

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 19 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23655130

研究課題名(和文) ナノイオン液体を基盤とする超高感度分析システムの開発

研究課題名(英文) Development of Ultra-sensitive Analysis System Based on Confined Ionic Liquids on Nanostructures Surface

研究代表者

森川 全章 (Morikawa, Masa-aki)

九州大学・工学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：10363384

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：ZnOやSiナノワイヤーアレイ構造を大面積で均一に作製する手法を確立した。これらの表面ナノ空間にイオン液体を保持し、ローダミンBの水溶液と接触させた。その結果、ローダミンBは水相からイオン液体相へ千倍以上濃縮抽出され、高感度に蛍光検出できることを見出した。

一方、光機能性の分子集積体による分子情報の増幅についても検討した。カチオン性脂質のキャスト膜とアニオン性色素の水溶液を接触させると、適切な組み合わせの場合、膜表面が高次構造化することを見出した。このとき色素はJ会合体を形成し、蛍光標識した生命分子等へのエネルギー移動によりこれらを高感度に蛍光検出できることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：ZnO or Si nanowire arrays with a large-area and high-density were fabricated on glass or Si substrates. After spin-coating a hydrophobic ionic liquid (IL) on the nanostructured surface, a aqueous solution of rhodamine B was placed on it. As a result, rhodamine B was efficiently concentrated more than 1,000 times by extracting into the thin layer of IL on the substrate, and it can be detected by fluorescence with high sensitivity.

On the other hand, we have also utilized photofunctional molecular assemblies to convert and amplify molecular information of target biomolecules. The appropriate combination of cationic lipids and anionic dyes affords unique superstructures simply by being in contact with aqueous dye with the cast-film of cationic lipids. The anionic dyes adsorbed on the lipid film as J-aggregates, and they were used as fluorescence donor to detect 7-nitrobenzofurazan-labeled biomolecules based on the fluorescence resonance energy transfer on the composite films.

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：表面・界面 イオン液体 分析化学 分子情報変換

### 1. 研究開始当初の背景

科学の発展は、様々なものを作り出す化学合成の技術、合成した物質の特性を評価する原理や方法論の開拓、そしてそれを手助けする分析機器により支えられてきた。近年、分子レベルで疾病原因を究明する研究や量子効果ナノデバイスなどの発展により、極微量分析や高分解能分析に対する要請がますます高まっている。しかし、原理的あるいは技術的な問題により、汎用の機器では感度や分析精度が十分ではなく、また、最新の高性能機器は高価であるなどの問題に直面する機会が多い。生化学の分野では、抗原あるいは抗体を高感度に検出するために、酵素反応により検体の情報を増幅する ELISA 法が利用されている。しかし、実験操作が煩雑であることや、小分子の検出は技術的難易度が高いなどの欠点がある。このような問題を解決するには、検出対象となる分子情報を普遍的かつ簡便な手法により増幅することが重要であるが、そのような一般的方法論は未開拓である。

### 2. 研究の目的

我々はこれまでに、イオン液体の界面材料化学に関する一連の研究から、水中に溶解した微量の物質（有機色素や金属錯体、無機ナノ粒子など）が、ある種のイオン液体中に効率的に抽出されることや、イオン液体中では色素分子の蛍光量子収率が飛躍的に向上することなどを見出してきた。本研究は、微細加工を施した基板にナノリットルのイオン液体を保持するための新しい技術を開発し、この基板を用いて少なくとも 1000 倍以上、分子情報を増幅（濃縮）し、多様な分析機器に広く適用できる新しい超微量・超高感度分析システムを開拓することを目的とする。具体的な研究目標を以下に述べる。

(1) 多様な基板にマイルドな条件下で酸化亜鉛やシリコンナノワイヤーアレイなどの高比表面積ナノ構造を構築するための手法を確立する。

(2) イオン液体が不揮発性であることを利用して、上記の微細加工基板表面のナノ空間に極微量のイオン液体を安定に保持するための新しい技術を開発する。

(3) 疎水性イオン液体を保持した微細加工基板を用い、水溶液中の微量検体を疎水性イオン液体中に濃縮し、超高感度で検出する新しい分析システムを開発する。

(4) 機能性有機分子の動的な自己組織化によって、固体表面上に高比表面積を有する構造体を構築し、その光捕集機能を利用した高感度分析システムを開発する。

### 3. 研究の方法

(1) 酸化亜鉛ナノワイヤーアレイ構造は、基板上への種結晶の固定化と水熱反応による成長プロセスにより構築した。様々な方法によって種結晶の固定化を試み、また成長液

に 1,3-ジアミノプロパンを加えることによって、アスペクト比の異なるナノワイヤーアレイ構造を作製した。また、既報に従って金属誘起エッチング法によりシリコンナノワイヤーアレイ構造を作製した。

