

界面不安定性による超高分子多糖類サクランの一軸配向膜の創製

Preparation of Uniaxially-Oriented Membrane of Supra-Megamolecular Polysaccharide, Sacran via Interfacial Instability

北陸先端科学技術大学院大学 助教 桶葎 興資
Japan Advanced Institute of Science and Technology, Kosuke Okeyoshi

要旨

生体高分子が自己組織的にマクロな構造を形成するプロセスは、生体組織の理解のみならず機能性材料の設計に重要である。しかし、cm オーダーまでスケールが大きくなると物理化学的因子の理解は依然困難のままである。これに対し本研究では、「高分子多糖類水溶液が制限された空間から乾燥させた際、高分子ドメインの自己配向と自己集積を経て一軸配向膜を形成する」ユニークな現象を見出した。液晶性を示す生体高分子水溶液の乾燥プロセスについて、重力方向と同じ上から観察する既往研究はあるものの、本研究のように重力方向の横から観察した研究例は世界に類を見ない。本研究は現象論に留まらず、マクロな生体組織形成を制御する足場材料への応用に重要な第一歩である。一軸配向膜に架橋構造を導入することで「異方性半透膜」「人工細胞壁」「生体組織形成の細胞分化制御場」など新規機能材料の創製が期待できる。

1. はじめに

界面不安定性や力学的不安定性を利用することでソフトマテリアルの幾何構造制御が可能である。例えば、粘性液体のフィンギングパターン¹やゲルの膨潤収縮の際に生じる座屈パターン²が挙げられ、物質捕捉・輸送など動的機能材料への応用が期待されている。また界面を利用したコロイド結晶の作製にあたって、乾燥過程における移流集積の界面はマクロスケールのパターンと密接な関係にある。一方、実際の乾燥環境に適応した植物の細胞壁や細胞質は高分子多糖類で構成され、その構造異方性と空間分割を利用することによってウェットな空間を造っている。

我々はこれまでに、ラン藻 *Aphanothece Sacrum* 由来の 2×10^7 g/mol を超える高分子量を持つ多糖類「サクラン」³ を題材として、その液晶性 ($C_{LC} \sim 0.2$ wt%)・生体適合性・レアアース捕捉能を明らかにし、また異方性ハイドロゲルの作製に成功している^{4,7}。さらに直近の研究において、その高分子が液晶の構成単位として巨

大なロッド状ドメイン（外径 1-2 μm , 長さ 20 μm 以上）を形成し、乾燥時に蒸発面で広く界面配向することを見出している（Fig. 1）⁸。そこで本研究では、制限された平板状空間からの高分子析出について、1) 乾燥によって誘起されるピン止めとマイクロドメインのダイナミクスの関係、2) 析出される高分子膜の配向特性について検証した。

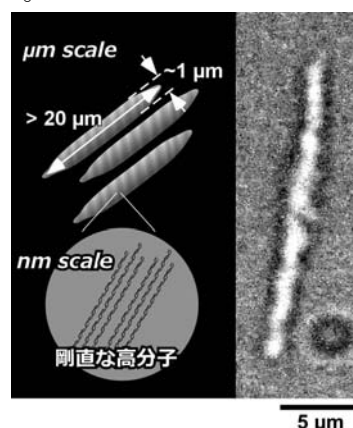


Figure 1. Micro-rod of supra-megamolecular polysaccharide, sacran observed by optical microscope.

2. 実験方法

抽出されたサクランを純水に溶解させ、遠心分離によって不純物を除去後、上清の多糖類水溶液(0.5 wt%)を得た。これを2枚のガラス板に挟まれた片面開放型セルに満たした後、大気圧雰囲気下 60°C に安置させ乾燥実験を行った (Fig. 2)。この乾燥過程について側面から偏光観察し、その透過光強度から配向度の空間分布を分析した。さらに、乾燥後に得られた高分子膜の膜厚・配向方向を評価した。

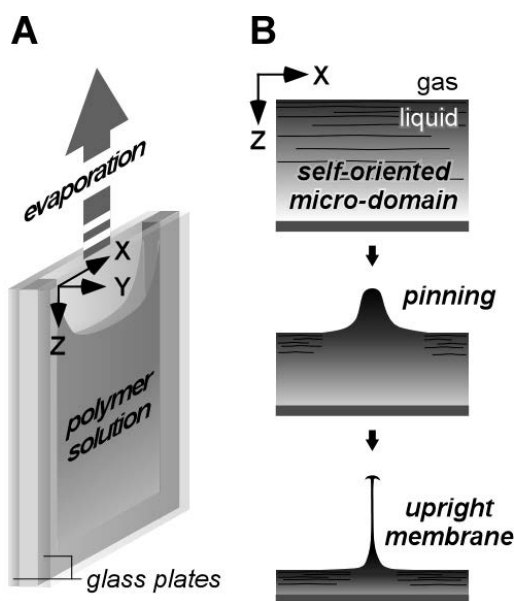


Figure 2. **A.** Drying experiment for polymer aqueous solution from a space with boundaries. **B.** Emergence of upright membrane from polymer solution containing self-oriented micro-domains.

