

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26790070

研究課題名(和文)量子ビーム複合照射による多次元機能材料の創製：構造と機能のナノ制御

研究課題名(英文)Multifunctional Polymeric Materials Produced by Quantum Beams: Control of Both Topography and Physical/Chemical Properties

研究代表者

大山 智子(Oyama, Tomoko)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 先端機能材料研究部・主任研究員(定常)

研究者番号：90717646

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：量子ビーム複合照射によって誘起される各種化学反応とその分布を制御し、高分子材料の形状と物理的・化学的特性の3次元パターンングを実現して、多次元的な機能を付与することに成功した。特に薬剤を用いずに生体適合性材料を機能化・微細加工する技術を開発し、生体軟組織に相当する硬さ(1~100 kPa)とマイクロ形状を同時に制御して細胞形態を変化させるゼラチンハイドロゲル足場や、量子ビーム照射の一工程でポリジメチルシロキサン表面に長期安定な親水性の凹部を作り出して細胞を1つ1つ捕捉するデバイス等の開発へ発展させた。

研究成果の概要(英文)：Multifunctional polymeric materials with controlled topography and physical/chemical properties were produced by optimizing quantum-beam-induced chemical reactions and their three-dimensional distributions. Particularly, reagent-free functionalization and micro/nanopatterning of biocompatible polymers were realized in this study: gelatin hydrogels having variable stiffness in the range of soft tissue (1-100 kPa) and various micro-topography were developed for controlling cell morphology, and single-step fabrication of polydimethylsiloxane microwell arrays with long-lasting hydrophilic surfaces were fabricated for trapping cells/single-cells.

研究分野：量子ビーム科学

キーワード：量子ビーム 微細加工 機能化 医療・バイオデバイス 足場 生体材料

### 1. 研究開始当初の背景

高分子材料の微細加工技術は、紫外光による光化学反応を利用した加工技術が分解能の限界を迎えつつあり、極端紫外光 (EUV) をはじめとする量子ビーム (高精度に制御された光子・荷電粒子) が誘起する放射線化学反応を利用した加工技術へと大きな転換期を迎えている。申請者はこれまで、量子ビームによって分解・架橋反応を誘起し、その割合を制御することで、各種高分子材料の微細加工技術の開発を行ってきた。しかし、応用分野の拡大に伴って加工体に求められる特性は多様化しており、精密な微細加工技術に加え、物理的・化学的特性を付与する機能化技術が不可欠となる。

### 2. 研究の目的

本研究の最終目的は、「複合的な量子ビーム照射によって高分子材料の形状と物理的・化学的特性をナノスケールで制御した多次元的機能材料を創製する」ことである。

そこで本研究では、各種量子ビーム照射効果の空間分布を明らかにし、それを制御することで、形状と機能両方の3次元パターンングを試みた。特に医療・ライフサイエンス分野のニーズに応える、多次元的機能を有する生体適合性材料を創出することを目指した。

### 3. 研究の方法

本研究では量子ビーム誘起反応を制御し、高分子材料の形状と物理的・化学的特性の3次元パターンングを実現して多次元的機能デバイスを創製するため、以下のように研究を行った。

電子線・イオンビーム・線などの各種量子ビームと物質との相互作用によって、高分子材料中に分解・架橋・酸化等の化学反応を誘起した。

で誘起した各種化学反応による高分子材料の化学状態・物性・形態の変化を、走査型プローブ顕微鏡、顕微フーリエ変換赤外分光光度計、マイクロエリアX線光電子分光法等を用いて解析した。さらに、量子ビームのエネルギー付与分布や照射雰囲気等を調整し、化学状態・物性・形態の分布を3次元制御した。

で得られた知見から、形状と特定の物理的・化学的特性を変化させるための量子ビーム誘起反応の組み合わせや分布を最適化し、それぞれを3次元パターンングした。

特に生体適合性材料に の手法を導入し、生体適合性を保持したまま、形状と物理的・化学的特性を3次元パターンングする技術を開発し、バイオデバイスへの応用を試みた。

### 4. 研究成果

本研究の主要な成果は、以下の2つである。いずれも、既存の手法では困難な生体適合性を保持した改質・微細加工を、本研究により初めて実現したものである。

### (1) ゼラチンの改質・微細加工による機能性足場の開発

細胞外マトリックスの主成分であるコラーゲンから得られるゼラチンは、生体内環境を模擬する培養基材 (足場) の母材として有力な材料である。しかし、ゼラチンのゾル・ゲル転移温度は細胞培養温度に近く、これまで、アルデヒド等の細胞毒性の強い架橋剤で不溶化処理されていた。そこで本研究では量子ビームによってゼラチンを不溶化してその硬さを制御すると同時に微細加工する技術を開発した。

