

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20350110

研究課題名(和文) 環境対応型光アクチュエータゲルの開発とシステム化

研究課題名(英文) Development and Systemization of Environment-Compatible and Photo-Actuatable Hydrogels

研究代表者

須丸 公雄 (SUMARU KIMIO)

独立行政法人産業技術総合研究所・幹細胞工学研究センター・主任研究員

研究者番号：40344436

研究成果の概要(和文)：

光応答収縮を示すゲルシートを用いてマイクロ流体システムを構成、10個のバルブの独立制御や流体の混合制御を光照射によって自在に行えることを示した。また、従来1時間以上を要した光誘起収縮からの復帰を約10倍高速化した材料を開発、微小物体運搬の光制御への応用を実証した。さらに、可視応答型光酸発生残基を導入したゲルを開発、パターン光照射での流路書き込み、任意のpHで使用が可能なマイクロチップを試作した。

研究成果の概要(英文)：

We developed microfluidic systems composed of photo-shrinkable hydrogel sheets, and demonstrated independent control of 10 microvalves and on-demand control of fluid mixing. Also we developed a photo-responsive hydrogel which returns from photo-induced shrinking state to the stable swollen state about 10 times faster than existing ones requiring more than 1 hour, and demonstrated photo-controllable micro-manipulation of small object on the hydrogel sheet. Further we developed a hydrogel functionalized with photo-acid-generating groups, and fabricated a photo-writable microfluidic chip which can be used in wide pH conditions.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2009年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
年度			
年度			
総計	11,600,000	3,480,000	15,080,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：材料化学・高分子・繊維材料

キーワード：ゲル

1. 研究開始当初の背景

ポリマー物性、特にポリマーゲルの膨潤収縮の光制御は、マイクロ化学システムや細胞操作技術など様々な応用分野が想定される重要課題として、フォトクロミズム研究における先進国である我が国を中心に、これまで様々な研究が行われていた。この分野の先駆的研究としてIrieらは、ロイコ色素で修飾したハイドロゲルの体積が、光照射によって3倍以上増加、暗所下で放置することにより、元の大きさに戻ることが報告した (Irie et al. *Macromolecules*, **19**, 2476 (1986))。ゲルの膨潤・収縮は、共に1時間以上かかるかなり遅いプロセスであるが、光照射の刺激を材料の体積に変換できることが初めて示され、刺激応答性ポリマー材料に関するその後の研究に多大な影響を与えた。また、このハイドロゲルに光応答残基として組み込まれたロイコ色素は、その光反応には波長300nm以下の高エネルギーの紫外光を必要とし、副反応による劣化が著しいという問題もあった。その後、光-熱変換に基づく原理で、ゲルの収縮を光で誘起できることがSuzukiらによって示されたが (Suzuki et al. *Nature* **346**, 345 (1990))、本質的に熱拡散の影響は避けられず、 μm スケールの光制御にこの方法をそのまま応用することは困難であった。

こうした状況において申請者は、所定の構造を有するスピロピランを側鎖に導入したアクリルアミド系ポリマーが、酸性水溶液中での青色光照射によって、顕著な脱水和とプロトン解離を示すことを見いだした。さらにこのようなポリマーからなるハイドロゲルを調製、酸性水溶液中で膨潤させた状態のゲルに20°Cから30°Cの温度範囲で青色光を照射すると、元の体積の30%にまで素早く収縮すること、その後暗所下で放置すると徐々に元の状態に戻り、同様の光応答収縮を繰り返し行えることを確認した。また、所定のパターンに沿って数秒間光照射することにより、 μm スケールの微小なレリーフ形状を、このゲルの表面に即時形成できることを示した (Szilagyi et al. *Chem. Mater.* **19**, 2730 (2007))。このように素早く顕著で可逆的な光応答性を示すハイドロゲル (光アクチュエータゲル) は、光で自在に制御できるウェットでソフトな新規マイクロシステムを構築する上で、有用なキーマテリアルとなることが期待された。

