

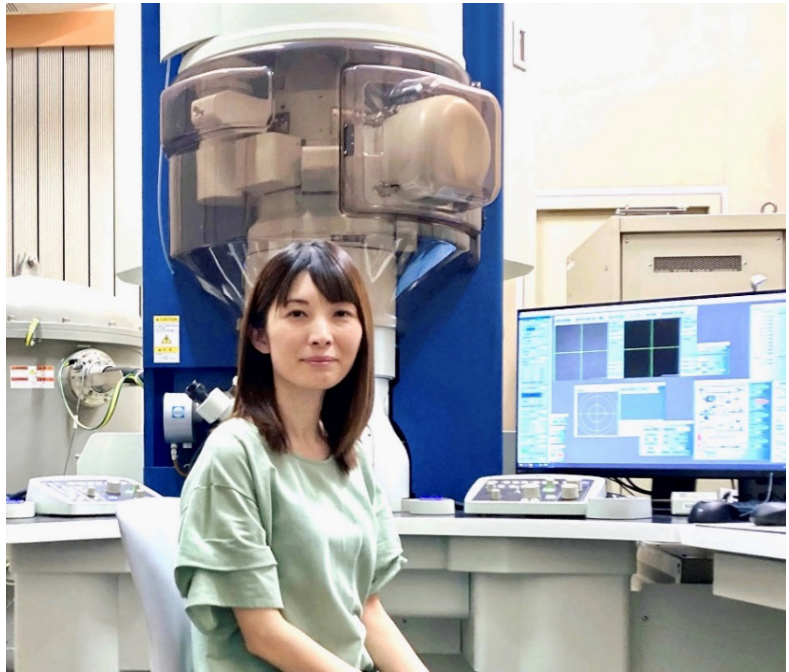


文部科学省 マテリアル先端リサーチインフラ 令和 5 年度技術スタッフ表彰 技術支援貢献賞 クライオ透過電子顕微鏡を主とした技術支援

受賞者 東京大学マテリアル先端リサーチインフラ 微細構造解析部門 木村 鮎美氏に聞く

近年、マテリアル研究開発では、デジタルを駆使したデータ駆動型の研究開発が世界的に進展し、高品質なマテリアルデータを戦略的に収集・蓄積・流通・利活用できる仕組みの構築が重要となっている [1].

文部科学省が 2021 年度より開始したマテリアル先端リサーチインフラ (ARIM) [2] は、2012 年度から 2021 年度までのナノテクノロジープラットフォーム事業 (NPJ) で培ってきた最先端装置の共用、高度専門技術者による技術支援の提供に加えて、装置利用に伴い創出されるマテリアルデータを大規模に収集・整理して、利活用しやすいよう構造化した上で研究者に提供するという新たな試みを進めている。ARIM は、7 つの重要技術領域を設定し、領域ごとに強みを持つ最先端装置群を提供するハブ機関と、特徴的な装置・



透過電子顕微鏡 (TEM) をバックにした木村 鮎美氏

技術を持つスポーク機関からなるハブ&スポーク体制を構築している [3]. その重要技術領域は、1. 高度なデバイス機能の発現を可能とするマテリアル、2. 革新的なエネルギー変換を可能とするマテリアル、3. 量子・電子制御により革新的な機能を発現するマテリアル、4. マテリアルの高度循環のための技術、5. 次世代バイオマテリアル、6. 次世代ナノスケールマテリアル、7. マルチマテリアル化技術・次世代高分子マテリアルである。最先端共用設備の有効活用には、高度な専門技術を有する技術スタッフの支援が不可欠である。NPJ は 2014 年度より技術スタッフの貢献に報い、その育成を図ろうと技術スタッフ表彰を始めた。この表彰は ARIM にも引き継がれ、2024 年 1 月 31 日 東京ビッグサイトで開催された第 23 回国際ナノテクノロジー総合展・技術会議 (nano tech 2024) において、5 件の令和 5 年度「技術スタッフ表彰」の発表と表彰が行われ、『クライオ透過電子顕微鏡を主とした技術支援』に対して、技術支援貢献賞が東京大学大学院工学研究科総合研究機構の木村 鮎美氏に贈られた [4]. 今回 Web 取材により、どの様な支援を実施されたのか、またそのご苦労、成果について木村氏に伺った。

.....



1. 東京大学における ARIM 事業の概要とその活用状況

1.1 東京大学マテリアル先端リサーチインフラの概要

東京大学は、文部科学省の設備共用事業 (2007 年よ

りナノテクノロジー・ネットワーク、2012 年よりナノテクノロジープラットフォーム事業) に参加し、学内外の大学・企業の多くの研究者に最先端の研究機器の利用機会を提供してきた。

2021 年度からは文部科学省「マテリアル先端リサーチインフラ」事業に採択された。東京大学の微細構造解析、微細加工、情報基盤の 3 つの拠点をハブ機関として、微細加工の広島大学、構造解析の日本原子力研究開発機構



図1 東京大学 ARIM ハブ&スポークチームの構成

をスポーク機関として加えた3機関5拠点体制(図1)で構成され、重要技術領域「革新的なエネルギー変換を可能とする材料」の研究開発・支援への貢献を目的としている[5]。

高効率・高機能なエネルギー材料の開発は、環境問題や希少資源問題の克服、カーボンニュートラルの実現等に直結している。次節で紹介する情報基盤のmdx(データ活用型社会創成プラットフォーム)を融合することにより、高度解析・加工技術の共用、データの収集、蓄積、構造化、利活用等を行う環境を構築し、太陽電池、熱電素子等の革新的なエネルギー変換を可能とする材料のデータ駆動型研究開発を目指す。

1.2 ARIM-mdx データシステム

東京大学 ARIM の新しい狙いの一つにデータの収集、蓄積、構造化、利活用がある。情報基盤部門の ARIM-mdx データシステムはデータ収集・管理・解析のための情報システムであり、図2にその概要を示す[6]。

本データシステムを利用することで次のことが可能になる。

- ①クラウドストレージによるプライベートな大規模データの保存
- ②共同研究者間でのデータ共有や一般公開の柔軟な管理
- ③実験設備からの効率的かつセキュアな直接データ転送
- ④インタラクティブなプログラミング環境や Remote Desktop によるデータ解析やソフトウェア開発
- ⑤データ提供・登録による、全国25機関実施の広域データシェアサービス(NIMS RDE)への参加協力

RDEとは物質・材料に関する研究データをオンラインで迅速に登録するために、研究データを自動的にデータ駆動型の材料研究に適した形に構造化してクラウドに蓄積するシステムである[7]。

共用の設備には東京大学で開発したIoTデバイスが設置され、その実験データが直接mdxクラウドに転送される[8][9][10]。データ提供希望者のデータは自動的にRDEに登録され、一定の期間において、広域シェア、一般利用に供されることになる。

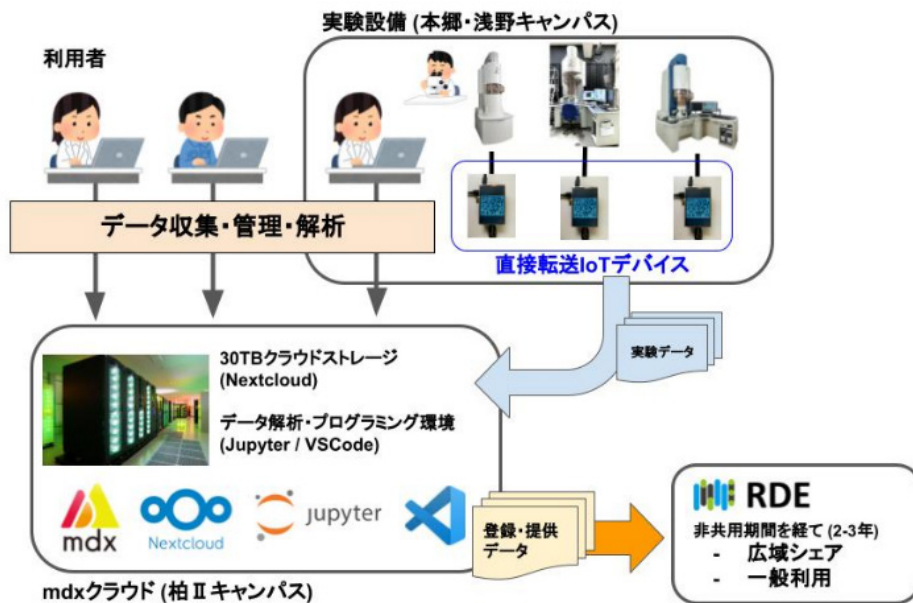


図2 ARIM-mdx データシステムの概要

1.3 微細構造解析部門の共用装置とその実績

利用者の装置共用に関するサポート形態には、①利用相談、②機器利用、③技術補助、④共同研究、⑤技術代行、⑥データ利用がある。

微細構造解析部門の共用装置を表1に示す。透過電子顕微鏡 (TEM/STEM) の12台を筆頭に、総計34台の装置が利用可能である [11]。TEMスタッフが担当する装置の台数を赤字で示す。

