

日 本 化 学 纖 維 研 究 所

講 演 集

第 6 1 集

2004 年 3 月

日 本 化 学 纖 維 研 究 所

講 演 集

第 6 1 集

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol. 61
(Annual Report of the Research Institute
for Chemical Fibers, Japan : Vol. 61)

March 2004

2004年3月

財団法人 日本化学繊維研究所講演会（第61回）

[第61回講演会：平成15年11月20日、京大会館101号室]

目次

1. 深紫外近接場光学顕微鏡によるナノイメージング.....(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、青 木 裕 之
2. 金属錯体触媒によるリビングラジカル重合の進展.....(11)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○澤 本 光 男、上垣外 正 己
安 藤 剛
3. 熱可逆ゲルの生成と物性に関する理論・シミュレーション.....(17)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 田 中 文 彦
4. ヘリックスペプチドの単分子観察と電子メディエート機能.....(27)
京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 北 川 和 哉、森 田 智 行
○木 村 俊 作
5. ずり歪みにより作製したポリブチレンテレフタレート
配向薄膜の結晶モルフォロジー.....(33)
 - 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 糺 谷 信 三¹⁾、河 原 豊²⁾

特別講演

- 光情報デバイス用高分子精密加工部材の開発.....(41)
三菱レイヨン株式会社技術部門 中 内 純
6. リビングラジカル重合による有機・無機複合微粒子の精密合成.....(47)
京都大学化学研究所 大 野 工 司、高 慶 武
辻 井 敬 亘、○福 田 猛
7. 遺伝子導入マイクロアレイ.....(53)
京都大学再生医科学研究所 ○岩 田 博 夫、山 内 文 生
加 藤 功 一
8. 種々の高分子基材上でのヒト脂肪前駆細胞の増殖と分化.....(61)
京都大学再生医科学研究所 井 上 幸 子、安 田 佳 織
高 本 智 紹、○田 畑 泰 彦
9. ポリ- α -メチルスチレンの平均二乗光学異方性.....(71)
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
10. 酸化重合によるフェノール類ポリマーの合成と性質.....(75)
一人工漆の創製—
 - ¹⁾ 京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 ○小 林 四 郎¹⁾、池 田 良 平²⁾
 - ²⁾ 精密重合研究体 (現、東洋インキ製造(株)) 宇 山 浩¹⁾、辻 本 敬¹⁾
11. ブロック共重合体のナノ・サイエンス, ナノ・テクノロジー.....(83)
—ブロック共重合体をテンプレートにする—
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○橋 本 竹 治、イーサン シバニア
松 原 真 也、林 良 弘

深紫外近接場光学顕微鏡によるナノイメージング

伊藤 紳三郎・青木 裕之

Shinzaburo Ito, Hiroyuki Aoki

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. 緒言

光による構造観察は人々にもっとも直接的に物質本来の姿を教えてくれる。新しい光学顕微技術、中でも近接場光学顕微鏡は、これまでの光学顕微鏡にとって越えることができないとされてきた分解能の回折限界を克服する新技術として注目されている。その詳細についてはすでに前報で述べたが、図 1 に概略の原理図を示した¹⁾。先鋭化した光ファイバーにより物理的に収束させた近接場光を用いて試料を照らすという全く新しい発想により、回折限界を遙かに超える 100 nm 以下の空間分解能が達成されている。このことから、分子の世界、とりわけ数 10 nm の分子サイズをもつ高分子の構造、物性を単一鎖のレベルで解明する新しい科学が始まりつつある。さらにナノスケールでの空間分解能と分光分析技術とが融合することにより、薄膜や機能表面に吸着・凝集した単一分子、有機材料内の分子集合体、ナノ複合材料、液晶物質、生体材料など、物質機能と関連する様々な材料を、形態のみならず電子状態に基づいて観測・分析することができるようになった。その有用性についてはすでに多くの総説に述べられている²⁻¹¹⁾。また、エネルギーを運ぶキャリアーとして光を利用すると、局所場における光化学反応や光誘起電子移動を開始することにより、光記録や光加工などの応用分野に展開することができる¹²⁾。

このように、光のもつ多彩な機能を最大限に発揮させるためには、可視光

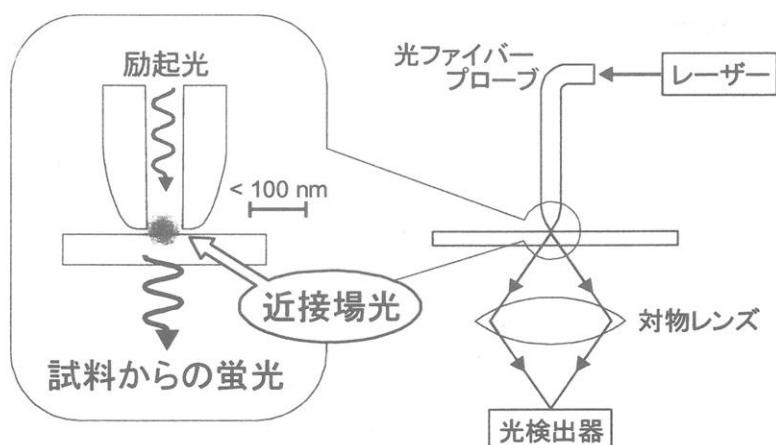


図 1. 走査型近接場光学顕微鏡の概念図。

のみではなく、物質の特性に合わせて、赤外線領域や紫外線領域でのより広い波長範囲において、近接場光学顕微技術が発展する必要がある。本報では、最近、我々の研究室で開発した深紫外近接場光学顕微鏡を、幅広い材料に適用し、具体的にその有用性を検討した結果について報告する。

2. 深紫外顕微鏡の開発

従来の顕微鏡では主として光学素子の透過率の制約から 400 nm 以上の可視光を光源として用いてきた。このため、残念ながら観察試料の大半はこの波長領域では透明であり蛍光性ももたない。そこで試料を感度よく観察するためには、可視光を吸収する蛍光性色素を検体にラベルする、いわゆる染色という操作が必要とされてきた。これには希望する部位を選択的に染色することにより観察対象の構造を限定的に取り出して観察できるという利点がある反面、染色できない試料は観察できないことを意味している。また、そのような前処理が本質的に不可能な試料も多数存在することから、大きな欠点にもなっている。具体的には、水銀灯の可視域の輝線やアルゴンレーザーを励起光源として、Rhodamine や Fluorescein など、可視域に大きな吸収係数と高い蛍光量子収率をもつ色素が主に用いられてきた。

しかしながら多種多様な有機化合物を光励起し、蛍光発光を始めとする光化学的な過程を起こさせるためには、より短波長の紫外レーザーの利用が望まれる。図 2 は横軸に波長をとり、従来よく用いられてきた可視蛍光色素の吸収、発光スペクトルを例示したものである。しかしながら、共役二重結合をもつ不飽和炭化水素、芳香族化合物やケトン、アルデヒドのように、光化学として興味深い有機化合物は 250 - 400 nm の紫外域に吸収帯をもち、電子遷移に後続して励起状態から様々な光化学初期過程を起こす。例えば図 2 の左側に示したように、ベンゼンのような最も単純な芳香族化合物は、266

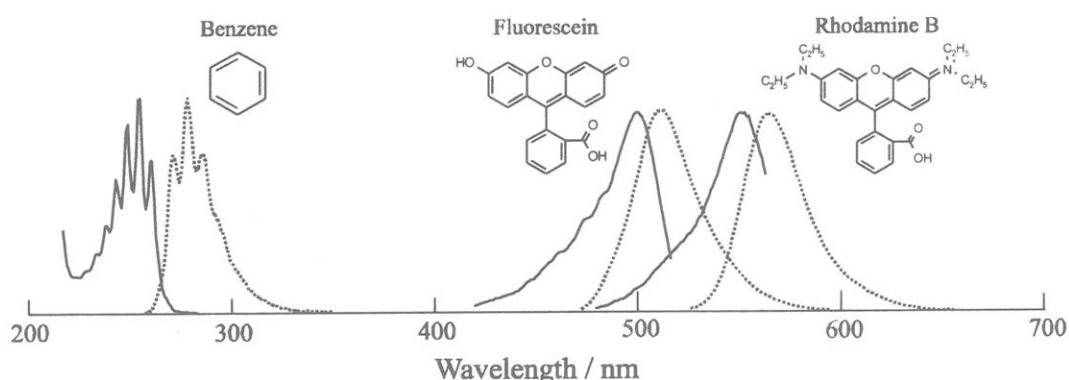


図 2. ベンゼン、フルオレセイン、ローダミンの吸収および発光スペクトル。実線、点線はそれぞれ吸収、発光を示している。

nm の深紫外励起光を用いると 280–300 nm に蛍光発光を示すことがわかる。つまり、深紫外線を光源に用いると、ほとんど全ての化合物が蛍光性物質として振る舞い、色素で染色することなく自家蛍光により顕微鏡観察できることを意味している。これまで観察試料作製のために色素を導入する合成努力がされてきたが、あるがままの試料が蛍光性になると、そのような作業が軽減されることになる。また、蛍光色素の導入が系を乱すという恐れもなくなる。

このように、光源も含め観測波長域を拡大することには多くの利点があるにもかかわらず、これまで紫外線顕微鏡が一部の特殊な例を除いて使われてこなかった主な原因は、レンズを始めとして基本的な光学部品が透過率と自家蛍光という問題をかかえているからである。図 3 は光学ガラスの透過率曲線である。BK7 は光学ガラスとして一般的な材料であるが、350 nm 以下の紫外線は透過しない。また、いわゆる

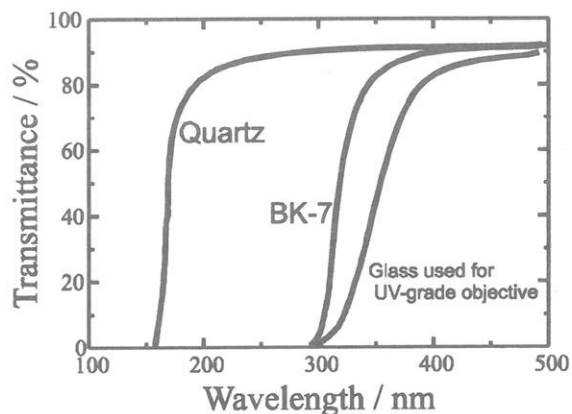
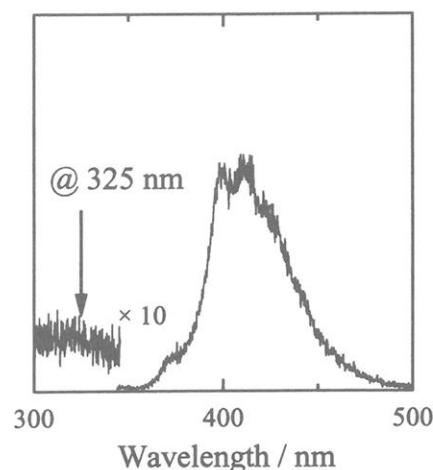


図 3. 光学材料の透過曲線。

紫外用対物レンズもせいぜい 300 nm が限界である。さらに、このようなガラスに深紫外線を導入すると吸収されるのみならずガラスが発光する場合が多く、蛍光観測の障害となる。したがって図にあるように、深紫外領域の透明性がよい石英やホタル石を光学ガラスとして用いる必要がある。

次の問題は励起光を導入して近接場光とするための光ファイバーの材質である。上述の理由により当然のことながら石英製の光ファイバーを用いる必要がある。一般に市販されている光ファイバースプロブの材質は石英であるが、しかしそのコアには GeO_2 がドーピングされているため、これが紫外光を吸収して蛍光を発する。そのため、紫外光の伝送距離は数 10 cm に限られるうえ、ファイバーからの強い蛍光が試料からの微弱な蛍光の観察に妨害となる。図 4 には、市販の近接場光学顕微鏡用ファイバースプロブに 325 nm



nm の He-Cd レーザー光をカップルイ 図 4. 市販 SNOM プロブコアからの自家蛍光スペクトル。

一由来の蛍光スペクトルを示した。この問題を解決するため、Mononobe らの方法により純粋石英コアの光ファイバーを用いてプローブを自作することにした^{13,14)}。これと、上述の深紫外線用石英対物レンズと観測波長に合わせた適切な光学フィルターを用いた検出光学系を組み合わせることで、深紫外線にも対応できる近接場光学顕微鏡を開発した¹⁵⁾。

3. 深紫外近接場光学顕微鏡による高分子薄膜像

上述のような発想のもとに開発した深紫外近接場光学顕微鏡により、いくつかの高分子薄膜の観測を行った。図5は polystyrene (PS) の粒径 100 nm のラテックスを波長 266 nm の紫外線励起で観測した蛍光像である。このラテックスは色素染色されていない、いわゆる non-fluorescent latex として販売されているが、実際には 266 nm の紫外線を用いるとベンゼン環が励起され、観測に十分な強度の蛍光が得られる。図5ではその蛍光像の幅が約 150 nm に観測されることから、この光学顕微鏡の分解能は 100 nm 以下であり、波長による回折限界を超える分解能が達成されている。

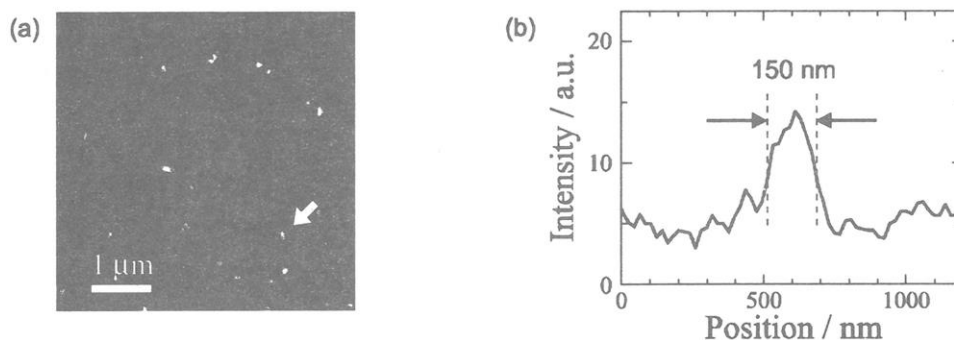


図5. ポリスチレン粒子の深紫外 SNOM 像。粒径は 100 nm。(b)は図(a)中に白矢印で示した粒子の断面図。

そこで PS のスピんキャスト膜を作製し、その一部を基板から剥離させた試料の形態像と蛍光像を観測したのが図6である。本論文では、走査型プローブ顕微鏡で得られる高低差を画像化した topography 像を形態像と呼ぶことにする。また、プローブの位置情報をもとに、蛍光強度を画像化したものを蛍光像と呼ぶ。左図の形態像では、左側の暗部が剥離面であり、基板が露出した表面が観察されている。左側の領域は掘削により露出した石英基

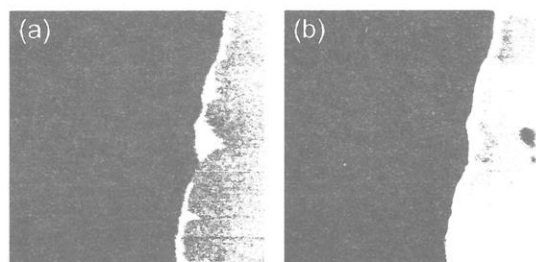


図6. ポリスチレンスピんキャスト膜の表面形態像(a)および深紫外 SNOM 像(b)。左側の領域は掘削により露出した石英基板である。

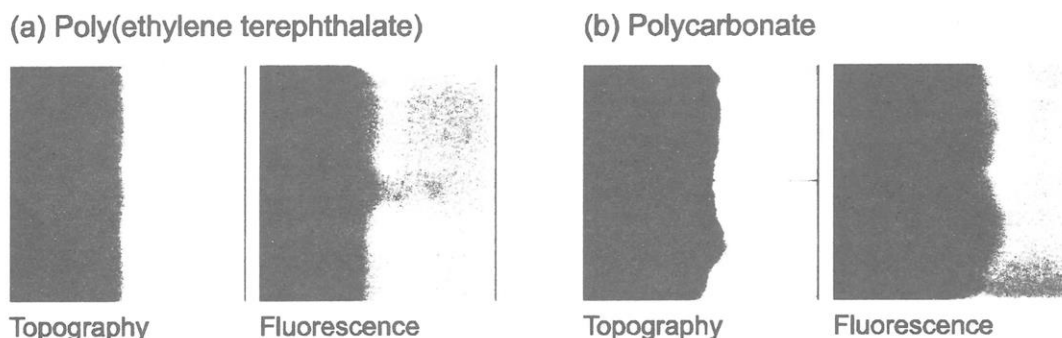


図 7. Poly(ethylene terephthalate) (a)および polycarbonate (b)の深紫外 SNOM 像。

の境界には約 200 nm の段差があり、これが PS 膜の膜厚に対応していることが分かった。さらに、PS は 300-350 nm にベンゼン環由来のエキシマー蛍光を発することから、266 nm レーザーを光源に用い、顕微鏡の観測波長をこの蛍光帯に合わせて蛍光像を観測したのが右図である。形態像と合致した蛍光像が十分な S/N で得られ、光学像が分光的にも取得できることが示された。また、膜厚と信号強度 (cps) から判断すると、PS 膜の場合には 20 nm 以下の薄膜試料でも観測できるものと予測される。

次に、図 7 は同様の観測を poly(ethylene terephthalate) (PET) と polycarbonate (PC) 薄膜に対して行った結果である。分子構造の中に芳香環を有するこれらの一般的な高分子はいずれも 300-400 nm の波長帯に蛍光をもつため、無染色観測が可能である。

一方、poly(methyl methacrylate) (PMMA)は芳香環をその分子構造にもたないため紫外線領域においても透明性がよく、266 nm の励起光を用いても蛍光を示さない。したがって図 8 に例示したように、左の形態像は明瞭に現れるものの、右の蛍光像は同一場所を観測しても全く現れない。以上のように、分子構造に芳香環を含む試料は深紫外線に対して蛍光性であるため、無染色で高分解能の光学像を観察することができる、という結果が示された。芳香環を含む高分子は一般的に広く用いられているため、この新しい顕微鏡は高分子材料のナノ構造評価に広く応用できると言えるだろう。

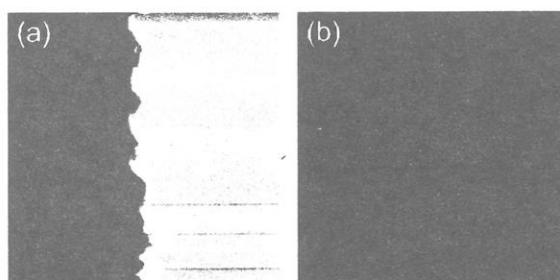


図 8. PMMA スピンキャスト膜の表面形態像(a)および深紫外 SNOM 像(b)。

4. 生物試料への応用

さて、芳香族基を有することが観察のキーワードであるとする、その試料として、一般の高分子材料の他、さまざまな興味深い試料が対象として上

げられる。図 9 上は芳香環をもつ 3 種のアミノ酸の、266 nm 励起による蛍光スペクトルである。生体物質を形造るタンパク、酵素などはこれらのアミノ酸を構成要素としているため、原理的に観測可能であることが分かる。また、DNA を構成する核酸塩基である adenine や thymine も図 9 下に示すように、300-400 nm に蛍光帯をもつため深紫外顕微鏡により観測することが可能である。

実際、このことを確かめるため、再生医科学研究所の岩田研究室より提供された細胞試料を観測した。細胞は数 10 μm から 100 μm 程度の大きなサイズであるため、その形態は通常の位相差顕微鏡で明瞭に観測される。また、核や染色体は蛍光試薬で染色されて観察されてきた。このような細胞もその内部や表面にタンパクを含むため、紫外光を照射すると紫外部に蛍光を発する。図 10 には蛍光スペクトルとその蛍光強度が細胞密度に比例して増加する様子をも示してある。この試料においても、300-350 nm の波長に蛍光が観測される。したがって、この波長帯を分光して検出すれば細胞の高分解能顕微鏡像が得られるはずである。図 11 には、このようにして観測したストローマ細胞の近接場光学顕微鏡像を示す。先に述べたように細胞のサイズは大きいので、高分解能で観測するとそのごく一部が拡大されて表示される。図 11(a)は細胞表面の形態像を示したものである。基板に固定化された細胞膜の凹凸が高分解能で得られている。また、膜上の数カ所には急峻な突起があるものと思われ、画像の右上の一部はプローブ側の形態を反映して大きな突出部として観測されている。図 11(b)には紫外近接場励起の蛍光像である。光はプローブ先端から 100 nm 程度の距離まで浸出して試料

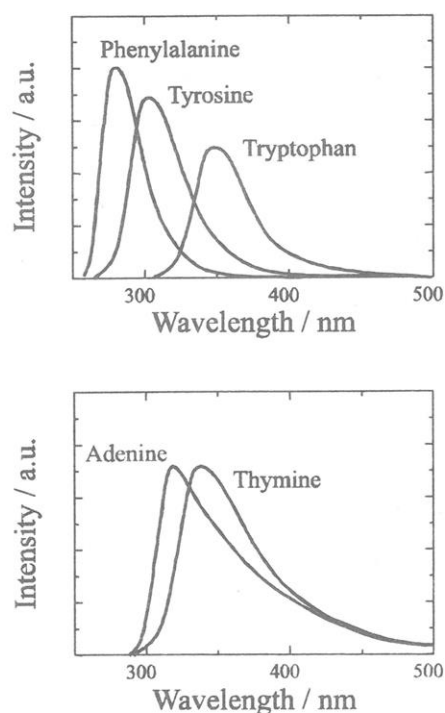


図 9. 種々の生体材料の蛍光スペクトル。

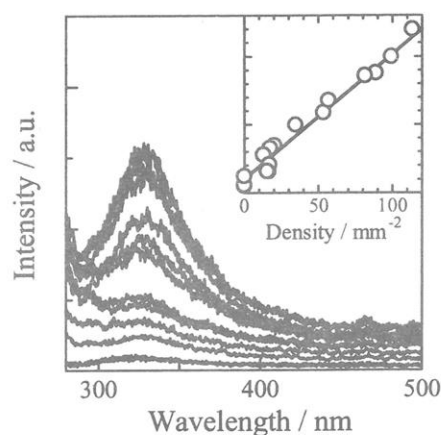


図 10. ストローマ細胞 PA-6 の蛍光スペクトル。励起波長は 266 nm。挿入図は細胞数と総蛍光量の関係を表す。

を励起するため、上述の突起の影響はみられず、画面全体に良好な像が得られている。これらの蛍光源は細胞中あるいは細胞膜中に存在する種々のタンパクの分布を表しているものと考えられる。この顕微鏡では広い波長帯での分光測定が可能であるため、今後、タンパク種固有の分光データをもとにした選択励起、特定波長蛍光観測、蛍光ラベルとの併用などにより、より詳しい細胞内分布をナノスケールで明らかにできるものと思われる。

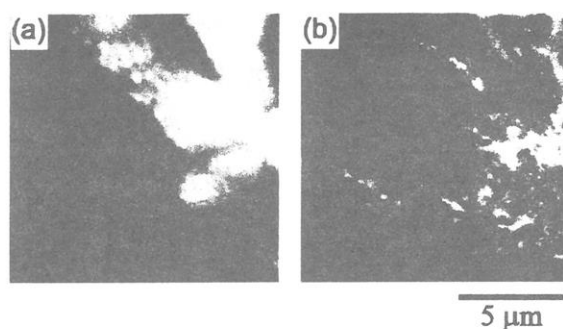


図 11. ストローマ細胞 PA-6 の表面形態像(a)および深紫外蛍光 SNOM 像(b)。

5. 高分子相分離構造の評価

異種高分子のブレンドや異なるモノマーのブロック共重合体は、相分離により多様なナノ構造を形成し、優れた材料物性を発揮するため盛んに研究されている。近接場光学顕微鏡は 100 nm 以下の分解能と高い検出感度をもつため、相分離構造の研究に新たな手段を提供するものと期待される¹⁶⁻¹⁸⁾。今回開発した深紫外近接場光学顕微鏡を適用する試料として、PS と PMMA とのブレンド膜 (PS/PMMA=1/9) を作製した。上述のように PS は紫外線励起に対して蛍光性であるが、PMMA は無蛍光性である。PS は $M_w = 116k$ 、 $M_w/M_n = 1.08$ 、PMMA は $M_w = 101k$ 、 $M_w/M_n = 1.08$ のいずれも単分散試料を用いた。両者の混合溶液を石英カバーガラス上にスピニングすることにより、膜厚が約 100 nm のブレンド薄膜を得た。

図 12 はこうして得られた薄膜の顕微鏡像である。左図は形態像、右図は紫外蛍光像である。形態像からは直径 500 nm 程度の多数の窪みがみられ、その平均的な深さは 20 nm 程度であった。また膜全体の厚さは 100 nm 程度であるので、この窪みは PS あるいは PMMA のどちらか片方の成分の相

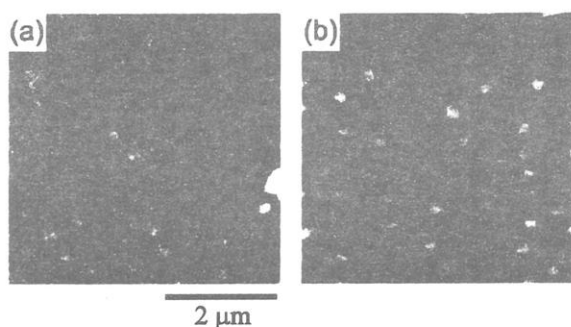


図 12. スピンキャスト直後の PS/PMMA ブレンド薄膜の表面形状像(a)および深紫外蛍光 SNOM 像(b)。

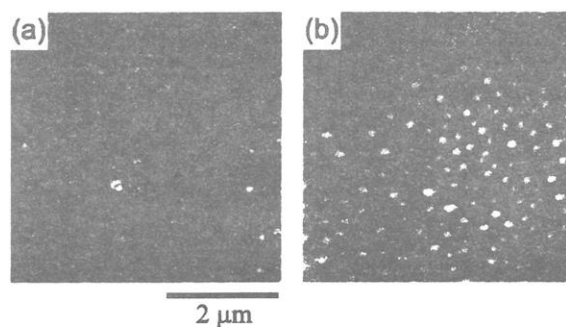


図 13. アニール後の PS/PMMA ブレンド薄膜の表面形状像(a)および深紫外蛍光 SNOM 像(b)。

に対応しているものと考えられる。しかしながら形態像だけではそのどちらが窪みに対応しているのかは判別できない。そこで右図の蛍光像と比較すると、蛍光はこの窪み部分からのみ発せられることが分かる。つまり蛍光性の PS 成分がこの窪みに集中して存在していることが分かる。さらに、この試料を 190℃ でアニールすることにより、相分離構造の変化を観測した結果が図 13 である。アニール前と同様に直径 500 nm 程度の凹凸像が見られるが、今回は蛍光性部分つまり PS は突出した部分に集まっていることが分かる。このような構造形成のプロセスを模式的に図 14 に示した。スピンコートされたブレンド膜は相分離を起こしながら平滑な膜を形成するが、PS と PMMA とを比較すると PMMA の方がガラスへの親和性がよいためガラス表面は PMMA で占められる。また、溶媒に用いたトルエンに対しては PS の方が良溶媒であることから、PS 相がより多くのトルエンを含んだ状態で成膜される。この後の乾燥過程で、より表面層で相分離して多くの溶媒を含んでいた PS がより収縮することにより、PS 相の窪みが形成されることになる。しかし、両成分の T_g 以上の高温でアニリングを行うと、主成分の PMMA マトリクスの中で PS がより安定な球形の凝集状態をとり、空気表面に浮き上がって固定化されるものと考えられる。以上のように、高分子固有の光学的性質を利用すると、各成分の構造が選択的にとらえられ、その形成過程をより詳細に議論することができる。これは光学顕微鏡の大きな特長のひとつと言える。

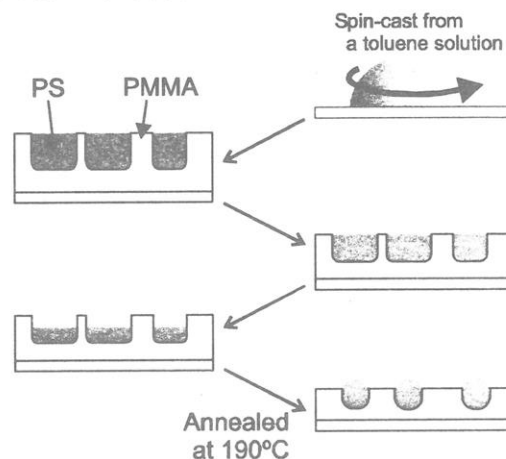


図 14. PS/PMMA ブレンド薄膜形成過程の概念図。

6. 結語

以上のように、本研究では深紫外波長で動作する近接場光学顕微鏡を開発し、高分子薄膜のナノスケールの構造解析に有力な手段となることを示した。この技術開発の鍵は、これまで利用されてこなかった紫外線領域でも使用できる純石英光ファイバプローブの作製であり、これにより光の広範囲の波長帯を利用できるようになり、対象とする化学種が大きく広がるとともに、これまで無蛍光とされてきた試料を蛍光顕微鏡観察できるようになった。このことはまた、色素染色することなく、あるいは染色できないような一般的高分子試料があるがままに観察できることを意味している。

蛍光測定の高い利点である、単一分子も検出できる高感度、種を見分け

る分光能力、高速時間分解能とともに、ナノスケールの高分解能をもつ新しい顕微光技術が誕生したと言える。さらに現在も、水中試料が観測できる生物試料用の近接場顕微鏡や、より高分解能が可能なプローブの開発など、この顕微鏡の特長を活かした技術開発と新分野への展開が図られている。

謝辞 細胞試料をご提供いただいた再生医科学研究所の岩田博夫先生、加藤功一先生に感謝します。

文献

- 1) 伊藤紳三郎, 青木裕之, *日本化学繊維研究所講演集*, **58**, 43 (2001).
- 2) D. A. Vanden Bout, J. Kerimo, D. A. Higgins, P. F. Barbara, *Acc. Chem. Res.*, **30**, 204 (1997).
- 3) R. J. Hamers, *J. Phys. Chem.*, **100**, 13103 (1996).
- 4) S. Kirstein, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, **4**, 256 (1999).
- 5) Y. Shen, C. S. Friend, Y. Jiang, D. Jakubczyk, J. Swiatkiewics, P. N. Pasad, *J. Phys. Chem., B*, **104**, 7577 (2000).
- 6) J. D. McNeill, D. B. O'Connor, P. F. Barbara, *J. Chem. Phys.*, **112**, 7811 (2000).
- 7) 青木裕之、伊藤紳三郎, *レーザー研究*, **29**, 717-721 (2001).
- 8) 伊藤紳三郎、*高分子*, **51**, 829 (2002).
- 9) M. Fujihira, S. Ito, A. Takahara, O. Karthaus, S. Okazaki, K. Kajikawa, in "Nano-Optics", S. Kawata, M. Ohtsu, M. Irie eds., Springer (2002) pp.151-190.
- 10) 伊藤紳三郎、青木裕之, *ナノ光工学ハンドブック*、大津元一、河田聡、堀裕和編, 朝倉書店 (2002), pp.429-435.
- 11) S. Ito, H. Aoki, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **76**, 1693 (2003).
- 12) H. Aoki, S. Ito, *Thin Solid Films*, **449**, 226 (2004).
- 13) S. Mononobe, T. Saiki, T. Suzuki, S. Koshihara, M. Ohtsu, *Opt. Commun.*, **146**, 45 (1998).
- 14) M. Arai, S. Koshihara, M. Ueda, M. Yoshimoto, T. Saiki, S. Mononobe, M. Ohtsu, T. Miyazawa, M. Kira, *J. Luminescence*, **87-89** 951 (2000).
- 15) H. Aoki, T. Hamamatsu, S. Ito, *Appl. Phys. Lett.*, **84**, 356 (2004).
- 16) H. Aoki *et al.*: *J. Phys. Chem. B*, **103**, 10553 (1999).
- 17) H. Aoki and S. Ito: *J. Phys. Chem. B*, **105** (2001).
- 18) H. Aoki, Y. Kunai, S. Ito, H. Yamada, K. Matsushige, *Appl. Surf. Sci.*, **188**, 534 (2002).

