報 文

生体試料測定のためのクラウンエーテル化学修飾ポリシルセスキオキサンをイオン感応膜とするイオンセンサーの開発

矢嶋 摂子^{*1}, 岸 将人¹, 木村 恵一¹

イオンセンサーの感応膜材料として、無機-有機複合材料であるポリシルセスキオキサン (PSQ) に着目した。メチル基とビニル基を4:1で備えたPSQを用いて、ヒドロキシ基を有するクラウンエーテル誘導体を化学結合した。これをイオン感応性電界効果型トランジスタのゲート部分に製膜して、イオンセンサーとしての性能と生体適合性について検討した。その結果、18-クラウン-6誘導体を化学結合したPSQは、カリウムイオンに対して感度よく応答を示し、従来の18-クラウン-6誘導体を含むイオン感応膜と同様のカリウムイオン選択性を示した。また、PSQ誘導体に対するフィブリノーゲンの吸着実験を行った結果、吸着が非常に抑制されており、生体適合性を示すことが示唆された。

1 緒 言

生体内には多くのイオンが存在し、その濃度がさまざまな病状の変化を反映することから、それらを測定することは診断、治療等の医療分野において重要である。そのため、迅速に正確な値が得られる測定方法が必要である。また、体内のイオン濃度の変化をリアルタイムで長期間にわたって測定できるような方法も望まれている。これらの要望を満たすイオンセンサーとして、小型化、連続モニタリングが可能なことや、迅速な応答を示すことからイオン選択性電極 (Ion Selective Electrode, ISE) やイオン感応性電界効果型トランジスタ (Ion Sensitive Field Effect Transistor, ISFET) が挙げられる。これらは、さまざまな化合物を含む試料から、高い選択性で目的イオンを検出することが可能であるうえ、非常に簡単な操作で結果が得られる。そのため、生体試料のような混合試料を前処理せずに分析するのに有効であり、生体試料のナトリウムイオンやカリウムイオンの測定には既にISEが使われている。電気的に中性なイオノフォア (ニュートラルキャリヤ) を用いたISEが開発されて以来、この40年ほどの間に、多くの種類のイオンセンサーが開発されてきた^{1)~7)}。しかし、そのイオン感応膜には一般に支持体 (ポリ塩化ビニル, PVC) や膜溶媒が使用されており、これらの化合物は生体適合性に乏しいので、生体試料を長期間測定する場合、イオン感応膜表面にタンパク質の付着や血栓の生成が起こり、次第にセンサー性能が低下するようになる。これを防ぐためには、生

体が異物として認識しない、すなわち生体適合性をもつ材料を用いてイオンセンサーを構築することが必要である。これまでに開発された生体適合性のイオンセンサーとしては、例えば、従来の可塑性PVC膜表面に生体膜の構成成分であるリン脂質高分子を被覆したものをイオン感応膜として使用したものが報告されている。このイオンセンサーは、従来のセンサー性能は保ったまま、優れた生体適合性を示すことが報告されている^{8)~10)}。また、最近では、アジ化したPVCにテトラエチレングリコールを化学結合したものをイオン感応膜として使用されたケースも報告がある¹¹⁾。また、膜溶媒を使用する必要がなく、生体に不活性であるゾル-ゲルガラスを利用した感応膜も作製されてきた。ゾル-ゲルガラスは、アルコキシシラン誘導体の加水分解、脱水縮合により得られる化合物で、生体に不活性であるため、生体適合性材料として知られている。そのため、酵素¹²⁾やバリノマイシン¹³⁾を包埋したゾル-ゲルガラスをイオン感応膜として使用したセンサーの報告がある。また、環状のクラウンエーテル誘導体¹⁴⁾¹⁵⁾及び非環状のカルシウムイオノフォア¹⁶⁾をゾル-ゲルガラスに化学結合したセンサーも報告された。これらのセンサーは、優れたセンサー性能と生体適合性を示すことが確認された。イオノフォアをゾル-ゲルガラスに化学結合することにより、イオノフォアが膜から溶出するのを防ぐことができ、センサーの寿命を延ばすことが可能となる。また、シロキサン結合を含む類似の膜材料としては、より柔軟なシリコンゴムを用いたものも報告されている。これについても、イオノフォアを包埋したもの^{17)~19)}と化学結合したもの²⁰⁾²¹⁾をセンサーの感応膜として使用したところ、優れたセンサー性能と生体適合性を示し、特に、イオノフォアを化学

