

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K17765

研究課題名(和文) 高分子ナノ繊維表面の分子配向を利用した一次元分子修飾手法の確立

研究課題名(英文) One-dimensional molecular immobilization method using molecular-orientation on the polymer nanofibers surface

研究代表者

坂元 博昭 (Sakamoto, Hiroaki)

福井大学・学術研究院工学系部門・准教授

研究者番号：70552454

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：高分子材料をナノ繊維化した際、単に細くなるだけでなく、繊維を構成する分子配向が高まることが知られている。研究代表者は、この点に着目し、原子間力顕微鏡(AFM)によってナノ繊維表面の構造観察を行った結果、20 nmの分子ドメインが繊維長軸方向に沿って配列することを見出した。次いで、繊維表面の分子構造変化に伴い、生体分子吸着特性が高まることが明らかになった。本研究では、繊維長軸方向へ直線的に分子が吸着しているという仮説の検証と、その工学応用として1次元分子配置技術の確立を目的とする。本提案は、表面構造が制御された材料表面へ生体分子を一次元に配置させる新たな分子修飾技術へとつながることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で提案する「生体分子を材料表面へ一次元的に配置させる技術」は、異なる酵素による連続的なカスケード反応の解析ツール、特定の方向にのみ機能発現する材料(異方性材料)など機能性材料開発のための新たな手法として寄与することが期待される。本提案は、医療診断、創薬分野、および材料分野におけるあらたな材料開発の可能性を広げる基盤技術につながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：It is well-known that polymer materials are proceeded to nanofibers, not only they become thinner, but also the molecular orientation of the fibers is enhanced. Previously, we had observed the structure of the nanofiber surface by atomic force microscopy (AFM), and found that 20 nm molecular domains were aligned along the long axis of the fiber. In addition, we found that the adsorption properties of biomolecules were enhanced with the change in the molecular structure of the fiber surface. In this study, we have verified that molecules are adsorbed linearly in the direction of the fiber's long axis and established a one-dimensional molecular arrangement technique for application.

研究分野：ナノ材料

キーワード：ナノ繊維 分子配向 高機能繊維 エレクトロスピンニング法 表面修飾

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

材料表面へ生体分子を修飾して形成されるバイオ界面は、バイオセンサ、バイオチップ、バイオマテリアルなど様々なデバイスの性能を決定する極めて重要な反応場である。従来のバイオ界面設計は、2次元的に分子配向や密度を制御することにより修飾された材料開発がなされてきた。しかし、異種酵素を利用したカスケード反応解析、異方が制御された材料開発においては、2次元ではなく1次元に分子を配置する技術が求められる。

研究代表者はこれまでに、エレクトロスピンニング(電解紡糸)法によって作製された高分子ナノ繊維が、牽引されることでナノ繊維の長軸方向に沿って、分子ドメインが規則的に配置されることを原子間力顕微鏡(AFM)により可視化した。エレクトロスピンニング法とは、樹脂溶液へ高電圧印加を行い、サブミクロンメートルの太さを有した高分子ナノ繊維の作製が可能である。フィルムでは、分子ドメインが不均一に分布しているのに対し、ナノ繊維では、長軸方向に配列していた。研究代表者はこれまでバイオセンサなどの開発を行ってきており、特に、材料表面の高効率な反応を実現するバイオ界面に着目した分子層設計を進めてきた。そこで、上に示したナノ繊維表面の分子構造変化現象が、分子修飾の際の足場として応用することができるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

エレクトロスピンニング法により作製されたナノ繊維は、牽引の有無によって分子ドメインの直線的に配列することで分子吸着が高まる。そのメカニズム解明とその現象を利用した一次元的分子修飾技術への応用を目指す。

そこで、ナノ繊維への牽引力と分子ドメインの密度(間隔)や長軸方向に対する直線性との関係を明らかにした。次に、異なる牽引力を印加した分子ドメイン配置の異なるナノ繊維へのタンパク質吸着挙動を評価した。

