●特集 日本膜学会膜学研究奨励賞（2008年）受賞論文

フォトクロミックポリマーからなる光応答性機能膜システムの開発

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

Development of Photoresponsive Membrane Systems Composed of Photochromic Polymers

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

Among active studies in the research field of the photo-functional polymers composed of photoresponsive chromophores, we have developed various functional membranes composed of organic photochromic materials. As one of wet and soft systems, which are controlled by light, we prepared a photo-responsive hydrogel thin layer, which was attached covalently to the surface of a glass plate at one side through *in situ* radical polymerization of *N*-isopropylacrylamide, acryl ester of spirobenzopyran and *N,N*-methylene-bis (acrylamide) on a flat glass substrate whose surface had been modified with vinyl groups. The influence of the light irradiation and the temperature change to the volume of the photo-responsive hydrogel was analyzed systematically, and photo-induced micro-relief formation was demonstrated by using a micro-pattern projection system. As a result, it was observed that the hydrogel shrank in response to the light irradiation with the wavelength of 436 nm at any temperatures below 30 °C, and the 3-D micro-relief was formed by micro-patterned light irradiation in a few seconds. Also it was proved that microchannel along arbitrary pathway can be formed instantly by micro-patterned light irradiation in an “on demand” way. Further, we investigated photo-responsive behavior in water of photochromic polymers immobilized on quartz surfaces, by using a quartz crystal microbalance technique with dissipation measurement (QCM-D technique), and extracted the photo-induced change in the characteristics of polymer-water interface.

Key words : photochromic polymers / spiropyrans / photo-response / hydrogels / microfluidics / cell adhesion

1. はじめに

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はフォトクロミック材料と呼ばれ、特に可逆的な変化を示すものとしては、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¹⁾。これらの一部は、古くは

調光ガラス、近年ではCD-RやDVD-Rなどの光記録媒体として既に広く実用化されている。また、フォトクロミック材料の光透過性を光制御し、それによって光演算することに基づく光並列情報処理システムの提案が、筆者らによってなされている^{2~5)}。さらに、こうしたフォトクロミック分子で修飾することでその物性に光応答性を付与されたポリマー（フォトクロミックポリマー）材料に関する研究も以前から行われ、数々の興味深い研究結果が報告されている^{6~9)}。

このような状況において筆者らは、これまでもっ

Fig. 1 Influence of temperature change and blue light irradiation on phase separation of 0.1 wt% pSpNIPAAm aqueous solution containing 0.2 mM HCl. □ : under irradiation, ● : in the dark.

ばらハードなバルク材料として応用されてきたフォトクロミックポリマーを、ソフトでウェットな系の光制御に応用することを目指して研究を進めてきた。本稿では、フォトクロミックポリマーからなり、水系で制御可能な新しい光応答性機能膜システムについて、筆者らの最近の試みを中心に概説する。

2. 水溶液中で顕著な光応答を示すスピロピランポリマー

光応答性機能膜システムを構築するフォトクロミックポリマーとして筆者らは、様々なフォトクロミック分子を側鎖に有するポリマーを設計・合成し、その物性に対する光照射の影響を解析した。そしてそれらの中から、スピロピランで修飾したpNIPAAm (pSpNIPAAm) が、 $\text{pH} = 4$ 以下の酸性水溶液中において顕著な光応答性脱水を示す条件を見出した¹⁰⁾。ポリマー水溶液は、暗所下において鮮やかな黄色を呈する一方で、波長 436 nm の青色光を照射すると、色素残基が光異性して無色になる。その際、色素残基にもたらされる物性変化は大きく、導入率がモノマー比でわずか 1 mol% 程度であるにもかかわらず、pNIPAAm 主鎖の水和環境に大きな変化を及ぼし、30 °C から 37 °C の比較的広い温度範囲で顕著な光応答性脱水が誘起される。その結果、数 10 秒の光照射の間にポリマーが析出し、沈殿を生じることが観察された (Fig. 1)。また、こうして光照射によって脱

Fig. 2 Schematic illustration of photo-isomerization of spiropyran residues in pSpNIPAAm aqueous solution and the following polymer dehydration.

