

第 82 回 応用化学科セミナー（学生発表会）

日時：平成 16 年 12 月 6 日（月）17：00～18：30

場所：愛媛大学学生会館 3 階（松山市文京町 3）

参加費：無料

プログラム（全てポスターによる発表）

1. 様々なリチウムアミド/遷移金属ハロゲン化物を開始剤とする MMA のアニオン重合
（高分子化学）小村直寛、田中伸典、伊藤大道、井原栄治、井上賢三
2. ジプロモトルエンの重合によるポリ（置換メチレン）合成
（高分子化学）和氣孝雄、伊藤大道、井原栄治、井上賢三
3. ポリペプチドを含むブロック共重合体の新規合成法とらせん反転挙動
（高分子化学）岩井俊博、伊藤大道、井原栄治、井上賢三
4. 両親媒性ブロック共重合体を用いた分散重合と微粒子表面の修飾
（高分子化学）小林孝行、鑄形顕代、伊藤大道、井原栄治、井上賢三
5. 側鎖にホスファゼン環を有するメタクリレートの合成と重合
（高分子化学）中村康一、神野愛美、伊藤大道、井原栄治、井上賢三
6. 進化分子工学による特異的結合タンパク質の創成と解析
（無細胞高井研）久我高弘
7. 無細胞葉緑体移行スクリーニングシステムの開発
（無細胞遠藤研）瀬藤拓也
8. コムギ無細胞系をベースとした単鎖抗体ハイスループット 1 分子蛍光スクリーニング
システムの構築
（無細胞遠藤研）中山聖湖
9. 無細胞系を用いたマウスのヒト疾患関連 PK を中心とした機能解析およびカタログ化
（無細胞遠藤研）宮本和雅
10. ナフチリジン-ピリジンアミドホストの包接能と包接錯体の構造
（構造有機化学）池内貴宏
11. フタル酸アミドホストの合成と包接能
（構造有機化学）藤岡 純
12. フルオレン誘導体ホストのゲスト包接による固体蛍光発光
（構造有機化学）山田智彦
13. グリシンイミンエステルのキラル結晶の創製とアルキル化によるアミノ酸の不斉合
成

- (構造有機化学) 小野幸太郎
14. 選択的なメタン転換触媒の開発とその機能解析に関する研究
(無機物質化学) 宮崎隆文
 15. 遷移金属元素含有酸化物ナノチューブの合成と構造解析
(無機物質化学) 井上佳彦、大川政志、山口 力
 16. プロピオン酸とホルムアルデヒドの縮合反応
(無機物質化学) 広瀬陽一、大川政志、山口 力
 17. NADPH oxidase 成分 p47phox の Unmasking による Actin 結合能の変化
(分子生命化学) 伊藤克法、中井優子、田村 実
 18. NADPH oxidase 構成タンパク質の結晶化による構造解析に向けて
(分子生命化学) 小林周平、遠藤隆博、田村 実
 19. 大腸菌を用いた Nox1 サイトソル因子タンパク質の発現と精製
(分子生命化学) 大原卓也、楠野太郎、田村 実
 20. 新開発 O₂-発生デバイスの改良と応用
(分子生命化学) 北原博貴、田村 実
 21. 銅フタロシアニン含有ゼオライト触媒の合成とキャラクタリゼーション
(材料物性化学) 木本邦博、山浦弘之、八尋秀典、岡田元次
 22. CH₄ 燃料を利用した SOFC のセリア系アノードの最適化
(材料物性化学) 斎藤聡洋、山浦弘之、八尋秀典、岡田元次
 23. 希土類金属イオンを共存させた Cu-MFI ゼオライトの NO 分解反応
(材料物性化学) 長野達也、山浦弘之、八尋秀典、岡田元次
 24. TiO₂/MCM-41 の光酸化反応
(材料物性化学) 宮本尚明、山浦弘之、八尋秀典、岡田元次
 25. 固体酸を電解質に用いた燃料電池の開発
(材料物性化学) 佐藤 麗、山浦弘之、八尋秀典、岡田元次
 26. 担持 Cu 触媒の水性ガスシフト反応
(材料物性化学) 中塚真理子、中矢健太、山浦弘之、八尋秀典、岡田元次
 27. ヒト大腸癌治療に用いる ESA 固定化ベシクルのマウス体内挙動
(生態環境機能工学) 竹乗秀樹、重川庸介、秋山浩一、菅原卓也、増田晴造、加藤敬一
 28. 脳腫瘍治療をめざしたイムノベシクルの創製とそのマウス体内挙動
(生態環境機能工学) 水岡大樹、秋山浩一、菅原卓也、増田晴造、加藤敬一
 29. 凍結融解処理による余剰活性汚泥の生物活性の変化
(化学工学) 所 博通、川崎健二、松田 晃
 30. 環境に優しい冷房 – 吸収冷凍機の開発研究 –
(化学工学) 野田康司、川崎健二、松田 晃

