

日 本 化 学 繊 維 研 究 所

講 演 集

第 6 8 集

2011年3月

日本化学繊維研究所 講演集

第 6 8 集

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol. 68
(Annual Report of the Research Institute
for Chemical Fibers, Japan : Vol. 68)

March 2011

2011年3月

財団法人 日本化学繊維研究所講演会（第68回）

〔第68回講演会：平成22年11月10日 京都大学桂キャンパス・桂ホール〕

目 次

1. らせん形成ペプチドを用いる分子組織化が示す新展開…………… (1)
京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 上 田 一 樹、木 村 俊 作
2. 未架橋ポリブタジエンの応力—ひずみ挙動：BKZ 型構成方程式による解析…………… (8)
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、阿久沢 典 男
3. 濃厚プラシ効果の発現を目指した新規グラフト型ゲルの創製…………… (12)
京都大学化学研究所 辻 井 敬 亘、中 原 亮
野 村 晃 敬、後 藤 淳
大 野 工 司
4. 高分子薄膜の特異物性の研究…………… (18)
京都大学化学研究所 金 谷 利 治、宮 崎 司¹⁾
¹⁾日東電工、²⁾山形大学 川 島 和 子、松 井 和 也
井 上 倫太郎、松 葉 豪²⁾
西 田 幸 次
5. 高分子ナノ微粒子による生体イメージング用分子プローブの設計…………… (23)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 伊 藤 紳三郎、青 木 裕 之
京都大学先端医工学研究ユニット
6. リビングラジカル重合による機能基の連鎖配列制御…………… (30)
—自立機能型高分子に向けて—
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 澤 本 光 男、大 内 誠
寺 島 崇 矢
- 特別講演 光機能性材料と共に生きて…………… (37)
三菱レイヨン株式会社常務執行役員 山 本 隆
7. 不斉液晶反応場でのヘリカル共役ポリマーの合成と…………… (45)
らせん構造形成メカニズムの解明
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 赤 木 和 夫、高 文 柱
8. ヒ素を用いた機能性材料の創製…………… (51)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 中 條 善 樹、中 建 介
梅 山 有 和、中 橋 明 子
峰 原 宏 樹
9. ナノ空間ガイドによる新規共連続構造を持つ3成分トリブロック…………… (56)
共重合体ナノ材料の創製
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 長谷川 博 一、赤 坂 哲
三 谷 明 子、阪 口 豪
逢 坂 武 次
10. 感熱高分子水溶液の相分離とレオロジー…………… (64)
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
小 島 広 之
11. X線CTによる高分子ブレンド共連続構造の3次元観察とレオロジー…………… (77)
京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科 高 橋 雅 興、西 川 幸 宏
畠 山 裕 康、谷 山 弘 行
12. 半屈曲性環状高分子の第2ピリアル係数…………… (85)
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 吉 崎 武 尚、井 田 大 地
中 臣 大 輔
13. DNAのパターン描画による細胞アレイの作成…………… (89)
¹⁾ 京都大学再生医科学研究所 岩 田 博 夫¹⁾、櫻 井 研 吾¹⁾
²⁾ 京都大学放射性同位元素総合センター 寺 村 裕 治²⁾
14. 軟らかさの異なるハイドロゲル細胞培養基材の作製…………… (99)
京都大学再生医科学研究所 田 畑 泰 彦、村 上 裕 子
糸 岡 朝 樹、山 本 雅 哉
15. 複数のブロック単位からなるポリ乳酸共重合体の合成と特性…………… (105)
京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科 木 村 良 晴、増 谷 一 成
中 嶋 元、青 木 隆 史

らせん形成ペプチドを用いる

分子組織化が示す新展開

上田一樹・木村俊作

Motoki Ueda, Shunsaku Kimura

京都大学大学院工学研究科材料化学専攻

1. 緒言

分子集合体は、構成成分が二次結合（水素結合・ファンデルワールス力・静電相互作用等）を介して自発的に自己集合化し、特定の形態を形成する。両親媒性分子の疎水性相互作用によって形成される分子集合体は、ミセル、ベシクル、チューブ、ファイバーなどのモルフォロジーを形成することが報告されており、さらに目的に応じた機能性を有する分子集合体を得るには、モルフォロジーの精密制御に関する研究が重要となっている。低分子、高分子を問わず、その構成分子の構造と分子集合体モルフォロジーの相関関係が既に明らかとなっている。近年、ポリマーやペプチドを用いた両親媒性分子が注目されており、特にペプチドは官能基の導入が容易なことや二次構造、ダイポールモーメントや水素結合など、分子集合体中の分子配向を制御する因子を自在に変えられることから分子集合体モルフォロジーの精密制御の研究に非常に適した分子である。これまでに、当研究室において右巻きの疎水性ヘリックスを有する両親媒性ポリペプチドを用いて均一なナノチューブ集合体の形成に成功している。^{1,2} また、この右巻きと左巻きのヘリックスペプチドを混合することでより安定なステレオコンプレックス膜を形成し、キラリティが見かけ上キャンセルされ、分子集合体がベシクル構造となることを明らかにしている。² そこで、今回、右巻きヘリックスペプチドとヘリックス部の長さに差分を設けた左巻きヘリックスペプチドを用いて、その混合による分子集合体のモルフォロジーを透過型電子顕微鏡（TEM）観察、円偏光二色性（CD）測定により評価した。その結果、様々なナノチューブを構築できることが明らかとなった。ナノチューブ構造は、ナノリアクタを始めとして多様な機能を発現する分子集合体として期待されている。

2. 結果と考察

2.1. 分子設計

今回用いた両親媒性ポリペプチドの構造式を Fig. 1 に示す。ロイシンとアミノイソ酪酸の交互配列 1 2 量体を疎水性部に使い、D-Leu を構成残基に用いることで左巻きヘリックスペプチド（S25D12）を合成した。これと組み合わせる右巻きヘリックスペプチドは、L-Leu を用いて合成し、また、残基数を化学合成で伸ばすことによりヘリックス部の長さが変え、1 4 量体

(S24L14)、16量体(S22L16)、20量体の各右巻きヘリックスペプチド(S25L20)をもつ両親媒性ヘリックスペプチドを合成した。これらの分子は構成要素が同じであり、キラリティ(ヘリシティ)とヘリックス部の長さ以外同一の性質を持っている。そのためヘリックスの長さの差が分子集合体のモルフォロジーにどのように影響するかをシミュレーションに評価することが可能で

ある。親水部にはポリ(*N*-メチルグリシン)(ポリサルコシン)を用いた。ポリサルコシンは親水性ポリマーとして知られるポリエチレングリコールと同様の親水性を示す。親水部の長さの違いがモルフォロジーに及ぼす影響を考えなくて良いように、ポリサルコシン鎖長を同じに揃えた。疎水性部は液相法にて合成し、親水性部はリビング重合となるNCA重合により鎖長を制御した。水中にてS25D12が左巻き、S24L14、S22L16、S25L20が右巻きの α ヘリックスをとることをCD測定にて確認した(Fig. 3b-e)。

2.2. 混合組成の分子集合体

疎水性部の鎖長の異なるS25D12とS24L14(DL14)、S25D12とS22L16(DL16)、S25D12とS25L20(DL20)の混合組成による分子集合体の形態評価を行った。調製はS25D12とS24L14、S22L16またはS25L20を等モル比(0.5 μ mmol / 0.5

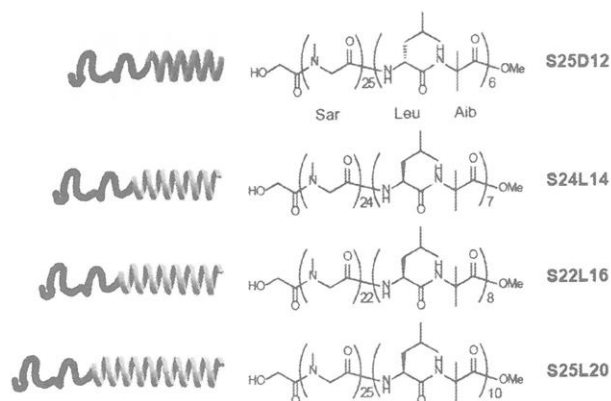


Figure 1. Molecular structure of the amphiphilic polypeptides. The (Sar)_m constitutes the unstructured hydrophilic block and (Leu-Aib)_n the hydrophobic α -helical block.

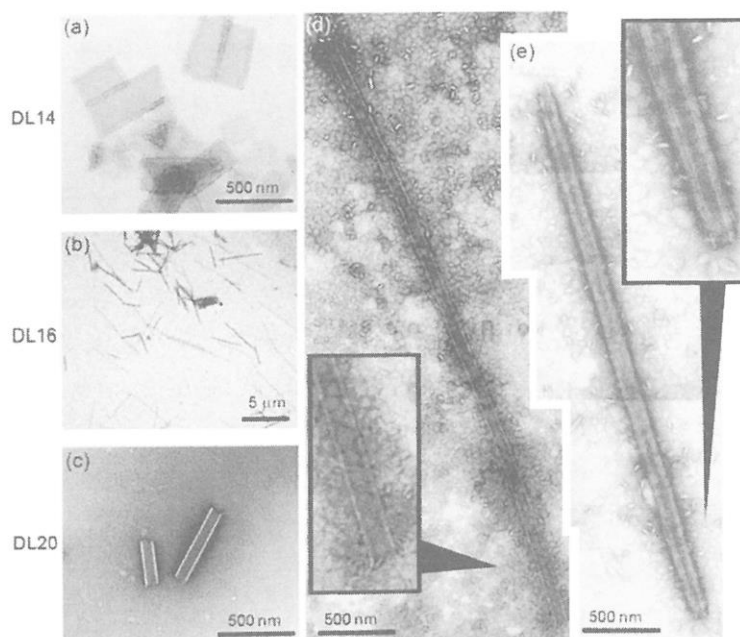


Figure 2. TEM images (negative staining with uranyl acetate, (a-e)) of molecular assemblies from equimolar mixtures of helical polypeptides S25D12 and S24L14, (a); S25D12 and S22L16, (b), (d), (e); S25D12 and S25L20, (c)). The assemblies were prepared in 10 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) (2 μ mol / 1 mL) by the ethanol injection method and heat treatment. (d) and (e) show the magnified views of (b).

μmol) で混合したエタノール溶液を、10 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) 1mL に分散させたのち 90 °C にて加熱処理を行った。

DL14 では、直径 200 nm、長さ 400 nm のナノチューブ構造と 200-300nm の平面シート構造が得られた (Fig. 2a and 5b)。DL16 では、50-200 nm の平面シート構造と非常に長いマイクロオーダーのナノチューブ構造が観察された (Fig. 2b, 2d, 2e and 5d)。チューブの直径は 70 nm、長さは 2-30 μm であった。このチューブは 2 種類に分類でき、従来のナノチューブをそのまま伸ばしたようなシングルレイヤーのチューブ (Fig. 2d) と、広いシートを筒状に丸めたようなマルチレイヤーのチューブである (Fig. 2e)。DL20 の場合、直径 70 nm、長さ 100-600 nm のナノチューブ構造と 300 nm のツイストリボン構造が得られた (Fig. 2c and 5e)。

2.3. CD 測定

それぞれの混合組成の分子集合体分散液を、Sephacryl S-100 カラムを通して精製した後に CD 測定を行った (Fig. 3a)。全ての分子集合体において 208 nm、222 nm に負のコットン効果が確認され、右巻きの α ヘリックスの存在が確認された。これらの 208 nm におけるピーク強度を、S24L14、S22L16、S25L20 の単一組成の CD スペクトル (Fig. 3b-d) のピーク強度と比較したところ、それぞれ 1.6 残基、3.4 残基、7.4 残基分に相当すること

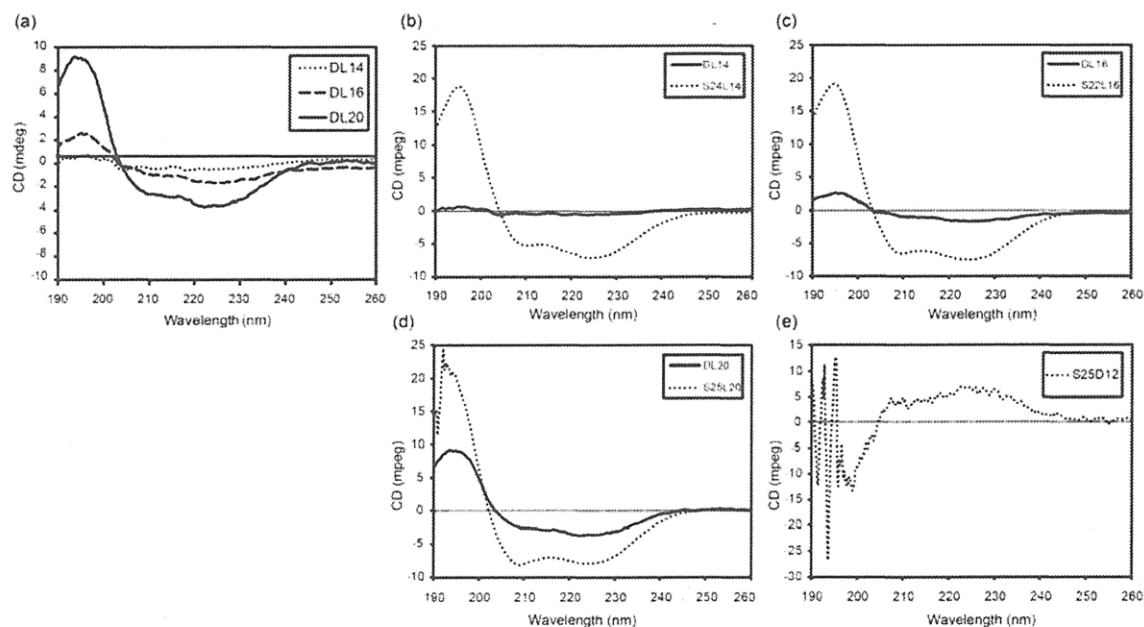


Figure 3. CD spectra of molecular assembly suspension from DL14, DL16, DL20; (a-d), S24L14; (b), S22L16; (c), S25L20; (d) and S25D12; (e), in a buffer. The amphiphilic polypeptides were injected into a 10 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) (0.18 mg / 1 mL), and then were heated at 90 °C for a specified period. CD spectra were measured after purification through a Sephacryl S-100 column (elution solvent: buffer).

がわかった。このことから、DL14 では S25D12/S24L14 が 1/0.97、DL16 では S25D12/S22L16 が 1/0.95、DL20 は S25D12/S25L20 が 1/0.93 で混合していることが算出され、それぞれのチューブ状分子集合体は、仕込みと同じ組成である、右巻きと左巻きのヘリックスペプチドの等量混合にて形成されていることがわかった。

2.4. 単一組成の分子集合体

さらに比較実験として S24L14、S22L16、S25L20、S25D12 のそれぞれ単一組成における分子集合体も同様の条件にて調製し、その形態を TEM 観察にて評価した (Fig. 4)。S24L14 は直径 70 nm、長さ 200 nm 程度のナノチューブ構造を、S22L16 は直径 100 nm 程度のベシクル構造を形成した。また、S25L20 において小さな平面シート、S25D12 においては直径 70 nm、長さ 200 nm 程度のナノチューブ構造が観察された。いずれも混合組成の分子集合体形態とは異なるものであった。これらの結果と CD 測定の結果から、混合組成にて調製した分子集合体構造はそれぞれの両親媒性ポリペプチドが等量で混合した膜によって形成された分子集合体構造であることが示された。

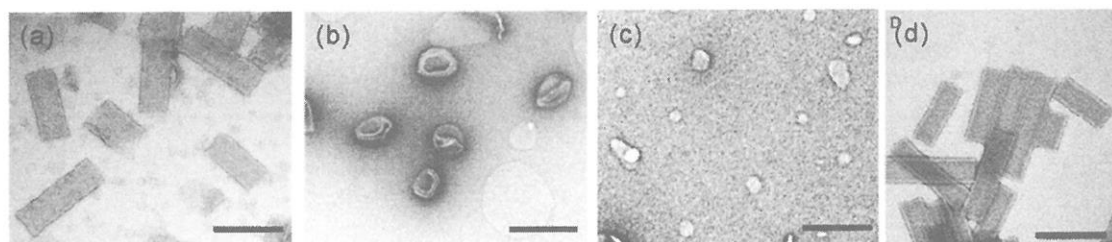


Figure 4. TEM images (negative staining with uranyl acetate; (a-c)) of molecular assemblies from single component of helical polypeptides S24L14; (a), S22L16; (b) and S25L20; (c) S25D12; (d)). The molecular assemblies were prepared in a 10 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) (1 μ mol / 1 mL) by the ethanol injection method after heat treatment at 90 $^{\circ}$ C for 1 h. The scale bars are 200 nm.

2.5. 曲率の考察

DL14 の場合、直径 200 nm のナノチューブが観察された。これは二つの両親媒性ペプチドの疎水鎖長の差分である右巻きヘリックスの 2 残基分が、分子集合体中におけるヘリックス間の分子配向に連続する一定の傾きを生み、曲がった平面構造が安定になったと考えられる。さらに、熱処理により、曲がった平面構造は、ナノチューブ分子集合体に変換された。S25D12 が形成するナノチューブに比べて、DL14 の場合曲率が小さくなったのは、ステレオコンプレックス形成によりが分子集合体の平面性が強くなるため考えられる。以前の報告において、疎水性ヘリックス部の長さが同一の S25L12

と S25D12 の混合組成がベシクル構造を形成することと比較すると、僅か 2 残基分でも余分なヘリシティが、分子集合体における分子配向やモルフォロジーに大きく影響することが示された。一方で DL16、DL20 ではそれぞれナノチューブの直径は 70 nm であった。疎水性ヘリックス鎖長の差分である 4 残基 (6 Å)、8 残基 (12 Å) のヘリシティが過剰に存在することによって、S25D12 の場合と同様の曲率が分子集合体形成において生じていることが明らかとなった。

2.6. チューブ形成メカニズム

加熱処理の時間を変えて TEM 観察を詳細に行い、分子集合体形成メカニズムを考察した (Fig. 5)。

DL14 では、24 時間の加熱処理にて加熱前に 20 nm×100 nm であった楕円平面シートが成長し 200 nm×400 nm の楕円平面シートとなった (Fig. 5a and 5b)。また、その成長した楕円平面シートが丸まってナノチューブ構造へと変化する途中の構造が多数観察されたことから、DL14 のナノチューブ形成メカニズムは Fig. 5g-l のようであると推察できる。この形成メカニ

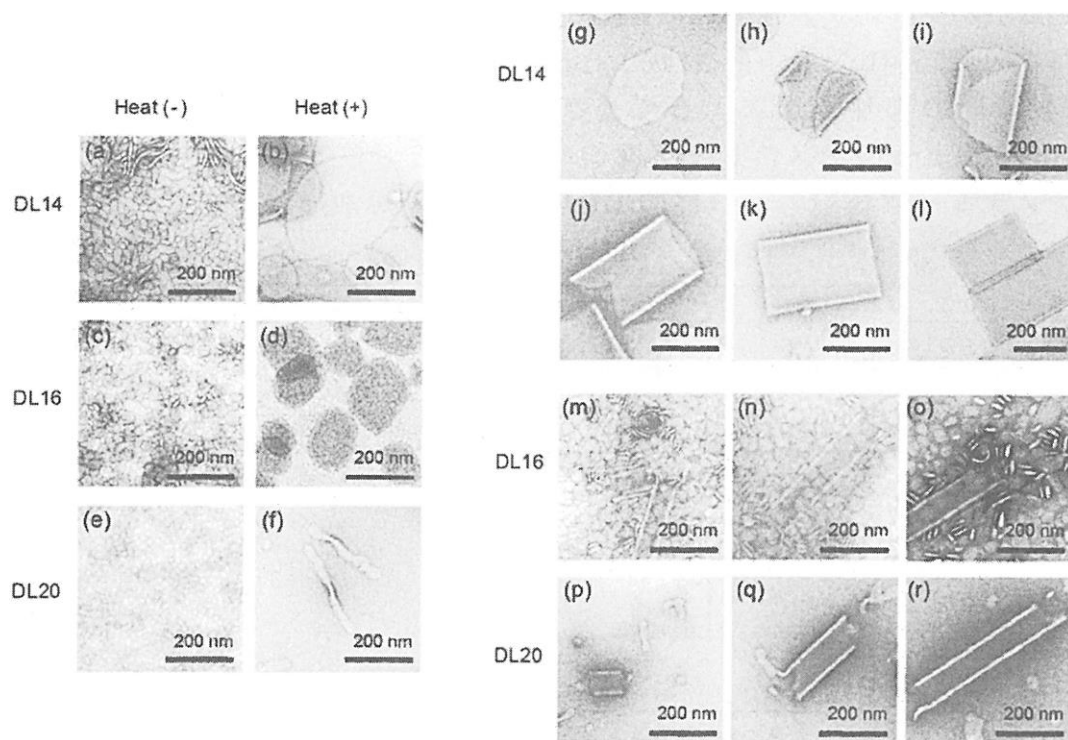


Figure 5. TEM images of each sheet structure of DL14, (a) and (d); DL16, (b) and (e); and DL20, (c) and (f). The formation mechanism from sheet or micelle to nanotubes of DL14, (g-l); DL16, (m-o); DL20, (p-r); respectively. The assemblies were prepared in 10 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4) (2 μ mol / 1 mL) by the ethanol injection method. Before heat treatment, (a), (c), (e); and after heat treatment at 90 °C for 24 h, (b), (d), (f) and (g-r).

ムでは一枚の平面シートの一辺がナノチューブの長さを決定するためほぼ均一な長さのナノチューブ構造が得られることが知られている¹⁾。このため DL14 は 400 nm 程度の長さをもつナノチューブ構造となる。これは TEM 画像から得られたチューブ長のヒストグラムと一致する結果である (Fig. 6a)。また更なる伸長はほぼ起こらず分子集合体内の再配向により開口部は平滑断面となると予想される。

DL16 でも、同様に 24 時間の加熱処理にて 30 nm×50 nm の平面シートが成長し、150 nm×200 nm の楕円平面シートとなった (Fig. 5c and 5d)。加熱時間を変化させた TEM 観察像から、長さが 200 nm 程度の短いナノチューブ構造が観察されており、平面シートが丸まることにより形成したものと考えられるが、同時にナノチューブの開口部に平面シートが融合し伸長する様子も観察された (Fig. 5m-o)。これにより、ナノチューブは少しずつ伸長し、マイクロオーダーのナノチューブが形成されたことが推察される。TEM 画像から算出されたチューブ長のヒストグラムも非常に分散が広いものであったことも、この考えを支持する (Fig. 6b)。また、このように平面シートが次々融合していくメカニズムのためチューブの開口部には不規則な形状のものが多かった。

DL20 においては DL14、DL16 とは異なり、加熱前において 20 nm のミセルと直径 70 nm、長さ 100 nm のナノチューブ構造が得られた。さらに 24 時間の加熱処理によって長さ 300 nm のツイストリボン構造と長さ 100-600 nm のナノチューブ構造へと形態変化した (Fig. 5e and 5f)。このナノチューブ構造の開口部は DL16 同様に不規則形状であり、また、小さい

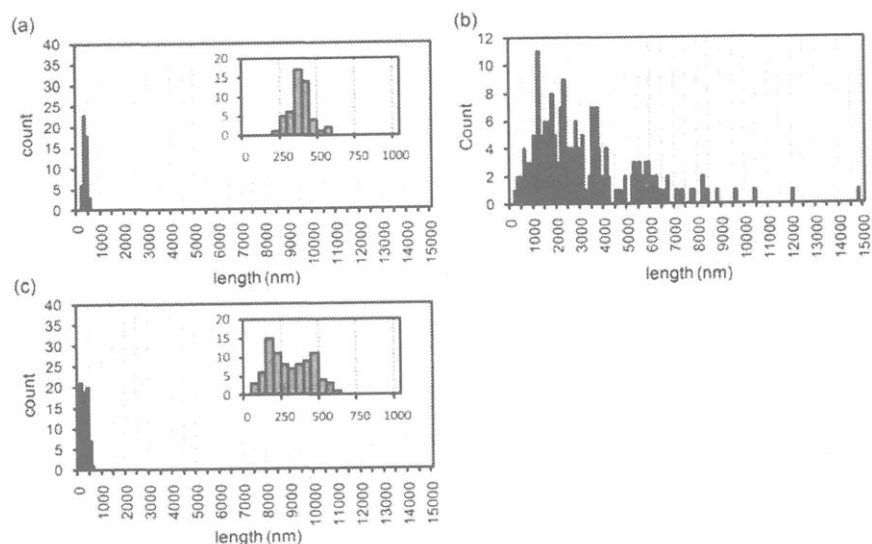


Figure 6. Histogram of the nanotube lengths of DL14; (a), DL16; (b), and DL20; (c) in a Tris-HCl buffer after heating at 90 °C for 24 h.

平面シートが開口部に融合している様子も観察されており、DL16と同様のメカニズムでナノチューブが形成したものと考えられる (Fig. 5p-r)。DL20においては疎水鎖長差が大きく、それによりナノチューブの伸長に必要な小さい平面シートがより安定なツイストリボン構造へと形態変化すると予測される。そのため、ナノチューブの伸長が妨げられ長さが短いものとなっている。

3. 結語

12残基からなる左巻き α ヘリックスおよびヘリックス部の長さの異なる14残基、16残基、20残基の右巻き α ヘリックスをそれぞれ疎水性部として持つ両親媒性ポリペプチドを用いて、それらの等量混合組成における分子集合体の形態評価を行い、疎水性ヘリックス部の長さの差分が分子集合体のモルフォロジーに及ぼす影響を評価した。差分が2残基の場合では、大きな平面シートからなる曲率の小さい直径200 nmで長さの均一なナノチューブ、4残基以上の差で、曲率が大きい直径70 nmで長い30 μ mまで伸長した剛直なナノチューブが形成されることが示された。このことからステレオコンプレックスによる膜安定化と、ヘリックスが会合するときの隣り合うヘリックス軸のねじれ角とのバランスによって、長さや直径の異なるナノチューブの設計・構築が可能であることが明らかとなった。

参考文献

- (1) Kanzaki, T.; Horikawa, Y.; Makino, A.; Sugiyama, J.; Kimura, S. *Macromolecular Bioscience* **2008**, *8*, 1026-1033.
- (2) Ueda, M.; Makino, A.; Imai, T.; Sugiyama, J.; Kimura, S. *Peptide Science* **2009** *2010*, *46*, 63-64.

未架橋ポリブタジエンの応力-ひずみ挙動：BKZ型構成方程式による解析¹

瀧川敏算・浦山健治・堀中順一・阿久沢典男

Toshikazu Takigawa, Kenji Urayama, Jun-ichi Horinaka, Norio Akuzawa,

京都大学大学院 工学研究科 材料化学専攻

1. はじめに

ゴムの力学的性質については古くから研究が行われている。一軸伸長だけでなく二軸伸長変化下でのゴムの挙動についても多くの研究者によって調べられてきた。破壊することなく大きな変形を加えられるゴムのような材料の力学挙動を記述するには、有限変形理論（大変形理論）が用いられる。この理論によると、ゴムの応力ひずみ挙動はひずみエネルギー（密度）関数 W が支配しているような構造になっている。 W は、ひずみ（あるいは伸長比）の代わりに3方向の伸長比（ $\lambda_i; i=1, 2, 3$ ）を用いて以下のように定義される3つの変数（ I_1, I_2, I_3 ）

$$\begin{aligned} I_1 &= \lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2 \\ I_2 &= \lambda_1^2 \lambda_2^2 + \lambda_2^2 \lambda_3^2 + \lambda_3^2 \lambda_1^2 \\ I_3 &= \lambda_1^2 \lambda_2^2 \lambda_3^2 \end{aligned} \quad (1)$$

の関数とみなされることが多い。変形前後で体積が変化しない（これはゴムでよく用いられる仮定であり、以下でも変形前後での体積変化はないと仮定する）ときには $I_3 = 1$ （定数）となるので、 W は $W = W(I_1, I_2)$ となる。体積変化がないとき W は一般に a_{jk} を定数として以下のように書ける。

$$W = \sum_{j,k=0}^{\infty} a_{jk} (I_1 - 3)^j (I_2 - 3)^k \quad (2)$$

上の表式のうち、展開を1次の項で打ち切った以下のものは

$$W = a_{10}(I_1 - 3) + a_{01}(I_2 - 3) \quad (3)$$

実験結果の解析によく用いられている。

実在のゴム（架橋網目系）の二軸伸長実験からは、 W の I_1 および I_2 に関する偏微分量（ $\partial W / \partial I_1$ および $\partial W / \partial I_2$ ）が得られる。これらの偏微分量は微小変形領域では奇妙な振る舞いをする。2種類の偏微分量の絶対値は変形が小さくなるにつれて増大する。この挙動は(3)式では記述することはできないし、(2)式を使っても記述することができない。

本研究の目的は未架橋網目系でも上に述べたひずみエネルギー関数の偏微分量の特異な挙動が見られるかどうかを調べることである。

2. 未架橋系での解析方法

応力からひずみエネルギー関数を求めるためには、変形による体積変化はないものと仮定してBKZモデルを用いた。このモデルでは、時間 t での余剰応力テンソル σ は

$$\boldsymbol{\sigma}(t) = \int_{-\infty}^t \left\{ 2 \frac{\partial U}{\partial I_1} \mathbf{C}^{-1}(t-t') - 2 \frac{\partial U}{\partial I_2} \mathbf{C}(t-t') \right\} dt' \quad (4)$$

与えられる。ここで、 U はひずみエネルギー関数、 $\mathbf{C}^{-1}$ と $\mathbf{C}$ は各々、フィンガーテンソルとコーシーテンソルである。 I_1 と I_2 は $\mathbf{C}^{-1}$ の第1および第2不変量である。時間 $t=0$ で変形が開始するような場合、 $\boldsymbol{\sigma}(t)$ を以下のように2つに分ける。

$$\boldsymbol{\sigma}_-(t) = 2 \int_{-\infty}^0 \left\{ \frac{\partial U}{\partial I_1} \mathbf{C}^{-1}(t-t') - \frac{\partial U}{\partial I_2} \mathbf{C}(t-t') \right\} dt' \quad (5a)$$

$$\boldsymbol{\sigma}_+(t) = 2 \int_0^t \left\{ \frac{\partial U}{\partial I_1} \mathbf{C}^{-1}(t-t') - \frac{\partial U}{\partial I_2} \mathbf{C}(t-t') \right\} dt' \quad (5b)$$

$\boldsymbol{\sigma}_+$ では、 $\partial U / \partial I_1$ と $\partial U / \partial I_2$ も $(t-t')$ の関数になるので、 $\boldsymbol{\sigma}_+$ の時間微分は

$$\dot{\boldsymbol{\sigma}}_+(t) = -2 \dot{G}(t) \left(\frac{\partial u}{\partial I_1} \mathbf{C}^{-1}(t) - \frac{\partial u}{\partial I_2} \mathbf{C}(t) \right) \quad (6)$$

と書くことができる。ただし、

$$U(t-t') = \dot{G}(t-t') u(I_1, I_2) \quad (7)$$

を仮定した。ここで、 $G(t)$ は緩和弾性率であり、 u が本研究で注目するひずみエネルギー密度関数である。他方、 $\boldsymbol{\sigma}_-$ の時間微分は、

$$\dot{\boldsymbol{\sigma}}_-(t) = 2 \dot{G}(t) \left(\frac{\partial u}{\partial I_1} \mathbf{C}^{-1}(t) - \frac{\partial u}{\partial I_2} \mathbf{C}(t) \right) + 2G(t) \frac{d}{dt} \left(\frac{\partial u}{\partial I_1} \mathbf{C}^{-1}(t) - \frac{\partial u}{\partial I_2} \mathbf{C}(t) \right) \quad (8)$$

となる。(6)式と(8)式の和をとると $\dot{\boldsymbol{\sigma}}$ についての式が得られ、これを t で積分すると、

$$\left(\frac{\partial u}{\partial I_1} \mathbf{C}^{-1}(t) - \frac{\partial u}{\partial I_2} \mathbf{C}(t) \right) - \left[\left(\frac{\partial u}{\partial I_1} \right)_{t=0} \mathbf{C}^{-1}(0) - \left(\frac{\partial u}{\partial I_2} \right)_{t=0} \mathbf{C}(0) \right] = \frac{1}{2} \int_0^t \frac{\dot{\boldsymbol{\sigma}}(s)}{G(s)} ds \quad (9)$$

となる。全応力($\boldsymbol{\Sigma}$)は、内部圧 p を用い、 $\boldsymbol{\Sigma} = -p\mathbf{I} + \boldsymbol{\sigma}$ と表されるので、時間微分については、

$\dot{\boldsymbol{\Sigma}} = -\dot{p}\mathbf{I} + \dot{\boldsymbol{\sigma}}$ が成り立つ。よって、 $t > 0$ では、

$$\left(\frac{\partial u}{\partial I_1} \mathbf{C}^{-1}(t) - \frac{\partial u}{\partial I_2} \mathbf{C}(t) \right) - \left[\left(\frac{\partial u}{\partial I_1} \right)_{t=0} \mathbf{C}^{-1}(0) - \left(\frac{\partial u}{\partial I_2} \right)_{t=0} \mathbf{C}(0) \right] = \frac{1}{2} \int_0^t \frac{\dot{\boldsymbol{\Sigma}}(s) + \dot{p}(s)\mathbf{I}}{G(s)} ds \quad (10)$$

となるので、一定のひずみ速度($\dot{\varepsilon}$)での平面伸長(planar extension; 伸長方向を1, 保持方向を2とする)の場合、

$$\frac{\partial u}{\partial I_1} = \frac{1 - \exp(2\dot{\varepsilon}t)}{4 \sinh(2\dot{\varepsilon}t) - 2 \sinh(4\dot{\varepsilon}t)} \int_0^t \frac{\dot{\Sigma}_{11}(s)}{G(s)} ds + \frac{\sinh(2\dot{\varepsilon}t)}{2 \sinh(2\dot{\varepsilon}t) - \sinh(4\dot{\varepsilon}t)} \int_0^t \frac{\dot{\Sigma}_{22}(s)}{G(s)} ds \quad (11a)$$

$$\frac{\partial u}{\partial I_2} = \frac{1 - \exp(-2\dot{\epsilon}t)}{4\sinh(2\dot{\epsilon}t) - 2\sinh(4\dot{\epsilon}t)} \int_0^{\dot{\epsilon}t} \frac{\dot{\Sigma}_{11}(s)}{G(s)} ds - \frac{\sinh(2\dot{\epsilon}t)}{2\sinh(2\dot{\epsilon}t) - \sinh(4\dot{\epsilon}t)} \int_0^{\dot{\epsilon}t} \frac{\dot{\Sigma}_{22}(s)}{G(s)} ds \quad (11b)$$

が得られる。

3. 実験

未架橋ゴム試料には、市販のポリブタジエンゴム (BR360L; 宇部興産) を用いた。この試料の数平均分子量 (M_n) と重量平均分子量 (M_w) は各々、 2.4×10^5 と 5.7×10^5 であり、*cis*, *trans*, *vinyl* の比は、*cis* : *trans* : *vinyl* = 98 : 1 : 1 と報告されている。二軸伸長試験用のシート状試料 (25 mm x 25 mm x 1 mm) は熱プレス法により作製した。せん断変形下での動的粘弾性および応力緩和実験には二軸伸長用のシート状試料を治具にあうように切り取って使用した。

二軸伸長試験は岩本製作所製の試験機 (BISS-0404) を用い、平面伸長様式で試験を行った。温度は室温 (23°C) であった。動的粘弾性および応力緩和試験には、ARES (レオメトリックサイエンティフィック) を使用した。平行円板型の治具を用い、0~40°Cで測定を行った。

試料のポアソン比を 0.5 と仮定して実験データの解析を行った。二軸伸長試験から得られた真応力 (σ_i ; $i=1, 2$) は以下に示すような時間 (t) の多項式で近似して解析した。

$$\sigma_i = \sum_{n=1}^5 a_{i,n} t^n \quad (i=1, 2) \quad (12)$$

ここで、 $a_{i,n}$ は定数である。

$i=1$ を伸長方向、 $i=2$ を保持方向とした。この σ_i が(11)式の Σ_{ii} に対応するものである。

4. 結果と考察

図1に BR360L のせん断変形下での応力緩和の様子を示す。加えたひずみ (γ) が 0.3 以下では、緩和弾性率 (G) にはひずみ依存性は現れず、 $\gamma=0.3$ での G は動的粘弾性関数から計算により求めた緩和弾性率とよく一致している。 γ が 0.3 より大

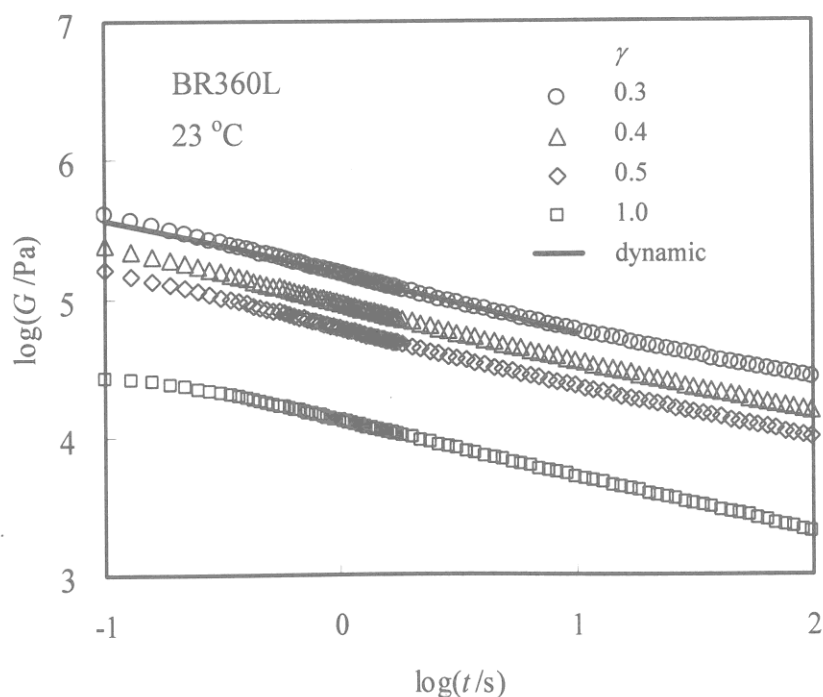


図1 BR360L の応力緩和曲線

きくなると G には γ 依存性が現れるが、形状には大きな変化はない。図中の曲線を直線で近似すると、

$$G \propto t^{-0.43} \quad (13)$$

となった。

図2はひずみ速度 ($\dot{\varepsilon}$) で平面伸長したときの真応力の時間依存性曲線である。図中の曲線は先に述べた多項式近似で得られた結果である。曲線は実験データをうまく表せているのがわかる。図2に示した応力の近似曲線を用いて計算した u の I_1 および I_2 に関する偏微分量の I_1 依存性を図3に示す。

I_1 が減少するにつれて $\partial u / \partial I_1$ は上昇し、 $\partial u / \partial I_2$ は減少する。後者は、 $I_1 \rightarrow 3$ では負の値をとっている。これらの挙動は、架橋網目の $\partial W / \partial I_1$ および $\partial W / \partial I_2$ の漸近挙動と同じである。 u の偏微分量の $I_1 \rightarrow 3$ での極限值は、 $\partial u / \partial I_1 \rightarrow 5/8$, $\partial u / \partial I_2 \rightarrow -1/8$ と予想される。実験から推定される値はこれらの予想値とそれほど大きな差はない。未架橋系でも微小ひずみ領域でのひずみエネルギー関数の偏微分量には特異な挙動が見られることがわかった。

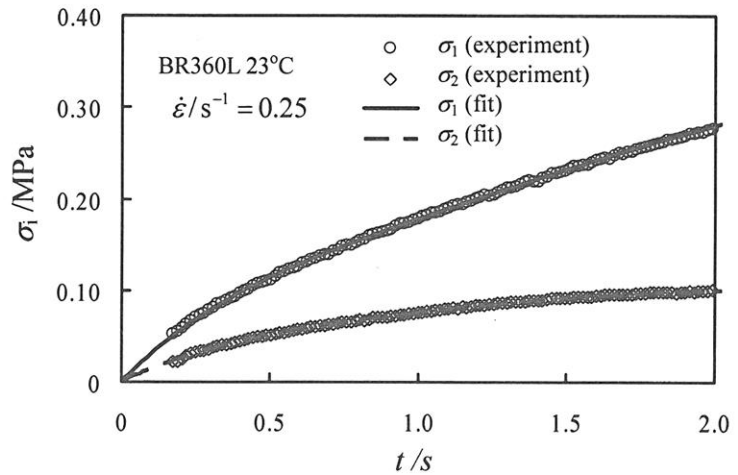


図2 BR360L の応力成長曲線

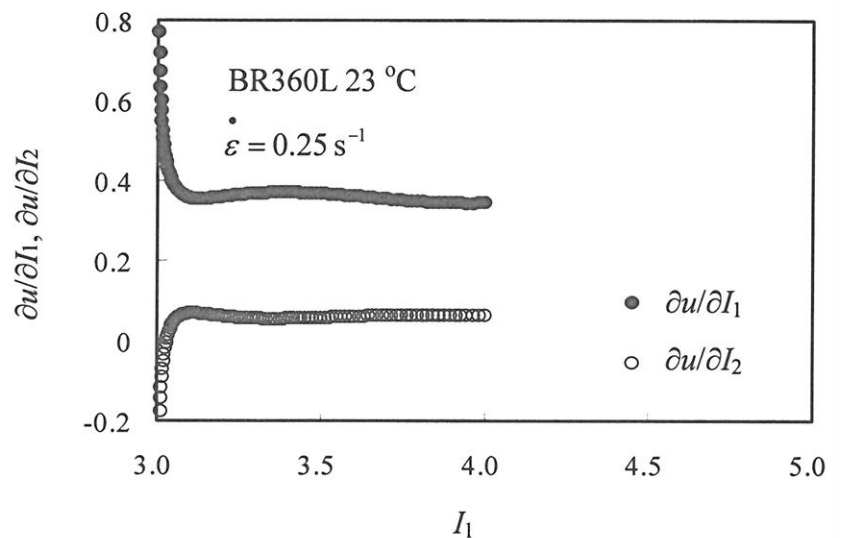


図3 u の偏微分量の I_1 依存性

参考文献

1. K. Urayama, N. Akuzawa, T. Takigawa, *Rheologica Acta*, **47**, 1015 (2008).

濃厚ブラシ効果の発現を目指した新規グラフト型ゲルの創製

辻井 敬亘・中原 亮・野村晃敬・後藤 淳・大野工司

Yoshinobu Tsujii, Ryo Nakahara, Akihiro Nomura, Atsushi Goto, Kohji Ohno

京都大学 化学研究所

1. 緒言

当研究室では、リビングラジカル重合の利用により、従来達成し得えなかった高いグラフト密度を有する“濃厚”ポリマーブラシの合成に成功するとともに、高伸張・高配向構造をとる、この新しい自発配向組織が、従来の改質表面・界面とは大きく異なる、魅力ある特性—特に、高弾性、超低摩擦性、明確なサイズ排除特性—を発現することを実証した¹⁾。さらに、これらの特性が、濃厚ブラシ層の大きな浸透圧と高度に延伸された分子鎖形態、すなわち、エントロピー駆動により発現する、膨潤濃厚ブラシに共通の特性（濃厚ブラシ効果）であると考察するに至り、様々な応用を検討している。材料設計の観点では、（従来の）いわゆる“準希薄”ポリマーブラシとの密度境界の評価

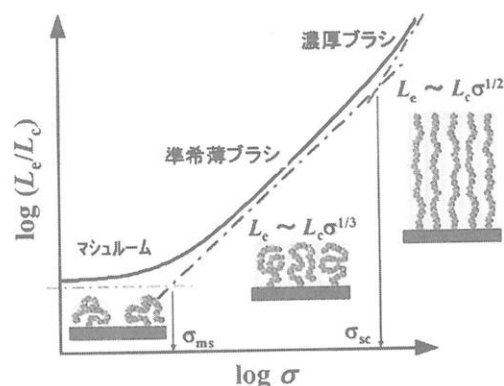


Fig.1 Illustrated structure of polymer brushes; plot of $\log(L_e/L_c)$ vs $\log\sigma$, where L_e and L_c are the swollen thickness and contour length of graft polymers, respectively, and σ is the graft density.

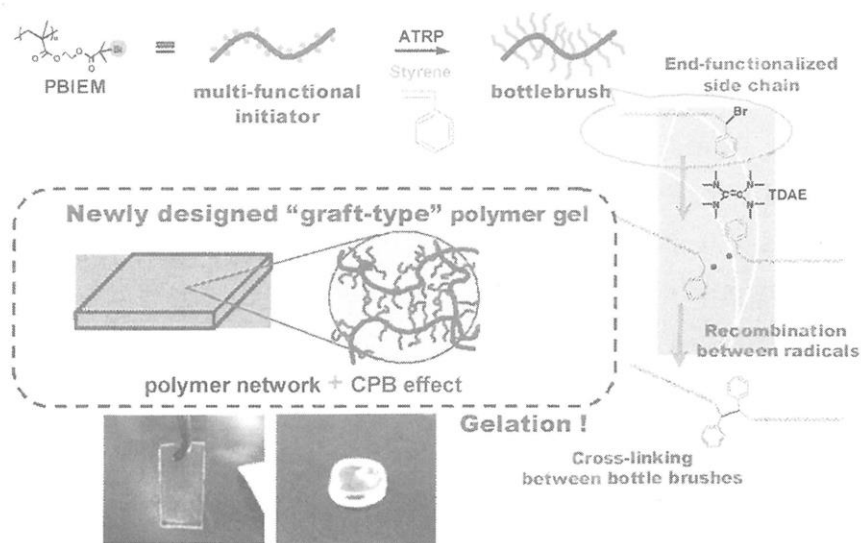


Fig.2 Strategy for newly designed soft-materials.

が重要と考えられ、これまでに、良溶媒中におけるポリマーブラシ膨潤度のグラフト密度依存性およびポリマーブラシ付与微粒子が形成する新規コロイド結晶の構造変化の研究により、その密度境界 (σ_{sc} ; Fig.1 参照) が表面占有率 (グラフト鎖断面積あたりの規格化密度; 最大 100%) にして 10% 程度であると見積もられた²⁾。

本研究では、これを設計指針として、濃厚ブラシと同等の物性、特に低摩擦特性を発現する高分子ゲルの創製を検討した。具体的には、鎖長の揃った多数のグラフト側鎖を持つボトルブラシを合成し、グラフト鎖末端架橋によるグラフト型ゲルの作製を試みた (Fig.2)。ボトルブラシの形状に鑑みると、分子鎖特性に大きく影響する最外表面における有効グラフト密度はグラフト鎖長とともに減少し、最外表面特性濃厚ブラシ領域から準希薄ブラシ領域へと変化する考えられ、濃厚ブラシ効果の発現には鎖長制御が不可欠である。

2. アミン触媒によるラジカルカップリング反応

後述するボトルブラシ側鎖の末端架橋への適用を目的に、モデル系として、アミン触媒による (1-bromoethyl)benzene (BEB) 同士のラジカルカップリング反応について検討した (Fig.3 参照)。アミン触媒としては、Br 引き抜きに有効とされる tetrakis(dimethylamino)ethylene (TDAE) を用いた³⁾。

¹H-NMR 測定の結果、BEB のメチルおよびメチンプロトンに帰属されるピークの減少およびカップリング生成物である 2,3-diphenylbutane (DPB) のメチルプロトンに相当するピークの増大が観測され、それぞれの時間変化を Fig.4 にプロットした。なお、反応終了後、シリカゲルカラム分離により DPB を単離し、その生成を確認した。BEB の減少速度から、反応速度定数は $5 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ と見積もられた。また、カ

ップリング生成物の収率は約 60% であった。次いで、反応溶液に 2,2,6,6-tetramethylpiperidiny-1-oxy (TEMPO) を添加し、Br の引き抜きによって生成するラジカルを捕捉を試みた。¹H-NMR により、該当するニトロキシルアミンの生成を確認した。TEMPO 添加によって、BEB の減少速度はほとんど変化せず、これは、TDAE を用いたラジカル生成において逆反応 (可逆的不活性化反応) がほとんど起こ

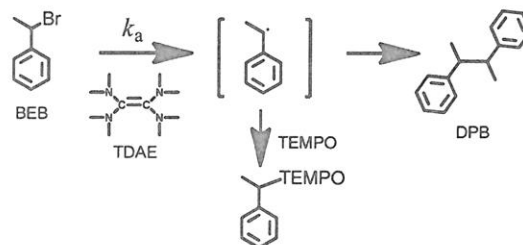


Fig.3 Reaction scheme of BEP by TDAE with and without TEMPO.