* E-mail: yajima@sys.wakayama-u.ac.jp

¹ 和歌山大学システム工学部: 640-8510 和歌山県和歌山市栄谷930番地

Fig. 1 Chemical structure of polysilsesquioxane used in this study

結合したものは、少なくとも5か月はその性能が持続したと報告されている。

本研究では、シロキサン結合を含む類似の無機-有機複合体として、ポリシルセスキオキサン (PSQ) に着目した。PSQは、シリコンレジンがもつ耐熱性、耐候性、電気絶縁性という特徴を備えているため、エレクトロニクスやフォトニクス分野での応用が検討されている²²⁾。また、PSQは、シロキサン結合からなる無機部分に有機官能基が一つ導入された構造をもち、そこへ機能性官能基を導入することが可能であるため、この部分に導入する官能基の種類を変化させることで、さまざまな特性をもつ材料を作製できる可能性がある。これらの特徴から、さまざまな分野への発展が期待できる。しかし、これまでPSQがイオン感応膜材料として使用されたことはない。PSQをイオン感応膜材料として使用すれば、ゾル-ゲルガラスやシリコンゴムを用いた場合と同様、従来のイオン感応膜に添加されていたPVCや膜溶媒を必要としないため、生体適合性を示すことが期待できる。また、イオノフォアをPSQに化学結合することで、イオノフォアの膜からの溶出を防ぐことが可能となるため、特に生体内のイオン濃度を連続モニタリングする際に生体への影響も少なくなるうえ、膜の寿命も延びると期待できる。今回は、メチル基とビニル基を4:1で備えたPSQ (Fig. 1) を用いて、PSQのビニル基部位とヒドロキシ基を有するクラウンエーテル誘導体を反応させ、イオノフォアを化学結合したPSQ誘導体を合成した。これをISFETのゲート部分に製膜して、イオンセンサーとしての性能と生体適合性について検討した。

2 実 験

2.1 試 薬

PSQ (側鎖ビニル基:メチル基=1:4, 分子量:1430, 末端はエトキシシリル基) は、小西化学工業(株) (和歌山市) から提供していただいた。メトキシトリメチルシラン (MTMS, 東京化成工業製)、ポリジメチルシロキサン (PDMS, 分子量:550 及び 4000, 末端:ヒドロキシ基, シグマ・アルドリッチ製) は、購入したものをそのまま使用した。N-ブロモスクシンイミド (NBS, 和光純薬工業製) は特級試薬を、ジエチレングリコールジメチルエーテル (ジグライム, ナカライテスク製)、1,2-ジメトキシエタン

(グライム, 和光純薬工業製)、テトラエチレングリコール (TEG, 関東化学製) は1級試薬を購入し、そのまま使用した。イオノフォアとして使用した2-(ヒドロキシメチル)-15-クラウン-5, 2-(ヒドロキシメチル)-18-クラウン-6は、既報を参考にして合成した²³⁾。塩化カリウム, 塩化ナトリウム, リン酸水素二ナトリウム, リン酸二水素カリウムは特級試薬を購入し、そのまま使用した。テトラキス (4-クロロフェニル) ホウ酸カリウム (KTpCIPB, 和光純薬工業製), フィブリノーゲン (牛血漿由来, 和光純薬工業製) は購入したものを、精製せずに使用した。測定にはイオン交換水を使用した。

