

日本化学纖維研究所

講演集

第60集

2003年3月

日本化学纖維研究所

講演集

第60集

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu

Vol. 60

(Annual Report of the Research Institute
for Chemical Fibers, Japan : Vol. 60)

March 2003

2003年3月

財団法人 日本化学繊維研究所講演会 (第60回)

[第60回講演会：平成14年11月21日、京大会館101号室]

目 次

1. 蛍光プローブによる高密度表面グラフト鎖のナノ秒ダイナミクスの研究.....(1)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○伊藤 紳三郎、西浦 卓志
青木 裕之
2. 遷移金属錯体によるリビングラジカル重合：触媒の新展開.....(9)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○澤本 光男、上垣外 正己
安藤 剛
3. ポリ-*n*-ヘキシルイソシアナートの平均二乗光学異方性.....(17)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○吉崎 武尚、長 昌史
4. 高分子会合ダイナミクスのブラウン動力学シミュレーション.....(21)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○古賀 毅、古谷 勉
田中文彦
5. ヘリックスペプチド単分子の電気的特性.....(27)
京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 ○木村 俊作、北川 和哉
森田 智行、森野 寛啓

特別講演

- 新規耐熱性ポリアミドの開発と市場開発.....(35)
株式会社クラレ 機能性材料推進部 柏村 次史
6. 天然ゴムの伸長結晶化について.....(43)
1) 京都大学化学研究所 ○糴谷 信三¹⁾、村上 昌三¹⁾
2) ニューヨーク州立大学 登阪 雅聡¹⁾、S. Poombadub¹⁾
土岐 重之²⁾、B. S. Hsiao²⁾
7. リビングラジカル重合の反応速度論：理論と実験の絶対比較.....(49)
京都大学化学研究所 ○福田 猛、後藤 淳
吉川 千晶
8. イメージングプラズモン共鳴装置の試作と細胞チップへの応用.....(57)
京都大学再生医科学研究所 平田 伊佐雄、有馬 祐介
加藤 功一、○岩田 博夫
9. カチオン化ゼラチンと超音波の組み合わせによる遺伝子発現の増強.....(63)
京都大学再生医科学研究所 ホセイン・ホセインカニ、青山 輝義
○田畑 泰彦
10. ヘテロ多糖類の酵素触媒合成.....(71)
京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 ○小林 四郎、大前 仁
藤川 俊一、牧野 顕
森 知紀
11. 3元トリブロック共重合体の相転移 (II).....(77)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○橋本 竹治、山内 一浩
長谷川 博一

蛍光プローブによる高密度表面グラフト鎖の ナノ秒ダイナミクスの研究

伊藤 紳三郎・西浦 卓志・青木 裕之

Shinzaburo Ito, Takashi Nishiura, Hiroyuki Aoki

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. 緒言

物質機能の多くは材料表面・界面の「はたらき」で決められている。機能の起源を見ると、分子、イオン、電子、ホール、エキシトン、タンパク等、さまざまな機能を担う素子(エレメント)が、物質の表面・界面でダイナミックに働き、きわめて多様な機能を演出していることがわかる。例えば、電極表面の電子特性、化学物質の触媒活性や反応性、材料の吸着、接着、濡れ等の物理的性質、摩擦、硬度のような力学特性、さらには生物・医療材料としての生体活性まで、実に多彩な機能が表面特性で支配されており、かつその多くは機能を担うエレメントの移動現象、つまりダイナミクスにより決められている。

一方、3次元的な均一空間における現象や物性については、我々の理解と知識は豊富であるが、表面・界面のような2次元の特性についての理解は極めて乏しい。低次元機能材料において、それらの機能エレメントのダイナミクスを明らかにすることは、材料機能の本質の理解と機能設計に基本的な指針を与える必須の要件であることがわかる。原子間力顕微鏡(AFM)を初めとする静的な構造解析技術は近年飛躍的に進歩したにもかかわらず、低次元材料での機能エレメントの動的なダイナミクスについてはあまりにも未知の部分が多く残されており、またその機能解析・評価技術においても大きく立ち後れている。当研究室ではかねてより、蛍光プローブ法の一つとして蛍光偏光解消法による高分子鎖ダイナミクスの研究を行ってきた¹⁻³⁾。蛍光法の特長は、一分子や一分子層でも検出できる高い感度、1ピ

コ秒にも及ぶ高速時間分解能、特定部位を染色して観測できる選択性、さらに分子情報や分子を取り巻く環境をモニターできるアクセシビリティ等々、研究手段として数々の利点を有している。特に、高い検出感度と時間分解能は、分子数の圧倒的に少ない表面・界面における分子ダイナミクスを観測するためにはなくてはならない要件である。この利点を用いてこれまでに、エネルギー移動法による高分子超

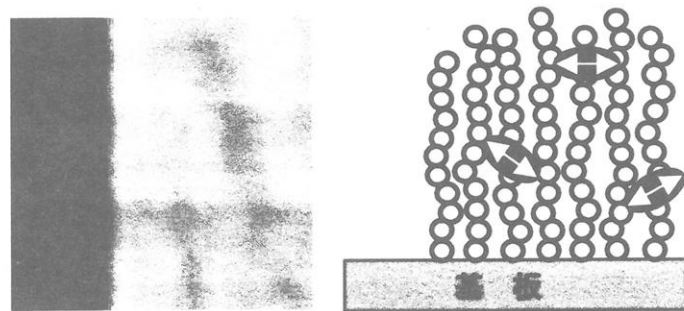


Figure 1 (左図)AFMにより観測される高密度表面グラフト鎖の静的な表面形態像。左端(黒色部)は掘削により露出した基板表面を、右側(白色部)はグラフト鎖表面を示す。1辺は10 μm 。(右図)本研究で対象とする蛍光プローブによるグラフト鎖のダイナミクスの概念図。

薄膜の内部構造の研究^{4,5)}、近接場光学顕微鏡による2次元高分子の相分離構造の評価⁶⁾、蛍光偏光解消法による高分子単分子膜の分子運動⁷⁾を報告してきた。今回は、最近開発されたリビングラジカル重合⁸⁾により作製される高密度グラフト表面に蛍光偏光解消法を適用し、その動的特性を初めて捉えた結果を報告したい。

2. リビングラジカル重合による高密度グラフト表面の作製

リビングラジカル重合は、これまでリビング重合が難しかった多種多様なモノマーに制御精密重合の手段を提供した。とりわけ福田らは、リビングラジカル重合の一種である ATRP (atom transfer living radical polymerization) 法を表面グラフト鎖の作製手段として発展させ、機能界面の設計に新しい自由度を与えるとともに、その特異な性質を明らかにしてきた^{9,10)}。我々はこの化学的手法により形成されるグラフト表面が機能組織材料の設計構築に極めて有用であると考え、光電子機能性モノマーの重合を試みている¹¹⁾。また、光プローブとして働く蛍光性基を側鎖にもつビニルモノマーを導入し、蛍光法による特性解析を進めてきた。今回報告する研究では、グラフト鎖高分子として、poly(methyl methacrylate) (PMMA) を採用し、偏光解消測定のための蛍光プローブとしてアントラセン基をもつ 9-anthrylmethyl methacrylate を共重合により 1% 以下の組成でグラフト鎖に導入した (Figure 2)。

試料基板として石英ガラスを用いた。H₂O₂/H₂SO₄混酸で処理した親水性基板を、固定化重合開始剤となる、2-(4-chlorosulfonylphenyl)ethyl-trichlorosilane (CTCS) の 1 wt% THF 溶液に浸すことにより、CTCS を共有結合で基板上に固定した (Figure 3)。

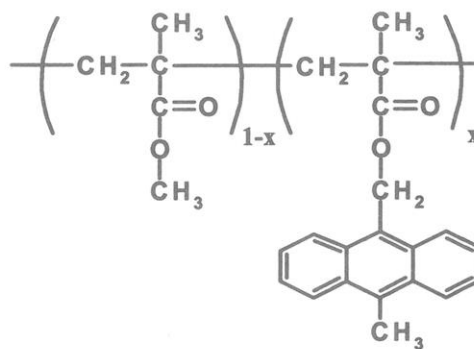


Figure 2 リビングラジカル重合により作製された PMMA 表面グラフト鎖の化学構造。蛍光ラベルとして用いるアントラセン基の導入率 x は 1% 以下に抑えられている。

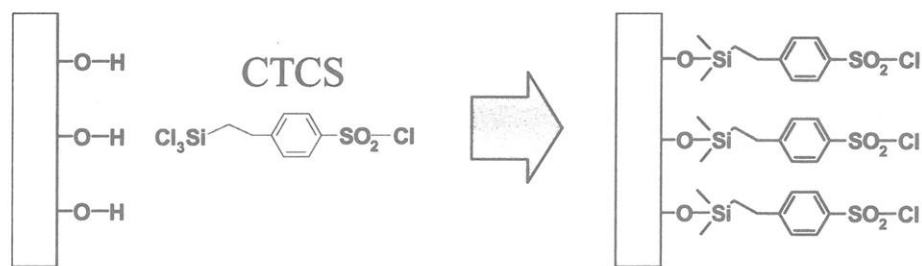


Figure 3 石英基板上での CTCS 開始剤の固定化

このようにして処理された石英基板を THF により洗浄し、乾燥させて後、重合溶液に浸す

ことで表面グラフト鎖を合成した。

開始剤として、基板上に固定化したCTCS以外に *p*-toluenesulfonyl chloride を溶液に加え、グラフト重合と同時に溶液中に高分子鎖を生成させ、重合の進行をモニターする分子量の基準とした。重合溶媒としてanisole、触媒としてcopper(I) bromide、リガンドとしてsparteine を用いた。重合は脱気封管中にて 90 °C で行い、重合時間を変えることによりグラフト鎖の鎖長の異なる試料を合成した。反応後にグラフト基板をトルエンを用いて Soxhlet 抽出により洗浄した。溶液中に生成したPMMAは、良溶媒としてトルエン、貧溶媒としてメタノールを用い再沈殿操作により精製し、GPC 測定に利用した。

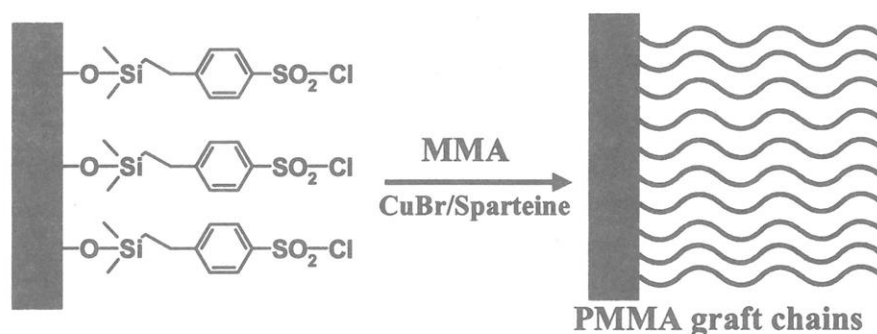


Figure 4 固定化開始剤から進行する ATRP により得られる高密度グラフト表面の模式図。

得られたグラフト基板へのアントラセン導入率の決定は、分子数が微量であるため紫外可視吸収分光法では不可能であった。そこで、導入量が既知の標準試料により蛍光強度検定線を作成し、蛍光発光分析により決定した。

表面グラフト鎖の乾燥状態での膜厚評価は、原子間力顕微鏡(AFM)により測定した。作製したPMMAグラフト試料の表面の一部をピンセットを用いて掘削し、試料表面と露出した基板との高低差をAFMにより観察することで、グラフト鎖の膜厚をもとめた。また、乾燥状態での表面グラフト膜の密度が、PMMAのバルク中の密度 1.20 g cm^{-3} と同一であると仮定し、膜厚の測定値 d からグラフト密度 ρ (単位面積あたり的高分子鎖の数)をもとめた。

以上のような結果、得られたグラフト鎖、グラフト表面の特性値を Table 1 に記載した。

Table 1 ATRP法により作製されたPMMAグラフト試料の特性

試料	形態	分子量 M_n	分散 M_w/M_n	膜厚 d (nm)	導入率 x (%)	グラフト密度 ρ (chains/nm ²)
G1	Graft	50,000	1.15	19	0.58	0.27
G2	Graft	20,000	1.05	15	0.85	0.56
G3	Graft	17,000	1.12	7	0.79	0.30
F1	Free	20,000	1.05	-	0.85	-

分子量分散 M_w/M_n はいずれも 1.2 以下であり、リビング重合により重合度の揃った試料が得られている。蛍光プローブの導入率は励起エネルギー移動による消偏光を抑制するため、1%以下に調整されている^{12,13)}。AFM により測定された乾燥膜厚は、例えば G2 の試料では 15 nm もあり、これは MMA の 100 量体がおおよそ 7 nm の薄膜に相当することを示している。この膜厚はグラフト密度が一定であれば分子量と比例関係にあることも確かめられた。また、膜厚と密度よりグラフト面密度をもとめると 0.56 chains/nm^2 となり、福田らが報告した高密度鎖の値 0.7 に近いことがわかった¹⁰⁾。

3. 時間分解蛍光偏光解消の測定

グラフト高分子鎖のダイナミクスを調べるために時間相関単一光子計数 (Single Photon Counting (SPC) 法により蛍光偏光解消測定を行った。本実験における光学系を Figure 5 に示す。光源としてチタンサファイアピコ秒パルスレーザーの第2次高調波を用い、励起波長を 400 nm とした。入射光の偏光軸 P に平行な遷移モーメント M をもつアントラセン基が選択的に励起され、その発する蛍光は M 方向に偏光している。この遷移モーメントの方向分布は高分子鎖の分子運動とともに異方性を失い等方的になるので、蛍光の異方性比 $r(t)$ から、高分子鎖の運動性を評価することができる。

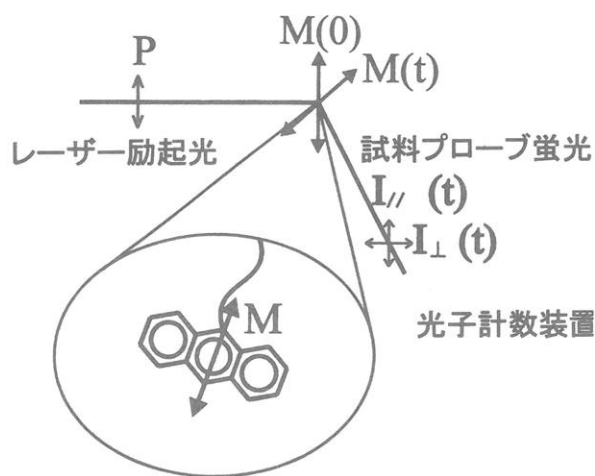


Figure 5 蛍光偏光解消測定の原理と観測光学系。グラフト鎖に導入されたアントラセンプローブが発する蛍光偏光度の時間依存性より分子運動の速さを測定する。

$$r(t) = \frac{I_{//} - I_{\perp}}{I_{//} + 2I_{\perp}} \quad (1)$$

ここで $I_{//}$ 、 I_{\perp} はそれぞれ入射光の偏光軸 P に対して平行偏光成分強度と垂直偏光成分強度を表す。また、測定結果から得られた $r(t)$ については 2 成分からなる次式によりフィッティングを行った。

$$r(t) = r_0 [x_1 \exp(-t/T_1) + x_2 \exp(-t/T_2)] \quad (2)$$

ここで T_1 、 T_2 は異方性比 $r(t)$ の時間減衰に関与する 2 種の運動モードに由来する緩和時間を示し、 x_1 、 x_2 はそれぞれの成分の分率を表している。当然のことながら、高分子鎖の運動緩和は多成分であり 2 種に限定されるものではないが、解析上、2 種の緩和時間成分で代表させ、また良好に実験結果を近似できるという意味である。

さらにこのフィッティングにより得られたパラメーターを用いて次式により平均の緩和時間 T_m を計算した。

$$\langle T_m \rangle = r_0^{-1} \int_0^{\infty} r(t) dt = x_1 T_1 + x_2 T_2 \quad (3)$$

T_m はプローブから発光する偏光が異方性を失っていく緩和速度を表す時定数であり、高分子鎖の局所運動の大きさの評価基準となる。この緩和時間を用いて結果を考察することにした。

実際の測定では強力なレーザー励起光が散乱して観測系に入るのを防ぐため、Y44 と SC42 の二つのカットフィルターを用いた。また測定溶媒としてはラマン散乱光の少ない酢酸エチルを用いた。酢酸エチルはPMMAの両溶媒であることが知られている。

4. 蛍光偏光解消法による表面グラフト鎖の運動性の評価

4-1 溶液中のPMMAフリーポリマーと表面グラフト試料の比較

石英基板上的PMMAグラフト試料 G2 ($M_n = 20,000$, $\rho = 0.56$ chains/nm²)と、溶液中のPMMAフリーポリマーについて、酢酸エチル中で蛍光偏光解消測定を行った。異方性比 $r(t)$ の時間減衰のグラフを Figure 6 に示した。プロットが実験値、実線・破線はそれぞれの試料に対する2式によるフィッティング曲線である。

この結果3式により得られる平均緩和時間 T_m は高分子鎖の局所運動の速さの評価基準となりうる。この T_m 値は、溶液中のPMMA鎖 F1(破線) では 3.6

ns であるのに対し、同じ溶媒温度でグラフト鎖 G2 (実線)では 31 ns と 10 倍もの値を示した。フリーポリマーでは溶媒分子と高分子鎖の衝突に由来するミクロブラウン運動による 600 ps 程度の減衰の速い成分が大きな分率を占めている。一方、グラフト試料は速い成分の分率は下がり、46 ns と減衰のかなり遅い成分が大きな分率を占めるようになる。このため、蛍光偏光の異方性は長時間が経過しても保持されている。グラフト鎖の伸びた形態の先端部では比較的自由な運動がわずかに起こっているが、高分子鎖の中央部は空間

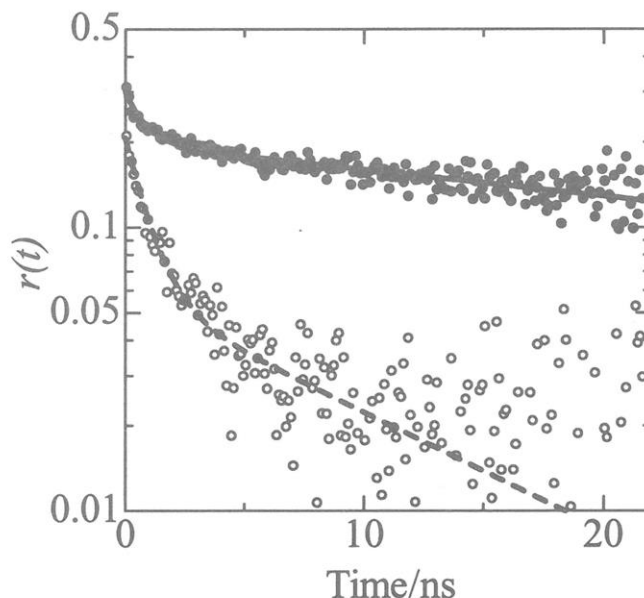


Figure 6 酢酸エチル中での蛍光異方性比 $r(t)$ の時間減衰。(●PMMA グラフト試料 G2, ○溶液中のPMMA 鎖 F1)

的に制限された空間内でしか運動することができず、減衰の遅い成分として観測されたと思われる。グラフト鎖が高密度表面という限定された空間内で、束縛運動を行っていることを示している。

4-2 表面グラフト鎖の運動性に対する分子量効果

次に、グラフト密度がほぼ等しく分子量の異なる2つの試料 G1 ($M_n = 50,000$, $\rho = 0.27$ chains/nm²)、G3 ($M_n = 17,000$, $\rho = 0.30$ chains/nm²) について、酢酸エチル中での異方性比 $r(t)$ の比較を行った。 $r(t)$ の時間減衰を Figure 7 に示した。その特徴としては、極めて遅い緩和時間成分が多くを割合を占めているが、分子量の減少により速い成分の寄与が大きくなる点である。

前項と同様、解析結果を T_m で見ると、 T_m は分子量の大きいG1では約60 ns、分子量がその1/3程度のG3 では約15 nsであり、分子量の大きなグラフト鎖の方が明らかに運動性の低いことが分かる。この密度でのグラフト鎖の伸びた形態から考えると、分子量によらず、鎖の自由末端から一定の範囲に比較的運動性の大きい領域があるはずである。また同じ理由で、グラフト鎖の基板に近い側や中央部では、グラフト密度が同じであるため、運動性に差があるとは考え難い。したがって、Figure 8 に模式的に示したように、分子量の小さいグラフト試料では分子量の大きい試料に比べ、運動性の高い先端部分の分率が大きく、平均値で見ると T_m では、緩和時間が速くなったものと考えられる。

その結果、分子量の小さい試料では運動性が大きく、分子量の大きい試料では運動性

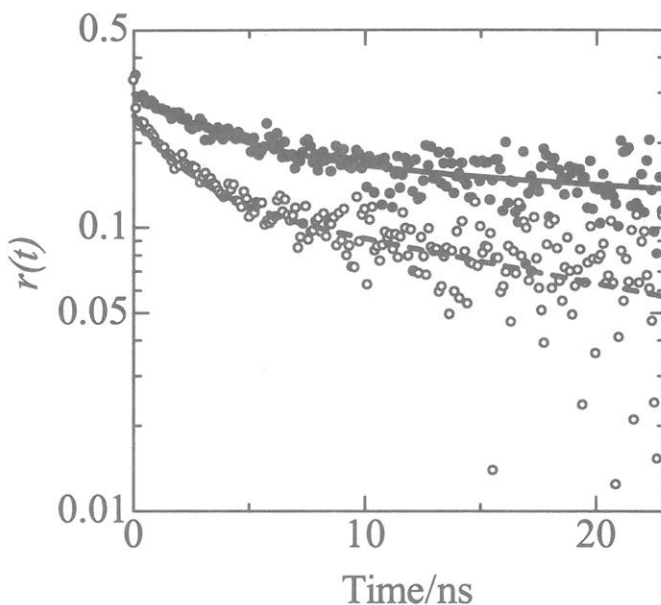


Figure 7 酢酸エチル中における蛍光異方性比 $r(t)$ の時間減衰の分子量依存性 (●: G1、○: G3)。図中の実線、破線は2式による解析結果を示す。

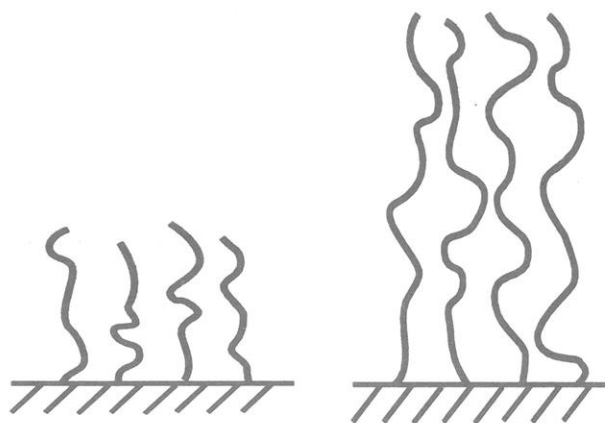


Figure 8 グラフト鎖の運動性に与える分子量効果の説明。先端部の運動性は高く、鎖全体に占めるその分率が低分子量（短い鎖）ほど大きくなる。

が小さく観測されたものと考えられる。

5. 計算機シミュレーションによるグラフト鎖の運動性の検討

最近、分子動力学(MD)シミュレーションが高分子の様々な物性の予測と解釈に使用されるようになった。今回の研究対象である表面グラフト鎖のダイナミクスについても、その運動性を理解するため、いくつかのモデル系について検討を行った。

MDシミュレーションには Discover 3 (MSI)を用い、京都大学化学研究所のスーパーコンピュータ (Origin2000) を使用した。計算にはグラフト鎖を表すモデルを設定しなければならないが、ここでは運動性を評価する PMMA 鎖を正六角形の中心に置き、その周りの6つの各頂点に、PMMA 鎖の可動空間を制限するために PMMA と同じ重合度をもつ1本のポリエチレン鎖を配置した。六角形の一辺を 1 nm とし、PMMA 鎖の一端を固定したうえで、300 K におけるダイナミクスを 3 ns まで計算した。Figure 9 には、30量体の PMMA 鎖の主鎖の自己相関関数を、溶媒末端から 1~15 ユニットについて示した。先端から基板方向(内部)へ近づくにつれて緩和時間が遅くなり、約 15 ユニットでは観測時間域では減衰しなくなるほどの極めて遅い緩和時間になった。計算による緩和時間と実測時間との間には、まだ大きな隔たりがあり定量的な議論はできないが、定性的には実験の傾向を説明している。つまり、グラフト鎖先端部分の運動性が内部と比較して速いため、緩和時間減衰には大きな分散がみられること、かつ長い方の緩和時間が溶液中の高分子鎖と比較して極めて遅いこと、分子量の増加に対しても平均緩和時間の増大が見られることなどである。MDシミュレーションのモデル系の設定をより現実に近づけ、扱う原子数や計算精度を上げることにより、より定量的な議論ができるものと期待される。

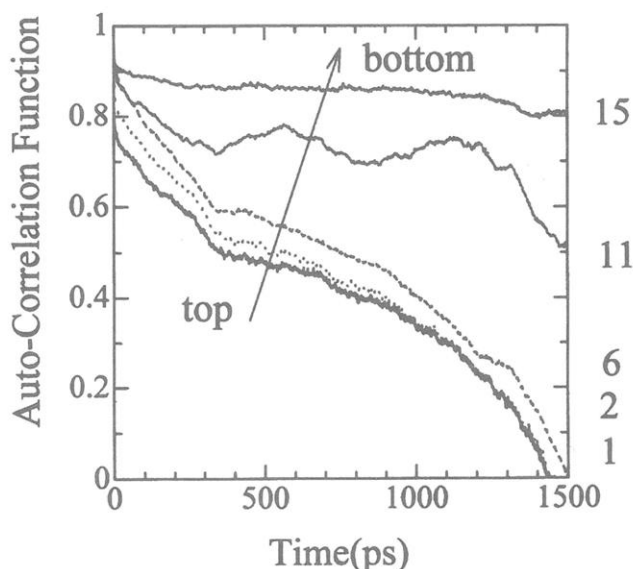


Figure 9 PMMA30量体グラフト鎖モデルの鎖各部について計算された自己相関関数の時間減衰。右端の数字はグラフト鎖先端からのユニット数を表す。

6. 結語

微量の分子特性観察にも応用できる高感度の蛍光偏光解消法を用いることで、高密度表面グラフト鎖のダイナミクスを初めて観察することができた。固体表面上の PMMA グラフト鎖は、溶媒分子との衝突やグラフト鎖間の相互作用により、制限された空間内で束縛運動を

しているものと考えられる。偏光解消による緩和時間の実測や MD シミュレーションの結果は、グラフト鎖の先端部が比較的速い運動性を有するものの、内部の鎖の緩和時間は極めて遅くなることを示した。蛍光法により実際に観測された緩和時間は多成分減衰しているが、これはプローブであるアントラセン基が試料のすべての部分にランダム共重合されていることにも起因している。選択的なラベル化を施すことによって、より定量的にグラフト鎖の各部分の運動性まで明らかにできるものと思われる。このような研究は、リビングラジカル重合法の開発により可能になった。表面のナノ構造の設計構築にも合成技術の進歩が大きな役割を果たすとともに、そのようにして得られたナノ構造やダイナミクスの研究に蛍光プローブ法が極めて有用であることを、本研究を通じて示すことができた。

謝辞

リビングラジカル重合による高密度表面グラフト鎖の合成についてご教示いただいた京都大学化学研究所の福田研究室の皆様へ感謝します。

文献

- 1) 山本雅英, 小野圭子, 堀中順一, 伊藤紳三郎, *日本化学繊維研究所講演集*, **53**, 1, (1996).
- 2) K. Ono, K. Ueda, T. Sasaki, S. Murase, M. Yamamoto, *Macromolecules*, **29**, 1584 (1996).
- 3) H. Aoki, J. Horinaka, S. Ito, M. Yamamoto, H. Katayama, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *Polym. J.*, **33**, 464 (2001).
- 4) S. Ohmori, S. Ito, M. Yamamoto, *Macromolecules*, **24**, 2377 (1991).
- 5) M. Mabuchi, K. Kawano, S. Ito, M. Yamamoto, M. Takahashi, T. Masuda, *Macromolecules*, **31**, 6083 (1998).
- 6) H. Aoki and S. Ito, *J. Phys. Chem., B*, **105**, 4558 (2001).
- 7) N. Sato, K. Sugiura, S. Ito, and M. Yamamoto, *Langmuir*, **13**, 5685 (1997).
- 8) "Controlled Radical Polymerization", ed by K. Matyjaszewski, ACS Symposium Ser., 685, Am. Chem. Soc., Washington DC (1998).
- 9) S. Yamamoto, M. Ejaz, Y. Tsujii, M. Matsumoto, T. Fukuda, *Macromolecules*, **33**, 5602 (2000).
- 10) S. Yamamoto, M. Ejaz, Y. Tsujii, T. Fukuda, *Macromolecules*, **33**, 5608 (2000).
- 11) 大岡正孝, 久野純平, 山下克浩, 大北英生, 伊藤紳三郎, 辻井敬亘, 福田猛 *高分子論文集*, **59**, 421 (2002)
- 12) N. Sato, S. Ito, K. Sugiura, M. Yamamoto, *J. Phys. Chem. A*, **103**, 3402 (1999).
- 13) N. Sato, Y. Ohsawa, S. Ito, M. Yamamoto, *Polym. J.*, **31**, 488 (1999).

