

日本化学纖維研究所

講演集

第62集

2005年3月

日 本 化 学 繊 維 研 究 所

講 演 集

第 6 2 集

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol. 62

(Annual Report of the Research Institute
for Chemical Fibers, Japan : Vol. 62)

March 2005

2005年3月

財団法人 日本化学繊維研究所講演会 (第62回)

〔第62回講演会：平成16年11月17日 京都大学桂キャンパス・桂ホール〕

目 次

1. 光電変換を目指した高分子機能材料の開発とナノ構造の設計.....(1)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○伊 藤 紳三郎、大 北 英 生
2. 半屈曲性3本腕星型鎖の固有粘度.....(13)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 井 田 大 地、○吉 崎 武 尚
3. 会合性高分子のゲル化とレオロジーに関する理論
・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、古 賀 毅
印出井 努、岡 田 幸 典
4. 磁力駆動型レオメータで測定したポリ
(N-イソプロピルアクリルアミド)ゲルの動的粘弾性.....(27)
京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 ○瀧 川 敏 算、浦 山 健 治
堀 中 順 一、野 坂 尚 司
5. 疎水性 Three-Arm Helix (分子量5,228)の水への可溶化.....(33)
1) 京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 福 田 誠¹⁾、杉 山 淳 司²⁾
2) 京大大学生存圏研究所 森 田 智 行¹⁾、○木 村 俊 作²⁾
6. 高分子薄膜のガラス転移.....(39)
京都大学化学研究所 ○金 谷 利 治、宮 崎 司
井 上 倫太郎、西 田 幸 次
- 特別講演 ポリトリメチレンテレフタレート繊維.....(45)
旭化成せいの(株)研究開発センター技術研究所 加 藤 仁一郎
7. スマート*in-situ*ナノコンポジット：天然ゴムの伸長結晶化.....(53)
京都大学化学研究所 ○糴 谷 信 三、登 阪 雅 聡
*京都工芸繊維大学工学学部 古 谷 昌 大、S. Poompradub
池 田 裕 子*
8. 付加開裂移動(RAFT)型リビングラジカル重合の減速要因を求めて：
スチレン/ジチオベンゾエート系の精密解析.....(67)
京都大学化学研究所 後 藤 淳、郭 泳 完
○福 田 猛
9. 金属触媒による機能性モノマーのリビングラジカル重合.....(73)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○澤 本 光 男、安 藤 剛
大 内 誠
10. ブロック共重合体のリビングアニオン重合過程及び反応生成物の
自己組織化過程の中性子散乱による“その場・実時間”観察.....(81)
1) 京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 山 内 一 浩¹⁾、長谷川 博 一¹⁾
2) 日本原子力研究所先端基礎研究センター ○橋 本 竹 治¹⁾、²⁾、田 中 宏 和¹⁾、²⁾
元 川 竜 平²⁾、小 泉 智²⁾
11. 硫酸化コンドロイチンの酵素触媒合成.....(89)
京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 ○小 林 四 郎、落 合 洋 文
藤 川 俊 一、大 前 仁
12. エバネッセント場を利用した生体—材料表面間相互作用の解析.....(97)
京都大学再生医科学研究所 ○岩 田 博 夫、有 馬 祐 介
13. 高分子ハイドロゲルを利用した細胞増殖因子の
徐放化とその骨再生誘導活性.....(107)
京都大学再生医科学研究所 北 郷 明 成、山 本 雅 哉
○田 畑 泰 彦

光電変換を目指した高分子機能材料の開発とナノ構造の設計

伊藤 紳三郎・大北 英生

Shinzaburo ITO, Hideo OHKITA

京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻

1. はじめに

分子のミクロな世界と物質機能が現れるマクロな世界とを、いかに賢明に繋ぐか... ナノテクノロジーの主要な命題がそこにある。ナノ構造構築のためのさまざまなアプローチが提案されているが、明確なことは、より低次元を扱う知識と技術を取得することが、より高次元の構造の自由設計をするためには必須になるということである。1次元を制するものは2次元平面を自由に構築でき、2次元を制するものは3次元構造を任意に設計できる。我々はこのような発想から、高分子材料を用いた超薄膜の研究を展開している。図1には模式的に色紙でこの概念を表した。1枚が1 nm という分子スケールの厚さしかない2次元超薄膜を積層することにより、膜厚方向には自由自在に分子層の厚さ、距離、順列を規制した構造体を構築できるようになる。とりわけ重要なことは、このようにして作製された積層膜が、マクロなスケールでの機能に結びつき、役に立つことである。高分子薄膜にはその面方向の広さゆえに、薄膜が示す化学的、電子的あるいは光学的機能に容易にアクセスすることができるという利点がある。

また物質の機能はダイナミクスの上である。電子、ホール、イオン、プロトン、ラジカル、そして励起エネルギー、これらの機能を担うエレメント（素子）が分子集団の静的な構造と動的な性質により活動して初めて機能が現れる。ナノスケールの構造が必然的に生み出す低次元場において、これらの機能素子が行うダイナミクスを知ることは、物質機能の設計構築には必須の要件である。本稿では低次元場における電子や励起エネルギーなどの機能素子の動的挙動について、基礎的な過程を明らかにするとともに、それらの知見を生かして機能性材料の構築、具体的には光電変換を目指した高分子機能材料の開発とナノ構造の設計について、実証的立場から研究例を示したい。

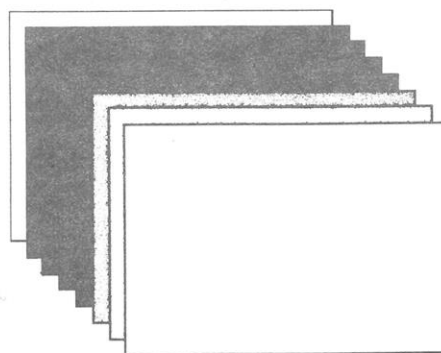
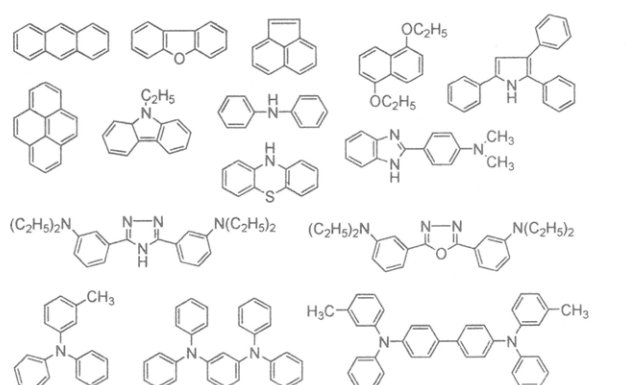


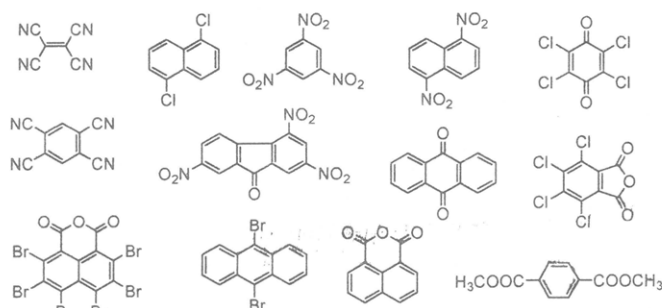
図1 機能性基で修飾された高分子超薄膜を積層することにより得られるナノ構造。膜厚、順列、組成を設計できる自由度がある。

2. 光電子機能材料

高分子の光機能はエレクトロニクスとの接点で大きな期待を集めている。電気エネルギーと光エネルギーとの相互変換や仲介を行う材料として注目されている。たとえば光情報を電子情報に変換する材料として、30 年以上も前より光電導性高分子が研究されてきた。現在でもトナーを用いる電子式コピー機やプリンターとして広くその特性が利用されている。また近年、次世代表示材料として有機EL発光素子が脚光を浴びている。光電導性高分子を用いた電子式コピー機と最近の有機EL発光素子とでは、もちろん前者が光→電子、後者が電子→光というように、逆プロセスを行うことから発現する機能はまったく異なるが、それら素子に用いられる材料の構成は極めて良く似ている。1) 光照射、2) 色素の電子励起、3) 電子供与性基と受容性基との間での電荷分離、4) 電子およびホール輸送、5) 電極界面での電荷授受の連続的プロセスを経て、光像が界面電荷の分布、炭素トナーの吸着という結果になって、紙に像が転写される。一方、EL素子では、5)から1)の逆プロセスが起こる。すなわち電極から注入された電子あるいはホールが輸送され、電荷再結合が起こり、色素の励起状態が生成することにより発光する。これらのプロセスを働かせているのは、電子供与性分子、電子受容性分子、ホール輸送材料、電子輸送材料、光吸収（発光）色素であり、光電子機能に共通して現れる機能団である。図2にはこのような機能性分子の例として電子活性な電子供与性分子、電子受容性分子の代表例を示した。電子的機能を担う分子としては、イオン化ポテンシャルの低い電子供与性基、たとえば多環芳香族、芳香族アミン類が用いられる。これらの分子はホール輸送性にも優れている場合が多く、電子供与性分子と2役を果たす。さらに電子的な連結を図るためトリフェニルアミン系や芳香族アミンの二量体やオリゴマーが用いられる。この他、ホール輸送材料としてはポリチオフェンやポリフェニレンビニレンのような導電性高分子も用



代表的な電子供与性化合物



代表的な電子受容性化合物

図2 電子的に活性な有機化合物の例

いられる。一方、電子受容性分子としては、図2下に示したように、多環芳香族、芳香族ニトロ基あるいはハロゲン基置換体、シアノ、ケトン類があげられる。その他、電子受容性基ならびに電子輸送材料として最近では C60 フラーレンが注目されている。これらの電子活性基や光吸収色素などの機能団を高分子マトリクスの中にいかに高密度で固定化し、集合構造を設計し、ナノスケールで組織化するかにより光電子機能素子の性能が決定される。その意味で、高分子の果たす役割は極めて大きい。

光電子機能として光電変換素子を考える場合、その場で起こる基本的なプロセスは電子移動とエネルギー移動という2つの移動現象であり、物理的にも極めて重要な研究対象である。図3には、これらの移動現象の基となる分子間相互作用を模式的に表した。電子移動は波動関数の重なりを基本原理としているため、電子の存在確率が減衰する 1 nm 程

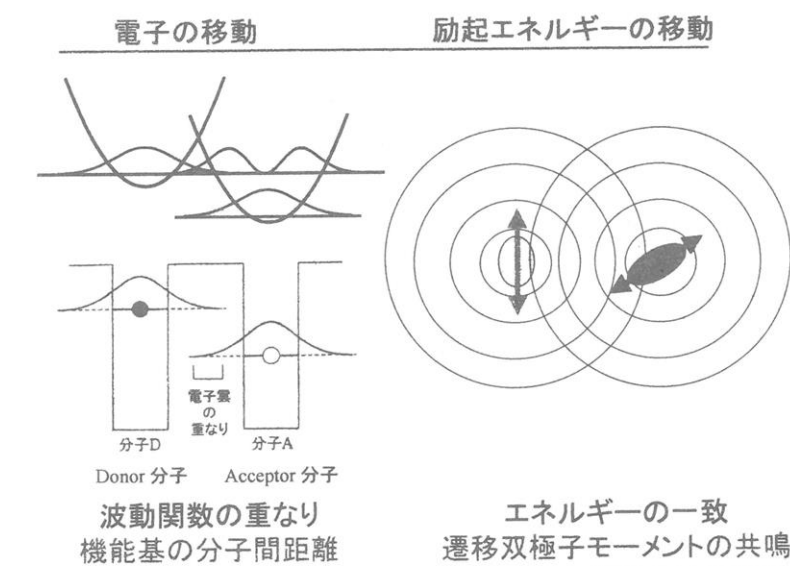


図3 分子間での電子移動とエネルギー移動の概念図

度で急速に移動速度も減衰する近距離相互作用である。¹⁾ これに対して、エネルギー移動は遷移双極子モーメントのクーロン相互作用に基づく共鳴現象であるため、数 nm 程度まで及ぶ長距離相互作用である。²⁾ このため両プロセスの構造による制御を目指す場合に必要とされる精度には大きな違いがあるが、いずれにせよナノスケールでの設計された機能団の配置を実現することが、優れた機能を発現するためには必須の要件となっている。

3. 交互吸着膜

交互吸着法はLB法と同じようにナノスケールの超薄膜を積層でき、かつ簡便な手法として開発されてきたが、同時に有機超薄膜と無機物質や生物材料とのナノコンポジットを作製しうる方

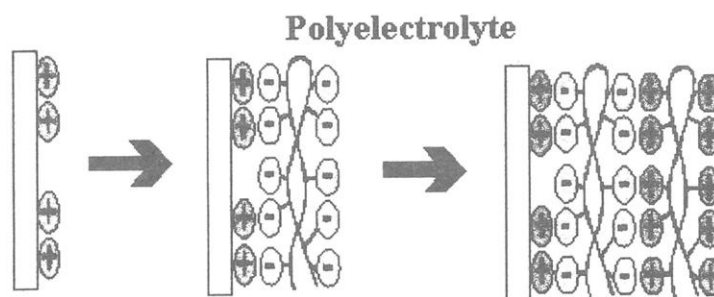


図4 高分子電解質からなる交互吸着膜の形成過程

法として注目されている。³⁾ 1990年代になって、Decherらのグループが両端にイオン基をもつボラー分子や高分子電解質をもちいて、多成分多層膜が作製できることを報告したことから、ナノ組織体合成の新手法として交互吸着法の発展が始まった。⁴⁾ 強い静電的な引力が、電荷をもつ表面と水溶液中のイオン分子との間で働くことは古くより知られていたが、それらの研究は主に表面吸着の立場からなされており、多層膜形成という立場からではなかった。この手法の広い拡張性、応用性についてはすでに本講演集でも紹介した。⁵⁾ 交互吸着膜の一般的な形成過程を図4に示した。表面処理により電荷（例えば+）をもたせた固体基板を反対電荷（-）をもつ高分子の水溶液に浸すと、イオン間の静電的相互作用により高分子の強い吸着が起こる。このとき吸着鎖の同電荷の反発により自己規制(self-regulation)が働いて過剰吸着を防ぐとともに、表面電荷の極性が（+から-に）反転して、次の層の吸着が可能になる。適切な吸着時間の後、基板を引き上げ、純溶媒（水）に浸すことで過剰吸着分子を取り除き、乾燥させる。次に別の反対電荷（+）をもつ高分子溶液に基板を浸すことで、次の層が吸着される。同様の操作を繰り返すと、一つの層が1 nm から数 nm の超薄膜を交互に積層することができる。このようにその作製プロセスは単純で、装置や基板、さらに材料に至るまでほとんど制限がなく、かつ個々の層を任意に配置できるナノ構造作製法である。また、交互吸着法の利点は使える物質の多様性と吸着順により決定できる層構造の多様性にある。代表的

的な膜材料としては、図5に示したように柔軟な主鎖をもつ様々な高分子電解質が使用できる。アニオンまたはカチオンをもつ物質であれば累積挙動は本質的に同じである。さらにこの累積方法はアニオン、カチオンの静電的相互作用に限らず、水素結合系や有機溶媒中での電荷移動相互作用系⁶⁾にも適用されるようになり、多様なナノ薄膜を作製できる方法としてますます発展している。

4. 光電子機能基をもつ超薄膜の実現

交互吸着膜の一对の層 (bilayer) 当たりの膜厚は吸着条件により 1 ~ 10 nm の範囲で可変である。さらに層数を重ねることで、100 nm を超える膜厚を任意の値で制御することができる。そこで擬似的な2次元膜ともいえるこの膜に、電子活性な機能

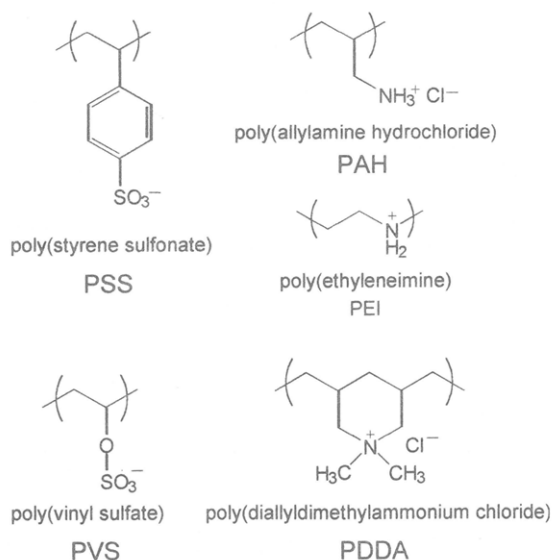


図5 交互吸着に用いられる高分子電解質

基や光吸収色素を高い濃度で導入して、そのナノ構造を用いて機能団の積層構造を高い自由度で構築できる。このようにして作製された高分子薄膜は、ナノスケールでの機能素子の振る舞いを検証する貴重なモデル系と見なすことができる。

図6には今回の研究で用いた試料を示した。Aの試料は光吸収基としてルテニウム錯体(Ru)を側鎖にもつカチオン性ポリマー、P(CM-Ru)であり、コリンメタクリレートととの共重合により合成される。同様に B は電子供与性のフェロセン(Fc)を側鎖にもつ共重合体 P(CM-Fc)である。Cは電子受容性でありまた電子輸送材料として働くフラーレンにアニオン性基を修飾したものであり、図中の PDDA カチオン性高分子との交互吸着を可能にしている。Dはホール輸送性高分子であるPEDOTをPSSと複合させることにより、ドーピングによる導電性の向上と同時にアニオン性高分子として吸着操作を可能にしている。

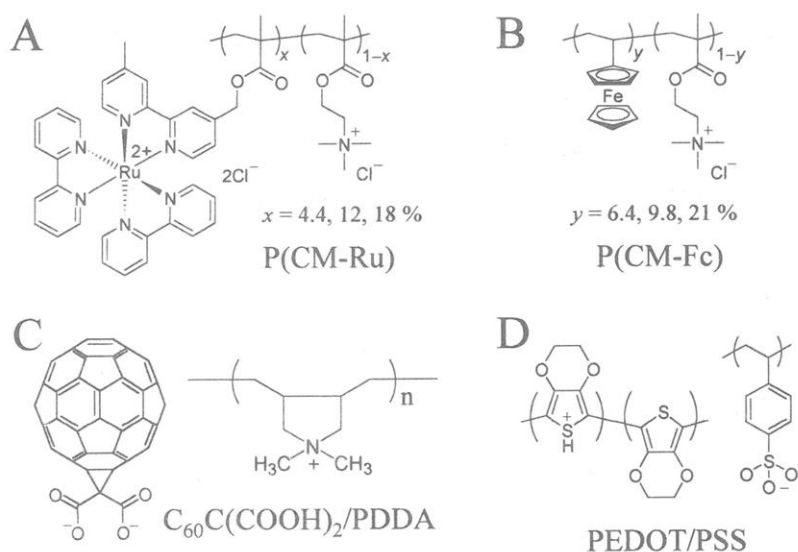


図7 光電子機能をもつ高分子電解質

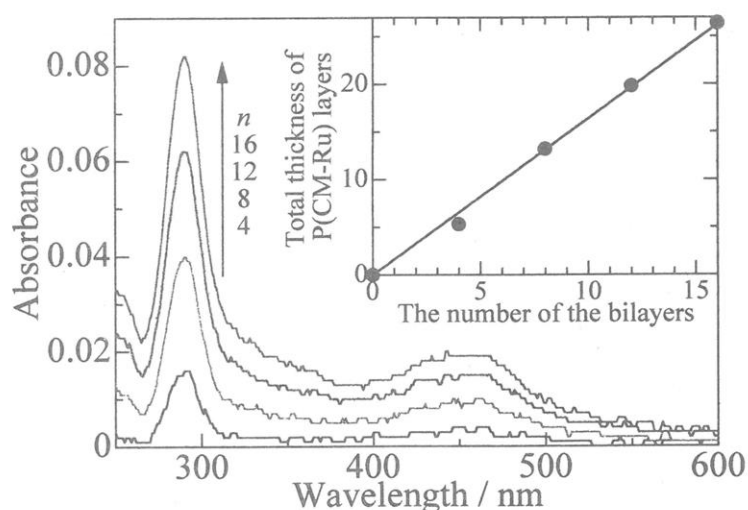


図8 P(CM-Ru)の交互吸着膜の紫外可視吸収スペクトル。図中 n は吸着回数を示す。挿入図は吸光度から求められた膜厚の層数依存性。

次に、交互吸着によりナノスケールの膜厚で超薄膜が作製されることを、P(CM-Ru)とポリアクリル酸(PAA)の交互吸着膜を用いて例示したい。⁷⁾ 図8には、P(CM-Ru)/PAA 交互吸着膜の紫外可視吸収スペクトルを示した。吸着操作の回数が4~16と増加するにしたがって、ルテニウム色素の吸光度も比例して増加する。ルテ

ニウム基の分子吸光係数、組成、ならびに高分子の密度を仮定すると、膜厚を算出することができる。この膜厚を累積した層数に対してプロットした結果を図8右上の挿入図に示した。層数に比例して増加する膜厚の勾配より 1 bilayer 当たりの膜厚は 1.6 nm とまとめられた。

フェロセンはレドックス活性なドナー性基としてよく用いられる。P(CM-Fc)/PAA の交互吸着法によりフェロセン基を有する薄膜が ITO 電極上に作製された。⁸⁾ フェロセンは紫外可視吸収が弱く分光

的には検出が難しいので、ITO 電極上での酸化還元波を電気化学的に検出する方法を用いた。図9には異なる層数の P(CM-Fc)/PAA 薄膜試料につき CV 測定を行った結果を示した。膜厚にかかわらず表面吸着波形を示し、層数に比例して酸化還元電荷量が増加した。検出された電荷量から電極上に積層されたフェロセン基の含量を $C = 2.8 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$ と定量的に求めることができた。この値は P(CM-Fc) が bilayer 当たり約 1 nm で積層されていること、また、フェロセン基間の電荷輸送が、基板から数 10 nm 離れた膜全体まで完全に波及していることを示している。

以上のような実例により、交互吸着法がさまざまな電子活性基を自由にナノスケールで配置し、光電機能を有する高分子薄膜を設計構築する手法として有用であることが示された。

5. 励起エネルギーの捕集と拡散長の評価

高分子超薄膜のナノ層構造による励起エネルギー移動の順列制御や伝達輸送のモデル実験が、これまでも単分子膜を積層した LB 膜を用いて行われてきた。⁹⁾ 少なくとも数 nm の反応半径をもつような比較的長距離の分子間相互作用は、人工的なナノ層構造により十分に人為的に制御できることが示されている。交互吸着膜は LB 膜よりも膜厚制御が緩く分子鎖が一部相互に貫入することが知られているが、単分子膜に匹敵する膜厚制御ができ、なおかつ簡便な操作により積層薄膜が得られる利点がある。上述のようにナノスケールで自在に構造構築できることから、電子や励起エネルギー

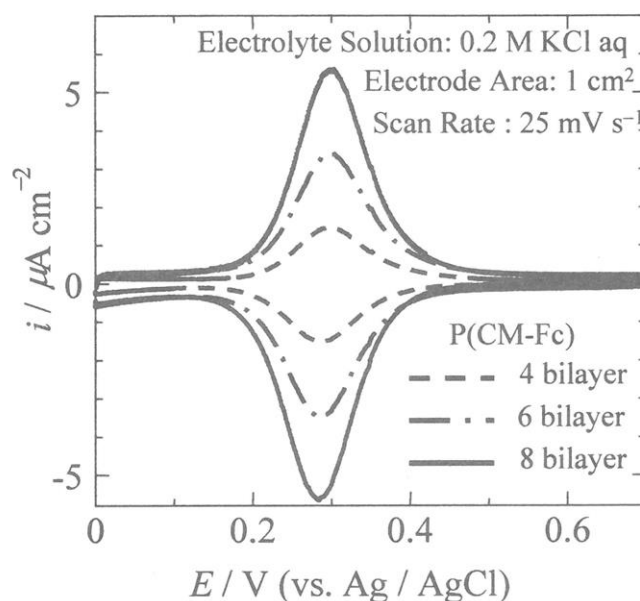


図9 ITO電極上に積層されたP(CM-Fc)/PAA交互吸着膜の電気化学的な酸化還元波。電解溶液、掃印速度、層数は図中に示した。

ギーの移動過程を制御することができるとともに、さまざまなモデル構造を構築してそれらの特性を調べることができる。

光増感色素としてよく知られるルテニウム錯体を導入した P(CM-Ru) 薄膜と、その三重項励起状態に対する電子移動消光剤であるフェロセンを導入した P(CM-Fc) 薄膜とをヘテロ接合した。⁷⁾ 図 10 に試料の構造を模式的に示した。まず P(CM-Fc) を励起エネルギーの消光壁として基板上に数層積層し、次に P(CM-Ru) 膜の層数を変えて累積した。このような積層薄膜により、接触界面へのルテニウム三重項励起エネルギーの拡散係数や拡散距離を測定することができる。

図 10 には Fick の拡散式とそれを初期条件、境界条件のもとに解いた式も示している。この式を適用してさまざまな Ru 層の膜厚について、Fc 層を含まない試料と含む試料の消光実験を行い、解析した。図 11

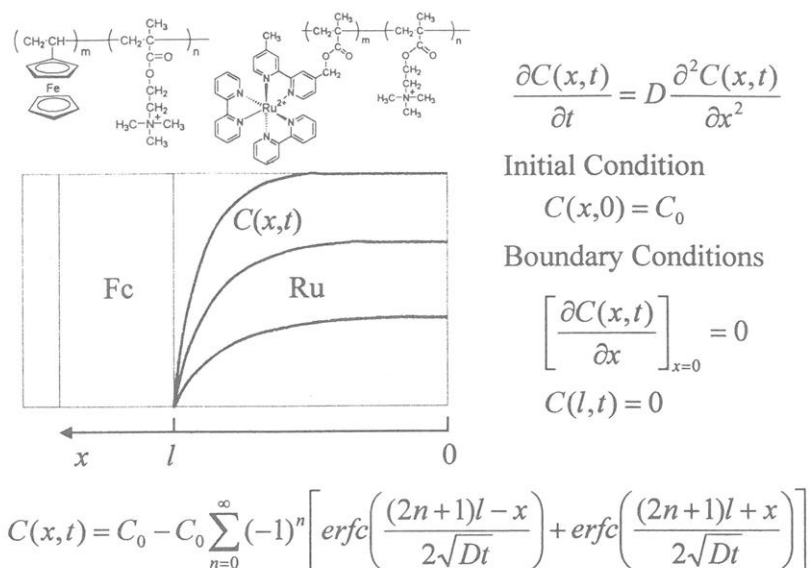


図 10 Ru 層-Fc 層のヘテロ積層膜の構造と膜厚 l に依存した励起エネルギーの有限拡散モデル。

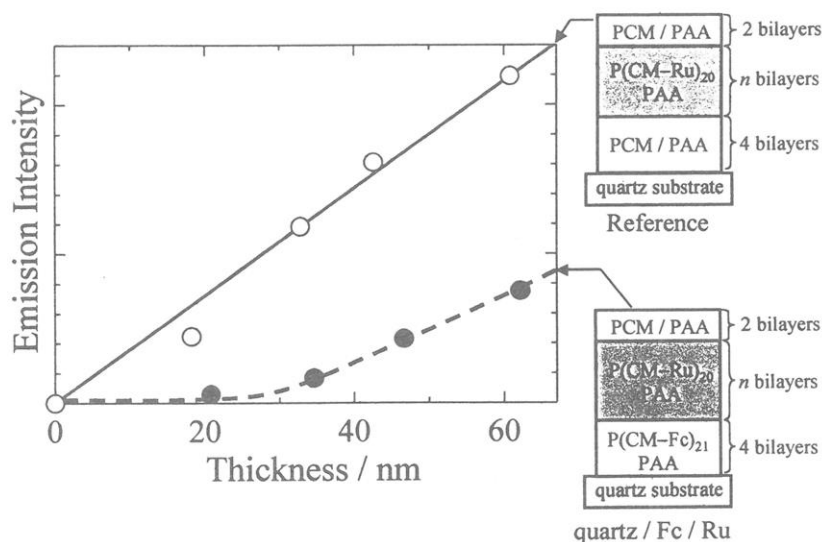


図 11 ルテニウム基のリン光強度の膜厚依存性。実線 (○) は参照試料である Fc を含まない膜での強度変化であり、層数に比例する。● は下層に Fc 層がある試料の結果であり消光を受けている。点線は図 10 で示した拡散式により最適化したパラメータによる計算曲線。

にはその実験結果を示した。Fc 層を含まない参照試料が示すリン光は、層数に比例して増加する。しかし Fc 層を下地にもつ試料 (●) では大きく消光を受け、膜厚が少なくとも 30 nm まではほとんど発光が見られない。ようやく 40 nm 以上の試料から発光が観測され、以後、膜厚の増加とともに強度が増加する。この結果は、励起エネルギーの拡散距離が長く、拡散距離に比べて薄い膜では完全に消光を受け、膜厚が厚くなると消光壁まで拡散できずに発光することを示している。点線は、上述の拡散モデルに従って、この実験結果を解析した計算曲線を表している。このとき用いたパラメータより、ルテニウム励起三重項状態の拡散係数は $10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ 、寿命中の拡散距離は約 40 nm と極めて大きく、効率よい色素増感反応を起こすことが示された。

6. 電子（ホール）の輸送過程

図 9 において、異なる層数の P(CM-Fc)/PAA 薄膜で観測された CV 結果を示した。その表面吸着波形からフェロセン基間の酸化還元反応が、ITO 上のすべてのフェロセン基に至ることがわかる。膜中でのホールの移動過程を定量的に観測する方法として、ステップ電位を印加するクロノアンペロメトリーがある。電極電位の一瞬の変化に引き続いて起こる酸化反応の時間変化を追跡することにより、電極上で 1 次元的に移動するホールの輸送係数をもとめることができる。図 12 はこの方法の原理を図解している。⁸⁾ 有限の膜厚をもつ試料が電極上にあるとき、その電位を急激

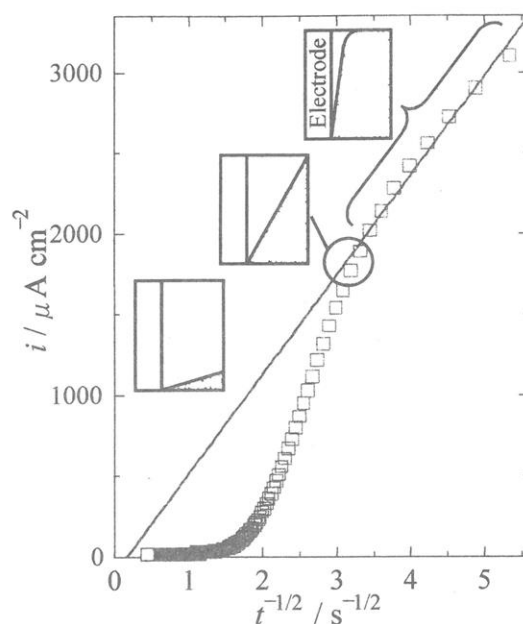


図 12 コットレルプロットにおける電流の時間変化。点は ITO 上に作製した P(CM-Fc)/PAA 膜で観測されたステップ電位印加後の電流実測値。

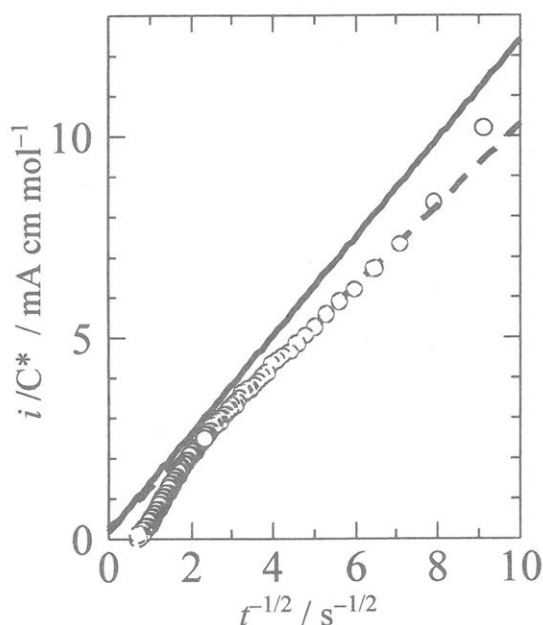


図 13 PEDOT のスピンキャスト厚膜(実線)と交互吸着膜 (○: 点線) で観測された電流変化。

に下げると電極表面近傍でのみ酸化が起こり、その後ホールの伝達拡散により、酸化状態は次第に電極から離れた試料にも広がっていく。この過程は電流として観測され、図 12 右のステップ初期の段階では、 $t^{1/2}$ に対して電流 i のプロットをすると原点を通る直線関係が得られ、その勾配より電荷の拡散係数がもとめられる。やがて酸化領域が膜厚限界に達すると、図中央から左の領域に入り、酸化種の減少にともなって電流が直線からはずれ急速に減衰する。コットレル式をこの半無限拡散系に適用することにより、Fc 膜や PEDOT 膜におけるホールの拡散係数を評価した。図 13 には、導電性高分子として知られる PEDOT/PCM 交互吸着膜とスピンコート膜の測定結果を比較して示した。¹⁰⁾ 交互吸着膜では、ホールの拡散係数 D として $D = 3.8 \times 10^{-10} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ が得られ、一方、スピンキャスト膜では $D = 5.7 \times 10^{-10} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ となった。このように交互吸着膜には絶縁性の PCM が含まれるにもかかわらず、PEDOT キャスト膜と同程度の高い導電性が観測された。これは交互吸着膜においては各層の一部が相互に貫入して電気的には接続された状態になっていることを示している。以上のように、交互吸着膜における励起エネルギーやホールの輸送性能をモデル構造をもちいて定量的に明らかにすることができた。

7. ヘテロ積層薄膜による光電変換システムの構築

これまでに述べたように、ナノスケールで構造設計可能な薄膜が作製できるようになった。このような高分子薄膜の有望な展開分野として、高効率の光電変換素子が研究されている。現在、太陽電池にはシリコンが用いられているが、有機色素や固体高分子膜で高効率な光電変換素子を作ることができれば、必要なときに必要な場所に貼れ、軽くて薄いテープのような簡易電源となり、人々の生活での応用範囲は格段に広がるだろう。図 14 は、電子供与性、光吸収色素、電子受容性の各層をヘテロ接合させ、その内部にできたイオン化ポテンシャル、電子親和力、電極の仕事関数などの準位に従って電子とホールが移動する様子を模式的に示したものである。光吸収により色素層の HOMO-LUMO に生成したホール—電子の対が、電子供与性、電子受容性材料との界面を通して、ポテンシャル勾配に従って電子とホールを受け渡し、それらが電極に輸送される様子を示している。電子の移動はナノメート

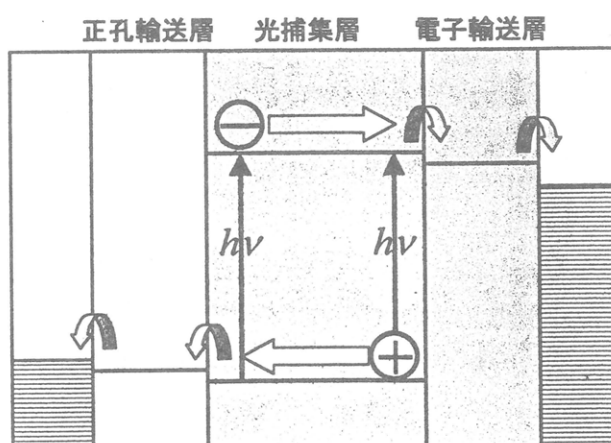


図 14 ヘテロ接合型光電変換素子の基本構造

ルの距離で起こるため、このような電子移動を制御する界面構造の作製技術が重要な役割を果たす。さらにホールと電子の電極への輸送を担う輸送層の合理的な設計も必要とされる。このように各機能素子のダイナミクスを考慮して規制されたナノ構造を設計すると、光電変換機能をもつ分子システムが構築できるはずである。高分子超薄膜を用いた積層技術は、このような知的なナノ分子システムの自由設計と構築を可能にする。図 14 はそのようなシステム設計の一例である。具体的には、各機能素子の電位に応じた順列によりポテンシャル勾配を設け、拡散可能距離に応じた膜厚を積層して構造を最適化することにより、1 次元方向にベクトル的な輸送を可能にし、システム全体として高効率の光電変換を実現する必要がある。自然がタンパク質の高次構造により実現した精緻な構造設計には程遠いが、すでにそのエッセンスを活かして人工的な分子システムを構築できる段階に達している。

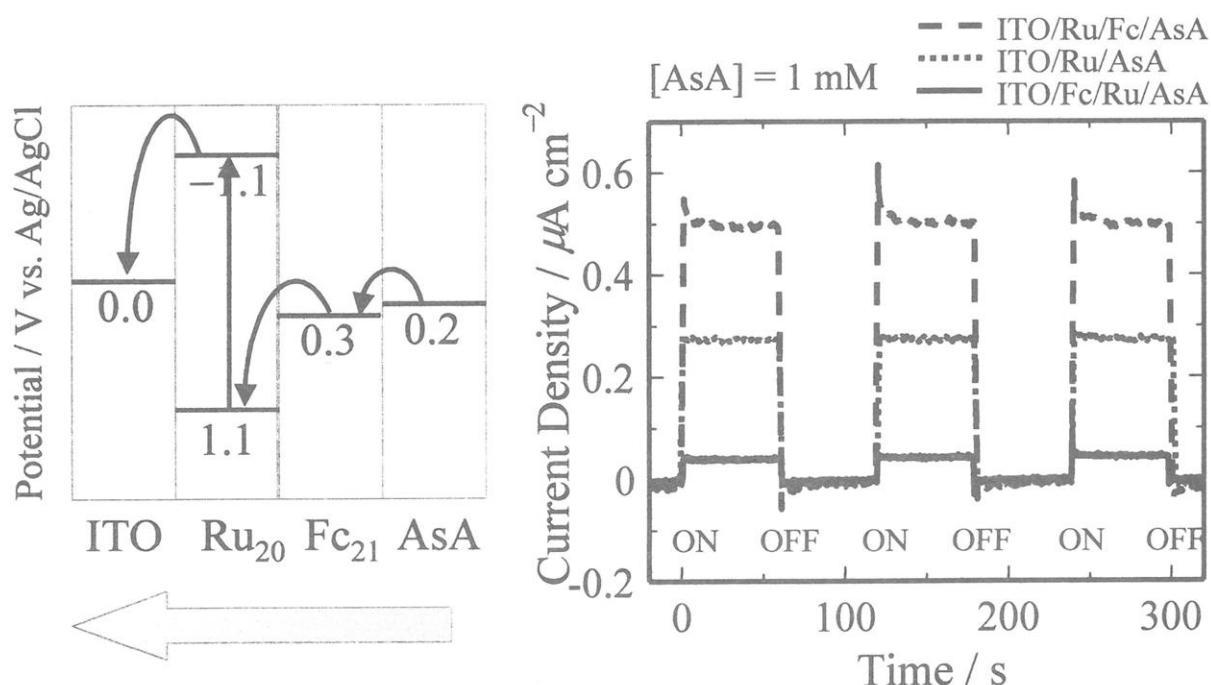


図 15 ヘテロ接合膜の構造 (左) と、層構造の変化にしたがってアスコルビン酸犠牲試薬の存在下で観測される光電流 (右)。

図 15 には、ITO 透明電極の上に Ru 層と Fc 層を交互吸着により接合した膜の光電流測定の結果を示した。¹¹⁾ ここでは光電流に対する構造制御の効果を簡便に見るため、アスコルビン酸(AsA)を犠牲試薬とする液中での観測を行った。図 15 右には、Ru 層と Fc 層の配列が光電流に与える効果を示している。光の ON-OFF に従って電流が観測されるが、ITO/Fc/Ru の配列では Ru に発生した電子が ITO 電極に到達できないため、電流値は小さい。しかしながら順序を入れ替えて ITO/Ru/Fc の配列にすると、左図にあるように光励起にともなって電子は LUMO から ITO に移動し、生じ

たホールは Fc 層を介して AsA から電子を供給されることにより、有効に電荷分離が起こる。このため、右図に見られるように大きな電流が観測される。つまり層構造にしたがって電子の流れが一方向に規制されアノード電流が流れる。

同様な現象が、電子受容性のメチルビオローゲン (MV) を犠牲試薬とした光電流測定でも観測された。この場合は図 15 の順列と逆に、ルテニウムの光励起にともなって電子は MV に移動し、ホールは Fc 層を介して ITO から供給されるのでカソード電流が流れる。このように、ナノ構造の設計により電子の流れを制御できることが示された。

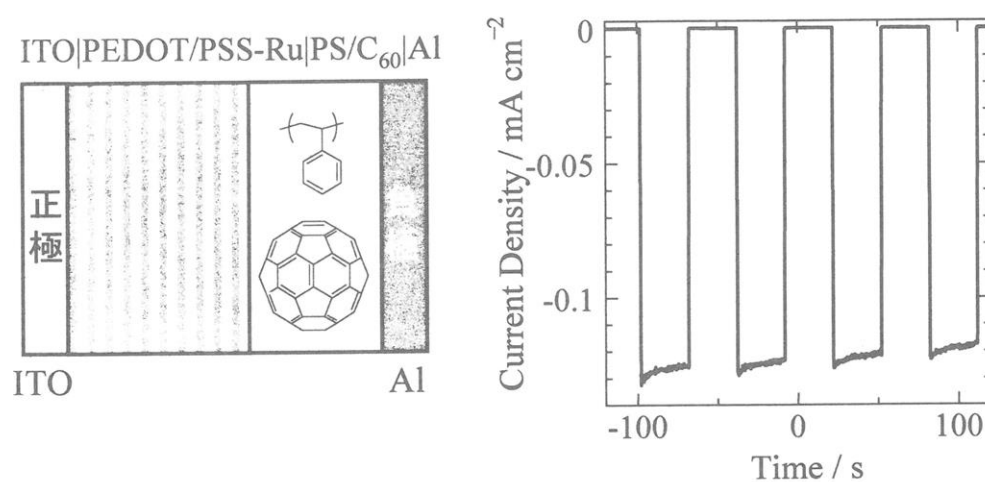


図 16 試作した完全固体型高分子光電変換膜の構造 (左) と光照射時の短絡電流 (右)。光照射は 500-W Xe Lamp、 $\sim 50 \text{ mW cm}^{-2}$ 。

交互吸着法を用いると、光電子活性な機能基を任意に配置した高分子薄膜を設計でき、完全固体型の光電変換素子を作製することができる。図 16 はホール輸送を担う PEDOT 層と光吸収を担う Ru 層を複合した交互吸着膜に、電子輸送層としてフラーレン膜をキャストして作製した。この膜に Al を蒸着して電極を作製し、 50 mW cm^{-2} の光を 500-W Xe ランプから照射すると、 0.1 mA を超える短絡光電流が発生した。このような合理的設計にしたがって作製された素子が十分に機能することが実証された。

8. おわりに

高分子材料の応用分野はますます広がり、とりわけ電子材料としての利用は高分子の大きな発展分野となっている。ポリチオフェン・ポリアセチレンをはじめとする導電性高分子、その他、電子やホールの輸送機能をもつ様々な高分子が開発されており、最近では、透明、薄膜、柔軟という性質、さらに成形加工や環境資源という面が

らも優れた高分子の特質が認められるようになった。一方、分子スケールでの構造制御と分子集積技術が開発され、以上の実験例で示したように、高分子超薄膜をコンポーネントとして3次元ナノ構造を精密に構築することが可能になってきた。「電子の動き」や「励起エネルギーの動き」は機能材料のもっとも広く重要な素過程であり、高分子材料・高分子集積技術の発展により人知に基づいた新しい光電子機能材料の設計、作製が可能になりつつある。

謝辞 本研究の一部は京都大学包括的産学融合アライアンスの援助を受けて行われたことを記し、感謝の意を表します。

文献

- 1) H. Okita, T. Ogi, R. Kinoshita, S. Ito, M. Yamamoto, *Polymer*, **43**, 3571 (2002).
- 2) S. Ohmori, S. Ito, and M. Yamamoto, *Macromolecules*, **24**, 2377 (1991).
- 3) 伊藤紳三郎, *季刊化学総説* No.42, 135 (1999).
- 4) G. Decher, *Science*, **277**, 1232 (1997).
- 5) 伊藤紳三郎、島崎譲、山本雅英, *日本化学繊維研究所講演集*, **56**, 15 (1999).
- 6) Y. Shimazaki, M. Mitsuishi, S. Ito, M. Yamamoto, *Langmuir*, **14**, 2768 (1998).
- 7) T. Fushimi, A. Oda, H. Ohkita, S. Ito, *J. Phys. Chem., B*, **108**, 18897 (2004).
- 8) T. Fushimi, A. Oda, H. Ohkita and S. Ito, *Thin Solid Films*, in press.
- 9) S. Ito, S. Ohmori, and M. Yamamoto, *Macromolecules*, **25**, 185 (1992).
- 10) D. Wakisaka, T. Fushimi, H. Ohkita, S. Ito, *Polymer*, **45**, 8561 (2004).
- 11) T. Fushimi, A. Oda, H. Ohkita and S. Ito, *Langmuir*, in press.