金属錯体触媒によるリビングラジカル重合の進展

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

(*現所属: 名古屋大学大学院工学研究科応用化学専攻)

1. はじめに

近年ラジカル重合の精密制御には著しい進展があり, 様々な方法による「リビングラジカル重合」(精密制御ラジカル重合)が開発されている(図1)。本講演集¹⁾や総説²⁾にも述べたように, 我々は「遷移金属錯体によるリビングラジカル重合」を開発し(図2)³⁾, 金属触媒の系統的設計による種々の触媒系の開拓, 適用モノマーの拡張, 重合機構の解明, および構造と機能が設計・規制された高分子の精密合成などを行ってきた。ラジカル重合における高分子の一次構造精密制御を目指した産学官共同研究(NEDO「精密高分子材料プロジェクト」など)が展開され, また, これらの研究は高い波及効果を及ぼし, 実用化も視野に入れた広範な研究開発が世界各地で行われている⁴⁾。

本稿では, このようなリビングラジカル重合の最近の進展を, 特に下記の諸点に着目して述べる:

- (2) α -オレフィンと極性モノマーとのラジカル精密共重合
- (3) 水中でのリビングラジカル重合と感温性・両親媒性触媒
- (4) 金属触媒含有・核機能化星型ポリマーの合成と触媒機能

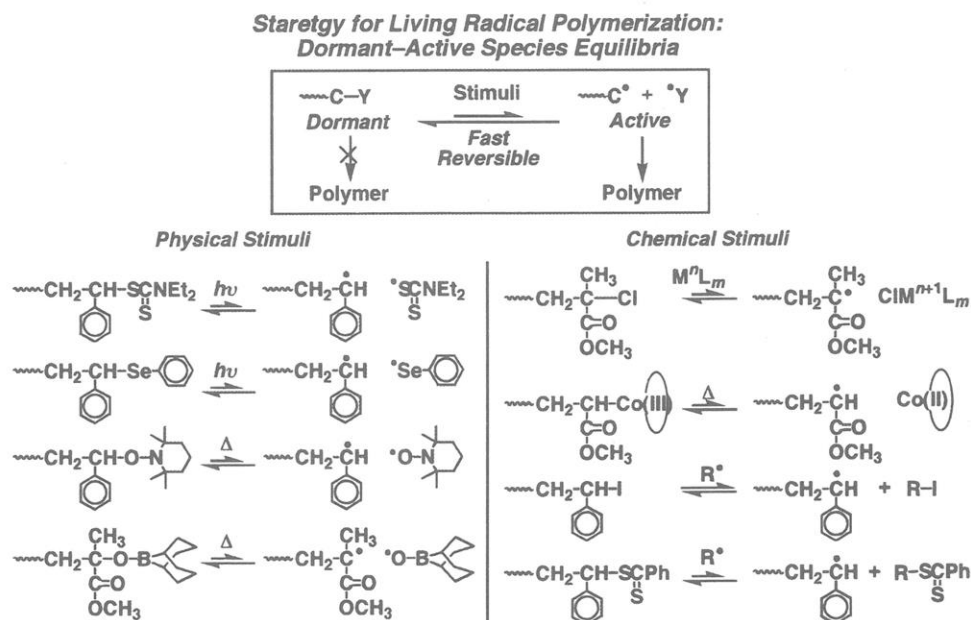
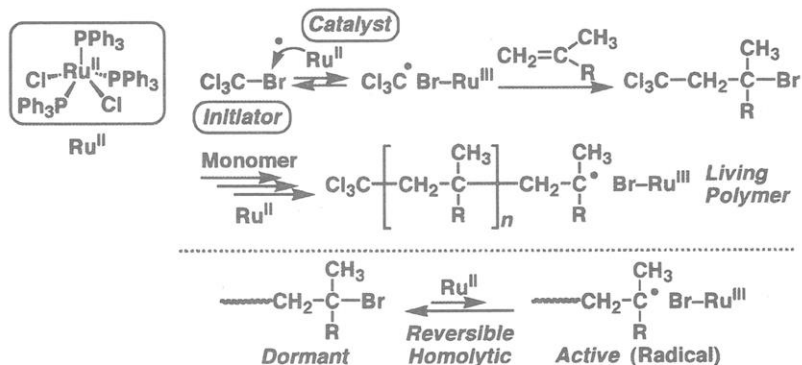


図1. ドーマント種と活性種の平衡によるラジカル重合の精密制御:
リビングラジカル重合の種々の方法

Transition Metal-Catalyzed Living Radical Polymerization



Macromolecules 1995, 28, 1721–1723.
CHEMTECH 1999, 29 (6), 30–38.
Chem. Rev. 2001, 101, 3689–3745.

図 2. ルテニウム錯体によるリビングラジカル重合

2. オレフィンと極性モノマーとのラジカルリビング共重合

α -オレフィンと極性モノマーとのラジカル重合性は低く、通常のラジカル開始剤はもとより、遷移金属錯体によってもラジカル重合は困難である。しかし、鉄錯体の一部（1価の鉄の二核錯体; $[\text{FeCp}(\text{CO})_2]_2$ ）をヨウ化物型開始剤とともに用いると、少なくともアクリル酸エステル [アクリル酸メチル (MA)] や酢酸ビニルなどの極性モノマーとはラジカル共重合が可能になってきた (図3, 4)。オレフィンとしては、エチレン、1-ヘキセン、1-オクテン、2-メチル-1-ペンテンなどがあり、いずれも主鎖中にオレフィン単位が組み込まれており、分子量や組成の範囲も広がりつつあり (図5)、新しいオレフィン系材料としても興味を持たれる。



Objectives

Controlled Polar Monomer-Olefin Copolymerization

- MA-Rich Copolymers
- More Olefin Incorporation into the Main Chain (Complexation of MA with BF_3OEt_2)
- DSC and HPLC Analysis
- Random-Block Copolymer

M^n : (Catalyst)	$\text{R}'-\text{X}$: (Initiator)	$\text{CH}_2=\text{C}(\text{R}^1)(\text{R}^2)$: (Monomers)
 $[\text{FeCp}(\text{CO})_2]_2$	 $\text{CH}_3-\text{CH}(\text{I})-\text{CO}_2\text{CH}_3$ MA-I	 MA Ethylene 1-Hexene $2\text{-Methyl-1-pentene}$

図 3. α -オレフィンと極性モノマーとのラジカル精密共重合

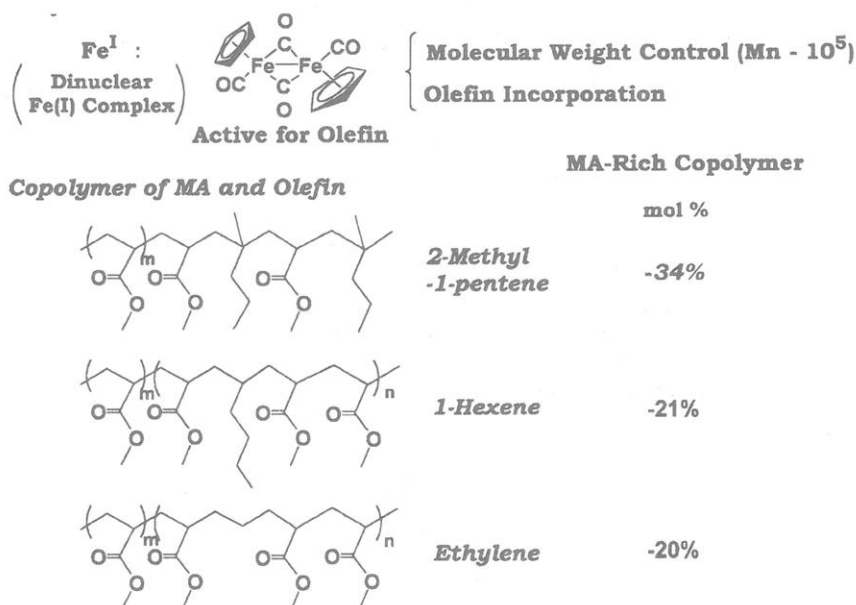


図4. α -オレフィンと極性モノマーとのラジカル共重合体の代表例

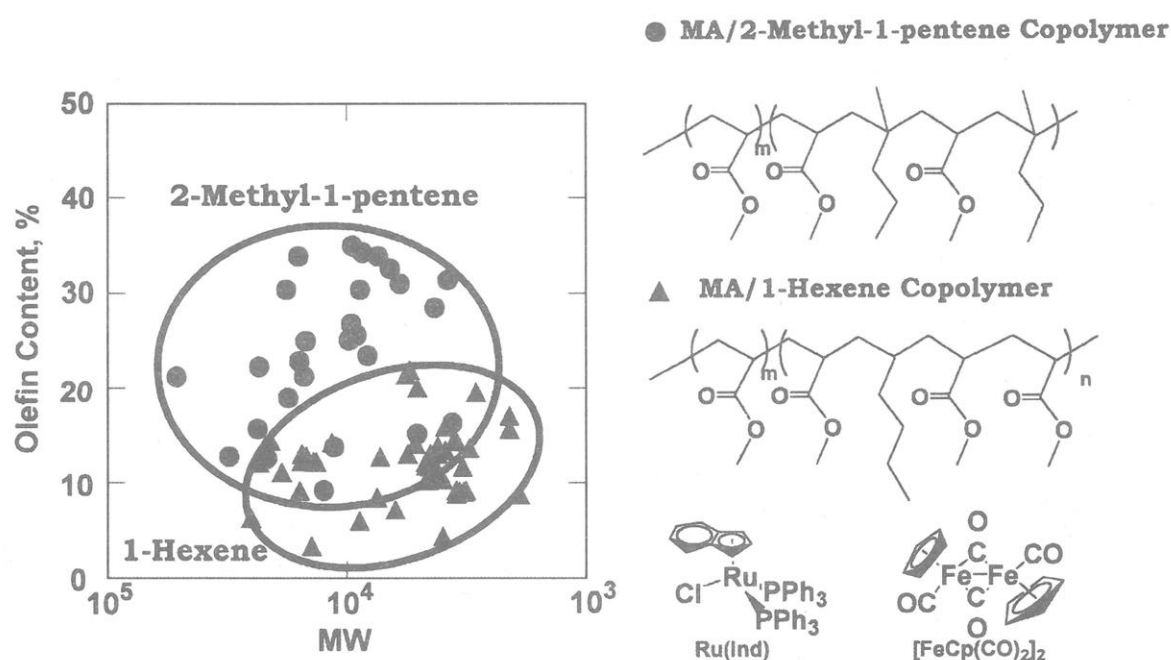


図5. α -オレフィンと極性モノマーとのラジカル共重合体—組成と分子量の範囲

これらの重合では、単にオレフィンと極性モノマーがラジカル機構により真の共重合体（オレフィン単位を主鎖に含み、いずれのモノマーの単独重合対を副生しない）が可能であるのみならず、重合が精密制御されてリビング重合に近い挙動がみられ、ブロック共重合体の合成も可能になりつつある。これらは、研究が活発な対応する後周期遷移金属錯体触媒による配位重合とは異なる特徴を持つ新しい共重合として、今後の進展が期待される。

3. 水中でのリビングラジカル重合と感温性・両親媒性触媒

イオン重合とは対照的に、ラジカル重合の特徴の一つは、水中でもラジカル生長種が失活せず重合が可能なことであり、従来のフリー・ラジカル重合においては、乳化重合や懸濁重合などが広く知られている。一方、金属錯体によるラジカル重合をはじめとして、水中での懸濁重合などでリビング重合も可能となってきた(図6)。

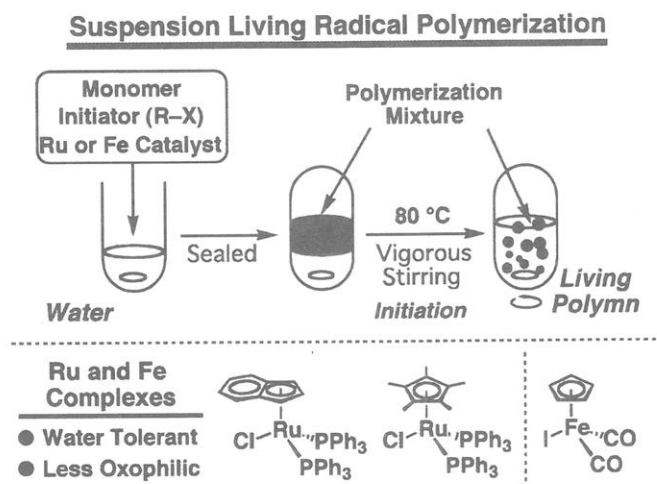


図6. 遷移金属錯体による水中でのリビングラジカル重合

筆者らは、ルテニウムや鉄錯体による重合でこれらを見出しているが、最近の例として、エチレンオキシド鎖を配位子とするルテニウム錯体は感温性と両親媒性を示し、水中でのリビング重合の活性触媒となるとともに、感温性に基づいて重合系から容易に分離できる。触媒の回収・再利用も視野に入ってきた(図7,8)。

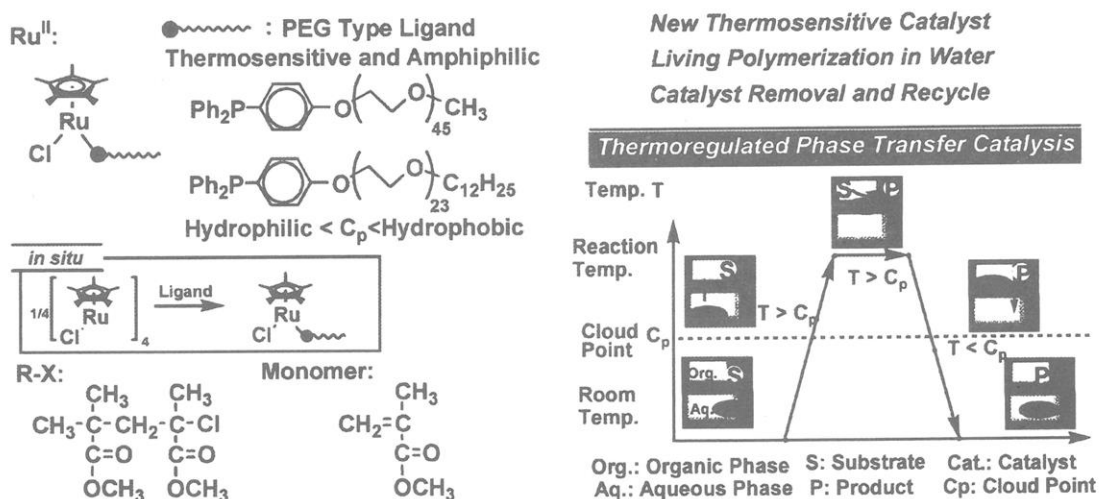


図7. 感温性・両親媒性ルテニウム錯体による水中でのリビング重合—考え方

最近筆者らは、この核のミクロゲルが特異な反応場となる可能性を検討し、核にルテニウム錯体を含有する「核機能化星型ポリマー」を合成した。これらは、酸化・還元な
どルテニウム錯体が触媒となる有機反応の有効で選択的な高分子型触媒としても期待さ
れる(図10)。たとえば、親水性・両親媒性のポリエチレングリコール鎖(PEG鎖)を側
鎖とするメタクリル酸エステルのポリマーを枝とし、ミクロゲル核にルテニウム錯体を
含有する星型ポリマーは、アセトン中でのアルコールのケトンへの酸化反応、およびイ
ソプロパノール中でのケトンのアルコールへの還元反応の有効な触媒となり、とくに後
者では、枝ポリマーの高い溶解性、疎水性の核と疎水性のケトン基質の親和性、および
親水性の枝ポリマーと生成物アルコールの相互作用が協同的に効果を示し、対応する均
一系ルテニウム錯体より高速な還元反応を実現した。

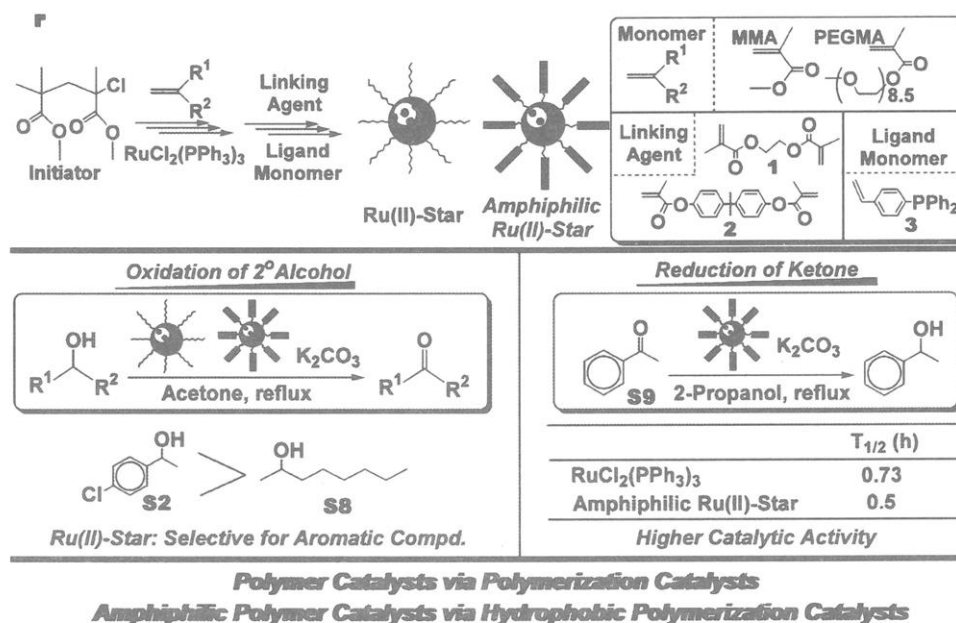


図10. 核機能化星型ポリマーの触媒機能

文 献

- 1) 澤本光男, 上垣外正己, 安藤剛, 化繊研講演集, **56**, 61 (1999); **57**, 9 (2000); **58**, 1 (2001); **59**, 21 (2002); **60**, 9 (2003).
- 2) 総説: (a) 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, 高分子論文集, **59**, 199 (2002). (b) M. Kamigaito, T. Ando, M. Sawamoto, *Chem. Rev.*, **101**, 3689 (2001). (c) 上垣外正己, 澤本光男, 現代化学, No. 6, 34 (2001). (d) M. Sawamoto, M. Kamigaito, *CHEMTECH*, **29** (6), 30 (1999). (e) 上垣外正己, 澤本光男, 高分子加工, **47**, 537 (1998). (f) 澤本光男, 上垣外正己, 高分子論文集, **54**, 875 (1997). (g) M. Sawamoto, M. Kamigaito, *Trends Polym. Sci.*, **4**, 371 (1996).
- 3) 原報: (a) 加藤充, 上垣外正己, 澤本光男, 東村敏延, 高分子学会予稿集, **43**, 1792 (1994). (b) M. Kato, M. Kamigaito, M. Sawamoto, T. Higashimura, *Macromolecules*, **28**, 1721 (1995). (c) T. Ando, M. Kato, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *Macromolecules*, **29**, 1070 (1996).

熱可逆ゲルの生成と物性に関する理論・シミュレーション

京都大学大学院工学研究科・高分子化学専攻 田中文彦

概要 水素結合には方向性と連鎖性があり、2量体や3量体形成でメソゲンとなったり、ジッパー型の架橋領域を有する高分子ゲルの生成や、高分子鎖上へのヘリックス誘起など特徴的な会合構造を形成する要因になる。本講演では水素結合によって生じる液晶、ゲルや左右競合するヘリックスに関して最近行った統計力学的研究の結果を紹介する。

1 はじめに

近年我々は高分子の会合相互作用を取り込んだ溶液理論の新たな展開を行い、これをもとに疎水性凝集による熱可逆性高分子ゲルの相図の研究を行ってきた[1, 2]。この会合溶液理論では、Flory-Hugginsの混合自由エネルギーに反応の自由エネルギーを加えた全自由エネルギーを考察した。最近この溶液理論に高分子のコイル・ヘリックス転移などのコンホメーション転移を取り込み、水素結合系に適用できるように拡張強化した。本講演は会合溶液理論を水素結合超分子系に適用して得られたゲルや誘起ヘリックスに関する最近の知見を概観する報告である。(紙面の制限により会合溶液理論の説明は概略にとどめるので、詳細は文献[1, 2]を参照して欲しい。)水素結合には、飽和性、特異性、方向性、連鎖性などの性質があるが、ここでは特に方向性(結合形成が限定された方向でのみ可能)と連鎖性(結合形成の一次元的な伝播性)に注目した結果を紹介する。

2 水素結合超分子液晶の多相臨界性

水素結合の方向性を利用して超分子に液晶相を発現させる試みは、ピリジンとカルボン酸間等の強い水素結合を用いて様々なアーキテクチャので行われて来た(図1)。最も単純なタイプは末端に短い剛直部分を有する非液晶性のA分子とB分子を水素結合し、複合分子 $C=A \cdot B$ の結合部分がメソゲンとなり液晶を形成する場合である。複合分子は熱的に分解可能であるので、温度変化により等方相からネマチック、スメクチックへと可逆的にかつ重層的に相転移する。実際は、 $A \cdot B \cdot A$ 型の複合分子で加藤氏らによって水素結合性液晶が初めて確認された(図1のtrimer type)[3]。これらの水素結合性液晶分子は、線状に会合させる主鎖型、側鎖にスペーサを経て付ける側鎖型の高分子液晶等に拡張でき、分岐鎖の末端結合の場合のように、無限大の3次元連結構造(ネットワーク構造)にまで発展するものもある。

これらの水素結合超分子液晶の相転移を解析するため、会合反応の他にメソゲン間の配向相互作用による自由エネルギーを取り入れた高分子溶液理論にもとづいて、マクロ相分離、ネマチック・スメクチック液晶転移、ゾル・ゲル転移の相境界を導出した。最も典型的な例として、それぞれ個別では液晶にはならないが、2量体を形成してメソゲンになり、様々な液晶転移を重層的に引き起こすような2成分混合系A/Bに

ついて得られた相図を図2に示す[4].

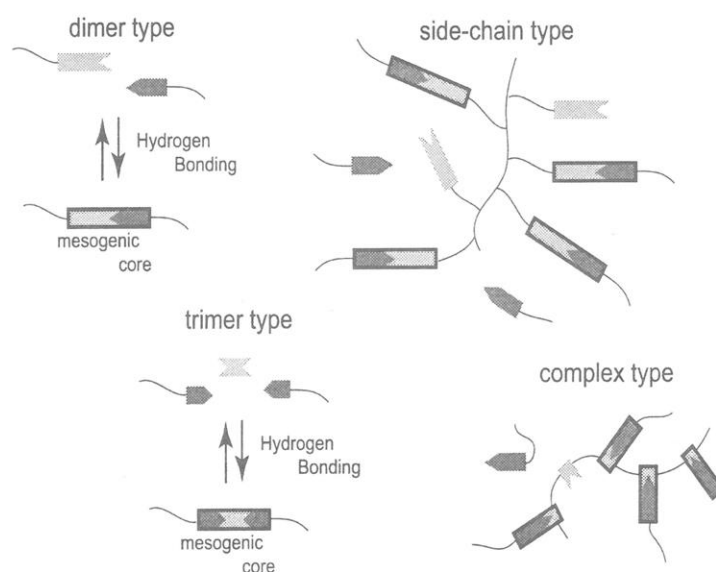


図 1: 種々の水素結合超分子液晶.

この系ではネマチック、スメクチック液晶転移（1次，2次相転移いずれも可能）がマクロ相分離（1次相転移）と競合する．このような2つの1次相転移のギャップが交叉すると，相分離領域から特徴的な細い2相共存領域が高温側に伸び出した相図（「チムニー型相図」と呼ばれる）になる（図2）．

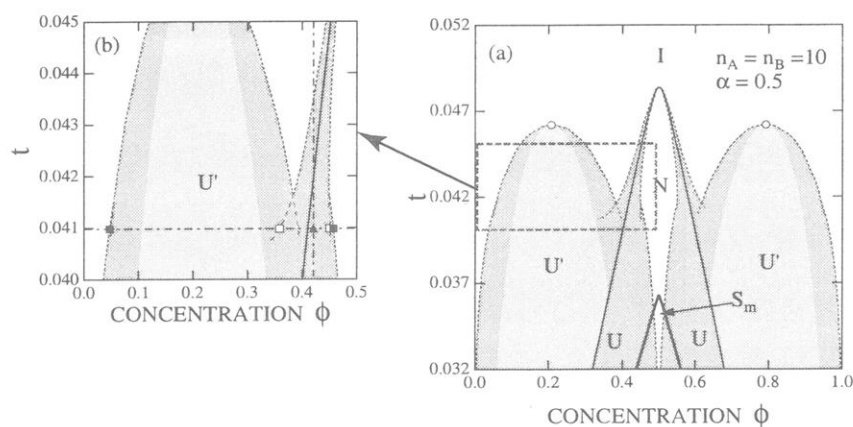


図 2: 水素結合による2量体形成の温度-濃度平面での相図.

3 水素結合ヘリックス（ジッパー型）架橋ゲルの再帰ゾル・ゲル転移

水素結合は「一つのボンドが形成されるとその隣接部位に他ボンドが形成されやすくなる」という連鎖性を有している。連鎖性は結合部位の近傍にある未反応基が結合領域に入り易くなることによって生じる。水素結合の連鎖性により特徴的な架橋領域、すなわちジッパー（ファスナー）型の架橋領域を形成するような新しいタイプのゲル（ジッパーゲルと呼ぶ）について、ゾル・ゲル転移の性質、架橋長とゲル点との関係、徐冷による架橋領域の成長、弾性率の温度依存性、などを研究した。図3に示すように、天然高分子では水素結合により2重らせんの架橋領域が形成される場合や、はしご（ジッパー）型の架橋領域が形成される場合が多い。また、多糖類が金属イオンを補足してエッグボックス型の細長い架橋領域が形成されるゲルも、ここでジッパーゲルと呼ぶものの一種とみなすことができる。ジッパーゲルの特性を理解するために、しばらくヘリックス形成について考えよう。

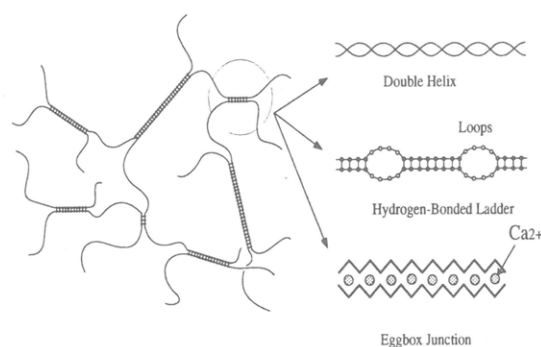


図 3: ジッパー型の架橋構造を持つゲルの生成（上から順に二重らせん、水素結合はしご、イオン補足エッグボックス型）。

単一鎖のヘリックス長の分布関数（べき乗則）については、1960年代の Zimm と Bragg の理論研究（以下では ZB と略記する）およびそれに続く研究で解明されている [5, 6]. これらの研究では、鎖の分配関数を転送行列の最大固有値から求める方法を使用しているが、この方法は溶液中で相互作用する多鎖の問題には適用できない。高分子鎖の数だけ転送行列を導入しなければならないからである。そこで我々は、単一鎖の問題を組合せ論的に解き直すことから始め、部分ヘリックスの分布関数をもとに、ヘリックス間の会合現象にゲル化のカスケード理論 [7, 8] を適用する考えで一連のヘリックスゲルの問題を解析した。今、モノマー数で数えて全長が n の鎖上に長さが ζ の部分ヘリックスが j_ζ 個だけ形成されているとする。単一鎖については分配関数は

$$Z_n(\{j\}) = \sum_{\{j\}} \omega(\{j\}) \prod_{\zeta} (\eta_{\zeta})^{j_{\zeta}} \quad (1)$$

のように表せることに留意する。ここで

$$\omega(\{j\}) \equiv [n - \sum \zeta j_{\zeta}]! / \left\{ \prod_{\zeta} j_{\zeta}! [n - \sum (\zeta + 1) j_{\zeta}]! \right\} \quad (2)$$

はこのような連鎖の分布を限られた総長 n から選び出す異なる方法の数，また η_{ζ} はランダムコイル状態を基準にして測った長さ ζ のヘリックスの統計重率である。この重率は ZB 理論では

$$\eta_{\zeta} = \sigma s(T)^{\zeta} \quad (3)$$

の形に仮定されている。ここで $s(T)$ はヘリックス中のモノマー 1 個あたりの水素結合自由エネルギーで表される重率で温度 T の関数であり，体系の温度変化は $s(T)$ を通じて表される。また σ は最初の 1 個のモノマーがヘリックスを核生成する確率で，ヘリックス開始確率と呼ばれる。さて，分配関数を最大にする最確分布を求めると

$$j_{\zeta}/n = (1 - \theta - \nu) \eta_{\zeta} t^{\zeta} \quad (4)$$

となる。ここで， $\theta \equiv \sum_{\zeta=1}^{\infty} \zeta j_{\zeta}/n$ はヘリックスの総量， $\nu \equiv \sum_{\zeta=1}^{\infty} j_{\zeta}/n$ はヘリックスの総数である。パラメータ t は方程式

$$tV_0(t)/(1-t) = 1, \quad (\text{ここで } V_0(t) \equiv \sum_{\zeta=1}^{\infty} \eta_{\zeta} t^{\zeta}) \quad (5)$$

を解いて得られる根である。重率を ZB 型に仮定すると，このようにして求めた θ や ν は ZB の結果 [5] と一致する。

さて，次に多鎖問題，すなわち異なる鎖上のヘリックスの会合現象に移ろう。一般にヘリックスゲルには，単鎖ヘリックスが 2 重，3 重に多重会合する場合と，単鎖ではヘリックスが形成されず，2 重鎖，3 重鎖ではじめてヘリックスが形成される場合がある。前者では，ランダムコイル状態にある高分子が冷却により様々な長さの短鎖ヘリックスを鎖上に誘起し，これらが一種の会合基として働き架橋が形成される。ゲルのネットワーク中には会合していないヘリックスが残留しているので，ヘリックスの総量とゲルの弾性率が必ずしも比例しない。また，架橋領域に凝集しているヘリックスの長さは均一ではない可能性がある。これに比べて後者では，その定義から必ず 2 本，3 本の鎖が結合していて，孤立している多重鎖というのは存在しない。すなわち，すべてのヘリックスが架橋点となっているので，ヘリックス量とゲルの弾性率とは強い相関がみられる。また，ヘリックスに参加している鎖の連鎖長はすべて等しい。

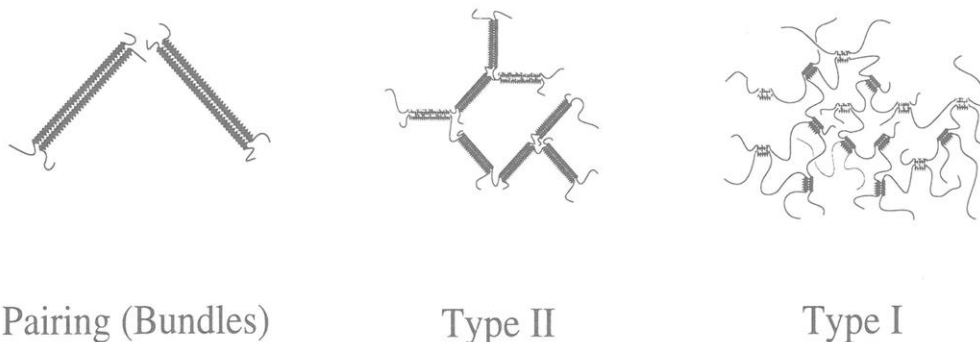


図 4: コイル・ヘリックス転移による基本的な凝集構造. 鎖上に短いヘリックスが多数形成される場合には TypeI のネットワークが形成される. 長いヘリックスが少数形成される場合には TypeII のネットワークとなる. TypeII は剛直棒状分子を短鎖ランダムコイルで架橋したネットワークと考えられ, 非線形な弾性を有する. ヘリックス長が高分子全長に近くなると, バンドル (ペア) が形成される.

さて, 各ヘリックスは一種の官能基とみなすことができるので, ヘリックスの総数は鎖の官能数に該当し, 各々の会合強度はヘリックス長に比例するので, 以下の2つのメカニズムが競合することが理解される. すなわち, 短いヘリックスを多数有する鎖は官能性が高いが凝集エネルギーは低い. 逆に, 長いヘリックスを少数有する鎖は官能性は低いが凝集エネルギーは大きい. このようにゲルのネットワーク形成に関して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, いずれが優勢かに従って2つの構造に大別される. このことを単鎖ヘリックスの対会合を例にとって調べてみよう (図 4). 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がヘリックスで, 架橋部がランダムコイルと考えるべきである. 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, ネットワークは形成されず, バンドルが形成される (ペア相). 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 $\gamma \equiv \epsilon_A/\epsilon_H$ の値によって区別される.

以上のような考えに基づき, 会合強度の異なる会合基がある一定の分布に従って鎖上に出現するような高分子の熱可逆ゲルのモデルを構築し, カスケード理論を使ったゲル化の会合溶液理論によりゾル・ゲル転移について調べた [9]. ヘリックスの分布関数は

$$j_\zeta/n = (1 - \theta - \nu)\eta_\zeta u(z_\zeta)t^\zeta \quad (6)$$

となり, 単鎖の (4) 式にヘリックス間の凝集構造を表すカスケード架橋点関数 $u(z)$ が因子としてかかったものになる. パラメータ z_ζ は高分子の体積分率 ϕ と関係 $\lambda(T)j_\zeta\phi/n = z_\zeta u(z_\zeta)$ の関係式で結ばれている. ここで, $\lambda(T)$ は会合定数である. 根 t を求める方程

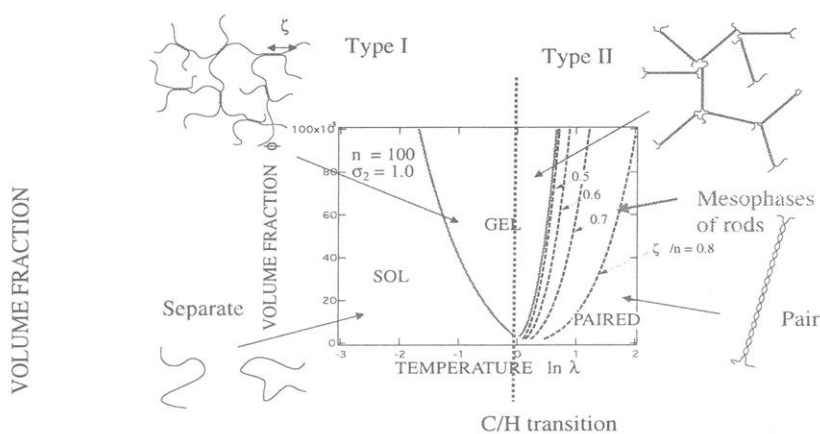


図 5: 2重鎖ヘリックス架橋ゲルの相図. ゾル・ゲル線 (実線) と架橋長の等高線 (点線).

式を解き、分布関数を温度 T と高分子濃度 ϕ で表すと、実測可能な物理量を温度、濃度の関数として求めることができる。

図5には、最も興味深い2重鎖ヘリックスの場合の相図を温度・濃度平面で示してある。実線はゾル・ゲル転移線、点線はヘリックス長が一定の等高線を表す。低温ではヘリックスが成長することにより、高分子1本当たりのヘリックス数が2より小さくなり、ネットワーク相からペア相に再帰ゲル・ゾル転移を起こすことがわかる。2重ヘリックスは剛直棒状分子と考えられるので、ペア相では高濃度領域で種々の液晶が出現したり、棒状分子が互いに集積したレオロジー的なゲル相になったりすることが予測される。ヘリックス量の理論計算はイオタカラギーナン水溶液の旋光度実験データと良好な一致をみた (図6)。

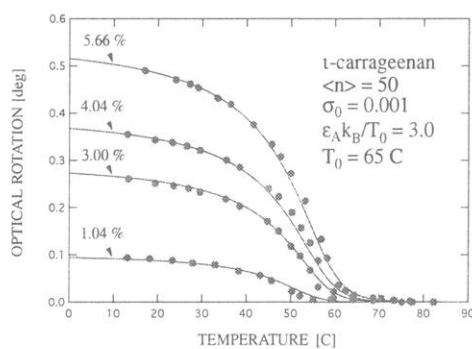


図 6: 2重鎖ヘリックスの総量 θ とイオタカラギーナン希薄溶液の旋光度測定結果との比較.

