

# 九州大学中央分析センター報告

— 第 8 号 —

REPORT

OF

THE CENTER OF ADVANCED INSTRUMENTAL ANALYSIS  
KYUSHU UNIVERSITY

NUMBER 8

1990

九州大学  
中央分析センター

# 目 次

## 機器分析学の進歩

X線回折とNMRを利用した相転移の研究 ..... 坂下 寛文 ..... 1

## 研究報告

1. ドデシル硫酸ナトリウム水溶液の表面 張力測定.....	池田 宜弘	松木 均	9
	荒殿 誠	本村 欣士	
2. アニオン性人工両性物質及びポリイオン コンプレックス単分子膜の透過型電子顕微 鏡による形態構造論的研究 .....	張 亮仁	高原 淳	
	内田茂登子	国武 豊喜	15
	大石 祐司	梶山 千里	
3. 高分解能X線回折による単結晶の評価.....	副島 雄児	朝長 成之	
	鬼塚 博徳	岡崎 篤	22
4. 高圧下におけるPdCe金属間化合物相の 電気抵抗異常 .....	梅尾 和則	板倉 賢	
	桑野 範之	沖 憲典	29
5. <sup>1</sup> H-NMRによるコラーゲンの構造 相転移の研究.....	坂下 寛文	西山 宣昭	37
6. 細胞間情報伝達とサイクル反応モデル.....	西山 宣昭		45
中央分析センター機器の利用状況（その8） .....			53
A. エスカオージェ表面分析装置（筑紫地区）			
B. 蛍光X線分析装置（筑紫地区）			
C. 集中法粉末X線回折計（筑紫地区）			
D. 島津X線回折計（筑紫地区）			
E. 4軸型自動X線回折計（筑紫地区）			
F. 超電導核磁気共鳴装置（筑紫地区）			
G. フーリエ変換赤外分光光度計（箱崎地区）			
H. 超伝導核磁気共鳴吸収装置（箱崎地区）			
平成2・3年度中央分析センター委員 .....			66
ESCAを利用した研究成果（1985—1990） .....			69
X線を利用した研究成果（1985—1990） .....			73
NMRを利用した研究成果（1988—1990） .....			81
センター業務記録 .....			93

掛聲を聞けるとお見習いをされたり、筆を取られたりする事がある

「始める前にこの手本を参考しておいてください」と書かれた手本がある

中央分析センター講演会（第8回）が坂下寛文助教授（中分セ）と緒方道彦  
名誉教授（健康科学セ）を講師として迎え、平成2年3月19日筑紫地区共通管  
理棟大会議室において午後3時より開催されました。この講演要旨を以下に掲  
載致します。なお、緒方先生多忙のため先生の分につきましては講演要旨を省  
略させていただきます。

## X線回折とNMRを利用した 相転移の研究

中央分析センター 坂下 寛文

X線回折では主としてstaticな構造の情報を、核磁気共鳴（NMR）では分子運動状態等のdynamicな情報を得る事が出来る。物質が何らかの構造相転移を起こす場合、それが1次の相転移か2次の相転移かにかかわりなく、どの様な構造に変化しているのか、またその構造変化の際に局所的には何が起きているのかを調べる事は相転移のメカニズムを解明する上で欠かす事が出来ない。幸いにも中央分析センターには集中法粉末X線回折計と500MHzのNMR装置が設置されており、staticな側面とdynamicな側面との両面から相転移を理解しようとする者にとってこれらは非常に有用な装置である。

本講演では、1. 生体膜の相転移、2. ゼラチンのゾルーゲル相転移をとりあげ、何がわかったかについて紹介する。

### 1. 生体膜の相転移

リン脂質膜Dipalmitoyl Phosphatidylcholine (DPPC) は重量比で40%以上の水を共存させた時、結晶 (Lc) 相—18°C—ゲル (L $\beta'$ ) 相—35°C—リップル (P $\beta'$ ) 相—42°C—液晶 (L $\alpha$ ) 相—210°C—等方的液体相など多彩な構造相転移を示す。生理的環境温度（室温）近傍でいくつもの相が存在することが生理現象とどう関連しているのか、それぞれの相を安

定化させている機構は何か等、リン脂質膜は多くの興味ある問題を提供してくれる。リン脂質膜は2次元液体であり、その意味では棒状分子の液晶状態と類似している。しかしながら、リン脂質膜の相転移をより複雑にしているのは水の存在である。リン脂質膜分子間の相互作用のみならず、リン脂質分子と水との相互作用をも考慮しなければならない所に問題の難しさがある。

図1は中央分析センターの集中法粉末X線回折計でとった各相のピークプロファイルである。試料はシグマ社の合成DPPC分子99%以上のものを用い、純水と混合し濃度75wt.% H<sub>2</sub>Oである。ゲル相において、プラッギング角(2θ)−10°～+10°の範囲に見える左右それぞれ

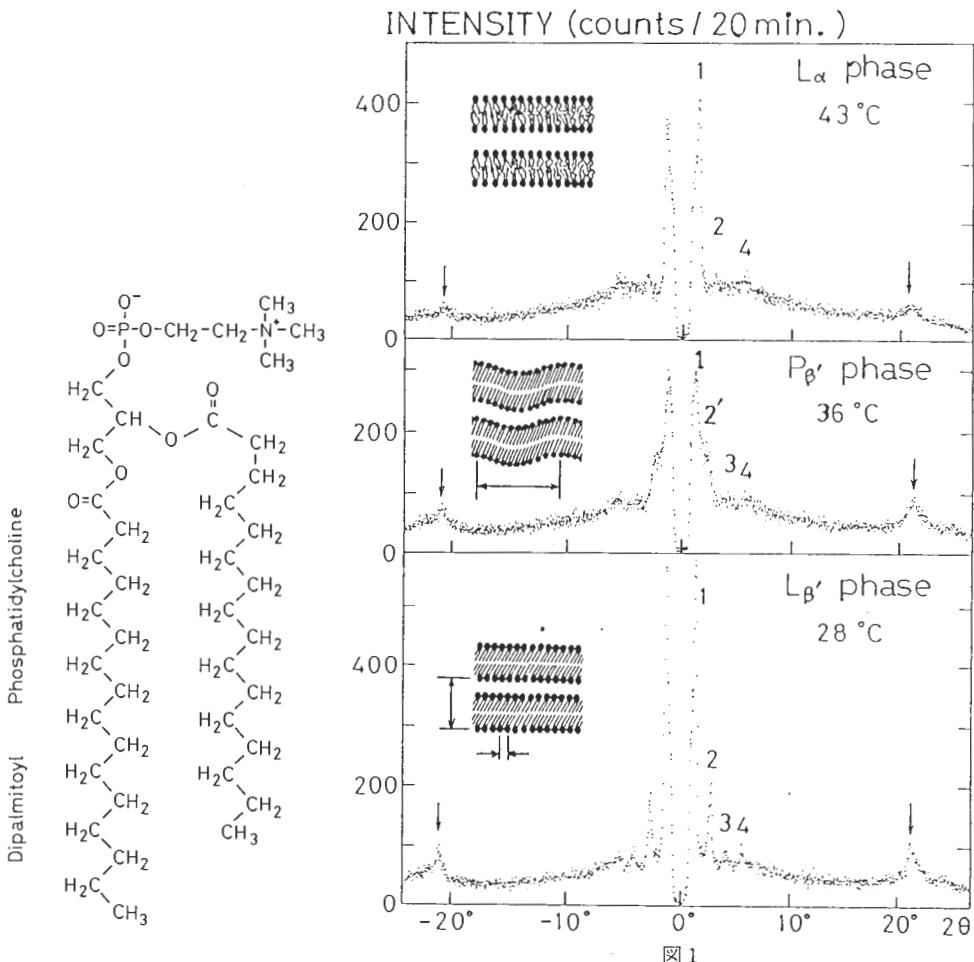


図1

4本のピークは層状構造の周期を反映したものであり、番号1、2、3、4はそれぞれ1次、2次、3次、4次の高次の反射である。一方、 $\pm 22^\circ$ あたりに見える非対称でかつ幅の広いピークは面内での分子のパッキングを反映したものである。面内では分子の配列は液体状態であると考えられるから、平均の分子間距離に対応した角度にハロー反射が見えていることになる。温度を上昇させリップル相に

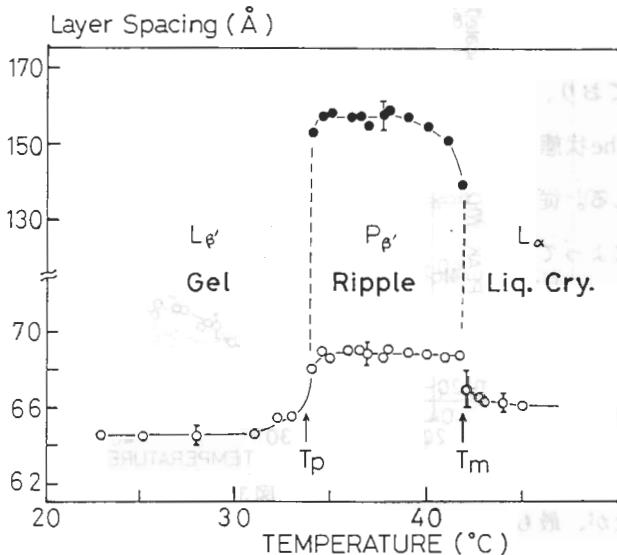


図2

温度を上昇させると、各層に（静的）波打ちが起こり、層状構造の周期を反映したピーク（図中2'）が新たに現われる。さらに温度が上がり液晶相にはいると波打ちはなくなり、DPPC分子の炭化水素が融ける。従って、波打ちの周期に対応したピークは消え、さらに高角度の反射（ $2\theta \sim \pm 22^\circ$ ）の強度は急激に弱くなる。

図2はピーク位置から導出した層間距離と波打ちの波長の温度依存性を示している。層間距離はそれぞれの相で異なった値を持っており、相転移温度近傍でのみわずかな温度変化をしていることがわかる。一方、波打ちの波長はリップル相内で明らかに温度変化を示している。波打ちの形はサイン波に近いものであろうと考えられていたが、最近ではV形、あるいはW形のものが共存していることが報告されているし、2倍波長の存在も確認されている<sup>1,2)</sup>。図1の各ピークの分離が良ければさらなる微細構造もわかるし、半値幅からcoherence length等重要な情報が得られるはずであるが、大学の1実験室で得られるスペクトルとしてはこの程度である。（文献1、2の結果は高エネルギー物理学研究所の放射光実験施設を利用して得られている。）

図3は高角度の反射（ $2\theta \sim \pm 22^\circ$ ）の半値幅の温度依存性を示したものである。このピークはもともと2本のピークから構成されており、本来ならば2本に分けて解析すべきものであるが、ここでは一本のピークと見なしてその半値幅をプロットしてある。（わざわざこ

の様にした理由は2本のピークの解釈に疑問

を感じたからである<sup>3)</sup>。半値幅はリップル相から液晶相に入ると急激に増大する。この相転移はchain melting転移と呼ばれており、炭化水素鎖がall trans状態からgauche状態へ移行することによって特徴づけられる。従つて、半値幅の増大はchain meltingによって層内でのcoherence lengthが減少したことをあらわしている。

集中法粉末X線回折計を使って図1のスペクトルを得るには3ヶ月の試行錯誤を要した。

試料セルは手作りで何度も改良したが、最も苦労したのは單一ドメイン（試料全体が層状構造をしているもの）の試料を作ることであった。市販の磁石を試料セルに取りつけたり、超伝導磁石（12テスラ）の中に試料を導入したり、電場をかけたりといろいろ試みたが、得られた試料はすべて多数のリポゾームを含んだものであり、ついに單一ドメインのものは得ることが出来なかつた。数mm<sup>3</sup>の体積の單一ドメインの試料が得られれば、各相の構造についてさらに詳細なしかも正確な情報を得ることが出来るはずであるが、この試みは世界中どの研究室でも成功していないようである（μmオーダーの厚さの單一ドメインは簡単に出来る）。

さて、図4は500MHzの<sup>1</sup>H-NMRで得られたDPPCのプロトンのシグナルである。溶媒には重水（重量比は87wt.%D<sub>2</sub>O）を使用し、水(H<sub>2</sub>O)プロトンの信号をなるべくおさえるようにした。設定温度に約20分間試料を放置し充分に熱平衡状態に達した後に測定（積算回数100回）を行つた。また、試料管は5mmφのものを使用した。

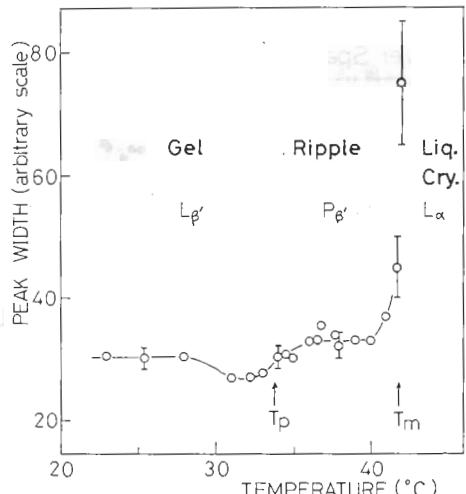


図3

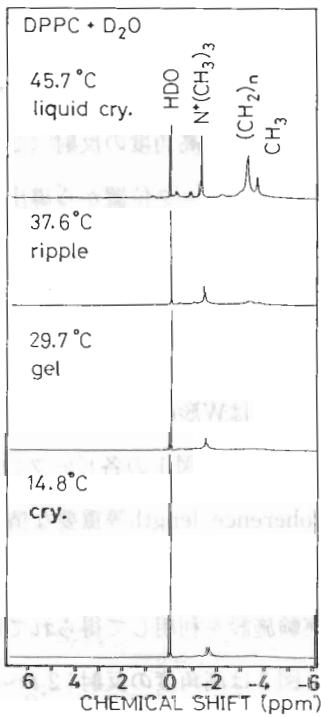


図4

横軸のケミカルシフトは29.7°Cで

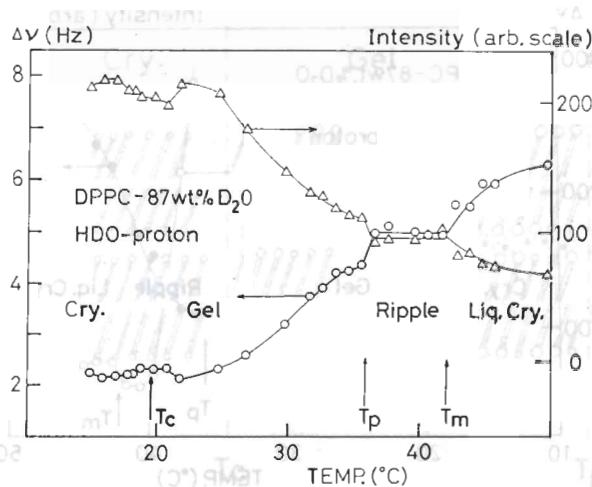


図5

の重水中のH<sub>2</sub>Oのプロトンを基準(0 ppm)にした。結晶相から液晶相へ温度が上昇するにつれて、水プロトンシグナルのピーク強度は減少するが、DPPC分子の頭および炭化水素鎖のプロトンシグナルはしだいに増加する。特に、炭化水素鎖のプロトンシグナルはリップル相にはいったあたりから急激に増加しており、鎖の熱運動が激しくなったことを示している。

図5は水プロトンシグナルの半値幅とピーク強度の温度依存性を示している。温度上昇とともにピーク強度は減少し、半値幅は増加といった奇妙なふるまいを示しており、この主たる要因は水素結合にあると考えられる。一方、シグナルは自由水、束縛水の両方の信号を含んでおり、図5の温度変化はこの両方の情報を同時に含んでいる。(ケミカルシフトの差からはこの2つを分離できなかった。) 結晶相からゲル相への相転移を除いては(ここ

ではわずかな変化しか見られない)、各相転移温度で明瞭な変化が見られる。特にリップル相では、ピーク強度、半値幅ともに一定なるふるまいをしている。試料中に大量に存在する自由水は相転移とは無関係であり、束縛水のみの変化が各相転移温度でのシグナルの変化として検出されたと考えたいのであるが、本当のことはわからぬ。(自由水が間接的にしても相転移の影響を受けるものかどうか

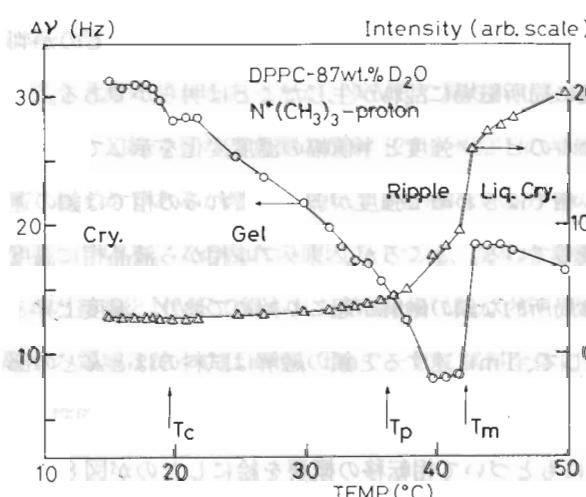


図6

手掛がまったくつかめない。)

