

戦略的創造研究推進事業
ナノテクノロジー分野別バーチャルラボ

研究領域「医療に向けた自己組織化等の分子配列
制御による機能性材料・システムの創製」

研究課題「バイオのナノテクノロジーを用いた
ナノ集積プロセス」

研究終了報告書

研究期間 平成14年11月～平成20年3月

研究代表者：山下 一郎
(松下電器産業(株)先端技術研究所、主幹研究員)

1 研究実施の概要

研究開始時、ナノエレクトロニクス分野では、ナノ構造により、量子効果を始めとする新しい物性や、新しい機能を持つデバイスが設計できると予想され、ナノ構造を安価に大量に作製する手法が望まれていた。この事情は現在でも変わらない。しかしながら、当時からナノ構造を作製する手段としてこれまで中心的役割を果たしてきた、光リソグラフィーを中心とする微細加工技術の限界が見え始めていた。そのため、電子線リソグラフィーやX線の利用、AFMチップによる直接描画などが提案され、研究されていたが、これらは極めて高額であると同時に、その生産性もリソグラフィー技術に比べると大変悪いものであった。そのため全く新しいナノ構造作製方法が望まれていた。このような状況の下で、ナノ構造の作製を実現するためには、自然界で最も成功している生物に学ぶべきであると考えて本研究はスタートした。すなわち生物の持つ、ナノメートルサイズの生体超分子の機能性ナノ構造を自動的に作製する自己組織化能や、その表面の性質を利用して無機材料を析出させるなどの能力に注目して、有機・無機のナノ構造を自動的に作製し半導体デバイスを中心とするナノデバイスを作製することを発想した。さらに生物は、ナノメートルサイズの分子をくみ上げてありとあらゆる機能を実現している。単純に集めるだけでは予想もできなかった機能を実現することもできる。このような生物に学び、生物を超えるナノ機能構造をつくり、ナノデバイスを作製することが本研究の究極の目的である。

この発想を実現するためには、まずタンパク質と無機材料の接点である、生体分子による無機材料析出、すなわち、バイオミネラル化のメカニズム解明とその応用によるナノサイズ無機材料作製が必要である。次に、ナノデバイス実用化のためには、単にバイオミネラル化を実現するだけでなく、デバイスに利用できる複雑な構造を自在に作製することが必要であり、バイオミネラル化のテンプレートとなる生体分子の設計と作製が必要である。すなわち、本研究ではこれら2つのテーマ、バイオミネラル化の研究と、ナノ構造を自己組織的に作製するテンプレートを生体分子の自己組織化、ナノ集積化により実現しする研究を行った。ターゲットとするナノ構造としては、当時また現在でも大変重要である半導体デバイスに利用できるキーコンポーネントを狙うこととした。この本研究で行う半導体デバイスのキーコンポーネントを作製できるタンパク質を用いたナノ構造作製プロセスをバイオナノプロセスと名付けられた。

本研究では、タンパク質の設計・作製(ナノ集積)と、バイオミネラル化の実現の2つの研究を実施したが、その概要は以下のようなものである。まずタンパク質の設計では、既存のリソグラフィー技術で作製できる構造にリンクできる大型の超分子タンパク質を、対称性を利用して設計した。その部品は自然界のものを利用し、大腸菌で産生させることにより、その可能性が確かめられた。またタンパク質そのもの大型以外に、タンパク質を3次元、2次元、1次元に規則配列させる技術の完成を試みた。3次元、2次元構造ではタンパク質の外表面の相互作用が重要であり、これを遺伝子工学的に改

変や、分子の化学修飾により実現した。また1次元配列は、ナノチューブというテンプレートの力を借りる方針で臨んだ。その結果、これらの構造が、実験的に実現できるようになった。タンパク質の自己組織化を利用するため、そのプロセスは極めて安価である。バイオミネラリゼーションでは、これまでも多くの研究者が取り上げてきた球殻状タンパク質フェリチンを取り上げて、そのバイオミネラリゼーションのメカニズムを解明して、内部に任意のナノ粒子を合成することを試みた。内外表面の遺伝子改変がバイオミネラリゼーションに与える影響を研究することから、化合物半導体のナノ粒子合成に始めて成功した。またチューブ状タンパク質であるタバコモザイクウイルスの中心内空を用いたナノワイヤの作製にも成功した。これらのバイオミネラリゼーションの知見は、今後のデバイス作製技術や、電極技術などにも役立つものと考えられる。

これら5年間で得られた要素技術は、松下電器先端技術研究所、奈良先端科学技術大学院大学、東北大学、東京工業大学、大阪大学のグループと共同することで、次世代半導体技術であるフローティングゲートメモリの作製に応用され、実際にプロトタイプを試作動作に成功した。さらには現在、新しいナノ機能構造の作製にもこれらの技術は利用されている。

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

前述したように、本研究ではタンパク質の設計と作製、そしてバイオミネラリゼーションが重要な研究課題となる。以下にそれぞれに研究構想を示す。

1) タンパク質の設計・作製と高次構造作製

ナノ構造を作製するためにはタンパク質の自己組織化を利用するのが極めて有効である。応用を想定した形状を設計し、それを実現できるタンパク質を設計して、遺伝子工学的に作製すれば、自動的にナノ構造ができるはずである。しかしながら、できるだけタンパク質がこれまでにとってきた、繰り返しと対称性をうまく利用しながら実現しなければならない。またタンパク質を利用した高次構造作製も応用の観点から重要でありタンパク質の性質をうまく利用した設計を行う必要がある。

1-1 中心にナノドットを持つ大型タンパク質の設計と合成

中心にナノドットを持ちその周辺に電極となるナノワイヤの合成が可能なロッドをはやした構造を設計して作製する。これにより、半導体技術で作製可能な60nmの構造にフィットするタンパク質超分子合成の可能性を示す。

1-2 筒状タンパク質の設計と作製

遺伝子的改変が可能な筒状タンパク質を設計して実現する。具体的にはリング状タンパク質を積み重ねて構造を完成させることを目指す。

1-3 2次元規則配列の実現

フェリチンの2次元計測配列を、これまで行ってきた塩橋により実現するのではなく、タンパク質表面の遺伝子的改変で実現する。これにより、アルカリイオンフリーの2次元規則配列ナノ構造を実現する。

1-4 フェリチンの多層3次元構造の実現

フェリチンを利用した、将来への3次元構造を実現するため、フェリチンの単層配置を繰り返す3次元構造作製手法を完成させる

1-5 1次元配列の実現

ナノ粒子を1次元に並べる技術の開発

1-6 フェリチンの安定性評価

ナノ粒子合成に利用するフェリチンは24個のサブユニットが非共有結合で自己集合した超分子構造でありその安定性を評価して、バイオミネラリゼーションの溶液条件探索へフィードバックする。

2) バイオミネラリゼーション

タンパク質を利用したナノ構造作製ではタンパク質の外表面を利用した、タンパク質—タンパク質相互作用や、タンパク質-基板間相互作用が重要なファクターである。そこでバイオミネラリゼーションをさせるとしても、内部空間を利用するか、もしくはナノ構造を作製した後のバイオミネラリゼーションが研究対象となる。特に内部空間でのバイオミネラリゼーションは応用の観点からは極めて魅力的である。すなわち構造タンパク質は同一の遺伝子より作製される化学的に全く同一のものであり、その構造も原子レベルで同じになり、内部空間は原子レベルで同じ形をとる。そこでこの空間内を完全利用してナノ粒子ナノワイヤを合成できれば、その形状は全く同じものになる。このようにして得られるナノ粒子は、量子ドットとして魅力的であり、ナノエレクトロニクスからも電子準位が全く同じになるなどの利点が考えられる。そのためまず、球殻状タンパク質を利用したナノ粒子合成をターゲットした。さらにサイズとしては、量子効果が見込まれる10nm以下のナノ粒子合成を目指し、フェリチンとリステリアフェリチンを取り上げた。またナノワイヤの作製には内部に直径が4nmの穴を持つタバコモザイクウイルス(TMV)を取り上げた。

2-1 フェリチンタンパク質を利用した同一サイズのナノ粒子の作製

フェリチンでは、これまでに種々の酸化物系のナノ粒子合成がすでに報告されているが、これまでに報告されていない金属酸化物と、2種類のイオンが反応してできる化合物半導体ナノ粒子のフェリチン内でのナノ粒子合成を狙った。そのため以下のアプローチを組み合わせるバイオミネラリゼーションのメカニズムに迫り、ナノ粒子合成実現を目指した。

2-1-1 外表面の修飾

溶液中に、フェリチンタンパク質と無機材料イオンが存在時に、フェリチンの外表面が無機材料の析出抑制効果が知られていた。この効果の原因を、フェリチン外表面を修飾することで調べ、フェリチン外部での無機材料の析出を抑制して、内部空間でのナノ粒子合成を促進した。

2-1-2 親水性チャネルの改変

ナノ粒子合成のためのイオンの通り道となる親水性チャネルを改変することで、内部へのイオンの導入の状況を変化させ、チャネルの果たす役割を明らかにする。

2-1-3 内部空間表面のアミノ酸改変

内部表面のアミノ酸を改変し、核形成部位と見られる部分の果たす役割を明らかにし、ナノ粒子合成を促進する。

2-1-4 化学反応溶液の設計と反応順序探索

フェリチンを用いた化合物半導体ナノ粒子合成に適した化学反応溶液の設計を行い、ナノ粒子合成を実現する。

2-2 リステリアフェリチンタンパク質を利用した同一サイズのナノ粒子の作製

フェリチンで得られた知見を利用して小型ナノ粒子(4.5nm)を実現する。

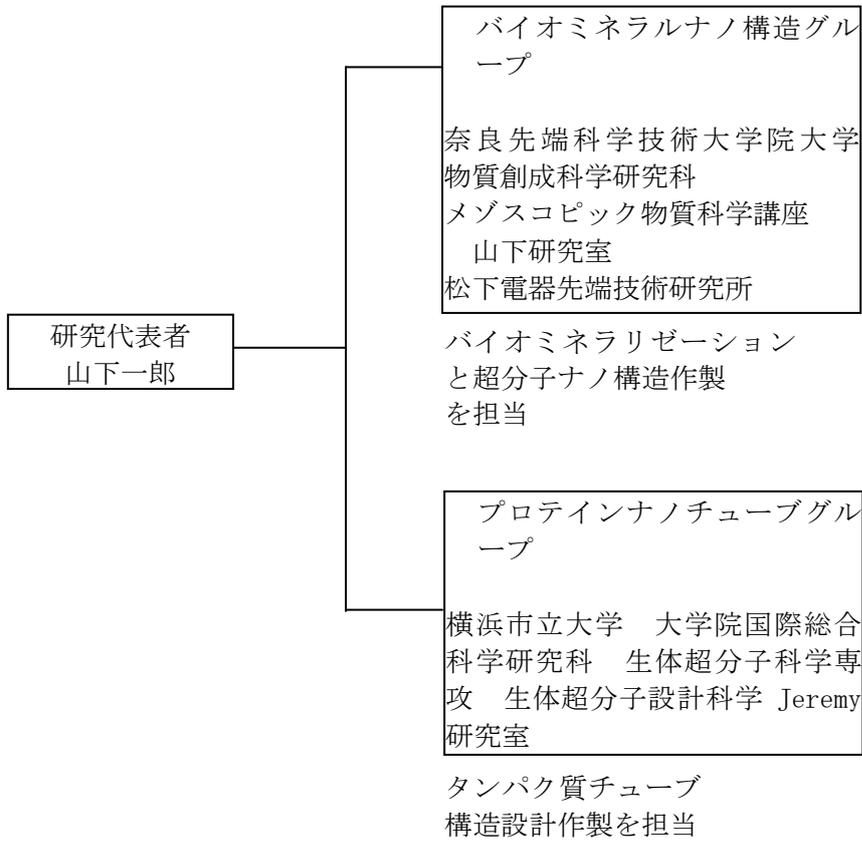
2-3 TMVを用いたナノワイヤの合成

TMVの内部空間で、磁性を持つ2元系金属のナノワイヤの合成を目指す。遺伝子操作によって内部空間を改変したTMVを作出しナノワイヤ合成のメカニズムを明らかにする。

2-4 べん毛繊維を用いたナノワイヤ合成

直線以外のらせん形を取ることができるべん毛繊維を用いてナノワイヤの合成を目指す。

(2)実施体制



3 研究実施内容及び成果

3.1 中心にナノドットを持つ大型タンパク質の設計と合成

(奈良先端科学技術大学院大学 山下グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

タンパク質利用したナノ構造作製の基本となるものは、応用を想定した天然タンパク質の利用や、人工タンパク質を創出することである。特に、目的のために新しい人工タンパク質を設計・作製できるようになることは重要な課題である。そこで、バイオナノプロセス用の人工タンパク質として単電子トランジスタの鋳型となる大型ボール&スパイク状タンパク質超分子の作製を試みた。

単電子トランジスタは、電子を蓄える量子ドットと、その周りに配置されるソース、ドレイン、ゲートの3つの電極とから構成される。量子ドットは回りの電極とは数 nm 以下に正確に一定距離離れ、その間は絶縁物であることが必要である。中心部に球殻状タンパク質をもち周りに棒状タンパク質を配置させた超分子を鋳型にしてバイオミネラリゼーションすれば、球殻内に量子ドットがあり、棒状タンパク質の外部に導電性材料が配置された単電子トランジスタの基本構造が実現でき、後はタンパク質を選択的に除去するだけでよい。(図 3-1-1 参照)

このバイオナノプロセス用鋳型タンパク質は、リステリアフェリチンと、T4バクテリアファージ由来 gp5 の β ヘリックスドメイン(gp5C)を利用して作製された。図3-1-2-a はリステリアフェリチンを3回対称軸方向からみたもので、タンパク質のアミノ酸主鎖を線で表してあり、対称軸を取り巻いて3つのサブユニットが有る。サブユニットのN末端は、この3回対称軸の近傍で外側に出ている。一方、gp5C は棒状タンパク質で、3本のアミノ酸鎖が互いにらせんを描いてできている(図3-1-2-b)。そこでこのリステリアフェリチンN末端とgp5Cのアミノ酸鎖のC末端を遺伝子的に繋いだキメラタンパク質(BSPS)を作製して、3回対称軸を共有した自己集合、さらにはリステリアフェリチンサブユニットの球殻形成の自己集合により、図3-1-3 に示したような、リステリアフェリチン一つあたり四つの gp5C が突起している超分子を作製した。出来上がった生成物を高分解能電子顕微鏡で観察すると、球状構造体の周辺に筒状構造体が四本突起した構造(図3-1-4-a)及び三本突起した構造(図3-1-4-b)が確認できた。この構造は、CDやDLS測定からも、確認されている。これまでに中心部リステリアフェリチンに酸化鉄ナノ粒子を内包できることも確認された。

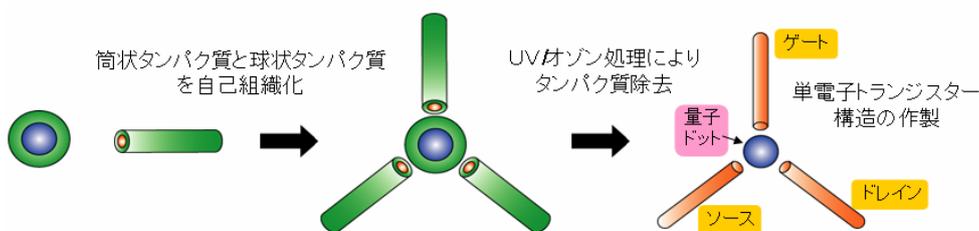


図 3-1-1. 円筒状タンパク質と球状タンパク質を自己組織化させた新規超分子構造体を鋳型とした単電子トランジスタ構造の作製

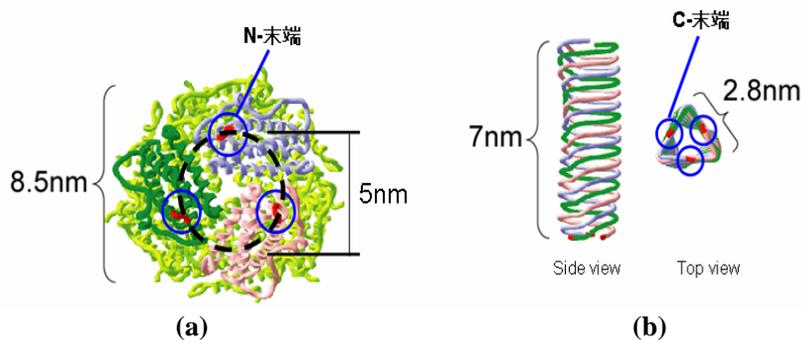


図 3-1-2 球殻状タンパク質リステリアフェリチンと筒状タンパク質gp5C の構造
 (a) リステリアフェリチンの構造 (b)gp5C の構造

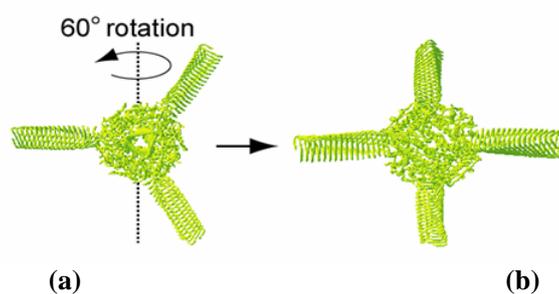


図 3-1-3 自己組織化したBSPPのモデル構造 観察方向により突出部が3または4本となる

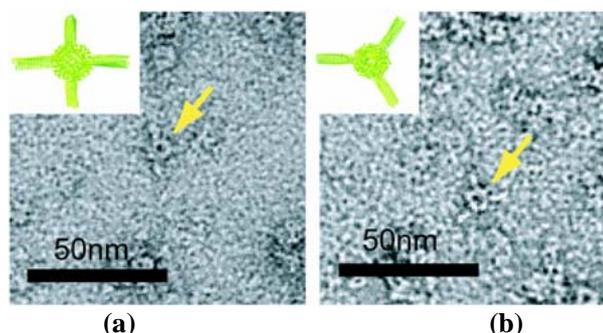


図 3-1-4 テトラポッド状タンパク超分子(単電子トランジスタ鋳型タンパク質)の TEM 像
 (a) 球状構造体の周辺に筒状構造体が四本突起した構造と、(b) 三本突起した構造

(2)研究成果の今後期待される効果

今後はロッドの長さを長くして全長を 50-60nm 程度にする。そのため、gp5C の遺伝子操作を行っている。さらに先端に、電極を特異的に認識するペプチドを付加しおこない、ロッド部分を電極に固定することで実際に単電子トランジスタ動作を行わせる。これにより、タンパク質の電子デバイスを作成する鋳型としての能力を実証する。

このようにタンパク質で複雑な機能を持つものが作製でき、それが半導体プロセスでできる電極構造とつながることで、簡単にナノエレクトロニクスデバイスができるようになり、これまでの高額なナノ構造作製設備への投資が不要となり、全く新しい半導体微細構造作製プロセスが実現される。

3. 2 筒状タンパク質の設計と作製 (横浜市立大学 Jeremy グループ)

1. Introduction

During the CREST period we have mainly concentrated on developing TRAP protein as a tool for bionanotechnological applications. This is fundamental research which will act as a good basis for future advanced research. We have also carried out a small amount of structural studies on proteins other than TRAP, specifically the nickel-binding protein NikA. This summary will highlight the following three areas:

- Structural studies of NikA
- Biochemical Studies of TRAP
- Engineering of TRAP for bionanotechnology

2. Structural Studies of NikA

NikA is a periplasmic protein found in *E. coli*. It is the initial nickel receptor and mediator of the chemotactic response away from nickel. We were able to clone, purify and solve the crystal structure of NikA in the presence and absence of nickel (Figure 1).

Our studies of nickel binding to NikA by ITC showed the affinity to be unexpectedly weak, with a K_d of about 10 μ M and the binding site was also unexpected with the ligand making no direct bonds to the protein. Subsequent work confirmed this result suggesting that the nickel binds to NikA via chelator the identity of which is yet unknown. Our own subsequent work identified a second, non-specific binding site for nickel which does not require chelator. Our results were the first to show the crystal structure of the protein and helped to clarify conflicting reports of the affinity of nickel-binding in the literature.

3. Biochemical Studies of TRAP

TRAP (*trp* RNA attenuation protein) is a protein found in species of *Bacillus* where it is involved in regulation of the synthesis of tryptophan. The functional protein is a ring shaped homomultimer made up of 11 copies of the 8.4 kDa TRAP monomer. The diameter of the TRAP ring is approximately 8 nm and the height is approximately 3.5 nm. The diameter of the central hole is around 2 nm (Figure 2). TRAP is of interest as a potential component of nanodevices (see next section). To function in nanodevices, TRAP must be engineered and its properties therefore need to be well understood before such engineering work is undertaken. To this end we carried out biochemical studies of TRAP looking at its stability and tryptophan-binding characteristics.

We used two highly similar TRAP proteins from two species of *Bacillus*; *B. stearothermophilus* and *B. subtilis*. We discovered that the thermodynamics of tryptophan binding to these two proteins was different; binding to *B. stearothermophilus* TRAP (TRAPst)

is not cooperative but binding to *B. subtilis* TRAP (TRAPsb) is cooperative and shows a characteristic “exothermic trough” when measured with isothermal titration calorimetry (ITC; Figure 3). This suggests that filling the initial tryptophan-binding sites in TRAPsb has an effect on binding of tryptophan to subsequent sites on the ring. Next we investigated which residues were responsible for the characteristic binding trace of TRAPsb. Because the amino acid sequences of the two TRAP proteins are similar we were able to swap domain between the two proteins to make chimera proteins and measure the effect on tryptophan binding. In this way, together with a point-mutational analysis, we were able to define residue Leu44 in TRAPsb as the major cause of the “trough” (this residue is Ile in TRAPst). We were able to offer a model explaining why this may be so. In our model Ile44 is able to sense the stabilization of neighboring protein subunits upon initial tryptophan binding. It can then transmit this change to neighboring sites. Leu44 is more flexible and absorbs rather than transmits the change.