31. 超音波照射による液中不純物の凍結濃縮分離
(化学工学) 山村昌弘、川崎健二、松田 晃
32. 中空糸膜を用いた微生物による排水処理システムの研究—膜の濾過特性について—
(化学工学) 吉岡 純、川崎健二、松田 晃
33. 余剰活性汚泥中の各種固形物が中空糸精密濾過に及ぼす影響
(化学工学) 吉川徹太郎、川崎健二、松田 晃
34. HCl および NO₂ ガス検知のための水晶振動子型ガスセンサの開発
(工業物理化学) 門脇良人、松口正信
35. 導電性高分子膜の電気伝導度に対する酸素の影響
(工業物理化学) 田中友梨、松口正信
36. tRNA の修飾は poly(U)poly(Phe)合成に影響するか?
(応用生物化学) 栗井貴子
37. tRNA (m7G46) methyltransferase の結晶化の試み
(応用生物化学) 稲田賀久
38. 超好熱菌 Aquifex aeolicus 由来 tRNA (m22G26) methyltransferase の発現系の構築
(応用生物化学) 竹原 徹
39. 無細胞翻訳系によるウリ類炭ソ病菌 APH1 遺伝子産物の解析
(応用生物化学) 松本啓介
40. ホウケイ酸塩ガラスの構造とガラス転移点との関係—NMR と DTG による検証
(分離分析化学) 相本恭正、山下 浩、前川 尚
41. 球状多孔質 TiO₂ 粒子合成時におけるナトリウム塩の添加効果
(分離分析化学) 梶田享祐、山下 浩、前川 尚
42. インシュリン作用に関わる可能性のあるイノシトールグリカン類の合成
(反応有機化学) 岩永隆之
43. 結晶場におけるイノシトールジケタールのケタール交換反応
(反応有機化学) 村上知弘
44. 実用的に利用できる簡便なイノシトールリン脂質合成法の開発
(反応有機化学) 兵頭小百合
45. ポリオキシカルボン酸を用いた塩基性アミノ酸の水相から有機相への選択的抽出
(反応有機化学) 丹 康賢
46. 分子間相互作用を利用できる新規リン配位子の開発
(反応有機化学) 鶴岡奈美
47. シリルホスフィンとアルキンの多重付加反応
(反応有機化学) 河村有香
48. シリルホスフィンを利用する新規合成法の開発
(反応有機化学) 松浦 豊

様々なリチウムアミド/遷移金属ハロゲン化物を開始剤とする MMA のアニオン重合
(高分子化学) ○小村直寛・田中伸典・伊藤大道・井原栄治・井上賢三

【緒言】我々は遷移金属アート錯体を開始剤として、メタクリル酸メチル(MMA)の重合を行い、遷移金属を含む成長末端が重合のリビング性や立体選択性に与える影響について検討を行ってきた^{1),2)}。本研究では、2級リチウムアミドのみ、またトルエンに可溶性遷移金属ハロゲン化物(WCl₆, MoCl₅, NbCl₅)にアミノ基とアルキル基を配位させたアート錯体を開始剤とする系で MMA の重合を行い、成長末端の構造の違いが得られる PMMA の tacticity に与える影響について検討した。