遷移金属錯体によるリビングラジカル重合: 触媒の新展開

澤本 光男・上垣外 正己・安藤 剛

Mitsuo Sawamoto, Masami Kamigaito, Tsuyoshi Ando

京都大学 大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

昨年度に続き、本講演集¹⁾や総説²⁾にも述べたように、我々は「遷移金属錯体によるリビングラジカル重合」を世界に先駆けて開発し(図1)³⁾、より高い活性、選択性、適合性をもつ新規金属触媒の設計と探索、およびそれらに基づく精密重合系の開拓や高分子の精密合成を計っている。経済産業省・新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)・化学技術戦略推進機構(JCII)による「ナノテクノロジー・プログラム」のなかで、「精密高分子材料」プロジェクト(平成13-19年度; 2001-2007)が本格化して、ラジカル重合における高分子の一次構造精密制御を目指した産学官共同研究が展開されている。また、これらの研究は、国際的にも高い波及効果を及ぼし、数々の興味ある研究と開発が世界各地で行われている⁴⁾。

本稿では、これらの我々の研究のうち、とくに下記の最近の成果を要約する。

- (a) リビングラジカル重合の系統的開発 - 遷移金属錯体触媒の「進化」
- (b) 高活性・高適合性触媒の開発 - 新規ルテニウム錯体の設計
- (c) オレフィンと極性モノマーのラジカル共重合
 - 高活性ルテニウム(II) カチオン錯体および二核型鉄(I)錯体触媒の展開
- (d) 感熱性・両親媒性配位子をもつルテニウム錯体
 - 水中での精密ラジカル重合と金属触媒の効率的除去
- (e) 触媒機能を持つ星型ポリマー
 - ミクロゲル核へのルテニウム錯体の導入と触媒機能

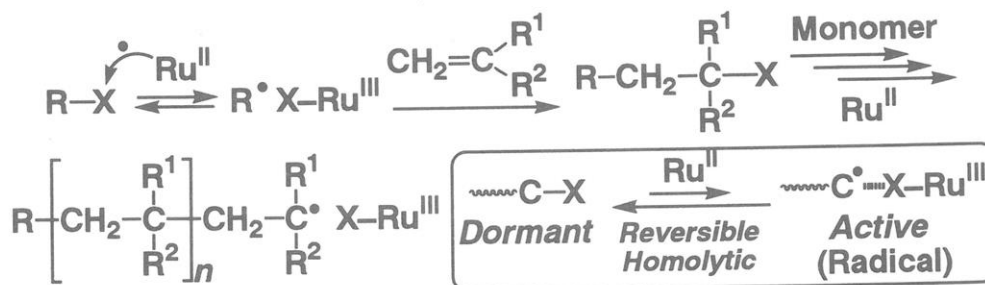


図1. 遷移金属錯体によるリビングラジカル重合。

2. リビングラジカル重合の系統的開発—遷移金属錯体触媒の「進化」

遷移金属錯体を触媒とするリビングラジカル重合では、金属錯体の性質が重合の制御における最も重要な因子であることは言うまでもない。また、金属触媒の開発は、ラジカル有機反応における金属錯体の化学を明らかにする上でも重要である。我々は、これまでにルテニウム(II)、ニッケル(II)、鉄(I)、鉄(II)、など種々の後周期遷移金属の錯体がリビングラジカル重合の触媒として有効であることを明らかにしてきたが、その過程で見出された触媒をその構造と特徴から整理すると、図2のようになる。

このような金属触媒の系統的開発は、(a)リビングラジカル重合に有効な金属触媒の範囲 (scope) を明らかにする、(b)より活性の大きい触媒を開発する、(c)より適合性の広い触媒を開発する、(d)これらを通じて、リビングラジカル重合の触媒の設計原理を解明する、等の諸点を主要な目的としている。

たとえば、(a)については、上記の後周期遷移金属の塩化物とその誘導体が有効であることが明らかになりつつある。(b)については、原理的に図1のように、ラジカルの瞬間的な濃度を減少させると、ラジカル生長特有の二分子停止が抑制されて重合の精密制御が可能となる、という作業仮説がほぼ確立されつつあるが、それに付随して生じる重合速度の低下を防ぐことが重要である。これらを可能にする触媒と

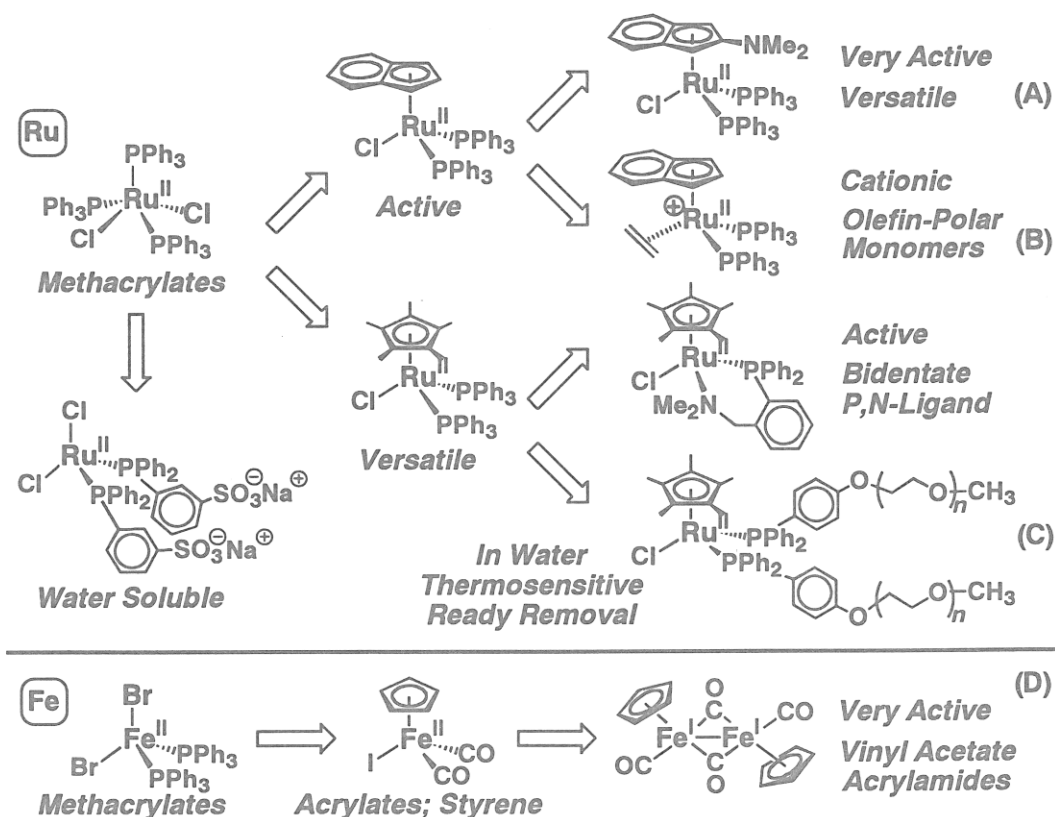


図2. リビングラジカル重合の遷移金属錯体触媒の「進化」。

しては、たとえばルテニウム・インデニル錯体があり、その発展型に、次節で述べるアミノインデニル錯体(A)が見出された。(c)については、従来「ある種類のモノマーに対してある触媒」というような特異性が散見された中で、アクリル系モノマーとスチレン誘導体のような、より広範囲な構造の異なる複数のモノマー群に対しても有効な種々の触媒が見出されつつある。たとえば、ルテニウムのインデニルあるいはシクロペンタジエニル錯体、ルテニウムカチオン錯体(B)および鉄の同様な錯体(D)が挙げられる。これらから、(d)においては、Ru(II)とRu(III)のように異なる酸化状態を取りうる遷移金属を中心金属とし、金属の一電子酸化(ドーマント種からのラジカルの生成)を容易にする電子供与性で共役型置換基の導入、等が一般的に重要であることも解明されつつある。これらを、我々は触媒の「進化」と位置づけて研究を進めている。

3. 高活性・高適合性触媒—新規ルテニウム錯体の設計

昨年も一部報告したが¹⁾、共役型アニオン性の置換基インデニル基に電子供与性アミノ基を導入すると、活性と選択性が高い触媒(A)(図2)が得られることも最近明らかとなった⁵⁾。すなわち、(A)はインデニル(Ind)型ルテニウム錯体 $[\text{Ru}(\text{Ind})\text{Cl}(\text{PPh}_3)_2]$ のInd置換基にアミノ基を導入した構造 $[\text{Ru}(\text{N-Ind})\text{Cl}(\text{PPh}_3)_2]$ であり、メタクリル酸メチル(MMA)の重合においては対応するInd錯体より高速に重合を進行させながら、分子量分布のきわめて狭いポリマーを生成する。

また、最近、我々はこの錯体の結晶構造をX線回折解析により決定し(図3)、無置換のInd錯体に比較して、Ru-P結合の距離が増大し、結合角も広く、Ind基も中心

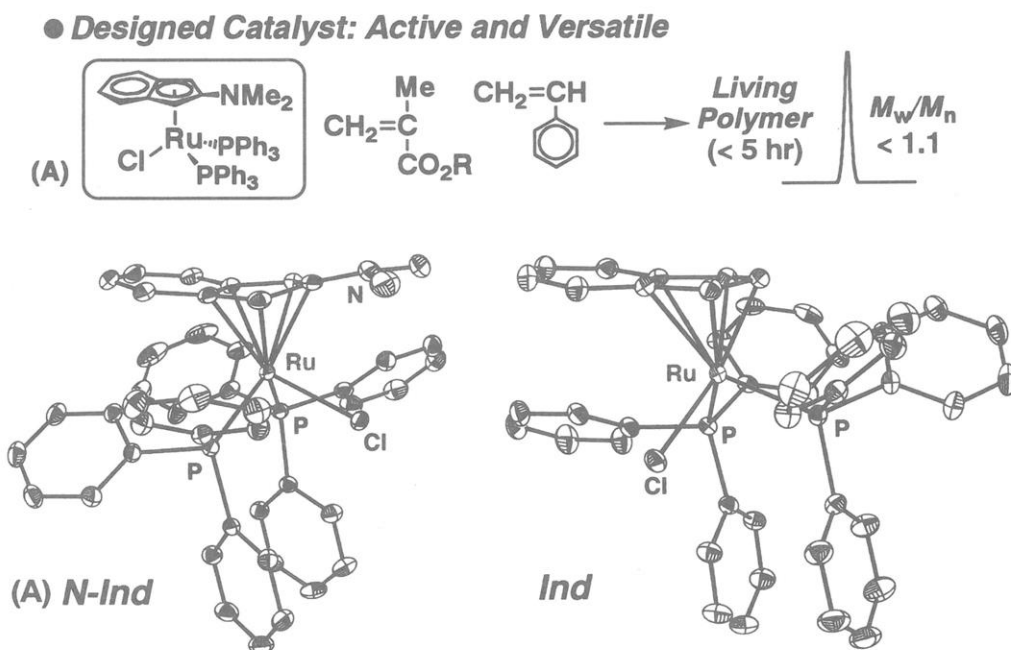


図3. ルテニウム錯体のX線回折による結晶構造解析と比較:
(左) $\text{Ru}(\text{N-Ind})\text{Cl}(\text{PPh}_3)_2$; (右) $\text{Ru}(\text{Ind})\text{Cl}(\text{PPh}_3)_2$ 。

金属とより強く相互作用していることを見出した。より酸化還元電位が低いこととも併せて、この新規錯体は、配位子のホスフィンが脱離しやすく、ハロゲンにより容易に電子供与してハロゲンの等極脱離・ラジカル生成 (一電子酸化過程) を促進するとともに、その広い共役系の作用などにより、ドーマント種の再生 (一電子還元過程) をも促進する、と推定される。

さらに、この触媒を用いると、従来困難であった塩化物型開始剤によるスチレンのラジカルリビング重合やアクリル酸エステルの重合なども可能となることが明らかになってきた。

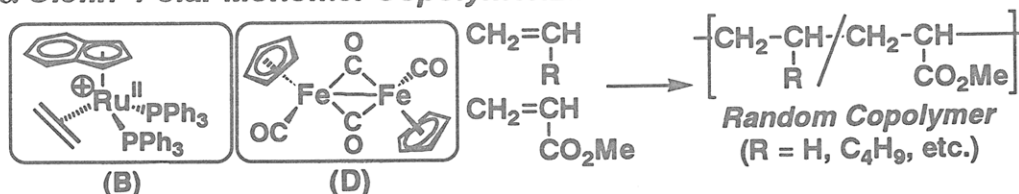
4. オレフィンと極性モノマーのラジカル共重合

—高活性ルテニウム(II) カチオン錯体および二核型鉄(I)錯体触媒の展開

ラジカル重合およびメタロセン触媒や後周期遷移金属錯体による配位重合において、従来不可能とされていた α -オレフィンと極性アクリル系モノマーとの共重合が関心を集めている。配位重合では極性モノマーによる触媒の不活性化等が原因であるのに対して、ラジカル重合では、言うまでもなく、 α -オレフィンが高温高压下を除いてラジカル重合しない点が問題であった。

われわれは、最近ルテニウムのカチオン錯体 (B) および鉄(I) の二核型錯体 (D) (図2) がリビングラジカル重合の高活性触媒であり、とくにこれまで分子量制御がより困難であったアクリル酸エステル⁶⁾、あるいはリビング重合が不可能であった非共役モノマーである酢酸ビニル⁷⁾の精密・リビングラジカル重合を実現することを明らかとした。そこで、これらの触媒を用いて α -オレフィンと極性モノマー (アクリル酸メチル; MA) とのラジカル共重合の可能性を検討した。

● α -Olefin-Polar Monomer Copolymerization



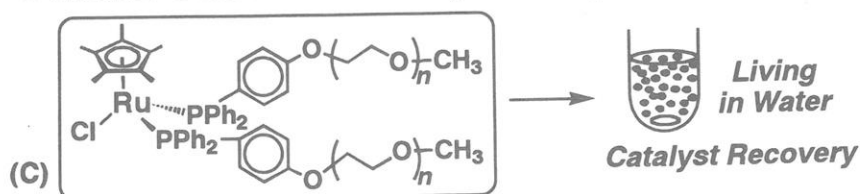
その結果、とくに鉄錯体 (D) を触媒とすると、エチレン、1-ヘキセン、2-メチル-1-ペンテン等の無極性炭化水素系オレフィンが、ラジカル重合と同様な100°C以下、20-30気圧以下の比較的穏和な条件下でも、MAとラジカル共重合し、分岐末端ではなく主鎖にオレフィン単位を最大で15モル%含有する共重合体を生成することを見出した⁸⁾。さらに、多くの場合、生成高分子の分子量は重合率に対して増加し、通常のラジカル共重合と異なり長寿命の共重合体がオレフィンの共存下でも生成することがわかってきた。分子量のより大きい共重合体の合成、オレフィンと極性モノマーの相対組成の変化域の拡張、等検討すべき課題も少なくないが、今後の展開が期待される。

5. 感熱性・両親媒性配位子をもつルテニウム錯体

—水中での精密ラジカル重合と金属触媒の効率的除去

一般に、ポリ(オキシエチレン)鎖は、室温以下では親水性・水溶性であり、より高温では疎水性・油溶性である。この「感温性」と「両親媒性」に着目し、これらを配位子のホスフィンに導入したルテニウム錯体 (C) を新たに合成し、MMAのリビングラジカル重合の触媒として用いた⁹⁾。

● Thermo-Sensitive Ru Catalyst: Living in Water



この触媒は80°Cで油溶性であり、トルエン中では対応するシクロペンタジエニル錯体より活性であって、より高速に分子量の制御されたリビングポリマーを生成した。一方、この触媒を大量の水の存在下に用いると、室温では水溶性・両親媒性であるため、少量のトルエンを含む重合溶液を有効に乳化して安定なエマルジョンを生成した。この乳濁反応溶液を80°Cに加熱すると、触媒が油溶性に変化して懸濁溶液が生じ、その状態でこれまでの水中での重合¹⁰⁾と同様に「懸濁リビングラジカル」重合が進行し、分子量分布の狭いリビングポリマーが得られた。この重合は、同一の感温性触媒をトルエン中で用いた場合より重合速度が数倍大きく、また分子量10万以上で分子量の制御された高分子量リビングポリマーの合成も可能であった。

重合終了後、反応溶液を室温に冷却すると、再び触媒が水溶性となってエマルジョンが生成するが、これをエタノールで処理するとミセルが崩壊し、水溶性の触媒とその残査は水相に、疎水性の生成MMAポリマーは有機相に相分離した。このように、感温性・両親媒性の錯体 (C) を触媒とすると、水中でのMMAなどの懸濁リビング重合が可能になるばかりではなく、従来検討が要求されていた、生成物からの金属錯体成分の除去が容易かつ有効に行えることも明らかとなった¹⁰⁾。

6. 触媒機能を持つ星型ポリマー

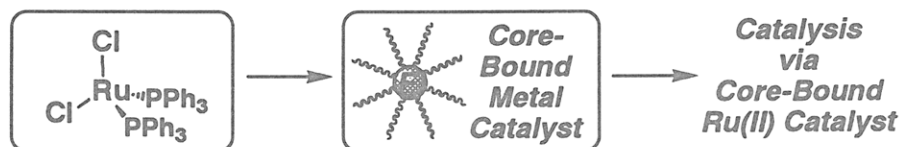
—マイクロゲル核へのルテニウム錯体の導入と触媒機能

リビング重合で生成した直鎖状リビング鎖を停止することなく、そこに少量の二官能性ビニル化合物を添加すると、可溶性のマイクロゲルが生成するとともにその表面には直鎖状リビングポリマーが結合し、いわゆる星型ポリマーが合成できる。金属錯体によるリビングラジカル重合においても、この方法による星型ポリマーの合成が可能なることを我々はすでに報告しているが、その過程で、二官能ビニル化合物にアクリルアミド誘導体を用いると、枝分子を合成するために用いたルテニウム錯体が有効に核に取り込まれ、マイクロゲル核に金属錯体を保持した「核機能化星型ポリマー」(core-functionalized star polymers) が生成することを見出した¹¹⁾。

そこで、この知見を拡張し、より有効に核に金属錯体を含有する星型ポリマーの合成を検討した。すなわち、核への錯体の取り込みを促進するため、パラ位にジフェニルホスフィンをもつスチレン誘導体をマイクロゲル生成過程で二官能性ビニル化合物と併用して共重合させると、核内に多数のホスフィン配位子が導入され、それによりほぼ定量的に重合触媒のルテニウム錯体が核に配位した新しい核機能化星型ポリマーが生成した¹²⁾。原子間力顕微鏡 (AFM) 測定によると、このポリマーは直径数十 nm の球状分子であり、また染色することなく重元素のルテニウム核が透過型電子顕微鏡 (TEM) によって観測可能であることもわかった。

さらに、この星型ポリマーを新たな触媒とすると、芳香族アルデヒドを対応するアルコールに変換する水素添加反応も有効に進行することが明らかとなってきた。この後、このような「可溶性ゲル」の特異な空間に固定化した金属触媒の作用、触媒活性、あるいは基質選択性などを検討する予定である。

● Polymer Catalysts via Catalysis



謝 辞 本研究は、通商産業省・工業技術院，新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) の委託を受けた化学技術戦略推進機構 (JCII) による「独創的高機能材料創製技術」プロジェクト (平成8-12年度)，および経済産業省，NEDO，JCII による「精密高分子材料」プロジェクト (平成13-19年度) の一環として行ったものであり、御支援に感謝いたします。本研究に御協力いただいた、野崎京子先生 (X線回折; 東京大学工学研究科)，松岡秀樹先生 (AFM; 京都大学工学研究科)，小野友裕氏 (TEM; クラレ株式会社，当プロジェクトNEDO研究員)，および関連各研究室の共同研究者の方々に感謝いたします。日本化学繊維研究所の援助にも謝意を表します。

文 献

- 1) 澤本光男，上垣外正己，安藤剛，*化繊研講演集*，**56**，61 (1999); **57**，9 (2000); **58**，1 (2001); **59**，21 (2002).
- 2) 総説: (a) 安藤剛，上垣外正己，澤本光男，*高分子論文集*，**59**，199 (2002). (b) M. Kamigaito, T. Ando, M. Sawamoto, *Chem. Rev.*, **101**，3689 (2001). (c) 上垣外正己，澤本光男，*現代化学*，No. 6, 34 (2001). (d) M. Sawamoto, M. Kamigaito, *CHEMTECH*，**29** (6), 30 (1999). (e) 上垣外正己，澤本光男，*高分子加工*，**47**，537 (1998). (f) 澤本光男，上垣外正己，*高分子論文集*，**54**，875 (1997). (g) M. Sawamoto, M. Kamigaito, *Trends*

Polym. Sci., **4**, 371 (1996).

- 3) 原報: (a) 加藤充, 上垣外正己, 澤本光男, 東村敏延, *高分子学会予稿集*, **43**, 1792 (1994). (b) M. Kato, M. Kamigaito, M. Sawamoto, T. Higashimura, *Macromolecules*, **28**, 1721 (1995). (c) T. Ando, M. Kato, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *Macromolecules*, **29**, 1070 (1996).
- 4) (a) *日本経済新聞*, 2003年2月17日号, 23面. (b) *日経産業新聞*, 2003年2月17日号, 1面. (c) *日経産業新聞*, 2003年2月26日号, 10面.
- 5) M. Kamigaito, Y. Watanabe, T. Ando, M. Sawamoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 9994 (2002).
- 6) M. Kamigaito, I. Onishi, S. Kimura, Y. Kotani, M. Sawamoto, *Chem. Commun*, 2694 (2002).
- 7) M. Wakioka, K.-Y. Baek, T. Ando, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *Macromolecules*, **35**, 330 (2002).
- 8) (a) 中野秀健, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, *高分子学会予稿集*, **51**, 1556 (2002). (b) 中野秀健, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, 第52回高分子学会年次大会, 発表予定 (2003).
- 9) (a) 芳谷俊英, 渡辺康弘, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, *高分子学会予稿集*, **51**, 1380 (2002). (b) 芳谷俊英, 渡辺康弘, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, 第52回高分子学会年次大会, 発表予定 (2003).
- 10) (a) T. Nishikawa, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *Macromolecules*, **32**, 2204 (1999). (b) Y. Fuji, T. Ando, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *Macromolecules*, **35**, 2949 (2002). (c) Y. Fuji, K. Watanabe, K.-Y. Baek, T. Ando, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *J. Polym. Sci, Part A: Polym. Chem.*, **40**, 2055 (2002).
- 11) (a) K.-Y. Baek, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *Macromolecules*, **34**, 7629 (2001). (b) K.-Y. Baek, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *Macromolecules*, **35**, 1493 (2002).
- 12) (a) 寺島崇矢, 白京烈, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, *高分子学会予稿集*, **51**, 361 (2002). (b) 寺島崇矢, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, *高分子学会予稿集*, **51**, 1383 (2002). (c) 寺島崇矢, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, 第52回高分子学会年次大会, 発表予定 (2003). (d) T. Terashima, T. Ando, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *J. Am. Chem. Soc.*, submitted.

ポリ- n -ヘキシルイソシアナートの平均二乗光学異方性¹⁾

吉崎 武尚・長 昌史

T. Yoshizaki, M. Osa

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

ポリ- n -ヘキシルイソシアナート (PHIC) に関して, 平均二乗回転半径をはじめとする多くの希薄溶液物性が Kratky-Porod (KP) のみみず鎖モデル^{2,3)} を用いて矛盾なく説明できることが知られている⁴⁾. データ解析から決定された PHIC の剛直性パラメータ λ^{-1} の値 840 Å は屈曲性高分子の値 10~50 Å に比べて非常に大きい. また, 単位長さのみみず鎖に対応する PHIC の分子量を表すシフト因子 M_L の値 71.5 Å⁻¹ は PHIC が 8₃らせん構造をとると仮定した場合の値に一致しているため, 溶液中においてそのような形態を保持していると考えられ, そのらせんの中心線の形態がみみず鎖で記述されている. このように典型的な半屈曲性高分子とみなすことのできる PHIC を用いて, 種々の物理量に関するみみず鎖理論を検証することは, モデルの妥当性をさらに確認する上で重要な課題である. 我々自身もすでに動的構造因子の 1 次キュムラントに関する研究⁵⁾ を行っているが, ここでは最近行った平均二乗光学異方性 $\langle \Gamma^2 \rangle$ に関する研究結果¹⁾ を報告する.

なお, PHIC の光学異方性が小さいため, その $\langle \Gamma^2 \rangle$ に関する報告例はないが, データ収集手法を改良し, 測定精度を向上させることで, 今回解析に耐えうる結果を得ることができた.

2. 平均二乗光学異方性 $\langle \Gamma^2 \rangle$

溶液中の高分子鎖の分極率テンソル γ の三つの主値を $\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3$ とすると, $\langle \Gamma^2 \rangle$ はそれらの主値を用いて次のように定義される量である.

$$\langle \Gamma^2 \rangle = \frac{1}{2} \langle (\gamma_1 - \gamma_2)^2 + (\gamma_2 - \gamma_3)^2 + (\gamma_3 - \gamma_1)^2 \rangle \quad (1)$$

ただし, $\langle \dots \rangle$ は高分子鎖の形態に関する平衡平均を表す. 高分子鎖を長さ L の連続鎖モデルで表した場合, γ はモデル鎖に付与した単位長さ当りの局所分極率テンソル $\tilde{\alpha}(s)$ ($0 \leq s \leq L$) を用いて次のように書ける.

$$\gamma = \int_0^L \tilde{\alpha}(s) ds \quad (2)$$

上に述べたように PHIC は 8₃らせん構造をとっているため, 局所的な光学的性質はらせんの中心線の回りに円筒対称であると考えられる. 従って, PHIC 鎖の光学的性質はらせんの中心線に平行な方向の局所分極率 α_{\parallel} とそれに垂直な方向の局所分極率 α_{\perp} のみで記述できる. その場合, みみず鎖モデルを用いて計算された $\langle \Gamma^2 \rangle$ は次のように与えられる^{3,6,7)}.

$$\frac{\langle \Gamma^2 \rangle}{x} = \frac{\lambda^{-1} M_0}{3 M_L} (\Delta \alpha)^2 \left[1 - \frac{1}{6 \lambda L} (1 - e^{-6 \lambda L}) \right] \quad (3)$$

ここで, x は重合度, M_0 は繰り返し単位当りの分子量であり, $\Delta \alpha$ は次のように定義される量である.

$$\Delta \alpha = |\alpha_{\parallel} - \alpha_{\perp}| \quad (4)$$

また、みみず鎖の鎖長 L と x には次の関係がある。

$$L = xM_0/M_L \quad (5)$$

式(1)で定義される $\langle \Gamma^2 \rangle$ は、実験的には垂直方向に偏光した入射光を試料溶液に当てて散乱光の水平偏光成分すなわち偏光解消成分を測定する異方性光散乱法を用いて決定される。純溶媒からの還元偏光解消成分 R_{Hv} に対する稀薄溶液からの散乱光増分である過剰還元偏光解消成分 ΔR_{Hv} と $\langle \Gamma^2 \rangle$ との間には次の関係が成立する。

$$\langle \Gamma^2 \rangle = \frac{15\lambda_0^4 M_w}{16\pi^4 N_A} \left(\frac{3}{n_0^2 + 2} \right)^2 \left(\frac{\Delta R_{Hv}}{c} \right)_{c=0, \theta=0} \quad (6)$$

ここで、 λ_0 は真空中における入射光の波長、 M_w は重量平均分子量、 N_A はアボガドロ定数、 n_0 は純溶媒の屈折率を表し、添字 $c=0$ と $\theta=0$ はそれぞれ質量濃度 $c \rightarrow 0$ (無限希釈)、散乱角 $\theta \rightarrow 0$ への外挿値であることを表す。なお、式(6)の関係は内部電場に対する二乗型補正を用いて導かれている。

偏光解消成分の測定には Fica50 型光散乱光度計を用いたが、上にも述べたように PHIC の光学異方性は小さいので、偏光子と検光子として消光比が 10^{-5} 以下のグラン・トムソン型プリズムを組み込み、偏光成分の混入を無視できる程度にまで抑えた。さらに、散乱光強度の計測においては、デジタル電圧計を用いて 0.1 s の強度積算を行い、連続する 60 回の積算結果の平均値を計測値として採用することにより実験誤差の低減を図った。

ΔR_{Hv} の実測値を用いて式(6)から評価される $\langle \Gamma^2 \rangle$ の値と式(3)から計算される理論値の比較に当たっては、PHIC のみみず鎖モデル定数値が確定しているので調整可能なパラメータは $\Delta\alpha$ のみである。

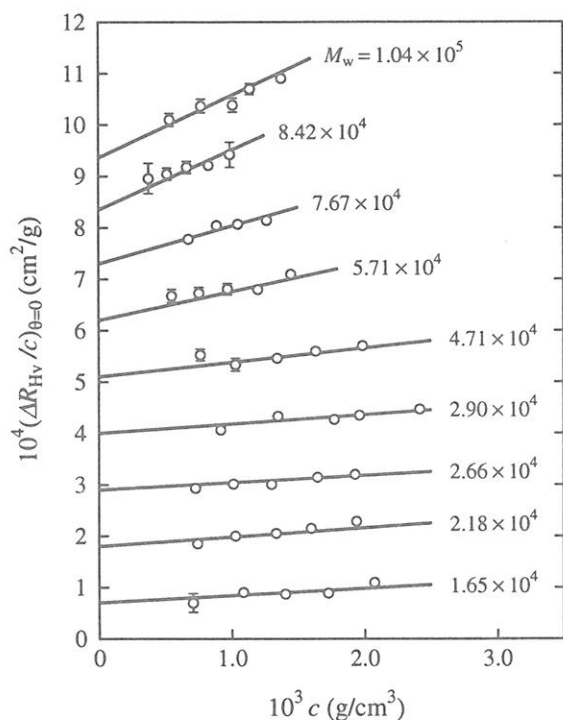


図 1. $(\Delta R_{Hv}/c)_{\theta=0}$ 対 c プロット

3. 結果と考察

M_w が 1.65×10^4 から 1.04×10^5 の範囲の 9 試料について、 n -ヘキサン中 25.0°C で測定を行った。なお、 n -ヘキサンは PHIC の良溶媒であるが、同じ溶媒中における平均二乗回転半径および固有粘度の文献結果⁴⁾から、この分子量領域において分子内排除体積効果はないことが分かっている。いずれの試料についても、光散乱測定を行った θ の範囲において ΔR_{Hv} の角度依存性が認められなかったため、複数の θ における測定値の平均値を $\theta \rightarrow 0$ への外挿値 $(\Delta R_{Hv}/c)_{\theta=0}$ とした。このようにして得られた $(\Delta R_{Hv}/c)_{\theta=0}$ の c に対するプロットを図 1 に示す。図を見やすくするため、 $M_w = 2.18 \times 10^4$ から 1.04×10^5 までの 8 試料のデータ点はそれぞれ 1×10^{-4} , 2×10^{-4} , 3×10^{-4} , 4×10^{-4} , 5×10^{-4} , 6×10^{-4} , 7×10^{-4} , $8 \times 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{g}$ ずつ上方に移動してある。いずれの試料のデータ点も図中に示した正の傾斜を持つ直線に良く従っているため、その直線の切片の値を $c \rightarrow 0$ への外挿値 $(\Delta R_{Hv}/c)_{c=0, \theta=0}$ とした。

得られた $(\Delta R_{Hv}/c)_{c=0, \theta=0}$ の値を用いて式(6)から計算した $\langle \Gamma^2 \rangle / x_w$ を重量平均重合度 x_w の対数に対してプロットしたのが図2である。図中、白丸は今回の実験結果を表し、 x_w の増加とともに $\langle \Gamma^2 \rangle / x_w$ は単調に増加し、ある一定値に漸近する傾向を示している。また、黒丸は神保ら⁸⁾によってトルエン中 25.0 °C における準濃厚溶液に関して得られた値である。トルエン中 25 °C における PHIC のみみず鎖定数値は伊藤ら⁹⁾によって $\lambda^{-1} = 740 \text{ \AA}$, $M_L = 74.0 \text{ \AA}^{-1}$ と決定されているが、上に述べた n -ヘキサン中での値との比較から、二つの溶媒中における PHIC 鎖の形態は大きくは異ならないと考えられ、それに対応して $\langle \Gamma^2 \rangle$ に関する二つの実験結果は実験誤差範囲内で一致している。

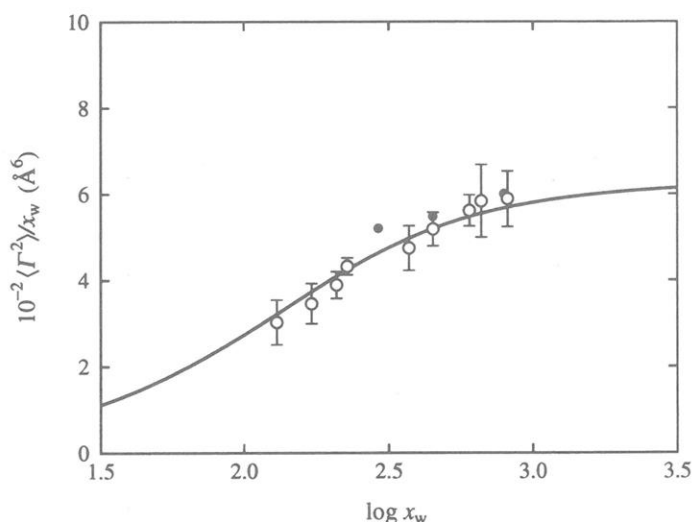


図2. $\langle \Gamma^2 \rangle / x_w$ 対 $\log x_w$ プロット

図2の実線は式(3)から計算したみみず鎖の理論値を表す。理論値の計算には、上に述べた n -ヘキサン中でのみみず鎖モデル定数値と実験値に最もよく合うように選んだ $\Delta\alpha$ の値 1.1_2 \AA^2 を用いた。図より、理論が $\langle \Gamma^2 \rangle / x_w$ の x_w 依存性をよく再現していることが分かる。

化学結合当りの分極率テンソルに関する文献値に基づいて、それらの加成性を仮定して評価した PHIC の $\Delta\alpha$ の値とデータ解析から決定した上記の値とを比較してみる。PHIC 鎖が局所的に剛直な形態をとると仮定し、それに付随する局所座標系を適当に選んだうえで局所分極率テンソルの各成分を評価した。図3(a), (b)に示したように、PHIC が 8_3 らせん形態をとり、かつ n -ヘキシル基の側鎖が全トランス形態をとると仮定し、らせんの中心線に沿って ζ 軸を、それに垂直な方向に ξ , η 軸をとる。また、図3(c)は各原子の van der Waals 半径を示したものであるが、固有粘度の解析から決定された流体力学的半径を持つ図中の円との比較から、側鎖の形態に

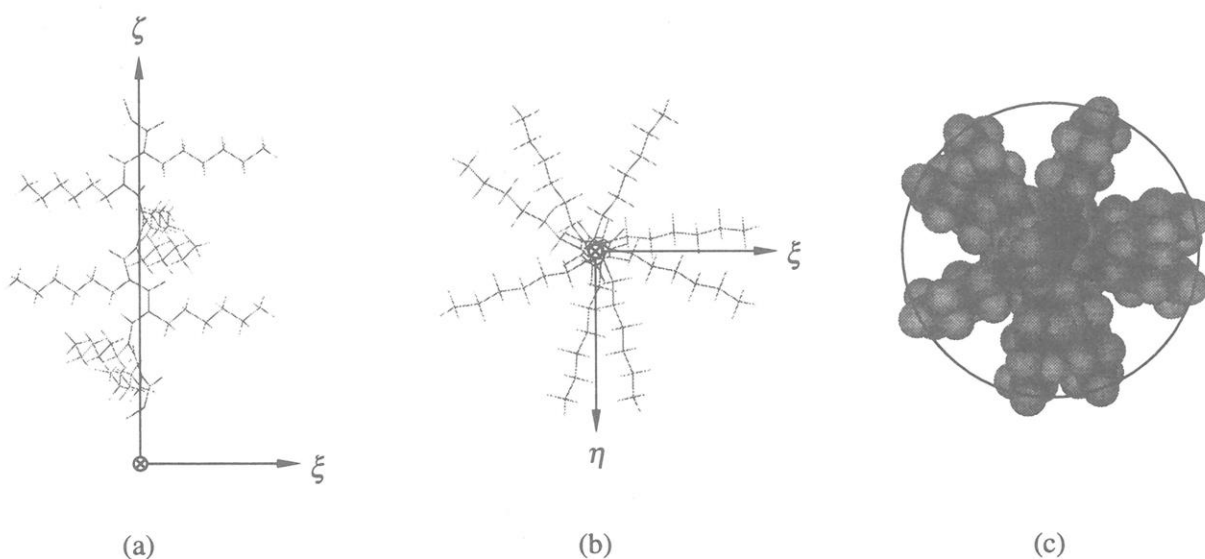


図3. PHIC 鎖の局所形態と局所座標系

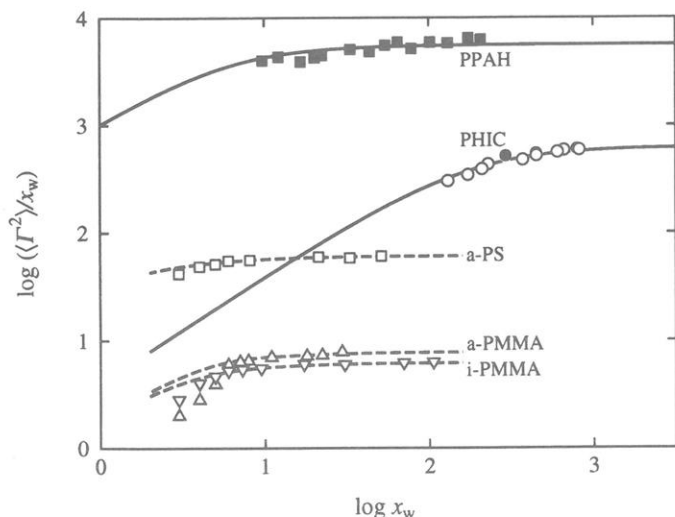


図4. $\log(\langle \Gamma^2 \rangle / x_w)$ 対 $\log x_w$ プロット

(シクロヘキサン中 34.5 °C)³⁾, アタクチックポリメタクリル酸メチル (a-PMMA) (アセトニトリル中 44.0 °C)³⁾, イソタクチックポリメタクリル酸メチル (i-PMMA) (アセトニトリル中 28.0 °C)³⁾, ポリテレフタルアミド-*p*-ベンゾヒドラジド (PPAH) (ジメチルスルフォキシド中 25.0 °C)¹¹⁾ の実験データがプロットされている。それぞれのデータ点に付随した実線あるいは破線は理論値を表す。PHIC の $\Delta\alpha$ は三つの代表的屈曲性高分子 a-PS, a-PMMA, i-PMMA の局所分極率テンソルの成分と同じオーダーであるにも拘らず $x_w \rightarrow \infty$ における $\langle \Gamma^2 \rangle / x_w$ の極限值が屈曲性高分子のものに比べて非常に大きく、また極限值に達する x_w が非常に大きいのは、PHIC が屈曲性高分子に比べて非常に固いためである。一方、同じ半屈曲性高分子である PPAH の $\langle \Gamma^2 \rangle / x_w$ が PHIC に比べて大きいのは PPAH の $\Delta\alpha$ (2.2 Å²) が PHIC に比べて大きいからである。

以上の解析結果より、他の稀薄溶液物性と同様に $\langle \Gamma^2 \rangle$ の挙動もみみず鎖モデルに基づいて説明できることが明らかになった。

文献

- 1) M. Nakatsuji, Y. Ogata, M. Osa, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **34**, 8512 (2001).
- 2) O. Kratky, G. Porod, *Recl. Trav. Chim.*, **68**, 1106 (1949).
- 3) H. Yamakawa, *Helical Wormlike Chains in Polymer Solutions* Springer, Berlin, 1997.
- 4) T. Norisuye, *Prog. Polym. Sci.*, **18**, 543 (1993).
- 5) N. Yoshida, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **33**, 3254 (2000).
- 6) K. Nagai, *Polym. J.*, **3**, 67 (1972).
- 7) A. Arpin, C. Strazielle, G. Weill, H. Benoit, *Polymer*, **18**, 262 (1977).
- 8) Y. Jinbo, L. Varichon, T. Sato, A. Teramoto, *J. Chem. Phys.*, **109**, 8081 (1998).
- 9) T. Itou, H. Chikiri, A. Teramoto, S. M. Aharoni, *Polym. J.*, **20**, 143 (1988).
- 10) E. Riande, E. Saiz, *Dipole Moments and Birefringence of Polymers* Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1992.
- 11) K. Sakurai, K. Ochi, T. Norisuye, H. Fujita, *Polym. J.*, **16**, 559 (1984).

