

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23650284

研究課題名(和文)精密表面形成技術による超高感度生体センサーの開発

研究課題名(英文)Preparation of ultra-high sensitive sensor by controlled surface preparing technology

研究代表者

岸田 晶夫(KISHIDA, AKIO)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号：60224929

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：新しい機能性電極の創製を目的として、金属/金属酸化物と高分子が分子レベルで混合した表面の形成を試みた。金属(チタン)表面に、開始基を高密度に導入し、リビングラジカル重合を行うことで、高分子ブラシ層を形成させた。その基板を溶液に浸漬し、酸化反応を行うことで、高分子ブラシ層内部に酸化チタン層を形成させることに成功した。金属層については金の電析を試みたが、目的とする表面は得られなかった。酸化チタン・高分子ブラシ混合層は、新しい分子混合材料としての応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In order to obtain a new functional electrode, the preparation of nanocomposite which comprised of nanophase separated structure of polymer chains and metal/metal oxide was investigated. By grafting poly(hydroxyethyl methacrylate) poly(HEMA) on the surface of titanium which is covered by passive titanium oxide by atom transfer radical polymerization (ATRP) and executing anodic polarization, hierarchical nanophase separated structure with controlled thickness can be obtained. The titanium ions would be cationically charged and completely filled up the unoccupied binding sites of the polymer chains via electrochemical reaction, eventually covering the polymer chains with titanium oxide. However, it was very difficult to obtain the polymer/metal nanocomposite structure. These results prove that the conventional polymer can form composite structure with metal oxide without using fillers or special polymers designed for composite.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学

キーワード：バイオマテリアル 高分子 金属 ハイブリッド 精密重合

1. 研究開始当初の背景

高密度ポリマーブラシは開始剤を表面に固定し、リビングラジカル重合を用いて重合する技術である。近年開発された上記の技術を用いてグラフトされたポリマーは分子量がそろっており、さらに高密度であるため、これまでにない機能(明確なサイズ排除効果や低摩擦)を示すことが知られている。金属表面とポリマーのハイブリッド化については、多くの研究者が研究を実施している。

申請者の岸田はこれまで材料表面とタンパク質および細胞間相互作用に関する研究を行ってきた。既に高密度ブラシ表面上での細胞接着について報告し、(K.Nam, A.Kishida, et al. *Chem Lett*, 39, 1164, 2010)、金属表面にポリマーを固定する技術についても検討を行っていた。高密度ポリマーブラシと金属および金属酸化物の電析及びめっき技術を組み合わせることによって、ナノレベルでの金属とポリマーのハイブリッド化が可能ではないかという発想に至り、それぞれの研究分野で基礎的な検討を行ったところ、実現の可能性があるかと判断されたため、本申請によって、ポリマー・金属ハイブリッド界面の創製を図ることとした。

2. 研究の目的

超高感度バイオセンサー表面を形成するために、金属相とタンパク質などの有機材料との分子-原子距離を極限まで短くする方法論を提案した。これまで、金属相と有機材料(タンパク質)を直接接触させると感度が向上するが、金属表面に固定できるタンパク質の量には単層吸着の制限があった。これを解決するために金属ナノ粒子の応用などが考えられているが、センサー電極への成形が難しく、3次元化のメリットを活かすことが困難であった。そこで、有機ポリマーと金属材料を分子レベルでハイブリッド化し、超微細な3次元電極表面を開発し、バイオセンサー用材料としての応用を目指した。ポリマー・金属ハイブリッド表面を創出し、金属/ポリマーと繋がる多相構造および階層構造の界面で起こる現象の解明により新たな学問体系構築に資する知見の獲得を目指した。

3. 研究の方法

具体的には金属表面に密度を調整したポリマーブラシを形成し、その間に電析を行ってメタルブラシを形成する。図1にその概念図を示す。

(1)ポリマーブラシと金属酸化被膜の作製方法と特性評価

基材として、低毒性、酸化皮膜が形成可能であり、生体材料分野で使用されているチタンを選択した。ブラシ層は、リビングラジカル重合の手法のうち、反応が比較的容易な原子移動ラジカル重合(ATRP)が可能なpoly(hydroxyethyl methacrylate)(PHEMA)を用いて形成した。チタンを用いた電気化学技術を用いる場合、目標する酸化被膜を厚さは電圧と加圧時間に依存し、短時間(<60秒)で

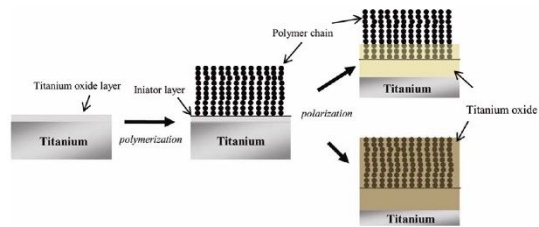


図1 ポリマー・金属/金属酸化物ハイブリッド表面形成の概念図

容易に制御できることで知られているものの、再現性よく酸化被膜をナノ単位で調節することは困難である。電圧および酸化反応時間を調節し、平滑な表面の作製と膜厚の調節を行い、その基本的なデータを蓄積し、その評価を原子間力顕微鏡(AFM)、エリプソメーターを用いて検討し、金属薄膜形成条件の最適化を行った。ポリマーブラシの作製は、チタン表面に開始剤をシランカップリングで固定させ、ATRP反応を利用し、ポリマーブラシ層を作製した。ポリマーブラシの評価はゲル透過クロマトグラフィー(GPC)、AFM、エリプソメーター、静的接触角測定器を用いて、分子の密度、厚さ、表面特性を分析した。(2)ポリマーブラシと金属ハイブリッド表面の作製