3. 結果と考察

3-1. 高分子多糖類サクランのマイクロロッド・マイクロファイバー

0.5 wt%サクラン水溶液の乾燥前後の状態を光学顕微鏡により観察したところ、外径約 1 μm のロッド状、もしくはファイバー状の形態が確認された。これは、セルロースナノファイバーの数十倍サイズで、非常に大きな自己集合体と考えられる。

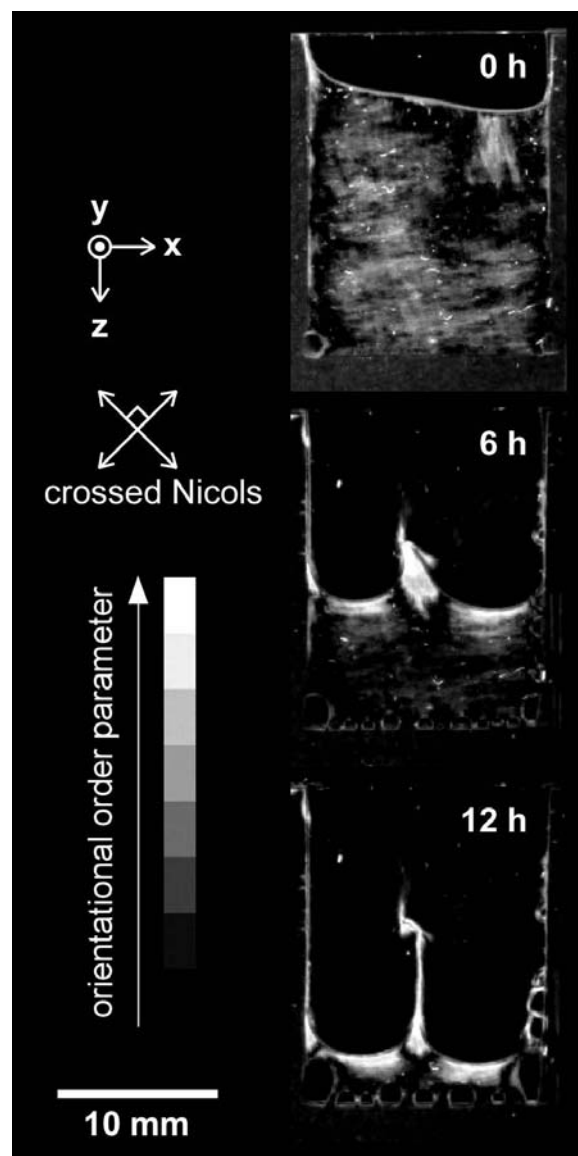


Figure 3. Time course of upright membrane formation in a top-side-open cell. The images are pictured under cross-polarized light.

3-2. マイクロロッド・ファイバーの界面配向

乾燥前では、液相全体で偏光透過する領域が散在しており、初期濃度で高分子が自己配向することが確認された。一方、乾燥開始直後から界面の降下と共に気液界面を成長端として配向度とその厚みが単調増加し、マイクロロッドの長軸が界面と平行に配向集積することが示唆された (Fig. 3)。

3-3. 析出核の形成と垂直膜の成長

乾燥が進むと YZ 面と平行に Z 軸方向へ高分子膜が形成された。これは、Fig. 4-5 に示すとおり、1) 乾燥に伴い高分子が析出してピン止めが起こり、平板間隙 ($\Delta y = 1 \text{ mm}$) を連結した矢印型の析出核が形成、2) 核の左右にあるマイクロドメインが核直下で連なり析出、3) 析出した固相 YZ 面に沿って垂直膜が Z 軸方向に成長した。