対する仮定が妥当であることが分かる。C-C, C-N, C-O 結合の分極率テンソルに関する文献値¹⁰⁾と、それらの値ならびに酢酸メチルの分極率テンソルに関する文献値¹⁰⁾から評価した C=O 結合の分極率テンソルの値とを用いて $\Delta\alpha = 0.5_3$ Å² が得られる¹⁾。この値は今回実験から評価した値 1.1₂ Å² に比べてかなり大きい。この不一致は、異方性散乱光に衝突誘起分極率の寄与が含まれていることによると考えられる。

最後に他の高分子に関する実験結果との比較を行う。図4に $\langle \Gamma^2 \rangle / x_w$ 対 x_w の両対数プロットを示す。図には今回の PHIC の他にアタクチックポリスチレン (a-PS)

高分子会合ダイナミックスのブラウン動力学シミュレーション

古賀 毅, 古谷 勉, 田中文彦

Tsuyoshi Koga, Tsutomu Furuya, Fumihiko Tanaka

京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻

1 はじめに

疎水性相互作用, 水素結合など強い会合性の相互作用を有する会合高分子の溶液においては, ミセル形成, マクロ相分離, ミクロ相分離などが会合系特有のゾル・ゲル転移と競合し, 多彩な相構造が形成されることが知られており, それらは溶液全体の物性に大きな影響を与えている.

我々は, これまでこのような会合高分子の構造形成を主にモンテカルロ (MC) 法を用いた分子シミュレーションにより研究してきた [1-3]. 特に注目してきたのは, 会合高分子に特有な分子鎖レベルでの構造形成 (分子内ミセル形成など) とそれがゾル・ゲル転移などの相挙動に及ぼす影響である.

一方, 会合高分子は動的な側面においても特徴的な性質を持ち, これは実用上も非常に重要である. 例えば, 両末端に会合基を有するテレケリック高分子は粘性調節剤などとして用いられるが, この溶液はシアックニングという特徴的な粘弾性挙動を示すことが知られている. 最近, 我々は上記のような会合高分子系の特徴的な動的挙動を分子論的に研究するために, ブラウン動力学 (BD) 法を用いた計算機シミュレーションにより研究を行っている. 特に, 典型的な会合相互作用である疎水性相互作用を疎水基と溶媒との接触面積を計算することにより評価する方法を開発し, 両親媒性分子の構造形成を例として計算を行ったので, 本稿ではその方法と計算結果を紹介する.

2 モデル

高分子のモデルとしてバネ・ビーズモデルを用いた [4]. 具体的には, 結合されたビーズ間の結合ポテンシャルは, 次の非線形バネポテンシャル U_{FENE} で表される:

$$U_{\text{FENE}}(r) = \begin{cases} -\frac{1}{2}k_b R_0^2 \ln \left[1 - \left(\frac{r}{R_0} \right)^2 \right] & r \leq R_0 \\ \infty & r > R_0 \end{cases} \quad (1)$$

ここで, r は隣接する結合されたビーズ間の距離, k_b はバネ定数, R_0 は最大ボンド長である. ビーズ間の排除体積相互作用は斥力部分のみのレナード・ジョーンズ (LJ) ポテンシャル U_{RLJ} で表現しており, これは全てのビーズ間に働くとする:

$$U_{\text{RLJ}}(r) = \begin{cases} 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 + \frac{1}{4} \right] & r \leq 2^{1/6}\sigma \\ 0 & r > 2^{1/6}\sigma \end{cases} \quad (2)$$

また、ボンドの結合角 θ に対しては次のポテンシャルを用いた：

$$U_{\theta}(\theta) = \frac{k_{\theta}}{2}(\cos \theta - \cos \theta_0)^2 \quad (3)$$

ここで、 θ_0 は平衡の結合角である。会合ポテンシャルについては、疎水性相互作用をモデル化したポテンシャル U_{HP} を用いたが、これについては次節で詳しく論じる。

ビーズの運動は次のランジュバン方程式に従う：

$$m \frac{d^2 \mathbf{r}_i(t)}{dt^2} = \mathbf{F}_i - \zeta \frac{d}{dt} \mathbf{r}_i(t) + \mathbf{W}_i(t) \quad (4)$$

ここで、 m はビーズの質量、 \mathbf{r}_i は i 番目のビーズの位置ベクトル、 \mathbf{F}_i は i 番目のビーズに働く力、 ζ は摩擦係数である。 \mathbf{W}_i は溶媒がビーズ i に及ぼすランダム力であり、平均は $\mathbf{0}$ で、分散は次の関係を満たす：

$$\langle \mathbf{W}_i(t) \mathbf{W}_j(t') \rangle = 2m\zeta k_B T \delta_{ij} \delta(t - t') \mathbf{1} \quad (5)$$

ここで、 k_B はボルツマン定数、 T は温度である。シミュレーションでは、 $\sigma \sqrt{m/\epsilon}$ 、 σ 、 ϵ をそれぞれ時間、長さ、エネルギーの単位とした。

3 疎水性相互作用のモデル化

分子シミュレーションでは、分子間の相互作用ポテンシャルとして LJ 型のような単純な二体間ポテンシャルを用いることが多いが、疎水性相互作用の場合には二体間ポテンシャルでは表現できない。我々が会合系として対象としている系では疎水性相互作用をしている場合が多いので、これを効率的に計算できるモデルを作れば有用である。最近、疎水性相互作用を疎水基の近傍の他の疎水基の密度を計算することにより評価しようとする試みがあるが [5]、我々は、疎水基と溶媒との接触面積を近似的に計算し、疎水性相互作用を評価する方法を開発したので、以下ではこの方法を紹介する。

疎水性相互作用を、疎水基と溶媒との接触面積により評価しようとする考え方は標準的なものとなっているが [6]、それを厳密に実行するのは容易ではない。また、この考え方を分子動力学計算やブラウン動力学計算に用いるためには、接触面積が計算できるだけでは十分ではなく、ビーズに働く力を計算する為に接触面積の解析的表式が必要となる。

ここでは、まず i 番目のビーズの溶媒との接触面積 A_i を考える。接触面積は、ビーズと溶媒分子の半径の和を半径とする球の面積で与えられる。図 1 にこの考え方の模式図を示している。図 1 のように、他のビーズ j により溶媒分子が入り込めない領域があるときには、もともとの球の面積 $A_0 = 4\pi(r_b + r_s)^2$ から溶媒が入れない領域の面積（図の点線部分）を引かなければならない。ここで、 r_b 、 r_s はビーズと溶媒分子の半径である。多数の球の重なりがある場合には、計算が非常に複雑になるが、ここでは接触面積

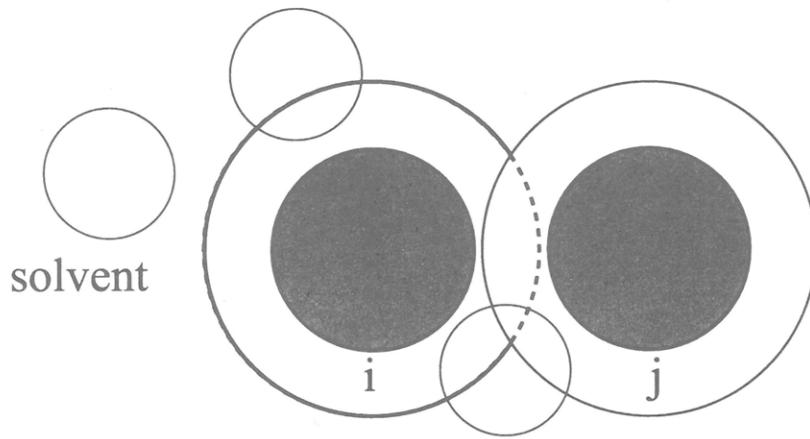


図1：疎水基(灰色)と溶媒の接触面積の模式図.

が次の形に展開できることに注目する：

$$A_i = A_0 - \sum_j a_{ij} + \sum_{j < k} a_{ijk} - \dots \quad (6)$$

ここで、第二項の a_{ij} は二つの球の重なりから寄与、 a_{ijk} は三つの球の重なりからの寄与である。二つ(三つ)の球の重なりからの寄与の部分は二体(三体)相互作用を表す。二体の寄与は簡単に

$$a_{ij} = 2\pi(r_b + r_s) \left[(r_b + r_s) - \frac{r_{ij}}{2} \right] \quad (7)$$

と求まる。三体以上の寄与も厳密に求めることが可能であるが、ここでは、三体の重なりを確率的に考えるモデルを用いる。球 i が j 以外の球と重なっている面積を $b_{ij} = \sum_{k \neq j} a_{ik}$ とする。球 i と j の重なった部分 a_{ij} が、球 i と j 以外の球との重なり部分 b_{ij} と重なる確率は、全くランダムに重なりと仮定すると

$$\frac{a_{ij}}{A_0} \times \frac{b_{ij}}{A_0} \quad (8)$$

に比例すると考えられるので、 A_i を次のように近似できる：

$$A_i \simeq A_0 - \sum_j a_{ij} + \frac{c}{A_0} \sum_j a_{ij} b_{ij} \quad (9)$$

接触面積 A_i が求めれば、疎水性効果による会合のポテンシャルエネルギーは

$$U_{\text{HP}} = \epsilon_{\text{HP}} \sum_i A_i \quad (10)$$

となる。

4 計算結果：両親媒性分子の構造形成

ここでは、前述のポテンシャルを用いて行った両親媒性分子のBDシミュレーションの結果を述べる。ここでの計算では、便宜的に $\epsilon_{HP} = \epsilon$ とし、パラメータとして $k_b = 30$, $R_0 = 1.5$, $k_\theta = 20$, $\theta_0 = \pi$, $\zeta = 0.5$, $c = 0.45$ を用いた。また、溶媒分子とビーズの半径は等しいとして計算を行った。計算に用いた分子のアーキテクチャを図2に示している。

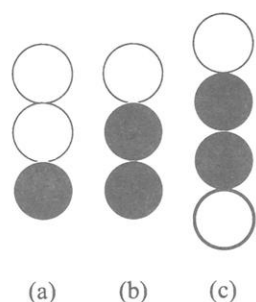


図2：両親媒性分子のアーキテクチャ。黒色のビーズが会合基，白色のビーズが非会合基を表している。

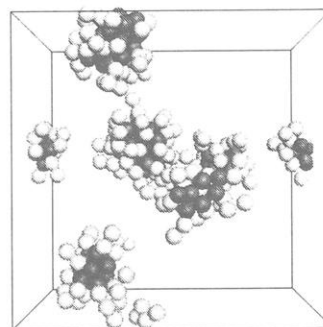


図3：両親媒性分子(モデルa)が形成した球状ミセル。T=0.2, 体積分率 $\phi=0.02$ 。灰色のビーズが会合基，白色のビーズが非会合基を表している。

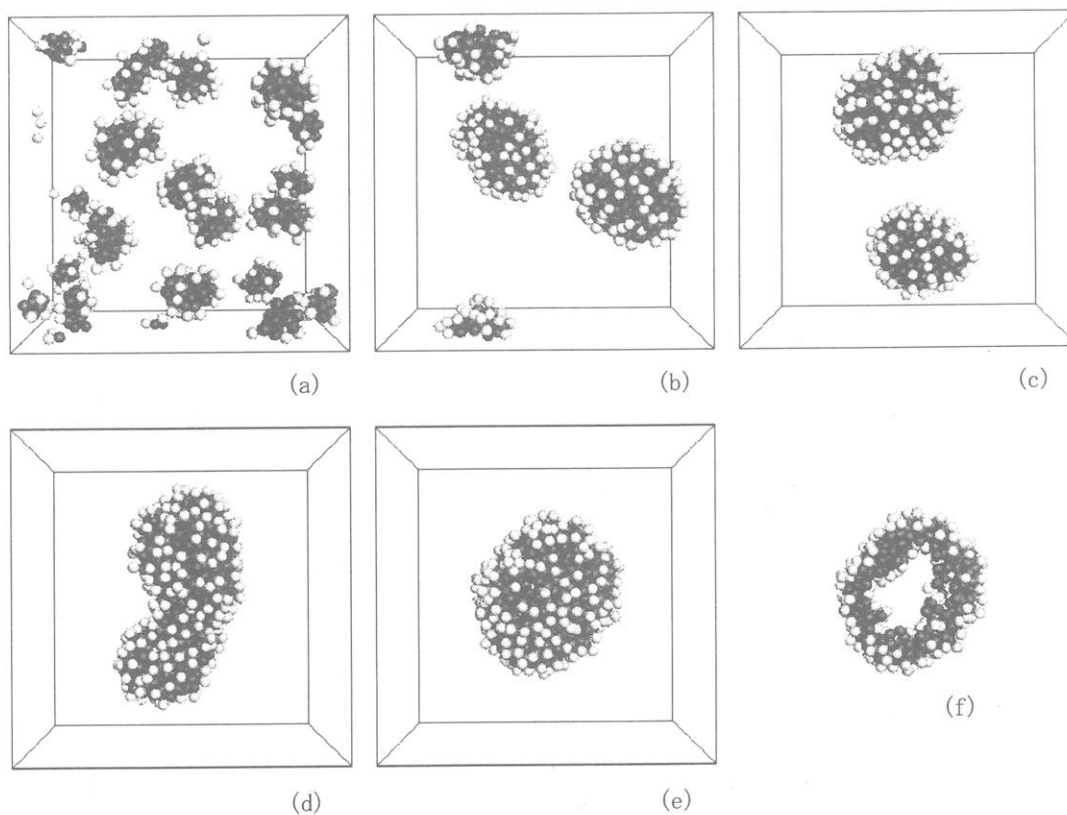


図4：両親媒性分子(モデルb)のベシクル形成過程。t=100(a), 3000(b), 7000(c), 9000(d), 9600(e)。T=0.5, $\phi=0.02$ 。図4(e)の奥行方向のスライス像を図4(f)に示している。

まず、図3に示しているのは、ビーズ数が3で、末端の一つのみを会合基としたモデル（図2のモデルa）の結果であり、球状のミセルが形成されていることが分かる。

図4に示しているのは、ビーズ数が3で、末端の一つのみを非会合基とした場合（図2のモデルb）の構造形成の様子である。図4(a)-(e)で、初期に形成された小さなミセルが融合し、大きな一つのミセルが形成されていることが分かる。図4(f)に示されている図4(e)のスナップショットのスライス像からミセルの中は中空になっており、このモデルではベシクルが形成されていることが分かる。ベシクル形成に関しては、最近特に注目されており、幾つかの計算手法でシミュレーションが行われている[5]。我々の手法の特徴は、疎水性相互作用を考える時に基本となる溶媒との接触面積のみを用いて疎水性相互作用を計算している点である。また、ここでは相互作用を計算する際に三体相互作用以上の項を二体相互作用で近似したが、三体以上の寄与を厳密に計算することもできるので、必要に応じて計算の精密化が可能であるという点も本方法の利点である。

図5には、ビーズ数が4で両末端を非会合基にした場合（図2のモデルc）の構造形成の様子を示している。図5(a)-(c)から、初期に形成された小さなミセルが融合し、細長いひも状ミセルが形成されている様子が分かる。図5(d)にはシミュレーションの途中で出現したループ状になったミセルのスナップショットを示している。本方法の利点は、

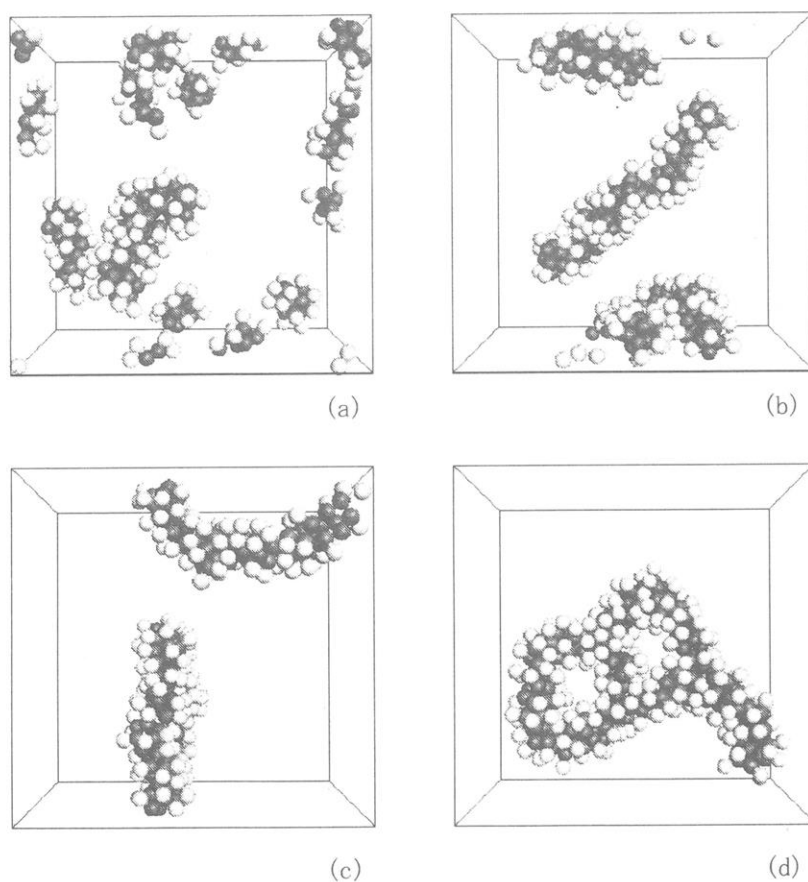


図5: 両親媒性分子(モデルc)のひも状ミセル形成. $t=100$ (a), 700 (b), 2000 (c), 3400 (d).
 $T=0.5$, $\phi=0.02$.

このような構造を短時間で計算できる点であり、大規模な計算も可能である。また、本方法では、これまで実験的に精力的に研究されてきたせん断流動下でのひも状ミセルの構造変化や粘弾性挙動も計算することが可能であり、ここで紹介した計算手法とモデルは、ひも状ミセル系の構造形成や動力学を研究するのに有用な研究手法になると期待される。

5 おわりに

ここでは、疎水性相互作用のモデル化の方法とその方法を用いたブラウン動力学計算機シミュレーションの結果を両親媒性分子を例として紹介した。ここでは、両親媒性分子の結果のみを紹介したが、最初にも述べたように、テレケリック高分子の特徴的な粘弾性挙動のように、会合高分子は興味深い動的性質を有しており、これらの課題についても、本稿で述べた動的な計算手法により研究を行っている。また、本稿で紹介した興味深い構造を形成する両親媒性分子と会合高分子の混合系についても、ここで紹介した方法で容易に計算を行うことができるので、この分野での研究の進展も期待される。

[参考文献]

- [1] F.Tanaka and T.Koga, *Comp. Theo. Polym. Sci.* **10**, 259 (2000).
- [2] F.Tanaka and T.Koga, *Bul. Chem. Soc. Japan* **74**, 201 (2001).
- [3] T.Koga and F.Tanaka, *Trans. Mat. Res. Soc. Japan* **26**, 549 (2001).
- [4] K.Kremer and G.S.Grest, *J. Chem. Phys.* **92**, 5057 (1990).
- [5] H.Noguchi and M.Takasu, *Phys. Rev. E* **64**, 041913 (2001).
- [6] 例えば, C. Tanford, *The Hydrophobic Effect* 2nd Ed. (Wiley, New York, 1980).

ヘリックスペプチド単分子の電気的特性

木村 俊作・北川 和哉・森田 智行・森野 寛啓

Shunsaku Kimura, Kazuya Kitagawa, Tomoyuki Morita, Nobuhiro Morino

京都大学大学院工学研究科材料化学専攻

1. 緒言

有機化合物を電子デバイスへ応用することを目的とする有機エレクトロニクスは、ボトムアップの手法による高密度集積化集積回路の構築等においてキーテクノロジーの一角を担うと考えられ、その進展が社会的にも重要と考えられる。このためには、有機化合物について、電気・電子工学の立場から材料物性を理解、評価することが必須である。このためには、構造を規制した有機分子について導電性（コンダクタンス）、キャパシタンス等を測定し、構造と電子物性との相関関係について明らかにする必要がある。天然には、光合成や酸化リン酸化を担う一群のタンパク質があり、合目的な電子移動を行っている。これらのことから、タンパク質を構成する代表的な二次構造であるヘリックスペプチドを取り上げ、その電気的特性を調べることを考えた。

ヘリックスペプチドでは、水素結合がらせん軸方向に並んでいることから、N端が正、C端が負に分極した大きなダイポールモーメントを有する。¹⁾ その大きさは、24量体ペプチドで約80デバイに達する。これにより形成されるらせん軸に沿った電場は、ヘリックスペプチドを通しての電子移動に影響を与えるものと思われる。また、分子超分極率 β は、分子内水素結合の数がフリーのアミド基の数よりも優位となる8量体を超えると鎖長と共に増加する。従って、長鎖ヘリックスペプチドは、非線形光学応答を示す有機分子として興味深い。また、ペプチド結合と水素結合との繰り返し連鎖と、比較的大きな β 値から長距離電子移動を担うメディエーターとしても機能することが考えられる。

ここでは、2-アミノイソ酪酸（Aib）を含む疎水性ヘリックスペプチドを合成し、金基板上に垂直配向で固定化したサンプルを調製して、ヘリックスペプチドを介した電子移動を検討した。水溶液中では、サイクリックボルタムメトリー（CV）やクロノアンペロメトリー（CA）により、超高真空下では、走査型トンネル顕微鏡（STM）や走査型トンネルスペクトロスコピー（STS）により、解析を行った。

2. 疎水性ヘリックスペプチド

図1に、本研究で合成した疎水性ヘリックスペプチドの構造式を示した。LeuとAibの交互配列を有し、金基板への固定化のためN端側或いはC端側にジスルフィド結合が導入してある。このヘリックスペプチドは、ヘリックス構造を保ったまま、垂直配向をとって稠密な自己組織化単分子膜 (SAM) を金基板上に形成することが示されている。²⁾

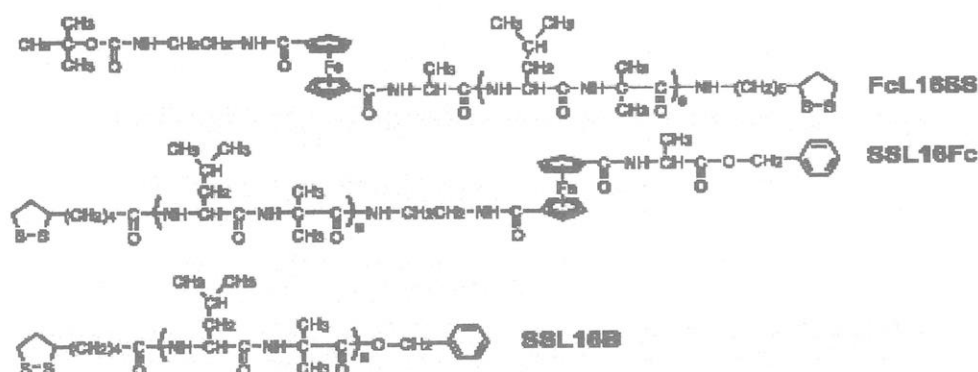


図1 疎水性ヘリックスペプチドの構造式。

3. 水溶液中でのヘリックスペプチドを介しての電子移動

1 M 過塩素酸溶液中での FcL16SS と SSL16Fc SAM の CV を図2に示す。スキャン速度を 0.01V/s に選ぶことで、対称的な酸化還元ピークが観察され、フォーマルポテンシャルは、それぞれ 0.64V と 0.63V と求めた。この値は、

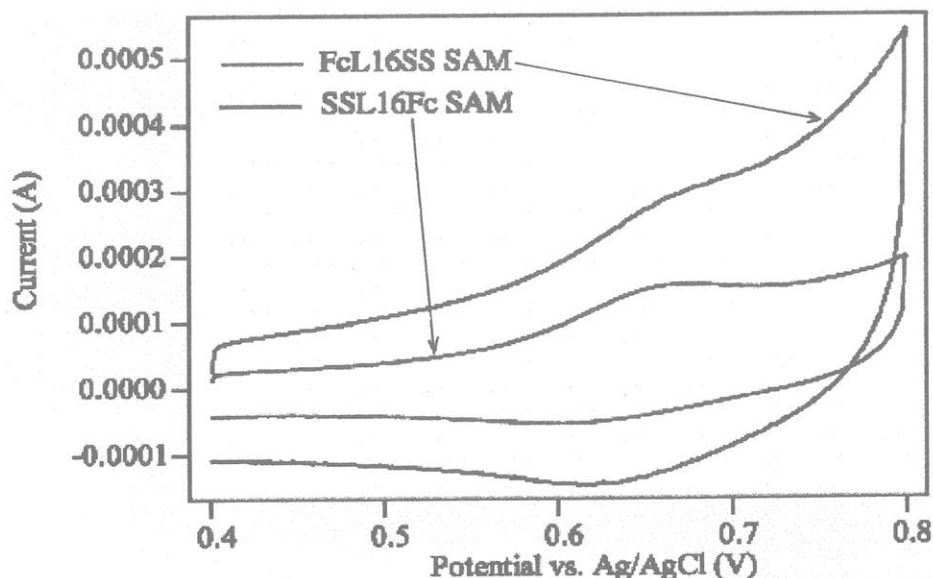


図2 フェロセンを結合したヘリックスペプチド SAM の CV.