4 キラル分子による水素結合誘起ヘリックス高分子

水素結合の連鎖性によって発現するヘリックスのもう一つの例を紹介しよう。近年、八島らのグループではキラルな低分子（アミンやアミノアルコール）を高分子（カルボキシフェニルアセチレン）に側鎖基として水素結合させることにより、主鎖の高分子に左右の決まった方向のらせんを誘起する実験を行ってきた[10]。我々はこれらの一連の実験で報告されて来た CD 強度に関するデータと（キラル分子の吸着量に比例する）誘起らせん量の理論計算とを比較検討し、（1）誘起らせんの非線形増幅現象、（2）多数支配の法則、（3）少数指令の法則、について分子論的なメカニズムについて検討した。

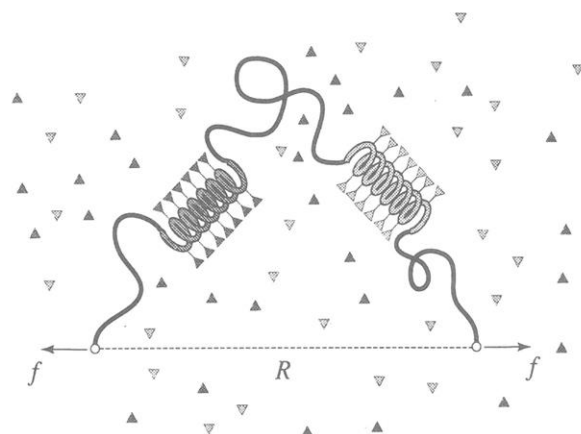


図 7: キラルな低分子の S 体と R 体が混合した溶液中での高分子への水素結合による吸着とらせん誘起現象。

図 7 に示すように、高分子の希薄溶液にキラルな低分子を混合し、低分子がかさ高い側鎖基に水素結合することにより主鎖に捩れが生じ、高分子にらせんが誘起されるものとする。高分子の重合度を n 、S 型低分子のモル濃度を $c^{(S)}$ 、R 型のそれを $c^{(R)}$ とする。希薄溶液なので高分子間の相互作用は考えないことにし、注目した一本鎖のまわりの溶液は一定の化学ポテンシャルを有する低分子の粒子供給源とみなされるものとする。キラリティの偏極度を表すエナンチオマー過剰率は $e \equiv (c^{(S)} - c^{(R)}) / (c^{(S)} + c^{(R)})$ で定義される。純粋な S 型 (R 型) のみの溶液では $e = 1$ ($e = -1$) で、ラセミ溶液の場合は $e = 0$ である。側鎖基はかさ高いので隣り合う吸着分子間には相互作用が生じ、同一キラリティの分子が臨席した場合には主鎖の捩れにより立体的に安定化され連鎖的な吸着が起こるものとする。また、異なるキラリティの分子は立体障害により互いに臨席することができないものとする。このような状況では左右のヘリックスが有限の鎖長の中から自分の席を奪い合うことになるので、媒体中のキラル分子の微小な濃度差が拡大されて現れる。今、長さ ζ の S 型連鎖が $j_{\zeta}^{(S)}$ 個、R 型連鎖が $j_{\zeta}^{(R)}$ 個生じて

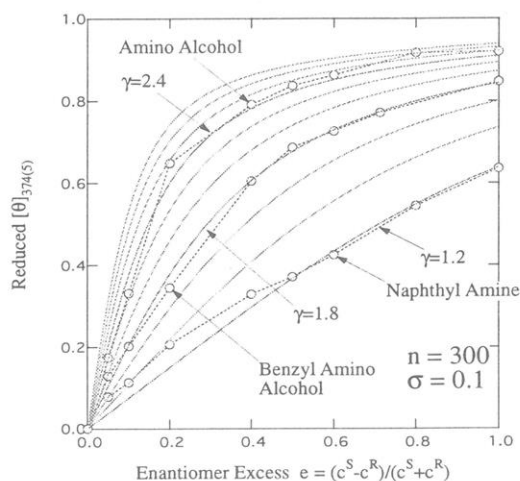


図 8: S, R 型両者が共存する溶液中での吸着曲線。左右のらせん誘起が競合するので全体としてはキラル秩序度 $\psi \equiv \theta^{(S)} - \theta^{(R)}$ が CD 強度に比例する。3つの低分子アミノアルコール、ベンジルアミノアルコール、ナフチルアミンについてエナンチオマー過剰率の関数として CD 強度とキラル秩序度とをプロットした。微小な過剰率が急激な非線形 CD 誘起に導くいわゆる多数支配の法則 (Majority Rule) が読みとれる。全濃度が大きいほどこの効果は著しい。

いるものとする、このような連鎖を有限長 n から選び出す方法の数は

$$\omega(\{j\}) = [n - \sum_{\zeta} \zeta(j_{\zeta}^{(S)} + j_{\zeta}^{(R)})]! / \left\{ \prod_{\zeta} (j_{\zeta}^{(S)}! j_{\zeta}^{(R)}!) [n - \sum_{\zeta} (\zeta + 1)(j_{\zeta}^{(S)} + j_{\zeta}^{(R)})]! \right\} \quad (7)$$

で与えられるので、一種ヘリックスの場合の (1) 式を二種ヘリックスの分布関数に場合に拡張し、それぞれ一定の活動度 λ_S, λ_R をもつキラル分子の粒子源の大分配関数を求める。この大分配関数を最大にする最確分布関数を求めると

$$j_{\zeta}^{(\alpha)} / n = (1 - \theta - \nu) \eta_{\zeta}^{(\alpha)} (\lambda_{\alpha} t)^{\zeta} \quad (\alpha = S, R) \quad (8)$$

となることが分かる。ここで、 $\theta \equiv \theta^{(S)} + \theta^{(R)}$, $\nu \equiv \nu^{(S)} + \nu^{(R)}$ なので、S 体と R 体に対する方程式が連立方程式となっている。これらからヘリックス量がキラル低分子の活動度 (濃度) の関数として求められる。図 8 には CD 強度の測定データとヘリックス量の理論計算とを比較した。両者の間の比例定数は未知数であるので、倍数を調節し最適フィットから推定した [11]。このような理論計算を行うことにより、実験では検出の困難な物理量、たとえば、ヘリックスの平均長、高分子鎖あたりのヘリックスの個数 (従ってらせん反転の平均数) などが推定され、誘起らせん現象の解析が進むことが期待される。

参考文献

- [1] F. Tanaka, *Polym. J.*, **74**, 479 (2002).
- [2] F. Tanaka, in "Molecular Gels", ed. by P. Terech and R.G. Weiss, to appear, Kluwer Academic Pub. (2004).

- [3] 加藤隆史, 液晶 4, 4 (2000).
- [4] M.Shoji and F.Tanaka, *Macromolecules*, **35**, 4760 (2002).
- [5] B.H. Zimm and J.K. Bragg, *J. Chem. Phys.*, **31**, 526 (1959).
- [6] D. Poland and H.A. Scheraga, *Theory of Helix-Coil Transitions in Biopolymers*; Academic Press (1970).
- [7] M.Gordon, *Proc. Roy. Soc. (London)*, **A268**, 240 (1962).
- [8] F. Tanaka, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, **41**, 2405; 2413 (2003).
- [9] F.Tanaka, *Macromolecules*, **36**, 5392 (2003).
- [10] E.Yashima, T.Matsushima and Y.Okamoto, *J. Amer. Chem. Soc.*, **119**, 6345 (1997); E.Yashima, K.Maeda and Y.Okamoto, *Nature*, **399**, 449 (1999).
- [11] F.Tanaka, *Macromolecules*, **37**, 605 (2004).

ヘリックスペプチドの単分子観察と電子メディエート機能

北川 和哉・森田 智行・木村 俊作

Kazuya Kitagawa, Tomoyuki Morita, Shunsaku Kimura

京都大学大学院工学研究科材料化学専攻

1. 緒言

有機化合物を分子デバイスへ応用することを目的とする有機エレクトロニクスの進展には、1分子あるいは分子群の電気的性質の解明が不可欠である。このためには、構造を規制した有機分子に電極をセットし、導電性（コンダクタンス）やキャパシタンス等を測定し、構造と電子物性との相関関係について明らかにする必要がある。この測定手法には、break junction 法¹⁾や水銀滴-金属 junction 法²⁾等があり、主に共役系オリゴマーを用いた研究が行われている。本研究では、走査型トンネル顕微鏡を用いて、タンパク質の主要モチーフの一つであるヘリックスペプチドの導電性を、単分子観察を通して検討した結果を報告する。

これまでに、2-アミノイソ酪酸（Aib）を含む疎水性ヘリックスペプチドを合成し、金基板上に垂直配向で固定化したサンプルを調製して、ヘリックスペプチドを介した電子移動を検討した。水溶液中で、クロノアンペロメトリ法を用いて、ヘリックス鎖の末端に結合したフェロセンユニットから金基板あるいは逆方向の電子移動速度の測定に成功した。このヘリックスペプチドの分子鎖長は 40 Å に及び、ヘリックスペプチドが長距離電子移動のメディエータになることを報告している。³⁾このことは、ヘリックスペプチドの単分子観察が走査型トンネル顕微鏡（STM）を用いて可能であることを示唆しているが、これまでに基板に垂直に配向したヘリックスペプチドの単分子観察に成功した例はない。⁴⁾

2. 疎水性ヘリックスペプチド

図 1 に、本研究で合成した疎水性ヘリックスペプチドの構造式を示した。Leu と Aib の交互配列を有し、金基板への固定化のため N 端側にチオフェニレン基が導入してある。これまでに、リポ酸等のアルキル基を、ペプチド分子を金基板に結合するリンカーに用いてきたが、アルキル鎖を介しての電子移動は電子トンネリングに基づいて起こるため、その移動速度が距離の指数関数で減少し、界面での電子移動が全体の電子移動過程の律速段階となる問題があった。

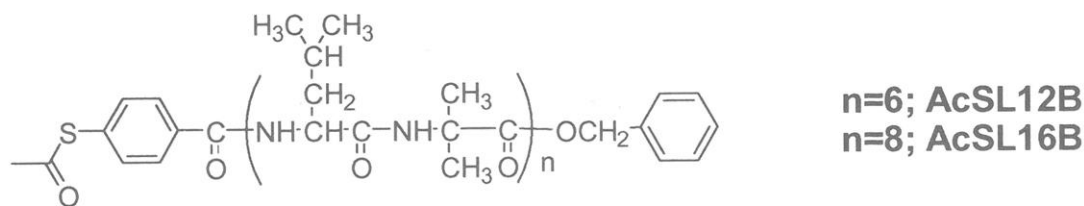


図 1 Molecular structure of hydrophobic helical peptides.

3. ヘリックスペプチドのコンホメーション

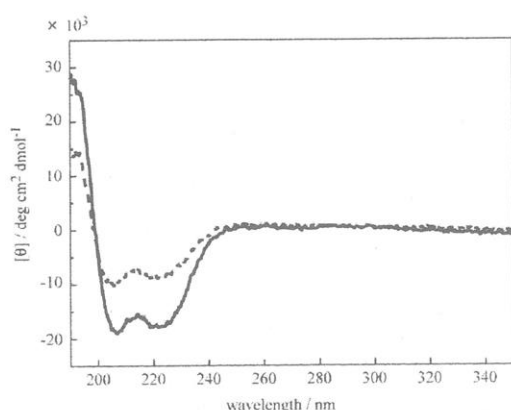


図 2 CD spectra of AcSL12B (dot) and AcSL16B (solid) in trifluoroethanol.

図 2 に AcSL12B と AcSL16B のトリフルオロエタノール中での円偏光二色性 (CD) スペクトルを示した。ダブルミニマム型のスペクトルを示したことから、 α ヘリックス構造をとっていることがわかる。また、ヘリックス含率は、鎖長が長くなると大きくなった。

金基板上にこれらのペプチドを固定化し、そのコンホメーションを FT-IR 表面反射吸収スペクトル (RAS) 法により調べた (図 3)。ヘリックスペプチド単

独自己組織化膜 (SAM) では、アミド I とアミド II の吸収がそれぞれ 1670cm^{-1} と 1542cm^{-1} に表れ、基板上でもこれらのペプチド分子がヘリックス構造をとっていることが示された。

アミド I とアミド II の吸収強度比から、ヘリックスペプチドの基板法線方向からの傾き角を求めることができる。その結果、SL12B 単独膜では傾き角が 34° 、SL16B 単独膜では 32° と求まり、比較的垂直に近い配向をとることが示された。

アルカン SAM とペプチド分

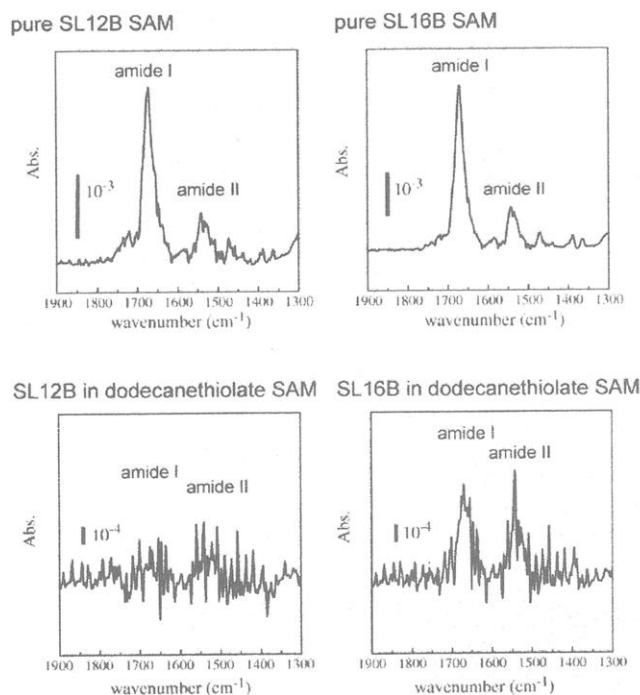


図 3 FTIR-RAS spectra of the pure helical peptide SAMs and the mixed SAMs of helical peptides and dodecanethiolate molecules.

子との混合 SAM の調製について検討した。予め調製したドデカンチオール SAM をペプチド分子のエタノール溶液とインキュベーションし、FT-IR RAS 測定を行ったところ、ペプチド分子由来のアミド I およびアミド II 吸収帯を観測できた。このことは、この方法により、ドデカンチオール SAM の欠陥サイトにペプチド分子を挿入できることを示している。

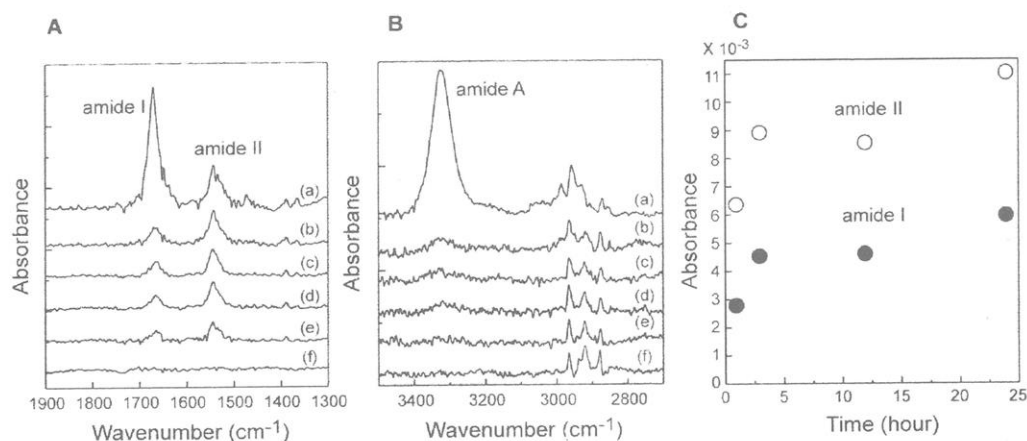


図4 FTIR-RAS spectra of octanethiolate monolayers immersed in SL16B solution for different times. (a) Pure SL16B monolayer, (b) octanethiolate monolayer immersed for 24 hours in a SL16B, (c) octanethiolate immersed for 12 hrs., (d) immersed 3 hrs., (e) immersed 1 hr., and (f) pure octanethiolate monolayer. Each figure shows (A) amide region, (B) high frequency region, and (C) the degree of the increase of the amide absorbance intensities as a function of immersion time.

アルカン SAM 中に挿入されたペプチド分子の濃度を増やし、コンホメーションを調べるため、ドデカンチオール SAM をオクタンチオール SAM に変えて、ペプチド分子の挿入を行った。これはドデカンチオール SAM には欠陥が少ないのに対し、オクタンチオール SAM では分子のパッキングが弱いいため、ペプチド分子が多く挿入されると考えたためである。FT-IR RAS 測定を行ったところ、浸漬時間を3時間以上になると欠陥サイトへの挿入が完了することが示された(図4)。また、アミド I とアミド II 吸収帯の波数よりペプチド分子はヘリックス構造をとっていると考えられる。

オクタンチオール SAM のアルキル鎖の CH 伸縮振動を調べたところ(図4)、ペプチドの挿入に伴う波数の移動は観測されなかった。このことから、ペプチド分子は、SAM の構造を変えることなく、欠陥サイトに挿入されると考えられる。

4. ヘリックスペプチド混合 SAM の STM 観察

走査型プローブ顕微鏡 (STM) を用いて、疎水性ヘリックスペプチド SAM 観察を行った。ヘリックスペプチド単独膜の観察では、金のテラス、および、金1原子の深さに対応するピットが観察され、金表面上をペプチド分子が均

一に覆っていることが示された。しかしながら、高分解能測定を行っても、ヘリックスペプチド単分子観察はできなかった。長鎖ヘリックスペプチドを通しての電子移動では、アミド基間の電子ホッピングにより長距離電子移動が起こっていることが示されている。単独膜では、この電子ホッピングの経路として、ヘリックス鎖に沿った流れと隣接する分子間での流れが混在すると考えられる。このため、STM 像が不明瞭となり単分子観察ができなかったと思われる。

オリゴフェニレンエチニレン等の共役系分子について、STM による単分子観察が報告されているが、多くの場合、アルカン SAM との混合膜での観察である。ヘリックスペプチド分子についても、アルカン SAM をマトリックスとしてペプチド分子を分散することができると、上記の問題点も解決され単分子観察が可能になると考えた。

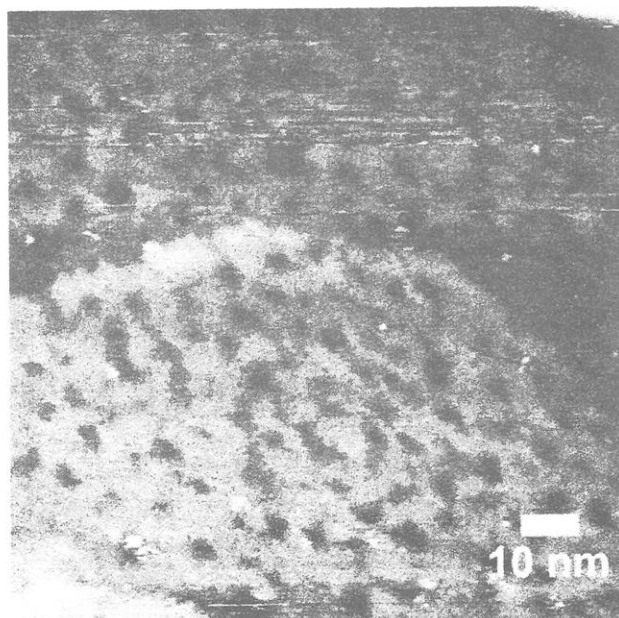


図5 Constant current STM image of SL16B in the dodecanethiolate SAM. Many bright spots were observed. This image was recorded with a sample bias of 1.6 V and tunneling current set of 4.0 pA.

図5にドデカンチオールとSL16Bとの混合膜のSTM像を示す。金のテラスと金1原子の深さに相当するピット（黒い部分）が観察される。高分解能にすると、 $(\sqrt{3} \times \sqrt{3}) R30^\circ$ ヘキサゴナル構造が見え、ドデカンチオールが最密充填していることがわかる（図6）。このSTM像の中には20点以上の明るいスポットが認められる（図5）。スポットの直径は1~2nmであり、ヘリックスペプチドの直径と一致する。また、ヘリックスペプチド溶液とインキュベーションをしなかったドデカンチオールSAMを観察してもこのような明るいスポットは存在しなかった。また、前述したように、混合膜のFT-IR RAS測定より混合膜にはヘリックスペプチドの存在することが明らかとなって

いる。これらのことより、明るいスポットはヘリックスペプチドであることが示された。

明るいスポットは、周囲のアルカン SAM に比べて高さに換算して $4.1 \text{ \AA}$ 高かった。SL12B との混合 SAM についても同様に STM 観察を行ったところ、ペプチド分子とインキュベーションすることで STM 像に明るいスポットが認められるようになった。このスポットは周囲に比べて $2.5 \text{ \AA}$ だけ高かった。このようにペプチドの鎖長に応じて明るいスポットの高さが変化した。しかしながら、FT-IR RAS から求めたヘリックスペプチドの法線方向からの傾き角を基に計算したドデカンチオール SAM との高さの違いに比べると、観測された値は小さなものであった。これは、ヘリックスペプチドの電子メディエート機能が優れているためと考えられる。

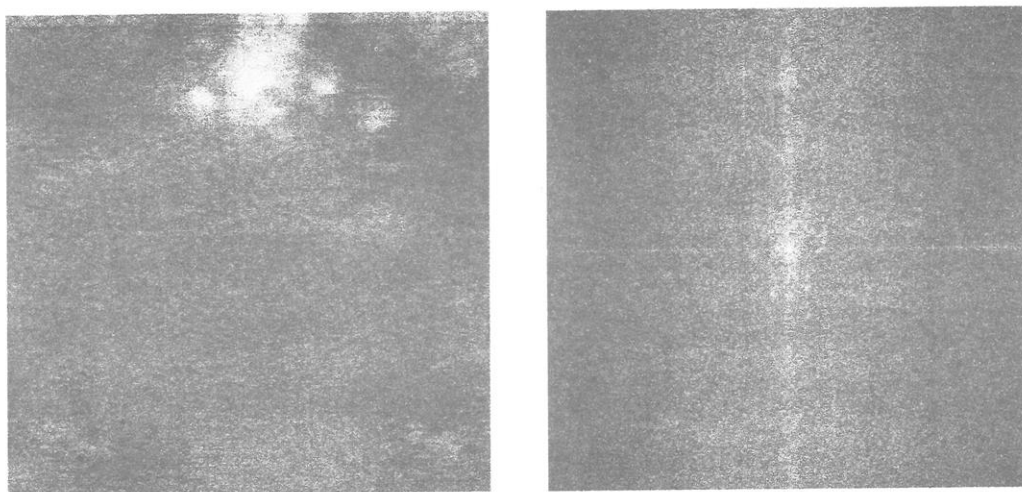


図 6 Magnified and high resolution image of SL16B in the dodecanethiolate SAM by constant current STM (left panel). The distribution of dodecanethiolate molecules is converted to a diffraction pattern by Fourier transformation (right panel). This image was recorded with a sample bias of 1.6 V and tunneling current set of 4.0 pA.

図 6 の拡大 STM 像からわかるように、ドデカンチオール SAM の相分離した境界領域に、ヘリックスペプチド分子が 10 個を超えるユニットで集合化して取り込まれている。また、このバンドル構造のヘリックスペプチドが同様に見えていることから、ヘリックスペプチドは平行型で垂直配向をとって金基板に固定化されていると考えられる。

SL16B の鎖長は 4 nm を越えており、この分子を単分子観察できたことは、ヘリックスペプチドが長距離電子移動のよいメディエータであることを意味している。これまでに、報告されている STM による単分子観察の中で、アルカン SAM に挿入した長鎖化合物の例を探してみると、オリゴフェニレンエチニレン⁵⁾とカルテノイド誘導体⁶⁾が報告されている。従って、ポリペ

プチドは π 共役系分子と同程度の電子メディエート機能を有していると考えられる。

5. おわりに

ヘリックスペプチドとアルカン SAM との混合膜を調製することで、ヘリックスペプチドの単分子観察が可能となった。分子鎖長が4nmを越えており、STM 観察における電流は、ホッピングメカニズムに基づく電子移動が原因である。単分子観察が可能となったことより、ヘリックスペプチド1分子の電子論的特性の観測ができる条件が整い、現在、さらに詳細な検討を加えている。

参考文献

- 1) (a) Reed, M. A.; Zhou, C.; Muller, C. J.; Burgin, T. P.; Tour, J. M. *Science* **1997**, *278*, 252-254. (b) Smit, R. H. M.; Noat, Y.; Untiedt, C.; Lang, N. D.; van Hermert, M. C.; van Ruitenbeek, J. M. *Nature* **2002**, *419*, 906-909.
- 2) Rampi, M. A.; Whitesides, G. M. *Chem. Phys.* **2002**, *281*, 373-391.
- 3) (a) Morita, T.; Kimura, S.; Kobayashi, S.; Imanishi, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2850. (b) Morita, T.; Kimura, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8732-8733.
- 4) Fujita, K.; Bunjes, N.; Nakajima, K.; Hara, M.; Sasabe, H.; Knoll, W. *Langmuir* **1998**, *14*, 6167-6172.
- 5) Cygan, M. T.; Dunbar, T. D.; Arnold, J. J.; Bumm, L. A.; Shedlock, N. F.; Burgin, T. P.; Jones II, L.; Allara, D. L.; Tour, J. M.; Weiss, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2721-2732.
- 6) Ramachandran, G. K.; Tomfohr, J. K.; Li, J.; Sankey, O.; Zarate, X.; Primak, A.; Terazono, Y.; Moore, T. A.; Moore, A. L.; Gust, D.; Nagahara, L. A.; Lindsay, S. M. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 6162-6169.

ずり歪みにより作製したポリブチレンテレフタレート配向薄膜の 結晶モルフォロジー

吉岡 太陽^{*1}、辻 正樹^{*1}、河原 豊^{*2}、鞠谷 信三^{*1}

Taiyo Yoshioka, Masaki Tsuji, Yutaka Kawahara, Shinzo Kohjiya

^{*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

1. はじめに

射出成形、押出し成形、繊維紡糸などの様々なポリマー加工工程において、熔融ポリマーは流動場にさらされる。その結果として受ける流動誘起による構造変化は、工業的のみならず学術的な面からも興味を持たれ続けてきた。しかし、実際のポリマー加工工程には非常に複雑な変形履歴が含まれており、学術的研究の多くは、より理想的な系として、例えば、ポリエチレン (PE)^{1)~4)}、アイソタクチック・ポリスチレン (iPS)^{5)~7)}、アイソタクチック・ポリプロピレン (iPP)^{8)~10)}などの比較的簡単な一次構造を有するポリマーについて、一方向のみに流動が働いているような系、すなわち伸長流動場について行われてきた。その結果、1965年 Pennings ら¹⁾により、伸長鎖結晶が数枚のラメラ晶を串刺し状に中央を貫いた構造 (shish kebab 構造) が PE の溶液伸長流動下での結晶化物として発見されたのを最初に、PE に代表される比較的簡単な一次骨格を有する高分子について、shish kebab 構造は、溶液や融液から伸長流動下で結晶化させた場合における共通のモルフォロジーとして相次いで観察されてきた^{1)~12)}。しかし現在に至るまで、そのモルフォロジー的特徴や形成機構等については、詳細は明らかにされないまま、興味を持たれつづけている。一方、より複雑な一次構造を有する、例えばポリエステルのような汎用性および実用性の高いポリマーが伸長流動により受ける効果の解明が、工業的な立場から、強く望まれている。

我々はこれまで、代表的な芳香族ポリエステルであるポリエチレンテレフタレート (PET)、ポリエチレンナフタレート (PEN) およびそれらのブレンド物について、伸長流動下で形成されるモルフォロジーを追跡してきた^{13)~17)}。本研究では、エンジニアリングプラスチックとして工業的に広く利用されているポリブチレンテレフタレート (PBT) について、透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察可能な厚さの一軸配向薄膜を作製し、その結晶モルフォロジーを調べるとともに、得られた結果から、shish kebab 構造モデルに対する提案を行う。

2. 試料および実験

PBT の 0.5wt% 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol 溶液を、予め 260℃に加熱したスライドガラス上に滴下し、溶媒蒸発後、同じく予熱した別のスライドガラスで挟み、薄膜の融解を確認後直ちにスライドガラスを互いに素早く (スライドガラスの相対速度 = 約 12m/min) ずらすことにより「ずり歪み」をかけ、TEM 観察可能な厚さの配向薄膜を作製した。ちなみに、この相対速度 (約 12m/min) は、配向薄膜の厚さを 50nm

と仮定すると、約 $4 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$ の歪み速度に相当する。

作製した配向薄膜は、場合により金 (Au) によるシャドウイングを施した後、補強のためカーボン蒸着を行った。文献 17) と同様の方法でスライドガラスから剥した後、TEM 観察用銅グリッドに載せた。得られた試料のモルフォロジー観察および制限視野電子回折 (SAED) は、日本電子(株)製 JEM-200CS (加速電圧: 200kV) を用いて行った。得られた像ならびに SAED パターンは、三菱 MEM フィルムに記録した。

3. 結果および考察

試料上で約 $2.5 \mu\text{m}$ の直径に相当する制限視野絞りをを用いて得られた、PBT 薄膜の典型的な SAED パターンを、Fig.1 に示す。ずり方向は図の上下方向に対応しており、このことは、本報告に用いられる全ての図において共通している。得られたパターンから、作製された薄膜が一軸配向性を有することがわかる。また、分子鎖がずり方向に配向していることは、薄膜の偏光顕微鏡観察からも確認された。

PBT には、緩和状態にある場合 (α 型) と緊張状態にある場合 (β 型) との 2 つの結晶形が報告されており、いずれも三斜晶系であること、また 2 つの結晶形は可逆的に変化する¹⁸⁾⁻²⁰⁾ことが知られている。それぞれに対する結晶構造解析は既に多数行われているが、緩和状態での α 型の格子定数については、文献による格子定数の値に差違がほとんど無く (誤差範囲内)²⁰⁾、本研究では、実測した格子面間隔の値と最も良い整合性を示した Yokouchi ら¹⁸⁾の報告による

格子定数を使用した (空間群 $P1-Ci^1$; $a = 0.483 \text{ nm}$, $b = 0.594 \text{ nm}$, c (chain axis) $= 1.159 \text{ nm}$, $\alpha = 99.7^\circ$, $\beta = 115.2^\circ$, $\gamma = 110.8^\circ$; 理論結晶密度 (ρ_c) $= 1.404 \text{ g/cm}^3$)。一方、 β 型の格子定数については、文献間でかなりの相違があるが²⁰⁾、 β 型が形成されているかどうかを判定するにあたり、本研究では同じく Yokouchi ら¹⁸⁾による格子定数を使用した

($P1-Ci^1$; $a = 0.495 \text{ nm}$, $b = 0.567 \text{ nm}$, c (chain axis) $= 1.295 \text{ nm}$, $\alpha = 101.7^\circ$, $\beta = 121.8^\circ$, $\gamma = 99.9^\circ$; $\rho_c = 1.283 \text{ g/cm}^3$)。Au シャドウイングを施した一軸配向薄膜から得られた SAED パターンについて、各反射の面間隔を調べた結果、本研究で作製した薄膜は α 型結晶から成ることがわかった。

作製した配向薄膜について面配向性の有無を調べるため、試料を図の上下軸回り (すなわち、ずり方向回り) に最大試料傾斜角度 40° まで傾斜し、傾斜角 10° 刻みで、試料の同一領域より SAED パターンを撮影し、未傾斜試料より得られたパターン

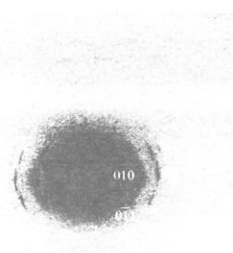


Fig.1 SAED pattern (reversed contrast) obtained from the uniaxially oriented thin film of PBT. The shearing direction is vertical.

との比較を行った。SAED パターンの撮影には、試料上で直径約 $8\mu\text{m}$ に相当する制限視野絞りを使用した。未傾斜時に得られた SAED パターンを Fig.2(a) に、最大傾斜角 40° で得られたパターンを Fig.2(b) に、それぞれ示す。得られた結果によると、 40° までの試料傾斜では面配向性を示す目立った回折パターンの変化や回折強度バランスの相違は認められなかった。このことから、

作製した配向薄膜は繊維配向性を有しており、いわゆる一軸配向薄膜であると考えられる。

100_α 反射を主に用いた一軸配向薄膜の典型的な暗視野像を、Fig.3 に示す。暗視野像では、結像に用いた回折反射を与えていた微結晶から成る領域が明るく現れるが、Fig.3 に示される暗視野像では、ずり方向に垂直に（すなわち、図の左右方向に）長さ約 $100\sim 300\text{nm}$ に伸びた明るい筋状領域が多数確認できる。これらの明るい筋の幅はおよそ 13nm であり、ラメラ厚さに対応すると思われる。一方、これらの明るい筋、すなわちラメラ晶が、数枚を一組としてずり方向に積層ラメラ状に並ぶ傾向が強く認められ、明部と暗部の繰り返し周期、すなわち長周期はおよそ 30nm と見積もることができる。なお、積層ラメラ構造を形成する傾向は、同様の実験において PEN についても確認しており、既に報告済みである¹⁷⁾。各ラメラ晶は、ずり方向に対してほぼ垂直な方向に伸びているが、直線的なラメラの他に、やや曲がったラメラも認められる。直線的なラメラについても、ずり方向に対して垂直方向から傾いているものが有り、従って互いに平行でないラメラも存在するが、これらのことが、Fig.1 および Fig.2 で示した SAED パターンの各反射がアーク状であることの主要原因であると考えられる。

次に、試料の同一領域から得た、暗視野像

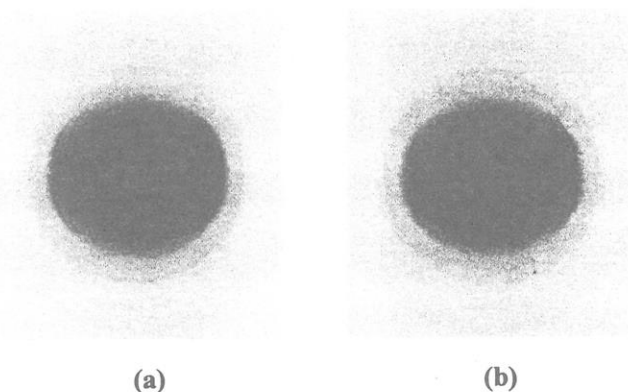


Fig.2 SAED patterns (reversed contrast) obtained from the same specimen area of the film: (a) un-tilted, and (b) tilted by 40° around the vertical axis. The shearing direction is vertical in (a) and (b).