(2) 代表的な疎水性イオン液体として、1-ブチル 3-メチルイミダゾリウム ビス(トリフルオロメタン)スルホニル) アミド (bmimTf<sub>2</sub>N) を用いた。親水のおよび疎水の表面を有する基板に bmimTf<sub>2</sub>N をスピコートし、共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) により基板表面に保持されたイオン液体を観察した。

(3) モデル分子としてローダミン B を用い、その水溶液をスライドガラス上に滴下した。bmimTf<sub>2</sub>N を保持した基板を接触させ、イオン液体相へのローダミン B の抽出プロセスを CLSM により観察した。

(4) カチオン性脂質のキャスト膜を作製し、アニオン性色素の水溶液と接触させた。CLSM 観察や顕微分光分析により、固-液界面の動的な構造変化について評価した。

### 4. 研究成果

(1) 酢酸亜鉛のエタノール溶液 (5 mM, 30 μl) をシリコンやガラス基板上に滴下し、2 分間保持した後、エタノールで洗浄した。この操作を 5 回繰り返した後、350°C で 20 分間アニーリングすることにより、酸化亜鉛のナノ結晶を基板上に固定した。つぎに、この基板を成長液 (25 mM 硝酸亜鉛, 25 mM ヘキサメチレンテトラミン) に浸漬し、90°C で所定時間反応させることにより、酸化亜鉛ナノワイヤーアレイ構造を構築した。このとき、所定濃度の 1,3-ジアミノプロパンを加えることにより、アスペクト比の異なる構造体を系統的に作製した (直径: 約 100 nm, 長さ: 約 400~3000 nm)。一例としてアスペクト比 20 の酸化亜鉛ナノワイヤーアレイ構造の SEM 像を図 1 に示す。

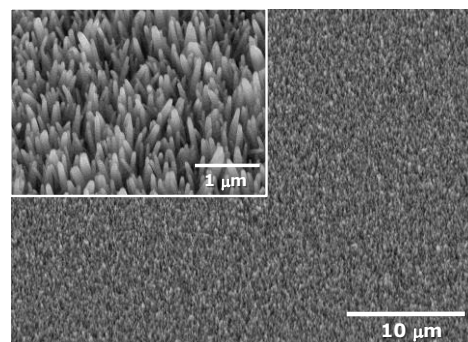


図 1 酸化亜鉛ナノワイヤーアレイ構造の SEM 像

(2) 酸化亜鉛やシリコンナノワイヤーアレイ構造の表面ナノ空間に極微量のイオン液体をコーティングするため、bmimTf<sub>2</sub>N のメタノール溶液 (10 μl) をスピキャストした。このとき、基板表面のイオン液体を CLSM

により可視化するため、ローダミン 6G をあらかじめ加えておいた。図 2 は、シリコンナノワイヤーアレイ構造の表面に保持された  $\text{bmimTf}_2\text{N}$  の CLSM 像である。

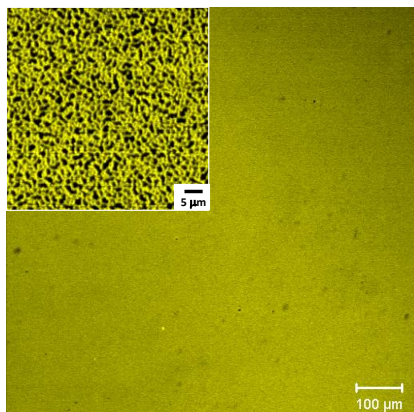


図 2 シリコンナノワイヤーアレイ構造の表面に保持された  $\text{bmimTf}_2\text{N}$  の CLSM 像 ( $\lambda_{\text{ex}} = 514 \text{ nm}$ )

