

ISBN 0368-6280

公益財団法人
日本化学繊維研究所

講 演 集

第 75 集

2018 年 3 月

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol.75
(Annual Report of the Research Institute for
Chemical Fibers, Japan: Vol.75)
March 2018

公益財団法人 日本化学繊維研究所の概要

【沿革・目的・背景】

本財団は、繊維商社社長（当時）伊藤萬助氏による京都帝国大学への寄附金 20 万円を基に、化学繊維の学術と産業の振興を目的として 1936 年 9 月 1 日に同大学内に設立されました。それ以来 76 年の長きにわたり、旧民法に基づく財団法人として、代々の京大総長を理事長に招き、その活動を継続してきました。2008 年の新法人法の施行に伴い、2013 年 4 月 1 日より、京都大学とは独立した新たな公益財団法人として生まれ変わり、現在に至っています。

本財団の目的と事業内容は時代とともに変化しましたが、現在は、広く高分子科学分野の学術及び科学技術の振興を目的とし、当該分野における研究成果の公開及び専門知識の普及、産学間及び国際的学術交流、並びに研究教育の支援に関する諸事業を行っています。具体的には、公開講演会、研究者育成講座、国際研究集会などの開催、学術講演集の刊行、及び公募型研究助成を主事業としています。

前記の歴史的経緯が示すとおり、本財団は、京都大学の繊維・高分子関連分野（旧工学部工業化学教室・繊維化学教室、現大学院工学研究科高分子化学専攻・材料化学専攻及び協力研究室）との連携が強く、また現京都大学の高分子科学研究者を主要メンバーとする非営利学術組織 Kyoto Institute of Polymer Science (KIPS) と連携・協力関係にあります。一方、産業界からは、財団の維持会員企業として年会費（寄付金）の拠出を受けています。これらの連携・協力と支援が、本財団の一貫した背景をなしています。

【事業内容】

（1）日本化学繊維研究所講演会および同講演集

本講演会および講演集は、歴史的には、櫻田一郎先生によるビニロンの発明や堀尾正雄先生の二浴緊張紡糸法の発明など、往年の京大学派が産み出した数々の輝かしい研究成果に関し、その逸早い発表の場を提供するという貴重な使命を果たしてきました。

公益財団法人 日本化学繊維研究所 講演集目次 (第75集)

(第75回講演会：平成29年11月15日 京都大学桂キャンパス・桂ホール)

3.00	特別講演 モセルロースナノビーズの診断用途への展開 旭化成株式会社CNB事業推進室長	福家 正哉	… 4
3.01	水溶性有機テルル重合制御剤を用いた <i>ab initio</i> エマルジョン重合 京都大学化学研究所	○山子茂、范唯佳、中村泰之	… 20
3.02	POSS を基盤とした有機-無機ハイブリッドゲルの開発と環境センサーへの応用 京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻	中條善樹、○田中一生、権正行	… 25
3.03	水/2-ブトキシエタノール混合溶媒中でのポリアクリルアミドゲルの体積相転移 京都大学大学院工学研究科材料化学専攻	○瀧川敏算、堀中順一、小林大洋	… 29
3.04	水中におけるポリエチレングリコールの第2ビリアル係数の温度依存性 京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻	○吉崎武尚、井田大地、山下遼人	… 34
3.05	環ナノシートで表面修飾した不織布フィルターへの抗体配向固定化と細胞除去性能 京都大学大学院工学研究科材料化学専攻	○木村俊作、奥野陽太、杉浦美月	… 38
3.06	共役高分子膜における一重項分裂 京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻	○大北英生、玉井康成、笠井普文	… 42
3.07	グライコポリマーベシクルの設計とバイオ機能 京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻	○秋吉一成、西村智貴、佐々木善浩	… 50
3.08	高分子ミセルと血小板を利用した抗癌剤の癌組織ターゲティング 京都大学ウイルス・再生医科学研究所	田畑泰彦、明石祐典、○城潤一郎	… 54
3.09	幹細胞からの機能的な立体組織形成 京都大学ウイルス・再生医科学研究所	永樂元次	… 60
3.10	ポリマーブラシ付与複合微粒子のネマチック液晶中における分散性の制御 京都大学化学研究所	辻井敬亘、山下晃平、○大野工司	… 65
3.11	ガラスの延伸誘起密度揺らぎ 京都大学化学研究所	竹中幹人	… 72
3.12	ポリロタキサンの形成機構とゲル化に関する理論・シミュレーション 京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻	○古賀毅、小島広之、古谷勉	… 77

セルロースナノビーズの診断用途への展開

2017年11月15日
旭化成株式会社 CNB事業推進室
福家正哉

目次

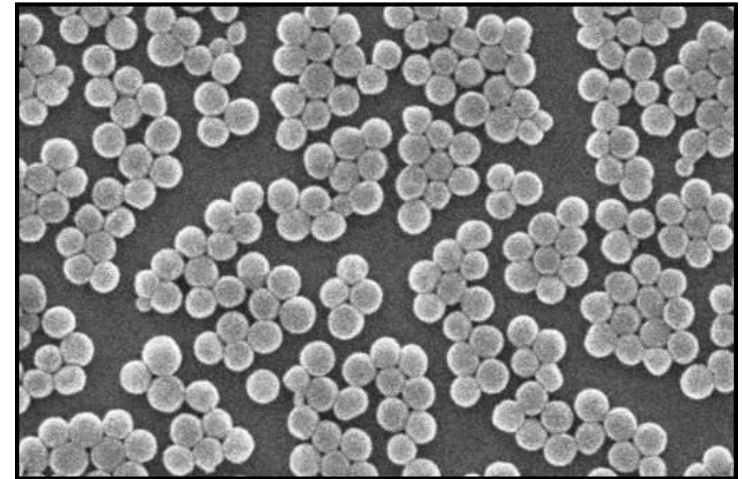
1. NanoActについて
2. イムノクロマトとは
3. NanoActの製造
4. 化学結合型NanoAct



1. NanoActについて

旭化成の独自技術で製造される
着色されたセルロースナノビーズ
(セルロース技術と染色技術を応用)

イムノクロマト診断薬用の素材(着色粒子)
として2013年販売開始
「NanoAct」商標も取得



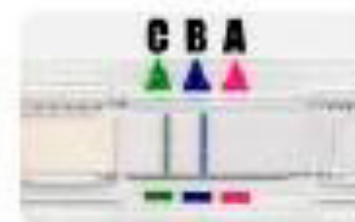
インフルエンザ検査結果の例



陰性



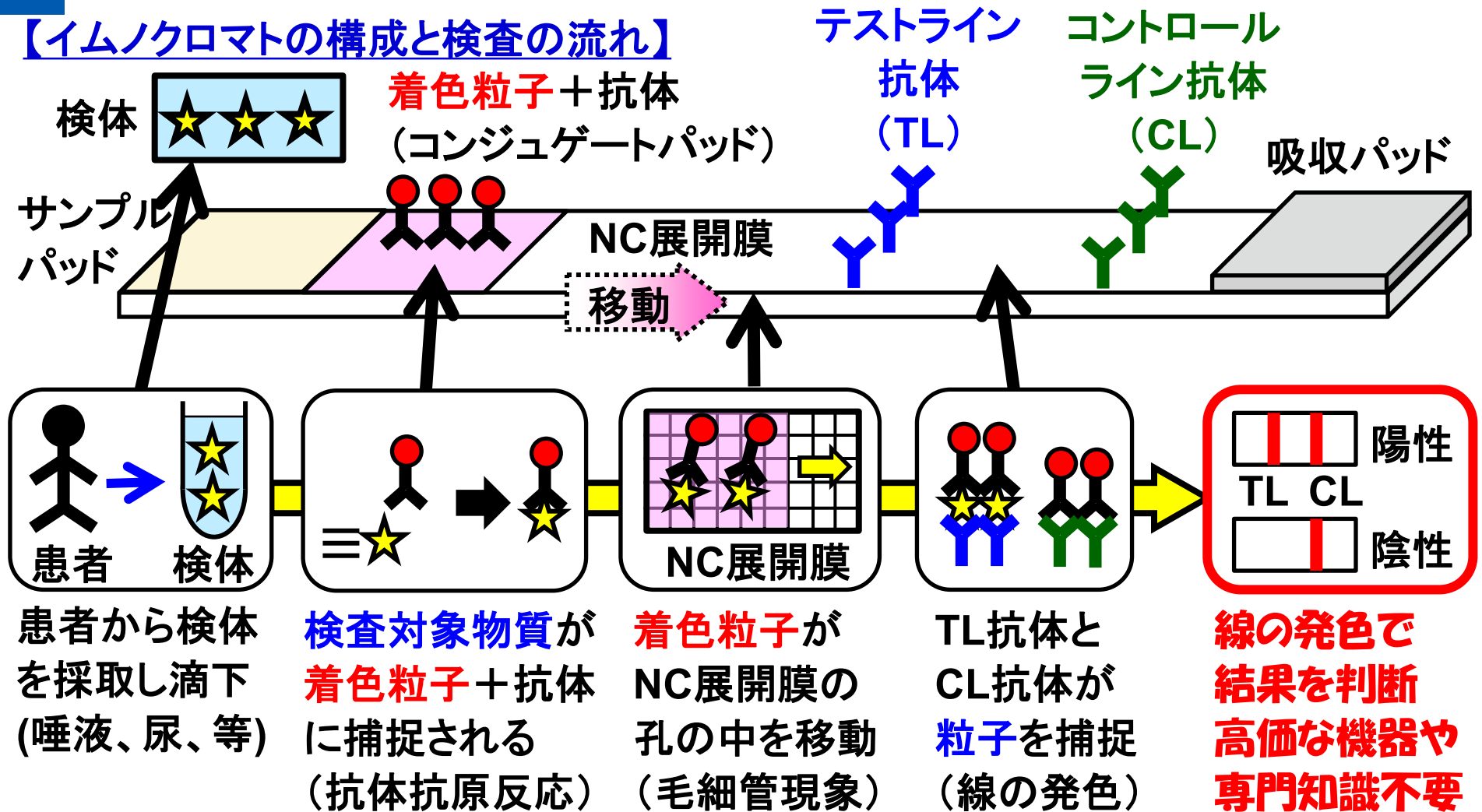
A型陽性



B型陽性

2. イムノクロマトについて

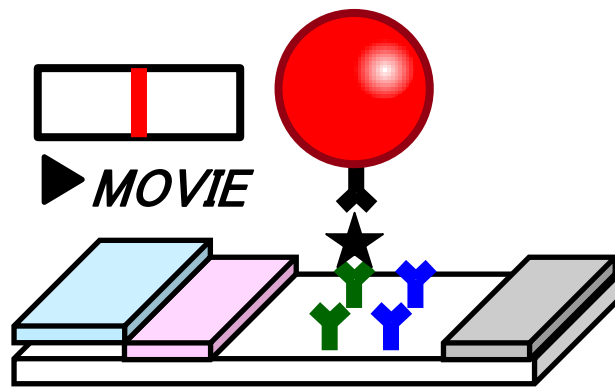
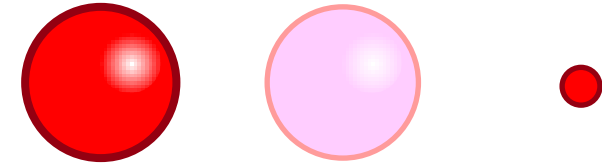
【イムノクロマトの構成と検査の流れ】



着色粒子に金コロイドやラテックスを採用するのが一般的だった。

NanoActを用いたイムノクロマト性能

- ① NanoActは他素材と比べ色が**10倍濃い**
 ⇒イムノクロマトの感度(検出限界)が向上
 (色の濃さと感度差はほぼ一致)



他素材との物性比較

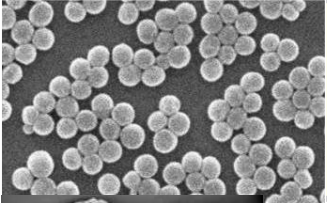
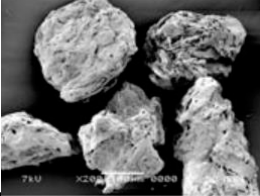
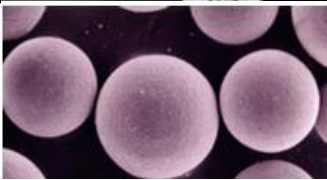
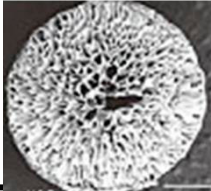
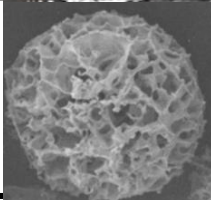
	NanoAct	ラテックス	金コロイド
イムノにおけるシェア	—	10%	80%
平均粒径 (nm)	340nm	350nm	60nm
吸光度 (ABS/0.005%)	0.78	0.16	0.78
発色度 (ABS/10 ¹³ 個)	45.3	7.5	4.2

- ② NanoActはカラーバリエーションが豊富
 現在6色を商業販売中
 (染料の種類だけラインナップ可能)



他セルロース粒子との違い

比較すると、NanoActは、球形で、圧倒的に粒径サイズが小さい。

	製造会社	粒径サイズ	外観	製造方法
NanoAct	旭化成	300~400nm		相分離
セオラス	旭化成	20~170 μm		天然セルロースを 酸加水分解
セルロファイブ	JNC (旧チッソ)	40~200 μm (多孔質)		酢酸セルロース →エマルジョン →鹼化
ビスコパール	レンゴー	2~4mm (多孔質)		ビスコース
CPB	旭化成 メディカル	200 μm~ (多孔質)		凍結法

3. NanoActの製造

①ベンベルグ原液を使用



●再生セルロース繊維の分類

種類	原料	溶液
ビスコースレーヨン	木材パルプ	ビスコース溶液 NaOH, CS ₂ , H ₂ O
キュプラ (商品名“ベンベルグ”)	コットンリッター	銅アンモニア溶液 Cu, NH ₃ , H ₂ O
リヨセル (商品名“テンセル”)	木材パルプ	N-メチルモルホリン N-オキシド溶液 (NMMO, H ₂ O)

ベンベルグの歴史

- 1857 (独) シュバイツァーによる銅アンモニウム法を発見。
→ 水酸化銅アンモニア溶液にセルロースが溶解することを発見。
- 1897 (独) J.P.ベンベルグ社が、銅アンモニア法で紡糸法を開発し、工業生産に成功。
→ 『Bemberg』という商標で売り出した。
- 1929 (日) 旭絹織(現旭化成)がドイツから製造技術を導入し、日本ベンベルグ絹糸(株)を設立。
- **1931 (日) 宮崎県延岡市にベンベルグ工場を建設し、操業を開始。**
- 2017 (日) 日本で製造開始して87年目に突入
- **2031 (日) 100周年を迎える。**



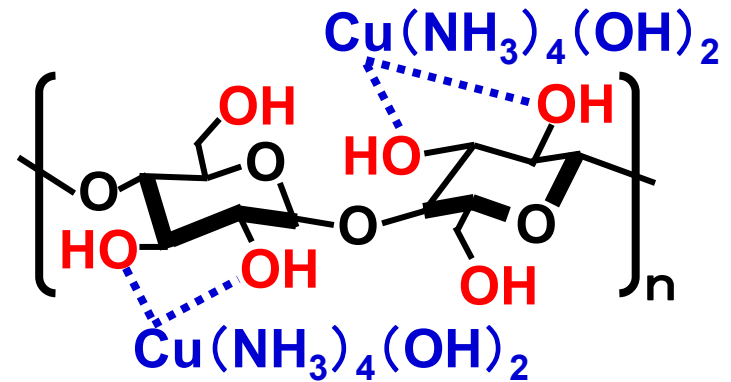
1931年6月27日ベンベルグ糸初出荷

キュプラの製造は旭化成のみ
→ **オンリーワンの価値を提供**

②相分離による粒子生成

セルロース銅アンモニア溶液

世界で唯一旭化成Grが工業レベルで所有
(他社が簡単に模倣できないオンリーワン)

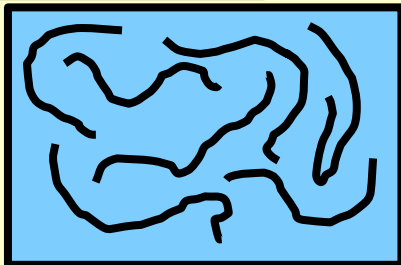


セルロース
溶解状態

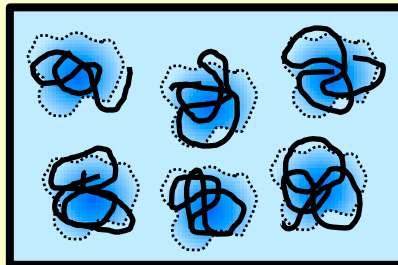
貧溶媒による溶解力低下 = 相分離の進行

3次元の
構造体形成
(粒子の凝集)

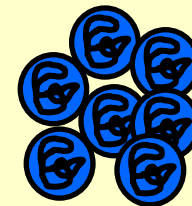
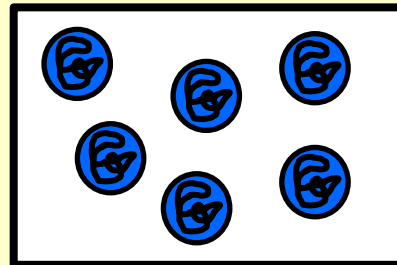
(均一溶解)



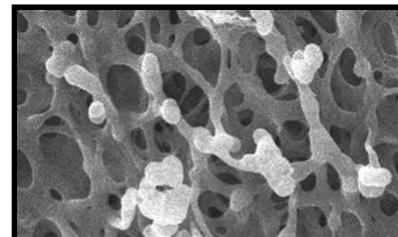
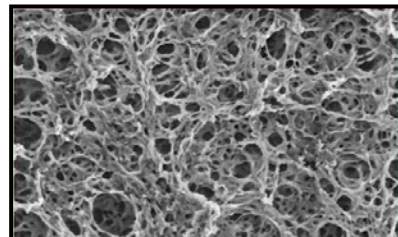
濃厚相の発生



粒子の生成



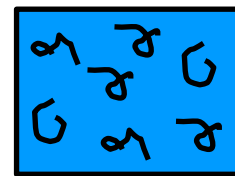
凝集抑制により
十/粒子を単離



溶媒組成により粒径制御

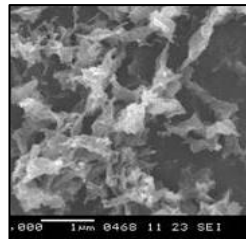
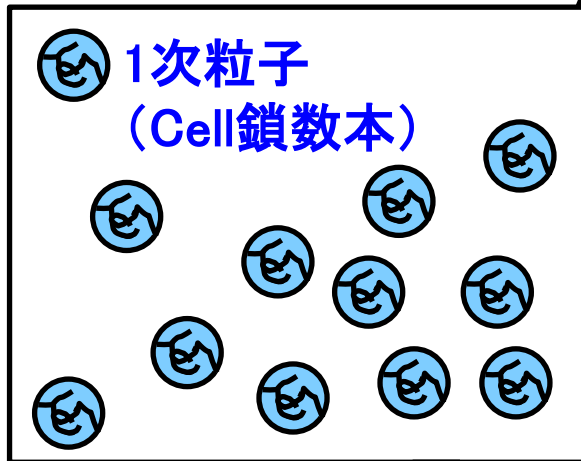
凝固 NanoActの構造形成 仮説

凝固液種類(原液との相溶性)
によって発生した1次粒子の
集合量(二次粒子径)が異なる

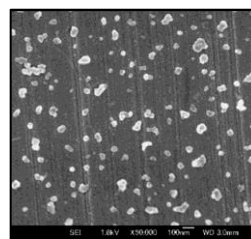
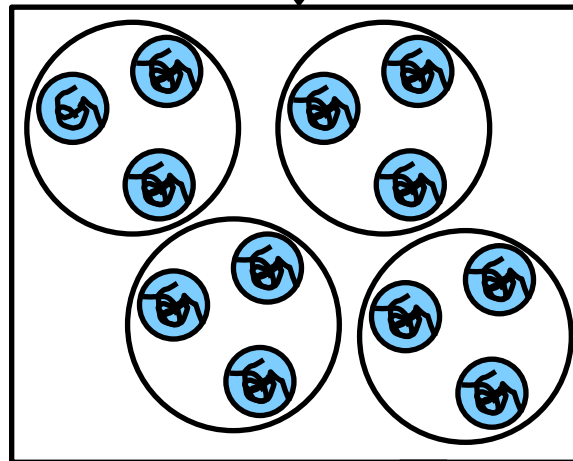


Cell溶液
(セルロースは分子分散状態)

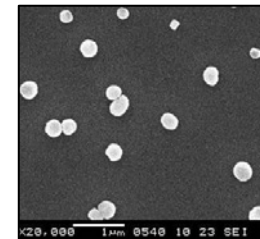
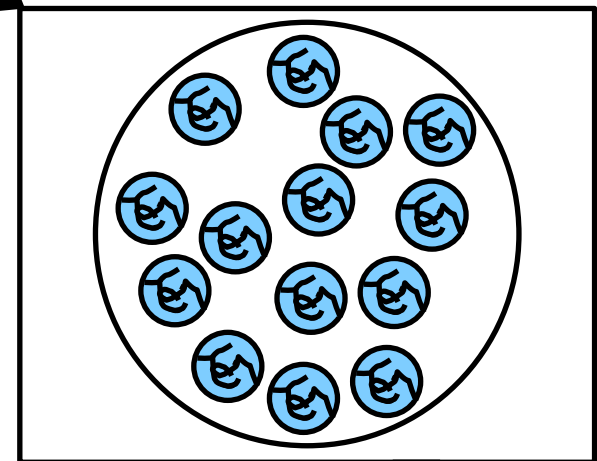
親水性 水 貧溶媒A 貧溶媒B 疎水性



不定形(分散不可能)



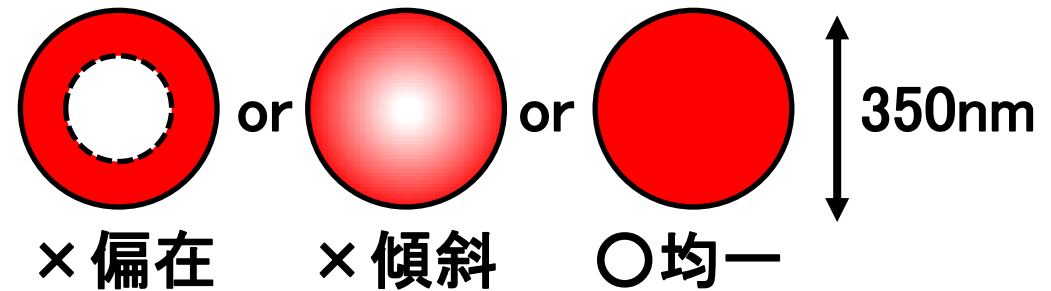
70nm微粒子



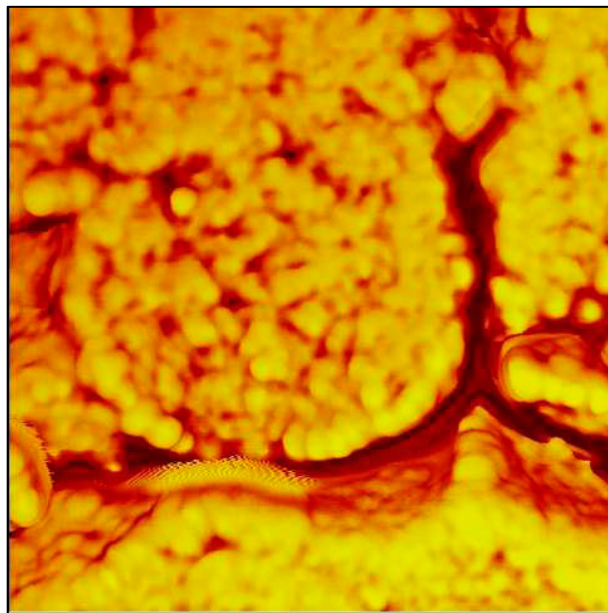
270~500nm微粒子

染色 染色後の粒子断面(AFM)観察

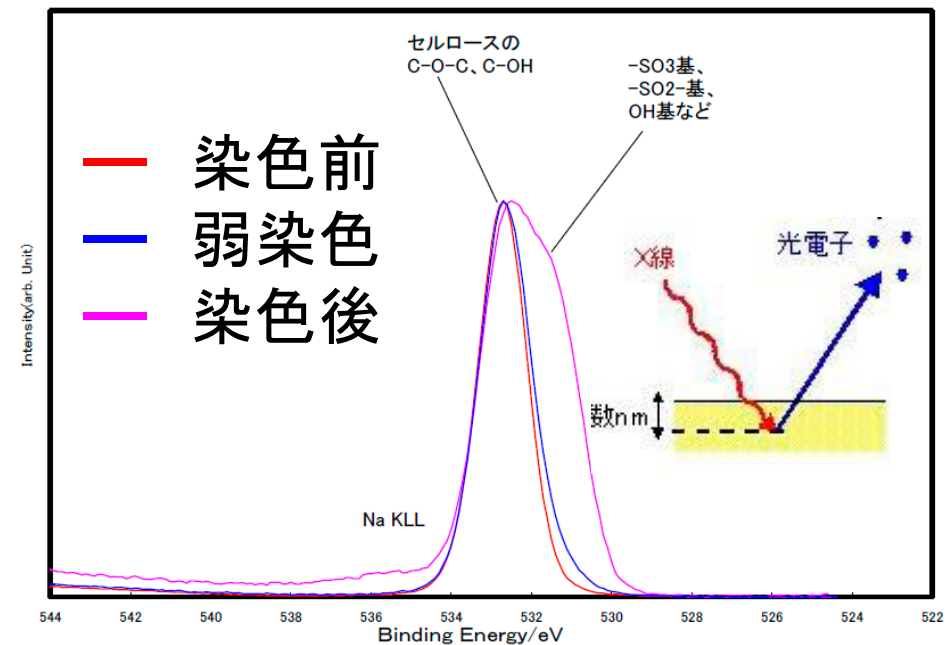
NanoActの染料は粒子の
どこに存在しているのか？
表面偏在？傾斜？均一？



粒子断面AFM



XPS(X線光電子分光)

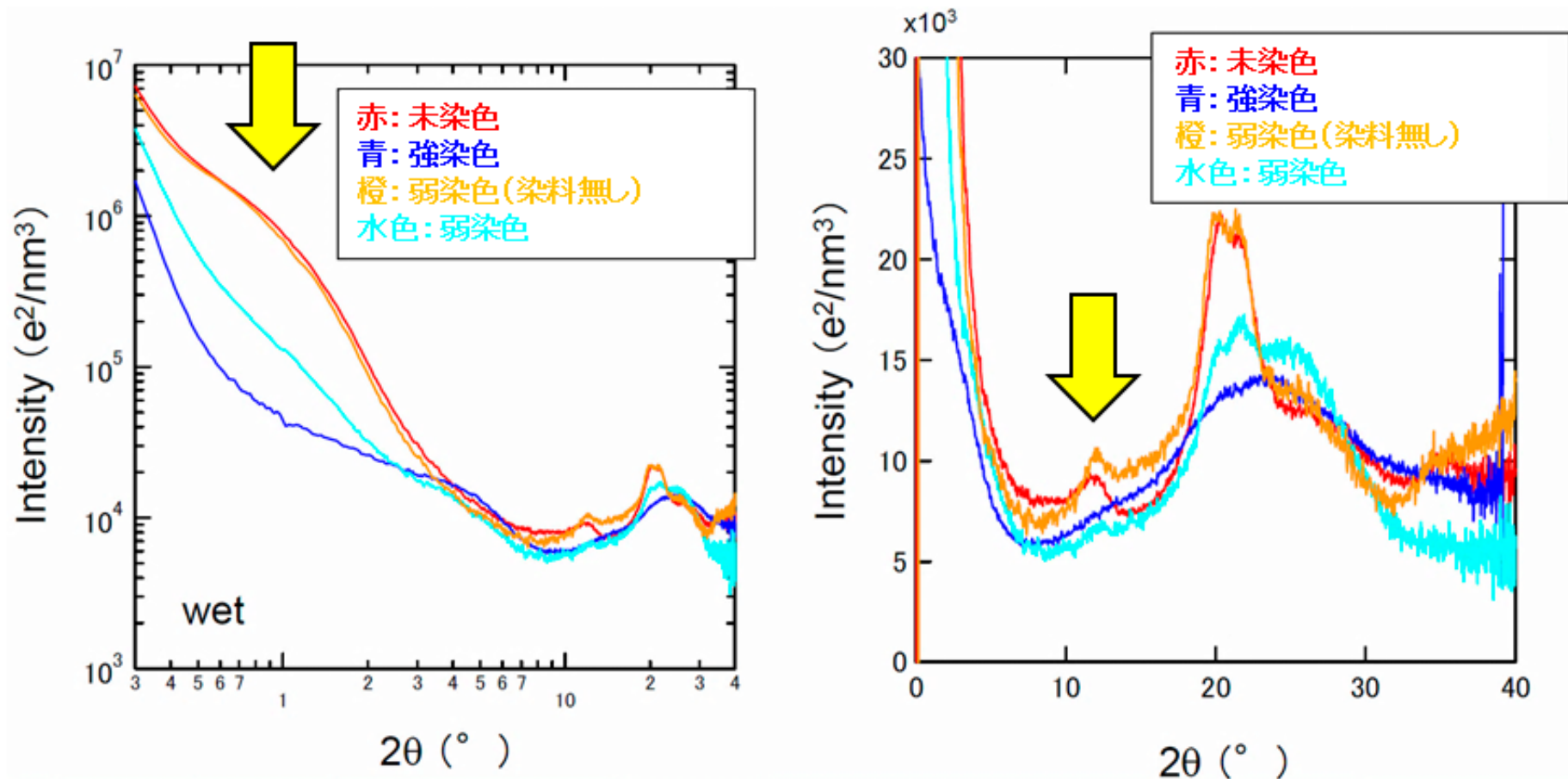


染色後も1次粒子が表面に存在

最表面(数nm)にセルロース存在

染料はNanoAct内部にほぼ均一に入っていると推定される

染色 染色後の結晶構造

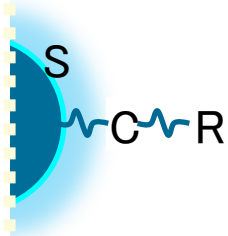
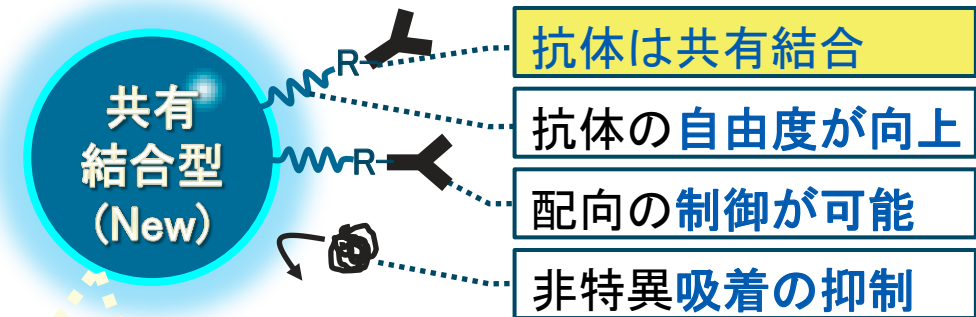
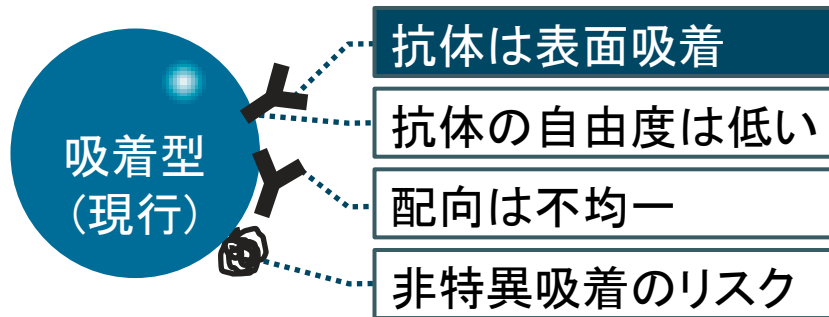


