

称号及び氏名 博士（工学） 川岸 啓人

学位授与の日付 2023年3月31日

論文名 「1分子制御化学プロセスのための基盤技術開発」

論文審査委員  
主査 野村 俊之  
副査 齊藤 丈靖  
副査 武藤 明德  
副査 許 岩

## 論文要旨

化学プロセスは火の発見を始めとして、紀元前から利用されてきた。こうした化学プロセスを科学的に理解するために化学という分野が成立し、17、18世紀の化学革命に始まり、原子と分子の存在が20世紀初頭に確認されるまでのおよそ3世紀の間に、分析技術の発展とともに基礎的知見が固められた。化学の基礎がほぼ理解された19世紀末、化学プロセスを制御し、どのように化学製品を作るかを研究する化学工学が成立した。その後、化学反応を伴わない単位操作の概念や、移動速度論やプロセスシステム工学などの化学工学の基礎分野が導入されたことで、今日の化学産業の発展が達成された。

こうした一連の流れは、マイクロスケールの化学でも起こっており、顕微鏡による微量化学分析技術をルーツとして、19世紀末にマイクロ化学が始まった。マイクロ化学分野の興味は当初、微小化による分析の高感度化や高速化、サンプル使用量の削減といった分析上の利点にのみ向けられていた。しかし、高効率化や分離能、低用量による安全性向上といった反応器としての利点の発見、大量生産を可能にする並列化の導入によって、次第にマイクロリアクターとしてマイクロスケールの化学プロセス研究が進められ、現在では産業化もしている。現在、化学は1分子スケールにまで突入しており、これは1分子化学として成立している。これも1分子分析が可能な顕微鏡技術の開発によって進展した成果である。1分子化学では、これまでのスケールで取得されていたアンサンブル平均な分子情報のみでは明らかにできない個々の分子の挙動やその不均一

性を明らかにできることも分かっており、分析研究が集中して進められている。化学が進むべき次の領域は、1分子の化学プロセス開発であるが、分子はサブナノメートルまたはナノメートルスケールと非常に小さく、また産業や生体内のほとんどの化学反応で重要な液相において分子は激しくブラウン運動しているため、1分子に対して単位操作が可能なツールは存在しない。したがって、液相における1分子を自由自在に操作して行うような化学研究は未だに挑戦的である。本博士論文では、このような化学研究を1分子制御化学、溶液内に溶質分子を1分子だけ含むアトリットル ( $aL = 10^{-18} L$ ) スケールの液滴を1分子液滴と定義し、1分子液滴を操作することで、1分子制御化学プロセスを実現できると考えた。

1分子制御化学プロセスを実現するため、1分子液滴作製、操作、検出の課題を同時に対処することが必要となる。しかし、1分子液滴は数百ナノメートルスケールと非常に小さいため、これを解決するための基盤技術が存在せず、新しい技術開発が必要である。ナノメートルスケールの流体现象や化学を研究するナノフルイディクス (Nanofluidics) という分野では、ナノメートルスケールの流路内で分子などのナノマテリアルの閉じ込めが可能なナノ流体デバイスというツールが利用されている。ナノ流体デバイスは、光透過性に優れ、機械的にも化学的にも安定で、1分子検出のための顕微鏡システムへの組み合わせに適している。これらの特徴は、1分子制御化学プロセスの課題解決の可能性を有していると考えられる。そこで本博士論文では、ナノ流体デバイスに着目し、1分子制御化学プロセスに向けた基盤技術の開発を目的に、以下の研究成果についてまとめた。

第1章では、本博士論文の背景と目的をまとめた。

第2章では、1分子液滴の作製に向けたナノメートルスケールの気液界面作製法の探索を行った。制御可能なナノメートルスケールの気液界面作製を目的に、親水疎水ナノパターンを有するナノ流体デバイスを設計、作製し、ナノ流体操作によってナノメートルスケールの気液界面を作製した。作製された気液界面は、均一、安定、配列と輸送が可能であり、さらに目的の分子を濃縮する能力があることも見出した。この結果は、界面を安定化させるナノ流路構造と、界面形成のための外部エネルギーを設計することで、制御可能なナノスケールの界面が得られることを示した。