図3に微細構造解析部門における、R4～R5の利用課題数と設備の稼働日数、図4にR5年度の利用者内訳を示す。利用課題数は300課題以上あり、かなり高い頻度で利用されている。利用者は東京大学内が60%、他研究機関が14%、企業が26%である。

表1 微細構造解析部門の共用装置

設備 (微細構造解析部門)	台数
透過電子顕微鏡 (TEM/STEM)	12
走査電子顕微鏡 (SEM)	4
X線回折装置 (XRD)	4
電子状態分析 (XPS,ESR)	3
質量分析装置 (NanoSIMS)	1
光計測 (エリプソメータ)	1
電磁物性測定 (PPMS)	1
集束イオンビーム (FIB_SEM)	2
電気特性計測 (プローバ)	1
試料作製装置	5

また ARIM では、成果を出した利用者ならびに支援した実施機関を「秀でた利用成果」として毎年数件選定し、表彰している。東京大学 ARIM 微細構造解析部門は R3 年度, R4 年度, R5 年度それぞれ、優秀賞 1 件, 最優秀賞 1 件, 優秀賞 2 件の受賞という実績を挙げている。

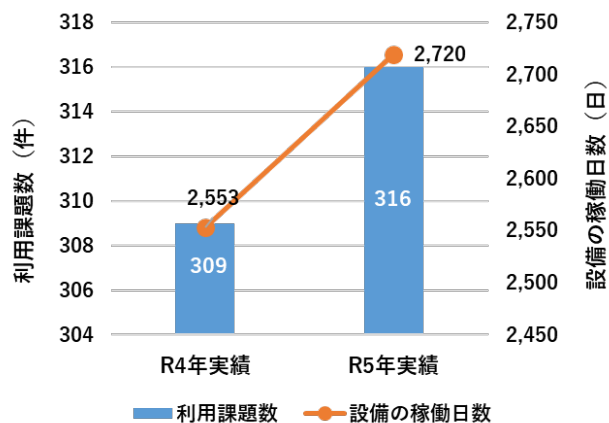


図3 R4～R5の利用課題数と設備の稼働日数

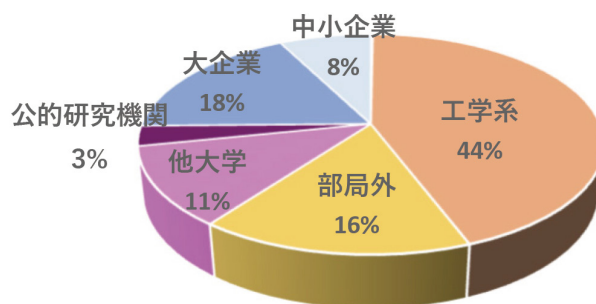


図4 R5年度利用者内訳



2. 木村氏の東京大学 ARIM における担当業務

2.1 担当装置, 支援内容と支援実績

木村氏は、東京大学大学院工学系研究科附属総合研究機構の電子顕微鏡室に所属し、東京大学 ARIM 微細構造解析部門において透過電子顕微鏡 (TEM) 関連装置の支援業務をおこなっている。TEM 担当者 4~5 人で 14 台の電子顕微鏡装置を担当しており、木村氏の現在の主担当装置は図 5 に示すクライオ透過電子顕微鏡: JEM-2100F (Cryo-TEM), 環境対応型超高分解能走査透過電子顕微鏡: JEM-ARM200F (Cold FE Dual SDD), 集束イオン/電子ビーム複合ビーム加工観察装置 (FIB-SEM): JIB-PS500i の 3 装置である。担当する分野は高分子・バイオ材料から無機材料まで幅広い。

支援活動の内容としては、装置の維持管理から、利用相談、予約対応、操作指導・補助、観察・分析、解析まで電子顕微鏡微細構造解析に関する業務のすべてを行っ

ている。

利用相談では、利用者の試料の問い合わせ内容によって、利用者に適切な TEM 試料作製法、TEM 装置の提案、技術的なアドバイスを行っている。装置利用に関しては技術代行をする場合もあるが、殆どの場合、最初は技術補助を行い、利用者自身が操作できる状態になると機器利用に移行する。スタッフは複数の装置を担当しているため、自身で利用できる利用者を増やすことにより、別の装置の技術補助が可能となるため、効率よく多くの利用者に対応することが可能となっている。ただし、クライオ TEM に関しては、急速凍結による試料作製が難しいため 100% 技術補助で行っており、観察は利用者自身ができるよう指導している。

支援実績としては、主担当装置が毎年変化する中で、年間 200 件以上の支援を行っている。現在の主担当 3 装置における R5 年度実績は 210 件である。その中で、クライオ TEM の R5 年度の実績は 42 件あり、データ提供者割合が 88% と非常に高い。また学外利用者は 60% と、この装置の外部におけるニーズの高さを示している。

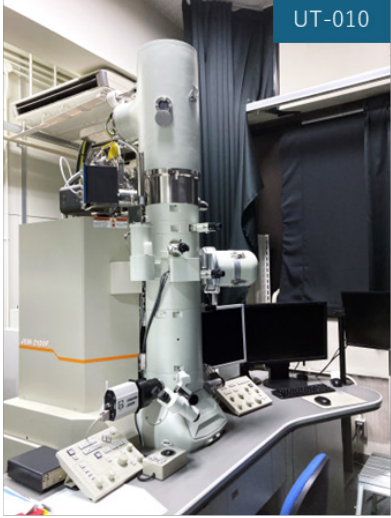
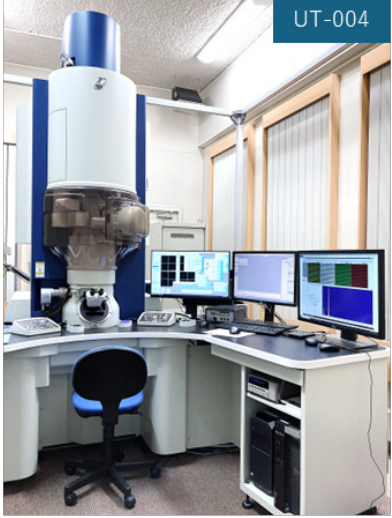

クライオ透過電子顕微鏡 (JEM-2100F)	環境対応型超高分解能 走査透過電子顕微鏡 (JEM-ARM200F Dual SDD)	集束イオン/電子ビーム 加工観察装置 (JIB-PS500i)
		
<p>加速電圧: 120kV, 200kV 分解能: 0.31nm 分析: EDS, EELS</p> <p>クライオトランスファーホルダーによる低温凍結試料観察、元素分析、3次元トモグラフィが可能</p>	<p>加速電圧: 80kV, 200kV 分解能: 0.1nm (200kV) 分析: EDS, EELS</p> <p>高感度半導体 X 線検出器を 2 つ搭載、高い空間分解能での結晶性物質の各原子コラムの元素分析が可能 各種特殊ホルダーに対応</p>	<p>FIB加速電圧: 0.5~30kV 検出器: STEM、SED、UED、iBED、RBED</p> <p>100nAのGaイオンビーム照射による高領域加工・ピンポイントでの断面作製・ピックアップ・断面SEMの自動連続撮影が可能</p>

