

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3914414号  
(P3914414)

(45) 発行日 平成19年5月16日(2007.5.16)

(24) 登録日 平成19年2月9日(2007.2.9)

(51) Int.C1.

F 1

<b>B32B</b>	<b>27/00</b>	<b>(2006.01)</b>	B 32 B	27/00	Z
<b>C08F</b>	<b>8/00</b>	<b>(2006.01)</b>	C 08 F	8/00	
<b>C08J</b>	<b>7/12</b>	<b>(2006.01)</b>	C 08 J	7/12	Z
<b>G02B</b>	<b>21/34</b>	<b>(2006.01)</b>	G 02 B	21/34	

請求項の数 3 (全 14 頁)

(21) 出願番号

特願2001-334476 (P2001-334476)

(22) 出願日

平成13年10月31日 (2001.10.31)

(65) 公開番号

特開2003-136640 (P2003-136640A)

(43) 公開日

平成15年5月14日 (2003.5.14)

審査請求日

平成16年5月13日 (2004.5.13)

(73) 特許権者 000173751

財団法人川村理化学研究所

千葉県佐倉市坂戸631番地

(74) 代理人 100124970

弁理士 河野 通洋

(74) 代理人 100088764

弁理士 高橋 勝利

(72) 発明者 高田 哲生

千葉県佐倉市山王2-59-1

審査官 武貞 亜弓

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】樹脂硬化物及びその製造方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する重合性化合物を含む硬化性樹脂組成物の硬化物から成り、前記重合性化合物のアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基が前記樹脂硬化物表面に付着したアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物のアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成している表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物を支持体上に有することを特徴とする積層体。

## 【請求項2】

積層体が、生化学的検査基材である請求項1に記載の積層体。

## 【請求項3】

アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する重合性化合物を含む硬化性樹脂組成物を支持体上に賦形し、加熱と活性エネルギー線照射の少なくとも1種以上で硬化物又は半硬化物を形成した後、前記硬化物又は半硬化物の表面にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物を接触させ、次いで、アミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物のアミノ基又はイミノ基を前記官能基と共有結合させ、半硬化物の場合はその後さらに加熱と活性エネルギー線照射の少なくとも1種以上により硬化させることを特徴とする表面にアミノ基又はイミノ基を有する請求項1又は2に記載の積層体の製造方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 【発明の属する技術分野】

本発明は、抗原抗体反応、酵素反応、DNAの反応や分析、その他の化学または生化学微量反応、及び反応生成物の定性的または定量的な測定に際して、DNA、タンパク質、血液、抗原又は酵素等（以下、DNA等という）を安定に固定する為に使用される樹脂表面にアミノ基又はイミノ基を有する硬化物及びその製造方法に関する。

#### 【0002】

##### 【従来の技術】

医学、特に診断分野、製薬及びバイオ分野では、抗原抗体反応、酵素反応、DNAの反応若しくは分析、その他の化学若しくは生化学微量反応、又は反応生成物の定性的若しくは定量的な測定に際して、反応や洗浄及び分離等を簡便に行える為に、DNA等の測定用基材への固定が行われている。そしてこれらDNA等の物質をより安定に固定させる為、DNA等を基材に共有結合させる固定方法が用いられている。この固定方法に使用される基材としては例えばアミノ基を持ったシランカップリング剤で表面処理されたスライドガラスが用いられている。また、特開平11-14909号公報には、細胞または組織切片を安定に固定する為にポリアリルアミンを表面にコーティングしたスライドガラスが開示されている。

10

#### 【0003】

しかしながら、上記の如きアミノ基を持ったシランカップリング剤で表面処理されたスライドガラスは、表面のアミノ基の量が少なく、十分な量のDNA等を共有結合で固定せることが困難なため、満足な感度で診断や検出の結果を得ることが困難であった。一方、ポリアリルアミンを表面にコーティングしたスライドガラスは、表面に十分なアミノ基が存在しているが、親水性の高いポリアリルアミンとスライドガラスとの間に強い結合がなく、該スライドガラスがDNA等の固定すべき物質と結合反応を行う際や、水による洗浄操作を行う際など水に晒された時に、表面にコーティングされたポリアリルアミンが膨潤し、スライドガラスから剥離し易い問題があった。

20

#### 【0004】

##### 【発明が解決しようとする課題】

本発明が解決しようとする課題は、表面にDNA等を共有結合で固定させるためのアミノ基又はイミノ基を十分に有し、かつ、水による膨潤及び剥離が改善された、表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物、その製造方法及び前記樹脂硬化物を用いた生体成分の検査法を提供することにある。

30

#### 【0005】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記の課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する重合性化合物を含む硬化性樹脂組成物を賦形し、加熱と活性エネルギー線照射の少なくとも1種以上で硬化物又は半硬化物を形成した後、前記硬化物又は半硬化物の表面にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物を接触させ、次いで、アミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物のアミノ基又はイミノ基を前記官能基と共有結合させ、半硬化物の場合はその後さらに加熱と活性エネルギー線照射の少なくとも1種以上により硬化させて得られる樹脂硬化物が、上記課題を解決できることを見出し、本発明を完成するに至った。

40

#### 【0006】

即ち、本発明はアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する重合性化合物を含む硬化性樹脂組成物の硬化物から成り、前記重合性化合物のアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基が前記樹脂硬化物表面に付着したアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物のアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成していることを特徴とする表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物を提供する。

