

報道発表資料 (1 / 6 ページ)

報道資料提供 2019年1月30日(水)14時

「風船ガムセンサ」で1000兆分の1グラムのタンパク質を数分で検出 ～光の圧力と熱が産み出すミクロな風船ガムの収縮を利用～

大阪府立大学(学長：辻 洋)理学系研究科/LAC-SYS 研究所のチーム(植田眞由氏(平成29年度博士前期課程修了)、飯田琢也 所長、床波志保 副所長ら)は、人間の血管と同程度の太さの流路の中で光の圧力によって集積化した金属ナノ粒子(解説1)の集合体からの発熱効果でバブルを発生し、その収縮過程を利用してバブル表面に吸着したタンパク質とナノ粒子の集合体のサイズから1000兆分の1グラム(=1fg(フェムトグラム))レベルのタンパク質を数分で検出できる「バブルガムセンサ」の新原理を見出しました。本成果は2018年ノーベル物理学賞の対象となった光ピンセットの発展技術に関するもので、指先などから採取した微量の血液などの体液から、成人病やアレルギーの原因となるタンパク質を検出できるバイオ分析技術の基礎となるものであり、食品業界や医療分野における革新的な検査手法を提供し得る成果です。[APL Photonics の Featured Article, 米国物理学協会(AIP)の注目論文を紹介する Scilight にも選ばれました。]

■本研究のポイント■

- ・光誘起バブル表面に集積化した金属ナノ粒子集合体とタンパク質をバブルの収縮過程を利用して寄せ集めることで、従来法で数時間かかるところを、3分～10分程度で1000億分の1～1000兆分の1グラムのタンパク質の定量検出に成功。
- ・①マイクロ流体チップ中の狭い空間でレーザー光と熱源となる金属ナノ粒子集合体の相互作用確率を向上、②光の圧力で天井に打ち上げて集めることでバブルを効率良く発生、③同時に発生した光誘起対流とポンプで駆動された圧力によりタンパク質を効率良くバブル表面に集積化。
- ・タンパク質の添加量が多い場合は多数のバブルが発生し、広帯域の光を吸収する金属ナノ粒子固定化ビーズの集合体を短時間で多数形成でき、新規ナノ複合材料の開発にも適用可能。

◎「バブルガムセンサ」で千兆分の一グラムの微量タンパク質を検出

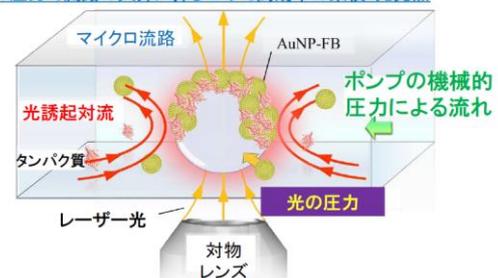


・3.4 fg(フェムトグラム)のタンパク質を集合面積から検出



※照射開始から10秒後にレーザーをOFF→収縮開始

・光の圧力で流路の天井に押しつけて高効率の集積・光発熱



「光の圧力」で集めたナノ粒子集合体の「発熱」でバブルを発生し、その表面に集積したタンパク質をバブルの収縮過程を利用して検出

研究論文名: Microflow-mediated optical assembly of nanoparticles with femtogram protein via shrinkage of light-induced bubbles (光誘起バブルの収縮を介したフェムトグラム・タンパク質によるナノ粒子のマイクロフロー媒介光集積)

著者: 植田眞由^{1,2,3}、西村勇姿⁴、田村守^{1,3}、伊都将司⁵、床波志保^{2,3}、飯田琢也^{1,3} (1 大阪府立大学大学院理学系研究科、2 大阪府立大学大学院工学研究科、3 大阪府立大学LAC-SYS 研究所、4 大阪市立大学大学院理学研究科、5 大阪大学大学院基礎工学研究科)

公表雑誌: APL Photonics(米国物理学協会(AIP)の科学論文雑誌)の Invited Article(招待論文)