水和したポリマーは暗所下でしばらく放置することにより、もとの黄色透明の状態に復帰し、その状態で光照射を行えば再度脱水がトリガーされること、この可逆変化を 10 回以上繰り返しても、脱水和前のポリマーの吸光度スペクトルにほとんど変化が見られないことが確認された。

このように顕著な光応答脱水について、色素残基の異性化における素過程を明らかにすべく、様々な共存プロトン濃度及び光照射条件において吸光度スペクトルの解析を行った。その結果、暗所に置かれたポリマーの酸性水溶液中において、スピロピラン残基のほぼ全てが正電荷を帯びたプロトン化メロシアン構造として存在し、pNIPAAm 主鎖の水和状態を安定化すること、この異性化状態の色素 (吸収極大: 422 nm) に強く吸収される青色光が照射されると、そのほとんどが効率的に閉環化すると共にプロトンを解離し、電荷を持たず疎水的なスピロピラン構造となって、主鎖の水和状態を壊してしまうことが推察された (Fig. 2)。

上記のメカニズムを裏付けるため、より多くのスピロピラン残基を含むポリマー水溶液について、色素の異性化が系の導電率や pH に及ぼす影響を調べたところ、青色光照射に伴う電導度の増加並びに pH の減少が実験的に確認された¹¹⁾。

また、スピロピラン修飾で光応答性を付与したポリマーとしては、pNIPAAm をベースにした上記ポリマーの他に、スピロピランで修飾したデキストラン

Fig. 3 Chemical structure and photo-induced shrinking of photo-responsive hydrogel.

が筆者らによって検討されている¹²⁾。デキストランとポリエチレングリコール (PEG) を含む混合水溶液は、所定の条件で液-液相分離を示すことが知られているが、ニトロ基を有するスピロピラン (NSp) で光応答性を付与することで、こうした相分離の光制御が実現できることが確認された。この場合には、水に対する各ポリマーの親和性の微妙なバランスによって、溶液の熱力学的安定性が大きく左右されるため、極めて少量の色素残基の導入で、顕著な相分離を光で誘起できることが観察された。

さらに筆者らは、この pSpNIPAAm からなるハイドロゲル (光応答収縮ゲル) を調製、酸性水溶液中で膨潤させた状態のゲルに 20 °C から 30 °C の比較的広い温度範囲で青色光を照射すると、元の体積の 30% にまで素早く収縮すること、その後暗所下で放置すると徐々に元の状態に戻り、同様の光応答収縮を繰り返し行えることを確認した^{13, 14)} (Fig. 3)。これほど素早く顕著な体積変化を、可視光照射によって可逆的に誘起できるハイドロゲルは他に報告例がなく、光で自在に制御可能なウェットでソフトなシステムを構築する上で、有用な構成材料となることが期待される。

Fig. 4 Micro-relief formed on photo-responsive hydrogel sheet by micro-patterned light irradiation.

3. 微小パターン照射による即時レリーフ形成

光によって材料形状を任意に制御する技術は、微小な対象の自在操作を可能にする強力な工学的ツールとなることが期待され、これまでも盛んに研究が行われている。こうした技術を実現する有望な系としては、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を、第一に挙げることができよう。強度や偏光状態にサブミクロンスケールの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、1995年に発見されて以来^{15, 16)}、現在も様々な応用に向けて盛んに研究が行われている^{17, 18)}。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、フォトクロミック色素であるアゾベンゼンの光異性化に伴う構造や分子間相互作用の変化、ポリマーの熱運動といった分子レベルで物質移動が起こる素過程によることが推察されている¹⁹⁾。しかしながらこうした素過程に基づく物質移動は非常に遅いため、現実的な制御時間 (数分以内) の間に、 μm スケールを越える形状変化をもたらすには至らず、これをそのままの形で流路制御や微粒子のマニピュレーションに応用するのは難しい。

そこで筆者らは、上述の光応答収縮ゲルを用いて、サブミリスケールの材料形状を光で即時的に制御する技術の検討を行った²⁰⁾。まず、このゲルからなる厚さ 250 μm のゲルシートを、メタクリル基を表面に有するガラス基板上で *in situ* 重合することにより調製した。ゲルシートの片面はガラス基板の表面に固定されているため、酸性暗所下で膨潤させたシート

Fig. 5 Process of multi-toned micro-relief formation on photo-responsive hydrogel sheet induced by step-wise micro-patterned light irradiation.