図 5 木村氏の現在の担当装置

2.2 透過電子顕微鏡 (Transmission Electron Microscope : TEM) の原理

TEMは光学顕微鏡と同様に試料の拡大投影像を得るための装置である。図6に光学顕微鏡とTEMの構造を示す。その原理は試料に電子線を照射し、透過電子、および散乱電子の干渉像を拡大して高倍率で観察する手法である。ただし、TEMは光学顕微鏡と異なり、電子が気体分子で散乱されないように鏡筒が真空状態に保たれている。

光学顕微鏡の光の波長に比べて、電子線の波長は短く、その拡大倍率範囲は数10 μ mからサブnmの原子分解能条件までをカバーできるほどに広い。また、結像レンズ系のレンズ強度を調整することでTEM像観察モードから電子線回折観察モードへと簡単に切り替えることができ、観察視野に対応した微小領域の構造解析を瞬時に行うこともできる。

図7に入射電子が試料との相互作用で発生する各種電子等を示す。散乱した電子を目的別に選択して結像、検出して分析することにより、試料の局所領域において、形態、原子構造、組成、電子状態等の情報を得ることが出来る。こうした同一の観察領域から、様々な情報を取得できることがTEMの大きな特長であり、生物、高分子、セラミックス、半導体、金属等多く分野における基礎研究をはじめ、新製品の開発やその評価等に幅広く利用されている。

2.3 TEMの使用条件・使用上の課題

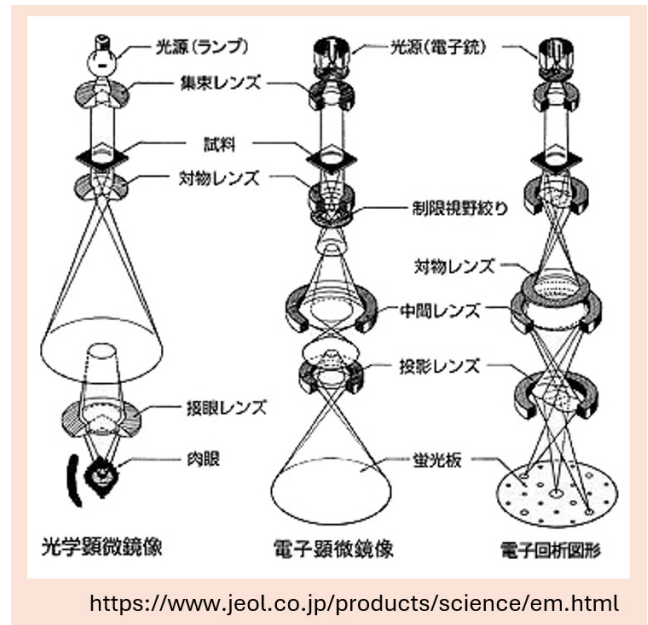
TEM観察を可能とするためには、以下の使用条件並びに使用上の課題がある。

- ①試料は電子線が透過する厚みでなければならない。
- ②TEMの鏡筒は高真空であるため、溶液試料の測定には特別なホルダー等が必要である。また、分散試料の前処理により凝集や乾燥による変形が起こる可能性がある。
- ③高エネルギー電子線照射による試料ダメージが起きる可能性がある。特にC, N, O, H等の軽元素を含む有機材料や生物試料で顕著である。

2.4 クライオTEMとは

液中・含液素材や柔らかい素材は、電子顕微鏡で観察しようとしても、乾燥・真空環境や電子線照射で試料が損傷するため、そのままの形態で観察することが困難である。そこで生物系の電子顕微鏡観察では、観察試料を含む溶液を急速凍結して氷に包埋し、冷却観察を行うクライオTEMが発展してきた。

クライオTEM法は精製したタンパク質やウイルス、細胞といった試料を生体内の構造を染色することなく、溶液のまま急速凍結することで、溶液中の分子形態を保持



<https://www.jeol.co.jp/products/science/em.html>

図6 光学顕微鏡, 電子顕微鏡の構造

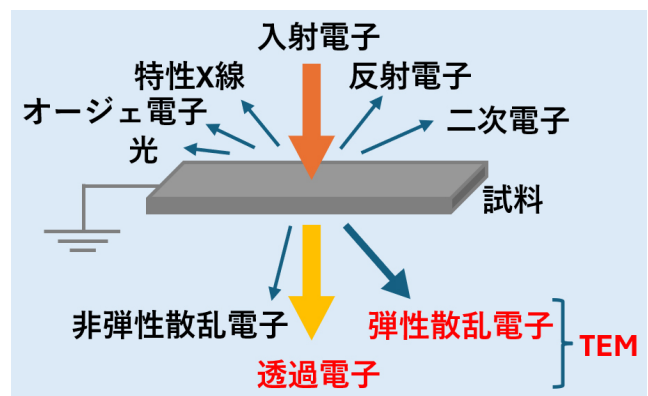


図7 入射電子と試料との相互作用

したまま試料の観察を行う手法である。この方法は、①液中の試料構造が観察でき、生きた状態に近い構造を捉えることを可能にする、②試料はとり囲む水によって冷却されるので電子線照射で発生する熱によって試料が壊れるのを低減できる、というメリットを有する。

2.5 クライオTEMのワークフロー(凍結試料作製, 観察手順)

ウイルスや生体タンパク質等の粒子状試料の氷包埋試料は、①厚さが電子線を透過できる程度(数十~数百nm)、②氷は非晶質にする必要がある。この二点を実現するために、自動浸漬凍結装置(Leica社製EM GP)を使用し氷包埋試料を作製する。その凍結試料作製及び観察手順は以下の通りである(図8)。