3. 研究の方法

本研究では、ナノ繊維材料として、ポリウレタンを用いた。ポリウレタンは、相分離構造をとり、約 20 nm の疎水性分子ドメインが形成されることが知られている。これまでに、研究代表者は、エレクトロスピンニング法において、ポリウレタンナノ繊維は、長軸方向に沿って分子ドメインが配列することを見出してきた。本申請課題では、約 20 nm の疎水性分子ドメインが配列した領域へ酵素などの機能性分子を一例に並べることができると以下の2項目を検証した。

(1) ナノ繊維表面における分子ドメイン配列の機序解明

ナノ繊維の作製

ナノ繊維の分子ドメイン配置が変化する要因としては、繊維への牽引力、ポリウレタン濃度、ナノ繊維の形状(太さ)が考えられる。ポリウレタン溶液からエレクトロスピンニング法によりナノ繊維を作製した。ナノ繊維作製のための、コレクター回転速度(牽引力)、印加電圧、樹脂濃度を変化させた異なる条件で作製されたナノ繊維を作製した。

AFMによる分子ドメイン観察

ナノ繊維を作製するための牽引力、印加電圧などの条件が、分子ドメインの密度(間隔)や長軸方向に対する直線性にどのような影響を及ぼすか AFM を用いて観察した。

(2) 牽引力を利用した一次元分子修飾手法の確立

蛍光標識されたタンパク質をモデルとして、異なる牽引力で作製されたナノ繊維へ吸着させ、蛍光顕微鏡によりナノ繊維への吸着を観察した。どのような相互作用によって吸着特性が変わっていくかを検証する。さらに、金ナノ粒子を吸着させ、その表面を TEM によって観察した。

4. 研究成果

(1) ナノ繊維表面における分子ドメイン配列の機序解明

コレクター回転数 0 rpm, 1000 rpm, 2000 rpm で作製した。牽引力を受けていない PU ナノファイバーでは向きがランダムな状態だが、牽引力を受けた PU ナノファイバーでは向きが揃うことが観察された。牽引されたポリウレタンナノファイバーと非牽引のポリウレタンナノファイバーの表面の物性の違いを AFM の位相モードにより観察し、両ポリウレタンナノファイバーの位相像を得た。位相像を比較したところ、ナノスケールのドメインの分布に違いが見られている。2000 rpm でコレクターを回転させて作製したポリウレタンナノファイバーの AFM 観察画像では、ハードセグメントがナノファイバー長軸方向に配向しているのに対し、コレクターを回転させずに作製したポリウレタンナノファイバーでは、ハードセグメントが不均一に分布していた。ポリウレタン溶液を用いて Dip coat film を作製し、同様に AFM にて観察を行った。Dip coat film の AFM 観察画像でもハードセグメントが不均一に分布していた。2000 rpm でコレクターを回転させて作製したポリウレタンファイバーはナノファイバー長軸方向にハードセグメントが配向していることが確認された。また、1000 rpm コレクターを回転させたポリウレタンナノファイ

バーの AFM 観察を行った。1000 rpm コレクターを回転させたポリウレタンナノファイバーの AFM 観察画像のハードセグメントの分布は、コレクターを回転させずに作製したポリウレタンナノファイバー、Dip coat film の AFM 観察画像と比較して配向性が高かった。しかし、2000 rpm でコレクターを回転させて作製したポリウレタンファイバーの AFM 観察画像と比較して配向性は低かった。これにより、ナノファイバー作製時にコレクターを回転させ応力を加えることで、ハードセグメントがナノファイバー長軸方向に配向することが明らかになった。更に、その配向性はエレクトロスピンングを用いたナノファイバー作製の際のコレクター回転数を上昇させることで増大することが考えられる。

(2) 牽引力を利用した一次元分子修飾手法の確立

モデルタンパク質として FITC 標識した BSA を使用した。まず、コレクター回転による牽引力を変化させて作製したポリウレタンナノファイバーを FITC-BSA 溶液に浸漬させ、蛍光顕微鏡にて観察を行ったところ、牽引力を上昇させることによって蛍光強度が増加していることが明らかになった。これは、コレクター回転による牽引力を上昇させることで、ポリウレタンナノファイバー表面の相分離構造が変化し、タンパク質吸着特性へ影響を与えたものと考えられる。