- ①弱染色でかなり結晶ピークが消失(染料で見えなくなる?)
強染色ではほとんど見えない
- ②長周期構造も同様に染色に伴い見えなくなる

4. 化学結合型NanoAct

コンセプト(現行NanoActとの違い)

狙いは「感度向上」&「不具合低減」



S (Surface)	①表面親水層 (不具合低減)
C (Chain)	②スペーサー (抗体自由度)
R (Reactive Group)	③反応基 (抗体配向性)

①～③の組み合わせで
様々な粒子の作製が可能

様々なメリットが発現

メリットの例

高感度化	凝集の抑制	低バックグラウンド																						
<p>検出限界の比較</p> <table border="1"> <tr> <td></td> <td>現行</td> <td>共有結合型</td> </tr> <tr> <td>H-Posi</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>L-Posi</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		現行	共有結合型	H-Posi			L-Posi			<p>実検体での凝集度合いを比較</p> <table border="1"> <tr> <td>現行</td> <td></td> </tr> <tr> <td>共有結合型</td> <td></td> </tr> </table>	現行		共有結合型		<p>バックグラウンドの比較</p> <table border="1"> <tr> <td></td> <td>現行</td> <td>共有結合型</td> </tr> <tr> <td>3min</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>5min</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>		現行	共有結合型	3min			5min		
	現行	共有結合型																						
H-Posi																								
L-Posi																								
現行																								
共有結合型																								
	現行	共有結合型																						
3min																								
5min																								

まとめ

1. ベンベルグ原液を用いてセルロースナノ粒子を造粒する技術を開発した。
2. 染料で染める事で免疫クロマトの標識材として優れた性能を発現する事ができた。
3. 高感度、マルチカラーを特徴とした標識材として NanoActという商標で上市、全世界に展開中。

診断用医薬品以外で何か有用な用途があれば是非ご指導いただきたい。

ご清聴ありがとうございました。

Creating for Tomorrow

昨日まで世界になかったものを。

私たち旭化成グループの使命。

それは、いつの時代でも世界の人びとが“いのち”を育み、より豊かな“暮らし”を実現できるよう、最善を尽くすこと。

創業以来変わらぬ人類貢献への想いを胸に、次の時代へ大胆に応えていくために—。

私たちは、“昨日まで世界になかったものを”創造し続けます。

AsahiKASEI

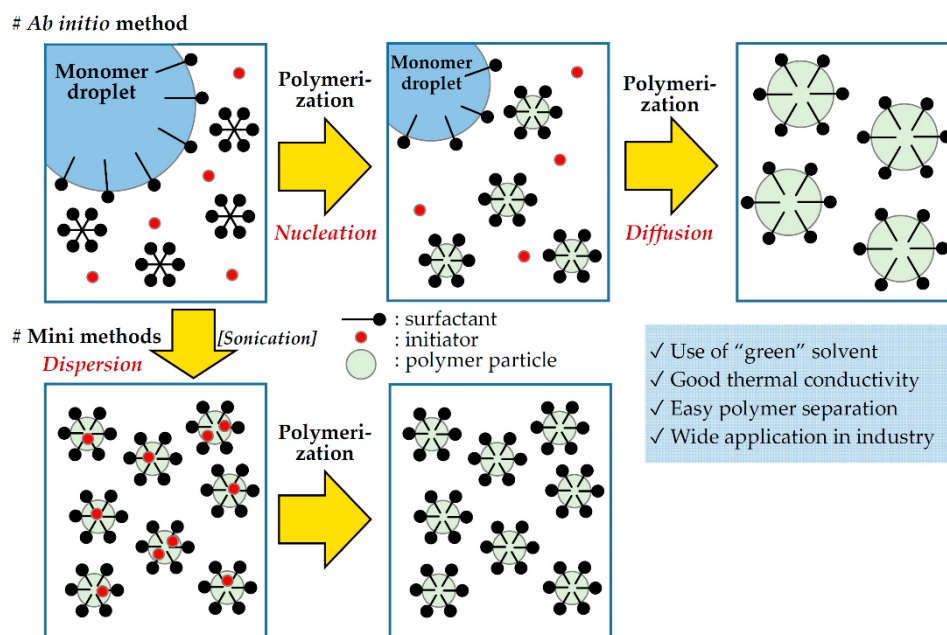
水溶性有機テルル重合制御剤を用いた *ab initio* エマルジョン重合

山子 茂¹, 范 唯佳¹, 中村 泰之² (Shigeru Yamago,¹ Weijia Fan,¹ and Yasuyuki Nakamura²)

¹京都大学 化学研究所, ²物質・材料研究機構

緒言

ラジカル重合は高分子材料創製において最も重要な重合法である。産業界では、水溶性重合開始剤とモノマーとを界面活性剤を加えて水中で重合する、*ab initio* エマルジョン重合法を用いるのが最も一般的である (Scheme 1)。(1)この方法では、重合初期における界面活性剤で安定化されたポリマー粒子核の形成と、それに引き続くモノマーの液滴から水中への拡散によるポリマー粒子の成長により、粒径の制御されたポリマー粒子が得られる。グリーンな溶媒である水を用いているのみならず、反応熱の制御や生成ポリマーの分離が容易であるといった、実用的な利点を持つ。



Scheme 1. Schematic representation of emulsion polymerization

一方、1990年代からのリビングラジカル重合法 (LRP) 法 (可逆的不活性化ラジカル重合) の開発の進展により、現在では LRP はベンチスケールでの高分子材料創製にとどまらず、産業界での利用も進んできた。(2)しかし、*ab initio* エマルジョン重合を LRP 系で行うことで、ポリマー粒径と共に生成したポリマーの分子量と分布とを制御した例は、これまでニトロキシルラジカルを重合制御剤として用いる一例に限られている。(3)ただし、この系もモノマーはアクリル酸ブチルとスチレンに限られると共に、分子量、分布、粒径の制御は必ずしも高いものではない。この原因として、1) LRP ではポリマー鎖が重合初期では短いため、ポリマー粒子核の形成が迅速に進行せず、モノマー液滴内での核形成が競合してしまう、2) 重合初期で生成するオリゴマー種が

モノマーと”superswelling”を起こしてコロイドの安定性が下がってしまう、3) 重合制御剤や触媒の拡散の制御が難しい、等の理由が考えられている。(1,4) そこでこの問題を回避するため、あらかじめ重合前の溶液を分散するマイクロエマルジョン法やミニエマルジョン法が用いられているが、分散に超音波装置などを用いる必要があり、実用的では無い。また、水溶性オリゴマー開始剤を用いた重合誘起自己組織化を利用した方法も開発されているが、(5) 純粋な *ab initio* 系の開発が強く求められている。

我々は有機テルル化合物を用いるラジカル重合 (TERP) を開発してきている。(6) さらに最近、カルボン酸を持つ TERP 制御剤 **1a** の合成に成功しており、(7) その過程において、そのカルボン酸塩、例えばナトリウム塩 **1b** が水溶性であることを見いだした。そこで、**1b** を用いた *ab initio* エマルジョン重合について検討を行った (Figure 1a)。今回は MMA をモノマーとして選んだ。さらに、最近我々は有機テルル化合物の可視光による活性化による光 TERP を開発している。(8) 一方、エマルジョン重合系では不透明な乳液が生成するため、光重合は適していないと考えられてきた。その常識にも挑戦したので併せて報告する。(9)

結果と考察

まず熱条件について検討した (条件 A)。アゾ開始剤としてカルボン酸残基を持つ水溶性の ACVA を、界面活性剤として非イオン性の Brij98 を選び、これらと **1a** の混合水溶液に、カルボン酸残基に対して 1.1 当量の NaOH 水溶液を加え、均一溶液を調製した (Figure 1b)。ここに MMA (200 equiv) とジメチルジテルリド (1.0 equiv) を加え 65 °C で加熱攪拌した。重合の進行をモニターしたところ、数平均分子量 M_n とポリマー粒子径はモノマー転化に比例して大きくなると共に、分散度 D も常に 1.5 以下と小さく、重合がリビング的に進行した (Figure 1c)。9 時間後には MMA が完全に消費され、分子量、分布、粒径の制御された PMMA 粒子が合成できた (Table 1, run 1)。

次に、光活性化条件について検討した。すなわち、アゾ開始剤の代わりに 6W の LED を光源として用い、50%ND フィルターを通して光照射しながら、65 °C で加熱攪拌を行った (条件 B)。

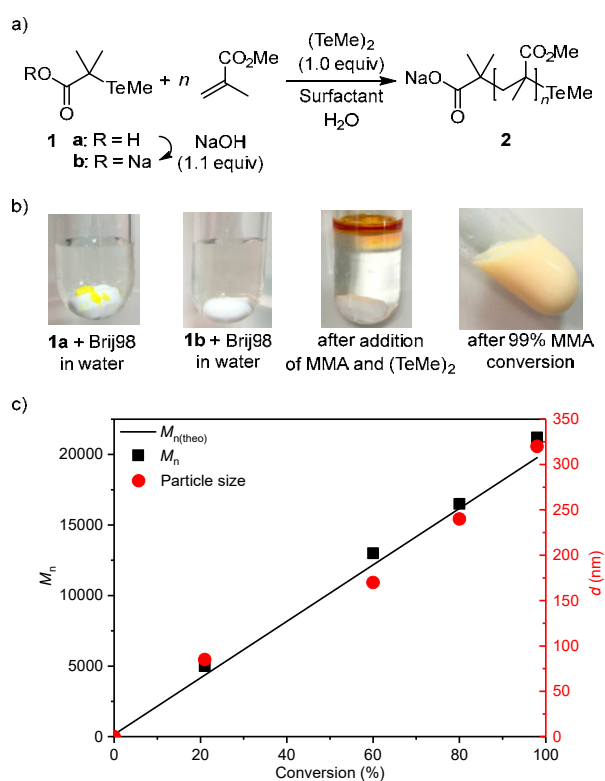


Figure 1. *Ab initio* emulsion polymerization of MMA by TERP. a) Reaction scheme. b) Visual changes during polymerization. c) Molecular weight and particle size vs. conversion of MMA under thermal condition (Table 1, run 1).

Table 1. Emulsion polymerization of MMA using **1b**^a

Run	Cond. ^b	Total Time (h) [Interval times]	Conv. ^c	$M_n(\text{theo})$	$M_n(\text{exp})^d$	\mathcal{D}^d	d (nm) ^e	PDI ^e
1	A	9	99	20000	21500	1.43	342	0.13
2	B	9	99	20000	22000	1.36	267	0.19
3	B	9	95	19100	20100	1.35	250	0.18
4 ^f	B	9	96	19300	27500	1.62	306	0.41
5 ^g	B	9	80	16100	17200	1.33	215	0.17
6	A	9 [4]	98	19800	20200	1.35	228	0.064
7	B	9 [4]	95	19100	20400	1.30	110	0.023
8	A	9 [6]	90	18200	21000	1.43	105	0.038
9	B	9 [6]	97	19600	20600	1.33	55	0.066
10	B	9 [8]	91	18400	19200	1.25	48	0.034
11 ^h	A	9	98	19800	21200	1.40	N.D. ⁱ	N.D. ⁱ
12 ^j	A	9 [6]	99	49700	52900	1.38	75	0.030
13 ^k	A	9 [6]	95	95300	97000	1.33	100	0.022
14 ^k	B	9 [6]	98	98300	102000	1.35	97	0.025
15 ^l	B	9 [4]	99	10100	11800	1.27	58	0.063

^a[MMA]:[1] = 200:1, surfactant 10 wt% to MMA, and solid content 10%. ^bCondition A: ACVA (0.20 equiv), 65 °C; Condition B: 6 W LED/50% ND filter, 65 °C. ^cMonomer conversion determined by ¹H NMR. ^dNumber-average molecular weight (M_n) and dispersity (\mathcal{D}) determined by GPC calibrated against PMMA standards. ^eDetermined by dynamic light scattering (DLS). ^fPolymerization carried out without ND filter. ^gPolymerization carried out with 10% ND filter. ^hPMMA latex was prepared at first from 5 wt% of MMA. ⁱNot determined due to the coagulation of polymer particles. ^j500 equivalent MMA was used. ^k1000 equivalent MMA (15% w/w to water) was used. ^l100 equivalent of MMA was used.

その結果、重合の進行に伴い不透明の乳液が生成したのにもかかわらず重合は進行し、MMA が定量的に消費されると共に、構造と粒子径の制御された PMMA 粒子の合成ができた (run 2)。さらに、光の ON/OFF 実験を行ったところ、モノマー消費は光照射下のみで起こることから、確かに有機テルル休止種の光活性化により重合が進行していることが示された (run 3, Figure 2)。さらに、ND フィルターがない場合はモノマー転化が早い一方、生成 PMMA の分布が広がった。一方、10%ND フィルターを用いた場合には、重合の制御は行えるが、モノマー消費速度が遅かった (runs 4 and 5)。この結果も、有機テルル休止種の活性化を支持する結果である。これは、テルル基が極めて光に活性であると共に、⁽⁸⁾ 重合が粒子表面で進行しているためにテルル基が常に光に曝露されているためであると考えている。

次にセミバッチ法を用いて、ポリマー粒子の粒径のさらなる制御を試みた。すな

わち、MMA を l 等分 ($l=4\sim 8$) してそれぞれ 1 時間毎に l 回加えた後、いずれの場合も最終的には合計 9 時間加熱を行った。その結果、熱および光照射条件のいずれにおいても生成 PMMA の分子量と分布の制御を保ったまま、粒子径の多分散度 (PDI) を 0.07 以下へと制御できた (runs 6-10)。いずれも 90% 以上のモノマー転化率に達しており、この点からも優れた重合系であることが示唆された。一方、シード重合法についても検討してみたが、こちらでは粒子の凝縮が起こり、粒子径の制御はできなかった (run 11)。

さらに、セミバッチ条件下で MMA の量を 500 あるいは 1000 当量に増やすことで、高分子量 PMMA 粒子の制御合成についても検討した。その結果、加熱および光照射下のいずれの条件においても、95% を超える高いモノマー転化率に達すると共に、分子量、分布、粒子径のいずれもが制御された高分子量体の PMMA 粒子が合成できた (runs 12-14)。

最後に、PMMA 成長末端を利用したブロック共重合体の合成を検討した。光照射下条件で、 M_n が約 11000 の PMMA マクロ開始剤 **2** を調製した後 (run 15)、*t*-ブチルメタクリレート (tBMA, 200 equiv) とジメチルジテルリド (1.0 equiv) を加え、引き続き光照射下で加熱した (Figure 3a)。その結果、tBMA の転化率が 99% に達すると共に、望みのジブロック共重合体を得られたことが GPC, DLS, TEM から明らかになった (Figures 3b-d)。すなわち、GPC では PMMA マクロ開始剤がほぼ完全に消費されると共に、ジブロック共重合体の新たな単峰性のピークが確認された。また、DLS, TEM でも粒径分布を保ったまま粒径が大きくなっており、粒径の制御されたジブロック共重合体粒子を得られたことが示された。

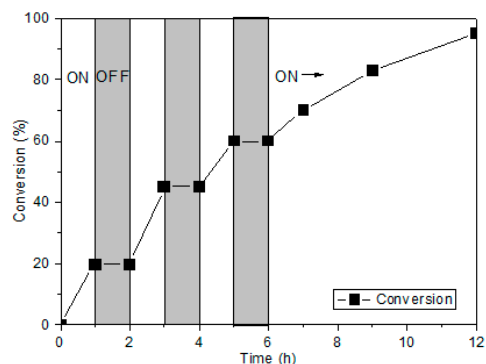


Figure 2. Effect of light on the polymerization of MMA in the presence of **1b**

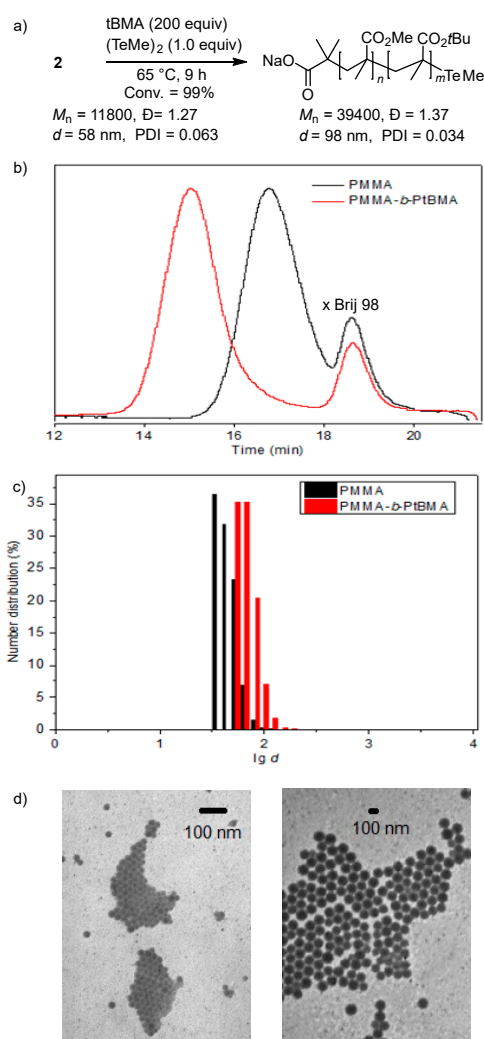


Figure 3. a) Synthesis of PMMA-*b*-PtBMA. b) Molecular weight distributions for emulsion TERP of MMA and tBMA. c) Particle size (diameter) distribution of PMMA and PMMA-*b*-PtBMA determined by DLS. d) TEM images of PMMA (left) and PMMA-*b*-PtBMA (right) particles.

結言

水溶性の有機テルル重合制御剤を用いることで、MMA の *ab initio* エマルジョン重合により分子量、分布、粒子径の制御された PMMA 粒子が合成できた。さらに、ブロック共重合体についても制御重合に成功した。重合はアゾ化合物を用いた熱条件化のみならず、微弱な可視光照射下でも進行した。グリーンな重合プロセスであることから、今後他のモノマーへの利用など、汎用性を広げることで、実用的重合法として利用できると期待できる。

謝辞

本研究は、カナダ・クィーンズ大学の Michael F. Cunningham 教授との共同研究の成果である。また、科研費 JP24109005 (S.Y.) と JSPS Core-to-Core プログラム、アドバンスドリサーチネットワーク (W.F.) の支援を受けた。

リファレンス

- (1) a) P. B. Zetterlund, Y. Kagawa, M. Okubo, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 3747; b) P. B. Zetterlund, S. C. Thickett, S. Perrier, E. Bourgeat-Lami, M. Lansalot, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 9745; c) J. Qiu, B. Charleux, K. Matyjaszewski, *Prog. Polym. Sci.* **2001**, *26*, 2083; d) M. F. Cunningham, *Prog. Polym. Sci.* **2008**, *33*, 365.
- (2) a) K. Matyjaszewski, T. P. Davis, *Handbook of Radical Polymerization*, Wiley-Interscience, New York, **2002**; b) G. Moad, D. H. S. Eds, *The Chemistry of Radical Polymerization*, Elsevier, Amsterdam, **2006**; c) K. Matyjaszewski, M. Möller, *Polymer Science: A Comprehensive Reference, Vol. 3*, Elsevier BV, Amsterdam, **2012**.
- (3) a) J. Nicolas, B. Charleux, O. Guerret, S. Magnet, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6186; b) B. Charleux, J. Nicolas, *Polymer* **2007**, *48*, 5813.
- (4) a) C. S. Chern, *Prog. Polym. Sci.* **2006**, *31*, 443. b) Y. Luo, J. Tsavalas, F. J. Schork, *Macromolecules* **2001**, *34*, 5501.
- (5) M. Lansalot, J. Rieger, F. D'agosto, in *Macromolecular Self-Assembly*, John Wiley & Sons, Inc., New York, **2016**, pp. 33-82.
- (6) S. Yamago, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 5051.
- (7) W. Fan, Y. Nakamura, S. Yamago, *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 17006.
- (8) a) S. Yamago, Y. Nakamura, *Polymer* **2013**, *54*, 981; b) S. Yamago, Y. Ukai, A. Matsumoto, Y. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2100; c) Y. Nakamura, S. Yamago, *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, *9*, 1607; d) Y. Nakamura, M. Yu, Y. Ukai, S. Yamago, *ACS Symposium Series* **2015**, *1187*, 295.
- (9) W. Fan, M. Tosaka, S. Yamago, M. F. Cunningham, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, in press.

POSS を基盤とした有機-無機ハイブリッドゲルの開発と 環境センサーへの応用

京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻
中條善樹・田中一生・権 正行

1. 序論

無機元素を含む機能の最小ユニットを「元素ブロック」と呼び、これらを連結、集積することで「元素ブロック材料」と呼べる無機成分の特性を活かした高機能性材料の創出が期待できる¹⁾。ここで我々は、かご型シルセスキオキサン(POSS, 図 1)をハイブリッド化のための“元素ブロック”とみなした。POSS は各種のアルキル基や官能基を有するトリアルコキシシランやトリクロロシランを用い、希薄溶液中で縮合させることで得ることができる。他のポリシロキサンやポリシルセスキオキサンはエラストマーとなるものが多いが、POSS は剛直なシリカの立方体核から放射線状に有機置換基が配置されている立体的な分子であり、特異な物性を持つ機能性材料が得られる。例えば、POSS を高分子主鎖に連結することで熱分解温度を著しく向上させることや、POSS をフィラー(添加剤)として高分子に混合することのみでも熱安定性や機械的特性を向上することが可能である。また、POSS を含む高分子による相分離に伴う微細構造形成も報告されており、集積回路作成のためのレジストとしての応用が図られている。さらに、POSS 核自体は極性が極めて低い骨格であり、例えば、POSS を基板上に集積すると高撥水性の表面が得られる。ここで、組成式が $(\text{RSiO}_{1.5})_8$ で表されることから、すなわち、高分子材料に POSS を添加し、それらが均一に分散している場合を考えると、材料中には有機-無機ハイブリッドと同様の状態が実現しているとみなすことができる。言い換えると、POSS は「混合するだけでハイブリッド化が可能な便利な元素ブロック」であるといえる。さらに、POSS は一般的な有機合成的手法により有機置換基を修飾・変換することが可能であることや、高次構造形成の足場としても働くことが可能であることから、ハイブリッド材料開発に精密設計を可能にし、「デザインブルハイブリッド」と呼べるような複合材料を創出することに POSS は適した物質であると考えられる。このような考えの元、我々が行ってきた最近の研究を中心に、POSS を“元素ブロック”として用いることで得られた「デザインブルハイブリッド」について説明する。特に、POSS を生体関連材料に適用することで、ハイブリッド材料を基盤とした環境センサーを開発したので、それらの成果について報告する。

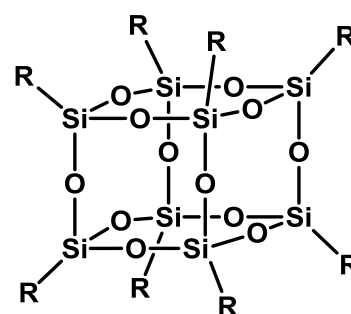


図 1. POSS の化学構造。

2. 水溶性 POSS 含有高分子における特殊空間創出

POSS を用いると剛直かつ高対称性のビルディングブロックを材料中の任意の部位

に導入可能である。このような特徴を活用することで、特に水中で使用が想定される生体関連材料において、POSS は特異な機能を発現する。POSS においてシリカの立方体核から放射線状に側鎖が配置されており、平面上の八官能性の化合物とは異なる物性が得られる。例えば、アンモニウム基などイオン性置換基を POSS に導入した場合、高い水溶性を付与できる。ここで、上述のように POSS は閉じたシリカの立方体構造を有することから極性の低い物質であるが、各頂点上に存在する有機置換基の立体障害により凝集状態の形成を抑制できる。したがって、一般的な平面状の分子の場合、上下でスタッキング等の分子間相互作用を起こし、凝集沈殿が進行する場合であっても、POSS に吸着した分子や POSS 上の機能性分子団は水中でも孤立して存在できる。また、シリカの立方体核の各頂点から置換基が立体的に配置されており、隙間の多い構造を有している。このため、POSS の強い疎水場をむき出しで水中に存在させることにつながり、これは分子レベルの微小な「油滴」を水中に多数存在させることと同様の状態が実現されているとみなせる。実際、これまでに POSS を用いて水溶性ネットワークポリマーやデンドリマーなどの多分岐型高分子材料が得られており、POSS 付近に現出する疎水場に起因して、特異な機能が導出している。

例えば、細胞内ではタンパクや核酸などの巨大分子が高濃度で存在することから、生理緩衝液とは異なる環境が現出している。このような分子クラウディングと呼ばれる状態中では濃縮効果のため分子認識におけるリガンド-標的物質間の結合力が上昇することが知られている。POSS を用いると、このような細胞内の環境を内部に有する高分子材料の合成により、生体分子の選択的認識機構を構築することが可能となった。一般に、グアニン-シトシン間などに見られる水素結合による分子認識は、水中では結合力が著しく低下する。そこで POSS のもつ疎水性空間を利用することで水素結合による認識効率の向上を図った。すなわち、標的分子に対して水素結合を介した分子認識が可能なリガンドを POSS 核デンドリマーに内包しておく。そこに標的分子を加えると、POSS の疎水性表面上で水素結合を介した複合体形成が行われることを想定した。特に、生体内で情報伝達物質としての機能を担うことや、核酸の構成要素として重要なグアニン類縁体を標的とし、グアニンと水素結合を介して複合体を形成することが知られているナフチリジン類縁体をリガンドとして用いた。まず、分子認識能を評価するために、蛍光発光を有するナフチリジンリガンドに対して各種グアノシン類縁体を消光剤として Stern-Volmer プロットを行い、複合体の結合定数を求めた。世代数 2 の POSS 核デンドリマー存在下では、グアノシン三リン酸(GTP)の添加により大きくナフチリジンリガンドの蛍光が消光されることが分かった。これはナフチリジンリガンドと GTP 間で複合体形成が起こったことを意味している。POSS 核デンドリマー非存在下、ならびに、POSS を持たないデンドリマーを加えた場合には消光が観られなかった。以上のことは、デンドリマー内部の POSS が複合体形成に重要な役割を果たしていることを示している。また、溶液の pH を変化させた実験や、アデノシン三リン酸による同様の実験より、GTP の三リン酸部位とデンドリマー表面上のアミノ基との静電相互作用も、POSS 核デンドリマーによる GTP 選択的内包に関与していることを示唆する結果を得た。以上の結果から、POSS が水中で作り出す疎水

空間を利用することで、水素結合を介した複合体の安定性を増強することができたと
いえる。この系を応用することで、リガンド分子の変換により、様々な水素結合を介
した分子認識系にも適用可能であることが期待できる結果を得た。このような成果に
立脚し、本研究では POSS の特徴を活かした環境センサーの開発に取り組んだ。

3. 発光性 POSS ネットワークによる微粒子のサイズ識別

PM2.5 などのマイクロメートル以下のサイズを持つ微小粒子状物質は、生体に対して健康被害をもたらすことから、大気汚染の原因の一つとなっている。ぜんそくやその他のアレルギー疾患など、具体的な疾病に関する報告も多数集まっており、大気中に長時間・長距離浮遊することから近年では世界レベルでの対策が必要とされている。また、微小粒子状物質による水質汚染についても懸念が広がっている。自動車や工業製品に含まれるマイクロプラスチックや本研究で実際に検出対象としたマイクロガラスなどの粒子状物質は、天然では分解できない成分でできていることから、それらが海や川に流れ込み、魚介類により生物濃縮され、人体に到達することも報告されている(図 2)。これらの物質からの健康被害も想定されてきており、実際、欧米では工業製品にマイクロプラスチックを用いることが禁止されている。したがって、これらのマイクロからナノメートルサイズにいたる物質の環境・生体への影響について調べるのが喫緊の課題とされている。特に、粒子のサイズは浮遊時間から生体中での滞留に至るまで、毒性や環境被害を決める重要な因子であることから、これらの情報を簡便に取得する方法が重要とされている。

これまでに微小粒子状物質を検知するための手法として、微細なフィルターを有す



図 2. PM2.5 の現状と従来の計測手法。

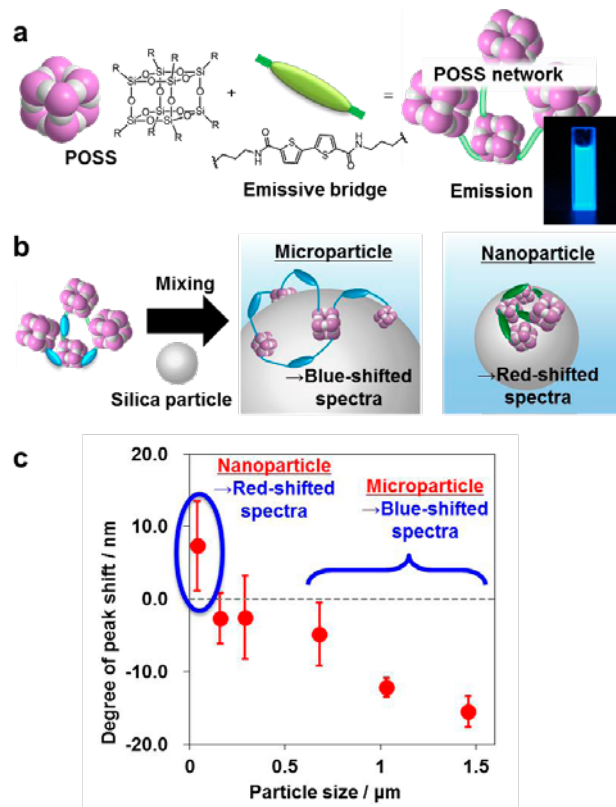


図 3. (a) ハイブリッドゲルの構造。(b) 微粒子認識による発光色変化の機構の模式図。(c) 微粒子添加による発光極大波長の変化。

る集塵装置や放射線計測に基づく装置が開発され、現在運用されている。実験室レベルでは電子顕微鏡による直接観察や光散乱による粒径の計測等が行われている。一方、これらの手法では大型の装置を用いることや、測定のための試料の前処理など、専門的な技術が必要とされる。これらの状況から、混ぜるだけで測定が可能な蛍光化学センサーの開発に着手した。特に本研究では、上述のように直接的に水質汚染の原因となることや、PM2.5 よりもより捕捉が困難である球状のシリカ微粒子を標的として検出を試みた²⁾。

POSS を架橋点として用いて水溶性のゲルを作成することで、超疎水性表面を露出させ、シリカ微粒子の捕捉を試みた。具体的には、有機色素と POSS をネットワーク化させた発光性有機-無機ハイブリッドゲルを合成した(図 3a)。このゲルは水に可溶であり、水中で強い発光を示した。さらに、想定どおりにシリカ微粒子に高い吸着性を示した(図 3b)。特に、微粒子の粒子径により発光スペクトルが移動することが明らかとなった(図 3c)。元々青色の発光を有するゲルにおいて、数十ナノメートルのシリカ微粒子存在下では発光が長波長側に移動し、一方1 マイクロメートル以上の微粒子存在下では紫外領域に発光帯が変化することが示された。解析の結果、微粒子に吸着することでスポンジのように膨潤収縮が引き起こされ、ゲルの内部環境が変化し、発光特性が変わったことが示唆された。また、このスペクトル変化はシリカ微粒子表面の官能基をアンモニウムなどの親水性基導入や、逆にアルキル基導入による疎水性を増強した状態でも観測することができた。このことは、測定対象の粒子の組成や表面の化学的性質に依らず、サイズを認識可能であることを示唆している。

4. 今後の応用

従来の装置では検出が困難であったナノサイズの埃を計測可能なセンシング材料の開発につながる。特に、シリカ微粒子は大気中の粉塵の主成分の一つであることや、化学物質や放射性元素を吸着していることもあり、大気汚染のバロメータとなると考えられる。特に本成果は既存のフィルター膜では選別が困難なナノメートルでの識別が得意であることから、より小さな粉塵の検出が可能であると期待される。これらは製薬や精密機器、電子部品製造の環境計測に特に有用である。

また、従来、微粒子の生体内での移動を調べるには、微粒子自体に発光能を持たせる必要があった。サイズ毎に発光色を変えることができれば、それぞれの径による物理的性質や生体挙動を調べるのが可能となる。一方、これまでに数十ナノから数マイクロメートルでサイズに基づいて異なる発光色を持たせることは困難であった。本研究成果を用いると、微粒子と混ぜることのみでサイズに応じて異なる発光色に着色できることから、上述の微粒子状物質の挙動を調べることや、粒子を簡便に発光材料化する応用が考えられる。

参考文献

[1] Y. Chujo and K. Tanaka, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **88**, 633 (2015).