の局所領域に光照射を行うと、その部分のみでゲルシートの高さが減少することが期待される。独自に開発した微小パターン光照射装置を用いて、所定のパターンで光照射を行った結果、わずか1秒程度の光照射によって、シート表面に明瞭な微小凹凸レリーフ像が刻まれることが確認された (Fig. 4)。

光照射域におけるゲルシートの厚さの経時変化を調べたところ、光照射直後にゲルは収縮を開始、それから数分の間にゲルシートの厚さが元の約半分まで減少することが明らかになった。その後10分程度収縮状態を安定に保持した後、照射によって異性化したスピロピランが熱的に元の開環プロトン化体に戻るのに伴い、約2時間かけて元の厚さまで回復した²⁰⁾。より長い時間、収縮状態を保持したい場合には、所定の領域に対して適当なインターバルで光照射を繰り返すか、連続的に照射し続けるか（この場

合、光強度はかなり低くてよい）すればよい。また、回復後のゲル表面に再びパターン光を照射することにより、全く異なる形状を同じ個所に刻むこともできる。 μm レベルの精度で明確に刻まれ、照射後安定に保持された凹凸形状は、ゲルシートの収縮が単なる光熱変換（「ヒートモード」）による熱的相転移に基づくものではなく、スピロピランの光異性化に基づく純粋な「フォトンモード」のプロセスであることを明らかに示している。

さらに3次元形状の自在制御性を実証するために、多階調の光照射による表面形状の制御も行った。その結果をFig. 5に示す。まず、酸性水溶液中暗所下で膨潤させたゲルシートに対して、所定のパターンに沿って光照射を行うと、上述の通り照射域で局所的に収縮が生じた（上）。その後異なるパターンに沿って順次光照射を行うことによって（中）、非照射の条件と合わせて合計4通りのエネルギー密度で照射された領域をゲルシート上に形成、4階調の高さからなるレリーフ像が形成できることが確認された（下）。照射回数を増やす、あるいは、多階調の強度分布を有するパターンの照射を行うことで、任意のレリーフ形状を形成することが原理的に可能である。

一方、光応答収縮ゲルの別の応用検討として、このゲルを組み込んだ多孔膜を調製、30℃において酸性水溶液に対する膜の透過性が、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ることが確認された^{12), 20)}。またこのゲルからなる棒状材料に対し、酸性水溶液中で一方の側面から青色光を照射すると、照射光の方向に向かって大きく屈曲することが観察された。

4. マイクロ流路の光制御への応用

光照射に応答してその体積を大きく変化させることのできる上記ゲルは、多数の流路における物質移動を並列制御する集積型マイクロ流路チップを実現する上で、重要な構成要素となることが期待される。そこで筆者らは、*in situ*光重合法によって、PDMSとガラスで構成された透明なチップの微小流路内の所定の位置に、光応答収縮ゲルを組み込み、複数の光応答性マイクロバルブを構成した²²⁾。これを用いて検討を行った結果、青色光を順次局所照射することによって、個々のマイクロバルブの開通を独立に制御できることを確認した。

上述の通り、このゲルの光応答収縮は純粋なフォトンモードで駆動されるので、集積度の高いシステムにおいて多数のバルブを同時に操作しても、近接

Fig. 6 Schematic illustration of on-demand channel formation in photo-responsive hydrogel sheet by patterned light irradiation.