そこで申請者は、上記の光アクチュエータゲルを組み込んだ様々なマイクロ流体システムを試作し、極めて自由度の高い流体

制御の原理を実証した。

光アクチュエータゲルを組み込んだマイクロ流体システムについて、いくつかの駆動スキームがこうして実証されたことを受け、タンパク質やDNAの分析、細胞のハンドリングなど、特にバイオ分野での応用に関して、様々な具体的な用途が挙がるに至った。しかしながら、申請者によって流体の自在制御を行えることが確認されている光アクチュエータゲルはいずれも、pH3.5以下の酸性水溶液中でのみ光応答を示し、中性域で駆動できないこと、光応答収縮状態からの膨潤 (戻り) が非常に遅い (~1時間) という問題があり、現在想定されているバイオ用途で使用する上で克服すべき課題となっていた。

2. 研究の目的

本研究では、バイオ系への適用が可能な光制御マイクロ流体システムの実現を目指し、生細胞がviabilityを保持し、タンパク質が活性を維持する中性水溶液中において、光駆動することが可能な新規光アクチュエータゲルの開発、およびそれを制御システムに組み込む技術の確立を目指した。具体的には、(1) 中性あるいはそれに近い環境中で、可視光照射によって収縮、暗所放置によって比較的早く (数分以内) 元の状態に戻るハイドロゲルの構造、(2) 光アクチュエータゲルを用いた新規光応答性マイクロ流路チップの構成および操作条件、を明らかにすることを目標とした。

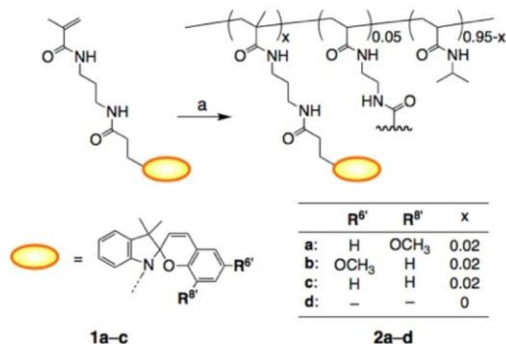
3. 研究の方法

(1) 中性環境中で高速駆動可能な光応答性ハイドロゲルの開発

6'-ニトロ、8'-ニトロ、6'-メトキシ、8'-メトキシ、無置換の計5通りの置換基を有するスピロピランのアクリルアミドモノマーを合成した。そして、まずは主鎖からの干渉が少ないジメチルアクリルアミドとの共重合体の合成を行い、それらについて酸性条件における光異性化のダイナミクスを解析した。

また、6'-メトキシ、8'-メトキシ、無置換条件の色素を側鎖に有するポリN-イソプロピルアクリルアミド (pNIPAAm) (図1) からなるゲルシートを合成、微小パターン照射によるマイクロレリーフ形成能を評価した。そして、微小パターン光照射システムを用い、光収縮状態からの戻り反応が早いシートを光で逐次局所収縮させることによって、その上におかれたガラスビー

ズを、任意の方向に運搬する検討を行った。さらに、これらのゲルからなるロッド状材料を調製、酸性水溶液中で一方の側面から断続的に光照射を行い、その屈曲応答によって、光駆動ソフトアクチュエータとして特性を評価した。



a) NIPAAm, MBAAm, APS-TEMED, 1,4-dioxane-water (4:1 v/v), r.t., 1 h.

図1 異なる置換基を有するスピロピラン修飾pNIPAAmゲルの構造

一方、光応答性は不可逆となるが、光照射のみによって収縮度が変化、細胞培養環境を含む広いpH、イオン強度の範囲でその状態を維持する新たな光応答ゲルの構成要素として光酸発生 (PAG) 残基を検討、可視光応答性PAG残基を側鎖に有するpNIPAAmでゲルシートを合成した (図2)。それに対し様々な条件で光照射を行い、膨潤状態への影響を解析した。

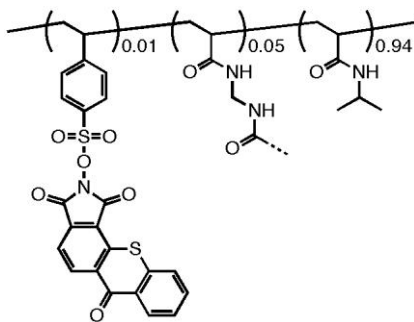


図2 可視光応答性PAG残基を側鎖に有するpNIPAAmゲルの構造

(2) 光アクチュエータゲルを用いた新規光応答性マイクロ流路チップの開発

PDMS流路チップと微小な貫通孔を備えたガラス板と光アクチュエータゲルシートを順に積層することにより、1cm角の領域に10個の光応答性マイクロバルブを集積したマイクロ流路チップを試作、局所的な青色光照射によるマイクロバルブの独立制御を検討した。

