

ISBN 0368-6280

公益財団法人
日本化学繊維研究所

講 演 集

第 74 集

2017 年 3 月

Nippon Kagakusen-i Kenkyusho Koenshu
Vol.74
(Annual Report of the Research Institute for
Chemical Fibers, Japan: Vol.74)
March 2017

公益財団法人 日本化学繊維研究所 概要

【沿革・目的・背景】

本財団は、繊維商社社長（当時）伊藤萬助氏による旧京都帝国大学への寄付金 20 万円を基に、化学繊維の学術と産業の振興を目的として 1936 年 9 月 1 日に同大学内に設立された。爾来 76 年にわたり、旧民法に基づく財団法人として、代々の京大総長を理事長に招き、その活動を継続してきた。2008 年の新法人法の施行に伴い、2013 年 4 月 1 日より、京都大学とは形式的に独立した公益財団法人として生まれ変わり、現在に至っている。

本財団の目的と事業内容は時代とともに変化したが、現在は、広く高分子科学分野の学術及び科学技術の振興を目的とし、当該分野における研究成果の公開及び専門知識の普及、産学間及び国際間の学術交流、並びに研究教育の支援に関する下記の諸事業を行っている。

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

【主な事業内容】

（1）日本化学繊維研究所講演会および同講演集

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

現在は、上記の京都大学高分子関連研究室の担当教授を網羅する講師陣と関連産業界から招く特別講師による、毎年 1 回の公開学術講演会の開催及びその詳録（講演集）の刊行により、高分子科学に関する最新の研究成果等を一般に公開している。講演会終了後の懇親会は、産・学・市民交流の場となっている。

（2）国際研究集会

上記の KIPS および京都大学高分子化学専攻との連携の下で、2 年に 1 回の頻度で国際高分子研究集会を開催し、最新研究情報の交換と緊密な学術交流を行っている。パートナーとなる国外の特定の大学または研究組織との共同による、連続 2 回（初回は京都、第 2 回は相手方都市で）の開催を原則とし、講演と講演予稿集を公開している。

（3）若手研究集会

高分子科学の先導的研究者の養成と持続的な学術振興を目的とし、KIPS の若手メンバーを運営主体として京都地域内外の若手研究者を招き、2 年に 1 回の頻度で開催している。

（4）研究者育成講座：KIPS 高分子講座

企業の若手研究者を主な対象とする通年の講座。KIPS の教授メンバー約 20 名が、初級者にも理解しうる基礎から最先端の応用に至る幅広い領域についての専門知識と学術情報を、延べ 20 余回にわたって平易に解説する。若手研究者の育成のみならず、産学間の交流と連携を推進するための持続的ネットワークの形成を目指している。

（5）研究助成（公募型）

京都府、滋賀県及び奈良県下の大学の繊維・高分子化学分野における先端的な研究に対して、公募によって申請のあった研究について、有識者からなる選考委員会に諮り、申請資金の全部または一部を助成している。

公益財団法人 日本化学繊維研究所 講演集目次 (第74集)

(第74回講演会：平成28年11月10日 京都大学桂キャンパス・桂ホール)

- 3.00 特別講演 モスアイ型反射防止フィルムの開発 ～バイオミメティクス研究例として～ … 4
三菱レイヨン株式会社横浜研究所 フェロー 魚津 吉弘
- 3.01 超分子ブロック共重合体の構造形成のダイナミクス … 53
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○古賀毅、有村峻、栗本拓弥、古谷勉
- 3.02 ポリビニルアルコール水溶液物性へのけん化度の影響 … 61
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○吉崎武尚、西野哲史
- 3.03 ホウ素元素ブロックを活用した機能性固体発光材料の開発 … 65
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 中條善樹、○田中一生
- 3.04 環状βペプチドナノチューブを足場を用いた芳香族官能基の配列制御 … 70
京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 ○木村俊作、宇治広隆、田畑有基
- 3.05 精密重合の展望：連鎖制御高分子 … 76
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
- 3.06 キラル液晶の選択反射を用いた共役ポリマー発光のキラル分割と熱的スイッチング … 86
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○赤木和夫、大田冬木、閻家林、
Benedict A. San Jose、松下哲士
- 3.07 高分子ナノ粒子を用いたマクロファーゼの生物機能の可視化 … 94
京都大学ウイルス・再生医科学研究所 田畑泰彦、吉本雄、○城 潤一郎
- 3.08 バクテリアセルロース強化エラストマーの創製 … 100
京都大学化学研究所 ○辻井敬亘、清水吉彦、榊原圭太
- 3.09 新しいモノマー設計に基づく分岐高分子の制御合成 … 104
京都大学化学研究所 ○山子茂、路楊天
- 3.10 ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)ゲルの体積相転移に及ぼす荷重の影響 … 109
京都大学大学院工学研究科材料化学専攻 ○瀧川敏算、堀中順一、栃下直矢
- 3.11 ナノゲル架橋マイクロスフェアの設計と機能 … 114
京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻 ○秋吉一成、田原義朗、向井貞篤、
澤田晋一、佐々木善浩

モスアイ型反射防止フィルムの開発

～ バイオミメティクス研究例として～

魚津 吉弘

三菱レイヨン株式会社

横浜研究所

@京都大学 桂ホール 2016年11月10日

INDEX

1. ネオバイオミメティクスの取り組み
2. 現行の反射防止フィルムの課題
3. 反射防止としてのモスアイ構造
4. モスアイ構造形成技術
光ナノインプリント
5. 自己組織化を利用した モスアイ金型と
Roll to Roll作製プロセス
6. モスアイのその他の特性
7. まとめ

1. ネオバイオミメティクスの取り組み

—生物模倣から生物規範工学へ—

Bio

Global **Biomimicry** Efforts An Economic Game Changer

› Commissioned by San Diego Zoo Global
› Researched and produced by the Fermanian Business & Economic Institute.



SAN DIEGO ZOO



産業革命に匹敵するイノベーション？

15年後に年間3000億ドルの国内総生産、そして2025年までに160万人の雇用をもたらす」という Fermanian Business and Economic Institute (Point Loma Nazarene University) の経済予測を紹介している。この予想は、サンディエゴ動物園の委託によって昨年10月に報告された “Global Biomimicry Efforts: An Economic Game Changer” [5] に記載されている。Fermanian Business and Economic Institute のチーフエコノミストである Lynn Reaser 博士は、Da Vinci Index という新しい経済指標をつくり [6]、学術論文、特許、グラント数、予算額などから、2000年のダビンチ指数を100とすると2010年には713にも急増していることを示した。

SAN DIEGO ZOO
BIOMIMICRY

Biomimicry

Events

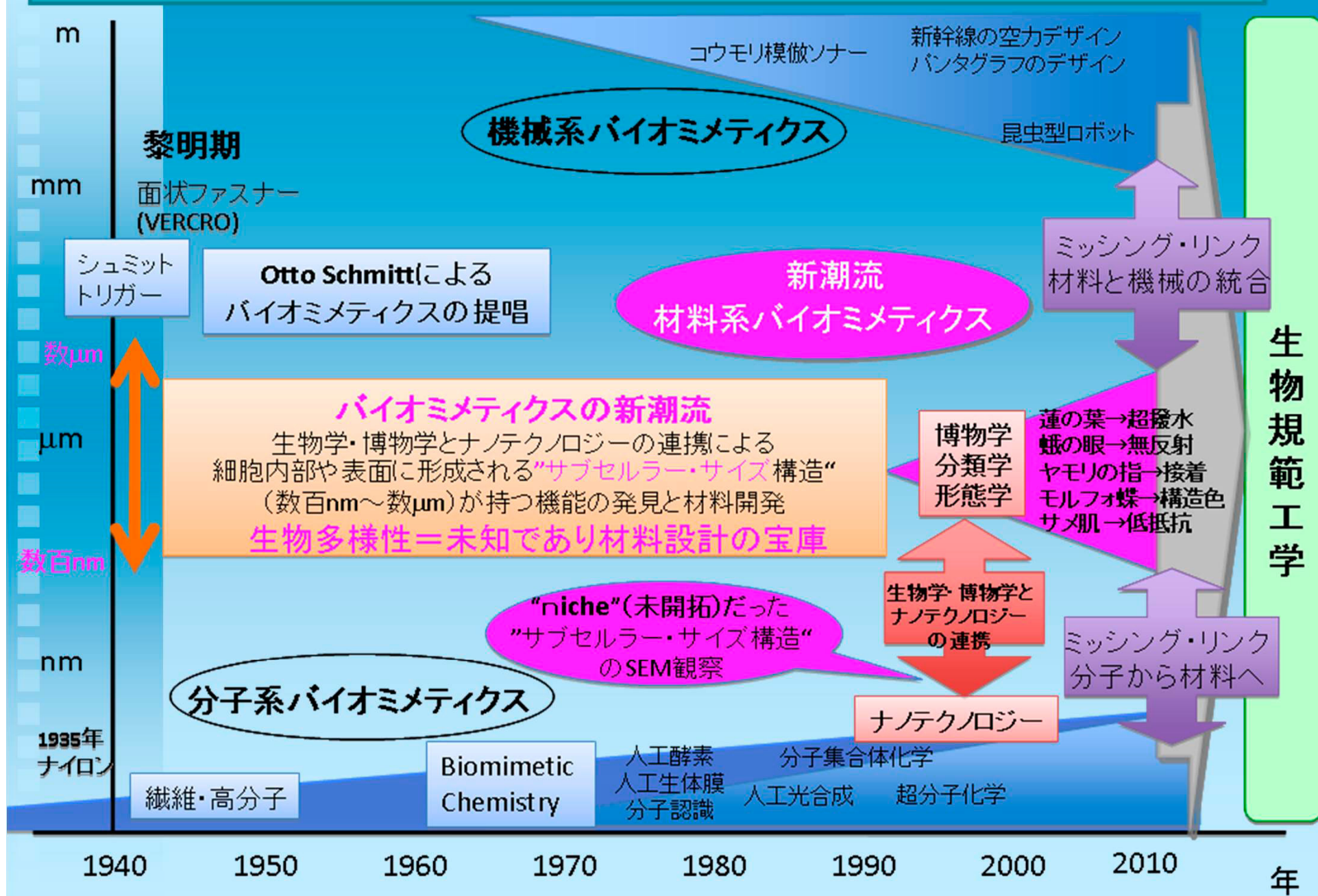
Services

Resources

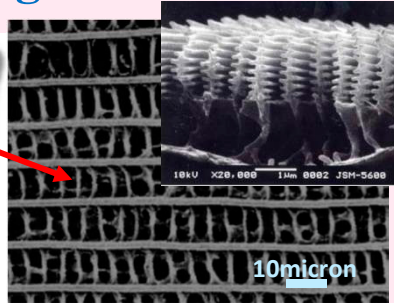


Design inspired by nature

Biomimetics (生物模倣) の統合・体系化 = 生物規範工学

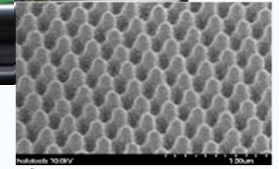
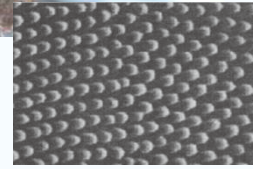
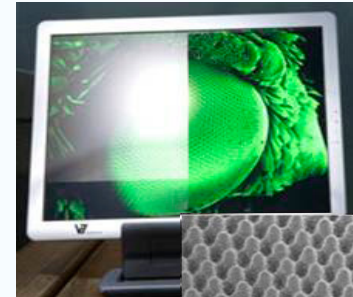


Butterfly wing-scale:構造色



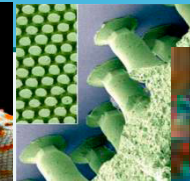
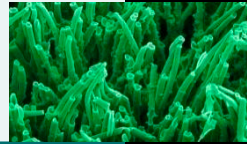
→ 繊維、塗装、フォトニクス、

Moth-eye structure:無反射構造



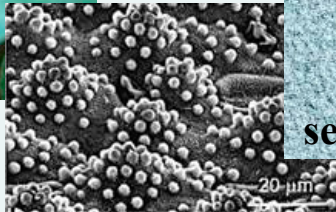
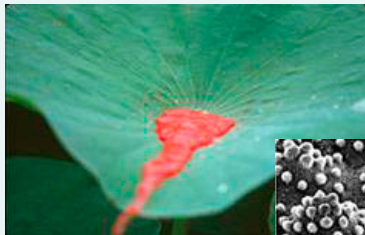
→ 無反射フィルム、
フォトニクス、

Gecko Hand: 粘着毛



→ 粘着材、

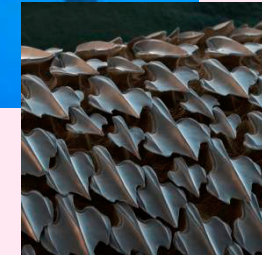
Lotus Effect:超撥水



self-cleaning surface

→ 塗料・塗装、コーティング、

Sharkskin:リブレット



→ 塗装、
コーティング

公益社団法人 高分子学会

バイオミメティクス研究会

運営委員長 下村 政嗣

バイオミメティクス研究会 加入のお願い

Research Group on Biomimetics

バイオミメティクス(生物模倣)は、生物の構造や機能、生産プロセスなどから着想を得て、新しい技術の開発やものづくりに活かそうとする科学技術であり、古くより合成繊維や電気回路の発明をもたらしてきた。今世紀になって、世界的なナノテクノロジーの展開と相まって、ロータス効果やゲッコテープなどの新しい材料が開発され、生物学・博物学と材料科学や工学の緊密な学際融合に基づいた新しい学問体系を生み出すとともに、材料設計や生産技術の新規開発とそれに基づく省エネルギー・省資源型モノづくりなど、持続可能性社会実現への技術革新をもたらすものとして産業界からも注目されている。本研究会は、大学、博物館、研究機関、企業、科学技術政策など様々な立場からの問題提起・意見交換を行うプラットフォームとして、高分子学会を中心に関連の学協会との連携のもとに発足した。また、**バイオミメティクスの国際標準化(TC266)に対応する国内審議機関として、関連学協会の協力を得ながら国際標準化機構(ISO)への認証と提言を行う。**年に複数回の研究会、講座、国際シンポジウム等を開催するとともに、博物館などを利用したりカレントなどを通じて、産業界と大学・研究所、生物と工学の融合と連携のための橋渡しの場を提供する。

生物多様性を規範とする革新的材料技術

○4年前、JSTの新学術領域として採択された。



<http://biomimetics.es.hokudai.ac.jp/index.html>

領域代表は東北大学 下村正嗣教授

○昨年、3年後の中間審査をクリア

生物学・社会科学をも基盤とする工学の創成

生物模倣 現代的意義と課題

- (1) 技術革新をもたらすパラダイムシフト
「サブセラー・サイズ構造」の機能
- (2) 生物多様性の活用
膨大な生物学データから工学発想
- (3) 持続可能性への寄与
社会と技術の関わり・新産業創出

課題
解決

新学術領域

- (1) 「サブセラー・サイズ構造」の学理
作動原理と生産プロセスの解明
- (2) 発想支援型データベースの構築
生物学から工学への技術移転
生物学へのフィードバック
- (3) 技術の体系化と社会受容
工学と社会科学の連携

生物学、工学、社会科学の連携

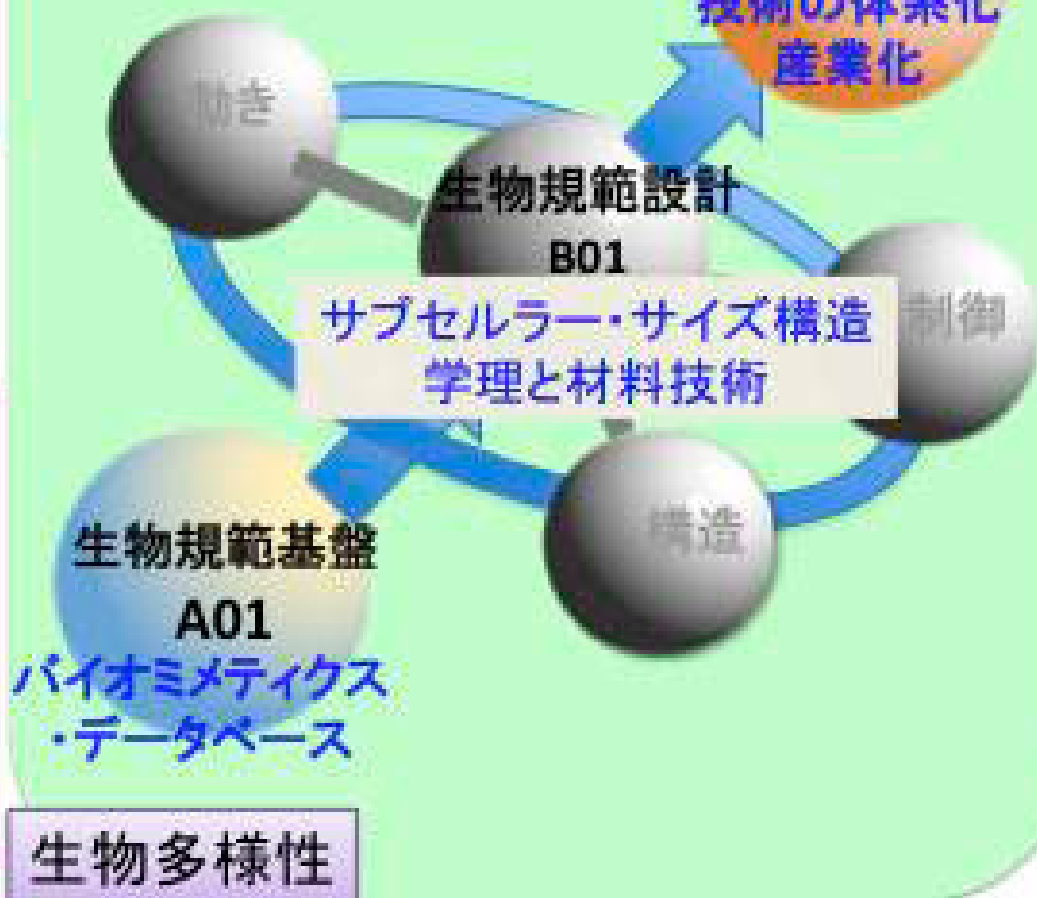
持続可能社会

生物規範工学

生物規範社会学

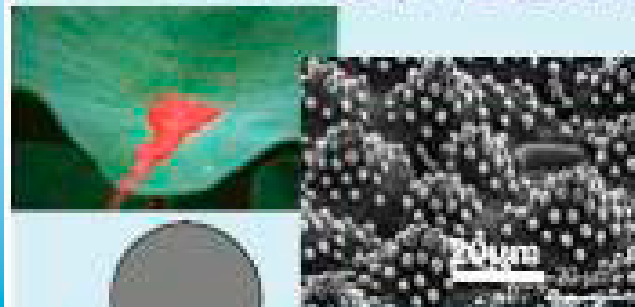
C01

社会が求める
技術の体系化
産業化



パラダイムシフトをもたらす“サブセルラー・サイズ構造”

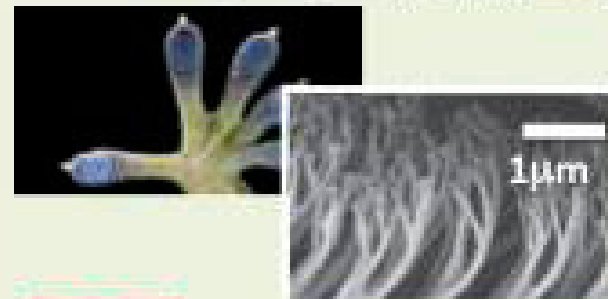
Lotus 効果: 超撥水性



マイクロメートルより小さな表面凸凹構造による撥水 (Cassie-Baxter 状態)

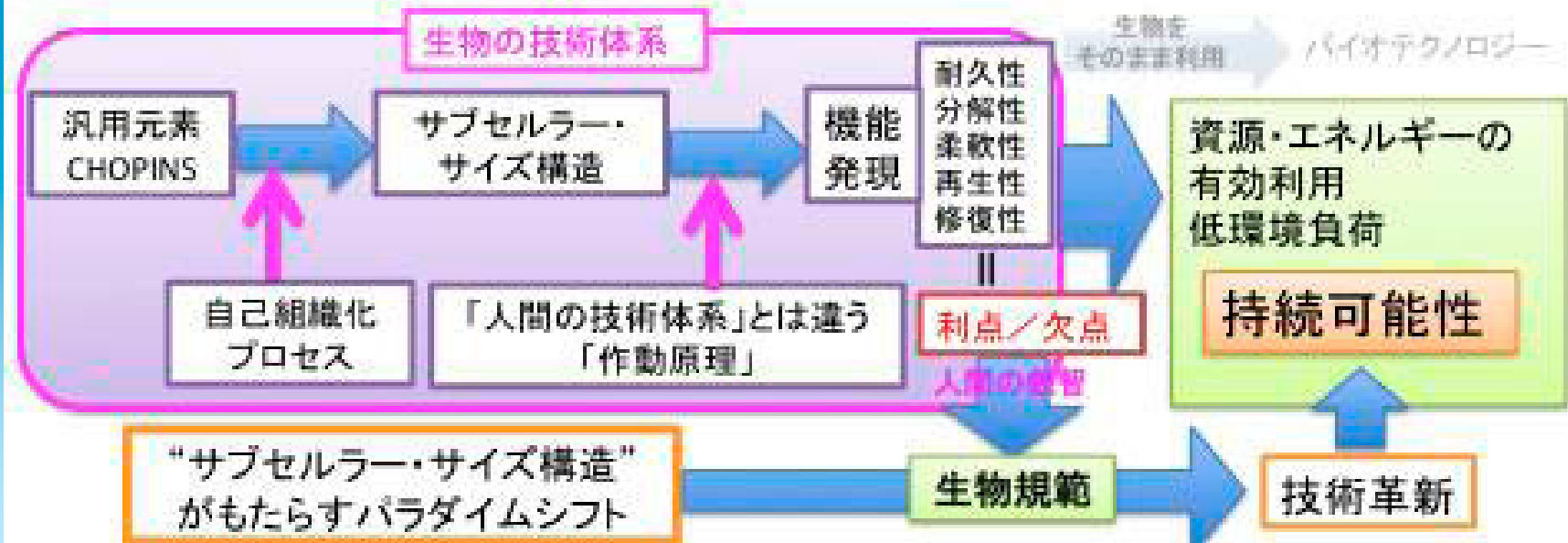
フッ素コーティング

ヤモリの指: 構造接着



接着剤
粘着剤
溶剤

分岐極微細毛 (大面積化) による微弱エネルギー (van der Waals力) の集積



バイオミメティクス推進協議会の立ち上げ間近

2. 現行の反射防止フィルムの課題

反射防止フィルムとは



照明などの映りこみを防止して
画像品位(画質・視認性)を向上
させるフィルム。

大別すると、

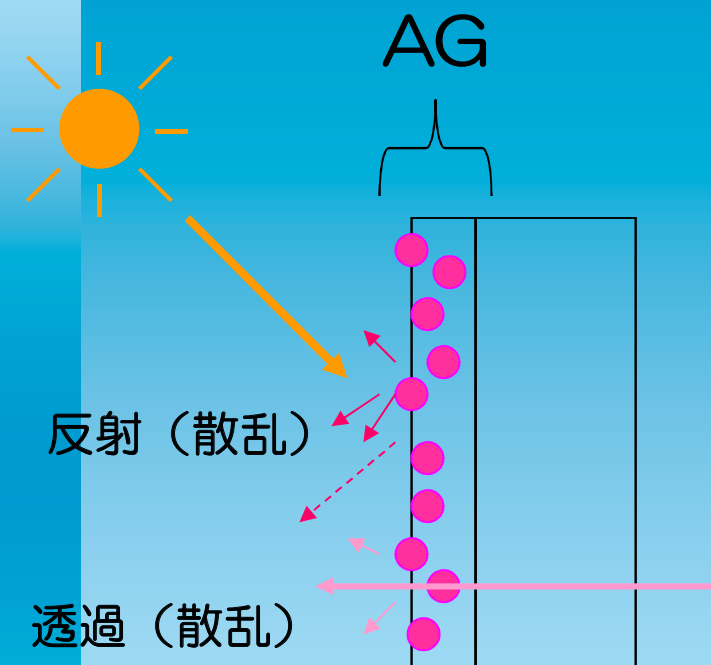
- ・アンチリフレクション(AR)
- ・アンチグレア(AG)

がある。

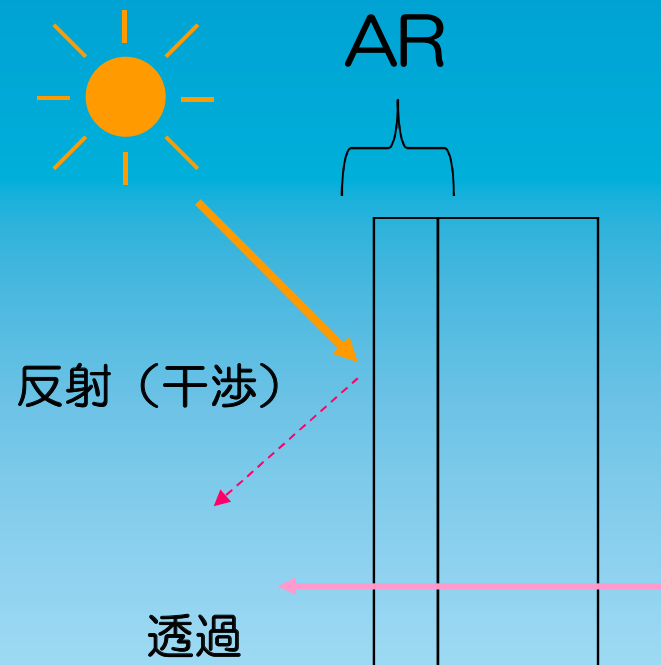
AR: 反射光を抑える。

AG: 光を散乱させて映り込みをわかりにくくする。

反射防止フィルムの機能



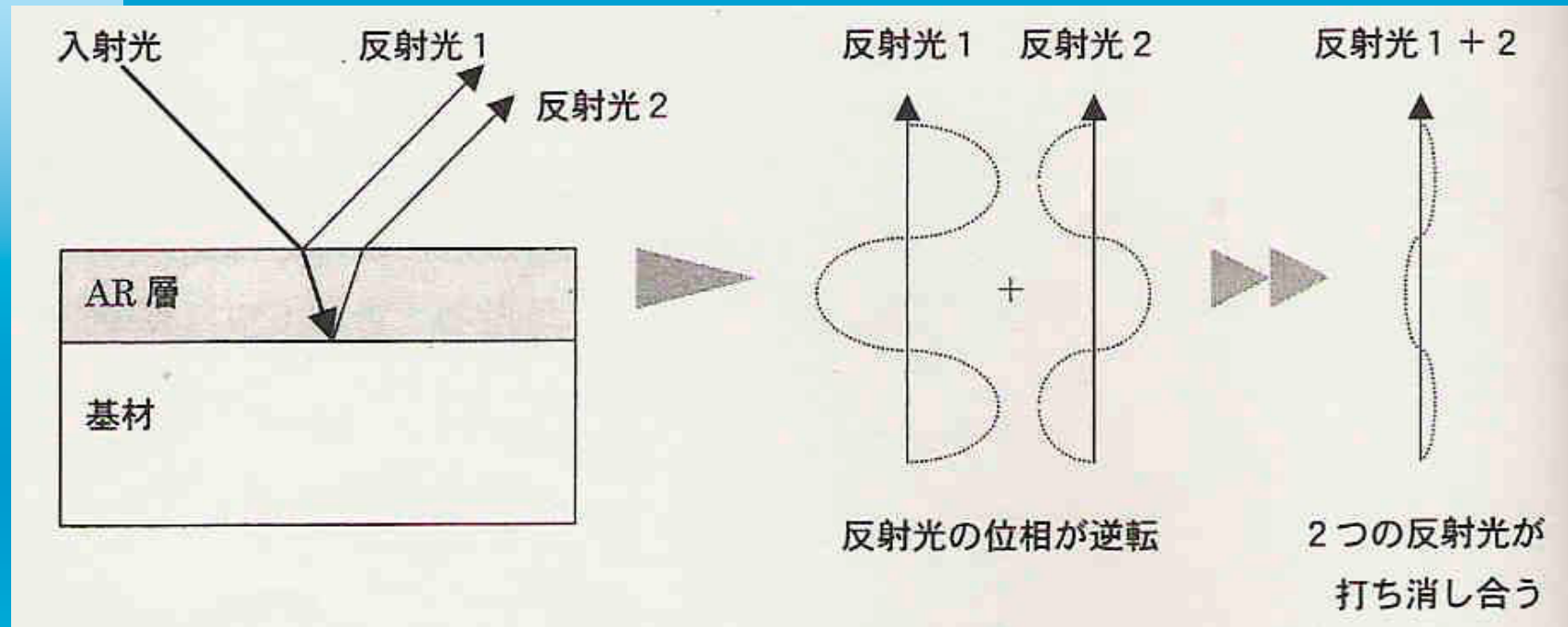
- 表面凹凸による光散乱を利用
- 映りこみ防止 ○
- コントラスト ×
- 画像解像度 ×



- 光学干渉を利用
- 映りこみ防止 △
- コントラスト ○
- 画像解像度 ○

一般的に高級仕様にはARが使用されている

反射防止の原理と理想屈折率



$$R = \frac{(n_1^2 - n_0 n_s)^2}{(n_1^2 + n_0 n_s)^2}$$

R : 反射率、 n_1 : AR層の屈折率、
 n_0 : 空気の屈折率 n_s : 基材の屈折率

n_0 は1.00、基材を PMMA とすると n_s は1.49となり、
 $R=0$ の条件では、 n_1 は1.22となる。

サイトップでさえ1.34である。

反射防止フィルムに対する要求

◆ FPD画面大型化に伴い画質の向上が求められている。

LCD アンチグレア (AG) による反射防止

【ニーズ】白っぽさのない色鮮やかな画像

PDP アンチリフレクション (AR) による反射防止

【ニーズ】映りこみを現状より抑えたい

	映りこみ	透明感
AG	○	×
AR	×	○

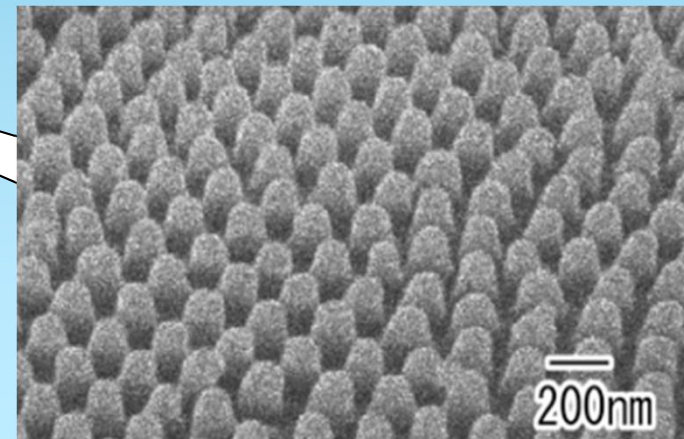
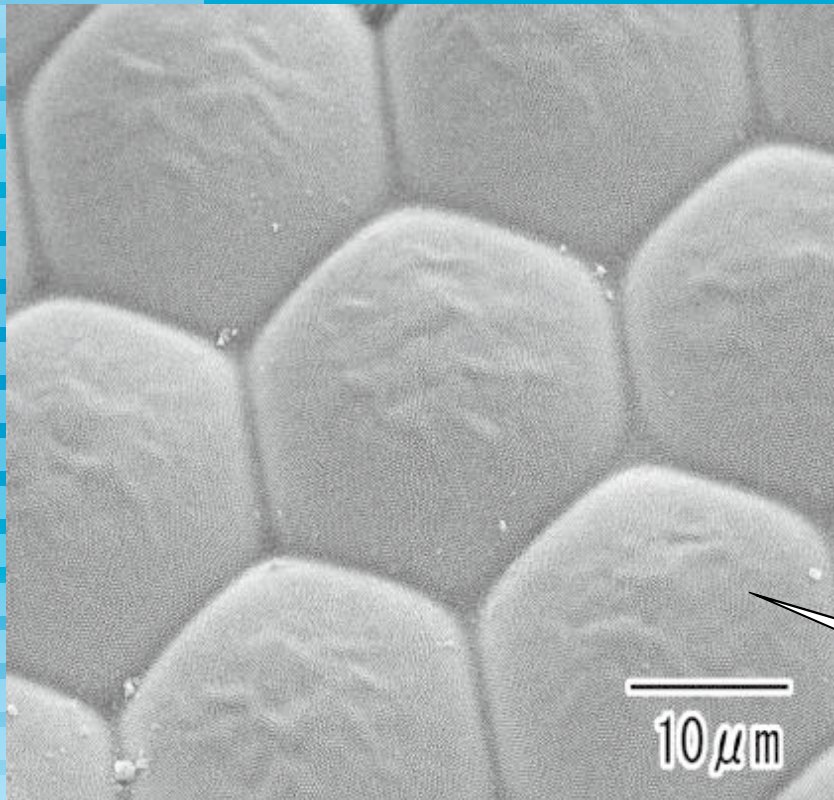
→ 透明感があり、映りこみがない反射防止が求められている。

→ 低反射率ARが出来れば両者のニーズを満たすことが可能。

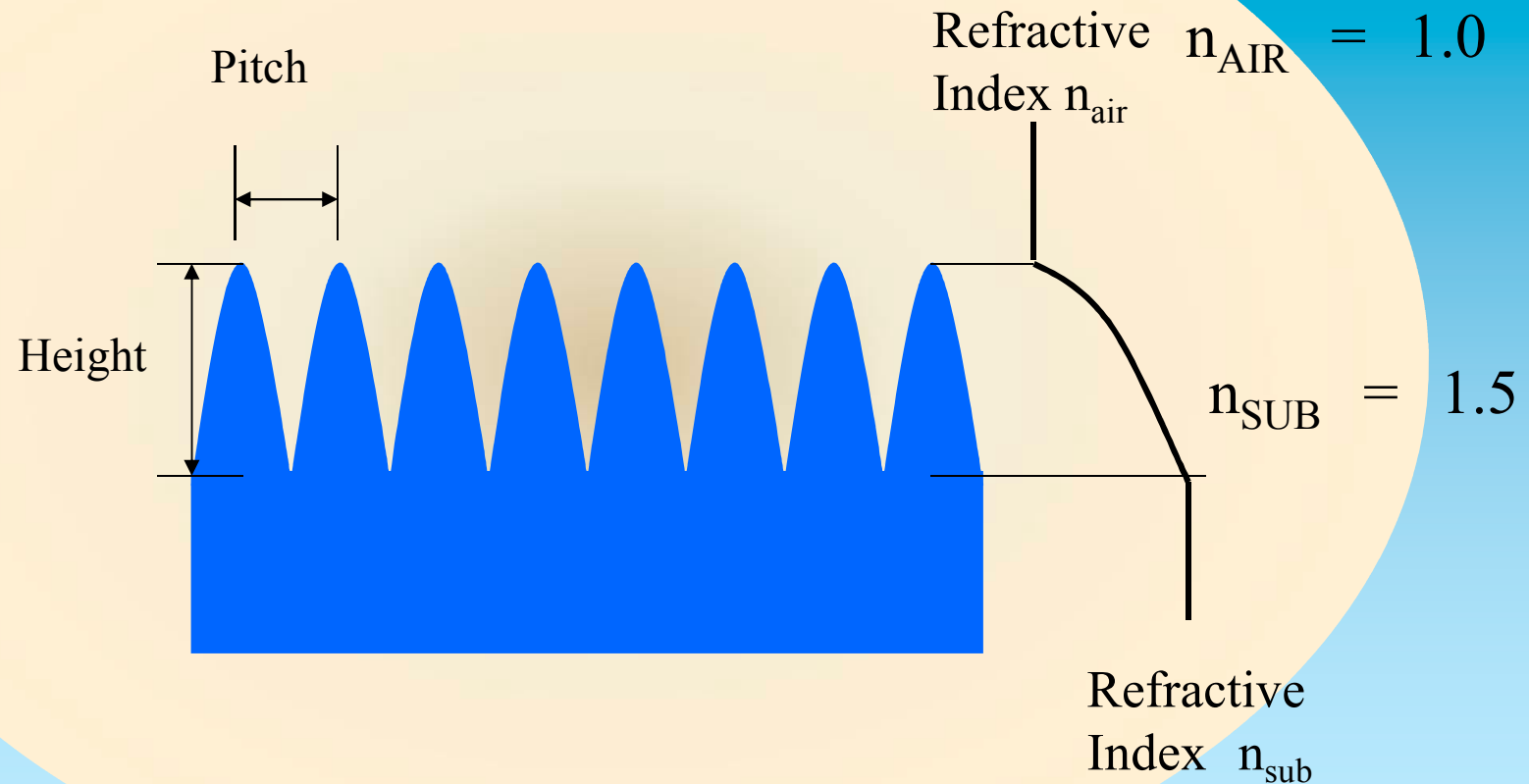
◆ 部材の低価格化

3. 反射防止としてのモスアイ構造

蛾の目の表面構造

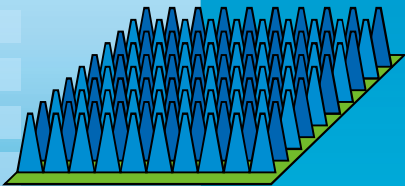


モスアイ構造 (Moth-eye Structure)



KAST益田秀樹教授のグループとの共同研究

モスアイ (Moth-Eyes) のサイズイメージ



※nm = 1mmの100万分の1

モスアイフィルムの突起間距離は約100ナノメートルです。

例えば・・・

直径0.5mmのシャープペンの芯を押し当てた場合、約2,000万本の突起で支えることになります。

【私達の身の回りのゴミとモスアイ突起】

◆ 繊維くず:

数mm ~ 数 μ m

⇒モスアイ突起の約10,000倍

◆ スギ花粉:

約30 μ m

⇒モスアイ突起の約300倍

◆ 細菌:

約5 μ m

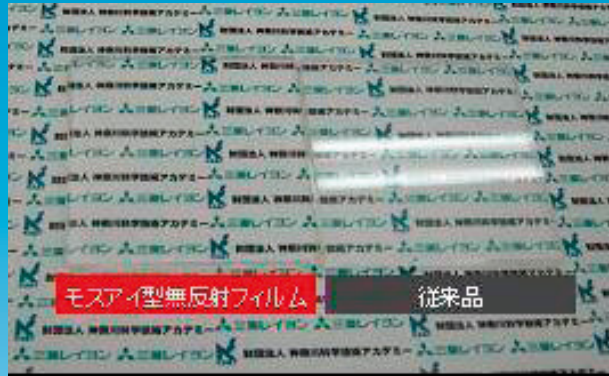
⇒モスアイ突起の約50倍



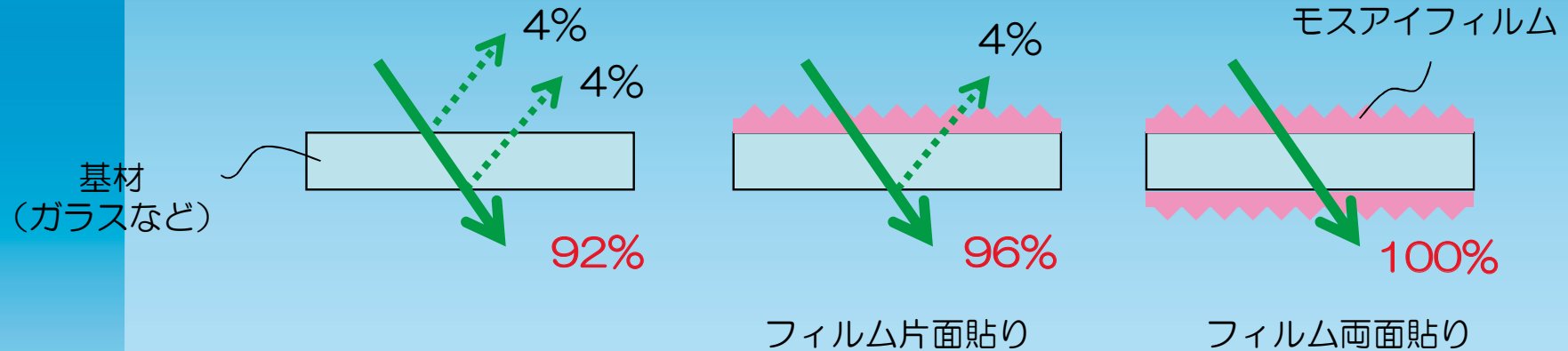
<スギ花粉>

モスアイフィルムの突起(イメージ図)

