

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008年度～2009年度

課題番号：20710088

研究課題名（和文）ベシクル表面への機能性ナノ物質の面内複合集積化

研究課題名（英文） In-plane complex assembling of functional nanomaterials on vesicular surfaces

研究代表者 橋詰 峰雄

（東京理科大学・工学部第一部・講師）

研究者番号：40333330

研究成果の概要（和文）：ナノテクノロジーの要素技術として、金属、合金、生体セラミックスなどからなる複数種のナノ物質を構造安定な人工細胞膜や高分子膜表面に位置選択的に複合集積化する新手法の開発を目指して検討を行った。その結果、目的とする複合構造体を構築するにあたっての、種々の溶液法によるナノ物質作製法の適用可能性、およびナノ物質を人工細胞膜や高分子膜に固定化するためのリンカー部位の選択などに関しての有用な知見が得られた。

研究成果の概要（英文）：Development of novel methods for site-selective immobilization of various nanomaterials such as those made of metals, alloys, and bioceramics, on the surfaces of morphologically-stable vesicles or polymer substrates, were investigated. Results of this research bring us the useful guidelines for fabrication of desired composite materials, such as applicability of various wet processes for preparation of the nanomaterials, and selection of the linker molecules that immobilize the nanomaterials to the surfaces.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学・ナノ材料・ナノバイオサイエンス

キーワード：ナノ材料創製，ナノハイブリッド

1. 研究開始当初の背景

金属や半導体のナノ粒子は、量子サイズ効果によりバルク状態と比較して特異な特徴を示すことから注目されており、その特性の解明と材料への応用を目指して世界的に

様々な研究が行われている。近年ではそれら粒子を溶液中で集積させたり、基材表面に精密に配置することで新たな物性を引き出すことを目指したり、粒子の特性を付与した新材料の開発を目指す研究も数多く展開され始めている。それら固定化の基材として、シ

リコンやガラスなどの固体基板のみならず、ゲルや生体分子などのソフトマテリアルにも注目が集まっている。しかしながら、それらソフトマテリアルは無機固体基板に比べて温度やpH、大気中での安定性などの外部因子によりその構造特性が変化してしまうことが多く、ナノ粒子の修飾においては主に温和な条件でのウェットプロセスが用いられている。

ソフトマテリアルのナノ複合材料の担体としての利用を考えたとき、脂質二分子膜ベシクルは興味深い素材である。なぜならベシクルは脂質の水中での自己集合能を利用して、数十nm～ μm サイズまで様々なサイズのものを作製することができ、また複数の脂質から混合ベシクルを調製することでベシクルに様々な表面特性や機能を付与することも可能である。さらにゲル-液晶相転移など、動的な特性も保持している。しかしながらこれまでベシクルは生体膜モデルとしての利用以外で、ナノ材料への応用が微粒子系に比べて大きく遅れていた。第一の原因はその構造の不安定さが挙げられる。溶液のpHや塩強度を大きく変化させる、あるいは大気中に取り出す、などの操作により通常のベシクルはその構造を保持できないからである。

申請者は申請当時、所属講座で開発された有機-無機ハイブリッドベシクル「セラソーム」の機能化に関する研究を進めていた。セラソームは脂質二分子膜ベシクルの表層を原子厚みのシロキサン骨格が覆った形状であり、従来のベシクルと比較して極めて高い形態安定性を示す。例えばセラソームは界面活性剤の存在下でもその形態を保持するだけでなく、ベシクルの特性の一つであるゲル-液晶相転移も示す。またベシクル形態を維持したまま溶液中や固体基板上で三次元的な集積構造を構築することが可能である。さらに表層のシロキサン骨格の化学的性質を利用して、シリカやチタニア、アパタイトなどの機能性ナノ材料のセラソーム表層への直接固定化にも成功し、直近では無電解めっきにより数十nmの厚みの金属層で被覆されたセラソームの作製にも成功した。それら表面修飾セラソームの作製プロセスにおいても、セラソームの高い構造安定性が重要であることが示されている。

申請者はこのような特性を持つセラソームが、金属や半導体などからなるナノ材料の複合集積化の足場(Scaffold)として有用であり、また得られる複合体も新規ナノ複合材料として高い有用性を持つと強く感じ、本研究を立案した。

