ネイチャーテック:自然に学ぶ超低環境負荷型ものづくり技術

# バイオミメティック材料 プロセッシングの開発

高井 治\* 齋藤永宏\*\* 石崎貴裕\*\*\*

#### 1. はじめに

特集

地球の誕生は今から約46億年前であり、その頃の地球は 雷放電,火山噴火,隕石落下等の激しい環境下に曝されてい たと言われている.このような激しい環境下において,雷の 放電に誘発された化学反応により無機物から有機物が合成さ れ,生命体が誕生したとの仮説がある.人類を含む生物は現 在まで,数億年の間環境の変化に順応を重ね,環境と共存し ながら進化をとげ,現在の環境に順応している.

自然界に目を向けると,環境に順応するための特異的な機 能を有する生物が多数存在する.たとえば、水鳥の羽、アメ ンボウの足, 里芋や蓮の葉などは水を極めて良く弾く. この 機能を「超はっ水」と呼ぶ.超はっ水性を示す要因は,表面 を覆っている疎水性ワックス状物質と表面の微細な凹凸構造 にある. 自然界では、様々な動植物が環境に順応するため、 超はっ水性を獲得してきているのである.一方,海藻等に代 表されるように水中に生きる動植物の体皮は、超親水性のも のも少なくない. また, アフリカ南部のナミブ砂漠に生息す るナミビアン・ダークリン・ビートルという甲虫は、鞘翅に 0.5 mm の突起(親水性)を有しており、この突起と突起の間 に、ナノレベルの小さな突起(はっ水性)を持つ. この甲虫 は,霧の中に浮遊する微細な水滴を親水性の部分で収集す る. 収集した水滴は融合し大きくなり、その水滴ははっ水性 の突起上を転がり、甲虫の口に誘導される.これにより、甲 虫は水分を補給する.このようにはっ水性,親水性という濡 れ性の観点から対峙する機能を保有することにより生命活動

を営んでいる生物もいる.生物が有するこれらの高次機能, 高次構造は,環境の変化に順応した生物の進化とともに,常 温・常圧下の低環境負荷型のプロセスにより作り出されてい る.このような「生物の高次構造,高次機能,環境低負荷型 低温プロセス」を学び,新規材料を創成していくことが, 「バイオミメティク材料プロセッシング」である.このプロ セスは低温プロセスを活用するためエネルギー消費量が少な いため, CO<sub>2</sub>削減に大いに寄与する材料プロセスであると いえる.

我々のグループは,バイオミメティク材料プロセッシング を実現させるために,蓮の葉の有する特異的な機能(超はっ 水性)を発現させている「かたち」を模倣し,工学的に超は っ水表面を形成することに成功している.また,生命の起源 とも言われている水中のプラズマ(ソリューションプラズマ) を反応場に用いたナノ材料創製や表面改質も行っている.本 報では,現在までに我々が取り組んできたバイオミメティッ ク材料プロセシングについて紹介する.

## 超はっ水・超親水マイクロパターン表面での細菌 接着挙動

超はっ水膜の形成法としてゾル・ゲル法<sup>(1)(2)</sup>,熱 CVD 法<sup>(3)</sup>,プラズマ CVD 法<sup>(4)</sup>等のさまざまな方法が研究開発さ れている.この中で,プラズマ CVD 法は常温かつ基板に対 してダメージフリーな成膜プロセスであり,プラスチック, ガラス,半導体,金属,紙等,多種多様な基材へのはっ水性 付与を実現できるプロセスの一つである.

\*\* 名古屋大学准教授;工学研究科

\*\*\* 産業技術総合研究所サステナブルマテリアル研究部門研究員 Development of Biomimetic Materials Processing; Osamu Takai\*, Nagahiro Saito\*\*, Takahiro Ishizaki\*\*\*(\*EcoTopia Science Institute, Nagoya University, Nagoya. \*\*Graduate School of Engineering, Nagoya University, Nagoya. \*\*\*National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Materials Research Institute for Sustainable Development, Nagoya) Keywords: biomimetic, ultra water repellent (UWR) surface, super-hydrophilic surface, fibrinogen, solution plasma, carbon nanoball (CNB), surface modification 2008年12月 8 日受理