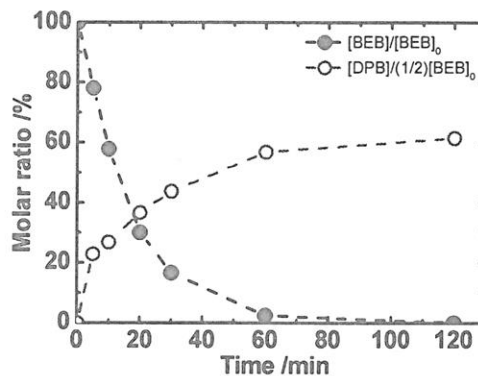


Fig. 4 Time evolution of BEB and DPB concentrations at 110°C in anisole solution; [BEB] = 120 mM, [TDAE] = 240 mM.

らず、効率的にカップリング反応が進行したことを示唆する。一方、Cu 触媒によるラジカルカップリング反応も可能である。これまでに、Cu(0)の添加によりカップリング反応の効率化（ラジカル濃度の増大）が報告されたが⁴⁾、上記 TDAE 系実験と同等な条件で CuBr/4,4'-bis(5-nonyl)-2,2'-bipyridine 触媒を用いた場合、カップリング反応はほとんど進行しなかった（速度定数に換算しておよそ 1/10）。重合制御には不適であるが、TDAE/Br 系は可逆的不活性化反応が起こらず、ラジカルカップリング反応に有効であることを確認した。

3. グラフト型ゲルの合成および特性解析

上記のように、TDAE を用いた Br 引き抜きによるラジカルカップリング反応が効率的に進行することが確認されたため、次に、この反応をボトルブラシ間架橋に利用したグラフト型ゲルの合成を検討した。まず、鎖長の制御された poly(styrene) (PS) 側鎖を有するボトルブラシを合成するために、ラジカル重合により得た poly(2-(2-bromoisobutyryloxy)ethyl methacrylate) (PBIEM, Fig.2 参照) をマクロ開始剤として、モノマー (styrene)、銅触媒および溶媒を混合し、原子移動ラジカル重合 (ATRP) によるグラフト重合 (grafting-from) を行った。重合後、グラフト鎖結合点に位置するエステル結合の加水分解によりグラフト鎖を切断し、PS 側鎖の分子量（数平均分子量 $M_{n,PS}$ 、分子量分布指数 $M_{w,PS}/M_{n,PS}$ ）を GPC ならびに MALDI-TOF MS 測定により評価した。GPC 解析の例を Fig.5 に示す。これにより、狭い分子量分布（ $M_{w,PS}/M_{n,PS} = 1.2$ ）と高いグラフト効率（PBIEM 開始効率 > 95%）、すなわち、グラフト重合の制御を確認した。

一方、ボトルブラシと TDAE を含む溶液を Si 基板上にスピコートし、得られた薄膜をアルゴン雰囲気下 120°C で 1 時間の熱処理を施したところ、良溶媒にも不溶な

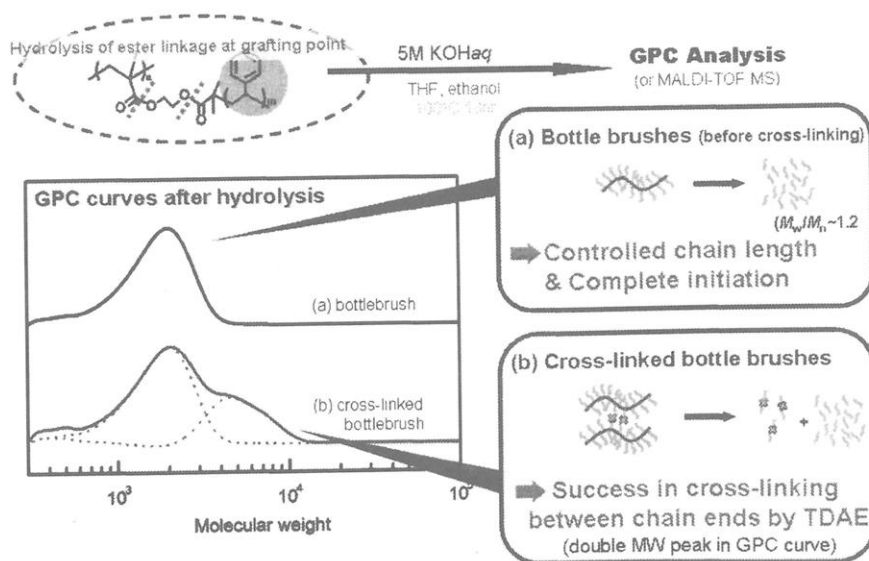


Fig.5 Characterization of (a) bottle brush and (b) its cross-linked gel: GPC traces after cleavage.

ゲル薄膜が得られた。このゲル薄膜についても、加水分解によるグラフト鎖の分子量定量を行ったところ、用いたボトルブラシの側鎖に対し約2倍の分子量を有する生成物 (Fig.5b のショルダー成分に対応) が確認され、TDAE による末端間架橋の進行が示唆された (例えば図に示す条件では、架橋率 25%)。

4. グラフト型ゲルにおける表面摩擦特性の評価

このようにして得られたボトルブラシ架橋ゲル薄膜を良溶媒で十分洗浄した後、toluene 中、PS 濃厚ブラシを付与したシリカ粒子 (直径 $10\ \mu\text{m}$) をプローブとして、原子間力顕微鏡 (AFM) により (AFM コロイドプローブ法; Fig.6a 参照)、ミクロスケール接触下における表面摩擦特性の評価を行った⁵⁾。測定には、異なるグラフト鎖長を持つグラフト型ゲル薄膜を用いた。この際、TDAE 濃度、従って、架橋密度を調節することで各サンプルの膨潤度をほぼ統一した。Fig.7a に、各サンプルに対する動摩擦係数 μ のずり速度依存性を示す。側鎖分子量の小さいサンプル ($M_{n,PS} < 1300$) では μ 値がずり速度 v に依存 (両者にはべき乗則が成立) し、流体潤滑機構が示唆されるとともに、低速度域では μ 値が 10^{-4} オーダーと PS 濃厚ブラシ同士の値に匹敵することが明らかとなった。

興味深いことに、グラフト鎖長の長短により摩擦挙動が大きく変化し、特に低速度領域では2桁近く異なる μ 値を与えた。これは、グラフト鎖が長くなるにつれてボトルブラシの最外表面積が増大し、結果として最表面における有効グラフト密度が低下したためであると考察される。すなわち、有効グラフト密度について濃厚ブラシ領域

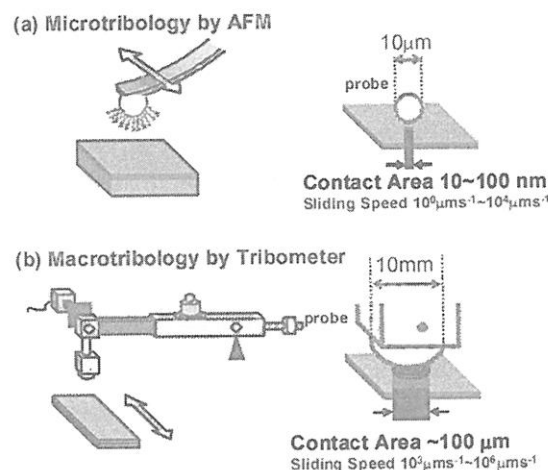


Fig.6 Tribologic measurement by (a) AFM and (b) tribometer.

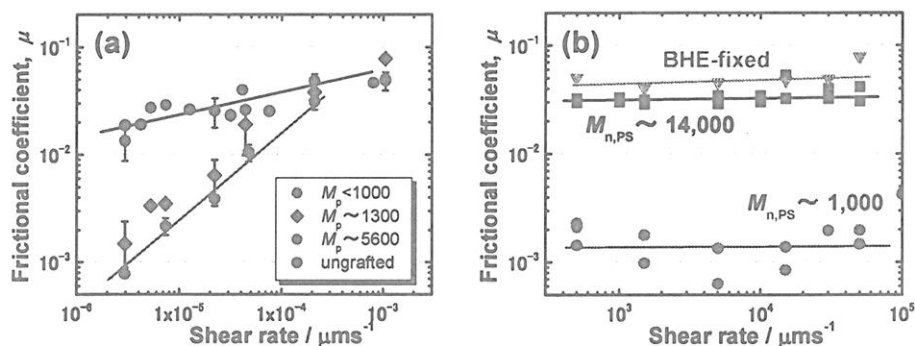


Fig. 7 Plot of frictional coefficient μ vs shear rate v for bottle-brush type of gels in toluene under (a) microscopic and (b) macroscopic contacts measured by AFM and tribometer.

から準希薄ブラシ領域への変化に起因すると考えられ、当初の目論み通りグラフト鎖長の精密制御がグラフト型ゲルの表面特性に大きく影響することが明かとなった。

次に、ゲル表面のマクロな摩擦特性を評価すべく、往復摺動型トライボメータを用いて、toluene 中における表面摩擦力の測定を行った (Fig.6b)。測定プローブとしては、直径 10 mm、曲率半径 7.8 mm のガラスレンズ表面に PS 濃厚ブラシ ($M_n = 24,000$) を付与したものを用いた。Fig.7b に示すように、グラフト鎖長の短い ($M_{n,PS} \sim 1,000$) ボトルブラシからなるグラフト型ゲル薄膜は、グラフト鎖長の長いもの ($M_{n,PS} \sim 14,000$) および重合開始基層のみの基板と比べると、 μ 値にして二桁程度低く、ミクロスケール接触下で測定された、低ずり速度の値とほぼ同程度であった。側鎖長を制御したグラフト型ゲルが、マクロスケール接触においても表面極低摩擦特性を発現しうることが実証された。

興味深いことに、ミクロスケール接触下では認められた摩擦係数の速度依存性が、マクロスケールにおいてはほとんど認められなかった。これは、潤滑機構とも深く関わった結果と考えられる。今後、膨潤膜厚や流体潤滑層厚の定量的な評価を実現し、議論を深めていきたい。

5. 最後に：新規トライボマテリアルの創成に向けて

以上のように、ボトルブラシにおいても側鎖長の制御により濃厚ブラシ効果を発現しうることが明らかとなった。ボトルブラシの主鎖（コア）部分として、ナノファイバーの利用は興味深い。コア径の増大は、より長い側鎖においても濃厚ブラシ効果を発現するのみならず、フィラーとして機械的物性の向上に繋がると期待される。そこで、コアとしてセルロースナノファイバー (CNF) の利用を検討した。CNF は高い結晶化度に加え、表面水酸基を利用した重合開始基の導入が可能である。CNF としてヒノキ解繊物ならびにバクテリア産生物（バクテリアセルロース）を対象に、表面水酸基のブロモエステル化 (ATRP 開始基) ならびにスチレンの表面グラフト（表面開始 ATRP）を試み、ポリマーブラシ付与 CNF の合成に成功した。現在、TDAE を用いた架橋によるボトルブラシ/CNF 複合材料の合成に取り組んでいる。これまでに、予備実験として、ブロモエステル型開始基を固定化した CNF を 2.0 wt%含むボトルブラシ

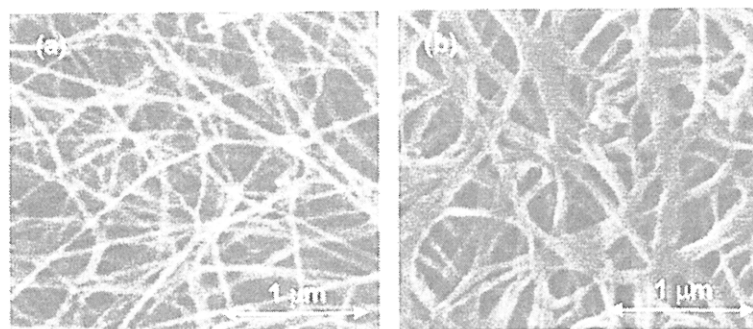


Fig. 8 SEM micrographs of bacteria-cellulose nanofibers (a) before and (b) after surface-initiated graft polymerization of styrene.

型ゲルの調製に成功し、表面低摩擦性を確認した。新規トライボマテリアルとして、高強度と極低摩擦特性の両立も視野に入れた検討を行う予定である。ナノファイバーとボトルブラシの階層化材料としては、生体間接の間接軟骨により手本を見ることができる。当該系は、ボトルブラシ状のプロテオグリカン集合体がコラーゲンナノファイバーで補強された構造を形成している⁷⁾。この系では、解離基による静電相互作用が低摩擦性発現に大きく貢献していると考えられるが、本研究ではこれを濃厚ブラシ効果に置き換え、非水系での低摩擦性の実現が期待される。新規階層化ソフトマテリアルとしても興味深いと考えている。

参考文献

- 1) (a) Tsujii Y, Ohno K, Yamamoto S, Goto A, Fukuda T, *Adv. Polymer Sci.* **197**, 1 (2006);
(b) Fukuda T, Tsujii Y, Ohno K, *Macromolecular Engineering. Precise Synthesis Materials Properties Applications*, ed Matjaszewski K, Gnanou Y, Leibler L, Wiley-VCH, Chapter 11, 2007.
- 2) Ohno K, Morinaga T, Takeno S, Tsujii Y, Fukuda T, *Macromolecules*, **40**, 9143 (2007).
- 3) (a) Nishiyama Y, Kawabata H, Kobayashi A, Nishino T, Sonoda N, *Tetrahedron Lett.* **46**, 867 (2005); (b) Nishiyama Y, Kobayashi A, *Tetrahedron Lett.* **47**, 5565 (2006).
- 4) Yoshikawa C, Goto A, Fukuda T, *E-Polymers* #013 (2002).
- 5) Tsujii Y, Nomura A, Okayasu K, Gao W, Ohno K, Fukuda T, *J. Phys., Conf. Ser.*, **184**, 012031 (2009).
- 6) 笹田, 塚本, 馬淵, バイオトライボロジー, 産業図書, 1988.

高分子薄膜の特異物性の研究

金谷利治, 宮崎司¹, 川島和子, 松井和也, 井上倫太郎, 松葉豪², 西田幸次
京都大学化学研究所, ¹日東電工(株), ²山形大学大学院理工学研究科

1. はじめに

最近のナノテクノロジーの進展は凄まじく, これまでは考えることのできなかったような小さな高性能デバイスが次々に作り出される. これに伴い, 表面コーティングや表面修飾のためにより薄い高分子膜への要求も強くなってきている. 時には高分子の非摂動鎖サイズよりも薄い膜が要求される. このような状況を反映してここ 10~15 年程度の間 X 線・中性子反射率, エリプソメトリー, 原子間力顕微鏡(AFM), 誘電分散測定等により高分子薄膜の研究が盛んに行われて, バルク状態では想像もできなかった異常な物性が報告されている[1,2]. 例えば, 膜厚が数十 nm 以下になると膜厚低下によりガラス転移温度や熱膨張係数が減少することや, 非常に大きなアニール効果や遅い緩和過程が存在することなどが分かってきた.

本稿では, これら高分子薄膜の異常な熱物性とその安定性について X 線反射率および中性子反射率を用いて調べた結果について報告する.

2. 実験

ここで紹介する実験結果は主にスピコートによりシリコン基板上に作成したポリスチレン (PS) 薄膜についてのものである. 後述するが, スピコート法では簡便に非常に薄い高分子膜を作成できるがその物性, 特に熱安定性については注意が必要である. このことを示すことも本稿の一つの目的である. 断らない限り使用したポリスチレンはアタクチックで, 分子量は約 30 万の単分散であり, 回転半径 R_g は約 15 nm である. また, ガラス転移温度は 100°C である.

X 線反射率測定は, 自作の装置で行い, 中性子反射率測定は東海村 JRR3 の MINE 分光器とラザフォードアップルトン研究所 ISIS の CRISP 分光器を用いた.

X 線・中性子反射率測定の利点は多々あるが, 本研究のような単純な単成分の高分子薄膜研究においては, 他の方法に比べもっとも力を発揮するのは, その厚さ方向の厚み分解能である. 例に初期膜厚~17nm の PS 薄膜の X 線反射率 (波長 1.54Å) の温度依存性を示す (図 1) [3]. このデータを解析すると, 0.1Å 程度の分解能で膜厚を決定でき, 非常に小さな膜厚の変化を測定することができ, かなり詳細な研究が展開できる. 中性子反射率測定の大きなメリットは, 化学的にほとんど同じ重水素と軽水素を見分けることができることであろう. その利点を利用した実験を後半で 1 つ示す.

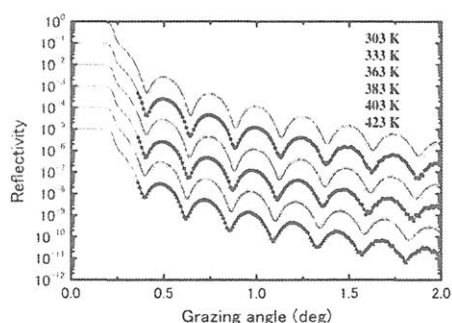


Fig. 1. X-ray reflectivities for a film $d = 17.8$ nm at various temperatures.

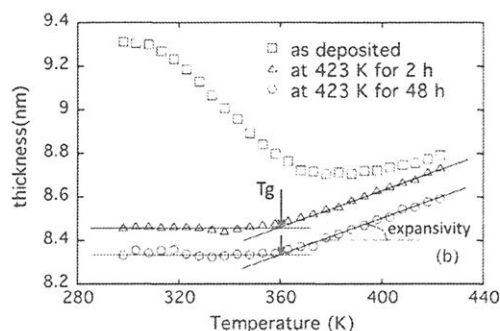


Fig. 2. Temperature dependence of film thickness for various annealing conditions.

3. 高分子薄膜の安定性

スピコート法は非常に簡便な薄膜作製法であるが、その膜の性質については意外と知られていない。図2にスピコートで作成した初期膜厚約9nmのポリスチレン薄膜の厚みの温度依存性を示す[3]。スピコート後に室温で乾燥し、高温アニールをせずに測定すると、温度上昇に伴い膜厚が減少する。言い換えれば、「負の熱膨張係数」が観察されたことになる。しかし、ガラス転移温度より50℃上の423Kで2時間アニールすると、負の膨張係数は観測されなくなった。このことより、1990年代に話題となった高分子薄膜の負の膨張係数の原因がアニール不足のために起こった構造緩和によると考えられる。さらに、注目していただきたいのは、423Kで48時間アニールすると、温度に対する傾きである膨張係数 α や、その傾きが変わる温度であるガラス転移温度 T_g は変化しないが、膜厚そのものが8.5nmから8.3nmへ少し減少していることである。

この原因を確かめるために、423Kで長時間のアニール実験を行い、膜厚の時間変化を追跡した。その結果が図3である。アニール後1-2時間で膜厚は減少するが、これは通常バルクなどでも見られるアニール現象である。しかし驚いたことに、膜厚が10nm以下では30~50時間の長時間をかけて膜厚が徐々に減少していくという、驚くべき長時間緩和が観測された[3]。同じような長時間緩和が薄膜の脱濡れ現象においても報告されている[4]。さらに、長時間のアニールの後、室温に戻すと熱膨張係数に従い収縮が起こるが、その後数日をかけて膜厚が室温で再膨張をする。このようにスピコートで作成した薄膜は非常に不安定であると考えられる。

逆説的ではあるが、ガラス転移温度以上で十分にアニールした薄膜では、上述の非

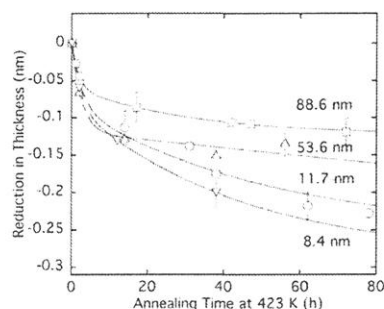


Fig. 3. Reduction of film thickness during annealing process at 423 K.

常に長い緩和以外は、ガラス転移温度や熱膨張係数について再現性のよいデータが得られる[5]。これは、長時間緩和があまりにも遅いため、通常のガラス転移や熱膨張係数測定の時間スケールで影響を与えないためである。このように非常に長時間アニールした試料のガラス転移温度 T_g とガラス状態における熱膨張係数を膜厚の関数として図 4a と図 4b に示した。十分にアニールした後においてもガラス転移温度も膨張係数も膜厚減少に伴い減少し、膨張係数は 10nm 以下ではほぼゼロとなった。この現象の本質については、まだ議論の決着はついていないが、以下に現時点での考えを示そう。

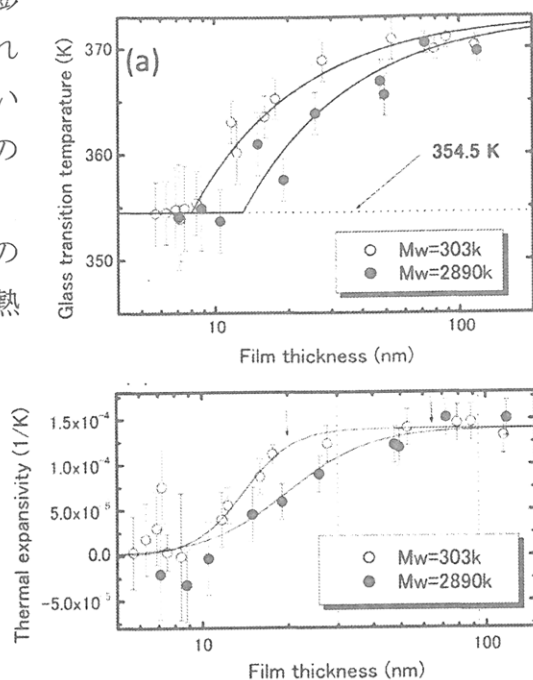


Fig. 4. (a): Film thickness dependence of glass transition temperature T_g , (b): Film thickness dependence of thermal expansivity in glass state.

4. 高分子薄膜の疑似多層構造

梶山らのグループは AFM を用いた高分子薄膜の表面 T_g の研究を精力的に行い、薄膜の表面層は自由体積が多くそのためガラス転移温度が低いとの結論を下している[6]。もっともな説明である。しかし、初期の Keddie [7] たちのエリプソメトリーによる実験では、ポリメチルメタクリレート (PMMA) をシリコン基板上にスピコートした場合には、膜厚低下に従いガラス転移温度 T_g が上昇した。これは PMMA と基板の相互作用により界面層が動きにくくなったためであると解釈できる。では PMMA の表面層は動きやすくないのであろうか？ともかく、薄膜においては表面や界面層は内部のバルクに近い層とは大きく性質が異なることが予想できる。ここでは詳細は示さないが、我々が非弾性中性子散乱で PS 薄膜の運動性を平均自乗変位 $\langle u^2 \rangle$ で調べたところ、図 5 に示すように膜厚減少にともない $\langle u^2 \rangle$ は減少し、ガラス転移温度 T_g は低下するにも拘らず、膜はガラス状態では平均的に動きにくくなっていることが分かった[8]。これらのことより、界面層と表面層、さらには内部の層の挙動の兼ね合いで種々の異常現象が引き起こされていると考えられる。すなわち、薄膜全体の平均的なガラス転移温度や熱膨張係数を調べているだけでは、高分子薄膜の異常な熱物性を解明することは困難であり、薄膜内部での各物理量の分布を調べることを必須であることを示唆している。実際、Torkelson ら[9]の蛍光分子を含む多層薄膜を用いた実験や我々の非ガウスパラメーターを用いた非弾性中性子散乱実験[10]は明らかに高分子薄膜が疑似多層構造を持つことを示唆している。このような背景を踏まえ、我々が最近行った重水素化 PS と軽水素化 PS の 3 層薄膜による薄膜内ガラス転移温度の分布を決めた実験を以下に紹介する。

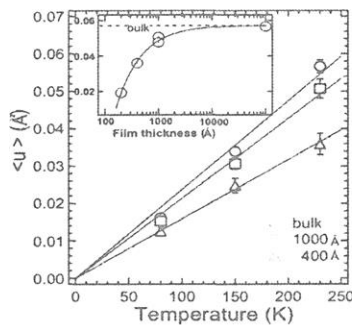


Fig. 5. Temperature dependence of $\langle u^2 \rangle$. Inset shows thickness dependence of $\langle u^2 \rangle$

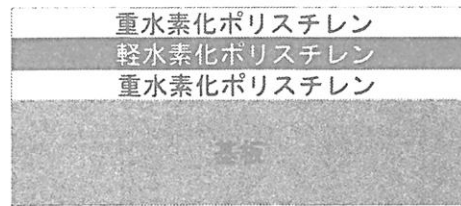


Fig. 6. Schematic sketch of tri-layer thin film consisting of dPS and hPS.

5. 高分子薄膜中のガラス転移温度の分布

中性子反射率測定の大きな利点の一つは化学的にほぼ同等の重水素と軽水素を容易に見分けることができることである。このことを利用して、薄膜内でのガラス転移温度の分布の決定を試みた[11,12]. まず、基板上に重水素化 PS (dPS) 膜を作成する。次に別の基板に 2 枚目の軽水素化 PS (hPS) の膜を作成し、それを水面上に剥がしとり、さらに 1 枚目の dPS の上にすくい取る。同様の手順により 3 枚目の dPS の膜をさらにすくい取る。このようにして、図 6 に示す 3 層膜を作成した。dPS および hPS の分子量は約 73 万と 77 万であり、ガラス転移温度は 103 と 100°C である。また、各層の膜厚は約 20nm である。この膜を室温で乾燥後、90°C で半日アニールし、10°C/分で 130°C まで昇温して 5 分間アニールした後室温へ戻した。その後中性子反射率測定を温度の関数として行った。1 温度での測定時間は約 1 時間である。実測の反射率を解析し、全膜厚、表面層、中間層、基板層の膜厚および表面粗さと各層間の界面厚を温度の関数として評価した。膜厚に関する結果を図 7 に示す。

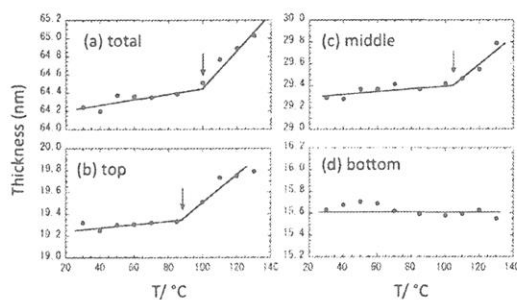


Fig. 7. Temperature dependence of film thickness (a) total, (b) top layer, (c) middle layer and (d) bottom layer. Arrows show T_g .

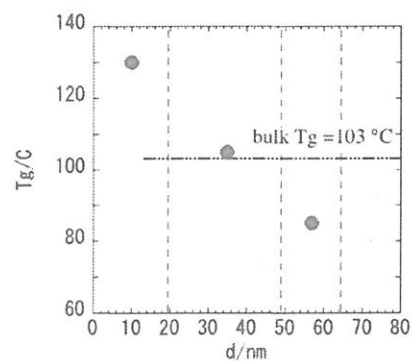


Fig. 8. Distribution of T_g in tri-layer thin films.

全体膜厚は 103°C 付近にガラス転移温度を示し、バルクのそれとさほど変化はなかった。しかし、表面層の T_g は約 85°C で約 15~18°C ほどバルク T_g に比べ低いのが分かる。中間層 T_g は 105°C でありこれもバルク T_g とさほど変化はないが、界面層は非常に異なった。すなわち、測定した 130°C 付近まではほとんど膜厚に変化がなく非常に小さ

い熱膨張係数を示すと同時にガラス転移温度 T_g も 130°C までは観察できず、それ以上であることが示唆された。得られた各層のガラス転移温度を膜内の位置の関数として図 8 に示した。このように膜全体はバルクに近い挙動を示したとしても、その内部はそれぞれ異なる熱物性を示しており、これらの兼ね合いにより、全体膜厚がより薄い場合には特異な挙動が表れるものと考えられる。

参考文献

- [1] *Polymer Surfaces, Interfaces and Thin Films*, ed. A. Karim and S. Kumar, (World Scientific, 2000).
- [2] *International Workshop on Dynamics in Confinement (CONFIT2006)*, ed. B. Frick, R. Zorn and H. Buettner (Eur. Phys. J. ST, **141**, 2006).
- [3] T. Miyazaki, et al., Phys. Rev. E **69**, 022801 (2004).
- [4] G. Reiter, et al., Nature Materials **4**, 754 (2005).
- [5] T. Miyazaki, et al., Phys. Rev. E **69**, 06183 (2004).
- [6] 例えば, T. Kajiyama, et al., Polymer **39**, 4665 (1998).
- [7] J. L. Keddie, et al., Faraday Discuss. **98**, 219 (1994).
- [8] R. Inoue, et al., Phys. Rev. Lett. **95**, 056102 (2005).
- [9] R. D. Priestley, et al., Science **309**, 456 (2005).
- [10] R. Inoue, et al., Eur. Phys. J. E **24**, 55 (2007).
- [11] T. Kanaya, et al., J. Phys. Soc. Japan **78**, 041004 (2009).
- [12] K. Kawashima, et al., J. Phys.; Conference Series, **184**, 012004 (2009).

高分子ナノ微粒子による生体イメージング用分子プローブの設計

伊藤紳三郎・青木裕之

Shinzaburo Ito, Hiroyuki Aoki

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

先端医工学研究ユニット

1. はじめに

高分子は現代の生活と産業を支える物質として幅広く活躍している。汎用の生活用品や産業資材のみならず、エレクトロニクス、オプティクス、ディスプレイ、さらに太陽電池や分離膜などのエネルギー関連の機能性高分子にみられるように、目的に応じた高機能をもつ先端高分子材料が次々と脚光を浴びている。同様に医用分野においても機能性高分子に対するニーズと活躍の場が広がっている。

その一つとして、最近、ナノスケールでサイズと構造を制御した微粒子が注目されている。ナノ微粒子には大きさゆえの生体機能が現れることが知られている。例えば、5 nm 以下の微粒子は腎臓を通過して血液中から尿に速やかに排出される。しかし数十ナノメートル以上のサイズになると、粒子は正常な血管壁を透過できず、腫瘍近傍に発達した新生血管のように粗雑に形成された部位でのみ浸出して組織に蓄積する¹⁻³⁾。さらに粒子表面に認識機能をもつ修飾を施すことができれば、さらに病変組織への特異的な蓄積能力が高められるものと期待されている。Figure 1 はこのようなナノ微粒子の機能を模式的に描いた図である。ここには直径が 100 nm 以下のナノ微粒子に薬剤を導入することによる治療への利用や、本稿の主題である画像診断に有効なシグナルを出すイメージングコントラスト用物質の導入などが図示されている。本稿では、ナノ微粒子の生体特性を利用することにより、病変を外部から高感度で検出することができる光イメージング用の分子プローブの開発研究を紹介し、高輝度かつ近赤外領域で発光する高分子ナノ微粒子の優れた特性について述べたい。

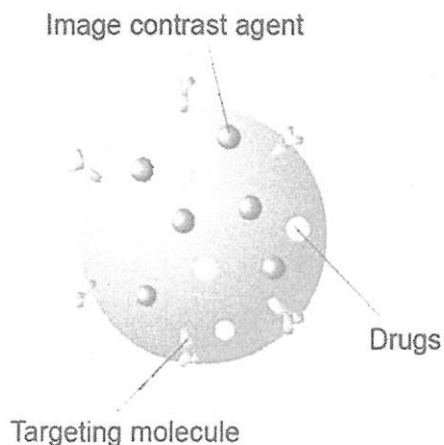


Figure 1 生体機能性もつナノ微粒子の模式図

2. 高分子ナノ微粒子の作製と特性

多機能をもつナノ微粒子の設計構築においても、高分子がもつ多彩な特性と汎用性・応用性は大きな特長である。イメージング用プローブとして有効な機能を付与できる粒子を開発するために、我々はナノエマルジョン法による高分子ナノ微粒子 (PNP: Polymer Nano-Particle) の作製を試みた^{4,5)}。

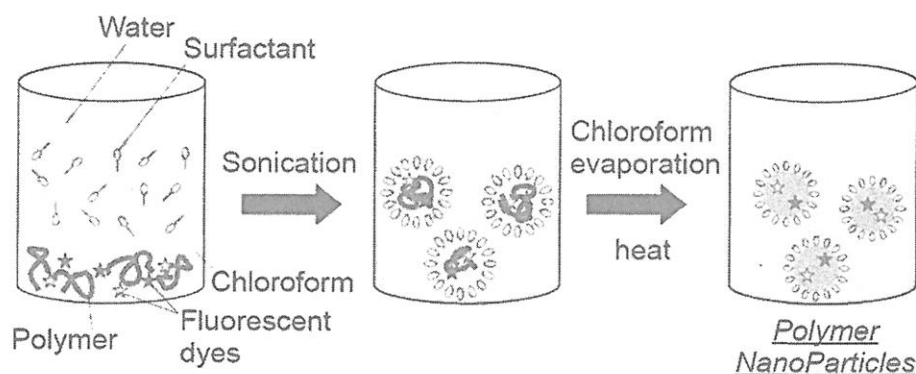


Figure 2 ナノエマルジョン法による高分子ナノ微粒性(PNP)の調製

Figure 2 は、PNP の作製プロセスを示した概念図である。微粒子のマトリックスとなる高分子材料をクロロホルムに溶解させ、これと界面活性剤を含む水とを混合して超音波処理することにより、クロロホルム溶液の微小ミセルを水中に懸濁させる。攪拌しながら懸濁液を加熱すると次第にクロロホルムが蒸発し、界面活性剤で包まれた高分子ナノ粒子（PNP）が水中に分散した透明な液を得ることができる。このとき元になるクロロホルム溶液に蛍光色素やその他の試薬を加えておくことにより、PNP の高分子マトリックス内に色素等を包含させることができる。

今回は高分子としてポリスチレンを使用した。クロロホルムに可溶性疎水性高分子であれば幅広い選択が可能である。また界面活性剤として、アニオン性の SDS、カチオン性の DTAC、生体適合性のある中性界面活性剤 Tween 20 を採用した。

このようにして作製された PNP の電子顕微鏡（TEM）写真を Figure 3 に示した。この例では平均粒子径が約 70 nm のナノ微粒子が形成されていることが実像として示されている。また動的光散乱法（DLS）で測定した粒子径の分布を挿入図に示したが、ナノエマルジョン法により分散の狭い均一単分散のナノスケールの微粒子が作製できることが分かる。

Figure 4 には、種々の界面活性剤において、その使用量を変化させることにより粒子径を制御できることを示した。強い界面活性能力をもつイオン性のものでは 20 nm ～80 nm の範囲で、また中性の Tween 20 の場合には 80 nm ～200 nm の範囲で自由に粒子径を制御できることが分かった。これは PNP の重要な特長の一つである。また高分子としてポリ乳酸、界面活性剤として

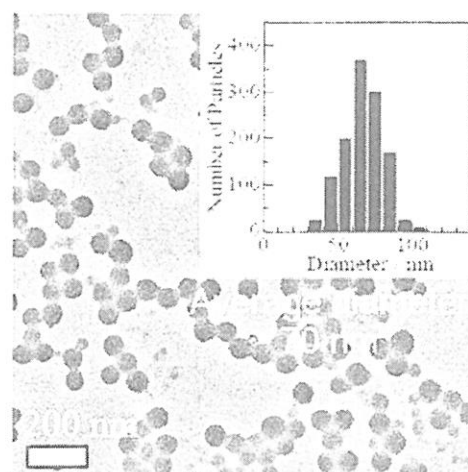


Figure 3 作製された PNP の電子顕微鏡（TEM）像と DLS により測定された粒子径分布

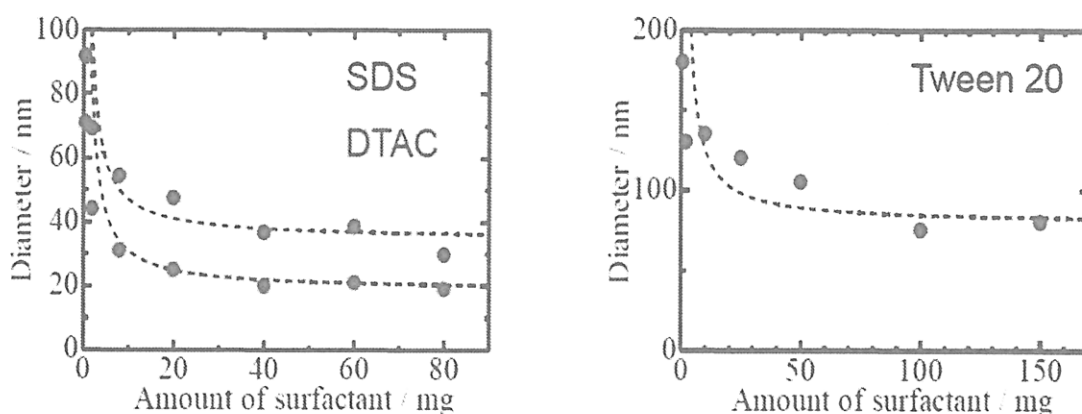


Figure 4 各種界面活性剤で作製される PNP の粒子径の制御。使用した Polymer 量は 4 mg。

Tween 20 を選択することにより、生体適合性の高い材料のみからなる PNP を、粒子径を制御して作製することができた。

このようにして作製される PNP の特長として次のような多彩な利点を挙げる事ができる。

- 1) 多様な機能性ポリマーをマトリックスとして選択できるため、粒子設計に大きな自由度がある。
- 2) 粒子内部に色素や様々な機能性物質、薬剤等を内包させることができるため、微粒子が機能物質を運ぶコンテナとして働く。
- 3) 界面活性剤の選択によりナノスケールの広い範囲 (20 ~ 200 nm) で粒径制御が可能である。
- 4) 粒子表面を界面活性剤が覆っているため、水中や生理液中で高い分散安定性を保つことができる。
- 5) 界面活性剤で覆われている粒子表面をさらに修飾して生体機能をもたせることができる。

これらの特長により合理的な指針に従って機能設計ができることから、PNP は極めて魅力的なナノ材料となっている。

3. FRET による近赤外高輝度発光の実現

現在、医療における画像診断には X 線-CT や MRI、PET、超音波エコーなどがすでに活用されているが、医学分野に、分子レベルで生命現象を解明する基礎生命科学の概念が導入されるにつれて、画像診断にも単なる形態画像のみならず分子機能や代謝情報をイメージングする機能イメージングが求められるようになった。すでに生命科学の分野では、顕微鏡観察のもとに細胞レベルで分子機能を可視化する光イメージングが活躍し、学術の進展に大きな貢献をしている。これは光イメージングが体内環境を含む分子情報を高感度で、スペクトル的にリアルタイムで伝える能力をもつからで

ある。しかしながら動物などの個体レベルでの画像化となると、光イメージングに課せられる要求は極めて厳しいものとなる。それは生体組織が基本的に不均一な散乱媒体であり、また不透明組織や血液などの光吸収物質が多量に存在するためである。光イメージングを目的とした分子プローブとして PNP を設計するためには、以下のような要求項目を満たす必要がある。

- ・ ナノスケールでの粒径制御
- ・ 生体透過性のよい近赤外波長領域での励起、発光
- ・ 高輝度・高感度を実現するために大きな光捕集能力と高い発光収率
- ・ 標的部位に集積するためのターゲティング機能
- ・ 肝臓などの臓器での捕捉を免れるステルス性
- ・ 目的に応じた血中滞留性や排出特性

などが主要な項目であり、もちろん生体毒性があってはならない。PNP のように、用いる材料や構造に高い設計自由度が必要とされる所以である。

そこで当研究室では、近赤外波長域で高い光吸収係数と発光収率をもつ2種のシリコンフタロシアニン系色素 (Figure 5: SiPc, SiNc) を PNP 内部に包含させて、蛍光共鳴励起エネルギー移動 (FRET: Fluorescence Resonance Energy Transfer) が起こるように設計した^{6,7)}。ここでエネルギードナーとなるシリコンフタロシアニン色素 (SiPc) は、680 nm 付近に吸収発光波長をもち、アクセプターとなるシリコンナフタロシアニン色素 (SiNc) は 780 nm 付近に強い吸収発光帯をもっている。

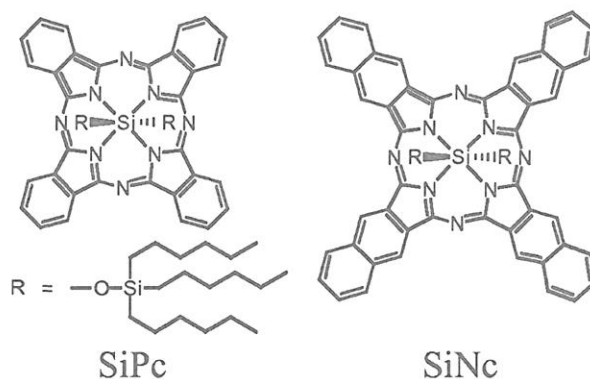
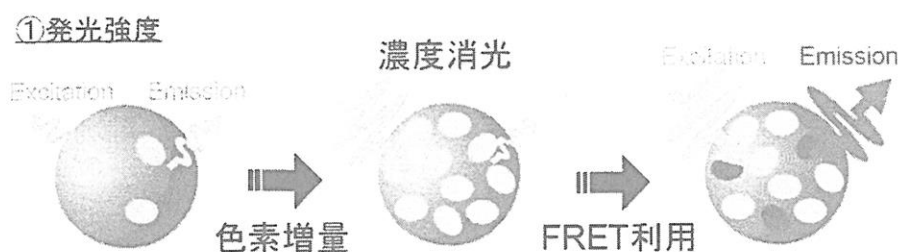


Figure 5 フタロシアニン系近赤外色素の化学構造

フタロシアニン系の色素は多数市販されているが、ほとんどの色素は高分子マトリックスの中で凝集して分子分散をせず、励起エネルギーを捕捉して消光する凝集体を形成してしまう。しかしながら、今回の報告で示すように、SiPc や SiNc ではフタロシアニン色素の中心に導入された Si 原子が色素面上下に軸配位子をもち、その配位子として3本アルキル鎖があるため、立体的に色素間の重なりを抑制し、高い光吸収性、発光性を維持することができた。

Figure 6 には、光イメージングに FRET を利用する場合の発光原理とその利点を図示している。①で示したように吸光度を増加させるには、吸光係数の大きな色素を用いて濃度を増加させることが必要になる。しかし一般に色素濃度が高くなりすぎると、凝集等により濃度消光が起こるのが常である。光吸収により色素の励起状態は発生するが、色素間の励起エネルギー移動により消光サイト (凝集体) へ流入してしまうからである。そこでエネルギーアクセプターとなる長波長発光色素を少量導入すると、



②ストークスシフト

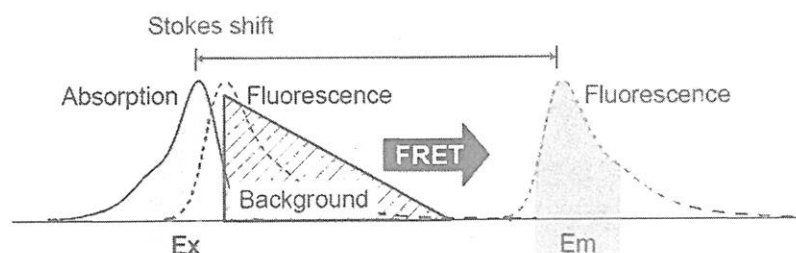


Figure 6 ドナー性、アクセプター性の2種の近赤外色素を用いた①FRET型分子プローブでの発光原理と、②FRETによるストークスシフト増大効果。これにより検出感度が著しく向上する。

エネルギーは効率よくアクセプター色素に流れ、長波長から発光する。したがって、FRETを利用すると光吸収のための高い色素濃度を維持しながら、より長波長の近赤外発光を、濃度消光を受けることなく高輝度で実現できることになる。

Figure 6②に示したように、FRETは異なる観点からも高感度化に有効である。FRET型の場合、ドナーとなるSiPcの励起波長に対して、アクセプターとなるSiNcの発光波長は大きく長波長にシフトしている。単一の色素では、励起波長と発光波長の差(Stokes shift)は小さく、光検出側には強い励起光を避けるためにフィルター等を用いて発光波長の一部をカットしなければならない。さらに励起波長の近辺には、生体からの自家発光やラマン光など、妨害となる発光が生じやすい。目的とする色素からの蛍光発光を高感度で検出するためには、これらのノイズ光の存在が大きな障害となる。FRETの利用によりStokes shiftが大きくなると分光的にノイズ光を避けることが容易になり、光検出器の性能を最大限に引き出すことができるようになる。

Figure 7の右には、ドナーのSiPcのみを含むPNPの発光スペクトルを示している。シリコン軸

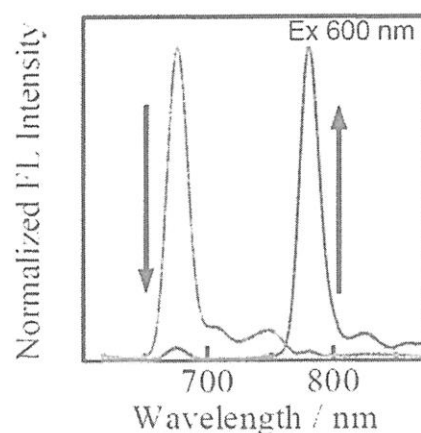


Figure 7 SiPcのみを含むPNP(左)とSiPc+SiNcを含むFRET型PNP(右)の蛍光スペクトル

配位子の効果により色素が高濃度でも凝集が抑制され、PNP からの強い蛍光が 680 nm 付近に観測される。これに対し、左に示す SiNc を含む FRET 型 PNP では、ドナー励起をしているにもかかわらずドナーである SiPc 蛍光がなくなり、アクセプターである SiNc の蛍光が 780 nm に強く観測される。つまり Figure 6①に示したように、ほぼ全ての励起エネルギーが SiNc に流入して高輝度発光を実現している。このように適切な分子構造をもつ色素を選択して凝集を抑制することにより、微粒子内での分子分散性を確保することができ効率よいエネルギー移動増感を実現できた⁷⁾。

次に、このようにして作製された PNP の輝度を評価することを試みた。粒子一個の発光強度の絶対値を求めることは困難であるため、ここでは強い発光性微粒子として実用されている金ナノ量子ロッドを比較対象とした。PVA のスピンキャスト膜に金ナノ量子ロッドの希薄分散液または FRET 型 PNP の希薄分散液を散布し、蛍光顕微鏡で観測した像を Figure 8 に示した。この図で星のように観察される輝点の一個一個がナノ微粒子である。励起波長や観測波長を適切に調整し、吸収・発光の光学条件をそろえて単一粒子の輝度を比較したところ、強度に分布があるものの、FRET 型 PNP は平均値として金ナノ量子ロッドの 10 倍以上の高輝度を示した。

実際、この PNP 液をマウスの尾静脈に注射して臓器や腫瘍組織などへの蓄積性を光イメージングにより追跡することが可能であった⁸⁾。Figure 9 は、その様子を示した画像の一例である。このマウスには腫瘍は移植されていない。左図は 700~760 nm でのドナー蛍光を観測したものである。主として、実験開始前に摂取した餌に由来する自家発光が消化器官(○)から強く観測され、分子プローブとしての PNP 蛍光を観測することはできない。しかし、右図のように、波長を切り替えて 780~800 nm の範囲でアクセプター蛍光を観測すると、PNP が蓄積した肝臓(○)か

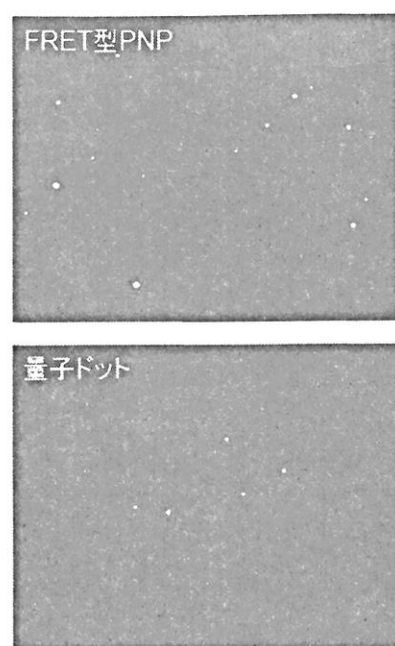


Figure 8 蛍光顕微鏡で観測される2種類のナノ微粒子（(上) FRET 型 PNP と (下) 金ナノ量子ロッド）の単一粒子蛍光像

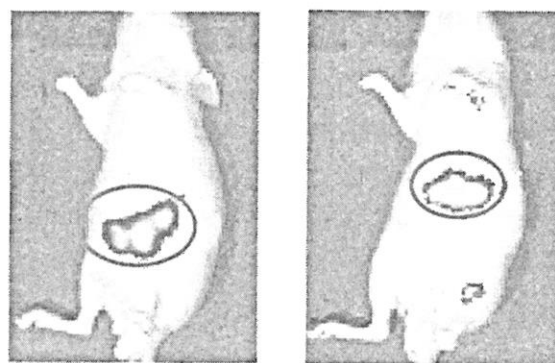


Figure 9 FRET 型 PNP をマウスに投与して観測した光イメージング像。(左) 700 - 760 nm でのドナー蛍光観測、(右) 780 - 800 nm でのアクセプター蛍光観測。励起波長はいずれも 670 nm。

らの蛍光が明瞭に観測でき、その継時変化によりプローブの蓄積や代謝の過程を追跡できることが分かった。

4. まとめ

本報告では、光イメージング用分子プローブとして PNP 開発の一端を紹介した。今回はその作製と FRET 利用による高輝度化についてのみ述べたが、分子プローブとして生体に応用するためには、上述のように多数の要求項目を満たしつつ機能化を図らなければならない。

Figure 10 は作製された PNP の内部構造を模式的に示した図である。疎水性のコア部分には高分子がマトリックスとなり、様々な機能性物質を内部に包み込んでいる。今回は光イメージング用近赤外色素を導入したが、この他にも MRI 用コントラスト試薬や薬物なども内包できるはずである。またシェル部分は水中分散性を保つ界面活性剤により覆われており、この一部を置換して機能をもたせることも可能であろう。PNP はこれらの多様な方面からの要請に応えるだけの自由度をもっている。高分子を素材とした分子集積体の特長を発揮して実用化に向けての研究が今も進展している。



Figure 10 本研究で開発された PNP の内部構造の模式図と多機能化に向けた展開

謝辞

本研究は、主に黒瀬翔平君ならびに山口智之君の大学院修士課程における研究成果をまとめたものである。また、PNP の開発において、生体材料については再生医科学研究所の田畑泰彦先生、動物実験については合成・生物化学専攻の森泰生先生にお世話になった。これらの共同研究でお世話になった皆様に篤く感謝します。

参考文献

- 1) P. Sharma, S. Brown, G. Walter, S. Santra, B. Moudgil, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **123-126**, 471-485 (2006).
- 2) W. H. De, Jong, P. J. A. Borm, *Int. J. Nanomed.*, **3**, 133-149 (2008).
- 3) P. Debbage, W. Jaschke, *Histochem. Cell Biol.*, **130**, 845-875 (2008).
- 4) K. Landfester, *Macromol. Rapid Commun.*, **22**, 896-936 (2001).
- 5) N. Anton, J. Benoit, P. Saulnier, *J. Control. Release*, **128**, 185-199 (2008).
- 6) J. Kakuta, S. Nitahara, H. Aoki, S. Ito et al., *Polym. Prepr. Jpn.*, **57**, 4918-4919 (2008).
- 7) S. Kurose, S. Nitahara, H. Aoki, S. Ito et al., *Polym. Prepr. Jpn.*, **58**, 5162-5163 (2009).
- 8) T. Yamguchi, J. Kakuta, S. Kurose, S. Nitahara, H. Fujimoto, H. Aoki, M. Morita, J. Jo, Y. Tabata, and S. Ito, *submitted*.