2. 研究の目的

上記研究背景に基づき、本研究ではセラソ

ーム表面に種々の金属や半導体、金属酸化物のナノ物質を自在に複合集積化するための手法を開発することを目指した。本研究計画の概要を図1に示す。より具体的には、(1)無電解めっきを利用したセラソーム表面への金属ナノ粒子の複合集積化、(2)無電解めっきとゾル-ゲル法を利用したセラソーム表面への複数種のナノ物質の複合集積化、(3)セラソーム-ナノ物質複合体の機能評価、という各項目に対して①シンプルな系でのコンセプトの具現化、②手法としての一般性の確認、③他の分子集積膜や高分子薄膜など、他の基材表面への応用の可能性、というステップを踏んで検討を進めていくこととした。

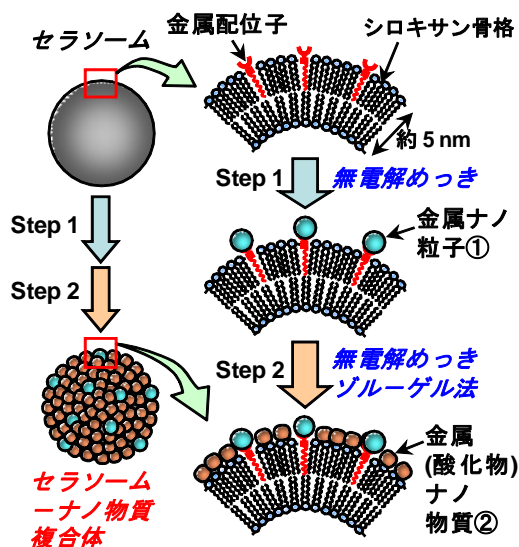


図1. 本研究の概要

3. 研究の方法

研究スタート時は上記目的に沿った研究計画を立てて検討を進めていたが、研究の進捗状況に応じて適切な修正を行い、最終的には以下のような方法で研究を行った。

(1)無電解めっきを利用したセラソーム表面への金属ナノ粒子の複合集積化

申請者は既に疎水化した金属配位子をセラソーム膜中に組み込むことで、めっき反応の触媒の素になる Pd^{2+} イオンをセラソーム表面に効率よく固定化し、引き続いての無電解めっき操作によりセラソーム表面にNiなどの金属層を数十nmの厚みで修飾することに成功していた。本研究ではその知見を活かし、セラソーム表面への被覆率を制御した金属ナノ粒子の固定化、および逐次的なプロセスによる複数種の金属ナノ粒子の固定化について検討することとした。無電解めっき操作は Pd^{2+} の固定化、 Pd^{2+} の還元、めっき反応、と多段階であるが、セラソームの高い構造安定

性により吸引ろ過により容易に溶液の交換が可能であり、迅速に操作を行うことができる。めっき反応の時間を短くし、膜中の配位子の混合率を大きく低下させることにより、セラソーム表面にめっき金属を数nmの粒子サイズで疎に固定化することを実現する(図1のStep 1)ことを目指した。Niめっきに続いて磁性合金など実用性の高い材料のめっきについて検討を行って本手法の一般性を示すこととした。

(2)他のウェットプロセスによるナノ物質複合法、および他の材料表面への適用可能性に関する評価

前年度の研究成果を基に、セラソーム表面に固定化するナノ物質としてゾル-ゲル反応による金属酸化物を用いた系についても検討を行った。申請者は表面ゾル-ゲル反応による金属超薄膜の作製に従事した経験をもち、またアルコキシドを用いたセラソーム表面へのシリカやチタニアの固定化についても成功しているため、それらの知見を活用した。

その他のウェットプロセスとして、申請者が以前より検討していた体液類似環境下からのアパタイト析出系についても改めて検討を行うこととした。アパタイト析出の実現には目的の材料表面に不均一核形成部位を導入する必要があり、それらリンカーとなる分子の適用可能性について検討を行った。リンカー分子としてペプチドを用いた際には、購入したポンプを組み込んだ HPLC 装置により合成したペプチドを精製した。

(3)セラソーム-ナノ物質複合体の機能評価

上記(1)、(2)により得られた種々のナノ物質が複合化したセラソームや高分子基板について、複合化したナノ物質に由来する機能が発現しているか、評価を行った。たとえば表面に磁性合金を複合化したセラソームについて、振動試料磁力計によりその磁性特定を調査し、また外部磁場によるマニピュレーションについて検討を行った。

上記の内容について、試料の作製において購入装置の超純水製造装置、凍結乾燥器を活用した。試料のキャラクタリゼーションには講座及び研究科所有の走査型電子顕微鏡、エネルギー分散 X 線分光装置、X 線構造解析装置、赤外分光装置などを用いた。平成 20 年度は(1)を、平成 21 年度は(2)を中心に研究を行い、一部については(3)についても評価を行った。

