

補助事業番号 2021M-115

補助事業名 2021年度 進化分子工学が拓く金属3D積層造形法に用いる粉末技術の革新  
補助事業

補助事業者名 東北大学・教授・山本 雅哉

## 1 研究の概要

本研究では、金属粉末粒子の表面を有機材料でコーティングすることにより、金属粉末粒子の流動性を向上させ、より欠陥の少ない金属 3D 積層造形を実現することを目指した。軽量、高強度、高耐食性、高生体適合性の観点から、Ti6Al4V 合金が、3D プリント用合金として生体材料への応用を期待されている。3D 積層造形法の代表的なものに、パウダーヘッド法があり、用いられる粉末には、高い流動性と高密度充填性が求められている。そこで着目したのが、配列を自由にデザインでき、精密な重合が可能であるペプチドである。荷電性のアミノ酸を有し、かつ金属粉末表面と特異的に相互作用する配列を有するペプチドを作製することを試みた。本研究の核となる金属粉末表面との特異的に結合する配列は、ファージディスプレイ法を用いて決定した。結果として、いくつかの特異的に結合するペプチド配列を決定し、電気化学発光法を用いて、ペプチドと Ti6Al4V が結合することを確認できた。

## 2 研究の目的と背景

近年、金属3D積層造形は、耐熱性や精密加工が必要とされる構造物や部品をはじめ、医療機器製造まで、広範な製造分野で注目されている。特に、均質で欠陥の少ない造形物を得るためには、粉末流動性の向上が必要である。しかし、従来のアプローチは、金属組成の制御や粒径や凹凸などの物理的な表面加工などに限定されている。さらに、流動性の改善が示されているカーボンナノチューブなどによる表面修飾では、非特異吸着により修飾されたカーボンナノチューブが金属粉末表面から剝離する表面修飾の不安定性が課題である。

本研究目的は、金属3D積層造形に要求される流動性の高い金属粉末を実現する新技術を、生物進化に立脚した進化分子工学の手法に基づいて開発することである。すなわち、ファージディスプレイ法に基づき金属粉末表面に対して10億分の1の特異性により吸着するペプチド分子1つを選別することにより安定な表面修飾を達成する。さらに、電荷を有するアミノ酸を導入することにより、静電反発による高い流動性を実現する。これにより、様々な製造分野への応用が進められている金属3D積層造形技術の発展に対して、ファージという生物を使ったグリーンプロセスに基づき、環境に優しい手段で設計した特異性の高い分子を用いた金属粉末表面処理技術を開発することを目的とした。

## 3 研究内容

(1)進化分子工学によるTi6Al4V粉末に高親和性をもつ分子の設計

ファージディスプレイ実験は Ph.D.-12 Phage Display Peptide Library Kit (New England

BioLabs) を用いて同社提供のプロトコルに従って行った。ガスアトマイズ法で調製された Ti6Al4V 粉末 (粒径約 25  $\mu\text{m}$ ) はアセトン、エタノール、超純水、トリス緩衝生理食塩水を用いて超音波処理したものを用いた。ペプチド配列は DNA シークエンスにより決定し、その後 Fmoc 固相ペプチド合成法により Ti6Al4V に結合する 12 残基のペプチド配列と負に帯電したグルタミン酸配列を有するペプチドを合成した。得られた合成ペプチドはマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOF-MS) によって確認した。また、アビジン修飾ホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP) の電気化学発光 (ECL) 反応により、合成ペプチドと Ti6Al4V との結合能を調べた。

図 1 に示すとおり、ファージディスプレイ法を用いて Ti6Al4V 粒子と結合性の高いペプチド配列 (SHYDPYVSANII) を同定することができた。ECL 測定により、Ti6Al4V 粒子表面にペプチドが結合していることがわかった。

Peptide sequence	出現数
①SHYDPYVSANII	56
③MSYTRNGFDMSN	17
④DADSSSVWKAIV	2
上記以外	9
Total	84