2.2 PSQ 誘導体の合成²⁴⁾

2.2.1 PSQ-TEG1 20 mL サンプル管に、PSQ 1.00 g (モノマーユニット換算 1.44×10^{-2} mol), TEG 3.73 g (1.92×10^{-2} mol), MTMS 0.30 g (2.88×10^{-3} mol), ジグライム 10 mL を入れ、室温にて攪拌して溶解させた。その後、NBS 0.82 g (4.61×10^{-3} mol) を加え、45 °C で1晩攪拌した [Fig. 2 (a)]。反応後、ヘキサン 400 mL を貧溶媒として再沈殿を行い、10 分間、遠心分離 (4600 × g) することにより沈殿を回収した。イオン交換水で洗浄し、遠心分離 (4600 × g) を10 分間行う操作を3 回繰り返して精製した。得られた沈殿を少量のアセトンに溶解して回収し、溶媒を留去後、得られた固体を減圧乾燥し、無色の粘性液体を得た。

2.2.2 PSQ-TEG2 PSQ 0.50 g (モノマーユニット換算 7.19×10^{-3} mol), TEG 0.34 g (1.75×10^{-3} mol), PDMS (分子量:550) 0.53 g (モノマーユニット換算 7.15×10^{-3} mol), グライム 5 mL, NBS 0.31 g (1.74×10^{-3} mol) を用いて、PSQ-TEG1 と同様の操作で反応させた [Fig. 2 (b)]。反応後、グライムをロータリーエバポレーターで留去し、トルエン 200 mL を加えて、イオン交換水 200 mL で5 回洗浄を繰り返した。有機相の溶媒をロータリーエバポレーターで減圧留去した。この時、溶媒を完全に留去しないように注意し、無色透明の固体を得た。

2.2.3 PSQ-TEG3 PSQ 1.0 g (モノマーユニット換算 1.44×10^{-2} mol), TEG 0.68 g (3.50×10^{-3} mol), PDMS (分子量:4000) 1.06 g (モノマーユニット換算 1.43×10^{-2} mol), グライム 10 mL, NBS 0.62 g (3.48×10^{-3} mol) を用いて、PSQ-TEG1 と同様の操作で反応させた [Fig. 2 (b)]。精製はPSQ-TEG2 と同様の方法で行い、無色透明の固体を得た。

2.2.4 PSQ-15C5 PSQ 0.50 g (モノマーユニット換算 7.19×10^{-3} mol), 2-(ヒドロキシメチル)-15-クラウン-5 0.43 g (1.72×10^{-3} mol), PDMS (分子量:550) 0.53 g (モノマーユニット換算 7.15×10^{-3} mol), グライム 5 mL, NBS 0.31 g (1.74×10^{-3} mol) を用いて、PSQ-TEG1 と同様

Fig. 2 Scheme of the reaction routes of PSQ derivatives: (a) PSQ-TEG1, (b) PSQ-TEG2, PSQ-TEG3, PSQ-15C5, PSQ-18C6

の操作で反応させた [Fig. 2 (b)]. 精製は PSQ-TEG2 と同様の方法で行った (イオン交換水による洗浄は 2 回). 無色透明の固体を得た.

2・2・5 PSQ-18C6 PSQ 0.30 g (モノマーユニット換算 4.31×10^{-3} mol), 2-(ヒドロキシメチル)-18-クラウン-6 0.31 g (1.10×10^{-3} mol), PDMS (分子量: 550) 0.35 g (4.72×10^{-3} mol), グライム 3 mL, NBS 0.19 g (1.07×10^{-3} mol) を用いて, PSQ-TEG1 と同様の操作で反応させた [Fig. 2 (b)]. PSQ-TEG2 と同様の方法で精製を行い, 無色透明の固体を得た.

2・3 イオン感応膜の作製

2・2 で得た PSQ-TEG1 10 mg, KTpCIPB 1.5 mg を THF 0.4 mL に溶解し, pH-ISFET (ビー・エー・エス製, 1313) のゲートに 4 μ L 塗布し, 一晚室温で乾燥した. それ以外の PSQ 誘導体については, PSQ 誘導体 10 mg, KTpCIPB 1.5 mg を酢酸エチルに溶解し (PSQ-TEG3 については 0.2 mL, それ以外の場合は 1.2 mL), pH-ISFET のゲートに 4 μ L 塗布し, 一晚室温で乾燥後, 80 $^{\circ}$ C にて 10 時間加熱した.