この電流応答が、ヘリックスペプチドに結合したフェロセンユニットの酸化還元に基づくことを示しており、約 4nm の膜厚を有するヘリックスペプチド SAM が、フェロセンユニットと金基板との間の電子移動をメデイエートしたと考えられる。このような長距離電子移動を結論するには、ヘリックスペプチド SAM が、垂直配向のヘリックスペプチドで構成され、欠陥のない稠密な膜であることを確かめる必要がある。前者については、FT-IR 反射吸収スペクトロスコピー (RAS) により、らせん軸が基板法線方向から約 30 度傾いていることを確認した。また、CV 測定においてスキャン速度を非常に遅く設定し、得られる電流値を積分することで、金基板に固定化したフェロセンユニットを定量することができ、 $8.5 \times 10^{-11} \text{ mol/cm}^2$ と求められた。FTIR-RAS 測定から求められた傾き角を用いて細密 6 方充填を仮定すると、ヘリックスペプチド SAM の密度は $8.9 \times 10^{-11} \text{ mol/cm}^2$ と計算されることから、ヘリックスペプチド SAM は実際に稠密な膜であることが示された。

ヘリックスペプチドを介した金基板とフェロセンユニット間の電子移動速度は、クロノアンペロメトリーから求まる速度定数をフォーマルポテンシャルを基準にした印加電圧に対してプロットすることにより求めることができる。

図 3 に、N 端側で金基板に結合したヘリックスペプチド SAM のクロノアンペロメトリーを示す。この減衰曲線から電子移動速度定数を求め、ゼロオーバーポテンシャルに外挿したところ、 2.19 s^{-1} の値が求められた。同様にして、C 端側で金基板に固定化したヘリックスペプチド SAM からは、 1.00 s^{-1} と求められた。これらの値は、大変小さいが、約 4nm の長距離電子移動であることを考えると、異なる評価となる。例えば、電子移動速度の距離依存性を示す減衰因子 β に換算すると、それぞれ 0.33 A^{-1} と 0.36 A^{-1} となる。典型的な共役系ポリマーである poly(phenylene ethynylene) について一般には約 0.3 の値が報告されていることから、ヘリックスペプチドは、共役系ポリマーと同等の電子メデイエーター機能を有すると言える。

フェロセンユニットから金基板へのヘリックスペプチドの電子メデイエーター機能は、N 端側で結合した場合の方が C 端側で結合した場合よりも約

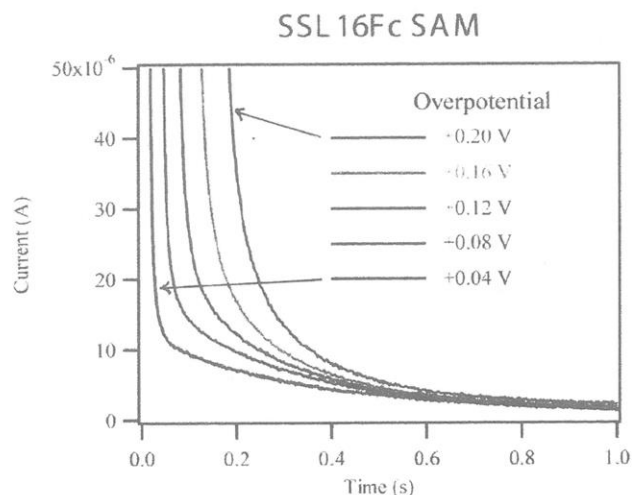


図 3 SSL16FcSAM について、オーバーポテンシャルを変えたときの電流応答の変化。

2倍高かった。この原因として、ヘリックスペプチドの大きなダイポールモーメントによって形成される電場効果が考えられる。³⁾

4. 超高真空下でのヘリックスペプチドを介しての電子移動

走査型プローブ顕微鏡 (STM, STS) を用いて、疎水性ヘリックスペプチド

SAMの観察を行った。図4にSSL24B(図1におけるSSL16Bを24量体にした化合物)のSTM像を示した。STM観察を、バイアス電圧1V、観測電流50pAで行った場合には、均一なペプチドSAMの生成を示すピッツが認められた。ところが、バイアス電圧を-3Vに下げて掃引を繰り返すことで図4に示すように5-10nmのサイズのドメインが観察されるようになった。ペプチドSAMの0.5M NaOH水溶液中でのCV測定

より、負の電位を印加することでAu-S結合が還元され、S⁻の生成することが示されている。このことから、大きな負バイアスを印加することで、超高真空下でもAu-S結合の還元が起こり、ドメイン構造が見えるようになったと考えられる。

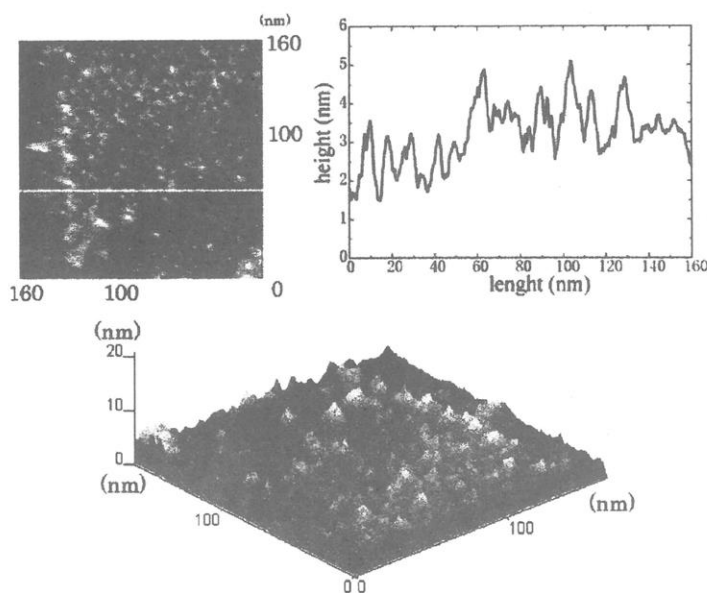


図4 SSL24B SAMのSTM像(-3Vのバイアスで掃引を繰り返した後)。

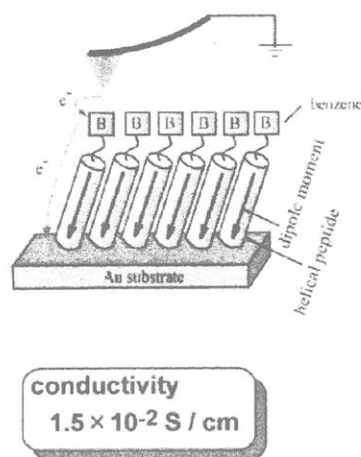
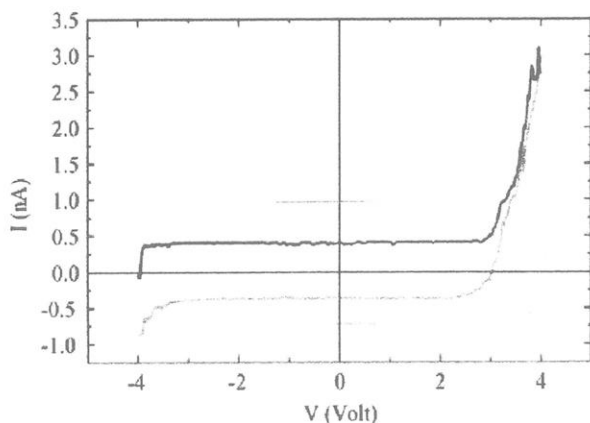
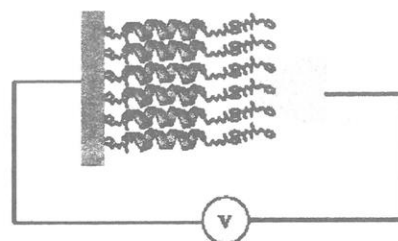


図5 SSL24B SAMのSTS測定。プローブチップをゼロ電位に選び、金基板に電位を印加。

図4の状態でのSTS測定結果を図5に示した。3V以上のバイアスをかけることで電流応答が観測された。この領域の電流-電圧応答からペプチドSAMのコンダクタンスを評価すると、 $1.5 \times 10^{-2} \text{S/cm}$ となった。この値は、半導体の領域に属するが、前項で述べたようにヘリックスペプチドの電子伝達能は共役系ポリマーと同等であることと矛盾しない。

図5の電流-電圧応答は非対称であった。ヘリックスペプチド分子のHOMOとLUMOとのエネルギー差は約8eVであり、3Vのバイアス電圧の印加でLUMOレベルがフェルミレベルまで低下するとは考えにくい。一方、上述したように、Au-S結合は負バイアスの印加により還元されていることが考えられ、金とペプチド単分子膜との界面で形成されるこのS⁻層が、ショットキーバリアとなる可能性が考えられる。従って、図5で観測されたダイオード効果は、ヘリックスペプチド自身が有するダイポールモーメントに基づく電子伝達の異方性が原因ではなく、むしろ、ダイポールによりS⁻層が安定に形成されるためと考えられる。

ここで調製したヘリックスペプチドSAMは、膜厚が3-4nmに及び、長距離電子移動の起こりにくい系である。有機薄膜は通常誘電体として機能すると考えられることから、図6に示したようにヘリックスペプチド薄膜を金基板とSTMチップとの間に挟み、電流-電圧応答を調べた(スキーム1)。この分子システムでは、ヘリックスペプチドは金基板に共有結合で固定化されており、一方、プローブチップとは物理的に接触している。ヘリックスペプチド膜中でのプローブチップの精確な位置は決めることができないので、1Vのバイアスで流れる電流の大きさを変えて位置を変えてデータを収集した。



スキーム 1

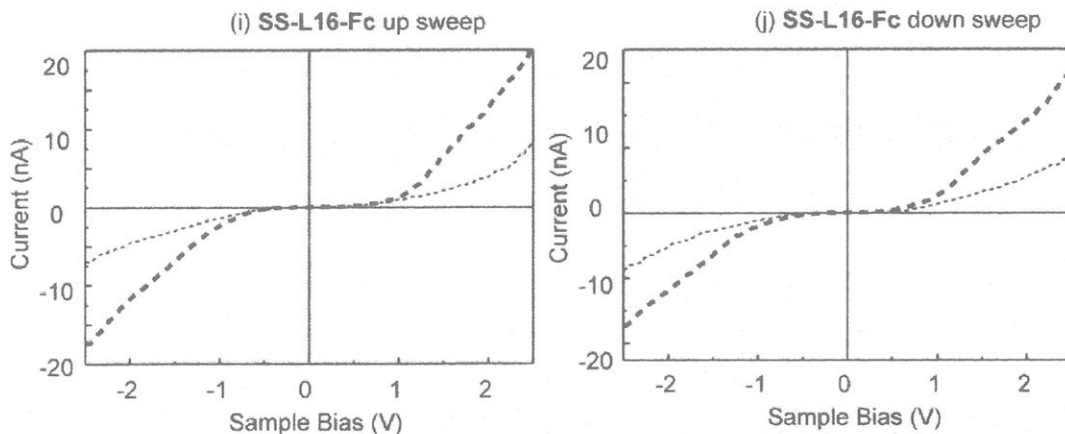


図7 SSL16Fc SAMの電流-電圧応答。破線は20pAの位置に、点線は10pAの位置に、それぞれプローブチップを固定して測定した結果。左図はプラスへ掃引、右図はマイナスへ掃引。

図 7 に示したように、 -0.7V から $+0.7\text{V}$ の範囲でゼロコンダクタンス領域が観測された。前述したように、ヘリックスペプチドの HOMO と LUMO とのエネルギーギャップは約 8eV あり、状態密度が $\pm 0.7\text{V}$ で大きく変化することはなく、状態密度の変化が、ゼロコンダクタンスの原因とは考えにくい。ナノサイズのキャパシタに関して、単一電子トンネリングに基づくクーロンブロッケードの観測されることが報告されている。⁴⁾ 室温にてクーロンブロッケードが観測されるには、キャパシタの容量が $3.1 \times 10^{-18}\text{F}$ より小さいことが条件となる。また、ゼロコンダクタンスの幅を決める臨界電位が 1V よりも小さくなるには、キャパシタンスが $8.1 \times 10^{-20}\text{F}$ より大きい必要がある。そこで、ヘリックスペプチドの単一分子が形成するキャパシタを見積もった。ヘリックスペプチド分子の形状 (FTIR-RAS 測定)、ダイポールモーメント (計算値)、形成される表面電位の実測値を用いて計算すると、そのキャパシタンスは N 端で固定化した場合、 $C = 4.2 \times 10^{-19}\text{F}$ となった。この値は、室温でゼロコンダクタンスが観測されるために必要なキャパシタンスの範囲内に入っている。このことから、ヘリックスペプチド分子によるゼロコンダクタンスの観測は、単一電子トンネリングに基づくものと示唆された。

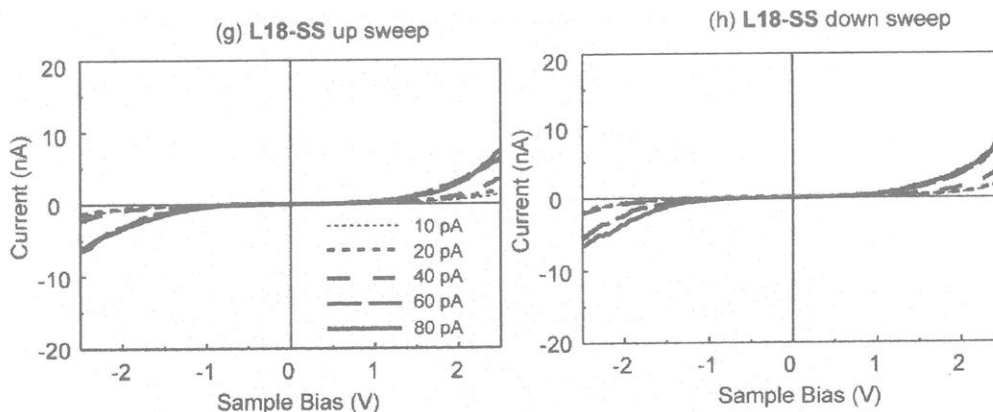


図 8 L18SS SAM の電流-電圧応答。左図はプラスへ掃引、右図はマイナスへ掃引。

図 8 には、C 端側で金基板に固定化した 18 量体ヘリックスペプチドについての電流-電圧測定結果を示した。図 7 に示した SSL16Fc とは明らかに異なり、ゼロコンダクタンス領域が $\pm 1\text{V}$ 以上に拡大した。同じ種類のヘリックスペプチドを用いていることから、ヘリックスペプチドの状態密度分布の電位依存性は、両者では変わらないと考えられ、このことも観測されたゼロコンダクタンスが、クーロンブロッケードに基づくものであることを支持する。実際、C 端側で固定化したヘリックスペプチド分子のキャパシタンスを、分子の形状、ダイポールモーメント、測定した表面電位に基づいて計算したと

ころ、 $C = 7.0 \times 10^{-20}$ Fと求まり、N端側で固定化した場合よりも小さくなった。このことは、ゼロコンダクタンスを示す電圧範囲が広がったことと矛盾しない。

5. おわりに

ヘリックスペプチドは、共役系ポリマーと同等の電子伝達能を有することが見出された。これは、水素結合を介しての電子移動が良好であるためと考えられる。また、4nmにわたる長距離電子移動が観測されたことから、この電子移動ではインコヒーレントな機構が重要と思われる。さらに、ヘリックスペプチドによる強い電場により、ヘリックスペプチドを介しての電子移動速度が影響を受けることが明らかとなった。一方、ヘリックスペプチドを用いて単分子キャパシタを作製したところ、単一電子トンネリングを観察することができた。これは、室温でクーロンブロッケードを観察するのに適したキャパシタンスを、ヘリックスペプチド単分子が有することに基づくが、ヘリックスペプチドの高い比誘電率が原因と思われる。詳細については、現在検討中である。

参考文献

- 1) A. Wada, *Adv. Biophys.*, **9**, 1 (1976)
- 2) Y. Miura, S. Kimura, Y. Imanishi, & J. Umemura, *Langmuir*, **14**, 6935 (1998)
- 3) T. Morita, S. Kimura, S. Kobayashi, & Y. Imanishi, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 2850 (2000)
- 4) R. P. Andres, T. Bein, M. Dorogi, S. Feng, J. I. Henderson, C. P. Kubiak, W. Mahoney, R. G. Oscifchin, & R. Reifenberger, *Science*, **272**, 1323 (1996)

新規耐熱性ポリアミドの開発と市場開発

柏村次史

Tsugunori Kashimura

株式会社クラレ 機能性材料推進部

1. はじめに

1931年にデュポン社のカローザスがポリアミド(以下 PA と略称する場合がある)を発見してから70年以上が経過した。この間ポリアミドは、様々な分野で優れた特性が見出され、その需要は急速に拡大した。特に1950年代以降、金属に代わる材料としてのエンジニアリングプラスチック(以下エンプラと略称する)に対する市場ニーズの高まりを受け、66、6、11、12、MXD6等、各種のポリアミドが相次いで開発された(表1)¹⁾。

さらに1980年代後半以降、電気・電子、自動車分野における一層の高性能化要求に応えるべく、従来のスーパーエンプラの性能を有する高耐熱性ポリアミドの開発が進み、その市場は急速に拡大しつつある(表1)^{2,3)}。

表1 ポリアミド開発の歴史^{1,2,3)}

西暦	会社名(当時)	できごと
1931	DuPont	W.H.Carothers, ポリアミドの発見
1939	DuPont	ナイロン 66 生産開始
1942	IG	ナイロン 6 生産開始
1955	Organico(仏)	ナイロン 11 上市
1966	Huls, Emser	ナイロン 12 上市
1969	Dynamit Nobel	透明ナイロン上市
1972	DuPont	フィラー入りナイロン上市
1976	DuPont	高耐衝撃性ナイロン上市
1983	三菱瓦斯化学	ナイロン MXD-6 上市
1984	DSM	PA46(スタニル)上市
1987	三井石油化学	PA6T(アーレン)上市
1991	AMOCO	PA6T(アモデル)上市
1995	DuPont	PA6T(ザイテルHTN)上市
1998	クラレ	PA9T(ジェネスタ)上市

このような状況下、当社は炭素数9のジアミン(ノナンジアミン)とテレフタル酸からなる新規な耐熱性ポリアミド樹脂(商標名<ジェネスタ>、以下PA9Tと略称する)を開発した。本稿では、本樹脂開発の背景と本樹脂の特長、および具体的用途と今後の展望について概説する。

2. PA9T 開発の背景

(1) 時代背景と市場ニーズ

近年の通信・情報関連機器の小型化、高性能化の要求は今後も継続すると予測される⁴⁾。それを支える基本的な技術が「表面実装技術(SMT: Surface Mount Technology)」であり、コネクタ、スイッチ、リレー等、種々の電子部品を同時に回路基板上に搭載・接続する技術である(図 1)。本技術により、電子機器の小型化、高密度化が達成されるのみならず、製造工程コストを従来法に比べ 2~3 割低減することが可能となった。

但し SMT では、各種部品とそれらを搭載した回路基板を一括してリフロー装置により加熱するため、部品に使用されるプラスチック材料に従来以上のハンダ耐熱性、低吸水性、寸法安定性といった特性が要求され、より高性能なエンブレが必要となる。

一方、自動車産業分野においても新しい高性能エンブレへの要求が高まっている。自動車産業では、炭酸ガス排出量の削減、燃費改善といった環境問題への対応が重要な課題となっており、エンジン周辺の燃料系、吸気系、冷却系等の金属部品の樹脂化、あるいはリサイクルを目的とした熱硬化性樹脂代替等、材料に対する要求性能は一段と厳しくなっている。その結果、従来の汎用エンブレ、例えば PA66 や PBT では、耐熱性、耐久性、耐薬品性などの性能不足が指摘され始めている。

これに代わる材料として、ポリフェニレンスルフィド(PPS)、液晶ポリエステル(LCP)、PA46 や変性 PA6T などの耐熱性ポリアミド等があるが、これらの材料にはいずれも一長一短がある。すなわち、性能、成形性、価格のすべてを同時に満足する材料はない状況であり、将来的に統合材料となり得る「高性能汎用エンブレ」に対する要求が一層強まっている。

(2) 技術的背景

PA9T は、当社独自モノマーであるノナンジアミンとテレフタル酸との脱水重縮合反応により製造される。当社は従来から、安価な石油化学原料であるブタジエンを出発物質として、独自の合成技術を開発、蓄積することにより、種々の化学品の開発・事業化を積極的に推進してきた。これらは当社鹿

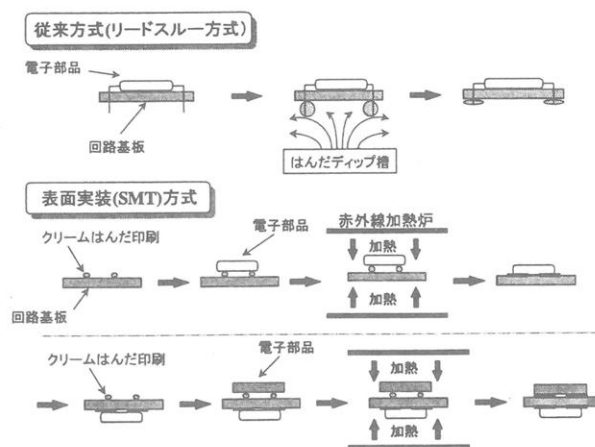


図 1 SMT 工程図

島工場(茨城県)にて 1988 年より生産されており、その一連の製造技術に対しては、独創性に優れた工業技術として 1991 年度の日本化学会・化学技術賞が与えられている。この技術の延長として、還元アミノ化反応工程を完成させることにより、ノナンジアミンの工業的製造法を世界で初めて確立した。ノナンジアミン、PA9T の製造プロセスの概略を図 2 に示す。

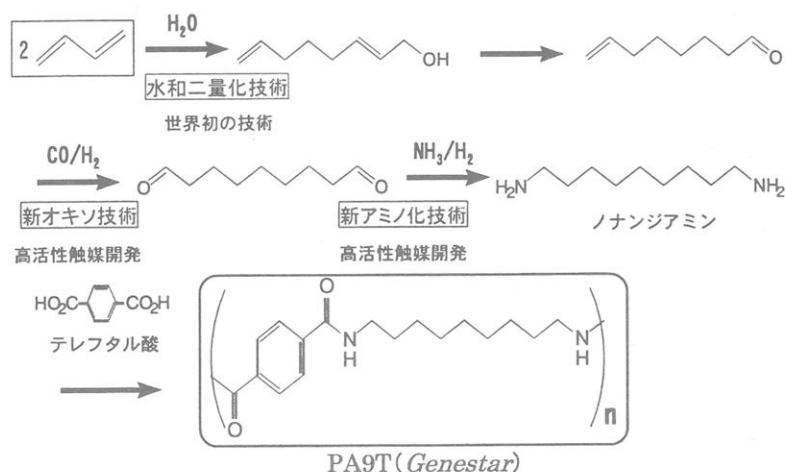


図 2 ノナンジアミン、PA9T の製造プロセス

このような技術的背景を基盤とし、さらに高品質なポリマーの製造技術、各種銘柄のコンパウンド製造技術および精密成形加工技術を確立し、PA9T の市場開発を開始した。

3. PA9T の特長

ここでは、PA9T の化学構造上の特徴を、同じポリアミドに分類される PA46、変性 PA6T との比較のもとに示し、次にその化学構造上の特徴から誘導されるポリマーとしての物性上の特長について述べる。

(1) ポリマーの化学構造上の特長

図 3 に示すように、PA9T の化学構造上の特長は以下の 3 点に要約される。

- 1) ホモポリマー (PA46 と共通)
- 2) 半芳香族構造 (変性 PA6T と共通)
- 3) 長鎖ジアミン構造 (PA9T 独自)

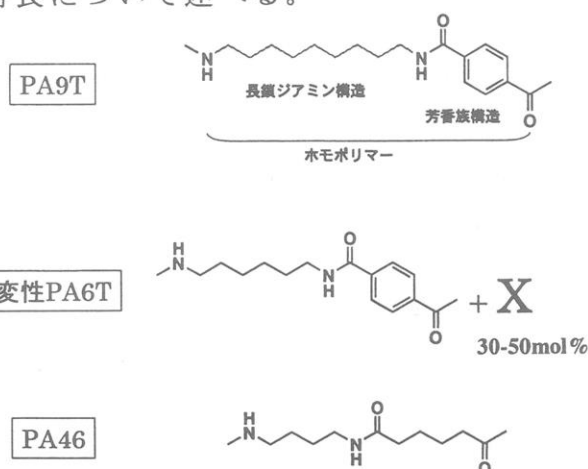


図 3 各種耐熱性ポリアミドの化学構造

PA46 はホモポリマーであるために結晶化速度が大きく、成形品の結晶化度も高いために、優れた耐熱性が発現する。また、全脂肪族構造であるため、柔軟性、靱性、摺動性にも優れる。しかしながら、ガラス転移温度が低く(78℃)、吸水率が高いため、用途、使用条件によっては、寸法安定性、耐熱性等が不足する。

一方変性 PA6T は、半芳香族構造であるため、耐熱性に優れ、脂肪族ポリアミドに比べ、吸水率が低いことが特徴である。しかしながら、共重合体であるため^{注1)}、結晶性が低く、寸法安定性、高温時物性、耐薬品性の低下が問題となる。

注1) 図4にジアミンの炭素数とそれぞれのテレフタルアミドの融点の関係を示す。

一般にポリアミドは 350℃ 付近から顕著に熱分解を起こすため、熔融成形は融点が 320℃ 以下のポリアミドに制限される。ジアミンの炭素数の増加に従って、結晶性ポリマーで一般に観測されるような奇偶効果を発現しながら融点が低下し、炭素数 9 以上で熔融成形可能となる。

PA6T のホモポリマーは 370℃

の融点を有するため、第 3 成分を共重合することにより、成形可能温度まで低融点化した組成で実用化されている。これが、PA6T 系ポリアミドが「変性 PA6T」と呼ばれる理由である。代表的な共重合成分として、アジピン酸とイソフタル酸が使用されている。

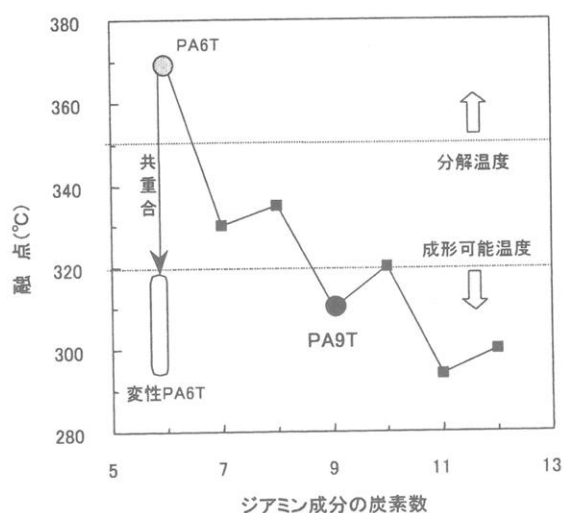


図4 各種テレフタルアミドの融点

(2) ポリマーの物性上の特長

図3に示したように、PA9Tは、PA46、変性PA6Tの化学構造上の特長を兼備した上に、独自の長鎖ジアミン構造を有するため、低吸水性、高結晶性を始めとする種々の特異的な性能を有している。

PA9Tの諸物性を他のポリアミドと比較して以下に示す。

① 吸水性

PA9Tの吸水特性は、ポリアミドとしては最も低いレベルである。ポリアミドの吸水率は、主としてアミド基濃度^{注2)}に依存する。図5に各種ポリアミドの吸水率とアミド基濃度の関係を示す。PA9Tが、耐熱性と低吸水性を兼備した特異的な性能を有することが理解できよう。

注2) アミド基濃度：ポリマー

の繰返し単位におけるアミド基1個当りの炭素数を示す。すなわち、各モノマー（ジアミンとジカルボン酸）の末端官能基間の炭素鎖が長いほどアミド基濃度は低くなる。ポリアミドの吸水率は、アミド基濃度に強く依存する。図5から明らかなように、アミド基濃度の低下に伴って吸水率が低下し、アミド基1個当りの炭素数が8～9以上でほぼ一定となる。

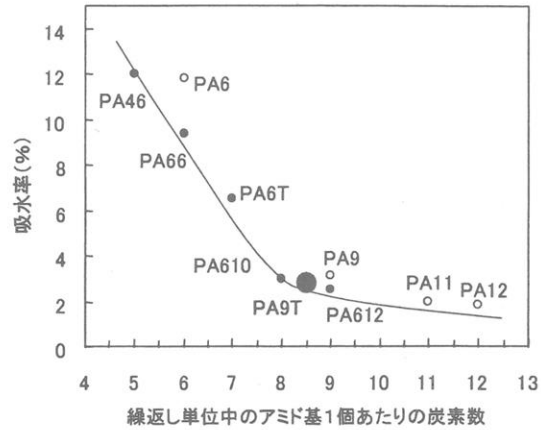


図5 各種ポリアミドの吸水率とアミド基濃度の関係

②耐熱性（高温時物性）

ポリマーの耐熱性については用途、形状、使用条件等により種々の評価方法があるが、ここでは高温時の力学物性について示す。

結晶性ポリマーの場合、成形品の実用耐熱性能を支配する主要な因子はガラス転移温度（ T_g ）と結晶化度である。 T_g は、ポリマー分子がガラス状態からゴム状態に相転移する温度であり、従って当然ながら T_g 以上の温度でポリマーの力学物性は低下する。但し、この転移は主として非晶部で起こるものであるため、成形品の結晶化度が高い（すなわち、非晶部分が少ない）場合には、物性低下の程度は小さい。

図6, 7に PA9T の曲げ強度、曲げ弾性率の温度依存性を示す。

PA46は脂肪族構造であるためにガラス転移温度が低く、50℃付近から強度、弾性率共に低下し始めるが、ホモポリマーであり、結晶化度が高いために、その後の昇温過程における物性低下は小さい。これに対し、変性 PA6T は、半芳香族構造であるためにガラス転移温度が高く、強度、弾性率は100℃付近まで保持するが、結晶化度が低いために、その後の昇温過程における物性低下が著しい。

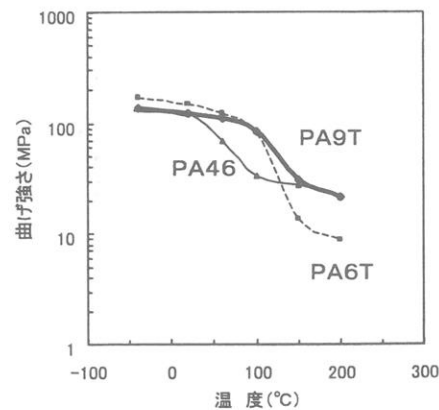


図6 曲げ強さの温度依存性

PA9Tは半芳香族構造であり、かつホモポリマーであるため、

PA46 と変性 PA6T の長所を兼備している。すなわち、強度、弾性率の低下開始温度が高く、ガラス転移温度以上の領域での保持率も高い。

このような特性は、自動車部品分野、特にエンジン周辺の、高温高湿下で使用される部品を設計する場合に重要なる。

③ 摺動性

図 8 に限界 PV 値評価結果を示す。PA9T は、高摺動材料として知られている PA46 と比較しても優れた摺動性能を有する。変性 PA6T は結晶化度が低く、摺動性は劣っている。

この特性は、ギヤ、ベアリングなどの摺動回転部品設計に不可欠であり、寸法安定性(低吸水性)を同時に要求される場合が多い。

④ 耐薬品性

表 2 に PA9T の耐薬品性を示す。他のポリアミドに比べ、特にアルコール、熱水、酸、アルカリ、塩化カルシウム水溶液等に対する耐性が著しく優れている。具体的事例として、自動車のエンジンルーム内部部品で不可欠となる耐 LLC(不凍液:アルコール+水)性評価結果を図 9 に示す。PA66 はもとより、変性 PA6T に比べても、格段に優れた性能を有することがわかる。

表 2 耐薬品性

Solvents	PA9T	PA6T	PA46	PA66	PPS
Gasoline	86	86	71	86	98
Engine oil	89	88	67	81	97
Methanol	72	35	54	39	98
Toluene	82	77	74	68	95
Chloroform	87	85	71	68	87
Hot water (80°C)	90	63	40	44	96
Sulphuric acid (10%aq.)	81	52	42	39	98
NaOH (50%aq.)	85	62	59	71	92
CaCl ₂ (50%aq.)	92	64	52	73	97

Retention(%) of tensile strength after dipping in solvent at 23°C for 7 days
Thickness : 0.2mm

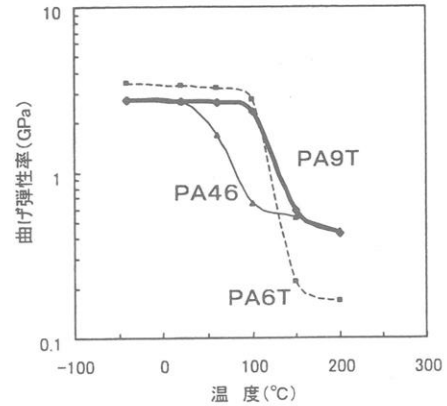


図 7 曲げ弾性率の温度依存性

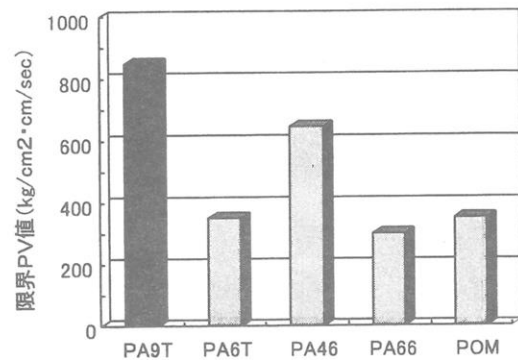


図 8 限界 PV 値

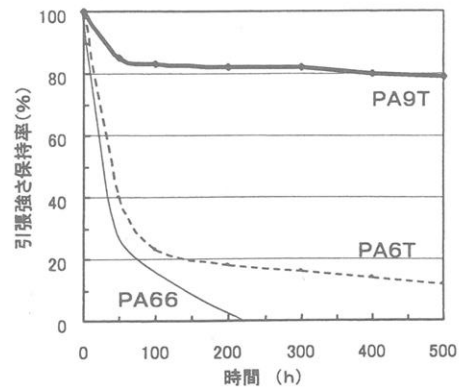


図 9 耐 LLC 性(130°C)

4. 用途開発と今後の展開

(1)用途開発

これまでは、PA9Tの特長が最も生かせる電気・電子産業分野、特にSMT対応コネクタ用途に重点を置いた市場開拓を推進してきた。様々なタイプのコネクタでの実用評価を実施した結果、PA9Tは当分野で要求される諸性能に優れ、欠点のない樹脂との評価が確立しつつある。

一方、近年環境問題から、無鉛ハンダに対する要求が強まっている。現在の無鉛化技術では、ハンダの融点が現行の含鉛ハンダに対して20℃程度上昇する可能性があることから⁵⁾、使用されるプラスチック材料に対する耐熱性能要求が一段と厳しくなっており、PA9Tに対する期待は一層高まっている。

さらに、PA9Tは上述のように優れた性能を有するのみならず、規模拡大に伴い、汎用ポリアミドに近いコストが見込まれることから、将来的には、性能、価格両面から自動車産業のニーズにもマッチした新素材となり得る。既に、優れた耐熱性、摺動性、耐薬品性を特長とした用途として、ベアリングリテーナ、ギヤ等への展開を図っており、一部採用が開始されている。

(2)今後の展開

当社は、PA9Tの事業展開として、まず電気・電子産業分野への展開を主体として、2000年代初頭には数千トン規模の事業を計画している。

また、他の産業分野でも高い評価が得られつつあることから、自動車産業分野を始めとする分野への市場拡大を加速し、当社の将来の基幹事業の一つとなるよう育成していきたい。

参考文献

- 1) 福本修ら, ポリアミド樹脂ハンドブック, p5-表 1.1(化学工業日報社, 1988)
- 2) 小林和彦, 千葉一正, 4th International SAMPE Japan Preprints, 1183 (1995)
- 3) 世界のエンジニアリング樹脂市場年鑑, p164(テクノ情報センター, 2002)
- 4) 柏村次史, プラスチックスエージ, 46, (11), 123(2000);
プラスチック, 49(4), 67(1998); 化学経済, 1998年7月臨時増刊号, p85
- 5) 奥野秀秋, 機能材料, 18(4), 52(1998)

天然ゴムの伸長結晶化について

籾谷信三*¹、村上昌三*¹、登阪雅聡*¹、S. Poombradub*¹、
土岐重之*²、B. S. Hsiao*²

*¹ 京都大学化学研究所、*² ニューヨーク州立大学

1. 緒言

天然ゴムは数ある高分子材料の中でも極めてユニークな存在である。優れた合成ゴムが開発されたにもかかわらずタイヤ用をはじめとして多くのゴム製品に書かすことのできない材料であり、工業材料として一般的に用いられる材料としては唯一と言って良いバイオマス、したがってリニューアブル資源であることが第一点。さらに多くの合成ゴムとは全く異なった 100%シス-1,4-構造という、化学の力では未到達の高度な立体規則性を有していること。その結果として、アモルファス材料でありながら伸長の繰り返しによる可逆的な結晶化が架橋体においても可能である。ニューマチックタイヤなど、動的な大変形下での他の追随を許さない天然ゴムの優秀な力学的特性は、その伸長結晶化能力に負うものと考えられる。

天然ゴムの物性および構造は、高分子の中でもセルロースとともに最も古くから研究されてきたものの一つである。一般に最大延伸比が大きく開放すると瞬時に回復することで知られている。この優れた性質を有するゴムは、タイヤやパッキングとして以前から多く使用されており、これをこえるものはまだ見当たらない。架橋した天然ゴムを室温で 200% 以上延伸すると、分子鎖の配向を経て一部分結晶化し、延伸を開放すると元の非晶状態 (random coil) に戻ることが、すでに 1930 年代には X 線を用いて調べられている¹⁾。しかし、どの程度結晶化するのか、結晶化のメカニズムはどのようなものであるのか、また、結晶化と応力-歪曲線との関係、および回復性の問題など、古典的ゴム弾性理論²⁻⁴⁾が確立されているにもかかわらず、ゴム延伸中の構造と物性の関係は、未だ解決されていない。これらは、これまで X 線観察は 1 回の測定に数 10 分以上を要したため刻々変わる変形中、および応力緩和中の変化を追従し観測できなかったためであろう。しかしシンクロトロン放射光による高輝度 X 線源と応答の速い CCD カメラおよび我々が設計開発した延伸機^{5,6)}を用いて、架橋した天然ゴムの一軸延伸による結晶化のその場 (real time) 観察を行うことによって、これらの問題を解決することが可能となった。それゆえ、応力-歪み測定と X 線回折/散乱の同時測定は過去の通常の X 線で得られたものと異なり、未解決なゴム物性と構造の関係を解く鍵となるであろう。

ゴムの延伸による結晶モルフォロジーは、透過電子顕微鏡による観察がある。Andrews⁷⁻⁹⁾や最近では辻ら¹⁰⁻¹²⁾は、ゴムのベンゼン希薄溶液を水面に拡げて作製した薄膜を室温で延伸した後、低温で200%延伸すると α -フィラメント (shish-kebab に相当する) を300%以上は γ -フィラメント (不連続な結晶核の鎖) の像を観察しているが、バルクな試料の延伸中のX線測定と力学物性がどのように関係しているのか今後の研究が待たれる。

2. 実験

実験はSPring-8(兵庫県播磨)とNSLS(in BNL, New York)の2か所のシンクロトロン放射光施設で行った。X線源はSPring-8ではBL40UXのビームライン(波長0.1nm)を用い、検出器として浜松ホトニクス社のCCDカメラ(C4880-82)を使った。延伸機は我々の設計のものを使用した。この装置ではX線の試料への照射位置が延伸に連れて変わらないようにするため、水平方向に両側から延伸される。また、小型のロードセルを取り付けているので応力-歪みの同時測定が可能である。NSLSのビームラインはX27C(波長0.1366nm)で検出器は同じくCCDカメラを使っており、これに我々の延伸機をセットした。

試料は天然ゴム100に対して硫黄を所定の割合で混合し(SPring-8ではTable 1¹³⁾、NSLSではTable 2)、加熱して厚さ約1mmの架橋ゴムシートを作製して、幅3mm、チャック間長さ25mm(平行部分の長さ10mm)のダンベル形に切断して使用した。

Table 1 Recipe of compounds

Natural Rubber	100	(SMR-5) ^a
Stearic acid	2.0	
Anti-oxidant	1.0	(MBMTB)
Active ZnO	1.0	
Accelerator	1.0	(TBBS)
Sulfur	1.5	

^a Standard Malaysian rubber number, 5

Table 2 Recipe of compounds

Natural Rubber	100	(SMR-L) ^b
Stearic acid	2.0	
Anti-oxidant	1.0	(MBMTB)
Active ZnO	1.0	
Accelerator	1.0	(TBBS)
Sulfur	1.5	

^b Standard Malaysian rubber, light color.