ゼラチンに量子ビームを照射すると、分解反応が優先される [原著論文]。そこで適量の水分を含んだ状態 (物理ゲル状態) で線 ( $^{60}\text{Co}$ ) を照射することにより、化学架橋を優先させて 50 に昇温しても溶けないハイドロゲルを作製した。本プロセスには、架橋剤等の薬剤は一切用いていない。なお、得られたハイドロゲルからはアルデヒドや有機酸など細胞毒性を有する成分は検出されず、生分解性を保持していることも確認した。

ハイドロゲルの硬さは、照射条件や試料作製条件によって、生体軟組織に相当する 1~100 kPa に調整可能である (図1)。さらに、架橋と成型を同時に行う「量子ビームナノインプリント」を開発し [図書]、非常に柔らかいハイドロゲルを精密に加工できるようになった (図1)。

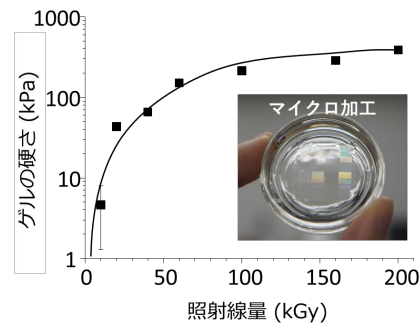


図1. 幅広い硬さとマイクロ形状を両立させたゼラチンハイドロゲル機能性足場

本研究で開発したゼラチンハイドロゲルを用いると、通常の培養ディッシュ上とは全く異なる細胞応答が見られる (図2)。足場の硬さと形状は、いずれも細胞機能に大きな影響を及ぼすことが分かっており、本研究で得られた材料は、生体適合性の高い機能性足場材料として今後の応用が期待される。

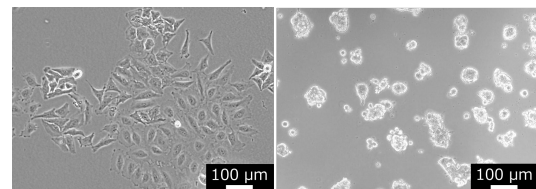


図2. 既存ディッシュ上 (左) と、本研究で開発した軟組織の硬さを持つゼラチンハイドロゲル上 (右) で培養した HeLa 細胞

なお、本研究で得られた成果は学会等で発表し[学会 - ]、第 59 回放射線化学討論会若手最優秀講演賞、RadTech Asia 2016 Outstanding Poster Award、第 16 回放射線プロセスシンポジウムポスターセッション最優秀賞を受賞した。

## (2)ポリジメチルシロキサンの改質・微細加工によるバイオデバイスの開発

ポリジメチルシロキサン(PDMS)は透明で自家蛍光がほとんどない(蛍光観察を邪魔しない)、安価な生体適合性高分子材料である。唯一の欠点である疎水性を改善するために、通常プラズマ照射による親水化処理が行われるが、その効果が処理後に急速に失われることがバイオデバイス応用への障壁となっていた。

そこで本研究では電子線が PDMS に付与するエネルギー分布の 3 次元制御と照射雰囲気調整によって、電子線の飛程に沿って架橋・酸化・分解反応を誘起した。その結果、PDMS 表面の厚さ数 10  $\mu\text{m}$  (55 kV 電子線の場合、約 40  $\mu\text{m}$ ) の範囲で疎水性の原因であるメチル基が減少し、 $\text{SiO}_x$  リッチな親水性の改質層が形成された。この厚い改質層により、分子の再配列による疎水性の復活が抑制され、培養環境下(培地中・37  $^{\circ}\text{C}$ )において1か月以上、安定に親水性を保持させることに成功した(図3)。

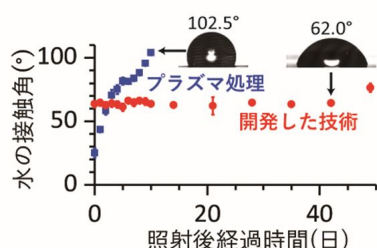


図3 .培養環境下における PDMS 親水化処理の経時安定性

さらに  $\text{SiO}_x$  リッチに変化した改質部の体積が減少することを利用して、現像等の化学処理を一切せず、電子線照射の1工程だけで親水化された凹部を作製することに成功した。疎水性の PDMS 基材に親水化された凹部が形成されるため、水をかけるだけで凹部に水滴がトラップされ、ドロップレットアレイを形成することができる。