また光応答性ゲルシートからなる光マイクロ流体制御システムについては、ミキサー構造を有する流路表面に光誘起マイクロレリーフ形成技術を用いて、凹凸構造を即時形成することで、層流を乱して混合を促進するメカニズムについて検討した。

さらに、広いpH条件での使用が可能なマイクロ流路チップへの応用検討として、可視光応答性PAG残基を側鎖に有するpNIPAAmゲルシートの片面をガラス基板に固定、その上に所定のギャップを介して、開口を有するガラス板を配置し、水による膨潤後に光照射パターンに沿った流路が形成できる条件を探索した。

4. 研究成果

(1) 中性環境中で高速駆動可能な光応答性ハイドロゲルの開発

ポリジメチルアクリルアミドとしたポリマーについて、酸性水溶液中での物性解析を行った結果、8'-メトキシ置換スピロピランが、これまでの無置換のものに比べ、30°Cで約5分と一桁早い戻り速度有することが明らかになった。水溶液中のスピロピランの異性化特性に及ぼす置換基の効果を初めて詳細に明らかにしたこの成果は、Physical Chemistry and Chemical Physics誌 (IF=4.12) に掲載された。

この構造のスピロピランで修飾したpNIPAAmゲルを用いて、酸性水溶液中での、ロッド状のゲルが側面からの光照射に応答して素早く屈曲、数分の間に復旧する光駆動ソフトアクチュエータとして動作することを確認した。さらに、シート状に調製したこのゲルが局所光照射に応じて凹み、その後復旧し、逐次位置をずらしつつゲルを局所収縮させることによって、その上におかれたガラスビーズを任意の方向に運搬、小物体の運搬を光で自在に制御可能なマイクロコンベヤーとして機能することを実証した (図3)。スピロピラン修飾ハイドロゲルの光応答収縮および緩和に対する置換基の効果、および高速戻りを示すゲルの応用検討に関するこれらの成果は、Soft Matter誌 (IF=4.90) に掲載が受理された。

一方、短・中期的に動物細胞の培養が可能な、pH6の条件で検討した結果、この構造のスピロピランで修飾したpNIPAAmゲルのみ光応答収縮性を示すことが明らかになったが、得られた光応答収縮性は、10%以下と小さく、その後の検討においても、pH6で実用上必要な10%を超える十分な光応答を示すスピロピランゲルの構造を特定するには

至らず、新たな光応答性残基の設計・開発の必要性が示唆された。

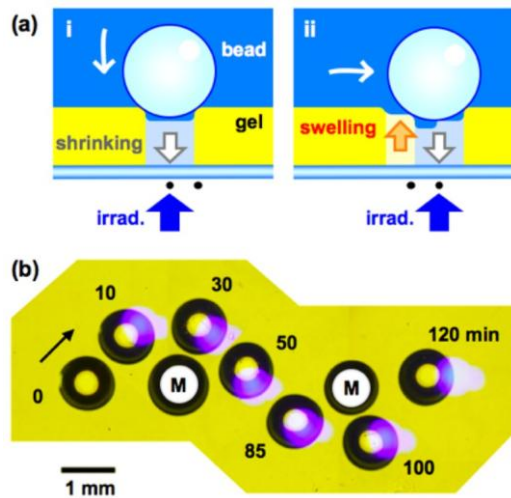


図3 ゲルシートの光局所収縮に基づくガラスビーズの運搬

そこで、光応答性は不可逆ながら、光照射によって膨潤状態が変化を、細胞培養環境を含む広いpH、イオン強度の範囲で維持することを期待し、可視光応答性PAG残基を側鎖に有するpNIPAAmゲルを調製、様々な条件で光照射を行った結果、乾燥状態での光照射によって膨潤度が抑制されることが明らかになった。さらに、シート状の材料に乾燥状態で微小パターン照射を行い、その後水に膨潤させて表面を観察したところ、照射域の膨潤度が他に比べて低く抑制され凹凸レリーフ構造が形成されること、その状態が中性条件でも安定に保持されることが確認された。