モスアイフィルムの反射特性



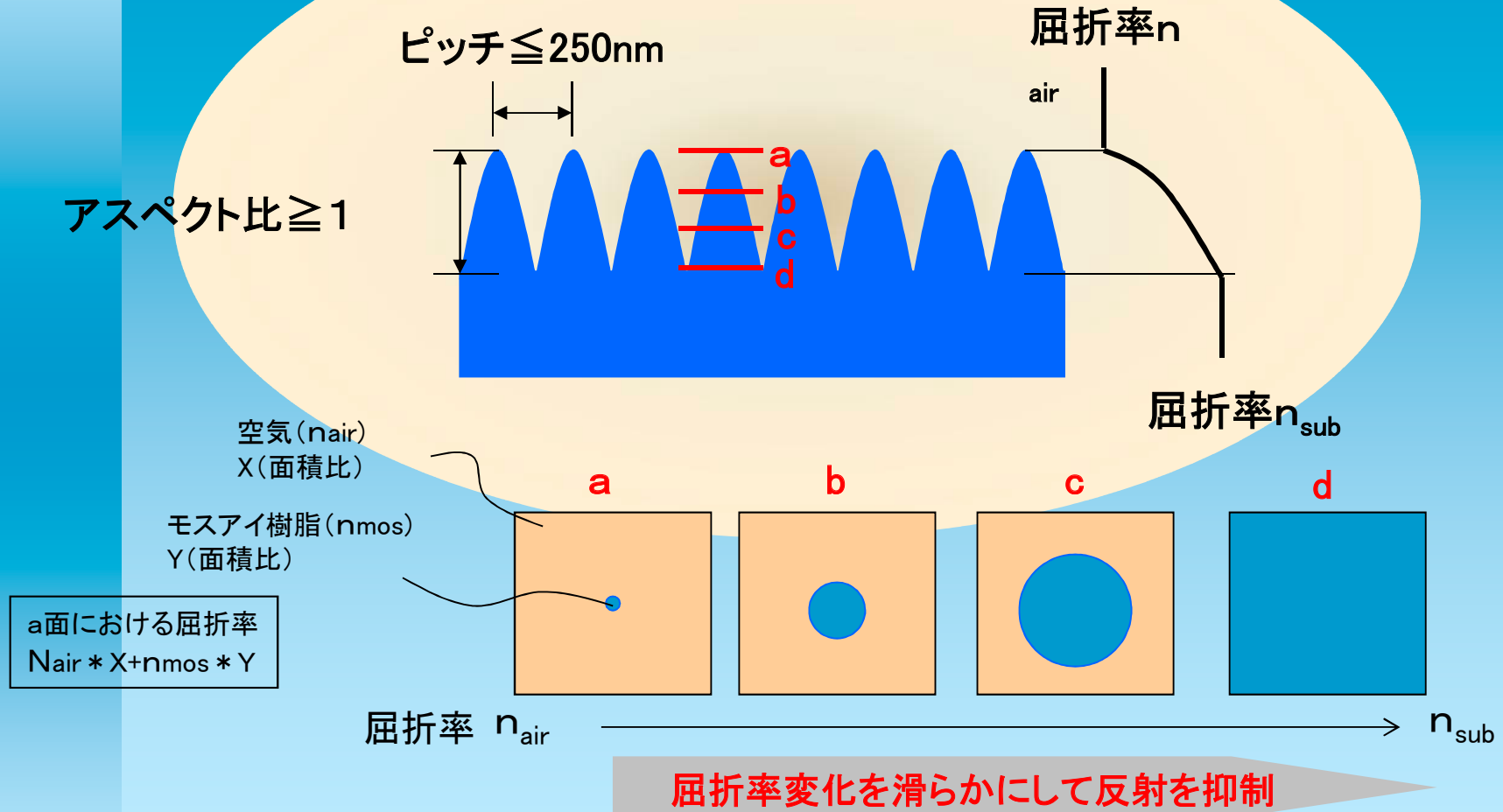
蛍光灯映りこみの様子
両面貼りモスアイ（左）
従来品（無処理）（右）



◆モスアイフィルムは光の反射が極めて少なく、
高い反射防止性能を有している。

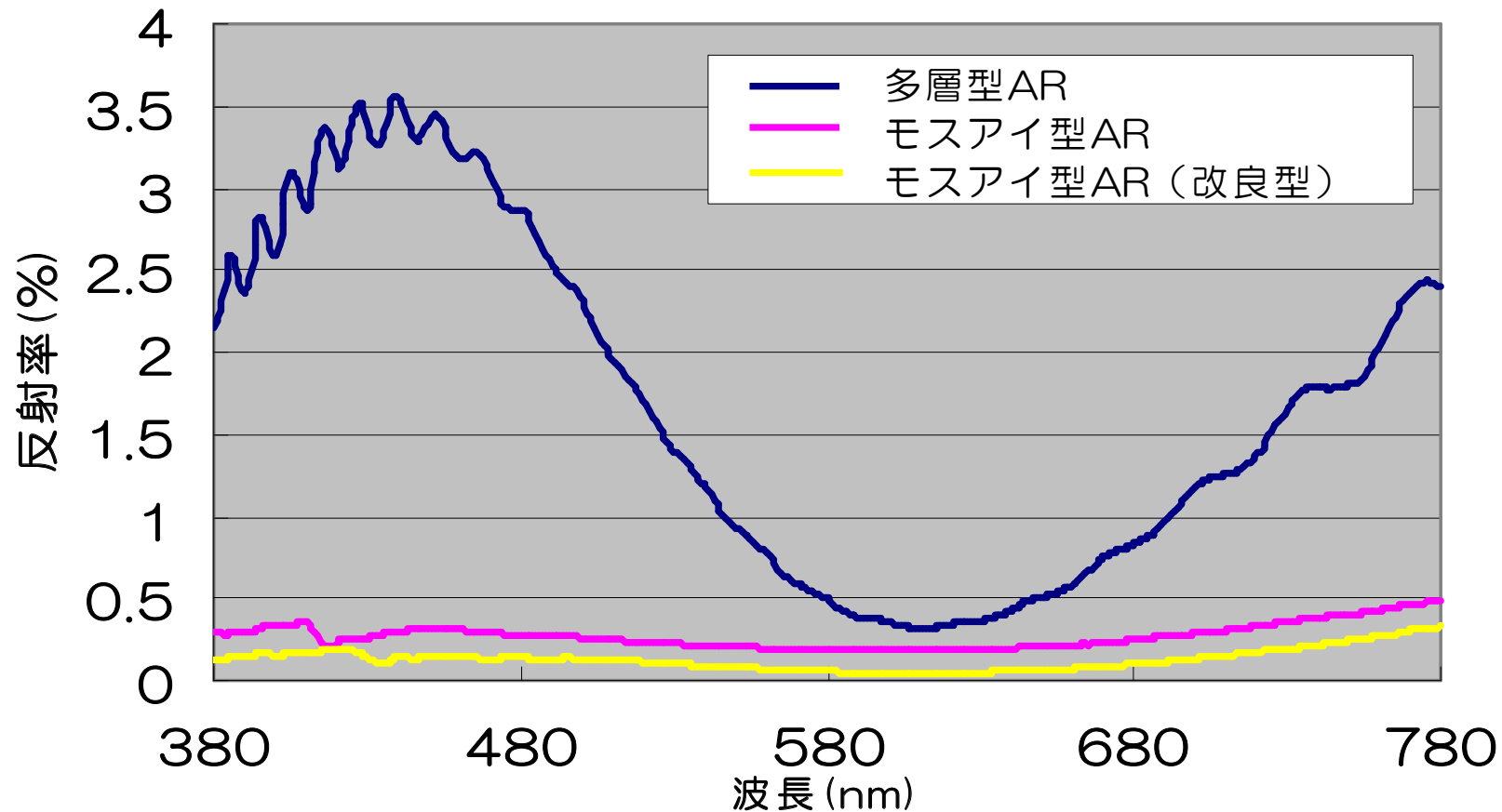
モスアイが無反射性能を発現する理由

【モスアイ構造】



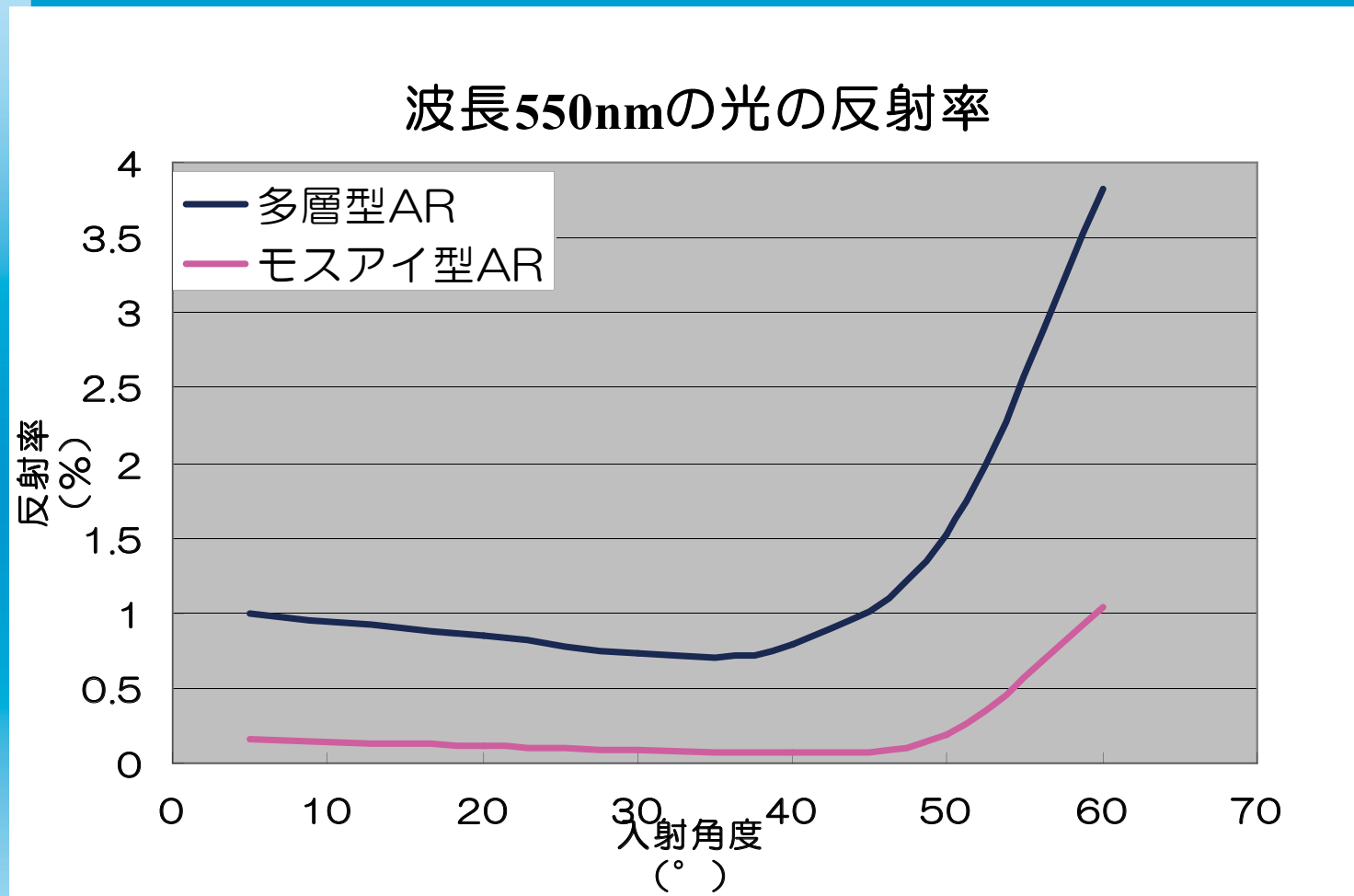
屈折率界面が存在しない → 光の反射を引き起こす要因がない

モスアイフィルムの反射率



光学設計を最適化することで、
従来にはない極めて低い反射率（0.1%以下）をも達成

モスアイフィルムの反射率入射角度依存性



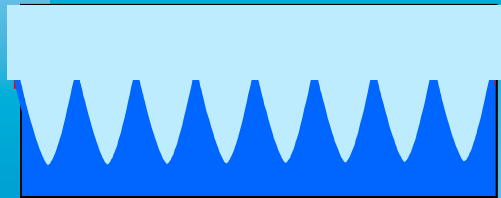
◆モスアイフィルムは入射角60°でも反射率を1%程度に抑制する。

4. モスアイ構造形成技術

光ナノインプリント

光ナノインプリント技術概要

①精密金型形成技術

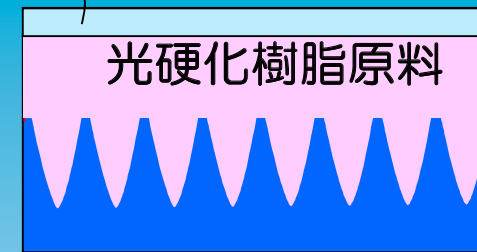


鋳型

②光硬化樹脂原料を充填

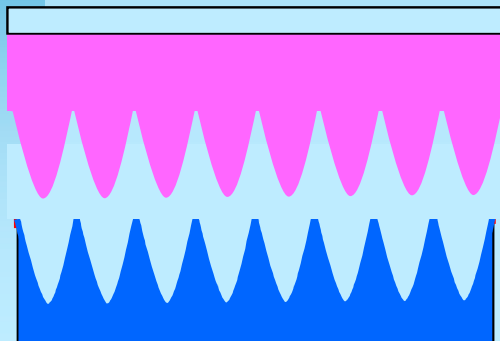
光硬化樹脂の設計(粘度の設定)

ガラス、プラスチック等



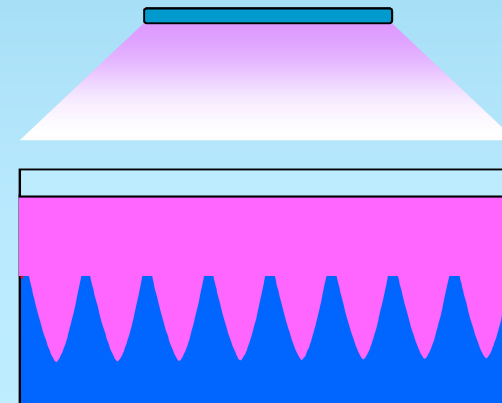
④離型

- 金型への離型剤処理
- 内部離型剤の添加
- 樹脂の硬化条件



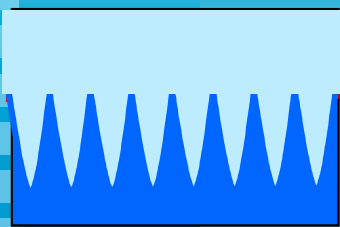
③UV照射

- 光硬化樹脂の設計(開始剤・フォーミュレーション)
- 光硬化条件の設定

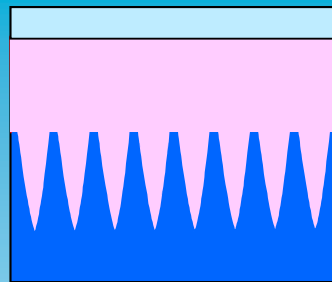


樹脂表面への転写

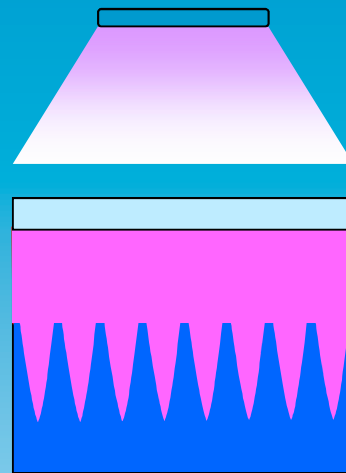
①アルミナナノホールを作製



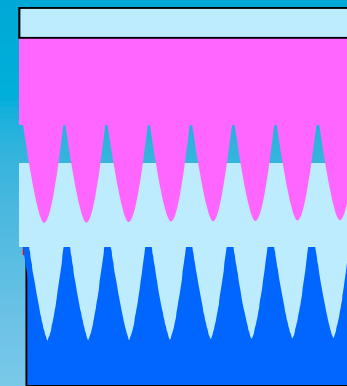
②アクリル系光硬化樹脂を充填



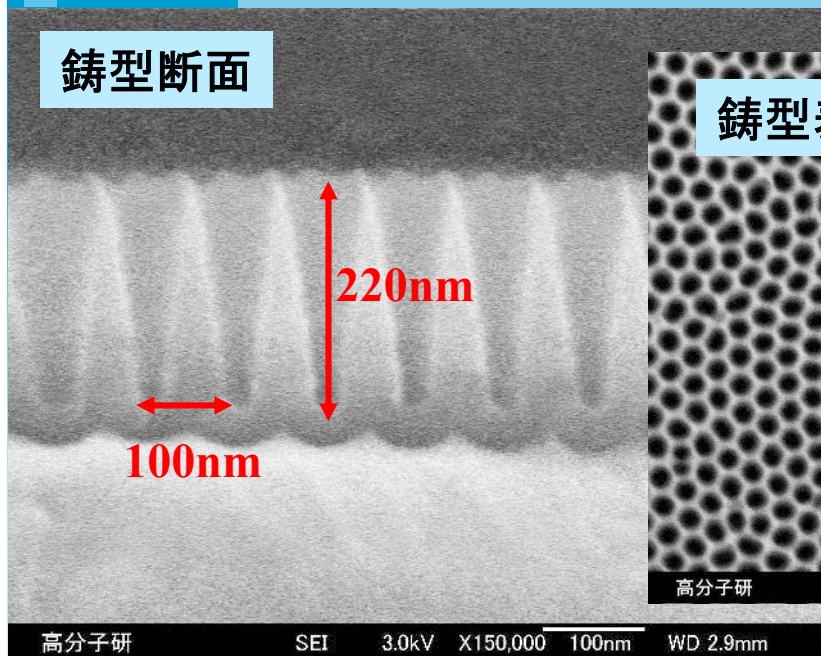
③UV照射



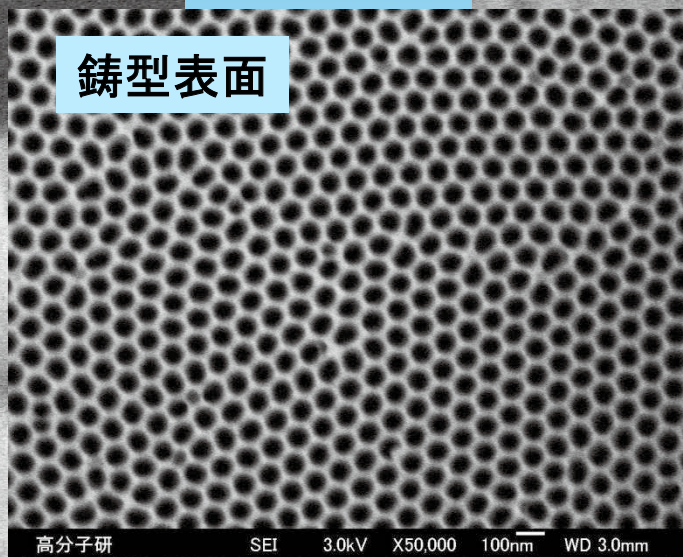
④離型



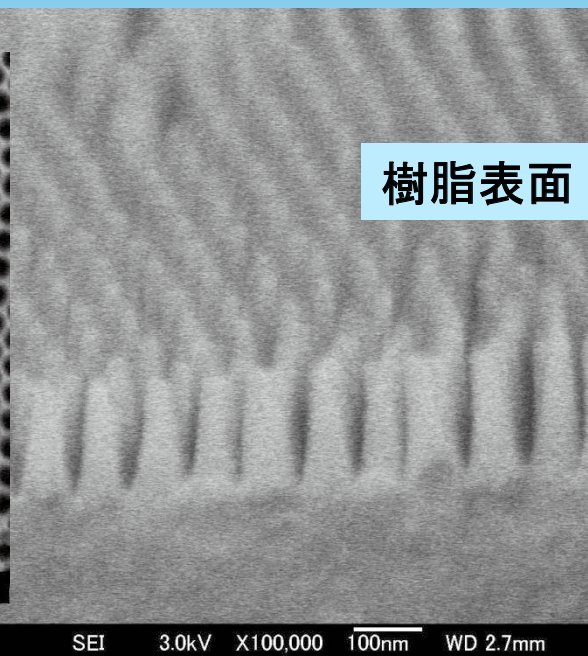
鋳型断面



鋳型表面



樹脂表面



高分子研 SEI 3.0kV X150,000 100nm WD 2.9mm

高分子研 SEI 3.0kV X100,000 100nm WD 2.7mm

光インプリントの利点

- 高スループット → 生産性が高い
- 樹脂設計に自由度大 → 色々な特性付与可能
- 硬化樹脂の低粘度化により、金型プレス圧の低減が可能 → ロール to ロール容易

アクリル系光硬化樹脂の利点

- 透明度、耐候性良好
- 重合収縮が大きい
 - 金型剥離特性に有利に働くと考えられる
 - モスアイ構造のように金型の完全複製が必要でない場合に有効と考えられる

ナノインプリント大面積化の困難さ

・ いったいどれほどの数の凹凸が存在するのか

1つの突起の大きさが1辺100nmの正方形の底面と仮定する

1辺1 μm の正方形に密に埋め込むとすると

$$10 \times 10 = 100 \text{ 個}$$

もしも世界の人口が...

1辺1mmの正方形に密に埋め込むとすると

$$10,000 \times 10,000 = 100,000,000 \text{ 1億個}$$

日本の人口

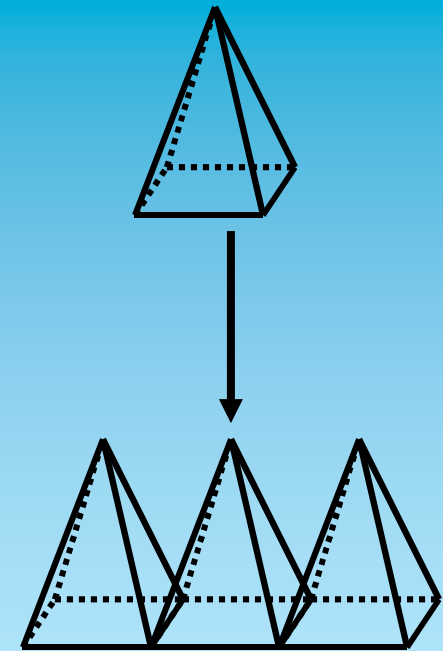
1辺1cmの正方形に密に埋め込むとすると

$$100,000 \times 100,000 = 10^{10} \text{ 個 (100億個)}$$

1辺1mの正方形に密に埋め込むとすると

$$10,000,000 \times 10,000,000 = 10^{14} \text{ 個 (100兆個)}$$

人間の細胞数 約60兆個



大型ナノインプリントの可能性

○フィルムベースのロールインプリントの実現○



大型ロール金型の実現

- 金属のダイレクト加工技術の微細化
切削刃の微細検討等
レーザー加工の適用検討
- ロール上へのフォトリソグラフィー
連続加工の模索がなされている
- 自己組織化現象の応用
 - ◆ アルミナナノホールアレイの活用
 - ◆ 微粒子の配列技術の応用 等

大型ナノインプリントの可能性

自己組織化現象の工業化のためには

長所

- 自己組織化の利用は従来技術と比較して非常にエネルギーの消費の抑制に貢献する
- 自己組織化を利用することで、従来得られなかった大面積化が可能である

短所

- 自己組織化で形成される規則構造では、いいかげんさ（規則構造の乱れ）が存在する

自己組織化の工業化のためには、

○“いいかげんさ”を許容するアプリケーション（大面積可能）

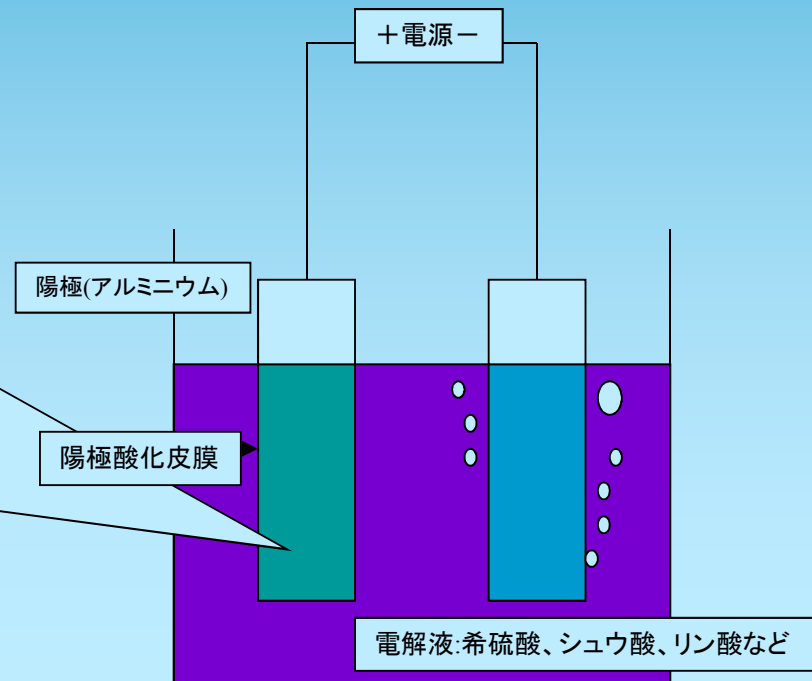
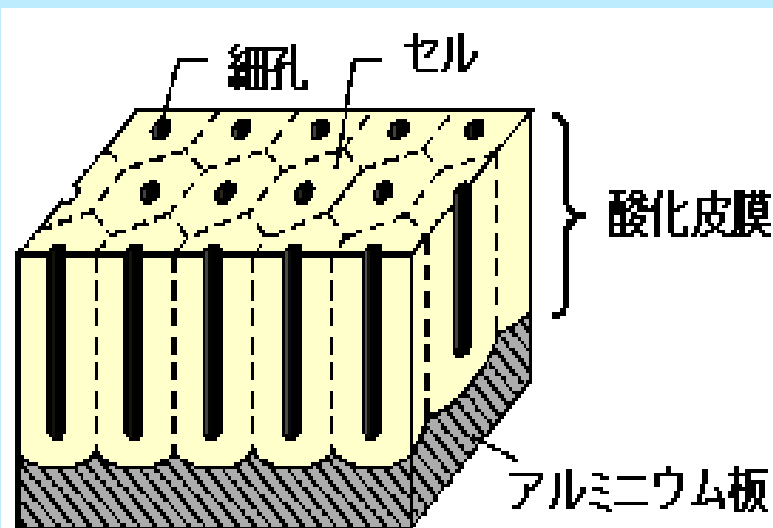
○トップダウン技術との融合 → 小面積 どちらかが必須

5. 自己組織化を利用した モスアイ 金型とRoll to Roll作製プロセス

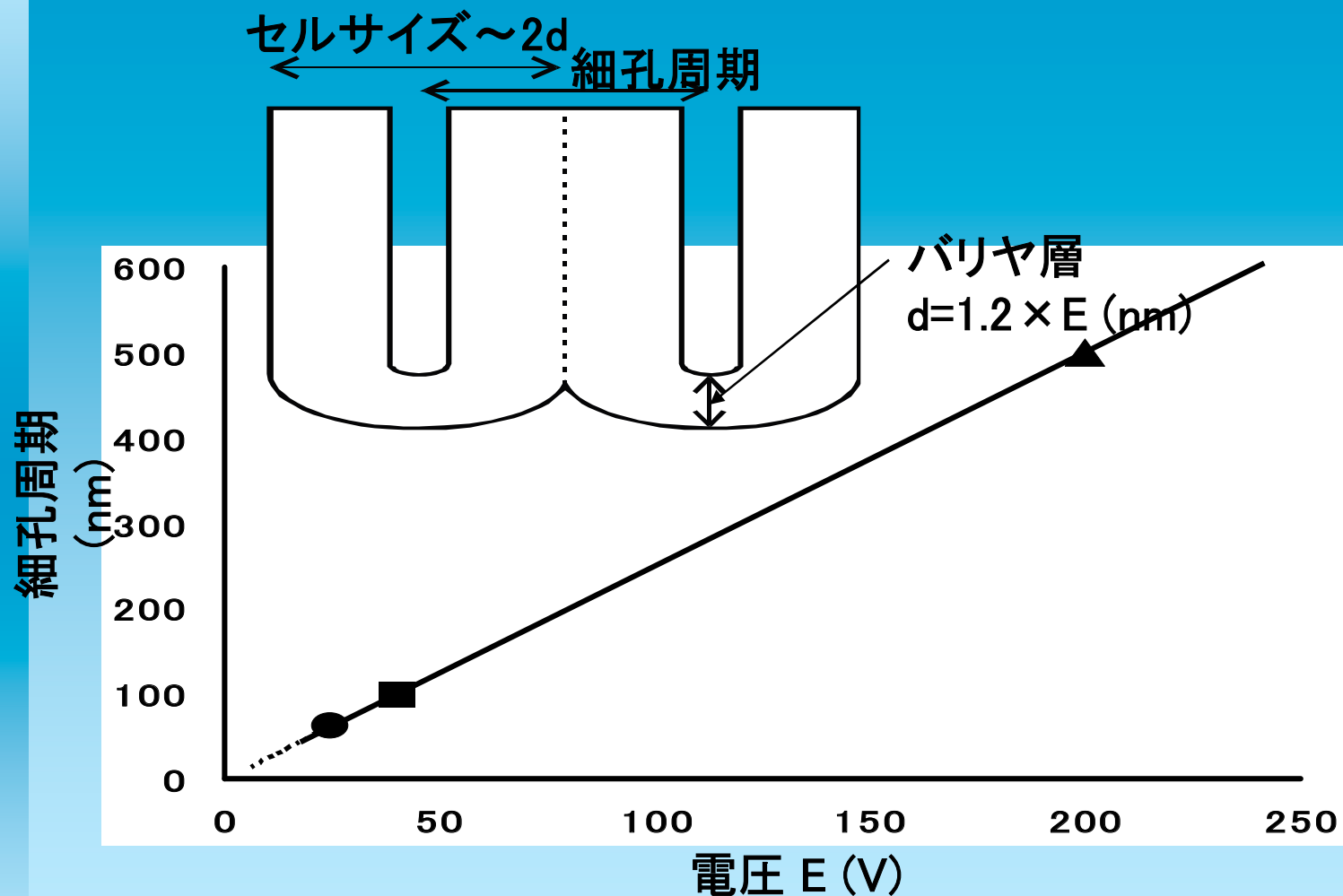
アルミナナノホールアレイとは？

アルミニウムを酸性の電解液中で電気分解して（陽極酸化）できる20-500nmの細孔のこと

特定条件下において自己組織化による規則性構造をつくる



陽極酸化時の電圧と細孔周期



陽極酸化時の印加電圧により細孔周期を
20-500nmの範囲で制御可能

微細凹凸構造形成手法比較

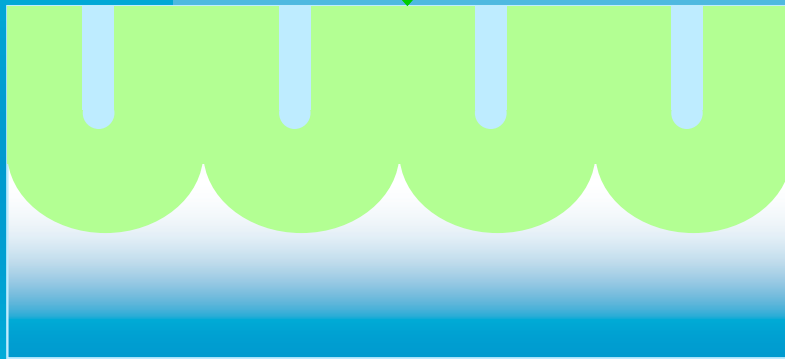
	アルミナナノホール	リソグラフィー (電子線描画・光干渉露光)
ナノオーダーの凹凸構造形成	可能	可能
大面積化	可能性あり	困難
ロール鋳型	可能性あり	困難
作製コスト	安価	高価

- ・生産性高くモスアイフィルムをつくるにはロール金型が必要。
- ・アルミナナノホールアレイロール金型を作製し、連続賦形性を調べた。

モスアイ金型の作製方法

Al

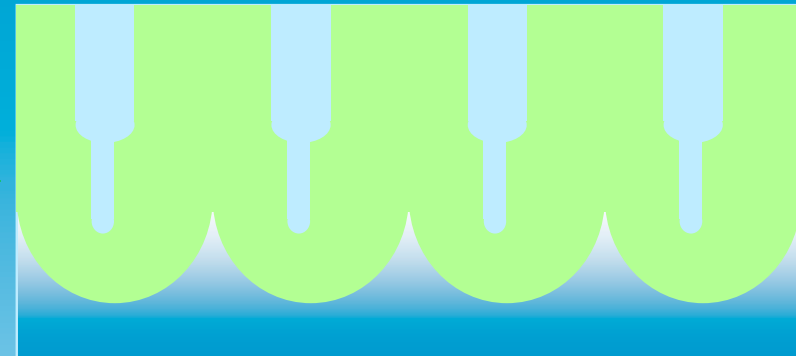
【陽極酸化】



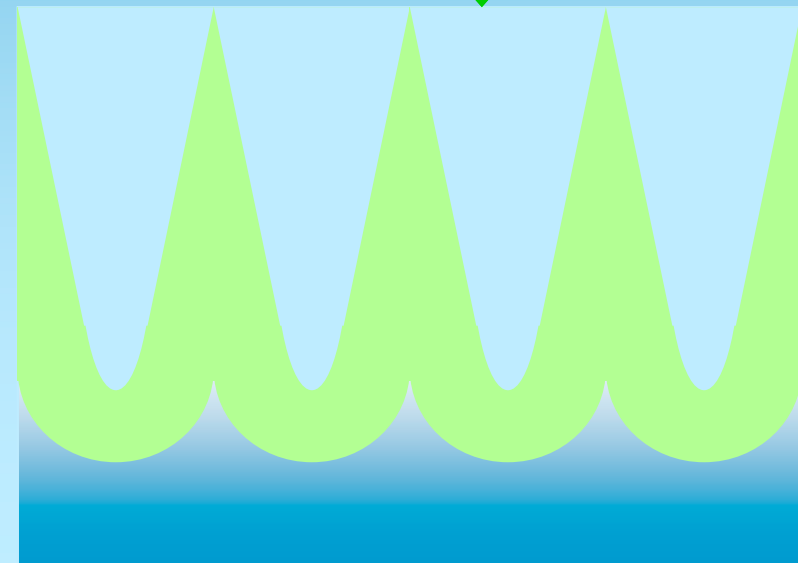
【孔径拡大処理】



【陽極酸化】



繰り返し



モスアイ構造 (Moth-eye Structure)

無反射構造となる周期

Period realizing non-reflection

$$\Lambda \leq \frac{\lambda}{n}$$

Λ	Period(nm)
λ	Wavelength(nm)
n	Refractive Index

$\lambda=400\text{nm}$ 、 $n=1.5$ とすると

$\Lambda \leq 267\text{nm}$ の条件さえ満たせば無反射となる

多少の構造の欠陥は特性に影響しない

バイオミメティクスに期待するもの

- 生体に帰属する構造は特性としては、完全な機能を発現することが多い
- 生体を構成する構造は、基本的には自己組織的に形成される
- 自己組織化による構造形成は、規則性に不完全さが必ず存在する



規則性に不完全さが存在するにもかかわらず、完全な機能の実現が期待できる

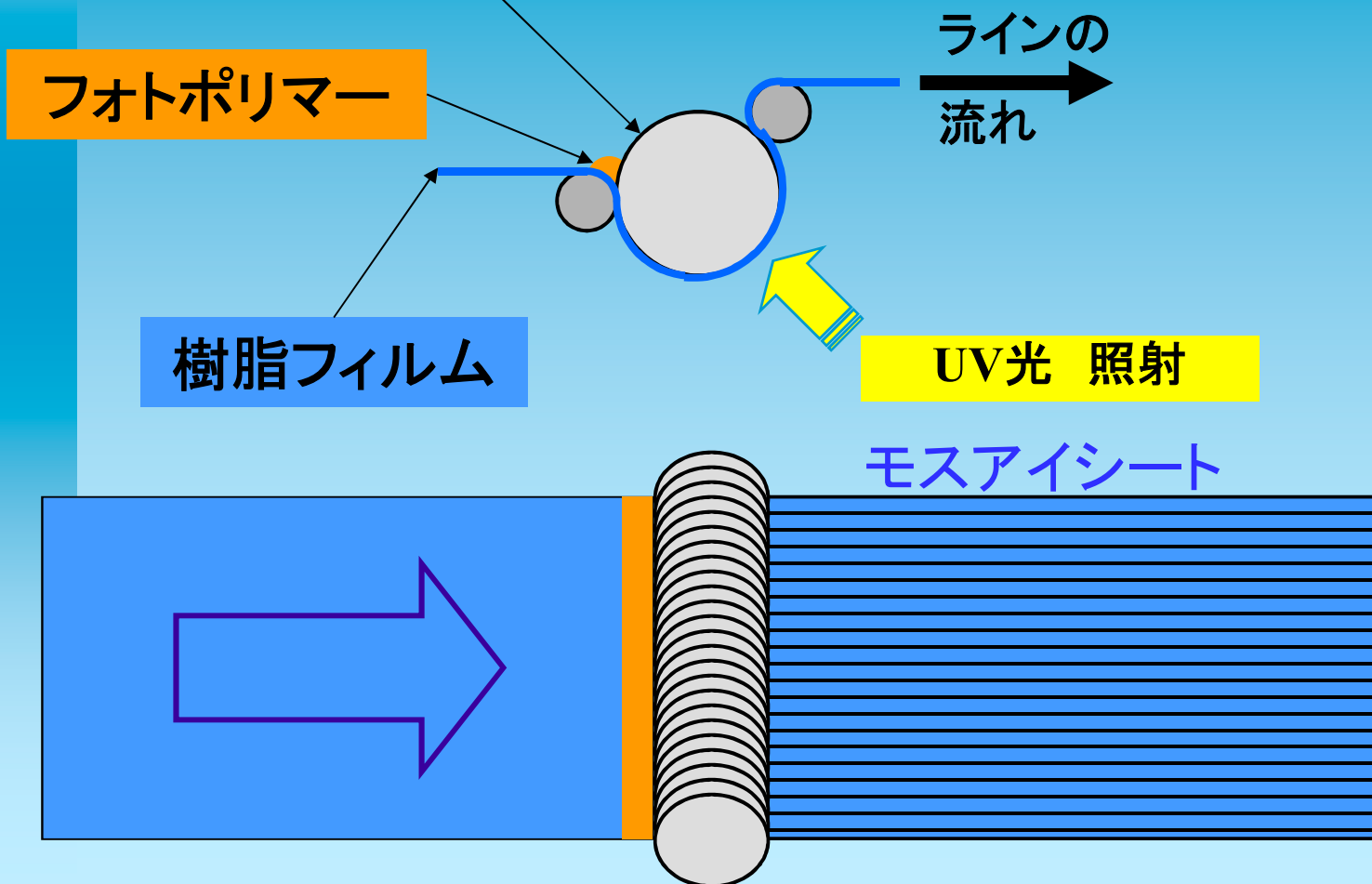
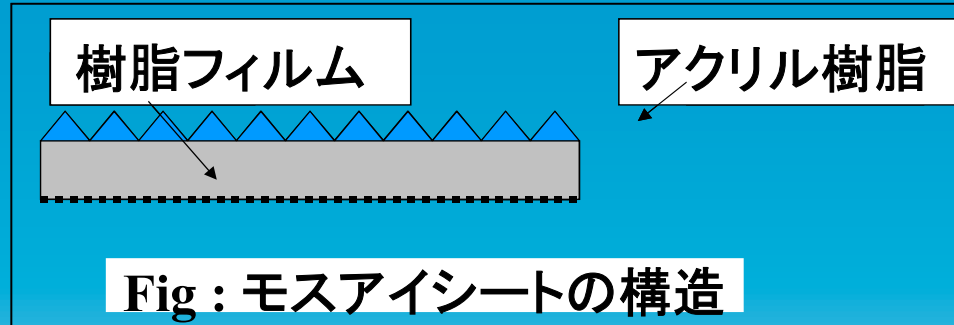
- 自己組織的な構造形成の最良のお手本
- 自己組織化を工業的に利用する際の指針

自己組織化の適用 ≡ 超大面積微細加工の可能性

モスアイフィルムの製造方法



ロール金型



ロール鋳型と連続賦形フィルム



<転写フィルムロール>

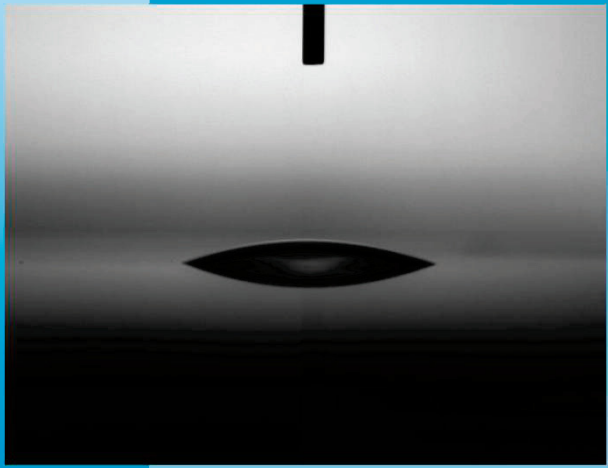
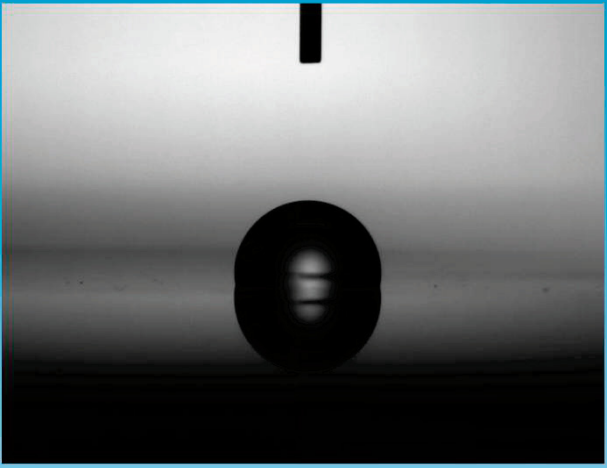
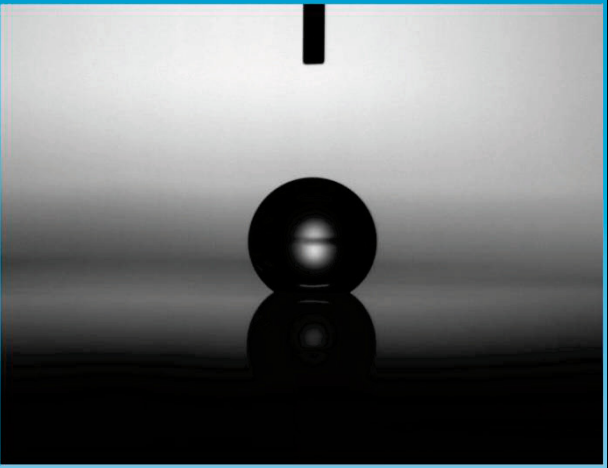


200 μ m幅中に世界人口(約67億個)

継ぎ目のないロール形状の鋳型を作製し、ロールtoロールで連続賦形を行なった。

6. モスアイのその他の特性

モスアイフィルムの水接触角

	ガラス	市販撥水コート	撥水ME
撥水性			
接触角	24°	102°	142°

<評価>

1μLを滴下したときの外観および接触角

◆モスアイフィルムの
撥水性は水接触角140° レベル。



蓮の葉

モスマイフィルムの諸物性

【PMMA板＋両面モスマイフィルム貼合】

開発品No.				MOS-001	MOS-002	備考
基材				アクリル	アクリル	
光学特性		反射率(550nm)	%	0.18	0.23	JIS-R-3106
		全光線透過率	%	99.5	99.5	JIS K7361-1
		曇価(Haze)	%	0.8	0.8	JIS K7136
		黄色度YI		1.4	1.1	JIS K7105
耐久特性 60°C90RH% 500h		反射率(550nm)	Δ %	0.1	0.01	JIS-R-3106
		全光線透過率	Δ %	0.14	0.01	JIS K7361-1
		曇価(Haze)	Δ %	0.04	0.15	JIS K7136
		黄色度YI	Δ	2.3	0.4	JIS K7105
表面特性		静的接触角	°	28	139	1 μ m水滴

* 本データは、実測値であり、保障値ではありません。

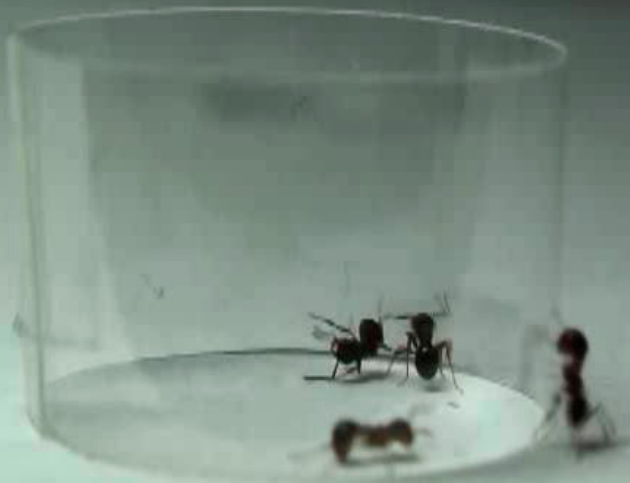
* アクリルフィルム以外にPET、TACフィルムなど異なる製品も開発しております。

◆全光線透過率99%超の透明性を有している。

◆表面が疎水性、親水性のタイプがある。

ナノパイル構造でアリは滑落する

コントロールシート



モスアイシート



弘中満太郎¹・向井裕美²・山尾僚²・魚津吉弘³・

高久康春¹・針山孝彦¹

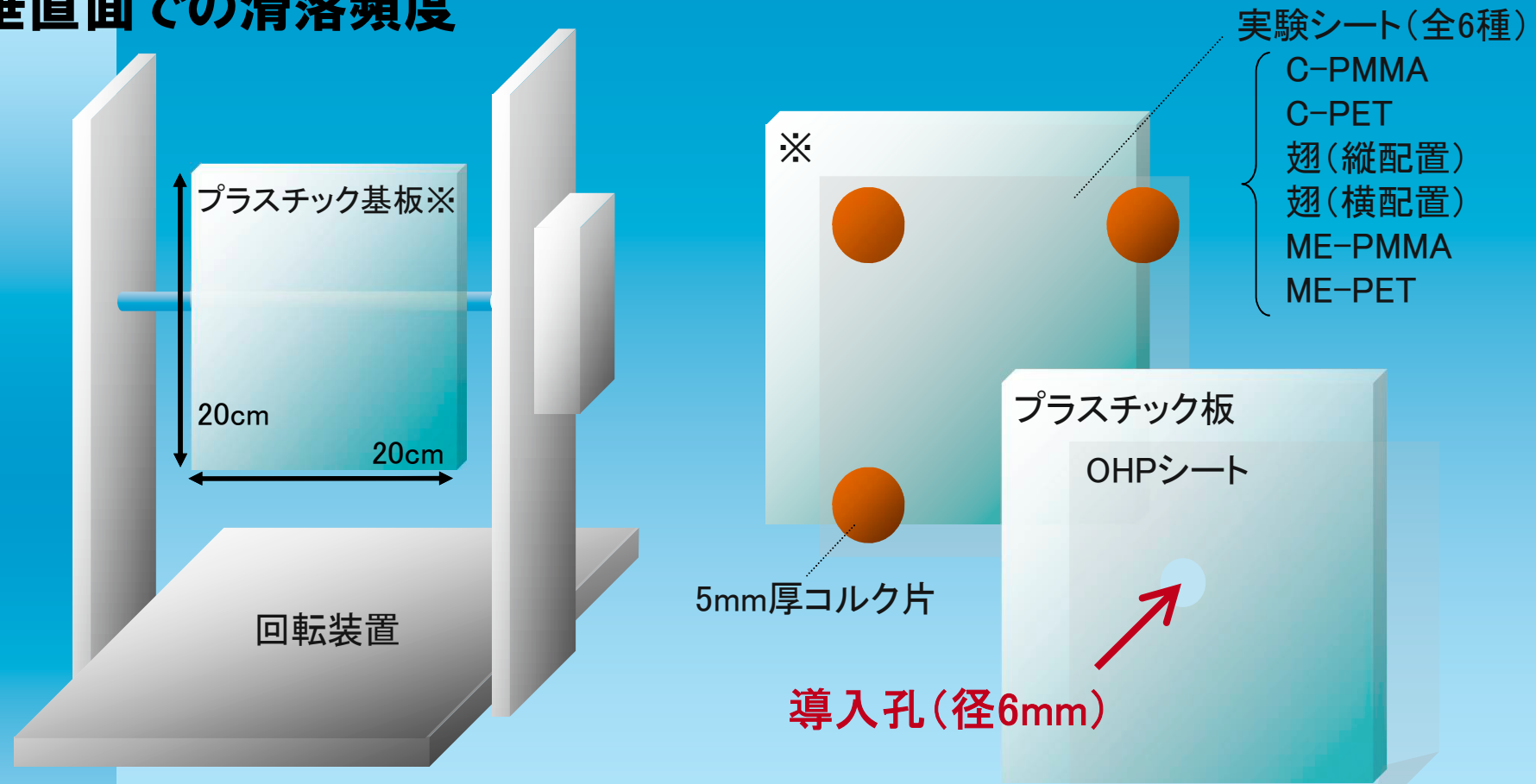
1 浜松医大・生物

2 鹿児島大・連合農学

3 三菱レイヨン

構造による接着阻害かどうかの再検証

垂直面での滑落頻度



- ・回転装置の基盤を垂直に固定し、各実験シートを基板に設置.
- ・導入孔より筆を用いてアリを導入し、実験シート上で20秒間自由に歩行させた.
- ・試行期間中にシートから滑落した個体の頻度を求めた.