<sup>\*</sup> 名古屋大学教授;エコトピア科学研究所(〒464-8603 名古屋市千種区不老町)

ここでは、マイクロ波プラズマ CVD 法による超はっ水膜 表面の作製法について説明する.先ず,基板をエタノール中 で約10分間超音波洗浄し、自然乾燥させる.この基板を反 応容器内に設置する. 原料にはトリメチルメトキシシラン (TMMOS)を用い、 基板には n 型 Si(111)およびガラス基板 を用いた.反応容器内に基板を設置した後,ロータリーポン プで反応容器内を排気し、反応容器内が5Pa以下の真空度 に到達した後,励起ガスとしてアルゴン(Ar)を30 Pa 導入 した.その後,TMMOSを反応容器内に導入し、マイクロ 波出力 300 W で10分間プラズマを発振させた. その他の詳 細に関しては引用文献を参照されたい<sup>(4)-(7)</sup>.図1に、プラ ズマ CVD 法により作製した超はっ水膜上の水滴挙動を示 す.この水滴接触角は150度をかなり超えており、この表面 は超はっ水性表面である.また、この超はっ水膜の可視光の 透過率は90%を超えており、ほぼ透明である.

プラズマ CVD 法により作製した超はっ水膜表面に波長 172 nm の真空紫外(VUV)光を照射することでシラノール基 (Si-OH)を形成することができる<sup>(8)</sup>.この場合の表面の水滴 接触角度は0°になり、その表面は超親水性となる. VUV 光 を利用することにより、超はっ水・超親水パターン表面を形 成できる.プラズマ CVD 法により作製した超はっ水膜表面 上にフォトマスクと石英板を置き,真空チャンバー内で10 Pa まで減圧して VUV 光を20分間照射する. この VUV 光 の照射により、TMMOSを構成する有機分子はCO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O といった気体分子となり除去される.フォトマスクを 用いることにより、露光部の超はっ水膜表面が分解・除去さ れ、下地のシリコン基板が露出し、超はっ水・超親水のマイ クロパターンを作製できる.このパターン上では、濡れ性と いう点において究極に対峙する二つの状態が集積化されてい る. ESEM(環境制御走査型顕微鏡)による超はっ水・超親水 のマイクロパターン上での水滴の様子を図2に示す. 球状の 水滴が超親水領域上で選択的に形成されていることを確認で きる.

超はっ水・超親水マイクロパターン表面を足場として微生 物の培養を行った.培養に用いた細菌は、大腸菌、枯草菌、 土壌菌、緑膿菌の4種類である.培養条件は、培養時間を 24時間,培養温度を37℃,CO2濃度を5%,初期の細菌濃度 を  $1.0 \times 10^4$  cell/ml とした.

超はっ水・超親水マイクロパターン表面で大腸菌、枯草



図1 ガラス上に成膜した超はっ水表面上の水滴の様子.

菌,土壤菌,緑膿菌を培養した後の位相差顕微鏡像を図3に 示す.大腸菌および枯草菌は超はっ水・超親水マイクロパタ ーン上で超はっ水領域に選択的に付着した.一方,土壌菌は 表面にほとんど付着しなかった. また,緑膿菌は両方の領域 で僅かに付着した.次に、パターン上における超はっ水領域 の幅を10µmにした表面で同様に培養を行った.その結果 を図4に示す.この場合でも同様に、大腸菌および枯草菌が 超はっ水領域に選択的に付着した. このような菌の付着性の 違いを調べるために,基材の表面特性(表面粗さ,表面電



図2 超はっ水・超親水マイクロパターン表面上の ESEM 写真.



土壤菌 (Pseudomonas stutzeri)

図3 超はっ水・超親水マイクロパターンへの細菌の付 着の位相差顕微鏡像.



枯草菌 (Bacillus subtilis)

図4 超はっ水・超親水マイクロパターンへの微生物の 付着の位相差顕微鏡像.

