

## 令和2年度 研究成果報告書

### 生体分子を特異的に捕捉する機能化共役系高分子分離膜の開発

#### Development of separation membranes made of conjugated functional polymers for specific recognition of biomolecules

東洋大学 理工学部 生体医工学科  
合田達郎

##### A. 研究の目的

導電性高分子は優れた電気・イオン電導性を有する共役系高分子であり、金属元素を用いない電極材料として、様々な有機膜との複合化や、印刷技術を用いたウェアラブルセンサの開発など、注目を浴びている。フレキシブルかつ成型加工性に優れた導電性高分子は、薄膜材料としてウェアラブルセンシング等への応用が検討されているが、現行、その大半が物理センサとしての利用である。今後の化学センサ・バイオセンサ応用を考えた場合、標的分子の分離／選択的分子認識・非特異的分子吸着の抑制は不可欠である。しかし、導電性高分子自身には標的分子を分離・識別する能力は無い。

そこで、本研究では、導電性高分子と共に用いられるドーパントに着目し、分子認識部位と耐生物汚染性を付与することでドーパントの高機能化を図り、標的分子を分離・識別する導電性高分子膜を開発し、電氣的バイオセンシングに応用することを目的とした。本研究で提案する高機能ドーパントの開発は導電性高分子のバイオ応用に関するボトルネックを解消するコア技術であり、今後の多様な応用展開が見込める。また、この導電性有機材料を、「分離膜と信号変換層が一体となった新たな機能性物質」としてとらえることができ、電極一体型の機能性分離膜として膜学分野への貢献も大きい。

##### B. 研究の内容、成果

導電性有機材料の高機能化には、①導電性高分子の機能化、②ドーパントの機能化、の2つが挙げられる。これまでに、我々は poly(ethylenedioxythiophene)(PEDOT)に関する①の手法について検討を重ねてきたが、導電性高分子への官能基の導入は導電性の低下を招くことが問題となった。そこで本研究では、②ドーパントの機能化を行うことで本課題の達成を目指した。これまでもヘパリンやDNA・コンドロイチン硫酸などの生体高分子電解質等がドーパントに用いられることがあったが、必ずしも標的分子を分離・識別するために設計・最適化された材料ではない。そこで、高分子化学を駆使し、ドーパント機能・分子認識能・耐汚染性を兼ね備えた共重合体を設計・合成し、PEDOTのドーパントとして使用することで、種々の生体分子に対する分離膜かつ電極材料としての機能化導電性有機材料を創製する。そしてその応用例として、バイオセンシングをおこない、ドーパント機能化の有効性に対する基礎的知見を得た。

PEDOT を導電性高分子とした場合、ドーパントの原料は、例えば 4-styrene sulfonate (SS) のようなアニオン性モノマーとなる。また、これまでの研究から、炎症マーカー C 反応性タンパク質 (CRP) の特異的認識および生体分子の非特異的吸着抑制には 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) が有効であることが判明しており、その導入量はおよそ 30mol% 程度が妥当である。分子構造としては、標的分子の分離/認識が PEDOT 近傍で起こることで電氣的・電気化学的変化が得られると予想されることから、ランダム共重合体が望ましいと考えられる。そこで、poly(SS-*random*-MPC) (PSM) を合成し、CRP の特異的認識を可能にすることを目的とした (図 1)。