リビングラジカル重合による機能基の連鎖配列制御 —自立機能型高分子に向けて—

澤本 光男・大内 誠・寺島崇矢

Mitsuo Sawamoto, Makoto Ouchi, Takaya Terashima

京都大学 大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

精密重合の発展により、連鎖付加重合で生成する高分子の分子量や末端基など、大部分の一次構造の制御が可能となってきた。^{1, 2)} これを受けて、今後の高分子合成の重要な課題の一つは、一次元の高分子鎖に沿って、所定の順序で繰返し単位（モノマー単位）を配置・配列するか、すなわち「連鎖制御」（シーケンス制御）にあると認識されている（図1）。これは、言うまでもなく、遺伝子やタンパク質に代表される天然高分子が、それらの精密で一義的な連鎖構造に基づいて特定の三次元構造をとり、精緻な特定の機能を発現することに範を求めている。

連鎖配列制御：精密重合と基質選択

Sequence Control: *Functionality Placement*

Control: *Precision Polymerization*

Input: *Sequence Information*

Expression: *Template / Recognition*

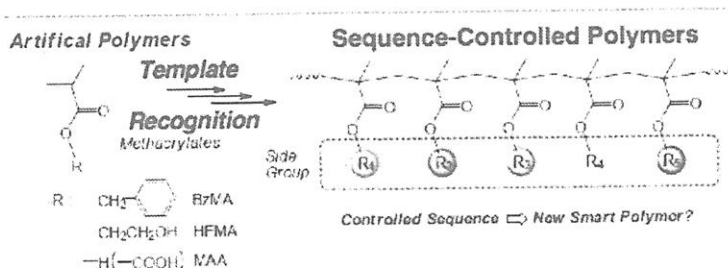
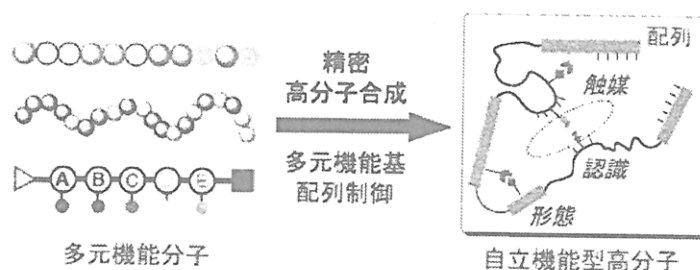


図1. 高分子合成と連鎖配列制御：精密重合，連鎖情報，および連鎖発現

合成高分子，とくに連鎖生長重合による高分子の連鎖制御は，側鎖官能基を主鎖に沿っていかに配置・配列するかを意味している。このような連鎖制御の重要な意味は，重合の精密制御という観点とともに，合成高分子が，「集合体」としての高分子から，一分子で機能する「自立型分子」としての高分子へ飛躍しうることである（図2）。すなわち，端的に言えば，従来の合成高分子は，その大きな分子量に基づいて，低分子と本質的に同等な分子間相互作用を多数の繰返し単位間で著しく蓄積・増幅し，巨大分子の「集合体」として，軽く強いといった高分子特有の物性と機能を発現してきたのに対して，連鎖制御された高分子は，その機能基配列に基づいて，一分子で特定の三次元構造をとり，一分子であっても特異な機能を発現できる可能性を秘めることを意味している。このような高分子は「自立型機能分子」と位置づけることができよう。

多元機能基の配列制御と自立機能型高分子



- 精密制御重合: 高分子の分子構造と機能基の制御
- 多元機能分子: 多種類の機能基の導入と配列制御
- 自立型高分子: 分子集団として的高分子材料から一分子で機能する自立型高分子へ

図2. 連鎖配列制御: 集団として的高分子から一分子で機能する高分子へ

筆者らのグループでは、このような認識に立って、ビニル化合物の連鎖生長重合における「連鎖制御」の研究を進めている。連鎖制御の試みは、これまでも交互共重合や鋳型重合など試みられているが、主鎖に沿った機能基の配列と、「自立型機能分子」（一分子で機能する高分子）という観点に立った研究はほとんど例を見ない。

本講演では、筆者らの連鎖制御に関する研究の最近の成果を要約した。

2. 連鎖制御へのアプローチ

高分子の主鎖に沿った繰り返し単位の配置と配列を制御する連鎖制御においては、どのような連鎖配列を実現するかという「連鎖情報」を重合系に入力し、これに基づいて所定のモノマー（基質）を選択的かつ誤りなく「精密重合」させ、生成する高分子に連鎖情報通りの連鎖構造を「発現」させることが必要となる。すなわち、次の3要素の実現がもとめられる（図1）：

- (A) 精密重合反応: 所定の生長反応のみが起こる精密重合の策定
- (B) 連鎖情報転写: 所定の連鎖配列情報の重合系への伝達機構構築
- (C) 連鎖情報発現: 基質認識による連鎖配列情報の高分子への発現

筆者らのカチオン重合およびラジカル重合における精密重合（リビング重合）の開発などを含み、¹⁻³⁾世界的な精密重合の実現により、要素(A)（精密重合）はほぼ実現されたと言ってよい。今後の課題は、これに基づく要素(B)（情報転写）と要素(C)（情報発現）にあり、これらをいかに反応系に組み込んで、連鎖制御重合系を構築するかが重要である。これらの転写と発現には、連鎖情報を組み込んだ「鋳型」（テンプレート）を用いるのが一般的と考えられる。

筆者らのグループでは、これらの課題に対して、まだ端緒の立ったばかりではあるが、次のようなアプローチを試みており、一部で興味ある成果が得られつつある（図3）：⁴⁾

- (1) テンプレート開始剤系: 鋳型をもつ開始剤による特定モノマーの認識と精密重合
- (2) テンプレートモノマー: 連鎖情報をあらかじめ組み込んだモノマーの精密重合
- (3) 分子認識機能モノマー: (1)の発展として認識部位と機能基のモノマーへの導入

多元機能基配列へのアプローチ
— テンプレート・分子認識・情報導入・反応性制御 —

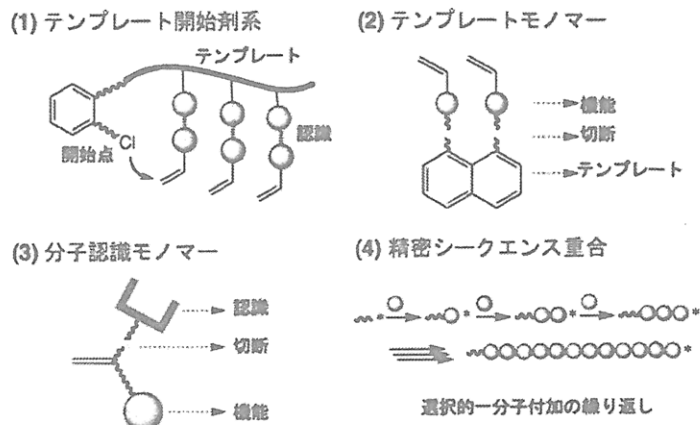


図 3. 連鎖配列制御への種々のアプローチ

3. テンプレート開始剤系の構築：基質認識と精密重合

従来の鋳型重合では、開始剤系と鋳型が別々に重合系に導入されており、そのため、鋳型に基づく重合と従来の重合が併発し、鋳型による連鎖情報の発現が不明確あるいは実現不可能な場合が大半であった。筆者らは、この問題を解決するため、開始剤の開始部位の近傍に鋳型を導入し、鋳型に基づく特定モノマーの分子認識が直接的に生長反応に反映される重合を試みている（図 4）。このような開始剤を「テンプレート開始剤」と呼ぶことにする。重合においては、これにリビング重合を可能とする金属触媒を組み合わせ、テンプレート開始剤系を構築することになる。

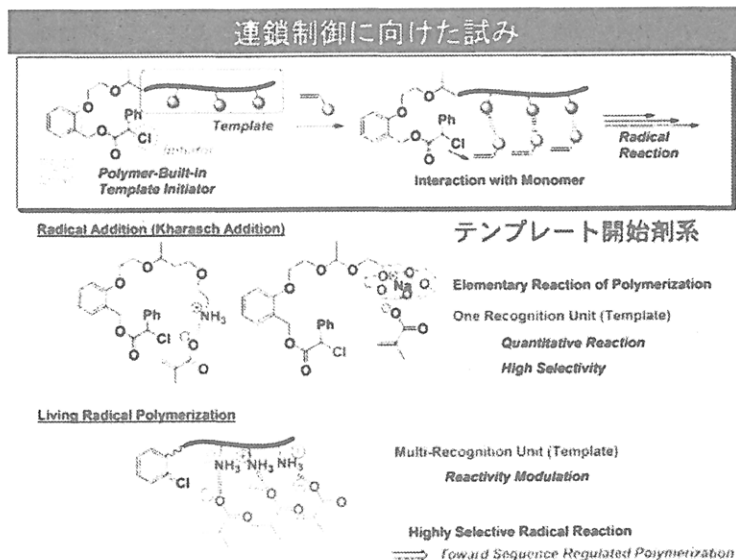


図 4. テンプレート開始剤による連鎖配列制御

図 5 には、その端緒として、一個のアミノ基を特定のモノマーへの認識部位（鋳型）として組み込んだ開始剤系を示す。ここでは、剛直な芳香環のオルト位に、リビングラジカル重合の開始部位とアミノ基鋳型が配置され、アミノ基で認識されたカルボン酸型

モノマー（メタクリル酸）を特異的にラジカル重合（ラジカル分子付加）させる。アミノ基鑄型の導入には、新たに見出した、アミノ基含有ビニルエーテルの選択的一分子カチオン付加を用いている。^{4c)}

配列制御のためのテンプレート開始剤：アミノ基の導入

J. Am. Chem. Soc. 2009, 131 (31), 10808

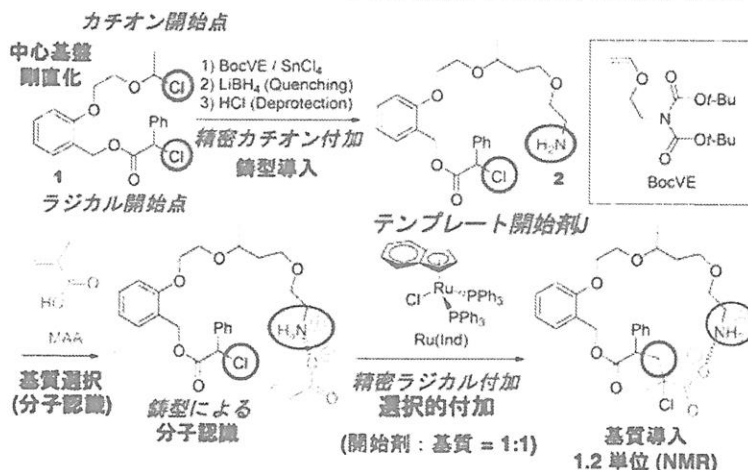


図5. アミノ基を分子認識基とするテンプレート開始剤の設計と合成

事実、このテンプレート開始剤とルテニウム錯体触媒からなる開始剤系の存在下、カルボン酸モノマーと非カルボン酸モノマー（メタクリル酸メチル）を競争的に反応させると、前者が特異的に鑄型により認識され、その反応性（選択性）が鑄型のない場合に比較して10倍以上増大することを見出した（図6）。^{4a)}

さらに、鑄型部位をメタ位に移動すると、このような基質選択的な付加は起こらなくなる。この理由はまだ明らかでないが、開始部位と鑄型部位を精密に空間は位置して初めて「鑄型効果」が発現することを示しており、今後の課題として興味を持たれる。

テンプレート開始剤による配列制御：基質の選択的認識

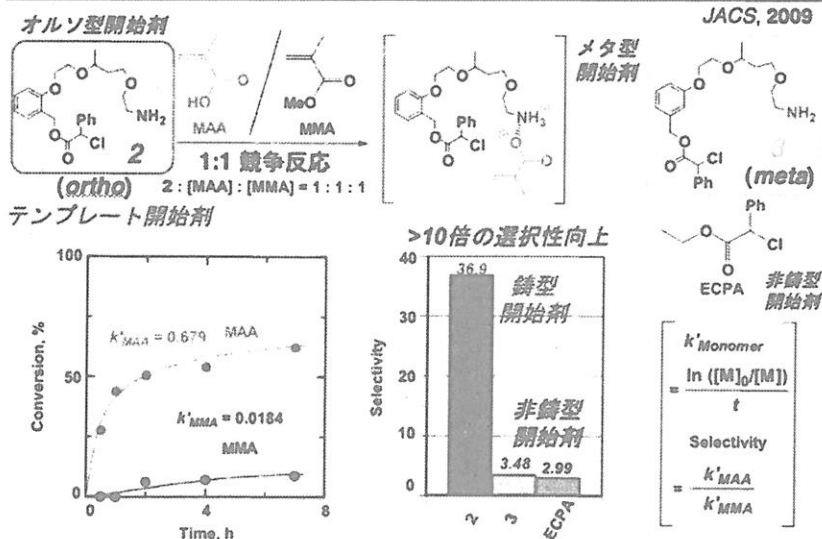


図6. アミノ基含有テンプレート開始剤による基質選択的ラジカル付加反応

より最近には、鑄型部位をクラウンエーテルとしたテンプレート開始剤を用いると、アタクリル酸ナトリウムとアンモニウム塩含有モノマーの競争ラジカル付加において、ナトリウム塩をクラウンエーテル鑄型が（よりイオン半径が大きい）アンモニウム塩に対して選択認識し、アタクリル酸ナトリウムを選択的に付加させることも見出している（図7）。^{4b)}

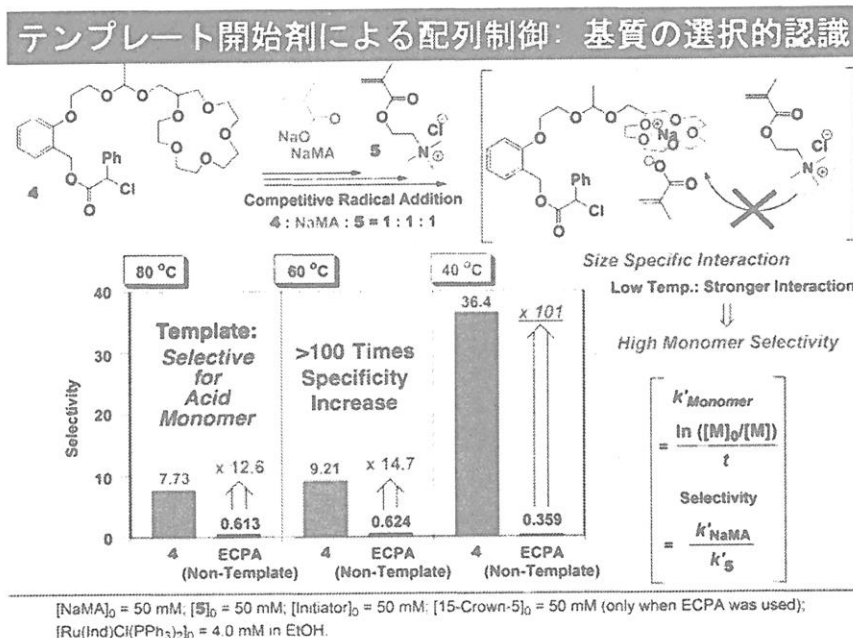


図7. クラウンエーテル含有テンプレート開始剤による基質選択的ラジカル付加反応

4. テンプレートモノマーの精密重合：鑄型による交互精密重合

剛直な芳香環（モノマー鑄型）の特定の位置に異なるモノマー単位を配置し、これを精密に環化重合させると、ABあるいはABC型の交互共重合体が生成し、特定の機能基を周期的に配列することができよう（図8）。

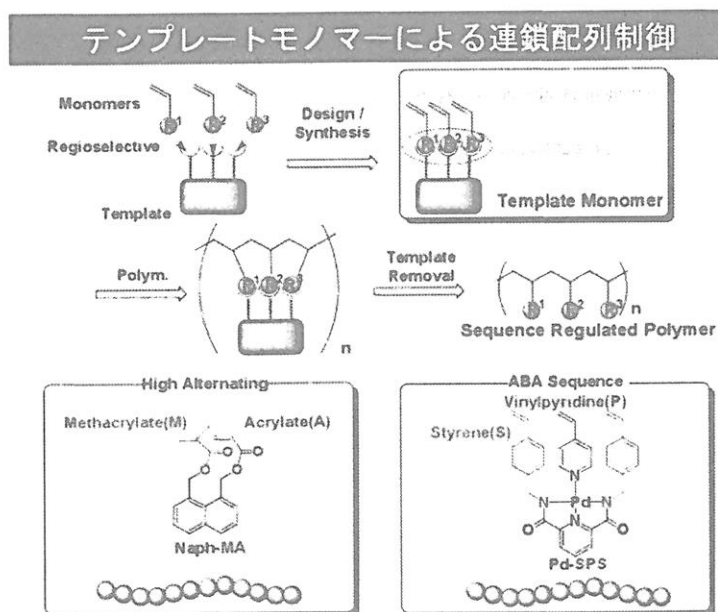


図8. テンプレートモノマーによる連鎖配列制御

従来の交互共重合は、限られたモノマーの組み合わせについて、それらの反応性差を利用して交互連鎖を実現していたが、テンプレートモノマーによる重合では、より広い範囲の任意の官能基を側鎖に交互配列できる可能性がある。事実、いくつかのモノマー鋳型を用いて、ABあるいはABC型の交互共重合体が合成されつつある。

5. 分子認識モノマーによる連鎖制御

テンプレート開始剤による連鎖制御において、第3節で述べた試みでは、モノマーの側鎖官能基（メタクリル酸のカルボン酸基など）を鋳型に対する基質分子認識部位としていたが、より多数の側鎖官能基を連鎖制御するには、生成高分子で機能すべき側鎖官能基とは別に、基質認識のための置換基（認識部位）を同時にモノマーに導入する必要がある。これらを「分子認識モノマー」として、筆者らは検討を進めている（図9）。

これらのモノマーでは、主としてメタクリル酸エステルを基本骨格とし、その α -メチルに新たに基質認識のための相補的認識部位（遺伝子合成のアンチコドンに相当）を導入したモノマーの設計と合成を始めた。分子認識モノマーでは、側鎖官能基を含む基本骨格と認識部位とが、容易に切断できる結合で連結されていることが重要である。

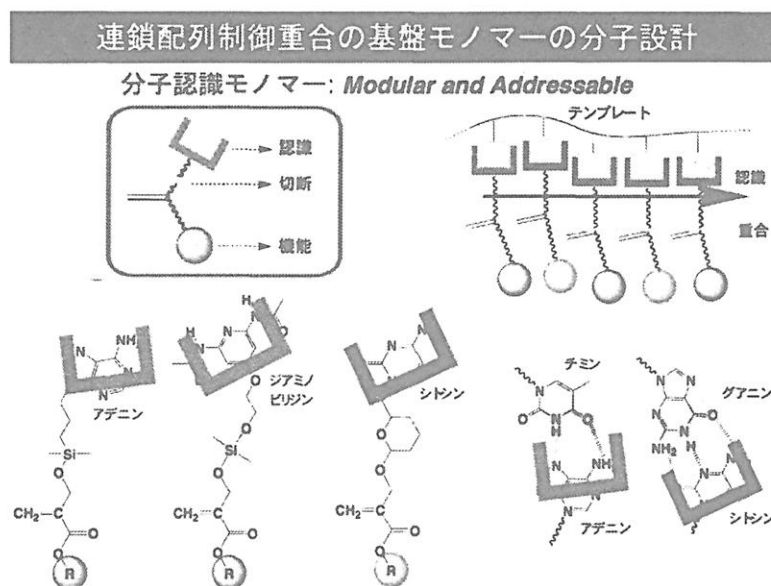


図9. 分子認識モノマーによる連鎖配列制御

現在までの結果は、鋳型による分子認識が特定のモノマーの重合増幅を発現したに過ぎないが、より高度で多数のモノマーの個別認識能と連鎖情報の転写能をもつ鋳型を開始剤に配置することにより、遺伝子に見られるような連鎖（シーケンス）制御の可能性を示唆するものと判断される。解決すべき課題は数多いが、今後の進展に期待して、検討を続けている。

文 献

- 1) 主要な原報: (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).
- 2) 主要な総説: (a) M. Kamigaito, T. Ando, M. Sawamoto, *Chem. Rev.*, **101**, 3689 (2001). (b) 安藤剛, 上垣外正己, 澤本光男, *高分子論文集*, **59**, 199 (2002). (c) M. Kamigaito, T. Ando, M. Sawamoto, *Chem. Rec.*, **4**, 159 (2004). (d) M. Ouchi, T. Terashima, M. Sawamoto, *Acc. Chem. Res.*, **41**, 1120 (2008). (e) M. Ouchi, T. Terashima, M. Sawamoto, *Chem. Rev.*, **109**, 4963 (2009).
- 3) 化学繊維研究所講演会: 澤本光男ら, *化繊研講演集*, **56**, 61 (1999); **57**, 9 (2000); **58**, 1 (2001); **59**, 21 (2002); **60**, 9 (2003); **61**, 11 (2004); **62**, 73 (2005); **63**, 1 (2006); **64**, 19 (2007); **65**, 1 (2008); **66**, 52 (2009), **67**, 27 (2010).
- 4) (a) S. Ida, T. Terashima, M. Ouchi, M. Sawamoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 10808 (2009). (b) S. Ida, M. Ouchi, M. Sawamoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 14748 (2010). (c) S. Ida, T. Terashima, M. Ouchi, M. Sawamoto, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **48**, 3375 (2010).

光機能性材料と共に生きて

三菱レイヨン（株）山本隆

1. はじめに

京都大学にて「馬」に戯れ学び、「岡本研」に真理追求の姿勢を学び、三菱レイヨンにて光機能性材料と共に生きてきたことを振り返り、技術経営について思うところを述べたい。

「私のキャリア」

1965～(昭和40年代)

- ★ 京大石油化学(学生紛争、馬術部4年、岡本研究室4年、学生結婚)
- ★ 高度成長、重厚長大、公害、技術導入

1975～(昭和50年代)

- ★ 自然科学の世界(大竹、中央研究所)
昼夜没頭(POF、ロッドレンズ、中空糸膜・・・xプロジェクト)
- ★ 繊維構造不況、軽薄短小、新素材、独自技術

1990～

- ★ 人文科学の世界(東京、経営企画室、経営の楽屋裏に学ぶ)
- ★ バブル崩壊、構造改革(第一次中計)、情報化社会

2000～

- ★ 情報材料事業経営責任者「あきらめず」「いさぎよく」
- ★ 事業ポートフォリオ転換(事業撤退、中国シフト、DA事業垂直立上げ)

2007～

- ★ グルッと廻って母なる港(中央技術研究所長)
- ★ 若人達と共に「新たな価値の創造」「世界に誇れる技術」

2010～

- ★ 「もういっちょ!」「集大成」(研究開発担当役員:CTO)
- ★ MCHC経営統合、「New Design MRC」新たな第一歩

馬術部の4年間

「駄馬と駿馬」・・・研究テーマと同じ。馬がテーマが人を育てる。

「人馬一体、鞍上鞍下人なし」・・・道を究める事の大変さ、無の極致

「鞍下八分、鞍上二分」・・・普段の地道な努力

「ドイツ馬術とイタリア馬術」・・・イタリアの自然体が好き

「前進、前進、また前進」・・・静止の中でも力が漲る。力を蓄える。

「我がサニー号」・・・子育てと同じ。馴致・繰返し・能力を引き出す。

「新班、古班、最古班、幹事長」・・・組織や評価(実力と努力)のあり方

「いち服、に顔、さん技術」・・・これは人間社会どこでも通ずる

オリンピック選手の井上喜久子さん、法華津さん、IOCの武田さん

「大文字山騎乗、嵐山騎乗、平安神宮新年初騎乗」・・・優越感に浸る

「時代祭、葵祭、競馬場アルバイト、映画のエキストラ」・・・金儲け

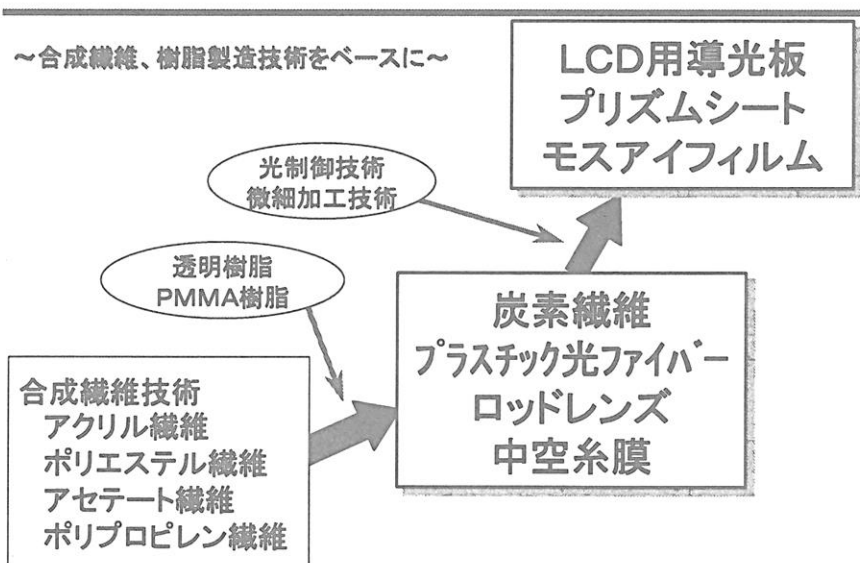
「世田谷馬事公苑、長崎・福井国体、淀・小倉・阪神競馬場」・・・貨車で馬と同居

「関西学生大会一位、全日本学生大会三位」・・・勝つ喜び、成功体験

2. 開発に携わった光機能性材料

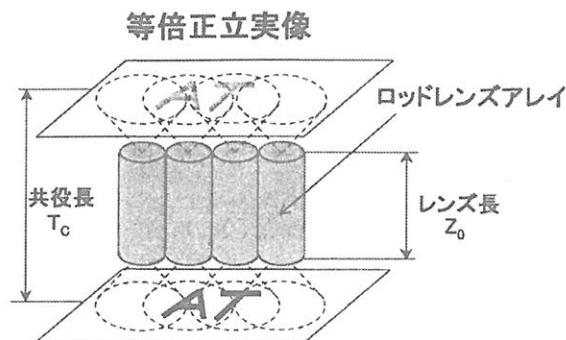
直進する光を自由に操る光伝送高分子材料は、情報電子分野のキーマテリアルとして無くてはならない材料である。光信号を伝送するプラスチック光ファイバー（POF）、画像を読み取るロッドレンズ、光の方向を制御するプリズムシート、光を反射しないモスアイフィルムを紹介するが、合成繊維技術をベースにPMMA透明樹脂技術を組み合わせ、用途に応じた機能を追求するために光設計技術、微細加工技術を取り込み進化した独自の製品技術である。

高性能、高機能材料へ

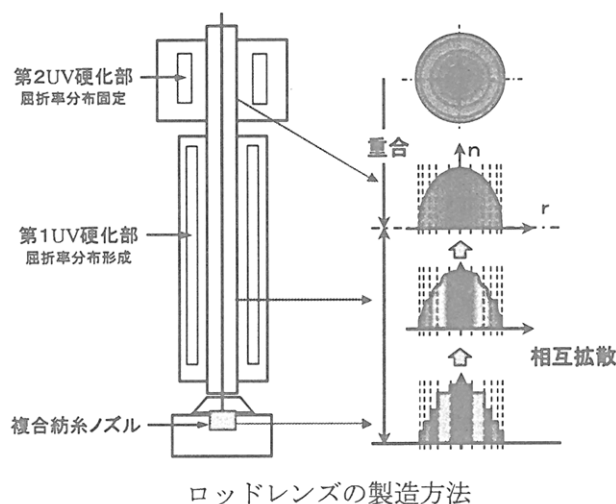


2-1 屈折率分布型ロッドレンズ

屈折率分布型ロッドレンズは、円柱ロッドの中心部から周辺部に向かって2次の屈折率分布を形成したもので、光情報処理分野や光通信分野で利用されている。このレンズを1列あるいは2列に並べたロッドレンズアレイは、複写機、ファクシミリ、プリンター、イメージスキャナ、MFPなどの情報機器内の画像読み取り部あるいは書込み部に使用されている。これらの用途においては昨今カラー化と高精細化が急激に進み、高分子材料の限界を超えるとも思われるような性能が要求されている。



三菱レイヨン は、新しい透明ポリマーブレンド形成技術をベースに繊維の複合紡糸技術を応用し全く新規なプラスチックロッドレンズ及びその連続製造方法を開発し1991年に工業化した。



以来、先行する多成分ガラス系ロッドレンズアレイの性能に追いつくべく、屈折率分布の形状制御技術、フレアー光の除去技術、レンズ配列高精度化技術に改良を重ねて来たものの、レンズの色収差だけはガラス製に遠く及ばず、カラー用途には使いにくいものであった。この残された大きな課題に対して、昨今基材ポリマーブレンドの屈折率とアッペ数の色消し関係性を見直した上で屈折率分布制御を高精度化し、従来のものより格段に色収差の低減したレンズの開発に成功した。新規開発品では波長による最適共役長の位置が同じであることで色収差がほとんど無くなり、ガラス系レンズに匹敵する解像度に到達したと言える。また、このレンズはRoHS指令にも適合しており、ユーザーの高い評価を得ている。

低色収差レンズの開発

色消しライン

$$\frac{\Delta P}{P} = -\frac{1}{2} \frac{1}{\nu_0} \left(1 - \frac{1}{n_0} \right) - \frac{1}{\nu_r} \left(1 - \frac{1}{n_r} \right)$$

添字0: 中心軸上
添字r: 任意の半径方向距離

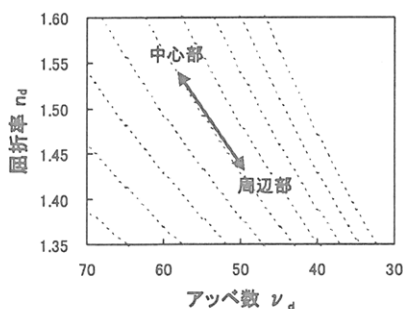
$$\Delta P = P_c - P_f, \quad P = P_d$$

色消し条件

$$\frac{1}{\nu} \left(1 - \frac{1}{n} \right) = C \quad (Const.)$$

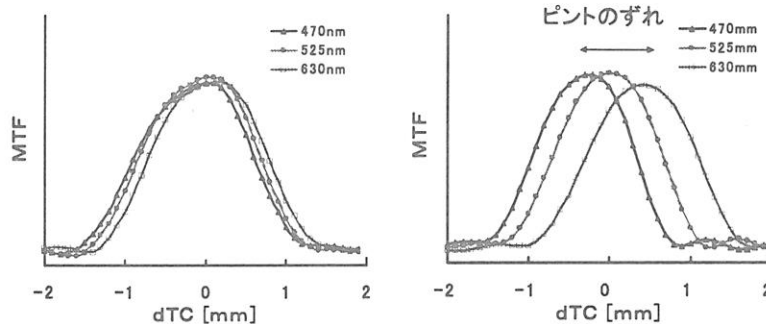
$$\therefore n = \frac{1}{1 - C\nu}$$

$$\frac{dP}{d\lambda} = 0 \quad \boxed{\frac{\Delta P}{P} = 0}$$



低色収差レンズの開発

光学特性評価結果



(a) 今回の設計レンズ

(b) 従来のレンズ

レンズの材料系を適切に設計し、色収差のないレンズを開発

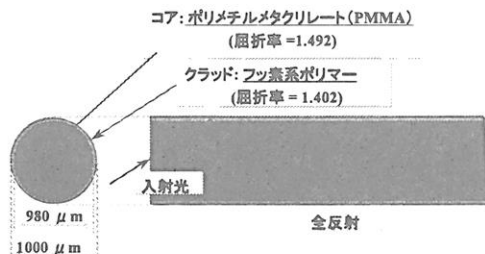
2010年度光設計優秀賞(日本光学会)

2-2 プラスチック光ファイバー (POF)

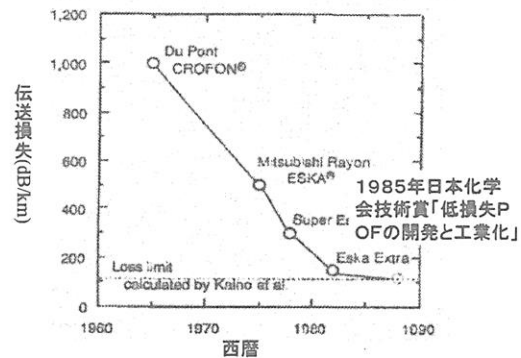
POFは、大口径・軽量・耐EMI特性などの特徴を活かして、情報伝送用途に利用されてきた。

プラスチック光ファイバの構造

エスカプレミアTM, GK40



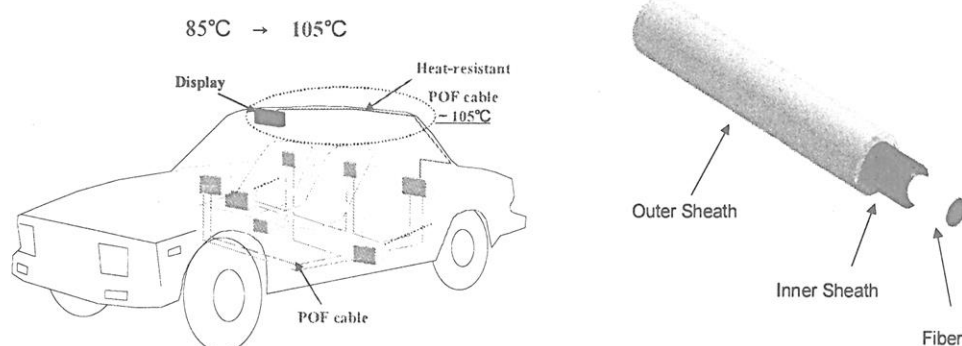
POFの伝送損失の推移



1998年に欧州において自動車内通信用配線としてポリメチルメタクリレート (PMMA) をコアにしたPOFを利用する試みがスタートし、以来欧州の高級車を中心に車内の情報伝送媒体として採用が進んでいる。しかし、従来使用されてきたPOFは、実用耐熱温度が85℃程度であり、自動車内の敷設範囲が制限されていた。

三菱レイヨンは、ケーブル被覆材に特定のポリアミド系樹脂を用い、ケーブル構造の最適化を行うことによりPMMA (T_g 108℃) のコアでありながら、105℃の暴露で5000時間以上でも伝送損失増加の極めて少ない高耐熱POFを開発・上市した。この高耐熱POFケーブルは、自動車用途に要求される低損失、耐屈曲性、高耐熱、難燃性、耐油性、ハーネス加工性 (ストリッピング強度) などの性能をクリ

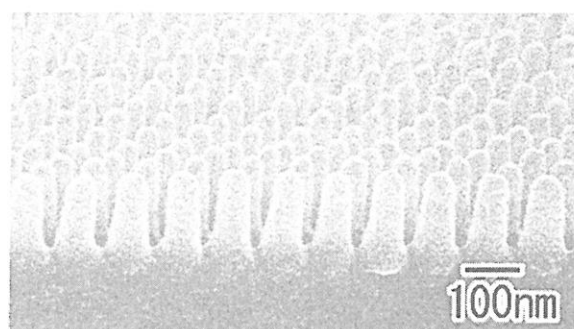
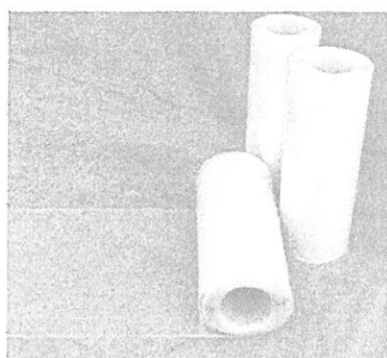
アーするものであり、自動車の天井内配線や配線スペースの狭隘な中小型車に採用が期待される。



2-3 モスアイ型無反射フィルム

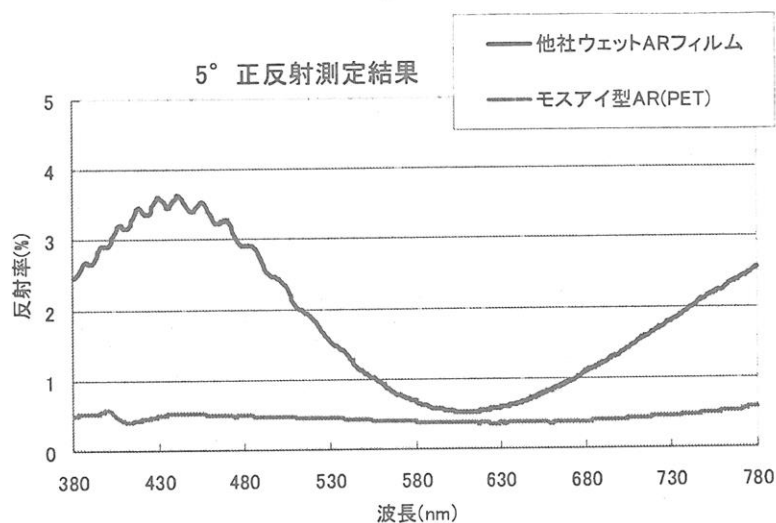
現在各社より上市されている反射防止（AR）フィルムは屈折率及びAR層の膜厚制御を行うことで反射光同士が干渉して打ち消しあうように設計されている多層膜タイプのものである。一方、これとは異なる原理でいわゆるモスアイ構造と呼ばれるナノオーダーの微細な凹凸構造を表面に形成することで空気と基材の界面で屈折率を連続的に変化させて反射を防止できることは学術的には以前から知られていた。しかしながら、このようなナノオーダーの微細な凹凸構造を形成する手法として、型押し工程のある「ステップアンドスタンプ法」などの提案がなされているが、継ぎ目が無く、大面積で作製することは難しく工業的には実用化されていないのが現状である。

KAST・重点研究室・益田グループでは、アルミニウムの陽極酸化により高い細孔配列規則性を備えた多孔性構造材料「ナノホールアレー」の形成手法を見出し、これに関し活発な研究を続けている。三菱レイヨンとは、この自己組織化的に得られるアルミナナノホールを利用したロール鋳型を作製し、これを用いて連続的に樹脂フィルム上にモスアイ構造をナノインプリントすることに成功している。



本フィルムの反射率は可視光波長域において反射率が極めて低く、またその波長依存性も極めて低い。外光の映りこみがほとんど無いことを活かし、液晶ディスプレイ・有機EL・PDP等のFPD、ゲーム機・携帯電話等のモバイル機器の前面板などで、

より鮮明な画像を提供し、カーナビなどの自動車用途や、照明等インテリアの質感向上にも大いに期待される。



更に、本フィルムの微細な突起構造は、蓮の葉の表面と類似の構造を持つため、水をはじく効果があり、本フィルムに水がかかっても濡れないという特徴がある。この超撥水効果を応用し、汚れの着きにくいガラス窓など新たな建材としても期待される。また、再生医療分野においても、この突起構造は細胞が平坦に吸着することを抑制するため、生体細胞を増殖させるための足場基材としての応用が期待される。

3. MOTと「人を活かす経営」

著者が三菱レイヨンにおいて何らかの形で係わった開発を事例にして、光伝送高分子材料の高性能化・機能化技術の進展と情報電子分野での応用拡張について紹介したが、その基盤には諸先人が培った繊維の精密紡糸技術や精細加工技術があったことを申し添えたい。今後、「ミクロンからナノ構造制御」へ、「波動光学から量子光学」へと技術は急速に進化し、新たな発想で新たな機能を持つ材料や製品が続々と生まれであろう。この分野での若い研究者達の活躍に期待するところは大きい。

着想～研究～開発～事業化～社会貢献への長い道のりの中で、自己実現と組織貢献の織り合いは企業における研究者の課題であり、企業における技術経営の「ヘソ」である。最後に、著者が社内外を問わず若い研究者たちに伝えているメッセージを羅列して稿を閉めたい。何かしらの気づきや切欠になれば幸いと思う。

「良きCTOの姿」につけて思う

MOTコンソーシアムにて 山本 隆

●社内のキーマンにも考えて貰いました（その意見抜粋です）

- －技術を束ねる力（専門力＋先見力＋人間力）、組織を束ねる力（仕組み＋権限＋人間力）を持つ。
- －経営レベルでの技術戦略の策定・推進と研究者のモチベーション・気概を高める規範となる。
- －経営目線＋研究者目線で語れる（どちらかに傾斜した～し過ぎたCTOになり勝ち）
- －「ものづくり」に対して誇りを持ち続ける、その舵取り役。
- －技術の「目利き」である。自らの技術哲学のもと「技術の面白さ」と「事業的広がり」の両面で提案テーマを捉え、一緒になって一生懸命テーマの可能性を考える。
- －「社外にどれだけの価値を創出するか」に価値を置く。そのために人の集合ベクトルのアクティビティを社外に向けて最大化する。目指すところ～攻める方向を定め、自ら夢を語る。
- －社内外「接着剤」である。社内外(大学・研究機関・企業)の「人脈」が豊かで、テーマを推進する上で、調整力、交渉力がある。
- －人格者である。人を「愛」し、人の話に耳を「謙虚」に傾け、そして自分の責任のもとで「決断」できる人。そのためには科学技術のみならず様々な「教養」と豊富な実務的な「経験知」（修羅場経験）を持ち合わせている人。

●こんなCTOにはなりたくない

- ・CEOに対してYESだけの人
- ・技術だけに拘る人、自分の考えに拘りすぎる人
- ・すべてを理解しないと気がすまない人、大きな潮流が見えない人
- ・結果責任を部下に押し付ける人、失敗や欠点をあげつらい攻める人
- ・栄達心が強く次世代や廻りを叩き落す人、声が大きすぎるだけの人
- ・自分の立場や地位が第一優先の人
- ・管理優先の人、慣習に囚われる人
- ・先を考えすぎて手足が動かない人、優柔不断で物事を自分で決めない人
- ・社内力学に無関心な人、ポリティカルな言動を毛嫌いする人
- ・営業部長や営業出身の事業部長と腹を割った会話や雑談ができない人

●いつも心がけています

- ・いい加減なバランス感を持つ。
- ・人の意見を聞く、人の意欲をみる。（特に若い人の心を直接に）
- ・価値観の多様性を認める包容力を持つ。
- ・先人に感謝し恩返しする。後輩に美田を残す。
- ・こいつなら任せられる！この人の言う事なら仕方が無い！との空気を作る。
- ・セクショナリズムや慣習を壊すこと、今までやってないことをやる事を楽しむ。

- ・合理的思考をベースに直感力を大事にする。
- ・攻めだるまになる。（攻めは最大の防御）
- ・あきらめずに！いさぎよく！そして明るく！
- 誰から見ても「良き」には、なには無くともやはり
- ・技術哲学・・・技術が大好き
- ・事業観・・・儲けてなんぼ
- ・戦略眼・・・戦わずに勝つ

いつもの口癖

- ① N・H・K(何でや！ほんまか！こんなんであんなに！)
- ② 明るく！明るく！ざっくばらんに！
- ③ インフォーマル・コミュニケーション
- ④ 15%は他人のために！
- ⑤ 「自然科学」と「社会科学」の両方を身につける
- ⑥ 研究(事業)と言う仕事は大いなるゲームである。
ゲームならば楽しもう！
- ⑦ モノづくりを0から10とするならば、
0～1 と 9～10が一番難しいゲーム！
- ⑧ 「備えある心の持ち主に偶然の神は微笑む」
・・・ルイ・パスツール

若い人たちへのメッセージ

1. 情熱、思い入れ → 思い込みでは空回り
2. (技術的に)面白いだけではダメ！
面白いと銭儲けはちがう
3. 一人よがりではダメ！
冷徹な判断、相手を意識した説明・説得
4. 危機感(退路を断つ)
5. 論理性、広い視野、高い目線、全体感
総合判断力、バランス感覚
6. 志を高く

