自励振動ゲルを用いた時空間機能表面の作製

酒井崇匡・吉田 亮

東京大学大学院工学系研究科 113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1

(2007 年 7 月 10 日受理)

Preparation of Spatio-temporal Functional Surface using Self-oscillating Gel

Takamasa SAKAI and Ryo YOSHIDA

Department of Materials Engineering, Graduate School of Engineering, The University of Tokyo
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656

(Received July 10, 2007)

Stimuli-responsive polymers and their applications to sensors and actuators are widely studied. On the other hand, we have prepared the novel self-oscillating polymer and gels by utilizing the chemical energy of Belousov-Zhabotinsky (BZ) reaction. The polymer is composed of poly (N-isopropylacrylamide) in which Ru (bpy)₃, a catalyst for the Belousov-Zhabotinsky (BZ) reaction, is covalently bonded to the polymer chain. Under the coexistence of the reactants (malonic acid, sodium bromate and nitric acid), the polymer undergoes spontaneous cyclic soluble-insoluble changes or swelling-deswelling changes (in the case of gel) without any on-off switching of external stimuli. In this review, the design of self-motive nano-conveyer by arraying the micro-gel beads on surface and novel fabrication method —double template polymerization— were summarized.

KEYWORDS : self-oscillating gel, 2D colloidal crystal, BZ reaction, peristaltic motion, functional surface

1. は じ め に

表面はマテリアルが外界と接するインターフェイスであり、マテリアルと外界との相互作用を決定する重要な部位である。そのために、マテリアルの表面設計はバルクと同等、もしくはそれ以上に重要であり、近年では様々な手法により機能性表面の設計がなされている。その手法は大きく二つに大別され、表面の微細構造を制御する方法と、表面の化学構造を制御する方法がある。微細構造制御の研究例としては、蓮の葉の表面微細構造を模倣することによる超はっ水表面¹⁾、表面への炭化アパタイトの析出による生体親和性表面等²⁾があげられる。これらは非常にユニークな機能を有しているが、常に一定の機能を発現するのみであり、周辺環境に反応して適切な機能を発現することはできない。それに対して近年では、刺激応答性ポリマーの基板表面へのグラフトにより様々な機能性表面が構築されている。刺激応答性ポリマーを用いた表面は、ポリマーの組成やグラフト鎖長をコントロールすることで、外部刺激に対する応答性を自在に制御することができるために応用範囲が広く、光照

射によって表面レリーフを形成する光応答性のコンベア型表面や³⁾、温度に反応して細胞の脱着が可能な表面⁴⁾が作製されている。

一般的に、刺激応答性ポリマーの応答は刺激に対する受動的な変化であり、ある平衡状態から別の平衡状態への変化である⁵⁻⁷⁾。そのような受動的なマテリアルに対して、我々は「自律性」、すなわち自ら時間的・空間的な秩序を形成することができる新たな能動的マテリアルである自励振動ゲルの作製に成功した⁸⁻¹⁵⁾。自励振動ゲルは、その内部に TCA 回路のようなサイクリックな反応システムを内包することにより、自励的な膨潤収縮振動を生み出している。すなわち自励振動ゲルは、外部から反応基質を取り込み、反応によって生じた生成物を外部に放出するその非平衡過程において、その機能を発現する。本稿では、新規なゲル微粒子単層配列の作製方法(二段階鋳型重合法)により作製した自励振動マイクロゲル微粒子配列コンベア型表面や、同一の方法によって作製された新規温度応答性微粒子配列表面について述べる。