3.0 Engineering of TRAP for bionanotechnology

The majority of our CREST work has been carried out in this area. TRAP is suitable for bionano applications because of its ring shape and central cavity which could be used as a vessel for biomineralization of conducting and semiconducting materials; for forming nanoparticles; as a way of placing these nanoparticles specifically on a surface and as a means to link with other self assembled components in order to form complex nanocircuitry. We have succeeded in “symmetry engineering” of TRAP to produce a 12-membered rather than the naturally occurring 11-membered form and we have also produced a TRAP capable of binding gold nanodots, constraining them to a surface and integrating them into an electronic device. Recently we have also been able to produce TRAP mutants that self assemble into tubes.

3.1 Symmetry engineering of TRAP: We have engineered TRAP by producing a new gene that fuses together three wild-type TRAP genes. The protein product is the equivalent of three linked TRAP monomers. These new proteins are unable to form 11-membered rings and are forced to assemble into 12-membered rather than 11-membered rings. We characterized the properties of these rings and solved the crystal structure, proving that it was a 12-membered ring (Figure 4). We hope to be able to exploit the favorable symmetry of the 12mer to produce crystalline 2-dimensional arrays of TRAP. Additional characterization of the 12mer form of TRAP has shown that lengthening the linker between the protein subunits increases the stability of the protein. Further crystallographic studies have allowed us to locate the linker in the central TRAP cavity.

3.2 Using TRAP to Capture Gold Nanodots on a Surface and Integrating into a MOS Capacitor: To make a TRAP ring capable of binding gold nanodots in its central cavity, we mutated residue 66, which points into the cavity, changing it from arginine to cysteine. This is able to form a thioaurate bond upon addition of gold thus capturing gold nanodots. The

gold-TRAP complexes were attached in a specific orientation to a titanium surface by the addition of titanium binding protein to the C-terminal face of the protein. This protein was applied to a titanium surface and treated with gold nanodots as shown in Figure 5. Gold nanodots arranged in this way could be incorporated into the silicon oxide layer of a MOS capacitor. Comparison of the capacitance-voltage characteristics of the capacitor showed hysteresis indicating electron charging and discharging of the gold nanodots in the (Figure 5). This hysteresis was not seen in controls that lacked bound gold or protein.

3.3 Forming a Self-assembled Protein Nanotube from TRAP: Using protein engineering techniques we have produced a mutant TRAP that is able to self assemble into tubes of variable length (Figure 6). We hope that this tube may be useful for formation of nanowires for use in nanoelectronics.

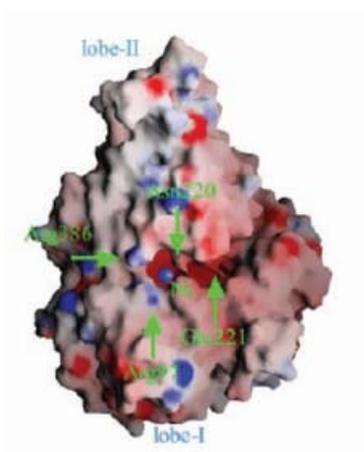


Figure 1: Surface representation of the crystal structure of Nika (pdb: 1UIU) with bound nickel (blue sphere). Important residues of the binding pocket are labeled. (From Heddle et.al., 2003)

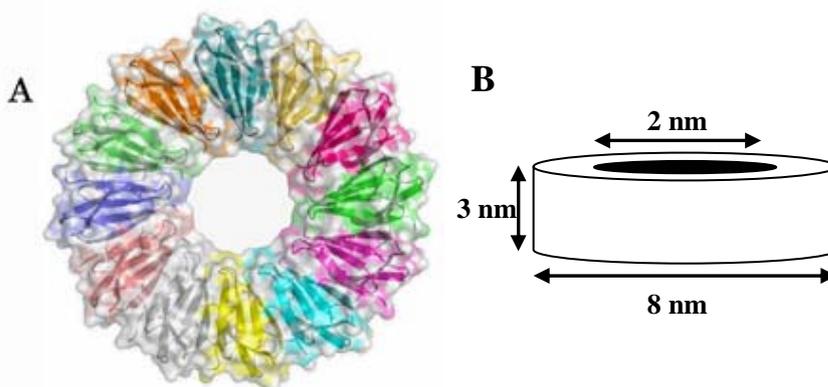


Figure 2: Structure of TRAP. **A)** Shows the crystal structure of TRAP (pdb 1QAW) with the molecular surface showing semi-transparent grey and each monomer shown in a different colour as a cartoon representation. **B)** Shows a diagram of the TRAP ring showing dimensions.

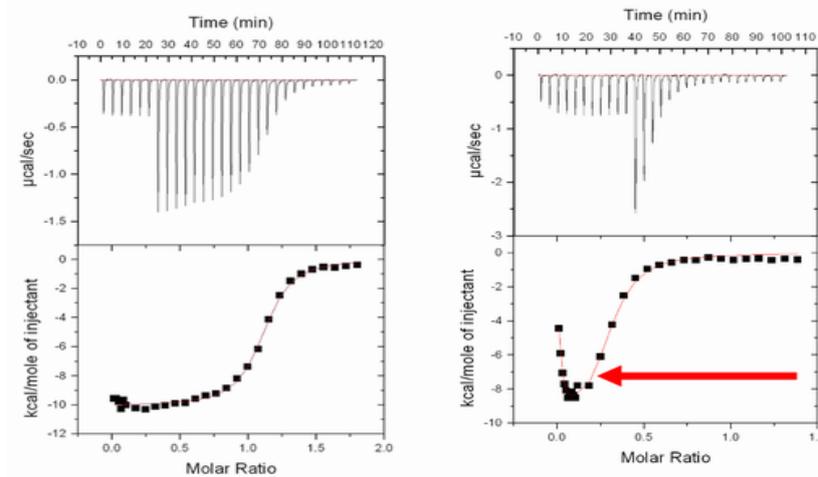


Figure 3: ITC traces comparing the tryptophan binding of **A)** TRAPst and **B)** TRAPsb. The trough observed upon initial binding of tryptophan to TRAPsb is highlighted with the red arrow. (From Heddle et.al., 2007)

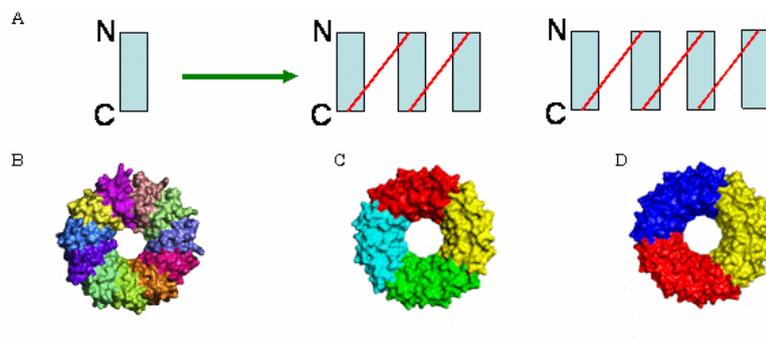


Figure 4: Changing TRAP from a 11mer to a 12mer. **A)** Blue blocks represent single TRAP proteins. (N and C = N and C-termini respectively). TRAP genes were modified such that the new gene products were three or four TRAP monomers covalently linked together by a linker peptide (red). **B)-D)** Shows the crystal structures of the resulting TRAP rings, which have either 11 monomers in the case of wild type protein (**B**); Chen et al., 1999) or four or three mutant monomers consisting of a fusion of three or four wild type proteins (**C**) and **D**) respectively; Heddle et al., 2006). The mutant proteins are called TRAP4 and TRAP3 for **C**) and **D**) respectively and each contain the equivalent of twelve wild type TRAP monomers.

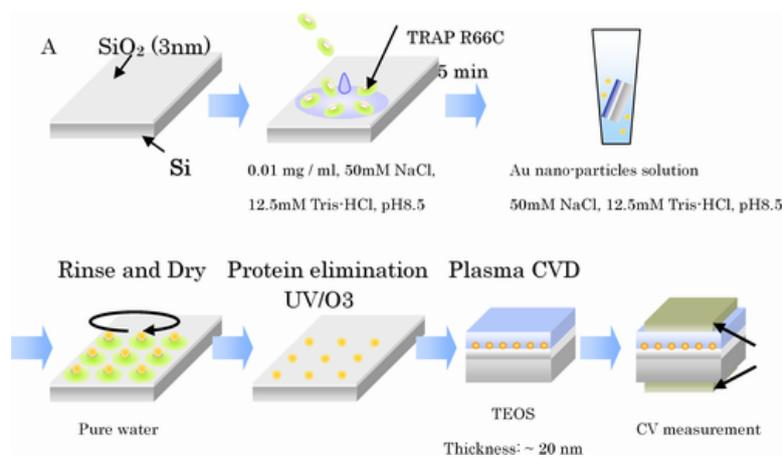


Figure 5: Scheme for using TRAP-gold nanodot complexes to a titanium surface and then incorporating into a MOS capacitor. (From Heddle et.al.,2007).

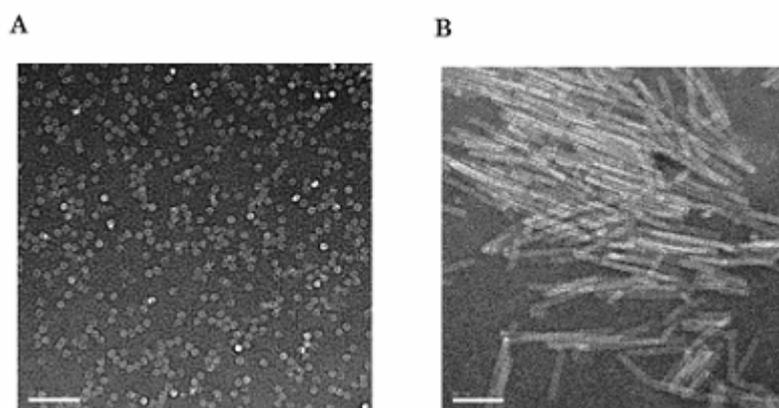


Figure 6: TEM images of **A)** standard TRAP rings and **B)** TRAP tubes made from self-assembled, modified TRAP.

References

NikA: Heddle, J., Scott, D. J., Unzai, S., Park, S. Y. & Tame, J. R. (2003). Crystal structures of the liganded and unliganded nickel-binding protein NikA from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 278, 50322-9.

TRAP Biochemistry: Heddle, J.G., Okajima, T., Scott, D.J., Akashi, S., Park, S.Y., and Tame, J.R.H. 2007. Dynamic allostery in the ring protein TRAP. *J. Mol. Biol.* 371, 154-67

TRAP engineering for nanotechnology: Heddle, J.G., Yokoyama, T., Yamashita, I., Park, S.Y., Tame, J.R.H. (2006). Rounding Up: Engineering 12-membered rings from the cyclic 11-mer TRAP. *Structure.* 14, 925-933.

Heddle, J.G., Fujiwara, I., Yamadaki, I., Yoshii, S., Nishio, k., Addy, C., Yamashita, I., and Tame, J.R.H. (2007). Using the Ring-shaped Protein TRAP to Capture and Confine Gold Nanodots on a Surface. *Small. In Press.*

Watanabe, M., Mishima, Y., Yamashita, I., Park, S-Y., Tame, J. R. H., Heddle, J. G. (2007). Inter-subunit linker length as a modifier of protein stability: crystal structures and thermostability of mutant TRAP. *Protein Science.* Submitted.

3.3 2次元規則配列の実現

(奈良先端科学技術大学院大学 山下グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

アルカリイオンフリーで直接フェリチン2次元配列の作製をタンパク質の外表面の遺伝子工学的改変により実現した。(フェリチンについては 3.7 参照)液中で直接固体基板の上にフェリチンを2次元配列化するためにはフェリチン外表面の性質を、フェリチンと基板間では弱い相互作用を持ち、フェリチン間では強い相互作用を持つように改質することが必要となる。この相互作用制御を実現するため、L 型リコンビナントフェリチンの外側に、同研究領域芝チームで作製されたカーボンナノ材料を認識するペプチド(DYFSSPYEQLF)を、遺伝子工学的手法により付加した。基板に薄く炭素薄膜修飾を施すと、この遺伝子改変フェリチンは基板を認識して吸着ようになる。しかしこの特異的認識は非特異的相互作用ほど強くない。一方カーボンナノ材料認識ペプチドは単体の場合水に解けることができないほど疎水性である。そのためフェリチン同士には強い引力が働く。その結果、フェリチンは基板上で固定されつつ引き合い2次元規則配列を作る。(図 3-3-1 参照)現在、PIPES などの適当な緩衝溶液を選ぶと、さらに大型の2次元結晶が得られることが明らかになっており、溶液条件により2次元配列のオーダリングを増強できることが実験的に証明されている。これは乾燥過程の最終段階の極めて薄い水溶液膜ができたときに、引力が働くためと思われる。

これらの知見を基にして実験で、カーボンナノ材料認識フェリチン溶液を炭素薄膜修飾基板上に滴下してしばらく放置した後、余分な溶液を遠心処理などで除去すると、基板上にフェリチンの2次元配列が実現できる。図 3-3-2 はこのような手法で得られたフェリチンの2次元配列のSEM像である。白い点は人工的に合成されたコアである。コア間距離は約 12nm で、タンパク質殻の厚み分だけ離れて規則正しく6回対称に配置されている。このように、フェリチンに遺伝子的にカーボンナノ材料認識ペプチドを提示させることで、固体基板上に直接フェリチンの2次元配列化が可能になることが証明された。

基板上へのフェリチンの2次元結晶、配列作製は、同時に内包されたナノドット2次元配列の実現を意味し、いろいろな種類の材料のナノドットが固体基板上に配置できることから工業的、電子デバイスとして利用価値は高い。なおここで示したタンパク質の基板への配置手法は他のタンパク質にも応用できるものと考えられる。

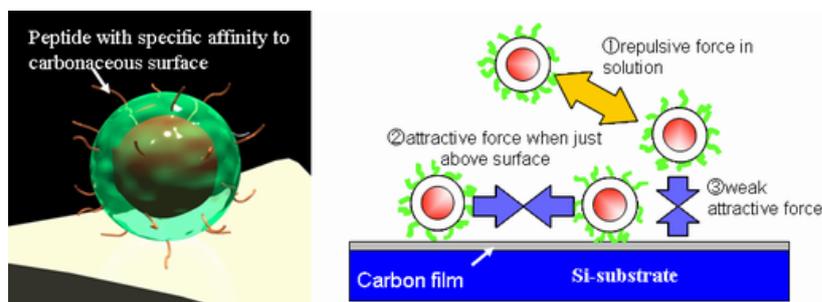


図 3-3-1 カーボンナノ材料認識ペプチドを修飾したフェリチンによるフェリチン間、フェリチン-基板間相互作用。

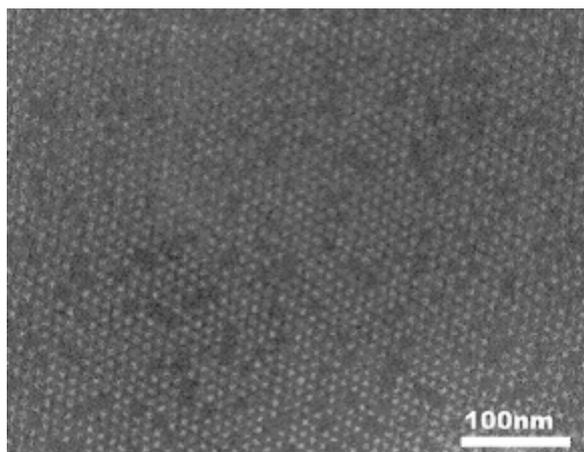


図 3-3-2 カーボンナノ材料認識ペプチドを修飾したフェリチンによる 2 次元配列化

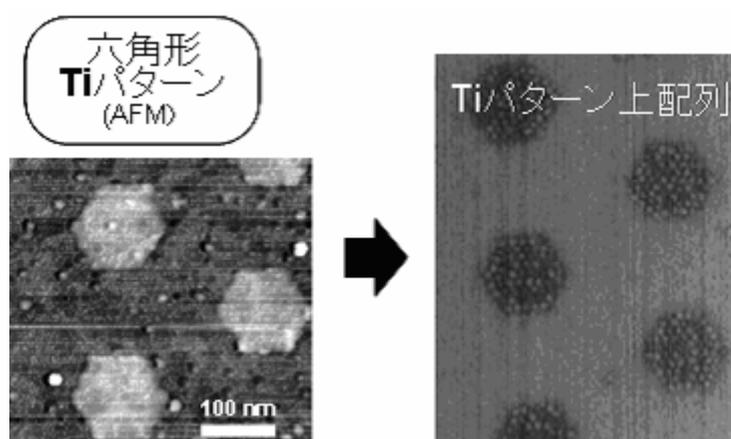


図 3-3-3 チタン認識ペプチドを修飾したフェリチンによる、シリコン基板上六角形 Ti パターン上での 2 次元規則配列化

(2)研究成果の今後期待される効果

今回得られた、アルカリイオンフリー基板上直接 2 次元結晶作製手法は直接的にはフローティングゲートメモリのメモリノードとしてのナノドット配列として利用できる。その密度は $10^{12}/\text{cm}^2$ であり最適な密度となっている。しかもナノドットが一定の大きさであることから、各ドットへの電子注入の特性も一定であり理想的である。この手法で作製されたナノドット配列はまた横方向の静電的相互作用を利用した演算素子の設計を可能にするものと考えら得られる。その他にも、触媒作用のあるナノドット配列を用いてカーボンナノチューブを高密度に並べてはやすことも可能となり、半導体ナノワイヤを高密度で作製することも可能となる。タンパク質の 2 次元配列を利用すればタンパク質や DNA の規則的配列固定も可能となるなど、極めてその応用は広い。

3.4 フェリチンの多層3次元構造の実現 (奈良先端科学技術大学院大学 山下グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

フェリチンの球殻は外径約 12 nm 内径約 7 nm であり、内部に様々な金属を含有させることが可能である(フェリチンについては3.7参照)。このフェリチンの3次元構造を作り、内部への金属の導入と放出(バイオミネラリゼーション)制御を目的とした。すなわち、タンパク質の積層薄膜化をおこない、ナノレベルで空間制御された反応場を構築して、電子デバイスなどの分子素子への応用を目指した。本研究では、フェリチンと分子構造が制御され、カルボキシル基を均一に有するランダム共重合体およびアミノ基を有する高分子を静電相互作用により積層化させ、縮合剤により共有結合を導入することで安定な三次元積層薄膜を調製した。

フェリチンもしくは内部空間に金属を保持していないアポフェリチンとポリ(N-イソプロピルアクリルアミド-co-2-カルボキシイソプロピルアクリルアミド) (poly(NIPAAm-co-CIPAAm)) またはポリビニルアミン (PVAm) からなる積層薄膜の調製および縮合剤 (EDC) 溶液浸漬後の安定性を水晶発振子 (QCM) の振動数変化から定量的に解析した。図 3-4-1 に QCM により解析したフェリチンと poly(NIPAAm-co-CIPAAm) (CIPAAm content; 10, 22, 30 mol%) の積層挙動を示す。振動数変化の減少に伴う逐次的な積層化と CIPAAm 含有量の増加に伴う積層量の増加が確認された。この積層挙動の違いは、共重合体中に存在するカルボキシル基の増加によるものであると考えられ、これら全ての積層薄膜は膜調製時の溶液(pH 3.5 酢酸緩衝溶液)や水中で安定であった。この積層薄膜のさらなる安定性向上を目的とし、EDC 溶液に浸漬することで共有結合(アミド結合)の導入を試みた。その結果、EDC 溶液に浸漬した積層薄膜はアルカリ水溶液中でも安定であるのに対し、EDC 溶液に浸漬しない場合では、アルカリ水溶液中で静電相互作用の解消による剥離が観察された。これより積層薄膜調製後、EDC 溶液に浸漬するという簡便なプロセスにより積層薄膜の安定性向上が確認された。

この共有結合を導入した積層薄膜を用い、pH 7.0 PBS 中での CV 解析によりフェリチン内部に存在する鉄の酸化還元挙動について検討した結果、鉄の酸化還元に伴うピークが観察された。さらに、積層薄膜中のフェリチンの含有量に対応した、内部鉄の酸化還元に伴うピーク電流値の違いも観察された。さらにフェリチンと PVAm との積層化を検討した結果、pH を調整することでフェリチンとの間で逐次的な静電相互作用による積層化が確認され、poly(NIPAAm-co-CIPAAm) 系と同様に EDC 溶液に浸漬することで共有結合の導入も示唆された。CV により安定化された積層膜中の酸化還元挙動を評価した結果、フェリチン/poly(NIPAAm-co-CIPAAm) 積層膜では、酸化・還元に伴うピークが観察され、ステップ数の増加に伴い電流値が増大するのに対し、フェリチン/PVAm 積層膜ではフェリチンの積層量が多いにも関わらず、その電流応答が非常に小さい。

図 3-4-2 にそれぞれの積層薄膜で類推される電子移動メカニズムの模式図を示す。Poly(NIPAAm-co-CIPAAm) を用いた積層薄膜では、放出された鉄イオンが膜内部に存在するカルボキシル基と相互作用し、その鉄イオンがメディエーターとして作用することで2、3層目

にあるフェリチンも酸化還元活性を示すのに対し、PVAm を用いた積層薄膜では、アミノ基がプロトン化しているため、還元されフェリチンから放出された鉄イオンと相互作用できず、電極近傍に存在するフェリチンのみが酸化還元に関与すると考えられる。これより、積層薄膜を形成するカルボキシル基またはアミノ基を有する高分子により薄膜内部での電子移動メカニズムが異なることが示唆され、構造安定な積層薄膜の電気化学的特性をナノレベルで制御可能であることを明らかにした。

また、この高分子電解質を用いてフェリチンタンパク質を 3 次元に配列する技術を応用して、酸化チタンとフェリチンタンパク質との交互積層膜も作製した(図 3-4-3)。酸化チタンの前駆体として Titanium(IV) isopropoxide (TPOT)および Titanium(IV)bis(ammonium lacto) dihydroxide (TALH)を用いてフェリチンタンパク質と交互に積層させ、水晶発振子(QCM)および UV-VIS スペクトルにより交互積層膜の評価を行ったところ、TPOT では反応性が極めて高く、フェリチンタンパク質の二次元薄膜上において一定膜厚および一定吸着量の膜作製が難しかったのに加えて、形成したチタン薄膜上へのフェリチンの吸着量においてばらつきが見られた。一方、TALH では水溶液として安定に存在できることから、フェリチンタンパク質の水溶液と交互に安定な積層膜を作製することに成功した。加えて、TALH とフェリチンタンパク質との間にカチオン性高分子電解質薄膜を吸着させることにより、再現性のある一定吸着量の TALH-フェリチンタンパク質の交互積層膜を作製することに成功した。