2・4 電位応答測定

電位応答測定は, ISFET メーター (新電元工業製) により, 25 $^{\circ}$ C で行った. 参照電極としては, ダブルジャンクション型 Ag/AgCl 電極 (電気化学計器製, 4083-0.65C) を用いた. 電位応答に用いたセルは以下の通りであった.

Ag | AgCl | 3 mol L⁻¹ KCl || 0.1 mol L⁻¹ CH₃COOLi ||
試料溶液 | 感応膜 | FET

KCl は, $1.0 \times 10^{-6} \sim 2.5 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ で変化させた. 電位応答を測定する前に, 1.0×10^{-2} mol L⁻¹ KCl 水溶液で一晩コンディショニングを行った. 電位応答測定の際のソースドレイン電圧及び電流は, それぞれ 5.0 V 及び 100 μ A であった. 作製したイオンセンサーの選択係数は, matched potential 法 (MPM) により求めた. 測定は 4 回以上行い, 平均と標準偏差を算出した.

2・5 タンパク質吸着実験

銅板 (約 1 cm $\times$ 1 cm) に, PSQ 誘導体 (PSQ-TEG2, PSQ-15C5) の酢酸エチル溶液をキャストし, 室温で 3 時間乾燥させたのち, 80 $^{\circ}$ C で 10 時間加熱した. フィブリノーゲンが 300 mg dL⁻¹ となるように, リン酸緩衝液 (PBS, NaCl: 1.37×10^{-1} mol L⁻¹, KCl: 2.68×10^{-3} mol L⁻¹, Na₂HPO₄: 8.18×10^{-3} mol L⁻¹, KH₂PO₄: 1.47×10^{-3} mol L⁻¹) 20 mL に溶解したものをシャーレに入れ, 銅板上に作製した感応膜を 25 $^{\circ}$ C にて 14 時間浸漬した. 膜を取り出し, ビーカーに入れたイオン交換水で洗浄したのち, 室温で 10 時間減圧乾燥した. オートファインコート (JFC-1600, JEOL 製) を用いて, 銅板に 150 Å の厚みで Au を蒸着し, SEM 観察 (SM-820, JEOL 製, 加速電圧: 20 kV) を行った. また, 比較のために可塑化 PVC 膜 [PVC: 28.6 wt%, セバシン酸ビス (2-エチルヘキシル): 71.4 wt%] を

Fig. 3 EMF responses to K^+ activity of the ion-sensing membranes: (a) PSQ-TEG2, (b) PSQ-15C5, (c) PSQ-18C6

作製し、銅板上に貼付したものについても同様の実験を行った。

3 結果と考察

3.1 PSQ 誘導体

PSQ にイオノフォアを化学結合した PSQ 誘導体を用いてイオン感応膜を作製可能かどうかについて、まず、TEG をイオノフォアの代わりに反応させて検討することにした。この合成経路について、MTMS との反応を Fig. 2 (a) に、PDMS との反応を Fig. 2 (b) に示した。ジグライム中で PSQ と TEG 及び NBS のみを反応させたところ、得られた化合物はゲル化してしまい、どの溶媒にも溶解することができなくなった。これは、末端にトリエトキシシリル基を有する PSQ 同士が反応したことによると考えられた。この反応を防ぐため、MTMS または PDMS (分子量: 550 または 4000) を添加し、PSQ の末端のエトキシシリル基と反応させることにした。その結果、得られた化合物は粘性液体 (PSQ-TEG1) または固体 (PSQ-TEG2, PSQ-TEG3) であり、再度溶媒に溶解して製膜することが可能であった。これにより、PSQ の末端のエトキシシリル基を他の化合物と反応させてキャップすることは、この PSQ をイオン感応膜材料として使用する場合に有用であることがわかった。ただ、得られた化合物を完全に乾燥させてしまうと、溶媒に溶解することができなくなったため、溶媒を完全に留去しないように注意して保管した。電位応答測定 (後述) の結果、添加する化合物は PDMS が適切であるとわかった。そ

