

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K14920

研究課題名（和文）遠心分離システムによりUV照射と超音波振動を併用したマイクロゲルビーズの生成

研究課題名（英文）Synthesis of hydrogel microbeads using a centrifuge system with UV irradiation and ultrasonic vibration

研究代表者

倉科 佑太（Kurashina, Yuta）

東京工業大学・物質理工学院・助教

研究者番号：40801535

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、遠心分離に電源供給装置を開発し、遠心分離中のUV照射や射出中のガラス管の超音波振動による固有振動モードを用いることで微小な刺激に応答するインテリジェントマイクロビーズを生成した。具体的には、遠心分離により高速で射出中のプレゲル溶液にUV照射して塩化カルシウム水溶液に投射することで、光重合とイオン架橋を同時に引き起こし、コアシェル構造のマイクロビーズを一度に生成することに成功した。また、ガラス管を積層型振動子に設置して遠心分離中に超音波を印加することで、これまでと比較して極小のマイクロビーズを生成できることを確かめた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生成したマイクロビーズは、生体内で薬剤をモニタリングすることや徐放することに用いられるドラッグデリバリーシステム（DDS）に応用することができる。また、本研究で用いた遠心駆動システムによる生成方法は従来のOil/Waterエマルジョン法と比較して極めて少ないサンプルで生成できる特徴を有している。そのため、貴重なサンプルである生体高分子などを用いた治療・研究への応用など医療の最先端の幅広い治療と研究に応用することが可能である。

研究成果の概要（英文）：In this study, we developed a power supply system for centrifugation and generated intelligent microbeads, which respond to minute stimuli, by using UV irradiation during centrifugation and the resonance mode of ultrasonic vibration of the glass tube during injection. The pregel solution, which was being ejected at high speed by centrifugation, was irradiated with UV light and ejected into an aqueous calcium chloride solution to induce photopolymerization and ionic crosslinking at the same time, resulting in the synthesis of microbeads with a core-shell structure. The microbeads with a core-shell structure were produced simultaneously by photopolymerization and ionic crosslinking. The microbeads were also synthesized by applying ultrasonic vibration during centrifugation using a glass tube mounted on a multilayered ultrasonic transducer.

研究分野：バイオメカトロニクス

キーワード：超音波 アルル マイクロ加工 ハイドロゲル アルギン酸 NIPAM インテリジェントデバイス 応答性マテリアル

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

マイクロゲルビーズは、DDSをはじめとした体内で活躍するインテリジェントデバイスとして注目を集めている。従来、マイクロゲルビーズはマイクロ流路中に油液を流して種々の重合方法により生成していた。このため、さまざまな機能を持ったポリマを生成することができるが、プロセスが複雑であるため生成に時間がかかることや、少量のサンプルを生成すること、体内で使用するために生成するビーズの微小化が困難であるといった課題が生じていた。

一方で、遠心分離機を用いたマイクロゲルビーズの生成方法は、少量のサンプルで高速に生成できることから、細胞やその他生物物質を封入した DDS の生成に期待されている^[1]。この方法では、アルギン酸ナトリウムを塩化カルシウムの溶液中に投射してマイクロゲルビーズを形成する。このため、コラーゲンなどの分子量の大きい高分子はアルギン酸カルシウムの網目に捕捉されゲル化する。一方で、遠心分離後に UV 照射して光重合させると、分子量の小さいモノマは硬化前にアルギン酸カルシウムの網目から抜け出してゲル化できない。すなわち、現状の方法ではモノマからマイクロゲルビーズを生成することができない。加えて、遠心分離によるマイクロビーズの形成では、スケール効果が支配的となりガラス管先端の表面張力や粘性の影響により、50 μm よりも小さなビーズを生成することは困難であった。このため、本研究では DDS への応用を見据えた遠心分離による生成法を用いて機能性を有した 20 μm ほどの微小マイクロゲルビーズを生成する。

2. 研究の目的

以上の背景を鑑みて、本研究の目的は、(i) モノマを用いたインテリジェントマイクロゲルビーズを遠心分離法のような高速生成で生み出すことができるか、(ii) ガラス管の固有振動モードを用いて微小なマイクロゲルビーズを生成できるかを確かめた。

