

日 本 化 学 纖 維 研 究 所

講 演 集

第 5 9 集

2 0 0 2 年 3 月

日本化学纖維研究所

講演集

第 5 9 集

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol. 59
(Annual Report of the Research Institute
for Chemical Fibers, Japan : Vol. 59)

March 2002

2002年3月

財団法人 日本化学繊維研究所講演会 (第59回)

[第59回講演会：平成13年11月20日、京大会館210号室]

目次

1. ポリエチレンナフタレート繊維のフィブリル構造の発現に関する研究(1)
¹⁾ 京都大学化学研究所 ○辻 正 樹¹⁾、吉 岡 太 陽¹⁾
²⁾ 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科 鞠 谷 信 三¹⁾、河 原 豊²⁾
³⁾ 東京工業大学大学院理工学研究科 鞠 谷 雄 士³⁾、伊 藤 啓⁴⁾
⁴⁾ 平安女学院短期大学生活学科
2. 電子のジャンプを制御する高分子ナノ構造の設計(11)
 京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○伊 藤 紳三郎、大 北 英 生
3. リビングラジカル重合：触媒探索と高分子精密合成(21)
 京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○澤 本 光 男、上垣外 正 己
 安 藤 剛
4. 3元トリブロック共重合体の相転移(31)
 京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○橋 本 竹 治、山 内 一 浩
 長谷川 博 一
5. ポリ- α -メチルスチレンとそのオリゴマーの膨張因子(37)
 京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○吉 崎 武 尚、長 昌 史
6. 高分子のコンホメーション変化と可逆ゾル・ゲル転移(41)
 京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○田 中 文 彦、古 賀 毅
 庄 司 雅 彦
- 特別講演
 低環境負荷高分子ポリ乳酸の現状と将来展望(47)
 ユニチカ株式会社技術開発本部 望 月 政 嗣
7. リパーゼ触媒を用いた機能性ポリエステルの選択的合成(59)
 京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 ○小 林 四 郎、宇 山 浩
8. らせん形成ポリペプチドの溶液中での分子集合体形成(65)
 京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 ○木 村 俊 作、森 田 智 行
 西 河 博 以
9. 高分子電解質溶液の構造(71)
 京都大学化学研究所 西 田 幸 次、○梶 慶 輔
 金 谷 利 治
10. ラジカル共重合速度論：最近の展開(77)
¹⁾ 京都大学化学研究所 ○福 田 猛¹⁾、後 藤 淳¹⁾
²⁾ 檀国大学高分子工学科 馬 永 大²⁾
11. 細胞への遺伝子導入可能な表面の作製と解析(83)
 京都大学再生医科学研究所 小屋松 祐 一、佐 藤 秀 樹
 平田 伊佐雄、○岩 田 博 夫
12. 骨形成因子の徐放化とその骨形成作用(95)
 京都大学再生医科学研究所 山 本 雅 哉、高 橋 佳 丈
 ○田 畑 泰 彦

ポリエチレンナフタレート繊維のフィブリル構造の発現に関する研究

吉岡 太陽*¹、辻 正樹*¹、河原 豊*²、鞠谷 信三*¹、鞠谷 雄士*³、伊藤 啓*⁴

Taiyo Yoshioka, Masaki Tsuji, Yutaka Kawahara, Shinzo Kohjiya, Takeshi Kikutani, Hiraku Ito

*¹ 京都大学化学研究所、*² 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科、

*³ 東京工業大学大学院理工学研究科、*⁴ 平安女学院短期大学生活学科

1. はじめに

種類を問わず、合成繊維の繊維構造を考える上でフィブリル構造の存在の有無については常に興味が持たれつづけている。合成繊維のなかでも最も汎用性の高いポリエチレンテレフタレート (PET) 繊維に比べて、ポリエチレンナフタレート (PEN) 繊維はその剛直な分子鎖により、高強度、高弾性率、および高い熱寸法安定性等の優れた性質を有しており、様々な分野で近年注目されている繊維の一つである。既に、高速紡糸法等により多種の PEN 繊維が生産されており、紡糸条件と繊維物性との研究は現在数多く行われている^{1)~9)}。特に、高速紡糸法により製造された PEN 繊維は繊維軸方向への配向性が非常に高く、紡糸速度 5km/min を超える高速紡糸 PEN 繊維では複屈折の値が 0.3 を超えることが報告されており²⁾、本研究ではアルカリエッチング法を用いることにより、PEN 繊維の高度な配向性すなわちフィブリル構造を視覚的に明らかにすることを試みた。

一方、PET 繊維は、生産開始以来 50 年近くが経過しようとしているが、今なお、更なる物性の向上が強く望まれており、高速紡糸技術の発達等による様々な紡糸条件で製造された、種々の構造的特徴を有する PET 繊維が市場に出回っている。PEN 繊維との比較のために、紡糸条件の異なる幾つかの PET 繊維についてもアルカリエッチング処理を行った。

2. 試料

今回用いた PET 繊維および PEN 繊維の紡糸条件は、次の通りである。

2.1 PET 繊維

本研究では、次に示す 4 種類の繊維構造の異なる PET 繊維を用いた。

FOY 糸：市販品レギュラー繊維であるこの繊維は、紡糸速度 1.2km/min 程度で一旦巻き取られた未延伸繊維を別工程にて 3~5 倍に延伸、そして熱処理を施した繊維であり、一般には FOY (fully oriented yarn) と呼ばれている¹⁰⁾。FOY 糸は、東洋紡(株)より購入したものをジエチルエーテルによるソックスレー抽出を行った後、使用した。

POY 糸：一般に紡糸速度 3~3.5km/min で製造された繊維を部分配向糸 (POY (partially oriented yarn)) と呼び¹⁰⁾、本研究では POY 糸として、紡糸速度 3km/min の繊維を使用した。その他の紡糸条件は、紡糸温度：290℃、吐出量：3g/min/hole、ノズル径：1mm である。

HSS(5km/min)繊維 と HSS(6km/min)繊維：一般に紡糸速度 5～7km/min で製造された繊維を高速紡糸（HSS (high-speed spun)）繊維と呼び¹⁰⁾、本研究では紡糸速度 5km/min および紡糸速度 6km/min の二種類の HSS 繊維を使用した。その他の紡糸条件はいずれも、紡糸温度：290℃、吐出量：1.5g/min/hole、ノズル径：1mm である。

今回用いた全ての PET 繊維には共通して、艶消し剤としての微粒子状の酸化チタン（TiO₂）がペレットの段階で混入されている。

2.2 PEN 繊維

紡糸速度 2～10km/min で作製された PEN 繊維を用いた。紡糸温度、吐出量、ノズル径はそれぞれ 310℃、4g/min/hole、1mm で、全ての繊維に共通である。今回用いた全ての PEN 繊維において、酸化チタンは含まれていない。

3. アルカリエッチング法

アルカリ水溶液によるポリエステル繊維の加水分解処理（アルカリエッチング）は、衣料用繊維の工業的な減量加工の手法として古くから知られており^{11), 12)}、同時にポリエステル繊維の構造解析の手法としても注目されてきた^{13), 23)}。特に PET 繊維のアルカリエッチングに関する研究は数多く報告されてきたが^{11) - 23)}、PEN 繊維の構造解析の手段としてアルカリエッチング法が用いられた例はまだ報告されていないようである。

本研究では、PET 繊維に対する過去の幾つかの報告を参考にして^{13), 14)}、以下の方法で PEN 繊維ならびに PET 繊維に対してアルカリエッチングを行った。ビーカーに 1～2cm に切断した繊維を少量取り、処理濃度 2.0M の NaOH 水溶液（加水分解促進剤 cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) を 0.1wt%含有）に浸して密閉し、50℃ に保たれた恒温槽中にて穏やかに振とうした。また、NaOH 水溶液／処理繊維の重量比（浴比）は 100 以上と十分大きくした。

4. 測定

4.1 繊維の構造的因子

各繊維の複屈折度は干渉顕微鏡（Carl-Zeiss Jena）を用いて求めた。また、結晶化度、微結晶サイズは管球式 X 線回折装置（Rigaku RINT 2100 FSL）を用いて求めた。

4.2 繊維直径の測定

エッチング処理前後の繊維の直径測定は、光学顕微鏡（OLYMPUS BX60）観察によって行った。

4.3 繊維の表面観察

エッチング処理前後の繊維の表面観察は、走査型電子顕微鏡（日立サイエンス S-3000N、以下 SEM と略す）と原子間力顕微鏡（SHIMADZU SPM 9500 J2、以下 AFM と略す）を用いた。

5. 結果および考察

5.1 PET 繊維のアルカリエッチング

過去の多くの報告において、PET 繊維のアルカリによるエッチング挙動は、繊維の表面からトポケミカルに進行し、繊維の直径減少（または重量減少）は処理時間に対して直線的に進行することが知られている^{13)・21)}。すなわち、酸化チタン粒子が抜け落ちることで生じる窪みを除くと、処理表面は常にスムーズであると報告されている。しかし、これまでの研究のほとんどが FOY 糸について行われたものであり、今回我々は POY 糸および HSS 繊維についても検討を行った。

Fig.1(a)-1(c)は、FOY 糸のアルカリエッチング処理前後の SEM 写真である。Fig.1 の3つの写真は、過去の報告^{13)・16), 20)}に示されたものと類似の、PET 繊維のアルカリエッチング処理前後の典型的な表面を示しており、酸化チタンの脱落による窪みを除くとスムーズな表面であるように見える。所々に認められる明るい粒状のものは酸化チタンである。繊維の直径減少量を処理時間に対してプロットしたところ、ほぼ直線的な直径減少が起こっていることが確認された。

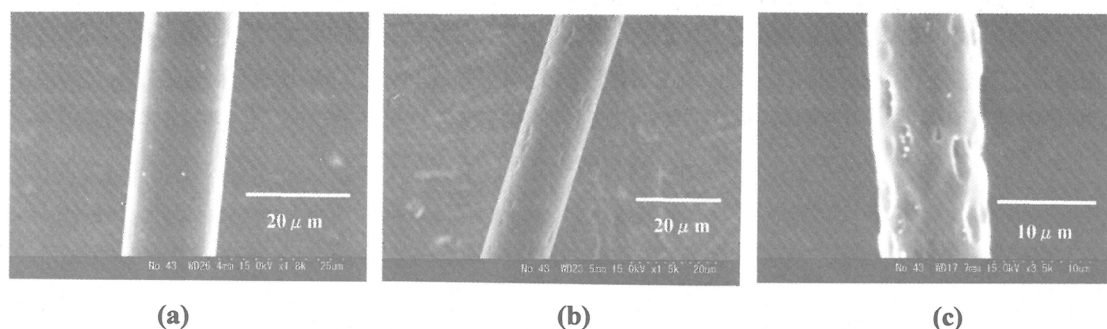


Fig.1 SEM photographs of hydrolyzed FOY-PET fibers; (a) before and (b, c) after treatment with 2.0M-NaOH at 50°C [(b) diameter loss =14%, (c) diameter loss=38%].

次に、FOY 糸とは紡糸条件の異なる POY 糸、HSS(5km/min)繊維および HSS(6km/min)繊維について、アルカリエッチング処理前後の SEM 写真をそれぞれ Fig.2 から Fig.4 に示す。各繊維とも直径減少量と処理時間の関係について調べたところ、FOY 糸同様にほぼ直線的な直径減少を示したが、繊維によってエッチング速度は大きく異なった。また、エッチング処理表面についても大きな違いが確認された。Fig.1 から Fig.4 の SEM 写真のうち、HSS(5km/min)繊維および HSS(6km/min)繊維のエッチング処理後表面に限っては、酸化チタン粒子の脱落による窪みとは明らかに異なる、繊維軸に沿った細長い溝の形成が観察された。溝の形成は、エッチングにおいて何らかの選択性が存在することを示しており、一般に言われてきたトポケミカルなアルカリエッチングの進行は、少なくとも今回用いた HSS 繊維では当てはまらないことがわかった。エッチングの選択性については、一般に凝集密度の低い部分が優先的に起こると考えられる。従って、高速紡糸により、繊維軸に沿って細長く続く密度の小さな構造と大きな構造とが並んで形成されていると考えられる。村瀬¹⁰⁾は、我々の知る限り唯一、HSS(10km/min)繊維のアルカリエッチング処理表面の SEM 観察写真

を報告しており、繊維軸に平行な溝の出現からマイクロフィブリルの存在を提示している。しかし、彼の示した SEM 写真に見られる溝の長さはせいぜい数 μm 程度で、無秩序に分布しているのに対し、我々の結果では、Fig.3 および Fig.4 から容易に想像できるように、繊維軸に沿った溝は、少なくとも 5mm 以上に渡って続いていることが確認されている。すなわち、繊維に沿って途切れることのない連続的な溝が形成されていると考えられる。これらの溝の出現の原因となる構造が、どのような過程で形成されるかについては現段階では明らかにできていない。

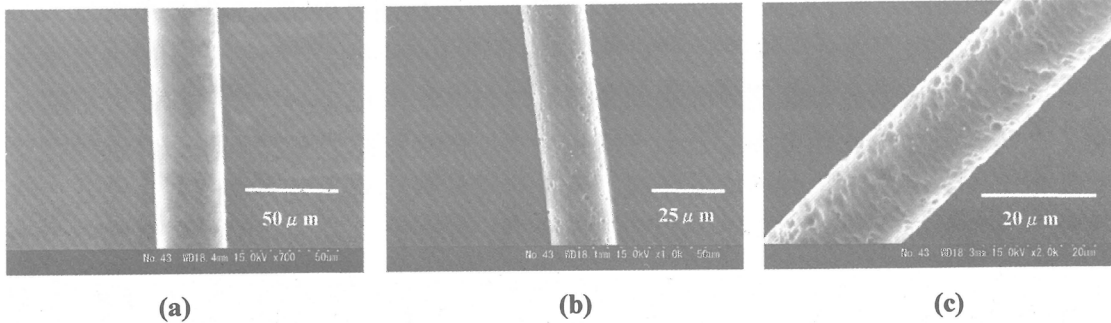


Fig.2 SEM photographs of hydrolyzed POY-PET fibers; (a) before and (b, c) after treatment with 2.0M-NaOH at 50°C [(b) diameter loss =21%, (c) diameter loss=52%].

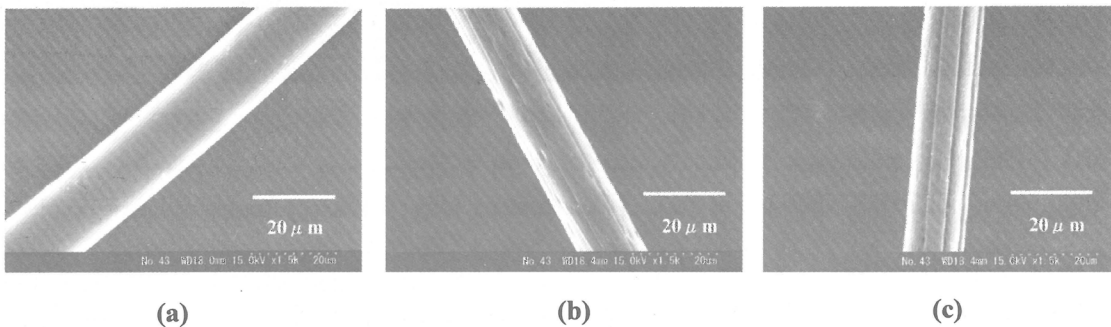


Fig.3 SEM photographs of hydrolyzed HSS(5km/min)-PET fibers; (a) before and (b, c) after treatment with 2.0M-NaOH at 50°C [(b) diameter loss =14%, (c) diameter loss=17%].

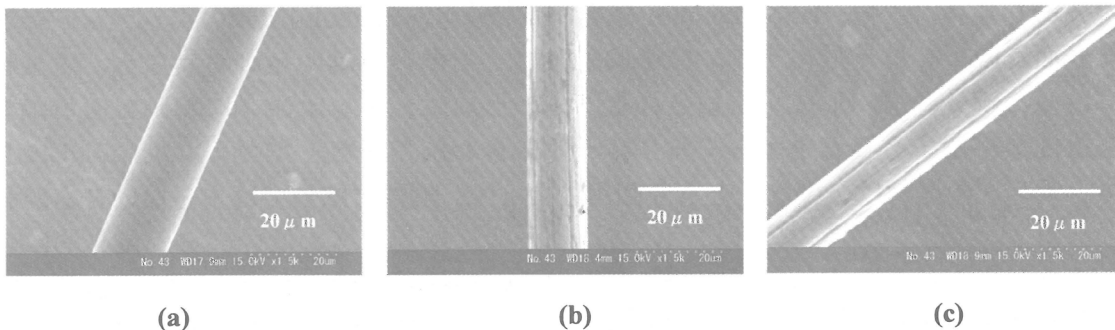


Fig.4 SEM photographs of hydrolyzed HSS(6km/min)-PET fibers; (a) before and (b, c) after treatment with 2.0M-NaOH at 50°C [(b) diameter loss=15%, (c) diameter loss=20%].

一方、Fig.1 から Fig.4 に示した各繊維のエッチング処理表面において、酸化チタン粒子が抜け落ちて生じたと考えられる窪みが多数観察されているが、形成される窪みの形状は繊維により異なっており、酸化チタン粒子自身の形状は SEM 写真からほぼ球状であるのに対して、FOY 糸および両 HSS 繊維の 3 つの繊維については繊維軸方向に細長い楕円状の窪みが、POY 糸については繊維軸方向とは垂直方向に細長い窪みが形成されていることがわかる。窪みの形状から判断すると FOY 糸も繊維軸方向にフィブリル状の構造を有していると予想されるが、HSS 繊維に比べるとフィブリル構造の発達の程度は小さいと考えられる。FOY 糸と HSS 繊維の結晶化度や複屈折等を比較すると (Table 1 参照)、FOY 糸は HSS 繊維に比べより高い複屈折の値を示しているが、結晶化度および微結晶サイズについてはいずれも低い値を示している。これらのことから、熱延伸過程を経ている FOY 糸では HSS 繊維に比べ非晶領域の配向性は向上するが、繊維の強度に対してより影響を与えるフィブリル構造の形成に関しては、高速紡糸法が効果的であることを示していると考えられる。

Table 1 Physical properties of various PET fibers.

PET type	FOY	POY 3km/min	HSS 5km/min	HSS 6km/min
Crystallinity (%)	36.1	~0	43.4	41.1
Crystallite size (nm)				
010 reflection	4.80	-----	5.31	5.84
110 reflection	4.19	-----	4.57	4.81
100 reflection	3.08	-----	4.11	4.85
$\bar{1}05$ reflection	4.94	-----	5.46	6.57
Birefringence	0.1306	0.0428	0.0870	0.1131

一方、FOY 糸および HSS 繊維とは異なり、繊維軸に垂直な方向に楕円状の窪みが形成された POY 糸では、繊維軸方向に凝集密度の差を持つ構造が発達していると考えられる。POY 糸については、Fig.5 に示した広角 X 線回折 (WAXD) パターンに見られる非晶ハローから判断して、ほぼ非晶相のみからなると思われる。しかし、若干ではあるが子午線方向よりも赤道方向のハロー強度の方が強いことから、弱いながらも繊維軸方向に分子鎖が優先的に配向していることがわかった。これらの結果も考察して、今回 POY 糸に対して SEM で観察された、繊維軸と垂直な方向に細長い窪みの形成理由については現在検討中である。なお、予備実験として POY 糸のエッチング処理中に起こる沸水収縮率を調べたが、今回確認された繊維軸に垂直な方向への楕円形窪みの形成を説明するものではなかった。

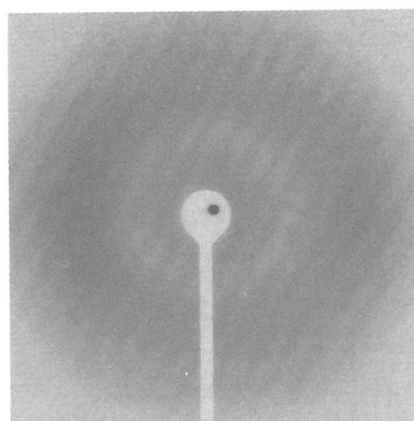


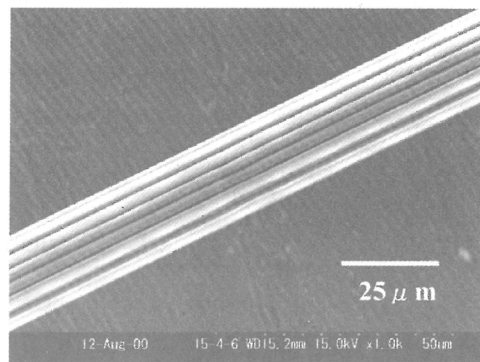
Fig.5 WAXD pattern of POY-PET fiber.

5.2 PEN 繊維のアルカリエッチング

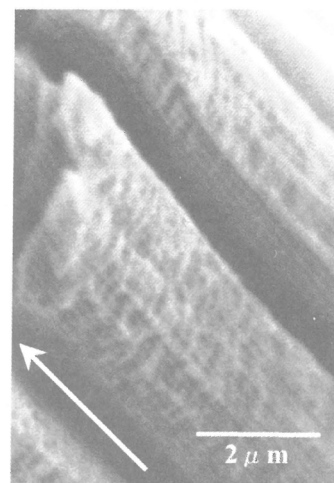
PEN 繊維のアルカリエッチング挙動については、我々の知る限りではこれまでのところ報告されていないので、まずその挙動を調べる手始めに、紡糸速度 6km/min PEN 繊維について、PET 繊維のときと同様、繊維の直径減少量とエッチング処理時間の関係を調べた。その結果、PET 繊維に観察された直線的な直径減少の傾向とは異なり、処理時間に対する直径減少はほとんどみられず、11 時間後にはフィブリル状の「ささくれ」が光学顕微鏡において観測された。観測されたささくれの太さは、原糸の直径が約 $20\mu\text{m}$ であるのに対して約 $4\mu\text{m}$ であった。

Fig.6(a)は、ささくれが観測され始めた処理時間に対応する SEM 写真（処理時間 11 時間）であり、フィブリル構造の存在を明らかにする写真であるといえる。Fig.6(a)における溝と溝との間隔は、およそ $4\mu\text{m}$ であり、ささくれのオーダーと一致している。また、この溝は繊維の長さ方向に対して途切れることの無い連続的な溝であることを確認した。一方、Fig.6(b)は、Fig.6(a)と同じ処理時間 11 時間後の処理表面を、より高倍率で観察した SEM 写真である。図中の白い矢印は繊維軸方向を示している。高倍率写真 Fig.6(b)から、各フィブリル表面において、繊維軸方向におよそ 150nm 、繊維軸と垂直方向におよそ 600nm の細かい網目構造の存在が確認された。

そこで、更に詳細な情報を得るため、より高い分解能での表面観察が可能である AFM によって PEN 繊維表面の観察を行った (Fig.7(a)-7(c))。走査範囲は、Fig.7(a)では $15\mu\text{m} \times 15\mu\text{m}$ 、Fig.7(b)では $4\mu\text{m} \times 4\mu\text{m}$ であり、Fig.7(a)の円で囲んだ領域の拡大像に相当している。Fig.7(a)に見られる畝状構造の各々は、Fig.6 の SEM 写真で観察されたフィブリルに対応している。Fig.7(c)は、Fig.7(b)に対して傾斜補正を行った像であり、試料の傾き、すなわち繊維本来の曲面性に起因する画像データの傾斜を補正した像である。Fig.7(c)では、特に溝の傾斜部分においては、薄いもので約 50nm の層が、厚いもので約 200nm 厚さの層が繊維軸方向に積み重なった積層ラメラ状の構造が確認された。しかし、 $50\sim 200\text{nm}$ という値はいわゆる積層ラメラ構造での長周期としてはやや大きすぎるので、1つの層に何枚かの結晶ラメラが重なっている可能性なども含めて、今後更に詳細に検討していく予定である。



(a)



(b)

Fig.6 SEM photographs of etched PEN fibers (spun at 6km/min) observed at different magnifications; (a) $\times 1000$, (b) $\times 7000$.

ちなみに、紡糸速度 6km/min 繊維のアルカリエッチング処理において見出されたフィブリル構造の存在は、紡糸速度 2~10km/min 繊維のうち、紡糸速度 4km/min 繊維を境とする高紡速側ではいずれの繊維においても同様に確認された。しかし、2km/min および 3km/min 繊維では、はっきりとしたフィブリル構造の存在は確認されなかった。

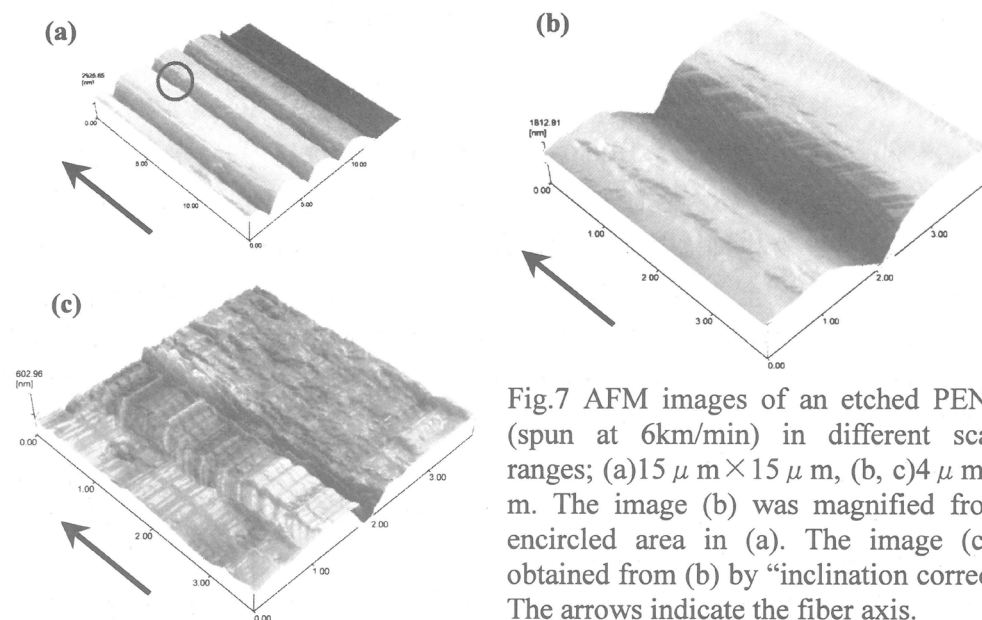


Fig.7 AFM images of an etched PEN fiber (spun at 6km/min) in different scanning ranges; (a) $15\mu\text{m} \times 15\mu\text{m}$, (b, c) $4\mu\text{m} \times 4\mu\text{m}$. The image (b) was magnified from the encircled area in (a). The image (c) was obtained from (b) by “inclination correction”. The arrows indicate the fiber axis.

そこで、紡糸速度の違いによる繊維の結晶構造の相違を調べるため、紡糸速度 2~10km/min の各 PEN 繊維について WAXD 測定を行った (Fig.8)。その結果、紡糸速度 4km/min よりも高速側の繊維では β 型結晶に起因する 2 本のピーク、すなわち $\beta(020)$ 反射および $\beta(200)$ 反射がはっきりと現れていることがわかる。 β 型結晶の反射が認められるようになる紡糸速度が、アルカリエッチング処理においてフィブリル構造の存在がはっきりと観察され始める紡糸速度と対応していることから、フィブリル構造の発現において β 型結晶の何らかの寄与が示唆される。一方、 β 型に比べて存在率は小さいながらも、 α 型結晶に起因するピーク、特に $\alpha(010)$ 反射が、紡糸速度 3~4km/min に

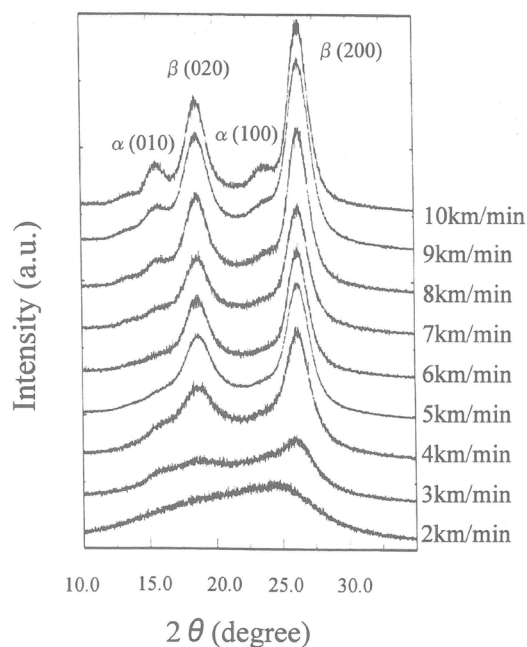


Fig.8 WAXD curves for the various PEN fibers.

において既に観測されていることがわかる。これらの事実と、 α 型、 β 型の2つの結晶形の違いを考慮した上で、例えば次のようなモデルが考えられる。すなわち、紡糸過程における緊張状態の下では、まず分子鎖の伸び切った α 型結晶によるシシ状構造が形成され、その後 β 型結晶によるカバブ状構造が形成されることにより、シシカバブ構造モデルに近い構造が連続的に形成されているのではないかと考えられ、今後、 α 型結晶上への β 型結晶のエピタキシャル成長が実際に起こりうるかどうかの検討も含めて、より詳細な研究を行っていく予定である。

6. おわりに

PET 繊維のアルカリエッチングに関する報告は数多く行われており、既に尽くされたかのようにも思われている。しかし、今回我々が得た結果は、高速紡糸 PET 繊維において、エッチング処理により繊維軸方向に途切れず続く溝が形成されるという、これまでの結果とは全く異なる新しいものであった。従って、昨今製造されている様々な構造的特徴を有する PET 繊維の機械的特性を考察する上で、機器分析により得られる物性値とともに、アルカリエッチングにより得られる視覚的な形態情報が、必要不可欠なものであると考えられる。

一方、PEN 繊維にアルカリエッチング処理を施すことにより、疑いようのないフィブリル構造の存在を示す表面形態が得られた。また、それぞれのフィブリル内の更に細かい構造を捉えることにも成功した。現段階では観察されたフィブリル構造の発現機構の解明までには至っていないが、今後、処理方法や観察方法を改善することで、エッチング法が微結晶レベルでの視覚的な構造解析の手段となり、その結果、フィブリル構造の発現機構の解明に繋がることを期待している。

謝辞

本研究の一部は、平成 12 年度発足「文部科学省 科学研究費補助金 特定領域研究 (B)：高分子の結晶化機構」および平成 12 年度京都大学化学研究所「所長リーダーシップ研究費」により行われた。

文献

- 1) C. J. M van den Heuvel, E. A. Klop, *Polymer*, **41**, 4249 (2000).
- 2) G. Wu, Q. Li, J.A. Cuculo, *Polymer*, **41**, 8139 (2000).
- 3) K. Miyata, H. Ito, T. Kikutani, N. Okui, *Sen-i Gakkaishi.*, **55**, 542 (1999).
- 4) G. Wu, J. A. Cuculo, *Polymer*, **40**, 1011 (1999).
- 5) A. Nagai, Y. Murase, T. Kuroda, M. Matsui, Y. Mitsuishi, T. Miyamoto, *Sen-i Gakkaishi.*, **51**, 478 (1995).
- 6) A. Nagai, Y. Murase, T. Kuroda, M. Matsui, Y. Mitsuishi, T. Miyamoto, *Sen-i Gakkaishi.*, **51**, 470 (1995).
- 7) N. Iizuka, K. Yabuki, *Sen-i Gakkaishi.*, **51**, 463 (1995).

- 8) K. Miyata, T. Kikutani, N. Okui, *J. Appl. Polym. Sci.*, **65**, 1415 (1997).
- 9) K. Miyata, H. Ito, T. Kikutani, N. Okui, *Sen-i Gakkaishi.*, **54**, 661 (1998).
- 10) Y. Murase, *Sen-i Gakkaishi.*, **47**, P-564 (1991).
- 11) S. H. Zeronian, M. J. Collins, *Textile Chemist and Colorist.*, **20**, 25 (1988).
- 12) D. Balmforth, *Text Chem.Col.*, **14**, 118 (1982).
- 13) T. Ochi, Y. Maeda, M. Fukuhara, *Sen-i Gakkaishi.*, **51**, 493 (1995).
- 14) M. J. Collins, S. H. Zeronian, M. Semmelmeier, *J. Appl. Polym. Sci.*, **42**, 2149 (1991).
- 15) S. H. Zeronian, M. J. Collins, *Text. Prog.*, **20**, 1 (1989).
- 16) J. Dave, R. Kumar, H.C.Srivastava, *J. Appl. Polym. Sci.*, **33**, 455 (1987).
- 17) Y. H. Kim, H. M. Lee, and J.-C. Kim, *J. Korean Fiber Soc.*, **37**, 118 (2000).
- 18) K. Hashimoto, *Sen-i Gakkaishi*, **14**, 510 (1958).
- 19) S. Kuriyama, M. Korematsu, *Sen-i Gakkaishi*, **16**, 110 (1960).
- 20) E. M. Sanders, S. H. Zeronian, *J. Appl. Polym. Sci.*, **27**, 4477 (1982).
- 21) B. M. Latta, *Textile Res. J.*, 766 (1984).
- 22) Y. Kawahara, T. Yoshioka, K. Sugiura, S. Ogawa, T. Kikutani, *J. Macromol. Sci. Phys.*, **B40**, 189 (2001).
- 23) Y. Kawahara, T. Yoshioka, M. Tsuji, M. Ohara, S. Kohjiya, T. Kikutani, *J. Macromol. Sci. Phys.*, **B39**, 701 (2000).

電子のジャンプを制御する高分子ナノ構造の設計

伊藤 紳三郎・大北 英生

Shinzaburo Ito, Hideo Ohkita

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. 緒言

高分子材料の応用分野はますます広がり、その発展は次々に新しい研究領域を産み出している。とりわけ電子材料としての利用は高分子の大きな発展分野となっている。ポリチオフェン・ポリアセチレンをはじめとする導電性高分子、ポリビニルカルバゾールのような光導電性高分子、その他、電子やホールの輸送機能をもつ様々な電子材料が高分子により開発されており、最近では、透明、薄膜、柔軟という性質、さらに成形加工や環境資源という面からも優れた高分子の特質が改めて認められ、プラスチックエレクトロニクスという言葉が流布されるまでになった。

一方、分子スケールでの構造制御と分子集積技術の開発は、ナノテクノロジーの提言を待つまでもなく、化学の重要な課題として取り組まれてきた。精密合成による新しい化学構造をもつ高分子の出現、自己組織化の理解と利用、さらに表面界面の微細構造解析技術の進歩により、真に分子1個のレベルでの構造制御と集積とが可能になりつつある。このような状況を踏まえて我々の研究室では、機能材料を支える重要な基本プロセスである電子移動のナノ構造による制御を試みている¹⁾。電子のやりとりを制御できるような高分子構造の設計と構築の研究を通して、電子移動についての実証的理解とともに、素過程から設計された光・電子機能材料の創製を目指している。本稿では、高分子固体中において1電子がジャンプする距離という立場から電子移動の基本過程について考えてみたい。

大半の高分子は電気的には絶縁体と言われている。しかし、これは電気を流さないという意味では

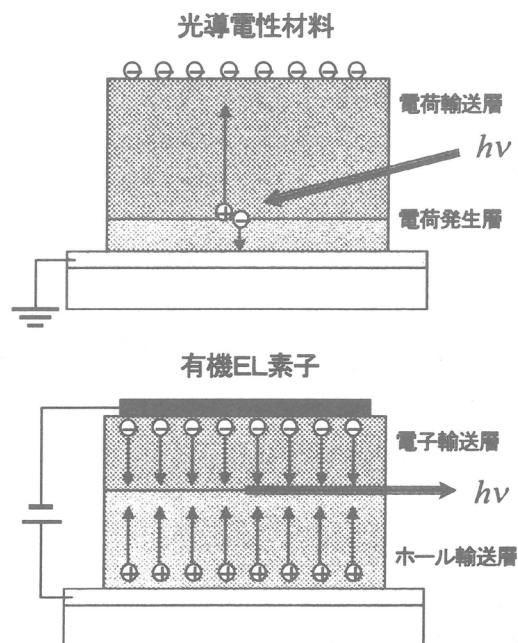


Figure 1 光導電性感光材料（上）と有機EL材料（下）の概念図

ない。Figure 1 にはコピー機として広く使われる光導電性感光層（上）や有機EL素子（下）の概念図を示した。両者で用いられる有機材料は通常は絶縁体に分類される電気伝導度しか示さないが、上図では光の照射により発生したキャリアが有機層の中を移動し、下図では電極から注入されたホールや電子が有機層の中を輸送されて再結合発光する。電気を流して立派に機能しているのである。このような電子の流れは、媒体に分散した機能基の間の電子移動が基本になっている。たとえばよく研究されているポリビニルカルバゾールでは、電子供与性のカルバゾール基がホールの発生・輸送を担っており、Figure 2 に模式的に示したように、高分子媒体中でのカチオンラジカル（D）のホッピングが電子移動の律速過程と考えられている。高度に配向した導電性高分子や有機結晶、無機半導体ではバンドモデルによって電子の輸送過程を考えるが、大半のアモルファス高分子材料では構造の不均一性を反映してエネルギー準位が不連続かつ分散しており、これらの準位の間を電子が外部電場や熱活性化の助力によりホッピング移動することになる。Figure 2 に描かれたように、分子間の相互配置や距離には様々な程度があり、それに応じてエネルギーの安定化が起こる。中にはダイマーカチオンラジカル（D）や不純物に由来するようなトラップ（T）サイトが存在し、深い束縛準位となる。したがって各機能基の空間配置を厳密に規定し制御することが重要であり、また電子移動の空間尺度を知ることが現象の理解と構造構築の指針を与えるために不可欠である。

そこで本稿では、

「高分子材料の中で電子はどのくらいの距離をジャンプするのか？」

あるいは別の表現をすると、

「電子のジャンプを制御する構造構築にはどのくらいの距離精度が必要なのか？」

という疑問に答える研究を紹介する。高分子超薄膜の積層により作製されたナノ構造により電子移動の距離を実証したものであり、最近の超薄膜技術の進歩によりえられた成果である。

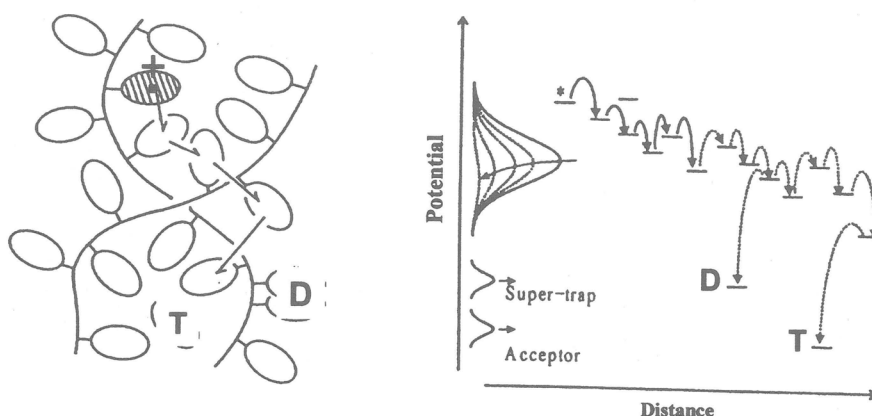


Figure 2 高分子固体中におけるカチオンラジカルの移動と安定化

2. 電子機能をもつ高分子超薄膜の作製

高分子超薄膜とは分子レベルの薄さをもつナノ薄膜であり、単分子膜や吸着膜あるいはそれらの積層膜を作製することにより、2次元からナノ構造の構築を行うことができる。現在までに知られているもっとも薄い高分子超薄膜はわずか 0.4 nm の膜厚であり、ポリイミド系単分子膜を用いて実現される。その他の一般的な高分子単分子膜の膜厚でも約 1 nm に過ぎない。一方、電子移動は分子間の電子雲の重なりによる近距離相互作用であり、遷移双極子の共鳴による励起エネルギー移動と比べて反応距離は短いものと予測される。このことは電子移動の制御にはより精密な距離制御が必要とされることを意味している。そのため、本研究ではポリイミド単分子膜をベースポリマーとして選択し、膜構造により電子ドナー(D)と電子アクセプター(A)の距離を制御した。

光誘起電子移動は光合成の初期過程として、ポルフィリン(D)―イミド(A)系で広く研究されてきた。そのなかでも特筆すべき研究は Osuka らのグループが行った一連の研究である²⁾。彼らは Figure 3 左に示したようなポルフィリン基とイミド基を連結した DA モデル化合物を多数合成し、高速時間分解分光測定により DA 間で起こる光誘起電子移動の基本特性を明らかにした。我々の方針はこのような合成的手法によるモデル系の構築ではなく、Figure 3 右に示したように、超薄膜を用いてそのナノ構造により DA 系の集積体を構築するものである。積層する膜物質の種類と配置を自由に変えることにより DA 基の相互の空間配置を設計制作するとともに、マクロサイズの基板上に構築されるナノ機能表面として、より現実的に利用できる電子機能材料を提供できる利点がある。

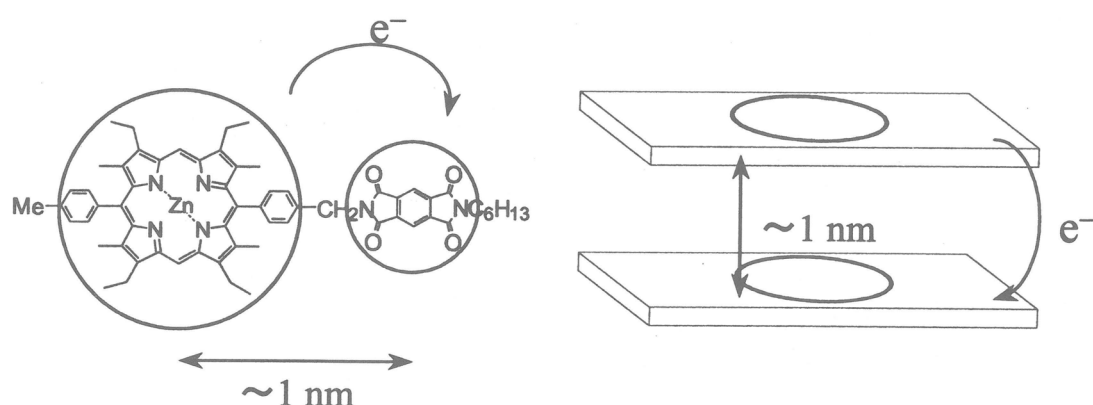


Figure 3 ポルフィリン―イミド系の (左) 合成的手法による構築と (右) 超薄膜技術による構築

Figure 4 には用いたポリイミドの化学構造を示した。D としてポルフィリンのジアミン、A としてピロメリット酸ジイミドを導入した。各々のポリアミック酸を合成した後、Kakimoto らの手法によりポリア

