

令和 6 年 5 月 14 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01999

研究課題名(和文)単一ゲル微粒子の強靱化に基づくマイクロ空間移動科学の構築

研究課題名(英文)Creation of tough soft microparticles and their application for microfluidics

研究代表者

鈴木 大介 (Suzuki, Daisuke)

信州大学・学術研究院繊維学系・准教授

研究者番号：90547019

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：生体内の血管はマイクロな流動場である。赤血球、白血球や血小板などが液体の中で高速で流動している。そのような場において、血球と同様に、自在な移動を可能とする新たな高分子微粒子(ハイドロゲル微粒子)の開発を行った。従来、トレードオフの関係にあった柔らかさと微粒子の耐久性を兼ね備えた新しいゲル微粒子を合成し、得られたゲル微粒子を顕微鏡法や散乱法などを駆使することによりナノ構造を明らかにしてきた。以上を通じ、血管のようなマイクロ流動場において、サイズや柔らかさを変化させた高分子微粒子を活用し、高速流動場における移動制御を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ゲルは溶媒中で膨潤し、柔らかく変形性を示す機能性ソフトマテリアルとして期待される一方、脆弱性が課題であった。そのような中、これまで、バルク体においてゲルの強靱化を試みた報告は多数なされてきているが、ナノスケールのゲル微粒子に対して本概念が適用されたことはなかった。本研究では、環と軸の分子構造を有するロタキサン分子を微粒子内に導入することで、ゲル本来の環境応答性や変形性、分散安定性を備えつつも、強靱性を示す微粒子の開発を目指した研究であり、世界に類を見ない研究である。ハイドロゲル微粒子を人工研究に応用する研究分野に拍車をかけ、医療材料としての可能性を高めることに繋がること期待される。

研究成果の概要(英文)：Blood vessels are microscopic flow fields, in which red blood cells, white blood cells, and platelets are flowing at high speed in a liquid. In this study, we developed new polymer microparticles (microgels) that can move freely like blood cells. Microgels that have their softness and durability have been synthesized by introducing rotaxane crosslinkers, and the nanostructures of the resulting microgels have been clarified by, for instance, microscopy and scattering. As a result, we could control the movement of microgels, with varying sizes and softness, in high-speed flow fields in microflow fields such as blood vessels.

研究分野：高分子微粒子

キーワード：ゲル微粒子 ナノゲル 高分子構造 高分子機能 高分子微粒子

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ゲル微粒子は、環境応答性や生体適合性を活かすことで、生体医療分野における応用が期待されていた。特に、ドラッグデリバリーシステム(DDS)においては、やわらかい微粒子が大変形しながら、微粒子自身よりも狭い細胞間隙(分枝部分)を移動するなど、やわらかいゲル微粒子の有効性が示唆されていた。

そのような中で、申請者は、固液界面への吸着が、界面でのゲル微粒子の大変形に支配される事や、階層性ナノコンポジット化によりゲル微粒子の変形性を精緻に制御する手法など、ゲル微粒子の変形性に注目した研究成果を報告してきた。

これまでの独自技術をさらに発展させることで、生体医療分野において活躍が期待できるゲル微粒子を開発できる可能性がある。数%の高分子と多量の水から成るゲル微粒子を、より柔らかくするには、粒子内の架橋点の数を減らせば達成可能である。しかしながら、架橋点が少なくなると微粒子の構造維持は困難となり、粒子形状が容易に崩れてしまう。一方、架橋点数を増やした場合、ゲル特有の柔らかさが損なわれる事に加え、架橋密度の不均一化が生じ、期待通りの耐久性は得られないと予想される。

そのため、材料化学や物理化学的な側面から、ゲル微粒子を生体医療分野においてより魅力的にするためには、背反する柔らかさと耐久性を兼ね備えた強靱なゲル微粒子を開発することが必要だと着想に至った。

### 2. 研究の目的

生体内の血管に類似したマイクロな流動場において、大きな変形を伴いながら移動制御可能な新規ハイドロゲル微粒子を開発する。従来、柔らかいゲル微粒子ほど脆いことが課題であり、流動場において柔らかさの有効性を発揮することは困難であった。そこで本研究では、背反する柔らかさと耐久性を兼ね備えた強靱なゲル微粒子を開発する。そして、各種顕微鏡法や散乱法等の活用により評価されたゲル微粒子の構造と力学特性の関係を調査し、最終的には、マイクロ流動場を、自在に移動できるゲル微粒子の実現を目指す。

