〔総 合 論 文〕

リン脂質ポリマーを用いたマイクロ流体デバイスのバイオインターフェイス制御

高井 まどか^{*1,*2}・Yan XU^{*1,*2}・James SIBARANI^{*1,*2}・石原 一彦^{*1,*2}

(受付 2007 年 10 月 2 日・審査終了 2007 年 12 月 3 日)

要 旨 マイクロ流路を用いたバイオ分析デバイスの機能性、たとえば感度、精度、再現性の向上には、生体分子の非特異的吸着を抑制するバイオインターフェイスの構築が欠かせない。本報では、マイクロ流体デバイスに適したリン脂質(MPC)ポリマーの創製と、そのポリマーを用いたバイオインターフェイスの構築についての研究成果をまとめた。

マイクロチップの基板として、汎用されている SiO₂ 系、およびポリマー系の基板に適した MPC ポリマーを設計した。石英基板には、シランカップリング基を有した MPC ポリマーが、ポリマー基板においては、疎水基、さらにはイオン性基を有する MPC ポリマーにより安定な界面が形成された。これらの MPC ポリマーは、タンパク質や細胞の吸着を抑制する機能性を示した。また、電荷を有する MPC ポリマーによるバイオインターフェイスは、生体適合性に加えて、ゼータ電位制御による電気浸透流速の制御を同時に実現させた。

このように、MPC ポリマーは、基材と分析目的にあわせた分子設計が容易であり、生体物質を扱うさまざまなマイクロ流体デバイスの基盤となるバイオインターフェイスを構築するバイオマテリアルである。

1 緒 言

近年、シリコンやガラス、ポリマー基板に作製したマイクロ流路を利用して、血液や DNA、タンパク質といった生体関連物質の分析を行う小型の分析化学システム、 μ -TAS (micro-Total Analysis System), Lab-on-a-Chip, Bio-MEMS (Micro-Electro-Mechanical Systems) の研究が盛んに行われている^{1)~6)}。空間が狭いマイクロ流路を用いた分析の特徴は、試薬や検体量の低減はもちろんのこと、物質移動距離が短縮し、物質移動拡散が律速となる溶液中の化学反応においては、反応時間を著しく短縮できる。ブラウン運動に基づく拡散による平均自乗距離： r (Mean-square Displacement: MSD) は、式(1)で表されるが、

$$\langle r^2 \rangle = 6Dt \quad (1)$$

(t : 粒子の移動時間, D は拡散係数)

たとえば、イオンのような小さい分子の水溶液中での拡散係数 D は、 10^{-9} m²/s 程度であるから、1 cm の距離を拡散のみで移動する時間は 4.6 h, 1 μ m では約 170

μ s となる。その他の特徴として、比表面積増大による界面を利用した物質伝達の促進、熱容量が小さいため急速な温度制御などがあげられる。

マイクロ流路の設計は、上述した物質拡散に基づく理解が必要であると同時に、単層流の場合、マイクロ流路(代表的スケール: 1 μ m ~ 100 μ m)内の流れは、レイノルズ数 10^{-6} ~ 10^2 の範囲であり、層流になること、さらに流路壁の表面張力、界面張力、電気二重層が流体現象に支配的な力となることを考慮しなくてはならない。流体制御以外に、DNA やタンパク質の分析に用いるために考慮すべき事項は、生体物質が非特異的に流路内壁表面に吸着することによるさまざまな現象である。たとえば、マイクロチップ電気泳動を用いた DNA やタンパク質の分離を取り上げると、マイクロ流路内壁への吸着により分離能の低下を引き起こす。集積化が進み、ますます比表面積(表面積(S)/体積(V))が大きくなるマイクロ流路を用いた分析システムの開発において、生体物質の非特異的吸着を極限まで抑制するバイオマテリアルとバイオインターフェイスが高機能化に果たす役割は大きい。ここでは、マイクロ流体デバイスのための高機能バイオインターフェイスについて、最近の研究内容をいくつか取り上げ、解説する。

^{*1} 東京大学大学院工学系研究科マテリアル工学専攻(〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1)

^{*2} 東京大学ナノバイオインテグレーション研究拠点(CNBI)(〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1)

Figure 1. Total amount of protein adsorbed on various polymer materials coated with and without PMB. The value is mean $\pm$ S.D. of $n=6$; $p<0.01$ vs. unmodified ones except for PDMS. (Protein solution, 0.03 g/dL Bovine plasma fibrinogen (BPF) and 0.045 g/dL bovine serum albumin (BSA) in phosphate buffered saline (PBS) (pH 7.4, ion strength=0.15 M)).