ミック酸アルキルアミン塩(PAA)とした³⁾。これを水面展開することにより単分子膜として所定の順序と層数を累積して、ナノ構造を構築した。通常の芳香族ポリイミドではベースポリマーのジアミン、イミド基がそれぞれ DA 性をもつため、目的とするポルフィリン、ジイミド間の電子移動を観察するための障害となる。そこで、本研究では DA 性の弱いエーテル系のポリイミドをベースポリマーとしたが、このポリマーは耐溶剤性が低いため化学処理によるイミド化の際に積層構造が壊されるという欠点があった。処理条件を探索した結果、化学処理にアセトニトリルを用いることで層構造を保持したままイミド化できることを見出した。

Figure 5 には、作製した 10 層のポリアミック酸アルキルアミン塩(PAA)ならびにポリイミド (PI) 膜の AFM 像を示した。左図の中央四角はカンチレバーで掘削し基板表面を露出させた部分である。その他の

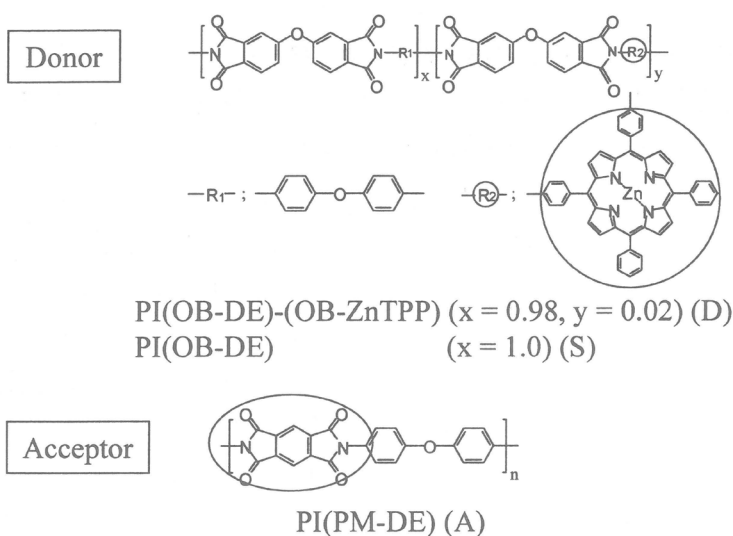


Figure 4 電子ドナー、アクセプターとしてそれぞれポルフィリン基、ピロメリット酸ジイミド基を導入したポリイミド単分子膜の化学構造

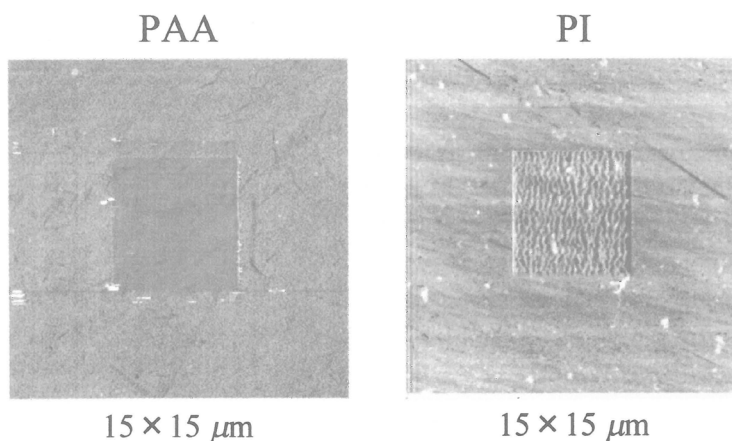


Figure 5 ポリアミック酸アルキルアミン塩(PAA)ならびにポリイミド(PI)膜 10 層の AFM 像

部分は PAA の積層膜である。均一な膜が基板の上に積層されており、その膜厚はラインプロフィルの段差から 1 層当たり約 1 nm であることがわかる。同じ操作を PI 膜についても行ったが、右図に示したようにこの膜は強固なため掘削できず、膜厚を測定することはできなかった。そこで光学的手法により膜厚を測定した。

Figure 6 は表面プラズモン測定 of 反射率を入射角に対してプロットしたもので、PAA 膜の 1 層から 7 層についての測定結果を示している。膜厚に依存して、表面プラズモン共鳴吸収角が広角側にシフトしており、この共鳴曲線をフレネル式により解析することにより、膜厚をもとめることができる。膜厚の累積層数依存性を PAA 膜と PI 膜について示したのが Figure 7 である。両ポリマーとも累積回数に対して比例して膜厚が増加し、その勾配から膜厚は PAA 膜については 0.91 nm、PI 膜については 0.4 nm と求められた。分子モデルを考慮すると、この膜厚は芳香環が基板に対して平行に接したときの環の厚みと考えられ、実際、導入されたポルフィリン基が基板に平行に平面上に 2 次元配向していることが偏光 UV-Vis 吸収スペクトルにより確認された。このように分

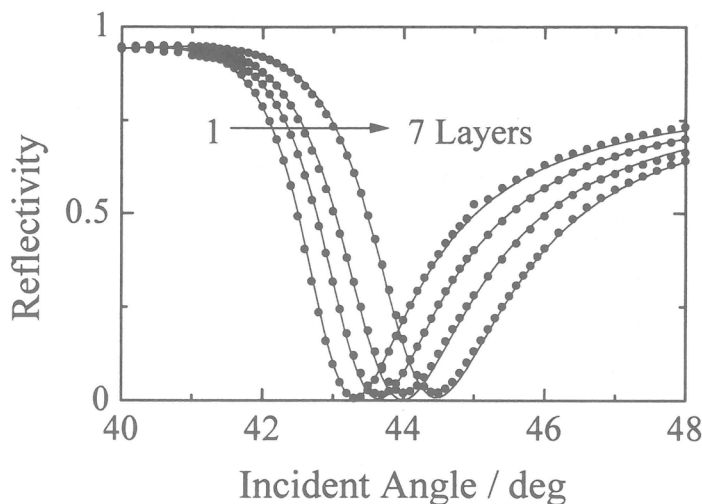


Figure 6 PAA 積層膜において観測された表面プラズモン共鳴吸収曲線。実線はフレネル式により、膜厚と屈折率を最適化した理論曲線

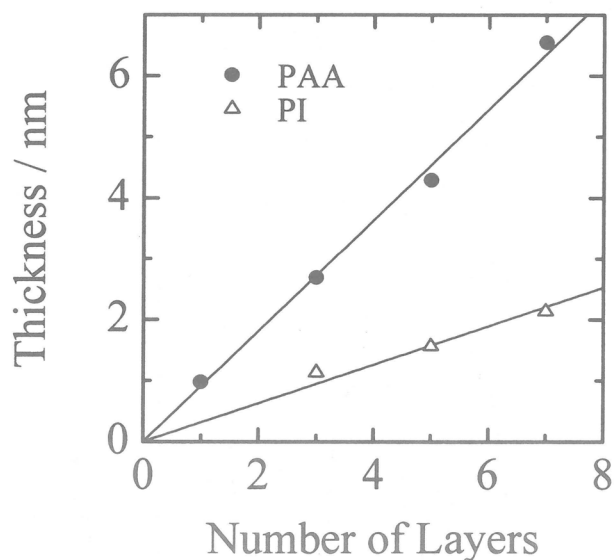


Figure 7 表面プラズモン測定により求められた PAA 膜厚 (●) および PI 膜厚 (△) の層数依存性

子膜としては極限の薄さをもつ PI 超薄膜を作製できることがわかった。

3. 高分子超薄膜のナノ構造による光誘起電子移動の制御

石英基板上に A としてピロメリット酸ジイミドを用いた PI 膜を n 層 ($n=1, 3, 5, 7$)、D としてポルフィリン基を 2% 導入した PI 膜を 1 層積層した多層複合膜を (DAn) 作製した。その層構造を Figure 8 に示した。繰り返しになるが、各層の膜厚は 0.4 nm であり、この値を単位にして DA 基間の距離制御を行うことができる。ここでは、D 層から A 層への電子移動能力 (A 層の電子捕捉能力) を検証するために Figure 8 のような構造を作製した。

ポルフィリン基は 420 nm に吸光度の大きな Soret 帯吸収をもつことから、この波長で D 層を選択励起することができる。Figure 8 の構造をもつ DAn 膜 ($n=1, 3, 5, 7$) の蛍光分光測定を行った。Figure 9 に蛍光スペクトルと、D1 層を基準としたときの各試料の相対蛍光強度を示した。対象とする試料

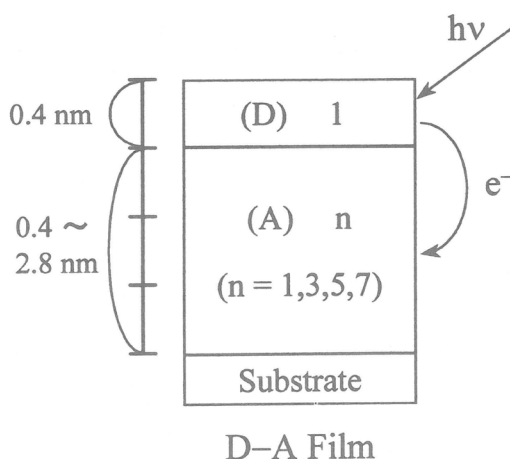


Figure 8 ポリイミドの D 層および A 層を積層した DAn 多層膜における光励起と電子移動

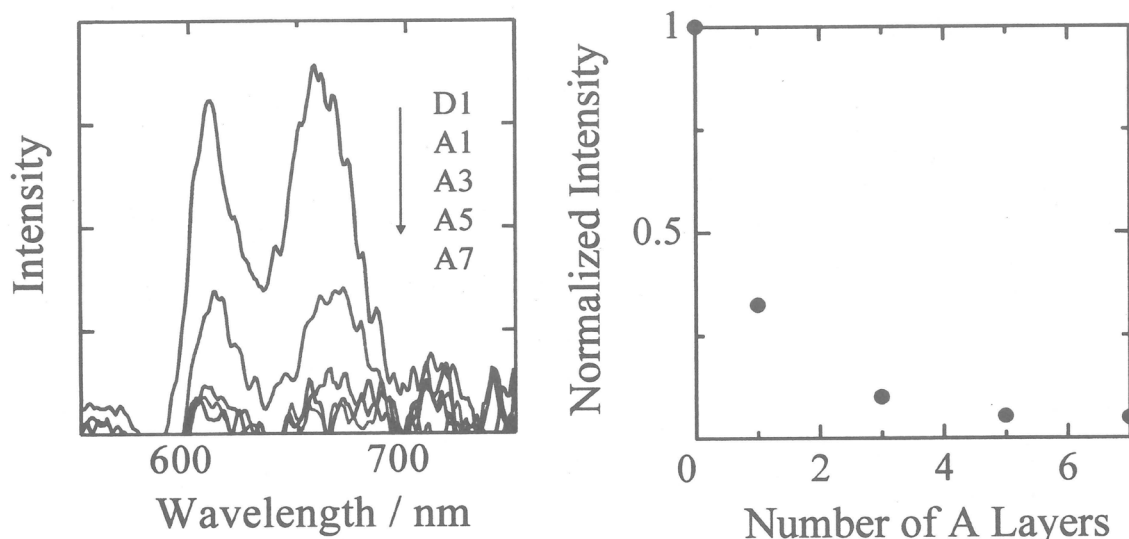


Figure 9 ポリイミド DAn 膜の蛍光分光スペクトル (左) と D1 膜を基準とした相対蛍光強度の n 依存性 (右)

は単分子膜であり、かつその中に色素は 2%しか導入されていないため、蛍光強度は極めて弱い。その上に A 層による電子移動消光を受けるためさらに微弱になる。したがってシグナルの S/N は悪いが、A 層の存在により電子移動が起こることが蛍光消光度より測定できた。Figure 9 右には A 層の層数によって蛍光強度が減少する様子が示されており、1 層の A 層で消光率は約 70 %、3 層以上ではほぼ 100 % 電子移動消光を受けることがわかる。後に述べるが、A として用いたピロメリット酸ジイミドは電子受容基とし

て十分な電子親和力を持ち、かつ A 層の PI には 100%の組成で導入されているため、たとえ単分子膜 1 層であっても大きな消光能力をもつことが予測された。実際には約 30%の分率で消光されない成分が観測されたことから、一部の膜欠陥の存在が示唆された。このような解釈に立つと、欠陥は層数を重ねることで覆われ、3 層の累積によりほぼ完全に修復されたものと考えられる。このような欠陥はイミド化処理によってアルキルアミン鎖が脱離する際に膜が収縮して生じるものと思われる。以前の研究において異種のポリイミド超薄膜でも報告されている。

次に Figure 10 に示すような層構造をもつ一連の多層膜 (DSnA) を作製した。ここでは D 層も A 層も 1 単分子層を用い、両者の間を電子的に不活性なスペーサー層 (S) ($n=0, 1, 2, 3$) により隔離した構造を作製した。1 層が 0.4 nm であることから、DA 層間距離を 0~1.2 nm のナノスケールで変化させたことに相当する。前述の系と同様に D 層を選択励起し、電子励起状態となった D 層から電子が移動することにより消光される分率を、蛍光分光測定によりもとめた。実測された各試料の蛍光スペクトルと蛍光相対強度のプロットを Figure 11 に示した。基準となる試料 D1 と比較して、D 層と A 層とが接している DS0A の試料では電子移動により大きく蛍光強度が減少するが、S 層を挿入して両者を離していくと、蛍光強度は回復する。このような層数依存性は電子移動の距離依存性を直接示している。DS3A の試料では蛍光強度は元の D1 の値まで復帰しており、電子移動は反応半径が 1.2 nm

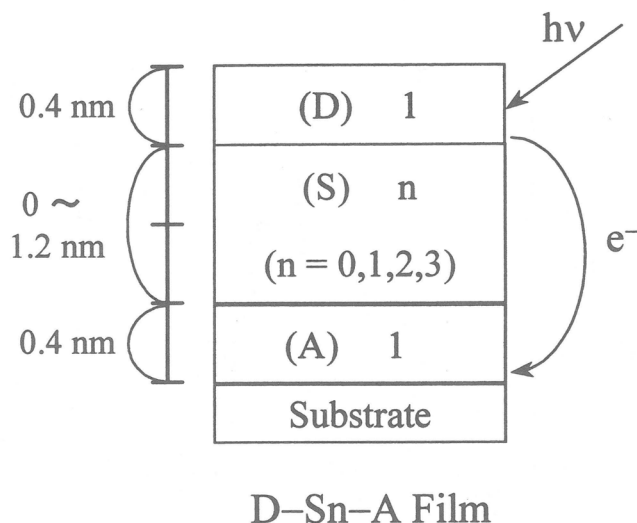


Figure 10 ポリイミドの D 層および A 層を積層した DSnA 多層膜における光励起と電子移動

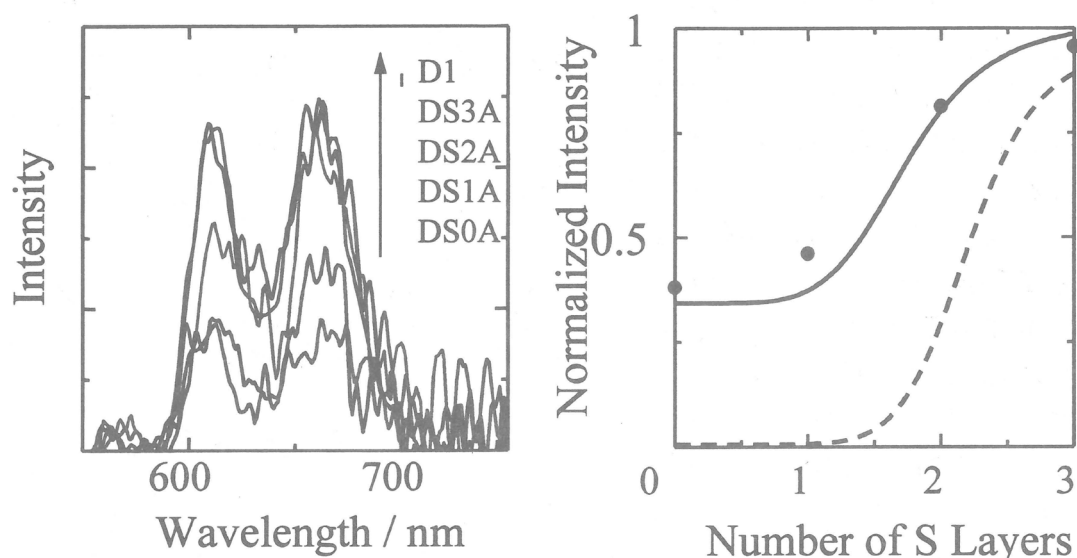


Figure 11 ポリイミド DS_nA 膜の蛍光分光スペクトル（左）と D1 膜を基準とした相対蛍光強度の n 依存性（右）

以下の近距離相互作用であることが示されている。

電子移動は空間的に広がった電子雲の重なりによって起こる。Figure 12 は D と A との電子分布がエネルギー一致の条件の下に重なる様子を模式的に示したものである。電子の存在確率は距離に対して指数関数で低下するため、電子移動速度 k_{ET} も距離 R の指数関数で表せる。

$$k_{ET} = k_0 \exp(-R / L)$$

ここで、 k_0 , L は定数であり、 k_0 は 10^{12}s^{-1} から 10^{13}s^{-1} の値を、 L は 0.1 nm 前後の値をとることが多くの系で見いだされている。そこで、D としてポルフィリン、A としてピロメリット酸ジイミドの低分子モデル化合物を PMMA 媒体に共分散させ、後者の濃度変化により前者の蛍光の消光度を測定した。ランダムに DA 分子が高分子マトリクスに分散されるとすると、計算機シミュレーションにより上式を用いて消光度を再現することが

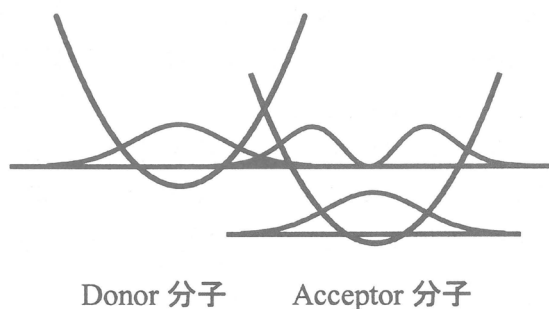


Figure 12 D 分子と A 分子のポテンシャルエネルギーと電子雲の重なり

できる。パラメータが2つあるため任意性が残るが、他の電子移動系の情報をも参考にして、低分子分散系での結果をよく再現する値として、 $k_0 = 5 \times 10^{12} \text{ s}^{-1}$ 、 $L = 0.11 \text{ nm}$ ととめた。この値が本研究で採用した DA 分子について妥当であることは、Figure 9 や Figure 11 の蛍光消光の層数変化を再現できることでも分かる。例えば Figure 11 の実線は、DA 基を超薄膜中に分散した系について計算機シミュレーションを行い、上述のパラメータによりもとめた消光曲線である。先に述べたように 20% の膜欠陥を含めることにより、上式は実験結果をよく再現することが分かった。この実線ならびに電子移動消光の実測結果からもわかるように、電子雲の空間分布を反映して電子移動効率は 1 nm 以下の距離で著しく変化しており、いかにナノ構造の精密制御が電子機能に重要であるかを実証している。これまでに低分子 LB 膜のアルキル鎖長を変化させることにより、色素間の電子移動効率を変化させた研究が報告されている。しかし、我々の知る限り、人為的に制御できる層数により電子移動効率を変えた例はない。高分子超薄膜が分子の世界で極限の薄さをもつが故に可能になったことといえる。

4. 結語

以上の実験例で示したように、2次元高分子超薄膜をコンポーネントとして3次元ナノ構造を精密に構築することが可能になってきた。「電子の動き」は機能材料のもっとも広く重要な素過程であり、その制御は人知に基づいた新しい電子機能材料の設計、作製には欠かせない基礎技術である。高分子超薄膜の作製方法もここで述べた単分子膜に限らず、吸着膜、表面グラフト膜など、いくつかのより実用を意識した方法が開発されており、現実には電子機能界面創製の基盤は着々と整いつつある。

文献

- 1) H. Ohkita, H. Ishii, S. Ito, M. Yamamoto, *Chem. Lett.*, 1092 (2000).
H. Ohkita, H. Ishii, T. Ogi, S. Ito, M. Yamamoto, *Radiat. Phys. Chem.*, **60**, 427 (2001).
- 2) A. Osuka, S. Nakajima, T. Okada, S. Taniguchi, K. Nozaki, T. Ohno, I. Yamazaki, Y. Nishimura, N. Mataga, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **35**, 92 (1996).
- 3) M. Kakimoto, M. Suzuki, T. Konishi, Y. Imai, M. Iwamoto, T. Hino, *Chem. Lett.*, 823 (1986); Y. Nishikata, A. Morikawa, M. Kakimoto, Y. Imai, Y. Hirata, K. Nishiyama, M. Fujihira, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1772 (1989).

リビングラジカル重合: 触媒探索と高分子精密合成

澤本 光男・上垣外 正己・安藤 剛

Mitsuo Sawamoto, Masami Kamigaito, Tsuyoshi Ando

京都大学 大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

20世紀の後半に端を発したラジカル重合の精密制御の研究と開発は、この数年間にさらに加速され、「リビングラジカル重合」の報告が相次ぐ中で、その方法論や重合機構の体系化と新規重合系・触媒系の開拓、また実用化を目指す開発研究など、広範な展開が国際的にも注目されている¹⁻³⁾。本講演集¹⁾や総説²⁾にもこれまで述べたように、我々は「遷移金属錯体によるリビングラジカル重合」を見出し(図1)³⁾、新規金属触媒(図2)と精密重合系の開発およびそれらに基づく高分子の精密合成を続けている。平成12年度(2000)に終了した「独創的高機能材料創製技術」(精密重合)プロジェクトに続き、経済産業省・NEDO・JCIIによる「ナノテクノロジー・プログラム」においても、「精密高分子材料」プロジェクト(平成13-19年度; 2001-2007)が開始され、ラジカル重合における高分子の分子量と立体構造を中心とする一次構造精密制御を目標とする広範な研究が展開されている。

本稿では、これらの我々の研究のうち、とくに下記の諸点について最近の成果を要約する。

- (a) 高効率添加剤-高速リビングラジカル重合と高分子量リビングポリマー
- (b) 高活性・高適合性触媒-新規ルテニウム錯体の設計
- (c) 非共役ビニルモノマーのリビングラジカル重合
 - 二核型鉄(I)錯体触媒による酢酸ビニルの精密ラジカル重合

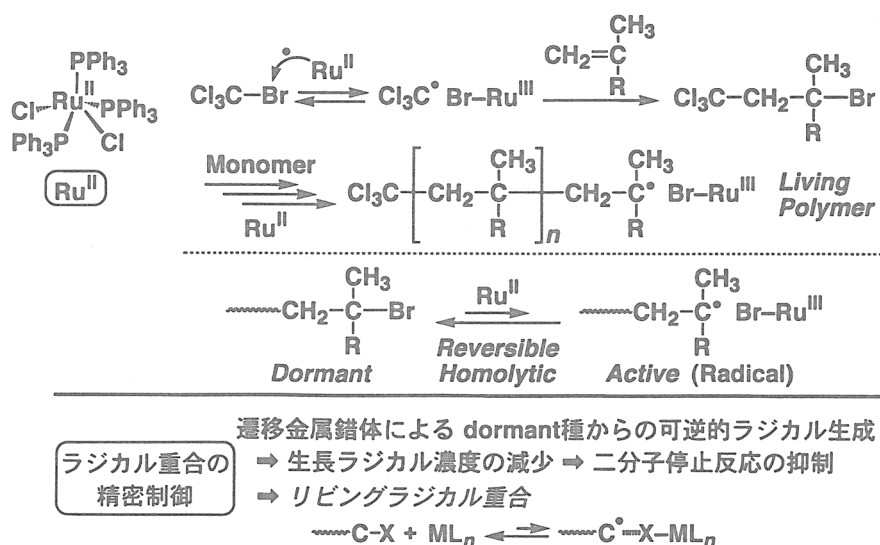


図1. 遷移金属錯体によるリビングラジカル重合。

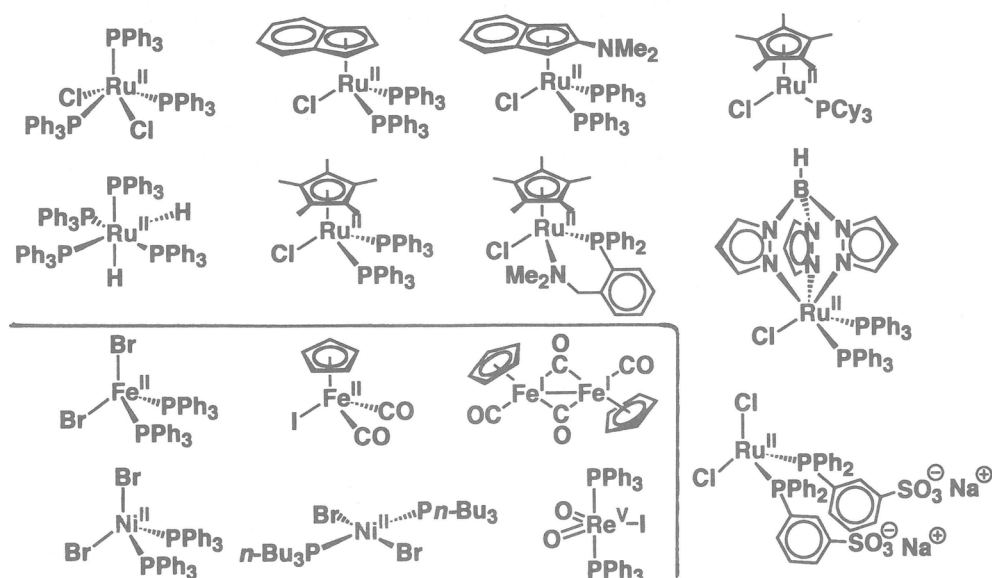


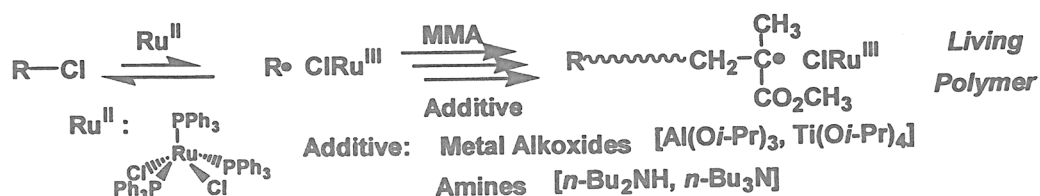
図2. リビングラジカル重合の種々の遷移金属錯体触媒。

図2に示すように、リビングラジカル重合には現在、ルテニウム(II)、ニッケル(II)、鉄(I)、鉄(II)、銅(I)など種々の後周期遷移金属の錯体が触媒として用いられている。これらの錯体では、有機金属錯体化学や有機化学、あるいはオレフィン重合におけると同様に、中心金属の属性に加えて、共有結合や配位結合で錯体を構成する置換基あるいは配位子の電子的・立体的性質が触媒の活性と選択性(モノマーへの適合性)を大きく変化させる。その意味で、言うまでもなく、錯体触媒の設計はリビングラジカル重合の開発にきわめて重要であり、本稿でも、これに着目し、とくにリビング重合の特徴を保持したままでの重合の加速、分子量のより精密な制御(狭い分子量分布の実現)、および非共役モノマーへの拡張について検討した結果を議論する。

2. 高効率添加剤—高速リビングラジカル重合と高分子量リビングポリマー⁴⁾

リビングラジカル重合では、生長ラジカル濃度を低下させて重合の精密制御を達成するため、従来のラジカル重合と比較して一般に重合速度が低いことが課題とされている。ルテニウム錯体はメタクリル酸メチル(MMA)など種々のモノマーのリビングラジカル重合に有効であるが、とくに配位子などとともに、これらの錯体の触媒活性や選択性が添加物(活性化剤、助触媒)によっても制御できる点にも特徴がある。たとえば、塩化ルテニウム $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3; \text{Ph} = \text{C}_6\text{H}_5]$ 触媒による重合に、添加物としてアルミニウムイソプロポキシド $[\text{Al}(\text{O}i\text{-Pr})_3]$ やジブチルアミン $[\text{NHBu}_2]$ などを加えると、重合が明確に加速され、生成高分子の分子量分布が狭くなる¹⁻³⁾。

このような観点から、ルテニウム錯体によるMMAのリビングラジカル重合において添加物を探索した(図3)。こうして有効であることが新たに見出された添加物には、強いルイス酸である希土類アルコキシド $[\text{Ln}(\text{O}i\text{-Pr})_3; \text{Ln} = \text{ランタニド}(\text{Yb}, \text{Er}, \text{Sm}, \text{etc.})]$ ^{4d)}、水酸基とアミノ基を併せ持つアミノアルコール $[\text{HO-R}'\text{-NR}_2; \text{R}', \text{R} =$



Additives

1 Lanthanide Alkoxides $\text{Ln}(\text{O}i\text{-Pr})_3$

$\text{Yb}(\text{O}i\text{-Pr})_3$ $\text{Er}(\text{O}i\text{-Pr})_3$ $\text{Sm}(\text{O}i\text{-Pr})_3$ etc.

2 Amino Alcohols $\text{HO} \sim \text{NR}^1\text{R}^2$

$\text{HO} \sim \text{NH}i\text{-Pr}$ $\text{HO} \sim \text{NEt}_2$ $\text{HO} \sim \text{NET}_2$ etc.

3 Metal Amino Alkoxides $\text{ClAl}(\text{O} \sim \text{NR}^1\text{R}^2)_2$

$\text{ClAl}(\text{O} \sim \text{NH}i\text{-Pr})_2$ $\text{ClAl}(\text{O} \sim \text{NEt}_2)_2$ $\text{ClAl}(\text{O} \sim \text{NET}_2)_2$ etc.

図3. 遷移金属錯体によるリビングラジカル重合の種々の添加物。

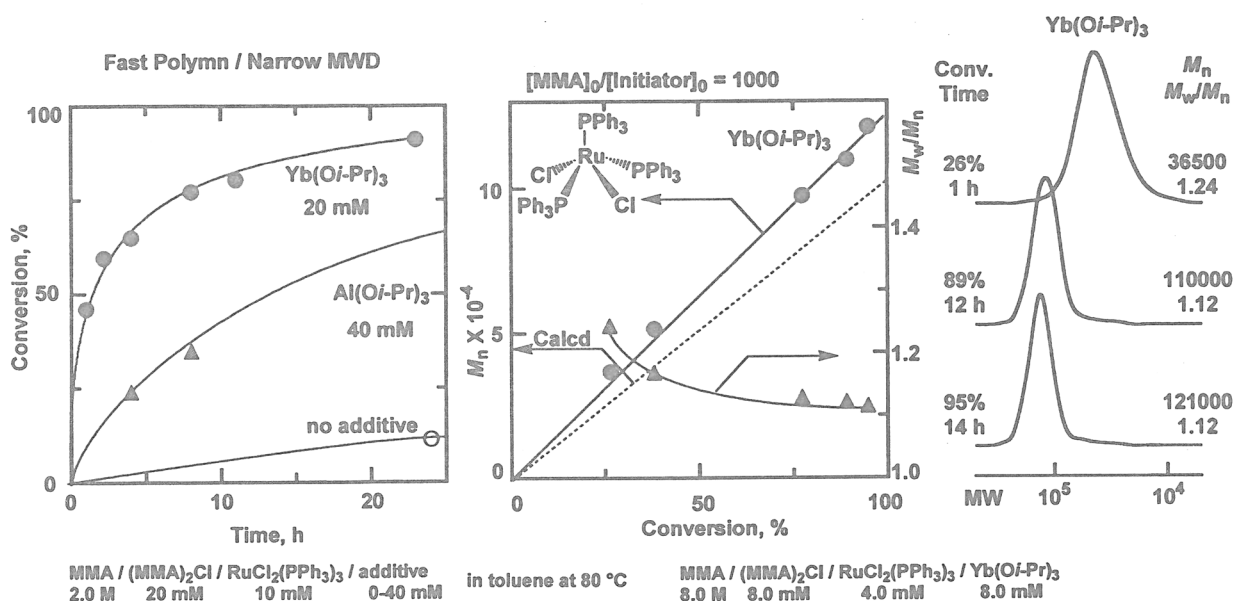


図4. $\text{Yb}(\text{O}i\text{-Pr})_3$ 添加物によるMMAのリビングラジカル重合の加速と分子量制御。

アルキル基など]^{4c)}, およびこれらと $\text{Al}(\text{O}i\text{-Pr})_3$ のハイブリッドともいえるアルミニウムのアミノアルコキシド $[\text{Al}(\text{O}-\text{R}^1-\text{NR}_2)_3]$ ^{4a,4b)}がある。

たとえば、ルテニウム錯体 $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3$ によるMMAの重合は、添加物なしではほとんど進行しないかきわめて遅いが、ここにイッテリビウム化合物 $[\text{Yb}(\text{O}i\text{-Pr})_3]$ を少量添加すると、 $\text{Al}(\text{O}i\text{-Pr})_3$ を用いた場合以上に加速され、分子量分布のより狭いリビングポリマーが生成する(図4)。

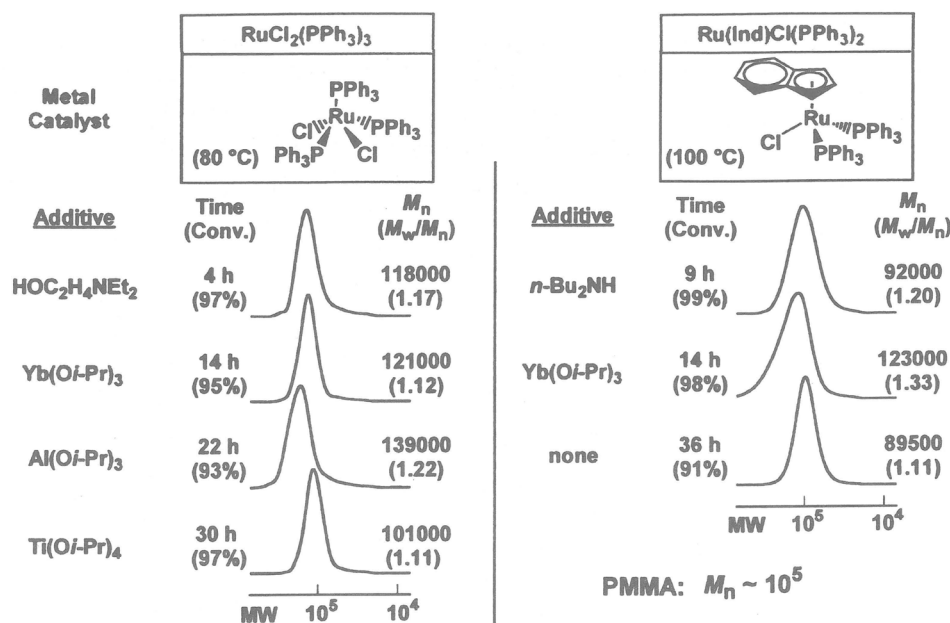


図5．種々の添加物とルテニウム錯体による高分子量リビングポリマーの合成。

添加物によるリビング重合のもう一つの特徴は、その高速性を用いて、分子量10万以上で分布の極めて狭い高分子量体が合成可能な点である。これまでの実例を図5に要約した。2種のルテニウム錯体を用いる系で、このような高分子量体が数時間の重合で得られることがわかる。

これらの添加物は、その構造や電子的性質が異なっているが、モデル反応などから一般にルテニウム錯体に作用し、たとえばホスフィン配位子との交換などにより、単離は困難だがより高活性の触媒を生成するものと推定されている。この点は、モノマーやハロゲン末端のドーマント種との相互作用による加速の可能性も視野に入れ、重合機構と関連させて今後も検討が必要がある。

3．高活性・高適合性触媒—新規ルテニウム錯体の設計

3-1. *P,N*-配位子型ルテニウム錯体⁵⁾。一般にルテニウム錯体にはホスフィン配位子が含まれているが、前節の結果は、これらの配位子とアミン、アルコールなど酸素、窒素を含む電子供与性基を導入すると、リビングラジカル重合触媒として高い活性あるいは汎用性を示すことを示唆している。そこで、まずホスフィンとアミノ基を分子内に持つ種々の化合物をルテニウム錯体に対して添加物として用いた(図6; 次頁)。事実、これらの*P,N*-型添加物は重合を明確に加速して、しかもきわめて分子量分布の狭いリビングポリマーを与えた(図7; 次頁)。とくにこの重合では、*P,N*-型添加物のホスフィン基とアミン基に対応する一官能性化合物を単独あるいは混合して加えた場合より加速が著しく、アミノアルコール(前節参照)の場合と類似して4a,4b)、同一分子内にある2種の官能基の協同作用が重要なことを示唆している。

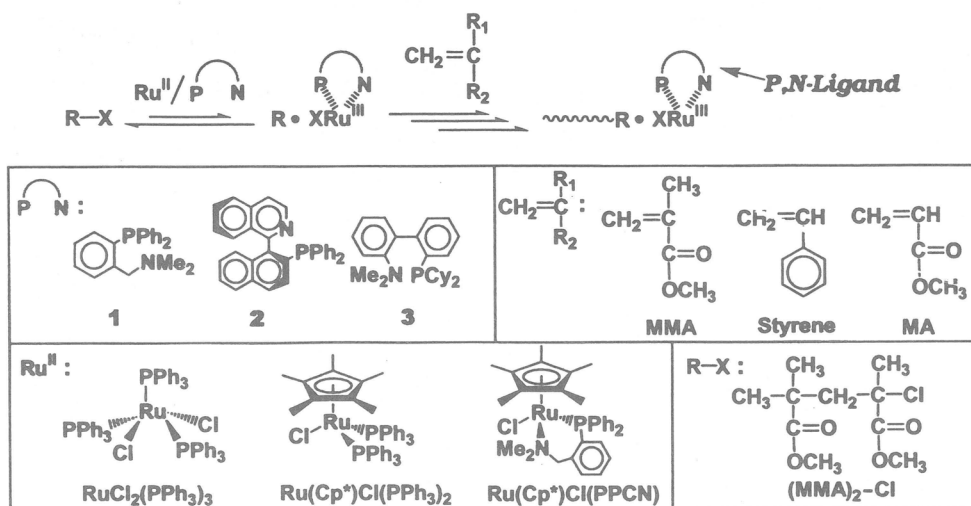


図6. *P,N*-型添加物と*P,N*-配位子型ルテニウム錯体によるリビングラジカル重合。

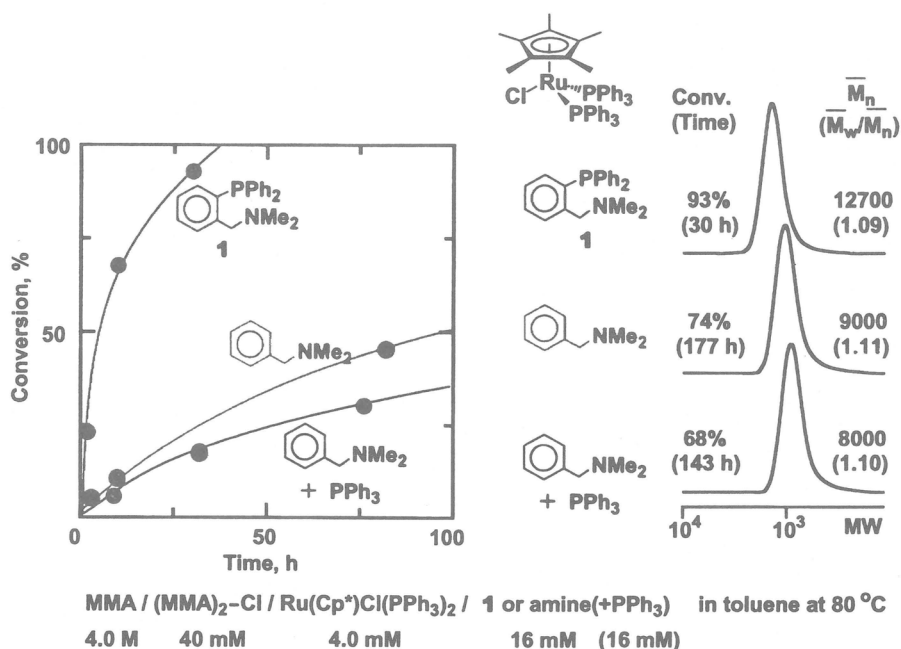


図7. *P,N*-型添加物によるMMAのリビングラジカル重合—官能基の協同効果。

上記の結果に基づいて、同様な構造の*P,N*-配位子を持つルテニウム錯体を新たに合成・単離し、触媒として検討した(図8)。この錯体 $[Ru(Cp^*)Cl(PPCN)]$ は、*P,N*-配位子をもたない対応する錯体 $[RuCl(Cp^*)(PPh_3)_2]$; Cp^* = ペンタメチルシクロペンタジエニル] より酸化還元電位が低く、添加物を加えなくてもより速い重合を開始することがわかった。ただし、生成高分子の分子量分布はまだ広く、この点を含め、今後さらに検討する。

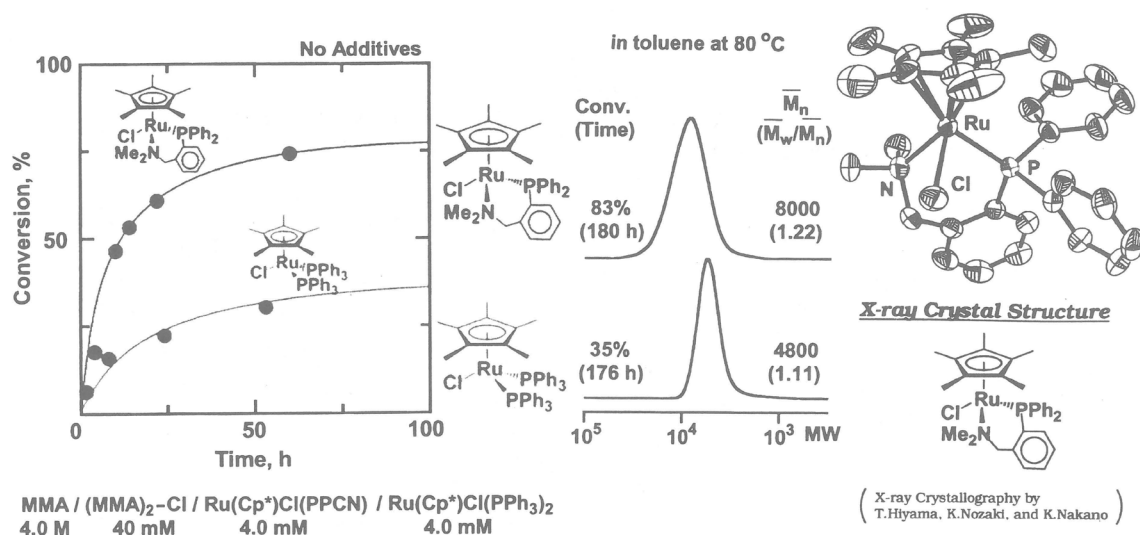


図8. *P,N*-配位子型ルテニウム錯体 $[Ru(Cp^*)Cl(PPCN)]$ によるリビング重合。

3-2. アミノインデニル型ルテニウム錯体⁶⁾. 添加物と同様に、電子供与性基を錯体の配位子に導入しても、活性と選択性が高い触媒が得られることも最近明らかとなった。たとえば、インデニル(Ind)型ルテニウム錯体 $[Ru(Ind)Cl(PPh_3)_2]$ は、これまでに汎用性で比較的高活性の錯体として知られているが、その共役系 Ind 置換基に電子供与性のアミノ基を導入した錯体 $[Ru(N-Ind)Cl(PPh_3)_2]$ は、Ind 錯体に比べ高速の重合を進行させ、きわめて分子量分布の狭いポリマーを生成した(図9)。