図6はDPPC分子の頭グループ $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ のプロトンシグナルの温度依存性を示している。このシグナルは大小2本からなっているが、ここでは大きい方のシグナルのピーク強度と半値幅を示している。 $T_c$ （結晶→ゲル転移温度）と $T_m$ （chain melting 転移温度）では半値幅に不連続な変化が見られ、従って相転移点が確認出来るが、

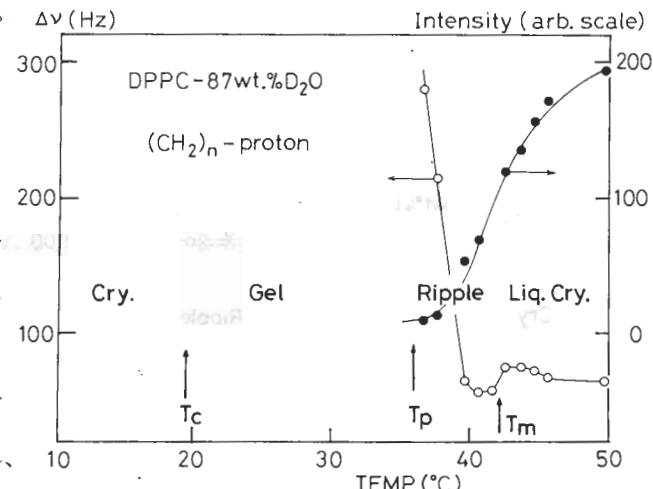


図7

$T_p$ （ゲル→リップル転移温度）近

傍ではなめらかな変化しか見られずこの図だけから $T_p$ を決めることが出来ない。 $T_c$ での不連続な変化は、結晶からゲルに転移することによって、頭の部分がより動きやすくなつたためと考えることが出来る。ゲル相からリップル相にかけて運動はしだいに激しくなる。X線で見る限りは層間距離からゲル相とリップル相の違いしかわからないが、NMRで見たlocalな頭の状態はずっと変化し続けていることがわかる。つまり、マクロには同じ相であっても、ミクロには次の相転移にめがけて何事が起こりつつあると言える。 $T_m$ での幅の突然の増加は解釈が難しい。リポゾームのサイズが不連続に変化したことによるものか判然としないが、液晶相へ転移した途端に局所磁場に乱れが生じたことは明らかである。

図7は炭化水素鎖のプロトンシグナルのピーク強度と半値幅の温度変化を示している。このプロトンシグナルは結晶相、ゲル相ではきわめて強度が弱く、これらの相では鎖の運動がほとんど止まっていることを示唆している。ところが、リップル相から液晶相に温度が上昇するにつれて、リップル相では局所的な鎖の融解が起こり始めており、温度上昇とともにその領域は少しづつ広がる。そして、 $T_m$ に達すると鎖の融解は試料のほとんどの部分にわたって一挙に進行する。

X線回折とNMRから得られた知見にもとづいて相転移の概要を絵にしたのが図8である。黒丸は水分子、棒状のものはDPPC分子をあらわしている。丸の大きさは熱運動の激しさに比例している。結晶相では、水、DPPCの運動は小さく静まりかえっている。温度が上

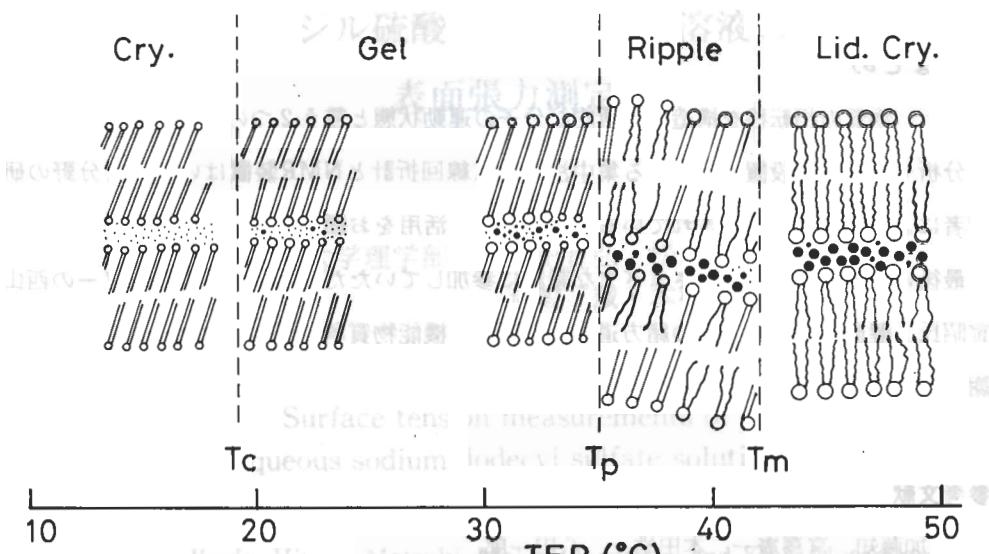


図 8

がってゲル相に入ると、水分子の運動がところどころ激しくなり、それに引きずられて(DPPC分子の)頭の運動も激しくなる。同じゲル相でもリップル相にはいる直前では、頭の熱運動はさらに激しくなっており、しかもほとんどの分子についてそうなっている。リップル相にはいると、試料の一部で炭化水素鎖が融け始める。波打ち構造の山の部分あるいは谷の部分ではパッキングが乱れているであろう、つまり鎖が部分的に融けているだろうと言う予測は前からあったが、NMRで見られたものはまさにこれに対応していると考えられる。X線で見た高角側の反射( $2\theta \sim \pm 22^\circ$ )の半値幅もリップル相ではゲル相の幅に比べてわずかであるが増えており、2重層内の分子のパッキングに乱れが生じていることを示している。この乱れの原因の1つは、炭化水素鎖の部分的融解であり、X線回折で得られた結論とNMRで得られた結論とがぴったり一致する。温度上昇とともにこの部分的融解の領域は徐々に広がり、 $T_m$ で一気に試料全体に拡大する。以上が、生体膜の各相転移の定性的な理解である。

## 2. ゼラチンのゾルーゲル相転移

これについては中央分析センター報告第7号<sup>4)</sup>に掲載済みなので、ここでは割愛する。興

味のある方は御参考願いたい。

### 3.まとめ

柔かい物質の相転移を構造と局所的な分子の運動状態と言う2つの立場から調べた。中央分析センターに設置されている集中法粉末X線回折計とNMR装置はいろんな分野の研究者によって活発に利用されているが、さらなる活用をお願いしたい。

最後に、本研究にあたりさまざまな議論に参加していただいた中央分析センターの西山宣昭氏、健康科学センターの緒方道彦名誉教授、機能物質科学研究所の加藤修雄先生に感謝します。

### 参考文献

- 1) 加藤知、宮澤憲一、本田皓一、八田一郎、  
日本生物物理学会第28回年会（1990），  
講演予稿集 S 58ページ。
- 2) I. Hatta, S.Matuoka, M.A.Singer and L.Finegold,  
日本生物物理学会第28回年会（1990），  
講演予稿集 S 61ページ。
- 3) 坂下寛文、西山宣昭、林進虎、  
中央分析センター報告第6号（1988）17.
- 4) 坂下寛文、西山宣昭  
中央分析センター報告第7号（1989）29.

# ドデシル硫酸ナトリウム水溶液の表面張力測定

九州大学理学部 池田宜弘・松木 均

荒殿 誠・本村欣士

Surface tension measurements of aqueous sodium dodecyl sulfate solution

Norihiro Ikeda, Hitoshi Matsuki, Makoto Aratono, and Kinsi Motomura

Faculty of Science, Kyushu University

20

Sodium dodecyl sulfate (SDS) was synthesized from dodecanol and purified by recrystallization and heating in vacuo at 90 °C. The removal of the contaminant was checked by means of differential thermal analysis (DTA): there was no peak resulting from the melting of dodecanol and the decomposition of complex between SDS and dodecanol.

The drop volume method was used for measurements of the surface tension of aqueous SDS solution. It was found that the accurate and reproducible values of surface tension are obtained by coating the glass capillary with dimethylpolysiloxane. The error of the value of surface tension was estimated to be less than 0.05 mN m<sup>-1</sup>.

schematic description of  
the apparatus for surface  
tension measurement (a)  
handle; (b) micrometer;  
(c) filter paper; (d)  
syringe; (e) capillary; (f)

tem: (1) molar ratio of dodecanol to SDS  
produced from ref. 7)

(b) DTA curve of synthesized SDS

過渡線図 (3)

宝瓶式表面張 (3)

宝瓶式表面張 (3)

表面張度計の構造 (1 図) 置換式容積、宝瓶式表面張の測定水溶液。

表面張度計の構造 (1 図) 置換式容積、宝瓶式表面張の測定水溶液。

表面張度計の構造 (1 図) 宝瓶式表面張の測定水溶液。

8 q △V)

## 1. 緒 言

界面活性剤水溶液の界面張力を温度、圧力、及び濃度の関数として精度よく測定することにより、界面に配向した界面活性剤分子の状態を、吸着とともになうエントロピー変化、体積変化、及び界面密度という観点から明らかにすることができる<sup>1)</sup>。しかし、測定には高純度の界面活性剤を必要とし、その合成及び精製は困難な部分が多い。特に、陰イオン性界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム（S D S）は、最も代表的な界面活性剤の一つとして、あらゆる分野で研究に使用されているが、不純物として含まれる反応原料のドデカノールの除去が簡単でなく<sup>2-4)</sup>、また、水溶液中で簡単に加水分解するので、純粋な S D S の水溶液の物性測定はかなり難しい。さらに、表面張力の測定をガラスキャピラリーの先端から滴下する液滴の体積から求める滴容法を用いて行う場合、陰イオン性界面活性剤水溶液の表面張力は一定値を示さず、今まで、正確な測定が不可能であった。本研究では、まず、S D S を合成し、ドデカノールの除去を示差熱分析を用いて確認した。さらに、滴容法で用いるシリジンのガラスキャピラリーを表面処理し、撥水性とする方法を用いて S D S 水溶液の表面張力測定を可能にした。

## 本刊物理化学第2

### 2. 実 験

#### (1) 試 薬

ドデシル硫酸ナトリウム（S D S）は、ドデカノール（東京化成）を減圧蒸留した後、エーテル中でクロロ硫酸と反応させ、生成したドデシル硫酸を水酸化ナトリウムで中和して合成した。その後、エタノールから 2 回再結晶し、さらに、エーテル抽出と水からの再結晶を 4 回以上繰返して精製した。また、反応原料のドデカノールを完全に除去するために、約 90°C で真空乾燥を 10 時間以上行なった。

#### (2) 示差熱分析

S D S 中のドデカノールの有無を確認するために、固体結晶を示差熱分析した。

#### (3) 表面張力測定

S D S 水溶液の表面張力の測定は、滴容法装置（図 1）を用いて行なった。表面張力は、キャピラリー先端に滴下体積の約 95% の体積の液滴を形成し一定時間放置した後、滴下する液滴の体積をマイクロメーターを用いて測定し、次式を適用して求めた<sup>5)</sup>。

$$\gamma = (V \Delta \rho g / r) F$$

[ 1 ]

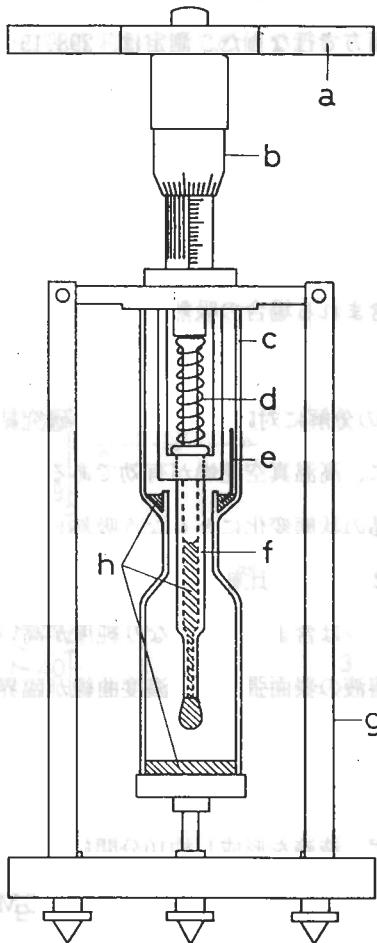


Fig. 1 Schematic description of the apparatus for surface tension measurement: (a) handle; (b) micrometer; (c) glass cell; (d) spring; (e) filter paper; (f) syringe; (g) capillary; (h) cell holder; (i) aqueous solution.

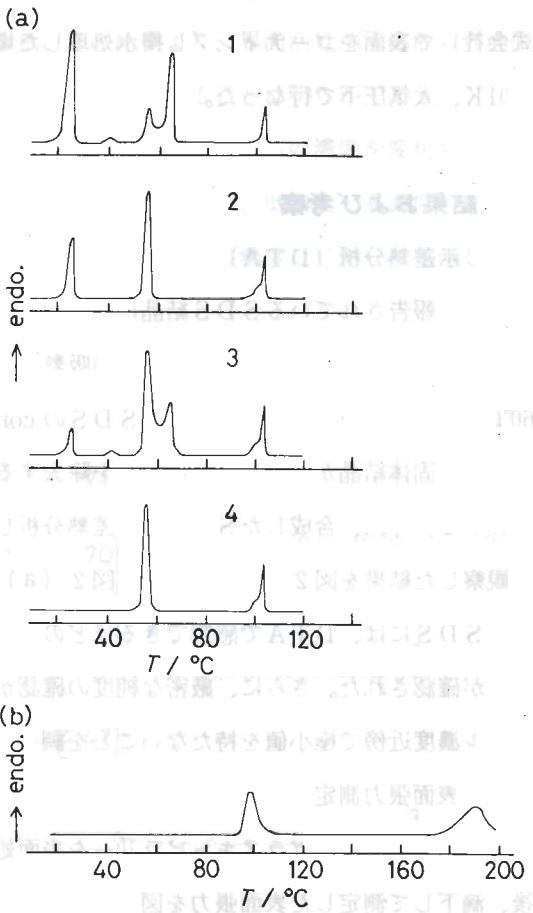


Fig. 2 (a) DTA curves of dodecanol-SDS system: (1) molar ratio of dodecanol to SDS = 1.5; (2) 1.0; (3) 0.67; (4) 0.5. (Reproduced from ref. 7.)  
 (b) DTA curve of synthesized SDS.

class capillary of aqueous DTAB solution ( $m = 10.969 \text{ mmol kg}^{-1}$ ):

クト図多果樹。△J 宝勝さけ表面糞の糞糞水口と懸同、對

ここで  $V$  は液滴の体積、 $\Delta \rho$  は水溶液とその蒸気の密度差、 $g$  は重力加速度、 $r$  はキャピラリーの半径、 $F$  は  $r/V^{1/3}$  に依存した補正因子<sup>6)</sup>である。測定は、シリングのガラスキャピラリーをそのままの状態とジメチルポリシロキサン（シリコナライズ：富士システムズ株式会社）で表面をコーティングし揆水処理した場合の両方で行なった。測定は、298.15 ± 0.01K、大気圧下で行なった。

### 3. 結果および考察

#### (1) 示差熱分析 (DTA)

すでに報告されている SDS 結晶にドデカノールが含まれる場合の吸熱ピークの組成変化<sup>7)</sup>を図 2 (a) に示してある。約22°Cの吸熱ピークが、ドデカノールの融解に対応し、約60°C前後のピークがドデカノールと SDS の complex の分解に対応している。この研究結果より、固体結晶からのドデカノールを除去するために、高温真空乾燥が有効であることがわかる。今回、合成した SDS を示差熱分析し、結晶の状態変化にともなう吸熱ピークを観察した結果を図 2 (b) に示す。図 2 (a) と図 2 (b) を比較することにより合成した SDS には、DTA で感知できるほどのドデカノールは含まれず、かなり純度が高いことが確認された。さらに、厳密な純度の確認が、水溶液の表面張力 vs 濃度曲線が臨界ミセル濃度近傍で極小値を持たないことを調べることによってなされる。

#### (2) 表面張力測定

まず、シリングのガラスキャピラリーを表面処理せず、液滴を形成し約10分間放置した後、滴下して測定した表面張力を図 3 (a) にプロットしてある。臨界ミセル濃度 (CMC = 8.2 mmol kg<sup>-1</sup>) 以前において、実験誤差以上に測定値のばらつきが見られる。比較のために代表的な陽イオン性界面活性剤である臭化ドデシルトリメチルアンモニウム (DTAB; CMC = 15.3 mmol kg<sup>-1</sup>) の同様な方法で得られた結果を図 3 (b) に示す。CMC 以前において、DTAB 水溶液では、SDS 水溶液で見られるようなばらつきが見られず、実験誤差内で一定値が得られている。これより、SDS 水溶液における測定値のばらつきは、界面活性剤イオンの電荷の符号と密接に関係し、ガラスと界面活性剤水溶液との間の濡れの状態が大きく関係していると考えられる。

次に、シリングのガラスキャピラリーの部分をシリコナライズを用いて表面処理し、揆水性とした後、同様に SDS 水溶液の表面張力を測定した。結果を図 4 に示す。ここで、表

面張力は、液滴を形成してからの放置時間に対してプロットしてある。表面処理しない場合とは明らかに異なって、液滴形成後 5 分以上の表面張力の値は、 $\pm 0.05 \text{ mN m}^{-1}$  の範囲内で一定である。また、表面張力値に時間変化が無いことより、得られる表面張力は、SDS の吸着平衡状態での値であることがわかる。この結果より、界面活性剤水溶液の表面張力測定において、ガラス表面の状態が重要な寄与をしていることは明らかである。

シリコナライズを用いて表面処理したキャピラリーを用い、SDS の濃度を変化させて表面張力を測定した結果を図 5 に示す。表面張力  $\gamma$  vs 濃度曲線は、低濃度と高濃度の 2 カ所において折れ曲りを示した。高濃度における明確な折れ曲りの濃度は CMC に相当し、低

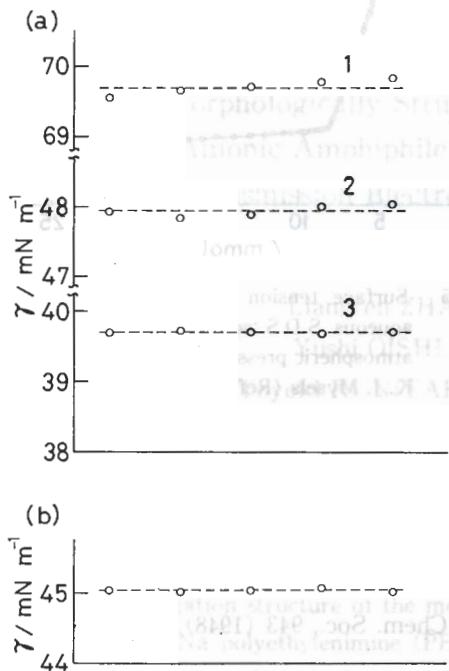


Fig. 3 (a) Surface tension obtained with glass capillary of aqueous SDS solution: (1)  $m = 0.594 \text{ mmol kg}^{-1}$ ; (2) 5.320; (3) 8.826; (---) average value.