【実験】反応は全て窒素雰囲気下で行った。Toluene 中 0°C で様々な2級アミンのリチウムアミドのみ、および遷移金属ハロゲン化物(MCl_x)に m 当量のリチウムアミドと x-m+1 当量の nBuLi を反応させて発生したアート錯体を開始剤として -78°C で MMA を加え 3h 重合を行った。

【結果と考察】Toluene 中リチウムアミドのみを開始剤系とする重合では成長末端の構造が同じリチウムエノラートであると予想されるにもかかわらず用いたアミドにより tacticity が異なり、特に *i*PrPhNLi, *n*BuPhNLi を用いた場合では *mm* 含量の高い PMMA (*mm* = 91%) が得られた。これは開始反応に関与しなかったリチウムアミドが成長末端のエノラートと複合体を形成し、その構造が tacticity に影響を与えたためであると考えられる。

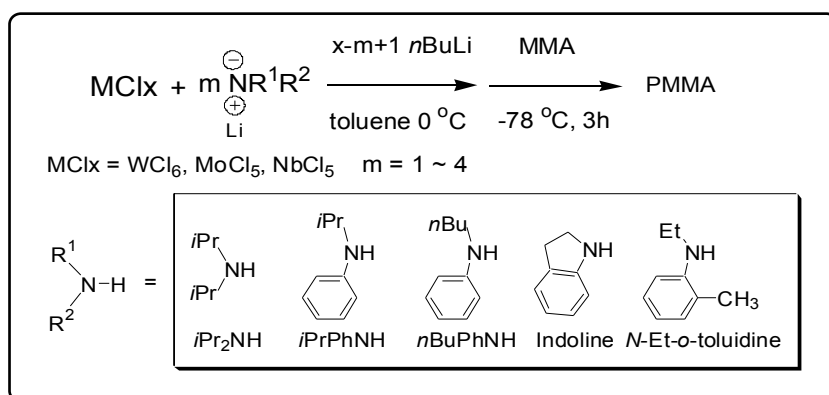
遷移金属ハロゲン化物に

Table. Anionic polymerization of MMA

Run	Initiator	Yield %	Mn ^{a)} × 10 ⁻⁴	Mw/Mn ^{a)}	Tacticity ^{b)} /%		
					mm	mr	rr
1	<i>i</i> PrPhNLi	97	43.7	5.21	91	8	1
2	<i>n</i> BuPhNLi	70	39.1	5.21	91	8	1
3	WCl ₆ /2 <i>i</i> Pr ₂ NLi/5 <i>n</i> BuLi	52	20.3	2.51	86	13	1
4	WCl ₆ /3 <i>i</i> PrPhNNLi/4 <i>n</i> BuLi	32	41.0	4.49	97	3	0
5	WCl ₆ /3 <i>n</i> BuPhNLi/4 <i>n</i> BuLi	37	34.4	4.01	96	4	0
6	WCl ₆ /2 Indoline/5 <i>n</i> BuLi	28	35.7	1.69	92	7	1
7	WCl ₆ /3 <i>N</i> -Et- <i>o</i> -toluidine/4 <i>n</i> BuLi	33	52.0	5.57	97	3	0

Condition; Solvent: 30 ml of Toluene, Time: 3h, Temp.: -78°C
^{a)} Determined by GPC. ^{b)} Determined by ¹H NMR.

系では収率が低いものの *mm*=95% を超える isotactic PMMA が得られた。これは成長末端が遷移金属を含むアート錯体となったことが成長反応における立体的な効果を及ぼし tacticity に変化が見られたためである。



1) E. Ihara, S. Tanaka, K. Inoue, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **40**, 4302-4315 (2002).

