

(43) 国際公開日
2006年3月9日 (09.03.2006)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2006/025592 A1

(51) 国際特許分類:

C08J 5/18 (2006.01) B82B 3/00 (2006.01)
B29C 41/12 (2006.01) C08L 89/00 (2006.01)
B32B 9/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2005/016371

(22) 国際出願日: 2005年8月31日 (31.08.2005)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願2004-252207 2004年8月31日 (31.08.2004) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社オキシジェニクス (OXYGENIX CO., LTD.) [JP/JP];
〒1050001 東京都港区虎ノ門4-1-1 虎ノ門パ
ストラル本館6階 Tokyo (JP). 学校法人早稲田大学
(WASEDA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒1698050 東京都
新宿区戸塚町1丁目104番地 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 武岡 真司

(TAKEOKA, Shinji) [JP/JP]; 〒1580094 東京都世田谷
区玉川3-40-16-404 Tokyo (JP). 岡村 陽
介 (OKAMURA, Yosuke) [JP/JP]; 〒1770044 東京都練
馬区上石神井1-11-21-302 Tokyo (JP). 大
塚 正宣 (OHTSUKA, Masanori) [JP/JP]; 〒1740076 東
京都板橋区上板橋2-30-5 Tokyo (JP).

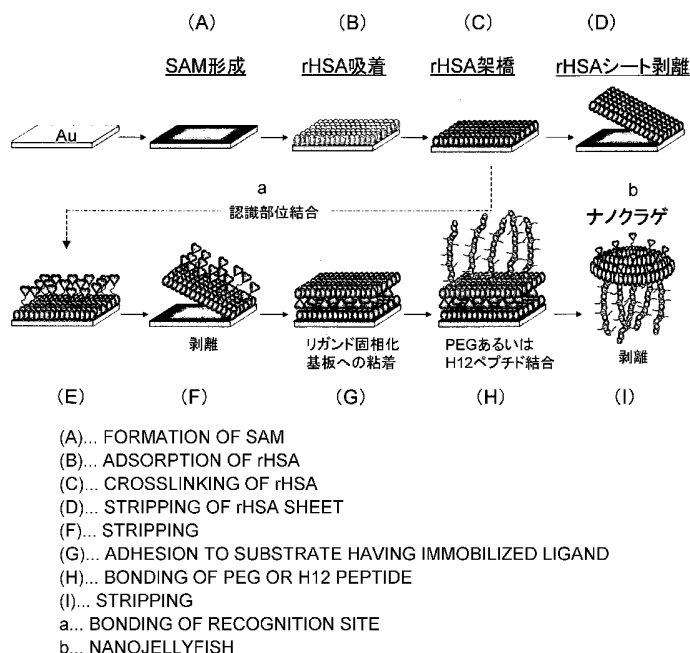
(74) 代理人: 小林 浩, 外 (KOBAYASHI, Hiroshi et al.); 〒
1040028 東京都中央区八重洲二丁目8番7号 福岡ビ
ル9階 阿部・井窪・片山法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護
が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR,
HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

/ 続葉有 /

(54) Title: THIN-FILMY POLYMERIC STRUCTURE AND METHOD OF PREPARING THE SAME

(54) 発明の名称: 薄膜状高分子構造体とその調製方法



(57) Abstract: A thin-filmy polymeric structure obtained by the steps of: (a) adsorbing polyfunctional molecules onto that region on a substrate which is located at the interface between the substrate and a liquid phase and has any desired shape, (b) polymerizing and/or crosslinking the adsorbed polyfunctional molecules to form a thin film of a polymer, and (c) stripping the resultant thin film from the substrate.

(57) 要約: 薄膜状高分子構造体であって、以下の工程: (a) 基体の液相との界面における任意形状の領域に多官能性分子を吸着させ、(b) 吸着した多官能性分子を重合及び/又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、(c) 形成された薄膜を基体から剥離することにより得られた前記構造体。



(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

添付公開書類:

— 国際調査報告書

明 細 書

薄膜状高分子構造体とその調製方法

5 技術分野

本発明は、任意形状の薄膜状高分子構造体の調製方法に関する。

背景技術

有機分子の薄膜の作成法として、従来よりスピコート法、電解重合法、蒸
10 着法、蒸着重合法などが用いられている。また、配向膜を得る方法としては
Langmuir-Blodgett (LB) 法が良く知られている。この方法は、両親媒性分子
を揮発性有機溶媒に溶解させて気-液界面上に展開し、溶媒を蒸発後圧縮して
得られた単分子膜を固体基板上に移し取る方法であり、薄膜の層数や積層順序
15 が制御できる。しかし、この方法が適用できる対象分子は、単分子膜として水
面上に展開できるものでなければならず、水に不溶な両親媒性分子のみに有効
であるという制約がある。さらに、LB 法は効率的とはいえず、使用する設備
が高価でかつ取り扱いが容易でない。

一方、金や白金などの金属の表面、あるいはシリコンやシリカやガラスなど
の無機材料の表面に有機分子を規則正しく、しかも安定に配向させた自己組織
20 化単分子膜(SAM)を形成させる技術が確立されている。この技術の特徴は、基
板との結合力が強いため単分子膜が安定である点、また、基板を溶液に沈める
だけで単分子膜を構築できるため特殊な装置を必要とせず安価で簡便な点であ
る。さらには複雑な形状の基板にも対応できる。例えばリソグラフィーの技術
によって書き込まれた超微細パターンの上に有機分子のパターンを構築するナ
25 ノテクノロジーとしても注目されている(Daan, W et al., Angew. Chem. Int.
Ed, 43, 2480-2495 (2004).)。

また、2次元平面上に分子の積層を、例えば高分子電解質の静電的相互作用

による交互積層法によって行い、3次元の構造体をボトムアップ方式で構築する試みも始まっている。この積層法は以下のような原理に基づいている。高分子電解質溶液をそれと反対電荷を有する基板表面に浸漬させ、静電相互作用によって一層のみ吸着させる。その際、基板上の電荷は、吸着した高分子電解質の過剰な電荷によって新たな反対電荷を帯びる。次に、この表面に、先の高分子電解質とは反対の電荷を有する高分子電解質を一層吸着させる。この繰り返により任意の膜厚に制御された多層構造の膜を得ることができる。例えば、交互積層法にて得られた構造体に、酵素を静電的な相互作用によって固定化させて、酵素リアクター、バイオセンサー、発光素子などの新たな分子デバイスの開発を目的とする報告がされている(日本国特許第 3020428 号明細書、日本国特許第 2966795 号明細書)。この方法は、特殊な装置を一切使用せず、簡便に3次元の構造体を調製できるので、タンパク質などの変性の恐れのある分子の固定化に適している。

しかし、これらの構造体はあくまでも基板を足場にし、基板も含んだ機能性薄膜を構築する方法であり、構造体を基板から剥離させてこれを利用する試みはなされていない。

また、無機や金属の微粒子や細胞などを鋳型としてその表面に高分子電解質のコンプレックスを形成させてから、鋳型を溶解させることにより鋳型の形をした中空構造物が得られることが知られている(David, I. et al., J. Phys. Chem. B, 105, 6846-6852 (2001).)。鋳型となる微粒子には、シリカやラテックスビーズ、メラミン樹脂などが用いられており、鋳型は HF (フッ化水素)、有機溶剤、酸などによって溶解される。鋳型が球状微粒子であれば問題にはならないが、複雑な形状の鋳型は、印刷技術の活版やプラスチックの鋳型の様に精巧で高価であるため、この方法は、鋳型が安定で再利用できることが要件となる。また、これらの構造体は基板からボトムアップさせる方式であるため、たとえ遊離させても基板接触面側は修飾されていない。

両親媒性分子に重合性基を導入して、この分子が構築する分子集合体、例え

ば、ミセル、ベシクル、リボン、チューブ、ディスク、シートなどを水中に分散させて、これを重合させることにより高分子化させる方法があるが、重合性両親媒性分子の合成が煩雑であり、両親媒性分子の構造によって集合構造が異なるため、集合構造の制御が困難である。

5

発明の開示

本発明は、任意の形状の薄膜状高分子構造体とその調製方法を提供することを目的とする。

本発明者は上記課題を解決するために、鋭意研究を行った結果、例えば円形の金基体に自己組織化単分子膜を形成後、多官能性分子としてアルブミンを吸着、架橋させた後、円形のアルブミン重合体薄膜を当該金基体から剥離させ、薄膜状高分子構造体を得ることを見出し、本発明を完成した。また、薄膜状高分子構造体を金基体から剥離させる前に、当該構造体の表面に認識タンパク質を結合させてからこれを剥離させる。更にこの認識タンパク質によって認識される分子を表面に固相化した基体に、上記の薄膜状構造体を作用させると、構造体は裏面を上面に向けて付着する。そして、この上面に別の修飾分子、例えば直鎖状高分子を結合させてから、基体から剥離させると、一方の面と他方の面で表面状態の異なる薄膜状構造体が見出された。すなわち、本発明は以下のとおりである。

20 (1) 薄膜状高分子構造体であって、以下の工程：

- (a) 基体の液相との界面における任意形状の領域に多官能性分子を吸着させ、
- (b) 吸着した多官能性分子を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、
- (c) 形成された薄膜を基体から剥離すること

25 により得られた前記構造体。

(2) 膜の片面に機能性物質を有する薄膜状高分子構造体であって、以下の工程：

- (a) 基体の液相との界面における任意形状の領域に多官能性分子を吸着させ、
(b) 吸着した多官能性分子を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、
(c) 形成された薄膜に機能性物質を結合させた後、薄膜を基体から剥離すること
5 により得られた前記構造体。
- (3) 膜の片面に機能性物質を有する薄膜状高分子構造体であって、以下の工程：
(a) 基体の液相との界面における任意形状の領域であって機能性物質を認識
10 する物質が含まれる領域に、当該機能性物質を含む多官能性分子を結合させ、
(b) 結合した多官能性分子を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、
(c) 形成された薄膜を基体から剥離すること
15 により得られた前記構造体。
- (4) 膜の一方の面に機能性物質を有し、他方の面に任意の修飾が施された薄膜状高分子構造体であって、以下の工程：
(a) 上記(2)又は(3)に記載の薄膜状高分子構造体の一方の面に有する機能性物質を、基体に固相化された、当該機能性物質を認識する物質と結合させ、
20 (b) 前記構造体の他方の面に任意の修飾を施し、
(c) 修飾された薄膜を基体から剥離させること
により得られた前記構造体。
- (2) 上記構造体が液体中に分散してなる分散体。
- 25 (3) 薄膜状高分子構造体の調製方法であって、以下の工程：
(a) 基体の液相との界面における任意形状の領域に多官能性分子を吸着させ、
(b) 吸着した多官能性分子を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、

せ、

(c) 形成された薄膜を基体から剥離すること

を含む前記方法。

(4) 膜の片面に機能性物質を有する薄膜状高分子構造体の調製方法であって、

5 以下の工程：

(a) 基体の液相との界面における任意形状の領域に多官能性分子を吸着させ、

(b) 吸着した多官能性分子を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、

(c) 形成された薄膜に機能性物質を結合させた後、薄膜を基体から剥離する

10 こと

を含む前記方法。

(5) 膜の片面に機能性物質を有する薄膜状高分子構造体の調製方法であって、

以下の工程：

(a) 基体の液相との界面における任意形状の領域であって機能性物質を認識

15 する物質が含まれる領域に、当該機能性物質を含む多官能性分子を結合させ、

(b) 結合した多官能性分子を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、

(c) 形成された薄膜を基体から剥離すること

20 を含む前記方法。

(6) 膜の一方の面に機能性物質を有し、他方の面に任意の修飾が施された薄膜状高分子構造体の調製方法であって、以下の工程：

(a) 上記(2)又は(3)に記載の薄膜状高分子構造体の一方の面に有する機能性物質を、基体の液相との界面における任意形状の領域に固相化され
25 た、当該機能性物質を認識する物質と結合させ、