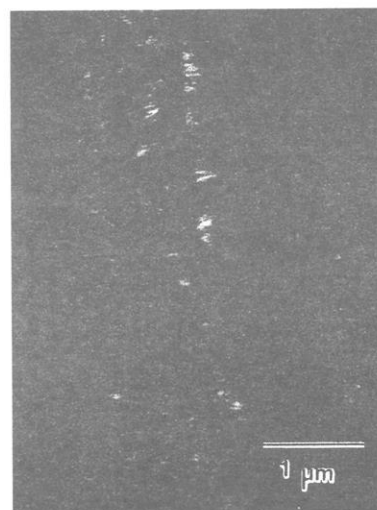


Fig.3 Dark-field image of the uniaxially oriented thin film of PBT by using the 100_α reflection mainly. The shearing direction is vertical.

および defocus contrast 法²¹⁾による明視野像(位相コントラスト像)をそれぞれ Fig.4(a)および Fig.4(b)に示す。Fig.4(a)と、ネガの表裏を逆にして焼き付けた Fig.4(b)とは鏡面对称の関係になるように配置されており、目印としてのゴミが丸で囲んで示されている。それぞれの像について薄膜の縁に着目すると、位相コントラスト像 (Fig.4(b)) では積層ラメラ状の構造がずり方向に沿って途切れることなく存在していると考えられるが、暗視野像 (Fig.4(a)) では、数枚のラメラ晶が一組となり積層ラメラ状の集合体を単位として抜け落ちていると思われる部分が多数確認される。顕著な部分の幾つかを、白い破線による長方形で囲んで示した。ここで特に注目すべき点は、長方形で囲んだ例のように、上下方向に数百 nm から 1 μ m にも

およぶ積層ラメラ構造を 1 つの「単位」として抜けている部分が目立つことである。暗視野観察に用いた反射に対応する結晶面が入射電子線に対してほぼ平行で、ブラッグ回折条件を満たした微結晶のみが明るく観察されるという、暗視野像の形成機構を考慮すると、前述のようにかなり大きな「単位」で抜け落ちていることから、「単位」となっている 1 つの領域はすべて同じ結晶方位の微結晶から成ると予想される。

そこで、同一視野について、未傾斜状態とずり方向回りに 15° 傾斜させた状態の双方について暗視野観察を行い、比較を行った。Fig.5(a)は未傾斜時に対する暗視野像であり、Fig.5(b)は試料傾斜角 15° で傾斜後の暗視野像である。未傾斜時には認められない積層ラメラ構造が、試料傾斜を行うことで出現することが確認された。また、試料傾斜により出現するラメラは、積層ラメラ状の集合体単位であるという傾向が強く認められ、Fig.4 において暗視野像 (4(a)) と位相コントラスト像 (4(b)) との比較において述べた傾向と一致する。Fig.5 では、未傾斜時においてほとんどラメラ晶が認められない極端なケースを示したが、Fig.3 または Fig.4(a)に示された暗視野像のように、所々で積層ラメラが抜け落ちた状態から、試料を傾斜することで、抜けていた部分に新しい積層ラメラが出現し、また逆に、傾斜前には観察されていた積層ラメラ構造が試料傾斜によって消失するようなケースも確認済みである。このような現象が生

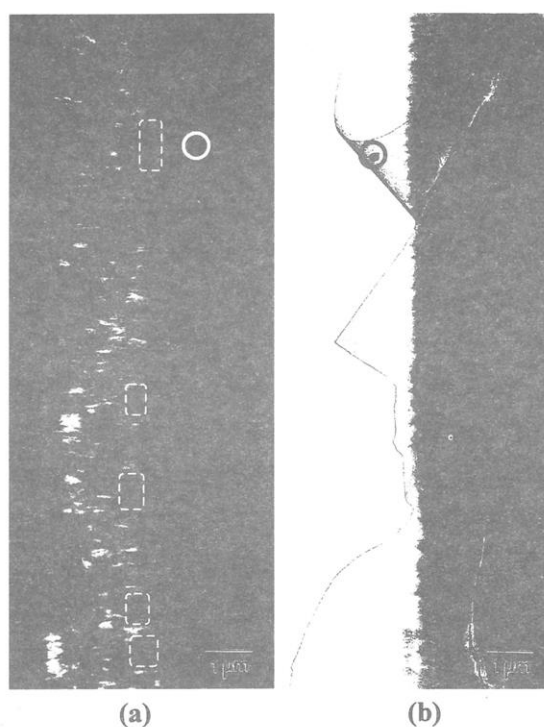


Fig.4 Dark-field image (a) and the corresponding bright-field defocus-contrast image (b). In making (b), the negative was set upside down on the enlarger. The shearing direction is vertical in both figures.

じる原因を、我々は以下のように考えている。

暗視野観察での像形成機構に基づく、試料傾斜により出現あるいは消失した積層ラメラ構造は、連らなり合うラメラ晶間で結晶学的な方位を揃えた集合体であると考えざるを得ない。このような集合体は、ラメラ間を繋ぐ伸長鎖結晶（すなわち shish 骨格）が存在し、そこからエピタキシャル成長した数枚のラメラ晶（すなわち kebab）が、同じ結晶学的方位を有するラメラ晶群として形成されたと考えられる。すなわち、shish kebab 構造が形成されていると考えられる。これまでからも予想されていたことではあるが、shish kebab 構造におけるラメラ晶が結晶学的に等しい方位を有していることが、本研究で明瞭に確認された。ただし、

上記の考察においては、shish 骨格が伸長鎖結晶であることを前提としている。しかし、PE の溶液伸長流動下で生成された shish kebab 構造を基に、1970 年 Pennings ら²²⁾により提案された有名な shish kebab 構造モデルにおいて、shish 骨格が伸長鎖結晶から成ることが提唱されて以降、このモデルは広く受け入れられてはいるものの、積層ラメラ間を繋ぐ伸長鎖結晶の存在の可能性を直接に確認した例は、筆者らのグループによる報告^{5), 23), 24)}のみのようである。ポリエーテルエーテルケトン²³⁾の配向薄膜や、PE²⁴⁾やポリ(4-メチル-1-ペンテン)²⁴⁾の延伸薄膜について、高分解能 TEM による格子像観察を行うことによって、kebab 間を繋ぐ「タイ結晶 (tie-crystallite)」の存在を明らかにするとともに、一方では shish 骨格のみから成る iPS 延伸薄膜について²⁵⁾、1つの shish が分子鎖軸方向に長さ約 200nm に及ぶ単一の結晶であることを示す格子像を得ている。これらの結果を考慮すると、少なくともある条件下では、積層するラメラ晶を繋ぐ伸長鎖結晶が存在し得ると考えられ、本研究対象である PBT においても我々は同様な考えに基づいて考察

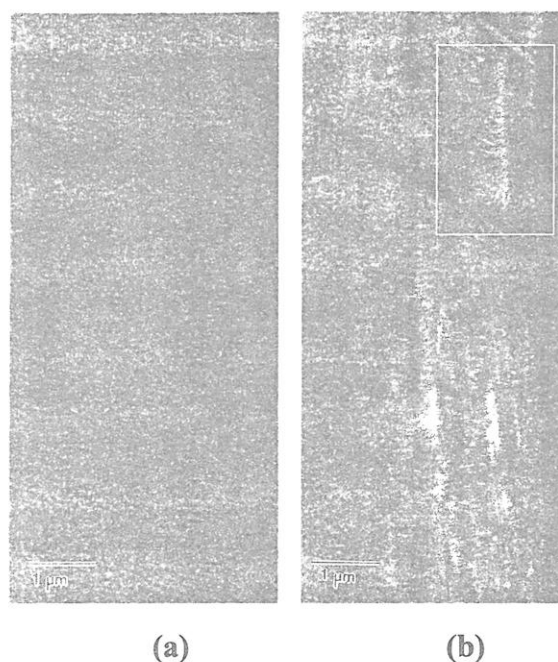


Fig.5 Dark-field images taken from the same specimen area: (a) un-tilted, and (b) tilted by 15 ° around the vertical axis (shearing direction).

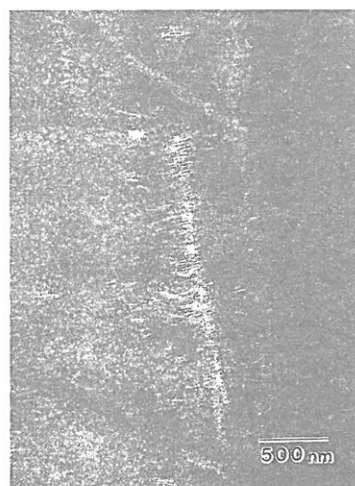


Fig.6 Dark-field image enlarged from the rectangular portion in Fig. 5(b).

を行っていることを強調しておきたい。

Fig.3～5 でも示されているように、観察されるラメラ晶の長さが膜厚の数倍に及ぶことから、形成されている shish kebab 構造はリボン状単結晶を kebab とする、二次元的 shish kebab 構造であると考えている。一方、Fig.3 で示したように、作製した配向薄膜が一軸配向性を有することが試料傾斜による SAED から示されており、この結果を説明するためには、試料傾斜角度 15° に限らず、あらゆる傾斜角において、暗視野像形成条件を満たすラメラ晶が shish kebab 構造単位で存在する必要がある、今後、確認を行う予定である。

Fig.6 は、Fig.5(b)中の長方形で囲まれた部分についての拡大像である。Fig.6 に見られる明るい筋から成る領域は、shish kebab 構造を強く連想させるものであり、作製した一軸配向薄膜内で shish kebab 構造が形成されているとする我々の考えを支持するものと考えられる。残念ながら、shish kebab 構造に関するほとんどの研究と同様、shish 骨格に相当する「像」は認められないが、これは、shish 骨格がこの倍率で観察されるには細すぎるためと思われる²⁶⁾。一方、Fig.6 を注意深く観察すると、左右に走る明るい筋から成る積層ラメラ構造のほぼ中心で、ラメラ晶の食い違いによる段差が確認され、おそらく shish を中心にラメラが左右に僅かに異なる位置から独立にエピタキシャル成長していると思われる。一方、仮に、観察されている構造が全体に一続きであるとする、ずり方向（図の上下方向）に $2\mu\text{m}$ を超える長さとなり、過去に報告されている shish kebab 構造の中でも、分子軸方向にかなり長いものであると言える。

4. おわりに

我々の知る限り、PEN の一軸配向薄膜において積層ラメラ構造の形成を視覚的に明らかにした我々の報告¹⁷⁾が、ポリエステルにおける積層ラメラ構造の形成を視覚的に明らかにした最初の報告である。本報告において、PBT についても同様に積層ラメラ構造の形成を確認したのみならず、PEN に比べてより明確に視覚的に明らかにした。また一連の実験から、観察された積層ラメラ構造が shish kebab 構造であると考察し、これまで分子量が小さいことを理由にポリエステルの繊維構造モデルとしてほとんど受け入れられてこなかった積層ラメラ構造、さらには shish kebab 構造が、ポリエステルの繊維構造モデルとしても当てはまることを明らかにした。

さらに、今回得られた結果は、一つの shish kebab 構造の構成要素であるすべての kebab の結晶学的方位が基本的には同一であることを示しており、1 歩踏み込んだ shish kebab 構造モデルとして提案する。

謝辞

本研究は、平成 14 年度～平成 15 年度 文部科学省 科学研究費補助金（基盤研究 (C)(2) : No. 14550847）を受けて行われましたので、ここに記して謝意を表します（辻、河原）。PBT ペレットのご提供ならびに研究上のご協力を頂きました、住友電装株式会社 研究評価センター 真鍋 礼男 氏、横田 義光 氏に感謝致します。

文献

- 1) A. J. Pennings, A. M. Kiel, *Kolloid-Z.*, **205**, 160 (1965).
- 2) A. Keller, F. M. Willmouth, *J. Macromol. Sci.-Phys.*, **B6**, 493 (1972).
- 3) T. Nagasawa, Y. Shimomura, *J. Polym. Sci.*, **12**, 2291 (1974).
- 4) J. K. Hobbs, A. D. L. Humphris, M. J. Miles, *Macromolecules*, **34**, 5508 (2001).
- 5) M. Tsuji, *Sen-i Gakkaishi*, **52**, P-486 (1996).
- 6) G. Fangming, B. Haishan, Z. Zhang, *Macromolecules*, **33**, 5490 (2000).
- 7) T. Liu, W. C. Tjiu, J. Petermann, *J. Crystal Growth*, **243**, 218 (2002).
- 8) R. H. Somani, B. S. Hsiao, A. Nogales, S. Srinivas, A. H. Tsou, I. Sics, F. J. Balta-Calleja, T. Ezquerro, *Macromolecules*, **33**, 9385 (2000).
- 9) R. H. Somani, L. Yang, B. S. Hsiao, P. K. Agarwal, H. A. Fruitwala, A. H. Tsou, *Macromolecules*, **35**, 9096 (2002).
- 10) M. Seki, D. W. Thurman, J. P. Oberhauser, J. A. Kornfield, *Macromolecules*, **35**, 2583 (2002).
- 11) A. J. Pennings, *J. Crystal Growth*, **48**, 574 (1980).
- 12) H. Wenbing, D. Frenkel, V. B. F. Mathot, *Macromolecules*, **35**, 7172 (2002).
- 13) Y. Kawahara, T. Yoshioka, M. Tsuji, M. Ohara, S. Kohjiya, T. Kikutani, *J. Macromol. Sci.-Phys.*, **B39**, 701 (2000).
- 14) Y. Kawahara, T. Yoshioka, M. Tsuji, T. Kikutani, K. Sugiura, S. Ogawa, *J. Macromol. Sci.-Phys.*, **B41**, 177 (2002).
- 15) T. Yoshioka, M. Tsuji, Y. Kawahara, S. Kohjiya, T. Kikutani, *Sen-i Gakkaishi*, **58**, 268 (2002).
- 16) T. Yoshioka, M. Tsuji, Y. Kawahara, S. Kohjiya, T. Kikutani, H. Ito, *Ann. Rep. Res. Ins. Chem. Fib. Jpn.*, **59**, 1 (2002).
- 17) T. Yoshioka, M. Tsuji, Y. Kawahara, S. Kohjiya, *Polymer*, **44**, 7997 (2003).
- 18) M. Yokouchi, Y. Sakakibara, Y. Chatani, H. Tadokoro, T. Tanaka, K. Yoda, *Macromolecules*, **9**, 266 (1976).
- 19) I. H. Hall, M. G. Pass, *Polymer*, **17**, 807 (1976).
- 20) J. Liu, P. H. Geil, *J. Macromol. Sci.-Phys.*, **B36**, 263 (1997).
- 21) M. Tsuji, In *Comprehensive Polymer Science*; Sir G. Allen, J. C. Bevington, Eds.; vol. 1, Chapter 34, pp. 785-840 (1989).
- 22) A. J. Pennings, J. M. A. A. van der Mark, A. M. Kiel, *Kolloid-Z.*, **237**, 336 (1970).
- 23) H. Kawamura, M. Tsuji, A. Kawaguchi, K. Katayama, *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.*, **68**, 41 (1990).
- 24) M. Tsuji, M. Tosaka, A. Kawaguchi, K. Katayama, M. Iwatsuki, *Sen-i Gakkaishi*, **48**, 384 (1992).
- 25) M. Tsuji, A. Uemura, M. Ohara, A. Kawaguchi, K. Katayama, J. Petermann, *Sen-i Gakkaishi*, **42**, 580 (1986).
- 26) M. Tsuji, T. Shimizu, S. Kohjiya, *Polym. J.*, **32**, 505 (2000).

光情報デバイス用高分子精密加工部材の開発

中内 純

Jun Nakauchi

三菱レイヨン株式会社 技術部門

1. はじめに

21世紀はITとバイオ関連技術が成長を支える両輪となると期待されている。これらの新分野では、これまで以上に異なる技術分野で創生・蓄積された知の集積した高度な技術開発が求められている。両分野の技術開発において、高分子材料の果たす役割には多大の期待がよせられており、新素材や新規加工技術の開発が強力に推進されている。三菱レイヨン(株)では、早くから光・情報関連の新しいプラスチック材料や加工部品の開発に着手し、これまでプラスチック光ファイバー、プラスチックロッドレンズアレイ、映像表示用スクリーン、導光板、プリズムシート等、様々な光学部品を市場に提供してきた。本稿では、比較的最近開発した光情報デバイス用高分子精密加工部材として、高帯域プラスチック光ファイバー、高解像度プラスチックロッドレンズアレイ及びイメージファイバーを取り上げ、その精密賦型技術の概要を紹介する。

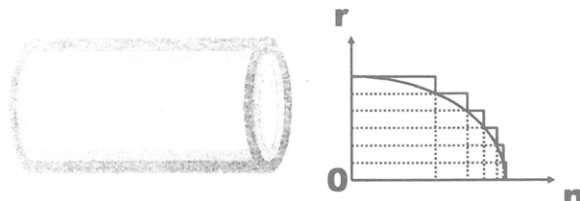
2. 高分子精密加工部材の開発事例

2. 1 高帯域プラスチック光学ファイバー

ブロードバンド時代の到来で、家庭内にも光ファイバーネットワークの導入が期待されている。IEEEでは使用される通信用配線の規格に取り組み、ホームユースタイプに使用可能なものとして1394b規格を設定した。三菱レイヨン(株)では、この規格に適合するプラスチック光ファイバー(POF)を開発することとした。光ファイバーの高帯域化としてはこれまでシングルモードもしくはグラディエントインデックス(GI)型ファイバーとすることが知られている。しかしながら、シングルモードファイバーではコア径を数 μ 程度まで小さくする必要があり、プラスチックの場合、素材の組み合わせにもよるが、一般に芯-鞘界面での光の散乱損失が大きく、伝送損失が大きくなりすぎて必要とされる伝播距離がかせげない。又、高帯域のプラスチックGI型ファイバーは、小池等により開発され¹⁾、旭ガラスから市販されているが、従来のPOFに比べ高価であり、現在のところ用途が限定されている。ホームユース用としては、安価で大量生産可能なPOFの開発が求められており、新しいPOFの出現が待たれていた。

このような市場の要求に答えるべく、我々は、従来のステップインデックス型ファイバーをGI型の屈折率分布に近づけることで高帯域化をはかることを考え、多層コアを有するPOFを設計することとした²⁾。

図-1及び2に光を臨界角までコア中心部へ



入射させ、各層の厚みと伝送損失を一定としたとき、多層コア POF の伝送帯域とコアの層数とがどのような関係になるかのシミュレーションに用いたモデル、及び関係式と算出結果を示す。

$$\delta t(\theta) = \frac{L}{c} (A_m - n_1) \quad (1)$$

$$A_m = \frac{\sum_{j=1}^m n_j d_j \left(\prod_{\substack{k=1 \\ k \neq j}}^m \sin \beta_k \right)}{\sum_{j=1}^m d_j \cos \beta_j \left(\prod_{\substack{k=1 \\ k \neq j}}^m \sin \beta_k \right)} \quad (2)$$

$$\sin \beta_k = \frac{\sqrt{n_k^2 - n_1^2 + \sin^2 \theta}}{n_k} \quad (3)$$

$$\cos \beta_k = \frac{\sqrt{n_1^2 - \sin^2 \theta}}{n_k} \quad (4)$$

$\delta t(\theta)$: 遅延時間、 L : ファイバー長、

c : 光速、 n_j : j 層の屈折率、 θ : 入射角、

d_j : j 層の厚さ、 β_j : j 層の屈折角

実際にデータリンクとして使用する場合は、用いる光源の出射光分布、各層の屈折率、厚さ、及び層間の界面の状況が、POF の帯域と関係してくる。この中で帯域に影響を及ぼす各層の界面の影響について検討した結果を以下に示す。

図-3 に界面状態が光伝送特性に及ぼす影響を調べる為に開発した限定モード測定装置の概略図を示す。回転台に装着したファイバーの断面に He-Ne レーザー光を入射し、入射角を変化させながら出射光を測定する装置である。図-4 に出射光の強度分布を示したが、各層の界面での光の散乱によるモード変換が界面状態の変化で大きく異なることが判る。界面での反射特性は、アニール処理により大幅に改善されるが、界面状態を決定する因子としては、熱的履歴の他、ノズルの形状、材料間の密着性や吸水性などがあげられる。He-Ne

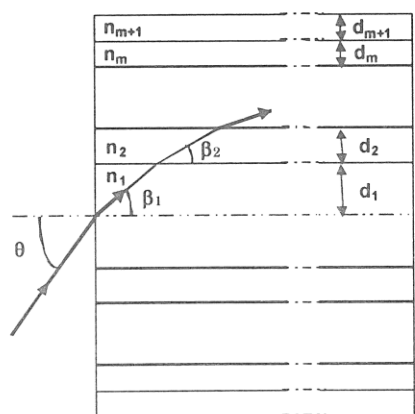


図-1 シミュレーションモデル

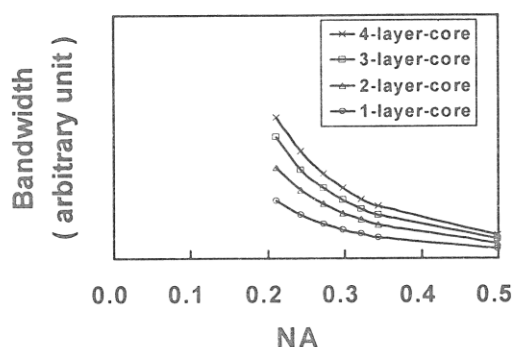


図-2 シミュレーション結果

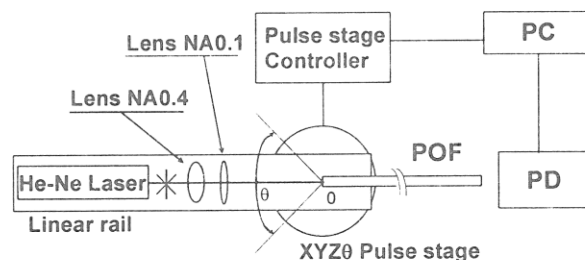


図-3 限定モード測定装置概略

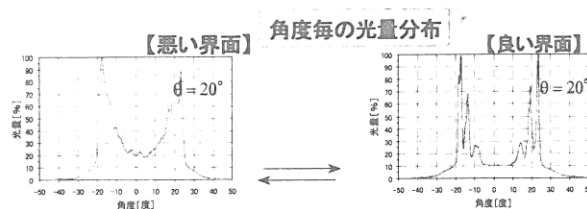
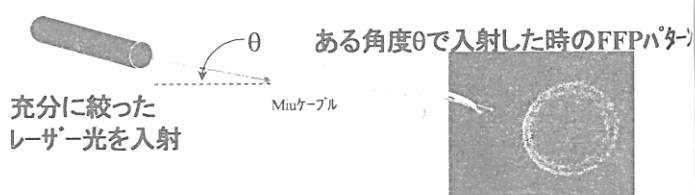


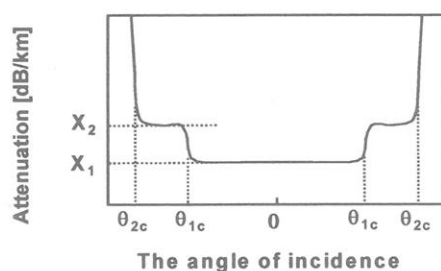
図-4 出射光の出力分布

レーザーの入射角を変化させながら POF の中心に入射した光の出射光強度を測定することで、図-5のような入射角と光伝送損失の関係を示すグラフが得られる。このグラフから各層の伝送損失、界面状態が推定でき、伝送帯域との関連性が追跡可能となる。材料及び賦型条件の最適化をはかることにより、得られた多層ファイバーの層数と帯域の関係を表-1に示す。

2層芯の構造とすることで IEEE1394b を満足する伝送帯域を有する POF が得られる。三菱レイヨン(株)ではエスカミウの商標で多層 POF を上市、今後のホームユース用としての展開が期待されている。

2. プラスチックロッドレンズ

ガラス製のロッドレンズが、世界ではじめて日本板硝子により開発され、「セルホックレンズ」の商標で光通信部品、複写機及びプリンター等の幅広い用途で使用されている。三菱レイヨン(株)では、同様な性能をもつプラスチック製ロッドレンズの開発に取り組み、大量生産技術の開発に成功した^{3,4)}。現在、ファクシミリ、スキャナー、LEDプリンター等の分野で使用されている。このレンズは図-6に示すような2次曲線状の連続的な屈折率分布をロッドの中心から周囲に向かってとっており、図-7に示されるプロセスにより製造されている。屈折率の異なる光重合性組成物を多層押出方式にて同心円状に押出した後、各層間で相互拡散させ、屈折率分布が2次曲線状になるよう温度・時間をコントロールしながら周囲より紫外線を照射して硬化させることで、屈折率分布をもつプラスチックロッドが連続的に製造できる。一旦、巻き取られたロッドは、所定の長さに切断され、2枚のプラスチックの平板内に配列、接着剤で固定化されてレンズアレイに加工される。本方式で製造されるロッドレンズは、ガラス製に比べ圧倒的に生産性が



X1: 芯部の伝送損失

X2: 芯部と鞘部の伝送損失

図-5 光伝送損失の入射角依存性

表-1 多層 POF の層数、NA と伝送帯域

Type	NA	The number of core-layers	Bandwidth [MHz]
A	0.5	1	70
B	0.28	1	240
C	0.28	2	500
D	0.28	3	900

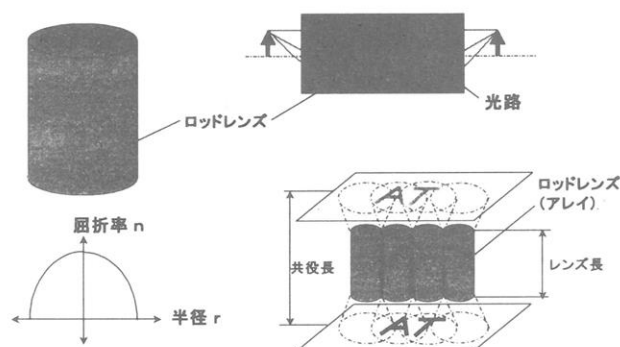


図-6 ロッドレンズの屈折率分布と結像特性

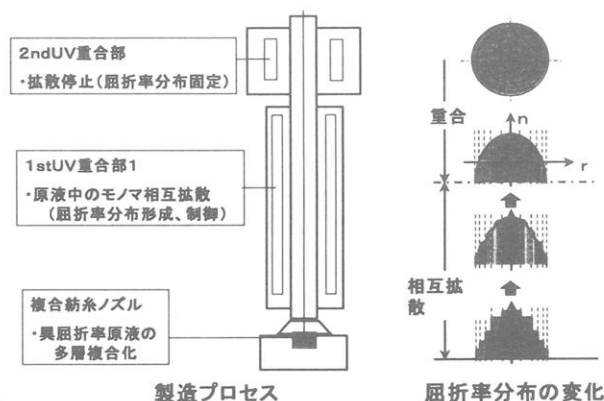


図-7 プラスチックロッドレンズの製造プロセス

高いため、安価なレンズアレイを大量に供給可能であり、比較的要求性能の低い汎用分野では市場をほぼ占有している。今後の最大の技術課題は、ガラス製と同等あるいは凌駕するレンズアレイの高性能化であり、現在、精力的に取り組んでいるところである。

本プラスチックロッドレンズの製造法の特徴を表一2に示しておく。レンズの解像度は図一8に示すような測定原理を用いて評価される。MTFの値が高いほど解像性が高いことになる。表一3に代表的なガラス製と開発初期のプラスチック製レンズアレイのMTF値を示す。開発初期品のMTFは、ガラス製に比べ10%以上低く、解像性に劣る。以下、アレイのレンズ性能に及ぼす要因と検討した改善策について述べる。

2. 2. 1 レンズ径の精密制御

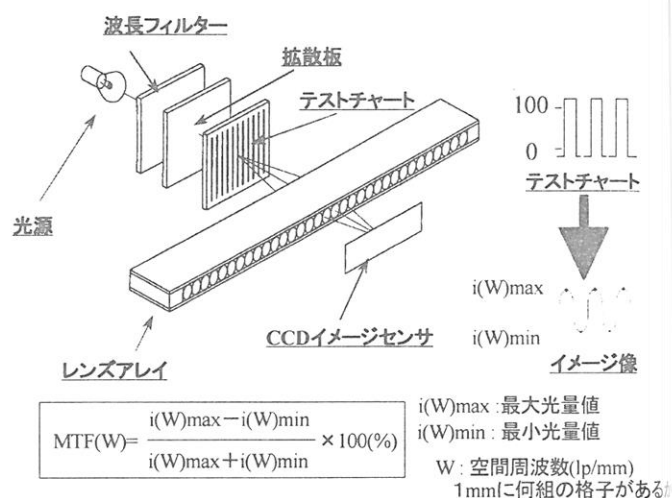
連続的に製造されるロッドレンズは、プロセスの持つ揺らぎを反映したレンズ径変動が存在する。ロッドの長手方向のレンズ径変動を、レンズ径インライン測定装置を用いて測定した結果を時間でフーリエ変換することで、一定の周期で現れるレンズ径の様々な変動因子が把握できる。径変動をモニターした結果をフィードバックしてギアポンプの回転速度を調整するGPC制御システムを開発し、吐出量制御を試みた。結果を図一9に示す。図の下部の曲線が制御後のレンズ径の経時変化であるが、制御前（上部曲線）に比べ径の変動がほぼ完全におさえられているのが判る。

2. 2. 2 レンズ配列の高精度化

本方式で製造されるロッドレンズは光軸が微妙に変動している。アレイ化時に各レンズの光軸の配列が変動するとアレイの解像度(MTF)が低下する。そこで、まず光軸の変動を測定する装置を開発した。図一10に光軸測定装置の構成と測定原理を示す。顕微鏡にセットしたポジションセン

表一2 製造法の特徴

- 大きな屈折率差
ヘスホリマーを中心に高屈折率モノマーと低屈折率モノマーとの組み合わせ
- 屈折率分布形成スピードが高速
層間における低分子量モノマーの層間相互拡散を利用
- 屈折率分布の精密制御
各層の組成物の組成比・各層の層比による屈折率分布制御
- 長期の信頼性

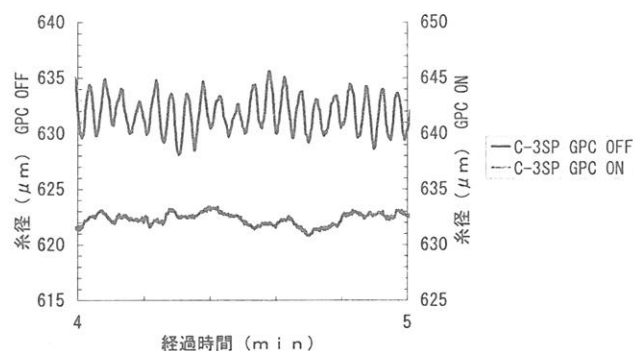


図一8 MTFの定義と測定装置

表一3 ガラス製及び開発初期ロッドレンズの解像度比較

	空間周波数	プラスチック	ガラス製
MTF(%)	4Lp/mm	70	82
	6Lp/mm	64	78
	8Lp/mm	57	70

測定波長 570nm



図一9 吐出量制御とレンズ径変動

サーを用い、X-Y-Zステージ上にセットしたレンズアレイを移動させながら各レンズにHe-Neレーザー光を入射、そのスポット像の光量を測定し強度が最大となる結像点(スポット位置)を読み取る。スポット位置のずれ(dX , dY)からアレイ内に配列させたレンズの光軸の傾きを算出することができる。レンズアレイでは1本のレンズが読み取る視野がレンズ径の数倍の範囲に限定される。従って、MTFに関連する重要因子として、レンズ径の変動に加え、隣接するレンズ間の光軸の配列度を考慮しなければならない。連続製造方式で生産されるレンズの光軸のずれは特定の方向を向いていることから、レンズ径の特定位置を製造時にマークしておくことで配列時に光軸をそろえることが可能となる。このようにして配列制御したアレイの光軸のバラツキ及び隣接するレンズ5本の光軸傾きの平均値を図-11に、光軸バラつきを他社品と比較した結果を図-12に示す。

レンズアレイの解像度向上には、レンズ径の変動や光軸の配列斑を低減するだけでなく、単レンズの屈折率分布を理想的な分布に近づけることも重要である。このためには、複合ノズルの加工精度、光硬化装置の光量・温度制御、光硬化液組成の管理等、様々なプロセス要因のコントロールが重要であることは言うまでもない。これらの因子が屈折率分布に及ぼす影響については、単レンズの屈折率分布や、格子像を用いた結像性能評価等を組み合わせた解析を別途、実施している。現在のターゲットは、解像度1,200dpiの高解像性プリンター用レンズアレイで、既に24Lp/mmでMTFが60%とガラス製と同等レベルのものが得られている。

