

センサ表面改質を指向した高分子鎖の合成と評価

－ポリマーブラシを用いた高精度センサ開発－

日大生産工(院) ○小澤 佑佳

日大生産工(院) 山田 和典 木村 悠二

産総研 愛澤 秀信

1 まえがき

近年環境計測や臨床検査では、環境汚染や疾病罹患を未然に防ぐための技術として微量物質を迅速かつ高精度な測定法が求められている。簡易的かつモニタリング可能な高精度センサとして水晶振動子(QCM)を重さセンサとして用いた水晶振動子センサが用いられている。超微量天秤としてのQCMと抗体を利用した免疫センサは抗体固定化量により精度が左右されることが一つの要因として考えられている。これまでも高精度センサの研究はされてきたが、より微量な物質でも測定できれば、例えば臨床検査の分野においては疾患マーカーを利用する癌等の早期発見や予防も可能になる。センサ表面の抗体固定化量を増やす手法の一つとして、ポリマーブラシによってセンサ表面を改質し、そのポリマーブラシ上に抗体を立体的に固定化することでセンサの高精度化を目指している。鎖長の揃ったポリマーブラシ上であれば抗体固定化量も制御しやすい。抗体固定化量を一定に保つためには、鎖長が揃ったポリマーブラシが必要である。本研究では、プラズマ重合法による重合開始点を作成し、ICAR ATRP (Initiators for Continuous Activator Regeneration Atom Transfer Radical polymerization)を用いた。本報告では、ICAR ATRPを用いたセンサ上のポリマー合成の結果と評価について報告する。

2 実験方法および測定方法

プラズマ重合装置の下部電極上に水晶振動子を配置し、圧力を20 Pa、重合時間180 s、放電出力100Wの条件でプラズマ重合を行い水晶振動子上にプラズマ重合膜APTS (pp-APTS)膜を成膜した。
官能基変換は25℃の条件でジクロロメタンが入ったセパラブルフラスコにpp-APTS被覆水

晶振動子を浸漬させ、N₂ガスを満たした状態で50回/minの速度で震とうさせながらトリエチルアミンと臭化2-ブロモイソブチリルを添加し、1時間行った。1時間後に水晶振動子を取り出し、ジクロロメタン、超純水で洗浄した後、N₂ガスを用いて乾燥させた。

ここでは、重合度100のポリマーブラシ合成の方法を記す。N₂ガスで置換した試験管にCuBrとTPMAに溶媒のDMFを加えて10分間攪拌させながらCuBr₂、TPMAを溶解した。続いてモノマーのtBA, AIBN, E2Bを加え、官能基変換後の水晶振動子を入れてから試験管内をN₂ガスでパージして密閉した。この試験管を60℃に保持したウォーターバスで20時間攪拌した。その後合成したポリマーの中から水晶振動子をジクロロメタンで洗浄した。試験管内のポリマーは、GPC分析やFT-IR分析を行うため、THF溶解させたところに超純水を加えてTHFとポリマーを分離させ、残存THFと水を除去するため、得られたポリマーを50℃で減圧乾燥した。

ポリマーブラシが合成された水晶振動子は、トリフルオロ酢酸10%を含むジクロロメタン溶液に25℃中で5時間震とうさせながらポリtBAの加水分解(脱保護基反応)を行った。

3 実験結果および考察

QCMセンサ上の各プロセスの分析には、XPS (X-ray Photoelectron Microscopy)でC、N、O、Brを分析し、表面の状態を明らかにした。PAA合成で得られたポリマーは精製してGPC法 (Gel Permeation Chromatography)で分子量、多分散性を分析する。AFM (Atomic Force Microscope)を用いて、センサ表面形状分析を行い、抗体の固定化の最適化を目指したPAAポリマーブラシの合成条件を見出した。

Construction of High-Sensitive Immunosensors

－ with Polymer Brushes －

Yuka OZAWA, Kazunori YAMADA, Yuji KIMURA and Hidenobu AIZAWA

まず、QCM上の表面改質における各工程((a)プラズマ重合、(b)官能基変換、(c)ICAR ATRP重合、(d)加水分解)の表面変化をXPSにより解析した結果を図1に示す。