公表日時: 2019年1月30日(水)0時30分 ※日本時間(米国時間2019年1月29日(火)10時30分)

【研究に関するお問い合わせ】 大阪府立大学 研究推進機構 LAC-SYS 研究所 TEL:072-254-8132

所長 飯田 琢也 Mail: t-iida [at] p.s.osakafu-u.ac.jp

副所長 床波 志保 Mail: tokonami [at] chem.osakafu-u.ac.jp

[at] の部分を@と差し替えてください。

報道発表資料 (2 / 6 ページ)

報道資料提供 2019年1月30日(水) 14時

1. 研究の背景

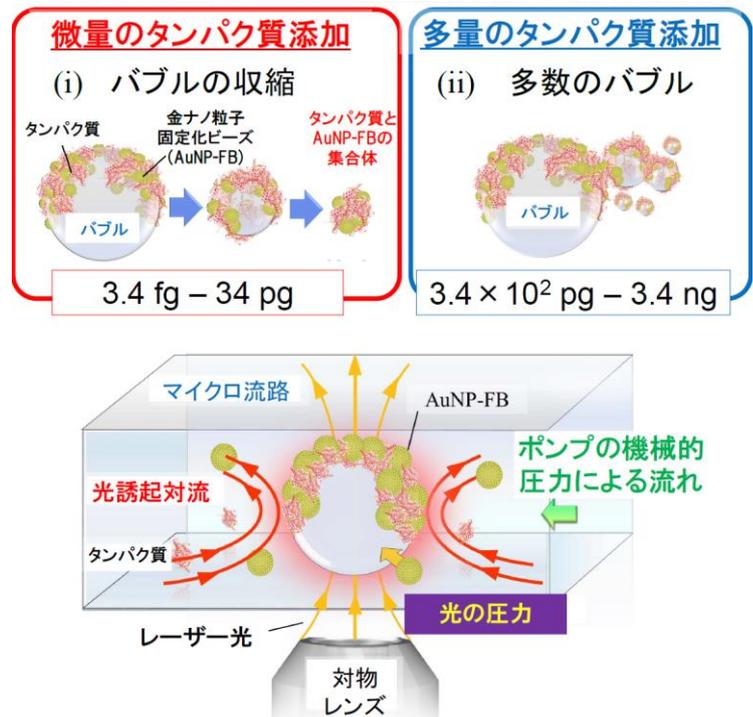
我が国が掲げる第5期科学技術政策における超スマート社会(Society 5.0)の課題である超高齢化社会における予防医療を含む「地域包括ケアシステム」や食の安全安心を含む「スマート・フードチェーンシステム」などでのニーズの高まりから、多様な生体物質の検査技術の迅速化・高感度化が求められています。身近な例では、たとえば、食品工場の生産ラインでのアレルギー物質の迅速・高感度検査のための技術や、医療機関での成人病や悪性新生物(癌)などの検査において被験者の負担を減らすためタンパク質や核酸(DNA、RNA など)などの生体ナノ物質を短い時間で微量の血液や体液から高感度検出する技術が切望されています。特に、近年の新興国での産業活動の急伸や輸出入の自由化の問題に伴い、大量の食品の産地や安全性のハイスループットな検査技術が食品メーカーや税関で切望されており、アレルギー検査の需要も益々高まると考えられています。これらの検査のため、生体由来の化学物質の多様な生化学反応を利用して、検出対象物質を選択的に検出するバイオセンサに関する研究が盛んにおこなわれています。タンパク質を対象とした先行技術としては、金属薄膜内の表面プラズモン共鳴(SPR)を用いたSPRセンサなどが知られていますが、高度な光学調整が必要です。また、蛍光染色法は高度な前処理が必要で試薬や装置が高価という問題があり、ELISA法も確立された簡便な方法ではありますが、検出に要する時間は長く多量の検体が必要という問題があります。