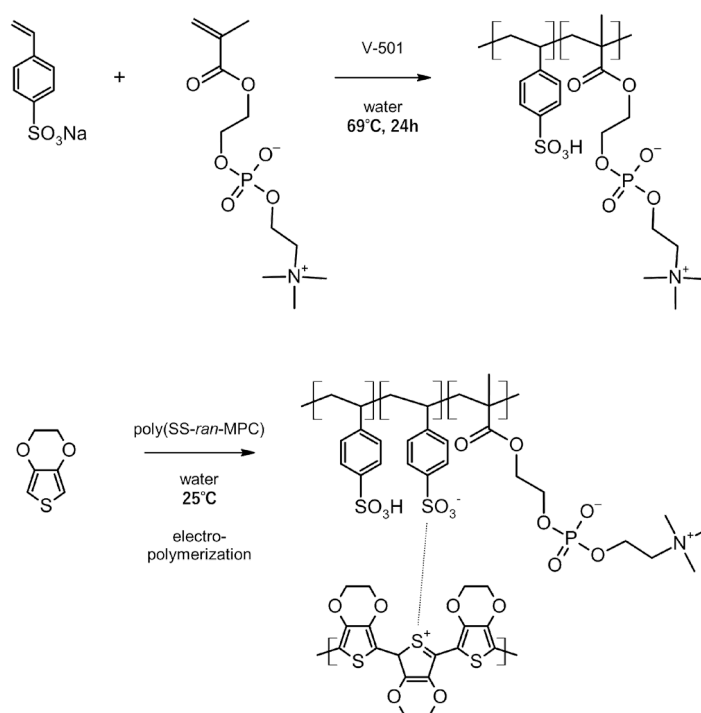


図 1 PEDOT:PSM からなる CRP 認識導電性分離膜の作製

CRP は、バクテリアや負傷した細胞膜と結合して食作用と補体活性を促進させる急性期タンパク質であり、臨床現場では炎症性バイオマーカーとして保険診療に適用されている。現在、CRP は抗原を用いた免疫比濁法や免疫比濁法、酵素免疫吸着法などにより検出されている。しかし、これらは専門家や非常に高価で大型装置が必要のため、測定機会が失われるという欠点がある。そのため、より安価で迅速に計測できる簡便なラベルフリーバイオセンサの開発が求められる。MPC が有する双性イオン性官能基である Phosphorylcholine (PC) 基は CRP と  $\text{Ca}^{2+}$  の存在下にて特異的に結合する。先行研究では、PEDOT 側鎖に PC 基を導入した PEDOT 誘導体を合成し、CRP の電気化学的特異検出に成功した。一方で、PEDOT 側鎖への PC 基の導入は、材料全体の導電性を損なうという課題があった。そこで、SS と MPC をランダム共重合させ、CRP に対する選択的な分子認識能を有する新たな機能化ドーパント PSM を創製した。次に、EDOT を電解重合させることにより、電極上

に PEDOT:PSM の薄膜を形成し、Ferricyanide/Ferrocyanide 酸化還元対を用いた CRP の電気化学的検出をおこなった。

SS ナトリウム塩と MPC を 7 : 3 (mol : mol) の比で 0.5 mol/L、1 mol% の開始剤 V-501 を全量 20 mL になるように溶解した。窒素雰囲気下、69°C、24 時間にてランダム共重合をおこなった。反応後にエバポレーターを用いて溶媒を除去し、3 日間の透析 (MWCO : 3.5 kD) により精製をおこない、凍結乾燥で白色粉末を得た。ランダム共重合にて得た PSM の反応収率は 86%であった。<sup>1</sup>H-NMR によって重合組成の制御が確認された。また GPC 測定により、数平均分子量 (Mn) が 38 万程度、重平均分子量 (Mw) が 77 万程度、多分散度 Mw/Mn=2.03 であった。

Cyclic voltammetry (CV) による PEDOT : PSM 薄膜の電解重合にて、キャパシタンスの増加より薄膜形成が示唆された。電解重合は、電極となる導電性基盤材料を作用電極として電圧を印加することで、表面に PEDOT:PSMM 層を析出させることが可能であり、申請者はこれまでに同様の反応に対して多くの知見を得ている。また XPS 測定により、薄膜への MPC ユニットの導入が確認された (N1s:0.7%、P2p:0.9%) (図 2)。