半屈曲性3本腕星型鎖の固有粘度

井田 大地・吉崎 武尚

D. Ida, T. Yoshizaki

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

平均二乗回転半径 $\langle S^2 \rangle$ や固有粘度 $[\eta]$ などの1本の高分子鎖の広がりを反映する稀薄溶液物性は高分子の1次構造に大きく依存する。分枝高分子の分枝状態と稀薄溶液物性の関係は、単に学問的な観点からばかりでなく、高分子材料の品質管理という観点からも興味を持たれ、古くからガウス鎖モデルを用いた理論的研究¹⁾と屈曲性高分子を対象とした実験的研究²⁾が行われてきた。近年、高機能材料として用いられている各種機能性高分子には、その主鎖骨格が剛直なものが多く、半屈曲性分枝高分子の稀薄溶液物性の研究が望まれる。しかし、MansfieldとStockmayer³⁾が行ったみみず(KP)星型鎖の $\langle S^2 \rangle$ に関する理論的研究を除けば、そのような研究は見当たらない。稀薄溶液物性の実験的研究目的に適う、1次構造の制御された半屈曲性分枝高分子試料を利用できなかったことが原因であると考えられる。

最近、GoodsonとNovak⁴⁾はリビング配位重合法を用いて、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)の3本腕星型鎖の重合に成功したが、これを測定試料として用いることで、半屈曲性分枝高分子の実験的研究の進展が期待される。ここでは、そのような実験的研究に先立って行った、半屈曲性3本腕星型鎖の $[\eta]$ に関する理論的研究について報告する。

$[\eta]$ の解析的な評価には、Kirkwood-Riseman (KR)¹⁾に従い、高分子を構成する要素間に働く流体力学的相互作用の前平均近似が行われる。しかし、これが必ずしもよい近似ではないので、この近似の妥当性の検討も含め、自由回転鎖を用いたMonte Carlo (MC) シミュレーションにより、半屈曲性3本腕星型鎖の $[\eta]$ を評価した。

2. モデルと方法

結合角 θ 、結合長 $l (= 1)$ の自由回転鎖を考える。3本腕星型鎖は、図1に示すように、中心(0)から結合数 n_{arm} の枝が3本伸びている。したがって、結合総数は $n = 3n_{\text{arm}}$ となる。中心からの最初の結合は、同一平面上にあり、互いに 120° の角度を成す。中心(0)と n_{arm} , $2n_{\text{arm}}$, $3n_{\text{arm}}$ の三つの自由端点、および $n-3$ 個の結合点に $n+1$ 個のビーズ(白丸)を配置する。これらのビーズの間には平均力ポテンシャルと流体力学的相互作用が働く。この3本腕星型鎖との比較の基準となる線状鎖は n 個の結合から成っており、2個の端点と $n-1$ 個の結合点に $n+1$ 個のビーズを配置する。

ビーズ間に働く平均力ポテンシャル u には次のように定義される Lennard-Jones 6-12 ポテンシャルを用いた。

$$u(R) = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{R} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{R} \right)^6 \right] \quad (1)$$

R はビーズの中心間距離、 σ は衝突直径、 ϵ は引力の深さを表す。 σ を結合長と等しく選び ($\sigma = 1$,

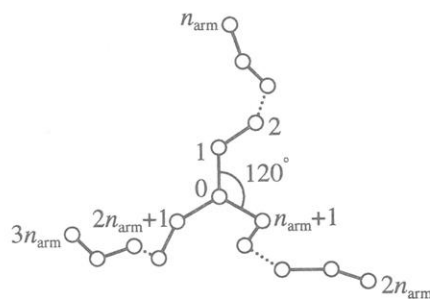


図1. 3本腕星型鎖

接触ビーズモデル), また実際の計算においては $R \geq 3\sigma$ のとき $u = 0$ とした。

3本腕星型鎖の場合は, $f (= 1, 2, 3)$ 番目の腕上の $(f-1)n_{\text{arm}}+1$ 番目から $fn_{\text{arm}}-1$ 番目の結合に付随する, 合計 $n-3$ 個の内部回転角が与えられれば鎖の形態が決まる. 一方, 線状鎖の場合は, 2番目から $n-1$ 番目の結合に付随する, $n-2$ 個の内部回転角が与えられれば鎖の形態が決まる. 二つの鎖, いずれの場合も, 必要数の内部回転角の組をランダムに発生し, ビーズ間衝突が無い場合を初期形態として, ピボット法^{5,6)}, Metropolis 法⁷⁾を用いて逐次サンプリングを行い, 統計母集団を得た. 具体的には, $\theta = 109^\circ, 165^\circ, 175^\circ$ の場合について, n を 60, 120, 180, 240, 300 と変化させて, それぞれ 5×10^4 のサンプルから成る統計母集団を得た. なお, 還元温度 $T^* = k_B T / \epsilon$ (k_B は Boltzmann 定数, T は絶対温度) は, 今考えている自由回転鎖が Θ 状態となる 3.72 とした⁸⁾. 統計母集団が正しく生成されたかを確認するため, Mansfield-Stockmayer の理論結果との比較を行うために, 各統計母集団の $\langle S^2 \rangle$ を評価した.

このようにして得られた統計母集団から, Zimm の方法⁹⁾, Fixman の方法¹⁰⁾, KR 法を用いて $[\eta]$ を評価した. 母集団に含まれる各サンプルを流体力学モデルとして用いる際には, 各ビーズをその流体力学的直径 d_b が結合長に等しい Stokes 球とした. Zimm および Fixman の方法を用いる際には, そのビーズの間に働く流体力学的相互作用を修正 Oseen テンソル¹¹⁾ で記述した. Zimm の方法は, 母集団に含まれるサンプルがそれぞれ剛体として振る舞うとして $[\eta]$ を評価するもので, 剛体アンサンブル近似とも呼ばれる. また, Zimm の方法からは $[\eta]$ に対する或る一つの上限值 $[\eta]^{(U)}$ が, Fixman の方法からは或る一つの下限值 $[\eta]^{(L)}$ が得られ, 真の $[\eta]$ との間に $[\eta]^{(L)} \leq [\eta] \leq [\eta]^{(U)}$ の関係が成り立つ.

3. 結果と考察

$\langle S^2 \rangle$ $\langle S^2 \rangle$ に対する MC の結果を Mansfield-Stockmayer の KP 星型鎖に対する理論結果と比較するのに先立ち, $\theta = 109^\circ, 165^\circ, 175^\circ$ のときの自由回転鎖の剛直性パラメータ λ^{-1} と単位鎖長あたりの結合数 $n_L (= n/L, L$ は鎖長) の値を決定する必要がある. 線状鎖に対する $\langle S^2 \rangle / n$ の MC 値を次式で与えられる KP 理論値と比較し, 両者の値がもっともよく一致するように λ^{-1}, n_L の値を決定した.

$$\frac{\langle S^2 \rangle}{n} = \frac{\lambda^{-2}}{n_L L} \left[\frac{\lambda L}{6} - \frac{1}{4} + \frac{1}{4\lambda L} - \frac{1}{8(\lambda L)^2} (1 - e^{-2\lambda L}) \right] \quad (2)$$

このように決定した λ^{-1}, n_L の値を表 1 に示す. なお, 屈曲性高分子に対応する $\theta = 109^\circ$ の時の値は以前に決定したものである⁸⁾. 固い高分子に対応する $\theta = 165^\circ$ と 175° の場合の λ^{-1} の値は, $\theta = 109^\circ$ の場合の値に比べてかなり大きいことが分かる. 決定された λ^{-1} と n_L の値から, 各 θ の鎖の還元鎖長 λL を計算した.

図 2 に, 同一鎖長の星型鎖と線状鎖の $\langle S^2 \rangle$ の比 g_S の λL に対する片対数プロットを示す. 図中, 白丸が今回の MC 値を表し, 実線は次式で与えられる Mansfield-Stockmayer の 3 本腕星形鎖に対する結果と式 (2) から計算した g_S の KP 理論値を表す.

$$\langle S^2 \rangle = \lambda^{-2} \left[\frac{7\lambda L}{54} - \frac{1}{3} + \frac{1}{4\lambda L} + \frac{1}{4\lambda L} (1 - e^{-2\lambda L/3}) - \frac{3}{16(\lambda L)^2} (1 - e^{-4\lambda L/3}) \right] \quad (3)$$

また, 点線は各 θ の理想自由回転鎖の理論値, 上の破線は非摂動ガウス鎖極限值¹⁾ $7/9$, 下の破線は棒極限值³⁾ $4/9$ を表す. 自由回転鎖の理論値は Guenza ら¹²⁾ の 3 本腕自由回転鎖の値と線状自由回転鎖の値から計算した. すでに報告したように⁸⁾, 今回用いた, ビーズ間に式

表 1. KP モデル定数値

θ	λ^{-1}	n_L
109°	3.0 ₁	1.2 ₄
165°	5.7 ₇ × 10	1.0 ₀
175°	5.2 ₆ × 10 ²	1.0 ₀

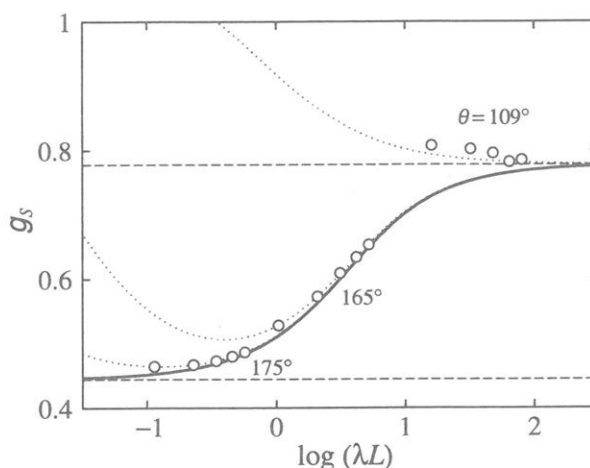


図 2. g_S 対 $\log(\lambda L)$ プロット

(1) の平均力ポテンシャルが働く自由回転鎖の Θ 状態と、ビーズ間に相互作用のない自由回転鎖の広がり異なるので、後者を理想自由回転鎖と呼ぶことにする。屈曲性高分子に対応する $\theta = 109^\circ$ の場合、 $n \rightarrow \infty$ の極限における $\langle S^2 \rangle / n$ の値は、3 本腕星型鎖、線状鎖、いずれの場合も理想自由回転鎖の値に比べて 20% 程大きい。しかし、3 本腕星型鎖と線状鎖との比をとった g_S の値は、 θ の値によらず理想自由回転鎖にほぼ一致することが分かる。

屈曲性高分子に対応する $\theta = 109^\circ$ 場合、 g_S の MC 値は λL の小さい領域を除いて非摂動ガウス鎖極限値に一致する。また、半屈曲性高分子に対応する $\theta = 165^\circ, 175^\circ$ の場合、 g_S の MC 値は λL の小さい領域を除いて KP 理論値に一致する。 λL が小さい領域において MC 値ならび理想自由回転鎖の値が、対応する理論値から上方にずれるのは、 n の小さい自由回転鎖がガウス鎖あるいは KP 鎖で記述できないからである。以上より、統計母集団が正しく生成されており、それを用いて評価した g_S の挙動がガウス鎖および KP 鎖で記述できることが分かる。

[η] 図 3 に、Zimm, Fixman, KR の方法を用いて評価した 3 本腕星型鎖と線状鎖の [η] の比 g_η の λL に対する片対数プロットを示す。図中、三角、下三角、白丸はそれぞれ Zimm 値、Fixman 値、KR 値を表す。また、破線は KR 法を用いて評価された非摂動ガウス鎖に対する Zimm-Kilb¹⁴⁾ 理論値 0.91 を表す。さらに、点線は Zimm-Kilb が非摂動ガウス鎖に対して導いた関係式 $g_\eta \simeq g_S^{1/2}$ と、図 2 に示した g_S に対する KP 理論値を用いて計算した値を表す。

上に述べたように、Zimm および Fixman 法を用いて得られる [η] は真の値に対する上限値および下限値であり、[η] の値それ自身は一致しないが、3 本腕星型鎖と線状鎖の比をとった g_η の Zimm 値と Fixman 値は、高分子鎖の固さ、長さによらずほぼ一致することが分かる。また、高分子鎖が固くなる ($\theta = 165^\circ, 175^\circ$) と、KR 値もこれら二つの値とほぼ一致することが分かる。

屈曲性高分子に対応する $\theta = 109^\circ$ の場合、KR 値は λL の増加とともに僅かに減少するものの、今回調べた λL の範囲においては、Zimm-Kilb 理論値とほぼ一致している。Zimm 値、Fixman 値の λL 依存性も KR 値とほぼ同様であるが、値そのものは KR 値 (Zimm-Kilb 理論値) より 5% 程小さい。 Θ 溶媒中における 4 本腕および 6 本腕星型ポリスチレンに関する g_η の測定値が Zimm-Kilb 理論値よりそれぞれ 8%, 12% 小さいことが報告されている²⁾。今回の結果から考えて、そのような実験と理論の不一致は、KR 法における流体力学的相互作用の前平均近似による、理論値の過大評価が原因であると考えられる。

半屈曲性高分子に対応する $\theta = 165^\circ, 175^\circ$ の場合、上にも指摘したように、三つの値はほぼ等しくなるが、高分子鎖が固くなると、[η] さらには g_η に対する前平均近似の影響が小さくな

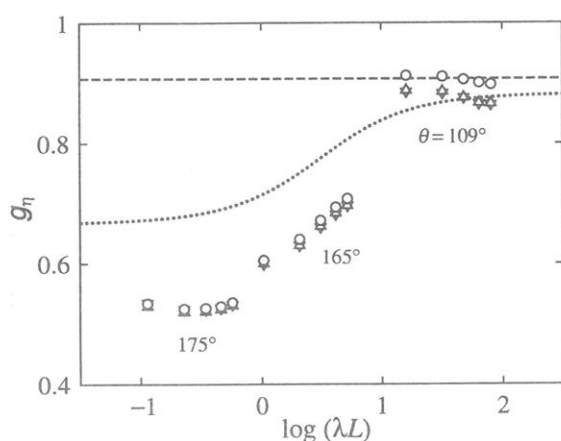


図3. g_η 対 $\log(\lambda L)$ プロット

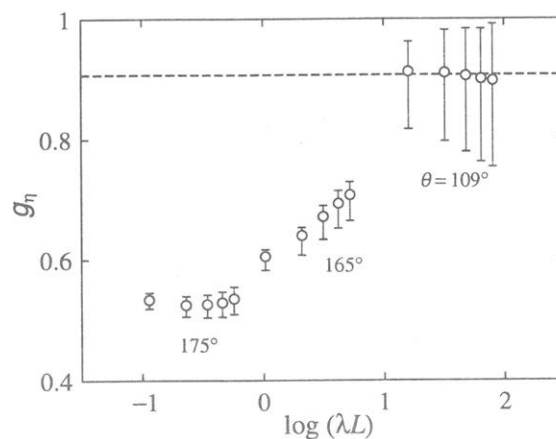


図4. g_η 対 $\log(\lambda L)$ プロット

るためと考えられる。 $\theta = 165^\circ, 175^\circ$ 、いずれの場合も、 λL の小さい領域を除いて、 λL の減少とともに単調に減少する。図から明らかなように、今回の MC 値は点線で示した値よりかなり小さく、高分子が固くなると、Zimm-Kilb の関係式 $g_\eta \simeq g_s^{1/2}$ が成立しなくなることが分かる。

g_η に対する Zimm 値、Fixman 値は g_η の上限値、下限値を与えるわけではないので、 $[\eta]$ に対する Zimm 値 $[\eta]^{(U)}$ と Fixman 値 $[\eta]^{(L)}$ から g_η に対する上限値 $g_\eta^{(U)}$ と下限値 $g_\eta^{(L)}$ を評価する。星型鎖の $[\eta]^{(U)}$ と線状鎖の $[\eta]^{(L)}$ の比 $g_\eta^{(U)}$ ($= [\eta]^{(U)}/[\eta]^{(L)}$) は不等式 $g_\eta < g_\eta^{(U)}$ を満たす。また、星型鎖の $[\eta]^{(L)}$ と線状鎖の $[\eta]^{(U)}$ の比 $g_\eta^{(L)}$ ($= [\eta]^{(L)}/[\eta]^{(U)}$) は不等式 $g_\eta^{(L)} < g_\eta$ を満たすので、このように与えられる $g_\eta^{(U)}$ 、 $g_\eta^{(L)}$ を用いて、真の g_η 値が存在する範囲について検討する。図4に $g_\eta^{(U)}$ および $g_\eta^{(L)}$ の λL に対する片対数プロットを示す。図中、縦棒の上限および下限がそれぞれ $g_\eta^{(U)}$ と $g_\eta^{(L)}$ の値を表す。また、白丸と破線は図3と同じ意味を持つ。 λL の増大とともに上限値と下限値の間隔が広がり、屈曲性高分子に対応する $\theta = 109^\circ$ の場合、上のように定義した $g_\eta^{(U)}$ 、 $g_\eta^{(L)}$ は有効ではない。しかし、半屈曲性高分子に対応する $\theta = 165^\circ, 175^\circ$ の場合、その間隔は余り大きくなく、Zimm 値、Fixman 値、KR 値と同様、 λL の小さい領域を除いて、真の g_η 値が λL の減少とともに単調に減少することが分かる。また、KR 値は上限値と下限値の間にあり、前平均近似の影響が小さい半屈曲性高分子の場合、 g_η に対する KR 値が良い近似値であることが分かる。

文献

- 1) H. Yamakawa, *Modern Theory of Polymer Solutions*, Harper & Row, New York, 1971. The electronic edition (<http://www.molsci.polym.kyoto-u.ac.jp/archives/redbook.pdf>) is available.
- 2) 中村 洋, 高分子論文集, **57**, 530 (2000).
- 3) M. L. Mansfield, W. H. Stockmayer, *Macromolecules*, **13**, 1713 (1980).
- 4) S. H. Goodson, B. M. Novak, *Macromolecules*, **34**, 3849 (2000).
- 5) M. Lal, *Mol. Phys.*, **17**, 57 (1969).
- 6) N. Madras, A. D. Sokal, *J. Stat. Phys.*, **50**, 109 (1988).
- 7) N. Metropolis, A. W. Rosenbluth, M. N. Rosenbluth, A. H. Teller, E. Teller, *J. Chem. Phys.*, **21**, 1087 (1953).
- 8) H. Yamakawa, T. Yoshizaki, *J. Chem. Phys.*, **118**, 2911 (2003).
- 9) B. H. Zimm, *Macromolecules*, **13**, 592 (1980).
- 10) M. Fixman, *J. Chem. Phys.*, **78**, 1588 (1983).
- 11) H. Yamakawa, *Helical Wormlike Chains in Polymer Solutions*, Springer, Berlin, 1997.
- 12) M. Guenza, M. Mormino, P. Perico, *Macromolecules*, **24**, 6168 (1991).
- 13) G. Wilemski, G. Tanaka, *Macromolecules*, **14**, 1531 (1981).
- 14) B. H. Zimm, R. W. Kilb, *J. Polym. Sci.*, **37**, 19 (1959).

会合性高分子のゲル化とレオロジーに関する理論・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, 古賀毅, 印出井努, 岡田幸典

概要 部分的に疎水化された水溶性高分子（会合高分子）は、水中で疎水基の会合によりミセル形成、ゾル・ゲル転移、LCST 型相分離などの転移現象を有し、花型ミセルや組み替えネットワークのような特異な自己集合構造を形成する。また、動的には剪断流下での粘性増大（シェアシックニング）、応力のオーバーシュートなど極めて特徴的なレオロジー特性をしめすので、高分子の分子論的な基礎研究面からも工業上の応用という視点からも興味を持たれている。本講演では水溶性の合成高分子の代表であるポリエチレンオキシドとポリイソプロピルアクリルアミドとを対比しながら、両末端疎水化会合高分子（テレケリック鎖）の凝集・離散過程の分子論的な機構を理論・シミュレーションの手法で探る。

1 はじめに—水溶性高分子の特徴—

高分子水溶液では下限臨界相溶点（LCST）のある高温相分離型の相図がしばしば見られる。このような LCST 型の相図の分子論的な説明はこれまで、空孔の生成、あるいは疎水性水和（疎水基の近傍の水の構造変化）、による理論的説明があったが、いずれも不十分なもので完全な理解に至ってなかった。我々はポリエチレンオキシド水溶液に見られるループ型の相図を理解するために、水分子の高分子鎖への直接の水素結合（一種の水和と考えられる）を仮定し実験結果を矛盾なく説明した [1, 2]。水素結合水和はその後、分子動力学シミュレーションによる直接の確認、加圧による相分離領域の拡大現象（圧力効果）、水分子同士の水素結合と高分子水間の水素結合の争奪現象、などの研究を経て高分子水溶液を考察する上で基本的な考え方となっている。

2 PEO と PNIPAM の水溶液の比較—協同性水和—

2.1 ポリエチレンオキシド (PEO)

ポリエチレンオキシド (PEO) は水溶液中では緩いヘリックスのコンホメーション (11/2 構造) をとることが MD シミュレーションで示された [3]。ヘリックスの各ターンは水分子 1 個を水素結合で収容できるサイズのポケットになっていて、水分子は互いに相関をもたずにランダムに水和するものと推測される。我々はこのシミュレーションに先立って、ランダムな水和を仮定して PEO 水溶液にみられるループ型の相分離領域を導出した [2]。その結果、一般的なルールとしては、(1) 比較的小さな分子量の高分子に対しては、通常のドーム型の低温相分離に加えて高温領域に閉じたループ型の相分離領域が出現すること、(2) ループ型相分離は、頂上に上限臨界相溶点 (UCST) と底に下限臨界相溶点 (LCST) をもつこと、したがって、ドーム頂上の UCST と合わせて、体系は 3 つの臨界点をもつこと、(3) 分子量の増大とともにドームの UCST とルー

プの LCST が近づき、ある分子量で一点に融合し臨界点は二重臨界点 (Double Critical Point DCP) になること、この分子量の臨界値以上では、ドームとループはつながって砂時計型の相分離領域になること、(4) 逆に、分子量のある臨界値以下ではループが消失するような超臨界点 (Hyper Critical Point HCP) が出現する、などを指摘した。

2.2 ポリイソプロピルアクリルアミド (PNIPAM)

一方、感熱性高分子で知られるポリイソプロピルアクリルアミド (PNIPAM) 水溶液は、 31°C 付近で 20 wt% 程度まで平らな LCST 型のスピノダル線や曇点曲線をもつことが実験的に検証されていて、それらは (ある程度の分子量以上であれば) 分子量にほとんど依存しない。このように、狭い温度領域で相分離が進行するのは高分子のシャープなコンホメーション転移 (コイル・グロビュール転移) が起こることと結びついていて、NIPAM の感熱性の発現機構となっている。コイル・グロビュール転移に関しては光散乱、マイクロカロリーメトリなどにより分子論的なメカニズムが解明されて来ているが、相分離機構についての研究は少ない。最近我々は PNIPAM の場合、水和がコイル・グロビュール転移と同期して協同的に起こるという仮説のもとに理論的に相図を導出し、実験結果と比較検討した [4]。

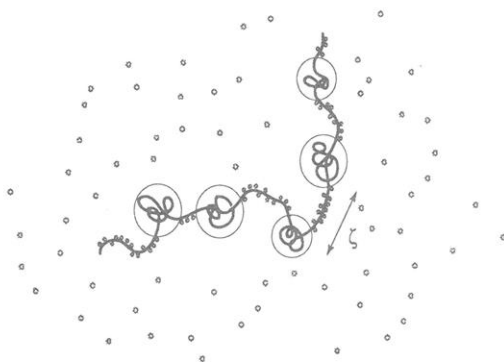


図 1: 水分子の高分子鎖への連鎖性水素結合 (協同水和)。

PNIPAM は側鎖に大きな疎水性のプロピル基を有するので、水分子がその根本付近のアミド基に水素結合する時に協同性が現れる。すなわち、1 個の水分子が水和すれば、その場所の疎水基が横に移動するので隣接するアミド基に 2 個目の水が結合し易く、水素結合連鎖が形成される傾向が生じる。逆に、脱水和する場合には水分子がランダムに 1 個づつはがれるのではなく、ひとつながりの連鎖として脱水するため、露出したプロピル基の疎水凝集が急激に進行する (ドミノ効果)。このような連鎖性の水和を協同水和とよぶことにする (図 1)。

協同水和を表すために、統計単位で数えた連鎖長が ζ の水素結合列が鎖上に j_c 個生成しているとする。水素結合のエネルギーを $-\epsilon$ 、水素結合により隣接した 2 つの水分子間の相互作用のエネルギーを $-\Delta\epsilon$ とすると、ランダムコイルを基準に測った水素結

合連鎖一つ当たりの統計重率は Zimm-Bragg 型 [5]

$$\eta_{\zeta} = \sigma \mu(T)^{\zeta} \quad (1)$$

となる．ここで， $\sigma \equiv \exp(-\Delta\epsilon/k_B T)$ は協同性のパラメータ， $\mu(T) \equiv \exp[-(\epsilon + \Delta\epsilon)/k_B T]$ は会合定数（水素結合の結合定数）である．隣接分子間に相互作用のない場合 $\sigma = 1$ で PEO にみられるランダムな水和に帰着し， σ の値が小さくなるほど協同性が増す．

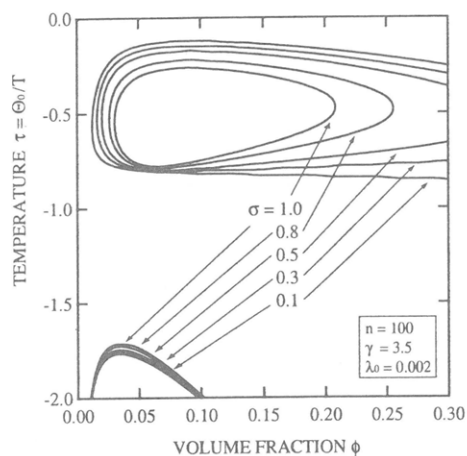


図 2: 連鎖性のドミノ効果による LCST 相分離線の平坦化

図 2 にはこのような協同性によって相分離ループがどのように形状を変えるか理論計算した結果を示す．すなわち， σ が減少するにつれてループの底の部分は平らになり， $\sigma = 0.3$ あたりでほとんど水平になることがわかる．これは PNIPAM で観測される平らな LCST に対応する．

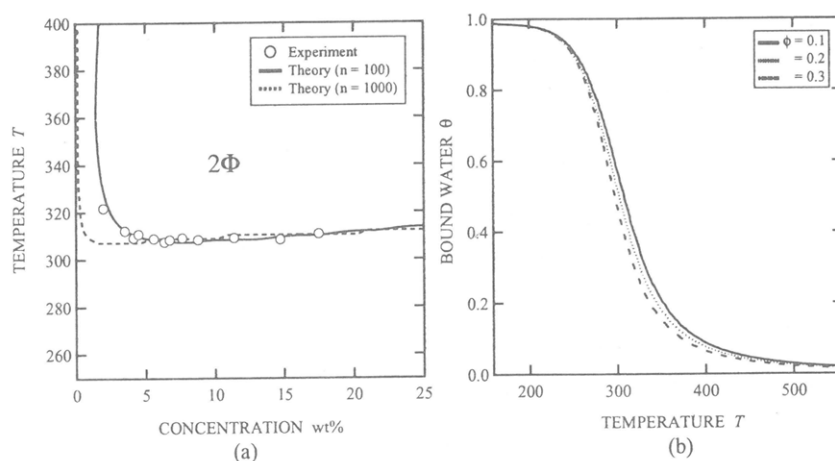


図 3: スピノダル線の実測と協同水和にもとづく理論計算との比較．分子量の依存性が弱い．

図3(a)にはこのような考えに基づいて導出したスピノダル線の理論計算と実験結果を比較してある。予想通り分子量にはあまり依存せず、実験データをうまく再現することが確認された。(b)図には濃度を3つの値に固定し、温度を変化させた場合の1本の鎖に水和された水分子の数を高分子の重合度で割った値(被覆率) θ の計算結果を示してある。相分離温度である304 K付近で急激に脱水和することがわかる。

3 疎水化されたPEOとPNIPAM

つぎに、疎水化された水溶性高分子が形成するミセルや3次的に連結したネットワーク構造を考えよう。疎水凝集ミセルにより多重架橋された高分子ネットワークは、熱運動や外力によって架橋の組み替えが起こり、ゲルのネットワークの連結構造は凍結していない。このため体積相転移のような形態を保つ変化は基本的には起こり難く、代わってゾル・ゲル転移、ゲル固体の流動、網目状につながった高分子の相分離などの新しい現象が見られる。

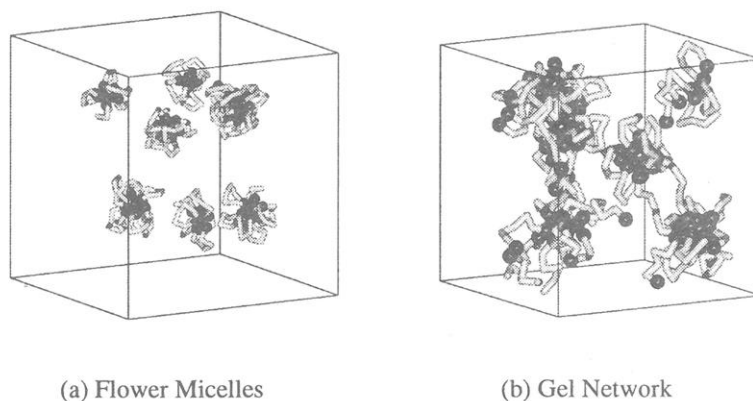


図4: テレケリック会合高分子のモンテカルロシミュレーション (a) 低濃度でのフラワー相のMCスナップショット。会合数10くらいのフラワーミセルが安定に存在する。(b) 高濃度でのゲル相のMCスナップショット。ミセルが架橋点になっている。架橋点は複数のブリッジ鎖で多重に連結されているものもある。

我々は両末端を疎水基(アルキル鎖)で修飾した水溶性高分子(テレケリック会合高分子)の場合に、凝集構造や相分離、ゾル・ゲル転移について理論・シミュレーションの方法で調べた。その結果、一般的には、低濃度で自己ループが凝集した花型のミセル(フラワーミセル)が出現し、濃度増加とともにミセル間の架橋が発展し、成長したネットワークがある臨界濃度で系全体にパーコレートしたゲル構造に至る事が分かった。図4にはMCシミュレーションにより得られたフラワー相とゲル相のスナップショットを示してある。

相分離現象に関しては、疎水性の会合により平均分子量が増加するため一般的には相分離領域が拡大する(会合誘起相分離)。主鎖がPEOの場合の曇点曲線の低温側へ

のシフト ΔT_{LCST} については一挙に 100°C 程度下がることが観測されている [6]。また、同一長の末端鎖 (C12) に関して主鎖の分子量を変化させて曇点のシフトを観測すると、分子量が低いほど低温シフト量 ΔT_{LCST} が大きい、つまり相分離し易いことが知られている。このような分子量に関する逆転現象は、同一の高分子濃度で比較すると低分子量の主鎖ほど末端鎖の数濃度は大きくなるので平均的に大きな会合体を形成するというで説明できそうである。図5には主鎖がランダムな水和をする PEO の場合に、末端鎖の結合エントロピーの違い (定数 λ_0 の違い) により ΔT_{LCST} がどのように変化するか理論計算を行った結果を示す。会合強度とともに低下が著しくなるのが見られる。また、これに連動して低温側の UCST が上昇してくるので、両者がちょうど融合するような会合強度が存在することが予測される。これは分子量の増加とともに見られたホモポリマーの2重臨界点に対応するものである。

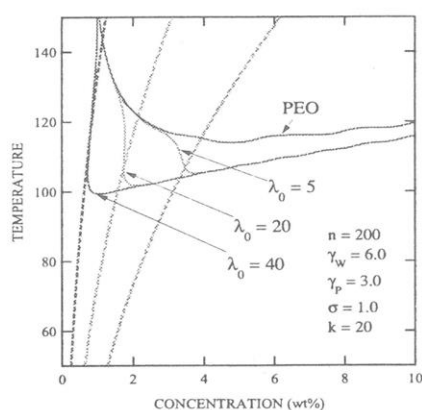


図 5: 両末端疎水化による分子間会合で引き起こされた LCST の降下。点線は対応するゾル・ゲル転移線。会合強度を強くすると降下が著しくなる。

4 組み替えネットワークのレオロジー

疎水性ミセルにより架橋された熱可逆性ゲルでは架橋点の生成消滅が可能なので、体系が巨視的に連結していても内部の鎖の組み替えにより流動性をしめすことができる。すなわち、パーコレーション閾値を超えても粘弾性的にはゲルというより緩和時間の長い液体に近いものである。このような領域でのレオロジー的な性質は架橋点の平均寿命 τ によって特徴づけられる。平均寿命は熱運動による活性化により末端鎖がミセルから離れる過程の他に、ブリッジ鎖の主鎖にそって発生した張力により強制的に引き抜かれる過程がある。同一の張力であってもミセルのサイズや凝集構造によって引き抜きの頻度が異なるので、末端鎖の結合離散過程は末端鎖長と主鎖の性質とのバランスで決まるものと考えられる。

このような組み替えのあるネットワークについて、我々は Transient Network 模型により理論解析を行った [8]。この理論では体系中にある高分子をブリッジ鎖、ループ鎖、自由末端鎖の3つのカテゴリーに分類し、応力はブリッジ鎖が担うと考える。時

刻 t において単位体積中に存在する末端間ベクトルが $\mathbf{r} \sim \mathbf{r} + d\mathbf{r}$ のブリッジ鎖の数を $F(\mathbf{r}, t)d\mathbf{r}$ とすると，変形テンソルが $\hat{\lambda}(t)$ ，流速テンソルが $\hat{\kappa}(t) \equiv d\hat{\lambda}(t)/dt \cdot \hat{\lambda}(t)^{-1}$ の流動場では，ブリッジ鎖数は時間発展の方程式

$$\frac{\partial F(\mathbf{r}, t)}{\partial t} + \nabla \cdot (\hat{\kappa}(t)\mathbf{r}F(\mathbf{r}, t)) = -\beta(r)F(\mathbf{r}, t) + p\nu^D(t)\Phi_0(r), \quad (2)$$

に従う．ここで， $\nu^D(t)$ は末端鎖の総数， $\Phi_0(r)$ は末端間ベクトルの平衡分布関数である．平衡分布関数は $f(r)$ を鎖に沿った張力とすると

$$\Phi_0(r) = C \exp\left(-\frac{1}{k_B T} \int_0^r dr' f(r')\right), \quad (3)$$

で表される．ここで C は規格化定数である．左辺の第2項はブリッジ鎖が剪断流により伸長される効果を表し，右辺の第1項は末端が引き抜かれてブリッジ鎖が消滅する効果を，第2項は自由末端鎖が再結合してブリッジ鎖に変化する効果を表している．剪断速度が $\dot{\gamma}$ で与えられる剪断流場では， $\kappa_{xy} = \dot{\gamma}$ であるので，長時間後の $t \rightarrow \infty$ 極限では定常状態の分布 $F(\mathbf{r}) \equiv F(\mathbf{r}, t=\infty)$ に対して

$$\dot{\gamma} y \frac{\partial F(\mathbf{r})}{\partial x} = -\beta(r)F(\mathbf{r}) + p\nu^D\Phi_0(r) \quad (4)$$

が成立する．我々はこの方程式を主鎖の張力に関する仮定

$$\tau(\tilde{r}) \equiv f(r)a/k_B T = 3\tilde{r} \left(1 + \frac{2A}{3} \frac{\tilde{r}^2}{1 - \tilde{r}^2}\right), \quad (5)$$

および末端鎖の崩壊確率に関する仮定

$$\beta(r) = \beta_0 \{1 + g\tau(\tilde{r})^2\}. \quad (6)$$

のもとに詳細に検討した [9]．ここで， $\tau(\tilde{r})$ は無次元化された張力， $\tilde{r} \equiv r/a$ は無次元化された末端間距離， A は張力プロファイルの中の非線型の伸びきり効果を表す強度パラメータ， β_0 は熱運動による崩壊確率， g は張力と崩壊確率との結合定数である．すなわち， A の値が大きければ，主鎖は微小な伸長により線型バネ（ガウス鎖）の振る舞いからはずれてしまう．また，結合定数 g が大きいほど微小な張力で末端鎖が引き抜かれる．ミセルの構造から分子論的に g を導出することが可能であるが詳細は省略する．

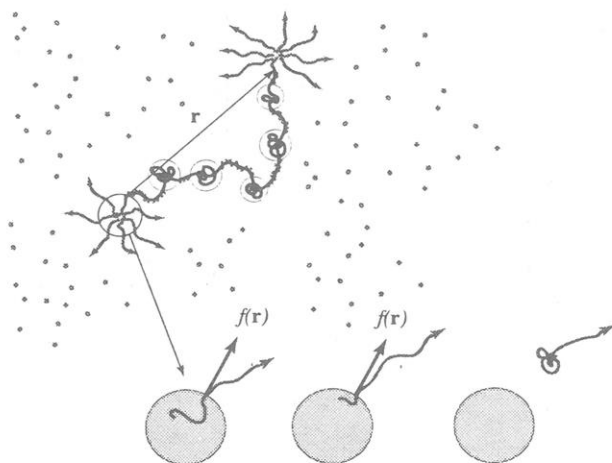


図 6: 協同水和と疎水性会合との共存. 剪断流により主鎖に沿って張力が発生し, 末端鎖が疎水性ミセルから引き抜かれる.

主な結果は以下のようにまとめられる:

1. 線型複素弾性率は τ を緩和時間にもつような単一緩和の Maxwell 液体に近い (図 7). 緩和時間はポテンシャル障壁 ΔF (C16 の場合は $\simeq 64$ kJ/mol 程度) ができるような活性化タイプの温度依存性をしめす. 弾性率の絶対値は弾性的に有効な鎖の平均数に比例し, 高濃度では約 60 % に達する.
2. 剪断速度 $\dot{\gamma}$ の関数としての非線形定常粘性率 $\eta(\dot{\gamma})$ は, $\dot{\gamma}$ の関数として極大を示す (shear thickening) (図 8). また, $\dot{\gamma}$ の大きい領域で一般に線形複素粘性率 $\eta(\omega)$ よりも大きい (Cox-Merz 則の破れ).
3. 非線型の応力緩和は, 変形の大きさ γ に依存する因子と, 時間因子との積の形に分離できない. しかし, 剪断応力は任意の時刻で第 1 法線応力差に比例し, Lodge-Meissner の関係 $N_1(t) = \gamma \Sigma_{xy}(t)$ が成立する. 第 2 法線応力差は弱いオーバーシュートをしめす.
4. 定常流を急にスタートさせると, 応力がオーバーシュートする. 剪断流ではまず剪断応力がオーバーシュートし, 第 1 法線, 第 2 法線応力が順にこれにつづく.

今回は特に剪断流による粘性の増大現象 (シックニング) に関して, 末端鎖長と主鎖の非線型伸長 (伸長による伸びきり効果) との関係を調べ, どのような分子論的条件が満たされる場合にシックニングが起きるか詳細に調べた. シックニングの判定には非線型粘度の展開式 $\eta(\dot{\gamma}) = \eta(0) + \eta^{(2)}\dot{\gamma}^2 + \dots$ における最低次の係数

$$\{\eta\} \equiv \lim_{\dot{\gamma} \rightarrow 0} \frac{\eta(\dot{\gamma}) - \eta(0)}{\eta(0)\dot{\gamma}^2} \quad (7)$$

の符号を調べる方法を用いた. すなわち, $\{\eta\} > 0$ の場合にはシックニング, $\{\eta\} < 0$ の場合にはシニングと判定した. 以下ではこの係数を非線型固有粘性率とよぶ. 図 9 にはこの粘度係数を張力の非線型振幅 A の関数としてプロットしてある. 結合定数 $g = 0$

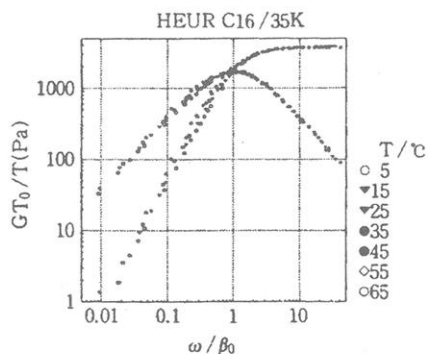


図 7: PEO(C16/35) に対する粘弾性マスターカーブ. 基準温度は 5 °C

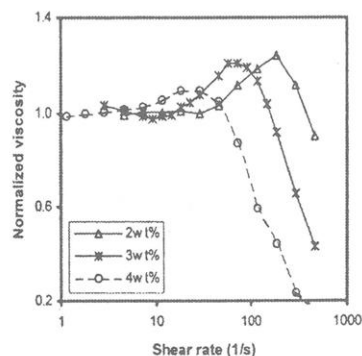


図 8: PEO(C12/20) 水溶液の規格化された非線形定常粘度. 剪断速度とともに極大を示す. 一定温度で濃度を変化させたデータ.

の場合には張力の強さに関係なく熱運動による崩壊確率のみで決まるので, 非線型性とともに $\{\eta\}$ が単調に増大し常にシックニングが起こりやすくなる. しかし, 有限の g , 例えば $g = 0.2$ の場合をみると, 非線型性の弱い, すなわちガウス鎖に近い主鎖の場合には $\{\eta\}$ は負から正に符号を変えている. これは柔らかい鎖ではシックニングが起こり, 鎖が固くなるとともにシックニングに変わることを意味している. 粘度は単位体積中で単位時間に発生する熱量に比例するので, 散逸熱量が大きくなるためには剪断流によって十分に鎖が非線型領域まで引き延ばされる必要があり, このためには振幅 A が十分大きい方が有利である. また, 末端鎖が大きな張力に耐えうるだけの持続力がなければならないので, 結合定数 g はあまり大きな値であってはならない.

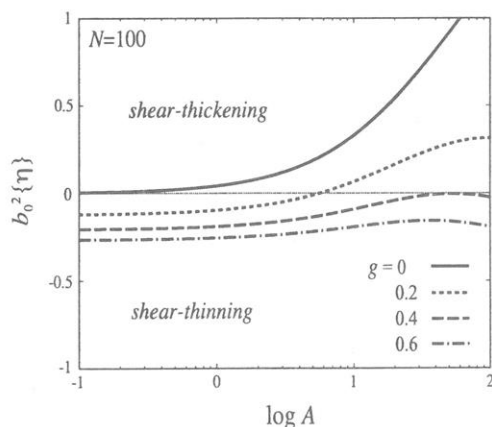


図 9: 主鎖に沿った張力の非線型性パラメータ A に対してプロットした非線型固有粘度. 各曲線は主鎖と末端鎖の崩壊確率の間の結合係数 g を変化させてある.

図 10 には PNIPAM(C18/37) の 2.5% 溶液の定常粘度の測定結果 [10] を示す. 同じ末端鎖 C18 で, ほぼ同一の全長の主鎖 PEO(C18/20) の前掲の実験結果と比較すると

PNIPAMではシッキングは起こり難いことがわかる。これは、図9における $g = 0.2$ の曲線の $\{\eta\} < 0$ 領域に PNIPAM の A があり、 $\{\eta\} > 0$ 領域に PEO の A があることを示唆している。このようにして、シッキングの条件を分子の固さや末端鎖長などのミクロなパラメータを用いて表すことができた。

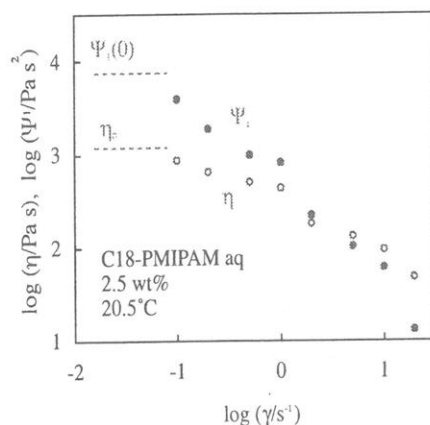


図 10: 両末端疎水化された PEO(C18/20) と PNIPAM(C18/37) 非線型定常粘度 η と第一法線応力差 Ψ_1 の剪断速度依存性。同一の末端鎖 C18 でも主鎖が異なるとシッキング現象は見られない。

参考文献

- [1] F.Tanaka, in "Molecular Gels", ed. by P.Terech and R.G.Weiss, to appear, Kluwer Academic Pub. (2005).
- [2] A.Matsuyama and F.Tanaka, *Phys. Rev. Lett.*, **65**, 341 (1990).
- [3] K. Tasaki, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 8459.
- [4] Y.Okada and F.Tanaka, submitted to *Macromolecules*, (2005).
- [5] B.H. Zimm and J.K. Bragg, *J. Chem. Phys.*, **31**, 526 (1959).
- [6] E.Alami, M.Rawiso, F.Isel, G.Beiinert, W.Binana-Limbele and J.Francois, *Adv. Chem. Ser.*, **248**, 343 (1996).
- [7] P. Kujawa, H. Watanabe, F. Tanaka, F. M. Winnik, to appear in *Eur. Phys. J. E* (2005).
- [8] F.Tanaka and S.F.Edwards, *Macromolecules*, **25**, 1516 (1992); *J. Non-Newtonian Fluid Mech.*, **43**, 247; 273; 289 (1992).
- [9] T.Indei and F.Tanaka, submitted to *Macromolecular Rapid Communication*, (2005).
- [10] Private communication.