こで、PSQ とクラウンエーテル誘導体を反応させる場合には、PDMS を添加することにした。

3.2 TEG 修飾 PSQ の電位応答

PSQ の末端を MTMS でキャップした PSQ-TEG1 を ISFET のゲート部分に製膜し、KCl に対する電位応答を測定した。その結果、感応膜を作製することに応答の傾きが異なり ($46.9 \sim 57.2 \text{ mV decade}^{-1}$)、応答の直線範囲も狭い ($3.2 \times 10^{-3} \sim 2.5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) ことがわかった。これは、MTMS を添加しない場合と比較すると、PSQ 同士の反応は抑制されたものの、PSQ 末端のエトキシシリル基と MTMS の反応の進行の程度が、製膜することにより異なるためであると考えられる。

PSQ の末端を PDMS (分子量: 550) でキャップした PSQ-TEG2 の KCl に対する電位応答を測定したところ、電位応答の傾きと応答の直線範囲は、それぞれ $53.9 \text{ mV decade}^{-1}$ 、 $1.0 \times 10^{-4} \sim 2.5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ であり [Fig. 3 (a)], 再現性のある結果が得られた。また、PSQ の末端を PDMS (分子量: 4000) でキャップした PSQ-TEG3 についても KCl に対する電位応答を測定したところ、 $51.0 \text{ mV decade}^{-1}$ 、 $3.2 \times 10^{-4} \sim 2.5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ であり、再現性があった。分子量が異なる PDMS でキャップしても電位応答はあまり変化しなかったが、分子量が大きな PDMS でキャップした場合、やや傾きが小さく、直線範囲が狭かった。2 種類の PDMS は、モノマーユニット換算で同じ物質を添加しているが、分子量が小さい方が末端に含まれるヒドロキシ基が、反応溶液中に多く存在することになるため、PSQ 末端との反応が進行しやすいと予想され、これが原因であると考えられる。また、PSQ-TEG2 及び PSQ-TEG3 については、水中で 2 週間保管しても電位応答は変化せず、イオン感応膜が安定であることがわかった。これより、クラウンエーテル誘導体を化学結合する場合には、PDMS (分子量: 550) を添加して反応させることにした。また、PSQ-TEG2 について、ナトリウムイオンに対するカリウムイオンの選択係数 ($\log k_{KNa}^{\text{pot}}$) を算出したところ、 -0.66 ± 0.01 であり、ややカリウムイオン選択性であることがわかった。

3.3 クラウンエーテル誘導体修飾 PSQ の電位応答

PSQ の末端を PDMS (分子量: 550) で反応させた PSQ-15C5 と PSQ-18C6 の KCl に対する電位応答を測定した。15-クラウン-5 の環サイズはナトリウムイオンとフィットするが、二量体 [ビス(15-クラウン-5)誘導体] はカリウムイオン選択性であることが知られている。PSQ を 2-(ヒドロキシメチル)-15-クラウン-5 と反応させた場合、PSQ の複数箇所に 15-クラウン-5 が導入されるため、近くに存在する 15-クラウン-5 が二量体のように働き、カリウムイオン選択性を示すことが期待できる。PSQ-

Fig. 4 SEM photographs (magnification of 250) of ion-sensing membranes after fibrinogen treatment: (a) PVC membrane, (b) PSQ-TEG2, (c) PSQ-15C5

15C5のKClに対する電位応答は、傾きが $54.1 \text{ mV decade}^{-1}$ 、直線範囲が $1.0 \times 10^{-4} \sim 2.5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ であった [Fig. 3 (b)]. 一方、PSQ-18C6のKClに対する電位応答については、傾きが $57.5 \text{ mV decade}^{-1}$ 、直線範囲が $1.0 \times 10^{-4} \sim 2.5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ であった [Fig. 3 (c)]. これらは、応答の直線範囲に違いはないが、電位応答の傾きはPSQ-18C6の方が優れていた。また、どちらの場合も応答に再現性があった。さらに、ナトリウムイオンに対するカリウムイオンの選択係数 ($\log K_{\text{KNa}}^{\text{pot}}$) を算出したところ、PSQ-15C5では、 -0.31 ± 0.01 、PSQ-18C6では -1.74 ± 0.02 であり、どちらもカリウムイオン選択性を示したが、PSQ-15C5の値はカリウムイオン選択性が優れていると言い難く、PSQ-TEG2の場合と近い値であった。これは、多くの単環のクラウンエーテルをPSQに化学結合しても、ビス体としては働いていないことを示している。一方、PSQ-18C6は、従来の単環の18-クラウン-6誘導体の選択係数とほぼ同様の結果であった²⁵⁾。これらの結果より、PSQにイオノフォアを化学結合させてイオン感応膜として使用した場合、従来のイオノフォアが示す性能を保持していることがわかった。