2. 自励振動ゲルの設計と振動リズムの制御

自己拍動を生み出すエネルギーとして、周期的な酸化還元変化を生み出す振動反応として知られている

Belousov-Zhabotinsky (BZ) 反応¹⁰⁾を利用した。BZ 反応の触媒であるルテニウム錯体 ($\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$) を温度応答性の N-イソプロピルアクリルアミド (NIPAAm) の主鎖に共重合することにより、化学反応のエネルギーを力学的な振動に変換するトランスデューサーの役目を負わせた (Fig. 1)。 $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ の酸化還元状態の変化によって相転移温度が変化するために、一定温度下で $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 部位が酸化還元変化することによりゲルが膨潤収縮変化する。そこでゲルを一定温度の基質混合溶液 (マロン酸、臭素酸ナトリウム、硝酸の混合溶液) に浸すと、ゲル内において BZ 反応が生じ $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 部位が周期的に酸化還元変化するために、自律的かつ周期的な膨潤収縮振動が誘起される (Fig. 2)。

Fig. 1. Chemical structure of self-oscillating gel and swelling-deswelling changes of the gel with redox changes.

Fig. 2. Periodic redox changes of poly (NIPAAm-co-Ru(bpy)₃) gel (lower) and the swelling-deswelling oscillation (upper) at 20°C. Transmitted light intensity is expressed as an 8-bit gray-scale value. Outer solution: $[\text{CH}_2(\text{COOH})_2] = 62.5 \text{ mM}$; $[\text{NaBrO}_3] = 84 \text{ mM}$; $[\text{HNO}_3] = 600 \text{ mM}$.

BZ 反応の周期や振幅は反応物濃度や温度に依存するため、それらを変化させることによりゲルの振動リズムが制御できる。また、ゲルサイズが大きくなると反応拡散系に特有な化学反応波 (伝播する酸化状態の波) が生まれる。この場合、局所的な膨潤領域が一定速度でゲル中を伝播し、消化管に見られるような蠕動運動が生じる^{12,13)}。また BZ 反応は、ある条件を境に振動状態から定常 (振動停止) 状態、あるいはその逆へ不連続的に変化する特徴 (分岐構造) を持つ。そのために、温度変化、光照射、基質の添加・除去などの外的信号によって振動の on-off 制御も可能である^{14,15)}。

3. 自励振動ゲルの微小空間物質輸送への応用

近年、MEMS, NEMS に代表されるようなマイクロ、ナノスケールのデバイス研究が盛んに行われており、ナノスケール素子の駆動や、微小サンプルの輸送、センシング技術などへの展開が期待されている¹⁶⁻¹⁸⁾。これらの研究においては作動部を電気的に駆動する既存の方法ではスケールダウンや制御が困難であり、新たなシステムの開発が求められている。自励振動ゲルは、電気的な駆動力を必要としないケミカルエンジンであり、外部電源との配線接続のない微小アクチュエータとしての応用が期待される。これまでに我々は、自律的な生体模倣アクチュエータへの応用として、移動マスク X 線加工法 (LIGA) などの三次元微細加工技術により、ゲル表面に微小な突起が数百個アレイ状に配列した「人工繊毛」を作製した (Fig. 3)。化学反応波の伝播に伴い表面の突起が周期的に変動する様子が観察された。従来マイクロ加工技術を用いた人工繊毛の構築はいくつかの報告例があるが、いずれもバイモルフなどの材料を用いた小型アクチュエータを多数並べ、これを外部信号によって順次動作させるという原理に基づいている。しかし、本人工繊毛は材料そのものに秩序だった繊毛運動を自発的に発生させるシステムが組み込まれたアクチュエータであり、閉鎖系でも自律的に駆動できるものであった。

しかしながら、LIGA による三次元造形は非常に困難であり、簡易な方法で作製できる蠕動的アクチュエータの構築が望まれた。また、ゲル自体のサイズが大きく BZ 反応の反応速度にゲルのサイズ変化が追従できないために、繊毛の変位は小さなものであった。そこで我々は自励振動マイクロ微粒子を基板上に集積することによる新規物質輸送表面の設計を行った。この系においては、振動子であるマイクロゲル微粒子が BZ 反応の活性因子の拡散によって同期するために、微粒子一つ一つの膨潤収縮振動が空間的な位相差を持って起こり、表面の蠕動的な動きとして取り出すことができると考えられる

Fig. 3. Ciliary motion actuator using the self-oscillating gel. The micro projection structure array on the gel surface was fabricated by X-ray lithography technique.