ポリマーブラシ間隙に、金属相を形成させる技術について検討した。チタン表面に形成したポリマーブラシ層の間隙に、金イオンあるいは金ナノコロイドを浸潤させ、ごく短時間の電析によってブラシ間隙に通電できる金属層の形成を試みた。

4. 研究成果

(1)ポリマーブラシと金属酸化被膜の作製方法と特性評価

金属チタン表面にHEMAを表面開始リビングラジカル重合を行った結果、分子量20,300、分散度1.28、膜厚16.4nm、ポリマー鎖密度0.56本/nm²のポリHEMAブラシ層が形成された。このブラシ層形成チタンに対して酸化皮膜作製をおこなった。結果を図2に示す。

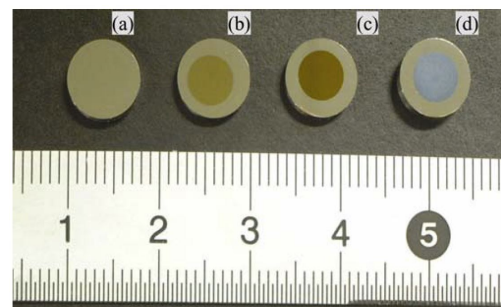


図2 ポリマー・金属酸化物ハイブリッド表面形成：(a)ポリマーブラシ形成チタン、(b)3V印加後、(c)10V印加後、(d)30V印加後

図より明らかなように、電位を印加して酸化チタン層を形成させると基板表面が着色することが分かる。これは、酸化チタン形成が印加電圧の増加に伴って膜厚が増加したためであると考えられる。

表面に形成された酸化チタン層とポリマーブラシ層の関係について、XPS測定およびAES測定を行って解析した。XPS測定結果を図3に示す。

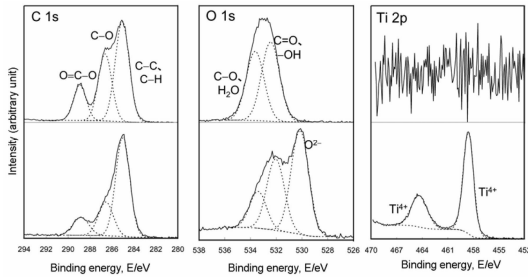


図3 XPS 測定結果

上段：酸化反応前、下段：酸化反応後

図3より、酸化反応前には酸化チタンのピークが観測されず、酸化反応後に4価のチタンのピークが観察されることから、チタンの酸化が進んでいることが分かる。また、炭素のピークが酸化反応後に於いても観察されることから、XPSでの観測範囲において、ポリマー由来の炭素原子と酸化チタン由来のチタン原子が共存していると考えられる。

XPSの測定深さは極めて浅いために、炭素原子の存在は環境中の汚染物質由来の影響を強く受ける。金属酸化物とポリマー鎖の分子レベルでの混合状態が得られているか否かについて、さらに図4に於いて、AES測定により表面をエッチングして元素分析を行った。

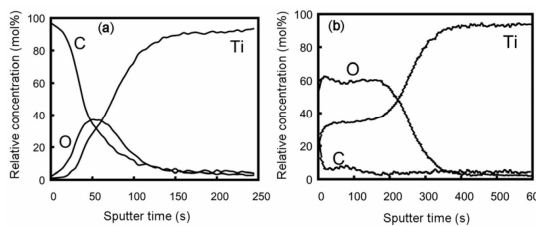


図4 AES 測定結果

(a)酸化反応前、(b)酸化反応後

図4ではX軸が増大するとエッチング時間が延長されるため、得られた情報は表面から深い層のものとなる。酸化反応前には、エッチング時間0秒付近に炭素の存在が多く、チタンの存在は極めて少ない。これは表面層に炭素原子、すなわちポリマーブラシが存在していることを示している。エッチングを進めてゆくと酸素とチタンの割合が増加してゆくが、酸素は50秒をピークにそれ以上のエッチング時間で減少した。150秒以上のエッチング時間では、ほぼチタンで占められていた。このことから、ポリマー層のすぐ下層には酸化チ

タンの層があり、その下層には、酸素濃度が極めて低い純チタン層と考えられる層が存在すると考えられた。次に酸化反応後を見ると、10秒ほどのエッチング時間で、炭素の割合は激減し、100秒以降はほぼ存在が希少になることがわかる。一方で、10秒から200秒の範囲で酸素とチタンの割合はあまり変化せず、200秒から300秒にかけてチタンの割合は増加し、酸素の割合は減少し、350秒以降はほぼ変化が見られなくなる。このことから、酸化反応後の表面は、深部が純チタン層、その上に酸化チタンの比較的厚い層があり、ごく表面層にポリマーと酸化チタンが混合した層があることがわかる。以上の結果を図5にまとめた。