2. 3画像伝送用プラスチックイメージファイバー

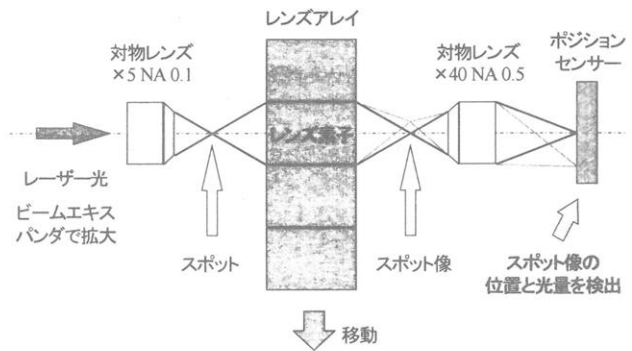


図-10 光軸測定の概要

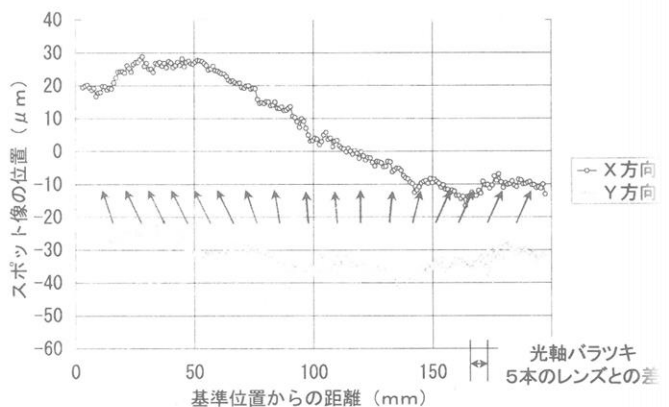


図-11 アレイの光軸バラつき測定結果

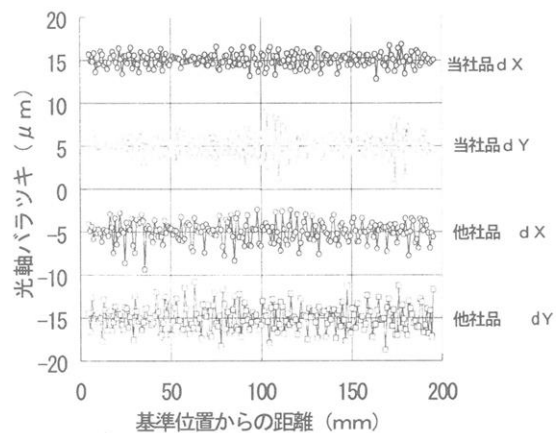


図-12 光軸バラつき（他社品との比較）

光ファイバーを束ねてファイバーバンドルとすることで、デジタル的に画像を伝送するイメージファイバーとしては、ガラス製光ファイバーバンドルの内視鏡への応用例がよく知られている。三菱レイヨン（株）では、プラスチックの優れた加工性を利用して、複合ノズルを用い6,000画素を有するイメージファイバーをワンステップで生産できる技術を開発した。図-13に開発したプラスチックイメージファイバーの断面結像図とその部分拡大図を示す。約1mmのファイバー径の中に約6,000画素のマイクロファイバーが埋め込まれた構造となっている。このような微細加工を可能ならしめる技術のポイントは、複合ノズルの設計・精密加工技術、芯と鞘の材料の選定、生産設備と賦形条件の最適化である。ノウハウもあり詳細は紹介できないが、賦形時の材料中への外部異物の混入防止、押出装置内で発生する樹脂の滞留劣化物の混入防止、賦形時の樹脂の流動特性に関連したファイバー内に残留する成形歪のコントロール等が重要である。

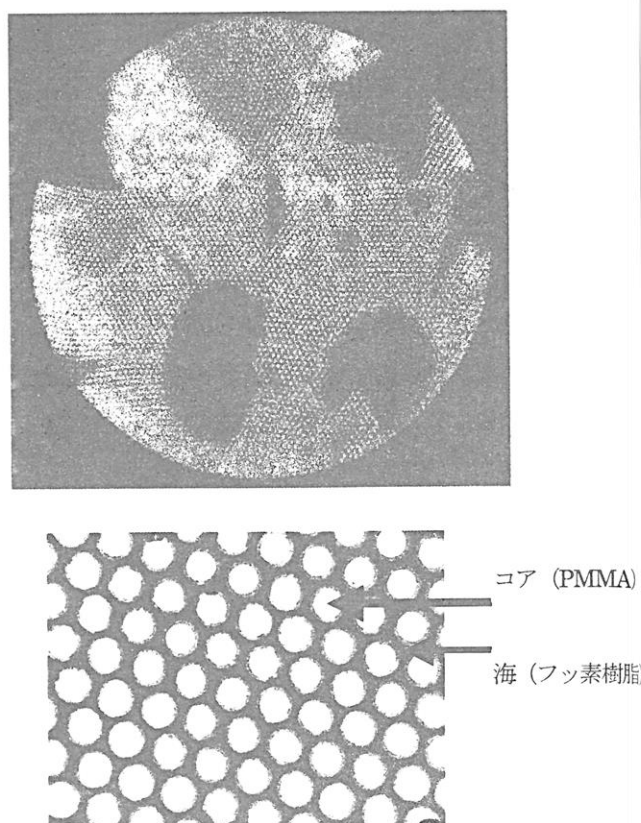


図-13 イメージファイバー断面図とその部分拡大図

3. おわりに

ここでは三菱レイヨン（株）で開発された3種の高分子加工部材の精密加工技術について紹介した。IT社会の進展と共に情報デバイスの機能は、日進月歩高度化が進んでおり、使用する加工部材に求められる性能・精度も益々高度化している。加工技術の高度化には、プロセスの持つ変動因子を高精度かつ的確に評価できるプロセスモニタリングシステムと変動を最小化してゆく為のプロセス技術の絶えざる改良が不可欠である。

汎用高分子素材の生産・加工基地が、低コスト化を求め人件費の安い中国をはじめとしたアジア地域へシフトしてゆく中、国内の高分子産業には今まで以上に次代の担う産業に直結する高付加価値製品への転換が求められている。本稿がこのような技術開発に関心をもたれる人々の一助となれば幸いである。

参考文献

- 1) Y. Koike, T. Ishigure and E. Nihei, J. Lightwave Tech., 13, 1475 (1995).
- 2) K. Irie, Y. Uozu and T. Yoshimura, Proceedings of the 10th International conference on Plastic Optical Fibers, p. 73 (2001).
- 3) Y. Uozu and K. Horie, Appl. Opt., 42, 6342 (2003).
- 4) 魚津吉弘、堀江一之、高分子論文集、61(1)、51 (2004).

リビングラジカル重合による有機・無機複合微粒子の精密合成

大野 工司、高 慶武、辻井 敬亘、福田 猛

Kohji Ohno, Kyoungmoo Koh, Yoshinobu Tsujii, Takeshi Fukuda

京都大学化学研究所

1. はじめに

微粒子に関する研究は、基礎、応用を問わず古くから盛んに行われ、今なお活発な研究分野の一つである。微粒子の高い有用性が認識され、応用技術への展開が期待されるためであり、事実、医療、電子・光学材料など幅広い分野への実用化が進められつつある。既存技術にとどまることなく、新しい微粒子の開発は、微粒子科学の新展開、さらに応用技術の発展につながると予想される。我々は、簡便性・汎用性に優れ、かつ、分子量分布が狭く構造の明確な高分子を合成できるリビングラジカル重合法 (LRP)¹⁾を駆使し、新しい微粒子の開発とその高次構造制御を行ってきた。本稿では、有機・無機複合微粒子に焦点を絞り、最近の研究成果を概説する。

2. 有機・無機複合ナノカプセルの精密合成

物質のカプセル化は、ドラッグデリバリーシステムに代表されるように物質の貯蔵・運搬、また新しい反応場としての応用などが期待できることから興味もたれる。ここでは、物質包摂能を有する高分子ミセルを鋳型とした中空シリカナノ粒子（シリカナノカプセル）の合成について述べる²⁾。

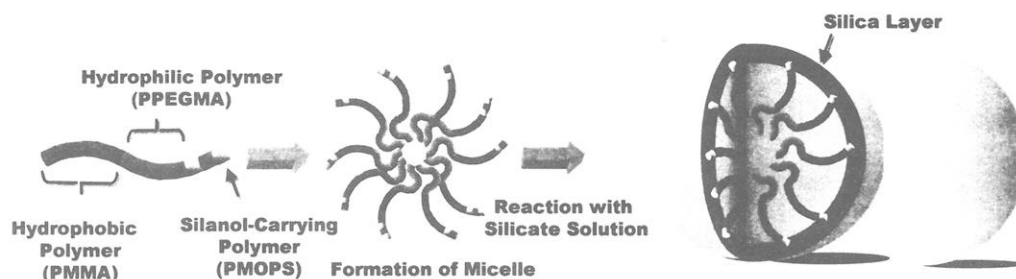


Figure 1. Strategy for the synthesis of an organic/inorganic hybrid nanocapsule.

図1にシリカナノカプセルの合成法を模式的に示す。銅触媒を用いた原始移動ラジカル重合 (ATRP)³⁾により、疎水性部として poly(methyl methacrylate) (PMMA)、親水性部として poly[poly(ethylene glycol) methyl ether methacrylate] (PPEGMA)、その末端に PEGMA と保護したシラノール基を有する methacryloxypropyltrimethoxysilane (MPOS) のランダム共重合体 (poly(PEGMA-*r*-MOPS)) からなる三元両親媒性ブロック共重合体 (PMMA-*b*-PPEGMA-*b*-poly(PEGMA-*r*-MOPS)) を合成した。PMMA、PPEGMA、poly(PEGMA-*r*-MOPS) ブロックの数平均重合度 (DP_n) はそれぞれ 82、28、15、

poly(PEGMA-*r*-MOPS) の組成比は PEGMA:MOPS = 8:7 であった。次に、PMMA-*b*-PPEGMA-*b*-poly(PEGMA-*r*-MOPS)から透析法により直径約 30 nm の高分子ミセルを調製した。このミセルは、疎水性の PMMA ブロックがコアとなり、親水性の PPEGMA ブロックがシェルとなっているため、poly(PEGMA-*r*-MOPS)の MOPS 部分はミセル表面近傍に位置し、そのトリメトキシシリル基は加水分解されシラノール基がミセル表面に存在すると予想される。最後に、得られたミセルと sodium silicate 水溶液を混合することにより、ミセル表面近傍にあるシラノール基を反応点としシリカ層を形成させることを試みた。

図 2 に透析精製後のミセルの透過型電子顕微鏡 (TEM) 写真を示す。直径約 25 nm の黒い球状物が観察され、その大きさは元のミセルサイズにほぼ等しかった。MOPS を持たないブロック共重合体 (PMMA-*b*-PPEGMA) を用い同実験を行ったとき、図 2 にみられる黒い球状物は観察されなかった。このことから、シリカ層がミセル表面のシラノール基を反応点として成長し、

シリカナノカプセルが生成したことがわかる。ナノカプセルの大きさは、ブロック共重合体の分子量により容易に制御できることが判明した。さらに、得られたナノカプセルは極めて安定であることが、蛍光色素内包ミセルを用いた実験により証明された。

反応性物質を内包したナノカプセルを調製し、ナノリアクターとしての応用を現在検討している。また、シリカ表面を各種シランカップリング剤で処理することにより、ナノカプセルへのさらなる機能付与が期待できる。

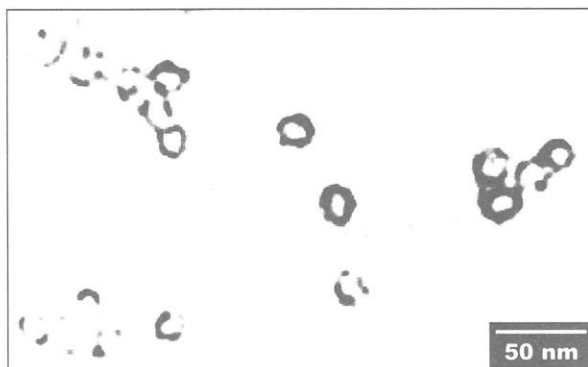


Figure 2. TEM image of the organic/inorganic hybrid nanocapsule.

3. 高密度グラフト膜を有する金ナノ粒子の精密合成と構造制御

我々は LRP 法を表面グラフト重合に応用し、鎖長および鎖長分布の制御された高分子を、従来に比を見ない高密度で固体表面にグラフトすることに世界に先駆けて成功した⁴⁾。ここでは、同法 (表面開始 LRP 法) を用いた高密度グラフト膜を有する金ナノ粒子の合成とその高次構造制御について紹介する⁵⁾。

図 3 に高密度グラフト膜を有する金ナノ粒子の合成法を模式的に示す。11,11'-dithiobis[1-(2-bromo-2-methylpropionyloxy)undecane]とクロロ金酸 (HAuCl₄) を還元剤 (sodium citrate) 存在下で混合し、LRP 法の開始基を表面に有する粒径分布の狭い金ナノ粒子 (平均粒径: 12 nm) を調製した。表面開始 LRP は、重合を制御するための遊離開始剤 (ethyl 2-bromoisobutyrate, 2-(EiB)Br)、MMA、Cu(I)Br、スパールテインおよび開始基を有する金ナノ粒子を混合し脱気下で行った。

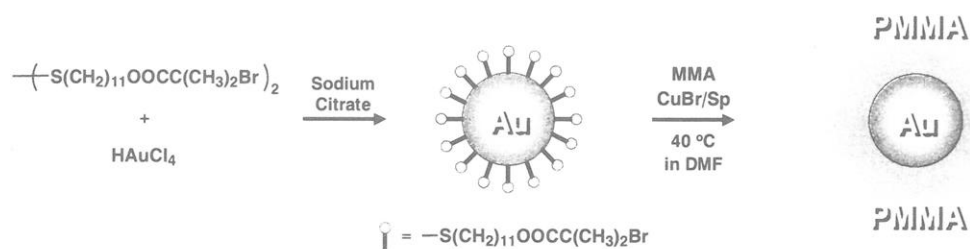


Figure 3. Schematic representation for the synthesis of polymer-coated gold nanoparticle by surface-initiated LRP.

ヨウ素処理により金ナノ粒子表面から切断したグラフトポリマーの数平均分子量 (M_n) は、重合率の増加に伴い大きくなり、分子量分布指数は 1.3 以下であった。グラフト密度は重合時間に依らず約 0.3 chains/nm² と見積もられた。これらの結果は、規制重合の進行と構造の明確な高分子の高密度グラフト化を示すものである。

我々は、高密度グラフト膜を良溶媒中に入れると隣接鎖間の立体反発によりグラフト鎖は表面に垂直な方向にほぼ伸びきった形態をとり、比較的低密度なグラフト膜には認められない特異な力学特性、特に、圧縮に対する強い反発力を示すことを明らかにした⁶⁾。この特性を活かし、微粒子組織体の高次構造制御に取り組んでいる。

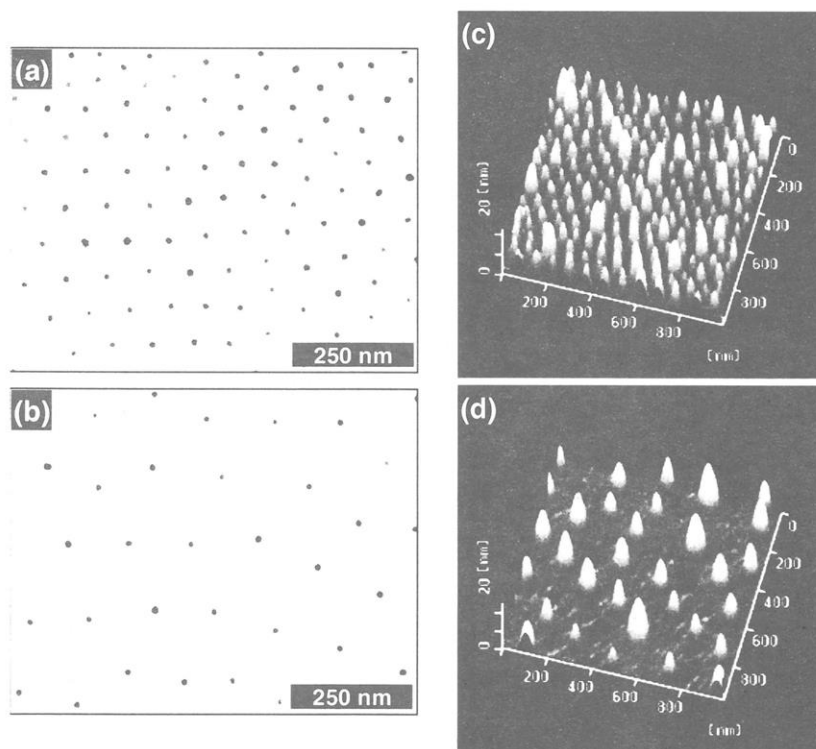


Figure 4. TEM and AFM images of PMMA-coated gold nanoparticles: M_n s of the graft polymers are (a, c) 28000 and (b, d) 62000.

Langmuir-Blodgett 法により上述した PMMA・金ナノ粒子複合体の水面単分子膜を調製し、それを TEM 用グリッドまたはマイカ表面に移しとり TEM および原子間力顕微鏡 (AFM) 観察した結果を図 4 に示す。金ナノ粒子が高分子マトリックス中に規則正しく配列し、粒子間隔はグラフト鎖長の増加に伴い広がっていることがわかる。グラフト鎖の高密度化と狭い鎖長分布を反映し、系全体の粒子間に高密度グラフト膜特有の圧縮反発力が均等に作用する結果、粒子は秩序構造を形成したと考えられる。

LRP 法の汎用性・簡便性を考慮すれば、本系を他の金属および半導体ナノ粒子へ適用できるであろう。また、複合体の単分子膜から高分子マトリックスを選択的に除去することにより、記憶素子およびナノ回路などのデバイス構築に向け展開が期待できる。

4. 高密度グラフト膜を有するシリカ微粒子の配列制御

シリカ微粒子表面からの LRP は既に報告されているものの、分散性の高い高分子・微粒子複合体を合成することが困難であった⁷⁾。我々はシリカ表面への LRP 開始基の導入法および重合法を工夫することにより、極めて分酸性の高い高密度グラフト膜を有するシリカ微粒子の合成に成功した⁸⁾。これをブレイクスルーとして、シリカ微粒子の二次元および三次元配列制御を行った結果について述べる。

高密度グラフト膜を有するシリカ微粒子の二次元平面における秩序構造の構築は、先述の水面単分子膜法を用いた。図 5 に PMMA をグラフトしたシリカ微粒子の水面単分子膜の TEM 写真を示す。微粒子は結晶状に配列し、粒子間距離はグラフト鎖長の増加に伴い大きくなり μm のオーダーにまで達している。poly(butyl methacrylate) (PBMA) をグラフトした微粒子について同様に実験を行った。図 6 に示すように、秩序構造は観察されるものの、粒子間隔は同程度の長さの PMMA をグラフトした微粒子に比べ広がらなかった。比較的水になじみやすい PMMA⁹⁾ が、水面上でより広がった構造をとるためと考えられる。

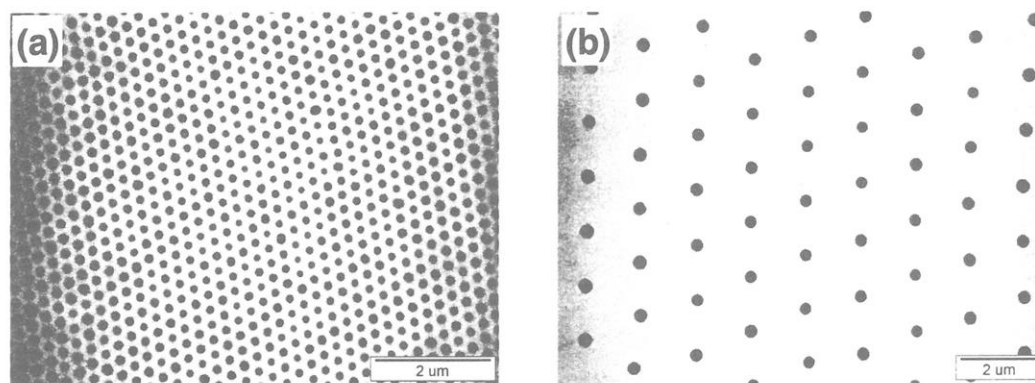


Figure 5. TEM images of the transferred films of PMMA-coated silica particles: The diameter of silica particle core is 130 nm. M_n s of the graft polymers are (a) 139000 ($DP_n = 1390$) and (b) 354000 ($DP_n = 3540$).

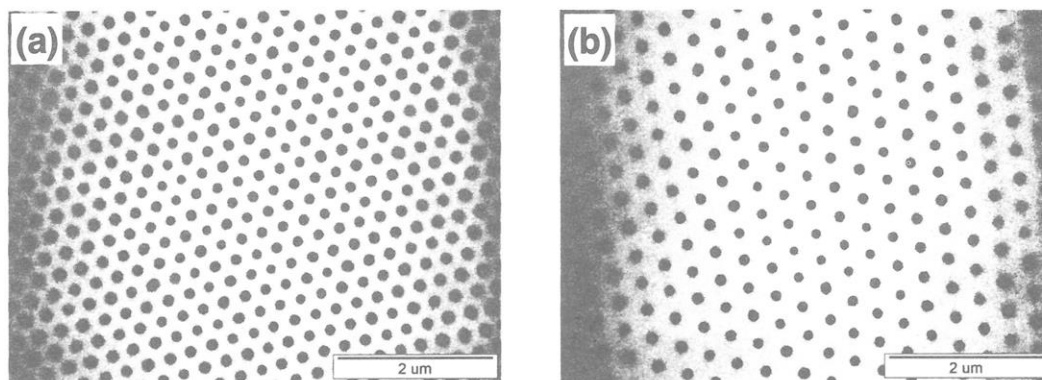


Figure 6. TEM images of the transferred films of PBMA-coated silica particles: The diameter of silica particle core is 130 nm. M_n s of the graft polymers are (a) 208000 ($DP_n = 1460$) and (b) 547000 ($DP_n = 3850$).

我々は、高密度グラフト膜特有の圧縮反発力をドライビングフォースとして、微粒子同士が接するような濃厚溶液に粒子の三次元秩序構造、いわゆる、コロイド結晶が形成するという斬新な提案をした。事実、高密度グラフト膜を有するシリカ微粒子の濃厚分散液が、コロイド結晶の形成を示唆するオパール色を呈することを観測した。また、蛍光色素（ローダミン）を内含したシリカ微粒子表面を高密度グラフト化し、その濃厚分散液の内部を共焦点レーザー स्क্যান蛍光顕微鏡により観察したところ、図7に示す微粒子の規則配列が観察された。

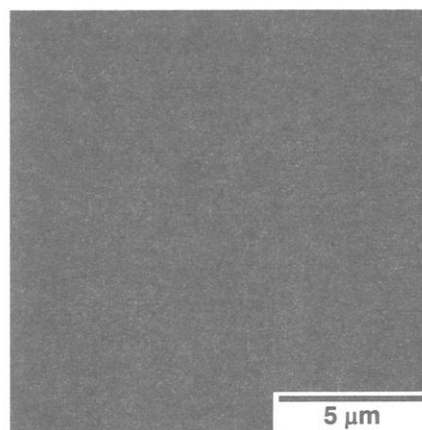


Figure 7. Confocal scanning laser fluorescence micrograph of rhodamine-labeled silica particle coated with PMMA brush: The diameter of silica particle core is 230 nm. M_n of the graft polymer is 256000.

従来、微粒子分散系コロイド結晶は、粒子の表面電荷による長距離の静電反発力によって形成される。一方、本系では、微粒子表面の構造制御により粒子間に力学的な立体反発力を均等に作用させコロイド結晶を形成させており、従来とは全く異なる創製コンセプトを持つ。また、本系の利点として、簡便性（生産性）の高さがあげられる。静電反発力によるコロイド結晶では、媒体として高誘電率溶媒（主に水）を必要とするうえ、系中の十分な脱塩により粒子表面の電気二重層を広げることが必須である。一方、本系では、基本的に溶媒制限がなく、脱塩などの煩雑な処理を必要としない。さらに、グラフト鎖長の制御により粒子間距離を容易に制御できることから、格

子骨格の幅広い設計が可能であることも本系の利点である。

グラフト化微粒子単体およびその組織体の構造・物性科学的解析により、コロイド結晶化のメカニズムを詳細に解明する予定である。また、架橋性高分子をグラフトした微粒子によるコロイド結晶の固定化、高屈折率微粒子（硫化亜鉛微粒子など）への技術適用など実用化を意識した応用研究にも取り組む。

5. おわりに

LRP による材料設計として、有機・無機複合ナノカプセルの合成、ならびに、高密度グラフト膜を有する微粒子の合成および配列制御について紹介した。各節の結びに記したような応用展開が期待できることから、基本材料の設計のみならずデバイス構築に向けて研究を発展・拡張していく予定である。

文献

- 1) (a) *Controlled Radical Polymerization*; Matyjaszewski, K., Ed.; ACS Symp. Ser. 685; American Chemical Society: Washington, DC, 1998. (b) *Controlled/Living Radical Polymerization*; Matyjaszewski, K., Ed.; ACS Symp. Ser. 768; American Chemical Society: Washington, DC, 1998. (c) *Handbook of Radical Polymerization*; Matyjaszewski, K.; Davis, T. P., Eds.; John Wiley & Sons, Hoboken, 2002. (d) Kamigaito, M.; Ando, T.; Sawamoto, M. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3689.
- 2) Koh, K.; Ohno, K.; Tsujii, Y.; Fukuda, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4194.
- 3) Wang, J. S.; Matyjaszewski, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5614.
- 4) (a) Ejaz, M.; Yamamoto, S.; Ohno, K.; Tsujii, Y.; Fukuda, T. *Macromolecules* **1998**, *31*, 5934. (b) Ejaz, M.; Ohno, K.; Tsujii, Y.; Fukuda, T. *Macromolecules* **2000**, *33*, 2870.
- 5) (a) Ohno, K.; Koh, K.; Tsujii, Y.; Fukuda, T. *Macromolecules* **2002**, *35*, 8989. (b) Ohno, K.; Koh, K.; Tsujii, Y.; Fukuda, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2751.
- 6) (a) Yamamoto, S.; Ejaz, M.; Tsujii, Y.; Matsumoto, M.; Fukuda, T. *Macromolecules* **2000**, *33*, 5602. (b) Yamamoto, S.; Ejaz, M.; Tsujii, Y.; Fukuda, T. *Macromolecules* **2000**, *33*, 5608.
- 7) (a) von Werne, T.; Patten, T. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7497. (b) Pyun, J.; Matyjaszewski, M.; Kowalewski, T.; Savin, D.; Patterson, G.; Kickelbick, G.; Huesing, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9445. (c) Perruchot, C.; Khan, M. A.; Kamitsi, A.; Armes, S. P.; von Werne, T.; Patten, T. E. *Langmuir* **2001**, *17*, 4479.
- 8) Ohno, K. et al., to be published.
- 9) Poupinet, D.; Vilanove, R.; Rondelez, F. *Macromolecules* **1989**, *22*, 2491.

遺伝子導入マイクロアレイ

岩田博夫・山内文生・加藤功一

Hiroo Iwata, Fumio Yamauchi, Koichi Kato

京都大学再生医科学研究所

1. 緒言

ヒトゲノムの解読がほぼ終了し、現在、ゲノム研究の焦点は新規遺伝子の機能解析へと移行している [1]。しかしながら、従来の分子生物学の技術では、生細胞内における膨大な数の遺伝子の機能を直接的かつ網羅的に解析することは極めて困難である。数万種類に及ぶ遺伝子の機能解析を効率よく行うためには、細胞内で多種類の遺伝子産物をパラレルに過剰発現させたり、それらの発現をノックダウンするための新しい手法を確立しなければならない [2]。また、再生医工学の分野では、幹細胞の増殖や分化に関わる遺伝子のネットワークを理解し、それを人為的に制御することが重要な課題の一つである。このような研究の共通の鍵は、多種類の候補遺伝子を迅速にスクリーニングできる実験系の確立である。

近年、遺伝子機能のパラレル分析を目指した遺伝子導入マイクロアレイ（トランスフェクショナルアレイ）が開発された [3]。これは、発現プラスミドに組み込んだ cDNA をアレイ状に固定化した基板を作成し、その表面で細胞を培養することによって遺伝子を導入するシステムである。この技術により、細胞レベルでの遺伝子の機能解析を網羅的かつリアルタイムに行うことが可能になるものと期待される。

本研究では、高効率な遺伝子導入が可能なトランスフェクショナルアレイの作製を目的とした。アレイの作成にはアルカンチオール自己組織化単分子膜 (SAM) を利用し、その表面にプラスミド DNA を担持させた。そのようにして作成したアレイ表面上で細胞を培養することで遺伝子の導入を試みた。プラスミド DNA の細胞への取り込みを促進する方法として、DNA とカチオン性脂質の複合体を利用する方法、ならびに電気パルスを与える方法の 2 つを採用した。それらの手法における各種の条件を最適化することで、導入効率の向上を図った。

2. 実験

2.1 カチオン性脂質-プラスミド DNA 複合体を用いた遺伝子導入マイクロアレイ

金の薄膜を片面に蒸着したガラス基板 (25 mm × 25 mm × 1 mm) に 1-hexadecanethiol の SAM を形成させた後、フォトマスクを介して紫外線を照射することにより、直径 1 mm の金の露出したスポットが 25 点配列したパターン化基板を得た [4]。次に、このスポット内に 11-mercaptoundecanoic acid、11-mercapto-1-undecanol、11-amino-1-undecanethiol、あるいは 1-dodecanethiol の SAM を形成させることで、種々の官能基を導入した。これらのスポット内に、カチオン性脂質(LipofectAMINE2000, Invitrogen)-DNA 複合体 (LD) と DNA (DNA) を静電相互作用を利用して交互に吸着させた。マイクロアレイ上の DNA の担持量は蛍光染料 (PicoGreen, Molecular Probes) で DNA を染色した後、そのスポットの蛍光強度から求めた。さらに、DNA 担持マイクロアレイ上でヒト胎児腎臓由来細胞 (HEK293) を培養することで細胞への遺伝子導入を行った。担持させる DNA には緑色蛍光タンパク質をコードするプラスミド DNA (pEGFP-C1, Clontech) を用いた。遺伝子の導入効率は発現した EGFP の蛍光強度を測定することにより評価した。

2.2 DNA 担持基板を用いた細胞へのエレクトロポレーション

金を蒸着したガラス基板に、11-mercaptoundecanoic acid の SAM を形成させた後、この SAM 表面をポリエチレンイミン [PEI ; 重量平均分子量 = 800 (PEI 800)、25,000 (PEI25000)、および 750,000 (PEI750000)] の 1% リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 溶液 (pH 7.4) に暴露し、室温で 30 分間静置した。PEI の吸着した基板表面を水で洗浄した後、乾燥させた。次に、シリコンスパースー (内面積 : $1.3 \times 1.3 \text{ mm}^2$ 、高さ 2 mm) を基板表面に圧着した後、そのスパースー枠内にプラスミド DNA (pEGFP) の 0.05 mg/mL PBS 溶液 (pH 7.4) を満たし、室温で 2 時間放置することで、DNA を静電相互作用によって吸着させた。スパースー内の基板表面を PBS で洗浄し、遊離の DNA を除去した。このようにして得られた DNA 担持基板の表面に、HEK293 細胞の懸濁液を滴下し培養することで、細胞を表面に接着させた。所定時間の後、培地を PBS に交換し、非接着細胞を除去した。次いで、片面に金薄膜を蒸着したガラス基板を第 2 電極としてシリコンスパースーに固定した。細胞へのエレクトロポレーションを

行うため、DNA 担持基板を陰極、他方を陽極として高電圧パルス発生装置 (Electrosquareporator T820, BTX) に接続し、電場強度 50~250 V/cm、パルス幅 10 msec、印加回数 1 回の条件で電気パルスを印加した。パルス印加後、室温で 10 分間放置した後、スぺーサー枠内の PBS を血清含有培地に交換し、細胞培養を継続した。エレクトロポレーションから 48 時間後に蛍光顕微鏡を用いて EGFP の蛍光を観察した。その後、基板表面上の細胞をトリプシン処理により回収し、トリパンブルー色素排除法により生細胞数を求めた。全生細胞に対する EGFP 陽性細胞の割合を遺伝子導入効率として算出した。また、細胞生存率は、電気パルスを印加しなかった場合を 100% として、それぞれの印加条件における生細胞数から算出した。初代細胞への遺伝子導入試験には、ラット胎児海馬由来神経細胞を用いた。この場合、エレクトロポレーションの条件は、電場強度 125 V/cm、パルス幅 10 msec、印加回数 1 回とした。

アレイ状に DNA を担持させるため、2. 1 で述べた方法と同様にしてマイクロパターン化 SAM 基板を作成した。スポット内には 11-mercaptoundecanoic acid の SAM を形成させた。カルボキシル基を表面にもつスポット上に PEI、DNA の順に吸着させた後、その表面上で HEK293 細胞の培養を行い、上記の方法に従ってエレクトロポレーションを行った。

3. 結果と考察

トランスフェクショナルアレイシステムの概略図を図 1 に示す。DNA を基板表面に担持させ、その表面上で培養された細胞群へ遺伝子を導入する。基板表面への DNA の担持は、カチオン性物質と DNA との静電相互作用により交互吸着させることで行った(図 2)。

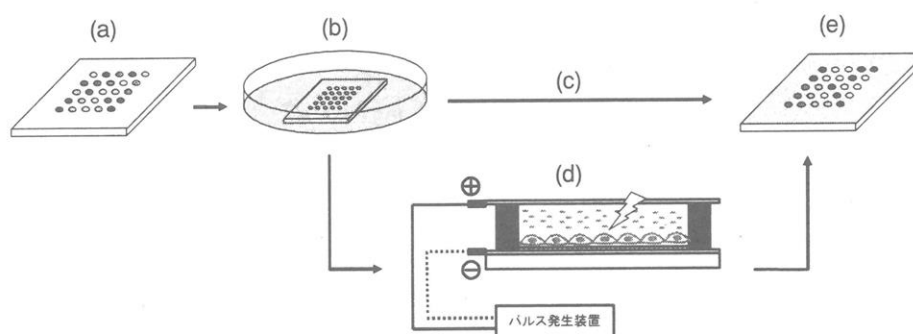


図1 トランスフェクショナルアレイシステムの概略図。(a) プラスミドDNAをアレイ状に配置。(b) マイクロアレイ上で細胞培養。(c) カチオン性脂質-DNA複合体による細胞へのプラスミドDNAの導入。(d) エレクトロポレーションによる細胞へのプラスミドDNAの導入。(e) 遺伝子を発現した細胞マイクロアレイ。