(b) 前記構造体の他方の面に任意の修飾を施し、

(c) 修飾された薄膜を基体から剥離させること

を含む前記方法。

- 本発明において、多官能性分子を重合及び／又は架橋させる工程に、さらに反対電荷の高分子電解質を交互に積層させて電荷的に架橋させる工程を含むものであってもよい。多官能性分子としては、例えば多官能性モノマー及び／又は多官能性マクロマーが挙げられる。そして、多官能性マクロマーとしては、例えばタンパク質、高分子電解質又は高分子ビーズを例示することができる。本発明において、多官能性マクロマーの架橋は、例えば熱変性または熱可塑性などの物理的架橋、又は融解により行われる。
- 10 また、本発明において、修飾としては、例えばポリエチレングリコールなどの高分子化合物、タンパク質、ペプチド、糖鎖及び／又はビオチン誘導体による修飾を例示することができる。

- さらに、本発明において、領域は、自己組織化単分子膜又は自己組織化二分子膜の構造を有する領域である。ここで、自己組織化単分子膜としては、末端
- 15 に SH 基、クロロアルキルシリル基、アルコキシアルキルシリル基又はビニル基を持つ直鎖状疎水性分子から形成されるものが挙げられる。また、自己組織化二分子膜としては、リン脂質、アミノ酸型脂質、糖脂質、又はカチオン性脂質からなる群から選択される 1 以上を含むものである。上記領域は温度応答性高分子で修飾された領域であって、剥離が温度下降によるものであるものが好ましい。
- 20 ましい。

- 本発明において、基体の全部又は一部は、金属若しくはその酸化皮膜、シリコン、シリカ又はガラス、マイカ、グラファイトなどのカーボン材料、アパタイトなどのカルシウム化合物からなるものである。
- 本発明において、剥離は、界面活性剤又は有機溶剤で処理することにより、あ
- 25 るいは、機能性物質と競合する化合物を含む水溶液を添加することにより行うことができる。

図面の簡単な説明

図 1 は、本発明の薄膜状高分子構造体の作製概念図である。

図 2 は、アルブミンナノシート調製の概要図である。

図 3 は、アルブミンナノシートを調製する各段階における接触角の測定結果を示す図である。

図 4 は、水晶振動子マイクロバランス法における振動数変化を示す図である。

図 5 は、蛍光顕微鏡によるアルブミンナノシートの観察結果を示す写真である。

図 6 は、ODMS-SiO₂ 基板の調製及び rHSA の吸着または剥離の概要図である。

図 7 は、蛍光顕微鏡による ODMS-SiO₂ 基板へ吸着させた rHSA の観察結果を示す図である。

図 8 は、ODMS-SiO₂ 基板上での rHSA シートの作製の概要図である。

図 9 は、(a)ODMS-SiO₂ 基板への C₁₂E₁₀ 添加前後における、rHSA-SH 又は rHSA の蛍光顕微鏡による観察の結果を示す図である。(b)カバーガラス上の rHSA シートの観察結果を示す図である。

図 10 は、ODMS 基体上の(rHSA)LB の SEM イメージを示す図である。

(a)×300、(b)×2000

図 11 は、融合によって形成した ODMS 基体上の(rHSA)LB シートの SEM イメージを示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下に本発明の実施の形態について説明するが、本発明を説明するための例示であり、本発明をこの実施の形態にのみ限定する趣旨ではない。本発明は、その要旨を逸脱しない限り、さまざまな形態で実施をすることができる。

なお、本明細書において引用した文献、および公開公報、特許公報その他の

特許文献は、参照として本明細書に組み込むものとする。

以下、本発明の薄膜状高分子構造体（以下、「シート」ともいう）の調製方法について説明する。

5 1. 薄膜状高分子構造体の作製

本発明の方法は、基体（以下、「基板」と称する場合もある）上の液相との界面における任意形状の領域に、その上に多官能性分子を吸着させた後に、これを重合及び／又は架橋して薄膜を形成させ、その薄膜を基体から剥離すること
10 から容易に薄膜を剥離することが可能になった。

当該方法により、薄膜状高分子構造体が調製される。本発明の薄膜状高分子構造体は、多官能性分子が重合及び／又は架橋した単層又は積層の薄膜である。本発明の薄膜状高分子構造体は、膜の片面に機能性物質を有していてもよいし、膜の一方の面に機能性物質を有し、他方の面に任意の修飾が施されていてもよい。
15 い。

また、当該構造体は高分子の薄膜分散体として得ることができる。本発明の薄膜状高分子構造体が液体中に分散した分散体も本発明に含まれる。

（１）基体の水面との界面における任意形状の領域

本発明において、「基体の液相との界面」とは、固体である基体が水や水溶液、
20 有機溶媒などの液体に接触している界面を意味する。

多官能性分子を吸着させる領域の形状は、任意の形状であって特に限定されないが、例えば、円形、四角形、楕円形、リボン形、ひも形、多分岐形、星形などが挙げられる。

本発明においては、基体上の液相との界面には、自己組織化単分子膜
25 （self-assembled monolayer、SAM）又は自己組織化二分子膜（self-assembled bilayer、SAB）を形成させておくことが好ましい。また、本発明においては、上記界面は、温度応答性高分子で修飾されていることが好ましい。これらの処

理が施された基体を、以下、表面処理化基体、又は SAM 形成基体、SAB 形成基体、もしくは温度応答性高分子膜形成基体ともいう。

「自己組織化単分子膜」(SAM)とは、末端に基体に結合し得る官能基を有する直線状疎水性分子からなる膜を意味し、官能基により金属の基体表面に固定されて膜を形成する (図 1A)。「自己組織化二分子膜」(SAB)とは、例えば脂質などの疎水性の炭化水素鎖と親水性の極性頭部を含む両親媒性分子が構築する二分子膜で、基体表面の親水性の領域、あるいは両親媒性分子の極性頭部の電荷と反対電荷を持つ領域に自己組織化にて形成される二分子膜のことである。あるいは、SAM にて形成された疎水性の領域に両親媒性分子を自己組織化させることによって、二分子膜構造が形成され、膜表面が親水性の領域になる場合も SAB とみなすことができる。

本明細書において、「自己組織化膜」とは、自発的に形成する膜を意味する。

本発明において、基体は、多官能性分子を吸着させることができるものであれば、特に限定されない。基体上に SAM 又は SAB を形成させる場合、SAM 又は SAB を形成させるための基体は、SAM 又は SAB を形成させることができるものであれば特に限定されるものではない。基体を温度応答性高分子で修飾する場合も、基体は、当該修飾が可能なものであれば特に限定されるものではない。例えば、金、銀、白金、銅、鉄、アルミニウム、チタン、亜鉛などの金属板、又はこれらの金属を蒸着した平板などを用いることができる。また、基体の全部又は一部が、前述の金属若しくはその酸化皮膜、シリコン、酸化シリコン(SiO_2)、シリカ又はガラス、マイカ、グラファイトなどのカーボン材料、アパタイトなどのカルシウム化合物からなるものを用いることもできる。

本発明において、SAM を形成する疎水性分子中の疎水性部分は、末端に SH 基、クロロアルキルシリル基、アルコキシアルキルシリル基、ビニル基、アミノ基、カルボニル基などを持つ直鎖状疎水性分子が挙げられるが、通常は炭素数 4 個～40 個、好ましくは 8～18 個の飽和炭化水素鎖である。例えば、SH 基を有する直鎖状疎水性分子にはアルカンチオールが挙げられる。アルカンチ

オールとしては、例えばウンデカンチオール、ドデカンチオール、テトラデカンチオールなどが挙げられる。当該疎水性分子は、不飽和結合を含むアルケンやアルキン、分岐構造を持つイソプレノイド骨格、ステロイド環を持つ分子であってよい。

- 5 そして、金基体上には SH 基を持つ上記疎水性分子をエタノールなどの溶媒に溶解させて、この溶液を金基体と接触あるいは浸漬しておくことで自発的に SAM を形成させることができる。また、シリコン基体上は、ビニル基を持つ長鎖分子により、シリカや金属の基体表面はクロロアルキルシリル基、アルコキシアルキルシリル基を持つ長鎖分子により、SAM が得られる。例えば、
- 10 これらの基を有する長鎖状疎水性分子には、オクタデシルジメチルクロロシラン、トリアルコキシヘキサデシルシラン、オクタデシルトリメトキシシラン(ODMS)などが挙げられる。例えば、酸化シリコン基体に、ODMS を蒸着することで SAM が得られる。蒸着とは、真空又は真空中に近い条件の中で物質を加熱蒸発させ、基体表面にこの蒸発した物質の薄膜を形成することを意味する。
- 15 本発明において、SAB を構成する両親媒性分子は、分子中に疎水性部分と親水性の極性部を含む分子のいずれでもよいが、例えば、疎水性リン脂質、アミノ酸型脂質、糖脂質等の脂質、又はジアルキルアンモニウム塩などのカチオン性脂質等を挙げることができる。

- 20 SAB は基体に、脂質などの両親媒性分子を溶解させた有機溶媒を塗布することによって、二分子膜構造を有する膜を簡単に形成させることができる。その後マスキングして電子線照射などによってマスキングされていない領域の二分子膜構造を分解除去して二分子膜構造を有する領域を形成できる。

- 25 あるいは表面処理によって、アニオン性又はカチオン性とした領域を持つ基体を、カチオン性脂質又はアニオン性脂質の分散液に接触あるいは浸漬させることによって、当該領域に SAB を自発的に形成させることができる。

 あるいは SAM を形成させた領域を持つ基体を、両親媒性分子の溶液あるいは分散液と接触あるいは浸漬させることによって、SAB を自発的に形成させる

ことができる。

また、本発明において、基体は温度応答性高分子で修飾されていてもよい。温度応答性高分子としては、相転移温度以上では高分子鎖が収縮して疎水性相互作用によってゲル状態となり、相転移温度以下では高分子鎖が膨潤して流動状態となるようなものであればよく、例えばポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）（PIPAAm）やその共重合体を用いることができる。PIPAAm の場合、相転移温度以上では、基体に修飾した温度応答性高分子の水相との界面は疎水性であるのに対し、相転移温度以下では、当該界面は親水性である。

温度応答性高分子を基体に修飾、吸着させる方法は、単に基体上に PIPAAm を塗布して乾燥させたものでも構わないし、例えば、ポリスチレン製の基体上に PIPAAm を塗布後、光照射重合にてグラフト化させてもよい。

これらの高分子を後述のマスキング技術を用いて基体の任意の領域に、吸着、あるいは化学的に修飾させることができる。

本発明において、表面処理化基体の領域、すなわち、SAM 形成基体、SAB 形成基体、もしくは温度応答性高分子膜形成基体の領域は、マスキングを利用して、任意の形状の領域に成形することができる。フォトマスクの方法を説明するが、当業者であれば適宜選択して実施することができ、以下に限定されるわけではない。

まず、表面処理化基体にレジストを形成する。例えば、表面処理化基体に、ポジ型フォトレジストをスピンコーターで 800 rpm で 3 秒に続いて 7000 rpm で 20 秒塗布した後、例えば 110℃、90 秒で加熱乾燥させればよい。回転速度、回転時間を上げればフォトレジストの膜厚は薄くなり、加熱温度、加熱時間はレジストの溶媒が蒸発する条件であれば、記載の方法に限定されるものではない。次に、上記レジストに、フォトマスクを透過させて露光する。露光は、電子線照射、紫外線照射、X線照射などを 1～60 秒、好ましくは 5～20 秒行えばよい。フォトマスクは、例えば、10 μm×30 μm の長方形や直径 3 μm の円形のものを使用することができる。続いて、感光上の基体上のレジストを現

像、乾燥させる一方、感光しなかった領域のレジストを除去する。そして、O₂ プラズマ処理、CO プラズマ処理、ハロゲンガスを用いた反応性イオンエッチング処理にてレジストで保護されていない SAM、SAB 又は温度応答性高分子膜を除去する。最後に、アセトン、THF、ジクロロメタンなどのレジスト可溶性溶媒などでレジストを除去する。これによって、膜構造を有する又は温度応答性高分子で修飾された、所望の形状（例えば、マイクロパターン）の領域を成形することができる。