次に上記で作製した TALH とフェリチンタンパク質の交互積層膜からメソポーラスチタニア薄膜を作製した。これまでのフェリチンタンパク質の二次元および三次元薄膜の構築において、規則正しい配列でかつ密に自己組織化した構造が得られていることから、同様にチタン前駆体薄膜間に二次元に配列したフェリチンタンパク質においても規則正しい配列構造を構築していると予想される。従って、加熱により TALH の重合反応を進行させ酸化チタンを合成し、タンパク質の焼成除去により約 12 nm の細孔を構築できていると考えられる。アポフェリチンタンパク質を鋳型に用いた時には約 12 nm のメソポーラス空間を創り出し、酸化鉄ナノ粒子を内包したフェリチンタンパク質の場合では約 12 nm のメソポーラス空間内に約 7 nm の酸化鉄ナノ粒子が存在する構造を創出しているはずである。これらのチタニア構造を確認する一つの手段として、チタニア薄膜によるフェロセニウムイオンの光触媒還元反応について検討した。これまでに、疎水性処理を施した酸化チタンによるフェロセニウムイオンの光還元反応が進行することが知られており、同様に上記でアポフェリチンタンパク質により作製したメソポーラスチタニアを用いてフェロセニウムイオンの光触媒還元反応が進行することが確認されたのに対して、フェリチンタンパク質により作製した酸化鉄ナノ粒子内包メソポーラスチタニアを用いた場合、フェロセニウムイオンの光触媒還元反応が全く進行しなかった(図 3-4-4)。以上の結果より、酸化鉄ナノ粒子がチタニア薄膜内に 3 次元に規則正しく配列していることが示唆され、アポフェリチンタンパク質により構築したメソ細孔においても同様に 3 次元に規則正しい配列を創り出していると推察される。

上記で作製したメソポーラスチタニアの約 12 nm のメソ細孔内を反応場として活用する例として、銀ナノ粒子の合成を試みた。メソポーラスチタニア膜を硝酸銀溶液に浸漬し UV 照射を

行い UV-VIS スペクトルを測定したところ、銀イオンの光還元反応が進行し銀ナノ粒子に相当すると思われる吸収ピークが観察された(図 3-4-5)。従って、チタニア薄膜内に存在するメソ細孔内に銀ナノ粒子が生成したと考えられる。

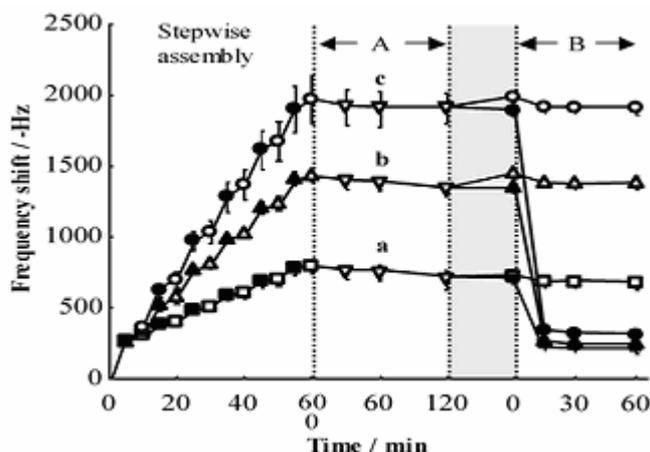


図 3-4-1 QCM により解析したフェリチンと poly(NIPAAm-co-CIPAAm) (CIPAAm content; 10, 22, 30 mol%) の積層挙動

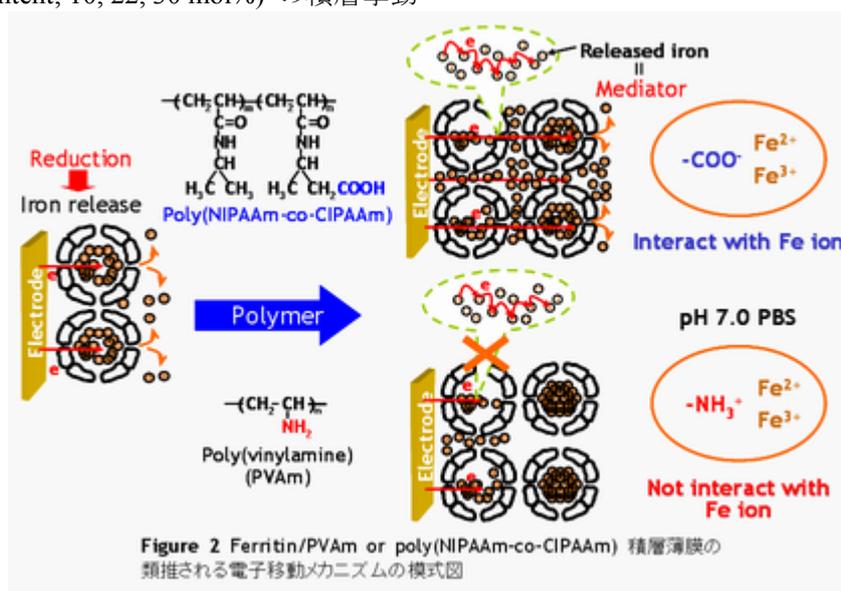


図 3-4-2 それぞれの積層薄膜で類推される電子移動メカニズムの模式図

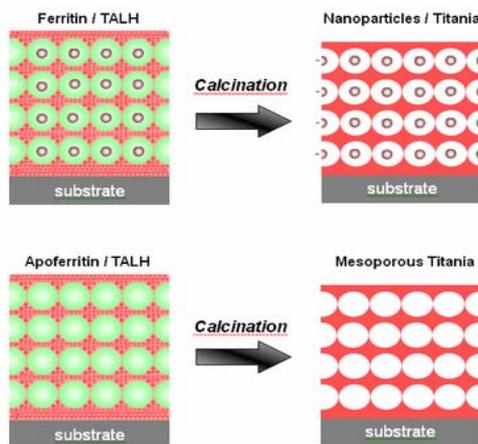


図 3-4-3 フェリチンタンパク質を用いるメソポーラスチタニア薄膜の作製模式図

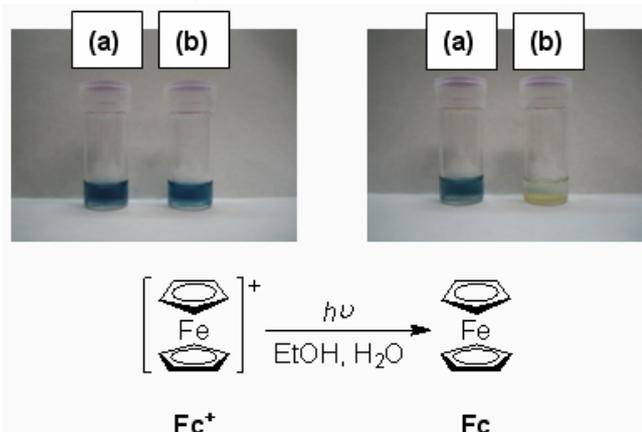


図 3-4-4 メソポーラスチタニア薄膜を用いたフェロセニウムイオン(Fc^+)の光触媒還元反応
 (a) Reduction of ferrocenium ion with nanoparticles in titania films;
 (b) Reduction of ferrocenium ion with mesoporous titania films.

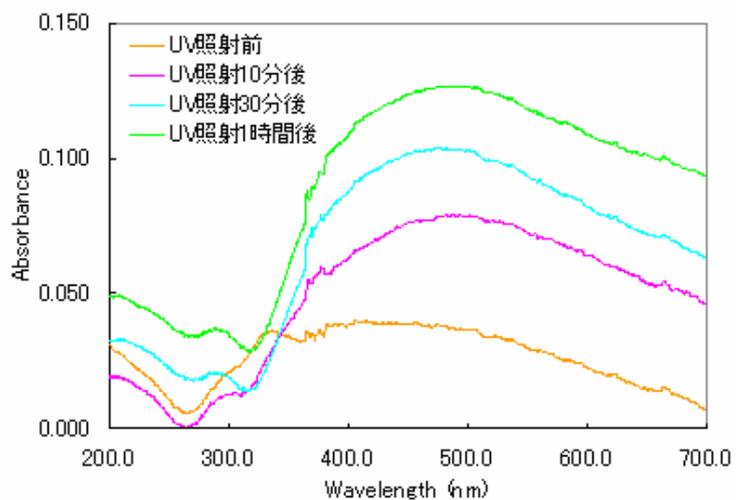


図 3-4-5 メソポーラスチタニア内空間における銀イオンの光触媒還元反応(0 分後、10 分後、30 分後、1 時間後)による UV-VIS スペクトル変化

3.5 一次元配列の実現

(奈良先端科学技術大学院大学 山下グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

ナノ粒子(量子ドット)を内包したフェリチン分子を3次元、2次元に配置する手法に加え、1次元に配列することも重要である。(フェリチンについては3.7参照)ナノドット間での電子伝導の実現や、電子デバイスへの応用の幅が広がる。そこで量子ドットを内包したフェリチンを1次元に並べる取り組みを行った。具体的には、直径が数十ナノメートルの脂質ナノチューブの内部空間にフェリチンを取り込み1次元に配列させる試みをおこなった。脂質ナノチューブのサイズは、脂質の設計や合成条件で種々の大きさを作成することができるが、今回は、1 mg の *N*-(11-*cis*-octadecenoyl)- β -D-glucopyranosylamine を 20 ml の純水中で 100 °C で 2 時間分散させ、その後除冷し、1 日放置して得られた脂質ナノチューブを用いた。図 3-5-1 はナノチューブを作製した脂質と、できあがった脂質ナノチューブの透過電子顕微鏡写真である。フェリチン導入では直径数百 nm 内部空間はおおよそ 50nm の直径のものを利用した。

脂質ナノチューブは合成後、真空中にて十分に脱水乾燥し内部からも水溶液を完全に除去した。酸化鉄のコアをもつフェリチンは合成した後 5mg/mL の濃度の分散溶液として用意し、このフェリチン溶液に乾燥ナノチューブを分散した。その後、余分なフェリチン溶液を取り除いてから、透過電子顕微鏡にて観察を行った。図 3-5-2 はその結果を示している。脂質ナノチューブはやや黒く見えており、その中心部分の中空部に黒いナノドットが凝集されて配置されているのがわかる。このサンプルの EDX 分析では、フェリチンの内部にある酸化鉄ナノ粒子に由来する鉄の成分が認められた。(インセット)フェリチンのタンパク質殻の部分は透過電子顕微鏡では可視化することが出来ないが、これらの結果はフェリチンが脂質ナノチューブに取り込まれ直線状になったものと判断される。

図 3-5-3 はさらに高分解の透過電子顕微鏡写真で、四角はこの部分でどの程度の充填率があるかを計算しおおよそ約20%であると見積もられた。現状では、重点率が低くフェリチン同士が蜜に接触しているケースは少ないと思われる。(図 3-5-3 断面模式図を参照)しかし B に示す円形部分ではナノドットが凝集し、互いに接触していると思われる部分も見られる。今後脂質ナノチューブ内部の電荷などを変化させることで、より密な状態が実現できると思われ、これによりフェリチンが一次元に配列される可能性が示された。

H. Yui, et.al., Chemistry Letters 34 (2), (2005) 232-233

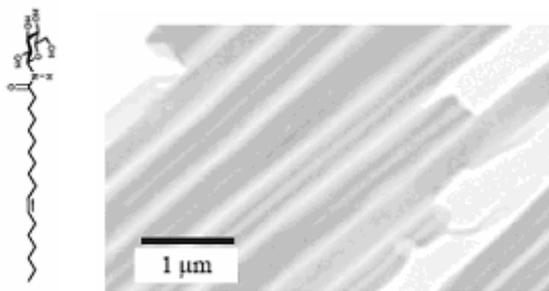


図 3-5-1 脂質の化学式と出来上がったナノチューブ

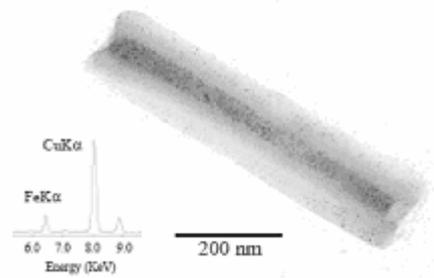


図 3-5-2 フェリチン導入ナノチューブ

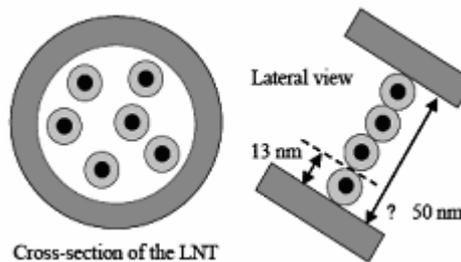
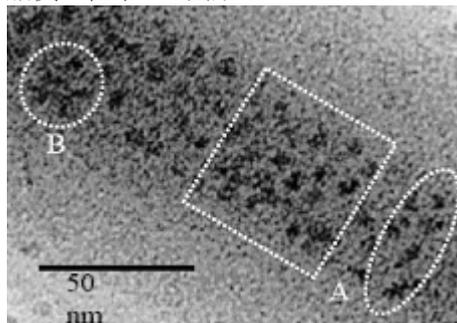


図 3-5-3 脂質ナノチューブに内包されたフェリチンのナノ粒子の拡大透過電子顕微鏡写真とチューブ断面でのフェリチンの分散を描いた模式図

(2)研究成果の今後期待される効果

脂質ナノチューブを用いたナノ粒子(量子ドット)の配列化は、脂質分子を設計すること半導体装置などで、狙った部位へのナノ粒子の配置につなげることが可能となると考えられる。

3. 6 フェリチンの安定性評価

(奈良先端科学技術大学院大学 山下グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

ナノ粒子合成に利用するフェリチンは 24 個のサブユニットが非共有結合で自己集合した超分子構造でありその安定性を評価することは重要である。特に、フェリチン空洞でバイオミネラル化によりナノ粒子を合成する場合、蛋白質としては過酷な条件となる可能性がある。そのため、この超分子の安定性を把握し、バイオミネラル化の溶液条件探索へフィードバックすることが重要である。

フェリチンは 24 個のサブユニットが非共有結合で自己組織化し球殻状構造を形成している。私たちのこれまでの知見では N 末端残基がフェリチン 24 量体の安定性に関与していることが明らかになっている。そこで、N 末端残基欠損変異体を用いた酸分解及び 24 量体再構成実験を行うことで自己組織化に重要なサブユニット間相互作用を明らかにした。

まず L-フェリチン(Fer0)の N 末端アミノ酸を 4 残基、8 残基欠損させたリコンビナントフェリチン(Fer4、Fer8)を作製した。(図 3-6-1)次にこれをそれぞれ HCl で酸分解させ、ゲルろ過

カラムクロマトグラフィー、Native-PAGE に供しサブユニットへの分解量を測定した。また酸性条件での2次構造の安定性比較のため CD 測定を行った。図 3-6-2 はゲルろ過カラムクロマトグラフィーの測定結果である。pH2 の溶液条件では Fer8 は完全にサブユニットに分解されたのに対し、Fer0,Fer4 では約8割が 24 量体として存在していることが示される。この安定性の違いは CD 測定でも確認され、Fer0,Fer4 と比べ Fer8 では2次構造の不安定性が見られた。これらの安定性の差は、X 線構造解析による水素結合の状態でも説明された。中性での Fer0,4,8 の構造を比較すると、N 末端残基欠失によって起こる構造変化の影響でサブユニット間及びサブユニット内の水素結合が減少しており、特に Fer8 ではサブユニット内及びサブユニット同士の結合の安定性が減少していると考えられる。これらの構造から見た予測は酸分解の実験結果と一致する。Fer0,Fer4 と比較して Fer8 では再構成効率が上昇し、N 末端残基欠損の影響による水素結合の変化がフェリチン分子の解離と自己組織化能に影響を及ぼしていると考えられ、24量体構造安定性への重要な知見が得られた。

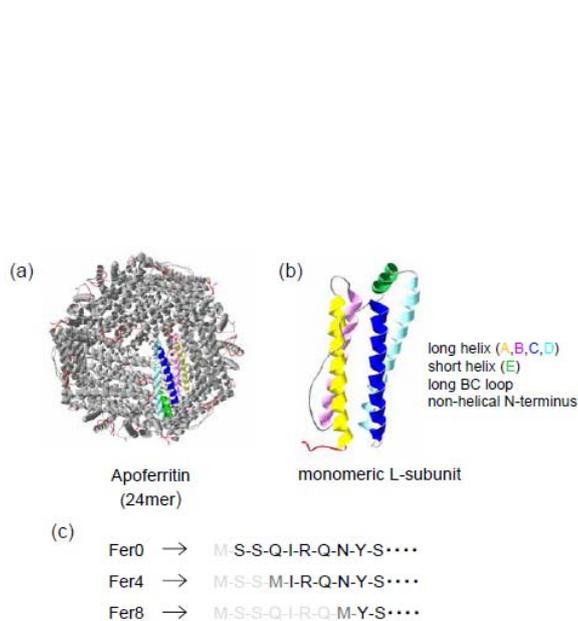


図 3-6-1 N 末端を欠失したフェリチンの模式図

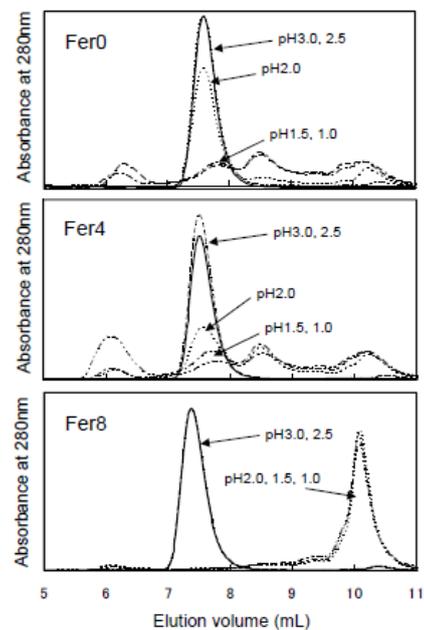


図 3-6-2 ゲルろ過カラムクロマトグラフィーの測定結果。

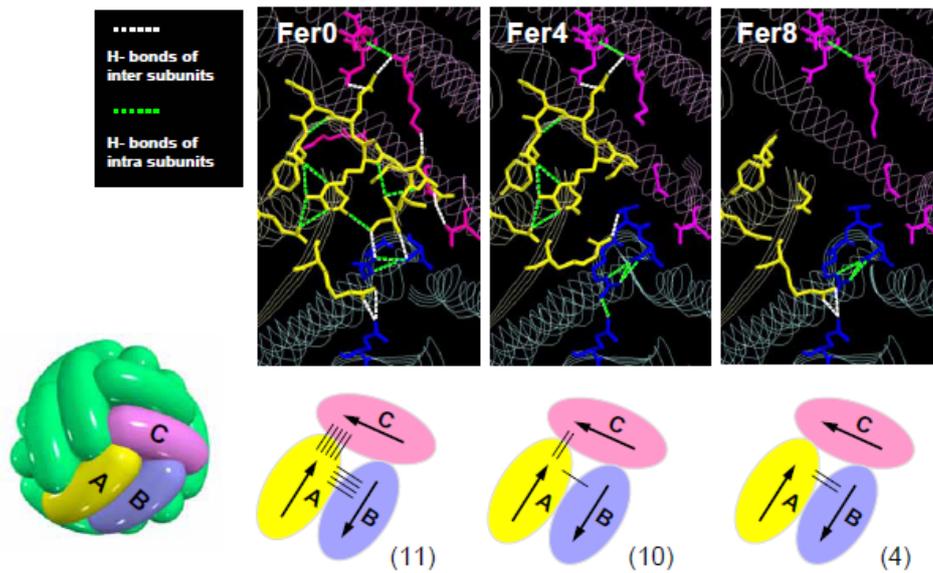


図 3-6-3 X 線構造解析により明らかになったサブユニット間、サブユニット内の水素結合の模式図。

(2)研究成果の今後期待される効果

フェリチン超分子のサブユニット間水素結合がその安定性に及ぼす影響が明らかになり、バイオミネラリゼーションにおける溶液条件検討に必要な安定性改良に活用できると考えられる。

3.7 フェリチンタンパク質を利用した同一サイズのナノ粒子の作製 (奈良先端科学技術大学院大学 山下グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

フェリチンは生物界に広く存在し、生体内の鉄濃度を調節する鉄保存タンパク質で、図 3-7-1 にその模式図を示す。1本のポリペプチド鎖が折り畳まれてできるサブユニットが、非共有結合で24個集まり、分子量約46万の球殻状タンパク質を形成している。その形状は、外径約12nm、内径約7nmである。タンパク質殻には外部と内部空間を結ぶ数Åの直径の親水性チャネルが存在し、ここをイオンがとおり内部でコアのバイオミネラル化による形成が行われる。天然のフェリチンでは、2種類のサブユニットがあり、L型とH型がある。H型には生体内の2価鉄イオンを酸化して3価にする鉄酸化活性部位があり、生体中の2価鉄イオンは鉄酸化活性部位で酸化された後、空洞内で鉄酸化物(ferrihydrite)のコアを形成する。L型フェリチンは大型の2次元、3次元結晶を作製することが知られている。L、H両型ともに、内部に酸化鉄の結晶核生成部位と想定される部位を持ち、内部は外部より静電的ポテンシャルが低いと見積もられ、正のイオンを取り込みやすくなっている。