また、図10(次頁)に比較したように、この新規錯体は、汎用性・選択性の面でも優れ、適当な開始剤と組み合わせると、メタクリル酸エステル、アクリル酸エステル、およびスチレンの何れに対しても有効でリビング重合を進行させる。

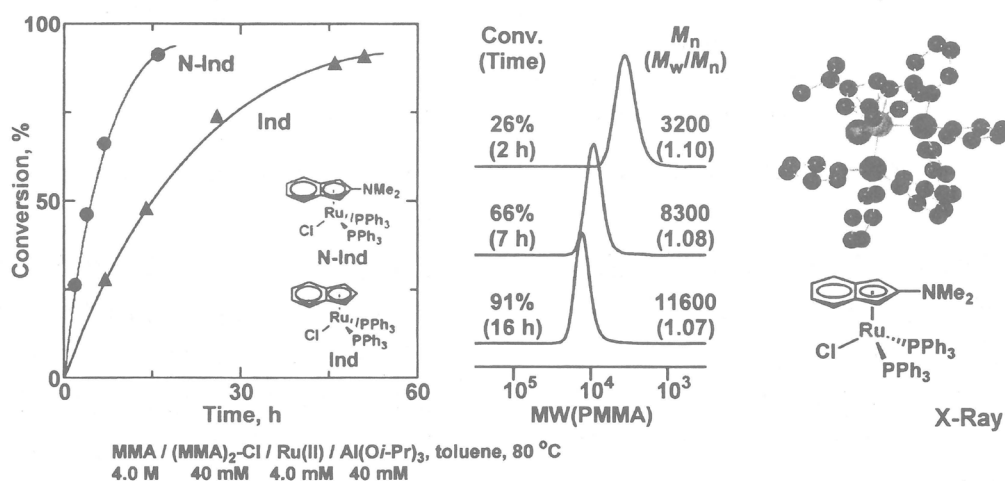
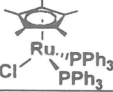
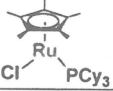
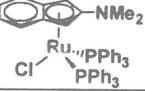
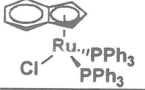


図9. アミノインデニル型ルテニウム錯体によるMMAのリビングラジカル重合。

Half-Metallocene-Type Ruthenium Complexes
 • Fast Living Polymn • Fine MW Control • Versatility

Monomer Ru(II)	$\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CO}_2\text{CH}_3$	$\text{CH}_2=\text{CH}$ 	$\text{CH}_2=\text{CHCO}_2\text{CH}_3$	Features
	○ (-Cl)	○ (-Cl, -Br)	○ (-Cl, -Br, -I)	Versatile
	○ (-Cl)	×	×	Fast
	○ (-Cl)	○ (-Cl, -Br)	○ (-Br, -I)	Fast Versatile
	○ (-Cl)	○ (-Br)	×	Convenient

O: Living X: Not Living

図10. 種々の置換基・配位子を持つルテニウム錯体によるリビングラジカル重合—錯体の構造と選択性(モノマー適合性)および活性の比較。

4. 非共役ビニルモノマーのリビングラジカル重合

—二核型鉄(I)錯体触媒による酢酸ビニルの精密ラジカル重合⁷⁾

すでに指摘されているように²⁾, 遷移金属錯体による重合を含み, 一般にリビングラジカル重合は極性・共役性置換基を持つビニルモノマーに対して実現しており, 酢酸ビニル(VAc), 塩化ビニルに代表される非共役モノマーのリビングラジカル重合はまだ実現していなかった。事実, 我々がMMAなどに有効であることを見出した多くの金属錯体を用いて酢酸ビニルを重合を試みても, 重合がまったく起こらないか, オリゴマーが低収率で生成するのみであった(図11)。

しかし最近, 一価の鉄(I)の二核型錯体がラジカル重合のとくに活性の高い触媒であり, これをヨウ素型開始剤と組み合わせて用いると, 酢酸ビニルから高収率で高分子が生成することが明らかとなった(図12)。生成物の分子量分布は比較的狭く, しかもその数平均分子量は重合率に比例して増加し, モノマーと開始剤のモル比によっても少なくとも分子量2万程度までは分子量を規制可能であった。重合が定量的でないなど, まだ検討すべき課題は少なくないが, これらの結果は, 設計された錯体を触媒として用いると, 酢酸ビニルをはじめとする非共役モノマーのリビングラジカル重合が実現する可能性を示している。

謝 辞 本研究は, 通商産業省・工業技術院, 新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)の委託を受けた化学技術戦略推進機構(JCII)による「独創的高機能材料創製技術」プロジェクト(平成8-12年度), および経済産業省, NEDO, JCIIによる「精密高分子材料」プロジェクト(平成13-19年度)の一環として行ったものであり, 御支援に感謝いたします。また日本化学繊維研究所の援助にも謝意を表します。

Monomer	R-X			
$\text{CH}_2=\text{CH}$ O $\text{C}=\text{O}$ CH_3 VAc	CH_3 $\text{CH}_3-\text{C}-\text{X}$ $\text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ EMA-X (X = Br, I)	$\text{CH}_3-\text{CH}-\text{I}$ O $\text{C}=\text{O}$ CH_3 VAc-I		
Solvent	Additive			
Anisole	Al(Oi-Pr) ₃			
Benzene	Al(Ot-Bu) ₃			
Toluene	n-Bu ₂ NH			

Polymn			
R-X	R-I	R-I	R-Br
Temp.	60 °C	80 °C	80 °C
Time	27 h	137 h	360 h
Conv.	56%	6%	31%
M _n (M _w /M _n)	10800 (1.87)	800 (2.35)	900 (2.54)
Products	Long-Lived Polymer	Oligomer	Oligomer

No Polymn				
R-X	R-I	R-I	R-I	R-I
Temp.	80 °C	80 °C	80, 100 °C	60, 100 °C

図11. 種々の金属錯体による酢酸ビニルのリビングラジカル重合の検討。

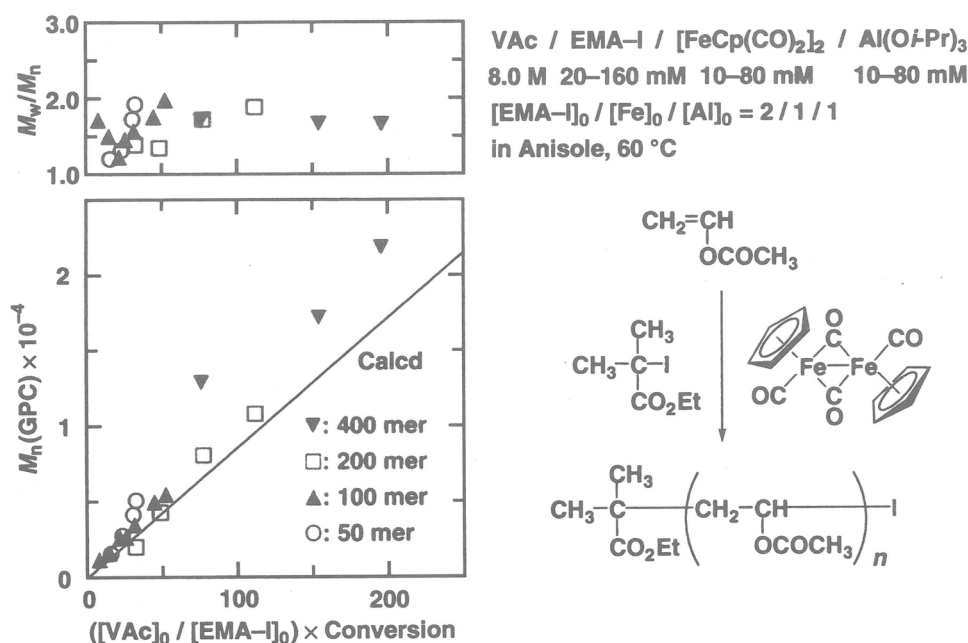


図12. 二核型鉄(I)錯体触媒による酢酸ビニルのリビングラジカル重合の可能性。

文 献

- 1) 澤本光男, 上垣外正己, 安藤剛, 化繊研講演集, **56**, 61 (1999); **57**, 9 (2000); **58**, 1 (2001).
- 2) 最近の総説: (a) M. Kamigaito, T. Ando, M. Sawamoto, *Chem. Rev.*, **101**, 3689 (2001). (b) 上垣外正己, 澤本光男, 現代化学, **2001** (6), 34. (c) M. Sawamoto, M. Kamigaito, *CHEMTECH*, **29** (6), 30 (1999). (d) 上垣外正己, 澤本光男, 高分子加工, **47**, 537 (1998). (e) 澤本光男, 上垣外正己, 高分子

論文集, **54**, 875 (1997).

- 3) 原報: (a) 加藤充, 上垣外正己, 澤本光男, 東村敏延, *高分子学会予稿集*, **43**, 1792 (1994). (b) M. Kato, M. Kamigaito, M. Sawamoto, T. Higashimura, *Macromolecules*, **28**, 1721 (1995). (c) T. Ando, M. Kato, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *Macromolecules*, **29**, 1070 (1996).
- 4) (a) 澤内千絵, 浜崎真也, 大内誠, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, *高分子学会予稿集*, **49**, 227 (2000). (b) 澤内千絵, 大内誠, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, *高分子学会予稿集*, **49**, 1525 (2000). (c) 澤内千絵, 大内誠, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, *高分子学会予稿集*, **50**, 105 (2001). (d) 澤内千絵, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, *高分子学会予稿集*, **50**, 1172 (2001).
- 5) 小林さやか, 大西勇, 中原淳裕, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, *高分子学会予稿集*, **50**, 1173 (2001).
- 6) 渡辺康弘, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, *高分子学会予稿集*, **49**, 1523 (2000); **51**, 1C19 (2002).
- 7) (a) 脇岡正幸, 白京烈, 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, *高分子学会予稿集*, **50**, 2563 (2001). (b) M. Wakioka, K.-Y. Baek, T. Ando, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *Macromolecules*, **35**, 330 (2002).

3元トリブロック共重合体の相転移

山内一浩・長谷川博一・橋本竹治

Kazuhiro Yamauchi, Hirokazu Hasegawa, Takeji Hashimoto

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1 はじめに

ブロック共重合体は、その特異なモノマー配列が分子の集合構造並びに系の物性を決定するという点に化学的興味を喚起し、またブロック鎖間の（末端における）たった一つの化学結合点が、分子集合構造の物性物理に革命的な変化をもたらす点に物理学的興味を感じさせる。これらの興味深い現象は、ひとえにブロック共重合体を構成するブロック鎖のモノマー単位間の短距離斥力的相互作用とブロック鎖同志の末端での連結効果により生ずるブロック鎖間の長距離相互作用との競合から生まれる。モノマーの連結効果の探究が高分子科学の基礎であることを考えると、ブロック共重合体の分子集合構造と物性に関する研究は、高分子科学の基礎研究の本流の一つと考えざるを得ない。

A-B 型ジブロック共重合体の代わりに A-B-C 三元トリブロック共重合体を考えるとき、上記、短距離相互作用と長距離相互作用の競合は、さらに複雑になる。なぜなら、各々の相互作用の中に更に新たな競合（A-B, B-C, C-A 競合）が発生するからである。然し如何に複雑であるからといっても、モノマー連結効果を問題とする高分子科学が自然科学の中で重要であると認知される限りにおいては、この問題を避けることはできないはずである。

他方、ブロック共重合体は工学的にも重要である。何故なら各成分間に作用する斥力相互作用の大きさに応じてそれぞれの分子の大きさに起因したナノメートルスケールの周期構造を形成する。それ故ブロック共重合体は非常に有望なナノテクノロジー材料であり、その材料物性、機

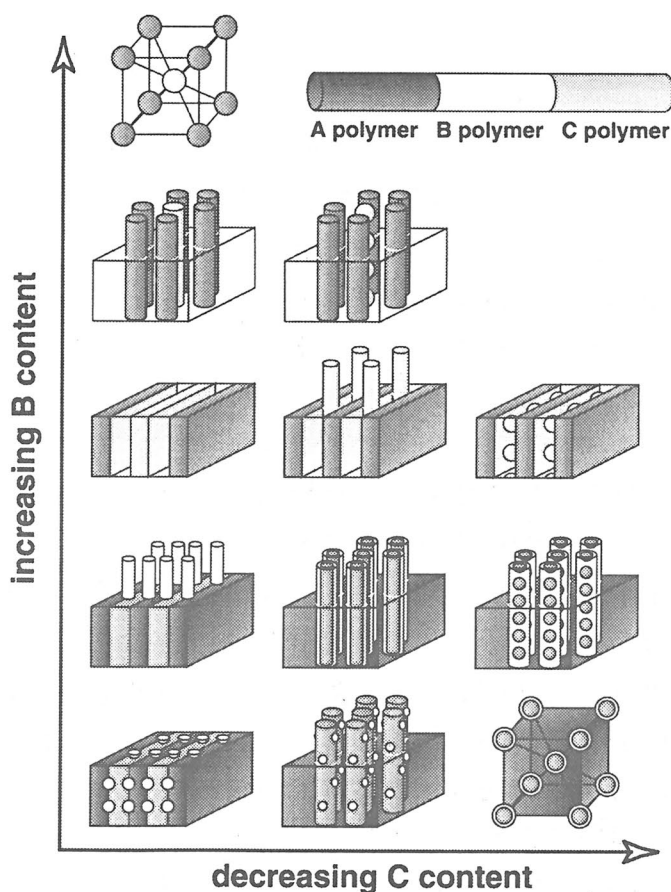


Figure 1: Possible microdomain morphologies for three-phase structures of ABC triblock terpolymers composed of lamellar, cylindrical and spherical microdomains.

能性の向上を目的としたマイクロ相分離構造（ナノ周期構造）制御法の確立は工学的にも最重要研究課題の一つである。特に、異なる3種の高分子からなる3成分トリブロック共重合体の場合は共重合組成に依存し、2成分ジブロック共重合体とは比較にならないほど極めて多彩で複雑なナノメートルスケールの構造を形成することがこれまでにわかっている¹⁻⁸。図1に3成分トリブロック共重合体のマイクロ相分離構造のモデル⁸を示すが、これらは2成分系で観察される球状、シリンダー状、ラメラ状の3種のマイクロ相分離構造の組み合わせのみを考えた時に発現する比較的単純な構造であり、共連続構造や、3成分系で初めて観察される構造^{9,10}等を含めることで3成分トリブロック共重合体の形成するマイクロ相分離構造の多彩さは飛躍的に増大する。

以上のように、3成分トリブロック共重合体の特徴の1つがマイクロ相分離構造の多様性である。しかしながら、複雑であるがゆえその構造形成過程並びに相転移現象の解明は全くなされておらず、これまでの報告も3種の高分子間に強い斥力相互作用が働く系を用いた場合に限り、最終的に形成された数多くのナノパターンについて議論するのみであった。

3成分トリブロック共重合体の構造形成過程並びに相転移現象の解明は、多彩なマイクロ相分離構造の制御に必要なだけでなく、その現象自体が、2成分系の延長線上では考えられない、全く新たな研究課題である。

3成分トリブロック共重合体の場合(3成分をA成分、B成分、C成分とする)、A-B, B-C, C-Aの3種類の相互作用が働くことで相転移が競合する。これはA-B間の相互作用しか持たない2成分系の相転移では観察されない現象である。また、試料中のあるA成分のみが相構造を形成した場合、残りのBC成分はお互い相溶状態にありながらも秩序相を形成しなければならない。その結果、相溶状態にあるBC成分の秩序化はマイクロ相分離構造中、つまりナノメートルスケールの拘束空間において構造形成が進行する。ナノ拘束空間における構造形成も2成分系では観察されない現象である。

本研究では、以上のような3成分トリブロック共重合体の3成分相互間の相転移の競合、また相転移の結果起きるナノ拘束空間における構造形成過程に着目し、これらを系統的に明らかにすることを目的とした。そのため、試料としてポリイソプレン(PI)、重水素化ポリスチレン(DPS)、ポリビニルメチルエーテル(PVME)からなる3成分トリブロック共重合体(PI-*b*-DPS-*b*-PVME)を用いた。PIはDPSあるいはPVMEと低温で非相溶、高温で相溶のUCST(上限臨界共溶温度)型の相図を有し、DPSはPVMEと低温で相溶、高温で非相溶のLCST(下限臨界共溶温度)型の相図を持つ¹¹。即ちPI-*b*-DPS-*b*-PVMEはUCST型とLCST型の相挙動を同時に内包する非常に特殊な試料であり、その相挙動は興味深い。

特に、各成分間の秩序-無秩序転移温度が比較的低いPI-*b*-DPS-*b*-PVMEにおいては、3成分間相互の相溶性が温度により様々に変化するため、極めて複雑な多重相転移が起こることが予想される。この多重相転移のその場観察には、温度変化による小角中

性子散乱(SANS)および小角X線散乱(SAXS)測定が適している。図 2 に両散乱測定における散乱コントラストを示すが、本試料は SAXS 測定と SANS 測定において各成分間のコントラストが異なるため両散乱測定より相補的で異なる知見を得ることができる。複雑な相転移過程の解析には非常に有利であり、両者を比較することにより相溶状態を知ることができる。

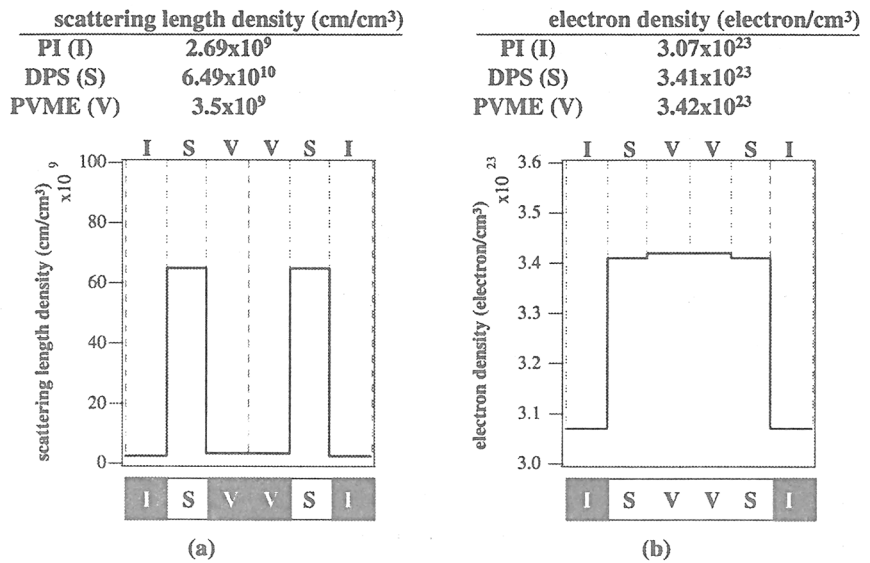


Figure 2. Scattering contrast ((a):SANS, (b):SAXS)

2 試料および実験

PI-*b*-DPS-*b*-PVME 試料（以後 IDSV2 と略称する）は、リビングカチオン重合法により合成した末端官能基を有する PVME を、別にリビングアニオン重合法により合成した PI-*b*-DPS ジブロック共重合体のリビングアニオン末端とカップリングさせることにより合成した^{12,13}。その数平均分子量は 3.2×10^4 、重量組成比は 0.15 : 0.74 : 0.11 である。PVME は吸湿性であるため SANS 及び SAXS 測定に先立ち、IDSV2 を 1 週間真空オーブンを 50℃ で十分乾燥させた。IDSV2 の SANS 及び SAXS 測定は共に 5℃/20~30min の降温（または 昇温）速度で 30~200℃ の温度域において行った。また、真空下(SANS)あるいは窒素雰囲気下(SAXS)で測定を行い試料の劣化を防いだ。得られた散乱プロフィールについては通常の補正を行った。

3 多重相転移

試料の SANS 測定結果を図 3 に SAXS 測定結果を図 4 に示す。両測定共に周期構造を示唆する散乱ピークを与えるが、秩序-無秩序転移に特徴的な 1 次ピークの半値半幅の明確な不連続変化は観察されなかった。次に、両散乱測定結果より求めた試料の構造周期を表す 1 次ピークのブラッグ面間隔 D ($D=2\pi/q_m$, q_m はピーク位置における散乱ベクトルの値)の温度依存性を図 5 に示す。

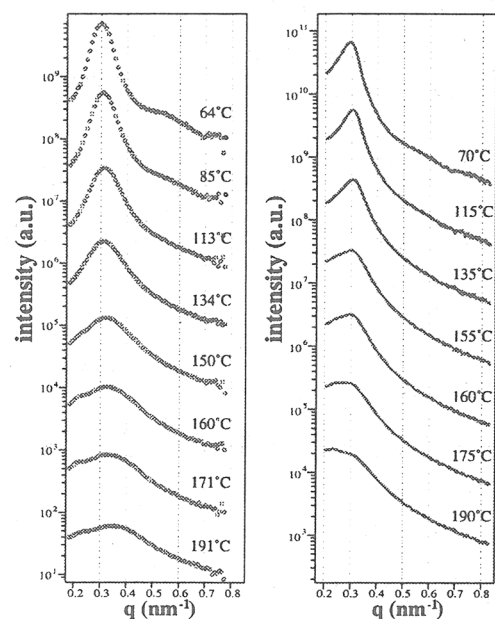


Fig.3 SANS profiles Fig.4 SAXS profiles

室温から 140°C までの温度域において、両散乱測定より求めた D 値はよく一致したが、140°C 以上においては、SANS より求めた D 値は急激に減少し、SAXS より求めた D 値は増加するという正反対の挙動を示した。以下、D 値の特異な挙動について考察する。

まず、140°C 以下においては、DPS,PVME 混合相が形成するマトリクス空間中で PI 成分が球状マイクロ相分離構造を形成し、その PI 球は格子を組まず（長距離秩序を持たず）存在していることが予想される。これは、両散乱曲線において格子散乱による高次ピークが確認されないこと、並びに球の孤立散乱に起因するピークが観察されたこと、さらに、試料の透過電子顕微鏡観察からも格子を組まない球の存在が確認された事実と一致する。このような場合、散乱測定より求まる D 値は PI 球間の平均的距離を示しているが、両散乱測定共に、PI 相と DPS-PVME 混合相間においてコントラストが得られるため、その結果、D 値が一致したと考えられる。

一方、140°C 以上において 2 つの D 値が相反する挙動を示したことに関しては、140°C 以下において混合相を形成していた LCST 型の相図を持つ DPS,PVME 成分が相分離した結果と考えられる。試料の組成比より DPS,PVME 成分が相分離した場合、DPS マトリックス中に PVME 成分が球状マイクロ相分離構造を形成すると思われるが、このように PI 球、PVME 球の 2 種類の球が出現した

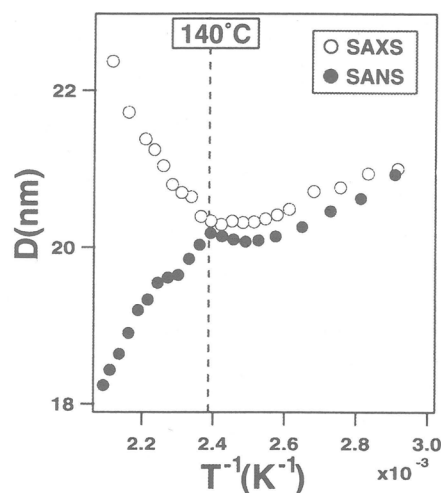


Figure 5. Temperature dependence of D

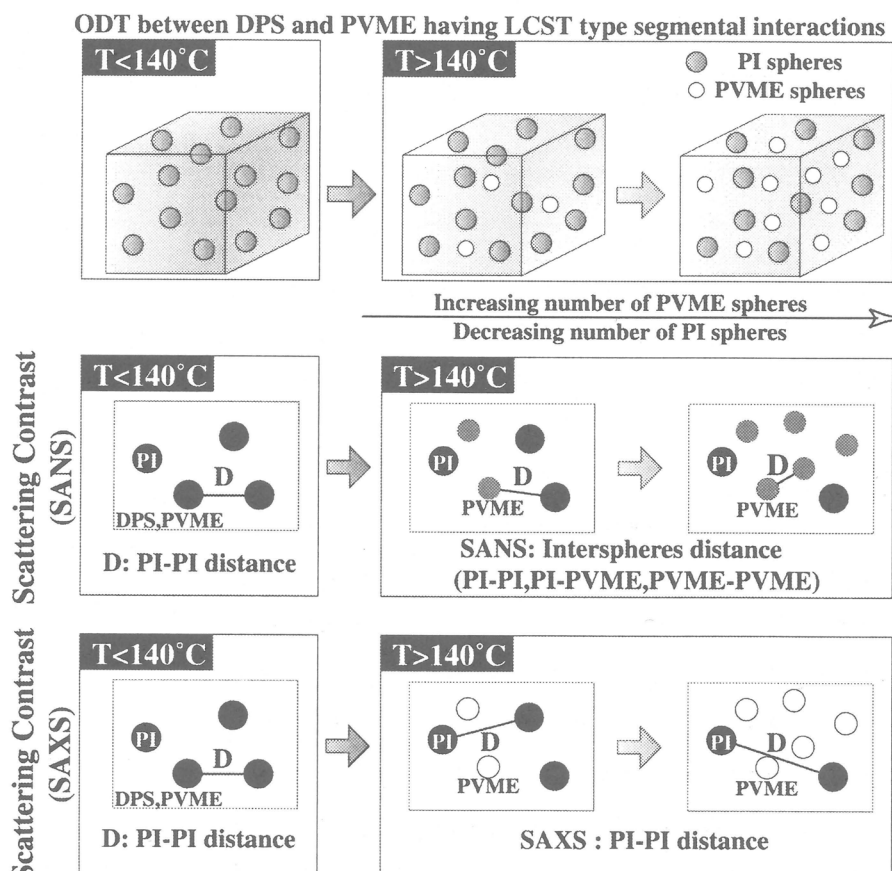


Figure 6. Phase structure model

ことで、単位体積中における球の数が増加した結果、SANS 測定ではその球間距離、つまり D 値が減少したと考えられる。ところが、SAXS 測定においては、DPS,PVME 間のコントラストがないため、新たに出現した PVME 球を認識できない。つまり、SAXS 測定より求まる球間距離である D 値は、依然 140°C 以下同様 PI 球間の距離を表しており、PVME 球の出現により PI 球間距離が広がった、あるいは PI 球そのものの数が減少した結果、D 値が増加したと考えられる。以上の考察を図 6 に模式的に示した。

4 ナノ空間における構造形成

PI-*b*-DPS-*b*-PVME の構造形成過程についても興味深い。SANS 測定において PVME 球の構造形成が観察されているが、D 値に不連続な変化がない。PVME 球が一斉に出現した場合は、その球間距離が瞬間的に大きく減少することで D の挙動に不連続な変化が観察されるはずであることを考えると、PVME 球の構造形成は非常に緩やかに進行していると思われる。これは、PI-*b*-DPS-*b*-PVME 中の DPS と PVME 間の相分離が、通常の 2 成分系(DPS-*b*-PVME)の相分離とは全く異なるからであると考えられる。PI-*b*-DPS-*b*-PVME の場合、中央の成分である DPS 成分が PI 球と直接連結しているため、分子鎖の片末端がミクロ相分離構造に束縛された状態で DPS-*b*-PVME の相分離が進行しなければならない（ブロック分子の末端の拘束効果）。よって、自由空間において相分離が進行する 2 成分系とは異なり、PI 成分が形成するミクロ相分離構造の影響で分子鎖の運動が制限され、その結果、DPS,PVME 成分の相分離のダイナミクスが抑制されたと考えられる。

また、LCST 型の相図をもつ本試料中の DPS 成分と PVME 成分は 140°C でミクロ相分離したが、同程度の分子量を持つ DPS-*b*-PVME 2 成分ジブロック共重合体では 140°C では決して相分離しないことがこれまでにわかっている¹²。このミクロ相分離の促進効果は本試料が DPS-*b*-PVME にさらに PI 成分が連結した試料だからであり、更に以下の二つの理由に起因するものと考えられる。(1) 温度上昇に伴い、試料中の中央の成分である DPS 成分は PVME 成分の反対側に隣接する PI 成分と部分相溶化する。この際に生ずる PI と PVME との大きな斥力相互作用の増加は、PVME のミクロ相分離により避けられる。これが DPS,PVME 間の相分離の助長の原因と考えられる。(2) PI 球に連結された DPS-*b*-PVME ブロック鎖ブラシは自由な DPS-*b*-PVME 鎖に対し、その混合状態の熱力学的安定性が低い（混合状態の形態エントロピーの損失が大）。

つまり本試料においては、高分子セグメント間の相互作用(短距離相互作用)と分子の連結効果(長距離相互作用)が複雑に作用したため、ミクロ相分離は助長されるが、ミクロ相分離構造形成は緩やかに進行するという異常な挙動を示したと考えられる。

5 謝辞

PI-*b*-DPS-*b*-PVME の重合についてご指導頂いた澤本光男教授、上垣外正己助教授に謝意を表します。

6 参考文献

- 1) Bates, F. S.; Fredrickson, G. H. *Phys. Today* **1999**, 52, 32.
- 2) Birshtein, T. M.; Zhulina, E. B.; Polotsky, A. A.; Abetz, V.; Stadler, R. *Macromol. Theor. Simul.* **1999**, 8, 151.
- 3) Goldacker, T.; Abetz, V.; Stadler, R.; Erukhimovich, I. Ya.; Leibler, L. *Nature* **1999**, 398, 137.
- 4) Goldacker, T.; Abetz, V. *Macromolecules* **1999**, 32, 5165.
- 5) Goldacker, T.; Abetz, V. *Macromol. Rapid Commun.* **1999**, 20, 415.
- 6) Abetz, V.; Goldacker, T. *Macromol. Rapid Commun.* **2000**, 21, 16.
- 7) Goldacker, T.; Abetz, V.; Stadler, R. *Macromol. Symp.* **2000**, 149, 93.
- 8) Y. Tanaka, H. Hasegawa, T. Hashimoto, A. Ribbe, K. Sugiyama, A. Hirao, S. Nakahama, *Polymer J.* **1999**, 31, 989.
- 9) Mogi, Y.; Mori, K.; Matsushita, Y.; Noda, I. *Macromolecules*, **1992**, 25, 5412.
- 10) Breiner, U.; Krappe, U.; Thomas, E. L.; Stadler, R. *Macromolecules*, **1998**, 31, 135.
- 11) Kwei, T. K.; Nishi, T.; Roberts, R. F. *Macromolecules*, **1974**, 7, 667. Nishi, T.; Wang, T. T.; Kwei, T. K. *Macromolecules*, **1975**, 8, 227. Nishi, T.; Kwei, T. K. *Polymer* **1975**, 16, 285.
- 12) T. Hashimoto, H. Hasegawa, T. Hashimoto, H. Katayama, M. Kamigaito, M. Sawamoto and M. Imai, *Macromolecules*, **1997**, 30, 6819.
- 13) K. Yamauchi, H. Hasegawa, T. Hashimoto, N. Köhler, K. Knoll, *Polymer*, 印刷中

ポリ- α -メチルスチレンとそのオリゴマーの膨張因子^{1,2)}

吉崎 武尚・奥 昌中 武尚 M. Osa

T. Yoshizaki, M. Osa

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

所形態に加え、鎖の構成は、室温付近のある温度で、そのような状態を構成要素が反発しあい、

体積効果とよぶ。また2本の高分子鎖は、これを分子間排除体積効果の二乗回転半径 $\langle S^2 \rangle$ が要素間の相互作用しているかを表す回転半径膨張因子 α_S 、固有粘度半径膨張因子 α_η ($[\eta] = [\eta]_0 \alpha_\eta$)、並進拡散係数 D_H に付随する流力半径膨張因子 α_H ($R_H = R_{H,0} \alpha_H$) については、第2ビリアル係数 A_2 、あるいはそれに付随す

希薄溶液中の高分子鎖の広がり形態は、高分子鎖の固さおよび局所要素の間に働く相互作用によって決まる。高分子が溶け難い貧溶媒中でこの相互作用が見掛け上消えることがあるが、その温度を Flory の Θ 状態とよぶ³⁾。高分子を良く溶かす良溶媒中では、相互作用によって1本の高分子鎖の広がり大きくなる。これを分子内排除体積効果について考えると、一方が占める領域に他方が入り込み難いとよぶ。分子内排除体積効果に関する物理量として、平衡の理想状態の値 $\langle S^2 \rangle_0$ に比べてどのくらい大きくなるか $\langle S^2 \rangle = \langle S^2 \rangle_0 \alpha_S^2$ や、固有粘度 $[\eta]$ に付随する係数から決定される有効流体力学的半径 R がある。一方、分子間排除体積効果に関する貫入関数 Ψ がある。

希薄溶液中の高分子鎖の広がり形態を明らかにする。これらの物理量に関する実験結果から、これまでの主にガウス鎖モデルに基づいて解析が行われてきた。このモデルはガウスバネを繋いだものであり、実在高分子鎖の固さや局所形態を記述するモデルに基づく。このモデルでは、 α_S , α_η , α_H , Ψ などの排除体積効果に関する量は、高分子鎖の長さによらず排除体積パラメータのみの関数となる。すなわち、高分子鎖の物理性は二定数 (TP) 理論で記述できる³⁾。しかし、近年、種々の屈曲性高分子とTP理論に関する実験的研究から、TP理論は分子量が非常に大きな領域でのみ成立する。通常問題とされる分子量が百万以下の領域の分子内排除体積効果はTP理論で説明できることが明らかにされている⁴⁾。

高分子鎖の固さや局所形態を記述する。これらの物理量に関する実験結果から、これまでの主にガウス鎖モデルに基づいて解析が行われてきた。このモデルはガウスバネを繋いだものであり、実在高分子鎖の固さや局所形態を記述するモデルに基づく。このモデルでは、 α_S , α_η , α_H , Ψ などの排除体積効果に関する量は、高分子鎖の長さによらず排除体積パラメータのみの関数となる。すなわち、高分子鎖の物理性は二定数 (TP) 理論で記述できる³⁾。しかし、近年、種々の屈曲性高分子とTP理論に関する実験的研究から、TP理論は分子量が非常に大きな領域でのみ成立する。通常問題とされる分子量が百万以下の領域の分子内排除体積効果はTP理論で説明できることが明らかにされている⁴⁾。

(HW) 高分子鎖モデル⁴⁾に基づいている。この理論を用いて解析を行うためには、オリゴマー領域をも含む広い分子量領域にわたり立体規則度と分子量分布の制御された試料を用い、先ず Θ 状態に関する実験結果から HW モデル定数を決定し、次に良溶媒中での実験結果との比較を行う必要がある。このように、高分子鎖の固さと局所形態をも明らかにする特性解析を特に精微特性解析とよぶ。最近、アタクチックポリ- α -メチルスチレン (a-P α MS) (ラセミ率 $f_r = 0.72$) の Θ 状態における精微特性解析から、希薄溶液中の a-P α MS 鎖が大きく湾曲した局所形態を部分的に保持することを明らかにした^{5,6)}。このような特徴的な性質を持つ a-P α MS について良溶媒中での実験・解析を行い、分子内排除体積効果に関する QTP 理論の妥当性について検討を行った結果を報告する。

2. QTP 理論

用するビーズを置き、る排除体積効果を評

ガウス鎖モデルに基づく従来の理論では、ガウスバネの結合点に相互作用。ガウス鎖統計に基づいてビーズの衝突確率を計算して種々の物理量に対す

価する。ガウス鎖の平均二乗両端間距離 $\langle R^2 \rangle$ の膨張因子 α_R ($\langle R^2 \rangle = \langle R^2 \rangle_0 \alpha_R^2$) に対する摂動計算の結果は、ガウスバネの数 n が十分大きいとき、

$$\alpha_R^2 = 1 + (4/3)z + [(16/3) - (28\pi/27)]z^2 + \dots \quad (1)$$

のように、次式で定義される排除体積パラメータ z の級数展開の形に書くことができる³⁾。

$$z = (3/2\pi a^2)^{3/2} \beta n^{1/2} = (3/2\pi \langle R^2 \rangle_0)^{3/2} \beta n^2 \quad (2)$$

ここで、 a はガウスバネの平衡長 ($\langle R^2 \rangle_0 = na^2$)、 β はビーズ間2体クラスター積分である。この α_R の場合と同様に、 α_S 、 α_η 、 α_H 、そして Ψ などの排除体積効果を表す量はすべて z の級数展開の形に書くことができる。排除体積の問題は多体問題であるので、これらの物理量に対して閉じた形の厳密解を導くことはできないが、以上の結果から α_S 、 α_η 、 α_H 、 Ψ が z のみの関数であることが結論できる。

以上の TP 理論は $n \gg 1$ の場合のガウス鎖統計（と2体クラスター近似）によって導かれている。したがって、 n が小さい場合やガウス鎖統計で記述できない固い高分子には適用できない。そのような場合、HW 鎖モデルのように実在高分子鎖の固さと局所形態を反映できるモデルを用いて排除体積効果を考える必要がある。HW 鎖上に2体クラスター積分が β のビーズを間隔 a で並べたモデルの α_R に対する摂動計算結果は次式で与えられる⁴⁾。

$$\alpha_R^2 = 1 + K(\lambda L)z + \dots \quad (3)$$

ここで、 K は HW 鎖の鎖長 L を静的剛直性パラメータ λ^{-1} を単位として測った還元鎖長 λL の関数であり、 $\lambda L \rightarrow \infty$ のランダムコイル極限で $K \rightarrow 4/3$ 、 $\lambda L \rightarrow 0$ の棒極限において $K \rightarrow 0$ となる。また、 z は式(2)と同様に定義される排除体積パラメータあり、HW 鎖モデルパラメータを用いて次のように再定義されたものである。

$$z = (3/2\pi)^{3/2} (\lambda B)(\lambda L)^{1/2} \quad (4)$$

$B \equiv \beta/a^2 c_\infty^{3/2}$ は排除体積強度であり、 c_∞ は次のように定義される量である。

$$c_\infty = [4 + (\lambda^{-1}\tau_0)^2] / [4 + (\lambda^{-1}\kappa_0)^2 + (\lambda^{-1}\tau_0)^2] \quad (5)$$

上式に含まれる κ_0 と τ_0 はそれぞれ HW 鎖に付随する特性らせんの微分幾何学的曲率と振率である。なお、特性らせんとは、弾性ワイヤーモデルである HW 鎖が全弾性エネルギーが最小のときにとる完全らせんを指し、その半径 ρ 、ピッチ h は κ_0 、 τ_0 を用いてそれぞれ $\rho = \kappa_0 / (\kappa_0^2 + \tau_0^2)$ 、 $h = 2\pi\tau_0 / (\kappa_0^2 + \tau_0^2)$ と書ける。

式(1)と(3)の摂動展開の1次の項を比較すると、HW 鎖理論の $(3/4)K(\lambda L)z$ が TP 理論の z に対応しており、ランダムコイル極限において二つの量は一致する。したがって、修正排除体積パラメータ $\tilde{z}$ を

$$\tilde{z} = (3/4)K(\lambda L)z \quad (6)$$

で定義すると、 α_R の1次摂動の結果に関する限り、TP 理論の z を $\tilde{z}$ で置き換えると HW 鎖理論のものが得られる。この対応を拡張して、他の全ての膨張因子に関する結果においても、TP 理論の z を $\tilde{z}$ で置き換えると HW 鎖理論のものが得られるとするのが QTP 理論である。 $\lim_{\lambda L \rightarrow \infty} \tilde{z} = z$ より、ランダムコイル極限において QTP 理論は TP 理論に一致する。

上に述べた $K(\lambda L)$ の性質より, $\beta > 0$ (あるいは $B > 0$) の場合でも, 棒極限で $\tilde{z} \rightarrow 0$ となるので, すべての膨張因子は 1 となり分子内排除体積効果はなくなる. これは, 鎖が固くなると分子内のビーズ間衝突が起こらないことを意味する. しかし, そのような場合でも, $\beta > 0$ なので分子間排除体積効果が残ることは明らかである. したがって, 分子間排除体積効果に対して, TP 理論はもとより, QTP 理論も成立しない.

3. α_S

トルエン中 25.0 °C, 4-*tert*-ブチルトルエン中 25.0 °C, および塩化 *n*-ブチル中 25.0 °C における a-P α MS について, 静的光散乱法と小角 X 線散乱 (SAXS) 法を用いて決定した $\langle S^2 \rangle$ と重量平均重合度 x_w との比 $\langle S^2 \rangle / x_w$ の x_w に対する両対数プロットを図 1 に示す. また, 既に報告したシクロヘキサン中 30.5 °C (Θ) における結果⁵⁾ もプロットした. 分子内排除体積効果により, いずれの良溶媒中においても $x_w \gtrsim 30$ の領域で $\langle S^2 \rangle / x_w$ の値が x_w の増加とともにシクロヘキサン中の値 $\langle S^2 \rangle_\Theta / x_w$ より大きくなっていくことがわかる. また, 分子内排除体積効果はトルエン中で最も大きいことがわかる.

トルエンおよび 4-*tert*-ブチルトルエン中におけるデータ点は, 分子内排除体積効果の無視できる極低分子量オリゴマー領域 ($\lambda L \simeq 0$) において, シクロヘキサン中におけるデータ点と実験誤差範囲内で一致している. このことより, トルエンおよび 4-*tert*-ブチルトルエン中における (仮想的な) 非摂動鎖の平均二乗回転半径 $\langle S^2 \rangle_0$ はシクロヘキサン中における $\langle S^2 \rangle_\Theta$ に等しいと考えてよい. そこで, トルエンおよび 4-*tert*-ブチルトルエン中における α_S を, $\langle S^2 \rangle_\Theta = \langle S^2 \rangle_0$ を基準として, $\alpha_S^2 = \langle S^2 \rangle / \langle S^2 \rangle_\Theta$ から評価した. なお, 塩化 *n*-ブチル溶液については十分な電子密度増分がないため SAXS 測定を行わなかったが, それについても $\langle S^2 \rangle_\Theta = \langle S^2 \rangle_0$ の関係が成り立つと仮定し, 他の二つの溶媒の場合と同様にして α_S を評価した.

