

## C206

## 高分子微粒子を利用した PDMS 基板における微小ハイドロゲルパターンニング法の開発

(千葉大院工)○(学)福島 しづか・(正)山田 真澄・(正)関 実\*

1. 緒言 マイクロメートルオーダーで任意の形状にパターンニングされたハイドロゲルは、形状を制御した細胞培養、高機能マイクロアレイや酵素反応のための微小リアクター等の構築において非常に有用である。一方近年、ポリジメチルシロキサン (PDMS) を用いた微小構造や流体デバイスの開発が活発であり、微小バイオプロセスのためのツールとして期待されている。しかしながら PDMS は疎水的で化学的に不活性であるため、PDMS 基板にハイドロゲルを直接パターンニングすることは難しい。そこで本研究では PDMS 基板上、あるいは流路内部において微小なハイドロゲルをパターンニングするための新しい方法を提案する。具体的には、反応性を有する高分子微粒子を微小なウェル構造の中に集積し、加熱融着することで、化学的に活性の低い PDMS 材料の局所表面修飾を行う手法<sup>1)</sup>を利用し、続いて局所的な親水化を行うことで、アルギン酸 Ca の微小ゲル作製を行った。さらに、応用として微小酵素反応系の構築を試みた。

2. 実験 PDMS 基板の表面修飾の手順を Fig. 1 に示す。乳化重合により合成した poly(styrene-co-glycidyl methacrylate) 微粒子 (粒径 6.2  $\mu\text{m}$ , 融点 130°C) のメタノール懸濁液を流路中、あるいは基板上に形成されたウェル上に導入し、ウェルに粒子が集積した後、空気を導入することで余剰な溶液と粒子を流し去る。この基板、あるいは流路を加熱して粒子を融着させることにより、粒子表面の官能基をウェル部分にのみ導入することができる。続いてエチレンジアミンを用いてアミノ基を導入し、更なる親水化のため、過ヨウ素酸ナトリウムにより部分酸化したデキストランをアミノ基と反応させた。この親水化表面を利用してハイドロゲルを作製する手順を Fig. 2 に示す。CaCl<sub>2</sub> 水溶液を親水化された面にのみ残し、Na<sup>+</sup>と Ca<sup>2+</sup>が置換することによりゲル化する性質を持つアルギン酸 Na 水溶液と反応させることで、PDMS 基板上の局所にアルギン酸 Ca ハイドロゲルを作製した。また、アルギン酸 Ca ハイドロゲルにおける微小酵素反応系を構築した。モデル酵素反応として alkaline phosphatase による 4-methylumbelliferyl phosphate (4-MUP) の加水分解反応を行い、反応後の生成物の蛍光により酵素反応をハイドロゲル内で観察した。

3. 結果と考察 高分子微粒子を融着したウェル表面の赤外吸収測定を行ったところ、エポキシ基由来のピークを

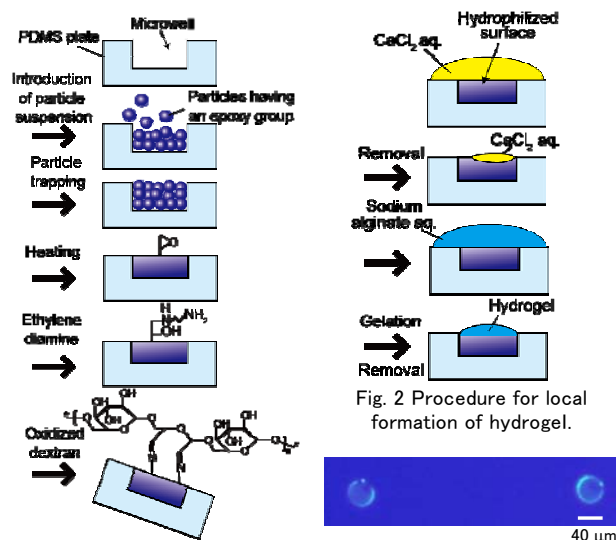


Fig. 1 Surface modification (hydrophilization) procedure.

Fig. 3 Fluorescence micrograph of hydrogel with enzyme activity.

800  $\text{cm}^{-1}$  付近に確認できた。また、エポキシ基と反応したアミノ基をフルオレセインイソチオシアネート (FITC) で蛍光標識し、FITC 導入後の表面を蛍光顕微鏡で観察したところ、ウェル表面にのみ蛍光が観察され、アミノ基の存在が確認できた。さらにデキストラン修飾された表面に CaCl<sub>2</sub> 水溶液を流したところ、ウェル部分以外の疎水的な PDMS 面と親水化表面の性質の差によって、親水化表面にのみ CaCl<sub>2</sub> 水溶液を残すことができた。続けて乾燥後の CaCl<sub>2</sub> が局在する表面に 2%アルギン酸 Na 水溶液を導入することで、2~30 pL 程度の微小なアルギン酸 Ca ゲルが形成された。さらに、alkaline phosphatase による 4-MUP の加水分解反応は、ゲルが存在する部分からの蛍光 (Fig. 3) から確認できた。

4. 結言 高分子微粒子を用いた PDMS 基板の局所表面修飾法を利用して、新しいハイドロゲルパターンニング法を提案した。また、ハイドロゲルを利用した微小酵素反応系の構築が可能であることも示された。

## [参考文献]

- 1) M. Yamamoto *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 14044-14045 (2008)

\*Tel: 043-290-3436

E-mail: mseki@faculty.chiba-u.jp