3・4 タンパク質の吸着実験

生体適合性を示さないイオン感応膜を用いて生体試料の測定を行うと、膜表面にタンパク質などが吸着するようになり、感度よい応答を示さなくなる。今回作製したPSQ誘導体が、生体適合性を示すかどうか、タンパク質吸着実験を行うことで調べることにした。タンパク質としては、フィブリノーゲンを用いた。フィブリノーゲンは血液凝固因子として知られており、付着すると、これをきっかけに血液が凝固し、血栓へと成長していくことになる。そこで、血中のフィブリノーゲン濃度と同程度になるように溶液を調製して使用した。

PSQ-TEG2、PSQ-15C5をフィブリノーゲンのPBS溶液に浸漬した結果を、比較の可塑化PVC膜の結果と合わせてFig. 4に示した。これより、可塑化PVC膜には、多くのフィブリノーゲンが付着しているのがわかる [Fig. 4 (a)]. 一

方、PSQ誘導体に関しては、PSQ-TEG2、PSQ-15C5ともに、かなり付着が抑制されているのがわかった [Fig. 4 (b), (c)]. TEG及び15C5を化学結合したPSQ誘導体は、どちらもフィブリノーゲンの付着が非常に少なく、これらの膜が生体適合性を示すことが示唆された。

本研究では、イオンセンサーの感応膜材料として、無機-有機複合材料であるPSQに着目した。ビニル基を備えたPSQを用いて、ヒドロキシ基を有するクラウンエーテル誘導体を化学結合し、これをISFETのゲート部分に製膜して、イオンセンサーとしての性能と生体適合性について検討したところ、18-クラウン-6誘導体を導入したPSQは、カリウムイオンに対して優れた応答を示した。また、フィブリノーゲンの吸着実験を行ったところ、PSQ誘導体はフィブリノーゲンの吸着が非常に抑制されており、生体適合性を示すことが示唆された。イオノフォアにヒドロキシ基を導入しておけば、同様の手法でPSQに化学結合することが可能であるため、この手法は、生体適合性に優れたイオン感応膜作製の一般的かつ有用な方法となると考えられる。今後は、体内での測定に使用可能な寿命があるかを検討するために、数ヶ月にわたってセンサー性能と生体適合性の両方について時間変化を検討する予定である。

謝 辞

本研究は、わかやま産業振興財団都市エリア産学官連携促進事業(発展型)「ケイ素を含む有機無機ハイブリッド材料の開発」(2007～2009年度)の助成を受けたものです。ここに謝意を表します。

文 献

- 1) P. Bühlmann, E. Pretsch, E. Bakker : *Chem. Rev.*, **98**, 1593 (1998).
- 2) R. P. Buck, E. Linder : *Anal. Chem.*, **73**, 88A (2001).
- 3) E. Bakker, M. Telting-Diaz : *Anal. Chem.*, **74**, 2781 (2002).
- 4) E. Bakker : *Anal. Chem.*, **76**, 3285 (2004).
- 5) E. Bakker, Y. Qin : *Anal. Chem.*, **78**, 3965 (2006).