(b) Surface tension obtained with glass capillary of aqueous DTA B solution ( $m = 10.969 \text{ mmol kg}^{-1}$ ): (---) average value.

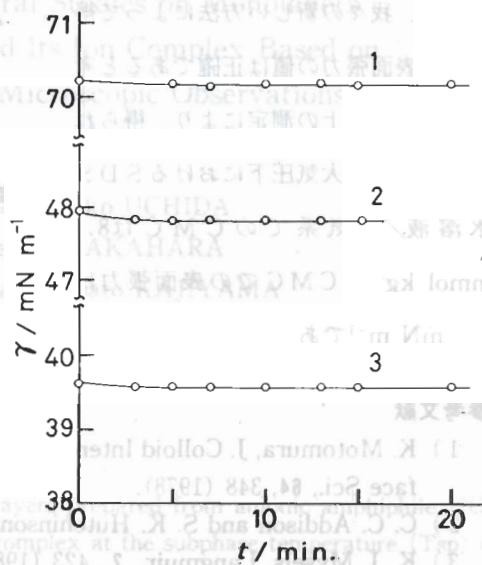


Fig. 4 Surface tension obtained with coated glass capillary vs. time curves of aqueous SDS solution: (1)  $m = 0.414 \text{ mmol kg}^{-1}$ ; (2) 5.320; (3) 8.842.

濃度での折れ曲りは、吸着膜の気体膜

から膨張膜への相変化に相当してい

る<sup>8)</sup>。ここで、CMC近傍において、曲

線に極小値が無く、CMC以上の濃度

で表面張力がほぼ一定であることから、

合成した SDS の純度の高いことが確

認される。さらに、Mysels によって最

大泡圧法を用いて測定された SDS 水

溶液の表面張力の濃度曲線<sup>3)</sup>が、破線

で図 5 に描かれている。我々の結果と

Mysels の結果がほぼ一致しているこ

とから、我々の新しい方法によって得

られた表面張力の値は正確であると考

えられる。以上の測定により、得られ

た 298.15 K、大気圧下における SDS

水溶液/空気系での CMC は 8.2

mmol kg<sup>-1</sup>、CMC での表面張力は

39.7 mN m<sup>-1</sup> であった。

## 参考文献

- 1) K. Motomura, J. Colloid Interface Sci., **64**, 348 (1978).
- 2) C. C. Addison and S. K. Hutchinson, J. Chem. Soc., 943 (1948).
- 3) K. J. Mysels, Langmuir, **2**, 423 (1986).
- 4) 岩井 淳, 加藤 直, 清宮 懇, J. P. Kratochvil, 表面, **25**, 63 (1987).
- 5) K. Motomura, S. Iwanaga, Y. Hayami, S. Uryu, and R. Matuura, J. Colloid Interface Sci., **80**, 32 (1981).
- 6) J. L. Lando and H. T. Oakley, J. Colloid Interface Sci., **25**, 526 (1967).
- 7) Y. Moroi, K. Motomura, and R. Matuura, Bull. Chem. Soc. Jpn., **44**, 2078 (1971).
- 8) M. Aratono, S. Uryu, Y. Hayami, K. Motomura, and R. Matuura, J. Colloid Interface Sci., **98**, 33 (1984).

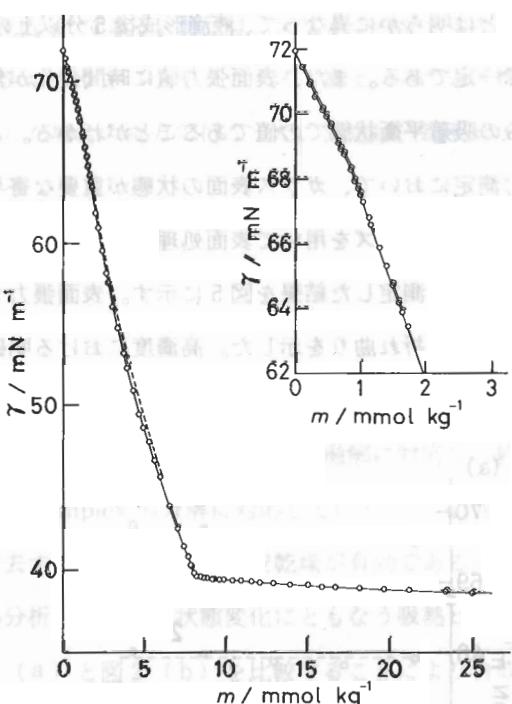


Fig. 5 Surface tension vs. molality curves of aqueous SDS solution at 298.15K under atmospheric pressure: (—) this study; (---) K. J. Mysels (Ref. 3)

## アニオン性人工両性物質及び

## ポリイオンコンプレックス単分子膜の

## 透過型電子顕微鏡による形態構造論的研究

九州大学工学部

張 亮仁・内田茂登子

大石 祐司・高原 淳

国武 豊喜・梶山 千里

Morphologically Structural Studies on Monolayers  
of Anionic Amphiphile and Its Ion Complex Based on  
Transmission Electron Microscopic Observations

Liangren ZHANG, Motoko UCHIDA

Yushi OISHI, Atsushi TAKAHARA

Toyoki KUNITAKE and Tisato KAJIYAMA

Faculty of Engineering, Kyushu University

The aggregation structure of the monolayers prepared from anionic amphiphile ( $2C_{14}SNa$ ) and  $2C_{14}SNa$ /polyethylenimine (PEI) complex at the subphase temperature (Tsp) of 293 K was investigated on the basis of electron microscopic observations.

In the case of  $2C_{14}SNa$  monolayer, the electron diffraction (ED) pattern changed from an amorphous halo at the surface pressure of  $0 \text{ mN:m}^{-1}$  to crystalline spots at  $17 \text{ mN:m}^{-1}$  at Tsp of 293 K. This result indicates that the  $2C_{14}SNa$  monomeric monolayer is crystallized by compression on the water surface. For the crystallization of  $2C_{14}SNa$  monomeric monolayer, the higher surface pressure was required because of the strong repulsion among the hydrophilic groups of  $2C_{14}SNa$  molecules. This molecular aggregation type was designated the compressing crystallized monolayer. In the case of  $2C_{14}SNa$ /PEI complex monolayer, a crystalline Debye ring and a clear domain structure were observed at  $0 \text{ mN:m}^{-1}$  in the ED pattern and the bright field image, respectively. This result indicates that the  $2C_{14}SNa$ /PEI

complex monolayer can be crystallized without surface compression owing to the weakened repulsion among the hydrophilic groups by forming the ion complexes. When the complex monolayer was compressed, the ED pattern changed into crystalline spots. This result indicates that the crystalline domains are rearranged to orient in the crystallographically equivalent direction by compression. This molecular aggregation type was designated the compressing oriented crystalline monolayer.

## 1. 緒 言

機能性有機超薄膜としてのLB膜の光集積回路、フォトクロミック素子、光電変換素子等への応用研究が活況を呈する中で、その構成単位である单分子膜の凝集構造を明らかにすることが不可欠となっている。

従来水面上の单分子膜は、圧縮により非晶から結晶へ相転移すると考えられていた。しかし、長鎖飽和脂肪酸单分子膜の透過型電子顕微鏡観察と電子線回折研究により、圧縮操作は溶液展開時に生じた構造ドメインを寄せ集めているにすぎず、单分子膜の相は水面上の单分子膜の融点 ( $T_m$ ) と水相温度 ( $T_{sp}$ ) の関係

で決まり、圧縮による相転移は生じないことが明か  
となつた<sup>1,2)</sup>。Fig. 1 は脂肪酸单分子膜の圧縮過程に  
おける凝集構造変化のモデル図である<sup>1)</sup>。 $T_{sp} < T_m$

(Fig. 1 (a)) 及び  $T_{sp} > T_m$  (Fig. 1 (b)) の場  
合を各々「結晶性单分子膜」及び「非晶性单分子膜」  
と名付けた<sup>1)</sup>。

一方、水面上の両親媒性物質の单分子膜の凝集構  
造の安定性、分子配向性及び单分子膜の累積性は、  
イオン性人工両性分子の親水基と水相中のポリイオ  
ンとのコンプレックスの形成により向上することが  
報告されている<sup>3)</sup>。しかし、ポリイオンコンプレック  
ス形成による单分子膜の凝集構造変化に対する形態  
構造論的研究は不十分である。

本論文では、純水あるいはポリカチオン水溶液上

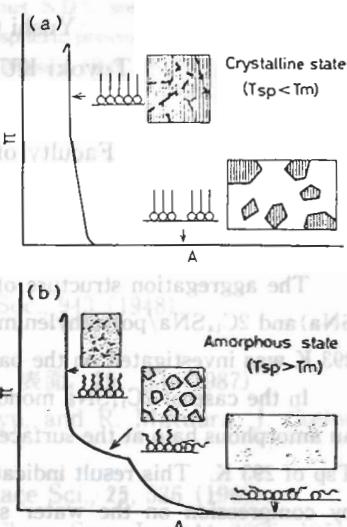


Fig. 1 Molecular aggregation process of  
(a) crystalline monolayer,  
(b) amorphous monolayer.

におけるアニオン性両性物質単分子膜の凝集構造を透過型電子顕微鏡(TEM)により形態構造論的に検討した。

## 2. 実験

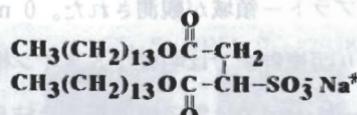
### 2-1. 単分子膜の調製

Fig. 2は、スルファン基を親水基に有するアニオン性人工両性物質( $2C_{14}SNa$ )<sup>4)</sup>及びカチオン性のポリエチレンイミン(PEI)の化学構造である。アニオン性両性物質のベンゼン／エタノール(1:9(v/v))溶液を水相温度 $T_{sp}=293K$ で、モノマー単分子膜の場合は純水上で、ポリイオンコンプレックス単分子膜の場合はポリカチオン水溶液( $1 \times 10^{-5}$ unit M in monomer unit, pH=3.2)上で展開し、単分子膜を調製した。単分子膜の表面圧一面積( $\pi-A$ )曲線をマイクロプロセッサー・フィルムバランスシステム(FSD-20、サンエス計測製)を用いて測定した。

### 2-2. 単分子膜の透過型電子顕微鏡観察

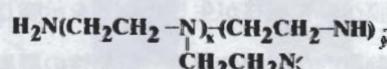
水面上の単分子膜を透過型電子顕微鏡(TEM)を用いて形態構造論的に観察するために、水面上の単分子膜の凝集構造を維持したまま単分子膜を基板上に移し取る必要がある。本研究では、水面上の結晶構造を保持して単分子膜を移し取ることが可能な基板として、親水性のコロジオン膜でコーティングした銅メッシュを使用した<sup>5)</sup>。表面圧0 mN·m<sup>-1</sup>では水平付着法<sup>6)</sup>で、他の表面圧では垂直引上げ<sup>5)</sup>で単分子膜を基板上に移し取った。透過型電子顕微鏡(H-500、日立製作所製)を用いて加速電圧75kV、電流密度2.5μA、スポットサイズ2 μmφで明視野像及び電子線回折像を観察した。TEM観察時の試料温度は、単分子膜調製時の水温293Kと同温に調整した。また明視野像観察の際には、白金一カーボンで角度23度より試料にシャドウイ

#### 1.2 $2C_{14}SNa$ (Anionic Amphiphile)



Tc=317K(wet)

#### 2. PEI (Cationic Polymer)



Mw=40,000-50,000

Amino Groups:

Primary:Secondary:Tertiary=1:2:1

N<sup>+</sup>/N=75% (pH=3.2)

Fig. 2 Chemical structures of anionic amphiphile ( $2C_{14}SNa$ ) and polycation(PEI).

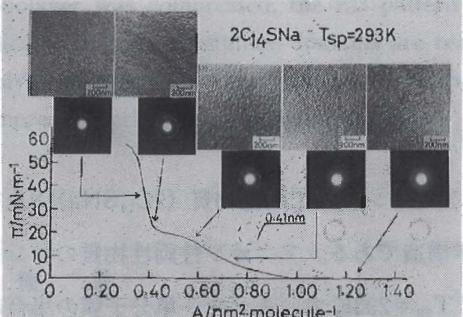


Fig. 3 Electron micrographs and ED patterns of 2C<sub>14</sub>SNa monolayer on pure water surface.

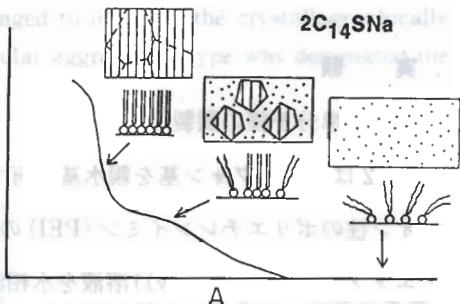


Fig. 4 Molecular aggregating process of compressing crystallized monolayer.

ング処理を施した。

### 3. 結果及び考察

#### 3-1. アニオン性人工両性物質单分子膜の凝集構造

Fig. 3 は、293K の純水上でのアニオン両性物質モノマー单分子膜の  $\pi$ -A 曲線と各表面圧での明視野像と電子線回折像である。 $\pi$ -A 曲線上で、表面圧17から21mN·m<sup>-1</sup>の範囲でプラトー領域が観測された。0 mN·m<sup>-1</sup>に於ける電子線回折像はアモルファスハローであり明視野像では明確なドメイン構造は観測されなかった。しかし、プラトー領域となる17mN·m<sup>-1</sup>では電子線回折像は結晶性の六点のアークとなった。この結果は圧縮により非晶性单分子膜から、結晶方位がかなり揃った六方晶の結晶ドメインから成る結晶性单分子膜への相転移が生じたことを示唆している。これはアニオン性両性分子の親水基間の強い静電的な反発のため、結晶性の凝集状態となるためには高い表面圧が必要であることを示唆している。プラート一直後の表面圧21mN·m<sup>-1</sup>からさらに高表面圧35mN·m<sup>-1</sup>の間で、電子線回折像は方位角方向により鋭く配向した六点スポットとなり、六方晶の結晶ドメインの結晶方位がさらに良く揃ってくる過程が観察された。これはプラートー以後の圧縮操作により二次元結晶ドメインの界面が融着したためと考えられる<sup>7)</sup>。Fig. 4 は、アニオン性両性物質单分子膜の圧縮過程に於ける凝集構造のモデル図である。アニオン性両性分子の

強い極性基同士に静電的反発力が働き、表面圧が低く一分子当りの占有面積が十分大きい領域では非晶状態の自由エネルギーが結晶状態の自由エネルギーより低く、非晶性単分子膜が形成される。しかし、非晶状態での過剰な圧縮により非晶状態の自由エネルギーが高くなると、結晶化が起こる。プラトー領域は単分子膜の二次元結晶化が進行している、結晶相と非晶相の共存する領域であると考えられる。この様な凝集過程を示す単分子膜を「圧縮結晶化単分子膜」と名付ける。今後さらに圧縮結晶化単分子膜の融点の解明も含め、水相温度と表面圧が凝集過程に与える影響を検討する。

### 3-2. アニオン性人工両性物質／ポリカチオンコンプレックス単分子膜の凝集構造

Fig. 5 は293K のカチオニ性ポリマー水溶液上のアニオン性両性物質単分子膜の  $\pi-A$  曲線と各表面圧での明視野像と電子線回折像である。 $\pi-A$  曲線は純水上の単分子膜と異なりプラトー領域が存在せず、圧縮に伴い表面圧が急激に増加する挙動を示した。表面圧  $0 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$  に於ける明視野像には明確なドメイン構造が観察され、電子線回折像は結晶性デバイリングであることより、Fig. 5 は、カチオニ性ポリマー水溶液上ではアニオン性両性分子は展開直後から既に結晶方位がランダムな結晶性ドメインを形成することを示している。この事実はイオンコンプレックスの形成により、ポリカチオニがアニオン性両性物質のアンカーとなり極性基間の静電的な反発が弱められたためと考えられる。表面圧の増加に伴い結晶性ドメインが寄せ集

められる過程が明視野像で観察さ

れ、電子線回折像はデバイリング

から六点スポットに変化した。こ

れらの結果は、展開直後には結晶

方位がランダムな結晶性ドメイン

が析出し、圧縮によりドメイン界

面での融着が進行し、結晶方位が

かなり良く揃つてくることを示し

ている。Fig. 6 はアニオン性両性

物質／ポリカチオンコンプレック

ス単分子膜の圧縮過程に於ける凝

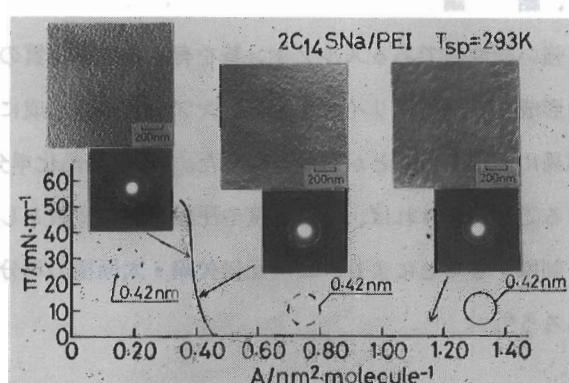


Fig. 5 Electron micrographs and ED patterns of  $2\text{C}_{14}\text{SNa}$  monolayer on PEI solution surface.