#### 【0007】

また、本発明はアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する重合性化合物を含む硬化性樹脂組成物の硬化物から成り、前記重合性化合物のアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基が前記樹脂硬化物表面に付着したアミノ基又はイミノ基を

50

2つ以上有する化合物のアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成している表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物を支持体上に有することを特徴とする積層体を提供する。

#### 【0008】

また、本発明はアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する重合性化合物を含む硬化性樹脂組成物を賦形し、加熱と活性エネルギー線照射の少なくとも1種以上で硬化物又は半硬化物を形成した後、前記硬化物又は半硬化物の表面にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物を接触させ、次いで、アミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物のアミノ基又はイミノ基を前記官能基と共有結合させ、半硬化物の場合はその後さらに加熱と活性エネルギー線照射の少なくとも1種以上により硬化させることを特徴とする表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物の製造方法を提供する。10

#### 【0009】

また、本発明はアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する重合性化合物を含む硬化性樹脂組成物の硬化物から成り、前記重合性化合物のアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基が前記樹脂硬化物表面に付着したアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物のアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成している表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物表面に、検体又はそれを含む水溶液若しくは緩衝液を接触させることを特徴とする生体成分の検査法を提供する。

#### 【0010】

アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基としては、アミノ基又はイミノ基と共有結合できるものであれば任意であり、例えばエポキシ基、酸塩化物(-COX基)、イソシアナト基、及びアルデヒド基が好適に利用できる。但し、-COX基においてXはハロゲン原子を表し、フッ素原子、塩素原子、ヨウ素原子等が挙げられるが、塩素原子が好ましく挙げられる。20

#### 【0011】

本発明に用いるアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する重合性化合物としては、該重合性化合物の重合体が前記官能基を有するものであればラジカル重合性化合物、アニオン重合性化合物又はカチオン重合性等、任意の化合物であって良いが、このうちラジカル重合性化合物が好ましく挙げられる。30

#### 【0012】

アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有するラジカル重合性化合物としては、熱重合性、活性エネルギー線重合性あるいは重合開始剤の作用によって重合するもの等、公知慣用の任意のものを用いることができるが、1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する熱又は活性エネルギー線重合性化合物が好ましく挙げられる。

#### 【0013】

アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する熱又は活性エネルギー線重合性化合物としては、アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する(メタ)アクリレートが好ましく挙げられ、具体的には、グリシジル(メタ)アクリレートの如きエポキシ基を有する(メタ)アクリレート、(メタ)アクリロイルクロライドの如き酸塩化物、(メタ)アクリロイルオキシエチルイソシアネートの如きイソシアナト基を有する(メタ)アクリレート、(メタ)アクリルアルデヒドの如きアルデヒド基を有する(メタ)アクリレート等が挙げられる。これらの(メタ)アクリレート(b1)は、単独又は2種以上を組み合わせて用いることもできる。40

#### 【0014】

また、本発明に用いる硬化物は耐溶剤性及び耐水性の観点から架橋重合体であることが好ましく、例えば、硬化性樹脂組成物として前記アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する(メタ)アクリレートとそれ以外の多官能(メタ)アクリレートとを含む組成物を用いることが好ましい。この際、該組成物中のアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する(メタ)アクリレートの含有率は、1~30質量%である50

ることが好ましく、5～20質量%であることが更に好ましい。1質量%以上であれば硬化物と1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物との剥離を抑えることができ、且つ30質量%以下であれば本発明の樹脂硬化物表面にDNA等と結合するための十分な量のアミノ基又はイミノ基を残存させることができると好ましい。

#### 【0015】

このような多官能(メタ)アクリレートとしては、前記アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する(メタ)アクリレートと共重合可能なものであれば特に限定されるものではないが、紫外線、可視光、赤外線の如き活性エネルギー線の照射により重合し、架橋共重合体となる化合物が好ましく、ラジカル重合性、アニオン重合性、カチオン重合性など任意の化合物であって良い。この様な(メタ)アクリレートとしては、例えば、1分子中に2個の(メタ)アクリル基を有する化合物(以下、2官能化合物という)として1,6-ヘキサンジオールジ(メタ)アクリレート、ポリプロピレングリコールジ(メタ)アクリレート、ヒドロキシピバリニ酸ネオペンチルグリコールジ(メタ)アクリレート、3-アクリロイルオキシグリセリンモノメタクリレート、

10

#### 【0016】

2,2'-ビス(4-(メタ)アクリロイルオキシポリエチレンオキシフェニル)プロパン2,2'-ビス(4-(メタ)アクリロイルオキシポリプロピレンオキシフェニル)プロパン、ジシクロペントナリルジ(メタ)アクリレート、ビス[(メタ)アクリロイルオキシエチル]ヒドロキシエチルイソシアネート、フェニルグリシジルエーテルアクリレートトリレンジイソシアネート、アジピン酸ジビニル等が挙げられ、