[2] T. Kakuta, K. Tanaka and Y. Chujo, *J. Mater. Chem. C*, **3**, 12539 (2015).

水/2-ブトキシエタノール混合溶媒中でのポリアクリル アミドゲルの体積相転移

Volume Phase Transition of Polyacrylamide Gels in Water/2-butoxyethanol

瀧川敏算, 堀中順一, 小林大洋

Toshikazu Takigawa, Jun-ichi Horinaka, Taiyo Kobayashi

京都大学大学院 工学研究科 材料化学専攻

1. はじめに

ゲルの体積が外部環境のわずかな変化で不連続に変わる現象を体積相転移とよぶ。¹⁾田中らは,¹⁾高分子ゲルの体積の温度依存性曲線に不連続性が現れるためには高分子網目中にイオン性基がある程度存在する必要があることを理論的に示しているが, ポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド)(PNIPA)ハイドロゲル系では電氣的にほぼ中性な場合でも体積相転移が起こることが知られている。^{1,2)}PNIPA 以外にも水中で LCST (lower critical solution temperature)をもつ高分子は多数存在するが, それらから得られるゲルでは水中での体積の温度依存性曲線は連続的になる。このように, 高分子ゲルの体積相転移は普遍的な現象であると考えられているが, 実際には限られた系でしか観測されていない。以前から, 我々は高分子ゲルの体積相転移に興味をもち, 研究を行っている。特に, 相転移前後での力学物性の変化に着目して, 相転移の機構解明に取り組んでいる。昨年, 相転移現象を応用したアクチュエータの仕事効率に関する報告をした。^{3,4)}本年は混合溶媒で膨潤した高分子網目系における溶媒の相分離とゲルの体積相転移の関係について調べた結果を報告する。

2. 実験

混合溶媒には水 (W) と 2-ブトキシエタノール (BE) を用いた。高分子網目にはポリアクリルアミド (PAAm) を使用した。水で膨潤した PAAm ゲルはアクリルアミド(AAm)と *N,N'*-メチレンビスアクリルアミド(BIS)を蒸留水中で共重合することで作製した。過硫酸アンモニウムを重合開始剤として用い, *N,N,N',N'*-テトラメチルエチレンジアミンを重合促進剤実験として使用した。[AAm]:[BIS]=6400:1 とし, 全モノマー濃度が 20wt%となる

ようにプレゲル溶液を調整した．プレゲル溶液をガラス管（内径が約 0.85mm，長さが約 30mm）に入れ，4°C で 24h 静置することでゲル化させた．その後，得られた円柱状のゲルを 25°C の蒸留水に浸漬して未反応物を除去した後真空乾燥した．真空乾燥したゲルを種々の溶媒組成の混合溶媒で平衡膨潤させた後，実験に用いた．溶媒組成の表記には水の重量分率 (w_W) を用いた．溶媒の相分離温度の決定およびゲルの直径 (d) の温度 (T) 依存性測定には自作の恒温水槽とテレビカメラを用いた，

3. 結果と考察

図 1 は W/BE 混合溶媒の相図である． T を縦軸， w_W を横軸にとっている．本研究で得られたデータ（○印）だけでなく，先行研究⁵⁾で得られたデータ点（-）もあわせて記載している．本研究で得られた実験点は文献値とほぼ一致しているが，共存線は w_W の大きい方に偏っている．また，この混合溶媒系の臨界点（LCST）は， $w_W \approx 0.7$ ， $T \approx 52^\circ\text{C}$ にあるが，臨界点付近では共存線はほぼ平坦になっている．

図 2 は，25°C で $w_W = 0.45$ ， $w_W = 0.50$ および $w_W = 0.80$ の 3 種類の混合

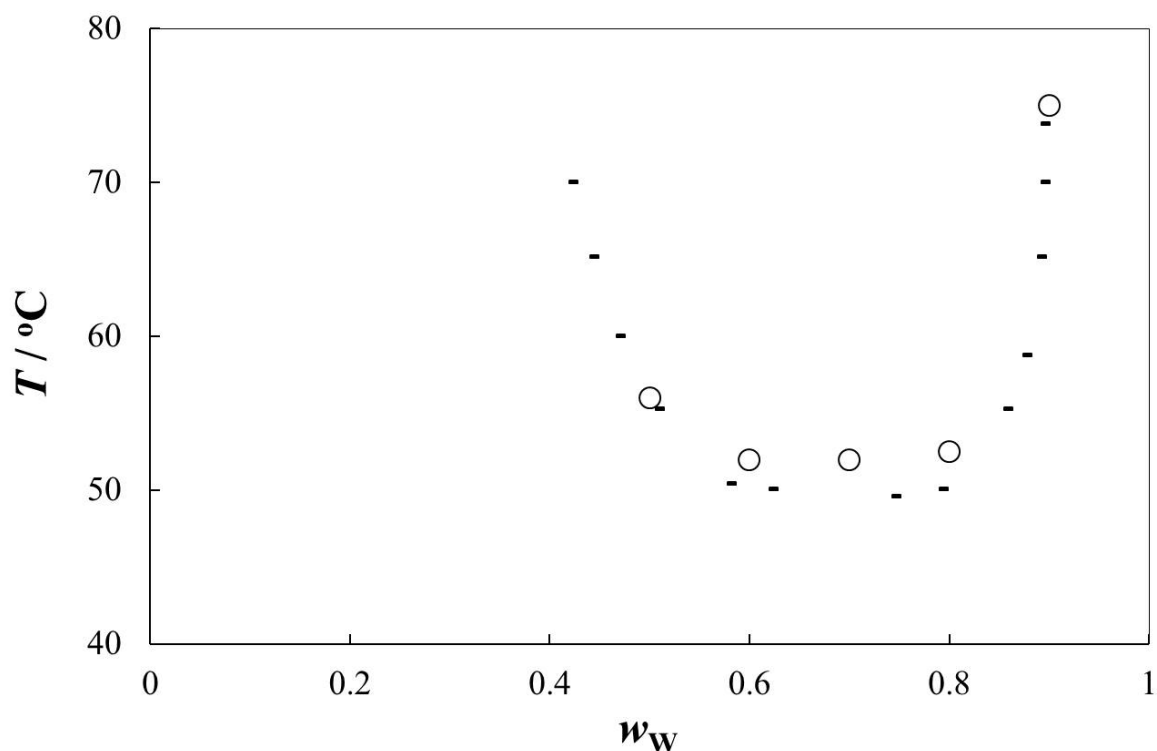


図 1 W/BE 混合溶媒系の相図

溶媒中で平衡膨潤させた PAAm ゲルの d の温度依存性をまとめたものである。この実験では、ゲルと混合溶媒が共存した状態で恒温水槽の温度を変化させ、所定の温度になればその温度でゲルが平衡膨潤状態になるまで待つ。その後 d を測定した後、恒温水槽の温度を温度を上げる、という操作を繰り返しながら測定している。図中の 3 本の点線はゲルの周囲にある混合溶媒が相分離した温度 (T_{sp}) を表している。ここで得られた T_{sp} は図 1 で示した溶媒のみの系の T_{sp} とほぼ一致しており、 T_{sp} よりも高い温度では、溶媒は相分離する。W/BE 系を T_{sp} よりも高い温度にすると系は白濁したが、その後比較的短時間（ほぼ 10min 以内で）で巨視的な二相状態に変化した。一方、ゲルについては、どの溶媒組成のときも T_{sp} 以上になるとゲルは白濁したが、しばらく時間が経過すると白濁は解消しゲルは巨視的な一相状態を回復した。

ゲルの d の T 依存性曲線については、 w_W が臨界組成 (w_{CP} : $w_W \approx 0.7$) よりも大きい小さいかで違いが現れている。すなわち、 w_{CP} よりも小さい w_W の溶媒で膨潤したゲル ($w_W = 0.45$ および $w_W = 0.50$) では溶媒の T_{sp} の

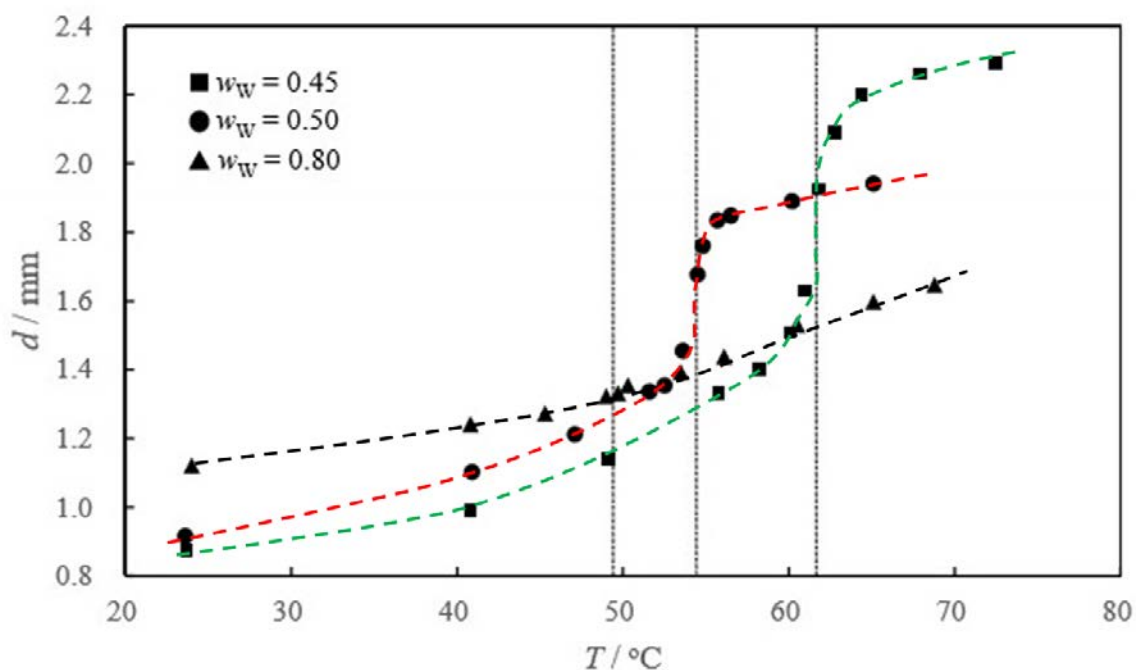


図 2 PAAm ゲルの d の温度 (T) 依存性

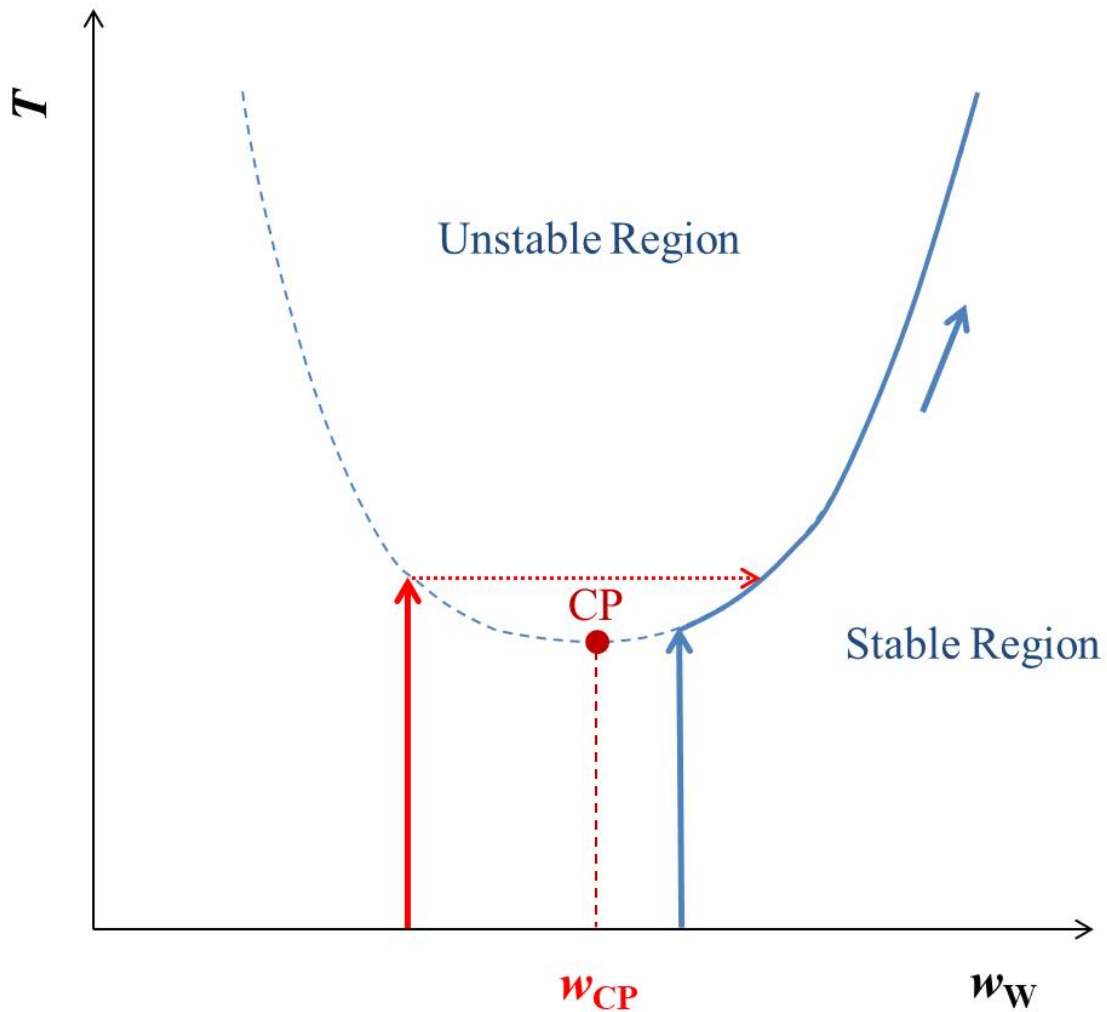


図 3 PAAm ゲル中の混合溶媒の相図（模式図）．CP は臨界点， w_{CP} は臨界組成を表す．赤および青の線は図 2 で述べた実験に対応する．

ところで d が急激に変化しているが，臨界組成よりも大きい w_w の溶媒で膨潤したゲル ($w_w = 0.80$) では溶媒の T_{sp} のところでの d の変化は緩やかである．臨界組成よりも小さい w_w の溶媒で膨潤したゲルが示す急激な変化が連続か不連続化については，まだデータが不足しているため明確ではないが連続的に見える．これは，W/BE 系では溶媒の相分離が起こってもゲルの体積相転移は起こらない，ことを意味している．

図 3 はゲル中に存在する混合溶媒の相図（共存線）を模式的に示したものである．ゲル中にある混合溶媒の相分離挙動は溶媒-溶媒間の相互作用だけではなく溶媒-高分子網目間の相互作用も存在するため複雑になるが，ここではゲル内部の溶媒は外部に存在する溶媒だけの相と同じようにふるまうと仮定している．図中の青い線 (w_{CP} よりも右側の組成に対応する線) は図 2 の $w_w = 0.80$ の曲線に対応する変化である． $T = T_{ps}$ に至るまでの低

温の領域では，ゲル中の溶媒の組成は外部の溶媒のそれと等しく，温度が変わっても組成は変化はしない． $T = T_{ps}$ で溶媒は二相に分離するが，BE-rich な溶媒相（相分離直後の時点での minor component）はゲルの外部に排出され W-rich な溶媒相（相分離直後の時点での major component）と同じ組成の溶媒を外部から吸収する．ゲルの体積は $T = T_{ps}$ で変化するがその程度は大きくない．これは吸収する W-rich な溶媒が多くないためである． $T > T_{ps}$ の領域では，ゲルは透明性を保ったままで体積だけを変える．この場合のゲルの体積は共存線の右側の部分（曲線の青色部分）で決まることになる．一方，赤い線（ w_{CP} よりも左側の組成に対応する線）は $w_W = 0.45$ あるいは $w_W = 0.50$ の場合）の曲線の d の急激な変化に至るまでの過程に対応している． $T = T_{ps}$ に至るまでの低温の領域では，青い線の場合と同様に温度が変わっても組成は変化しない． $T = T_{ps}$ で溶媒は二相に分離し，BE-rich な溶媒相（相分離直後での major component）が系外に排出され，W-rich な溶媒相（相分離直後での minor component）と同じ組成の溶媒が入ってくる．これによりゲル内の溶媒の組成は共存線の右側の部分の組成に移り，流入する溶媒の量が多いため急激なゲル体積の増加も起こることになる．

参考文献

- 1) for example, M. Shibayama, T. Tanaka, *Adv. Polym. Sci.*, **109**, 1 (1993).
- 2) for example, S. Hirotsu, *Adv. Polym. Sci.*, **110**, 1 (1993).
- 3) N. Tochishita, T. Sakai, J. Horinaka, T. Takigawa, *Nihon Reoroji Gakkaishi (J. Soc. Rheol. Jpn.)*, **43**, 165 (2015).
- 4) N. Tochishita, J. Horinaka, T. Takigawa, *Polym. J.*, **48**, 741 (2016).
- 5) N. Ito, T. Fujiyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **56**, 379 (1983)

水中におけるポリエチレングリコールの第2ビリアル係数の温度依存性

吉崎 武尚・山下 遼人・井田 大地

T. Yoshizaki, R. Yamashita, D. Ida

京都大学 大学院工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

非イオン性高分子水溶液の多くは下限臨界相溶温度 (LCST) 型相挙動を示す。これは、温度上昇にともない、溶質高分子繰返し単位との電気双極子間相互作用エネルギーを小さくするように配向して高分子近傍においていわゆる水和していた水分子の運動が激しくなり、水和が崩れることにより、水が貧溶媒化するためだと考えられている。さらに温度が上昇すると、系の自由エネルギーに対するエントロピーの寄与が相対的に大きくなり、通常の水溶性高分子を低極性有機溶媒に溶かした系と同様に、2相状態にあった高分子水溶液は、上限臨界相溶温度 (UCST) 型相挙動を示し、1相状態に戻ると考えられる。実際に、代表的な非イオン性水溶性高分子であるポリエチレングリコール (PEG) の水溶液は、LCST と UCST を併せ持ち、LCST 型と UCST 型相境界が部分的に重なったような、閉環型相挙動を示す¹⁾。

今回は、そのような相挙動の分子論的理解に向けて、水溶液中における PEG の分子間相互作用の温度 T 依存性を明らかにするため、全原子モデル (分子力場) を用いた分子動力学 (MD) シミュレーションにより、PEG 水溶液の第2ビリアル係数 A_2 の T 依存性を検討した結果について報告する。

2. モデルと方法

PEG に対する分子力場として General AMBER 力場 (GAFF)²⁾ を採用した。その際、各原子の (固定) 部分電荷として、PEG を全 *trans* 形態に固定し、Hartree-Fock 近似の下、6-31G* 基底関数を用いて、連続媒体近似の枠内で IEFPCM 法により溶媒である水の影響を考慮して評価した Restrained Electrostatic Potential (RESP) 電荷^{3,4)} を採用した。水分子のモデルとして TIP4P-D モデル⁵⁾ を採用した。MD シミュレーションは GROMACS5.0.6 を用いて行った。

初期状態として一辺 $l_0 = 6.45$ nm 立方体セル中に 10, 15, 20, あるいは 30 個の PEG20 量体を配置し、PEG 分子の個数に応じて 8333, 8040, 7799, あるいは 7325 個の水分子を配置した。PEG の重量分率 w は、それぞれ、5.65, 8.52, 11.3, あるいは 17.0% となる。このような初期状態から、周期境界条件下、全ての結合長を平衡値に拘束した上、エネルギー最小化、4–20 ns の平衡化後、20 ns の間サンプリングシミュレーションを行った。運動方程式の時間発展間隔は 2 fs とした。また、原子間に働く van der Waals 型相互作用は 0.9 nm でカットオフし、静電相互作用は実空間カットオフ距離 0.9 nm の Particle Mesh Ewald 法^{6,7)} を用いて計算した。 T および圧力 p の制御には、それぞれ、能勢-Hoover 法および Parrinello-Rahman 法を用いた。

以上のようなモデルと方法を用いて、 $T = 25$ °C および 100 から 300 °C の範囲において 20 °C 毎に、 $T \leq 100$ °C の範囲では 1 bar、 $T > 100$ °C の場合はその温度における水の平衡蒸気圧⁸⁾ になるように p を設定して MD シミュレーションを行い、各温度、質量濃度 c における PEG 分子の重心間距離 r の関数である PEG 重心間動径分布関数 $g(r; c)$ を

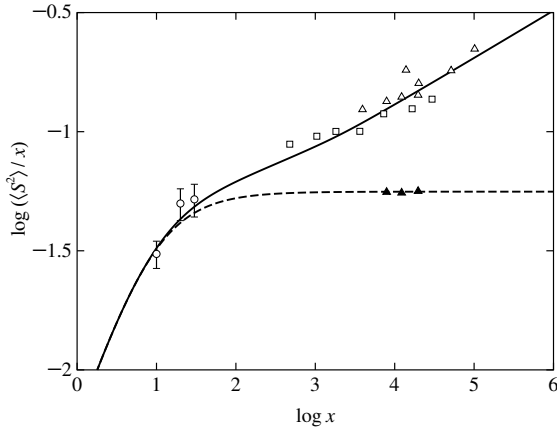


図 1. $\log(\langle S^2 \rangle / x)$ 対 $\log x$ プロット

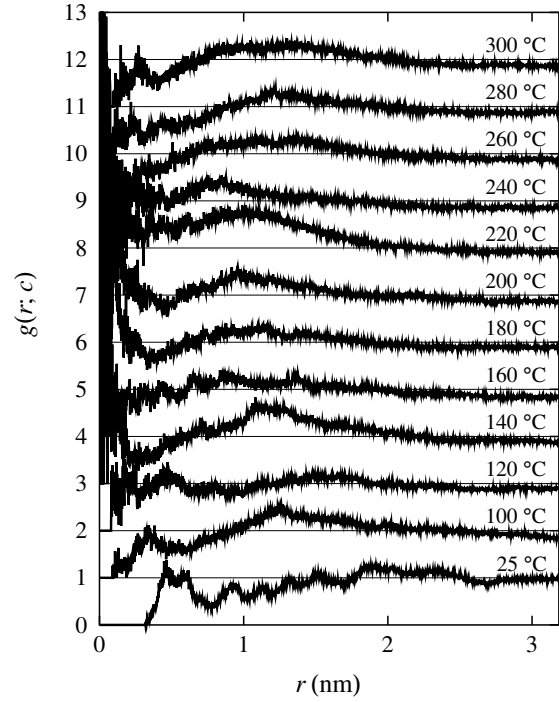


図 2. $g(r; c)$ 対 r プロット ($w = 5.65\%$)

評価した。なお、 c はセルの平衡体積から計算される。得られた $g(r; c)$ を用いて、次式で定義される有限濃度 c における見かけの第 2 ビリアル係数 $A_2(c)$ を計算した。

$$A_2(c) = \frac{2\pi N_A}{M^2} \int_0^\infty [1 - g(r; c)] r^2 dr. \quad (1)$$

ここで、 N_A は Avogadro 定数、 M は溶質分子量である。最終的に、 $A_2(c)$ を無限稀積分 ($c \rightarrow 0$) に外挿し、 A_2 を得た。

また、後述のように、用いたモデルの妥当性の確認のため、別途、PEG10, 20, および 30 量体について水中 25 °C における平均二乗回転半径 $\langle S^2 \rangle$ を評価した。その際、初期状態として一辺 $l_0 = 5.00$ nm 立方体セル中に 1 個の PEG10, 20, あるいは 30 量体を配置し、PEG の重合度 x に応じて 4076, 4056, あるいは 4029 個の水分子を配置した。このような初期状態から、上述と同様の方法を用いて MD シミュレーションを行った。なお、 $\langle S^2 \rangle$ の計算の際は、鎖の太さの影響を除くため、PEG 分子骨格を構成する C および O 原子のみを考慮した。

3. 結果と考察

図 1 に、 $\langle S^2 \rangle / x$ 対 x の両対数プロットを示す ($\langle S^2 \rangle$ in nm^2)。白丸が水中 25 °C における MD 値を表し、白四角⁹⁾、白三角¹⁰⁾ は同溶媒条件における実験値を表す。また、黒三角は 0.45 M の K_2SO_4 水溶液中 34.5 °C (Θ) における実験値を表す。図中、破線および実線は、それぞれ、実験データに対する最適な非摂動および摂動みみず鎖理論値¹¹⁾を表す。本研究で得られた MD 値は、最適摂動みみず鎖理論値と良く一致し、用いたモデルが妥当であることが分かる。

図 2 に、 $w = 5.65\%$ の場合の、図中に示した各温度における $g(r; c)$ 対 r のプロットを示す。100 °C 以上の場合の各プロットは、温度が低い順に、上方に 1, 2, ..., 11 だ

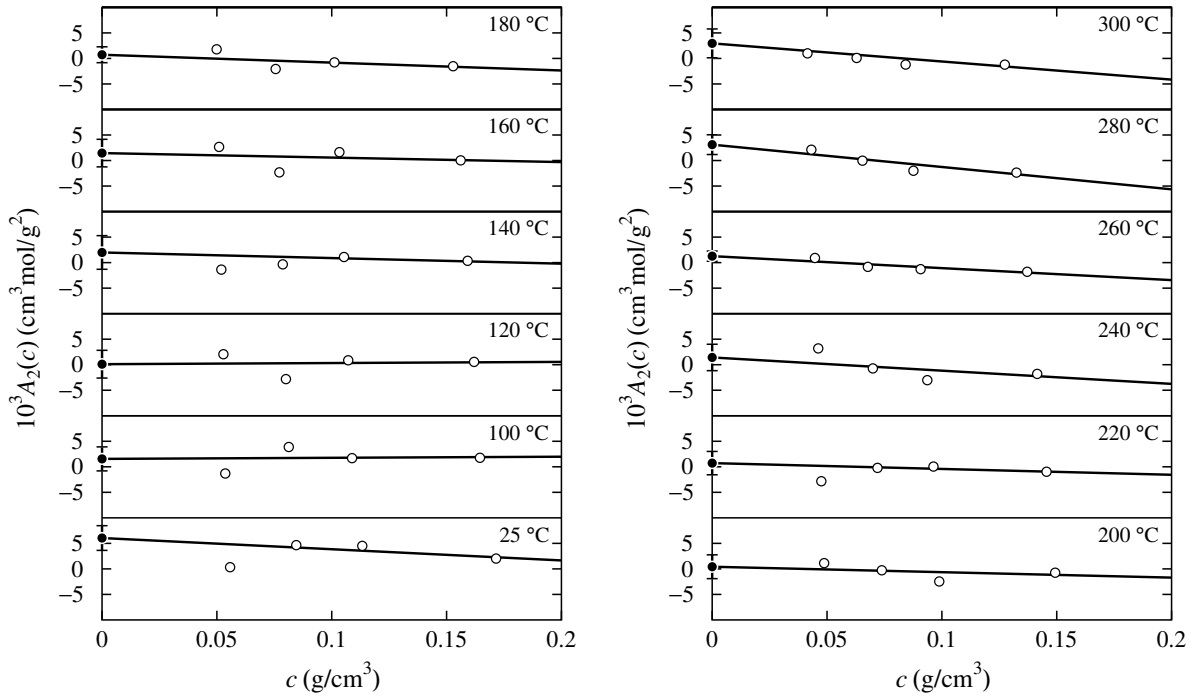


図 3. $A_2(c)$ 対 c プロット

けシフトしてある. 各温度において PEG 鎖の有限濃度における見かけの根平均二乗回転半径は, 温度にほとんど依存せず, 約 0.9 nm である. 25 °C においては $g(r)$ は 1 を大きく上回るようなピークを持たないが, 100 から 240 °C の温度範囲において各プロットは頂点を $r \approx 1.1$ nm に持つ幅の広いピークを持つ. これは, 25 °C に比べ, 100 から 240 °C の温度範囲において, PEG 分子間相互作用がより引力的になることを示す. 240 °C 以上の温度範囲では, 各プロットのピーク高さは 100 から 240 °C に比べ低くなる. これは, さらに昇温することで, PEG 分子間相互作用が再び斥力的になっていくことを意味する. 他の w の場合も $g(r)$ は同様の挙動を示した.

いずれの温度の場合も, 系のサイズが有限であることに起因して, r が小さい領域においてプロットがばらつき, r が大きい領域における $g(r; c)$ の漸近値が 1 より小さくなっている. それらの影響を除くため, 便宜的に, 式 (1) に代えて, 次式を用いて $A_2(c)$ を計算した.

$$A_2(c) = \frac{2\pi N_A}{M^2} \int_0^{l_0/2} [1 - g'(r; c)] r^2 dr \quad (2)$$

ここで, $g'(r; c)$ は $g(r; c)$ を用いて次式のように定義される.

$$\begin{aligned} g'(r; c) &= 0 && \text{for } 0 \leq r < a \\ &= g(r; c) && \text{for } a \leq r < \sigma \\ &= 1 + [g(r; c) - 1]e^{-16(r/\sigma-1)^2} && \text{for } \sigma \leq r \leq l_0/2 \end{aligned} \quad (3)$$

ここで, $a = 0.1$ nm, $\sigma = 2.5$ nm とした.

