

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：82626

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26620152

研究課題名(和文) 光で寿命制御可能な生分解性材料の創製

研究課題名(英文) Development of biodegradable polymer whose lifetime can be controlled by light

研究代表者

則包 恭央(Norikane, Yasuo)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・電子光技術研究部門・研究グループ長

研究者番号：50425740

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：生分解性高分子は、微生物の酵素の作用で二酸化炭素と水にまで分解される環境低負荷材料として実用化が期待されている。実用化への課題の一つに、材料の寿命制御がある。従来は、結晶化度や分子量の制御、あるいはブレンドといった古典的方法で酵素分解の速度制御を目指した研究が進められてきた。しかし、いずれも分解速度を変化させているに過ぎず、酵素分解のON/OFF制御ではない。

研究代表者らは、これまでに光照射によって固体と液体状態をスイッチング可能な材料を開発している。そこで本研究では、この光応答性材料を生分解性高分子と複合化し、酵素分解の開始を光反応で制御できる寿命制御型生分解性高分子材料を開発した。

研究成果の概要(英文)：Biodegradable polymer, which is decomposed to water and carbon dioxide with an aid of enzyme of microorganism, is expected to be in practical use as a low environmental load material. One of the issues for its practical application is a technology to control its lifetime. Previous research focused on classical methods such as degree of crystallinity, molecular weight, or blend. These approaches can only control the kinetics of enzymatic degradation, and ON/OFF switching of the degradation has not been achieved.

We have developed a materials that can switch between solid and liquid by light irradiation. Here we focused on the approach combining the photoresponsive materials and biodegradable polymer. We established a biodegradable polymer whose degradation can be initiated by light and thus its lifetime can be controlled.

研究分野：有機光化学

キーワード：光応答性材料 生分解性高分子 アゾベンゼン 酵素

1. 研究開始当初の背景

生分解性高分子は、バイオマスを原料として生産され、使用後には微生物が体外に分泌する加水分解酵素の作用で二酸化炭素と水にまで分解される環境低負荷材料として実用化が期待されている。実用化に向けての課題の一つに、材料の寿命制御がある。従来は、結晶化度や分子量の制御、あるいはブレンドといった古典的方法で酵素分解の速度制御を目指した研究が進められてきた(例えば、C. K. S. Pillai et al. *J. Polym. Environ.*, **19**, 637-676, 2011)。しかし、いずれも全体的な分解速度を変化させているに過ぎず、酵素分解の ON/OFF 制御ではない。

研究代表者らは、これまでに照射によって固体と液体状態をスイッチング可能な材料を世界に先駆けて開発している(図1: Y. Norikane et al. *Chem. Commun.*, **47**, 1770-1772, 2011)。

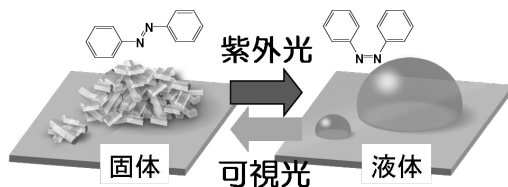


図1 光で溶ける材料の模式図

この画期的な光応答性材料を生分解性高分子と複合化し、酵素分解の開始を光反応で制御できる寿命制御型生分解性高分子材料を開発するという着想を得て研究を開始した。

2. 研究の目的

本研究では、使用期間中には高分子としての性能を発揮し、使用後には酵素の作用によって速やかに加水分解が開始されるという画期的な生分解性高分子材料を創製する。具体的には、照射によって融解と結晶化を制御できる独自に開発した「光で溶ける材料」を生分解性高分子表面に被覆、あるいは化学修飾する。そして、光応答性材料の物質状態で、酵素分解の起点である酵素吸着とその後の加水分解作用を制御する。以上により、酵素分解の ON/OFF 制御機能を付与した寿命制御型生分解性高分子材料を創製し、グリーンイノベーション研究を牽引する。

従来の研究と本研究の比較を図2に示す。従来の生分解性高分子材料の場合、使用中に不本意にも分解作用を受けて、強度や機能が徐々に劣化することが懸念される。しかし、本研究の寿命制御型材料であれば、使用中には酵素分解を受けず、紫外光照射によって酵素分解の開始を制御することができる材料となる。つまり、従来型の生分解性高分子とは異なり、分解の開始時期を後から任意に決められることができるため、材料自体の強度や機能の寿命制御が可能であることが特徴であ