3. 研究の方法

本実験では、モノマを用いたインテリジェントマイクロビーズを生成するために、アクリル系モノマの 1 つで温度応答性を有しているイソプロピルアミド (NIPAM) に架橋剤としてメチレンビス、光重合開始剤として Irgacure をアルギン酸ナトリウムに混合し、アクリル系モノマの光重合とアルギン酸のイオン架橋を同時に行った。具体的には、遠心分離機にスリップリングを搭載 (図 1) した装置を構築して、給電することで遠心分離中に UV 照射できる装置を製作した。これを用いてプレゲル溶液に UV 照射することで、NIPAM を重合して刺激応答性ゲルの生成を試みた。その際、50 mL 遠沈管には、3D プリンタで製作した治具に UV-LED を取り付け、中心にマイクロチューブを配置した。マイクロチューブの中には、先端を直径 100 μm まで引き延ばしたガラス管を UV 保護治具に設置して、プレゲル溶液を CaCl_2 溶液に射出しながら UV を照射した (図 2A)。

また、貫通穴を有した黄銅の円盤板と圧電素子を積層して圧着することで、積層型振動子を製作し、ガラス管を挟み込むことができる形を構築した。これ

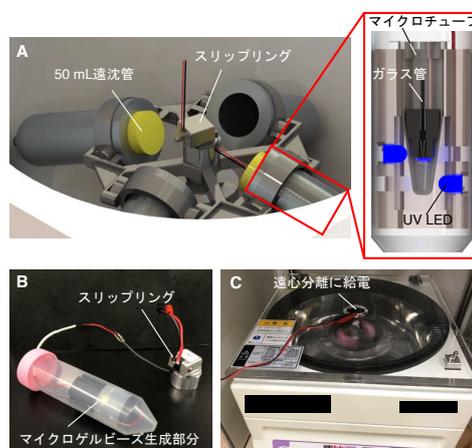


図 1 遠心分離と UV 照射によるマイクロゲルビーズ生成装置。(A) スリップリング搭載遠心デバイス、(B) マイクロチューブへの接続、(C) 遠心分離中の給電。

を 50 mL チューブ内に配置して、遠心分離機内で高速で回転させながら、共振点で超音波振動させることで、ガラス管に超音波振動を付与しながら、先端を直径 20 μm まで引き伸ばしたガラス管を UV 保護治具に設置して、アルギン酸ナトリウムのプレゲル溶液を CaCl_2 に射出した。

4. 研究成果

生成したマイクロビーズは相分離を引き起こして、コアシェル構造を形成した(図 2B,C)。各高分子を染色して観察すると、コアシェル構造は中心部に NPAM とアルギン酸で構成されており、シェル部分はアルギン酸のみで構成されていることが明らかとなった(図 2D)。また、熱を食らえることで、繰り返し収縮することも確かめた(図 2E)。このマイクロビーズをヤスス構造の生成できる θ 型ガラス管と組み合わせることで、2 種類の機能を搭載したアルギン酸のシェルを有するマイクロビーズを生成することができた。

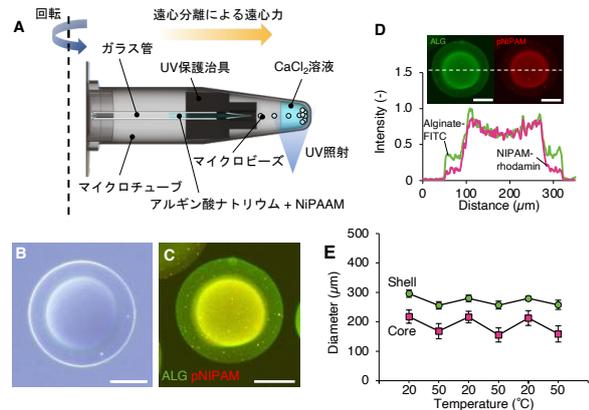


図 2 生成した水ゲルマイクロビーズ。(A) マイクロビーズの生成装置、(B,C,D) 生成した NIPAM とアルギン酸のコアシェル構造水ゲルマイクロビーズ、(E) 生成したマイクロビーズの温度応答性。