- ①予備観察により濃度等を調整した試料を準備する。
- ②試料の分散, 試料のグリッドへの接着性を改善するた

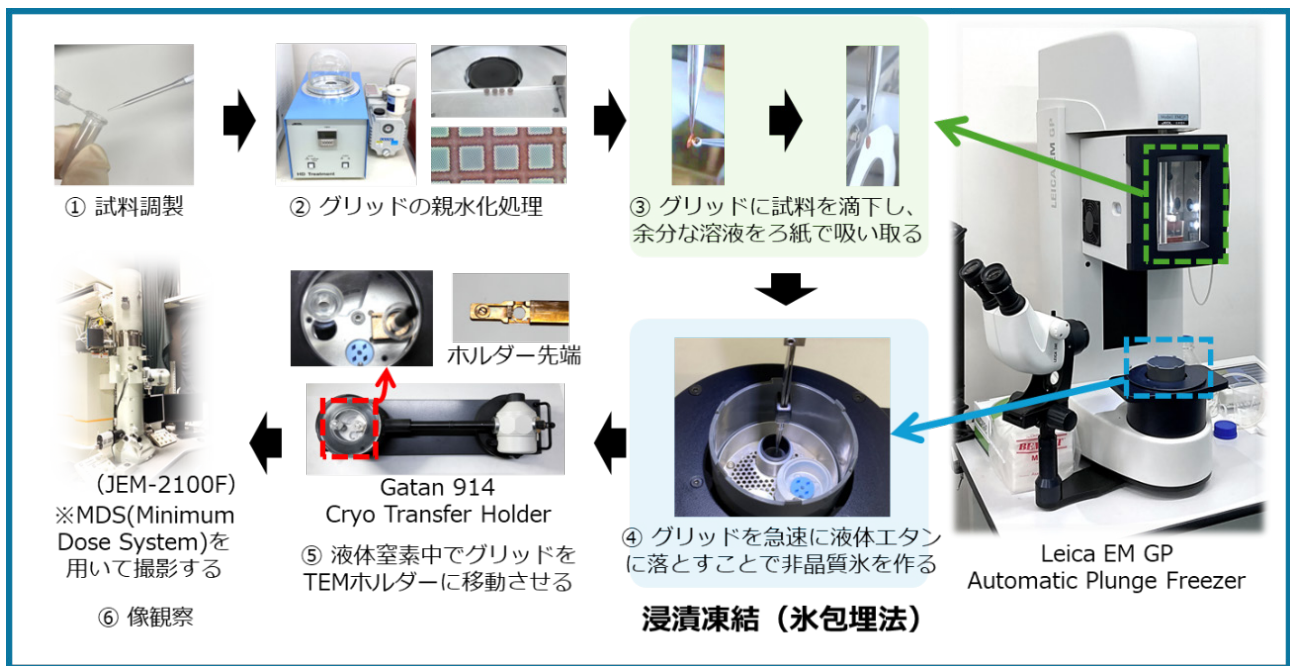


図8 氷包埋法による凍結試料作製プロセスと観察手順

め、微少な孔をもつ支持膜を貼ったグリッドを親水化処理する。③グリッド上に試料溶液を滴下し、余分な試料液をとる。④Leica EM GPを用いて試料液薄膜のついたグリッドを、浸漬法で液体エタン中にて急速凍結し、非晶質の氷を作る。⑤氷包埋試料は、液体窒素で冷却したクライオトランスファーホルダー（Gatan社製モデル914）にセットし、TEMに搬送する。⑥TEM観測では電子線照射によるダメージを出来るだけ低減するために、視野探し、フォーカス合わせ、撮影までの一連の流れを低電子線量で行うMinimum Dose System (MDS)を用いて撮影する。

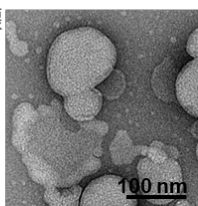
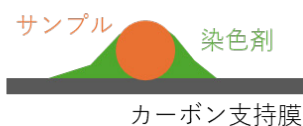
クライオTEMにおいては、試料に応じた濃度設定や試料作製条件等の設定、霜を付けないための素早い作業等、経験と細かいノウハウが必要となる。また、初めての試料等では、クライオTEMの前に、測定が簡単なネガティブ染色法を用いた予備観察をすることが多い。図9に同一試料を用いたネガティブ染色法及び氷包埋法によるTEM像の観察結果を比較して示す。

ネガティブ染色法はグリッドのカーボン支持膜にサンプルを乗せ、染色剤を使うことで、試料の周辺、間隙に染色剤が入り込み、染色部は電子密度が高くなり、電子線が透過しにくくなる。その結果、試料は電子線密度が低いため、電子線陰影像を得て、コントラストが高くなるメリットがあるが、デメリットとして、乾燥による変形や染色剤による構造破壊が起き易いことがあげられる。これに対して氷包埋法では、溶液中の試料の分子形態を保持したまま内部構造の観測が可能であることが分かる。

氷包埋試料作製においては各条件（試料濃度・親水化処理条件・試料滴下量・ろ紙で吸う時間等）を最適化することで、試料が分散し、かつ適切な厚みの非晶質氷をつくることができる。

サンプル移動や保管には液体窒素を使用しているが、液体窒素は気化熱が小さく、サンプル表面ですぐに気化してしまうため、急速凍結には液体エタンを使用する。エタンは、TEM観察時に昇華しやすいという利点もある。

ネガティブ染色法（染色剤でバックグラウンドを染色）
 メリット：簡便、高コントラスト、電子線ダメージ軽減
 デメリット：吸着・乾燥による変形
 染色剤による構造破壊



氷包埋法（非晶質の氷に試料を包埋）
 メリット：染色剤を使わず液体のまま凍結
 デメリット：専用の装置・熟練した技術が必要
 時間がかかる

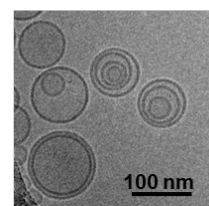


図9 ネガティブ染色法および氷包埋法によるTEM像比較

2.6 代表的な技術支援活動業務

木村氏の技術支援の件数は、年間 200 件を超えており、大きな技術支援上の課題とその解決法について以下に示す。

- ①スタッフ人数に対して、装置、利用者が多く対応しきれない。
 - ・予約の効率化：予約状況の Web 化による利用状況の可視化、空いた日の当日利用も可能とする等、効率的なマシンタイムの運用を実施している。
 - ・利用日誌のオンライン化・操作リモート化等による業務効率化の推進を行っている。
 - ・サンプル情報、試料作製条件、設定条件、結果等々を毎回細かく記録し、結果への影響を考察することで、次の条件設定の参考にしている。また利用者のサンプルが豊富であり、様々な試料の経験を積み重ねることが出来ている。こうしたたゆまぬ努力の結果、一度で良い条件を設定できることが多くなってきている。
 - ・利用者に合わせて講習：利用頻度の低い利用者には難しい作業の部分は代行し、失敗を避ける。頻度の高い利用者は自身で使えた方が効率が良いため、装置習熟度や希望に応じて、難しい作業は一部代行する。慣れるにしたがい、少しずつ習得させる方法を取り、利用者の技術習得率を上げている。
 - ・継続利用者に対しても、技術的な相談や疑問点、実験計画等の相談がしやすい関係を築き、頻繁にコミュニケーションをとることで装置トラブルを減らしている。
 - ・マニュアル作成：これにより装置によっては、利用者が一度の技術補助で操作を習得することもある。
- ②クライオ TEM だけでなく、試料作製においては、難しい作業は失敗を伴い易く、観察に影響する。
 - ・クライオ TEM の試料準備に関しては通常 1 時間以上かかるところを、木村氏が代行することで 30 分以内に短縮することができる。その結果、霜を減らすことができ、よりきれいな画像が得られ、1 日で観察できるサンプル数も増えている。
 - ・支援者によって、作業の考え方、進め方が様々ある。操作の思考が固まらないように、研修やセミナーに参加して、多くの人のやり方を学ぶよう心がけている。利用者によって、最適な操作法が異なる場合もあり、利用者に応じた方法を教えられるよう努力をしている。
- ③装置の性能に限りがある。利用者からの要望が様々である。
 - ・利用者の研究課題解決のため、要望があれば、限られた性能・機能でできる限りの成果が出せるよう環境整備・操作指導を行い、熟練が必要な技術や観察の難しい試料にも挑戦している。
 - ・JEM-2100F (クライオ TEM) の活用：クライオ TEM

観察以外に、以下に示す各種観測等も積極的に行っている。①冷却観察（電子線照射に弱い試料をクライオホルダを利用して冷却しながら観察）、②液中観察（市販のキットを使用し、液体のまま TEM 観察）、③ TEM/STEM トモグラフィー観察（試料を連続的に傾斜させながら撮影）、④通常観察（ネガティブ染色、電子線回折、EDS (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy : エネルギー分散型 X 線分光法)・EELS (Electron Energy Loss Spectroscopy : 電子エネルギー損失分光法) 分析等)。

- ・スタッフの連携・一貫した支援：東京大学 ARIM にて対応できない場合は他機関の紹介も行う。しかしながら、同一機関で出来るだけ多くのことが出来る方が利用者にとって効率が良い場合は、スタッフ間の連携重視に加えて、新しい技術も取り入れ、どんな分野、どんな装置でも出来るかぎり利用者の希望に添えるよう努力している。

こうした支援活動業務の中では苦勞も多いが、得られる成果も多い。例えば、利用者の分野は様々で、利用者に合わせて新しい分野の学習や、持ち込まれる測定が難しい試料へは、特殊な観測、解析で対応する必要がある。さらには、新しい装置が導入される際の学習等、利用者支援の時間が取り難い中でも、覚えたいこと、学ばなければいけないことが多く、日々の苦勞は多い。しかしながら、そのおかげで、自身の知識・経験が増え、他の利用者の支援にもつながり、多くの利用者から論文発表等の成果が出されていることで、報われると感じている。