(2) 光アクチュエータゲルを用いた新規光応答性マイクロ流路チップの開発

PDMS流路チップとの組み合わせで構成した光応答性バルブアレイについて、微小パターン照射によって、10個のマイクロバルブ全てを独立に制御できることが実証された(図4)。この成果は、Lab on Chip誌(IF=5.821)に掲載され、09年1月のアクセスランキング4位となった他、高分子学会誌や化学工学会誌においても解説記事が掲載された。

また光応答性ゲルシートからなるマイクロ流体制御システムを用いた流体の混合制御については、ミキサー構造を有する流路表面に光誘起マイクロレリーフ形成技術を用いて、凹凸構造を即時形成すると実際に層流が乱れることが観察され、物質移動経路のみならず、混合状態をオンデマンドに

光制御できることが実証された。

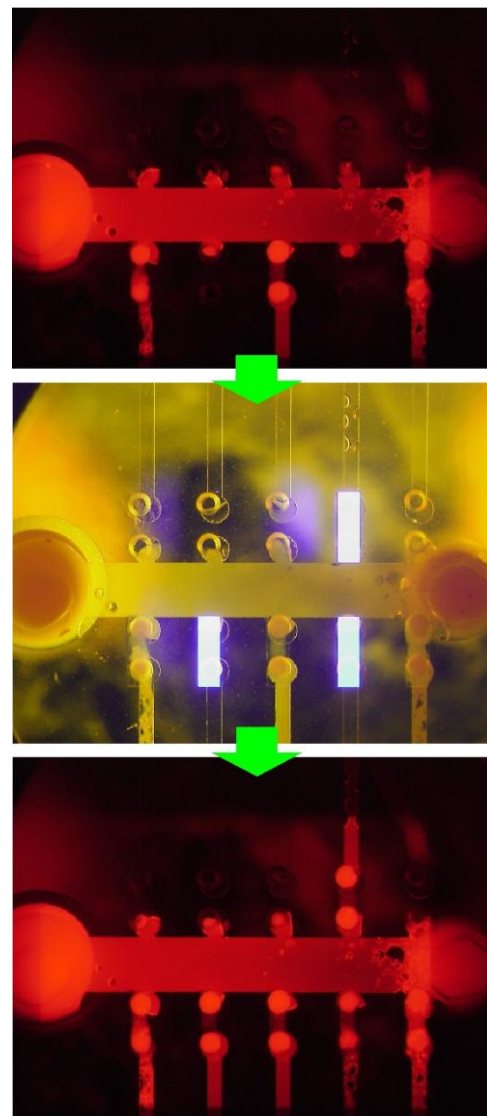


図4 光局所照射によるマイクロバルブアレイの独立制御

さらに、可視光応答性PAG残基を側鎖に有するpNIPAAmゲルシートを用いた光誘起流路形成においては、乾燥状態で所定の流路パターンに沿って波長436nmの青色光照射を行い、開口から水を注入したところ、非照射域ではゲルが上のガラス面に達するまで膨潤した一方で照射域では空間が残り、開口部から注入したラテックス分散液が、こうして形成された流路に沿って導かれることが確認された。これにより、直前のパターン光照射と水の注入のみで、任意の流路構造を即席で形成できるマイクロバイオチップが、このゲル材料を用いて構成できることが実証された(図5)。