- 6) A. Bratov, N. Abramova, A. Ipatov : *Anal. Chim. Acta*, **678**, 149 (2010).
- 7) D. W. Kimmel, G. LeBlanc, M. E. Meschievitz, D. E. Cliffl : *Anal. Chem.*, **84**, 685 (2012).
- 8) S. Yajima, K. Suzuki, K. Kimura : *Anal. Sci.*, **16**, 899 (2000).
- 9) S. Yajima, Y. Sonoyama, K. Suzuki, K. Kimura : *Anal. Chim. Acta*, **463**, 31 (2002).
- 10) M. J. Berrocal, R. D. Johnson, I. H. A. Badr, M. Liu, D. Gao, L. G. Bachas : *Anal. Chem.*, **74**, 3644 (2002).
- 11) M. Pawlak, G. Mistlberger, E. Bakker : *J. Mater. Chem.*, **22**, 12796 (2012).
- 12) J. Wang : *Anal. Chim. Acta*, **399**, 21 (1999).
- 13) K. Kimura, T. Sunagawa, M. Yokoyama : *Anal. Chem.*, **69**, 2379 (1997).
- 14) K. Kimura, T. Sunagawa, S. Yajima, S. Miyake, M. Yokoyama : *Anal. Chem.*, **70**, 4309 (1998).
- 15) K. Kimura, S. Yajima, K. Okamoto, M. Yokoyama : *J. Mater. Chem.*, **10**, 1819 (2000).
- 16) S. Yajima, S. Uchida, Y. Hori, K. Kimura : *Supramol. Chem.*, **22**, 420 (2010).
- 17) Y. Tsujimura, M. Yokoyama, K. Kimura : *Electroanalysis*, **5**, 803 (1993).
- 18) Y. Tsujimura, M. Yokoyama, K. Kimura : *Sens. Actuators, B*, **22**, 195 (1994).
- 19) Y. Tsujimura, M. Yokoyama, K. Kimura : *Anal. Chem.*, **67**, 2401 (1995).
- 20) Y. Tsujimura, T. Sunagawa, M. Yokoyama, K. Kimura : *Analyst*, **121**, 1705 (1996).
- 21) K. Kimura, Y. Tsujimura, M. Yokoyama, T. Maeda : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **71**, 657 (1998).
- 22) 伊藤真樹監修 : “シルセスキオキサン材料の化学と応用展開”, (2007), (シーエムシー出版).
- 23) T. Miyazaki, S. Yanagida, A. Itoh, M. Okahara : *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **55**, 2005 (1982).
- 24) Y. Nakahara, C. Ma, H. Yamamoto, F. Oi, K. Kimura : *Chem. Lett.*, **38**, 876 (2009).
- 25) G. A. Rechnits, E. Eyal : *Anal. Chem.*, **44**, 370 (1972).

Development of Ion Sensors Based on Polysilsesquioxane Modified Chemically with Crown Ether Derivatives in View of *in vivo* Analyses

Setsuko YAJIMA^{*1}, Masato KISHI¹ and Keiichi KIMURA¹

^{*} E-mail : yajima@sys.wakayama-u.ac.jp

¹ Faculty of Systems Engineering, Wakayama University, 930, Sakaedani, Wakayama-shi, Wakayama 640-8510

(Received December 2, 2016; Accepted January 27, 2017)

We used polysilsesquioxanes (PSQ), which are inorganic-organic composites, as ion-sensing membrane materials of ion sensors. In this study, PSQ-bearing methyl and vinyl groups at a ratio of 4 : 1 were modified chemically with crown ether derivatives. The membranes were formed from solutions of these compounds on the gates of ion-sensitive field-effect transistors, and used as ion-sensing membranes. The ion-sensor properties of these membranes were investigated at 25 °C. Ion-sensing membranes based on these PSQ responded to K⁺. In the case of PSQ chemically immobilized with 18-crown-6, the Nernstian response for K⁺ activity changes was obtained, and the K⁺ selectivity of the membrane was similar to that of the conventional 18-crown-6 derivative based ion-sensing membranes. In addition, the adsorption of fibrinogen on PSQ derivatives were highly suppressed; it was therefore suggested that the membranes based on PSQ showed good biocompatibility.

Keywords: polysilsesquioxanes; ion sensors; crown ether derivatives; chemically immobilized ionophores; biocompatibility.