### 3. 研究の方法

#### (1) ゲル微粒子の合成・精製

柔らかさを最大限維持した上で耐久性を付与するために、応力緩和効果を発揮しうるロタキサン架橋構造を有する架橋点をゲル微粒子に導入した。アクリルアミド誘導体等をゲルの主骨格として選択し、水などの溶媒にモノマーを溶解した。続いて、ロタキサン架橋剤を調整し、重合系内に添加し、ラジカル重合を開始することで目的のゲル微粒子の合成を行った。この時、ロタキサン架橋剤の添加方法に着目した。ロタキサン架橋剤の添加のタイミングを変える事で、最終的に得られるゲル微粒子の収量や構造にどのような影響を与えるのかを検討した。得られた微粒子を評価する前に、透析や遠心分離の操作を行うことによって、不純物等を除去した。

高速流動場のマイクロ空間における高分子微粒子の移動制御を行うために、サイズや柔らかさの異なるゲル微粒子も同様の方法で合成・精製を行うことで得た。

#### (2) 新規親水性ロタキサン架橋剤の合成

ハイドロゲル微粒子を合成する際に、基本的に重合溶媒としては水を用いることが通例である。しかし、現存するロタキサン架橋剤は水に溶けにくいという難点があった。また、仮にロタキサン架橋剤をハイドロゲル微粒子内に導入できたとしても、水中で機能を発揮するためには、ロタキサン架橋剤が親水的であることが望ましい。そこで新たに、ハイドロゲル微粒子に導入可能であり、水中で応力緩和効果を示しうる親水性ロタキサン架橋剤の合成を行った。片末端にアジド基を有する擬ロタキサンと末端にアルキンを有する水溶性 PEG 鎖を用い、クリック反応によって軸末端の封鎖と同時に、軸の伸長と親水化を行った。続いて、環と軸の結合サイトを除くことにより、構造が明確な架橋剤を得た。GPC や NMR などを併用し、目的分子が生成したことを確認した。

#### (3) ゲル微粒子の評価

上記で合成したゲル微粒子の評価を実施した。まず、電子顕微鏡などを始めとする顕微鏡法を活用することで、得られたゲル微粒子のサイズや形状が整っていることを確認した。続いて、動的光散乱法により流体力学的直径を算出した。更に、ゲル微粒子の分散安定性を議論する上で、やわらかい表面層を有する微粒子に適用される大島の式を活用し、実験によって得た電気泳動移動度を活用し、表面電荷密度とやわらかさパラメータを得た。

ゲル微粒子のナノ構造評価として、高速原子間力顕微鏡法を活用し、実時間可視化と力学計測を実施した。その他にも、放射光散乱を活用し、ゲル微粒子の内部ナノ構造の評価を実施した。また、MD 計算を活用することで、ロタキサン分子の環動ダイナミクスの検討を実施した。

#### (4) マイクロ流路中でのゲル微粒子の移動制御の検討

上記で作製・評価した一連のゲル微粒子を用い、人工的に血管を模したマイクロ流路を活用し、流動制御の検討を実施した。直線流動場や分岐路のある流動場を用い、流速や微粒子のサイズ、やわらかさを変化させ、微粒子が流路内を流動する位置や分岐路に侵入する条件などの検討を実施した。高速流動場での微粒子の観察には、高速カメラを顕微鏡にとりつけることで行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) ゲル微粒子の合成検討について

ゲル微粒子は水系沈殿重合法によって得ることができた。既存の方法を活用して、架橋度の異なるゲル微粒子を得たところ、コアの高分子密度が高く、シェルの高分子密度の低い、コアシェル様のゲル微粒子を得た。この際、架橋剤を用いずにゲル微粒子を合成したところ、物理架橋と副反応による結合により、粒子全体として架橋度の低い柔らかいゲル微粒子を得た。こうした微粒子を比較とし、ロタキサン架橋剤を導入したゲル微粒子を合成した。ロタキサン架橋剤の水溶性が低いため、重合系内に注入する際に希釈することで重合を進行させた。反応条件を精査することで、サイズの揃ったゲル微粒子を得ることができた (図1)。