3. クライオ TEM による研究支援事例

3.1 生体内分子機械シャペロニン GroEL によるナノ構造

東京大学 大学院工学系研究科 化学生命工学専攻、相田卓三研究室では超分子化学とソフトマテリアルを研究分野としており、その一つのテーマとして、沈皓らによる『生体内分子機械シャペロニン』の研究がある [12][13][14]。生体内分子機械とは生体内に存在するタンパク質で、分子モーターとも呼ばれ、化学エネルギーを生体活動に必要なナノスケールの精密動作に変換している分子のことである。代表的なシャペロニンには、GroEL があり、ATP (アデノシン三リン酸) を使って多くのタンパク質のフォールディングを助けている。

本研究の目的は、シャペロニン GroEL を前駆体とし、両端が異なる化学修飾を施された Janus GroEL を合成することと、それをモチーフにした三元超分子共重合である。Janus GroEL の構造的完全性及びそれをモチーフにした三元超分子共重合体の構造を明らかにするためには、TEM による構造の可視化が必要不可欠であった。また、

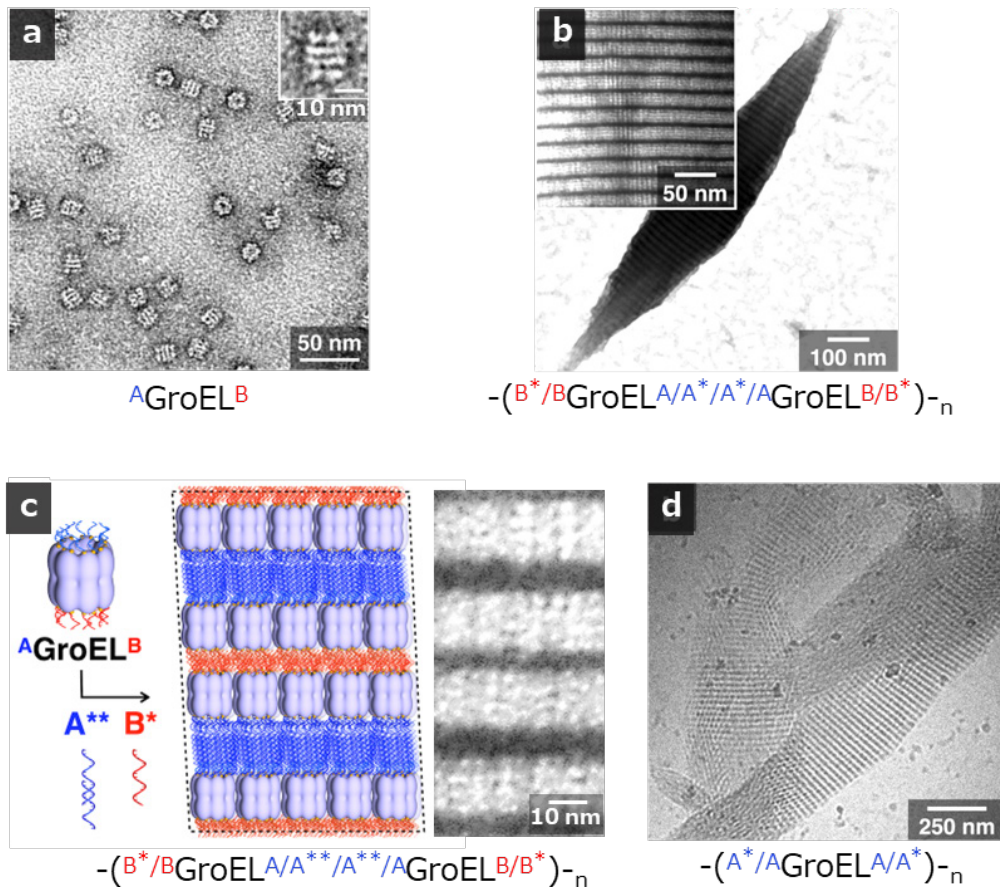


図 10 aは $A^{\text{GroEL}}^{\text{B}}$ のTEM像 bは共重合体のTEM像
 cは $A^{\text{GroEL}}^{\text{B}}$ とDNAコモノマー A^{**} 及び B^* の混合物との三元超分子共重合の概略図とそのTEM像
 dは $A^{\text{GroEL}}^{\text{A}}$ とDNAコモノマー A^* との二元超分子共重合のクライオTEM像

染色・乾燥による影響の可能性があるため、クライオTEMで溶液中でも同じ構造であることを確認することも重要であった。この共重合体試料はミクロン単位とTEMの対象としては大きく、染色条件やクライオの氷包埋試料作製の条件設定、観察が非常に難しかったが、利用者らの粘り強い実験と木村氏の経験・技術により成功に至った。図10にその結果を示す。図10のa, b, cはいずれも酢酸ウラニルで染色したJanus $A^{\text{GroEL}}^{\text{B}}$ と共重合体のTEM像, dはクライオTEM像である。共重合体は期待されていた線形ポリマーではなく、モノマーが二次元的に繋がった層状構造を有することが判明した。さらに、異なる長さのDNAコモノマーを導入することで、二重周期性をもつ三元超分子共重合体の合成を試み、TEMにより期待通りのコモノマー配列の可視化に初めて成功した(図10c) [13][15]。

3.2 生体接着性多孔質有機モジュール (GlueCOF) の構造観察

本件も「超分子化学」を基盤とする分子デザイン研究を掲げる東京大学 相田研究室のテーマで、Hyuna Joらの研究である。

多孔質材料において、多孔質中に捕捉されたゲストを何らかの刺激により放出することは、多孔質材料の重要な機能の一つである。今回利用者らはゲートとしてのカルモジュリン (CaM) の付着を可能にする生体接着性多孔質有機モジュールである GlueCOF を検討した。COF (共有結合性有機構造体) とは水素、ホウ素、炭素、窒素、酸素等の軽元素が共有結合で結びついた結晶性の有機材料で、二次元または三次元の周期的な構造を持ち、高い比表面積を示す。またカルモジュリン (Calmodulin) とはカルシウムによって調整されるタンパク質 (CALcium MODULated proteIN) で、 Ca^{2+} との選択的結合を介して構造を変化させることが知られている [16]。利用者らはゲストを収容した GlueCOF にカルモジュリンを付着させた CaMCOF \square guest 内の CaM が Ca^{2+} に結合すると、 Ca^{2+} 誘発性の構造変化を起こし、ゲスト分子がナノ細孔から放出されるのではないかと考え、生体接着性多孔質有機モジュールを合成し、その構造確認としてTEM観察を行った。その多孔質足場には、イミンベースの共有結合性有機フレームワーク (COF) の基本構造が採用されている [17]。

図11にアジド (N_3)、グアニジニウムイオン (Gu^+) をそれぞれ持つ、多孔質有機モジュール AzideCOF と GlueCOF

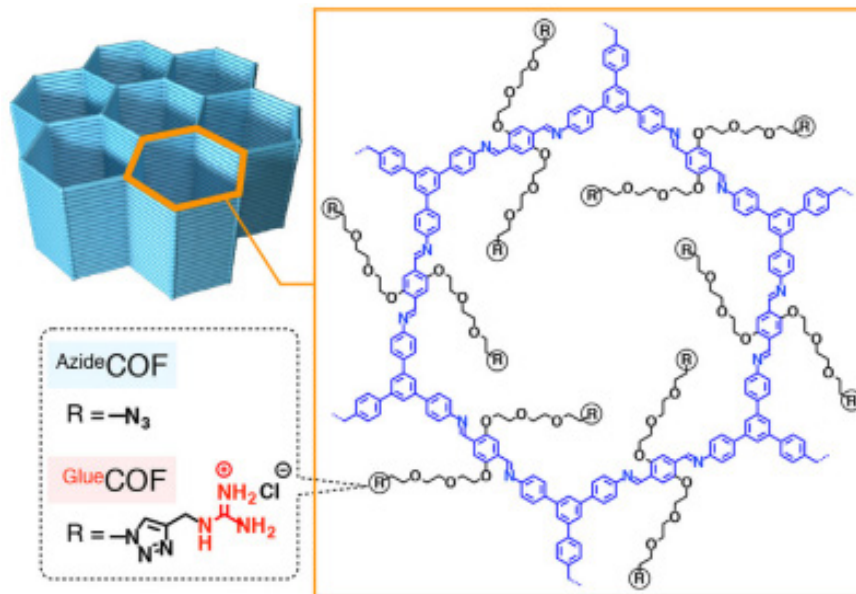


図 11 アジド (N_3) ペンダントとグアニジウムイオン (Gu^+) ペンダントをそれぞれ持つ多孔質有機モジュール $AzideCOF$ と $GlueCOF$ の分子構造。

