

早稲田大学大学院 先進理工学研究科

# 博士論文審査報告書

## 論文題目

Construction of Polymer Ultrathin  
Films with Nanostructures as a Model  
for Biological Soft Matter Systems

申請者

Hong ZHANG

張 宏

生命医科学専攻 生体分子集合科学研究

2012年7月

ソフトマターとは、高分子、液晶、コロイドに代表される柔らかい材料の総称であり、メゾスコピックな階層構造と特徴的なレオロジー特性から注目されている。また、生体組織、生体膜などの生体系やタンパク質やDNAなどの生体高分子もソフトマターに属しており、従って、ソフトマターの動的、力学的な特性は生命科学や医工学領域において重要である。しかしながら、その複雑さ故に現在の実験的手法によるバイオソフトマターのアプローチは困難である。一方、高分子超薄膜が、バルクの高分子と比較して固有のソフトマターの特性（柔軟性、粘着性、透過性など）を持つことを示す研究が注目されている。そこで、タンパク質や脂質などが複合した生体膜を高分子超薄膜にて模倣するには、高分子超薄膜のナノ構造を制御してその形態が超薄膜の特性や性能に与える影響を解析することが不可欠である。申請者は本学位論文にて、ナノ構造を有する高分子超薄膜の構築と解析を行い、バイオソフトマター研究の基盤づくりに寄与することを目的としている。

本学位論文は、6章から構成されている。第1章はソフトマターの概念ならびに高分子超薄膜の本質についてまとめている。特に、ソフトマターをコロイド、高分子、両親媒性分子の3つの構成要素によって分類し、ソフトマターの階層構造を大きさと時間のスケールから整理している。バイオソフトマターの代表例として、両親媒性分子であるリン脂質が構築する二分子膜に着目し、タンパク質や糖鎖の複合体である生体膜に言及している。そして、高分子超薄膜を二分子膜の延長線上に捉え、高分子超薄膜特有の物性変化と高分子超薄膜のナノ構造について記述している。分子集合によるナノ構造の構築に関する研究の中で、特にポリマーブレンドやブロック共重合体の相分離に関する基本的原理に焦点を当て、本論文の研究展開の序論としている。

第2章では、ポリマーブレンドの相分離現象を利用したナノ構造を有する高分子超薄膜の調製法の確立と、ナノ構造形成機構について言及している。ここでは、ポリスチレン(PS)とポリメタクリル酸メチル(PMMA)のブレンド溶液を、ポリビニルアルコール(PVA)が予め被覆されたシリコンウエハ基板の上にスピナーコート法によって調製する方法について検討している。PVA膜は自己支持状態を達成するための犠牲膜として用い、PVA膜を水に溶解させることによって高分子超薄膜を基板から剥離させることができる。得られた高分子超薄膜の厚さは約40 nmから110 nmであった。ブレンド組成やスピナーの回転速度が相分離構造に及ぼす影響を、原子間力顕微鏡(AFM)を用いて定量的に解析した。特に、相分離した海島構造の観察には、PSの島領域を選択的にシクロヘキサンの溶解除去(溶媒エッチング法)することによって、多孔構造のPMMAマトリックスを観察する手法を用いている。ナノ孔の直径は約60nmから200nm間をPSのブレンド比に強く相関して制御可能であり、また回転速度の増加と共に直径は減少する傾向を明らかにした。基板からこの膜を剥離して裏返しにし、再度基板に貼って多孔質構造を観察する技術によって、同じ高分子超薄膜の表面(気相側)と裏面(基板側)をAFMや走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて観察した。膜厚と孔径との相関を調べたところ、孔が貫通した超薄膜を得るには膜厚を相分離領域のサイズと同程度にしなければならず、本条件では膜厚をPS領域の半分以下にまでする必要があった。そしてスピナーコートの際の相分離形成機構として、スピノーダル分解機構が最終構造を決める際に重要な

役割を担っていることを示す、具体的なモデルに踏み込んで提案できたことは高く評価できる。

第3章では、申請者は高分子-高分子間相分離を利用した多孔質構造の高分子超薄膜を調製する方法を一般化して拡大させ、高分子-貧溶媒による方法、高分子-無機塩による方法、ナノ粒子でパターン化された基板を用いる方法など、簡便で迅速な多孔質高分子超薄膜を調製する方法を考案し、具体的に実証している。本研究で提案する方法論は、多様なナノ構造を持つ高分子超薄膜を簡便にそして大量に得る方法の例示として優れており、実用的な面からも高く評価できる。また、孔の形、大きさ、密度、アスペクト比、貫通率などは、これらの方法の選択により制御できる。このことは得られる高分子超薄膜は、特に生体膜に代表される複雑な生体系の多様性を模倣した高分子超薄膜を得るための基本的な指針を与えるものと思われる。高分子超薄膜に構築したナノ構造体の応用として、溶媒エッチング法によって均一な孔径を持つ貫通孔を形成させた場合には、高フラックスなバイオフィルター膜としての適応が有望である。例えば、生分解性ポリ乳酸からなる多孔質高分子超薄膜(膜厚: 25nm から 600nm)は、数十 nm から数 $\mu\text{m}$  の直径の孔に対してその密度と分布を制御することが可能となったことは、バイオメディカルな応用に対して可能性を切り拓く成果である。さらに、高分子超薄膜を製造時に用いた固体基板から剥離させる方法は、高分子超薄膜を例えば皮膚や臓器などの別の表面に移して応用するための効果的な方法でもある。