20

#### 【0017】

1分子中に3個の(メタ)アクリル基を有する化合物(以下、3官能化合物という)としてトリメチロールプロパントリ(メタ)アクリレート、トリメチロールエタントリ(メタ)アクリレート、トリス[(メタ)アクリロイルオキシエチル]イソシアネート、ペンタエリスリトールトリ(メタ)アクリレート等が挙げられ、1分子中に4個の(メタ)アクリル基を有する化合物(以下、4官能化合物という)として、ペンタエリスリトールテトラ(メタ)アクリレート、グリセリンジ(メタ)アクリレートヘキサメチレンジイソシアネート等が挙げられ、

#### 【0018】

1分子中に5個の(メタ)アクリル基を有する化合物(以下、5官能化合物という)としてジペンタエリスリトールモノヒドロキシベンタ(メタ)アクリレート等が挙げられ、さらに1分子中に6個の(メタ)アクリル基を有する化合物(以下、6官能化合物という)としてジペンタエリスリトールヘキサ(メタ)アクリレート等が挙げられる。また、ビスフェノールA-ジエポキシ-(メタ)アクリル酸付加物の如きエポキシ樹脂の(メタ)アクリル酸エステル、ポリエーテル樹脂の(メタ)アクリル酸エステル、ポリブタジエン樹脂の(メタ)アクリル酸エステル、分子末端に(メタ)アクリル基を有するポリウレタン樹脂等が挙げられる。

30

#### 【0019】

これらの多官能(メタ)アクリレートは、単独又は2種以上を組み合わせて用いることができる。

40

更に、(メタ)アクリレートのほかに、マレイミド基を有する重合性化合物も好適に用いることができる。硬化物が膨潤により支持体から剥離しない程度に、両親媒性の(メタ)アクリレート、親水基や疎水基を有する(メタ)アクリレートを併用することもできる。

#### 【0020】

本発明に用いる1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物としては1,4-フェニレンジアミン、アミドール、3,3'-ジアミノベンジジン、3,3'-ジアミノベンゾフェノン、1,6-ジアミノヘキサン、3,3'-ジアミノジプロピルアミン、ヘキサメチレンテトラアミン、トリエチレンテトラアミン、ポリアリルアミン、ポリエチレンイミンまたはこれらの塩酸塩または一部のアミノ基又はイミノ基が塩酸塩となっているもの等が挙げられ、このうちポリアリルアミンまたはポリエチルイミンが好ましく挙げ

50

られ、特にポリアリルアミンが好ましく挙げられる。

【0021】

ポリアリルアミンとしては、平均分子量3,000～50万のものが好ましく、より優れた平滑性及び作業性が得られる点で平均分子量5,000～50,000のものがさらに好ましく使用できる。一方、ポリエチルイミンとしては、平均分子量5,000～50万のものが好ましく、より優れた平滑性及び作業性が得られる点で平均分子量10,000～50,000のものがさらに好ましく使用できる。ただし、本発明において平均分子量とは、ゲルバーミエーションクロマトグラフィー（G P C）によって測定し、ポリエチレングリコールを標準物質として換算した分子量のことをいう。

【0022】

1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物の硬化物表面上への接触とそれに続く共有結合の形成による該化合物の表面への固定化は、例えば分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物を浸漬、塗布又は印刷により硬化物表面上に該化合物が点在するよう固定化することもできるし、硬化物表面上の一部又は全体を被覆して層を成すよう固定化することもできる。

【0023】

硬化物表面上の1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物からなる層の厚みは50nm～30μmであることが好ましく、100nm～5μmであることが更に好ましい。

【0024】

次に、本発明の表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物の製造方法について説明する。

本発明の表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂組成物は、アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する重合性化合物を含む硬化性樹脂組成物を支持体上に賦形し、加熱と活性エネルギー線照射の少なくとも1種以上で硬化又は半硬化させて硬化物又は半硬化物を形成させた後、該硬化物又は半硬化物の表面に1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物を接触させ、次いで1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物のアミノ基又はイミノ基を前記官能基と共有結合させ、半硬化物の場合はその後加熱と活性エネルギー線照射の少なくとも1種以上により硬化させることにより製造することができる。

【0025】

本発明に用いる硬化性樹脂組成物の賦形法は公知慣用の方法であればいずれの方法でも良く、例えば注型、塗工、塗布、印刷又は浸漬等によって賦形することができるが、コーダーや噴霧等による塗布や印刷が好ましく挙げられる。また、支持体の表面が複雑な場合または薄く塗布する場合は、前記硬化性樹脂組成物を溶剤で薄め、支持体表面へ塗布してから溶剤を揮発させる方法や、浸漬後に溶剤を揮発させる方法等を利用することもできる。その他の賦形法として、前記硬化性樹脂組成物をノズルより押し出して、糸状や中空糸状またはビーズ状に賦形することもできる。また、賦形に際して、アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する重合性化合物を含む硬化性樹脂組成物を支持体上にて賦形し、そのまま積層体製品（図2）としても良いし、組成物を硬化させた後に硬化物を支持体から剥がして製品としても良い。

【0026】

本発明に使用される支持体は公知慣用のものであれば特に限定されない。例えば、ポリエチレンテレフタレート、ポリスチレン、A B S樹脂、ポリカーボネート、アクリル樹脂、塩化ビニル、酢酸ビニル、ポリプロピレン、ポリスルホン等の樹脂、ガラス（特に無蛍光ガラス）、木材、不織布、金属が挙げられる。支持体と硬化物との接着性が悪い場合には、支持体を表面処理することが好ましい。表面処理法としては、プライマー樹脂の塗布、酸、アルカリ処理、火炎処理、コロナ処理、プラズマ処理、紫外線処理その他任意の処理法を利用できる。

