

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月1日現在

機関番号：82108

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22300173

研究課題名（和文）インテリジェントコアセルベートによる新規バイオマテリアル創成

研究課題名（英文）Development of new biomaterials using intelligent coacervate

## 研究代表者

青柳 隆夫 (AOYAGI TAKAO)

独立行政法人物質・材料研究機構・国際ナノアーキテクトニクス研究拠点・コーディネータ

研究者番号：40277132

研究成果の概要（和文）：本研究では、我々が開発した親水性官能基を有する複数の温度応答性高分子を複合化してインテリジェントコアセルベートを作成し、その材料の新しいバイオマテリアルへの応用の可能性を検討した。具体的にはナノ磁性粒子を含んだ温度応答性コアセルベートを作成し、その集合挙動を検討した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we prepared intelligent coacervate using thermoresponsive polymer each having a hydrophilic functional group that we have developed and investigated the possibility of application to a new biomaterial. Actually thermoresponsive coacervates containing magnetic nanoparticles were prepared and their coalescence behavior was studied.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
2011年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2012年度	3,300,000	990,000	4,290,000
年度			
年度			
総計	13,300,000	3,990,000	17,290,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：コアセルベート、温度応答性、磁性ナノ粒子、コポリマー、相分離

## 1. 研究開始当初の背景

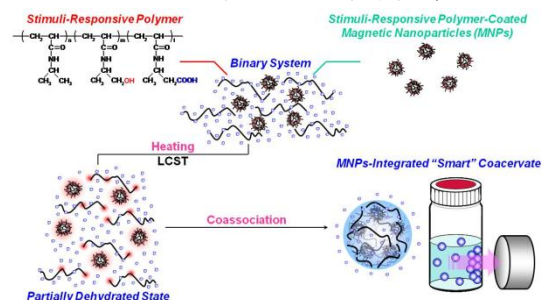
刺激応答性高分子をベースとしたスマート材料が著しい発展を成し遂げ、バイオマテリアルを中心とした幅広い分野で応用されている。この刺激応答性高分子を積極的に材料展開するには、如何にその応答性を損なうことなく連鎖中へ官能基を導入出来るが重要な因子となる。そのような観点からこれまでに官能基を導入するための様々な手法が提案されているが、それらの多くは応答性の緩慢化を引き起こし、また複雑なプロセスを要求する。これまでの研究で、申請者らは代

表的な温度応答性高分子である poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) のモノマー構造に着目した分子設計論に基づき様々な機能性モノマーを合成しており、これら一連のモノマーを用いることで鋭敏な応答性を損なうことなく種々の反応性官能基を導入させることに成功している。この結果はアクリル酸のような従来の汎用性モノマーでは成し得なかったことであり、すなわち申請者らが新規に提案したモノマー構造設計論の重要性を示唆するものである。またこれら新規モノマーと NIPAAm から得ら

れる共重合体はその組成比や外部環境を制御することで、PNIPAAm といった多くの温度応答性高分子に見られるコイル-グロビュール転移を伴った凝集沈殿を示すばかりでなく、高分子鎖が多量の水分子を保持したまま会合して液滴（コアセルベート滴）を形成するコアセルベーションを示すことも明らかとなった。

## 2. 研究の目的

本研究ではこの特徴的な現象を利用した新しいバイオマテリアル創生を目指して、そのコアセルベートの移動の制御の可能性を検討した。すなわち、ナノ磁性微粒子をコアセルベートに封入する手法を見出し、その手



法を用いて調製した複合コアセルベートの外部磁場による移動・集束挙動を詳細に追究した。図1にスキームを示した。

### 図1 実験のスキーム

## 3. 研究の方法

水酸基及びカルボキシル基をそれぞれ有する二種の新規刺激応答性高分子を合成した。その高分子の温度応答挙動、組成依存性、pH応答性などを詳細に解析して、コアセルベート形成に適する条件検討を行い、そのポリマーを用いて複合型コアセルベートを調製した。別に、既往研究を参考に、封入するおおよそ10nm程度の粒径酸化鉄ナノ粒子を調製した。このナノ磁性粒子表面を、先に検討した親水性官能基を有する温度応答性高分子で被覆し、水中でコアセルベートと混合することによりコアセルベート形成と同時に封入を行った。