滑落実験—ナナホシテントウとヨコヅナサシガメ

C-PET
ナナホシテントウ



C-PET
ヨコヅナサシガメ



ME-PMMA
ナナホシテントウ



ME-PET
ヨコヅナサシガメ





有害動物
セスジアカムカデ
(オオムカデ目)



トゲトビムシ科の一種
(トビムシ目)



トウヨウモンカゲロウ
(カゲロウ目)



農業害虫(イネ)
コハネイナゴ(バッタ目)



エダナナフシ
(ナナフシ目)



ヒゲジロハサミムシ
(ハサミムシ目)



オオカマキリ
(カマキリ目)



屋内害虫
ヤマドリノアリ
(アリ目)



果樹害虫
ミカンキイロアザミウマ
(アザミウマ目)



農業害虫(イネ)
ホソヘリカメムシ
(カメムシ目)



農業害虫(野菜)
ソラメヒゲナガアブラムシ
(カメムシ目)

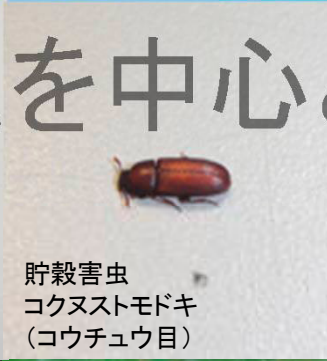


特用作物の害虫
ツマグロオオヨコバイ
(カメムシ目)

害虫を中心とした節足動物: 25目51種



農業害虫(ダイズ)
マメコガネ
(コウチュウ目)



貯穀害虫
コクヌストモドキ
(コウチュウ目)



農業害虫(イモ)
オオニジュウヤホシテントウ
ミカミキリ
(コウチュウ目)



農業害虫(イモ)
オオニジュウヤホシテントウ
ミカミキリ
(コウチュウ目)



屋内害虫(不快害虫)
キンバエ(ハエ目)



家畜の害虫
ウシアブ(ハエ目)



衛生害虫
ヒトスジシマカ(ハエ目)



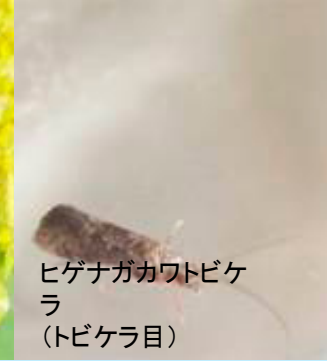
農業害虫(ダイズ)
ハスモンヨトウ(チョウ目)



農業害虫(ダイズ)
ヨモギエダシャク
(チョウ目)



花の害虫
ヒロヘリアオイラガ
(チョウ目)



ヒゲナガカワトビケラ
(トビケラ目)



衛生害虫
オオハリアリ(ハチ目)

昆虫のふ節構造

1. スムーズパッド (褥盤, 爪間盤)

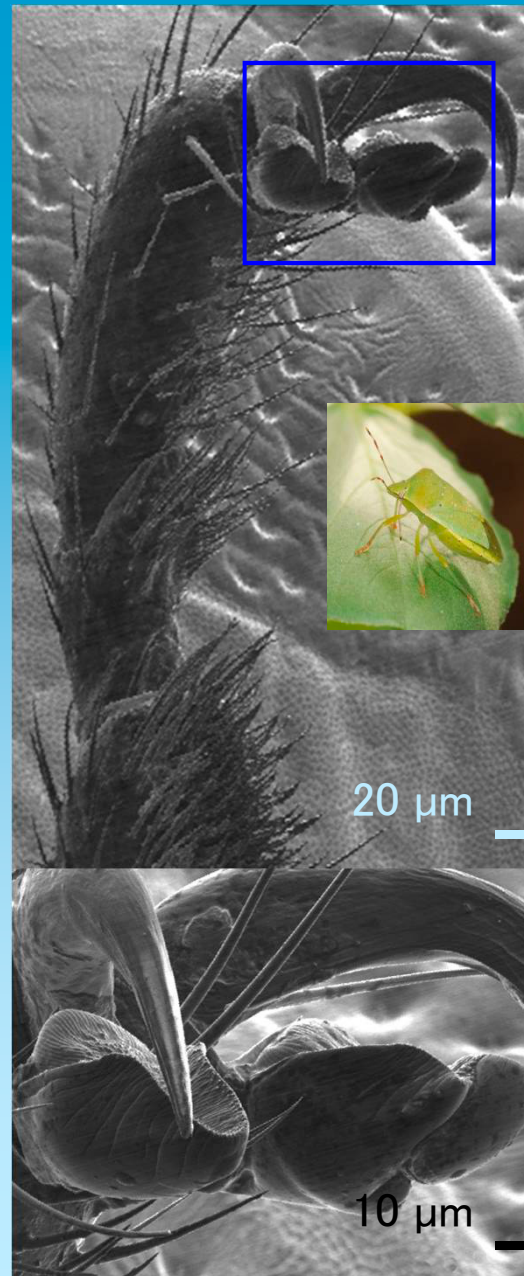
カメムシ目, ハチ目など, ヘアリーパッドを持たない分類群.

2. ヘアリーパッド (剛毛)

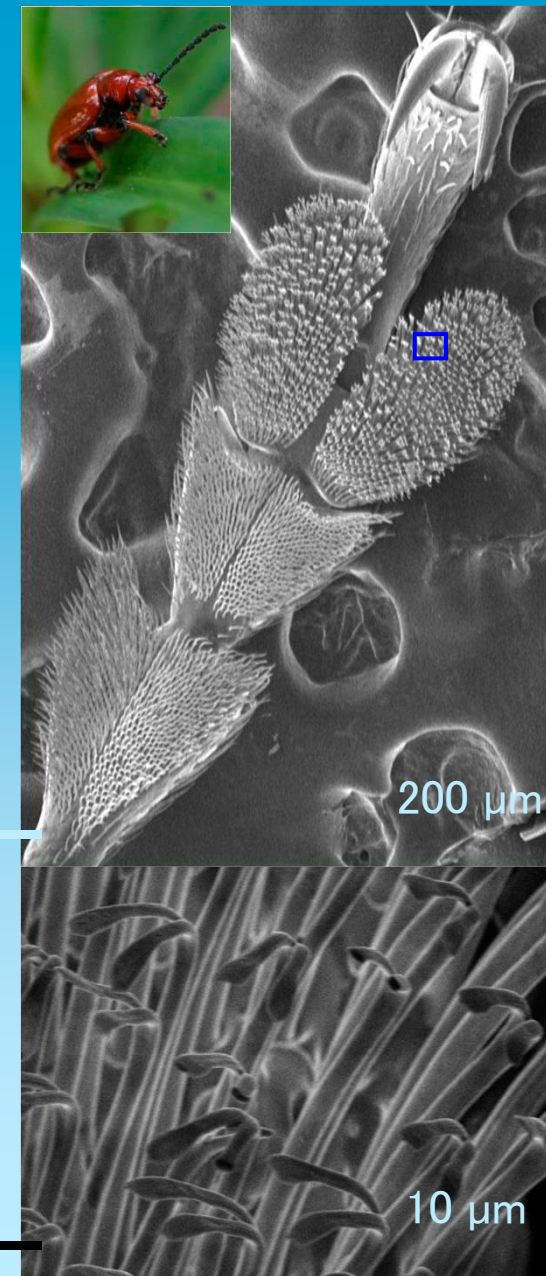
ハサミムシ目, シロアリモドキ目, アミメカゲロウ目, コウチュウ目, ネジレバネ目, ハエ目

昆虫の足先はミクロン単位の構造が付いており、接触面積をかせぎVan der Waals力により表面に付着している。微細なモスアイ構造により、接触面積が極端に減ることで、滑落するものと考えている。

ミナミアオカメムシ



ユリクビナガハムシ



7. まとめ

○モスアイ表面は反射防止機能の発現を意図して開発したものであるが、撥水・親水性や昆虫の滑落特性など他の機能も確認されてきており。その機能に応じた応用展開が模索されている。

○モスアイ表面と同様に生体表面は単一の機能を持っているわけではなく、一つの構造で多くの機能性を発現しているものと考えられる。バイオミメティクスの手法で形成される構造は多くの機能を発現することが期待される。

ご静聴、ありがとうございました。

魚津 吉弘



@京都大学 桂ホール 2016年11月10日

超分子ブロック共重合体の構造形成のダイナミクス

古賀 毅・有村 峻・栗本 拓弥・古谷 勉

Tsuyoshi Koga, Ryo Arimura, Takuya Krimoto, Tsutomu Furuya

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1 はじめに

二種の高分子の末端を共有結合で連結して得られるジブロック共重合体 (diblock copolymer) は、平衡状態で多彩なナノメートルスケールの相分離構造 (マイクロ相分離構造) を形成する事が多くの研究により明らかにされてきた [1, 2]. 良く知られているように、ブロック組成が 1/2 に近い場合には、ラメラ相が形成され、組成の非対称性が強くなるに従ってシリンドラー相、球状相が形成される. これらの「古典的」なマイクロ相分離構造の他にも両相が共連続になったジャイロイド構造等があり、更にマルチブロック共重合体や分岐構造など複雑なアーキテクチャを有するブロック共重合体では、極めて多彩なマイクロ相分離構造を形成することが報告されている. これらのナノ構造の大きさや形態がどのような仕組みで決定されているのかを知ることは構造を制御する際の鍵になる. 更に系の特性を制御する為には、平衡状態での構造を知っているだけでは不十分で、その構造を思いのままに制御する必要がある. 最近では、表面・界面によるマイクロ相分離構造の制御が注目されており、特に半導体分野では、ガイドパターンによる誘導で高分子のマイクロ相分離構造を制御する誘導自己組織化 (Directed Self-Assembly: DSA) を用いて、従来の光リソグラフィ技術では得ることが困難であった微細なパターンを得ることができるのではないかと期待されている [3, 4].

一方、近年材料の高性能・高機能化を目的として、高分子材料の性能発現機構に超分子の概念を取り入れる手法が積極的に取られている. 特に動的な分子の自己組織化によって、環境等の外部条件に応答する材料の開発が期待されている. 例えば、末端に会合基を有する高分子鎖の会合によって構成される超分子ブロック共重合体は、従来の共有結合によるブロック共重合体と同様に、マイクロ相分離構造を示すことが報告されている [5]. 末端に水素結合性の官能基を導入した 2 種類のポリマーにより形成される水素結合性超分子ブロック共重合体も、ナノスケールでのマイクロ相分離を起こすことが知られている [6]. さらに、温度等の外部刺激によって可逆的に架橋点の消失・再生成を起こすため、マイクロ相分離構造とマク

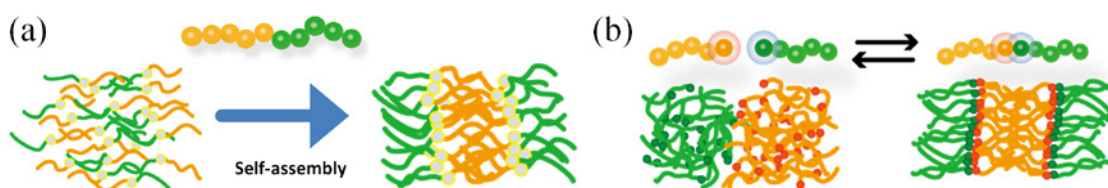


図 1 (a) ブロック共重合体の自己組織化の概略図 (b) 超分子ブロック共重合体の概略図

ロ相分離間の熱可逆的な遷移を起こすなど、共有結合によるブロック共重合体にはない相分離構造や特性を持つことが期待される。そこで本研究では、このような水素結合性超分子ブロック共重合体のミクロ・マクロ相分離構造形成過程を分子レベルから理解し、DSA での微細パターン制御の可能性を検討することを目的として、計算機シミュレーションを用いて水素結合性超分子ブロック共重合体の構造形成に関する研究を行った。

2 シミュレーション

水素結合性超分子ブロック共重合体の相分離構造解析のため、水素結合性のビーズを末端に有する 2 種類 (A, B) の高分子鎖をバネ・ビーズモデルを用いてモデル化し、散逸粒子動力学シミュレーション (DPD 法) を用いてシミュレーションを行った [7]。A 成分, B 成分それぞれの高分子鎖を構成するビーズの数を N_A, N_B とする。DPD 法では、各ビーズにかかる力は、全ての他ビーズとの二体間力の総和で表される:

$$\mathbf{F}_i = \sum_j \mathbf{F}_{ij}^C + \sum_j \mathbf{F}_{ij}^D + \sum_j \mathbf{F}_{ij}^R. \quad (1)$$

ここで、 \mathbf{F}_{ij}^C は保存力であり、化学的に結合していない非結合ビーズ間の反発力 $\mathbf{f}_{ij}^{\text{nb}}$ と共有結合で繋がれた隣接ビーズ間の復元力 $\mathbf{f}_{ij}^{\text{b}}$ の和で表される:

$$\mathbf{F}_{ij}^C = \mathbf{f}_{ij}^{\text{nb}} + \mathbf{f}_{ij}^{\text{b}}. \quad (2)$$

$$\mathbf{f}_{ij}^{\text{nb}} = \begin{cases} -\varepsilon_{\alpha\beta}(R_c - r_{ij})\hat{\mathbf{r}}_{ij} & r_{ij} < R_c \\ 0 & r_{ij} \geq R_c \end{cases} \quad (3)$$

$$\mathbf{f}_{ij}^{\text{b}} = -K\mathbf{r}_{ij} \quad (4)$$

ここで \mathbf{r}_{ij} はビーズ i のビーズ j に対する相対位置ベクトルであり、 $r_{ij} = |\mathbf{r}_{ij}|$, $\hat{\mathbf{r}}_{ij} = \mathbf{r}_{ij}/r_{ij}$ である。また、 R_c は相互作用のカットオフ距離、 $\varepsilon_{\alpha\beta}$ ($\alpha\beta = \text{AA}, \text{BB}, \text{AB}$) は相互作用パラメータ、 K はバネ定数である。本研究では同成分間の相互作用パラメータを $\varepsilon_{\text{AA}} = \varepsilon_{\text{BB}} = \varepsilon$ とし、異成分間の相互作用パラメータは $\varepsilon_{\text{AB}} = \varepsilon + \Delta\varepsilon$ とした。

\mathbf{F}_{ij}^D はエネルギー散逸力、 \mathbf{F}_{ij}^R はランダム力であり、以下の式で表される:

$$\mathbf{F}_{ij}^D = -\frac{1}{2}\sigma^2 [\omega(r_{ij})]^2 / k_B T (\mathbf{v}_{ij} \cdot \hat{\mathbf{r}}_{ij}) \hat{\mathbf{r}}_{ij} \quad (5)$$

$$\mathbf{F}_{ij}^R = \sigma\omega(r_{ij})\hat{\mathbf{r}}_{ij}\zeta/\sqrt{\Delta t} \quad (6)$$

ここで ζ は平均 0, 分散 1 の白色正規雑音であり、 Δt はシミュレーションにおける計算時間間隔、 k_B はボルツマン定数、 T は温度である。また、重み関数 $\omega(r)$ は以下の式を用いた:

$$\omega(r) = \begin{cases} R_c - r & r < R_c \\ 0 & r \geq R_c \end{cases} \quad (7)$$

水素結合性ビーズ間には距離が $r_{ij} < R_c$ で結合が形成され、水素結合状態のビーズ間の距離が $r_{ij} \geq R_c$ の場合に確率 $\exp(-\beta\epsilon_a)$ で結合が解離するモデルを用いた。ここで、 $\beta \equiv 1/k_B T$ である。水素結合性ビーズ間の結合強度はパラメータ ϵ_a を変化させることで調節出来る。水素結合は異種高分子の水素結合性ビーズ間で 1 対 1 で形成される対結合モデルを用い、水素結合状態のビーズ間には共有結合で繋がれた隣接ビーズ間の復元力と同様に f_{ij}^b の力が働くとした。

シミュレーションボックスは、DSA を想定して上下及び左右に壁面を設け、奥行き方向のみに周期境界条件を設定した。また、特に注記が無い限り形成する相の方向を制御するために左右の壁面は A 成分で修飾したものを用い、上下の壁面は中立壁面を用いた (図 2)。

シミュレーションでは、長さ、時間、エネルギーの単位をそれぞれ、 R_c 、 $R_c\sqrt{m/k_B T}$ 、 $k_B T$ とした。ここで、 m は粒子の質量である。相互作用パラメータを $\epsilon = 25k_B T$ として、異成分間の相互作用パラメータ $\Delta\epsilon$ 及び水素結合性ビーズ間の結合強度 ϵ_a を系統的に変化させてシミュレーションを実行した。

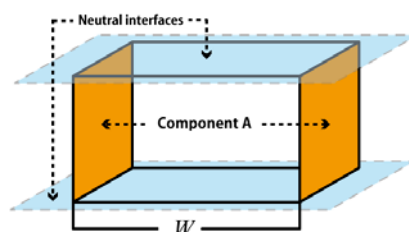


図 2 シミュレーションボックスの概略図

3 超分子ブロック共重合体

3.1 ジブロック超分子共重合体

図 3 に各高分子鎖が片末端に水素結合性ビーズを持つ $N_A = N_B = 5$ の系における相分離構造を $\beta\Delta\epsilon - \beta\epsilon_a$ 平面上に示した。結合強度 $\beta\epsilon_a$ が小さい場合には、領域 (a) に見られるようなマクロ相分離を起こすが、結合強度 $\beta\epsilon_a$ を増加させると、ある閾値以上でマイクロ相分離構造を形成するようになる。図 3 の結果のように 2 成分の長さが等しい場合には、領域 (b) 及び (c) のような分子鎖スケールに依存した周期を有するラメラ構造を形成した。ここで領域 (b) ではラメラ周期 $L \simeq 9$ のラメラ構造が形成され、領域 (c) ではラメラ周期 $L \simeq 6$ のラメラ構造が形成されている。領域 (d) では、水素結合によりジブロック超分子共重合体は形成されているが、異成分間相互作用 $\beta\Delta\epsilon$ が小さいため、偏析力不足により無秩序な均一相を示した。このように、結合強度 $\beta\epsilon_a$ を大きくすることで、ラメラ周期を減少させることが出来る。これは $\beta\epsilon_a$ の増加に伴って水素結合率が大きくなり、増加した結合点を保持するために界面面積の増加が必要なためである。同組成の共有結合ジブロック共重合体では周期 $L \simeq 6$ のラメラ構造を形成することが確認されており、結合強度 $\beta\epsilon_a$ が大きい領域では共有結合と同様に振舞っていると言える。一方、結合強度 $\beta\epsilon_a$ が小さい領域で観察される周期 $L \simeq 9$ のラメラ構造は共有結合ジブロック共重合体では見られない。この周期 L が長いラメラ構造がジブロック超分子共重合体系における一つの特徴であると言える。

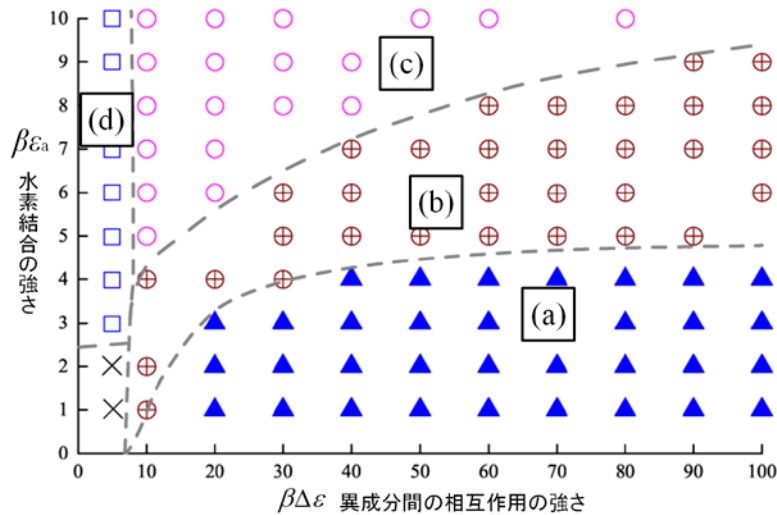


図3 片末端に水素結合性ビーズを有する $N_A = N_B = 5$ の系の相分離構造. (a) マクロ相分離領域 (\blacktriangle), (b) ラメラ相 ($L \simeq 9$) (\oplus), (c) ラメラ相 ($L \simeq 6$) (\circ), (d) 無秩序均一相 (\square).

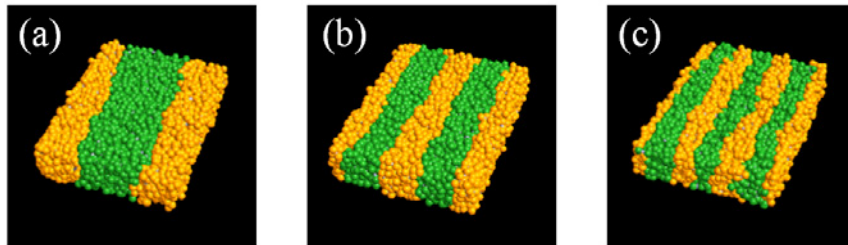


図4 図3の各領域での相分離構造. (a) マクロ相分離領域, (b) ラメラ相 ($L \simeq 9$), (c) ラメラ相 ($L \simeq 6$).

3.2 マルチブロック超分子共重合体

図5に各高分子鎖が両末端に水素結合性ビーズを持つ $N_A = N_B = 5$ の系における相分離構造を $\beta\Delta\epsilon - \beta\epsilon_a$ 平面上に示した. この系においても図3の結果と同様に, 結合強度 $\beta\epsilon_a$ が小さい場合にはマクロ相分離 (a) を起こし, 結合強度 $\beta\epsilon_a$ の増加によってラメラ構造 (b)(c) を形成し, 相互作用 $\beta\Delta\epsilon$ が小さい領域では無秩序な均一相 (d) を示した. ここで領域 (b) ではラメラ周期 $L \simeq 6$ のラメラ構造が形成され, 領域 (c) ではラメラ周期 $L \simeq 4.5$ のラメラ構造が形成されている. 領域 (c) で形成される周期 $L \simeq 4.5$ のラメラ構造は片末端にのみ水素結合性ビーズを有する場合には形成されない構造である. 図7に各 $\beta\Delta\epsilon$ 及び $\beta\epsilon_a$ において形成されるマルチブロック超分子共重合体の平均ブロック数 \bar{n} を示した. 結合強度 $\beta\epsilon_a$ の増加によって, 平均ブロック数 \bar{n} は増加し, 異成分間相互作用 $\beta\Delta\epsilon$ の増加によって \bar{n} が減少した. この2つのパラメータによって決定される平均ブロック数 \bar{n} の変化と, 構造の転移の傾向はほぼ一致した. 水素結合性ビーズを両末端に持つ場合は, マルチブロック超分子共重合体を形成することが可能であり, 片末端にのみ水素結合性ビーズを持つ場合よりも多くの結合点が生成される. マルチブロック超分子共重合体形成によって増加した結

合点を保持するためには、界面面積の増加が必要であり、周期 L が短いラメラ構造が得られる。このようなラメラ周期 L の変化は共有結合マルチブロック共重合体のブロック数を変化させることでも得られるが、超分子系では外部刺激で変化し得る結合強度 $\beta\epsilon_a$ と異成分間相互作用 $\beta\Delta\epsilon$ によって調整することが出来る。

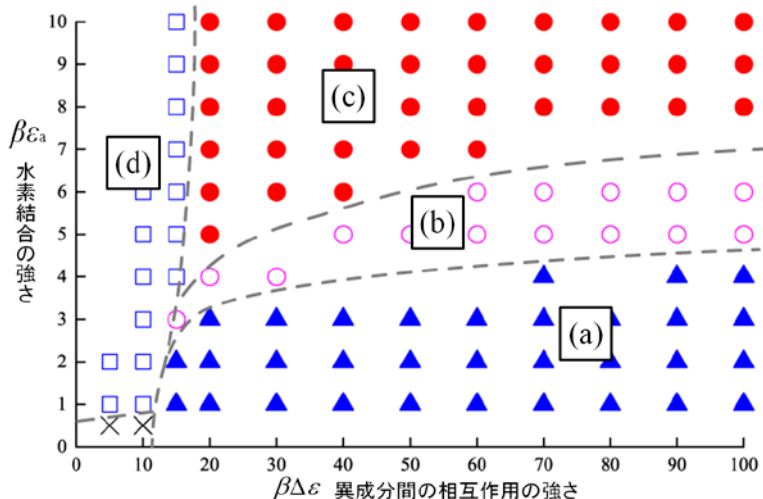


図5 両末端に水素結合性ビーズを有する $N_A = N_B = 5$ の系の相分離構造. (a) マクロ相分離領域 (\blacktriangle), (b) ラメラ相 ($L \simeq 6$) (\circ), (c) ラメラ相 ($L \simeq 4.5$) (\bullet), (d) 無秩序均一相 (\square).

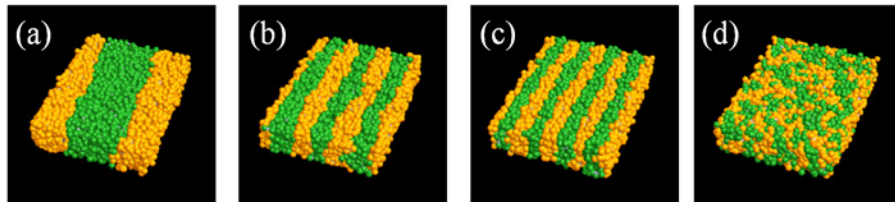


図6 図5の各領域での相分離構造. (a) マクロ相分離領域, (b) ラメラ相 ($L \simeq 6$), (c) ラメラ相 ($L \simeq 4.5$), (d) 無秩序均一相.

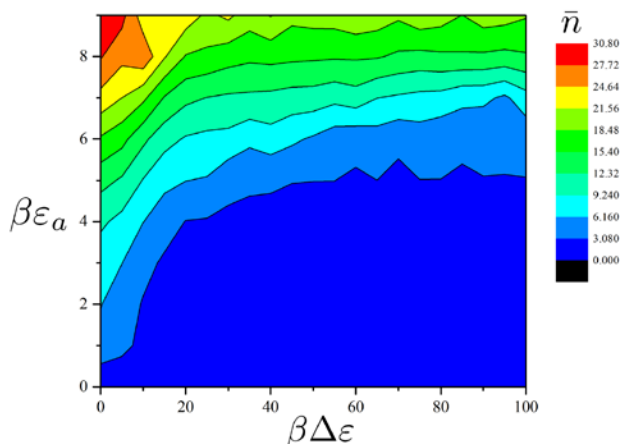


図7 平均ブロック数 \bar{n} の異成分間相互作用 $\beta\Delta\epsilon$ 及び結合強度 $\beta\epsilon_a$ 依存性.

4 環境応答型超分子ブロック共重合体

前節の結果より，2成分の長さが等しい超分子ブロック共重合体系では，結合強度 $\beta\epsilon_a$ の調整により，ラメラ周期 L を制御出来ること，このラメラ周期 L は形成される結合点密度によって決まることが分かった．次に，シミュレーションを用いて新しい分子機構の知見を提供するため，外部条件に応答し，結合点密度のみではなく組成比も変化するような環境応答型超分子ブロック共重合体系について設計し，検討した．この系は図8に示すように，主鎖がA成分で構成され，末端にB成分の水素結合性ビーズを持つA'高分子と，A'高分子の水素結合性ビーズを起点として超分子を形成するB'分子の二種類の分子から構成され，外部条件に応じて超分子ブロック共重合体の組成比 $f_B^S = N_B^S / (N_A^S + N_B^S)$ を変化させることが出来る(ここで N_A^S および N_B^S はそれぞれ形成された超分子ブロック共重合体中のA成分ビーズ数とB成分ビーズ数である)．

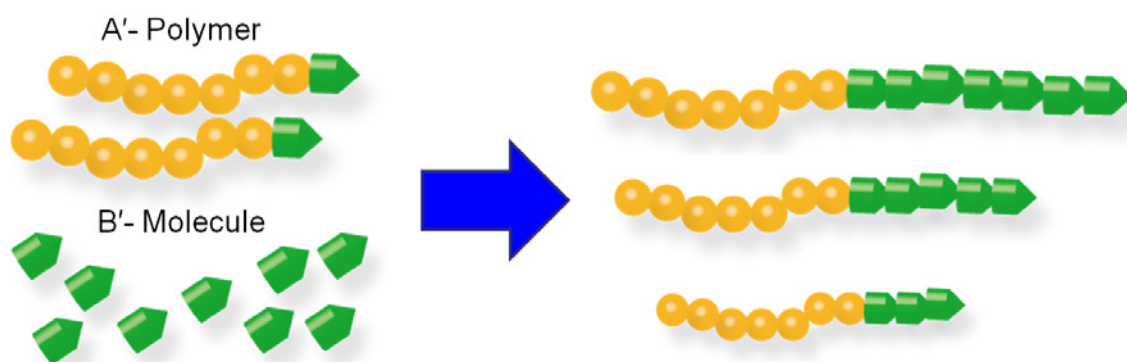


図8 環境応答型超分子ブロック共重合体系の超分子生成機構の概略図.

図9に $N_A = 7$ 及び $N_B = 1$ において得られた構造を示した．この計算では上下及び左右に中立壁面を設け，奥行き方向のみに周期境界条件を設定した．系全体のB成分ビーズの組成比 f_B が (a) $f_B = 0.5$ の場合にはラメラ構造を形成し，(b) $f_B = 0.3$ のように偏っている場合にはシリンダー構造を形成した．

図9の2つの構造を，外部からの境界条件によって制御することを目的とし，図2で中立壁面であった上下壁面を図10(a)に図示したような，シリンダーパターンとラメラパターンが共存しているような境界条件に修飾して計算を行った(図10(b))．ここで，系の大きさ及び系全体のB成分ビーズの組成比 f_B は図9の(a)と(b)を結合した場合と同じに設定した．すなわち $f_B = 0.4$ である．図10(b)より明らかに境界条件に応答したシリンダー構造とラメラ構造が共存する相分離構造が形成されている．また，形成された超分子ブロック共重合体の組成比 f_B^S はシリンダー構造領域では $f_{B,cylinder}^S = 0.38$ であり，ラメラ構造領域では $f_{B,lamella}^S = 0.42$ であった．これより境界条件に応答して超分子ブロック共重合体の組成

比が変化していることが分かった。

図 11 には系全体の B 成分ビーズの組成比 f_B を変化させた場合の結果を示した。組成比 f_B の僅かな変化であれば、境界条件に応答した構造が形成されたが、組成比が大きく変化した場合 ($\Delta f_B \geq 0.1$) には境界条件に対応した相分離構造は形成されなかった。より鋭敏に環境に応答する環境応答型超分子ブロック共重合体系の分子機構設計にはさらなる検討が必要である。

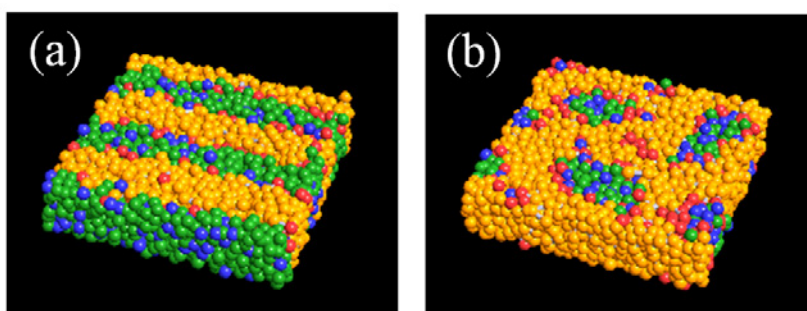


図 9 環境応答型超分子ブロック共重合体系で形成されたマイクロ相分離構造。(a) $f_B = 0.5$, (b) $f_B = 0.3$. シミュレーションパラメータは $N_A = 7$, $N_B = 1$, $\beta\Delta\varepsilon = 20$, $\beta\varepsilon_a = 10$.

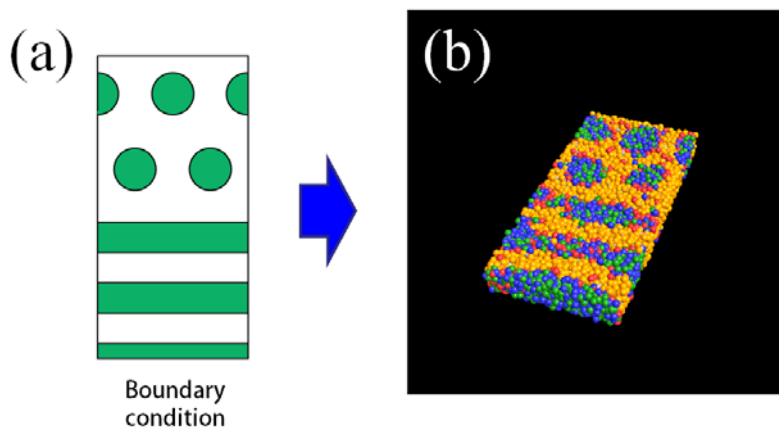


図 10 (a) 上下壁面の設定境界条件。緑色部分を B 成分に修飾。(b) 修飾境界条件下における環境応答型超分子ブロック共重合体系の相分離構造。

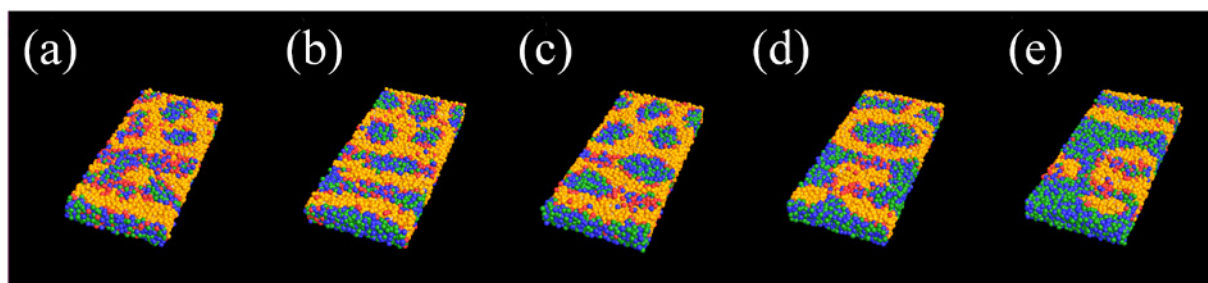


図 11 環境応答型超分子ブロック共重合体系の全体組成比 f_B と相分離構造。(a) $f_B = 0.3$, (b) $f_B = 0.4$, (c) $f_B = 0.42$, (d) $f_B = 0.5$, (e) $f_B = 0.53$.

5 まとめ

本研究では，末端に水素結合基を有し，水素結合によりブロック共重合体を形成することができる水素結合性超分子ブロック共重合体系のマイクロ相分離過程について散逸粒子動力学法 (DPD 法) によるシミュレーションを用いて研究した．両末端もしくは片末端に水素結合基を持つモデルにおいては，水素結合相互作用が小さい場合にはマクロ相分離を起こし，相互作用の大きさがある閾値を超えると共有結合性ブロック共重合体と同様のマイクロ相分離を起こすことが示された．また，水素結合の強さの変化によって構造周期を制御出来ること，構造周期は水素結合密度によって変化することが示された．

更に，一方のブロックが低分子のユニットの水素結合により形成される超分子ブロック共重合体では，境界条件に応答して組成比を変えることができる環境応答性を有することがシミュレーションにより示された．この計算結果に対応する実験的研究の進展が期待される．

文献

- [1] L. Leibler, *Macromolecules*, **1980**, *13*, 1602.
- [2] F. S. Bates, G. H. Fredrickson, *Annu. Rev. Phys. Chem*, **1990**, *41*, 525.
- [3] J. B. Chang, H. K. Choi, A. F. Hannon, A. Alexander-Katz, C. A. Ross and K. K. Berggren, *Nature communications*, **2014**, *5*.
- [4] M. Takenaka, S. Aburaya, S. Akasaka, H. Hasegawa, N. Hadjichristidis, G. Sakellariou, Y. Tada, H. Yoshida, *J. Polym. Sci. : Part B Polym. Phys*, **2010**, *48*, 2297.
- [5] T. P. Russell, R. Jerome, P. Charlier, M. Foucart, *Macromolecules*, **1988**, *21*, 1709.
- [6] A. Noro, H. Yamagishi, and Y. Matsushita, *Macromolecules*, **2009**, *42*, 6335.
- [7] R. D. Groot and T. J. Madden *J. Chem. Phys.* **1998**, *108*, 8713.

ポリビニルアルコール水溶液物性へのけん化度の影響

吉崎 武尚・西野 哲史

T. Yoshizaki, S. Nishino

京都大学 大学院工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

ポリ-*N,N*-ジエチルアクリルアミド¹⁾, ポリエチレングリコール (PEG)²⁾ などの非イオン性高分子の水溶液は下限臨界相溶温度 (LCST) 型, あるいは高温側の上限臨界相溶温度 (UCST) と低温側の LCST を併せ持つ閉環型の相挙動を示す. 高温側における UCST 型の相挙動は, 極性の余り大きくない有機化合物を溶媒とする高分子溶液と同様, 自由エネルギーに対するエントロピー項の寄与が温度上昇に伴って大きくなり相溶性が増すことに起因する. 一方, 低温側における LCST 型の相挙動は, 電気双極子能率の大きい水分子が高分子鎖周りで双極子相互作用エネルギーを小さくするように配向する, いわゆる「水和」によって高分子が安定に分子分散していたものが, 温度上昇によって水分子の運動が激しくなり, 水和が壊れることで貧溶媒化するためだと考えられている.

我々は, LCST 型の相挙動を示す高分子水溶液におけるセグメント間相互作用の温度依存性の調査を目的として, 室温近辺で LCST 型相挙動を示すといわれるポリ-*N*-イソプロピルアクリルアミド (PNIPA) 水溶液に関する詳細な実験的研究を行った³⁻⁹⁾. しかし, 目的に反して, 濁度測定から決めた曇点 (溶液が白濁する温度) 曲線が共存曲線に厳密には対応せず, 水溶液の白濁は PNIPA の会合によるものであり, 我々の研究目的には適さないことが分かった. そこで次に, けん化度が 100% に近いポリビニルアルコール (PVA) の水溶液を対象として調査を行った¹⁰⁾. 室温近辺では, PVA 側鎖間の水素結合により部分的に微細な結晶構造を形成するため, PVA は会合体を形成するが, 温度を上げていくと均一に分子分散する. しかし, 測定可能な範囲でさらに温度を上げて期待する LCST 型の相挙動は観察できなかった.

Rehage¹¹⁾ はけん化度 93.2%, 数平均分子量 $M_n = 1.4 \times 10^5$ の PVA の水溶液が閉環型の相挙動を示し, LCST が 55~60 °C であることを報告している. けん化度が極端に小さくなると PVA は水に不溶となるが, Rehage の結果は適当なけん化度を選べば, PVA は室温で水に溶け, より温度の高い領域で閉環型の相挙動を示すことを示唆している. その結果に基づき, けん化度 79.5% (公称値) の PVA 試料の水溶液について行った光散乱実験の結果を報告する.

2. 原試料の特性解析と測定試料の調製, 光散乱測定

原試料の特性解析 デンカ (株) から提供を受けたデンカポバール® W-24N [重合度 2.4×10^3 (公称値), けん化度 79.5% (公称値)] を原試料として用いた. 原試料を純水に溶かし, アセトン中に再沈澱したものを回収して凍結乾燥した精製原試料の ¹H NMR からそのけん化度とラセモニ二連子の分率を, ¹³C NMR からそのブロック度指数を決定した.