集構造のモデル図である。ボ

リイオンコンプレックスの形

成によりアニオン性両性物質

の極性基がアンカーされ静電

的反発が弱められ、同水温で

のアニオン性両性物質モノ

マー单分子膜と比較して表面

圧  $0 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$ での非晶状態

の自由エネルギーが結晶状態

の自由エネルギーよりも高く

なるため、展開直後から結晶

性ドメインが析出する。高表

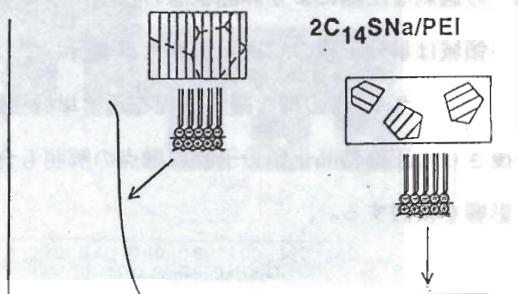


Fig. 6 Molecular aggregating process of compressing oriented crystalline monolayer.

面圧への圧縮過程で結晶性ドメイン間の界面での融着が進行し、結晶方位の揃った大面積の二次元結晶が生成する。この様な凝集過程を示す单分子膜を「圧縮配向結晶性单分子膜」と名付けた。アニオン性両性分子のモノマー单分子膜及びポリイオンコンプレックス单分子膜の圧縮過程で生じた結晶性ドメインの融着現象は、单分子膜の結晶緩和温度 ( $T_{\alpha_c}$ ) と密接な関係があるため<sup>27)</sup>、今後両单分子膜の  $T_{\alpha_c}$  の解明が必要である。

#### 4. 結 論

強い極性基であるスルfonyl基を有する両性物質の单分子膜は「圧縮結晶化单分子膜」を形成するが、ポリイオンとのコンプレックス形成により「圧縮配向結晶性单分子膜」へ容易に変化することが明かとなった。「圧縮結晶化单分子膜」の融点や結晶緩和温度を測定することができれば、水相温度や圧縮時間を変数として結晶化や結晶ドメインの融着速度を制御することにより、二次元無欠陥・大面積の单分子膜を調製することが可能となるであろう<sup>28)</sup>。

27) S. Nakamura et al., *J. Colloid Interface Sci.*, 1990, 136, 105-110.  
28) S. Nakamura et al., *J. Colloid Interface Sci.*, 1990, 136, 105-110.

## 参考文献

- 1) T. Kajiyama, Y. Tanimoto, M. Uchida, Y. Oishi and R. Takei, Chem. Lett. 1989 (1989) 189.
- 2) T. Kajiyama, N. Morotomi, M. Uchida and Y. Oishi, Chem. Lett. 1989 (1989) 1047.
- 3) A. Takahara, N. Morotomi, S. Hiraoka, N. Higashi, T. Kunitake and T. Kajiyama, Macromolecules 22 (1989) 617.
- 4) T. Kunitake and Y. Okahata, Bull. Chem. Soc. Jpn. 51 (1978) 1877.
- 5) J. Ishikawa, M. Uchida, Y. Oishi and T. Kajiyama, Rept. Progr. Polym. Phys. Jpn. 33 (1990) in press.
- 6) K. Fukuda, H. Nakahara and T. Kato, J. Colloid Interface Sci. 54 (1976) 430.
- 7) 湯田英子, 谷本洋一, 大石祐司, 梶山千里, 日本化学会第60秋季年会講演予稿集 I (1990) 237.
- 8) T. Kajiyama, K. Umemura, M. Uchida, Y. Oishi and R. Takei, Chem. Lett. 1989 (1989) 1515.

## 測定方法

NDON 回路構成の概略を Fig.1 に示す。X 線発生装置からの特性 X 線は、モーターコード結晶で顕微 Bragg 反射され検出器に達する。この場合の Bragg 角は

$$ds \sin \theta_0 = d_1 \sin \theta_1$$

ここで S はそれぞれモノクロメータ結晶、試料結晶を意味する。測定温度はモノクロメータ結晶の温度、従って面間隔

## 高分解能 X 線回折による単結晶の評価

九州大学理学部 副島雄児・朝長成之

鬼塚博徳・岡崎 篤

Characterization of single crystals by means of  
high-resolution X-ray diffraction

Yuji Soejima, Nariyuki Tomonaga,  
Hironori Onitsuka & Atsushi Okazaki

Faculty of Science, Kyushu University

摘要 The high-angle double-crystal X-ray diffraction (HADOX) has been applied to the characterization of single crystals. By this method, we can determine the mosaic spread, homogeneity of the lattice constant and of chemical composition. The method is also useful for the study of first-order structural phase transitions. Examples are shown for the case of BaTiO<sub>3</sub>.

極性基であるスルファン基を有する両性物質の単分子膜は「疊層結晶化」分子膜が形成するが、ポリイオンとのコンプレックス形成により「疊層配向結晶化」単分子膜が容易に変化することが明らかとなった。「疊層結晶化」単分子膜の融点や結晶緩和温度、溝温度や疊層時間変数として結晶化や結晶ドメインの融着温度を制御することにより、二次元無欠陥・大面積の単分子膜を調製することが可能である。

# 1. 序

格子定数の温度依存性を高精度で測定する方法として、高角度 2 結晶 X 線回折法 (HADDOX) が開発された。<sup>1,2)</sup> 高角度 (Bragg 角 > 70°) という条件で格子定数の変化の検出感度を高め、2 結晶 (+, -) 配置という条件で分解能を高めたこの方法は、構造相転移を主な対象として、格子定数の温度依存性のみでなく、転移温度での Bragg ピークの幅の異常の測定にも有用であった。<sup>3)</sup> しかしながら、この方法では、Bragg 条件を満足する結晶方位の僅かな変化 (温度 1 K の変化に対し、10~50 s) を測定し、それから格子定数の変化を求めるので、格子定数の変化とは無関係な結晶方位の変化があると、それも格子定数の変化に含めて誤った判断をしてしまう惧れがある。そのような結晶方位の変化の原因として、回折計上で結晶を支持する部分の捻れが考えられる。特に、広い温度範囲での測定を行う場合に要注意であるが、これは支持部分の機械的な構造の改良で、ある程度解決できる。<sup>2)</sup> 本質的に解決困難な結晶方位の変化は、試料結晶自体に起因するものである。例えば、支持部分との熱膨張の差に起因する歪のために、あるいは、1 次の構造相転移で見られるように結晶にクラックが生ずるために、観測対象の Bragg 反射の散乱ベクトルの方位が変化することがある。このような場合は、HADDOX の測定法を改良する必要がある。すなわち格子定数を測定するには、反射ビームの 2θ の値を測定することが必要になる。<sup>4)</sup> その際、結晶の方位 ω の値を併せて測定すれば、X 線ビームの当たっている部分について、格子定数、結晶方位の両方の情報を得ることが出来る。そのためには逆格子空間での 2 次元的な X 線回折強度分布を測定することになり、長時間の測定が必要になるが、上記の情報を曖昧さなしに得ることができる。このような測定方法の概要と、それを強誘電結晶 BaTiO<sub>3</sub> に適用した例を報告する。

## 2. 測定方法

HADDOX 回折計の構成の概略を Fig.1 に示す。X 線発生装置からの特性 X 線は、モノクロメータ結晶、試料結晶で順次 Bragg 反射され検出器に達する。この場合の Bragg 条件は、 $d_M \sin \theta_M = d_S \sin \theta_S$  で与えられる。添字の M、S はそれぞれモノクロメータ結晶、試料結晶を意味する。測定に際しては、モノクロメータ結晶の温度、従って面間隔  $d_M$  は一定に保たれ、また  $\theta_M$  も一

*monochromator*

*X-ray source*

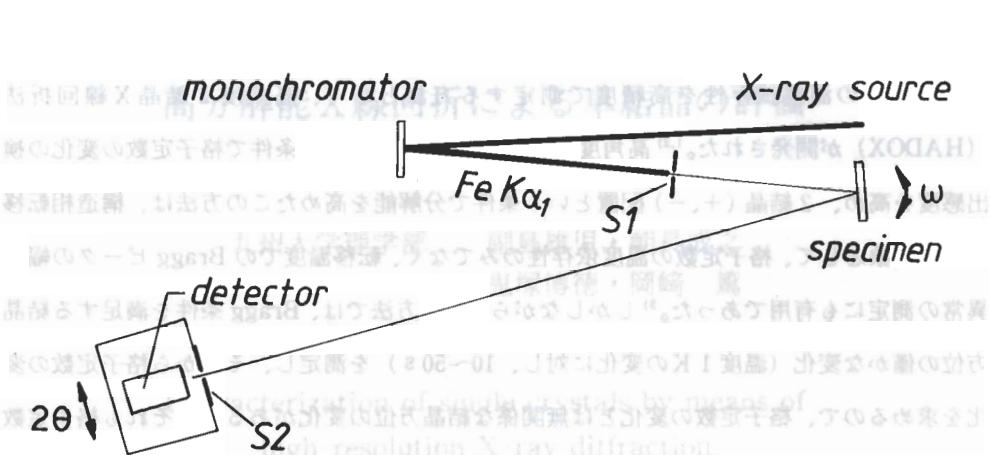


Fig.1 : A schematic experimental arrangement of HADOX with two slits S1 and S2.

定に保たれるので、 $d_s$  の変化は  $\theta_s$  の変化に反映される。 $d_M$  と  $d_s$  とは等しいのが理想であるが厳密な条件ではない。試料結晶の温度を（1 / 100）K 程度の精度で制御・測定できれば、 $\theta_s = 80^\circ$  の反射を利用して、 $d_s$  を  $10^{-6}$  の相対精度で測定できる。<sup>1)</sup> 本来の HADOX の測定では、 $\theta_s$  の変化は、Bragg 条件を満足する試料結晶の方位  $\omega$  の変化から決定できる。（ $\omega$  走査測定）この場合、図に示すスリットは不要である。ところが、試料結晶からの回折 X 線ビームの方向  $2\theta_s$  を直接測定する場合には、スリット系の導入が不可欠になる。図の S1 は、試料表面の X 線に曝される部分を限定するために必要で、S2 が  $2\theta_s$  の分解能を限定する。<sup>5)</sup> 実際の測定では、S2 を取り付けた検出器の  $2\theta$  位置を固定し、試料結晶を  $\omega$  走査する。次に  $2\theta$  位置を 1 ステップ移動させ、同様に  $\omega$  走査を行う。これを反復することにより、 $(2\theta - \omega)$  2 次元空間での回折強度分布が求まる。そこに見られるピークの  $2\theta$  値が格子定数に、また  $\omega$  値が結晶の方位に関する情報をもたらす。

S1, S2 の値は次のような手順で決定した。先ず S2 は、従来の  $\omega$  走査測定による場合と同程度の格子定数精度が得られるように設定した。その値は 0.1 mm である。次に S1 の値をパラメータとして、上記の  $2\theta - \omega$  空間での強度分布測定を行い、ピークの  $2\theta$  方向及び  $\omega$  方向での半値幅 (FWHM) 並びにピーク強度を求めた。BaTiO<sub>3</sub> (Linz 結晶<sup>6)</sup>) の立方相400反射について行った測定結果を Fig.2 に示す。<sup>7)</sup> 詳しい議論は別の機会に譲ることにするが、S1 = 0.5 mm が、ピークの幅と強度との両面から見て最適条件であることがあきらかである。

### 3. 測定結果

このようにして、 $\text{BaTiO}_3$ 結晶について行った測定結果を Fig.3 に示す。(a)は Linz 結晶、(b)は flux 法で作った結晶についてのもので、何れも立方相での400反射に関するものである。Linz 結晶については、予想通りの結果が得られたのと対照的に、(b)に示すパターンは全く予想外のものである。 $2\theta$  方向で約500 s 分離した位置に 2 個の明瞭な極大があり、その中間にも無視できない強度が分布している。このことは、結晶の格子定数が、有限の範囲で分布していること、換言すると、結晶の化学的組成が不均一であることを意味している。なお通常のX線回折法の分解能では、いずれの場合も 1 個の極大としてしか観測されない。

次に  $\text{BaTiO}_3$  (butterfly 結晶<sup>8)</sup>) について、立方・正方相転移温度及びその上下で求めた {400} 反射の強度分布を Fig.4 に示す。<sup>5)</sup>(a)は立方相でのパターンで、Fig.3 (a)と同様、単一の極大からなる。(b)は転移温度でのパターンで 7 個の極大がみられるが、それらの  $2\theta$

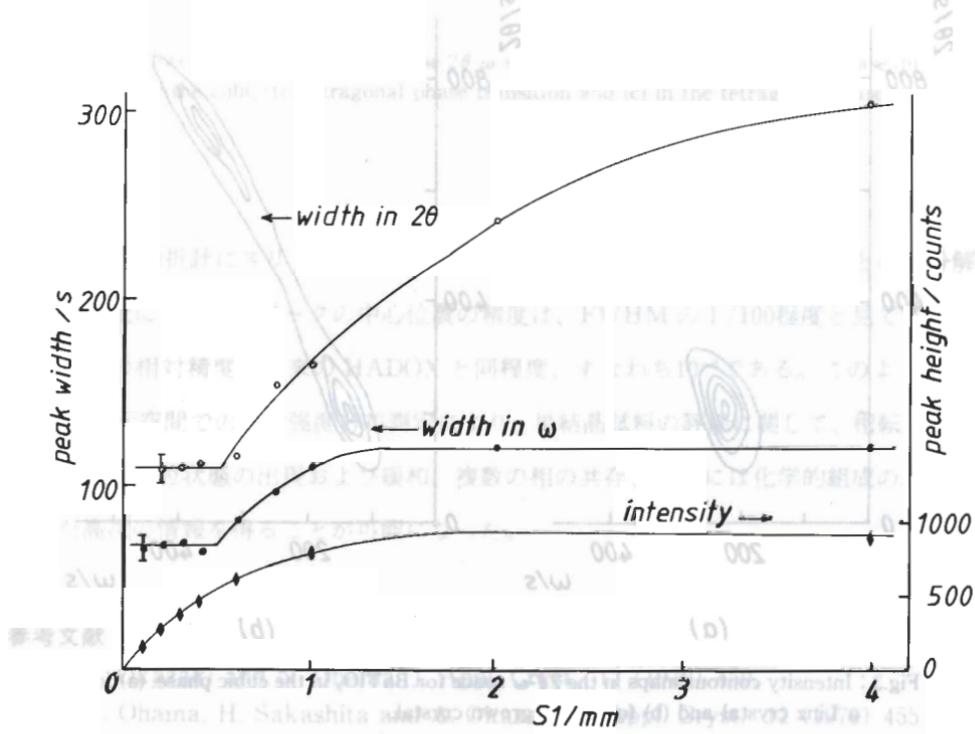


Fig.2: Peak width in the directions of  $2\theta$  and  $\omega$ , as a function of the aperture of S1.  
Also shown is the relation between the intensity and S1.