2) E. Ihara, S. Tanaka, T. Itoh, K. Inoue, *Polymer J.*, **35**, 972-977 (2003).

ジブロモトルエンの重合によるポリ(置換メチレン)合成

(高分子化学) ○和氣 孝雄・伊藤 大道・井原 栄治・井上 賢三

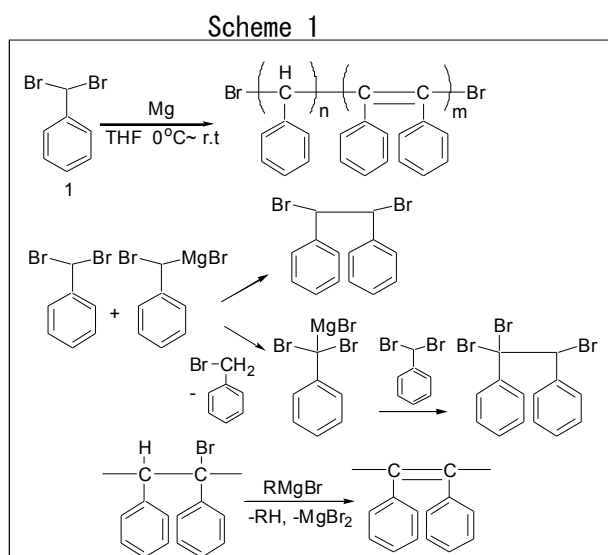
[緒言]

現在、炭素-炭素結合を主鎖骨格とする様々な高分子が、ビニル重合によって合成されている。ビニル重合では主鎖骨格は2つの炭素原子を含むユニットから構築される。これに対して、その主鎖骨格を1つの炭素原子ユニットから構築する方法はポリ(置換メチレン)合成と呼ぶことができる。我々はすでにPd錯体を開始剤、ジアゾカルボニル化合物をモノマーとするポリ(置換メチレン)合成法の開発に成功している。

ここでは、新たなポリ(置換メチレン)合成として、すべての主鎖の炭素上にフェニル基の結合したポリフェニルメチレンの合成と、その化学変換について報告する。

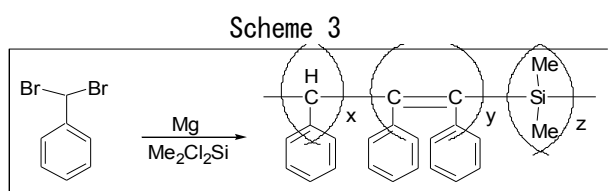
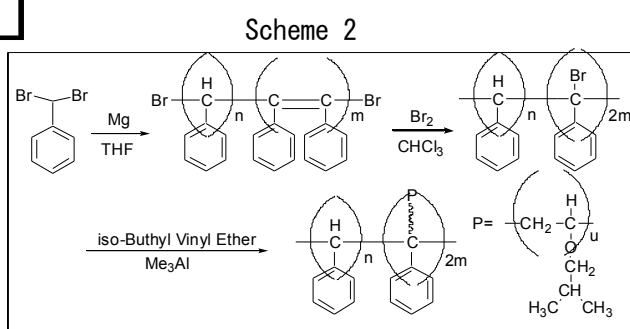
[実験結果および考察]

重合の方法を下の Scheme 1 に示す。



α , α -ジブロモトルエン (1) をモノマーとし、THF 中、0°C から室温で、12 時間、Mg と反応させた後、分取 GPC により精製すると収率 24%、分子量 800g/mol (VPO より測定) の poly 1 が得られた。¹H-NMR、元素分析、蛍光測定から poly 1 の主鎖中の二重結合の存在、及び主鎖の炭素上には一部臭素が結合していることがわかった。これらはグリニャー試薬の C-Br 結合への求核置換反応、酸性プロトンの引き抜きによる交換反応及び C=C の生成によって形成されると考えられる。