磁力駆動型レオメータで測定したポリ（N-イソプロピルアクリルアミド） ゲルの動的粘弾性

瀧川敏算, 浦山健治, 堀中順一, 野坂尚司

Toshikazu Takigawa, Kenji Urayama, Jun-ichi Horinaka, Shoji Nosaka

京都大学大学院工学研究科材料化学専攻

1. はじめに

高分子ゲルは高分子の網目構造の中に多量の溶媒を含む。高分子ゲルを溶媒に入れて、系の温度などを変えるとゲルの体積は変化する。この性質を利用して、高分子ゲルのドラッグデリバリーシステム(DDS)やソフトアクチュエーターなどへの応用が始まっている。大量の溶媒中にゲルを静置すると長時間経過後には平衡状態になる。溶媒と共存下で平衡状態にあるゲルに仕事を加えると、再び膨潤（あるいは脱膨潤）が起こり、別の平衡状態に移行することが明らかになってきた。

力学的な仕事はゲルに加えられたときのゲルの再膨潤挙動に関する研究は、全て一定ひずみあるいは一定応力下で行われており、動的なひずみ（あるいは応力）下での膨潤挙動については全く調べられていない。¹⁻³これは、溶媒中にあるゲルの動的膨潤挙動は、市販の粘弾性測定装置（レオメータ）では簡単には測定できないためである。ゲルの動的膨潤挙動の研究には、溶媒中で固体の粘弾性が測定可能な装置の開発が不可欠となる。本稿では、高分子ゲルの動的膨潤挙動を調べるために自作した磁力駆動型レオメータの概要とこの装置を用いてポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）（PNIPA）ゲルの膨潤挙動を調べた結果を紹介する。^{4,5}

2. 磁力駆動型レオメータ

組み立てた磁力駆動型レオメータの概略図を Fig. 1 に示す。変形の付与は円柱状のゲルの一端に接着したタングステンカーバイド球に磁場を印加することで行うこととした。ファンクションジェネレータ（FG）で作製した電圧波形をパワーアンプ（Amp）で増幅した。パワーアンプの出力電流をソレノイドに流し、磁場を発生させた。

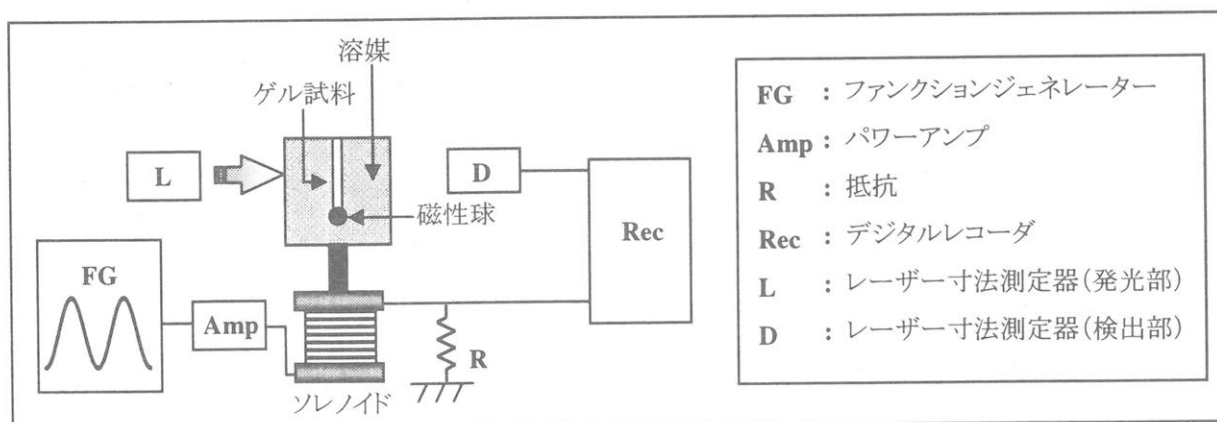


Fig.1 磁力駆動型レオメータの模式図

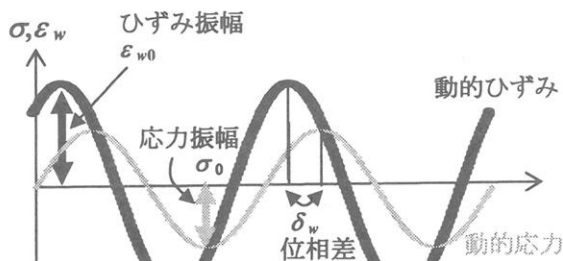


Fig.2 動的応力と動的ひずみ（直径方向）の関係

ソレノイドの上には透明な小型水槽を置き、水槽中に円筒状のゲル試料を取りつけた。ゲル試料の長さ（伸長方向）および直径の変化をレーザー寸法測定器によって検出した。長さ、直径および電圧波形についてのデータをデジタルレコーダ (Rec) に記録し、測定が終了した後パーソナルコンピュータでデータの解析を行った。水槽を満たす溶媒には、水(W)あるいは PNIPA の非溶媒である流動パラフィン (LP) を用いた。

Amp の出力波形（正弦波）を動的な応力波形と同位相とみなし、 $\sigma = \sigma_0 \sin \omega t$ とすると、ゲルの伸長方向および直径方向の動的ひずみはそれぞれ $\varepsilon_l = \varepsilon_{l0} \sin(\omega t + \delta_l)$, $\varepsilon_w = -\varepsilon_{w0} \sin(\omega t + \delta_w)$ と書くことができる。ここで σ_0 は応力振幅、 ε_{l0} , ε_{d0} は伸長方向および直径方向のひずみ振幅、 δ_l , δ_d は各方向のひずみと印加応力の位相差、 ω は角周波数、 t は時間である。上記の波 (σ および ε_w) の位相の間の関係を Fig. 2 に示す。静的な実験には Amp から出力に矩形波を用い、応力印加後のひずみの時間変化を調べる方法を用いた。

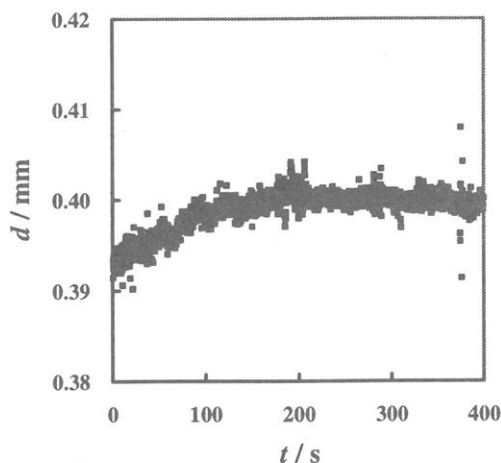


Fig.3 水中での一定応力印加後の直径 d の変化

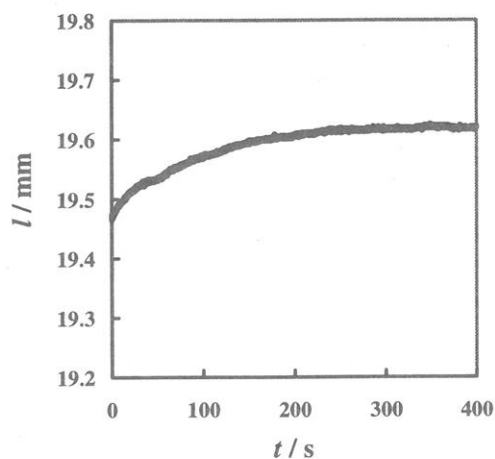


Fig.4 水中での一定応力印加後の長さ l の時間変化

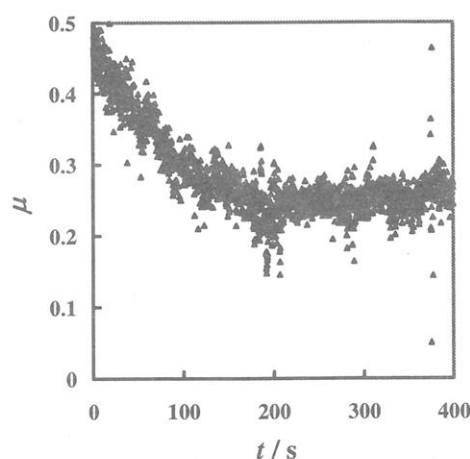


Fig.5 水中での一定応力印加後のポアソン比 μ の時間変化

3. 静的な膨潤挙動

Fig. 3 と Fig. 4 に W 中で一定応力を印加した後のゲルの直径(d)と長さ(l)の時間変化を示す。静的応力の印加に誘起される膨潤により直径および長さは時間とともに増加し、どちらも応力印加後約 200 秒で一定値になることがわかる。これらのデータから計算したポアソン比(μ)の時間変化を Fig. 5 に示す。 μ は $\mu = -\Delta\epsilon_d / \Delta\epsilon_l$ から計算で求めた。 μ は応力印加直後には 0.5 に近い値を示すが、時間の経過と共に減少し、応力印加後約 200 秒で一定値($\mu \approx 0.23$)を示すようになる。 μ は変形の印加による体積変化の程度を表す尺度である。 μ が 0.5 の時には変形の前後で体積は変化しないが、0.5 よりも小さい場合には変形印加により体積変化が生じることになる(後者の場合でも μ は0よりは大きい)。特に、一軸伸長変形では、 $\mu < 0.5$ の場合には変形印加により体積が増加することになる。Fig. 5 の結果は短時間極限ではゲルは、応力を加えても膨潤することはない、ゴムのよう挙動を示すことがわかる。しかし、長時間極限では、応力印加によりゲルは再膨潤することがわかる。先に述べたように、 μ が一定になるのに要する時間は約200秒である。 μ の時間変化が単一指数緩和に従うと仮定すると、実際上の変化が停止する時間は、一般に緩和時間(τ)の3倍程度となる。これから、 $\tau \approx 70$ s と見積もることができる。

PNIPA ゲルの非溶媒である LP 中では、応力印加によるゲルの再膨潤は長時間経過後でも起こらなかった。

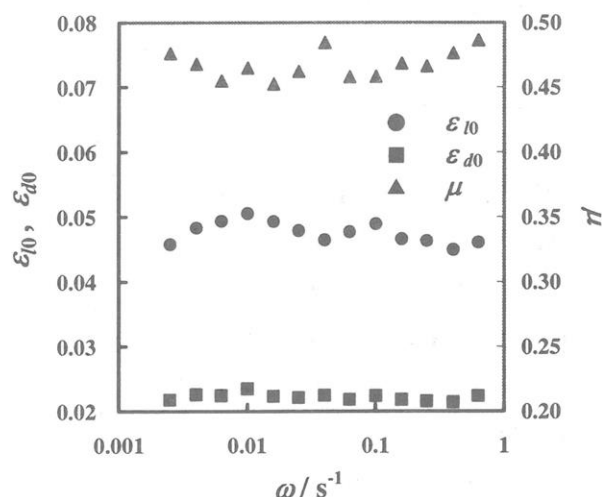


Fig.6 LP 中でのひずみ振幅 ϵ_{d0} , ϵ_{l0} およびポアソン比 μ 位相差の角周波数依存性

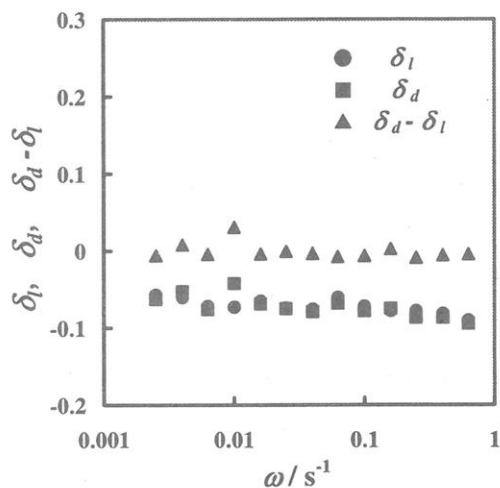


Fig.7 LP 中でのひずみの位相差の角周波数依存性

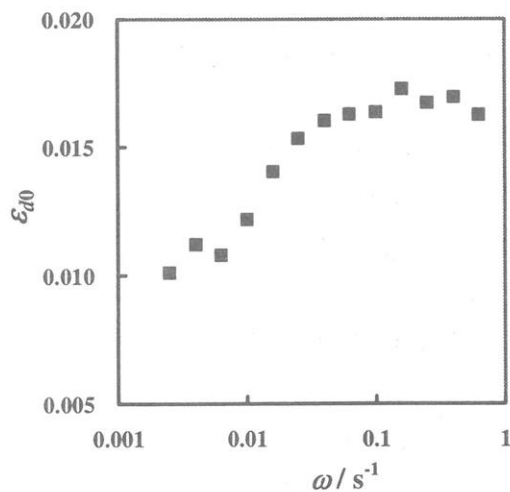


Fig.8 水中での直径方向ひずみ ϵ_{d0} の角周波数依存性

4. 動的な膨潤挙動

Fig. 6 に LP 中でのひずみ振幅とポアソン比 μ の角周波数依存性を示す. LP 中では ε_{10} と ε_{d0} は共に ω によらずほぼ一定になり, これらから計算した μ も周波数には依存しない. また, μ の値は, $\mu \approx 0.47$ であり, 体積変化がない場合の値 (0.5) にきわめて近いことがわかる.

Fig. 7 に LP 中でのひずみの位相差の角周波数依存性を示す. LP 中では伸長方向および直径方向の位相差共に応力とほぼ同位相であり, 伸長方向と直径方向のひずみには位相差が生じないことがわかる. これらの結果は, LP 中では膨潤は起こらず, ゲルはゴムのようにふるまうためである.

Fig. 8 と Fig. 9 に W 中での ε_{d0} , ε_{10} の角周波数依存性を示す. LP 中での結果とは異なり, 各ひずみは周波数によって大きく変化することがわかる. Fig. 10 に W 中でのポアソン比 $\mu (= \varepsilon_{d0} / \varepsilon_{10})$ の ω 依存性曲線を示す. 高周波数領域の μ (≈ 0.45) は膨潤が関与しないポアソン比であり, 非溶媒中での μ (≈ 0.47) とほぼ同じ値である. 低周波数領域では μ は一定値 ($\mu \approx 0.25$) となり, これは静的測定で得られた長時間極限での μ の値 ($\mu \approx 0.23$) とほぼ等しいことがわかる. Fig. 9 に W 中でのひずみの位相差の角波数依存性を示す. δ_d および δ_l は共に周波数によって変化し, $\omega \approx 0.01 \text{ s}^{-1}$ で極大および極小を示すことがわかる. この ω を $\omega_{\delta\text{peak}}$ とし, この逆数を膨潤の特性時間とみなすと, $\omega_{\delta\text{peak}}^{-1} = 100 \text{ s}$ と見積もることができる. この値は静的測定から求めた緩和時間にはほぼ一致することがわかる.

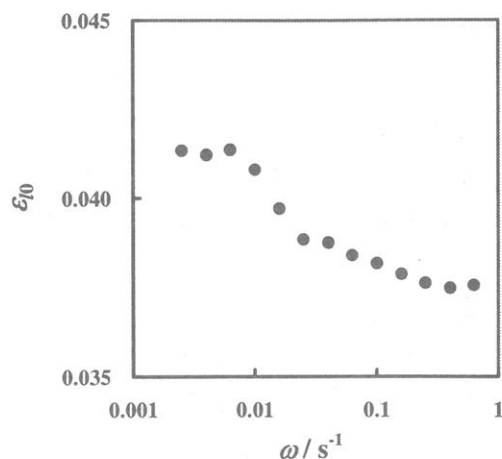


Fig.9 水中での伸長方向ひずみ ε_{10} の角周波数依存性

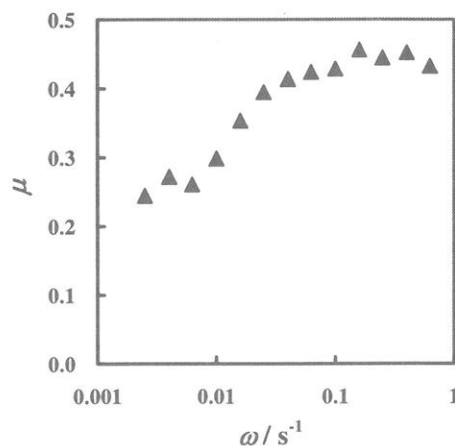


Fig.10 水中でのポアソン比の角周波数依存性

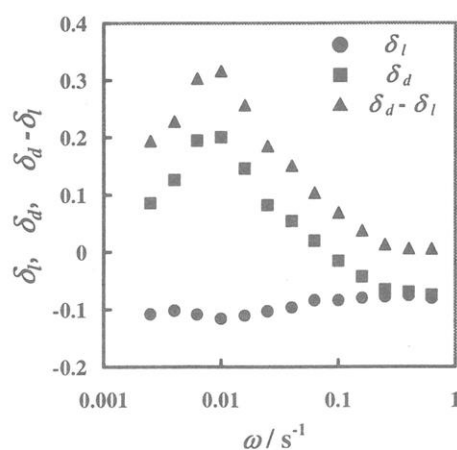


Fig.11 水中でのひずみの位相差の角周波数依存性

5. 結論

磁力駆動型レオメータを作製し、ポリ（N-イソプロピルアクリルアミド）ゲルの応力下での膨潤挙動を調べた。動的応力下でのゲルの膨潤挙動は静的応力下での膨潤挙動からの予想されるものとほぼ一致することがわかった。今回自作したレオメータはゲルの動的膨潤挙動の測定に有効な装置であることが確認された。

参考文献

- 1) T. Takigawa, K. Urayama, Y. Morino, T. Masuda, Polym. J., 25, 929 (1993).
- 2) S. Sasaki, S. Koga, Macromolecules, 35, 857 (2002).
- 3) S. Hirotsu, Macromolecules, 37, 3415 (2004).
- 4) T. Takigawa, S. Nosaka, Y. Takakura, K. Urayama, Polym. J., 35, 819 (2003).
- 5) S. Nosaka, K. Urayama, T. Takigawa, submitted to Polym. J.

疎水性 Three-Arm Helix (分子量、5,228) の水への可溶化

福田 誠¹・杉山 淳司²・森田 智行¹・木村 俊作¹

Makoto Fukuda, Junji Sugiyama, Tomoyuki Morita, Shunsaku Kimura

¹ 京都大学大学院工学研究科材料化学専攻、² 京都大学生存圏研究所

1. 緒言

親水性部と疎水性部を合わせ持つ両親媒性化合物は、両者のバランスにより、水溶液中でミセル、シリンダー、二分子膜等のさまざまなモルホロジーをとる。低分子化合物については、分子構造とモルホロジーとの間の関係は明らかとなっており、また、この関係はポリマーについても成り立つことがデンドリマー等を用いた研究から示されている¹⁾。ところで、今までに合成された両親媒性化合物の親水性部を調べてみると、イオン、アミノ基、カルボキシル基、水酸基、糖、エチレングリコールのオリゴマーやポリマー等の官能基である。我々は、いわゆる明示的なこれらの親水性基をもたない疎水性ペプチドが水中で分子集合体を形成して安定に分散することを見出した。この疎水性ペプチドに親水性を賦与している原因は、ペプチドセグメントが α ヘリックスをとることによって生じる大きなダイポールモーメントである。従来、親水性基として官能基を考えてきたが、ダイポールモーメントで表される物性が親水性を賦与するという点で、これまでとは違った親水性基の考えといえる。

この疎水性ヘリックスペプチドの構造式を Fig.1 に示す。3本の疎水性 17 量体ヘリックスペプチドが N に結合した分子量 5228 の化合物である。ヘリックスペプチドは、Ala-Aib が繰り返した 16 量体の N 末端にナフチル基が結合しており、C 端側には Z 基で保護した Lys を介してトリス (3-アミノプロピル) アミンに結合している。17 量体疎水性ヘリックスペプチドは 50 デバイを越えるダイポールモーメントを発生し、3本のヘリックスペプチドの C 末端が結合した窒素には大きなダイポールの負極が集中することになる。この分子を水中にインジェクトし、生成する分子集合体について、DLS、cryoTEM、CD、蛍光法等により解析した。参照化合物として、ヘリックス差長が半分になった TA8、および、ペプチド鎖を同等の分子鎖長を有するアルキル基で置換した TAA を合成し、比較検討した。

2. 水中への分散条件

Three-Arm 化合物の水中への分散は、TA16 および TA8 についてはエタノールに溶かし、TAA については 1,1,1,3,3,3-trifluoroisopropyl alcohol 溶液を作

製し、超純水中に有機溶剤/水=5/95 (V/V) になるように注入して行った。注入する水温については、TA16 の場合は 0℃ で安定な分散溶液が得られたのに対し、TA8 および TAA では 100℃ の水中へ注入する必要があった。TA16 と TA8 の得られた分散溶液は、数ヶ月経ても沈殿は生じず安定であった。一方、TAA 分散溶液では数週間後に沈殿が生じた。このように、意外にも、3 種類の疎水性化合物の中で、水中への分散は、分子量が一番おおい TA16 が比較的穏和な条件で可能であった。

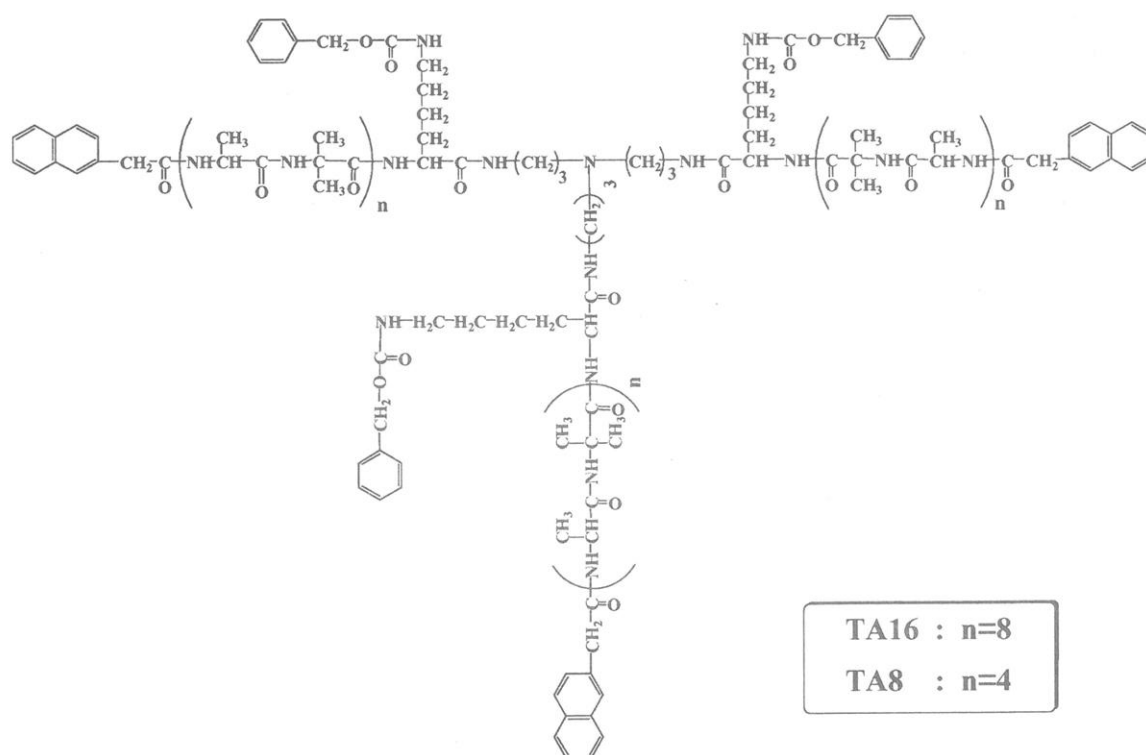


Fig.1 Molecular structure of three-arm helical peptides.

3. DLS 測定および CryoTEM 観察

Three-Arm 化合物の安定な水分散液について DLS 測定を行ったところ、それぞれ分子集合体を形成していることが示され、平均の粒径は、69nm (TA16) および 97nm (TA8) であった。CryoTEM 観察からも球状の分子集合体が確認され (Fig. 2)、その粒径は DLS 測定結果と矛盾しないものであった。一方、TAA の水分散液の CryoTEM 観察から、TAA も分子集合体を形成するが、そのモルホロジーは針状であることがわかった (Fig. 2)。

これまでに、疎水性ヘリックスペプチドと親水性基とを組み合わせた両親媒性ペプチド分子が、水中で薄膜を形成し、ベシクル構造となるものを幾つか見出し、ペプトソームを名付けている²⁾。本研究でのペプチド分子は、Three-Arm 型であり、明示的な親水性基をもたないことから、以前のものと大きく分子構造が異なっている。Three-Arm 型ペプチドもペプトソームとな

るのかを確認するため内包実験を行った。蛍光色素でラベルしたデキストラン水溶液に TA16 エタノール溶液を注入し、Sephacryl A100 を用いたゲルクロマトグラフィーを行って溶出パターンを調べたところ、ペプチド集合体の分画に蛍光が認められ、TA16 の分子集合体中にデキストランが内包されることがわかった。このことは、TA16 がベシクル構造をとっており、ペプトソームに分類されることを示している。一方、同様の操作を TA8 を用いて行ったところ、デキストランを保持したペプチド分画がカラムの途中で停留し、ペプチド分画をカラムから溶出させることができなかった。このことから、TA8 もベシクル構造を形成すると考えられるが、親水性と疎水性のバランスが疎水性側に傾いており、カラム操作の途中で凝集してしまうと考えられる。

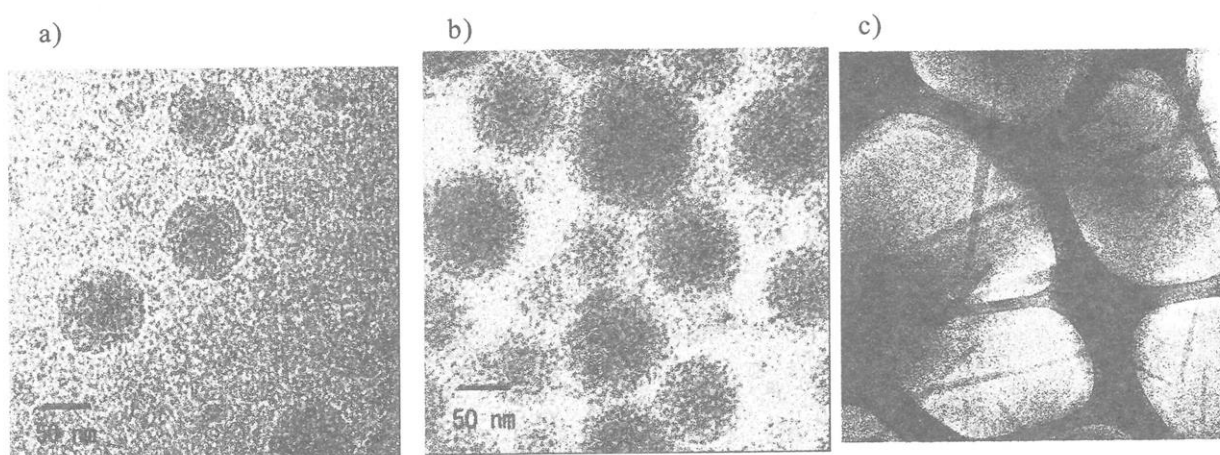


Fig.2 CryoTEM images of TA16 (a)), TA8 (b)), and TAA self-assemblies in water.

4. 集合体中でのペプチド分子の構造

TA16 および TA8 の水分散液の CD スペクトルを測定したところ、 α ヘリックス構造に特有のダブルミニマム型のスペクトルが得られた。エタノール中のスペクトルと比較すると、222nm のコットン効果の強度の絶対値が 208nm のそれより強くなっており、水中ではヘリックスペプチドが強く会合していることが示唆された。

一方、ヘリックス末端に導入したナフチル基由来の蛍光測定を行ったところ、TA16 と TA8 とで大きく異なる結果となった。TA16 の水分散液からは、モノマー発光が強く観察されたのに対し、TA8 の水分散液からの蛍光スペクトルでは、モノマー発光よりもエキシマー発光が強く見られた。このことは、Three-Arm 型分子の 3 本の分子鎖が、TA16 では空間的に比較的開いているのに対し、TA8 では 3 本が閉じてヘリックスバンドルを形成していることを示唆する。

さらに、水溶性消光剤としてアクリルアミドを用いて、ナフチル基からの

蛍光消光を調べた。TA16 および TA8 のいずれの分子集合体においても、アクリルアミドによる消光はあまり起こらなかった。このことは、ナフチル基が分子集合体の内部に埋もれていることを示唆する。

これらのことから、TA16 および TA8 において、親水性となっている部位は、Three-Arm 型の中心に位置する 3 級窒素と考えられ、この部位が水相に露出し、3 本のヘリックス鎖が程度はことなるものの集合化して薄膜となり、ベシクル構造を形成していると考えられる。

Fig. 3 に TA16 分子集合体の構造を模式的に示した。3 本のヘリックスは、比較的開いており、疎水性部位が大きな断面となっている。これは、長いヘリックス鎖のためダイポールモーメントが大きく、また、3 本の分子鎖が窒素原子に結合していることから、窒素原子上の部分負電荷が著しく大きくなっており、その結果、窒素原子周辺の親水性が高くなっていることに対応していると考えられる。

TA8 分子集合体では、ヘリックス鎖長が TA16 の半分となっており、ダイポールモーメントも半減した結果、窒素周囲の部分負電荷もそれほど小さくなく、親水性が TA16 ほどには大きくないと考えられる。このため、分子の疎水性部位は大きく広がれず、3 本の分子鎖が会合してバンドル構造を形成していると思われる (Fig. 4)。

TAA は、3 本のアルキル鎖を有しているが、ダイポールモーメントは著しく小さいため、Three-Arm 型の中心にある窒素周囲の部分負電荷も小さい。このため、窒素周囲の親水性は高くなく、TA16 や TA8 に見られたような二分子膜構造は形成されず、分子がスタックして針

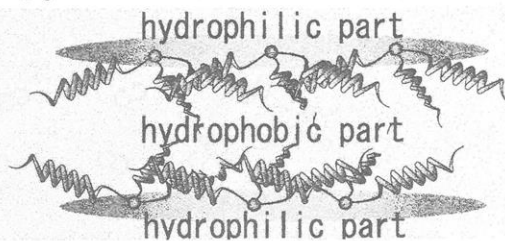


Fig.3 Schematic illustration of TA16 molecular assembly in water.

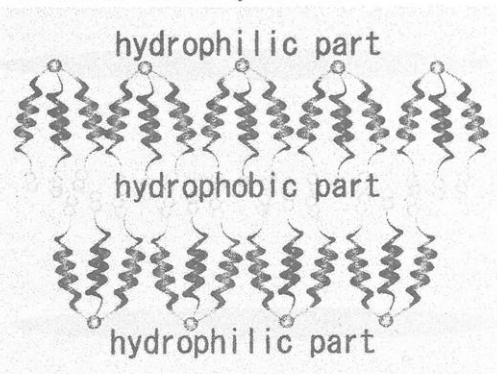


Fig.4 Schematic illustration of TA8 molecular assembly in water.

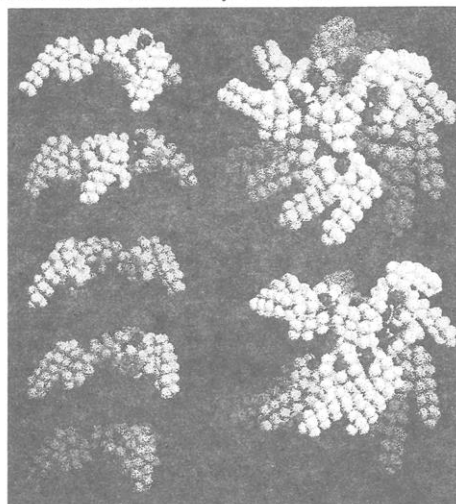


Fig.5 Schematic illustration of TAA molecular assembly in water.

状のモルホロジーをとるようになったと考えられる (Fig. 5)。

5. ヘリックスペプチドの傾き角

分子集合体中でのヘリックスペプチド部位の配向について、表面反射吸収スペクトル (RAS) を測定して調べた。TA16 の水分散液を金基板にキャスト

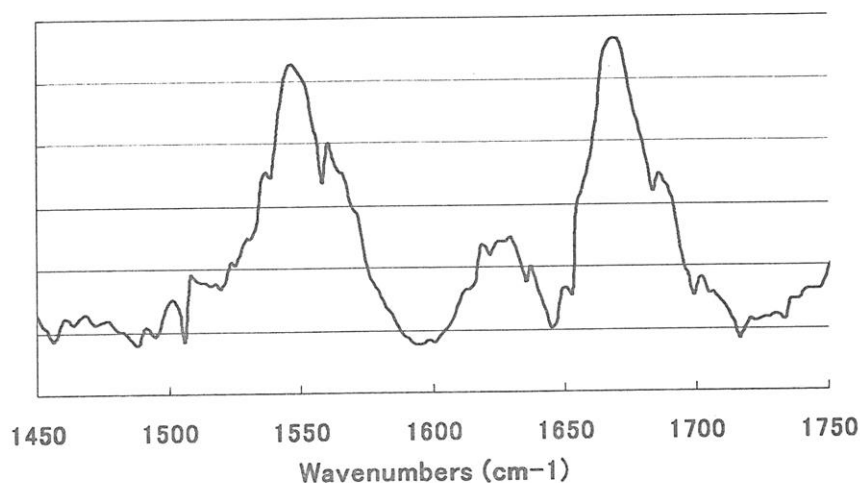


Fig.6 FTIR-RAS spectrum of a thin film on gold which was prepared from a water dispersion of TA16 molecular assembly.

し、得られた薄膜の RAS スペクトルを測定したところ、アミド I 吸収帯とアミド II 吸収帯の強度がほぼ同じであることがわかった (Fig. 6)。これら吸収の強度比から、ヘリックス鎖は金基板の表面に対して平行に近い配向をとっていることが示された。水分散液を金表面にキャストする際に、ペプチド分子集合体の構造が歪む可能性はあるものの、TA16 分子集合体において 3 本のヘリックス鎖は開く傾向にあると考えられる。

6. ダイポールモーメントによる親水性とイオンによる親水性

TA16 のエタノール溶液を、1mM トリス緩衝溶液 (pH 7.4) に注入して分子集合体を調製した。この pH では、Three-Arm 型の中心にある窒素はプロトン化されてカチオンとなり、このカチオンは明示的な親水性部位である。水分散液の CryoTEM 像を Fig. 7 に示した。純水中では、きれいな球状構造をとっていたのに対し (Fig. 2)、球状構造が連なり、一部融合したようなモルホロジーが観察された。このことは、3 本の疎水性ヘリックスペプチドを緩衝溶液中に分散させるには、1 個のカチオンでは親水性が低すぎることを示唆している。

この結果は、見かけ上、3 本のヘリックス鎖の C 末端を繋ぎ留めている窒素周囲は、プロトン化されてカチオンになるよりも親水性として高いことを

示唆する。

7. 結語

ヘリックスペプチドは規則性の高い構造を有しており、分子集合体はクラフトポイントが高くなると予想され、水中に分散させるには高い親水性官能基と組み合わせる必要があると考えられてきた。例えば、24量体の疎水性ヘリックスペプチドを水に分散させるには、これと同程度の分子量を有するポリエチレンオキシドとのブロック共重合体にする必要があった。本研究では、3本の17量体の疎水性ヘリックスペプチドが分子内に存在していることから、

51量体の疎水性ヘリックスと等価な分子が、明示的な親水性官能基をもたなくても、ヘリックスペプチドのダイポールを利用することで親水性が賦与され、水に分散されることが示された。また、この効果は明示的な親水性であるプロトン化された3級窒素よりも親水性であった。ダイポールと親水性との定量的な関係の解明が待たれる。



Fig.7 CryoTEM image of TA16 molecular assembly in a Tris-HCl buffer at pH 7.4.

参考文献

- 1) van Hest, J.C.M., Delnoye, D.A.P., Baars, M.W.P.L., van Genderen, M.H.P., and Meijer, E.W., *Science* **268**, 1592-1595 (1995).
- 2) (a) Kimura, S., Kim, D.-H., Sugiyama, J., and Imanishi, Y., *Langmuir* **15**, 4461-4463 (1999). (b) Kimura, S., Muraji, Y., Sugiyama, J., Fujita, K., and Imanishi, Y., *J. Colloid Interface Sci.* **222**, 265-267 (2000). (c) Fujita, K., Kimura, S., and Imanishi, Y., *Langmuir* **15**, 4377-4379 (1999).

高分子薄膜のガラス転移

金谷利治、宮崎司、井上倫太郎、西田幸次
Toshiji Kanaya, Tsukasa Miyazaki, Rintaro Inoue, Koji Nishida
京都大学化学研究所 高分子物質科学領域

1. はじめに

物質のサイズを小さくするとバルク状態ではみられない種々の物性が観測される。例えば、細孔に閉じ込められた水の融点は非常に低くなり、またその融点は細孔の大きさに依存する。高分子でも、系のサイズに依存する多くの物性変化が見いだされている。ここで取り上げる高分子薄膜にも膜厚に依存する物性があり、電子材料のコーティングなど色々な材料の表面物性改質に利用されているため、この問題は学問的興味だけでなく実用的な意味から考えても非常に興味深く重要である。約10年前に高分子を薄膜にしていくと、ある膜厚以下になるとガラス転移温度が低下を始めることが報告された[1,2]。シリコン基板上に作成したポリスチレン薄膜のガラス転移温度は300K以下になり、室温でポリスチレンが熔融状態にあるとの報告もある[3]。これが本当なら室温で熔融状態のポリスチレン薄膜同士を接触・融合させれば、バルク状態になりガラス転移温度は100℃となる。2つの薄膜の無溶媒接着も可能となる。しかし、ポリメチルメタクリレートの薄膜をシリコン基板上に作成すると薄膜化に従い逆にガラス転移温度は上昇するといわれている[2]。これは薄膜では表面積が非常に大きいため、表面・界面の相互作用が物性に大きく影響することを示しており、薄膜化の効果は必ずしもサイズ効果だけでは議論できない。

本報告では、上述のようにまだまだ未解決な問題の多い高分子薄膜の異常な物性の解明を目指し、X線反射率測定および非弾性中性子散乱測定を行った結果について報告する[4-7]。

2. 実験

本実験には重量平均分子量 $M_w = 303000$ および 2890000 の標準ポリスチレン (PS) を用いた。それぞれ、分子量分布は $M_w/M_n = 1.09$ であった。反射率測定については、これらのPSをトルエン溶液とし、シリコン基板上に2000rpmでスピコートすることにより薄膜を作成し、試料とした。薄膜の厚さはPSトルエン溶液の濃度を調節することにより変化させた。

非弾性中性子散乱測定については、薄膜からの散乱強度が極端に弱いこと次のような試料を準備した。まず、上記と同じ方法でPS薄膜を平らなガラス基板上にスピコートにより作成し、それを基板から剥がし水面上に浮かせた。この膜を厚さ15 μm のアルミの薄膜の上にすくい取り、乾燥させた。これを299枚重ねたもの円筒状にまめ、直径14mmの中空アルミセルに詰め試料とした。

X線反射率測定は通常のX線回折計を改良した自作の装置で行った[8,9]。試料をベリリウム窓の付いた真空槽に入れ、真空乾燥をまず行った。その後試料のアニールおよび全測定を真空槽の中で行い、試料は外には出さなかった。データ解析は文献[8,9]を参照していただきたい。測定はバルクガラス転移温度(=373K)をはさむ295

K から 423 K の範囲で行った。

非弾性中性子散乱測定は筑波高エネルギー加速器研究機構物質構造研究所中性子散乱施設(KENS)に設置されている逆転配置型飛行時間分光器 LAM-40 を用いて行った。本装置のエネルギー分解能は約 0.2 meV であり、カバーする散乱ベクトルの範囲は 0.2 から 2.6 Å⁻¹ である。測定温度は 11, 80, 150, 230 K であった。

3. 結果と考察

高分子薄膜の異常な物性の 1 つとして、負の膨張係数というものがある。最初に Orts ら[10]により報告されたものである。スピコートにより PS 薄膜を作成し、バルクのガラス転移温度以下の 90°C で 1 時間アニールした後 25 °C から昇温し、膜厚を温度の関数とした測定している。その結果、初期膜厚が 20 nm 程度以下になると温度の上昇に従い膜厚の減少が観察された。すなわち負の熱膨張係数が観測されたのである。さらにその減少の程度は膜厚が薄くなるとより大きくなった。同様の結果の報告は他にもあり、実験事実としては正しそうであるが、大きな問題点としてアニール不足による温度上昇に伴う構造緩和が指摘された[11]。確かに、バルク状態でも急激な冷却で作成されたガラス状態ではガラス転移近傍で構造緩和による体積収縮が観察される。そこで、まず初めに薄膜のアニール効果についての実験を行った。図 1 に初期膜厚 17.8 nm の膜の X 線反射率測定の一例を示した。実践はフィッティング曲線であり、この解析より膜厚、表面・界面粗さ、密度などを評価した。図 2 に作成直後の膜 (as-deposited film)、423 K で 2 時間アニールした膜、423 K で 48 時間アニールした膜の膜厚の温度依存性を示した。アニールしていない膜では Orts らの報告[10]と同様、明らかに温度上昇に伴う膜厚の減少（見かけの負の膨張係数）が観察された。一方、バルクガラス転移温度 (373 K) より 150 K 上の 423 K で 2 時間アニールした膜では負の膨張係数は観測されず、ある温度から膨張係数は急に大きくなり、ガラス転移を確認することができた。このことから負の膨張係数はアニール不足による構造緩和のために引き起こされたと結論できる。しかし、データを注意

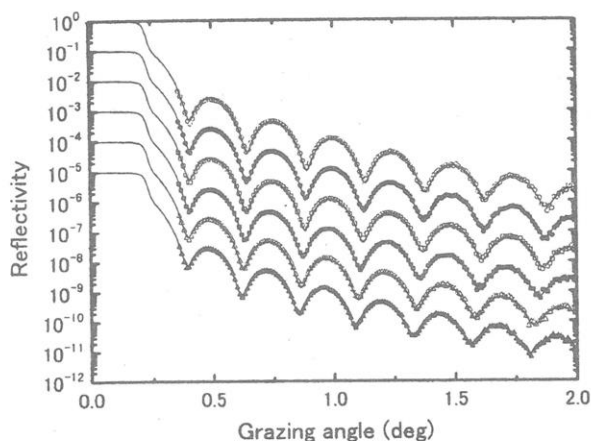


Fig. 1. X-ray reflectivities and the fitting results for a film with initial thickness $d_0 = 17.8$ nm at 303 (○), 333 (●), 363 (□), 383 (■), 403 (△) and 423 K (▲) after annealing at 423 K for 2 h

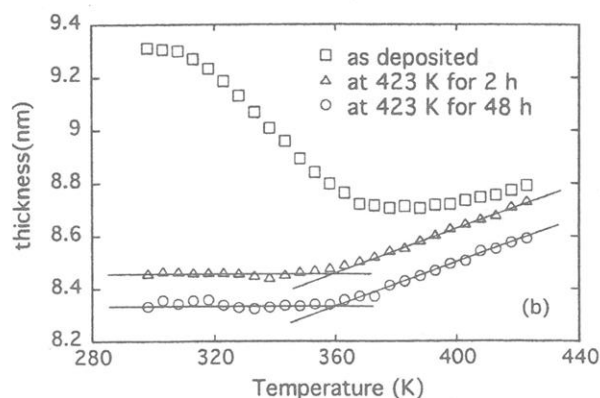


Fig. 2. Temperature dependence of thickness of films after annealing at 423 K for 2 and 48 h. For comparison that of as-deposited films is also included. initial thickness $d_0 = 9.3$ nm.