「備えある心の持ち主に偶然の神は微笑む」

Chance favors the prepared mind ルイ・パスツール

不斉液晶反応場でのヘリカル共役ポリマーの合成と らせん構造形成メカニズムの解明

赤木 和夫, 高 文柱

Kazuo Akagi, Munju Goh

京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻

1. はじめに

我々はすでに不斉液晶反応場を構築し、そこでアセチレンの重合を行い、高分子鎖およびそれらの束であるフィブリルが階層的らせん構造を有するヘリカルポリアセチレン (H-PA) が合成できることを明らかにしている。しかしながら、不斉液晶性反応場での H-PA の合成メカニズムは、未だ明らかにされていない。本研究では、等方相からキラルネマチック液晶 (N*-LC) 相に至る成長過程を偏光顕微鏡で観察し、N*-LC のモデル構造を提示するとともに、N*-LC のねじれの向きと H-PA のらせんの向きとの関係を検証することで、不斉液晶反応場でのヘリカル共役系ポリマーのらせん構造の形成メカニズムを明らかにすることを目的とした。

2. N*-LC 液晶の光学模様と H-PA のスパイラル形態

二種類のネマチック液晶 (PCH302 と PCH304) の等モル混合系にキラルドーパントとして軸不斉ビナフチル誘導体 [(R)- or (S)-(PCH506)₂-Binol] を添加して、キラルネマチック液晶 (N*-LC) を誘起・調製した。

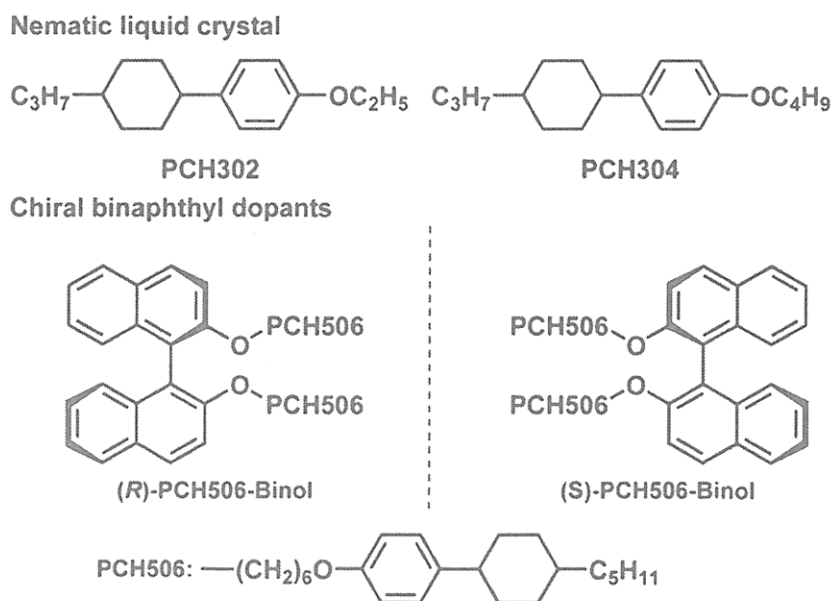


図1 等モル混合系ネマチック液晶と軸不斉ビナフチル誘導体

(S)-(PCH506)₂-Binol を含む N*-LC を偏光顕微鏡で観察すると、渦の吹き出す方向から見た場合、右巻きのスパイラルが形成されているのがわかる (図 2a)。これを重合溶媒として合成した H-PA は、走査型電子顕微鏡 (SEM) 下で同じ右巻きのスパイラル形態が観察された (図 2b)。このように、N*-LC と H-PA には酷似した形態を示すことが確認できた。また、N*-LC のヘリカル軸と、H-PA のヘリカル軸は直交していることが理解できる。

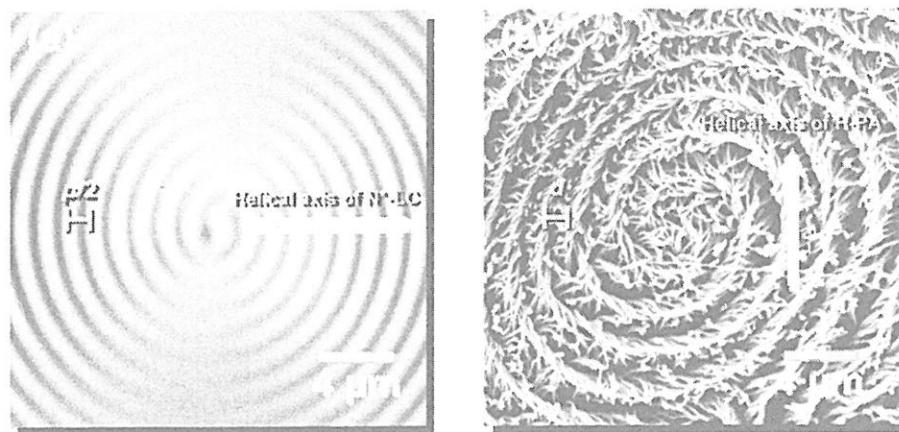


図 2 N*-LC のスパイラル光学模様 (a) と H-PA のスパイラル形態 (b)

3. 磁場配向した不斉液晶反応場での H-PA の合成

巨視的に配向した不斉液晶反応場で H-PA の合成を行った。等モル混合ネマチック液晶 (PCH302 と PCH304) にキラルドーパントとして (R)-(PCH506)₂-Binol を 1.5 % (mole ratio) 添加し N*-LC を調製した。これに Ziegler-Natta 触媒 ([Ti] = 40 mmol/L, [Al]/[Ti] = 4) を加えて不斉液晶を調製した。この不斉液晶に 5 Tesla の外部磁場を 10 分間印加し、指紋状光学組織の縞模様が磁場と平行な方向に配向した像を得た (図 3a)。このことは、N*-LC のらせん軸は磁場に対して垂直に配向していることを意味する。次にこの配向した液晶場を用いてアセチレンの重合を行った。SEM 観察により、H-PA のフィブリル束は磁場方向に平行に配向していることが分かった (図 3b)。すなわち、H-PA のフィブリル束は N*-LC のらせん軸と直交方向に成長していることが明らかになった。

図 4a は、図 3a に画像処理を施し拡大したものであり、これにより N*-LC の縞模様の間隔を評価した。一方、図 4b は図 3b の SEM 像を拡大したものである。図 4a と 4b と比較することで、N*-LC の縞模様の幅つまり半ピッチが、H-PA のフィブリルの束間の距離に対応することがわかる。これにより、H-PA のフィブリルは、N*-LC のらせん軸と垂直な方向、すなわち縞模様に沿って成長することが示された。

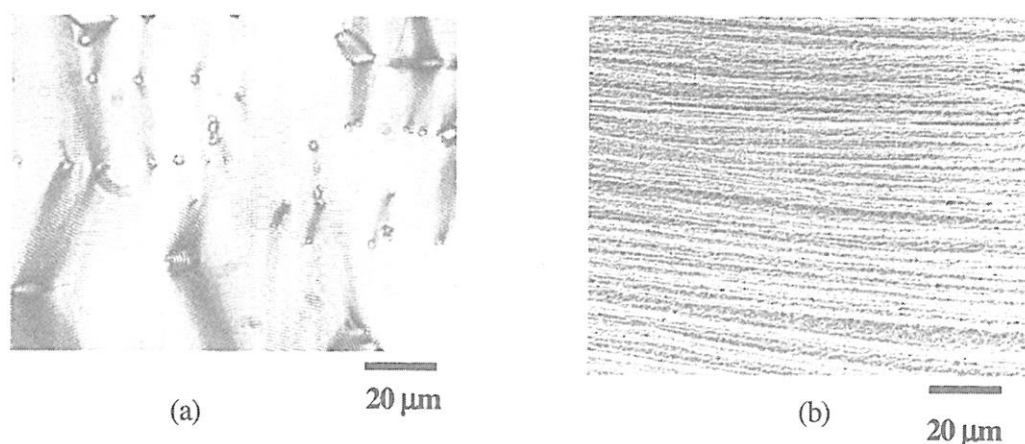
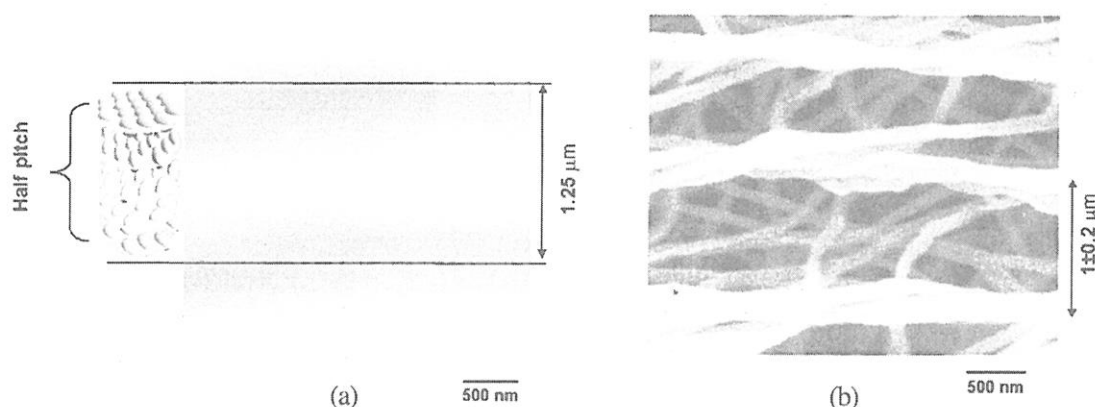


図3 磁場印加により巨視的に配向した、触媒を含むN*-LCの偏光顕微鏡写真 (a) とこのN*-LCを不斉反応場として合成したH-PAフィルムの走査型電子顕微鏡写真 (b) (a、bともに、磁場の印加方向は紙面の水平方向)

図4 触媒を含むN*-LCの偏光顕微鏡写真 (図3a) の拡大図 (a)、およびH-PAフィルムの



の走査型電子顕微鏡写真 (図3b) の拡大図 (b)

4. キラルネマチック液晶 (N*-LC) のねじれの向きとヘリカルポリアセチレン (H-PA) のらせんの向きとの関係

PCH302 と PCH304 の等モル混合液晶に、キラルドーパントとして(R)- or (S)-PCH506-Binol を添加し、誘起した N*-LC のねじれの向きを接触法で用いて判定した。標準物質として、左巻きのねじれをもつコレステリック液晶 (cholestery oleyl carbonate) を用いた。二種類の液晶の接触面を偏光顕微鏡で観察した結果、図5a では不連続であるので(R)-N*-LC は右巻き、図5b では連続であるので(S)-N*-LC は左巻きであることを確認した。

次に、これらのN*-LCを不斉反応場としてH-PAを合成し、そのらせんの向きをSEM観察により判定した。(R)-N*-LCを用いて合成したH-PAのねじれの向きは右巻き (図5c)、(S)-N*-LCを用いた場合は左巻きであった (図5d)。これにより、N*-LCのねじれの向きと

それを重合溶媒として用いた H-PA のねじれの向きは互いに逆であることが明らかになった。

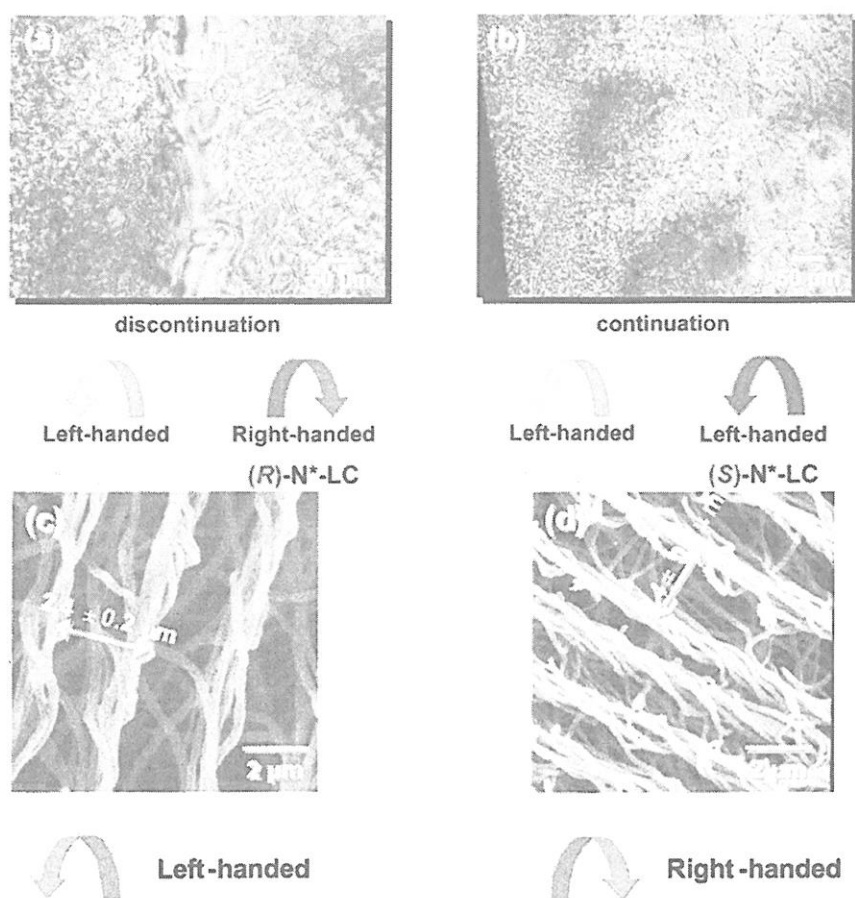


図5 接触法による(R)- および(S)-N*-LC のねじれの判定 (a, b) と、これらの液晶を不斉反応場として合成した H-PA の走査型電子顕微鏡 観察によるらせんの向きの判定 (c, d)

5. 不斉液晶反応場での H-PA のらせん形成メカニズム

N*-LC を重合溶媒として合成した H-PA のフィブリルは基板に対して平行に成長し、その形態は液晶の表面に依存すると考えられる。そのため、本系で合成した H-PA の形成メカニズムについては、液晶の自由表面だけを考えればよい。H-PA のフィブリルは液晶のダイレクタに沿って成長する。また H-PA のフィブリルは光学指紋状模様の縞に沿ってねじれながら成長する。そこで、液晶分子が基板に対して平行に配向した部分を軸に、その周りの液晶分子のダイレクタに沿って矢印を描いた (図 6 a)。その結果、右巻きのねじれを持つ N*-LC で、矢印は指紋状光学組織の縞模様の明部を軸に左巻きで伸びることが分かった。この矢印の方向を H-PA のフィブリルの成長方向と考えると、N*-LC とこれを重合溶媒として合成した H-PA との関係をよく説明することができる。

すなわち、

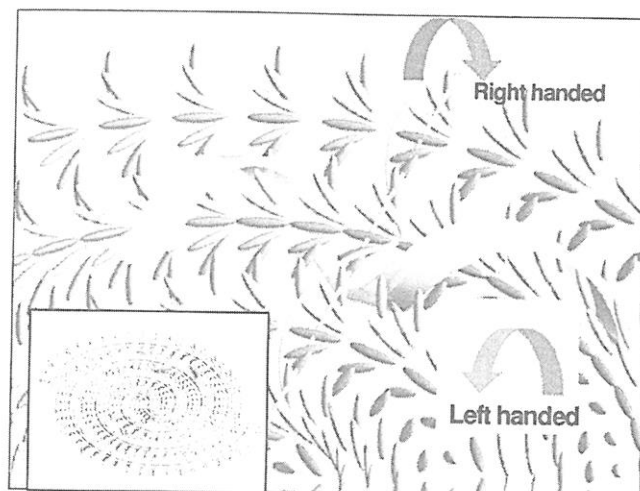
1. N*-LC の指紋状スパイラル模様と H-PA のスパイラル形態の巻きの向きは一致する。

2. H-PA のフィブリルは、N*-LC の指紋状組織の縞と平行である。つまり、H-PA のらせん軸は、N*-LC のらせん軸と直交している。

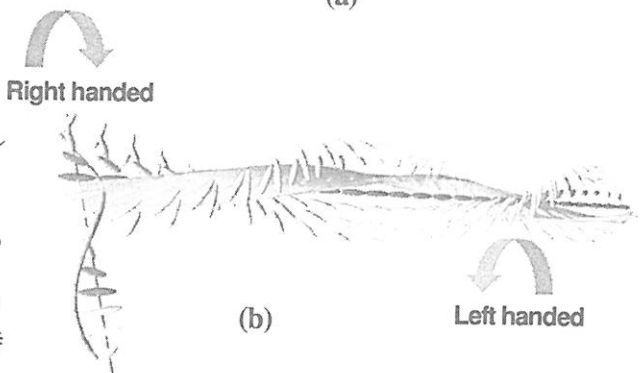
3. H-PA のフィブリル束間の距離は、N*-LC のヘリカルピッチの半分の長さに相当する。

4. H-PA のらせんの向きは、N*-LC のねじれの向きと逆である。

特に4の相関は、図6 bに示す通り、ポリエン鎖は常に液晶分子をガイドとしてこれに平行に成長する。換言すれば、液晶分子がねじれていれば、これに沿ってポリエン鎖が成長するため、結果的に、ポリエン鎖もねじれた構造となる。同時に、ねじれそのものは逆巻きに、N*-LC から H-PA へ転写されることになる。



(a)



(b)

図6 キラルネマチック液晶反応場でのヘリカルポリアセチレンの形成メカニズム

6. まとめ

キラルネマチック液晶 (N*-LC) 中でのヘリカルポリアセチレン (H-PA) の形成メカニズムについて考察した。H-PA 薄膜を SEM 観察すると多くのスパイラルドメインが確認できる。このスパイラルの向きは偏光顕微鏡 (POM) で観察される N*-LC のスパイラルの向きと一致する。H-PA は N*-LC の形態を写し取っているためと考えられる。一方、N*-LC と H-PA のらせんの向きは互いに逆向きであることが分かった。フィブリルの束間の距離は、反応場である N*-LC の半ピッチに相当し、一定の間隔を保って成長することが分かった。また、H-PA と N*-LC のらせん軸は互いに直行することも分かった。次に、反応場である N*-LC の構造を POM 観察より検証した。N*-LC と H-PA の相関および N*-LC の高次構造を明らかにすることで、不斉液晶反応場における H-PA の形成メカニズムを提示した。

文献：

- [1] (a) Akagi, K.; Piao, G.; Kaneko, S.; Sakamaki, K.; Shirakawa, H.; Kyotani, M. *Science* **1998**, 282, 1683. (b) Akagi, K.; Higuchi, I.; Piao, G.; Shirakawa, H.; Kyotani, M. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1999**, 332, 463. (c) Akagi, K.; Piao, G.; Kaneko, S.; Higuchi, I.; Shirakawa, H.; Kyotani, M. *Synth. Met.* **1999**, 102, 1406. (d) Akagi, K.; Guo, S.; Mori, T.; Goh, M.; Piao, G.; Kyotani, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 14647. (e) Akagi, K.; *Chem. Rev.* **2009**, 109, 5354.
- [2] (a) Akagi, K.; in *Handbook of Conducting Polymers, Third Edition, Conjugated Polymers*, Eds. T. A. Skotheim, J. R. Reynolds. CRC Press, New York, 3-3 - 3-14 (2007). (b) Akagi, K.; in *Thermotropic Liquid Crystals: Recent Advances*, Ed. by A. Ramamoorthy, Springer, London, Chap. 9, 249 - 275 (2007). (c) Akagi, K.; *Polym. Inter.* **2007**, 56, 1192. (d) Akagi, K.; Mori, T. *Chem. Record* **2008**, 8, 395. (e) Goh, M.; Matsushita, S.; Akagi, K. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 2466.
- [3] (a) Goh, M.; Kyotani, M.; Akagi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 8519. (b) Goh, M.; Matsushita, T.; Kyotani, M.; Akagi, K. *Macromolecules* **2007**, 40, 4762. (c) Mori, T.; Kyotani, M.; Akagi, K. *Macromolecules* **2008**, 41, 607. (d) Goh, M.; Akagi, K. *Liq. Cryst.* **2008**, 35, 953. (e) Mori, T.; Sato, T.; Kyotani, M.; Akagi, K. *Macromolecules* **2009**, 42, 1817. (f) Goh, M.; Piao, G.; Kyotani, M.; Akagi, K. *Macromolecules*, **2009**, 42, 8590. (g) Goh, M.; Matsushita, T.; Satake, H.; Kyotani, M.; Akagi, K. *Macromolecules*, **2010**, 43, 5943. (h) Mori, T.; Kyotani, M.; Akagi, K. *Macromolecules* **2010**, 43, 8363.
- [4] (a) Kyotani, M.; Matsushita, S.; Nagai, T.; Matsui Y.; Shimomura M.; Kaito, A.; Akagi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 10880. (b) Matsushita, S.; Kyotani, M.; Akagi, K. *Synth. Met.* **2009**, 159, 2198. (c) Kyotani, M.; Matsushita, S.; Goh, M.; Nagai, T.; Matsui, Y.; Akagi, K. *Nanoscale* **2010**, 2, 509. (d) Hayasaka, H.; Miyashita, T.; Tamura, K.; Akagi, K. *Adv. Func. Mater.* **2010**, 20, 1243.

ヒ素を用いた機能性材料の創製

中條 善樹・中 建介・梅山 有和・中橋 明子・峰原 宏樹

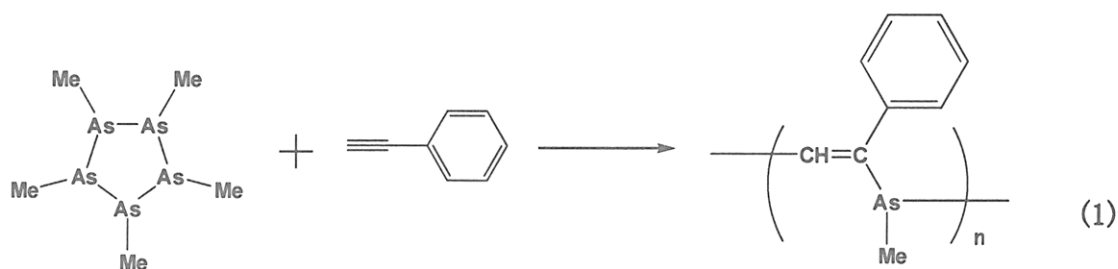
Y. Chujo, K. Naka, T. Umeyama, A. Nakahashi, H. Minehara

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

【ヒ素含有共役系高分子】

ヒ素化合物は古くから毒物として使用され、極めて猛毒というイメージが広く一般に知れ渡っているため、ヒ化ガリウム単結晶などの電子材料を除いて、材料としてヒ素元素を利用しようという試みはほとんど行われていなかった。しかしながら、海草などには相当量ヒ素化合物が含まれているにもかかわらず、それらを食べても健康上全く問題ないことはあまり知られていない。これは海草などに含まれるものは有機ヒ素化合物の一種で、そのまま体外に排出されるためである。ヒ素化合物のうち猛毒なものは亜ヒ酸などの無機ヒ素であり、ヒ素を有機化することによりその毒性は一般的に大きく低下することになる。そこで、天然資源である猛毒な亜ヒ酸を有機高分子中に簡便に高分子骨格中に固定化できる方法を開拓し、しかも得られる含ヒ素有機高分子が有用な材料とした応用が可能となれば、工業的にも環境面でも大きな貢献ができると期待される。

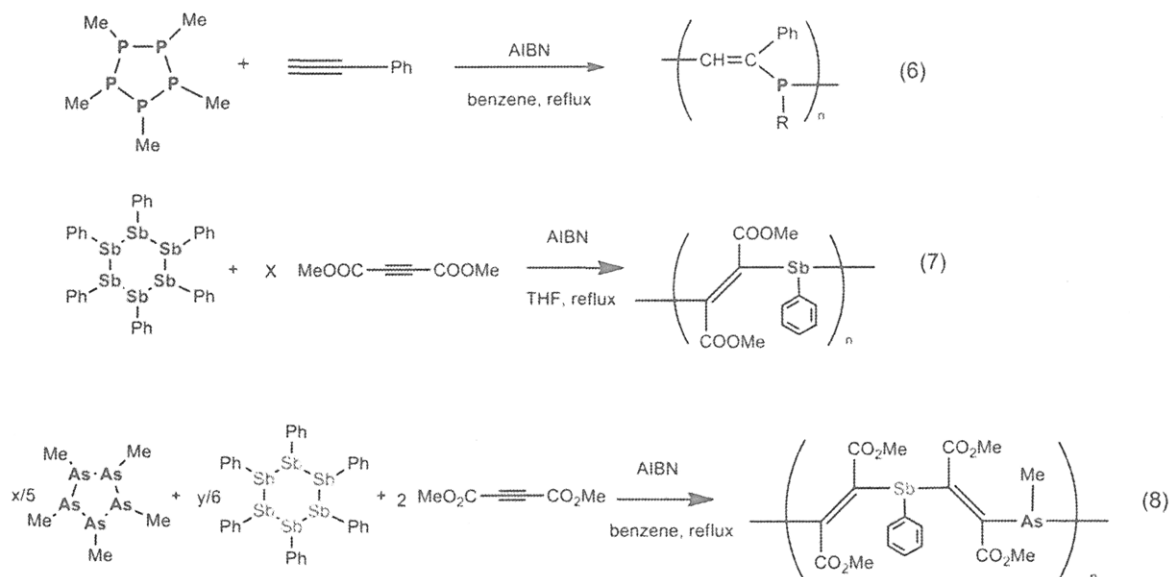
有機化ヒ素化合物であるメチルまたはフェニルアルソン酸を次亜リン酸で還元するとメチルアルソン酸からは5員環、フェニルアルソン酸からは6員環の環状ヒ素化合物のみが選択的に得られることは古くから知られていた。これら環状ヒ素化合物とアセチレン類とをラジカル開始剤または光照射で反応させることで、ヒ素原子を主鎖に含む分子量1万以上のポリ（ビニレンヒ素）が得られる（式1）¹⁾。これは構造の明確な有機ヒ素ポリマーが得られた初めての例である。



得られたポリ（ビニレンヒ素）は汎用溶媒への溶解性に優れ、フィルム形成能を有する極めて交互性の高い構造を有している。窒素と同族の15族元素であるヒ素原子は非共有電子対を有しており、これが主鎖上の π 電子と共役することによる $n-\pi^*$ 共役系の拡張やこれによる発光が認められるなど、興味ある電子構造を有していることがわかった。アセチレン化合物の置換基を変化させた化合物を種々合成し、共重合することで、バンドギャップや発光色が制御されたポリ（ビニレンヒ素）を合成することが可能であることが示された²⁾。

メチルアルソン酸から得られる5員環ヒ素化合物のみをラジカル開始剤と反応させた場合は赤色の不溶物が得られる。これはヒ素原子がはしご状に高分子化したものであるとされている。一方、フェニルアルソン酸から得られる6員環状ヒ素化合物は重合溶媒への溶解性は低く、還流条件下では分散溶液であるが、ここにラジカル開始剤を加えると可溶化する。これはラジカルにより環構造が壊されたためである。その後、溶液を室温に戻すと、環状ヒ素化合物が再生する。環状ヒ素化合物とアセチレン類の重合開始時においてアセチレン類は消費されず、一定時間後にアセチレン類は反応を開始することから、本重合はヒ素原子同士のホモリシス開裂を、光や熱などの外部刺激を与え続けることで完全に進行させ、単独重合性の低いアセチレン化合物とヒ素原子ラジカルが反応するという、これまでとは全く違う機構により共重合体の高い交互性が達成されていることがわかった³⁾。

ヒ素と同族元素であるリンおよびアンチモンからなる種々のホモ環状化合物が知られておりこれらを本重合系に適用することでポリ(ビニレンホスフィン)やポリ(ビニレンスチビン)も得られる(式6, 7)^{4) 5)}。ラジカルのエチニル基への反応性は $P > As > Sb$ の順に低下するため、環状アンチモン化合物は電子受容性の強い置換基を有するアセチレン類とのみ高分子量体を与える。また、生成するビニルラジカルの15族元素への反応性は $P < As < Sb$ の順に増加するため、環状ヒ素化合物と環状アンチモン化合物およびアセチレン化合物との三元共重合を行うとエチニル基への付加はヒ素ラジカルが優先され、ビニルラジカルの付加はアンチモン元素に優先されるため、ポリ(ビニレンヒ素-ビニレンスチビン)の周期コポリマーが得られる(式8)⁶⁾。

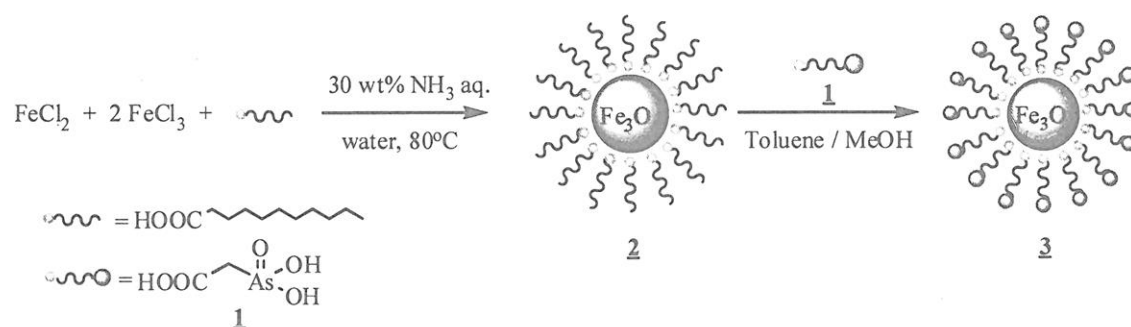


【アルソン酸修飾酸化鉄ナノ粒子の作製とガン細胞に対する作用】

生体内をモニタリングする診断技術として、造影剤を用いた MRI (Magnetic

Resonance Imaging)がある。酸化鉄ナノ粒子は超常磁性及び生体内における高い安定性を有することから、MRI 造影剤として利用されている。しかし、現在市販されている造影剤には部位特異性が無く、投与量の大半が肝臓に蓄積されるため、造影対象は肝臓に限られている。ガン細胞組織は正常細胞組織に比べ、組織内部の pH が低く、また細胞種によって細胞内還元物質の濃度に違いがあるため、ナノ粒子に pH 応答性、還元的環境応答性を付与することにより凝集状態を制御し、ガン細胞特異性を発現させる試みが行われている。

一方、機構は未解明ながら、亜ヒ酸の誘導体であるアルソン酸を含有するリポソームが正常細胞に比べ、ガン細胞の増殖を阻害するという報告がなされている⁷⁾。またアルソン酸はチオールと反応し、As-C 結合が切断され、As 化合物を遊離することが報告されている⁸⁾。そこで本研究では、酸化鉄ナノ粒子の表面をアルソン酸で修飾し、pH 応答性及び還元的環境応答性を付与することにより、腫瘍特異的な凝集及び、抗ガン作用を有するナノ粒子の開発を目的とした。



Scheme 1

Arsonoacetic acid(1)は13 M NaOH水溶液(3.4 ml)中にAs₂O₃(7.31 mmol)を溶解させ、クロロ酢酸を加え、1時間還流させることにより収率86%で得られた。次にScheme 1に従い、蒸留水(40 ml)にFeCl₂(4.3 mmol)とFeCl₃(8.6 mmol)を溶解させ、70℃に加熱した後、ウンデカン酸(1.2 mmol)のアセトン溶液(0.5 ml)を加えた。この溶液を激しく攪拌しながら30% NH₃aq(5 ml)を加え、さらに5分毎にウンデカン酸(0.25 mmol)を5回加えた。さらに70℃において30分間攪拌することにより、ウンデカン酸で被覆した疎水性酸化鉄ナノ粒子(2)を合成した。得られた2(1 mg)をトルエン(1 ml)に分散させ、配位子(1)(8 mg)をメタノール溶液として加え、室温で24時間攪拌することにより、配位子交換を行った。マグネットによる回収、洗浄を繰り返すことで3の精製を行った。動的光散乱(DLS)測定及び透過型電子顕微鏡(TEM)画像を用いて、粒子径の算出を行った。蛍光X線(XRF)測定により、配位子による被覆を確認し、またフーリエ変換赤外分光(FT-IR)測定により、配位子とナノ粒子表面の結合状態を評価した。

得られたナノ粒子の還元的環境応答性をXRF測定により評価し、pH応答性をDLS測定

により評価した。正常細胞とガン細胞に対する作用をMTT法により評価した。正常細胞として、primary mouse hepatocytesを用い、肝ガン細胞にはHepG2、子宮ガン細胞にはHeLa S3を用いた。

ナノ粒子の作製

配位子交換前後での粒径はTEM観測より、それぞれ、8.9および9.2 nmであり、大きな変化は観察されなかった。またこれらの数値はDLSの結果ともよく一致した。**2**は水/クロロホルム系中において、クロロホルムに分配されるのに対して、**3**は水相に分配

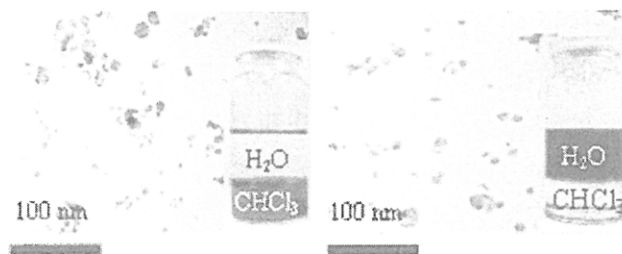


Figure 1. TEM images of **2**(left) and **3**(right). Insets are the images of H₂O/CHCl₃ solutions of **2** and **3**.

されることが確認された(Figure 1)。また、FT-IR スペクトル測定の結果、**1** 及び **3** のスペクトルのいずれにおいても、C=O 伸縮振動(1600 cm⁻¹, 1400 cm⁻¹)、As=O 伸縮振動に相当する吸収帯(1000 cm⁻¹, 900 cm⁻¹)が現れたことから、**1**による被覆が確認され

た。酸化鉄ナノ粒子表面への配位によって、As=O 伸縮振動の吸収帯にシフトは起こらず、C=O 伸縮振動に相当する吸収帯の高波数シフトが観察されたことから、カルボキシル基末端で配位していることが確認された(Figure 2)。

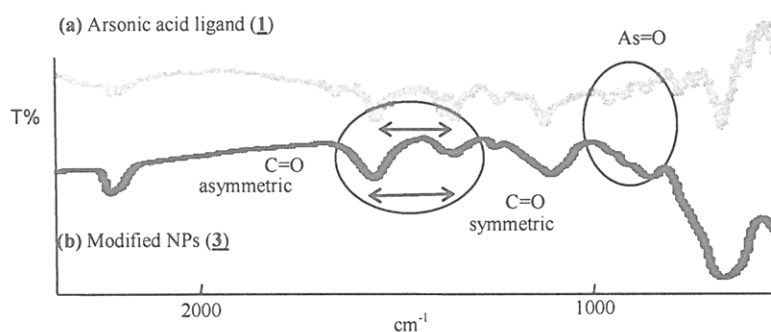


Figure 2. FT-IR spectra of **1** (a) and **3** (b).

刺激応答性

in vitro の実験において、**3**は還元剤(Dithiothreitol (DTT))と反応することで、表面に存在する**1**のAs-C結合が切断され、As化合物を放出したことが反応前後のXRFスペクトルにおけるAsに由来するシグナルの消失により確認された(Figure 3)。

また**3**は粒子表面のアルソン酸に由来するpH応答性を示し、pH=6以上では分散し、pH=6以下では凝集した。アルソン酸の酸解離定数 pK_{a1}~3.8、pK_{a2}~8.8であることから、アルソノ基がプロトン化するに従い、粒子間の静電反発が弱まったために凝集したと考えられる。

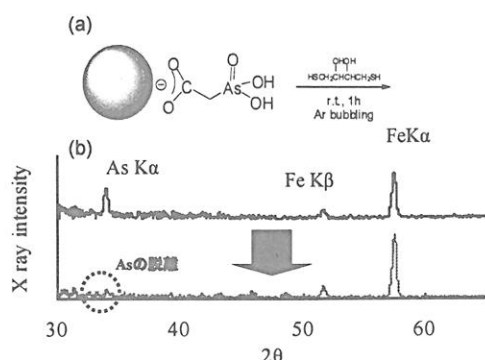


Figure 3. Release of arsenic compounds triggered by the reduction. XRF spectra of **3** (a) before and (b) after reduction with DTT.

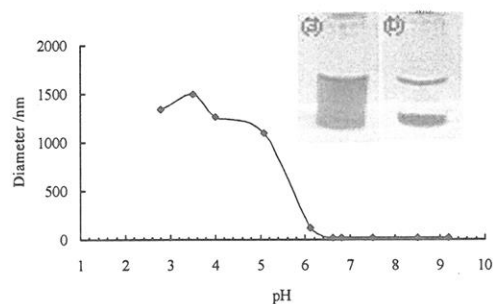


Figure 4. pH-responsive aggregation of **3**. Insets are the images of aqueous solutions of **3** before ((a), pH 6.6) and after ((b), pH 5.2) acidification with HCl.

ガン細胞に対する作用

3 の正常細胞 (Primary mouse hepatocytes)、肝ガン細胞 (HepG2)、子宮ガン細胞 (HeLa S3) に対する影響を MTT 法により評価した。正常細胞の生存率はほとんど影響を受けなかったのに対し、肝ガン細胞の生存率は顕著に減少した (Figure 5)。また経時変化の観察の結果、培養 1 日後から 3 日後にかけて、肝ガン細胞 (HepG2) の細胞数が減少したことを確認した。

HepG2 細胞内はグルタチオン濃度が比較的高く、**3** は DTT と反応することにより、C-As 結合の開裂によってヒ素化合物を放出することから、細胞内グルタチオン濃度が毒性発現機構に関与している可能性が考えられる。

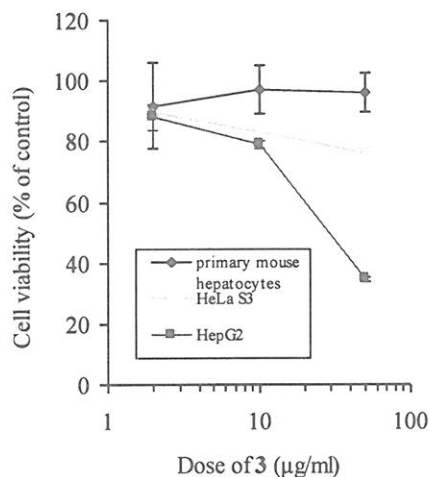


Figure 5. Effect of **3** on the viability of tumor cell lines and normal cells. Results are expressed as viability (% viable cells in comparison with the control) versus dose of **3**.

文献

- 1) K. Naka, T. Umeyama, Y. Chujo, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 6600 (2002).
- 2) T. Umeyama, K. Naka, A. Nakahashi, Y. Chujo, *Macromolecules*, **37**, 1271 (2004).
- 3) T. Umeyama, K. Naka, Y. Chujo, *Macromolecules*, **37**, 5952 (2004).
- 4) K. Naka, A. Nakahashi, Y. Chujo, *Macromolecules*, **39**, 8257 (2006).
- 5) K. Naka, T. Umeyama, A. Nakahashi, Y. Chujo, *Macromolecules*, **40**, 4854 (2007).
- 6) K. Naka, A. Nakahashi, Y. Chujo, *Macromolecules*, **40**, 1372 (2007).
- 7) O. Gortzi, *et al.*, *Pharma. Res.*, **19**, 79 (2002).
- 8) P. V. Ioannou, *et al.*, *Appl. Org. Metal. Chem.*, **14**, 261 (2000).

ナノ空間ガイドによる新規共連続構造を持つ 3成分トリブロック共重合体ナノ材料の創製

長谷川博一，赤坂 哲，三谷明子，阪口 豪，逢坂武次
Hirokazu Hasegawa, Satoshi Akasaka, Akiko Mitani, Go Sakaguchi,
Taketsugu Osaka
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻

1. はじめに

ブロック共重合体は異種高分子鎖からなるブロック鎖が共有結合で連結した一次構造を有し、ブロック鎖間の斥力的相互作用が強い場合はブロック鎖間の相分離によりナノメートルの尺度の周期的規則構造、すなわちミクロ相分離構造（ミクロドメイン構造）をとることが知られている。二種類の高分子からなるジブロック共重合体については、共重合組成に依存して、球状、シリンダー状、交互層（ラメラ）状等の形態をしたミクロドメイン構造が生成することが知られているが、特に二成分が共に三次元的に連続した共連続構造（ネットワーク構造）が注目されている。その理由として、次のような特長を挙げることができる。すなわち共連続構造は、(i) 海-島（分散相-連続相）型構造に比べ強靱な機械的強度を有すること（建築ではトラス構造として応用されている）、(ii) 成分高分子に機能性高分子を用いた場合、電気・イオン・ガス等の三次元伝導性が期待できること、(iii) 一方の成分を選択的に分解除去して得られる多孔体は均一な孔径を有するため透過膜や分離膜として応用可能なほか、ナノ微粒子などの触媒の担体としても利用可能なこと、あるいは空孔の反応場としての利用や、空隙による低屈折率化、軽量化を利用した新規材料の開発にも利用できる。

ジブロック共重合体単体が平衡状態で取りうる規則的共連続構造としてはジャイロイド(Gyroid)構造[1]とFddd構造[2]が知られている。ジャイロイド構造はそのネットワーク構造が三次元周期的極小曲面の一種であるGyroid極小曲面で特徴づけられることにより名づけられた。ジャイロイド構造は二重網目構造をとるため、すなわち一方の成分（少数成分）が互いに交わらず二組の鏡像関係にある相互貫入網目状のミクロドメインを形成し、他方の成分（多数成分）がマトリックス相を形成するため、ダブルジャイロイド構造とも呼ばれている。また、小角X線散乱(SAXS)法を用いた構造解析により $Ia\bar{3}d$ 空間群(No. 230)の対称性を有する立方晶の単位胞を持つことが分かっていることから、 $Ia\bar{3}d$ 構造あるいは Q^{230} という名付け方も用いられている。広く研究されているポリスチレン-ポリイソプレンジブロック共重合体(PS-*b*-PI)においてはジャイロイド構造が常温でキャストしたフィルム中でもシリンダー状構造が現れる組成とラメラ状構造

のそれとの中間の狭い組成領域において観察されているのに対し、*Fddd*構造はキャストフィルム中では観察されず、平衡状態にある融液を高温で、あるいは急冷凍結して観察した場合のみ観察されている。*Fddd*構造はその名が示すように、斜方晶の単位胞と*Fddd*空間群(No. 70)の対称性を有する単網目の共連続構造である。ジャイロイド構造も*Fddd*構造も網目の分岐数は3である。PS-*b*-PIジブロック共重合体に現れる共連続構造については、OBDD(ordered bicontinuous double diamond)構造[3]と呼ばれる立方晶の単位胞と $Pn\bar{3}m$ 空間群(No. 224)の対称性を持つ4分岐の二重網目構造が最初に報告されたが、後にこれはジャイロイド構造であったことが判明し、理論研究[4]においてもジャイロイド構造のエネルギー的優位性が支持されたため、その存在は長らく否定されていた。しかし、最近になってジブロック共重合体単体を始め種々のブロック共重合体系でOBDD構造が発見されている。

2. 3成分トリブロック共重合体の特徴

ジブロック共重合体から3成分トリブロック共重合体へとただ成分数が一つ増えるだけで、ミクロ相分離構造のモルフォロジーは驚く程多様になる。Fig. 1にジブロック共重合体の典型的なマイクロドメイン形状であるラメラ，シリンダー，球の3種類の形状のマイクロドメインを組み合わせることにより幾何学的に考えられるABC3成分トリブロック共重合体のモルフォロジーを，B成分に対するAおよびC成分の体積比の関数として示した。共連続構造が加わるとさらに多くのモルフォロジーが考えられるが、実際には全く想像もつかないようなKnitting Pattern (kp構造) [5]と呼ばれ、編み物を想像させるような奇妙なマイクロドメイン構造も報告

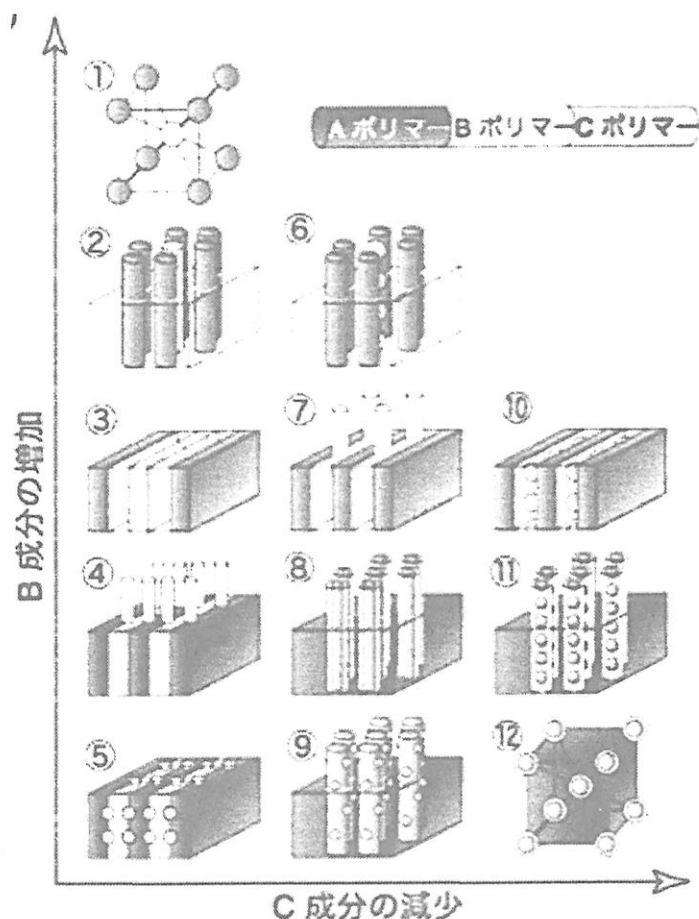


Fig. 1 Possible morphologies consisting of lamellar, cylindrical and spherical microdomains for triblock terpolymers

されている。

3成分トリブロック共重合体のミクロドメイン構造に関する系統的な研究はいくつかのグループにより行われている。しかし、AB2成分系の分子パラメータは、分子量のほかにはA成分の組成 f_A 、ABセグメント間のFlory-Huggins相互作用パラメータ χ_{AB} のみであるのに対し、ABC3成分系の分子パラメータは組成(f_A, f_B)が倍、相互作用パラメータ($\chi_{AB}, \chi_{BC}, \chi_{AC}$)が3倍となり、その組み合わせは著しく増加する。その上、ブロック鎖の接合順(ABC, BCA, CAB)を入れ替えれば、さらに多様な組み合わせが可能となる。従って、3成分系のミクロドメイン構造の分子パラメータ依存性を網羅することは難しい。それにも拘らずFig.1に示したミクロドメイン構造はこれまでの実験研究により全て発見されている。

ABC3成分トリブロック共重合体における高分子種の選定に当たって留意すべき点がある。それは、相互作用パラメータ $\chi_{AB}, \chi_{BC}, \chi_{AC}$ の大小関係である。ABC3成分トリブロック共重合体では結合順に従って、ABCBAの順にミクロドメインが形成される。従ってAおよびCセグメントが接触するような界面は形成されないはずである。 $\chi_{AB} \sim \chi_{BC} \ll \chi_{AC}$ 、すなわちACセグメント間の斥力的相互作用が一番大きい場合、ABCBAの順にミクロドメインが形成されればAC間の接触が避けられるため問題は無い。このような系をnon-frustrated systemと呼んでいる。他方、 $\chi_{AB} \sim \chi_{BC} \gg \chi_{AC}$ 、すなわちACセグメント間の斥力的相互作用が一番小さい場合、AおよびCセグメントが接触するような界面も可能となる。その結果、結合点を持たない界面(A/C界面)が形成される。このような系をfrustrated systemと呼んでいる。Fig.1に示したミクロドメイン構造のうち、④、⑤、⑨番の構造およびkp構造はfrustrated systemに現れると考えられる。

ABジブロック共重合体の相挙動は相互作用パラメータ χ_{AB} と重合度 N の積 $\chi_{AB}N$ の値により、 $\chi_{AB}N < 30$ 程度を弱偏斥、 $\chi_{AB}N > 100$ 程度を強偏斥と分類される。弱偏斥では温度変化に応じ、ABセグメントが混合した無秩序状態とミクロ相分離した秩序状態との間の転移(秩序-無秩序転移)やミクロドメインのモルフォロジーが変化する秩序-秩序転移が観察される。他方、強偏斥ではミクロドメインのモルフォロジーは共重合組成のみに依存し、温度には依存しない。3成分トリブロック共重合体研究では、平衡状態を重視するため分子量の低い弱偏斥系のみを対象とするミネソタ大学のF. S. Batesらのグループ[6]もあるが、一般には3成分が明瞭にミクロ相分離した高分子量強偏斥系の研究が多い。後者の研究ではミクロドメイン構造解析の試料として、溶液からキャストしたフィルム試料あるいはそれらを熱処理した試料が用いられる。キャストフィルムでなるべく平衡状態に近い構造を得るには3成分に中性の共通良溶媒を用いるのが望ましい。中性の共通良溶媒というのは、キャスト過程で溶媒が蒸発することにより溶液濃度が変化しても、3相にミクロ相分離した各相の濃度が常に等しく保たれるような溶媒である。この条件下では溶液中の各相の体積分率はバ

ルックにおける各相の体積分率に等しく、溶液中でもバルク同様のミクロドメインモルフォロジーが形成されていることが期待できる。

(a) 1 step (neutral solvent)



(b) 2 step (selective solvent)

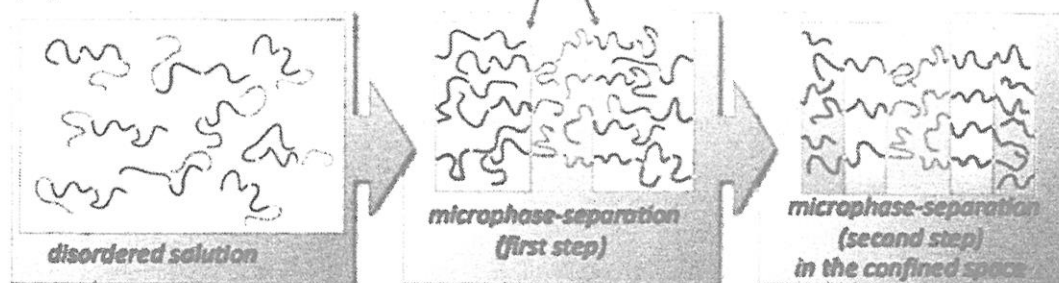


Fig. 2 Concepts of (a) 1-step and (b) 2-step microphase separation in the solution-casting processes of triblock terpolymers.