2 マイクロチップの基板材料に対するタンパク質吸着量

マイクロチップの基板として用いられている材料には、ガラス、石英、シリコンなどの無機材料と、ポリジメチルシロキサン(PDMS)やアクリル樹脂(PMMA)、ポリカーボネート(PC)、ポリエチレンテレフタレート(PET)に代表されるポリマー材料がある。シリコン、シリカ系の無機材料は微細加工精度に優れ、一方、ポリマー系の材料は加工精度は劣るものの、製造プロセスと原材料の点で安価という特徴をもつ。Figure 1に、各種ポリマーへのタンパク質の吸着量を示した⁷⁾。石英へのタンパク質吸着量は $0.7\sim 0.8\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であり、ここで挙げたポリマー系材料は石英と比較してタンパク質の吸着量が多いことがわかる。タンパク質の吸着量を、親疎水性をパラメーターとして整理すると、水との接触角が $60^\circ\sim 100^\circ$ の材料において吸着量が多く、親水性ではその量が少ないことが知られている⁸⁾。親水性であっても、中性領域ではシラノール基の脱プロトン反応により負の電荷をもつ SiO_2 系の石英、ガラスなどの表面は、タンパク質や細胞が静電的相互作用により吸着する⁹⁾。マイクロチップに用いる代表的なポリマー系材料は、Table 1に示されるように、水との接触角(後退接触角)が $60^\circ\sim 100^\circ$ である。ポリマー系材料では、タンパク質が主に疎水性相互作用によって材料表面に吸着し、 SiO_2 系の石英、ガラス基板は静電的相互作用により吸着し、その相互作用の度合いにより吸着量が異なると考察される。実際、 $100\ \mu\text{m}$ 径のマイクロ流路内壁へ全血を接触させ、遠心分離により血液を除去した後に流路内壁への赤血球の付着密度を顕微鏡により観察すると、PETを基板材料へ

Table 1. Contact angle by water on various polymers without and with surface modification

Sample	Contact angle ^{a)} (degree)	
	Advancing (θ_A)	Receding (θ_R)
PDMS	108.3 ± 0.1	86.9 ± 0.5
PDMS/PMB	109.4 ± 2.2	95.1 ± 1.2
PET	88.8 ± 0.5	62.8 ± 0.5
PET/PMB	97.2 ± 0.1	30.4 ± 0.2
PMMA	139.4 ± 0.4	93.6 ± 0.1
PMMA/PMB	91.6 ± 0.1	33.1 ± 0.3
PP	109.0 ± 0.2	90.7 ± 0.2
PP/PMB	104.0 ± 0.7	20.4 ± 0.2
PU	106.0 ± 0.4	56.5 ± 0.4
PU/PMB	96.1 ± 1.7	18.8 ± 0.2
PVC	92.3 ± 0.3	58.0 ± 0.1
PVC/PMB	95.1 ± 1.6	15.5 ± 0.1

^{a)} Mean $\pm$ SD of 4 measurement cycles.

赤血球が約 $750\ \text{個}/\text{mm}^2$ 、石英基板の流路内壁には、約 $60\ \text{個}/\text{mm}^2$ の付着が認められた¹⁰⁾。

このように、マイクロ流路に用いられる基板材料は生体物質の吸着量が多い。高精度なバイオ分析システム創製のためには、マイクロ流路内壁の表面に付着する標的物質以外の物質、特に血球やタンパク質の付着を抑制するバイオマテリアルによる表面構築が必要不可欠となる。

3 リン脂質ポリマーの設計

2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)を一成分とするリン脂質ポリマーは、優れた抗血栓性を有することが報告され、小口径人工血管、人工心臓などの人工臓器の表面改質ポリマーとしての応用、さらには血液中のグルコース濃度測定用電気化学センサーのコーティング剤としても研究されている^{11)~16)}。このような特性を有するMPCポリマーは、タンパク質、細胞のマイクロ流路内壁への非特異的吸着を効果的に抑制する表面修飾材料として期待できる。ここでは、マイクロ流路を作製後、流路内にポリマー溶液を満たし、その後溶液を取り除くというきわめて簡便なプロセスで表面修飾可能なMPCポリマーを設計した(Table 2)。石英などのガラス基板に対しては、シランカップリング基を有するMPCポリマー(PMSi, Figure 2(a))で、石英・ガラス基板上へポリマー溶液を塗布後、加水分解、熱処理を施し、石英と化学結合により表面修飾を行う。ポリマー基板に対しては、疎水性相互作用を利用して結合させる。

PMB(Figure 2(b)), PMED(Figure 2(c))は、疎水性基をもつMPCポリマーである。さまざまな疎水性ポリマー基板に主として疎水性相互作用で結合できる。またPMEDは、PDMSの負の表面電位を利用し、疎水性相

Table 2. MPC polymers for microchip substrates

Substrate	Type of MPC polymer
SiO ₂ based materials: quartz, glass, silicon	Poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)- <i>co</i> -3-methacryloxypropyl trimethoxysilane (MPTSi)): PMSi, (MPC/MPTMSi = 90/10 mol%)
Polymer based materials: PMMA, PET, PP, PU, PVC, PTFE	Poly(MPC- <i>co</i> - <i>n</i> -butyl methacrylate (BMA)): PMB, (MPC/BMA = 30/70 mol%)
Poly(dimethylsiloxane): PDMS	Poly(MPC- <i>co</i> -2-ethylhexyl methacrylate (EHMA)- <i>co</i> -2-(<i>N,N</i> -dimethylamino)ethyl methacrylate (DMAEMA)): PMED, (MPC/EHMA/DMAEMA = 30/60/10 mol%)

Figure 2. Chemical structures of MPC polymers, PMSi (a), PMB (b), and PMED (c).

相互作用と静電相互作用により PDMS 基板上へ修飾する。

4 石英・ガラス基板への MPC ポリマー修飾

石英基板に化学結合させた PMSi 表面のタンパク質吸着量は、未処理の石英基板表面と比較し、半分以下に減少した¹⁷⁾。さらに、100 μm の流路幅を有するマイクロ流路内壁に PMSi を修飾し、FITC 標識されたアルブミンの吸着特性を蛍光顕微鏡観察した結果を Figure 3 に示す。PMSi で覆われた表面と、未処理の表面を比較すると蛍光強度に明らかな差が生じ、処理された表面において、効果的にアルブミンの吸着が抑制されていることがわかる。また PMSi の表面にのみ P, N が存在していることが X 線光電子分光法 (XPS) の表面元素分析により確認された (Figure 4)。MPC ポリマーの優れたタンパク質抑制効果は、MPC ポリマーのリン脂質極性基 (ホスホリルコリン (PC) 基) に起因することが知られている¹⁸⁾。Figure 4 の XPS の結果は、PMSi が石英基板表面に修飾され、その表面に PC 基が存在していることを示し、このような PC 基が表面に配向した構造の形成により、タンパク質の吸着が抑制されたといえる。シランカップリング基を有する MPC ポリマーの安定性を、キャピラリー電気泳動を用いて評価した。内径 100 μm

Figure 3. Fluorescence images of quartz microchannel coated with PMSi (a) and Unmodified (b) after protein treatment. (FITC-albumin solution (0.45 g/dL in PBS) was introduced to the capillary and incubated for 60 min at 37°C, then washed with PBS). **Figure 4.** Chemical composition ratios of nitrogen to carbon (P/C) and phosphorous to carbon (P/C) on the surfaces of PMSi coated and uncoated quartz determined by XPS.

の石英製キャピラリーの内壁に、PMSi とポリマー基板用に合成した PMB (0.3 wt% エタノール溶液) をコーティングさせ、DNA の電気泳動法によるサイズ分離を行った。印加電圧 15 kV の条件で DNA を電気泳動させ、リン酸緩衝液 (PBS) による洗浄のみで繰返し測定を行った。その結果、PMSi で修飾したキャピラリーは、T4 DNA, λ DNA が分離される時間に変動がなかったものの (Figure 5), PMB でコーティングした表面では、洗浄前後で検出時間に大きな変動が認められた。PBS で洗浄後の検出時間が、ポリマー修飾をしていないキャピ

Figure 5. T4 DNA (165.6 kbp) and λ DNA (48.5 kbp) separation results obtained by capillary zone electrophoresis using the PMSi coated fused silica capillary. (a) first measurement, (b) second measurement.

Figure 6. Chemical structure of anionic MPC polymer, PMBSSi.

ラリーでの検出時間と同等であったことから、PMBのコーティング膜は電気泳動中、もしくは洗浄中に石英基板からはく離したものと考察された¹⁹⁾。また、PMSi修飾のキャピラリーは、緩衝液だけの簡単な洗浄で再現性よく分離できることから、石英基板を用いたマイクロ流路において、タンパク質の非特異的吸着を抑制可能、かつ安定なインターフェイスの創製には、ポリマーを基板表面に化学結合させることが必要だと結論づけられる。

マイクロ流路内の流体は、主に圧力駆動流や電気浸透流 (Electro-Osmosis Flow : EOF) で制御される。たとえば、キャピラリー電気泳動法による、DNAやタンパク質の分離分析では、電気浸透流による流体駆動が圧力駆動流に比べて分離能の向上につながる。さらに圧力駆動流は、ポンプやバルブなどの機械的駆動部を必要とするのに対して、電気浸透流は電界により簡便に局所的な流体制御が可能という特徴を有するため、マイクロ流体デバイスに適した駆動力と言える。

ここで、電気浸透流速度 (U_{EOF}) は、式(2)のように示され、表面のゼータ電位 (ζ -potential) に依存することがわかる。よって、電気浸透流速度を制御するさまざまなマイクロ流路内壁処理が検討されている^{20), 21)}。

$$U_{EOF} = -\mu_{EOF} E = -(\epsilon \zeta / \eta) E \quad (2)$$

(μ_{EOF} : 電気浸透流移動度, ϵ : 誘電率,
 η : 溶媒の粘性, E : 電界)

このようにゼータ電位は、電気浸透流速度の制御において不可欠な制御因子であるが、この値が大きな表面は、タンパク質、DNA、さらには細胞などの電荷を有

する生体物質が静電的に結合しやすい。そこで、生体物質の付着を抑制し、さらに電気浸透流速度を任意に制御可能な表面創製を目的に、電荷を有する MPC ポリマー (PMBSSi: poly (2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) -co-*n*-butylmethacrylate (BMA) -co-3-methacryloyloxypropyl sulfonate (PMPS) -co-3-methacryloyloxypropyl trimethoxy-silane (MPTSi, Figure 6)) を、PMSi を基盤として作製した²²⁾。スルホン酸基を有し、負の電荷をもつ PMBSSi および前述した電荷をもたない中性の PMSi を石英基板に修飾後、ゼータ電位と電気浸透流 (EOF) 移動度の測定を行った結果を Figure 7 にまとめて示している。

PMBSSi と PMSi の種類と濃度を変化させることで、ゼータ電位を -45 mV (石英) から -2 mV (0.3 wt% PMSi) まで変化させることができた。また、EOF 移動度がゼータ電位により制御できることがわかる。これは、PMBSSi は負電荷を有し、PMSi は中性なポリマーであるため、ポリマー濃度が高い溶液でコーティングをすると、表面に修飾されるポリマー密度が高くなり、それぞれのポリマーの特性を反映した表面が形成されているものと考察される。また、PMBSSi を修飾した表面におけるタンパク質の吸着量は、電荷を有するにもかかわらず PMSi と同程度にタンパク質の吸着を抑制した。タンパク質吸着は、吸着したタンパク質の電荷に依存した EOF 移動度の変動をもたらすが、PMBSSi で修飾した表面では、タンパク質の吸着が抑制されたことで EOF 移動度の変動が認められなかった (Figure 8)。タンパク質の吸着を抑制し、かつ EOF 移動度が制御可能なこの特性を

Figure 7. ζ -potential and the EOF mobility of quartz surfaces modified by PMBSSi and PMSi with different concentrations at neutral pH.

Figure 8. The variations of the EOF mobility in an unmodified and a 0.03 wt% PMBSSi-modified microchannels before and after treatment with BSA solution. Firstly, the microchannels were fully filled with 0.45 g/L BSA solution (before protein treatment), then they were incubated for one hour at 4°C. After the BSA solution was vented out, the microchannels were rinsed by using 1.2 mL PBS (pH 7.1) (after protein treatment).

利用して、セルソータチップの流体制御用マイクロポンプや²³⁾、DNA、タンパク質の電気泳動法による分離用マイクロ・ナノ流路²⁴⁾を創製している。このMPCポリマーによるバイオインターフェイスの構築手法は、マイクロ・ナノ流路の界面の修飾方法としては、実に簡便で、かつ効率的である。さらに、ここで得られた界面創製法は、シリコン系基板への適用も可能であり、汎用性に優れるという利点がある。よって、MPCポリマーを用いたバイオインターフェイス構築は、極微量生体成分の高感度分析用マイクロ・ナノ流路デバイス創製において欠かせない界面創製基盤技術であると言える。

5 ポリマー基板への MPC ポリマー修飾

ポリマー系材料は、先述したように疎水的な特性を示し、タンパク質などの生体分子が多量に付着する。マイクロ流体デバイスの基板として、加工性、プロセス適合性に優れることから汎用されている代表的な材料であるPDMSも同様に疎水性を示す。そのため、PDMSの表面を酸素プラズマ処理により酸化させ親水性の表面を形成させる手法や、ウシ血清アルブミン(BSA)を吸着させる方法を用いて、非特異的なタンパク質の付着を抑制している^{25), 26)}。しかし、酸素プラズマ処理表面は化学的安定性に乏しく、さらにBSAなどの生体由来の物質は、安全性の問題がある。ポリマー系材料に適した安定で安全なバイオインターフェイスの構築が望まれ、電気泳動マイクロチップを中心に研究されている²⁷⁾。

親-疎水性基を有する両親媒性MPCポリマー(PMB)は、疎水性ポリマー基板と疎水性相互作用で結合し、水中では親水性を示すリン脂質極性(PC)基が表面に配向し、安定な界面を形成することが期待される。さまざまなポリマー基板の上にPMBをエタノール溶媒でコーティングした表面の水との接触角(Table 1)とタンパク質吸着量(Figure 1)⁷⁾をみるとPDMS基板以外はどれも水ぬれ性が向上し、タンパク質の吸着量が低減していることから、PMBがコーティングされたことを示している。PDMSはクロロホルムやヘキサンなどの溶媒に浸すと膨潤する。この性質を利用して、PMBが可溶性クロロホルムとエタノールの混合溶媒($\text{CH}_3\text{Cl} : \text{EtOH} = 9 : 1$)を用いてコーティングした。エタノール溶媒を用いてPMBをコーティングしたPDMS基板は、未処理のPDMSと同程度の接触角を示していたのに対し、混合溶媒を用いてコーティングした表面は、 87° (PDMS)から 11° (PMB)に減少した。また、タンパク質吸着量も減少したことから、混合溶媒を用いることで、PMBがPDMS基板に修飾できることが示された。さらに基板との相互作用を強めることでPC基の配向を制御し、タンパク質の吸着量を減少させることを目的として、PMEDを設計した。