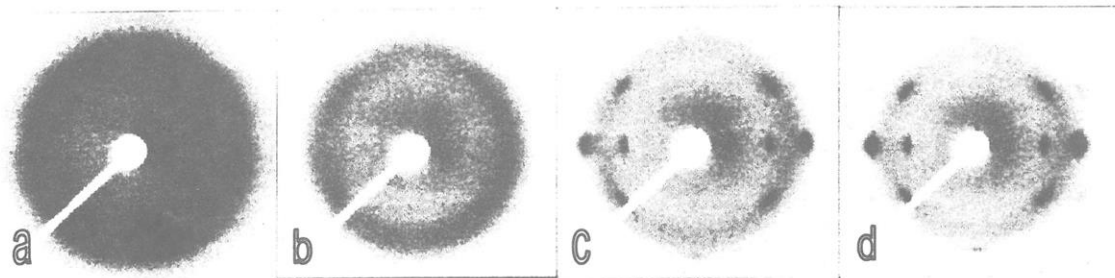


Fig. 1 Wide-angle X-ray diffraction pattern of natural rubber upon stretching at room temperature. (a) 0%, (b) 220%, (c) 400% and (d) 500% of strain.

3. 結果

3.1 延伸中での広角回折パターンの変化

Fig.1 は SPring-8 で 延伸速度 10mm/min で撮ったゴムの広角 X 線回折パターンの 76 枚中の 4 枚を示している¹³⁾。a) は元の試料であり、ブロードな無配向非晶試料を示している。b) は 220% 延伸した時のパターンであり、試料厚さが薄くなったものの無配向非晶散乱にほとんど変化はない。約 230%の延伸から結晶反射が現れ始め c) 400%歪みで明確な結晶反射と非晶のリングが見られる。この結晶反射は Bunn¹⁴⁾によれば単斜晶系で単位格子は $a=1.246\text{nm}$, $b=0.889\text{nm}$, c (繊維軸) = 0.810nm , $\beta=92^\circ$ である。さらに、延伸すると結晶の反射強度は強くなるものの 500%延伸しても依然としてまだ非晶のリングが残っている (d)。200、120 の結晶反射は発生した瞬間を除いて配向の度合いを示す方位角方向の幅はほぼ一定である。方位角方向の結晶反射の幅を Fig2 に示す中心点の幅 α とすると 120 結晶反射角のゆらぎ Θ は 1 式で与えられる。

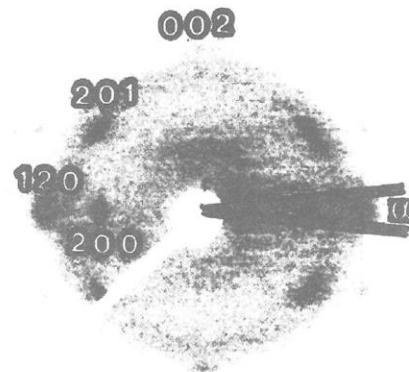


Fig. 2 Crystalline reflection of natural rubber and the orientation angle of crystallites, α .

$$\Theta = (180 - \alpha) / 180 \quad \text{-----} \quad (1)$$

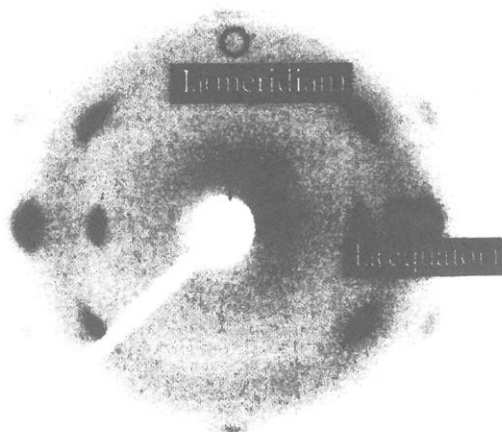


Fig. 3 Definition of $I_a(\text{meridian})$ and $I_a(\text{equator})$.

α は約 12.5° から $\Theta=0.93$ の値が得られた。 $\Theta=1$ の時、全くゆらぎがないときであり、 $\Theta=0.93$ の値と 120 反射は赤道上にあることから、発生した結晶の分子鎖は延伸方向にほぼ平行である¹³⁾。

ブロードなリング状の散乱パターンは、赤道上では無配向非晶と配向非晶からなっている。そこで、延伸中に延伸方向と平行な配向非晶がどれぐらい存在するかを調べてみた。

Fig. 3 に示すように延伸したブロードな非晶リングの子午線上の散乱強度を $I_a(\text{meridian})$ 、赤道上の散乱強度を $I_a(\text{equator})$ とすると $I_a(\text{equator}) - I_a(\text{meridian})$ が配向非晶の量であり、赤道上の配向非晶の割合 χ は(2)式で与えられる。

$$\chi (\%) = \{ [I_a(\text{equator}) - I_a(\text{meridian})] / I_a(\text{equator}) \} \times 100 \quad \text{--(2)}$$

天然ゴムの 500% 延伸下では χ は 4.7% である。また CCD カメラによる赤道上の強度プロファイルから算出した結晶化度は約 13.7% であっ

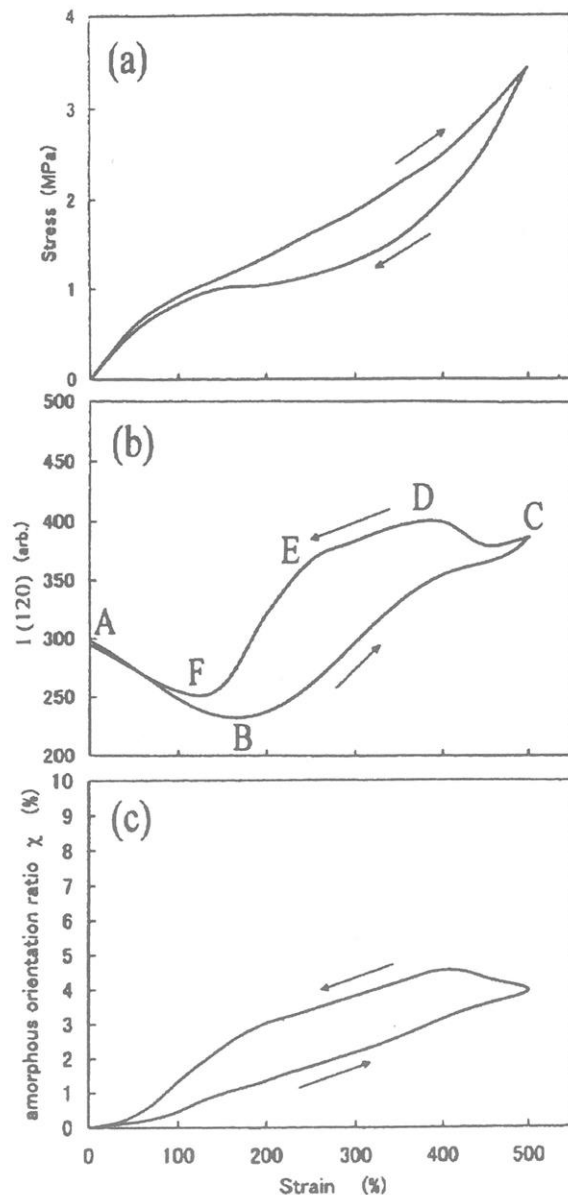


Fig. 4 Hysteresis of stress, $I(120)$ and χ against strain.

た。しかし、CCD カメラはダイナミックレンジが $10^2 \sim 10^3$ と低いので実際の値は不明確であるが、それにしても、500%まで延伸してもランダムなゴムの分子鎖が多く存在していることは驚くべきことである¹³⁾。

3.2 歪みにおける応力のヒステリシスと 120 結晶反射の回折強度と配向非晶の関係

天然ゴムは Fig.4(a)に示すように、延伸と収縮でヒステリシスロスを示す。収縮応力は延伸応力よりも低く現れる。微結晶 (120) 面の位置での X 線ピーク強度 $I(120)$ が Fig.4(b)で示されているが、この強度は応力-歪み曲線と異なって、延伸の時よりもその後の収縮の方が高い^{13,15)}。A→B は非晶の散乱であるが、延伸によって試料が薄くなるために非晶散乱の X 線強度が減少した。B を越えて立ち上がりの少し過ぎた所 (歪み 230%) から結晶反射が現れて C まで増加して行く。折り返しの C 点から僅かに低くなっているのは速度が減少したためである。D 点では逆に C 点より高い。結晶が遅れて発生したためであろうか? 土岐ら¹⁵⁾は折りたたみの結晶ができたとしているが一つの考えであり、今の所わからない。D→E は 120 反射強度が直線的に減少し、E→F は急激に減少している。そして、最も低い F 点で完全に結晶反射が消失する。この点の歪みは約 140%で Fig4(a)のほぼ応力が回復した点に一致する。Fig.4(c)は赤道上的のアモルファスハローの位置 ($2\theta = 20^\circ$) の強度から子午線上のハローの強度を引いた値、すなわち、配向非晶の歪みに対する変化を表したものである。これも最大延伸歪み 500%よりも少し収縮した所が最も高くなっているが、せいぜい 5%である。ほとんどのアモルファスは無配向として残っている¹³⁾。通常のポリマー例えば PET 等は高温で 500%も延伸すれば、無配向非晶から配向した非晶へと変わり、それから結晶へと転移する。しかし、結晶化度は低いもののほとんど配向非晶となっている¹⁶⁻¹⁸⁾。天然ゴムはランダムな分子鎖として存在している。

4. まとめ

シンクロトロン放射光 X 線測定と応力-歪みの同時測定を行った。天然ゴムを室温で約 230%以上延伸すると分子鎖の配向を得て結晶反射が現れてくるが、応力-歪み曲線では応力が少し立ち始めたところである。さらに延伸すると結晶反射の強度は増加するが結晶の配向度は同じである。すなわち、結晶が現れる時は分子鎖が延伸方向と平行となって良く配向しており、延伸に連れてその量が増加する。しかし、500%延伸してもランダムな非晶のリングが観察されることから、結晶および配

向非晶は 30%ほどであり、この少ない部分が応力を担っており、他の大部分は非晶であり、ランダムコイルとなっている。

文献

- 1) Treloar R.G; *The Physics of Rubber Elasticity*, 3rd ed; Oxford University Press: Oxford, 1975.
- 2) Flory P.J; *Principles of Polymer Chemistry*; Cornell University Press: Cornell, 1953.
- 3) Premachandra J.K, Mark J.E; *J.Macromol.Sci.-Pure Appl.Chem.*, A39(4) 287 (2002).
- 4) Premachandra J.K, Kumudinie C, Mark J.E; *J.Macromol.Sci.-Pure Appl.Chem.*, A39(4) 301 (2002).
- 5) Murakami S, Tanno K, Tsuji M, Kohjiya S; *Bull.Inst.Chem.Res. Kyoto Univ.*, 72 418 (1995)
- 6) Murakami S; *Nippon Kagaku Kaishi*, 2000(2) 142 (2000).
- 7) Andrew E.H; *Proc Roy Soc Lond A*, 270, 232 (1962).
- 8) Andrew E.H; *Proc Roy Soc Lond A*, 272, 562 (1964).
- 9) Andrew E.H, Owen P.J, Sing A; *Proc Roy Soc Lond A*, 324, 79 (1971).
- 10) Shimizu T, Tosaka M, Tsuji M, Kohjiya S; *Rubb. Chem. Technol.*, 73, 926 (2000).
- 11) Tsuji M, Shimizu T, Kohjiya S; *Polym. J.*, 31, 784 (1999).
- 12) Tsuji M, Shimizu T, Kohjiya S; *Polym. J.*, 32, 505 (2000).
- 13) Murakami S, Senoo K, Toki S, Kohjiya S; *Polymer*, 43, 2117 (2002).
- 14) Bunn C.W; *Proc. Roy. Soc. Lond A*, 180, 40 (1942).
- 15) Toki S, Fujimaki T, Okuyama M, *Polymer*, 41, 5423 (2000).
- 16) Asano T, Seto T; *Polym. J.*, 5, 72 (1995).
- 17) Murakami S, Nishikawa Y, Tsuji M, Kawaguchi A, Kohjiya S, Cakmak M; *Polymer*, 36, 291 (1995).
- 18) Bedia E.L, Murakami S, Kitade T, Kohjiya S, *Polymer*, 42, 7299 (2001).

リビングラジカル重合の反応速度論：理論と実験の絶対比較

吉川 千晶、福田 猛、後藤 淳

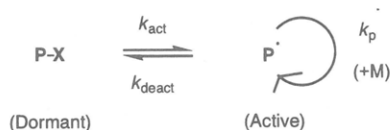
Chiaki Yoshikawa, Takeshi Fukuda, Atsushi Goto

京都大学化学研究所

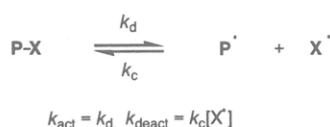
1. はじめに

近年、著しい発展を遂げているリビングラジカル重合 (LRP) は、ラジカル重合の簡便性と汎用性を保ちつつ、分子量や分子量分布などを規制しうる有用な重合法である¹⁾。LRP の基本概念はスキーム 1 (a) に示すように、ドーマント種 (P-X) の成長ラジカル (P•) への可逆的活性化反応にある。現在までに提案された活性化反応の主要機構はスキーム 1 (b) - (d) に示す 3 つに大別される。第 1 は、熱や光などの物理的刺激により P-X が P• と X• に解離する解離結合機構 (b) である。ここで X• は P• とは結合するが、モノマーや自分自身とは反応しない安定な (または持続的な) ラジカルである。第 2 は P-X が触媒 A により活性化される原子移動機構 (c) で、AX は第 1 の機構の X• と同じ働きをする。この (b) と (c) の機構は速度論的に類似している。

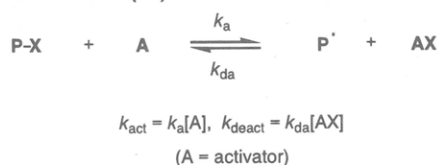
(a) Reversible Activation (General Scheme)



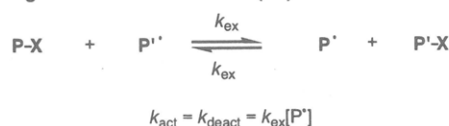
(b) Dissociation-Combination (DC)



(c) Atom Transfer (AT)



(d) Degenerative Chain Transfer (DT)



Scheme 1. Reversible activation processes

第3は P-X が P[•]と交換反応を起こす交換連鎖移動機構(d)であり、これは先の二つとは機構を異にする。これらの系の重合速度や分子量分布に関する理論はすでに確立されている。しかし、それらの理論に対して定性的な検証は行われているものの²⁾、定量的な検証はほとんど行われていない。本稿では、筆者らがこれまでにやってきたそれらの理論と実験の‘絶対的’な比較について紹介する^{9)・10)}。‘絶対的’な比較を行うために、必要な速度定数は理論の検証実験とは独立な実験で決定した。ここでは特に(b)と(c)の2機構を取り上げる^{9),10)}。

2. LRP の理論

典型的な LRP を例にとると、高分子鎖は約 10⁻³ 秒間の活性化状態 (P[•]) を経た後、約 10² 秒程ドーマント状態 (P-X) となる。この活性ドーマント-活性サイクルを頻りに繰り返すことにより高分子鎖は少しずつ成長する。この活性ドーマントの交換頻度が十分高く、副反応 (2 分子停止や移動など) の積算回数が成長種の分子数に比して少なければ、生成高分子鎖の分子量分布は理想的なリビング重合系のそれに近づくと考えられる。リビングとはいえ、LRP においても多少とも副反応、特に停止反応を不可避免的に含むが、これはむしろこの重合法の特性ともいうべきで、この重合法に興味深い反応速度論的特徴を与える。LRP の分子量分布および重合速度則は二つに分類できる。第一はモノマーの熱開始や通常の開始剤による開始反応 (開始速度 R_i) が全く存在しない系である。開始種 P₀-X は速度論的に P-X と同等と仮定する。P₀-X は重合初期に P₀[•]と X[•]に解離し、ラジカル濃度は時間と共に増大するが、やがて P₀[•] (より一般的には P[•]) 間の 2 分子停止反応が顕著になり P[•]の濃度は減少に転じる。一方、[X[•]]は単調に増大し、やがてスキーム 1(a)の可逆的活性化反応は準平衡に達する。この系では、その後も[P[•]]は単調減少し、[X[•]]は単調増加する。このため、過渡的寿命 (1 回の活性化ドーマントサイクルに要する時間) は重合時間と共に短くなる。第二は開始反応が存在する系である。停止反応で消失する P[•]は開始反応で補われるため、[P[•]]及び[X[•]]は定常に達する。同じ時間で比較すると、この系では開始反応がない系に比べて重合速度が大きく、分子量分布がより狭くなる。

上記の議論を理論式で表すと以下のようなになる。ここでは機構(b)を例にとる。なお、既述のように機構(b)と(c)は反応速度論的に類似しているため、[X[•]] = [XA]、k_a = k_a[A]、k_c = k_{da}と置換することによりこれらの理論式は機構(c)に拡張される。

第一の R_i = 0 の場合^{3),4)}、

$$\ln([M]_0/[M]) = (3/2)k_p(K[P-X]_0/3k_t)^{1/3}t^{2/3} \quad (1)$$

$$[Y_B - (1/x_{n,B})]^{-1} = (3/8)k_a t \quad (\text{small } t) \quad (2)$$

第二の R_i ≠ 0、かつ R_i が十分大きいとき^{5),6)}

$$\ln([M]_0/[M]) = k_p(R_i/k_t)^{1/2}t \quad (3)$$

$$[Y_B - (1/x_{n,B})]^{-1} = (1/2)k_d t \quad (\text{small } t) \quad (4)$$

ここで、M はモノマー、K (= k_d/k_c) は平衡定数、 k_d 、 k_c 、 k_p 、 k_t はそれぞれ解離、結合、成長、停止反応の速度定数を表す。一般に、生成高分子 P-X の数平均および重量平均分子量 x_n および x_w は次式で与えられる。

$$Y = w_A^2 Y_A + w_B^2 Y_B \quad (5)$$

$$x_n = x_{n,A} + x_{n,B} \quad (6)$$

ここで $Y = (x_w/x_n) - 1$ は分子量分布指数、 $w_A = 1 - w_B$ は開始部分の重量分率であり、添字 A,B はそれぞれ P-X の開始部分と成長部分を表す。Y および Y_A など実測可能であるから、式(5)、(6)から Y_B を求めることができる。なお、これらの理論式は準平衡が成立する時間領域で、かつ停止反応で失活する高分子の積算濃度が開始種の初濃度 $[P_0 \cdot X]_0$ に比べて十分小さい場合に成立する。また、この系は解離、結合、成長、停止、及び通常の開始反応のみから成り立つと仮定している。

Table 1. Kinetic Parameters Used in This Work

parameter	value	ref
a. NMP (PS-DEPN)		
$k_{i,th}$ ($M^{-2}S^{-1}$) ^a	4.5×10^{-12}	(16)
$k_{i,BPO}$ (S^{-1}) ^a	6.7×10^{-5}	(17)
k_p ($M^{-1}S^{-1}$)	650	(18)
k_t ($M^{-1}S^{-1}$)	3.0×10^8	(9)
k_d (S^{-1})	1.16×10^{-4}	(19)
$K = k_d/k_c$ (M)	1.7×10^{-10}	(9)
b. ATRP		
$k_{i,th}$ ($M^{-2}S^{-1}$) ^b	9.6×10^{-11}	(16)
$k_{i,VR110}$ (S^{-1}) ^b	3.0×10^{-5}	(10)
k_p ($M^{-1}S^{-1}$)	1560	(18)
k_t ($M^{-1}S^{-1}$)	3.6×10^8	(10)
k_a ($M^{-1}S^{-1}$)	0.45	(20)
$K[A] = k_d/k_{da}$ (-)	2.4×10^{-8}	(10)
^a $R_i = k_{i,th}[M]_0^3 + k_{i,BPO}[BPO]_0$ ^b $R_i = k_{i,th}[M]_0^3 + k_{i,VR110}[VR110]_0$		

3. 理論と実験の絶対的な比較

ニトロキシル系

ポリスチレン (PS) と *N-tert-butyl-1-diethylphosphono-2,2-dimethylpropyl nitroxide* (DEPN) の付加体、PS-DEPN ($M_n=2200$ 、 $M_w/M_n=1.13$) をプローブポリマー ($P_0 \cdot X$)

として用い、 $P_0\text{-X}$ を含むスチレンのバルク重合を 80°C で行った。図 1 に GPC 曲線の時間変化を示す。(a) はラジカル開始剤 BPO を含まない系、(b) はこれを含む系である。この曲線は $P_0\text{-X}$ ($t=0$) および時刻 t での $P\text{-X}$ の分子量分布を表しており、これらから式(5)に従って Y_B を算出することができる (本実験条件は正確な実験データを得るために特別に設計したもので、狭い分子量分布をもつ高分子鎖を得るための条件ではないことを注意されたい)。表 1 a に理論の検証に用いた速度定数を示す。これらの速度定数は文献値または本検証とは独立な実験で決定した値である。図 2a 中の実線は式(1)に基づき算出された理論値であり、実験値 (図中○と●) とよく一致する。また図 2b の実線および破線はそれぞれ式(2)、(4)に基づく理論値を表しており、実験値とほぼ一致する。以上の結果より重合速度則(1)式および分子量分布則(2)式の成立を実験的にはじめて確認した。また上記の理論式が予測するように、開始反応の存在が $X\cdot$ の蓄積を防ぎ、重合速度を増大させるとともに分子量分布を (少なくとも限られた範囲では) より狭くすることを実験的に明らかにした。

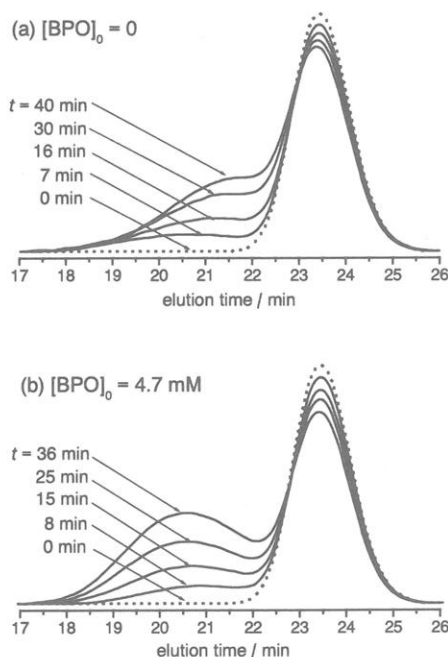


Figure 1. GPC chromatograms for the styrene/PS-DEPN/(BPO)

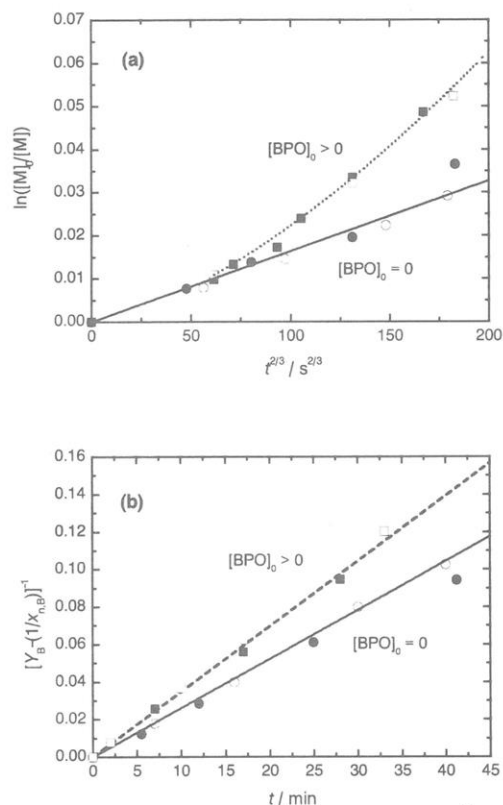


Figure 2. Plot of (a) $\ln([M]_0/[M])$ vs $t^{2/3}$ and (b) $[Y_B - (1/x_{n,B})]^{-1}$ vs t for the styrene/PS-DEPN/(BPO) systems (80 °C): $[PS-DEPN]_0 = 25 \text{ mM}$; $[BPO]_0 = 0$ (● and ○) and 4.7 mM (■ and □). The experiments were duplicated. For (a), the solid line shows eq 1 with the independently determined rate constants (Table 1a), and the dotted line is the best-fit representation of the plots (quares) according to eq 3 (see also the text). For (b), the solid and broken lines show eqs 2 and 4, respectively, with the independently determined k_d value (Table 1a).

ATRP 系

PS と臭素の付加体 PS-Br ($M_n=1200, M_w/M_n=1.08$) をプローブポリマー ($P_0\text{-X}$) として用い、 $P_0\text{-X}$ (10mM)、Cu(I)Br (10mM)、および配位子 diheptyl-4,4'-bipyridine (dHbipy : 30mM) を含むスチレンの溶液重合を *t*-butylbenzene (50 vol%) 中、110°C で行い、その初期重合過程を GPC により追跡した。ATRP 系では重合速度に関する理論の検証はこれまで全くなされていない。その主な要因は技術的な点にあり、重合前 (試料の調製や脱気中) に 1 価の銅錯体の一部が酸化され、測定時間 0 において既に 2 価の銅錯体 (持続ラジカル) が未知量存在することにある (この際に生じた 2 価の銅錯体濃度を決定することは難しい)。本研究では技術的な工夫により、この問題を解決している。表 1b に検証に用いた速度定数を示す。ここでも、必要な速度定数は検証とは独立な実験で決定した。なお、重合初期に着目する限り (<35min)、スチレンの熱開始を無視しうることを

確認している。実験プロット (図 3a 中●及び○) はいずれも、(1) 式に基づく理論線にほぼ一致し、絶対的なスケールで理論の成立を確認することができた。また、この系に高温ラジカル開始剤である 2,2-Azobis(2,4,4-trimethyl pentane) (VR-110) を 40mM 添加したところ、ラジカル開始剤を添加した系 (■) では、添加しない系 (●、○) よりも重合速度が増大した。図 3b に分子量分布指数の時間に対するプロットを示す。ラジカル開始剤を添加しない系 (●、○)、添加した系 (■) とともに、理論線とほぼ一致した。ATRP 系においてもラジカル開始剤の添加が重合速度を増大させるとともに分子量分布を (少なくとも限られた範囲では) より狭くすることを実験的に明らかにした。

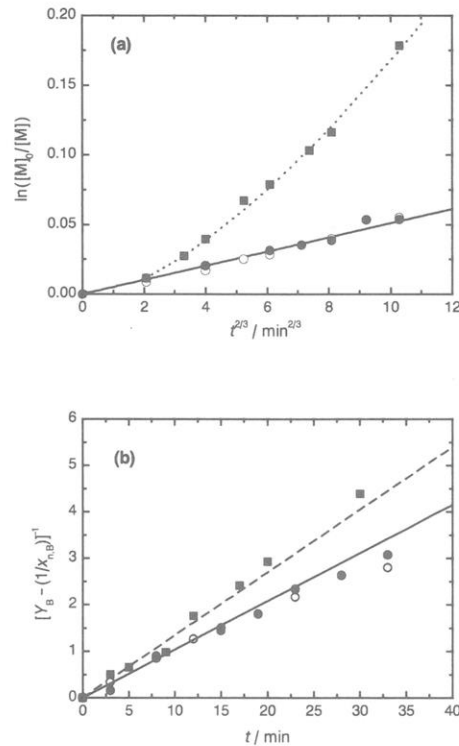


Figure 3. Plot of (a) $\ln([M]_0/[M])$ vs $t^{2/3}$ and (b) $[Y_B - (1/x_{n,B})]^{-1}$ vs t for the styrene/t-butylbenzene/PS-Br/Cu(I)Br/dHbipy/(VR110) system (110 °C): $[PS-Br]_0 = 13$ mM; $[Cu(I)Br]_0 = 10$ mM; $[dHbipy]_0 = 30$ mM; $[VR110]_0 = 0$ (● and ○) and 40 mM (■); $[styrene]/[t-butylbenzene] = 50/50$ v/v. The experiments were duplicated for the system without VR110. For (a), the solid line shows eq 1 with the independently determined rate constants (Table 1b), and the dotted line is the best-fit representation of the plots (squares) according to eq 3. For (b), the solid and broken lines show eqs 2 and 4, respectively, with the independently determined k_a value (Table 1b).