の分子構造を示す。

この $GlueCOF$ は、グアニジウムイオンが含まれており、カルモジュリンのような生体分子と相互作用できる。ゲートとしてのカルモジュリン (CaM) を非共有結合で結合させ、 Ca^{2+} との選択的結合による CaM の構造変化により、ゲスト分子を放出することを確認した。その概略図を図 12 に示す。

ゲストが装填されたナノ細孔は、ゲートとしてのカルモジュリン (CaM) によってブロックされる。まず、ゲスト分子である窒素を $GlueCOF$ のナノ細孔にロードし、得

られた $GlueCOF \supset guest$ を多価塩架橋相互作用により CaM に付着させた ($Ca^MCOF \supset guest$)。 Ca^{2+} と結合すると、 $Ca^MCOF \supset guest$ の CaM ゲートはゲスト放出のために構造を変化させる。

共有結合性有機構造体 (COF) は電子線照射に弱く、通常の観察ではすぐに破壊され、測定が難しかったが、液体窒素で冷却しながら観察することで熱によるダメージを低減し、限られた性能、期間内に、TEM による構造の確認に成功した。その TEM 像を図 13 に示す。

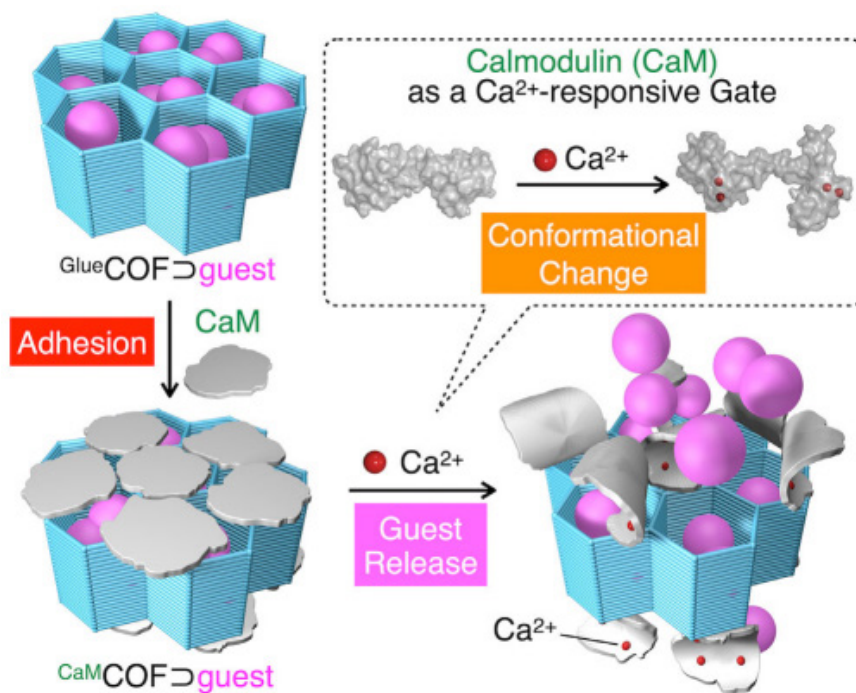


図 12 $Ca^MCOF \supset guest$ からの Ca^{2+} 応答ゲスト放出の概略図。

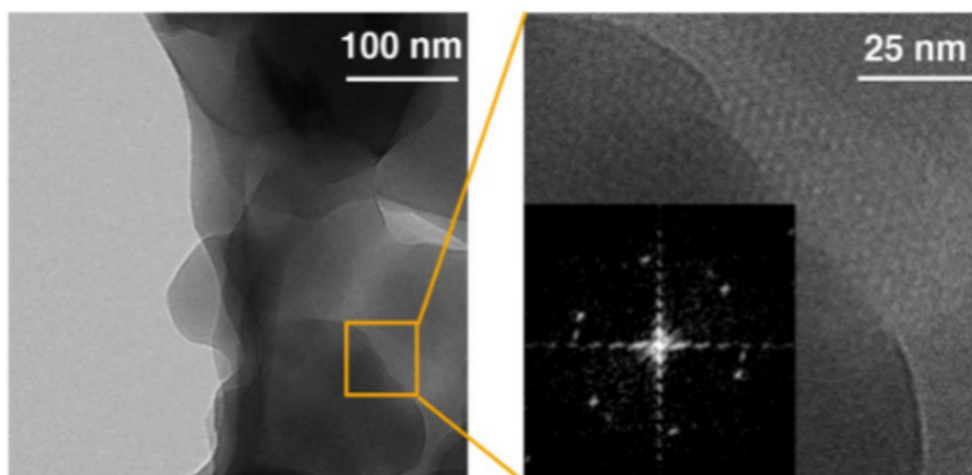


図 13 GlueCOF の TEM 像

3.3 セルロースナノファイバーの微細構造解析

東京大学，未来ビジョン研究センターの古月 文志 特任教授らは 2,2,6,6- テトラメチルピペリジン 1- オキシル (TEMPO) 酸化セルロースナノファイバー (CNF) の構造解析や，水素製造法の一つであるアルミニウム粉末と純水の反応を促進するための疑似触媒としての応用等の研究を進めている。

森林資源由来のセルロースナノファイバーは，高性能のバイタルセンサー，スーパーキャパシタ，吸着剤，軽量で丈夫な素材として注目されている。マイクロメートル長の TEMPO-CNF を飽和水蒸気圧中で 150℃，2 時間加熱して得られた CNF の TEM 像の一例を図 14 に示す。結晶性を有する CNF は電子線照射に弱いので，冷却による TEM 観察 (a) と，2.0% 酢酸ウラニルを用いたネガティブ

染色による TEM 観察 (b) を行い，TEMPO-CNF が湾曲してねじれていることが観察され，接合された微細構造を確認した。

その結果，CNF 微細構造の新たな知見が得られた。図 15 にその構造概念図を示す。ここで，セルロースマイクロフィブリルとはセルロース分子 20～40 本が規則的に束ねられた，結晶性を有するセルロース分子の束である。図 15 (a) に示すように，CNF の多糖鎖は継ぎ目のない 1 本の長いポリマーではなく，比較的短い (数 10nm～数 100nm) セルロースのベーシックブロック同士が直列に繋がった構造をとっていることを確認した。そしてその構造を，より短いブロックが連続的に結合したフィンガージョイント構造であると結論付け，finger-jointing model と名付けて発表している [18]。フィンガージョイントは，パックされた (垂直) 構造に比べて弱いが，柔軟性がある。