(2) 多官能性分子の吸着、重合、架橋

前記基体の液相との境界面の領域（例えば、SAM 又は SAB の構造を有する領域）に吸着させるための薄膜の構成要素となる物質としては、例えば多官能性モノマー又は多官能性マクロマーなどの多官能性分子が挙げられる。

多官能性モノマー又はマクロマーは、1 分子内に 2 個以上の同種又は異種の官能基を持つ分子である。多官能性モノマーとしては、例えば、アミノ酸や糖類などアミノ基、カルボキシル基、ヒドロキシル基、メルカプト基、イソシアナート基、アルデヒド基、エポキシ基、シアヌル基などを複数持つモノマー、ジビニルベンゼン、ジビニルエーテル、ジビニルスルホン、ビスマレイミドなど複数のビニル基を持つモノマーなどが挙げられる。また、多官能性マクロマーとしては、タンパク質、ポリリシン、ポリグルタミン酸、ポリスチレン／無水マレイン酸共重合体の加水分解体、キトサン、アルギン酸、高分子ビーズなどが挙げられる。

なお、モノマー又はマクロマーが単官能性であっても、多官能性のものと混合して使用することが可能である。例えば、ポリスチレンやポリ(ϵ -カプロラク톤)などの重合体、L-乳酸とグリコール酸の共重合体からなるビーズの表面に多官能性分子（アルブミンなど）を吸着あるいは化学修飾したものを使用することもできる。

タンパク質としては、どのようなものでもよく、水溶性であれば BSA（ウシ血清アルブミン）、HSA（ヒト血清アルブミン）などのアルブミン、ヘモグロ

- ビン、ミオグロビン、溶解性コラーゲン、フィブリノーゲンなどを例示することができる。あるいは元来水溶性ではなくても、有機溶剤や界面活性剤を添加した溶液に可溶なものであれば利用できる。タンパク質は、生体由来サンプルから公知の方法で精製したものをを用いてもよく、ペプチド合成機により合成されたペプチドであってもよい。あるいは、目的タンパク質をコードする遺伝子の塩基配列情報を利用して、公知の方法により組換え型のタンパク質として哺乳動物細胞、大腸菌、酵母菌などの宿主で産生させ、その後精製したものをを用いることもできる。タンパク質のアミノ基、カルボキシル基、ヒドロキシル基などの官能性基に、たとえばピリジルジスルフィド基、マレイミド基、又はスクシンイミド基を適当な長さのスペーサーを介して結合させたものをを用いることもできる。タンパク質は、タンパク質に被覆されたラテックスビーズの形態で用いることもできる（実施例10～12参照）。

- 高分子ビーズとは、ビニル基を持つモノマーを乳化重合、懸濁重合させた粒状物、O/W エマルジョン法にて粒状化させたもの、あるいは環状化合物をモノマーとして開環重合させたポリマーを界面活性剤で乳化させて粒状にしたもの、多官能性マクロマーを重合させた粒状物を意味する。高分子ビーズは、例えば、ポリスチレン-co-ジビニルベンゼンなどから構成されるラテックスビーズを挙げることができる。また、高分子ビーズは、生分解性ビーズを用いることもできる。

- さらに、多官能性分子（例えば、多官能性モノマー又はマクロマー）は両親媒性分子であってもよい。両親媒性分子としては、例えば 1-アシル鎖と 2-アシル鎖にジェン基やビニル基を持つ重合性のリン脂質、アミノ酸型脂質、糖脂質類を挙げることができる。

- 薄膜（薄膜状高分子）は、1種類の分子から形成することもできるし、複数種類の分子を組み合わせ形成することもできる。組み合わせは、複数の多官能性モノマーの組み合わせ、複数の多官能性マクロマーの組み合わせ、または多官能性モノマーとマクロマーの組み合わせのいずれであってもよい。例えば、

多官能性分子として、タンパク質に被覆された高分子ビーズを使用してもよい。

多官能性高分子は、表面処理化基体上の SAM、SAB、又は温度感受性高分子膜などに吸着して高分子の薄膜を形成するため、吸着する分子（例えば疎水性部分を含み、薄膜を形成する分子）は SAM などに疎水性部分を配向して配
5 列される。そして上記多官能性分子を吸着後（図 1B）、適宜重合及び／又は架橋を行い、表面処理化基体上（例えば SAM 上）に高分子の薄膜を形成させる（図 1C）。

多官能性高分子の SAM への吸着は、SAM 形成基体を多官能性分子の溶液あるいは分散液に接触あるいは浸漬させればよい。それによって多官能性高分子
10 の薄膜を形成させることができる。多官能性分子を SAB に吸着して高分子薄膜を形成させるためには、SAB の表面の電荷と反対電荷を持つ高分子電解質を吸着させればよい。多官能性分子を温度応答性高分子領域に吸着させる場合にも、多官能性分子の溶液あるいは分散液に、当該領域を接触あるいは浸漬させればよい。それによって、高分子薄膜を形成させることができる。接着時の温
15 度応答性高分子の状態は、ゲル状態であることが好ましく。吸着時の温度は、温度応答性高分子の相転移温度より高いことが好ましい。

また、本発明において、SAM、SAB 又は温度応答性高分子膜を、多官能性分子の溶液中から適当な速度で引き出す操作を繰り返すことによっても吸着させることができる。この場合、気液界面での表面張力を利用した接触であるため、液中接触よりも、より選択的に膜上に多官能性分子を吸着させることができる場合がある。
20

本発明において、「重合」は、ポリマーの生成反応を意味する。

分子の重合法は、重縮合、重付加、付加縮合、開環重合、付加重合（ラジカル重合、アニオン重合、カチオン重合）、熱による固相重合、光重合、放射線重合、プラズマ重合などを挙げることができる。
25

また、本発明において、「架橋」は、線状高分子中のいくつかの特定の原子間に、化学結合を形成させることを意味する。架橋により、3次元網状構造が形

成する。

分子の架橋法は、イソシアナート基によるウレタン結合やユリア結合、アルデヒド基によるシッフ塩基の形成、メルカプト基によるジスルフィド結合などを挙げることができる。架橋剤としては、アルキルジイミデート類、アシルジ

5 アジド類、ジイソシアネート類、ビスマレイミド類、トリアジニル類、ジアゾ化合物、グルタルアルデヒド、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)アルキオネート、プロモシアン、などを列挙することができる。

また、多官能性マクロマー間の架橋は、マクロマーがタンパク質であれば、熱変性による凝固などの物理的な架橋でもよいし、マクロマーが熱可塑性のある高分子ビーズであれば、加熱によってビーズの表面を部分的に熔融させて物理的に架橋させても良い。あるいは高分子ビーズを完全に加熱熔融させて任意の形状の薄膜を形成させても良い。タンパク質の処理条件は、タンパク質の性質に応じて適宜設定できる。例えば、アルブミンの場合は、60～120℃、好ましくは70～100℃の温度で、1～60分、好ましくは10～30分間

10 処理することで熱変性し、架橋させることができる。また、高分子ビーズは、例えばポリスチレン-co-ジビニルベンゼンから構成されるラテックスビーズの場合は、100～150℃、好ましくは110～120℃の温度で、1秒～5分、好ましくは10秒～60秒間処理することで、部分的に溶解し、架橋させることができる。あるいは、高分子ビーズは、100～150℃、好ましくは1

15 10～120℃の温度で、30～10分、好ましくは1～5分間処理することで、完全に加熱融解させることができる。重合や架橋を行った後に、更に薄膜を形成する多官能性分子を、すでに薄膜が形成されている SAM 又は SAB 等の形成基体に吸着させて、重合や架橋を行う作業を繰り返し行ってもよい。

20

本発明においては、薄膜の構成要素の多官能性マクロマーとして高分子電解質を使用することもできる。例えば、反対電荷の高分子電解質（ポリカチオン及びポリアニオン）の希薄溶液に交互に SAM 又は SAB などの表面処理化基体に浸すことにより、SAM 上又は SAB 上に高分子電解質を自発的に吸着させ、

25

- ポリカチオンとポリアニオンとが積層された薄膜を形成する。上記ポリカチオンには、キトサン、ポリリシン、ポリアルギニン、ポリヒスチジン、アイオネン、ポリ（４級化ピリジン）、ジアリルジアルキルアンモニウム塩の重合体などを、ポリアニオンには、アルギン酸、ポリグルタミン酸、ポリメタクリル酸、
- 5 ポリアクリル酸、ポリスチレンスルホン酸やそれらのアルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩を挙げることができる。無水マレイン酸とスチレンの交互共重合体のアルカリ加水分解体も利用できる。この交互吸着法により形成する積層膜を構成するポリカチオン及びポリアニオンは、静電力により電荷的に架橋され、薄膜が形成される。また、ポリイオンコンプレックス間のアミノ基とカルボン
- 10 酸残基間で脱水縮合をさせることにより、アミド基として共有結合にて架橋させ、薄膜を形成させることもできる。

上記のようにして形成される薄膜も、本発明の範囲である。

基体の液相との界面において形成する薄膜は、単層膜でもよいし、積層膜でもよい。

- 15 本発明において、多官能性分子の吸着、重合・架橋の処置の前後に、基体を洗浄してもよい。洗浄は、基体を洗浄液に単回あるいは複数回、接触あるいは浸漬させることにより行うことができる。

（３）薄膜の剥離

- このようにして形成された薄膜状高分子を基体（SAM を形成させているときはSAMの面）から剥離させることにより薄膜状高分子構造体を得る（図1D）。
- 20

- 薄膜を剥離させるためには、薄膜が形成された基体を界面活性剤の溶液に接触、浸漬、浸漬してから振とう、振動させるか、もしくは引き出し操作を繰り返すか、又は薄膜が形成された基体を有機溶剤に接触、浸漬、もしくは浸漬してから振とう、振動させるか、もしくは引き出し操作を繰り返すことによって
- 25 行われる。界面活性剤の種類は特に限定されるものではなく、例えば C₁₂E₁₀(polyoxyethylene 10-lauryl ether)、Tween20、Triton-X などの非イオン性界面活性剤、コール酸ナトリウム、ドデシル硫酸ナトリウム、パルミチン

酸ナトリウムなどのイオン性界面活性剤を挙げることができる。有機溶剤の種類は、薄膜を剥離させることができる限り特に限定されるものではなく、例えばエタノール、メタノールなどのアルコール類、THF、DMF、クロロホルム、ジクロロメタン、ベンゼン、トルエン、酢酸エチルなどを挙げることができる。

- 5 剥離は、SAM 又は SAB と薄膜の間で生じると考えられる。また、SAB の表面に形成させた薄膜構造体（例えば、高分子電解質の交互吸着法により形成する積層膜）を有機溶媒にて剥離させる場合には、SAB 全体あるいは二分子膜の構造体側の単分子膜が有機溶媒に溶解することによって起こる。従って、SAM の場合には、剥離した構造体の分散液には SAM の構成成分は含まれず、多官能
- 10 性成分により構造体が構成されるが、SAB の場合には、剥離した構造体の分散液には SAB の構成成分が含まれ、遠心分離操作やろ過、限外ろ過操作によって、構造体を精製することができる。

- 基体表面に修飾されたゲル状態温度応答性高分子上に形成された薄膜上高分子構造体を剥離させる場合には、この基体を適当な水溶液に接触、浸漬させて、
- 15 温度を相転移温度以下にしてから、振とう、振動、あるいは引き出し操作を繰り返せば良い。

2. 膜の片面に機能性物質を有する薄膜状高分子構造体

- 本発明においては、多官能性分子を重合又は架橋して得られる膜上に、機能
- 20 性物質を結合させ（図 1 E）、薄膜を基体から剥離することもできる（図 1 F）。これにより、膜の片面に機能性物質を有する薄膜状高分子構造体を作製することができる。