酸化コバルトナノ粒子はまずL型とH型のサブユニットからだけ成るリコンビナントフェリチンを作製しその熱安定性を、示差走査熱量計で測定したところ、図 3-7-3 に示すような結果となった。一般に購入可能なウマ脾臓フェリチンでは、その変性が50-60度付近から始まることが示された。これは、自然界のフェリチンがL型とH型サブユニットのヘテロ分子であるためと考えられ、ナノ粒子合成の条件探索などには不向きであるといえる。一方、L型、H型からだけ成るリコンビナントフェリチンはどちらも自然フェリチンより安定であるが、H型フェリチンでは、70-75度で変性が始まるのに対しL型フェリチン(ここでは、アミノ末端から4または8アミノ酸欠失したもの)の安定性が高いことが示された。そこで、本研究では、ワイルドタイプと、L型サブユニットからだけ成るL型-リコンビナントフェリチンを主として使用することとした。

本研究では、ナノ粒子合成反応開始時にタンパク質とナノ粒子の元となるイオンの溶液を用意して、その後放置するワンポット合成を目指した。これまでに、酸化物ナノ粒子、化合物半導体のナノ粒子合成に成功した。

まずコバルト酸化物ナノ粒子のバイオミネラル化について記述する [0.5mg/ml リコンビナントアポフェリチン+3mM 硫酸アンモニウムコバルト(II)+100mM HEPS pH8.3+37.5mM 硫酸ナトリウム]の溶液を用意する。この溶液をスターラーで攪拌しながら、過酸化水素を最終濃度1.5mM加える。その後20分程度攪拌した後、50度で一晩放置する。溶液は、はじめ硫酸アンモニウムコバルト(II)により、薄いピンク色をしているが、過酸化水素水が加えられると、溶液中の色が徐々に茶色っぽい草色に変化する。そして一晩放置後は、透明な茶色の上澄みと、底部にわずかな沈殿をもつ溶液となっている。この上澄み部分を透過電子顕微鏡(TEM)で観察すると3-7-2に示すような酸化コバルトのナノ粒子がフェリチン殻の中に合成されていることが確認できる。この像は無染色で撮影したもので、酸化コバルトの格子が見える。粒子の組成は、X線蛍光分析(XPS)により測定され、コバルトが含まれていることが確かめられた。

さらにX線回折解析よりその構造が Co_3O_4 であることが決定された。

アポフェリチンを含まない同一条件の溶液では、溶液は色の変化と同時に濁りが発生し、一晩放置後では、上澄みは無色透明で底部に多量の茶色の沈殿が生成される。はじめの濁りの原因は、生成された酸化コバルトがアグリゲーションし、光の波長より大きくなったためであり、一晩放置では、さらに凝集が進んで、すべての酸化コバルトが沈殿となったと考えられる。すなわち、アポフェリチンは積極的にコバルトイオンを取り込み、 Co_3O_4 ナノ粒子を内部で合成していることが示された。

以上の成果によりフェリチンに Co_3O_4 ナノ粒子合成が簡便にできるようになったが、まだナノ粒子合成フェリチンの回収では問題が残っていた。それは溶液側でできたナノ粒子が、コア形成したフェリチンを巻き込んで共沈し、実際のコア形成フェリチンの回収率を低下させる問題である。フェリチン外表面がナノ粒子合成時の沈殿を抑制していることは良く知られていたが、このメカニズムは、タンパク質のポリエレクトロライトとして働きにあるといわれていた。そこで、さらにこの機能を高めるために、外表面をポリエチレングリコール(PEG)で修飾し、溶液中でのコバルト酸化物の生成と凝集の様子を確認した。

図 3-7-4 に示すように、アポフェリチンの外表面には露出しているリジンのアミノ基に末端化学修飾した PEG をアミドエステル結合で固定した。PEG 分子としては、分子量が異なる 3 種類の PEG 鎖(分子量約 300、2000、5000)を用いた。フェリチン分子の PEG 修飾は、MALDI-TOF/MS により確認した。(図 3-7-4)この結果から各サブユニットに 1 ないし 2 個の PEG 分子が共有結合で固定されたことが確認された。この PEG 修飾アポフェリチンを用いて、先のコバルト導入最適条件において、コバルト濃度だけを 2-9mM に変化させてコバルトナノ粒子合成実験を行なった。その結果、PEG5000、2000 とともに、溶液中のコバルト沈殿抑制効果があり、PEG5000 がよりその効果は大きかった。また、短い PEG では抑制効果は無く、また PEG2000 を添加しただけでも同じく抑制効果は無かった。フェリチンに固定された長鎖 PEG だけが抑制効果を持った。また外表面に露出しているリジンのプラスチャージも無関係であることが示された。(図 3-7-5,図 3-7-6)

以上の結果より、コバルトナノ粒子合成フェリチンの回収率を飛躍的に改善することに成功した。さらに、これらの知見から、コバルト導入の初期メカニズムとして、以下のようなことが推定された。過酸化水素を添加することにより生成したプラスチャージを帯びたコバルト錯体が、マイナスチャージを持つフェリチンの外表面に集まる。PEG 鎖がある場合は、このコバルト錯体は PEG 鎖の中で保持される。そのため、溶液側で生成した粒子と反応を起こさず沈殿を抑制する事ができると考えられる。

次に化合物半導体のナノ粒子合成について記述する。これまでに、ZnS、ZnSe、CdSe、CdS、CuS、Au₂S などのナノ流離合成に成功してきたが、まず CdSe ナノ粒子の合成について説明する。水溶液中では Cd イオンと Se イオンは急速に反応して CdSe を作製する。そこでこの反応を抑制しつつアポフェリチン内での CdSe 合成を推進する Slow-chemical-reaction system (SCRY) と Two-step-synthesis protocol (TSSP) を考案して CdSe のフェリチン内バイオミネラリゼーションを行った。まず SCRY として Cd イオンにアンモニアを配位させて tetraaminedicadmium を作り安定化を行

った。その後 Se イオンの供給を、セレノウレアを利用し手行った。セレノウレアは水溶液中ではきわめてゆっくりと分解して Se イオンを供給する。この Cd イオンの安定化とセレノウレアの採用により、溶液中の CdSe の合成は数時間から数日のオーダーでゆっくり進むように制御できる。実際の反応溶液としては、[0.5mg/mL の L 型アポフェリチン+1mMの酢酸カドミウム+40mMの酢酸アンモニウム]溶液を調合し、pHをアンモニア水で 8.0 に調整する。そして最後に最終濃度5mMとなるようにセレノウレアを加える。溶液はゆっくりと薄い黄色から褐色に変化し、一晩放置後、褐色の透明な上澄みが得られる。この上澄みをTEMで観察すると図 3-7-9 に示すような CdSe ナノ粒子とそれを取り巻く白いタンパク殻の像が得られる。ほぼすべてのアポフェリチンにナノ粒子が合成されていることがわかる。画像解析から直径の分散も小さいことも示された。(図 3-7-8)ところで先に Se イオンを入れると、以上のようなナノ粒子合成は起こらない。これははじめに Cd イオンがフェリチンの内部に入り、マイナス電荷を持つ内表面部位に固定されることが必要であることを示している。これから 3-7-5 に示されるようなナノ粒子合成過程が類推された。すなわちまず Cd イオンが親水性チャネルより進入し、書く形成部位に固定される。その結果内部の静電ポテンシャルは解消され、その後、Se イオンが進入して CdSe の種結晶ができる。この表面があとは自己触媒となって CdSe が内部空間いっぱいまで成長すると考えられる。この粒子の組成は、XPS により、CdSe と確かめられ、さらに図 3-7-10 に示したように、X線回折解析よりこの CdSe ナノ粒子がキュービック相の CdSe であることが決定された。X 線回折解析ピークの半値幅から、CdSe の平均直径は2~3nm であると計算され、粒子直径が7nm であることからコアが合成直後は多結晶であることが明らかになった。この多結晶 CdSe ナノ粒子は、約 500 度の不活性ガス中での熱処理により単結晶ナノ粒子にできることも実験的に示された。

化合物半導体 CdS ナノ粒子の球殻状タンパク質内での合成では、上述の CdSe 合成でデザインしたスロー化学反応機構と2段階合成プロトコルを CdSe 用に修正して、硫黄原子源をチオ酢酸に変更し反応溶液の条件を調整することで粒径の異なる CdS ナノ粒子を得た。(図 3-7-11)この CdS ナノ粒子保持フェリチン溶液の蛍光を 310nm で励起したところ、直径に応じて蛍光波長が変化した。(図 3-7-12)

貴金属関連のナノ粒子では、塩化金イオンとチオウレアを混在させることで、Au₂S のナノ粒子をほぼ100%の確率でフェリチン内に合成することができる。(図 3-7-13)以上の例以外にも、タンパク質の設計と溶液条件探索により ZnS、ZnSe などのナノ粒子の作製にも成功している。また松下電器との共同研究では亜鉛、インジウムなどの酸化物半導体や、ニッケル化合物のナノ粒子作製も可能となってきている。

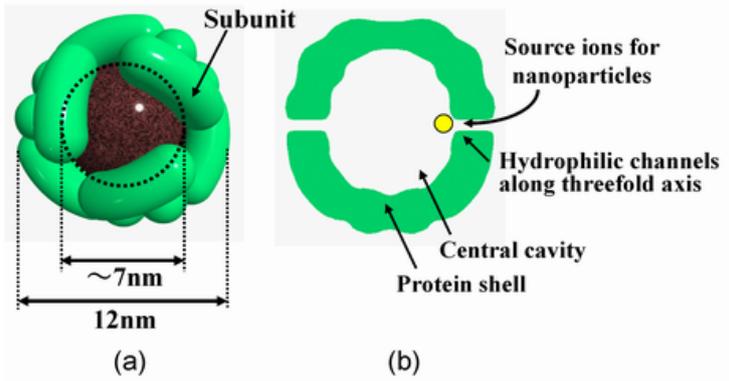


図 3-7-1 フェリチンの模式図と断面図

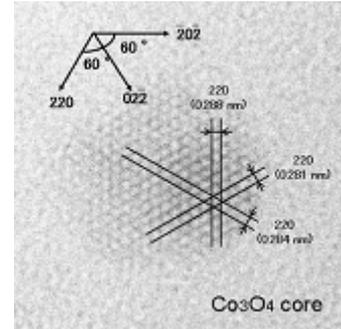


図 3-7-2 合成された Co₃O₄ ナノ粒子

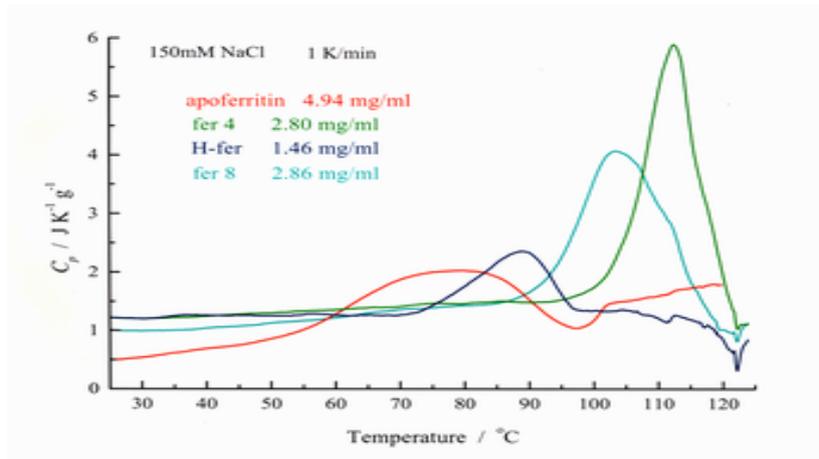


図 3-7-3 示唆走査熱量計による、ウマ脾臓フェリチン、L型フェリチン(fer4とfer8)およびH型フェリチンの熱安定性の測定結果

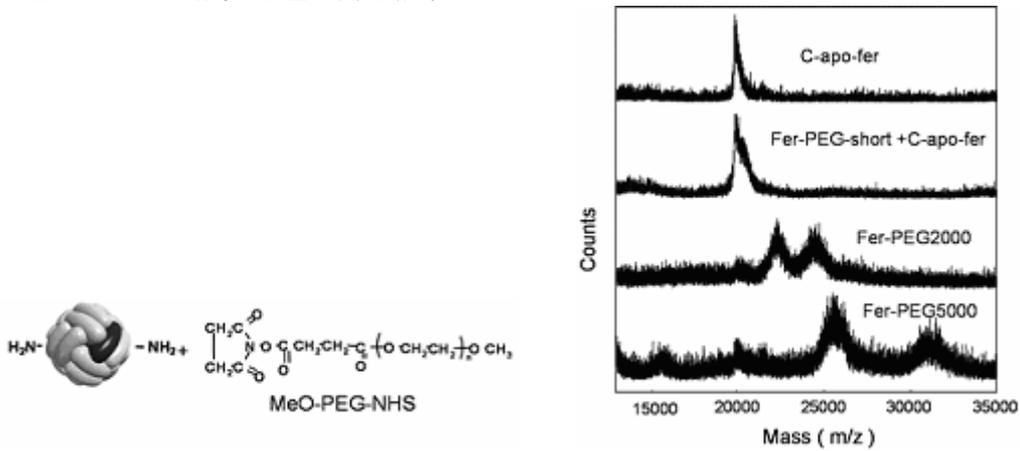


図 3-7-4 フェリチン分子の PEG 修飾に用いた化学反応の模式図と、PEG 修飾後の MALDI-TOF/MS 測定結果

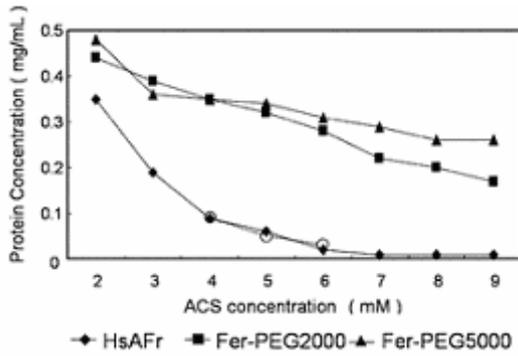


図 3-7-5 馬脾臓フェリチンと、PEG2000,5000 修飾フェリチンを用いた場合のナノ粒子合成後の上澄みに残ったタンパク質の総量比較

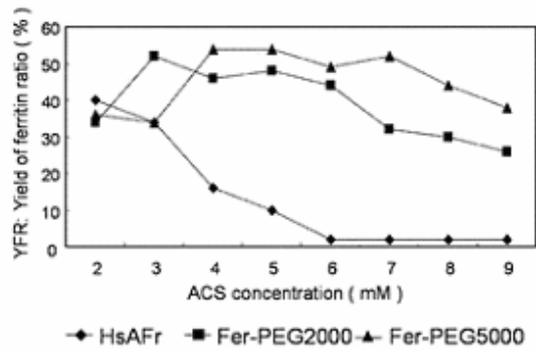


図 3-7-6 馬脾臓フェリチンと、PEG2000,5000 修飾フェリチンを用いた場合のナノ粒子合成後フェリチンの回収量の比較

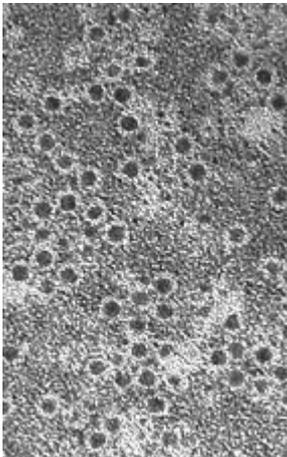


図 3-7-7 合成された CdSe ナノ粒子の電子顕微鏡像(負染色像)

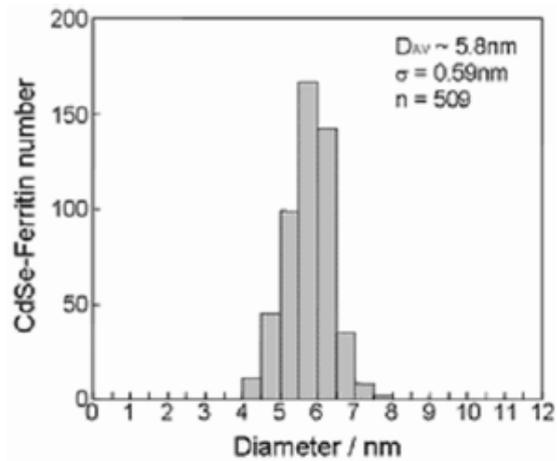


図 3-7-8 得られた CdSe ナノ粒子の直径分散

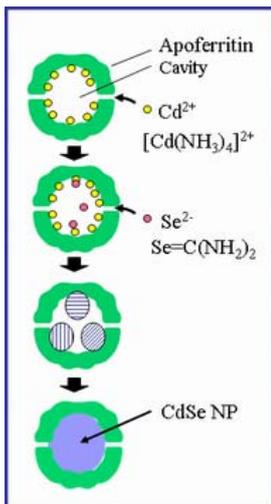


図 3-7-9 類推された化合物半導体 CdSe の合成メカニズム

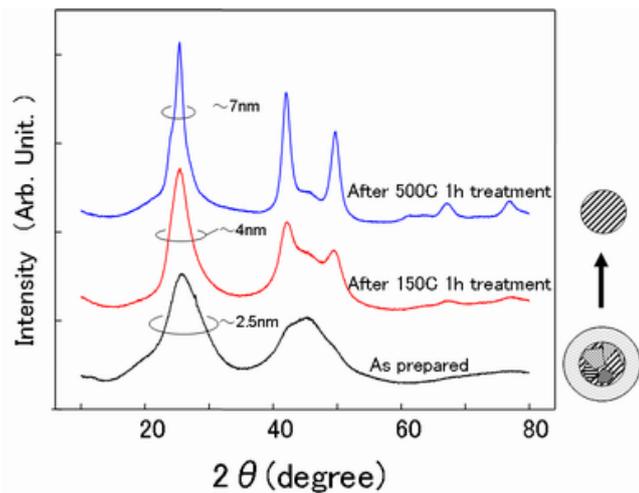


図 3-7-10 合成された CdSe ナノ粒子の X 線回折室素中熱処理前後のピークの変化を示す

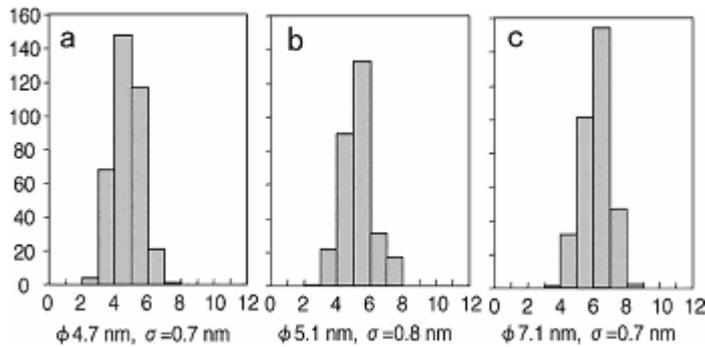


図 3-7-11 溶液調整によるナノ粒子直径制御結果
アンモニア水の濃度を変えることでナノ粒子の直径
が制御可能となった。

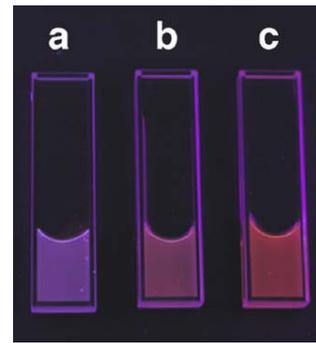


図 3-7-12 得られた蛍光発光
ナノ粒子の直径の増加に比例
した赤色シフトが観察される。

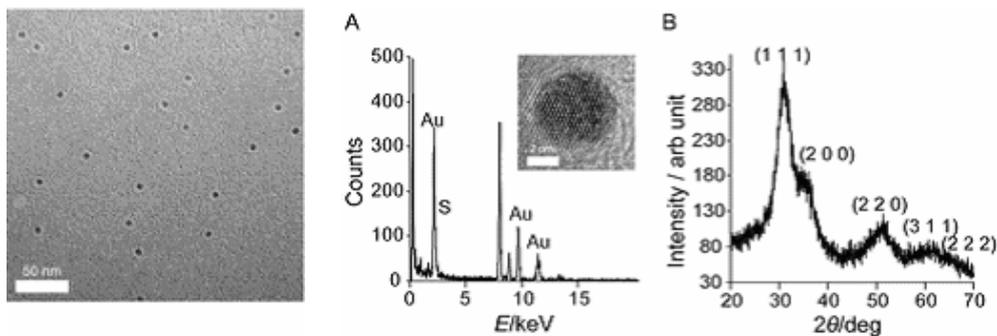


図 3-7-13 フェリチン中に合成された Au₂S ナノ粒子の透過電子顕微鏡写真と、高分解能電子
顕微鏡像、さらにその EDX 分析、と X 線分析結果。

(2)研究成果の今後期待される効果

フェリチン超分子のバイオミネラリゼーションのメカニズム考察により、球殻状タンパク質内で合成可能となるナノ粒子の種類が大幅に増え、現在6種類を超える化合物半導体粒子が、また3種類の酸化物半導体が日常的作製できるようになった。遺伝子工学的手法によるタンパク質改変で、さらにその種類を増やすことができると考えられる。

3.8 リステリアフェリチンタンパク質を利用した同一サイズのナノ粒子の作製
(奈良先端科学技術大学院大学 山下グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

ナノ粒子の合成ではサイズの異なる量子ドットも必要となる。そこでフェリチンで得られた知見が、その他の小型の球殻所タンパク質にも応用可能であるかを検討した。そこで外形が約9nm で内径約4.5nm のリステリアフェリチンを用い化合物半導体 CdS ナノ粒子の野合成を検討した。その結果、考案した SCRY と TSSP の手法は、この小型球殻タンパク質にも応用可能であることが実証された。実際の何粒子合成は0.3 mg/mL のリステリアフェリチンに1mM の酢酸カドミウム、10mM のチオ酢酸、40 mM 酢酸アンモニウム、これにアンモニア水を加えた溶液で放置することで CdS ナノ粒子が合成できる。図3-8-1 はそのようにして得られた、リステリアフェリチン中の CdSe ナノ粒子の電子顕微鏡像で、できたナノ粒子はポリクリスタルであった。また X 線回折から、キュービック結晶であることが示された。またこの溶液を波長310nm の紫外線で励起したところ、蛍光が観察された。(図3-8-3)