Tomonaga, Y. Soejima and A. Okazaki, Phase Transitions 四編

の値に着目すると、3通りの値を取っている。中央のピークは(a)との比較で立方相400反射であることが判る。他は  $2\theta$  の大きい3個が正方相400反射、 $2\theta$  の小さい3個が正方相004反射であると同定できる。 $2\theta$  が等しく  $\omega$  が異なる反射は、同一格子定数すなわち同一結晶構造を有し、異なる方位を向いた結晶粒からの反射である。この結果から、転移温度では立方、正方2相が共存していること、また正方相はいわば多結晶粒状態であることが結論出来る。(c)は転移温度直下の正方相でのパターンである。ここでは立方相のピークが消失しているだけでなく正方相400ピークも消失して、いわゆるCドメインのみの正方相の状態になっていることが明らかである。さらに004ピークが1個になっていることから、多結晶粒状態が解消して本来の単結晶状態に戻っていること、加えて原子再配列が不完全なために結晶のmosaic spreadが大きく、ピークの幅が大きいことも判る。

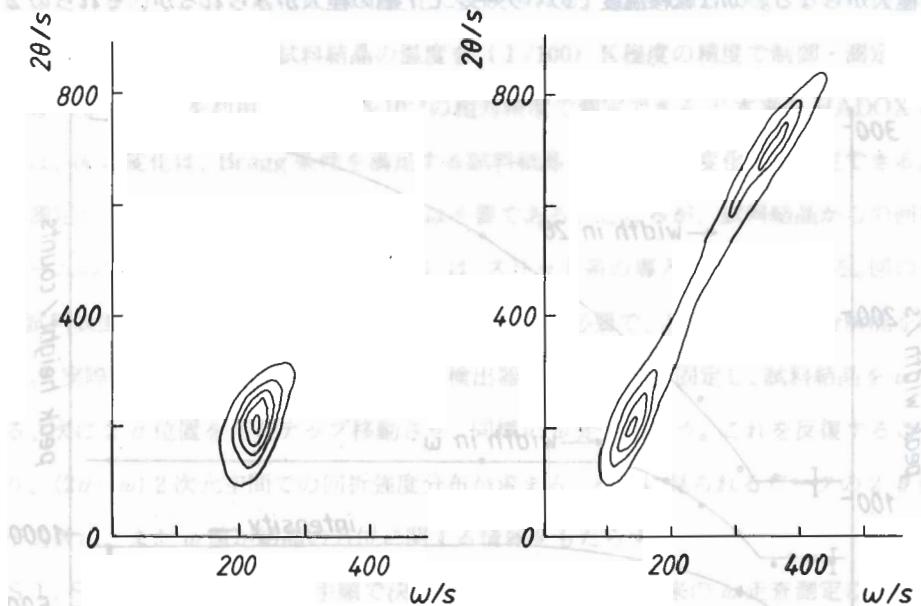
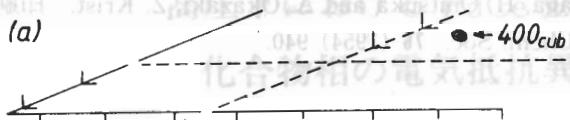
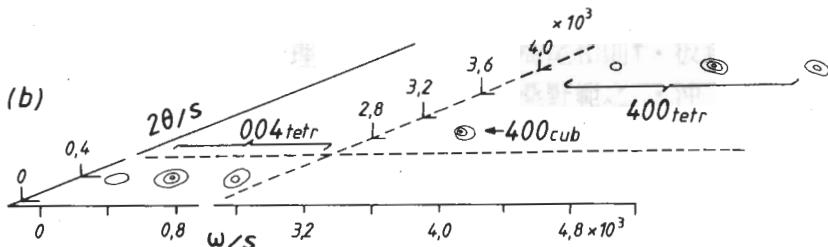


Fig.3 : Intensity contour maps in the  $2\theta\text{-}\omega$  space for  $\text{BaTiO}_3$  in the cubic phase. (a) for a Linz crystal and (b) for a flux-grown crystal.

(a)



(b)



(c)

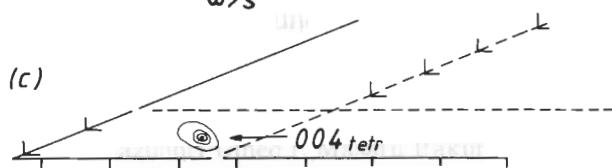


Fig.4 : Intensity contour maps in the  $2\theta - \omega$  space for  $\text{BaTiO}_3$ . (a) in the cubic phase, (b) at the cubic-to-tetragonal phase transition and (c) in the tetragonal phase.

#### 4. 結論

HADDOX 回折計にスリット系を導入することにより、格子定数と結晶方位との高分解能測定が可能になった。ピークの中心位置の精度は、FWHM の  $1/100$  程度と見てよいので、格子定数の相対精度は従来の HADDOX と同程度、すなわち  $10^{-6}$  である。このような  $(2\theta - \omega)$  2 次元空間での回折強度分布測定により、単結晶試料の評価に関して、相転移での過渡的な多結晶粒状態の出現および緩和、複数の相の共存、さらには化学的組成の均一度といった高次の情報を得ることが可能になった。

#### 参考文献

- 1) A. Okazaki and N. Ohama, J. Appl. Cryst. **12** (1979) 450.
- 2) N. Ohama, H. Sakashita and A. Okazaki, J. Appl. Cryst. **12** (1979) 455.
- 3) A. Okazaki, Y. Soejima, N. Ohama and K. A. Muller, Jpn. J. Appl. Phys. **24-S** (1985) 257.
- 4) N. Ohnishi, N. Koshiji, K. Irie and A. Okazaki, Solid State Commun. **68** (1988) 571.
- 5) N. Tomonaga, Y. Soejima and A. Okazaki, Phase Transitions 印刷中.

- 6) V. Berluss, J. Kalnajs, A. Linz and R. C. Folweiler, Mat. Res. Bull. 6 (1971) 899.  
 7) Y. Soejima, N. Tomonaga, H. Onitsuka and A. Okazaki, Z. Krist. 印刷中.  
 8) J. P. Remeika, J. Am. Chem. Soc. 76 (1954) 940.

を向いており、これは反射である。この反射は移動

反射である。

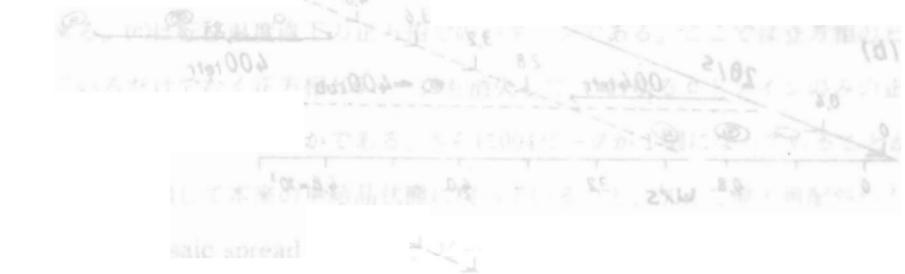
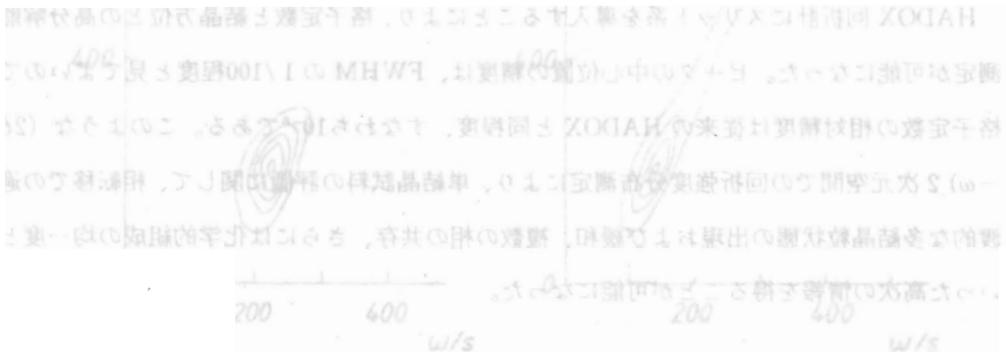


Fig. 4: Pulse-to-telodensity plots of various samples for BaTiO<sub>3</sub>: (a) in the capacic pulse, (b) in the ferroelectric pulse,

説明



1) A. Okasaka and K. Ochiai, Jpn. Appl. Phys. 15 (1976) 120.

Okasaka, H. Sasaki, and K. A. Müller, Jpn. J. Appl. Phys. 16 (1977) 422  
 Okasaka, Y. Soejima, N. Ochiai and K. A. Müller, Jpn. J. Appl. Phys. 16 (1977) 428

(Table 2) 25X

N. Ochiai, N. Kosugi, K. Irie and A. Okasaka, Solid State Commun. 10 (1972) 511  
 N. Tomonaga, Y. Soejima and A. Okasaka, Phase Transitions (印刷中)

電子の数が多

## 高圧下における PdCe 金属間 化合物相の電気抵抗異常

九州大学大学院総合理工学研究科

梅尾和則†・板倉 賢

桑野範之・沖 憲典

Anomaly in Electrical Resistivity of PdCe Intermetallic Compound  
under High Pressure

Kazunori Umeo †, Masaru Itakura, Noriyuki Kuwano  
and Kensuke Oki

Graduate School of Engineering Sciences, Kyushu University 39

† Present Address: Faculty of Science, Hiroshima University

Change in electrical resistivity of PdCe intermetallic compound has been examined under high pressure up to 100 kb. Electrical resistivity of the PdCe intermetallics shows a rapid increase with pressure at room temperature, even though no crystal change is observed in powdered X-ray diffraction patterns. At pressures above 32 kb the PdCe has a negative temperature coefficient in resistivity which is often observed in dense Kondo alloys.

# §1. 緒 言

希土類元素 Ce を含む合金や化合物の中には、価数揺動や高密度近藤効果に起因して、電気抵抗、磁化率、比熱等の物性に特異な振る舞いを示すものが多いたる<sup>1)-3)</sup>。この物性異常は Ce の 4f 電子状態に大きく依存すると考えられている。Ce の 4f 電子は不安定で、原子間距離や温度、圧力、等の外的要因によって容易に 4f 電子と伝導電子の混成状態が変化するため、Ce を含む合金、化合物ではこれに起因する物性異常がしばしば観察される。

例えば、図 1 は我々が先に測定した種々の Pd-Ce 金属間化合物相および Pd<sub>3</sub>La 相の電気抵抗の温度変化である<sup>4)</sup>。それぞれの相状態に依存して特異な電気抵抗変化を示している。特に Pd<sub>3</sub>Ce 相では、電気抵抗は 120K 付近までは温度低下と共に増加し、その後極大値を経て、減少するという異常な振舞いが見られる。すなわち、抵抗の温度係数が負となる、高密度近藤合金に特徴的な挙動が観察される。他の Pd-Ce 化合物相の電気抵抗は温度と共に単調に変化しているように見えるが、これらも異常性を内蔵している。H-Pd<sub>5</sub>Ce 相は負の温度係数をもち、また、L-Pd<sub>5</sub>Ce 相と Pd<sub>7</sub>Ce 相の温度係数は Pd<sub>3</sub>Ce 相の Ce を La で置き換えた Pd<sub>3</sub>La 相に比べると小さく、これらの相においても高密度近藤状態にあるものと考えられる。ちなみに、Ce の L<sub>3</sub>-X 線吸収端近傍構造(XANES)スペクトルより求めた、これらの化合物相中の Ce 価数は中間価数を取っている<sup>4),5)</sup>。すなわち、Ce 価数は PdCe 相の約 3.1 から Ce 濃度の減少と共に増加し、L-Pd<sub>5</sub>Ce および Pd<sub>7</sub>Ce 相の約 3.3 価で飽和している。従って、電気抵抗の温度

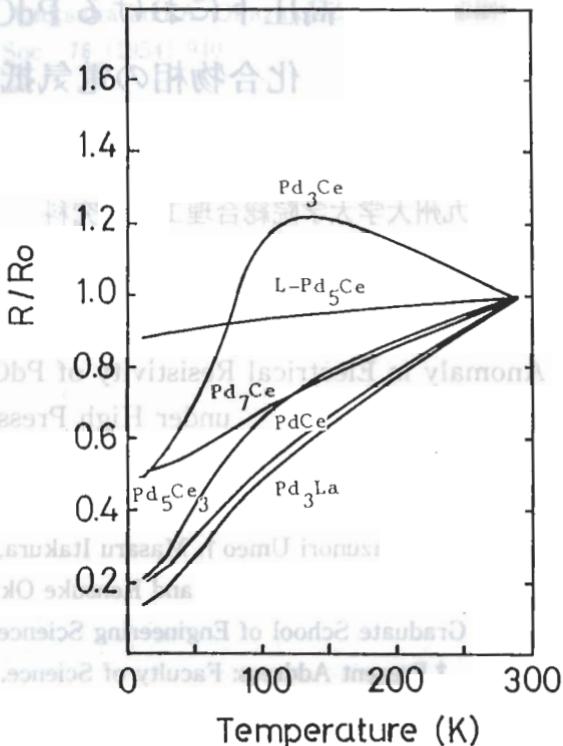


Fig. 1 Temperature dependence of electrical resistivity for intermetallic compounds Pd-Ce and PdLa.

係数は化合物中の4f電子の数が多くなれば、逆に減少する傾向にあると言えよう。しかしながら、PdCe相ではほとんど3価に近いCeイオンを多くもち、4f電子の数が多いにもかかわらず、その電気抵抗の温度係数はPd<sub>3</sub>Laと同じ程度であり顕著な異常性は認められない。このことは高密度近藤状態を形成するには4f電子の数が多すぎることを暗示している。これらの結果を総合して、我々はPd-Ce系においてはCe価数が約3.2程度のとき高密度近藤効果が顕著になることを指摘した<sup>4)</sup>。PdCe相の価数は3.09であるので、もし何らかの方法で、このPdCeの価数を3.2程度に増加させることができれば、電気抵抗の増加が期待できる。

そこで本研究では、PdCe相に圧力をかけることにより、Ce価数の増加を図り、それに伴う電気抵抗の変化を調べる。具体的には、ブリッジマンアンビルおよびダイアモンドアンビルを用いて種々の圧力下における電気抵抗変化を測定し、我々の予測の検証を試みる。

## §2. 実験方法

### 2. 1 試料の作成

高純度Ce(99.99%)とPd(99.95%)をアルゴン雰囲気中でアーカ溶解し、PdCe試料を得た。この試料をアイソメットで薄板状に切断し、石英管に真空封入した後、873Kで170ks焼鈍後冰塩水中に焼き入れた。X線回折実験用試料には、上記薄板状試料をダイアモンドグラインダーを用いてアルゴン雰囲気中で粉末化し(235mesh)、石英管に真空封入後、歪み取り焼鈍を行ったものを用いた。電気抵抗測定用試料はバルク試料を5×1×1mm<sup>3</sup>に切り出した後、石英管に真空封入し、所定の温度で焼鈍後冰塩水中に焼き入れた。

### 2. 2 高圧下における電気抵抗測定

圧力下における室温の電気抵抗をブリッジマンアンビルを用いて測定した。アンビルには26mmφのアンビル面をもつWC製のものを用い、パイロフェライトをガスケットとして、100tプレスにより加圧した。試料の抵抗は0.005と0.05mmφのNi線をハンダ付けしたものをリード線として直流4端子法で測定した。圧力媒体としてはシリコングリースを使用し、圧力較正にはBiのI→II(25kb)およびIII→V(77kb)転移<sup>5)</sup>を用いた。

また、高圧下における電気抵抗の温度変化の測定を清水製作所製のダイアモンドアンビ

ルを用いて行った。ガスケットには $0.2\text{mm}\phi$ の穴をあけた $0.2\text{mm}$ 厚さのステンレス製のものを用い、 $0.015\text{mm}\phi$ の銅線をリード線として直流4端子法で試料の電気抵抗を測定した。リード線とガスケットとの接触を避けるため、ガスケットをアルミナ粉末とエポキシ樹脂の混合物でコーティングした。圧力媒体にはシリコングリースとNaCl粉末との混合物を用いた。圧力は試料の近くに置いたルビーのR<sub>1</sub>蛍光線のシフト<sup>7)</sup>から次式により求めた。

$$d\lambda/dP = 0.03634 \pm 0.00005 \text{ nm/kbar}$$

蛍光線シフトの測定には九州大学中央分析センターの超高压測定装置を用いた。試料の冷却はアンビルを直接液体窒素で冷却することにより行い、温度はダイアモンド側面に取り付けたCA熱電対によって測定した。

### 2. 3 高圧下におけるX線回折実験

高圧下における結晶構造は、東芝タンガロイ製のダイアモンドアンビルを用いてX線回折実験により調べた。Zrフィルターで単色化したMoK $\alpha$ 線を $0.3\text{mm}\phi$ のコリメータで導き、PdCe相試料からの回折線を平板カメラで撮影した。ルビー蛍光シフトから求めた圧力でのNaClの格子定数とNaClの回折線からカメラ長を算出し、ブラッグ角の補正を行った。

## § 3 実験結果および考察

### 3. 1 常温、常圧下におけるX線回折実験

PdCe化合物相の結晶構造を同定するため、ディフラクトメータ法により常温、常圧下で粉末X線回折実験を行った。873Kで焼鈍したPdCe化合物の回折パターンは

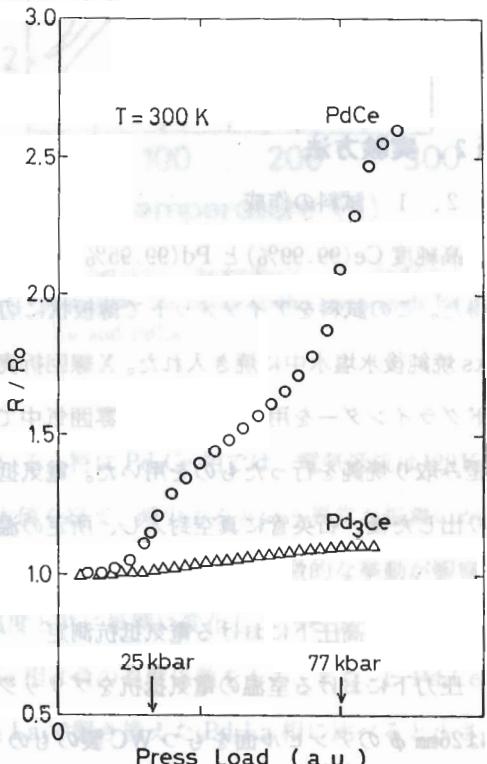


Fig. 2 Pressure dependence of electrical resistivity for intermetallic compounds PdCe and Pd<sub>3</sub>Ce at room temperature.