図 2 に α_S^2 の $\tilde{z}$ に対する両対数プロットを示す. a-P α MS の各データ点に対する $\tilde{z}$ の値は, 既に決定されている HW 鎖モデル定数値と, トルエン, 4-*tert*-ブチルトルエン, および塩化 *n*-ブチル中における λB の値としてそれぞれ 0.43, 0.12, および 0.080 を用いて, 式 (4) および (6) から計算した. 図には, 既報のトルエン中 15.0 °C におけるアタクチックポリスチレン (a-PS) ($f_r = 0.59$), アセトン中 25.0 °C におけるアタクチックポリメタクリル酸メチル (a-PMMA), およびアセトン中 25.0 °C におけるイソタクチック (i-) PMMA ($f_r \simeq 0.01$) に対する結果も示した. 実線は, α_S に対する Domb—Barrett の内挿近似式において z を $\tilde{z}$ に置き換えた次式

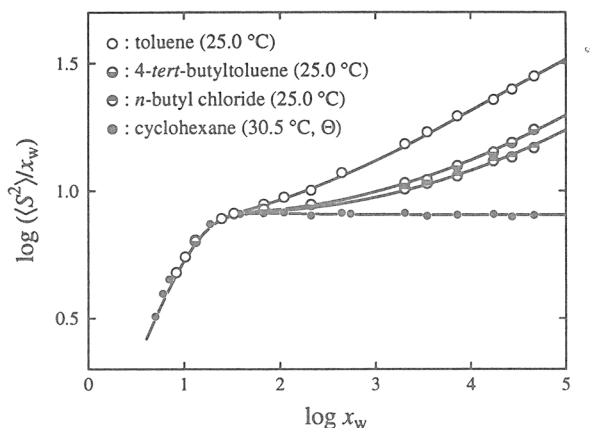


図 1. $\log(\langle S^2 \rangle / x_w)$ 対 $\log x_w$ プロット

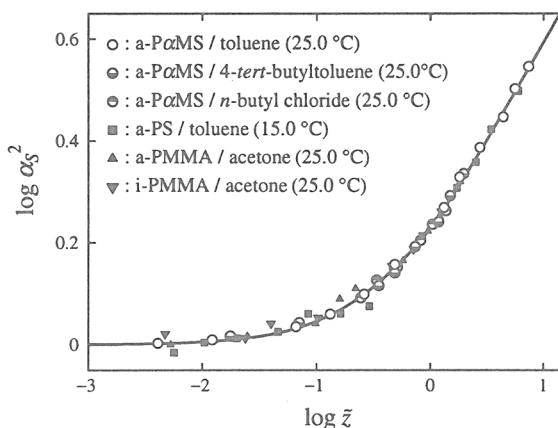


図 2. $\log \alpha_S^2$ 対 $\log \tilde{z}$ プロット

により計算した QTP 理論値である。

$$\alpha_S^2 = \left[1 + 10\tilde{z} + \left(\frac{70\pi}{9} + \frac{10}{3} \right) \tilde{z}^2 + 8\pi^{3/2} \tilde{z}^3 \right]^{2/15} [0.933 + 0.067 \exp(-0.85\tilde{z} - 1.39\tilde{z}^2)] \quad (7)$$

全てのデータ点は高分子の種類や溶媒条件によらず実線で表される一本の曲線を形成している。すなわち、a-PαMS の α_S も、他の高分子の場合と同様、QTP 理論で説明できる。

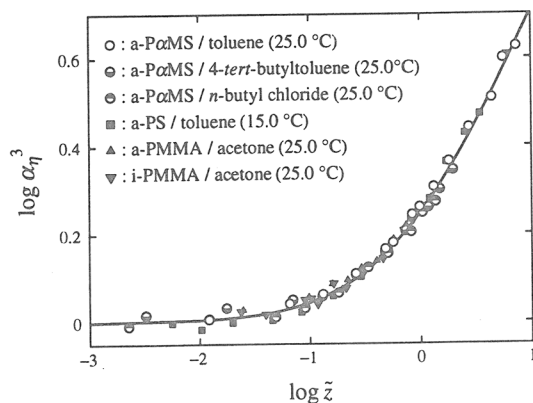


図 3. $\log \alpha_\eta^3$ 対 $\log \tilde{z}$ プロット

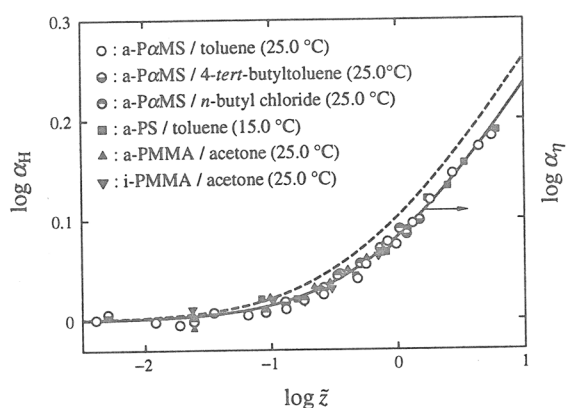


図 4. $\log \alpha_H$ 対 $\log \tilde{z}$ プロット

4. α_η および α_H

粘度測定および動的光散乱測定により、トルエン中 25.0 °C、4-tert-ブチルトルエン中 25.0 °C、ならびに塩化 n-ブチル中 25.0 °C における a-PαMS の $[\eta]$ と R_H を決定し、以前⁶⁾に報告したシクロヘキサン中 Θ における $[\eta]_\Theta$ と $R_{H,\Theta}$ を用いて α_η と α_H を評価した。なお、 α_η を評価する際、高分子—溶媒分子間の特殊相互作用の影響に対する補正を行った^{2,4)}。図 3, 4 にそれぞれ α_η^3 と α_H の $\tilde{z}$ に対する両対数プロットを示す。 α_η^3 と α_H のいずれの場合も、全てのデータ点は高分子の種類や溶媒条件によらず一本の曲線を形成している。すなわち、a-PαMS の α_η と α_H も、既に研究された他の高分子の場合と同様、QTP 理論で説明できる。図中の実線と破線は、 α_η と α_H に対する Barrett の内挿近似式において z を $\tilde{z}$ に置き換えた以下の式により計算した QTP 理論値である。

$$\alpha_\eta^3 = (1 + 3.8\tilde{z} + 1.9\tilde{z}^2)^{0.3} \quad (8)$$

$$\alpha_H = (1 + 5.93\tilde{z} + 3.59\tilde{z}^2)^{0.1} \quad (9)$$

図 3 の α_η^3 の場合は、実験値と理論値の一致は良好であり、今回の a-PαMS の結果も含めて、

式 (8) が α_η の挙動をほぼ定量的に説明できることがわかる。一方、図 4 の α_H の場合は、実験値に比べ理論値が大きい。すでに指摘されているように、これは D の理論計算における流体力学的相互作用の前平均近似によるものである⁴⁾。今回の a-PαMS の結果も含め、実験値は式 (8) から計算した α_η の理論値に偶然にも一致している。このことは、実験誤差の範囲内で $\alpha_\eta \simeq \alpha_H$ が成立することを意味するが、この一致は Monte Carlo シミュレーションの結果からも確認されている⁴⁾。

文献

- 1) M. Osa, Y. Ueno, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **34**, 6402 (2001).
- 2) Y. Tominaga, I. Suda, M. Osa, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **35**, 1381 (2002).
- 3) H. Yamakawa, *Modern Theory of Polymer Solutions* Harper & Row, New York, 1971. The electronic edition (<http://www.molsci.polym.kyoto-u.ac.jp/archives/redbook.pdf>) is available.
- 4) H. Yamakawa, *Helical Wormlike Chains in Polymer Solutions* Springer, Berlin, 1997.
- 5) M. Osa, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **33**, 4828 (2000).
- 6) I. Suda, Y. Tominaga, M. Osa, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **33**, 9322 (2000).

高分子のコンホメーション変化と可逆ゾル・ゲル転移

田中文彦・古賀 毅・庄司雅彦

Fumihiko Tanaka, Tsuyoshi Koga, Masahiko Shoji

京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻

1 はじめに

我々の身近で見られる天然高分子水溶液のゲル化現象では、高分子鎖のコンホメーション変化が架橋結合の前提条件になっている場合が多い。例えば、アガロースやカラギーナンの水溶液では、ランダムコイル状態の高分子がまずコイル $\Rightarrow$ ヘリックス転移を起こしてからヘリックス部分が凝集することによりゲル化すると考えられている [1, 2]。また、ある種の蛋白質では、分子内の水素結合が切れて外部に突出することにより、他分子との結合が可能になる。つまり、ネイティブ（粒状高分子） $\Rightarrow$ 変性（ランダムコイル）の変化がゲル化の前提となっているのである [2, 3]。このように高分子の形態変化と可逆ゾル・ゲル転移が強く結びついた現象は、合成高分子でも見られる。重要な例は、部分的に疎水化された水溶性会合高分子の分子内ミセル形成と分子間架橋の競合現象である。このような例にもとづいて高分子の形態転移にともなうゲル化現象を次のように分類してみよう：

- **Intra/Inter モデル：** 内部に潜在している官能基が環境変化（主として昇温、剪断流や第3成分の添加）により露出活性化しゲル化に導くもの（高温活性型）。潜在した部分の鎖は花型ミセル（フラワー）を形成し、露出した部分鎖は他分子との分子間架橋（ブリッジ）を形成するので、このモデルは **Flower/Bridge** モデルとよぶこともできる。
- **2 状態 モデル：** 高分子を構成しているモノマー単位が2つの状態（非活性状態 A と活性状態 A*）をとり、活性化された状態では (A*)_k の k-量体形成可能 (k ≥ 2) で、これが架橋結合となりゲル化に導くもの（高温活性型）。
- **Coil/Helix (Coil/Rod) モデル：** ランダムコイル状態の高分子が部分的にヘリックス（ロッド）を形成し、数本のヘリックス（ロッド）が凝集した架橋構造でゲル化に導くもの（低温活性型）。

このように考えると、硫黄の熱重合平衡現象も同様なケースであることがわかる [4]。硫黄は室温では S₈ の環状分子（λ-状態とよばれている）で非活性であるが、160°C で環が開裂し、両端に活性化された共有結合の手が生じ（μ-状態とよばれている）、これらが分子間で手をつなぐことにより線状高分子が生成されるのである。ただ、硫黄では両端に対結合をする官能基があるだけなので分子の官能数は $f = 2$ となり、3次元の分岐高分子ネットワークのかわりに線状高分子が生成されるだけである。そこで、以後分子の非活性状態を λ-状態、活性化された状態を μ-状態とよぶことにしよう。以上でのべた λ/μ 転移モデルは図 1 に集約して示されている。

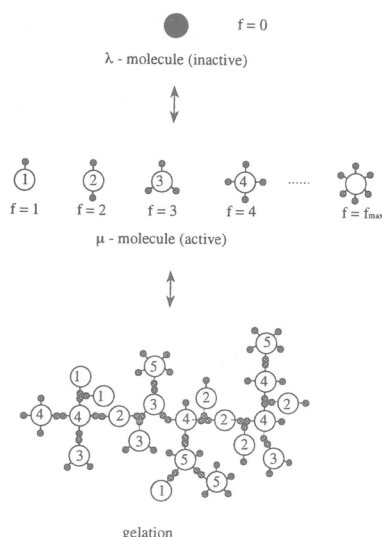


図 1: 官能数が温度や濃度により変化する会合性の分子。無官能状態を基準コンホメーションと考え、硫黄の熱重合の場合にならって「 λ 分子」と呼ぶ。 λ 分子がコンホメーション変化により様々な官能性を有する分子に転移し、それらが互いに会合することによってゲルが形成される。

2 多重架橋可逆ゾル・ゲル転移の理論

このような分子内の転移現象とゲル化との関連を調べるために、我々が近年展開してきた「会合高分子溶液論」[5]に、コンホメーションの自由エネルギーを取り入れることを考える。この理論では、ひとつの架橋点で結合している高分子の本数を、その架橋点の多重度とよぶことにする。様々な官能性の一次高分子が溶媒中で形成するクラスターを特徴づけるために、2つの整数のセット $(j; l)$ を導入しよう。 $j = (j_1, j_2, j_3, \dots)$ は架橋点に関する指標で、多重度が $k (= 1, 2, \dots)$ であるような架橋点がこのクラスターの中に j_k 個あることをしめしている。また、 $l \equiv (l_1, l_2, l_3, \dots)$ は f -高分子を l_f ($f = 1, 2, 3, \dots$) 個ふくんでいることをあらわしている。クラスターにふくまれる一次高分子の総数は $l \equiv \sum l_f$ である。フローリ・ハギンスの格子理論から出発して、体系の全自由エネルギーを

$$\Delta F = \Delta F_{mix} + \Delta F_{reac} + \Delta F_{conf} \quad (1)$$

のような形に書くことにする。ここで第1項

$$\beta \Delta F_{mix} = N_0 \ln \phi_0 + N_\lambda \ln \phi_\lambda + \sum N(j; l) \ln \phi(j; l) + \Omega \chi \phi_0 \phi \quad (2)$$

($\beta \equiv 1/k_B T$) は混合自由エネルギー、第2項

$$\beta \Delta F_{reac} = \sum \Delta(j; l) N(j; l) + \sum_{f \geq 1} \delta_f N_f^G \quad (3)$$

はクラスター形成のための反応自由エネルギーで、第3項

$$\beta \Delta F_{conf} = \beta A_\lambda N_\lambda + \beta \sum_{f \geq 1} \left(\sum A_f l_f \right) N(j; l) + \beta \sum_{f \geq 1} A_f N_f^G \quad (4)$$

が新しく導入した分子コンホメーションの自由エネルギーである。記号 $N(j; l)$ は溶液中に形成された $(j; l)$ 型のクラスターの数、 $\phi(j; l)$ はその体積分率、 N_f^G はゲルネットワーク

ク（もし存在すれば）に参加している活性官能基を f 個もつ高分子の数， $\Delta(j;1)$ は $(j;1)$ 型クラスターを 1 個生成するのに必要な自由エネルギーを $k_B T$ で割ったもの， δ_f は f 個の活性官能基をもつような孤立分子がネットワークに結合するときに得る自由エネルギー， A_λ は λ 状態での 1 分子配位自由エネルギー， A_f は高分子の官能基が f 個活性化された状態での 1 分子配位自由エネルギーを表す．自由エネルギーの差 $\Delta A_f \equiv A_f - A_\lambda$ は分子の活性化自由エネルギーで，前節で導入したモデルに対応して

- μ -分子の f 個の官能基が一斉に励起される場合 (*All-or-None Model*)

$$\Delta A_f = \begin{cases} 0 & (\lambda\text{-state}) \\ \Delta A & (\mu\text{-state}) \end{cases} \quad (5)$$

- 各官能基がお互いに独立に励起される場合 (*Independent Excitation Model*)

$$\Delta A_f = f \Delta A_1 \quad (6)$$

- ζ 個のモノマー列 ($\zeta = 1, 2, 3, \dots$) からなるヘリックス部分が 1 分子の鎖上に j_ζ 個存在するような場合 (*Coil/Helix Model*)

$$f = \sum_{\zeta} j_{\zeta}, \quad \Delta A_f = \sum_{\zeta} \Delta A_{\zeta} j_{\zeta} \quad (7)$$

などの典型的なケースが考えられる [6].

3 結果と考察

3.1 独立励起モデル

図 2 に独立励起モデルのゾル・ゲル転移線を示す．最大官能数 10，上限多重度 8，下限多重度は 2 から 8 まで変化させてある．高温ゲル型であるが，高温領域では下限多重度の変化とともに高濃度側にシフトするので，中間濃度領域で最もゲル化し易くなる．このように，低温，高温ではいずれもゲル化がさまたげられ，中間温度領域でゲル状態になる現象は再帰ゾル相として興味深い．文献 [3] では，BSA や β -Lg のゲル線が求められているが，水の沸騰のため再帰現象を確認するに至っていない．

図 3 と図 4 には，独立励起モデルの相図の計算例を示す．低分子 ($n = 1$) が最大数 3 の官能基を励起することができ，3 重の架橋点を形成するような場合としてある．通常の UCST 型の 2 相分離領域に高温ゲル型のゾル・ゲル転移が重なっているが，励起自由エネルギーが会合自由エネルギーよりも大幅に大きい場合には図 4 のようにゲル領域が相分離領域から離れ，ゾル・ゲル転移に沿ったループ型の相分離領域が高温で出現する．図中，ゲル化と相分離領域の交点は 3 重臨界点である．

3.2 コイル・ヘリックス転移によるゲル化

次に，ヘリックス凝集モデルを考えよう．図 6 には，重合度 50 の高分子に対して，ヘリックス長 ζ の関数としてゲル化濃度をプロットしてある．ヘリックスが対で架橋される場合には単調にゲル化しにくくなり，ヘリックス長が全長の 1/2 に達するとゲル化は不可能になる (DNA のケース)．これに対して，3 重ヘリックス以上の多重架橋

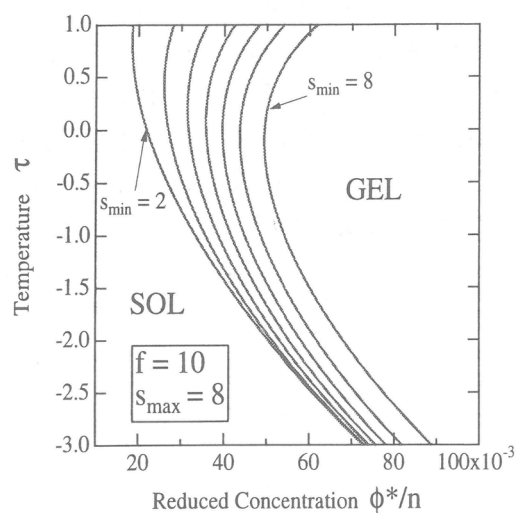


図 2: 独立励起モデルのゾル・ゲル転移線。温度励起なので高温でゲル化する。最大架橋多重度を 8 に固定し、最小多重度を 2 から 8 まで変えて転移線のシフトする様子を見ている。ほとんどの場合、高温領域でゾルにもどる再帰ゾル現象が見られる。

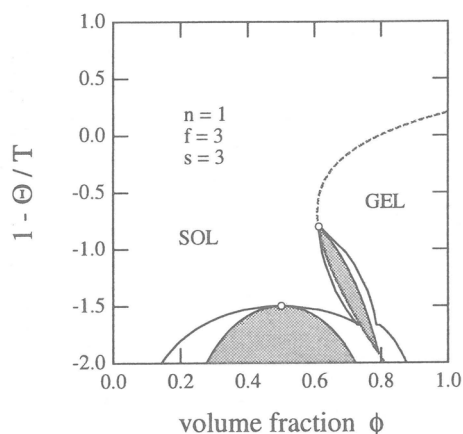


図 3: 独立励起モデルの相図。励起自由エネルギーが会合自由エネルギーに近い場合。

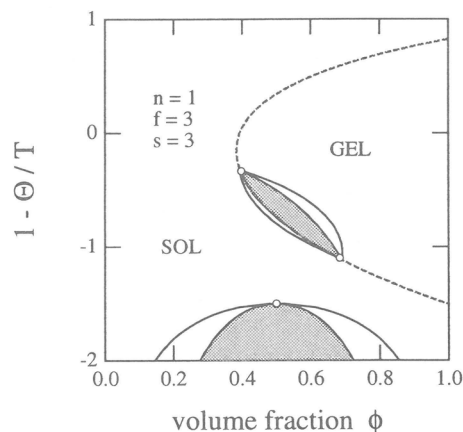


図 4: 独立励起モデルの相図。励起自由エネルギーが会合自由エネルギーより大幅に大きい場合。

の場合には最もゲル化しやすいヘリックス長が存在するので、ゲル点での架橋構造（多重度や架橋長）が予測できる。ヘリックス長が短いと官能基の数自体は大きい値を取れるが、架橋凝集力が弱いのでゲル化しにくいのである。

このように、ゲルのネットワーク構造はヘリックスの自鎖上での成長と他鎖ヘリックスとの会合とが競合し、いずれが優勢かによって 2 つの構造に大別されることがわかる。即ち、ヘリックス会合が優勢な場合には、各鎖は短いヘリックスを多く有し、ランダムコイルがこれらのヘリックスの凝集により架橋されたネットワークとなる（TypeI 構造）。逆にヘリックス成長が優勢の場合には、各鎖は長いヘリックスを少数有しているだけなので、ヘリックスペア、あるいはヘリクストリプレットが短鎖ランダムコイルにより架橋されたネットワークとなる（TypeII 構造）。この場合、ネットワークの部分鎖はヘリックスで、架橋部がランダムコイルと考えるべきである（図 7）。

ヘリックス成長が支配的な極限では、鎖全体が棒状ヘリックスとなるので、ネット

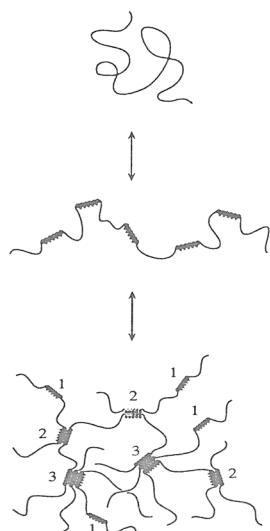


図 5: コイル・ヘリックス転移が起こってからヘリックス部分が凝集して架橋領域を形成するようなゲル化現象. コンホメーション自由エネルギーは, 有限の全長からいろいろな長さのヘリックス部分を選び出す場合の数に依存する. ここでは簡単のために一定の長さ ζ のヘリックスが形成されると仮定する.

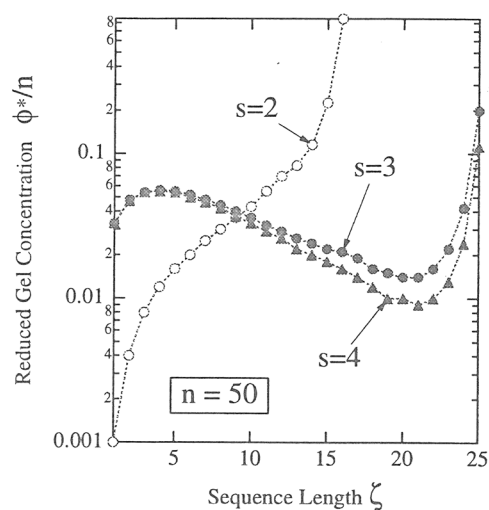
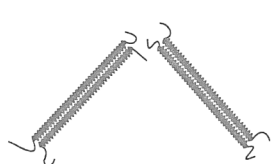
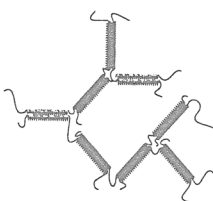


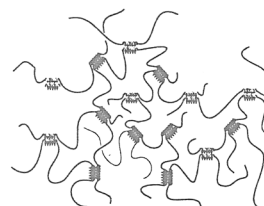
図 6: 与えられた温度でのゲル化濃度をヘリックス部分の長さ ζ の関数としてプロットしてある. ヘリックス間の結合エネルギーが大きい場合には, 2重ヘリックス ($s=2$) と3重ヘリックス以上 ($s \geq 3$) とではゲル化の様子が異なることがわかる. 後者では濃度の増加に伴って溶液はゲル化するが, ゲル点で急に大きいヘリックス長の架橋が形成される.



Pairing (Bundles)



Type II



Type I

図 7: コイル・ヘリックス転移による基本的な凝集構造. ヘリックス長が高分子全長に達する場合, バンドル (ペアやトリプレット) が形成される. 鎖上に長いヘリックスが少数形成される場合には Type II のネットワークが形成される. 短いヘリックスが多数形成される場合には Type I のネットワークが形成される.

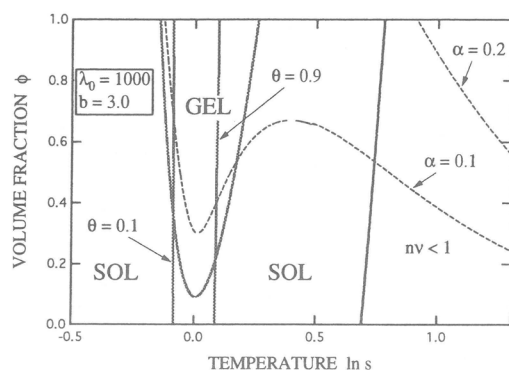


図 8: ゴル・ゲル転移とコイル・ヘリックス転移の関係を表す相図 (対結合 $s = 2$ を仮定). 弱会合 $b = 0.3$ の場合. 横軸は水素結合エネルギー $\ln s = \epsilon_H/k_B T$ で測った温度, 縦軸は高分子の体積分率 ϕ . コイル状態からヘリックス状態に変わる温度領域 (ヘリックス量 $\theta = 0.1$ と $\theta = 0.9$ をはさんで) ゴル・ゲル転移が起こる. ポストゲル領域では TypeI のネットワークが形成され, ゲル領域の内部でコイル・ヘリックス転移が起こっている. この領域で温度を下げるとネットワーク構造をとりながら部分鎖がコイルからヘリックスに変化することがわかる. 低温 (右方) では実線を境に鎖全体がヘリックス棒となる. このような低温領域では, 低濃度では会合せず孤立ヘリックス, 高濃度でペア相となる. 破線は一定会合度 $\alpha = 0.1$ および $\alpha = 0.2$ を結んだ線を表す. 孤立ヘリックスやヘリックスペアは, 棒状高分子がところどころ接触点で一時的に架橋されたネットワーク構造をとる等方相の他に, 特有の非等方液晶相, メソスコピック相を形成することが予想されるが, この研究ではそれらの転移現象は考察されていない.

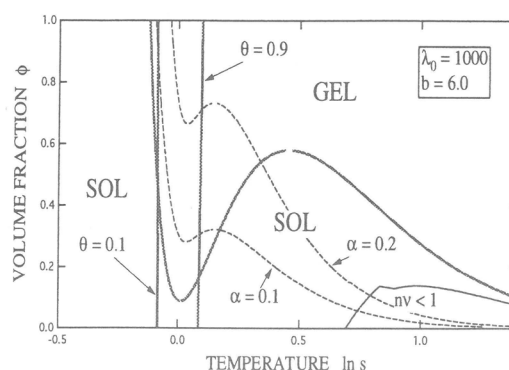


図 9: 同左図. 強会合 $b = 0.6$ の場合. ゲル領域が広がっている. コイル・ヘリックス転移温度よりやや下の中間温度領域では TypeII のネットワークが形成される. 低温ではヘリックスの割合がほぼ 1 となるのは弱会合の場合とことならないが, 長いヘリックスはできず, 短いヘリックスのつらなりが, ところどころヘリックス間の凝集で架橋されたネットワーク構造をとる. これは再現 TypeI と呼ぶことができる. 会合自由エネルギーが大きいので, 短いヘリックスを多く形成して架橋点数を増やす方が全体としての自由エネルギーを稼げるからである. しかしながら, 低温かつ低濃度領域では, 会合の機会が少ないのでヘリックスは成長し, 孤立ヘリックスとともに 3 割程度のペアリングが起こる. 低濃度のペアリングはクーパーペアに類似の現象で, ヘリックスがすべてペアで凝集したペア相が実現する可能性がある. このような低温で, 高分子濃度を上げると, ペア相からネットワーク相に転移する. このような転移 (バンドル・ネットワーク転移) の特性解析はヘリックス形成に関連した新しい問題である.

ワークは形成されず, バンドルが形成される (ペア相, トリプレット相). このような違いは, 会合定数に現れる会合エネルギー ϵ_A と, ヘリックス形成に携わる隣接アミノ酸残基間の水素結合エネルギー ϵ_H の比 $b \equiv \epsilon_A/\epsilon_H$ の値によって区別される. 図 8 と図 9 には, それぞれ弱い会合, 強い会合の場合の理論相図を示す.

参考文献

- [1] W.Burchard, Br. Polym. J. **17** (1985), 154.
- [2] A.H.Clark and S.B.Ross-Murphy, Adv. Polym. Sci., **83** (1987), 57.
- [3] A.Tobitani and S.B.Ross-Murphy, Macromolecules **30** (1997), 4845; 4855.
- [4] R.L.Scott, J. Phys. Chem., **69** (1965), 261; J.A.Larkin, J.Katz and R.L.Scott, J. Phys. Chem., **71** (1965), 352.
- [5] F.Tanaka and W.H.Stockmayer, Macromolecules, **27** (1994), 3943.
- [6] F.Tanaka, Macromolecules, **33** (2000), 4249.

低環境負荷高分子ポリ乳酸の現状と将来展望

望月政嗣

Masatsugu Mochizuki

ユニチカ株式会社 技術開発本部

1. はじめに

20世紀の高度成長期におけるプラスチックやフィルム、合成繊維などの合成高分子化合物製品の大量生産、大量消費、大量廃棄社会は、これまで私達の生活を豊かにしてきたが、今やそれらの廃棄物処理問題にみられるように、それら自身が内包する根源的なパラドックスに直面している。すなわち、一つにはそれらは生分解性でないために、自然界の全ての有機化合物が有している地球上の物質循環（炭素循環）システムから乖離していることである。その結果、必然的に廃棄物処理が問題となる。二つ目には、それらの原料ソースが限りある石油などの化石資源に頼っていることである。石油資源は21世紀初頭の生産ピークを経て減少に向かい、そう遠くない将来（21世紀半ばを待たずして）枯渇する。近年これらの反省から、関係各方面でのリサイクル運動が活発化し、たとえばPETボトルからの再生繊維化が試みられている。しかし、これらは当面の対症療法としては有効であっても、上記問題点の本質的な解決策となり得ないことは明らかである。私達は21世紀を間近にひかえた今、高分子材料化学における新たなパラダイムの創生を求められている。

このような時代背景の下で、当社はわが国繊維業界ではもっとも早くから（約10年前より）、各種生分解性プラスチックの繊維化やフィルム化に関し、よりグローバルな視点から一連の系統的な研究・開発を進めてきた。そして、わが国ではいち早く世界最大のポリ乳酸樹脂メーカーであるカーギル・ダウ・ポリマーズ社との間に共同開発に係る秘密保持契約を結び、最近まで極秘下に研究を進めてきた。この度、再生可能資源からなるポリ乳酸樹脂をベースとする画期的な新製品「テラマック」(TERRAMAC)を開発したので報告する。「テラマック」は“自然から生まれ、自然に還る”(comes from nature, returns to nature)素材として、来るべき21世紀の資源循環型社会の主力となることが期待される。

本稿では、まず検討対象素材としての一連の脂肪族ポリエステル¹⁾の構造と生分解性を踏まえた上で、繊維としての成形加工性、成形品の熱的・機械的性質および環境分解特性の検討結果について述べ、最終的にポリ乳酸の選択に至った経緯と理由を明確にする。次に、当社が開発した「テラマック」の特徴について、これまでに一部上市されている他社のポリ乳酸製品との比較において、その特徴を概説する。

2. 脂肪族ポリエステルの分類と特徴

一連の脂肪族ポリエステルの実用化を決定づけるのは、実はこれまで軽視されてきたきらいのある成形加工性(processability)である。私達は成形加工性を検討するについては繊維化を中心に行った。その理由は、当社が繊維会社であると言うよりは、繊維化が最も厳しい成形条件を要求され、かつ成形品とした場合の性能や機能の発現が最も難しいということである。別の言い方をすると、繊維化が可能であれば、その他の成形方法は基本的に可能である。なお、脂肪族ポリエステル以外のデンプンを混合したタイプや芳香族/脂肪族ポリエステルについても検討したが、前者は製糸性に劣るばかりでなく繊維としての強度や耐水性に問題があり、後者も製糸性のみならず、繊維としての機械的強度や生分解性に問題がある。

脂肪族ポリエステルは、その構成モノマーと結合様式から2種類に分類される。一つはオキシ酸の重合体、もう一つはジオールとジカルボン酸の重縮合体であり、前者はOH基がCOOH基末端に対してどの位置に結合しているかにより、 α -オキシ酸、 β -オキシ酸などに分類される。これら代表的なポリマーの熱的性質、製糸性、糸質特性を、ポリエチレンテレフタレート(PET)との比較において表1に示す^{2,3)}。

TABLE 1. Thermal Properties, Spinnability, and Yarn Properties of Aliphatic Polyesters

Materials	Thermal Properties				Yarn Properties		
	T _m	T _c	T _g	Spinnability	Tensile Strength(g/d)		Young's Modulus (g/d)
	(°C)	(°C)	(°C)		Monofil.	Multifil.	
Poly(L-lactic acid)(PLLA)	178	103	57	Excellent	4.0-6.0	4.0-6.0	55-65
Poly(β -hydroxybutyrate)(PHB)	175	60	4	Poor	2.5-3.5	—	10-20
Poly(ϵ -caprolactone)(PCL)	60	22	-60	Fair	7.5-8.5	4.0-5.5	10-20
Poly(butylene succinate)(PBS)	116	77	-32	Good	5.5-6.5	4.5-5.5	15-25
Poly(ethylene terephthalate)(PET)	256	170	69	Excellent	5.5-6.0	4.5-9.5	100-110

ここで言うところの製糸性 (spinnability) とは、一般的に行われているマルチフィラメントの溶融紡糸において、多数のノズル孔から押し出された糸条がフィラメント間で融着 (blocking) を起こすことなく、一定の速度で定常的に巻きとられることを意味する。溶融紡糸過程では、ノズル孔より吐出された糸条がローラーにより巻きとられるまでの滞留時間 (冷却・固化時間) が極めて短いために、脂肪族ポリエステルのようにガラス転移温度 (T_g) の低いポリマーの場合には、冷却風による冷却過程で冷え切らずにゴム状弾性を示したり、ブロッキングを起こすことがよく観察される。

2-1. ポリ乳酸 (PLA) 系

ポリ (α -オキシ酸) の代表であるポリ-L-乳酸 (PLLA) は脂肪族ポリエステルの中では最も融点 (T_m) が高く、かつ室温以上のT_gを有する唯一のポリマーである。したがって、一般的にT_mとT_gの中間に位置する結晶化温度 (T_c) も最も高い。溶融紡糸における繊維形成過程は、高温で吐出孔から押し出された溶融ポリマーの冷却によるガラス化または結晶化固化過程とみなすことができるのでT_gやT_cが高い程有利である。さらに、好ましくは結晶化速度が速いことが望まれる。ポリ乳酸は、これら基礎的データから予想される通り、最も製糸性に優れる。

PLA繊維はPETとT_gが近いところから、PETとよく似た機械的性質並びに糸質特性を有している。ただ、PETに比し結晶化速度が遅いために通常の紡糸・延伸方法では十分に配向・結晶化が進まず、引張り強度や寸法安定性に劣った糸しか得られない。この技術的課題を克服することがポリ乳酸繊維並びにスパンボンド (長繊維不織布) 製造技術上のポイントであり、この点については後述する。

ところで、乳酸 (LA) はその分子構造中に一つの不斉炭素原子を有するために、L-体 (L-LA) とD-体 (D-LA) の2種の光学異性体が存在する。これまでは、L-LAを重合した光学純度の高いPLLAが注目されてきた。しかし、L-LAにD-LAを少量ランダム共重合することによりT_mはほぼ直線的に下がるところから、たとえばサーマルボンドのような短繊維不織布用の芯鞘複合糸の低融点鞘成分として利用することができる。なお、D-LAが12%まで増えるとT_mは約130℃まで低下すると共に、ほぼ非晶性ポリマーとなるが、T_gはほとんど変化しないために、製糸性の低下もそれ程致命的なものとはならない。

ポリ乳酸の生分解特性については別途詳述すると共に、筆者らの行った環境分解試験結果については後述する⁴⁾。

2-2. ポリ (β -ハイドロキシブチレート) (PHB) 系

ポリ (β -オキシ酸) の代表としてのPHB並びにその共重合ポリエステルPoly(β -hydroxybutyrate-co- β -hydroxyvalerate) (PHBV) などは、多くの微生物が菌体内に蓄積する微生物ポリエステルとして古くから知られ、その繊維化も各方面で取り組まれてきた⁵⁾。当社もICI社 (英) がPHBVを“Biopol”として製販している頃より数年間にわたり鋭意共同開発に取り組んできたが、水冷法によるモノフィラメントの製造には成功したものの、通常の空冷法による溶融紡糸には成功するに至らなかった。

PHBがPLLAとほぼ同じT_mを有するにもかかわらず製糸性に劣るのは、まずT_gが室温よりかなり低い (4℃) ことと、T_cが低くかつそのウインドウもあまり広くないことが原因と考えられる。

2-3. ポリカプロラクトン (PCL) 系

ε-カプロラクトンの開環重合により得られるPCLは、そのエステル結合間に5個のメチレン基を有するためにT_mとT_gは大幅に低下し、ポリエステルでありながらポリエチレンライクの柔らかな樹脂となる。

PCLは生分解性を有する合成高分子の代表として古くから知られ、これまで何回か繊維化も試みられている。しかし、PCLはT_gが極めて低いのみならず、T_cも室温域にあるために、冷却を強化することなしにマルチフィラメントやスパンボンドを得ることは困難である。筆者らは、ユニオン・カーバイド社(米)との共同研究において、高分子量(M_n=80,000)のPCL“Tone”を用い、高倍率(9倍)延伸により高強度PCLモノフィラメント(8.0~8.5g/d)を工業的規模で得ることに成功している。しかし、得られた繊維は低融点であるために用途展開に制約を受ける。また、短繊維として利用する場合には柔軟ではあるが捲縮性が弱く、カード通過性が問題となる。

PCL繊維の構造と生分解特性の関係に関し、延伸倍率の異なるPCLモノフィラメントの微細構造と糸質特性、環境分解特性並びに酵素分解特性との関係を検討した結果、PCLは自然環境中に存在する微生物の菌体外酵素(たとえば、リパーゼ)により容易に分解されること、および分解に際しては高次構造の影響が大きいことを明らかにした^{6,8)}。特に、生分解性におよぼす高次構造の影響に関しては、結晶化度がほとんど同じでも非晶鎖の配向・緊張状態によりかなり分解性が異なることから、結晶化度で規定される静的な構造パラメータよりも高分子鎖の分子運動性が重要であることが示唆された。

2-4. ポリブチレンサクシネート (PBS) 系

カロザースによる古典的な研究以来、これまでジオールとジカルボン酸からは低分子量のポリマーしか得られないと考えられていたが、触媒技術と鎖延長剤の適用により、M_nが40,000前後のものを工業的に製造する技術が昭和高分子(株)により確立され、“Bionolle”として商業生産されている。筆者らのグループも、鎖延長剤を使うことなく高分子量のポリマーを得る技術を開発済みである⁹⁾。

PBSのT_mは100℃を越えるもののT_gはかなり低く、機械的特性もPCL同様にポリエチレンライクである。PBSのT_mとT_cはPCLより約50℃高いところからPCLより製糸性に優れ、紡糸延伸条件を最適化することにより、一応マルチフィラメント並びにスパンボンドを得ることができる。しかし、ポリマーの重合度がPCLほど高いものが得られないところから繊維とした場合の強度に限界があり、また短繊維とした場合の捲縮特性にはPCLと同様な問題点が存在する。一方、スパンボンドとした場合の柔軟性には優れるが、地合いの均一性(開繊性)には若干劣る。

PBS系ポリマーは共重合成分としてジカルボン酸成分としてアジピン酸を、あるいはジオール成分としてエチレングリコールを導入することにより、それぞれ poly(buthylene succinate-co-buthylene adipate) (PBSA) あるいは poly(buthylene succinate-co-ethylene succinate) (PBES) を得ることが可能であり、より低融点で生分解性に富んだポリマーとすることができるとは、製糸性はさらに悪くなる。筆者らが自家重合したPBES系ポリマーから製造した繊維あるいはフィルムの一次構造並びに高次構造と生分解性に関しては、すでに報告した通りPCLと基本的に類似の分解挙動を示す^{10,11)}。

3. ポリ乳酸の生分解機構

3-1. 二段階分解機構

PLAの分解メカニズムは一般の生分解性プラスチックとは様相を異にする。すなわち、PCL、PHB、PBSなどの生分解性プラスチックの分解機構は、初期から最終段階まで微生物が関与するワンステップの酵素分解が主体であり、基本的に分解は材料表面からの侵食作用(surface erosion)により進行する。それに対しPLAは2つの分解様式を持ち、しかも2段階の分解機構を有していることが特徴的である。まず、高分子量PLAは微生物により分解され難いところから、一次分解(first stage)では微生物(酵素)の関与しない単純な化学的(非酵素的)加水分解が主体となり、この段階では分子量の低下は認められても重量減少は認められない。しかし、M_nが10,000~20,000程度まで分解されると、単純な加水分解の他にカビやバクテリアの酵素などによる生物分解も加わり、重量減少が顕著に

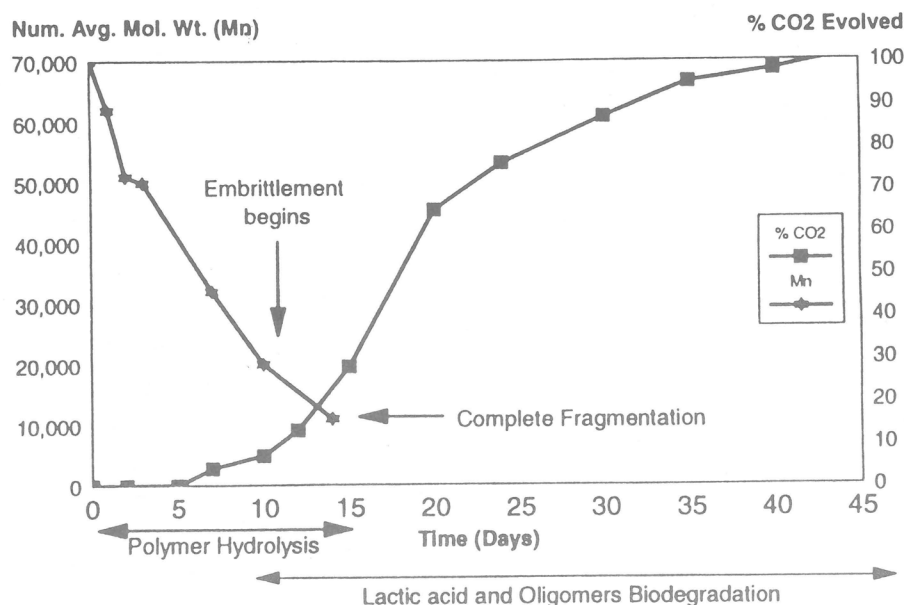


Figure 1. Biodegradation of polylactic acid in 60°C compost.¹²⁾

認められる二次分解 (second stage) の段階に至る。そして、最終的には水溶性のオリゴマーさらには乳酸モノマーにまで分解され、微生物により完全に資化・代謝され炭酸ガスと水になる。