- 機能性物質とは、細胞膜上にある認識タンパク質やそのリガンド、抗原や抗体など分子認識能を有する物質や、触媒や酵素など特定の反応を促進する物質、
- 25 抗酸化剤やラジカル消去剤など特定の反応に関与する物質などを意味する。

このような薄膜状高分子構造体の作製法は以下の通りである。

本発明の好ましい態様において、まず、基体の液相との界面における任意形

状の領域に多官能性分子を吸着させ、吸着した多官能性分子（例えば、高分子電解質）を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させる（図 1A～C）。

これは前記薄膜状高分子構造体の調製と同様に調製される。次に、形成された薄膜に機能性物質を結合させた後（図 1E）、当該薄膜を基体から剥離すること

- 5 により、機能性物質を有する薄膜状高分子構造体を得ることができる（図 1F）。基体からの薄膜の剥離は、前記「薄膜の剥離」と同様に行うことができる。

- 機能性物質を薄膜に結合させるには、薄膜を構成する多官能性モノマーあるいはマクロマーに導入されたアミノ基、カルボキシル基、ヒドロキシル基、メルカプト基、イソシアナート基、アルデヒド基、エポキシ基、シアヌル基、ビ
10 ニル基に対して、結合し得る官能基を介して結合させることができる。例えば、機能性分子と薄膜との結合反応が、ヒドロキシル基やアミノ基とイソシアナート基との反応によるウレタン結合やユリア結合、アミノ基とアルデヒド基と反応によるシッフ塩基の形成、メルカプト基同士のジスルフィド結合、メルカプト基とピリジルジスルフィド基やマレイミド基との反応やカルボニル基とスク
15 シンイミド基との反応などを利用することができる。あるいは、薄膜側か機能性物質側にリガンドを導入させておき、機能性物質側か薄膜側に導入されたアクセプターとのコンプレックスを利用して機能性物質を薄膜上に固定することができる。具体的な組合せとしては、ビオチンとアビジン、糖鎖とレクチン、抗原と抗体、薬物とレセプター、酵素と基質などが挙げられる。

- 20 また、本発明の別の好ましい態様において、まず基体表面に、機能性物質を認識することができる物質（「認識物質」という）を結合させた SAM、SAB、又は温度応答性高分子膜等を形成させる（図 1G）。認識物質とは、前記「機能性物質」と組をなす他方の物質である。

- 一方で、機能性物質を多官能性分子（例えば、高分子電解質）と結合させて
25 おいて、当該多官能性分子を SAM、SAB 又は温度応答性高分子膜に吸着させる。これにより、SAM、SAB 又は温度応答性高分子膜の表面に結合した認識物質と、多官能性分子に結合した機能性物質との間で複合体が形成される。前

記多官能性分子を重合及び／又は架橋して薄膜を形成させた後、複合体の結合を解いて薄膜を基体（この場合は認識物質）から剥離することにより、機能性物質を表面に有する薄膜状高分子構造体を作製することができる。

機能性物質を多官能性分子に結合させる方法には、上述の機能性物質を薄膜
5 に結合させる方法と同様の方法を用いることができる。また、SAM、SAB 又は温度応答性高分子膜に認識物質を結合させる方法としては、SAM、SAB 又は温度応答性高分子膜を構成する分子の一部にあらかじめ認識物質を共有結合させて SAM、SAB 又は温度応答性高分子膜を構成させる方法、SAM、SAB 又は温度応答性高分子膜の表面に認識物質を化学的あるいは物理的に結合させる
10 方法がある。化学的に結合させる方法は、上述の機能性物質を薄膜に結合させる方法と同様の方法を利用し、物理的に結合させる方法としては、静電的相互作用、疎水性相互作用、水素結合、分子間力などを用いる。認識物質の SAM、SAB、温度応答性高分子膜に対する結合密度は、目標とする薄膜状高分子構造体中の機能性物質密度に相当させて、制御されることが好ましい。

15 薄膜の剥離は、前記機能性物質と競合する物質、または前記認識物質と競合する物質（例えば低分子化合物を含む水溶液）の添加により行うことができる。例えば機能性物質に GPIIb/IIIa を、認識物質にドデカペプチドを用いるときには、ドデカペプチドを前記低分子化合物として作用させて、薄膜を基体から解離させることができる。その際、認識物質は SAM 上、SAB 上、又は温度応答
20 性高分子膜上に留まり、解離した薄膜状高分子構造体には含まれない。

機能性物質とその相手（認識物質）との組合せは、例えばビオチンとアビジン、糖鎖とレクチン、抗原と抗体、薬物とレセプター、酵素と基質などが挙げられる。従って、これらの物質のうち的一方を膜に結合させることが可能である。

25 酵素としては、カタラーゼ、西洋わさびペルオキシダーゼ、キモトリプシン、チトクローム、 α -アミラーゼ、 β -アミラーゼ、ガラクトシダーゼ、グリコセレブロシダーゼ、血液凝固因子、ペルオキシダーゼ、プロテアーゼ、セルラー

ゼ、ヘミセルラーゼ、キシラナーゼ、リパーゼ、プルラナーゼ、イソメラーゼ、グルコアミラーゼ、グルコースイソメラーゼ、グルタミナーゼ、 β -グルカナーゼ、セリンプロテアーゼ、などが挙げられるが、これらに何ら限定されるものではない。

5

3. 膜の表面を修飾した薄膜状高分子構造体

本発明は、薄膜の片面又は両面に物質を結合させて表面を修飾した薄膜状高分子構造体の調製方法を提供する。

10 本発明において、膜の表面を修飾した薄膜状高分子構造体は、上記2において作製された一方の面に機能性物質を有する構造体の他方の面に、任意の修飾を施したものである。

まず、機能性物質を表面に有する薄膜状高分子構造体を、認識物質を有する基体表面に固定する。基体への固定は、構造体の分散液を基体に接触、浸漬、又は振とうさせることにより、自発的に起こる。薄膜上には機能性物質が結合
15 しているので、薄膜は上下が逆転して機能性物質を介して認識物質に結合することとなる（図1G）。

次に、薄膜の表面（機能性物質の結合面とは異なる面）を適当な修飾物質で修飾し（図1H）、薄膜を剥離させることにより、膜の一方の面は機能性物質が、膜の他方の面は修飾物質が結合したものが作製される（図1I）。

20 薄膜の剥離は、前記機能性物質と競合する物質、または前記認識物質と競合する物質（例えば低分子化合物を含む水溶液）の添加により行うことができる。例えば機能性物質に GPIIb/IIIa を、認識物質にドデカペプチドを用いるときには、ドデカペプチドを前記低分子化合物として作用させて、薄膜を基体から解離させることができる。その際、認識物質は SAM 上、SAB 上、又は温度応答
25 性高分子膜上に留まり、剥離した薄膜状高分子構造体には含まれない。

本発明の方法で得られる薄膜、すなわち一方の面に機能性物質が結合し、他方の面に任意の修飾が施された高分子超薄膜（「ナノクラゲ」という。）も本発

明により提供される。

前記ナノクラゲの有する機能性物質の相手（認識物質）としては、前述の機能性物質を特異的に認識できる物質、例えば GPIb α 、GPIaIIa、p-セ렉チン等が挙げられるが、これに限定されるものではない。

- 5 機能性物質が結合している面と反対側の面に施される修飾は特に限定されるものではないが、例えば高分子化合物（例えば、ポリエチレングリコール（PEG））、タンパク質、ペプチド、糖鎖及び／又はビオチン誘導体による修飾であっても、前記機能性物質であってもよい。

- 10 本明細書において、ビオチン誘導体とは、アミノ基、カルボキシル基等の官能基、ピリジルジスルフィド基、スクシンイミジル基等の活性エステル基を結合させたビオチンを意味する。

- 本発明の別の態様において、上記ナノクラゲを薬物運搬体（例えば、薬物送達系における機能性担体または血小板代替物）として用いることもできる。薬物運搬体として用いるときには、前記修飾には、例えば、(a) 薬物、(b) 標的組織／細胞を特異的に認識する部位を含む物質（特異的認識物質）、また(c) ナノクラゲを体内で安定化させるための物質であってもよい。これらの修飾物質の具体例は以下の通りである。
- 15

(a) 薬物：抗炎症剤、止血剤、血管拡張薬、血栓溶解剤、抗動脈硬化剤など

- (b) 特異的認識物質：コラーゲン、ラミニン、VCAM-1、セ렉チン、フィ
20 ブリンなど

(c) ナノクラゲを安定化させる物質：ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、多糖類、ポリグルタミン酸など

- 任意の物質を修飾する方法は、例えば、任意の物質のヒドロキシル基やアミノ基に対してはナノクラゲのイソシアナート基によるウレタン結合やユリア結合、任意の物質をカルボキシル基を活性化させてナノクラゲのアミノ基とのアミド結合、任意の物質のアミノ基とナノクラゲのアミノ基間をグルタルアルデヒドによるシッフ塩基で結合、任意の物質のカルボキシル基に対してはナノク
25

ラゲのアミノ基やヒドロキシル基とアミド結合やエステル結合、任意の物質が多糖類でありそのヒドロキシル基に対しては臭化シアンによるイミドカルボネートを形成させた後、ナノクラゲのアミノ基と架橋させる方法、任意の物質のメルカプト基に対してはナノクラゲの活性化メルカプト基間とのジスルフィド結合などを挙げることができる。あるいは、架橋剤を用いて、アルキルジイミデート類、アシルジアジド類、ジイソシアネート類、ビスマレイミド類、トリアジニル類、ジアゾ化合物、グルタルアルデヒド、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)アルキオネート、ブロモシアン、などを用いて対応する官能基と架橋させることができる。あるいは、任意の物質が疎水性であればナノクラゲの疎水領域に疎水性相互作用にて、水素結合性であればナノクラゲの水素結合性領域に水素結合にて、電荷をもっていればナノクラゲの反対電荷の領域に静電相互作用にて結合させることができる。

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

15

実施例1 アルブミンナノシートの調製

本実施例では、アルブミンナノシートを以下のステップで作製した(図2)。

(1) SAMの形成

金基板を 1mM undecanethiol のエタノール溶液で浸し、室温で18時間静置し、SAMを形成した。次に、SAM形成金基板を洗浄した。

(2) rHSA(遺伝子組換えヒト血清アルブミン)吸着

洗浄した SAM 形成金基板を 2.5mg/mL rHSA の酢酸バッファー(pH5.0)で浸し、室温で1時間静置させて rHSA を SAM 上に吸着させた。続き基板を洗浄した。

25 (3) rHSA 架橋

洗浄した基板を 25%(v/v) glutaldehyde に浸し、室温で30分間静置させて rHSA を架橋した。

(4) rHSA シート剥離

rHSA を架橋した基板を 1%(v/v)の polyoxyethylene 10-lauryl ether($C_{12}E_{10}$)で浸し、室温で 1 時間静置させて rHSA シート (以下、「アルブミンナノシート」ともいう) を剥離させた。

5

実施例 2 アルブミンナノシート調製各段階での接触角の測定

実施例 1 のアルブミンナノシートを調製する以下の段階、(a) SAM形成後、(b) rHSA吸着後、(c) rHSAシート剥離後の 3 つのサンプルにおいて、基板に対する水滴の接触角を測定した。その結果接触角はそれぞれ、(a) $73 \pm 4^\circ$ 、(b) $35 \pm 6^\circ$ 及び(c) $70 \pm 4^\circ$ であった (図 3)。しかし、(b)の吸着をrHSAのPBS(phosphate buffered saline)溶液(pH7.4)で行ったときには、接触角は $72 \pm 5^\circ$ となり、rHSAは吸着しなかった。