また、得られたナノ磁性粒子が封入され複合コアセルベートの外部磁場による移動挙動を追究した。

## 4. 研究成果

### (1) 親水性官能基を有する温度応答性

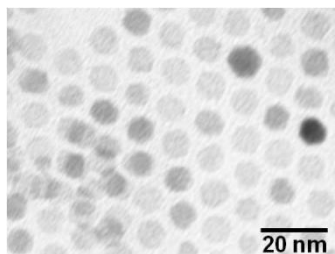
#### ポリマーの合成

水酸基を有するHIPAAmモノマー及びカルボキシル基を有するCIPAAmモノマーをそれぞれNIPAAmとフリーラジカル共重合することで目的のコアセルベート形成ポリマーを調製した。コモノマーの仕込み量により共重合組成比を制御し、系統的な組成比を有する共重合体を作製した。合成した高分子の刺激応答挙動を紫外可視分光光度計を用いて測

定した結果、HPAAm、CIPAAmの両親水性モノマーの共重合化させることにより、大幅に曇点が上昇することがわかった。

### (2) ナノ磁性粒子の調製と温度応答性高分子の被覆

超常磁性のナノ粒子を湿式法により調製した。この材料は、反応の過程で、オレイン酸



と結合して安定化している。

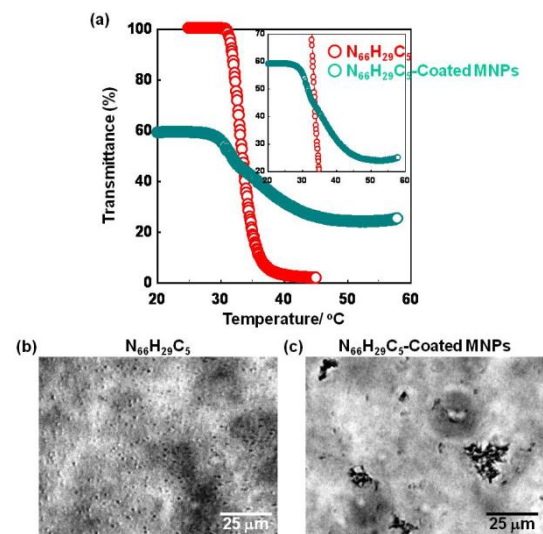
(図2参照)

先に調製したポリマーを用いて、この酸化鉄ナノ粒子をリガンド

### 図2 オレイン酸被覆磁性ナノ粒子のTEM像

交換反応によって表面修飾した。コアセルベート形成ポリマーと、この表面修飾粒子を均一に分散させ、昇温することにより複合型コアセルベートを形成させることに成功した。

### (3) 磁性ナノ粒子封入のための条件検討



### 図3 ナノ磁性微粒子封入コアセルベート

本研究では、コアセルベート形成ポリマーと磁性ナノ微粒子の被覆材とを同じポリマーにすることによって、封入が容易になると考えた。さらにバイオマテリアルとしての応用を考慮し体温付近での駆動させるためにコアセルベート形成を体温付近に調製した。その結果を図3に示す。組成によって、敏感に相分離温度が変化してしまう。種々検討し、NIPAAmが66mol%、水酸基を有するHIPAAmを29mol%、カルボキシル基を5mol%に調整した。

(4) ナノ磁性微粒子含有コアセルベート  
次に、ナノ磁性微粒子含有コアセルベートの性質について検討を行った。透過型電子顕微鏡では、明らかに、コアセルベート滴内にナノ磁性微粒子が存在することが確認された。