2. 研究内容と成果

本研究では、光誘起力(解説2)の一種である散逸力に由来する「光の圧力」を利用して金属ナノ粒子の集合体を集積し、その光発熱効果(解説3)により発生したバブル(光誘起バブル)の表面にタンパク質を集積化したときに生じる現象を調べました(図1)。

血管と同じようなスケール(たとえば、細静脈や細動脈の太さは100~200 μ m)の狭小なマイクロ流路内にプラスチックビーズ表面に固定化した金属ナノ粒子集合体(金属ナノ粒子固定化ビーズ)を、卵白由来のタンパク質であるアルブミンと一緒に導入することでレーザー光との相互作用確率を高めれば現象を顕著に引き起こすことができると着想して研究を行いました。その結果、光の圧力と、光

図1: 光の圧力によるナノ粒子集合体の流路天井への輸送と対流発生



【研究に関するお問い合わせ】 大阪府立大学 研究推進機構 LAC-SYS 研究所 TEL : 072-254-8132

所長 飯田 琢也 Mail: t-iida [at] p.s.osakafu-u.ac.jp

副所長 床波 志保 Mail: tokonami [at] chem.osakafu-u.ac.jp

[at] の部分を@と差し替えてください。

報道発表資料 (3 / 6 ページ)

報道資料提供 2019年1月30日(水)14時

発熱効果によって発生する対流（光誘起対流）とを利用して金属ナノ粒子固定化ビーズとタンパク質を光誘起バブル表面に輸送し、添加するタンパク質の量の大小による変化を調べたところ、観測領域で数十 pg～数百 pg（ピコグラム＝1兆分の1グラム）（数 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～数十 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を境に顕著な差異を見出しました。

条件探索に当たり、図 2(a)のように光の圧力でマイクロ流路天井に金属ナノ粒子固定化ビーズを打ち上げて集積化する実験を行うことを考えました。 図 2(b)のようにビーズ表面の金属ナノ粒子を高密度化すると生体にダメージの少ない赤外波長域のレーザーを用いても強い光の圧力を発生できることを理論計算で確認し、材質については金のナノ粒子 (AuNP) を用いた場合に効率良く光の圧力と光誘起対流を発生できることを予備実験で確認して研究を進めました。

図 1(i)のように、金ナノ粒子固定化ビーズの分散液に添加するタンパク質が観測領域で 3.4 fg～34 pg となるように濃度調整した微量の場合 (0.5 ng/mL～5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) にレーザー照射によるバブル発生後も 10 秒間レーザー照射し続けた後、オフにしてバブルが消滅するまで待った実験結果が図 3 です ((a)、(b)の左側はバブル発生時の様子で下の数字は発生した時間)。レーザー照射点付近に発生した単一バブルがレーザーをオフにすると 3～10 分程度で消滅して集合体が形成することを明らかにしました(図 3(a)、(b)の右側)。このとき、添加するタンパク質量を横軸に、光学顕微鏡で観察した集合体の透過像から得られる射影面積を縦軸にとると 1fg～100pg の範囲でタンパク質量が多ければ多いほど大きな集合体が残ることが分かり、タンパク質の定量分析に利用できる可能性が分かりました。逆に、タンパク質量が観測領域でわずか 3.4 fg～34 fg のレベルでも検出できることから、タンパク質の微量分析に利用できる可能性を示すことができました。これは風船ガムが収縮する際に凝集体を形成することと似ていることから、そ