4. おわりに

以上、解離結合系および ATRP 系における分子量分布および重合速度に関する理論を定量的に実証した研究を紹介した。本稿で取り上げなかった連鎖移動機構 (RAFT 系およびヨウ素系) については参考文献^{8),11),14)-15)}を一読していただければ幸甚である。筆者らはこれまでに理論と実験の絶対的な比較を行ってきたが、これは、反応機構の正しい理解が既存の系の最適化や、新たな系の設計に重要であるという認識に基づく。今後は、反応速度論的知識を基盤とした精密な材料設計を行い、汎用性、簡便性、構造制御性など LRP の利点を生かした新しい材料 (機能性高分子材料、有機-無機ハイブリッド、金属ナノ微粒子など) の開発に向けた研究も展開していく予定である。

文献

- 1) (a) *Controlled Radical Polymerization*; Matyjaszewski, K., Ed.; ACS Symp. Ser. 685; American Chemical Society: Washington, DC, 1998. (b) *Controlled/Living Radical Polymerization*; Matyjaszewski, K., Ed.; ACS Symp. Ser. 768; American Chemical Society: Washington, DC, 2000. (c) *Handbook of Radical Polymerization*; Matyjaszewski, K.; Davis, T. P., Eds.; John Wiley & Sons, New York, NY, 2002. (d) Kamigaito, M.; Ando, T.; Sawamoto, M. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3689.
- 2) (a) Kothe, T.; Marque, S.; Martschke, R.; Popov, M.; Fischer, H. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1998**, *2*, 1553. (b) Ohno, K.; Tsujii, Y.; Miyamoto, T.; Fukuda, T.; Goto, M.; Kobayashi, K.; Akaike, T. *Macromolecules* **1998**, *31*, 1064. (c) Lutz, J. -F.; Lacroix-Desmazes, P.; Boutevin, B. *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, *22*, 189. (d) Zhang, H.; Klumperman, B.; Ming, W.; Fischer, H.; van der Linde, R. *Macromolecules* **2001**, *34*, 6169. (e) Zhang, H.; Klumperman, B.; van der Linde, R. *Macromolecules* **2002**, *35*, 2261. (f) Chambard, G.; Klumperman, B.; German, A. L. *Macromolecules* **2002**, *35*, 3420. (g) Pintauer, T.; Zhou, P.; Matyjaszewski, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8196. (h) Shipp, D. A.; Yu, X. *Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc., Div. Polym. Chem.)* **2002**, *43*(2), 7.
- 3) (a) Fischer, H. *Macromolecules* **1997**, *30*, 5666. (b) Fischer, H. *J. Polym. Sci. Part A.: Polym. Chem.* **1999**, *37*, 1885. (c) Souaille, M.; Fischer, H. *Macromolecules* **2000**, *33*, 7378. (d) Fischer, H. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3581.
- 4) Ohno, K.; Tsujii, Y.; Miyamoto, T.; Fukuda, T.; Goto, M.; Kobayashi, K.; Akaike, T. *Macromolecules* **1998**, *31*, 1064.
- 5) (a) Fukuda, T.; Terauchi, T.; Goto, A.; Ohno, K.; Tsujii, Y.; Miyamoto, T.; Kobatake, S.; Yamada, B. *Macromolecules* **1996**, *29*, 6396. (b) Goto, A.; Fukuda, T. *Macromolecules* **1997**, *30*, 4272.
- 6) Souaille, M.; Fischer, H. *Macromolecules* **2002**, *35*, 248.
- 7) (a) Fukuda, T.; Goto, A.; Tsujii, Y. In *Handbook of Radical Polymerization*; Matyjaszewski, K.; Davis, T. P., Eds. John Wiley & Sons, New York, NY, 2002; Chapter 9, p 407. (b) Fukuda,

- T.; Goto, A.; Tsujii, Y. In *Controlled/Living Radical Polymerization*; Matyjaszewski, K., Ed.; ACS Symp. Ser. 768; American Chemical Society: Washington, DC, 2000; p 27.
- 8) Goto, A.; Ohno, K.; Fukuda, T. *Macromolecules* **1998**, *31*, 2809.
 - 9) Yoshikawa, C.; Goto, A.; Fukuda, T. *Macromolecules* **2002**, *35*, 5801.
 - 10) Yoshikawa, C.; Goto, A.; Fukuda, T. *Macromolecules* **2003**, *36*(4), in press.
 - 11) Goto, A.; Sato, K.; Tsujii, Y.; Fukuda, T.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H. *Macromolecules* **2001**, *34*, 402.
 - 12) Barner-Kowollik, C.; Quinn, J. F.; Morsley, D. R.; Davis, T. P. *J. Polym. Sci. Part A.: Polym. Chem.* **2001**, *39*, 1353.
 - 13) Monteiro, M. J.; de Brouwer, H. *Macromolecules* **2001**, *34*, 349.
 - 14) Kwak, Y.; Goto, A.; Tsujii, Y.; Murata, Y.; Komatsu, K.; Fukuda, T. *Macromolecules* **2002**, *35*, 3026.
 - 15) Kwak, Y. et al., to be published.
 - 16) Hui, A. W.; Hamielec, A. E. *J. Appl. Polym. Sci.* **1972**, *16*, 749.
 - 17) Molnar, S. *J. Polym. Sci., Part A-1* **1972**, *10*, 2245.
 - 18) Gilbert, R. G. *Pure Appl. Chem.* **1996**, *68*, 1491.
 - 19) Goto, A.; Fukuda, T. *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 2138.
 - 20) Ohno, K.; Goto, A.; Fukuda, T.; Xia, J.; Matyjaszewski, K. *Macromolecules* **1998**, *31*, 2699.

イメージングプラズモン共鳴装置の試作と細胞チップへの応用

平田伊佐雄, 有馬祐介, 加藤功一, 岩田博夫
Isao Hirata, Yusuke Arima, Koichi Kato, Hiroo Iwata
京都大学再生医科学研究所

緒言

ヒトゲノムの解析がほぼ完了し、3~4万の遺伝子の存在が予測されている。ライフサイエンス分野における次の関心は、情報素子である遺伝子、機能素子であるタンパク質、さらには、機能体である細胞の機能解析へと向かっている。しかし、解析の対象は数万から数十万種類に上り、このような膨大な数の検体を網羅的に解析するためには、一度に多種類の検体を解析できるシステムの開発が必要である。

近年、多検体分析ツールの一つとして、マイクロアレイが注目されている。これは、基板上にDNAやタンパク質を高密度に配列したものである。マイクロアレイを用いる分析では、少量の検体を用いて同一条件下でパラレル分析することが可能である。現在、DNAマイクロアレイは遺伝子発現の網羅的解析に利用されている。一方、タンパク質間相互作用の解析を目的として、プロテインチップの利用も始まっている¹⁾。我々は、従来のバイオチップ技術をさらに進化させ、各種の生細胞を利用した「細胞チップ」の開発し、再生医療研究への利用を目指している。

再生医療研究のアプローチの一つは、未分化な幹細胞を人為的に分化誘導し、目的とする組織や臓器を体外あるいは体内で再構築させようとするものである。このアプローチにおいて重要な要素は、細胞の分化状態の正確な把握および必要な細胞の単離である。細胞の分化状態は、特異的に発現している表面抗原を分析することで評価される。一方、細胞を生きたまま単離するさいにも、細胞表面に発現している抗原(表面マーカー)に対する抗体を用いてアフィニティー分離を行うことができる。ところが、多くの幹細胞においては指標となる表面マーカーに関する情報が乏しく、必要な幹細胞を生きた状態で単離・同定したり、分化状態を正確に把握することに大きな困難が伴う。

従来、細胞表面マーカーの分析にはフローサイトメトリーが多用されてきた。この手法では、蛍光標識した抗体を細胞と結合させた後、各細胞の蛍光強度を検出することで細胞表面マーカーの発現量が調べられる。しかし、

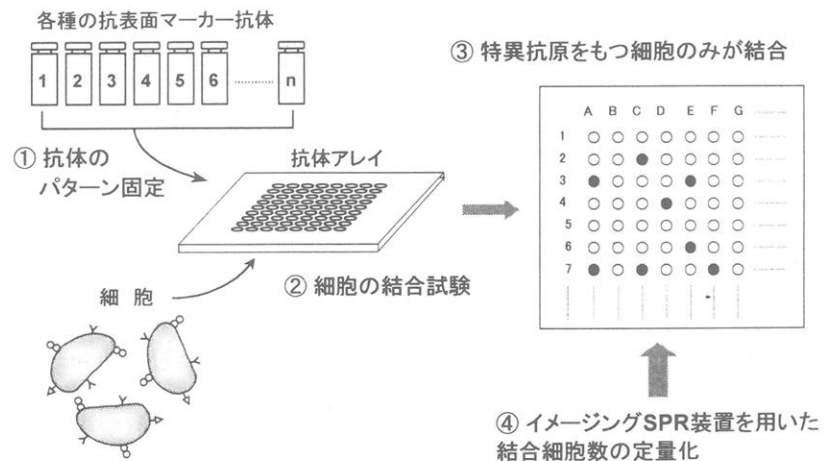


図1 抗体アレイを用いた細胞表面マーカーの迅速分析法の概略。

この手法では一度に分析できる表面マーカー数は数種類に限られる。このため、多数の候補の中から実際に発現している表面マーカーを見出したり、多種類の表面マーカーと分化状態とを関連付けるのは決して容易ではない。そこで本研究では、表面マーカーを迅速にタイピングする手法の確立を目指した。その方法の概略図を図1に示す。まず、多種類の抗体をマイクロスポット状に固定した抗体アレイを作製し、その上で細胞の結合試験を行う。表面マーカーが特異的に相互作用する抗体スポットにのみ細胞が結合する。この結合パターンから細胞表面マーカーの検索が可能と考えられる。

抗体アレイを利用した解析システムには、高速分析法の確立が重要となる。生体分子間の相互作用を生理的条件下で簡便にセンシングする方法として、表面プラズモン共鳴 (SPR) 装置を用いた解析法が頻繁に用いられるようになった。この手法は検出感度に優れているが、従来の SPR 装置では1検体に関する情報しか得ることができない。本研究では、SPR 装置を拡張したイメージング SPR 装置を作製し、マイクロアレイと併用することで多検体解析を試みた。まず、表面特性の異なるスポットを配列したマイクロアレイを作製し、表面タンパク質間相互作用の解析を行った。さらに、抗体アレイに結合した細胞の密度を迅速かつ定量的にとらえる手段として、イメージング SPR 装置の利用を試みた。

実験方法

マイクロアレイの作製

マイクロアレイは自己組織化単分子膜 (SAM) を利用して作製した。作製スキームを図2に示す。クロム 1 nm および金 44 nm を真空蒸着したガラス基板を n-hexadecyl mercaptan の 1 mM エタノール溶液に 24 時間浸漬することで、疎水性の SAM を形成させた。次に SAM 上にフォトマスク (1 mm 径, 5×5 スポット) を載せ、500 W 超高压水銀ランプを用いて紫外線を 2 時間照射した後、エタノール洗浄することによって紫外線照射部のアルカンチオールを脱離させた。その後、金の露出したスポット部に末端官能基の異なる種々のアルカンチオールの 1 mM エタノール溶液 300 nl を滴下し、エタノール雰囲気下で 1 時間静置した。さらに、アミノ基末端のアルカンチオール溶液をスポットした部位の一部には、*N*-ヒドロキシスクシンイミドで片末端が活性化されたポリエチレングリコール (PEG, MW = 2,000) の 8 mg/ml トリエタノールアミン緩衝溶液を 300 nl 滴下し、30 分間静置することで PEG 鎖を導入した。以上の過程により表面特性の異なるマイクロアレイを得た。

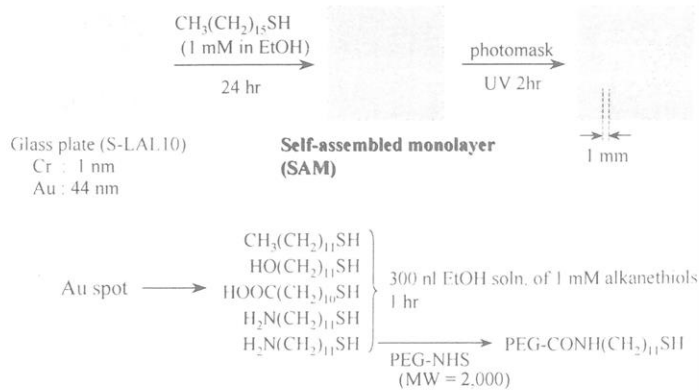


図2 自己組織化単分子膜を利用したマイクロアレイの作製法。

イメージング SPR 装置

イメージング SPR 装置は Corn らの論文²⁾を参考に作製した。装置図を図3に示す。光源としてハロゲンランプを用い、直径約 2.5 cm に広げた平行光を偏光子により p 偏光にした後、プリズムを介して基板裏面

へ照射する。基板面で反射された光は、波長フィルターを介して CCD カメラに受光される。これにより、基板表面全体の屈折率変化を調べることが可能となる。検出感度を上げるため、近赤外光 (905 nm) 用の波長フィルターを用いた。

タンパク質吸着の多点解析

表面特性の異なるスポットを配列したマイクロアレイを利用し、表面-タンパク質間相互作用の多点解析を試みた。本研究では、ウシ血清アルブミン (BSA) およびヒト血清中に含まれる補体タンパク質の吸着挙動の解析を行った。マイクロアレイをイメージング SPR 装置のフローセルに装着し、BSA またはヒト血清溶液を灌流した。このときの各スポットの反射光強度変化をリアルタイムで追跡した。

抗体アレイを用いた細胞表面マーカーの分析

抗体アレイは、前述の方法と同様に SAM を利用して作製した。紫外線照射によりスポット状に金の露出した基板を、カルボキシル基を有するアルカンチオール (11-mercaptopundecanoic acid) の 1 mM エタノール溶液に 2 時間浸漬することで、スポット内部にカルボキシル基を導入した。次に、スポット表面のカルボキシル基を N-ヒドロキシスクシンイミドにより活性エステルに変換した後、25 種類の抗体溶液約 100 nl を各スポットに滴下することで、抗体の固定化を行った。さらに、バックグラウンド部への非特異的な細胞接着を抑えるため、ウシ血清アルブミンを吸着させることでブロッキングを行った。この抗体アレイに対し $1.5-5 \times 10^6$ cells/ml の細胞懸濁液 0.2-0.4 ml を滴下し、37°C、5%CO₂ の雰囲気下で 30 分間静置することで細胞を接着させた。その後、非接着細胞を洗浄除去し、スポットに接着した細胞を 2% グルタルアルデヒド溶液により固定した。次に基板を SPR 装置にセットし、水中下で SPR 像を取得した。各スポットの平均反射光強度を求め、細胞接着密度の指標とした。

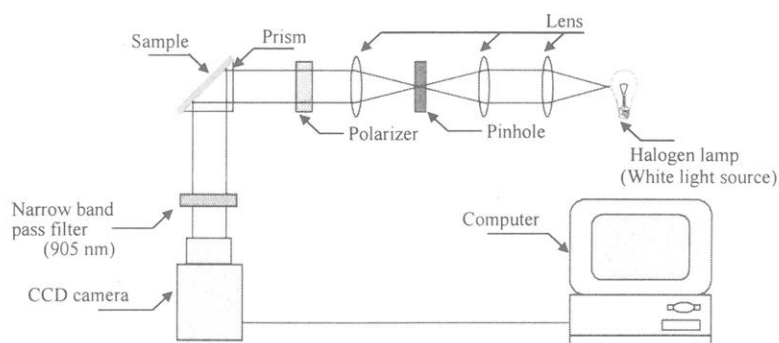


図3 イメージングSPR装置の概略図。

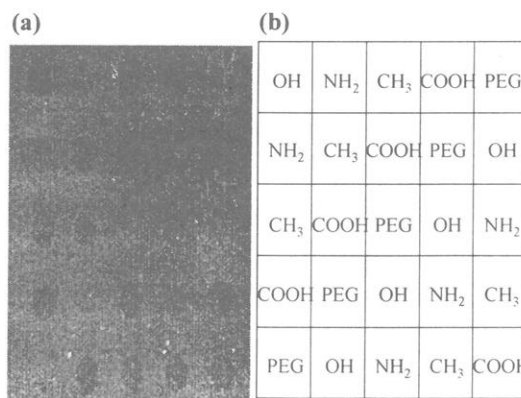


図4 (a) PBS中におけるマイクロアレイの SPR 像. (b) 各スポットの官能基。

結果

タンパク質吸着・バインディングの多点同時モニタリング

イメージング SPR 装置を用いて多検体解析が可能であることを確認するため、表面特性の異なるスポットを配列したマイクロアレイを作製し、各スポットに対するタンパク質吸着の多点同時モニタリングを試みた。

図4には、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 中におけるマイクロアレイの SPR 像を示す。PEG 鎖を導入した部位以外のスポットは楕円形の暗部として観察された。これは、バックグラウンドに比較してスポット部のアルカンチオール鎖長が短いことに起因する。また、PEG 鎖導入スポットにおいては、PEG 鎖が高分子量であるため、他のスポットと比較して明るく観察されたものと考えられる。このマイクロアレイに対し、PBS に溶解した 1 mg/ml ウシ血清アルブミン (BSA) を灌流し、各スポットにおける BSA 吸着挙動を追跡した。図5には、BSA 灌流時の各スポットにおける反射光強度の経時変化を示す。BSA 灌流直後から、表面への BSA の吸着に基づく反射光強度の増大がみられた。PBS 洗浄後の反射光強度の増加量は、表面に吸着した BSA 量に対応するものである。この量はスポットにより異なり、PEG 鎖を導入した部位において最も少なかった。これは、PEG 鎖からなる散漫層により BSA の吸着が抑制されたためと考えられる。また、図6には、BSA 吸着後の SPR 像を示す。

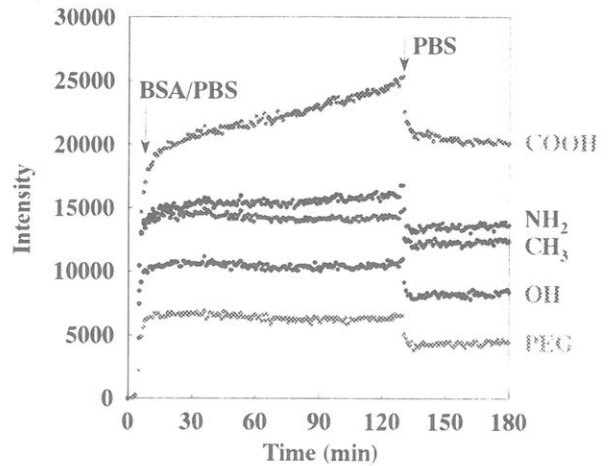


図5 各スポットへのBSA吸着による反射光強度の経時変化。各官能基につき、代表的なデータのみをプロットした。

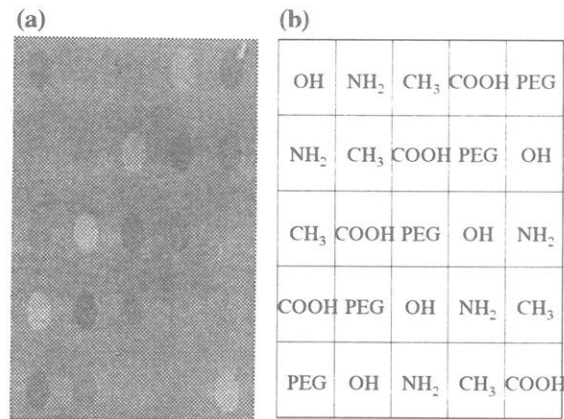


図6 (a) BSA吸着後のSPR像 (PBS中)。 (b) 各スポットの官能基。

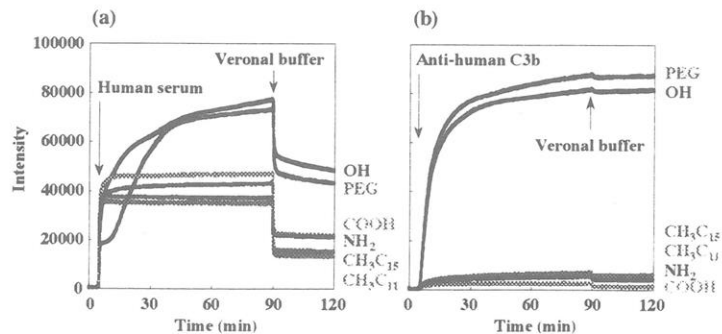


図7 (a) 各スポットに対するヒト血清タンパク質の吸着挙動。 (b) ヒト血清タンパク質吸着後の各スポットに対する抗C3b抗体の結合挙動。

トにおいて明度に差異がみられるが、これは、図5に示したBSA吸着による反射光強度の変化によるものである。

次に、表面に対する補体タンパク質吸着の多点解析を試みた。補体タンパク質は血液中に約20種類含まれており、生体防御反応において重要な役割を果たしている。当研究室では、一点型SPR装置を用いてSAMモデル表面と血清補体との相互作用を解析してきた³⁾。本研究では、マイクロアレイを用いて、補体タンパク質と材料表面との相互作用の多点解析を試みた。図7(a)には、ベロナール緩衝液にて10%に希釈したヒト血清を灌流したさいの反射光強度の経時変化を示す。OHおよびPEGを導入したスポットにおいて反射光強度が大きく増加し、ヒト血清タンパク質が多量に吸着したものと考えられる。これは前述のBSA吸着の結果とは大きく異なっている。材料表面によって補体系が活性化された場合、その表面にはC3bという補体フラグメントが吸着し、炎症反応などを誘発することが知られている。そこで、吸着した血清タンパク質中のC3bに関する情報を得るため、抗C3b抗体の結合量を調べた。図7(b)には、ベロナール緩衝液に1%に希釈した抗C3b抗体を灌流したさいの反射光強度の経時変化を示す。OHおよびPEGスポットにおいて反射光強度は大きく増加した。このことから、両スポットでは補体タンパク質が多量に吸着したことがわかる。

以上のように、イメージングSPRおよびマイクロアレイの併用により、表面-生体分子間およびタンパク質間の相互作用について多点解析の可能であることが示された。

細胞表面マーカーの迅速分析

図8には、種々の細胞について、スポットに結合した実際の細胞数とイメージングSPR装置における反射光強度の関係を示す。細胞種により傾きに差異が見られたが、細胞密度と反射光強度との間には相関が見られた。傾きの差は、接着した細胞の形態の違いによるものと考えられる。この結果から、イメージングSPR装置を用いることで抗体アレイに結合した細胞の密度を迅速に測定できることが示された。

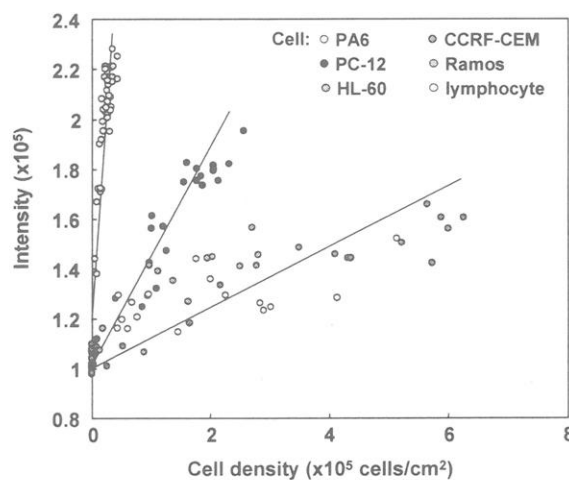


図8 抗体アレイへの接着細胞数とSPR反射光強度の関係。

図9には、種々の白血病細胞を抗体アレイに接着させたさいの各抗体スポットにおける反射光強度を示す。白血病細胞の種類により、各スポットにおける反射光強度のパターンに差異がみられた。それらのパターンは、フローサイトメトリー分析による結果とほぼ一致した。抗体アレイを用いた白血病細胞のタイピング法は報告されている⁴⁾が、接着パターンの解析は目視によるスコアリングであったため、定量性に欠け

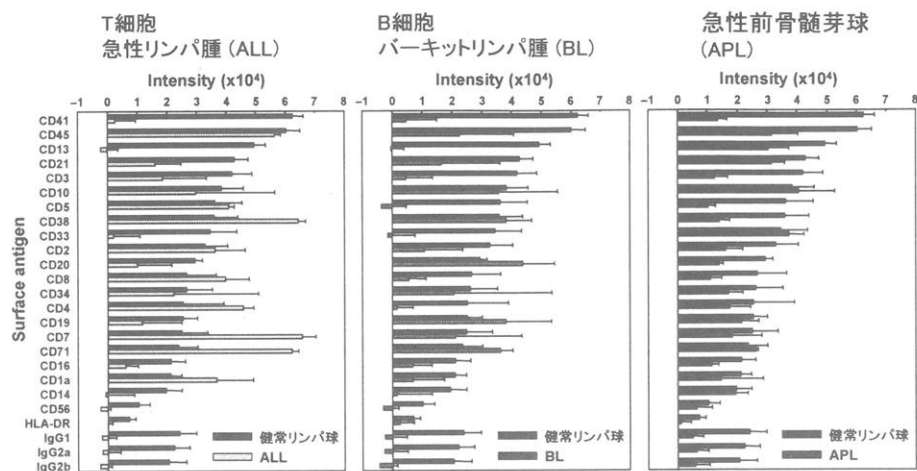


図9 抗体アレイ上に結合した白血病モデル細胞および健常リンパ球の SPRイメージング法による計数結果.

ていた。本研究のようにイメージング SPR 装置を用いることで迅速かつ定量的に分析ができるものと考えられる。

総括

本研究では、イメージング SPR 装置およびマイクロアレイの併用により、生体分子相互作用の多点解析を試みた。異なる官能基を有するマイクロアレイを作製し、表面-タンパク質間相互作用を解析した。官能基に応じて異なる吸着挙動を観察する事ができた。また、抗体アレイへの細胞接着試験から、細胞表面マーカーの迅速解析を試みた。イメージング SPR 装置における各スポットの反射光強度は細胞密度とよく相関していた。これより、抗体アレイへの細胞結合パターンを迅速に定量できることが示された。

謝辞

イメージング SPR 装置の試作について御指導を賜りました京都大学大学院工学研究科 伊藤紳三郎教授に感謝致します。

参考文献

- 1) G. MacBeath and S. L. Schreiber, *Science*, **289**, 1760-1763 (2000).
- 2) B. P. Nelson, A. G. Frutos, J. M. Brockman, and R. M. Corn, *Anal. Chem.*, **71**, 3928-3934 (1999).
- 3) I. Hirata, Y. Morimoto, Y. Murakami, H. Iwata, E. Kitano, H. Kitamura, and Y. Ikada, *Colloids. Surf. B*, **18**, 285-292 (2000).
- 4) L. Belov, O. de la Vega, C. G. dos Remedios, S. P. Mulligan, and R. I. Christopherson, *Cancer Res.*, **61**, 4483-4489 (2001).

カチオン化ゼラチンと超音波の組み合わせによる遺伝子発現の増強

ホセイン・ホセインカニ・青山輝義・田畑泰彦

Hossein Hosseinkhani・Teruyoshi Aoyama・Yasuhiko Tabata

京都大学再生医科学研究所 生体組織工学研究部門 生体材料学分野

1. はじめに

先天性遺伝子疾患や悪性腫瘍などをターゲットとする遺伝子治療に向けてウイルス性および非ウイルス性ベクターの開発が精力的になされてきた¹⁾。ウイルス性ベクターは高い遺伝子発現効率をもつが日常的臨床応用に供するにはいくつかの障害がある。ベクター自体の管理、制御の難しさおよび抗原性、細胞毒性、生殖細胞への外来遺伝子組み込みなどの懸念である。この点を改善するためにウイルスベクターの修飾、改変が行われている。一方、非ウイルス性ベクターはウイルス性ベクターにくらべて、抗原性や細胞毒性は低く、医療材料として用いられてきた実績からも汎用性は高いと考えられる。さらに導入する遺伝子サイズにも制限はなく、化学的修飾も比較的容易である。このようにウイルス性ベクターにくらべて多くの利点があるものの、その遺伝子発現効率はきわめて低いといわざるをえない。多くのカチオン性高分子やリポソームによる遺伝子発現効率の改善が報告されてきたが²⁻⁴⁾、いまのところウイルス性ベクターにはその遺伝子発現効率及んでいない。

非ウイルス性ベクターの遺伝子効率の改善のためのアプローチとしては、遺伝子の細胞内への取りこみや細胞内輸送系の制御などが試みられている。前者の研究では電圧や超音波のような外部からの物理的刺激が有用で、実際、プラスミドDNAの *in vitro* および *in vivo*における発現効率が電氣的刺激や超音波照射によって改善したと報告されている⁵⁾。

非ウイルス性ベクターとプラスミドDNAとの複合体のサイズは細胞内取りこみや、細胞内輸送系へ影響をあたえる因子であり、プラスミドDNA単独では大きさが1 μm に達するものもあることから⁶⁾、複合体サイズを制御することも有望な戦略のひとつである。正電荷を帯びた非ウイルス性ベクターと複合体を形成するとプラスミドDNAの分子サイズは小さくなることが知られている。さらに正電荷を帯びた複合体は負電荷を帯びた細胞膜との電氣的相互作用により取りこまれやすくなることも期待できる。

ゼラチンは生体吸収性高分子であり、これまでに、食品ならびに医薬品として広く利用されている。このような長期間の使用によって、その生体安全性はすでに保障されている⁷⁾。またカチオン化したゼラチンは、他のカチオン化高分子に比較して、その細胞毒性が低いことが知られている。本稿では、このカチオン化ゼラチンの非ウイルス性ベクターとしての有用性を検討した。

エチレンジアミン(ethylene diamine (Ed)) を、ゼラチンのカルボキシル基にさまざまな導入率で反応させてカチオン化ゼラチンを作製し(Ed-gel)、見かけの複合体分子サイズとゼータ電位を測定した。Ed-gelとプラスミドDNAの複合体水溶液を用いてrat gastric mucosal (RGM) 細胞への遺伝子導入と超音波照射による増強効果を検討し、またさまざまなカチオン化の程度が遺伝子発現に及ぼす影響を調べた。さらにEd以外に、スペルミジン(spermidine (Sd)) および スペルミン(spermine (Sm))を用いてゼラチンのカチオン化を行い(Sd-gel, Sm-gel)、超音波照射の有無と合わせて遺伝

子発現効率に与える影響を調べた。

In vivo 遺伝子導入実験では、マウスの大腿筋にカチオン化ゼラチン(Ed-gel)とプラスミドDNAの複合体水溶液を注入した後、注射部位に超音波照射を行い、マウス筋での遺伝子発現効率の改善を検討した。

2. 実験

カチオン化ゼラチン(Ed-gel, Sd-gel, and Sm-gel)の作製とプラスミドDNAとの複合体の形成

豚皮のI型コラーゲンを酸処理することによって得られたゼラチン(大阪、新田ゼラチン社製)に、水溶性カルボジイミド法⁸⁾を用いて、Ed, Sd, Smをそのカルボキシル基に導入した。さらに使用するEdのゼラチン中のカルボキシル基に対するモル比を変えて(カルボキシル基の1倍、10倍、25倍、50倍、100倍)、それぞれEd-1-gel、Ed-10-gel、Ed-25-gel、Ed-50-gel、Ed-100-gelを作製した。Sd, Smでも同様に導入率を変えて作製した。また、使用したプラスミドDNAは、*in vitro*ではcytomegalovirus (CMV) プロモーターとルシフェラーゼ遺伝子を持つpCMV-Lucを、*in vivo*実験ではSV40 プロモーターとLacZ遺伝子をもつpSV-LacZをそれぞれ使用した。カチオン化ゼラチンとプラスミドDNAの複合体はさまざまな混合比でリン酸緩衝生理食塩水(PBS, pH 7.4)中で混和して37 °C, 30 min 静置することによって作製した。

動的光散乱(DLS)と静電光散乱(ELS)

DLS計測はAr⁺レーザー使用DLS-DPA-60HD機(大阪、大塚電子社製)を用いて検出角90°, 37 °C, 30 minの条件で行った。ELS測定はELS-7000AS機(大阪、大塚電子社製)を用いて、37 °C、電場強度100 V/cmで行った。

*In vitro*遺伝子導入実験

RGM細胞をDulbecco's Modified Eagle's Medium (10 wt % fetal calf serum)中で、 1×10^5 cells/2 mlの細胞懸濁液とし、それを6穴プレートに播種し37 °C、5 % CO₂のもとで培養した。細胞が70 %コンフルエントになった時に、カチオン化ゼラチンとプラスミドDNAの複合体溶液を加えた。1時間後、超音波照射群にはIntertron R 6100 US機(米国、ウィリアムズヘルスケア社)を用いてさまざまな条件で照射した。48時間後、1 mlのPBSで2回洗浄後、ルシフェラーゼ活性を測定した。

In vivo 遺伝子導入実験

DDYマウス(♂6週齢)をペントバルビタールで麻酔後、鼠径部の皮膚を切開し、大腿筋を露出させた。カチオン化ゼラチンとプラスミドDNAの複合体溶液の注射予定部位に目印として縫合糸を1針かけた。さまざまな混合比、および異なるプラスミドDNA量でカチオン化ゼラチン(Ed-gel)とプラスミドDNA(pSV-LacZ)の複合体溶液を大腿筋縫合糸部に注射後、各時間経過後に超音波を照射した。超音波の条件は照射時間60 または 90 秒、強度 2 W/cm²、周波数 3 MHz, duty cycle 10 %で行った。一定期間後、マウスを犠死させ、大腿筋の縫合糸周辺半径 5 mm、深さ 5 mm を採取、β-ガラクトシダーゼ活性を測定した。

統計処理

すべてのデータは平均±標準偏差であらわし、Student's t検定によって有意差を検討した。p<0.05を有意差ありとした。

3. 結果

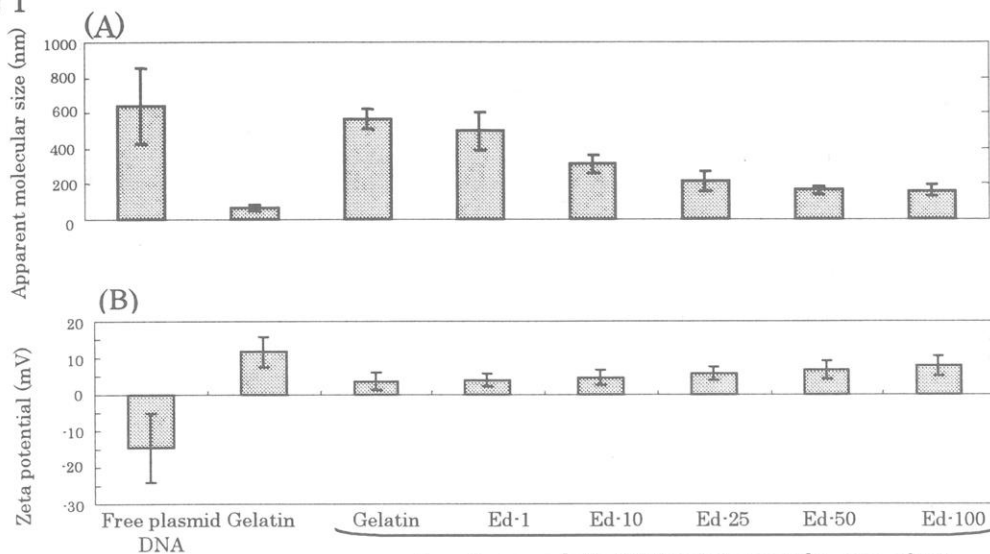
図1に導入率の異なるEd-gelとプラスミドDNA複合体の見かけのサイズとゼータ電位を示す。プラスミドDNAの見かけの分子サイズはカチオン化ゼラチンとの複合体形成により減少し、Ed-50-gel およびEd-100-gel では、複合体の分子サイズは200 nmであった。Edの導入率に関係なく、複合体形成により、プラスミドDNAの負電荷は、打ち消され、複合体は正電荷を帯び、その電荷は導入率の上昇とともに高くなる傾向があった。これらの結果は、Sd-gel and Sm-gelでも同様に認められた。

図2に異なる混合比で作製したカチオン化ゼラチン(Ed-gel、Sd-gel、Sm-gel)とプラスミドDNA複合体の見かけのサイズとゼータ電位を示す。すべてのカチオン化ゼラチンで複合体の見かけの分子サイズは減少した。ゼータ電位はカチオン化ゼラチンの比が高くなるにつれて上昇する傾向があったが、なかでもSm-gelでこの傾向が強かった。

図3にRGM細胞にカチオン化ゼラチン(Ed-50-gel、Sd-50-gel、Sm-50-gel)とpCMV-Luc複合体を種々の混合比で作製しそれによって遺伝子導入実験を行い、超音波による発現効率の改善効果の結果を示す。超音波を使用しなくても、カチオン化ゼラチンを用いると、プラスミドDNA単独に比べて、ルシフェラーゼ活性は高くなり、超音波を照射するとさらに発現効率が改善した。

図4にカチオン化ゼラチン(Ed-gel)とプラスミドDNA (pSV-LacZ)の複合体溶液のマウス筋に注射し、超音波を照射し、異なる期間経過後のマウス筋内での遺伝子発現を検討した。2日目まで遺伝子発現は増強し、その後減少した。超音波を照射しない群では、12時間後以後はほとんど発現量に変化はなく見られなかった。

☒ 1

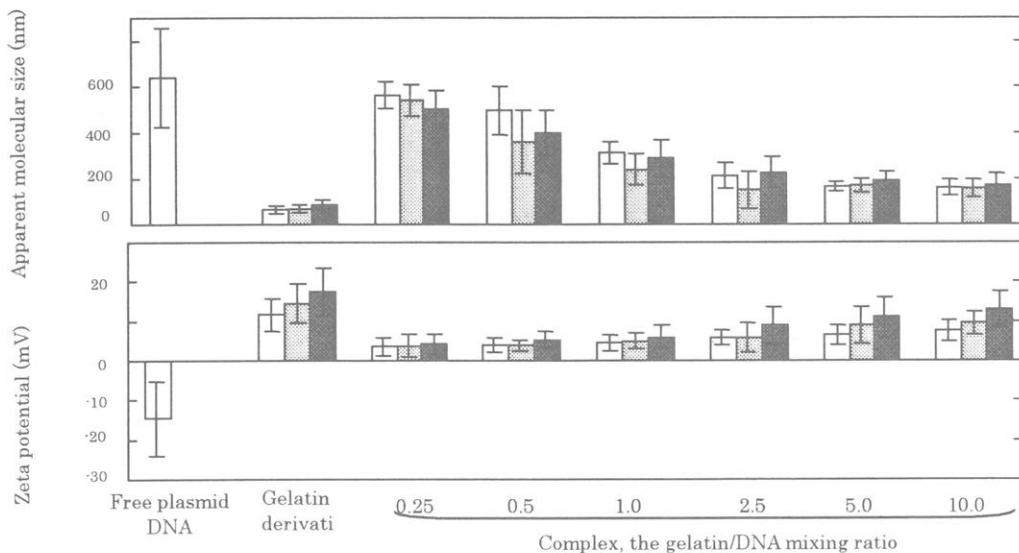


Complexes, gelatin/DNA mixing weight ratio of 5.0
 Apparent molecular size (A) and zeta potential (B) of free plasmid DNA, gelatin, gelatin-plasmid DNA complexes, and cationized gelatin-plasmid DNA complexes prepared at the gelatin/DNA mixing weight ratio of 5.0. The concentration of plasmid DNA was 2 mg/ml.