【0027】

10

20

30

40

50

支持体が最終的には硬化物から剥離する一時的な支持層である場合には、非接着性であること以外は任意である。また、硬化物が必要とされる強度を有する場合は、支持体がなくても良い。

#### 【0028】

また、硬化または半硬化させた樹脂組成物表面（以下、硬化物表面という）への1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物の接触方法は公知慣用の方法であれば良く、例えば1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物を含む水溶液を硬化物表面へ流延したり、噴霧したりする方法や、逆に硬化物を該水溶液に浸漬する方法でよい。該水溶液中の1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物の濃度は、使用する1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物の分子量やその厚み等により変わるが、例えば、ポリアリルアミンを使用した場合、通常その水溶液濃度は0.5～20質量%であり、より優れた平滑性及び作業性が得られる点で1～10質量%が好ましい。10

#### 【0029】

また、本発明に用いるアミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する重合性化合物を含む硬化性樹脂組成物の硬化は熱又は活性エネルギー線の少なくとも1種以上で硬化すればよく、生産効率等の面から活性エネルギー線が好ましい。活性エネルギー線とは、例えば電子線、 $\gamma$ 線、X線、紫外線、可視光線等である。これらの中でも、装置及び取扱いの簡便さから紫外線が好ましい。照射する紫外線の強度は、10～500mW/cm<sup>2</sup>の範囲が好ましく、照射時間は、0.1～180秒の範囲が好ましい。エネルギー線として紫外線や可視光線を用いる場合、重合速度を速める目的で、硬化性樹脂組成物に光重合開始剤を含有させることが好ましい。また、紫外線の照射を不活性ガス雰囲気下で行うことによって、更に重合速度を速めることができる。20

#### 【0030】

電子線もまた本発明に用いることのできる好ましいエネルギー線である。電子線を用いると、添加剤（例えば増粘剤、増白剤、抗菌剤）等の紫外線吸収の影響を受けないため、これらの選択の幅が広がると共に、製造速度も向上する。

また、硬化性樹脂組成物には、例えば、重合開始剤、重合遮延剤、重合禁止剤、溶剤、増粘剤、消泡剤、紫外線吸収剤、浸透剤、pH調整剤、塩、顔料、染料等の着色剤、界面活性剤、耐水化剤、ポリマー、無機物（シリカ、アルミナ等）、酸、アルカリ、防黴剤、抗菌剤、等のその他の成分が溶解又は分散状態で含有されていても良い。30

#### 【0031】

上述の重合開始剤としては、例えば、p-tert-ブチルトリクロロアセトフェノン、2,2'-ジエトキシアセトフェノン、2-ヒドロキシ-2-メチル-1-フェニルプロパン-1-オンの如きアセトフェノン類；ベンゾフェノン、4,4'-ビスジメチルアミノベンゾフェノン、2-クロロチオキサントン、2-メチルチオキサントン、2-エチルチオキサントン、2-イソプロピルチオキサントンの如きケトン類；

#### 【0032】

ベンゾイン、ベンゾインメチルエーテル、ベンゾインイソプロピルエーテル、ベンゾインイソブチルエーテルの如きベンゾインエーテル類；ベンジルジメチルケタール、ヒドロキシシクロヘキシルフェニルケトンの如きベンジルケタール類、等が挙げられる。また、該開始剤の代わりに、マレイミド化合物の如き硬化性樹脂組成物に組み込まれ、かつ、該開始剤としての機能を有する化合物を用いても良い。40

#### 【0033】

半硬化又は既に硬化させた表面に1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物を接触させ、前記官能基とアミノ基又はイミノ基とを共有結合させる条件、例えば反応温度、反応時間、pH等は、官能基の種類により、適宜調整すれば良い。例えば、官能基としてエポキシ基を用いた場合、反応条件としては20～60、2時間～15時間である。

#### 【0034】

10

20

30

40

50

また、本発明の表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物の形状は、用途に応じて任意の形状に成形することができる。例えば、スライドガラス等の支持体上にフィルム状に硬化物を形成したり、96穴マイクロプレートの底部に薄膜状に形成させたり、ビーズや微粒子の表面に薄膜状に形成させたり、幅数十~数百μmのマイクロ流路内表面に薄膜状に形成させたりすることができる。また、支持体が存在せず、樹脂硬化物自身が糸状、中空糸状、ビーズ状、カプセル状、板状、フィルム状等の形状を取ることもできる。

#### 【0035】

また、本発明の製造方法における硬化物の成形は、フォトリソグラフ法によるパターニング成形であっても良い。この場合、パターニング精度を向上させるために、重合遅延剤及び/又は重合禁止剤と光重合開始剤を併用することが好ましい。重合遅延剤として-メチルスチレン、2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン等のエネルギー線重合性化合物としては重合速度の低いビニル系モノマー等が挙げられ、重合禁止剤としてtert-ブチルフェノール等のヒンダントフェノール類等が挙げられる。