10

従って、上記(b)の段階において rHSA が吸着し、上記(c)の段階において rHSA が完全に剥離されることを確認した。

15

実施例 3 水晶振動子マイクロバランス法を用いた SAM への rHSA 吸着量の測定

金蒸着水晶振動子を 1mM ウンデカンチオールエタノール溶液に浸し、金表面に SAM を形成させた。洗浄した振動子を rHSA 水溶液 (pH5.0 緩衝液) に浸漬させ、水晶振動子の振動数変化 (ΔHz) を測定した。周波数変化の結果のグラフを図 4 に示す。図 4 より、振動数変化が 86Hz であることが明らかである。振動数の 1Hz の変化は 0.86ng の rHSA の吸着に相当することを考慮すると、74ng の rHSA が吸着したことが算出できた。続いて、rHSA の吸着分子数を算出し、rHSA 1 分子の平均表面積(31nm^2)から、rHSA の金表面への表面被覆率は 83%と概算した。

20

25

実施例 4 蛍光顕微鏡によるアルブミンナノシートの観察

本実施例は、界面活性剤を用いたナノシートの剥離により、アルブミンの形状の変化の有無を調べることを目的とする。剥離前の金基板上のアルブミンナノシートの形状と、金基板から界面活性剤で剥離し、ガラス基板上におけるアルブミンナノシートの形状とを蛍光顕微鏡で観察した。

- 5 まず、金基板上のアルブミンナノシートの rHSA を FITC 蛍光標識し、蛍光顕微鏡にて rHSA 分子を観察した。その後、1% (v/v) C₁₂E₁₀ を添加してシートを剥離し、ガラス基板上において rHSA 分子を観察した。その結果、界面活性剤の添加前後で形状が変化していなかった (図 5)。従って、上記結果は rHSA 分子間が二次元的に架橋されていることを示している。

10

実施例 5 親疎水性マイクロパターン基板の作製

- 酸化シリコン (SiO₂) 基板上にオクタデシルトリメトキシシラン (ODMS) を蒸着した後、ポジ型フォトレジストをスピンコーターにて塗布し (800 rpm, 3 s + 7000 rpm, 20 s)、加熱乾燥させた (110 °C, 90 s)。フォトマスク (長方形; 10 μm × 15 30 μm) をして UV 照射させた後 (7 s)、現像処理、乾燥操作を経て基板上にレジストパターンを得た。O₂ プラズマ処理 (30 s) にてレジスト未保護の ODMS を除去後、アセトンでレジストを除去することで、親疎水性マイクロパターン化基板 (ODMS-SiO₂ 基板) を構築した (図 6)。

20 実施例 6 ODMS 基板への rHSA 吸着前後の接触角測定

- 実施例 5 で作製したマイクロパターン化 ODMS-SiO₂ 基板上における超純水の接触角は 83 ± 1 度であった。rHSA 溶液 (pH 7.4, 100 μg/mL) に浸漬させても、その前後で接触角の変化は見られなかった (表 1)。そこで、rHSA 溶液 (pH 5.0) に浸漬させたところ、接触角が 67 ± 1 度まで大幅な減少が認められた。これは、25 rHSA の等電点 (pI = 4.9) 付近では電荷の反発が低下し、疎水性相互作用による ODMS 基板への吸着が促進されたためと考えられる (図 6)。また、疎水性の ODMS 基板上への水溶性 rHSA が吸着して基板表面の親水性が増大した。また、

さらに、C₁₂E₁₀ 水溶液の添加により rHSA 吸着前の接触角まで増加したことから、吸着した rHSA の剥離が確認できた(図 6)。

表 1 rHSA 吸着前後の ODMS プレーットの接触角

5

rHSA 吸着		接触角 (°)
吸着前		83 ± 1
吸着後	pH 7.4	80 ± 2
	pH 5.0	67 ± 1
¹⁾ C ₁₂ E ₁₀		82 ± 1

10

1) C₁₂E₁₀ は、rHSA 吸着(pH5.0)の吸着後にプレートに添加された。

実施例 7 ODMS-SiO₂ 基板へ吸着させた rHSA の蛍光顕微鏡観察

実施例 6 のマイクロパターン化 ODMS-SiO₂ 基板にローダミン標識 rHSA(1 μg/mL)浸漬後(室温, 1 時間)、蛍光顕微鏡にて観察したところ、ODMS 領域のみが蛍光を発しており、ローダミン標識 rHSA の選択的な吸着が確認できた(図 7 (a))。また、C₁₂E₁₀ 水溶液の添加により蛍光は観察されなくなった(図 7 (b))。このことから、マイクロパターン化 ODMS-SiO₂ 基板の ODMS 領域への rHSA の選択的な吸着と C₁₂E₁₀ 水溶液による剥離が確認できた。

20

実施例 8 ODMS-SiO₂ 基板上での rHSA シートの作製

rHSA に対して架橋剤として LC-SPDP (succinimidyl 6-[3'-(2-pyridyldithio) propionamido] hexanoate) (10 当量)を添加(室温, 20 分)、GPC (ゲル浸透クロマトグラフ)精製後、PD(ピリジルジスルフィド)-rHSA を得た。続いて、dithiothreitol にて PD 基を還元し、遊離した 2-thiopyridone(2TP, ε=8.1×10³ M⁻¹cm⁻¹, 343 nm)より、rHSA1 分子に PD 基 7.4 ± 1.2 分子結合したことを確認した。GPC 精製後、rHSA-SH を得た。マイクロパターン化 ODMS-SiO₂ 基板 (実施例 6 で作製) に

ローダミン標識 rHSA-SH を浸漬し(室温, 1 時間)、未吸着 rHSA-SH を除去後、さらに酢酸緩衝液中($[Cu^{2+}] = 100 \mu M$, 室温, 12 時間)で浸漬させ吸着 rHSA-SH 間をジスルフィド架橋させて薄膜状高分子構造体をマイクロパターン化 ODMS-SiO₂ 基板上に得た (図 8)。

5

実施例 9 ODMS-SiO₂ 基板上に作製した rHSA の薄膜状高分子構造体の蛍光顕微鏡観察

実施例 8 で作製した薄膜形成マイクロパターン化 ODMS-SiO₂ 基板を、蛍光顕微鏡にて観察したところ、ODMS 領域のみが蛍光を発しており、rHSA-SH の選択的な吸着が確認できた。そこで、C₁₂E₁₀ 水溶液中にて浸漬(rHSA を基板から剥離できる条件)させたところ(室温, 1 時間)、rHSA-SH は剥離せず、基板上に留まり、6 時間浸漬させてようやく剥離した(図 8、図 9 (a))。これは、rHSA-SH のチオール基が自動酸化によってジスルフィド架橋が進行して薄膜状高分子構造体が形成されたために、吸着 rHSA を剥離させた場合と比較して、界面活性剤 C₁₂E₁₀ による構造体の剥離に時間がかかったものと考えられる。

そこで、薄膜状高分子構造体を剥離させてカバーガラス上に慎重に移しとって (室温, 6 時間)蛍光顕微鏡観察したところ、ODMS-SiO₂ 基板上で観察された形状とほぼ同様のシート様形状が観察できた (図 9 (b))。焦点が合わないのは、液相中でシートが湾曲していることに起因すると考えられた。

20

実施例 10 rHSA 被覆ラテックスビーズ(rHSA 被覆 LB、(rHSA)LB)の調製

rHSA 溶液(20 mg/mL, 1mL)に LB($\phi 200 \text{ nm}$)を分散、振とうさせ(室温, 2 時間)、LB 表面に rHSA を物理吸着させた。分散液を超遠心分離(20000 rpm, 10 分, 4 °C, 2 回)にて未吸着 rHSA を除去後、PBS(pH 7.4)にて再分散させ、rHSA 被覆 LB((rHSA)LB, 1×10^9 粒子/ μL)を得た。

(rHSA)LB(1×10^9 粒子/ μL , 10 μL)表面上の吸着 rHSA は 10.8 $\mu g/mL$ となり、 7.8×10^3 分子/1 粒子と算出された。これは、理論値(4.9×10^3 分子/1 粒子, rHSA

平均表面積より算出)とほぼ同等であり、LB 表面は rHSA で十分に被覆されたことが確認できた。

実施例 1 1 ODMS 基板への rHSA 被覆 LB 吸着前後の接触角測定

- 5 rHSA 被覆 LB 分散液(1×10^8 粒子/ μ L)を酢酸緩衝液(pH 5.0)に分散させ、ODMS 基板に浸漬させたところ、rHSA 溶液と同様に接触角が減少し、 $C_{12}E_{10}$ 水溶液の添加により浸漬前まで回復した(表 2)。従って、rHSA と同様に r HSA 被覆 LB はマイクロパターン化 ODMS-SiO₂ 基板の疎水性の ODMS 領域に吸着したことが示唆された。また、吸着した r HSA 表面被覆 LB は脱離できることが明らか
- 10 となった。

表 2 rHSA 被覆 LB 吸着前後の ODMS 基板の接触角

15		
	rHSA 吸着	接触角 (°)
	吸着前	83 ± 1
	吸着後.....	73 ± 3.....
	<u>$C_{12}E_{10}$</u>	<u>82 ± 6</u>

実施例 1 2 ODMS-SiO₂ 基板への rHSA 被覆 LB の吸着・剥離の直接観察

- rHSA 被覆 LB 分散液(1×10^8 粒子/ μ L, pH5.0)中からゆっくりと ODMS-SiO₂ 基
- 20 板(実施例 6)を引出す操作を数回、短時間で繰り返して、rHSA を基板上に吸着させた。超純水にて基板を洗浄、乾燥させ、走査電顕観察したところ、疎水性の ODMS 領域へ rHSA 被覆 LB の選択的吸着が確認できた(図 10(a))。ほぼすべての LB は領域内で密に集積し、点接触していた(図 10(b))。これは、ODMS と(rHSA)LB の長時間の液中接触よりも、引出しによる気液界面での表
- 25 面張力を利用した接触の方が選択的に吸着できると考えられる。さらに、rHSA 被覆 LB 吸着基板を $C_{12}E_{10}$ 水溶液中にて振とうさせたところ(室温, 1 時間)、ODMS 部位からの選択的脱着が確認された(光学顕微鏡)。

実施例 1 3 ODMS-SiO₂ 基板での(rHSA)LB の加熱融合

LB(ポリ(スチレン-co-ジビニルベンゼン))を DSC (示差走査熱量分析) 測定したところ、 $T_m=109.9^{\circ}\text{C}$ であった。(rHSA)LB 熱融合温度を 110°C と設定し、実施例 1 2 の条件にて ODMS-SiO₂ 基板に吸着後、加熱時間を検討したところ、30 秒にて LB は粒状を維持しながら隣接する LB と融合した(図 1 1)。従って、加熱による物理的な架橋や融合によって rHSA 被覆 LB から薄膜状高分子構造体の形成が確認された。

10 産業上の利用の可能性

本発明により、任意形状の薄膜状高分子構造体とその調製方法が提供される。本発明の構造体は、当該構造体に標的認識部位等を結合させることで、薬物送達系における機能性担体や血小板代替物として利用することが可能となる。

請 求 の 範 囲

1. 薄膜状高分子構造体であって、以下の工程：
 - (a) 基体の液相との界面における任意形状の領域に多官能性分子を吸着させ、
 - 5 (b) 吸着した多官能性分子を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、
 - (c) 形成された薄膜を基体から剥離すること
により得られた前記構造体。
2. 膜の片面に機能性物質を有する薄膜状高分子構造体であって、以下の工程：
 - 10 (a) 基体の液相との界面における任意形状の領域に多官能性分子を吸着させ、
 - (b) 吸着した多官能性分子を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、
 - (c) 形成された薄膜に機能性物質を結合させた後、薄膜を基体から剥離すること
15 により得られた前記構造体。
3. 膜の片面に機能性物質を有する薄膜状高分子構造体であって、以下の工程：
 - (a) 基体の液相との界面における任意形状の領域であって機能性物質を認識する物質が含まれる領域に、当該機能性物質を含む多官能性分子を結合させ、
 - 20 (b) 結合した多官能性分子を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、
 - (c) 形成された薄膜を基体から剥離すること
により得られた前記構造体。
4. 膜の一方の面に機能性物質を有し、他方の面に任意の修飾が施された薄膜
25 状高分子構造体であって、以下の工程：
 - (a) 請求項 2 又は 3 に記載の薄膜状高分子構造体の一方の面に有する機能性物質を、基体に固相化された、当該機能性物質を認識する物質と結合させ、