具体的には、グルコース濃度に応答して蛍光色の変化する部分(青)と NIPAM を主材とした薬剤放出する部分(赤)、これらを被覆するアルギン酸シェル(緑)の 3 層構造を生成した(図 3A)。このマイクロビーズを用いて、生体組織に埋入してグルコースのセンシングと薬剤(蛍光粒子)の徐放実験を行った。その結果、グルコース濃度の検知と蛍光粒子の徐放を確認できた。これらの結果を論文[2]で発表した。

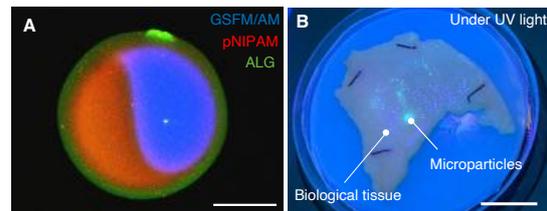


図 3 インテリジェントマイクロビーズ。(A) グルコースセンサと薬剤徐放を兼ね備えたマイクロビーズ、(B) 生体組織を用いたデモンストレーション。

また、マイクロビーズを生成する際に、治具に超音波を照射してマイクロビーズを生成すると、20 μm ほどの通常はプレゲル溶液を射出できないガラス管先端の条件で、プレゲル溶液を射出できることが明らかとなった。また、マイクロビーズは粒径が 1~50 μm ほどの大きさものを生成することができた。しかし、生成したマイクロビーズは粒径がまばらであり、粒径は小さくなったものの、これまでのような単分散したマイクロビーズは生成できなかった。今後の改善点として、印加する振動のタイミングと遠心力の大きさをさらに検討することで、生成したマイクロビーズの粒径を制御することを目標とする。

<引用文献>

- [1] Mio Tsuchiya, Yuta Kurashina, Hiroaki Onoe, “Eye-recognizable and repeatable biochemical flexible sensors using low angle-dependent photonic colloidal crystal hydrogel microbeads,” *Scientific Reports*, vol. 9, pp. 17059, 2019.
- [2] Yuta Kurashina, Mio Tsuchiya, Atsushi Sakai, Tomoki Maeda, Yun Jung Heo, Filippo Rossi, Nakwon Choi, Miho Yanagisawa, Hiroaki Onoe, “Simultaneous crosslinking induces macroscopically phase-separated microgel from a homogeneous mixture of multiple polymers,” *Applied Materials Today*, vol. 22, 100937, 2021.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tsuchiya Mio, Kurashina Yuta, Onoe Hiroaki	4. 巻 9
2. 論文標題 Eye-recognizable and repeatable biochemical flexible sensors using low angle-dependent photonic colloidal crystal hydrogel microbeads	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17059
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-53499-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kurashina Yuta, Tsuchiya Mio, Sakai Atsushi, Maeda Tomoki, Heo Yun Jung, Rossi Filippo, Choi Nakwon, Yanagisawa Miho, Onoe Hiroaki	4. 巻 22
2. 論文標題 Simultaneous crosslinking induces macroscopically phase-separated microgel from a homogeneous mixture of multiple polymers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Applied Materials Today	6. 最初と最後の頁 100937 ~ 100937
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.apmt.2021.100937	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 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Mio Tsuchiya, Yuta Kurashina, Yun Jung Heo, Hiroaki Onoe
2. 発表標題 One-step fabrication of multi-functional core-shell Janus hydrogel microparticles for theranostics application
3. 学会等名 The 33rd IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuta Kurashina, Mio Tsuchiya, Keitaro Kasahara, and Hiroaki Onoe
2. 発表標題 Phase-separated core-shell hydrogel microbeads from homogeneous mixed polymer solution by simultaneous gelation
3. 学会等名 The 23rd International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 倉科佑太, 土谷澗, 笠原啓太郎, 尾上弘晃
2. 発表標題 UV照射搭載型遠心分離機によるコアシェル構造ハイドロゲルマイクロビーズの生成
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第39回研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 倉科佑太, 土谷澗, 笠原啓太郎, 尾上弘晃
2. 発表標題 自己生成型コアシェルビーズを用いたドラッグリリース
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第40回研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

倉科佑太の研究紹介 http://www.kitamoto.iem.titech.ac.jp/members/kurashina.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			
イタリア	Giulio Natta			
韓国	Kyung Hee University	KIST	Korea University	他2機関