Fig. 4. (color online). Concept of functional surface (nano-conveyor) using self-oscillating gel beads.

(Fig. 4). このようなマイクロゲル微粒子二次元配列を作製するために、我々は新しくシリカ微粒子を用いた二段階鋳型重合法を考案した。

4. 二段階鋳型重合法によるゲル微粒子二次元配列の作製

微粒子二次元配列は、規則配列構造からの Bragg 反射による構造色の発現や、細胞足場としての有用性、親・疎水性の制御のために様々な研究がなされてきた。中でも永山ら¹⁹⁾は、さまざまな種類のナノ/マイクロサイズの球状微粒子をガラスやマイカの表面上に細密充填二次元配列させた。また、理論的な解析により、その配列に影響する要素は粒子間引力である“Immersed capillary force”と粒子を輸送する“Convective transport”であることを明らかにした。また、川口ら²⁰⁾はサブミクロンサイズのゲル微粒子を二次元に配列させている。そのゲル微粒子は表面上にヘアポリマーを有しており、ヘア部分の長さによって微粒子間距離を制御することができる。

これらの微粒子配列は、数 μm 以下のサイズの微粒子を対象として、Langmuir-Blodgett (LB) 法や電気泳動デポジション法などにより作製されている。しかし、細胞サイズに近い数～数十 μm の単分散ゲル微粒子の二次元配列はいまだ作製されていない。これは通常の方法では

そのオーダーサイズのゲル微粒子の作製が困難であることと、およびその水中での分散性が低いことに起因している。そこで本研究では、二段階鋳型重合を応用することにより十 μm の温度応答性マイクロゲル微粒子の二次元コロイド結晶を初めて作製した。二段階鋳型重合法は Colvin ら²¹⁾によって単分散の無機微粒子やその三次元コロイド結晶を作製するために考案された方法であり、近年竹岡ら²²⁾によってゲル微粒子に応用されている。ゲル微粒子配列による機能性表面は生体類似の表面形状や刺激応答性を付与することができることから、非常に魅力的な研究対象である。本研究で示す方法を用いることによりさまざまな種類のゲル微粒子配列を作製するために細胞の増殖や分化、成熟が制御可能な表面や摩擦特性を制御できる表面、人工複眼などさまざまな応用が期待される。

4.1 シリカ微粒子単層コロイド結晶の作製

シリカ微粒子の単層コロイド結晶は、Fig. 5 に示すスライドガラス上のシリコンリングからの溶媒蒸発法によって作製した。ここで得られたシリカ微粒子単層コロイド結晶はゲル微粒子二次元配列作製の第一の鋳型として用いられた。シリコンの O リングを用いる利点の一つは、凹型の気液界面を形成することができることである。界面を凹型にすることにより中央部からの結晶形成が起こり、中央部の不整を少なくできる。もう一つは液量の制御により、気液界面を平らにできることである。界面を平らにすることにより二層目の形成が抑制され、単層のコロイド結晶ができやすくなる。リング内に滴下する懸濁液の量や濃度は最終的に得られるコロイド結晶の配列度や形成過程に影響を及ぼす。そこで、コロイド結晶の形成過程を便宜上三つに分け、リング内に導入したシリカ微粒子の量が少ない場合 (16 g/L) と多い場合 (24 g/L) について議論した。

第一の過程は、Fig. 6 (a, c) に示すように、ルーズにパックした六方構造である“Pre-ordered phase” (α 相) の形成である。前述のように、本実験で用いた粒径 10 μm のシリカ微粒子は重力のために水中で安定に分散しない。したがってリング内に懸濁液を滴下して数分たつと、微粒子はガラス基板上に沈降してしまう。その際、O リングによって底面積が規定されているために粒子は基板上で配列し、単層の緩い六方構造 (α 相) をとる。Fig. 6 (a) に示すように、導入されたシリカ微粒子が少ない場合に形成される $\alpha 1$ 相は点欠陥や線欠陥を有する。また、シリカ微粒子が多く導入された場合には、相中に点欠陥や線欠陥の他に第二層が形成される (Fig. 6 (c) : $\alpha 2$ 相)。ここでみられる α 相は水中で安定分散する微粒子を用いた場合には形成されない。また、この

Fig. 5. Fabrication method of 2D close-packed silica colloidal crystal.