このポリマー主鎖中の二重結合は Scheme 2 に示すような臭素との反応によって臭素化することができた。この反応に伴い、スチルベンタイプの C=C に由来する発光の消失を確認した。臭素化されたポリマーは Me₃Al との反応によって、主鎖中にカチオンを発生し、これを開始剤として iso-Buthyl Vinyl Ether の重合によってグラフトポリマーを得ることができた。



また、ジメチルジクロロシランをコモノマーとする共重合によって Scheme 3 に示すような主鎖中にジメチルシラン骨格を有するポリマーを得ることに成功した。

* E. Ihara, N. Haida, M. Iio, K. Inoue, *Macromolecules*, 36, 36-41 (2003)

ポリペプチドを含むブロック共重合体の新規合成法とらせん反転挙動
(高分子化学) ○岩井俊博・伊藤大道・井原栄治・井上賢三

【緒言】ポリペプチドである poly(β -phenethyl-L-aspartate) (2PLA) の α -helix は溶液中で温度変化により右巻きらせんと左巻きらせんに可逆的に転移することがこれまでに報告されている。本研究ではこの2PLAとポリスチレン(PS)またはポリメタクリル酸メチル(PMMA)からなるブロック共重合体を原子移動ラジカル重合(ATRP)を用いて合成した。そして、2PLA ホモポリマーや分子量とブロック比の異なるブロック共重合体のらせん反転挙動について比較・検討した。

【実験】L-aspartate と 2-phenylethanol をエステル化させ、NCA 法により *t*-BuNH₂ を開始剤として用いて重合し、2PLA を得た。得られたポリマーの N 末端に 2-bromoisobutyrylbromide を導入し、これを開始点として ATRP によって PS または PMMA とのブロック共重合体を合成した。らせん反転挙動は 1,1,2,2-tetrachloroethane を溶媒として用い、CD 測定と ¹H-NMR 測定によって 30~110°C の間で 10°C ずつ昇温させ評価した。

【結果・考察】 Fig.1 に ¹H-NMR から得られた 2PLA ホモポリマーと 2PLA-*b*-PS とのらせん反転挙動を示す。右巻きらせんに由来する 8.2ppm. のピークと左巻きらせんに由来する 8.8ppm. のピークの NH プロトンの積分比から転移の挙動を確認した。ランダムコイルや β -sheet に由来するピークはどちらも見られなかった。2PLA ホモポリマーは 70°C 付近から左巻きらせんに由来するピークが現れ増加していき、100°C では左巻きのみを示した。一方、2PLA-*b*-PS では 40°C からすでに左巻きらせんに由来するピークがあらわれ始め、徐々に増加していく傾向がみられた。この結果から溶液中では 2PLA 鎖の N 末端が PS と結合したために運動性が増加していると考えられ、らせん反転温度の低下と反転挙動の変化を引き起こしていると考えられる。

CD 測定で得られた 2PLA ホモポリマー、2PLA-*b*-PMMA、2PLA/PMMA 混合物の 225nm の分子楕円率と温度のプロットを Fig.2 に示す。分子楕円率が負の値をとる時は右巻きらせんの構造を示し、正の値をとる時は左巻きらせんの構造を示す。2PLA ホモポリマーや 2PLA/PMMA 混合物は 60~70°C の間で分子楕円率が大きく上昇したことからこの温度でらせん反転が起こり始めたと考えられる。一方、ブロック共重合体では徐々に分子楕円率が上昇していく傾向が見られた。また、左右のらせん構造に由来する分子楕円率の絶対値がホモポリマーに比べ、ブロック共重合体の方が小さくなった。このことから、ブロック共重合体の場合はホモポリマーに比べ、らせん構造がゆるくなっていると考えられる。組成比が異なるブロック共重合体のらせん反転挙動についても差異が確認できたので報告する。