するバルブ同士が熱的に干渉²³⁾するおそれがない。1 cm角の領域に10個の光応答性バルブを組み込んだ最近の検討においても、それらを独立に光制御できることが実際に確かめられている。

さらに筆者らは、こうした流路チップにおける液体の流れを、これまでになく高い自由度で光制御するスキームの提案として、光応答収縮ゲルを用いて、2次元平面内の任意の経路に沿って流路を即時形成する技術を開発した。原理をFig. 6に示す。この技術を実現するシステムは、ガラス基板上に固定化された上述の光応答性ゲルシートの上面に、複数の注入ポートと排出ポートを備えたガラス面を密着、2枚のガラス基板の間にゲルシートが挟まれた構造となっている(①)。これに、任意の注入ポートと排出ポートを結ぶ任意の経路に沿って光を照射すると(②)、照射域でゲルが局所的に収縮して流路を形成、注入ポートから供給された液が排出ポートに導かれる(③)。

実際にこのような構造を有するシステムを作製して実験検討を行った結果をFig. 7に示す。注入ポートから所定の圧力で試料溶液を供給した状態で、排出ポートに導く任意の経路に沿って局所的に光照射を

Fig. 7 Process of on-demand channel formation in photo-responsive hydrogel sheet by patterned light irradiation.

行くと、照射域でのゲルの収縮に伴って即時的に流路が形成され、それによってラテックス分散液が導かれることが観察された。光応答収縮ゲルの光一体積変換機能に基づくこのスキームは、任意の経路、太さ(流路抵抗)、形状の流路を、外部からの光照射によって任意のタイミングで自在に指定することが可能であり、自由度の高い物質移動制御の手段を提

Fig. 8 Influence of temporary light irradiation on f (solid line) and D (dashed line) monitored for photo-appendable culture surface.

供することが強く示唆された。

5. QCM-D 法による光応答性薄膜の表面物性解析

一方、機能性ポリマーから構成される様々な材料表面の工学的応用が、バイオ分野を中心に近年盛んに研究されている^{24, 25)}。こうした流れにおいて筆者らも、フォトクロミックポリマーの光機能をバイオの研究分野で応用するべく、培養細胞の接着状態を光でその場制御する技術に応用することを目指し研究を進め、いくつかの光応答性培養表面の開発に成功している^{26 ~ 32)}。

しかしながら、基材表面の機能は、材料のバルクの性質と必ずしも対応しない上、基材全体の情報から、表面近傍の由来の情報だけを抽出・解析することは一般的に困難であり、そのことが基材開発の進め方を試行錯誤的なものにしてしまっている。このような状況において、水晶振動子の固有振動数や振動減衰から、振動子表面に付着した物質の重量や粘弾性のわずかな変化を定量検出する水晶振動子微小重量・エネルギー散逸測定 (QCM-D) 法が、こうした表面物性を評価する強力なツールとして、にわかに注目を集めている³³⁾。以下では、培養環境下で光照射するだけで、細胞接着阻害性を解除することが可能な光追記型培養表面について、その光機能とメカニズムを QCM-D 法によって解析した結果を紹介する。

この培養基材は、細胞接着阻害性を有する PEG (上述) を、NSp (上述) で修飾された光応答性ポリマー (pNSpMMA) 層を介して表面に固定化したも

Fig. 9 Influence of temporary light irradiation on f monitored for pNSpNIPAAm-immobilized quartz surface (solid line) and for untreated quartz surface (dashed line).

のである。中性水系で疎水的な構造をとる NSp を親水的な構造に異性化させる波長 365 nm の紫外光を、水や培地の中でこの基材に照射すると、光応答性ポリマーの水和性が増加して膨潤、基材表面に担持されていた PEG が解放・除去されることにより、細胞が接着できるようになる^{27, 30)}。上述の微小パターン光照射装置を用いて光照射を行い、引き続き細胞を導入することによって、高コントラストの細胞パターンが、さらに、こうした操作を繰り返し行うこと (光追記) によって、複数種類の細胞が所定の位置に配列した精密パターン共培養系を構築できることが、実際に確認されている。

