

文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム
2019 年度米国 NNCI 施設利用研修プログラム 参加報告書

所属・学年	北海道大学大学院総合化学院・博士後期課程 3 年
研修テーマ	Fabrication of Nanopore Materials via Block Copolymer Self-Assembly
研修先	Quattrone Nanofabrication Facility (QNF), University of Pennsylvania
受入担当者	Dr. Hiromichi Yamamoto
研修期間	Jun.19th-Aug.8th, 2019
研修内容	二種類のポリマーが化学的に結合したブロック共重合体 (block copolymer, BCP) により構築される自己組織化ナノ構造を用いて、無数のナノ細孔からなるナノポア材料を製造する技術を開発することが本研修の目的である。ナノポア材料はナノ濾過フィルターなどへ応用可能であり、本技術の完成は当該分野の発展に大きく貢献するものと期待される。 本研修では全てのプロセスをクリーンルーム内で行い、ナノ構造の確認は走査型電子顕微鏡 (SEM) により行なった。
研修の成果等	本研修では、上記の目的達成のために以下 2 つの戦略を検討した。1 つ目の戦略は、シリコン基板上への BCP 薄膜の塗布、熱アニーリングによるナノ構造の誘起、プラズマ処理による片一方のポリマー成分除去、残存ポリマー成分 (ナノポア構造) をマスクとしたシリコン基板のエッチングという、本分野におけるスタンダードな方法である。しかしながら、本戦略ではポリマーがソフトマテリアルであるが故にエッチングに対する耐性が非常に小さいこと判明したため、続いて以下の戦略を試みた。まずシリコン基板上に酸化アルミニウム (ハードマテリアル) の薄層を沈着させ、その上に BCP 薄膜を塗布した。上記と同様のプロセスによって酸化アルミニウム層にナノポア構造を転写することができれば、本層はエッチング耐性の非常に大きなハードマスクとして機能することが期待される。実際に実験を行なった結果、ポリマー薄膜上でのナノポア構造は非常に均一に構築されたことを SEM により確認した。しかしながら、酸化アルミニウム層へのパターン転写を試みたところ、ナノポアの均一性が大きく低下した。この原因を突き止めることは出来なかったが、続いてシリコン基板のエッチングを行なったところ、確かに酸化アルミニウム層がハードマスクとして機能して基板に不均一なナノポア構造が転写されたことが確認された。従って、本研修によりハードマテリアルである酸化アルミニウムがナノポア材料製造のための有効なエッチングマスクとなる可能性が示唆されたが、ナノ構造の均一性を保ったままエッチングを行うためには全プロセスの条件をより細かく調整していく必要がある。

文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム
2019 年度米国 NNCI 施設利用研修プログラム 参加報告書