第3章では、操作可能なアトリットル液滴の作製とその操作技術の開発を行った。第2章で得たナノメートルスケールの界面作製に関する知見から、操作可能なアトリットル液滴の作製とその操作を目的に、ナノ流路構造によって界面の形成が可能なナノ流体デバイスを設計、作製した。さらに、ナノ流体操作によって気液、固液、液液界面を形成することで、それぞれ3種類のアトリットル液滴を作製した。作製の結果、気液界面、固液界面形成による操作可能なアトリットル液滴の作製には様々な課題があると明らかになった。そこで、液液界面の形成によって作製したアトリットル液滴に注目し、アトリットル液滴を操作を行い、成功した。この結果は、設計したナノ流路構造によって、操作可能なアトリットル液滴の作製とその操作が行えることを示した。

第4章では、1分子液滴の作製、操作、検出を行った。第3章で得た知見から、1分子液滴の作製と操作を目的に、1分子蛍光観察のための光学系を設計、構築し、蛍光分子の1分子液滴をナノ流体操作によって作製、操作した。ナノ流体デバイス内において、1分子の信号が観察できることを確認し、1分子液滴が作製されたことを明らかにした。また、作製した1分子液滴も移動させられることが分かった。この結果から、1分子制御化学プロセスのコンセプト実証に成功し、1分子液滴の操作が液相中における1分子の操作に有効であることが示された。さらに第4章では、より多くの1分子情報取得を目的に、ナノ流体デバイス内における蛍光共鳴エネルギー移動 (Fluorescence resonance energy transfer, FRET) を利用した2分子間相互作用分析と蛍光寿命相関分光法 (Fluorescence Lifetime Correlation Spectroscopy, FLCS) を行った。FRET光検出に適した光学系を設計、構築し、ナノ流体デバイス内のFRETペア分子間のFRET光を蛍光顕微鏡によって観察した。実験の結果、ナノ流路内でFRET光の観察に成功した。FLCS実験に適した光学系を設計、構築し、ナノ流体デバイス内の常用蛍光色素をFLCSによって分析し、測定を検証するために実験データと参照データを比較した。実験の結果、ナノ流路内での蛍光寿

命測定に成功した。この結果は、適切な光学系を設計することで、ナノ流体デバイスにおける 1 分子からより多くの情報を得られる可能性を示した。

第 5 章では、1 分子のより複雑な操作に向けた技術開発を行った。1 分子のさらなる操作技術開発を目的に、軟質ガラスを用いたバルブ機能を持つハイブリッドナノ流体デバイスの設計・開発、それを用いた単一分子流の制御、およびその単一分子流のダイナミクスの調査を行った。異種ガラス接合のための低温ボンディングを開発し、ハイブリッドナノ流体デバイスの作製に成功した。作製したハイブリッドナノ流体デバイスは、高耐圧、再接合可能であり、外部圧力によるガラスの変形によって単一分子流を塞ぎ止められることが明らかになった。さらに、バルブ機能をもつナノ構造に蛍光信号の増強効果、ブラウン運動を抑制する効果が確認された。これらの結果から、ハイブリッドナノ流体デバイスによって単一分子の操作をさらに拡張できることが示された。

第 6 章では、1 分子制御化学プロセスの応用領域拡大を目的に、逆ミセルのアトリットル液滴操作による観察可能な垂直脂質二重膜の作製を行った。ナノ流体操作によって、逆ミセルのアトリットル液滴が設計したナノ流路構造から作製されることを確認した。さらに作製されたアトリットル液滴は流体操作によって操作でき、接触させることで垂直な脂質二重膜を形成できることが明らかになった。この結果は、1 分子制御化学プロセスがマテリアル工学や生物物理学を始めとした、他の分野の課題解決に寄与できる可能性を示した。

