

シングルイオンナノ構造体形成法による多機能ナノ組織体の形成

Multi-functional Multi-segment Nanostructure Formation by Single Particle Nanofabrication Technique

関 修平 麻野敦資¹⁾ 杉本雅樹 佐藤隆博 及川将一²⁾

Shu SEKI, Atsushi ASANO Masaki SUGIMOTO, Takahiro SATO, Masakazu OIKAWA

¹⁾大阪大学 ²⁾原子力機構

高エネルギー荷電粒子を放射線照射によって架橋反応を引き起こす高分子に照射した場合、荷電粒子一つ一つの飛跡に沿ってイオントラック内で架橋反応を起こしゲル化する。このため、ナノメートルスケールの円柱状のひも(ナノワイヤー)の形成が可能である。基板上に単離されたこれらナノワイヤーを原子間力顕微鏡によって直接観測し、高分子多層膜用いた複合機能化ナノ粒子の形成や、有機-無機転換反応を利用した無機ナノワイヤーの形成に成功した。

キーワード：ナノファイバー・ナノワイヤー・単一粒子ナノ加工

1. 目的

高エネルギー荷電粒子がターゲットに侵入した際、イオントラックと呼ばれる粒子の飛跡に沿った非常に局所的な範囲内においてのみ限定的に高エネルギーを付与する。ターゲットとして放射線照射に対して架橋型の反応を示す高分子材料を用いた場合、付与されるエネルギーによりイオントラック内に架橋反応点が選択的に分布し、分子間架橋反応といった不均一な反応を介してゲル化を誘起する。我々はこの単一粒子ナノ加工法 (SPNT) により、さまざまな合成高分子からナノ構造体を形成し、原子間力顕微鏡による直接観察を報告してきた。本研究では生体高分子、特にタンパク質をベースとしたナノ構造体の形成に着目した。タンパク質は優れた生体適合性材料と考えることができ、特定化合物に対する親和性や酵素活性といった機能を示すものが多く存在する。タンパク質の特異的な機能を保持し、ナノワイヤーを形成すれば、高感度イムノアッセイやドラッグデリバリングといった医学・生理学的応用に繋がることを期待される。そこでアルブミンを中心に、タンパク質のナノ構造体形成を行った。

また、SPNT 法で得られたタンパクナノワイヤーの酵素反応を用いた加水分解反による分解を観察したことを報告する。

2. 方法

ナノ構造化のための高エネルギー粒子として、日本原子力開発機構高崎量子応用研究所・サイクロトロン (TIARA) からの各種粒子を使用した。ターゲットには生体高分子の一種であるアルブミンを中心に用いた。ガラス基板を親水処理後、上記タンパク質を薄膜化し、真空中で高エネルギー粒子を貫通させた。試料膜厚は、100 nm~8 μm 程度に制御し、照射後未架橋部分を可溶性溶媒で現像を行った。現像後、基板上に形成されたナノワイヤーを原子間力顕微鏡 (AFM) により直接観察し、そのサイズ・形態の特性評価を行った。酵素反応ではプロテアーゼの一種である、トリプシンを用いて行った。

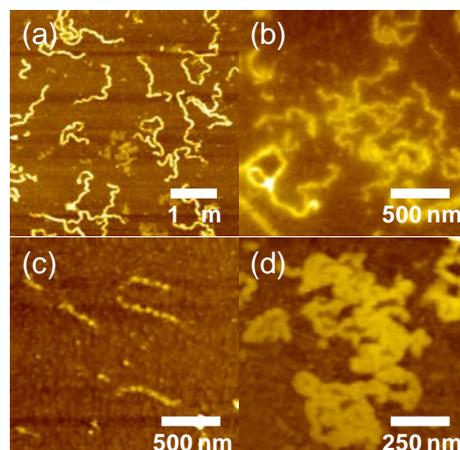


Figure 1. AFM micrographs of bio-macromolecular nanowires fabricated by SPNT. The nanowires were based on human serum albumin (a), bovine serum albumin (b), ovalbumin (c), and avidin (d), respectively.