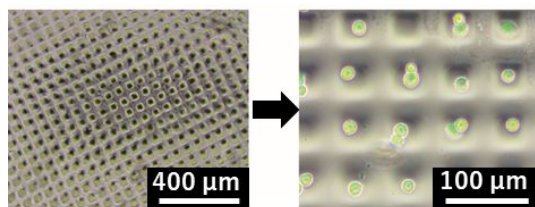


図4 .ドロップレットアレイ(左)と、細胞捕捉の例(右)

さらに1細胞培養・解析技術への応用を目指して直径と深さが数10  $\mu\text{m}$ の親水性の凹部を作製し、細胞を播種するだけで細胞を1つ1つ捕捉することにも成功した(図4)。

本研究成果は論文発表[原著論文]に加え、国内および国際特許を出願し[産業財産権]、プレスリリースを行なった。

## (3) まとめ

本研究では、量子ビーム複合照射によって様々な高分子材料の形状と物理的・化学的特性の3次元パターンングを実現し、多次元的な機能を付与することに成功した。開発した手法は化学薬剤を一切用いないことから、特に生体適合性材料の機能化・微細加工技術として、今後の医療・バイオ応用が期待される。

## 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3件)

T. G. Oyama, B. J. D. Barba, Y. Hosaka, and M. Taguchi, "Single-step fabrication of polydimethylsiloxane microwell arrays with long-lasting hydrophilic inner surfaces", *Applied Physics Letters*. vol. 112, pp. 213704-1-4, 2018. (査読有)  
DOI: 10.1063/1.5025076

T. G. Oyama, A. Oshima, and S. Tagawa, "Estimation of resist sensitivity for extreme ultraviolet lithography using an electron beam", *AIP Advances*. vol. 6, pp. 085210-1-7, 2016 (査読有)  
DOI: 10.1063/1.4961378

K. Haema, T. G. Oyama, A. Kimura and M. Taguchi. "Radiation stability and modification of gelatin for biological and medical applications", *Radiation Physics and Chemistry*. vol. 103, pp.126-130, 2014 (査読有)  
DOI: 10.1016/j.radphyschem.2014.05.056

[学会発表](計6件)

大山智子、大山廣太郎、木村敦、田口光正「放射線架橋ゼラチンハイドロゲルの開発と機能性足場材料への応用」、第59回放射線化学討論会、2016

T. G. Oyama, K. Oyama, A. Kimura, and M. Taguchi. "Reagent-free functional gelatin scaffolds fabricated by quantum beam nanoimprint lithography", 2016

大山智子、大山廣太郎、木村敦、田口光正「量子ビーム技術を駆使した機能性バイオデバイスの開発」第16回放射線プロセスシンポジウム、2016

T. G. Oyama and M. Taguchi, "Radiation Modification of Gelatin for Bio-/Medical-Applications" The 5<sup>th</sup> Asia Pacific Symposium on Radiation Chemistry, 2014

大山智子、田口光正「量子ビームナノインプリントリソグラフィを用いた生体適合性高分子の微細加工と改質」ナノ学会第12回大会、2014

大山智子、大山廣太郎、石渡信一、田口光正「医療・バイオデバイスに向けたゼラチンの放射線改質」第15回放射線プロセスシンポジウム、2014

〔図書〕(計2件)

大山智子「量子ビームを駆使した生体適合性材料の微細加工と機能化」、月刊機能材料、38巻5号、シーエムシー出版(2018)

大山智子「第19章 量子ビームナノインプリントによる高分子の改質と微細加工」、EB技術を利用した材料創製と応用展開【監修：鷲尾方一、前川康成】、シーエムシー出版(2016)

〔産業財産権〕

出願状況(計3件)

名称：試験用基材、及び試験用基材の製造方法

発明者：大山智子、田口光正、バーバビン ジェレマイア デュエナス、木下忍、井出崇

権利者：量子科学技術研究開発機構、岩崎電気株式会社

種類：特許

番号：PCT/JP2018/019084

出願年月日：2018年5月17日

国内外の別：国外

名称：試験用基材、及び試験用基材の製造方法

発明者：大山智子、田口光正、バーバビン ジェレマイア デュエナス、木下忍、井出崇

権利者：量子科学技術研究開発機構、岩崎電気株式会社

種類：特許

番号：特願2017-113092

出願年月日：2017年6月8日

国内外の別：国内

名称：MRI造影剤、及びMRI造影剤の製造方法

発明者：田口光正、廣木章博、木村敦、大山智子、中島健吾、青木伊知男、村山周平

権利者：量子科学技術研究開発機構

種類：特許

番号：特願2017-116241

出願年月日：2017年6月13日

国内外の別：国内

取得状況(計0件)

〔その他〕

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大山 智子(OYAMA, Tomoko. G.)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所・先端機能材料研究部・主任研究員(定常)

研究者番号：90717646