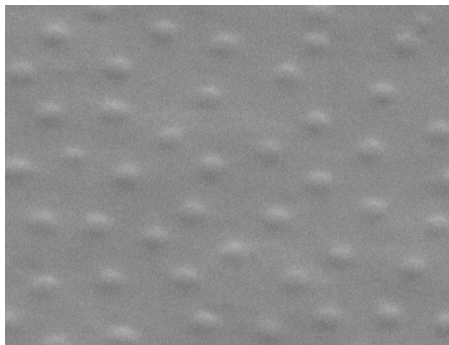


図1. 典型的なゲル微粒子の電子顕微鏡画像

##### (2) 新規水溶性ロタキサン架橋剤の合成

上記(1)で検討に用いたロタキサン架橋剤は水溶性に乏しいものであり、その上、擬ロタキサン構造であるため、環と軸の関係が明確ではなく、今後、さらに研究を発展させるために重要な構造と機能性についての指針を得ることが困難であった。そこで新たに、輪と軸の関係が明確な新規親水性ロタキサン架橋剤の合成を検討した。軸成分に柔軟なオリゴエチレングリコール鎖を有するクラウンエーテル型ロタキサン架橋剤を合成した。軸と輪にメタクリロイル基を導入したが、水に溶解するには至らなかった。クラウンエーテル型ロタキサン架橋剤の水溶性改善には、クラウンエーテルの疎水性の改善が必要であることが示唆された。一方、合成したロタキサン架橋剤を種々の親水性ビニルモノマーと共重合してヒドロゲルを作成したところ、得られたヒドロゲルは疎水的な架橋剤構造を含むにもかかわらず、化学架橋よりも良好な膨潤特性と力学特性を示した。親水的で柔軟な軸成分の導入によりヒドロゲル中における顕著なロタキサン架橋の効果がみられた。

##### (3) ゲル微粒子の界面動電現象の検討について

ゲル微粒子の分散安定性を定量的に評価するために、得られた電気泳動移動度に対して大島の式を活用し、解析を行った。この検討を行う前に、これまでの既報を調査したところ、ゲル微粒子に対して大島の式を適用し、表面電荷密度や、やわらかさパラメータを定量的に得ている論文は僅か数報しか存在しないことが分かった。更に、それらの論文に記載された実験数は限定的であることもわかった。そこで、ゲル微粒子の表面カルボキシ基量を変えた一連のゲル微粒子に対し、網羅的な検討によって、表面電荷密度や、やわらかさパラメータを温度に対してプロットし、温度応答性ゲル微粒子が形状を変化させるうえで、どのように各値が変化するかを調べた。ゲル微粒子の膨潤時には、表面カルボキシ基量が増えるにしたがって表面電荷密度および柔らかさパラメータも増加した。ゲル微粒子分散液を昇温し、ゲル微粒子を脱水とさせることで、表面電荷密度は増加したものの、やわらかさパラメータは減少した。やわらかさパラメータは電気浸透流の深さを示すものであり、温度変化に伴うゲル微粒子の形状変化から推測される挙動と、示す値の傾向が一致することが分かった (図2)。

更に、ゲル微粒子存在下において疎水性モノマーを用いたゲルシード乳化重合を実施すると、高分子電解質部位を避けて疎水性高分子が複合化する独自技術を活用し、ゲル微粒子の表面高分子電解質層を残した、硬質コア・ヒドロゲルシェル層を有するコアシェル構造を構築することがわかった。この微粒子に対して、高速原子間力顕微鏡を活用し、押し込み可能距離を計測したところ、おおよそ、距離の次元を有する柔らかさパラメータの値と一致した。すなわち、ゲル微粒子の分散安定性、特に本研究では、血管のような流動場における分散安定性を理解するためには、ゲル微粒子表面のナノスケールの電荷密度を検討することが有効であると示唆された (図