石英表面に光追記型培養表面加工を施した QCM センサーを、測定中の振動子表面に光照射を行うことのできるウィンドウチャンバーにセットし、QCM-D 300 (Q-sense AB) を用いて振動子の固有振動数 f と減衰項 D をモニタしながら、リン酸緩衝溶液中で波長 365 nm の紫外光を照射したところ (照射中はその擾乱作用により過渡的にシフト)、照射前に比べて f が増加すると同時に D が減少することが観察された (Fig. 8)。ここで、 f はセンサー全体の重量に対応し、この値が大きいほど軽く、また、 D は振動するセンサーの複素弾性率の虚部に対応し、大きいほどエネルギー散逸が大きい。従って、光照射によって表面にもたらされた変化は、エネルギー散逸に寄与していた構成成分が、表面から除かれたことを示し、水和 PEG 層の解放による細胞接着阻害の解除という上記描像と矛盾しない。

さらに、光と温度の両方に応答するポリマーからなる光応答性薄膜についても、水中で光照射した際に示す水和状態の変化を、この QCM-D 法を用いてリ

アルタイムに解析した³⁴⁾。NSpを側鎖に有するpNIPAAmを、QCMセンサーの石英表面に薄膜状態で固定化、温度を19℃に保った状態で、波長365 nmの紫外光を照射したところ、照射前に比べて f が大きく減少 (Fig. 9) すると同時に D が上昇、ポリマー薄膜が急速に水和・膨潤したことが示唆された。この光応答水和現象は、25℃以上の温度では観察されず、また、NSpの親水化に寄与しない波長500 nm以上の可視光照射では、19℃においても誘起されなかった。

一方、このNSp修飾pNIPAAmの水溶液は、22℃付近に下限臨界溶液温度 (LCST) を有することが観察されたが、上記スピロピラン修飾pNIPAAmの酸性水溶液とは異なり、溶液の相状態に対する光照射の明確な影響は確認されなかった。にもかかわらず、基材表面に固定されたポリマー薄膜において、水和・膨潤状態には明確な影響を及ぼす様子が、QCM-D法によって明瞭に観察されたことは興味深い。これらの結果から、ポリマー材料の表面機能を解析する上で、界面近傍の情報を選択的に抽出することが重要であること、そうする上でQCM-D法が非常に強力な解析手段となることが強く示唆された。

5. おわりに

本稿では、フォトクロミックポリマーからなる新しい機能膜システムについて、筆者らの最近の試みを中心に概説した。水系での光照射によってその物性を素早くかつ大幅に変化させることのできるポリマーは、フォトクロミズムの応用がこれまでほとんど検討されることのなかったバイオや化学工学の分野において、様々な用途が想定される新しいクラスのフォトクロミック材料と言えよう。光エレクトロニクスの急速な伸展によって、これまでになかった様々な光制御デバイスが次々に生み出されつつある昨今、これらの水系フォトクロミックポリマーからなる機能膜は、IT技術との高いコンパチビリティを備えたソフトでウェットなマイクロ制御システムを実現する上で、有望なキーマテリアルとなることが大いに期待される。

謝 辞

筆者の研究理念に深いご理解をいただくとともに、公私に渡ってお導きいただいた (独) 産業技術総合研究所バイオニクス研究センター金森敏幸チーム長、ならびに、研究の遂行に際して多大なるご協力いただいたバイオナノマテリアルチームの皆様に対して、ここに深い感謝の意を表します。本稿で紹介した研究は、科学技術振興機構 (JST) 大学発ベンチャー創