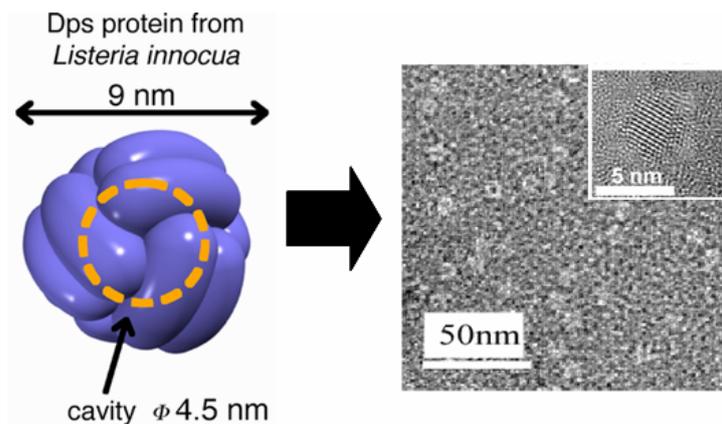


図3-8-1 リステリアフェリチンの模式図と、得られた CdS ナノ粒子の透過電子顕微鏡像。高分解能電子顕微鏡像では、CdS の格子像が観察される。

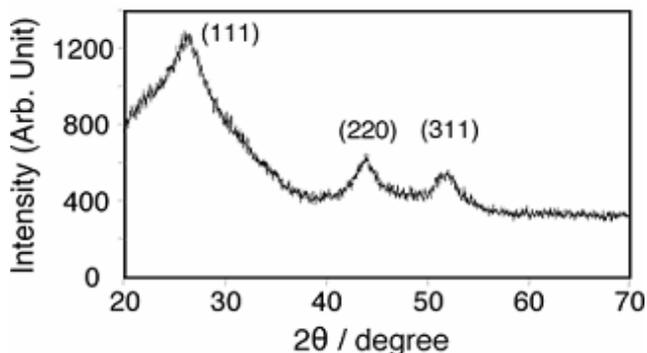


図3-8-2 得られた CdS の X 線回折データ

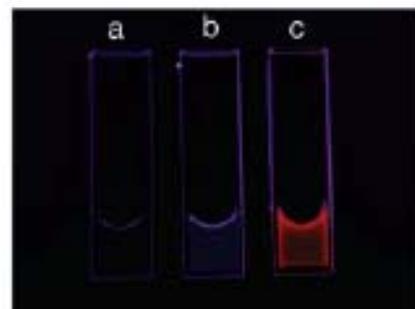


図3-8-3 合成された CdSe からの蛍光。左から、純粹、リステリアフェリチン溶液 CdSe 合成溶液

3.9 TMV を用いたナノワイヤの合成 (奈良先端科学技術大学院大学 山下グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

ナノ粒子合成だけではナノ構造構築はできない。またナノエレクトロニクス分野においてもナノサイズの配線を可能とする導電性ナノワイヤが必要である。そこでチューブ状タンパク質のタバコモザイクウイルス(TMV)の内部空間を用いて金属ナノワイヤを合成した。TMVは、外径約18 nm、内部空洞が約4 nmで、RNAによって長さ300 nmに制御されている。酸・アルカリ・熱に耐性を持つ。この内部空洞を利用したニッケル、コバルトのナノワイヤ合成が、すでにKnuzらにより報告されている。そこで私たちはこれまで実現されていない、二元金属ナノワイヤの作製、特に磁性合金であるCoPt、FePtの合成を行なった。合成は、150 mM NaCl 中の0.3 mg/mLのTMV溶液に、コバルトイオンと白金イオンと還元剤を、超音波照射下で複数回加えつつおこなった。図3-7-1に示すように、50-100 nmのCo-PtナノワイヤをTMV内に合成することができた。このナノワイヤを高分解能透過電子顕微鏡で観察すると、格子像が明らかに見られた。ただしワイヤ全体が単一の結晶ではなく、長さが数十nmの多結晶であることも確認された。(図3-7-2)合成される2元金属の組成をEDXで解析すると、溶液に加えるCoとPtイオンの量比によりその組成は変化することが示された。(図3-7-3)しかしながらCo、Ptの2元金属ではCoPt、CoPt₃だけが結晶として存在可能であるため、このワイヤはこの2つの2元結晶または白金のナノワイヤであると結論することができる。ただし9mM Coと3mM Ptで作製されたナノワイヤは、その成分がほぼ1:1の量比であることからその大部分はCoPtであると判断される。さらにこのCoPtと判断されたナノワイヤの磁性を測定したところ、磁性体特有のヒステリシスが確認できた。

TMV中のCo-Ptナノワイヤ合成ではCo、Ptイオンだけではナノワイヤの合成はみとめられなかった。両者の存在がナノワイヤ合成には必須であった。また超音波印加を印加しない場合にはナノワイヤは短くなった。このことから、Co、Ptイオンもしくはエンブリオ核が超音波により直径4nmのTMVの内部空間に拡散しているものと思われる。

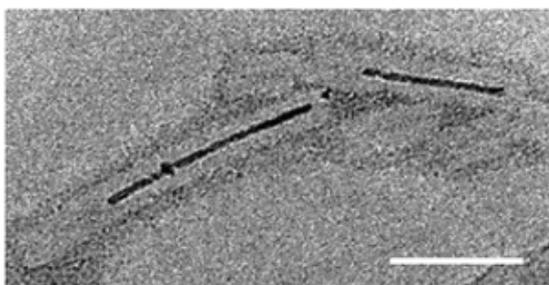


図3-9-1 TMV内に合成されたCo-Ptナノワイヤの透過電子顕微鏡像(負染色)

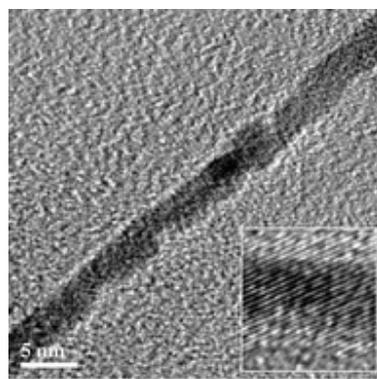


図3-9-2 合成されたナノワイヤの高分解能透過電子顕微鏡像とその格子像(囲み内)

Reaction conditions	Co/Fe	Pt (atomic %)
Co 0 mM + Pt 3 mM	none	none
Co 3 mM + Pt 6 mM	10	90
Co 3 mM + Pt 3 mM	17	83
Co 9 mM + Pt 3 mM	45	55
Co 3 mM + Pt 0 mM	none	none
Fe 3 mM + Pt 3 mM	25	75

図 3-9-3 Co または Fe イオンと白金イオンの混合比を変えた場合に得られるナノワイヤの組成

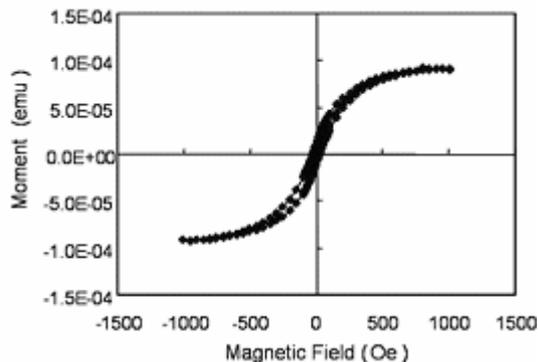


図 3-9-4 TMV 中に作製された CoPt ナノワイヤの磁気特性ヒステリシス

(2)研究成果の今後期待される効果

現在この技術は遺伝子工学を利用して発展し、TMV 中の Co-Pt ナノワイヤ合成メカニズムの解明が進みつつある。TMV コートタンパク質の立体構造は既に解明されているため、TMV 内部空間に露出しているアミノ酸残基を、プラスチャージを持つリジン残基、あるいはマイナスチャージを持つグルタミン酸残基に置換した変異体を作成し、上で示した最適条件で Co-Pt ナノワイヤの合成を試みた。その結果、内部空間にプラスチャージを増やした変異体ではナノワイヤの合成が全く見られず、マイナスチャージに変えた場合ではナノワイヤの合成が促進された。

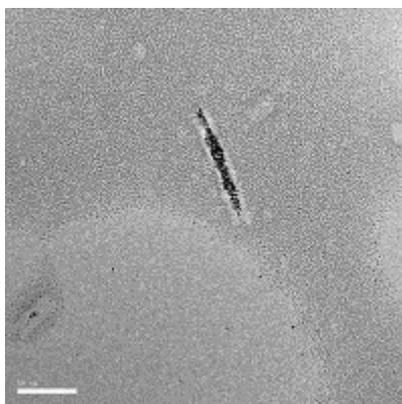


図 3-9-5 TMV(100E) 変異体中に作製された CoPt ナノワイヤ。スケールバーは 50 nm。

3. 10 べん毛繊維を用いたナノワイヤ合成 (奈良先端科学技術大学院大学 山下グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

サルモネラ菌のべん毛繊維は、べん毛モノマーが中心孔を經由して先端に運搬され重合することで伸長する。中心孔は約 2 nm で、極性アミノ酸に囲まれている。このチューブ状タンパク質をバイオミネラル化のテンプレートとして利用した。白金とコバルトと還元剤、白

金と還元剤を添加することにより、空洞内部には CoPt ナノワイヤ、外側表面には等間隔に並ぶ白金ナノ粒子の合成が確認できている。この白金ナノ粒子の間隔は約 5 nm で中心からずれていく傾向が見られる。このべん毛繊維を利用したバイオミネラリゼーションに関しては「ソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用」領域の相沢チームと共同実験を推進している。

(2)研究成果の今後期待される効果

べん毛繊維は、種々のらせん形をとる多型変換が知られている。またその構造も、大阪大学の難波らにより原子レベルで構造が解かれており、今後らせん形のワイヤや、バイオミネラリゼーションによる超小型スプリングの作製も見込まれる。電子デバイスとは異なる利用法に発展する可能性がある。

4 研究参加者

①「バイオミネラルナノ構造」グループ(バイオミネラリゼーションと超分子ナノ構造作製研究)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
山下 一郎	松下電器産業株式会社	主幹研究員	グループの統括	平成14年11月～平成20年3月
岩堀 健治	奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科	CREST研究員	バイオミネラリゼーション変異タンパク質作製	平成15年4月～平成20年3月
三島 由美子	奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科	CREST研究員	タンパク質X線構造解析と安定性・機能解析	平成15年6月～平成18年10月
小林 未明	奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科	CREST研究員	遺伝子工学的改変によるタンパク質無機材料配置	平成18年5月～平成20年3月
中川 博道	奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科	CREST研究員	タンパク質化学修飾によるナノ構造体作製と配置	平成18年10月～平成20年3月
塚本 里加子	奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科	CREST技術員	ナノワイヤ・バイオミネラリゼーション	平成15年4月～平成20年2月
慶澤 景子	奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科	CREST技術員	バイオミネラリゼーション	平成15年4月～平成20年3月
岸本 直子	奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科	CREST技術員	化学修飾・核酸修飾によるナノ構造体作製	平成15年4月～平成20年3月
門谷 文子	奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科	CREST技術員	タンパク質X線構造解析変異タンパク質作製	平成15年6月～平成19年5月
福重 慶次	奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科	CREST技術員	タンパク質と機能性高分子の複合体作製	平成16年4月～平成17年11月
山根 みどり	奈良先端科学技術大学院大学 物質創成科学研究科	研究補助員	タンパク質培養精製とX線構造解析用結晶化	平成16年4月～平成20年3月
村岡 雅弘	大阪工業大学工学部	講師	多量体タンパク質超分子によるナノ構造作製	平成15年2月～平成20年3月
竹澤 真潮	大阪工業大学工学部	大学院生	化学修飾・核酸修飾によるナノ構造体作製	平成19年4月～平成20年3月
杉本 健二	京都大学大学院エネルギー科学研究科	助教	化学修飾・核酸修飾によるナノ構造体作製	平成16年1月～平成20年3月
有坂 文雄	東京工業大学大学院生命理工学研究科	准教授	多量体タンパク質超分子によるナノ構造	平成16年4月～平成20年3月
金丸 周司	東京工業大学大学院生命理工学研究科	助教	多量体タンパク質超分子によるナノ構造	平成16年4月～平成20年3月
上野 隆史	名古屋大学大学院理学研究科	助手	バイオミネラリゼーション	平成14年11月～平成19年3月
高橋 卓也	立命館大学情報理工学部	准教授	構造計算	平成14年11月～平成20年3月

冬木 隆	奈良先端科学技術 大学院大学 物質 創成科学研究科	教授	測定	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
浦岡 行治	奈良先端科学技術 大学院大学 物質 創成科学研究科	准教授	測定	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
塚崎 克和	奈良先端科学技術 大学院大学 物質 創成科学研究科	大学院生	測定	平成 16 年 4 月～ 平成 19 年 3 月
平岡 佳子	奈良先端科学技術 大学院大学 物質 創成科学研究科	大学院生	測定	平成 15 年 10 月～ 平成 17 年 10 月
藤原 勇	奈良先端科学技術 大学院大学 物質 創成科学研究科	大学院生	測定	平成 16 年 10 月～ 平成 18 年 3 月
榎本 隆弘	奈良先端科学技術 大学院大学 物質 創成科学研究科	大学院生	測定	平成 16 年 10 月～ 平成 18 年 3 月
森岡 拓也	奈良先端科学技術 大学院大学 物質 創成科学研究科	大学院生	測定	平成 17 年 10 月～ 平成 19 年 3 月
山抱 弘和	奈良先端科学技術 大学院大学 物質 創成科学研究科	大学院生	測定	平成 17 年 10 月～ 平成 19 年 3 月
山田 聖人	奈良先端科学技術 大学院大学 物質 創成科学研究科	大学院生	測定	平成 19 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
石川 和高	奈良先端科学技術 大学院大学 物質 創成科学研究科	大学院生	測定	平成 18 年 10 月～ 平成 20 年 3 月
高木 理江	奈良先端科学技術 大学院大学 物質 創成科学研究科	大学院生	測定	平成 18 年 10 月～ 平成 20 年 3 月
深田 はるみ	大阪府立大学大 学院生命環境科 学研究科	准教授	測定	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
青柳 隆夫	鹿児島大学大 学院理工学研究科	教授	タンパク化学修飾	平成 15 年 6 月～ 平成 20 年 3 月
山元 和哉	鹿児島大学大 学院理工学研究科	助教	タンパク化学修飾	平成 15 年 6 月～ 平成 20 年 3 月
宇都 甲一郎	鹿児島大学大 学院理工学研究科	大学院生	タンパク化学修飾	平成 19 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
M.Stowell	コロラド大学	Assistant Professor	バイオミネラリゼーション	平成 15 年 6 月～ 平成 20 年 3 月
T.W.Bell	ネバダ大学	Professor	タンパク化学修飾	平成 15 年 6 月～ 平成 20 年 3 月
富永 昌人	熊本大学	助教	電気化学測定	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
巽 紀子	松下電器産業株 式会社	事務員	事務連絡	平成 15 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
白坂 雅子	奈良先端科学技術 大学院大学	チーム事務 員	事務連絡	平成 17 年 4 月～ 平成 20 年 3 月

②プロテインナノチューブ構造グループ(タンパク質チューブ構造設計作製研究)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
J. Tame	横浜市立大学 大学院国際総合 科学研究科	教授	タンパク質の構造解析とリン グ状タンパク質の設計	平成15年4月～ 平成20年3月
J. Heddle	東京工業大学	助教	タンパク質の構造解析とリン グ状タンパク質の設計	平成15年4月～ 平成19年2月
朴 三用	横浜市立大学 大学院国際総合 科学研究科	准教授	タンパク質の構造解析とリン グ状タンパク質の設計	平成15年4月～ 平成20年3月
雲財 悟	横浜市立大学 大学院国際総合 科学研究科	助教	タンパク質の構造解析とリン グ状タンパク質の設計	平成16年4月～ 平成20年3月
渡辺 正宏	横浜市立大学 大学院国際総合 科学研究科	大学院生	タンパク質の構造解析とリン グ状タンパク質の設計	平成19年7月～ 平成20年3月
C. Addy	横浜市立大学 大学院国際総合 科学研究科	研究員	タンパク質の構造解析とリン グ状タンパク質の設計	平成19年4月～ 平成20年3月
泉 厚志	横浜市立大学 大学院国際総合 科学研究科	研究員	タンパク質の構造解析とリン グ状タンパク質の設計	平成19年10月～ 平成20年3月

5 招聘した研究者等

氏名(所属、役職)	招聘の目的	滞在先	滞在期間

6 成果発表等

(1) 原著論文発表 (国内誌1件、国際誌41件)

1. Ichiro Yamashita, Jyunko Hayashi, and Masahiko Hara “Bio-template Synthesis of Uniform CdSe Nanoparticles Using Cage-shaped protein, Apoferritin” Chem. Lett. 33(9), (2004) 1158-1159
2. Tomohiro Kubota, Tomosuke Baba, Seiji Samukawa, Hiroyuki Kawashima, Yukiharu Uraoka, Takashi Fuyuki, Ichiro Yamashita “A 7-nm nanocolumn structure

- fabricated by using a ferritin iron-core mask and low-energy Cl neutral beams” *Appl. Phys. Lett.* 84(9), (2004) 1555-1557
3. Ichiro Yamashita “Biological path to nanoelectronics devices” *Proc. of PIE*, 5650, (2005) 1-8
 4. Hiroharu Yui, Yoshiki Shimizu, Shoko Kamiya, Ichiro Yamashita, Mitsutoshi Masuda, Kohzo Ito, Toshimi Shimizu “Encapsulation of Ferritin within a Hollow Cylinder of Glycolipid Nanotubes” *Chem. Lett.* 34 (2), (2005) 232-233
 5. Shigeo Yoshii, Kiyohito Yamada, Nozomu Matsukawa, Ichiro Yamashita “Making Monolayer of Inorganic Nanoparticles on Silicon Substrate” *Jpn. J. Appl. Phys.*, 44(3), (2005) 1518-1523
 6. Yoshitsugi Fukusige, Masahiro Muraoka, Ichiro Yamashita “Synthesis and Characterization of Ferritin-Polymer Hybrid” *Transactions of the Materials Research Society of Japan* 30(2), (2005) 549-552
 7. Ichiro Yamashita “The Bio-Nano-Process: Making Semiconductor Devices Using Protein Supramolecules” *Mater. Res. Soc. Proc.*, Vol.873E, (2005), K5.1.1-10.
 8. Kenji Iwahori, Keiko Yoshizawa, Masahiro Muraoka, Ichiro Yamashita “Fabrication of semiconductor Nano-particles in the Protein Cage of Apoferritin” *Mater. Res. Soc. Proc.* 873 E.K.3.1(2005)
 9. Mitsuhiro Okuda, Ichiro Yamashita, Kenji Iwahori, Hideyuki Yoshimura “Fabrication of In₂O₃ oxide semiconductor nano-particles using apoferritin” *Mater. Res. Soc. Proc.* 873 .E.K3.13(2005)
 10. Shinya Kumagai, Shigeo Yoshii, Kiyohito Yamada, Isamu Fujiwara, Nozomu Matsukawa, Ichiro Yamashita,; “Nanopatterning of Vapor-deposited Aminosilane Film using EB Lithography for Ferritin Protein Adsorption” *Journal of Photopolymer Science and Technology* 18, (2005) 495-500
 11. Hiroya Kirimura, Yukiharu Uraoka, Takashi Fuyuki, Mitsuhiro Okuda, Ichiro Yamashita “Study of low-temperature crystallization of amorphous Si films obtained using ferritin with Ni nanoparticles” *Appl. Phys. Lett.* 86, (2005) 2
 12. Ken-Ichi Sano, Kumiko Ajima, Kenji Iwahori, Masako Yudasaka, Sumio Iijima, Ichiro Yamashita, Kiyotaka Shiba “Endowing a Ferritin-Like Cage Protein with High Affinity and Selectivity for Certain Inorganic Materials” *Small* 1.1,(8-9), (2005) 826-832.
 13. Kenji Iwahori, Keiko Yoshizawa, Masahiro Muraoka, Ichiro Yamashita “Fabrication of ZnSe Nanoparticles in the Apoferritin Cavity by Designing a Slow Chemical Reaction System” *Inorganic Chemistry* 44, (2005) 6393-6400
 14. Ichiro Yamashita “Biological path to nanoelectronics devices”, *Proc. of SPIE* 5650, (2005) 1-8
 15. Tomohiro Hayashi, Masahiko Hara “Long-Ranged and Short Ranged Electrostatic Interaction Between Modified Silicon Surfaces and Recombinant Ferritin Molecules” *Jpn. J. Appl. Phys.*, 44(7B), (2005) 5374-5377
 16. Rikako Tsukamoto, Kenji Iwahori, Masahiro Muraoka, Ichiro Yamashita “Synthesis of Co₃O₄ Nanoparticles Using the Cage-Shaped Protein, Apoferritin” *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 78(11), (2005) 2075-2081
 17. Atsushi Miura, Takio Hikono, Takashi Matsumura, Hiroshi Yano, Tomoaki Hatayama, Yukiharu Uraoka, Takashi Fuyuki, Shigeo Yoshii, Ichiro Yamashita “Floating Nanodot Gate Memory Devices Based in Biomineralized Inorganic Nanodot Array as a Storage Node” *Jpn. J. Appl. Phys.* 45(1), (2006) L1-L3
 18. Takio Hikono, Takashi Matsumura, Atsushi Miura, Yukiharu Uraoka, Takashi Fuyuki, Masaki Takeguchi, Shigeo Yoshii, Ichiro Yamashita “Electron confinement in a metal nanodot monolayer embedded in silicon dioxide produced using ferritin protein” *Applied Physics Letters* 88, (2006) 023108
 19. Tomohiro Hayashi, Ken-Ichi Sano, Kiyotaka Shiba, Yoshikazu Kumashiro, Kenji Iwahori, Ichiro Yamashita, Masahiko Hara “Mechanism Underlying Specificity of Proteins Targeting Inorganic Materials” *Nano Lett.* 6(3), (2006) 515-519
 20. Kenji Sugimoto, Shuji Kanamaru, Kenji Iwasaki, Fumio Arisaka, Ichiro Yamashita “Construction of a Ball-and-Spike Protein Supramolecule” *Angew. Chem. Int. Ed.* 45,

