

量子ビームが可能にする高分子ナノ構造体の創製

研究代表者 鷲 尾 方 一
(先進理工学部・応用物理学科 教授)

1. 研究課題

高分子材料は、その軽量性、化学的安定性、絶縁性、生体分子適合性等多くの特性を備えている。本研究ではこれらの特性を持つ種々の高分子材料に対し、イオンビームや電子線等のいわゆる量子ビームを利用し、マイクロメートルスケールからナノメートルスケールの3次元構造体の創製技術を開発するとともに、その応用開発を行い、本研究によりもたらされる新しい機能性材料の実用化をも目指す。高分子のマイクロおよびナノ構造体は種々のメンブレンフィルター、反射防止膜、MEMS（マイクロマシン）、創エネデバイス作製技術等への応用が期待されているが、現在ナノ構造体を効率良く作製する実用的な技術は非常に限られており、本研究開発では、種々の量子ビームを縦横に駆使し、望まれる構造体を創製する技術の開発を目指すものである。

本研究では、高分子を材料として放射線照射による化学反応に対する基礎的知見を得るとともに、応用研究として温度応答性の医療用デバイス開発についても昨年に引き続き研究を継続しており今回はこの進捗状況を中心に報告する。

2. 主な研究成果

近年、体内組織と親和性の高い培養細胞を獲得するため、Poly(*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAAm)を導入した細胞培養器材の開発が進められており、鷲尾研究室においても上記の性能を持つ細胞培養膜の研究に取り組んでいる。本研究では、重合時に使用するNIPAAm溶液の濃度を変えることで異なるグラフト率の試料を作製し、温度応答性を評価した。また、ESRと¹³C-NMR分析よりベース基材のエチレン-テトラフルオロエチレン共重合体(ETFE)とPNIPAAmのグラフト重合機構を考察した。

実験方法

ETFE(ダイキン工業、膜厚:50μm)に対し低エネルギー電子線加速器(NHV コーポレーション, Curetron®)を用いて電子線(200kV, 1mA, 150kGy)を室温、窒素気流中で照射した。そして1時間大気曝露を施した後、反応容器に試料と10, 20, 30, 40, 50, 60 wt%に調製されたNIPAAm溶液を入れ、80°Cの恒温槽内で24時間重合反応させた。作製したグラフト重合試料(GM)に対し、グラフト率(GY)の測定、及び37°Cと20°Cにおける接触角測定を行なった。そしてC2C12細胞を試料上に 5×10^5 cells播種し、37°C, 5%CO₂下で2日間培養した。その後、20°Cの環境下に移動させ、細胞シートの剥離を試みた。また、反応機構を評価するため、ESR, ¹³C-NMR測定を行った。なお、各濃度条件で作製されたGMはN-GM(Nは使用したNIPAAm溶液の濃度)として示す。

結果と考察

図1に各試料の ^{13}C -NMR測定結果を示す。ETFEと照射ETFE(Ir-ETFE)においてエチレン部分(22ppm)とTFE部分(118ppm)を示す2つのピークを確認したのに対し、GMでは上記2つに加え、アミド結合の $\text{C}=\text{O}$ 部分(174ppm)とイソプロピル基(41ppm)を示すピークも観測した。また、電子線照射によるピーク(1)の面積減少、及びピーク(3)の低化学シフト側への移動を確認した。この結果から、エチレン部分では架橋反応などによる新たな構造の形成、テトラフルオロエチレン(TFE)部分では他原子の結合が示唆された。さらにESR測定よりアルキルラジカル由来のパラオキシラジカルの存在を観測したことから、以下のような反応機構を推定できる。

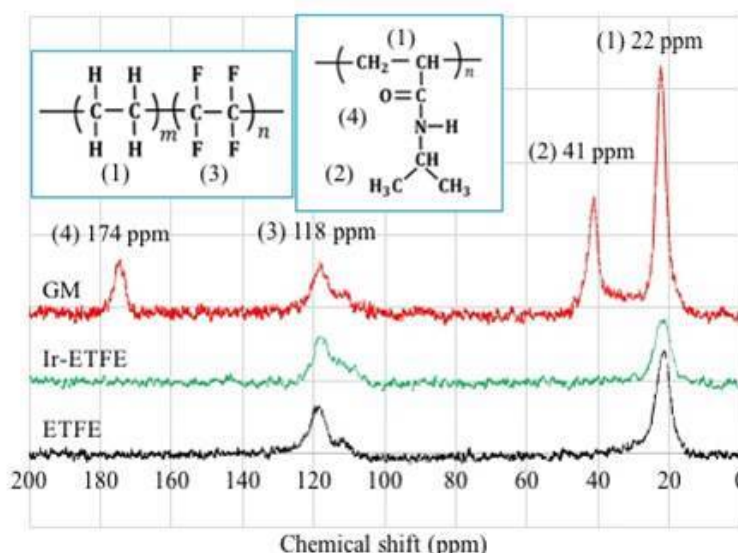


図1 ETFE,Ir-ETFE 及び GM(グラフト重合試料) に対する NMR の結果

電子線照射による初期反応を通じて引き起こされる解離性電子付加反応により TFE 部分にアルキルラジカルが形成される。その後、解離した F ラジカルによりエチレン部分の水素原子が引き抜かれ、その部分に生成されたラジカル同士が反応し二重結合及び架橋構造が形成される。一方、TFE 部分では F 原子の立体障害によりアルキルラジカルが残ると考えられる。そのため大気曝露によりパラオキシラジカルが生成し、その部分から PNIPAAm のグラフト重合が開始すると考えることができる。