3.1 カチオン性脂質-プラスミド DNA 複合体を用いた遺伝子導入マイクロアレイ

DNA 担持表面上で培養された細胞へ効率よく遺伝子を導入するためには、図 1 に示したように導入活性を保った状態で DNA を担持し、さらに、細胞との接触の後、基板表面から DNA が遊離し、細胞に取り込まれる必要がある。そこで本研究では、図 2

に示したように陽性荷電をもつカチオン性脂質-DNA 複合体(LD)および陰性荷電をもつ DNA を静電相互作用により交互吸着させることによってパターン化 SAM 表面に担持させた。図 3 に示すように、表面への DNA の担持量は吸着サイクル数を増やすことで増加し、 $0.1\sim 0.6\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。

DNA を担持させたマイクロアレイ上で HEK293 細胞を培養し、遺伝子導入を行った。図 4 に、細胞播種から 72 時間後の蛍光顕微鏡写真を示す。DNA の担持された部位に限局して EGFP の発現がみられ、さらに、その蛍光強度は吸着サイクル数の増加とともに上昇した。これらの結果より、遺伝子導入効率は表面に担持された DNA 量に強く依存することがわかった。最も高い導入効率を示したのは、COOH 基を有する

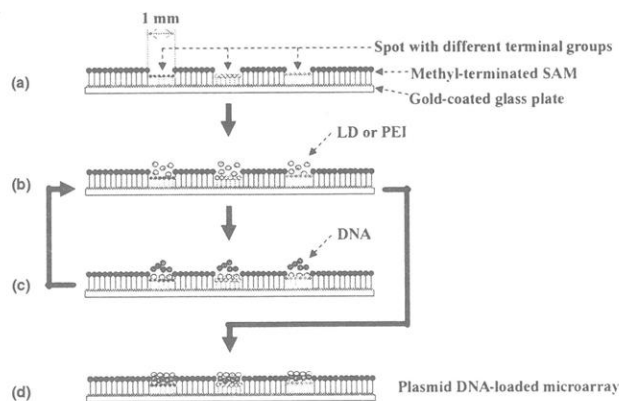


図2 交互吸着法によるプラスミドDNAマイクロアレイの作製。(a)異なる官能基をもつ直径1 mmのスポットが配列したマイクロパターン化SAM。(b) カチオン性脂質-DNA複合体 (LD) 溶液、もしくはポリエチレンジアミン (PEI) 溶液をスポットティング。(c) プラスミドDNA溶液をスポットティング。(b)と(c)を繰り返すことでプラスミドDNAを担持させた。

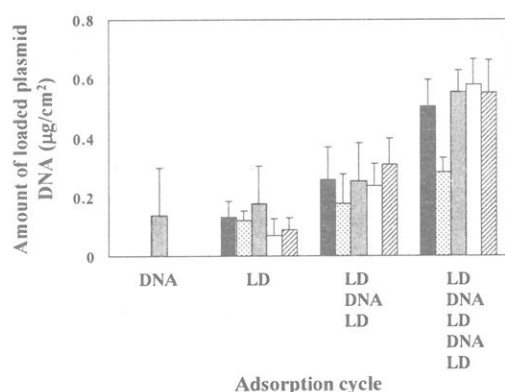


図3 マイクロアレイ表面に担持されたプラスミドDNA量。スポット内に形成させたSAMの末端基: ■ COOH, ▨ OH, ■ NH₂, □ CH₃, ▩ SAMなし(金が露出)。

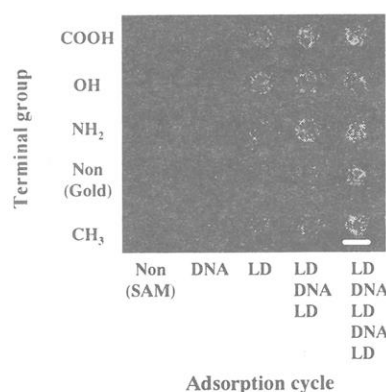


図4 遺伝子マイクロアレイ上で培養されたHEK293による緑色蛍光タンパク (EGFP) の発現。HEK293細胞をプラスミドDNA担持アレイ上で72時間培養した後、蛍光顕微鏡によって観察した。スケールバー = 1 mm

SAM スポットに LD-DNA-LD-DNA-LD の順で吸着させた場合であり、EGFP 陽性細胞率は 85%であった。

以上のように、交互吸着法を用いることによってカチオン性脂質-DNA 複合体を、細胞への導入活性を損なうことなく基板表面に担持させることができた。さらに、パターン化 SAM を利用することで、DNA 担持スポット上の細胞に局限して遺伝子を導入することが可能であった。

3. 2 DNA 担持基板を用いた細胞へのエレクトロポレーション

DNA 担持基板上の細胞へ遺伝子を導入する第 2 の方法として、エレクトロポレーションを試みた。図 5A にエレクトロポレーションから 48 時間後の HEK293 細胞の蛍光顕微鏡像を示す。電場強度 75 V/cm、パルス幅 10 msec、パルス印加回数 1 回の条件において、基板表面上の細胞は障害を受けることなく EGFP を発現した。EGFP 陽性細胞率は 90%であった。一方、電気パルスを加えない場合には EGFP の発現はみられなかった (図 5B)。これらの結果は、電気パルスを与えることで細胞膜に穿孔が形成され、DNA が取り込まれたことを示唆している。また、一般に外来遺伝子の導入が困難とされているラット海馬由来初代神経細胞の DNA 担持基板を用いたエレクトロポレーション法により、約 25%の効率で遺伝子導入が可能であった (図 5C)。従来のリポフェクション法やエレクトロポレーション法 (DNA を含む細胞懸濁液に電気パルスを印加する方法) と比較して、導入効率に大きな差は認められなかったが、細胞への障害は本システムの場合のほうが軽微であった。一般に、初代細胞への遺伝子導入は難しいとされているが [5]、基板作成法および印加条件の最適化によって、これらの細胞への遺伝子導入の効率をさらに向上させることが今後の課題である。

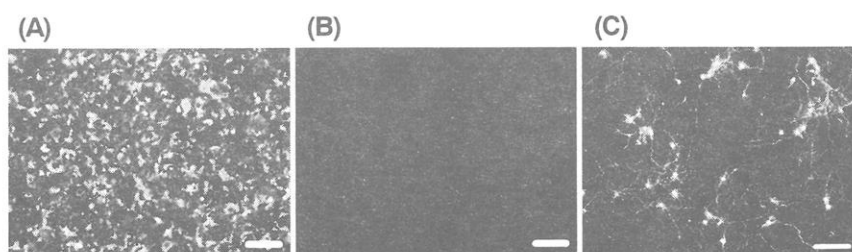


図5 プラスミドDNA (緑色蛍光タンパク遺伝子) 担持基板上でエレクトロポレーションされたHEK293細胞および初代神経細胞の蛍光顕微鏡像。基板の作成にはPEI800を用いた。(A) HEK293細胞, 電気パルス印加あり (電場強度: 75 V/cm), (B) HEK293細胞, 電気パルス印加なし, (C) 初代神経細胞, (電場強度: 125 V/cm)。スケールバー= 200 μ m

次に、遺伝子導入効率に及ぼす電場強度の影響について検討した。その結果を図6に示す。遺伝子導入効率は電場強度の増大とともに上昇し、100 V/cm で最大となった。一方、細胞生存率は電場強度が大きくなるにつれて低下した。これらの結果より、HEK293 に対する最適な電場強度は 75 V/cm と決定した。

図7には、電気パルスの印加によって各種 PEI を用いて作製した DNA 担持基板から遊離した DNA 量と遺伝子導入効率の関係を示す。図からわかるように、遺伝子導入効率と DNA 遊離量との間に正の相関が認められた。すなわち、PEI の分子量が小さくなるにつれて、DNA 遊離量は増大し、その結果、遺伝子導入効率は上昇した。PEI800 を用いた場合に最も高い遺伝子導入効率を示した。

次に、細胞播種後の遺伝子導入時期を制御することが可能であるかを調べるため、種々の期間にわたって細胞を培養し、その後に、電気パルス进行印加した。図8に、パルス印加までの培養時間と遺伝子導入効率の関係を示す。細胞播種から 12~72 時間後に電気パルスを印加した場合、遺伝子導入効率は高く (60~80%) 維持された。しかし、培養期間が 120 時間以上長くなると、遺伝子導入効率の低下が顕著であった。これらの結果より、DNA 担持基板を用いたエレクトロポレーション法では、細胞播種から 3 日間程度であれば、遺伝子導入時期を任意に選択できることがわかった。また、120 時間以降にみられた導入効率の低下は、担持された DNA がヌクレアーゼに

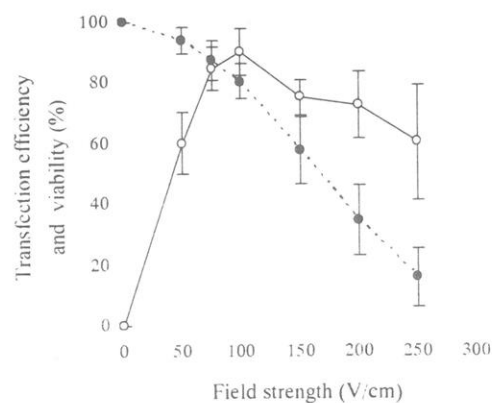


図6 遺伝子導入効率(○)と細胞生存率(●)に対する電場強度の影響。エレクトロポレーションから48時間後の緑色蛍光タンパク(EGFP)陽性細胞率および生細胞率を示す。基板の作成にはPEI800を用いた。

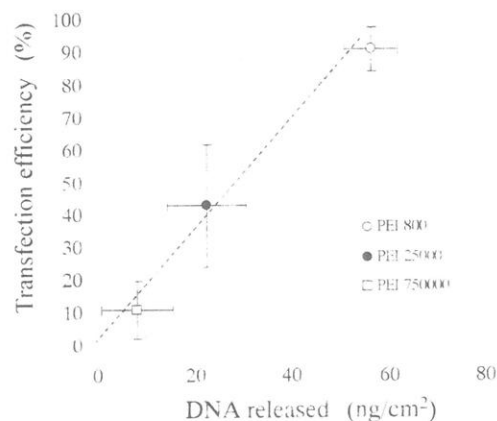


図7 遺伝子導入効率とプラスミドDNA遊離量の関係。分子量の異なるPEIを用いて作製した基板上でエレクトロポレーションを行った。パルス条件: 75 V/cm, 10 msec, 1 pulse。プラスミドDNA遊離量の測定には細胞を播種しない基板を用い、電気パルスの印加によって液相中に遊離したプラスミドDNAを蛍光色素(PicoGreen)を用いて定量した。

よって分解されることが原因であると考えられる [6]。

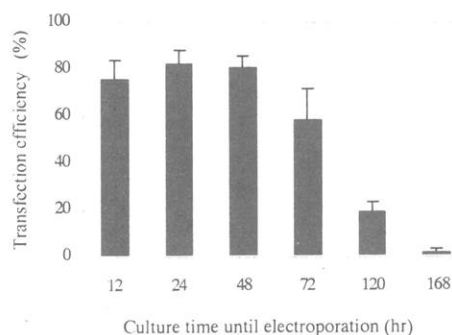


図8 遺伝子導入効率に対する電気パルス印加するまでの細胞培養期間の影響。電気パルス印加(電場強度:75 V/cm)から48時間後に遺伝子導入効率を評価した。基板の作成にはPEI800を用いた。

図9には、アレイ状にDNAを担持させた基板を用いてエレクトロポレーションを行った例を示す。DNAが担持された部位においてのみEGFPの発現が観察され、2次元細胞集団内の特定の部位に限定した遺伝子導入が可能であることがわかる。

細胞への遺伝子導入において、ウイルスベクターによる遺伝子導入法、カチオン性脂質を用いたリポフェクション法、エレクトロポレーション法などが汎用されている [7-9]。ところが、遺伝子導入後の細胞障害や導入遺伝子のサイズの制約、また初代細胞では遺伝子導入効率が極端に低いこと

など、種々の問題を抱えている。さらに、従来の遺伝子導入法のほとんどは、遺伝子導入の時期、部位を同時に限定することは困難である。本研究で試みたDNA担持基板上でのエレクトロポレーションでは、細胞に大きな障害を与えることなく高効率で遺伝子導入が可能であった。さらに、パターン化表面との組み合わせによって遺伝子導入の部位を限定できること、電気パルスの印加が遺伝子導入のトリガーであるため、導入のタイミングを任意に制御できることが大きな利点である。

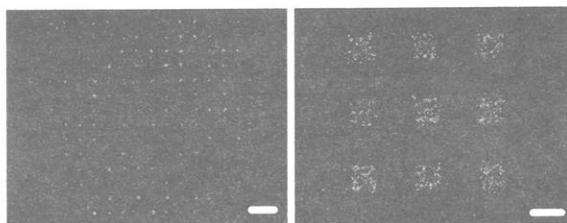


図9 マイクロパターン状にプラスミドDNAを担持させた基板上におけるHEK293細胞へのエレクトロポレーション(電場強度:75 V/cm)。いずれの基板もPEI800を用いて作製した。スケールバー=1 mm

4. 結語

本研究の結果、2次元細胞集団内の微少な部位に限定して遺伝子導入を行うことのできる手法が確立できた。遺伝子導入の部位の限定にはパターン化SAMが有用であった。第一の方法では、カチオン性脂質とDNAとの交互吸着法を利用し、第2の方法では、カチオン性高分子とDNAとのポリイオンコンプレックス形成ならびに高電

圧パルスの印加を組み合わせた。種々の条件を検討することで、基板への DNA の担持、基板からの DNA の遊離、細胞への DNA の取り込みを最適化することができた。その結果、株化細胞 (HEK293) においては高い遺伝子導入効率を達成することができた。しかし、初代細胞への導入にはさらなる改良が必要と思われた。また、遺伝子導入効率は表面からの DNA の遊離量に強く依存することが示された。さらに、電気パルスを用いた第 2 の方法では、遺伝子導入の時期を任意に設定することも可能であった。

5. 参考文献

- [1] A.C. Martin, D.G. Drubin, *Curr Opin Cell Biol* 15 (2003) 6-13.
- [2] R.Z. Wu, S.N. Bailey, D.M. Sabatini, *Trends Cell Biol* 12 (2002) 485-488.
- [3] J. Ziauddin, D.M. Sabatini, *Nature* 411 (2001) 107-110.
- [4] M.J. Tarlov, D.R.F. Burgess, G. Gillen, *J Am Chem Soc* 115 (1993) 5305-5306.
- [5] P. Washbourne, A.K. McAllister, *Curr Opin Neurobiol* 12 (2002) 566-573.
- [6] D. Lechardeur, K.J. Sohn, M. Haardt, P.B. Joshi, M. Monck, R.W. Graham, B. Beatty, J. Squire, H. O'Brodivich, G.L. Lukacs, *Gene Ther* 6 (1999) 482-497.
- [7] P.L. Felgner, T.R. Gadek, M. Holm, R. Roman, W. Chan, M. Wenz, J.P. Northrop, G.M. Ringold, M. Danielsen, *Proc Natl Acad Sci USA* 84 (1987) 7413-7417.
- [8] E. Neumann, M. Schaefer-Ridder, Y. Wang, P.H. Hofschneider, *EMBO J* 1(1982) 841-845.
- [9] M.T. Lotze, T.A. Kost, *Cancer Gene Ther* 9 (2002) 692-699.

種々の高分子基材上でのヒト脂肪前駆細胞の増殖と分化

井上幸子・安田佳織・高本智紹・田畑泰彦

Sachiko Inoue・Kaori Yasuda・Tomoaki Takamoto・Yasuhiko Tabata

京都大学再生医科学研究所 生体組織工学研究部門 生体材料学分野

1. はじめに

増殖・分化の能力の高い細胞を活用することによって、欠損した生体組織の再生、および荒廃した臓器機能の代替を行う治療である再生医療に期待が寄せられている。その基本アイデアは、細胞に増殖・分化しやすい環境(場)を与え、細胞による生体組織の再生を誘導することである。この再生誘導の場を与えるための材料、技術、方法論は、細胞自身の研究とともに、再生医療の実現には重要であると考えられている¹⁾。例えば、生体組織の欠損部に増殖・分化の能力が高い細胞を与えても再生誘導がうまく起こらない場合には、細胞とその増殖・分化を促す足場材料やタンパク質などを組み合わせて再生を誘導する方法がある。

増殖・分化の能力が高い細胞の代表例が胚性幹細胞(embryonic stem cells, ES細胞)であり、特定条件の培養により神経、心筋、肝、血管内皮、および骨などの細胞に分化することが報告されている^{2, 3)}。しかしながら、ES細胞の臨床への利用は、常に生命倫理的な問題がつきまとう。一方、成人の組織、臓器中に、ES細胞に匹敵するような能力をもつ細胞(体性幹細胞)の存在することが明らかとなってきた。例えば、骨髄中に存在する骨髄未分化間葉系幹細胞(mesenchymal stem cells, MSC)が、骨、軟骨、筋肉、脂肪、および神経細胞に分化することが知られている^{4, 5)}。また、脂肪組織の中に存在し、これまで脂肪前駆細胞と呼ばれてきた細胞もMSCのような分化能力をもつことが報告されている⁶⁻⁸⁾。もし、これらの細胞がES細胞の代替として、利用できる性質をもっているならば、細胞は患者から採取可能であり、ES細胞とは異なり、その医療応用への倫理的なハードルはきわめて低いと考えられている。しかしながら、ES細胞に比べると、体性幹細胞は増殖しにくく、患者から採取できる細胞の数にも限界があるため、臨床使用のためには、細胞の効率のよい増殖方法を研究開発する必要がある。

体内では、血液細胞を除くすべての細胞はタンパク質、多糖からなる細胞外マトリックスとよばれる天然の足場に付着、相互作用しながら、生存、機能している。そこで、再生医療においても、天然の足場がない場合、再生誘導を期待するのであれば、細胞とともに天然の足場に代わる足場材料を与えることは必須である。この観点から、細胞の足場材料との相互作用を調べることは、天然の足場材料の代わりとなる足場材料のデザインと創造のために

重要である^{9,10)}。しかしながら、この重要性にもかかわらず、これまでに幹細胞と足場材料との相互作用に関する系統的な研究はほとんどないのが現状であった。まず、どのような性質の足場材料がこの目的に合致するのか、3次元構造の足場への細胞の播種方法をどのようにすればよいか、効率のよい培養方法とはどのようなのかなど、幹細胞の足場材料として、研究しておかなければならない課題は多い¹¹⁾。

本研究では、体性幹細胞として脂肪前駆細胞と MSC を取り上げ、種々の表面性状をもつ材料表面上でのそれらの細胞の増殖・分化を調べた。次に、3次元足場材料として、ポリエチレンテレフタレート(PET)不織布を選び、不織布への脂肪前駆細胞を播種方法および培養方法について検討を加えた。

2. 実験

脂肪前駆細胞の単離と培養

患者の同意を得て乳癌切除時に採取されたヒト脂肪組織(5 ml)をハサミで細切した後、2 mg/ml のコラゲナーゼ S1(新田ゼラチン株式会社から供与)水溶液で 37℃、15 分間処理することによって組織を消化分解した。組織消化物をナイロンメッシュ(200 μm の孔)にて濾別し、遠心分離(4℃、1,000 rpm、5 分)することによって、ヒト脂肪前駆細胞を含む細胞画分を得た。細胞は仔牛胎児血清(FCS)を 10vol%含む Medium199 培養液にて 37℃、95%空気、5%CO₂ の条件下で培養し、増殖させた。0.25%トリプシン、7 μM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)水溶液を用いて脂肪前駆細胞を脱着、回収した⁸⁾。

MSC の単離と培養

F344 ラット(オス、3 週齢)の大腿骨、頸骨の骨髄を、1 ml のリン酸緩衝生理食塩水液(PBS)にて洗い出した。これを 5 ml の 10vol%FCS を含む Minimum Essential Medium Alpha Medium 培養液にて培養し、接着した細胞を MSC とした。増殖した MSC は脂肪前駆細胞と同様に脱着、回収した¹²⁾。

2次元の足場材料上での細胞の増殖と分化

足場材料として、ガラス、高分子フィルム(Polyacrylamide-graft PET、Poly(acrylic acid)-grafted PET、Cellulose、Poly(vinyl alcohol)、Nylon6,6、Poly(ethylene terephthalate)、Lactic acid- ϵ caprolactone copolymer、Polypropylene、Silicone、Poly(tetrafluoroethylene-co-hexafluoropropylene)、および Polytetrafluoroethylene)、細胞培養用ディッシュ、および種々のタンパク質(I 型コラーゲン、IV 型コラーゲン、ゼラチン、およ

び塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF))をコーティングした細胞培養用ディッシュを用いた。これらの足場材料の表面性状は水に対する接触角を測定することにより評価した。足場材料に脂肪前駆細胞を 1×10^4 cells/cm² で、MSC を 1×10^5 cells/cm² で播種した。所定の時間、培養した後、DNA assay にて接着した細胞の数を測定した¹³⁾。細胞の骨細胞への分化は以下のように調べた。足場材料に脂肪前駆細胞を 3×10^4 cells/cm² で、MSC を 1×10^4 cells/cm² で播種した。10 nM dexamethasone、10 mM β -glycerophosphate、および 28 μ M L-ascorbic acid を含む骨分化培養液で細胞を培養し、骨細胞への分化を誘導した。細胞内のアルカリホスファターゼ(ALP)活性を測定することで骨分化度を評価した。

3 次元足場材料上での細胞の増殖と分化

足場材料として、繊維径の異なる(2.0、4.4、9.0、12.0、22.0、および 42.0 μ m、空隙率 94%)PET 不織布を用いた。培養用スピッツ管を用いて 1×10^6 cells/ml の脂肪前駆細胞の懸濁液 500 μ l 中に PET 不織布を浸し、静置(静置法、static method)あるいは 300 rpm の回転数でスピッツ管を振とう(振とう法、agitated method)させた状態で細胞を 6 時間培養した。その後、接着した細胞数を DNA assay にて測定した。不織布内での接着細胞を観察するために不織布の断面のパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン-エオジンで細胞を染色した。不織布の表面付近および内部に接着した細胞を数え、その接着細胞数の比を算出した。次に、繊維径 22 μ m の PET 不織布に振とう法で脂肪前駆細胞を播種した。その後、培養液を静置(静置法、static method)、培養液を 50 rpm で攪拌(旋回法、stirred method)、あるいは 50 rpm でスピッツ管を振とう(振とう法、agitated method)した状態で、細胞を培養した。培養開始直後、1、および 3 週間後に、不織布の表面付近と内部における増殖細胞の数を算出した。同様の実験を骨分化誘導培養液あるいは通常の増殖培養液を用いて、静置、旋回、および振とうの 3 つの培養方法により行った。培養 3 週間後の細胞の骨分化度を ALP 活性から評価した。

3. 結果

図 1 に、水に対する接触角の異なる種々の足場材料へ接着した脂肪前駆細胞および MSC の数を示す。脂肪前駆細胞と MSC のいずれにおいても、タンパク質をコーティングした足場材料上での接着細胞数は、他の足場に比べて高くなった。ガラスおよび高分子フィルムにおいては、接触角が 70~80° 付近で、接着細胞数が極大を示した。図 2 は、異なる足場材料上における細胞の骨分化誘導を行った結果を示す。脂肪前駆細胞および MSC のそれぞれの ALP 活性と細胞数はよい相関性を示した。このことは、足場材料の表面

性状に関係なく、細胞あたりの骨分化誘導レベルは、ほぼ同じであったことを示している。

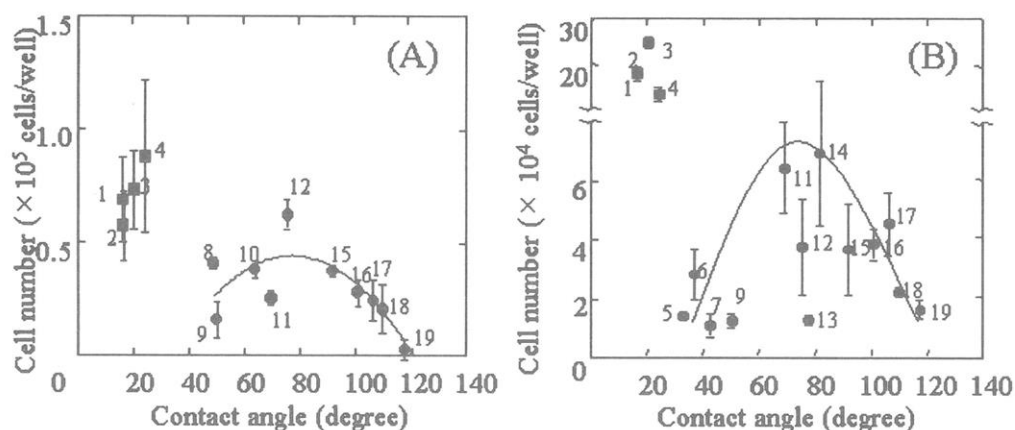


Figure 1. Proliferation of preadipocytes (A) and MSC (B) on various substrates for 1 day or 60 min.

1. Collagen type IV-coated culture plate, 2. bFGF(basic fibroblast growth factor)-coated culture plate, 3. Gelatin-coated culture plate, 4. Collagen type I-coated culture plate, 5. Polyacrylamide-graft PET, 6. Poly(acrylic acid)-grafted PET, 7. Cellulose, 8. Glass, 9. Poly(vinyl alcohol), 10. 24-well multiwell culture plate, 11. Nylon 6,6, 12. Poly(ethylene terephthalate), 14. Lactic acid- ϵ -caprolactone copolymer, 15. Polypropylene, 16. Polyethylene, 17. Silicone 18. Poly(tetrafluoroethylene-co-hexafluoropropylene), and 19. Polytetrafluoroethylene

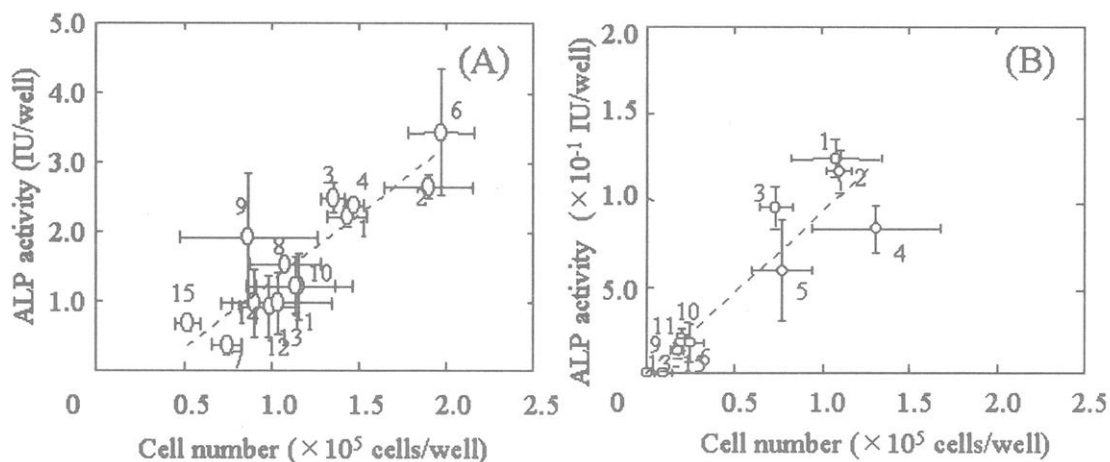


Figure 2. ALP activity of preadipocytes (A) and MSC (B) cultured on various substrates in the osteogenic differentiation medium for 1 or 2 weeks.

1. Collagen type IV-coated culture plate, 2. bFGF(basic fibroblast growth factor)-coated culture plate, 3. Gelatin-coated culture plate, 4. Collagen type I-coated culture plate, 5. Cellulose, 6. Glass, 7. Poly(vinyl alcohol), 8. 24-well multiwell culture plate, 9. Nylon 6,6, 10. Poly(ethylene terephthalate), 11. Polypropylene, 12. Polyethylene, 13. Silicone, 14. Poly(tetrafluoroethylene-co-hexafluoropropylene), and 15. Polytetrafluoroethylene

図3は異なる繊維径をもつPET不織布内に接着した細胞数と接着細胞の分布とを調べた結果である。繊維径に関係なく、静置法に比較して、振とう法では、接着した細胞数が多くなった。また、接着細胞数は繊維径に依存し、繊維径 22 μm の不織布において、最も接着細胞数が高くなった。接着細胞の分布に関しては、振とう法を用いた場合に、細胞数比が1に近くなり、このことは、不織布内に均一に細胞が接着していることを示している。これに比べて、静置法では、内部における接着細胞数が少ない傾向が見られ、繊維径が 2.0、4.4 μm の場合には、ほとんど細胞が不織布内部に入っていないことがわかった。図4は、不織布内での脂肪前駆細胞の増殖の時間依存性を示す。静置、振とう法と異なり旋回法では、不織布の表面付近だけでなく内部でも細胞は増殖した。図5は、静置、旋回、振とう法により、異なる繊維径をもつ不織布内で培養した脂肪前駆細胞の骨分化評価の結果である。静置法では、他の培養法に比べて、ALP 活性は増加していた。

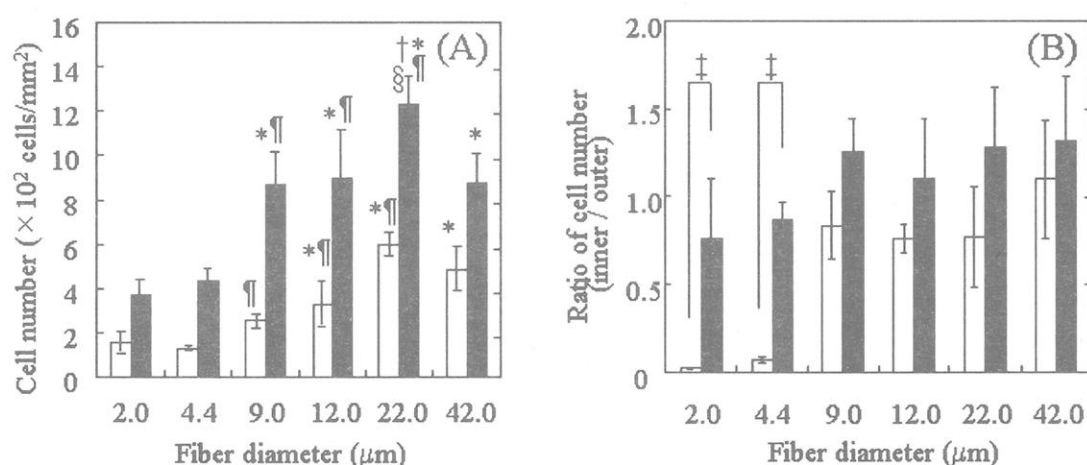


Figure 3. The number (A) and distribution (B) of preadipocytes attached in non-woven fabrics prepared from the PET fiber of various diameters 6 hr after cell seeding with the static (□) and agitated methods (■).

*, $p < 0.05$; significant against the cells attached to non-woven fabrics with a fiber diameter of 2.0 μm at the corresponding seeding method. ¶, $p < 0.05$; significant against the cells attached to non-woven fabrics with a fiber diameter of 4.0 μm at the corresponding seeding method. †, $p < 0.05$; significant against the cells attached to non-woven fabrics with a fiber diameter of 9.0 μm at the corresponding seeding method. §, $p < 0.05$; significant against the cells attached to non-woven fabrics with a fiber diameter of 42.0 μm at the corresponding seeding method. ‡, $p < 0.05$; significant between two values indicated.

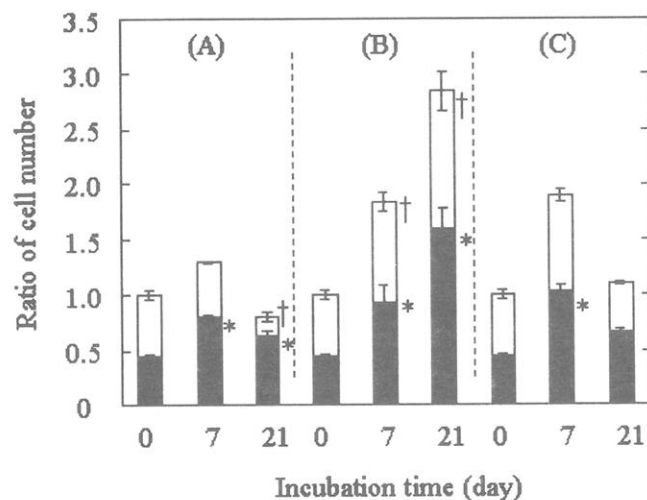


Figure 4. Time course of cell distribution in non-woven fabrics prepared from the PET fiber with a diameter of $22.0\ \mu\text{m}$ 6 hr after seeding and further cultivation for during 21 days by the static (A), stirred (B), and agitated methods (C). The total number of cells proliferated is normalized by that of cells initially attached.

*, $p < 0.05$; significant against the number of cells initially attached in the outer portion.

†, $p < 0.05$; significant against the number of cells initially attached inner portion.

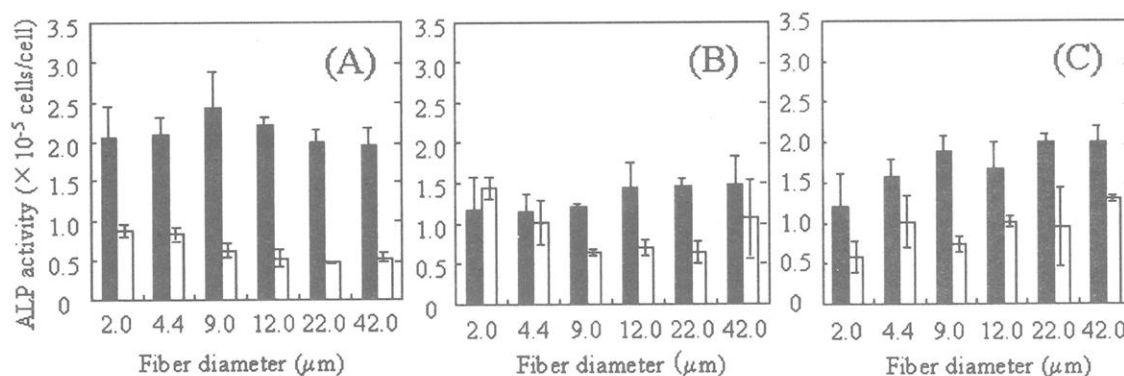


Figure 5. ALP activity of preadipocytes cultured in non-woven fabrics prepared from the PET fiber with various diameters for 3 weeks in the normal (□) and bone differentiation medium (■) by the static (A), stirred (B), and agitated method (C).