- (b) 前記構造体の他方の面に任意の修飾を施し、
(c) 修飾された薄膜を基体から剥離させること
により得られた前記構造体。
5. 多官能性分子を重合及び／又は架橋させる工程に、さらに反対電荷の高分子電解質を交互に積層させて電荷的に架橋させる工程を含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の構造体。
6. 多官能性分子が多官能性モノマー及び／又は多官能性マクロマーである請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の構造体。
7. 多官能性マクロマーがタンパク質である請求項 6 記載の構造体。
- 10 8. 多官能性マクロマーが高分子電解質である請求項 6 記載の構造体。
9. 多官能性マクロマーが高分子ビーズである請求項 6 記載の構造体。
- 10 10. 多官能性マクロマーの架橋が、物理的架橋又は融解によるものである請求項 1 ～ 5 記載のいずれか 1 項記載の構造体。
11. 物理的架橋が、熱変性または熱可塑性によるものである、請求項 10 記載の構造体。
- 15 12. 修飾が、高分子化合物、タンパク質、ペプチド、糖鎖及び／又はビオチン誘導体による修飾である請求項 4 記載の構造体。
13. 高分子化合物がポリエチレングリコールを含むものである請求項 12 記載の構造体。
- 20 14. 領域が自己組織化単分子膜又は自己組織化二分子膜の構造を有する領域である請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の構造体。
15. 自己組織化単分子膜が、末端に SH 基、クロロアルキルシリル基、アルコキシアルキルシリル基又はビニル基を持つ直鎖状疎水性分子から形成されるものである請求項 14 記載の構造体。
- 25 16. 自己組織化二分子膜が、リン脂質、アミノ酸型脂質、糖脂質、又はカチオン性脂質からなる群から選択される 1 以上を含むものである請求項 14 記載の構造体。

- 1 7. 領域が温度応答性高分子で修飾された領域であって、剥離が温度下降によるものである請求項 1 又は 2 に記載の構造体。
- 1 8. 基体の全部又は一部が、金属若しくはその酸化皮膜、シリコン、シリカ又はガラス、マイカ、グラファイトなどのカーボン材料、アパタイトなどのカルシウム化合物からなるものである請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の構造体。
- 5 1 9. 剥離が、界面活性剤又は有機溶剤で処理することによるものである請求項 1 又は 2 に記載の構造体。
- 2 0. 剥離が、機能性物質と競合する化合物を含む水溶液を添加することによるものである請求項 3 又は 4 に記載の構造体。
- 10 2 1. 請求項 1 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載の構造体が液体中に分散してなる分散体。
- 2 2. 薄膜状高分子構造体の調製方法であって、以下の工程：
- (a) 基体の液相との界面における任意形状の領域に多官能性分子を吸着させ、
- 15 (b) 吸着した多官能性分子を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、
- (c) 形成された薄膜を基体から剥離することを含む前記方法。
- 2 3. 膜の片面に機能性物質を有する薄膜状高分子構造体の調製方法であって、
- 20 以下の工程：
- (a) 基体の液相との界面における任意形状の領域に多官能性分子を吸着させ、
- (b) 吸着した多官能性分子を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、
- (c) 形成された薄膜に機能性物質を結合させた後、薄膜を基体から剥離すること
- 25 含む前記方法。
- 2 4. 膜の片面に機能性物質を有する薄膜状高分子構造体の調製方法であって、

以下の工程：

- (a) 基体の液相との界面における任意形状の領域であって機能性物質を認識する物質が含まれる領域に、当該機能性物質を含む多官能性分子を結合させ、
- 5 (b) 結合した多官能性分子を重合及び／又は架橋して高分子の薄膜を形成させ、
- (c) 形成された薄膜を基体から剥離することを含む前記方法。
- 25 25. 膜の一方の面に機能性物質を有し、他方の面に任意の修飾が施された薄膜状高分子構造体の調製方法であって、以下の工程：
- 10 (a) 請求項2又は3に記載の薄膜状高分子構造体の一方の面に有する機能性物質を、基体の液相との界面における任意形状の領域に固相化された、当該機能性物質を認識する物質と結合させ、
- (b) 前記構造体の他方の面に任意の修飾を施し、
- 15 (c) 修飾された薄膜を基体から剥離させることを含む前記方法。
26. 多官能性分子を重合及び／又は架橋させる工程に、さらに反対電荷の高分子電解質を交互に積層させて電荷的に架橋させる工程を含む請求項22～25のいずれか1項に記載の方法。
- 20 27. 多官能性分子が多官能性モノマー及び／又は多官能性マクロマーである請求項22～26のいずれか1項に記載の方法。
28. 多官能性マクロマーがタンパク質である請求項27記載の方法。
29. 多官能性マクロマーが高分子電解質である請求項27記載の方法。
30. 多官能性マクロマーが高分子ビーズである請求項27記載の方法。
- 25 31. 多官能性マクロマーの架橋が、物理的架橋又は融解によるものである請求項22～26記載のいずれか1項記載の方法。
32. 物理的架橋が、熱変性または熱可塑性によるものである、請求項31記

載の方法。

- 3 3. 修飾が、高分子化合物、タンパク質、ペプチド、糖鎖及び／又はビオチン誘導体による修飾である請求項 2 5 記載の方法。
- 3 4. 高分子化合物がポリエチレングリコールを含むものである請求項 3 3 記載の方法。
- 3 5. 領域が自己組織化単分子膜又は自己組織化二分子膜の構造を有する領域である請求項 2 2 ～ 2 5 のいずれか 1 項に記載の方法。
- 3 6. 自己組織化単分子膜が、末端に SH 基、クロロアルキルシリル基、アルコキシアルキルシリル基又はビニル基を持つ直鎖状疎水性分子から形成されるものである請求項 3 5 記載の方法。
- 3 7. 自己組織化二分子膜が、リン脂質、アミノ酸型脂質、糖脂質、カチオン性脂質からなる群から選択される 1 以上を含むものである請求項 3 5 記載の方法。
- 3 8. 領域が温度応答性高分子で修飾された領域であって、剥離が温度下降によるものである請求項 2 2 又は 2 3 に記載の方法。
- 3 9. 基体の全部又は一部が、金属若しくはその酸化皮膜、シリコン、シリカ又はガラスからなるものである請求項 2 2 ～ 2 5 のいずれか 1 項に記載の方法。
- 4 0. 剥離が、界面活性剤又は有機溶剤で処理することによるものである請求項 2 2 又は 2 3 に記載の方法。
- 4 1. 剥離が、機能性物質と競合する化合物を含む水溶液を添加することによるものである請求項 2 4 又は 2 5 に記載の方法。