深く見ると、2つの不思議な現象に気付く。一つは2時間アニールした膜に比べ48時間アニールした膜では同じ温度で膜厚そのものが減少していることであり、もう一つはアニール後のガラス状態の膨張係数が非常に小さいことである。前者はガラス転移温度以上の423 Kにおいて非常にゆっくりした膜厚の減少過程が存在することを示唆する。まず、この非常に遅いアニーリング過程について調べてみた。

図3には423 Kでアニールした時における膜厚の時間依存性を初期膜厚8.4, 11.7, 53.6, 88.6 nmのものについて示してある。膜厚に関わらず初期2時間以内に急激な膜厚の減少が見られる。これは、アニールによる構造緩和のためであると考えられる。しかし、膜厚が薄くなるとその後非常に長時間にわたりゆっくりとした膜厚の減少が観測された。図中実線は2つの指数関数の和によるフィッティング曲線であり、これより遅い膜厚の緩和の特性時間は概ね30 - 50時間であると見積もることができる。なぜ薄膜にこのような極端に遅い緩和過程が存在するのか現時点では最終結論は出せないが、1つの可能性として通常の膨張・収縮は膜面に垂直方向に起こるが、面に垂直方向の膨張が非常にゆっくりと起こるためではないかと考えられる。実際このような遅い運動の可能性はde Gennesによりスライディング運動として予言されている[12]。ここで注意しなければならないことは、この極端に遅い緩和は、膜面に垂直な方向の膨張・収縮に比べ十分に遅いため、図2に示したように膨張係数やガラス転移温度の結果には影響を及ぼさないことである。よって、薄膜のガラス転移温度と膨張係数について調べてみた。

図4に分子量 $M_w = 303000$ と 2890000 のPSのガラス転移温度の膜厚依存性を示した。今までの報告同様、膜厚の減少に従い、ガラス転移温度は減少した。ここで新たな発見が2つある。1つは10 nm程度以下の膜厚でガラス転移温度が一定になること、2つ目は基板上の膜においてもガラス転移温度に分子量依存性が見いだされたことである。初めの事実は膜厚が薄くなると基本的に表面でのガラス転移温度が支配的になるとする2層モデルを考えると理解できる。そのようなモデルによりフィッとした結果が実線で示してあるが、その結果、表面ガラス転移温度が355 Kで

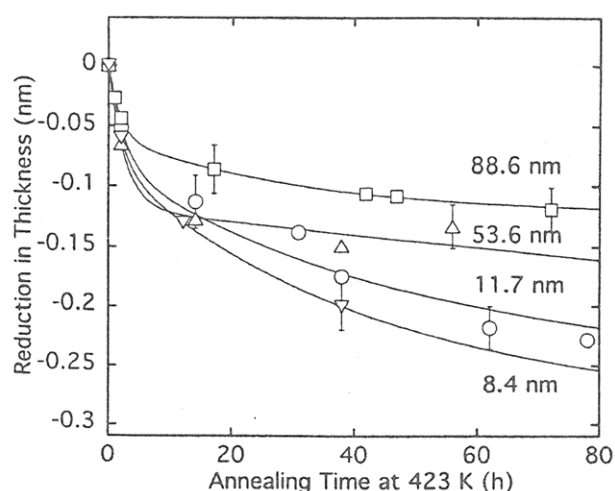


Fig. 3. Reduction in thickness as a function of annealing time at 423 K for various value of initial thickness d_0 = 88.6 (□), 53.6 (△), 11.7 (○) and 8.4 nm (▽).

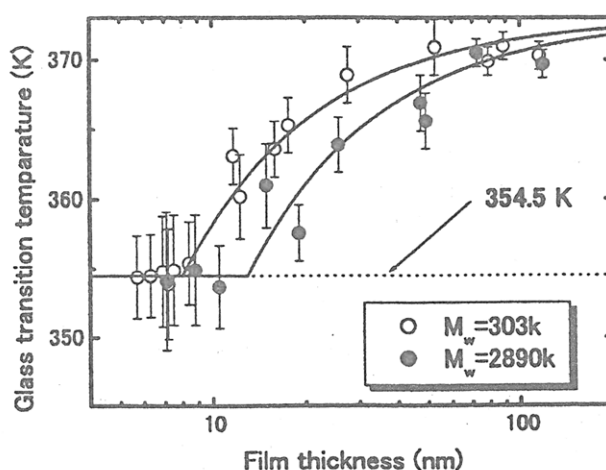


Fig. 4. Thickness dependence of T_g for PS thin films supported on Si substrate for $M_w = 303$ k (○) and $M_w = 2890$ k (●).

あることが分った。通常ガラス点という現象は局所的な運動で決まると考えられており PS バルクでは重合度 100 以上では分子量依存性は観察されない。薄膜でのガラス点転移温度の分子量依存性は、基板を持たない自立膜では観察されており、上述の de Gennes のスライディング運動[12]により説明されている。今回の結果は基板上の膜でもやはり分子鎖全体が関わる非常に遅い運動（多分、スライディング運動）がガラス転移と関わっていることを示唆する初めての結果として注目される。

次にガラス状態の熱膨張係数の膜厚依存性を図 5 に示す。アニール不足による構造緩和が引き起こす負の膨張係数の影響を排除するためバルクガラス転移温度より 50°C 高い 423 K で 48 時間アニールした試料について測定した結果である。十分なアニールの後においても膨張係数は膜厚の減少にともない減少した。また減少しはじめる膜厚は分子量に依存した。図中に示したように、この膨張係数が減少する膜厚は大雑把に言って各分子量の高分子の回転半径 R_g の 2 倍程度である。このことはガラス状態の膜厚減少の原因が分子鎖の広がりとの関係で決まっていることを示唆しており、我々は薄膜に閉じ込められたための拘束効果ではないかと考えた。以下にその考えを示す。

膜厚が回転半径 R_g の 2 倍以下の膜内閉じ込められたとすると、高分子鎖は図 6 に示すように歪むと考えられる。このような状態では歪みのために分子間のポテンシャルは固くなっていると考えられる。一方、ガラス状態の熱膨張係数が結晶固体と同じようにポテンシャルの非調和項から発生しているとする。非調和ポテンシャルを $U(u) = fu^2 - gu^3 - hu^4$ と置く。ここで u は平衡位置からの変位、 f, g, h はそれぞれの次数の項の係数である。そうすると、変位の平均の温度依存性は $\langle u \rangle = (3g/4f^2)k_B T$ (k_B はボルツマン定数)と与えられるため、高分子鎖の歪みによりポテンシャルの 2 次の力の定数が大きくなる（固くなる）と変位の温度依存性は小さくなり、結果として膨張係数が減少する。このシナリオを確かめるためには、実際に膨張に関わるポテンシャルの 2 次の力の定数の増加を確かめる必要がある。この目的のため非弾性中性子散乱測定を行った。

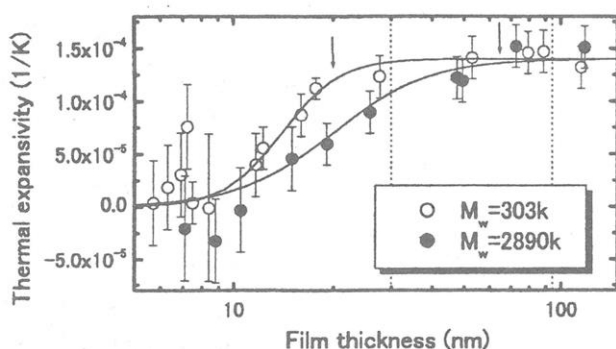


Fig. 5. Thickness dependence of the thermal expansivity of PS thin films in the glassy state. $M_w = 303$ K (○), $M_w = 2890$ K (●). Dashed lines show twice of the radius of gyration $2R_g$ and down arrows show the onsets of the reduction in the expansivity.

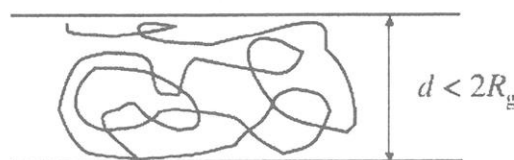


Fig. 6. Schematic illustration of a polymer coil deformed in a film thinner than $2R_g$.

図 7 に LAM-40 で測定した膜厚 100 nm の PS フィルムの動的散乱則 $S(Q, \omega)$ の温度依存性を示す。中央の鋭いピークが弾性散乱であり装置の分解能の範囲で動いていない成分からの散乱である。エネルギー移動が 1.5 meV のところにブロードなピークが見えるが、これがいわゆるボゾンピークである。本報告では前述の力の定数 f の問題に焦点を絞るため、弾性散乱の散乱ベクトルの絶対値 Q 依存性に着目した。非干渉性弾性散乱 $I_{el}(Q)$ の Q 依存性はガウス近似の範囲で $I_{el}(Q) =$

$\exp(-\langle u^2 \rangle Q^2)$ で与えられる。ここで、 $\langle u^2 \rangle$ は平均自乗変位である。また、平均自乗変位 $\langle u^2 \rangle$ は調和振動子近似の範囲で力の定数 f と $\langle u^2 \rangle = k_B T / f$ の関係式により結び付けることができる。よって、平均自乗変位の膜厚依存性を比べることにより力の定数 f の膜厚依存性を議論できることになる。まず、 $I_{el}(Q) = \exp(-\langle u^2 \rangle Q^2)$ に従い 230 K における弾性散乱強度をバルク、100 nm および 40 nm の薄膜について Q^2 に対してプロットした (図 8)。きれいな直線関係が得られ、その傾きより平均自乗変位 $\langle u^2 \rangle$

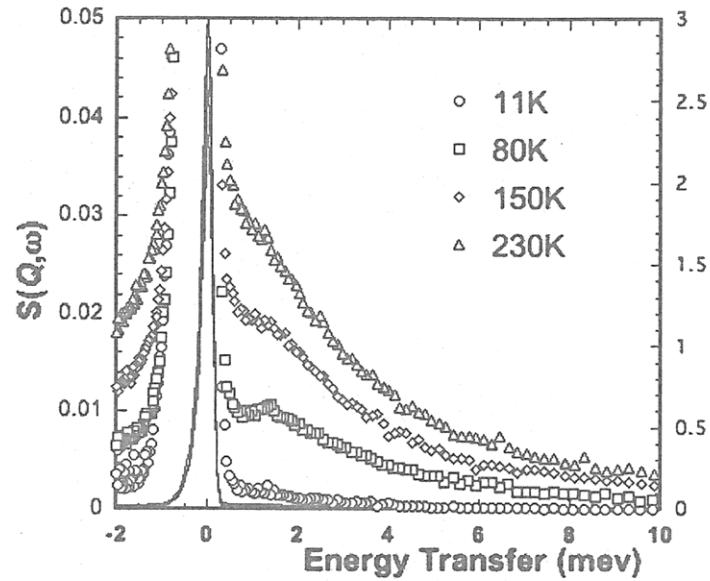


Fig. 7. Dynamics scattering law $S(Q, \omega)$ of PS thin film 100 nm thick at 11, 80, 150 and 230 K.

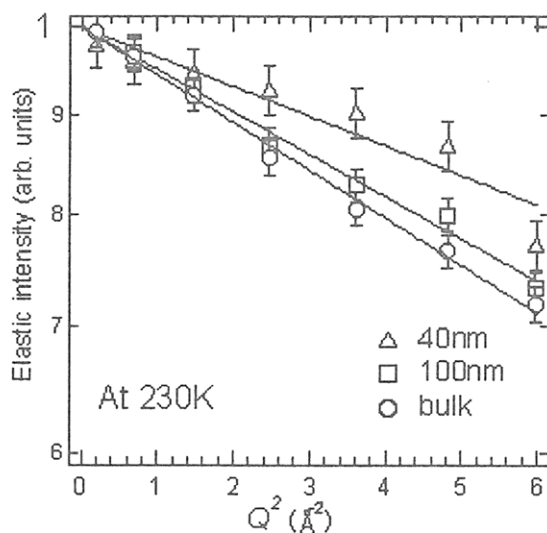


Fig. 8. Logarithm of elastic intensity $I_{el}(Q)$ vs. Q^2 for bulk PS and PS films 40 and 100 nm thick.

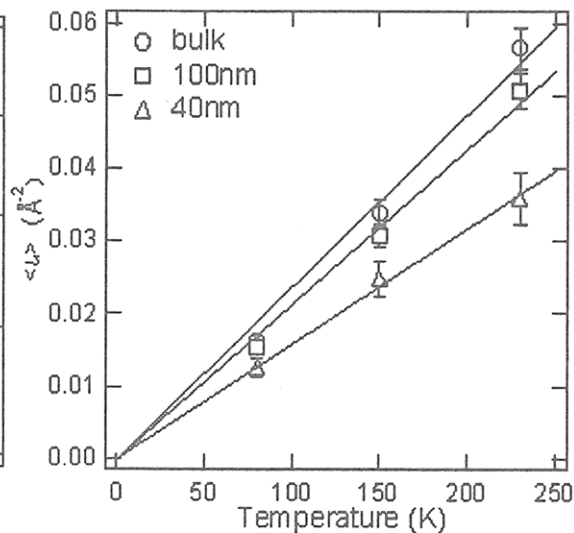


Fig. 9. Temperature dependence of mean square displacement $\langle u^2 \rangle$ for bulk PS and PS thin films 40 and 100 nm thick.

を評価した。図9は平均自乗変位の温度依存性をバルク、100 nm および 40 nm について示したものである。図から明らかなように膜厚の減少に従い平均自乗変位が減少しているのが分る。言い換えれば、膜厚の減少に従いポテンシャルの力の定数 f が増大している、すなわちポテンシャルの硬化が起こったことになる。これは、先に述べた高分子鎖の糸まりが薄膜中に拘束されたために歪み、ポテンシャルの硬化が起こったためではないかと考えられる。しかし、程度は小さいが膜厚 100 nm の薄膜でも平均自乗変位がバルクに比べ小さくなっている。このことは、拘束以外の他の効果、例えば界面における非常に運動性に低い dead layer の存在などによるものと考えられが、これは今後の問題であろう。

本報告では、高分子薄膜の異常な物性であるガラス転移と膨張係数の起原について X 線反射率法と非弾性中性子散乱法で調べた結果について述べ、これらの測定手段が薄膜異常物性の解明に非常に有用であることを示した。今後ガラス転移近傍での非弾性散乱測定を含め、運動の異方性、膜内での不均一性等を調べていく予定である。

参考文献

- [1] J. L. Keddie, R. A. L. Jones, and R. A. Cory, *Europhys. Lett.* **27**, 59 (1994).
- [2] J. L. Keddie, R. A. L. Jones, and R. A. Cory, *Faraday. Discuss.* **98**, 219 (1994).
- [3] S. Kawana and R. A. L. Jones, *Phys. Rev. E* **63**, 21501 (2001).
- [4] T. Miyazaki, K. Nishida and T. Kanaya, *Phys. Rev. E* **69**, 022801 (2004).
- [5] T. Miyazaki, K. Nishida, and T. Kanaya, *Phys. Rev. E.* **69**, 061803 (2004).
- [6] T. Kanaya, T. Miyazaki, R. Inoue, H. Yamano, K. Nishida, I. Tsukushi, K. Shibaya, *Slow Dynamics in Complex Systems: 3rd International Symposium*, edited by M. Tokuyama and I. Oppenheim, CP708, 197 (2004)
- [7] T. Kanaya, T. Miyazaki, R. Inoue, K. Nishida, *Phys. Stat. Sol.*, **242**, 595 (2005)
- [8] T. Miyazaki, A. Shiimazu, T. Matsushita and K. Ikeda, *J. Appl. Polym. Sci.* **78**, 1818 (2000).
- [9] T. Miyazaki, A. Shimazu and K. Ikeda, *Polymer* **41**, 8167 (2000).
- [10] W. J. Orts, J. H. v. Zanten, W. L. Wu and S. K. Satija, *Phys. Rev. Lett.* **71**, 867 (1993).
- [11] J. A. Forrest and R. A. L. Jones, in *Polymer Surfaces, Interfaces and Thin Films*, edited by A. Karim and S. Kumar (World Scientific, Singapore, 2000), p. 251.
- [12] P. G. de Gennes, *Eur. Phys. J. E2*, 201 (2000).

ポリトリメチレンテレフタレート繊維

旭化成せんい（株）技術研究所

Jinichiro Kato

加藤 仁一郎

1. はじめに

20世紀前半に米国でナイロン66繊維が発明され市販されるようになって以来、ナイロン6繊維、ポリエチレンテレフタレート（PET）繊維、アクリル繊維、スパンデックス繊維等の汎用の合成繊維、更には炭素繊維やアラミド繊維などの高機能の合成繊維が多数生み出されてきた。これらは衣料や資材用途に大量にかつ幅広く実用され、今や天然繊維と共に人間生活にとって不可欠の繊維材料となっている。特に3大合繊と呼ばれるナイロン繊維、PET繊維、アクリル繊維の消費量は多く、その中でもPET繊維の消費量の伸びは著しい。これらの汎用合成繊維の主たる生産基地は当初欧米や日本であったのが、今ではコスト競争力の高い東南アジアや中国等へと移っている。今後、日本等の先進国の繊維産業が生き残るためには、画期的な性能を有し、かつ技術及び知的財産面で他の追従が困難な新繊維を開発することが必須となる。

このような背景の中、旭化成（当時）はポリトリメチレンテレフタレート（PTT）からなる新合成繊維ソロ（商標）の開発に成功し、1999年に衣料用途として世界で始めて上市した。その後、当社のPTT繊維事業は、帝人（株）と折半出資した合併新会社「ソロテックス（株）」に引き継がれ、商標もソロテックスとして今日に至っている。

PTTはテレフタル酸と1,3-プロパンジオール（PDO）の重縮合で得られるポリエステルである（図1）。PTTは3GTとも略称される。



図1 PTTの分子構造

P T Tの研究歴は古いが、長い間 P D Oを安価に得る製造技術がなく、工業化に至っていなかった。ところが、1990年後半に Shell Chemical Company 等において P D Oを安価に得る製造技術が確立され、P T Tの工業化の動きが起こった。我々はこの動きに着目し、ポリマー科学、繊維科学を駆使して、事業化することに成功した。

P T Tは同じポリエステルであっても物理的、化学的性質が P E Tやポリブチレンテレフタレート（P B T）とは大きく異なっている。そのために繊維製造技術及び加工技術は、開発に際し多くの困難性に直面したが、これらを克服した上で P T T繊維の事業化を達成することができた。

2. P T T繊維の特性

P T T繊維の代表的な物性を表1に示す。

P T Tはその結晶構造が特異であるため、その繊維性能は極めて特徴的である。すなわち、基本的には P E T繊維の消費性能を具備した上で、以下の性能を有している。

- 1) ソフトな新触感（低弾性率）
- 2) ストレッチ性とストレッチ回復性
- 3) 優れた形態安定性
- 4) 低温染色性
- 5) 優れた耐候性・耐黄変性

P T T繊維は、単独使いまたは他の合成繊維、天然繊維との複合によって、スポーツ、アウター、インナー、資材等の幅広い用途で従来の繊維で出せない特徴ある商品を提供することが可能であり、様々な新衣料、新資材を提案できるものと考えている。

表1 PTT繊維とその他の合繊の物性

物性	単位	P T T	P E T	P B T	ナイロン66
引張強度	cN/ dtex	3.4 ~ 3.7	3.7 ~ 4.4	3.5	4.1 ~ 4.5
伸度	%	36 ~ 42	30 ~ 38	38	32 ~ 44
弾性率	cN/ dtex	23	97	23	31
20%伸 長回復率	%	88	29	40	62
比重		1.34	1.38	1.34	1.14
水分率	%	0.4	0.4	0.4	4.5
沸水 収縮率	%	14	7	7	13
融点	℃	230	254	230	253
耐候性		良好	良好	良好	強度低下、黄変 する場合あり。
耐黄変性		良好	良好	良好	不十分な場合 あり。

2. 1 ソフトな新触感、ストレッチ性、形態安定性

繊維は結晶と非晶が混在した構造を有するが、非晶も結晶と類似した挙動を示すので結晶構造が繊維の特性を決定付ける場合が多い。

PTTはPETやPBTと同じポリアルキレンテレフタレートに属する。PTTのアルキレン鎖のメチレン基は3個であり、PET（2個）とPBT（4個）の中間となるために、その繊維性能はこれら2つの中間の物性になるものと想像するかもしれない。しかしながら、PTTはPETやPBTとは全く異なる結晶構造を有するので、PTTはこれらの繊維とは異なった特性を示す（図2）。

PTTは、結晶弾性率と結晶の伸長エネルギーがPETやPBT対比極めて小さい（表2）。これは結晶中のPTT分子は3つある真ん中のメチレン基で大きく屈曲しているため、小さな応力で分子が容易に変角し可逆的に伸縮するからである。結晶中のPTT分子の伸びきり鎖に対する屈曲率は75%にもなる。

このような結晶構造により、PTT繊維はポリエステルでありながら極めてソフトな風合い（低弾性率）で、しかも快適なストレッチ性（結晶の伸縮特性）、形態安定性（型くずれ、着くずれが少ない）を発現する。図3は、各種繊維を一定量伸長させた時の伸長回復率を示したものであるが、PTT繊維は良好な伸長回復性を示すことがわかる。

P T T 繊維のストレッチ性とその回復特性は、加工糸、更にはサイドバイサイド糸にした時に特に顕著で、このことは捲縮の伸長と繊維自身の伸長が組み合わされた結果だと考えられる。P T T 繊維の伸縮特性は外力によるすれを緩和する作用もあり、P T T 繊維を用いた布帛は良好な耐摩耗性も有する。特に、立毛品はこの効果が顕著である。

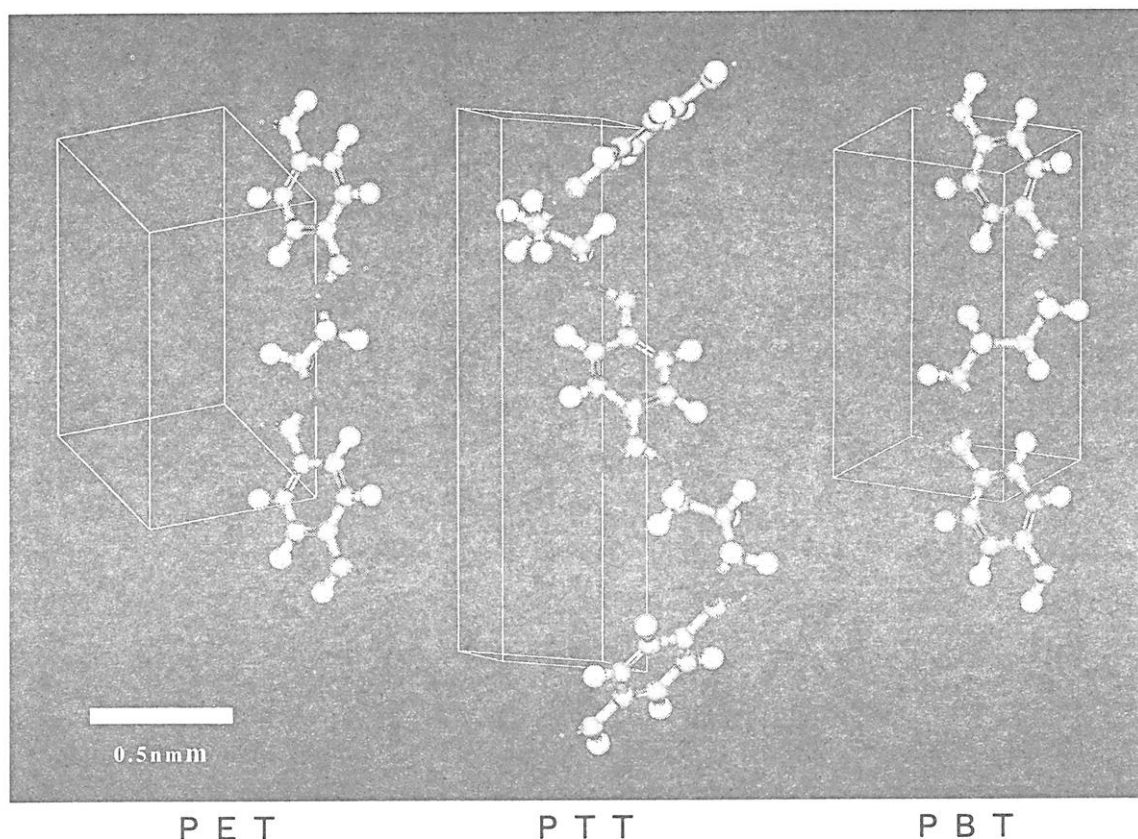


図 2 ポリアルキレンテレフタレートの結晶構造

表 2 メチレン基の数 n を変えた時のポリアルキレンテレフタレートの物性

n	略語	融点	ガラス 転移点	伸びきり鎖 に対する屈 曲率	結晶 弾性率	10%伸長 エネルギー	備考
		℃	℃	%	G P a	kcal/cm ³	
2	P E T	2 5 4	6 9	9 8	1 1 0	0 . 2 0 4	
3	P T T	2 3 0	5 1	7 5	2 . 7	0 . 0 0 8	
4	P B T	2 3 0	2 5	8 7	1 3	0 . 0 6 1	α 型
5	—	1 5 2	— 9	7 1	—	—	
6	—	1 3 2	3	8 7	—	—	

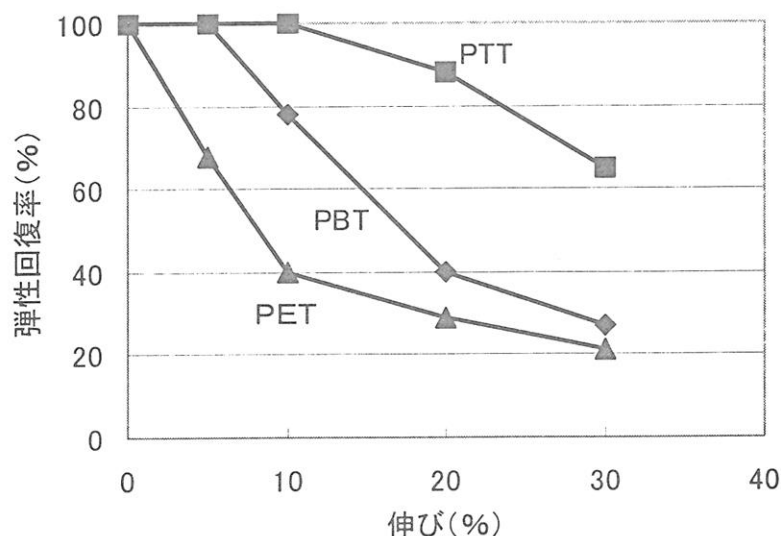


図3 PTT繊維の伸長回復性

一方、PETの結晶構造は、伸びきり鎖構造に近い構造を示すので、結晶はPTTのような伸長特性を有しない。PET繊維の堅い感触はこの結晶弾性率の堅さと変形のしにくさに基づく特性である。

PTTのような屈曲構造は、アルキレン鎖のメチレン数が奇数の場合に見られる現象である。しかしながら、メチレン数が5以上のポリアルキレンテレフタレートは融点は著しく低くなり、耐熱性が問題となって繊維としては使用できない。PTTのみが、この屈曲構造を繊維に生かせるポリマーである。

2. 2 低温染色性

PTT繊維の染色には、分散染料が使用される。PTT繊維の非晶部の分子運動の特徴を示す動的損失正接 $\tan \delta$ のピーク温度は110℃前後にあり、PET繊維の130℃前後より低い。これはPTTの屈曲構造及びメチレン鎖が長いことに起因して、PTT繊維の非晶部分が疎な構造であることを示している。その結果、PTT繊維はPET繊維よりも低温染色（110～120℃染色）が可能となり、染料を選べば常圧染色も可能となる（図4）。染色堅牢度についても問題ないレベルである。

この低温可染性は、熱に弱いウールや絹等の天然繊維やアクリル繊維やアセテート繊維との複合には必須の性質である。PTT繊維と複合することで、染色段階での相手素材の風合い硬化劣化、強度低下、収縮、くすみ等の問題なしに、PTT繊維のソフトさやストレッチ性

と相まって、互いの特徴を生かした複合糸・複合テキスタイルを提供することができる。

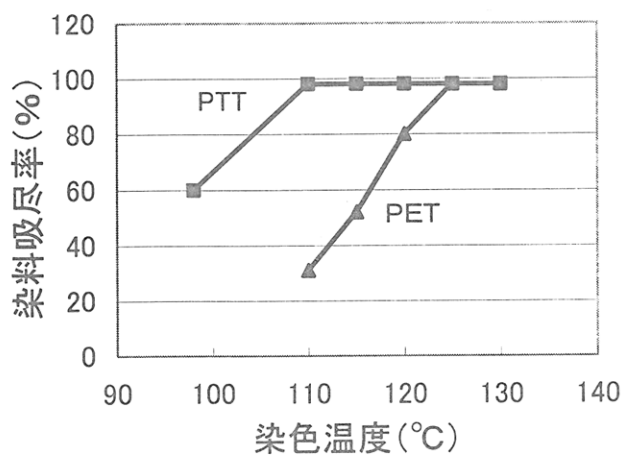


図 4 P T T 繊維の染色特性

2. 3 耐候性・耐黄変性

P T T 繊維は化学的に安定な分子構造を有しているので、熱、光、ガスによる黄変、強度低下が起こりにくい繊維である。

この特性は衣料はもちろんのこと、とりわけ資材用途に適した性質であり、例えばカーシート、カーペット等、日光に当たる資材用途にも使用可能となる。

3. PTT繊維の製糸技術

PTT繊維は熔融紡糸によって製造されるが、公知の製糸技術ではPTTの特異な物理・化学特性故に上記繊維特性の発現、安定生産は達成されない。

以下、いくつか例に挙げて我々が進めた代表的製糸技術開発について説明する。

PTT繊維の開発における様々な要素技術について、我々は国内外に400件を超える特許出願を行っている。これらの特許群は重要な事業基盤の一つとなっている。

3. 1 熔融紡糸技術の開発

PTTは熔融時に熱分解を起こしやすく、分子量低下や黄変が生じやすい。低温化等の乾燥及び熔融押出の独自技術と、熱安定剤等を用いたポリマー着色抑制技術を組み合わせて上記課題解決した。更に紡口周辺の汚れを抑制し安定に長時間紡糸可能であるためには、特定のポリマー粘度と吐出線速度の組み合わせが必須であることを発見し、それらを元にPTTに最適な熔融紡糸技術を確立した。

3. 2 繊維表面特性制御技術の開発

PTTはゴムの弾性を有するので、ロールやガイドへの摩擦抵抗が大きく、製糸段階、加工段階での糸切れや毛羽が発生しやすい。平滑性を高めるために、特定組成の仕上げ剤を使用しこの問題を解決した。

3. 3 巻取り技術の開発

PTTはゴムの弾性特性及び経時収縮が大きいので、従来技術では巻取り中や保管、運送中に巻糸パッケージの形態が悪くなりやすく、繊維均質性不良、解じょ不良が起こりやすかった。弊社では巻取り前に最大限収縮させて巻取り後の収縮を大幅に抑制できる高リラックス巻取り技術、未延伸糸エージング技術、製糸過程での結晶化技術を開発し、巻形状が良好で経時変化の少ない原糸、パッケージを確立した。

3. 4 繊維物性設計

PTT繊維は紡糸条件によって様々な物性を取りうるが、機能発現、安定な工程通過性を達成するには特定の繊維物性範囲でなければいけないことを見出し、その最適繊維物性設計指針を確立した。

4. PTT繊維の用途

PTT繊維の特徴を生かした、代表的用途を表3に示す。ここに示した用途以外にも様々な開発が進行している。

表3 PTT繊維の用途例

用途分野	具体的用途
衣料分野	①ソフトさとストレッチを活かした分野 ニット・織物アウター分野、裏地、インナー、 スポーツ衣料等 ②低温染色性を活かした分野 ウール、綿等の天然繊維、他の合繊との混紡、交撚、 交編織でのアウター分野等
資材分野	①弾性回復性を活かした分野 イス張り、ブラシ、インテリア、カーペット、寝具、 レース、テープ、ミシン糸、靴材等

5. 最後に

PTT繊維は既存の合成繊維に対して特徴的な性質を有しており、次世代の大型新規素材として大きな期待が寄せられている。

PTT繊維が4大合繊の一つと呼ばれるように大きく成長するには、既存繊維に対して性能に優れる用途をいかに多く創出できるか、あるいは代替できるかに係っている。ここ当分はこれを目指した用途、市場の創生期と考えられる。

糊谷信三^{*1}，登阪雅聡^{*1}，古谷昌大^{*1}，S. Poompradub^{*1}，池田裕子^{*2}

^{*1} 京都大学化学研究所，^{*2} 京都工芸繊維大学工芸学部

1. 緒言

天然ゴム(NR)は、現在、様々なゴム製品に使われている。特に、タイヤにおいては大型トラック用タイヤや飛行機用タイヤなどの素材として安全走行・飛行のため必要不可欠なものとなっている。日本で、そして今や世界的に重要な地震対策用の免震システムの要としても NR は欠かせない。手術用ゴム手袋などの医療材料において、ピンホールのない数十 μm の厚さの、柔らかく伸びの大きい、ゴム弾性に富む筒状製品を作るには、やはり NR の右に出るものは未だ無い。これらは、化学合成されたイソプレンゴム(IR)では代替不可能な用途である。

NR から作られる架橋体の優れた物性は何に起因しているのでしょうか？ NR が 100%シス-1,4-構造という化学合成では到達できない高い立体規則性を有していることのほか、NR が天然に産出されるバイオマスであることから生合成の過程で含まれて来る非ゴム成分の影響も考慮する必要がある、NR が伸長結晶化する高分子の中でも特異な挙動を示すからだと考えられる。しかし、ゴムの伸縮という短時間スケールの現象をリアルタイムに追跡してその構造を解析することは容易ではなかった。例えば、これまでのX線観察では1回の測定に数十分から1時間以上を要し、時々刻々と進行する変形中、*in-situ*(その場)で構造変化を明らかにすることはできなかった。近年、シンクロトロン放射光による高輝度X線源と応答の速い CCD カメラおよび小型引張試験機を組み合わせることによって、架橋ゴムの一軸引張試験と同時にその場でX線測定ができるようになりこれらの問題を解決できる可能性が現実のものとなった。

NR の伸長結晶化については、高分子概念の確立以前から研究があり¹⁾、架橋 NR を室温で 200%以上延伸すると分子鎖の配向を経て一部分が結晶化し、応力を開放すると元のアモルファス状態(ランダムコイル状態)に戻ることが 1930 年代に報告されている^{2,3)}。1984 年には Mitchell が広角 X 線回折(WAXD)により伸長 NR の結晶化と配向に関する研究を行っている⁴⁾。Flory は、架橋体の伸長結晶化現象を熱力学から考察し、鎖が伸長される方向と平行に結晶成長が起こると推定した⁵⁾。また、Kilian ら^{6,7)}は、伸長方向と垂直にラメラ結晶が生成すると述べ、また、未架橋の NR 試料では透過型電子顕微鏡(TEM)観察によってラメラ結晶が推定されている⁸⁻¹²⁾。しかし、網目鎖密度の増加と共にそのラメラ結晶が減少してゆくことも報告されている¹³⁾。NR の伸長結晶化挙動を明らかにする上で、TEM による直接観察は重要で意義深い。しかし、高伸長にいたる大変形下での TEM 測定は現在の技術をもってしても困難であり、X線を用いた研究が必要となる。

本研究では、前報¹⁴⁾で報告したように我々が展開しているシンクロトン放射光施設を利用した NR 架橋体の伸長結晶化について、新たな知見を得たので報告する。特に、合成ゴムである IR 架橋体との比較を通して NR の特異性と高性能との相関を述べると共に、伸長結晶化機構と関連して網目ポリマー系の変形モデルを提案する。

2. 実験

2. 1 試料

二本ロールを用いて表 1 に示す配合に従ってゴム 100 に対してステアリン酸、活性 ZnO、加硫促進剤 (N-シクロヘキシル-2-ベンゾチアゾールスルフェンアミド) および硫黄を所定の割合で混練した後、140℃で熱プレスを行って厚さ 1 mm の加硫ゴムシートを作製した。天然ゴムは RSS No. 1、IR は JSR(株)製の IR2200 を用いた。加硫時間は、JSR キュラストメーター III 型を用いて決定した。引張試験に供した試料は、ダンベル形で直線部の長さ 10 mm、幅 3 mm である。網目鎖密度 (ν) は引張試験の結果から得た応力-ひずみ曲線 (図 1) の伸長初期の傾きから (1) 式に示す古典ゴム弾性理論²⁾に基づいて算出した。

$$\sigma = \nu kT(\alpha - \alpha^{-2}) \quad (1)$$

Table1 Recipes for vulcanized NR and IR samples

Sample code	NR-1	NR-2	NR-3	NR-4	NR-5	IR-2	IR-3	IR-4	IR-5
Rubber ^a , phr	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Stearic acid, phr	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Active ZnO, phr	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CBS ^b , phr	3	2	1.5	1	0.75	2	1.5	1	0.75
Sulfur, phr	4.5	3	2.25	1.5	1.125	3	2.25	1.5	1.125
Total, phr	110.5	108	106.75	105.5	104.875	108	106.75	105.5	104.875
Curing time ^c , min	10	12	12	14	18	18	21	25	30
Network chain density $\times 10^4$, mol/cm ³	2.12	1.78	1.46	1.31	1.01	1.66	1.36	1.29	1.03

^a For NR and IR series, RSS No.1 and IR2200 were used, respectively.

^b N-cyclohexyl-2-benzothiazole sulfenamide

^c Cure temperature was 140 °C.

ここで、応力 (σ) は変形前の単位面積当たりの力、 k は Boltzmann 定数、 T は絶対温度、 α は伸長比であり、 $\alpha = l/l_0$ (l_0 は試料初期長 10 mm、 l は伸長時の試料の長さ) である。

2. 2 測定

実験はアメリカ合衆国国立シンクロトロン放射光施設 NSLS (Brookhaven, New York) X27C ラインで行った。X線の照射位置が一定

になるよう試料を上下方向に等速で伸長できる小型引張試験機をラインに設置して、チャック間隔 24mm、引張速度 10mm/min の条件下、引張試験を室温で行いながら連続的に二次元 WAXD パターンを得た¹⁴⁻¹⁸⁾。X線の波長は 0.1366nm、照射時間は 30 秒で 5 秒の照射間隔を置いて連続で測定し、CCD カメラを検出器としてデータ取込みを行った。

2. 3 WAXD 解析法

CCD カメラで撮影した生データ画像から解析ソフト (Polar, Stonybrook Technology and Applied Research, Inc.) を使用し、空気のバックグラウンド散乱を補正して WAXD パターンを得た。この WAXD パターンには伸長により配向した結晶と非晶、更に等方性非晶成分が含まれているので、等方性成分を取り除くために同じサンプルの未伸長時の画像に散乱強度係数を乗じて差し引いた。そして、伸長に伴い配向した結晶と非晶、すなわち異方性成分のみの WAXD パターンを分離した¹⁵⁻¹⁷⁾。図 2 に解析法を簡単に示す。

結晶化度は、図 2 (c) に示すように結晶の現れる範囲 (赤道 $\pm 75^\circ$) で散乱強度を積分して横軸に中心からの距離、縦軸に強度を示す回折強度曲線に変換した後、回折強度曲線を結晶と非晶のピークに分離し、試料の全散乱体積に対する結晶の散乱体積比から (2) 式を用いて結晶化度の指標となる crystallinity index (CI) を算出した。配向したアモルファスの割合は同様に (3) 式により oriented amorphous index (OAI) として算出した¹⁵⁻¹⁸⁾。

$$\text{Crystallinity Index} = \frac{\sum \int V_{\text{crystal}}(s) ds}{\sum \int V_{\text{total}}(s) ds} \quad (2)$$

$$\text{Oriented Amorphous Index} = \frac{\sum \int V_{\text{oriented_amorphous}}(s) ds}{\sum \int V_{\text{total}}(s) ds} \quad (3)$$

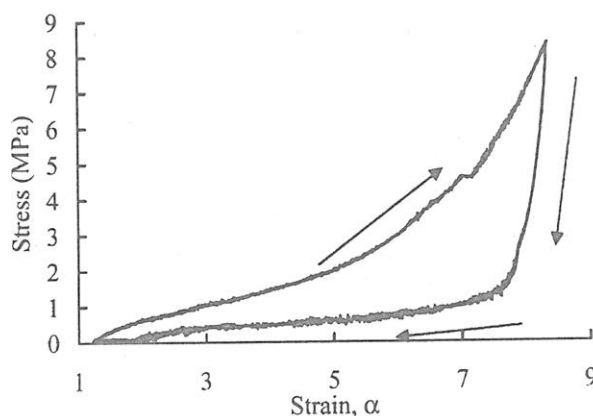


Fig. 1 Stress-strain curve of NR-4. Arrows indicate the direction of deformation.

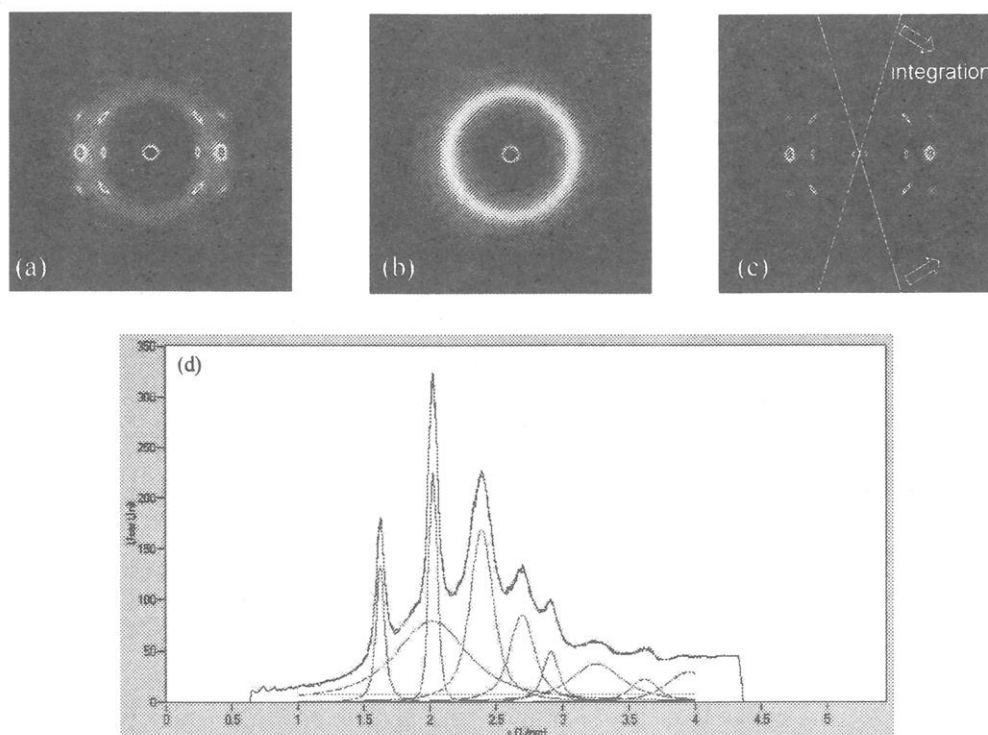


Fig. 2 Schematic representation of the procedure to estimate CI and OAI. (a) Starting WAXD pattern from which the air scattering has been subtracted. This pattern is regarded to be composed of isotropic, oriented amorphous and crystalline components. (b) Isotropic amorphous halo before the stretching. (c) After the subtraction of the isotropic amorphous component from the starting pattern. The range of the azimuthal integration is indicated. (d) Peak fitting of the radial intensity distribution. This peak fitting leads to the numerators of Equations (2) and (3).

ここで、 $V(s)$ は下付きで示される部分の散乱体積である。結晶のa軸、b軸、c軸の格子定数は、検出した5個の結晶パターンについて結晶格子面間隔を求め、それらの値を回帰分析することにより決定した^{17,18)}。

3. 結果と考察

3. 1 NR架橋体およびIR架橋体の伸長結晶化

図3に伸長比 $\alpha = 7.35$ におけるNR架橋体(NR-4)のWAXDパターンを示す。高度に配向したポリ(イソプレン)セグメントの結晶回折ピークが現れている。また、高伸長状態にも拘らず、等方性のアモルファスハローに加えて伸長方向に配向したアモルファスの存在を示す赤道方向のWAXDパターンも検出した。配向した結晶ピークもアモルファスハローもひずみ減少により徐々に消滅し、ひずみゼロで全体が元の等方性アモルファスハローを示すサイクル特性、すなわち、伸長による結晶化と収縮による結晶の融解という可逆的なサイクルをリアルタイムに追跡することができた。他の試料についても定性的には同様な結果を得た^{17,18)}。

図4に、NR 架橋体 (NR-4) の伸長および収縮に伴う CI と OAI の変化を示す。CI は $\alpha = 3.5$ まで変化せず、3 倍以上に伸びてから結晶化が始まった^{17,18)}。OAI は伸長開始と同時に直線的に増加するが、CI は伸長比が 3 倍を超えるまでは変化しない。このことは、NR が応力 (ストレス) を検出しながらも、ストレスが一定の大きさになるまでは何ら反応せず、ある閾値を超えて初めて対応 (結晶化) することを意味している。この挙動は人間にとってきわめて教訓的であり、「天然物ゆえのことであろうか？」と考え込まざるを得ないスマートさである。伸長に伴って CI も OAI も大きくなっていくが、最大ひずみにおいても両者を合わせた値は 0.5 より小さく、高伸長時にもゴム分子鎖の多くが等方性のアモルファス状態で「リラックス」していることが判った。

収縮過程では、同じひずみで比較すると CI は延伸時より高い値となり、結晶融解がゆっくりと起こって結晶成長開始点より低ひずみ領域まで結晶相が残存し、 $\alpha = 1$ で元と同じく等方性アモルファス状態に戻った。すなわち、ヒステリシスを示しつつも NR の伸長結晶化は可逆的であり、大きなストレス下では結晶を生成して微結晶／アモルファスのコンポジットに変身し、ストレスが無くなれば元のアモルファス状態に戻るスマートな材料と言える。一方、OAI は伸長と同時に増加し始め、伸長と収縮過程では大きな違いはなかった。これらは、網目鎖密度を変えたいずれの試料においても認められた典型的な挙動であった。

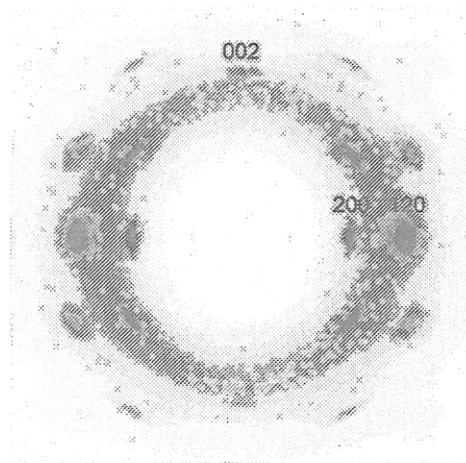


Fig. 3 WAXD pattern of NR-4 stretched up to strain ratio = 7.35. The air scattering has been subtracted.