Fig. 6. Pre-ordered phase (a) and formation process of re-constructed phase (b) in case of lower concentration (16 g/L). Pre-ordered phase (c) and formation process of re-constructed phase (d) in case of higher concentration (24 g/L). ($\alpha 1$: pre-ordered phase, β : river, γ : re-constructed phase, $\alpha 2$: pre-ordered phase with a little second layer)

段階での構造の違いが最終的に得られる結晶構造やそこに至る過程に強く影響を及ぼす。

第二の過程では Fig. 6 (b, d) に示すように、蒸発による液層の減少に伴い結晶核が形成される。核形成過程については、粒子が安定分散する系に対して Kralchevsky ら²³⁾によって明らかにされており、同様のメカニズムであると考えられる。蒸発によって気液界面が下降すると、界面は粒子をガラス基板に押し付ける。さらに蒸発が進むと、リング中央部の粒子は液層に部分的に浸っている状態となる。この状態においては微粒子間に存在する気液界面は大きく変形しており、微粒子間に毛管力を働かせる。この毛管力は粒子間に引力として働き、蒸発によって気液界面の変形が大きくなるほど強く働く。

Fig. 7. (color online). Photograph and SEM images of the obtained silica colloidal crystal.

この力によって微粒子どうしはお互いに強く引き合い、密に六方配列した“Re-constructed phase” (γ 相) が形成される。

第三の過程は、 α 相から γ 相への粒子の移動による γ 相の成長である。形成された核の内部における水の蒸発はさらなる界面の変形を引き起こすために、その変形を補填すべく周辺部からの水の流れ“Convective flow”が起こる。この流れによって α 相の粒子が γ 相へ運ばれ、最終的には毛管力によって γ 相に組み込まれる。ここで結晶成長の過程は微粒子量の違いによって分岐する。微粒子濃度が低く粒子数が少ないときは、 $\alpha 1$ 相、粒子が移動する相である“River” (β 相)、および γ 相の3つの相が形成される (Fig. 6 (b))。緩く配列した α 相から密に配列した γ 相へ粒子が移動するために、その密度差により β 相が形成される。すなわち、 α 相の粒子は β 相を通して γ 相に移動し、最終的には γ 相に取り込まれる。しかし、この微粒子は沈降しており移動度が小さいために、 β 相が成長するとその途中で留まってしまうものが現れる。すると、その粒子から核生成が始まり最終的な構造に β 相が残ってしまう。そのため、導入する粒子が少なすぎると配列度の高い結晶を形成することができない。

微粒子濃度が高く粒子数が多い場合には、 $\alpha 2$ 相と γ 相の二つの相が形成される (Fig. 6 (d))。ここでは $\alpha 2$ 相が第二層を有しているために $\alpha 2$ 相と γ 相の密度差に起因する β 相は形成されず、 $\alpha 2$ 相の第二層目の粒子が Convective flow によって $\alpha 2$ 相と γ 相の境界領域まで輸送され、そこで毛管力によって γ 相の第一層に取り込まれる。しかし γ 相の粒子が過剰な場合には、粒子が γ 相の第一層に乗り上げてしまい第二層を形成する。そのた

め、単層で欠陥の少ないコロイド結晶を作製するためには最適な微粒子濃度、懸濁液量が存在することがわかる。本研究においては、20 g/L の懸濁液を 100 μ L 用いることにより Fig. 7 に示すような単層のコロイド結晶を得ることができた。このコロイド結晶は半径方向の線欠陥や点欠陥が存在するものの、ほとんどの部分が単層最密充填構造であり構造色も呈していた。