図1 ファージディスプレイにより同定したアミノ酸配列

次に、このペプチド配列に負電荷としてグルタミン酸を導入したSHYDPYVSANII-(GE)<sub>4</sub>をFmoc 固相合成法により合成した。得られたペプチドのMALDI-TOFスペクトル(図2)より、目的分子の合成を確認した。

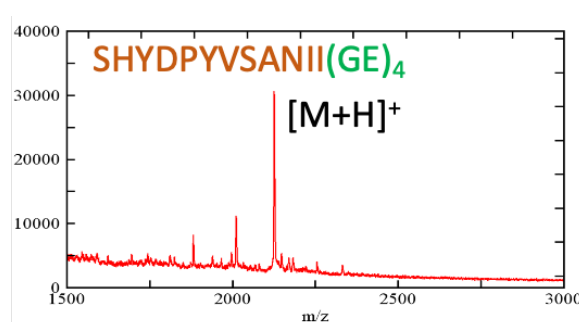


図2 Fmoc固相合成法による目的ペプチド分子の合成

## (2) 表面修飾Ti6Al4V粉末の流動性評価

流動性を評価する前段階として、(1)で合成した分子を用いた金属粉末表面処理と金属粉末の表面に吸着した分子の脱離について評価した。図3に金属粉末表面に吸着した分子の脱離について検討した結果を示す。界面活性剤を用いて表面処理した金属粉末を洗浄したところ、洗浄後

でも金属粉末表面に吸着した分子が残存していることがわかった。このことは、金属粉末表面と設計した分子とに強い相互作用が働き、分子が表面から脱離しなかったことを示唆している。

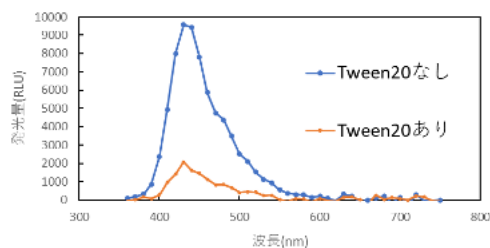


図3 界面活性剤処理前後のHRPの化学発光スペクトル

#### 4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

進化分子工学に基づく金属3D積層造形に用いる金属粉末表面処理技術は、ファージという生物を使ったグリーンプロセスにより環境に優しい手段で特異性の高い分子を設計することができる方法である。近年、金属3D積層造形は、工業から医療まで、幅広く活用されており、金属粉末の表面処理技術として応用展開が可能である。さらに、この方法は、種々の金属にも適用可能であるという特色をもつ。したがって、粉末のみならず様々な金属表面処理技術としての応用も可能である。

#### 5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

細胞機能を調節することを目的とした高分子材料表面改質に関する研究を行ってきた。これまでは、材料から細胞、すなわち生き物へ働きかけるベクトルに主眼を置いて研究を進めてきたが、今回研究は、生き物から材料へ働きかける、これまでとは逆のベクトルに主眼を置いて研究を進めた。その結果、生き物を利用したグリーンプロセスにより金属表面に対して特異性を有する分子を選別することができた。金属表面と得られた分子との結合様式がわかれば、さらに特異性をたかめることも可能であると考えられ、より性能の良い表面処理技術が開発される可能性がある。

#### 6 本研究にかかわる知財・発表論文等

なし(投稿論文準備中)

#### 7 補助事業に係る成果物

(1)補助事業により作成したもの

なし

(2)(1)以外で当事業において作成したもの

なし

## 8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名: 東北大学大学院工学研究科

(トウホクダイガクダイガクインコウガクケンキュウカ)

住 所: 〒980-8579

宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉6-6-02

担 当 者: 教授 山本 雅哉(ヤマモト マサヤ)

担 当 部 署: 材料システム工学専攻(ザイリョウシステムコウガクセンコウ)

E - m a i l: masaya.yamamoto.b6@tohoku.ac.jp

U R L: <http://www.material.tohoku.ac.jp/~seitai/>