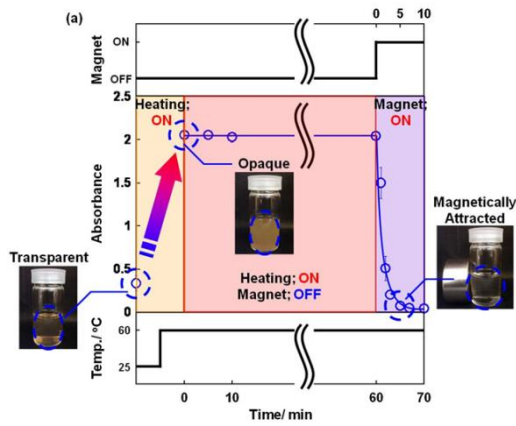


図4 外部磁場によるコアセルベートの移動

図4にナノ磁性微粒子を封入させたコアセルベートの移動の様子を示した。まず、低温ではポリマーが完全に溶解するために、透明な溶液である。60度に加温すると、一気に相分離挙動が生起し、白濁する。コアセルベート形成である。この状態を60分間保った後に、外部磁場を近づけると、溶液は急激に透明になった、これは、封入されているナノ磁性粒子がコアセルベートごと外部磁場に運ばれることを意味している。もし、封入されていた磁性微粒子単独で磁石に引き付けられれば、コアセルベートの濁りが持続して、溶液が透明になることは無い。

先に述べたように、同じポリマーの混合によって安定に磁性微粒子が固定化されていることを確認するために、磁性微粒子をクエン酸で安定化させ、先と同じポリマーに封入できるか検討した。その結果を図5に示す。

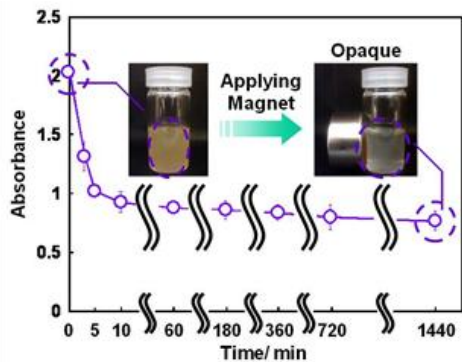


図5 クエン酸で安定化させた磁性ナノ粒子のコアセルベート封入

図から明らかなように、磁石を近づけても溶液は濁ったままであった。これは、クエン酸

で安定化された磁性粒子が磁石に引き付けられるが、コアセルベートから脱離してしまっていると考えられる。すなわち、この結果は、コアセルベート形成ポリマーとナノ磁性粒子の被覆材を同一にすることによって、安定に保持できるという予想を支持するものである。

ナノ磁性微粒子を封入させたコアセルベート滴は容易に架橋させることができる。

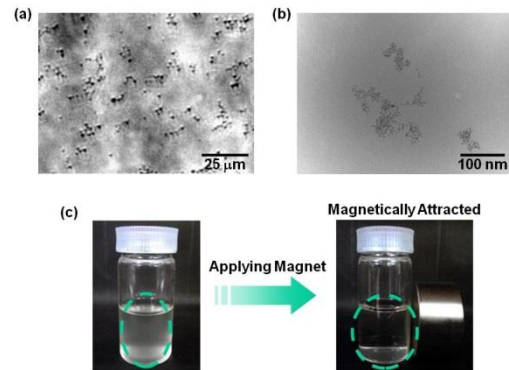


図6 磁性ナノ微粒子封入マイクロゲル

図6にジビニルスルホンで架橋されたマイクロゲルの移動の様子を示した。コアセルベートと同じ挙動を示した。この手法はコアセルベートの安定化には大変有効であると考えられる。

次に、コアセルベートの磁性ナノ微粒子を混合するタイミングについて検討した。その結果を図7に示す。

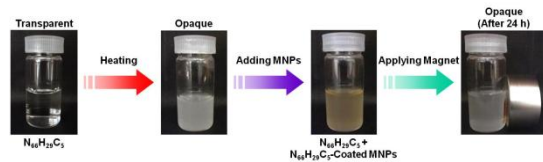


図7 磁性微粒子を混合するタイミングの検討

この実験では、先にポリマーを溶解させておき、温度を上昇させてコアセルベートを形成させる。その後、ポリマー被覆コアセルベートを混合した。図から明らかなように、磁石を近づけても溶液は透明にならず、混合していないことが明らかである。すなわち、両者が完全に混合するためには、予め混合しておく同時にコアセルベート形成を行う必要がある事がわかった。