4.2 単層シリカコロイド結晶を用いた二段階鋳型重合法による機能性表面の構築

得られた単層シリカコロイド結晶の構造をポリスチレンに転写し、シリカコロイド部位のみをフッ酸でエッチングすることにより、第二の鋳型である多孔質ポリスチレンフィルムを得た (Fig. 8)。次に、多孔質ポリスチレンフィルムとシランカップリング処理を施したガラス基板の間にプレゲル溶液を流し込み適切な条件下で重合することにより、ゲル微粒子を作製した。その後、大量のトルエン中に浸すことによりポリスチレン部位をエッチングした。温度応答性の PNIPAA を含むゲルは、40℃ の水中でゲルを収縮させることにより、ゲル微粒子間の結合部位を切断した。得られたゲル微粒子配列体は、鋳型として用いたシリカコロイド結晶の結晶構造とほぼ同一の構造を有していた。PNIPAAm からなるゲル微粒子アレイを 20℃ と 40℃ の水中に保持したときの表面構造の変化を観察した結果 (Fig. 9)、ゲル微粒子は 20℃ では膨潤し、完全に基板表面を覆ったゲルフィルムのような状態になった。また、40℃ では完全に収縮しドット状の構造となり、温度によって表面構造を変化させることができた。このような表面構造の変化により、基板のぬれ性が大きく変化した。同様の方法で作製されたポリジメチルシロキサン (PDMS) 微粒子配列表面においては、接触角が 138° となり通常の PDMS 表面の接触角 (114°) より大きくなった (Fig. 10)。NIPAAm ゲル微粒子

を用いた場合には、表面形状の効果に加えてゲル微粒子自体の親疎水性変化や基板の疎水性の効果も付与することができるためにさらに大きな変化になると考えられた。

次に、二段階鋳型重合法を用いて作製された自励振動ゲル微粒子配列表面を BZ 反応基質溶液に浸すと、化学反応波が伝播し、微粒子全体が同期して振動していることが確認された (Fig. 11)。化学反応波の時空間解析画像より、反応波の速度と反応波の波長はそれぞれ 14 μ m/s, 75 μ m 程度であることがわかった。得られたゲル微粒子配列表面における反応波の速度は初期基質濃度により制御可能であった。また、その速度は生体における分子モータの速度とほぼ等しく、物質輸送に適した速度であることが予測された。

Fig. 9. Change in surface topography of 2D gel beads monolayer in response to temperature between 20℃ (swelling state) and 40℃ (deswelling state) by microscope observation.

Fig. 10. Contact angle measurement of flat PDMS surface (a) and the surface with PDMS microgel beads.

Fig. 8. Fabrication process of 2D monolayer of gel beads by double template polymerization method. (Picture : microscope observation)

Fig. 11. Spatio-temporal pattern obtained by stacking one line images parallel to wave traveling direction of sequence images.

5. お わ り に

本稿で述べた、シリカ微粒子を用いた二段階鋳型重合法は、ポリスチレンフィルムのネガ構造を転写する簡便な方法であるために、種々のゲル、ポリマー微粒子配列体に汎用できる。よって、この方法を用いることによりさまざまな特性を持った微粒子配列体が作製できると考えられる。このような周期構造は、DNAの分離や²⁴⁾、細胞培養の足場²⁵⁾、超はっ水性表面などへの応用も期待される。

また、自励振動ゲル微粒子配列表面における化学反応波の伝播は、物質輸送機能性表面への応用だけでなく、独立した振動子同士の同期現象という反応拡散系における興味深い問題もはらんでいる。すなわち、このシステムは一つ一つの微粒子内で生じた反応中間生成物の拡散により、すべての微粒子を同期させることに初めて成功した。また、多くの振動子の同期現象であることによるロバスト性も有しており、細胞間の傍分泌系の情報伝達のモデルにもなりうると考えられる。また、これまでにゲル媒体の形状制御による波の進行方向制御や論理ゲートの作製も行われており、波の進行方向の制御も可能であると考えられる。今後は、ゲルの形状やゲル間のギャップの精密な制御によって、微小空間におけるインテリジェントマイクロコンベアへの応用が期待される。