#### 【0036】

本発明の表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物は表面が親水化処理されていることが好ましい。これは本発明の表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物を製造する際、1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物を硬化物表面に共有結合させた後、通常は水洗して、硬化物の官能基と共有結合せずに硬化物表面に付着している1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物を除去して乾燥させるが、その際に、1分子中にアミノ基又はイミノ基を2つ以上有する化合物の疎水性部分が表面(空気との界面)に配列し親水性のアミノ基又はイミノ基が内部に潜り込み表面が疎水性になることが多い。表面が疎水性になると、DNA等を含む水溶液を硬化物表面のアミノ基又はイミノ基と結合させて固定化する際に、その固定化や均一性等の問題が生じるためである。従って、乾燥を行う前に、硬化物の表面を界面活性剤やポリエチレングリコールのような親水性を付与する表面活性剤で処理することが好ましい。本発明ではこの親水性を付与することのできる表面活性剤を親水化処理剤というものとする。

#### 【0037】

具体的に親水化処理剤としては、例えばn-ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウムの如きアニオン性界面活性剤、n-ドデシルトリメチルアンモニウムクロライドの如きカチオン性界面活性剤、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、ポリエチレングリコールモノ-パラ-ノニルフェニルエーテルの如き非イオン性界面活性剤、ポリエチレングリコール、エチレングリコール、及びグリセリン等が挙げられる。

#### 【0038】

該処理方法は、例えば、前記親水化処理剤を含む水溶液で表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物表面を塗布等により処理する方法が挙げられる。水溶液中の親水化処理剤の濃度は、0.1~1.5質量%が好ましく、0.5~5質量%が更に好ましい。処理後の表面は、用途により要求される親水性度合いが異なるが、水との接触角が55°以下であることが好ましく、40°以下であることが更に好ましい。

#### 【0039】

さらにまた、本発明の表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物は表面のアミノ基又はイミノ基濃度(密度)を用途に応じて幅広く調整することができる。本発明の樹脂硬化物は、表面にDNA等を共有結合で固定させるための十分な量のアミノ基又はイミノ基を高濃度(高密度)で有することができる。本発明の表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物表面のアミノ基又はイミノ基の量は、実施例の方法による測定、すなわち4-クロロ-7-ニトロベンゾフラザン(NBD-C1)を用いてアミノ基又はイミノ基と反応させ、アミノ基又はイミノ基に結合した4-クロロ-7-ニトロベンゾフラザン(NBD-C1)が発する蛍光をLeica社製のTCS-SP型共焦点レーザー蛍光顕微鏡によって、励起光波長 $\lambda_{ex} = 460 \sim 490\text{ nm}$ 、検出波長 $\lambda_{em} = 500 \sim 550\text{ nm}$ の条件で測定した値で、 $1\text{ mm}^2$ 当たりの蛍光強度が2,500以上、好ましくは2,500~150,000、より好ましくは12,000~120,000である。

10

20

30

40

50

## 【0040】

さらに本発明の表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物は支持体、特に、スライドガラスからの剥離がなく、また、水に晒された際に樹脂硬化物の膨潤が起こらないことから、DNA等の共有結合による固定に適し、抗原抗体反応、酵素反応、DNAの反応、分析に用いる生化学的検査基材、その他の化学、生化学微量反応、並びに反応生成物の定性または定量測定等に用いられる成形物として使用できる。

## 【0041】

本発明の表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物を生化学的検査基材として用いる際は、DNA等の生体成分又はそれを含む水溶液若しくは緩衝液を樹脂硬化物表面に接触させて目的とする検体を樹脂硬化物表面に固定し、その後公知慣用の各種測定又は分析によってDNA等の生体成分の検査を行うことができる。10

## 【0042】

## 【実施例】

以下、実施例及び比較例を用いて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明は、これらの実施例の範囲に限定されるものではない。

## 【0043】

## [実施例1]

(硬化性樹脂組成物の調製)アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する(メタ)アクリレートとして、グリシジルメタクリレート(和光純薬工業株式会社製)20  
30質量部、その他の多官能(メタ)アクリレートとして「ユニディックV-4263」  
(大日本インキ化学工業株式会社製の1分子中に平均して3個のアクリル基を有するウレタンアクリレート)70質量部、紫外線重合開始剤として「イルガキュアー184」(日本チバガイギー社製)3質量部を均一に混合して、硬化性樹脂組成物1を得た。

## 【0044】

## (表面にアミノ基を有する樹脂硬化物の作製)

厚さ1mmの蛍光顕微鏡用マイクロスライドガラス(松浪硝子工業株式会社製)にコーターア用いて硬化性樹脂組成物1を厚さ150μmになるように塗布し、窒素雰囲気中でメタルハライドランプにより波長360nmの強度が60mW/cm<sup>2</sup>(600W/m<sup>2</sup>)の紫外線を40秒照射して、硬化物を形成させた。次いで、ポリアリルアミン(日東紡績株式会社製、分子量約1万)1質量%の水溶液に上記硬化物を入れ、50、2時間反応させた後、蒸留水で洗浄して、表面にアミノ基を有する樹脂組成物1を得た。蒸留水で洗浄した際、本発明の樹脂硬化物1は膨潤やポリアリルアミンからなる層の支持体からの剥離は起こらなかった。30