第4章では、申請者はAFMのタッピングモードの基礎理論を説明し、AFM走査中にカンチレバー探針と試料との間のエネルギー散逸を測定する方法について紹介している。タッピングモードAFMでは、探針は自由振動の共振周波数で励起され、振幅が目標値(セットポイント)に達するまで近づき、この目標値を保つようにスキャンすることでマッピングされる。本研究では、エネルギー保存の観点から、カンチレバー探針に入力されたエネルギーとカンチレバー探針から散逸したエネルギーが等しいと仮定して、探針と試料間の相互作用を、振幅と位相差から測定した散逸力の平均をフォースカーブとして計算する手法を記述している。タッピングモードAFMによるソフトマターの解析において、表面変形の度合いを探針と試料間の相互作用におけるエネルギー散逸と関連づけることができる、との仮説を理論的に提案している。

第5章では、申請者はマイクロ相分離構造を有するPS/PMMAの高分子超薄膜をタッピングモードAFMで走査したところ、走査回数の増加と共に相分離したPS領域のみが盛り上がってくる現象を見出した。そこで、AFM走査におけるエネルギー散逸とソフトマター表面の変形と相関を詳細に解析した内容になっている。申請者は、膜厚約30nm、相分離したPS島領域の直径約110nmのPS/PMMA高分子超薄膜に関して、走査数、セットポイント電圧、作動電圧、作動周波数を変化させながらタッピングモードAFMを走査した。PS領域は、走査数、セットポイント電圧、作動電圧、作動周波数の増加と共により大きく盛り上がってくる現象が確認され、この現象は制御可能であることを明らかにした。更に、走査によってPS領域の前方が大きく窪み、後方が盛り上がってPMMAマトリックスにはみ出していた。従って、PS領域の窪みの平均の深さと盛り上がりの平均高さを変形度として定量的な指標とした。

一回のタッピング間のパワー散逸を約50pWに調整しながら測定した結果、窪みの深さに関して

はエネルギー散逸とは相関が認められず、イメージングフォースと比例関係を示す結果が得られ、他方、変形度に関してはイメージングフォースと相関は認められず、エネルギー散逸と正の相関があることが明らかになった。このことからイメージングフォースは弾性的な変形、エネルギー散逸は塑性的な変形に関係することが初めて明らかになった。さらに変形のエネルギー依存の一連の解析から、適当なエネルギーでスキャン回数を増加させると、変形度も増加することが確認された。微小なソフト領域のレオロジーの解析にタッピングモード AFM を適用する手法を確立し、相分離した PS 領域に関して具体的な知見を得ることができたことは、ナノマテリアルの研究にとって意義ある成果と評価できる。

第 6 章は、この学位論文の結論と将来展望をまとめている。1. ナノ構造を有する高分子超薄膜を構築する基本的な方法論をポリマーブレンドの相分離を利用して確立し、高分子超薄膜の相分離機構を提案できた。2. 1. の原理を応用して、孔径を制御した多孔質高分子超薄膜を調製する多様な方法を展開した。3. タッピングモード AFM の理論的な研究に基づき、カンチレバー探針と試料との相互作用によって変化する平均イメージングフォースとパワー散逸を簡便に計算できた。4. 高分子超薄膜の表面変形と、探針と試料の相互作用との間の相関を見出すことができ、ナノスケールの塑性変形がエネルギー散逸と関係していることを初めて明らかにした。更に、1) ナノ構造を有する高分子超薄膜が生命科学や生命医科学の研究に応用することができること、2) 特に、精密に制御されたナノ構造体は組織再生工学のビルディングブロックに応用可能であり、生体適合材料からなる多孔質フィルムは *in vivo* 用のバイオデバイスの基材としても有用であること、3) また、孔の部分にリン脂質二分子膜を構築することができれば、膜透過性やシグナル伝達などの生体膜の様々な機能を解析することもできること、などを示唆した。理論的な研究と実用的な応用の両方において、ナノ構造を有する高分子超薄膜はバイオソフトマターシステムに重要な実験モデルになると結論付けている。

以上より、申請者は、ソフトマター系のモデルとしてナノ構造を有する高分子超薄膜の構築と応用に関する研究を探索する中で、前半ではナノ構造の高分子超薄膜を構築するための基本的な方法論を確立した。また、後半では特に微小領域に閉じ込められた高分子のレオロジーを解析する手法としてタッピングモード AFM を適用し、AFM パラメータと高分子領域の変形との関係を明らかにした。これらの成果はナノマテリアルに関する物性評価のみならず、限定された空間内の高分子のダイナミクス解析、生体膜やタンパク質などのバイオソフトマターの研究に展開できる成果であり、学位（理学）として価値あるものであることを認める。

2012 年 7 月

審査員(主査) 早稲田大学 教授 工学博士(早稲田大学) 武岡真司  
早稲田大学 教授 医学博士(慶應義塾大学) 池田康夫  
早稲田大学 教授 理学博士(名古屋大学) 石渡信一  
早稲田大学 教授 博士(医学) 慶應義塾大学 合田亘人