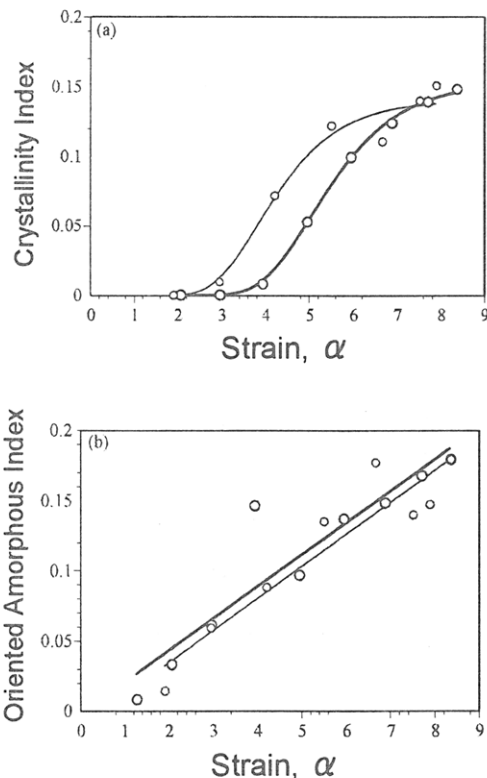


Fig. 4 Hysteresis curves of (a) CI and (b) OAI for NR-4. Large and small symbols (thick and thin lines) indicate the stretching and retracting processes, respectively.

図5と図6に、網目鎖密度を変量したNR架橋体とIR架橋体のCIとOAIの伸長に伴う変化を示す。NR架橋体もIR架橋体も、伸長結晶化が開始される伸長比は網目鎖密度にほとんど影響されず、NR架橋体の場合は α 約3.5、IRの場合は約4.5から伸長結晶化が生じるという極めて興味深い結果が得られた¹⁸⁾。また、いずれの試料でもOAIは α に比例して直線的に変化したが、両者でそのひずみ依存性に違いがあり、IR架橋体の方が大きい傾向にあった。NR架橋体では網目鎖密度が大きいほどそのひずみ依存性は少し大きくなった。一方、IR架橋体では網目鎖密度の影響は明確には認められなかった。

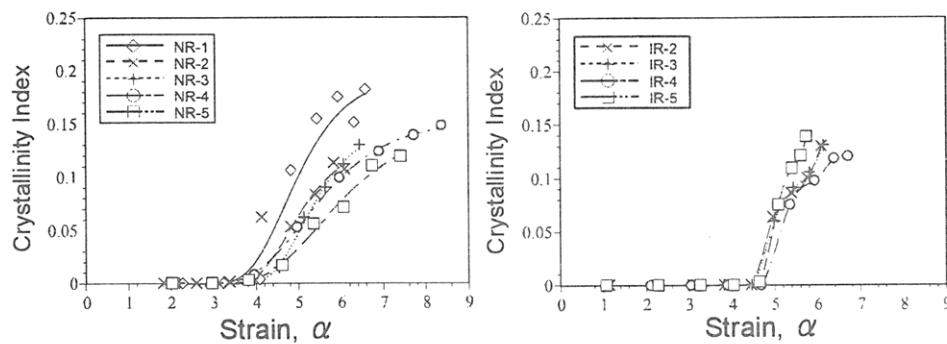


Fig. 5 Variation of CI of NR and IR with various crosslinking densities during the stretching process.

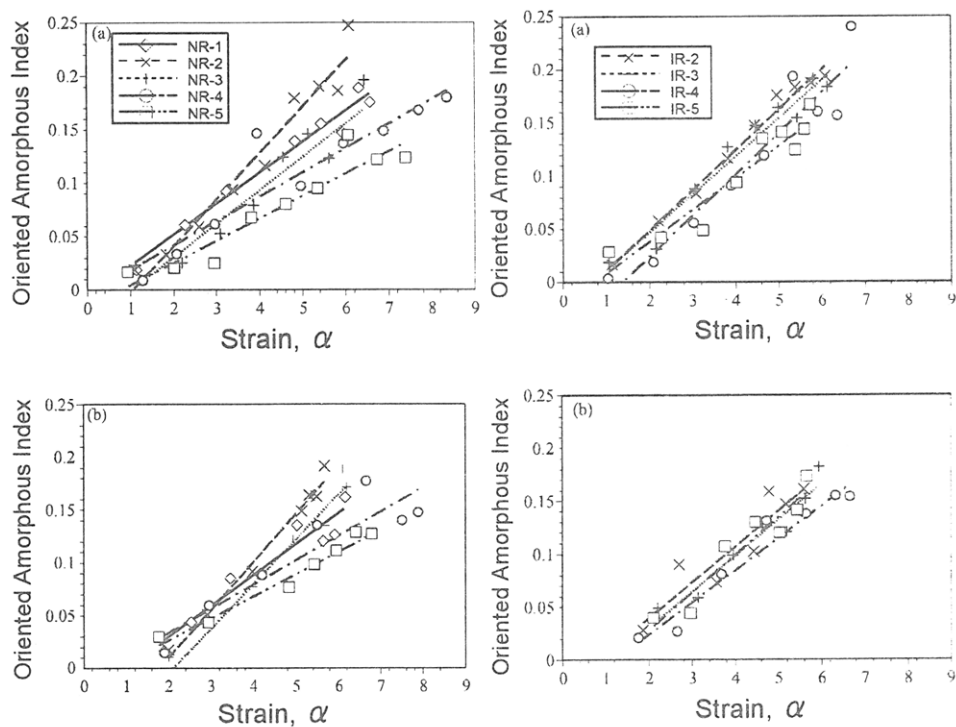


Fig. 6 Variation of OAI of NR and IR with various crosslinking densities. (a) During the stretching process. (b) During the retracting process.

なぜ、ゴムの種類が変わっても網目鎖密度によらず、同じ伸長比から伸長結晶化が始まるのであろうか？ NR 架橋体と IR 架橋体でなぜ、結晶化開始点が異なり、IR 架橋体の方が結晶化に必要な伸長比が大きいのであろうか？

3. 2 伸長結晶化機構

NR 架橋体および IR 架橋体の伸長結晶化は、山本らが提案した考え¹⁹⁾から変形に伴う融点が(4)に従って上昇することに基づいて解釈することができる。

$$T_{m,\alpha} - T_{m,1} = (\Delta H_{\alpha} / \Delta S_{\alpha}) - (\Delta H_1 / \Delta S_1) \quad (4)$$

ここで、 ΔH は熱容量の変化量、 ΔS はエントロピーの変化量である。下付きの α と1は伸長比を表す。熱容量が変形に依存しない場合、変形に伴う融点を(5)式で表すことができる。

$$1/T_{m,\alpha} = (1/T_{m,1}) - (\Delta S_{\text{def}} / \Delta H_1) \quad (5)$$

ここで、 ΔS_{def} は、変形によるエントロピー変化量である。ゴム試料が伸長されるとその融点は(5)式に従って上昇し、融点が室温を超えたところでゴムは過冷却液体状態になって結晶化の熱力学的条件が満たされることになる。IR はその立体規則性が NR より低いので、IR 架橋体の $T_{m,1}$ は NR 架橋体の $T_{m,1}$ よりも低く、従って、IR 架橋体が室温で結晶化して $T_{m,\alpha}$ を持つためには NR 架橋体より大きく伸長させることが必要となる。これが、IR 架橋体で α_c が NR 架橋体より大きくなった要因と考えられる¹⁸⁾。

ΔS_{def} は伸長比の関数であるが、網目鎖密度に依存しないと仮定すると、伸長結晶化は網目鎖密度に関係なく、ある臨界値で起こることになる。しかし、ゴム弾性の古典理論¹⁾ではアフィン変形を仮定して、 ΔS_{def} は(6)式で表される。

$$\Delta S_{\text{def}} = -(1/2) \nu k (\alpha_x^2 + \alpha_y^2 + \alpha_z^2 - 3) \quad (6)$$

ここで、 α_x 、 α_y 、 α_z はそれぞれの方向 x、y、z での伸長比である。この式は末端ダングリング鎖や絡み合いの効果を加味して展開しなければならないが、エントロピー弾性に基づいた基本概念であり、 ΔS_{def} が網目鎖密度に比例することを意味する。従って、それぞれの架橋体で α_c が網目鎖密度に依存しないと言う結果と矛盾する。しかし、ゴムのエントロピー弾性が網目鎖密度に依存することは、ゴム弾性論の基本的特性であり、この矛盾を現時点で完全に説明することは困難である。現在、考えられるのは網目鎖構造の不均一性を考慮することである。

伸長状態では伸びた鎖とアモルファス状態のガウス鎖に近い鎖が共存することを実験的に認めた。また、網目鎖長の分布に基づいたゴムの変形は Dietrich ら¹⁹⁾によ

って議論されている。図7は、伸長下で共存する伸びた鎖とランダム鎖を示す。比較的短い鎖を太い線で表した。試料を伸長すると網目鎖は伸長方向に伸ばされ、その中で十分に配向した鎖が結晶化の開始点となる。そして図7cに示すように、伸びきり鎖の周りのランダム鎖がエピタキシーにより成長してゆくことによって結晶化が進行する¹⁷⁾。この網目構造において、伸長された鎖のモビリティはほとんど無いことから、“有効 ΔS_{def} ”はランダム鎖とのみ相関していると考えることができる。本実験のゴム試料のOAIが、網目鎖密度に大きくは依存していないことは図6から明らかであり、また、高伸長に至ってもランダム鎖が多数派(60%以上)であることから、“有効 ΔS_{def} ”が網目鎖密度に大きくは依存しないことになる。なお、分布の不均一性により不明確とはいえ、伸長した鎖の数は網目鎖密度に依存するので、ランダム鎖と伸びた鎖の両方を考慮に入れると ΔS_{def} は網目鎖密度に依存することになり、(6)式を否定する必要はないと思われる。

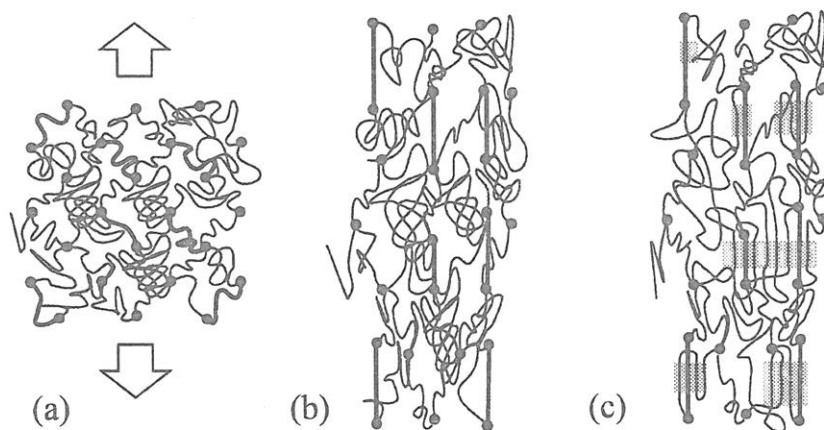


Fig. 7 Crystallization model of crosslinked rubber. Relatively short chains are drawn as thick lines. Filled circles represent cross-links. (a) Before deformation. (b) After deformation just before the onset of crystallization. (c) The fully stretched chains have acted starting point of crystallization. (Shaded parts are crystallites.)

NR中のたんぱく質や脂質などの非ゴム成分は融点降下の原因になると考えられるが、NR架橋体とIR架橋体の伸長結晶化を比較した本研究ではその影響は検出されなかった。おそらく、ステアリン酸や亜鉛華などの他のゴム配合物の影響が大きく、NR架橋体とIR架橋体の両方の融点を同じように下げたためであろう¹⁵⁾。また、ある一定以上の長さを有する伸びきり鎖が結晶成長の開始点となっていると考えられ、未架橋NRの場合のようにステアリン酸などの長鎖脂肪酸の微結晶が核剤となる不均一結晶化でないことは別に報告する²¹⁾。

応力と伸長結晶化、そして、応力とアモルファスコイル鎖の配向との相関を明らかにするために、応力を横軸として NR 架橋体と IR 架橋体の CI と OAI を図 8 に示す。NR 架橋体も IR 架橋体も網目鎖密度が大きくなるほど大きい応力で伸長結晶化が開始されることが、OAI は伸長開始と共に増加して CI より小さい応力で飽和になる傾向にあることが判った^{17,18)}。CI および OAI が高々 20% 程度で、両者をあわせても 40% 程度を超えないことはこの図に最も明確に示されている。NR、IR 両架橋体ともに、60% 以上のゴム分子鎖が高伸長下でも等方性アモルファス状態を保っていることになり、硫黄架橋を行ったゴム網目鎖の不均一性を端的に示す結果と言える。NR 架橋体と IR 架橋体を比較すると、NR 架橋体の方が小さい応力で結晶化が進行し、NR 架橋体の高性能要因の 1 つが伸長結晶化に基づいていることが示唆された。また、NR 架橋体の OAI の網目鎖密度による変化は IR 架橋体より大きく、伸長過程と収縮過程の OAI の違いも IR 架橋体の場合より大きかった。これも NR と IR のゴム分子鎖の立体規則性の差により説明できると考えられるが、あるいは、次に述べるモデルと関連して架橋のトポロジーが異なっている可能性も否定できない^{21,22)}。

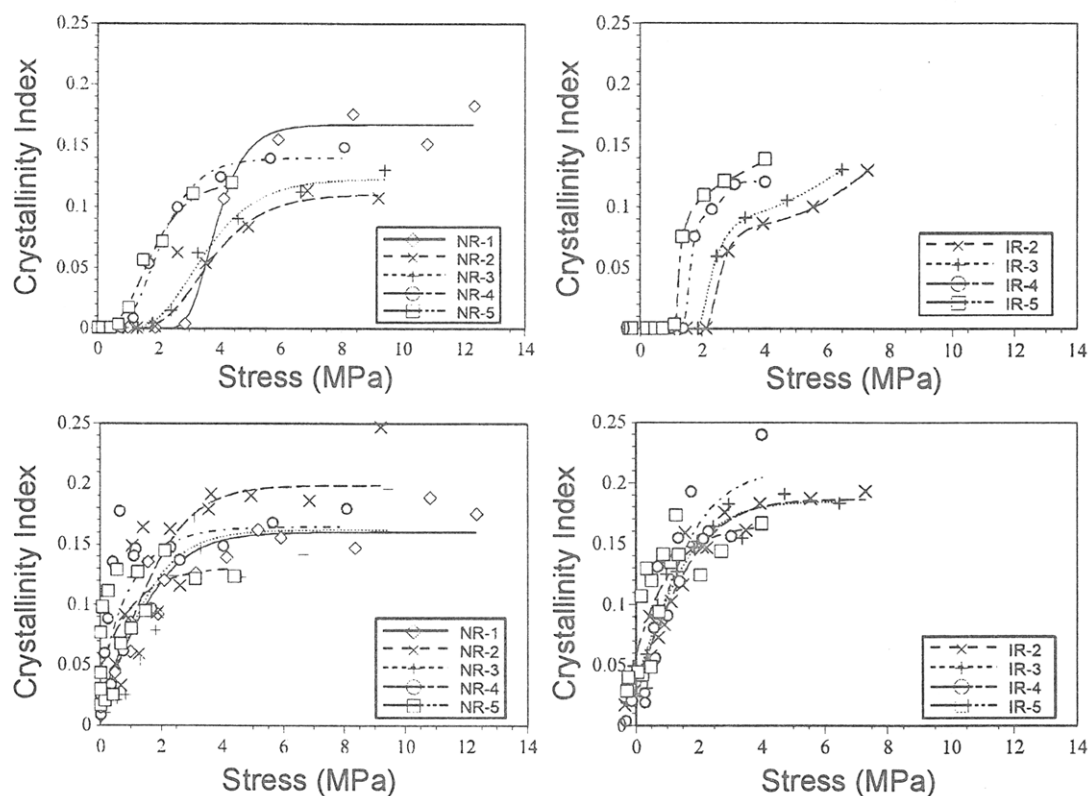


Fig. 8 Effect of crosslinking densities on the relationships between stress and CI or OAI for NR and IR vulcanizates during the stretching process.

興味あることに、2 MPa 以下の小さい応力領域では、NR 架橋体より IR 架橋体の方が OAI の応力による上昇は早く、この結果は、低応力領域では NR 架橋体より IR 架橋体の方が応力を担う配向したアモルファス鎖が多いことを示唆した。合成 IR の物性が NR より低いことは周知の事実であるが、本実験の結果から、IR 架橋体では配向したアモルファス鎖に大きな荷重がかかるために容易に疲労して、力学的性質の低下を招くのではないかと考えられる。NR を手本として合成された IR は、NR に似たスマートさを有しているとはいえ、構造と物性面で「合成天然ゴム」と称するにはまだまだ不十分であることが明らかであろう。

3. 3 パンタグラフモデル

これまで、NR 架橋体の伸長に伴う応力の急激な立ち上がりが何に起因しているかが議論の的であった。すなわち、伸長結晶化に依存すると考える説⁵⁾と、伸びきり鎖の増加によるもので結晶化の寄与は考える必要が無いとする説²⁾である。後者では、結晶化が起こってもそれが応力の増加の原因にならないと考えられてきた。我々はシンクロトロン放射光施設で行った時分割 WAXD 結果をさらに詳細に分析することにより、伸長結晶化の寄与を示す直接的証拠を得た¹⁷⁾。図 9 に、NR 結晶相の結晶格子の応力に伴う格子定数と体積の変化を示す。ここで、NR 結晶は Nyburg²³⁾によって提案

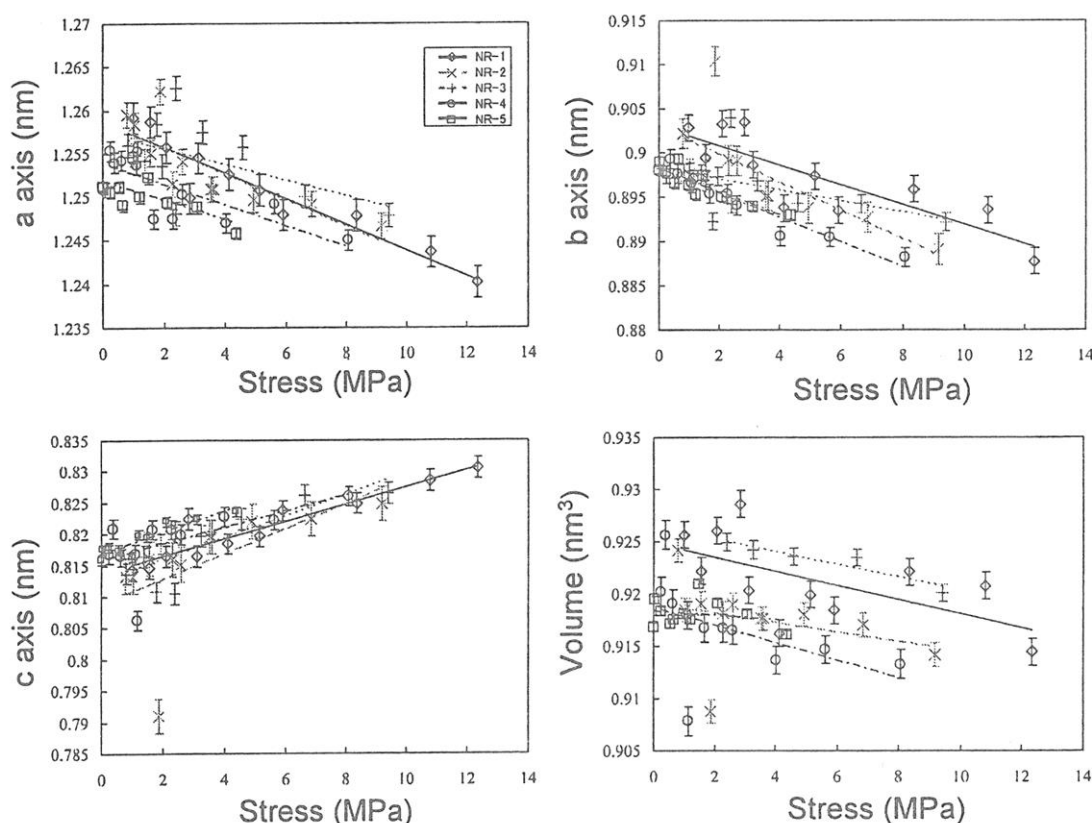


Fig. 9 Deformation of the crystal lattice with nominal stress. The vertical bars indicate standard errors. The straight lines are drawn based on the regression analysis.

された単位格子からなるとして解析した。図 9 から応力の上昇に伴って、伸長方向に垂直方向となる a 軸方向と b 軸方向に結晶格子は収縮し、伸長方向の c 軸方向に伸ばされることが判った。図 9 から明らかなように、単位格子定数の変化は応力と共にほぼ直線的に変化したことから、NR 架橋体中で微結晶相も応力を担っているものと考えることができる。

結晶格子定数は a 軸方向と b 軸方向に収縮し、c 軸方向には伸長されることは妥当であるが、図 9 (d) に示すように、格子定数の積により計算される単位格子の体積は、伸長と共に減少している。ゴム弾性体の変形はポアソン比が 0.5 であることから、体積変化は極めて小さいが、微結晶格子の体積が減少する実験結果は異常である。本共同研究者の一人が 15 年以上前に可能性を指摘した

「複数の網目鎖から成るユニットを考え、それ自身はほぼ一定の大きさに留まりながらそれら相互の位置関係が変化できるような、まったく新しい高次構造を考えなければならないかもしれない。」²²⁾

の具体例として、我々はここで、NR 鎖の伸長結晶化について図 10 に示すパンタグラフモデルを提案する。結晶相は伸長によりパンタグラフを形成する骨格の中で生成し、応力はパンタグラフ骨格を通して結晶相に伝達されると考える。伸長により応力はパンタグラフ全体にかかり、パンタグラフ骨格は伸長方向に長軸が配向したひし形に変形するであろう。その結果、結晶相は伸長方向と垂直に圧縮力を受けて結晶格子の a 軸と b 軸が収縮し、この圧縮力によって体積が減少すると解釈できる。すなわち、伸長によって c 軸方向に引張応力が作用するというより、系全体としてパンタグラフ状の高次構造に囲まれている中で、圧縮応力が作用して微結晶が変形しているものと考えられる。なお、アモルファスセグメントも結晶セグメントの近傍の空間に存在すると考えられ、アモルファスセグメントにも圧縮応力がかかるであろう。その場合、横方向の圧縮によりコイル状の鎖は変形しにくくなって等方性のままで存在するのかもしれない。伸長した試料の WAXD パターンで結晶ピークとともに等方性のアモルファスハローを検出した要因もパンタグラフモデルからこのように解釈することができた。パンタグラフ様式の変形は、シリコーンゲルでも提案されたことがある²⁴⁾。中性子散乱実験による網目鎖の慣性半径が変形に

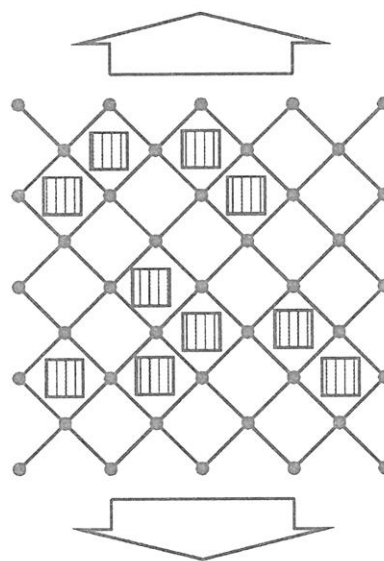


Fig.10 Mechanical models to explain the deformation of crystallites. Filled squares indicate crystallites. Crystallites are located between the frames of surrounding chains that transmit the nominal stress to the crystallites by the deformation as a pantograph.

よっても変化しない実験事実を説明する²²⁾もので、変形後も無配向アモルファス状態が半分以上という今回の結果と類似している。ポリマーゲルの網目構造が不均一であることはかなり一般的であり、この場合にパンタグラフのような変形機構を仮定することは合理的である。しかし、今後の課題としてパンタグラフ構造を実験的に検証し、その実体を明らかにする必要がある。

4. 結語

NR はカーボンブラック (CB) との組み合わせによりゴム材料では最も優れた高性能材料となる。従って、CB 充てん NR 架橋体の伸長結晶化挙動を詳細に検討することは材料科学的見地から非常に重要である。現在、我々はタイヤのみならず免震ゴム材料などを含めた実用上の重要性から、CB 充てん NR 架橋体の伸長結晶化について詳細に検討を加えている^{25, 26)}。この系で伸長結晶化によって生じる結晶の大きさが無充てん系より小さいこと、そして、その伸長方向への配向度が低いこと、結晶の格子定数が a 軸および b 軸方向に応力と共に収縮し、伸長方向と平行な c 軸方向に大きくなること、しかし、格子定数の応力による変化の程度は CB 無充てん系より小さいことを明らかにしている。これらの結果が前項で提案した NR 架橋体の伸長結晶化モデル、パンタグラフモデルにより十分に説明できることは興味深い。ここで注目すべきことは、CB の混合が NR の伸長結晶化と相互作用を持たず、CB の補強性を発揮させた上に伸長結晶化による微結晶にも応力を担わせていることである。これも NR の「スマートさ」ではないだろうか。この点からも今後、力学特性との相関をさらに定量的に検討する必要がある。

室温でアモルファスかつ液体状態と特長づけられるゴムの中で、幾つかのものは伸長結晶化して高強度ゴムとなる。その典型である NR は、現代社会に必要不可欠な材料である。しかし、ゴムが室温で活発にミクロブラウン運動をするエントロピー弾性に基づいた物質であることから、そのリアルタイムでの伸長結晶化については十分には明らかにされてこなかった。近年の科学と技術の大きな発展を背景にシンクロトロン放射光施設を利用した“その場観察”が可能となり、NR の伸長に伴う構造の変化と物性を明らかにして「*Hevea* 樹から産出される天然ゴムの謎に迫る」研究が進行し、天然ゴムの「スマートさ」が少しずつ解明されつつある。「天然に学ぶ材料設計」の観点からも本研究成果は有益となろう。

引用文献

- 1) Katz J. R.; *Naturwissenschaften*, 19, 410(1925).
- 2) Treloar R. G.; *The Physics of Rubber Elasticity*, 3rd ed; Oxford University Press, Oxford(1975).
- 3) Mandelkern L., *Rubber Chem. Technol.*, 66, G61(1993).
- 4) Mitchell G. R.; *Polymer*, 25, 1562(1984).

- 5) Flory P. J.; *J. Chem. Phys.*, 15, 397(1947).
- 6) Hall B., Kilian H. G., Schenk H.; *Colloid Polym. Sci.*, 268, 205(1990).
- 7) Conradt R. N. J., Heise B., Kilian H. G.; *Prog. Colloid Polym. Sci.*, 87, 85(1992).
- 8) Andrews E. H., Owen P. J., Singh A.; *Rubber Chem. Technol.*, 45, 1315(1972).
- 9) Fraser R. D. B., Macrae T. P., Miller A., Rowlands R. J.; *J. Appl. Cryst.*, 9, 81(1976).
- 10) Tsuji M., Shimizu T., Kohjiya S.; *Polymer J.*, 31, 784(1999).
- 11) Tsuji M., Shimizu T., Kohjiya S.; *Polymer J.*, 32, 505(2000).
- 12) Shimizu T., Tosaka M., Tsuji M., Kohjiya S.; *Rubber Chem. Technol.*, 73, 926(2000).
- 13) Luch D., Yeh, S. G. Y.; *J. Macromol. Sci.-Phys.*, 7, 121(1973).
- 14) 糊谷信三, 村上昌三, 登阪雅聡, Poompradub S., 土岐重之, Hsiao B. S.; *日本化学繊維研究所講演集第 60 集*, 43(2003)
- 15) Murakami S., Senoo K., Toki S., Kohjiya S.; *Polymer*, 43, 2117(2002).
- 16) Toki S., Sics I., Ran S., Liu L., Hsiao B. S., Murakami S., Senoo K., Kohjiya S.; *Macromolecules*, 35, 6578(2002).
- 17) Tosaka T., Murakami S., Poompradub S., Kohjiya S., Ikeda Y., Toki S., Sics I., Hsiao B. S.; *Macromolecules*, 37, 3299(2004).
- 18) Tosaka M., Kohjiya S., Murakami S., Poompradub S., Ikeda Y., Toki S., Sics I., Hsiao B. S.; *Rubber Chem. Technol.*, 77, 711(2004).
- 19) Yamamoto M., White J. L.; *J. Polym. Sci., Part A-2*, 9, 1399(1971).
- 20) Dietrich J., Ortmann R., Bonart R.; *Colloid Polym. Sci.*, 266, 299(1988).
- 21) 糊谷信三ら; 投稿予定.
- 22) 糊谷信三; *化学工業*, 7, 579(1987).
- 23) Nyburg S. C.; *Acta Crystallogr.*, 7, 385(1954).
- 24) Bastide J., Boue F., Buzier M.; “*Molecular Basis of Polymer Networks*”, ed. by A. Baumgartner and C. E. Picot, Springer, Berlin(1989), pp.48-64.
- 25) Poompradub S., Tosaka M., Kohjiya S., Ikeda Y., Toki S., Sics I., Hsiao B. S.; *Chem. Lett.*, 33, No. 3, 220(2004).
- 26) Poompradub S., Tosaka S., Kohjiya S., Ikeda Y., Toki S., Sics I., Hsiao B. S.; *J. Appl. Phys.*, in press.

付加開裂移動 (RAFT) 型リビングラジカル重合の減速要因を求めて： スチレン/ジチオベンゾエート系の精密解析

後藤 淳、郭 泳完、福田 猛

Atsushi Goto, Yungwan Kwak, Takeshi Fukuda

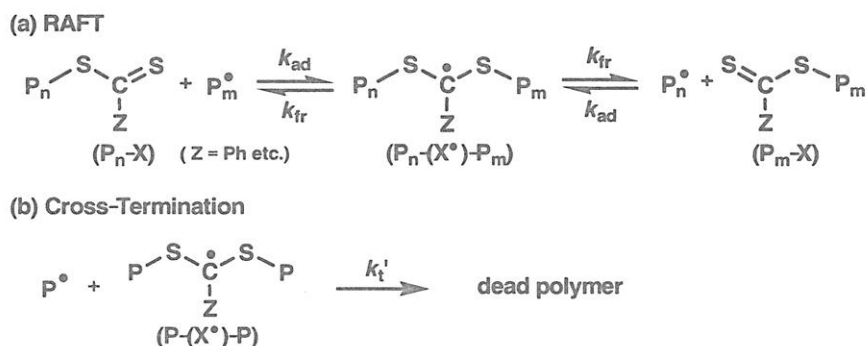
京都大学化学研究所

1. 緒言

ジチオエステル化合物を用いたリビングラジカル重合は、その優れた重合制御能と高い汎用性に鑑み、注目を集めている¹⁾。この重合法の基本概念は可逆的付加開裂移動 (RAFT: スキーム 1a) 反応にある。この反応は、成長ラジカル ($P^\bullet$) のドーマント種 ($P-X$) への付加と、生成する中間体ラジカル ($P-(X^\bullet)-P$) からの $P^\bullet$ の解裂からなる。RAFT 反応は連鎖移動反応であり、重合速度 R_p には影響を及ぼさないと考えられ、この系の R_p は通常のラジカル重合系のそれ $R_{p,0}$ ((1)式) と等しいと予想された。

$$R_{p,0} = k_p(R_i/k_t)^{1/2} \quad (1)$$

なお、 k_p 、 R_i 、 k_t はそれぞれ成長速度定数、開始速度、停止速度定数を表す。しかし、実際には、ジチオベンゾエート ($Z = Ph$) を用いたスチレン系では、通常のラジカル重合より R_p は著しく低下する。その要因として、 $P-(X^\bullet)-P$ の遅い解裂²⁾と、 $P^\bullet$ と $P-(X^\bullet)-P$ の交媒停止反応 (スキーム 1b)³⁾ の2つの機構が提案された。コンピューターシミュレーションによる R_p の実験値 (60 °C) の解析では^{2,3)}、交媒停止反応が存在しないと仮定した場合、 $P-(X^\bullet)-P$ の開裂速度定数 k_{fr} は $10^{-2} s^{-1}$ (遅い開裂) と見積もられ、一方、交媒停止反応が存在し、その速度定数 k_t' が k_t ($P^\bullet$ 同士の自己停止速度定数) と等しいと仮定した場合、 k_{fr} は $10^5 s^{-1}$ と見積もられた。 k_{fr} の差は7桁になる。我々は、この問題が大きな論争となる中⁴⁾、 k_{fr} と k_t'/k_t を実験のみにより決定し、両機構の寄与を定量的に評価するとともに、交媒停止反応の生成物の観察を試み、同系の R_p の低下が交媒停止反応によると確定した⁵⁻⁷⁾。本稿ではその要旨を示す。



Scheme 1. (a) RAFT and (b) cross-termination.

2. 結果

2-1. k_{tr} の決定⁵⁾

ポリスチレン-ジチオベンゾエート (PSt-SCSPh: $M_n=1100$, $M_w/M_n=1.08$: 0 または 100 mM) とアゾイソブチロニトリル (AIBN: 300 mM) を含むスチレンの重合を 60 °C で行った。図 1a にディラトメトリー法により得たモノマー濃度の 1 次プロットを示す。PSt-SCSPh を含む系の R_p (■) は PSt-SCSPh を含まない系のそれ (□) に比べて低いことが分かる。PSt-SCSPh を含む系について、図 1b に図 1a と既知の k_p から得た $[P^\bullet]$ を、図 1c に ESR 法により得た $[P-(X^\bullet)-P]$ を示す。重合初期において、いずれの濃度も時間によらずほぼ一定で、それらの値と(2)式より、平衡定数 K を 55 M^{-1} を得た (図 1d)。

$$K = k_{ad}/k_{tr} = [P-(X^\bullet)-P]/[P^\bullet][P-X]_0 \quad (2)$$

K と既知の付加速度定数 k_{ad} から $k_{tr} = 7 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$ を得た。この値は、上述の交媒停止反応が存在し $k_t' \sim k_t$ を仮定した場合のそれ (10^5 s^{-1}) に近い。これより、開裂は速い反応であり、 R_p の低下は交媒停止反応によると考えられる。

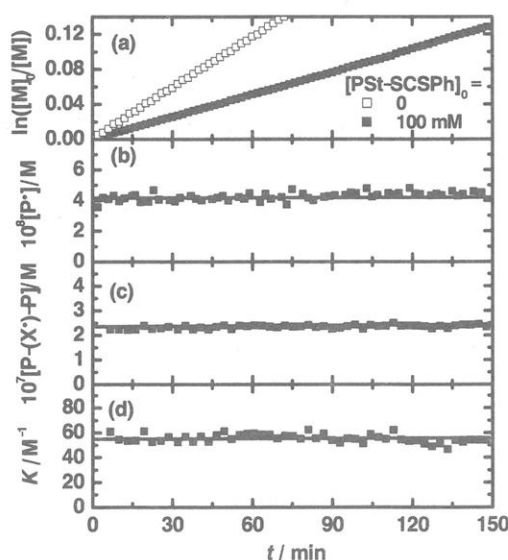


Figure 1. Plot of (a) $\ln([M]_0/[M])$, (b) $[P^\bullet]$, (c) $[P-(X^\bullet)-P]$, and (d) K vs t for the styrene/AIBN/(PS-SCSPh) systems (60 °C): $[AIBN]_0 = 300 \text{ mM}$; $[PS-SCSPh]_0$ as indicated in the figure.

2-2. 重合速度の解析と k_t'/k_t の決定⁶⁾

本系では、ラジカル濃度は定常状態にあり ($d[P^\bullet]/dt = d[P-(X^\bullet)-P]/dt = 0$)、付加解裂の準平衡 (2)式) が成立している (前項参照)。このとき、交媒停止反応を考慮すると、(3)式の成立が理論的に予想される。すなわち、RAFT 系では通常のラジカル重合系より $\{1+2K(k_t'/k_t)[P-X]_0\}^{-1/2}$ 倍 R_p は低下すると予想される。

$$R_p = R_{p,0} \{1 + 2K(k_t'/k_t)[P-X]_0\}^{-1/2} \quad (3)$$

(3)式の成立を確認するため、種々の $[PSt-SCSPh]_0$ において $[P^\bullet]$ を決定し、(3)式に基づくプロットを行った (図 2)。プロットは良い直線性を示し、(3)式の妥当性が確認された。また、直線の切片と傾きから $k_t'/k_t = 0.5 \pm 0.1$ と決定した。これより k_t' は k_t と同程度であることが分かった。

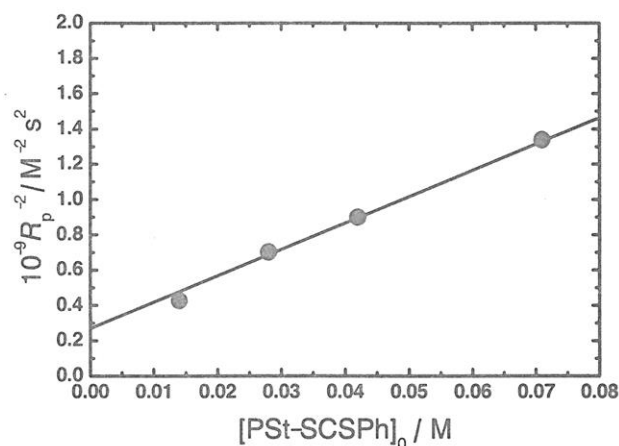


Figure 2. Plot of R_p^{-2} vs $[PSt-SCSPh]_0$ for the styrene/AIBN/ $PSt-SCSPh/(PSt-Br)$ systems (60 °C): $[AIBN]_0 = 10 \text{ mM}$; $[PSt-SCSPh]_0$ as indicated on the abscissa.

2-3. 3本鎖の存在の実証⁶⁾

交媒停止反応が不均化ではなく再結合によると3本鎖が生成する。生成する3本鎖 (3-arm star) と $P^\bullet$ の再結合停止による直鎖状の失活ポリマー (2-arm chain) の濃度比は (4)式で表される。

$$\frac{[3\text{-arm}]}{[2\text{-arm}]} = \frac{k_t'[P-(X^\bullet)-P][P^\bullet]}{(1/2)k_t[P^\bullet]} = 2(k_t'/k_t)K[P-X]_0 \quad (4)$$

3 本鎖の存在を確認するために、次のようなモデル実験を行った。分子量のほぼ等しい PSt-SCSPh と PSt-Br を CuBr、Cu(0)と配位子 tris[2-(dimethylamino)ethyl]amine (Me₆TREN) の存在下 *t*-ブチルベンゼン中 60 °C で 3 h 加熱した。この系では CuBr 錯体が PSt-Br から臭素を引き抜く原子移動機構⁸⁾により PSt ラジカル (PSt[•]) が生ずる。PSt[•]は PSt-SCSPh に付加し、生成する中間体ラジカルと PSt[•]の再結合により 3 本鎖が生成する。Cu(0)は[PSt[•]] (すなわち停止速度) を極端に増加させる働きがあり⁹⁾、再結合停止ポリマーの観測を容易にする。図 3 に加熱前後の GPC チャートを示す。加熱後、仕込みポリマーの分子量の 2 倍に相当する直鎖状の失活ポリマーとともに、[PSt-SCSPh]₀ > 0 で、その 3 倍 (GPC-MALLS により絶対分子量を評価) に相当する生成物が現れ、3 本鎖の存在が確認された。両ポリマーの濃度比を種々の[PSt-SCSPh]₀ において求め、(4)式に基づきプロットを行ったところ、プロットは良い直線性を示し、その傾きと *K* より $k_t'/k_t = 0.4$ を得た。この値は前項の重合速度より決定した値と近く、モデル系と実際の重合系の整合性が確認された。3 本鎖を精製後、加熱したところ、60 °C、24 h で 3 本鎖の分解は認められず、交媒停止反応はこの温度でほぼ不可逆であった。

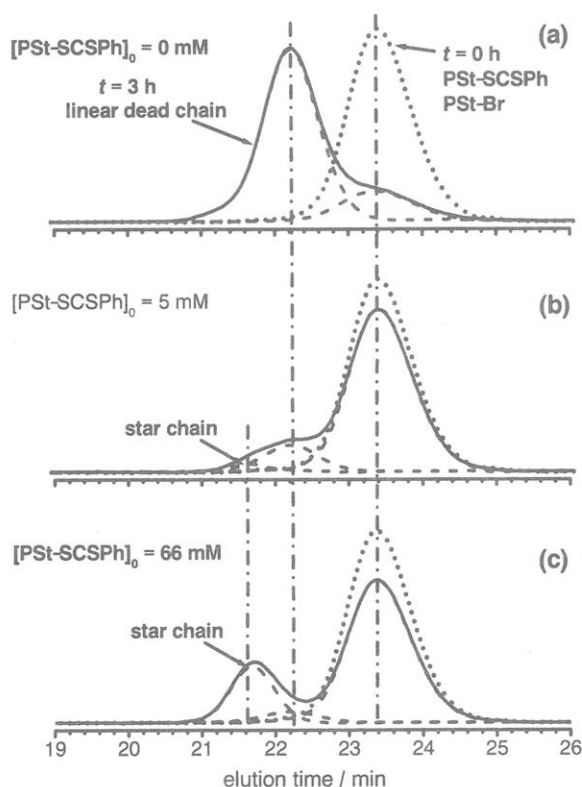
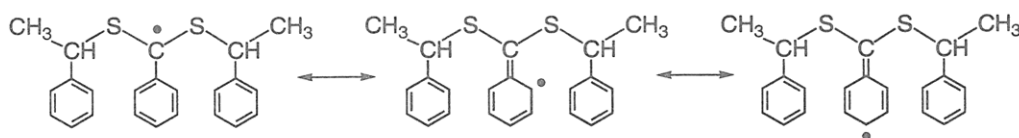


Figure 3. GPC chromatograms for the mixture of *t*-butylbenzene, PSt-SCSPh, PSt-Br, CuBr, Cu(0), and tris[2-(dimethyl amino)ethyl]amine (Me₆TREN) heated for 3 h (60 °C): [PSt-SCSPh]₀ = (a) 0, (b) 5, and (c) 66 mM ($M_n = 2400$ and $M_w/M_n = 1.07$), [PSt-Br]₀ = (a) 1, (b) 1, and (c) 13 mM ($M_n = 2450$ and $M_w/M_n = 1.09$), [CuBr]₀ = 82.5 mM, [Cu(0)]₀ = 400 mM, and [Me₆TREN]₀ = 165 mM. The vertical dot-dash lines show the peak maxima of the individual components.

2-4. 3本鎖のキャラクタリゼーション⁷⁾

上述のモデル実験を 1-phenylethyl dithiobenzoate および 1-phenylethyl bromide をそれぞれ PSt-SCSPh と PSt-Br の単量体モデルとして用いて行い、生成した 3 本鎖の構造を ^1H および ^{13}C NMR により解析した。中間体ラジカルはスキーム 2 に示す 3 つの共鳴構造を取りうる。交媒停止反応が中間体ラジカル of thioketal 部位、芳香環の *ortho* 位および *para* 位で生じると、**3 α** 、**3 β** および **3 γ** (図 4) がそれぞれ生成する。反応後の生成物を GPC により分取し、3 本鎖を 2 つのフラクションとして得た。NMR 解析 (図 4) により、両フラクションは、**3 α** 、および、**3 β** と **3 γ** の混合物であることが判明した。これより、3 本鎖の存在を分光学的にも実証することができた。生成 3 本鎖のモル比は 14 (**3 α**) 対 5 (**3 β** および **3 γ**) であった。この低分子モデル 3 本鎖の構造に関する知見は、少なくとも定性的には、高分子 3 本鎖にも当てはまると考えられる。



Scheme 2. Resonance structures of the dithiobenzoate intermediate.

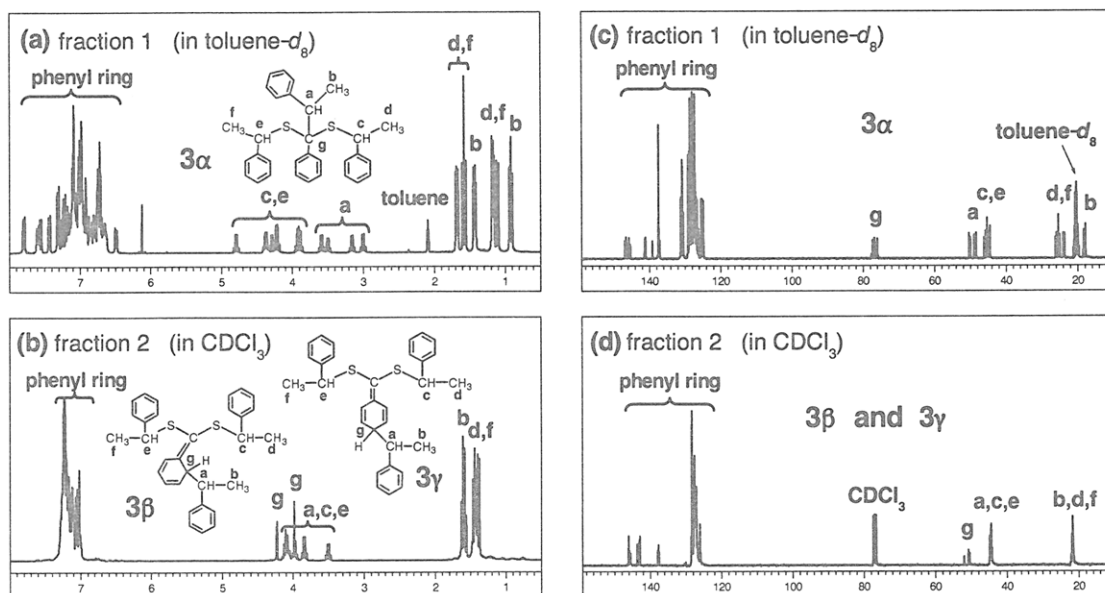


Figure 4. ^1H NMR spectra for fractions (a) 1 and (b) 2, and ^{13}C NMR spectra for fractions (c) 1 and (d) 2.