- (2006) 2725-2728
21. Shinya Kumagai, Shigeo Yoshii, Kiyohito Yamada, Nozomu Matsukawa, Isamu Fujiwara, Kenji Iwahori, Ichiro Yamashita “Electrostatic placement of single ferritin molecules” *Appl. Phys. Lett.* 88,(2006) 153103
 22. Jonathan G.Heddle, Takeshi Yokoyama, Ichiro Yamashita, Sam-Yong Park, Jeremy R.H.Tame “Rounding up:Engineering 12-Membered Rings from the Cyclic 11-Mer TRAP” *Structure* 14,(2006) 925-933
 23. Kiyohito Yamada, Shigeo Yoshii, Shinya Kumagai, Isamu Fujiwara, Kazuaki Nishio, Mitsuhiro Okuda, Nozomu Matsukawa, Ichiro Yamashita “High-Density and Highly Surface Selective Adsorption of Protein-Nanoparticle Complexes by Controlling Electrostatic Interaction” *Jpn. J. Appl. Phys.* 45(5A),(2006) 4259-4264
 24. Rikako Tsukamoto, Masahiro Muraoka, Yoshitsugi Fukushige, Tomohiro Kawaguchi, Yohji Nakatsuji, Ichiro Yamashita “Co3O4nanoparticle synthesis by the PEGylated ferritin” *WSEAS Transaction on Biology and Biomedicine* (6) 3,(2006),443-448
 25. Kenji Iwahori, Takuya Morioka, Ichiro Yamashita “The optimization of CdSe nano particles synthesis in the apoferritin cavity” *Physica Status Solidi (a)* 203(11),(2006) 2658-2661
 26. Ichiro Yamashita, Hiroya Kirimura, Mitsuhiro Okuda, Kazuaki Nishio , Ken-Ichi Sano, Kiyotaka Shiba, Tomohiro Hayashi, Masahiro Hara, Yumiko Mishima “Selective Nanoscale Positioning of Ferritin and Nanoparticles by Means of Target-Specific Peptides” *Small* 2(10), (2006),1148-1152
 27. Shinya Kumagai, Shigeo Yoshii, Kiyohito Yamada, Nozomu Matsukawa, Kenji Iwahori, Ichiro Yamashita “Electrostatic placement of nanodots onto silicon substrate using ferritin protein supramolecules with control of electrostatic interaction in solution” *Jpn. J. Appl. Phys.* 45, (2006),8311-8316
 28. Keiko Yoshizawa, Kenji Iwahori, Kenji Sugimoto, Ichiro Yamashita “Fabrication of gold sulfide nanoparticles using the protein cage of apoferritin” *Chem. Lett.* 35 (10), (2006), 1192-1193
 29. Takeshi Haku, Takeshi Hibino, Harumi Fukada, Yumiko Mishima, Ichiro Yamashita , Mikio Kato “DNA secondary structure forming at minisatellite repeat unit sequences” *Nucleic Acids Symposium Series* 50, (2006),229-230
 30. Takuro Matsui, Nozomu Matsukawa, Kenji Iwahori, Ken-ichi Sano, Kiyotaka Shiba, Ichiro Yamashita “Realizing a Two-Dimensional Ordered Array of Ferritin Molecules Directly on a Solid Surface Utilizing Carbonaceous Material Affinity Peptides” *Langmuir* 23,(2007) 1615-1618
 31. Mikio Kato, Takeshi Haku, Takeshi Hibino, Harumi Fukada, Yumiko Mishima, Ichiro Yamashita, Shinsei Minoshima, Kumiaki Nagayama, Nobuyoshi Shimizu “Stable minihairpin structures forming at minisatellite DNA isolated from yellow fin sea bream *Acanthopagrus*” *Comparative Biochemistry and Physiology, PartB* 146, (2007) 427-4387
 32. Rikako Tsukamoto, Masahiro Muraoka, Munetoshi Seki, Hitoshi Tabata, Ichiro Yamashita “Synthesis of CoPt and FePt3 Nanowires Using the Central Channel of Tobacco Mosaic Virus as a Biot” *Chem Mater* 19(10), (2007) 2389-2391
 33. Kenji Iwahori, Takahiro Enomoto, Hirotoshi Furusho, Atsushi Miura, Kazuaki Nishio, Yumiko Mishima, Ichiro Yamashita “Cadmium Sulfide Nanoparticle Synthesis in Dps Protein from *Listeria innocua*” *Chem. Mater* 19(13), (2007) 3105-3111
 34. Takuro Matsui, Nozomu Matsukawa, Kenji Iwahori, Ken-Ichi Sano, Kiyotaka Shiba, Ichiro Yamashita “Direct production of a Two-Dimensional ordered array of ferritin-nanoparticles on a silicon substrate” *Jpn. J. Appl. Phys.* 46 (28), (2007) L713-L715
 35. Kenji Iwahori, Ichiro Yamashita “Bio-template synthesis of nanoparticle by cage-shaped protein supramolecule, apoferritin.” *Journal of Cluster Science* 18 (2), (2007) 358-370
 36. 林智広、佐野健一、芝清隆、岩堀健治、山下一郎、原正彦 「原子間力顕微鏡を用いた無機物認識ペプチドターゲット認識メカニズムの解明」 *表面科学* 28 (7)、(2007) 391-396
 37. Naohiro Kameta, Mitsutoshi Masuda, Hiroyuki Minamikawa, Yumiko Mishima, Ichiro

- Yamashita, Toshimi Shimizu “Functionalizable Organic Nanochannels Based on Lipid Nanotubes: Encapsulation and Nanofluidic Behavior of Biomacromolecules” *Chem. Mater* 19(14), (2007) 3553-3560
38. Ken-Ichi Sano, Shigeo Yoshii, Ichiro Yamashita, Kiyotaka Shiba “In Aqua Structuralization of a Three-Dimensional Configuration Using Biomolecules” *Nano Lett.* 7(10), (2007) 3200-3202
 39. Jonathan G.Heddle, Isamu Fujiwara, Hirokazu Yamadaki, Shigeo Yoshii, Kazuaki Nishio, Christine Addy, Ichiro Yamashita, Jeremy R.H.Tame “Using the Ring-Shaped Protein TRAP to Capture and Confine Gold Nanodots on a Surface” *Small* 3(11), (2007) 1950-1956
 40. Kiyohito Yamada, Shigeo Yoshii, Shinya Kumagai, Atsushi Miura, Yukiharu Uraoka, Takashi Fuyuki, Ichiro Yamashita “Effect of Dot Density and Dot Size on Charge Injection Characteristics in Nanodot Array Produced by Protein Supramolecules” *Jpn. J. Appl. Phys.* 46 (11), (2007) 7549-7553
 41. Keiko Yoshizawa, Yumiko Mishima, Sam-Yong Park, Jonathan G. Heddle, Jeremy R.H. Tame, Kenji Iwahori, Mime Kobayashi, Ichiro Yamashita “Effect of N-terminal residues on the structural stability of recombinant horse L-chain apoferritin in an acidic environment” *J.biochem* 142(6), (2007) 707-713
 42. Hirotoshi Furusho, Yumiko Mishima, Norihiro Kameta, Mitsutoshi Masuda, Ichiro Yamashita, Toshimi Shimizu “Lipid Nanotube Encapsulating Method for Two-and Three-Dimensional Transmission Electron Microscopy Analyses of Cage-Shaped Proteins” *Jpn. J. Appl. Phys.* 47(1), (2008) 394-399

(2)その他の著作物（総説、書籍など）

1. 岩堀健治、村岡雅弘、山下一郎 「タンパク質無機材料ナノ粒子の作製とバイオナノプロセスへの応用」 *金属ナノ粒子の合成・調整・コントロール技術と最適応用* 399-408 (2004)
2. 村岡雅弘、山下一郎 「バイオ分野のナノテクノロジー」 *電気評論* 第476号 (2004)
3. 杉本健二、村岡雅弘、岩堀健治、山下一郎 「バイオナノプロセスについて」 *ケミカルエンジニアリング* 5月号、7-12 (2005)
4. 三島由美子、岩堀健治、村岡雅弘、寒川誠二、山下一郎 「バイオナノプロセス-タンパク質を利用した新規ナノデバイスの作製-」 *バイオインダストリー* 22(10) 7-14 (2005)
5. Ichiro Yamashita “The Bio-Nano-Process: Making semiconductor Devices Using Protein Supramolecules” *Mater. Res. Soc. Proc.*, 873E (K5) 1(2005)
6. Kenji Iwahori, Ichiro Yamashita “The synthesis of nanoparticles and nanowires by bio-template platform, cage-shaped protein supramolecules” *Recent Res. Devel. Biotech. Bioeng* 7, 41-68(2005)
7. Iwahori Kenji, Yamashita Ichiro “Biological path of nanoparticles synthesis”, *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology* (2006) Aug.2006
8. 村岡雅弘、岩堀健治、山下一郎 「バイオナノプロセス」 *電子物性・材料の事典* 213-221 (2006)
9. 村岡雅弘、山下一郎 「バイオ超分子を利用したナノマテリアルの作製」 *日本接着学会誌* 42(12) 29-34 (2006)
10. 杉本健二、山下一郎 「タンパク質超分子を用いたナノ構造作製」 *ナノテクのためのバイオ入門 I* 61-79 (2007)
11. 小林未明、山下一郎 「タンパク質エレクトロニクスの創成に向けて」 *バイオプロセスハンドブック* 59-64 (2007)
12. 三浦篤志、山下一郎 「遺伝子組換えフェリチンタンパク質によるフローティングゲートメモリの開発」 *バイオプロセスハンドブック* 573-543 (2007)

(3)学会発表(国際学会発表及び主要な国内学会発表)

① 招待講演 (国内会議 15 件、国際会議 17 件)

1. Ichiro Yamashita(松下電器) “Bio-Nano-Process Nano Fabrication for Electronics Using ProteinSupramolecules” New Horizons in Molecular Sciences and Systems Okinawa,Japan Oct.16(2003)
2. Masahiro Muraoka (JST), Ichiro Yamashita “Bio-nano-process: Dreaming of Building Nano-Architectures from Biosupramolecules; Invited Tutorial Lecture” The 1st Student-Organizing International Mini-Conference on Information Electronics System Sendai,Japan Nov.4 (2003)
3. Ichiro Yamashita(松下電器) “Bio-Nano-Process Nano Fabrication the key components of nano electronics devices using protein supramolecules” 4th Chitose International Forum (CIF4) on Photonics Science & Technology Chitose,Japan Dec.3(2003)
4. 岩堀健治(JST)、山下一郎 「タンパク質を用いた電子デバイス作製」日本農芸化学会 2004 年度大会 2004 年 3 月 31 日
5. Ichiro Yamashita(松下電器) “Nano Fabrication based on Self-assembly of Protein” ICEE2004, APCOTMNT Asia-Pacific Conference of Transducers and Micro-Nano Technology Sapporo,Japan Jul.5(2004)
6. Ichiro Yamashita(松下電器) “Protein Supramolecules for Nano- Electronics Device Fabrication” VIRUSES & PROTEIN CAGES AS MATERIALS the 1st Annual Viruses & Protein Cages as Materials Conference Bozeman,USA Aug.1(2004)
7. Ichiro Yamashita(松下電器) “Nano Fabrication based on Protein supramolecule” SMBN2004 Takamatsu,Japan Nov.2(2004)
8. Ichiro Yamashita(松下電器) “Bio Nano Process: Nanoelectronics meets bio-supramolecules” The 8th Membrane Research Forum International Symposium on Nano-mechanobiotechnology of Supramolecular Complexes Nagoya,Japan Nov.23(2004)
9. 村岡雅弘(JST) 「有機・バイオ超分子のナノテクノロジー」分子ナノテクノロジー第 174 委員会第 12 回研究会 京都 2005 年 1 月 19 日
10. 岩堀健治(JST)、山下一郎 「タンパク質超分子とナノテクノロジー」第 4 回ニューバイオ技術交流研究会 岡山 2005 年 1 月 26 日
11. Ichiro Yamashita(松下電器) “Fabrication of Nanometric Structure by Protein supramolecule” 界面ナノアーキテクトニクス国際ワークショップ つくば Mar.3(2005)
12. Ichiro Yamashita(松下電器) “Biological Path for Nanofabrication of Size-and Shape-Controlled Nanoparticle Synthesis” 229th ACS National Meeting San Diego USA Mar.13(2005)
13. Ichiro Yamashita(松下電器) “The Bio-Nano-Process:making semiconductor devices using protein supramolecules”2005 MRS Spring Meeting San Francisco,USA Mar.28(2005)
14. 山下一郎(松下電器) 「バイオによる半導体ナノドット作製・基板配列と電子顕微鏡」日本顕微鏡学会第61回学術講演会 つくば 2005 年 6 月 1 日
15. 山下一郎(松下電器) “Semiconductor meets biology” SEMI ナノテクセミナー 大阪 2005 年 6 月 7 日
16. 山下一郎(松下電器) 「バイオのナノテクノロジーで電子デバイスを作る」第43回茅コソファレンス 八ヶ岳 2005 年 8 月 23 日
17. Ichiro Yamashita(松下電器) “Inorganic nano-structure fabrication by self-assembly and biomimicrization of protein supramolecules”, IWFIP2005 6th International workshop on future information Processing Technologies, Ashville, USA, Aug29(2005)
18. 山下一郎(松下電器) 「バイオ分子と出会う半導体:バイオナノプロセスによるナノ構造構築」第 66 回応用物理学会学術講演会 徳島 2005 年 9 月 9 日

19. 山下一郎(松下電器)「バイオ分子の基礎と半導体への応用」2005年国際固体素子・材料コンファレンス ショートコース 神戸 2005年9月12日
20. Ichiro Yamashita(松下電器)“Making nano-electronic devices by biological process” International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2005 Honolulu,Hawaii Dec.15(2005)
21. Ichiro Yamashita(松下電器)“The biological path to nano electronic devices” 6th International Conference on Reactive Plasmas and 23rd Symposium on Plasma Processing Sendai,Japan Jan.24(2006)
22. Ichiro Yamashita(松下電器)“Fabrication of nanoelectronic devices using protein supramolecules” Bioinspired Synthesis and Materials From Organic Templates to Functional Nanoscale Structures Rottach-Egern/Germany Oct.11(2006)
23. 岩堀健治(JST)「タンパク質を利用した新規ナノデバイスの作製」高分子学会九州地区若手研究会、冬の講演会 鹿児島 2006年11月24日
24. 山下一郎(松下電器)「ウェットナノテクノロジー:バイオ分子による無機ナノ構造作製」第7回日本蛋白質科学会年会 仙台 2007年5月24日
25. 山下一郎(松下電器)「ウェットナノテクノロジー:バイオミネラルゼーションとナノ集積プロセスによるデバイス開発」第26回無機高分子シンポジウム・環境、生体と無機高分子 東京 2007年7月6日
26. 山下一郎(松下電器)「ウェットナノテクノロジー:バイオ分子を用いたナノデバイス製作プロセス」第53回高分子夏季大学 北海道 2007年7月19日
27. Ichiro Yamashita(松下電器)“Nanostructure construction by protein supramolecules in wet nanotechnology” The 234th ACS National Meeting Boston,USA Aug.19-23(2007)
28. Ichiro Yamashita(松下電器)“Nanofabrication of Inorganic Functional Structures by protein Supramolecules Wet- Nanotechnology” TNT2007 Trend in nanotechnology San Sebastian,Spain Sep.7(2007)
29. 岩堀健治(JST)「バイオテンプレートによるナノ粒子、ナノワイヤーの作製と応用展開」第16回 NAIST Advanced Polymer Colloquium 兼第2回超階層制御若手シンポジウム 奈良 2007年12月13日
30. 岩堀健治(JST)「バイオミネラルゼーションによるナノ粒子・ナノワイヤー作製と応用展開」岡山大学COE “鉄”の科学の新展開シンポジウム 2008年2月26日
31. 岩堀健治(JST)、山下一郎「バイオミネラルゼーションによるナノ粒子、ナノワイヤー作製」第55回応用物理学会関係連合講演会 千葉 2008年3月29日
32. 吉井重雄(松下電器)、松川望、熊谷慎也、西尾和晃、山下一郎「ナノ粒子のパターニングと配置」第55回応用物理学会関係連合講演会 千葉 2008年3月29日

② 口頭発表 (国内会議 27 件、国際会議 12 件)

1. Rikako Tsukamoto(JST), Kenji Iwahori, Ichiro Yamashita “Nanostructure Fabricated By Bio-Nano-Process” ICCE-10 New Orleans,USA Jul.20(2003)
2. Kenji Iwahori(JST)、Keiko Yoshizawa、Ichiro Yamashita “Fabrication of semiconductor Nano-particles in the Protein Cage of Apoferritin” VIRUSES & PROTEIN CAGES AS MATERIALS the 1st Annual Viruses & Protein Cages as Materials Conference Bozeman USA Aug.1(2004)
3. 山下一郎(松下電器)、塚本里加子「かご状タンパク質を用いたCdSeナノ粒子合成」第65回応用物理学会学術講演会 仙台 2004年9月1日
4. 岸本直子(JST)、村岡雅弘、山元和哉、青柳隆夫、山下一郎 「金属ナノ粒子の固体基板上への固定化及び配列制御」第53回高分子討論会 札幌 2004年9月16日
5. Masahiro Muraoka(JST)、Naoko Kishimoto、Ichiro Yamashita “Two Dimensional Arrays of Nanoparticles Encapsulated by Cage-Shaped Protein” International Symposium on Advanced Materials Tsukuba, Japan Dec.8(2004)
6. 佐野健一(癌研)、安嶋久美子、岩堀健治、湯田坂雅子、飯島澄男、山下一郎、芝清隆

- “Engagement of metal nanoparticle onto carbon nanohorn through cage proteins” 第 28 回 フラレン・ナノチューブ総合シンポジウム 名古屋 2005 年 1 月 7 日
7. 桐村浩哉(松下電器)、山田圭佑、芝清隆、佐野健一、山下一郎 「無機材料認識ペプチドを修飾した Ferritin の選択吸着を用いたパターン形成」 第 52 回応用物理学関係連合講演会 埼玉 2005 年 3 月 29 日
 8. 松井拓郎(松下電器)、松川望、奥田充宏、岩堀健治、加瀬大介、佐野健一、芝 清隆、山下一郎 「特異的基板認識フェリチンを用いた二次元結晶化」 第 35 回日本結晶成長学会 広島 2005 年 8 月 17 日
 9. 藤原勇(奈良先端大)、吉井重雄、山田聖人、熊谷慎也、西尾和晃、岩堀健治、山下一郎 「ZnSe-フェリチンの基板上固定と ZnO ナノ粒子作製の検討」 第 66 回応用物理学会 学術講演会 徳島 2005 年 9 月 7 日
 10. 岩堀健治(JST)、慶澤景子、山下一郎 「球殻状タンパク質アポフェリチン内への化合物半導体ナノ粒子の作製とバイオミネラリゼーション機構の解明」 平成 17 年度日本生物工学会大会 つくば 2005 年 11 月 15 日
 11. Ichiro Yamashita(松下電器), Kenji Iwahori, Keiko Yoshizawa, Junko Hayashi “Synthesis of CdSe and ZnSe utilizing apoferritin as a biotemplate” International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2005 Honolulu, Hawaii Dec.19(2005)
 12. 山下一郎(松下電器) 「バイオテクノロジーを用いたナノ集積」 第 15 回インテリジェント材料・システムシンポジウム、東京、2006 年 3 月 15 日
 13. 山下一郎(松下電器) 「融合研究の始まりはバイオと半導体の研究者の交流から」 第 53 回応用物理学関係連合講演会 東京 2006 年 3 月 22 日
 14. Rikako Tsukamoto(JST), Masahiro Muraoka , Yoshitugi Fukushige, Tomohiro Kawaguchi , Yohji Nakatsuji, Ichiro Yamashita “The effect of PEGylation of ferritin on the biomineralization of Co₃O₄ core” 2006 WSEAS International Conference on CELLULAR and MOLECULAR BIOLOGY - BIOPHYSICS and BIOENGINEERING (BIO'06) Athens, Greece Jul.15 (2006)
 15. 永瀬隆(NICT)、鈴木仁、大友明、蒲生健次、野口裕、照井通分、上田里永子、久保田徹、益子信郎、塚本里加子、岩堀健治、山下一郎 「ナノギャップ電極による CdSe フェリチン分子の電気伝導特性評価」第 67 回応用物理学会学術講演会 草津 2006 年 8 月 30 日
 16. Furusyo Hirotooshi(奈良先端大), Mishima Yumiko, Kameta Naohiro , Masuda Mitsutoshi, Yamashita Ichiro , Shimizu Toshimi “2D and 3D TEM Imaging of Cage-shaped Proteins Encapsulated In Lipid Nanotube Hollow Cylinders” The 16th International Microscopy Congress Sapporo,Japan Sep.3(2006)
 17. 山元和哉(鹿児島大学)、宇都甲一郎、青柳隆夫、岸本直子、村岡雅弘、山下一郎 「フェリチン/合成高分子からなる超薄膜の特性評価」 第 55 回高分子討論会 富山 2006 年 9 月 20 日
 18. Kumagai Shinya(松下電器), Yoshii Shigeo, Yamada Kiyohito, Nishio Kazuaki,Matsukawa Nozomu, Iwahori Kenji, Yamashita Ichiro “Synthesis and nano-placement of nanoparticle using cage-shaped protein” 2007 American Physics Society March Meeting Denver, USA Mar.5(2007)
 19. 宇都甲一郎(鹿児島大学)、山元和哉、青柳隆夫、岸本直子、村岡雅弘、山下一郎 「フェリチンタンパク質を利用した金属ナノ粒子の二次元配列制御」 日本化学会第 87 春季年会 東京 2007 年 3 月 26 日
 20. 塚本里加子(JST)、村岡雅弘、山下一郎 「タバコモザイクウイルス内部空洞での 2 元金属 Co-Pt 合成」 第 54 回応用物理学関係連合講演会 神奈川 2007 年 3 月 29 日
 21. 山抱弘和(奈良先端大)、藤原勇、吉井重雄、西尾和晃、山田聖人、JonathanHeddle、JeremyTame、三浦篤志、浦岡行治、冬木隆、山下一郎 「表面認識 TRAP タンパク質による金属ナノドット埋め込み MOS キャパシタの作製」 第 54 回応用物理学関係連合講演会 神奈川 2007 年 3 月 29 日