3. 3成分トリブロック共重合体における2段階ミクロ相分離

ブロック鎖間の斥力的相互作用がほぼ等しい3成分トリブロック共重合体を用いてキャストした場合、Fig. 2aに示すように3成分が同時に相分離すると考えられる。しかし、一般にはそのような条件を満たすことは難しい。3成分が同様の溶解度を示す溶媒を見つけるのは困難であり、またブロック鎖間の斥力的相互作用に差が生じることが当然予測される。そのような場合には先ずあるブロック成分が他の2成分とミクロ相分離し、しかる後、溶媒の更なる蒸発と溶液濃度の増加に伴い残りの2成分も相分離するという、二段階ミクロ相分離(Fig.2b)が起これらと考える。このような効果は選択溶媒を用いた場合さらに助長されるであろう。さらに溶媒蒸に伴いいずれかの成分高分子がガラス転移を起こせば、溶液中の構造がキャストフィルム中にも保持される。その結果得られる構造は非平衡構造であり、一段階ミクロ相分離では決して形成し得ないような構造も出現する可能性がある。また、ABCトリブロック共重合体において真中の成分Bが先ずAC混合相とミクロ相分離する場合には、結合点が存在しないAC界面が強制的に形成される。この場合、AC両ブロック鎖ともに片末端をB相との界面に拘束された条件下でのAC間のミクロ相分離が

起こることになる。

二段階マイクロ相分離における二段階目のマイクロ相分離は第一段階のマイクロ相分離で形成された界面によって制限された空間内で起こる。さらに第二段階でマイクロ相分離するブロック鎖はその結合点を界面に拘束されている。しかもこの界面は空間に規則的な格子を組んでいる。このような特殊な拘束空間と拘束条件[7]のもとに生成するマイクロドメイン構造を制御するには、第一段階のマイクロ相分離構造（これが第二段階マイクロ相分離のガイドとなる）の制御が重要である。我々は、このような二段階マイクロ相分離法が3成分トリブロック共重合体において新規共連続構造を創出するのに非常に有用であることを見出した。

4. 試料と実験

試料としてアテネ大学N. Hadjichristidis教授から提供された逐次リビングアニオン重合法により合成された9種類のポリスチレン-ポリイソプレン-ポリジメチルシロキサントリブロック共重合体(PS-*b*-PI-*b*-PDMS)を用いた。いずれも分子量は 10^5 kgmol^{-1} を超え、強偏斥の領域にある。また $\chi_{\text{PS,PI}} \sim \chi_{\text{PI,PDMS}} < \chi_{\text{PS,PDMS}}$ であることから[8]、この系はnon-frustrated systemである。数平均分子量 M_n 、組成（各ブロック鎖の重量%）、分子量分布の多分散指数 M_w/M_n をTable 1に示した。

Table.1 Characteristics of PS-*b*-PI-*b*-PDMS

code	M_n ($\times 10^{-5}$)	PS (wt%)	PI (wt%)	PDMS (wt%)	M_w/M_n
tri1	1.05	42.9	38.8	18.3	1.03
tri2	1.28	63.2	22.4	14.4	1.04
tri3	1.13	18.2	53.3	28.5	1.04
tri4	1.51	37.8	46.6	15.6	1.07
tri5	1.20	40.1	15.1	44.8	1.05
tri6	1.31	14.6	46.7	38.7	1.03
tri7	1.36	57.8	25.3	16.9	1.06
tri8	1.79	33.8	32.7	33.5	1.05
tri9	1.41	42.7	14.5	42.9	1.04

試料の5wt%のトルエン溶液から室温で1-3ヶ月かけてゆっくりと溶媒を蒸発させて厚さ約0.3 mmのキャストフィルムを得た。マイクロドメインモルフォロジーの同定は、これらのキャストフィルムからクライオマイクロトームを用いて厚さ70-150 nmの超薄切片を作製したのち、無染色あるいは四酸化オスミウム染色ののち透過型電子顕微鏡(TEM)観察するとともに、TEMトモグラフィーによる三次元観察により行った。

トルエンはポリスチレンとポリイソプレンに対しては中性の共通良溶

媒であるが、ポリジメチルシロキサンに対しては貧溶媒であるため、PS-*b*-PI-*b*-PDMSにとっては選択溶媒である。従って、キャストプロセスでは先ずPDMS成分が他の2成分とマイクロ相分離し、その後PSとPIがマイクロ相分離する二段階マイクロ相分離が考えられる。

無染色切片試料のTEM観察ではPS相およびPI相は明るく、PDMS相はSi原子を含むため暗く観察される。四酸化オスミウム染色した切片試料では染色されたPI相は暗く、染色されないPS相は明るく、Si原子を含むPDMS相はその中間のグレーのコントラストで観察されるため、両者のTEM画像を見比べれば3相のマイクロドメインの識別が可能となる。

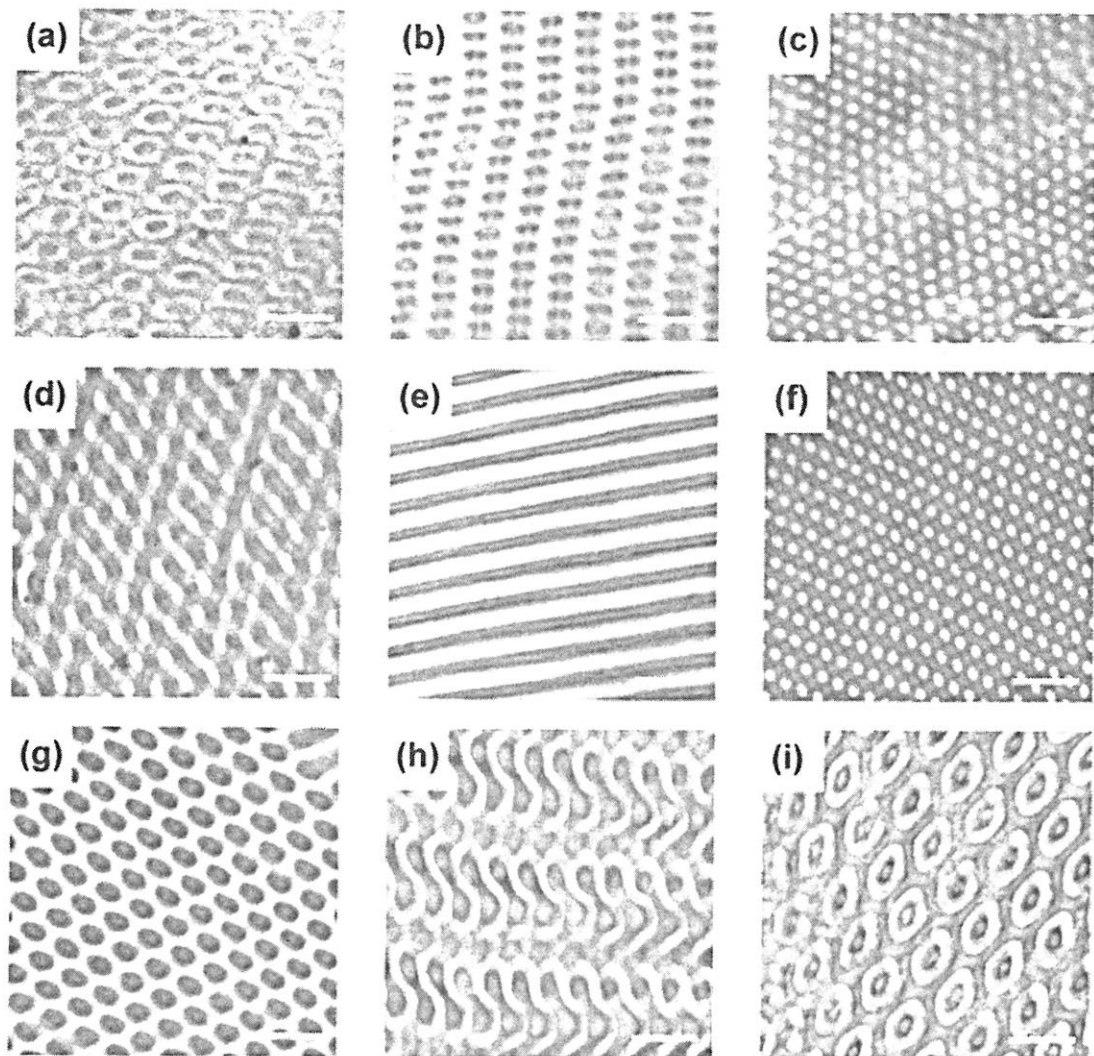


Fig. 3 TEM images of the ultrathin sections after OsO_4 staining: (a) tril: bicontinuous core-shell network, (b) tri2: core-shell cylinders, (c) tri3: mixed cylinders, (d) tri4: bicontinuous core-shell network, (e) tri5: lamellae, (f) tri6: cylinders and spheres, (7) tri7: core-shell cylinders, (8) tri8: bicontinuous core-shell network, (9) tri9: bicontinuous core-shell network

5. 新規共連続構造の観察

Fig. 3a~3iに四酸化オスミウム染色したtri1~tri9試料のTEM画像を示した。

4種類のシリンダー構造(tri2, tri3, tri6, tri7)、4種類の共連続構造(tri1, tri4, tri8, tri9)、1種類のラメラ構造(tri5)が得られた。

tri1はTEMトモグラフィーにより得られた三次元データをMedial Surface法により解析した結果、PDMS相をコア、PI相をシェルとするコア-シェル型の二重網目からなる共連続構造であり、斜方晶の単位胞を持つことが分かった。また、網目は3分岐と4分岐からできている。

Fig. 4はtri4からTEMトモグラフィーにより得られたPS相の三次元像である。空隙部はPI相およびPDMS相が占めているが、空隙部はPS相と全く鏡像関係にある形状をしていることがわかる。このことからtri4はPDMS相をコア、PI相をシェルとするコア-シェル型の4分岐の単網目からなる共連続構造であることが分かる。また、モデルとの比較によりこの共連続構造は周期的極小曲面であるD(diamond)-surfaceの特徴を持つことがわかった。

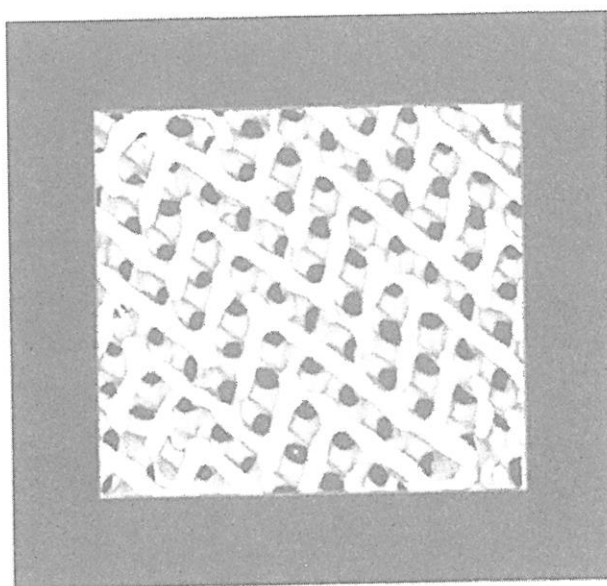


Fig. 4 3D TEM tomography reconstructed image of tri4.

Fig. 5はtri8からTEMトモグラフィーにより得られたPI相の三次元像である。複雑な形状と複

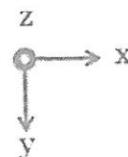
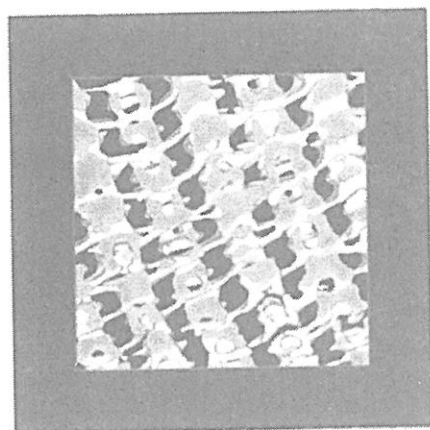


Fig. 5 3D TEM tomography reconstructed image of tri8 (left) and the corresponding cross-sectional image (right).

雑な分岐を持つ共連続構造であり、これまでに報告されているどの共連続構造にも該当しない新規な構造であることが明らかである。

tri9はTEMトモグラフィーにより得られた三次元データの解析からPDMS相をコア、PI相をシェルとするコア-シェル型の二重網目からなるジャイロイド構造であることが判明した。

6. まとめ

選択溶媒でキャストした9個のPS-*b*-PI-*b*-PDMSトリブロック共重合体試料のうち4個に共連続構造が見つかり、うち3個にGyroid以外の新規共連続構造を発見した。平衡系の3成分トリブロック共重合体に関するBatesらの研究[6,9]では、組成をほぼ網羅しているにも拘らず3種類の共連続構造しか見つかっていない。3成分トリブロック共重合体の二段階マイクロ相分離を利用することにより、第一段階のマイクロ相分離で形成されたマイクロドメインをガイドとして新規共連続構造を創製することが可能であることを示すことができた。

謝辞

本研究で用いた9個のPS-*b*-PI-*b*-PDMSトリブロック共重合体試料はアテネ大学のNikos Hadjichristidis教授、Hermis Iatreau准教授から提供していただいたものであり、ここに感謝の意を表します。

参考文献

- 1) D. A. Hajduk, P. E. Harper, S. M. Gruner, C. C. Honecker, G. Kim, E. L. Thomas, L. J. Fetters, *Macromolecules* **1994**, *27*, 4063-4075.
- 2) M. Takenaka, T. Wakada, S. Akasaka, S. Nishitsuji, K. Saijo, H. Shimizu, M. I. Kim, and H. Hasegawa, *Macromolecules* **2007**, *40*, 4399-4402.
- 3) H. Hasegawa, H. Tanaka, K. Yamasaki, T. Hashimoto, *Macromolecules* **1987**, *20*, 1651-1662.
- 4) M. W. Matsen, M. Schick, *Phys. Rev. Lett.* **1994**, *72*, 2660-2663
- 5) U. Breiner, U. Krappe, R. Stadler, *Macromol. Rapid Commun.* **1996**, *17*, 567-575.
- 6) J. Chatterjee, S. Jain, F. S. Bates, *Macromolecules* **2007**, *40*, 2882-2896.
- 7) K. Yamauchi, H. Hasegawa, T. Hashimoto, M. Nagao, *J. Appl. Cryst.* **2003**, *36*, 708-712.
- 8) C. M. Hardy, F. S. Bates, M. -H. Kim, G. D. Wignall, *Macromolecules* **2002**, *35*, 3189-3197.
- 9) A. J. Meuler, M. A. Hillmyer, F. S. Bates *Macromolecules* **2009**, *42*, 7221-7250.

感熱高分子水溶液の相分離とレオロジー

(京大院工) 田中文彦・古賀 毅・小島広之

1 はじめに

水溶性の感熱高分子ポリイソプロピルアクリルアミド (PNIPAM) は、単一鎖のコンホメーション転移点が生理温度に近いため医学や薬学に広く応用されている。PNIPAM の感熱性の物理的原因は永く謎であったが、我々は最近水和の協同性 (水分子の高分子への水素結合が連鎖状に形成される現象) に由来する鎖のシャープなコイルグロビュール転移によることを指摘し、高分子の協同水和の理論モデル化を行って特異な LCST 現象を説明するのに成功した [1]。

また、Montréal 大学の F.M. Winnik 教授と協力して、PNIPAM の両末端をアルキル鎖で疎水化したテレケリック PNIPAM の会合構造の研究を行ってきた [2-5]。希薄溶液中での花型ミセルの形成、曇点曲線、高温で現れるメソグロビュール (100 nm 程度の巨大会合体) の光散乱実験、凝縮温度の DSC 測定、蛍光測定の解析と理論モデルの構築を含んでいる。準濃厚領域では末端鎖の疎水凝集によるミセルで架橋されたネットワーク構造が形成され、ゾル・ゲル転移現象と高温相分離 (LCST) 型のマクロ相分離現象が観測される。

このようなテレケリック鎖による紐状ミセルの架橋混合系の粘弾性を研究するため、「組換え網目理論」を新たに紐状ミセルに適用できるように拡張した。線型領域におけるミセルの緩和が、相互の絡み合いによるトポロジカルな張力により加速されることが分かり、緩和時間が濃度とともに減少する実験結果を説明することができた。

2 純水中の PNIPAM の LCST 相分離と協同水和

PNIPAM は側鎖に疎水性のイソプロピル基を有するので、水分子がその根元付近のアミド基に水素結合する際に協同性が現れる。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移動し、隣接するアミド基に 2 個目の水分子が結合し易くなり、水素結合の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 個ずつ解離するのではなく、連鎖として集団脱水和するため、露出したイソ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は協同水和と呼ばれる [1]。

協同水和のため高分子鎖は協同水和により疎水凝集したグロビュールを水和で膨潤したランダム鎖で結合した真珠の首飾りのようなコンホメーションを取る。指数 $i \equiv \{i_1, i_2, \dots\}$ で指定されるようなモノマー ζ 個からなるグロビュールと、指数 $j \equiv \{j_1, j_2, \dots\}$ で指定されるようなモノマー ζ 個からなる水和コイルが j_ζ 個が交互に鎖上に形成されているモデルを用いて単一鎖のコンホメーション転移の解析を行った。

グロビュール 1 個当たりの自由エネルギーは γ を表面張力とすると $\Delta f_\zeta = -\epsilon\zeta + \gamma\zeta^{2/3}$ の形になるので、その統計重率は

$$\lambda_\zeta(T) = e^{-\gamma\zeta^{2/3}} \lambda(T)^\zeta \quad (1)$$

となる。一方、水和部分に関しては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、水素結合連鎖一つ当たりの統計重率は Zimm-Bragg 型

$$\eta_\zeta = \sigma\eta(T)^\zeta \quad (2)$$

となる。ここで、 $\sigma \equiv \exp(-\beta\Delta\epsilon)$ は協同性のパラメータ ($\beta \equiv 1/k_B T$)、 $\eta(T) \equiv \exp[-(\epsilon + \Delta\epsilon)/k_B T]$ 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は $\sigma = 1$ で PEO にみられるような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。このように単一鎖についての協同水和は Zimm-Bragg のコイル-ヘリックス転移理論とのアナロジーで解析することができるのである。

次に、溶液の相分離を調べるために水和の効果を考慮したフローリ-ハギンスの溶液自由エネルギー

$$\beta\Delta F = N_{fw} \ln \phi_{fw} + \sum_{i,j} N(i,j) \ln \phi(i,j) + \beta \sum_{i,j} \Delta A(i,j) N(i,j) + \chi\phi(1-\phi)\Omega \quad (3)$$

を考察する。ここで、 N_{fw} は自由水の分子数、 ϕ_{fw} はその体積分率、 $N(i,j)$ は溶液中に存在するインデックス (i,j) で指定された水和タイプの高分子鎖の数、 $\phi(i,j)$ はその体積分率、 $\beta A(i,j)$ は水和鎖の形成自由エネルギー、 $\Omega \equiv V/a^3 = nN + N_0 = \sum n(i,j)N(i,j) + N_{fw}$ は格子セルの総数、 $\chi(T)$ は背景に存在するファンデルワールス相互作用を表すフローリの χ -パラメータである。

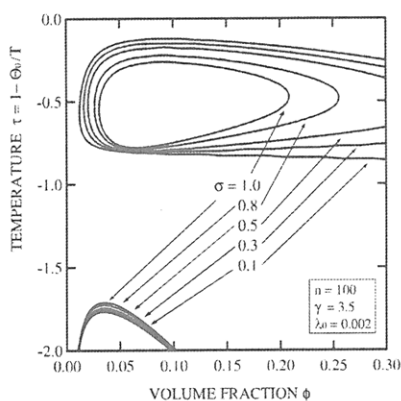


図1 連鎖性水和による LCST 相分離線の平坦化。協同性パラメータ σ を減少させると、ループ型の相分離領域が箱型の相分離領域に変わる。箱型では LCST (箱の底辺にあたる) の分子量の依存性が弱い。理論計算で用いたパラメータは $n = 100$, $\psi = 1.0$, $\lambda_0 = 0.002$, $\gamma = 3.5$ である。

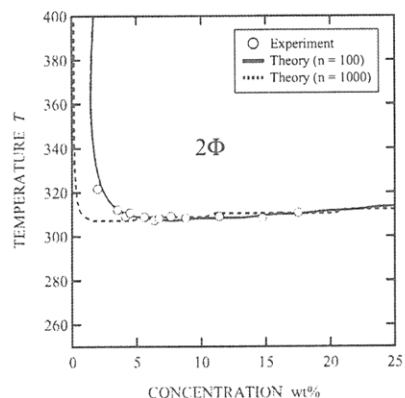


図2 スピノダル線の実測 (Azevedo 他)??と協同水和にもとづく理論計算との比較。理論計算で用いたパラメータは $\Theta_0 = 555$, $\lambda_0 = 0.002$, $n = 100$, $\Theta_0 = 565$, $\lambda_0 = 0.003$ for $n = 1000$, $\gamma = 3.5$, $\sigma = 0.3$ である。

自由エネルギーから化学ポテンシャルを求めると、相平衡条件やスピノダル条件を解析することができる。図1には水和の協同性によって相分離 (スピノダル) 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相分離ループの底の部分が平らになり、 $\sigma = 0.3$ あたりでほとんど水平になることがわかる。これは PNIPAM 水溶液で観測される平らな LCST に対応する。このような考えに基づいてスピノダル線の理論計算と実験結果を比較した結果を図2に示す。分子量にはあまり依存せず、20%wt 程度まで平坦な LCST 曇点曲線が得られ、実験データをうまく再現することが確認された。

3 混合溶媒中の PNIPAM 溶液と架橋ゲル

3.1 混合溶媒の基本的問題

混合溶媒中の高分子についての研究は、光散乱実験における濁度データを高分子の希薄極限に外挿しても、高分子による溶媒の選択吸収により鎖の分子量情報が得られないことに問題を發した。Evart 等は、現象論的に選択吸収係数 α を導入して問題を解決したが、その後 Stockmayer [6] は多成分系における濃度揺らぎの一般理論を展開し選択吸収係数の物理的解釈を明解にした。すなわち主溶媒 A と副溶媒 B の混合溶媒 A/B 中の高分子 P を考察すると、Stockmayer 理論では α は

$$\alpha = \frac{(\partial \mu_B / \partial m_P)_{p,T,m_B}}{(\partial \mu_B / \partial m_B)_{p,T,m_P}} = - \left(\frac{\partial m_B}{\partial m_P} \right)_{p,T,\mu_B} \quad (4)$$

となり、濁度は

$$\frac{\Delta \tau}{H'V} = \frac{(\psi_P - \alpha \psi_B)^2}{a_{PP} - a_{PB}^2/a_{BB}} + \psi_P^2 \left(\frac{1}{a_{BB}} - \frac{1}{a_{BB}^\circ} \right) \quad (5)$$

となる。ここで m_i は第 i 成分のモル濃度 (molarity), μ_i は化学ポテンシャル, $\psi_i \equiv (\partial n / \partial m_i)_{p,T,m}$ は屈折率 n の濃度微係数, $a_{ij} \equiv (\partial \ln \gamma_i / \partial m_j)_{p,T,m}$ は活量係数の微分である。選択吸収は高分子の近傍にどちらかの溶媒成分が引き寄せられる効果から生じる。

これまで研究されて来た選択吸収の問題は以下の 3 ケースに要約される。

- 共良溶媒 (cosolvent) : 2 種の貧溶媒 A,B を混合することで良溶媒となる場合
- 共貧溶媒 (cononsolvent) : 2 種の良溶媒 A,B を混合することで貧溶媒となる場合
- 臨界溶媒 (critical solvent) : 部分相溶する 2 種の溶媒 A,B の臨界相溶点近傍の溶媒

まず、共良溶媒の問題は Flory-Huggins 理論の範囲内で研究されており、貧溶媒性の条件 $\chi_{PA} > 1/2$, $\chi_{PB} > 1/2$ に加えて有効相互作用が正值、すなわち

$$\tilde{\chi} \equiv 2\chi_{PA}\chi_{PB} + 2\chi_{PA}\chi_{AB} + 2\chi_{PB}\chi_{AB} - \chi_{PA}^2 - \chi_{PB}^2 - \chi_{AB}^2 > 0 \quad (6)$$

ならびに新たな条件

$$2 > \chi_{AB} > \chi_{PA} + \chi_{PB} - 1 + (2\chi_{PA} - 1)^{1/2}(2\chi_{PB} - 1)^{1/2} \quad (7)$$

を満たす時に出現することが導出できる。言い換えると、van der Waals 相互作用以外に強いて特異相互作用を導入する必要がなく、溶媒の組み合わせだけで起こる現象であると理解できる。

次に共貧溶媒については、Wolf ら [7] は N,N-dimethylformamide(DMF) と cyclohexane(CH) 混合溶液中の polystyrene(PS) について、PS/DMF 単一成分液体とみなす近似 (single liquid approximation) で相図の構築に成功した。つまり 3 成分溶液 PS/DMF/CH は有効相互作用パラメータ

$$\chi_m = w_A\chi_{AB} + w_P\chi_{PB} - w_Pw_A\chi_{PA} \quad (8)$$

2 成分溶液 (PS/DMF)/CH と等価とみなされる

$$\text{PS/DMF/CH} = (\text{PS/DMF})/\text{CH} \quad (9)$$

という理解である。しかしながら、水溶液系 (主 (A 成分) 溶媒が水の場合) に対してはこのような理解は不十分で、水和を考慮した選択吸着現象を取り入れた説明が必要である。

最後に、臨界溶媒については高分子鎖の収縮、A/B 相図の液-液相分離曲線が高分子の存在によりシフトする現象が観測されている。溶媒の相関長 ξ が高分子の広がり領域のスケールまで増大するので、鎖のセグメントが濃度揺らぎに起因する有効引力

$$w(r_{ij}) \simeq -\frac{e^2}{r_{ij}} e^{-r_{ij}/\xi} \quad (10)$$

により凝集し、コンホメーション変化と同時に相図のシフトが見られるのである。ここで e は温度に依存する結合定数である [8, 9]。

以下では感熱高分子水溶液系における共貧溶媒性を相分離に注目して検討する。

3.2 混合溶媒中の PNIPAM の共貧溶媒性と相分離領域の拡大

PEO や PNIPAM の水溶液は LCST 型の相分離曲線を有するが、第 2 溶媒（メタノール、ジオキサン、THF などの良溶媒）の混合により曇点曲線が大きく移動する。特に感熱高分子である PNIPAM では平坦な LCST 型の曇点曲線が急激に低温シフトする [10–12]。第 2 溶媒として種々のアルコールを混合した場合の曇点移動（特に曇点降下係数）については、高分子とアルコールとの間に水分子をめぐる水素結合に競合が生じること（競争的水素結合）が原因であると考えられる（図 3） [17]。また、塩添加の場合にはアニオンのイオン水和が高分子の水和と競合し、高分子から束縛水を奪うことが原因で曇点が低下するものと考えられる。

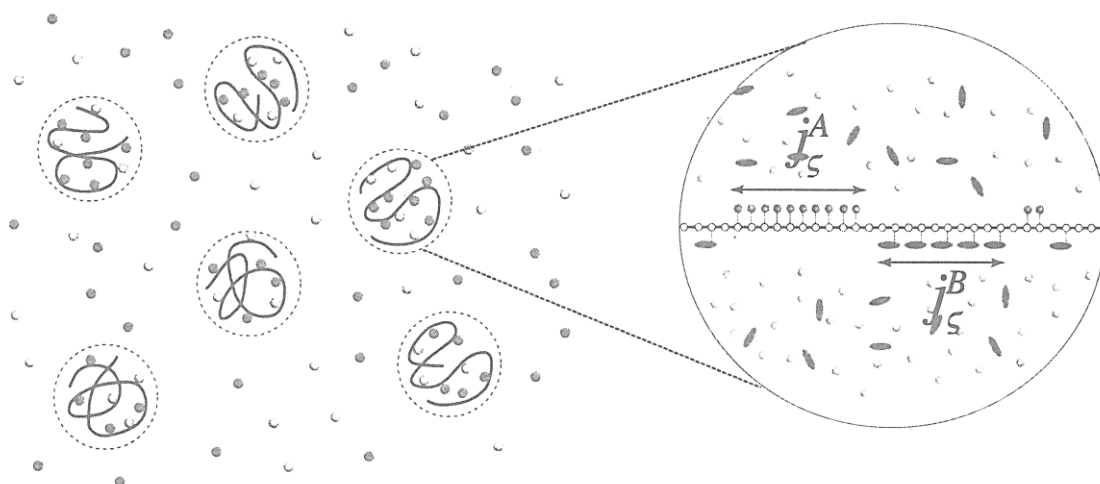


図 3 水素結合性混合溶媒中の高分子による選択吸着のモデル。溶媒成分間で競合が起こり、水素結合に協同性がある場合には共貧溶媒性が出現する。

溶媒のメタノール組成を変えると、鎖上に吸着する分子数も変化するが、水素結合に協同性がある場合には吸着に競合が起こり、選択吸着の結果バルクの混合組成のわずかな差が鎖上では非線型に拡大される（非線型増幅効果）。

図 4(a) は PNIPAM の水／メタノール混合溶媒中の曇点曲線を異なる分子量の高分子について測定したものである。混合系では p-w（水和）、p-m（メタノール和）、w-m（水-メタノール結合）の 3 種の水素結合が競合するが、曇点の最低点のメタノール組成は高分子の分子量に依存するので、メタノールと高分子との相互作用 (p-m) が主要因であることがわかる。メタノールは良溶媒なので、過剰領域では本来の良溶媒性を回復する。

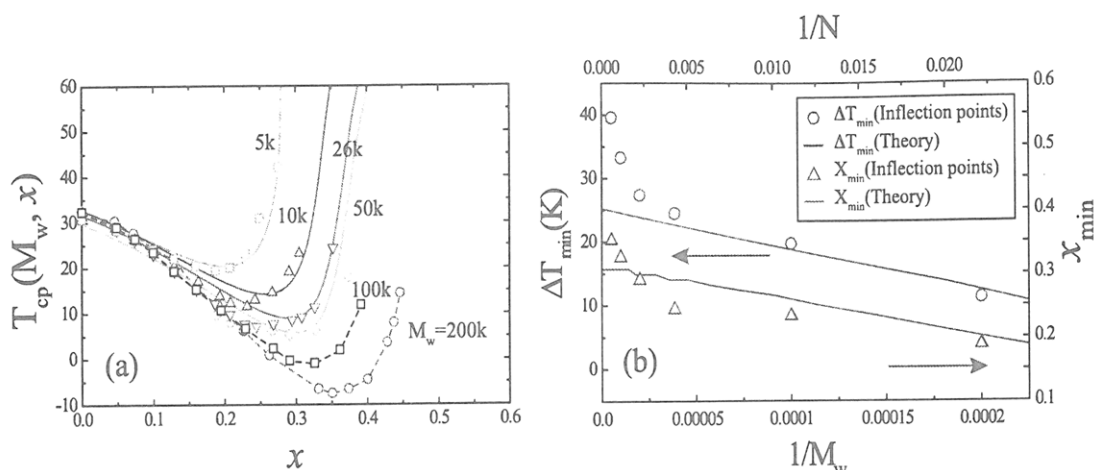


図4 (a) LCST 曇点曲線をメタノール組成に対してプロットし、実験（記号）と理論計算（実線）を比較したもの。高分子の濃度は一定に保つ。各曲線は異なる分子量に対応する。高分子量試料ほど相分離領域の拡大が著しい。(b) 曇点降下量 $\Delta T_{\min}$ と LCST を最小にするメタノールモル分率 $x_{\min}$ を分子量の逆数に対してプロットしたもの。DCP の出現により高分子量試料については理論（実線）と実験結果（記号）との一致は良くない。

これらの相分離挙動（共貧溶媒性）を説明するため、安定性の限界条件 $|G| = 0$ よりスピノダル線をメタノールの体積分率 v_m （モル分率 x ）の関数として計算し、実験と比較した [17]。純水中の相分離ループからは LCST の共貧溶媒性を反映した相分離領域の下方シフト（LCST 共貧溶媒性）がみられ、相分離ドームからは UCST 共貧溶媒性による急激な相分離領域の上方拡大（UCST 共貧溶媒性）がみられた。図4(b)では LCST が最小になるメタノール組成を PNIPAM の分子量の逆数に対してプロットしてある。高分子量の極限では LCST と低温側の UCST が融合し 2 重臨界点 (double critical point DCP) が出現するため、理論曲線から乖離する。DCP の出現後は砂時計型の相分離領域になる。

3.3 混合溶媒中の架橋 PNIPAM ゲルの再帰体積転移と溶媒の選択吸収

このような PNIPAM 鎖を化学架橋したゲルでは、通常温度誘起体積相転移の他に共貧溶媒性にもとづく溶媒誘起再帰体積相転移が観測される。溶液と異なる点は、ゲルの弾性に基づく弾性自由エネルギーが存在することだけで、鎖の選択吸着、競合水素結合、混合エントロピーの変化などの概念はそのまま使用できる。ゲルの自由エネルギーは 3 つの項の和

$$\Delta F = \Delta_{\text{el}} F + \Delta_{\text{mix}} F + \Delta_{\text{hyd}} F \quad (11)$$

からなる。

第一項（弾性自由エネルギー） $\Delta_{\text{el}} F$ は、高分子網目の変形による項で

$$\beta \Delta_{\text{el}} F = \frac{\nu}{2} \left[\lambda_x^2 + \lambda_y^2 + \lambda_z^2 - 3 + \mu \ln \left(\frac{\phi}{\phi_0} \right) \right] \quad (12)$$

と見積もられる。ここで、 ν は弾性に有効な部分鎖の数であり、弾性に有効な鎖の割合を η とすると、 $\nu = \eta N$ である。対数項はゲルの体積変化による修正項でありエントロピー変化を表す。数係数 μ は 1

とした。本研究では等方自由膨潤を扱うので、弾性自由エネルギー $\Delta_{el}F$ は

$$\beta\Delta_{el}F = \frac{\eta N}{2} \left[3 \left(\frac{\phi_0}{\phi} \right)^{2/3} - 3 + \mu \ln \left(\frac{\phi}{\phi_0} \right) \right] \quad (13)$$

となる。

第二項（混合自由エネルギー） $\Delta_{mix}F$ は高分子溶液の Flory-Huggins 理論より

$$\beta\Delta_{mix}F = \Omega [\phi_{fA} \ln \phi_{fA} + \phi_{fB} \ln \phi_{fB} + g(\{\phi\})] \quad (14)$$

と見積もられる。ここで ϕ_{fA} , ϕ_{fB} はそれぞれ、ゲル内部において高分子鎖と水素結合していない自由な溶媒 A 分子、B 分子の体積分率である。ゲルは巨大な 1 つの分子であること、高分子鎖との水素結合により束縛された溶媒分子はその併進自由度を失うことを考慮し、混合エントロピーには自由な溶媒分子のみが寄与するとした。ゲル内部には高分子鎖と水素結合していない自由な溶媒 A, B 分子の数をそれぞれ N_{fA} , N_{fB} とし、高分子鎖との水素結合により束縛されている溶媒 A, B 分子の数をそれぞれ、 N_{bA} , N_{bB} とすると、 $N_A = N_{fA} + N_{bA}$, $N_B = N_{fB} + N_{bB}$ である。溶媒 A, B の体積分率 ϕ_A , ϕ_B はそれぞれ、 $\phi_A \equiv n_A N_A / \Omega$, $\phi_B \equiv n_B N_B / \Omega$ である。溶媒分子間、部分鎖セグメント間、溶媒-部分鎖セグメント間にはそれぞれ van der Waals 相互作用を仮定し、 $g(\{\phi\})$ は

$$g(\{\phi\}) \equiv \chi_{AP}\phi_A\phi + \chi_{BP}\phi_B\phi + \chi_{AB}\phi_A\phi_B \quad (15)$$

とした。 χ_{AB} , χ_{AP} , χ_{BP} はそれぞれ w-m, p-w, p-m 間の相互作用パラメータである。

最後に、水素結合効果を記述するため、溶媒 A, B 分子と水素結合した高分子鎖の状態を ζ 個連なった結合溶媒分子がいくつあるかという連鎖長の数分布 $j^\alpha = \{j_1^\alpha, j_2^\alpha, \dots\}$, ($\alpha = A, B$) により記述し、水素結合状態 (j^A, j^B) である高分子鎖の数を $N(j^A, j^B)$ と表記することにする (??)。水素結合状態 (j^A, j^B) である一本の高分子鎖に水素結合している溶媒 A, B 分子の数はそれぞれ $\sum \zeta j_\zeta^\alpha$, ($\alpha = A, B$) である。高分子鎖に水素結合している溶媒分子の数と一本の高分子鎖上の水素結合サイト総数 n との比として水素結合率 $\theta_\alpha(j^A, j^B)$ を定義すると

$$\theta_\alpha(j^A, j^B) \equiv \sum \zeta j_\zeta^\alpha / n, (\alpha = A, B) \quad (16)$$

である。水素結合状態 (j^A, j^B) の部分鎖の会合により束縛された溶媒分子も含めたセグメント数は $n(j^A, j^B) \equiv n[1 + n_A\theta_A(j^A, j^B) + n_B\theta_B(j^A, j^B)]$ となる。また、水素結合している溶媒分子の総数 $N_{b\alpha}$ は

$$N_{b\alpha} = \sum_{j^A, j^B} \theta_\alpha(j^\alpha) N(j^A, j^B) \quad (17)$$

となる。

第三項の $\Delta_{hyd}F$ は水素結合の寄与であり

$$\beta\Delta_{hyd}F = \sum_{j^A, j^B} N(j^A, j^B) \left[\beta\Delta A(j^A, j^B) + \ln \left(\frac{N(j^A, j^B)}{N} \right) \right] \quad (18)$$

と見積もった。ここで、 $\Delta A(j^A, j^B)$ は水素結合状態 (j^A, j^B) の部分鎖を水素結合していない部分鎖 $j_0^\alpha = \{0, 0, \dots\}$ ($\alpha = A, B$) から形成するのに必要な自由エネルギー変化である。 $\Delta A(j^A, j^B)$ の形式は

水素結合の様式に依存する。詳細は後の節で説明する。右辺の対数項は、ゲルを構成する架橋によりトポロジカルに固定された部分鎖上への水素結合状態の配置によるエントロピー変化

$$\Delta S = k_B \ln \left[\frac{(\sum N(j^A, j^B))!}{\prod N(j^A, j^B)!} \right] \quad (19)$$

である。

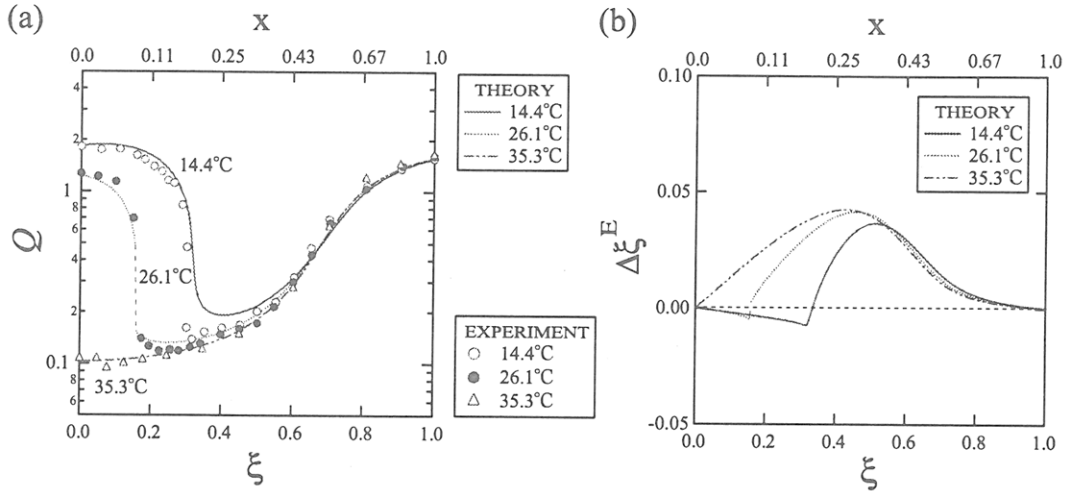


図5 (a) 水/メタノール混合溶媒中の PNIPAM 架橋ゲルの膨潤曲線。膨潤度 Q を外部相のメタノール体積分率 ξ についてプロットし、3つの温度における実験（記号）と理論計算（実線）を比較してある。メタノールの特定組成領域でゲルが凝集する再帰体積相転移が見られる。温度 26.1°C では不連続転移となる。(b) ゲルによるメタノールの過剰吸収量 $\Delta\xi^E \equiv \xi^{(in)} - \xi^{(out)}$ の理論曲線。ゲルの凝集状態での過剰摂取が著しい。

図5(a) は3つの温度に対するゲルの膨潤率のメタノール組成変化の実験結果（記号）と、理論計算（実線）を比較したものである。使用したパラメータは $\eta = 0.48$, $\phi_0 = 0.056$, $\mu = 1.0$, $n = 100$, $n_A = 1$, $n_B = 2$, $\chi_{AB} = 0.5$, $\chi_{AP} = n_B \chi_{BP} = 0.5 - \psi\tau$, $\tau \equiv 1 - \Theta/T$, $\Theta = 565$, $\psi = 1.0$, $\lambda_A = 0.00208$, $\lambda_B = 0.0095$, $\gamma_A = 3.5$, $\sigma_A = 0.27$, $\sigma_B = 0.4$ である。温度 26.1°C では不連続転移となっている。計算結果による組成 ξ 変化に伴う再帰的な膨潤挙動とその温度依存性は実験結果と良く一致している。

図6 は3成分相図上で温度 14.4°C, 26.1°C, 35.3°Cにおけるスピノーダル線を重ねてプロットしたものを示す。頂点 P は溶媒を含まない乾燥したゲルに相当する。A, B はそれぞれ第一溶媒（水）、第二溶媒（メタノール）を表す。用いたパラメータは $\eta = 0.48$, $\phi_0 = 0.056$, $\mu = 1.0$, $n = 100$, $n_A = 1$, $n_B = 1$, $\chi_{AB} = 0.0$, $\chi_{AP} = n_B \chi_{BP} = 0.5 - \psi\tau$, $\tau \equiv 1 - \Theta/T$, $\Theta = 565$, $\psi = 1.0$, $\lambda_A = 0.00208$, $\lambda_B = 0.0095$, $\gamma_A = 3.5$, $\gamma_B = 3.0$, $\sigma_A = 0.28$, $\sigma_B = 0.4$ である。AP 軸との交点は、それぞれの温度での純水中におけるスピノーダル線に対応している。AB 軸に沿ったスピノーダル線は、高分子網目による力学的不安定性による部分である。

温度上昇によってスピノーダル領域が拡大する。これは、熱揺動に対する協同的水和の不安定性による。一方、溶媒の混合によって不安定領域が現れる。これは、溶媒組成変化と水素結合の競合に対する協同的水和の不安定化による。この領域ではゲルは収縮し、p-w, p-m 水素結合の競合が大きくなる（図5(a)）。

この結果は実験結果の傾向をよく再現しているが、メタノール分子が高分子鎖へ水素結合しないと仮

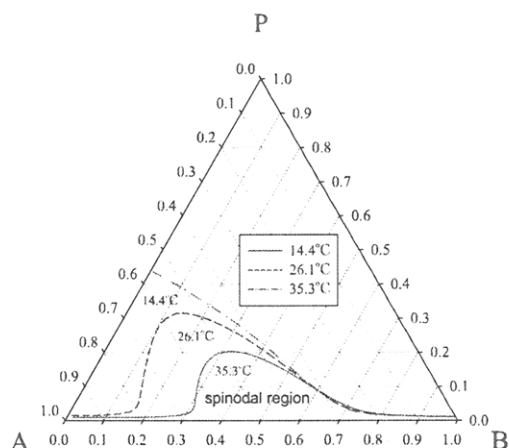


図6 3成分相図上でのスピノダル領域. 3つの温度 $T = 14.4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T = 26.1\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T = 35.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ に対するスピノダル線を表示. 各線の下側の領域が不安定領域である.

定しても溶媒 A 分子と B 分子が相溶性が良い場合 (χ_{AB} が負の値) には再帰的転移が生じる. これらは p-w 水素結合の協同性と溶媒間の相互作用パラメータ χ_{AB} で決まる. 混合 (メタノール組成 ξ 増加) によりゲル内部の自由な水分子の組成が減少すると協同的脱水が生じる. 特に溶媒間の相溶性が良い場合には, 混合によって溶媒がゲル内部へ浸透する傾向が弱くなり, 自由水の組成減少により急激な脱水が生じる.

これに対応すると考えられる水/DMSO 混合溶媒中においては, 全組成範囲において DMSO の過剰吸収はほとんど起こっていない. これらの系では, 溶媒間の強い相互作用による会合体形成など, 高分子鎖に対する競合的水素結合以外の分子メカニズムが重要になっている可能性がある. これらの分子メカニズムを理解するには, 溶媒 A 分子と B 分子の会合も含めたモデルでの詳細な解析が必要である.

4 協同水和と末端会合の共存

PEO や PNIPAM の両末端を疎水基 (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) では, 主鎖部分への水和と, 末端疎水基の凝集によるミセル形成とが共存もしくは競合する. ミセルは高分子の架橋点となるので疎水凝集によりネットワークが形成される. 水和が疎水基の凝集を妨げる場合には, 疎水凝集のためには脱水が必要なので高温でゲル化する. 水和と疎水凝集が干渉しない場合には低温でゲル化する. いずれの場合も高温で相分離する LCST 型相分離現象が見られる. 我々は, レオロジー測定, 光散乱, 中性子散乱等の測定結果を参考にして, テレケリック鎖水溶液の凝集構造や相分離現象, ゾル・ゲル転移について統計力学的理論・シミュレーションの方法で調べた.

その結果, 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を結合するブリッジ鎖が増加し, ある臨界濃度で成長したネットワークが系全体にパーコレートしたゲル構造に至るゾル・ゲル転移点が存在する事が分かった. 図7は水和と末端会合 (疎水凝集) が共存するテレケリック PNIPAM 水溶液の理論モデルである [4].