コアセルベートは、水溶液中に存在しながらも相分離をしている状態である。やや疎水的な環境であることを利用してタンパク質の分離など利用される。本研究では、磁性微粒子を効率的に移動させることに成功した。本システムを使えば、より効率的に分離精製

が、期待される。これまでのコアセルベートと異なり、ほとんどのポリマーがコアセルベート形成に参加していることが別の研究で明らかにされている。すなわち、分離の際に不純物の混入なしに分離操作ができると考えられる。

#### 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 青柳隆夫、「温度応答性高分子の構造と機能」、ぶんせき、査読あり、6 巻 209-303、(2012)
- ② 荏原充宏、青柳隆夫「スマートバイオマテリアルの応用」ケミカルエンジニアリング、査読なし、476 巻 31-36、(2012)
- ③ Y. Kotsuchibashi, M. Ebara, N. Idota, R. Narain, T. Aoyagi “A ‘smart’ approach towards the formation of multifunctional nano-assemblies by simple mixing of block copolymers having a common temperature sensitive segment” Polymer Chemistry, 3, 1150-1157(2012). 査読あり、doi:10.1039/C2PY00589A
- ④ Y. Kotsuchibashi, M. Ebara, K. Yamamoto, T. Aoyagi “Tunable stimuli-responsive self-assembly system that forms and stabilizes nanoparticles by simple mixing and heating/cooling of selected block copolymers” Polymer Chemistry, 2, 1362-1367 (2011). 査読あり、doi:10.1039/C1PY00004G
- ⑤ Y. Kotsuchibashi, M. Ebara, K. Yamamoto, T. Aoyagi “On-off switching of dynamically controllable self-assembly formation of double-responsive block copolymers with tunable LCSTs” Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 48, 20, 4393-4399 (2010). 査読あり、doi:10.1002/pola.24226

[学会発表] (計 6 件)

- ① T. Aoyagi, “Design of smart materials in response to indirect stimuli”、International Symposium on Stimuli-Responsive Materials (招待講演)、2012 年 10 月 21 日～23 日、サンタロザ、アメリカ
- ② T. Aoyagi, “Smart polymers design for biomedical application”、E-MRS Fall Meeting、2012 年 09 月 17 日～21

日、ワルシャワ、ポーランド

- ③ T. Aoyagi, “Molecular design of smart biomaterials for nano life”、Trend in NanoTechnology (招待講演) 2012 年 09 月 10 日～14 日、マドリッド、スペイン
- ④ 前田智宏、児玉祐季、山本和哉、青柳隆夫、「磁場に誘導するスマートコアセルベートの創製 I」、第 22 回 高分子ゲル研究討論会、2011 年 1 月 12 日、東京
- ⑤ 児玉祐季、前田智宏、山本和哉、青柳隆夫、「磁場に誘導するスマートコアセルベートの創製 II」、第 22 回 高分子ゲル研究討論会、2011 年 1 月 12 日、東京
- ⑥ Takao Aoyagi, “Molecular Design for Functional Thermo-Responsive Polymers and Their Biomedical Application”, International Symposium on Stimuli-Responsive Materials、2010 年 10 月 25-27 日 (2010)、南ミシシッピー、アメリカ

[その他]

ホームページ等

<http://www.nims.go.jp/bmc/group/smartbiomaterials/>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

青柳 隆夫 (AOYAGI TAKAO)

独立行政法人物質・材料研究機構・国際ナノアーキテクトゥクス研究拠点・コーディネーター

研究者番号：40277132

##### (2) 研究分担者

荏原 充宏 (EBARA MITSUHIRO)

独立行政法人物質・材料研究機構・国際ナノアーキテクトゥクス研究拠点・MANA 研究者

研究者番号：10452393

##### (3) 連携研究者 なし