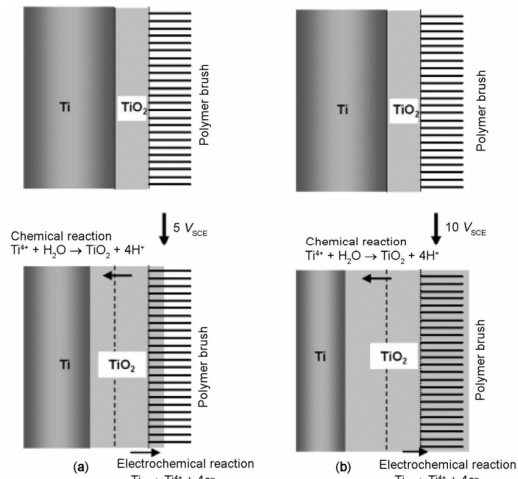


図5 高分子ブラシ層への酸化チタン層形成のイメージ図 (a) 5 V 処理の場合、(b) 10V 処理の場合

図5において、酸化反応前の表面には、純チタン基盤の上層に薄い酸化チタン層があり、ここからポリマーブラシ層が形成している。酸化反応が進行することにより、酸化チタン層の厚みが増加する反応と、増加した酸化チタン層がポリマーブラシ層内部で成長する反応が同時に起こると考えられる。酸化反応に於いては、このように純チタン表面とポリマー・酸化金属混合層の間に、酸化金属層が厚く形成するため、通電が困難となり、電極としての特性(微小変位に対する感度など)は低いと考えられるが、ポリマーブラシ層と酸化金属層が分子レベルで混合していると考えられる材料を初めて調製することが出来た。

図6に細胞接着実験の結果をしめす。チタンに酸化反応を施した、酸化チタン表面は細胞接着性を示すが、ポリマーブラシ層に酸化反応を行った表面については、図に示すように細胞が接着しない。これは、表面に形成しているポリマーブラシが細胞非接着性のポリHEMAであり、また酸化反応を行った後でも、図5(a)のように、ポリHEMA層が最表面に存在しているためであると考えられる。

以上のように、金属酸化物とポリマーのハイブリッド化表面を調製し、XPSやAFM測定により、目

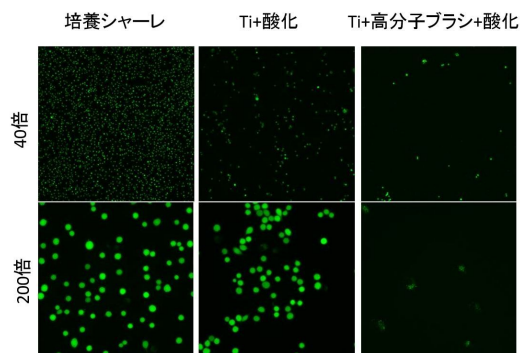


図6 細胞接着実験

的の表面が得られたと推測されたが、ブラシ層の密度や厚さによるハイブリッド層形成については、安定した成果を得るためには、高度な反応の制御が必要であった。酸化層形成の際の積層のエネルギーが非常に大きなことが推測された。また、酸化膜の形成により電極としての特性は期待できないものの、金属酸化物とポリマーの分子混合表面として、新しい応用が考えられた。

(2) ポリマー・金属ハイブリッドブラシ作製方法の確立について

酸化反応による金属・ポリマーハイブリッドブラシに続き、電析によるハイブリッドブラシ表面の作成を検討した。基盤としてITO電極を用い、上記と同様にポリHEMAブラシ層を形成させた。そのうち、金イオンあるいは金ナノコロイド溶液に浸漬し、通電して電析を実施し、目的の表面形成を試みた。種々の条件を検討したが、目的にかなうような表面を得ることが出来なかった。ポリHEMA表面にメッキ層のように形成したり、樹状に不均一な形成層(金の含有量低い)がえられたりなど、再現性も低かった。これらの原因として、使用する金を溶解させた溶液の室温におけるイオン種の安定性や、イオン種とブラシ層を形成するポリHEMAとの何らかの相互作用が存在すると考えられた。その他にも通電の電極形状、溶液の温度の均一性、通電時間のごく短時間での制御など、検討すべき要因についていくつかの知見が得られたものの、それらを総合化して検討することができなかった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

K.Nam, Y.Tsutsumi, C.Yoshikawa, Y.Tanaka, R.Fukaya, T.Kimura, H.Kobayashi, T.Hanawa, A.Kishida, Preparation of novel polymer-metal oxide nanocomposites with nanophase separated hierarchical structure. Bull. Mater. Sci., 査読有、Vol.34, No.7, 2011, pp.1-8.

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

岸田 晶夫 (KISHIDA, Akio)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・

教授

研究者番号：60224929