22. 松井拓郎(松下電器)、松川望、岩堀健治、佐野健一、芝清隆、山下一郎 「熱酸化シリコン基板上への直接フェリチンナノ粒子二次元規則配列の作製」 第54回応用物理学関係連合講演会 神奈川 2007年3月29日
23. 宇都甲一郎(鹿児島大)、山元和哉、青柳隆夫、岸本直子、村岡雅弘、山下一郎 「静電相互作用によるフェリチンタンパク質の配列制御と機能評価」 第56回高分子学会年次大会 京都 2007年5月30日
24. 宇都甲一郎(鹿児島大)、山元和哉、青柳隆夫、岸本直子、村岡雅弘、山下一郎 「フェリチンタンパク質を利用した機能性ナノ構造体の創製とバイオミネラリゼーション評価」 第56回(2007年)高分子討論会 名古屋 2007年9月19日
25. 松井拓郎(松下電器)、山下一郎 「生体超分子で作る無機材料機能構造体・バイオナノプロセス」 第56回(2007年)高分子討論会 名古屋 2007年9月19日
26. 小林未明(JST)、塚本里加子、渡辺雄一郎、田畑仁、山下一郎 「生体材料を用いたナノワイヤ構築 タバコモザイクウイルスを用いたナノワイヤ作成」 第56回(2007年)高分子討論会 名古屋 2007年9月21日
27. 岩堀健治(JST)、榎本隆弘、山下一郎 「球殻状タンパク質を用いた化合物半導体ナノ粒子の作製とバイオミネラリゼーション機構の解明」 第59回日本生物工学会大会 広島 2007年9月25日
28. Kiyohito Yamada(松下電器), Shigeo Yoshii, Shinya Kumagai, Atsushi Miura, Yukiharu Uraoka, Takashi Fuyuki, Ichiro Yamashita "Floating Gate MOS Capacitor with High-Density Nanodots Array Produced by Protein Supramolecule" SSDM2007 Tsukuba, Japan Sep.21(2007)
29. Takashi Matsumura(奈良先端大), Atsushi Miura, Yukiharu Uraoka, Takashi Fuyuki, Sigeo Yoshii, Ichiro Yamashita "Reduction of a Ferritin Core Embedded in Silicon Oxide Film for An Application to Floating Gate Memory" SSDM2007 Tsukuba, Japan Sep.21(2007)
30. Shinya Kumagai(松下電器), Shigeo Yoshii, Nozomu Matsukawa, Rikako Tsukamoto, Kazuaki Nishio, Ichiro Yamashita "Fabrication of single electron transistor using cage-shaped protein supramolecule" SSDM2007 Tsukuba, Japan Sep.21(2007)
31. Shigeo Yoshii(松下電器), Ayako Kadotani, Kazuaki Nishio, Shinya Kumagai, Ichiro Yamashita "Electrostatic Nano-placement of a Single Nanoparticle by Charge-enhanced Protein Cage." MRS2007 Fall Meeting Boston, USA Nov.27(2007)
32. Jonathan Gardiner Heddle(東工大), Shigeo Yoshii, Kazuaki Nishio, Christine Addy, Ichiro Yamashita, Jeremy Robin Howard Tame "Using a Ring Protein to TRAP and Insert Gold Nanodots in a MOS." MRS2007 Fall Meeting Boston, USA Nov.27(2007)
33. 山下一郎(松下電器) 「生体分子を利用したデバイスナノ構造の作製」 BMB2007 横浜 2007年12月11日
34. 佐野健一(癌研)、吉井重雄、山下一郎、芝清隆 「ペプチドアダプタマーの特異性を利用した「位置決め」ができるナノ構造形成法の開発」 BMB2007 横浜 2007年12月14日
35. 山元和哉(鹿児島大)、宇都甲一郎、岸本直子、村岡雅弘、青柳隆夫、山下一郎 「フェリチンタンパク質を利用した金属ナノ粒子の二次元配列制御とバイオミネラリゼーション評価」 日本化学会第88回春季年会 東京 2008年3月26日
36. 熊谷慎也(松下電器)、吉井重雄、西尾和晃、山下一郎 「異種ナノ粒子の静電パターン配置」 第55回応用物理学関係連合講演会 千葉 2008年3月28日
37. 三浦篤志(奈良先端大)、岩堀健治、榎本隆弘、浦岡行治、冬木隆、山下一郎、玉井尚登 「タンパク質を鋳型に合成された化合物半導体バイオナノドットの分光特性」 第55回応用物理学関係連合会講演会 千葉 2008年3月28日
38. 山下一郎(松下電器) 「ここまできた電子デバイスへのバイオ応用」 第55回応用物理学関係連合会講演会 千葉 2008年3月29日
39. 熊谷慎也(松下電器)、小野崇人、吉井重雄、山下一郎 「フェリチンナノ粒子パターン配置を利用したカーボンナノチューブ位置決め成長」 第55回応用物理学関係連合講演会 千葉 2008年3月30日

③ ポスター発表 (国内会議 44 件、国際会議 31 件)

1. Kenji Iwahori (JST), Keiko Yoshizawa, Ichiro Yamashita “Nanoparticle synthesis using cage-shape protein as a restrict chemical chamber” The 11th Foresight Conference San Francisco, USA Oct.10(2003)
2. 岩堀健治 (JST)、慶澤景子、山下一郎 「アポフェリチン空洞内への半導体ナノ粒子の作製」 第 42 回生物物理学会年会 京都 2004 年 12 月 1 日
3. 慶澤景子 (JST)、岩堀健治、三島由美子、山下一郎 「フェリチン超分子自己組織化における N 末端残基の影響」 第 42 回生物物理学会年会 京都 2004 年 12 月 1 日
4. 三島由美子 (JST)、山根みどり、山下一郎 「E.coli 由来 DNA 結合タンパク質(Dps)の機能解析」 第 42 回生物物理学会年会 京都 2004 年 12 月 1 日
5. 杉本健二 (JST)、山下一郎 「球状タンパク質とチューブ状タンパク質を組み合わせた超分子構造体の構築」 第 42 回生物物理学会年会 京都 2004 年 12 月 1 日
6. 福重慶次 (JST)、村岡雅弘、山下一郎 「フェリチンタンパク質高分子複合体の合成および物性」 第 15 回日本 MRS 学術シンポジウム 東京 2004 年 12 月 2 日
7. Keiko Yoshizawa (JST)、Kenji Iwahori、Yumiko Mishima、Ichiro Yamashita “The Effects of N-terminal Residues on the Self-assembly of L-chain Apoferritin” 界面ナノアーキテクトニクス国際ワークショップ つくば Mar.3(2005)
8. Yoshitsugi Fukushige (JST)、Masahiro Muraoka、Ichiro Yamashita “Ferritin cage as a nanoscale platform for chemical modification” 界面ナノアーキテクトニクス国際ワークショップ つくば Mar.3(2005)
9. Masahiro Muraoka (JST)、Naoko Kishimoto、Ichiro Yamashita “Synthesis of Hybrid Nanomaterials of Cage-Shaped Protein with Synthetic Polymer” 229th ACS National Meeting San Diego, USA Mar.13(2005)
10. Rikako Tsukamoto (JST)、Kenji Iwahori、Masahiro Muraoka、Ichiro Yamashita “COBALT OXIDE NANOPARTICLE SYNTHESIS USING CAGE-SHAPED PROTEIN CAVITY” 229th ACS National Meeting San Diego, USA Mar.13(2005)
11. 福重慶次 (JST)、村岡雅弘、山下一郎 「フェリチンタンパク質—高分子複合体の合成と組織化」 日本化学会第 85 春季年会 横浜 2005 年 3 月 26 日
12. 岸本直子 (JST)、村岡雅弘、山下一郎 「フェリチンたんぱく質で覆われた金属ナノ粒子の高分子薄膜上への配列」 日本化学会第 85 春季年会 横浜 2005 年 3 月 26 日
13. Kenji Iwahori (JST)、Keiko Yoshizawa、Ichiro Yamashita “Fabrication of semiconductor Nano-particles in the Protein Cage of Apoferritin” 2005 MRS Spring Meeting San Francisco, USA Mar.28(2005)
14. 岸本直子 (JST)、村岡雅弘、山元和哉、青柳隆夫、山下一郎 「フェリチンたんぱく質の 2 次元配列」 第 54 回高分子学会年次大会 横浜 2005 年 5 月 25 日
15. Naoko Kishimoto (JST)、Masahiro Muraoka、Ichiro Yamashita “Two Dimensional Arrays of Nanoparticles Encapsulated by Cage-Shaped Protein” The 6th International Conference on Intelligent Materials and Systems Tokyo, Japan Jul.5(2005)
16. Ken-Ichi Sano (癌研究所)、Daisuke Kase、Kenji Iwahori、Kumiko Ajima、Masako Yudasaka、Sumio Iijima、Ichiro Yamashita、Kiyotaka Shiba “Nano-fabrication by using Peptide Aptamers against Inorganic Materials” The 6th International Conference on Intelligent Materials and Systems Tokyo, Japan Jul.5(2005)
17. Naoko Kishimoto (JST)、Masahiro Muraoka、Ichiro Yamashita “Two Dimensional Array of Ferritin Proteins on Polyelectrolyte Multilayers” The 8th SPSJ International Polymer Conference Fukuoka, Japan Jul.29(2005)
18. Yumiko Mishima (JST)、Midori Yamane、S-Y. Park、J. H. Tame、Ichiro Yamashita “Characterization and structural basis analysis of Escherichia coli Dps” 15th IUPAB & 5th EBSA International Biophysics Congress Montpellier, France Aug.28(2005)
19. Keiko Yoshizawa (JST)、Kenji Iwahori、Yumiko Mishima、Ichiro Yamashita “The relation of N-terminal residues and structural stability of L-chain apoferritin” 15th IUPAB & 5th EBSA International Biophysics Congress Montpellier, France Aug.28(2005)

20. 岸本直子(JST)、村岡雅弘、中辻洋司、山下一郎 「機能性有機化合物によるかご状たんぱく質集合体の複合化」 第44回日本油化学会年会 横浜 2005年9月15日
21. 宇都甲一郎(鹿児島大学)、山元和哉、青柳隆夫、岸本直子、村岡雅弘、山下一郎 「共有結合により安定化されたフェリチン・高分子積層薄膜の調製と機能評価」 第54回高分子討論会 山形 2005年9月22日
22. 三島由美子(JST)、山根みどり、山下一郎 「E.coli由来Dpsの機能発現におけるN末端残基の影響」 日本生物物理学会第43回年会 札幌 2005年11月23日
23. 三島由美子(JST)、岩堀健治、朴三用、Heddle Jonathan、Tame Jeremy R.H、山下一郎 「ウマ脾臓由来フェリチン変異体の機能・構造解析」 日本生物物理学会第43回年会 札幌 2005年11月23日
24. 慶澤景子(JST)、岩堀健治、山下一郎 「バイオミネラリゼーションに及ぼすフェリチンのN末端残基の影響」 日本生物物理学会第43回年会 札幌 2005年11月23日
25. 榎本隆弘(奈良先端大)、岩堀健治、山下一郎 「球殻状タンパク質リステリアフェリチンを用いた半導体ナノ粒子の作製」 日本生物物理学会第43回年会 札幌 2005年11月23日
26. 岩堀健治(JST)、慶澤景子、山下一郎 「アポフェリチン空洞内へのII-VI族化合物半導体ナノ粒子の作製」 日本生物物理学会第43回年会 札幌 2005年11月23日
27. 長島重広(大阪大学)、岩堀健治、今田勝巳、難波啓一、山下一郎 「フェリチン変異体の結晶構造解析」 日本生物物理学会第43回年会 札幌 2005年11月23日
28. 佐野健一(癌研究所)、佐々木博之、岩堀健治、山下一郎、芝清隆 「チタン結合ペプチド TBP-1 の多機能性を賦与されたナノ分子」 第78回日本生化学大会 神戸 2005年10月21日
29. Kenji Iwahori(JST), Keiko Yoshizawa, Ichiro Yamashita “Synthesis of photoluminescent semiconductor nano-particle in the cage shaped protein, apoferritin” International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2005 Honolulu, Hawaii Dec.19(2005)
30. Kenji Sugimoto(JST), Shuji Kanamaru, Fumio Arisaka, Ichiro Yamashita “Construction of the ball-and-spikes protein-supramolecule by disposing protein-trimer subunits with tetrahedron arrangement” International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2005 Honolulu, Hawaii Dec.19(2005)
31. 松井拓郎(松下電器)、松川望、奥田充宏、岩堀健治、加瀬大介、佐野健一、芝清隆、山下一郎 「カーボンナノ材料認識フェリチンを用いたナノ粒子二次元規則配列の作製」 第53回応用物理学関係連合講演会 東京 2006年3月22日
32. 林智広(東工大)、佐野健一、芝清隆、熊代善一、岩堀健治、山下一郎、原正彦 「AFMを用いたTi認識フェリチンの選択性の直接計測」 第53回応用物理学関係連合講演会 東京 2006年3月22日
33. 杉本健二(JST)、金丸周司、有坂文雄、山下一郎 「球状タンパク質と筒状タンパク質を組み合わせた超分子構造体の作製」 日本化学会第86回春季年会 千葉 2006年3月28日
34. Takuya Morioka(奈良先端大), Kenji Iwahori, Ichiro Yamashita “The Mechanism of CdSe Nano Particles Synthesis in the Apoferritin Cavity” 15th International Conference on Ternary and Multinary Compounds Kyoto, Japan Mar.8 (2006)
35. 宇都甲一郎(鹿児島大学)、山元和哉、青柳隆夫、岸本直子、村岡雅弘、山下一郎 「フェリチンとランダム共重合体から構成される安定な積層薄膜の特性評価」 第55回高分子学会年次大会 名古屋 2006年5月25日
36. Kenji Iwahori(JST), Takahiro Enomoto, Ichiro Yamashita “Photo-luminescent semiconductor nano-particles fabricated in the protein cage, apoferritin” International Conference on Nanoscience and Technology, NANO9 and STM06 Basel, Switzerland Aug.1(2006)
37. Takuro Matsui(松下電器), Nozomu Matsukawa, Mitsuhiro Okuda, Kenji Iwahori, Daisuke Kase, Ken-ichi Sano, Kiyotaka Shiba, Ichiro Yamashita “2D-ordered array of nanoparticles with ferritin modified by carbonaceous nanomaterials-affinity peptides”

- 11th International Conference on Crystallization of Bio Macromolecules Quebec, Canada Aug.16(2006)
38. 塚本里加子(JST)、村岡雅弘、福重慶次、川口智宏、中辻洋司、山下一郎「PEG 修飾フェリチンによる酸化コバルトナノドット形成」第 67 回応用物理学会学術講演会 草津 2006 年 8 月 30 日
 39. 村岡雅弘(JST)、塚本里加子、川口智広、山下一郎、中辻洋司「化学修飾タンパク質を用いた酸化コバルトナノ粒子の合成」第 45 回日本油化学会年会 千葉 2006 年 9 月 9 日
 40. Kenji Iwahori(JST), Takahiro Enomoto, Ichiro Yamashita “The semiconductor nano-particles synthesized in the protein cage, apoferritin” IU material research and science-ICA-2006 Korea, Jeju-do Sep.13(2006)
 41. 宇都甲一郎(鹿児島大学)、山元和哉、青柳隆夫、岸本直子、村岡雅弘、山下一郎「フェリチンと合成高分子から構成される安定な積層薄膜の構築と機能評価」第 55 回高分子討論会 富山 2006 年 9 月 20 日
 42. Keiko Yoshizawa(JST), Kenji Sugimoto, Kenji Iwahori, Ichiro Yamashita “The mechanism of gold nano-particles synthesis using peptides” International Conference of 46rd Japanese Peptide Symposium and 4th Peptide Engineering Meeting Yokohama,Japan Nov.5(2006)
 43. 門谷文子(JST)、松川望、佐野健一、芝清隆、山下一郎「無機材料認識ペプチドによるタンパク質固定」第 26 回表面科学講演大会 大阪 2006 年 11 月 6 日
 44. Kenji Iwahori(JST),Ichiro Yamashita “Size controlled synthesis of fluorescent CdS nano-particles in the apoferritin” EABS & BSJ Okinawa,Japan Nov15(2006)
 45. Takuya Morioka(奈良先端大), Kenji Iwahori, Ichiro Yamashita “Elucidation of the mechanism of CdSe nano-particles synthesis in the apoferritin cavity” EABS & BSJ Okinawa,Japan Nov.15(2006)
 46. Yumiko Mishima(JST), Hirotohi Furusyo, Naohiro Kameta, Mitsutoshi Masuda, Midori Yamane, Toshimi Shimizu, Ichiro Yamashita “Fabrication of One-dimensional Array of Cage-Shaped Protein” EABS & BSJ Okinawa,Japan Nov.15(2006)
 47. Yasuyuki Otsuka(明治大学), Toru Konishi, Hidetaka Aoki, Akira Yamazaki, Keiko Yoshizawa, Ichiro Yamashita, Hideyuki Yoshimura “Fabrication of gold nanoparticles using the cage protein ferritin” EABS & BSJ Okinawa,Japan Nov.15(2006)
 48. Takeshi Haku(大阪府立大), Takeshi Hibino, Harumi Fukada, Yumiko Mishima, Ichiro Yamashita, Mikio Kato “DNA secondary structure forming at minisatellite repeat unit sequences” The 33rd Symposium on Nucleic Acids Chemistry Osaka,Japan Nov.20(2006)
 49. 岸本直子(JST)、村岡雅弘、山下一郎、宇都甲一郎、山元和哉、青柳隆夫「フェリチンタンパク質を利用した金属ナノ粒子の二次元配列制御三次元積層化と特性評価」日本化学会第 87 春季年会 大阪 2007 年 3 月 27 日
 50. Keiko Yoshizawa(JST), Kenji Iwahori, Kenji Sugimoto, Ichiro Yamashita “Synthesis of Au2S Nanoparticles using Apoferritin” MRS 2007 Spring meeting San Francisco,USA Apr.11(2007)
 51. Shinya Kumagai(松下電器), Sigeo Yoshii, Nozomu Matsukawa, Rikako Tsukamoto, Kazuaki Nishio, Ichiro Yamashita “Novel process for single electron transistor using cage-shaped protein ferritin” 26th Electronic Materials Symposium EMS-26 Siga,Japan Jul.4(2007)
 52. Kenji Iwahori(JST), Takahiro Enomoto, Ichiro Yamashita “Fabrication of Cadmium Sulfide Nano-Particles Using Two Kinds of Protein Cages, Apoferritin and Dps” International Conference on Nanoscience and Technology (ICN+T 2007) Stockholm, Sweden Jul.05(2007)
 53. 塚本里加子(JST)、山下一郎「タバコモザイクウイルスへの二元金属 (Co-Pt,FePt3) の導入」第 53 回高分子夏季大会 北海道 2007 年 7 月 17 日
 54. Rie Takagi(奈良先端大), Rikako Tsukamoto, Keiko Yoshizawa, Kenji Iwahori

- “Fabrication of nanoparticles in the cage-shaped protein, apoferritin” Pre-symposium of with 12th International Symposium on Novel Aromatic Compounds (ISNA-12) Nara, Japan Jul.21 (2007)
55. Kazutaka Ishikawa(奈良先端大), Mime Kobayashi, Kenji Sugimoto, Kiyohito Yamada, Ichiro Yamashita “Selective arrangement of protein supramolecules utilizing gold binding peptide” 12th International Symposium on Novel Aromatic Compounds (ISNA-12) Nara, Japan Jul.21(2007)
 56. 石川和高(奈良先端大)、小林未明、山田聖人、山下一郎 「金認識フェリチンの Au, SiO₂ 基板への吸着」 第 68 回応用物理学会学術講演会 札幌 2007 年 9 月 5 日
 57. 三浦篤志(奈良先端大)、岩堀健治、榎本隆弘、浦岡行治、冬木 隆、山下一郎、玉井尚登 「かご状超分子タンパク質を鋳型に合成した化合物半導体バイオナノドットの分光特性」 第 68 回応用物理学会学術講演会 札幌 2007 年 9 月 5 日
 58. 吉井重雄(松下電器)、門谷文子、西尾和晃、熊谷慎也、山下一郎 「電荷増強フェリチンによる大面積パターン上単一分子配置」 第 68 回応用物理学会学術講演会 札幌 2007 年 9 月 5 日
 59. 松川望(松下電器)、佐野健一、芝清隆、山下一郎 「チタン認識ペプチドを付加した Ferritin による二次元規則配列パターンニング」 第 68 回応用物理学会学術講演会 札幌 2007 年 9 月 5 日
 60. 池添泰弘(東工大)、熊代善一、玉田薫、山下一郎、芝清隆、原正彦 「気液界面におけるタンパク質分子の巨大二次元結晶作製」 第 68 回応用物理学会学術講演会 札幌 2007 年 9 月 5 日
 61. 熊谷慎也(松下電器)、吉井重雄、松川望、塚本里加子、西尾和晃、山下一郎 「フェリチンタンパク質を利用した単電子トランジスタ構造の作製」 第 68 回応用物理学会学術講演会 札幌 2007 年 9 月 5 日
 62. Atsushi Miura(奈良先端大), Yukiharu Uraoka, Ichiro Yamashita, Takashi Fuyuki “Characterization and application of biochemically fabricated inorganic nanoparticle” TNT2007 Trend in nanotechnology San Sebastian, Spain Sep.3(2007)
 63. Rikako Tsukamoto (JST), Masahiro Muraoka, Munetoshi Seki, Hitoshi Tabata, Ichiro Yamashita “Biotemplated Co-Pt nanowire synthesis in TMV” TNT2007 Trend in nanotechnology San Sebastian, Spain Sep.5(2007)
 64. 三浦篤志(奈良先端大)、山下一郎、浦岡行治、冬木隆 「ナノ粒子-タンパク質複合ナノコンポジットの作製」とデバイス応用」 第 56 回(2007 年)高分子討論会 名古屋 2007 年 9 月 21 日
 65. 塚本里加子 (JST)、山下一郎 「フェリチンを用いたコバルトナノ粒子のバイオミネラリゼーション」 第 57 回錯体化学討論会 名古屋 2007 年 9 月 26 日
 66. 藤井秀司(大工大)、愛知敦、村岡雅弘、岸本直子、山下一郎 「球状タンパク質の機能性乳化剤としての利用」 第 29 回日本バイオマテリアル学会大会 大阪 2007 年 11 月 26 日
 67. Mime Kobayashi(JST), Rikako Tsukamoto, Kazutaka Ishikawa, Hiromichi Nakagawa, Shigeo Yoshii, Hitoshi Tabata, Yuichiro Watanabe, Ichiro Yamashita “Fabrication of Nano-scaled Structures Using Genetically Engineered Tobacco Mosaic Virus.” MRS2007 Fall Meeting Boston, USA Nov.28(2007)
 68. 藤井秀司(大工大)、愛知敦、村岡雅弘、岸本直子、山下一郎 「フェリチンの機能性乳化剤としての利用」 日本接着学会関西支部第 3 回若手研究者の会 兵庫 2007 年 12 月 11 日
 69. 高木理江(奈良先端大)、岩堀健治、山下一郎 「球殻状タンパク質アポフェリチン内における硫化銅ナノ粒子の作製」 日本生物物理学会第 45 回年会 横浜 2007 年 12 月 21 日
 70. 慶澤景子(JST)、岩堀健治、杉本健二、山下一郎 「アポフェリチン内部空洞を利用した硫化金ナノ粒子の作製」 日本生物物理学会第 45 回年会 横浜 2007 年 12 月 21 日
 71. 奥田充宏(松下電器)、鈴木容子、山下一郎 「フェリチンを用いたセリウム酸化物の作製」