重ジメチルスルホキシドを溶媒として室温で測定した精製原試料の ¹H NMR スペクトルを図 1 に示す. 森谷ら¹²⁾ に従って各ピークの帰属を行った. ヒドロキシル基の ¹H 由来のピーク c と酢酸エステル基の ¹H 由来のピーク d の積分強度比から評価したけん化度は 84% である. また, c に含まれる三つのピークは高磁場側からイソタクチック三連子 (*mm*), ヘテ

ロタクチック三連子 (*mr*), シンジオタクチック三連子 (*rr*) に帰属され, それらの積分強度比から評価したラセモ二連子の分率は 0.52 である.

次に, 2種類の繰返し単位 ($-\text{CH}_2\text{CHOH}-$ と $-\text{CH}_2\text{CHOCOCH}_3-$) の分布に関する情報を得るために測定した重水中 50°C での精製原試料の ^{13}C NMR スペクトルを図2に示す. 森谷ら¹³⁾に従い, ピーク a をヒドロキシル基を置換基に持つ二つの α 炭素に挟まれたメチレン ^{13}C , ピーク b をそれぞれヒドロキシル基と酢酸エステル基を置換基に持つ二つの α 炭素に挟まれたメチレン ^{13}C , ピーク c を酢酸エステル基を置換基に持つ二つの α 炭素に挟まれたメチレン ^{13}C のシグナルとして, 積分強度比から評価したそれぞれのメチレン炭素の相対比率は $0.73_4:0.13_9:0.12_7$ であり, これから評価されるブロック度指数 η は, ブロック共重合体 ($\eta = 0$) とランダム共重合体 ($\eta = 1$) の中間的な値 0.52 である.

測定試料の調製 水を溶媒, アセトン を沈澱剤とする複数段の分別沈澱を行い, 五つの測定試料を得た. 0.2 M KNO_3 を溶離液としたサイズ排除クロマトグラフィーから決定したそれらの測定試料の重量平均分子量 M_w と M_n (いずれも PEG 換算) の比 M_w/M_n の値を表1の第2列に与える. 分別沈澱に用いた水/アセトン系の分別効率は余り高くなかったようで, M_w/M_n は ~ 1.3 以下にすることは困難であった.

光散乱測定 波長 436 nm の垂直偏光を光源とする Fica50 型光散乱光度計を用いて五つの測定試料 PVA10 と PVA15, PVA21, PVA25, PVA31 の水溶液について 25.0°C で光散乱測定を行った. いずれの試料についても, 約 $0.4\text{ wt}\%$ の原液を調製し, 50°C で 48 時間程度攪拌したものを, 2枚重ねの Durapore membrane

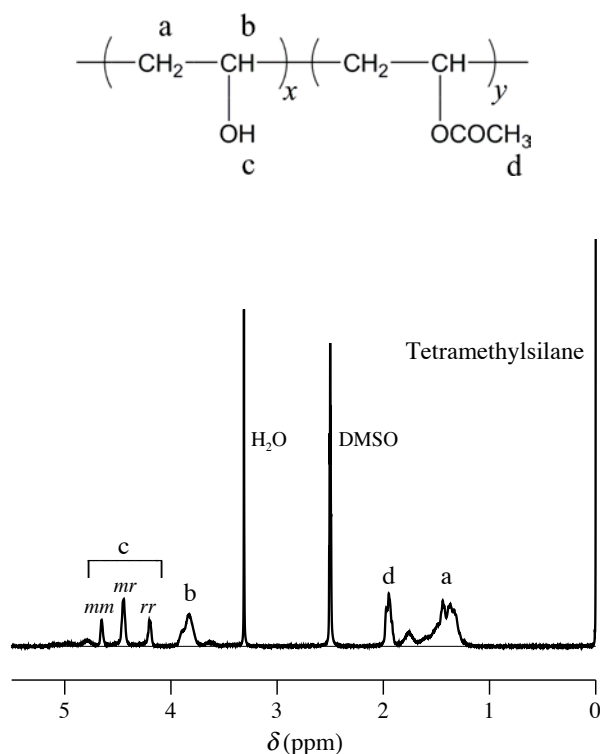


図 1. ^1H NMR スペクトル

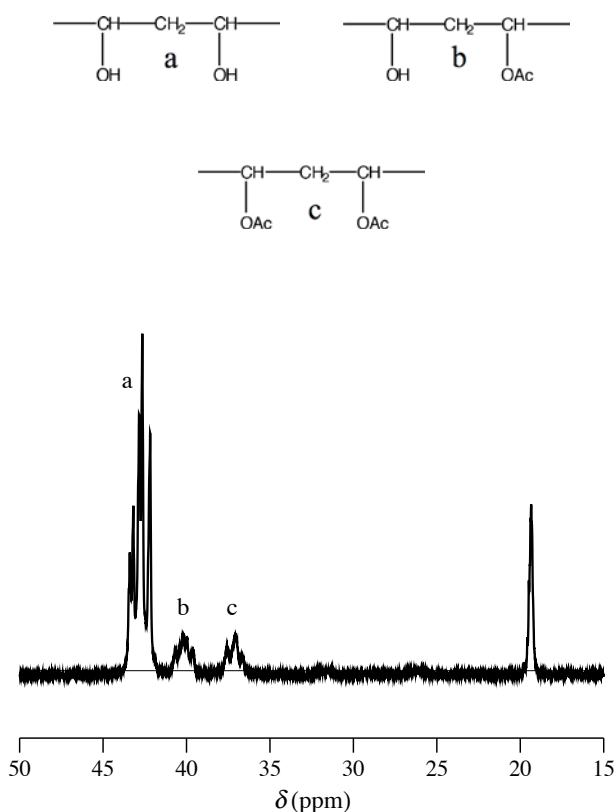


図 2. ^{13}C NMR スペクトル

表 1. 測定試料と光散乱実験結果

Sample	M_w/M_n	$10^{-5}M_w$	$10^{-4}\langle S^2 \rangle$ (\AA^2)	$10^4 A_2$ ($\text{cm}^3 \text{mol/g}^2$)	Ψ
PVA10	1.26	0.95 ₃	2.9 ₆	2.4 ₃	0.032
PVA15	1.30	1.5 ₂	4.1 ₅	1.7 ₀	0.034
PVA21	1.31	2.1 ₃	5.0 ₄	1.4 ₄	0.044
PVA25	1.3 ₂	2.5 ₁	8.2 ₄	2.3 ₄	0.047
PVA31	1.4 ₇	3.1 ₂	8.8 ₂	2.9 ₇	0.082

filter VVPP 0.1 μm を用いて光学精製した. 同様に光学精製した純水でその原液を稀釈して4濃度の測定溶液を調製した. 37.5° から 142.5° の散乱角で測定した散乱光強度を Berry 平方根プロットを用いて解析し, M_w と平均二乗回転半径 $\langle S^2 \rangle$, 第2ビリアル係数 A_2 を決定した. M_w と A_2 の評価に必要な PVA 水溶液の屈折率増分 $(\partial n/\partial c)_0$ の値は, 島津製作所製示差屈折率計 DR-1 を用いて測定した, PVA31 と分子量が最も小さい分別試料 F9 (光散乱測定には使用せず) の 25.0 °C における値の平均 0.145 cm^3/g を用いた.

3. 結果と考察

図3に五つの測定試料の水中 25.0 °C の光散乱測定結果の Berry 平方根プロットを示す. 図中, \circ と \square はそれぞれ $(2Kc/\Delta R_{Uv})_{c=0}^{1/2}$ と $(2Kc/\Delta R_{Uv})_{\theta=0}^{1/2}$ の値を表す. ただし, K は $(\partial n/\partial c)_0$ を用いて書かれる光学定数, c は溶液の質量濃度, ΔR_{Uv} は過剰還元散乱光強度, θ は散乱角である. いずれの試料においても $(2Kc/\Delta R_{Uv})_{c=0}^{1/2}$ 対 θ プロットは低角まで直線に従っているため, 水溶液中に会合体は存在せず, PVA が均一に分子分散していることが分かる.

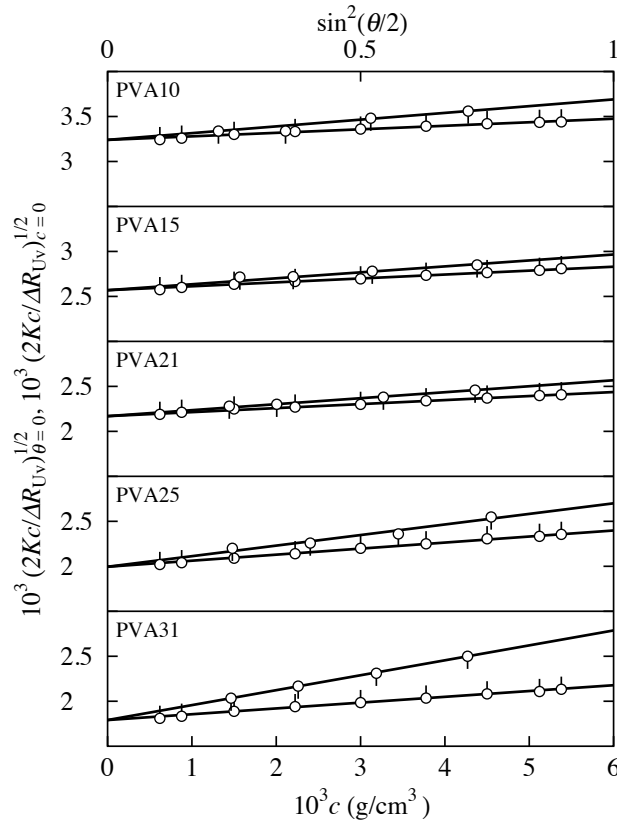


図 3. Berry 平方根プロット

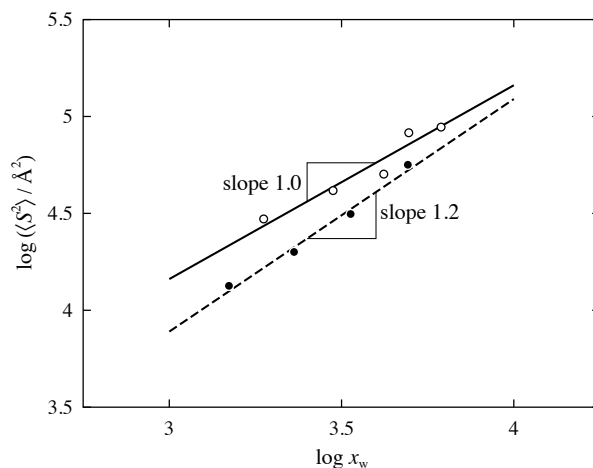


図 4. $\log\langle S^2 \rangle$ 対 $\log x_w$ プロット

図 3 から決定した M_w と A_2 , $\langle S^2 \rangle$ の値をそれぞれ表 1 の第 3, 4, 5 列に与える. また, 次式で定義される貫入関数 Ψ の値を第 6 列に与える.

$$\Psi = \frac{A_2 M_w^2}{4\pi^{3/2} N_A \langle S^2 \rangle^{3/2}}$$

ここで, N_A はアボガドロ定数である. 良溶媒中における高分子量の線状高分子の Ψ は 0.24 程度であるが, 今回得られた値はそれより 1 桁小さく, けん化度 84% の PVA にとって 25.0 °C の水は貧溶媒であることがわかる.

図 4 に, M_w の値とけん化度 84% から計算した重量平均重合度 x_w に対する $\langle S^2 \rangle$ の両対数プロットを示す. 図中, ○ と ● はそれぞれ今回の結果と以前に報告した水中 25.0 °C におけるけん化度 ~ 100% の PVA の結果¹⁰⁾を表す. 以前の結果は, 良溶媒中における屈曲性高分子と同様, 傾き 1.2 の直線 (破線) に従ったのに対し, 今回の結果は, Θ 温度近辺の屈曲性高分子のように, 傾き 1.0 の直線 (実線) に従っているが, これは上の Ψ の結果と矛盾しない. また, 同じ x_w のものを比べると, 今回の結果の方が大きくなっているが, ヒドロキシル基より嵩高い酢酸エステル基の導入により鎖の剛直性が大きくなるためだと考えられる.

文献

- 1) R. Watanabe, K. Takaseki, M. Katsumata, D. Matsushita, D. Ida, and M. Osa, *Polym. J.*, **48**, 621 (2016).
- 2) S. Saeki, N. Kuwahara, M. Nakata, and M. Kaneko, *Polymer*, **17**, 685 (1976).
- 3) 吉崎 武尚, 長 昌史, 日本化学繊維研究所講演集, **66**, 71 (2009).
- 4) 吉崎 武尚, 長 昌史, 日本化学繊維研究所講演集, **67**, 67 (2010).
- 5) T. Kawaguchi, Y. Kojima, M. Osa, and T. Yoshizaki, *Polymer J.*, **40**, 455 (2008).
- 6) T. Kawaguchi, Y. Kojima, M. Osa, and T. Yoshizaki, *Polymer J.*, **40**, 528 (2008).
- 7) K. Kobayashi, S. Yamada, K. Nagaoka, T. Kawaguchi, M. Osa, and T. Yoshizaki, *Polymer J.*, **41**, 416 (2009).
- 8) T. Kawaguchi, K. Kobayashi, M. Osa, and T. Yoshizaki, *J. Phys. Chem. B*, **113**, 5440 (2009).
- 9) T. Ise, K. Nagaoka, M. Osa, and T. Yoshizaki, *Polym. J.*, **43**, 164 (2011).
- 10) 吉崎 武尚, 梶川 達也, 日本化学繊維研究所講演集, **71** (2014).
- 11) G. Rehage, *Kunststoffe*, **53**, 605 (1963).
- 12) T. Moritani, I. Kuruma, K. Shibatani, and Y. Fujiwara, *Macromolecules*, **5**, 577 (1972).
- 13) T. Moritani and Y. Fujiwara, *Macromolecules*, **10**, 1912 (1977).

ホウ素元素ブロックを活用した機能性固体発光材料の開発

中條善樹・田中一生

Yoshiki Chujo, Kazuo Tanaka

京都大学大学院工学研究科高分子化学専攻

無機元素から成る機能性ユニットを“元素ブロック”と呼ぶ¹⁾。本講演では、ホウ素元素ブロックによる発光性材料開発について述べる。一般的な有機発光色素の開発では、分子の剛直性を増加させ、分子運動による失活を抑制することと、平面性を向上することで共役系の伸長を促し、発光過程の電子遷移の確率を増加させるという指針に基づき、分子設計が行われている。この観点から、ヘテロ元素による錯体形成に伴う架橋は、有機分子に発光特性を付与することに有効な戦略である。多価の配位子は錯体形成により固定され、運動性が低下する。したがって、振動失活過程を抑制できる。また、共役系を配位子に組み込むことで、配位金属元素を含んだ電子の非局在化が錯体中で起こり、共役系の伸長に伴い、それらが強い発光を示すことがある。これらの特異な電子状態では、りん光発光や環境応答性など、元素の特性に応じた特異な発光挙動が観測される場合も多い。特に、13族元素で最も原子番号が小さいホウ素を含む錯体では、電子受容性を持つホウ素と電子供与性のユニットを組み合わせることで分子内電荷移動(CT)が起こり、発光を得ることができる。

実際、これまでに様々な種類の発光色素が合成され、特に化学修飾や配位子の設計により発光色や強度変化、ピーク幅、安定性など、様々な性質の調節

法も見出されてきた。これらの優れた発光特性から、有機ホウ素錯体は発光材料作成の際の有用な元素ブロックであり、有機電子素子やバイオプローブの基盤材料として実際に産業応用もされている。

例えば、ボロンジピロメテン錯体(BODIPY、図1)は高い蛍光量子収率に加え、非常に狭い波長領域で発光を示す。この性質に着目し、近赤外発光を示すBODIPY誘導体の合成を行った²⁾。イソインドール骨格から誘導したBODIPY誘導体(BODIN)を用いて、ポリマーを合成した。得られたポリマーにおいて発光

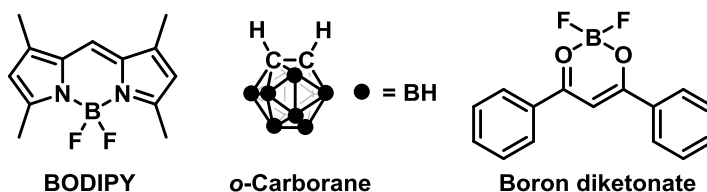


図1. 発光材料として利用可能なホウ素元素ブロックの一例。

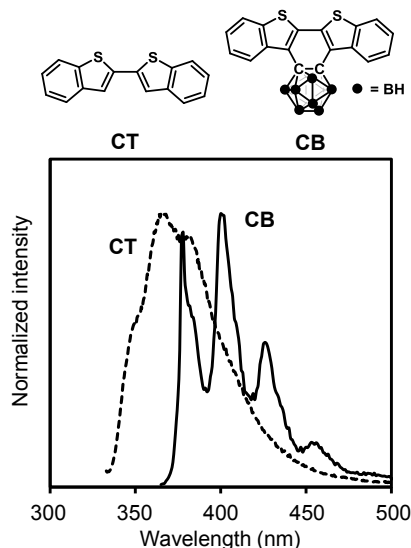


図2. ジベンゾチオフェン修飾カルボランの発光スペクトル。

スペクトルの長波長化がみられ、近赤外領域(758 nm)に強い発光が得られた。さらに蛍光量子収率は 37%となり、特に発光スペクトルにおける半値幅も極めて狭い(24 nm)発光材料を得ることが出来た。すべてのポリマーは UV 光(365 nm)を 1 週間以上継続的に照射しても退色が見られない程高い耐久性を有していることが分かった。さらに、X 線により励起しても、光励起の場合と同様の波長領域に発光がみられたことから、液体シンチレーター材料としての応用も期待される³⁾。

次に、ホウ素のクラスター化合物であり、近年、特異な発光特性を示す元素ブロックである *o*-カルボランについて説明する。*o*-カルボラン(図 1)は正二十面体型のホウ素クラスター化合物であり、三中心二電子結合によって骨格電子がクラスター全体に非局在化している特異な電子構造を持つ。三次元芳香族性を有していると言われており、熱的・化学的に非常に安定な化合物であることが知られている。また、炭素原子上に様々な置換基や機能性分子団の導入が可能であり、共役系中では *o*-カルボラン部位が強い電子求引基として働く。このような特性を持つ *o*-カルボランはリンカーとして剛直な π 平面骨格形成に有用である。例えば、ジベンゾチオフェンを *o*-カルボランにより架橋した分子を作成した(図 2)⁴⁾。紫外-可視吸収スペクトルと発光スペクトルの測定より、ジベンゾチオフェン部位からの振動構造に由来するピークが得られた(図 2)。これは、*o*-カルボランの剛直性に由来して、分子振動が高度に抑制されたためであると説明できる。

このように、耐熱材料としても利用可能な程、高い剛直性を有するカルボランであるが、励起状態では逆に“柔らかい”分子であることを示唆する結果が報告されてきた。2009 年、我々は *o*-カルボランのジフェニル体を高分子主鎖に組み込んだ共重合体を合成した⁵⁾。このポリマーは、THF 等の汎用有機溶媒には可溶であるが、蛍光発光はほとんど示さなかった。一方、ここに貧溶媒である水を添加していくとポリマーの凝集が始まり、興味深いことに水 99%/THF1%の溶媒中ではオレンジ色の強い発光が観測された。量子収率を算出すると、THF 溶液中では 0.02%以下であったが、水 99%/THF1%中では 12%に上昇した。一般の有機発光色素が濃度消光(aggregation-caused quenching, ACQ)のために溶液状態でしか発光しないことに対し、*o*-カルボラン含有ポリマーが示した凝集状態でのみ発光する現象は、凝集誘起型発光(aggregation-induced emission, AIE)と呼ばれ、非常に珍しい特性である。AIE 性が発現した機構としては、以下のような説明ができる。*o*-カルボランの炭素原子上の反結合性軌道に、フェニル基上の π 軌道が重なることができる。その結果、励起状態においてこの反結合性軌道に電子が流れ込み、*o*-カルボランの炭素-炭素間結合が伸びることが量子化学計算の結果より明らかとなっている。溶液中では分子の運動性が高いことから、この部分の伸縮運動により励起状態の失活が促進され、結果として発光が見られない。一方、固体状態では分子運動が抑制され、*o*-カルボランを電子受容性ユニットとした CT 性の発光が見られたと考えられる。すなわち、剛直なはずの *o*-カルボランは、励起状態では逆に“変形”することができ、そのため励起状態の失活過程が生まれ、結果として AIE という特異な光学物性を発現した

といえる。

この *o*-カルボランにおける“励起状態での変形”を制御することで、様々な光学材料を得ることができる。例えば、*o*-カルボランの炭素部位にピレンと種々の置換基を有するカルボラン誘導体を設計した(図 3)⁶⁾。ピレンは代表的な多環芳香族炭化水素であり、構造が単純であるため隣接する置換基による影響を評価しやすいと考えられる。さらにピレン自体が優れた発光特性を有するが、ピレンをカルボランに直接結合させた際、ピレンとの CT 性に由来した強い発光が期待できる。特に、励起状態でも構造変化を起こさないようにあらかじめもう片方の炭素上に嵩高い置換基を導入することで、高効率固体発光が実現できることを期待した。

光学測定の結果を表 1 に示す。全ての分子において THF 溶媒中に比べ貧溶媒である水が過剰な凝集状態においてその発光強度

が増大した。さらに、結晶状態において絶対蛍光量子収率の大幅な増大が観られ、特に **CB-Me**、**CB-TMS** において、固体状態における絶対蛍光量子収率が 99%以上という極めて優れた固体発光特性を示すことが明らかとなった。単結晶中の構造および TD-DFT 計算から、これらの違いはピレン部位の配向度合い、置換基の嵩高さ、置換基のフロンティア軌道に対する相互作用の有無に起因することが示唆された。さらにこの現象はアントラセン修飾 *o*-カルボランでもみられ、一般性を有する現象であることが示唆されている⁷⁾。

次に、*o*-カルボランが示した“励起状態での変形”について、より一般的なホウ素錯体でも同様に“変形”を誘導し、AIE 性を発現させることを目指した。このようなホウ素錯体を“AIE 性元素ブロック”とし、様々な機能性固体発光性材料の開発につなげていくことと、特に、*o*-カルボランを高分子主鎖に導入した場合、共役系は途切れてしまうが、AIE 性ホウ素元素ブロックを得ることで、AIE 性共役系高分子を開発することを目的として分子設計を行った。

ホウ素ジケトネート錯体はホウ素錯体の中でも安定で簡便な構造を持つものの一つであり、高い発光の量子収率を示すものが多い⁸⁾。一方、他の一般的な有機発光色素と同様に ACQ を示すことから、固体状態では発光がみられない場合が多い。したがって、ホウ素ジケトネート錯体を高分子化し薄膜を調製しても、効率の良い

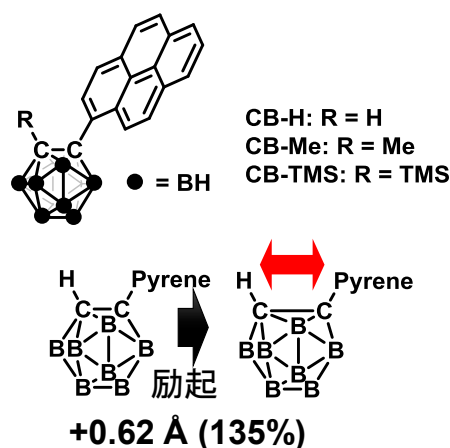


図 3. ピレン修飾カルボランの構造と量子化学計算により得られた励起状態での最安定構造。

表 1. ピレン修飾カルボランの光学特性

R	THF		water		crystal	
	λ_{em} (nm)	Φ_{PL}	λ_{em} (nm)	Φ_{PL}	λ_{em} (nm)	Φ_{PL}
H	631	0.16	596	0.40	618	0.80
Me	611	0.41	584	0.60	545	0.99
TMS	632	0.19	599	0.73	579	0.99

発光材料を得ることは難しい。そこで、有機ホウ素錯体が持つ優れた発光特性を固体状態でも得るために、このホウ素ジケトネート錯体を基盤として AIE 性の分子に変換することを試みた⁹⁾。ホウ素と配位結合を形成している酸素原子のうち片方を窒素原子に入れ替えたホウ素ケトイミネート錯体を設計した(図 4a)。ホウ素-酸素間の結合に比べ窒素との結合は弱いため、溶液中では分子運動により励起エネルギーの失活が起こると考えられる(図 4b)。一方、固体状態では錯体の構造が固定されるため、振動失活が抑制されると予想される。さらに、窒素上の置換基により凝集状態で ACQ の原因となり易い分子間相互作用を阻害することが可能となるため、発光が回復すると期待した。これらの考えの元、ホウ素ケトイミ

ネート錯体分子を実際に合成し、*o*-カルボランの場合と同様に THF 中に貧溶媒である水を添加し、凝集形成を促進したところ、試料に白濁がみられるにつれて発光強度の増強がみられた(図 4c, 4d)。これらの結果から、ホウ素ケトイミネートは AIE 性を示すことが分かった。

ここで得られた AIE 性のホウ素ケトイミネート錯体を共役主鎖に有する高分子を作成し、光学特性を調べた¹⁰⁾。その結果、小分子と同様に AIE 性を示すことが明らかとなった。これらのことから、ホウ素ケトイミネート錯体は AIE 性元素ブロックとして利用可能であり、それらを含む高分子でも AIE 挙動を観測することができた。最後に AIE 性共役系高分子の応用として、プラスチックフィルム型のセンサーを開発したので、それらについて説明する(図 5)¹¹⁾。上述のホウ素ケトイミネート錯体においてスルフィド基を窒素上のフェニル基に導入した分子をモノマーとして、フルオレンとの共重合体を作成した。得られた共役系高分子は 550 nm に極大発光波長を有する AIE 性の物質であった。ここに、生体中で活性酸素種の一つで

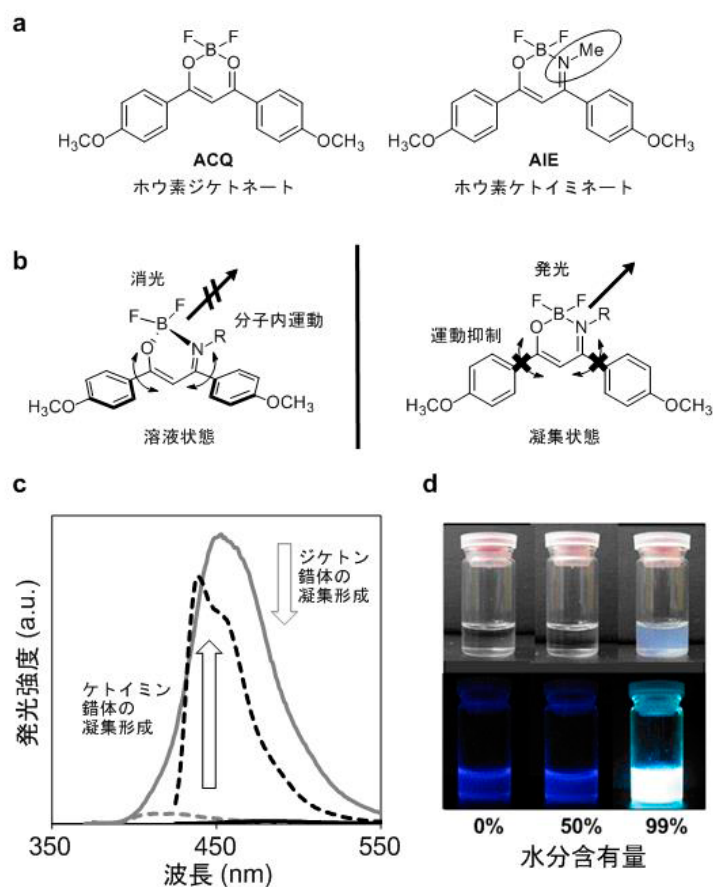


図 4. (a) ホウ素ジケトネートとケトイミネート錯体の化学構造。(b) ホウ素ケトイミネート錯体における AIE 性発現の分子機構。(c) THF 溶液中と貧溶媒である THF/水(=1:9)混合溶液中(凝集状態)でのスペクトル変化と(d)写真。

ある過酸化水素を作用させると、スルフィド基が酸化され、スルホキシドに変換される。この酸化反応に伴い、置換基が電子供与性から求引性に変化する。

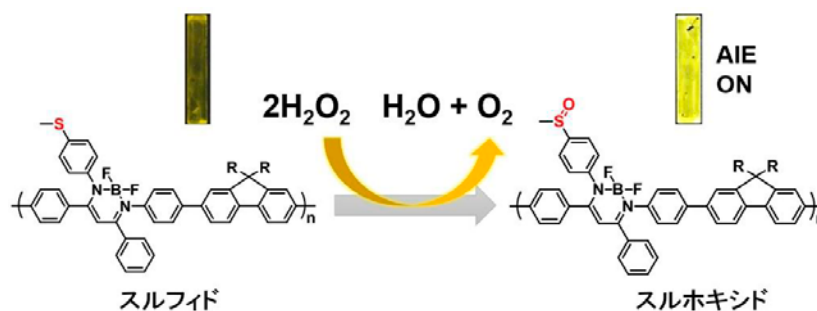


図 5. AIE 性高分子を用いた過酸化水素検出のためのプラスチックセンサーの作動機構の模式図。

その結果、ホウ素ジイミネート部位の電子受容性が高まり、共重合ユニットであるフルオレンとの間での電子的相互作用が強まり、結果的に AIE 強度が高まる。最終的に、フィルム状態のポリマーを浸すだけで、発光強度を高めるセンサーを開発することができた。このような材料は、簡便に対象物を検出することや、特に樹脂材料に微量に添加しておき、それらの材料の劣化を発光によって調べることで、早期検出に役立つと期待できる。

冒頭で述べたように、これまでの研究では有機分子の共役系の剛直性を向上するためにホウ素が使われてきた。一方、我々は逆にホウ素錯体により共役系を“柔らかく”することもでき、その発想で分子設計を行うことにより AIE 性元素ブロックとなる種々のホウ素錯体を見出した。これらを利用することで、高効率固体発光材料、メカノフルオロクロミズムなどの固体状態での刺激応答性、AIE 性共役系高分子とフィルム型センサーなど、数々のユニークな固体発光性を持つ“元素ブロック高分子材料”を開発するに至った。これらの一連の研究は、ホウ素のみならずヘテロ元素含有共役系分子の新しい視点に基づく研究分野を拓くものでもあり、さらに機能のエッセンスを一つのユニット内に詰め込み、“元素ブロック化”することができれば、様々な機能性材料を生み出すことができるという、“元素ブロック高分子材料”の考え方の有効性を示す一例としても見る事ができる。引き続き、ホウ素でできた特に柔らかい方の「賢者の石」について、研究を進めていきたい。

謝辞

本研究は、文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究「元素ブロック高分子材料の創出」(領域番号 2401)/課題番号 24102013 を受けて行われた。

参考文献

- 1) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2015**, 88, 633; 2) *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2013**, 51, 1726; 3) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, 25, 5331; 4) *Tetrahedron Lett.* **2016**, 57, 2025; 5) *Macromolecules* **2009**, 42, 1418; 6) *Org. Lett.* **2016**, 18, 4064; 7) *Angew. Chem. Int. Ed.* DOI: 10.1002/anie.201609656; 8) *NPG Asia Mater.* **2015**, 7, e223; 9) *Chem. Eur. J.* **2013**, 19, 4506; 10) *Macromolecules* **2014**, 47, 2268; 11) *Polym. Chem.* **2015**, 6, 5590.

環状βペプチドナノチューブを足場に用いた芳香族官能基の配列制御

木村俊作・宇治広隆・田畑有基

Shunsaku Kimura, Hirotaka Uji, Yuki Tabatga

京都大学大学院工学研究科材料化学専攻

1. 緒言

有機分子間の非共有結合性相互作用を介して形成される分子集合体は、機能性材料としての応用を目指して盛んに研究が行われている。なかでもペプチドは、アミノ酸の一次配列に基づいた高次構造の制御が可能であるため、精密に構造が制御された分子集合体の作製に有用であると考えられる。そのような分子集合体の一つとして、環状ペプチドがアミド基の分子間水素結合によってスタックして形成される集合体、ペプチドナノチューブがあげられる。ペプチドナノチューブは、カーボンナノチューブ等と比べて、チューブの直径を制御でき、また機能性部位の化学修飾が容易に行えることから、より高機能な分子材料になると期待される。また、構成要素にβ-アミノ酸を用いることで、アミド基がチューブの長軸に沿って平行に、また同一方向に並ぶため大きなダイポールモーメントが形成される。分子由来の分極であるダイポールは、静電相互作用に基づく強い相互作用を生じ、また、局所的に強い電場を生じさせることから、分子素子において機能化に有用な要素になると期待される。我々の研究室では、分子ダイポール工学を基盤とする分子システムの構築を目指し、環状βペプチドナノチューブの特性解析と機能化について研究してきた。¹⁻³⁾本稿では、ペプチドナノチューブの側鎖に導入した芳香族官能基の配列制御と基板上での配向固定化に着目し、展開してきた研究の概要を述べる。

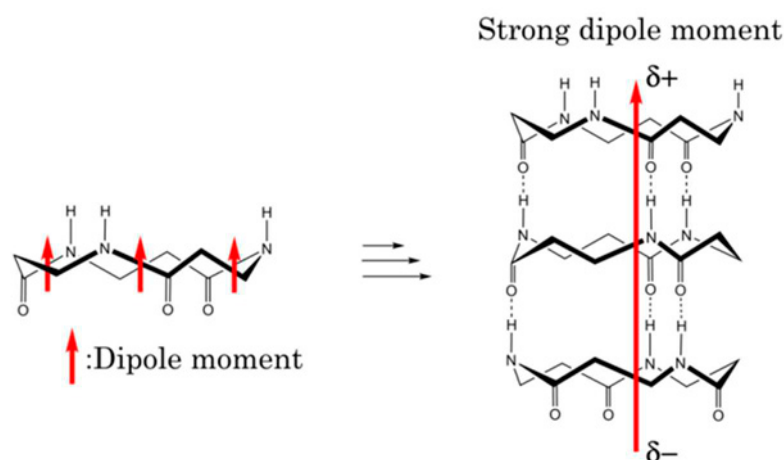


図1 環状βペプチドナノチューブとダイポールモーメント

具体的には、環状 β ペプチド3量体の側鎖にテトラチアフルバレン(TTF)を結合し、調製したペプチドナノチューブを介した電子的特性、⁴⁾環アミド基の並びを一つだけ反対にすることで誘導される側鎖ナフチル基の配列制御、⁵⁾蒸着法を用いたペプチドナノチューブの基板上での配向制御、について検討を行った。

結論を先に述べると、TTFを導入することでp型半導体特性と同様の電流-電圧特性を示すペプチドナノチューブを調製することができた。このp型半導体特性は、TTF部位のHOMOの準位から説明でき、また、TTF部位がナノチューブの軸に対して規則正しく配列することで現れると推察している。一方、環アミド基間の水素結合形成を制御することで環状分子のスタッキングの様式が一様となり、側鎖ナフチル基が配向していることを実験的に示すことができた。蒸着法においては、金基板上に自己組織化単分子膜(SAM)を調製し、SAM表面上に導入した官能基(グアニジウム基)と環アミド基との間で水素結合を形成させることと、溶媒アニールによるペプチドナノチューブの再組織化を促進させることにより、ペプチドナノチューブのダイポールの向きの制御に成功した。

2. 環状 β ペプチドナノチューブの調製

環状 β ペプチドナノチューブの基本的な調製方法を図2に示す。環状 β ペプチドを良溶媒に溶解させ、貧溶媒の蒸気拡散により結晶を調製した。ナノチューブの解析は、まず、偏光顕微鏡観察及びIR測定を行い、チューブ形成を確認した。続いて、CD測定によりアミド基と側鎖官能基の配向について評価した。また、TEM測定を行い、電子線回折像から環状 β ペプチド骨格の配向とスタッキング距離を評価した。

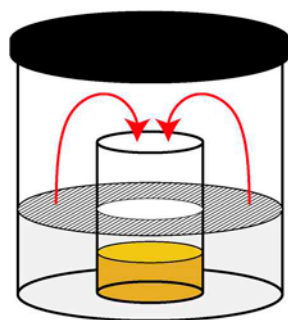


図2 蒸気拡散法を用いたペプチドナノチューブの調製

3. 環状ペプチドナノチューブの電流電圧特性とコンデンサ特性⁴⁾

図3に示すように導電性AFMを用いて、金基板上にインキュベートした環状 β ペプチドナノチューブの電子的特性を解析した。環状 β ペプチドにテトラチアフルバレン(TTF)を導入し、ペプチドナノチューブを調製した。

TEM の電子線回折と CD 測定から TTF 部位が 3 回らせん対称で配向していることが明らかとなった。これは環状 3 量体ペプチドの 1 残基にのみ TTF が修飾されていることと、TTF 同士の立体障害によるものと考えている。

20 nm の高さを有するペプチドナノチューブを金基板上にインキュベートし、続いて AFM 測定を行った。導電性 AFM を用いて電流電圧特性を評価したところ、正のサンプルバイアスを印加した際には電流はほとんど流れず、電流値は電圧に正比例して増加した。一方で、負のサンプルバイアスを印加すると電流が印加電圧の 2.6 乗に比例して増加する非対称な電流-電圧特性が得られた。この特性は、金属と p 型半導体の界面における整流特性と同様である。側鎖に用いた TTF 部位は、HOMO 準位の量子化学計算結果から p 型半導体特性を示すことが示唆され、TTF 部位により p 型半導体特性が得られたと考えている。次に、一定電圧を印加したところ電流値にフラクチュエーションが見られた。ヒストグラム解析をしたところ、電圧印加時間の大半は 2-3 pS であり、ほとんど電流を流さない状態であり、一部で 20-40 pS の比較的高いコンダクタンス状態を取ることが明らかとなった。この電流が良く流れる状態は負電圧を印加した際にのみ観察されたことから、TTF 部位にキャリアが形成されることにより生じていると考えている。

一方で、電圧印加時と放電時の充放電電流を測定することで、ペプチドナノチューブのコンデンサ特性を評価した。電荷量-電圧特性からペプチドナノチューブは 10 pF 程度のコンデンサとして振る舞うことが示された。現在、膜厚依存性や他のペプチドナノチューブを用いた測定を行い、詳細に検討を行っている。

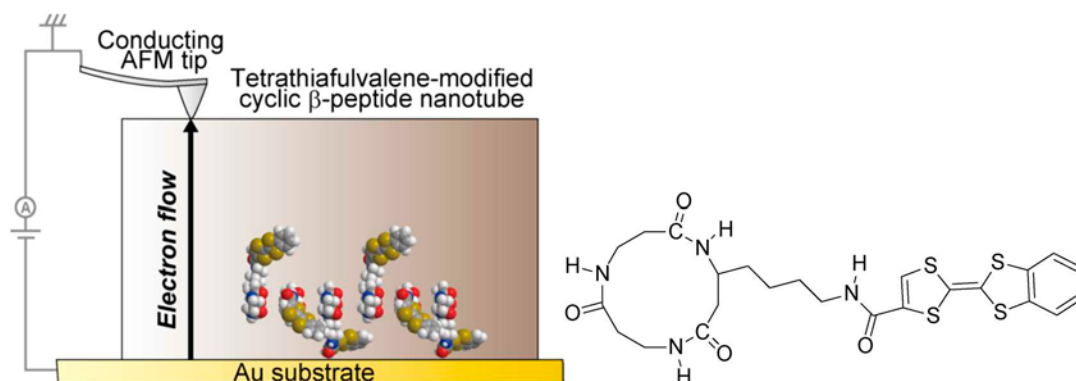


図 3 環状ペプチドナノチューブの導電性 AFM 測定のイラスト

4. 芳香族官能基の配列制御⁵⁾

環状ペプチドの側鎖には容易に機能性官能基を導入することができる。しかし環状βペプチドがペプチドナノチューブを形成した際、図 4 下図のように側鎖官能基はランダムに突き出すと考えられる。ペプチドナノチューブの機能化を図るためには、側鎖官能基間の相互作用が重要であり、側鎖の配向

制御が課題となる。過去に側鎖官能基間の相互作用を用いた側鎖配列の制御がなされてきたが、新たなアプローチとして、環骨格の設計に基づいた側鎖配列の制御を試みた。

図 4 上図に示すように、エチレンジアミン-コハク酸をβアラニン二量体の代わりに導入することで、環アミド基の N 原子と C 原子の順番が 1 か所だけ入れ替わる分子設計を行った。これにより環平面に対して垂直に配向しているアミド基が 180 度反転するため、スタッキングする際の環の向きによって取れる水素結合の数が増える。水素結合が最大数形成されるようにスタッキングするためには、環状ペプチドが同じ向きで重なる必要があるため、官能基側鎖は同一方向に突き出すことになる。CD 測定において、分散状態である TFE 溶媒中では側鎖ナフチル基同士の相互作用を示す特異的なシグナルは見られなかったが、ペプチドナノチューブが形成する MeOH 溶媒中では新たに側鎖ナフチル基同士のエキシトンカップリングが見られ、側鎖官能基同士の相互作用が確認できた。また励起子キラリティー理論によりナフチル基は左巻きらせん状に並んでいることが分かった。これは、環状ペプチドが少しずつずれてスタッキングすることに起因し、ナフチルβアラニンの光学異性を考慮した際のずれの方向と一致している。これらの結果からエチレンジアミン-コハク酸導入による側鎖官能基配列制御が達成された。

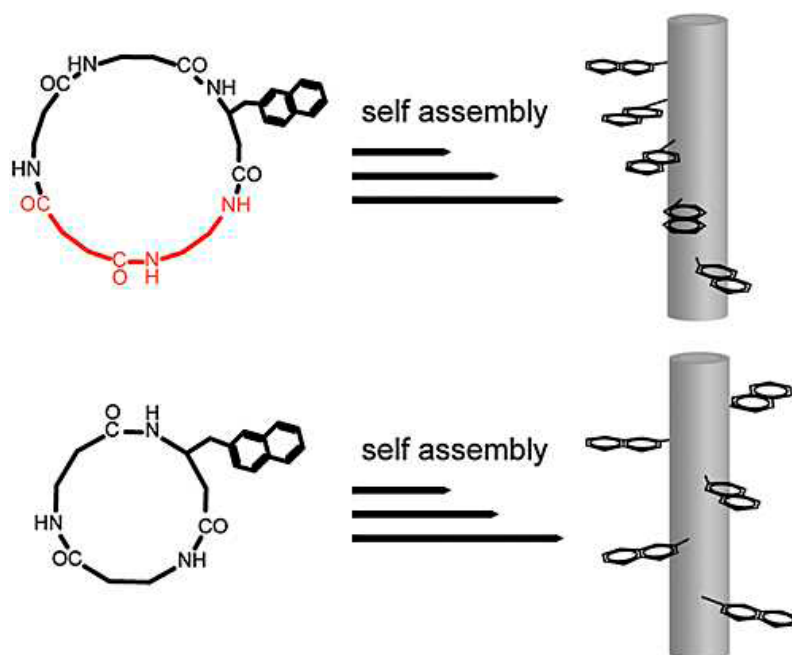


図 4 各環状βペプチドのペプチドナノチューブ形成の際の側鎖の配列のイラスト

5. 環状ペプチドナノチューブの基板上での配向制御

ナフチル基を持つ3量体の環状βペプチドを用いて蒸着法による基板固定化を行い、ペプチドナノチューブの垂直配向薄膜の作製に成功した。図 5 左

図に示すように環状ペプチドの蒸着は有機分子蒸着用エバポレータを用いて 2.0×10^{-7} Torr の圧力で行った。基板にはガラス基板に Cr 200 Å と金 2000 Å を蒸着したものをを用いた。得られた蒸着膜の解析は、まずエリプソメトリー測定により膜厚を求めた。続いて、FT-IRRAS 測定を行い環アミド基の基板法線方向からの傾き角 γ を求め、ペプチドナノチューブの基板上での配向を評価した。

230 度の蒸着温度で 1 時間蒸着を行うと 25-30 Å の蒸着膜が得られた。IRRAS 測定からアミド基が均一な水素結合を形成していることが示唆され、基板上でペプチドナノチューブが形成されていると考えられる。一方で、傾き角は 68 度と求まり、ペプチドナノチューブは基板上で横たわるような形で固定化されていることが分かった。

そこで、自己組織化単分子膜 (SAM) を金基板上に調製し、ペプチドのアミド基と水素結合を形成させることでペプチドナノチューブの垂直配向薄膜の形成を検討した。図 5 右図に示すように金基板表面上にアミノ基、カルボキシル基、グアニジウム基を導入した SAM を調製し、環状ペプチドが 600 Å 蒸着された蒸着膜を調製した。蒸着直後のペプチドナノチューブの傾き角はいずれの基板でも 70 度以上であり、基板に平行な配向で固定化されていることが確認された。

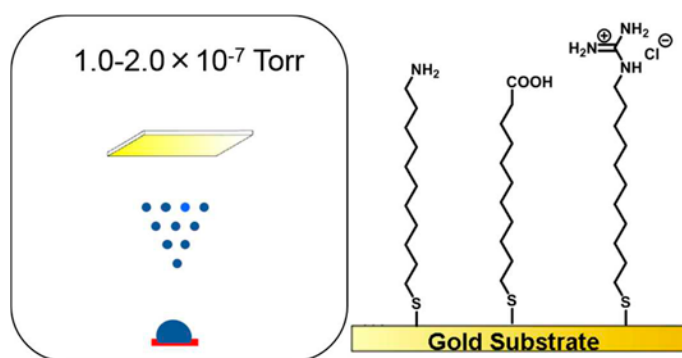


図 5 蒸着法による環状ペプチドの基板固定化のイラスト

次に得られた蒸着膜を溶媒の飽和蒸気処理することでペプチドナノチューブの配向への影響を検討した。クロロホルム蒸気では配向に変化は見られなかったが、メタノール蒸気を用いたところ傾き角が 47 度まで改善し垂直配向に配向制御できることを見出した。良溶媒である HFIP を用いたところ、再度平行配向に変化したことから、溶解度が重要なファクターとなっていると考えている。詳細なメカニズムは定かではないが、溶媒によってチューブ構造を保ったまま結晶化が促進され、ナノチューブのバンドルが形成すると、バンドルのアスペクト比が小さいため基板上で垂直方向を向くと考えている。実際に SEM 観察を行うと溶媒アニール後には、新たに直径 100-数百 nm のドメインが点在して形成されていることを確認した。

KFM 測定から各 SAM を用いた環状ペプチド蒸着膜の表面電位を測定することでペプチドナノチューブのダイポールの配向について解析した。アミノ基を有する SAM では、ペプチドの存在する場所は基板よりも正の表面電位をもつことがわかり、40°Cにおける高さあたりの表面電位は 0.48 mV/nm であった。100°Cにおいても同様に正の表面電位を示し、高さあたりの表面電位は 0.52 mV/nm とほとんど変わらない結果になった。温度依存性を詳しく解析したが、明確な温度依存性が見られなかったことから、ペプチドナノチューブのダイポールはランダム配向であると考えられる。カルボキシル基を有する SAM についても同様の結果であった。一方でグアニジウム基を有する SAM では、0°Cにおける高さあたりの表面電位は 1.43 mV/nm、100°Cにおいては 0.75 mV/nm であった。また、温度依存性を詳細に解析したところ、温度が高くなるにつれて表面電位が小さくなる焦電性を示すことが分かった。このときの焦電係数は $\rho_T = 0.44 \mu\text{C}/\text{m}^2$ であった。このことからグアニジウム基を用いることでペプチドナノチューブのダイポールの向きを上向きに制御することができることが明らかとなった。

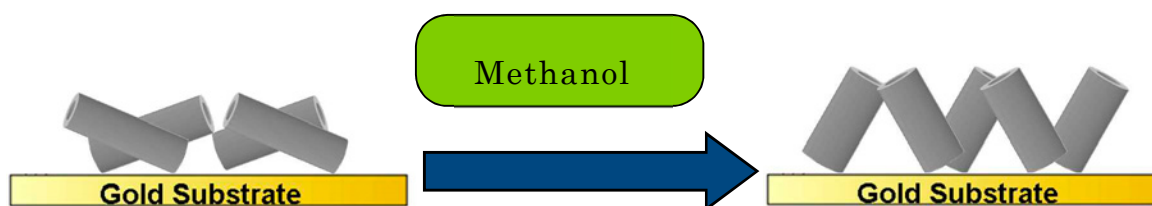


図 6 溶媒アニール法によるペプチドナノチューブの配向制御

参考文献

1. Fujimura, F.; Fukuda, M.; Sugiyama, J.; Morita, T.; Kimura, S., Parallel assembly of dipolar columns composed of a stacked cyclic tri-beta-peptide. *Org Biomol Chem* **2006**, *4* (10), 1896-1901.
2. Hirata, T.; Fujimura, F.; Kimura, S., A novel polypseudorotaxane composed of cyclic beta-peptide as bead component. *Chem Commun* **2007**, (10), 1023-1025.
3. Ishihara, Y.; Kimura, S., Four-Peptide-Nanotube Bundle Formation by Self-Assembling of Cyclic Tetra-beta-Peptide Using G-Quartet Motif. *Biopolymers* **2013**, *100* (2), 141-147.
4. Uji, H.; Kim, H.; Imai, T.; Mitani, S.; Sugiyama, J.; Kimura, S., Electronic Properties of Tetrathiafulvalene-Modified Cyclic-beta-Peptide Nanotube. *Biopolymers* **2016**, *106* (3), 275-282.
5. Tabata, Y.; Mitani, S.; Kimura, S., Peptide nanotube aligning side chains onto one side. *J Pept Sci* **2016**, *22* (6), 391-396.