4. 考察

ガラスおよび高分子フィルム上での脂肪前駆細胞や MSC の接着は足場材料の接触角に依存していた。これらの細胞接着の材料接触角依存性は、これまでに報告されている線維芽細胞の結果と同じであった¹⁴⁾。すでに、I 型コラーゲンをコーティングしたあるいはコーティングしていない細胞培養用ディッシュ上で、MSC の骨細胞への分化を調べたところ、細胞の足場材料の種類が 1 細胞あたり ALP 活性に影響を与えないという報告がある¹⁵⁾。今回の骨分化実験においても、1 細胞あたりの ALP 活性には違いが認められ

なかった。足場材料の表面性状は骨細胞への分化に影響を与えないのではと考えられる。

細胞の接着が細胞の播種方法によって異なることがわかった。振とう法では、細胞懸濁液が振とうされることで細胞と不織布繊維との衝突回数が増え、その結果、接着細胞数が多くなったと考えられる。また、繊維径が接着細胞数に影響を与えた。繊維径の小さな場合には、接着細胞の形態は球状で小さく縮んだ形であった(結果は省略)。繊維が細いと細胞が接着できる面積が小さくなり、細胞が接着しにくくなったことが原因として考えられる。繊維径が 22 μm の不織布内で細胞の接着数が最も高くなった。今回の実験は不織布の密度をそろえて実験を行っているため、繊維径が大きくなるにしたがって、繊維間の空間は大きくなるが、表面積は小さくなる。これらの要素のバランスの結果、接着細胞数が最大となる繊維径が存在したと考えられる。骨分化実験では、培養方法による ALP 活性に違いがあった。一般に、細胞の増殖と分化には表裏の関係にあることが知られている¹⁶⁾。すなわち、今回の実験でも、細胞の増殖のよい旋回法において、細胞の分化が抑制されており、逆に、増殖の悪い静置法では細胞の分化が高まった。一方、繊維径は ALP 活性に影響を与えていないようであった。ALP 活性以外の骨分化指標を調べていないため、細胞分化に対する繊維径の影響については正確なことは言えない。旋回法で、有意に高い細胞の増殖が認められた理由としては、培養液を攪拌することで、細胞への栄養物と酸素の到達、および細胞から老廃物と二酸化炭素の除去が効率よく行われたことが考えられる。

5. おわりに

細胞の接着には、2次元および3次元ともに足場材料の表面性状あるいは形状などが細胞の接着に影響を与えていた。細胞当たりの ALP 活性は足場材料の影響をうけていなかったが、骨分化に対する性質については、より詳しい検討が必要であると考えられる。

6. 文献

- 1) 田畑泰彦 編, ここまで進んだ再生医療の実際, 羊土社 (2003)
- 2) S. D. Jonathan and F. Victoria, "Human embryonic stem cells: multilineage differentiation and mechanisms of self-renewal," Arch. Med. Res. 34, 558-564 (2003)
- 3) M. K. Carpenter, E. Rosler, and M. S. Rao, "Characterization and differentiation of human embryonic stem cells," Cloning Stem Cells. 5, 79-88 (2003)
- 4) M. F. Pittenger, A. M. Mackary, S. C. Beck, R. K. Jaiswal, R. Douglas, J.

- D. Mosca, M. A. Moorman, D. W. Simonetti, S. Craig, and D. R. Marshak, "Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells," *Science* 284 143-147 (1999)
- 5) W. Deng, M. Obrocka, I. Fischer, and D. J. Prockop, "In vitro differentiation of human marrow stromal cells into early progenitors of neural cells by conditions that increase intracellular cyclic AMP," *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 282 148-152 (2001)
- 6) P. A. Zuk, M. Zhu, H. Mizuno, J. Huang, J. W. Futrell, A. K. Katz, P. Benhaim, H. P. Lorenz, and M. H. Hedrick, "Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies," *Tissue Eng.* 7, 211-228 (2001)
- 7) Y. C. Halvorsen, D. Franklin, A. Bond, D. C. Hitt, C. Auchter, A. Boskey, E. P. Paschalis, W. O. Wilkison, and J. M. Gimble, "Extracellular matrix mineralization and osteoblast gene expression by human adipose tissue-derived stromal cells," *Tissue Eng.* 7, 729-741 (2001)
- 8) Y. Kimura, M. Ozeki, T. Inamoto, Y. Tabata. "Time course of de novo adipogenesis in matrigel by gelatin microspheres incorporating basic fibroblast growth factor," *Tissue Eng.* 8, 603-613 (2002)
- 9) A. J. Putnam, and D. J. Mooney, "Tissue engineering using synthetic extracellular matrices," *Nature. Med.* 2, 824-826 (1996)
- 10) J. J. Marler, J. Upton, R. Langer, and J. P. Vacanti, "Transplantation of cells in matrices for tissue engineering," *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 33, 165-182 (1998)
- 11) Y. Takahashi, and Y. Tabata, "Homogeneous seeding of mesenchymal stem cells into nonwoven fabric for tissue engineering," *Tissue Eng.* 9, 931-938 (2003)
- 12) C. Maniopoulos, J. Sodek, and A. H. Melcher, "Bone formation in vitro by stromal cells obtained from bone marrow of young adult rats," *Cell Tissue Res.* 254, 317-330 (1988)
- 13) J. Rao, and W. R. Otto, "Fluorimetric DNA assay for cell growth estimation," *Anal. Biochem.* 207, 186-192 (1992)
- 14) Y. Tabata, and Y. Ikada, *Polymer in medicine II*, Cheiellini E., Giusti P., Migliaresi C., and Nicolais L. Ed., Plenum Press, 1986, pp. 101
- 15) N. Jaiswal, S. E. Haynesworth, A. I. Caplan and S. P. Bruder, "Osteogenic differentiation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells in vitro," *J. Cell. Biochem.* 64, 295-312 (1997)
- 16) P. J. Ter Brugge, and J. A. Jansen, "In vitro osteogenic differentiation

of rat bone marrow cells subcultured with and without dexamethasone," Tissue Eng. 8, 321-331 (2002)

ポリ- α -メチルスチレンの平均二乗光学異方性¹⁾

吉崎 武尚・長 昌史

T. Yoshizaki, M. Osa

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

我々の研究室では、らせんみみず [helical wormlike (HW)] 高分子鎖モデル²⁾に基づいて、ポリ- α -メチルスチレン (P α MS) の高分子特性解析を行ってきた。具体的には、数量体の極低分子量オリゴマーから分子量が数百万の典型的高分子までの広い分子量領域にわたって、平均二乗回転半径³⁾ $\langle S^2 \rangle$ や固有粘度⁴⁾ $[\eta]$ などの稀薄溶液物性の測定を行った。 $\langle S^2 \rangle$ は稀薄溶液中における高分子鎖の平均的広がりを表す物理量であり、 $[\eta]$ は高分子鎖の流体力学的体積に関係する物理量である。これらの物理量の分子量依存性を解析することによって得られる HW モデル定数の値に基づいて、稀薄溶液中における P α MS 鎖の固さや局所形態を明らかにした。

図 1 に示すように、P α MS はポリスチレン (PS) の α 位の水素原子をメチル基で置き換えたものである。高分子鎖の立体規則性を表すラセモダイアドの分率 f_r が 0.72 のアタクチック (a-) P α MS と 0.59 の a-PS はそれぞれシクロヘキサン中 30.5 °C と 34.5 °C において排除体積効果のない非摂動状態となる。この非摂動状態における $\langle S^2 \rangle$ と重量平均重合度 x_w との比 $\langle S^2 \rangle / x_w$ を x_w に対して片対数プロットしたのが図 2 である。図中、それぞれのデータ点に付随した実線は、表 1 に与えた HW モデル定数の値を用いて計算した理論値を表す。HW 鎖は (形態) エネルギーが最小のときに完全らせん (特性らせん) となる弾性ワイヤーが熱擾乱によって様々な形態を取る統計力学モデルである。 λ^{-1} は HW 鎖の固さを表す長さの単位を持つ剛直性パラメータで、 λ^{-1} が大きい程 HW 鎖は固く、らせん形態が保持される。HW 鎖は、 $\lambda^{-1} \rightarrow \infty$ の極限で完全らせんに、 $\lambda^{-1} \rightarrow 0$ の極限でランダムコイルになる。 κ_0 と τ_0 はそれぞれ特性らせんの微分幾何学的曲率と捩れである。 $\kappa_0 = 0$ の時はエネルギーが最小の形態が棒となるので、HW 鎖の形態に関する平衡平均量はみみず鎖モデル^{2,5)} の結果に一致する。また、 M_L は実在高分子を HW 鎖で表した場合の単位 HW 鎖長当りの分子量を表すシフト因子である。表 1 のモデル定数の値から、a-P α MS の $\langle S^2 \rangle / x_w$ が a-PS に比べ肩を張ったような挙動を示すのは、a-P α MS

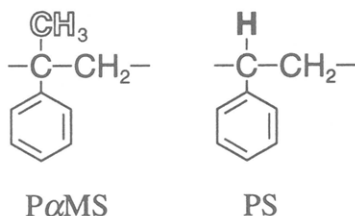


図 1. P α MS と PS の化学構造

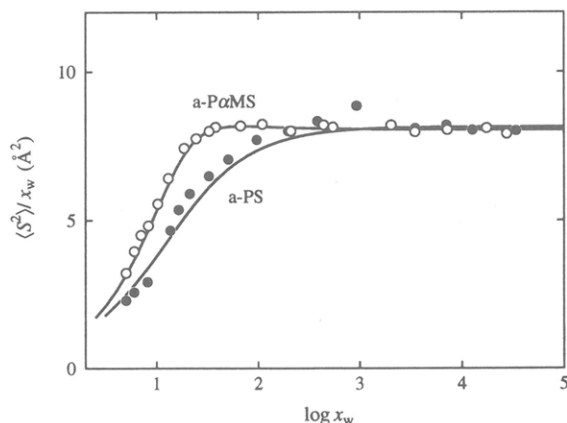


図 2. $\langle S^2 \rangle / x_w$ 対 $\log x_w$ プロット

表 1. a-PαMS と a-PS の HW モデル定数値

polymer (f_r)	solvent	temp, °C	$\lambda^{-1}\kappa_0$	$\lambda^{-1}\tau_0$	$\lambda^{-1}, \text{\AA}$	$M_L, \text{\AA}^{-1}$
a-PαMS (0.72)	cyclohexane	30.5	3.0	0.9	46.8	39.8
a-PS (0.59)	cyclohexane	34.5	3.0	6.0	20.6	35.8

鎖が局所的に湾曲した形態（特性らせんの κ_0/τ_0 が大きい）を保持する（ λ^{-1} が大きい）ためであることが分かる。以上のような高分子鎖の形態と固さに関する情報は、高分子量試料のみのデータ（図 2 の $x_w \gtrsim 10^3$ の範囲）をガウス鎖モデルに基づいて解析する、従来の高分子特性解析からは得られない。また、高分子鎖の固さを考慮したみみず鎖モデル^{2,5)}を用いても、 $x_w \lesssim 10^3$ の領域において見られる $\langle S^2 \rangle/x_w$ の挙動の違いは説明できない。上に述べたように、オリゴマーを含む広い分子量領域で得られた稀薄溶液物性に関する実験データを HW モデルに基づいて解析し、高分子鎖の固さと局所形態をも明らかにする解析手法を、我々は精微特性解析と呼んでいる。精微特性解析によって明らかにされた高分子鎖の固さおよび局所形態と化学構造との関係を考察することにより、高分子鎖の化学構造と溶液物性の関係を解明することができる。上に示した a-PαMS と a-PS の場合、 α 位へのメチル基の導入が α 炭素原子と β 炭素原子とを挟む 2 種類の主鎖結合角の値の差を大きくし、さらに a-PαMS の f_r が大きい（シンジオタクチックに近い）ことでトランス状態が継続し易くなるので、a-PS 鎖に比べて a-PαMS は大きく湾曲した局所形態を保持する。

ここでは、a-PαMS の精微特性解析の一環として最近行った、非摂動状態における平均二乗光学異方性 $\langle \Gamma^2 \rangle$ に関する研究結果¹⁾を報告する。

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

低分子が可視光を散乱する場合、一般には、分子の電子構造の異方性によって入射光電場とは異なる方向に電気双極子能率が誘起されるため、入射光と散乱光の偏光面が異なる光学異方性が観察され、それに関する実験結果から分子構造に関する情報を得ることができる。稀薄溶液中の高分子による散乱の場合も、高分子鎖を構成する繰返し単位が光学異方性を持つと（図 3 左）、高分子鎖全体としても光学異方性を持つ（図 3 右）。低分子の場合と

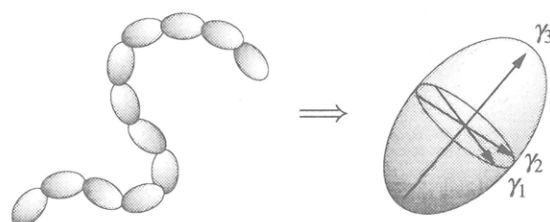


図 3. 高分子鎖の光学異方性

異なり、溶液中の高分子鎖は熱運動によって刻々その形態を変え、様々な形態をとるので、光学異方性に関する実験から得られる物理量は次のように定義される $\langle \Gamma^2 \rangle$ である。

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

ここで、 $\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3$ は高分子鎖が瞬間的にある一つの形態をとる時の鎖全体の分極率テンソル γ の三つの主値であり、 $\langle \dots \rangle$ は高分子鎖の形態に関する平衡平均を表す。棒状高分子の場合は $\langle \Gamma^2 \rangle \propto x_w^2$ 、またランダムコイルの場合は $\langle \Gamma^2 \rangle \propto x_w$ となる。

式 (1) で定義される $\langle \Gamma^2 \rangle$ は、実験的には垂直方向に偏光した入射光を試料溶液に当てて散乱光の水平偏光成分すなわち偏光解消成分を測定する異方性光散乱法を用いて決定される。純溶

媒からの還元偏光解消成分 R_{Hv} に対する稀薄溶液からの散乱光増分である過剰還元偏光解消成分 ΔR_{Hv} と $\langle \Gamma^2 \rangle$ との間には次の関係が成立する。

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

ここで、 λ_0 は真空中における入射光の波長、 M_w は重量平均分子量、 N_A はアボガドロ定数、 n_0 は純溶媒の屈折率を表し、添字 $c=0$ と $\theta=0$ はそれぞれ質量濃度 $c \rightarrow 0$ (無限希釈)、散乱角 $\theta \rightarrow 0$ の外挿値であることを表す。なお、式 (2) の関係は内部電場に対する二乗型補正を用いて導かれている。

高分子鎖を全鎖長が L の HW モデルで表した場合、 γ は HW 鎖に付与した単位長さ当りの局所分極率テンソル $\tilde{\alpha}(s)$ ($0 \leq s \leq L$) を用いて次のように書ける。

$$\gamma = \int_0^L \tilde{\alpha}(s) ds \quad (3)$$

ここで、 $\tilde{\alpha}(s)$ は外部直角座標系で書いた局所分極率テンソルであるので、HW 鎖の一端からの鎖に沿った距離 s に依存している。また、非摂動 HW 鎖の $\langle \Gamma^2 \rangle$ は次のように書かれる²⁾。

$$\langle \Gamma^2 \rangle = f(\lambda L, \lambda^{-1}\kappa_0, \lambda^{-1}\tau_0, \alpha) \quad (4)$$

ここで、 α は HW 鎖上の各点に付随して定義される局所直角座標系で書いた局所分極率テンソルであり、 s に依存しない定テンソルである。式 (4) の結果は $\lambda L \rightarrow 0$ の棒極限と $\lambda L \rightarrow \infty$ のランダムコイル極限においてそれぞれ $\langle \Gamma^2 \rangle \propto x_w^2$ と $\langle \Gamma^2 \rangle \propto x_w$ の結果を与える。

3. 結果と考察

x_w が 2 から 67.1 の範囲の 10 試料について、シクロヘキサン中 30.5 °C で偏光解消成分の測定を行った。偏光解消成分の測定には Brookhaven 社製 BI-200SM 光度計を改造したものを用いた⁶⁾。偏光子と検光子として消光比が 10^{-5} 以下のグラン・トムソン型プリズムを用い、ファブリー・ペロー干渉計を用いて散乱光偏光成分の強度スペクトルを計測し、衝突誘起分極率の寄与を含まない ΔR_{Hv} を評価した。ここで、衝突誘起分極率とは溶質分子と溶媒分子の衝突によって生じる溶質分子の歪みによる過剰な分極率であり、溶質分子固有の分極率について議論する場合はその寄与を取り除く必要がある。測定試料の x_w の範囲では、 ΔR_{Hv} の θ 依存性は無視できるので、測定は $\theta = 90^\circ$ で行い、その測定結果を $\theta \rightarrow 0$ への外挿値 $(\Delta R_{Hv}/c)_{\theta=0}$ とした。4 ないし 5 点の試料濃度における $(\Delta R_{Hv}/c)_{\theta=0}$ の測定結果を $c=0$ へ外挿して $(\Delta R_{Hv}/c)_{c=0, \theta=0}$ を評価した。

このようにして得られた $(\Delta R_{Hv}/c)_{c=0, \theta=0}$ の値を用いて式 (2) から計算した $\langle \Gamma^2 \rangle/x_w$ を重量平均重合度 x_w の対数に対してプロットしたのが図 4 である。図中、白丸は今回の a-PαMS の実験結果を表し、黒丸は以前に得られたシクロヘキサン中 34.5 °C における a-PS の結果^{6,7)}を表す。a-PαMS の $\langle \Gamma^2 \rangle/x_w$ は a-PS の場合と同様に x_w の増加とともに単調に増加して一定値に漸近するが、その漸近値 $\sim 100 \text{ Å}^6$ は a-PS の漸近値 $\sim 60 \text{ Å}^6$ に比べてかなり大きい。C $^\alpha$ - CH₃ の分極率は C $^\alpha$ - H のものとはほぼ同じであり、それを反映して極低分子量オリゴマーの $\langle \Gamma^2 \rangle/x_w$ はほぼ一致している。したがって、 x_w の増加にともない a-PαMS の $\langle \Gamma^2 \rangle/x_w$ が a-PS に比べて大きくなっていくのは、二つの高分子鎖の固さおよび局所形態の違いによるものと考えられる。

図 4 中の実線は HW 理論値を表す。理論値の計算には表 1 に示した HW モデル定数の値と、化学結合当りの分極率テンソルに関する文献値に基づき、それらの加成性を仮定して評価した

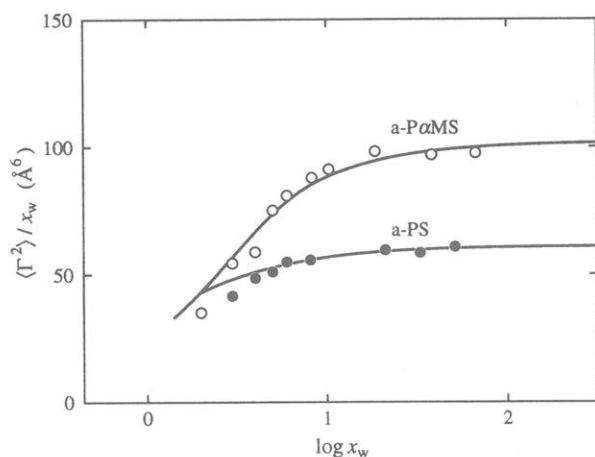


図4. $\langle \Gamma^2 \rangle / x_w$ 対 $\log x_w$ プロット

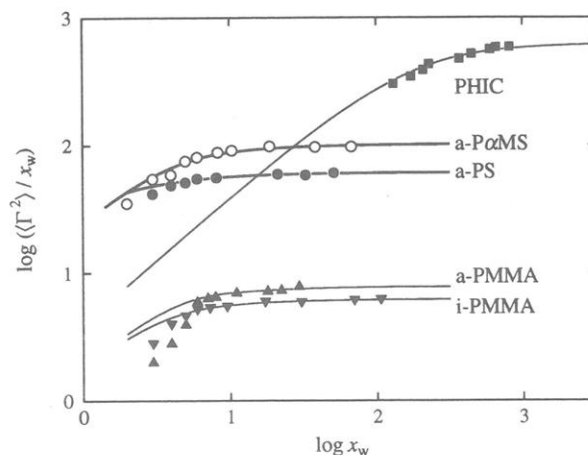


図5. $\log(\langle \Gamma^2 \rangle / x_w)$ 対 $\log x_w$ プロット

α の値を用いた。なお、上にも述べた通り、a-PαMS と a-PS の α はほぼ同じである。理論値が a-PαMS と a-PS の挙動の違いを定量的に再現できることがわかる。ガウス鎖モデルに基づく従来の高分子特性解析では、(x_w の大きな領域で) $\langle S^2 \rangle / x_w$ の値が等しい a-PαMS と a-PS が等しい α を持つなら、 $\langle \Gamma^2 \rangle / x_w$ の値も等しくなればならず、図2と4に示した2種類の物理量の挙動を同時に説明することはできない。また、ガウス鎖モデル同様、みみず鎖モデルもこれらの実験結果を説明できない。

最後に、a-PαMS と a-PS に加え、これまでに我々の研究室で得られたアタクチックポリメタクリル酸メチル (a-PMMA) (アセトニトリル中 44.0 °C)⁶⁾、アイソタクチック (i-) PMMA (アセトニトリル中 28.0 °C)⁸⁾、および典型的な半屈曲性高分子であるポリ- n -ヘキシルイソシアナート (PHIC) (n -ヘキサン中 25.0 °C)^{9,10)} の $\langle \Gamma^2 \rangle / x_w$ を x_w に対して両対数プロットしたものを図5に示す。a-PMMA と i-PMMA はそれぞれの溶媒条件下で非摂動状態である。また、PHIC についても、昨年の報告でも述べたように、 n -ヘキサンは PHIC の良溶媒ではあるが、図5に示した x_w の領域では分子内排除体積効果は無視できるので、非摂動状態と考えてよい。図中、それぞれのデータ点に付随した実線は HW 理論値 (PHIC についてはみみず理論値) を表す。いずれの高分子の挙動も、 $\langle S^2 \rangle$ から決定した HW モデル定数の値と化学構造から考えて妥当な α の値とを用いて計算した HW (あるいはみみず) 理論値で良く説明できる。

文献

- 1) H. Kojo, M. Osa, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **36**, 6570 (2003).
- 2) H. Yamakawa, *Helical Wormlike Chains in Polymer Solutions*, Springer, Berlin, 1997.
- 3) M. Osa, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **33**, 4828 (2000).
- 4) I. Suda, Y. Tominaga, M. Osa, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **33**, 9322 (2000).
- 5) O. Kratky, G. Porod, *Recl. Trav. Chim.*, **68**, 1106 (1949).
- 6) Y. Takaeda, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **26**, 3742 (1993).
- 7) T. Konishi, T. Yoshizaki, J. Shimada, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **22**, 1921 (1989).
- 8) Y. Takaeda, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **28**, 4167 (1995).
- 9) M. Nakatsuji, Y. Ogata, M. Osa, T. Yoshizaki, H. Yamakawa, *Macromolecules*, **34**, 8512 (2001).
- 10) 吉崎武尚, 長昌史, 日本化学繊維研究所講演集, **60**, 17 (2003).

酸化重合によるフェノール類ポリマーの合成と性質 —人工漆の創製—

小林四郎¹、池田良平²、宇山 浩¹、辻本 敬¹

S. Kobayashi, R. Ikeda, H. Uyama, T. Tsujimoto

¹京都大学大学院 工学研究科 材料化学専攻

²精密重合研究体（現、東洋インキ製造㈱）

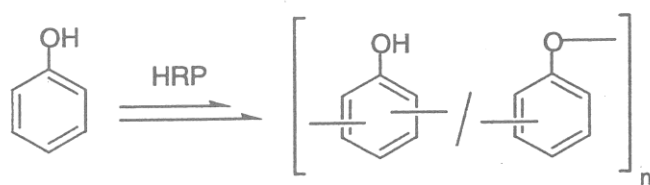
1. はじめに

酵素触媒を用いる高分子合成（“酵素触媒重合”）¹⁾に関する研究の一環として、我々は酸化還元酵素を触媒とするフェノール類の重合を系統的に検討してきた。フェノール類からの高分子については、フェノール—ホルマリンの重縮合物であるフェノール樹脂（ベークライト）と2,6—ジメチルフェノールの酸化重合により得られるポリ（フェニレンオキシド）の二者が現在工業生産され広く用いられている。前者は約1世紀、後者は半世紀弱の歴史があるが、前者は毒性の強いホルマリンを用いることの問題が指摘されている。酵素触媒を用いると多くの場合環境負荷の小さい高分子合成手法となり、グリーンポリマーケミストリー推進に貢献する。

本稿では酵素触媒を用いるフェノール類の酸化重合の展開から人工漆の創製に至る研究について述べる。

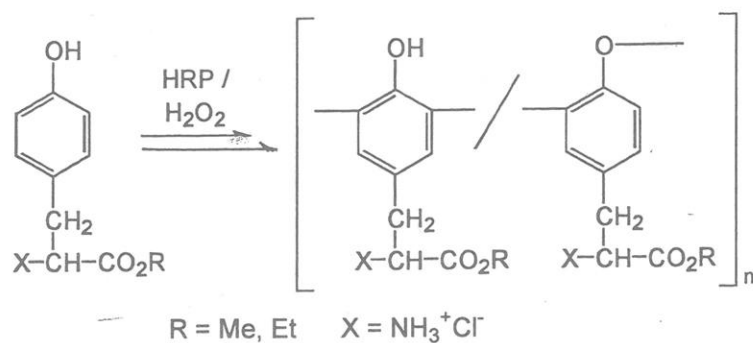
2. フェノール類の酸化重合

フェノール自身の西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）を触媒とする酸化重合により、生成ポリマーの構造規制、分子量規制が行われ、可溶性ポリフェノールの合成が可能になった（スキーム1）。²⁾種々の置換フェノールの酸化重合、官能基をもつフェノール類の



スキーム 1

官能基選択的重合により熱的、光化学的架橋の可能なポリフェノールが得られた。^{1,3)} また、チロシンから超高分子量ポリマーが得られている（スキーム2）。⁴⁾ 以上いずれの場合もフェノール部位が選択的に重合反応に関与した結果である。

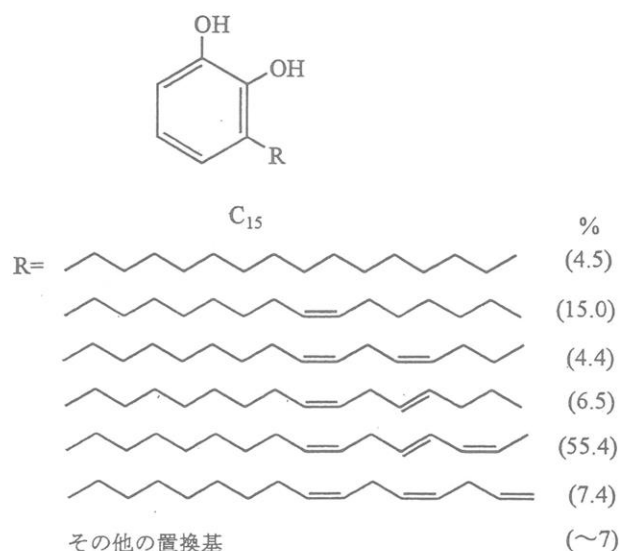


スキーム 2

3. 人工漆の創製

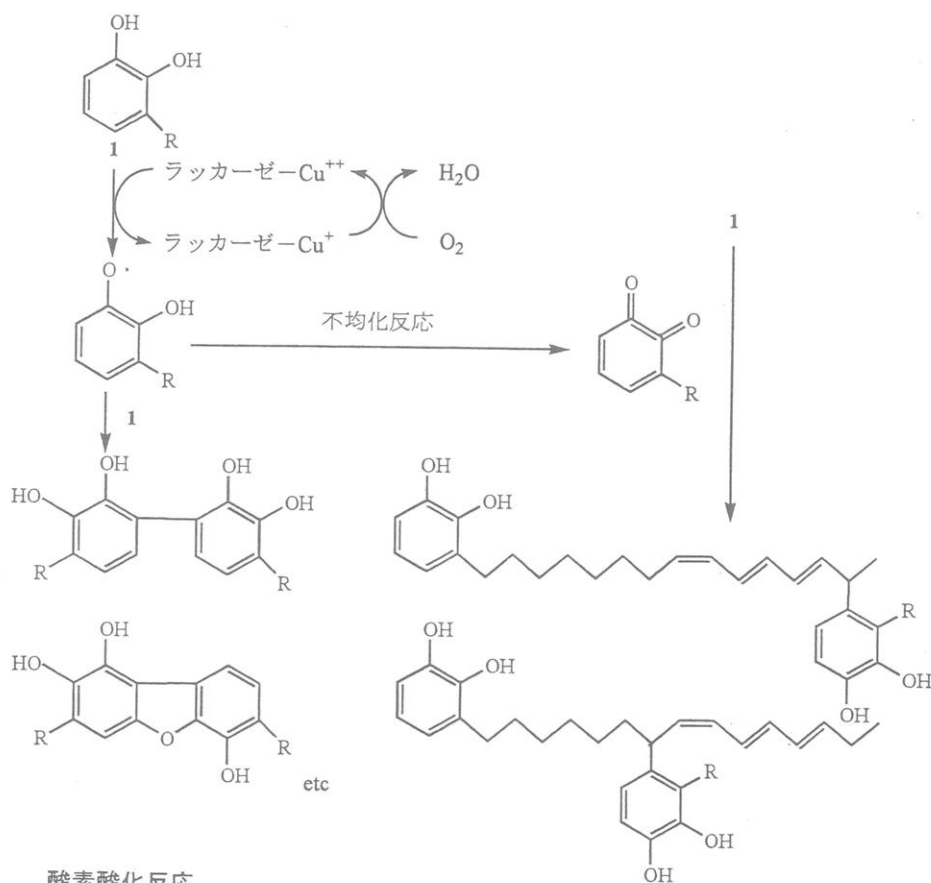
漆は世界最古の天然塗料であり、日本文化の象徴的存在である。最近北海道の遺跡から漆片が発見され、その年代測定から縄文時代前期の 9000 年前にさかのぼることが分った。漆塗膜の美しさ、深さ、柔かさ、光沢を備えたその質感と堅牢性は人工系塗料の追随を許さない。温和な条件下、水系、高固形分で硬化する環境調和型塗料である。漆は自然界で酵素を硬化触媒としている唯一の例でもある。しかし、優れた硬化膜を与える日本産の漆樹液の生産量は近年極めて少なくなり、大変高価なため特殊な用途のみに使われているのが現状である。一方、漆の出発物質であるウルシオールモノマーを合成するのは大変煩雑なプロセスを必要とするので実際的ではない。また、ウルシオールはかぶれを引き起こすという問題がある。そこで、天然漆システムから学び、より安価で、天然漆に似た性質をもつ人工漆をつくることを意図した。⁵⁾

ウルシオールの構造は前世紀初頭、真島利行らによってほぼ解明された(スキーム 3)。日本の有機化学研究の出発点であったと言ってよい。

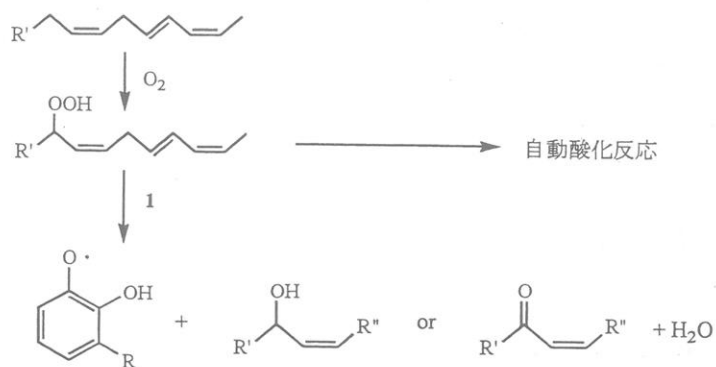


スキーム 3

ラッカーゼ触媒酸化反応

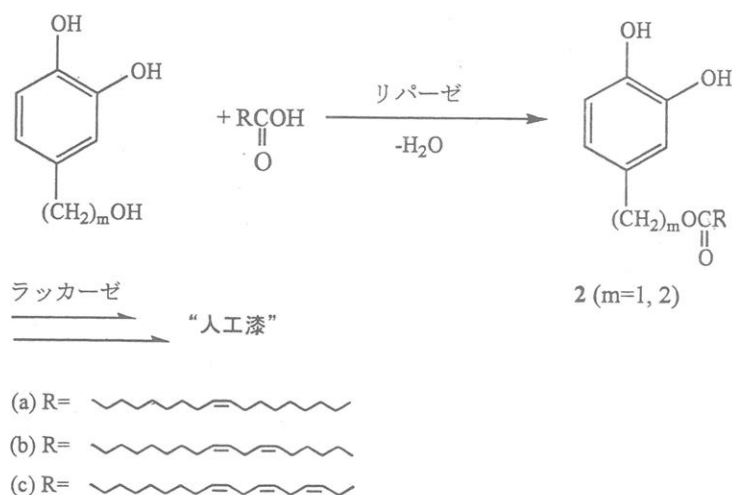


酸素酸化反応



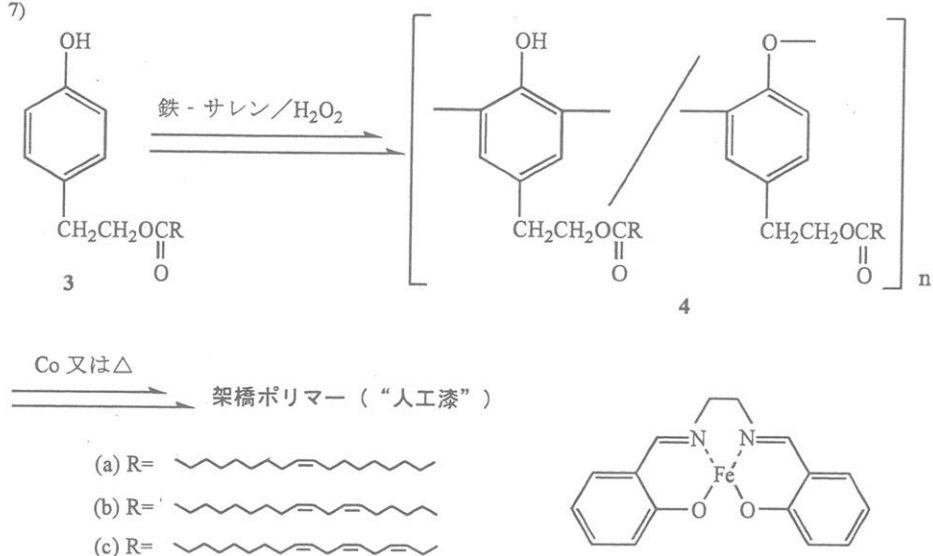
スキーム 4

人工漆創製のため、まずウルシオール類似体 (2) を合成した (スキーム 5)。⁶⁾ 不飽和カルボン酸は植物油から得た。天然ウルシオールではカテコール環の 3 位に側鎖が結合しており、その構造のものはかぶれを引き起すので、2 では側鎖を 4 位に導入してある。事実、2 はかぶれを起さない。2 のうちトリエン体カルボン酸の 2c は空气中 30℃、湿度 80%、ラッカーゼ触媒によりゆっくり硬化した。実用的強度 (100 Nmm² 以上の硬度) に至るには 2 週間を要したが、人工漆が得られた。モノエン体 (2a) やジエン体 (2b) ではほとんど硬化しなかった。