3. 結言

素反応速度定数の実測と3本鎖の生成を実証することにより、スチレン/ジチオベンゾエート系の重合速度の低下が交媒停止反応によることを明らかにした。顕著な重合速度の低下は同アクリレート系にも見られるが、その要因もスチレン系と類似であることが、我々の理論と実験法を利用した、最近の研究¹⁰⁾により明らかになった。RAFT系の重合速度低下の程度と要因は、モノマーとジチオエステル基の種類、および鎖長に依存する。精密な素反応速度定数の実測とその蓄積により、同問題に対する総体的な理解が進むことを期待する。

文献

- 1) Chiefari, J.; Chong, Y. K.; Ercole, F.; Krstina, J.; Jeffery, J.; Le, T. P. T.; Mayadunne, R. T. A.; Meijs, G. F.; Moad, C. L.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H. *Macromolecules* **1998**, *31*, 5559.
- 2) Barner-Kowollik, C.; Quinn, J. F.; Morsley, D. R.; Davis, T. P. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2001**, *39*, 1353.
- 3) (a) de Brouwer, H.; Schellekens, M. A. J.; Klumperman, B.; Monteiro, M. J.; German, A. L. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2000**, *38*, 3596. (b) Monteiro, M. J.; de Brouwer, H. *Macromolecules* **2001**, *34*, 349.
- 4) (a) Barner-Kowollik, C.; Coote, M. L.; Davis, T. P.; Radom, L.; Vana, P. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2003**, *41*, 2828. (b) Wang, A. R.; Zhu, S.; Kwak, Y.; Goto, A.; Fukuda, T.; Monteiro, M. J. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2003**, *41*, 2833. (c) Calitz, F. M.; Tonge, M. P.; Sanderson, R. D. *Macromol. Symp.* **2003**, *193*, 277.
- 5) Kwak, Y.; Goto, A.; Tsujii, Y.; Murata, Y.; Komatsu, K.; Fukuda, T. *Macromolecules* **2002**, *35*, 3026.
- 6) Kwak, Y.; Goto, A.; Fukuda, T. *Macromolecules* **2004**, *37*, 1219.
- 7) Kwak, Y.; Goto, A.; Komatsu, K.; Sugiura, Y.; Fukuda, T. *Macromolecules* **2004**, *37*, 4434.
- 8) Wang, J. S.; Matyjaszewski, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5614.
- 9) Matyjaszewski, K.; Coca, S.; Gaynor, S. G.; Wei, M.; Woodworth, B. E. *Macromolecules* **1997**, *30*, 7348.
- 10) (a) Chernikova, E.; Morzov, A.; Leonava, E.; Garina, E.; Golubev, V.; Bui, C.; Charleux, B. *Macromolecules* **2004**, *37*, 6329. (b) Venkatesh, R.; Staal, B. B. P.; Klumperman, B.; Monteiro, M. J. *Macromolecules* **2004**, *37*, 7906. (c) Arita, T.; Beuermann, S.; Buback, M.; Vana, P. *Macromol. Mater. Eng.* **2005**, in press.

金属触媒による機能性モノマーのリビングラジカル重合

澤本 光男・安藤 剛・大内 誠

Mitsuo Sawamoto, Tsuyoshi Ando, Makoto Ouchi

京都大学 大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

約10年前に世界的に本格化したラジカル重合の精密制御の試みにより、現在では数多くのリビングラジカル重合系が実現し、その基本原理と方法論が確立・拡充されつつある。基本原理では、停止反応を起こしやすい「フリー・ラジカル」生長種を、その前駆体としての「ドーマント種」（休止種；活性生長末端を可逆的に生成する準安定共有結合種）へと変換する、という考え方が定着し、ラジカル重合に限らず他の付加・連鎖重合にも適用可能な一般的原理と認識されている。方法論では、多くの提案があるなかで、大別して、(a) 安定ラジカル、(b) 金属錯体触媒、(c) 可逆的付加解裂連鎖移動に基づく重合が主要となっている。

それぞれの重合法には（時には相補的でもある）長所・短所があり、解決すべき課題も少なくないが、新しい方法論や触媒・開始剤系の開発と反応機構の解明などに並行して、「リビングラジカル重合」や「精密制御ラジカル重合」を（炭化水素系モノマーのリビングアニオン重合と同様に）信頼性と汎用性の高い「合成手段」として、個々の目的に即した種々の高分子を精密合成しようとする研究も急速に増えてきた。とくに、機能性高分子材料への展開を意図し、種々の極性あるいは機能性官能基を側鎖にもつ高分子の精密重合は、他のリビング重合では現実的に困難な場合が多いため、学術・応用両面から、新たにリビングラジカル重合を適用する意義は大きい。

我々の研究グループでは、本講演集¹⁾やおよび総説²⁾にも述べたように、このような精密制御ラジカル重合として、「遷移金属錯体によるリビングラジカル重合」を世界に先駆けて開発してきた（図1）³⁾。

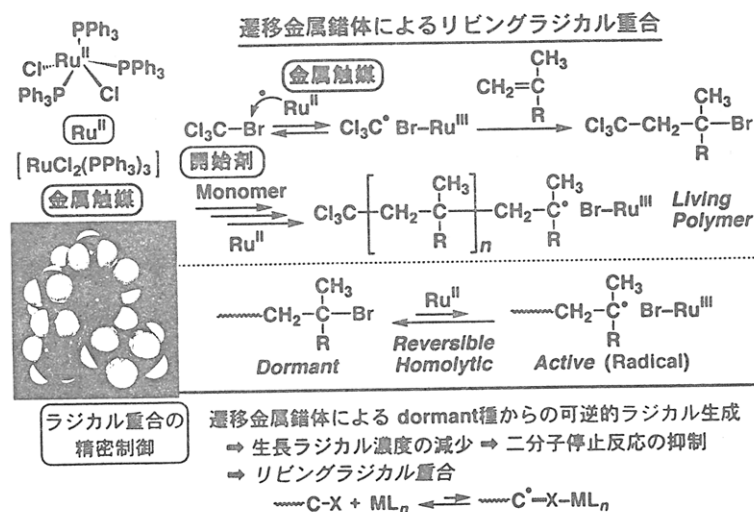


図1. 遷移金属錯体触媒によるリビングラジカル重合



金属触媒による機能性モノマーのリビングラジカル重合

京都大学 大学院 工学研究科 高分子化学専攻
澤本 光男

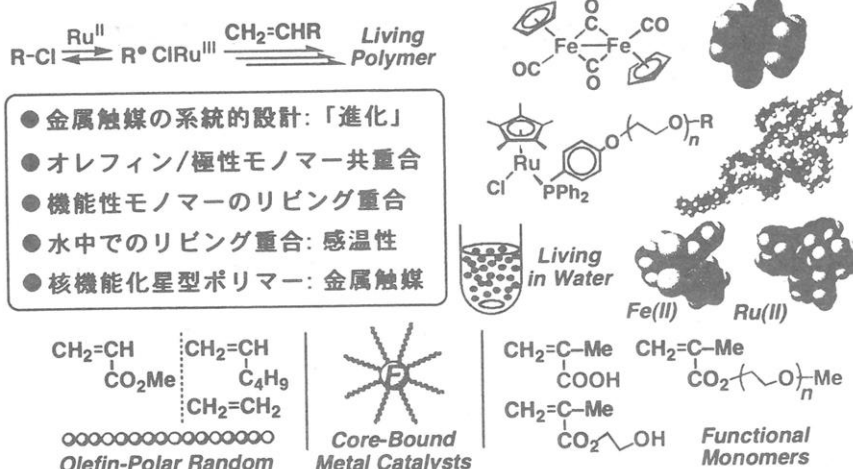


図2. 金属触媒によるリビングラジカル重合の最近の展開 (筆者らの研究室)

この重合では、触媒としての後周期遷移金属錯体がもっとも重要な役割を果たし、現在の我々に研究も、金属錯体の「進化」(系統的設計)による種々の触媒系の開拓、高活性・高適合性の触媒と重合系の探索に重点を置くとともに、これらに基づく構造と機能が設計・規制された高分子の精密合成にも展開を図りつつある(図2)。とくに後者の面からは、本重合に適応可能なモノマーの拡張を通じて、種々の官能基を側鎖とする「機能性モノマー」のリビングラジカル重合が注目される。

本稿では、この点に着目して、下記のモノマーに関する最近の研究成果を要約した⁴⁾：

- (1) ポリエーテル(PEG)鎖を側鎖とするモノマー
- (2) アルコールを側鎖とするモノマー
- (3) カルボン酸を側鎖とするモノマー

2. 機能性モノマーと金属触媒によるリビングラジカル重合

水酸基、カルボキシ基(酸基)、アミノ基をはじめとする極性官能基を側鎖とするビニルモノマーは数多く知られており、分子量と構造の精密制御をとくに求めない場合は通常のラジカル重合で容易に直接重合することができる(図3)。ランダム共重合も水中での反応を含め容易である。これらのいわゆる機能性高分子は、フォトレジスト、機能化ポリオレフィン、塗料、接着剤、分散剤などとして、もちろん工業的にも重要で多くの例がある。

機能性高分子における構造制御、たとえば分子量と分子量分布の制御に始まり、末端基、側鎖官能基の配列、ブロックおよび共重合体の合成などは、古くて新しい課題ではあるが、リビングラジカル重合の開発と発展で新たな視点からの興味と要求が高まっている。とくに、よく知られているように、オレフィンの配位重合やリビングイオン重合では、生長末端や重合触媒が極性官能基で失活や副反応を起こすため、機能性モノマーの直接重合とその精密制御は原理的に困難な場合が大半であり、官能基を保護したモノ

マーと生成物の脱保護が必要となる。その意味でも、官能基に耐性のあるラジカル種による精密重合には期待が大きい。金属錯体によるリビングラジカル重合も、そのような重合の一つであるが、皮肉にも重合制御に用いる金属錯体や有機金属錯体が官能基により変性、分解、失活するという問題があった。

筆者らは、ルテニウム錯体が水やアルコール中でも活性を維持することに着目し、種々の機能性モノマーの直接重合、それによる新規機能性高分子の精密合成、あるいはそのための金属触媒の開発を行っている。

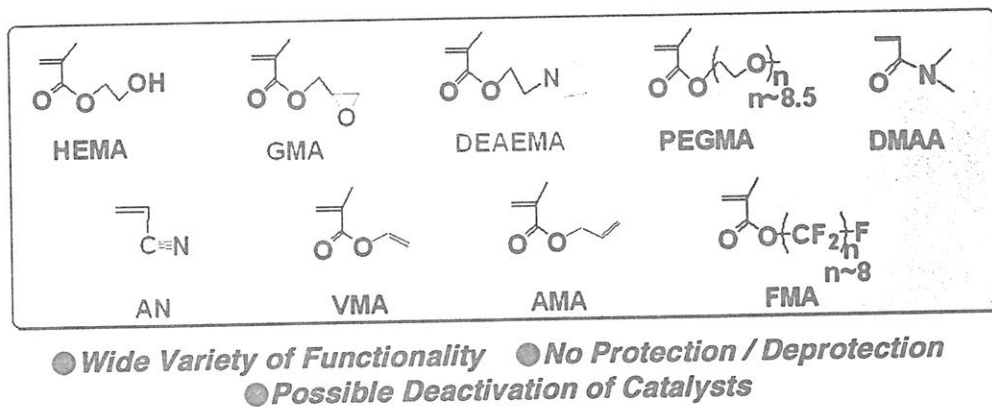


図3. 極性官能基をもつメタクリル酸エステル機能性モノマー

3. ポリエーテル (PEG) 鎖を側鎖とするモノマーのリビングラジカル重合

ポリエチレングリコール (PEG) あるいはポリ (エチレンオキシド) 鎖は、親水性や両親媒性、また感温性 (温度による溶解性の変化) を示す高分子として知られ、生体適合性もち、最近新たな興味が高まっている。たとえば、従来の色素・顔料分散剤の精密化と高機能化、生体分子への修飾 (いわゆる PEGylation), またリチウム二次電池などの電解質分散媒体などへの展開があり、リビングラジカル重合への期待も大きい。

筆者らは、このような PEG 鎖を側鎖とするメタクリル酸エステル (PEG-MA; 図3) のリビングラジカル重合をルテニウム (図4) あるいは鉄触媒を用いて検討している。

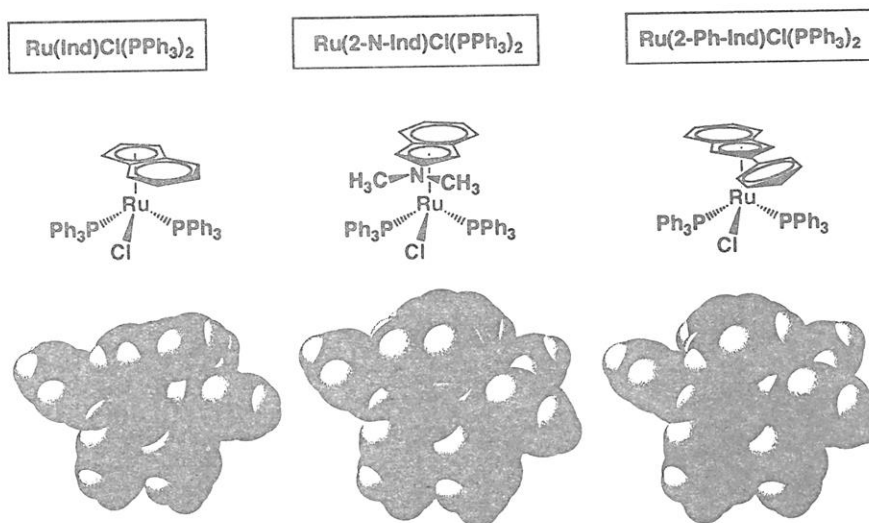


図4. インデニル基を置換基・配位子とする新規ルテニウム錯体

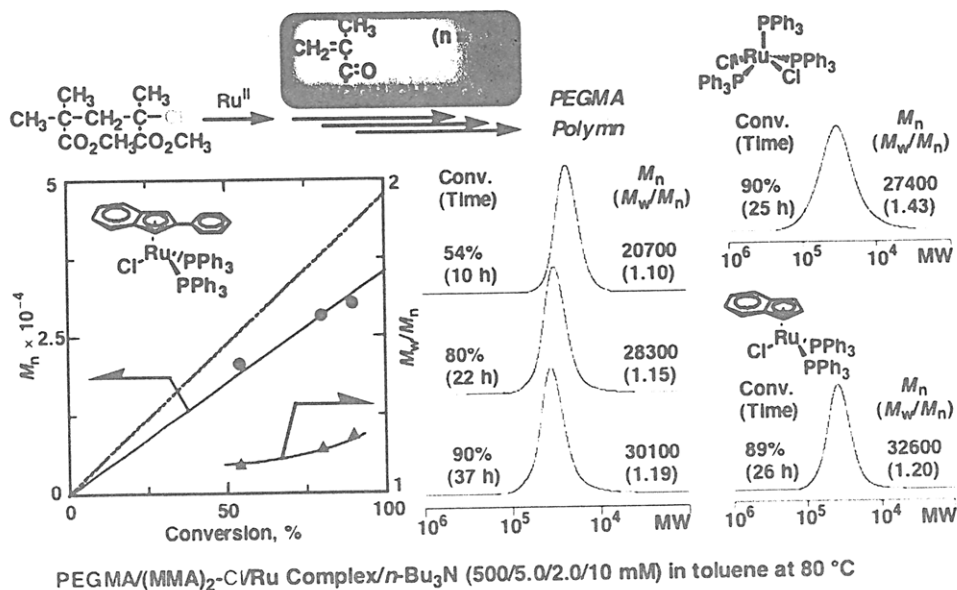


図5. 3種類のルテニウム錯体によるPEG-MAのリビングラジカル重合

たとえば、図4に示す新しい一連のルテニウム・インデニル錯体を触媒とすると、PEG-MAから構造と分子量の規制されたリビングポリマーを得ることができる(図5)。ルテニウムの塩化物や無置換インデニル錯体でもリビング重合が可能であるが、とくにフェニルインデニル錯体を触媒とすると、分子量分布が $M_w/M_n = 1.1-1.2$ と狭く、分子量が規制されたポリマーが生成することを見出した。この錯体は、このような触媒特性とともに、市販の前駆体から、比較的容易に高収率で結晶解析可能な高純度結晶が合成でできる点にも特徴がある。

また理由は不明であるが、このモノマーは鉄錯体や銅錯体でも重合は可能である一方で、その精密制御は困難であることが知られており、現在のところルテニウム錯体で特異的に精密重合可能なことも興味深い。

生成ポリマーは、種々の鎖長のPEG鎖を側鎖とする一種のグラフトポリマーであり、ブロック共重合体(リチウム二次電池固体電解質媒体)やランダム共重合体(分散剤)などへの展開も始まっている。

また最近、カチオン補捉性と電子供与能をもつアザクラウンエーテルをインデニル基に導入したルテニウム錯体を用いると、さらに狭い分子量分布をもつPEG-MAリビングポリマーが得られることも明らかとなってきた(第54回高分子学会年次大会発表予定; 2005)(図6)。種々の共重合体の精密合成など、今後の発展に期待したい。

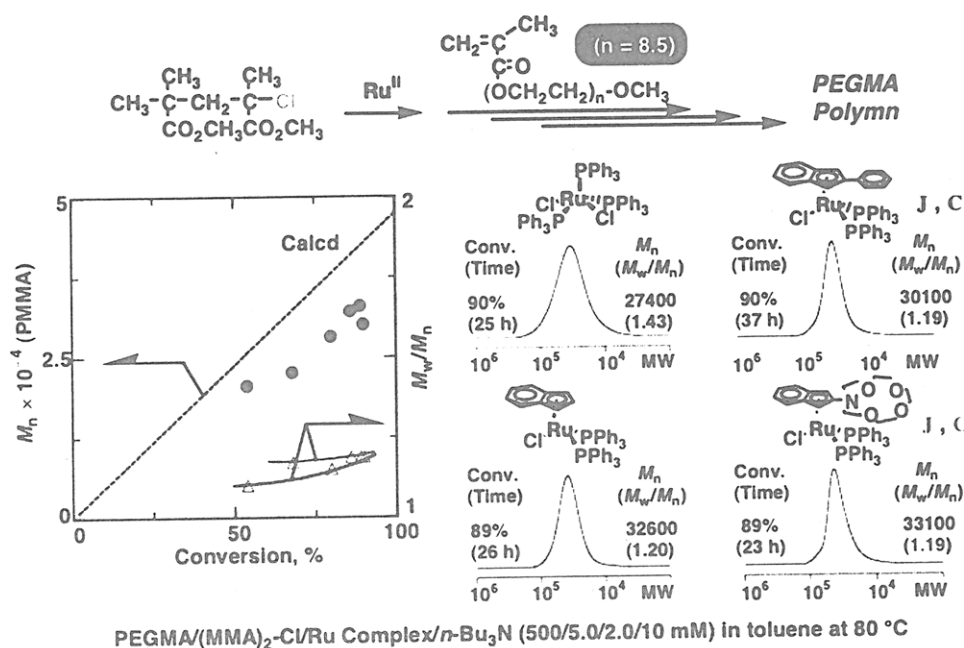


図6. アザクラウン修飾インデニル基をもつルテニウム錯体による PEG-MAのリビングラジカル重合

4. アルコールを側鎖とするモノマーのリビングラジカル重合

両親媒性・感温性基としてのPEG鎖は、また金属錯体の配位子にも導入可能であり、PEG鎖修飾ホスフィン配位子をもつルテニウム錯体については、昨年度の本講演集でも報告した(図7)¹⁾。この錯体は、配位子が両親媒性で、かつ温度により水に対する溶解性を変化する感温性触媒として、水中でのリビングラジカル重合に有効であり、同時に触媒の回収とリサイクルの可能性についても言及した。

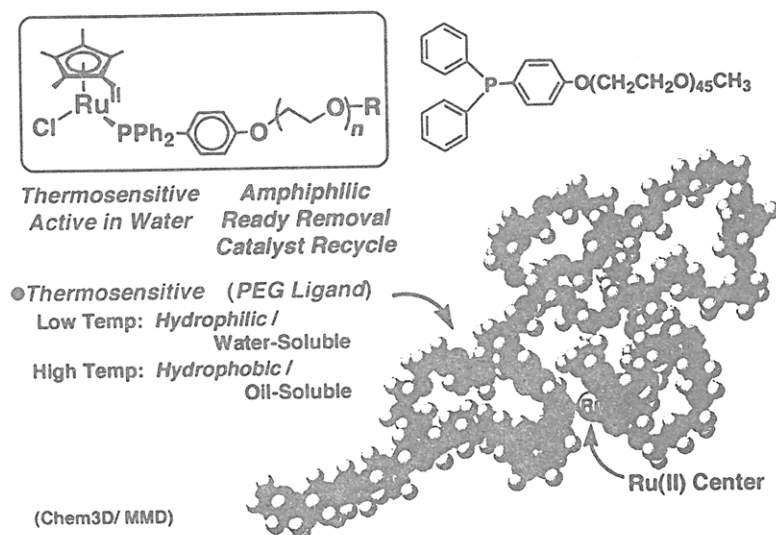


図7. PEG鎖を配位子とするルテニウム錯体の構造と特徴

この触媒は、またその配位子の構造から、水（80℃以下）やアルコールに容易に溶解するため、水溶性や極性置換基をもつモノマーの重合にも適している。事実、この触媒をメタクリル酸2-ヒドロキシエチル（HEMA）の重合に用いると、メタノール中で均一重合が進行し、リビングポリマーが得られた（図8）。図8に示したイオン型ホスフィン配位子のルテニウム錯体でもHEMAの均一系重合が可能ではあり、また塩化物触媒では不均一系ではあるが長寿命ポリマーが生成するが、いずれと比較しても、PEG鎖修飾触媒の方がより高速で重合を進行させ、より狭い分子量分布のポリマーを与えた。

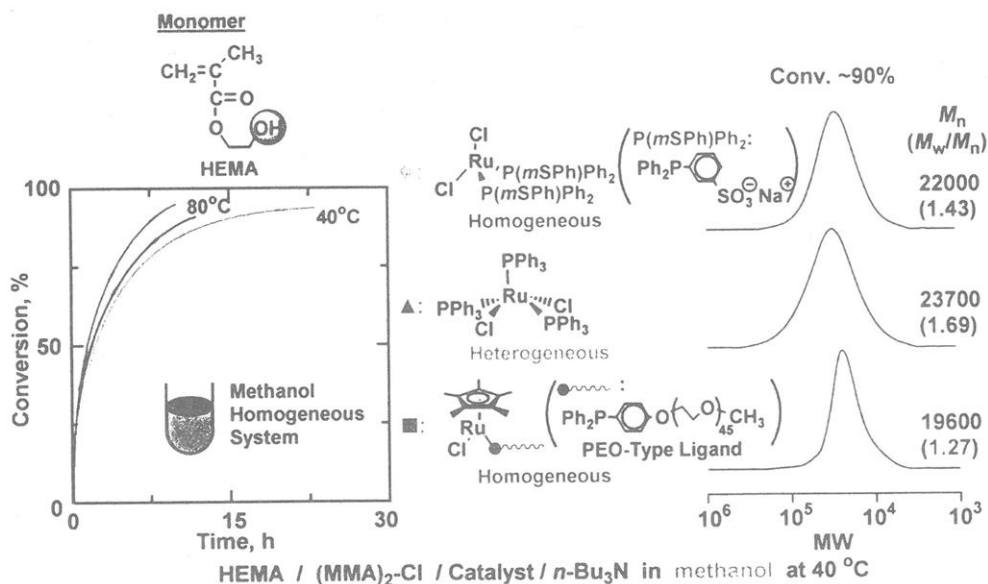


図8. PEG鎖を配位子とするルテニウム錯体によるHEMAのリビングラジカル重合

5. カルボン酸を側鎖とするモノマーのリビングラジカル(共)重合

上記のポリエーテルあるいは水酸基は、極性ではあるが中性であるのに対し、カルボン酸（カルボキシル基）はイオン性で極性ととともに反応性が高く、とくに有機金属錯体に対しては、エステル化、プロトン化などの反応や強い相互作用により、失活などを引き起こすことが知られている。そのため、リビングラジカル重合でも、エステルとして保護したモノマーを用い、重合後に脱保護を行うのが通常であった。また、金属触媒によるリビングラジカル重合では、アクリル酸やメタクリル酸の直接リビング重合は実現していなかった。筆者らは、ルテニウム錯体の官能基への耐性に再び着目し、保護しないメタクリル酸（MAA）のリビング重合を検討した（図9）。

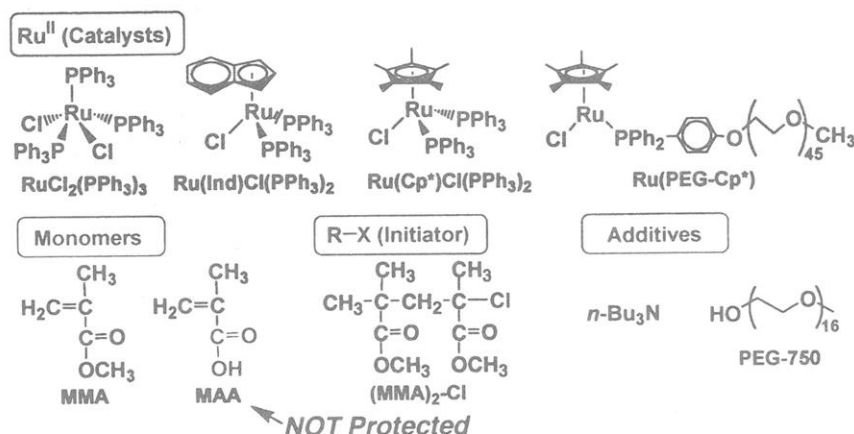


図9. ルテニウム錯体によるメタクリル酸のリビングラジカル共重合

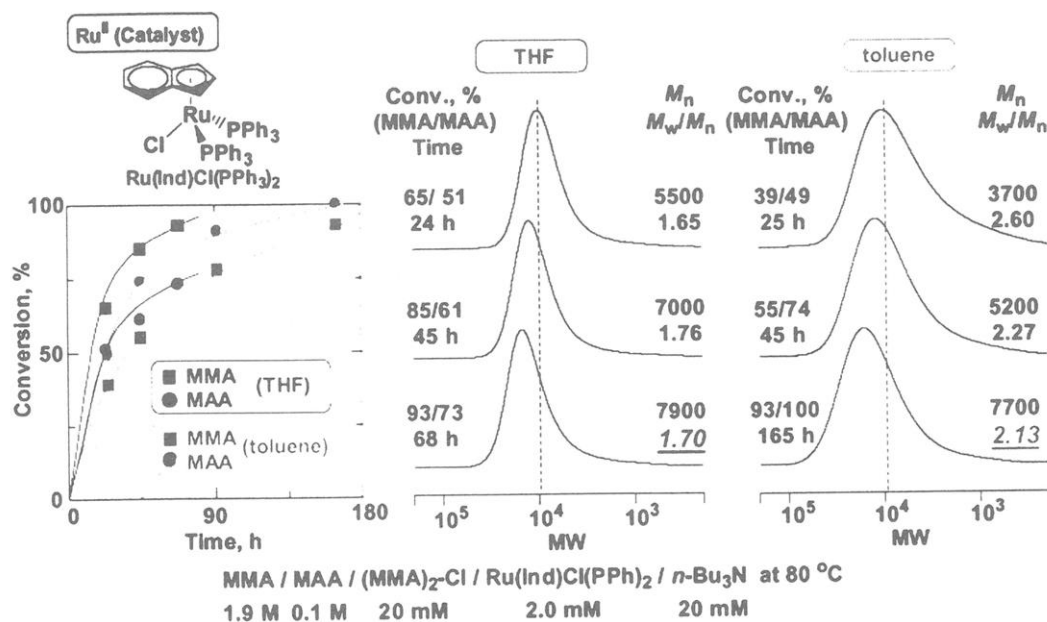


図10. ルテニウム錯体によるメタクリル酸とメタクリル酸メチルのリビング共重合

まだ検討すべき点はあるが、図10に要約するように、均一系での重合を行うためにテトラヒドロフラン (THF) を溶媒として、たとえばルテニウムインデニル錯体を触媒とすると、MAAとMMA (1/19 モル比)共重合が進行し、分子量分布が比較的狭く、分子量の制御されたリビングランダム共重合体が合成可能であることがわかった。

ただし、MAAの仕込み比を大きくすると、均一系の重合がやはり進行するが、精密制御は次第に困難なる。重合系の色やモデル反応解析から、MAAモノマーとルテニウム錯体は何らかの相互作用をしていることは明白であり、現在、このような相互作用を防ぎつつ、重合を有効に進行させる触媒の検討などを行っている。

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); **61**, 11 (2004).
- 2) 総説: (a) 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, 高分子論文集, **59**, 199 (2002). (b) M. Kamigaito, T. Ando, M. Sawamoto, *Chem. Rev.*, **101**, 3689 (2001). (c) 上垣外正己, 澤本光男, 現代化学, No. 6, 34 (2001). (d) M. Sawamoto, M. Kamigaito, *CHEMTECH*, **29** (6), 30 (1999). (e) 上垣外正己, 澤本光男, 高分子加工, **47**, 537 (1998). (f) 澤本光男, 上垣外正己, 高分子論文集, **54**, 875 (1997). (g) M. Sawamoto, M. Kamigaito, *Trends Polym. Sci.*, **4**, 371 (1996).
- 3) 原報: (a) 加藤充, 上垣外正己, 澤本光男, 東村敏延, 高分子学会予稿集, **43**, 1792 (1994). (b) M. Kato, M. Kamigaito, M. Sawamoto, T. Higashimura, *Macromolecules*, **28**, 1721 (1995). (c) T. Ando, M. Kato, M. Kamigaito, M. Sawamoto, *Macromolecules*, **29**, 1070 (1996).
- 4) 本稿で述べた機能性モノマーのリビングラジカル重合に関連する発表: (a) 高分子学会予稿集, **52**, 153, 155, 156, 1264, 1266 (2003). (b) 高分子学会予稿集, **53**, 163, 166, 2458, 2460 (2004).

ブロック共重合体のリビングアニオン重合過程及び反応生成物の自己組織化過程の中性子散乱による“その場・実時間”観察

山内 一浩¹・長谷川 博一¹・橋本 竹治^{1,2}

Kazuhiro Yamauchi, Hirokazu Hasegawa, Takeji Hashimoto

田中 宏和^{1,2}・元川 竜平²・小泉 智²

Hirokazu Tanaka, Ryuhei Motokawa, Satoshi Koizumi

¹ 京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

² 日本原子力研究所 先端基礎研究センター ソフトマター/中性子散乱グループ

1. 緒言

小角中性子散乱(SANS)法は、メゾスケール（ナノメートルからマイクロメートルの領域）の世界で起こる現象を“その場・実時間”観察することが可能であり、これまで高分子ブレンドやブロック共重合体における相転移現象、自己組織化による構造形成過程の追跡等、多くの分野で重要な役割を果たしてきた¹⁻⁴。一方で、SANS法は、中性子線のすぐれた物質透過性や、低エネルギー性のため、従来とは全く異なる利用法として、化学反応過程に代表される分子反応場のその場観察にも適用可能であることが期待される。以上のようなSANS法の新規利用は、従来の物性と合成化学の境界領域の新しい研究分野を開拓する可能性を多分に秘めている。

このような視点に立ち、我々はこれまで物性の研究手法であったSANS法を化学反応のその場観察、特に高分子の重合過程のその場観察に活用し、(i)リビングラジカル重合法による高分子の合成過程、(ii)リビングアニオン重合法による高分子の合成過程、(iii)酵素触媒重合によるセルロースの人工合成過程、(iv)超分子を反応場とした金属微粒子形成過程の“その場・実時間”観察を現在行っている。(i)~(iv)いずれの場合も、重合反応中の溶液では静電相互作用、ファンデルワールス力、水素結合等の相互作用を介して複数の分子からなる大きな会合構造、凝集構造を形成することが予想されるが、SANS法では一本の高分子を観察するのみならず、複数の高分子により形成される分子集合構造が観察対象となるため、反応溶液中における一本の高分子鎖或いは複数の高分子鎖による濃度揺らぎや、濃度揺らぎの不安定化によって生じた構造(界面)に至る反応系内における物質の変化の全貌の観察が可能となる。また、これらの化学反応に誘起された分子集合構造自体が、化学反応そのものにフィードバックを与えていることも容易に予想される。以上のように、化学反応場の直接観察により得られる知見は、分子(集合)構造と化学反応の相互関係を明白にする可能性を秘めたものであり、その解析により得られる恩恵は計り知れない。

本稿では化学反応場のその場観察の一例として、2成分ジブロック共重合体の重合過程に注目し、重合反応と重合反応に伴う構造変化（一次構造、二次構造、高次構造）

を SANS 測定により追跡した結果について紹介する。

2. 高濃度中でのブロック共重合体の重合過程の直接観察

AB ジブロック共重合体を高濃度で重合し、その重合過程を SANS 法により追跡した場合、A 鎖の成長反応から始まり、引き続き進行する AB ジブロック共重合体鎖の成長反応、そして分子量増加と溶液濃度の上昇に伴うマイクロ相分離構造の発現(秩序-無秩序転移)から、さらには AB 組成比の変化に伴うモルフォロジー(秩序-秩序)転移に至る一連の重合過程を直接観察できる。モノマーの連結(1次構造)からマイクロ相分離構造(高次構造)の出現に至る一連の重合過程は、ブロック共重合体の自己組織化を利用したナノ構造のボトムアップ過程そのものである。また、ここで観察される AB ジブロック共重合体の秩序-無秩序転移は、重合反応の進行によって誘発されたものであり、これまでに数多くの研究が成されている温度変化に伴う秩序-無秩序転移⁵⁻¹¹とは全く性格の異なる現象である。さらに、合成過程に伴うマイクロ相分離構造の変化に合わせて重合反応の停止を行えば必要なナノパターンが自由自在に得られることにつながり、本研究手法は全く新しいマイクロ相分離構造の構造制御法と見なすこともできる。以上のように、SANS 法により AB ジブロック共重合体の重合過程を追跡する意義は大きい。

3. 実験

本研究目的を達成するためモノマーとしてイソプレン、重水素化スチレン、重合溶媒として重水素化ベンゼンを用い、イソプレン:重水素化スチレン:重水素化ベンゼンの 1:1:2(重量比)の混合溶液を作製し、*sec*-BuLi を開始剤に用い、アルゴン雰囲気下、30°C でリビングアニオン重合法により重合反応を開始した。通常のリビングアニオン重合に比し、モノマー濃度が極めて大きいことは、本実験の特徴の一つである。系内に 2 種のモノマーが共存するが、非極性溶媒であるベンゼン中におけるモノマーの反応性の差異によりイソプレンが先に重合し、その後、重水素化スチレンの重合が進行することが知られている。結果として、ポリイソプレン(PI)-重水素化ポリスチレン(dPS)ジブロック共重合体 PI-*b*-dPS が得られた($M_n=1.41 \times 10^5$, $M_w/M_n=1.03$)。リビングアニオン重合法による重合過程を開始剤投入直後から反応終了まで SANS 測定により追跡した。

4. 重合の進行に伴う SANS プロファイルの変化

図 1 に重合反応過程の SANS 測定結果を示す。開始剤投入後、つまり反応開始後 19602 秒までは散乱ベクトル q が 0.1 nm^{-1} 以下の領域において散乱強度の増大が確認され、29851 秒後の散乱プロファイルにおいては $q=0.2 \text{ nm}^{-1}$ 付近において散乱ピークが確

認された。29851 秒後、 $q=0.2\text{nm}^{-1}$ 付近において観察された散乱ピークはブロック共重合体の形成を示唆しているが、反応の詳細を理解するため、横軸に反応時間、縦軸に $q=0.2\text{nm}^{-1}$ で観察されるピークの位置とピークの位置における強度を表したグラフを図 2 に示す。

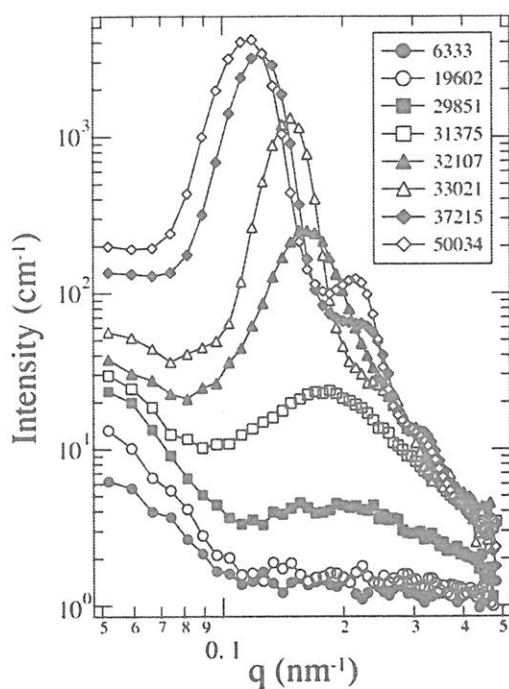


Figure 1. Time dependence of the SANS profiles during the living anionic polymerization of isoprene/ d_8 -styrene mixture in d_6 -benzene. The intensity is shown in logarithmic scale. The number on the markers denote the reaction time in seconds.

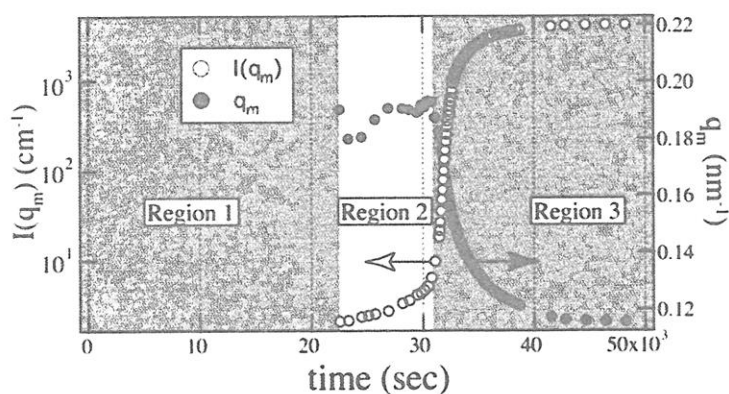


Figure 2. The time evolution of the q_m and the intensity of scattering maximum ($I(q_m)$) from $t = 0$ s to $t = 50034$ s. (q_m : filled circles, I_m : unfilled circles) This polymerization process was divided into three regions (Region 1-3).

図2をもとに、本反応を以下の3段階に分けて説明する。

Region 1: 合成開始から $q=0.2\text{nm}^{-1}$ 付近のピークが観察されるまで。

Region 2: $q=0.2^{-1}$ 付近のピークが観察されてからピーク位置が小角側にシフトするまで。

Region 3: ピーク位置が小角側にシフトしてから秩序-無秩序転移(ODT)が観察され、反応が終了するまで。

以下、Region 1 から Region 3 の詳細について紹介する。

5. 重合過程の詳細

Region 1 において、反応溶液はイソプレニルアニオンの存在を示唆する薄黄色を示した。無極性溶媒中におけるモノマーの反応性から考えても、本領域においてはイソプレンモノマーのみが消費されPIの重合反応が進行していると予測される。SANS測定では重水素化物と非重水素化物の間で強いコントラストが得られることから、イソプレンの重合に伴いPI鎖による散乱が増加すると考えられる。Region 1 においては通常の高分子溶液の散乱と異なり、小角側において過剰な散乱が観察された。以上の結果は、PI鎖が溶液中で、複数本の高分子鎖が集合したミセル状の会合体を形成していることを示唆しており、ミセル状の構造を保持したまま重合反応が進行していると予想される。Fetters らも同様の実験(ベンゼン中におけるポリブタジエンの重合反応をSANS法により追跡)を行い、小角側における過剰散乱を確認し、会合体の存在を予測している¹³⁻¹⁵。

Region 2 においては、 $q=0.2\text{nm}^{-1}$ の位置に散乱ピークが出現した。これは、PI鎖の末端にdPS鎖が連結されブロック共重合体が生じたことを意味する。更に、Region 2 において高分子鎖間の絡み合いの存在の有無の確認のため、Region 2 における溶液濃度

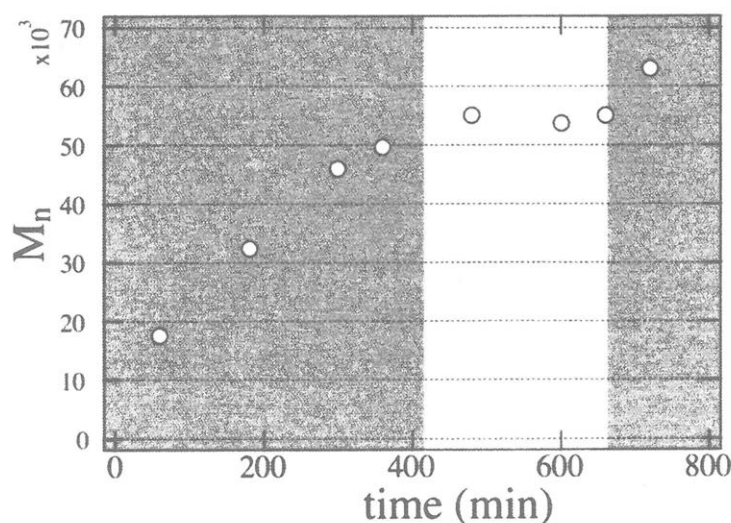


Figure 3. The time dependence of the molecular weight (M_n) during the polymerization.

c を高分子鎖の絡み合いの臨界濃度 c^* で規格化した c/c^* 値を求めた。ポリイソプレン鎖の分子量と Θ 溶媒中での回転半径 5.75nm を元に算出した c/c^* は 3.27 であり、Region 2 におけるリビングポリマー溶液は、ポリイソプレン鎖同士が十分に絡み合っている濃厚溶液であることがわかった。また、生成したブロック共重合体は濃厚溶液中で無秩序状態にあるものと予想される。Region 2 を通してピーク位置は一定である。ピーク位置が変化しないことは観察している構造サイズが一定であることを示唆している。実際、同様の実験を行い反応途中でクエンチした試料の分子量測定を行っても Region 2 前後において分子量の増加は観察されていない (図 3)。つまり、Region 2 は活性末端を有する PI 鎖と重水素化スチレンモノマーが反応し dPS の活性末端に置き換わる過程であり、その前後で分子量の増加がほとんどないことを表している。また反応溶液は Region 2 全域を通して徐々に重水素化スチルルアニオンの存在を示す赤橙色に変化した。以上の結果も同様に、Region 2 の最終段階においては PI 鎖の末端が dPS 末端に置き換わったことを示唆している。この過程でイソプレン/重水素化スチレンのテーパーブロック鎖の生成も十分に考えられるが、テーパー鎖の長さは十分に短く、それまでに生成した分子の分子量全体を余り変化させないと予想される。

Region 3 においては、これまで $q=0.2\text{nm}^{-1}$ の位置に観察されていたピーク位置が急速に小角側にシフトし、最大散乱強度も急速に増加した。これは dPS の重合反応が急速に進行し dPS 鎖が成長した結果である。反応開始より 32000 秒後において、散乱ピーク強度、ピーク幅の不連続な変化が観察された。これは、系がマイクロ相分離したためであり、重合反応の進行に伴う分子量の増加によってマイクロ相分離が誘発されたことを意味している。ここでは、複数の散乱ピークが観察されるが、これはマイクロ相分離によって系が規則的な周期構造を形成したためであり、以降、マイクロ相分離構造の存在下で重合反応が進行していることがわかる。高次の散乱ピークに注目すると、マイクロ相分離構造出現当初は 1 次ピークの波数 q_m に対し、 $\sqrt{3}$, $\sqrt{7}$ の比の波数に高次ピークが観察されたことから、リビングアニオン重合溶液は六方格子状に配列したシリンダー状マイクロ相分離構造を形成したことが確認された。その後、重合反応の進行に伴う dPS ブロックの重合度の増加により PI と dPS の体積比が変化し、最終的にはラメラ構造に転移したことが確認された。

6. まとめ

以上、PI-*b*-dPS のリビングアニオン重合過程を SANS 法により追跡し、PI 鎖の成長反応 (Region 1)、PI-*b*-dPS の形成 (Region 2)、PI-*b*-dPS 鎖の成長反応、つまり、分子量の増加に伴うマイクロ相分離、シリンダー構造からラメラ構造へのモルフォロジー転移 (Region 3) を観察することができた。

ここで特に興味深いのは、Region 2 において長時間に渡って分子量の増加がほとんどない状態で活性末端がイソプレンからスチレンに変化する現象が観察されたことで

ある。SANS 測定結果より活性末端を持つ高分子鎖が溶液中において会合体を形成していることは明白であるため、Region 2 では、複数本のリビング PI 鎖によって形成された会合体が、重水素化スチレンモノマーの連結により PI-*b*-dPS 鎖によって形成される会合体へと変化したと考えられる。一方、無極性溶媒中におけるリビングアニオン重合において活性末端が会合体を形成し、その会合体を形成する高分子鎖の本数は高分子の種類によって異なることが報告されている¹⁵⁻¹⁹。以上のことから推測すると、Region 2 において観察された分子量が一定の状態は、活性末端がイソプレニルアニオンから重水素化スチリルアニオンに変わる際に、会合体を形成する高分子鎖の本数が変化し、会合体自身の構造が変化する過程と理解できるのかもしれない。この場合、会合体の構造変化がモノマーの反応速度の変化を制御していると考えられ、本研究結果は、化学反応においても構造研究が重要であることを示唆するものだと言えよう。

7. 参考文献

- (1) Boué, F.; Lindner, P. *Europhys. Lett.* **1994**, *25*, 421.
- (2) Hashimoto, T.; Hasegawa, H.; Hashimoto, T.; Katayama, H.; Kamigaito, M.; Sawamoto, M.; Imai, M. *Macromolecules* **1997**, *30*, 6819.
- (3) Saito, S.; Koizumi, S.; Matsuzaka, K.; Suehiro, S.; Hashimoto, T. *Macromolecules* **2000**, *33*, 2153.
- (4) Yamauchi, K.; Hasegawa, H.; Hashimoto, T.; Nagao, M. *J. Appl. Cryst.* **2003**, *36*, 708.
- (5) Leibler, L. *Macromolecules*, **1980**, *13*, 1602.
- (6) Hashimoto, T.; Tsukahara, Y.; Kawai, H. *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.* **1980**, *18*, 585; *Macromolecules* **1981**, *14*, 708.
- (7) Roe, R. J.; Fishkis, M.; Chang, J. C. *Macromolecules* **1981**, *14*, 1091.
- (8) Hashimoto, T.; Shibayama, M.; Kawai, H. *Macromolecules* **1983**, *16*, 1093.
- (9) Zin, W. C.; Roe, R. J. *Macromolecules* **1984**, *17*, 183.
- (10) Mori, K.; Hasegawa, H.; Hashimoto, T.; *Polym. J.* **1985**, *17*, 799.
- (11) Bates, F. S.; Hartney, M. A. *Macromolecules* **1985**, *18*, 2478.
- (12) Fetters, L. J.; Balsara, N. P.; Huang, J. S.; Jeon, H. S.; Almdal, K.; Lin, M. Y. *Macromolecules* **1995**, *28*, 4996.