- 日本生物物理学会第 45 回年会 横浜 2007 年 12 月 21 日
72. 岩堀健治(JST)、榎本隆弘、山下一郎 「小型球殻状タンパク質リステリア Dps における硫化カドミウムナノ粒子の作製」 日本生物物理学会第 45 回年会 横浜 2007 年 12 月 21 日
 73. 小林未明(JST)、山根みどり、塚本里加子、渡辺雄一郎、山下一郎 “Genetic modification of Tobacco Mosaic Virus for application in constructing electronic devices” 日本生物物理学会第 45 回年会 横浜 2007 年 12 月 21 日
 74. 中川博道(JST)、山下一郎 「DNA を修飾したフェリチンを用いた高次構造の構築」 日本化学会第 88 回春季年会 東京 2008 年 3 月 28 日
 75. 岸本直子(JST)、村岡雅弘、山下一郎、宇都甲一郎、山元和哉、青柳隆夫 「フェリチンタンパク質と酸化チタン薄膜の交互積層化と光触媒能」 日本化学会第 88 回春季年会 東京 2008 年 3 月 29 日

(4)特許出願

①国内出願 (3 件)

1. 発明の名称:「特定無機材料結合性フェリチンタンパク質及び無機微粒子の配置方法、ならびにバイオデバイス」、発明者:山下一郎、出願人:松下電器産業株式会社、出願日:平成 17 年 1 月 13 日、出願番号:2005-006720
2. 発明の名称:「微粒子タンパク質複合体およびその作製方法、半導体装置、蛍光標識方法」、発明者:岩堀健治、出願人:独立行政法人科学技術振興機構、出願日:平成 17 年 9 月 12 日、出願番号:2005-264326
3. 発明の名称:「ナノスケール電気装置を製造するための改変されたTRAPタンパク質、およびそのようなタンパク質を作製する方法」、発明者:Jonathan Heddle ,Jeremy R.H Tame,出願人:独立行政法人科学技術振興機構・公立大学法人横浜市立大学、出願日:平成 17 年 8 月 17 日、出願番号 2005-236771

②海外出願 (3 件)

1. 発明の名称:「チタン結合性フェリチン及び無機粒子の配置方法」、発明者:山下一郎・芝清隆、出願人:松下電器産業、出願日:平成 17 年 11 月 24 日、出願番号:PCT/JP2005/021510
2. 発明の名称:「ナノスケール電気装置を製造するための改変された TRAP タンパク質およびそのようなタンパク質を作製する方法」、発明者:Jonathan Heddle・Jeremy R.H Tame、出願人:科学技術振興機構・横浜市立大学、出願日:2006 年 6 月 15 日、出願番号:11/453,232
3. 発明の名称:「微粒子-タンパク質複合体およびその作製方法、半導体装置、蛍光標識方法」、発明者:岩堀健治、出願人:科学技術振興機構、出願日:2007 年 1 月 23 日、出願番号:PCT/JP2006/317671

(5)受賞等

①受賞

- ・日本表面科学会 第13回技術賞 熊谷慎也、山下一郎 (2007)
- ・International Human Frontier Science Program Organization (HFSP0)
HFSPプログラムグラント受賞 山下一郎 (2007)

②新聞報道

- プレスリリース「単電子トランジスターの鋳型をタンパク質で作製することに成功
単電子トランジスターの鋳型をタンパク質で作製することに成功」
2006年4月28日 日経産業新聞、2006年5月15日、日経ナノビジネス(No.37)、
2006年6月1日 日刊工業新聞 掲載

③その他

なし

7 研究期間中の主な活動(ワークショップ・シンポジウム等)

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2004年 10月7日-8日	第1回 オープンワークショップ「バイオとナノテクノロジーの融合研究」	京都テルサ	170名	バイオ分子を用いたナノ構造の作製に関する先駆的研究を行っている研究者を世界から招聘して議論を行った。
2005年 1月28日-29日	有機・バイオ超分子研究意見交換会議	ラフォーレ強羅	40名	CREST山下チーム&芝チームを中心とし、日本国内のバイオの工業応用に関心のある研究者と意見交換を行った。
2005年 10月6日-7日	第2回オープンワークショップ「バイオとナノテクノロジーの融合研究」	梅田スカイビル	130人	主としてタンパク質を利用した機能性ナノ構造の構築と電子デバイスへの応用研究についての研究発表と意見交換。
2006年 2月23日-24日	山下チーム・芝チーム合同研究会	サンヒルズ三河湾	30人	バイオ分子を用いたナノ構造構築とバイオミネラリゼーションの意見交換。
2006年 10月16日	第3回オープンワークショップ「バイオとナノテクノロジーの融合研究」	京都リサーチパーク	120名	バイオとナノテクノロジーの融合をナノの領域で目指す研究者が集まり、意見交換した。
2007年 2月9日-10日	バイオ・ナノ分子自己組織化ワークショップ	ホテル伊東パウル	35名	ナノ材料の先端研究を行っている研究者を招聘し意見交換を行い新しい自己組織化の方向性を探索した。
2007年 11月9日-10日	第4回オープンワークショップ「バイオとナノテクノロジーの融合研究」	日本科学未来館	160名	バイオとナノテクノロジーの融合をナノの領域で目指す国内外の研究者が集まり、意見交換を行った。またCRESTプロジェクトの研究成果を発表した。

8 研究成果の展開

(1)他の研究事業への展開

本研究の成果は、電気会社によるデバイス作製のための基礎的情報を与えるものとして利用され、デバイス作製へ展開している。

(2)実用化に向けた展開

本研究によって明らかになった無機材料ナノ構造作製の可能性を通じて、タンパク質のナノ構造作製材料としての注目が集まり、タンパク質生産業者との共同研究により、構造タンパク質、球殻状タンパク質の大量生産によるコストダウンが試算され、低価格大量生産の可能性検討が進んだ。また、半導体デバイスへの応用が可能であることが示され、それに刺激された、多くのナノ機能構造への展開検討がはじまり、ナノエレクトロニクス分野を含めた多様な応用検討が進められはじめた。

例えば、松下電器を中心として開発が進められ、バイオ分子をナノ構造作製に初めて利用したメモリの作製があげられる。まず、フェリチンに人工的に酸化鉄又は酸化コバルトコアをバイオミネラルゼーションにより内包させ、次にMOSトランジスタを作製した後、チャンネル上にナノドットを内包したフェリチンを吸着させてフェリチンを2次元配置する。この単層フェリチンを 115 °Cで 60 分間オゾン処理してタンパク質を完全に除去し、密度 $6\sim 15 \times 10^{11} \text{ cm}^{-2}$ の単層ナノドット配列を作製し、化学気相成長法(CVD)による厚み約 20 nm の酸化シリコン膜に埋め込む。その後、酸化膜の上にゲート電極を作製し、還元性雰囲気中で 450 °C、1 時間のアニール処理を行った。これにより図 8-2-1 の模式図に示すような、MOSトランジスタメモリー(フローティングゲートメモリー)が作製できた。図の下は埋め込まれたコバルトナノドットの断面 TEM 像で、孤立した電荷保存用ナノドットが埋め込まれているのが確認できる。EELS, XPS 分析からもこれらのナノドットは導電性に還元されていることが示されている。右図では、そのような還元処理がおこなわれた鉄ナノドットの高分解能写真を示している。サイズが、元の酸化鉄より縮小しており、その縮小量は理論値と一致している。

図 8-2-2 はこのように、フェリチンにより作製され、2次元配列化されたナノドットを電荷保持ノードとして持つフローティングゲートメモリーの特性である。横軸はゲート電圧、縦軸はソースドレイン間電圧 0.1 V で測定したドレイン電流(ID)である。ドレイン電流—ゲート電圧特性(ID-VG 特性)は、ゲート電圧 VG を -1~4 V で掃引時にはヒステリシスが見られず、-10~10 V と掃引電圧を増加すると、はっきりとしたヒステリシスが観察された。このメモリウインドウの変化から、コバルトナノドットに電子/ホールが注入・保持されたことが確認された。これはバイオ分子が半導体ナノ構造作製に利用できることを証明している。また耐久性実験では、 10^5 回の書き込み消去で特性の劣化がないことが確認されている。これにより、バイオナノプロセスで作製されたナノ粒子が、電子デバイスのコンポーネントとして利用できることが実験的に証明された。

図 8-2-3 は、この手法「バイオナノプロセス」でさらに実現を狙っているナノ構造の模式図である。これらの一部はすでに実現しており、応用へ結びつくものと考えている。

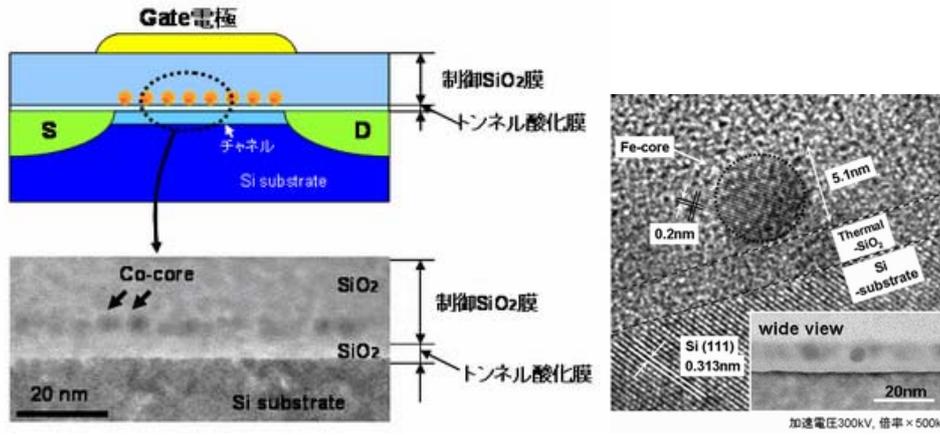


図 8-2-1 フローティングゲートメモリの断面模式図とナドット配列断面 TEM 像
 フェリチンにより作られシリコン酸化膜中に埋め込まれたコバルトナドットを持つフローティングゲート

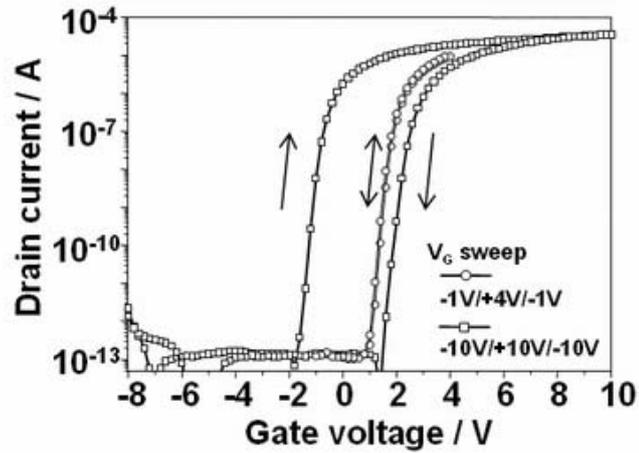


図 8-2-2 フェリチンで作製・配置した量子ドットを電荷保持ドットとして作製したフローティングゲートメモリの動作特性。○は-1~4 V、□は-10~10 V の掃引電圧の特性

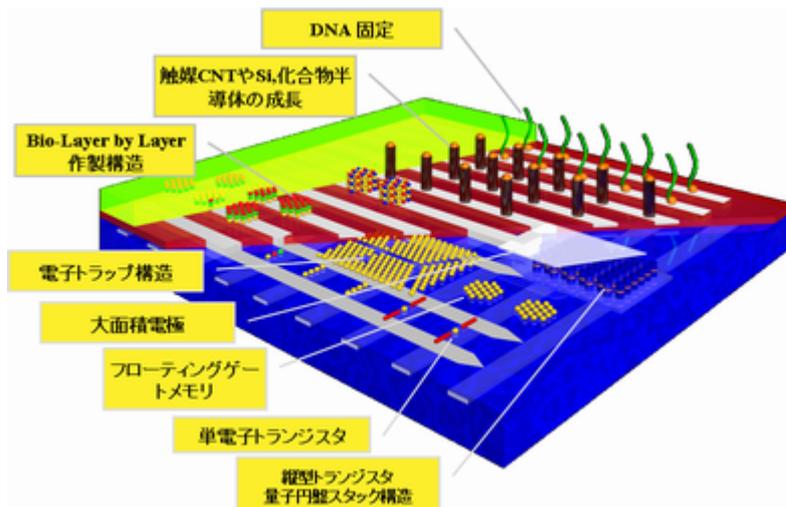
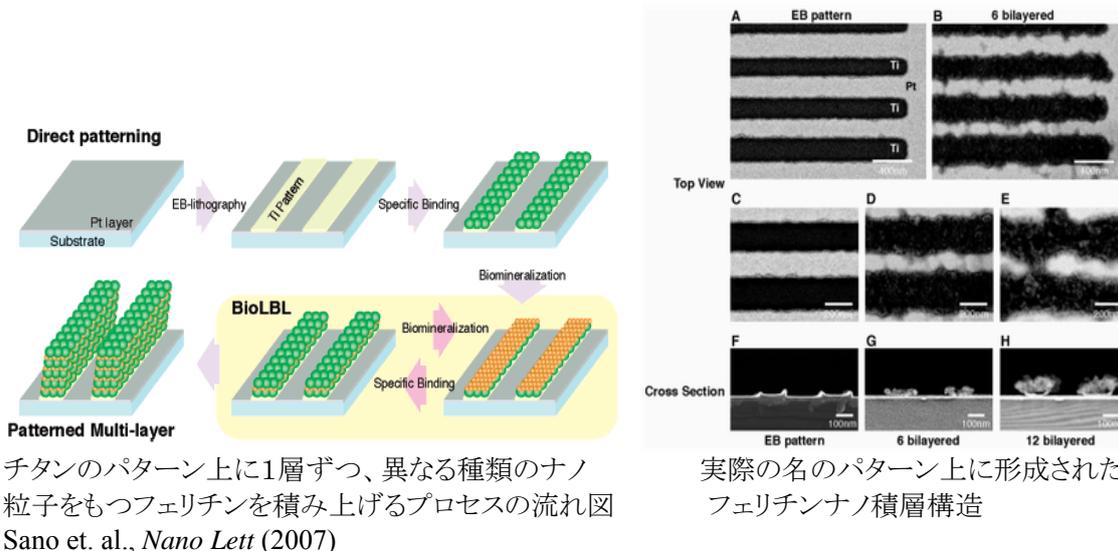


図 8-2-3 将来のバイオ分子を用いて作製を狙うデバイスの模式図

9 他チーム、他領域との活動とその効果

(1) 領域内の活動とその効果

芝チームとの合同研究会を実施して双方の研究内容に関して情報交換、意見交換を行った。その活動より、芝チームが独自に単離し、無機材料表面を特異的に認識するペプチドを、山下チームでのタンパク質の表面に遺伝子工学的に付加し、これを用いてナノパターン上に 3 次元構造を 1 層ずつ構築する共同研究を開始した。その結果、ナノ粒子をもつフェリチンタンパク質をパターン上に1層ずつ積み上げた3次元構造配置が可能となる成果を得た。



Sano et. al., *Nano Lett* (2007)

(2) 領域横断的活動とその効果

2007年9月11日に「べん毛構造を利用したバイオミネラリゼーションによるナノ構造構築に関するJST領域横断検討会」を、「ソフトナノマシン等の高次機能構造体の構築と利用」領域の相沢チームとJSTイノベーションプラザ広島会議室にて開催した。山下チームではべん毛繊維によるナノ粒子、ナノワイヤの作製を目指しバイオミネラリゼーションの研究、技術開発を進めてきたが、相沢チームではべん毛繊維の遺伝学的研究や、遺伝子工学的べん毛繊維の外表面改質の研究が進められており、両者の研究開発内容がお互いに補完するものであるとの認識で議論を開始した。現在、べん毛繊維のバイオミネラリゼーションの共同研究を推進中であり、新しい知見の獲得のめどがつつつつある。

10 研究成果の今後の貢献について

(1) 科学技術の進歩が期待される成果

これまで科学技術はあらゆる方向に発展してきた。そして今物理、化学、材料科学分野やバイオ分野は大きく発展し、その結果、これらの研究分野の接点である学際分野も大きく広がってきている。その中でもバイオと材料ナノテクノロジーは、ナノバイオ、バイオナノ、として多くの成果が期待され、その融合が注目されている分野のひとつである。しかしこの学際分野は、それらを研究する研究者も少なく、また融合研究でもあるため、まだ手付かずのところが多く、相手側の技術を単に利用するだけの融合研究も多いのが現状である。

このような状況の中で、本研究では材料分野から生体材料を評価しなおして、バイオと材料科学の融合を目指した。そして生体材料の自己組織化と、バイオミネラリゼーションに注目してはじめて、半導体プロセスに使用可能なタンパク質(バイオナノブロック)を設計・作製し、実際にナノ粒子・ナノワイヤを実現し、一部のものは半導体プロセスに耐えるだけのものに仕上げた。私たちはこれを「バイオナノプロセス」と名付けた。このバイオ分子を無機材料のナノ構造作り、特にナノエレクトロニクスデバイスのキーコンポーネント作りに導入して成功した。その成果を活用して、バイオ分子で作られ、配列された2次元ナノ粒子電荷保持ノードをもつメモリデバイスを世界で初めて試作し、動作させた。

今後このような溶液中での「モノづくり」が、「ウエットナノテクノロジー」として発展し、新しい産業分野となっていくと期待できる。その意味で、本研究は全く新しい学際分野を切り開いたものと考えている。

(2)社会・経済の発展が期待される成果

バイオ分子を用いたナノ構造作製技術、半導体微細構造作製技術の実用化可能性実証は本研究を元にはほぼできたと考えられる。これまで半導体などの無機材料分野では、タンパク質などの生体材料は、取り扱った経験が無いため、また分野があまりにも違うため忌避されてきた。しかしながら、本研究の成果として、タンパク質は無機材料との相性が良く、バイオミネラリゼーションを用いればナノの領域で共同してナノ構造を作れることが示された。これにより今後、バイオ分子のナノ領域での利用が進むものと考えられる。

具体的には、100nm 程度までは既存の加工技術で、その先の微細構造はバイオナノブロックの自己組織化で作りに上げるといったことが現実なると思われる。そのように成れば、ナノ加工のための高額な機器は不要となる。またバイオ分子の設計が、最終的に出来上がる微細構造、機能を決定することになる。言い換えれば、バイオ分子の設計、すなわち人工タンパク質や、その化学修飾による改変、さらには巨大化学分子合成がナノデバイスの性能を決定する最大要素となると考えられる。100nm 以上の構造は汎用の既存技術で作る、それぞれの、ナノデバイスメーカーで付加価値の高い専用機能を実現するナノ構造を作製するようになると予想される。これは、ナノデバイス業界が出版業界のモノづくりのような業態になることを意味する。すなわち、ナノデバイスメーカーは、印刷をする工場と、その中身を創出する出版社との関係と同様になる。汎用または専用で 100nm までの構造を作製する工場と、そこに実現しようとする機能・付加価値をタンパク質など人工分子で作るナノデバイスメーカーの関係である。これにより、より小回りの聞くナノデバイス開発が可能となり、新しい「モノづくり」が始まると予想される。

11 結び

バイオナノプロセスの基本となる要素技術の開発と科学的知見の獲得は本研究で大きく進んだ。その結果、実際にタンパク質を半導体プロセスに導入することができることが実証された。このことはタンパク質を用いたナノ構造作製が実際に機能することを世界ではじめて示したものであり、大きな前進であった。と同時に、重要な課題もはっきりしてきた。それはタンパク質の価格と大量生産の問題である。これまでタンパク質は、医療用や、食品添加物などの比較的成本が高くても良いもので実用化されてきた。しかしデバイス作製の材料として使うためには、タンパク質材料は十分に安い価格で提供されなければならない。この点は、日本に多くある発酵を得意とする会社などと低価格化に向けて共同研究を進める必要があると思われる。



最後に、本研究はバイオと無機材料ナノテクノロジー、特に半導体技術との融合研究である。そのためには、両分野の研究者が重志氏会える環境を作ることを念頭において、研究者間、グループ間の議論が進むように運営をしてきた。この流れが将来結実し、本プロジェクトにいた研究者が、同様な目的を持つ研究者とお互いに交流し、実験結果を議論し、刺激しあって新しい応用を作り出すことができるようになることを望む。すなわち本プロジェクトの成果は、要素技術の進歩と、融合研究のできる研究者であると言えるようになりたい。