精密重合の展望：連鎖制御高分子

大内 誠・寺島 崇矢・澤本 光男

Makoto Ouchi, Takaya Terashima, and Mitsuo Sawamoto

京都大学 大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

DNA やタンパク質などの生体高分子は、同じ高分子でありながら合成高分子とはその機能形態が全く異なる。両者の違いの根幹は、高分子鎖を形成するモノマー単位の並び方、すなわち配列（シーケンス）にある。例えば生体高分子では配列が完全に制御され、配列に基づいて折りたたみ構造や集合構造が決まる。特にタンパク質は20種以上のアミノ酸モノマーを用いながら、完全に配列を制御し、配列がタンパク質の構造を決定し、特定のアミノ酸が協調することで機能を発現している。合成高分子に対しては、リビング重合や立体特異的重合の発展により、長さ（分子量）、末端基、側鎖の向きが制御されてきたが、モノマー単位の並び方、すなわち配列の制御は難しく、高分子合成分野で残された最後の課題と言える。¹

例えば、A, B, C という3種の側鎖を有するモノマーを用いて得られる配列制御共重合体をランダム共重合体、ブロック共重合体と比較すると、集合体に依存しない自立構造や、側鎖置換基の平均や足し合わせでは無い、協調的な新しい機能の発現が期

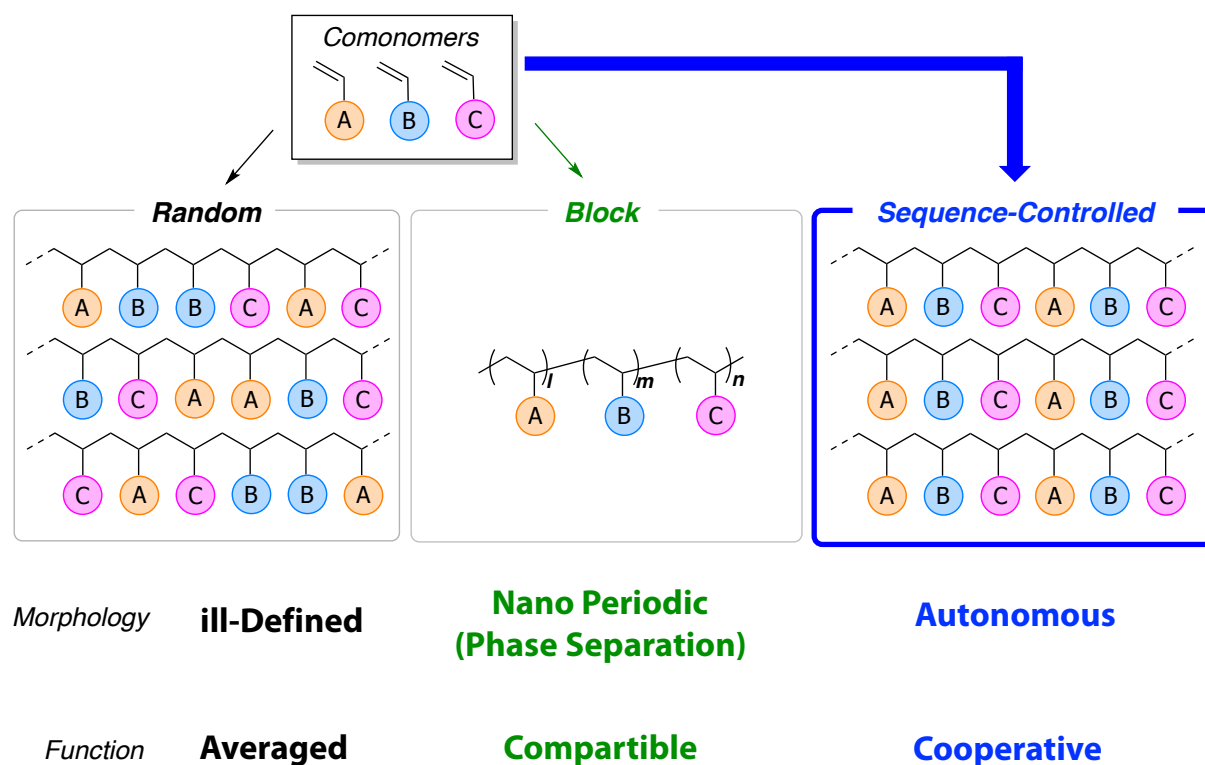


図1 配列制御共重合体：ランダム共重合体・ブロック共重合体との比較

待される (図1)。リビングラジカル重合に代表される精密重合が進展し、さらに様々な用途で機能性高分子の重要性が増したこともあり、合成高分子に対する配列制御に関する研究がここ数年の間に活発化しているが、その制御は未だに難しい。

我々はこれまでに、多くのモノマー誘導体が存在すること、側鎖による機能発現が期待されることから、ビニルポリマーの配列制御に着目して研究を展開してきた。特に独自に開発した「金属触媒リビングラジカル重合」²をベースとして用い、開始剤、モノマー、触媒を設計することで配列を制御する手法を研究してきた。ここではその最近の成果を紹介する。

2. 選択的開始反応を制御した交互共重合：交互配列解析

A, B 二種類のモノマーが存在する時に、開始ラジカル種や成長ラジカル種がどちらのモノマーに反応するか、という選択性を制御するのは難しい。もしこの選択性を制御することができれば配列制御につながる。一方、モノマーの電子的な性質でこの選択性が制御される重合が知られており、それが交互共重合である。スチレンやビニルエーテルなどの電子リッチモノマーと無水マレイン酸やマレイミドなどの電子プアーモノマーを組み合わせると、ABABAB・・・と交互成長が起こり、交互共重合体

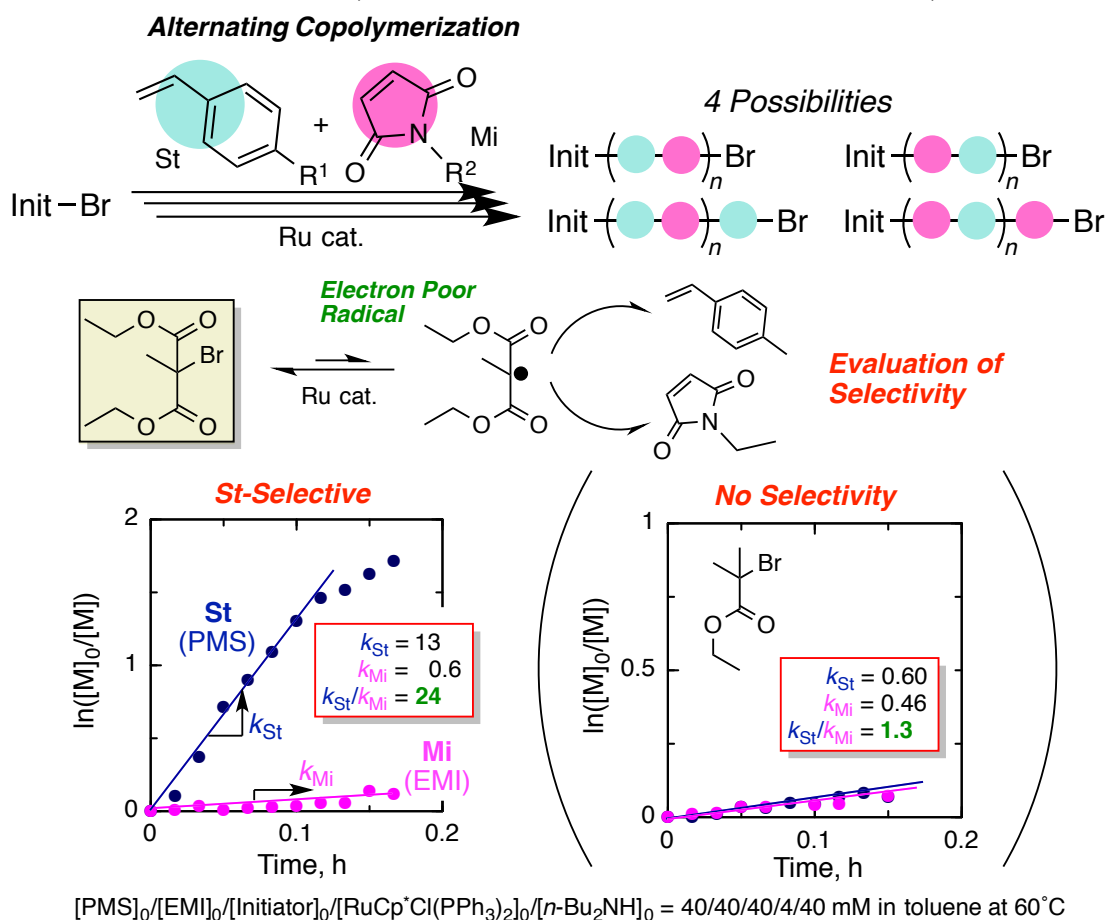


図2 ルテニウム触媒を用いるスチレン誘導体とマレイミド誘導体の交互共重合：マロネート型開始剤のスチレン選択性評価

が得られる。

我々はこの交互共重合を基軸とし、より高度な配列制御や配列に基づく機能発現を検討してきた。ここで、得られる共重合体の交互性を解析することが重要になるが、その解析はそれほど単純ではない。従来は、共重合組成曲線を描いて、モノマー組成とは無関係に 1:1 の組成比が得られることから交互共重合を証明したが、完全な証明とは言えなかった。

一方、末端基を制御できるリビング重合を用いると、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析 (MALDI-TOF-MS) による解析が期待されるが、開始剤のモノマー選択性を制御しなければ、ピークシリーズが多くなり、解析が困難になる (図 2)。最近我々は、有機ハロゲン化合物 (Init-X : X = ハロゲン) を開始剤とする金属触媒リビングラジカル重合を用い、ハロゲン化合物、スチレン誘導体、マレイミド誘導体の 1:1:1 ラジカル付加反応を検討し、用いる開始剤によって、開始剤の選択性が異なることを見出した。³特に、マロネート型開始剤を用いると、スチレン誘導体への選択性が著しく高く、マロネート由来の開始ラジカル (Init•) は選択的にスチレンに付加し、開始末端と隣接するユニットが明確な交互共重合体を合成できることを見出した。これにより、MALDI-TOF-MS で得られるピークシリーズが単純化され、仕込み比や条件による交互配列の乱れを調べることが可能となった (図 3)。

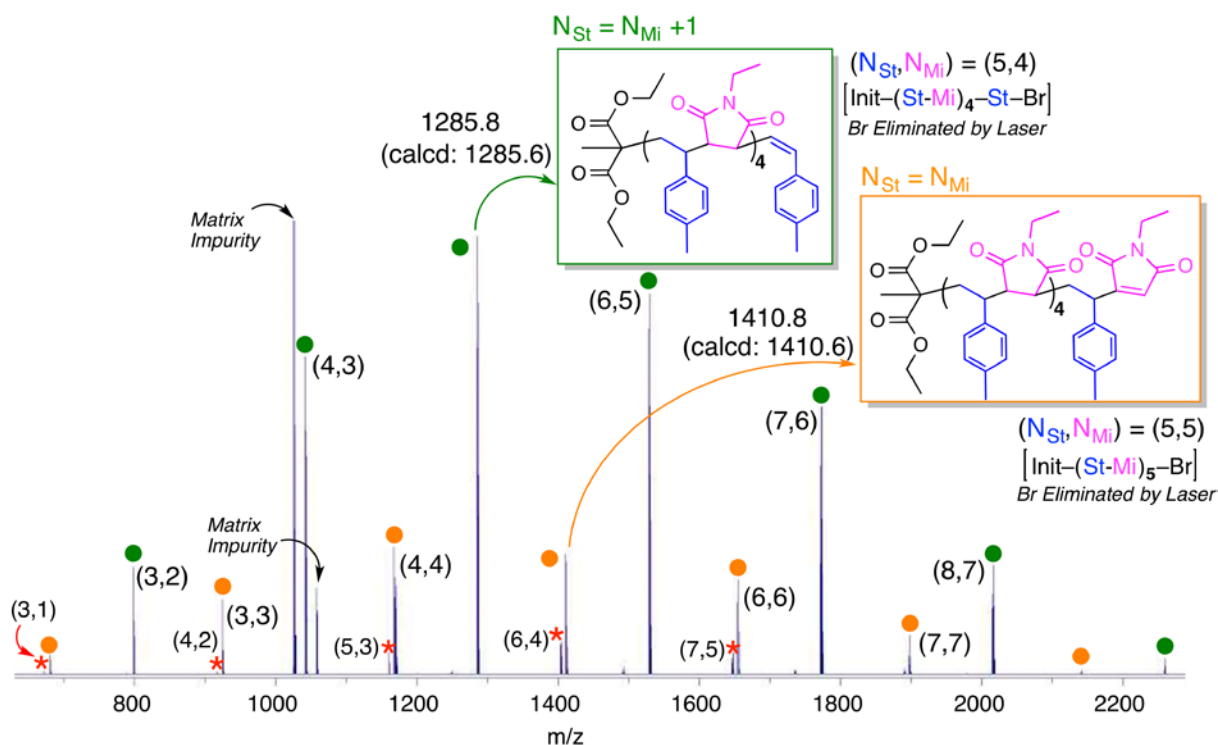


図 3 マロネート型開始剤を用いたパラメチルスチレンとエチルマレイミドの共重合で得られた共重合体の MALDI-TOF-MS による交互配列解析

3. 環化ラジカル付加反応の繰り返しによる配列制御

これまでに特定モノマーを認識する部位を近傍に組み入れた鋳型開始剤を用い、認識されるモノマーが選択的に開始剤とラジカル付加することを明らかにしてきた。これを複数モノマーの認識に展開できれば、配列制御に近づくと期待したが、この手法では、配列制御のために配列の制御された鋳型が必要になること、認識部位と生成物の構造マッチングを緻密に設計する必要がある。このようにあらかじめモノマーを並べておき、そのまま重合させるのは生成物の構造が安定化しない限り、実現が難しい。

天然のタンパク質合成機構に目を向けると、鋳型上にアミノ酸をあらかじめ並べてつなげるのではなく、成長鎖の末端のみ鋳型を利用して、配列を制御している。我々はこの機構に着想を得て、成長末端の一回の付加反応に対してのみ、鋳型による環化反応で付加反応を制御し、生成する環状構造に対して、切断・再生できる仕組みを組み込むことで、環化反応を繰り返す手法を考案し、検討した。⁴

ここで、切断・再生できる結合の設計が重要になる。分子が攻撃して置換するタイプの置換反応として、N-ヒドロキシスクシンイミドのエステル結合 (NHS エステル) と 2-メルカプトピリジンのジスルフィド結合 (PySS) に着目した。NHS エステル結合は一級アミンと反応し、アミドと NHS を与える。この NHS の水酸基に酸ハライドを反応させることで、NHS エステルを再生できる。同様に、PySS は一級チオールと反応し、2-メルカプトピリジンとジスルフィドを与え、2-メルカプトピリジンのチオールに活性化されたジスルフィド化合物こうして、リビングラジカル重合の開始剤と

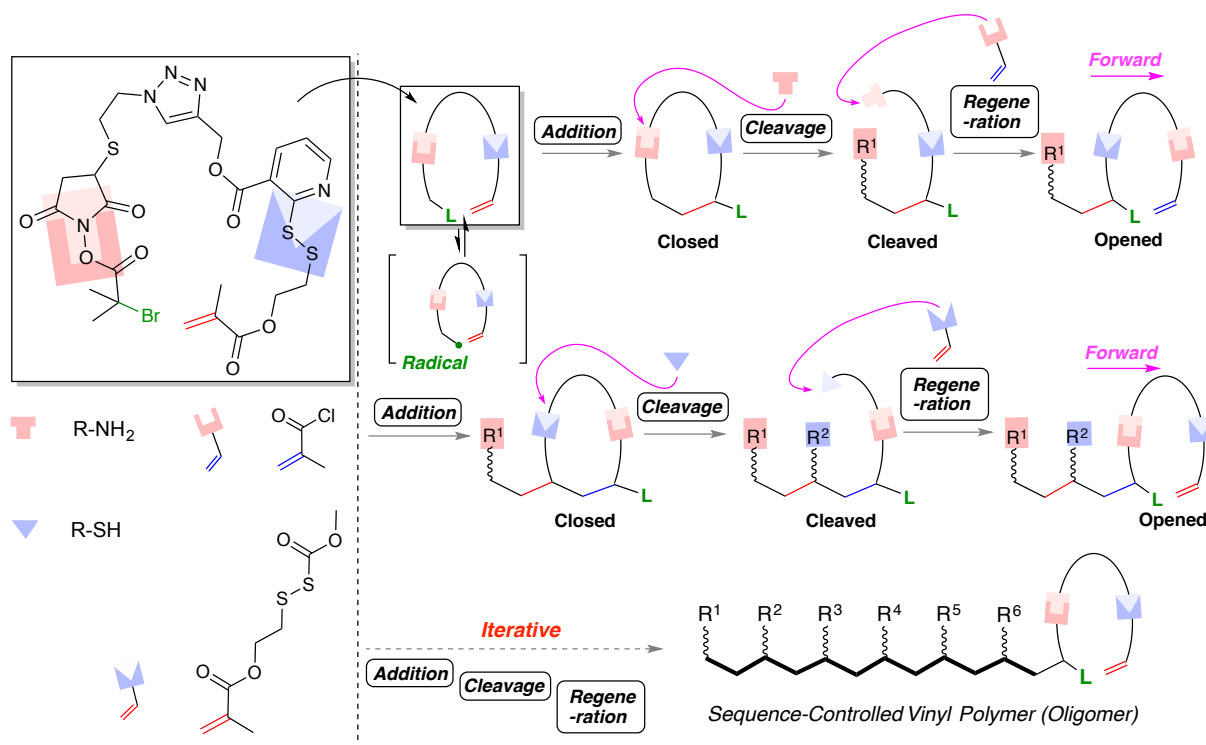


図4 切断・再生結合を有するイニマーを用いたラジカル環化反応の繰り返しによる配列制御

なる炭素-臭素結合とメタクリレート二重結合を NHS エステル結合と PySS 結合を介してつないだ開始剤モノマー（イニマー）を設計した（図4）。

この分子を用いて、分子内環化ラジカル反応、切断、再生を1サイクルとする2サイクルの繰り返し制御に成功した（図5）。それぞれの生成物は ^1H NMR と MALDI-TOF-MS で解析され、ビニルモノマーを繰り返し単位とする配列制御の可能性が示唆された。なお、この場合、側鎖にアミド結合とジスルフィド結合が導入されるが、置換基は切断で用いるアミンとチオールによって設計可能である点が重要である。

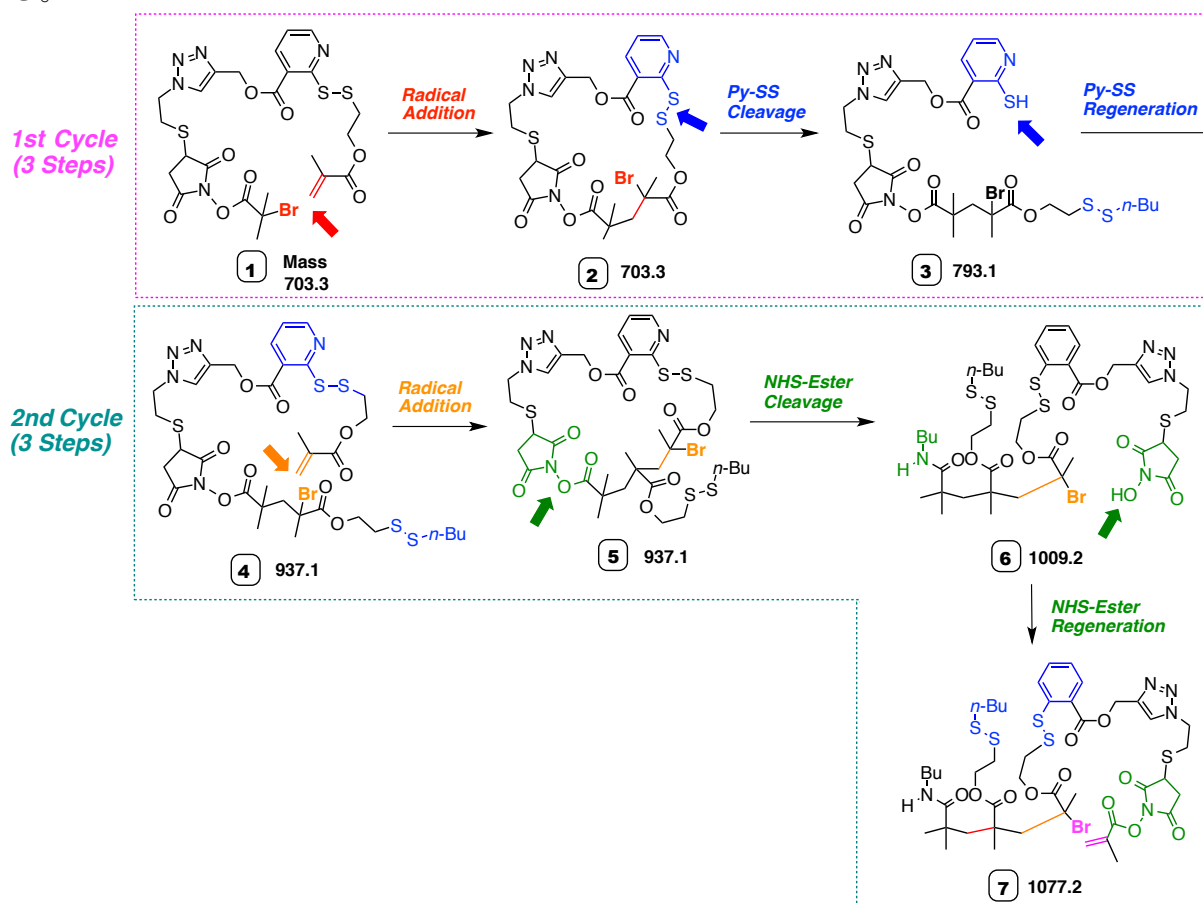


図5 ラジカル環化反応の繰り返し2サイクルによる配列制御

4. 環化ラジカル付加反応の繰り返しによる配列制御

マルチビニルモノマーの分子内成長の繰り返しで進行する「環化重合」を選択的に制御し、重合後に生成する環状側鎖のスペーサーを切断できれば、ビニルモノマー単位の交互配列制御が可能となる。実際、我々はナフタレンを介したメタクリレートとアクリレート AB 型ジビニルモノマー、⁵パラジウム上にアミノメチルスチレンとビニルピリジンを ABA 型で導入したトリビニルモノマー⁶を設計し、これらの環化重合、その後の切断を経て AB と ABA の交互配列制御を実現した。ここで、前者ナフタレンの設計では切断基がエステル結合であり、切断後は同一カルボン酸側鎖の交互配列

になってしまう問題があった。また、後者の設計では、異なる置換基（アミノ基とピリジン基）の配列制御になるが、環化重合の制御に極低温と特殊溶媒を必要とし、リビング重合が困難になる問題があった。

そこで、リビング重合の同時制御と異なる置換基の交互配列制御を目指した。異なる置換基に切断されるスペーサーとして、カルボン酸と水酸基に切断可能なヘミアセタールエステル結合（HAE 結合）に着目し、メタクリレートとアクリレートが HAE 結合でつながったジビニルモノマー**1**を設計した。⁷ルテニウム触媒によるリビングラジカル重合でこの環化重合を行ったところ、条件の最適化により、不溶性のポリマーを生成せずに、単分散のポリマーが生成した。両モノマーは反応性が異なるにも関わらず、等速に消費され、環化重合の進行が示唆された。生成ポリマーの MALDI-TOF-MS スペクトルは環化ポリマーの生成を示唆していた。

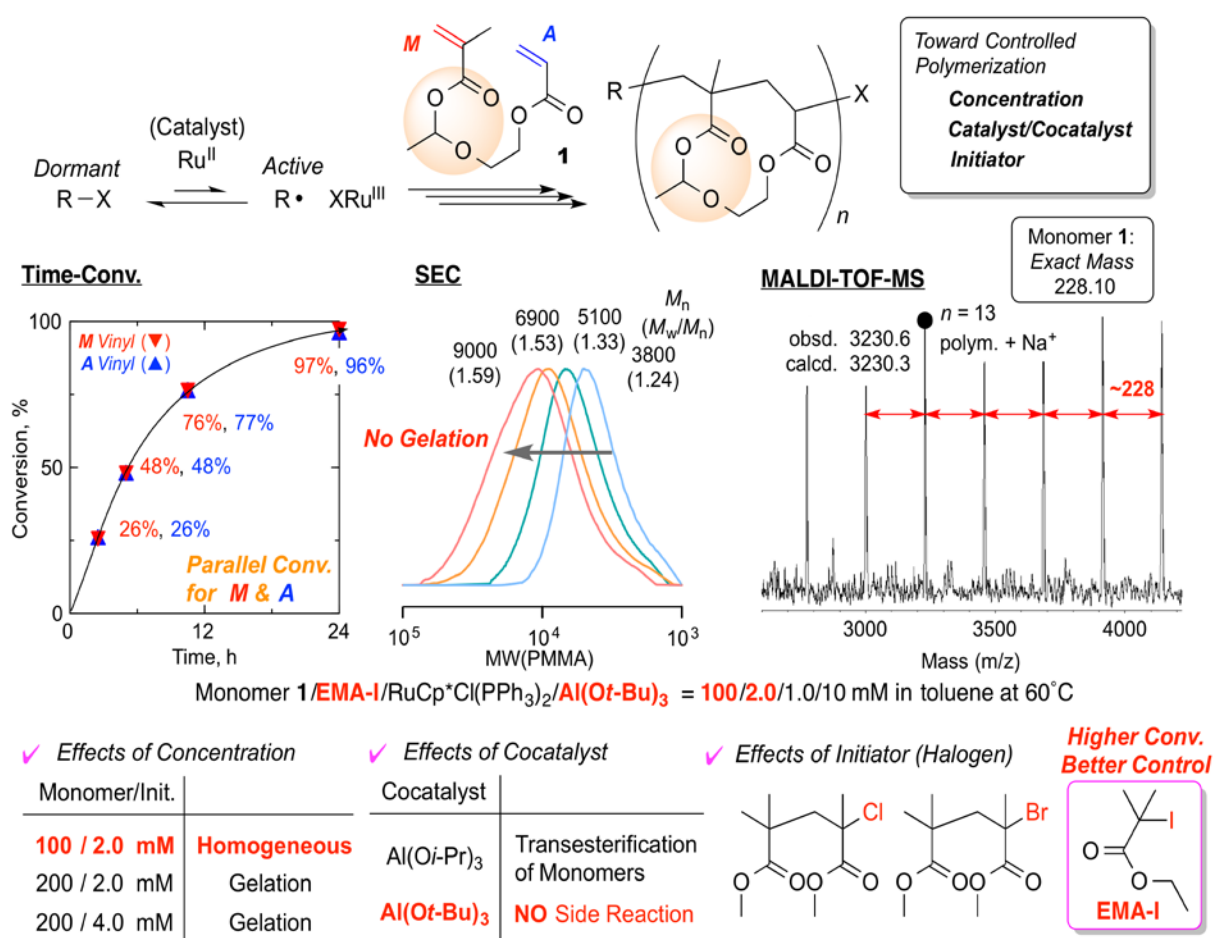


図6 ルテニウム触媒を用いたジビニルモノマー**1**の環化ラジカル重合

生成ポリマーを酸で処理することで、HAE結合を切断し、メタクリル酸と2-ヒドロキシエチルアクリレートの交互共重合体に変換した。変換は¹H NMRで確認し、定量的に変換された。

得られた交互共重合体とほぼ同じ分子量で、組成が 1:1 であるランダム共重合体を別途合成し、その溶解性を比較したところ、異なる挙動を示した。特に、この交互配列ポリマーはジメトキシエーテルに対し、室温では溶解しないが、冷却すると溶解する LCST 挙動を示した。一方、ランダム共重合体は全くこの溶媒に溶けず、明らかに異なる挙動を示した。この LCST 挙動は交互配列特有の現象であり、おそらく隣接する置換基間の水素結合が関与していると考えられる。交互配列と LCST の相関については今後研究する予定である。

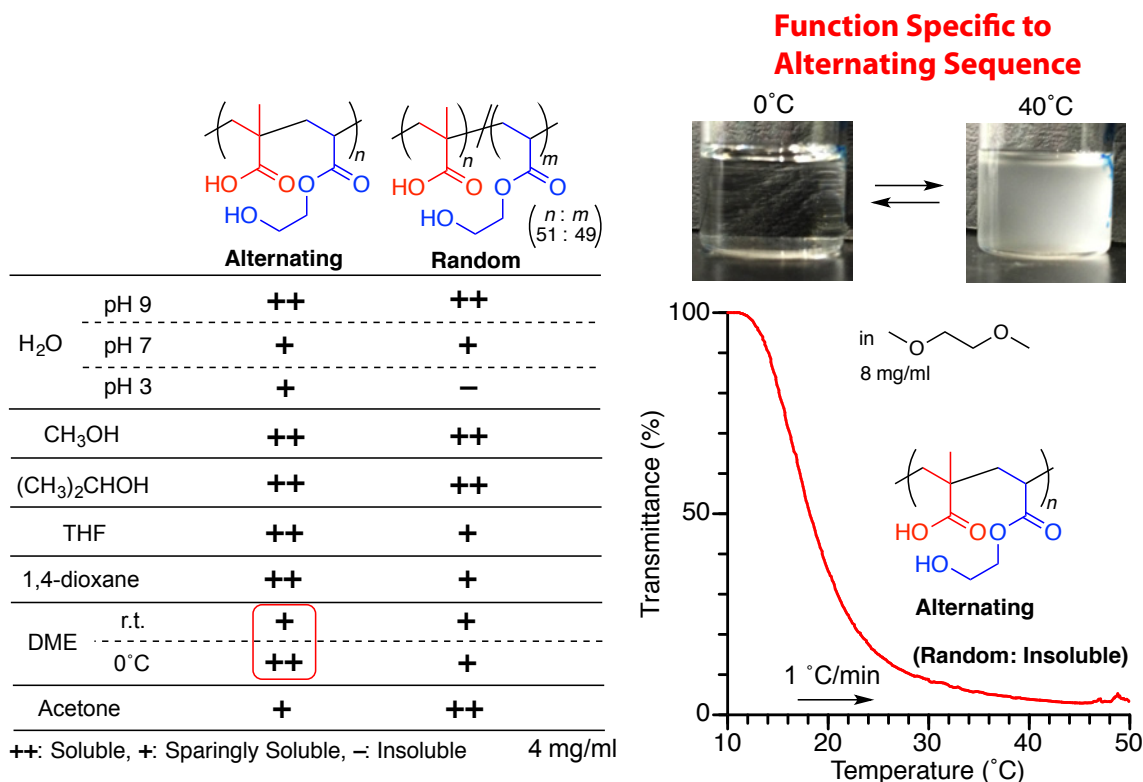


図7 得られた交互共重合体とランダム共重合体の溶解性の比較（左）と交互共重合体のジメトキシエーテル溶液の温度可変透過性観測（右）

5. 変換可能なかさ高さによる一分子ラジカル付加制御：付加の繰り返しによる配列制御

ラジカル重合などの連鎖重合機構を用いる限り、成長末端に対して、モノマーを一分子ずつ結合させる（一分子付加制御）のは原理上難しい。我々はモノマー側鎖のかさ高さによってリビングラジカル重合の条件で一分子付加を制御し、付加後のかさ高さを変換することで、一分子付加反応を繰り返し制御し、ビニルポリマーの配列制御を実現するアプローチを検討してきた。そこでかさ高さの影響を受けやすいメタクリレートに対し、側鎖がかさ高く、酸によって分解できる三級エステルに着目した（図8）。⁸

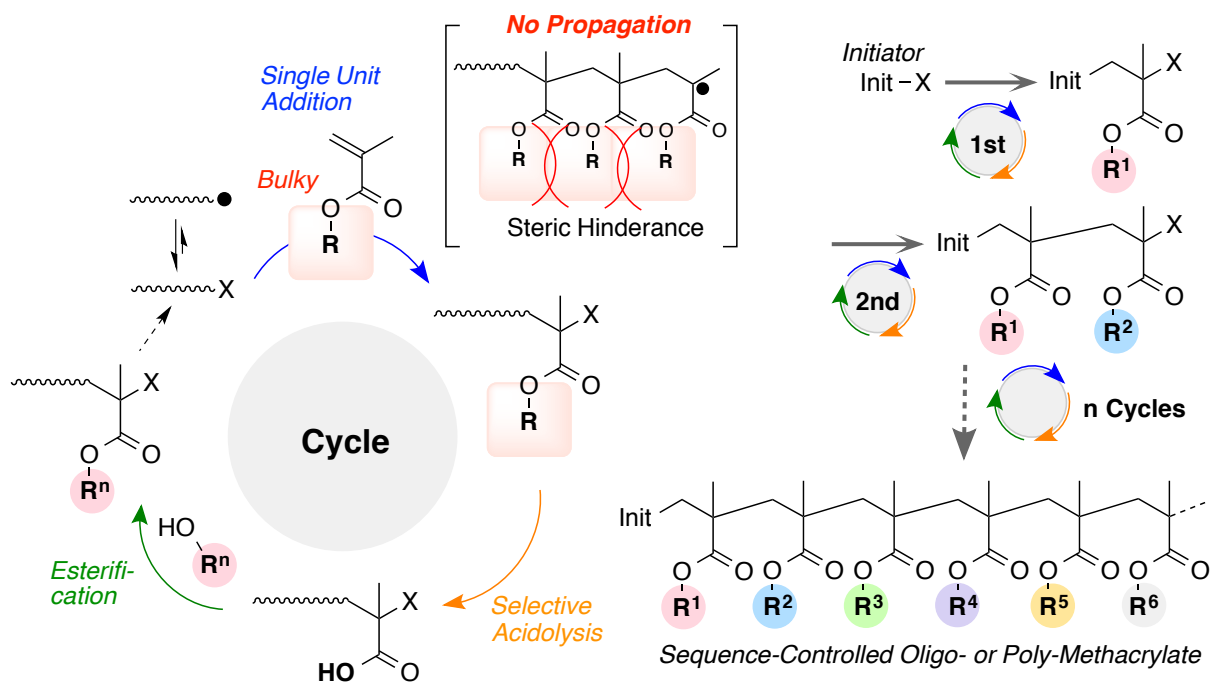
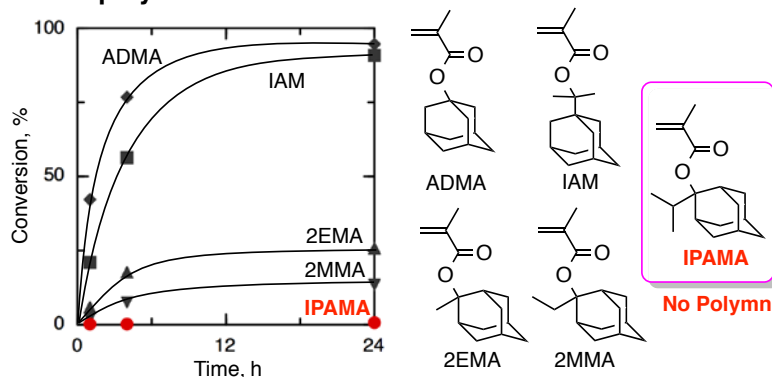
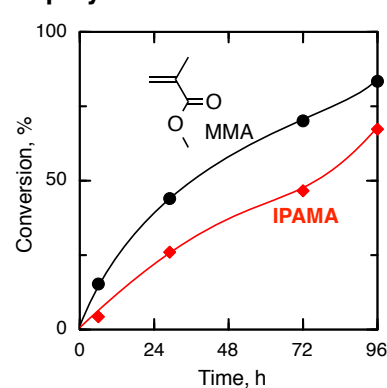


図8 変換可能なかさ高いメタクリレートを用いた配列制御

A. Homopolymerization



B. Copolymerization



C. Radical Addition

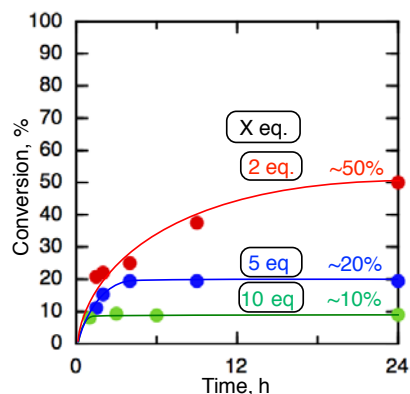
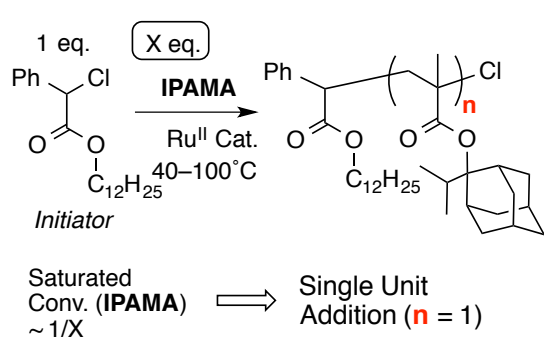


図9 A. アダマンチル基を有するメタクリレートの単独ラジカル重合 (100°C) B. メタクリル酸メチルと IPAMA の共重合 C. ルテニウム触媒とハロゲン化合物を用いた IPAMA のラジカル付加反応

その結果、アダマンチル基とイソプロピル基を有する三級エステルメタクリレート (IPAMA) を用いると、以下の現象が見られた (図9)。

- A) 温度が高くなるにつれて単独重合性が低下した。他のアダマンチル基を有するメタクリレートと比較しても、単独重合性が低く、100°Cではほとんど重合しなかった。
- B) メタクリル酸メチルとの共重合は進行する、すなわち二重結合はラジカル種に対して活性がある。
- C) リビングラジカル重合開始剤であるハロゲン化合物に対し、X 当量の IPAMA を用いると、消費率が 100/X %で飽和する：開始剤と等モルの IPAMA が反応して反応が終了する。

実際に、ラジカル反応で得られた生成物の構造を解析すると、IPAMA が一分子付加した付加体が定量的に生成していることがわかった。酸性加水分解により、付加体の IPAMA ユニットのカルボン酸に変換し、メタノールでエステル化することで、メタクリル酸メチル (MMA) 付加体へと変換した。これらの過程は全て ¹H NMR と質量分析で定量的に解析できた。その後、IPAMA の付加、切断、エステル化のサイクルをさらに二回制御し、三量体の配列制御オリゴメタクリレートの合成に成功した (図 10)。

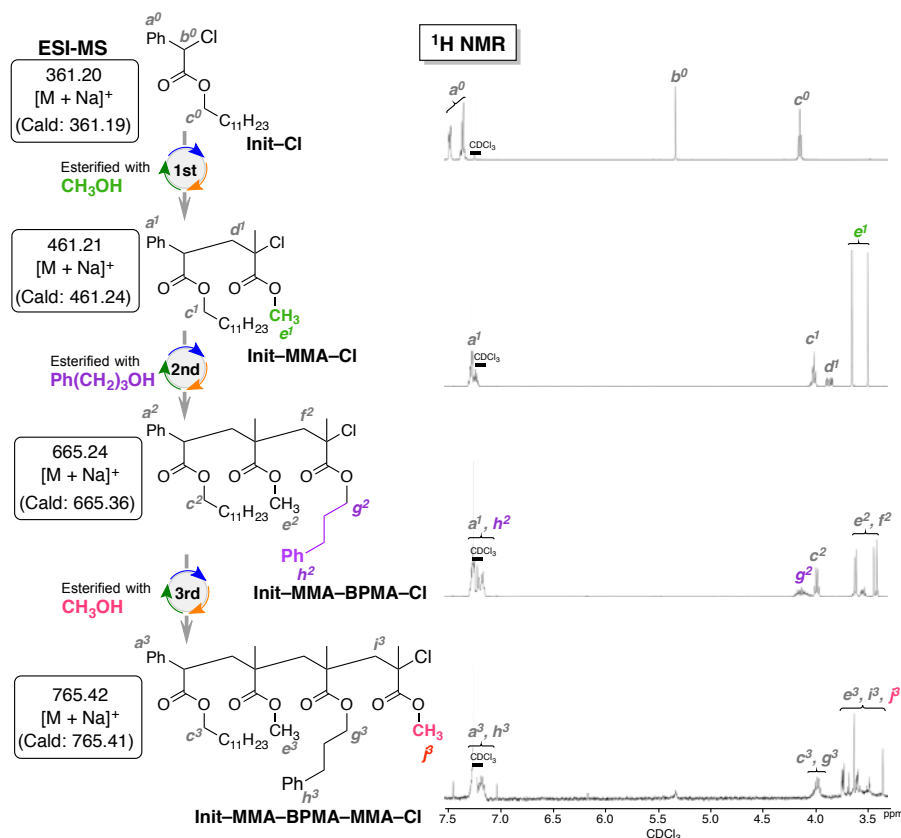


図 10 IPAMA を用いたラジカル付加，酸加水分解，エステル化を 1 サイクルとする 3 サイクル制御

6. まとめと今後の展望

ビニルポリマーは、炭素-炭素結合をベースとする炭素主鎖に対し側鎖が配置された骨格を有しており、アミド主鎖と側鎖から成るペプチドとの類似性から、配列制御に対して最も興味を持たれる合成高分子である。一方、その合成法である連鎖重合は配列制御に不向きな機構であり、ビニルポリマーに対する配列制御は挑戦的な課題とされてきた。しかし、本稿で示したように、リビングラジカル重合に用いる開始剤、モノマー、鋳型を設計することで、連鎖重合機構を用いた配列制御が可能になりつつある。また、配列に起因する物性が見出された点は、配列制御の研究で重要な結果と言えよう。今後はより効率的な配列制御手法の開発と配列制御に基づく機能性材料の創出が課題となる。今後の展開に期待したい。

参考文献

1. Lutz, J. F.; Ouchi, M.; Liu, D. R.; Sawamoto, M., Sequence-Controlled Polymers. *Science* **2013**, *341*, 1238-149.
2. Ouchi, M.; Terashima, T.; Sawamoto, M., Transition Metal-Catalyzed Living Radical Polymerization: Toward Perfection in Catalysis and Precision Polymer Synthesis. *Chem. Rev.* **2009**, *109* (11), 4963-5050.
3. Nishimori, K.; Ouchi, M.; Sawamoto, M., Sequence Analysis for Alternating Copolymers by MALDI-TOF-MS: Importance of Initiator Selectivity for Comonomer Pair. *Macromol. Rapid Commun.* **2016**, *37* (17), 1414-1420.
4. Hibi, Y.; Ouchi, M.; Sawamoto, M., A strategy for sequence control in vinyl polymers via iterative controlled radical cyclization. *Nat. Commun.* **2016**, *7*.
5. Hibi, Y.; Tokuoka, S.; Terashima, T.; Ouchi, M.; Sawamoto, M., Design of AB divinyl "template monomers" toward alternating sequence control in metal-catalyzed living radical polymerization. *Polym. Chem.* **2011**, *2* (2), 341-347.
6. Hibi, Y.; Ouchi, M.; Sawamoto, M., Sequence-Regulated Radical Polymerization with a Metal-Templated Monomer: Repetitive ABA Sequence by Double Cyclopolymerization. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50* (32), 7434-7437.
7. Ouchi, M.; Nakano, M.; Nakanishi, T.; Sawamoto, M., Alternating Sequence Control for Carboxylic Acid and Hydroxy Pendant Groups by Controlled Radical Cyclopolymerization of a Divinyl Monomer Carrying a Cleavable Spacer. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55* (47), 14584-14589.
8. Oh, D. Y.; Ouchi, M.; Nakanishi, T.; Ono, H.; Sawamoto, M., Iterative Radical Addition with a Special Monomer Carrying Bulky and Convertible Pendant: A New Concept toward Controlling the Sequence for Vinyl Polymers. *ACS Macro Lett.* **2016**, *5* (6), 745-749.