このような分解過程は、コンポスト系においてLunt¹²⁾と木村¹³⁾により、活性汚泥系において八木¹⁴⁾により報告されているが、ここでは代表例としてLuntがコンポスト中 (60°C) で行った実験結果を図1に示す。これより、Mnが20,000程度になると脆くなり、さらに10,000前後になるとバラバラに細片化されると共に、その頃から微生物による分解・資化・代謝活動が活発化することが炭酸ガスの急激な発生量から確認することができる。なお、このようにポリ乳酸の分解が2段階機構で進行することは、酵素が関与しない単純なる加水分解が支配的なin vivoの系においてもすでに確認されている^{15,16)}。これらポリ乳酸の2段階分解機構は表2のようにまとめることができる。

高分子量のPLAが土壌中など自然界の微生物により分解されにくいことは、生分解性プラスチック研究会 (BPS) 技術委員会が全国20ヶ所で行った第3回フィールドテストの結果¹⁷⁾が示している。すなわち、PLAは1年間土壌中に埋設してもほとんど強度低下は認められず (ただし、破断伸度や分子量の低下は少し認められるところから分解は少しずつ進行している。)、全サンプル (PCL、PHBV、PBS、PBSA、PLA、セルロース) の中でも最も安定であった。また、常盤らにつくば市周辺45ヶ所から採取した土壌サンプルから各種生分解性プラスチックの分解微生物をスクリーニングした結果、PCL分解菌は33サンプルから、PBS分解菌は19サンプルから見つかったのに対し、PLA分解菌はわずか1サンプルのみであった¹⁸⁾。PLAの微生物・酵素分解を阻害する主な原因としては、PLAがもともと自然界には存在しない化合物である上に、ガラス転移温度が高いことからわかるように主鎖骨格が剛直であること、さらに側鎖にメチル基を有することなどが挙げられる。

TABLE 2. Two-Stage Degradation Mechanism of Polylactic Acid

Stage	Molecular Weight	Rate of MW Decrease	Weight Loss	Hydrolysis Reaction	Degrad. Mechanism
first-stage	high	slow (rate-determined)	none	non-enzymatic	bulk
	critical (Mn:10,000-20,000)		onset		
second-stage	low	rapid	rapid	non-enzymatic & enzymatic	bulk & surface

3-2. 微生物・酵素分解¹⁹⁾

ポリ乳酸の酵素分解は1980年代に入りブロメライン (Bromelain)、プロナーゼ (Pronase)、プロティナーゼK (Proteinase K) などのプロテアーゼによる分解が報告²⁰⁾されて以来、カルボキシエステラーゼ (Carboxylic esterase)²¹⁾やリパーゼ (Lipase)²²⁾が報告されている。1990年代に入り、ロイシンアミノペプチダーゼ (Leucine aminopeptidase)²³⁾やプロティナーゼK²⁴⁾が報告されているが、プロティナーゼK²⁴⁾以外は比較的低分子量PLAやD, L体を対象としたものが多い。

一方、微生物分解に関しては、最近になってPLAモノマーないしオリゴマーに対し*Fusarium* 属や*Penicillium* 属の糸状菌、*Pseudomonas* 属のバクテリアが資化能を有することが報告されている^{24,25)}。またごく最近に至り、高分子量のPLAを分解する菌株として土壤中から*Amycolatopsis* 属²⁶⁾と高熱菌から*Bacillus* 属²⁷⁾の資化菌が発見されている。さらに、菌種の同定はなされていないが、コンポスト中にPLAオリゴマーを分解・資化する微生物²⁸⁾の存在が確認されている。

4. 「テラマック」の基本特性と特徴

4-1. 基本コンセプト

「テラマック」はトウモロコシなどの再生可能な植物資源から得られるデンプンを出発原料とし、これを酵素分解することにより得られるグルコースを乳酸菌発酵により乳酸とし、これを化学合成することにより得られるポリ乳酸を、ユニチカ独自の高分子成形加工技術により繊維・スパンボンド・フィルムとしたものである。

「テラマック」はコンポスト (堆肥) あるいは自然環境下の初期分解過程 (一次分解) で、主として非酵素的な加水分解を受ける。次に、後期過程 (二次分解) で微生物が菌体外に分泌する酵素などによる加水分解作用を受け、水溶性のオリゴ乳酸または乳酸モノマーとなり、微生物の細胞内に取り込まれることにより資化・代謝され、最終的には炭酸ガスと水になる。ここで発生した炭酸ガスは、再びトウモロコシなどの再生可能な植物資源の光合成の炭素源として取り込まれデンプンが合成される。すなわち、「テラマック」の物質循環は、この地球上に生命が存在する限り永遠に途絶えることはない。それぞれの分解過程における産物は、次の過程における原料として再利用されるため、基本的に廃棄物処理問題は存在しない。また、これまでの化石資源を原料とするプラスチック製品などのように、焼却に伴う一方的な炭酸ガスの増加もない。このように「テラマック」は、まさしく自然界の有機化合物が有している炭素循環サイクルに完全にリンクしたものであるとして、来るべき21世紀の資源循環型社会 (真のリサイクル社会) の構築に貢献することが期待される。

4-2. 「テラマック」の基本的性質

「テラマック」の主原料であるポリ乳酸は、 α -オキシ酸である乳酸 $\text{HO}-\text{C}^*\text{H}(\text{CH}_3)-\text{COOH}$ (C^* : 不斉炭素) の重合体からなる熱可塑性の半結晶性脂肪族ポリエステルである。乳酸にはL-体とD-体の二つの光学異性体が存在することはすでに述べたが、「テラマック」はL-体を主成分としつつも適当量のD-体を共重合したポリ(D,L-乳酸)(PDLLA)を、用途分野に応じて使い分けていることが特徴である。なお、自然界に広く存在するのはL-乳酸であるが、人類をはじめとするかなりの生物がD-乳酸をL-乳酸に変換する酵素 (Lactate racemase) 系を有しているため、D-乳酸も有用である。

「テラマック」の主原料であるポリ乳酸は、日頃私達が摂取する食品中に常在する (あるいは添加物として)、また体内に存在する乳酸を構成モノマーとすることから明らかな通り、極めて安全性に優れる。また、その中間産物であるオリゴ乳酸についても変異原性は認められていない。ポリ乳酸の生体内における安全性を実証する例として、骨折固定材としての生体内分解吸収性ボルトが、厚生省より製造承認を受けて実用化されている。

表1に繊維の例を示すように、「テラマック」の初期強度レベルは現行の合成繊維やフィルムと比べると現状ではやや低いですが、産業用から衣料用資材、さらには生活・雑貨用資材まで広範な用途展開が可能である。しかし、その基本的な特性からして、5年以上の長期耐久性が要求される分野よりも商品としてのライフ・サイクルが比較的短く、むしろその廃棄物処理 (再資源化) が問題となる分野

に適している。「テラマック」の標準銘柄の T_m は約170℃で芳香族ポリエステルであるPETと比べると低いが、 T_g は約57℃で比較的近いために機械的特性はPETに似ている。なお、比重(1.25)はPETより低く、ナイロンよりは高い。また、分散染料による常圧染色(100℃)が可能である。

「テラマック」の耐薬品性はPLAに特徴的なものであり、アルコール類には安定であるが、クロロホルム、ジオキサン、ベンゼンなどに溶解または膨潤し、アルカリ水溶液に比較的容易に加水分解を受ける。加水分解は特に温度の影響が大きく、室温下では比較的安定であるが、 T_g 近傍の55℃以上ではかなり急速に加水分解を受ける。また、PLAの加水分解は-COOH基の触媒作用により加速されるため、ポリマー中の残留ラクチドやオリゴマーを極力低減化することが、室温下での長期保存安定性を確保する上で極めて重要であり、「テラマック」はこれを実現したものである。

4-3. 「テラマック」の特徴

「テラマック」は、従来の単なる生分解性のポリ乳酸製品ではなく、その成形加工工程でポリ乳酸自身が有する様々な潜在的な性能や特性を最大限に引き出し、製品に付与することに成功した高機能性製品である。これまで一部メーカーからポリ乳酸繊維やスパンボンドが発表されているが、「テラマック」はこれらとは異なる。以下に、「テラマック」独自の特徴を中心に概説する。

1) 熱接着性とヒートシール性の付与

これまでのポリ乳酸製品はほとんどがPLLAに近いものであるが、「テラマック」はこれ以外にもPDLLAを駆使し、たとえば芯鞘複合糸の低融点(130-140℃)の鞘成分として採用することにより、ポリ乳酸系バインダー繊維の開発に世界ではじめて成功した(特許出願中)。これらは、サーマルボンド(エンボスまたはエアスルー)のような短繊維不織布の製造工程において有用であるばかりでなく、当該技術を長繊維不織布であるスパンボンドやフィルムにも応用することにより、ヒートシール性に優れた製品を提供することが可能となる。

2) 静菌性と防カビ性の発現

一般的に生分解性プラスチックは微生物分解性であるところから、一般のプラスチックに比し細菌やカビが付きやすい。この問題は製品の保存安定性や、食品、衛生、生活雑貨、農業、並びに園芸分野の使用過程における安全・衛生性に関わる極めて重要な問題点であった。

当社は、これまで乳酸モノマーが食品保存剤として広く使用され、また防カビ作用を有することを手掛りに、ポリ乳酸の繊維化などへの成形加工工程で静菌・防カビ性を発現させるべく鋭意検討した結果、はじめて静菌作用を有する繊維の開発に成功するに至った(特許出願中)。なお、ポリ乳酸樹脂自体が他の生分解性プラスチックよりも優れた防カビ性を有することは、すでにJIS Z-2911「カビ抵抗性試験方法」(25℃, 4週間)において確認されている²⁹⁾。

繊維製品新機能評価協議会の抗菌防臭性に関する黄色ぶどう球菌を用いた統一試験結果を表3に示す。対照試料のナイロン標準白布では植菌して18時間培養後の生菌数に増加が認められるのに対し、「テラマック」では洗濯回数10洗後でも顕著な生菌数の減少が認められ、静菌活性の基準値2.2をはるかに上回る高い抗菌活性が得られている。また、「テラマック」単独のみならず、コットンやポリエステルとの混綿においても抗菌活性が認められていることは、大変興味深い。

これまで繊維製品に抗菌活性を付与する方法は、比較的毒性の強い合成抗菌剤をむりやり練り混みまたは後加工することで対処してきたのに対し、「テラマック」はそのようなものは一切使用することなく、自然界が有する天然の静菌作用をそのまま引き出すことに成功したものである。私達はひょっとしたら、人と自然に優しい繊維の理想像を一気に実現したのかもしれない。

なお、「テラマック」が製品としての使用過程において静菌・防カビ性が求められるのは、言うまでもなく初期分解過程(一次分解)の段階までであり、また「テラマック」の静菌・防カビ作用が後期の微生物分解におけるポリ乳酸分解菌に影響を及ぼすものでないことは、コンポスト試験などにおける良好な結果が証明している。

TABLE 3. Bacteriostatic Properties of TERRAMAC Fibers Made of Polylactic Acid

Materials	Number of bacteria N(cells/ml)	log N	Bacteriostatic activity logB-logC	Bactericidal activity logA-logC	Washing
Inoculum*	A=2.5×10 ⁴	4.4	—	—	
Nylon fabric(Control)	B=1.7×10 ⁷	7.2	—	—	
TERRAMAC	C≤2.0×10	≤1.3	5.9≤	3.1≤	before
TERRAMAC	C≤2.0×10	≤1.3	5.9≤	3.1≤	after ten times
TERRAMAC/PET(3/7)	C≤2.0×10	≤1.3	5.6≤	3.1≤	before
TERRAMAC/PET(3/7)	C=1.1×10 ³	3.0	3.9		after ten times
TERRAMAC/Cotton(5/5)	C≤2.0×10	≤1.3	5.6≤	3.1≤	before

* *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P

3) 保存安定性と耐候性の付与

「テラマック」の主要な用途の一つである農業・園芸・土木分野においては、実際の屋外使用において少なくとも1～2年の耐久性が要求される用途分野が多い。この期間は水や微生物による顕著な分解が認められてはならないと同時に、光による分解も認められてはならない。「テラマック」はすでに述べたように長期保存安定性に優れるばかりでなく、後述するようにPET対比耐候性に優れる。なお、光による分解はカルボニル基隣接の水素原子引き抜き反応（Norrish II型）であるのに対し、水や微生物による生分解はエステル結合の加水分解反応であり、分解機構は全く異なる。

4) 強度と寸法安定性の両立

「テラマック」の産業資材や生活資材、あるいは衛生材料への展開を考える時、一定の強度を有すると同時に寸法安定性に優れたものでなければならない。たとえば、加工工程における熱接着やヒートシールの過程で熱収縮を起こすものであってはならないし、また実際の使用過程においても経時的に収縮を起こすようなものであってはならない。

ポリ乳酸は数ある生分解性プラスチックの中でも最も製糸性に優れるために、たとえどのような製糸方法であれ、見掛け上は一見良好な糸条が得られる。しかしながら、ポリ乳酸の繊維あるいはスパンボンドとしての真の性能を引き出すためには、少なくともPET繊維あるいはPETスパンボンドの製造設備と技術が必須であり、PPのようなポリオレフィンの製造設備からは優れた製品を生み出すことは困難である。これはポリ乳酸のTgがPETに近いことと、結晶化速度がPETよりさらに遅いことと密接な関係がある。

最も顕著に差が出る例として、スパンボンドについて説明する。すでによく知られているように、PETスパンボンドのエアサッカーによる曳き取り（紡糸）速度は5,000 m/min前後であるのに対し、PPスパンボンドのそれは半分以下である。したがって、ポリ乳酸をPPスパンボンドの設備仕様下で紡糸しても、配向・結晶化速度が遅いために高強度のものが得られないばかりでなく、極めて高い熱収縮率のものしか得られない。ポリ乳酸は5,000 m/min以上の高速下で一気に紡糸して配向結晶化させることにより、はじめて高強度と寸法安定性を両立させることができる（特許出願済）。

当社は幸いにして、PETスパンボンドの国内最大手として、あるいはポリエステル系短繊維不織布用原綿（特に、芯鞘やサイド・バイ・サイドタイプの複合糸）の最大手として、これまでにこれらの分野で培った技術や設備が生かせる素材としてポリ乳酸を位置づけている。

5. 「テラマック」の環境分解特性

5-1. 標準コンポスト試験

「テラマック」の重要な再資源化の手段としてコンポスト（堆肥）化がある。近年、化学肥料と農薬の多用で疲弊した土地は堆肥や土壌改良材としての有機質を求めており、一方で化学肥料と農薬を使用しない有機栽培が健康で美味かつ栄養価の高い野菜や果物を提供するものとして注目されている。

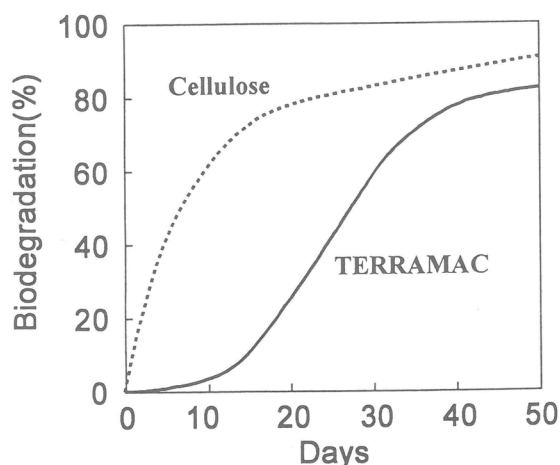


Figure 2. The ultimate aerobic biodegradability of TERRAMAC spunbond fabric (25g/cm²) under controlled composting conditions.

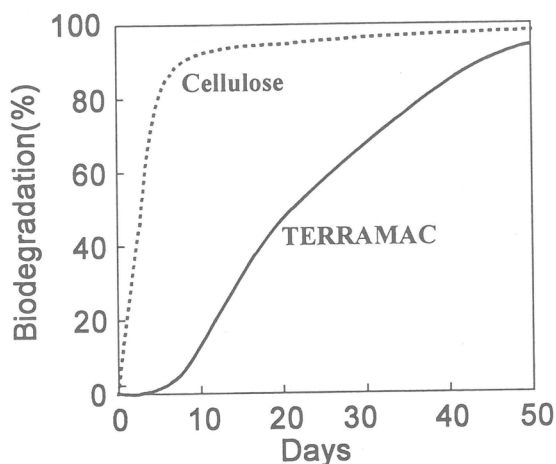


Figure 3. The ultimate anaerobic biodegradability of TERRAMAC spunbond fabric (25g/m²) under high-solids anaerobic digestion conditions.

コンポスト化は原料や菌相、さらには発酵条件（特に温度）で異なった様相を呈するところから、ここでは「テラマック」スパンボンド（25 g/m²）につき、標準的な規格試験方法としてのISO/DIS 14855: Evaluation of the ultimate aerobic biodegradability and disintegration of plastics under controlled composting conditions（以下、好気性コンポスト試験と略記する）とISO/DIS 15985: Evaluation of ultimate anaerobic biodegradability and disintegration of plastics under high-solids anaerobic digestion conditions（以下、嫌気性コンポスト試験と略記する）について行った結果（OWS社）を報告する。

図2および図3に示すように、「テラマック」は好気性および嫌気性下のいずれにおいても、セルロースに比し初期の分解速度は遅いものの、規定の45日後ではほぼセルロースに匹敵する分解特性を示した。コンポスト化は通常は好気性下での高速堆肥化が一般的であるが、近年ヨーロッパ先進地域では、嫌気性コンポスト化により発生するメタンガスを燃料として有効利用する大型プラントが建設されつつあるところからも、本結果は注目される。

なお、上記試験はいずれも熟成コンポストを用いた規格試験であるが、実際の発酵コンポスト中では発酵熱が60～80℃にも達するために、上記試験よりもはるかに早く分解する。ポリ乳酸の初期の加水分解速度は温度の影響が大きく、T_g以上では分解が速いことはすでに述べた通りである。たとえば、発酵熱が80℃に達する高速堆肥化プラントでは、「テラマック」フィルムは1～2週間で分解する。また、実際PLAの発酵コンポスト中での分解速度がPBSやPBSAよりも速いことが木村により報告されている¹³⁾。

5-2. 土中分解試験

自然環境下における分解の代表例として、「テラマック」繊維（50d/24f）の土壌中での分解挙動を図4に示す。「テラマック」の土壌中での分解速度は比較的遅く、土壌埋設後1年前後までは重量減少も観測されず見掛け上分解はほとんど認められない。これは、ポリ乳酸の初期の分解挙動が非酵素的な加水分解が支配的であるところから、酵素分解タイプのように表面からの侵食による重量減少が認められないことによる。しかし、繊維としての引張り強度保持率は約80%まで低下し、また分子量の指標としての相対粘度の低下も認められるところから、実際には分解は少しずつ進行している。

「テラマック」の土壌中での引張り強度保持率は経時的にほぼ直線的に低下し、2年後にはおよそ半分となる。ポリ乳酸はすでに述べた通り、ある程度分解が進行すると微生物や酵素により分解が加速されるところから、1～2年後には次第に重量減少も認められ形態的な崩壊がはじまる。

「テラマック」の土壌中での分解挙動を、走査型電子顕微鏡（SEM）により表面形態の変化として追跡すると、図5に示すように早ければ1年後には、繊維のごく一部の繊維軸直交方向に多数の微細な溝が形成されはじめる。これは、熔融紡糸繊維に一般的な微細構造であるシシカバブ（shish-kebab）構造³⁰⁾を反映したものと考えられる。すなわち、分解は繊維軸直交方向に発達したカバブ構造を形成する多数のラメラ結晶の間隙に存在する非晶領域より優先的に進行することを示唆している。なお、筆者らはこの現象を酵素分解タイプのPCL繊維の土中分解においても観察している⁷⁾。

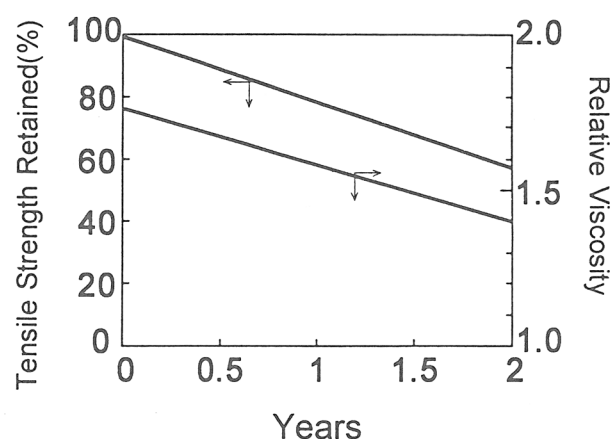


Figure 4. Soil burial test of TERRAMAC fiber (50d/24f).

5-3. 埋立試験

生分解性プラスチックが埋立地に搬入された場合の分解挙動について、福岡大学と（財）廃棄物研究財団の模型槽（準好気性槽：福岡方式）を用いた共同研究によると、ポリ乳酸は数ある生分解性プラスチックの中でも最も速く分解し、約2ヶ月で細片にまで分解された。これは、埋立廃棄物の主たる構成成分である焼却灰が弱アルカリ性～アルカリ性（pH:11-12）であり、しかも発酵熱が50-60℃に達するところから加水分解が急速に進行するためと考えられる。このように、ポリ乳酸が廃棄物処分場（埋立地）で短期間に分解されることは大変興味のあるところであり、今後埋立廃棄物の減容化手段として期待される。

5-4. 水中浸漬試験

生分解性プラスチック研究会（BPS）技術委員会が、全国20ヶ所で行った第3回フィールドテストの結果¹⁵⁾から判断すると、ポリ乳酸の水中分解速度は土壌中と同程度に比較的ゆっくりと分解が進行する。また、これらは地域により若干の差はあるものの、海水中と淡水中ではそれほど顕著な差は認められなかった。このように、PLAの分解に自然環境や地域の相違があまり大きな影響を及ぼさないところから、PLAの分解速度の律速段階は微生物が関与しない第一段階の加水分解反応であることが改めて理解される。

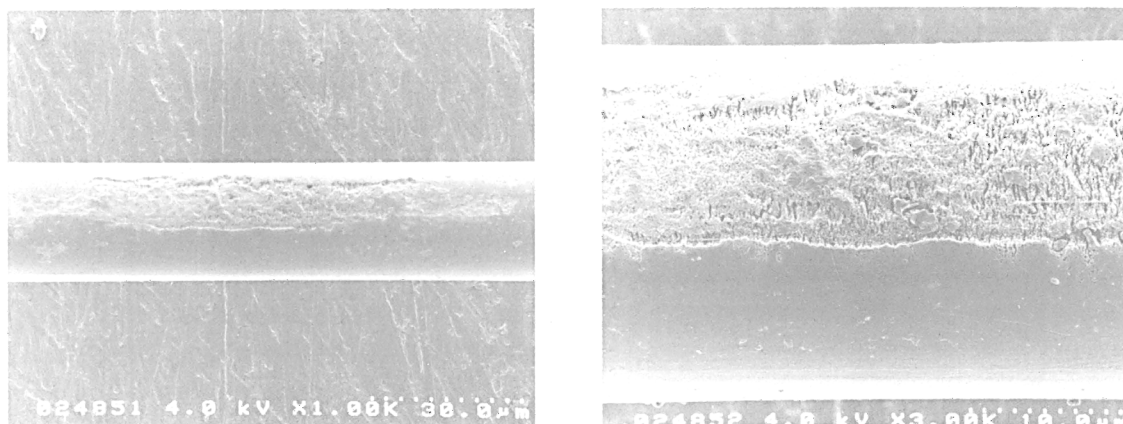


Figure 5. SEM photographs of TERRAMAC fiber before and after 13 months soil burial.

5-5. 耐候性試験

「テラマック」繊維並びにスパンボンドについて、実際に地上屋外で数年間使用されるケースを想定してサンシャイン・ウエザメーターによる促進耐候性試験を行った。ここでは代表例として「テラマック」繊維（500d/96f）の結果を、PET繊維との比較において図6に示す。すでに述べたように、「テラマック」繊維の500時間照射（実際の屋外暴露2年に相当）後の引張り強度保持率は、PET繊維より明らかに優れている。また、実際の屋外暴露試験においても同様な傾向が確認されている。本試験は単なる耐光性だけでなく、実際に降雨を伴う高温多湿下での保存安定性をも保証するものとして重要な意味を持つ。

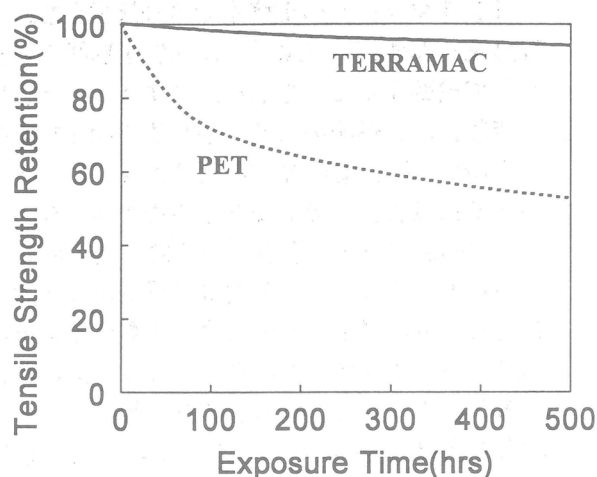


Figure 6. Weather stability test of TERRAMAC fiber (500d/96f) by Sunshine Weather Meter.

6. 「テラマック」の製品分類と用途展開

「テラマック」(TERRAMAC)の語源は“TERRA”はラテン語で「地球」「大地」という意味、“MAC”は「息子」を意味し、「地球の大地から生まれた子供たち」を表しています。「自然から生まれ、自然に還る」素材をベースに、地球環境に優しく全ての生き物に愛される製品群をイメージしています。「テラマック」は、以下の製品群からなります。

6-1. 「テラマック」の製品分類

- 1) 繊維…①モノフィラメント ②マルチフィラメント ③ショートカット・ファイバー
④ステープル・ファイバー（レギュラー、芯鞘複合糸、サイド・バイ・サイド複合糸）
- 2) 長繊維不織布…スパンボンド（レギュラー、芯鞘複合タイプ、成型用タイプ）
- 3) 短繊維不織布…①スパンレース（レギュラー、綿混タイプ） ②ニードルパンチ
③サーマルボンド（熱エンボス、エアスルー） ④湿式不織布
- 4) フィルム…①シュリンクフィルム ②延伸フィルム ③フラットヤーン ④バンド
- 5) シート…①シート ②サーモフォーミング…原反、成型品

6-2. 用途展開

1) 農業・園芸・土木・水産用途

近年、先進農業地域においては農産廃物や家畜ふんを原料とするコンポストプラントが建設されつつあり、そこで再資源化された堆肥は再び肥料や土壌改良材として、地域に還元されるトータルシステムが構築されつつある。したがって、農地やハウス栽培で一定期間（早いもので1シーズン、多くは数年間）使用された「テラマック」のような農業用資材の多くは、これら農産廃物と一緒に高速堆肥化され農地に還元される。一方、植樹ポットのように最初から土中で使用され、数年をかけて分解し土に還ることが求められる用途分野もある。いずれにしても、ポリ乳酸の土中分解速度が遅く、一方高速堆肥化が可能であることは、この分野における用途展開の潜在的可能性を示唆するものである。

[具体例]

土嚢、植樹ポット、育苗床・ポット、べたがけシート、寒冷紗、ハウス内張りシート、植生シート・ネット、法面保護・緑化シート、人工蛇籠、マルチフィルム・シート、防草シート、飛灰押えシート、紐、ロープ、ドレーンシート、排水改良材、保水シート、コンクリート成形用チューブ、防鳥・防虫ネット、汚泥・ヘドロ脱水袋、フィルター、海苔養殖網、漁網、釣り糸、カニ籠

2) 衣料・インテリア・生活雑貨用途

この場合には、比較的長期間（3～5年間）使用される衣料やインテリア用途と、使い捨てが主流の生活雑貨用途がある。少なくとも後者の場合には、その他の有機性廃棄物と共にコンポスト化することが望ましいが、わが国のように一般廃棄物のインフラの整っていない国での過渡的な措置として、埋め立てあるいは焼却されても有毒ガスが発生することはない問題はない。「テラマック」の場合には、焼却により発生した炭酸ガスは再び植物の光合成の炭素源として吸収されるため、従来の石油原料の場合のように炭酸ガスの一方的な増加による地球温暖化の懸念はない。

[具体例]

ユニホーム、作業服、スポーツウエア、シャツ、カジュアルウエア、寝具、カーペット基布・パイル、壁紙、カーテン、マット、タオル、ワイパー、ナプキン、便座ふき、買い物袋、生ゴミ水切りネット、コンポスト袋、釣り餌袋、文房具、クリアファイル、封筒、カード、包装材、プリスター、緩衝材

3) 食品、衛生、医療用途

これらの用途においては油や体液などにより汚染されるため、シングルユース、つまり使い捨てが原則である。すでに述べたように、「テラマック」には静菌・防カビ作用があり安全性にも優れるため、これらの用途展開に適している。（ただし、食品と直接接触する用途については安全基準の策定が望まれるため、現在生分解性プラスチック研究会技術委員会にてガイドラインを策定すべく検討中である。）ドイツでは、ヨーグルト大手の Danone 社のヨーグルト・カップ（並びにふた）にポリ乳酸が本格的に採用され、DSDシステムの中で分別されコンポスト化処理されている。

これらの廃棄物処理は生ゴミなどの有機性廃棄物と共にコンポスト化することが望まれるが、都市ゴミの自治体単位でのコンポスト化設備の普及率がまだ低いこともあり、焼却などに頼っているのが現状である。しかし、欧米並みの排出規制が設けられるようになったダイオキシン問題を契機として、大手ホテルや事業所、有力スーパーやコンビニエンス業界などの先進企業が、食堂残飯や賞味期限切れの弁当類をコンポスト化処理する動きが活発化しており、そこで大量に使われている食品包材類も堆肥化が可能（compostable）であることが望まれるようになってきた。

[具体例]

鮮度保持フィルム、食品包装袋、食品トレイ、弁当箱、卵パック、カップ、ティーバッグ、コーヒーフィルター、パッド、お尻ふき、使い捨ておむつ、生理用品、テープ、貼付材基布、化粧品チューブ

7. おわりに

「テラマック」の用途展開は当然のことながら「テラマック」を構成するポリ乳酸の自然環境中の寿命（life time）を考慮したものでなければならない。すでに述べた「テラマック」の保存安定性や環境分解特性を踏まえた上で、その自然環境中における寿命を表示すると図7のようになる。

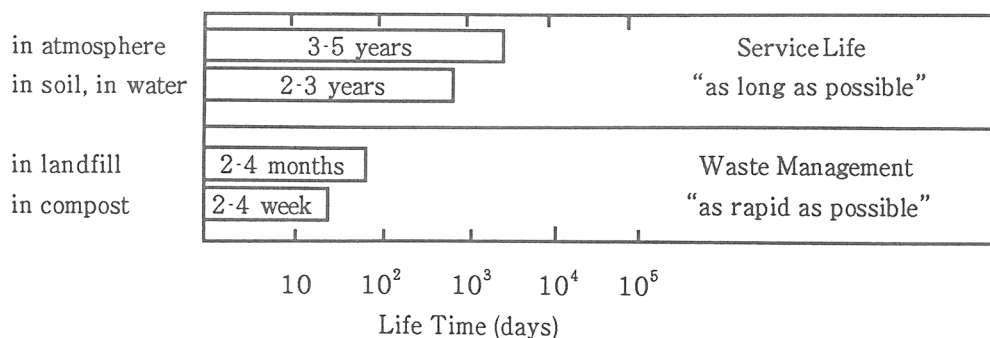


Figure 7. Life time of TERRAMAC made of polylactic acid in natural environments.

すなわち、「テラマック」の奉仕寿命 (service life) は少なくとも3年前後 ($\sim 10^3$ days) であるのに対し、廃棄物処理に要する時間はせいぜい0.5～3ヶ月程度 ($10\sim 10^2$ days) であり、これらの間には少なくとも1～2桁の差が存在する。基本的にはこの差が大きい程好ましいことは、生分解性プラスチックの定義「使用中は通常のプラスチックと同じように使えて、使用後は自然界の微生物により水と炭酸ガスなどに分解され、自然に還るプラスチック」からも伺い知ることができる。このように考えると、「テラマック」は極めて理想に近い素材といえることができる。

8. 参考文献

- 1) M. Mochizuki and M. Hirami, *Polymers for Advanced Technologies*, 8, 203 (1997)
- 2) M. Mochizuki and M. Hirami, in "Polymers and Other Advanced Materials" P. N. Prasad, E. Mark, and T. J. Fai, eds., Plenum Press, New York, p. 589(1997)
- 3) 望月政嗣, 繊維と工業, 52(5), P-200 (1996)
- 4) M. Mochizuki, International Textextil-Symposium Asia for Technical Textiles Nonwovens and Textile-Reinforced Materials, p. 139(1998)
- 5) T. Yamamoto, M. Kimizu, T. Kikutani, Y. Furuhashi, and M. Cokmak, *Int. Polym. Process.*, 99(1997)
- 6) M. Mochizuki, K. Nakayama, R. Xian, B. Z. Jiang, M. Hirami, T. Hayashi, T. Masuda, and A. Nakajima, *Pure and Appl. Chem.*, 69(12), 2567(1997)
- 7) M. Mochizuki, T. Hayashi, K. Nakayama, and T. Masuda, *Pure and Appl. Chem.*, accepted.
- 8) M. Mochizuki, M. Hirano, Y. Kanmuri, K. Kudo, and Y. Tokiwa, *J. Appl. Polym. Sci.*, 55, 289(1995)
- 9) Y. Iwaya, K. Mukai, M. Kawanishi, M. Nishinohara, U. S. Patent. 5 504 148(1996)
- 10) M. Mochizuki, K. Mukai, K. Yamada, N. Ichise, S. Murase, and Y. Iwaya, *Macromolecules*, 30(24), 7403(1997)
- 11) 望月政嗣, 村瀬繁満, 稲垣まどか, 冠 善博, 工藤和成, 繊維学会誌, 53(9), 348(1997)
- 12) J. Lunt, *Polmer Degradation and Stability*, 59, 145(1998)
- 13) 木村俊範, 中崎清彦監修, "生物系廃棄物コンポスト化技術", シーエムシー(1999)
- 14) 八木 正ほか, 97-2 エコマテリアル研究会テキスト, 1(1997)
- 15) C. G. Pitt, M. M. Gratzl, G. L. Kimmel, J. Surles and A. Schindler, *Biomaterials* 2, 215(1981)
- 16) Y. Ogawa, M. Yamamoto, S. Takada, H. Okada, T. Shimamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 1502(1988)
- 17) 生分解性プラスチック研究会技術委員会, "生分解性プラスチックのフィールドテスト (土壌・水中系) 第3報" (1997)
- 18) H. Pranamuda, Y. Tokiwa, and H. Tanaka, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(4), 1637(1997)
- 19) 富田耕右, 97-3 エコマテリアル研究会テキスト, 1(1998)
- 20) D. F. Williams, *Eng. Med.*, 10(1), 5(1981)
- 21) K. Makino, M. Arakawa, and T. Kondo, *Chem. Pharm. Bull.*, 33(3), 1195(1985)
- 22) H. Fukuzaki, M. Yoshida, M. Asano, and M. Kumakura, *Eur. Polym. J.*, 25(10), 1019(1989)
- 23) T. Chandy, *Biomaterials*, 12, 667(1991)
- 24) M. S. Reeve, S. P. MaCarthy, M. J. Downey, and R. A. Gross, *Macromolecules*, 27, 825(1994)
- 25) A. Torres, S. M. Li, S. Roussos, and M. Vert, *Appl. Environ. Microbiol.*, 62(7), 2393(1996)
- 26) A. Torres, S. M. Li, S. Roussos, and M. Vert, *J. Environ. Polym. Degrad.*, 4(4), 213(1996)
- 27) H. Pranamuda, Y. Tokiwa, and H. Tanaka, *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(4), 1637(1997)
- 28) 黒木 豊, 長井孝太, 小向 豊, 富田耕右, 平成9年度日本生物工学会大会講演要旨集, p. 259 (1997)
- 29) S. Karjomaa, T. Suortti, R. Lempiainen, J. F. Selin, and M. Itavaara, *Polym. Degrad. Stab.*, 59, 333 (1998)
- 30) 川島信之, 化学経済, No. 10, 52(1995)
- 31) Z. Bashir, M. J. Hill and A. Keller, *J. Mater. Sci., Lett.*, 5, 876(1986)

リパーゼ触媒を用いた機能性ポリエステルの選択的合成

小林 四郎、宇山 浩

S. Kobayashi, H. Uyama

京都大学大学院 工学研究科 材料化学専攻

1. はじめに

筆者らは酵素を分子触媒の一つとして捉え、酵素を積極的に重合触媒として用いる高分子合成に関する研究（「酵素触媒重合」）を系統的に進めてきた¹⁻³⁾。尚、ここで酵素触媒重合は「酵素触媒を用いる非生合成経路による *in vitro* 重合反応」をいう。近年、機能性高分子材料開発における精密構造制御の必要性が高まっており、それらに対応できる高分子合成の新技术として酵素触媒重合が注目されてきた。酵素触媒重合におけるターゲット高分子として芳香族ポリマー（ポリフェノール、ポリアニリン）、ビニルポリマー、多糖類、ポリアミノ酸、ポリエステル、ポリカーボネートが挙げられる。多くの場合に、従来法では合成困難なポリマーが *in vitro* での酵素触媒作用により合成されている。

また、酵素触媒重合は穏和な条件下での高活性触媒作用（省エネ）、酵素反応系の無毒性（毒性の高い金属触媒やモノマーの非使用）、有効利用の望まれている天然資源の出発物質としての活用、生成ポリマーの高い生分解性といった点で、地球環境に優しい（環境低負荷型）高分子材料創製プロセスである。酵素触媒重合は自然界の物質循環に取り込まれるものであり、その研究開発が「グリーンポリマーケミストリー」の推進につながるものと期待される。

酵素触媒重合の触媒として加水分解酵素（ヒドロラーゼ）が圧倒的に多く用いられている。自然界に多種多様存在し、工業的にも安価なものが多く、入手し易いためであろう。自然界でグリコシル結合、エステル結合、ペプチド（アミド）結合等の結合切断を伴う加水分解を触媒する酵素が重合触媒として機能するためには、基質モノマー同士の結合形成がくり返し起こり、酵素本来の触媒作用とは逆反応の触媒として働く必要がある。これまでに多糖加水分解酵素であるセルラーゼ、キシラナーゼ及びキシナーゼを触媒に用いることにより、セルロース、キシラン及びキチンの初の化学合成が達成されている。ごく最近、ヒアルロニダーゼ加水分解酵素を触媒とするヒアルロン酸の化学合成が報告された⁴⁾。

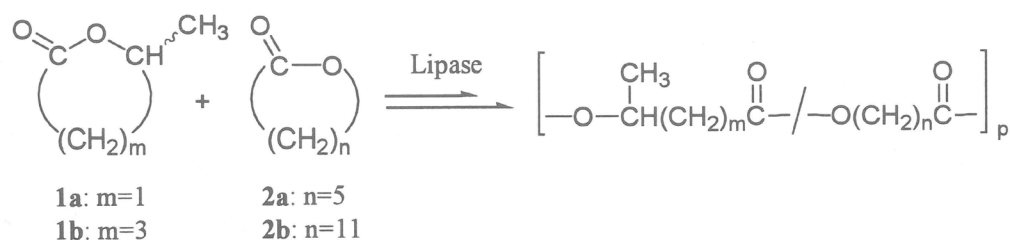
生分解性プラスチックは環境低負荷型の次世代高分子材料として極めて有望である。主たる生分解性プラスチックとして脂肪族ポリエステルが挙げられ、発酵合成法と化学合成法により製造されている。最近になって、リパーゼ触媒を用いる

脂肪族ポリエステル合成が生分解性高分子材料の新しい合成手法として確立されつつある。リパーゼは本来、油脂（グリセリン高級脂肪酸トリエステル）の加水分解酵素であるが、有機溶媒中ではエステル化反応やエステル交換反応の触媒として作用することが報告され、有機合成におけるリパーゼの有用性が広がった。このようなリパーゼの触媒能を利用することによりポリエステルが合成されてきた¹⁻³⁾。主にラクトン、ジカルボン酸誘導体／グリコール、オキシ酸誘導体がモノマーとして用いられ、いずれも穏和な条件下で重合が進行する。ここでは、リパーゼ触媒を用いる高選択的重合による機能性ポリエステルの合成について述べる。

2. ラクトン類の立体選択的重合

ラクトンをはじめとする種々の環状モノマーがリパーゼ触媒により重合することが報告されている。無置換ラクトンについては、4～17員環のラクトンが開環重合する。我々は多孔性アクリル樹脂に固定化した *Candida antarctica* リパーゼ（リパーゼ CA、商品名：Novozym[®] 435）がラクトン類の開環重合に対する高い触媒活性を有していることを初めて報告した⁵⁾。少量のリパーゼ（1%以下）でもε-カプロラクトン（ε-CL、**2a**）の重合が進行した。

有機合成分野ではリパーゼが光学分割触媒として頻繁に用いられる。この性質を高分子合成に応用することにより、リパーゼ CA 触媒によるω位に置換基を有するラクトンの立体選択的重合を検討した。ラセミ体のβ-ブチロラクトン（**1a**）の重合を検討したところ、リパーゼ触媒に対する重合性が低く、立体選択性も高くなかった。そこで無置換ラクトンとの共重合を検討した（スキーム 1）⁶⁾。13 員環無置換ラクトン（**2b**）との共重合をジイソプロピルエーテル中、60℃、4 時間行ったところ、**1a** の転化率は 59%に達し、残モノマーは全て R 体であった。これより生成ポリマーの ee 値を求めたところ、69%であった。また、ポリマーの比旋光度は+4.9°（c=6.1、クロロホルム）であった。



Scheme 1

共重合体中のポリ **1a** の絶対配置を調べるために、共重合体の加メタノール分解を行った。ポリ **1a** ユニットは Methyl 3-hydroxybutyrate に変換され、これを誘導化して光学純度を調べた。その結果ポリ **1a** ユニットは S 体を主に含むことが確認され

(ee=85%)、残モノマーの立体構造からの推定と一致した。よって、リパーゼ触媒が S 体の **1a** を選択的に認識・重合し、S 体を主に含む共重合体ポリエステルが生成することがわかった。

共重合結果を表 1 に示す。**1a** と **2b** の組合せではヘプタン、イソオクタン中でも立体選択的に共重合が進行したが、立体選択性は低下した。また、**1a** と **2a** の共重合でも光学活性ポリエステルが得られた。短時間で重合を停止した場合に立体選択性が向上した。

Table 1. Lipase-Catalyzed Ring-Opening Copolymerization of **1** with **2**^a

entry	monomers		solvent	time (h)	conv. ^b (%)		ee _m ^c (%)	ee _p ^d (%)	[α] ₃₆₅ ^e	Mn ^f	Mw/Mn ^f
	1	2			1	2					
1	1a	2a	heptane	2	61	96	83 (R)	53	+12 (c = 2.4)	800	2.0
2	1a	2a	heptane	9	71	100	100 (R)	41	+8.2 (c = 2.6)	2300	1.5
3	1a	2b	diisopropyl ether	4	59	100	100 (R)	69	+4.9 (c = 6.1)	1200	2.3
4	1a	2b	heptane	6	67	100	100 (R)	49	+4.6 (c = 5.1)	1400	3.6
5	1a	2b	isooctane	6	67	100	100 (R)	69	+4.3 (c = 5.0)	1500	3.8
6	1b	2a	diisopropyl ether	4	26	100	11 (S)	32	-2.1 (c = 0.9) ^g	3100 ^g	2.9 ^g
7	1b	2a	heptane	4	48	100	21 (S)	45	-3.7 (c = 2.7) ^g	2000 ^g	2.3 ^g
8	1b	2b	diisopropyl ether	4	35	100	21 (S)	76	-1.6 (c = 1.1) ^g	6000 ^g	1.9 ^g
9	1b	2b	heptane	4	44	100	42 (S)	53	-2.4 (c = 4.0) ^g	2600 ^g	2.2 ^g

^a Copolymerization of **1** with **2** (each 1.0 mmol) using lipase CA (50 mg) as catalyst at 60 °C in an organic solvent (5 mL). ^b Determined by GC. ^c Enantiomeric excess of unreacted **1**, determined by using chiral GC on a Chiraldex G-TA column. In parenthesis, configuration of the major unreacted monomer. ^d Enantiomeric excess of poly(**1**) unit in the copolymer, calculated on the basis of conversion and optical purity of unreacted **1**. ^e Measured in chloroform at room temperature. ^f Determined by SEC. ^g Data of methanol-insoluble part.