## 【0045】

## (表面アミノ基の測定)

(1)上記樹脂硬化物1の表面に、アミノ基の検出試薬であるNBD-C1「株式会社同仁化学研究所製の4-クロロ-7-ニトロベンゾフラザン」の10%エタノール水溶液(pH7.4、NBD-C1濃度が0.5mmol/L)を乗せ、50、5分間反応させて蛍光測定に供し、表面のアミノ基の量を測定した。

## 【0046】

蛍光測定はLeica社製TCS-SP型共焦点レーザー蛍光顕微鏡を用いて、励起波長ex=460~490nm、検出波長em=500~550nmの条件で行った。測定の結果、表面のアミノ基が均一に分布しており、1mm<sup>2</sup>当たりの蛍光強度が89,361であった。これは比較例1に示された市販品の約65倍であり、比較例2に示された市販品の約136倍であった。40

## 【0047】

(2)上記樹脂硬化物1の表面元素分析は、島津製作所製のX線光電子分析装置ESCA 850を用いて行った。分析の結果、アミノ基由来の元素Nの組成は9%であった。なお、ポリアリルアミン分子の繰り返し単位より求めた元素N組成の理論値は25%であった。すなわち、ポリアリルアミンのアミノ基のうち樹脂組成物表面に存在するアミノ基の割50

合は  $9 / 25 \times 100 = 36\%$  であった。

#### 【0048】

##### [実施例2]

実施例1のポリアリルアミン1質量%水溶液の代わりに、ポリアリルアミン(日東紡績株式会社製、分子量約1万)10質量%の水溶液を用いること以外は、実施例1と同様にして表面にアミノ基を有する樹脂硬化物2を得た。なお、得られた樹脂硬化物2は実施例1と同様に膨潤やポリアリルアミンからなる層の剥離が起こらなかった。

#### 【0049】

##### (表面アミノ基の測定)

(1) 上記樹脂硬化物2の表面を実施例1と同様にして蛍光測定し、表面のアミノ基の量を測定した。測定の結果、表面のアミノ基が均一に分布しており、 $1\text{mm}^2$ 当たりの蛍光強度が129, 120であった。これは比較例1に示された市販品の約93倍であり、比較例2に示された市販品の約196倍であった。

#### 【0050】

(2) 上記樹脂硬化物2の表面元素分析を実施例1と同様に行った。分析の結果、アミノ基由来の元素Nの組成は9%であった。なお、ポリアリルアミン分子の繰り返し単位より求めたN元素組成の理論値は25%であった。すなわち、ポリアリルアミンのアミノ基のうち樹脂組成物表面に存在するアミノ基の割合は  $9 / 25 \times 100 = 36\%$  であった。

#### 【0051】

##### [実施例3]

(硬化性樹脂組成物の調製) アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する(メタ)アクリレートとして、メタクリロイルクロライド(和光純薬工業株式会社製)10質量部、その他の(メタ)アクリレートとして「エポキシエステル70PA」(共栄社化学株式会社製の1分子中に平均して2個のアクリル基を有するエポキシアクリレート)90質量部、紫外線重合開始剤として「イルガキュアー184」(日本チバガイギー社製)3質量部を均一に混合して、硬化性樹脂組成物3を得た。

#### 【0052】

##### (表面にアミノ基を有する樹脂硬化物の作製)

厚さ1mmの蛍光顕微鏡用マイクロスライドガラス(松浪硝子工業株式会社製)にコーターを用いて硬化性樹脂組成物3を厚さ $150\mu\text{m}$ になるように塗布し、窒素雰囲気中でメタルハライドランプにより波長360nmの強度が $60\text{mW/cm}^2$ ( $600\text{W/m}^2$ )の紫外線を40秒照射して、硬化物を形成させた。次いで、上記硬化物の表面にポリアリルアミン(日東紡績株式会社製、分子量約1万)5質量%の水溶液を乗せ、室温(25)、5分間反応させた後、蒸留水で洗浄して、表面にアミノ基を有する樹脂硬化物3を得た。得られた樹脂硬化物3は、実施例1と同様に膨潤やポリアリルアミンからなる層の剥離が起こらなかった。

#### 【0053】

##### (表面アミノ基の測定)

(1) 上記樹脂硬化物3の表面を実施例1と同様にして蛍光測定し、表面のアミノ基の量を測定した。測定の結果、表面のアミノ基が均一に分布しており、 $1\text{mm}^2$ 当たりの蛍光強度が89, 483であった。これは比較例1に示された市販品の約65倍であり、比較例2に示された市販品の約136倍であった。

#### 【0054】

(2) 上記樹脂硬化物3の表面元素分析を実施例1と同様に行った。分析の結果、アミノ基由来の元素Nの組成が7%であった。なお、ポリアリルアミン分子の繰り返し単位より求めたN元素組成の理論値は25%であった。すなわち、ポリアリルアミンのアミノ基のうち樹脂組成物表面に存在するアミノ基の割合は  $7 / 25 \times 100 = 28\%$  であった。

#### 【0055】

10

20

30

40

50

## [実施例 4]

(硬化性樹脂組成物の調製) アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する(メタ)アクリレートとして、「カレンズMΟI」(昭和電工株式会社製の2-メタクリロイルオキシエチルイソシアネート)10質量部、その他の(メタ)アクリレートとして「エポキシエステル70PA」(共栄社化学株式会社製の1分子中に平均して2個のアクリル基を有するエポキシアクリレート)90質量部、紫外線重合開始剤として「イルガキュアー184」(日本チバガイギー社製)3質量部を均一に混合して、硬化性樹脂組成物4を得た。