キラル液晶の選択反射を用いた共役ポリマー発光のキラル分割と熱的スイッチング

赤木和夫、大田冬木、閻家林、Benedict A. San Jose、松下哲士

Kazuo Akagi, Fuyuki Ota, Jialin Yan, Benedict A. San Jose, Satoshi Matsushita

京都大学工学研究科高分子化学専攻

1. はじめに

円偏光は3Dディスプレイや情報伝達媒体など様々な光学デバイスへの期待がされており、近年注目を集めている。円偏光を評価する際には非対称性因子 g_{lum} を使い、 $g_{lum} = \Delta I / I = 2(I_L - I_R) / (I_L + I_R)$ と定義されている。ただしここでの I_L および I_R とは、左円偏光および右円偏光それぞれの強度である。これまでに様々な円偏光発光(CPL)材料が開発されてきたが、 g_{lum} は 10^{-2} – 10^{-1} 程度であり光学デバイスとして応用するには不十分であった。

一方、液晶分子がらせん状にねじれて配向したキラルネマチック液晶(N*-LC)には選択反射という性質が知られている。選択反射とは、N*-LC に対して光が入射した際に N*-LC のらせんと同じ巻き方向の円偏光のみが透過でき、逆の巻き方向の円偏光は反射されるという性質である。ただしここでの円偏光の巻き方向の定義は、向かってくる光が観測者から見て時計回りに回転しているものを右円偏光、反時計回りに回転しているものを左円偏光としている(Figure 1a)。一方、N*-LC のらせんの巻き方向の定義は、観測者がらせん軸に沿って見た際に時計回りにねじれているものを右巻き、反時計回りにねじれているものを左巻きとしている(Figure 1b)。つまり円偏光の巻き方向と N*-LC のらせんの巻き方向、それぞれの定義は真逆になっている。このことを踏まえた上で改めて選択反射を具体的に説明すると Figure 1c のようになる。

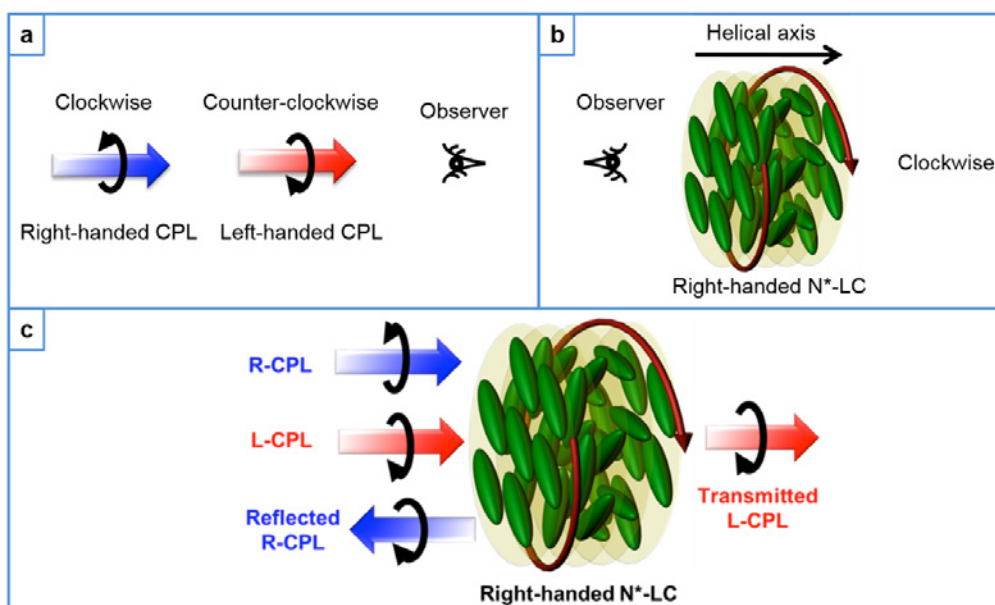


Figure 1. (a) 円偏光の巻き方向の定義 (b) N*-LC の巻き方向の定義 (c) 選択反射の模式図

例えば右巻きの N*-LC に対して光が入射した際、左円偏光のみが透過でき右円偏光は反射される。反対に左巻きの N*-LC においては真逆の現象が起こる。また、選択反射は N*-LC

の平均屈折率 n 、らせんピッチ p に対して $\lambda_{\max} = np$ という条件を満たす波長 λ_{\max} においてのみ起こる。すなわち λ_{\max} は p に比例する。以前の研究で我々は二置換ポリアセチレン(diPA)から発せられた円偏光の巻き方向を選択反射によって切り替えられることを報告しており、その際の $|g_{\text{lum}}|$ は 1.79 と非常に高い値が得られている。しかしこの方法では N*-LC を加熱し等方相にしてしまうとその後冷却したとしても基板に対して N*-LC が垂直にらせん軸を持たなくなるため、円偏光の巻き方向のスイッチングが一度しかできなかった。

本研究では選択反射を用いた光学的キラル分割と熱による高非対称かつ繰り返し耐久性の高い円偏光の巻き方向スイッチングを目指した。一般に N*-LC のらせんピッチ p は温度依存性があり、温度が高いほど大きくなる。上述の通り λ_{\max} は p に比例するので、 p を温度で制御することで λ_{\max} を制御することが可能となる。発光性共役ポリマーと二重 N*-LC セルを組み合わせることで、共役ポリマー発光のキラル分割と熱的スイッチングを試みた。

2. N*-LCの調製

本研究では室温液晶(PCH302,PCH304)と高温液晶(PCH3E02,PCH3E04)を混ぜ合わせた液晶温度範囲の広い母液晶を用いた。この母液晶にらせん誘起力の大きい四置換型のビナフチル誘導体をキラルドーパントとして添加することでN*-LCを調製した(Figure 3a)。

母液晶のX線回折測定(XRD)を行ったところ、20.2°に回折ピークが現われ、これは4.4Åに対応する(Figure 2a)。これはネマチック液晶に典型的なピークであり、液晶分子間距離に相当する。

次にPCH302,PCH304,PCH3E02,PCH3E04,そしてキラルドーパント(R体)をモル比で100:100:100:100:7.2の割合で混合したN*-LCの偏光顕微鏡(POM)観察を行った。60°CにおいてGrandjean textureが見られ、このことから液晶分子は基板に対して垂直にらせん軸を持っていることが確認できた(Figure 2b left)。そしてGrandjean textureは127°Cまで昇温しても維持していた(Figure 2b right)。また、85°Cにおいて標準液晶(cholesteryl pelargonate)を用いて接触試験を行った(Figure 2c,d)。その結果、R体のキラルドーパントは右巻きを誘起し、S体のキラルドーパントは左巻きを誘起することを確認した。

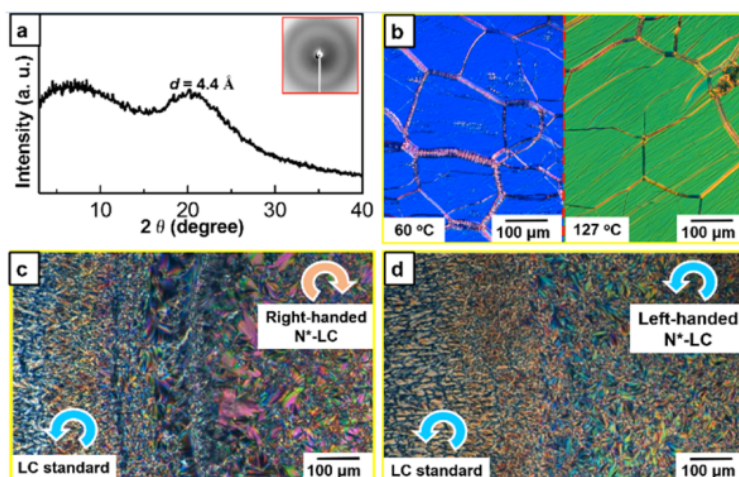


Figure 2. (a) XRD測定結果 (b) 60°C および127°C でのPOM観察におけるGrandjean textures (c) キラルドーパント(R体)を加えたN*-LC の接触試験 (d) キラルドーパント(S体)を加えたN*-LC の接触試験

3. 二重N*-LCセルの作製

二重N*-LCセルの作製方法を**Figure 3b**に示した。一枚の石英板の両面に厚さ35 μm のポリイミドテープをスペーサーとして貼りつけ、このポリイミドテープを挟むように二枚の石英板を重ね合わせ二重セルを作製した。PCH302,PCH304,PCH3E02,PCH3E04,そしてキラルドーパント(S体)をモル比で100:100:100:100:5.2の割合で混合した左巻きのN*-LCを一方のセルに流し込んだ。そしてもう一方のセルにPCH302,PCH304,PCH3E02,PCH3E04,そしてキラルドーパント(R体)をモル比で100:100:100:100:7.2の割合で混合した右巻きのN*-LCを流し込んだ。

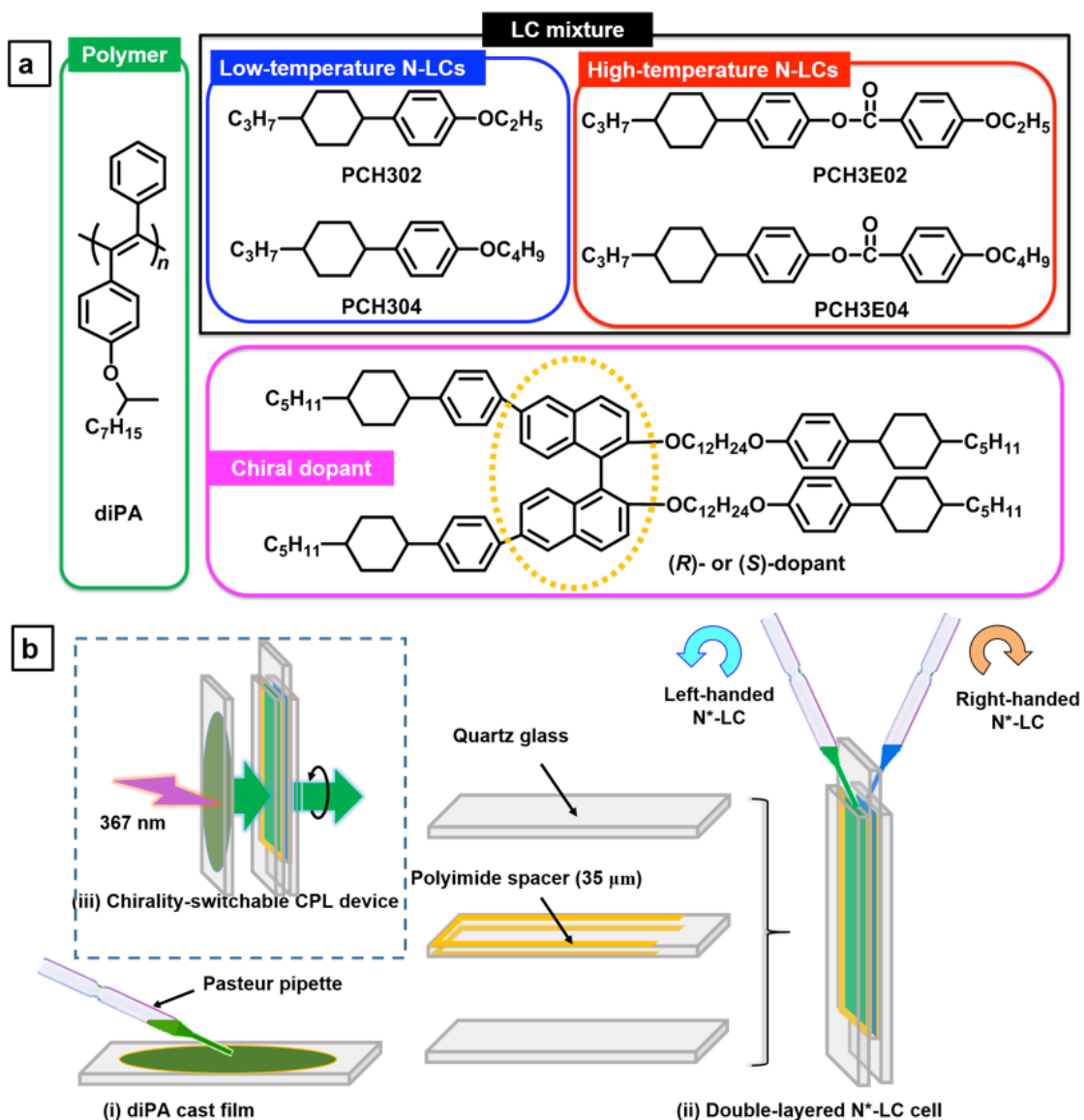


Figure 3. (a) 用いたポリマー、液晶およびキラルドーパントの分子構造 (b) (i)ポリマーキャストフィルム (ii)二重N*-LCセル(iii)CPLスイッチングデバイス全体の概略図

4. CPLスイッチングデバイスの構築

diPAをトルエンに溶解させ石英板上にキャストフィルムを作製し、上述の二重N*-LCセルとタンデム状に組み合わせた。添加するキラルドーパントの量でN*-LCの選択反射波長を制御することが可能である。1つ目のセルには左巻きのN*-LCが流し込まれており、60°CにおいてちょうどdiPAの発光波長の光を選択反射する。そして2つ目のセルには右巻きのN*-LCが流し込まれており、1つ目のセルのN*-LCよりキラルドーパントの添加量が多いため、60°Cにおいて選択反射波長はdiPAの発光波長より短波長側に存在する。

一方、このデバイスを127°Cに昇温すると、熱によりどちらのセルのN*-LCもらせんピッチが大きくなる。その結果、1つ目のセルのN*-LCの選択反射波長はdiPAの発光波長より長波長側に移動し、反対に2つ目のセルのN*-LCの選択反射波長がdiPAの発光波長と一致する。

このように温度で2つのN*-LCの選択反射波長を制御することによって、熱により目的の波長を選択反射するN*-LCを切り替えるデバイスを作製した。

5. CPLの巻き方向のスイッチング

上述のCPLスイッチングデバイスを用いてCPL測定を行った。**Figure 4**にdiPAの発光(PL)スペクトル、二重N*-LCセルの透過率測定結果、そしてCPL測定結果を示した。ただし、diPAの励起光の波長は367 nmとし、520 nmの発光を示すことをPLスペクトルから確認した。二重N*-LCセルの透過率測定結果から二つのN*-LCの選択反射波長域を確認できる。60°Cの場合には右巻きのN*-LCは390–425 nm、左巻きのN*-LCは525–575 nmであった(**Figure 4b blue line**)。右巻きのN*-LCは選択反射波長域がdiPAの発光波長より短波長側なので右巻きのN*-LCで選択反射は起こらないが、左巻きのN*-LCは選択反射波長がdiPAの発光波長と一致するので左巻きのN*-LCで選択反射が起こる。そのため右円偏光のみが二重N*-LCセルを透過でき、左円偏光は反射され、 g_{lum} は負となる(**Figure 4a(i)**)。

一方、127°Cの場合にはどちらの選択反射波長域も長波長側にレッドシフトしていることが透過率測定から確認できる(**Figure 4b red line**)。右巻きのN*-LCは390–425 nmから525–550 nm、左巻きのN*-LCは525–575 nmから715–745 nmにシフトしている。今度は右巻きのN*-LCの選択反射波長域がdiPAの発光波長と一致するので右巻きのN*-LCで選択反射が起こる。そして左巻きのN*-LCは選択反射波長がdiPAの発光波長より長波長側なので左巻きのN*-LCで選択反射は起こらない。その結果、左円偏光のみが二重N*-LCセルを透過でき、右円偏光は反射され、 g_{lum} は正となる(**Figure 4a(ii)**)。つまり選択反射波長域のシフトによってCPLのキラリティ反転に成功した。

次にこのCPLのキラリティ反転の繰り返し耐久性を検討した。60°Cと127°Cの間で昇温と降温を繰り返し測定を行った。昇温と降温を6回繰り返ししてから測定を行ったところ、CPLのキラリティ反転は可能であり、 $|g_{lum}|$ は1回目の測定と同程度の大きさを示した。昇温と降温を繰り返した際の $|g_{lum}|$ の結果を**Table 1**にまとめた。

さらにキラルドーパントの添加量をR体とS体で入れ替えた場合についても検討した。**Figure 5**にCPL測定結果を示し、**Table 2**に昇温と降温を繰り返した際の $|g_{lum}|$ の結果をまとめた。この場合、60°Cでは右巻きのN*-LCで選択反射が起こり、127°Cでは127°Cの左巻きのN*-LCで選択反射が起こる。その結果、低温では左円偏光、高温では右円偏光がそれぞれ透過した。つまり、左円偏光と右円偏光が低温および高温でそれぞれ二重N*-LCセルを選択的に透過した。こちらの場合においても繰り返し耐久性は高く、昇温と降温を6回

繰り返しても CPL のキラリティ反転が可能であった。

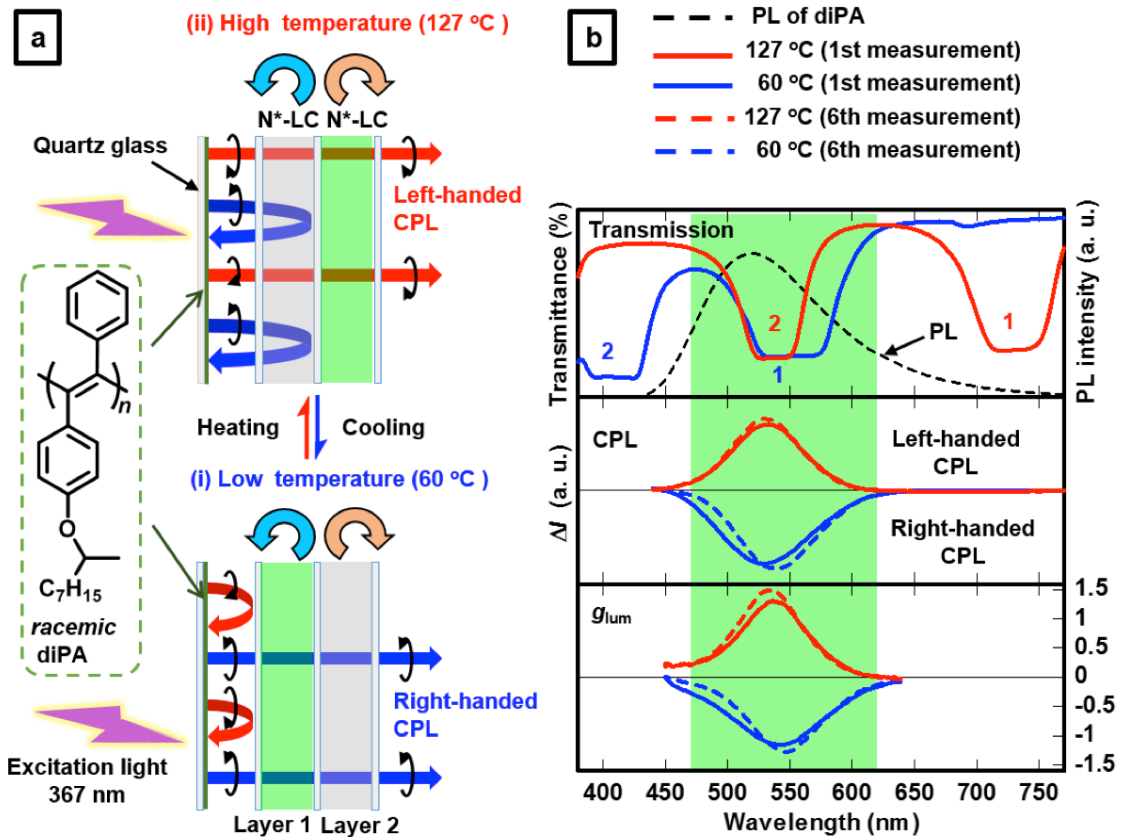


Figure 4. (a)CPLの巻き方向スイッチングの仕組みの概略図。(i)低温では第一のセルで左円偏光が選択反射され、右円偏光のみが透過できる。(ii)高温では第二のセルで右円偏光が選択反射され、左円偏光のみが透過できる。(b)上段：二重N*-LCセルの透過率測定結果およびポリマーの発光スペクトル。60°C(青線)では第一のセルの選択反射波長とポリマーの発光波長が一致している。127°Cでは第二のセルの選択反射波長とポリマーの発光波長が一致している。中段：CPLスペクトル。60°C(青線)では右円偏光、127°Cでは左円偏光の強度強くなっている。下段： g_{lum} スペクトル。

Table 1. CPLの巻き方向スイッチングの繰り返し耐久性試験結果。

Number of time		1	2	3	4	5	6
g_{lum}	127 °C	1.31 (536)	1.24 (538)	1.39 (529)	1.55 (530)	1.54 (526)	1.50 (536)
(nm) ^b	60 °C	-1.16 (541)	-1.06 (552)	-1.24 (549)	-1.30 (530)	-1.29 (549)	-1.27 (549)

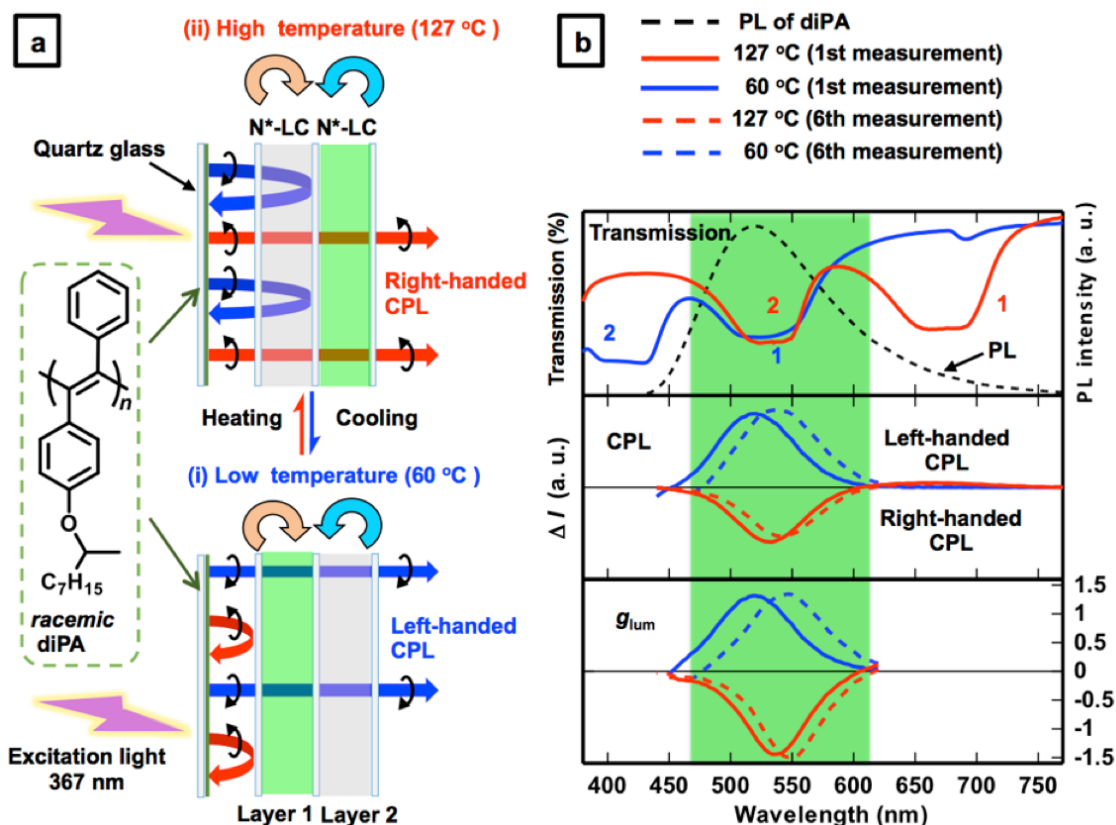


Figure 5. (a) セルの順番を入れ替えた場合のCPLの巻き方向スイッチングの仕組みの概略図。(i)低温では第一のセルで右円偏光が選択反射され、左円偏光のみが透過できる。(ii)高温では第二のセルで左円偏光が選択反射され、右円偏光のみが透過できる。(b) 上段：二重N*-LCセルの透過率測定結果およびポリマーの発光スペクトル。60°C(青線)では第一のセルの選択反射波長とポリマーの発光波長が一致している。127°Cでは第二のセルの選択反射波長とポリマーの発光波長が一致している。中段：CPLスペクトル。60°C(青線)では左円偏光、127°Cでは右円偏光の強度強くなっている。下段： g_{lum} スペクトル。

Table 2. セルの順番を入れ替えた場合のCPLの巻き方向スイッチングの繰り返し耐久性試験結果。

Number of time		1	2	3	4	5	6
g_{lum}	127 °C	-1.44 (535)	-1.38 (541)	-1.46 (536)	-1.52 (536)	-1.59 (544)	-1.50 (550)
(nm) ^b	60 °C	1.32 (520)	1.36 (545)	1.36 (547)	1.38 (548)	1.40 (545)	1.35 (547)

6. 選択反射波長およびCPLの温度依存性

CPLと選択反射波長(λ_{\max})の関係を検討するため、diPAと右巻きまたは左巻きのN*-LCの単層セルを組み合わせ、温度を変えて透過率測定およびCPL測定を行った。透過率測定の結果から昇温するほど明らかに λ_{\max} はレッドシフトしていき、CPLの波長は450 – 700 nmの範囲で制御可能であった。そして λ_{\max} がレッドシフトするほど明らかに $|g_{\text{lum}}|$ が減少していった。これは熱を加えることで液晶分子の熱運動が激しくなったためであると考えられる。熱運動が激しくなったことでN*-LCのらせんピッチが長くなり λ_{\max} が大きくなったのと同時に、液晶の配向秩序性が低下したため選択反射能が下がり $|g_{\text{lum}}|$ が減少したと思われる。

λ_{\max} に対して $|g_{\text{lum}}|$ をプロットしたグラフをFigure 6bに示した。このグラフからも長波長にシフトするほど $|g_{\text{lum}}|$ が減少しているのが確認でき、475 nm以下の波長域において最大値1.99が得られた。

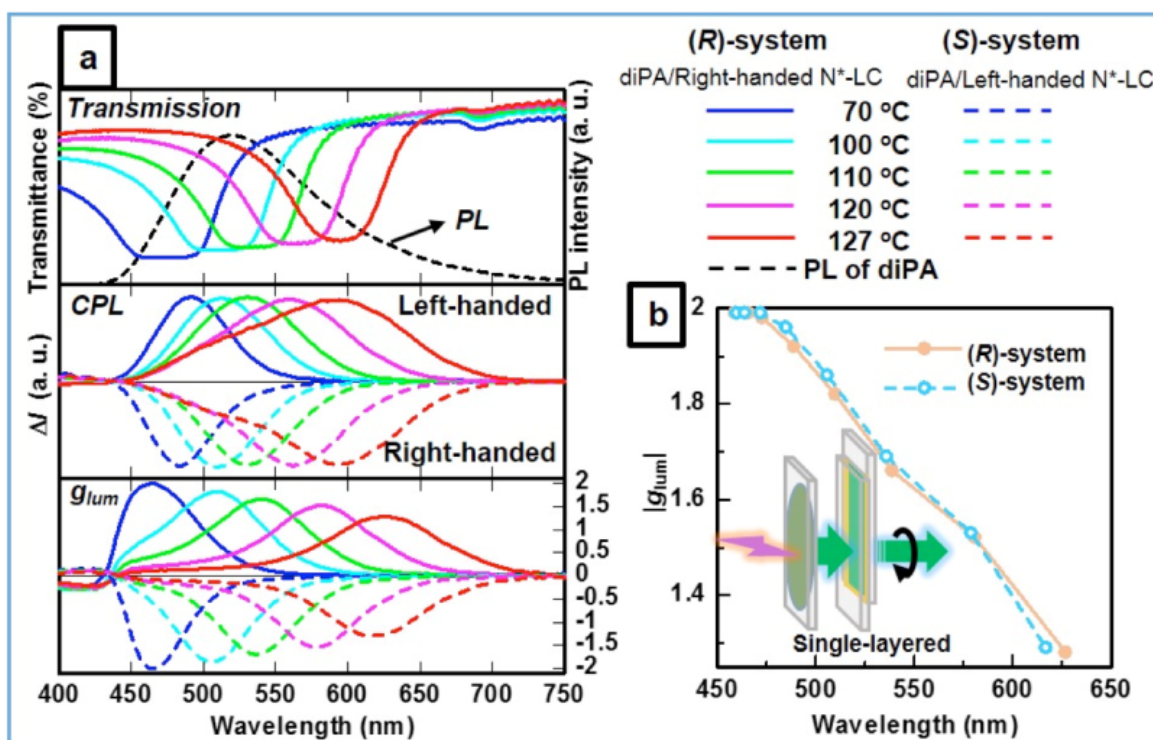


Figure 6. 選択反射の温度依存性。(a)上段：二重N*-LCセルの透過率測定結果およびポリマーの発光スペクトル。中段：CPLスペクトル。下段： $|g_{\text{lum}}|$ スペクトル。(b) $|g_{\text{lum}}|$ スペクトルピークの温度依存性。

7. 選択反射波長およびCPLのキラルドーパント濃度依存性

より $|g_{\text{lum}}|$ と λ_{\max} の関係を調べるために、熱ではなくキラルドーパントの添加量で λ_{\max} を制御した場合の検討を行った。キラルドーパントの添加量の異なる3種類のN*-LCを調製し、温度の影響を取り除くため温度を統一して測定を行った。温度で λ_{\max} を制御した場合と同じ傾向が見られ、 λ_{\max} がレッドシフトしていきながら $|g_{\text{lum}}|$ が減少していった。キラルドーパントの濃度が低いほどN*-LCのらせんピッチが大きくなり、かつ液晶分子の配向秩序性が低下したため、 λ_{\max} が大きくなるにつれて選択反射能が下がってしまったと考えられる。

すなわちキラルドーパントの濃度がCPLや $|g_{lum}|$ に与える影響は温度の与える影響と類似していると考えられる。

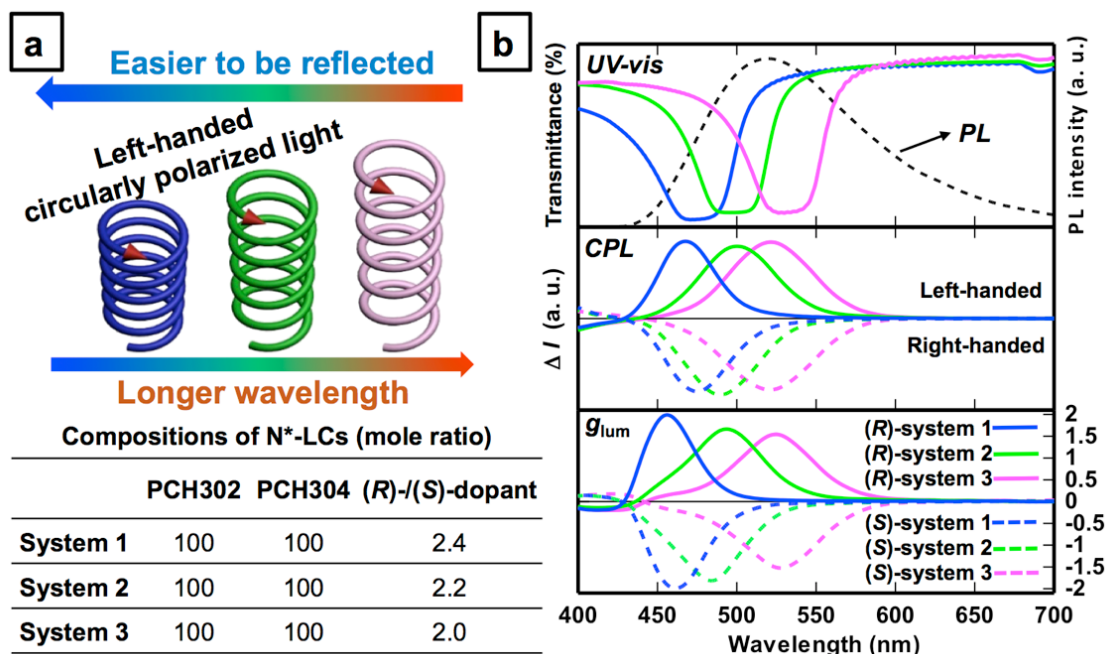


Figure 7. 選択反射のキラルドーパント濃度依存性。

8. まとめ

発光性のdiPAのキャストフィルムと二重N*-LCセルを組み合わせることで、光学的キララ分割と熱による高非対称かつ繰り返し耐久性の高い円偏光の巻き方向スイッチングに成功した。本システムでは $|g_{lum}|$ が1.1–1.6と他のCPLスイッチングシステムと比べ非常に高い値が得られている。CPLスイッチングを行える本システムは光電子工学や光化学の分野への応用が期待できる。

文献

1. H. Hayasaka, T. Miyashita, K. Tamura, K. Akagi, *Adv. Funct. Mater.* **2010**, *20*, 1243.
2. J. W. Goodby, *J. Mater. Chem.* **1991**, *1*, 307.
3. K. Watanabe, H. Iida, K. Akagi, *Adv. Mater.* **2012**, *24*, 6451.
4. K. Akagi, G. Piao, S. Kaneko, K. Sakamaki, H. Shirakawa, M. Kyotani, *Science* **1998**, *282*, 1683.
5. K. Akagi, S. Guo, T. Mori, M. Goh, G. Piao, M. Kyotani, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14647.
6. B. A. San Jose, S. Matsushita, K. Akagi, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 19795.
7. B. A. San Jose, Yan, J, K. Akagi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 10817.
8. J. Yan, F. Ota, B. A. San Jose, K. Akagi, *Adv. Funct. Mater.*, DOI: 10.1002/adfm.201604529.