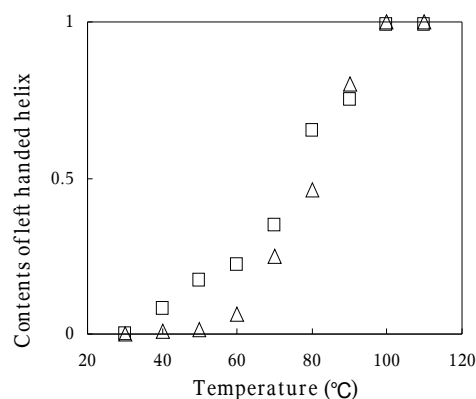


Figure 1 Contents of left handed helix for (□) 2PLA-*b*-PS (2PLA $M_n = 15000$, PS $M_n = 12000$) and (△) 2PLA homopolymer ($M_n = 19000$), respectively, determined by ¹H-NMR.

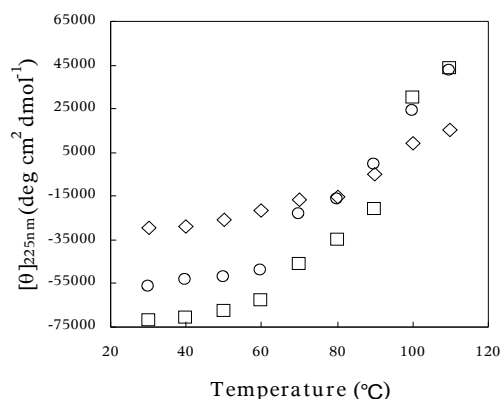


Figure 2 Variation of $[\theta]_{225\text{nm}}$ at various temperatures for (◇) 2PLA-*b*-PMMA (2PLA $M_n = 19000$, PMMA $M_n = 21000$), (○) 2PLA ($M_n = 19000$) and (□) 2PLA/PMMA blend (2PLA $M_n = 19000$, PMMA $M_n = 15000$), respectively.

両親媒性ブロック共重合体を用いた分散重合と微粒子表面の修飾

(高分子化学) ○小林孝行・鑄形颯代・伊藤大道・井原栄治・井上賢三

【緒言】非水系分散重合法(NAD)を利用した高分子微粒子は、主として塗料の分野や液晶ディスプレイのスペーサーとして実用化されている。これまで、原子移動ラジカル重合(ATRP)を用いて合成したポリスチレン(PS)とポリ(メタクリル酸2-ヒドロキシエチル)(PHEMA)の鎖長の異なる両親媒性ブロック共重合体を分散安定剤として用いることによりポリジビニルベンゼン(PDVB)微粒子の作製を試みてきた。本研究では、重合条件を変えることにより、PDVB微粒子の粒径の制御を試みた。また、モノマーにスチレン(S)を用いた重合についても行った。そして、微粒子の表面を液晶高分子により修飾し物性を評価した。

【実験】ATRPによりジブロック共重合体 PS-*b*-PHEMA およびトリブロック共重合体 PHEMA-*b*-PS-*b*-PHEMA を得た。そして、モノマーにDVBまたはS、溶媒に1-プロパノール、開始剤にAIBN、分散安定剤に合成したブロック共重合体を用いて、分散重合により高分子微粒子を合成した(Fig.1)。次いで、微粒子表面のPHEMA鎖に2-ブロモイソブチル酸ブロミドを導入し、そこから液晶モノマーであるアクリル酸6-[4-(4'-シアノフェニル)フェノキシ]ヘキシルをATRPで重合することで、微粒子表面を液晶層で覆った(Fig.2)。

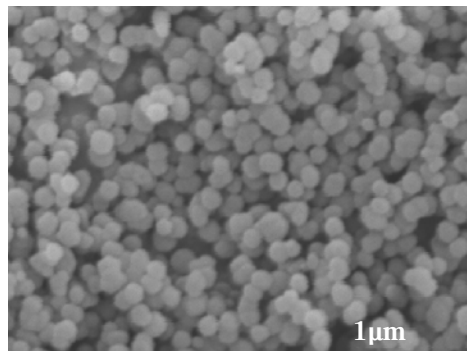


Fig.1 SEM photograph of DVB particles by NAD.