基板表面からローダミン 6G に由来する蛍光が観察され、 $\text{bmimTf}_2\text{N}$  が均一に基板表面にコーティングされていることが分かる。また、拡大するとシリコンナノワイヤーアレイの表面構造に対応する  $\text{bmimTf}_2\text{N}$  の微細構造が確認された。これは、 $\text{bmimTf}_2\text{N}$  が基板表面のナノ空間に保持されていることを示している。一方、平坦な基板上に  $\text{bmimTf}_2\text{N}$  のメタノール溶液をスピんキャストした場合、 $\text{bmimTf}_2\text{N}$  は基板表面に保持されることはなかった。このことから、基板表面の微細なナノ構造がイオン液体を保持するために重要であることが明らかとなった。

(3) スライドガラス上に 1 wt% 牛血清アルブミン (BSA) 水溶液 (20  $\mu\text{l}$ ) を滴下し、 $\text{bmimTf}_2\text{N}$  を保持した基板と接触させた。その結果、基板表面において  $\text{bmimTf}_2\text{N}$  のマイクロ液滴アレイが観察された (図 3)。

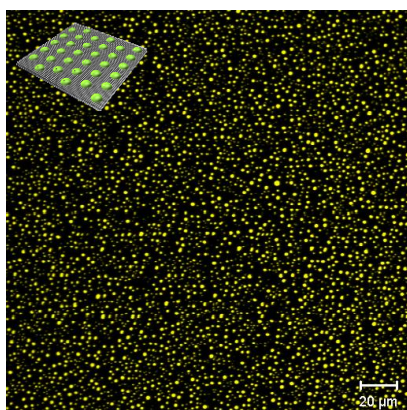


図 3 基板表面に形成された  $\text{bmimTf}_2\text{N}$  のマイクロ液滴の CLSM 像 ( $\lambda_{\text{ex}} = 514 \text{ nm}$ )

これは基板表面のナノ空間から  $\text{bmimTf}_2\text{N}$  が追い出されると同時に、BSA がイオン液体/水界面に吸着し、安定なイオン液体のマイク

ロ液滴が形成されたためと考えられる。つぎに、モデル分子としてローダミン B を用い、イオン液体への濃縮抽出について検討した。スライドガラス上に BSA を含むローダミン B の水溶液 (100 nM, 20  $\mu\text{l}$ ) を滴下し、 $\text{bmimTf}_2\text{N}$  を保持した基板と接触させた。その結果、ローダミン B の蛍光がイオン液体相から確認された。興味深いことに、ローダミン B の水溶液 (100 nM) は目視にて蛍光を確認することはできないが、基板表面のイオン液体へ抽出された後では目視でも容易に蛍光を確認することができた。すなわち、水中の微量検体であってもイオン液体を保持した基板と接触させるだけで高感度に検出できる新しい分析手法を開発することに成功した。

(4) 機能性有機分子の動的な自己組織化によって、固体表面上に高比表面積を有する構造体を構築し、その光捕集機能について検討した。具体的には、二本鎖型アンモニウム脂質のスピんキャスト膜を作製し、アニオン性色素の水溶液を滴下した。その結果、固-液界面の動的な構造変化が誘起され、サンゴ礁を彷彿とさせるような膜表面の高次構造化が進行することを見出した (図 4)。

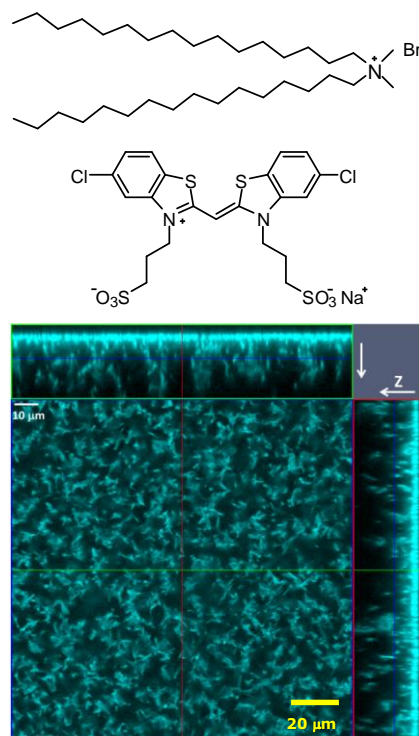


図 4 脂質/色素超構造体の CLSM 像 ( $\lambda_{\text{ex}} = 458 \text{ nm}$ )