4. 研究成果

・研究の主な成果

(1)無電解めっきを利用したセラソーム表面への金属ナノ粒子の複合集積化

疎水化した金属配位子を構造安定なセラソームの膜中に組み込むことで、無電解めっきによりセラソーム表面に Ni や磁性合金、Ag などの金属層を数十 nm の厚みで修飾することに成功した。また配位子の密度やめっき時間を制御することで、これらナノサイズの金属や合金層をベシクル表面に部分的に析出可能であることも明らかにした。それらの成果は論文(5. 雑誌論文3)等で発表した。

(2)他のウェットプロセスによるナノ物質複合化、および他の材料表面への適用可能性に関する評価

無電解めっき法に加え、他のウェットプロセスによるナノ物質複合化の適用可能性について検討を開始した。しかしながら、これら研究の過程で金属層などの析出によりセラソームの分散性が低下するなど、コロイド分散系で研究を進める難しさが予想以上であることが明らかとなった。研究期間内に確実に研究を進展させるために、まずは足場としてベシクルよりもキャラクタリゼーションを行いやすい高分子薄膜を用いた系について、種々のナノ物質複合化の適用可能性を検証し、それらの知見をベシクル分散系にフィードバックすることとした。このことは、結果的に本研究で提案する概念をより一般的な事例で示すことになるという判断からでもあった。

ナノ物質複合法としてゾル-ゲル法による金属酸化物層複合化については、足場としてセラソーム以外に基板上に形成した色素の自己組織化膜やポリイミドフィルムを用いた系について検討を行った。その結果、試料作製条件を調整し、足場となる材料表面にカルボキシル基を制御して提示させることができれば、それが金属酸化物層の複合化の制御につながることを示唆する知見が得られた。それらの成果は学会等で発表した(5. 学会発表1,5など)。

また、複合化の手法として、申請者が以前取り組んでいた体液類似環境を利用したアパタイト析出系に再度注目し、セラソームにカルボキシルをもつ両親媒性分子を混合すると効率よくアパタイト析出が誘起できることを明らかにした研究をまとめ、論文として発表した(5. 雑誌論文2)。また複合化の足場として高分子薄膜を採用し、研究概念の一般性を示すことを目指した。種々検討を行った結果、無機物との複合化に有効な官能基をもたない高分子、たとえばポリスチレンの薄膜表面に対し、血清タンパク質の吸着層を利用することで擬似体液からのアパタイト析出を実現した(5. 雑誌論文1など)。さらにこの系を利用すると、ポリスチレン薄膜とポリメタクリル酸メチル薄膜との間でアパタイト析出挙動に明確な選択性を生み出すことが可能であった(5. 学会発表3など)。

また、表面に選択的な複合化を実現するためのリンカー分子についても検討を進め、アパタイトに結合することが知られているある種のペプチド分子を用いると体液類似環境からアパタイトが析出することがわかった(5. 学会発表 2,7 など)。このペプチドをビオチン化し、アビジン-ビオチン法により基板表面に固定化したところ、ペプチドが固定化された表面は擬似体液中からアパタイト析出を誘起し、複合界面を構築することに成功した。

(3)セラソーム-ナノ物質複合体の機能評価

一例として、磁性合金で被覆したセラソームは水を除去しても安定な形態を保ち、それにより振動試料磁力測定を行うことが可能となり、被覆した磁性合金層に特徴的な磁気特性を示すことが確認された。さらに、磁性合金被覆セラソームは水中において、容器の外から与えた外部磁場に対する応答性を示し、磁石によるマニピュレーションが可能であることがわかった(5. 雑誌論文 3)。

以上のような検討により、セラソームのような分子集合体からなる構造安定なベシクルや、高分子薄膜が形成する足場に対し、その二次元面内に金属、合金、金属酸化物、生体セラミックスなど種々のナノ物質を複合化するための種々の手法の特性や適用可能性が明らかとなり、将来的な面内複合集積化を実現するために有用な知見を得ることができた。

・得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

(1)で得られた磁性合金で被覆されたセラソームについては、近年脂質ベシクルの表層磁性ナノ粒子を固定化して外部磁場に応答するベシクルを作製するとい研究例は増加しているものの、本研究のように一般的にな無電解めっきプロセスをそのまま適用し、表面に磁性合金に限らず種々の金属あるいは合金層を nm レベルで制御して形成させるとい系は、セラソームの非常に高い形態安定性によって初めて実現可能となるものであり、その独自性は非常に高い。