【結果と考察】これまでの結果をふまえ、本研究でDVBの重合には、分散安定剤にPS鎖の重合度が50、両PHEMA鎖の重合度が200程度のトリブロック共重合体を用いて行った結果をTable 1に示す。

モノマーをSに変えることにより、粒径分布の狭い微粒子ポリマーを得ることができた。ところが、架橋剤としてSに対して1wt%でもDVBを加えると球状を保てなかった。

また、DVBのみの重合を条件を変えて行った。純度が50%と80%のDVBと比較したが、微粒子の粒径や形状に違いがなかった。そして、Table 1に示したように安定剤濃度の増加、開始剤濃度の減少、重合温度の上昇により粒径はそれぞれ増加した。さらに、Run 6においては粒径分布が双峰性になった。以上の結果から、粒径の制御が可能になり、また双峰性の微粒子ポリマーを得ることができた。

そして、得られた微粒子の表面を液晶で修飾した。得られた微粒子を低分子液晶とブレンドさせると、表面を液晶で修飾していない微粒子は低分子液晶の配列を乱したが、表面を液晶で修飾した微粒子は低分子液晶の配列を乱さないことがわかった。

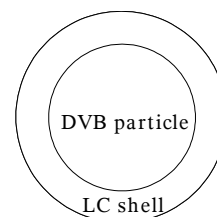


Fig.2 Schematic illustration of DVB particle modified by LC.

Table 1. Synthesis of PDVB particles.

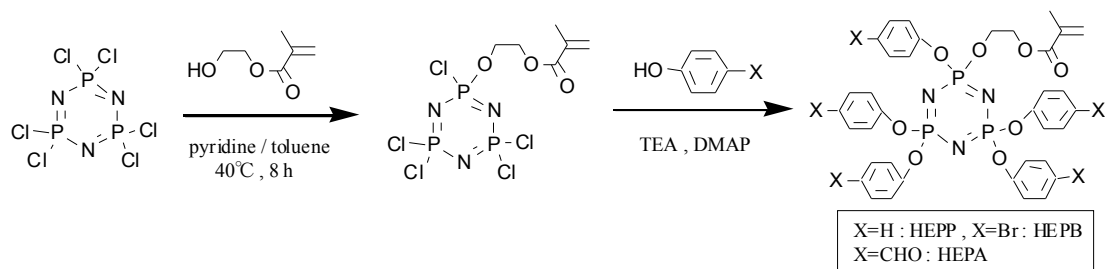
Run	monomer	weight fraction of monomer /wt% ¹⁾	stabilizer ²⁾	weight fraction of stabilizer /wt% ¹⁾	AIBN /wt% ¹⁾	polymerization temp./°C	particle diameter/μm
1	DVB-80	10	HSH-226/53/226	1	1	55	1.5
2	DVB-80	10	HSH-226/53/226	10	1	55	0.4
3	DVB-50	10	HSH-226/53/226	30	1	65	0.7
4	DVB-50	30	HSH-226/53/226	5	1	55	0.8-2.3
5	DVB-80	30	HSH-226/53/226	5	1	55	0.8-2.3
6	DVB-50	30	HSH-226/53/226	30	1	55	0.4, 2.3
7	DVB-80	30	HSH-226/53/226	5	1	55	1.7-2.9
8	DVB-80	30	HSH-226/53/226	5	4	55	2.5-4.2

1) Relative to solvent. 2) Triblock copolymer where following numbers denote degree of polymerization of each segment.