この垂直膜は厚さ $\Delta x = \sim 10 \mu\text{m}$ の薄膜で、偏光顕微鏡観察から Y 軸方向に強い一軸配向性が示唆された。これは膜形成の際に、ロッド状マイクロドメインの長軸が固気液界面の接触線に集積され Y 軸方向に再配向したためと考えられる。このように、乾燥時の界面移動を駆動力として連続した一軸配向膜が形成された。

3-4. 架橋点導入による 1D 膨潤ゲルの作製

得られた一軸配向膜は熱処理により架橋構造の導入が可能でハイドロゲルを作製できる。この膜に水を加えて偏光顕微鏡で観察したところ、Y 軸方向への配向性を維持しながら Z 軸方向にのみ膨潤した (Fig. 6)。これは、架橋されたロッ

ド状ドメイン間に水が入り込み、その間隔が広がることで瞬時に膨潤したと考えられる。

線状にドメインを配向させた膜と、面状に配向させた膜⁵⁻⁶は、いずれも一次的に膨潤する。しかし膨潤キネティクスは、線状配向した一軸配向膜の方が明らかに早く、膨潤後も配向性を保っていることから、水中で有用な異方性材料として展開していきたい。

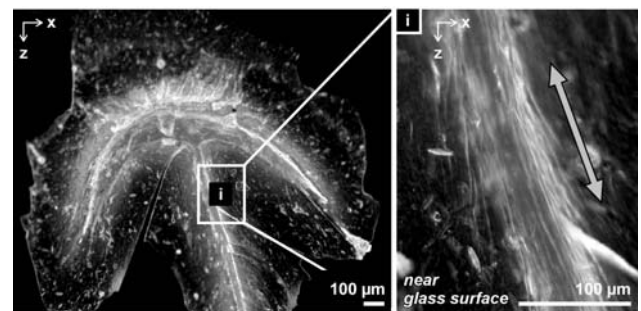


Figure 4. Microscopic images of a dried nucleus and the vertical membrane formed between glass slides observed from the XZ-plane.

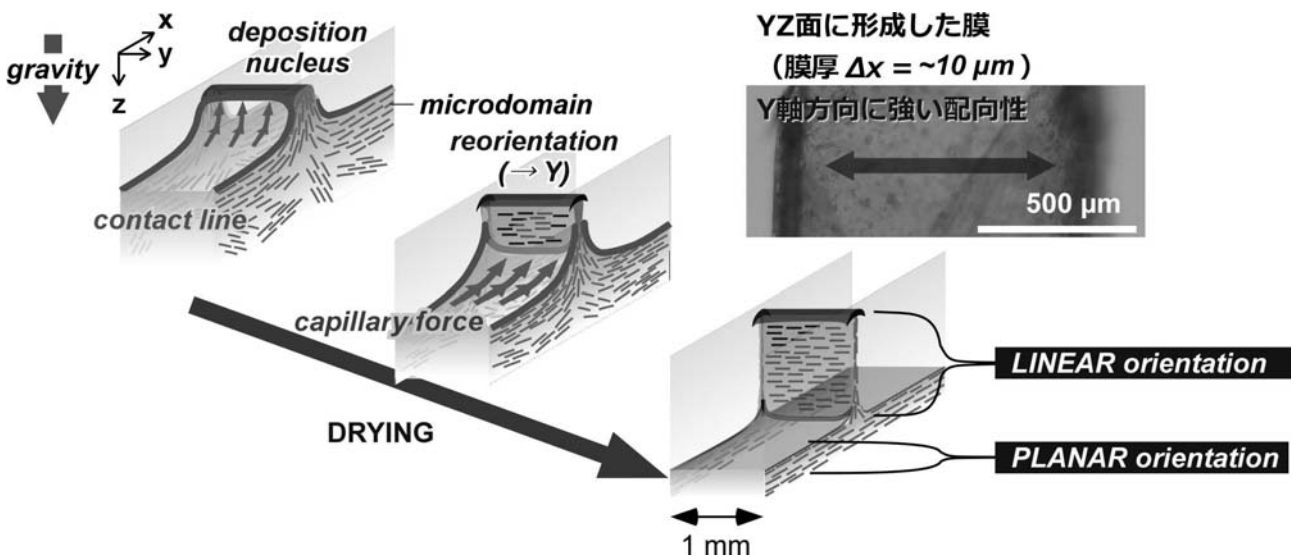


Figure 5. Schematic illustration of a unidirectionally oriented membrane formation utilizing the air-liquid-solid phase contact line during the drying process in limited space. 1) Just after generation of nucleus, which links the glass slides, the capillary force on the nucleus is in the direction opposite that of gravity. 2) After formation of the nuclei-cap, the effect of gravity on the capillary force is relieved. 3) The microdomain integrates with the contact line to form a unidirectionally oriented membrane.