図2: 光の圧力によるナノ粒子集合体の流路天井への輸送と対流発生

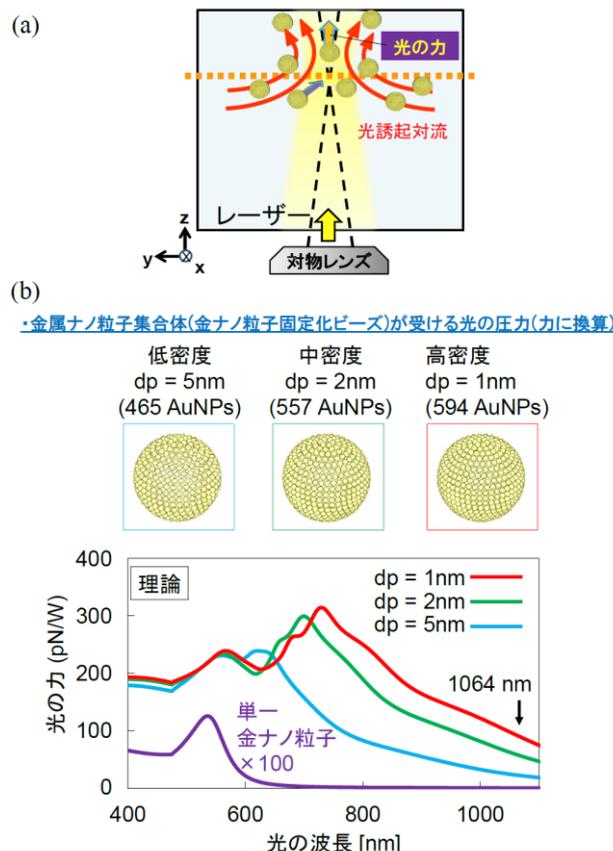
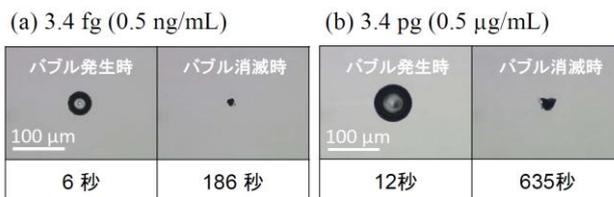
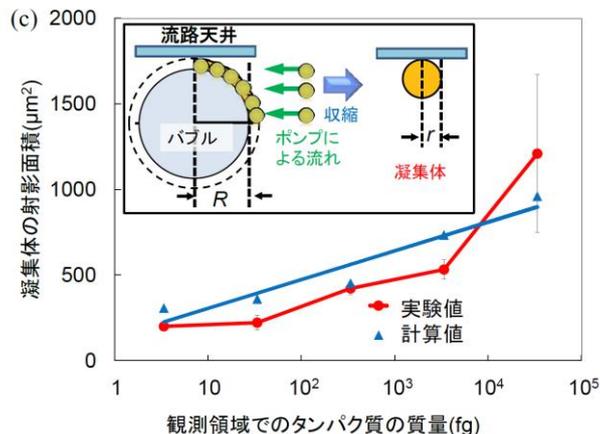


図3: 光誘起バブルの収縮後の凝集体サイズとタンパク質量の関係



※透過イメージの下の数字はレーザー照射開始からの経過時間
※バブル発生から10秒後にレーザーをOFF→収縮開始



【研究に関するお問い合わせ】 大阪府立大学 研究推進機構 LAC-SYS 研究所 TEL : 072-254-8132

所長 飯田 琢也 Mail: t-iida [at] p.s.osakafu-u.ac.jp

副所長 床波 志保 Mail: tokonami [at] chem.osakafu-u.ac.jp

[at] の部分を@と差し替えてください。

報道発表資料 (4 / 6 ページ)

報道資料提供 2019年1月30日(水)14時

の過程を利用したバイオセンサということで、「バブルガムセンサ」と我々と呼んでいます。

一方で、タンパク質量が数百 pg (数十 $\mu\text{g/mL}$) 以上になるとケーキで使うメレンゲを作る時のようにタンパク質の気泡性により多数のバブルが発生することが分かりました(図4)。その表面に多数の金属ナノ粒子固定化ビーズが被覆していることに注目すると、図2に示したような広帯域な光吸収を示す金属ナノ粒子固定化ビーズの集合体形成にも利用できます。この現象は、たとえば、太陽光などの白色光を高効率に捕集する金属ナノ粒子固定化ビーズの集積構造作製や、球殻状の構造を持つ新しいタイプの光学材料の大量生産にも利用できると期待されます。