3. 研究成果

生体高分子の一種であるタンパク質をベース材料とするナノ構造体形成を行った。ターゲットとなるタンパク質としてはアルブミンを中心にヒト血清アルブミン(HSA)、ウシ血清アルブミン(BSA)、卵白アルブミン、アビジンを用いた。これら4種類のタンパク質からナノ構造体が AFM によりそれぞれ観察された (Figure 1)。この結果から SPNT 法では合成高分子だけでなくタンパク質をベースとするナノ構造体の形成が可能であることが示された。また血清アルブミンに合成高分子のナノ構造化の場合と同様にナノワイヤーの長さは高分子薄膜の膜厚に、数密度は照射線量によってコントロールすることが可能であった。さらに、タンパクナノワイヤーに機能を付加するため、異なる材料との複合化を目標とし、二層の高分子薄膜からナノ構造体の形成を試みた。ベースとなる材料として HSA と poly(4-chlorostyrene) を選択した、連結ナノワイヤーを作成した。AFM によるワイヤー長の測定から異なる材料の連結が確認できた。この結果から、SPNT 法ではタンパク質と合成高分子といった異なる種類の材料を組み合わせることが可能であることが示された。

また SPNT 法により形成されたナノ構造体がどの程度、材料であるタンパク質の構造を保持しているのかどうかを評価するために、酵素反応によるタンパクナノワイヤーの加水分解反応を行った。反応進行の確認として AFM 像による構造体の形状の変化を観察した。アミノ酸であるリジン・アルギニン残基のカルボキシル基側のペプチド結合を切断するトリプシンを用いた場合、タンパクナノワイヤーの分解が確認できた。時間の経過とともにナノワイヤーのフラグメンテーション化が起り始め、酵素反応開始 20 分後ではナノワイヤーは完全に観察されなくなった (Figure 2)。この結果から SPNT 法で形成されるタンパクナノワイヤーはタンパク質の基本構造であるペプチド結合を保持した状態でナノ構造化していると考えられた。

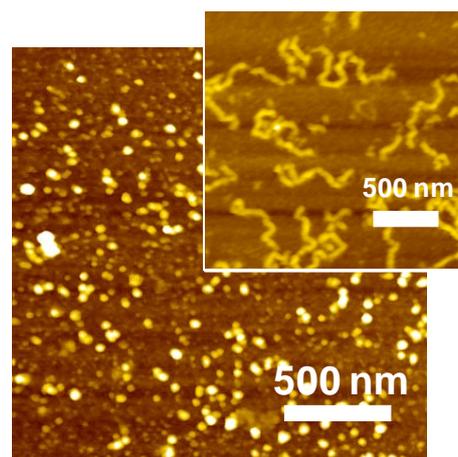


Figure 2. AFM micrograph of the protein nanowires hydrolyzed by trypsin. HSA nanowires were immersed into 0.5 w/v% trypsin - 1 mM EDTA·4Na aqueous solution at 37°C for 20 min. Superimposed figure shows the AFM micrograph of nanowires based on HSA prepared by exposing film of 920 nm thickness to a 470 MeV Xe beam at an ion influence of 3.0×10^8 ions cm^{-2} .

4. 結論・考察

以上の結果は、SPNT 法では生体高分子をベース材料とするナノワイヤー形成が可能であることが示された。またタンパクナノワイヤーはナノ構造化後もペプチド結合といった基本構造を維持していることが予想された。

5. 引用(参照)文献等

- 1) S. Seki, et al., *Adv. Mater.*, **13** (2001) 1663.
- 2) S. Seki, et al., *Macromolecules*, **39** (2006) 7446.
- 3) Watanabe, S., et al., *J. Polym. Sci. Technol.*, **21** (2008) 541.
- 4) S. Seki et al. *Phys. Rev. B*, **70** (2004) 144203.
- 5) S. Tsukuda, et al.: *J. Phys. Chem. B*, **110** (2006) 19319.
- 7) S. Seki, et al.: *Surf. Coat. Technol.*, **201** (2007) 8495.
- 8) S. Tsukuda, et al.: *Surf. Coat. Technol.*, **201** (2007) 8526.
- 9) S. Seki, et al.: *J. Photopolym. Sci. Technol.*, **20** (2007) 125.
- 10) S. Tsukuda, et al.: *J. Photopolym. Sci. Technol.*, **23** (2010) 235.