斜方晶系の CrB 型構造で指数付けができ、得られた格子定数  $a = 0.389$ ,  $b = 1.091$ ,  $c = 0.464\text{nm}$  は Kappler ら<sup>8)</sup>の値と良い一致を示した。

### 3. 2 高圧下における電気抵抗と結晶構造変化

図 2 に室温で測定した PdCe 化合物相および常圧で電気抵抗の異常性(負の温度係数)を示した  $\text{Pd}_3\text{Ce}$  化合物相の電気抵抗の圧力依存性を示す。横軸はアンビルにかかる油圧を Bi の III'  $\rightarrow$  V (77kb) での油圧で規格化したもの、縦軸は常圧での抵抗値( $R_0$ )で規格化した試料の抵抗値( $R$ )である。両化合物相の電気抵抗は圧力と共に増加している。特に、PdCe 相の抵抗値は 77kb すでに常圧の 2 倍以上になっており、その増加率は  $\text{Pd}_3\text{Ce}$  相に比べ非常に大きく、さらに約 70kb 付近から異常な増加を示している。このような電気抵抗の急激な増大の原因として、(1)相転移、(2)金属 Ce の  $\gamma$ - $\alpha$  転移<sup>9)10)</sup>に類似した 4f 電子状態の急激な変化(電子転移)の 2 つが考えられる。まず(1)の原因を確かめるために 100kb までの高圧下で X 線回折実験を行った。

常圧下(1 kb)で観察された PdCe 相の回折線は 97kb までのどの圧力においても明瞭に観察され、この圧力範囲では結晶構造変化がないことを示している。また、これらの回折線から求めた PdCe 相の単位格子の体積変化も圧力の増加と共に滑らかな減少を示すだけで、これらの圧力域では金属 Ce の  $\gamma$ - $\alpha$  転移で観察されるような急激な体積減少も見られない。しかしながら、Murnaghan-Birch の式<sup>11)</sup>を用いて最小二乗フィットより見積もった PdCe 相の圧縮率( $15 \times 10^{-7} \text{ b}^{-1}$ )は価数 3.2 倍の  $\text{Pd}_3\text{Ce}$  相( $7.6 \times 10^{-7} \text{ b}^{-1}$ )<sup>12)</sup>よりもかなり大きく、Ce 価数が 3 倍に近い  $\text{CeIn}_3$ ( $14.9 \times 10^{-7} \text{ b}^{-1}$ )<sup>13)</sup>や  $\text{CeAl}_2$ ( $15.1 \times 10^{-7} \text{ b}^{-1}$ )<sup>14)</sup>と同程度であり、加圧による電子転移の寄与を伺わせる。

常圧下での Ce 価数が 3.02 倍と 3 倍に非常に近い上記の  $\text{CeIn}_3$ <sup>15)</sup>や  $\text{CeAl}_2$ <sup>16)</sup>では圧力をかけることにより電気抵抗が増加することが報告され、これは加圧により Ce 価数が 4 倍に近づくためだと説明されている。高圧下での X 線回折実験によると、上記のように  $\text{Pd}_3\text{Ce}$  相の圧縮率は小さく、 $\text{Pd}_3\text{Ce}$  相中の Ce は Pd の大きな内部圧効果のために、常圧ですでに  $\alpha$ -Ce に近い状態にあると考えられる。一方、緒言でも触れたように、 $L_3$ -XANES 測定より求めた常圧下での PdCe および  $\text{Pd}_3\text{Ce}$  相中の Ce 価数はそれぞれ 3.09 および 3.22 値であり、PdCe 相の方が 3 倍に近い  $\gamma$ -Ce 状態にあり、Pd の内部圧効果も小さいと考えられる。従って、PdCe 相では、我々の予想どおり、加圧することにより Ce 価数が増加

し、それに伴って電気抵抗が増大したも  
のと思われる。圧力下における PdCe 相  
中の Ce 値数についての情報は未だ報告  
がない。高圧下における Ce 値数の測定  
が望まれる。

### 3.3 高圧下における電気抵抗の温 度変化

図 3 に種々の圧力下で測定した PdCe  
相の電気抵抗の温度変化を示す。縦軸は  
室温の電気抵抗  $R_0$  で規格化した値であ  
る。比較のため、常圧下における  $Pd_3Ce$   
化合物相のデータも一緒に載せてある。  
常圧、13 および 23 kb における電気抵抗は  
温度の低下と共に減少している。常圧お  
よび 13 kb における抵抗の温度係数はほ  
ぼ同じであるが、23 kb での温度係数は常  
圧のものよりも小さく、しかも明らかに

上に凸の曲線である。32 kb では電気抵抗  
は約 270 K で極小になった後、温度低下と

共に増加しており、これは近藤合金に見  
られる抵抗極小の挙動<sup>3)</sup>と良く似ている。また、150 K 付近で緩やかな極大をとった後、温  
度低下と共に減少している。45 kb では、32 kb で見られた抵抗極少は消失し、負の温度係数が増大し、常圧下での  $Pd_3Ce$  相と類似した挙動を示している。この負の温度係数の増大  
は圧力増加に伴って顕著になり、特に 70 kb では異常に大きくなっている。これらの異常性  
は加圧することによって Ce 値数が増すと共に独立とみなせる局在スピンの数が増加し、  
高密度近藤効果が顕著になったためと考えられる。

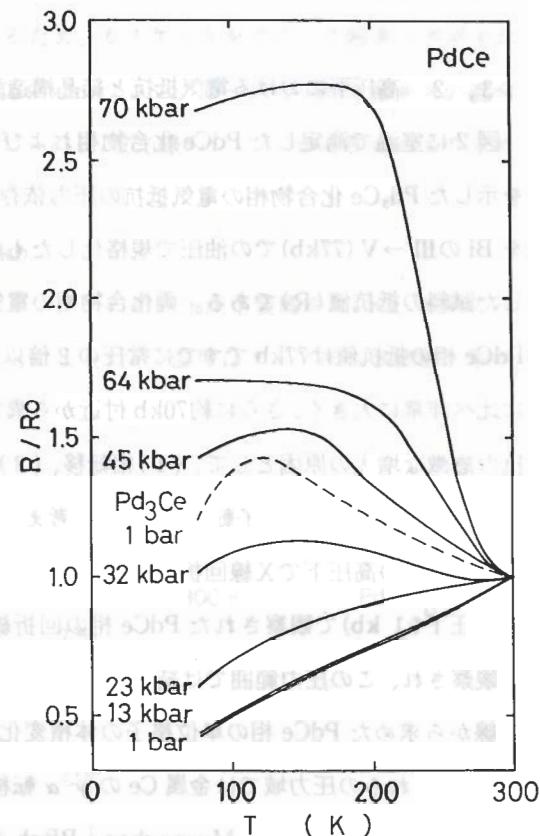


Fig. 3 Temperature dependence of electrical resistivity for intermetallic compound PdCe under various pressures.

## § 4. 結 論

金属間化合物 PdCe 相について、ブリッジマンアンビルを用いた室温における電気抵抗の圧力変化測定、ダイアモンドアンビルを用いた高圧下における X 線回折実験および電気抵抗の温度変化測定を行い、以下の結果を得た。

- (1) PdCe 相の室温における電気抵抗は、約 100kb までの圧力下では圧力の増加と共に増大し、特に 70kb 以上で急激な増大を示した。
- (2) 常圧における PdCe 相は斜方晶系の CrB 型構造をとり、約 100kb の圧力まで安定に存在した。PdCe 相の圧縮率は  $\alpha$ -Ce 状態にある  $Pd_3Ce$  相よりも大きく、PdCe 相中の Ce は 3 倍に近い  $\gamma$ -Ce 状態で存在していることが示唆された。
- (3) 高圧下での電気抵抗の温度変化において、常圧下での  $Pd_3Ce$  相に特徴的な負の温度係数をもつ領域が出現し、その温度係数の絶対値は圧力と共に増加した。これは加圧によって独立な局在スピンの数が増加し、高密度近藤効果が顕著になったためと考えられる。

## 参考文献

- 1) 糟屋忠雄：磁性理論の進歩；守谷亨、金森順次郎編、裳華房、(1983), p. 74.
- 2) 糟屋忠雄：日本物理学会誌、**42**(1987), 722.
- 3) 大貫惇睦、小松原武美：日本物理学会誌、**42**(1987), 732.
- 4) K. Oki et al.: J. Appl. Phys. (1991) (to be published).
- 5) 桑野範之、斎藤裕俊、梅尾和則、板倉賢、沖憲典：九州大学総合理工学研究科報告、**11**(1989), 195.
- 6) 箕村茂：実験物理学講座18 超高圧；箕村茂編、共立出版、(1988), p. 149.
- 7) G. J. Piermarini, S. Block, J. D. Barnett and R. A. Forman: J. Appl. Phys., **46**(1975), 2274.
- 8) J. P. Kappler, M. J. Besnus, P. Lehmann and A. Meyer: J. Less-comm. Metals, **111**(1985), 261.
- 9) K. A. Gschneider, Jr., and R. Smouluchowski: J. Less-comm. Metals, **5**(1963), 374.
- 10) A. Jayaraman: Phys. Rev., **137A**(1965), 179.
- 11) 岡井敏：化学総説22 超高圧と化学；日本化学会編、学会出版センター(1979), p. 119.
- 12) 巨海玄道他：第29回高圧討論会講演要旨集、(1988), 292.
- 13) G. Oomi: J. Magn. Magn. Mat. **54-57**(1986), 431.
- 14) T. Penny: Solid State Comm., **44**(1982), 1199.



泡を除去した、試料全体の体積は200μl

表 218

## <sup>1</sup>H-NMRによるコラーゲン の構造相転移の研究

中央分析センター 坂下寛文・西山宣昭

### Study on the Structural Phase Transition of Collagen by <sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy

Hirofumi Sakashita, and Nobuaki Nishiyama,

The Center of Advanced Instrumental Analysis,  
Kyushu University

We have investigated the structural phase transition of two kind of type I collagens, one purified from Bovine Achilles Tendon and the other from Human Placenta, by 500MHz <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy in the temperature range from 25°C to 50°C.

Two successive and irreversible phase transitions are found in Bovine Achilles Tendon collagen; the first transition (at the lower temperature) corresponds to the melting of the triple-stranded helix and the second (at the higher temperature) to a new and unknown conformational change accompanied by the local and abrupt destabilization of the structure prior to this transition.

In Human Placenta collagen, on the other hand, only one phase transition is observed, which corresponds to the melting of the triple-stranded helix and accompanies the gradual progress in the local melting (precursor).

## § 1. 序

and J. Weller, Physics of Solid under High Pressure

コラーゲンは3本鎖ヘリックス構造をとっており、各 strand 内では3番目ごとにグリシンが配列した特異なアミノ酸配列を持っている。各鎖間には水素結合が多数存在しておりこれが3本鎖ヘリックス構造を安定化させている主たる要因である。温度を40°C程度まで上げると水素結合が切れヘリックス構造が失なわれること（3本鎖の融解）が知られている<sup>1)</sup>。コラーゲンの融解現象は生化学の分野では蛋白質の conformation の変化としてとらえられており、物理学の立場からは広い意味での構造相転移としてとらえることが出来る。蛋白質の conformation の変化（相転移）は、熱力学的極限（密度一定で、体積→∞）での相転移ではないと言うことにその特徴がある。蛋白質は有限サイズであり、従ってどの状態にあっても大きなゆらぎ（構造やエネルギーのゆらぎ、あるいは種々の熱力学的物理量のゆらぎ）を常に伴なっている。これらのゆらぎは蛋白質の機能発現において中心的な役割をはたしている（むしろ、蛋白質はその機能発現のため、ゆらぎを積極的に利用していると言える）。有限サイズであるがために、相転移温度は常にある幅を持つことになる。また、蛋白質は有限サイズではあるがそれでも非常に大きな自由度を持っており、またいくつかの競合する相互作用が存在するため自由エネルギー（熱力学的ポテンシャル）は多くの局所 minimum を持っている。従って、生理的条件下にある蛋白質を低温に冷した時、蛋白質は最低エネルギー状態に落ち込むことはほとんどなく、どれかの局所 minimum にある確率を持って落ち込むことになる。この状況はランダム系で見られる散漫相転移やグラス相転移と同一である。ここでは、ランダム系の相転移で発見された non-ergodicity, frustration, fractal といった概念が必要となる。一方、温度を上げて蛋白質を変性させる場合、conformation の変化（unfolding）は蛋白質全体にわたって一挙に進行せず段階的に起こる。つまり、蛋白質の構造あるいは熱力学的安定性に階層性があることになる。

我々は鎖状構造を持ったコラーゲンの融解過程を500MHzの<sup>1</sup>H-NMRで調べたので報告する。3本鎖の融解がどの部分から起こるのか、融解過程に階層性があるのかどうか、水の役割は何か、が興味の対象である。

## § 2. 実験

試料は Sigma Chemical 社の牛アキレス腱および人胎盤より抽出したコラーゲン（タイプ I）を用いた。5 mmφ の試料管にコラーゲンと重水を混入し、超音波洗浄器にかけ気

泡を除去した。試料全体の体積は200mlであり、コラーゲンの重量比は牛アキレス腱で14.7 wt.%、人胎盤で0.32wt.%である。

NMR測定では日本電子株のJMX500(中央分析センター設置)を使用した。プロトンのシグナルは100回積算によって得、磁場ロックはD<sub>2</sub>Oの<sup>2</sup>H共鳴周波数の変化をモニターすることにより行った。試料温度のコントロールはNMR装置備え付けのもので行い、±0.1°Cのstabilityで制御した。また、積算は試料を測定温度に20分間おいた後に行った。

### §3. 結果と考察

コラーゲンには種々のタイプがあり(タイプI~V)、それぞれのタイプによってアミノ酸配列には若干の違いがあることが知られている。また同じタイプでも水に溶けるものと溶けないものがある。たとえば本研究で使用したコラーゲンはともにタイプIであるが、牛アキレス腱から精製したものは水に不溶であり、人胎盤より精製したものは水に溶ける。この違いが3本鎖の溶解にどのようなかかわりを持っているかにも着目して実験を行った。

図1は30°Cでのコラーゲンの<sup>1</sup>H-NMRスペクトルを示している。横軸のchemical shiftはこの温度でのHDOを基準(0 ppm)にした。各<sup>1</sup>Hシグナルの帰属はランダムコイルタンパク質のアミノ酸プロトンのchemical shift表を参照して行った。<sup>2)</sup>(一般にnativeな状態とrandom coil状態ではchemical shiftの値は異なるが、コ

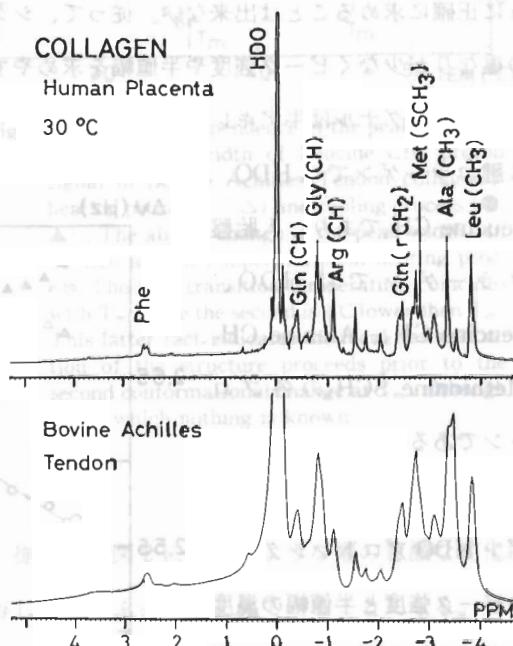


Fig.1: 500MHz <sup>1</sup>H-NMR spectra at 30°C about two kind of collagens; one purified from Human Placenta (upper) and the other from Bovine Achilles Tendon (lower). Value of chemical shift is plotted relative to that of the proton in D<sub>2</sub>O. Signal assignment is made by referring to the table of random coil <sup>1</sup>H chemical shift for amino acid residues in reference 2), since no difference in the chemical shift can be seen between the native state and the denatured one.