図 2 に, 図中に示した各温度における, $A_2(c)$ 対 c のプロットを示す. $T \leq 240$ °C の場合は低濃度側においてデータ点がばらついているが, $T \geq 260$ °C の場合は調べた c の範

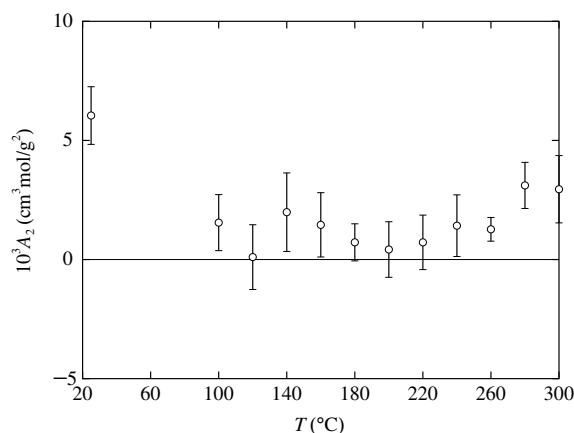


図4. A_2 対 T プロット

囲において全てのデータ点は直線に従っている。そこで、全て温度の場合について、データ点を直線外挿し、 $c = 0$ における直線の切片から A_2 を評価した。

図4に、 A_2 対 T プロットを示す。調べた T の範囲において $A_2 > 0$ であるが、 T が大きくなるのにもない、 A_2 は減少して極小値を経た後に増加に転じる。このような A_2 の挙動は、温度上昇にともない1相状態から2相状態へと変化し、さらに温度が高くなると1相状態に戻るといふ、閉環型相挙動に対応する。

文献

- 1) S. Saeki, N. Kuwahara, M. Nakata, and M. Kaneko, *Polymer*, **17**, 685 (1976).
- 2) J. Wang, R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, and D. A. Case, *J. Comput. Chem.*, **25**, 1157 (2004).
- 3) C. I. Bayly, P. Cieplak, W. D. Cornell, and P. A. Kollman, *J. Phys. Chem.*, **97**, 10269 (1993).
- 4) W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, and P. A. Kollman, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 9620 (1993).
- 5) S. Piana, A. G. Donchev, P. Robustelli, and D. E. Shaw, *J. Phys. Chem. B*, **115**, 15323 (2015).
- 6) T. A. Darden, D. M. York, and L. G. Pedersen, *J. Chem. Phys.*, **98**, 10089 (1993).
- 7) U. Essmann, L. Perera, and M. L. Berkowitz; T. Darden, H. Lee, and L. G. Pedersen, *J. Chem. Phys.*, **103**, 8577 (1995).
- 8) W. Wagner and A. Pruss, *J. Phys. Chem. Reference Data*, **22**, 783 (1993).
- 9) T. Kato, K. Nakamura, M. Kawaguchi, and A. Takahashi, *Polym. J.*, **13**, 1037 (1981).
- 10) S. Kawaguchi, G. Imai, J. Suzuki, A. Miyahara, T. Kitano, and K. Ito, *Polymer*, **38**, 2885 (1997).
- 11) 川口 正剛, 高分子, **65**, 296 (2016).

環ナノシートで表面修飾した不織布フィルターへの 抗体配向固定化と細胞除去能

木村俊作・奥野陽太・杉浦美月

Shunsaku Kimura, Yota Okuno, Mizuki Sugiura

京都大学大学院工学研究科材料化学専攻

1. 緒言

自らの免疫系で癌組織を潰す癌免疫療法が再び期待をもって注目されている。この背景には、免疫系が癌組織にアプローチすることを抑制する二つの機構が明らかになったことによる(図1)。一つは、細胞傷害活性をもつ T 細胞 (CTL) が癌細胞にアプローチしようとする際に、癌細胞は表面に PD-L1 リガンドを発現し、CTL 細胞膜に発現している PD-1 に結合することで CTL 活性を下げってしまう、免疫チェックポイントの仕組みである。もう一つは、制御性 T 細胞 (Treg) が CTL の活性を抑制する機構である。従って、免疫チェックポイント機構を妨げる抗 PD-1 抗体 (オブジーボ) や、Treg 表面に発現している CTLA-4 に対する抗体 (ポテリジオ) などを投与することで、免疫系を抑制している機序が解除され、免疫系による癌組織の攻撃が可能になってきた。しかしながら、オブジーボやポテリジオなどのように、免疫系に直接働きかける抗体を治療に用いた場合、自己免疫疾患などの重篤な副作用の現れる懸念がある。また、抗体の薬価が高価であることも保険制度を考えると問題となる。

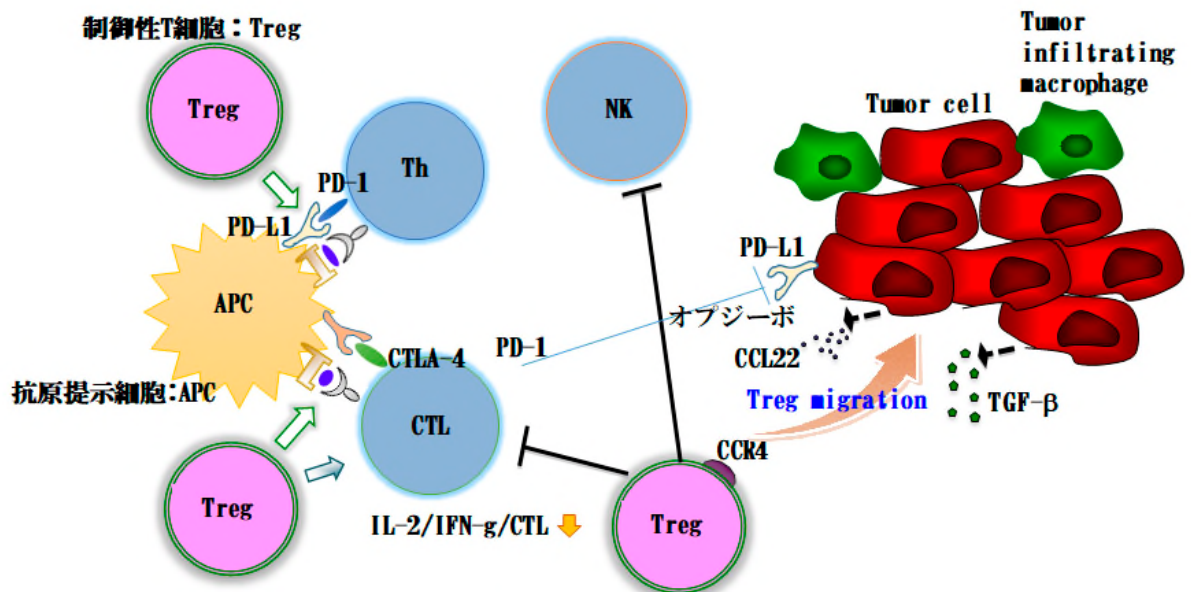


図1 免疫チェックポイントおよび Treg による免疫抑制機構のイラスト。

抗体治療薬とは別に、癌免疫療法として癌免疫細胞療法が開発されてきた。この治療は、リンパ球を体外で活性化、増殖させ、患者の体内に戻す方法であり、副作用の少ない利点がある。しかしながら問題点として、患者から採取したリンパ球に Treg が含まれており、体外での増殖過程で Treg も増えてしまい、癌免疫細胞療法の効果を減弱してしまう。この問題点を解決するため、体外での Treg 除去フィルタを開発することを計画した。患者の血液からリンパ球を採取し、体外で活性化増殖させる前後において Treg 除去フィルタを適用し、Treg を含まない活性化リンパ球を患者に戻せば治療効果が改善されると期待される。そこで、Treg 除去のため、ポテリジオなどの抗体を固定化したフィルタを開発することにした。これまでに抗体固定化フィルタは、血液浄化療法であるアフェレシス分野で既に関発、利用されている。しかしこれまでの抗体固定化フィルタでは、抗体の配向固定化は実現されておらず、抗体の性能を十分に発揮できていない。また、細胞の非特異的吸着なども十分に抑えられている訳ではなかった。

そこで、本研究では、抗体の性能を十分に発揮させるために配向固定化を可能とし、また、細胞等の非特異的吸着を抑制した、新規の技術による抗体固定化フィルタを開発することにした。具体的には、フィルタに用いる不織布繊維表面を平滑な親水性にするため、親水性表面を有するナノシートで被覆する。これにより、非特異的な細胞吸着を抑制する。この親水性表面にフェニルボロン酸を導入し、抗体の Fc 領域にある糖ユニットとボロン酸エステルを介して配向固定化する(図 2)。

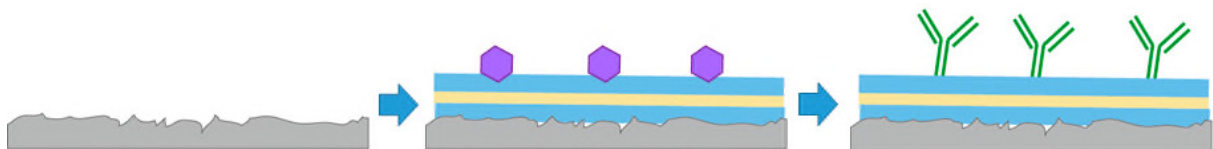


図 2 不織布繊維表面を、親水性表面のナノシートで被覆し、ナノシートに導入したフェニルボロン酸を介して抗体を配向固定化するスキーム。

本手法の特徴は、従来の表面修飾方法である **graft from** や **graft to** によるポリマーを用いた被覆に比べて、ポリマーの自己組織化分子集合体により形成するナノシートを用いることで、表面を極めて平滑で均質に整えることができる点にある。ナノシートの作製については、これまでに開発してきた右巻きヘリックスと左巻きヘリックスとがステレオコンプレックス形成する方法を用いる。¹⁻³² 種類の疎水性ヘリックスブロックはインターディジテート構造をとって分子集合体を形成するため、シートの表裏の識別が可能となる。そこで、ナノシートの片面にフェニルボロン酸を、他面にジアジリジン基をそれぞれ導入し、光照射によりナノシートを共有結合にて繊維表面に固

定化した。

2. 結果と考察

サイズが 500 nm 程度の平面シートを作製する条件を選び出し、平面シートとポリプロピレン不織布とをインキュベートして光照射により固定化を行った。ナノシートをフルオレセイン誘導體で標識化して、繊維表面の被覆率を求めたところ、1 回の固定化で約 200% 強と求まり、積層している部分もあることが考えられる。しかしながら、固定化回数を増やしても、被覆率が大幅に増えることはなかった。

ナノシートで被覆されたポリプロピレン不織布繊維表面を、AFM により観察した。表面粗さは、被覆前の 1.1 nm から 0.4 nm に減少し、繊維表面がナノシート被覆により平滑化することが明らかとなった。

ポリプロピレン不織布への抗体固定化について、フェニルボロン酸を用いる方法と、マレイミドを用いる方法とを比較検討した(図 3)。抗体固定化量

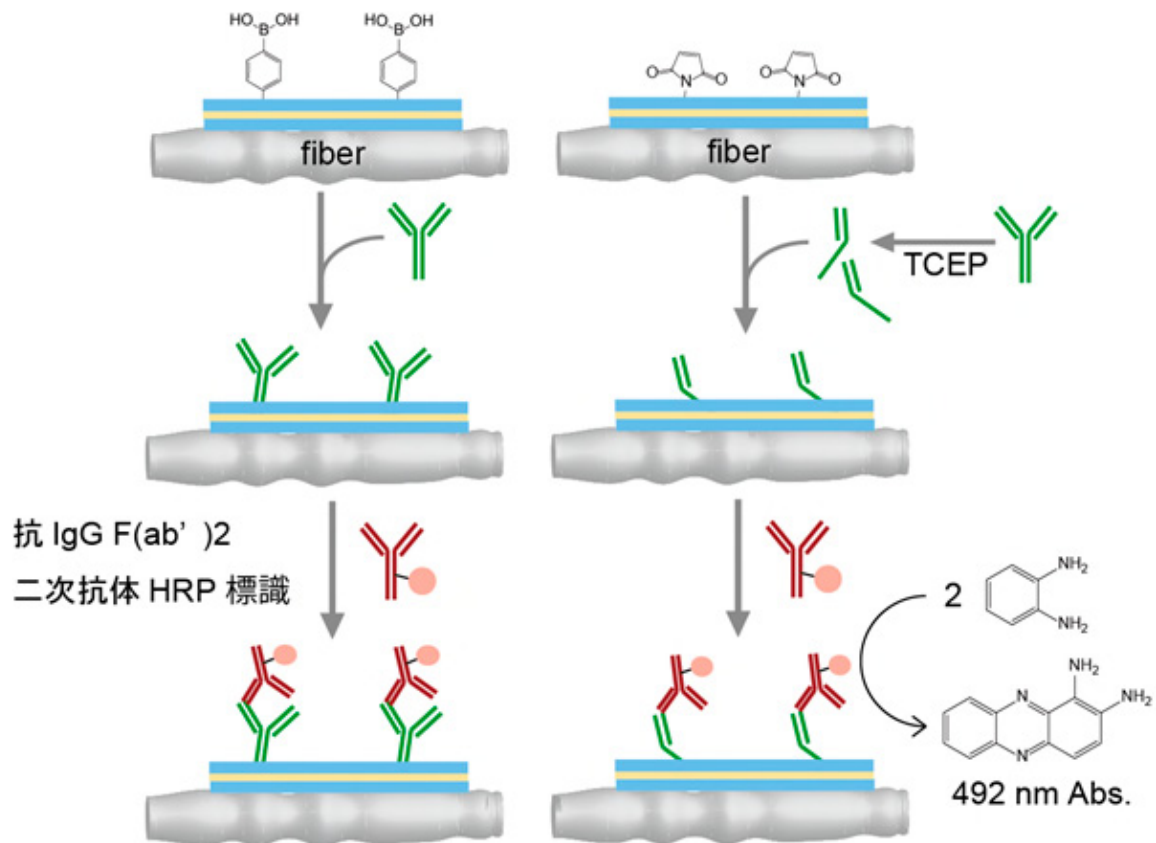


図 3 不織布繊維表面にペプチドナノシートを被覆し、ナノシートに導入したフェニルボロン酸或いはマレイミド基を利用した抗体固定化のイラスト図。抗体固定化量は、Fab 領域に対する IgG を用いた ELISA により評価した。

を ELISA により評価したところ、マレイミド法よりもフェニルボロン酸法の方が固定化量が三倍程度多くなり、抗体密度は 0.87 mg/m^2 と見積もられた。

得られた抗体固定化フィルタの Treg 除去能を解析した。マウス由来の脾

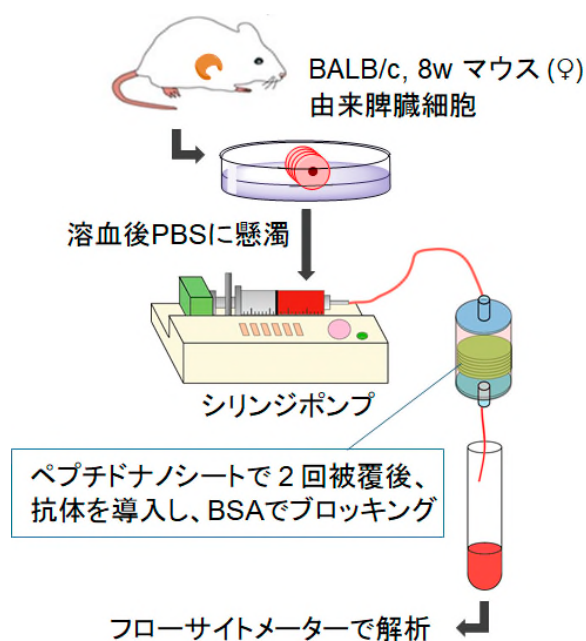


図4 抗体固定化フィルタによる Treg 除去能の評価システム。

臓細胞を PBS に懸濁し、抗体固定化フィルタに通した後、フローサイトメーターを用いて細胞を解析した（図4）。その結果、Treg の 95%を除去することができ、また、非特異的な細胞吸着は 15%程度に抑えられていることが明らかとなった。特徴的なことは、非特異的な細胞吸着が抑制されているため、フィルタの枚数を増やして脾臓細胞を処理しても、Treg 以外のリンパ系細胞数が減少しない点である。このことは、ポリプロピレン不織布繊維表面をペプチドナノシートで被覆したことにより、表面が平滑な親水性となり、非特異的な吸着を抑制できたことが原因と考えられる。

参考文献

1. Ueda, M.; Makino, A.; Imai, T.; Sugiyama, J.; Kimura, S., Transformation of peptide nanotubes into a vesicle via fusion driven by stereo-complex formation. *Chem Commun* **2011**, 47 (11), 3204-3206.
2. Ueda, M.; Makino, A.; Imai, T.; Sugiyama, J.; Kimura, S., Tubulation on peptide vesicles by phase-separation of a binary mixture of amphiphilic right-handed and left-handed helical peptides. *Soft Matter* **2011**, 7 (9), 4143-4146.
3. Uesaka, A.; Ueda, M.; Imai, T.; Sugiyama, J.; Kimura, S., Facile and Precise Formation of Unsymmetric Vesicles Using the Helix Dipole, Stereocomplex, and Steric Effects of Peptides. *Langmuir* **2014**, 30 (15), 4273-4279.

共役高分子膜における一重項分裂

大北英生・玉井康成・笠井普文

Hideo Ohkita, Yasunari Tamai, Yukitomo Kasai

京都大学 大学院工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

π 共役系の発達した共役高分子は、可視光域での吸収・発光特性や導電性などの機能を発現するため、有機光エレクトロニクス of 基幹材料として多方面で活発に研究されている。有機 EL や有機太陽電池では、光エネルギーと電気エネルギーの相互変換を担う光電変換機能材料として共役高分子は不可欠な存在である。共役高分子における光電変換過程では、励起子とよばれる素励起が中心的な役割を果たしている。無機半導体では、光励起により生成した励起子はすぐさま電子と正孔に解離して電荷キャリアとして自由に動き回ることができる。これに対して、有機半導体である共役高分子薄膜では、光励起により電子と正孔がクーロン引力により束縛された一重項励起子が生成し、室温では電子と正孔に解離することができない。このため、共役高分子における励起子ダイナミクスが光電変換素子の性能を決定づけている。光励起により生成した一重項励起子の一部は、系間交差により三重項励起子へ変換されるが、この過程はスピン禁制であるため通常 ns 程度の時定数を要する。これに対して、一重項励起子が二つの三重項励起子に高速に分裂する一重項分裂という現象が注目を集めている^{1,2)}。現象そのものは古くから知られていたが、有機太陽電池に応用すると光電変換効率を理論上は 200%にまで向上しうることから、合成、物性、理論の多方面からの研究が近年活発になされている。本稿では、共役高分子薄膜における一重項分裂ダイナミクスに関する研究成果³⁻⁷⁾を報告する。

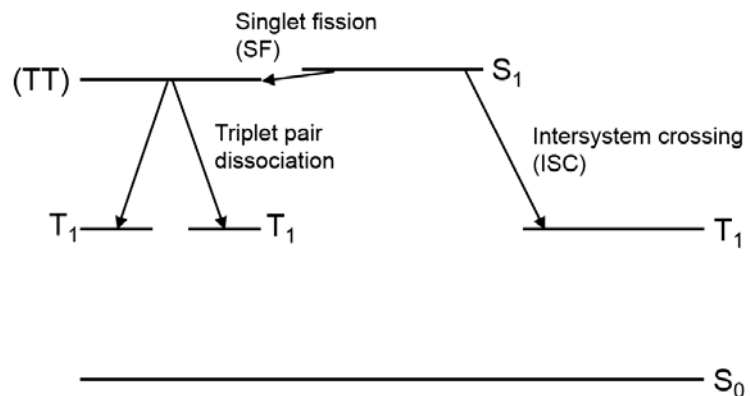


Figure 1. 一重項励起子から三重項励起子への変換過程。右の過程は、系間交差による一重項励起子から三重項励起子の生成を表す。スピン多重度が異なる状態間の遷移であり禁制過程である。左側の過程は、一重項分裂による一重項励起子から三重項励起子対 (TT) が生成し、解離により自由な三重項励起子が二つ生成する。三重項励起子対のエネルギーは三重項励起子 T_1 のおよそ二倍である。

2. 一重項分裂とは

図 2a に示すように、最低励起一重項状態 S_1 から最低三重項状態 T_1 への系間交差では、一電子励起状態として 2 電子・2 準位系を考えればよい。この場合、 S_1 から T_1 へ変換するにはスピン反転をとまなう必要があるため禁制遷移となる。実際の系では、スピン-軌道相互作用や超微細相互作用などの摂動により禁制が解かれることで系間交差が進行する。

一方、一重項分裂では最低励起一重項状態 S_1 と基底状態 S_0 の 4 電子・4 準位系を考慮する。図 3 に示すように⁸⁾、2 電子系の全スピン角運動量量子数 S は 0 または 1 であるのでスピン多重度は一重項あるいは三重項となる。同様に考えると、4 電子系では、二つの一重項状態 X_1, X_2 、三つの三重項状態 Z_1, Z_2, Z_3 、一つの五重項状態 Q をとることが分かる。ここで X_1 は系全体では一重項であるが三重項対状態と見なすこともできる。同様に、 X_2 は一重項対、 Z_1, Z_2, Z_3 は一重項-三重項対状態を帯びていることが分かる。このように、 S_1 と S_0 の相互作用により生じる 4 電子励起状態 (TT) は一重項性を帯びているため、一重項分裂はスピン許容となり高速に進行しうる。

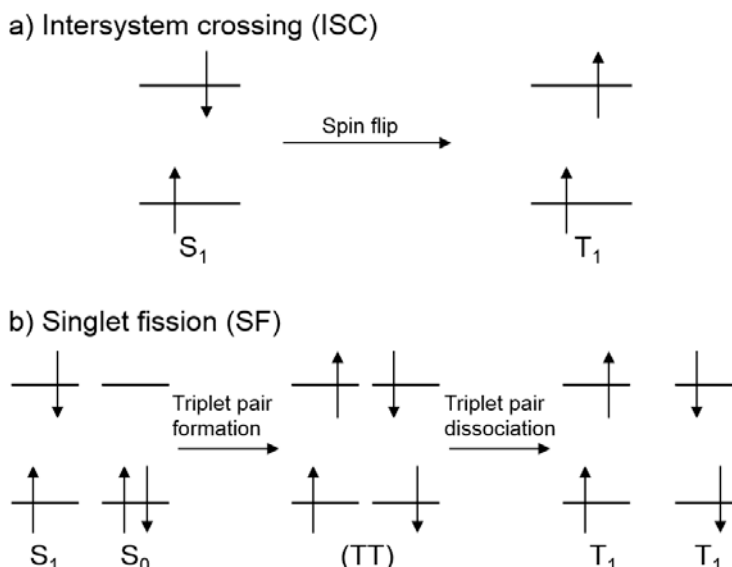


Figure 2. a) 系間交差による一重項励起子から三重項励起子の変換過程。最低励起一重項状態 S_1 あるいは最低三重項状態 T_1 の 2 電子・2 準位系を考慮する。スピン反転をとまなう遷移であり禁制過程である。b) 一重項分裂による一重項励起子から三重項励起子の変換過程。励起一重項状態 S_1 と基底状態 S_0 の 4 電子・4 準位系を考慮する。一重項分裂により生成した三重項励起子対 (TT) 状態が生成し、三重項励起子対が解離することにより自由な三重項励起子が二つ生成する。

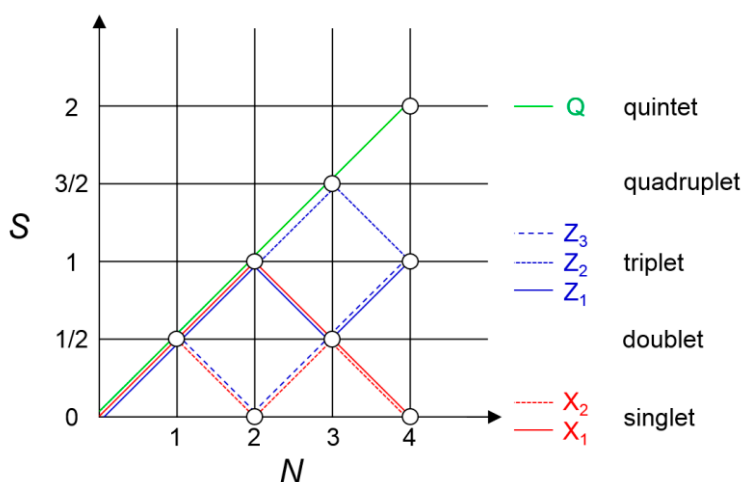


Figure 3. N 電子系のスピン状態を計算するための Branching Diagram⁸⁾。縦軸は全スピン角運動量量子数 S を表す。

ここで X_1 は系全体では一重項であるが三重項対状態と見なすこともできる。同様に、 X_2 は一重項対、 Z_1, Z_2, Z_3 は一重項-三重項対状態を帯びていることが分かる。このように、 S_1 と S_0 の相互作用により生じる 4 電子励起状態 (TT) は一重項性を帯びているため、一重項分裂はスピン許容となり高速に進行しうる。

3. ポリチオフェン³⁾

チオフェンユニットの3位にヘキシル基が置換した poly(3-hexylthiophene) (P3HT)は、側鎖置換位置が制御された regioregular P3HT (RR-P3HT)と、制御されていない regiorandom P3HT (RRa-P3HT)で物性が大きく異なる。RRa-P3HT 薄膜は非晶性であるのに対して、RR-P3HT 薄膜は高い結晶性を示す。

これらの膜を用いて、励起子ダイナミクスを過渡吸収分光測定法により観察した結果、結晶性の RR-P3HT 薄膜では励起光強度が高まるにつれてポーラロンが生成し、非晶性の RRa-P3HT 薄膜では励起光強度が高まるにつれて三重項励起子が生成することが分かった。励起光強度依存性を検討した結果、二分子反応であることから、一重項一重項励起子消滅(SSA)により生成した高次の励起状態からの反応であると帰属した。RR-P3HT 薄膜に

おけるポーラロン生成は、高次の励起状態が振動緩和する前の非緩和励起子からの励起子解離過程であると考えられる。一方、RRa-P3HT 薄膜における三重項励起子生成は、弱励起条件では ns 程度の時定数であり系間交差過程に帰属できるが、強励起条件では数 ps の時定数と極めて短く、系間交差では説明できない。励起光強度とともに時定数が短くなることから、SSA により生成した高次の励起状態から一重項分裂により生成した三重項励起子であると考えられる。RRa-P3HT の S_1 準位は 2.3 eV であり、 S_1 と T_1 のエネルギー差 $\Delta E_{ST} = 0.7$ eV と仮定すると T_1 準位は 1.6 eV と見積もられる。したがって、三重項励起子対(TT)のエネルギーはおおよそ 3.2 eV と見積もられる。400 nm (3.1 eV) 励起では、このエネルギー準位よりも低いため一重項分裂が進行せず、SSA により生成した 4.6 eV 以上の高次励起状態から一重項分裂が進行したものと推察される。

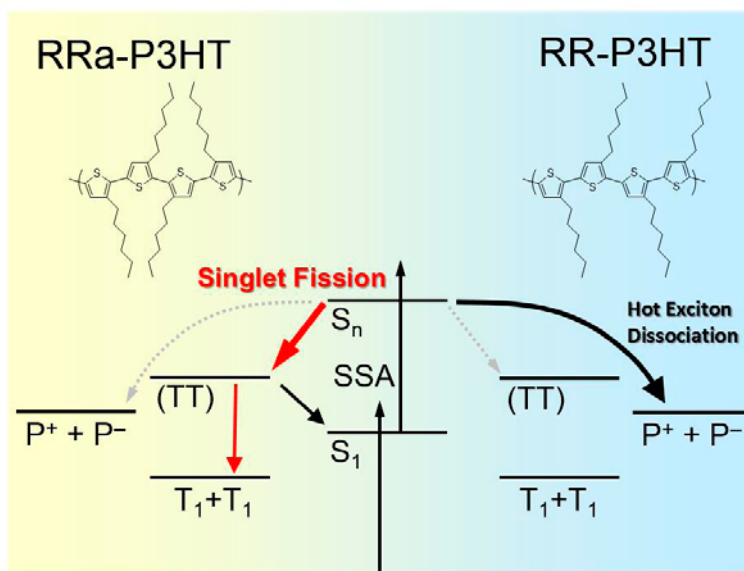


Figure 4. 上段はポリチオフェンの構造式：RRa-P3HT (左) と RR-P3HT (右)。下段は、RRa-P3HT (左) および RR-P3HT (右) 薄膜を強励起したときの励起子緩和機構を表すダイアグラム。強励起条件のため、一重項励起子が高密度に生成し、一重項一重項励起子消滅 (singlet-singlet exciton annihilation, SSA) により、高次の励起状態 S_n が生成する。ここからの緩和過程を比較している。

4. ポリフルオレン⁴⁾

フルオレンユニットの 9 位にオクチル基が二つ置換した poly(9,9-dioctylfluorene) (PFO)は製膜条件により、非晶相に加えて β 相とよばれる秩序構造が形成されることが知られている。本研究では、クロロホルム溶液からスピコート法により製膜することで非晶性の PFO (a-PFO)膜を、1,8-diiodooctane (DIO)を添加したクロロホルム溶液からスピコート法により製膜することで β 相を有する PFO (β -PFO)膜を作製した。図 5

に示すように、a-PFO 膜は 390 nm 付近をピークとする振動バンドのない吸収スペクトルであるのに対して、 β -PFO 膜の吸収スペクトルは振動バンドが顕著になり、440 nm 付近には β 相に帰属されるシャープな吸収帯が新たに観測される。

これらの膜を用いて、励起子ダイナミクスを過渡吸収分光測定法により観察した結果、a-PFO 膜では、非晶性の RRa-P3HT 薄膜と同様に、励起光強度が高まるにつれて三重項励起子がより短い時定数で生成することから、SSA を経由した高次の励起状態から一重項分裂により三重項励起子対が効率よく生成することが分かった。しかし、自由な三重項励起子に解離するのは 50%であり、残りの半数は対再結合により一重項励起子へと変換する。

一方、 β -PFO 膜では、SSA を経由した高次の励起状態から一重項分裂による三重項励起子対生成とポーラロン生成が競合していることが分かった。

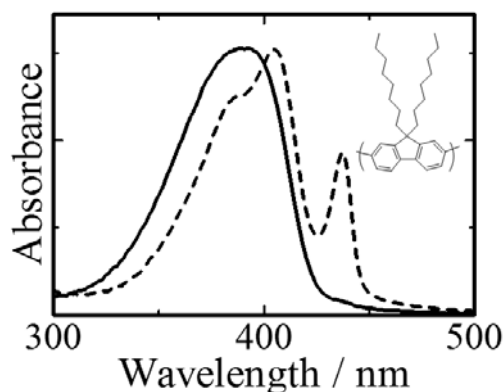


Figure 5. ポリフルオレン(PFO)の吸収スペクトルと構造式。実線はクロロホルム溶液からスピキャストにより製膜した非晶性の PFO 膜のスペクトル、破線はクロロホルムに 1,8-diiodooctane (DIO)を添加した溶液からスピキャストにより製膜した β 相構造を有する PFO 膜のスペクトルを表す。

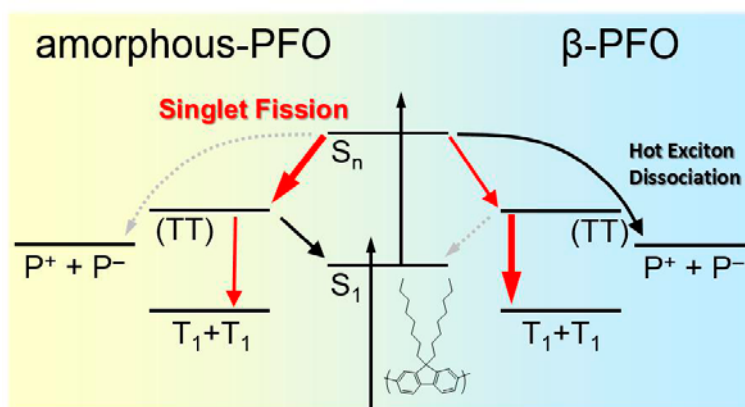


Figure 6. a-PFO (左) および β -PFO (右) 薄膜を強励起したときの励起子緩和機構を表すダイアグラム。強励起条件のため、一重項励起子が高密度に生成し、一重項-一重項励起子消滅 (singlet-singlet exciton annihilation, SSA) により、高次の励起状態 S_n が生成する。ここからの緩和過程を比較している。