高分子ナノ粒子を用いたマクロファージの生物機能の可視化

田畑 泰彦、吉本 雄、城 潤一郎

Yasuhiko TABATA, Yu YOSHIMOTO, Jun-ichiro JO

京都大学ウイルス・再生医科学研究所 生体材料学分野

1. 緒言

炎症は、組織が傷害された時に起こる生体応答である。最近、炎症状態が病態進行や組織再生過程に影響を与えることが明らかとなってきた[1]。効率的な治療や組織再生誘導を行うためには、治療や組織再生誘導を行う部位の炎症状態を、細胞あるいは分子レベルで可視化する技術の開発が必要となる。マクロファージは、炎症の促進と抑制に関与する分子を産生、炎症状態を制御している[2]。すなわち、マクロファージが産生する炎症関連分子を体内で可視化することで、炎症状態を可視化することができると考えられる。

本研究では、炎症惹起時にマクロファージで発現されるマイクロ RNA (miRNA) に着目した。miRNA-155a(miR-155a)は、マクロファージが炎症促進性となったとき発現する miRNA である[3]。miRNA を検出するプローブの 1 つとして、モレキュラービーコン (MB) がある。MB は、両末端に蛍光分子およびその消光分子をもつ核酸誘導體であり、標的核酸との特異的結合により構造変化を介して蛍光強度が変化する。したがって、特定の miRNA に対する MB をデザインすることによって、miRNA を特異的に検出することができる[4, 5]。細胞を生かしたまま miRNA を検出するには、MB を細胞内で効率よく機能させる必要がある。すなわち、MB の細胞内導入とその後の細胞内動態をコントロールするキャリアの開発が必要不可欠である。本研究では、生体適合性材料であるゼラチンからなるナノ粒子へ抗体を固定化することで、MB をマクロファージ内へ効率よく運ぶキャリア (抗体固定化ゼラチンナノ粒子) の作製を試みた。抗体固定化ゼラチンナノ粒子の抗原親和性を評価するとともに、抗体固定化ゼラチンナノ粒子へ MB を含有させ、その miRNA 応答性を調べた。加えて、MB を含有した抗体固定化ゼラチンナノ粒子がマクロファージの生物機能を可視化できるかを検討した。

2. 実験方法

2.1 抗体固定化ゼラチンナノ粒子の作製

ゼラチン (重量平均分子量 : 100,000、等電点 : 5.0、新田ゼラチン株式会社より供与) の水溶液 (25 mg/ml、10 ml) に対してアセトン (30 ml) を添加し、コアセルベーションを形成させた。その後、グルタルアルデヒド水溶液 (25 wt%) を 60 μ l 加え、コアセルベーション中のゼラチン鎖を化学架橋した。アセトンが蒸発するまで攪拌を続け、過剰量のグリシン (15 mg) を添加することによって、未反応アルデヒド基とグルタルアルデヒドをブロックした。その後、純水による遠心洗浄 (25 $^{\circ}$ C, 30 分間, 200,000 g) によりゼラチンナノ粒子を得た。

次に、3つの方法を用いて、ゼラチンナノ粒子へ抗体を固定化した。1つ目の方法では、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）中でゼラチンナノ粒子と抗体とを混合することで、抗体をゼラチンナノ粒子へ吸着させた（物理吸着法）。2つ目の方法では、ジスクシンイミジルソルベート（DSS）を用いてゼラチンナノ粒子へ活性化エステル基を導入した。続いて、抗体を加えることによって、両者のアミノ基を介して抗体をゼラチンナノ粒子へ化学的に固定化した（DSS法）。3つ目の方法では、過ヨウ素酸ナトリウム（ NaIO_4 ）の酸化開裂で得られた抗体糖鎖のアルデヒド基とゼラチンナノ粒子のアミノ基との反応により、糖鎖を介して抗体をゼラチンナノ粒子へ化学的に固定化した（ NaIO_4 法）。それぞれの固定化反応に用いるゼラチンナノ粒子の量は一定とし、抗体の仕込み量を変化させた。また、すべての固定化反応は、室温、2時間の条件で行った。クロロミンT法[6]を用いて抗体を放射性同位元素 ^{125}I で標識した。 ^{125}I 標識抗体を用いて固定化反応を行い、反応後のナノ粒子の放射活性を測定することで、ゼラチンナノ粒子への抗体固定化量を算出した。

2.2 抗体固定化ゼラチンナノ粒子の抗原親和性の評価

DSS法および NaIO_4 法を用いて、抗牛血清アルブミン（BSA）抗体を固定化したゼラチンナノ粒子（BSA抗体固定化ゼラチンナノ粒子）を作製した。BSA抗体固定化ゼラチンナノ粒子へ ^{125}I で標識したBSAを加え、 37°C で3時間、混合した。遠心洗浄後のナノ粒子の放射活性を測定することにより、抗体固定化粒子への抗原の結合量を算出した。一方、 ^{125}I で標識した抗CD11b抗体を用い、DSS法および NaIO_4 法にて固定化したゼラチンナノ粒子（ ^{125}I 標識CD11b抗体固定化ゼラチンナノ粒子）を作製した。細胞培養プレートに播種したマクロファージ様細胞株（RAW264.7細胞）へ ^{125}I 標識CD11b抗体固定化ゼラチンナノ粒子を添加、3時間培養した。冷PBSによる洗浄後、細胞の放射活性を測定することにより、ナノ粒子に固定化された抗体の細胞への結合量を算出した。固定化方法による違いを評価するため、固定化量が同じ抗体固定化ゼラチンナノ粒子を用いて検討を行った。また、コントロールとして、アイソタイプが同じで認識抗原が異なる抗体を固定化したゼラチンナノ粒子を用いた。

2.3 抗体固定化ゼラチンナノ粒子へのMB内包によるMB-ゼラチンナノ複合体の作製

異なる量のTrans-Activator of Transcription Protein由来ペプチド（TAT）とmiR-155aに対するMB（1 nmole）とを水溶液中で 25°C 、15分間の条件で混合した。TAT由来のアミノ基モル数とMB由来のリン酸基モル数の比をN/P比と定義した。TATとMBとの混合液を、CD11b抗体固定化ゼラチンナノ粒子へ加え、両者の複合体（MB-ゼラチンナノ複合体）を得た。ナノ複合体中のMB含有量は、吸光度測定にて算出した。MBのmiRNA応答性を調べるため、遊離のMBあるいはMB-ゼラチンナノ複合体へ種々の濃度のmiR-155aを添加し、蛍光強度の変化を測定した。

2.4 MB-ゼラチンナノ複合体による細胞内miRNAの検出

RAW264.7細胞をリポ多糖（LPS）とインターフェロン- γ （IFN- γ ）、あるいはインターロイキン-4（IL-4）を含むRPMI培地でそれぞれ培養することで、細胞を炎症性および抗炎症性マクロファージへ分化誘導した。その後、培地を無血清培地に置換、

MB-ゼラチンナノ複合体を添加、37°Cで培養した。培養 3 時間後、細胞をパラホルムアルデヒド溶液により固定し、蛍光顕微鏡観察を行った。また、固定前の細胞の一部を回収し、フローサイトメーター (FACS Canto II, BD 社) を用いて、MB が miRNA と相互作用したときに発光する蛍光を示す細胞の割合を算出した。

3. 結果と考察

3.1 抗体固定化ゼラチンナノ粒子の物性および抗原親和性の評価

図 1 に、種々の方法におけるゼラチンナノ粒子への抗体固定化量を示す。仕込みの抗体添加量が増加するとともに、抗体固定化量は増加し、一定となった。物理吸着法は、他の方法と比較して抗体固定化量が低かった。これは、固定化反応後の洗浄操作により、抗体がゼラチンナノ粒子から脱着したためと考えられる。また、DSS 法および NaIO₄ 法においては、仕込み抗体添加量が同じ場合でも抗体固定化量は異なることがわかった。これは、固定化反応に用いられる抗体由来の官能基数が異なったためと考えられる。

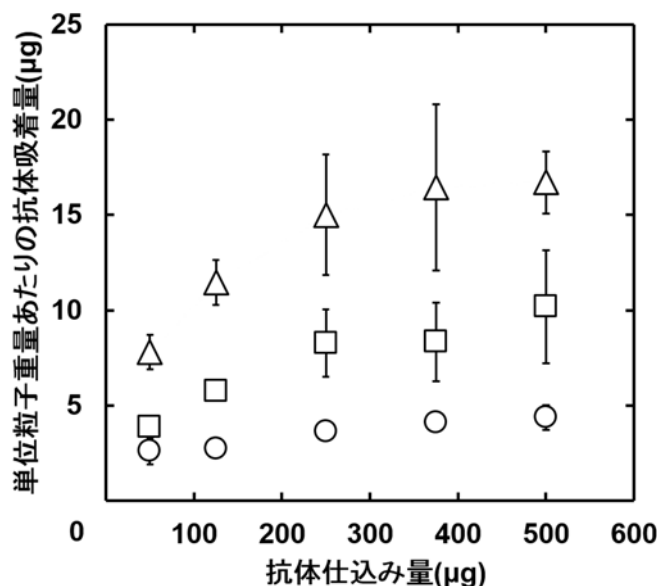


図 1. ゼラチンナノ粒子への抗体固定化量。物理吸着法 (○)、DSS 法 (△)、および NaIO₄ 法を用いてゼラチンへ抗体を固定化した (□)。

抗体固定化ゼラチンナノ粒子の抗原親和性 (図 2) を、粒子への抗原結合量 (図 2A) および抗原発現細胞に対する抗体結合量 (図 2B) にて評価した。いずれの場合においても、NaIO₄ 法で作製した抗体固定化ゼラチンナノ粒子が、DSS 法よりも有意に高い結合量を示した。抗原は、抗体のエピトープ部位で認識されることが知られている。DSS 法では、固定化反応に抗体のアミノ基が用いられる。そのため、このエピトープ部位あるいはその周辺に存在するアミノ基が固定化反応に関与し、結果として固定化された抗体の抗原親和性が低下する可能性がある。一方、NaIO₄ 法では、エピトープ部位から離れた糖鎖が固定化反応に関与するため、固定化された抗体の抗原親和性が低下せ

ず保持される。結果として、NaIO₄法で作製した抗体固定化ゼラチンナノ粒子が、DSS法よりも有意に高い結合量を示したと考えられる。以降の実験では、NaIO₄法で作製した抗体固定化ゼラチンナノ粒子を用いた。

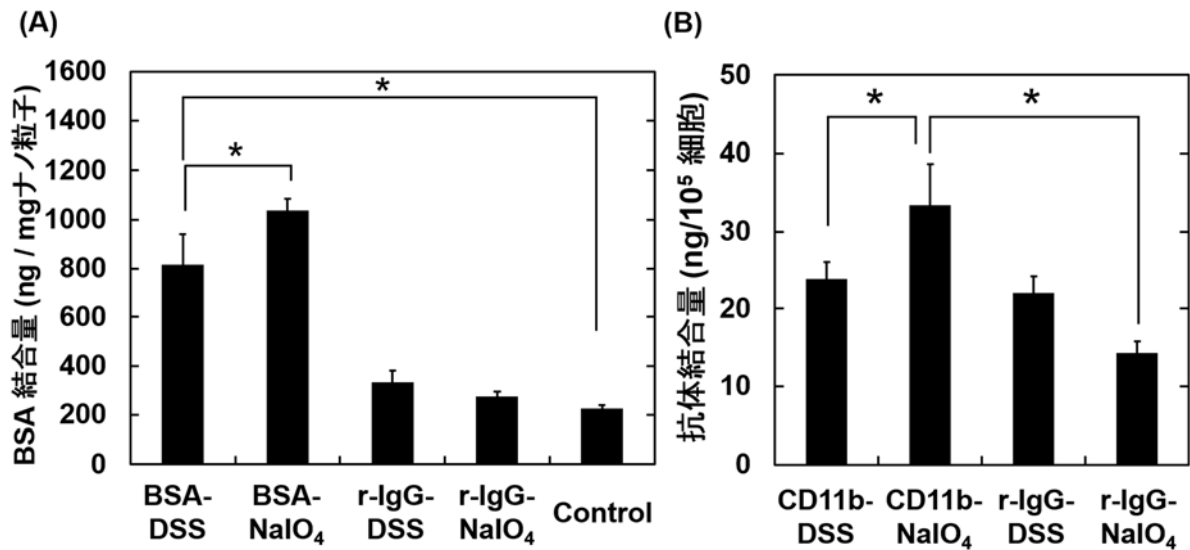


図2. 抗体固定化ゼラチンナノ粒子の抗原親和性の評価。(A)抗体固定化ゼラチンナノ粒子への抗原結合量。BSA-DSS (NaIO₄) :DSS (NaIO₄) 法で作製した BSA 抗体固定化ゼラチンナノ粒子、 r-IgG-DSS (NaIO₄) :DSS (NaIO₄) 法で作製した r-IgG 抗体固定化ゼラチンナノ粒子、 Control:抗体未修飾ゼラチンナノ粒子。*, p<0.05:指示群に対して有意差あり。(B) 抗原発現細胞に対する抗体結合量。CD11b-DSS (NaIO₄) :DSS (NaIO₄) 法で作製した CD11b 抗体固定化ゼラチンナノ粒子、 r-IgG-DSS (NaIO₄) :DSS (NaIO₄) 法で作製した r-IgG 抗体固定化ゼラチンナノ粒子。*, p<0.05:指示群に対して有意差あり。

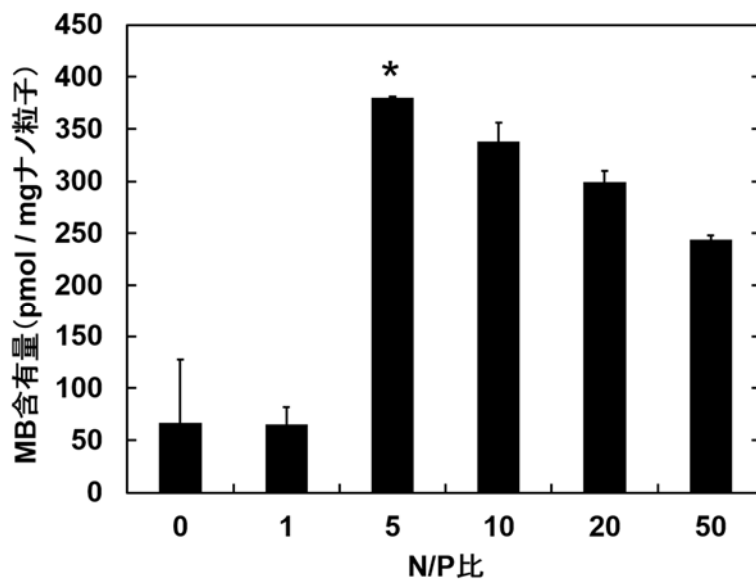


図3. 抗体固定化ゼラチンナノ粒子へのMB含有量に与えるTATとMBの混合比(N/P比)の影響。*, p<0.05:他のN/P比に対して有意差あり。

3.2 MB-ゼラチンナノ複合体の物性および細胞内 miRNA 検出能の評価

図3は、抗体固定化ゼラチンナノ粒子へのMB含有量に与えるTATとMBとの混合比(N/P比)の影響を示す。N/P比が5の時、抗体固定化ゼラチンナノ粒子のMB含有量が最大となった。これは、正電荷をもつTATの存在により、負電荷をもつMBとゼラチンナノ粒子との静電相互作用が高まったためと考えられる。以降の実験では、N/P=5で作製したMB-ゼラチンナノ複合体を用いた。

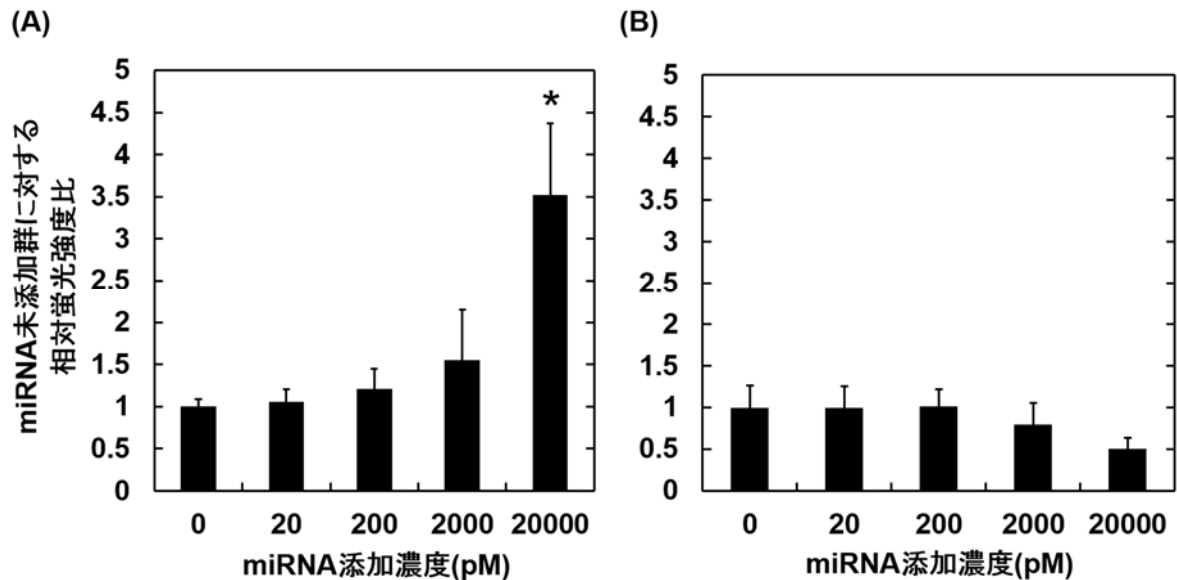


図4. 遊離MB (A)およびMB-ゼラチンナノ複合体のmiRNA応答性 (B)。*, $p < 0.05$: 他のmiRNA添加濃度に対して有意差あり。

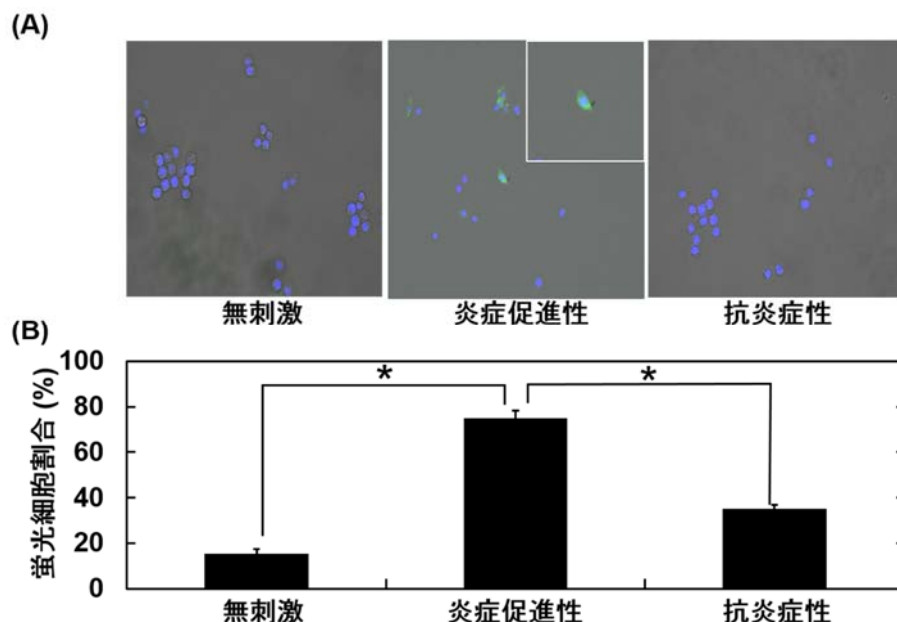


図5. MB-ゼラチンナノ複合体を添加後の種々のマクロファージの蛍光挙動。(A) 蛍光顕微鏡観察。青: 核、緑: MB由来の蛍光。(B) フローサイトメーターを用いた蛍光細胞割合の計測。*, $p < 0.05$: 指示群に対して有意差あり。

次に、MB の miRNA 応答性を調べた (図 4)。遊離 MB は、添加 miRNA 濃度の上昇にともない蛍光強度が増加した。一方、MB-ゼラチンナノ粒子では、蛍光強度の増加は抑制された。これは、ナノ粒子への内包により、MB と miRNA との相互作用が抑制されたためと考えられる。MB-ゼラチンナノ複合体を種々のマクロファージへ添加し、その蛍光挙動を観察、計測した結果、抗炎症性のマクロファージと比べて、炎症性のマクロファージの細胞内で強い蛍光発光が確認された (図 5)。この結果は、MB-ゼラチン複合体が細胞内へ取り込まれた後 MB が放出され、炎症性マクロファージ内で高発現している miR-155a との特異的相互作用により MB の構造が変化し、蛍光を発光したことが理由であると考えられる。

4. 結論

抗原親和性を保持した抗体を固定化したゼラチンナノ粒子を作製することができた。また、得られた抗体固定化ゼラチンナノ粒子と miR-155a に対する MB の複合体を用いることで、炎症性マクロファージにおいて MB 由来の蛍光を観察できた。MB は、その塩基配列を変化させることで、種々の標的 miRNA あるいはメッセンジャー RNA (mRNA) を検出することができる。一方、miRNA や mRNA は細胞の生物機能をコントロールする key 物質である。今回開発した MB に対する細胞内デリバリー技術を活用することで、さまざまな細胞の生物機能を可視化できるものと期待される。

5. 参考文献

1. Crupi A, Costa A, Tarnok A, et al. Inflammation in tissue engineering: The Janus between engraftment and rejection. *European journal of immunology* 2015;45:3222-36
2. Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature reviews Immunology* 2008;8:958-69
3. Graff JW, Dickson AM, Clay G, et al. Identifying functional microRNAs in macrophages with polarized phenotypes. *The Journal of biological chemistry* 2012;287:21816-25
4. Ko HY, Lee J, Moon SU, et al. Bioimaging of microRNA34c in a single sperm using a molecular beacon. *Chemical communications* 2015;51:16679-82
5. Lee JH, Kim JA, Kwon MH, et al. In situ single step detection of exosome microRNA using molecular beacon. *Biomaterials* 2015;54:116-25
6. Wilbur DS. Radiohalogenation of proteins: an overview of radionuclides, labeling methods, and reagents for conjugate labeling. *Bioconjugate chemistry* 1992;3:433-70

バクテリアセルロース強化エラストマーの創製

辻井敬亘 清水吉彦 榊原圭太
Y. Tsujii, Y. Shimizu, K. Sakakibara
京都大学化学研究所

1. はじめに

今世紀に入り、先端的なナノファイバー材料（カーボンナノチューブ・グラフェンなど。加えて、特に最近ではセルロースナノファイバー（CNF））とのナノコンポジット化に大きな注目が集まる。現況のナノコンポジット材料は nm スケールでは不均一なため、様々な欠陥（局所的凝集やボイドなど）によりその力学物性は理論値より概ね低い。一方で、鉄などの構造材料の代替として、高分子ナノコンポジット材料の軽量高強度化が重要な課題であり、材料の靱性や耐久性のさらなる向上が強く求められる。本研究は、自然界の精緻な CNF ネットワークに着目し、理想的に補強されたナノコンポジット材料の創製を目的とする。

CNF は、植物細胞壁や酢酸菌の細胞外分泌物、ホヤの被囊などにマイクロフィブリルとして存在する、幅数十 nm、長さ数 μm のナノファイバーである。特に、木質バイオマスから得られる CNF は、豊富な資源量（セルロース現存量は約 8 兆 t）と物性（結晶弾性率：138 GPa¹⁾、強度：2-3 GPa²⁾、線熱膨張係数： $10^{-7}/\text{K}$ ³⁾）を理由に、軽量・高強度で透明な複合材料の補強材としての利用が期待されている。しかしながら、CNF は水酸基を有し、分子内、分子間の強い水素結合が特有の物性を発現する一方、その親水性ゆえに、疎水性の樹脂に対する分散性が悪く、さらには、界面強度が小さいため、ファイバーとして CNF が本来有する特性を十分に活用できない課題があった。

一方、バクテリアセルロース（BC）は CNF 同士が微細で複雑に絡み合ったネットワークを形成したハイドロゲルであり、断面の長径が 50 nm、短径が 7.5 nm、鎖長が数 μm 以上ある高アスペクト比の CNF で構成される⁴⁾。これまでに、BC を補強繊維とした多孔材料⁵⁾やゲル材料⁶⁾、樹脂材料⁷⁾が報告されており、BC は魅力的なナノ材料の一つとして認識される。一方、BC ゲルは CNF の微細なネットワーク構造で維持されることから、その構造を保ったまま複合化できれば、CNF がパーコレートした構造明確なナノコンポジット材料を得られると考えた。

2. バクテリアセルロース強化樹脂複合材料の創製

Shi らは、セルロース溶液を貧溶媒で凝固させゲルを調製し、モノマーに置換後重合することで複合材料を作製した⁸⁾。一方、筆者らは、BC ゲルの内包水を段階的溶媒置換によりモノマーに置換後、ラジカル重合に供することで、CNF ネットワーク構造を保持したナノコンポジット樹脂材料を作製した（図 1）。具体

的には、BC ゲル内の水を tetrahydrofuran (THF)、次いで methyl methacrylate (MMA) に完全に置換後、少量の AIBN を含む MMA に置換し、Ar 雰囲気下、60 °C→70 °C→100 °C で各 12 時間、段階的に加熱して作製した。この際、BC/MMA ゲルを圧縮することで繊維率を制御した。

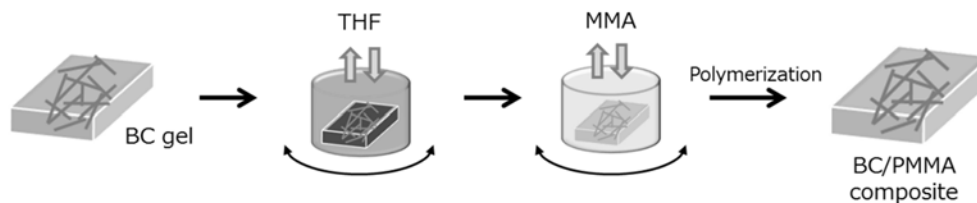


Figure 1. Schematic illustration for preparation of BC/PMMA composites.

段階的溶媒置換後の溶媒の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルから、水と THF の完全な除去を確認した。また、重合後のバルク部分と複合体部分の重合率、分子量、および分子量分布に大差ないことも確認した。蛍光標識した繊維率 0.3 vol% の複合体を共焦点レーザースキャン顕微鏡 (CLSM) により観察したところ、予想通り CNF ネットワークが複合化後も維持されていることが判明した (図 2)。

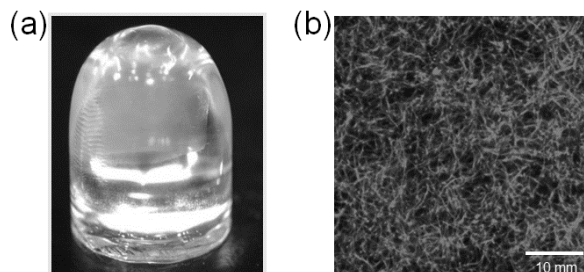


Figure 2. (a) Picture and (b) CLSM image of a BC/PMMA composite.

巨視的な引張試験では CNF の補強効果が確認し難いと考え、ナノインデントーによるサブミクロンスケールの力学試験に取り組んだ。複合体の face、edge 方向の押し込み深さ 7 - 8 μm の領域における弾性率を図 3 に示す。バルクの PMMA が 4.8 GPa に対し、繊維率 0.3 vol% の複合体部分が 5.1 GPa であった。また、繊維率 0.8、3.7 vol% の圧縮 BC 複合体は、BC の配向により edge 方向の弾性率が高くなった。

得られた値をパーコレーション力学モデル^{9,10)}で解析したところ、CNF 含有率が 5 % 以下の領域では、CNF の結晶弾性率 (138 GPa¹¹⁾) を用いて予測される理論値と一致し、BC の微細ネットワーク構造による効果的な補強が示された。さらに、CNF 含有率が 0.3 vol% にも関わらず有意な補強効果が認められたことから、理想的なパーコレーションの形成が示唆された。一方、繊維率 19.0 vol% の複合体は理論曲線から大きく逸脱した挙動を示し、これは CNF の凝集に起因すると考察した。以上より、CNF ネットワークの形成により、結晶弾性率から予測される力学特性を十分に発揮し得ることを明らかにした。本手法を用いれば、複合材料における補強効果を界面効果と分散効果に切り離して独立に評価可能と考える。

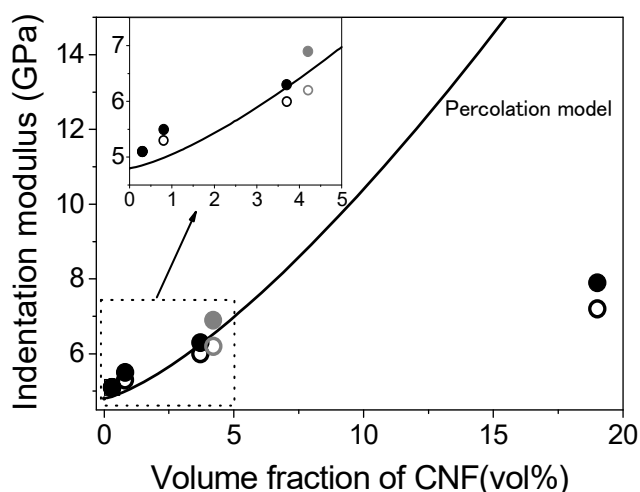


Figure 3. Plots of indentation modulus of PMMA and BC/PMMA composites measured in face (black filled circles) and edge (black open circles) directions versus volume fraction of CNF. The solid line represents a prediction of modulus by the percolation model.

3. バクテリアセルロース強化エラストマーの創製

次に、この複合化手法を BC 強化エラストマーの創製に展開した。BC ゲルの内包水を、0.02 mol%の架橋剤及び 0.02 wt%の光重合開始剤を含む ethyl acrylate (EA) 溶液に置換し、光重合に供することで、BC 強化エラストマー (BC/PEA) を得た。溶媒置換によるゲルの体積収縮はほとんどなく、水と THF がほぼ完全に除去できたことを確認した。重合率は 98%以上であった。蛍光標識した BC 強化エラストマーの CLSM 観察により、一連の操作でも BC ネットワークが維持されたと判断した。

得られた BC 強化エラストマーの初期弾性率は 12.6 MPa であり、非強化エラストマーのそれ (0.32 MPa) と比較して約 40 倍と大きく向上し、降伏後はネッキングを伴いながらも高いタフネスを実現した (図 6)。これは伸びに伴い CNF

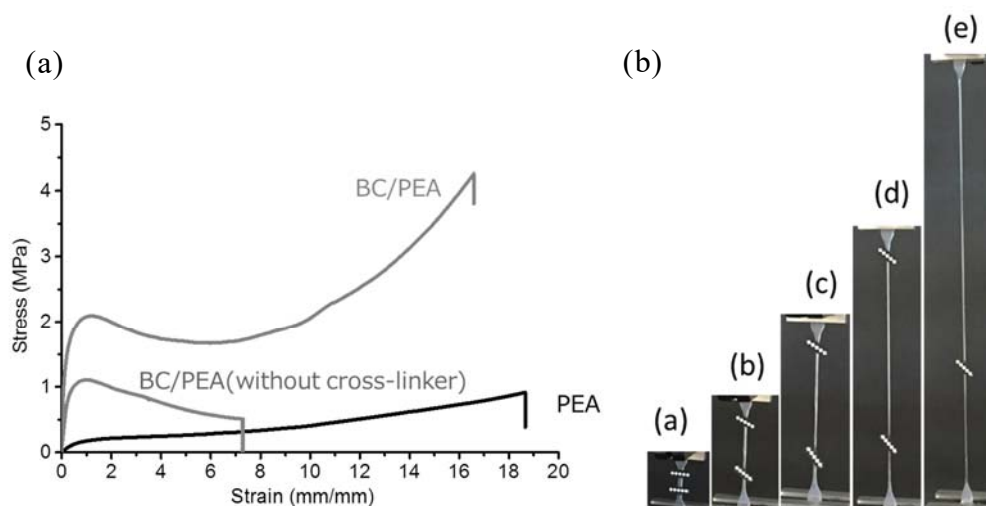


Figure 6. (a) Stress-strain curves of PEA and BC/PEA elastomer. (b) Pictures of the BC/PEA elastomers with tensile strain; a: 0%, b: 200%, c: 400%, d: 800%, e: 1400% strain.

間の水素結合による弱い架橋点が破壊され降伏に至るものの、高アスペクト比とナノ分散に基づく CNF ネットワークを形成しているためと考えた。また、BC 強化エラストマーの破断ひずみは 16.6 であり、破壊エネルギーは非強化エラストマーのそれと比べ 4.6 倍にも達した。これら力学特性は、BC のパーコレーション構造に起因すると判断した。

4. おわりに

酢酸菌が産出するバクテリアセルロースが nm オーダーで均一なパーコレーション構造を有することに着目し、その構造を損なうことなく樹脂およびエラストマーに変換することで、高性能な複合材料を創製し得た。本手法を鍵技術として用いれば、フィラーの部分的不均一構造（凝集）やマイクロなボイド、表面の亀裂などの欠陥を有さず、かつフィラーが nm スケールで均一な構造が得られ、ナノコンポジット材料をマルチスケールに理解できると考える。今後は、ナノファイバーネットワークの架橋密度や架橋分布と力学性能（弾性率・強度・タフネス）との関係を明らかにしていきたい。さらに、ナノコンポジット材料における界面効果の分子的起源を把握したいと考える。

参考文献

- 1) I. Sakurada, Y. Nukushima, T. Ito, *J. Polym. Sci.*, **57**, 651 (1962).
- 2) T. Saito, R. Kuramae, J. Wohler, L. A. Berglund, A. Isogai, *Biomacromolecules*, **14**, 248 (2013).
- 3) T. Nishino, I. Matsuda, K. Hirao, *Macromolecules*, **37**, 7683 (2004).
- 4) M. Iguchi, S. Yamanaka, A. Budhiono, *J. Mater. Sci.*, **35**, 261 (2000).
- 5) H. Shim, A. Dobashi, H. Uyama, *Chem. Lett*, **45**, 51 (2016).
- 6) A. Nakayama, A. Kakugo, J. P. Gong, Y. Osada, M. Takai, T. Erata, S. Kawano, *Adv. Funct. Mater.*, **14**, 1124 (2004).
- 7) A. N. Nakagaito, S. Iwamoto, H. Yano, *Appl. Physics A*, **80**, 93 (2005).
- 8) Z. Shi, J. Huang, C. Liu, B. Ding, S. Kuga, J. Cai, L. Zhang, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **7**, 22990 (2015).
- 9) N. Ouali, J. Y. Cavallé, J. Perez, *Plast., Rubber Compos. Process. Appl.*, **16**, 55 (1991).
- 10) M. Takayanagi, S. Uemura, S. Minami, *J. Polym. Sci., Part C: Polym. Symp.*, **5**, 113 (1964).

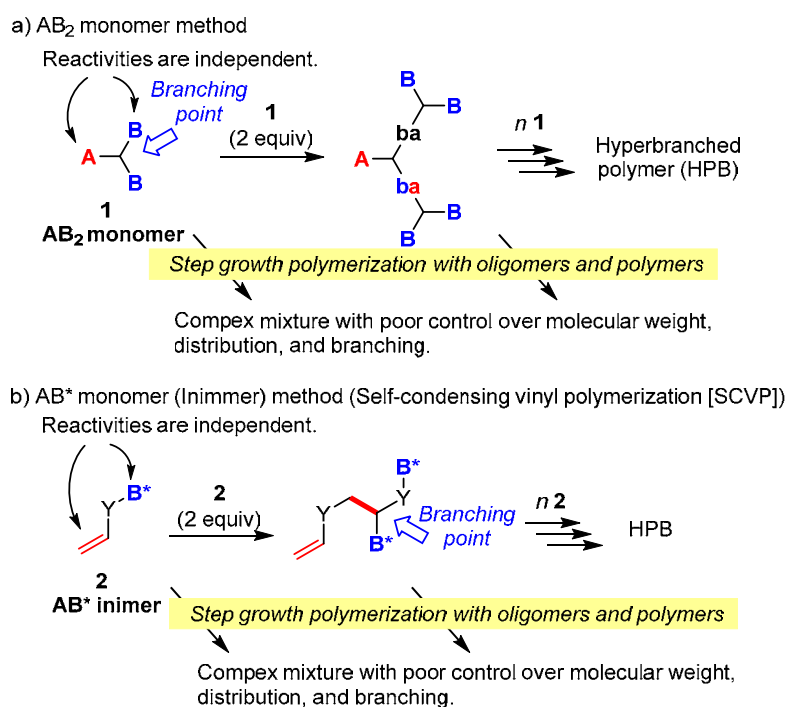
新しいモノマー設計に基づく分岐高分子の制御合成

山子 茂, 路 楊天 (Shigeru Yamago and Yangtian Lu)

京都大学 化学研究所

緒言

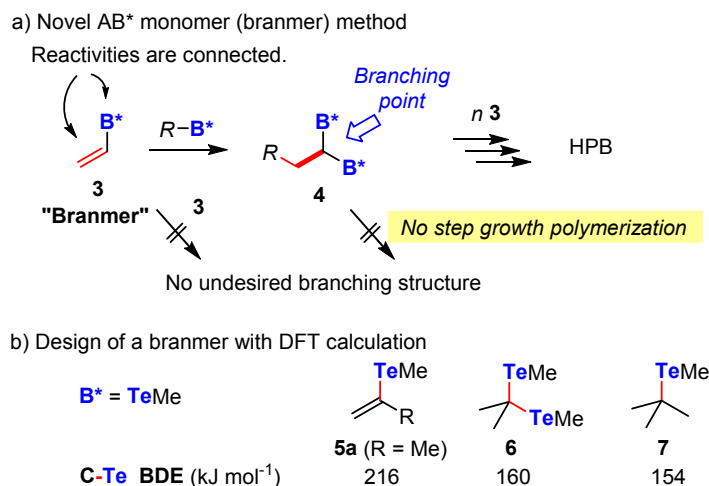
分岐高分子は対応する線状高分子に比べ、流体力学半径が小さい、固有粘度が低い、溶解度が高い、表面官能基の数が大きい等、様々な特徴を持つことから、すでに粘度調節剤や潤滑剤や、触媒、薬物輸送システム等への利用が行われている。^{1,2} 分岐高分子における三次元構造、すなわち、分子量、分子量分布、分岐の数、分岐密度を制御できれば、分岐高分子の特徴ある物性をさらに高度にチューニングできると期待される。しかし、多分岐高分子の構造を制御して合成する、実用的で汎用的な方法は無い。枝状高分子である dendrimer・dendron は最も構造が制御された多分岐高分子であるが、その合成は多段階合成に依っているため、実用性に欠ける。³⁻⁵ 一方、分岐高分子を合成する簡便な方法として、二種の官能基 A と B とを持つ多官能性モノマー (AB_x モノマー) **1** を用いる逐次重合と ($X=2$, Scheme 1a)、^{6,7} ビニル基 A と開始基 B^* とを持つモノマー (AB^* モノマー: イニマー) **2** を持つ自己縮重ビニル重合 (Scheme 1b) と、⁸ そこにビニルモノマーを加える自己縮重ビニル共重合が知られている。⁹ しかし、いずれの方法においても、望みの分岐構造を与える反応のみならず、逐次重合の関与により、反応系に共存するすべてのモノマー、オリゴマー、ポリマーが重合反



Scheme 1. Conventional synthetic strategy to hyperbranched polymers. a) AB_x ($X = 2$) monomer method and b) AB^* monomer (inimer) method.

応に關与する。このため、生成する多分岐高分子体の構造を制御することは、モノマー転化率を低く抑えたり、¹⁰ 乳化重合によりミセル間の反応を防ぐ等、¹¹ 特殊な反応条件下でのみ可能である。

本研究では、新しい AB*モノマーを設計することで、分岐高分子の構造制御重合について検討を行った。従来法の問題点は、A と B あるいは B*との反応性が独立していることに由来する。したがって、A と B*の反応性を関連付けることができれば、例えば、A が反応した後に初めて B*が反応すれば、連鎖重合のみを用いることで、構造の制御が行えると考えた (Scheme 2a)。そこで、本研究ではビニル基に B*が直接結合した化合物 **3** に着目した。**3** において、C-B*結合のホモ開裂、あるいはヘテロ開裂によるビニルラジカル、あるいはビニルカチオンの生成はエネルギー的に不利であると予想できる。一方、**3** が他の休止種 R-B*と反応して生成する **4** における C-B*結合の開裂では、アルキルラジカル、カチオンが生成することから、エネルギー的に有利になる。したがって、**4** の二つの C-B*結合が速やかに活性化されて重合が進行すれば、**3** が分岐点として働くと予想される。モノマー**3** は開始基として働くことなく分岐点としてのみ働くことから、ブランマーと名付けた。本概念はリビングラジカル重合およびリビングカチオン重合に適用可能であると考えている。一方、我々はすでに有機テルル化合物を用いる優れたリビングラジカル重合系を開発していることから、^{12,13} 本研究ではこの仮説の実現のため、B*として有機テルル基を選択し、ラジカル条件下での分岐高分子合成について検討を行った。



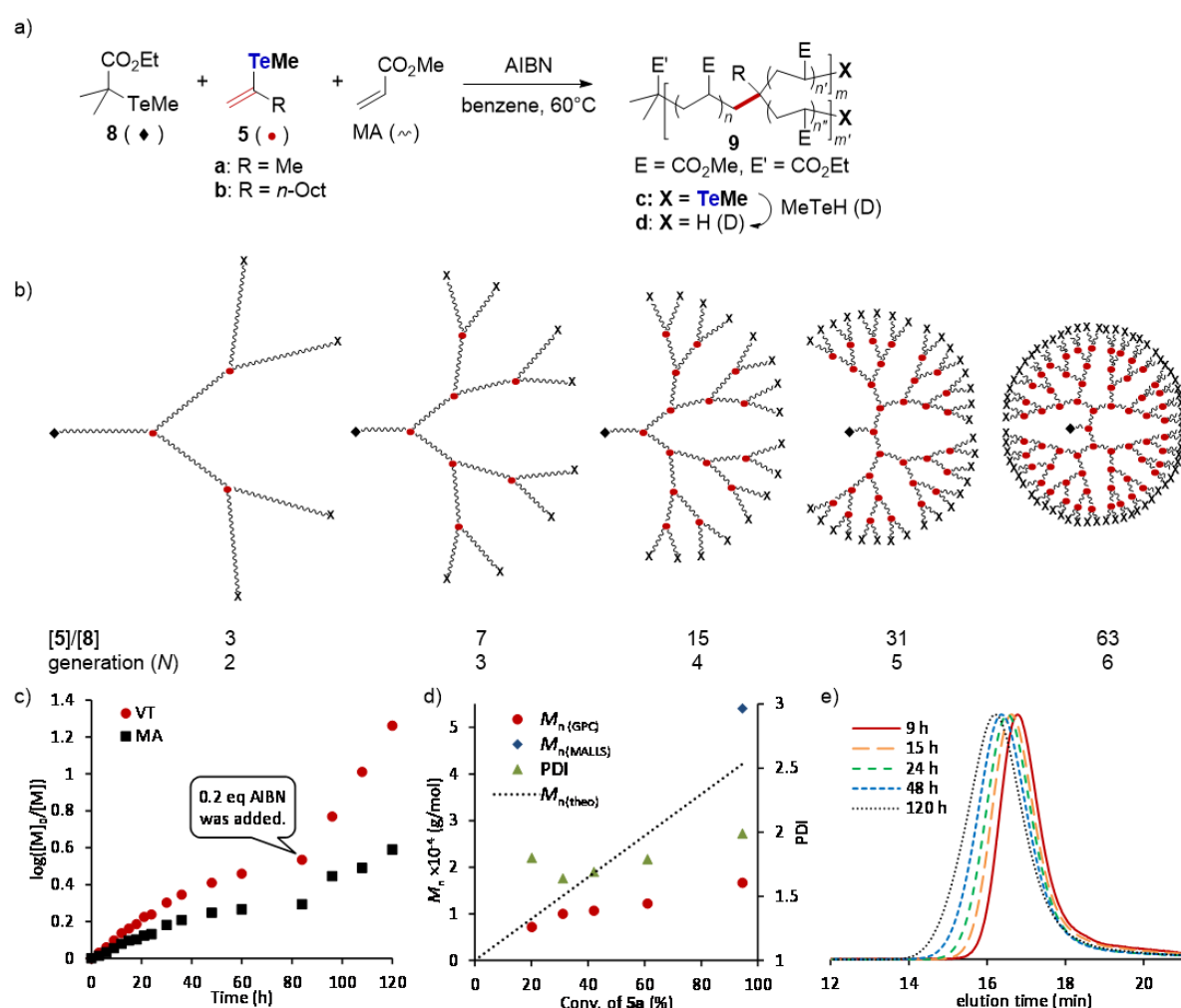
Scheme 2. a) A new synthetic strategy to hyperbranched polymers and b) design of new monomers by the density functional theory (DFT) calculation at (U)B3LYP/6-31G(d,p)(C,H) + Te(LANL2DZ). BDE refers to bond dissociation energy.

結果と考察

ブランマーとしてビニルテルリド **5** を選択した (Scheme 2b)。DFT 計算により求めた **5a** (R = Me) における C-Te 結合の結合解離エネルギーは 216 kJ/mol であり、重

合末端モデル化合物である **6** と **7** の値 160 kJ/mol、154 kJ/mol に比べて十分大きい。このことから、**5** に対して選択的に **6** と **7** が活性化されることが示唆された。さらに、**6** と **7** の結合解離エネルギーが似ていることから、**4** が生成した後は二つの B*置換基の活性化はほぼ同時に起きることが期待される。

そこで **5a** を合成し、これまで用いてきた有機テルル連鎖移動剤 **8** の共存下でアクリル酸メチル (MA) との共重合を検討した。具体的には、**8** と **5** と MA とを $1:2^N - 1$ ($N = 2 - 6$) :500 で混合し、AIBN (0.2 equiv.) を加えて 60 °C で加熱した (Scheme 3a, Table 1, runs 1-5)。さらに、コントロール実験として **5** を加えない重合 ($N = 0$) による直鎖重合体の合成も行った (run 6)。重合が理想的に進めば、**8** に由来する開始基と **5** に由来する分岐点が PMA 鎖で結合したデンドロン構造を持つ分岐高分子 **9** が生成する。すなわち、**8** に対する **5** の添加量 N はデンドロンの世代に相当し、 $N = 2 - 6$



Scheme 3. a) Synthesis of a dendritic hyperbranched copolymer. b) Schematic structures of ideal polymer products produced at $[5]/[8]$ ratios of $2^N - 1$ corresponding to dendritic generations $N = 1 - 6$. c) Consumption of branmer **5a** and MA. AIBN (0.2 equiv.) was further added after 84 h. d) Correlation between monomer conversion, number average molecular weight, and PDI. e) Time course of the GPC traces.