図2に位相差顕微鏡で観察された40-GM上での培養画像と接触角測定の結果を示す。表面の濡れ性の変化に伴い、37℃における細胞の増殖、及び20℃における細胞シートの剥離を観察した。しかし本研究で最もグラフト率が高かった30-GM (GY=16.3%)では細胞が密に増殖せず、部分的に接着していなかった。

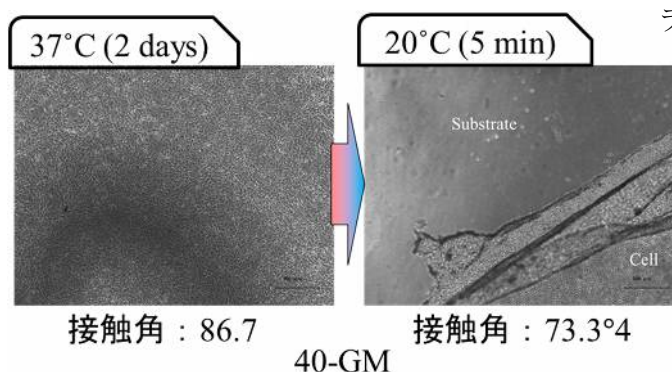


図2 位相差顕微鏡による細胞培養と剥離の様子 (左：培養膜、右：剥離状況)

これは、PNIPAAm 導入量の増加により表面の親水性が向上し、細胞接着に適さなくなったからであると考えられる。また、剥離性能もグラフト

率の高さに影響した。グラフト率が高くなるにつれ濡れ性の増加量は大きくなり、グラフト率の高い30-GMや40-GM (GY=14.9%) では最短15分での完全剥離に成功した。以上のように電子線グラフト重合法を利用しグラフト率の異なる温度応答性細胞培養膜を作製した。この中でESR測定、及び ^{13}C -NMR測定よりPNIPAAmとETFEのグラフト機構をかなりの精度で推定することができた。そして40-GM上での温度変化を与えた細胞培養において、損傷のないC2C12細胞のシート組織を獲得することに成功した。

謝辞： 本研究の遂行において、早稲田大学先進理工学研究科、武岡真司教授及び武岡研、末松良隆院生に細胞培養にかかわる実験において多大なご協力をいただいた。ここに謝意を表したい。また大阪大学

大学院工学研究科,大島明博特任教授には研究全般に関して、多くのご助言をいただいた。ここに謝意を表したい。

3. 共同研究者

有光晃二（理工総研・客員上級研究員）	小林慶規（理工総研・客員上級研究員）
岡 壽崇（理工総研・招聘研究員）	坂上 和之（高等研・助教、現東京大学）
伊藤 政幸（理工総研・招聘研究員）	三浦 喬晴（理工総研・招聘研究員）
佐々木 隆（理工総研・招聘研究員）	保坂 勇志（理工総研・翔平研究員）
大山 智子（理工総研・招聘研究員）	長澤 尚胤（理工総研・招聘研究員）

4. 研究業績

4.1 学術論文

- ・ Fabrication of thermo-responsive cell-culture membranes with Poly(Nisopropylacrylamide) by electron-beam graft polymerization, Ryoya Shimura, Yoshitaka Suematsu, Hiroto Horiuchi , Shinji Takeoka , Akihiro Oshima, Masakazu Washio, Radiation Physics and Chemistry, Volume 171, 2020, 108741, 1-8
- ・ 電子線グラフト重合法によるPoly (N-isopropylacrylamide) を導入した温度応答性細胞培養膜の作製, 志村亮弥他, *RADIOISOTOPES*, **68**, 339-344 (2019) , doi: 10.3769/radioisotopes.68.339
- ・ 重粒子照射による高分子材料の空間制御-機能性材料開発を中心に-, 鷲尾方一、大島明博、長澤尚胤、村上健, *RADIOISOTOPES*, **68**, No.4, 259-265(2019), doi: 10.3769/radioisotopes.68.259

4.2 総説・著書

なし

4.3 招待講演

なし

4.4 受賞・表彰

- ・ R.Shimura, et.al., 15th Trombay Symposium on Radiation & Photochemistry (Jan. 2020, Mumbai)
優秀ポスター賞 “FABRICATION OF THERMO-RESPONSIVE CELL CULTURE MEMBRANE WITH POLY(N-ISOPROPYLACRYLAMIDE) BY ELECTRON BEAM GRAFT POLYMERIZATION”
- ・ 堀内寛仁他、第 56 回アイソトープ・放射線研究発表会（2019 年 7 月東京） 若手優秀講演賞、電子線グラフト重合法を用いた微細構造を有する温度応答性細胞培養膜の作製

4.5 学会および社会的活動

日本放射線化学会や日本アイソトープ協会、日本加速器学会等の活動を通じ、本プロジェクトの成果を種々の場で発信するとともに、実用の際する共同研究も視野に入れた活動を強化する。

5. 研究活動の課題と展望

イオンビームや種々のエネルギーの電子線,更には良く制御された（空間的,時間的に）X線な

どを用いることで、微細な構造を持つ種々の先端デバイスの創製について大きな期待がもたれている。また実用化を目指すため、電子線を用いた微細加工についてもさらに検討を加える。2019 年度は、レーザーを含む量子ビームを有機的に組み合わせた実用的なデバイス創製とメカニズム解明に向けた研究を継続する。