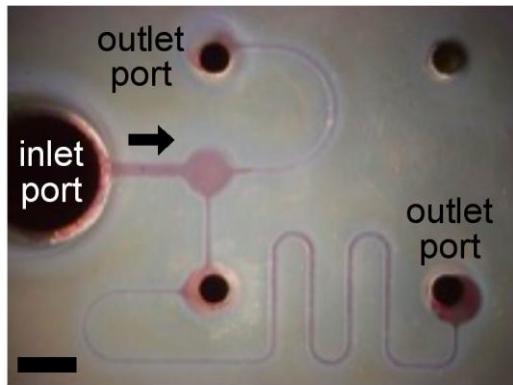


図5 直前のパターン照射と水の注入によって流路構造が即席で形成されたマイクロバイオチップ

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

- ① Taku Satoh, Kimio Sumaru, Toshiyuki Takagi, Toshiyuki Kanamori, Fast-reversible light-driven hydrogels consisting of spirobenzopyran-functionalized poly(*N*-isopropylacrylamide), *Soft Matter*, 査読有, in press, 2011
- ② Taku Satoh, Kimio Sumaru, Toshiyuki Takagi, Katsuki Takai, Toshiyuki Kanamori, Isomerization of spirobenzopyrans bearing electron-donating and electron-withdrawing groups in acidic aqueous solutions, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 査読有, 2011, 13 (7322-7329)
- ③ 須丸 公雄, 光応答収縮ゲルシートを用いたマイクロ流体制御システム, *高分子*, 査読無, 2010 (9月号), 59 (718-719)
- ④ 須丸 公雄, 杉浦 慎治, 高木 俊之, 金森 敏幸, 光応答収縮ゲルによるマイクロ流路のオンデマンド光制御, *化学工学*, 査読無, 2010 (7月号), 74 (332)
- ⑤ Shinji Sugiura, Andras Szilagyi, Kimio Sumaru, Koji Hattori, Toshiyuki Takagi, Genoveva Filipcsei, Miklos Zrinyi, Toshiyuki Kanamori, On-demand microfluidic control by micropatterned light irradiation of a photoresponsive hydrogel sheet, *Lab Chip*, 査読有, 2009, 9 (196-198)

[学会発表] (計21件)

- ① Spiropyran-Functionalized Hydrogels as Photo-Responsive Mechanical Actuators, Kimio Sumaru, Szilagyi Andras, Taku Satoh, Shinji Sugiura, Toshiyuki Takagi, Koji Hattori, Toshiyuki Kanamori, 6th International Symposium on Organic Photochromism, 2010/10/20, Yokohama
- ② Substitution Effect on Isomerization of Spiropyran in Acidic Aqueous System, Taku Satoh, Kimio Sumaru, Toshiyuki Takagi, Katsuki Takai, Toshiyuki Kanamori, 6th International Symposium on Organic Photochromism, 2010/10/20, Yokohama
- ③ On-demand control of microfluidic system using photoresponsive hydrogel sheet, Kimio Sumaru, Shinji Sugiura, Szilagyi Andras, Toshiyuki Takagi, Toshiyuki Kanamori, GelSympo2009, 2009/12/04, Suita
- ④ Photo-response of pNIPAAm hydrogel functionalized with differently substituted spirobenzopyran derivatives, Taku Satoh, Kimio Sumaru, Toshiyuki Takagi, Katsuki Takai, Toshiyuki Kanamori, GelSympo2009, 2009/12/03, Suita
- ⑤ スピロピラン修飾ハイドロゲルの光応答特性およびマイクロシステムのオンデマンド光制御への応用 (招待講演), 須丸 公雄, 高分子材料研究会, 2009/11/27, 東広島市

[図書] (計3件)

- ① 須丸 公雄, 高木 俊之, 杉浦 慎治, 金森 敏幸, "光駆動ゲルアクチュエータ", 未来を動かすソフトアクチュエータ-高分子・生体材料を中心とした研究開発-, (株)シーエムシー出版, 2010 (27-33)
- ② 須丸 公雄, 杉浦 慎治, 高木 俊之, 金森 敏幸, "光応答収縮ゲルによるバイオチップの光制御", 食品・化粧品・医療分野へのゲルの利用, (株)シーエムシー出版, 2010 (206-210)
- ③ 須丸 公雄, 杉浦 慎治, 金森 敏幸, "光応答性ポリマー材料を用いたマイクロバイオチップの自在制御", ヘルスケアとバイオ医療のための先端デバイス機器, (株)シーエムシー出版, 2009 (176-188)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

須丸 公雄 (SUMARU KIMIO)

独立行政法人産業技術総合研究所・幹細胞工

学研究センター・主任研究員

研究者番号：40344436

(2)研究分担者

高木 俊之 (TAKAGI TOSHIYUKI)

独立行政法人産業技術総合研究所・幹細胞工
学研究センター・主任研究員

研究者番号：10248065

杉浦 慎治 (SUGIURA SHINJI)

独立行政法人産業技術総合研究所・幹細胞工
学研究センター・主任研究員

研究者番号：10399496

(3)連携研究者

()

研究者番号：