ラーゲンの場合はその差はほとんどない。)また、ほとんどのシグナルについて帰属可能であるが、簡単のため一部のアミノ酸プロトンのみを図中には明記している。さて、2種類のコラーゲンのスペクトルの全パターンはともに良く似ている。どのシグナルも胎盤コラーゲンのほうがアキレス腱のものよりかなりシャープであり、これは胎盤コラーゲンが水に可溶なためであると考えられる。もう1つの特徴は胎盤コラーゲンでは、Methionine の  $\text{SCH}_3$  プロトンの非常にシャープなピークが見られることである。一方、コラーゲンの3本鎖構造の安定化に最も寄与している(鎖間の水素結合によって)Glycine の C H プロトンのシグナルは大きな HDO プロトンシグナルのすそ野にあり、ピーク強度および半値幅とともに正確に求めることは出来ない。従って、シグナルが比較的独立に存在し、他ピークとの重なりが少なくピーク強度や半値幅を求めやすいシグナルに限って解析を行った。解析を行ったシグナルは牛アキレス腱。

ス腱コラーゲンでは HDO、Leucine CH<sub>3</sub> であり、人胎盤コラーゲンでは HDO、Leucine CH<sub>3</sub>、Alanine CH<sub>3</sub>、Methionine SCH<sub>3</sub> の各プロトンである。

図2は牛アキレス腱コラーゲン HDO プロトンシグナルのピーク強度と半値幅の温度依存性を示している。昇温過程において半値幅は2つの温度で急激な変化を示しており、

度で約2°Cの温度範囲にわたりて起こっている。以下、変化の中間温度をそれぞれ T<sub>m</sub> (35.6°C)、T<sub>m'</sub> (46.2°C) とする。一方、降温過程においては T<sub>m'</sub> での変化は不明瞭

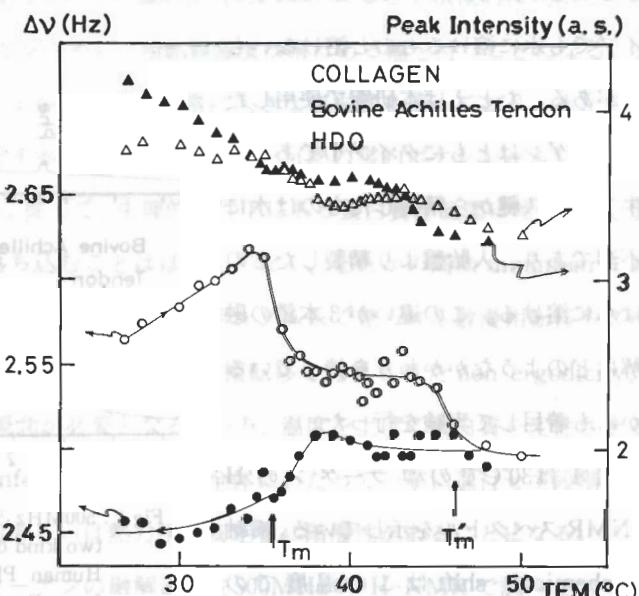


Fig.2: Temperature dependence of the peak intensity and the peak width of HDO proton signal in Bovine Achilles Tendon collagen: heating process (○,△) and cooling process (●,▲). The change in the peak width occurs at two transition temperatures  $T_m$  and  $T_m'$  on heating process. The transition temperatures are defined as those at the mid-point of the progressive change in the peak width.

となり、 $T_m$ 近傍の変化は転移温度が3 °C高温側へずれしかも逆向きに(幅がせまくなる方へ)起こっている。半値幅は昇温と降温では異なるルートをたどっており不可逆過程の様相を呈している。ピーク強度は昇温、降温の両過程とともに $T_m$ 、 $T_m'$ 付近でなめらかな変化をしている様に見えるが、はっきりしたことはわからない。

一般にピークの半値幅はスピニースピン緩和(横緩和)時間 $T_2^{-1}$ に比例した量である。(局所磁場の乱れも半値幅の増加に寄与する。)水はコラーゲンとまったく独立に存在し何らの相関もなければ、温度上昇とともに分子運動は激しくなり水同士を

結びつける水素結合が切れる確率が増加するので半値幅は徐々に小さくなる。従って、図2に示したような幅の急激な変化はコラーゲン3本鎖の融解に直接間接に関与した水のふるまいを見ていることになる。つまり、3本鎖構造を安定化している鎖間の水素結合のプロトンと水分子のプロトンの交換を通して融解現象を見ていると考えられる。

図3はLeucine CH<sub>3</sub>プロトンシグナルのピーク強度と半値幅の温度依存性を示している。昇温時の半値幅は明らかに2段階の変化を示しており、ピーク強度もそれに対応してクリックが見られる。降温時には幅、強度ともに変化が不明瞭となり相転移が存在するかどうかわからなくなる。昇温時の相転移温度は $T_m$ については水のそれとぴったり一致するが、高温側の相転移温度( $T_m'' = 42.2^\circ\text{C}$ )は水の $T_m' (= -46.2^\circ\text{C})$ より4 °Cも低温側にある。これはコラーゲンの2段階目の構造変化がまず局的に何かが起こり( $T_m''$ で)、それから全体的な構造変化が起こっている( $T_m'$ で)ことによると考えられる。 $T_m$ あるいは $T_m''$

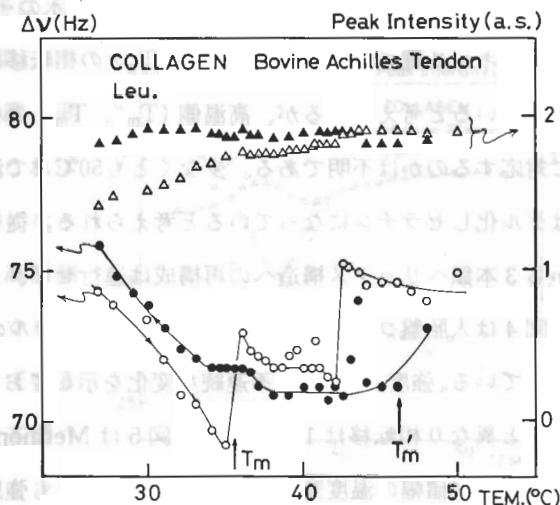


Fig.3: Temperature dependence of the peak intensity and the peak width of Leucine CH<sub>3</sub> proton signal in Bovine Achilles Tendon collagen; heating process ( $\circ, \triangle$ ) and cooling process ( $\bullet, \blacktriangle$ ). The abrupt change in the peak width can be seen at two temperatures on heating process. The first transition temperature coincides with  $T_m$ , while the second is 4°C lower than  $T_m'$ . This latter fact indicates the local destabilization of the structure proceeds prior to the second conformational change at  $T_m'$ , although about which nothing is known.

COLLAGEN Human Placenta  
COLLAGEN Human Placenta

GEN Human Placenta

の温度幅はそれぞれ  $1^{\circ}\text{C}$  および  $0.5^{\circ}\text{C}$  であり、水のそれに比らべてかなりシャープである。

牛アキレス腱コラーゲンの低温側 ( $T_m$ ) の相転移は 3 本鎖の構造が壊れる構造変化に対応していると考えられるが、高温側 ( $T_m''$ 、 $T_m'$ ) の相転移がいったいどのような構造変化に対応するのかは不明である。少なくとも  $50^{\circ}\text{C}$  まで温度を上昇させた状態ではコラーゲンはゲル化しそうになっていると考えられる。従って、降温時にはランダムコイル状態から 3 本鎖ヘリックス構造への再構成は進行せず、これが不可逆過程の原因である。

図 4 は人胎盤コラーゲン HDO プロトンシグナルのピーク強度と半値幅の温度依存性を示している。強度、幅とともに不連続な変化を示しており ( $T_m = 38.6^{\circ}\text{C}$ )、牛アキレス腱コラーゲンと異なり相転移は 1 つである。図 5 は Methionine の  $\text{SCH}_3$  プロトンシグナルのピーク強度と半値幅の温度変化を示している。これも強度、幅とともに不連続な変化をおこしており、 $T_m$  は水のそれと一致している。幅は水とほぼ同じ  $2 \sim 3 \text{ Hz}$  であり、室温付近では  $\text{S}-\text{C}$  ボンドのまわりに激しい分子回転運動を行っていることを意味している (S 原子があるため  $\gamma$  プロトンと  $\text{SCH}_3$  プロトンとの間にスピン-スピンカップリングがないこと

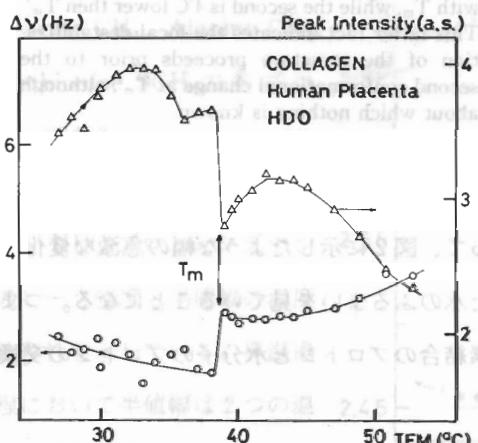


Fig.4 : Temperature dependence of the peak intensity and the peak width of HDO proton signal in Human Placenta collagen. The melting of the triple-stranded helix takes place only at  $T_m$ , and second transition as observed in Bovine Achilles Tendon collagen is not seen.

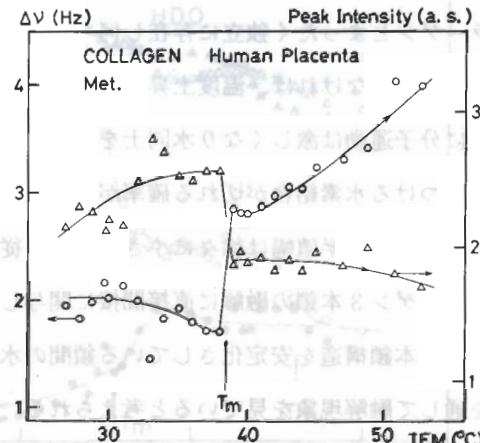


Fig.5 : Temperature dependence of the peak intensity and the peak width of Methionine  $\text{SCH}_3$  proton signal in Human Placenta collagen. The transition temperature coincides with  $T_m$  of HDO signal. The line shape is single below  $T_m$  but double above  $T_m$ , where decomposition into the two peaks is not performed.

も幅が狭い原因である。) このシグナルは  $T_m$  より低温側では単一ピークであるが、 $T_m$  より高温側では double ピークとなり、温度上昇とともにその splitting は増大した。これは  $\text{SCH}_3$  プロトンの磁気的環境が 2 種類になったことを示している(図 5 で  $T_m$  より高温側で幅が増加しているのは、double ピークをそれぞれのピークに分けないで幅を測っているためである)。Methionine の側鎖は 3 本鎖ヘリックスの外側に位置し、水の中に足をつっ込んだようになっている。従って、 $T_m$  を境にした幅の変化は水の粘性の変化を間接的に見ていると考えられる。

図 6 は人胎盤コラーゲン Leucine  $\text{CH}_3$  プロトンシグナルのピーク強度と半値幅の温度依存性を示している。幅は温度上昇とともにしだいに減少の傾向にあるが  $T_m$ を中心によく約 ± 3 °C の範囲で増加している。一見、2 次の相転移で見られる critical slowing down に似ているが、この場合は 1 次の相転移であるので critical なふるまいであるとは考えられない。しかしながら、 $T_m$  の 4 °C 程度低温側から何らかの slowing down が起り始めていることは相転移に先だって局所的な融解が始まっていることを示唆している。HDO および Methionine プロトンシグナルに比べて幅の変化している温度範囲が広いのが特徴である。Alanine  $\text{CH}_3$  プロトンシグナルの半値幅は図 7 に示すように、 $T_m$  より 6 ~ 7 °C も

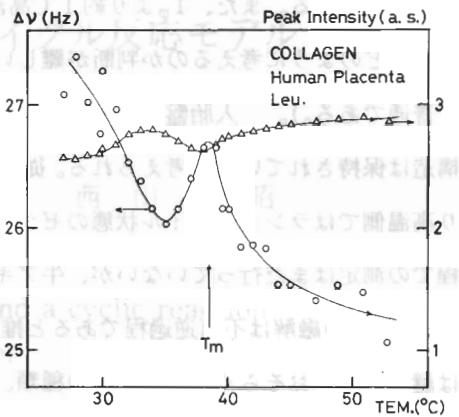


Fig.6 : Temperature dependence of the peak intensity and the peak width of Leucine  $\text{CH}_3$  proton signal in Human Placenta collagen. Not critical but small slowing down can be seen around  $T_m$ .

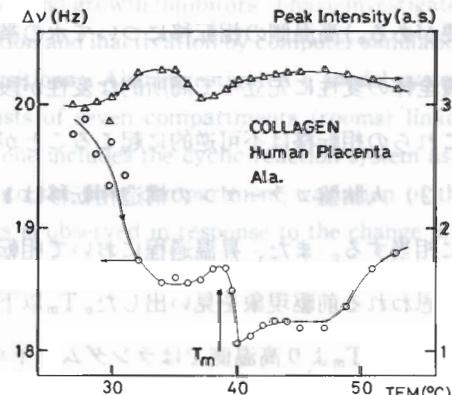


Fig.7 : Temperature dependence of the peak intensity and the peak width of Alanine  $\text{CH}_3$  proton signal in Human Placenta collagen. The peak width begins to decrease far below  $T_m$  on heating; this is the precursor of the transition and suggests the local denaturation (melting) of the triple helix structure.

低温からすでに異常（温度変化のない領域）が現われており相転移に先立つ前駆現象であると考えられる。また、 $T_m$ より約1°C高温側で不連続な変化が起こっており、この $T_m$ +1°Cをどのように考えるのか判断が難しい（相転移の中間温度が $T_m$ であると考えれば最も普通である。）。人胎盤コラーゲンは水に可溶ではあるが、室温では3本鎖ヘリックス構造は保持されていると考えられる。従って、 $T_m$ での相転移は3本鎖の融解であり、 $T_m$ より高温側ではランダムコイル状態のゼラチンになっていると思われる。この場合は降温過程での測定はまだ行っていないが、牛アキレス腱コラーゲンと同様3本鎖の再構成は起こらず $T_m$ での融解は不可逆過程であると推定される。2つ目の相転移がなぜ存在しないかは謎である。おそらく、アミノ酸の種類、配列に違いがあり、従って、熱力学的安定性に大きな違いがあるためと考えられる。

#### §4. まとめ

1) 牛アキレス腱コラーゲンの構造相転移は2段階にわたって起こることを見い出した。低温側の相転移は3本鎖ヘリックスの融解であるが、高温側の相転移がいったい何であるかは不明である。（従って、厳密には高温側の変化が相転移かどうか熱測定等で確認する必要がある。）高温側の相転移について水の挙動とアミノ酸側鎖の挙動には違いがあり、蛋白質全体の変性に先立って局所的な変性が段階的に起こっていることが明白となった。また、これらの相転移は不可逆的に起こることがわかった。

2) 人胎盤コラーゲンの構造相転移は1段階でおこり、これは3本鎖ヘリックスの融解に相当する。また、昇温過程において相転移温度の低温側で局所的な融解を反映していると思われる前駆現象を見い出した。 $T_m$ 以下の温度では3本鎖ヘリックスの構造が保たれているが、 $T_m$ より高温側ではランダムコイルとなりゲル状態にあると考えられる。

#### 参考文献

- 1) L. Stryer, *Biochemistry 3rd edition*, (1988), W. H. Freeman and Company.
- 2) K. Wüthrich, *NMR of Proteins and Nucleic Acids*, (1986), John Wiley & Sons.

## 細胞間情報伝達とサイクル反応モデル

九州大学中央分析センター 西山 宣昭

Cell to cell signalling and a cyclic reaction model

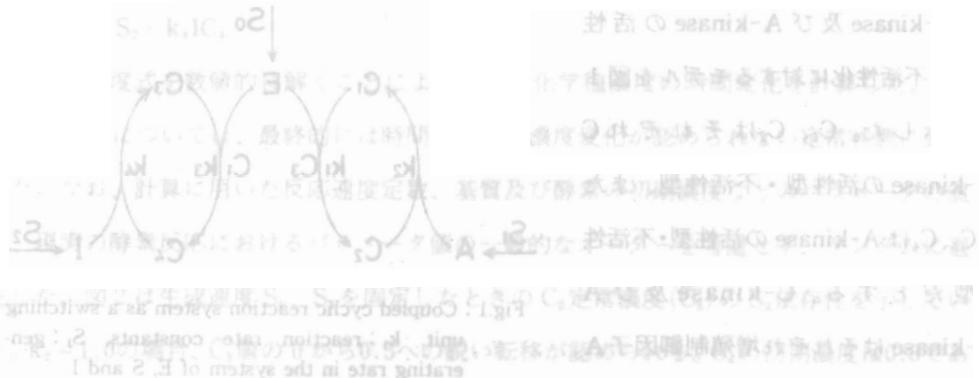
Nobuaki Nishiyama, The Center of Advanced

Instrumental Analysis, Kyushu University

本文は主に細胞間情報伝達とサイクル反応モデルについて述べる。

Abstract

Cell growth is regulated by conversions between active and inactive form of Protein kinases in response to extracellular growth factors and growth inhibitors. I have investigated a cyclic reaction model for Protein kinase activation and inactivation by computer simulation and found this model provides switch-like transitions. Also investigated a model system simulating a cell to cell signalling, which consists of seven compartments (rooms) linked together along one dimensional array and each one includes the cyclic reaction system as a switching unit. After injection of substrates into the first compartment, variation of the spatial switching pattern of seven compartments is observed in response to the change in a substrate transfer rate.