ポリウレタン中のハードセグメントは、ソフトセグメントと比較して疎水的な部位である。ポリウレタンナノファイバーは、コレクター回転による牽引力を上昇させることで、ナノファイバー長軸方向へのポリウレタンナノファイバーの相分離構造の配列を示した。つまり、ポリウレタンナノファイバー表面上に広い疎水吸着場が生じる。よって、ハードセグメント上に水和層は生じず、タンパク質が疎水性相互作用により吸着したことが考えられる。

延伸 PU ナノファイバー表面への分子吸着の状態を、TEM により観察した。モデル分子として、表面に疎水性のメチル基修飾を有し、タンパク質とほぼ同じ大きさの直径 5 nm の AuNP を用いた。未延伸 PU ナノファイバーでは、AuNP の吸着は少なくランダムに分布していたが、延伸 PU ナノファイバーでは、AuNP は繊維の長軸方向に直線的に吸着していた。このことから AuNP は、ファイバー作製時の延伸力によって、繊維の長軸方向に直線的に配列した疎水性のハードセグメント上に疎水性相互作用を介して吸着することが分かった(図 1)。

今回得られた知見により、特定の機能を有した分子やナノ粒子をハードセグメント上に付与することで、高機能材料、導電材料の創製へ繋がることが期待される。

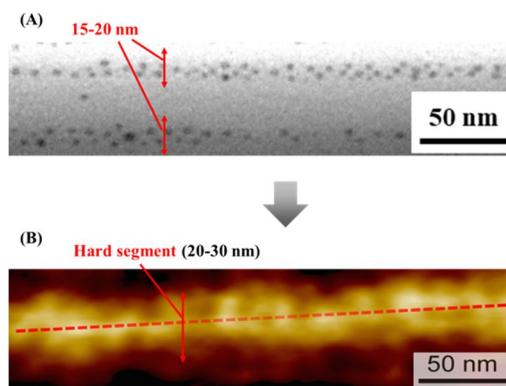


図 1 : TEM image (A) of AuNPs on stretched PU nanofiber surface and AFM image (B) of stretched PU nanofiber surface