また、(2)の種々の検討の中で、タンパク質吸着層を利用したポリスチレン表面へのアパタイト複合化法は、世界的に見てもこれまでに例のない独自性の高いものである。本手法は非常に簡便であり、タンパク質吸着能をもつ種々の汎用高分子にも適用でき、一般性も高いと期待される。またポリスチレンとポリメタクリル酸メチルとのタンパク質吸着性の違いを利用したアパタイト析出制御に関する結果は、両高分子のブレンド膜を用いれば、それらが形成する相分離構造に沿っ

たアパタイトの面内パターンニングが実現可能であることを強く支持している。これらのプロセスはリソグラフィーなど大型装置を一切使用せず、他のナノ物質の部位選択的な複合化にも応用可能であり、その意義は非常に大きい。

・今後の展望

本研究の成果を基盤としてさらに検討を進めることにより、当初の目的であった、セラソームの表面に複数のナノ物質をそれぞれ制御して複合化した構造体の作製が実現可能であると考えられる。その際に複数のナノ物質の制御された複合化がそれら構造体の機能に反映されるならば、本手法の価値をさらに高めることになるであろう。また一部実証したように、本研究で検討した種々のナノ物質複合化法はベシクル表面に限らずさまざまな材料表面に応用可能である。さらに適切なリンカー分子を導入する、相分離構造を利用する、などの工夫により、大型装置を必要とせずに種々の材料表面の二次元面内でナノ物質の複合化を実現できる、低コスト、環境低付加な手法としての将来性が期待される。

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) M. Hashizume, A. Sakai, Y. Sakamoto, H. Matsuno, and T. Serizawa. Facile Surface Functionalization of Polystyrene Substrates with Biomimetic Apatite by Utilizing Serum Proteins. *Chem. Lett.*, **39**(3), 220-222 (2010). 査読有.
- 2) M. Hashizume, H. Horii, J. Kikuchi, M. Kamitakahara, C. Ohtsuki, and M. Tanihara. Effects of surface carboxylic acid groups of cerasomes, morphologically stable vesicles having a silica surface, on biomimetic deposition of hydroxyapatite in body fluid conditions. *J. Mater. Sci. : Mater. Med.*, **21**(1), 11-19 (2010). 査読有.
- 3) D. Minamida, S. Okada, M. Hashizume, Y. Sasaki, J. Kikuchi, N. Hosohito, and T. Imori. Creation of magnetic cerasomes through electroless plating and their manipulation using external magnetic fields. *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, **48**(1-2), 95-101 (2008). 査読有.

[学会発表] (計 13 件)

- 1) 平出 拓也, 金属酸化物層形成過程における色素集積膜の構造評価, 日本化学会第90春季年会, 2010年3月29日, 近畿大学
- 2) 内田 祐樹, 擬似体液中における合成ペプチドによるミネラル化制御, 日本化学会第90春季年会, 2010年3月26日, 近畿大学
- 3) Mineo HASHIZUME, Serum Protein Layer-Mediated Biomimetic Apatite Deposition on Polystyrene Surfaces, 9th Asian BioCeramics Symposium (ABC2009), December 10, 2009, Nagoya, Japan
- 4) 橋詰 峰雄, 生体に学ぶ有機-無機ハイブリッドの開発とその応用, 第56回界面科学部会秋季セミナー, ホテル箱根アカデミー, 2009年10月30日, 箱根町
- 5) 橋詰 峰雄, ミネラル化プロセスにおける超分子足場の集合構造評価, 第62回コロイドおよび界面化学討論会, 2009年9月19日, 岡山理科大学
- 6) 橋詰 峰雄, 坂本 祐理, 酒井 篤, 川久保 秀春, ウェットプロセスを利用した汎用高分子の表面修飾およびアパタイトとの複合化, 第58回高分子討論会, 2009年9月18日, 熊本大学
- 7) 釜谷 則昭, 合成ペプチドによる擬似体液からのヒドロキシアパタイト析出, 日本化学会第89春季年会, 2009年3月28日, 日本大学

6. 研究組織

- (1) 研究代表者 橋詰 峰雄
(東京理科大学・工学部第一部・講師)
研究者番号: 40333330

- (2) 研究分担者
()

研究者番号:

- (3) 連携研究者
()

研究者番号: