●特集 外部刺激に応答する膜

有機フォトクロミック材料からなる機能性薄膜

須丸公雄

産業技術総合研究所バイオニクス研究センター
〒305-8565 茨城県つくば市東1-1-1 つくば中央第5

Functional Membranes Composed of Organic Photochromic Materials

Kimio Sumaru

Research Center of Advanced Bionics, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology
Tsukuba Central 5th, 1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8565, Japan

Past researches on the photo-functional membrane composed of organic photochromic materials are overviewed and our recent researches oriented new applied development are introduced. In our researches using original photochromic polymers, we examined the photo-control of mass transfer and living cell adhesion. In terms of a porous membrane modified with a polymer hydrogel functionalized with spiropyran, blue light irradiation enhanced its permeability for 1mM HCl aqueous solution by more than twice and this photo-response was repeated a few times. On the other hand, in the experiment using living CHO cells, it was observed that the cell adhesion at the surface of a blend polymer composed of poly (*N*-isopropylacrylamide) containing a nitrospiropyran residue enhanced remarkably by the irradiation of UV light with 365nm wavelength and was reset to the former state by the subsequent visible light irradiation. Using this polymer surface, photo-induced living cell patterning with the 200 micron line width was also demonstrated.

Key words : photochromic materials / spiropyran / azobenzene / photo-response / cell adhesion

1. はじめに

有機フォトクロミック材料とは、光照射によって化学構造が変化し、それに伴いその性質も変化する分子材料のことであり、可逆的な変化を示すものとして、スピロピラン類、アゾベンゼン類、ジアリールエテン類などが知られている (Fig. 1)¹⁾。これらの応用に関する研究は、様々な分野で盛んに行われ、その一部は光記録媒体として既に広く実用化されている。膜の分野においても、有機フォトクロミック材料を用いることによって、膜の機能に光応答性を付与する研究がこれまで数多くなされてきた。本稿では、有機フォトクロミック材料を用いた光機能性薄膜に関する既往の研究及び最近の動向について概説する。

2. 光による物質移動制御

光を用いて物質移動を制御する試みとしては、Shinkai らによって開発された光応答性キャリア膜を第一に挙げるべきであろう²⁾。彼らは、アゾベンゼン骨格を導入することでその包接能を光で制御できるクラウンエーテルを開発、これを K⁺ イオンのキャリアとして液膜を構成し、イオン輸送が光でスイッチされることを実証した^{2,3)}。さらにアゾベンゼン修飾クラウンエーテルを液晶分子と共に高分子多孔膜中に分散させて複合膜を形成し、光照射によってイオン透過性の完全 on/off 制御にも成功している^{2,4)}。ここで興味深いのは、feed 側と strip 側でそれぞれ異なる波長の光を照射することで、キャリアとイオンの結合定数をダイナミックに変化させている点である。これによりキャリアが feed 側でイオンを掴み、strip 側で放す動作が実現される (Fig. 2)。

Fig. 1 Isomerization of organic photochromic materials.

同じ頃に Shimidzu らは、スピロピラン色素をベースにしたイオンキャリアの液膜を用いて、イオンの能動的輸送に成功している⁵⁾。これも上述の研究同様、光によるキャリア駆動の原理 (Fig. 2) に基づくものであるが、濃度勾配に逆らうイオンの輸送を、光のみをエネルギー源として初めて実現している。光を単なるゲート入力としてではなく、キャリアを駆動する手段として用いるシステムが、我が国の研究者らによって、この時点で既に実現されていたことは注目に値する。

光応答性のキャリアを用いた類似のイオン輸送については、その後もいくつかの研究が報告されているが^{6, 7)}、その一方でイオン以外の物質透過の光制御は、リポソームなどの脂質膜の系^{8, 9)}を含めてもあまり例がない。Aoyama らは、様々な有機化合物に対して光応答透過性を示す機能膜を、アゾベンゼンを含むグラフトコポリマーを用いて作製、特にマンデル酸に対する透過性が、光照射によって5倍以上変化することを報告している¹⁰⁾。また、最近筆者らは、アゾポリマー薄膜のHeガス透過性が光照射によって増加することを見出しているが、その変化はわずかで、光制御というにはほど遠い¹¹⁾。

3. 光による表面物性制御

物質移動の光制御に関するこうした研究が行われる一方で、フォトクロミック材料を担持した機能性薄膜について、表面電位や表面形状といった表面物性を光制御する試みもいくつかなされている。Kato

Fig. 2 Mechanism of ion transportation induced by photo-responsive binding of photochromic ion carrier.

Fig. 3 Relief formation at the surface of azobenzene-containing polymer induced by inhomogeneous light irradiation.

らは、非対称な構造を有するスピロピラン含有高分子固体膜を作製し、光照射によって膜を挟んだ等濃度の電解質溶液の間に数10mVの電位が発生することを報告している¹²⁾。その後Anzai らは、対称構造を有する膜を用いた実験系で、光照射の方向を変えるとそれに対応して電位の方向も反転することを確認、対称な系の一方の面からの光照射が、膜の両表面に存在するスピロピランに非対称なプロトン解離をもたらし、その結果電位が発生することを明らかにした¹³⁾。

一方、アゾベンゼンを含むポリマー薄膜 (常温で固体) の表面形状が光照射によって変化する現象が、サブミクロンスケールで材料表面の形状を任意制御する技術要素として注目されている。強度や偏光状

Fig. 4 Temperature-dependent turbidity at 700 nm of 0.1 wt% pSPNIPAAm aqueous solution containing 0.2 mM HCl in the dark and under blue light irradiation.

態に分布を有する光を照射すると、その分布に沿った凹凸レリーフが薄膜表面に形成されるこの現象は (Fig. 3), 1995年に発見されて以来^{14, 15)}, 現在も様々な応用に向けて盛んに研究が行われている^{16, 17)}. その形成メカニズムの全容はまだ明らかになっていないが、膜厚や光学密度、光強度分布と形成されるレリーフ形状の関係については、筆者らによって提案された理論モデルが、多くの実験データと整合する結果を得ている^{18, 19)}.

4. スピロピランポリマーの膜システムへの応用

数あるフォトクロミック材料の中でも、スピロピラン類とアゾベンゼン類は光物性制御の手段として用いられることが多いが、上述の通り、このことは膜の機能化についても同様である。特にスピロピラン類は、光異性化によって構造とプロトン解離特性が大きく変化するため、光照射に応答して大きな物性変化を示すことが期待できる。筆者らは、スピロピランを有機フォトクロミック分子として側鎖に有する感温性ポリマーを数多く合成し、そのうちのいくつかは、光照射に応答して可逆的に水和や荷電の状態を著しく変化させることを見出した。そして、これらフォトクロミックポリマーを担持した多孔性透過膜および細胞接着膜を作製し、水溶液に対する透過特性や細胞接着性を光で制御する技術の開発を進めている。最近、これらの新規機能膜について、

Fig. 5 Temperature-dependent permeability of pSPNIPAAm gel membrane for 1 mM HCl aqueous solution in the dark and under blue light irradiation.

いくつか興味深い知見が得られたので以下に紹介する。

4.1 酸性水溶液の透過制御

感温性ポリマーとして広く知られる poly (*N*-isopropylacrylamide) (pNIPAAm) は、32 °C より低い温度においては水に溶解する一方で、それより高温では脱水和して析出するという独特の温度応答性を示す。こうした相転移を光や pH によって制御することを意図して筆者らは、pNIPAAm の側鎖にスピロピランを 1 mol% の割合で導入したフォトクロミックポリマー pSPNIPAAm を合成し、その溶液物性の解析を行った²⁰⁾。pSPNIPAAm 酸性水溶液中の濁度 (脱水和・析出の指標) における温度・光応答性相分離特性 (濁度変化) を Fig. 4 に示す。このポリマー溶液は、光照射の有無にかかわらず 29 °C 以下の温度では一相であり、暗所下においては、29 °C を越える温度条件においても濁度がほとんど増加せず、ポリマーの析出は見られない。これは、酸性溶液中暗所下で自発的に開環・プロトン化したスピロピランが、主鎖ポリマーの水和状態を安定化し、熱的に誘起される脱水和を阻害することによる。ところがこれに青色光を照射すると、スピロピランは疎水的な構造の開環体に異性化し、逆に主鎖ポリマーの水和を乱す。そのため光照射下では、29 °C を越える温度条件で溶液は急速に白濁し始め、32 °C で脱水和したポリマーが析出沈降する。

そこで、この鋭敏な光応答脱水和特性を応用して、

Fig. 6 Change in permeability of pSPNIPAAm gel membrane for 1 mM HCl aqueous solution in response to blue light irradiation at 30 °C.

これまでにない光物質移動制御を実現するべく、pSPNIPAAmを多孔テフロン膜（孔径 $1\mu\text{m}$ ）の表面でゲル重合し、光応答性膜を調製した²¹⁾。暗所下及び光照射下におけるこの膜の1mM HCl水溶液に対する温度依存透過性をFig. 5に示す。膜の透過性は温度の上昇と共に増加しているが、ポリマーの温度依存相転移（脱水和→収縮）に対応するように、膜の透過性が転移温度付近で特に大きく増加していることが分かる。これは、低温で膨潤し、テフロン基膜表面の孔をふさいでいたポリマーゲルが、昇温に伴う相転移によって収縮したことに対応すると考えられる。また、測定したすべての温度範囲において、光照射下の方が暗所下よりも透過性が高いという結果が得られた。この傾向は、ポリマー水溶液系で観察されたシャープな相転移特性（Fig. 4）とは必ずしも一致しないが、スピロピランの光閉環化に誘起される脱水和の影響を反映したものと推察される。光照射の有無による透過性の差が特に大きい30 °Cの温度条件で、透過性の光応答性を測定した結果をFig. 6に示す。膜の透過性は光照射によって即座に2倍程度まで増加し、照射下においてその状態を保持、光の遮断後は数時間かけて元の低い透過性に戻っている。これは、ポリマーの光応答性が最も大きくなる共存プロトン濃度条件（0.1-1mM）では、色素閉環体を光で開環化させることができないため、異性化の戻りの過程を専ら暗所における色素の自発的な異性化に委ねていることによる^{20, 22)}。こうした透過性の光制御は繰り返し行うことが可能であり、光によってもたらされる変化が可逆的であることが確認された。

4.2 細胞接着性の *in situ* 制御

フォトクロミックポリマーの新しい応用技術として筆者らは、光の局所照射によって、生きた細胞の

Fig. 7 *In situ* cell manipulation implemented with photo-responsive adhesion of photochromic polymer surface.

接着性を「その場」で制御する手法の開発を進めている（Fig. 7）。その中で、ニトロスピロピランを含むポリマーブレンド薄膜表面の細胞接着性が、光で大きく変化する条件を見出した²³⁾。まず、ニトロスピロピランを側鎖に有するpNIPAAmとPMMAのポリマーブレンド薄膜を、細胞接着性の光制御を実現する光応答性培養基材としてガラスプレート上に調製した。そしてその表面にCHO細胞を一様に播種し、しばらくインキュベータ内で静置した後（Fig. 8a）、波長365nmの紫外光を細胞越しに局所照射すると、その領域のみで細胞接着性が大きく亢進、その後の冷却・洗浄操作によって非照射領域のほとんどの細胞が除かれるのに対して、照射領域では多くの細胞が残存することが確認された（Fig. 8b）。フォトリソグラフィーや電子線照射などで予めパターン形成を行う従来技術と異なり、既に存在する細胞の接着と制御するかを観察に基づいて後から自由に決められる点にご注目いただきたい。

光照射によって亢進した細胞接着性は、可視光照射後にインキュベータ内でしばらく静置することで再び元の状態に戻り、同様の細胞接着操作を繰り返

Fig. 8 Fluorescence image of living CHO cells on photochromic polymer surface (a) before and (b) after local light irradiation in the pattern “s” and low temperature washing.

し行うことができる。また、薄膜上での光照射・冷却・洗浄を含む一連の操作の後、細胞が十分な *viability* を維持し、正常に増殖することも確認している。さらに、簡便な光学系を用いた光照射によって、線幅 $200\ \mu\text{m}$ のセルパターニングの実現が実証された (Fig. 9)。以上の結果は、この光応答性薄膜と局所光照射系によって、従来にはない細胞操作が実現できることを示唆するものであり、実用化に向けた研究開発が引き続き進められている。

5. おわりに

光応答性キャリア液膜に関する最初の報告から既に四半世紀が経過した。しかしこれまで、膜の制御手段に関して、「どうしても光で」という場面が想定されることはあまりなく、その結果、光応答性を有する機能膜の応用が具体的に検討されることは、実際のところほとんどなかった。しかし、化学反応や細胞操作に関する研究の最近の動向において、これらの技術シーズを取り巻く状況が、ここに来てようやく変わりつつあると筆者は考える。昨今、化学プ

Fig. 9 Cell patterning in the pattern “AIST” with $200\ \mu\text{m}$ line width formed on photochromic polymer surface by light irradiation on uniformly seeded CHO cells.

ラントや分析装置をチップ上に構築し、集積化によってシステムを小型化することに加え、 μm スケールの微小な系に固有の化学プロセスの有用性を積極的に活用する試みが、盛んになされている^{24, 25)}。またバイオの分野においても、新たな細胞操作技術に対するニーズがにわかに高まっている²⁶⁾。光は対象に対して、局所的・遠隔的・即時的にさせることができる唯一の制御手段であり、これによって物性が制御される膜は、上述のマイクロ化学プロセスや細胞の個別操作などにおいて、多数の微小な対象（マイクロバルブや細胞など）を独立かつ並列的に制御する上で、重要な要素技術となる可能性が大いにある。光機能膜に関する筆者らの研究はまだ緒に就いたばかりであるが、こうした新たな応用展開を指向する研究例として、ここで既往の研究と共に紹介させていただいた。この分野の今後の展開に期待したい。

謝 辞

本稿で紹介した筆者らの研究の一部は、平成14年度NEDO産業技術研究助成事業、および独立行政法人日本学術振興会平成16年度科学研究費補助金基盤研究(B) (No. 16360417) の助成を受け実施されたものである。

文 献

- 1) 入江正浩：高分子, **47** 449-452 (1998)
- 2) 新海征治：化学, **41** 78-84 (1986)
- 3) Shinkai S, Nakaji T, Ogawa T, Shigematsu K, Manabe O : *J. Am. Chem. Soc.*, **103** 111-115 (1981)
- 4) Kumano A, Niwa O, Kajiyama T, Takayanagi M, Kano K, Shinkai S : *Chem. Lett.*, 1327-1330 (1983)
- 5) Shimidzu T, Yoshikawa M : *J. Membr. Sci.*, **13** 1-13 (1983)
- 6) Haberfeld P : *J. Am. Chem. Soc.*, **109** 6178-6179 (1987)
- 7) Winkler JD, Deshayes K, Shao B : *J. Am. Chem. Soc.*, **111** 769-770 (1989)

- 8) Kano K, Tanaka Y, Ogawa T, Shimomura M, Okahata Y, Kunitake T : *Chem. Lett.*, 421-424 (1980)
- 9) Sato T, Kijima M, Shiga Y, Yonezawa Y : *Langmuir*, **7** 2330-2335 (1991)
- 10) Aoyama M, Watanabe J, Inoue S : *J. Am. Chem. Soc.*, **112** 5542-5545 (1990)
- 11) Kameda M, Sumaru K, Kanamori T, Shinbo T : *J. Appl. Polym. Sci.*, **88** 2068-2072 (2003)
- 12) Kato S, Aizawa M, Suzuki S : *J. Membr. Sci.*, **2** 39-47 (1977)
- 13) Anzai J, Sasaki H, Ueno A, Osa T : *Chem. Lett.*, 1443-1466 (1985)
- 14) Rochon P, Batalla E, Natansohn A : *Appl. Phys. Lett.*, **66** 136 (1995)
- 15) Kim DY, Tripathy SK, Li L, Kumar J : *Appl. Phys. Lett.*, **66** 1166 (1995)
- 16) Zettsu N, Fukuda T, Matsuda H, Seki, T : *Appl. Phys. Lett.*, **83** 4960 (2003)
- 17) Keum C-D, Ikawa T, Tsuchimori M, Watanabe O : *Macromolecules*, **36** 4916 (2003)
- 18) Sumaru K, Yamanaka T, Fukuda T, Matsuda M : *Appl. Phys. Lett.*, **75** 1878-1880 (1999)
- 19) Sumaru K, Fukuda T, Kimura T, Matsuda H, Yamanaka T : *J. Appl. Phys.*, **91** 3421-3430 (2002)
- 20) Sumaru K, Kameda M, Kanamori T, Shinbo T : *Macromolecules*, **37** 4949-4955 (2004)
- 21) 大井克秀, 須丸公雄, Samuel P. Kusumocahyo, 高木俊之, 金森敏幸 : 第53回高分子討論会予稿集, p.5017 (2004)
- 22) Sumaru K, Kameda M, Kanamori T, Shinbo T : *Macromolecules*, **37** 7854-7856 (2004)
- 23) Edahiro J, Sumaru K, Tada Y, Ohi K, Takagi T, Kameda M, Shinbo T, Kanamori T, Yoshimi Y : *Biomacromolecules*, **6** 970-974 (2005)
- 24) 北森武彦, 庄子習一, 馬場延信, 藤田博之 : 「マイクロ化学チップの技術と応用」, 丸善 (2004)
- 25) Thorsen T, Maerkl SJ, Quake SR : *Science*, **298** 580 (2002)
- 26) 岡野栄之, 阿形清和 : 細胞工学, **19** 368-373 (2000) など

(Received 15 March 2005 ;

Accepted 7 April 2005)

著者略歴

須丸 公雄 (すまる きみお)

1991年3月 京都大学工学部高分子化学学科卒業

1995年4月 日本学術振興会特別研究員

1996年3月 京都大学大学院工学研究科博士後期課程修了

1996年4月 通商産業省工業技術院物質工学工業技術研究所入所

2001年4月 組織改編により, 独立行政法人産業技術総合研究所主任研究員