この理論モデルにより水和度 θ や連鎖長 ℓ , 分子量分布, ゲル化点, スピノダル線等を計算し, 実験結果と比較した. 図8は高分子の分子量により LCST 相図がどのように変化するか調べた結果で, ラン

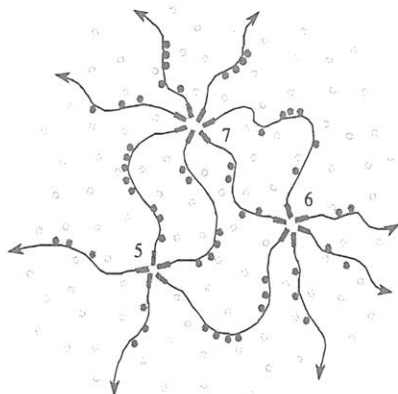


図7 水和と末端疎水凝集の共存系。協同水和による連鎖状の束縛水ならびに末端凝集によるミセル架橋が共存する。ミセルの傍の数字はその会合数を表し、架橋としての多重度に当たる。実際はミセルを修飾するループ鎖が存在するが、相図の計算にはループの効果を無視した。

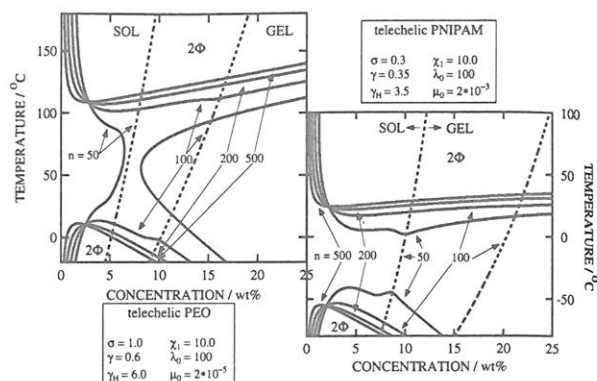


図8 (左) テレケリック PNIPAM 水溶液の曇点曲線データ。白抜記号は対応する分子量の DSC ピーク温度。曇点の低下は低分子量鎖の方が大きい。(右) LCST (実線) と UCST (破線) の分子量依存性に関する理論計算。PEO とは異なり、二重臨界点は出現しない。

ダム水和（左図）と協同水和（右図）の違いが著しい。疎水性の末端会合により平均分子量が増加するため、相分離領域が拡大する（会合誘起相分離）。主鎖が PEO の場合（左図）の曇点曲線の低温側へのシフトについては一挙に 100°C 程度下がることが観測されている。これに連動して低温側の UCST スピノダル線が上昇してくるので、両者がちょうど接触するような分子量が存在することが予測される。また、同一長の末端鎖 $n = 12$ に関して異なる分子量の主鎖に対して曇点のシフトを観測すると、低分子量ほど低温シフト量が大きいの、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、同一の高分子濃度下では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事で説明できそうである。一方、PNIPAM 水溶液（右図）に関しては、末端疎水化による LCST の低下は $5\text{--}10^{\circ}\text{C}$ 程度に留まる [5]。DSC 吸熱ピークの位置は 31°C でホモポリマーと同一なので、コイル・グロビュール転移温度は疎水化により変化しない、即ち末端会合現象により感熱性は影響を受けないことがわかる。

5 紐状ミセル水溶液のレオロジー理論

5.1 組み替えネットワークモデル

準濃厚溶液（界面活性剤濃度 $c \sim 10^{-2} - 10^{-1}$ 領域）中における絡まりあった紐状ミセルの緩和機構については、四方ら [14] がすり抜け可能な擬ネットワークモデルを提案し、線型領域では単一緩和時間のマクスウェル流体として振る舞うことを説明した。すり抜けは一種の活性化過程と考えることができ、緩和時間の温度依存性はアレニウス型になるが、濃度依存性は議論されなかった。一方、Cates ら [15] はミセルの切断-レプテーション運動により緩和機構を説明する理論を提案したが、この理論ではレプテーション時間が濃度とともに非常に長くなるので、切断確率の増大を補うことができず、緩和時間は濃度とともに 1.5 乗ベキ則で増大することになる。これは濃度とともに緩和時間が減少する多くの実験事実と矛盾する。

濃度とともに運動が速くなる奇妙な緩和特性を説明するために本研究では四方のすり抜けモデルを精

密化した組み替えネットワークモデルを提案する。溶液中には紐の末端や架橋部分が極く稀にしか観測されないことを念頭におき、ミセル系を図9に示したような絡まり合ったループの集合体と考える。ミセルの円筒半径は $a \simeq 5 \sim 10$ nm, 持続長は $l_p \simeq 20$ nm 程度, 相関長 (平均網目サイズ) はこの濃度領域では $\xi \simeq 100$ nm 程度であるので, 網目サイズと円筒径との比は $\xi/a \simeq 10 \sim 30$ 程度である。濃度が 0.01mol 領域になると比は $\xi/a \simeq 5 \sim 10$ とさらに小さな値になる。

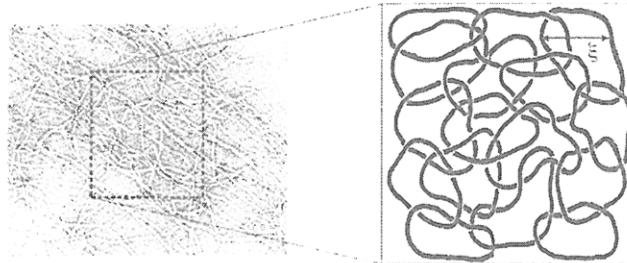


図9 (左図) cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) 水溶液の TEM 写真 [16]. (準濃厚領域の濃度 $c = 0.02 \text{ mol L}^{-1}$) 有機塩 sodium salicylate (NaSal) と 1:1 比で混合してある。(右図) 相関長 ξ に対応する周長 L の入り組んで絡まったループの集合体としてモデル化した紐状ミセルの溶液。 $\xi^2 \simeq L$ の関係がある。ループは絡まり合いを表現する互いにすり抜け, 融合, 組み替えが可能な協同運動の単位であり, 必ずしも実際のループであるとは限らない。

系中の任意のループ対に注目すると, この対はガウス絡み数 G で絡んでいるか (linked), 絡んでいないか (unlinked) のどちらかである。簡単のため絡んでいるすべての対については $|G| = 1, 2, \dots$ についての和を取り, $\psi_e(\mathbf{r}, t)$ を時刻 t において重心間ベクトルが $\mathbf{r}$ である対が絡んでいる確率, $\psi_0(\mathbf{r}, t)$ を時刻 t において重心間ベクトルが $\mathbf{r}$ である対が絡んでいない確率とする。組み替えネットワークモデルではこれらは時間発展の連立方程式

$$\begin{aligned} \frac{\partial \psi_e(\mathbf{r}, t)}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_e(t) \psi_e(\mathbf{r}, t)) &= -\beta(\mathbf{r}) \psi_e(\mathbf{r}, t) + \alpha(\mathbf{r}) \psi_0(\mathbf{r}, t), \\ \frac{\partial \psi_0(\mathbf{r}, t)}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_0(t) \psi_0(\mathbf{r}, t)) &= \beta(\mathbf{r}) \psi_e(\mathbf{r}, t) - \alpha(\mathbf{r}) \psi_0(\mathbf{r}, t) \end{aligned}$$

に従うとする [17]。ここで $\beta(\mathbf{r})$ は単位時間に絡み合った対がすり抜ける遷移確率, $\alpha(\mathbf{r})$ は絡み合っていない対が単位時間に絡み合う遷移確率である (図10)。

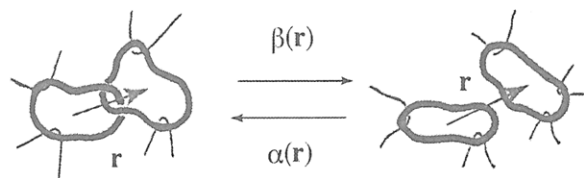


図10 絡まったループと絡まっていないループの間のすり抜け遷移。各ループの重心を結ぶベクトルが $\mathbf{r}$ 。遷移確率は分離について $\beta(\mathbf{r})$, 結合について $\alpha(\mathbf{r})$ としてある。

左辺第2項はループ対が変形により引き伸ばされる項で、アフィン変形を仮定すると、変形テンソル $\hat{\lambda}(t)$ を使って $\mathbf{v}(t) \equiv (d\hat{\lambda}/dt) \cdot \hat{\lambda}^{-1} \cdot \mathbf{r}$ のように表すことができる。系中の重心間ベクトル $\mathbf{r}$ で指定されたループ対の総数を $\rho(\mathbf{r}, t)$ とすると、 $\rho(\mathbf{r}, t) \equiv \psi_e(\mathbf{r}, t) + \psi_0(\mathbf{r}, t)$ は一様な溶液では一定値 ρ となる。この値はミセル濃度 c と $\rho \sim (c/L)^2 \sim c^2 \xi^{-2/\nu}$ で結ばれている。とくにすり抜けが起こらない極限 $\alpha(\mathbf{r}) = \beta(\mathbf{r}) = 0$ では、このモデルは Graessley-Pearson のゴム弾性モデル [18] に帰着する。

5.2 複素弾性率と緩和時間

微小振動剪断流 $\lambda_{x,y} = \epsilon e^{i\omega t}$ に対する線型応答 $\psi_i(\mathbf{r}, t) \equiv \psi_i^0(\mathbf{r})[1 + \epsilon \eta_i(\mathbf{r}, t)]$ ($i = e, 0$) を求め、応力の表式

$$\sigma_{i,j}(t)a^3 = \int d\mathbf{r} [(x_i f_{e,j})\psi_e(\mathbf{r}, t) + (x_i f_{0,j})\psi_0(\mathbf{r}, t)]$$

に代入して複素弾性率を求めると、

$$G(\omega) = \rho \int d\mathbf{r} \left[\Phi_e(\mathbf{r})(x f_{e,y}) \frac{[1 + \kappa(\mathbf{r})]i\omega}{\alpha(\mathbf{r}) + \beta(\mathbf{r}) + i\omega} (y f_{e,x}/k_B T) \right]$$

となる。ここで $\psi_i^0(\mathbf{r}) = \rho \Phi_i(\mathbf{r})$ は平衡分布関数、 $\kappa(\mathbf{r}) = \Phi_e(\mathbf{r})/\Phi_0(\mathbf{r}) = \alpha(\mathbf{r})/\beta(\mathbf{r})$ は平衡定数、

$$f_{i,x}(\mathbf{r})/k_B T \equiv -\frac{\partial \ln \Phi_i(\mathbf{r})}{\partial x}$$

はリンキングに由来する張力（トポロジカル力）である。

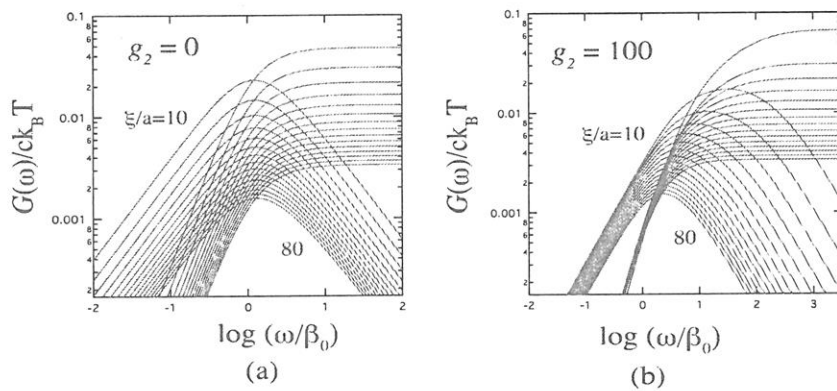


図 11 濃度領域 $\xi/a = 10 \sim 80$ における複素弾性率。単一緩和時間を有するマクスウェル流体のように振る舞う。(a) カップリング無し ($g_2 = 0$) の場合。(b) カップリング定数 ($g_2 = 100$) の場合。ループの組み替えやすり抜けはトポロジー力により加速される。

5.3 張力としり抜け確率のカップリング、緩和時間

トポロジカル力による緩和の加速機構を調べるため、張力のすり抜け確率への影響を2次の結合 $\beta(\mathbf{r}) = \beta_0[1 + g_1 f_e(\mathbf{r})^2]$ の形に仮定する。ここで g_1 は温度のみに依存する結合定数である。張力を $\tilde{f}_e(\mathbf{r}) \equiv f_e \xi / k_B T$ の形にスケールすると、結合項は $g \tilde{f}_e(\mathbf{r})^2$ となる。ただし、 $g \equiv g_2(T)/\xi^2$ 、 $g_2 \equiv g_1(T)(k_B T)^2$ である。図 11 は (a) $g_2 = 0$, (b) $g_2 = 100$ に対する貯蔵・損失弾性率の計算結果

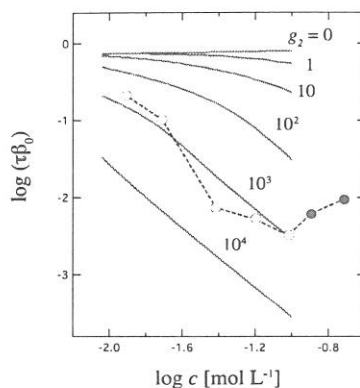


図 12 粘弾性緩和時間 $\log(\tau\beta_0)$ を CTAB ミセル濃度に対してプロットし、実験（記号）と理論計算（実線）を比較。カップリング定数 g_2 を変化。 β_0^{-1} は時間のスケールを決める単位。

を示す。濃度は比 ξ/a の変化， $\xi/a = 80$ から 10 で表してある。(a) では緩和時間は濃度によらずに一定値をとり，(b) では濃度とともに減少することが分かる。

弾性率は因子 $\rho\xi^3$ と積分値の積になるが，この因子は準濃厚高分子溶液のスケーリング則 $\xi \simeq c^{-\nu/(3\nu-1)}$ を適用すると， $\rho\xi^3 \simeq (c/L)^2\xi^3 \simeq c^2\xi^{3-2/\nu} \simeq c^{2-(3\nu-2)/(3\nu-1)}$ という濃度依存性を有するので，排除体積鎖に対しては $\rho\xi^3 \simeq c^{2.25}$ ，ガウス鎖に対しては $\rho\xi^3 \simeq c^3$ となる。積分からは c の弱い負のベキが出てくる。

図 12 は理論計算と CTAB/NaSal 系の実験結果 [14] (circles) を比較したものである。結合定数 g_2 がゼロでない場合にはトポジカル力が緩和を加速し，濃度とともに緩和時間が短縮されることが理解される。

講演ではブラウン動力学によるすり抜けループ系の緩和現象のシミュレーションの詳細も紹介する。

参考文献

- [1] Okada, Y.; Tanaka, F. *Macromolecules* **2005**, *38*, 4465.
- [2] X-P.Qiu, F.Tanaka and F.M.Winnik, *Macromolecules* **40** (2007) 7069.
- [3] P.Kujawa, H.Watanabe, F.Tanaka and F.M.Winnik, *Eur. Phys. J. E*, **17** (2005) 129.
- [4] Y.Okada, F.Tanaka and F.M.Winnik, *J. Chem. Phys.*, **125** (2006) 244902.
- [5] P.Kujawa, F.Segui, S.Shaban, C.Diab, Y.Okada, F.Tanaka and F.M.Winnik, *Macromolecules* **39** (2006) 341.
- [6] Stockmayer, W. H. *J. Chem. Phys.* **1950**, *18*, 58.
- [7] Wolf, B. A.; Willms, M. M. *Makromol. Chem.* **1978**, *179*, 2265.
- [8] de Gennes, P. G. *J. Phys. Lett.* **1976**, *37*, L59.
- [9] Brochard, F.; de Gennes, P. G. *Ferroelectrics* **1980**, *30*, 33.
- [10] Schild, H. G.; Muthukumar, M.; Tirrel, D. A. *Macromolecules* **1991**, *24*, 948.
- [11] Winnik, F. M.; Ottaviani, M. F.; Bossmann, S. H.; Garcia-Garibay, M.; Turro, N. J. *Macromolecules* **1992**, *25*, 6007.

- [12] Winnik, F. M.; Ottaviani, M. F.; Bossmann, S. H.; Pan, W.; Carcia-Gaibay, M.; Turro, N. J. *Macromolecules* **1993**, *26*.
- [13] Tanaka, F.; Koga, T.; Kojima, H.; Winnik, F. M., *Macromolecules* **2011** to appear.
- [14] Shikata, T; Hirata, H.; Kotaka, T. *Langmuir* **1987**, *3*, 1081 **1988**, *4*, 354; **1989**, *5*, 398.
- [15] Cates, M. E.; Candau, S. J. *J. Phys. : Condense. Matt.* **1990**, *2*, 6869.
- [16] Sakaguchi, Y.; Shikata, T; Urakami, H.; Tamura, A.; Hirata, H. *J. Electron Microsc.* **1987**, *36*, 168.
- [17] Tanaka, F. *Langmuir* **2010**, *26*, 5374.
- [18] Graessley, W. W.; Pearson, D. S. *J. Chem. Phys.* **1977**, *66*, 3363.

X線CTによる高分子ブレンド共連続構造の3次元観察とレオロジー

高橋雅興・西川幸宏・畠山裕康・谷山弘行

Masaaki Takahashi, Yukihiro Nishikawa, Hiroyasu Hatakeyama, Hiroyuki Taniyama

京都工芸繊維大学大学院 工芸科学研究科 高分子機能工学部門

1. はじめに

海島構造をもつ非相溶性高分子ブレンドについては、その構造・構造制御・レオロジーに関しすでに多くの研究があり¹⁾⁵⁾、分散相サイズやその分布も制御できるようになってきている。著者らは、分散相サイズの分布と分散相の配向・伸長状態がわかれば、応力をかなりの精度で予測できることを明らかにしてきた⁶⁾¹⁶⁾。一方、非相溶性高分子ブレンドで界面張力が比較的小さく(3mN/m程度以下)、体積組成が50/50付近で、混合条件における成分の粘度が近い場合、共連続構造が生成する。2成分が互いに交差せずにネットワークとなる特異な構造は、2次元の電子顕微鏡観察ではほとんどわからない。

陣内らは、ポリブタジエン/重水素化ポリブタジエン(54/46 vol%, 臨界組成)ブレンドについて、スピノーダル分解後期過程における共連続構造を、共焦点レーザースキャン顕微鏡を用いて3次元観察した¹⁷⁾。ポリブタジエンはアントラセンを付加してレーザースキャン顕微鏡で観察可能にしている。3次元細線化による構造解析の結果、ネットワークの分岐点における分岐数は85%が3であること、分岐点間距離の分布は非常に広く、ブロードなピークが2つ存在することを見出した¹⁷⁾。

最近、西川らは無染色・非破壊で高分子ブレンドの3次元構造を観察できる、高コントラストX線CTの装置を開発した。本装置を用いて、これまで無染色ではほとんど観察が不可能であった高分子ブレンドの相分離構造の3次元観察に成功した。詳細は後述するが、図1にポリスチレン(PS)/ポリメタクリル酸メチル(PMMA)ブレンドの3次元画像の例を示す。左はボリューム・レンダリング画像、右は断面像を示す。PS相を除去してPMMA相だけを示している。

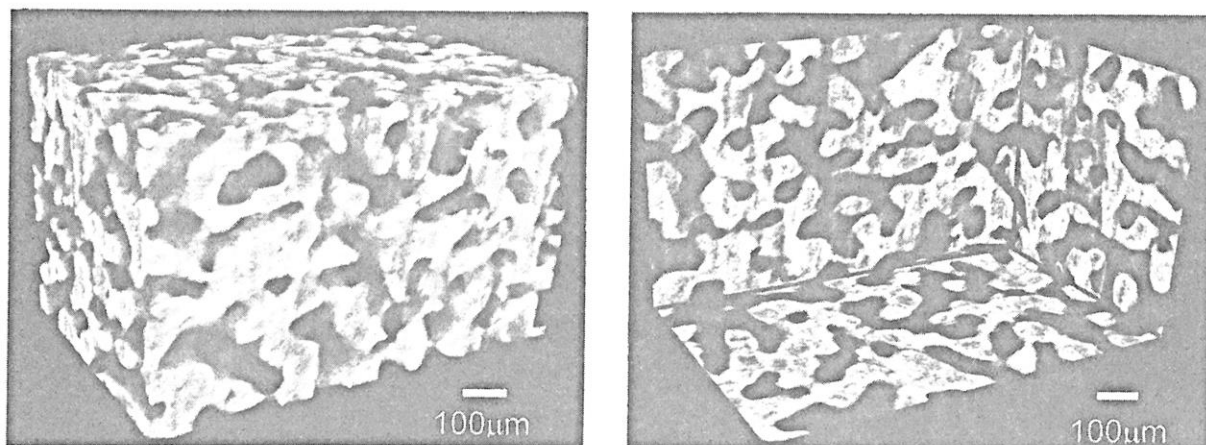


図1 PS/PMMA (42/58 vol%) ブレンドの共連続構造：200°Cで6時間アニール後

共連続構造は、構造・物性の基礎的な研究が興味あるばかりでなく、力学的に高強度にしたり、機能性を持たせることができるという意味で、工業的な応用も図ることができる。例えば、共連続構造中の1成分中にナノカーボン・セラミックス微粒子・金属微粒子などを局在化して、非常に少ない充填量で導電性・熱伝導性などの機能性を発揮させることができる¹⁸⁾。高い導電性を生かせば、高性能の電磁波吸収体を創製することも可能となる¹⁹⁾。

本研究の目的は、共連続構造をもつポリマーブレンドの相分離構造の変形・流動と力学的性質の相関を明らかにすることである。具体的には次の3つを課題とした。

- 1) クリープやせん断流動による界面の形態変化を3次元観察から明らかにする。
- 2) 変形様式による形態変化の違いを明らかにする。
- 3) ひずみの小さい領域における界面の変形をアフィン変形と比較する。

2. 実験

本研究で用いた市販のPSとPMMAの分子特性を表1にまとめる。

表1 本研究で用いた高分子の分子特性

高分子	重量平均分子量	分布の指標	ゼロせん断粘度
	M_w	M_w/M_n	$\eta_0/\text{Pas (200}^\circ\text{C)}$
PS	2.2×10^5	2.7	9.2×10^3
PMMA	9.8×10^4	2.6	2.1×10^4

微量二軸混練機を用いて200°C、10rpmの条件で3回(7min×3)溶融混練後、200°C、5MPaの条件で所定時間熱プレスして測定試料を作成した。成分のPS、PMMA単体は熱プレス時間を10minとした。PS/PMMAブレンドに関しては、体積組成で37/63, 42/58, 47/53, 52/48の試料について200°Cの熱プレスを数時間にわたって行い、X線CT観察に最適の組成とアニール時間を求めた。その結果、42/58 vol% (45/55 wt%)の組成で、200°C、6時間アニールが最適と判断した。

非相溶性高分子ブレンドにおいて、共連続構造作製の条件は、次の経験式あるいはそれと類似の式で表される¹⁾⁻⁴⁾。

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{\phi_1}{\phi_2} \quad (1)$$

ここで、 ϕ_1, ϕ_2 は成分1, 2の体積分率で、 η_1, η_2 は溶融混練時の粘度である。この式的主旨は、粘度の低い成分が広がりやすいので、その成分の体積分率を小さめにするということである。本研究のようにアニール時間が長い場合は、粘度として混練時の値ではなく静止時に近いときの粘度、すなわちゼロせん断粘度をとった方が妥当と思われる。しかし、いずれの粘度をとっても、本研究では最適条件が式(1)からずれていた。ただし、粘度の低いPSを50 vol%より小さくしたほうが良いという指針には従っていた。

X線CTの測定は、BEAMSENSE社と開発したFLEX-M863-CTを用いて行った。無染色でも高コントラストの画像が得られたが、さらに界面を際立たせるためにシクロヘキサンでエッチングによりPS相の除去後CT測定を行い、Median Filter処理、二値化処理、サーフェスレンダリングを行った。

3. 共連続構造が示す動的粘弾性挙動

図2に、成分のPSとPMMA、およびPS/PMMA (42/58 vol%)ブレンドの貯蔵弾性率 G' について、200°Cにおける角周波数 ω 依存性を示す。PS/PMMAブレンドの構造は図1に示すものであり、200°Cで6時間アニールしている。ブレンドの G' の高周波数側は成分の寄与を、低周波数側は界面の寄与を表している。高周波数端はゴム状領域に至るが、ゴム状領域におけるブレンドの G' は

$$G' = \phi_1 G_1' + \phi_2 G_2' \quad (2)$$

でほぼ表せる。 G_1' , G_2' はそれぞれ成分1, 2の貯蔵弾性率である。一方低周波数側は指数則 $G' \sim \omega^n$ で表され、その指数 n は0.84となった。

共連続構造の G' が、低周波数側で $G' \sim \omega^n$ の指数則を示すこと、その指数が $0.5 < n \leq 1$ の範囲にあることは、すでに数報の報告がある²⁰⁾⁻²⁴⁾。しかしこれらの報告では、ブレンド試料の構造を50/50付近の組成だけから共連続構造と断定していたり、構造観察がSEMによる2次元観察だけであつたりして、いずれの試料も相分離構造がはっきりしない。組成が50/50付近でも、界面張力が大きい場合は、いずれか一方の成分が連続構造とならないので、共連続構造でない可能性もある。3次元で共連続構造を観察し、その動的粘弾性挙動を測定したのは本研究が世界初である。

共連続構造の損失弾性率 G'' の ω 依存性も低周波数側で指数則を示すことが報告されており²⁰⁾⁻²⁴⁾、本実験でも同様の結果となった(図は省略)。ただし、 G'' の指数は G' の指数に近いだけで同じにはならない。唯一Castroらは、 $G' \sim G'' \sim \omega^n$ かつ $\tan \delta = \tan(n\pi/2)$ となったとしている²⁴⁾。この結果は高分子ゲルのゲル化点における指数則²⁵⁾と同じである。しかし、ゲル化点ではマクロなパスが(1本あるいは数本)生成しただけであるので、3次元ネットワークの共連続構造がこのような臨界ゲルと同じ力学挙動をとるとは考えられない。ただし、 G' や G'' が指数則を示すのは、構造の規則性・周期性や自己相似性(フラクタル)を反映している^{25),26)}。

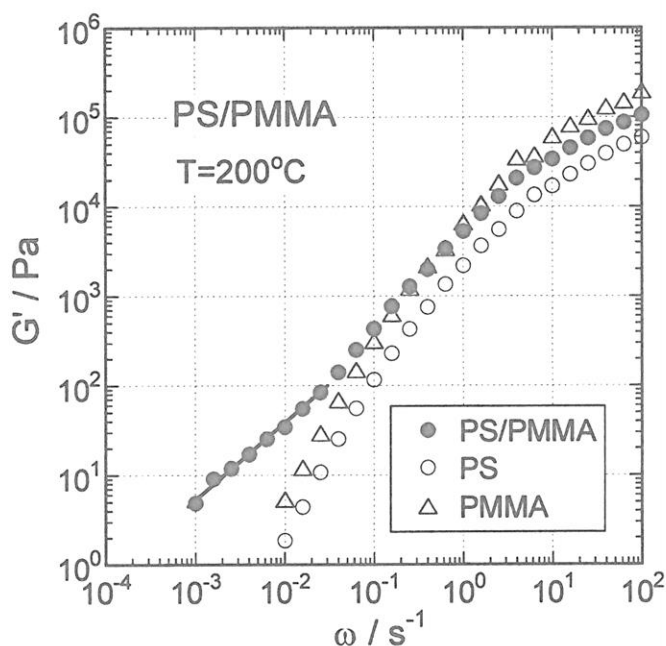


図2 PS/PMMA (42/58 vol%) ブレンドおよび成分の貯蔵弾性率の角周波数依存性

4. クリープおよびせん断流動時の界面の形態変化

200°C でせん断応力 $\sigma = 100 \text{ Pa}$ 一定のクリープ試験を行い、所定の時間経過後に急冷し、PS 相を除去してから CT 測定を行った。図 3 に、クリープ時における PS/PMMA ブレンドの X 線 CT の結果を示す。

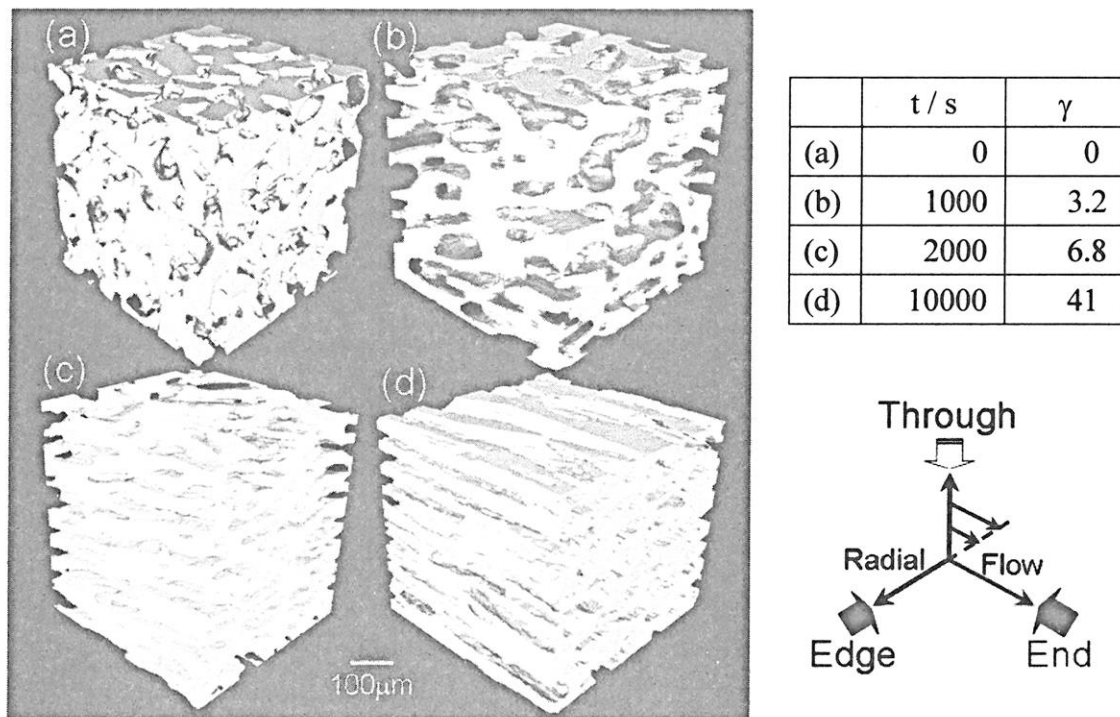


図 3 せん断応力 100 Pa のクリープ時における PS/PMMA ブレンドの形態：
配向・伸長している相が PMMA 相で、空洞は PS 相

図 3 で (a) は変形前であり、(b), (c), (d) における時間 t とせん断ひずみ γ の値は右の表に示してある。今、切り出した立方体の画像の観察方向 (view) を、図右下に示すように、Through, Edge, End とする。Through はせん断面上からの view、Edge は元のディスク試料のラジアル方向からの view (流動方向に垂直)、End は流動方向からの view を表す。

Edge view では界面の配向と伸長がみられ、これは予想通りである。一方、Through view には特異な板状のパターンが現れた。もともとせん断面はそのまま平行にすべる面であるから、Through view では基本的に Edge view より変形は小さい。各相は大変形後、破断して緩和しまた変形される。緩和や変形の程度はそのときのせん断速度に依存する(後述する)。図 3 のせん断速度は低いため、破断も変形も弱く Through view に板状のパターンが現れたと考えられる。

図 4 に、図 3 と同じ $\sigma = 100 \text{ Pa}$ のクリープ時におけるせん断速度 $\dot{\gamma}$ の時間変化を示す。時間変化は I~III の 3 段階に分けられる。1000 秒までの第 I 段階では共連続ネットワークの変形(配向・伸長)に伴って $\dot{\gamma}$ が徐々に低下する。1000~7000 秒までの第 II 段階ではネットワークの破断(と変形)が起こって $\dot{\gamma}$ が増加する。7000 秒以上の第 III 段階で定常状態となって、ネットワークの変形と破断が拮抗する。定常状態で

は $\dot{\gamma} = 0.0046 \text{ s}^{-1}$ であり、クリープにおける平均の $\dot{\gamma}$ は 0.0036 s^{-1} である。図2の G' の ω 依存性からいうと、 $\dot{\gamma}$ が 0.0036 s^{-1} や 0.0046 s^{-1} では界面の部分的な緩和が可能であるため、変形は比較的小さい。

図5に同一ひずみ $\gamma = 18.5$ におけるクリープ（左図）とせん断流動時（中央および右図）の形態を比較する。応力、せん断速度、時間の値は図中に示してある。図5より、クリープ時の平均の $\dot{\gamma}$ とせん断流動時の $\dot{\gamma}$ が同じとき（左図と中央）、ほぼ同じ形態を示すことがわかる。さらにクリープ時の Trough view に観測された特異な板状パターンが、せん断流動時の Through view にも出現することがわかる。

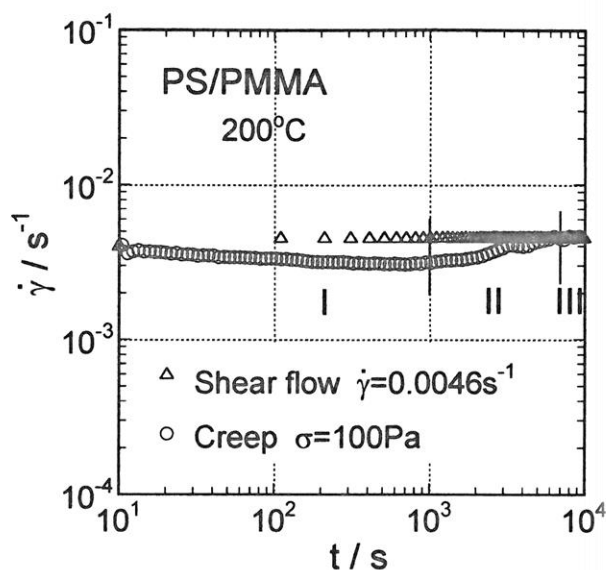


図4 クリープおよびせん断流動時のせん断速度の時間変化の比較

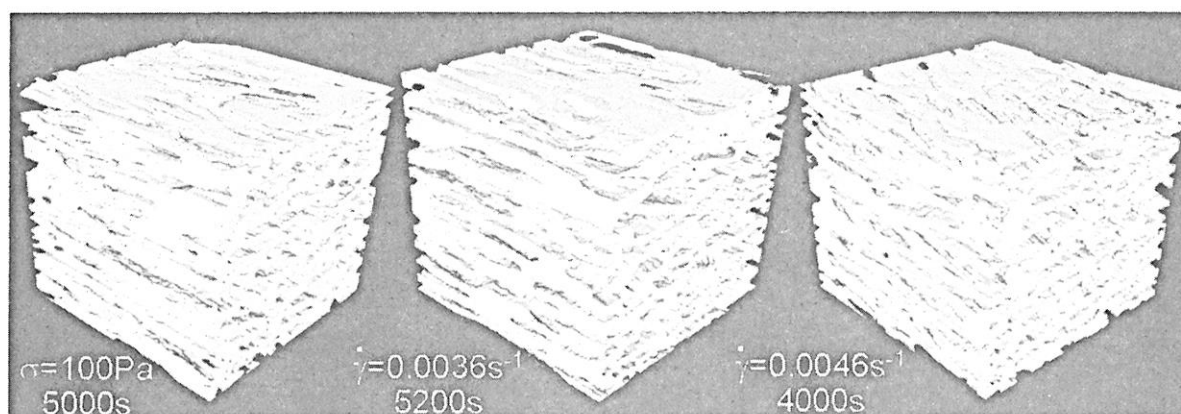


図5 同一ひずみ 18.5 におけるクリープとせん断流動時の形態の比較

次に、応力やせん断速度が図3～5より10倍程度高いときの結果を述べる。 $\sigma = 1000 \text{ Pa}$ のクリープ試験を行ったところ、 $\dot{\gamma}$ は図4と同様の時間変化を示したが、I $\rightarrow$ II への変化は 100 s 程度の短い時間で起こった。定常状態では $\dot{\gamma} = 0.05 \text{ s}^{-1}$ であった。図2によれば $\dot{\gamma} = 0.05 \text{ s}^{-1}$ では、 $\dot{\gamma}$ が成分鎖の緩和速度に近く、界面の緩和は起こりにくいことがわかる。すなわちこの $\dot{\gamma}$ の領域では、界面の形態は流動速度に支配され、緩和や会合は重要ではない。

次ページ図6に、同一時間 $t = 10000 \text{ s}$ (定常状態) におけるクリープ（左図： $\sigma = 1000 \text{ Pa}$ ）とせん断流動（右図： $\dot{\gamma} = 0.05 \text{ s}^{-1}$ ）時の形態を比較する。Through view では、かなり細かく破断した各相が流動方向に強く配向・伸長している様子が観測される。特に右図のせん断流動では、Through view と End view からは、シリンダー状の形態が期待される。しかし、Edge view には短い板状の特異なパターンが見られる。この板状パターンは左図のクリープにおいて明確に観測される。

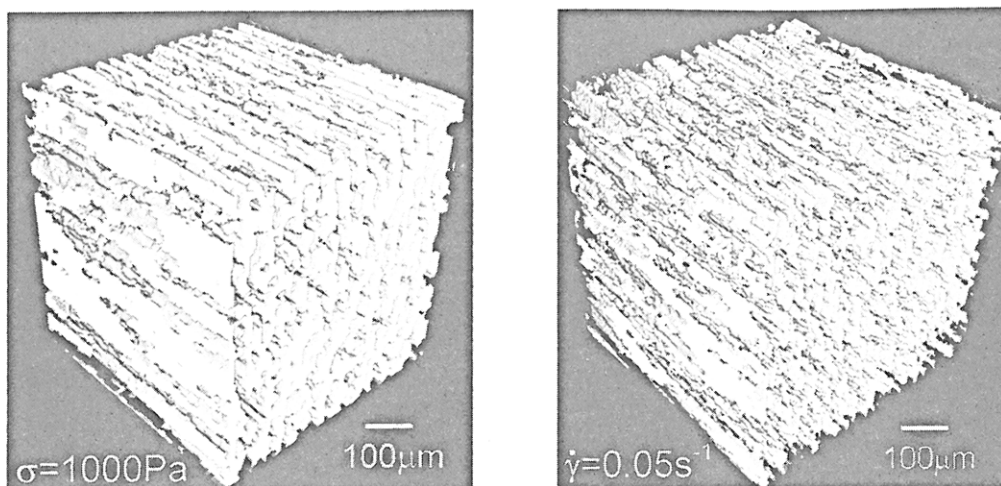


図6 同一時間 10000 s におけるクリープとせん断流動時の形態の比較

現時点では、なぜこのような板状のパターンが現れるのか不明である。原因としては次の3つが考えられる：(1) 粘度比の影響、(2) 成分の弾性の効果、(3) せん断速度がまだ低い。本研究ではPSの粘度がPMMAよりずっと低くPS相が破断しやすい。PS相をエッチングしているのも、PMMA相をエッチングすると連続相が破壊され、試料が形を保てないからである。PSの粘度が低くなってしまったのは、熔融混練による分子鎖切断のため、PSの分子量が予想以上に低下してしまったからである。ただし表1の分子量は低下後の値を示してある。粘度が同程度のPS/PMMAブレンドを用いた研究はすでに始めているので、可能性(1)の妥当性は近いうちに判明する。(2)の弾性効果であるが、せん断速度がそれほど高くないため成分の第1法線応力差 N_1 は比較的小さい。 N_1 は、 $\dot{\gamma} = \omega$ として $N_1 = 2G'$ の程度である。したがって、成分間の N_1 の違いも、図2の $\omega = 0.05 \text{ s}^{-1}$ 付近の G' の違い程度である。弾性効果を明らかにするためには、粘度が同じで N_1 が異なる成分を用いた研究が必要である。成分の N_1 は分子量分布に敏感なため、成分を単分散のPS、PMMAとした研究にも着手している。可能性の(3)を言い換えると、もっと高いせん断速度ではシリンダー形態が現れるかも知れない、ということである。予備実験として、高応力 ($\sigma = 10000 \text{ Pa}$) におけるクリープ試験を行ったところ、定常状態 ($t = 10000 \text{ s}$) で Through, Edge, End の全ての view から、流動方向にほぼ完全に配向したシリンダー形態が観測された。ただし、シリンダーの直径が小さすぎてX線CTでは測定できないため、3つのviewに対応する断面を切り出してSEM観察した。高応力、高せん断速度でシリンダー形態が確認できたが、成分鎖の緩和速度程度の $\dot{\gamma}$ で Edge view に見られる板状パターンについては、さらなる研究が必要である。

5. アフィン変形との比較

外部変形が小さい間は、内部変形（界面の変形）が外部変形に相似になることが期待される。すなわちアフィン変形の仮定が成立するはずである。残念ながら短時間での試料の冷却・固化に限界があるので、ごく小変形でアフィン変形を確認することは

できなかった。ここでは、外部ひずみ $\gamma = 3.2$ において、緩和のために内部変形がアフィン変形よりどれだけ小さいかを検討することにした。変形前の3次元画像に種々のひずみのアフィン変形を加え、得られた画像とクリープの実験結果 ($\sigma = 100 \text{ Pa}$, $t = 1000 \text{ s}$, $\gamma = 3.2$) とを比較した。内部変形は、外部ひずみが 1 と 2 の間のアフィン変形と同程度であること、それ以上の定量化は難しいことがわかった。

画像の直接比較は困難であることが判明したので、配向角で定量的な評価を試みた。アフィン変形の場合、配向角 θ は次式で表される。

$$\cot 2\theta = \gamma/2 \quad (3)$$

$\gamma = 3.2$ では $\theta = 16^\circ$ となる。図7では θ_1 をこの 16° にとっている。実際、配向角が 16° に近い部分もある。一方、図7の $\theta_2 = 28^\circ$ は、他の多くの観察面も含めた平均の配向角である。式(3)より $\theta = 28^\circ$ はアフィン変形の $\gamma = 1.35$ に対応する。

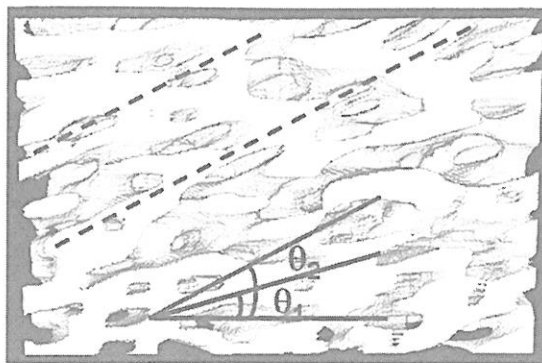


図7 アフィン変形から予測される配向角 θ_1 と平均の配向角 θ_2

6. 結 論

共連続構造をもつ PS/PMMA ブレンドについて、X 線 CT を用いてクリープおよびせん断流動時の3次元構造を観察し、以下の結論を得た。

- (1) 界面の部分的な緩和が可能なせん断速度では、Through View に板状の特異なパターンが出現した。
- (2) 界面の緩和が起こりにくい高いせん断速度では、Edge View に短い板状の特異なパターンが出現した。
- (3) ひずみが 3.2 における界面の平均的な配向角は、アフィン変形ではひずみ 1.35 の配向角に相当した。
- (4) クリープ時の平均せん断速度と同じせん断速度の定常流で、クリープ時と同様の形態を観測した。
- (5) 静止時の共連続構造の貯蔵弾性率 G' の角周波数 ω 依存性は指数則を示し、指数は 0.84 となった。

これらの基礎的な知見が、共連続構造をもつブレンド材料の創製・開発の参考になることを期待する。

文 献

- 1) L. A. Utracki, "Polymer Alloys and Blends", Chap. 3, Hanser (1990)
- 2) R. G. Larson, "The Structure and Rheology of Complex Fluids", Chap. 9, Oxford University Press (1999).
- 3) C. Harrats, S. Thomas, G. Groeninckx eds., "Micro- and Nanostructured Multiphase

- Polymer Blend Systems: Phase Morphology and Interfaces”, Taylor & Francis (2006).
- 4) C. D. Han, “Rheology and Processing of Polymeric Materials”, Vol. 1 Polymer Rheology, Oxford University Press (2007).
 - 5) A. I. Isayev ed., “Encyclopedia of Polymer Blends”, Vol. 1 Fundamentals, Wiley-VCH (2010).
 - 6) 高橋雅興, 岡本健三, P. H. P. Macaubas, 日本化学繊維研究所講演集, **66**, 75 (2009).
 - 7) H. Yamane, M. Takahashi, R. Hayashi, K. Okamoto, H. Kashiwara and T. Masuda, *J. Rheol.*, **42**, 567 (1998).
 - 8) K. Okamoto, M. Takahashi, H. Yamane, H. Kashiwara, H. Watanabe, and T. Masuda, *J. Rheol.*, **43**, 951 (1999).
 - 9) R. Hayashi, M. Takahashi, H. Yamane, H. Jinnai and H. Watanabe, *Polymer*, **42**, 757 (2001).
 - 10) M. Takahashi, P. H. P. Macaubas, K. Okamoto, H. Jinnai, and Y. Nishikawa, *Polymer*, **48**, 2371 (2007).
 - 11) P. H. P. Macaubas, H. Kawamoto, M. Takahashi, K. Okamoto, and T. Takigawa, *Rheol. Acta*, **46**, 921 (2007).
 - 12) M. Takahashi and K. Okamoto, *J. Soc. Rheology, Japan*, **35**, 199 (2007).
 - 13) K. Okamoto and M. Takahashi, *J. Soc. Rheology, Japan*, **36**, 43 (2008).
 - 14) K. Okamoto S. Iwatsuki, M. Ishikawa and M. Takahashi, *Polymer*, **49**, 2014 (2008).
 - 15) K. Okamoto and M. Takahashi, *Rheol. Acta*, **47**, 797 (2008).
 - 16) K. Okamoto, M. Yamaguchi, M. Takahashi, *J. Soc. Rheology, Japan*, **37**, 121 (2009).
 - 17) H. Jinnai, H. Watanabe, T. Kajihara, and M. Takahashi, *J. Chem. Phys.*, **119**, 7554 (2003).
 - 18) 高橋雅興, 木村和樹, 須藤拓也, 大澤智, 日本化学繊維研究所講演集, **65**, 66 (2008).
 - 19) 高橋雅興, 西川幸宏, 向井夏彦, 石川隆士, 木村和樹, 日本化学繊維研究所講演集, **67**, 78 (2010).
 - 20) I. S. Polios, M. Soliman, C. Lee, S. P. Gido, K. Schmidt-Rohr, and H. H. Winter, *Macromolecules*, **30**, 4470 (1997).
 - 21) I. Vinckier, H. M. Laun, *Rheol. Acta*, **38**, 274 (1999).
 - 22) I. Vinckier, H. M. Laun, *J. Rheol.*, **45**, 1373 (2001).
 - 23) Z. L. Zhang, H. D. Zhang, Y. L. Yang, I. Vinckier, H. M. Laun, *Macromolecules*, **34**, 1416 (2001).
 - 24) M. Castro, F. Prochazka, C. Carrot, *J. Rheol.*, **49**, 149 (2005).
 - 25) M. Takahashi, K. Yokoyama, T. Masuda, and T. Takigawa, *J. Chem. Phys.*, **101**, 798 (1994).
 - 26) M. Takenaka, T. Kobayashi, K. Saijo, H. Tanaka, N. Iwase, T. Hashimoto, and M. Takahashi, *J. Chem. Phys.*, **121**, 3323 (2004).