3)。

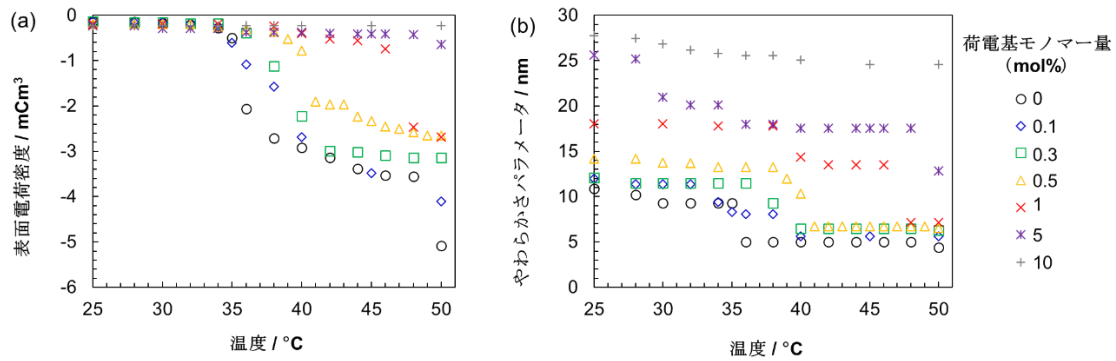


図2. 界面動電現象より得られたゲル微粒子の(a)表面電荷密度と(b)やわらかさパラメータ

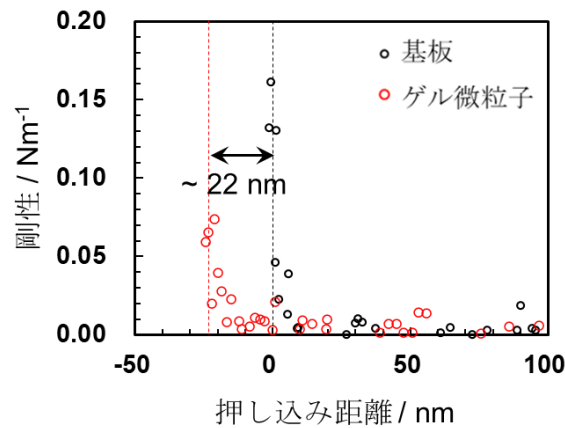


図3. 硬質コア・ハイドロゲルシェル微粒子表面の剛性-押し込み距離曲線

#### (4) 高速原子間力顕微鏡を活用した単一ゲル微粒子のナノ構造評価

ゲル微粒子の架橋構造を明確化するために、高速原子間力顕微鏡による実時間観察を行った。モノマーよりも反応性が高い親水性架橋剤により架橋されたゲル微粒子を観察したところ、従来報告されていた高架橋コア-低架橋シェル構造に加え、コア部分に数十ナノメートル程度の球状ドメイン構造が複数形成することが明らかになった(図4)。一方、疎水性の架橋剤を用いて沈殿重合を実施した際には、ゲル微粒子の中心部に単一のコアが形成することが分かった。高速原子間力顕微鏡を用いた力学計測から、単一コア部分は周囲のゲル成分と比べて硬く、疎水性架橋剤が多く導入された構造であることが示唆された。

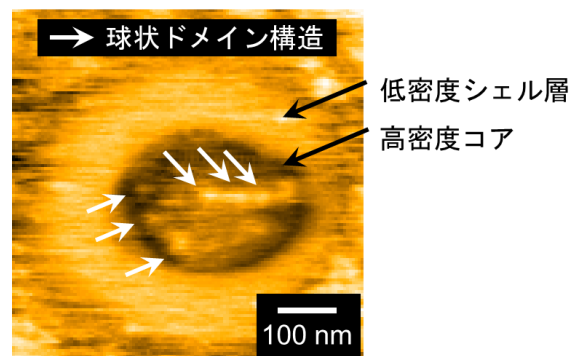


図4. 高速原子間力顕微鏡を用いた観察により得られたゲル微粒子の位相差像

#### (5) マイクロ流路中でのゲル微粒子の移動制御の検討

微粒子のやわらかさと体積分率がマイクロ流路内の流動挙動に与える影響を調査するために、合成したゲル微粒子と硬質ポリスチレン (PS) 微粒子を混合し、直線流路において 100  $\mu$ L/h の流速で流動実験を行った。ゲル微粒子の体積分率を 20 % に固定した場合において、PS 微粒子の体積分率を変化させた際の流動挙動を高速カメラにより観察したところ、PS 微粒子の体積分率が増加するにつれて、直線流路内においてゲル微粒子が流路中央を流動することが明らかとな