生成した三重項励起子対はすべて自由な三重項励起子に解離し、対再結合失活する成分は観測されなかった。以上の結果をまとめると、一重項分裂により三重項励起子対生成は非晶性の α -PFO 膜において効率が高く、三重項励起子対から自由な三重項励起子への解離は秩序構造を有する β -PFO 膜において効率が高いといえる。

5. 狭バンドギャップポリマー⁵⁾

これまで紹介してきた一重項分裂は、図 7 左に示すように、二つの一重項励起子から SSA により高次の励起状態を生成し、二つの三重項励起子に分裂するものである。すなわち、全体として見れば二つの光子から二つの励起子が生成する反応である、太陽電池への応用の観点からは利得がない。一光子励起での一重項分裂反応を実現するには、高次の励起状態へ直接励起すればよいが、これまでのような可視光領域に吸収帯を有する共役高分子では、紫外光域に相当するので、やはり太陽電池への応用は見込めない。そこで、近赤外域に吸収帯を有する狭バンドギャップ共役高分子を用いた一重項分裂を検討した。

S_1 準位の低下にともない T_1 準位も低下するため、三重項励起子二つ分に相当する T_1 の二倍のエネルギー準位へも可視光による一光子励起が可能となると考えられる。

図 8a に示す狭バンドギャップ共役高分子 PTB1 を用いて一重項分裂を検討した。PTB1 の S_1 準位は 1.65 eV であり、 $\Delta E_{ST} = 0.7$ eV と仮定すると T_1

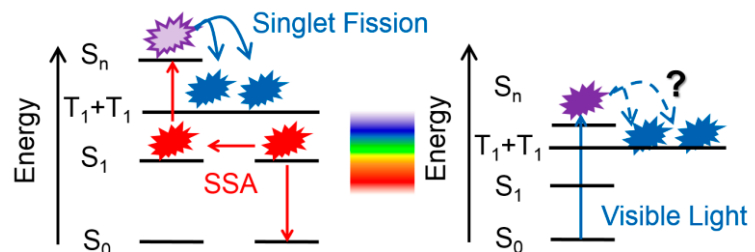


Figure 7. 可視光域に吸収帯を有する共役高分子における一重項分裂 (左)。SSA により生成した高次の励起状態 S_n を起点として二つの三重項励起子が一重項分裂により生成する。励起子融合-励起子分裂とも呼ばれる。近赤外域に吸収帯を有する狭バンドギャップ共役高分子における一重項分裂 (右)。可視光励起による非緩和励起状態から一重項分裂により二つの三重項励起子が生成しうる。

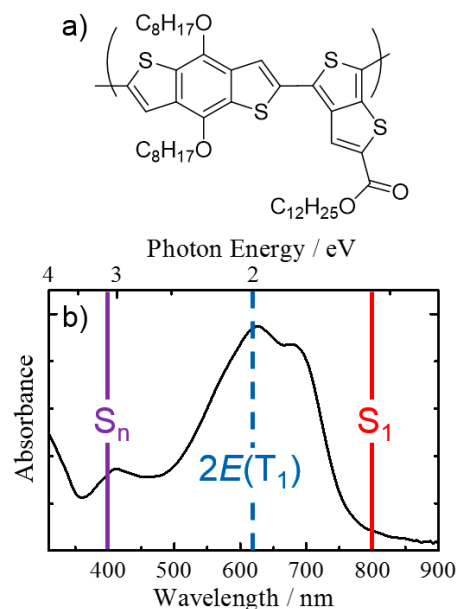


Figure 8. 狭バンドギャップ共役高分子 PTB1 の a) 構造式と b) 吸収スペクトル。一重項分裂のエネルギー閾値である三重項励起子エネルギー $E(T_1)$ の二倍はおおよそ 2 eV と見積もられる。励起波長は閾値以下の 800 nm (S_1) と閾値以上の 400 nm (S_n) を選択した。

準位はおよそ 1 eV と見積もられる。したがって、一重項分裂のエネルギー閾値は $2E(T_1) \approx 2 \text{ eV}$ と予想される。そこで、閾値以下の 800 nm (1.55 eV) と閾値以上の 400 nm (3.1 eV) を励起波長に選択した。

狭バンドギャップ共役高分子 PTB1 薄膜の過渡吸収スペクトルを図 9 に示す。一重項分裂の閾値エネルギー以下の 800 nm 励起の場合、赤丸で示すように、励起直後には 1400 nm 付近にピークを示す吸収帯が観測され、一重項励起子に帰属した。この吸収帯は 160 ps の時定数で減衰し、その後 1100 nm 付近に新たな吸収帯が観測された。スペクトル分割による解析を行うと、新たな吸収帯は 160 ps の時定数で生成し、ナノ秒の時間領域では減衰しない長寿命過渡種であることが分かった。したがって、一重項励起子から生成した長寿命過渡生成物である

といえる。一方、一重項分裂の閾値エネルギー以上の 400 nm 励起の場合、青丸で示すように、励起直後において 1100 nm 付近に新たな吸収帯が肩として観測された。800 nm 励起と 400 nm 励起における励起直後の吸収スペクトルの差分をとると、実線で示すように、1100 nm にピークを示す吸収スペクトルが得られた。このスペクトルは、800 nm 励起の際に一重項励起子の吸収帯が減衰したのちに観測された長寿命過渡種の吸収スペクトルに一致し、三重項励起子あるいは正孔ポーラロンの可能性が考えられる。これまでの報告では、1100 nm 付近に吸収帯を示すこの長寿命過渡種は PTB1 の正孔ポーラロンであると帰属されてきた⁹⁻¹³⁾。しかし、系間交差により生成した三重項励起子である可能性も排除できない。この帰属を検証するため PTB1 に電子アクセプターであるフラーレン誘導体 PCBM を加えたブレンド膜に対して過渡吸収スペクトル測定を行った。その結果、PTB1 正孔ポーラロンの吸収スペクトルは、1100 nm 付近にピークを有する吸収帯を示すとともに、2000 nm よりも長波長側においてもさらに吸収帯を示すことが分かった。図 9 の差分スペクトルや 800 nm 励起での長寿命過渡種のスペクトルには、2000 nm よりも長波長側において全く吸収帯は観測されないことから、正孔ポーラロンには帰属できない。したがって、これらは三重項励起子の吸収帯であると結論した。この結果は、400 nm 励起においては励起パルスの 100 fs 以内に三重項励起子が生成していることを示しており、数百 ps のオーダーの系間

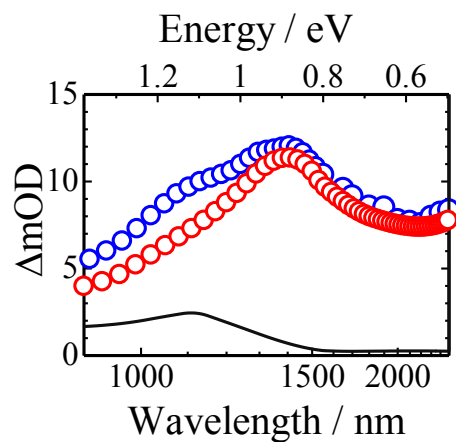


Figure 9. 狭バンドギャップ共役高分子 PTB1 薄膜の励起直後における過渡吸収スペクトル。励起波長 800 nm (赤丸)、400 nm (青丸)、差分スペクトル (実線)。

交差では全く説明できず、一重項分裂による三重項励起子生成を強く示唆している。また、400 nm 励起において生成した三重項励起子のうち 7 割は、その後 250 ps の時定数で減衰しており、この時定数は励起光強度に依存しないことから一分子的な失活であることが分かった。系間交差により生成した三重項励起子は 4.1 μs の時定数で失活することから、孤立した三重項励起子ではなく、一重項分裂により生成した三重項励起子対であると考えられる。三重項励起子対の対再結合は一重項分裂と同様にスピン許容であるので、速い減衰と矛盾しない。

一重項分裂による三重項励起子の生成を検証するため、励起波長依存性を検討した。その結果、図 10 に示すように、一重項分裂のエネルギー閾値として見積もった $2E(T_1) \approx 2 \text{ eV}$ 付近を境に、高エネルギー側で三重項励起子の生成が励起直後に観測された。励起波長が 620 nm (2 eV) より短波長側では、三重項励起子の生成効率はほぼ一定の 40%程度であり、長波長側では三重項励起子の生成は観測されず生成効率はゼロとなった。以上の結果から、短波長励起条件において励起直後の観測された三重項励起子は、振動緩和する前の非緩和一重項励起子から一重項分裂により生成したものであると結論した。

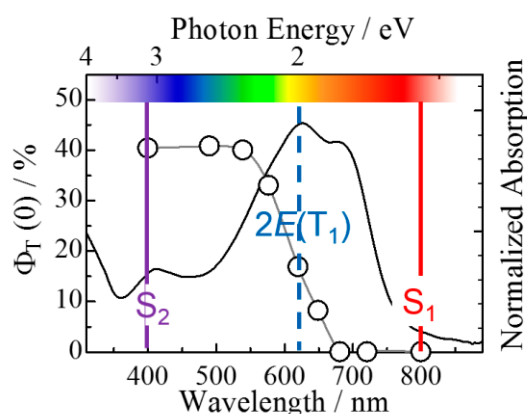


Figure 10. 狭バンドギャップ共役高分子 PTB1 薄膜の励起直後における三重項励起子生成効率 $\Phi_T(0)$ の励起波長依存性。 $\Phi_T(0)$ は、励起直後における一重項励起子濃度 $[S]_0$ 、三重項励起子濃度 $[T]_0$ を用いて、 $\Phi_T(0) = [T]_0 / ([S]_0 + [T]_0 / 2) \times 100\%$ で定義し、三重項励起子のみが観測された時に 200% となる。

6. まとめ

近赤外域に吸収帯を有する狭バンドギャップ共役高分子を用いることで、一光子励起による一重項分裂による三重項励起子生成を見出した。これまで、一重項分裂が効率よく進行するには、一重項励起子のエネルギー $E(S_1)$ が三重項励起子二つ分のエネルギー $2E(T_1)$ より大きいというエネルギー条件 $E(S_1) > 2E(T_1)$ を満たすことが必要であると考えられてきたが、今回見出した系ではこの条件を満たしていない。にもかかわらず初期の三重項励起子生成は 40% と比較的高い値を示しており、非緩和の一重項励起子からも効率よく一重項分裂が進行しうることを示唆している。一方で、三重項励起子対が自由な三重項励起子に解離する効率は 30% に留まっており、最終的な三重項励起子生成効率を高めるには、この解離効率を高めることが求められる。三重

項励起子の拡散定数が高い結晶性の共役高分子は、高い解離効率が期待できる系であるので、結晶性の狭バンドギャップ共役高分子における一重項分裂の検討が今後の課題である。

参考文献

- 1) M. B. Smith, J. Michl, “Singlet Fission”, *Chem. Rev.*, **110**, 6891–6936 (2010).
- 2) M. B. Smith, J. Michl, “Recent Advances in Singlet Fission”, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **64**, 361–386 (2013)
- 3) J. Guo, H. Ohkita, H. Benten, S. Ito, “Near-IR Femtosecond Transient Absorption Spectroscopy of Ultrafast Polaron and Triplet Exciton Formation in Polythiophene Films with Different Regioregularities”, *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 16869–16880 (2009).
- 4) Y. Tamai, H. Ohkita, H. Benten, S. Ito, “Singlet Fission in Poly(9,9'-di-*n*-octylfluorene) Films”, *J. Phys. Chem. C*, **117**, 10277–10284 (2013).
- 5) Y. Kasai, Y. Tamai, H. Ohkita, H. Benten, S. Ito, “Ultrafast Singlet Fission in a Push–Pull Low-Bandgap Polymer Film”, *J. Am. Chem. Soc.*, **137**, 15980–15983 (2015).
- 6) H. Ohkita, Y. Tamai, H. Benten, S. Ito, “Transient Absorption Spectroscopy for Polymer Solar Cells”, *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.*, **22**, 4100612 (2016).
- 7) 大北英生, 玉井康成, 郭嘉謨, 辨天宏明, 伊藤紳三郎, “共役高分子における一重項励起子ダイナミクス”, 日本写真学会誌, **77**, 301–307 (2014).
- 8) G. D. Scholes, “Correlated Pair States Formed by Singlet Fission and Exciton–Exciton Annihilation”, *J. Phys. Chem. A*, **119**, 12699–12705 (2015).
- 9) S.-H. Liao, H.-J. Jhuo, P.-N. Yeh, Y.-S. Cheng, Y.-S. Li, Y.-H. Lee, S. Sharma, S.-A. Chen, “Single Junction Inverted Polymer Solar Cell Reaching Power Conversion Efficiency 10.31% by Employing Dual-Doped Zinc Oxide Nano-Film as Cathode Interlayer”, *Sci. Rep.*, **4**, 6813 (2014).
- 10) Y. Liang, D. Feng, Y. Wu, S.-T. Tsai, G. Li, C. Ray, L. Yu, “Highly Efficient Solar Cell Polymers Developed via Fine-Tuning of Structural and Electronic Properties”, *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 7792–7799 (2009).
- 11) J. Guo, Y. Liang, J. Szarko, B. Lee, H. J. Son, B. S. Rolczynski, L. Yu, L. X. Chen, “Structure, Dynamics, and Power Conversion Efficiency Correlations in a New Low Bandgap Polymer: PCBM Solar Cell”, *J. Phys. Chem. B*, **114**, 742–748 (2010).
- 12) B. Carsten, J. M. Szarko, H. J. Son, W. Wang, L. Lu, F. He, B. S. Rolczynski, S. J. Lou, L. X. Chen, L. Yu, “Examining the Effect of the Dipole Moment on Charge Separation in Donor–Acceptor Polymers for Organic Photovoltaic Applications”, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 20468–20475 (2011).
- 13) B. S. Rolczynski, J. M. Szarko, H. J. Son, Y. Liang, L. Yu, L. X. Chen, “Ultrafast Intramolecular Exciton Splitting Dynamics in Isolated Low-Band-Gap Polymers and Their Implications in Photovoltaic Materials Design”, *J. Am. Chem. Soc.*, **134**, 4142–4152 (2012).

グライコポリマーベシクルの設計とバイオ機能

秋吉一成、西村、佐々木善浩

Kazunari Akiyoshi, Tomoki Nishimura, Yoshihiro Sasaki,

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

天然のリン脂質からなるリポソームや両親媒性ポリマーからなるポリマーベシクルなどの中空集合体は、人工細胞モデルや DDS ナノキャリアとしての応用が幅広く研究されている。我々は、無細胞膜タンパク質合成をリポソーム存在下で行うことで機能性プロテオリポソームを得る手法（人工細胞法）を開発し、DDS やバイオ計測応用を展開している。^{1,4} また、リポソームは内水相空間に酵素を封入すれば、加水分解酵素などから酵素を保護し、安定に酵素反応を進行させる事ができるリアクターとして機能する。そのような酵素反応場を生体内の特定の疾患部位に集積させ、生体内の不要な分子の代謝やプロドラッグの活性化を行えるような機能を持たせることで、次世代 DDS の材料(DDS ナノファクトリー)としての応用が期待されている。しかし、リン脂質、両親媒性ポリマーが形成するベシクルは、物質の透過能が著しく低いという欠点を有する。そのため、内包されている酵素基質やエネルギー源が枯渇すると反応が停止し、長期的に反応を進行させる事が困難である。したがって、中空状集合体を高効率な反応場として利用する上で、透過能の付与は大きな課題である。

本研究において、親水基としてマルチペンタオース、疎水基としてポリプロピレングリコール (PPG) からなる両親媒性ブロックポリマーを設計し、その水溶液中での会合挙動を検討したところ、ベシクル構造を有する新規グライコカプセル (ポリマーベシクル) を形成していることが明らかになった。さらに、このベシクルの二分子膜は、低分子化合物を自由に透過させる分子透過性を示す事を見出した。

このポリマーベシクルの物質透過能を利用し、細胞内での酵素反応場としての機能評価を行った。さらに、酵素内包ベシクルの DDS ナノファクトリーとしての機能評価として、酵素内包ベシクルと抗癌剤プロドラッグを組み合わせ、担癌マウスの抗腫瘍効果について評価を行った。⁵

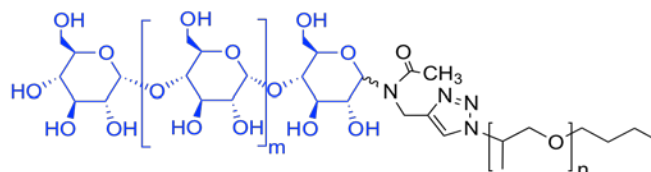


図1 マルトペンタオース-b-PPG 両親媒性ポリマー

2. 透過性グライコポリマーベシクルの特性

両親媒性ポリマーは、アルキン修飾マルトペンタオースとアジド修飾 PPG をクリック反応によりカップリングし合成した (図 1)。合成した糖鎖ポリマーは、水溶液中で自己会合し、約 60~70 nm の流体力学的半径を持つことが動的光散乱(DLS)測定からわかった。また、透過型電子顕微鏡(TEM)観察から、膜構造を有する球状集合体を

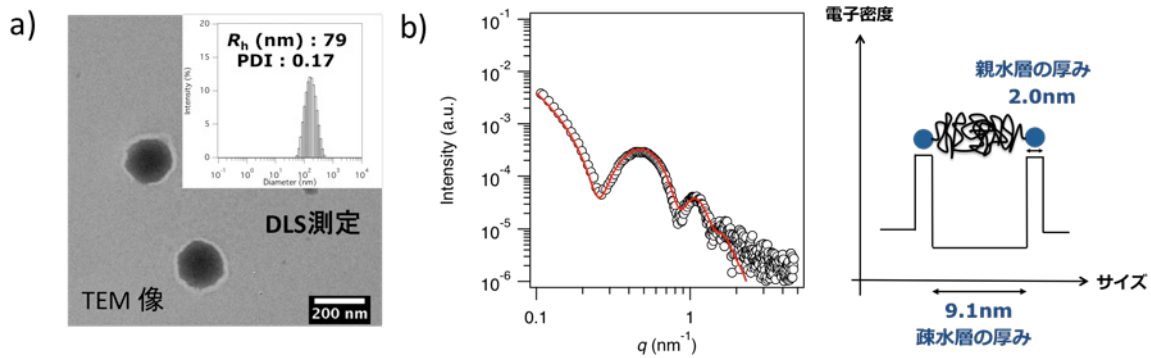


図 2 a) 糖鎖ポリマー集合体の TEM 像と DLS 測定 b) 放射光 X 線小角散乱による構造解析

形成していること、さらに放射光 X 線小角散乱(SAXS)による解析から二分子膜構造を有するポリマーベシクルを形成することが明らかになった(図 2)。

ポリマーベシクルの透過能は、種々の分子量の FITC-PEG、あるいは FITC-BSA を内包させ、透析過程での内包分子の放出量から評価を行った。このポリマーの二分子膜は、低分子化合物を自由に透過し、分子量 5,000 以上の分子は透過しない分子ふるい機能を持つ事を見いだした (図 3)。

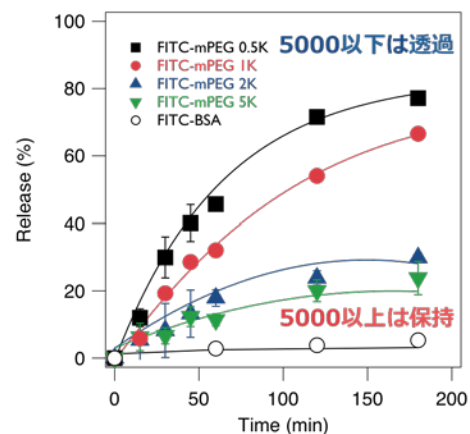


図 3 ベシクルの物質透過性

3. ナノリアクターとしての酵素内包グライコポリマーベシクル

ポリマーベシクル内にモデル酵素である β -galactosidase (β -gal) が効率よく内包できた。この他に多くの酵素の内包が可能であった。 β -gal 内包ポリマーベシクルに、蛍光性酵素基質(TokyoGreen β -gal)を外部から添加すると、基質が二分子膜を透過し、内水相にある β -ガラクトシダーゼによって加水分解産物由来の蛍光を発生し、酵素反応が進行することが明らかとなった (図 4)。その際、加水分解酵素である Proteinase K を添加してもベシクル内の酵素は安定に存在し得ることもわかった。また、この酵

素反応場としての機能は、 β -ガラクトシダーゼに限らず、 α -キモトリプシンやペルオキシダーゼなどの酵素にも適応できる。

また、細胞膜透過ペプチドである TAT を修飾した糖鎖ポリマーを組込んだポリマーベシクルは、細胞内に効率良く取り込まれ、その後、細胞外から基質の TokyoGreen β -gal を添加すると細胞内で加水分解し、蛍光を発したことから、夾雑な細胞内環境でも酵素活性が維持されることがわかった。さらに、ドキソルビシンのプロドラッグの活性化を行う細胞内酵素反応場としても機能し、顕著な細胞毒性を示した。以上の事から、酵素を内包した高分子ベシクルが、細胞内でプロドラッグを代謝し、薬物を産生する人工的なオルガネラとして機能する事が明らかになった (図 5)。

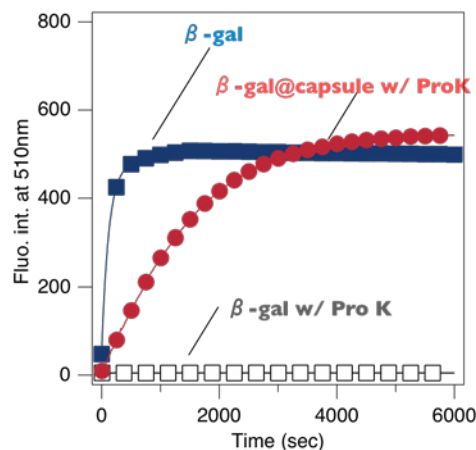


図 4 ベシクル内での酵素反応

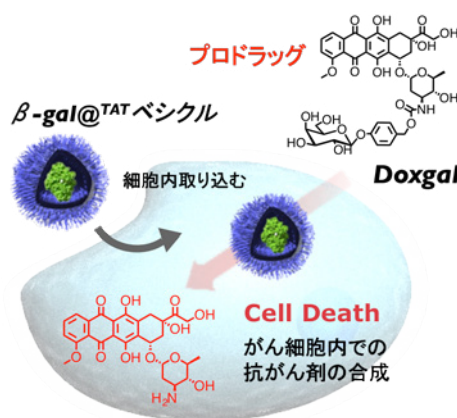


図 5 酵素含有ベシクルの細胞内での抗がん剤合成

4. ナノファクトリーとしてのDDS応用

従来の抗がん剤治療は、がん組織のみならず正常組織にも作用するため、極めて強い副作用をもたらす。従って、抗がん剤治療において副作用の低減は、喫緊の課題です。そこで、物質透過性高分子ベシクルが持つ酵素反応場としての機能を利用して、がん組織周囲で抗がん剤を合成することに応用した。がん組織を移植した担がんマウスに、酵素内包高分子ベシクルを投与すると、ベシクルががん組織周囲に集積した。その後、抗がん剤であるドキソルビシンのプロドラッグを投与すると、がん組織周囲に集積していた酵素内包高分子ベシクルが、プロドラッグをドキソルビシンへと変換し、優れた抗腫瘍効果をもたらした (図 6)。また、体重減少や臓器毒性などの副作用も検出されないことも分かった。

このことから、今回開発したポリマーベシクルは、薬物をがん組織周囲で合成、放出し得る酵素搭載型新規治療用ナノファクトリー (Bio-transporting Nanofactory) として機能することが明らかになった。ナノファクトリーによる治療の概念は、2007 年の Nature nanotechnology 誌で他の研究者グループから提案されていたが、これまで実際

にナノファクトリーとして機能する材料の報告はなく、今回開発した高分子ベシクルが世界で初めてナノファクトリーを実現した材料となった。

5. 終わりに

本研究では、オリゴ糖とポリプロピレングリコール鎖からなる両親媒性ポリマーが、物質透過性を持つ高分子ベシクルを形成することを初めて見

いだした。通常の高分子ベシクルは、物質透過性を全く示さないことから、今回開発したベシクルは、新たな分子集合体として材料科学の発展に寄与することが期待される。また、酵素は、食品、洗浄、診断薬、医薬品と幅広い分野で用いられていることから、本研究で開発した物質透過性を持つ高分子ベシクルを利用すれば、酵素をベシクルで保護することができ、酵素反応を長期・安定的に進行させることが可能である。さらに、内包させる酵素を変えることで、様々な基質に対応でき、がんのみならず様々な疾患に対して有効な治療法の開発にもつながると期待される。

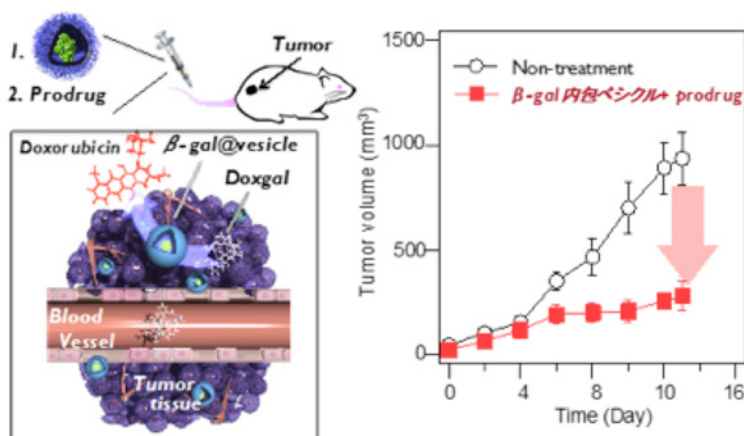


図6 ポリマーベシクルの DDS ナノファクトリーとしての機能

参考文献

- 1) M. Kaneda, S. M. Nomura, S. Ichinose, S. Kondo, K. Nakahama, K. Akiyoshi, I. Morita, *Biomaterials*, 30, 3971 (2009).
- 2) M. Ando, M. Akiyama, D. Okuno, M. Hirano, T. Ide, S. Sawada, Y. Sasaki, K. Akiyoshi, *Biomaterials Science*, 4, 258 (2016).
- 3) T. Niwa, Y. Sasaki, E. Uemura, S. Nakamura, M. Akiyama, M. Ando, S. Sawada, S. Mukai, T. Ueda, H. Taguchi, K. Akiyoshi, *Scientific Reports*, 5, 18025 (2015).
- 4) K. Kamiya, R. Kawano, T. Osaki, K. Akiyoshi, S. Takeuchi, *Nature Chem.* 8, 881(2016).
- 5) T. Nishimura, Y. Sasaki, K. Akiyoshi, *Adv. Materials*, 29, 1702406 (2017).