なお、本研究は、大阪府立大学 LAC-SYS 研究所の所長である飯田琢也准教授と副所長である床波志保准教授が協力して研究計画のデザインを行い遂行されました。

特に、大阪府立大学のチームでは、飯田、床波らの指導下で、植田真由氏 博士前期課程(平成29年度修了)がマイクロ流路中の光誘起バブル発生の実験の大部分を担当し、西村勇姿 博士[現、大阪市立大学理学研究科 特任助教]が流体力学的観点から実験系の立ち上げに貢献しました。田村守博士[大阪府立大学理学系研究科/LAC-SYS 研究所 特認助教]が光圧の理論計算を行い、伊都将司 博士[大阪大学基礎工学研究科 准教授]がナノ光マニピュレーションの実験系構築に貢献しました。

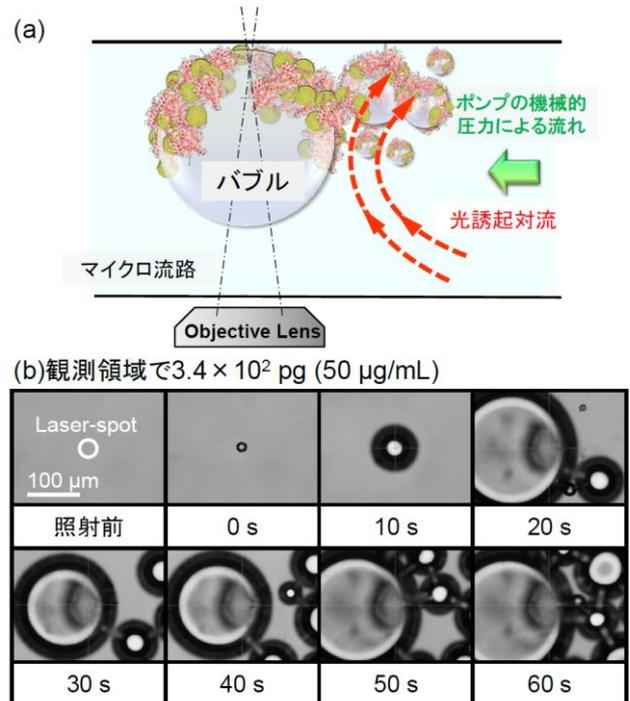
また、グリーンケム株式会社には金属ナノ粒子固定化ビーズの扱い方に関して助言を頂き、シスメックス株式会社には生体サンプルの扱い方に関して助言を頂きました。

■参考 URL <https://doi.org/10.1063/1.5079306>
(DOI: 10.1063/1.5079306)

3. 今後への期待

今回の研究を通じて見出した「バブルガムセンサ」の原理の適用例として、卵白由来のタンパク質であるアルブミンを対象とした成果を紹介しました。開拓した原理は食品中のアレルギー物質の検出や血液中の様々な疾病のマーカーとなるタンパク質の微量検出や、プローブナノ粒子との複合体の製造に応用できる可能性があり、バイオ分析技術やナノ製造技術に一石を投じる新分野としての「フォトサーマル・フルイディクス」(解説4)の重要な基礎となるものです。

図4:高濃度タンパク質量添加によるマルチ光誘起バブル発生



【研究に関するお問い合わせ】 大阪府立大学 研究推進機構 LAC-SYS 研究所 TEL:072-254-8132

所長 飯田 琢也 Mail: t-iida [at] p.s.osakafu-u.ac.jp

副所長 床波 志保 Mail: tokonami [at] chem.osakafu-u.ac.jp

[at] の部分を@と差し替えてください。

報道発表資料 (5 / 6 ページ)