Ed-X: X means the molar ratio of Ed to the carboxyl groups of gelatin.

The percentages of amino residues introduced to the carboxyl groups of gelatin are Ed-1=10.4%, Ed-10=33.0%, Ed-25=42.6%, Ed-50=47.8%, and Ed-100=50.2%, respectively

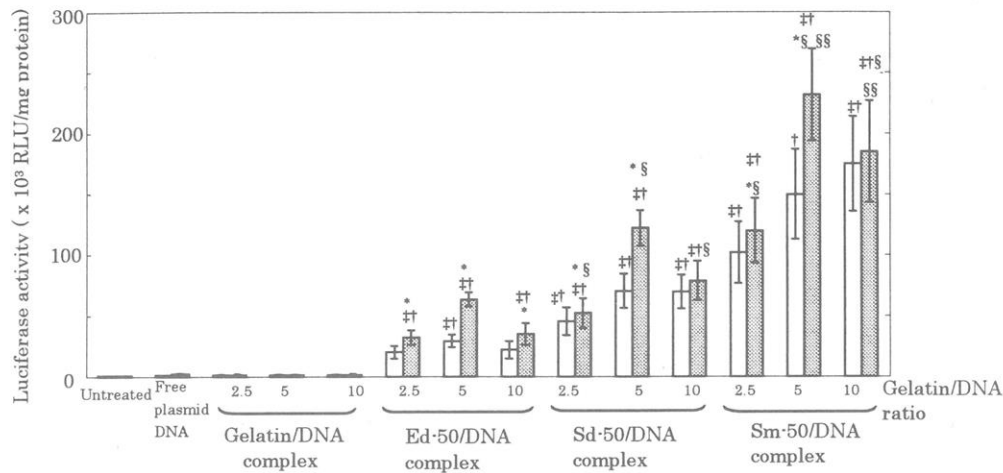
☒ 2



Apparent molecular size (A) and zeta potential (B) of free plasmid DNA, gelatin derivatives of Ed, Sd, and Sm, and gelatin derivatives - plasmid DNA complexes prepared at different mixing weight ratios of gelatin/DNA: Ed-50 (□), Sd-50 (▨), and Sm-50 (■). The concentration of plasmid DNA used is 2 mg/ml.

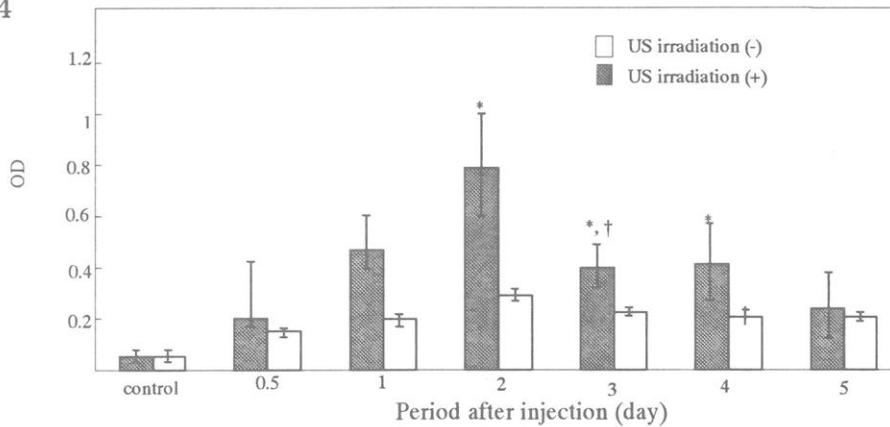
The percentages of amino residues introduced to the carboxyl groups of gelatin are Ed-50=47.8%, Sd-50=48.1%, and Sm-50=49.0%.

图3



Luciferase activity of RGM-1 cells 48 hr after treatment of free plasmid DNA, gelatin-plasmid DNA complex, and gelatin derivative-plasmid DNA complexes with (■) or without US irradiation (□). The dose of plasmid DNA is 0.1 mg/ml and the mixing weight ratios of gelatin/DNA is 2.5, 5.0, and 10. The gelatin derivatives used are Ed-50, Sd-50, and Sm-50. The US irradiation was performed various time periods after DNA application (irradiation time periods = 60 sec, intensity = 1 W/cm², frequency = 3 MHz, and duty cycle = 10 %). *, p < 0.05; significant against the activity of RGM-1 cells after treatment of the corresponding gelatin derivative-plasmid DNA complex without US irradiation. †, p < 0.05; significant against the activity of RGM-1 cells after treatment of free plasmid DNA without US irradiation. ‡, p < 0.05; significant against the activity of RGM-1 cells after treatment of free plasmid DNA with US irradiation. §, p < 0.05; significant against the activity of RGM-1 cells after treatment of the Ed-50 gelatin-plasmid DNA complex at the corresponding gelatin/DNA ratio and US irradiation. §§, p < 0.05; significant against the activity of RGM-1 cells after treatment of the Sd-50 gelatin-plasmid DNA complex at the corresponding gelatin/DNA ratio and US irradiation.

图4



Gene expression of mouse muscles different time periods after the intramuscular injection of Ed-gel derivative-pSV-LacZ complexes with (■) or without (□) the subsequent US irradiation. US irradiation for 60 sec was performed 120 min after injection of the complex containing 50 µg of pSV-LacZ and gene expression was evaluated at different time intervals.

*, p < 0.05; significant against the OD value of control muscles receiving neither the complex injection nor US irradiation.
 †, p < 0.05; significant against the OD value of muscles receiving the complex injection without US irradiation.

4. 考察

カチオン性高分子は非ウイルス性ベクターとして広く研究されている。この非ウイルス性ベクターの遺伝子発現効率の改善のために本稿では2つのアプローチを試みた。一つはプラスミドDNAとの複合体のサイズおよび電荷をさまざまなカチオン化ゼラチンを作製することよりの最適化することで、もうひとつは外的な刺激として超音波照射を行うことである。

カチオン化ゼラチンとの電氣的相互作用により、元来負電荷を帯びているプラスミドDNAの分子内斥力が軽減され、サイズの縮小した複合体を形成することができると考えられる(図1)。全体として正電荷を帯び、サイズも縮小した複合体形成は、おそらく標的細胞内へ取りこまれやすくなり、その結果として、遺伝子発現が増強したと考えられる。

スペルミン(Sm)はEd やSdにくらべて、多くのアミノ基を一分子内に持っている、同じ量でゼラチンをカチオン化してもより正電荷は多くなった。導入量の増加とともにSm-gelのサイズは正電荷の斥力のために大きくなると予想されるが、サイズの縮小効果はカチオン化ゼラチンの種類に関係なくみられた。これはアミノ部分は複合体サイズに影響を与えるほど大きくないためであると考えられた(図3)。また、細胞のエンドソーム内プロトンによるpH低下とそれに伴う分解酵素活性を抑制する、Buffering Effect⁹⁾ に関して、Sm誘導体は、Ed誘導体に比べてbuffering capacityが高く、遺伝子導入効率にすぐれていたと考えられる。

一般に、超音波の照射による生物学的な影響は、温熱作用、キャビテーション現象、直接の機械的な作用の3つに分けることができる。超音波照射を低出力でおこなえば暴露部位の高熱を避けることができるとされている¹⁰⁾。実際、*in vitro*実験で超音波照射部位の温度を測定すると 28 ± 2 °Cであった。この遺伝子導入実験系では温熱作用ではなく、細胞膜の透過性を亢進させるキャビテーション現象が主要なメカニズムではないかと考えられた¹¹⁾。カチオン化ゼラチンの最適化で得られた遺伝子発現増強効果は超音波照射によってさらに改善された。

4. おわりに

本研究では、カチオン化ゼラチンと超音波の組み合わせにより、*in vitro* および *in vivo* での遺伝子発現効率の増強が示された。この2つの技術は生体安全性、非侵襲性、毒性、コストの面などで有利であり、遺伝子治療のような臨床応用に向けた有望な手段であると考えられる。

5. 文献

- 1) M. Fechheimer, J. F. Boylan, S. Parker, J. E. Siskin, G.L. Patel, S. G. Zimmer, "Transfection of mammalian cells with plasmid DNA by scrape loading and sonication loading," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 8463-8467(1987).
- 2) N. J. Caplen, E. W. Alton, P. G. Middleton, J. R. Dorin, B. J. Stevenson, X. Gao, S. R. Durham, P. K. Jeffery, M. E. Hodson, C. Coutelle, "Liposome-mediated CFTR gene transfer to the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis," *Nat. Med.*, 1(1), 39-46(1995).

- 3) M. Cotten, E. Wagner, "Non-viral approaches to gene therapy," *Curr. Opin. Biotechnol.*, 4(6), 705-710(1993).
- 4) A. V. Kabanov, V. A. Kabanov, "DNA complexes with polycations for the delivery of genetic material into cells," *Bioconjug. Chem.*, 6(1), 7-20(1995).
- 5) W. J. Greenleaf, M. E. Bolander, G. Sarkar, M. B. Goldring, J. F. Greenleaf, "Artificial cavitation nuclei significantly enhance acoustically induced cell transfection," *Ultrasound Med. Biol.*, 24(4), 587-595(1998)
- 6) B. Abdallah, L. Sachs, B. A. Demeneix, "Non-viral gene transfer: applications in developmental biology and gene therapy," *Biol. Cell*, 85(1), 1-7(1995).
- 7) D. Zekorn, "Modified gelatin as plasma substitutes," *Bibl. Haematol.*, 33, 30-60(1969).
- 8) G. T. Hermanson, A. K. Mallia, and P. K. Smith, *Immobilized Affinity Ligand Techniques*, Academic Press, San Diego, 1992, pp. 51-136.
- 9) W. T. Godbey, K. K. Wu, and A. G. Mikos. "Poly(ethylenimine) and its role in gene delivery," *J. Controlled Release*, 60, 149-160 (1999).
- 10) K. B. Bradnock, H. T. Law, K. Roscor, "A quantitative comparative assessment of the immediate response to high frequency ultrasound and low frequency ultrasound (long wave therapy) in the treatment of acute ankle sprains," *Physiotherapy*, 82, 78-84(1996).
- 11) U. Lauer, E. Burgelt, Z. Squire, K. Messmer, P. H. Hofschneider, M. Gregor, M. Delius, "Shock wave permeabilization as a new gene transfer method," *Gene Ther.*, 4, 710-715(1997).

ヘテロ多糖類の酵素触媒合成

小林四郎、大前 仁、藤川俊一、牧野 顕、森 知紀

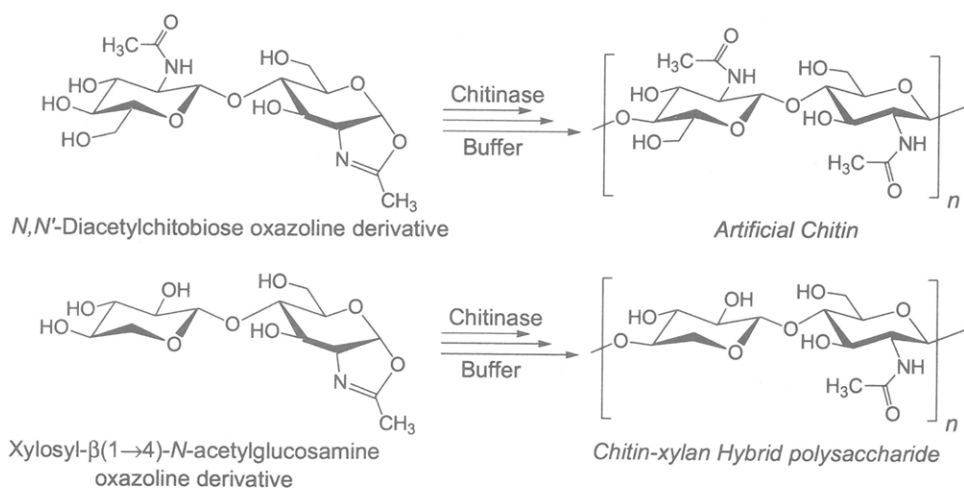
S. Kobayashi, M. Ohmae, S. Fujikawa, A. Makino, T. Mori

京都大学大学院 工学研究科 材料化学専攻

1. はじめに

筆者らは酵素を分子触媒の一つとして捉え、酵素を積極的に重合触媒として用いる高分子合成法（「酵素触媒重合」）を系統的に研究してきた¹⁾。すなわち、「酵素触媒重合」を「酵素触媒を用いる非生合成経路による *in vitro* 高分子合成」と定義し、多糖類、ポリフェノール、及びポリエステルなどの効率的合成を行ってきた。近年、機能性高分子材料の開発における精密構造制御の必要性が高まっており、酵素触媒重合はそれらに対応できる高分子合成法として注目されている。酵素触媒重合におけるターゲット高分子として多糖類、芳香族ポリマー（ポリフェノール、ポリアニリン）、ビニルポリマー、ポリアミノ酸、ポリエステル、ポリカーボネートが挙げられ、従来法では合成困難な高分子が、酵素触媒の持つ基質・反応特異性を *in vitro* で巧みに生かすことにより合成されている。酵素触媒重合で用いられる酵素触媒としては加水分解酵素（hydrolases）が最も多い。これは、天然に多種多様な加水分解酵素が存在し、それらの殆どは安価に入手可能であるためであると考えられる。

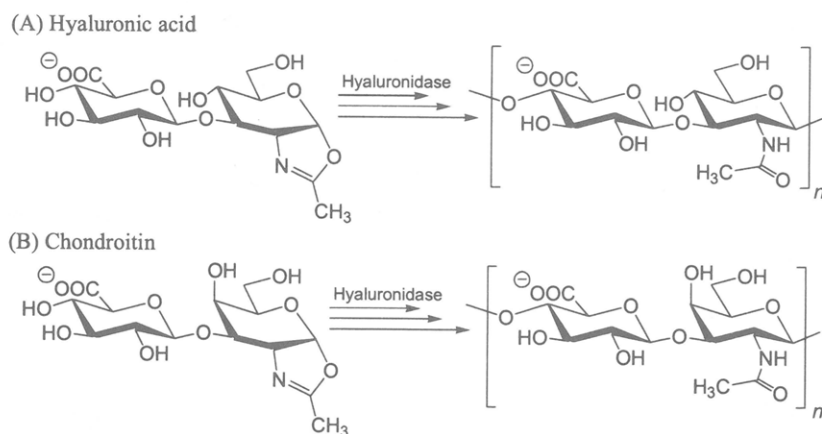
酵素触媒重合による多糖類の合成は、本来グリコシド結合の切断を触媒する糖加水分解酵素（glycoside hydrolases）を逆に結合生成の触媒として機能発現させ、基質モノマー同士の結合生成反応が繰り返し起こることにより達成される。酵素触媒重合により合成された多糖類の例としてキチン²⁾及びキチン-キシランハイブリッド多糖を以下に示す（スキーム1）。



Scheme 1

ここで用いられる酵素触媒はキチナーゼ (*Bacillus* 属) であり、本来キチンの $\beta(1\rightarrow4)$ グリコシド結合をエンド的に加水分解するグリカナナーゼである。一方、モノマーはそれぞれ *N, N'*-ジアセチルキトビオースオキサゾリン誘導体及びキシロシル- $\beta(1\rightarrow4)$ -*N*-アセチルグルコサミンオキサゾリン誘導体であり、これらはいずれも非還元末端側アノマー位炭素原子がオキサゾリン構造により活性化された、いわゆる活性化基質モノマーであり、且つ、そのオキサゾリン構造がキチナーゼによるキチン加水分解反応における遷移状態と推察されるオキサゾリニウムイオンの構造類似体であることから特に「遷移状態アナログ基質モノマー」と呼ばれる。キチンは、その構造が $(1\rightarrow4)$ - β -*N*-アセチルグルコサミンポリマーであり、単一の糖が単一のグリコシド結合により繋がった構造であることから、ホモ多糖と呼ばれる。一方、キチン-キシランハイブリッド多糖はキシロースと *N*-アセチルグルコサミンの異なる二種の糖が $\beta(1\rightarrow4)$ 結合で繋がった構造をしており、天然に存在しない構造であるため非天然型ヘテロ多糖と呼ばれる。

天然に存在するヘテロ多糖としては、グリコサミノグリカンに分類されるヒアルロン酸 (HA) 及びコンドロイチン (Ch) が挙げられる。これら HA 及び Ch は細胞外マトリクスをはじめとする生体内のあらゆる組織中に存在し、細胞の増殖や分化、組織の形態形成に直接関与している重要な生体高分子である。HA 及び Ch の構造は、それぞれ D-グルクロニル- $\beta(1\rightarrow3)$ -*N*-アセチル-D-グルコサミン (GlcA $\beta(1\rightarrow3)$ GlcNAc) 及び D-グルクロニル- $\beta(1\rightarrow3)$ -*N*-アセチル-D-ガラクトサミン (GlcA $\beta(1\rightarrow3)$ GalNAc) を繰り返し二糖構造とし、さらにそれらが $\beta(1\rightarrow4)$ グリコシド結合で繋がった極めて複雑な構造を有する。このような構造を持つ HA 及び Ch の効率的な合成法は有機化学的、あるいは生化学的にも今のところ殆ど報告例がない。ここでは、酵素触媒重合によるヘテロ多糖 HA³⁾及び Ch の合成について述べる (スキーム 2)。



Scheme 2. Enzymatic polymerization to artificial hyaluronic acid (A) and chondroitin (B).

2. モノマーの分子設計

HA を加水分解するグリカナナーゼとしては $\beta(1\rightarrow4)$ -*N*-アセチル-D-グルコサミニド結合を加水分解するエンド- β -*N*-アセチルヘキソサミニダーゼ (EC3.2.1.35 ; 以下、HAase と略す)

と、 $\beta(1\rightarrow3)$ -D-グルクロニド結合を加水分解するエンド- β -グルクロニダーゼ (EC3.2.1.36) の二種がある⁴⁾。これら二種の酵素はいずれも加水分解後のアノマー位立体構造が β 型に保持される retaining

(保持)型酵素である。従って、これらの酵素を触媒として用いる場合のモノマー単位として、図1に示す二種が考えられる。

しかしながら、エンド- β -グルクロニダーゼは市販されておらず、入手困難であることから HAase を重合触媒として用いるこ

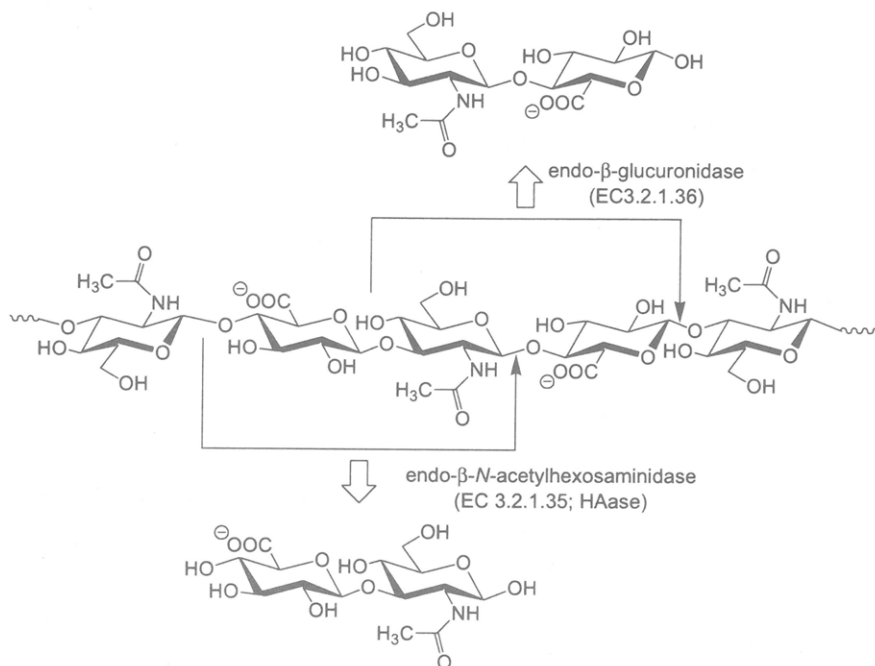


Figure 1. Hydrolysis products catalyzed by two kinds of the enzymes.

とを計画した。即ち、我々は HAase の加水分解反応がオキサゾリニウムイオンを経由して進行すると推察し、その構造類似物質である GlcA $\beta(1\rightarrow3)$ GlcNAc オキサゾリン誘導体 **1** を遷移状態アナログ基質モノマーとして設計・合成することを計画した (図2)。

一方、この HAase は Ch における $\beta(1\rightarrow4)$ -N-アセチル-D-ガラクトサミニド結合も加水分解する。Ch においても HA 同様、 $\beta(1\rightarrow3)$ -D-グルクロニド結合を加水分解するエンド- β -グルクロ

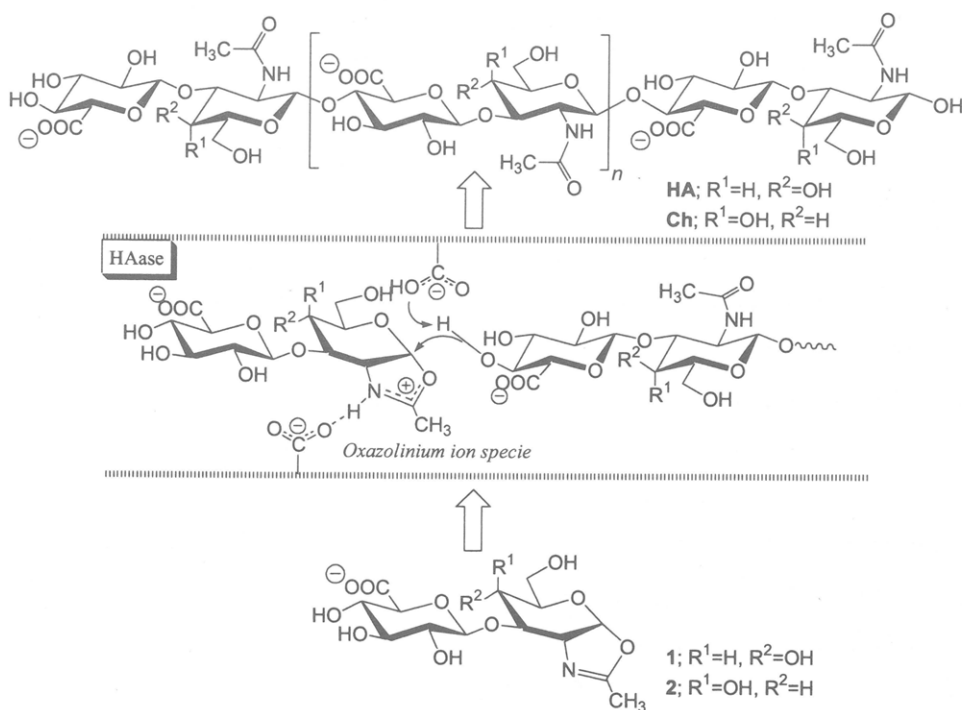
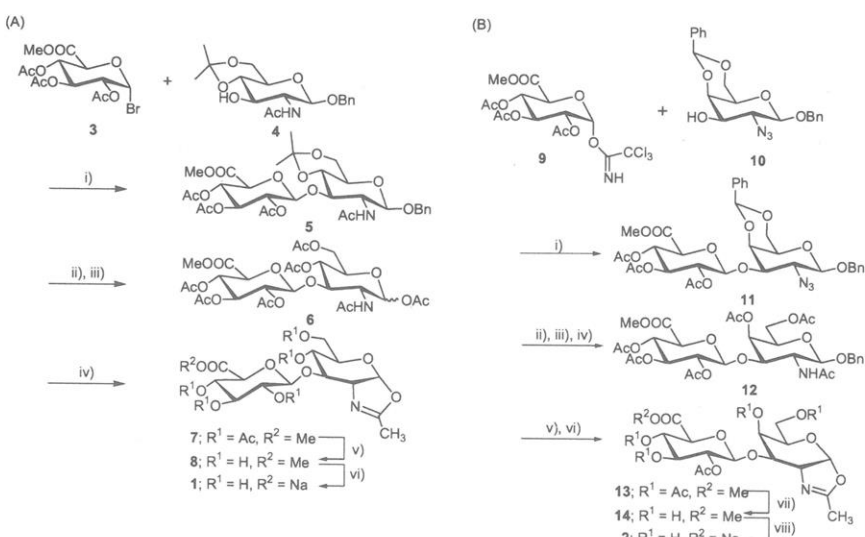


Figure 2. Monomer designs for HA and Ch syntheses.

ニダーゼが見つかった⁵⁾、こちらも市販されていない。従って、Ch合成の場合もHAaseを重合触媒として用いるモノマーの分子設計を行い、GlcAβ(1→3)GalNAcオキサゾリン誘導体2をモノマーとして設計・合成することにした(図2)。



3. モノマーの合成

1、2いずれのモノマーも有機化学的に合成した。すなわち、1は計6ステップの反応を経て合成し(スキーム3(A))、2は計8ステップの反応を経て合成した(スキーム3(B))。

4. HAの合成

モノマー1のHAaseによる酵素触媒重合について検討した。HAaseには羊精巢性ヒアルロニダーゼ(OTH)、又は牛精巢性ヒアルロニダーゼ(BTH)を用い、炭酸緩衝重水溶液(50mM, pH 7.1)中、1を0.1M、OTHあるいはBTHを1に対して10wt%となるよう加え、30°Cで反応を行った。反応の追跡には¹H NMRを用い、1のアノマー位プロトン及びN-アセチル基のメチルプロトン由来シグナルの積分比から1の濃度を算出し、

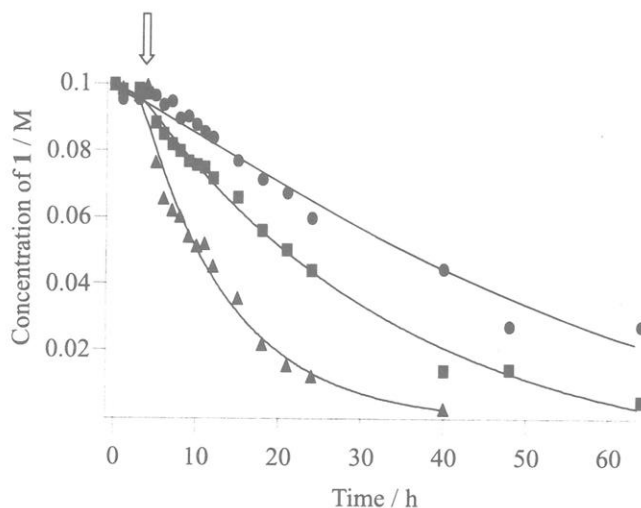


Figure 3. The reaction-time courses of 1 with no enzyme (●), OTH (▲), and BTH (■). Arrow shows the addition of the enzyme (after 3.5h).

これを時間に対してプロットした(図3)。なお、同時に酵素非添加系でのモノマー消費についても同様に追跡を行った。その結果、OTH、BTH添加系のいずれの場合も酵素非添加系と比較して有意にモノマー消費が促進される事が明らかとなった。特に、OTHを触媒と

して用いた場合は BTH の場合よりも消費速度が大きい事が明らかとなった。この事実から、分子設計したモノマー1 はヒアルロニダーゼの遷移状態アナログ基質として認識され、オキサゾリン環の開環反応が引き起こされた事が明らかとなった。

モノマーの消失を確認した後 (OTH は 40 時間後、BTH は 64 時間後)、反応溶液を 90°C の熱湯で 3 分間加熱する事で酵素を失活させ、続いて THF を加える事により沈殿生成物を得た。沈殿生成物を遠心分離し、純水に溶解させたのち、SephadexG-10 カラムにて精製した。得られた生成物の ^1H 及び ^{13}C NMR 測定を行う事により構造確認を行ったところ、 ^1H 及び ^{13}C NMR スペクトルのいずれも天然由来 HA のものと完全に一致した事から、生成物は $[\text{GlcA}\beta(1\rightarrow3)\text{GlcNAc}\beta(1\rightarrow4)]_n$ という構造を持つ多糖、即ち人工ヒアルロン酸である事が明らかとなった。

また、人工ヒアルロン酸の分子量をサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) により求めたところ、OTH、BTH いずれの場合も M_n 15000 程度であり、分子量 1 万を超える高分子量体が生成している事が明らかとなった。その結果を単離収率とあわせて表 1 に示す。

Table 1. Yield and molecular weight of the artificial HA.

Enzyme	Yield / % ^a	M_n^b	M_w^b
BTH	39	1.74×10^4	6.69×10^4
OTH	52	1.35×10^4	4.12×10^4

OTH: ovine testicular hyaluronidase (560 units/mg), BTH: bovine testicular hyaluronidase (330 units/mg).

^a Isolated yield.

^b Determined by SEC measurements calibrated by HA standards.

5. Ch の合成

続いてモノマー2 の HAase による酵素触媒重合について検討した。HAase には OTH、BTH、及び HAase を含んでいるとされる蜂毒を用い、リン酸緩衝溶液 (50mM, pH 7.5) 中、2 を 0.1M、各酵素を 2 に対して 10wt% となるよう加え、30°C で反応を行った。その結果、OTH 及び BTH 添加系のいずれの場合においてもモノマー2 は酵素に認識され、重合生成物を与えた。この生成物の ^1H 及び ^{13}C NMR 測定を行ったところ天然由来の Ch と完全に一致し、 $[\text{GlcA}\beta(1\rightarrow3)\text{GalNAc}\beta(1\rightarrow4)]_n$ という構造を持つ多糖、即ち人工コンドロイチンである事が明らかとなった。これら人工 Ch の収率及び分子量を求めた結果を表 2 に示す。OTH を用いた場合、人工 Ch の収率及び分子量はそれぞれ 35%、 M_n 2500 (entry 1)、BTH を用いた場合は 10%、 M_n 2800 (entry 2) であった。OTH、BTH より単位重量あたりのユニット数が大きい H-OTH、H-BTH を用いた場合、それぞれ収率 50%、 M_n 2100 (entry 3)、29%、 M_n 2600 となり、収率が改善された。また、これら人工 Ch の分子量は天然由来 Ch と同程度であることが明らかとなった。一方、蜂毒を用いた場合、HPLC 測定による重合生成物の確認はできなかったが、MALDI-TOF/MS によりオリゴマーの生成を確認した。以上の結果から、分子設計したモノマー2 は HAase の遷移状態アナログ基質として認識され、開環重付加して人工 Ch を与えることが明らかとなった。

Table 2. Results of polymerization reactions of **2**.

