洗浄し、一層目上のGNP層の有無を調べた。蛍光顕微鏡によりFITCの蛍光が観察できたことから、DNAのハイブリダイゼーションを介して一層目の上にGNP層が固定化されたことを確認した。

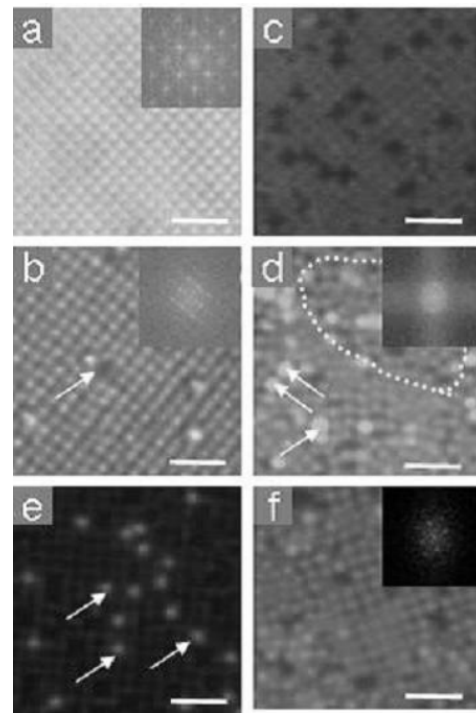


図4 実験結果。A: テンプレート基板、b: 一層目、c: GNP層、d: 二層目、e: GNP層なしの二層目、f: 乾燥による二層目粒子整列化。図a、b、d、f中には対応するFFT画像を示す。スケールバー $5\mu\text{m}$ 。

④二層目。二層目を製作した結果の蛍光顕微鏡写真を図4dに示す。二層目のPS粒子としては蛍光粒子を用いた。一層目と同様粒子由来の蛍光が観察できたことから二層目が結合していることが分かった。なお、図中の矢印はリンスしきれず二層目上に残った三層目の蛍光PS粒子を示している。

⑤GNP 層なしの 2 層目 (対照実験 1)。対照実験として、一層目の上に接着層となる GNP 層を置かずに二層目粒子を沈降させリンスした場合の蛍光顕微鏡像を図 4e に示す。図 4d と比較して一層目上に蛍光粒子がほとんど存在しないことから二層目が形成されていないことがわかる。なお図中矢印は一層目の欠陥に入り込んだ二層目の粒子を示す。

⑥乾燥による二層目粒子整列化 (対照実験 2)。粒子の整列化には気液界面の移動が有効であることから、それを利用して二層目以降の結晶品質を改善することを試みた。具体的には、二層目製作後に自然乾燥させることで乾燥に伴う気液界面の移動を粒子整列化に利用した。その結果の蛍光顕微鏡写真を図 4f に示す。フーリエ解析により通常の方法と同じ約  $1\mu\text{m}$  ピッチの直交した周期性が認められ、また図 4d と比較して、二層目の整列性が改善した。

### ⑦まとめ

DNA を介した結合の選択性により、二層目までの階層的な製作手法の有効性が示された。しかしながら、図 4d に示したように一層目、二層目ともに完全な結晶化が実現しているとはいえない。いずれにおいても粒子が整列化していない箇所 (非整列領域) や粒子が抜けた穴 (剥離または欠落)、また余分な三層目 (不要な堆積) などが観察された。今後はより高品質で多層な結晶の製作を目指し、手法を洗練していきたい。

### (3) メタマテリアルのための金属リング構造の作製

#### ①T-junction and T-motifs

新しい分岐構造「T-junction (T 字型分岐構造)」を提案し、これを用いたモチーフ群「T-motif」の設計指針を明らかにした。T-junction の導入により形状要素のレパートリーを増加することができた。図 5 には、本研究にて作製した T-motif と総称される一次元のはしご型構造 (2 種)、二次元の平面格子構造 (2 種)、リング構造の 5 種類のモチーフ群の模式図を示す。