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sakamoto Hiroaki, Fujiwara Ikuya, Takamura Eiichiro, Suye Shin-ichiro	4. 巻 245
2. 論文標題 Nanofiber-guided orientation of electrospun carbon nanotubes and fabrication of aligned CNT electrodes for biodevice applications	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Materials Chemistry and Physics	6. 最初と最後の頁 122745 ~ 122745
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.matchemphys.2020.122745	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Y. Sunahase, S. Matsui, S. Amaya, H. Sakamoto, S. Suye	4. 巻 295
2. 論文標題 Effect of electrothermal heat on driving of polymer nanofibers as an actuator	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sensor Actuat. A-Phys	6. 最初と最後の頁 231-236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sna.2019.04.023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sakamoto Hiroaki, Koto Ayako, Takamura Ei-ichiro, Asakawa Hitoshi, Fukuma Takeshi, Satomura Takenori, Suye Shin-ichiro	4. 巻 19
2. 論文標題 Development of Biofuel Cell Using a Complex of Highly Oriented Immobilized His-Tagged Enzyme and Carbon Nanotube Surface Through a Pyrene Derivative	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Nanoscience and Nanotechnology	6. 最初と最後の頁 3551-3557
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1166/jnn.2019.16121.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 A.Tonooka, T. Komatus, S. Tanaka, H. Sakamoto, T. Satomura, S. Suye	4. 巻 45
2. 論文標題 A l-proline/02 biofuel cell using l-proline dehydrogenase (LPDH) from Aeropyrum pernix	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mol. Biol. Rep.	6. 最初と最後の頁 1821-1825
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11033-018-4328-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H. Sakamoto, A. Koto, E. Takamura, H. Asakawa, T. Fukuma, T. Satomura S. Suye	4. 巻 19
2. 論文標題 Development of Biofuel Cell Using a Complex of Highly Oriented Immobilized His-Tagged Enzyme and Carbon Nanotube Surface Through a Pyrene Derivative	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Nanosci. Nanotechnol.	6. 最初と最後の頁 3551-3557
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1166/jnn.2019.16121	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 坂元博昭, 目細太一, 末信一朗	4. 巻 139
2. 論文標題 太さの異なるナノファイバーへのタンパク質吸着特性	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 電気学会論文誌E(センサ・マイクロマシン部門誌)	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H. Sakamoto, S. Amaya, Y. Sunahase and S. Suye	4. 巻 73
2. 論文標題 Fabrication and characterization of fe/polyurethane nanofiber actuator prepared by electrospinning	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Fiber. Sci. Technol.	6. 最初と最後の頁 135-138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2115/fiberst.2017-0019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Y. Morita, H. Sakamoto and S. Suye	4. 巻 7
2. 論文標題 Characterization of protein adsorption on stretched polyurethane nanofibers prepared by electrospinning	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 RSC Adv	6. 最初と最後の頁 56484-56488
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C7RA11942A	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 H. Sakamoto, H. Kitanishi, S. Amaya, T. Saiki, Y. Utsumi and S. Suye.	4. 巻 260
2. 論文標題 Development of a high-sensitive electrochemical detector with micro-stirrer driven by surface acoustic waves	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sens. Actuat. B-Chem.	6. 最初と最後の頁 705-709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.snb.2017.12.196	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 坂元博昭、藤原郁也、高村映一郎、末信一郎
2. 発表標題 ナノファイバーをガイドとしたカーボンナノチューブ配向電極の開発とそのバイオデバイスへの応用
3. 学会等名 2019年度繊維学会年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 目細太一、坂元博昭、末信一郎
2. 発表標題 延伸ポリウレタンナノファイバーの分子配向を利用した白金ナノ粒子修飾繊維の開発
3. 学会等名 2019年度繊維学会年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 二村梨絵、坂元博昭、高村映一郎、里村武範、末信一郎
2. 発表標題 ナノファイバーを用いたカーボンナノチューブ配向バイオカソードの構築
3. 学会等名 電気化学会第87回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 目細太一, 高村映一郎, 坂元博昭, 末信一朗
2. 発表標題 白金ナノ粒子の表面分布を制御した活性酸素種分解ポリウレタン繊維の開発
3. 学会等名 第36回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 砂長谷祐樹, 天谷 諭, 坂元 博昭, 末 信一朗
2. 発表標題 電熱駆動型ナノファイバークチュエータの創成と駆動メカニズムの解明
3. 学会等名 平成30年度繊維学会秋季研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂元 博昭, 森田 祐子, 目細 太一, 末 信一朗
2. 発表標題 延伸ナノ繊維表面に発現する直線状セグメントを利用した一次元分子修飾
3. 学会等名 平成30年度繊維学会秋季研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤原 郁也, 大池 智明, 松崎 祥平, 坂元 博昭, 末 信一朗
2. 発表標題 高性能バイオデバイスを目指したカーボンナノチューブ配向電極の開発
3. 学会等名 第70回生物工学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 砂長谷祐樹, 三井 翔太, 天谷 諭, 坂元 博昭, 末 信一朗
2. 発表標題 高分子ナノファイバーを素子として用いたアクチュエータの電気刺激応答
3. 学会等名 平成30年度繊維学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂元 博昭
2. 発表標題 材料表面への分子修飾による機能材料の創出とその応用
3. 学会等名 微細加工とその応用シンポ ジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森田裕子, 坂元博昭, 末信一朗
2. 発表標題 ポリウレタンナノファイバー表面へのタンパク質吸着挙動の解析とその構造および活性変化の評価
3. 学会等名 第69回日本生物工学会大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 森田祐子, 坂元博昭, 末信一朗
2. 発表標題 吸着タンパク質の2次構造/活性が保持されたポリウレタンナノファイバー基材
3. 学会等名 第27回インテリジェント材料/システムシンポジウム
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 坂元 博昭, 末 信一朗	4. 発行年 2018年
2. 出版社 テクノシステム	5. 総ページ数 752
3. 書名 紛体の表面処理・複合化技術集大成 - 基礎から応用まで -	

〔産業財産権〕

〔その他〕

福井大学研究室ホームページ http://ecnfukui.acbio.u-fukui.ac.jp/~lab/index.html 福井大学研究者総覧 http://t-profile.ad.u-fukui.ac.jp/profile/ja.facba8613e449286520e17560c007669.html 福井大学研究者総覧 http://t-profile.ad.u-fukui.ac.jp/profile/ja.facba8613e449286520e17560c007669.html
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------