## 【0056】

(表面にアミノ基を有する樹脂硬化物の作製)

厚さ1mmの蛍光顕微鏡用マイクロスライドガラス(松浪硝子工業株式会社製)にコーターを用いて硬化性樹脂組成物4を厚さ150μmになるように塗布し、窒素雰囲気中でメタルハライドランプにより波長360nmの強度が60mW/cm<sup>2</sup>(600W/m<sup>2</sup>)の紫外線を40秒照射して、硬化物を形成させた。次いで、上記硬化物の表面にポリアリルアミン(日東紡績株式会社製、分子量約1万)5質量%の水溶液を乗せ、室温(25)、5分間反応させた後、蒸留水で洗浄して、表面にアミノ基を有する樹脂硬化物4を得た。得られた樹脂硬化物4は、実施例1と同様に膨潤やポリアリルアミンからなる層の剥離は起こらなかった。

## 【0057】

(表面アミノ基の測定)

(1) 上記樹脂硬化物4の表面を実施例1と同様にして蛍光測定し、表面のアミノ基の量を測定した。測定の結果、表面のアミノ基が均一に分布しており、1mm<sup>2</sup>当たりの蛍光強度が146,039であった。これは比較例1に示された市販品の約105倍であり、比較例2に示された市販品の約222倍であった。

## 【0058】

(2) 上記樹脂硬化物4の表面元素分析を実施例1と同様に行った。分析の結果、アミノ基由来の元素Nの組成が12%であった。なお、ポリアリルアミン分子の繰り返し単位より求めたN元素組成の理論値は25%であった。すなわち、ポリアリルアミンのアミノ基のうち樹脂組成物表面に存在するアミノ基の割合は12/25×100=48(%)であった。

## 【0059】

## [実施例5]

(硬化性樹脂組成物の調製) アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する(メタ)アクリレートとして、アクリルアルデヒド(和光純薬工業株式会社製)10質量部、その他の(メタ)アクリレートとして「エポキシエステル70PA」(共栄社化学株式会社製の1分子中に平均して2個のアクリル基を有するエポキシアクリレート)90質量部、紫外線重合開始剤として「イルガキュアー184」(日本チバガイギー社製)3質量部を均一に混合して、硬化性樹脂組成物5を得た。

## 【0060】

(表面にアミノ基を有する樹脂硬化物の作製)

厚さ1mmの蛍光顕微鏡用マイクロスライドガラス(松浪硝子工業株式会社製)にコーターを用いて硬化性樹脂組成物5を厚さ150μmになるように塗布し、窒素雰囲気中でメタルハライドランプにより波長360nmの強度が60mW/cm<sup>2</sup>(600W/m<sup>2</sup>)の紫外線を40秒照射して、硬化物を形成させた。

## 【0061】

次いで、上記硬化物の表面にポリアリルアミン(日東紡績株式会社製、分子量約1万)5質量%の水溶液を乗せ、室温(25)、5分間反応させた後、蒸留水で洗浄して、更に0.05mol/LのNaBH4水溶液を該樹脂硬化物の表面に乗せ、室温(25)、5分間還元処理して、表面にアミノ基を有する樹脂硬化物5を得た。得られた樹脂硬化物5は実施例1と同様に膨潤やポリアリルアミンからなる層の剥離が起こらなかった。

10

20

30

40

50

## 【0062】

(表面アミノ基の測定)

(1) 上記樹脂硬化物5の表面を実施例1と同様にして蛍光測定し表面のアミノ基の量を測定した。測定の結果、表面のアミノ基が均一に分布しており、 $1\text{ mm}^2$  当たりの蛍光強度が72,633であった。これは比較例1に示された市販品の約52倍であり、比較例2に示された市販品の約110倍であった。

## 【0063】

(2) 上記樹脂硬化物5の表面元素分析を実施例1と同様に行った。分析の結果、アミノ基由来の元素Nの組成が6%であった。なお、ポリアリルアミン分子の繰り返し単位より求めたN元素組成の理論値は25%であった。すなわち、ポリアリルアミンのアミノ基のうち樹脂組成物表面に存在するアミノ基の割合は $6 / 25 \times 100 = 24\text{ \%}$ であった。  
10

## 【0064】

[実施例6]

(硬化性樹脂組成物の調製) アミノ基又はイミノ基と共有結合を形成しうる官能基を有する(メタ)アクリレートとして、グリシジルメタクリレート(和光純薬工業株式会社製)10質量部、その他の(メタ)アクリレートとして「ユニディックV-4263」(大日本インキ化学工業株式会社製の1分子中に平均して3個のアクリル基を有するウレタンアクリレート)90質量部、紫外線重合開始剤として「イルガキュアー184」(日本チバガイギー社製)3質量部、アセトン(和光純薬工業株式会社製)10質量部を均一に混合して、硬化性樹脂組成物6を得た。  
20

以上

## 【0065】

(表面にアミノ基を有する樹脂硬化物の作製)