半屈曲性環状高分子の第2ビリアル係数¹⁾

吉崎 武尚・井田 大地・中臣 大輔

T. Yoshizaki, D. Ida, D. Nakatomi

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

二つの環状高分子鎖は、それらを切断、再結合しない限り、絡み合わない状態（図1の絡み数0）から絡み合った状態（例えば図1の絡み数1）に移行できない*。したがって、高分子鎖を構成する繰返し単位の間には相互作用が働かない理想鎖の場合でも、一つの環状高分子鎖が占める領域にもう一方が入り込めない、いわゆる位相幾何学的な相互作用が環状高分子鎖の間に働く。その結果、Frank-Kamenetskii ら²⁾が格子鎖の計算機シミュレーションから予測したように、線状高分子鎖の第2ビリアル係数 A_2 が0となる Θ 状態においても、環状高分子鎖の A_2 は正の値となる。その後、環状ガウス鎖を用いた理論的研究³⁻⁵⁾が行われ、また実験的にもシクロヘキサン中 Θ 温度における環状ポリスチレンの A_2 が正となることが示されている^{6,7)}。



図1. 二つの環状高分子鎖の絡み合い

一つの高分子鎖が存在することによって他の鎖が入り込めない領域の体積を表す有効排除体積 V_E は A_2 から次のように定義される。

$$A_2 = \frac{4N_A V_E}{M^2} \quad (1)$$

N_A はアボガドロ定数、 M は高分子の分子量である。このように定義された V_E は、剛直な円環とランダムコイルの二つの極限で平均二乗回転半径 $\langle S^2 \rangle$ の $3/2$ 乗に比例すると考えられ、環状鎖の長さを L とすると、それぞれの極限で L^3 、 L^ν に比例する。 ν はランダムコイル極限における漸近関係 $\langle S^2 \rangle^{1/2} \propto L^\nu$ の指数である。 ν は、理想環状鎖を表す閉じた曲線——結び目 (knot) が可能な全ての位相幾何学的な状態を取り得るときは $1/2$ 、図2に示した自明な結び目 (trivial knot) だけの場合は ~ 0.6 となる。参考のため、図2には、自明ではない結び目で最も単純な三葉 (3_1) 結び目も示した。 $M \propto L$ であるから、理想環状鎖の A_2 は剛直な円環の極限で M に、一方ランダムコイル極限では $M^{-1/2}$ あるいは $M^{-0.2}$ に比例する。したがって、剛直な円環とランダムコイルの二つの極限のクロスオーバー領域では、 M の増大にともない、 A_2 は最初 M に比例して増大した後、最大値を経て減少する。本研究では、離散環状みみず鎖を用いた計算機シミュレーションによって、そのようなクロスオーバー挙動を明らかにする。

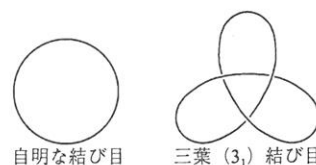


図2. 結び目の位相幾何学的分類

*二つの曲線が絡み合った状態を、一つの曲線の周りをもう一方の曲線が回る回数で表し、絡み数と呼ぶ。絡み合っていないとき、絡み数は0であり、絡み合っているとき、絡み数は0以外の整数となる。曲線に方向を持たせ、回る向きの違いを符号の違いで表すので、絡み数は負にもなる。図1では、簡単のため、環状高分子を表す閉じた曲線の方向を明示していないので、絡み数の絶対値が1というのが正確である。

2. モデルと方法

n 個の長さ l の結合ベクトル $\mathbf{l}_i$ ($i = 1, 2, \dots, n$) がつながった環状鎖の形態エネルギー $U(\{\mathbf{l}_n\})$ を、 $i-1$ 番目と i 番目の結合ベクトルのなす角 θ_i を用いて次のように書く.

$$U(\{\mathbf{l}_n\}) = \frac{\alpha}{2} \sum_{i=1}^n \theta_i^2 \quad (2)$$

α は曲げの弾性定数であり、 θ_1 は $\mathbf{l}_n$ と $\mathbf{l}_1$ のなす角である. この離散環状鎖は、全長 $L = nl$ を一定に保ち、かつ次の条件の下で、 $n \rightarrow \infty$ ($l \rightarrow 0$) の極限において鎖長 L の環状みみず鎖となるので、離散環状みみず鎖と呼ぶ.

$$l \frac{1 + \langle \cos \theta \rangle}{1 - \langle \cos \theta \rangle} = \lambda^{-1} \quad (3)$$

λ^{-1} はみみず鎖の固さを表す剛直性パラメタであり、 $\langle \cos \theta \rangle$ は、隣り合う結合ベクトルがなす角 θ の余弦 $\cos \theta$ の平衡平均であり、次のように定義される.

$$\langle \cos \theta \rangle = \frac{\int_0^\pi e^{-\alpha \theta^2 / 2k_B T} \cos \theta \sin \theta d\theta}{\int_0^\pi e^{-\alpha \theta^2 / 2k_B T} \sin \theta d\theta} \quad (4)$$

k_B はボルツマン定数、 T は絶対温度である.

モンテカルロ法を用いて離散環状みみず鎖の統計母集団を発生し、それを用いて A_2 を数値的に評価した. 実際の計算では、 $l = 1$ とし、 $\alpha/k_B T = 0, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100$ のそれぞれ場合に $n = 10, 20, 50, 100, 200$ について計算を行った. $\alpha/k_B T = 0$ のとき離散環状みみず鎖は環状自由連結鎖になり、その場合には $n = 500, 1000$ についても計算を行った. それぞれの $\alpha/k_B T$ の値に対応する (l を単位として測った) λ^{-1} は 1, 1.408, 2.575, 6.421, 20.36, 60.34, 200.3 である. 離散環状みみず鎖の形態を逐次発生する際には、その位相幾何学的状態は保存せず、最終的に得られた個々の鎖に対して Alexander 多項式⁸⁾に基づいて自明な結び目か否かを判定した. また、数値的に A_2 を評価する際には、ガウスの絡み数⁹⁾に基づいて二つの離散環状みみず鎖の絡み数が 0 か否かを判定した.

3. 結果

統計母集団の確認 $\alpha/k_B T$, n を変えて、形態エネルギーのボルツマン因子 $e^{-U/k_B T}$ に比例する頻度で発生した、離散環状みみず鎖の統計母集団に含まれる自明な結び目の分率 $f_{t.k.}$ の λ^{-1} を単位として測った鎖長 λL に対する片対数プロットを図3に示す. データ点を表す白丸に付けたピップは $\alpha/k_B T$ の違いを表し、上方向のピップを付けたものが $\alpha/k_B T = 0$ の場合のデータ点であり、0.3, 1, 3, 10, 30, 100 と $\alpha/k_B T$ が大きくなるとともにピップの向きは時計回りに 45° ずつ回転している. 以下の図においてもピップは同じ意味を持つ. 図中の黒点は Moore ら⁹⁾ の環状自由連結鎖 ($\alpha/k_B T = 0$) の結果であり、データの存在する範囲で、今回の結果とよく一致している. λL が 10 ぐらい

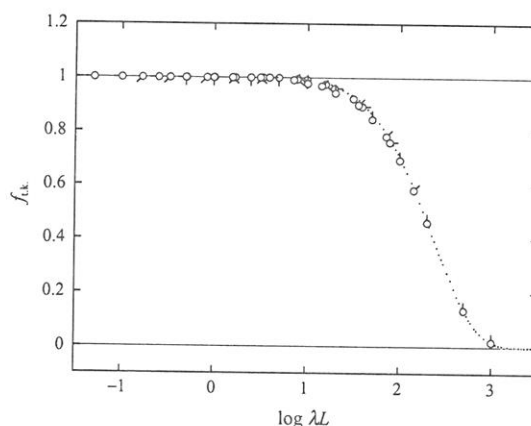


図3. $f_{t.k.}$ 対 $\log \lambda L$ プロット

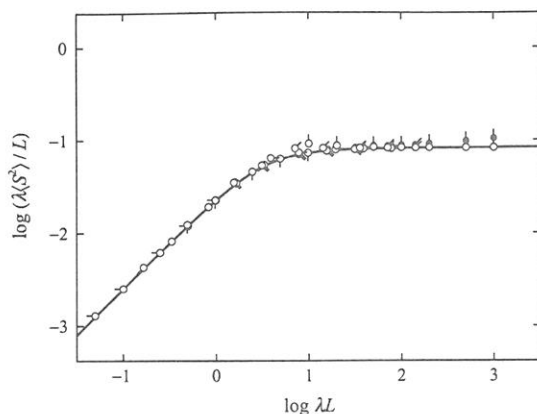


図 4. $\log \lambda \langle S^2 \rangle / L$ 対 $\log \lambda L$ プロット

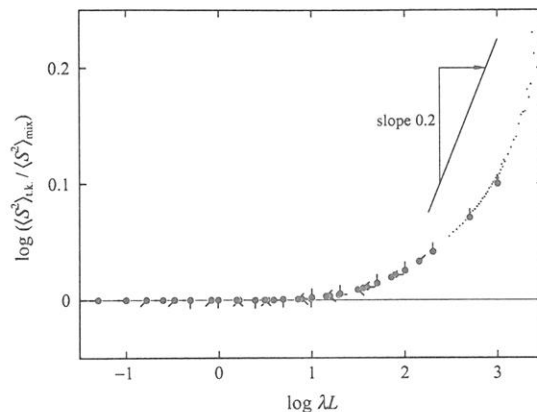


図 5. $\log(\langle S^2 \rangle_{t.k.} / \langle S^2 \rangle_{mix})$ 対 $\log \lambda L$ プロット

までは、鎖の固さのために局所的に湾曲した形態をとり難いので、発生した形態のほとんどすべてが自明な結び目であることが分かる。 λL が 10 より大きくなると、 λL の増大とともに $f_{t.k.}$ は減少し、 $\lambda L \gtrsim 10^3$ で $f_{t.k.} \simeq 0$ となる。

図 4 に $\lambda \langle S^2 \rangle / L$ 対 λL の両対数プロットを示す。 図中、白丸は全ての位相幾何学的状態の離散環状みみず鎖が形態エネルギーのボルツマン因子を重みとして混在する統計母集団を用いた平均二乗回転半径 $\langle S^2 \rangle_{mix}$ の値を、また黒丸は自明な結び目のみからなる統計母集団を用いた平均二乗回転半径 $\langle S^2 \rangle_{t.k.}$ の値を示す。 実線は位相幾何学的状態を考慮しない環状みみず鎖の理論値¹¹⁾を表す。 離散モデルであることの影響が顕著となる n と $\alpha/k_B T$ が非常に小さい場合を除き、 $\langle S^2 \rangle_{mix}$ と理論値の一致は良好であり、統計母集団が適切に構成されていることが分かる。 $f_{t.k.}$ が 1 より小さくなる $\lambda L \gtrsim 10$ の領域で、小さい形態をとる自明でない結び目を除外した $\langle S^2 \rangle_{t.k.}$ は、 λL の増加とともに $\langle S^2 \rangle_{mix}$ より大きくなっていく。 図 5 に $\langle S^2 \rangle_{t.k.} / \langle S^2 \rangle_{mix}$ 対 λL の両対数プロットを示す。 図中の黒点は Moore ら¹⁰⁾の環状自由連結鎖 ($\alpha/k_B T = 0$) の結果であり、データの存在する範囲で、今回の結果とよく一致しており、 λL の大きい領域で、 $\langle S^2 \rangle_{t.k.} \propto (\lambda L)^{0.6}$ から予想される傾き 0.2 に近くなっている。

A₂ 二つの離散環状みみず鎖の重心間距離 r を固定して、鎖の間に働くポテンシャルを統計母集団の形態について平均した平均力ポテンシャル $\bar{U}_{12}(r)$ を用いて、 A_2 は次のように書ける。

$$A_2 = \frac{2\pi N_A}{M^2} \int_0^\infty \left\{ 1 - \exp \left[-\frac{\bar{U}_{12}(r)}{k_B T} \right] \right\} r^2 dr \quad (5)$$

図 6 に、 $\bar{U}_{12}(\rho)/k_B T$ の $\rho = r/\langle S^2 \rangle^{1/2}$ に対するプロットを示す。 実線は位相幾何学的状態を考慮しない統計母集団を用いた結果を、破線は自明な結び目のみからなる統計母集団を用いた結果を表す。 また、点線は正 200 角形の結果を表す。 自明な結び目のみからなる統計母集団を用いた場合、離散環状みみず鎖の重心近くの密度が低いので、破線が実線より小さくなっている。 また、鎖が

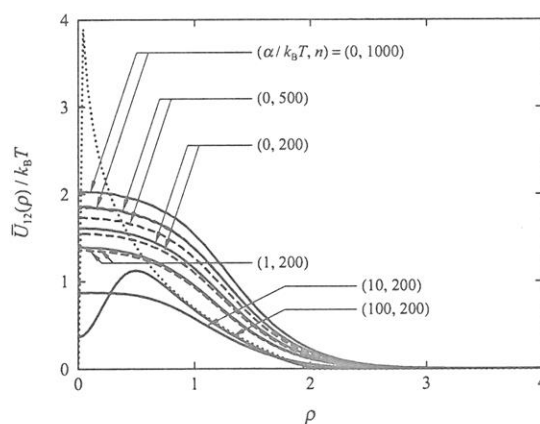


図 6. $\bar{U}_{12}(\rho)/k_B T$ 対 ρ プロット

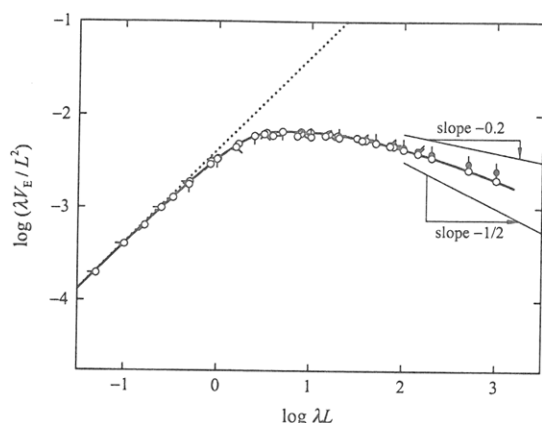


図 7. $\log(\lambda V_E/L^2)$ 対 $\log \lambda L$ プロット

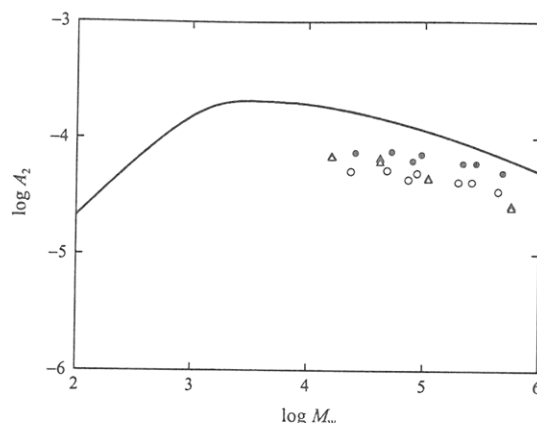


図 8. $\log A_2$ ($\text{cm}^3 \text{mol/g}^2$) 対 $\log M_w$ プロット

固くなると鎖の重心近くの密度が極端に低くなるので、 ρ が小さい領域でポテンシャルが小さくなっている。

r を変えて計算した $\bar{U}_{12}(r)$ の値を用い、式 (5) を数値的に積分して、式 (1) から得られた V_E の値を図 7 に示す。データ点の意味は図 4 と同じである。図中の実線は位相幾何学的状態を考慮しない統計母集団を用いた結果（白丸）に対する内挿式の値を表し、点線は des Cloizeaux¹²⁾ によって得られた剛直な円環の値を表す。縦軸の $\lambda V_E/L^2$ は A_2 に比例する量で、 $\lambda L \simeq 5$ で A_2 が最大値となることが分かる。計算を行った $\lambda L \lesssim 10^3$ の範囲では未だランダムコイル極限に到達していないことが分かる。

図 8 に、得られた結果と実験との比較を示す。図中、丸は Roovers と Toporowski⁶⁾ の、三角は高野ら⁷⁾ の Θ 溶媒（シクロヘキサン 34.5 °C）中における環状ポリスチレンの結果であり、実線は図 7 に示した内挿式の値を表す。黒い印は、測定試料に含まれる線状鎖の影響を補正した値を表す。 A_2 と $\lambda V_E/L^2$ 、重量平均分子量 M_w と λL はそれぞれ次の関係で結び付けられる。

$$\log A_2 = \log\left(\frac{\lambda V_E}{L^2}\right) + \log\left(\frac{4N_A \lambda^{-1}}{M_L^2}\right), \quad \log M_w = \log(\lambda L) + \log(\lambda^{-1} M_L) \quad (6)$$

λ^{-1} と単位長さ当りの分子量を表すシフト因子 M_L の値は、 Θ 溶媒中の線状ポリスチレンの $\langle S^2 \rangle$ をみず鎖で解析して決定された、それぞれ 16.8 Å, 35.8 Å⁻¹ を用いた¹³⁾。今回の結果が実験値より幾分大きいのは、 Θ 溶媒中における M の大きくない屈曲性高分子に対する 3 体クラスター積分の影響だと考えられる。

文献

- 1) D. Ida, D. Nakatomi, and T. Yoshizaki, *Polym. J.*, **42**, 735 (2010).
- 2) M. D. Frank-Kamenetskii, A. V. Lukashin, and A. V. Vologodskii, *Nature*, **258**, 398 (1975).
- 3) K. Iwata and T. Kimura, *J. Chem. Phys.*, **74**, 2039 (1981).
- 4) K. Iwata, *Macromolecules*, **18**, 115 (1985).
- 5) F. Tanaka, *J. Chem. Phys.*, **87**, 4201 (1987).
- 6) J. Roovers and P. M. Toporowski, *Macromolecules*, **16**, 843 (1983).
- 7) A. Takano, Y. Kushida, Y. Ohta, K. Matsuoka, and Y. Matsushita, *Polymer*, **50**, 1300 (2009).
- 8) R. H. Crowell and R. H. Fox, "Introduction to Knot Theory," Ginn, Boston, 1963.
- 9) D. Rolfsen, "Knots and Links," Publish or Perish, Berkeley, 1976.
- 10) N. T. Moore, R. C. Lua, and A. Y. Grosberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 13431 (2004).
- 11) H. Yamakawa, "Helical Wormlike Chains in Polymer Solutions," Springer, Berlin, 1997.
- 12) J. des Cloizeaux, *J. Phys. Lett.*, **42**, L-433 (1981).
- 12) H. Yamakawa and T. Yoshizaki, *J. Chem. Phys.*, **119**, 1257 (2003).

DNA のパターン描画による細胞アレイの作成

岩田博夫¹⁾、櫻井研吾¹⁾、寺村裕治²⁾、

Hiroo Iwata, Kengo Sakurai, Yuji Teramura

¹⁾京都大学再生医科学研究所

²⁾京都大学放射性同位元素総合センター

1. 緒言

薬剤スクリーニングや遺伝子機能解析のハイスループットアッセイ、再生医療における細胞間相互作用の解析を目的として、これまでに様々な細胞アレイが開発されてきた [1-4]。細胞アレイでは、基板上の特定のエリアに細胞を接着させる必要があるため、フィブロネクチンやビトロネクチンのような接着タンパク質を基盤の特定の位置に固定されている。また、基板上への接着タンパク質のパターニングは、マイクロコンタクトプリントやフォトリソグラフィによって行われている [5-8]。これらの方法で、様々なパターン状に細胞を配置してきたが、ほとんどの研究では、一種類の細胞でしか実現できていないのが現状である。上記の目的を達成するためには、異なる種類の細胞を配列することが求められる。表面抗原に対する抗体を利用して、複数種の細胞の接着も検討されているが [9]、抗体は高価で、さらに適切な抗体を見つけることも難しい。従って、複数の細胞種を同時に複雑なパターン上に接着させる手法の確立が求められている。

これまでに我々は、両親媒性高分子を用いて DNA を細胞表面に導入して、フォトリソグラフィを利用して、細胞アレイを作成してきた [10]。ここでは、DNA を接着分子として利用していることから、様々な DNA 配列を組み合わせることで、複数種の細胞を接着させることが可能になった。しかしながら、フォトリソグラフィでは複雑なパターンを描くことはできず、さらに鋳型の作製にも時間がかかることが問題であった。

本研究では、インクジェットプリンターを利用して、様々な DNA のパターン化基板を作製し、DNA のハイブリダイゼーションにより細胞の配列を試みた。すなわち、インクジェットプリンターを用いて、金基板上に 5'末端にチオール基のついた DNA' 分子 (DNA'-SH) をスポットして、様々なパターンをプリントした。基板上にプリントした DNA の相補配列を有する DNA-ポリエチレングリコール結合リン脂質複合体 (DNA-PEG 脂質)を細胞表面に導入し [11, 12]、その細胞を基板上に播種し DNA のハイブリダイゼーションを用いて基板上へ接着した。二種類の異なる配列の DNA を利用して、2 種類の細胞のそれぞれの所定の位置への接着も試みた。

2. 実験

2-1. DNA-PEG 脂質の合成

DNA-PEG 脂質は、DNA-SH(5'末端に SH 基修飾)とマレイミド-PEG 脂質 (Mal-PEG 脂質) から、既報に従い合成した [10]。Mal-PEG 脂質(270 μ L、1.0 mg/mL in PBS)と DNA-SH(180 μ L、300 μ g/mL in PBS)を室温で、12 時間反応させ、DNA-PEG 脂質を合成した。未反応の DNA-SH とは分離せず、本実験に使用した。本実験で使用した DNA は、polyA (AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA) と polyT (TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT)、SeqA (TGCGGATAACAATTTTCACACA) と SeqA'(TGTGTGAAATTGTTATCCGCA)、SeqB(TAGTATTCAACATTTCCG TGT)と SeqB'(ACACGGAAATGTTGAATACTA) の 3 組の相補配列である。

2-2. polyT-PEG 脂質で修飾したリポソームの調製

卵黄由来ホスファチジルコリン(EggPC)20 mg をクロロホルム 2 mL に溶解した後、ロータリーエバポレーターにより、減圧留去して、脂質薄膜を形成した。PBS(1 mL)を添加して、脂質を水和させ(4 $^{\circ}$ C, 24 h)、リポソームを調製した。Extrusion 法により、リポソーム懸濁液をフィルターを通して(フィルター孔径が 0.8 μ m で 1 回、0.22 μ m で 2 回、0.1 μ m で 10 回)、小さな一枚膜リポソーム(SUV, 直径 100 nm)を調製した。脂質の濃度はリン脂質定量キット(和光純薬)により決定した。polyT-PEG 脂質で表面修飾したリポソーム(polyT-PEG-リポソーム)は、リポソームの懸濁液(8 mg/mL, 500 μ L)と polyT-PEG 脂質(500 μ g/mL, 40 μ L)を混合(37 $^{\circ}$ C で 60 分間)して、調製した。

2-3. ガラス基板上への DNA の固定化

インクジェットプリンターを用いて、金蒸着したガラス基板上に DNA-SH をプリントし、様々なパターンを描写した (Scheme 1)。金-チオール結合により、DNA'-SH を金基板上へ固定した。カバーガラスをピラニア溶液に 10 分間浸漬した後、蒸留水と 2-プロパノールで洗浄し、真空蒸着により、クロム 1 nm、金 19 nm の薄膜を形成した。DNA'-SH 溶液をプリンターのカートリッジに充填し、金基板上にインクジェットプリンターを用いてプリントした。室温で 60 分間反応させた後、蒸留水で洗浄して使用した。

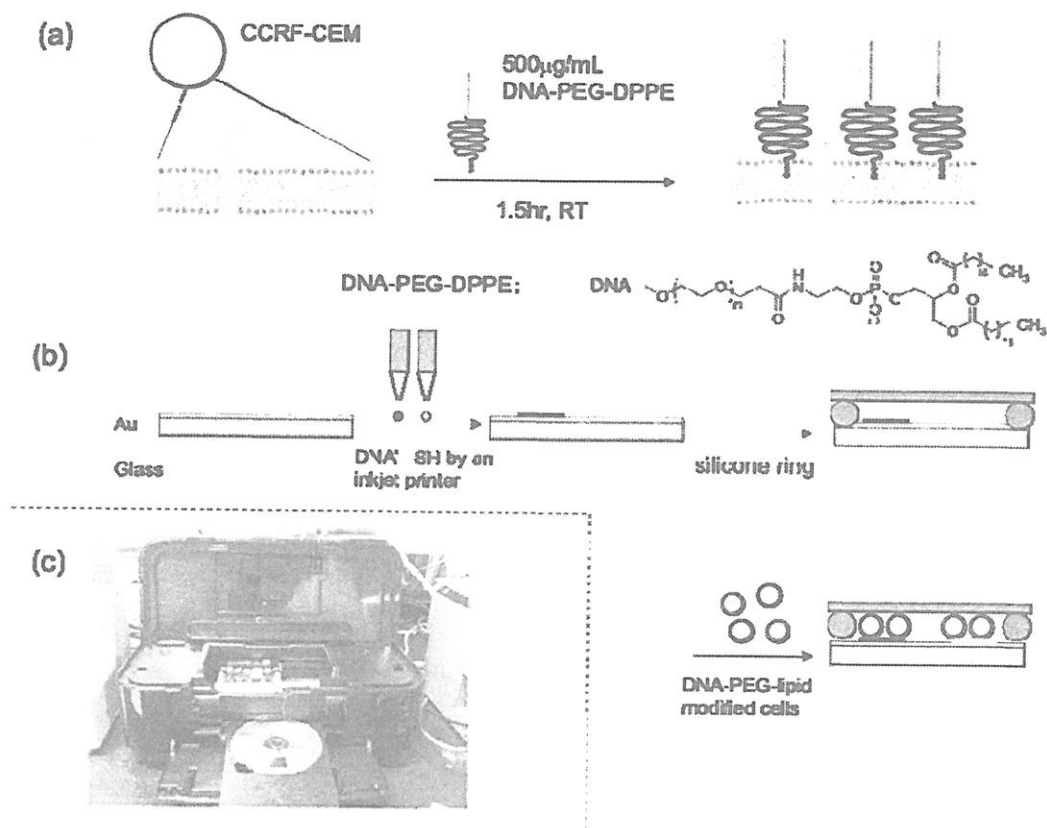
2-4. 表面分析

基板上へ固定化された DNA を分析するために、接触角測定器、フーリエ変換赤外分光計を用いて測定した。赤外分光は高感度反射吸光法(FTIR-RAS)を用いた。各基板の静的接触角を測定した(4 回の測定の平均値)。FTIR-RAS には、クロム 1 nm、金 199 nm 蒸着した基板を用いた。

2-5. SPR による polyT-PEG-リポソームと polyA 固定化基板との相互作用解析

polyT-PEG-リポソームと polyA 固定化基板との相互作用は、表面プラズモン共鳴 (SPR)測定装置を用いて調べた [13]。金基板表面に、polyA-SH 溶液(50 μ g/mL in PBS)

を 60 分間反応させ、金-チオール反応により polyA-SH を基板上に固定化した。PBS で洗浄後、BSA 溶液(10 mg/mL、in PBS)を 20 分間反応させ、ブロッキングを行った後、polyT-PEG リポソーム懸濁液(5 μ g/mL、in PBS)を 60 分間反応させた。また、コントロール実験として、polyA 固定化基板に polyT を反応させた後に、polyT-PEG-リポソームを反応させた。



Scheme 1. Schematic illustration of a method for cell immobilization on a pattern printed in DNA. (a) Immobilization of DNA with a specific sequence on the cell surface. DNA-PEG-DPPE was immobilized on the cell surface through the hydrophobic interaction between DPPE and the lipid bilayer of the cell membrane. (b) Printing a pattern in DNA'-SH with a complementary sequence of the DNA by an inkjet printer. The DNA-PEG-lipid-modified cells were applied to the substrate and immobilized on the pattern. (c) An inkjet printer used in this study, equipped with four ink cartridges to be loaded with different DNA'-SH solutions.

2-6. DNA-PEG 脂質による細胞表面の修飾

本実験では細胞はヒト急性リンパ芽球性白血病由来T細胞であるCCRF-CEMを用いた。蛍光顕微鏡による観察のため、PKH26(赤色)とPKH67(緑色)により、細胞膜を蛍光標識した。Scheme 1に示したように、DNA-PEG脂質溶液 (500 μ g/mL in PBS, 60 μ L) と細胞を混合した後、室温で90分間反応させた。PBSで洗浄後、DNA-PEG脂質で表面修飾した細胞を調製した。

2-7. DNAハイブリダイゼーションによる細胞の基板への固定化

シリコンシートを用いて、DNAを固定化した基板とカバーガラスとの隙間を形成した(体積約200 μL)。その空間に、BSA溶液(10 mg/mL)を流し込み、ブロッキングを行った(20分間)。PBSで洗浄後、基板に固定化されたDNA'と相補配列を有するDNAを固定化した細胞(DNA-PEG-細胞、 5.0×10^6 個)を、流し込み、10分間インキュベートした。そのまま、基板をPBS溶液に浸漬し、カバーガラスとシリコンシートを取り除いた。このとき基板表面が、気液界面に接触しないように注意した。洗浄中に、細胞が基板からはがれてしまう恐れがあるためである。基板は正立顕微鏡と実体顕微鏡で観察した。

3. 結果と考察

3-1. DNA を固定した表面の接触角

インクジェットプリンターにより、polyA-SH溶液(300 $\mu\text{g/mL}$)を、1回、2回、4回、8回プリントし、それぞれの基板の接触角を測定した。Figure 1(a)に示したように、それぞれの接触角は印刷回数が増えるごとに減少していた。この接触角の値に下記のカッシーの式を適用し表面被覆率を計算した。

$$\cos\theta_c = \gamma_1 \cos\theta_1 + (1 - \gamma_1) \cos\theta_2,$$

θ_1 、 θ_2 、 θ_c は、それぞれpolyA-SH溶液に浸漬した基板表面、金表面、カッシー(実験値)の接触角である。 γ_1 は基板上に固定化されたpolyA-SHの表面被覆率として算出できる。

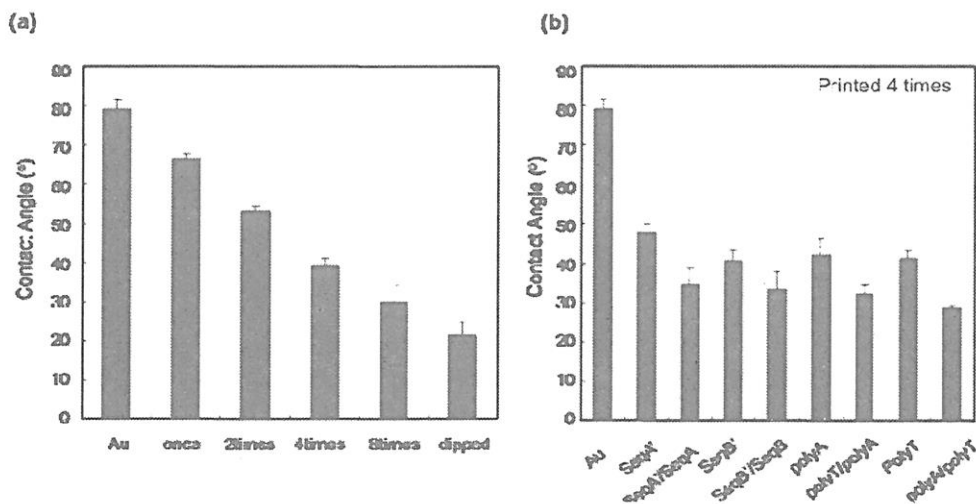


Figure 1. Water contact angles of surfaces printed in DNA solutions by an inkjet printer. (a) Surface printed in polyA-SH solutions one, two, four, or eight times using an inkjet printer followed by exposure of the surface to a polyA solution for 60 min. (b) Gold surface and surfaces printed in DNA solutions four times by an inkjet printer, and the surfaces after hybridization with complementary DNA'.

表面被覆率はプリント回数が1回、2回、4回、8回の基板では、それぞれ37.4%, 68.4%, 92.7%, 99.8%となった。インクジェットプリンターでは、非常に小さな液滴 (1 pL) を基板上へ吹き付け、インク滴は基板上では大きさ38 μm の島状になっており (data not shown)、プリント回数による接触角の減少はpolyAによる表面被覆率が増加するためである。これ以降の実験は、DNA-SHを4回プリントした基板を使用した。

Figure 1(b)は、液中接触角の結果である。DNA-SHを4回プリントした基板の液中接触角は、相補配列のDNA'と反応させた後では、約42度から約32度まで減少していることが分かった。これは、固定化したDNAが相補配列のDNA'とハイブリダイズしたためである。

3-2. DNA固定化基板のFTIR-RAS分析

Figure 2には、インクジェットによりpolyA-SHをプリントした表面のFTIR-RASスペクトルを示す。1000-1250 cm^{-1} に鋭いピーク、1530-1780 cm^{-1} に幅広いピーク、1250-1550 cm^{-1} に小さいピークが観察された。これらのピークは、それぞれリン酸基のP=O二重結合、核酸塩基の平面二重結合、デオキシリボースのグリコシド結合に帰属される。また、Figure 2には、polyA固定化基板へpolyTをハイブリダイズさせた後のスペクトルも示した。polyA基板と比較すると、ピーク面積は1.5倍程度増加しており、これはpolyAとpolyTのコンプレックスが生じたためと考える。これらのことから、金-チオール反応によりDNAが金表面に固定化されていることが分かった。

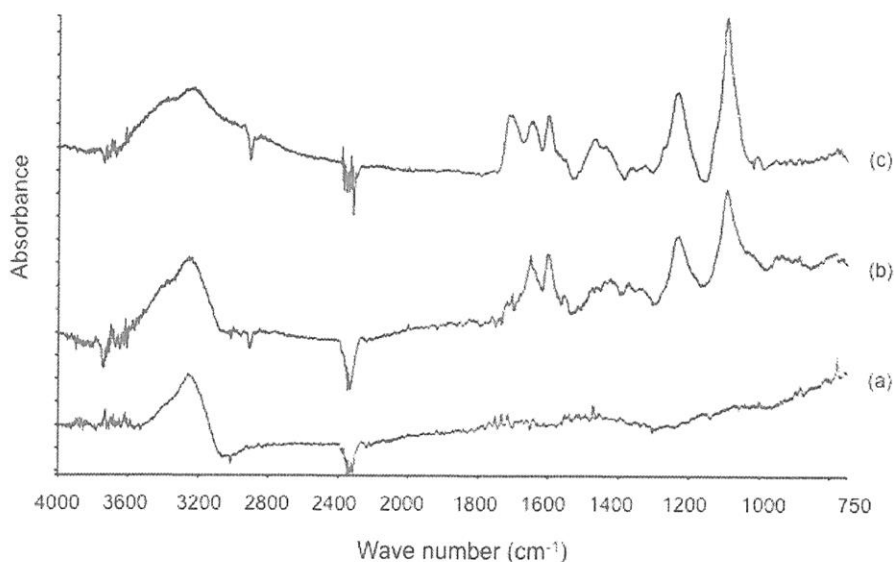


Figure 2. FTIR-RAS spectra of DNA-immobilized surfaces. (a) Bare gold surface, (b) polyA printed surface, and (c) surface with hybridized polyA-polyT.

3-3. SPRによる相互作用解析

SPR測定装置を用いて、polyT-PEG-リポソームとpolyA固定化基板との相互作用を解析した。Figure 3(a)に示したように、金基板とpolyA-SH溶液(50 $\mu\text{g/mL}$)を反応させることで共鳴角が160 mDA増加しことから、polyA-SHが金-チオール反応によって基板表面に固定されたことを示している。BSA溶液によりブロッキングを行った後、polyT-PEG-リポソームを反応させたところ、共鳴角がおおよそ、500 mDA増加し、polyT-PEG-リポソームのpolyA基盤への固定を認めた。他方、コントロール実験として、あらかじめ、polyTをpolyA基板へ反応させてから、polyT-PEG-リポソームを反応させても、リポソームの固定は見られなかった (Figure 3(b))。このことから、polyT-PEG-リポソームは、polyAとpolyT間のハイブリダイゼーションにより特異的に表面に固定されることが分かった。これらの結果は、DNAを表面に導入した細胞もリポソームと同様にDNAのハイブリダイゼーションにより表面に固定化できることを示唆するものである。

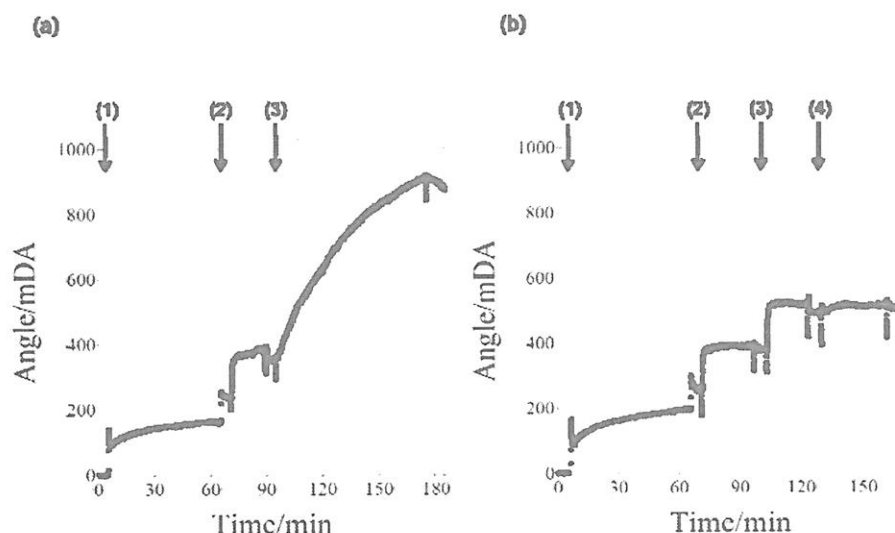


Figure 3. SPR profiles of the interaction between polyA immobilized on the surface and polyT-PEG-liposome. (a) A polyA-SH solution was introduced to the sensor surface (indicated by arrow (1)), and then PBS was infused to remove the polyA-SH solution. A BSA solution was introduced to the surface for blocking (arrow (2)). Finally, a suspension of polyT-PEG-liposome was introduced (arrow (3)). (b) A polyA-SH solution was introduced to the exposed sensor surface (arrow (1)), and then PBS was infused to remove a polyA-SH solution. A polyT solution was introduced to the sensor surface (arrow (2)). After a BSA solution was introduced to the surface for blocking (arrow (3)), a suspension of polyT-PEG-liposome was introduced (arrow (4)).

3-4. DNAハイブリダイゼーションによる細胞の金基板上への固定化

金蒸着したガラス基板上に、インクジェットプリンターを用いてDNA'-SHの溶液を様々なパターン状にプリントし、金-チオール反応によって基板上の所定の位置に固定化した。基板に固定化したDNA'と相補的な配列を持つDNA-PEG脂質で修飾したCCRF-CEM細胞を基板に播種しDNA間のハイブリダイゼーションにより接着を行っ

た。Figure 4(a)には、CCRF-CEMで描かれた京都大学のロゴマークを示した。ロゴマーク(Figure 4(b))を、デジタルデータとしてコンピュータに取り込み、SeqA'-SH溶液(300 µg/mL in PBS)で、インクジェットプリンターを用いて金基板上にプリントした。基板を洗浄とブロッキングを行った後、SeqA-PEG-細胞の懸濁液を10分間室温で反応させた。PBSで洗浄することで、Figure 4(a)のように鮮明な像が得られた。

次に、異なる2種類のDNA配列を用いて、異なる場所へ同時に細胞を固定化することを試みた。SeqA'-SHとSeqB'-SH溶液(それぞれ300 µg/mL)を、別々のカートリッジに充填し、基板上的異なる場所にインクジェットプリンターを用いてプリントした(Figure 5)。SeqA-PEG-細胞(赤色)とSeqB-PEG-細胞(緑色)を、1:1で混合した懸濁液(5×10^6 個)を基板上に播種した。10分間室温で反応させた後、PBSで洗浄した。

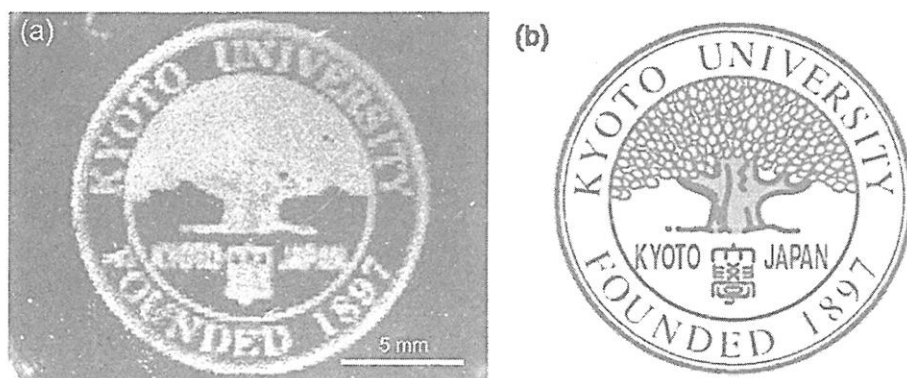


Figure 4. Attachment of CCRF-CEM cells on a pattern printed in a SeqA'-SH solution by an inkjet printer (panel a). The logo mark of Kyoto University (panel b) was saved on a personal computer as an image and then printed on a gold surface in a SeqA'-SH solution. SeqA-PEG-cells were applied to the surface.

Figure 5に示したように、正立顕微鏡下でダーツ型のパターンが観察された。SeqA-PEG-細胞とSeqB-PEG-細胞がそれぞれ相補配列であるSeqA'またはSeqB'の固定化された部分に接 着していた。**に示すようにSeqB-PEG-細胞はSeqB'-SHがプリントされた部分に固定化されており、また*に示すようにSeqA'-SHとSeqB'-SHの両方がプリントされた部分にはSeqA-PEG-細胞とSeqB-PEG-細胞の両方が固定化されているのが分かる。この部分は低倍率では黄色く観察された。

また、SeqA'-SHとSeqB'-SHを充填したカートリッジから、それぞれを1:0, 3:1, 1:1, 1:3, 0:1の混合比になるように、「JAPAN」を基板上にプリントした。SeqA-PEG-細胞(赤色)とSeqB-PEG-細胞(緑色)の混合懸濁液を基板上に加え10分間放置すると、Figure 6(a)に示す文字が描かれた。それぞれの文字上に固定化された細胞数を、ImageJにより算出したところ、DNA'-SH溶液の混合比率に相関して、固定化された細胞の混合比率が変化したことが分かった (Figure 6(b))。

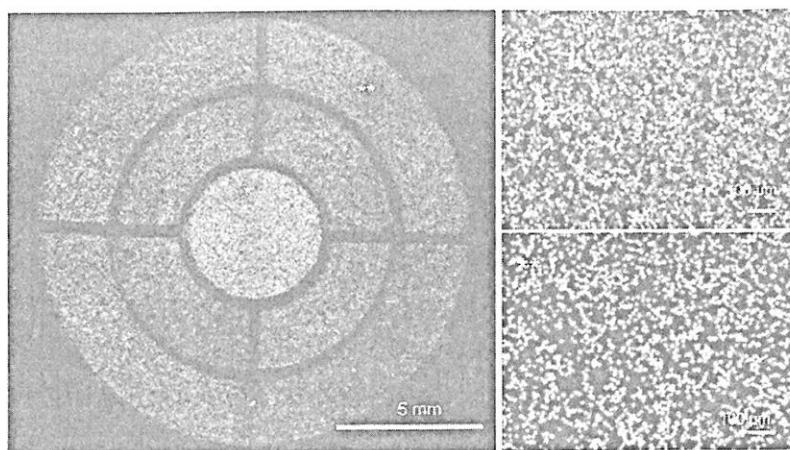


Figure 5. Fluorescence images of CCRF-CEM cells immobilized on a pattern printed in a SeqA'-SH and SeqB'-SH solution by an inkjet printer. Solutions of SeqA'-SH and SeqB'-SH were separately loaded into each ink cartridge. A pattern like a dartboard target was printed by these solutions. The center circle of the target was drawn in both SeqA'-SH and SeqB'-SH solutions. A mixed suspension of SeqA-PEG-cells (stained with PKH red) and SeqB-PEG-cells (stained with PKH green) (one to one by cell number) was seeded to the surface. Magnified images of areas marked by * and ** are shown on the right side.

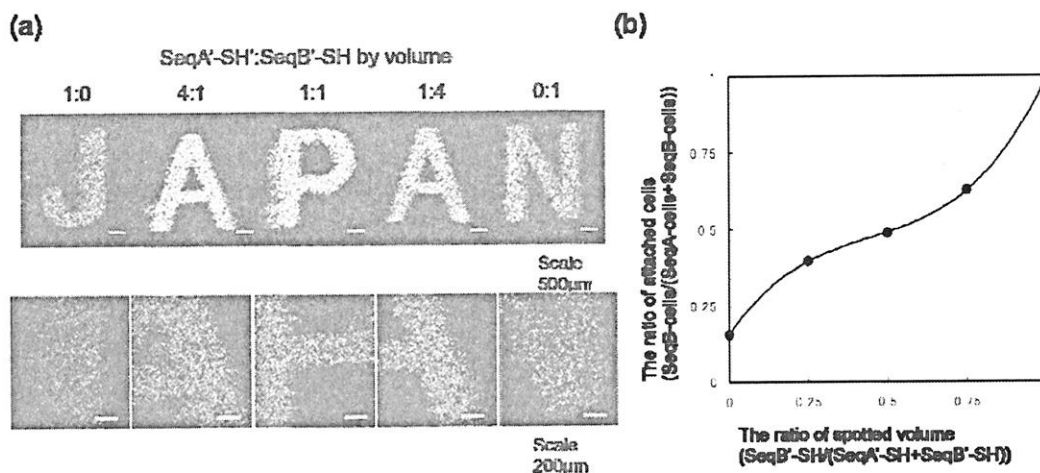


Figure 6. Gradient immobilization of SeqA-PEG-cells (stained with PKH red) and SeqB-PEG-cells (stained with PKH green) on a plate. (a) Fluorescence images of CCRF-CEM cells immobilized on a pattern. Solutions of SeqA'-SH and SeqB'-SH were separately loaded into each ink cartridge. Five letters, JAPAN, were printed in both SeqA'-SH and SeqB'-SH solution by an inkjet printer. The spotted volume ratios of the solutions were controlled by a computer to 1:0, 3:1, 1:1, 1:3, or 0:1 by the volume for each letter of "JAPAN," respectively. A mixed suspension of SeqA-PEG-cells (stained with PKH red) and SeqB-PEG-cells (stained with PKH green) (one to one by the cell number) were seeded to the surface. (b) The cell compositions are plotted against surface ratios of SeqA' and SeqB' in letters. Ratios of SeqA-PEG-cells and SeqB-PEG-cells on the spots were determined from the fluorescence images using ImageJ software. The line is drawn for guiding the eye.

細胞アレイでは、フィブロネクチンやビトロネクチン、抗体などを利用して、特定のエリアに細胞を固定することがこれまで検討されてきた。これらの分子をマイクロコンタクト法やインクジェット法、フォトリソグラフィーにより基板上にパターンニングし、細胞を接着させる試みである。しかしながら、改善すべき点がいくつか残っていた。接着性タンパク質を使用する場合、接着細胞には共通してインテグリンが発現しているため、異なる種類の細胞を異なる場所に固定化することは困難となる。また、浮遊系の細胞には応用できない。抗体の利用は、これらの問題を解決できるが高価であり、しかも表面抗原に対する抗体を手に入れることは容易ではない。これらの問題点を解決できる手段として、我々はDNA-PEG脂質の利用を提案する。本論文で示したように、非接着性の浮遊系細胞への適用も可能であり、DNA配列を組み合わせることによって、様々な細胞を組み合わせることが可能になる。

本実験で示したように、DNAを接着分子として用いることで、異なる種類の細胞を基板上の所定の位置に固定化できる。また、インクジェットプリンターを利用することで、複雑なパターンを容易に描くことができる。さらに通常基盤に接着しない浮遊系細胞も基盤の所定の位置に固定できる。

参考文献

1. Hung PJ, Lee PJ, Sabounchi P, Lin R, Lee LP. Continuous perfusion microfluidic cell culture array for high-throughput cell-based assays. *Biotechnol Bioeng* 2005;89:1-8.
2. Ziauddin J, Sabatini DM. Microarrays of cells expressing defined cDNAs, *Nature* 2001;411:107-110.
3. Yue C, Oelke M, Paulaitis ME, Schneck JP. Novel cellular microarray assay for profiling T-cell peptide antigen specificities. *J Proteome Res* 2009;9:5629-5637.
4. Yamazoe H, Iwata H. Cell microarray for screening feeder cells for differentiation of embryonic stem cells. *J Biosci Bioeng* 2005;100:292-296.
5. Peterson AW, Halter M, Tona A, Bhadriraju K, Plant AL. Surface plasmon resonance imaging of cells and surface-associated fibronectin. *BMC Cell Biology* 2009;10:1-17.
6. Yamauchi F, Okada M, Kato K, Jakt LM, Iwata H. Array-based functional screening for genes that regulate vascular endothelial differentiation of Flk1-positive progenitors derived from embryonic stem cells. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1770:1085-1097.
7. Hu J, Shi J, Zhang F, Lei L, Li X, Wang L, et al. High resolution and hybrid patterning for single cell attachment. *Microelectronic Engineering* 2010;87:726-729.
8. Ingham C, Bomer J, Sprengels A, van den Berg A, de Vos W, van Hylckama Vlieg W. High-resolution microcontact printing and transfer of massive arrays of microorganisms on planar and compartmentalized nanoporous aluminium oxide. *Lab Chip*, 2010;10:1410-1416.
9. Miyazaki H, Maki T, Kato K, Iwata H. Surface-displayed antibodies as a tool for

- simultaneously controlling the arrangement and morphology of multiple cell types with microscale precision. *ACS Appl Mater Interfaces* 2009;1:53-55.
10. Teramura Y, Chen H, Kawamoto T, Iwata H. Control of cell attachment through polyDNA hybridization. *Biomaterials* 2010;31:2229-2235.
 11. Teramura Y, Iwata H. Bioartificial pancreas Microencapsulation and conformal coating of islet of Langerhans. *Adv Drug Deliv Rev* 2010;62:827-840.
 12. Teramura Y, Iwata H. Cell surface modification with polymers for biomedical studies. *Soft Matter* 2010;6:1081-1091.
 13. Hirata I, Morimoto Y, Murakami Y, Iwata H, Kitano E, Kitamura H. Study of complement activation on well-defined surfaces using surface plasmon resonance. *Colloids Surf B* 18: 285-292.