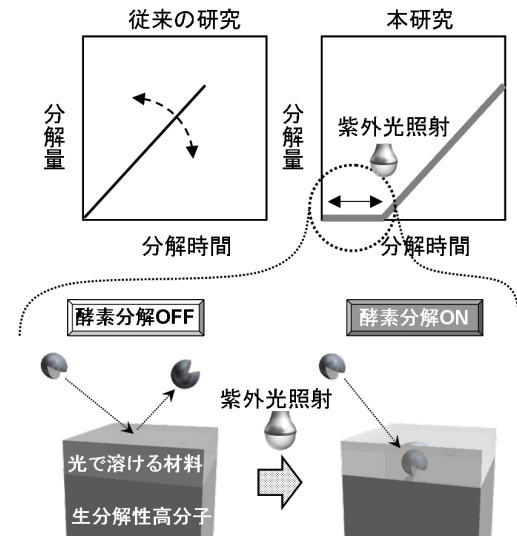


図2 (上)従来の研究と本研究の比較、(下)紫外光照射による酵素分解の ON/OFF 制御の模式図

る。

3. 研究の方法

本研究では、融解と結晶化を光で制御できる化合物を生分解性高分子表面に配置し、酵素分解の開始を光で制御できる寿命制御型生分解性高分子材料を開発する。具体的には、(1)光で溶ける材料の構造最適化、(2)生分解性材料の被覆・化学修飾法の開発、(3)生分解性材料の酵素分解性評価を実施した。下記にそれぞれの研究方法について述べる。

(1) 光で溶ける材料の構造最適化

アゾベンゼンを基本骨格とする光応答性化合物を中心に検討した。これまでの我々の知見を基に、本研究に適用可能な化合物の構造を最適化した。アルキル基やアルコキシル基を導入したアゾベンゼンを合成し、それぞれの化合物について薄膜形成能および光応答性を評価した。薄膜の評価には、触針段差計、原子間力顕微鏡(AFM)、および光学顕微鏡を用いた。照射光として、超高圧水銀灯またはLEDの紫外光(365 nm)を用いた。

(2) 生分解性材料の被覆・化学修飾法の開発

生分解性高分子として代表的なポリ乳酸(PLLA)を用い、(1)で開発した光応答性材料を生分解性高分子表面に配置する方法として、スピんキャスト法におよび化学結合による方法について検討した。特に、提案したコンセプトの実証を迅速に行うため、スピんキャスト法によって、生分解性高分子と光応答性化合物の積層膜の形成方法について検討した。作製した積層膜の評価については、上記と同様の方法を用いた。基板としてシリコン基板を用いた。

(3) 生分解性材料の酵素分解性評価

ここでは、(2)で作製した積層薄膜について、光照射前後において酵素分解性が ON/OFF されているかどうかを評価した。まず、光照射前後の表面形態観察を行い、光応答性化合物だけが変化（融解）しているか確認した。次に、融解した光応答性化合物だけを選択的に除去する方法について検討した。次に、酵素（プロティナーゼ K）を薄膜に作用させ、光応答性化合物が被覆している部分としない部分の酵素分解の進行について評価した。これらの評価には、光学顕微鏡および AFM を用いた。

4. 研究成果

(1) 光で溶ける材料の構造最適化

アゾベンゼンを基本骨格とする光応答性化合物群について、薄膜形成能および光応答性を評価した。

「光で溶ける」機能を有するアゾベンゼンの誘導体について、化合物を合成し、その熱物性および光物性を評価した。また、薄膜を作製した際の結晶性の有無や平滑性について評価した。また、プロセス上重要となる各種溶媒への溶解性についても評価した。その結果、アゾベンゼン 1 分子にアルキル基およびアルコキシ基を導入したアゾベンゼンについて良好な結果が得られた。この化合物は、スピんキャストに対して、検討したアゾベンゼンの中で最も平滑な薄膜を与えた。この薄膜に超高圧水銀灯の 365 nm の光を照射したところ、照射した部分が液化することを確認した。しかも、検討した照射光強度の範囲内（10-140 mW/cm²）において、いずれの光強度においても照射時間 1 分で液化することが確認された。また、液化した部分は、エタノール水溶液にて選択的に除去可能であった。

また、光によって液化する部分の「にじみ」を評価した。50 ミクロンのライン&スペースのパターンを持つフォトマスクを用いて、光強度を上記の幅に変化させた際の、現像（エタノール水溶液洗浄）後のアゾベンゼンの線幅を評価したところ、光強度を増大したことによる「にじみ」は 3 パーセント程度であった。

(2) 生分解性材料の被覆・化学修飾法の開発

上記で最適化した光応答性化合物を用いて、生分解性材料を被覆した積層薄膜の作製と、その評価を実施した。生分解性高分子として代表的なポリ乳酸（PLLA）を予めシリコン基板にスピんキャストし、その上に、(1)で開発した光応答性材料をさらにスピんキャストを行った。ここでは、その製膜法の最適化を行った。特に溶媒、濃度、スピんの回転速度について条件の最適化を行った。その結果、シリコン基板 PLLA 薄膜 光応答性材料、からなる積層薄膜の作製に成功した。