- (13) Stellbrink, J.; Willner, L.; Jucknischke, O.; Richter, D.; Lindner, P.; Fetters, L. J.; Huang, J. S. *Macromolecules* **1998**, *31*, 4189.
- (14) Stellbrink, J.; Allgaier, J.; Willner, L.; Richter, D.; Slawecki, T.; Fetters, L. J. *Polymer* **2002**, *43*, 7101.
- (15) Johnson, A. F.; Worsfold, D. J. *J. Polym. Sci.* **1961**, *A3*, 444.
- (16) Medvedev, S. S. *Dokl. Nat. Acc. Nauk SSSR* **1962**, *146*, 368.
- (17) Sinn, H.; Patat, F. *Ang. Chem.* **1963**, *75*, 805.
- (18) Worsfold, D. J.; Bywater, S. *Can. J. Chem.* **1964**, *42*, 2884.
- (19) Worsfold, D. J.; Bywater, S. *ACS Polym. Prep.* **1986**, *27*, 140.

硫酸化コンドロイチンの酵素触媒合成

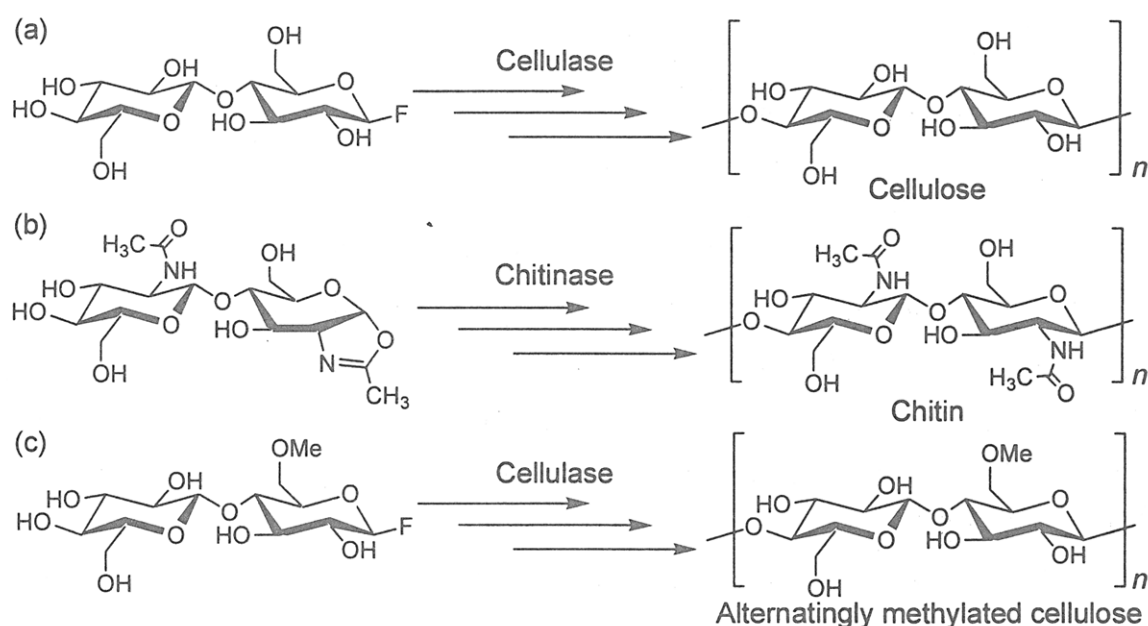
小林四郎、落合洋文、藤川俊一、大前 仁

S. Kobayashi, H. Ochiai, S. Fujikawa, M. Ohmae

京都大学大学院 工学研究科 材料化学専攻

1. はじめに

著者らは、糖加水分解酵素を触媒とする酵素触媒重合により、セルロース¹⁾、キチン²⁾などの天然型多糖類の人工合成を行ってきた(スキーム 1a、1b)。多糖類の合成における酵素触媒重合の特徴としては次のような点が挙げられる：反応の立体及び位置選択性が厳密に制御可能；煩雑な保護基の導入・除去作業が不要；室温、中性付近という温和な反応条件；活性化基質モノマーから目的の多糖類を一段反応により合成可能。また、本手法を用いて、交互メチル化セルロース³⁾などの非天然型多糖類の合成も達成された(スキーム 1c)。これは、触媒である加水分解酵素における基質認識能が、ある程度の許容性を有することを利用したもので、天然とは異なる構造を有する基質モノマーが酵素に認識された場合、非天然型の多糖を生成物として与える。



Scheme 1

Figure 1 に天然ヘテロ多糖であるグリコサミノグリカン(GAG)の構造を示す。GAG はケラタン硫酸を除いて、ウロン酸とヘキシサミンからなる二糖繰り返し構造を有しており、ヒアルロン酸(HA)及びコンドロイチン(Ch)以外は、様々な程度で硫酸化されている。HA 以外の GAG は、生体内でコアタンパク質と共有結合したプロテオグリカン(PG)と呼ばれる糖タンパク質として存在し、細胞表面や細胞外マトリックス中に幅広く分布する重要な生理活性生体高分子である⁴⁾。最近著者らは、GAG の酵素触媒重合による人工合成を検討して

おり、既に HA の加水分解酵素であるヒアルロニダーゼ(HAase)を触媒として用いることにより HA⁵⁾、Ch 及びそれらの誘導体^{6,7)}の人工合成に成功している⁸⁾。

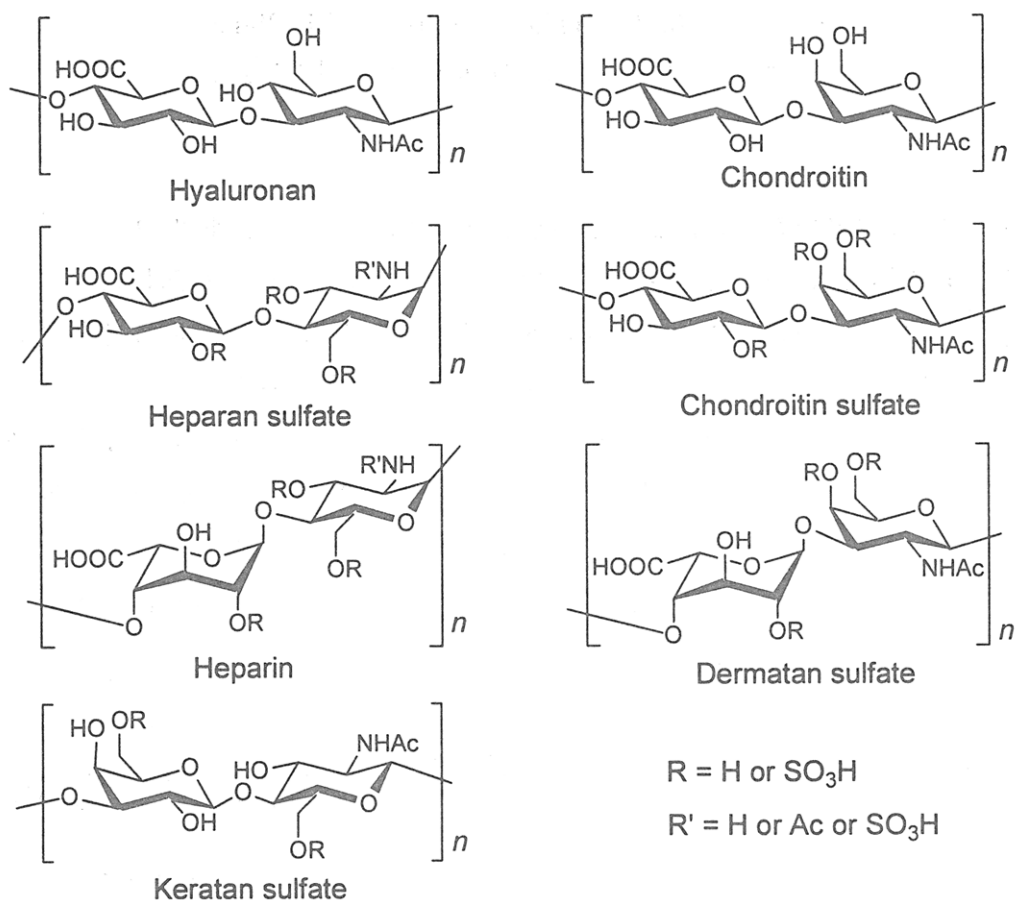
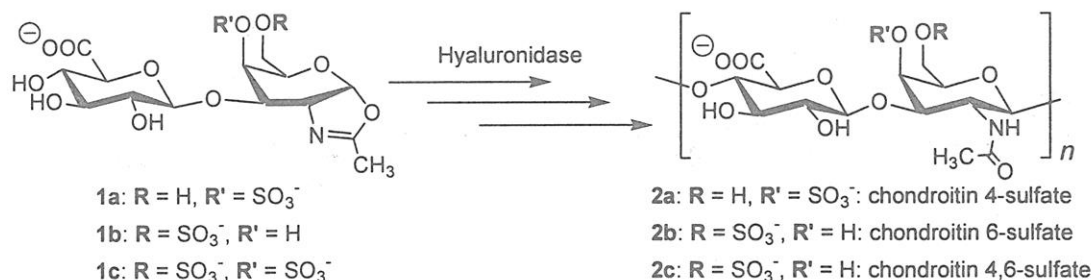


Figure 1. Glycosaminoglycans

コンドロイチン硫酸(ChS)は、生体内においてPGとして軟骨、血管壁、角膜、皮膚などの組織に多く存在し、形態形成や組織機能の発現等様々な生理活性を示す。また、化粧品、健康食品、神経痛や関節痛の薬剤などに利用されている。ChSは、グルクロン酸(GlcA)とN-アセチルガラクトサミン(GalNAc)が $\beta(1\rightarrow3)$ 、 $\beta(1\rightarrow4)$ グリコシド結合で交互につながった直鎖状のヘテロ多糖であり、そのGalNAcユニットの4位、6位、GlcAユニットの2位、3位に硫酸基を有する。これら硫酸基の位置と数は明確ではなく、組織の種類や発達段階によりダイナミックに変化すると考えられている。従って硫酸基の存在はChSの機能に大きく影響をしていると推察されているが、この硫酸基に由来する構造多様性のためChSの分子レベルでの機能解明は困難であり、遅々として進んでいない。

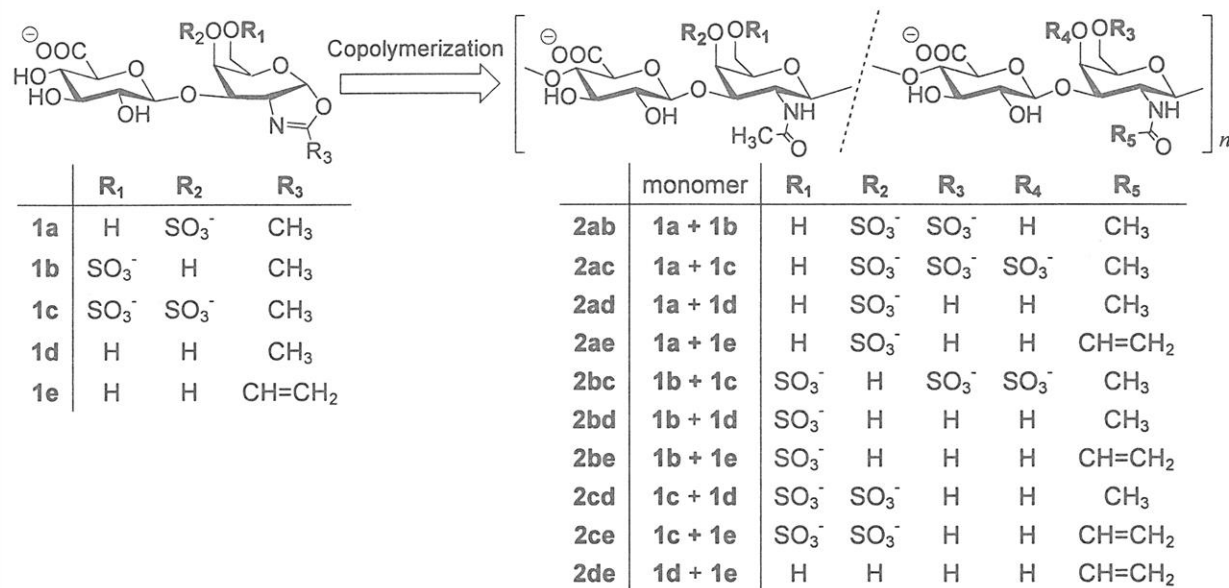
HAaseはHA、ChのみならずChSも加水分解することが知られていることから、HA及びChの人工合成に用いたHAaseを触媒として用いることによりChSの人工合成が達成できると考えられる。本研究ではGalNAcユニットの4位または6位、4、6位両方に硫酸基を有するオキサゾリン誘導体 **1a-1c** を基質モノマーとして新規に設計・合成し、HAase触媒重合を行うことにより、二糖繰り返し単位毎に特定の位置に必ず硫酸基が存在する構造明確なChSを合成することを目的とした(Scheme 2)。このようにして得ら

れる ChS は、天然由来の ChS と異なり明確な構造を有するため、生体内における ChS の機能を分子レベルで解明する強力なツールとなると期待される。



Scheme 2

一方、硫酸基を有する 3 つのオキサゾリン誘導体 **1a-1c** と硫酸基のないオキサゾリン誘導体 **1d**、オキサゾリン環 2 位がビニル基に置換されたオキサゾリン誘導体 **1e** をモノマーとして用いる HAase 触媒共重合も検討した(Scheme 3)。こうして得られる ChS は、モノマーの仕込み比等により硫酸化度や硫酸化パターンを制御できる可能性があり、硫酸化度により生理活性を制御した医用材料への応用が可能になると期待される。特に、ビニル基を有するモノマーの共重合では、Ch や ChS に反応性のビニル基を様々な割合で導入でき、そのビニル基を用いた反応により ChS を骨格とした新規生体材料へ応用できると考えられる。

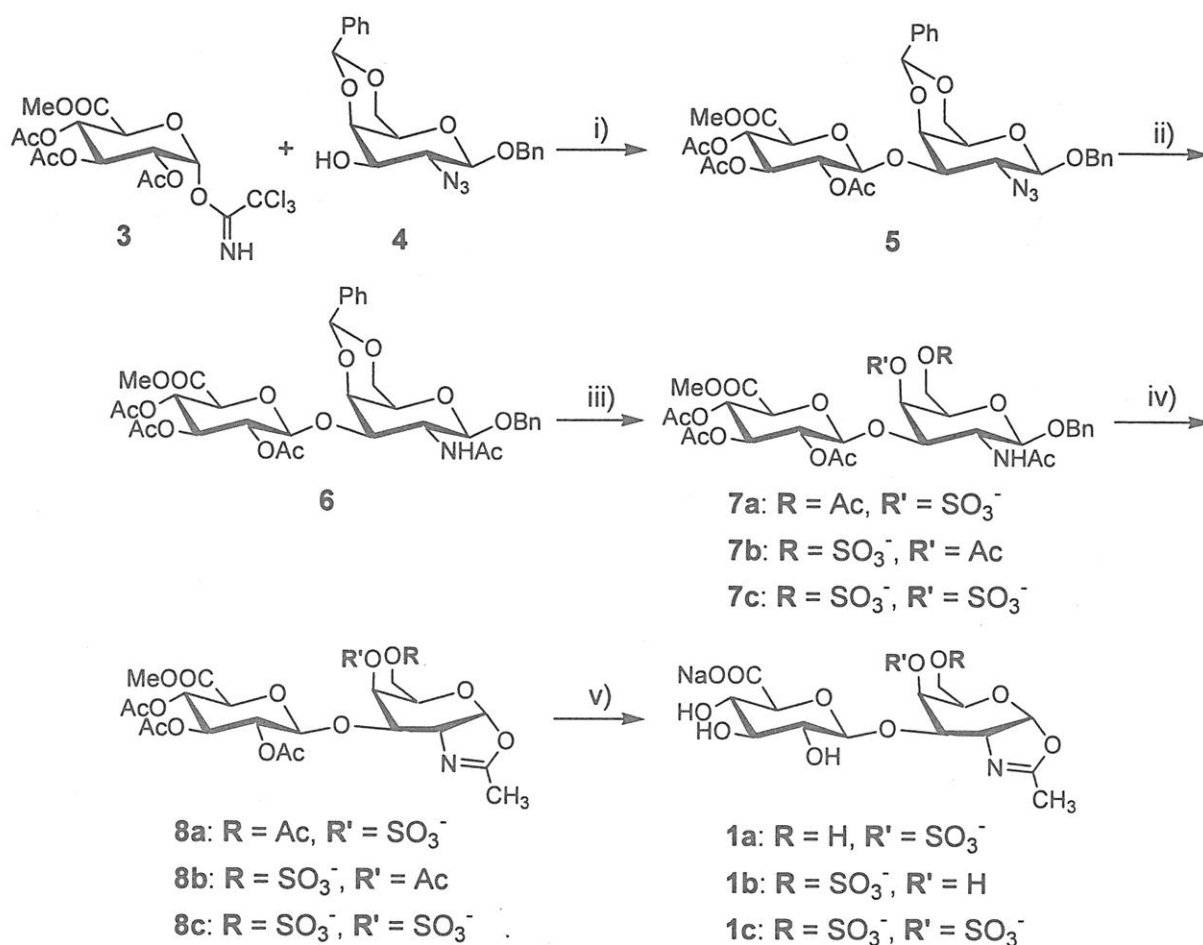


Scheme 3

2. モノマーの合成

モノマー**1a-1c**は有機化学的に合成した(Scheme 4)。糖供与体**3**の4、6位がベンジリデンアセタールによって保護された糖受容体**4**とのグリコシル化により二糖誘導体**5**を得た。GalNAcのアジド基をアセトアミド基に変換することによって**6**を得た。**6**のベンジリデンアセタールを脱保護した後、選択的に硫酸化を行うことによって4位または6位、4、6位

両方に硫酸基を有する誘導体 **7a**、**7b**、**7c** を得た。続いてオキサゾリン化、脱保護を行うことによって目的とするオキサゾリン誘導体 **1a-1c** を合成した。



Scheme 4. i) TMSOTf / CH_2Cl_2 , 91%; ii) AcSH, 86%; iii) 80% aq. AcOH, Δ , then (a) AcCl / Py, then $\text{Me}_3\text{N} \cdot \text{SO}_3$ / DMF, 54% (b) $\text{Me}_3\text{N} \cdot \text{SO}_3$ / DMF, then Ac_2O , DMAP / Py, 74% (c) $\text{Me}_3\text{N} \cdot \text{SO}_3$ / DMF, quant.; iv) $\text{Pd}(\text{OH})_2\text{-C}$, H_2 / MeOH, then TsCl, DMAP / CH_2Cl_2 , Et_3N , (a) 54%, (b) 53%, (c) 80%; v) MeONa / MeOH then carbonate buffer, (a) 84%, (b) 93%, (c) 80%.

3. ChS の合成

得られた基質モノマー**1a**、**1b**、**1c**を50 mM リン酸緩衝液中、pD 7.5、30℃で、モノマーの濃度0.1 M、羊精巢性 HAase(OTH; 3720 units/mg, SIGMA)をモノマーに対して10 wt%加えた系と酵素非添加系のモノマー濃度の経時変化を ^1H NMRで追跡した結果をFigure 2に示す。その結果、全てのモノマーにおいて酵素添加系でモノマー消費の促進が観察され、モノマー**1a**、**1b**、**1c**は、OTHのドナーサイトに認識され、オキサゾリンの開環反応が引き起こされることが分かった。モノマーの消失後、SEC測定を行った結果をTable 1に示す。**1a**の重合では、 M_n 11700、 M_w 21000の重合生成物のピークが収率75%で観察された(Entry 1)。しかし、**1b**、**1c**の反応系からは重合生成物が確認されず、**1b**、**1c**は重合が起こらないことが分かった。この結果より、GalNAcの4位に硫酸基がある場合は重合が起こるが、6位に硫酸基が入ると重合が起こらないことが分かった。これは、酵素のドナーサイトには認識されるが、アクセプターサイトに認識されないためと推察している。次に、**1a**の重合で得

られた重合物を HPLC にて分取、精製し、NMR 測定を行った結果、得られた重合生成物は GlcA と GalNAc が各々 $\beta(1\rightarrow3)$ 、 $\beta(1\rightarrow4)$ 結合で交互につながり、全ての GalNAc ユニットの 4 位が硫酸化されている構造の明確なコンドロイチン 4 硫酸(Ch4S)であることが判明した。

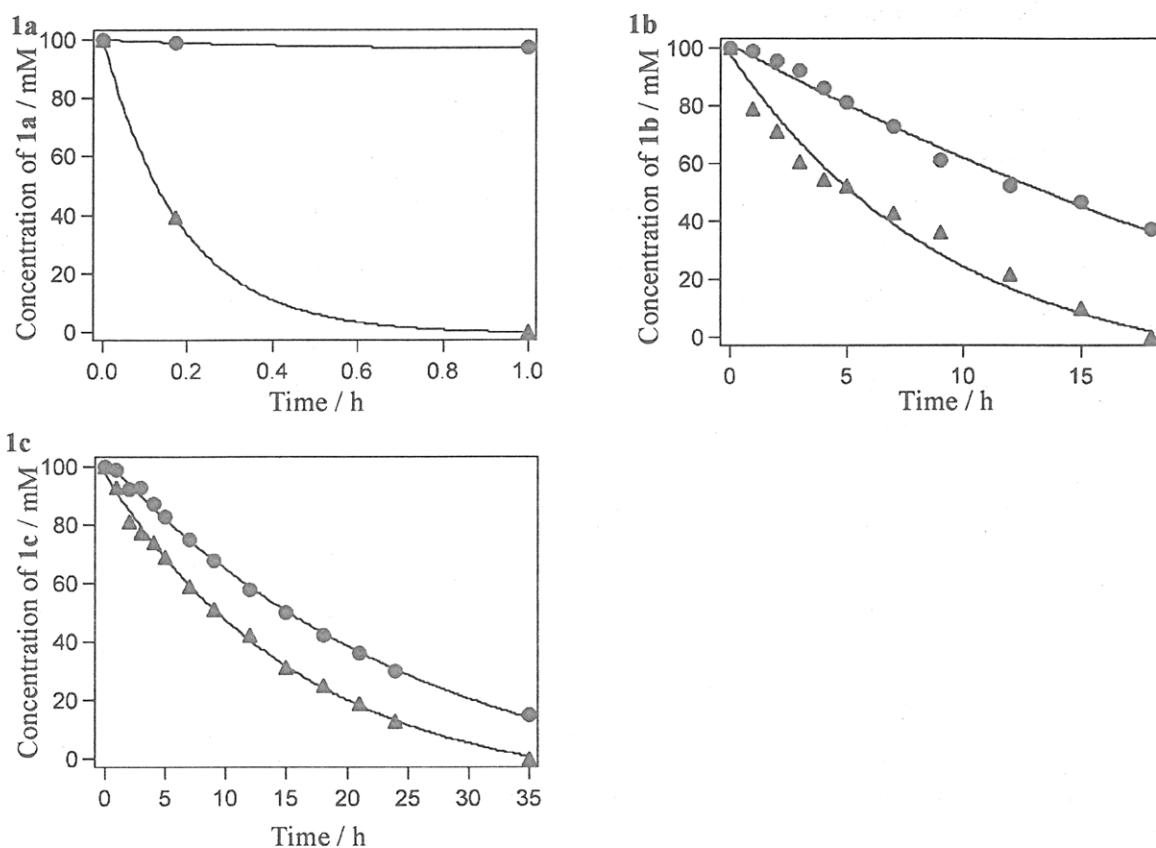


Figure 2. Reaction-time course of monomers 1a-1c with OTH (▲) and without the enzyme (●).

Table 1. Enzymatic polymerization of 1a, 1b and 1c^a

Entry	Monomer	Time / h	Yield / % ^b	M_n ^c	M_w ^c
1	1a	1.5	75	11700	21000
2	1b	18	-		
3	1c	35	-		

^a In a phosphate buffer, pH 7.5, 50 mM; monomer concentration, 0.1 M; amount of OTH (3720 units/mg), 10 wt% for monomer; reaction temperature, 30 °C. ^b Determined by HPLC (more than tetrasaccharides, RI detector, calibrated by chondroitin). ^c Determined by SEC using hyaluronan standards.

4. 共重合による ChS の合成

次に、1a-1c に加え、硫酸基を有しないモノマー1d 及びその 2-ビニル誘導体 1e を様々に組み合わせ酵素触媒共重合を行った。モノマーの仕込み比は 1:1 とし、50 mM リン酸緩衝液中、pH 7.5、30 °C、モノマー総濃度は 0.1 M、OTH (3720 units/mg, SIGMA) を総モノマーに対して 10 wt% 加え反応を行った。反応終了後、SEC 測定により分子量、収率を求め、SEC

による分取によりポリマーを精製し、NMR 測定の積分値によりポリマー中のユニット比を求めた。その結果、**1a** と **1b**、**1a** と **1d**、**1a** と **1e**、**1d** と **1e** で共重合が起こることが分かった。単独重合を起こさない **1b** が導入量は低いものの **1a** とのみ共重合を起こすことが分かり、極めて興味深い結果が得られた。

Table 2. Enzymatic copolymerization of monomers **1a-1e**.^a

Entry	Monomer			Time /h	Polymer				
	I	II	Feed ratio I / II		Structure	Yield / % ^b	M_n^c	M_w^c	Unit ratio I / II ^d
4	1a	1b	0.5 / 0.5	30	2ab	58	4200	5700	0.77 / 0.23
5	1a	1c	0.5 / 0.5	24	2a	37	4100	5900	1.0 / 0
6	1a	1d	0.5 / 0.5	3.0	2ad	61	5100	7800	0.50 / 0.50
7	1a	1e	0.5 / 0.5	9.0	2ae	68	3900	5000	0.47 / 0.53
8	1b	1c	0.5 / 0.5	30	-	0			
9	1b	1d	0.5 / 0.5	24	2d	18	3000	3800	0 / 1.0
10	1b	1e	0.5 / 0.5	30	2e	13	3700	4900	0 / 1.0
11	1c	1d	0.5 / 0.5	24	2d	16	3200	4600	0 / 1.0
12	1c	1e	0.5 / 0.5	30	2e	16	3600	4900	0 / 1.0
13	1d	1e	0.5 / 0.5	8.0	2de	61	3100	3700	0.46 / 0.54

^a In a phosphate buffer (50 mM), pH 7.5; total monomer concentration, 0.1 M; amount of OTH (3720 units/mg), 10 wt% for total monomer; reaction temperature, 30 °C. ^b Determined by HPLC (more than tetrasaccharides, RI detector, calibrated by chondroitin). ^c Determined by SEC using hyaluronan standards. ^d Determined by ¹H NMR.

1a と **1d**、**1a** と **1e**、**1d** と **1e** の共重合では、モノマー比、反応時間によりポリマー中のユニット比が容易に制御できることが明らかとなった。**1a** と **1b** の共重合では、**1b** が酵素のドナーサイトには認識されアクセプターサイトには認識されないことが予想され、生成するコポリマーは非還元末端に **1b** が 1 つだけ結合した構造を持っていると推察され、現在詳細な構造解析を行っている。

6. おわりに

N-アセチルコンドロシンの 4 位に硫酸基を有するオキサゾリン誘導体を新規に基質モノマーとして設計・合成し、HAase を触媒とする重合反応により、全ての GalNAc ユニットの 4 位が硫酸化された構造明確な Ch4S の合成に成功した。天然からはこのような構造明確な Ch4S は得ることは極めて困難であり、今後 ChS の分子レベルでの生理活性の解明につながると期待される。また、硫酸基を有する *N*-アセチルコンドロシンのオキサゾリン誘導体 **1a-1c**、硫酸基を有さないオキサゾリン誘導体 **1d**、及びその 2-ビニル誘導体 **1e** の 5 つのモノマーを様々に組み合わせ、HAase 触媒共重合を行った結果、**1a** と **1d** の共重合では、仕込み比や反応時間を変化させることにより 4 位に硫酸基を有し、さらに硫酸化度を制御

した ChS の合成が可能であることが示された。こうして得られる ChS は、硫酸化度によって生理活性を制御できることが期待され、糖鎖医薬等様々な応用が可能であると考えられる。1a と 1e、1d と 1e の共重合では、反応性のビニル基を有する Ch や ChS が得られた。この場合もモノマーの仕込み比及び反応時間を変化させることによりビニル基の導入率を変化させることが可能であり、ビニル基を用いた反応により Ch や ChS を骨格とした新規生体材料への応用展開が期待される。

参考文献

- 1) Kobayashi, S.; Kashiwa, K.; Kawasaki, T.; Shoda, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3079–3804.
- 2) Kobayashi, S.; Kiyosada, T.; Shoda, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 13113–13114.
- 3) Okamoto, E.; Kiyosada, T.; Shoda, S.; Kobayashi, S. *Cellulose* **1997**, *4*, 161–172.
- 4) Iozzo, R. V. *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, *67*, 609–652.
- 5) Kobayashi, S.; Morii, H.; Itoh, R.; Kimura, S.; Ohmae, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11825–11826.
- 6) Kobayashi, S.; Fujikawa, S.; Ohmae, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14357–14369.
- 7) Ochiai, H.; Ohmae, M.; Mori, T.; Kobayashi, S. *Biomacromolecules*, in press.
- 8) 小林四郎, 大前仁, 藤川俊一, 牧野顕, 森知紀, *日本化学繊維研究所講演集*, **2003**, *60*, 71–76.

有馬祐介・岩田博夫

Yusuke Arima and Hiroo Iwata

京都大学再生医科学研究所

1. 緒言

人工材料と生体との相互作用に関して膨大な報告がある。生体と材料との相互作用では、材料表面が決定的な役割を果たし、人工材料と生体とが接触した時には、まず表面へのタンパク吸着が起き、引き続いて細胞が接着すると一応のコンセンサスが得られている。しかし、材料表面特性は材料のバルクの性質ほど安定でなく、同じ材料を用いた研究でも、その材料の履歴によりその表面特性は大きく異なり、人工材料と生体との相互作用研究で再現性のある結果を得るのは容易ではない。また、多くの表面分析機器は高真空下で測定するものが多く、得られる情報がバイオマテリアルが使われる水が多量にある環境下の表面特性を反映しないこともしばしばある。近年、金表面に各種官能基を有するアルカンチオール自己組織化単分子膜(SAM)の研究が進み、よくキャラクタライズされた表面を提供できることが明らかになってきた[1, 2]。本研究では、各種官能基を有するアルカンチオールの SAM と細胞培養の手法を用いて生体－材料間の相互作用について再検討と加えた。

タンパク吸着および細胞接着は動的な過程である。例えば、吸着タンパクと液相のタンパクとの交換吸着や細胞自身による細胞外マトリックスの産生など、材料と体液の接触後の時間によってその様相を変化させる[3, 4]。このことから、これらの界面現象を理解するためには、経時的な観察が望ましい。さらに、表面近傍で起こっていることを選択的に感度よく観察できる手法を用いることが望ましい。エバネッセント場は界面を走る電磁場である。その強度は界面からの距離に対して指数関数的に減衰し、表面から百 nm 程度までの距離の出来事を感度よく反映する情報を与えることができる[5]。本研究では、比較的初期の反応、材料表面へのタンパク吸着とその吸着タンパク層への細胞接着をエバネッセント場を利用した表面プラズモン共鳴(SPR)および全反射蛍光顕微鏡(TIRFM)を用いて行った。

2. 実験

2-1. 全反射蛍光顕微鏡を用いた細胞接着過程の観察

モデル表面の作製：クロム 1 nm, 金 10 nm の厚さに蒸着した光学ガラス板(S-LAL10; $n = 1.72$) を, 1-dodecanethiol (CH_3), 11-mercaptoundecanol (OH), 11-mercaptoundecanoic acid (COOH)または 11-amino-1-undecanol (NH_2)の 1 mM エタノール溶液に室温にて 24 時間浸漬することで、金蒸着膜表面にそれぞれのアルカンチオールの自己組織化単分子膜(SAM)を形成させた。

モデル細胞：ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC, Cambrex)を細胞接着実験に用いた。細

胞培養液として、2% ウシ胎児血清(FBS), 20 mM 2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl] ethanesulfonic acid (HEPES), 増殖因子カクテル(塩基性繊維芽細胞増殖因子, 血管内皮細胞増殖因子, インスリン様増殖因子, 上皮細胞増殖因子, ヒドロコルチゾン, アスコルビン酸, ヘパリン), 25 mg/mL ゲンタマイシンおよび 25 μ g/mL アンホテリシン-B を添加した EBM-2 (Cambrex)を用いた。この培養液中にて2回継代培養することで細胞数を増やし, この細胞を凍結保存液(5%ジメチルスルホキシドを含む細胞培地)に 8×10^5 cells/mL になるよう懸濁し, これを液体窒素中に保存し, 実験用の凍結ストックとした。細胞接着実験時には, 細胞を解凍し, さらに上記培養液を用いて1-2回継代培養し細胞数を確保するとともに細胞の状態を安定化した。この細胞を 1×10^6 cells/mL になるように Diluent C (Sigma)に懸濁し, 次に, 8 μ M の赤色蛍光色素染色液 PKH26 (Sigma)と 1: 1 で混和し, 室温下にて3分間放置することで細胞膜を蛍光色素で染色した。1%ウシ血清アルブミン(BSA)を当量加えて染色を停止させた後に, 無血清培地にて3回洗浄し, 2% FBS を含む培養液に細胞数が 4×10^5 cells/mL になるように懸濁して細胞接着実験に用いた。

全反射蛍光顕微鏡(TIRFM)による細胞接着の観察: SAM への細胞接着挙動を自作 TIRFM を用いて観察した。SAM を形成させたガラス板とプリズムをマッチングオイル($n = 1.720$, Cargille)にてカップリングし, レーザー($\lambda = 532$ nm, 10 mW)をプリズム側から臨界角以上で入射した。赤色蛍光色素でラベルされた HUVEC の懸濁液 (4×10^5 cells/mL) を基板上(2.5 cm²)に 50 μ L 播種した。細胞播種後の蛍光像を10倍対物レンズおよび干渉フィルターを通して CCD カメラ(ORCA-ER, 浜松ホトニクス)で受光した。SAM 表面への接着細胞数および1細胞あたりの接着面積は Scion Image 4.02 (Scion Corp.)による画像解析から求めた。

2-2. 表面プラズモン共鳴(SPR)イメージング装置によるタンパク吸着の解析

モデル表面の作製: クロム 1 nm, 金 44 nm をそれぞれの厚さに蒸着した光学ガラス(S-LAL10; $n = 1.72$)に 1-hexadecanethiol の SAM を形成させた。次に, 直径 1 mm の透明スポットを 25 点有するクロム蒸着フォトマスクを介して紫外線を2時間照射した後エタノールでガラス板を洗浄することで, 25 点の金露出部を有するパターン化 SAM 表面を作製した[6]。次に, この金露出部スポット上に 1-dodecanethiol (CH₃), 11-mercaptoundecanol (OH), 11-mercaptoundecanoic acid (COOH) もしくは 11-amino-1-undecanol (NH₂)の 1 mM エタノール溶液を滴下し, 異なる表面官能基を有する SAM を各スポットに形成させることで各種官能基がアレイ化されたモデル表面を作製した。

細胞培養液からのタンパク吸着: パターン化表面へのタンパク吸着は SPR イメージング装置を用いて解析した[7]。SPR イメージング装置の流動セルにモデルアレイ化表面を有するガラス板を装着し, これにリン酸緩衝生理食塩水(PBS)を流した後, 2% FBS を含む細胞培養液を1時間灌流し, その後 PBS を流すことで, 流動セル内の培養液を排出するとともに, 表面に弱く吸着しているタンパクを洗い流した。次に, 吸

着タンパク層中の各種タンパク質の割合について調べるために、抗アルブミン抗体 (Bethyl Laboratories; 1:100 希釈), 抗免疫グロブリン G 抗体 (Bethyl Laboratories; 1:100 希釈), 抗フィブロネクチン抗体 (ヤガイ; 1:100 希釈) もしくは抗ビトロネクチン抗体 (Biogenesis; 1:100 希釈) 溶液を 2 時間灌流した後, PBS で洗浄した。この間, SPR イメージング装置にて, 各スポットの光の反射光強度を観測した。

2-3. フィブロネクチン/アルブミン混合吸着表面への細胞接着

クロム 1 nm, 金 44 nm を蒸着した丸型カバーガラス (直径 13 mm) に 1-dodecanethiol (CH_3), 11-mercaptoundecanol (OH), 11-mercaptoundecanoic acid (COOH) または 11-amino-1-undecanol (NH_2) の SAM を形成させた。このカバーガラスを 70% エタノール水溶液で滅菌後, 24 穴細胞培養用マルチプレートへ入れた。次に濃度比の異なるフィブロネクチン (Fn)/ウシ血清アルブミン (BSA) の混合溶液 (Fn; 10 $\mu\text{g/mL}$, BSA; 0.01, 0.1, 1, 10 mg/mL) を加え 30 分静置した後 PBS で洗浄した。COOH および NH_2 -SAM 上にタンパク質を固定化させる場合, COOH-SAM を 0.1 M 1-ethyl-3-(3-dimethylamino propyl)carbodiimide (EDC) / 0.05 M *N*-hydroxy succinimide (NHS) 水溶液で 10 分間, NH_2 -SAM を 4% glutaraldehyde (GA) PBS 溶液で 30 分活性化し, PBS で洗浄した後に, タンパク質溶液を加えた。タンパク質を吸着または固定化した表面上に 2% FBS 含有培地に懸濁した HUVEC を $2 \times 10^4 \text{ cells/cm}^2$ 播種し, 1 時間静置した。次に, PBS で洗浄することにより浮遊した細胞を除去した後に 4% パラホルムアルデヒド溶液を用いて細胞を固定した。その後, 細胞核を hoechst33258 で染色した。位相差顕微鏡で接着細胞の形態を, 蛍光顕微鏡で接着細胞数を計数した。

3. 結果と考察

3-1. TIRFM による細胞接着過程の観察

TIRFM の構成と, 細胞膜を蛍光色素で標識した細胞を TIRFM で観察したさいの模式図を図 1 に示す。TIRFM では光が全反射したときに生起するエバネッセント光により励起された蛍光分子を観察する。TIRFM で観察できる蛍光分子の表面からの距離は, 光の強度, 顕微鏡と CCD カメラの性能, また, 用いる蛍光分子の種類にもよるが, 以下に述べるエバネッセント光の浸み込み深さがその目安を与える。エバネッセント光は基板表面からの距離に伴い, その強度が指数関数的に減少し, その強度が反射面の $1/e$ になる距離 (浸み込み深さ) d は次式で表される [8]。

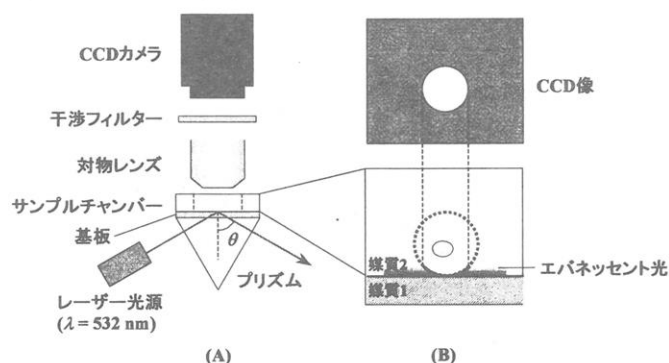


図 1. 全反射蛍光顕微鏡。(A) 構成, (B) 細胞膜を蛍光色素で標識した細胞を観察したときの模式図

$$d = \frac{\lambda}{4\pi\sqrt{n_1^2 \sin^2 \theta - n^2}} \quad (1)$$

本実験系では、光の波長 $\lambda = 532 \text{ nm}$ 、ガラスの屈折率 $n_1 = 1.72$ 、試料の屈折率 $n = 1.33$ (水の場合)、入射角 $\theta = 54.2^\circ$ であるので、浸み込み深さ d は 100.6 nm となり、基板から 100 nm 程度の表面近傍に局在する蛍光分子をTIRFMで観察することができると考えてよいであろう。細胞懸濁液中の細胞は、その直径が約 $10 \mu\text{m}$ のほぼ球形であり、その直径はエバネッセント光の及ぶ距離に比べて十分大きい。細胞が基板と接触したときには、表面から約 100 nm にある細胞底面の細胞膜に存在する蛍光分子のみがエバネッセント光で励起され、TIRFMでは直径約 $2 \mu\text{m}$ の円として観察される。細胞が接着・伸展するに伴い細胞は扁平になり、エバネッセント光の及ぶ位置に存在する細胞膜の領域は広くなり、TIRFMで観察される像の面積は増大する。このように、細胞膜を蛍光標識した細胞をTIRFMで観察することで、表面への細胞の接着の比較的初期の過程を時間を追って観察することができる。

図2には表面官能基の異なるSAMへHUVCEを播種したさいのTIRFM像の経時変化を示す。播種後10分では、COOHおよび NH_2 表面では数個の耀点が見られるものの CH_3 およびOH表面では観察されなかった。播種後30分ではCOOHおよび NH_2 表面上で観察される耀部分の数は増加し、また、個々の耀点は広がった面となり、エバネッセント光がおよぶガラス基板表面からの距離に存在する細胞膜の面積が増大した。これらの表面では細胞が接着していることが分かる。一方、OH表面では耀点