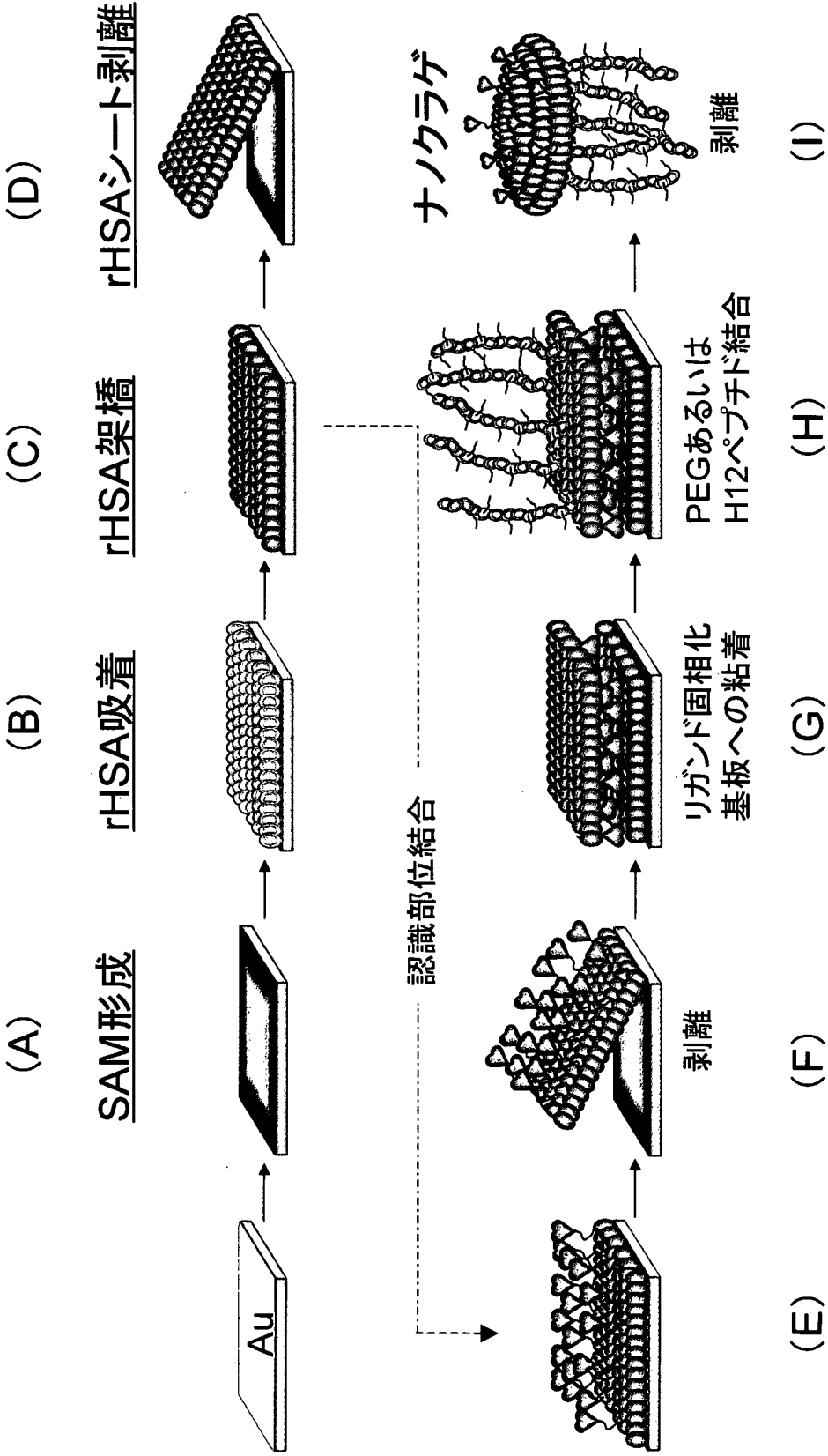


図 2

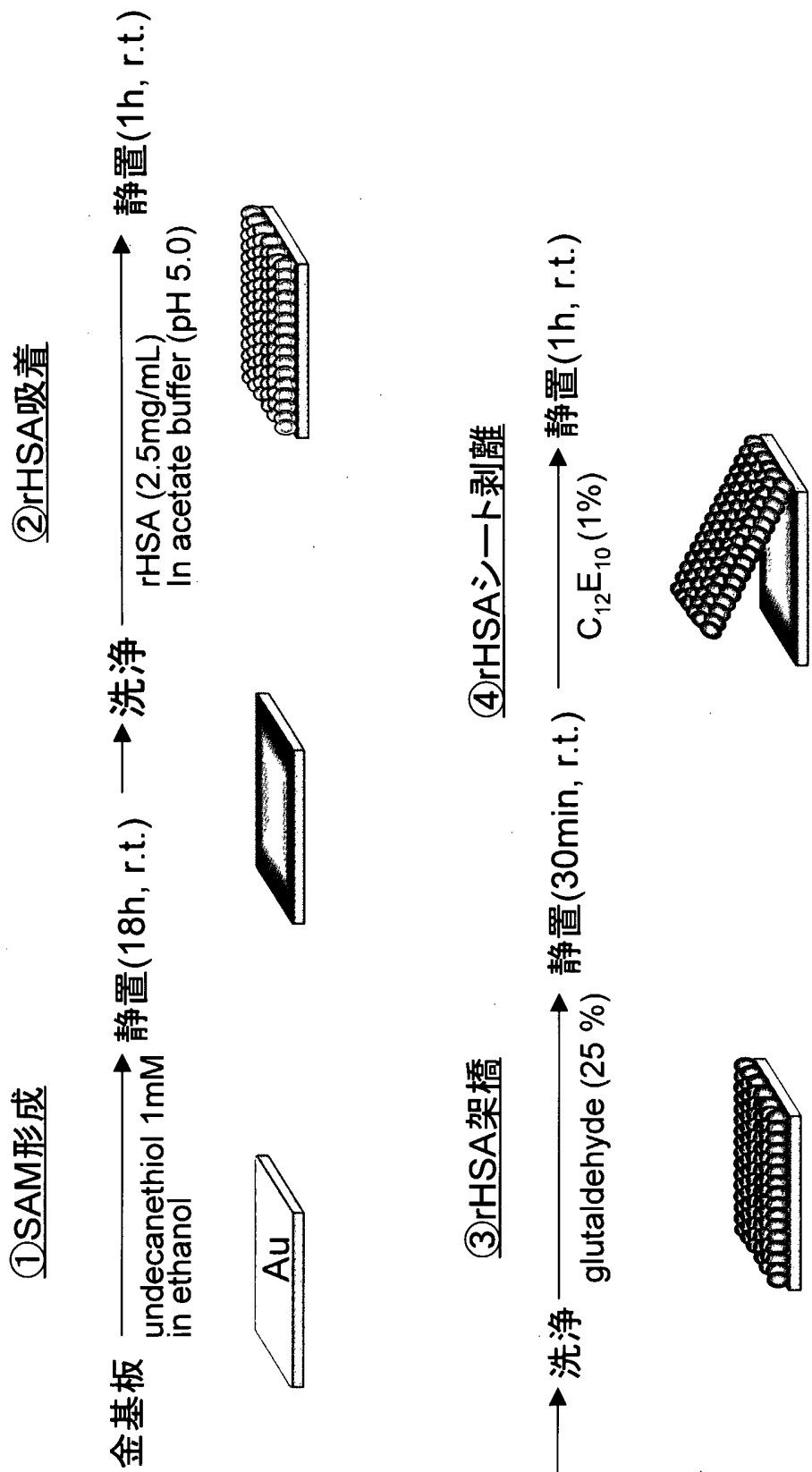


図 3

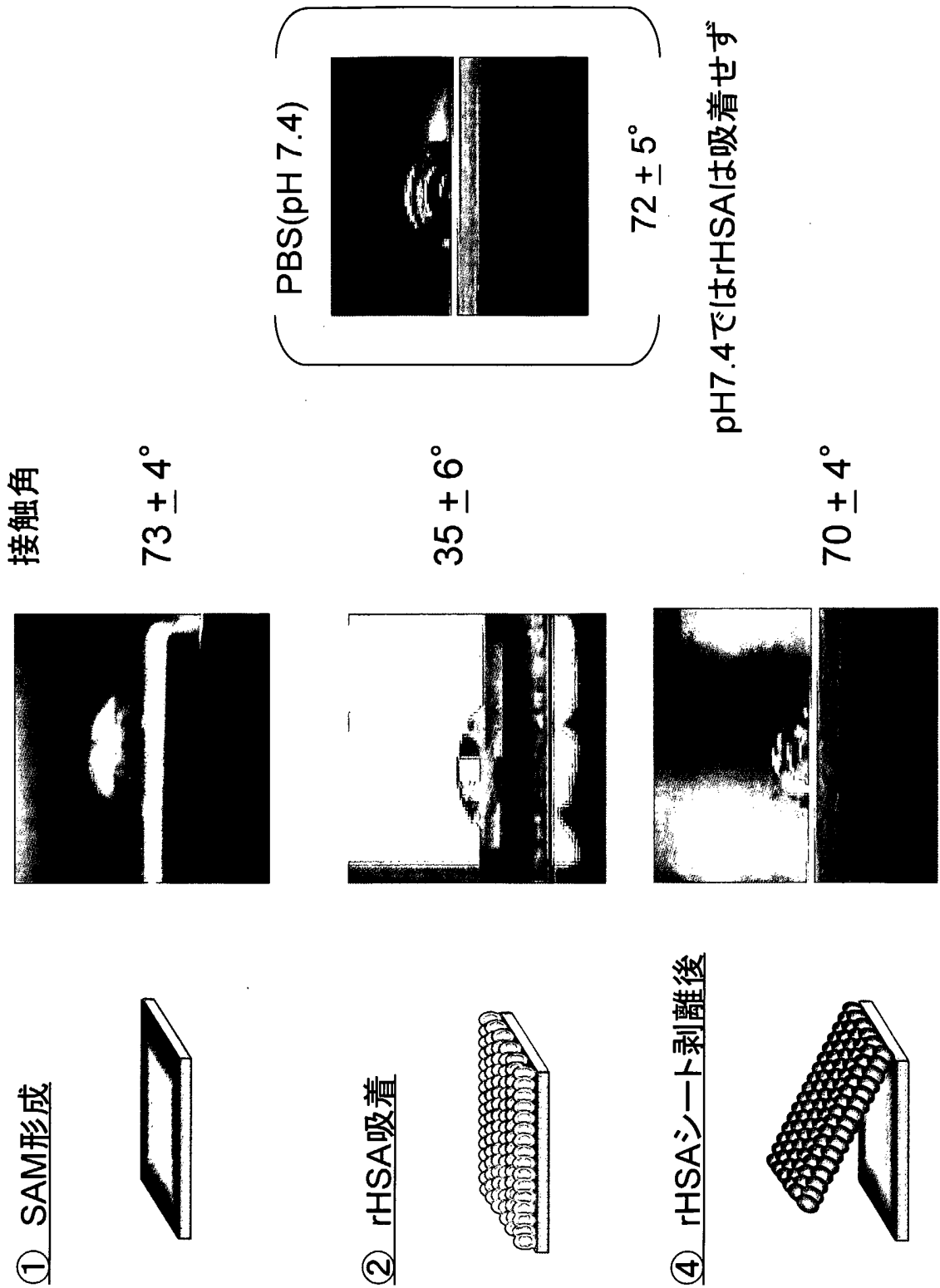


図 4

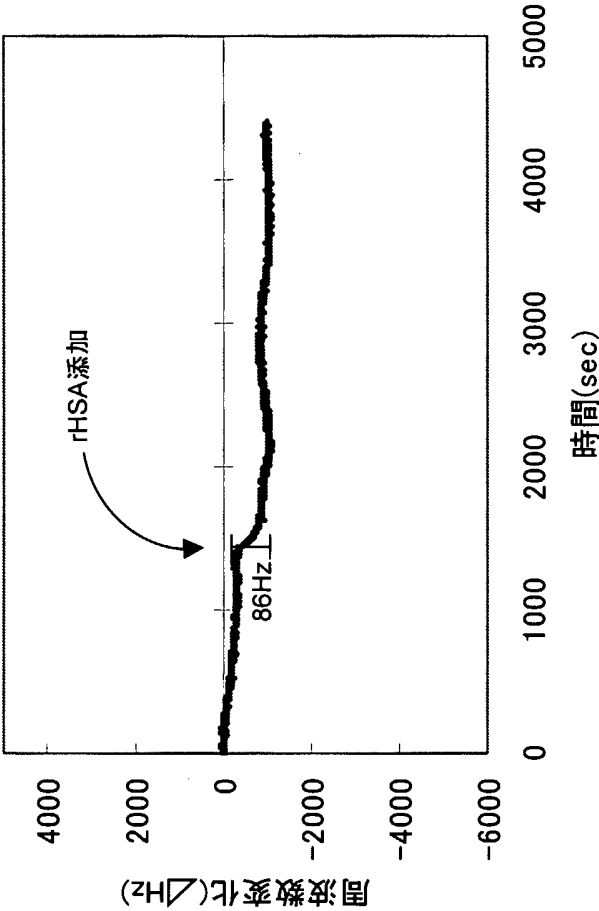


図 5



FITC標識rHSAシート(ガラス基板上)

1% C₁₂E₁₀添加



FITC標識rHSAシート(金基板上)

図 6

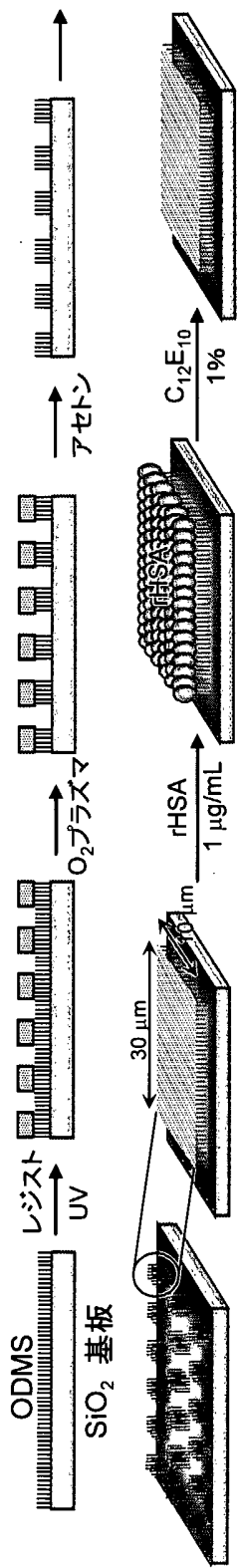
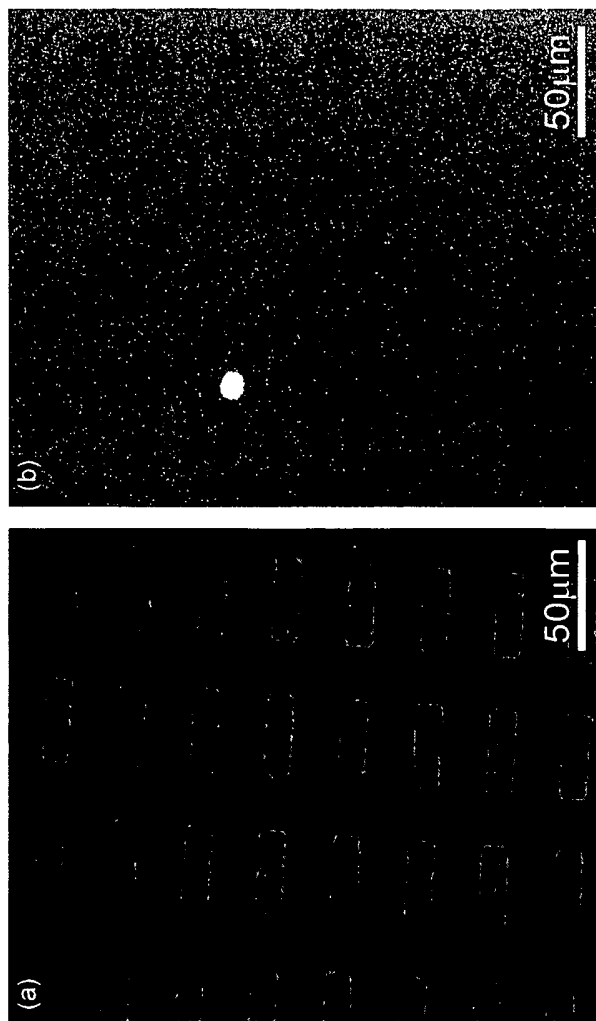
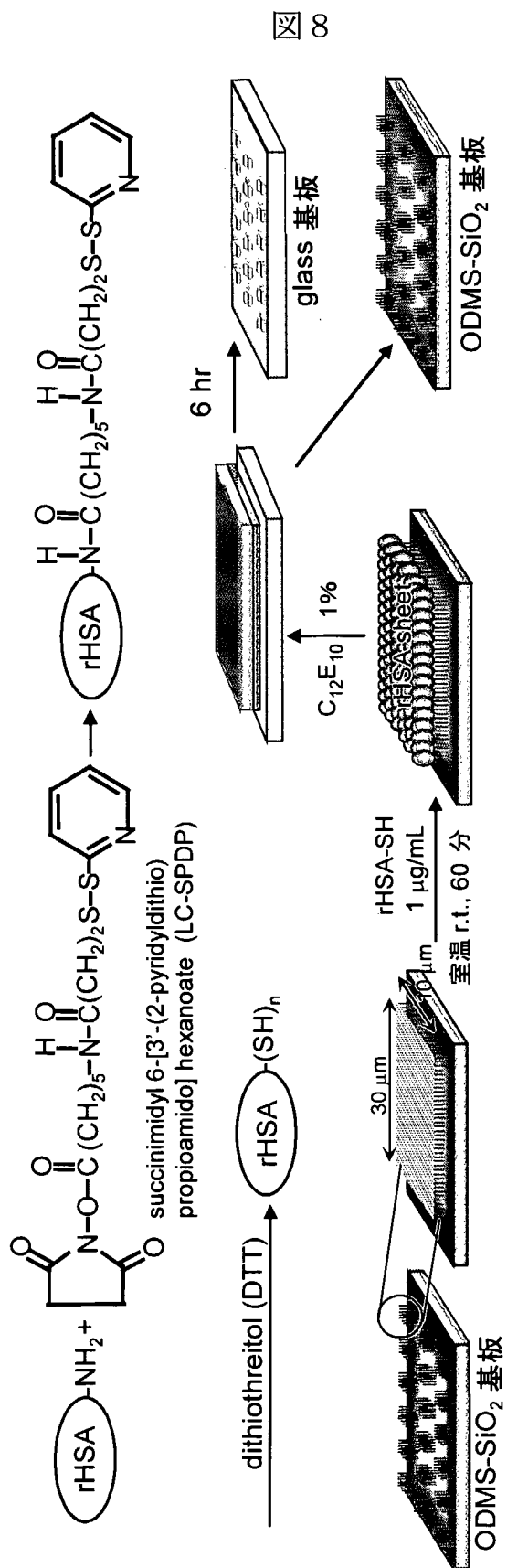