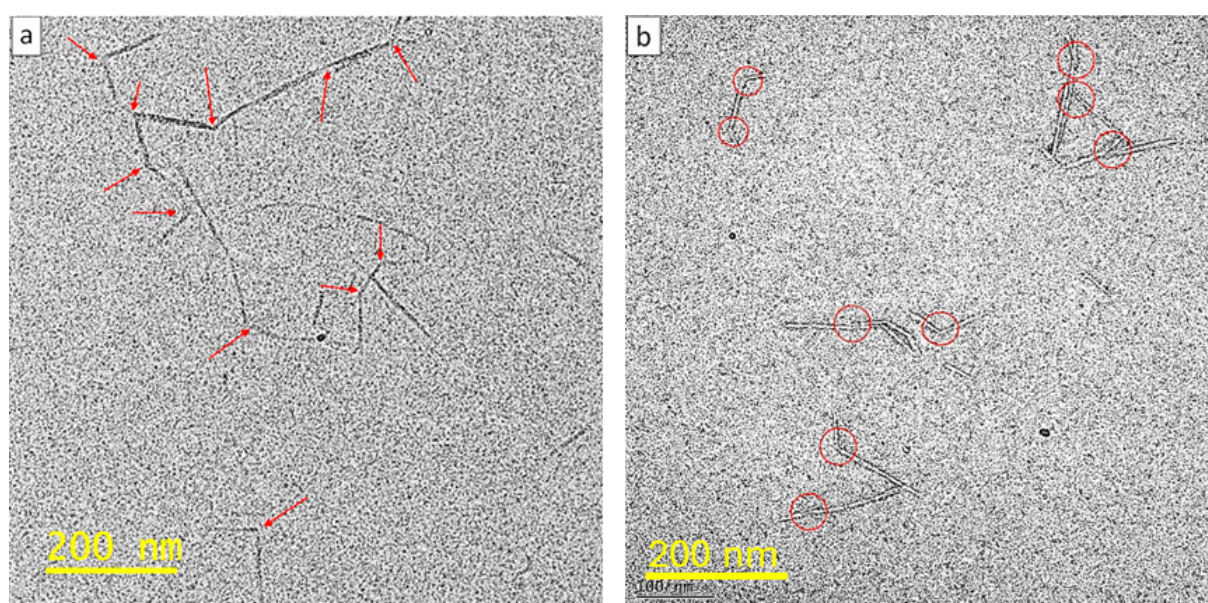


図 14 TEMPO-CNF 飽和蒸気圧下 150℃，2hr 加熱後の TEM 像
(a) 染色なし，冷却下，(b) ネガティブ染色 (2.0% 酢酸ウラニル)

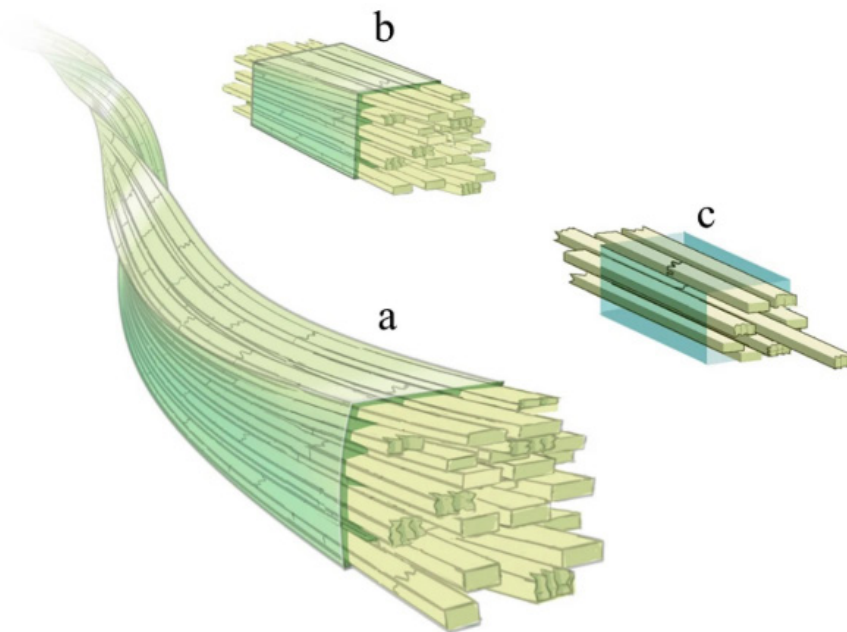


図 15 セルロースマイクロフィブリルのフィンガージョイント構造概念図。
 (a) セルロースマイクロフィブリル中の多糖鎖, (b) ミクロフィブリルが短いブロックに外された状態,
 (c) ブロックの最外層に位置する多糖鎖がより薄いブロックとして本体から分離する状態。

高温高圧の飽和水蒸気中等の過酷な条件下では、セルロースマイクロフィブリルはフィンガー接合部から外れて (b) に示す短いブロックになる。そして (c) ブロックの最外層に位置する多糖鎖がより薄いブロックとして本体から切り離される。

また、TEMPO 酸化型セルロースナノファイバー (TEMPO-CNF) の溶液中の構造として、クライオ TEM 像を測定した結果を図 16 に示す。この構造を元に、利用者らは、TEMPO-CNF をアルミニウム粉末と純水との反応を促進する触媒として利用することを検討した。TEMPO-CNF は真の 1D ナノ構造で、水は TEMPO-CNF に対して高い親和性を示している。アルミニウム粉末 (Al)/ 純水反

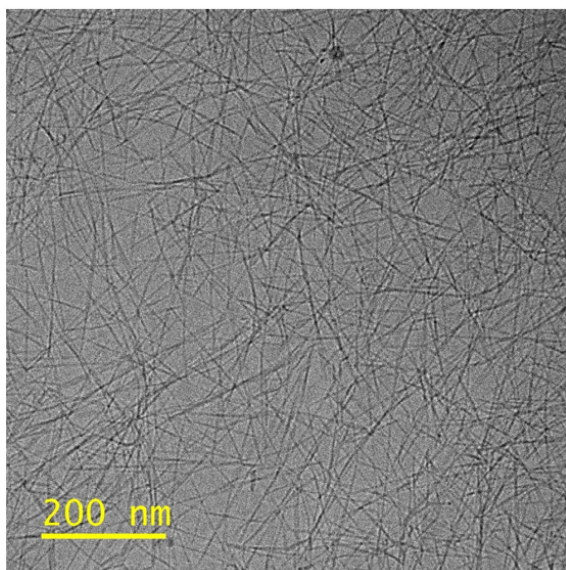


図 16 TEMPO-CNF のクライオ TEM 像

応は、特に 50℃以下の低温ではその反応が極めて遅いことがボトルネックとなっていたが、0.1-0.5 重量% という少量の TEMPO-CNF を添加することで 50℃以下の温度でも反応を促進し、安全でクリーンかつコスト効率の良い水素生成が可能となった [19]。

3.4 イオン交換法で得られるエクソソームの形態

東京大学大学院工学研究科バイオエンジニアリング専攻の瀬尾 尚宏 特任准教授は、医療応用に向けた生体ナノ粒子としてのエクソソームの生物学的および物理化学的性質の解明に取り組んでいる。エクソソームはがんをはじめとするさまざまな疾病の診断や治療、再生医療等、幅広い領域で応用可能な次世代モダリティとして注目され、世界中で活発な研究開発が行われている。現在、エクソソームの精製には、「超遠心法」を用いることが主流であるが、高額な装置が必要で、精製作業に時間がかかり、得られたエクソソームは純度が低く、マウスに投与すると主に肝臓で分解・吸収されてしまい体内循環性を失う等、様々な問題点があった。また医薬品分野での研究開発においては、原料となるエクソソームの純度の低さは、残存する夾雑物による副作用が懸念され、安定した安全性を確保できない。夾雑物が少なく生物活性を持ったエクソソームは陰イオン交換法で調製できるので [20]、これと超遠心法で得られるエクソソームとの粒子構造を比較検討した。図 17 に超遠心法で得られたエクソソーム (a) と、陰イオン交換法で得られたエクソソーム (b) のクライオ TEM 像を示す。超遠心法では膜融合する等、歪な形態を持つエクソソームが多いのに対し、陰イオン交換法