報道資料提供 2019年1月30日(水) 14時

さらに多様なタンパク質への適用可能性を示すことができれば、研究の背景で述べたような食品・医療分野への応用も期待でき、食の安全安心の観点で「スマート・フードチェーンシステム」の発展や、予防医療の観点で「地域包括ケアシステム」の発展にも貢献できます。また、白色光の高効率な吸収体としての金属ナノ粒子集合体を高密度集積したバブルの高効率生産にも利用でき、太陽光エネルギー変換に関する新材料開発の手段提供にもつながり、21世紀の超スマート社会を支えるマテリアルズ・インフォマティクス等の要素技術開発にも貢献できる重要な成果です。

(発展研究が、平成30年度 JST 未来社会創造事業 探索加速型「共通基盤」領域に採択され、本研究成果をベースとした研究開発も継続的に推進して行く予定です。)

4. 研究助成資金等

本研究は、日本学術振興会 科研費基盤研究(A)「多種生体サンプルを標的としたオンデマンド光誘導加速システムの創成」(17H00856)、科研費基盤研究(B)(No. 15H03010)、大阪府立大学キープロジェクト、キャノン財団、特別研究員奨励費(No. 18J13307)、新学術領域(提案型)「光圧によるナノ物質操作と秩序の創生」(No. 16H06507)、その他の支援を受けて完成しました。

5. 用語解説

解説1: 金属ナノ粒子: 典型的には金属から成る100ナノメートル(nm: ナノメートルは100万分の1ミリメートル)以下のサイズの粒子を指します。金属はその内部を電子が自由に走り回ることができるため高い導電性を示すことは良く知られています。一方で、このような自由電子がナノサイズ物質の表面に強く束縛されます。このような表面に束縛された自由電子の状態を「局在表面プラズモン」と呼びます。局在表面プラズモンの共鳴波長は金属ナノ粒子のサイズや形、粒子間の相互作用に応じて敏感に変化します。このため、例えば、500~600ナノメートルに共鳴波長を有する金ナノ粒子の溶液は、透過光で見るとサイズに応じて共鳴波長の補色(緑色~赤橙色)である赤色~青色に変化します。また、金属ナノ粒子を高密度集積することで粒子間の相互作用により吸収波長が広帯域化することも知られています。

解説2: 光誘起力: 光が物質に及ぼす電磁気学的な力の総称です。例えば、直進するレーザー光を物質に照射すれば押す力を与えることができ、レンズで強く絞ったレーザー光の強度の強いスポット付近に物質を捕捉することができ、2018年にノーベル物理学賞を受賞した Arthur Ashkin 博士が開発した光ピンセットにも利用されています。それぞれのタイプの力は基本的には散逸力と勾配力に分類でき、前者の散逸力は、光散乱や光吸収などのエネルギー散逸を伴う過程で、光の運動量が

報道発表資料 (6 / 6 ページ)

報道資料提供 2019年1月30日(水) 14時

物質に乗り移った時に生じる押す力であり、圧力の次元に換算して「光圧」や「光の圧力」と呼ばれることもあります。一方、後者の勾配力は光が電磁場の性質を有することに起因する力で、特に不均一な強度分布を有する光場中に置かれた物質が電磁気学的なポテンシャル勾配を感じてその安定位置に押しやられる時に生じる力として理解でき、光トラップに利用されています。

解説 3:光発熱効果：物質が光を吸収した際に局所的に発生する熱の効果を指します。癌細胞などをこの光発熱効果により死滅させる光温熱治療や、局所的な物質状態変化による光加工なども利用されています。また、集光レーザー照射下での局所的な光発熱効果により発生した対流やバブルなどの流体现象を利用して対象とするナノ物質やマイクロ物質を遠隔的に集合させることもでき、「光発熱集合法」として近年盛んに研究が行われています。

解説 4:フォトサーマル・フルイディクス：微小な物体をマイクロ流路などの流体中で光により制御・観測する技術分野はオプトフルイディクスと呼ばれていますが、解説 2 で説明した光誘起力や解説 3 で説明した光発熱効果により積極的に流体制御を行うための学理構築を目的として派生した新分野です。微小物体・生体関連物質の輸送・捕捉・検出などの応用も試みられています。