った (図5)。さらに、ゲル微粒子の架橋度を変化させたところ、ゲル微粒子とPS微粒子の柔らかさの比が大きいほど、PS微粒子がマイクロ流路の壁側を流動し、ゲル微粒子が流路中央へ濃縮されることが明らかとなった。また、ロタキサン架橋を施したゲル微粒子ほど、高速流動場においても劣化しにくいことが確かめられた。以上の現象を活用し、分岐のあるマイクロ流路内において、ゲル微粒子の移動制御を実現する設計指針を得ることができた。

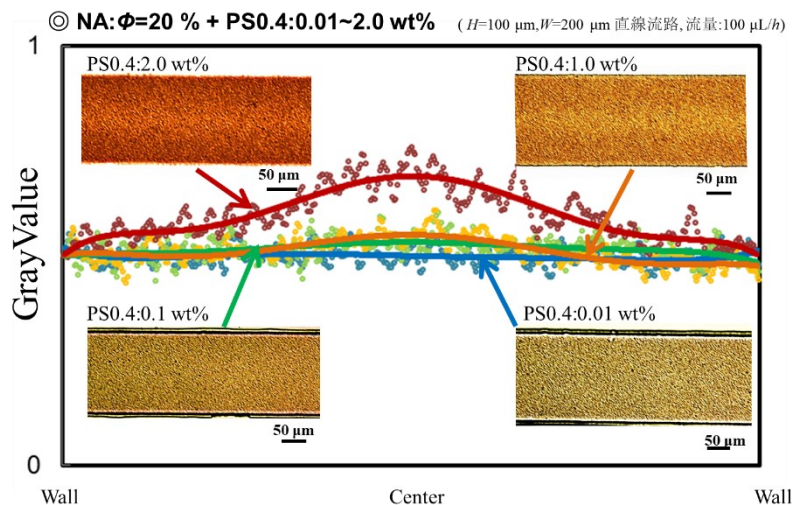


図5. ゲル微粒子のマイクロ流路内流動実験の解析結果。ゲル微粒子は密度が低く光を透過するため、白く見える。その結果、Gray value の値が大きくなる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Nishizawa Yuichiro, Inui Takumi, Namioka Ryuji, Uchihashi Takayuki, Watanabe Takumi, Suzuki Daisuke	4. 巻 38
2. 論文標題 Clarification of Surface Deswelling of Thermoresponsive Microgels by Electrophoresis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 16084 ~ 16093
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.langmuir.2c02742	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25件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Daisuke Suzuki
2. 発表標題 Soft particles at interfaces
3. 学会等名 GelSympo 2022（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 牛田史紀、渡邊拓巳、湊遥香、鈴木大介
2. 発表標題 多層化ハイドロゲル微粒子の創製とその内部構造制御
3. 学会等名 化学工学会第53回秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 横井博紀、西澤佑一朗、内橋貴之、鈴木大介
2. 発表標題 分解性ハイドロゲル微粒子の作製と評価
3. 学会等名 化学工学会第53回秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木大介
2. 発表標題 高分子ゲル微粒子の界面現象
3. 学会等名 化学工学会第53回秋季大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 横井博紀、西澤佑一朗、内橋貴之、鈴木大介
2. 発表標題 分解性を付与した高分子ゲル微粒子の合成と評価
3. 学会等名 第32回日本MRS年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西牧陽佑、横井博紀、長澤敦、村井將紀、山田明宏、渡邊拓巳、鈴木大介
2. 発表標題 反応性モノマーを用いた乳化重合
3. 学会等名 第32回日本MRS年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 浪岡隆二、乾拓海、西澤佑一朗、鈴木大介
2. 発表標題 電気泳動を用いたゲル微粒子の表面の評価
3. 学会等名 第32回日本MRS年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西澤佑一朗、乾拓海、内橋貴之、鈴木大介
2. 発表標題 多様な手法により評価したゲル微粒子の温度応答性挙動
3. 学会等名 第70回高分子学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 乾拓海、西澤佑一朗、鈴木大介
2. 発表標題 電荷分布の異なる温度応答性ゲル微粒子のナノ構造変化
3. 学会等名 第70回高分子学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西澤佑一朗、湊遥香、乾拓海、内橋貴之、鈴木大介
2. 発表標題 ハイドロゲル微粒子の形成メカニズムに関する検討
3. 学会等名 第70回高分子学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 内橋貴之、西澤佑一朗、鈴木大介
2. 発表標題 高速AFMによる高分子ゲル微粒子の構造物性動態イメージング
3. 学会等名 第70回高分子討論会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 西澤佑一朗、内橋貴之、鈴木大介
2. 発表標題 刺激応答性ハイドロゲル微粒子のナノ構造解析と制御
3. 学会等名 第70回高分子討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西澤佑一朗、内橋貴之、鈴木大介