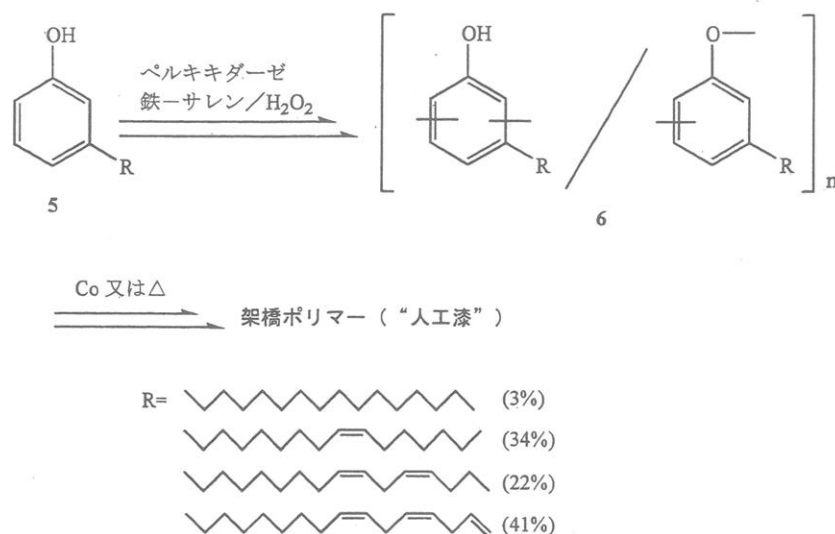
スキーム 5

次にフェノール構造をもつ 3 を合成した。3 はウルシオール類似体とみなせるが、ラッカーゼ酵素触媒では硬化しなかった。しかし、鉄-サレン触媒を用いプレポリマー 4 をつくることができた。ここで用いた鉄-サレン錯体はペルオキシダーゼ酵素モデルとみなすことができる。次にナフテン酸コバルト触媒を用いる室温、空气中での酸化反応及び 150℃、2 時間の熱処理、の二つの方法でオイル状の 4 を硬化することができ、人工漆を得た (スキーム 6)。⁷⁾



スキーム 6

同じくフェノール誘導体のカルダノール (5) を主成分として含むカシューナッツ殻液 (CNSL) がウルシオール類似体として挙動し人工漆を与えることを見出した。⁸⁾ 5 はフェノール環に直接不飽和基が結合しており、ウルシオールに極めて近い構造を有するがかぶれを起さない (スキーム 7)。CNSL をペルオキシダーゼ又は鉄-サレン系で酸化重合すると Mn 2000~4000 のプレポリマー (6) を得る。粘稠液 6 をアプリケーションナーを用いてガラス上でフィルムを形成させ、ナフテン酸コバルト (CNSL に対し 3 wt%) を触媒とする架橋反応又は熱硬化 (150°C、30 分) により十分に硬いフィルム、つまり人工漆を与えることが判った。この人工漆は外観上も天然漆に大変近く、粘弾性測定からもそのことが言える (図 1)。



スキーム 7

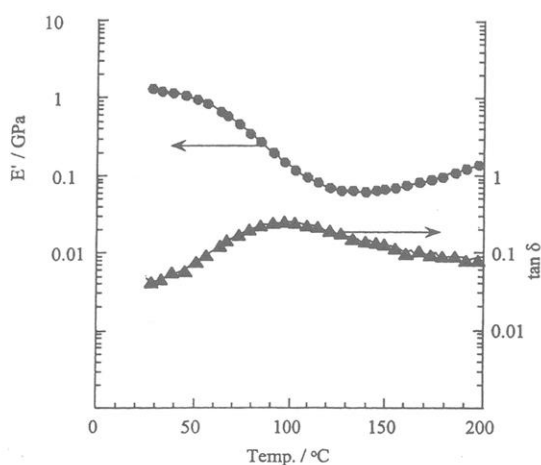
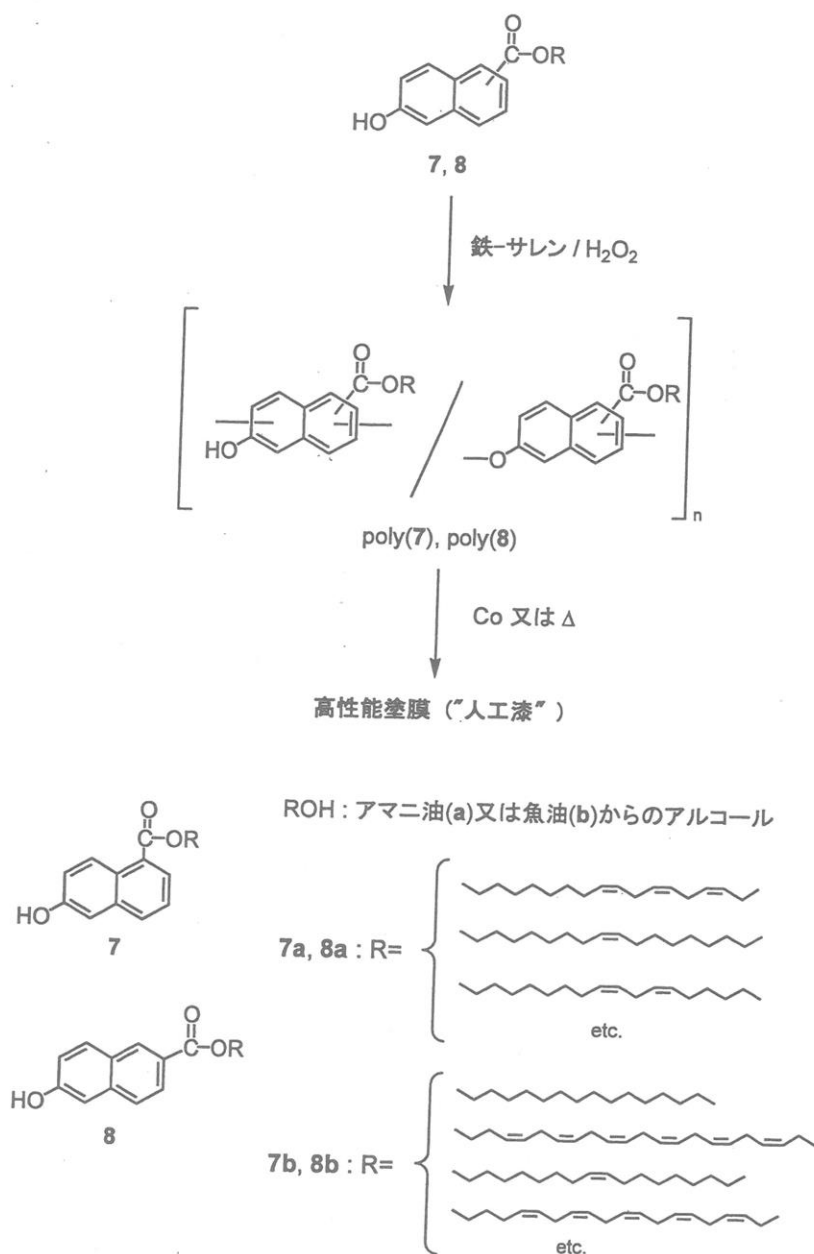


図 1 ポリ CNSL 架橋体の粘弾性測定

フェノール誘導体の代りにナフトール環を導入した人工漆を合成した。⁹⁾ ウルシオール類似体モノマーとして、ナフトールカルボン酸とアマニ油または魚油から調製した不飽和アルコール (ROH) から合成した **7**、**8** を用いた (スキーム 8)。



スキーム 8

モノマー (7, 8) は鉄-サレン触媒でナフトール部分の酸化重合が起り可溶性プレポリマー (Mn 3000-4600) poly (7), poly (8) を得た。これらプレポリマーはナフテン酸コバルト触媒反応 (0.18 wt%, 25°C) 又は熱硬化 (15°C、2 時間) により不溶硬化フィルム (人工漆) を与えた。熱硬化反応では 2 時間以内に硬度 100 N/mm² に、1 日後 150 N/mm² 以上になった。硬化反応により側鎖中の不飽和基は減少する。ナフトール環導入によりフェノール環からのものより硬い塗膜材料となることが判った。

以上の諸例から人工漆を与えるウルシオール類似体の具備すべき必須要件は次の二点である。

- (i) フェノール、カテコール、ナフトールのような芳香族アルコールを有すること。
 - (ii) その側鎖としてジエン、トリエンのような不飽和炭化水素基が結合していること。
- (i) は酵素又はモデル錯体が触媒となり、芳香環同志の酸化的重縮合が主反応として関与する。(ii) はその後の側鎖間の架橋反応に与りより堅牢なネットワークを形成し、反応は自動酸化的機構で進行する。

References

- 1) (a) S. Kobayashi, H. Uyama, S. Kimura, *Chem. Rev.*, **101**, 3793 (2001). (b) S. Kobayashi, H. Uyama, M. Ohmae, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **74**, 613 (2001). (c) S. Kobayashi, *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.*, **37**, 3041 (1999). (d) S. Kobayashi, S. Shoda, H. Uyama, *Adv. Polym. Sci.*, **121**, 1 (1995).
- 2) (a) T. Oguchi, S. Tawaki, H. Uyama, S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **20**, 401 (1999). (b) T. Oguchi, S. Tawaki, H. Uyama, S. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **73**, 1389 (2000).
- 3) (a) H. Uyama, C. Lohavisavapanich, R. Ikeda, S. Kobayashi, *Macromolecules*, **31**, 554 (1998). (b) H. Tonami, H. Uyama, S. Kobayashi, T. Fujita, Y. Taguchi, K. Osada, *Biomacromolecules*, **1**, 149 (2000).
- 4) (a) T. Fukuoka, Y. Tachibana, H. Tonami, H. Uyama, S. Kobayashi, *Biomacromolecules*, **3**, 768 (2002). (b) T. Fukuoka, H. Uyama, T. Kakuchi, S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **23**, 698 (2002). (c) T. Fukuoka, H. Uyama, S. Kobayashi, *Biomacromolecules*, in press.
- 5) S. Kobayashi, H. Uyama, R. Ikeda, *Chem. Eur. J.*, **7**, 4755 (2001).
- 6) (a) S. Kobayashi, R. Ikeda, H. Oyabu, H. Tanaka, H. Uyama, *Chem. Lett.*, 1214 (2000). (b) R. Ikeda, H. Tanaka, H. Uyama, S. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **74**, 1067 (2001).
- 7) (a) R. Ikeda, T. Tsujimoto, H. Tanaka, H. Oyabu, S. Kobayashi, *Proc. Acad. Japan*, **76B**, 155 (2000). (b) T. Tsujimoto, R. Ikeda, H. Uyama, S. Kobayashi, *Chem. Lett.*, 1122 (2000).
- 8) (a) R. Ikeda, H. Tanaka, H. Uyama, S. Kobayashi, *Macromol. Rapid Commun.*, **21**, 496 (2000). (b) R. Ikeda, H. Tanaka, H. Uyama, S. Kobayashi, *Polymer*, **43**, 3475 (2002).
- 9) T. Tsujimoto, H. Uyama, S. Kobayashi, *Macromolecules*, in press.

ブロック共重合体のナノ・サイエンス、ナノ・テクノロジー
—ブロック共重合体をテンプレートにする—

橋本竹治・イーサン シバニア・松原真也・林良弘

Takeji Hashimoto, Easan Sivaniah, Shinya Matsubara, Yoshihiro Hayashi

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. 緒言

AB ブロック共重合体は A ブロック鎖および B ブロック鎖が、化学的に結合したものであり、両ブロック鎖の体積分率によって、ラメラ、シリンダー、球などのマイクロ相分離構造をとる^{1)~4)}。これは A ブロック鎖及び B ブロック鎖の斥力相互作用と、両ブロック鎖の弾性エネルギーの釣り合いによるものである。この自己組織化によるマイクロな構造形成は学問的に多くの注目を集めてきた。またボトムアップ方式のナノ構造作製法として技術的にも多くの期待が集まっている。バルク系においては数多くの研究がこれまでに成されてきたが、一般に様々な配向をもったグレインの集合体となり、系全体で一様な配向をもつことは難しい。ブロック共重合体を利用したボトムアップ方式のナノマテリアルへの応用を考えると問題になる点である。そこで本研究では、薄膜系において基板表面のトポロジーを利用したブロック共重合体のマイクロドメインの配向制御を行い、これをテンプレートとして用いることを考えた。

本研究では A ブロック鎖と B ブロック鎖の体積分率の等しいラメラ構造について行う。薄膜中でのラメラ構造では、A, B それぞれの表面及び基板界面の自由エネルギーが配向に強く影響をおよぼす。一般には A, B の表面及び基板界面の自由エネルギーは異なるため、基板に対して平行に配向したラメラ構造ができる^{5)~6)} (Fig.1(i))。しかしながら、ラメラの繰り返し周期構造をテンプレートに利用することを考えると、ラメラが基板に対して垂直に配向したほうが都合が良い場合がある。もちろん A, B の基板界面自由エネルギーが等しくなるような基板を作製し⁷⁾、そのような基板で挟んでやれば垂直配向ラメラが得られるが、幾分手間が必要である。今回、我々は比較的高い温度で A, B の表面エネルギーが近い PS-*b*-PMMA を用い、基板表面の粗さによ

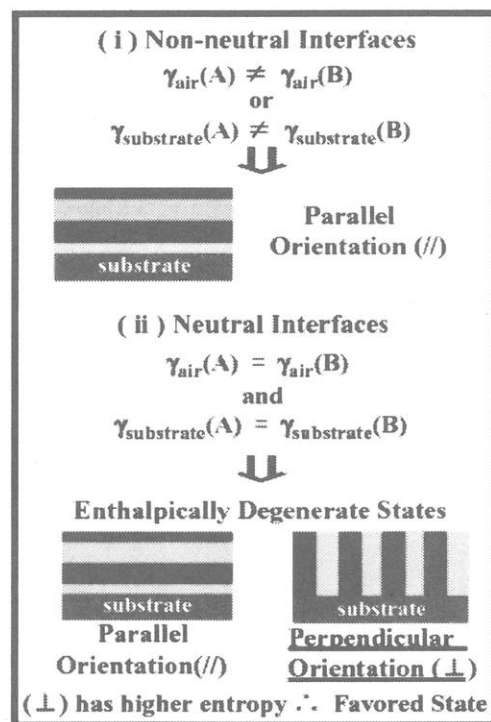


Fig.1 Orientation of lamellar domain structure in thin film.

り垂直配向ラメラを得ることに成功した⁸⁾。本稿では基板の粗さが配向に及ぼす影響と垂直ラメラ構造の応用について紹介する。

2. 試料及び ITO 基板

今回用いた試料は poly(styrene)-*block*-poly(methyl methacrylate) (以下、PS-PMMA) で $M_n=38 \times 10^3$ - $b-37 \times 10^3$ である。用いた基板は粗さの異なる ITO 基盤である。次に、基板の粗さの定義であるが、次のように定義した。まず、基板表面を AFM で測定し、この画像に対して FFT を行い、得られたプロフィールのピーク位置における波数 q_0 を得る (Fig.2(a))。次に表面画像における高さ情報に対して平均水平面からの変位の二乗平均の平方根を R とする (Fig.2(b))。これらより、粗さを無次元量 q_0R で定義した。

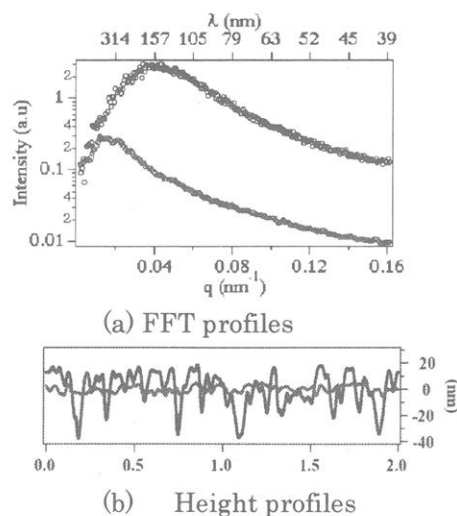


Fig.2 Characterization of surface topography of substrates

まず、 $q_0R=0.048$ である比較的滑らかな ITO 基板 (以下 smooth ITO)、 $q_0R=0.6$ である比較的粗い ITO 基板 (以下 rough ITO) 上に PS-PMMA をスピンキャストし (厚さ 300nm 程度)、200°C で 5 時間程度熱処理を行った。

3. 粗い基板及び滑らかな基板上でのラメラの配向

smooth ITO 及び rough ITO 上でのラメラ構造の表面 (AFM) 及び断面像 (TEM) を各々、Fig.3,4 に示した。(TEM 画像については、薄膜試料を ITO 基板から剥がしとり、それをエポキシ樹脂上に吸着させた後カット及び観察を行った。) smooth ITO 上では基板に対して平行な配向が観察された。これは PS 及び PMMA の基板界面エネルギーが異なるために起こる一般的な結果である。またラメラ周期は熱力学的に決定され、同じ温度、分子量では一定であるため、平行配向する場合は薄膜の厚さがラメラ周期 L_0 の整数倍または (整数 + 1/2) 倍になる必要がある。しかし、実際の薄膜の厚さはそうではないので、上記条件を満たすように段差 L_0 の island と hole ができる。これが、Fig3(a) に観察されている。一方、rough ITO 上では基板の粗さによって垂直配向していることがわかる。

4. 考察 ー粗さにより垂直配向するー

次に粗さにより垂直配向が得られる理由について、熱力学的な考察を行う (Fig.5)。まず、滑らかな基板に平行に配向したときを基底状態と考える。つづいて、この基底状態と粗い基板上に平行に配向した状態での自由エネルギー差 $\Delta F(\parallel)$ と、粗い基板上に垂直に配向した状態での自由エネルギー差 $\Delta F(\perp)$ について考察する。

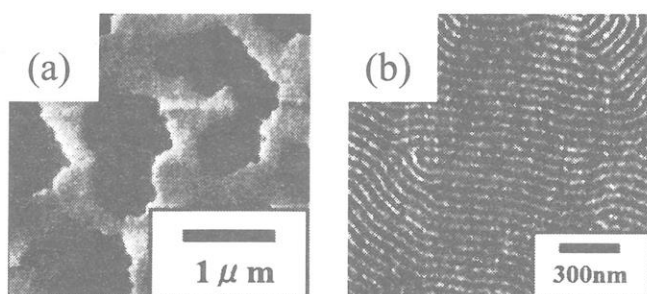


Fig.3 Surface images of lamellar structure as observed by AFM: (a)parallel orientation and (b) perpendicular orientation.

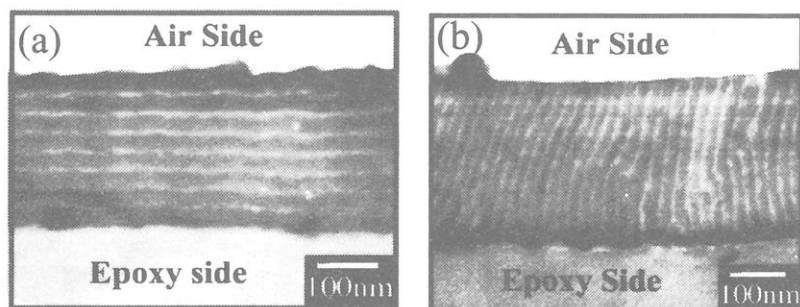


Fig.4 Cross sectional TEM images of lamellar structure which is stained by RuO_4 : (a) parallel orientation and (b) perpendicular orientation. Dark part is PS phase and white part is PMMA phase.

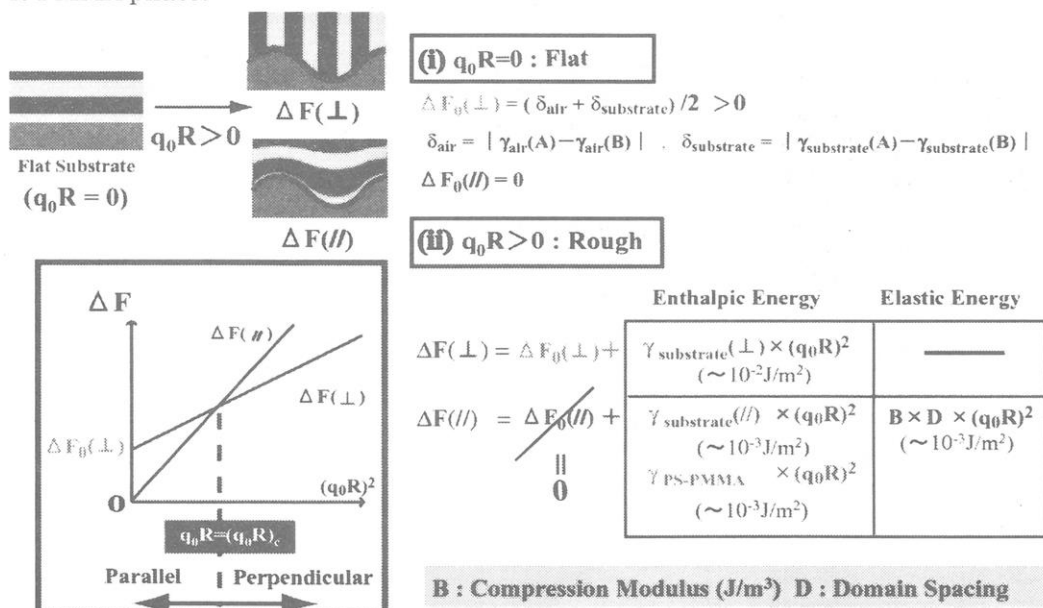


Fig.5 Theoretical interpretation of lamellar orientation as a function of the substrate roughness. $\Delta F(\perp)$ に関しては、両ブロック鎖が界面に接するため過剰の界面自由エネルギー $\Delta F_0(\perp)$ が加わり、さらに粗さにより界面積が増加する分の過剰エネルギーが加わる。一方、 $\Delta F(\parallel)$ に関しては、界面積が増加する分と、粗さにより平行ラメラが湾曲

することによるエネルギーの増加が考えられる。 $\Delta F(\perp)$ 、 $\Delta F(\parallel)$ それぞれを $(q_0R)^2$ に対してプロットすると Fig.5 のグラフのように傾きの異なった直線となり、ある臨界の粗さ $(q_0R)_c$ 以上では垂直配向が有利になると考えられる。

5. 垂直配向を得られる粗さの臨界値

同じ ITO 基板上でも粗さの違いにより配向が異なることがわかったが、どの程度の粗さまで垂直配向が得られるか、その臨界値を同定した。まず、様々な粗さ q_0R をもつポリイミド基板を 18 種類作製し、この上に先ほどと同様に PS-PMMA をスピンキャストし、熱処理を行った。その際、それぞれ 18 種類の粗さの基板上的薄膜表面を AFM で観察し Fig.3(b) のような垂直配向が観察されるか、または Fig.3(a) のような平行配向が観察されるかを熱処理時間の関数としてチェックした。これらの結果をまとめたものが Fig.6 である。ここで注意したいのはこの結果は表面構造から得られたものであり、断面に関する情報は含まれていない。すなわち表面が垂直配向であっても基板まですべて垂直配向であるとは言えないということである。どのような粗さであっても熱処理時間がごく短い段階では表面では垂直配向が観察された。これはこの温度における PS と PMMA の表面エネルギーが近いと考えると考えられるが、この垂直配向は後で述べるように、基板界面まで全て配向していない。もっと長時間熱処理を行い系が平衡状態に近づくと、ある臨界の粗さを境にして、完全平行配向ラメラと完全垂直配向ラメラが得られた。Fig.6 より粗さの臨界値 $(q_0R)_c=0.37$ が得られた。

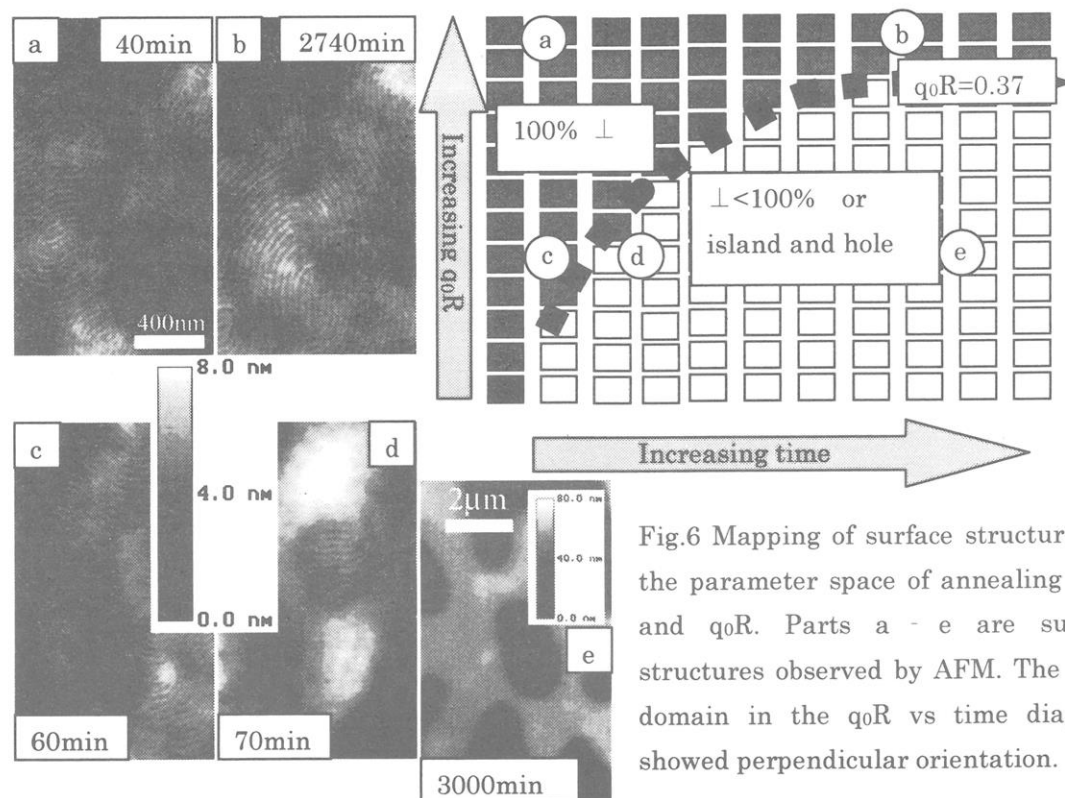


Fig.6 Mapping of surface structure in the parameter space of annealing time and q_0R . Parts a - e are surface structures observed by AFM. The dark domain in the q_0R vs time diagram showed perpendicular orientation.

次に Fig.6 中の c-e 点の粗さ($q_0R=0.048$)の基板上での TEM 断面像の時間変化を Fig.7 に示した。スピんキャスト後熱処理前ではブロック共重合体は無秩序状態であり、熱処理中の秩序過程でグレインサイズが大きくなるに伴い、滑らかな基板上では基板界面から平行配向が始まり、一方表面からは垂直配向がおこっている((a))。熱処理時間の増加に伴い平行配向の分率が増加し((c))、最終的には熱力学的に安定な平行配向が表面にまで到達すると考えられる。

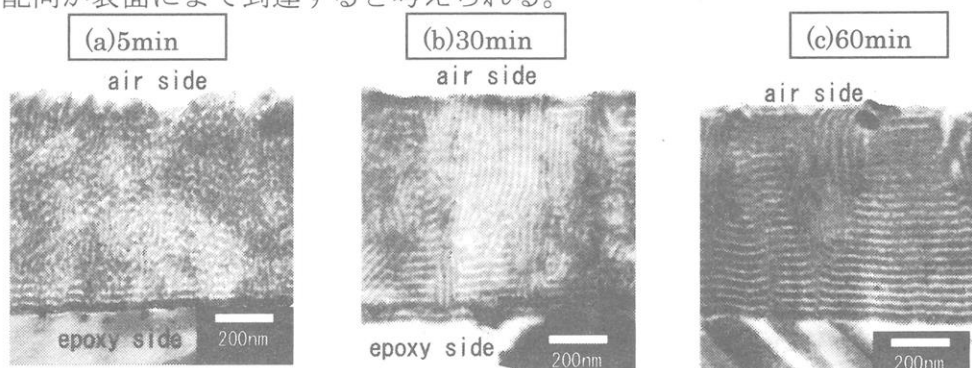


Fig.7 Cross sectional TEM images of each time. q_0R of substrate is 0.048

6. 垂直ラメラの応用

次に垂直ラメラの応用例として、金属微粒子を一方のラメラ層に選択的に導入することを試みた。磁性金属を使用し、一方のラメラ層に選択的に導入できれば、磁性体層と非磁性体層の繰り返し構造となり、パターン型記録メディアなどの電子デバイスに応用できると期待できる。まず PS-PMMA を粗い基板上にスピんキャストし、これを熱処理することで垂直配向ラメラ構造を作製する。次に Pd 錯体($\text{Pd}(\text{acac})_2$)を底面にキャストしたフラスコ内に先の試料を置き、系を 200°C の環境においた。Pd 錯体は直ちに昇華し、Pd イオンがポリマーに接触する。Pd イオンの還元速度が PMMA より PS ドメインで速いために、PS 層で Pd イオンが還元され Pd 原子となり、これが凝集して Pd のナノ微粒子が PS 層に選択的に導入できると考えられる。Fig.8 に Pd 微粒子担持薄膜の TEM 像を示した。PS 層に Pd クラスターが選択的に導入されていることがわかる。バルク Pd 金属は強磁性体ではないが、強磁性体の金属錯体の還元に対しても現在実験中である。

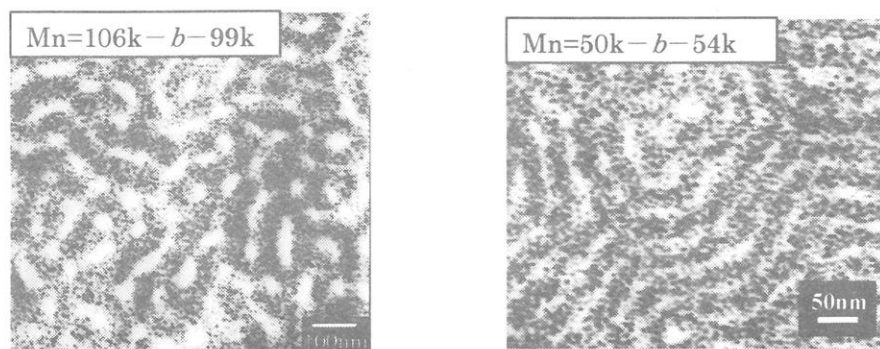


Fig.8 Through view images of PS-PMMA containing Pd nanoparticles (The film thickness is 100nm).

7. 文献

- 1) T.Hashimoto,K.Nagatoshi,A.Todo,H.Hasegawa,and H.Kawai,*Macromolecules* **7**, 364 (1974)
- 2) T.Hashimoto,A.Todo,H.Itoi,and H.Kawai, *Macromolecules* **10**,377 (1977)
- 3) T.Hashimoto,M.Shibayama,and H.Kawai,*Macromolecules* **13**,1237 (1980)
- 4) T.Hashimoto,H.Tanaka,and H.Hasegawa,*Macromolecules* **18**,1864 (1985)
- 5) G.Coulon,T.P.Russel,V.R.Deline,and P.F.Green,*Macromolecules* **22**, 2581 (1989)
- 6) S.H.Anastasiadis, T.P.Russel, S.K.Satija, and C.F.Majkrzak, *Phys.Rev.Lett.* **62**, 1852 (1989)
- 7) P.Mansky,T.P.Russel,C.J.Hawker,M.Pitsikalis,and J.Mays,*Macromolecules* **30**, 6810 (1997)
- 8) E.Sivaniah,Y.Hayashi,M.Iino,and T.Hashimoto,*Macromolecules* **36**,5894 (2003)

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol. 61
(Annual Report of the Research Institute for
Chemical Fibers, Japan: Vol. 61, 2004)
Published by
Nippon Kagakusen-i Kenkyusho
Kyoto, Japan

日 本 化 学 繊 維 研 究 所 第 61 回 講 演 集

2004年 3 月20日 印刷
2004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 尾 池 和 夫
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. 61
(Annual Report of the Research Institute
for Chemical Fibers, Japan : Vol. 61)

March 2004