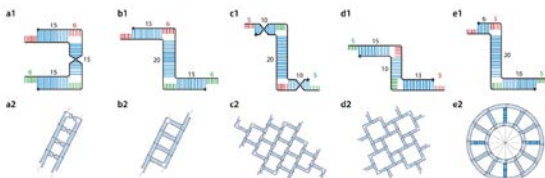


図 5 新たに作製した T-motif。a1, b1 : はしご型、c1, d1 : 平面格子型、e1 : リング型。a2, b2, c2, d2 および e2 は対応する集積構造を示す。

### ②基板上成長法

ここで基板上成長法は、DNA ナノ構造を基板に弱く吸着させた状態で構造形成を行う手法をさす。本研究では基板にマイカ片を用い、基板との間にマグネシウムイオンなどの多価イオンを介して DNA が吸着する対イオン集積の原理を利用することによって行った。設計した 5 種類の T-motif すべてについて、基板上全面での構造形成が確認でき、それぞれ溶液中より大面積かつ高い完成率の構造が得られることをみいだした。

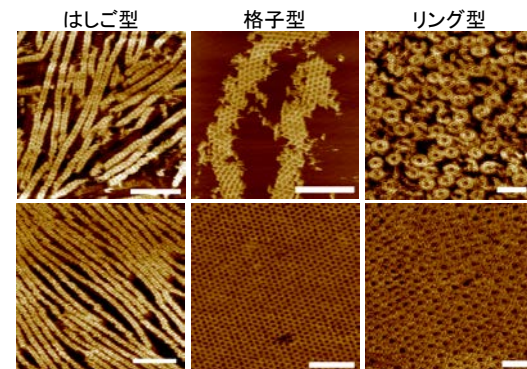


図 6 基板上成長法による完全性の向上。上図は基板を用いない場合、下図は基板を用いた場合。スケールバーは  $100\text{nm}$  を示す。

### ③シミュレーションモデルの開発

開発したモデルでは、次の三段階からなる過程を考慮した。第一段階では、自己集合と吸着過程についてそれぞれ自由エネルギーの変化を算出した。前者は粘着末端部の DNA 二本鎖形成を Nearest-Neighbor 法を用いることで、後者は円筒 (DNA) - 平面 (マイカ) 間の吸着エネルギーに DLVO 理論を適用することによって求めた。第二段階では、自由エネルギー変化を熱力学的平衡の式に導入し、溶液中および基板上での化学種間の動的関係関係を求めた。第三段階では、第二段階で求めた平衡式から準静的状態における速度式を導出し、状態間の変化速度を算出した。実際に、T-motif によるリング構造の基板上成長シミュレーションを行い、実験結果と定性的に一致することが分かった。

### ④まとめ

今回開発した T-motif により、 $10\sim 50\text{nm}$  のスケールの回路要素を作製し、基板上成長法により、大面積にこれら要素を膜状に整列させることが可能となった。今後、T-motif に DNA アンカーを設置し、これに相補的な DNA を修飾した金微粒子を連結することにより回路要素を金属化し、メタマテリアルとしての特性評価を行う予定である。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 9 件)