細えたとき、定常状態においても單位時間中の活性化反応と失活反応が等しい。

生体内における細胞増殖は、細胞外に存在する増殖制御因子によって制御されていると考えられている。増殖制御因子の連続的な濃度変化に対応して、増殖の開始、停止といった離散的な細胞応答が実現されるためには、スイッチ的挙動を示す酵素反応系が必要である。近年の生化学的知見によれば、細胞増殖のスイッチとしてプロテインキナーゼA(A-kinase)、プロテインキナーゼC(C-kinase)が考えられる。プロテインキナーゼの細胞増殖のスイッチとしての機能は、プロテインキナーゼ自身の活性化・不活性化に基づく。一方、岡本、林らは、サイクル構造を持つ反応系がスイッチ的挙動を示すことを、コンピュータシミュレーションの手法を用いて明らかにしている。<sup>1~3)</sup> 上述したプロテインキナーゼの活性型・不活性型間の相互変換がサイクル反応であることを考慮すると、スイッチ的挙動を示すことが期待される。

以上の観点から、本研究ではA-kinase及びC-kinaseの活性化・不活性化をサイクル反応としてモデル化し、スイッチ的挙動が認められるかどうかをコンピュータシミュレーションによって調べた。さらに、細胞間情報伝達のモデルとして、直線上に連結されたコンパートメントを考え、各コンパートメントに上述したサイクル反応をスイッチ素子として組み込んだ。第1番目のコンパートメントにサイクル反応の基質を導入した際の、基質のコンパートメント間の移動速度定数と各コンパートメントのスイッチ状態との関係に注目し、シミュレーションを行なった。

## 2. サイクル反応とスイッチ特性

C-kinase及びA-kinaseの活性化・不活性化に対するモデルを図1に示した。C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>はそれぞれC-kinaseの活性型・不活性型、またC<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>はA-kinaseの活性型・不活性型とする。C-kinase及びA-kinaseはそれぞれ増殖制御因子A、Iとの反応によって不活性型から活性型へと変換される。この活性化反

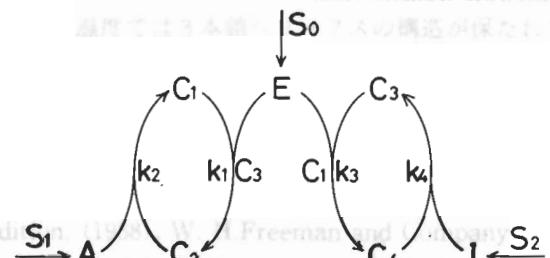


Fig.1 : Coupled cyclic reaction system as a switching unit. k<sub>i</sub> : reaction rate constants, S<sub>i</sub> : generating rate in the system of E, S and I.

応 ( $A + C_2 \rightarrow C_1$ 、  $I + C_4 \rightarrow C_3$ ) は、実際には複数の素反応過程からなる。C-kinase の活性化を例にとると、制御因子 A が (A に対する) レセプター・G 蛋白質・ホスホリパーゼ C 複合体に結合することによってホスホリパーゼ C の反応が起動し、その反応生成物が C-kinase 自身の活性化に関与することが知られている。図 1 のモデルでは、上述のような複数の素反応過程を、 $A + C_2 \rightarrow C_1$  という反応に簡略化したことになる。A-kinase の活性化反応 ( $I + C_4 \rightarrow C_3$ ) についても同様である。一方、C-kinase、A-kinase の活性型から不活性型への変換においては、C-kinase と A-kinase との cross-talk 機構が関与していると考えられており<sup>4~6)</sup>、図 1 のモデルにも取り入れた。すなわち、C-kinase の不活性化過程 ( $E + C_1 \rightarrow C_2$ ) は活性型 A-kinase により、また A-kinase の不活性化過程 ( $E + C_3 \rightarrow C_4$ ) は活性型 C-kinase により触媒されると仮定する。E はリン酸基供与体であるとする。C-kinase、A-kinase の不活性化に含まれる素反応過程についての生化学的知見は乏しく、したがって不活性化過程を  $E + C_1 + C_3 \rightarrow C_2$ 、 $E + C_3 + C_1 \rightarrow C_4$  へ簡略化することが妥当であるかどうかわからない。

図 1 のモデルより反応速度式は以下のようになる。

$$\dot{C}_1 = k_2 AC_2 - k_1 C_1 C_3 E$$

$$\dot{C}_2 = -\dot{C}_1$$

$$\dot{C}_3 = k_4 IC_4 - k_3 C_1 C_3 E$$

$$\dot{C}_4 = -\dot{C}_3$$

$$\dot{E} = S_0 - (k_1 + k_3) C_1 C_3 E$$

$$\dot{A} = S_1 - k_2 AC_2$$

$$\dot{I} = S_2 - k_4 IC_4$$

この反応速度式を数値的に解くことによって、各化学種濃度の時間変化を計算した。 $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 、 $C_4$ については、最終的には時間に対する濃度変化が認められない定常状態に到達した。なお、計算に用いた反応速度定数、基質及び酵素の初期濃度などのパラメータの値は、現実の酵素反応におけるパラメータ値の一般的なオーダーを考慮せず、ランダムに選定した。図 2 は生成速度  $S_0$ 、 $S_1$  を固定したときの  $C_3$  定常濃度 ( $\bar{C}_3$ ) の  $S_2$  依存性を示している。 $k_2 = 1.0$  の場合、 $\bar{C}_3$  値の 0 から 0.5 への鋭い転移が認められる。 $C_4$  の初期濃度は 0.5 であるから、 $\bar{C}_3 = 0.5$  のとき  $\bar{C}_4$  値は 0 である。つまり、 $C_3$  と  $C_4$  との初期状態における濃度関係が、 $S_2$  のしきい値を超えたとき、定常状態において完全に逆転することがわかる。一方、

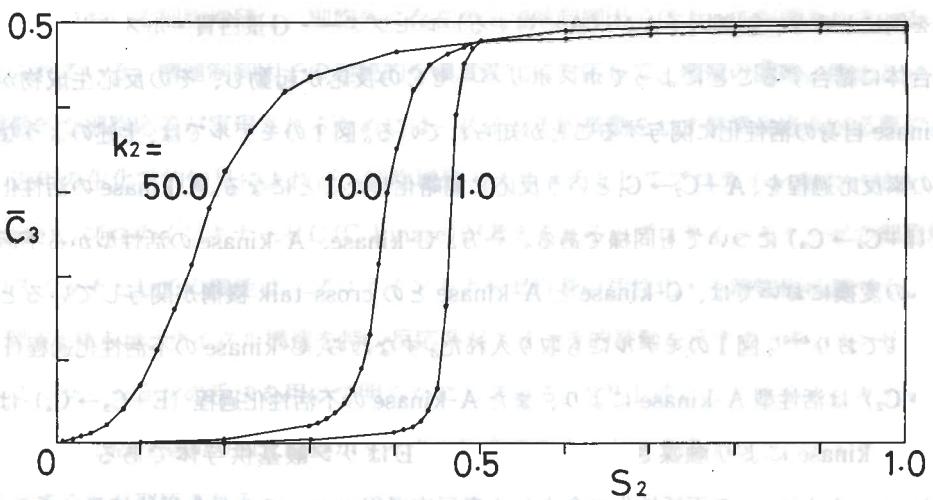


Fig.2 :  $\bar{C}_3$  concentration in steady State ( $\bar{C}_3$ )vs. I generating rate( $S_2$ ).  $S_0, S_2$  fixed at 1.0. Parameter values :  $k_1 = k_3 = k_4 = 10.0$ ,  
 $C_1(0) = C_3(0) = 0.0$ ,  $C_2(0) = C_4(0) = 0.5$ ,  $E(0) = A(0) = I(0) = 0.5$ .

$\bar{C}_1$ は  $S_2$  のすべての範囲において 0.5 の値を保持する。したがって  $\bar{C}_2$  は常に 0 である。

図 2 には、 $k_2 = 10.0$ 、50.0 の場合の結果もまた示している。 $k_2$  の増加とともに、転移点は  $S_2$  の値が小さい方向に移動し、しかもより緩慢な転移に変化することがわかる。 $k_2$  値の変化は、上述したレセプター・G 蛋白質・ホスホリパーゼ C 複合体の C-kinase 活性化能変化に対応する。G 蛋白質の変異蛋白質として知られる発ガン遺伝子産物 ras 蛋白質<sup>7)</sup> が発現した場合、図 2 に示したような C-kinase 活性化に必要な増殖制御因子のしきい値の変化が予想される。推測の域を出ないが、増殖制御に関わるスイッチの構成分子の変異によるしきい値の変化が、異常増殖（発ガン）の原因の 1 つである可能性が考えられる。

### 3. コンパートメントモデルと細胞間情報伝達

生体内において、増殖制御因子に対する細胞応答は、各々の細胞においてではなく、細胞集団において認められる。増殖の開始、停止といった情報が特定の細胞集団において、確実に広がっていく精巧かつ複雑な細胞間情報伝達機構が存在すると考えられるが、ここでは細胞間情報伝達のモデルとして、極めて単純なコンパートメントモデルについて述べる。

図3に示すように、直線上に連結された7個のコンパートメントを考える。各コンパートメントには、図1に示したサイクル反応系をスイッチ素子として組み込んだ。各コンパートメントは細胞を見なすことができる。サイクル反応を駆動する基質（E、A、I）のうち、Eは各コンパートメントにおいて速度  $S_0$  で定常に生成される。第1番目のコンパートメントにA、Iが導入されることにより、反応が開始する。第2～7番目のコンパートメントにおけるA、Iの初期濃度は0である。コンパートメント間の物質移動は、A、Iにのみ許され、それぞれの移動速度は2つのコンパートメント間の濃度差に比例するものと仮定する。A、Iに対する移動速度定数はそれぞれ  $k_a$ 、 $k_i$  である。

実際の細胞間情報伝達において、増殖制御因子の細胞間移動は、細胞間隙における拡散とともに、細胞間の接着部位に位置する輸送蛋白質ギャップ結合によって行なわれていると考えられている。残念ながら、ギャップ結合の開閉のダイナミックスについての分子論的知見はほとんど知られていない。そこで、図3のモデルを用いて、A、Iのコンパートメント間の移動速度定数  $k_a$ 、 $k_i$  を変えたとき（すなわち、ギャップ結合の開閉の程度をえたとき）、各コンパートメントに組み込まれたスイッチ素子の状態がどのように変化するかを調べた。

図3のモデルに対する反応速度式を数値的に解くことによって、各コンパートメントにおける化学種濃度の時間変化を計算した。A、Iは初期状態において、第1番目のコンパートメントに一過性に放出されると仮定するため、A、Iは時間の経過とともに系より消失していく。一方、C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>の濃度については、その時間変化がない定常状態に達する。つまり、各コンパートメントに組み込まれたスイッチ素子の状態を安定に保持するた

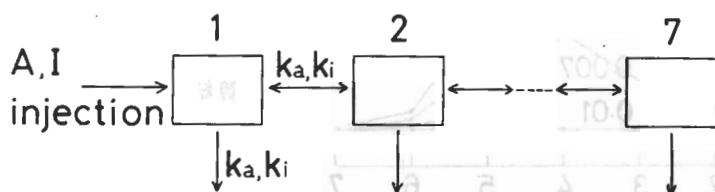


Fig.3 : Compartment model. Seven compartments link each other in one dimension.  $k_a$  and  $k_i$  are transfer rate constants of A and I, respectively. Initial value of A and I in the first compartment is 50.0. Standard parameter values :  $k_1 = k_2 = k_3 = k_4 = 10.0$ ,  $C_1(0) = C_3(0) = 0.0$ ,  $C_2(0) = C_4(0) = 0.5$ ,  $E(0) = 0.0$ ,  $S_0 = 1.0$ .

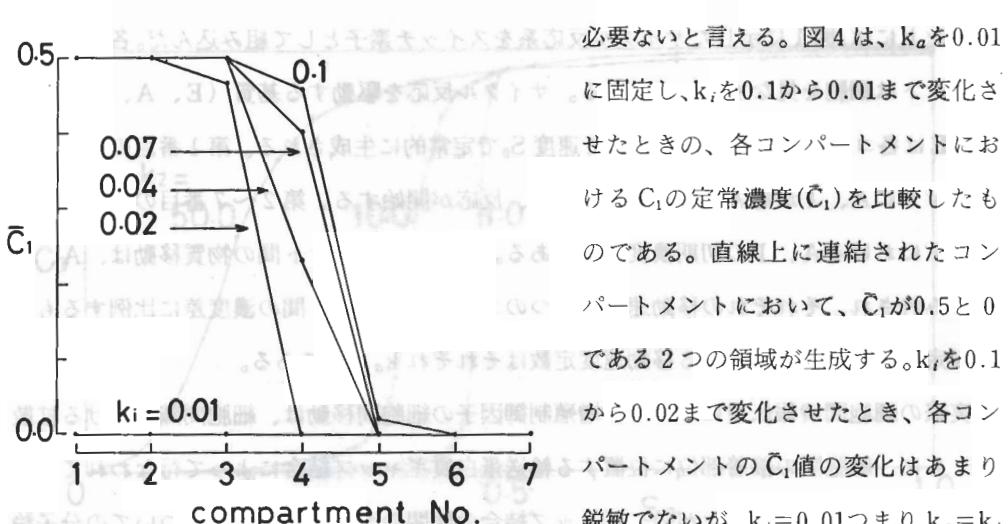


Fig.4 :  $C_1$  steady state concentration ( $\bar{C}_1$ ) in seven compartments.  $k_a$  is fixed at 0.01.  $k_i$  is changed between 0.01 and 0.1.

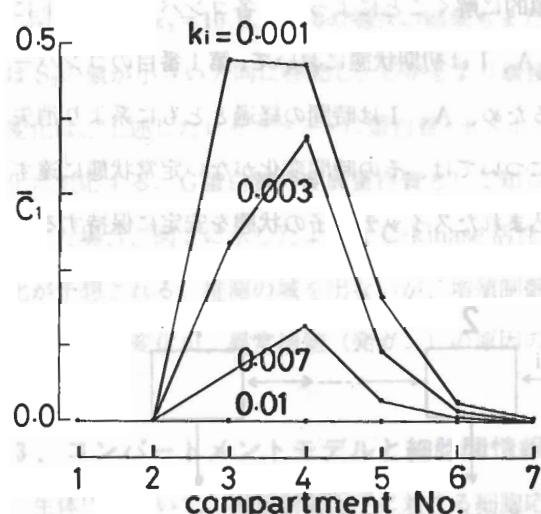


Fig.5 :  $C_1$  steady state concentration ( $\bar{C}_1$ ) in seven compartments.  $k_a$  is fixed at 0.01.  $k_i$  is changed between 0.001 and 0.01.

めに、必ずしも基質の定常的な供給は

必要なと言える。図4は、 $k_a$ を0.01

に固定し、 $k_i$ を0.1から0.01まで変化さ

せたときの、各コンパートメントにお

ける  $C_1$  の定常濃度 ( $\bar{C}_1$ ) を比較したも

のである。直線上に連結されたコン

パートメントにおいて、 $\bar{C}_1$  が 0.5 と 0

である 2 つの領域が生成する。 $k_i$  を 0.1

から 0.02 まで変化させたとき、各コン

パートメントの  $\bar{C}_1$  値の変化はあまり

鋭敏でないが、 $k_i = 0.01$  つまり  $k_a = k_i$

のとき、突然すべてのコンパートメン

トにおける  $\bar{C}_1$  値が 0 になる。図5は図

4の場合と同様に  $k_a$ を0.01に固定し、

$k_i$ を0.01から0.001まで変化させたと

きの結果である。図4の場合とは異な

り、各コンパートメントでの  $\bar{C}_1$  値は 0

か 0.5 かの 2 値的なものではなく、中間の

値をとっている。しかしながら、興味

深いことに、 $\bar{C}_1$  値のピークは端ではな

く中央領域に現われている。

以上、コンパートメントモデルによ

る計算結果において、A、Iの移動速

度定数に依存して、 $\bar{C}_1$  に対して all or

none 的な 2 つの領域が生成されたり、

中央領域にピークが現われることを見

た。したがって、細胞集団のプロテイ

ンキナーゼのスイッチ状態の規定に、

ギャップ結合による物質移動の程度が、

大きな影響を及ぼすことが予想される。ギャップ結合の開閉のダイナミクスに関する分子レベルでの知見が集積されていくことが望まれる。

## 謝　　辞

本報告をまとめるにあたり、ご多忙中にもかかわらず、丹念に原稿に目を通してくださり、多くのご指摘をいただきました当センター坂下助教授に感謝致します。

## 参考文献

- 1) 林勝哉、“酵素反応系の制御機構”、学会出版センター (1977).
- 2) 林勝哉、坂本直人編、“酵素反応のダイナミクス”、学会出版センター (1981).
- 3) M. Okamoto and K. Hayashi, J. theor. Biol. **113**,785(1985).
- 4) A. Levitzki, Nature **330**,319(1987).
- 5) J. Millar and E. Rezengurt, Nature **331**, 492(1988).
- 6) K. Kaibuchi, Y. Takai et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. **104**,105(1982).
- 7) J. B. Hurley, M. I. Simon et al., Science **226**, 860(1984).