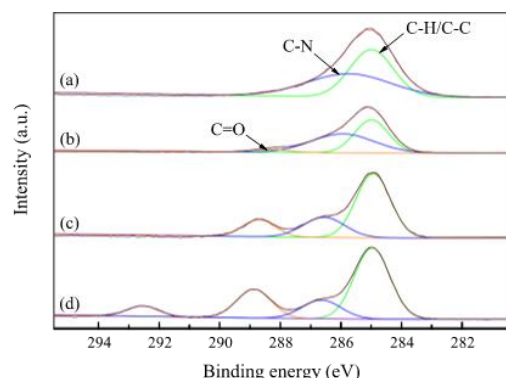


図1 XPSによるQCM表面分析

図1に各工程のC1s高解像度測定の結果を示す。ここではC-Hの結合エネルギー285 eVを基準としてスペクトルを補正して各結合に対してスペクトル解析を行った。(a)はCH₂とNH₂の由来の結合のみであったが、(b)ではBIB結合由来のC=Oピーク(288eV)が見られたことからNH₂からBrへの官能基変換が確認できた。(c)のスペクトルではC=Oに加えてC-H由来ピークが大幅に増加した。これはICAR ATRPによってQCM上に直接重合したPoly(tBA)由来のCH₂と考えられる。(d)ではC=Oスペクトルの面積が増加し、C-F結合(291付近)が見られた。以上より加水分解によって、poly(tBA)のtBuが分解し、ポリアクリル酸が得られたことが確認できた。

次にICAR ATRPを用いて平均重合度100, 150, 200 になるように合成したときのポリマーの重合平均分子量、数平均分子量、分散度を表1に示す。

表1 GPCによる合成ポリマーの分子量測定

平均重合度(DP)	M _w	M _n	M _w /M _n
100	26394	13223	2
150	428079	90611	4.72
200	1126754	809175	1.39

本測定では、理論値に比べて重量平均分子量より大幅に大きなポリマーが合成されていることが分かった。通常ICAR ATRPで合成したポリマーの分散度は、1.1~1.2と極めて狭くなるが、本測定では1.39~4.7と広い分散度を示した。この原因としてICAR

ATRP法で用いる触媒や配位子、開始剤の量が極微量のため各試薬量を正確に秤量することが困難であったことが考えられる。通常銅触媒は、低酸化数状態の金属が活性化剤として炭素ハロゲン結合を活性化し、触媒作用が生じてラジカル重合が制御されるが、今回は、この活性、不活性のバランスが保たれなかったために不均一なラジカル供給によって成長するポリマーのみ合成したものと考えられる。これは、合成の進行と共に生じる副反応によって抗酸化錯体が蓄積し活性化が妨げられて合成が不安定となったことで、想定よりも大きな分子量の高分子が合成されたと考えられる。

4 まとめ

本研究では、水晶振動子上にプラズマ重合で重合開始点を導入し、官能基変換、さらに直接高分子を合成し、加水分解によって目的とするポリマーブラシができていることをXPS測定によって確認できた。

GPC測定での分子量分析では、目的としていた重量平均分子量をはるかに上回るポリマーブラシが合成されていたことが明らかとなり、ICAR ATRPでは、従来のATRPに比べて使用量が微量となった銅触媒や多座配位子のTPMAの調整が重要であることから、ポリマーブラシの精密制御に向けて、今後ICAR ATRP重合条件の再検討が必要と考えている。

水晶振動子基板上に直接高分子が合成できるということが本研究で確認できたものの、想定した目的の分子量よりはるかに多く数平均分子量、重量平均分子量が制御できていなかった。今後の研究課題は、目的とする分子量、精密で小さな分散率の高分子を得るために触媒、重合開始剤、還元剤の比率の再検討を行う必要がある。

「参考文献」

- 1) K. Matyjaszewski, W. Jakubowski, K. Min, W. Tang, J. Huang, W. A. Braunecker, N. V. Tsarevsky, Proc. Natl. Acad. Sci., (2006) 103, 15309-15314
- 2) 蒲池幹治、遠藤剛、岡本佳男、福田猛監修、新訂版 ラジカル重合ハンドブック、エヌ・ティー・エス (2010)
- 3) S. Grajales 著、落合文吾 訳、精密重合ラジカルガイドブック、Aldrich Materials Science (2012)