所属・学年	岡山大学大学院自然科学研究科 博士後期課程 2 年
研修テーマ	Exosome Loading of Molecules using Microfluidic Devices
研修先	Georgia Institute of Technology
受入担当者	Dr. Todd Sulchek
研修期間	2019 年 06 月 3 日 ～ 2019 年 08 月 09 日
研修内容	マイクロ流体デバイスを用いて、エキソソーム中への分子のローディングを試みる。エキソソームのローディングはエレクトロポレーション法と試薬を用いた方法が一般的であるが、大変高価である。低コストによるローディングを実現するために、マイクロ流体デバイスを用いた。エキソソームとローディング分子の混合溶液をデバイスに流すと、デバイス内の流速の違い（中央部分で最大、壁面部分で最小）が剪断応力を導くと考えた。この力によりエキソソームの膜部分に穴を開け、目的分子がエキソソーム内に入ることによってローディングを試みる。また細胞からのエキソソームの抽出を行う際にも、試薬を用いず、限外濾過法を用いることにより、低コストでのローディング法の確立を試みる。
研修の成果等	Jurkat 細胞の培養液から AmiCon を用いてエキソソームの抽出をおこなった。AmiCon エキソソームの濃度測定は NanoSight を用いた。その結果から、限外濾過法により、特別な試薬、超遠心分離機を用いることなくエキソソームの抽出を達成した。今回用いたマイクロ流体デバイスの模式図を Fig. 1 に示す。ローディング分子として DNA を選択した。Fig. 1 の h の部分の大きさと流速を変えてローディングを試みたが、良い結果は得られなかった。これはエキソソームがデバイス内の PDMS に結合していると考え、1%BSA により PDMS の表面を不活性化させることにした。さらにローディング分子としてフルオレセインを選択した。フルオレセインとエキソソームは共に負の電荷を有するため、フルオレセインを用いることで静電相互作用による相互作用を無視できると考えた。DNA と同様に h の大きさを変えたところ、2.5 μm のとき、もっとも良いローディングを観測した。次にデバイスのサイズを変えたところ、4.1 mm のときが最適であったが、ローディング効率は流速には依存しなかった。 本研究を通して、試薬を使うことなく、エキソソーム中へのフルオレセインのローディングに成功した。この方法は先行研究と比べ 99%コストを削減できる。また、この研究はマイクロ流体デバイスを用いてエキソソーム中に得意分子をローディングした最初の研究である。

文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム
2019 年度米国 NNCI 施設利用研修プログラム 参加報告書

所属・学年	琉球大学 農学研究科・修士 1 年
研修テーマ	微生物封入ゲルを用いた土壌改良剤の開発
研修先	University of Nebraska-Lincoln(UNL)
受入担当者	Seunghee Kim, Ashraf Aly Hassan
研修期間	6/3-8/15
研修内容	本研修では 2 ヶ月間 UNL で研究活動とその発表を行い、その後 Cornell 大学で開催された米国 NNCI の成果発表会で成果発表を行った。具体的な研究内容は、微生物封入カプセルの作成実験と、微細構造の観察データの取得・活性評価という一連の実験操作を行った。研究を遂行するにあたり、UNL の NNCI 施設の X 線解析装置等を利用した。また、現地の学部生向けの研究インターン事業である REU プログラムに一部参加し、研究者志望者の講座を受講したり、レクリエーションに参加し、現地の学生と交流した。研究内容はポスター発表を UNL で行い、ポスター発表と口頭発表を Cornell 大学で行った。
研修の成果等	本研修期間では研究の性質上、X 線解析装置などのハイテク機器を利用する事が必要であり、指導教員以外の教授とも積極的にコミュニケーションを取り研究を行う必要があった。機器の利用にあたっては、利用法の講習や、解析データの解釈など全般に渡って、NNCI 施設に所属する教授からアドバイスを受ける事ができ、十分なデータを取得する事ができた。 NNCI 姿勢以外で行った実験については、研究室の大学院生と教授にアドバイスを受けつつ、基本的に自分で実験を行った。 これらの研究成果を米国発表会で発表し、多数の研究者に興味を持ってもらう事ができた。また、現在これらの研究結果を論文という形で発表する為、準備が進められており、一定の成果を上げられる見通しができた。 また、研修期間中は REU プログラムに参加することで、講座やポスター発表を通して米国での科学を学ぶと共に、多くの学生と交流する事ができた。REU プログラムは倍率も約 10 と高く、優秀な学生が集まっており、彼らと話す事は刺激になった。また、プログラムの講座（これは研究活動のマネジメントや、ダイバーシティ教育、大学院への出願方法などが含まれる）やレクリエーションは非常に充実しており、米国の科学人材へ投資する姿勢を垣間見る事ができた。 Cornell 大学では、IBM から Quantum computing についての招待講演があるなど、先端技術についての理解も深める事ができた。 また、個人的に現地の教授達(遺伝子技術関連分野)とコンタクトを取ることで、興味のある分野について、米国での研究進展状況や、研究方法について深く話を聞く事ができ、非常に貴重な情報と人脈を得る事ができた。