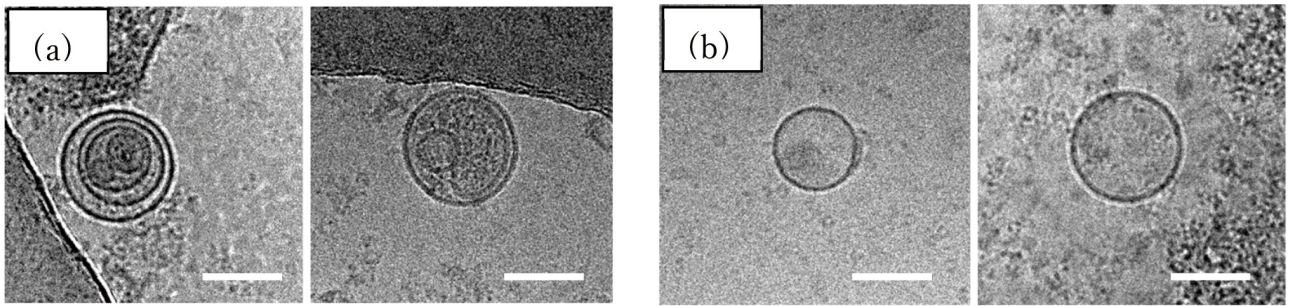


図 17 超遠心法で得られたエクソソーム (a) と陰イオン交換法で得られたエクソソーム (b) のクライオ TEM 像 (スケールバー : 100nm)

エクソソームは、綺麗な球形が保たれていることがわかる。今般東洋紡 (株) との共同研究により、イオン交換機能を持つエクソソーム分離膜を開発している [21]。



4. おわりに

木村氏は ARIM 令和 5 年度技術スタッフ表彰技術支援貢献賞に加えて、2024 年 4 月 17 日、令和 6 年度の科学技術分野における文部科学大臣表彰 [22] において、「透過型電子顕微鏡による多岐にわたる研究開発への貢献」で、研究支援賞を受賞されている。また研究支援事例の 3.1 では、令和 3 年度秀でた利用成果で、利用者と共に表彰されており、その貢献が大きかったことが容易に推測される。東京大学の共用装置、透過電子顕微鏡関連の課題に、年間 200 件以上の支援を実施している。そして、様々な工夫を凝らし、さらなる支援の効率化に尽力されている。

利用者への要望として、①難しい内容ほどやりがいを感じるの、どんなことでもダメ元で相談して欲しい、②利用者が多くの成果 (論文・特許・実用化等) を出しているおかげでこの事業が成り立っているの、継続的に運営するためにぜひ一緒にアウトプットを出して欲しい等を挙げておられる。この様な謙虚かつ、前向きな姿勢こそが名実ともに日本のナノ材料開発に大きな力となっていると感じるところである。こうした方々に支えられて、日本の材料研究、産業が着実に発展していくことを強く願ってやまない。



参考文献

- [1] 材料革新力強化のための政府戦略に向けて (戦略準備会合取りまとめ) 【概要】
https://www.mext.go.jp/content/20200805-mxt_nanozai-000009206_1.pdf
- [2] ARIM Japan 文部科学省材料先端リサーチインフラ
<https://nanonet.mext.go.jp/>
- [3] ARIM Japan 事業について

- <https://nanonet.mext.go.jp/page/dir000007.html>
- [4] 令和 5 年度 技術スタッフ表彰
https://nanonet.mext.go.jp/page/awards_for_technical_staff_R05.html
- [5] 東京大学材料先端リサーチインフラ・データハブ拠点
<https://lcnet.t.u-tokyo.ac.jp/>
- [6] ARIM-mdx Data System
https://lcnet.t.u-tokyo.ac.jp/data_system/
- [7] RDE
<https://dice.nims.go.jp/services/RDE/>
- [8] Toyotaro Suzumura, Kenjiro Taura, Masatoshi Hanai, et al. (30+ authors), "mdx: A Cloud Platform for Supporting Data Science and Cross-Disciplinary Research Collaborations", IEEE CBDCOM 2022
<https://doi.org/10.1109/DASC/PiCom/CBDCOM/Cy55231.2022.9927975>
- [9] Masatoshi Hanai, Mitsuaki Kawamura, Ryo Ishikawa, Toyotaro Suzumura, and Kenjiro Taura, "Cloud Data Acquisition from Shared-Use Facilities in A University-Scale Laboratory Information Management System", IEEE/ACM UCC 2023
<https://dl.acm.org/doi/10.1145/3603166.3632147>
- [10] 特願 2023-156343 "IoT デバイス、データ転送システムおよびデータ転送方法" (東大 TLO より出願中)
- [11] FACILITIES 設備案内
<https://lcnet.t.u-tokyo.ac.jp/facility/>
- [12] 研究室紹介 相田研究室
<https://www.chembio.t.u-tokyo.ac.jp/department/lab/aida.html>
- [13] Daiki Kashiwagi #, Hao K. Shen #, Seunghyun Sim, Koki Sano, Yasuhiro Ishida, Ayumi Kimura, Tatsuya Niwa, Hideki Taguchi, and Takuzo Aida, "Molecularly Engineered "Janus GroEL": Application to Supramolecular Copolymerization with a Higher Level of Sequence Control", J. Am. Chem. Soc. 2020, 142, 31, 13310-13315 (# equal contribution)
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jacs.0c05937>
- [14] Hao K. Shen, Kiyoshi Morishita, Dr. P. K. Hashim,

- Prof. Dr. Kou Okuro, Daiki Kashiwagi, Ayumi Kimura, Dr. Haruaki Yanagisawa, Prof. Dr. Masahide Kikkawa, Prof. Dr. Tatsuya Niwa, Prof. Dr. Hideki Taguchi, Prof. Dr. Takuzo Aida, "ATP-Responsive Nanoparticles Covered with Biomolecular Machine "Chaperonin GroEL", *Angew. Chem. Int. Ed.* 2023, 62, e202304894
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/anie.202304894>
- [15] 文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム 令和3年度秀でた利用成果
生体内分子機械シャペロニン GroEL によるナノ構造
https://nanonet.mext.go.jp/data/doc/1652423652_doc_10_0.pdf
- [16] カルモジュリン
<https://numon.pdbj.org/mom/44?l=ja>
- [17] Hyuna Jo, Takashi Kitao, Ayumi Kimura, Yoshimitsu Itoh, Takuzo Aida, and Kou Okuro, "Bio-Adhesive Nanoporous Module: Toward Autonomous Gating", *Angew. Chem. Int. Ed.* 2021, 60, 2
<https://hub.hku.hk/bitstream/10722/298760/1/Content.pdf?accept=1>
- [18] Bunshi Fugetsu, Vipin Adavan Kiliyankil, Shoichi Takiguchi, Ichiro Sakata & Morinobu Endo, "A finger-jointing model for describing ultrastructures of cellulose microfibrils", *Scientific Reports* volume 11, Article number: 10055 (2021)
<https://www.nature.com/articles/s41598-021-89435-6>
- [19] Bunshi Fugetsu, Shuri Yoshinaga, Ayumi Kimura, Takeo Hoshino, Ichiro Sakata, and Akira Isogai, "TEMPO-Oxidized Cellulose Nanofibers as Pseudocatalysts for in Situ and on-Demand Hydrogen Generation via Aluminum Powder/Pure Water Reactions at a Temperature below 50°C", *Adv. Energy Sustainability Res.* 2023, 4, 2300070.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/aesr.202300070>
- [20] Naohiro Seo, Junko Nakamura, Tsuguhiro Kaneda, Hiroaki Tateno, Asako Shimoda, Takanori Ichiki, Koichi Furukawa, Jun Hirabayashi, Kazunari Akiyoshi, Hiroshi Shiku, "Distinguishing functional exosomes and other extracellular vesicles as a nucleic acid cargo by the anion-exchange method", *J. Extracell. Vesicles* 11: e12205, 2022.
<https://isevjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jev2.12205>
- [21] 体内循環性を有する高純度エクソソームの高効率な精製・回収に成功
https://www.toyobo.co.jp/system/files/News_Release/202310/press_20231019_1J.pdf
- [22] 令和6年度科学技術分野の文部科学大臣表彰受賞者等を決定しました
https://www.mext.go.jp/b_menu/houdou/mext_01364.html

図表は木村氏より提供された。

(金久 修)