リパーゼ触媒を用いるδ-バレロラクトン (**1b**) と無置換ラクトンとの共重合も立体選択的に進行し、光学活性ポリマーが得られた。**1b** の場合、R 体を選択的に反応し、R 体を主に含む共重合体が生成した。**1b** と **2b** の組合せにより、本研究で最も高い ee 値を有する光学活性ポリマーが得られた (entry 8)。

3. ジカルボン酸誘導体とポリオールとの重縮合における位置選択性制御

リパーゼ触媒はポリオールに対する高い位置選択性も有している。我々はこの触媒能に着目し、位置選択的ポリエステル合成を検討してきた。ポリオールとして糖アルコールを用いて糖含有ポリエステルの合成を行った (スキーム 2)⁷⁾。リパーゼ CA 触媒を用い、ソルビトールとセバシン酸ジビニルの重合をアセトニトリル中、60°C、72 時間行った。水不溶部としてポリマーが 64%の収率で得られ、分子量は 9800 であ

った。本ポリマーは DMF、DMSO に可溶で、水、アセトン、メタノール、クロロホルムに不溶であった。

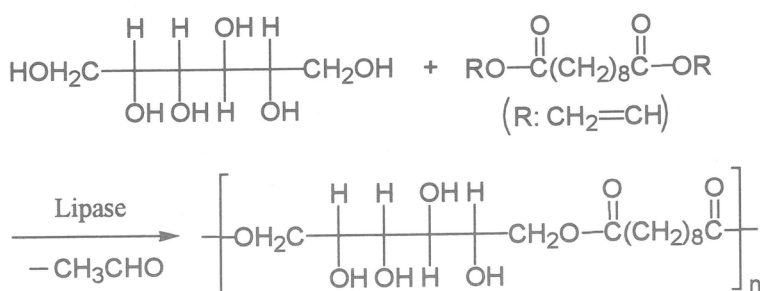
生成ポリマーの構造は NMR により決定した。図 1 にソルビトール部分の ^{13}C NMR 拡大チャートを示す。ピークが 6 本観測され、これより選択的なアシル化が進行したことがわかった。二

次元 NMR 等を用いてピークを帰属した結果、ソルビトールの 1 位と 6 位に結合を有するポリエステルが生成したことがわかった。また、同様の条件下、マンニトールや meso-エリスリトールとセバシン酸ジビニルの重合により、 α 位と ω 位が位置選択的にアシル化された含糖ポリエステルが合成された。

次にグリセリン等のトリオールとセバシン酸ジビニルの重合を検

討した^{8,9)}。グリセリンをモノマーに用いた場合、無溶媒、60℃、8 時間の反応では、収率 63% で分子量 19,000 のポリマーが得られた。NMR 分析により、主にグリセリンの 1,3 位で結合したポリマーが生成し、トリグリセリドユニットも含まれることがわかった。アシル化反応における 1 級アルコールの位置選択性は 74% であった。45℃ の重合では分子量が低下したが、1,3-ジグリセリドユニットのみからなるポリマーが生成し、位置特異的重合が進行した。また、トリオールとして 1,2,4-ブタントリオール、1,2,6-ヘキサントリオールを用いた場合にも分子量 1 万以上のポリエステルが生成し、グリセリンと同様に α,ω -ジ置換ユニットを主に有していた。

次にジビニルエステルの代わりにポリ(アゼライン酸無水物)を用い、グリセリンとの反応を検討した。見かけ上、酸無水物ユニットにグリセリンが挿入し、ポリエステルが生成する¹⁰⁾。等モル仕込みの場合にジビニルエステルを用いる場合と比較して、分岐構造(トリグリセリドユニット)を多く含むポリマーが生成した。そのため、仕込み比を変えて反応を行い、可溶性の多分岐ポリエステルの合成を試みた。図 2 に仕込み比 3 : 1 と 3 : 2 の反応における時間と分岐度(BI)、分子量の関係を示す。仕込



Scheme 2

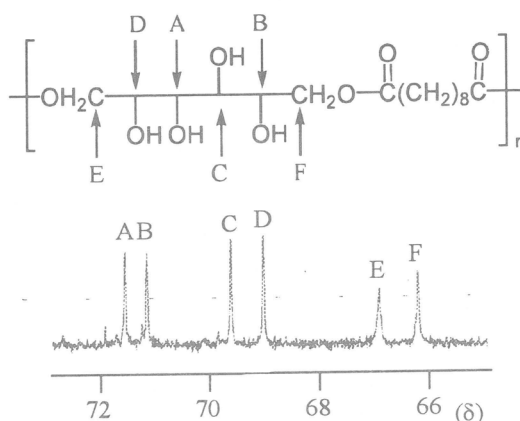


Figure 1. Expanded ^{13}C NMR of the polymer obtained from sorbitol and divinyl sebacate.

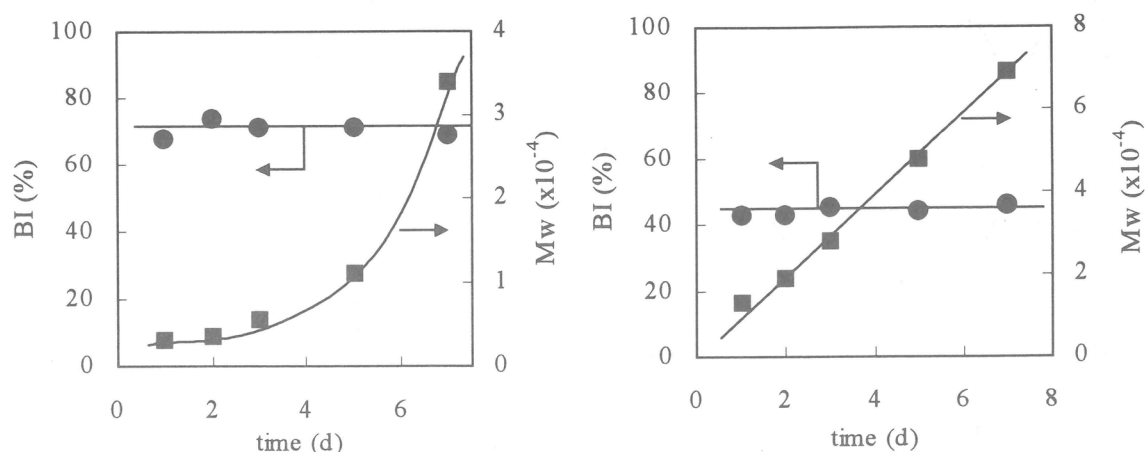


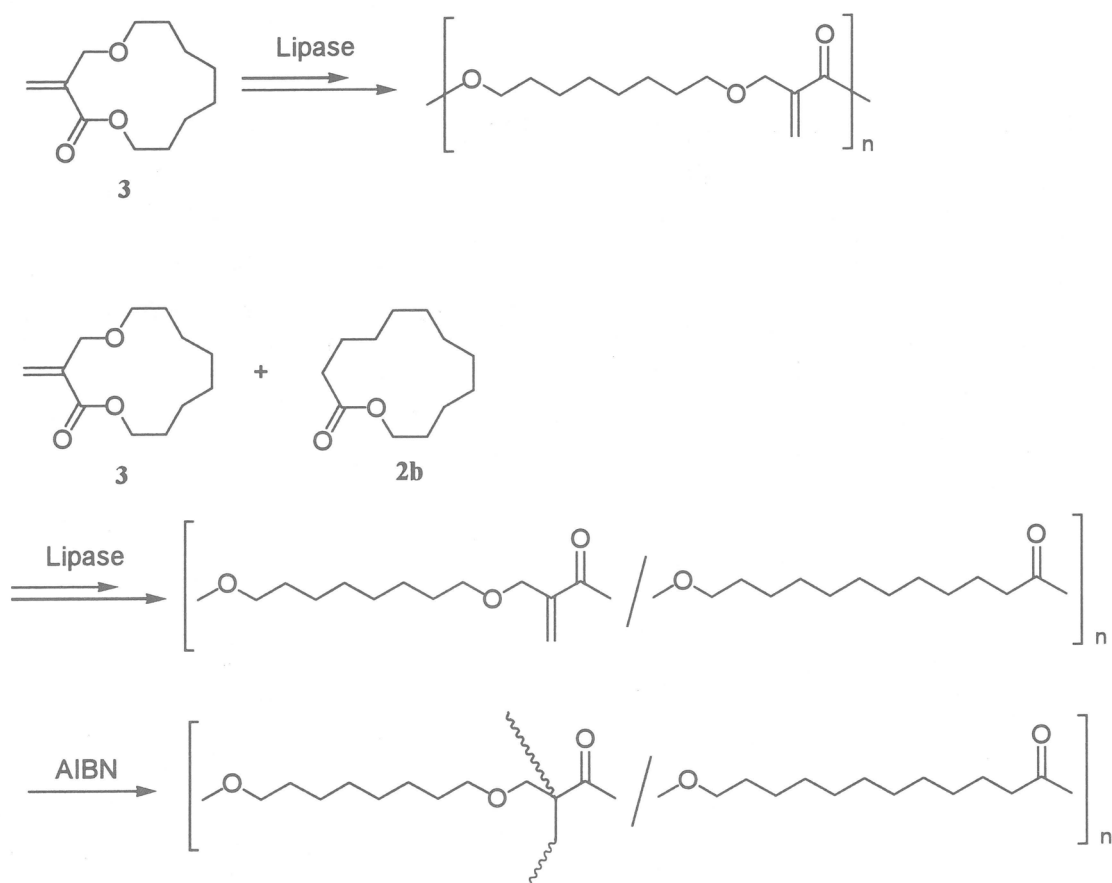
Figure 2. Time versus branched index (BI) and molecular weight in the lipase-catalyzed reaction of poly(azelaic anhydride) and glycerol with feed ratio of 3/1 (left) and 3/2 (right).

み比 3 : 1 の場合、重合初期は分子量が低い、3 日以降に急激な増加が見られた。分岐度は反応中ほぼ 70% で一定であった。また、長時間の反応ではゲル化が起こった。一方、仕込み比 3 : 2 の場合には時間と共に分子量が増大し、分岐度は反応中ほとんど変化しなかった。また、仕込み比 3 : 1 の反応において、トリオールとして 1,2,6-ヘキサントリオール、1,2,9-ノナントリオールを用いた場合、分岐度約 90% のハイパーブランチポリマーが生成した。一方、同反応を酸触媒を用いて行くと、不溶性ゲルが生成する。以上の結果より、リパーゼ触媒がハイパーブランチポリマーの合成触媒として有用であることがわかった。

4. 官能基選択的共重合による含糖ポリエステルの合成

官能基を二つ以上有するモノマーから構造明確なポリマーを合成するには、重合触媒の選択が重要である。両官能基が重合に関与する場合、ゲル化が生じる場合がある。ラクトン類はアニオン触媒により容易に開環重合するが、環状 α -(アルコキシメチル) アクリル酸エステル (2-methylene-4-oxa-12-dodecanolide, **3**) ではビニル重合のみが進行し、ポリエステルは得られない。そこで、リパーゼ触媒を用いて **3** の重合を検討した (スキーム 3)¹¹⁾。

リパーゼ CA 触媒を用い、トルエン中、24 時間、60℃あるいは 75℃で重合を行ったところ、モノマーが定量的に消失し、分子量数千のポリマーが生成した。NMR 分析により、不飽和基は反応に関与せず、モノマーの開環したポリエステルの生成が確認された。これより、リパーゼ触媒により **3** の官能基選択的共重合が進行したことがわかった。また、**3** と 13 員環無置換ラクトン (**2b**) との共重合体溶液に AIBN を加えて



Scheme 3

加熱したところ、ゲルが生成した。よって、本ポリマーには反応性高分子応用が期待される。

参考文献

1. Kobayashi, S. *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* **1999**, 37, 3041.
2. Kobayashi, S.; Uyama, H.; Ohmae, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2001**, 74, 613.
3. Kobayashi, S.; Uyama, H.; Kimura, S. *Chem. Rev.* **2001**, 101, 3793.
4. Kobayashi, S.; Morii, H.; Itoh, R.; Kimura, S.; Ohmae, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 11825.
5. Uyama, H.; Suda, S.; Kikuchi, H.; Kobayashi, S. *Chem. Lett.* **1997**, 1109.
6. Kikuchi, H.; Uyama, H.; Kobayashi, S. *Macromolecules* **2000**, 33, 8971.
7. Uyama, H.; Klegraf, E.; Wada, S.; Kobayashi, S. *Chem. Lett.* **2000**, 800.
8. Uyama, H.; Inada, K.; Kobayashi, S. *Macromol. Rapid Commun.* **1999**, 20, 171.
9. Uyama, H.; Inada, K.; Kobayashi, S. *Macromol. Biosci.* **2001**, 1, 40.
10. Uyama, H.; Wada, S.; Kobayashi, S. *Chem. Lett.* **1999**, 893.
11. Uyama, H.; Kobayashi, S.; Morita, M.; Habaue, S.; Okamoto, Y. *Macromolecules* **2001**, 34, 6554.

らせん形成ポリペプチドの溶液中での分子集合体形成

木村俊作・森田智行・西河博以

Shunsaku Kimura, Tomoyuki Morita, Hiroyuki Nishikawa

京都大学大学院工学研究科 材料化学専攻

1. 緒言

ナノメートルからサブミクロンまでのスケールで規則的構造を有する機能材料開発が注目を浴びている。この領域はメゾスコピック系と呼ばれ、この対象は、ミクロでもなくマクロでもない、およそ1辺が1nm ~ 1 μ m程度の領域をさす、と説明されている。しかし、メゾスコピック系で重要なことはその大きさではなく、その大きさ故に引き出される物性にある。

高度な機能を発現している生体系を調べてみると、ある機能発現のために必要なユニットのサイズが、サブミクロン程度の範囲にある例が目につく。例えば、環境とのインターフェースとして情報処理を担う細胞膜、タンパク質合成装置であるリボソーム、エネルギー変換を行うミトコンドリア、様々な酵素系を含むミクロソーム等、枚挙にいとまがない。このようなナノメートル以上のサイズを有する分子システムを構築するには、分子組織化の手法を用いるのが適当であるが、その構成分子にはある範囲の大きさが要求され、必然的にオリゴマーあるいはポリマーが候補に挙がる。また、分子組織体の物性解明や機能発現を考えると、構成分子が規則正しく組織化されていることは当然であるが、構成分子そのものがはっきりした均一の構造をとっている必要がある。このような様々な要求を満たす有機分子として、ポリペプチドを取り上げ、その分子集合体の形成について検討を行っている。ここでは、らせん形成ポリペプチドの水中での分子集合体形成について、得られている結果についてまとめる。

2. 水中でのポリアラニン集合体

水溶性のポリサルコシンを開始剤に用いて、アラニン NCA の重合を行うことにより、疎水性のポリアラニンブロック(PA)と親水性のポリサルコシンブロック(PS)からなる3種類の両親媒性ポリペプチド (PA(34)-*block*-PS(22), PA(42)-*block*-PS(21), PA(34)-*block*-PS(27); 括弧の中の数値は数平均重合度を表す)を得た[1]。これら3種類のブロックポリペプチドはいずれも水に分散可能であり、DLS 測定より PA(34)-*block*-PS(22)と PA(42)-*block*-PS(21)は直径 60-70nm の分子集合体、PA(34)-*block*-PS(27)は直径 30nm 程度の分子集合体を形成していることが明らかとなった。この水分散液の CD 測定を行った

ところ、ポリアラニンブロックは β シート構造をとっていることがわかった (Fig.1)。いずれの両親媒性ポリペプチドも良溶媒であるトリフルオロエタノール中では、 α ヘリックス構造をとることから、水中で分子集合体を形成する過程でヘリックスからシート構造への変換が起こったと考えられる。分子集合体では、複数のポリペプチドブロックがタイトに隣接するため、分子鎖間での水素結合が形成されるようになり、コンホメーション変化につながったと思われる。

PA(34)-*block*-PS(27)の分子集合体のサイズが、他の場合よりも小さくなったが、これはコア-シェル型の構造をとっているためと考えられる。また、他の2種類のブロックポリペプチドでは、親水性ブロックに対して疎水性ブロックが大きく、逆ミセル構造が集合化した構造と考えられる。この構造の違いは、疎水性の薬剤である SumithionTM の内包実験からも示された。コア-シェル型構造をとっていると思われる分子集合体に、疎水性薬剤を加えると、疎水性コアにエマルジョン的に取り込まれ、その粒径が増大した。一方、逆ミセル集合化と思われる分子集合体に疎水性薬剤を加えると、内部に存在する多くの構造欠陥に取り込まれるため、その粒径は殆ど変化しなかった。

3. Aibを含むポリペプチドの分子集合体

2-アミノイソ酪酸(Aib)を含むポリペプチドは、 α 、 α 2置換アミノ酸であるため、ヘリックス構造をとり易く、シート構造へ変換しにくい。そこで、

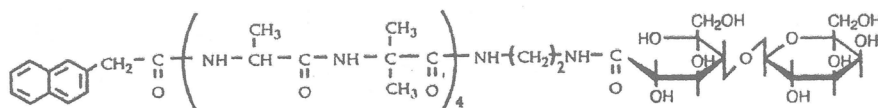


Fig.2 Molecular structure of napA8Lac.

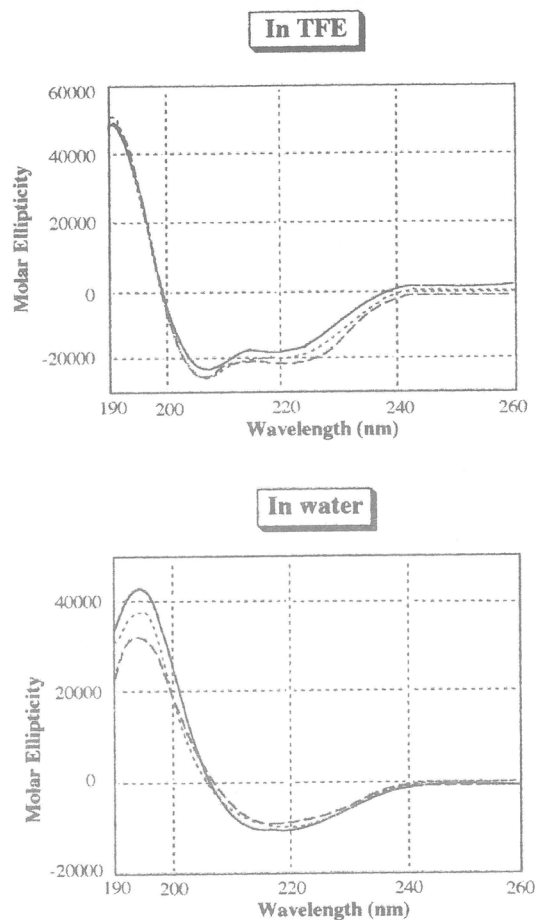


Fig.1 CD spectra of PA-*block*-PS polymers in trifluoroethanol and water.

疎水性ヘリックスペプチドとして-(Ala-Aib)₄-を選び、親水性部位として二糖であるラクトースを結合した、napA8Lac を合成した(Fig.2)[2]。この両親媒性糖ペプチドは水に分散し、DLS 測定より、直径 60nm 程度の分子集合体を形成することが示された。CD 測定により、水中で分子集合体を形成するペプチド部位のコンホメーションを解析したところ、ヘリックス構造をとることがわかった。Aib を含むペプチドとすることで、分子集合体においてもヘリックス構造を保持できることが示された。

両親媒性糖ペプチドを分散させた水溶液を、cryo-TEM にて観察した。この手法では、サンプルを急速に凍結するため水の結晶化が抑えられ、水中に分散している分子集合体の構造変化を誘起することなく観察できる特徴をもつ。その結果、超薄膜で覆われた直径 60nm 程度の球殻構造が認められた。つまり、この糖ペプチドはベシクルを形成することがわかった。

この両親媒性糖ペプチドでは、N末端に 2-ナフチル基、C末端に二糖が結合している。水分散液の蛍光スペクトルを測定したところ、モノマー発光のみが観測された。また、水溶性の消光剤、アクリルアミドを添加して蛍光の変化を調べたところ、分子集合体でのナフチル基の配置は、水に曝された場所であることがわかった。これらのことから、糖ペプチドは超薄膜に対して垂直配向をとっており、隣接する分子で糖が交互に上下に位置する逆並行型であると考えられる。しかしながら、このベシクル構造は安定ではなく、水溶性の化合物を内包できなかった。

3. 長鎖ポリペプチド分子集合体

上述の両親媒性糖ペプチドが形成する分子集合体では、ヘリックスペプチド部位が 8 量体と短いため分子集合体の安定性が低かったと考えられる。そこで、-(Leu-Aib)₁₂-を用いた分子集合体形成を試みた。疎水性部位の領域が大きいと、親水性部位にはポリエチレンオキシド (数平均重合度 11) のものを用いた(Fig.3)。しかし、この両親媒性ペプチドは、水には分散できな

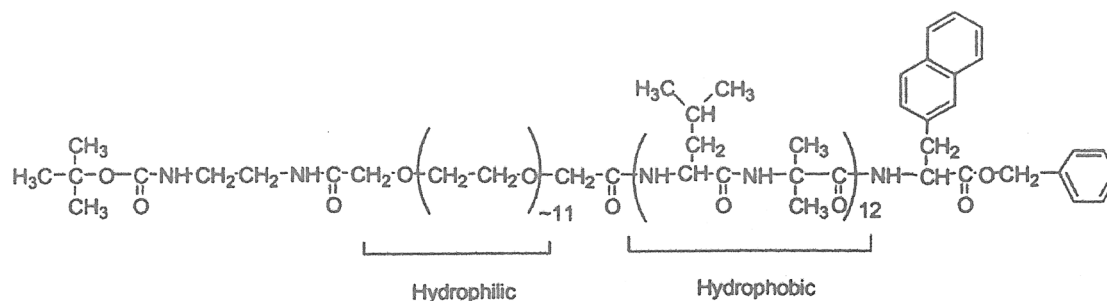


Fig.3 Molecular structure of (Leu-Aib)₁₂-block-PEO.

った。そこで、エタノール／水（10/1 v/v）に分散して DLS 測定を行ったところ、直径約 390nm の分子集合体の形成が認められた(Fig.4)。この分散液の CD スペクトルを測定したところ、分子集合体においてもヘリックス構造が維持されていることが示された。CD 測定より求められるヘリックス含率には、両親媒性ペプチドの濃度依存性が見られず、また、蛍光強度とペプチド濃度との間に、比例関係があったことから、この分子集合体は不規則な凝集体ではなく、規則的な構造を形成していると考えられた。

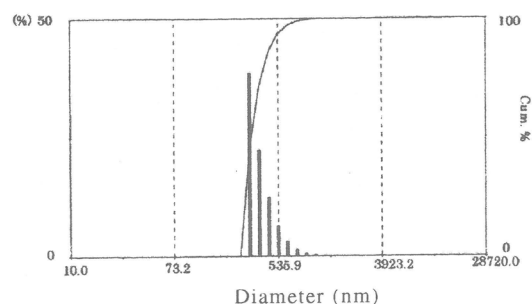


Fig.4 Particle size distribution of (Leu-Aib)₁₂-block-PEO in ethanol/water (10/1 v/v).

4. グラミシジン分子集合体

天然に見出されるグラミシジン(HCO-Val-Gly-Ala-Leu-Ala-Val-Val-Val-(Trp-Leu)₃-Trp-NH-CH₂CH₂-OH)は、15量体のペプチドであり、脂質膜に分配されてイオンチャンネルを形成することが知られている。この疎水性ペプチドにポリエチレンオキシド(数平均重合度 13)を結合した両親媒性ペプチドを合成して、水中での分子集合体形成について調べた [3]。

グラミシジン-ポリエチレンオキシドは水に分散でき、DLS 測定を行ったところ、直径約 76nm の分子集合体の形成が確認された。この水分散液の CD 測定を行ったところ、グラミシジン部位はダブルヘリックスをとっていることが示された。脂質膜中でイオンチャンネルを形成するときは、大きなヘリックス構造を取り、head-to-tail 型の会合体形成が考えられているが、タイトなパッキングをしていると考えられるここでの分子集合体では、分子間相互作用の強くなるダブルヘリックス構造をとるものと考えられる(Fig.5)。

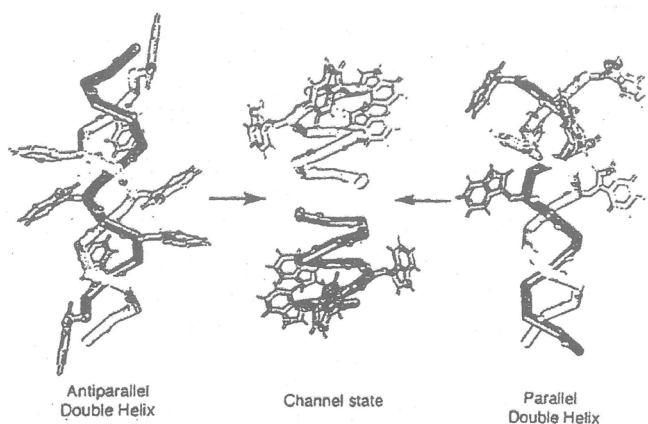


Fig.5 Illustration of molecular structure of gramicidin dimers [4].

グラミシジーン-ポリエチレンオキシド水分散液を、cryo-TEM により観察した。両親媒性分子による超薄膜の球殻が、多層にわたり集積した構造が認められた(Fig.6)。ソニケーションを施すことにより、最外層の超薄膜球殻が剥がれてベシクルを形成する様子も確認された(Fig.7)。

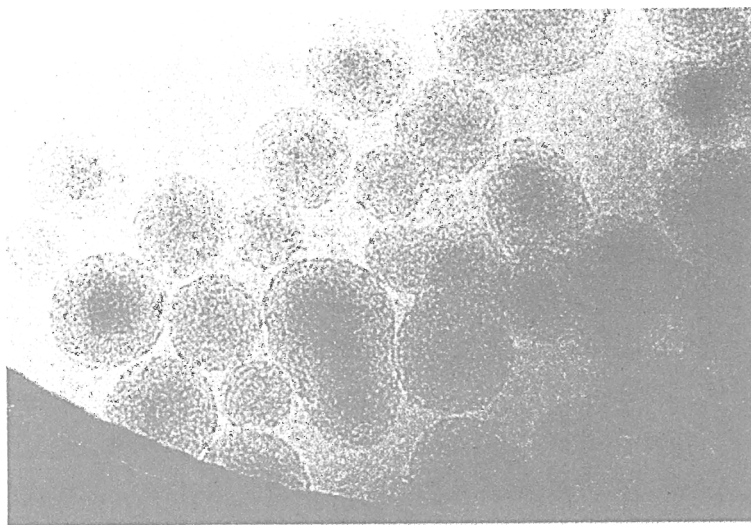


Fig.6 Cryo-TEM image of molecular assembly of gramicidin-*block*-PEO in water.

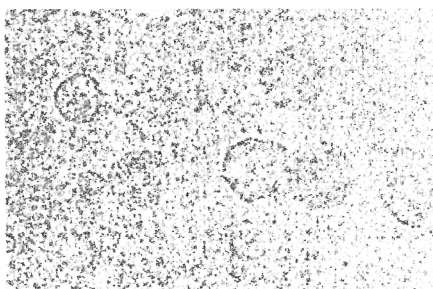


Fig.7 Cryo-TEM image of budding from multilayer vesicles of gramicidin-*block*-PEO in water by sonication.

グラミシジーン-ポリエチレンオキシド分子集合体が、ベシクル構造を形成することは、内包実験からも示された。蛍光プローブを有するポリオキシエチレンを用いることで、ポリオキシエチレンはベシクルの中に内包され、界面活性剤であるトリトンを添加することで、ベシクルの破壊による放出が観測された。興味深いことに、グラミシジーン-ポリエチレンオキシドベシクルを破壊するのに要する界面活性剤の量は、脂質で構成されるリポソームの場合よりも多くなった。これは、構成分子のサイズが大きいと分子間相互作用が強く、分子集合体の構造も安定になるためと考えられる(Fig.8)。

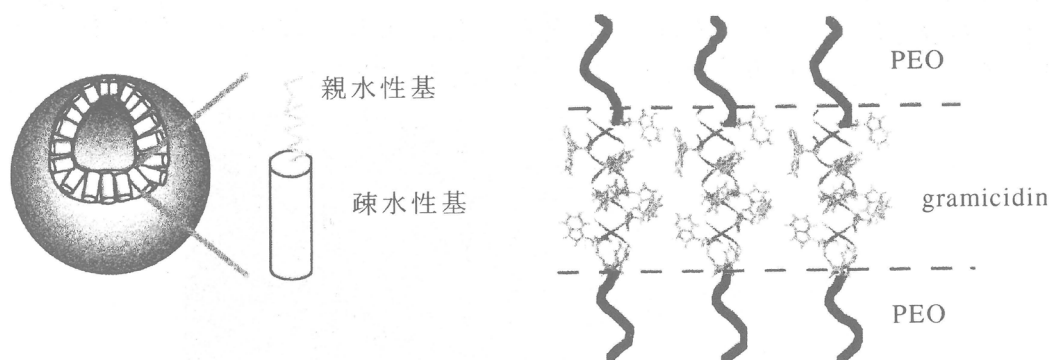


Fig.8 Schematic illustration of vesicular structure of gramicidin-*block*-PEO assembly in water (left) and its membrane structure (right).

5. 結語

ヘリックス形成ペプチドと PEO との両親媒性化合物は、ハードとソフトとのブロックポリマーであり、Flory-Huggins の相互作用パラメーターの大きいシステムに相当し相分離構造をとりやすい。また、鎖長の決まったヘリックスペプチドを用いていることから、ペプチド部位は会合しやすく、水中に分散させようとしても Kraft 点が高いため、分散状態を得るのが極めて困難である。しかしながら、今回はじめて、このような分子システムにおいても水中でベシクル構造を形成させることが可能であることを示せた。特に、ポリマーでありながら、コンホメーションが単一に決まっており、集合体の構造も規則正しいことから、ナノサイズの高機能材料として展開できるものと期待される。

References

1. T. Kidchob, S. Kimura & Y. Imanishi, *J. Controlled Release*, **51**, 241(1998)
2. S. Kimura, Y. Muraji, J. Sugiyama, K. Fujita, & Y. Imanishi, *J. Colloid and Interface Sci.*, **222**, 265(2000)
3. S. Kimura, D.-H. Kim, J. Sugiyama, & Y. Imanishi, *Langmuir*, **15**, 4461(1999)
4. a) D.A. Langs, *Science*, **241**, 188(1988) b) J.A. Killian, *Biochim. Biophys. Acta*, **1113**, 391(1192) c) Y. Chen & B.A. Wallace, *Biophys. J.*, **71**, 163(1996)

高分子電解質溶液の構造

西田幸次・梶 慶輔・金谷利治
Koji Nishida, Keisuke Kaji, Toshiji Kanaya
京都大学化学研究所

1. はじめに

高分子電解質溶液の構造は古くから研究されているが、多くの点で重要な未解決問題を残している。ここでは、われわれが解決した2つの問題について述べる¹⁻³。1つは、高分子電解質溶液の異常粘度の問題であり、これまで教科書⁴では還元粘度が希薄領域で強いピークを示す理由として分子内の静電反発力によるポリイオンの膨張であると説明されてきた。しかし、本研究^{1,2}によって、この寄与はそれ程小さくなく主原因は分子間の静電反発ポテンシャルによる構造粘性であることが明らかにされた。また、固有粘度の値を求めるために Fuoss の実験式⁵を濃度ゼロに外挿する方法⁶が用いられてきたが、この手法は全くの誤りであることが判明した。

もう1つは、溶液の相構造の問題である。高分子電解質溶液の構造は、濃度および重合度に依存するが、従来その重要性が余り認識されていなかった。しかし、取り扱っている系の構造がどの相にあるかによってその後の考察が違ってくるから、知らないうちに誤りを犯すことが多かった。相図の全貌を明らかにすることは大仕事であるが、その重要性から、われわれはこれを完成させる決心をした。溶液の構造に関しては de Gennes ら⁷によって初めて本格的な理論的研究がなされ、希薄領域と準希薄領域の区別と準希薄領域の構造に対する等方モデル (isotropic model) が提出された。このモデルは、これまでの多くの実験的検証に耐え最も信頼できるものである。その後、Odijk⁸によって種々の濃度域について理論モデルが提出されたが、持続長の評価を間違っており、現実の構造とは全く相容れないことが分かった⁹。われわれは、まず希薄領域と準希薄領域のクロスオーバー濃度がポリイオンの回転半径接触濃度によって決まることを実験的に明らかにし、それに基づいて濃度と重合度に関する相図を初めて作成した¹⁰。しかし、この相図では、濃度の非常に高い領域と非常に低い領域に関しては実験データがなく理論の予測に基づいていたため不備な点があった。最近、これらの領域の実験データが蓄積されてきたので、それに基づいて不備な点を改良し、非常に希薄な領域からバルク状態に至るまでの広範囲の濃度とポリマーの重合度に関する相図を完成するのに成功した。

2. 高分子電解質溶液の特徴

後の議論を理解し易いように、最初に高分子電解質溶液の特徴について簡単に説明する。さらに詳しい説明は、Oosawa の教科書¹¹または既報¹²を参照のこと。例えば、

ポリスチレンスルホン酸ナトリウム (NaPSS) のような屈曲性線状高分子強電解質はモノマー単位当り 1 個の解離基を有しているので、これを水に溶かすと、分子鎖骨格に沿って多数の電荷を有するポリイオン (ポリスチレンスルホン酸イオン) と低分子イオン (ナトリウムイオン) に解離する。ポリイオン上の電荷は、2 つの働きをする。1 つは、分子内の静電反発効果であり分子サイズを増大させる。これには、ポリイオン分子を伸長 (持続長を増大) させる短距離反発と排除体積を増大させる長距離反発の 2 つの効果が含まれる。もう 1 つの働きは、分子間の静電反発効果であり、溶液構造の規則性を生み出す。すなわち、分子間静電反発の強いほど規則性の高い構造をとる。低分子イオンは、対イオンと呼ばれるが、大別するとポリイオン上に凝集した凝集イオンと非凝集イオンに分けられる。凝集イオンはポリイオンの電荷を中和するので荷電数を減少させる働きをする。他方、非凝集イオンは溶液のイオン強度を支配し、ポリイオンの電荷を遮蔽する働きをする。

以上のことから、高分子電解質溶液の特徴を次のように理解することができる。無添加塩系では、溶液濃度を低下させると対イオン濃度も低下し静電遮蔽効果が弱くなり、ポリイオン内およびポリイオン間の静電反発力が強くなるので、ポリイオンサイズは増大し、溶液構造の規則性が良くなると考えられる。しかし、分子間距離が Debye 長を越える位希薄になると、分子間に反発力が働かなくなるので規則性は再び乱れる。逆に、溶液濃度を増大させるか塩を添加していくと、イオン強度が増大し静電遮蔽効果が大きくなるので、高分子電解質溶液の特徴は失なわれ中性の高分子溶液に近づいていく。しかし、電解質の効果はかなり高いイオン強度まで残存する。

3. 高分子電解質溶液の異常粘度の問題

緒言で述べたように、高分子電解質溶液の濃度を希釈すると還元粘度 η_{sp}/C は増大していき、ある濃度で極大値を取ったのち減少するが、その値は無添加塩系で特に大きい。この現象は、従来は分子内の静電反発力によるポリイオンの膨張として説明されてきた。しかし、この説明ではさらに希薄になると何故還元粘度が低下するのかが理解できない。ポリイオン鎖が伸びきれば、還元粘度は一定になる筈で決して低下しないと考えられるからである。この問題を解決するために、われわれは分子間静電反発力の影響を検討した。

溶媒の寄与を差し引いた粘性係数 (粘度) η_{sp} は、他の効果を見捨てるとポリイオンのサイズ (形態) による寄与 η_{conf} と分子間静電反発ポテンシャル η_{inter} による寄与の和となる¹³。すなわち、

$$\eta_{sp} = \eta_{conf} + \eta_{inter} \quad (1)$$

ここで、第 2 項の分子間静電反発ポテンシャルによる粘性係数は、Rice-Kirkwood の理論式^{1,14} (複雑につき省略) から計算することができる。静電ポテンシャルは、溶液のイオン強度による遮蔽効果を考慮した次式を用いた。

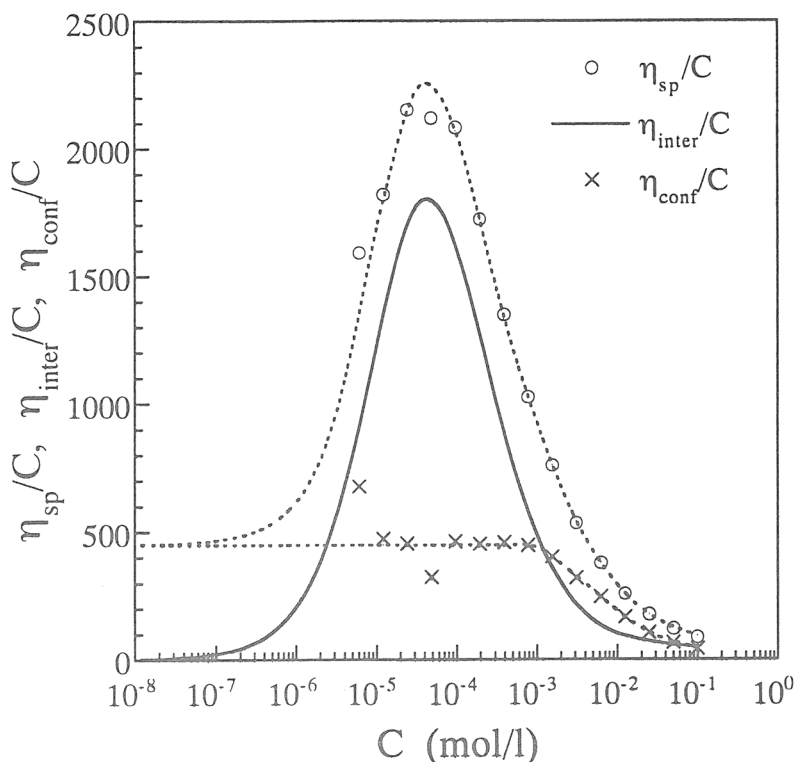


Fig. 1 A typical example for the separation of η_{sp}/C into η_{conf}/C and η_{inter}/C for degree of Polymerization 2500, $\alpha = 0.31$, $C_s = 0$ mol/l. (○) observed η_{sp}/C ; (—) calculated η_{inter}/C ; (×) η_{conf}/C . The dotted lines are guides for the readers' eyes.

すなわち、

$$u(r) = [(ze)^2/(4\pi\epsilon r)] \exp(-r/r_D) \quad (2)$$

ここで、価数は $z = 1$ 、 e は素電荷、 ϵ は誘電率、 r は距離、 r_D は Debye の遮蔽長である。 r_D は、イオン強度 I の関数であり、次式で与えられる。

$$r_D = (4\pi l_B \cdot 2I)^{-1/2} \quad (3)$$

l_B は、Bjerrum 長で水溶液のとき約 7 Å である。また、イオン強度は

$$I = \alpha C/2 + C_s + C_r \quad (4)$$

となる。ここで、 α はポリマー中の 1 価の荷電基をもつモノマーの分率であり、 C , C_s , C_r はそれぞれポリマー濃度、添加塩濃度、溶媒水中の残留イオン濃度である。最後の項は、非常に希薄な溶液のとき問題となり、理想的な純水では 10^{-7} mol/l であるが、イオン交換水では 10^{-6} mol/l 程度である。

さて、このような理論計算から η_{inter} の還元粘度 η_{inter}/C を求めると実測の還元粘度 η_{sp}/C のピークの形を良く再現することが分かった。しかも、計算値にある定数を加えてやるとピークを示す濃度領域の殆ど全領域で定量的に一致することが分かった。この様子を 1 例として、ポリビニル硫酸ナトリウム (NaPVS) (粘度平均重合度 2500、 $\alpha = 0.31$) の無添加塩水溶液について図 1 示す。このとき加えた定数は (1) 式から

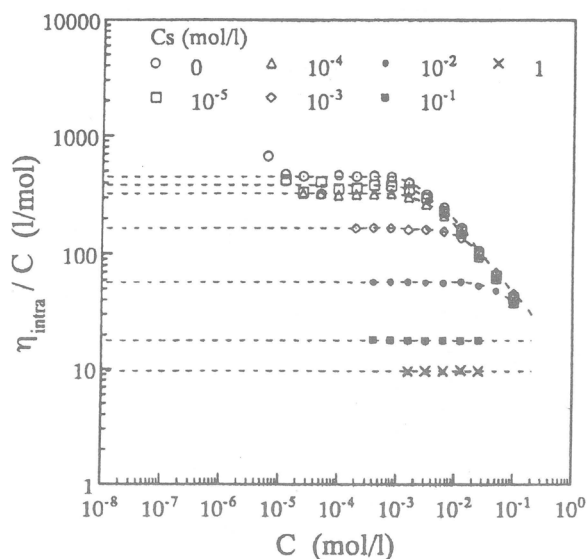


Fig. 2 Contribution η_{conf}/C from the polyion conformation to the reduced viscosity as a function of C in double logarithmic scales.