文 献

- 1) C. Loty, JM. Sautier, H. Boulekbache, T. Kokubo, HM. Kim and N. Forest : J. Biomed. Mater. Res. **49**, 423 (2000).
- 2) L. Feng, S. Li, Y. Li, H. Li, L. Zhang, J. Zhai, Y. Song, B. Liu, L. Jiang and D. Zhu : Adv. Mater. **14**, 1857 (2002).
- 3) T. Seki, S. Nagano, Y. Kawashima, Y. Zettsu and T. Ubukata : Mol. Cryst. Liq. Cryst. **430**, 107 (2005).
- 4) J. Yang, M. Yamato, C. Kohno, A. Nishimoto, H. Sekine, F. Fukai and T. Okano : Biomaterials **26**, 6415 (2005).
- 5) PS. Stayton, T. Shimoboji, C. Long, A. Chilkoti, GH Chen, JM. Harris and AS. Hoffman : Nature **1995**, 378, 472.
- 6) Y. Noguchi, K. Okeyoshi and R. Yoshida : Macromol. Rapid Commun. **2005**, 26, 1913.
- 7) 吉田 亮 : “高分子先端材料 One Point 2 高分子ゲル” (共立出版, 2004).
- 8) R. Yoshida, T. Takahashi, T. Yamaguchi and H. Ichijo : J. Am. Chem. Soc. **118**, 5134 (1996).
- 9) R. Yoshida, M. Tanaka, S. Onodera, T. Yamaguchi and E. Kokufuta : J. Phys. Chem. A **104**, 7549 (2000).
- 10) 吉田 亮 : 現代化学 **405**, 23 (2004).
- 11) 吉田 亮 : “自励振動ゲル” 図解高分子新素材のすべて (工業調査会, 2005).
- 12) Y. Takeoka, M. Watanabe and R. Yoshida : J. Am. Chem. Soc. **125**, 13320 (2003).
- 13) S. Sasaki, S. Koga, R. Yoshida and T. Yamaguchi : Langmuir **19**, 595 (2003).
- 14) R. Yoshida, K. Takei and T. Yamaguchi : Macromolecules **36**, 1759 (2003).
- 15) Y. Ito, N. Nogawa and R. Yoshida : Langmuir **19**, 9577 (2003).
- 16) RF. Davis, G. Kelner, M. Shur, JW. Palmour and JA. Edmond : Proceedings of the IEEE **79**, 677 (1991).
- 17) MA. Unger, HP. Chou, T. Thorsen, A. Scherer and SR. Quake : Science **288**, 113 (2003).
- 18) CB. Schaffer, A. Brodeur, JF. Garcia and E. Mazur : Opt. Lett. **26**, 93 (2001).
- 19) ND. Denkov, OD. Velev, PA. Kralchevsky, IB. Ivanov, H. Yoshimura and K. Nagayama : Langmuir **8**, 3183 (1992).
- 20) S. Tsuji and H. Kawaguchi : Langmuir **21**, 8439 (2005).
- 21) P. Jiang, JF. Bertone and VL. Colvin : Science **291**, 453 (2001).
- 22) M. Kumoda, Y. Takeoka and M. Watanabe : Langmuir **19**, 525 (2003).
- 23) PA. Kralchevsky and K. Nagayama : Adv. Colloid Interface Sci. **85**, 145 (2000).
- 24) N. Kaji, Y. Tezuka, Y. Takamura, M. Ueda, T. Nishimoto, H. Nakanishi, Y. Horiike and Y. Baba : Anal. Chem. **76**, 15 (2004).
- 25) A. Saito, S. Taketani, K. Arai, M. Tanaka, M. Shimomura and Y. Sawa : J. Mol. Cell. Cardiol. **39**, 1022 (2005).