厚さ1mmのアクリル樹脂製板(三菱レーヨン株式会社製のアクリライトL)にコーティングを用いて硬化性樹脂組成物6を厚さ150μmになるように塗布し、窒素雰囲気中でメタルハライドランプにより波長360nmの強度が $60\text{ mW/cm}^2$ ( $600\text{ W/m}^2$ )の紫外線を40秒照射して、硬化物を形成させた。次いで、ポリアリルアミン(日東紡績株式会社製、分子量約1万)5質量%の水溶液に上記硬化物を入れ、50、2時間反応させた後、蒸留水で洗浄して、更にポリエチレングリコールモノ-4-ノニルフェニルエーテル(東京化成工業株式会社製)の0.1質量%の水溶液に10分間浸漬して、80の熱風循環式恒温乾燥機中で15分乾燥させて、表面にアミノ基を有する樹脂硬化物6を得た。  
30

## 【0066】

(表面アミノ基の測定)

(1) 上記樹脂硬化物6の表面を実施例1と同様に蛍光測定し、表面のアミノ基の量を測定した。測定の結果、表面のアミノ基が均一に分布しており、 $1\text{ mm}^2$  当たりの蛍光強度が96,250であった。これは比較例1に示された市販品の約70倍であり、比較例2に示された市販品の約146倍であった。

## 【0067】

(2) 上記樹脂硬化物6の表面元素分析を実施例1と同様に行った。分析の結果、アミノ基由来の元素Nの組成が9.5%であった。なお、ポリアリルアミン分子の繰り返し単位より求めたN元素組成の理論値は25%であった。すなわち、ポリアリルアミンのアミノ基のうち樹脂組成物表面に存在するアミノ基の割合は $9.5 / 25 \times 100 = 38\text{ \%}$ であった。  
40

## 【0068】

(剥離試験)

上記成型物6を95の熱水中に10分間浸漬し、硬化物がアクリル板から剥離するかどうかを確認したところ、剥離は起こらなかった。

## 【0069】

50

**[比較例 1]**

市販のアミノシラン処理スライドガラス「S i l a n a t e d S l i d e」(Arra y 1 t 社製)の表面を実施例 1 と同様に蛍光測定し、表面のアミノ基の量を測定した。測定の結果、表面のアミノ基が数カ所点在しており、 $1 \text{ mm}^2$  当たりの蛍光強度が 1,385 であった。

(2) 上記スライドガラスの表面元素分析を実施例 1 と同様に行った。分析の結果、アミノ基由来の元素 N の組成が 2.8 % であった。

**【0070】****[比較例 2]**

市販のアミノシラン処理スライドガラス「S I L A N E - P R E P S L I D E S」(SIGMA DIAGNOSTICS 社製)の表面を実施例 1 と同様にして蛍光測定し、表面のアミノ基の量を測定した。測定の結果、アミノ基が表面の数カ所に点在しており、 $1 \text{ mm}^2$  当たりの蛍光強度が 658 であった。

(2) 上記スライドガラスの表面元素分析を実施例 1 と同様に行った。分析の結果、アミノ基由来の元素 N の組成が 3.5 % であった。

**【0071】****[比較例 3]**

平均分子量 70,000 のポリアリルアミン塩酸塩(シグマ アルドリッヂ ジャパン株式会社製)0.5 質量 % の水溶液を厚さ 1 mm のアクリル樹脂製板(三菱レーション株式会社製のアクリライト L)にコーティングを用いて厚さ 150 μm になるように塗布し、80 の熱風循環式恒温乾燥機中で 120 分間乾燥させて、ポリアリルアミンを直接塗布したアクリル板を得た。

**【0072】****(剥離試験)**

上記アクリル板を 95 の熱水中に 10 分間浸漬し、ポリアリルアミンからなる層がアクリル板から剥離するかどうかを確認したところ、ポリアリルアミンからなる層が膨潤して、アクリル板から剥離したことが確認された。

**【0073】****【発明の効果】**

本発明は、抗原や酵素、並びにタンパク質または DNA 等を共有結合で固定させるための十分なアミノ基又はイミノ基を表面に有し、かつ、水に晒された時に膨潤が起こらず、さらに支持体からの剥離が起らぬる、表面にアミノ基又はイミノ基を有する樹脂硬化物及びその製造方法を提供できる。

**【0074】****【図面の簡単な説明】**

【図 1】実施例 1 で得られた本発明の樹脂硬化物の模式図である。

【図 2】実施例 1 で得られた支持体上に設けられた本発明の樹脂硬化物の模式図である。

**【符号の説明】**

1 : 本発明の樹脂硬化物層

2 : 1 分子中にアミノ基又はイミノ基を 2 つ以上有する化合物からなる層

3 : 支持体

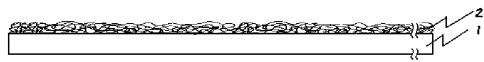
10

20

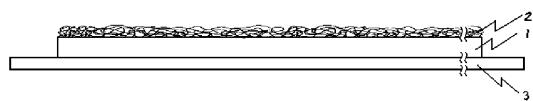
30

40

【図1】



【図2】



---

フロントページの続き

(56)参考文献 特開昭61-255907(JP,A)  
特開平06-277500(JP,A)  
特開昭56-147638(JP,A)  
特開昭59-081341(JP,A)  
特開平03-126004(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C08F 8/00- 8/50

C08J 7/00- 7/18

B32B 1/00- 35/00