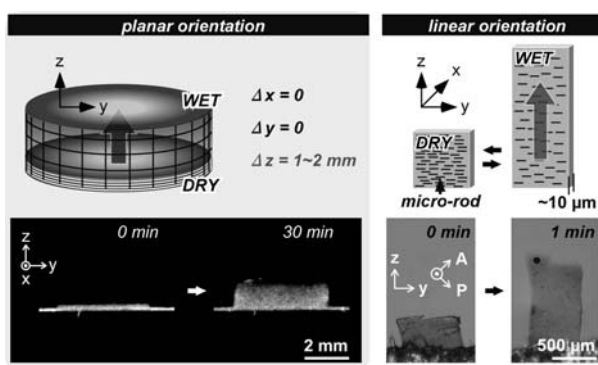


Figure 6. Orientation control of the micro-rods for the 1D-swelling hydrogel with planar orientation (A), and with linear orientation (B).

4. まとめ

濃厚な超高分子多糖類サクランの水溶液は、平板状間隙から乾燥させることで界面の接触線を利用し一軸配向膜を形成する。得られた膜は熱処理により架橋構造の導入が可能で、異方性半透膜としての人工細胞壁や高分子配向を利用した細胞足場材料など新規バイオマテリアルへの展開が期待できる。

謝辞

本研究は北陸先端科学技術大学院大学で遂行されたものであり、共同研究者の金子達雄教授、岡島麻衣子氏に感謝申し上げます。また、本研究を支援していただいた公益財団法人京都技術科学センターに深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) J. B. Brzoska, F. Brochard-Wyart, F. Rondelez, *Europhys. Lett.* **19**, 97 (1992).
- 2) T. Tanaka, S. Sun, Y. Hirokawa, S. Katayama, J. Kucera, Y. Hirose, T. Amiya, *Nature* **325**, 796 (1985).
- 3) M. K. Okajima, T. Bamba, Y. Kaneso, K. Hirata, E. Fukusaki, S. Kajiyama, T. Kaneko, *Macromolecules* **41**, 4062 (2008).
- 4) T. Mitsumata, T. Miura, N. Takahashi, M. Kawai, M. K. Okajima, T. Kaneko, *Phys. Rev. E* **87**, 042607 (2013).

- 5) M. K. Okajima, R. Mishima, K. Amornwachirabodee, T. Mitsumata, K. Okeyoshi, T. Kaneko, *RSC Advances* **5**, 86723 (2015).
- 6) G. Joshi, K. Okeyoshi, M. K. Okajima, T. Kaneko, *Soft Matter* **12**, 5515 (2016).
- 7) K. Shikinaka, K. Okeyoshi, H. Masunaga, M. K. Okajima, T. Kaneko, *Polymer* **99**, 767 (2016).
- 8) K. Okeyoshi, M. K. Okajima, T. Kaneko, *Biomacromolecules* **17**, 2096 (2016).

研究成果発表

- [1] K. Okeyoshi, M. Okajima, T. Kaneko, “Drying-induced self-integration of megamolecular polysaccharides and the macro-space division” *The 252nd ACS National Meeting*, Philadelphia, Aug. 2016.
- [2] K. Okeyoshi, M. Okajima, T. Kaneko, “Drying-induced self-integration of megamolecular polysaccharides and formation of unidirectionally-oriented membrane” *2016 MRS Fall Meeting*, Boston, Nov. 2016.
- [3] G. Joshi, K. Okeyoshi, M. Okajima, T. Kaneko, “Analysis of diffusional and swelling properties in physically crosslinked anisotropic sacran hydrogels towards functional biomaterials” 第8回サクラン研究会年次学術集会（熊本大学）2016年10月
- [4] K. Okeyoshi, K. Osada, M. K. Okajima, T. Kaneko, “Methods for the self-integration of megamolecular biopolymers on the drying air-LC interface” *Journal of Visualized Experiments*, e55274 (2017).
- [5] K. Okeyoshi, G. Joshi, S. Rawat, S. Sornkamnerd, K. Amornwachirabodee, M. K. Okajima, M. Ito, S. Kobayashi, K. Higashimine, Y. Oshima, T. Kaneko, “Drying-induced self-similar assembly of megamolecular polysaccharides through nano and submicron layering” *Langmuir*, in press.