高分子ミセルと血小板を利用した抗癌剤の癌組織ターゲティング

田畑 泰彦、明石 祐典、城 潤一郎

Yasuhiko TABATA, Yusuke AKASHI, Jun-ichiro JO

京都大学ウイルス・再生医科学研究所 生体材料学分野

1. 緒言

ターゲティングは、ドラッグデリバリーシステム (DDS) 技術の 1 つであり、薬剤を標的の組織あるいは細胞へ特異的に送達することを目指している。1975 年、Ringsdorf 博士は、高分子によるターゲティングキャリアの設計論を提唱した¹。この提唱に基づき、これまでに、様々な人工材料からなるターゲティングキャリアがデザインされている。一方、体内に存在する一部の細胞あるいはその分泌物は、それぞれの役割に基づき目的部位へ自発的に移動し、所望の生物機能を発揮することによって、正常時には恒常性を保ち、異常時には病態を沈静化する。このような細胞あるいはその分泌物の働きに着目し、細胞あるいはその分泌物を DDS キャリアとして用いる研究も行われている。

血小板は血液中の細胞であり、止血を主な働きとするが、炎症反応、免疫反応、組織再生、あるいは癌の増殖にも深く関わっている²。それらは、自身の凝集と内部に貯蔵されているそれぞれの生体シグナル因子を放出 (脱顆粒化) することによって起こる。また、血小板は、癌組織で起こっている炎症を察知して集積し、癌細胞と相互作用することが知られている³。すなわち、血小板と薬剤とを組み合わせれば、血小板のもつ癌組織集積能力を介した薬剤の癌組織ターゲティングが可能となるかもしれない。そこで本研究では、抗がん剤内包高分子ナノ粒子と血小板を組み合わせる (血小板ハイブリッド) ことを考えた。

高分子ナノ粒子による血小板ハイブリッドの作製において考慮しなければならない点は、高分子ナノ粒子の混合による血小板の活性化である。前述のように、血小板は、その生物機能を発揮するため、自身の凝集と脱顆粒化と呼ばれる活性化を起こす⁴。血小板の凝集には、可逆的な凝集 (一次凝集) と不可逆的な凝集 (二次凝集) がある。ハイブリッド形成時に、血小板の活性化、特に二次凝集と脱顆粒化が起こると、血小板の生物機能は失われてしまう。そこで本研究では、生物機能を保持した血小板ハイブリッドを構築するための条件について検証した。すなわち、表面が種々の高分子で被覆された乳酸-グリコール酸共重合体 (PLGA) ナノ粒子を作製し、混合による血小板の凝集挙動を評価した。続いて、血小板凝集を誘導しない PLGA ナノ粒子を用いて血小板ハイブリッドの作製を試みた。最後に、得られた血小板ハイブリッドの生物機能と抗癌活性を調べた。

2. 実験方法

2.1 高分子被覆 PLGA ナノ粒子の作製と評価

PLGA 粒子の表面を被覆する高分子（表面被覆高分子）として、界面活性能を有するポリビニルアルコール（PVA、重合度：1,000、けん化度：86-90%、日本酢ビ・ポバール株式会社より供与）、ゼラチン（重量平均分子量：100,000、等電点：5.0 (Ge15) および 9.0 (Ge19)、新田ゼラチン株式会社より供与）、およびスペルミン導入ゼラチン（スペルミン導入率：1.0 (Spe-Ge11)、1.7 (Spe-Ge12)、および 3.6% (mole/mole) (Spe-Ge14)) を用いた。PLGA（乳酸：グリコール酸組成比=50:50、重量平均分子量：20,000、和光純薬工業株式会社製）のアセトン溶液とパクリタキセル（PAC、和光純薬工業株式会社製）あるいはクマリン6（CMR6、東京化成工業株式会社製）のエタノール溶液との混合溶液を表面被覆高分子水溶液へ滴下し、乳化させた。乳化液中のアセトンおよびエタノールが蒸発するまで攪拌し、粒子の懸濁液を得た。この懸濁液を遠心洗浄し、被覆されていない表面被覆高分子を除去、高分子が被覆された PLGA ナノ粒子を得た。用いる PLGA、表面被覆高分子、および薬剤（PAC あるいは CMR6）の量を変化させ、種々の高分子被覆 PLGA ナノ粒子を得た。得られた高分子被覆 PLGA ナノ粒子は、作製に用いた表面被覆高分子および薬剤により、「“薬剤” 内包-“表面被覆高分子” -PLGA ナノ粒子」と表記した。

得られた高分子被覆 PLGA ナノ粒子のサイズとゼータ電位は、ゼータサイザー（Malvern 社製）を用いて測定した。高分子被覆 PLGA ナノ粒子中に内包された PAC 量は、ナノ粒子からエタノールにて PAC を抽出、高速液体クロマトグラフィー（株式会社島津製作所製）を用いて測定した。高分子被覆 PLGA ナノ粒子中に内包された CMR6 量は、同様に CMR6 を抽出し、蛍光強度測定（励起波長：390 nm、蛍光波長：470 nm）にて CMR6 の標準曲線に基づき算出した。

2.2 高分子被覆 PLGA ナノ粒子による血小板の凝集挙動の評価

常法⁵にて C57BL/6 マウス（15 週齢、オス）より血小板を単離し、タイロード緩衝液中に懸濁させた。この血小板懸濁液と PLGA ナノ粒子のリン酸緩衝生理食塩水（PBS）の懸濁液とを 37°C で混合した。混合液の波長 600 nm における吸光度（濁度）を経時的（1 分毎に 2 時間まで）に測定した。混合直後の吸光度を 1 として、相対吸光度を算出した。血小板へ PBS、一次凝集誘導因子のアデノシン二リン酸（ADP、シグマアルドリッチ製、終濃度 100 nM）あるいは二次凝集・脱顆粒化誘導因子であるトロンビン（和光純薬工業株式会社製、終濃度 10 U/mL）を添加した群についても相対吸光度変化を測定した⁶。粒子添加群の相対吸光度が、ADP 添加群より高い時、その粒子に血小板凝集誘導性があると判断した。

2.3 高分子被覆 PLGA ナノ粒子を用いた血小板ハイブリッドの作製と評価

血小板凝集誘導性が見られなかった CMR6 内包-PLGA ナノ粒子と血小板を混合、静置した後、遠心にて上清のナノ粒子を除去した。続いて、沈殿した血小板をタイロード緩衝液中に再懸濁させ、血小板混合体を得た。遠心・再懸濁操作による凝集体の存在を目視で判断するとともに、混合体中の血小板数を測定した。加えて、血小板混合

体へ超音波を照射後、凍結乾燥した。その凍結乾燥物へエタノールを加え、サンプル中の CMR6 を抽出、蛍光強度測定にて血小板混合体中の CMR6 量を算出した。血小板混合体中にナノ粒子の存在が確認されたものを血小板ハイブリッドとした。

2.4 血小板ハイブリッドの脱顆粒化挙動の評価

血小板が脱顆粒化を起こすと、トロンボキサン A₂、血小板活性化因子、血小板由来増殖因子、トランスフォーミング増殖因子 β 、あるいはインターロイキン-1 β などの生理活性因子を放出、マクロファージ遊走を誘導することが知られている²。そこで、血小板ハイブリッドの生物機能保持を確認するため、ハイブリッド形成前後の血小板の脱顆粒化によるマクロファージ遊走能を評価した。

イスコフ改変ダルベッコ培地 (IMDM) とマウス血漿との混合液 (体積比 50 : 50) を Gel9 コーティング基材へ添加し、続いて血小板ハイブリッドを加えた。この操作により、血漿に含まれる von Willebrand 因子による血小板の基材接着促進を介して、血小板の脱顆粒化を誘導できる。この基材へ、マクロファージ遊走に適した孔をもつトランズウェル膜をのせ、その膜上で C57BL/6N マウス大腿骨の骨髓細胞から分化誘導したマクロファージを 4 時間培養した。培養後、トランズウェル膜を回収、PBS で洗浄し、膜中の遊走マクロファージを 4%パラホルムアルデヒドで固定した。続いて、4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) でマクロファージの核染色を行い、膜中のマクロファージの数を、蛍光顕微鏡 (株式会社 KEYENCE 製) にて測定した。比較のため、血漿のみ、血漿に血小板あるいはハイブリッドを形成するために用いた PVA-PLGA ナノ粒子を添加した群のマクロファージ遊走能も評価した。

2.5 癌細胞の増殖挙動に与える血小板ハイブリッド添加効果の評価

マウス大腸癌細胞 (Colon 26、 1×10^5 cells) へ、血小板ハイブリット (1.8×10^8 platelets、PAC 2.5 μg 含有) を添加した。一定時間培養後、PBS で癌細胞を 3 回洗浄、トリプシン処理によって癌細胞をはがし、トリパンブルー染色にて生細胞数を測定した。血小板ハイブリッド添加直前の癌細胞数を 1 として、各時間の相対細胞増加率を算出した。比較として、血小板 (1.8×10^8 platelets)、ハイブリッドに用いた PAC 内包-PVA-PLGA 粒子 (PAC 2.5 μg 含有) あるいは遊離 PAC (2.5 μg) をマウス大腸癌細胞へ添加した群についても、相対細胞増加率を算出した。

3. 結果と考察

3.1 高分子被覆 PLGA ナノ粒子の作製と評価

表 1 に高分子被覆 PLGA ナノ粒子のサイズおよびゼータ電位を示す。得られた PLGA ナノ粒子は、血小板への取り込みが可能となる同じレンジのサイズであり、ゼータ電位のみが異なっていた。ゼータ電位の違いは、表面被覆高分子の性質によるものと考えられた。

3.2 高分子被覆 PLGA ナノ粒子による血小板凝集挙動の評価

図 1A は、高分子被覆 PLGA ナノ粒子添加後の血小板懸濁液の濁度変化である。Spe-Gel2-PLGA ナノ粒子および Spe-Gel4-PLGA ナノ粒子添加群では、時間とともに濁度が

表1. 高分子被覆PLGAナノ粒子の作製と評価

表面被覆高分子	粒子サイズ(nm)	ゼータ電位 (mV)
PVA	247±2.1	-1.8±0.1
Gel5	235±9.6	-5.0±0.6
Gel9	217±7.7	-1.9±0.2
Spe-Gel1	302±3.8	+4.1±0.1
Spe-Gel2	274±2.4	+6.4±0.1
Spe-Gel4	293±7.0	+8.8±0.5

減少した。これは、粒子混合により血小板凝集が誘導され、濁度が低下したことを示している。血小板凝集誘導性が見られなかった高分子被覆 PLGA ナノ粒子と血小板の混合懸濁液について、遠心精製と再懸濁を行い、血小板数の変化を算出した (図 1B)。その結果、PVA-PLGA ナノ粒子および Gel15-PLGA ナノ粒子添加群においては、遠心精製操作による血小板減少は見られなかった。このことは、PVA-PLGA ナノ粒子および Gel15-PLGA ナノ粒子を用いることによって、血小板凝集および血小板減少を起こさない血小板混合体を得られたことを示している。

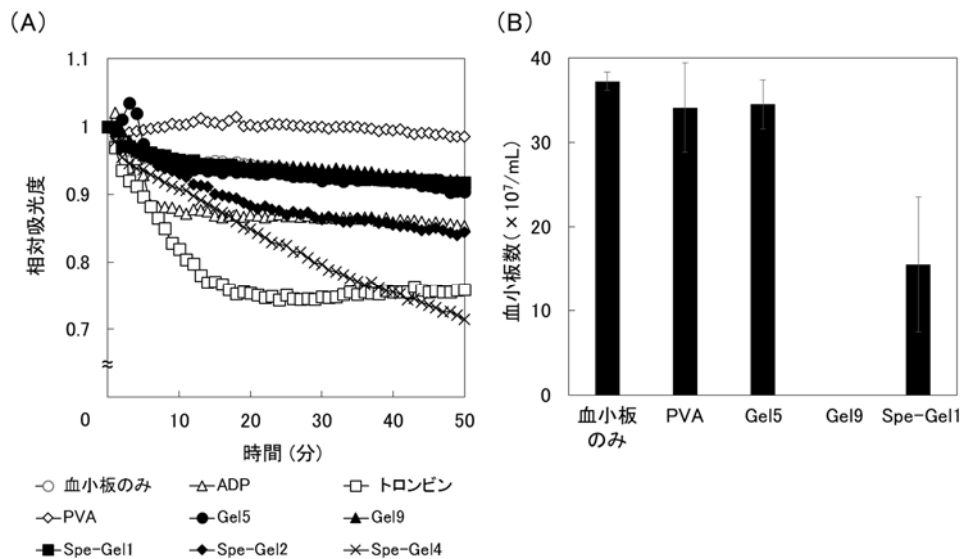


図 1. (A) 高分子被覆 PLGA ナノ粒子混合後の血小板懸濁液の濁度変化。(B) 高分子被覆 PLGA ナノ粒子を混合した血小板懸濁液の遠心精製・再懸濁後の血小板数。

3.3 PLGA ナノ粒子を用いた血小板ハイブリッドの作製

血小板凝集および血小板減少挙動に与える PVA-PLGA ナノ粒子および Gel15-PLGA ナノ粒子のサイズの影響について調べたところ、162 nm および 228 nm の PVA-PLGA ナノ粒子ならびに 235 nm の Gel15-PLGA ナノ粒子が、混合による血小板凝集および血小板減少を示さなかった。これらの血小板混合体に含まれる PLGA ナノ粒子量を、粒子に内包していた CMR6 を用いて算出した。その結果、235 nm の Gel15-PLGA ナノ粒子を用いた血小板混合体には、ナノ粒子由来の CMR6 は検出されなかった。一方、PVA-PLGA

ナノ粒子を用いた血小板混合体では、ナノ粒子由来の CMR6 が検出された (図 2)。これらのことから、162 nm および 228 nm の PVA-PLGA ナノ粒子を用いることによって、血小板凝集および血小板減少を起こさずに血小板ハイブリッドを形成できることがわかった。

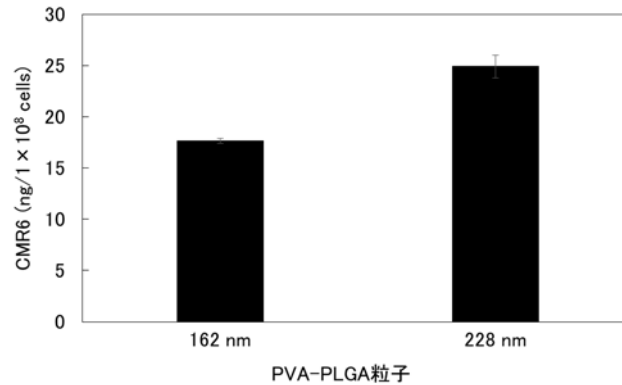


図 2. 血小板混合体中に存在する PVA-PLGA ナノ粒子由来 CMR6 の量。

3.3 血小板ハイブリッドの脱顆粒化挙動の評価

図 3 に、血小板ハイブリッドの脱顆粒化誘導後のマクロファージ遊走能を示す。血小板ハイブリッドは、脱顆粒化誘導後、マクロファージを遊走させた。この細胞遊走活性は、通常血小板と同様であった。この結果より、血小板は、ハイブリッド形成後に脱顆粒化を起こさず生物機能を保持していると考えられた。

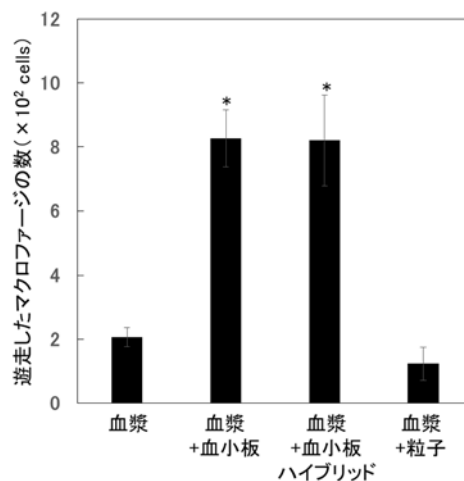


図 3. 血小板ハイブリッドの脱顆粒化誘導後のマクロファージ遊走能。*, $p < 0.05$; 血漿および血漿 + 粒子に対して有意差あり。

3.4 癌細胞の増殖挙動に与える血小板ハイブリッド添加効果の評価

図 4 は、血小板ハイブリッド添加後の癌細胞の増殖挙動である。血小板添加群では、癌細胞は持続的に増殖した。一方、血小板ハイブリッド添加群では、初期に癌細胞数が増加したものの、次第に減少し、PAC および PAC 内包-PVA-PLGA ナノ粒子添加群と同様に癌細胞の増殖を抑制した。これは、血小板ハイブリッドが癌細胞に取り込まれ、

癌細胞内で PAC を放出することによって、増殖抑制に寄与したためと考えられる。

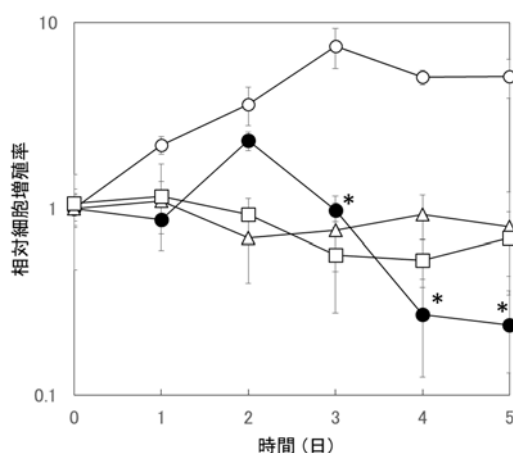


図 4. 血小板 (○)、遊離 PAC (△)、PAC 内包-PVA-PLGA ナノ粒子 (□)、および血小板ハイブリッド添加後の癌細胞の増殖挙動 (●)。*, $p < 0.05$; 血小板添加群に対して有意差あり。

4. 結論

抗癌剤内包高分子ナノ粒子を用いて形成した血小板ハイブリッドは、生物機能を保持し、癌細胞の増殖を効率的に抑制することがわかった。今後は、担癌動物に対する血小板ハイブリッドの全身投与によるがん治療効果について検証していく予定である。

5. 謝辞

血小板の単離や実験方法についてご指導いただきました、大阪大学大学院医学系研究科金田安史教授、西川智之先生、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科橋口照人教授に厚く御礼申し上げます。

5. 参考文献

- 1 Ringsdorf, H. Structure and Properties of Pharmacologically Active Polymers. *J Polym Sci Polym Symp*, 135-153 (1975).
- 2 池田康夫、丸山征郎編集. 血小板生物学. メディカルレビュー社 (2004).
- 3 Hyslop, S. R. & Josefsson, E. C. Undercover Agents: Targeting Tumours with Modified Platelets. *Trends in cancer* **3**, 235-246 (2017).
- 4 Kamath, S., Blann, A. D. & Lip, G. Y. Platelet activation: assessment and quantification. *European heart journal* **22**, 1561-1571 (2001).
- 5 Nishikawa, T., Tung, L. Y. & Kaneda, Y. Systemic administration of platelets incorporating inactivated Sendai virus eradicates melanoma in mice. *Molecular therapy* **22**, 2046-2055 (2014).
- 6 Mustard, J. F. & Packham, M. A. Factors influencing platelet function: adhesion, release, and aggregation. *Pharmacological reviews* **22**, 97-187 (1970).

幹細胞からの機能的な立体組織形成

京都大学 ウイルス・再生医科学研究所

永樂 元次

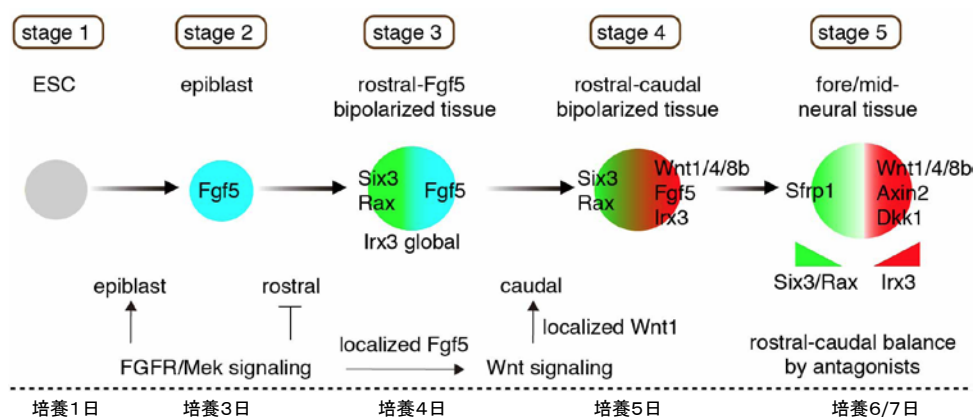
我々の体は数十兆個の細胞から成るとされているが、元は一つの卵細胞から発生する。受精卵は初期発生において極性を獲得し、異なる遺伝子発現を示す幾つかの細胞に分化する。例えば、初期胚盤胞は内部細胞塊と栄養外胚葉という2種類の異なる分化状態の細胞から構成されている。このような多細胞体の自発的な極性形成は個体発生の典型的な自己組織化現象のひとつとして古くから研究されており、その分子メカニズムについても近年急速に理解が進んでいる。我々は、このような多細胞体の自発的な極性形成が幹細胞の神経オルガノイド培養系においても個体発生と同様に観察されることをこれまでに報告してきた。今回の講演では、個体発生過程の神経組織のパターニングを概説し、最近我々が発表した、*in vitro* のES細胞培養系における神経組織の自発的な前後軸形成および網膜オルガノイドにおける自発的な背腹軸形成の現象とメカニズムについて解説したい。

1、神経組織のパターン形成

ほ乳類初期発生過程の中で、内部細胞塊はエピブラスト (epiblast) と呼ばれる多能性を有した上皮組織へと分化する。エピブラストの後方では Wnt シグナルおよび Nodal シグナルの作用により原条 (primitive streak) が誘導される。原条では上皮間葉転換を介して中内胚葉系の細胞が産生される。一方、エピブラストの前方ではこれらの誘導シグナルの活性が抑制され、神経外胚葉を形成する。神経外胚葉は、神経管形成が起こる以前に既に胚の前後軸に沿ってパターン化されており、Dkk1 などの Wnt シグナル抑制因子や Otx2 や Six3 などの転写因子が初期の前方神経上皮形成に重要な役割を果す事が変異マウスの表現系解析から示唆されている (Acampora, 1995, Zakkin et al., 2000)。また、胚体外組織である visceral endoderm も神経外胚葉の前後パターンニングの形成に関与していることも知られている。その後、チューブ状の神経管が形成され、神経管は様々なパターンニング因子が働くことで前後・背腹・内外側の3つの軸が形成され、その位置情報に応じて神経の各領域が形成される。この20年間のマウス遺伝学の発展により、神経組織の誘導およびパターンニングの分子機構の理解は劇的に進んだ。しかしながら、個体発生過程は様々な組織の相互作用を伴う複雑な状況で進行する現象であることから、神経組織自立的な機構と胚体外組織等の外部からの誘導機構とを厳密な意味では区別する事は出来ていないのが現状である。

2、多能性幹細胞からの神経オルガノイド形成過程における自発的な前後軸形成

フリカツメガエルを用いた分子生物学的研究から明らかにされてきたように、胚発生の初期過程において、神経外胚葉はオーガナイザーからの BMP シグナル阻害因子によって誘導される（デフォルトモデル）。この考えは ES 細胞から *in vitro* で神経組織へと分化する場合にも当てはまり、増殖因子や血清などを出来るだけ排除した環境で培養することによって、ES 細胞を効率的に神経系の細胞へと分化誘導することができる。我々は、*in vitro* で三次元神経組織を効率よくかつ再現性よく誘導する手法として SFEBq 法（Serum-free culture of embryoid body-like aggregates with quick reaggregation）を開発した（Eiraku et al., 2008）。この手法では ES 細胞を低吸着性のウェルを用いて素早く再凝集させ無血清培地で浮遊培養する。SFEBq 法を用いる利点として、同じサイズの ES 細胞塊を大量に作成できること、また高い再現性を持って効率よく神経上皮組織へと分化させることが挙げられる。SFEBq 法では培地の組成によって大脳や小脳、網膜といった脳の様々な領域を誘導する事が出来るが、特定の領域の神経組織を 100%の効率で誘導できる訳ではない。多くは複数の領域の混じった神経オルガノイドとして誘導される。例えば、CDM（Chemically Defined Medium）と呼ばれる培地を用いて神経誘導を行なった場合、ES 細胞は Six3 を発現する前



脳領域と Irx3 を発現する中脳領域の 2つの領域に相互排他的に分割された神経オルガノイドを形成する（Wataya et al., 2008, Takata et al., 2017）。しかしながら、どのよう

な機構で1つの ES 細胞塊

図1、ES細胞由来の神経組織における自発的なパターン形成機構 (Takata et al., 2017より改訂)

にこのような領域パターンが誘導さ

れるのかは不明であった。そこで我々は、Six3 と

Irx3 の発現をそれぞれ GFP と RFP で同時にモニターできる ES 細胞株を作製し、タイムラプスイメージングを用いて、神経パターンニング過程の詳細な継時観察を行なった (Takata et al., 2017)。その結果、分化3日目の ES 細胞塊において Six3 の局所的な発現がまず観察され、それに遅れて Irx3 が Six3 と反対領域で発現する事がわかった。また、網羅的な遺伝子発現解析によって Six3 を発現する領域では Wnt シグナルの抑制因子が、一方 Irx3 を発現する領域では Wnt リガンドを含む Wnt シグナル関連因子が特異的に発現している事がわかった。これは Wnt シグナル活性のイメージング解析を行なうことによっても確認された。

Wnt シグナルを阻害すると *Irx3* の発現が阻害されることから、神経オルガノイドにおいても発生過程同様、後方化には *Wntd* シグナルが必須である事が示唆された。しかしながら、Wnt シグナルの局所的な活性化は *Six3* の局所的な発現の後におこる事から、神経オルガノイドにおける自発的なパターンニングは Wnt シグナルだけで説明することができない。そこで次に、我々は FGF シグナルに注目して解析を行なった。まず培養2日目から bFGF シグナルを培地に加える事によって *Six3* の発現を抑制する事、また培地に bFGF を添加し、同時にビーズを用いて局所的に FGF 阻害剤を作用する事で局所的に *Six3* を誘導できることを明らかにした。また、FGF5 と *Six3* の発現を同時にモニターする事により、*Six3* の領域化に先立って、FGF5 の領域化が起きている事も分かった。これらの実験結果は、多能性幹細胞からの神経組織分化において、均一な多細胞体が自発的に FGF シグナル活性のパターンを形成し、そのことが引き金となって *Six3* の局所的な発現および Wnt シグナルのパターン形成を誘導することを示唆している。また FGF5 はエピブラストのマーカであり、*Oct4* などの多能性因子も初期の分化過程において *Six3* と相補的な発現パターンを示す事から神経誘導のタイミングと神経前後パターンニングが相関関係にある事も明らかになった。SFEBq 法では外部環境は均一であり、均一な ES 細胞からなる多細胞体から、細胞間相互作用によってのみ一連の複雑な現象が自己組織化的に起こることは非常に興味深い。しかしながら、FGF シグナルの極性を自己組織的に誘導する分子機構について不明である。また、*Oct4* と *Six3* の相互排他的な発現は初期のマウス胚においても確認されたことから、個体発生過程でも今回明らかになった組織自律的な前後軸形成機構が働いている可能性が考えられる。

3、網膜オルガノイドにおける自発的な背腹軸形成 (1200)

組織自律的な神経パターン形成の別の例として、網膜オルガノイドの背腹軸形成について紹介する (Hasegawa et al., 2016)。脊椎動物において眼は間脳上皮に由来し、眼胞の遠位が陥入して二重の上皮構造 (眼杯) となり、

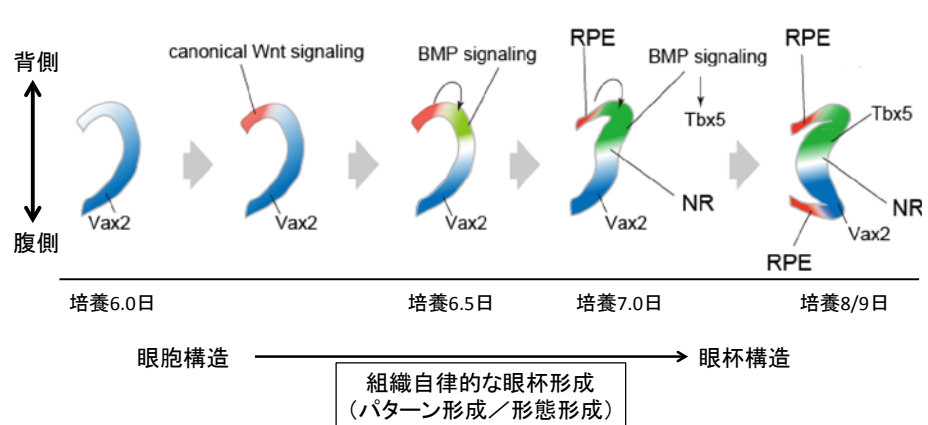


図2、ES細胞由来の網膜オルガノイドにおける組織自律的な背腹パターン形成機構 (Hasegawa et al., 2016より改訂)

内側より神経網膜が、外側より網膜色素上皮 (RPE) が発生する。この一連の形態形成は非軸対象の過程を含み、背腹軸特異的な遺伝子発現を伴う。また、ES 細胞から SFEBq 法で分化誘導された網膜組織は、表皮外胚葉組織や間葉系組織などを欠いた

状態で自律的に眼杯構造をとり、長期培養では成熟した網膜構造を形成する (Eiraku et al., 2011, Nakano et al., 2012)。ES 細胞由来の眼杯構造の背腹パターンを調べるために、*Tbx5* (背側マーカー) と *Vax2* (腹側マーカー) に対して抗体を作成し、ES 細胞由来網膜組織における発現解析を行なったところ、*in vivo* 同様に相互に排他的であった。また、*in vivo* における形態的な背腹軸とは、眼杯形成中に腹側に一時的に形成される眼裂に特徴付けられるが、多光子顕微鏡による経時的な観察から ES 細胞由来眼杯構造にも、*in vivo* 類似の間隙が自発的に形成されることが示された。さらに眼杯形成期に一致する ES 由来神経網膜を用い、BMP のアゴニスト、アンタゴニストを加えて RT-qPCR を行ったところ、前者で *Tbx2/3/5* の増加と *Vax2* の減少を認め、後者で *Tbx2/3/5* の減少と *Vax2* の増加を認めた。このことから、BMP シグナルが *Tbx5* を介して背側化を支配していることが示唆された。

次に Wnt シグナルを可視化する ES ラインを樹立し、Wnt シグナルの背腹軸への関与を調べた。ライブイメージングにより ES 由来眼胞(d6.5)において Wnt シグナルは眼胞構造の近位に局限して出現し始め、同側の網膜の陥入が対側に先行することが示された。また、ES 由来眼胞の内因性 Wnt の抑制は *Tbx5/BMP4* の発現を著明に減少させるが、BMP4 を同時に添加すると回復することから、Wnt シグナルが BMP/*Tbx5* を介して背側を誘導することが示唆された。免疫染色では d6ES 由来眼胞に Rx と *Vax2* が広く発現しており、d6.5 には眼胞の半球の近位部に Wnt 活性が限定的に認められるとともに、その隣接部に *Tbx5* の発現が局限し、対側に *Vax2* が局限するパターンを認めた。そこでグラスキャピラリーを用いて局所で ES 由来神経網膜に Wnt 活性を誘導したところ、*Tbx5* は Wnt 活性化領域の隣に局限して誘導された。一方、BMP の局所的な誘導は、活性化部位にほぼ一致して pSmad/*Tbx5* の発現を認めた。これらより、ES 由来網膜組織において、背側化に対して Wnt 及び BMP シグナルの協調的な役割が推察され、また、Wnt シグナルのダイナミクスが経時的・空間的に形態及び遺伝子発現における極性をもたらしていることが示唆された。これらの実験結果は、網膜組織にも組織自律的に組織内パターンを形成する自己組織的な機構が存在する事を示唆している。網膜の背腹軸形成はレンズプラコードや網膜周辺の間葉系細胞と眼杯の相互作用も関与する事が知られており、今回明らかになった内在的なメカニズムに加え、*in vivo* では眼周辺組織を介した外的因子の影響などが頑健な眼の発生を可能にしていると考えられる。

4、まとめ

本稿では、多能性幹細胞からの神経オルガノイド系を用いて明らかになった、組織自律的なパターンニング機構について紹介した。多くの組織は自立的な機構と組織間相互作用による誘導機構の2重のパターンニング機構を持っている。これは、*in vivo* の複雑な環境において適切なサイズとプロポーションを持った臓器を再現よく形成するための生物が取った功名な戦略だと考えられる。このような冗長性を持ったシステムは個体発生の頑強性を実現するのに重要な役割を果している。オルガノイド培養系ではよりシンプルな環境でありた

め、モデル生物の解析だけでは研究するのが困難な組織自律的なパターン形成機構を強調して我々に見せてくれる。一方、組織間相互作用による補償がないために、多くの *in vitro* 培養系は外乱に弱く、誘導効率やパターン形状にバラツキが見られる。このことは、安定的に試験管内で臓器を誘導する事を目的とした場合、技術的な問題点として立ちはだかる。*In vitro* 培養系に多重の補償機構を導入することはこのような技術的な問題点を解決する一つの重要な今後のアプローチであると考えられる。

参考文献

Acampora D. et al., *Development* 121, 3279, 1995

Zakin L. et al., *PNAS* 19, 14388, 2000

Eiraku et al., *Cell Stem Cell* 3, 519, 2008

Wataya et al., *PNAS* 105, 11796, 2008

Takata et al., *Nature Commu* 8, 1339, 2017

Eiraku et al., *Nature* 472, 51, 2011

Hasegawa et al., *Development*, 143, 3895, 2016

ポリマーブラシ付与複合微粒子の ネマチック液晶中における分散性の制御

辻井 敬亘、山下 晃平、大野 工司

Yoshinobu Tsujii, Kohei Yamashita, Kohji Ohno

京都大学化学研究所

1. はじめに

近年、液晶を分散媒としたコロイド系や、その応用に関する研究は多くの注目を集めている。例えば、ネマチック液晶中に微粒子を添加することで液晶と微粒子との相分離によって生成し、相転移によって傷や凹みが自発的に修復するコンポジットゲル¹や、ディスプレイ応用を目的とした Twisted-nematic 液晶中に金属・半導体微粒子を添加することにより、液晶の配向変化に必要な電圧閾値を低下させる研究などが行われている。^{2,3} また、ネマチック液晶中に限らず、コレステリック液晶系において、微粒子の添加により、1°C以下の狭い温度範囲においてのみ発現する、コレステリックブルー相の欠陥構造を安定化させ、発現温度範囲を拡大するといった研究も行われている^{4,5}。こういった液晶コロイド系の研究において、液晶中に添加した微粒子間には、等方性溶媒中における相互作用に加え、液晶中に特有の相互作用が働く。⁶

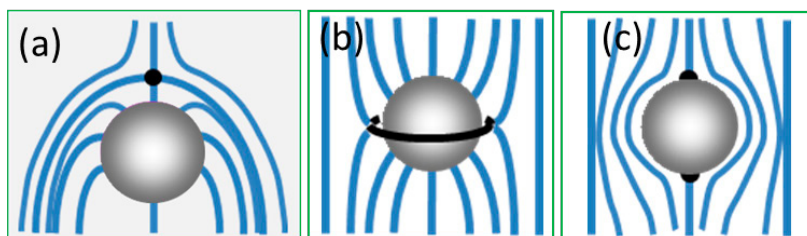


Figure 1. 微粒子近傍のネマチック液晶の配向状態

液晶中に添加した微粒子表面と液晶分子との相互作用（アンカリング）に依存して、微粒子の周囲で液晶が様々な配向構造をとる。この配向構造は微粒子表面に対する液晶分子の配向と、それによる系全体に対する液晶配向の歪みを安定化するために生成する配向欠陥によりいくつかの種類に分類される。特にネマチック液晶中では、液晶分子が微粒子表面に対して垂直に配向する場合、そのアンカリング強度に応じて、より強い場合は Hedgehog defect (Figure 1a)、弱い場合には Saturn ring defect (Figure 1b) と呼ばれる欠陥が生成し、前者を持つ微粒子は双極子的、後者を持つ微粒子は四極子的な微粒子間相互作用を示す。一方、液晶分子が微粒子表面に対して水平に配向する場合、Boojum defect (Figure 1c) と呼ばれる欠陥が生成し、この欠陥を持つ微粒子は四極子的な粒子間相互作用を示す。この液晶中に特有の微粒子間相互作用により、微粒子