図 7





8

図 9

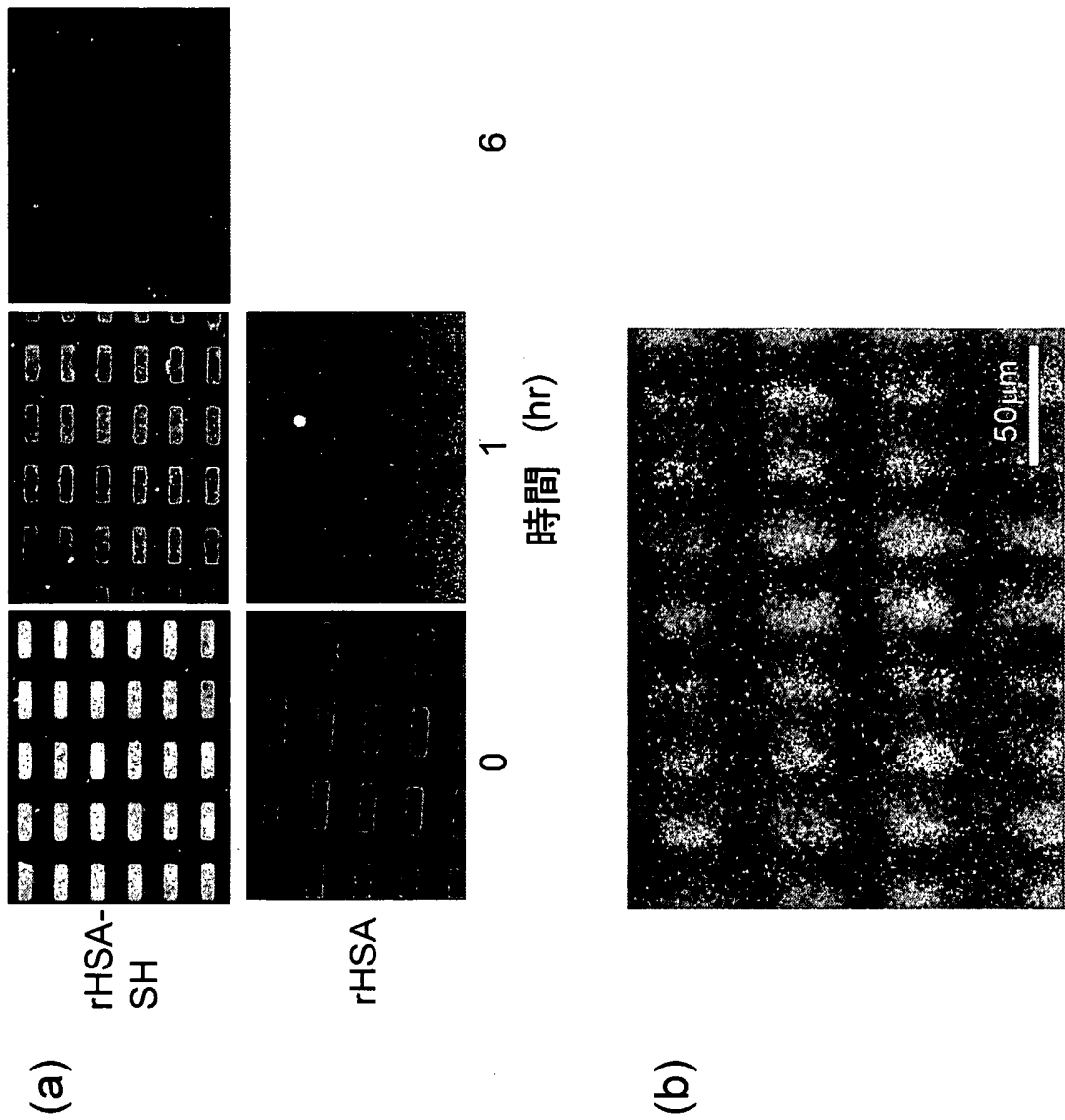


図 10

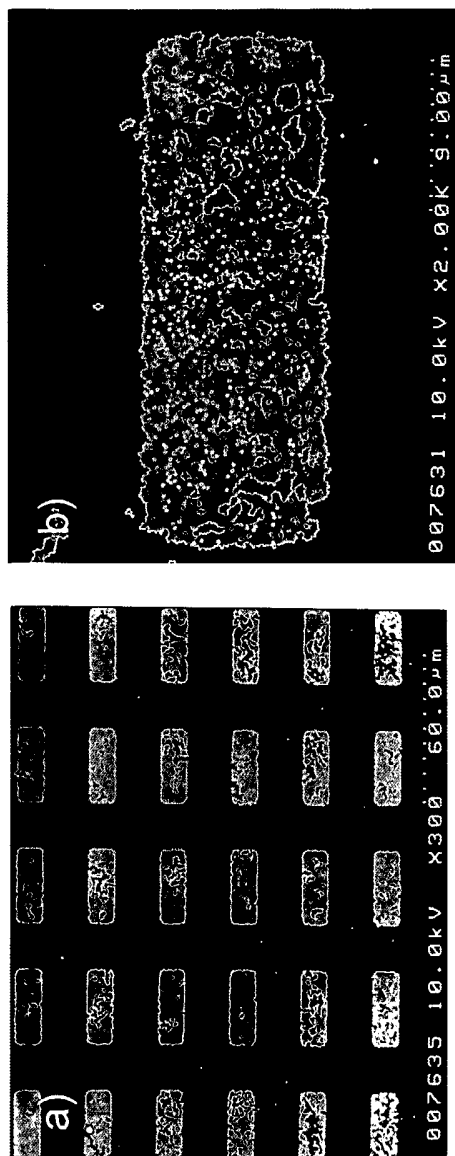
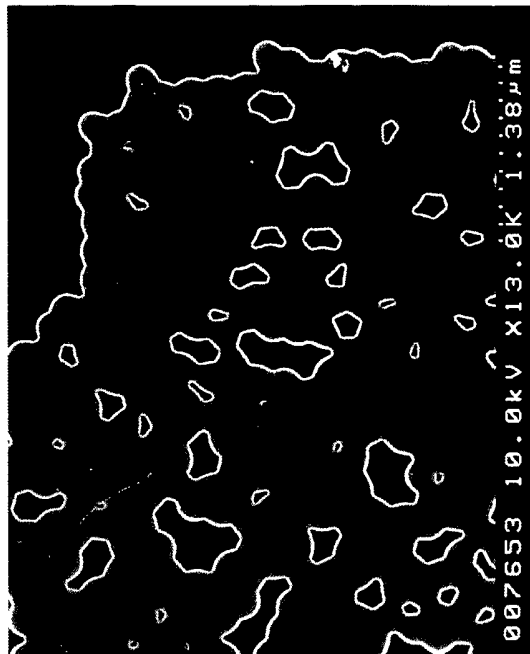


図 11



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/016371

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C08J5/18 (2006.01) , **B29C41/12** (2006.01) , **B32B9/00** (2006.01) ,
B82B3/00 (2006.01) , **C08L89/00** (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C08J5/18 (2006.01) , **B29C41/12** (2006.01) , **B32B1/00-35/00** (2006.01) ,
B82B3/00 (2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 WPIL (QWEB)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/103854 A1 (THE BOARD OF REGENTS FOR OKLAHOMA STATE UNIVERSITY), 18 December, 2003 (18.12.03), All texts & US 2004-0038007 A1 & AU 2003-238909 A1	1-41
X	JP 2003-528755 A (THE BOARD OF REGENTS FOR OKLAHOMA STATE UNIVERSITY), 30 September, 2003 (30.09.03), Full text & WO 01/72878 A1 & US 2001-0046564 A1 & AU 2001-52982 A1 & EP 1285024 A1	1-41

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
 07 November, 2005 (07.11.05)

Date of mailing of the international search report
 22 November, 2005 (22.11.05)

Name and mailing address of the ISA/
 Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/016371

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2003-535063 A (THE BOARD OF REGENTS FOR OKLAHOMA STATE UNIVERSITY), 25 November, 2003 (25.11.03), Full text & WO 01/91808 A1 & US 2002-015679 A1 & AU 2001-75078 A & EP 1286705 A2 & US 6689338 B2	1-41

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. **C08J5/18** (2006. 01), **B29C41/12** (2006. 01), **B32B9/00** (2006. 01), **B82B3/00** (2006. 01),
C08L89/00 (2006. 01)

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. **C08J5/18** (2006. 01), **B29C41/12** (2006. 01), **B32B1/00-35/00** (2006. 01), **B82B3/00** (2006. 01)

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 0 5 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 0 5 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 0 5 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPIL (QWEB)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 03/103854 A1 (THE BOARD OF REGENTS FOR OKLAHOMA STATE UNIVERSITY) 2003. 12. 18, all texts &US 2004-0038007 A1 &AU 2003-238909 A1	1-41
X	JP 2003-528755 A (ザ・ボード・オブ・リージェンツ・フォー・オクラホマ・ステート・ユニバーシティ) 2003. 09. 30, 全文 &WO 01/72878 A1 &US 2001-0046564 A1 &AU 2001-52982 A1 &EP 1285024 A1	1-41

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

0 7 . 1 1 . 2 0 0 5

国際調査報告の発送日

2 2 . 1 1 . 2 0 0 5

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)
郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5
東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

大熊 幸治

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 7

4 J

9 0 4 2

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2003-535063 A (ザ・ボード・オブ・リージェンツ・フォー・オ クラホマ・ステート・ユニバーシティ) 2003.11.25, 全文 &WO 01/91808 A1 &US 2002-0015679 A1 &AU 2001-75078 A &EP 1286705 A2 &US 6689338 B2	1-41