(3) 生分解性材料の酵素分解性評価

上記で作製した積層薄膜について、光照射前後において酵素分解性が ON/OFF 制御されているかどうかについて評価した。まず、光応答性材料のうち、光照射された部分だけが選択的に除去されたかどうかについて評価した。

シリコン基板に、PLLA および光応答性化合物を逐次スピんキャストし、マスクを通して光照射を行った。その後、エタノール水溶液で洗浄後、顕微鏡観察を行った。上記一連の操作によって得られた薄膜の顕微鏡写真を図 3 に示す。マスクで覆われなかった部分（図 3、 ）に光が照射され、その部分が選択的に液化し、洗浄により除去された。一方で、マスクで覆われて光が照射されていない部分（図 3、 ）は、照射前と比較して変化がなかった。

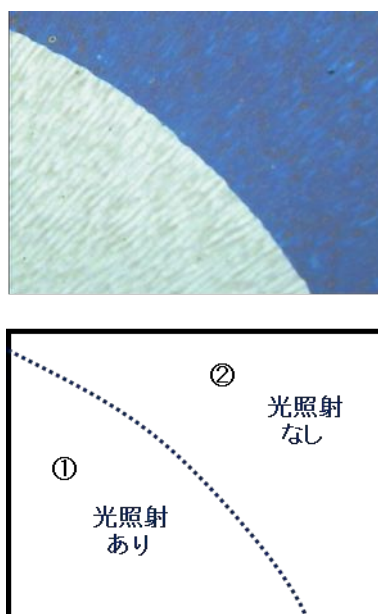


図 3 (上) PLLA および光応答性化合物を逐次スピんキャストしたシリコン基板にマスクを通して紫外光照射し、液化した光応答性化合物をエタノール水溶液で洗浄除去した薄膜の光学顕微鏡写真。
(下) 上の基板処理を示す模式図。

さらに、この薄膜を酵素（プロティナーゼ K）溶液に浸漬し、表面形状を観察し、光応答性化合物の被覆の有無による PLLA 薄膜の分解程度を評価した。その結果、光応答性化合物が被覆されている箇所においては、薄膜の分解は観察されなかった（図 4、 ）一方で、被覆されていない箇所においては、PLLA の分解に伴う膜厚の減少が見られた（図 4、 ）。また、酵素処理されていない部分（図 4、 と ）では、光照射による光応答性材料の除去のみが観察された。光応答性材料の膜厚は約 50 nm であった。また、本実験条件

においては、PLLA の薄膜は約 50 nm の厚みが分解された。この分解された厚みは、PLLA 単独薄膜での予備実験と一致したことから、光応答性材料による被覆が存在していた影響はほとんど無いことが分かった。

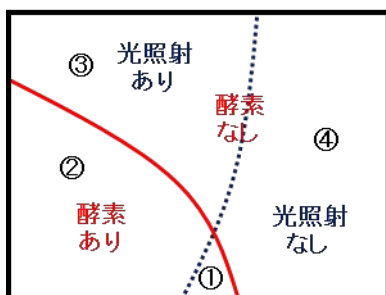
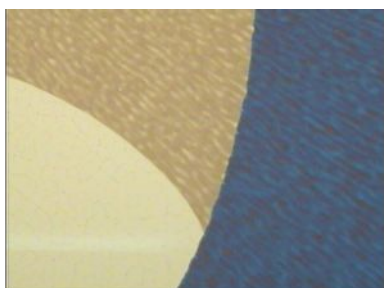


図4 (上) PLLA および光応答性化合物を逐次スピんキャストしたシリコン基板にマスクを通して紫外光照射し、液化した光応答性化合物を除去後、酵素溶液に浸漬した薄膜の光学顕微鏡写真。(下) 上の基板処理を示す模式図。

以上から、光照射の有無によって、生分解高分子の酵素分解の ON/OFF 制御が可能であることを示すことに成功した。これにより、分解の開始時期を任意に決めることができる高機能性の生分解性高分子の実現につながると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)
なし

〔学会発表〕(計 0 件)
なし

〔その他〕
ホームページ等
<https://unit.aist.go.jp/esprit/mol-assy/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

則包 恭央 (NORIKANE, Yasuo)
国立研究開発法人 産業技術総合研究

所・電子光技術研究部門・研究グループ長
研究者番号：50425740

(2) 研究分担者

吉川 佳広 (KIKKAWA, Yoshihiro)
国立研究開発法人 産業技術総合研究
所・電子光技術研究部門・主任研究員
研究者番号：30373294