位, ゼータ電位)および菌と培地中のたんぱく質のゼータ電 位の測定を行った.超はっ水および超親水性表面の表面粗さ を計測した結果,表面粗さは同程度であった.一方,表面電 位およびゼータ電位では、超はっ水表面の方が超親水性表面 よりも高かった. このような表面特性の違いが菌の選択的な 付着に大きな影響を与えていると考えられる. また, 菌およ びたんぱく質のゼータ電位はすべて負の値を示し、その絶対 値の大きさの順番は,枯草菌≒緑膿菌>大腸菌>たんぱく質 >土壌菌であった.これらの結果から、菌の表面への付着は、 ①初期状態では微生物と培地中のたんぱく質は分散、②表面 との静電斥力の小さい培地中のタンパク質が微生物より先に 表面に付着(この時のたんぱく質の付着は疎水性が高い表面 で促進される),③表面がタンパク質で覆われた後に微生物 が付着,の順に起こっていると推察できる.より精密な細菌 パターンを形成するためには、より詳細な細菌付着機構の解 明が必要である.

#### 3. 高分子電解質ブラシ被覆親水性表面へのタンパク 質の接着制御

高分子ブラシは、長鎖高分子が直線的に延伸し、ブラシ状 になったものである.この延伸は、材料表面において高分子 の充填密度が高い場合に、分子鎖の重なりを避けるために高 分子間に作用する斥力により生じる. このような高分子の振 る舞いも自己組織化であり、バイオミメティックの範疇であ る. 高分子ブラシの中でもポリマーに高分子電解質を用いた ものを高分子電解質ブラシ(PEB: Polyelectrolyte Brush)と いう. PEB は電解質であるため、水溶液中で対イオンの捕 捉・放出が可能である.このため、PEBは帯電していない 高分子ブラシに比べて強い静電相互作用があり, 直鎖状に伸 長できる.また、対イオンを捕捉することにより、収縮する ことも可能であり、構造としての自由度が高い. さらに、 PEB 表面は帯電しているため親水性であり、その親水性を 保持することができる. このような性質から高分子電解質ブ ラシはタンパク質の吸着制御のモデル表面として注目されて いる.

本項では,高分子電解質ブラシであるポリスチレンスルホ ン酸ナトリウムブラシ(PSSB: Poly(Styrene Sulfonate sodium salt) Brush)を被覆した表面におけるフィブリノゲンの 吸着について紹介する.

ブラシ作製の原料にはアニオン重合によって合成したポリ スチレン(PS)の末端が SiCl<sub>3</sub>でキャッピングされたポリマー を含むトルエン溶液を用いた.PSSBの作製にはn型(111) Si 基板およびスライドガラスを用いた.まず,基板をアセ トン,エタノール,超純水の順にそれぞれ10分間ずつ超音 波洗浄を行い,真空乾燥した.続いて,大気圧下で VUV 光 を30分照射し,基板表面の有機物の除去を行うとともに OH 基を導入した.VUV 照射後,基板を PS のトルエン溶液に 浸漬させ,室温下で1時間静置した.基板を溶液から引き 上げ,電気炉の中に入れ減圧した.その後,窒素雰囲気下 160℃で24時間加熱して、ポリスチレンブラシ(PSB)を作製 した.次に、ドラフト内で、ジクロロエタン、無水酢酸、濃 硫酸を所定の濃度で混合し、その混合液にPSブラシ基板を 浸漬させた.一定温度で数十分間加熱し、PSBのベンゼン 環にスルホ基を導入した.所定の反応時間経過後に、基板を 取り出しエタノールで表面をリンスした後、0.5 Mの NaHCO3 水溶液に約一日浸漬させ、スルホ基の水素イオン をナトリウムイオンに置換し、ポリスチレンスルホン酸ナト リウムブラシ(PSSB)を作製した.

タンパク質には、フィブリノゲンを、溶媒には、ダルベッ コりん酸緩衝生理食塩水(D-PBS)を用いた.タンパク質の 吸着実験の手順は次の通りである.D-PBSを溶媒として濃 度 0.1 µM (34 µg/ml:血中濃度の約1/100)フィブリノゲン 溶液を調整した.調整したタンパク質溶液をインキュベータ 内で約30分暖め、VUV 照射した基板と PSSB 基板を浸漬さ せた.浸漬時間は1~60分とした.Si 基板と PSSB 基板へ のタンパク質の吸着量変化は、赤外吸収分光法(FT-IR)に より評価した.