出推進事業 (平成17年度採択課題)、平成14年度および平成17年度NEDO産業技術研究助成事業の助成を受けて実施されました。

文 献

- 1) 入江正浩: 高分子, **47**, 449-452 (1998)
- 2) Sumaru K, Inui S, Yamanaka T: *Opt. Eng.*, **38**, 274 (1999)
- 3) Sumaru K, Inui S, Yamanaka T: *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **345**, 239 (2000)
- 4) 須丸公雄: 映像情報インダストリアル, **14** (2000)
- 5) 須丸公雄: 高分子, **460** (2001)
- 6) Irie M, Kungwachakun D: *Macromolecules*, **19**, 2476 (1986)
- 7) Irie M, Hosoda M: *Macromol. Chem., Rapid Commun.*, **6**, 533 (1985)
- 8) Kröger R, Menzel H, Hallensleben ML: *Macromol. Chem. Phys.*, **195**, 2291 (1994)
- 9) Akiyama H, Tamaoki N: *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.*, **42**, 5200 (2004)
- 10) Sumaru K, Kameda M, Kanamori T, Shinbo T: *Macromolecules*, **37**, 4949-4955 (2004)
- 11) Sumaru K, Kameda M, Kanamori T, Shinbo T: *Macromolecules*, **37**, 7854-7856 (2004)
- 12) Eda Hiro J, Sumaru K, Takagi T, Kanamori T, Shinbo T: *Langmuir*, **22**, 5224 (2006)
- 13) Sumaru K, Ohi K, Takagi T, Kanamori T, Shinbo T: *Langmuir*, **22**, 4353 (2006)
- 14) 須丸公雄: ケミカルエンジニアリング, **51**, 378 (2006)
- 15) Rochon P, Batalla E, Natansohn A: *Appl. Phys. Lett.*, **66**, 136 (1995)
- 16) Kim DY, Tripathy SK, Li L, Kumar J: *Appl. Phys. Lett.*, **66**, 1166 (1995)
- 17) Zettsu N, Fukuda T, Matsuda H, Seki, T: *Appl. Phys. Lett.*, **83**, 4960 (2003)
- 18) Keum C-D, Ikawa T, Tsuchimori M, Watanabe O: *Macromolecules*, **36**, 4916 (2003)
- 19) Lefin P, Fiorini C, Nunzi J-M: *Opt. Mater.*, **9**, 323 (1998)
- 20) Szilagyi A, Sumaru K, Sugiura S, Takagi T, Shinbo T, Zrinyi M, Kanamori T: *Chem. Mater.*, **19**, 2730 (2007)
- 21) 須丸公雄: 膜, **30**, 132 (2005)
- 22) Sugiura S, Sumaru K, Ohi K, Hiroki K, Takagi T, Kanamori T: *Sens. Actuat. A: Phys.*, **140**, 176 (2007)
- 23) Serksen SR, Mensing GA, Ng M, Halas NJ, Beebe DJ, West JL: *Adv. Mater.*, **17**, 1366 (2005)
- 24) 岡野光夫, 大和雅之: 日経サイエンス, **33**, 43 (2003)
- 25) <http://www.cellseed.com>
- 26) Eda Hiro J, Sumaru K, Tada Y, Ohi K, Takagi T, Kameda M, Shinbo T, Kanamori T, Yoshimi Y: *Biomacromolecules*, **6**, 970-974 (2005)
- 27) Tada Y, Sumaru K, Kameda M, Ohi K, Takagi T, Kanamori T, Yoshimi Y: *J. Appl. Polym. Sci.*, **100**, 495 (2006)
- 28) 須丸公雄, 金森敏幸: 動物実験代替のためのバイオマテ

リアル開発 (酒井康行 編), シーエムシー出版, 111 (2007)

- 29) 須丸公雄, 金森敏幸: レーザー研究, **35**, 436 (2007)
- 30) 須丸公雄, 金森敏幸: 膜, **32**, 271 (2007)
- 31) 須丸公雄, 金森敏幸: 表面技術, **58**, 522 (2007)
- 32) 須丸公雄, 金森敏幸: 細胞分離・操作技術の最前線 (福田敏男, 新井史人 監修), シーエムシー出版, 165 (2008)
- 33) Rodahl M, Höök F, Fredriksson C, Keller CA, Krozer A, Brzezinski P: *Faraday Discuss*, **107**, 229 (1997)
- 34) Edahiro J, Sumaru K, Takagi T, Shinbo T, Kanamori T, Sudoh M: *Eur. Polym. J.*, **44**, 300 (2008)

(Received 2 May 2008;

Accepted 15 May 2008)

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