PMEDは正電荷を有した両親媒性ポリマーであり、負電荷をもつPDMS表面と疎水的相互作用だけでなく静電的にも結合する。PMEDをコーティングした表面でのタンパク質吸着量、水との接触角、ゼータ電位をTable 3に示しているが、混合溶媒を用いることで、PMB同様、PDMS表面にPMEDが被覆され、ぬれ性の改善、タンパク質の吸着を抑制する表面が構築されたことがわかる。

PMEDをコーティングした表面は、PMBコーティング表面と比較し、マイクロ流路内壁へのタンパク質の吸着を効果的に減少させることがわかった(Figure 9)。ま

Table 3. Surface characteristics of PDMS modified with MPC polymers

Substrate	MPC polymer (solvent)	Contact angle ^{a)} (degree)		ζ -potential (mV)	Amount of adsorbed protein ^{b)} ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
		Advancing (θ_A)	Receding (θ_R)		
PDMS	none	108.3 $\pm$ 0.1	86.9 $\pm$ 0.5	-44.1	1.86 $\pm$ 0.3
	PMB (EtOH)	109.4 $\pm$ 2.2	95.1 $\pm$ 1.2	-44.5	2.04 $\pm$ 0.1
	PMB (EtOH/Chloroform)	107.0 $\pm$ 0.2	10.6 $\pm$ 3.6	-2.7	0.47 $\pm$ 0.1
	PMED (EtOH/Chloroform)	97.3 $\pm$ 0.6	29.3 $\pm$ 0.6	-1.7	0.42 $\pm$ 0.1

^{a)} Mean $\pm$ SD of 4 measurement cycles. ^{b)} Data were presented as mean $\pm$ SD of $n=6$.

Figure 9. Fluorescence intensity profile of PDMS-based microchannel surfaces before and after coating with MPC polymers (top) and intensity of fluorescence signal as a function of distance in the microchannel (bottom).

たPMEDの表面は、XPS測定よりPC基由来のPおよびN元素の表面存在量(1.1%(P), 0.8%(N))が、PMBの表面の存在量(0.7%(P), 0.3%(N))と比較して多かった。よってPMEDの静電的相互作用を利用した界面形成によりPC基が表面に多く存在する構造を構築できたと考察される。PMEDは、PDMSに適したバイオインターフェイス形成MPCポリマーであることが示された。実際、PMEDを修飾したPDMS製マイクロ流路チップを作製し、数個のL929細胞をダメージなく取り出すことに成功し、このチップを用いて、細胞・タンパク質-マテリアル間の相互作用を解析するデバイスを創製している²⁸⁾。

ここで紹介したMPCポリマーは、溶媒に可溶させ、そのポリマー溶液を流路内に浸し、その後溶媒を揮散させてコーティングする簡便な手法である反面、位置選択的な制御が困難である。集積化が進むマイクロ流体デバイスにおいて、光反応を利用した微細加工技術はプロセス適合性がよいことから、最近では光反応を駆使したバイオインターフェイスの研究に着手している^{29)~31)}。さらに、MPCポリマーのもつ固定化したバイオ分子の活性維持と非特異的吸着の抑制という特徴を活かし、極微量タンパク質分析チップのバイオインターフェイス創

製^{32),33)}へ展開している。

6 ま と め

石英、およびポリマーを基材としたマイクロ流体デバイスにおけるバイオインターフェイスの構築を、細胞膜類似構造を有するリン脂質ポリマーを用いて設計した。マイクロ流路を用いたバイオ分析の機能性は、修飾したポリマーの基材への化学的安定性に依存する。石英基板においては、シランカップリング基を有したMPCポリマーが、ポリマー基板においては、疎水基、さらにはイオン性基を有するMPCポリマーにより安定な界面が形成された。これらのMPCポリマーは、PC基が表面に配向した構造を誘起し、タンパク質や細胞の吸着を抑制する機能性を示した。