は、鎖状構造⁷、二次元コロイド結晶⁸等の様々な高次構造を形成する。また、この高次構造を利用した光学材料への応用を目指した研究等も行われている。⁹しかし、微粒子の表面構造を積極的に制御し、その液晶中における分散性や、形成する秩序構造を系統的に検討した研究は皆無に等しい。¹⁰

一方、我々は、表面開始リビングラジカル重合により、微粒子表面に長さの揃ったポリマーが高密度にグラフトされた複合微粒子（ポリマーブラシ付与複合微粒子）の創成に成功している。この微粒子設計法は、コア微粒子の材質・形状・サイズや、ポリマーブラシの化学種・鎖長・密度等のパラメーターを独立かつ精密に制御できるという利点がある。¹¹⁻¹⁴

本研究では、ネマチック液晶中にポリマーブラシ付与複合微粒子を添加し、微粒子表面においてポリマーブラシが液晶の配向に与える影響について評価することに加え、微粒子の表面構造と液晶中における分散性および形成する高次構造等との相関について検討することを企図した。また、得られた知見に基づき、液晶中において高い分散性を有する微粒子を設計し、それを用いた新規高次構造の創成に取り組んだ。

2. 実験

粒径 5 μm のシリカ微粒子表面に、表面開始 ATRP により、側鎖にアルキル基を有する poly(methylmethacrylate) (PMMA) と poly(lauryl methacrylate) (PLMA)、メソゲン基を有する poly(6-((4'-cyano-[1,1'-biphenyl]-4yl)oxy)hexylmethacrylate) (PCBMA)、及びそれらのランダム共重合体を付与した複合微粒子を、鎖長、共重合比等の条件を系統的に変化させ合成した。THF と常温でネマチック相を発現する液晶である 4-cyano-4'-pentylbiphenyl (5CB) の混合液に分散させ、THF を除去して約 0.5 wt % の複合微粒子の 5CB 分散液を調整した。観察用セルは、5CB が水平配向する様に、ラビング処理したスライドガラスとカバーガラスで約 125 μm のスペーサーを挟み作成した。このセルにサンプルを注入し、微粒子近傍の液晶の配向状態を偏光顕微鏡(POM)によりクロスニコル条件下で観察した。

同様に、ポリマーブラシ付与蛍光標識シリカ微粒子(コア粒径=150 nm)と 5CB の混合液(5 wt %)を調整した。これを、筒状のガラスセルに入れ、倒立型共焦点レーザーキャン顕微鏡(CLSM)により分散液中の複合微粒子の分散状態をガラス底面より観察した。

さらに、P(LMA-*r*-CBMA)ブラシ付与シリカ微粒子(コア粒径=1.5 μm)と 5CB の混合液(5 wt %)を調整した。観察用セルは、楕形電極付きスライドガラスとカバーガラスで約 125 μm のスペーサーを挟み作成した。このセルにサンプルを注入し、セルのラビング方向と垂直に電場を印加した。その時の微粒子近傍の液晶の配向状態及び微粒子

Table 1. Effect of Polymer Brush on 5CB Orientation

Polymer	M_n (粒子表面の液晶の配向)
PMMA	5000 (水平) → 97000 (水平)
PCBMA	12000 (ランダム) → 192000 (ランダム)
PLMA	80000 (垂直) → 296000 (垂直)
P(MMA- <i>r</i> -LMA)	90000 (斜入射) → 274000 (斜入射)
P(MMA- <i>r</i> -CBMA)	13000 (垂直) → 336000 (水平)
P(LMA- <i>r</i> -CBMA)	9000 (垂直) → 258000 (水平)

の構造形成過程を POM によりクロスニコル条件下で観察した。

3. 結果と考察

3. 1. 複合微粒子近傍の液晶の配向状態の観察

グラフトポリマーのキャラクタリゼーションを Table 1 に示す。PMMA ブラシを付与した微粒子の周囲では、Boojum defect が観察され、液晶が微粒子表面に対して水平に配向していることがわかった。また、PLMA ブラシを付与した微粒子の周囲では、Saturn ring defect が観察され、液晶が微粒子表面に対して垂直に配向していることがわかった。これにより、側鎖アルキル基の鎖長により、微粒子周囲での液晶配向構造が変化することがわかった。PLMA ブラシ付与微粒子では、最表面において、PLMA の長いアルキル側鎖の配向の効果により液晶が垂直配向したと考えられる。また、PCBMA ブラシを付与した微粒子は、微粒子ごとに周囲の液晶の配向状態が異なり、定義できないランダムな配向が観察された。これは、側鎖メソゲン基が高密度にスタックした PCBMA が微粒子表面で結晶構造を形成し、5CB の配向がランダムに強く乱されたことによると考えられる。また、これらの微粒子では、周囲の液晶の配向構造はポリマーの分子量に関わらず種類ごとに同様の傾向を示した。

P(MMA-*r*-LMA) ブラシを付与した微粒子は、Hexadecapolar colloid と呼ばれる Boojum defect と Saturn ring defect を同時に有する特殊な配向構造が観察された。この配向構造については、未だ詳しいことはわかっていない。conic anchoring と呼ばれる円錐形アンカリングの性質が発現に関わっており、表面における液晶のアンカリング強度が非常に弱いことにより発現するとの報告もある。^{15,16}今回は、MMA と LMA の共重合により、低い T_g と、PLMA 側鎖による配向の影響を低減する効果が得られ、また、ブラシ構造により表面のアンカリング強度がより低減されたことにより発現したと考えられる。また、周囲の液晶の配向構造はポリマーの分子量に関わらず変化しなかった。

一方で、P(MMA-*r*-CBMA) ブラシを付与した微粒子では、上記のブラシを付与した微粒子とは異なり、ポリマーの分子量に応じて、微粒子周囲の液晶の配向構造が変化するという結果が得られた。ブラシの分子量が小さいときには、強い垂直配向を示す Hedgehog defect、そこから分子量を大きくしていくことに従って、順に、Saturn ring defect、Hexadecapolar colloid、最終的には、表面に対して水平配向を示す Boojum defect

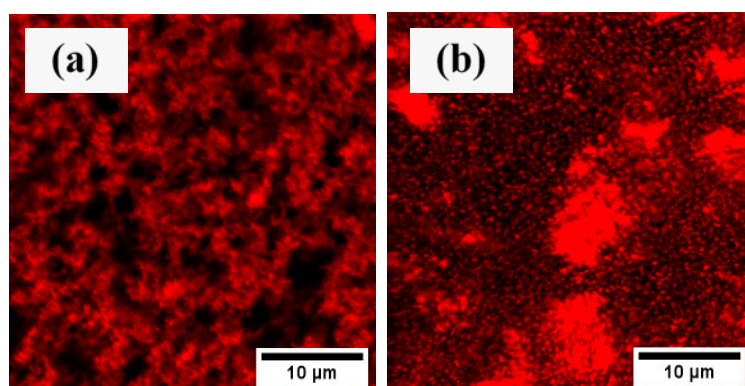


Figure 2. ポリマーブラシ付与複合微粒子の液晶中における分散状態

が観察された。また、P(LMA-r-CBMA)ブラシを付与した微粒子でも、ポリマーの分子量に応じて、微粒子周囲の液晶の配向構造の変化が観察され、同様に分子量が大きくなるに従って、垂直配向から水平配向に変化した。また、P(MMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子と比較すると、より低い重合度で垂直配向から水平配向に変化した。

3. 2. 複合微粒子の液晶中における分散状態の観察

PMMA、PLMA、PCBMA のそれぞれのホモポリマーブラシを付与した微粒子の 5CB 分散液を観察すると、それぞれ、液晶溶媒のみが存在する黒い部分と、微粒子の赤い部分がはっきりと分かれており、微粒子が液晶中で凝集していることがわかった (Figure 2a)。また、微粒子周囲の配向構造にかかわらず、5CB ネマチック相と相溶性の低いホモポリマーを付与した系では微粒子は液晶中で凝集することがわかった。

P(MMA-r-LMA)ブラシ付与微粒子の 5CB 分散液を観察すると、液晶溶媒のみが存在する黒い部分と、微粒子の赤い部分がはっきりと分かれているが、ホモポリマーブラシ付与微粒子の凝集とは異なる高次構造が観察された。これは微粒子表面の Hexadecapolar colloid による高次構造形成によるものと思われ、また、表面の弱アンカリング特性が、微粒子の分散性を高め、液晶中における微粒子の凝集を抑制していると考えられる。一方 P(MMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子の系では、一部の凝集も見られるものの、大部分で微粒子が分散し、ブラウン運動している様子が観察された (Figure 2b)。また、この分散液は数日放置すると微粒子が凝集したが、加熱により等方相にし、ボルテックスによる攪拌により再分散した。さらに、 $M_n=120000$ 程度のブラシを付与した微粒子は、より高い分散性を示し、数週間高い分散性が維持されたままであった。P(LMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子の系では、低分子量のポリマーをグラフトした系では、一部の凝集と、微粒子が分散し、ブラウン運動している様子が観察された。この微粒子は P(MMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子と比較して、微粒子の凝集の部分が多く観察された。分散液は数日放置すると微粒子が凝集した。また、鎖長を伸ばすと、微粒子が凝集とは異なる網目状の高次構造を形成している様子が観察された。

P(MMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子、P(LMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子の系では、微粒子表面において伸長したブラシの立体斥力と、運動性の高い側鎖メソゲン基をもつポリマーにより、微粒子の周囲の液晶の配向の歪みが軽減されたことにより、5CBネマチック相中で微粒子が高い分散性を示したと考えられる。また、ポリマーの種類の違いによる分散性の違いについてはブラシの伸長度を含むポリマーの相溶性の違いに起因すると考えられる。また、短鎖のものと比較して長鎖のP(MMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子は非常に高い分散性を示した。これは、長鎖のブラシを付与したことにより、より微粒子による配向の歪みの影響を軽減できたことによるものと考えられる。

3. 3. 複合微粒子による高次構造形成

ガラスセルに注入した分散液中のP(LMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子は、Boojum defect同士が反発するようにして、最近接の微粒子の中心を結んだ軸が液晶のdirector方向に対して $\theta=30^\circ$ 程度ずれるように並んだ(Figure 3a)。director方向と垂直に電場を印加すると、電場による配向の影響を受け、液晶の配向方向が変化したことで画面が明るくなった。また、微粒子がBoojum defect同士が結合するようにして鎖状に並ぶ様子が観察された(Figure 3b)。さらに、電場を切ると、全体の液晶の配向はもとの配向方向に戻ったが、微粒子の鎖状構造と、その微粒子間の欠陥構造は維持されたままだった。また、粒子のサイズを変更しても同様に鎖状構造を形成できた。さらに、電場のON/OFFを複数回切り替えることにより、形成した鎖状構造同士が結合し、より長鎖の鎖状構造が形成した。また、共重合比を変化させたもので、同様にBoojum defectを有する微粒子について同様に電場を印加し観察を行ったが、鎖状構造は形成できなかった。付与ポリマーブラシの相溶性による分散性の変化が鎖状構造形成に影響を与えていると考えられる。

一方、P(MMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子は、Boojum defect同士が反発するようにして、最近接の微粒子の中心を結んだ軸が液晶のdirector方向に対して $\theta=30^\circ$ 程度ずれるように並んだ。director方向と垂直に電場を印加すると、微粒子はBoojum defectが

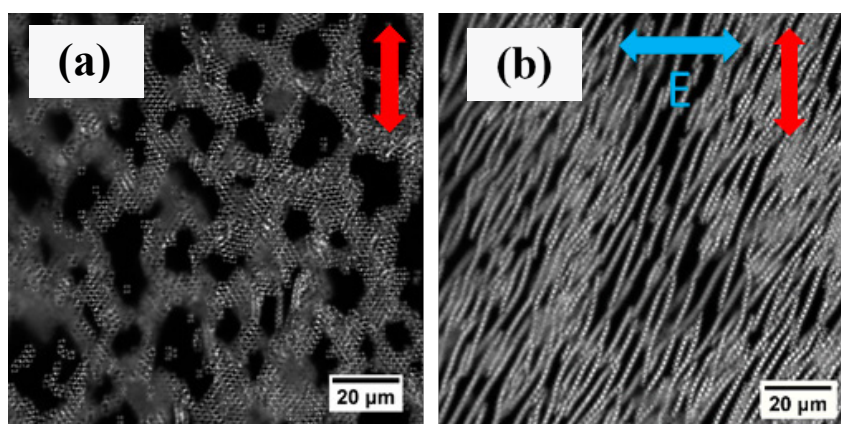


Figure 3. ポリマーブラシ付与複合微粒子の液晶中における高次構造形成

ずれた構造のまま微粒子が斜めに移動した。電場を切ると、元の配向構造に戻った。またごく一部では鎖状構造も観察された。

このような四極子的相互作用を示す微粒子による鎖状構造は、実験系ではコレステリック液晶中においてしか実現されていない。¹⁷⁻¹⁹ ネマチック液晶中において、Boojum defectを有する微粒子同士はdirector方向に対して $\theta=45^\circ$ からの接近で引力が働き、 $\theta=0^\circ$ 、 $\theta=90^\circ$ からの接近では斥力が働くが、 $\theta=0^\circ$ において、エネルギー障壁を超えて一定以下の距離に接近すると、欠陥同士が横に反発しずれることによって引力が働き、Boojum defectが変形し、2本の欠陥となる。その欠陥を介して微粒子が鎖状に配列するというシミュレーションによる報告がある。^{20,21} この欠陥の周囲では微粒子の曲面に挟まれることにより、液晶がねじれるように配向しており、このねじれ配向の安定化が鎖状構造の安定性に大きく関わっているとも報告されている。我々のP(LMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子では、ブラシ構造のソフトな表面により、表面間のねじれ配向の安定化や最表面において液晶が再配向しやすいといった効果によると考えられる。また、ネマチック液晶中における微粒子の高い分散性も鎖状構造の形成に役立っていると考えられる。一方、P(MMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子でも、鎖状構造は確認されるものの、電場による構造形成は難しかった。もとの構造を維持したまま大きく微粒子が移動している様子が確認でき、微粒子の分散性が高すぎても電場による構造形成は難しい、もしくはP(LMA-r-CBMA)ブラシ構造が、よりねじれ配向の安定化に有効であるのではないかと考えられる。

4. おわりに

ネマチック液晶中における、ポリマーブラシ付与複合微粒子の表面構造を、付与したポリマーブラシの種類、鎖長、密度と、それによる周囲の液晶の配向構造、微粒子の分散性について検討し、その相関を検討した。それにより、ランダム共重合による、運動性の高いメソゲン基側鎖をもつポリマーブラシが液晶中で伸長し、その構造が微粒子表面において液晶の配向に影響を与えることがわかった。さらに、そのポリマーブラシ付与複合微粒子は、周囲の液晶の配向の歪みの軽減とブラシ間の立体斥力により、液晶ネマチック相中で高い分散性を実現し、特に長鎖のP(MMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子は非常に高い分散性を実現した。そして、P(LMA-r-CBMA)ブラシ付与微粒子を用いることで、ネマチック液晶中において初めてBoojum defectを持つ微粒子による欠陥を介した鎖状の新規構造形成を実現した。この鎖状構造の形成には、ポリマーブラシ構造による微粒子間ねじれ配向の安定化、ソフトな表面による液晶の再配向の容易さ、また、微粒子の高度に制御された液晶中における分散性が寄与していると考えられる。

参考文献

- 1) Y. Kawata *et al.*, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2015**, 7, 4185–4191.
- 2) T. Zhang *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* **2009**, 48, 055002.
- 3) S. Kobayashi *et al.*, *J. Display Technol.*, **2006**, 2, 121–129.
- 4) E. Karatairi *et al.*, *Phys. Rev. E*, **2010**, 81, 041703.
- 5) H. Yoshida *et al.*, *Appl. Phys. Express* **2009**, 2, 121501.
- 6) P. Poulin *et al.*, *Phys. Rev. E*, **1998**, 57, 626.
- 7) J.C. Loudet *et al.*, *Nature*, **2000**, 407, 611-613.
- 8) I. Mušević *et al.*, *Science*, **2006**, 313, 954–958.
- 9) M. Humar *et al.*, *Eur. Phys. J. E*, **2008**, 27, 73–79.
- 10) M.F. Prodanov *et al.*, *Langmuir* **2013**, 29, 9301–9309.
- 11) S. Yamamoto *et al.*, *Macromolecules*, **2000**, 33, 5602-5607.
- 12) S. Yamamoto *et al.*, *Macromolecules*, **2000**, 33, 5608-5612.
- 13) K. Ohno *et al.*, *Macromolecules*, **2006**, 39, 1245-1249.
- 14) T. Morinaga *et al.*, *Macromolecules*, **2008**, 41, 3620-3626.
- 15) B. Senyuk *et al.*, *Nat. Commun.* **2016**, 7, 10659.
- 16) O. Ramdane *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **2000**, 84, 3871–3874.
- 17) M. Ravnik *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **2007**, 99, 24, 247801.
- 18) F. E. Mackay *et al.*, *Eur. phys. Lett.* **2011**, 94, 66003
- 19) N. Hijnen *et al.*, *Langmuir* **2010**, 26, 16, 13502–13510.
- 20) M. Tasinkevych *et al.*, *New J. Phys.* **2012**, 14, 073030.
- 21) Z. Eskandari *et al.*, *Langmuir* **2013**, 29, 10360–10367.

【緒言】

高分子準希薄溶液などの動的に非対称な二成分混合系の相分離過程や濃度揺らぎの緩和過程、濃度揺らぎの生成に伴い応力場に不均一が生じる。その結果応力場の不均一性による自由エネルギー汎関数の変化が濃度揺らぎの拡散過程に影響をおよぼすという「粘弾性効果」が表れる。高分子準希薄溶液においては、この粘弾性効果により、一相領域において系にせん断流動を印加することによって相分離が誘起されるいわゆる流動誘起相分離現象が引き起こされる。この流動誘起相分離の散乱法による研究が数多くなされており、その散乱パターンはいわゆる butterfly pattern になることが知られている。古川と田中は、一成分の液体であっても、せん断流動をかけることによって、密度揺らぎに伴う応力場の空間不均一性が流動と密度揺らぎのカップリングを引き起こし、その結果液体の非圧縮性が保たれなくなり、密度揺らぎを成長させることを理論的に見いだした。我々はガラス状高分子の大変形挙動においても、延伸に伴って密度揺らぎの成長がおこることが考えられる。そこで、本報告ではガラス状高分子の密度揺らぎを2次元小角 X 線散乱法により測定を行い、延伸下での密度揺らぎの変化を調べた結果について報告する。

【理論】

古川と田中による理論について概説する。場所 \mathbf{r} 、時刻 t における密度 $\rho(\mathbf{r}, t)$ に対する連続の式は

$$\frac{\partial}{\partial t} \rho = -\nabla \cdot (\rho \mathbf{v}) \quad (1)$$

で表される。ここで $\mathbf{v}(\mathbf{r}, t)$ は速度場である。速度場はNavier-Stokes equation

$$\rho \left(\frac{\partial}{\partial t} + \mathbf{v} \cdot \nabla \right) \mathbf{v} = -\nabla \cdot \bar{\Pi} + \nabla \cdot \bar{\sigma} \quad (2)$$

に従う。ここで $\bar{\Pi}(\mathbf{r}, t)$ と $\bar{\sigma}(\mathbf{r}, t)$ はそれぞれ 圧力テンソルと応力場である。(2)式を線形化することによって延伸下における effective な等温圧縮率 K_T^{eff}

$$\frac{1}{K_T^{\text{eff}}} = \frac{1}{K_T} \left[1 - \left(\frac{\partial \eta}{\partial p} \right)_T \dot{\epsilon} (\hat{q}_x^2 - \hat{q}_y^2) \right] \quad (3)$$

を求めることができる。ここで、 $\dot{\epsilon}_c$ は延伸速度、 η は粘度、 K_T は系の等温圧縮率、 \hat{q}_x と \hat{q}_y はそれぞれ波数ベクトル \hat{q} の x （延伸方向）と y 成分である。この K_T^{eff} は揺らぎの成長速度の逆数にあたる。臨界延伸速度 $\dot{\epsilon}_c$ は

$$\dot{\epsilon}_c = \left(\frac{\partial \eta}{\partial p} \right)_T^{-1} \quad (4)$$

で表される。

【実験】

ガラス状高分子サンプルとしてポリメタクリル酸メチル (PMMA) およびポリスチレン (PS) を用いた。PMMA, PS の重量平均分子量はそれぞれ 3.38×10^6 (g/mol), 2.8×10^5 (g/mol) である。

PMMA においては、厚さ 5mm のシートをまず 403K にて 2 時間加熱した後、363K にクエンチした。クエンチしたサンプルを 0.001 s^{-1} の延伸速度でひずみ $e = 0.12$ まで 1 軸延伸をしたサンプルを室温にクエンチ後、2 次元小角 X 線散乱測定に用いた。また比較のため、403K にて 2 時間加熱して 363K にクエンチ後、延伸せずに室温にクエンチしたサンプルの測定も行った。Fig.1

にこのサンプルの応力ひずみ曲線を示す。応力ひずみ曲線にはオーバーシュートが見られており、散乱を測定した点は、このオーバーシュート後にある。散乱実験は SPring-8 の BL45XU にて行った。使用した波長 λ は 0.11nm、サンプル-ディテクター間距離は 3600mm であり、測定波数 q 領域は 0.06 nm^{-1} から 1.0 nm^{-1} となる。測定時間は 30 秒であった。

PS においては延伸過程のその場観察を行った。試料は 423K で 3 時間加熱し、自然冷却することによって試料を得た。その試料をリンカム社製延伸ステージ 10073A を用いてガラス転移温度以下において延伸を行い、その過程における小角散乱のその場観察を行った。散乱実験は SPring-8 の BL45XU にて行った。使用した波長 λ は 0.1nm、サンプル-ディテクター間距離は 2500mm であり、測定波数 q 領域は 0.07 nm^{-1} から 2.0 nm^{-1} となる。測定時間は 5 秒であった。

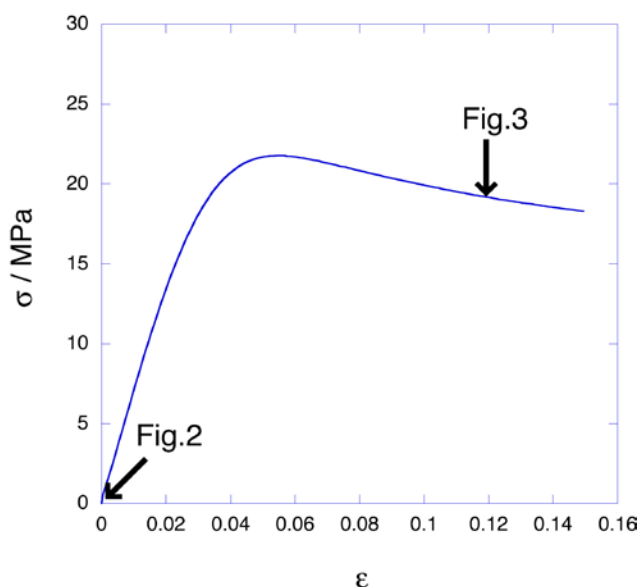


Fig.1 Stress-strain curve for PMMA at 393K.

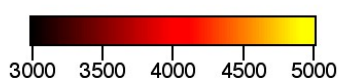
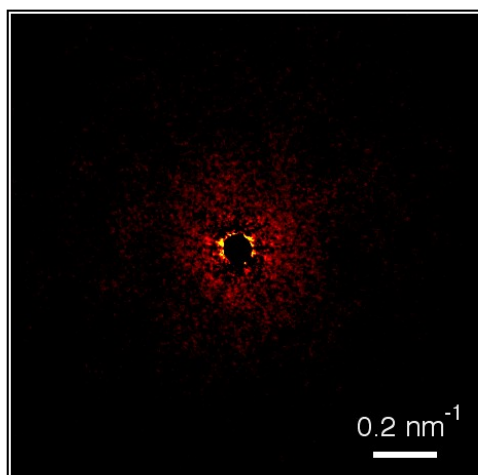


Fig.2 2D SAXS pattern of PMMA before uniaxial stretch.

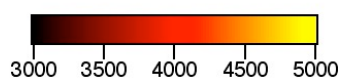
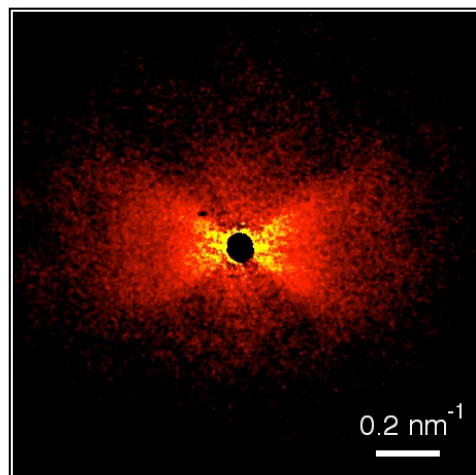


Fig.3 2D SAXS pattern of PMMA after uniaxial stretch.

【結果・考察】

Fig.2 に延伸前の PMMA シートの散乱パターンを示す。系の浸透圧縮率に伴う密度揺らぎに由来する等方的な散乱パターンが観測されている。Fig.3 に延伸後の散乱パターンを示す。散乱パターンは強度も延伸により増加しており、また延伸方向に強度が強くなるという流動下での高分子準希薄溶液が示す abnormal butterfly pattern となった。この散乱光強度の挙動より延伸に伴い系に密度揺らぎが誘起されていることが確認された。

この散乱パターンを古川と田中の理論が予測するかを、揺らぎの成長速度である(3)式の K_T^{eff} の逆数の分布と散乱パターンの比較を行い、理論が予測する様な延伸誘起密度揺らぎが起こっているのかの検討をした。(3)式を用いて成長速度の波数空間分布を計算したものが Fig.4 である。成長速度の波数空間分布は散乱光強度の分布と一致しており、このことから延伸に伴う密度揺らぎの増加は密度揺らぎに伴う応力場の空間不均一性が流動と密度揺らぎのカップリングにより誘起されていることがわかった。

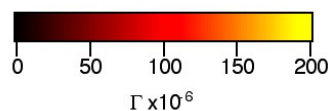
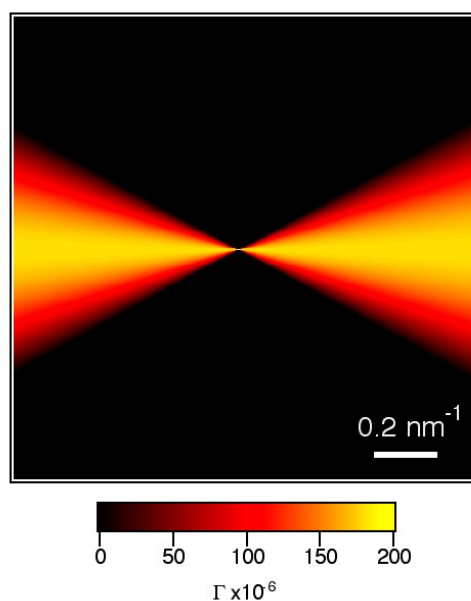


Fig.4 Distribution of growth rate calculated with eq.(1) in \mathbf{q} -space.

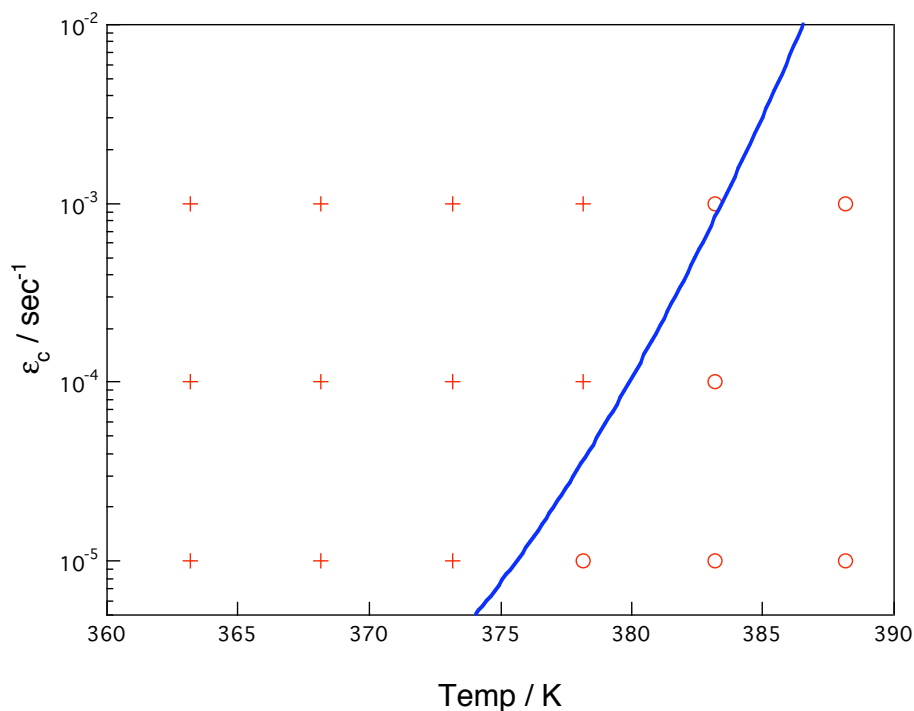


Fig.5 Dynamical phase diagram for PMMA glass. Crosses and circles correspond to the region where butterfly patterns are observed in 2D SAXS and that where the deformed patterns are observed. The solid line indicates the calculated $\dot{\epsilon}_c$.