Entry	Enzyme	pH	Time / h	Yield / % ^a	M_n^b	M_w^b
1	OTH	7.5	23	35	2500	3200
2	BTH	7.5	40	10	2800	3600
3	H-OTH	7.5	23	50	2100	2500
4	H-BTH	7.5	40	29	2600	3400
5	Bee Venom	7.5	40	~ 1	-	-

Phosphate Buffer: 50mM, monomer concentration: 0.1 M, amount of enzyme: 10 wt% for **2**, reaction temperature: 30 °C. OTH: ovine testicular hyaluronidase (560 units/mg), BTH: bovine testicular hyaluronidase (330 units/mg), H-OTH: ovine testicular hyaluronidase (2160 units/mg), H-BTH: bovine testicular hyaluronidase (1010 units/mg).

^aDetermined by HPLC (more than tetrasaccharide, RI detector, calibrated by chondroitin).

^bDetermined by SEC calibrated by hyaluronan standards.

6. おわりに

グリコサミノグリカンの一種である HA 及び Ch は、異なる二種の糖鎖が二種のグリコシド結合で繋がった極めて複雑な構造を有するヘテロ多糖である。このような複雑な構造を有するヘテロ多糖の酵素触媒重合による合成は、触媒である酵素の持つ基質特異性、反応特異性を最も巧みに生かした合成例となった。加えて、HA や Ch などのグリコサミノグリカンが生体内で重要な働きをしていることは最近になってようやく認識され始めた。しかしながら、分子レベルでの機能解明は未だ進んでいないのが現状である。このような状況下、これら HA 及び Ch の化学合成法を確立できた意義は大きく、医学、生化学、薬学分野などへの応用が期待される。

参考文献

- 1) S. Kobayashi, H. Uyama, S. Kimura, *Chem. Rev.* **101**, 3793 (2001).
- 2) S. Kobayashi, T. Kiyosada, S. Shoda, *J. Am. Chem. Soc.* **118**, 13113 (1996).
- 3) S. Kobayashi, H. Morii, R. Itoh, S. Kimura, M. Ohmae, *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 11825 (2001).
- 4) G.-I. Frost, T. Csóka, R. Stern, *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **8**, 419 (1996).
- 5) K. Takagaki, T. Nakamura, M. Majima, M. Endo, *J. Biol. Chem.* **263**, 7000 (1988).

3元トリブロック共重合体の相転移(II)

山内一浩・長谷川博一・橋本竹治

Kazuhiro Yamauchi, Hirokazu Hasegawa, Takeji Hashimoto

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

ナノメートルスケールの周期構造を形成することで知られている高分子ブロック共重合体は、異種ブロック鎖同士を繋ぐたった一つの化学結合点が、その構造、並びに物性に極めて重大な変化をもたらすことが知られている。ボトムアップ方式によるナノマテリアルの創製が注目を集める中、学術、技術、両面において高分子ブロック共重合体の自己組織化による分子集合構造形成の重要性が増している。そのナノマテリアルとしての成否の鍵は、ブロック鎖を形成する異種成分間に働く短距離斥力相互作用と、ブロック鎖同士の連結による長距離相互作用との競合の解明と制御にある。本稿では、昨年度に引き続き、異なる3種の高分子鎖からなる3元トリブロック共重合体に注目し、ナノメートルスケールの世界で生じる、極めて複雑な短距離相互作用と長距離相互作用の競合現象に関する研究成果を紹介したい。

2元ジブロック共重合体に対する、3元トリブロック共重合体の特徴を2点挙げるとすると、まず1つ目の特徴として、ミクロ相分離構造の多様性が挙げられる。3元トリブロック共重合体は共重合組成に依存し、2元ジブロック共重合体とは比較にならないほど極めて多彩で複雑なミクロ相分離構造を形成することがこれまでにわかっている¹⁻¹⁰。図1に3元トリブロック共重合体ミクロ相分離構造の例を示すが、これらは2元ジブロック共重合体における最も一般的なミクロドメイン形態である球、シリンダー、ラメラの3つの形状を考慮し、それらを組み合わせたときに得られる構造をモデル化したものである。共連続構造等、より複雑な構造を上記の組み合わせに含め

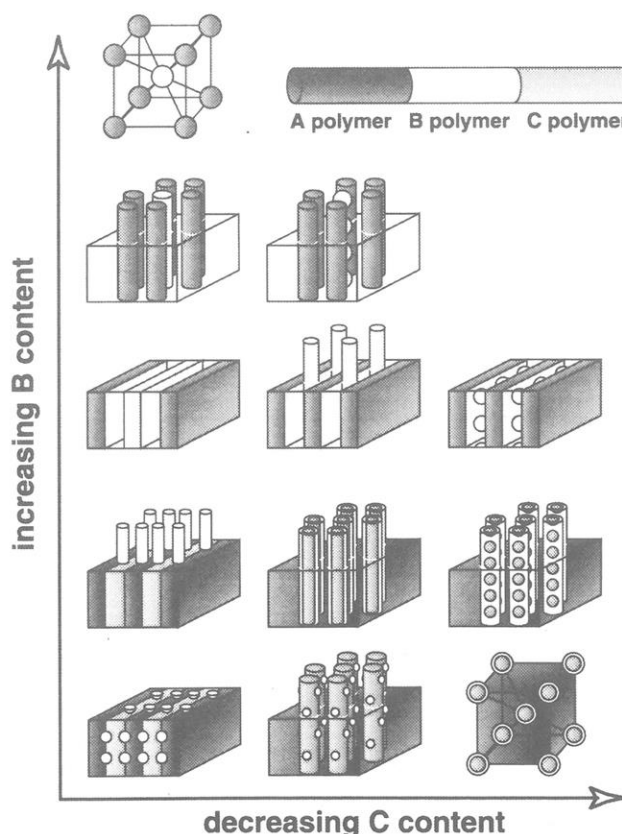


Figure 1: Possible microdomain morphologies for three-phase structures of ABC triblock terpolymers composed of lamellar, cylindrical and spherical microdomains.

た場合、その多彩性はさらに増大する。

2つ目の特徴として、その相転移現象並びに構造形成過程の特殊性が挙げられる。3元トリブロック共重合体の場合(3成分をA成分、B成分、C成分とする)、A・B間、B・C間、C・A間の異なる3種の相互作用が働くことによる2成分間の相転移に競合が生じる。つまり、第3成分であるC成分がB成分に連結して存在するが故、A-B-C成分中のA-B成分間の相転移は単純なA-B成分間の相転移として扱うことができず、相転移現象をA-BとB-Cの2種の連結効果を考慮して総合的に扱わねばならない。これは、もちろんA・B間の相互作用しかもたない2成分系の相転移では観察されない現象である。また、試料中のある1成分、例えばA成分のみがマイクロ相分離し、相構造を形成した場合、残りのB-C成分はお互い、無秩序状態にありながらも、A成分と共にマイクロ相分離構造を形成せざるを得ない。その結果、無秩序状態にあるB-C成分の秩序化は、マイクロ相分離構造中、つまりナノメートルスケールの拘束空間において進行することになる。ナノ拘束空間における構造形成も2成分系である2元ジブロック共重合体の場合には、観察されない現象である。以上のように3元トリブロック共重合体の相転移並びに構造形成は、2元ジブロック共重合体の延長線上では扱うことのできない、全く新たな問題を含んでいる。

以上2点が、3元トリブロック共重合体の特徴である。1つ目の特徴であるマイクロ相分離構造の多様性に関しては、透過型電子顕微鏡による研究が十分進んでおり、実際、図1で紹介したマイクロ相分離構造の一部はもちろん¹⁻⁸、それ以外の構造も多数報告されている^{9,10}。一方、2つ目の特徴である相転移並びに構造形成については、その解明が多彩なマイクロ相分離構造の制御に必要なだけでなく、現象自体も興味深いものでありながら、我々の知る限り、その報告数は少ない。

3元トリブロック共重合体においては、3成分間の相互作用が温度(圧力)によって様々に変化するため、極めて複雑な多重相転移現象が起こることが予想される。ここで現れる多重相転移のその場観察には、温度変化による散乱測定が適しているが、3成分の状態をどのように解明するか、つまり3種のコントラストをどのようにして得るかという問題が実験を困難にしている。そこで我々は、原子による散乱能が中性子とX線で大きく異なることに注目し、3成分に異なる散乱コントラストをつけることが可能なSANSとSAXSを相補的に用いる手法を見出した。

例えば、3元トリブロック共重合体のマイクロ相分離構造を観察する手法として一般的に用いられている透過型電子顕微鏡(TEM)観察においては、重元素を含む電子染色剤を、1種類或いは、2種類用いることで3成分間のコントラストが得られて初めて観察が可能となる。よって研究対象となる試料の選択は、電子染色による染め分けが可能なものに限られるが、一般に構造研究に用いられている高分子は電子染色が可能であるものが多いため、TEM観察には困らない。

一方、散乱測定におけるコントラストは、X線の場合は試料成分間、あるいは各相の間の電子密度差、中性子散乱の場合は散乱長密度差により表すことができる。いず

れにせよ、試料と測定法により一意的に散乱コントラストが決まり、電子顕微鏡観察における電子線染色法のような二次的なコントラスト付与も難しい。しかしこの事実を言い換えるならば、同一試料の SANS 測定と SAXS 測定では異なる散乱コントラストが得られるということである。これを利用したことが本研究の特徴である。

3元トリブロック共重合体の相転移現象の解明を目的とした試料として、ポリイソプレン(PI)-重水素化ポリスチレン(DPS)-ポリビニルメチルエーテル(PVME)トリブロック共重合体(以下、PI-DPS-PVME と記述)を選んだ。PI-DPS-PVME が、散乱測定による相転移のその場観察に、いかに適した試料であるかを以下で述べる。

2. PI-DPS-PVME トリブロック共重合体

図2にPI-DPS-PVMEの中性子、X線に対する散乱コントラストを示した。図2で示したとおり、PI-DPS-PVMEはSANS測定において、DPS成分の散乱長密度が他の2成分よりも20倍程度大きいため、SANS測定では、DPS成分とその他2成分間のコントラストが得られる。一方、SAXS測定においては、DPS/PVME間の電子密度差が非常に小さいため、この2成分間のコントラストが得られない。つまり、SAXS測定ではPI成分との2成分間のコントラストが得られることになる。以上、本試料はSANS測定においてはDPS成分のみが、一方、SAXS測定においてはPI成分のみが観察されることになる。

3種の異なる成分が競合するA-B-Cトリブロック共重合体の温度変化に伴う相転移現象を追跡する上で、SANSとSAXSのどちらか一方の測定だけから系全体の変化を把握することは極めて困難である。本測定においては、同一試料に対して異なる散乱コントラストを与えるSANS、SAXS測定を相補的に使い、また両測定で異なる1成分のみのコントラストが得られる試料を選択した。従って両散乱測定から、それぞれある1成分の温度変化に伴う相挙動を追跡することができ、得られた相補的で異なる知見を比較し、系全体の変化を解明することができる。

PI-DPS-PVMEの注目すべき点は、散乱コントラストだけではなく、3成分間の相互作用の特殊性も挙げられる。なぜなら、試料中のPI成分とDPS、或いはPI成分とPVME成分は低温で非相溶、高温で相溶の

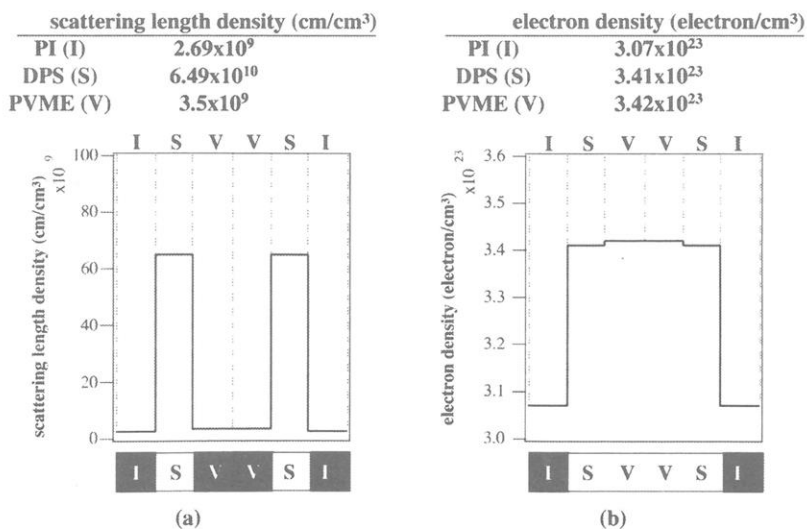


Figure 2. Scattering contrast: (a) SANS; (b) SAXS

UCST(上限臨界共溶温度)型の相挙動を示すが、一方、DPS 成分は PVME 成分と低温で相溶、高温で非相溶の LCST(下限臨界共溶温度)型の相挙動を示す¹¹。すなわち PI-DPS-PVME は UCST 型と LCST 型の相挙動を同時に内包する非常に特殊な試料であり、その相挙動は興味深い。

3. 試料および実験

実験に用いた PI-DPS-PVME 試料 (以後 IDSV1 と略称する) は、リビングカチオン重合法により合成した末端官能基を有する PVME を、別リビングアニオン重合法により合成した PI-*b*-DPS ジブロック共重合体のリビングアニオン末端とカップリングさせることにより合成をした^{12,13}。その数平均分子量は 2.0×10^4 、PI:DPS:PVME 間の重量組成比は 0.70 : 0.15 : 0.15 である。この試料の詳細な分析結果は他に報告¹³している。

透過型電子顕微鏡(TEM)観察を行うにあたり、試料のトルエン溶液より溶媒キャスト膜を準備した。得られた溶媒キャスト膜から超薄切片を作製し、日本電子製電子顕微鏡 JEM-2000FX(加速電圧 120kV で使用)を用い、マイクロドメイン構造の観察を行った。

SANS 及び SAXS 測定は共に 0.17~0.25°C/min の降温 (または 昇温) 速度で 30~200°C の温度域において行った。また、真空下(SANS)あるいは窒素雰囲気下(SAXS)で測定を行い、試料の劣化を防いだ。得られた散乱プロフィールについては通常の補正を行った。

4. 分子集合構造

溶媒キャスト法により得た IDSV1 試料のマイクロ相分離構造の TEM 観察結果を図 3 に示す。図 3(a)は、四酸化オスミウム(OsO_4)染色を施した試料の TEM 像である。 OsO_4 は試料中の PI 成分を選択的に染色するため、図中で暗く観察される相は PI 相に相当する。PI 成分をマトリクス相とするシリンダー状マイクロ相分離構造が確認された。シリンダーを形成する図中で明るく観察される相は、 OsO_4 で染色されない PS、PVME 相を示唆しているが、ここでは、その染め分けは不可能であった。

図 3(b)に、 OsO_4 染色処理の後 (図 3(a))、PVME 成分を選択的に染色するリンタングステン酸(PTA)水溶液による二重染色を施した試料の TEM 像を示す。PVME 成分の選択染色を行ったにもかかわらず、図 3(a)と同様のパターンが観察された。以上の結果は、DPS 成分と PVME 成分が相溶状態にあり、DPS と PVME の混合相がシリンダー状マイクロ相分離構造を形成していることを示唆している。

図 3(b)において染め分けが為されなかった DPS 成分は疎水性、PVME 成分は親水性を有する。次に PVME 成分に対して選択的な良溶媒である水を用いることによって混合状態にあると推測される DPS 成分と PVME 成分間の相分離の誘発を試みた。 OsO_4 染色を施した超薄切片に水を 60 分間接触させ、その後、PTA 染色した試料の TEM

観察結果を図 3(c)に示す。PTA により染色された暗く観察される PVME シリンダーを軸に、その周りを明るく観察されるチューブ状の DPS 相が覆った 3 相同軸シリンダー構造が観察された。

以上、IDSV1 試料は溶媒キャストフィルム作製時、つまり室温状態においては、DPS 成分と PVME 成分が相溶状態にあり、DPS と PVME の混合相と PI 相の 2 相からなるシリンダー状マイクロ相分離構造(図 3(b))を形成することがわかった。また、PVME 成分に選択的な良溶媒である水を用いた場合、ナノメートルスケールのシリンダー状に拘束された空間内において DPS 成分と PVME 成分の相分離が誘発され、三相同軸シリンダー構造(図 3(c))が形成されることを確認した。

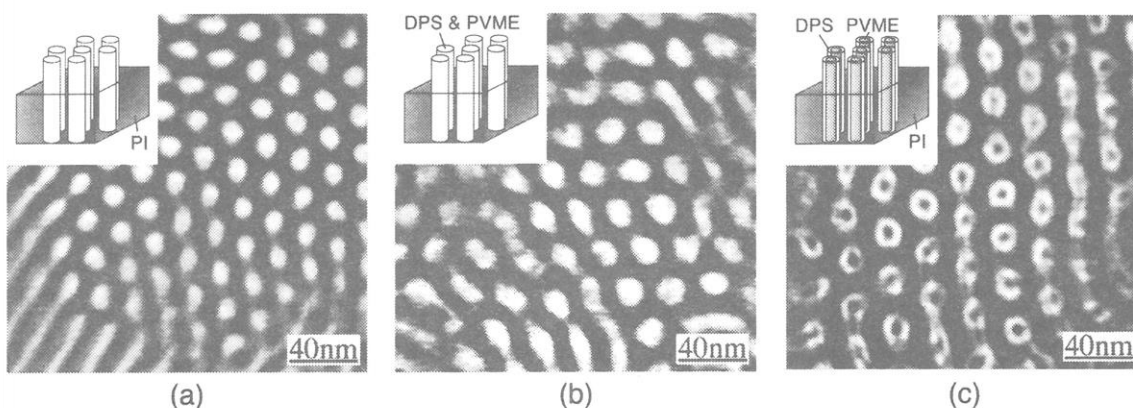


Figure 3. TEM micrographs of as-cast IDSV1 films: (a) is the ultrathin section stained by OsO₄; (b) and (c) are the ultrathin sections first stained with OsO₄ and then PTA; the difference between (b) and (c) exists in the time exposed to purified water before staining with PTA: (b) 0 min. and (c) 60 min. The insets are the model structures corresponding to each TEM micrograph.

5. ナノ空間における相転移

第 4 項においては、選択溶媒による相分離の誘発実験結果を紹介したが、本項では、DPS・PVME 成分間の LCST 型相挙動を利用した相分離の誘発実験結果について紹介する。温度変化(温度上昇)により相分離を誘発した場合、電子顕微鏡法による相転移前後の構造観察、特に高温状態における試料の構造観察は、極めて困難になるが、一方、散乱法による相転移並びに構造形成過程のその場・実時間観察による追跡が可能となる。

図 4(a)に IDSV1 試料の SANS 測定結果を図 4(b)に SAXS 測定結果を示す。両測定とも室温においては、1 次ピークの波数 $q_m (=0.317\text{nm}^{-1})$ に対し、 $\sqrt{3}$, 2, $\sqrt{7}$, 3 の比の波数に高次ピークが観察されたことから六方格子状に配列したシリンダー状マイクロ相分離構造を形成していることがわかる。この結果は、室温下における試料の TEM 観察により確認された、DPS と PVME の混合相と PI 相からなる 2 相シリンダー構造(図 3(a))と一致する。SAXS 測定においては、DPS 成分と PVME 成分の区別ができないため、これら 2 成分間の相分離の有無にかかわらず 2 相シリンダー構造が観察される。一方、SANS 測定においては、DPS 成分のみが観察されるが、DPS 成分は PVME 成分と混合相を形成するため、同様に 2 相シリンダー構造が観察される。(図 4(c))

温度上昇に伴い、SANS 測定では 72°C において、高次ピークが消滅すると共に、1 次ピークの半値半幅に不連続な増加が観察され、相転移が示唆された。一方、同温度における SAXS 測定では変化が現れなかった。以後、72°C における SANS 測定でのみ観察された相転移を *Transition 1* と定義する。さらに温度を上昇させると、122°C において、SAXS の高次ピークが消滅すると共に、一次ピークの半値半幅の不連続な増加が観察され、相転移が示唆された。この変化は SANS 測定では観察されていない。以後、122°C において SAXS 測定のみで観察された相転移を *Transition 2* と定義する。以下、本試料で観察されたこれら 2 つの相転移の詳細を議論する。

まず、SANS 測定でのみ観察された *Transition 1* は、シリンダー構造を形成する DPS と PVME の混合相内における DPS 成分と PVME 成分の相分離と考えられる。なぜなら、*Transition 1* において、SAXS 測定から相転移を示唆する結果が得られていないからである。SAXS 測定では、DPS 成分と PVME 成分間の散乱コントラストが得られないため、DPS 成分と PVME 成分間の相転移を観察できない。しかし、これら 2 成分と PI 成分間に相転移があれば、その変化は SAXS 測定で観察できるはずである。一方、SANS 測定では、DPS 成分のみが観察されるため、DPS 成分と PVME 成分間の相転移を認識できる。相転移後、DPS 成分は中空シリンダー状のマイクロドメインを形成すると考えられるため、SANS 測定においても高次ピークが観察されるべきであるが、観察されていない。これは、中空シリンダーの体積分率が小さく、散乱強度

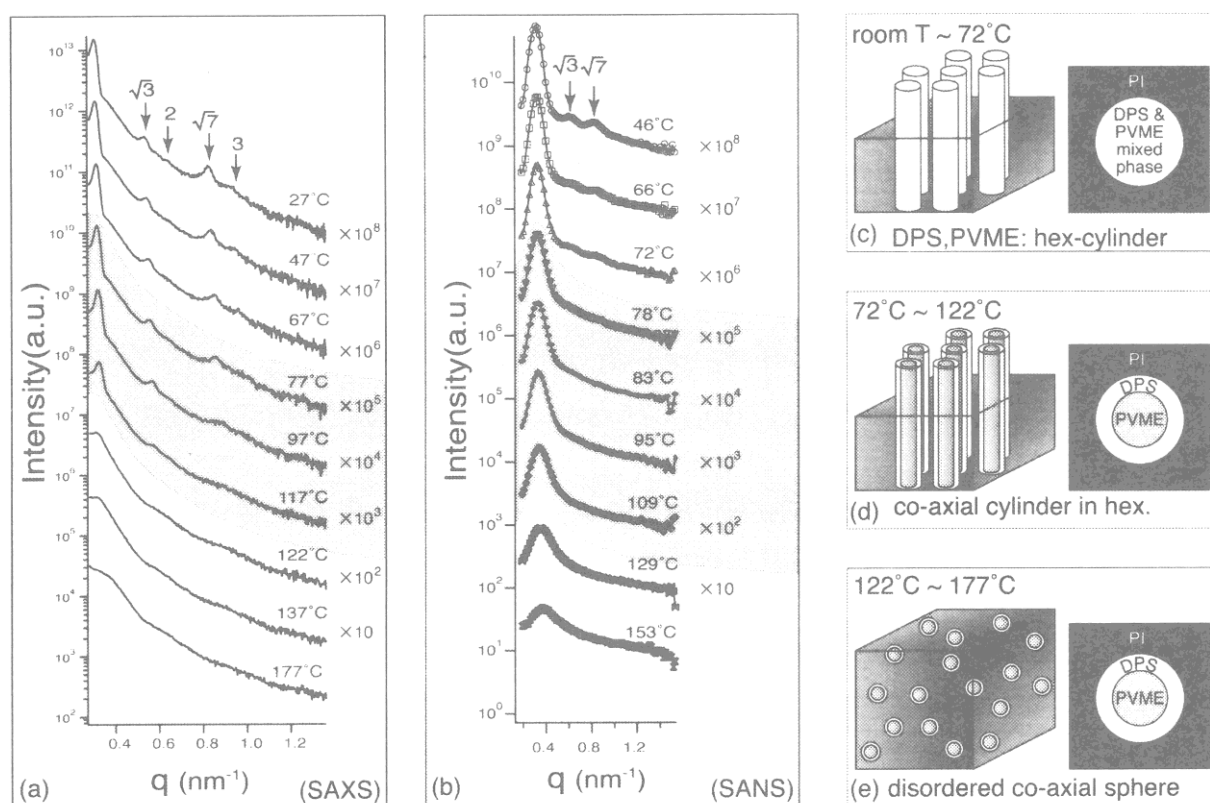


Figure 4. In-situ SAXS (a) and SANS profiles (b) obtained at various temperatures and schematic models of microdomain structures in the temperature ranges between room temperature and 72°C (c), between 72 and 122°C (d), and between 122 and 177°C (e).

が弱いこと、及び、高温下において中空シリンダー状構造が熱変動し、高次ピークの幅広化と強度低下が起こったためと考えられる。

以上、*Transition 1* では、シリンダー状マイクロドメイン内で混合相を形成していた DPS 成分と PVME 成分が、LCST 型の相挙動に従いマイクロ相分離し、2 相シリンダー構造から、3 相同軸シリンダー構造へ相分離したと考えられる。(図 4(d))

次に、SAXS 測定でのみ観察された *Transition 2* は、3 相同軸シリンダー構造から、長距離周期を持たない 3 相同心球構造への相転移と考えられる。*Transition 2* において、構造の周期性を示す高次ピークの消滅が SAXS 測定で観察されたが、転移後、半径 9.5nm に相当する球状マイクロドメインの存在を示唆する孤立球によるブロードな散乱ピークが観察された。この場合、PVME 成分と DPS 成分が同心球構造を形成し、PI 成分のマトリクス中に分散している場合と、あるいは DPS 成分がマトリクス相を形成する PI 成分に溶解混合し、PVME 成分のみが球状ドメインを形成している場合の 2 通りが考えられる。しかし、PVME 成分のみが球状ドメインを形成した場合、DPS 成分は PI 成分との混合により希釈されるため、DPS 成分のみがコントラストをもつ SANS 測定においては、散乱強度が劇的に変化するはずである。これは、SANS 測定で *Transition 2* を認識できていない事実と反する。従って、*Transition 2* は 3 相同軸シリンダーから 3 相同心球への相転移と考えられる。もちろん、シリンダー状構造から球状構造への変化は、高次ピーク位置の変化として SANS 測定で観察できてもよいが、*Transition 1* と同様の理由で、観測できないと考えられる。

以上、*Transition 2* では、PVME 成分と DPS 成分が形成する 3 相同軸シリンダー構造から、同成分が形成する 3 相同心球状構造へ相転移したと考えられる。(図 4(e))

6. ブロック鎖の連結効果

ここで、2 つの相転移が観察された温度に注目したい。DPS 成分と PVME 成分の相分離による *Transition 1* は 72°C で観察されたが、驚くほど低温でマイクロ相分離が進行している。仮に、本試料中の DPS-PVME ブロック鎖と同程度の分子量(3K-3K)を有する DPS-PVME ジブロック共重合体を用いた場合、少なくとも 200°C 以上で相分離するはずであり、これほど低温で進行しない。上記の結果は、DPS-PVME ブロック鎖の DPS 末端に第 3 成分である PI 成分が連結したため、DPS-PVME ブロック鎖のマイクロ相分離が促進されたと言い換えることができる。

一方、3 相シリンダー構造から 3 相球状構造へ秩序-秩序転移した *Transition 2* も興味深い。相転移後、本試料は 177°C においても 3 相マイクロ相分離構造を維持しているが、本来、UCST 型の相挙動を示す PI-DPS ブロック鎖は温度上昇に伴い秩序-無秩序転移する。本試料中の PI-DPS ブロック鎖と同程度の分子量(14K-3K)を有するジブロック共重合体を用いれば、より低温で無秩序状態となるはずである。この場合も、PI-DPS ブロック鎖の DPS 末端に対する、第 3 成分である PVME 成分の連結により、PI-DPS ブロック鎖の相転移を防げたと考えられる。

以上、A-B-C 3元トリブロック共重合体中の A-B ブロック鎖が、その片末端を C 成分の形成するマイクロドメインの界面に束縛された場合 (図 5(a))、A・B 成分間のマイクロ相分離が、促進されることがわかった。つまり、A 成

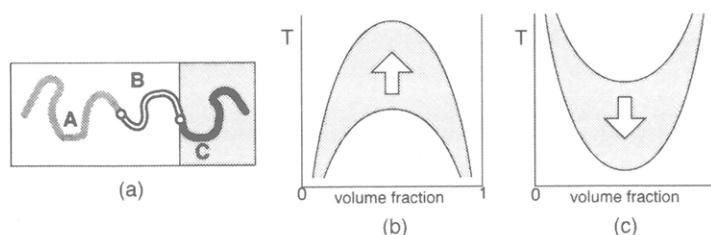


Figure 5. Promoted microphase transition of A-B block chain in A-B-C triblock terpolymer with one end of B tethered on the interface of microdomains of C blocks (a). Part (b) and (c) show the cases where A-B has UCST-type interactions and LCST-type interactions, respectively.

分と B 成分が LCST 型の相挙動を示す場合、その LCST 型の相図はより低温側にシフトし (図 5(c))、UCST 型の場合は、より高温側にシフトする (図 5(b))。いずれの場合もこの 2 成分間の秩序状態の領域が広がったことを意味する。

このナノ拘束空間におけるマイクロ相分離の促進効果は以下の 2 つの理由に起因すると考えられる。(1) トリブロック共重合体の中央の成分である DPS 成分が、その両末端に連結する PI 成分、或いは PVME 成分と相溶することにより生じる PI 成分と PVME 成分間の大きな斥力相互作用の増加は、中央の成分である DPS 成分がマイクロ相分離することにより防ぐことができる。(2) PI ドメイン界面に連結された DPS-PVME ブロック鎖、或いは、PVME ドメイン界面に連結された DPS-PI ブロック鎖は、自由な DPS-PVME (或いは DPS-PI) ブロック鎖と比べて、混合による形態エントロピーの損失が大きい。

つまり、3 元トリブロック共重合体においては、異種セグメント間の相互作用 (短距離相互作用) と異種ブロック鎖の連結効果 (長距離相互作用) が相互に影響しあい、2 成分間のマイクロ相分離を助長したと考えられる。

7. 謝辞

PI-DPS-PVME の重合についてご指導頂いた京都大学工学研究科、澤本光男教授、上垣外正己助教授に謝意を表します。

8. 参考文献

- 1) Bates, F. S.; Fredrickson, G. H. *Phys. Today* **1999**, 52, 32.
- 2) Birshtein, T. M.; Zhulina, E. B.; Polotsky, A. A.; Abetz, V.; Stadler, R. *Macromol. Theor. Simul.* **1999**, 8, 151.
- 3) Goldacker, T.; Abetz, V.; Stadler, R.; Erukhimovich, I. Ya.; Leibler, L. *Nature* **1999**, 398, 137.
- 4) Goldacker, T.; Abetz, V. *Macromolecules* **1999**, 32, 5165.
- 5) Goldacker, T.; Abetz, V. *Macromol. Rapid Commun.* **1999**, 20, 415.
- 6) Abetz, V.; Goldacker, T. *Macromol. Rapid Commun.* **2000**, 21, 16.
- 7) Goldacker, T.; Abetz, V.; Stadler, R. *Macromol. Symp.* **2000**, 149, 93.

- 8) Y. Tanaka, H. Hasegawa, T. Hashimoto, A. Ribbe, K. Sugiyama, A. Hirao, S. Nakahama, *Polymer J.* **1999**, *31*, 989.
- 9) Mogi, Y.; Mori, K.; Matsushita, Y.; Noda, I. *Macromolecules*, **1992**, *25*, 5412.
- 10) Breiner, U.; Krappe, U.; Thomas, E. L.; Stadler, R. *Macromolecules*, **1998**, *31*, 135.
- 11) Kwei, T. K.; Nishi, T.; Roberts, R. F. *Macromolecules*, **1974**, *7*, 667. Nishi, T.; Wang, T. T.; Kwei, T. K. *Macromolecules*, **1975**, *8*, 227. Nishi, T.; Kwei, T. K. *Polymer* **1975**, *16*, 285.
- 12) T. Hashimoto, H. Hasegawa, T. Hashimoto, H. Katayama, M. Kamigaito, M. Sawamoto and M. Imai, *Macromolecules*, **1997**, *30*, 6819.
- 13) K. Yamauchi, H. Hasegawa, T. Hashimoto, N. Köhler, K. Knoll, *Polymer* **2002**, *43*, 3563.

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol. 60
(Annual Report of the Research Institute for
Chemical Fibers, Japan: Vol. 60, 2003)
Published by
Nippon Kagakusen-i Kenkyusho
Kyoto, Japan

日本化学纖維研究所 第60回講演集

2003年3月20日 印刷
2003年3月31日 発行

財団法人日本化学纖維研究所
編集兼発行者 長尾 真
発行所 財団法人 日本化学纖維研究所
京都市左京区吉田河原町14
(財)近畿地方発明センター内

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol. 60
(Annual Report of the Research Institute
for Chemical Fibers, Japan : Vol. 60)

March 2003