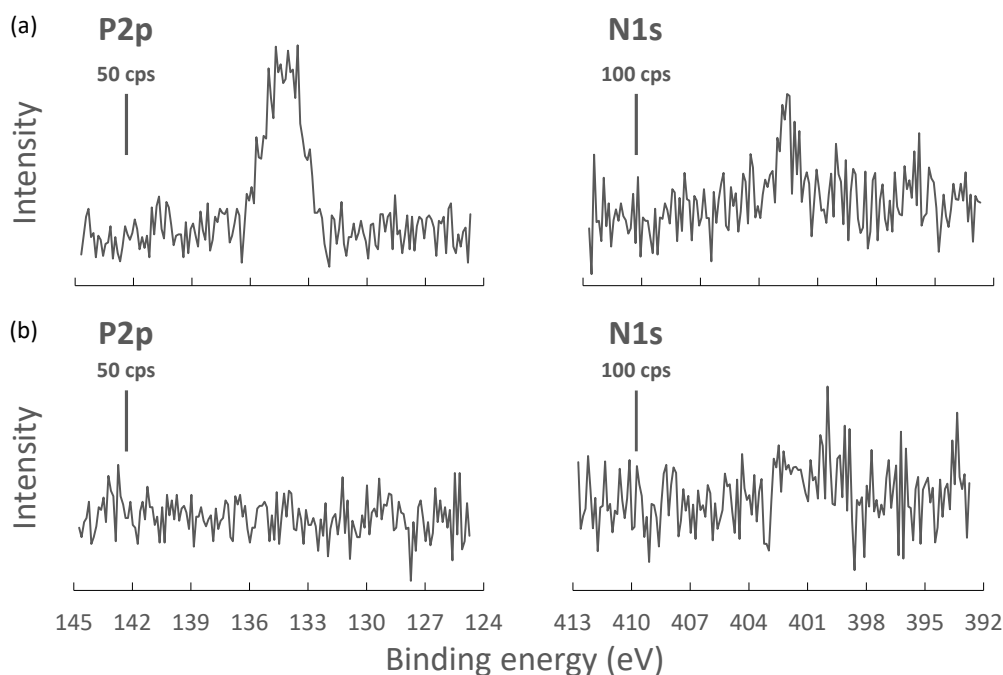


図 2 (a) PEDOT:PSS の XPS スペクトル、(b) PEDOT: PSM の XPS スペクトル

DPV 測定より、CRP 濃度に応答して酸化還元対の酸化還元電流値が減少した (図 3)。これは、CRP の PC 基への特異的吸着により酸化還元対の酸化が阻害されたことによる。電気化学信号の動作レンジは急性期における血中 CRP 濃度の変化領域をカバーしている。一方で、MPC を含まない PEDOT:PSS においては CRP に対する特異的な応答が確認されなかったことから、MPC ユニットの PC 基による CRP 特異認識が確認できた。

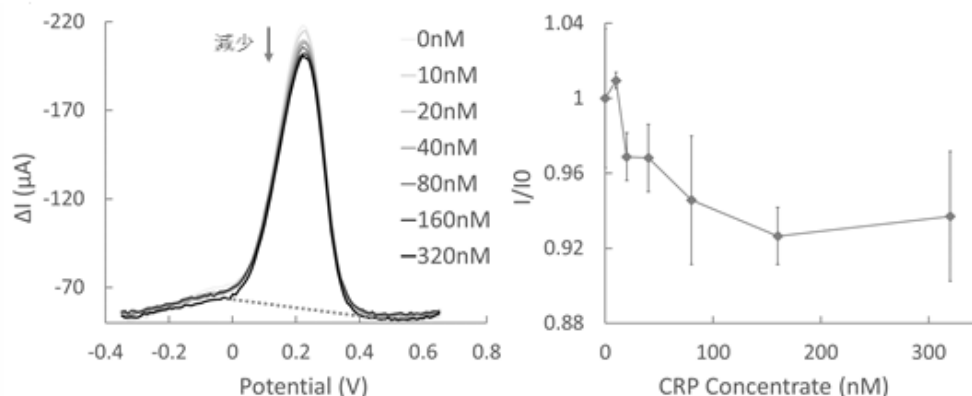


図3 DPVでの酸化還元対による酸化電流およびCRP濃度とDPVピーク電流の関係

### C. 今後の研究の方向、課題

電解重合により作製した機能化導電性高分子膜はCRPに対する特異な電気信号は得られたものの、その信号郷土においては改善の余地を示した。今後は、酸化重合による機能化導電性フィルムの作製をおこない、よりCRPの認識反応を電気信号として鋭敏に変換するトランスデューサー機構の開発に取り組む。同様の組成と分子量を有するブロック共重合体とのバイオセンシング特性の比較を行うことにより、分子構造と信号変換機構の関係性を明らかにできる。

これまでも分子識別能を有する核酸や多糖といった生体高分子を導電性高分子のドーパントとして用いた例はあるが、分子設計の自由度・汎用性に乏しく、用途は限定的であった。一方、本提案のように共重合体を設計・合成することで、任意の物理化学的性質を有したドーパントが創出可能となり、分子認識(分離)+信号変換層としての高機能膜応用が実現できる。また、リビング重合法等を用いることで、ランダム共重合体・ブロック共重合体といった分子構造がドーパントとしての機能に及ぼす影響を検討できる。さらに、長年、本研究者らが取り組んできた双性イオンによる非特異的分子吸着抑制能をドーパントに付与することで、夾雑物を多く含む(生体)試料の取り扱いやセンシングの長寿命化が実現する。

### D. 成果の発表、論文等

・学会発表

1. Tatsuro Goda, Biomimetics in NanoBio-engineering, Crossing Borders Seminar at Karolinska Institute, Sweden (Online), November 11, 2020
2. 藤崎秀輝, 松元亮, 宮原裕二, 合田達郎, バイオ応用に向けたPEDOT:PSSフィルムの簡易化学修飾法の開発, 第69回高分子討論会, オンライン開催, 2020年9月16日-18日