さらに、マイクロ流路内の流体を電気浸透流により制御する電荷を有するMPCポリマーを創製した。電荷を有するMPCポリマー：PMBSSiと中性のPMSiにより、石英のゼータ電位を変化させ、電気浸透流速の制御が可能となった。この表面は、電荷を有するにもかかわらずタンパク質の吸着を抑制することが確かめられた。このようにMPCポリマーは、デバイスに用いるさまざまな基材、さらには分析目的にあわせた分子設計が

容易であることから、生体物質を扱うマイクロ流体デバイスの基盤バイオマテリアルと言える。MPC ポリマーによるバイオインターフェイスの構築により、新規なマイクロ流体デバイス創製が実現するものと確信する。

文 献

- 1) A. Manz, D. J. Harrison, E. M. J. Verpoorte, J. C. Fettinger, A. Paulus, H. Ludi, and H. M. Widmer, *J. Chromatogr.*, **593**, 253 (1992).
- 2) A. T. Woolley, G. F. Sensabaugh, and R. A. Mathies, *Anal. Chem.*, **69**, 2181 (1997).
- 3) A. J. Tudos, G. A. J. Besselink, and R. B. M. Schasfoort, *Lab. Chip*, **1**, 83 (2001).
- 4) a) D. R. Reyes, D. Iossifidis, P. A. Auroux, and A. Manz, *Anal. Chem.*, **74**, 2623 (2002).
b) D. R. Reyes, D. Iossifidis, P. A. Auroux, and A. Manz, *Anal. Chem.*, **74**, 2637 (2002).
- 5) A. Oki, M. Takai, H. Ogawa, Y. Takamura, T. Fukasawa, J. Kikuchi, Y. Ito, T. Ichiki, and Y. Horiike, *J. Jpn. Appl. Phys.*, **43**(6), 3722 (2003).
- 6) G. M. Whiteside, *Nature*, **442**, 368 (2006).
- 7) J. Sibarani, M. Takai, and K. Ishihara, *Colloids Surf. B*, **54**, 88 (2007).
- 8) Y. Tamada and Y. Ikada, *J. Colloid Interface Surface*, **155**, 334 (1993).
- 9) 岩田博夫, “高分子先端材料 One Point 3 バイオマテリアル”, 高分子学会編集, 共立出版, 東京 (2005), pp. 24–28.
- 10) Y. Horiike, A. Oki, H. Ogawa, H. Onoda, M. Takai, H. Inokuchi, Y. Tezuka, S. Adachi, T. Fukazawa, and Y. Takamura, “Lab-on-a-chip, Biochips aiming at advanced medical treatment”, R. E. Oosterbroek and A. van den Berg eds., Elsevier (2003), pp. 335–371.
- 11) K. Ishihara, T. Ueda, and N. Nakabayashi, *Polym. J.*, **22**, 355 (1990).
- 12) K. Nishida, M. Sakakida, K. Ichinose, T. Umeda, M. Uehara, K. Kajiwara, T. Miyata, M. Shichiri, K. Ishihara, and N. Nakabayashi, *Med. Prog. Technol.*, **21**, 91 (1995).
- 13) T. Yoneyama, K. Ishihara, N. Nakabayashi, M. Ito, and Y. Mishima, *J. Biomed. Mater. Res.*, **41**, 15 (1998).
- 14) 高井まどか, 新橋里美, 小川洋輝, 長井政雄, 石原一彦, 堀池靖浩, 高分子論文集, **61**, 555 (2004).
- 15) T. Moro, Y. Takatori, K. Ishihara, T. Konno, Y. Takigawa, T. Matsushita, U. Chung, K. Nakamura, and H. Kawaguchi, *Nature Materials*, **3**, 829 (2004).
- 16) J. W. Park, S. Kurosawa, H. Aizawa, Y. Goda, M. Takai, and K. Ishihara, *Analyst*, **131**, 155 (2006).
- 17) 高井まどか, バイオマテリアル-生体材料, **24**(3), 186 (2006).
- 18) K. Ishihara, H. Oshida, Y. Endo, T. Ueda, A. Watanabe, and N. Nakabayashi, *J. Biomed. Mater. Res.*, **26**, 1543 (1992).
- 19) K. Shimizu, Y. Nagase, M. Takai, and K. Ishihara, *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.*, **31**(4), 1069 (2006).
- 20) V. Dolnik, *Electrophoresis*, **25**, 3589 (2004).
- 21) R. J. Meagher, J. Seong, P. E. Laibinis, and A. E. Barron, *Electrophoresis*, **25**, 405 (2004).
- 22) Y. Xu, M. Takai, T. Konno, and K. Ishihara, *Lab Chip*, **7**, 199 (2007).
- 23) M. Takai, H. Onoda, K. Ishihara, and Y. Horiike, *Proc. μ -TAS 2004*, **2**, 113 (2004).
- 24) M. Takai, K. Shimizu, Y. Nagase, and K. Ishihara, *Proc. μ -TAS 2006*, **1**, 885 (2006).
- 25) D. C. Duffy, J. C. McDonald, O. J. A. Schueller, and G. M. Whiteside, *Anal. Chem.*, **70**, 4974 (1998).
- 26) Y. Gao, F. Y. H. Lin, G. Hu, P. M. Sherman, and D. Li, *Anal. Chim. Acta*, **543**, 109 (2005).
- 27) J. K. Liu and M. L. Lee, *Electrophoresis*, **27**, 3533 (2006).
- 28) E. Watarai, R. Matsuno, T. Konno, M. Takai, and K. Ishihara, *Trans. Soc. Biomater.*, **32**, 421 (2007).
- 29) T. Goda, T. Konno, M. Takai, and K. Ishihara, *Biomaterials*, **27**, 5151 (2006).
- 30) J. Yamaguchi, J. Watanabe, M. Takai, and K. Ishihara, *J. Appl. Polym. Sci.*, **104**, 44 (2007).
- 31) J. Sibarani, T. Konno, M. Takai, and K. Ishihara, *Proc. μ -TAS 2006*, **1**, 212 (2006).
- 32) K. Nishizawa, T. Konno, M. Takai, and K. Ishihara, *Trans. Mater. Res. Soc. Jpn.*, **32**(2), 587 (2006).
- 33) K. Nishizawa, T. Konno, M. Takai, and K. Ishihara, *Biomacromolecules*, **9**, 403 (2008).