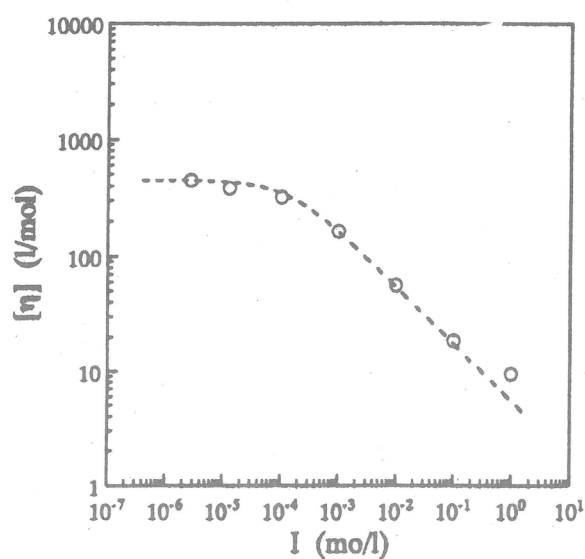


Fig. 3 Intrinsic viscosity $[\eta]$ as a function of ionic strength ($=C_s + C_r$) in double logarithmic scales.

η_{conf}/C に対応すると考えられる。すなわち、非常に希薄な領域ではポリイオンは、かなり膨張しており頭打ちの状態になっているのであろう。また、この形態による寄与は、分子間の静電反発の寄与に比べるとかなり小さいと思われる。

以上の議論に基づくと、実測の還元粘度から分子間の還元粘度の計算値を差し引くことによって分子鎖形態のみの還元粘度を求めることが出来る筈である。その結果を幾つかの添加塩濃度について図2に示す。図から明らかなように、濃度が高いときは溶液を希釈するにつれてポリイオン鎖は伸長していくが、ある濃度でレベルオフしてしまい、それ以降は一定の値になる。したがって、このレベルオフ値は固有粘度 $[\eta]$ を与えるものと考えられる。この固有粘度をイオン強度に対してプロットすると図3のようになる。すなわち、イオン強度が 10^{-4} mol/l 以下になるとそれ以上分子鎖は伸びなくなる。これは、分子鎖が完全に伸び切ったためではない。何故なら完全伸長鎖の固有粘度の理論値は約 1000 l/mol であり、実測値の2倍以上あるからである。この理由として考えられることは、ポリイオンの周りの対イオンは束縛されており局所的に高いイオン濃度になっていることである。

ここで最初の問題点に戻ると、還元粘度が希薄領域で強いピークを示す原因は、明らかに分子間の静電反発によるもので、決してポリイオンの膨張によるものではないことが明らかである。また、固有粘度を求めるための Fuoss の外挿法はこのピークの高濃度側をゼロ外挿することを意味しており、とんでもない大きな値を与えてしまうことが分かる。

4. 高分子電解質溶液の相図（濃度-重合度図）

高分子電解質溶液の構造および性質を研究する場合、用いている系がどのような状態にあるかを知ることは必要不可欠である。しかし、その複雑性のためにこれまで明確な状態図は示されなかった。われわれがこの問題に挑戦し始めたのは、今から15年前であるが、ポリイオンの重なり合いの開始濃度がその回転半径接触濃度によって決まることを小角 X 線散乱 (SAXS) 法を用いて初めて明らかにし、濃度と重合度に関する相図を作成した¹⁰。その後、測定濃度範囲を拡大し、濃厚側はバルクに至るまでの SAXS 測定データを得た¹⁵。低濃度側は散乱強度が弱く SAXS 法が使えないので前述の粘度法を用いてデータを集めた^{2,9}。

これらのデータと理論計算に基づいて最初に作成した無添加塩系に対する相図¹⁰の改良を行った³。その結果を図4に示す。この相図の改良点は、(1) 濃度が 10^{-3} mol/l

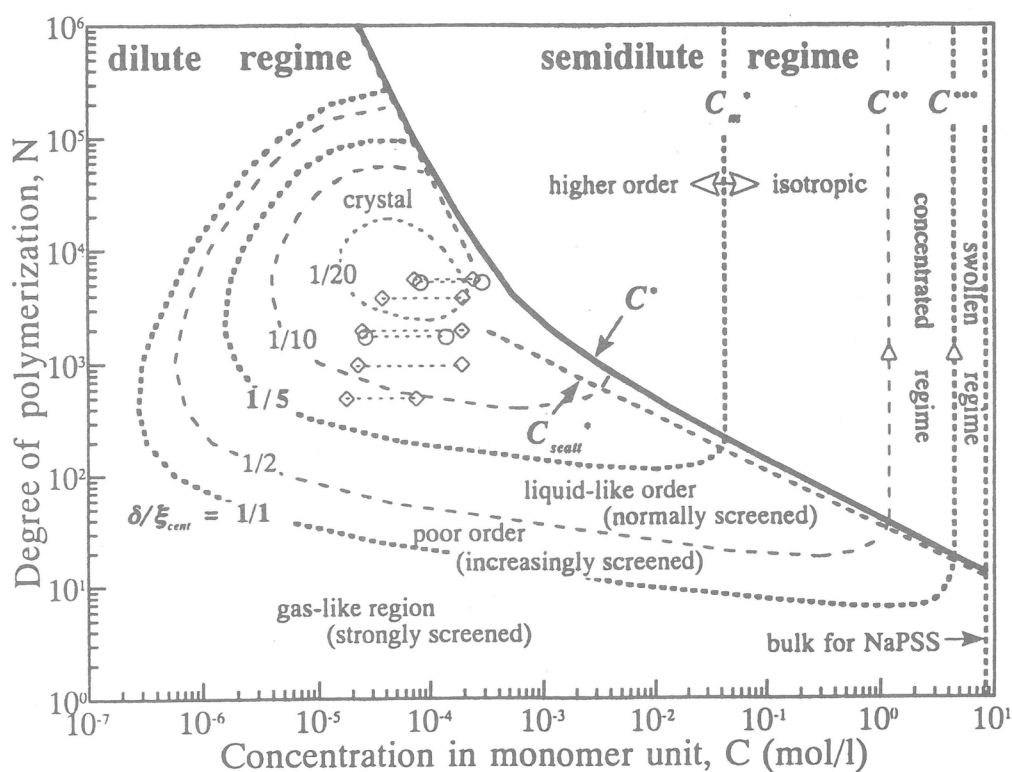


Fig. 4 Phase diagram of vinyl-type polyelectrolyte solutions as functions of degree of polymerization N and the concentration C in monomer mol/l. Static light scattering data by Krause et al.¹⁶ and Johner et al.¹⁷ are marked with (○) and (◇), respectively; all of their data show that they are in the dilute regime. The experimental points¹⁵ for the semidilute-to-concentrated crossover C^{**} and the concentrated-to-swollen crossover C^{***} for NaPSS are marked with (Δ). Quantitative values of C^{**} and C^{***} might change depending on the kind of polyelectrolytes or their individual molecular structure.

以下では、ポリイオンの膨張が止まる結果^{2,9}、ポリイオンのオーバーラップ濃度が高濃度側にずれるため高重合度側に立ち上がっていること、(2) 準希薄レジームと濃厚レジームの境界濃度が決められたこと¹⁵、(3) 濃厚レジームからバルクに至る途中で静電反発力が完全に遮蔽されてしまう膨潤レジームがあることを発見したこと¹⁵、(4) 希薄レジームには、ポリイオンが静電反発により結晶格子を組む領域が存在することを示唆したこと、および(5) ポリイオンのオーバーラップ濃度の上下両側で静電反発による秩序構造が合理的に繋がったことである。

5. おわりに

以上により、長年の懸案であった高分子電解質溶液の2つの重要な未解決問題を解決することに成功した。今後、これらの成果を基にして高分子電解質溶液の研究がさらに発展することを願う。

文献

1. K. Nishida, K. Kaji, T. Kanaya, *Polymer*, **42**, 8657 (2001).
2. K. Nishida, K. Kaji, T. Kanaya, N. Fanjat, *Polymer*, **43**, 1295 (2002).
3. K. Nishida, K. Kaji, T. Kanaya, *J. Chem. Phys.*, **115**, 8217 (2001).
4. P. J. Flory, “*Principles of Polymer Chemistry*”, Cornet Univ. Press, Ithaca, 1953;
井本 稔、斎藤喜彦、藤代亮一：高分子化学、槇書店、1962. など
5. R. M. Fuoss, U. P. Strauss, *J. Polymer Sci.*, **3**, 602, 603 (1948).
6. R. M. Fuoss, A. Kachalsky, S. Lifson, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **37**, 579 (1951);
A. Kachalsky, H. Eisenberg, *J. Polymer Sci.*, **6**, 145 (1951).
7. P. G. de Gennes, P. Pincus, R. M. Velasco, F. Brochard, *J. Phys. (France)*, **37**, 1461 (1976).
8. T. Odijk, *Macromolecules*, **12**, 688 (1979).
9. K. Nishida, H. Urakawa, K. Kaji, B. Gabrys, J. S. Higgins, *Polymer*, **38**, 6083 (1997).
10. K. Kaji, H. Urakawa, T. Kanaya, R. Kitamaru, *J. Phys. (France)*, **49**, 993 (1988).
11. F. Oosawa, “*Polyelectrolytes*”, Marcel Dekker, New York, 1971.
12. 梶 慶輔、金谷利治、浦川 宏、北丸竜三、化繊講演集第46集、p.9 (1989).
13. C. Wolff, *J. Phys. France*, **39**, C2-169 (1978).
14. S. A. Rice, J. G. Kirkwood, *J. Chem. Phys.*, **31**, 901 (1959).
15. K. Nishida, K. Kaji, T. Kanaya, *J. Chem. Phys.*, **114**, 8671 (2001).
16. R. Krause, E. E. Maier, M. Deggelmann, M. Hagenbückle, S. F. Schulz, R. Weber, *Physica A*, **160**, 135 (1989).
17. C. Johner, H. Kramer, S. Batzill, C. Graf, M. Hagenbückle, C. Martin, R. Weber, *J. Phys. II (France)*, **4**, 1571 (1994).

ラジカル共重合速度論：最近の展開

福田 猛¹, 後藤 淳¹, 馬永大²

Takeshi Fukuda, Atsushi Goto, Yung-Dae Ma

¹京都大学化学研究所

²檀国大学高分子工学科、韓国

1. はじめに

2 元ラジカル共重合において、共重合体の組成 F_1 とモノマー組成 f_1 の関係は、ほとんどの系で Mayo-Lewis らの末端モデル¹⁾に従い、モノマー反応性比 r_1, r_2 に関する膨大な実験データが蓄積されている。ところが、成長反応速度定数 $\bar{k}_p$ を測定すると末端モデルの予測に全く合わない。この事実がはじめて判明したのは 1985 年のことで、スチレン(ST)とメタクリル酸メチル(MMA)のバルク共重合を回転セクター(RS)法で調べた結果であった²⁾。この重合系に溶剤(トルエン)を添加しても同じ結果が得られることから、末端モデルの破綻原因が環境因子ではなく前末端基効果(またはより高次の置換基効果)にあると結論された³⁾。その後、多くの共重合系が RS 法やパルスレーザー重合(PLP)法などで調べられ、成長反応における前末端基効果が全く一般的な現象であることが確認されている⁴⁾。しかし、前末端基効果の由来については今なお、完全な理解が得られていない。一方、共重合停止反応については、停止反応速度定数 $\bar{k}_t$ に関する実験データが少ないこともあって未だ十分な理解が得られていない。本稿では、これら 2 課題に関する最近の展開を述べる。

2. 成長過程における前末端基効果(PUE)

前末端基、末端基、モノマーをそれぞれ i, j, m とするとき ($i, j, m = 1$ または 2)、前末端モデルは 8 種の速度定数 k_{ijm} を含む。4 種の「モノマー反応性比」は $r_{11} = k_{111}/k_{112}, r_{21} = k_{211}/k_{212}, r_{22} = k_{222}/k_{221}, r_{12} = k_{122}/k_{121}$ により、2 種の「ラジカル反応性比」は

$$s_1 = k_{211}/k_{111}, \quad s_2 = k_{122}/k_{222} \quad (1)$$

により定義される。成長反応の絶対速度が問題とされる以前には、成長反応モデルの検証は専ら組成または連鎖分布によったが、これらはモノマー反応性比とモノマー組成のみの関数であり、動的なパラメータである s_i や k_{iii} に依存しない。実験によると、ごくわずかの例外を除き、大多数の系の組成や連鎖分布は末端モデルで十分よく記述された。つまり、ほとんどの系において実験誤差内で $r_{11} = r_{21} (= r_1), r_{22} = r_{12} (= r_2)$ が成立する。一方、最近の RS 法や PLP 法、電子スピン共鳴(ESR)法による研究によると、ほとんどの系において $\bar{k}_p$ に前末端基効果、つまり、 s_1 や s_2 が 1 から顕著に乖離する現象が認められた。前末端基効果(PUE)がラジカル反応性比(s)のみに現れ、モノマー反応性比(r)に現れない系を I 系(Implicit PUE 系)、 s と r の両方に現れる系を E 系(Explicit PUE 系)と呼ぶが、実験結果は、I 系が一般的で E 系が例外的であることを示す^{4),5)}。

PUE の起源について、Fukuda ら⁶⁾は、ラジカルの安定化エネルギーが前末端基に影響され、この安定化エネルギーが一定の割合で活性化エネルギーに影響する(Evans-Polanyi の法

則)と仮定する「安定化エネルギーモデル」を提案した。このモデルはI系のPUE、つまり、 $r_{21} = r_{11} = r_1$ などを予測し、頻度因子を無視する時

$$s_1 s_2 = r_1 r_2 \quad (2)$$

なる関係を与える。前末端位の異種モノマーで安定化されたラジカルは反応が遅く(s が小)、一方、ラジカルの安定化につながる交差成長反応は速い(r が小)と考えられる。これが式2の定性的説明である。

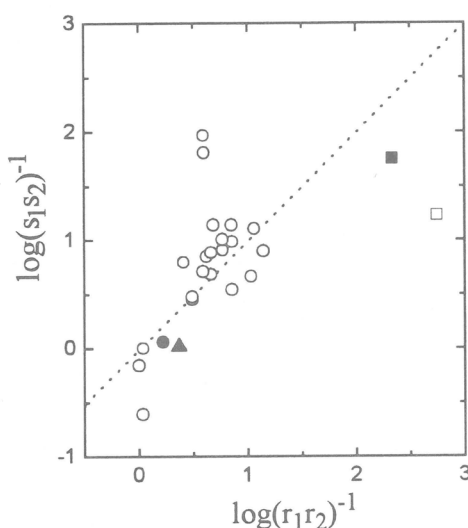


Figure 1. Plot of $\log(s_1 s_2)^{-1}$ vs. $\log(r_1 r_2)^{-1}$: (●) pCS/ST,⁹⁾ (▲) pCS/pMOS,⁹⁾ (□) pBOS/DBF,¹⁴⁾ (■) ST/DEF.¹⁷⁾ For other data, see ref. 5.

図1に $\log(s_1 s_2)^{-1}$ 対 $\log(r_1 r_2)^{-1}$ のプロットを示す。破線は式2を、丸印などは $\bar{k}_p$ 対 f_1 の実験データとPUEモデル(I系)の比較から決定された値を示す。実験点は広範囲に分布しているものの、 $r_1 r_2$ と $s_1 s_2$ の間に正の相関があるように見える。

Davisらは、PLP法によりST/MMAバルク重合を種々の温度で行い、 s_1, s_2 が温度に依存すること、つまり、この系のPUEがエンタルピー的成分を有することを認めている。しかし、彼らは一方で、分子サイズの近似したモノマー対からなる系の実験データ(図1中、●と▲印)が式2に厳密に従わないことを理由に、これらの系のPUEが極性効果によると考えた⁹⁾。さらに、図1のような結果に対し、「データ点の大半は単に中心点のまわりに分布しているに過ぎず、相関は極めて弱い」として安定化エネルギーモデルを疑問視している¹⁰⁾。しかし、この批判は当たらない。なぜなら、式2は頻度因子を完全に無視していること、Evans-Polanyi則を仮定していること、さらに、実験精度との関連で s_1, s_2 を正確に決定することが容易でないことにより、仮に式2の相関が存在しても実験データのある程度広範囲の分布は避けられない。逆に言えば、式2の相関を見るには多くのサンプル量(実験点)を必要とする。確かに、実験点は「中心点」のまわりに分布しているように見える。しかし問題とすべきはその中心点が原点でなく、原点から右上に外れた式2の予測線上付

近に位置することである。この意味で、Davis らの意見は受け入れ難い。

安定化エネルギーモデルが I 系 PUE と矛盾しないことはすでに述べた。また、多くの連鎖移動反応を移動定数（移動速度定数 $\bar{k}_t$ と $\bar{k}_p$ の比）で見る限り PUE が認められない事実も安定化エネルギーモデルの予測と一致する（現在知られている E 型 PUE 連鎖移動系は ST/CBr₄ のみである）¹¹⁾。また、モノマー（一量体）をモデルとした *ab initio* 分子軌道計算がモノマー反応性比の実験値を一般によく再現する事実^{12),13),14)}は、PUE が基本的に I 型であることを示唆している。一方、簡単な γ 位置換アルケンの *ab initio* 計算によると、エンタルピー的およびエントロピー的寄与のみならず極性効果も PUE の起源として重要であることが示唆される^{15),16)}。事実その通りであると考えられ、それぞれの寄与の重要性は系によって異なるはずである。次節に紹介するスチレン/フマル酸ジエチル共重合¹⁷⁾はエントロピー的寄与が支配的な系である。

3. 停止過程における前末端基効果(PUE)

近年の実験的研究により、希薄溶液中のポリマーラジカルの停止反応はセグメント拡散が律速段階であることが確立された。しかし、「セグメント拡散」による停止反応の物理的、化学的描像ははっきりしない。この問題に関し、ST/DEF（フマル酸ジエチル）系は、DEF の k_t が ST に比べて約 4 桁も小さい点で極めて興味深い。この共重合系の停止過程を詳しく調べれば、セグメント拡散の速度を著しく異にするポリマーラジカル間の停止過程の詳細を知りうるからである。

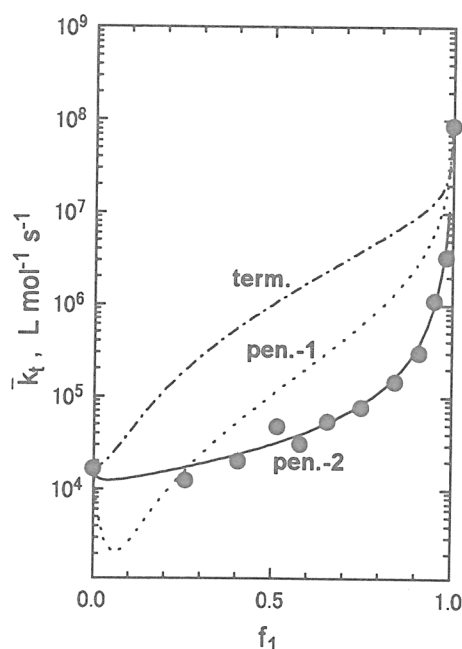


Figure 2. Plot of $\bar{k}_t$ vs. f_1 for ST/DEF bulk copolymerization at 40 °C.¹⁷⁾ The curves are the best-fit results by the terminal termination model (term.) and the penultimate termination models with the algebraic (pen.-1) and geometric (pen.-2) mean approximation.

図2に、この系の $\bar{k}_t$ と f_1 の関係を示す¹⁷⁾。ラジカルーラジカル反応を支配するセグメント拡散が活性末端の1個ないし2個のモノマー単位で決定されると仮定する限りにおいて、最も簡単な停止反応モデルは再び「末端モデル」である。このモデルは、異種ラジカル間の停止速度定数 $k_{11,2}$ を唯一のパラメータとして含むが、 $k_{11,2}=0$ と仮定してもなお、このモデルは $\bar{k}_t$ を大幅に(2桁以上)過大評価する(図2、鎖線)。

前末端停止反応モデルは16種の速度定数 $k_{ij,kl}$ を含む。ここに $k_{ij,kl}$ はラジカル ij と kl 間の速度定数である($i, j, k, l=1$ または 2)。このモデルを単純化するのに2通りの方法が可能である。極端な場合として、ラジカルA同志の反応は速く、ラジカルB同志の反応速度はゼロと仮定しよう。仮に、B-B間の停止速度がゼロである理由がBラジカルの遅い拡散速度にあるとすれば、A-B間の反応はやはり大きな速度で起こりうる。なぜなら、AがBに拡散移動するからである。この概念は代数平均近似、 $k_{A,B}=(k_{A,A}+k_{B,B})/2$ に対応する。一方、仮に $k_{B,B}=0$ である理由が、ラジカルBが遮蔽されて反応しうるコンフォメーションをとりえないことによるとすれば、A-B間の反応も起こりえないであろう。これは、遮蔽係数 q なる概念の導入と、異種ラジカル間の停止を $k_{A,B}=q_A q_B$ で与えることを示唆する。このモデルは、幾何平均近似 $k_{A,B}=(k_{A,A} k_{B,B})^{1/2}$ と等価である。上記の2通りの近似は、ともに2種のパラメータ

$$\delta_1=(k_{21,21}/k_{11,11})^{1/2}, \quad \delta_2=(k_{12,12}/k_{22,22})^{1/2} \quad (3)$$

を含む2通りの $\bar{k}_t$ の表式を与える。図2に示すように、代数平均モデル(破線)は $\delta_1 \geq 0$, $\delta_2 \geq 0$ の範囲で実験データを全く再現しえない。これに対し、幾何平均近似は $\delta_1=0.067$, $\delta_2=0.81$ により、実験データはほぼ完全に再現される(実線)。因みに、 $\bar{k}_p$ 対 f_1 曲線から評価されるラジカル反応性比は $s_1=0.055$, $s_2=0.32$ であり、例外的に小さな s_1 および δ_1 の値は、前末端位のDEF単位がSTラジカルの成長および停止過程に及ぼす強い遮蔽効果によると説明される。

停止速度定数の絶対値に影響を及ぼす末端モノマー単位の数 2 より大きいと考えられる。しかし、共重合反応において興味深いのは共重合系に固有の効果、つまり両単独重合系からの乖離の寄与である。この意味で、一般的な鎖長依存性の性質は、 δ_1 , δ_2 などの比において大部分が自動的に相殺されると考えられる。共重合系に基本的な因子はA-BまたはB-A異種結合の存在であり、この結合の性質はA-AおよびB-B結合の性質から簡単に演繹しえない。前末端成長および停止反応モデルはこの交互結合の性質に焦点を合わせており、ここに、これらのモデルが、さらに高次のモデルに比べて簡単であるにも関わらずよい結果を与える理由があると考えられる。

4. 共重合速度式

成長反応に関する前末端モデル(E型すなわち非制限型)と停止反応に関する前末端モデル(幾何平均近似)を組み合わせると次の速度式を得る¹⁷⁾。

$$\frac{\bar{r}_1 f_1^2 + \bar{r}_2 f_2^2 + 2 f_1 f_2}{\bar{\omega}} = \left(\frac{\bar{r}_1 f_1}{\omega_1} \right) \left(\frac{r_{11} f_1 + \lambda_1 f_2}{r_{11} f_1 + f_2} \right) + \left(\frac{\bar{r}_2 f_2}{\omega_2} \right) \left(\frac{r_{22} f_2 + \lambda_2 f_1}{r_{22} f_2 + f_1} \right) \quad (4)$$

ここに $\bar{\omega} = \bar{k}_p / \bar{k}_t^{1/2}$, $\omega_i = k_{iii} / k_{uii}^{1/2}$, $\lambda_i = \delta_i / s_i$ である ($i=1$ または 2)。PUE が I 型の場合、 $\bar{r}_i = r_{ii} = r_i$ と置けば式 4 は形式的に Russo-Munari (RM) 式^{18,19)}と類似し、さらに $s_i = 1$ ($\lambda_i = \delta_i$) とおけば RM 式と一致する。以前より、RM 式が成長反応に末端モデルを仮定するにも関わらず、 δ_1 と δ_2 を 2 パラメータとして実験データを精度よく再現することが知られていたが、その理由は式 4 と RM 式のこの形式的な類似にある^{1),18),19)}。

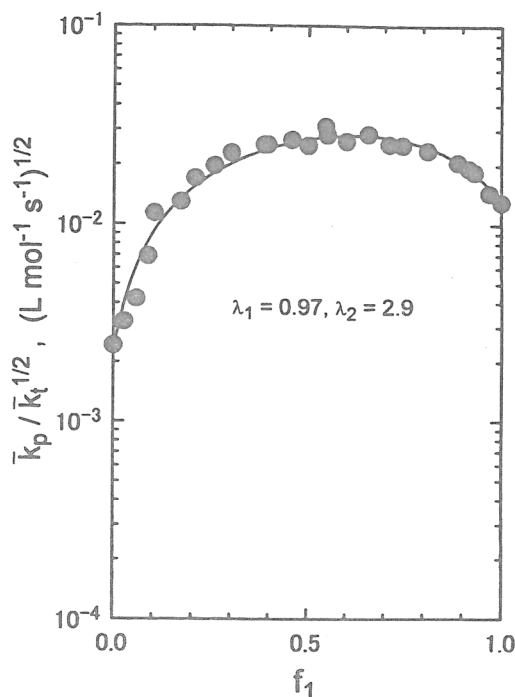


Figure 3. Plot of $\bar{k}_p / \bar{k}_t^{1/2}$ vs. f_1 for the S/DEF/AIBN 40 °C system. The Solid curve represents eq 4 with $\lambda_1 = 0.97$ and $\lambda_2 = 2.9$.

図 3 に ST/DEF 系の $\bar{\omega}$ と f_1 の関係を実験データと共に示す。 $\lambda_1 = 0.97$, $\lambda_2 = 2.9$ に対し実験点はほぼ完全に再現される。 λ_1 は 1 に近く、したがって重合速度で見る限り、この系が PUE の強い影響下にあるようには見えないが、実際には前記のように、 s_1 および δ_1 が共に 1 より非常に小さい、すなわち、例外的に PUE の大きい系である。

上記の事例が示すように、共重合速度の理解には速度定数の絶対測定が不可欠である。今後、さらに多くの精密な実験データの蓄積により、前末端基効果の、より一般的にはラジカル重合における高分子効果の理解が進むものと期待される。

文献

- 1) F. R. Mayo, F. M. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 1594 (1944).
- 2) T. Fukuda, Y.-D. Ma, H. Inagaki, *Macromolecules*, **18**, 17 (1985).
- 3) T. Fukuda, K. Kubo, Y.-D. Ma, H. Inagaki, *Polym. J.*, **19**, 523 (1987).
- 4) T. Fukuda, K. Kubo, Y.-D. Ma, *Prog. Polym. Sci.*, **17**, 875 (1992).

- 5) T. Fukuda, N. Ide, Y.-D. Ma, *Macromol. Symp.*, **111**, 305 (1996).
- 6) T. Fukuda, Y.-D. Ma, H. Inagaki, *Makromol. Chem., Rapid Commun.*, **8**, 495 (1987).
- 7) M. L. Coote, M. D. Zammit, T. P. Davis, *Macromolecules*, **30**, 8182 (1997).
- 8) M. L. Coote, L. P. M. Johnston, T. P. Davis, *Macromolecules*, **30**, 8191 (1997).
- 9) M. L. Coote, T. P. Davis, *Macromolecules*, **32**, 3626 (1999).
- 10) M. L. Coote, T. P. Davis, *Prog. Polym. Sci.*, **24**, 1217 (1999).
- 11) T. Fukuda, Y.-D. Ma, K. Kubo, H. Inagaki, *Macromolecules*, **24**, 370 (1991).
- 12) H. Fischer, L. Radom, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **40**, 1340 (2001).
- 13) M. Walbiner, J. Q. Wu, H. Fischer, *Helv. Chim. Acta*, **78**, 91 (1995).
- 14) K. Heberger, H. Fischer, *Int. J. Chem. Kinet.*, **25**, 249 (1993).
- 15) M. L. Coote, T. P. Davis, L. Radom, *Macromolecules*, **32**, 2935 & 5270 (1999).
- 16) H. Fischer, L. Radom, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **40**, 1340 (2001).
- 17) Y.-D. Ma, K.-S. Sung, Y. Tsujii, T. Fukuda, *Macromolecules*, **34**, 4749 (2001).
- 18) S. Russo, S. Munari, *J. Macromol. Sci.-Chem.*, **2**, 1321 (1968).
- 19) G. Bonta, B. M. Gallo, S. Russo, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. I*, **71**, 1727 (1975).
- 20) T. Sato, S. Shimooka, M. Seno, H. Tanaka, *Macromol. Chem. Phys.*, **195**, 833 (1994).

細胞への遺伝子導入可能な表面の作製と解析

小屋松 祐一, 佐藤 秀樹, 平田 伊佐雄, 岩田 博夫

京都大学再生医科学研究所

1. 緒言

近年心血管系また脳血管系の病気に対して、カテーテルを用いた治療、すなわち血管内手術法が多用されるようになってきた。さらに治療困難な症例に対しては、この手法と遺伝子治療とを組み合わせる試みが検討されている。このためには遺伝子を疾患部位に局所的に投与し、発現させる技術が必要となる。従来法では、カテーテル先端から遺伝子溶液を疾患部位に注入する、またはバルーンカテーテルのバルーン表面に遺伝子をコーティングし、病変血管でこのバルーン膨らますことで血管壁に薬物を局所投与する等の試みが行われてきた。しかし、注入した遺伝子やバルーン表面の遺伝子が血流で洗い流されてしまい、とても効率のいい投与法になっていないだけでなく、遺伝子が血流に乗って全身へと配布され、その副作用も危惧されている。新たな遺伝子の新規局所投与法の開発が望まれている。われわれのグループでは、脳動脈瘤の治療に用いる白金コイルの開発[1]、また、血管狭窄部の拡張術に用いるステントの開発を行ってきた。ここでは、これらの表面上に遺伝子を担持させ、病変部のみ遺伝子を投与する方法の基礎的検討を行った。

ゲノムプロジェクトにより近年膨大な量の遺伝子の塩基配列が決定されている。この情報の生物学研究への展開、さらに医療への応用を考えたとき、配列が既知であるがその機能がわかっていない遺伝子の解析を効率よく行うシステムの開発は必須である。それを可能にする一つの方法として、トランスフェクショナルアレイの開発を進めている。このアレイでは、多数の未知遺伝子をスポット状に基板上に担持し、さらにこの上で細胞培養を行うことで細胞へ遺伝子を取り込ませ、その細胞で発現される遺伝子の機能を解析することを目的とする。

上記二つの研究開発は全く異なる分野に属するが、その基盤となる技術は極めて共通していると考ええる。即ち、基材表面上に比較的安定に遺伝子を担持できること、一方、この表面が細胞と接触したときは効率よく遺伝子を細胞へ導入できることである。本研究では、ガラス基板の上に蒸着した金薄膜をモデル表面とし、この上にカルボキシル基を有する自己組織化単分子膜 (Self-Assembled Monolayer : SAM) を形成させ、さらに遺伝子導入用試薬である LipofectAMINE2000™ とプラスミド DNA とを交互吸着させることで、上記目的に合致する遺伝子導入表面の作製を試みた。

2. 実験

基板となるガラスプレートはアルテグラス（京都）から購入したものを使用した（材質：BK7、屈折率：1.515、 $25 \times 25 \times 1$ mm）。11-Mercapto-1-undecanol ($\text{HSC}_{11}\text{H}_{22}\text{OH}$)と 11-Mercaptoundecanoic acid ($\text{HSC}_{10}\text{H}_{20}\text{COOH}$)は Sigma 社（セントルイス、米）から購入した。遺伝子導入用試薬として用いたカチオン性脂質 LipofectAMINE2000™ と細胞培養用溶液（MEM, OPTI-MEM® I Reduced-Serum Medium）は GIBCO/BRL®社（ニューヨーク、米）から購入した。また、CMV promoter の下流にレポーター遺伝子として Green Florescent Protein (GFP)をコードしているプラスミド DNA pQBI25 は TaKaRa 社（大津）より購入した。DNA を定量するために用いた PicoGreen® dsDNA Quantitation kit は Molecular Probes 社（オレゴン、米）から購入した。*in vitro*での細胞培養実験に用いたヒト胎児腎由来細胞である HEK293細胞はヒューマンサイエンス振興財団（大阪）より購入した。

ガラスプレートはピラニア液（濃 H_2SO_4 /30% H_2O_2 = 70/30）に 10 分間浸漬洗浄した後、Milli Q 水と 2-propanol とで交互に 3 回ずつ洗浄した。洗浄したガラスプレートは 2-propanol 中にて保存した。窒素ガスで乾燥させたガラスプレートを真空蒸着装置 V-KS200（大阪真空社）を用いて 3.4×10^{-4} Pa 以下で、Cr = 1 nm, Au = 49 nm の計 50 nm の厚さで真空蒸着を行い、ガラスプレート上に金薄膜表面を形成させた。約 1 時間窒素ガスバブリングした ethanol に、11-Mercapto-1-undecanol と 11-Mercaptoundecanoic acid を所定の割合で混合し計 1 mM となるように溶解した。この混合アルカンチオール溶液に金蒸着ガラスプレートを 24 時間以上浸漬することで、金薄膜表面上にカルボキシル基と水酸基を有する混合 SAM を形成させた。作製した混合 SAM 表面の水接触角を接触角計 CA-X 型(協和界面科学株式会社)を用いて sessile drop 法にて測定した。混合 SAM 表面は測定前に Milli Q 水と 2-propanol で交互に 3 回ずつ表面を洗浄した後、デシケーター中で 1 晩乾燥させたものを水接触角測定試料として使用した。また、1 N NaOH に 1 分間浸漬処理した後の混合 SAM 表面の水接触角も同時に測定した。測定には Milli Q 水を用いた。

LipofectAMINE2000™を用いた Lipid-プラスミド DNA complex (LD 複合体)の調製は LipofectAMINE2000™の使用説明書に従って行った。簡単に述べると、まず LipofectAMINE2000™とプラスミド DNA をそれぞれ OPTI-MEM® I 中に懸濁した。5 分後にこの 2 つの溶液を混合し、さらに 20 分間室温で放置することにより Lipid-プラスミド DNA complex を形成させた。

LD 複合体とプラスミド DNA が表面上に吸着していく過程を表面プラズモン共鳴 (SPR) 測定によって経時的に観察した。作製した混合 SAM 表面を MilliQ 水と 2-propanol で交互に 3 回ずつ洗浄し窒素ガスで乾燥させた後、

試料表面とは反対側の表面に半円状プリズムをのせ SPR 用 flow cell に装着し測定を開始した。まず、PBS (-) を還流させ反射光強度が安定するまで放置した。反射光強度が安定したのを確認後、続けて OPTI-MEM® I を還流し、flow cell が OPTI-MEM® I によって完全に置換されたのを確認してから還流を止め SPR 角の測定を行った。buffer OPTI-MEM® I への置換が完了してから 5 分後、LD 複合体溶液を flow cell へと注入し静置した。更に 5 分後、OPTI-MEM® I をしばらく還流させることで表面を洗浄した後還流を止め、再び SPR 角の測定を行った。次にプラスミド DNA 溶液も同様に flow cell へと注入し、5 分間静置した後に OPTI-MEM® I で表面を洗浄し SPR 角の測定を行った。以下同様の操作を LD 複合体溶液、プラスミド DNA 溶液と順に繰り返していき、それぞれの溶液を流す前後での SPR 角のシフト量の測定を行った。

細胞へのプラスミド DNA 導入に用いるプラスミド DNA 担持表面を作製するために、まず作製した混合 SAM 表面を PBS (-) 中に 5 分間以上浸漬した。次に、OPTI-MEM® I 中に 5 分間浸漬し取り出した後、LD 複合体溶液を表面上に滴下し 5 分間静置することで LD 複合体の吸着を図った。5 分後、表面を洗浄するために OPTI-MEM® I 中に浸漬した。再びプレートを取り出し、今度は OPTI-MEM® I 中に懸濁したプラスミド DNA 溶液を滴下し 5 分間静置することでプラスミド DNA の表面への吸着を図った。再び OPTI-MEM® I 中に 5 分間浸漬することで洗浄した。以下、同様の操作を繰り返すことでプラスミド DNA を担持した表面を作製した。

作製したプラスミド DNA 担持表面の水接触角を行った。作製したプラスミド DNA 担持表面を MilliQ 水で洗浄した後、デシケーター中で 1 晩乾燥させた。この表面の水接触角を Milli Q 水を用いて sessile drop 法により測定した。プラスミド DNA 担持表面の安定性を評価するために高塩濃度溶液を用いた遊離試験を行った。上記の方法で作製したプラスミド DNA 担持表面を 2 M NaCl を含む TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH7.4) 1 ml 中に浸漬した。30 分間振とうした後、溶液を回収し、PicoGreen® dsDNA Quantitation kit を用いて溶液中に溶出してきたプラスミド DNA 量を定量した。

細胞へのプラスミド DNA の *in vitro* トランスフェクション実験を行った。上記の方法で作製したプラスミド DNA 担持表面を、細胞培養用 6 well plate の底部においた。この時、プラスミド DNA 担持表面は最表面が常に LD 複合体となるように作製した。次に、その上に HEK293 細胞懸濁液 (3×10^5 cells/ml) 2 ml を播種した。細胞播種後、10% 牛胎児血清を含む MEM を培養液として用いて 37 °C, 5% CO₂ インキュベーターの中で細胞培養を行った。翌日培地交換を行い、培養 3 日後に細胞を蛍光顕微鏡を用いて観察した。この作製したプラスミド DNA 担持表面上での細胞への遺伝子導入とその細胞

内での発現は、蛍光顕微鏡にて GFP の発現に伴う蛍光を観察することで評価した。

3. 結果

11-Mercapto-1-undecanol と 11-Mercaptoundecanoic acid が所定の割合で混合された溶液中でガラス基板上に形成された混合 SAM 表面の水接触角を図 1 に示した。カルボキシル基のみで覆われた SAM 表面の水接触角は約 29.1 °、水酸基のみで覆われた表面の水接触角は約 18.9 °であった。図中の曲線は混合表面に対する Cassie の式から予想される接触角である。Cassie の式[2]は以下の式として表される。

$$\cos \theta_c = A_1 \cos \theta_1 + A_2 \cos \theta_2$$

ここで θ_c は見かけの接触角、 A_1 と A_2 、 θ_1 と θ_2 はそれぞれ水酸基とカルボキシル基が占める面積割合とそれぞれの表面の接触角である。SAM 組成変化に対する接触角の変化は Cassie の式でよく表され、SAM 組成は調製溶液中のアルカンチオール組成を反映していると考えられる。

カルボキシル基はアルカリ金属イオンと塩を形成するとその解離度は大きくなる。このことから、カルボキシル基を有する SAM をアルカリ溶液で処理すると、接触角が低下すると予想される。図 1 にはアルカリ溶液処理混合 SAM 表面の接触角も示した。1 N NaOH に浸漬処理した後の水接触角は、処理前と比較するとカルボキシル基の割合が増加するに従い減少していくという傾向が観察された。以上の結果は、蒸着金薄膜上に SAM が形成され、さらに SAM 作製時に用いた溶液中の 11-Mercaptoundecanoic acid の割合が高くなるとともに SAM 表面上のカルボキシル基密度が増加していることを示している。

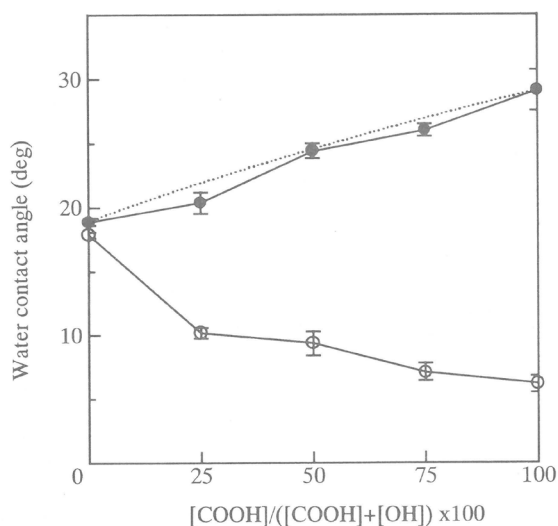


Figure 1. COOH/OH 混合 SAM 表面の水接触角。(●) は NaOH 処理前の表面、(○) は NaOH 処理後の表面を示す。破線は cassie の式より求めた値を示す。

SAM 表面上に LD 複合体とプラスミド DNA を交互吸着法により担持させる際の表面への吸着に要する時間、また、担持量に関する情報を得るために、LD 複合体とプラスミド DNA が表面上に吸着していく過程を SPR 測定によって経時的に観察した。SAM 表面を LD 複合体またプラスミド DNA とに交互接触させたときの SPR 共鳴角の変化を図 2 に示した。SAM 表面上には高密度にカルボキシル基が存在し、負に荷電していると予想される。一方、LD 複合体は負に荷電したプラスミド DNA と過剰のカチオン性脂質 LipofectAMINE2000™ とを混合することで作製され、生成した LD 複合体は正に荷電していると報告されている[3]。静電相互作用で担持させることを考え、まず LD 複合体溶液と接触させた。図 3 に見られるように、SPR 共鳴角が 5 分の経過観察時間の間上昇し、SAM 表面上へ LD 複合体が吸着していった。正電荷を有する LD 複合体の吸着により表面は正に荷電すると考えられる。次に、この表面を負に荷電したプラスミド DNA を含む溶液と接触させた。

このときも、SPR 共鳴角が上昇し、表面へプラスミド DNA が吸着されることが示された。この操作を交互に繰り返すことで、SPR 共鳴角は上昇し、表面に LD 複合体とプラスミド DNA が交互に担持されていくことがわかった。ただ、各表面とも吸着を重ねていくごとに SPR 共鳴角の上昇は観察されたものの、吸着回数が増えていくとその上昇は緩やかになっていく傾向があった。カルボキシル基密度の異なる SAM 表面へ LD 複合体とプラスミド DNA を交互に吸着させたときの SPR 共鳴角変化を図 3 に示した。いずれの SAM 表面にも、LD 複合体とプラスミド DNA が吸着されていったが、カルボキシル基密度が高い表面ほど効率的に担持されていった。