また、得られた構造体の顕微分光分析により、アニオン性色素は膜表面において J 会合体を形成していることが明らかとなった。一般に、J 会合体はエネルギーマイグレーションが効率良く起こることから、得られた超構造体の光捕集特性について検討した。蛍光アクセプターとなる色素をあらかじめ脂質膜内に導入した後、先と同様に膜表面の高次構造化を行った。色素の J 会合体を光励起したと

ころ、超構造体全体からアクセプター色素の発光が観測された。このことは、膜表面においてJ会合体からアクセプター色素への蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) が起こっていることを示している。さらに、7-nitro-2,1,3-benzoxadiazole (NBD)を蛍光標識したグルタミン酸の水溶液を超構造体の表面に滴下すると、J会合体からのエネルギー移動が効果的に起こることにより、高感度 (1 nM) に検出できることが明らかとなった。

#### 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7件)

①T. K. Singh, K. Ishiba, M-a. Morikawa and N. Kimizuka

“Self-Assembly of Azobenzene Bilayer Membranes in Binary Ionic Liquid-Water Nanostructured Media” *Langmuir*, **30**, 2376–2384 (2014). DOI: 10.1021/la405010f

② M-a. Morikawa, S. Tsunofuri and N. Kimizuka

“Controlled Self-assembly and Luminescence Characteristics of Eu(III) Complexes in Binary Aqueous/Organic Media” *Langmuir*, **29**, 12930–12935 (2013). DOI: 10.1021/la403216e

③ M-a. Morikawa, R. Nii and N. Kimizuka

“Redox-Active Microcapsules of Cytochrome c Formed at the Ionic Liquid-Water Interface” *Chem. Lett.*, **42**, 788–790 (2013).  
<http://dx.doi.org/10.1246/cl.130249>

④ M-a. Morikawa, K. Murata, K. Yamada and N. Kimizuka

“Controlled Formation of Microspheres from Ferrocene-Derivatized Amino Acids in Binary Aqueous-Organic Media” *Chem. Lett.*, **42**, 501–503 (2013).  
<http://dx.doi.org/10.1246/cl.130050>

⑤ M-a. Morikawa, A. Takano, S. Tao and N. Kimizuka

“Biopolymer-Encapsulated Protein Microcapsules Spontaneously Formed at the Ionic Liquid-Water Interface” *Biomacromolecules*, **13**, 4075–4080 (2012). DOI: 10.1021/bm301371t

⑥ M-a. Morikawa and N. Kimizuka

“Converting Molecular Information of Redox Coenzymes via Self-Assembly” *Chem. Commun.*, **48**, 11106–11108 (2012). DOI: 10.1039/C2CC35827A

⑦ T. Singh, P. Bharmoria, M-a. Morikawa, N. Kimizuka and A. Kumar

“Ionic Liquids Induced Structural Changes of Bovine Serum Albumin in Aqueous Media: A Detailed Physicochemical and Spectroscopic Study” *J. Phys. Chem. B*, **116**,

11924–11935 (2012).

DOI: 10.1021/jp303609h

[学会発表] (計5件)

①角振将平・森川全章・君塚信夫

「固-液界面系における脂質-色素超構造の特異的形成と機能 (1)」  
第64回コロイドおよび界面化学討論会, 2013年9月, 名古屋工業大学.

②森川全章・沖崎剛士・君塚信夫

「固-液界面系における脂質-色素超構造の特異的形成と機能 (2)」  
第64回コロイドおよび界面化学討論会, 2013年9月, 名古屋工業大学.

③角振将平・森川全章・君塚信夫

「固-液界面における特異な脂質-色素超構造体の形成と機能性」  
第58回高分子夏季大学, 2013年7月, 広島国際会議場.

④角振将平・森川全章・君塚信夫

「固-液界面系の自己集合による脂質-シアニン色素超構造体の形成」  
日本化学会第93春季年会, 2013年3月, 立命館大学.

⑤森川全章・君塚信夫

「非平衡系の動的な分子の自己組織化に基づく高次構造の形成と機能」  
第61回高分子討論会, 2012年9月, 名古屋工業大学.

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

森川 全章 (MORIKAWA Masa-aki)

九州大学・大学院工学研究院・助教

研究者番号: 10363384