- [1] 木村良範、金田祥平、藤井輝夫、村田智 : DNAを用いたフォトニック結晶の階層的結晶成長制御、日本電気学会論文誌E、131、印刷中 (2011) 査読有.
- [2] S. Hamada and S. Murata: Algorithmic self-assembly of single-duplex DNA nanostructures. International Journal of Unconventional Computing, in press (2011) 査読有.
- [3] M. Ishikawa and R. Kitano: Colloidal gas-liquid condensation of polystyrene latex particles with intermediate  $\kappa a$  values (5 to 160,  $a \gg \kappa^{-1}$ ). Langmuir, 26, 2438-2444 (2010) 査読有.
- [4] S. Hamada and S. Murata: Substrate-assisted assembly of interconnected single-duplex DNA nanostructures. Angew. Chem. Int. Ed., 48, 6820-6823 (2010) 査読有.
- [学会発表] (計 31 件)
- [1] M. Ishikawa: Gas-liquid-solid condensation of charged colloids under microgravity. The 1st International workshop on colloidal experiments on board ISS, ESA/NASA/CSA/JAXA, 2010/11/27, Paris 招待講演.
- [2] M. Ishikawa, S. Ito, S. Miyoshi and J. Habasaki : Colloidal gas-liquid-solid phase diagram in low ionic strength solution. 8th Japan-China-Korea Workshop on Microgravity Sciences, 2010/09/23, Sendai.
- [3] M. Ishikawa, S. Ito, R. Kitano and J. Habasaki: Gas-liquid-solid phase diagram of charge stabilized colloids in low ionic strength solutions. NCSS2010, 2010/9/22, Makuhari.
- [4] S. Hamada and S. Murata: Toward self-organization of DNA nano-rings using non-specific interactions. Foundations of Nanoscience 2010 (FNANO2010), 2010/04/28, Snowbird, UT (US).
- [5] S. Murata: Substrate-assisted self-assembly of DNA nanostructure and its application in molecular robotics. Foundations of Nanoscience 2010 (FNANO2010), 2010/04/28, Snowbird, UT (US) 招待講演.
- [6] 伊藤峻, 三好早希, 石川正道 : 重力沈降過程におけるコロイド粒子の異常な自己集積挙動 (その2)、第 26 回宇宙利用シンポジウム・日本学術会議、2010. 1. 25、宇宙航空研究開発機構.

- [7] 木村良範, 金田祥平, 藤井輝夫, 村田智 : DNAを用いたフォトニック結晶の階層的結晶成長制御、計測自動制御学会システム・情報部門学術講演会、2009. 11. 26、東京工業大学.
- [8] 石川正道, 北野良太 : 重力沈降過程におけるコロイド粒子の異常な自己集積挙動、第 62 回コロイドおよび界面化学討論会、2009. 9. 19、岡山大学.
- [9] S. Murata, S. Nishimoto, S. Hamada: 3 New Motifs for DNA Nanostructures, International Conference on Materials for Advanced Technologies 2009 (ICMAT 2009), 2009. 6. 29, Singapore, 招待講演.
- [10] 石恵美子, 石川正道 : 3 点分岐型DNAモチーフによる自己組織化格子パターンの成長カイネティクス、日本地球惑星科学連合 2009 年大会、2009. 5. 17、幕張メッセ国際会議場.

[図書] (計 6 件)

- [1] 石川正道 : 辻井薫監修「現代界面コロイド科学の事典—シャンプーから宇宙まで—」、丸善 (2010), 2.
- [2] 石川正道 : 国武豊喜監修「自己組織化ハンドブック」、エヌティーエス (2009), 5.
- [3] 村田智 : 山下一郎・芝清隆監修「バイオナノプロセス—溶液中でナノ構造を作るウェット・ナノテクノロジーの薦め」、シーエムシー出版 (2008), 4.
- [その他]
- [1] 研究期間を通じて「ナノデバイス研究会」を開催した (年 4 回)。

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石川 正道 (ISHIKAWA MASAMICHI)  
東京工業大学・大学院総合理工学研究科・教授  
研究者番号 : 60376952

### (2) 研究分担者

村田 智 (MURATA SATOSHI)  
東北大学・工学研究科・教授  
研究者番号 : 10334533

### (3) 連携研究者

梶川 浩太郎 (KAJIKAWA KOTARO)  
東京工業大学・大学院総合理工学研究科・教授  
研究者番号 : 10214305

### (4) 連携研究者

北本 仁孝 (KITAMOTO YOSHITAKA)  
東京工業大学・大学院総合理工学研究科・准教授  
研究者番号 : 10272676