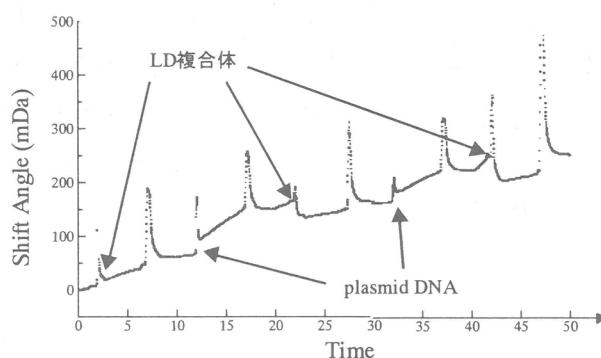


Figure 2. SPRによるLDとplasmid DNAの交互吸着過程の観察。LDとplasmid DNAを順次吸着したときの時間変化に対する共鳴角変化をプロットした。矢印はその溶液を添加した時刻を示す。表面はCOOHの仕込率が75%の表面を用いた。

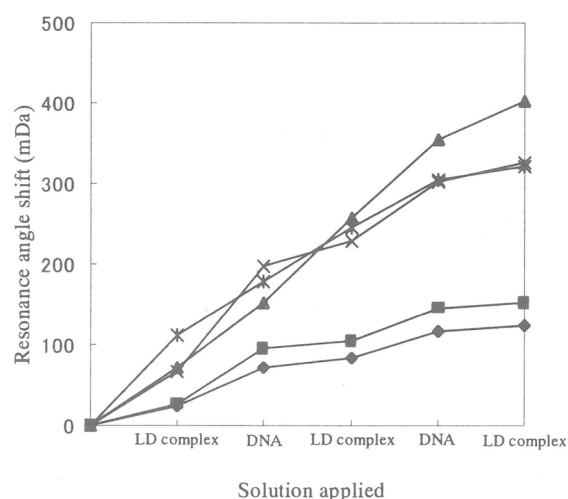


Figure 3. LDとplasmid DNAの交互吸着によるSPR角の変化。様々なCOOH/OH混合SAM表面でのSPR角シフトを吸着回数に対してプロットした。それぞれCOOHの仕込率が(*)100%, (x)75%, (▲)50%, (■)25%, (◆)0%の表面を示す。

交互吸着表面の接触角を図4に示した。測定した混合 SAM 表面上に、LD 複合体を吸着させたときに接触角が高くなり、プラスミド DNA を吸着させると接触角は若干低下するという傾向が見られた。以上のことから、LD 複合体とプラスミド DNA を交互吸着法にて作製した DNA 担持表面は図5のような構造をしていると考える。

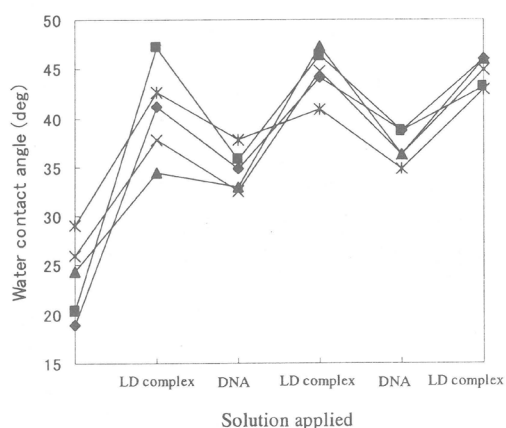


Figure 4. DNA 担持表面の水接触角。表面は測定する前に一度乾燥させてある。それぞれ COOH の仕込率が (*)100%, (x)75% (▲)50%, (■)25%, (◆)0%である表面を示す。

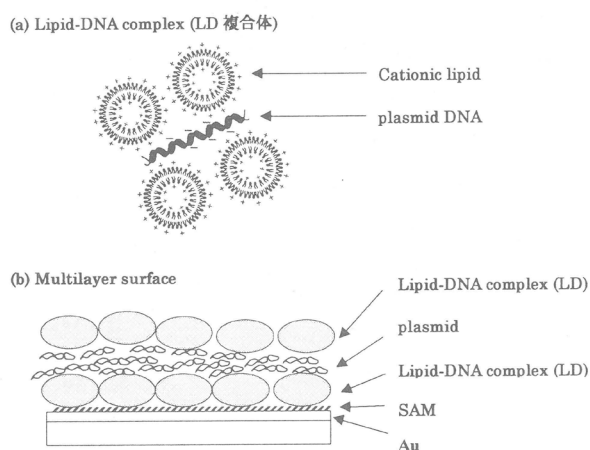


Figure 5. Lipid-DNA 複合体の模式図 (a) と Lipid を含む DNA 担持表面の模式図 (b)

本研究で作製を試みている細胞内へとプラスミド DNA を効率的に導入出来る表面に要求されることは、比較的安定にプラスミド DNA が担持でき、また、一方では表面上のプラスミド DNA は細胞内に取り込まれる程度に緩く表面に固定されていることが望まれる。そこで LD 複合体とプラスミド DNA を担持させた表面をイオン強度の高い 2 M NaCl 溶液に接触させ、この時に表面からはずれてくる DNA 量を測定した結果を図6に示した。LD 複合体を1回、2回、3回吸着させた表面からの、プラスミド DNA 離脱量は 12.28 ng/cm^2 , 21.22 ng/cm^2 , 27.74 ng/cm^2 であった。SPR 共鳴角変化の測定結果より、交互吸着回数の増加に伴い表面上へのプラスミド DNA の担持量は増加し、また、これらの表面から高イオン強度溶液中へのプラスミド DNA の離脱量も増加することがわかった。

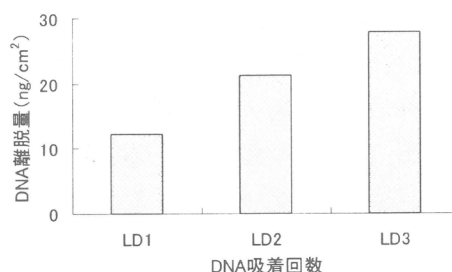


Figure 6. DNA 担持表面から 2 M NaCl 溶液中による洗浄によって脱離した DNA 量。測定には COOH の仕込率が 100%の表面を用いた。

交互吸着により作製された表面上からのプラスミド DNA の細胞へ取り込み、さらにプラスミド DNA 上の遺伝子の細胞内での発現を HEK293 細胞の *in vitro* 細胞培養により検討した。レポーター遺伝子として Green Florescent Protein (GFP) 遺伝子を用い、表面上の細胞を蛍光顕微鏡で観察した。表面は、交互吸着回数の異なる LD 複合体、LD 複合体+プラスミド DNA+LD 複合体、LD 複合体+ (プラスミド DNA+LD 複合体)₂ の 3 種類を検討した。顕微鏡像を図 7 に示した。いずれの表面においても GFP を発現している細胞が観察され、細胞に遺伝子が導入されたことが確認された。また、GFP を発現している細胞の全細胞に対する割合は交互吸着回数の増加とともに増加していく傾向があった。これは、交互吸着を繰り返すことで表面への LD 複合体の担持量が増大し、その結果、細胞に取り込まれるプラスミド DNA の量が増大したためであると考えられる。

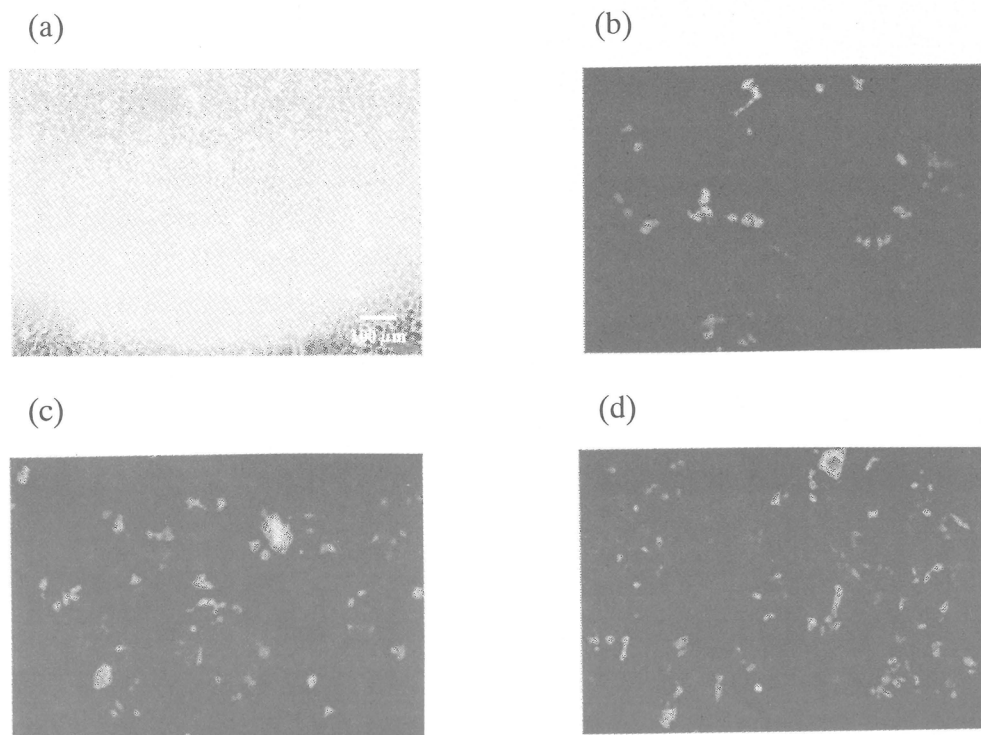


Figure 7. plasmid DNA 担持表面上で培養した細胞の顕微鏡像。観察は播種してから 3 日後に行った。それぞれ、(a)位相差顕微鏡像、(b) LD を 1 回吸着、(c) LD を 2 回吸着、(d) LD を 3 回吸着した表面上の細胞の蛍光顕微鏡像を示す。結果は COOH の仕込率が 75% の表面を示した。LD の吸着を重ねることで GFP の発現に伴う蛍光がより多く観察され、遺伝子導入効率が上昇する傾向が見られた。

図 8 には、SAM 表面のカルボキシル基密度の違いによる GFP の発現効率の違いを比較した結果を示した。この結果は、いずれも LD 複合体+プラスミド DNA+LD 複合体の表面を示した。いずれの表面においても GFP の発現に基づく蛍光が観察されていたが、カルボキシル基密度の違いによる遺伝子導入効率の差はほとんど認められなかった。

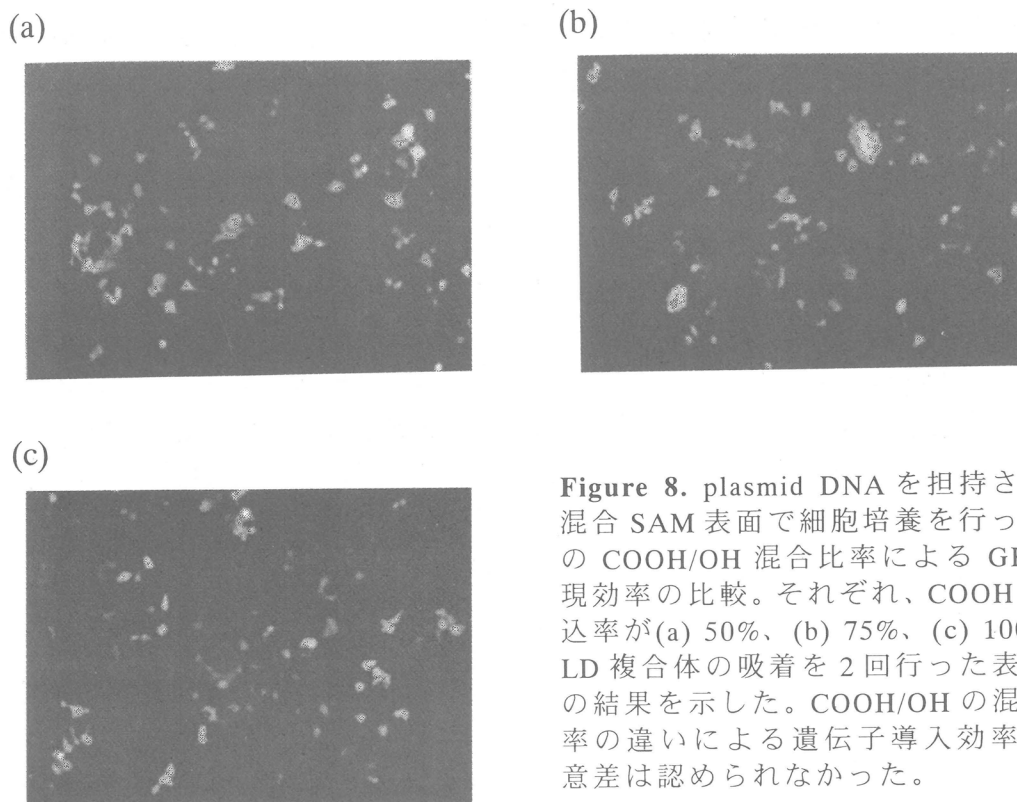


Figure 8. plasmid DNA を担持させた混合 SAM 表面で細胞培養を行った際の COOH/OH 混合比率による GFP 発現効率の比較。それぞれ、COOH の仕込率が (a) 50%、(b) 75%、(c) 100% で LD 複合体の吸着を 2 回行った表面での結果を示した。COOH/OH の混合比率の違いによる遺伝子導入効率の有意差は認められなかった。

4. 考察

近年、試薬の調製が簡便であり必要とする DNA が比較的少なくすむこと、また、従来遺伝子導入が困難とされていた神経細胞や初代培養細胞などの細胞においても効率良く遺伝子導入できることが見出されたことよりリポフェクション法が注目を集めている[4,5]。リポフェクション法では、カチオン性脂質等からなる脂質二重膜小胞（リポソーム）と DNA のリン酸骨格との間で静電的相互作用を引き起こし、全体として正に帯電した複合体（Lipid-DNA complex）を形成させる。細胞表面は通常、糖結合性のシアル酸残基などにより負に帯電しており、正に帯電した複合体は負に帯電した細胞表面に結合する。細胞表面に結合した複合体は、細胞の貪食作用や膜融合により細胞内へと取り込まれる。取り込まれた DNA はエンドソームやリソソームを介して核内へと導入されるという報告[6]があるが、詳しい機構は今だ未解明のようである。

現在、培養細胞へ標的とする遺伝子を添加することで遺伝子導入を行うといった遺伝子導入法が行われているが、本研究ではそれとは全く逆に表面上にプラスミド DNA を固定化し、その上で細胞を培養することで遺伝子導入を行うという新規の遺伝子導入法の開発を行った。本研究では、表面上に遺伝子を固定化すると共に、遺伝子導入用試薬も同時に固定化するため、この表面上

で細胞培養を行うことで培養細胞への遺伝子導入が可能となる。具体的には、金を真空蒸着したガラスプレートを出発点として、その基板表面上へまずカルボキシル基と水酸基を有する混合SAMを形成し、さらにその上へ交互吸着法によりプラスミドDNAを担持した。

金薄膜上に形成させた混合SAM表面の接触角の測定を行い、Cassieの式を用いてSAM中の官能基の組成について若干の情報を得ることを試みた。本研究のSAM表面は分子レベルの混合表面であること、また、その表面の均一性、すなわちアルカンチオール相互の相分離が起こらずSAMが均一に混ざっているかなど、考慮すべき問題も多い。ただ、本実験系では11-Mercapto-1-undecanol SAMと11-Mercapto-undecanoic acid SAMの接触角の差が余り大きくないことも一因かもしれないが、比較的SAM調製溶液の組成変化に対する接触角の変化はCassieの式でよく表された。

SAM表面上にプラスミドDNAを担持させる手段として交互吸着法を利用した。交互吸着法とは、ポリアニオン、ポリカチオンの静電相互作用を利用して基板表面への吸着を行う方法で、1990年代初めにDecherらのグループが高分子電解質を用いてナノオーダーで制御された多層薄膜を作製できること報告したことより発展してきた方法である[7,8]。その作製方法は単純なものであり、表面に適当な処理を行うことで表面を帯電させ、その基板と反対の電荷を持つ高分子電解質溶液に浸漬することにより表面上に薄膜を形成させるといったものである。この処理を交互に行うことで基板上へと多層薄膜が形成することが可能となる。本研究では基材として、金薄膜表面に形成させた負電荷を持つSAMを用い、この上に正電荷を持つLD複合体と負電荷を持つプラスミドDNAを交互に吸着させた。本手法を用いることで表面上へ迅速に、そして簡便にプラスミドDNAを担持させることができた。

SPRは非接触・非破壊的かつ高感度に表面状態の変化を追跡できる測定法で、近年リガンド・レセプターや細胞内情報伝達分子間等の生体分子間相互作用の強力な解析手段として生化学の分野でも盛んに利用されている[9]。本系はSAMを金薄膜上に形成させその上にDNAを担持させるため、SPR測定に極めて都合の良い系になっている。このため、表面上へのDNAの吸着を経時的に追跡、さらに、交互吸着時の吸着量の決定などに用いた。通常共鳴角の変化から、タンパクの吸着量[10]や、相互作用量[11]の決定が行われているが、LipofectAMINE2000™やそれと複合体を作ったプラスミドDNAの水溶液中での屈折率が不明なため、担持量を重量等で表すには至らなかった。

SPR共鳴角の経過変化から、表面で起こっていることに関する貴重な情報が得られる。本実験では、この経時変化を詳しく解析するための実験を行っていないため詳しい議論はできないが、図2に示されたSPR共鳴角の時間変化は、表面上へのタンパク吸着などの時に見られる変化と比較して緩やかで

あり、表面へ吸着された後に LD 複合体やプラスミド DNA の形態変化が徐々に起こっていることが示唆されている。次に、交互吸着を繰り返したときに SPR 共鳴角の上昇が徐々に小さくなっている。Decher らのポリアニオンとポリカチオンの交互吸着法では、各回の積層時の膜厚はほぼ一定である[12]。LD 複合体中のカチオン成分が疎水的な相互作用でマクロカチオンを形成しているため、吸着後に弱い 2 次結合が変化、さらに吸着膜に構造的変化が起こり、ポリイオン間で考えられているほど交互にポリアニオンとポリカチオンの交互の吸着が起きないためだと考えている。

上で LD 複合体の不安定性について考察したが、これは接触角測定においても観察される。LD 複合体を吸着させたときに接触角が高くなり、プラスミド DNA を吸着させると接触角は若干低下するという傾向が見られた。LD 複合体が吸着された表面は、水中では本研究で用いたカチオン性脂質はリポソームを形成しており、カチオン部位が最表層に存在すると予想されるが、接触角測定のため表面を空気中に取り出し、さらに、乾燥させると空気との界面自由エネルギーを低下させるために脂質の配向が変化し、LD 複合体の疎水部が最表層に出て接触角が高くなったものと考えている。

表面上にプラスミド DNA を吸着させ、その表面上から細胞へと効率良く遺伝子を導入するためには、プラスミド DNA 吸着層の安定性、また、基材表面とプラスミド DNA 吸着層の相互作用を調節する必要がある。これらが不安定であるとプラスミド DNA を表面に固定化できず、また逆に、安定過ぎると固定化されたプラスミド DNA が表面から解離することができず細胞へと取り込まれない。そこで本研究では、まず基材表面とプラスミド DNA 積層の相互作用を制御するために、カルボキシル基と水酸基の混合比率が異なる SAM を基材として検討した。*in vitro* 細胞培養実験において、COOH の仕込率が 50, 75, 100 % の SAM 表面に関してはいずれにおいても GFP の発現に伴う蛍光が観察され、本実験で作製したプラスミド DNA 担持表面から細胞へと遺伝子導入されることが明らかとなった。しかし、SAM 上のカルボキシル基密度と遺伝子導入効率にはほとんど相関がなかった。

細胞の吸着膜へ接着できるほど安定であることと、細胞が吸着膜を取り込むほど安定であることは矛盾する要求である。今後、より優れた遺伝子導入表面を作製するためには、吸着膜の安定性等の検討を更に進める必要がある。

本研究では、表面上に遺伝子を簡便に担持させ、さらにその表面上から遺伝子導入を行うといった新規の遺伝子導入技術を開発した。この技術は細胞への遺伝子導入ができるマイクロアレイの開発といった分析分野、また血管内手術で用いられているステントや白金コイルといった金属製医療用デバイスに応用することで遺伝子治療の分野等に利用できるのではと考える。

謝辞：SPR の機器作製と測定についてご指導を賜った京都大学工学研究科高分子化学専攻伊藤紳三郎教授に感謝いたします。

文献

- 1) 岩田 博夫、神経研究の進歩、2001, 45, 1020-1025
- 2) A. B. D. Cassie, *Discuss. Faraday Soc.* 1948, **3**, 11-16
- 3) S. J. Eastman, C. Siegel, J. Tousignant, A. E. Smith, S. H. Cheng, R. K. Scheule, *Biochem. Biophys. Acta*, 1997, **1325**, 41-62
- 4) P. L. Felgner, G. M. Ringold, *Nature*, 1989, **337**, 387-388
- 5) V. Ciccarone, Y. Chu, K. Schifferli, J. P. Pichet, P. Hawley-Nelson, K. Evans, L. Roy, S. Bennett, *Focus*, 1999, **21**, 54-55
- 6) A. Coonrod, F-Q. Li, M. Horwitz, *Gene Ther.*, 1997, **4**, 1313-1321
- 7) G. Decher, J. D. Hong, J. Schmitt, *Thin Solid Films*, 1992, **210/211**, 831-835
- 8) Yu. Lvov, G. Decher, G. Sukhorukov, *Macromolecules*, 1993, **26**, 5396-5399
- 9) C. Duschl, M. Liley, G. Corradin, H. Vogel, *Biophysical J.*, 1994, **67**, 1229-1237
- 10) V. Silin, H. Weetall, D. J. Vanderah, *J. Colloid Interface Sci.*, 1997, **185**, 94-103
- 11) I. Hirata, Y. Morimoto, Y. Murakami, H. Iwata, E. Kitano, H. Kitamura, Y. Ikada, *Colloids and Surface. B*, 2000, **18**, 285-292
- 12) G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, G. Decher, Y. M. Lvov, *Thin Solid Films*, 1996, **284-285**, 220-223

骨形成因子の徐放化とその骨形成作用

山本雅哉・高橋佳丈・田畑泰彦

Masaya Yamamoto, Yoshitake Takahashi, Yasuhiko Tabata

京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野

1. はじめに

骨折や癌の切除などにより大きな欠損が生じた骨組織に対しては、現在、死体から採取された同種処理骨あるいはセラミックス、チタンなどの生体材料を用いた再建外科治療が行われている。しかしながら、同種骨の場合には、ウイルス感染やドナー不足などの問題があり、生体材料では、その生体適合性がきわめて低い。また、自家骨の移植も行われているが採取部位の問題などがある。そこで、近年、これまでの再建外科治療にかわる新しい治療法として、生体本来に備わっている自己修復能を増強することによって骨組織を修復する、いわゆる骨再生治療が注目されるようになってきている。骨再生治療では、骨組織修復能を増強するために、骨髄細胞や細胞増殖因子などのタンパク質の利用が必要不可欠である。本研究の目的は、生体内において、同所性および異所性に骨再生を誘導しうるタンパク質として知られている骨形成因子 (Bone Morphogenetic protein: BMP) の作用を高めることである。すなわち、BMP を徐放化するためのキャリア材料を作製し、その作用を評価する。

最近の分子生物学の目覚ましい発展によって、種々のヒト組み換え型 BMP の大量生産が可能となり¹⁾、これらのうち BMP-2 および BMP-7 を用いた大きな骨欠損部に対する骨再生治療が臨床試験されるまでに至っている。しかしながら、BMP 水溶液のみの投与では、周囲組織への拡散や酵素分解によって、投与部位からすみやかに消失し、骨再生能は発揮されない。したがって、この問題を解決するためには、生物活性を維持した BMP を一定期間、徐々に放出させることが必要であり、BMP の徐放化システムの作製が不可欠である。これまでに、コラーゲンあるいは乳酸系高分子などからなる BMP 徐放システムが研究されている。これらの徐放システムを用いて BMP の局所濃度を高くすることにより、骨形成誘導能の高まることが報告されている²⁻⁴⁾。しかしながら、徐放担体自身の性質を変化させることによって、BMP の徐放挙動を変化させたり、その BMP 徐放挙動と骨再生誘導能との関連などについて調べた研究はほとんどない。

ゼラチンは生体吸収性高分子であり、これまでに、食品ならびに医薬品として広く利用されている。このような長期間の使用によって、その生体安全性はすでに保障されている⁵⁾。また、ゼラチンは水溶性かつ化学修飾が容易な高分子であるため、種々の誘導体化やゲル、フィルム、スポンジなどの種々の形状への加工が可能である。すでに、われわれは、ゼラチンからなる生体吸収性ハイドロゲルを用いて、塩基性線維芽細胞増殖因子⁶⁾、トランスフォーミング増殖因子- β 1⁷⁾、肝細胞増殖因子⁸⁾などを生物活性をもった状態で徐放させることに成功している。近年、われわれは、このゼラチンを化学架橋することによって作製した生体吸収性ハイドロゲルが BMP の徐放を可能とすることを見出した。本稿では、ゼラチンハイドロゲ

ルの生体吸収性を変化させることによって BMP-2 の徐放性をコントロールできること、また、それらの徐放化 BMP システムが骨再生誘導に有効であることについて報告する。

2. 実験

BMP 含浸ゼラチンハイドロゲルの作製

等電点 9.0 の塩基性ゼラチン(新田ゼラチン株式会社より供与)水溶液へ種々の濃度のグルタルアルデヒドを加えた。この混合液をポリプロピレン製秤量皿(14×14 cm²)に流延後、4℃にて12時間静置することによって化学架橋したゼラチンシート(厚さ2mm)を得た⁹⁾。架橋ハイドロゲルを直径6mmのディスク状に打ち抜いた後、100 mM 濃度のグリシン水溶液で37℃にて3時間処理し、未反応のグルタルアルデヒドあるいはアルデヒド基を不活性化した。次に、蒸留水にて数回洗浄し、凍結乾燥することによって架橋ゼラチンハイドロゲルを得た。凍結乾燥したハイドロゲルはエチレンオキシドガスを用いて滅菌した。凍結乾燥前後のハイドロゲルの重量を測定し、膨潤ハイドロゲルの重量に対する含水重量の比としてハイドロゲルの含水率を算出した⁹⁾。ハイドロゲル作製条件と含水率を表1に示す。

Table.1 Preparation of gelatin hydrogels with different water contents

Concentration of gelatin (wt%)	Concentration of glutaraldehyde (wt%)	Water content (wt%)
5	0.83	93.8
3	0.65	96.9
3	0.16	97.8
3	0.09	99.1
3	0.06	99.7

ヒト組み換え型 BMP-2(米国 Genetic Institute 供与)は、Greenwood らの方法に従って ¹²⁵I ラベル化した¹⁰⁾。凍結乾燥ゼラチンハイドロゲルディスク上に、¹²⁵I ラベル化 BMP-2 を含むリン酸緩衝液(pH7.4, PBS)20μLを滴下し、4℃にて12時間静置し、¹²⁵I ラベル化 BMP-2 をゼラチンハイドロゲルへ含浸させた。

in vivo におけるゼラチンハイドロゲルからの BMP-2 の徐放挙動の評価

¹²⁵I ラベル化 BMP-2 を含浸したゼラチンハイドロゲルを ddY マウス(6 週齢、メス)の背部皮下に埋入した。所定時間ごとにハイドロゲルを摘出し、その残存放射活性をガンマカウンタ(ARC-301B、Aloka 社製)を用いて測定することによって、in vivo におけるゼラチンハイドロゲルからの BMP-2 の徐放挙動を評価した。コントロールとして、¹²⁵I ラベル化 BMP-2 の水溶液をマウス背部皮下に投与した後、同様に投与部位の残存放射活性を測定した。

徐放化 BMP-2 の in vivo における異所性骨形成誘導能の評価

含水率の異なる BMP-2 含浸ゼラチンハイドロゲルをマウス背部皮下に埋入した。ハイドロ

ゲルへ含浸させた BMP-2 量は、0.5, 1.0, および 5.0 μg である。コントロール実験として、BMP-2 水溶液 (5×10^{-3} , 1×10^{-2} , および 5×10^{-2} $\mu\text{g/mL}$) を 100 μL ずつマウス背部皮下へ注射した。また、BMP-2 を含まない PBS を含浸させたハイドロゲルおよび PBS 水溶液も同様にマウス背部皮下へ埋入した。

アルカリフォスファターゼ活性の測定ならびに組織化学染色

骨形成の指標として、骨形成初期に認められるアルカリフォスファターゼについて検討した。BMP-2 含浸ゼラチンハイドロゲルの埋入部位および BMP-2 水溶液の投与部位を 2 週後に取り出し、凍結乾燥後、ハサミを用いて細かく砕いた。この粉碎物 (5 mg) を 0.2 % Nonidet P-40, 10 mM トリス塩酸緩衝液, 1 mM 塩化マグネシウム (pH 7.5) 1 mL 内でホモジナイズ、遠心分離後 (12,000 rpm, 15 min)、p-ニトロフェニルリン酸基質法により上清のアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性を定量した¹¹⁾。

次に、同様に取り出した組織を Tissue-Tek (サクラ社製) に浸漬し、液体窒素中で凍結することによって包埋した。凍結包埋した組織から作製した凍結切片 (厚み 6 μm) を室温で乾燥後、アセトンにて固定した。これらの組織切片について、ナフトール AS-BI リン酸ナトリウムを基質ならびに fast blue BB をジアゾニウム塩として用いて ALP 染色を行った。ALP 染色後、対比染色として Mayer のヘマトキシリン染色を行った¹²⁾。

オステオカルシン含量の定量

オステオカルシンは骨組織特異的なマーカータンパク質である。ALP 活性の測定の際に作製した組織粉碎物から、ギ酸を用いてオステオカルシンを抽出後、SephadexTM G-25M カラムを用いて精製し、RIA 法 (米国 Immutopic 社製) によりオステオカルシン含量を定量した¹¹⁾。

統計処理

全ての数値は平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。また、それぞれの値に関して、Tukey 検定を行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

3. 結果と考察

図 1 にゼラチンハイドロゲルからの BMP-2 の in vivo における徐放挙動を示す。図から明らかなように、いずれのハイドロゲルを用いた場合にも、BMP-2 の水溶液投与と比較して、BMP-2 がより長く生体内に残存していた。BMP-2 の残存期間は、ハイドロゲルによって異なり、含水率の低いハイドロゲル内により長く BMP-2 が残存していることがわかった。それぞれのハイドロゲルの生体内での分解挙動を調べたところ、ハイドロゲルの含水率が低くなるとともに、より長くハイドロゲルが生体内で残存することがわかった。ハイドロゲルの架橋程度はその含水率の増加とともに高まり、そのことが酵素によるハイドロゲルの分解消化を抑制する。その結果、含水率によるハイドロゲルの分解性の違いが生じたと考えられる。また、ハイドロゲル内での BMP-2 の残存がハイドロゲルの残存とよく相関していた。これらの結果は、BMP-2 が主としてハイドロゲルの分解にともなって徐放化されていることを示唆していると考えられる。

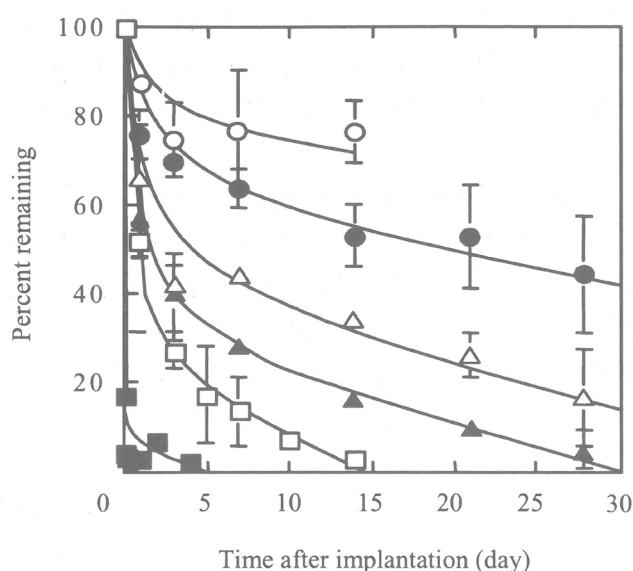


Figure 1. In vivo release profiles of BMP-2 from various BMP-2-incorporated gelatin hydrogels. The hydrogel water contents are (○) 93.8, (●) 96.9, (△) 97.8, (▲) 99.1, and (□) 99.7 wt%. The symbol (■) is the result for solution injection.

徐放化 BMP-2 の生物活性を骨形成因子による異所性骨形成を指標に評価した。骨形成の指標として、骨形成の初期のマーカであるアルカリフォスファターゼ活性ならびに形成された骨組織の特異的なマーカであるオステオカルシン含量を選択し、これらを生化学的に評価した。図 2 に骨形成因子含有ハイドロゲルをマウス背部へ埋入した 2 週後の ALP 活性を示す。図から明らかなように、1 μg および 5 μg の BMP-2 をゼラチンハイドロゲルから徐放化した場合、その水溶液投与と比較して、有意に ALP 活性は増大した。また、0.5 μg の BMP-2 をゼラチンハイドロゲルから徐放化した場合には、ALP 活性の増大は認められなかった。ALP 活性の増大に与えるハイドロゲルの含水率の影響を調べたところ、ALP 活性の増大はハイドロゲルの種類に依存し、含水率 97.8 wt% のハイドロゲルを用いた場合、最も高い ALP 活性を示した。

図 3 は、BMP-2 含浸ハイドロゲルの埋入 4 週後のハイドロゲルの埋入部位におけるオステオカルシン含量を示す。図 2 と同様に、オステオカルシン含量はハイドロゲルの種類に依存していた。また、ALP 活性およびオステオカルシン含量ともに、ハイドロゲルの含水率が 97.8 wt% のものが最も高値を示した。BMP-2 の徐放期間の短い、すなわち、より速く分解するハイドロゲルを用いた場合、BMP-2 の徐放期間が短く、骨形成を誘導するには不十分であったと考えられる。逆に、より遅く分解するハイドロゲルを用いた場合、徐放化される BMP の量が少なく、骨形成を誘導するのに十分な局所の BMP 濃度が得られなかったのであろう。これらのバランスから、適度な BMP の徐放性が効率のよい骨再生誘導に必要であったと考えられる。

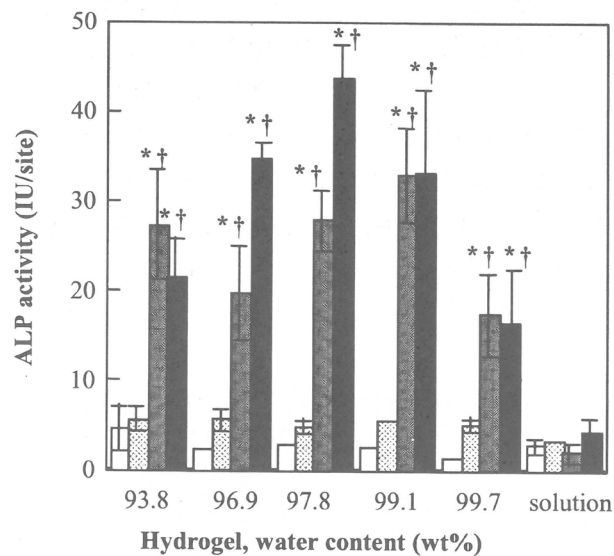


Figure 2. ALP activity of tissues around the implanted site of gelatin hydrogels incorporating BMP-2 and the injected site of BMP-2 solution 2 weeks later. The BMP-2 doses are (□) 0, (□) 0.5, (▨) 1, and (■) 5 µg. * $p < 0.05$ significant against the ALP activity of control group. † $p < 0.05$ significant against the ALP activity of mice applied with BMP solution at the corresponding BMP dose

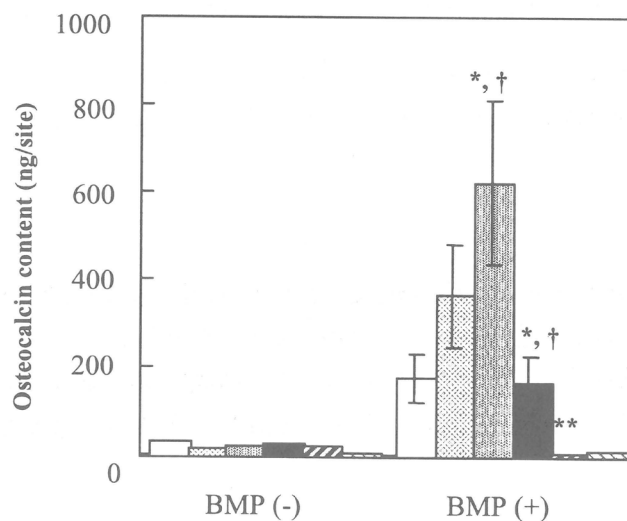


Figure 3. Osteocalcin contents of tissues around gelatin hydrogels incorporating BMP-2 (5 µg/site) 4 weeks after implantation. The water contents of the hydrogels are (□) 93.8 wt%, (▨) 96.9 wt%, (▨) 97.8 wt%, (■) 99.1 wt%, and (▨) 99.7 wt%. As a control, BMP-2 solution (■, 5 µg /100 µL/site) was injected subcutaneously. * $p < 0.05$ significant against the osteocalcin content of mice applied with hydrogels incorporating BMP-2 (93.8 wt%). † $p < 0.05$ significant against the osteocalcin content of mice applied with hydrogels incorporating BMP-2 (96.9 wt%). ** $p < 0.05$ significant against the osteocalcin content of mice applied with hydrogels incorporating BMP-2 (97.8 wt%)

図4は、5 μ g の BMP-2 を含有したゼラチンハイドロゲル(含水率 97.8 wt%)によって誘導された異所性骨組織(埋入 2 週後)の ALP 組織化学染色の結果である。図から明らかなように、BMP-2 を含有しているハイドロゲルの周囲にのみ ALP 染色に陽性な組織が観察された。BMP-2 を含有していない空のハイドロゲルの周囲には、ALP 染色に陽性な組織は全く認められなかった。すでに、われわれは、含水状態におけるハイドロゲルの孔内へは、細胞の侵入が不可能であるため、ハイドロゲル周囲のみに骨形成が認められることを報告している¹³⁾。したがって、ハイドロゲルから徐放された BMP-2 がハイドロゲル周辺に骨を形成する能力をもつ骨芽細胞を集結させ、その結果、骨形成誘導が促進されたと考えられる。

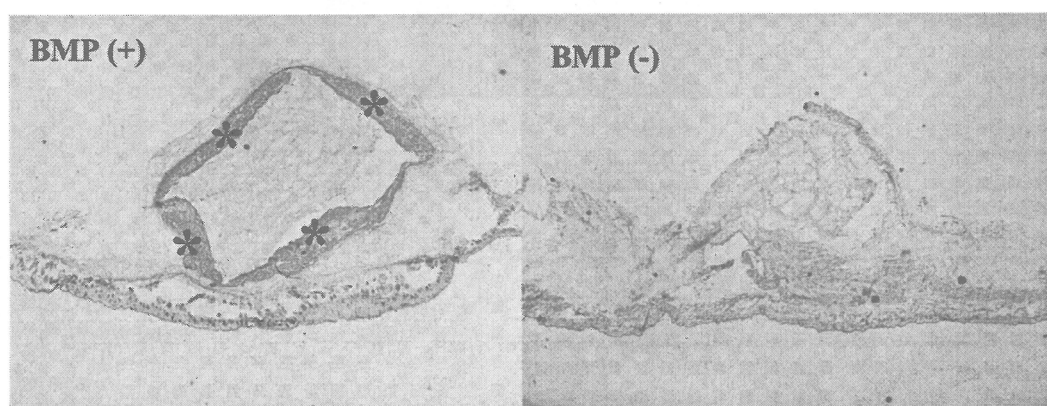


Figure 4. ALP histochemistry of subcutaneous tissues 2 weeks after the implantation of BMP-2-incorporated and empty gelatin hydrogels with the water content of 97.8 wt%. Asterisks indicate the ALP-positive area. Original magnification: x40.

4. おわりに

これまでに BMP の水溶液投与と徐放化投与との比較を行った研究はほとんど報告されていない。本研究は、水溶液状態の BMP では骨形成作用を示さないような低い投与量においても、それをうまく徐放化することによって、BMP の骨形成効果を発現増強できることを示している。また、効率のよい骨形成誘導には適度な BMP の徐放性が必要であることを見出した。

5. 文献

- [1] J. M. Wozney, V. Rosen, A. J. Celeste, L. M. Mitsock, M. J. Whitters, R. W. Kriz, R. M. Hewick, E. A. Wang, *Science*, 242, 1528-1534 (1988).
- [2] H. Uludag, D. D'Augusta, R. Palmer, G. Timony, J. Wozney, *J. Biomed. Mater. Res.*, 46, 193-202 (1999).
- [3] H. Uludag, D. D'Augusta, J. Golden, J. Li, G. Timony, R. Riedel, J. Wozney, *J. Biomed. Mater. Res.*, 50, 227-238 (2000).

- [4] H. Uludag, W. Friess, D. Williams, T. Porter, G. Timony, D. D'Augusta, C. Blake, R. Palmer, B. Biron, J. Wozney, *Ann. NY Acad. Sci.*, 875, 369-378 (1999).
- [5] D. Zekorn, *Bibl. Haematol.*, 33, 30-60 (1969).
- [6] Y. Tabata, S. Hijikata, Y. Ikada, *J. Controlled Release*, 31, 189-199 (1994).
- [7] M. Yamamoto, Y. Tabata, L. Hong, S. Miyamoto, H. Kikuchi, Y. Ikada, *J. Controlled Release*, 64, 133-142 (2000).
- [8] M. Ozeki, T. Ishii, Y. Hirano, Y. Tabata, *J. Drug Targeting*, 9, 461-471 (2001).
- [9] Y. Tabata, A. Nagano, Y. Ikada, *Tissue Eng.*, 5, 127-138 (1999).
- [10] A. E. Bolton, W. M. Hunter, *Biochem. J.*, 133, 529-539 (1973).
- [11] D. Kobayashi, H. Takita, M. Mizuno, Y. Totsuka, Y. Kuboki, *J. Biochem.*, 119, 475-481 (1996).
- [12] L. S. Kaplow, *Am. J. Clin. Pathol.*, 39, 439-449 (1963).
- [13] M. Yamamoto, K. Kato, Y. Ikada, *Tissue Eng.*, 2, 315-326 (1996).

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol. 59
(Annual Report of the Research Institute for
Chemical Fibers, Japan: Vol. 59, 2002)
Published by
Nippon Kagakusen-i Kenkyusho
Kyoto, Japan

日本化学繊維研究所 第59回講演集

2002年3月20日 印刷
2002年3月31日 発行

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

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol. 59
(Annual Report of the Research Institute
for Chemical Fibers, Japan : Vol. 59)

March 2002