Table 1. Synthesis of Branched Polymers by Copolymerization of Branmer **5** and Methyl Acrylate under TERP.^a

Run	[8]/[5a]/[MA] (Generation <i>N</i>)	Time (h)	Conv. (%)		$M_{n[\text{theo}]}$ $\times 10^{-4}$	$M_{n[\text{GPC}]}$ ^a $\times 10^{-4}$	PDI ^a	$M_{n[\text{MALLS}]}$ ^b $\times 10^{-4}$
			5a	MA				
1	1/3/500 (2)	24	>99	95	4.12	4.21	1.55	5.37
2	1/7/500 (3)	30	>99	94	4.10	3.27	1.62	5.35
3	1/15/500 (4)	43	>99	90	3.96	2.56	1.71	5.73
4 ^c	1/31/500 (5)	84	>99	90	4.03	1.71	1.97	5.60
5 ^d	1/63/500 (6)	120	95	74	3.46	0.98	1.99	5.39
6	1/0/500 (0)	2	-	90	3.90	3.96	1.12	3.72
7	1/15/250 (4)	66	>99	94	2.07	1.20	1.87	2.40
8	1/15/100 (4)	66	>99	92	0.86	0.56	1.40	0.91

^aDetermined by GPC calibrated against poly(methyl methacrylate) standards. ^bWeight average molecular weight obtained by MALLS ($M_{w[\text{MALLS}]}$) was divided by the PDI (M_w/M_n) obtained by GPC. ^cAdditional AIBN (0.2 equiv.) was added after 24 h. ^dAdditional AIBN (0.2 equiv.) was added after 84 h.

に相当して $2^N - 1$ 個の分岐点を持つ高分子が得られる (Scheme 3b)。

5a の量が増えるにつれて重合速度は遅くなったが、いずれの場合にも最終的には **5a**、MA とともにほぼ定量的に消費された。本実験で最も分岐度が高い高分子が生成する $N=6$ におけるモノマー転化の時間変化を Scheme 3c に示した。**5a** の消費が MA よりも少し高いものの、その消費速度の比は一定であり、特に重合初期では偽一次反応に従っていることから、重合反応が制御されて進行していることが示唆された。生成した重合体の数平均分子量を GPC で見積もったところ ($M_{n(\text{GPC})}$)、重合初期では理論値 $M_{n(\text{theo})}$ に近かったが、モノマー転化が進むにつれて大きく逸脱した。これは分岐高分子が鎖状高分子に比べて流体力学半径が小さいことと良い一致を示している。一方、重合終了時のサンプルを MALLS 測定により分子量を見積もったところ ($M_{n(\text{MALLS})}$)、理論値に比較的近い値を示した。さらに、重合中において GPC は常に短峰性を保って高分子量側に移動した (Scheme 3e)。これらの特徴は、世代の低い分岐高分子合成においても観測された。すなわち、いずれの場合も $M_{n(\text{GPC})}$ はいずれも $M_{n(\text{theo})}$ よりも低く、世代が大きくなるにつれてその違いは大きくなった。その一方、GPC ピークはいずれも単分散であると共に、分散度は 2 以下であった。さらに、 $M_{n(\text{MALLS})}$ はいずれも $M_{n(\text{theo})}$ と良い一致を示した。さらに、MALLS から得られた重量平均分子量とユニバーサル補正を用いて合成したサンプルの粘度を見積もったところ、Mark-Houwink-Sakurada 式の指数 a は 0.36–0.44 であり、直鎖 PMA の指数 a (0.82) に比べてかなり小さかった。以上の結果は、いずれの場合においても望みの分岐高分子が得られていることと良い一致を示している。

次に、分子量の制御と分岐密度の制御について検討した。**8** と **5a** の比を一定にして、

MA の量を変化させたところ、いずれの場合にも **5a** および MA はほぼ定量的に消費され、GPC、MALLS から構造の制御された分岐高分子が得られたことが示された (runs 7 and 8)。この結果から、分子量と分岐密度とも容易に制御できることが示された。さらに、ブランマーとして **5a** のみならず、長鎖アルキル基を持つ **5b** も利用可能であり、同様な結果を与えることも明らかになった。現在は、成長末端の重水素ラベル化や、¹³C ラベル化したブランマーを用いて、分岐構造を分子レベルで解明を行っている。

結言

ブランマーを新たに設計してアクリル酸エステルとの共重合を行うことで、通常の重合操作で、簡便に多分岐高分子を構造制御して合成できることを明らかにした。連鎖移動剤、ブランマー、アクリルモノマーの比を変えることで、狭い分布を保ったまま、分子量、分岐の数、分岐の密度を任意に制御できることから、従来法に無い自由度の高い多分岐重合体の制御合成法である。さらに、本重合はリビングラジカル重合であることから、種々の官能基との共存やブロック共重合体や末端変性重合体の合成が可能である。これらのことから、本方法は多分岐重合体の合成とそれを用いる高分子材料開発に新しい方法を提供するものであると考えている。

リファレンス

- (1) *Hyperbranched Polymers: Synthesis, Properties, and Applications*; Yan, D.; Gao, C.; Frey, H., Eds.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, New Jersey, 2011.
- (2) Voit, B. I.; Lederer, A. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 5924.
- (3) Tomalia, D. A.; Christensen, J.; Boas, U. *Dendrimers, Dendrons, and Dendritic Polymers*; Cambridge University press: New York, 2012.
- (4) Grayson, S. M.; Fréchet, J. M. J. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3819.
- (5) Hirao, K.; Sugiyama, K.; Tsunoda, Y.; Matsuo, A.; Watanabe, T. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 6659.
- (6) Flory, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 2718.
- (7) Kim, Y. H.; Webster, O. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4592.
- (8) Fréchet, J. M. J.; Henmi, M.; Gitsov, I.; Aoshima, S.; Leduc, M. R.; Grubbs, R. B. *Science* **1995**, *269*, 1080.
- (9) Litvinenko, G. I.; Simon, P. F. W.; Müller, A. H. E. *Macromolecules* **1999**, *32*, 2410.
- (10) Matyjaszewski, K.; Gaynor, S. G.; Müller, A. H. E. *Macromolecules* **1997**, *30*, 7034.
- (11) Min, K.; Gao, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 15680.
- (12) Yamago, S. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 5051.
- (13) Yamago, S.; Iida, K.; Yoshida, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2874.

ポリ (*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPA) ゲルの体積相転移に及ぼす荷重の影響

Effect of Uniaxial Tension on the Volume Phase Transition of Poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPA) Gels

瀧川敏算, 堀中順一, 栃下直矢

Toshikazu Takigawa, Jun-ichi Horinaka, Naoya Tochishita

京都大学大学院 工学研究科 材料化学専攻

1. はじめに

高分子濃度および架橋密度の低いポリ (*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPA)ゲルは体積相転移を示す。体積相転移温度では、ゲルの体積は不連続的に大きく変化するため、この転移現象をアクチュエータに応用することができる。特に、PNIPA ゲルでは、転移温度がひとの体温付近($\sim 33^{\circ}\text{C}$)であるため、人工筋肉への応用が考えられてきた。このゲルを人工筋肉のようなソフトアクチュエータとして利用するためには、転移による長さの変化量 (アクチュエータの可動域) だけでなく、応答速度や適用荷重域など多くのファクターを考えなければならない。ゲルの体積相転移を使ったアクチュエータでは、応答速度はそれほど速くはないため、現在ではこの相転移を応用したアクチュエータの実用化はむつかしいと考えられている。

実際にアクチュエータとしての応用が困難な場合でも、アクチュエータの仕事効率を理論的に考えることは重要である。特に、相転移現象を使うアクチュエータでは、仕事効率が相転移の際の熱力学量の変化に直接関係しているためだからである。本研究の目的は、荷重 (一軸伸長応力) 下にある PNIPA ゲルの体積相転移挙動を調べ、荷重と転移温度の関係性を明らかにすることである。さらに、荷重下の PNIPA ゲルで予想される特異な相転移挙動についても考察する。

2. 理論的背景¹⁻⁵⁾

水中にある PNIPA ハイドロゲルでは、膨潤相と収縮相は体積相転移温度 (T_{tr}) で共存状態にある。この状態を模式的に示したのが図 1 である。ここで、I は膨潤相、II は収縮相にあるゲルを示しており、黒い丸印はおもり

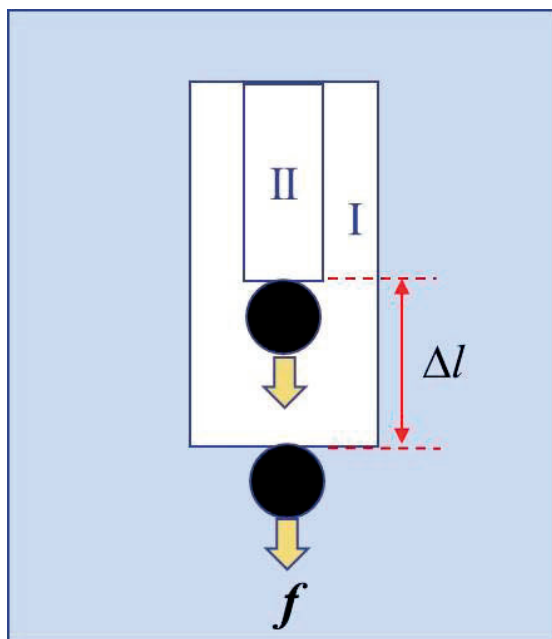


図 1 二相共存下にあるゲル

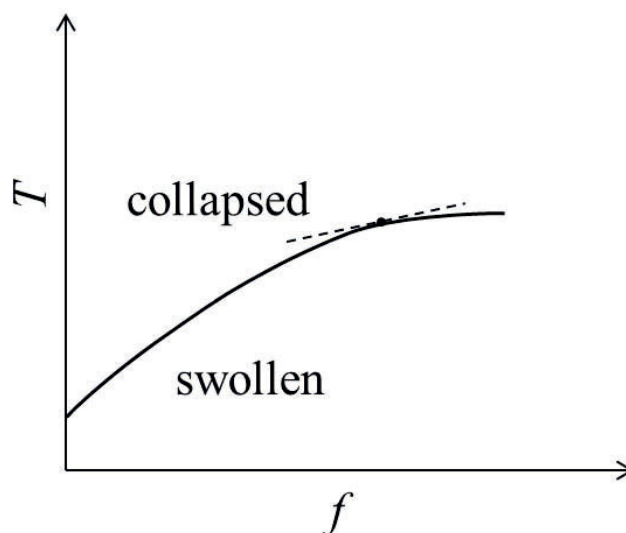


図 2 荷重下にあるゲルの相図

(荷重)を表している．また， f は（ベクトル量としての）荷重， Δl は（膨潤状態から収縮状態への）転移の際のゲル試料の長さ変化（ベクトル量として）である．このときにゲルがする仕事 ΔW は， $\Delta W = f \cdot \Delta l$ となる．図 2 はゲルの転移温度の荷重依存性曲線を模式的に示したものである．これは荷重下にあるゲルの相図に対応する．すなわち，曲線よりも上の領域は収縮相を表し，曲線よりも下の領域は膨潤相であり，体積相転移温度の荷重依存性曲線が 2 つの相の境界（共存線）になっている．このことから， Δl は以下のようなクラペイロン型の式で表されることがわかる．

$$\Delta l = -\frac{\Delta H}{T} \left(\frac{dT}{df} \right)_{\text{coex}} \quad (1)$$

ここで， ΔH は転移エンタルピーであり，下付きの"coex"は共存線についての微分を明示するために付加したものである．式(1)より W は

$$\Delta W = f \cdot \Delta l = -\frac{f \Delta H}{T} \left(\frac{dT}{df} \right)_{\text{coex}} \quad (2)$$

となる．ただし， $f = |f|$ である．収縮転移の際の仕事効率(c)を $c \equiv -\Delta W / \Delta H$ で定義すると，

$$c = -\frac{f}{T} \left(\frac{dT}{df} \right)_{\text{coex}} \quad (3)$$

となる。

3. 実験

PNIPA ゲルは *N*-イソプロピルアクリルアミド(NIPA)と *N,N'*-メチレンビスアクリルアミド(BIS)を共重合することで作製した。過硫酸アンモニウムを重合開始剤として用い、*N,N,N',N'*-テトラメチルエチレンジアミンを重合促進剤実験として使用した。[NIPA]:[BIS]=80:1 とし、全モノマー濃度は ~80g/L となるようにプレゲル溶液を調整した。プレゲル溶液をガラス管（内径が約 0.3mm）に入れ、4°C で 24h 静置することでゲル化させた。できたゲルを純水中に浸漬して未反応物を除去した後、25°C での純水中で平衡膨潤させた後実験に使用した。

荷重下にあるゲル体積相転移温度の決定には自作の恒温水槽とテレビカメラを用いた。恒温槽の温度制御の精度は $\pm 0.05^\circ\text{C}$ 程度であった。防錆処理をした金属球を円柱状ゲルに直接接着剤で固定することでゲルに負荷荷重を与えた。転移温度はゲルの直径(d)と長さ(l)の温度(T)依存性より決定した。ここで、 l は全長ではなく、表面上の標点間の長さとした。昇温測定と降温測定で d と l が不連続に変化する温度が違ったので、それらの平均値をゲルの転移温度(T_{tr})とした。

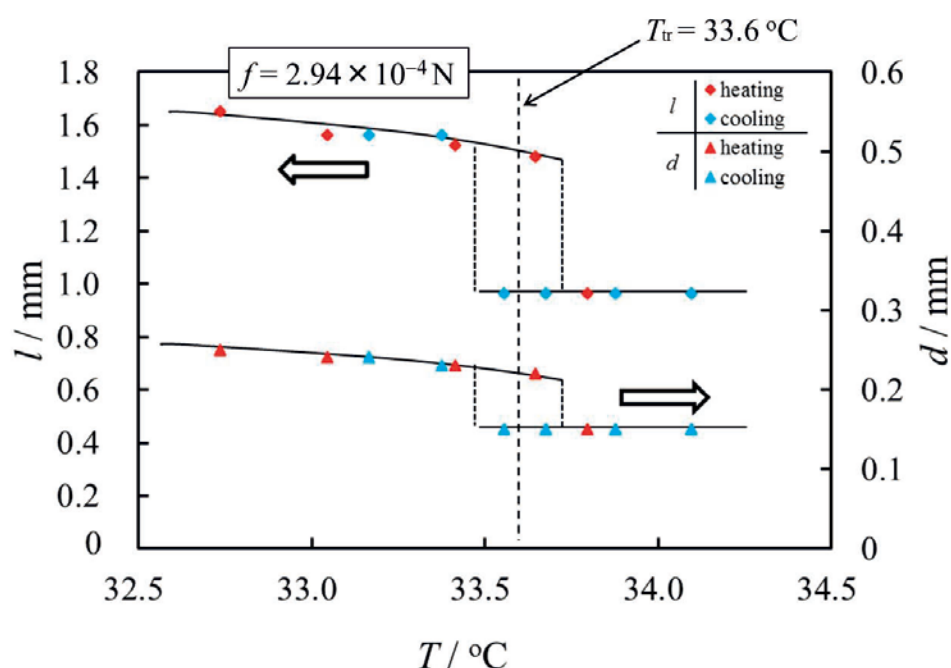


図 3 $f = 2.94 \times 10^{-4} \text{ N}$ での PNIPA ゲルの直径(d)と長さ(l)の温度(T)依存性

4. 結果と考察

図3は、荷重 f が $f = 2.94 \times 10^{-4} \text{N}$ の PNIPA ゲルの d と l の T 依存性である。昇温測定的时候は、 d と l は共に 33.7°C 付近で不連続的に下がっている。他方、降温測定では d と l は共に 33.4°C 付近で不連続な上昇を示している。このことから、不連続変化が起こる温度は d と l では同じであるが、昇温測定と降温測定ではわずかではあるが差がみられることがわかる。このようなヒステリシスは、全ての荷重下のゲルで共通に現れた。先に述べたように、本研究での転移温度は昇温測定と降温測定での転移温度の平均で定義することにしたので、図3のゲルの転移温度(T_{tr})は、 $T_{tr} = 33.6^\circ\text{C}$ である。

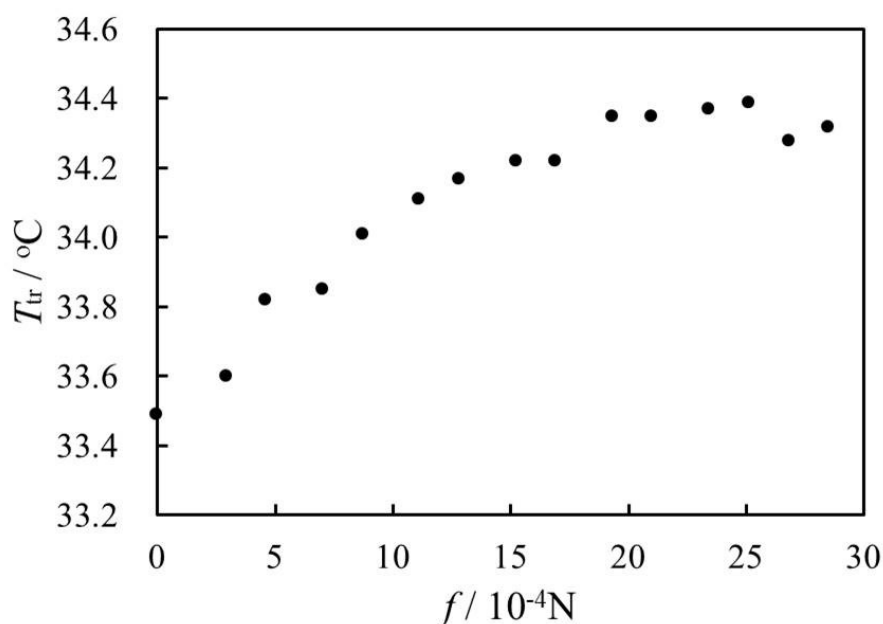


図4 PNIPA ゲルの転移温度(T_{tr})の荷重(f)依存性

図4はPNIPAゲルの T_{tr} の f 依存性である。 f の小さい領域では、 T_{tr} は f の増加と共に直線的に上昇している。しかし、 f がある程度以上大きくなると、 T_{tr} の上昇の程度は低下し、さらに f が大きくなると T_{tr} は減少に転じている。 T_{tr} (ここでは、絶対温度で表すものとする) の f 依存性曲線を f の二次関数と仮定し、各項の係数を最小二乗法を用いて求めると、

$$(4)$$

となった。この式と式(3)を組み合わせると c を求めることができる (式(3))

中の T は T_{tr} のことであることに注意) . 得られた c の f 依存性曲線を図 5 に示す. 今回実験に用いた PNIPA ゲルでは, 最大の仕事効率(c_{max})は, $f \approx 1.2 \times 10^{-3} \text{N}$ のとき $c_{max} \approx 0.0015$ となることがわかった. また, $f > 2.4 \times 10^{-3} \text{N}$ では, c が負になるという特異な現象が現れることがわかる. これは, ゲルが相転移で収縮すると荷重のかかっている面の面積が減少し応力が上昇するため, ゲルが膨潤時よりも引き伸ばされるということに対応している.

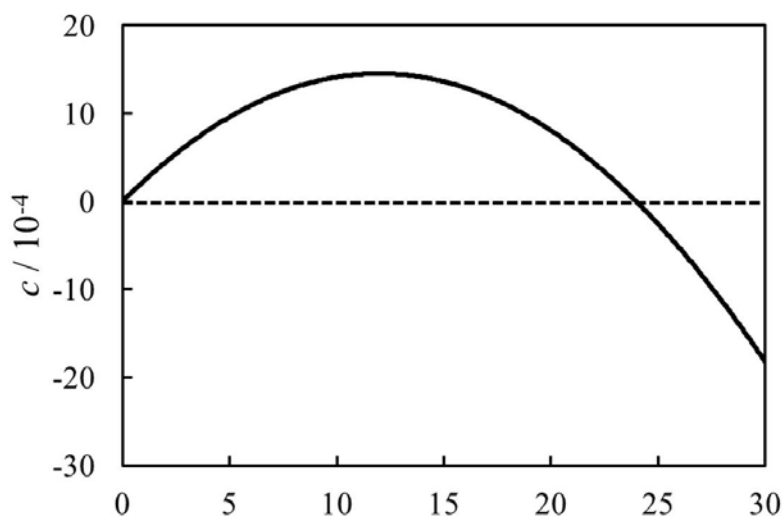


図 5 PNIPA ゲルの収縮転移の際の仕事効率(c)の荷重(f)依存性

参考文献

- 1) T. Takigawa, K. Takahashi, H. Araki, M. Nakamura, T. Masuda. *Polym. J.*, **33**, 297 (2000).
- 2) N. Tochishita, T. Sakai, J. Horinaka, T. Takigawa, *Nihon Reoroji Gakkaishi (J. Soc. Rheol. Jpn.)*, **43**, 165 (2015).
- 3) J. Horinaka, T. Sakai, T. Takigawa, *Nihon Reoroji Gakkaishi (J. Soc. Rheol. Jpn.)*, **43**, 169 (2015).
- 4) T. Sakai, J. Horinaka, T. Takigawa, *Polym. J.*, **47**, 244 (2015).
- 5) N. Tochishita, J. Horinaka, T. Takigawa, *Polym. J.*, **48**, 741 (2016).

ナノゲル架橋マイクロスフェアの設計と機能

秋吉一成、田原義朗、澤田晋一、向井貞篤、佐々木善浩

Kazunari Akiyoshi, Yoshiro Tahara, Shinichi Sawada,

Sada-atsu Mukai, Yoshihiro Sasaki,

京都大学大学院 工学研究科 高分子化学専攻

1. はじめに

ドラッグデリバリーシステムへ応用されるバイオマテリアルの開発が盛んに行われており、リポソームや高分子ミセルをはじめとしたナノメートルサイズのキャリア（ナノキャリア）は、その中でも中心的なマテリアルとして発展してきた。近年ではこのナノキャリアをボトムアップ的に利用することで、ナノキャリアの機能を付随したマクロなスケールのバイオマテリアルが開発され、注目されている。

コレステロール修飾プルラン（cholesterol-bearing pullulan, CHP）は、水中でコレステロールの疎水性相互作用によって自己組織化し、ナノメートルサイズのゲル（ナノゲル）を形成する（Figure 1） [1]。CHP ナノゲルは内部の疎水性ドメインにタンパク質を封入する特性をもち、分子シャペロンとして機能することが明らかとなり、抗原タンパク質やペプチドを封入することで癌ワクチンや経鼻ワクチンの分野におけるドラッグデリバリーキャリアとして成果を上げてきた [2]。また近年ではナノゲルをボトムアップ的に架橋したマクロなサイズのゲル（ナノゲル架橋ゲル）の開発が行われており、骨再生のための足場材料として利用された。さらにマクロなスケールにおいて、サブミクロン粒子 [3]、マイクロスフェア [4]、シート [5]、ファイバー [6]、ポーラスゲル [7] などが報告されており、ナノゲルを構成単位（テクトン）として利用した様々なナノゲルテクトニック材料が開発されている。

本研究ではナノゲル架橋マイクロスフェア（nanogel-cross-linked（NanoClik）microsphere）についてその設計方法と機能について報告する [4]。マイクロメートルサイズの球状粒子であるマイクロスフェアは薬物の長期徐放を目的としたドラッグデリバリーシステムにおいて利用される重要なマテリアルである。ここで従来のポリ

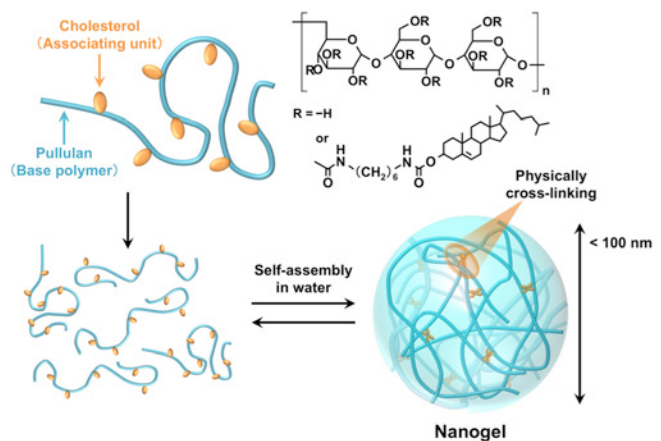


Figure 1. Schematic illustration of CHP nanogels

乳酸などの生分解性高分子によって構成されるマイクロスフェアは、体内での分解後は薬物が単独で徐放される。一方で NanoClik マイクロスフェアでは、架橋剤の分解後に“薬物封入ナノゲル”が徐放されるという特徴をもつ新しいバイオマテリアルであることが以下の検討によって明らかとなり、詳細な構造や機能について検討した。

2. NanoClik マイクロスフェアの調製と構造

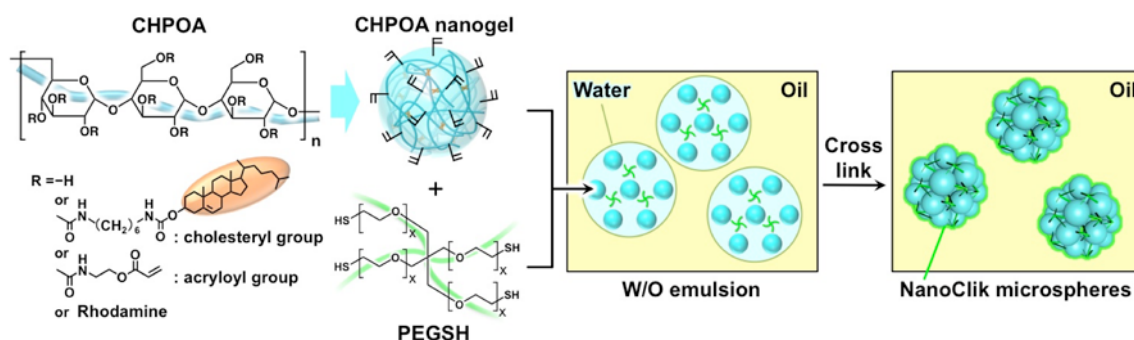


Figure 2. Preparation of NanoClik microspheres.

CHP (コレステロール置換率：1.2/100 glucose) にアクリロイル基 (OA, 置換率：25/100 glucose) を導入した CHPOA を合成した。必要に応じてローダミンの修飾も行った。CHPOA ナノゲルと末端チオール化 4 分岐ポリエチレングリコール (PEGSH) を混合したものを水相、ホスファチジルコリンを含むシクロヘキサンを油相とした water-in-oil (W/O) エマルジョンを調製後、マイケル付加反応によってナノゲルの架橋を行った。その後、凍結乾燥とショ糖密度遠心分離によって油相と界面活性剤を除去することで、ナノゲル架橋マイクロスフェアを得た (Figure 2)。

Table 1. Particle size of NanoClik microspheres.

Sample	Cross-linkers	OVA	Diameter (n=3)
NanoClik _{PEG-SH} microsphere	PEG-SH	-	8.5 ± 0.1 μm
OVA-loaded NanoClik _{PEG-SH} microsphere	PEG-SH	+	8.4 ± 0.4 μm
NanoClik _{PEG-cys} microsphere	PEG-NHS +Cys	-	8.3 ± 0.7 μm
OVA-loaded NanoClik _{PEG-cys} microsphere	PEG-NHS +Cys	+	8.6 ± 0.3 μm

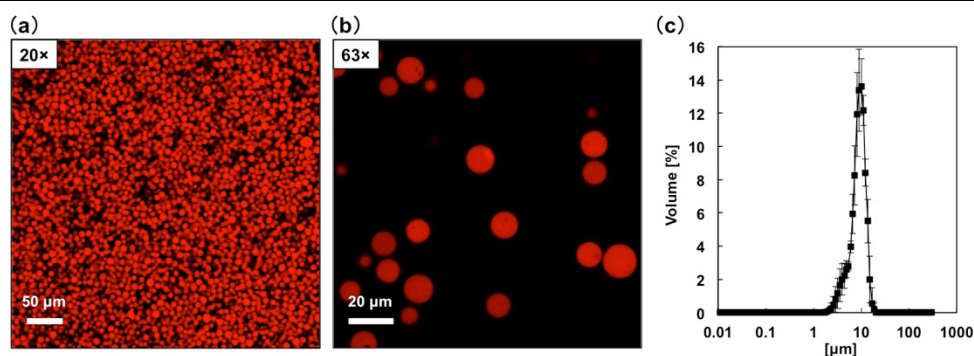


Figure 3. (a,b) NanoClik_{PEG-SH} microsphere. (c) Size distribution.

共焦点顕微鏡 (Figure 3a,b) とレーザー回折式粒度分布測定 (Figure 3c, Table 1) によって PEGSH を架橋剤とした NanoClik_{PEG-SH} マイクロスフェアは、直径約 8 μm の球状粒子である事が確認された。さらに stimulated emission depletion (STED) 顕微鏡によってプルラン架橋マイクロスフェアと NanoClik_{PEG-SH} マイクロスフェアの構造を詳細に観察すると (Figure 4)、プルラン架橋マイクロスフェアでは見られなかった $116 \pm 28 \text{ nm}$ ($n > 50$) の輝点が NanoClik_{PEG-SH} マイクロスフェアでは確認され、ナノゲル構造が保持されている事が明らかとなった。

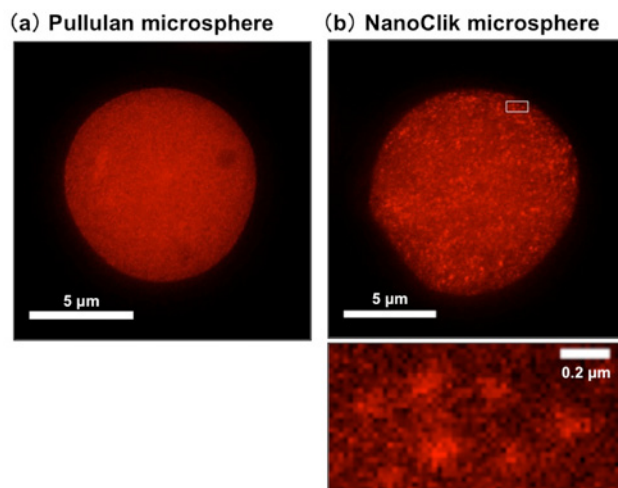


Figure 4. STED microscopy.

3. 薬物封入 NanoClik マイクロスフェアの特性

モデル薬物として卵白アルブミン (ovalbumin, OVA) を尿素透析法によって CHPOA ナノゲルと複合化した。複合化の確認はサイズ排除クロマトグラフィー (size exclusion chromatography, SEC) によって行い、CHP ナノゲルと同様に CHPOA ナノゲルでも OVA の複合化が可能である事が明らかとなった (Figure 5a)。得られた CHPOA と OVA の複合体ナノゲル (CHPOA-OVA) を PEGSH によって架橋し、OVA 封入 NanoClik マイクロスフェアを調製した。この NanoClik マイクロスフェアについて加水分解を行うと、加水分解後は OVA 単独ではなく“OVA 封入ナノゲル”がリリースされている事が分かった (Figure 5b)。プルラン架橋マイクロスフェアでは OVA 単独でリリースされる事からも、NanoClik マイクロスフェアは従来の高分子架橋マイクロスフェアには無い特徴をもったキャリアであることが示唆された。また分解物の動的光散乱測定 (dynamic light scattering, DLS) によって分解物にはナノメートルサイズの粒子が含まれることが分かり、透過型電子顕微鏡観察 (transmission electron microscopy, TEM) によって、マイクロスフェアからナノ粒子がリリースされる様子が観察された (Figure

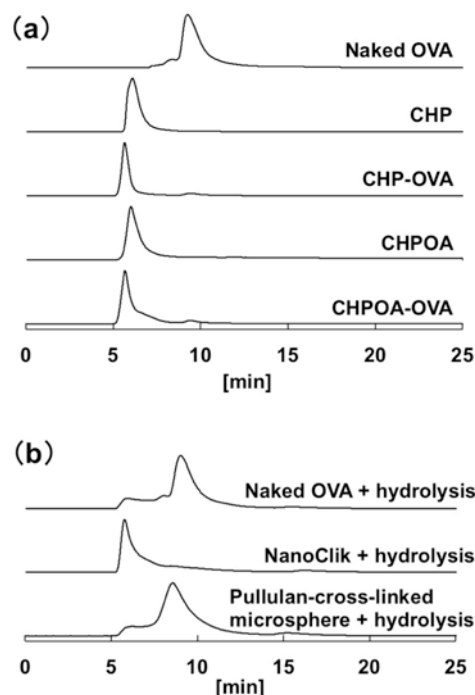


Figure 5. SEC

6)。

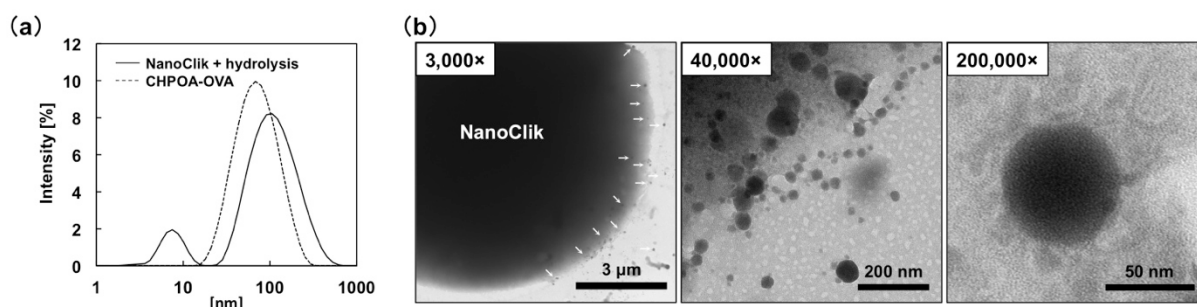


Figure 6. (a) Size distribution by DLS and (b) TEM images of the degradation materials resulting from the hydrolysis of OVA-loaded NanoClik_{PEG-SH} microsphere.

4. 薬物封入 NanoClik マイクロスフェアの DDS キャリアとしての機能

CHP ナノゲルはタンパク質を封入する性質をもち、抗原タンパク質を封入した免疫 DDS キャリアとして利用されてきた。癌ワクチンの分野においては 1998 年の報告より癌抗原タンパク質を封入した CHP ナノゲルは効率よく MHC クラス I 経路の抗原提示を行い、細胞性免疫の誘導に成功している [8]。さらにヒトの抗原提示細胞においても同様の機能が確認され [9]、2006 年の報告より癌抗原タンパク質を用いた臨床試験が開始されている [10]。現在でも食道癌に対する CHP-NY-ESO-1 の臨床試験については進行中であり [2]、近年ではペプチド型の癌抗原を封入した CHP ナノゲルによって効率的な細胞性免疫誘導が確認されている [11]。

本研究ではこの優れた免疫誘導ナノキャリアであるナノゲルをビルディングブロックとして調製されている NanoClik マイクロスフェアについて、DDS キャリアとしての特性を検討した。ここで PEG-SH に代わる新しい架橋剤として、4 分岐 PEG の末端にスクシンイミド基をもつ PEG-NHS とシステイン(Cys)からなる架橋剤(PEG-cys)を用いる検討を行った。血清に対する分解性を比較したところ、NanoClik_{PEG-cys} マイクロスフェアは高い生分解性を示すということが明らかとなった (Figure 7a)。またマクロファージである RAW 細胞と共に培養すると、NanoClik_{PEG-cys} は細胞への取込みが確認された (Figure 7b)。さらにマウスへの皮下投与の結果から、1 日後におけるリンパ節への取込みは、OVA 封入 CHP ナノゲル (CHP-OVA) が最も高かったが、2 週間後では NanoClik_{PEG-cys} マイクロスフェアにおいて最も高い OVA の送達を確認され (Figure 7c)、NanoClik マイクロスフェアは抗原のリンパ節への長期デリバリーが可能となる新しい DDS キャリアであることが明らかとなった。またその送達機構は、CHP-OVA においては投与部位の細胞に取り込まれて徐放されるということが知られているが、NanoClik_{PEG-cys} マイクロスフェアにおいても投与部位に残存するマイクロスフェアから細胞に取り込まれている様子が確認された (Figure 7d)。

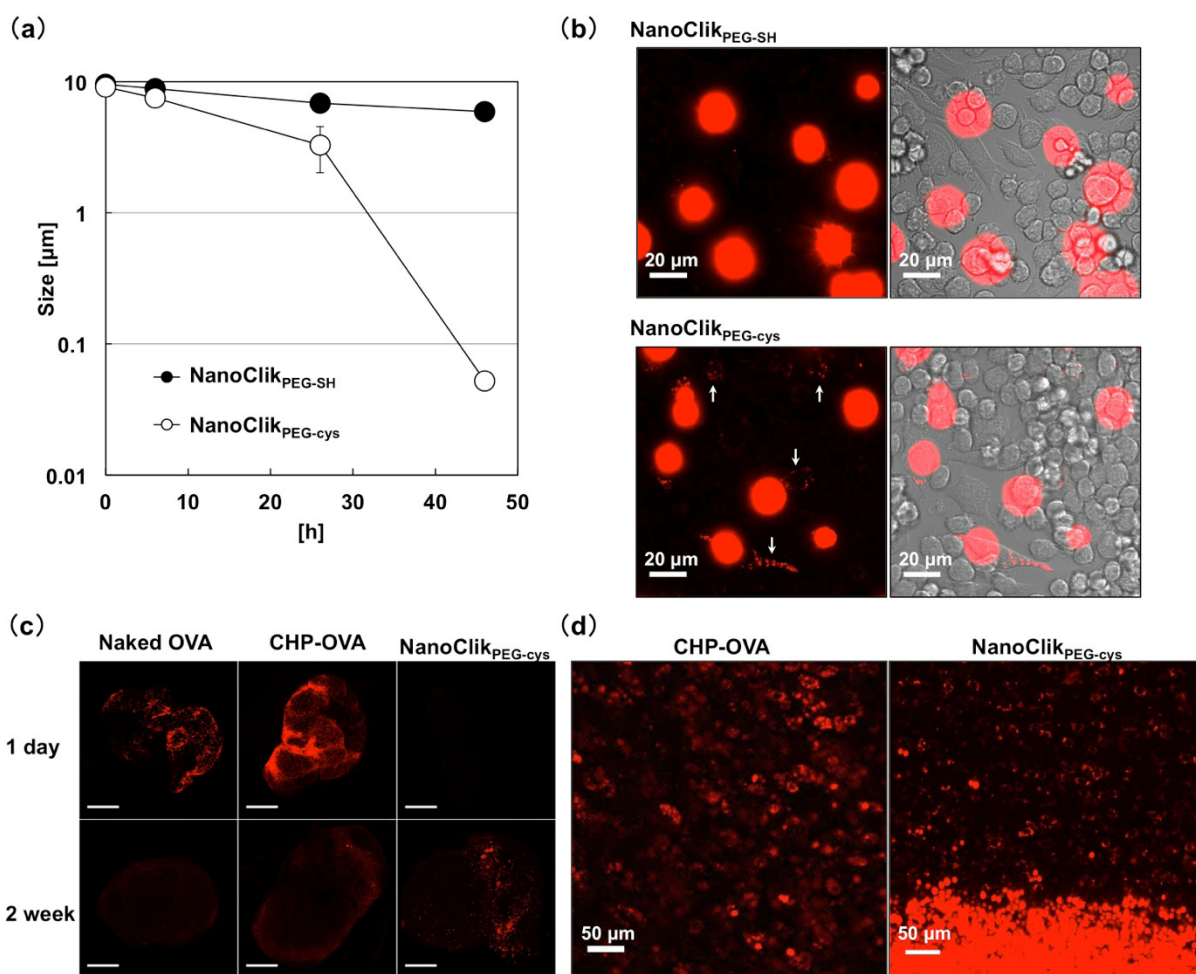


Figure 7. (a) Size analysis in the presence of serum (n=3). (b) Uptakes by RAW cells after 1 day incubation. Red: rhodamine. (c) Delivery to lymph nodes and (d) cellular uptakes in vivo at injection site of CHP-OVA and NanoClik_{PEG-cys} after 1 day and 2 weeks, respectively. Red: Cy5-labeled OVA.

5. まとめ

本研究では優れた免疫誘導ナノキャリアとして知られているナノゲルをボトムアップ的に架橋する事で、ナノゲルをビルディングブロックとしたマイクロメートルサイズの粒子である NanoClik マイクロスフェアの開発に成功した。NanoClik マイクロスフェアの内部ではナノゲル構造が維持されていることを確認し、加水分解後は“薬物封入ナノゲル”がリリースされるという特徴をもつ事が明らかとなった。さらに DDS キャリアとしてはリンパ節への抗原デリバリーにおいて、ナノゲルの特性を生かした長期徐放が可能であったことから、新しい DDS キャリアとしてバイオマテリアル研究の発展に大きく貢献することが期待される。

参考文献

1. K. Akiyoshi, S. Deguchi, N. Moriguchi, S. Yamaguchi, J. Sunamoto, *Macromolecules* **1993**, *26*, 3062.
2. Y. Tahara, K. Akiyoshi, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2015**, *95*, 65.
3. A. Shimoda, S. Sawada, A. Kano, A. Maruyama, A. Moquin, F.M. Winnik, K. Akiyoshi, *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2012**, *99*, 38.
4. Y. Tahara, S. Mukai, S. Sawada, Y. Sasaki, K. Akiyoshi, *Adv. Mater.* **2015**, *27*, 5080.
5. Y. Hashimoto, S. Mukai, S. Sawada, Y. Sasaki, K. Akiyoshi, *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2016**, *2*, 375.
6. A. Shimoda, Y. Chen, K. Akiyoshi, *RSC Advances* **2016**, *6*, 40811.
7. Y. Hashimoto, S. Mukai, S. Sawada, Y. Sasaki, K. Akiyoshi, *Biomaterials* **2015**, *37*, 107.
8. X.G. Gu, M. Schmitt, A. Hiasa, Y. Nagata, H. Ikeda, Y. Sasaki, K. Akiyoshi, J. Sunamoto, H. Nakamura, K. Kuribayashi, H. Shiku, *Cancer Res.* **1998**, *58*, 3385.
9. Y. Ikuta, N. Katayama, L. Wang, T. Okugawa, Y. Takahashi, M. Schmitt, X. Gu, M. Watanabe, K. Akiyoshi, H. Nakamura, K. Kuribayashi, J. Sunamoto, H. Shiku, *Blood* **2002**, *99*, 3717.
10. S. Kitano, S. Kageyama, Y. Nagata, Y. Miyahara, A. Hiasa, H. Naota, S. Okumura, H. Imai, T. Shiraishi, M. Masuya, M. Nishikawa, J. Sunamoto, K. Akiyoshi, T. Kanematsu, A.M. Scott, R. Murphy, E.W. Hoffman, L.J. Old, H. Shiku, *Clin. Cancer Res.* **2006**, *12*, 7397.
11. D. Muraoka, N. Harada, T. Hayashi, Y. Tahara, F. Momose, S. Sawada, S. Mukai, K. Akiyoshi, H. Shiku, *ACS Nano* **2014**, *8*, 9209.

謝辞

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

公益財団法人 日本化学繊維研究所

理事長 福田 猛

維持会員

旭化成（株）

住友化学（株）

帝人（株）

東洋紡（株）

東レ（株）

松本油脂製薬（株）

三菱レイヨン（株）

ユニチカ（株）