[Comprehensive Papers]

Functional Biointerface for Microfluidic Devices Using Phospholipid Polymers

Madoka TAKAI^{*1,*2}, Yan XU^{*1,*2}, James SIBARANI^{*1,*2}, and Kazuhiko ISHIHARA^{*1,*2}

^{*1}Department of Materials Engineering, School of Engineering, The University of Tokyo (Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan)

^{*2}Center for NanoBio Integration, The University of Tokyo (Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan)

The phospholipid polymer biointerfaces on SiO₂-based and polymer-based materials were created for providing a wider variety of functions, such as biocompatibility and control of microfluid in microfluidic devices. MPC polymers with silane coupling units were good for stabilization of interfaces between polymer and SiO₂-based substrate, and MPC polymers with hydrophobic and charged units were well suited for polymeric substrates. The biointerfaces formed by these MPC polymers achieved highly functional on bio-adsorption resistance. The charged MPC polymers presented the same effect of surface biocompatibility, and the additional fact that they can control electro-osmosis-flow in microfluidic chips. The ease of constructing such kind of biointerface by MPC polymer, which is easy for design of device applications, onto the SiO₂- and polymer-based surface makes it promising for application to various novel microfluidic devices. These features on MPC polymer would provide a feasible approach to overcome the problems that result from bioadsorptions both in analysis and in flow control in microfluidic devices.

KEY WORDS Biointerface / Microfluidics Device / Phospholipid Polymer / Biocompatibility / Protein Adsorption /

Electro-Osmosis-Flow / Zeta-Potential / Surface Modification /

(Received October 2, 2007; Accepted December 3, 2007)

[*Kobunshi Ronbunshu*, **65**, 228–234 (2008)]