7 章では、本博士論文で得られた結果と知見をまとめて結論とし、今後の課題と展望を述べた。本博士論で得られた成果は、1 分子制御化学プロセスのコンセプトである 1 分子液滴の実証を含む、1 分子の区画化、操作、検出のための基盤技術を示しており、1 分子制御化学プロセスの確立の基盤となる最初の技術が開発されたと言える。また、作製したナノ流体デバイス内では、閉じ込め効果を始めとするナノ空間特有の特徴も確認され、これらの特徴を組み合わせることで、1 分子制御化学プロセスをさらに拡張できる可能性を示した。さらに、作製された 1 分子液滴は、溶質閉じ込め能力の向上や、ナノバルブ技術との組み合わせによる複雑な操作、1 分子液滴による単位操作の開発が必要であり、これらは、今後の重要な課題になると考えられる。また、検出においては、バックグラウンドを抑制した信号の取得という新たな課題も発見された。筆者は本博士論文の成果が、従来の化学、化学プロセス工学から 1 分子制御化学とそのプロセスへの進化に大きく貢献し、1 分子の研究と応用の強力なツールになることを期待する。

## 審査結果の要旨

本論文は、液相中で1分子の単位操作を行うことのできる、1分子制御化学プロセス実現のための基盤技術開発に関する研究をまとめたものである。ナノメートルスケールの流路を有するナノ流体デバイスに着目することで、1分子制御化学プロセスが可能となるデバイスの設計と作製、流体操作、1分子検出を含む基盤技術の開発に取り組んでおり、以下の成果を得ている。

- (1) 親水疎水ナノパターンを有するナノ流体デバイスを設計、作製し、ナノ流体操作によってナノメートルスケールの気液界面を作製した。作製された気液界面は、均一、安定、配列と輸送が可能であり、さらに目的の分子を濃縮する能力があることも見出した。
- (2) 設計したナノ流路構造と外部圧力によって液液界面を形成することで、操作可能なアトリットル液滴の作製とその操作が行えることを示した。また、気液界面、固液界面形成による操作可能なアトリットル液滴の作製には、流体操作上の課題があることを明らかにした。
- (3) 1分子蛍光観察のための光学系を設計、構築し、蛍光分子の1分子液滴をナノ流体操作によって作製、操作が行えることを示した。これにより、1分子制御化学プロセスのコンセプト実証に成功し、1分子液滴の操作が液相中における1分子の操作に有効であることが示された。また、ナノ流路内で蛍光共鳴エネルギー移動 (Fluorescence resonance energy transfer, FRET) の観察に成功した。さらに、ナノ流路内で蛍光寿命相関分光法 (Fluorescence Lifetime Correlation Spectroscopy, FLCS) を行い、蛍光寿命測定が行えることを示したと同時に、評価可能な相関曲線を得るためにはバックグラウンド光の抑制が課題になることを明らかにした。
- (4) 柔らかい部分と硬い部分を有するハイブリッドナノ流体デバイスの作製法を開発し、作製したデバイスが高耐圧、再接合可能であり、外部圧力による流路の変形によって単一分子流を塞ぎ止められることを明らかにした。さらに、バルブ機能をもつナノ構造に蛍光信号の増強効果、ブラウン運動を抑制する効果が確認された。
- (5) 設計したナノ流路構造とナノ流体操作によって、逆ミセルのアトリットル液滴が形成できること、さらにアトリットル液滴を操作、接触されることで、観察面に対して垂直な脂質二重膜が作製できることが明らかになった。

以上の諸成果は、1分子制御化学プロセスのコンセプトである1分子液滴の実証を含む、1分子の区画化、操作、検出のための基盤技術を示したものである。さらに、作製したナノ流体デバイス内では、閉じ込め効果といったナノ空間特有の特徴も確認され、これらの特徴を組み合わせることで、1分子制御化学プロセスをさらに拡張できる可能性が示されており、学術的、工業的に貢献するところ大である。また、申請者が自立して研究活動を行うのに必要な能力と学識を有することを証したものである。