2. 発表標題 温度応答性ゲル微粒子のナノ構造に化学種が与える影響
3. 学会等名 第72回コロイドおよび界面化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuichiro Nishizawa, Haruka Minato, Takayuki Uchihashi, Daisuke Suzuki
2. 発表標題 Design of well-structured, thermoresponsive hydrogel microspheres
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuichiro Nishizawa, Kengo Iwase, Takayuki Uchihashi, Daisuke Suzuki
2. 発表標題 Structural evolution of poly(N-isopropyl acrylamide) with poly(ethylene glycol)-based crosslinkers
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 乾拓海、浪岡隆二、西澤佑一朗、鈴木大介
2. 発表標題 温度応答性ゲル微粒子の界面動電現象の再検討
3. 学会等名 第21回高分子ミクロスフェア討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西澤佑一朗、内橋貴之、鈴木大介
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡法によるゲル微粒子の構造決定
3. 学会等名 第21回高分子ミクロスフェア討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西澤佑一朗、横井博紀、内橋貴之、鈴木大介
2. 発表標題 可視化を通じた単一ハイドロゲル微粒子の分解機構理解
3. 学会等名 第72回高分子学会年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川本嵩久、野口哲矢、湊遥香、鈴木大介
2. 発表標題 気水界面に吸着したゲル微粒子の圧縮挙動
3. 学会等名 第72回高分子学会年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西牧陽佑、横井博紀、長澤敦、村井将紀、山田明宏、渡邊拓巳、鈴木大介
2. 発表標題 反応性モノマーから構成される高分子微粒子
3. 学会等名 第72回高分子学会年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山中健太郎、川本嵩久、湊遥香、鈴木大介
2. 発表標題 水系沈殿重合法によるミクロンサイズゲル微粒子の合成と機能化
3. 学会等名 第72回高分子学会年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川本嵩久、柳広平、西澤佑一朗、湊遥香、鈴木大介
2. 発表標題 水で膨潤して柔らかいハイドロゲル微粒子の圧縮挙動評価
3. 学会等名 第74回コロイドおよび界面化学討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 浪岡隆二、西澤佑一朗、乾拓海、内橋貴之、鈴木大介
2. 発表標題 電気泳動による温度応答性ハイドロゲル微粒子の収縮挙動評価
3. 学会等名 第74回コロイドおよび界面化学討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 浪岡隆二、西澤佑一朗、鈴木大介
2. 発表標題 界面動電現象による温度応答性ハイドロゲル微粒子の表面構造解析
3. 学会等名 第22回高分子ミクروسフェア討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山中健太郎、西澤佑一朗、岩瀬健吾、内橋貴之、鈴木大介
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡法を活用したゲル微粒子の構造解析
3. 学会等名 第22回高分子ミクロスフェア討論会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	内橋 貴之 (Uchiashi Takayuki)  (30326300)	名古屋大学・理学研究科・教授  (13901)	
研究分担者	中園 和子 (Nakazono Kazuko)  (30467021)	東京工業大学・物質理工学院・准教授  (12608)	
研究分担者	呉羽 拓真 (Kureha Takuma)  (60836039)	弘前大学・理工学研究科・助教  (11101)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	藤本 和士  (Fujimoto Kazushi)  (70639301)	関西大学・化学生命工学部・准教授     (34416)	

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