タンパク質が基板に吸着すると、タンパク質に起因するア ミド I バンドの赤外吸収スペクトルが出現する. このため, タンパク質吸着の確認には、アミドIバンドの赤外吸収スペ クトルが用いられる.アミドIバンドは1600~1700 cm<sup>-1</sup> の領域に存在し、N-Hの変角およびC-Nの伸縮運動などを 伴ったペプチド結合部におけるグループ振動の中のC=O伸 縮に起因する.また、タンパク質の二次構造である α-ヘリ ックス,β-シート,ランダムコイルなどに帰属される複合 吸収ピークである.そのため、アミド I 吸収帯の変化を追跡 することは、タンパク質の定量分析や構造分析に有効であ る.アミドIバンドによるピーク面積強度から、タンパク質 の吸着量を見積もった.フィブリノゲンを吸着させた PSSB 基板および Si 基板の各時間における FT-IR の結果を図5, 6にそれぞれ示す.時間の経過に伴って、アミドIバンドの ピーク強度が大きくなり、このアミドIバンドのピーク面積 強度を比べることで相対的にタンパク質の吸着量の変化がわ かる.

フィブリノゲンを吸着させた PSSB 基板および Si 基板の アミド I バンドのピーク面積強度の時間変化を図7 に示す. タンパク質の吸着量は,Si 基板よりも PSSB 基板上で多 い.タンパク質は一般的に疎水性表面につきやすい.これ は、タンパク質に含まれる疎水性官能基と表面に存在する疎 水性官能基との間に働く疎水性相互作用に起因する.水滴接 触角に着目すると,Si 基板表面は約40°,PSSB 表面は5~ 10°であり,PSSB 表面の方が高い親水性である.定説どお りであれば,PSSB 表面の方が高い親水性である.定説どお りであれば,PSSB 表面よりも Si 基板表面に多くのタンパ ク質が吸着すると予想できる.しかし,Si 基板表面および PSSB 表面はいずれも親水性であるが、タンパク質の吸着量 が大きく異なり,PSSB 表面における吸着量の方が遙かに大 きい.これは、単純な親水性、疎水性による効果ではなく、 PSSB が表面に存在するためである.このようなタンパク質 吸着の促進効果は、PSSB が電解質であり、対イオンの存在



O:PSSB基板、△:Si基板



図7 フィブリノゲン吸着後の PSSB 基板および Si 基 板のアミド I バンドのピーク面積強度の時間変化.

によるところが大きいであろう.一方,タンパク質の吸着に 起因する主要な因子の解明については,今後の検討課題であ る.

このように基板とタンパク質の接着界面に高分子電解質ブ ラシを用いることで、タンパク質の接着を促進することがで きる.

## ソリューションプラズマによるカーボンナノボー ル(CNB)の表面修飾

ソリューションプラズマは, 溶液中で生成するプラズマで



図8 溶液の色変化の様子.

あり、気相中のプラズマとは異なる性質を有する.ソリュー ションプラズマにより、ラジカル、電子、紫外線、過酸化水 素、オゾンなどの活性種が溶液中で発生する.ソリューショ ンプラズマは、従来の液中プラズマに対し、高周波数で電圧 を印加していることを特徴としている.これにより、液中で 非平衡低温プラズマの形成が実現し、また、プラズマ相を囲 む液体の膨張・圧縮運動とプラズマ相が連動することができ る.筆者らは、動的な物質移動界面を有し、かつ、非平衡低 温プラズマである「ソリューションプラズマ」を反応場とし 用い、新しいナノ材料合成<sup>(9)(10)</sup>や材料の表面改質プロセス に関する研究を進めている.本項では、ソリューションプラ ズマによるカーボンナノボール(CNB)への Pt 修飾に関する 現況を紹介する.

原料には、150 mLの超純水に、塩化白金酸六水和物(H<sub>2</sub>



図9 Pt/CNBのTEM像.