軟らかさの異なるハイドロゲル細胞培養基材の作製

田畑泰彦、村上裕子、糸岡朝樹、山本雅哉

Yasuhiko Tabata, Yuko Murakami, Tomoki Itooka, Masaya Yamamoto

京都大学再生医科学研究所 生体材料学分野

1. 緒言

最近の基礎医学研究に基づいた新しい治療法として、再生治療や細胞治療などが実現しつつある。このような医療の進歩にともなって、治療に必要となる細胞に関する研究をさらに進める、あるいは治療に用いる細胞を単離かつ大量培養するための細胞培養基材の開発が急務となっている。一方、生体組織は、主として、細胞、細胞外マトリックスタンパク質、ならびに液性成分から構成され、水分を多く含んでいる。近年、生体組織に近い軟らかさをもつ高分子ハイドロゲルを用いることにより、幹細胞の増殖、分化などの細胞機能が細胞培養基材の軟らかさに大きく影響されることが報告された[1, 2]。しかしながら、現実の基礎医学研究では、生体組織とは大きく異なる力学的特性をもつポリスチレン製の培養皿が未だに使用されている。そこで、本研究では、生体組織の細胞周辺環境に近い培養条件を与えることが期待される高分子ハイドロゲルに着目し、ハイドロゲルの軟らかさが細胞機能に与える影響について検討した。

本研究では、軟らかさの異なるハイドロゲル上で細胞機能を評価するために、上皮細胞の間葉系細胞への分化転換（上皮-間葉転換、EMT）における細胞の形態変化を指標にした。敷石状の形態をもつ上皮細胞は、細胞周辺環境である細胞や細胞外マトリックスとの接着を失うことにより、紡錘状の間葉系細胞へ EMT することが知られている[3]。この細胞周辺環境の変化にともなう EMT は、癌の浸潤・転移および細胞の分化などの細胞活動に重要な役割をもっている。EMT では、酵素分解による細胞外マトリックスの消失や細胞間接着の破綻による細胞の運動性の獲得など、上皮細胞の細胞周辺環境は顕著に変化する[4-6]。さらに、肝硬変などの疾病により生体組織が線維化して硬くなれば、癌化のリスクが高くなることも知られている。このように、上皮細胞の細胞周辺環境の軟らかさは、生体組織の状態によって大きく変化し、その変化に応答して上皮細胞の状態が変化する。そこで、本研究では、変化する細胞周辺環境として、細胞傷害のない糖を添加することにより貯蔵弾性率が変化する糖応答性ハイドロゲルを作製した。すなわち、ポリビニルアルコール（PVA）の水酸基とポリアクリルアミド（PAAm）へ導入したフェニルボロン酸残基との共有結合を架橋点として、PVA と PAAm とからなるハイドロゲルを作製した[7]。PVA の水酸基と比較して、フェニルボロン酸残基に対する結合性がより高い糖であるソルビトールを添加することにより、ハイドロゲルの貯蔵弾性率を変化させることができる。さらに、このハイドロゲル基材上で上皮細胞を培養後、ソルビトールを加えることによりハイドロゲルを軟らかく変化させ、基材の貯蔵弾性率の変化が上皮細胞の EMT に与える影響について、細胞の形態変化を指標として検討した。

2. 実験

2-1. 軟らかさの異なるポリアクリルアミドハイドロゲルの作製

異なる濃度の N,N' メチレンビスアクリルアミド(BIS)を含む 30 w/v %アクリルアミド水溶液に対して、過硫酸アンモニウム水溶液および N,N,N',N'' テトラメチルエチレンジアミンを加えることにより、ポリアクリルアミド(PAAm)ハイドロゲルを得た。次に、1 mg/ml 濃度のスルホスクシンイミジル 6-(4'-アジド-2'-ニトロフェニル-アミノ)ヘキサノエート溶液中で、ハイドロゲルに対して 10 分間の UV(365 nm)照射を行った。その後、200 μ g/ml 濃度のIV型コラーゲン水溶液中に 4°Cで 4 時間浸漬することによって、ハイドロゲルにIV型コラーゲンを固定化した。 125 I 放射ラベル化したIV型コラーゲンをを用いて同様の反応を行い、得られたハイドロゲルの放射活性からハイドロゲルへのIV型コラーゲン固定化量を算出した。

2-2. 糖に応答して軟らかさが変化する糖応答性ハイドロゲルの作製

シス型の水酸基と反応することが知られている m -アミノフェニルボロン酸の水酸化ナトリウム水溶液に、塩化アクリロイルを加え、氷冷しながら 15 分間攪拌した。その後、塩酸を用いて溶液の pH を 1 に調整することにより、 m -アクリルアミドフェニルボロン酸を合成した。得られた m -アクリルアミドフェニルボロン酸の化学構造は ^1H NMR 測定により確認した。次に、 m -アクリルアミドフェニルボロン酸とアクリルアミド、BIS、およびポリビニルアルコール(PVA、重量平均分子量 79,200、ケン化度 87-89 %)を脱水ジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解させた。この混合溶液に過硫酸アンモニウムおよび N,N,N',N'' テトラメチルエチレンジアミンを加えることによりラジカル重合を行った。重合生成物を蒸留水に浸漬、DMSO を置換することにより、 m -アクリルアミドフェニルボロン酸-アクリルアミド-BIS の共重合体と PVA とからなる糖応答性ハイドロゲルを得た。

2-3. ハイドロゲルの軟らかさの評価

ハイドロゲルの軟らかさの評価は、動的粘弾性測定装置(20 mm ϕ 平行板プレート法、Rheo Stress 1、Thermo Haake 社製)を用いて行った。その測定範囲は 0.1~1 Hz であり、ハイドロゲルの貯蔵弾性率を測定した。糖に応答して軟らかさが変化するハイドロゲルについても、同様の動的粘弾性測定を行った。用いた糖は、 m -アミノフェニルボロン酸と反応するシス型の水酸基をもつソルビトールである。異なる濃度のソルビトールのリン酸緩衝生理食塩水溶液中、37°Cで 24 時間平衡膨潤に達したハイドロゲルの貯蔵弾性率を測定した。

2-4. 軟らかさの異なるハイドロゲル上での上皮細胞の EMT の評価

軟らかさの異なるIV型コラーゲン固定化 PAAm ハイドロゲル上に乳腺上皮細胞(EpH4 細胞)を播種した。播種 6 時間後、5 ng/ml 濃度のトランスフォーミング増殖因子- β 1(TGF- β 1)を含む培養培地に交換し、さらに 24 時間培養した。上皮細胞の EMT は、2 つの方法で細胞の顕微鏡観察から評価した。細胞骨格タンパク質のアクチンに親和性をもつ蛍光標識ファロイジンにより細胞を染色した後、共焦点レーザー顕微鏡によりアクチン線維の形態を観察した。次に、位相差顕微鏡観察によって、細胞形態の指標である form factor(4π (細胞の面積)/(細胞の周囲長)²)を算出した。

3. 結果と考察

3-1. ポリアクリルアミドハイドロゲルの軟らかさ

図1は異なる濃度のBISを用いて作製したPAAmハイドロゲルの貯蔵弾性率の測定結果である。BIS濃度の増加とともにハイドロゲルの貯蔵弾性率は増加し、軟らかさが変化した。

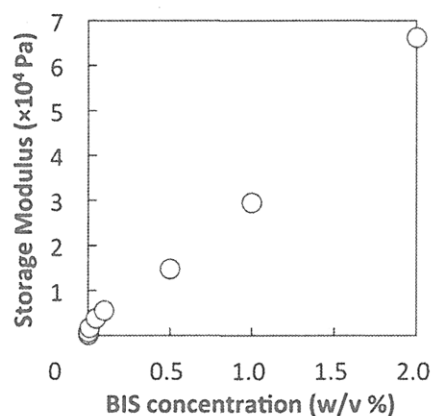


Figure 1. Storage moduli of PAAm hydrogels prepared at different BIS concentrations.

3-2. 糖添加による糖応答性ハイドロゲルの軟らかさの変化

図2(A)は糖応答性ハイドロゲルの貯蔵弾性率に与えるソルビトールの添加濃度の影響である。ソルビトール濃度の増加とともに糖応答性ハイドロゲルの貯蔵弾性率は低下した。これは、フェニルボロン酸残基に結合していたPVAの水酸基が、濃度依存的にソルビトールに置換され、糖応答性ハイドロゲルの架橋点が減少したためであると考えられる。図2(B)は作製時のPVA濃度が糖応答性ハイドロゲルの貯蔵弾性率に与える影響を示す。ソルビトール処理前の糖応答性ハイドロゲルの貯蔵弾性率はPVA濃度に依存していた。しかし、ソルビトール処理によって、いずれのハイドロゲルの貯蔵弾性率も低下し、糖応答性ハイドロゲルは糖に応答して軟らかさが変化することがわかった。

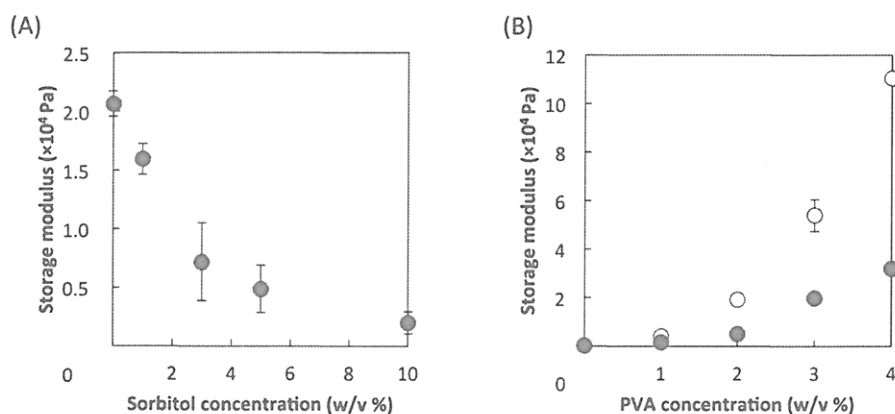


Figure 2. Change in the storage modulus of sugar-responsive hydrogels by sorbitol treatment. (A) The effect of hydrogels storage modulus on the concentration of sorbitol treated. (B) The effect of hydrogels storage modulus on the concentration of PVA: before ($\circ$) and after ($\bullet$) sorbitol treatment (5 w/v %).

3-3. 軟らかさの異なるハイドロゲル上での上皮細胞の EMT の評価

図 3(A)は軟らかさの異なるハイドロゲル上で培養した EpH4 細胞のアクチン線維の染色顕微鏡写真を示す。用いたハイドロゲルは、その貯蔵弾性率に関係なく、同量の細胞接着性IV型コラーゲンがハイドロゲル表面に固定化されている。貯蔵弾性率が 250 Pa のハイドロゲルでは、EMT を誘導する作用をもつ TGF- β 1 の有無に関わらず、接着した細胞は丸い形態を示し、細胞内にはアクチン線維が見られなかった(図 3(A)a,b)。一方、貯蔵弾性率が 19,000 Pa のハイドロゲルでは、TGF- β 1 なしの場合、細胞形態は上皮細胞に典型的な敷石状であった(図 3(A)c)。ところが、TGF- β 1 を添加することにより、細胞の伸展率が増加し、多くのアクチン線維が観察された(図 3(A)d)。このアクチン線維の出現は、間葉系の細胞の特徴である。次に、細胞形態を form factor により定量化したところ、貯蔵弾性率が低いハイドロゲルでは、細胞形態は丸く、form factor も 1 に近い値を示した。一方、貯蔵弾性率の高いハイドロゲル上では、培養細胞に TGF- β 1 を添加すると form factor は有意に減少した(図 3(B))。これは、培養基材の軟らかさと TGF- β 1 刺激とによって、アクチン線維が細胞内で形成され、細胞が上皮系から間葉系に転移したことを示している。硬いポリスチレン製の培養皿上での上皮細胞の EMT でも、同様の形態変化が報告されている。以上の結果より、EMT はハイドロゲルの貯蔵弾性率に影響され、貯蔵弾性率の高いハイドロゲルでは、低い貯蔵弾性率をもつハイドロゲルとは異なり、TGF- β 1 により EMT が誘導されることがわかった。

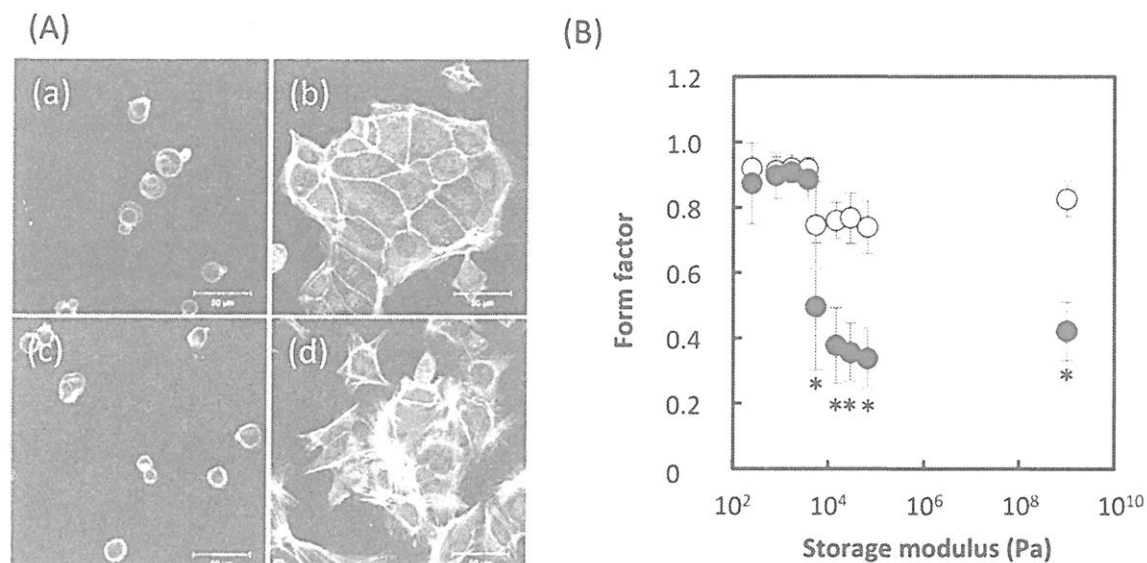


Figure 3. Effect of hydrogels softness on the EMT of EpH4 cells. (A) Confocal microscopic pictures of actin filaments in EpH4 cells cultured on PAAm hydrogels with different storage moduli (a,c; 250 Pa, b,d; 19,000 Pa) with (c,d) or without (a,b) TGF- β 1 (5 ng/ml). (B) Form factor of EpH4 cells cultured on PAAm hydrogels with different storage moduli with (●) or without (○) TGF- β 1 (5 ng/ml). * $p < 0.05$, significant difference against the form factor of EpH4 cells cultured on PAAm hydrogels without TGF- β 1 at the corresponding storage modulus.

3-4. 糖応答性ハイドロゲル上での上皮細胞の EMT 評価

図 4 は、貯蔵弾性率を変化させる前後でのハイドロゲル上の EpH4 細胞のアクチン線維染色の蛍光顕微鏡像を示す。貯蔵弾性率が 19,000 Pa のハイドロゲル上の上皮細胞 (図 4(A)) に対して、TGF- β 1 を添加することにより EMT を誘導後 (図 4(B))、ソルビトールを加えることによって、ハイドロゲルの貯蔵弾性率を変化させたところ、TGF- β 1 の有無にかかわらず、細胞内のアクチン線維が見られなくなり、形態的に間葉系細胞から上皮細胞様の細胞へ変化していることがわかった (図 4(D), (E))。一方、TGF- β 1 なしの場合、貯蔵弾性率が変化しなければ、細胞は間葉系の形態を示した (図 4 (A))。これは、TGF- β 1 による EMT 誘導作用が、細胞周辺環境の貯蔵弾性率の変化によって抑制され、上皮細胞へ変化したことが考えられる。この結果は、細胞周辺環境の力学特性を材料学的な手法により変化させることによって、細胞機能に影響を与えたことを示唆している。

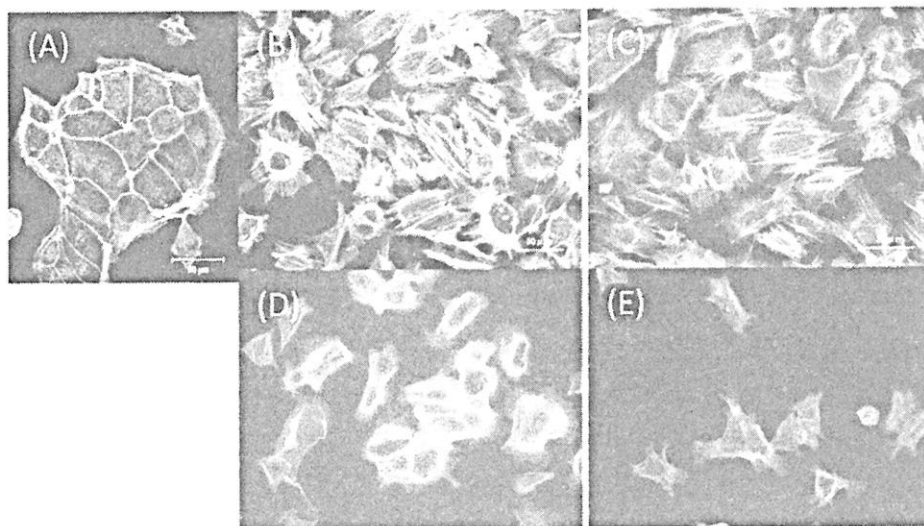


Figure 4. Confocal microscopic pictures of actin filaments in EpH4 cells cultured on hydrogels with different storage moduli (A, B, C; 19,000, D, E; 5,000 Pa) in the presence (B) and absence (A) of TGF- β 1. The storage modulus was changed by adding sorbitol (3 wt %) in the presence (D) and absence (C) of TGF- β 1. The depletion of TGF- β 1 has no effect on the morphology of EMT-induced EpH4 cells (E). Scale bar = 50 μ m.

4. 結語

本研究では、細胞周辺環境として、軟らかさの異なるハイドロゲルと糖応答性ハイドロゲルを作製することができた。それらの細胞周辺環境としてのハイドロゲル培養基材の軟らかさが上皮細胞の EMT に影響を与えた。さらに、細胞毒性のない糖を添加することによってハイドロゲルの軟らかさを変化させたところ、貯蔵弾性率の変化に応答して、細胞の形態が変化することがわかった。本研究結果は、高分子ハイドロゲルを用いて細胞培養基材を設計することにより、細胞培養基材の表面特性やバルク特性などの物理化学的な性質に応答して、細胞の増殖や分化などを制御することが可能であることを示唆している。

5. 参考文献

- 1) Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*. 2006; 126(4):677-89.
- 2) Discher DE, Janmey P, Wang YL. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate. *Science*. 2005; 310(5751):1139-43.
- 3) Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*. 2009; 139(5):871-90.
- 4) Zaman MH, Trapani LM, Sieminski AL, Mackellar D, Gong H, Kamm RD, Wells A, Lauffenburger DA, Matsudaira P. Migration of tumor cells in 3D matrices is governed by matrix stiffness along with cell-matrix adhesion and proteolysis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103(29):10889-94.
- 5) Alcaraz J, Xu R, Mori H, Nelson CM, Mroue R, Spencer VA, Brownfield D, Radisky DC, Bustamante C, Bissell MJ. Laminin and biomimetic extracellular elasticity enhance functional differentiation in mammary epithelia. *EMBO J*. 2008; 27(21):2829-38.
- 6) Ghajar CM, Bissell MJ. Extracellular matrix control of mammary gland morphogenesis and tumorigenesis: insights from imaging. *Histochem Cell Biol*. 2008; 130(6):1105-18.
- 7) Hisamitsu I, Kataoka K, Okano T, Sakurai Y. Glucose-responsive gel from phenylborate polymer and poly(vinyl alcohol): prompt response at physiological pH through the interaction of borate with amino group in the gel. *Pharm Res*. 1997; 14(3):289-93.

複数のブロック単位からなるポリ乳酸共重合体の合成と特性

木村良晴、増谷一成、中嶋元、青木隆史

Yoshiharu Kimura, Kazunari Masutani, Hajime Nakajima, Takashi Aoki

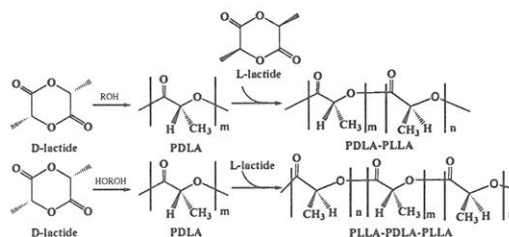
京都工芸繊維大学 大学院 工芸科学研究科

1. はじめに

近年、地球温暖化問題や資源枯渇問題が顕在化してきており、その改善策として持続的可能（サステイナブル）な環境低負荷型資源に立脚した新しい産業の創出が待ち望まれている。材料分野においても非石油由来素材の開発が期待されている。ポリ乳酸は再生可能なバイオマス資源から合成されるバイオベース素材であり、廃棄焼却による新たな炭酸ガスの負荷を生じないカーボンニュートラルの特徴を備えている。このため、従来の石油由来の汎用ポリマー材料の代替材料として期待される。とりわけ、ポリ-L-乳酸（PLLA）は従来の石油由来材料に匹敵する高い力学的特性を備えているため広範な用途展開が可能となる¹⁾。しかしながら、PLLAは融点（ T_m ）が180 °C、ガラス転移温度（ T_g ）が58 °Cであり、 T_g 付近で軟化しやすいといった耐熱性の課題を有している。そこで、我々はPLLAとその光学異性体であるポリ-D-乳酸（PDLA）の混合により形成されるステレオコンプレックス（Stereocomplex, Sc）に着目し、ステレオコンプレックス型ポリ乳酸（Sc-PLA）の開発を進めてきた。Sc-PLAは、PLLAよりも50 °C高い230 °Cを越える T_m を示し、耐熱性材料として期待される¹⁻⁵⁾。ところが、高分子量のPLLAとPDLAを混合するとSc結晶のみならず単独結晶も形成されるため、Sc形成の制御法が重要となる。また、高価なPDLAを使用するため、Sc-PLAの低コスト化も必要となる。そこで、我々はPLLA鎖とPDLA鎖からなるステレオブロック型ポリ乳酸（Sb-PLA）の開発に努めてきた。Sb-PLAではD鎖とL鎖が分子レベルで混合しているため、高いSc形成能を示す。Sb-PLAには、ブロックシーケンスの違いによりマルチステレオブロック型ポリ乳酸（Multi-sb-PLA）、ジステレオブロック型ポリ乳酸（Di-sb-PLA）、トリステレオブロック型ポリ乳酸（Tri-sb-PLA）がある。我々は、乳酸を出発原料とする直接重縮合および固相重合によりMulti-sb-PLAの合成が可能なことを示した⁶⁻⁸⁾ (Scheme 1)。一方、Di-sb-PLAとTri-sb-PLAはDおよびL-ラクチドの二段階重合法により容易に合成される⁹⁾ (Scheme 2)。いずれの場合も、PLLAの組成比が高い偏組成型がより容易に合成できるが、この場合、Sc化に関与しない余剰のブロック鎖が非晶として存在することとなり、 T_g 以上で軟化が生じやすいという課題が指摘された。また、Di-sb-PLAやTri-sb-PLAでは、一段階目のプレポリマーの分子量が50 kDaを越えると、二段階目

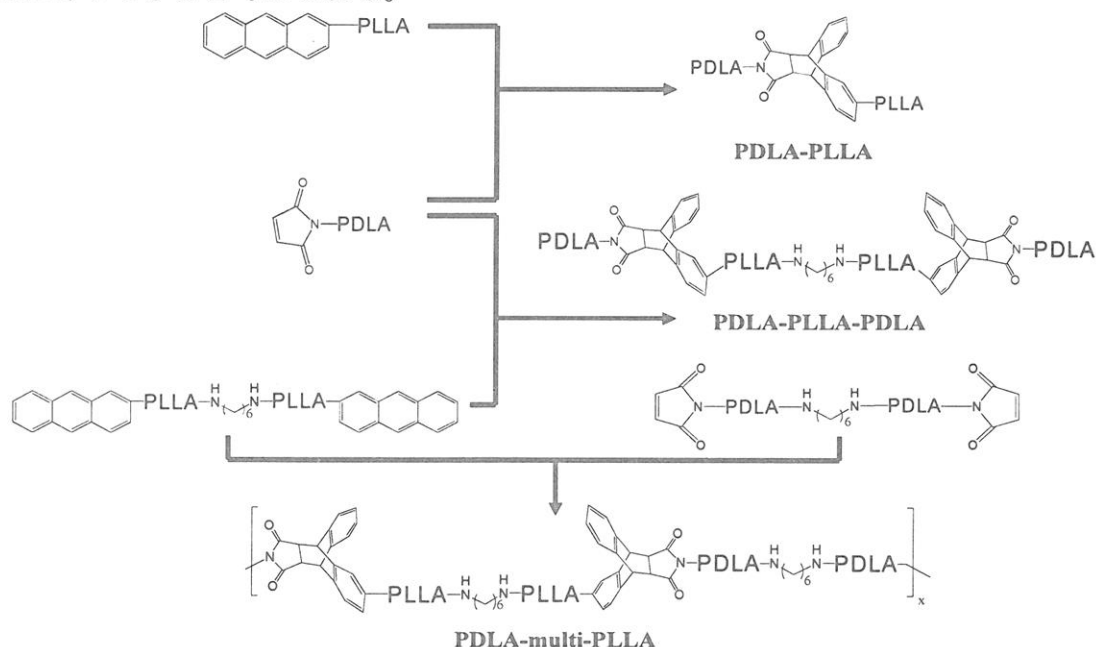


Scheme 1. Solid-state polycondensation (SSP) to obtain Multi-sb-PLA



Scheme 2. Ring-opening polymerization (ROP) to obtain Di-sb-PLA and Tri-sb-PLA

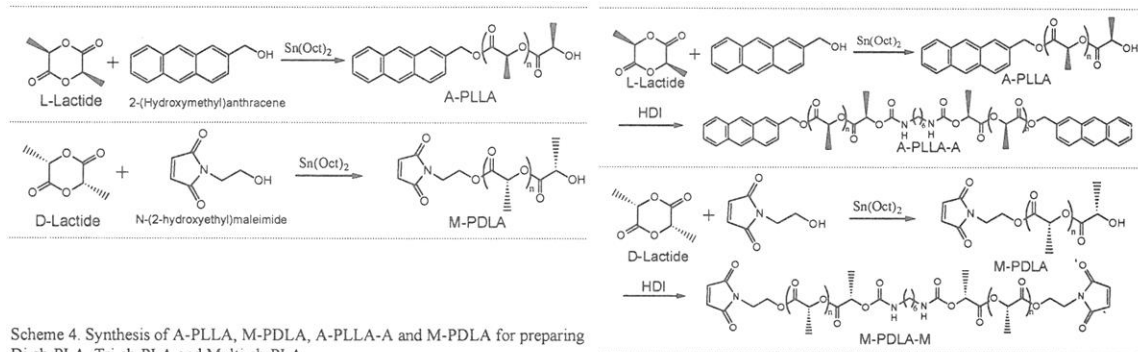
のブロック重合が進行しにくいことが明らかとなっている。このため、Tri-sb-PLAでは、中央部が短くて両端部が長いコポリマーを得ることは可能であるが、中央部が長くて両端部が短いものは得られていない。そこで、我々はSb-PLAの新たな合成手法として、二種類以上のプレポリマーをカップリングさせながらセグメント化する方法を検討した。この合成法は、末端基の反応を利用する方法であるが、同種のポリマー間の反応を防いで、異種のポリマー間だけの反応を進行させてABジブロック型のポリマーを合成することは容易ではない。本研究では、クロスカップリング可能な反応性基を二種類のプレポリマーに導入して反応させるクリックケミストリー法に着目した¹⁰⁾。すなわち、片末端あるいは両末端にジエンおよびジエノフィル基を有するPLLAとPDLAプレポリマーを合成し、そのDiels-Alder反応によるカップリングによりブロック鎖が制御されたDi-sb-PLA、Tri-sb-PLA、Multi-sb-PLAを合成する検討を行った(Scheme 3)。この方法は、Sb-PLAの簡易な合成法となるため、Sb-PLAの実用化に寄与できると考えられる。



Scheme 3. Synthesis of Di-sb-PLA, Tri-sb-PLA and Multi-sb-PLA by Diels-Alder reaction

2. 実験

プレポリマーと Di-sb-PLA, Tri-sb-PLA, Multi-sb-PLA の合成



Scheme 4. Synthesis of A-PLLA, M-PDLA, A-PLLA-A and M-PDLA-M for preparing Di-sb-PLA, Tri-sb-PLA and Multi-sb-PLA

それぞれのプレポリマーの重合過程をScheme 4に示す。N-(2-Hydroxyethyl)-maleimide (HEM), 2-(Hydroxymethyl)anthracene (HMA)を開始剤に用いてD-Lactide, L-Lactideを重合することでポリマー末端にmaleimide基、anthracene基を有するM-PDLA、A-PLLAを得た。これらのDiels-Alder反応により、ABジブロック型のDi-sb-PLAを合成した。また、A-PLLAとジイソシアネート(HDI)との反応により両末端にanthracene基を有するA-PLLA-Aを合成し、M-PDLAとDiels-Alder反応させることにより、ABAトリブロック型のTri-sb-PLAを合成した。さらに、M-PDLAとジイソシアネート(HDI)との反応によりポリマーの両末端にmaleimide基を有するM-PDLA-Mを合成し、A-PLLA-AとDiels-Alder反応させることによりMulti-sb-PLAの合成を行った。得られた各Sb-PLAについて示差走査熱量測定(DSC)、広角X線回折(WAXS)、動的粘弾性測定(DMA)を行ない、熱的・機械的特性を評価した。

3. 結果と考察

3.1 偏組成型 Di-sb-PLA と Tri-sb-PLA の合成

Table 1、Table 2にHEM、HMAを開始剤とするラクチドの開環重合の結果を示す。得られたプレポリマー M-PDLA、A-PLLAおよびA-PLLA-Aの分子量は開始剤とモノマーの比により制御し、カップリング後の最終数平均分子量が30 kDaになるように設計した。Table 1およびTable 2に示すように、¹H-NMR、GPC測定の結果からそれぞれのプレポリマーが設計通り合成されていることがわかった。特にHDIとの反応で得られたA-PLLA-Aが元のA-PLLAのほぼ2倍のMnを有していることが分かる。

Table 1. Synthesis of A-PLLA and M-PDLA for preparing Di-sb-PLA

Sample	[M] ₀ /[I] ₀	M _n (th) ^a	Temperature (°C)	Time (min)	Conversion (%)	Yield (%)	M _n (nmr) ^c	M _n (gpc) ^b	M _w (gpc) ^b	M _w /M _n ^b
A-PLLA(24000)	167.6	24,134	140	120	97.8	87.3	25,200	42,700	54,100	1.27
A-PLLA(21000)	146.1	21,038	140	120	98.4	87.4	21,300	34,100	44,800	1.31
A-PLLA(15000)	103.8	14,947	140	120	97.3	90.7	15,100	22,100	25,900	1.17
M-PDLA (15000)	104.5	15,048	120	180	95.5	90.2	15,696	22,700	28,500	1.26
M-PDLA (9000)	62.5	9,000	140	120	97.6	92.9	8,640	15,400	17,900	1.16
M-PDLA (6000)	41.8	6,019	160	60	96.7	91.6	6,566	11,100	15,200	1.37

Table 2. Synthesis of A-PLLA-A and M-PDLA for preparing Tri-sb-PLA
(Footnote: The Mn(nmr) in the parenthesis show the block lengths of PLLA determined by ¹H NMR. The actual Mn are almost double of Mn(nmr).)

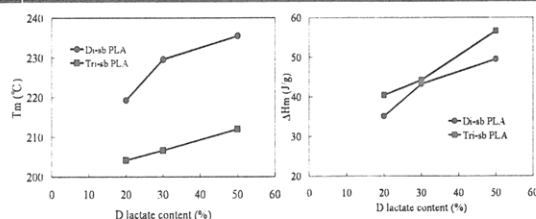
Sample	[M] ₀ /[I] ₀	M _n (th) ^a	[HDI]/[I] ₀	Temperature (°C)	Time (min)	Conversion (%)	HDI reaction rate (%)	Yield (%)	M _n (nmr) ^c	M _n (gpc) ^b	M _w (gpc) ^b	M _w /M _n ^b
A-PLLA-OH (7500)	52.08	7500		180	25	95.61			7563	13600	25100	1.85
A-PLLA-A (15000)			0.50	180	15	95.62	96.04	87.97	7590	23400	41600	1.78
A-PLLA-OH (10500)	72.92	10500		180	25	95.14			10823	16500	27200	1.65
A-PLLA-A (21000)			0.51	180	15	95.66	93.27	85.65	10661	35000	63000	1.8
A-PLLA-OH (12000)	83.18	11978		180	25	95.18			12686	19500	29400	1.51
A-PLLA-A (24000)			0.5	180	15	94.72	90.00	88.28	12628	40000	72000	1.8
M-PDLA(3000)	20.83	3000		180	40	94.72		84.62	2790	6100	8400	1.38
M-PDLA(4500)	31.25	4500		180	40	95.16		87.39	4213	9100	13000	1.43
M-PDLA(7500)	52.09	7501		180	40	95.46		88.09	7443	15000	27000	1.8

Table 3. GPC data of the Di-sb-PLA and Tri-sb-PLA obtained by Diels-Alder reaction

Di-sb-PLA					Tri-sb-PLA				
Sample	$M_n(\text{gpc})^b$	$M_w(\text{gpc})^b$	M_w/M_n^b		Sample	$M_n(\text{gpc})^b$	$M_w(\text{gpc})^b$	M_w/M_n^b	
8/2	A-PLLA(24000)	42,700	54,100	1.27	8/2	A-PLLA-A(24000)	40000	72000	1.8
	M-PDLA(6000)	11,100	15,200	1.37		M-PDLA(3000)	6100	8400	1.38
	A-PLLA(24000)/M-PDLA(6000)	43400	95900	2.21		A-PLLA-A(24000)/M-PDLA(3000)	44400	93200	2.1
7/3	A-PLLA(21000)	34,100	44,800	1.31	7/3	A-PLLA-A(21000)	35000	63000	1.8
	M-PDLA(9000)	15,400	17,900	1.16		M-PDLA(4500)	9100	13000	1.43
	A-PLLA(21000)/M-PDLA(9000)	43200	84200	1.95		A-PLLA-A(21000)/M-PDLA(4500)	43500	82700	1.9
5/5	A-PLLA(15000)	22,100	25,900	1.17	5/5	A-PLLA-A(15000)	23400	41600	1.78
	M-PDLA(15000)	22,700	28,500	1.26		M-PDLA(7500)	15000	27000	1.8
	A-PLLA(15000)/M-PDLA(15000)	46300	81800	1.77		A-PLLA-A(15000)/M-PDLA(7500)	45300	77000	1.7

次に、各 A-PLLA と M-PDLA および A-PLLA-A と M-PDLA を組みあわせて、140 °C で 12 時間加熱して得られたブロックコポリマーの GPC 測定結果を Table 3 にまとめて示す。結果より、反応後の分子量が増加していることから、Diels-Alder 反応によるブロック化が効

果的に進行していることがわかる。すなわち、PLLA と PDLA のブロック長に応じて Di-sb-PLA の分子量は、24kDa-6kDa、21 kDa-9kDa、15kDa-15kDa となり、Tri-sb-PLA では、3kDa-24kDa-3kDa、4.5kDa-21kDa-4.5kDa、7.5kDa-15kDa-7.5kDa となる。Figure 1 に得られた Di-sb-PLA と Tri-sb-PLA の DSC (2nd heating) の測定結果を示す。Di-sb-PLA と Tri-sb-PLA は、ともに 200 °C を越える Sc 結晶に由来する融点を示したが、単独結晶の融解ピークは示さなかった。このことから、L 組成の高い偏組成型でも Sc 結晶を良好に形成すると考えられる。また、Sc 結晶の T_m と ΔH_m は PLLA/PDLA 比が 50/50 に近づくにつれて増大した。

Figure 1. Changes in (a) T_m and (b) ΔH_m of the Sc crystals formed from Di-sb-PLA and Tri-sb-PLA as a function of PDLA composition

3.2 偏組成型 Multi-sb-PLA の合成

Multi-sb-PLAのプレポリマー A-PLLA-AおよびM-PDLA-Mの合成結果をTable 4 に示す。いずれもA-PLLA-OHとM-PDLA-OHをHDIとカップリングして合成されるものであるが、7.5 kDa, 15 kDa, 30 kDaの分子量を有するように設計した。得られた両プレポリマーを140 °Cで12時間加熱して得られたブロックポリマーのGPC測定結果をTable 5、溶出曲線をFigure 2に示す。プレポリマーに比べて分子量増大が認められることからDiels-Alder反応の進行が確認されたが、 M_n は60~80 kDaであり、カップリングの進行度は高くなく、まだ末端にAとM単位が残存している。Figure 3 に、Multi-sb-PLAのDSCカーブを、Table 6 にその T_m と ΔH_m の測定結果を示す。Code番号 30-multi-7.5 はPLLA(30kDa)とPDLA(7.5kDa)の繰り返しブロック単位からなり、PDLA/PLLA比が20/80の偏組成型Multi-sb-PLAであることを表わす。結果より、Multi-sb-PLAはDi-sb-PLA とTri-sb-PLAと同様に210 °Cを越える T_m を示し、良好なSc形成能を有することが示された。また、PDLA/PLLA組成に関わらず、短いPDLAブロック鎖により T_m が決まり、その組成に比例して ΔH_m が増大する傾向

Table 4. Synthesis of A-PLLA-A and M-PDLA-M for preparing Multi-sb-PLA

mono-functional	di-functional	$[M]_0/[I]_0$	$[HDI]_0/[I]_0$	conversion (%)	HDI rate (%)	$M_n(th)$ kDa	M_n^a kDa	M_n^b kDa	M_w^b kDa	M_w/M_n^b	Yield (%)
A-PLLA-OH 3.25		26		94.8		3.25	3.8	5.8	10.6	1.8	
	A-PLLA-A 7.5		0.5		93.5	7.5		10.6	17.5	1.7	92.3
A-PLLA-OH 7.5		53.1		95.6		7.5	7.6	11.1	23.4	2.1	
	A-PLLA-A 15		0.5		86.3	15		22.1	36.4	1.6	90.3
A-PLLA-OH 15		103.8		95.2		15	15	23.2	40.4	1.7	
	A-PLLA-A 30		0.5		91.7	30		44.1	64.3	1.5	91
M-PDLA-OH 3.25	M-PDLA-M 7.5	26	0.5	95.3	87.5	3.25	3.3	5.8	9.9	1.7	89.9
M-PDLA-OH 7.5		52		95.6		7.5	7.0	12.2	21.2	1.7	
	M-PDLA-M 15		0.5		83.3	15		23.7	34.7	1.5	89.3
M-PDLA-OH 15		104.2		95.1		15	14.1	21.7	40.7	1.9	
	M-PDLA-M 30		0.5		88.5	30		39.5	65.9	1.7	89

a) Determined by 1H -NMR.

b) Determined by SEC relative to Ps standards with $CHCl_3$ as the eluent.

Table 5. GPC data of Multi-sb-PLA obtained by Diels-Alder reaction

Code		M_n^a kDa	M_w^a kDa	M_w/M_n	D content %
7.5-multi-7.5	A-PLLA-A 7.5/M-PDLA-M 7.5	77.2	225	2.9	50
15-multi-7.5	A-PLLA-A 15/M-PDLA-M 7.5	69	160	2.3	33.3
15-multi-15	A-PLLA-A 1.5/M-PDLA-M 1.5	68.4	179	2.6	50
30-multi-7.5	A-PLLA-A 30/M-PDLA-M 7.5	60.7	150	2.5	20
30-multi-15	A-PLLA-A 30/M-PDLA-M 15	67.8	138	2.0	33.3
30-multi-30	A-PLLA-A 30/M-PDLA-M 30	73.8	155	2.1	50

a) Determined by SEC relative to Ps standards with $CHCl_3$ as the eluent.

D lactate content (50%)

30-multi-30

15-multi-15

7.5-multi-7.5

D lactate content (33.3%)

30-multi-15

15-multi-7.5

D lactate content (20%)

30-multi-7.5

が認められた。どの組成においても、従来のPLLAよりも透明性の高い高融点のフィルムが得られた。Figure 4にはブロック組成の異なるMulti-sb-PLAのDMA測定結果を示す。比較のために、PLLAとDi-sb-PLA (PLLA(80kDa)-PDLA(20kDa))の結果も示してある。PLLAの弾性率は T_g 付近で低下した後、保持され、 T_m 付近で失われる。一方、Di-sb-PLAではPLLAよりも T_g 付近でより大きな弾性率低下を示すが、 $200^\circ C$ を越える T_m 付近まで 10^6 Paを保つ。それに対して、Multi-sb-PLAは、Di-sb-PLAとは異なり、 T_g 付近での弾性率低下は小さく、PLLAと同程度となった。また、偏組成型Multi-sb-PLAにおいてもPDLA組成に関わらず同様の弾性率低下となった。PLLA/PDLA組成が50/50ではブロック鎖の長い30-multi-30が最も耐熱性が高く、 T_g 以上での弾性率低下も抑制され、従来のPLLA材料よりも、熱的・機械的特性に優れた耐熱性を示すことが分かった。

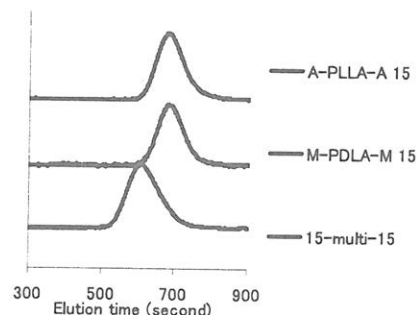


Figure 2. GPC curves of the multi-sb-PLA synthesized from the A-PLLA-A and M-PDLA-M

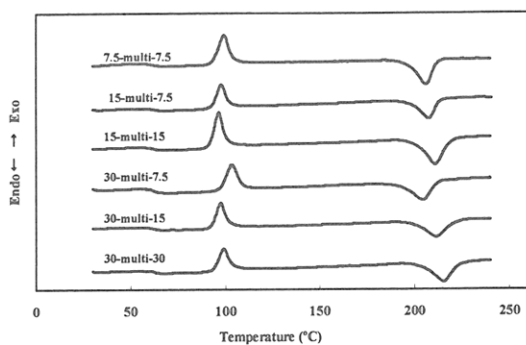


Figure 3. DSC curves of Multi-sb-PLA at the second heating scan (heating rate = 10 °C/min)

Table 6. T_m and ΔH_m determined by DSC for the Multi-sb-PLA having different block lengths

Code	2nd			
	T_g (°C)	T_{csc} (°C)	T_{msc} (°C)	ΔH_{msc} (J/g)
7.5-multi-7.5	62.3	99.4	205.9	43.1
15-multi-7.5	61.8	97.9	207.5	33
15-multi-15	62.1	96.5	210.9	48
30-multi-7.5	62.6	103.5	204.5	23.6
30-multi-15	62.9	97.6	211.4	38
30-multi-30	62.6	99	215.3	43.7

4. 結論

末端にジエンおよびジエノフィルを有するPLLA、PDLAをカップリングさせることにより、ブロック鎖が精密に制御されたDi-sb-PLA、Tri-sb-PLA、およびMulti-sb-PLAを合成することに成功した。得られたSb-PLAのSc形成能を検討した結果、特にMulti-sb-PLAが従来のPLLAやSc-PLAよりも T_g 付近での弾性率低下による軟化が防がれた耐熱性の高い材料となることが明らかとなった。また、今回報告した末端カップリングによる偏組成Sb-PLAの合成は、PLA材料の低コスト化・高性能化・機能化の有効な手法となるだけでなく、従来の汎用エンジニアリングプラスチックの代替材料の開発を可能とし、バイオベースならではの新素材の分子設計の開発に貢献するものである。

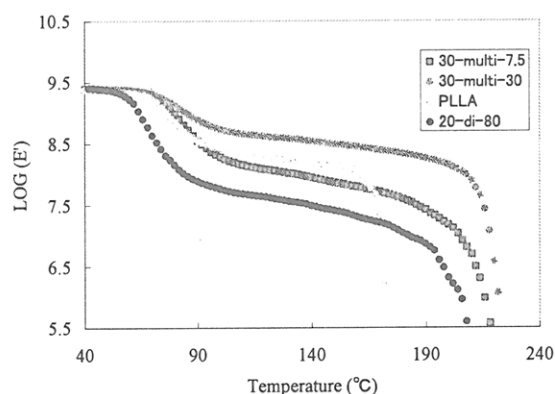


Figure 4. Rheological properties of the hot-pressed PLLA, Di-sb-PLA and Multi-sb-PLA

参考文献

- 1) Y. Ikada, K. Jamshidi, H. Tsuji, S. H. Hyon, *Macromolecules* **1987**, *20*, 904.
- 2) H. Tsuji, S. H. Hyon, Y. Ikada, *Macromolecules* **1991**, *24*, 5651.
- 3) H. Tsuji, S. H. Hyon, Y. Ikada, *Macromolecules* **1992**, *25*, 2940.
- 4) H. Tsuji, Y. Ikada, *Macromolecules* **1993**, *26*, 6918.
- 5) Y. Fan, H. Nishida, Y. Shirai, Y. Tokiwa, T. Endo, *Polym. Degrad. Stab.* **2004**, *86*, 197.
- 6) K. Fukushima, Y. Kimura, *Polym. Int.* **2006**, *55*, 626.
- 7) M. Hirata, Y. Kimura, *Polymer* **2008**, *49*, 2656.
- 8) M. Kakuta, M. Hirata, Y. Kimura, *Polym. Rev.* **2009**, *2*, 107.
- 9) M. Hirata, K. Kobayashi, Y. Kimura, *Polym Sci Part A : Polym Chem.* **2010**, *48*, 794.
- 10) A. J. Inglis, M. H. Stenzel, C. Barner-Kowollik, *Macromol. Rapid Commun.* **2009**, *30*, 1792.

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol. 68
(Annual Report of the Research Institute for
Chemical Fibers, Japan: Vol. 68, 2011)
Published by
Nippon Kagakusen-i Kenkyusho
Kyoto, Japan

日 本 化 学 繊 維 研 究 所 第 68 回 講 演 集

2011年 2月20日 印刷
2011年 3月 1日 発行

財団法人日本化学繊維研究所
編集兼発行者 松 本 紘
発行所 財団
 法人 日本化学繊維研究所
606-8305 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. 68
(Annual Report of the Research Institute
for Chemical Fibers, Japan : Vol. 68)

March 2011