さらに、温度および延伸速度を変えて実験を行った結果、延伸速度が速く、温度が低いほど密度揺らぎの誘起が起こりやすい事がわかり、Fig.5 に様に動的相図を作成する事ができた。(4)式によって計算される臨界延伸速度を実線で示してある。計算結果は実験結果とよい一致を示している。

続いて、PS の延伸過程においても密度揺らぎが誘起されているのかを調べた。Fig.6 は 365K, 延伸速度 2.5 $\mu\text{m/s}$ で PS を延伸した応力-ひずみ曲線である。応力が線形に増加している時(Fig.6 a), 応力がピークに達した時(Fig.6 b), 応力がピークを越えて降下する時(Fig.6 c), それぞれにおいて SAXS 測定を行った。なお, 応力-ひずみ曲線中の a, b, c はそれぞれひずみ 0.017, 0.033, 0.05 に対応する。Fig.7 に SAXS 二次元像をしめす。Fig.6, 7 において, a では散乱パターンに変化が見られないが, b でバタフライパターンが現れ始め, c でよりはっきりとバタフライパターンが現れていることが確認

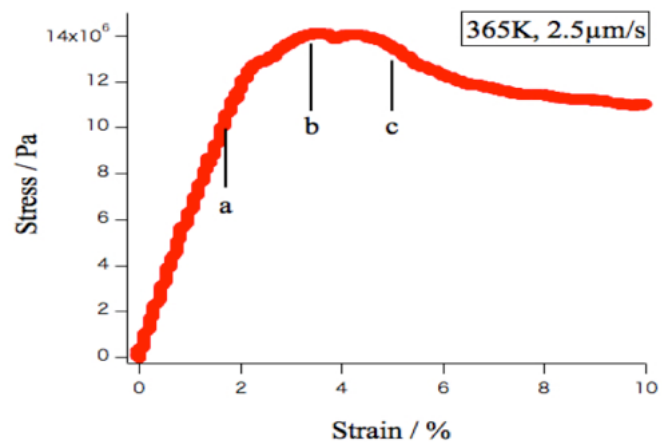


Fig.6 stress-strain curve of PS at 365K

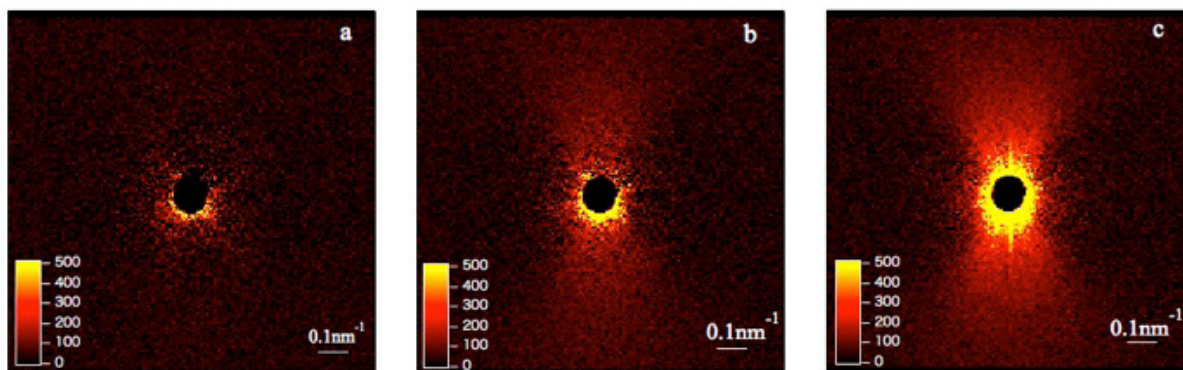


Fig.7 2D Change in SAXS pattern of PS during stretch at 365K, 2.5 μ m/s. a,b, and c corresponds to strain = 0.017, 0.033 and 0.05 , respectively.

でき、PS においても延伸誘起密度揺らぎが起こっている事が確認された。このことはこの現象がガラス状高分子に普遍的な減少である可能性を示唆している。

ポリロタキサンの形成機構とゲル化に関する 理論・シミュレーション

古賀 毅・小島 広之・古谷 勉

Tsuyoshi Koga, Hiroyuki Kojima, Tsutomu Furuya

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1 緒言

グルコースが α -1, 4 結合により形成された環状分子であるシクロデキストリンは環状構造内部の疎水性場に種々の化合物を包接することが可能であり、この包接機構を利用した薬物輸送、分子認識、分子機械等の広い分野での応用と研究開発が行われている [1]。また、シクロデキストリンの環状構造を高分子が貫通した包接錯体が形成された後に、高分子の両末端に嵩高い置換基を導入することによって得られるポリロタキサンが合成されて以降 [2]、環状分子であるシクロデキストリンが軸分子である高分子に沿って可動であるという特性を活かした様々な機能性材料の研究開発が行われている [3]。

ポリロタキサンを利用した機能性材料の代表例としてポリロタキサンのシクロデキストリン間を架橋した環動ゲルが挙げられる [4]。環動ゲルは変形を加えた際に架橋点の移動による構造緩和が可能のため、柔らかく高伸長可能という特徴を有しており、その特性を活かした高機能ゲル材料としての研究開発が盛んである [5]。環動ゲルの特性はシクロデキストリン間の架橋率、シクロデキストリンによる高分子の被覆率等に大きく依存することから [6]、環動ゲルの特性を制御する上で、ポリロタキサンの前駆体である包接錯体の形成過程の理解が重要である。最近の包接錯体形成過程に関連する研究結果より、シクロデキストリン間の凝集が包接錯体形成に重要な役割を果たしていること、包接錯体形成のためのシクロデキストリンの臨界濃度が存在すること、その被覆率はラングミュアの吸着等温式によって説明できないこと、包接錯体形成に伴って高分子鎖が伸長すること等が明らかとなっている [7, 8]。

また、これらのシクロデキストリンを化学修飾することにより、環動性に加えて様々な機能を付与する試みも行われている。シクロデキストリン及びポリエチレングリコールからなるポリロタキサンは、そのシクロデキストリンの水酸基をメチル化することにより冷水に可溶となり、その水溶液は温度上昇により吸熱挙動、及び環状分子の周期構造形成を伴う高温ゲル化を示すことが報告されている [9, 10]。

本稿の第 2 節では、包接錯体形成過程における詳細な分子機構の理解を目的として、 α -シクロデキストリンとポリエチレングリコールによる包接錯体形成について計算機シミュレーションと統計熱力学理論を用いて計算し、包接錯体形成機構についての考察結果を報告する [11]。また、本稿の第 3 節ではメチル化ポリロタキサン水溶液の高温ゲル化及び周期構造形成の分子機構を理論的に考察するため、会合溶液理論 [12] をもとに環状分子の水和・脱水

和, その可動性による鎖上での凝集, 及び異なるポリロタキサン上の凝集体同士の会合による架橋構造形成を考慮した統計熱力学理論を構築し, ゾル・ゲル転移点, 環状分子の水和率, 及び架橋構造サイズなどを計算し, 計算結果と既報実験データの比較検討を行い, 分子機構の理論的考察を行う [13].

2 包摂錯体形成機構に関する理論的研究

2.1 シミュレーション

高分子鎖は 100 個のビーズ, シクロデキストリンは 16 個のビーズから構成されるバネ・ビーズモデルを用いた (図 1a 及び b). このシクロデキストリンモデルは 1 分子当たり 2 個の高分子ビーズを包接可能であり, ビーズ直径 σ を $\sigma = 0.39\text{nm}$ とすると α -シクロデキストリンに近い幾何学的構造となる. 全ての結合ビーズ間の伸縮ポテンシャルには伸び切り効果を考慮した次の FENE ポテンシャルを用いた: $\beta U_b(\Delta l_i) = -(\beta k_b/2)(\Delta l_{\max})^2 \ln[1 - (\Delta l_i/\Delta l_{\max})^2]$. ここで, $\beta \equiv 1/k_B T$ はボルツマン定数 k_B と絶対温度 T で定義される逆温度であり, k_b はバネ定数, Δl_i は i 番目の結合の平衡結合長 l_0 からの伸縮量, 及び Δl_{\max} は結合の最大伸縮量である. 本研究では $\beta k_b = 50$, $l_0 = \sigma$, 及び $\Delta l_{\max} = 0.2\sigma$ とした. また, シクロデキストリンの形状を保持するため, シクロデキストリンを構成する結合間には次の曲げポテンシャルを導入した: $\beta U_\theta(\theta_i) = (\beta k_\theta/2)(\cos \theta_i - \cos \theta_0)^2$. ここで, k_θ はバネ定数, θ_i は i 番目の結合角, 及び θ_0 は平衡結合角である. 本研究では $\beta k_\theta = 50$ とし, シクロデキストリンモデルを構成する環構造に平行な結合角に対しては $\theta_0 = 135^\circ$ とし, 垂直な結合角に対しては $\theta_0 = 90^\circ$ とした.

シクロデキストリン分子間の水素結合は深さが ε_h で相互作用範囲が $\sigma < r_{ij} \leq 1.2\sigma$ の井戸型ポテンシャルで表した. ここで, r_{ij} はビーズ間の距離である. また, 水素結合の特徴である飽和性と方向性を明確にするために, 1 ビーズが相互作用 (水素結合) 可能なビーズ数は 1 とし, ビーズの中心を原点とし, 環に垂直な結合の方向を z 軸とした際に $z \geq \sigma/\sqrt{2}$ の球面でのみ相互作用が可能であるとした (図 1c). その他の非結合ビーズ間のポテンシャルには剛体球ポテンシャルを用いた. また, 高分子鎖とシクロデキストリンの疎水性場との相互作用には高分子ビーズがシクロデキストリンの環構造内部に侵入した際にエネルギーが ε_p 安定化するモデルを用いた.

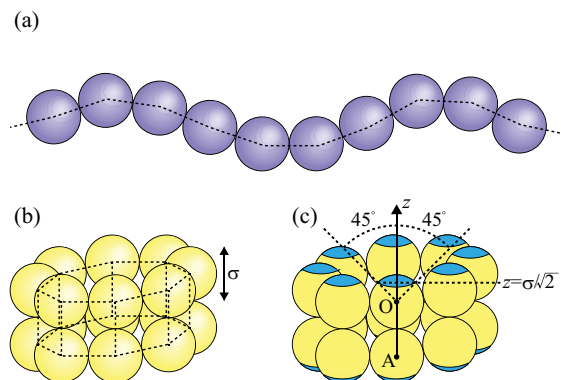


図 1 (a, b) 高分子とシクロデキストリン分子のバネ・ビーズモデル. (c) シクロデキストリンの水素結合部位を示す模式図. 相互作用可能な表面を水色で示す.

以上のモデルを用いて、シクロデキストリンの化学ポテンシャル μ を与えるグランドカノニカルモンテカルロシミュレーションをメトロポリスの方法によって実施した [14].

2.2 理論

高分子一本鎖とシクロデキストリンから形成される包接錯体を図 2 のようにモデル化し、統計熱力学理論を用いて包接錯体形成について計算を行った。ここで、 f は包接錯体領域の個数、 m_i 及び \mathbf{r}_i はそれぞれ i 番目のランダムコイル領域を構成する高分子セグメント数と両末端間ベクトル、 n_j 及び \mathbf{l}_j はそれぞれ j 番目の包接錯体領域の高分子セグメント数と両末端間ベクトルである。また、 j 番目の包接錯体領域を形成するシクロデキストリンの個数を νn_j とした。ここで、 ν は高分子の 1 セグメントを包摂するのに必要なシクロデキストリンの個数である。これより、包接錯体を形成するシクロデキストリンの総数 M は $M = \sum_{j=1}^f \nu n_j$ 、高分子セグメントの総数 N は $N = \sum_{i=0}^f m_i + \sum_{j=1}^f n_j$ となる。分配関数 $Z(M, N, f, \mathbf{K})$ 及び大分配関数 $\Xi(N, f, \lambda, \mathbf{K})$ は形式的に以下のように表される：

$$Z(M, N, f, \mathbf{K}) = \sum_{\{m,n\}} z_{r,e}(m_0, \mathbf{K}) z_c(n_1, \mathbf{K}) z_r(m_1, \mathbf{K}) \cdots \cdots z_r(m_{f-1}, \mathbf{K}) z_c(n_f, \mathbf{K}) z_{r,e}(m_f, \mathbf{K}) \quad (1)$$

$$\Xi(N, f, \lambda, \mathbf{K}) = \sum_{M \geq 0} Z(M, N, f, \mathbf{K}) \lambda^M \quad (2)$$

ここで、 \mathbf{K} は高分子両末端間に印加される外力であり、 $\lambda \equiv e^{\beta\mu}$ はシクロデキストリンの絶対活動度であり、 $z_{r,e}(m, \mathbf{r})$ 、 $z_c(n, \mathbf{l})$ 、及び $z_r(m, \mathbf{r})$ はそれぞれ末端のランダムコイル領域の寄与、包接錯体領域の寄与、末端以外のランダムコイル領域の寄与である。本研究では高分子鎖のコンホメーション、包接錯体領域の方向の自由度、高分子セグメントがシクロデキストリンに包接されることによる安定化、及び隣接シクロデキストリン間の水素結合を考慮して大分配関数を計算した。

ランダムコイル領域の高分子鎖をガウス鎖で近似し、包接錯体領域の高分子鎖がほぼ伸び切った形態であると仮定すると、高分子鎖のシクロデキストリンによる被覆率 Θ として以

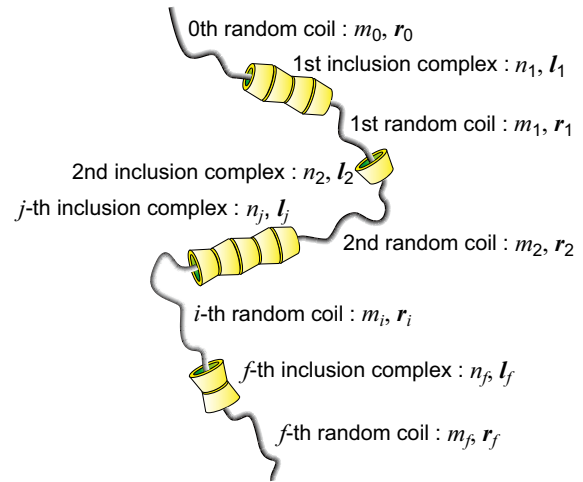


図 2 包接錯体の理論モデルの模式図.

下の式が得られる：

$$\Theta = \frac{k_c^\nu K_p \lambda^\nu - 1 + \left[(k_c^\nu K_p \lambda^\nu - 1)^2 + 4k_c^{\nu-1} K_p \lambda^\nu \right]^{1/2}}{2 \left[(k_c^\nu K_p \lambda^\nu - 1)^2 + 4k_c^{\nu-1} K_p \lambda^\nu \right]^{1/2}} \quad (3)$$

ここで、 k_c は一対のシクロデキストリン間の水素結合の寄与、 K_p は高分子の1セグメントが包接されることによる寄与である。また、シクロデキストリンの絶対活動度 λ の濃度依存性はシクロデキストリン水溶液を一次元凝集体形成を考慮した理想溶液で近似することによって求めた。シクロデキストリン間に水素結合が無く、高分子1セグメントを1個のシクロデキストリンで包接する場合には式(3)は次式のラングミュアの吸着等温式となる：

$$\Theta \simeq \frac{K_p x}{1 + K_p x} \quad (4)$$

ここで、 x はシクロデキストリンの数密度である。これより実験的に報告されている被覆率 Θ のラングミュアの吸着等温式からの乖離 [7] はシクロデキストリン間の水素結合起因であることが分かる。

2.3 結果と考察

図3に水素結合が存在する場合と存在しない場合の被覆率 Θ のシクロデキストリン数密度 x 依存性を示す。データ点は計算機シミュレーションの結果であり、実線は理論計算によるフィッティング結果である。図3中には異なる数密度 x における包接錯体の構造例も示した。ここで、高分子鎖がシクロデキストリンに包接される際のエネルギー変化と一対のシクロデキストリン間の水素結合によるエネルギー変化が実験結果からの推算値と近くなるように、相互作用強度は $\beta\epsilon_p = 4$ 及び $\beta\epsilon_h = 2$ とした。水素結合が存在しない場合には被覆率 Θ はラングミュアの吸着等温式に従い、シクロデキストリン濃度 x を増加させても殆ど包接錯体が形成されない。これは環状分子が高分子上に拘束されることはエントロピー的に不利なためである。一方、水素結合が存在する場合には特定のシクロデキストリン濃度 x から被覆率 Θ は急激に立ち上がり、効率的に包接錯体が形成される。図3中のスナップショットより、包接錯体形成と共に高分子鎖が伸長されていることも明らかである。この被覆率 Θ 及び高分子鎖の広がり挙動は既報の実験

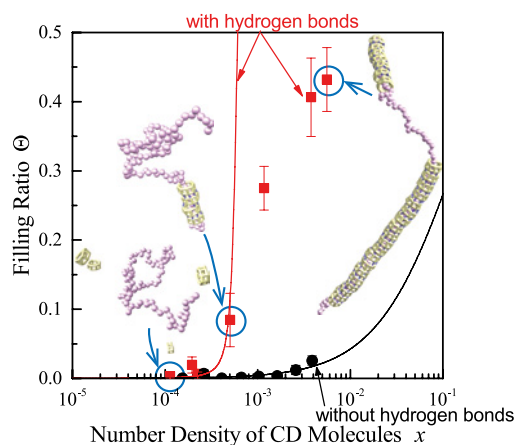


図3 水素結合が存在する場合 (赤) と存在しない場合 (黒) の被覆率 Θ (データ点:シミュレーション, 実線:理論). スナップショットの円筒はシクロデキストリンを示し, 球は高分子を示している。

結果と考察

結果と定性的に一致しており，シクロデキストリン間の水素結合が包接錯体形成に重要な役割を果たしていることが分かる。

図 4 に高分子鎖が存在する場合と存在しない場合のシミュレーション中で形成されるシクロデキストリン凝集体の最大会合数を示す。高分子鎖の存在下では被覆率 Θ が立ち上がる数密度 $x = 3 \sim 5 \times 10^{-4}$ で会合数が増加し始める。一方，高分子鎖不在の場合には大きなシクロデキストリン凝集体は形成されない。これより，包接錯体形成と同時に高分子上に拘束されたシクロデキストリンが凝集体を形成すると言える。高数密度領域 ($x > 1.0 \times 10^{-3}$) では高分子鎖の有無に関わらず大きいシクロデキストリン凝集体が形成される。この条件下では，高分子鎖が水溶液中に存在するシクロデキストリン凝集体に侵入することによっても包接錯体が形成されることが考えられる。

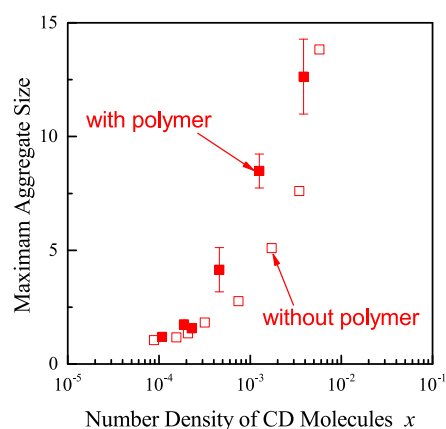


図 4 高分子鎖が存在する場合 (■) と存在しない場合 (□) のシクロデキストリン凝集体の最大会合数。

図 5 に包接錯体の形成過程例を示す。図 5a-c では高分子鎖端部が既に存在しているシクロデキストリン凝集体に侵入することによって包接錯体が形成される。図 5d-f では高分子鎖端部のシクロデキストリン凝集体の成長によって包接錯体が拡大している。このような高分子端部のシクロデキストリン凝集体への侵入もしくは高分子端部でのシクロデキストリン凝集体の成長によって，現実系においても包接錯体が効率的に形成されることが考える。

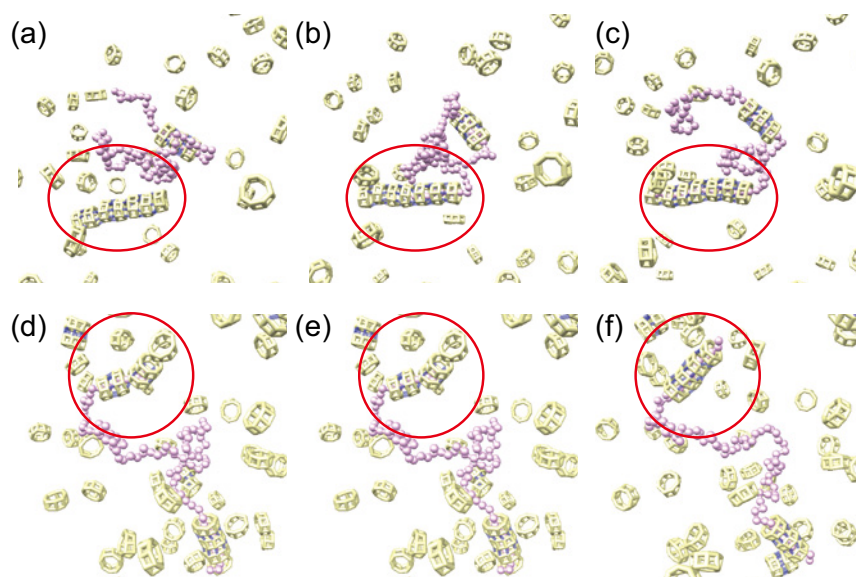


図 5 包接錯体形成過程例。シクロデキストリン凝集体へ高分子鎖端部が侵入する過程：(a)→(b)→(c)。包接錯体端部におけるシクロデキストリン凝集体の成長：(d)→(e)→(f)。

3 メチル化ポリロタキサン水溶液の高温ゲル化の理論的研究

3.1 理論

系の自由エネルギーを以下の3つの寄与を考慮して見積もる (図 6).

- (a) 環状分子の水和・脱水和
- (b) 軸分子上での隣接環状分子同士の凝集体形成
- (c) 異なる軸分子上の凝集体同士の会合による架橋構造形成

系の自由エネルギーは、主鎖上における環状分子の水和・脱水和と凝集体形成に関する自由エネルギー、凝集体同士の会合に関する自由エネルギー、会合により生じる様々なクラスターと溶媒分子の混合自由エネルギーの和で表されるとした。

環状分子の水和・脱水和、軸分子上での隣接環状分子同士の凝集体形成、及び異なる軸分子上の凝集体同士の会合による架橋構造形成に関する統計重率を導入し、主鎖上における環状分子とその凝集体の配置のエントロピーを考慮した。上記の自由エネルギーから各成分の化学ポテンシャルを求め、会合平衡条件を課してゾル・ゲル転移点 (重量平均分子量の発散点)、環状分子の水和率 θ_{hyd} 、凝集体の長さ $\langle \zeta \rangle_n$ 、架橋多重度 $\langle k \rangle_w$ 、無次元化した格子点当たりの熱容量変化 $\Delta C_p / (k_B \Omega)$ の温度依存性を数値計算により求めた。

3.2 結果と考察

図 7(a) に数値計算により求めたゾル・ゲル転移線とゲル化点の既報実験データ [10] の比較を示す。本理論モデルはゲル化点の実験データをよく再現することが分かった。図 7(b) にポリロタキサンのクラスター形成の概念図を示す。

図 8(a) に架橋多重度 $\langle k \rangle_w$ と凝集長 $\langle \zeta \rangle_n$ の温度依存性を示す。ある温度を境に、凝集長 $\langle \zeta \rangle_n$ 、架橋多重度 $\langle k \rangle_w$ の両者ともに大きな増加を示している。図 8(b) に環状分子の水和率 θ_{hyd} と無次元化した格子点当たりの熱容量変化 $\Delta C_p / (k_B \Omega)$ の温度依存性を示す。温度上昇に伴い水和率 θ_{hyd} が減少とともに吸熱挙動がみられ、吸熱ピーク ($T \sim 290\text{K}$) が現れる。この温度は凝集体及び架橋構造が成長し始める温度に対応する。環状分子の脱水和が、軸分子上における環状分子の凝集体と異なる軸分子上の凝集体同士の会合による架橋構造の形成

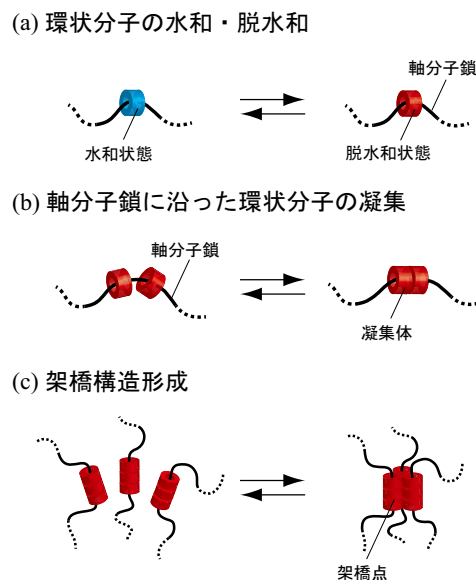


図 6 (a) 環状分子の水和・脱水和。(b) 軸分子上で隣接した脱水和状態にある環状分子同士の凝集体形成。(c) 異なる軸分子上にある凝集体同士の会合による架橋点形成。

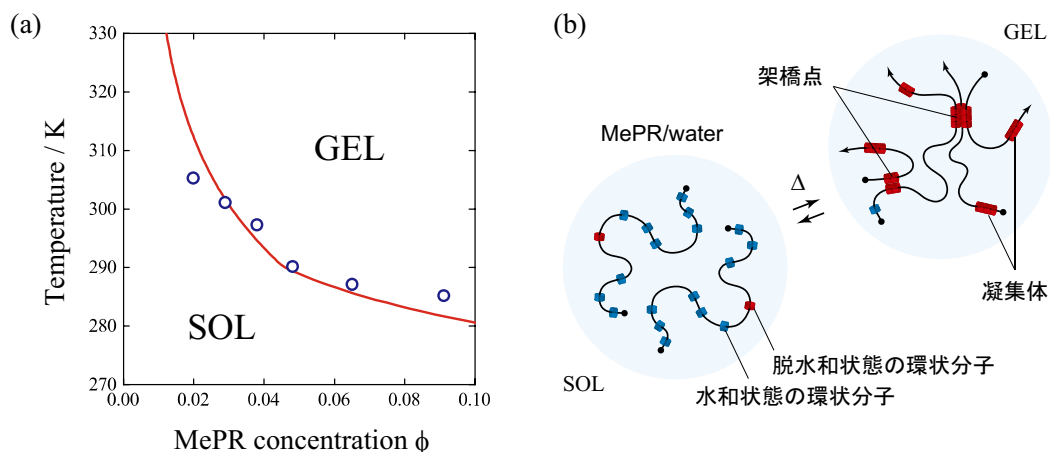


図7 (a) ゾル・ゲル転移線 (実線) とゲル化点の既報実験データ [10](丸印). (b) MePR水溶液の高温ゲル化の分子機構の概念図.

を大きく促進し、メチル化ポリロタキサン水溶液の示す高温ゲル化及び周期構造形成に重要な役割を果たしていることが分かった. これらの結果の検証には、メチル化ポリロタキサン水溶液中における環状分子の水和数の温度依存性の測定が有効である.

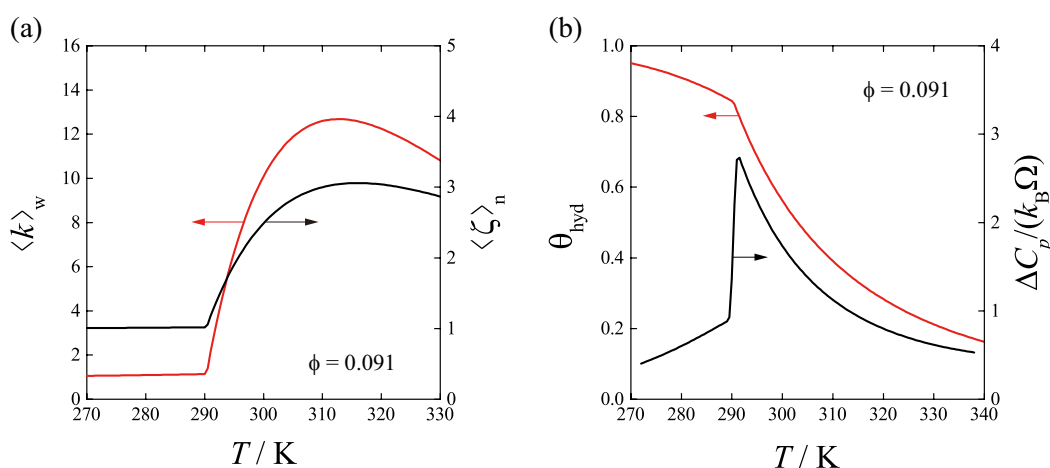


図8 (a) $\phi = 0.091$ における架橋多重度 $\langle k \rangle_w$, 凝集長 $\langle \zeta \rangle_n$ の温度依存性. (b) 環状分子の水和率 θ_{hyd} と格子点当たりの熱容量変化 $\Delta C_p / (k_B \Omega)$ の温度依存性.

4 結言

シクロデキストリンとポリエチレングリコールによる包接錯体形成について計算機シミュレーションと統計熱力学理論を用いて研究した. 包接錯体形成においてシクロデキストリン間の水素結合が重要であることが確認された. 水素結合が存在しない場合には、被覆率はラングミュアの吸着等温式に従い包接錯体は殆ど形成されない. 一方、水素結合が存在する場合には被覆率は特定のシクロデキストリン濃度より立ち上がるラングミュアの吸着等温式と

は異なる挙動を示し、高被覆率の包接錯体が形成される。また、高分子鎖末端でのシクロデキストリン凝集体の成長と高分子鎖の凝集体への侵入が繰り返されることによって包接錯体が効率的に形成されることが分かった。

メチル化ポリロタキサン水溶液の高温ゲル化及び周期構造形成の分子機構を調べるため、環状分子の水和・脱水和、その環動性による鎖上での凝集・分散、及び異なるポリロタキサン上の凝集体同士の会合による架橋構造形成を考慮した統計熱力学モデルを構築し、ゾル・ゲル転移線、環状分子の水和率、架橋構造の平均凝集長と架橋多重度、溶液の熱容量を数値計算により求めた。ゾル・ゲル転移線の計算結果は既報実験データを再現した。昇温に伴い環状分子の脱水和が生じて吸熱ピークが現れること、また、この温度を境に軸分子上の環状分子の凝集体、及び架橋構造が大きく成長することを示し、この高温ゲル化及び周期構造形成には環状分子の(脱)水和が重要となることを指摘した。

参考文献

- [1] J. Szejtli, *Chem. Rev.*, **1998**, *98*, 1743–1753.
- [2] A. Harada and M. Kamachi, *Macromolecules*, **1990**, *23*, 2821–2823.
- [3] A. Harada, A. Hashidzume, H. Yamaguchi, and Y. Takashima, *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 5974–6023.
- [4] Y. Okumura and K. Ito, *Adv. Mater.*, **2001**, *13*, 485–487.
- [5] K. Ito, *Polym. J.*, **2012**, *44*, 38–41.
- [6] K. Mayumi, M. Tezuka, A. Bando, and K. Ito, *Soft Matter*, **2012**, *8*, 8179–8183.
- [7] K. Tawa, N. Kuboyama, S. A. Ahmed, M. Tanaka, and T. Nakaoki, *Sens. Actuators, B*, **2009**, *138*, 126–133.
- [8] S. Takahashi, N. L. Yamada, K. Ito, and H. Yokoyama, *Macromolecules*, **2016**, *49*, 6947–6952.
- [9] M. Kidowaki, C. Zhao, T. Kataoka, and K. Ito, *Chem. Commun.*, **2006**, *39*, 4102–4103.
- [10] T. Kataoka, M. Kidowaki, C. Zhao, H. Minamikawa, T. Shimizu, and K. Ito, *J. Phys. Chem. B*, **2006**, *110*, 24377–24383.
- [11] T. Furuya and T. Koga, *Polymer*, **2017**, *131*, 193–201.
- [12] F. Tanaka, *Polymer Physics: Applications to Molecular Association and Thermoreversible Gelation*; Cambridge University Press, Cambridge, 2011.
- [13] H. Kojima and T. Koga, *Macromolecules*, **2016**, *49*, 7015–7024.
- [14] D. Frenkel and B. Smit, *Understanding Molecular Simulation 2nd Edition: from Algorithms to Applications*; Academic Press, San Diego, 2001.

謝辞

本講演会の講師各位ならびに本講演会を含む当財団諸事業にご支援をいただいている維持会員各社に厚くお礼申し上げます。

公益財団法人 日本化学繊維研究所

理事長 福田 猛

維持会員

旭化成（株）

住友化学（株）

帝人（株）

東洋紡（株）

東レ（株）

松本油脂製薬（株）

三菱ケミカル（株）

ユニチカ（株）