図10 EDS 分析結果.(a) Pt/CNB の STEM-BF 像
 (b) 炭素マッピング像 (c) 白金マッピング像

PtCl<sub>6</sub>・6H<sub>2</sub>O,純度98.5%,和光純薬製)を1.44 mM,白金 ナノ粒子の保護剤となるポリビニルピロリドンK30(PVP K30,(C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NO)n,和光純薬製)を12 mM となるように加 えた溶液にカーボンナノボールを50 mg 加えたものを用い た.放電の条件は,パルス周波数を15 kHz,パルス幅を 2.0  $\mu$ s,印加電圧を2.4 kV とした.また,タングステン電 極間の距離を0.5 mm とした.以上の条件の下,CNB,塩化 白金酸イオンを含む溶液中でソリューションプラズマを40 分間発生させた.

合成した Pt/CNB は透過型電子顕微鏡(TEM)によって観察した.また,ICP 発光分光分析によって Pt/CNB の白金 担持量を評価した.

ソリューションプラズマ発生後の溶液の色変化を図8に示 す.ソリューションプラズマの放電時間は左から順に10,

20,30,40分である.放電時間が長くなるほど,溶液の色 が茶褐色に変化した.この色変化は白金ナノ粒子の形成を示 すものである.Pt/CNBのTEM像を図9に示す.CNB上 にコントラストの異なるナノ粒子が担持している.エネルギ ー分散型X線分光分析(EDS)によるマッピング像(図10)か ら,CNBに担持しているナノ粒子はPtである.Pt/CNBを 10 mg/L含む溶液を調製し,その中に含まれるPt 担持量を ICP発光分光分析によって評価した.10 mg/LのPt/CNB を分散させた溶液中に含まれているPt 担持量は0.715± 0.022 mg/Lであった.

ソリューションプラズマを反応場に用いることにより,1 回のプロセスで CNB に Pt を担持させることができる.今後,ソリューションプラズマが新しい表面修飾法として活用 されていくことが期待できる.

#### 5. おわりに

本報では,自然界に学んだバイオミメティックプロセスを 駆使した三つの試みについて紹介した.本報で紹介した研究 成果は,バイオチップ,生体親和性表面の構築,材料の表面 改質等の実用化に対して,今後の研究の方向性を示すもので あるが,より重要な位置付けとして,バイオミメティックな コンセプトに立脚した研究の成功例であるということに,ぜ ひ注目していただきたい.

地球上には多くの生物が存在し,進化と適応を長い間繰り 返すことによって,それぞれの置かれた環境において,ある 程度最適化された組織構造や反応過程を獲得している.生物 を「師」とするバイオミメティックなプロセスは,エネルギ ー使用量を大幅に削減できるため,地球規模の環境問題を命 題にしている人類にとって,ぜひ利用すべき研究の方向性の 一つである.

#### 文 献

- (1) T. Onda, S. Shibuichi, N. Satoh and K. Tsujii: Langmuir, **12**(1996), 2125.
- (2) S. Shibuichi, T. Onda, N. Satoh and K. Tsujii: J. Phys. Chem., 100(1996), 19512.
- (3) D. Öner and T. J. McCarthy: Langmuir, **16**(2000), 7777.
- (4) A. Hozumi and O. Takai: Thin Solid Films, **303**(1997), 222.(5) Y. Wu, H. Sugimura, Y. Inoue and O. Takai: Chem. Vap. Dep.,
- 8(2002), 47. (6) A. Hozumi, K. Ushiyama, H. Sugimura and O. Takai: Lan-
- gmuir, **15**(1999), 7600.
- (7) Y. Wu, M. Bekke, Y. Inoue, H. Sugimura, H. Kitaguchi, C. Liu and O. Takai: Thin Solid Films, **457**(2004), 122.
- (8) L. Hong, H. Sugimura, O. Takai, N. Nakagiri and M. Okada: Jpn. J. Appl. Phys., 42,(2003) L394.
- (9) J. Hieda, N. Saito and O. Takai: Surf. Coat. Tecnol., 202(2008), 5343–5346.
- (10) J. Hieda, N. Saito and O. Takai: J. Vac. Sci. Tecnol. A, A 26 (2008), 854.

# ★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★★ 齋藤永宏 平成12年 早稲田大学大学院理工学研究科後期博士課程卒業.

齋藤永宏





高井 治

石崎貴裕