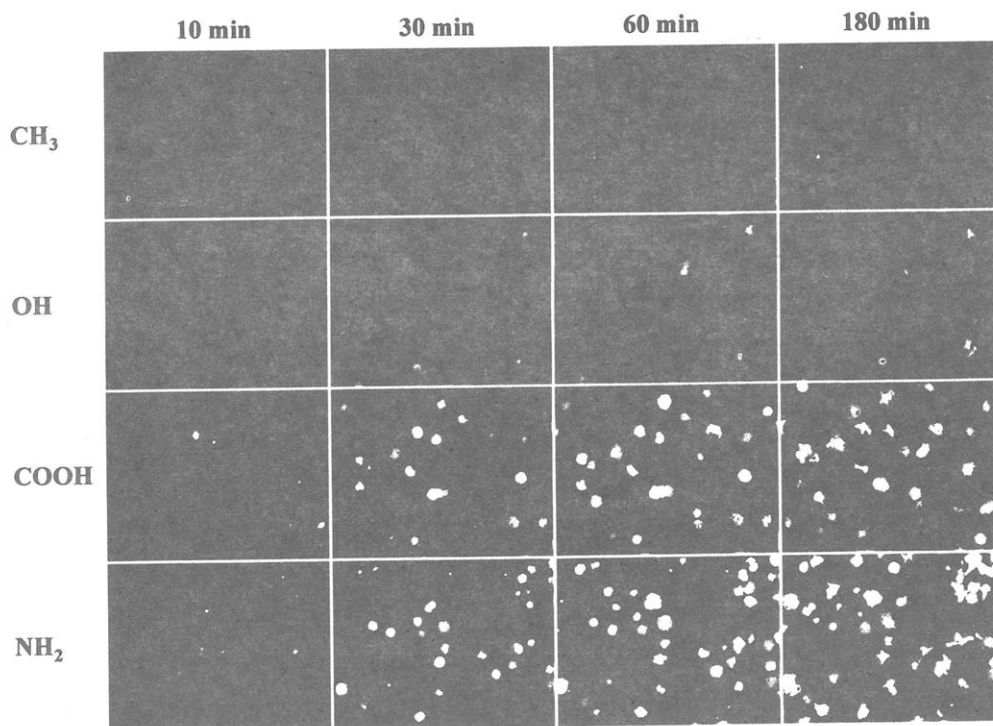


図2. TIRFMを用いた最表面の官能基の異なるSAMへのHUVCEの接着過程。スケールバー: $100 \mu\text{m}$

の数は依然として少なく、細胞はあまり接着しないことが分かる。さらに、CH₃表面では、少数の耀点は観察されるものの、それはほとんど広がることはなかった。

図3には TIRFM 像の画像解析から得られた、各種官能基を有する SAM 表面への接着細胞数と1細胞あたりの接着面積の経時変化をまとめて示す。COOH および NH₂ 表面では、接着細胞数は播種後5分から増加し始め、約1時間ではほぼ一定となり、また、細胞の接着面積は播種後約3時間まで増加した。OH 表面では細胞数および接着面積

の増加は小さく、COOH および NH₂ 表面に比較して細胞は接着しにくいことが分かる。CH₃ 表面では細胞数は OH と同程度まで増加したが、接着面積はほとんど増加しなかった。

図3に示したように、OH および CH₃ 表面では観察される細胞数が少なかった。表面に接着・伸展しない細胞(半径 5 μm)が球状のまま表面に存在している場合、TIRFM 像は直径約 2 μm の円盤として観察されると予想される。今回 TIRFM 観察で用いた対物レンズは 10 倍であり、直径約 2 μm の像を明瞭に観察することはかなり困難である。このため、Scion Image 4.02 (Scion Corp.)を用いた画像解析により接着細胞数および1細胞あたりの接着面積を求めるときに計数洩れをしてしまったと考えている。

細胞が材料表面に接着する過程は、1)表面への接近、2)接地、3)接着、4)広がり、であると考えられる。ここで、1)および2)の過程では物理化学的な相互作用が、3)と4)の過程では生化学的な相互作用が寄与すると考えられる。細胞の密度は媒体である培養液のそれと比較して大きく、重力の作用によって細胞は培養液中を落下し、基板表面近傍へ到達するのに必要な時間を考える。細胞には、重力に加えて流体からの摩擦力も働く。細胞を球形粒子と仮定し摩擦力は Stokes の式で表されるとすると、重力と摩擦力の釣り合いは、

$$\frac{4}{3}\pi a^3(\rho_s - \rho_f)g = 6\pi\eta av \quad (2)$$

と表される。ここで、 a は球形細胞の半径(5 μm)、 ρ_s 、 ρ_f は粒子と流体(水)の密度(1.08 g/cm³、1 g/cm³)、 η は流体の粘性率(30℃では 0.7975 gm⁻¹s⁻¹)、 v は沈降速度である。この式と各パラメータに数値を代入すると、沈降速度は 5.5 μm/s となる。TIRFM の測定チャンバーの高さは 8 mm であるから、培養液の液面近傍すなわち最上部にある細胞が基板表面まで沈降するのに要する時間は約 25 分となり、長くとも 25 分後には培

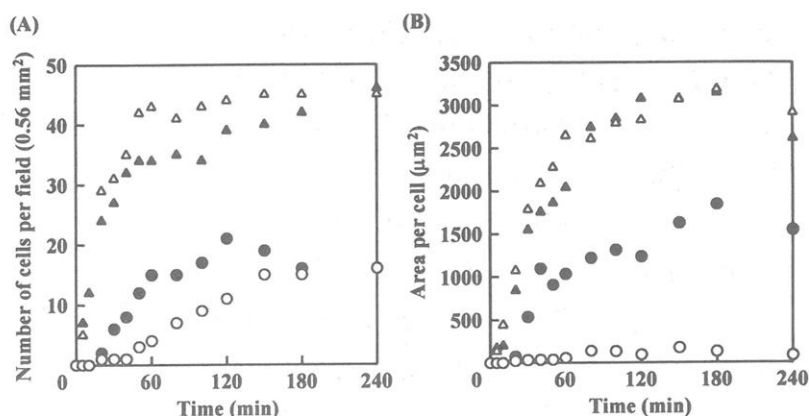


図3. TIRFM 観察から得られた細胞接着数(A)および1細胞あたりの接着面積(B)の経時変化。表面官能基: ○; CH₃, ●; OH, △; COOH, ▲; NH₂

養液中の大部分の細胞が基板表面まで沈降してくる。図3の結果から、COOH および NH₂ 表面では細胞播種後5分から細胞の接着が見られた。これは、細胞懸濁液中のより基板表面に近い細胞はより短時間で表面への接近し接地するためである。

次に、表面極近傍における細胞の平衡分布を考える。細胞は重力により基板表面へ向かう。一方、細胞表面と基板表面間には電気二重層の重なりから静電反発力が働く。この二つの作用の釣り合いを計算すると、図4(a)に模式的に示したようなポテンシャルカーブが得られる。細胞の分布を平衡状態にあるとして Boltzmann 分布則により計算すると、細胞は図4(b)に模式的に描いたような密度分布になると予想される[9]。培養液には各種塩やタンパクなどの高分子電解質も含まれているため、ポテンシ

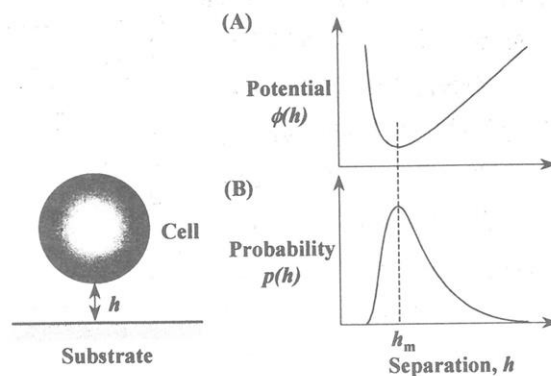


図4. 細胞-表面間の(A)ポテンシャルエネルギーおよび(B)密度関数の模式図

アルカーブと細胞の密度分布を計算するのは容易ではない。しかし、培養液中、また、血液中においても、主なる電解質は食塩であり、約100-110 mMと高濃度である。以下簡単のために、培養液中は1:1電解質溶液であるNaClのみを145 mMを含むと簡略化して考えて大きな間違いは犯さないであろう。表面からの距離 h におけるポテンシャル $\phi(h)$ は、電気二重層の相互作用による項と重力による項の2項の和で表され、次式のようなになる[10]。

$$\phi(h) = B \exp(-\kappa h) + Gh \quad (3)$$

ここで、

$$B = 16\epsilon a \left(\frac{kT}{e} \right)^2 \tanh\left(\frac{e\psi_1}{4kT}\right) \tanh\left(\frac{e\psi_2}{4kT}\right) \quad (4)$$

$$\kappa = \sqrt{\frac{8\pi C e^2}{\epsilon kT}} \quad (5)$$

$$G = \frac{4}{3}\pi a^3 (\rho_s - \rho_f)g \quad (6)$$

ϵ は誘電率、 a は球の半径、 e は電気素量、 ψ_1 , ψ_2 は球と平面のSternポテンシャル、 κ はDebyeパラメータ、 C はイオン強度、 G は媒質中の球の重さ、 ρ_s , ρ_f は球と溶液の密度である。式(3)で表されるポテンシャルが最小になる、すなわち、細胞密度が最大になる基板表面からの距離 h_m は、

$$\kappa h_m = \ln \frac{\kappa B}{G} \quad (7)$$

と表される。生理食塩水(145 mM NaCl)中で、球の半径を5 μ m、 ψ_1 , ψ_2 をともに-30 mV、

ρ_s , ρ_f をそれぞれ 1.08 g/cm^3 , 1 g/cm^3 と仮定したとき, 相互作用ポテンシャルが極小となる h_m を計算すると, 約 7 nm と非常に小さい値になる。この様な小さい値となるのは, 生理食塩水中ではイオン強度が高く, 静電反発力は溶液中のイオンによって遮蔽されるためである。材料によっては種々の表面電位をとるものがあるが, ここで注意したいのは, 材料と生体が接触したときにはまずタンパク吸着が起き, この吸着タンパク層の影響で細胞が相互作用するとき重要である最表面の電位は材料間でほとんど差がなくなってしまう。このため, いずれの官能基を有する表面でもポテンシャル極小を示す細胞表面と材料表面との距離 h_m の値は 7 nm としても間違いのないであろう。この計算を行うとき, 理想化して表面は平坦, 細胞も表面は平滑な真球と仮定した。実際は, 材料平面には 7 nm をはるかに超える凸凹があり, 細胞表面にも種々の膜糖タンパクなどの付属物がある。重力と電気二重層の相互作用に起因する反発力から計算された 7 nm の分離距離は, 材料表面への細胞接着のコントロールでは実際にはほとんど意味をなさず, 細胞はいろいろな点で表面と接触していると予想される。このことから, 静電反発力は細胞と材料表面の相互作用にほとんど影響を及ぼさないと考えられる。

3-2. SPR によるタンパク吸着解析

細胞(HUVEC)の接着性と表面へのタンパク吸着の関係について調べるために, 2% ウシ胎児血清を含む培養液から表面官能基の異なる SAM へのタンパク吸着を SPR イメージング装置で調べた。経時変化を図 5 に, それらから求めた吸着量の結果をまとめて図 6 に示す。図に見られるように培養液中に含まれる血清タンパク質の吸着は表面と培養液が接触した直後から起こり, 接触から 1 分以内で平衡吸着量の 8 割の吸着がおきた。一方, TIRFM による観察から, 飽和接着細胞数の約 8 割の細胞接着が起こる時間はいずれの表面でも 1 時間程度であった。これらの時間経過から, 従来報告されてきたように, まず材料表面へのタンパク吸着が起こり, それに引き続いて細胞の接着が起こっていることがわかる。

吸着タンパク層の中には細胞接着性糖タンパクであるフィブロネクチンやビトロネクチンが存在し, これらと細胞側のインテグリンが特異的相互作用することによって細胞は接着すると考えられている[11]。このため材料表面の特性による細胞接着挙動の差異は, 吸着タンパク層の組成, 特にそこに含まれるフ

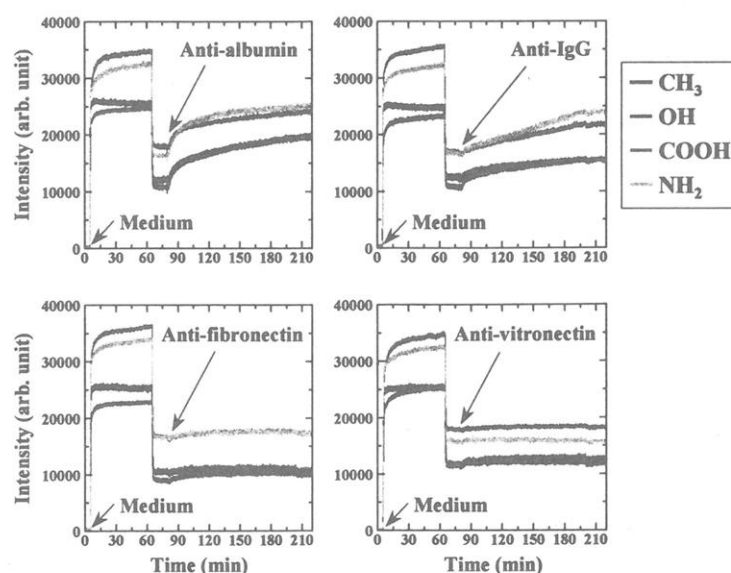


図 5. 2% FBS を含む細胞培養液からのタンパク吸着および各種抗体の結合挙動

フィブロネクチンやビトロネクチンの含量, さらにその配向が異なるためと考えられている[12, 13]。そこで, アルブミン, 免疫グロブリン G, フィブロネクチンおよびビトロネクチンに対する抗体を用いて吸着タンパク層の組成について若干の情報を得ることを試みた。

図 6 に種々の官能基を有する SAM 上への全血清タンパクの吸着量と各種抗体の結合量をまとめた。血清タンパク質の総吸着量は CH_3 および OH 表面に比較して COOH および NH_2 表面は多かった。血清タンパク吸着後の抗アルブミン抗体の結合量は OH 表面で若干多いものの, 他の 3 つの表面ではほぼ同じであり, また, 抗免疫グロブリン G 抗体の結合量は CH_3 表面では若干少ないものの, 他の 3 つの表面ではほぼ同じであった。この様にアルブミンおよび免疫グロブリン G の吸着量はいずれの表面においても多く, また, 官能基間の差はほとんどなかった。

これは, アルブミンおよび免疫グロブリン G の血清中濃度が, それぞれ 35-50 mg/mL と 8-18 mg/mL と高いためと考えられる。一方, 図 6 に示したように細胞接着に関するフィブロネクチンおよびビトロネクチンに対する抗体の結合量は非常に小さく, 残念ながらそれらの表面への吸着量と細胞接着性の関係を議論できなかった。これはフィブロネクチンおよびビトロネクチンの血清中濃度は, それぞれ 30 $\mu\text{g/mL}$ と 200 $\mu\text{g/mL}$ と低く[14], このため吸着量も少なかったためと考える。

血清は非常に多種のタンパク質を含んでおり, タンパク吸着挙動の解析と細胞接着との関係について検討することは困難であった。そこで, タンパク種を制限したモデル系を用いて, 表面へのタンパク吸着と細胞接着との関係について検討した。モデル系として, 血清中に最も豊富に含まれるアルブミン(BSA)と細胞接着性タンパク質であるフィブロネクチン(Fn)の混合溶液を用いた。様々な混合比のタンパク溶液を SAM に 30 分接触させた後, 表面を洗浄し, 2% FBS 含有培地に懸濁した HUVEC を播種した。図 7 には, 様々な濃度比の Fn/BSA を吸着させた SAM への 1

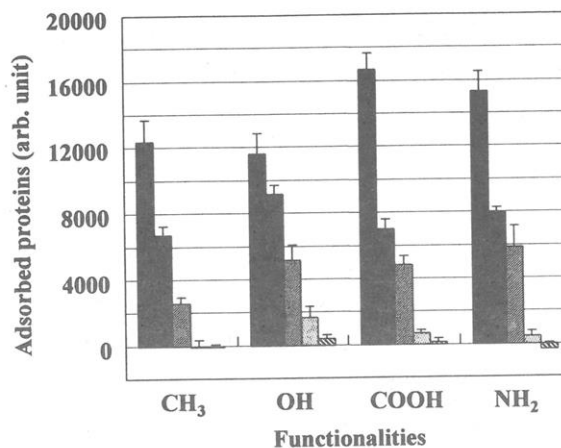


図 6. 種々の表面官能基(CH_3 , OH , COOH , NH_2)を有する SAM 上への血清タンパクの吸着量とその吸着タンパク層への各種抗体の結合量。■; 総血清タンパク質, ■; 抗アルブミン抗体, ■; 抗免疫グロブリン抗体, □; 抗フィブロネクチン抗体, □; 抗ビトロネクチン抗体

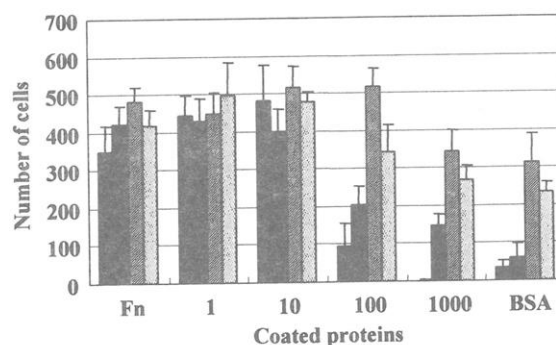


図 7. 種々の濃度比の Fn/BSA 溶液を接触させた SAM 上への 1 時間後の HUVEC 接着数。Fn; 10 $\mu\text{g/mL}$, BSA; 10 mg/mL, 数字は Fn (10 $\mu\text{g/mL}$) に対する BSA の濃度比([BSA]/[Fn])を示す。■; CH_3 , ■; OH , ■; COOH , □; NH_2

時間後の HUVEC 接着数を示す。図中の数字は Fn 濃度を一定(10 $\mu\text{g/mL}$)としたときの BSA の濃度比を示す。血清中の濃度比[BSA]/[Fn]は 1000 に対応すると考えられる。濃度比 10 まではいずれの表面においても細胞接着は良好であった。濃度比 100 以上では細胞接着数は $\text{COOH} > \text{NH}_2 > \text{OH} > \text{CH}_3$ の順となり, TIRFM で観察したときの細胞接着数と表面官能基の関係と同じであった。また, BSA(10 mg/mL)のみを吸着させた場合でも, COOH および NH_2 表面では細胞は接着した。ここには実験結果を示さなかったが, 無血清培地に懸濁した HUVEC を BSA 吸着表面に播種した場合, 細胞はほとんど接着しなかった。また, COOH 表面を 0.1M EDC/0.05M NHS, NH_2 表面を 4% GA で活性化し BSA を共有結合で固定化した表面でも細胞はほとんど接着しなかった。このことから, COOH および NH_2 表面では, 先に吸着した BSA と血清中の細胞接着性タンパク質が交換吸着し, その細胞接着性タンパク質を介して細胞が接着したと考えている。

4. まとめ

TIRFM および SPR を用いて, 各種表面官能基を有する SAM への HUVEC の接着挙動およびタンパク吸着を調べた。得られた結果をまとめると,

- 1) 表面へのタンパク吸着が起こり, その吸着タンパク層を介して細胞が接着する。
 - 2) 静電相互作用が細胞と材料表面の相互作用へ与える影響は小さい。
 - 3) 表面官能の異なる SAM 表面への細胞接着数は, $\text{COOH} > \text{NH}_2 > \text{OH} > \text{CH}_3$ の順であった。
 - 4) 各種官能基を有する表面への細胞接着性の相違は, 官能基間の細胞接着性糖タンパクに対する親和性の違いを反映している。
 - 5) 吸着タンパクと培養液中のタンパクの交換反応が起こり, 細胞接着性糖タンパクに対する親和性の高い官能基を有する表面はより細胞が接着しやすくなる。
- であった。

5. 参考文献

- [1] A. Ulman, *Chem. Rev.*, **96**, 1533-1554 (1996).
- [2] E. Ostuni, L. Yan, G.M. Whitesides, *Colloids. Surf. B*, **15**, 3-30 (1999).
- [3] L. Vroman, A.L. Adams, *J. Biomed. Mater. Res.*, **3**, 43-67 (1969).
- [4] P.B. van Wachem, T. Beugeling, B.W.L. Mallens, A. Dekker, J. Feijin, A. Bantjes, W.G. van Aken, *Biomaterials*, **9**, 121-123 (1988).
- [5] J.S. Burmeister, L.A. Olivier, W.M. Reichert, G.A. Truskey, *Biomaterials*, **19**, 307-325 (1998).
- [6] M.J. Tarlov, D.R.F. Burgess, G. Gillen, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 5305-5306 (1993).
- [7] 平田伊佐雄, 有馬祐介, 加藤功一, 岩田博夫, *日本化学繊維研究所講演集*, **60**, 57-62 (2003).
- [8] D. Axelrod, E.H. Hallen, R.M. Fulbright, Total internal reflection fluorescence: J.R.

- Lakowicz (eds.), in *Topics in Fluorescence Spectroscopy: Biochemical Applications* (Vol. 3), Plenum Press, New York, 1992, pp. 289-343.
- [9] D.C. Prieve, *Adv. Colloid. Interface Sci.*, **82**, 93-125 (1999).
- [10] S.G. Flicker, S.G. Bike, *Langmuir*, **9**, 257-262 (1993).
- [11] T.A. Horbett, *Colloids. Surf. B*, **2**, 225-240 (1994).
- [12] J.G. Steele, B.A. Dalton, G. Johnson, P.A. Underwood, *Biomaterials*, **15**, 1057-1067 (1995).
- [13] F. Grinnell, M.K. Feld, *J. Biol. Chem.*, **257**, 4888-4893 (1982).
- [14] E.G. Hayman, M.D. Pierschbacher, S. Suzuki, E. Rouslahti, *Exp. Cell. Res.*, **160**, 245-258 (1985).

高分子ハイドロゲルを利用した細胞増殖因子の徐放化とその骨再生誘導活性

北郷明成, 山本雅哉, 田畑泰彦

Akishige Hokugo, Masaya Yamamoto, and 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. 緒言

さまざまな疾患の処置によって生じる骨欠損部に対して、再建を目的とした骨移植を行う機会は極めて多い。現在、これら再建外科治療において自家骨移植が主に行われているが、採取部位に対する侵襲の問題がある。そこで自家骨に代わる骨移植の材料としては、生体材料あるいは死体から採取された同種処理骨が用いられている。しかしながら、同種骨の場合には、ウイルス感染やドナー不足などの問題があり、また、生体材料ではその生体適合性がきわめて低い。そこで、近年、これまでの再建外科治療にかわる新しい治療法として、生体本来に備わっている自己修復能を誘導、増強することによって骨組織を修復する、いわゆる骨再生誘導治療が注目されるようになってきている。骨再生治療では、骨組織修復能を増強するために、骨髄細胞や細胞増殖因子などのタンパク質の利用が必要不可欠である。現在、臨床において骨再生に用いられている細胞増殖因子としては bone morphogenetic protein (BMP)¹⁾ や、血液の遠心操作によって得られる自己血小板を濃縮した血漿である platelet-rich plasma (PRP)²⁾ が臨床応用されている。BMP は生体内において、同所性および異所性に骨形成を誘導しうるタンパク質として知られている。しかしながら、霊長類では、数 mg という多量の BMP が骨形成に必要であることが報告され、臨床においてその副作用が懸念されている³⁾。一方、PRP 中の血小板は活性化すると血小板中に含まれる platelet-derived growth factor- β (PDGF- β), transforming growth factor- β (TGF- β) などの種々の細胞増殖因子を放出し骨再生や創傷治癒を促進することが期待されている²⁾。現在、この PRP を用いた骨再生に関する臨床的報告が数多くあるが、その多くはフィブリン糊との混合物として使用されており、これまでに PRP の生物学的活性の増強を目指した血小板細胞増殖因子のための投与担体に関する研究は見られない。例えば、いかに生物活性の優れた細胞増殖因子が利用できるようになったとしても、それらの生物効果を生体内で発揮させるための投与剤形の工夫、すなわちドラッグデリバリーシステム(DDS)⁴⁻⁶⁾ がなければ、細胞増殖因子の投与は生体組織の再生誘導にはつながらない。事実、細胞増殖因子を水溶液のみの投与では、周囲組織への拡散や酵素分解によって投与部位からすみやかに消失、失活し、骨再生能は発揮されない。そこで、この問題を解決するための方法として、生物活性を維持した細胞増殖因子を一定期間、適当な量を適当な場所で徐々に放出(徐放)させることが必要不可欠である。

ゼラチンは生体吸収性高分子であり、これまでに食品ならびに医薬品として広く利

用されている。このような長期間の使用によって、その生体安全性はすでに保障されていた材料である⁷⁾。また、ゼラチンは水溶性かつ化学修飾が容易な高分子であるため、種々の誘導体化やゲル、フィルム、スポンジなどの種々の形状への加工が可能である。すでに、われわれは、ゼラチンからなる生体吸収性ハイドロゲルを用いて、様々な細胞増殖因子を生物活性をもった状態で徐放させることに成功している^{4-6, 8-10)}。近年、さらにわれわれはこのゼラチンを化学架橋することによって作製した生体吸収性ハイドロゲルが BMP の徐放を可能とすることを見出し、マウス皮下において徐放化 BMP によって効率のよい異所性骨形成を確認している¹¹⁾。本稿では、霊長類においても徐放化 BMP システムが骨再生誘導に有効であるか、また、その際の骨再生を誘導するための徐放化 BMP 量がマウスの場合と同程度であるかどうかについて検討した。また、生体吸収性ハイドロゲルを利用した PRP 中の血小板から放出される細胞増殖因子の徐放化を試み、徐放化が家兎骨欠損モデルにおける骨再生誘導能に与える効果について検討した。

2. 実験

BMP 含浸ゼラチンハイドロゲルの作製

等電点 9.0 の塩基性ゼラチン（新田ゼラチン株式会社より供与）水溶液へ種々の濃度のグルタルアルデヒドを加えた。この混合液をポリプロピレン製秤量皿（14×14 cm²）に流延後、4℃にて12時間静置することによって化学架橋したゼラチンシート（厚さ2mm）を得た¹⁰⁾。得られた架橋ハイドロゲルを直径6mmのディスク状に打ち抜いた後、100 mM 濃度のグリシン水溶液で37℃にて3時間処理し、未反応のグルタルアルデヒドあるいはアルデヒド基を不活性化した。次に、蒸留水にて数回洗浄し、凍結乾燥することによって架橋ゼラチンハイドロゲルを得た。凍結乾燥したハイドロゲルはエチレンオキシドガスを用いて滅菌した。凍結乾燥前後のハイドロゲルの重量を測定し、膨潤ハイドロゲルの重量に対する含水重量の比としてハイドロゲルの含水率を算出した¹²⁾。ハイドロゲル作製条件と含水率を Table 1 に示す。

Table.1 Preparation of gelatin hydrogels with different water contents

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

霊長類による徐放化 BMP-2 の骨再生誘導能の評価

カニクイザルの頭蓋骨に作製した骨欠損部（直径 6 mm, 厚さ 5 mm）へ BMP-2 を含浸したゼラチンハイドロゲルを埋入した。ハイドロゲルへ含浸させた BMP-2 量は, 5, 50, および 100 μg である。また, BMP-2 の徐放性が骨再生に与える影響を調べるために, 含水率の異なる (93.8, 97.8, および 99.7wt%) BMP-2 含浸ゼラチンハイドロゲルも埋入した。比較として, BMP-2 を含浸していない含水率 97.8wt% のゼラチンハイドロゲル, 骨再生誘導能が優れているために臨床で使用されている脱灰凍結乾燥処理骨基質である Insoluble bone matrix (IBM) に 5 μg の BMP-2 を含浸したものを埋入した。すべてのサンプルについて, 埋入 3 ヶ月後に骨欠損部を軟 X 線観察するとともに, それぞれの骨密度を Dual Energy X-ray Absorptiometry (DEXA) 法により測定, 骨再生誘導能を評価した。

PRP の採取

PRP の採取方法は Weibrich らの方法に準じた¹³⁾。家兎から採血した抗凝固剤 1ml を含む 10 ml の血液を 2,400 rpm, 10 分間の遠心操作を行った後, 血漿成分だけを採取し, さらに 3,600 rpm, 15 分間の操作を行い 0.8 ml の PRP を得た。この遠心操作によって得た PRP 中の血小板数は末梢血に比べて約 5.5 倍の濃縮率であった。

血小板活性化試験

PRP 中の血小板から放出される細胞増殖因子の定量を行った。ゼラチン, トロンビンをコートした dish, ガラス dish, そして negative control としてポリスチレンの dish にそれぞれ PRP を滴下し, 37℃, 1 時間静置することによって血小板を活性化させた後, その上澄みを採取し, 活性化することによって放出される PDGF-BB, TGF- β 1 の量を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法にて測定した。

PRP 含浸ゼラチンハイドロゲルの作製

等電点 5.0 の酸性ゼラチン（新田ゼラチン株式会社より供与）水溶液へグルタルアルデヒドを加えた。この混合液を 96 well culture plate に流延後, 4℃にて 12 時間静置することによって化学架橋したゼラチンスポンジを得た。架橋ハイドロゲルを 100 mM 濃度のグリシン水溶液で 37℃にて 3 時間処理し, 未反応のグルタルアルデヒドあるいはアルデヒド基を不活性化した。次に, 蒸留水にて数回洗浄し, 凍結乾燥することによって架橋ゼラチンハイドロゲルを得た。作製されたゼラチンハイドロゲルの含水率は 98% であった。凍結乾燥したハイドロゲルをエチレンオキシドガス滅菌した後, PRP 200 μl を滴下, 37℃, 1 時間, 放置することで PRP 含浸ゼラチンハイドロゲルを得た。

徐放化 PRP における骨再生の評価

家兎の尺骨に作製した 10mm の骨欠損部へ PRP 含浸ゼラチンハイドロゲルを埋入した。対照群として、PRP とフィブリン糊との複合体、PRP のみを充填する群、ゼラチンハイドロゲルのみを埋入する群、および未処置の群を作製した。埋入 4 週後に骨欠損部を軟 X 線観察するとともに、それぞれの骨密度を DEXA 法により測定した。

統計処理

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

3. 結果と考察

徐放化 BMP-2 による骨再生誘導能

Figure 1 に軟 X 線観察、ならびに Figure 2 に骨密度測定の結果を示す。軟 X 線観察の結果、BMP の dose に依存せず骨再生を示す X 線不透過像が確認された。また骨密度測定の結果、50 および 200 μg の場合において正常骨と同等の骨密度が確認できた。これらの結果により、サルにおいてもマウスと同様の少ない BMP-2 投与量で骨再生を誘導することができることがわかった。次に、ハイドロゲルの生体吸収性を変化させることによる骨再生への影響を検討したところ、含水率が 97.8 wt% のハイドロゲルが最も高い骨密度を示した。より速く分解するハイドロゲル、すなわち BMP-2 の徐放期間の短いハイドロゲルを用いた場合、BMP-2 の徐放期間が短く、骨再生を誘導するには不十分であったと考えられる。逆に、より遅く分解するハイドロゲルを用いた場合、徐放化される BMP の量が少なく、骨再生を誘導するのに十分な局所の BMP 濃度が得られなかったと推測される。それに加えて、ハイドロゲルの骨欠損部での残存が骨再生を物理的に阻害したことが推測される。これらのバランスから、適度な BMP の徐放性が効率のよい骨再生誘導には重要であったと考えられた。また、以前、われわれのマウス背部皮下における研究¹¹⁾において最も骨形成誘導能が高かった、すなわち BMP-2 を約 1 ヶ月間徐放化することのできるハイドロゲルの場合と同様、霊長類の場合もその骨再生誘導能は最大となり、BMP-2 の徐放性によって骨欠損部の骨再生が変化することがわかった。これらの結果は、BMP-2 を適切に徐放化することによって、少ない投与量で霊長類において骨再生を誘導することができることを示唆している。

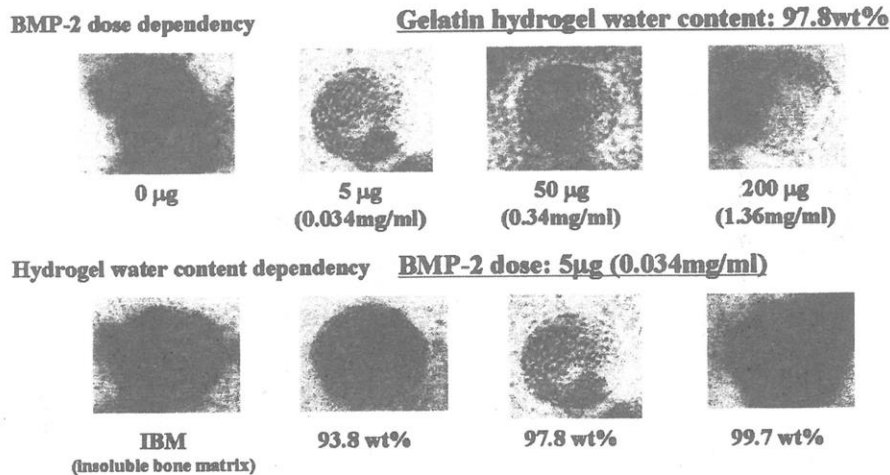


Figure 1 : Soft-X-ray observation of orthotropic bone formation at a skull bone defect of non-human primates 3 months after treatment

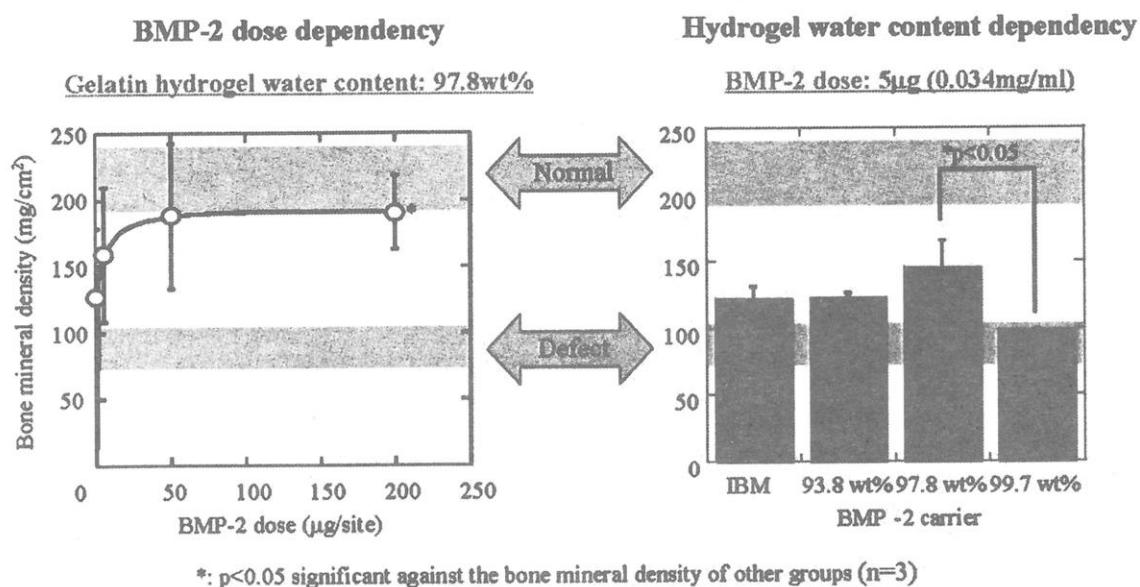


Figure 2. Effect of BMP-2 dose and dosage forms on bone mineral content at a skull bone defect of non-human primates 3 months after treatment

徐放化 PRP による骨再生誘導能

血小板は、コラーゲン、トロンビン、ガラスなどの活性惹起物質に接触することによって α 顆粒から PDGF-BB, TGF- β 1 などの細胞増殖因子を放出する¹⁴⁾。Figure 3 は PRP 中の血小板から放出された細胞増殖因子の定量結果である。血小板活性惹起物質であるトロンビン、ガラスと同様、ゼラチンによっても血小板から PDGF-BB, TGF- β 1 が放出されていた。この結果、ゼラチンに接触することによって、血小板が活性化され、それとともに細胞増殖因子を放出されることがわかった。

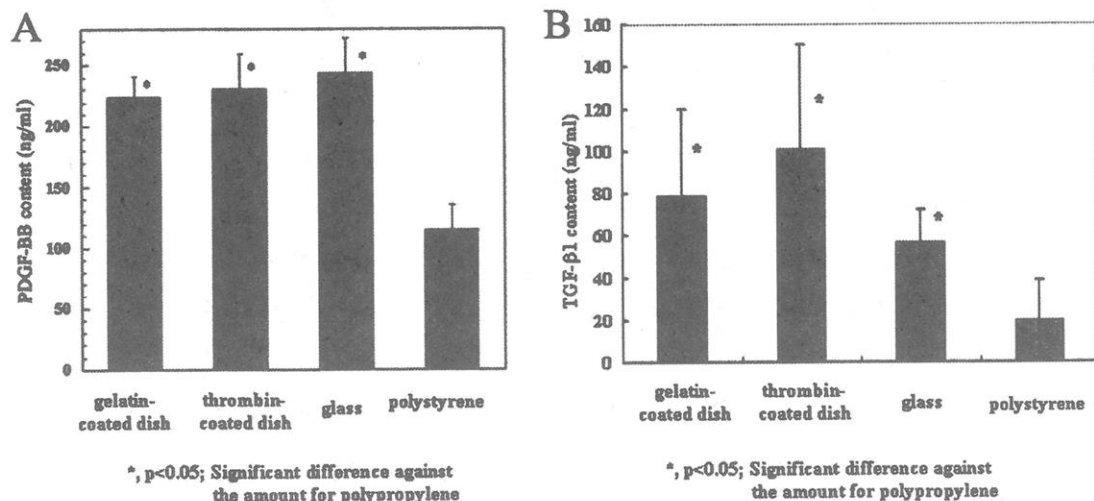


Figure 3. PDGF-BB (A) and TGF-β1 (B) contents in the soluble fraction of PRP after exposure to a gelatin-coated or thrombin-coated culture dish, glass, and culture dish.

次に、家兎骨欠損モデルによる骨再生の結果について示す。術後4週の軟X線観察の結果、PRP含浸ゼラチンハイドロゲル埋入群(a)とPRPとフィブリン糊との複合体(b)では欠損部に連続した骨再生を示すX線不透過像が確認できるが、PRP含浸ゼラチンハイドロゲル埋入群の方が強いX線不透過像が見られ高い骨再生を示した。一方、PRPのみを充填する群(c)、ゼラチンハイドロゲルのみを埋入する群(d)、および未処置の群(e)では連続したX線不透過像は確認できなかった(Figure 4)。各群の骨再生を定量的に検討するために、術後4週の骨欠損部の骨密度を、DEXAを用いて測定した結果、PRP含浸ゼラチン群は他の群に比べて、有意に高い値を示した(Figure 5)。これらの結果は、ゼラチンハイドロゲルを用いることによって、PRP中の細胞増殖因子が徐放化しPRP骨再生能が増強されたことを示している。

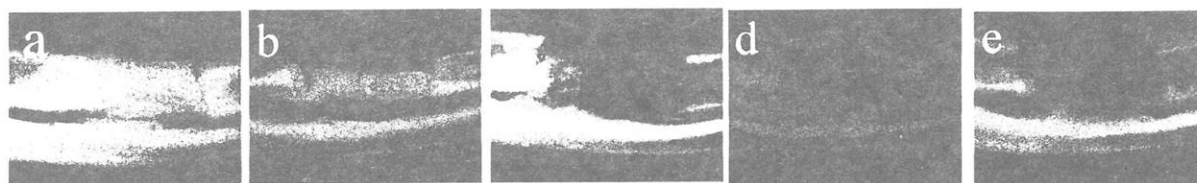


Figure 4. Radiographic pictures of ulna defects 4 weeks after application with a gelatin hydrogel incorporating PRP (a), a fibrin glue incorporating PRP (b), free PRP (c), and an empty gelatin hydrogel (d) or without any application (e). An arrow head indicates the edge of ulna bone resected.

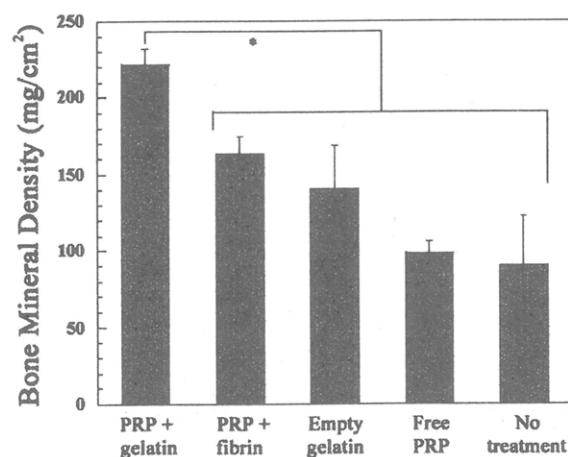


Figure 5. The BMD values at ulna defects 4 weeks after application with a gelatin hydrogel incorporating PRP, a fibrin glue incorporating PRP, an empty gelatin hydrogel, and free PRP or without any application.
*, $P < 0.05$; significance against the BMD value at the bone defect applied with the gelatin hydrogel incorporating PRP

以上の結果を考慮して、PRP 中の血小板細胞増殖因子のゼラチンハイドロゲルによる徐放のメカニズムを考察する (Figure 6)。まず、PRP 中の血小板がゼラチンハイドロゲルに接触するによって活性化され、 α 顆粒から種々の細胞増殖因子が放出する。次に、これらの細胞増殖因子がゼラチン分子と物理的相互作用し、ハイドロゲル内に固定化される。ゼラチンハイドロゲルの分解に伴うゼラチンの水可溶化によって、固定化されている細胞増殖因子はハイドロゲルから徐放されると考えられる。

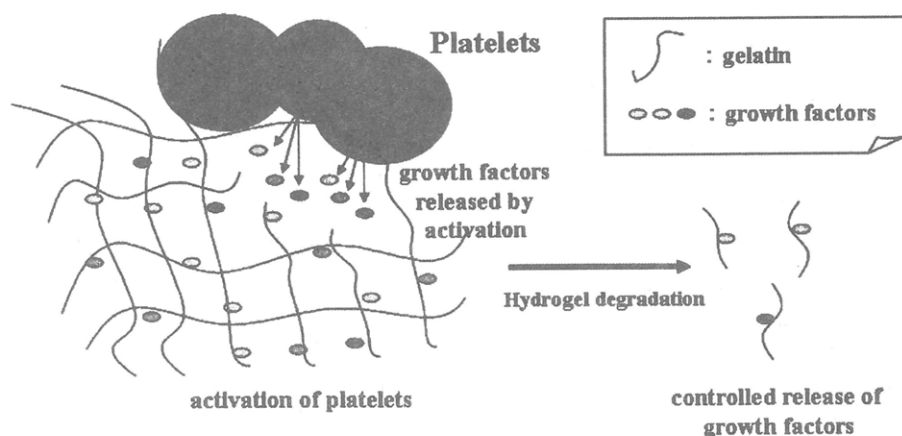


Figure 6. The schematic illustration of controlled release of growth factors present in PRP.

今後、ゼラチンハイドロゲルを用いた BMP-2 や PRP の徐放による骨再生の臨床応用を目的としたトランスレーショナルリサーチおよび前臨床試験のための動物実験を行う予定である。

おわりに

本研究は、水溶液状態の BMP では骨再生作用を示さないような低い投与量においても、それをうまく徐放化することによって、BMP の骨再生効果を発現増強できることを示した。また、効率のよい骨再生誘導には適度な BMP の徐放性が必要であることを見出した。

PRP 中の血小板細胞増殖因子の徐放化によって、細胞増殖因子の骨再生誘導能が増強され、骨欠損での骨再生が認められた。PRP は患者からの採取が可能であり、ゼラチンハイドロゲルも臨床使用できることから、実現可能な骨再生誘導法として、大いに期待される。

文献

- 1) Jung RE, Glauser R, Scharer P, et al. *Clin Oral Implants Res* 14: 556-568, 2003.
- 2) Marx RE, Carlson ER, Eichstaed RM, et al. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85, 638-642, 1998.
- 3) Wozney LM, Rosen V, Celeste AJ, et al. *Science* 242: 1528-1534, 1988.
- 4) Tabata, Y. *Tissue Eng* 9 Suppl 1: S5-10, 2003.
- 5) ドラッグデリバリーシステム DDS技術の新たな展開とその活用法 遺伝子医学別冊 田畑泰彦編 大阪 メディカルドウ 2003
- 6) ここまで進んだ再生医療の実際 田畑泰彦編 東京 羊土社 2003.
- 5) D. Zekorn. *Bib. Haemato* 33: 30-60, 1969.
- 6) Tabata Y, Hijikata S, Ikada Y. *J Controlled Release* 31: 189-199, 1994.
- 7) Yamamoto M, Tabata Y, Hong L, et al. *JControlled Release* 64: 133-142, 2000.
- 8) Ozeki M, Ishii T, Hirano Y, et al. *J Drug Targeting* 9: 461-471, 2001.
- 9) Yamamoto M, Takahashi Y, Tabata Y. *Biomaterials* 24: 4375-4383, 2003.
- 10) Tabata Y, Nagano A, Ikada Y. *Tissue Eng* 5: 127-138, 1999.
- 11) Weibrich G, Kleis WK, Kunz-Kostomanolakis M, et al. *Int J Oral Maxillofac Implants* 16: 693-699, 2001.
- 12) Marx RE. *J Oral Maxillofac Surg* 62: 489-496, 2004.

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol. 62
(Annual Report of the Research Institute for
Chemical Fibers, Japan: Vol. 62, 2005)
Published by
Nippon Kagakusen-i Kenkyusho
Kyoto, Japan

日 本 化 学 繊 維 研 究 所 第 62 回 講 演 集

2005年 3 月20日 印刷
2005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. 62

(Annual Report of the Research Institute
for Chemical Fibers, Japan : Vol. 62)

March 2005