側鎖にホスファゼン環を有するメタクリレートの合成と重合 (高分子化学) ○中村 康一・神野 愛美・伊藤 大道・井原 栄治・井上 賢三

【諸言】近年、高屈折率、高重合性、難燃性を兼ね備えたディスプレイ材料の開発が行われている。本研究では、ニーズにあった研究開発として、屈折率向上には臭素、重合基にはメタクリル基、難燃性向上にはリンと窒素を含むホスファゼン環を用いて、それぞれの特性を活用したモノマーを合成し、重合して得られたポリマーの物性を検討した。

【実験】



Scheme

ホスファゼン環を有するメタクリレートを Scheme に示すように合成した。得られたモノマーをラジカル重合によってホモポリマー及び MMA とのコポリマーを合成した。

【結果・考察】

3種のモノマー HEPP, HEPB, HEPA を bulk 重合をすると、重合率 42~69%のポリマーが得られた。PHEPP, PHEPB の M_n はそれぞれ 190 万、60 万という値を示した。PHEPA は測定溶媒に不溶であったため測定できなかった。PHEPB の $^1\text{H-NMR}$ スペクトル測定を行うと、主鎖構造中の CH_2 基由来のピークは幅広くその面積値は予想値よりも小さい値を示したので、得られたポリマーは側鎖の立体的束縛を受け、剛直な構造をとっていると考えられる。

得られたポリマーの熱分析を行いその結果を Table に示した。ホスファゼン環を有する PHEPP, PHEPB の N_2 中における分解開始温度はそれぞれ 360, 363 °C となり、PMMA と比較して約 70 °C 高い値を示した。PHEPA は 102 °C から分解が開始するが、550 °C における char yield は 67 % であり PHEPA がもっとも高い値を示した。また、燃焼試験において PHEPP, PHEPB は自己消火性を示した。

Table

name	composition	N_2			Air		
		DT_0 (°C)	DT_{10} (°C)	char(%) at 550°C	DT_0 (°C)	DT_{10} (°C)	char(%) at 550°C
PMMA		289	307	0	267	276	0
PHEPP		360	367	35	350	357	38
PHEPB		363	366	29	348	356	29
PHEPA		102	298	67	87	360	73
PHEPB-co-PMMA	1:6.1	299	336	14	287	304	20
PHEPB-co-PMMA	1:1.1	363	368	24	342	347	26
PHEPB-co-PMMA	1:0.24	364	369	28	353	359	29

進化分子工学による特異的結合タンパク質の創成と解析

無細胞生命科学工学研究センター (高井研) 久我高弘

[緒言] 進化分子工学は自然淘汰の進化のサイクルを実験室内で人工的に再現することにより、これまででない新しい機能性バイオ高分子や細胞の世界を開拓していこうという分野である。この効率的な機能性バイオ高分子を作る手法とそのシステム化の開拓は、医療分野など様々な分野に大きく波及していくであろうと考えられている。この進化分子工学的手法による、タンパク質のスクリーニング法のひとつとしてコムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いたリボソームディスプレイ法がある。この方法では、標的分子に結合するポリペプチド (タンパク質) を、翻訳反応において形成される mRNA - リボソーム - ポリペプチド複合体からなる状態でアフィニティーセレクションし、これより回収した mRNA を RT - PCR 法により再増幅させ、この選択 - 増幅を繰り返すことにより、標的分子と強く結合する遺伝子のみを取得することが可能で、容易に機能性タンパク質のアミノ酸配列を知ることができます。一方、GST という酵素タンパク質が、基質であるグルタチオンというペプチドと特異的結合をすることは一般的に知られています。私はこのことを利用し、様々な生物由来の GST 遺伝子を相互比較しグルタチオンと結合すると思われる進化上保存性の高い共通性のある配列をランダム配列に設計し、GST 本来のアミノ酸配列ではないこの GST 様タンパク質がグルタチオンと結合しセレクションされることを確認し、抗体的機能を持つ新規タンパク質の構築を目指している。

[実験方法、結果及び考察] pEU に GST 遺伝子が挿入されたプラスミドを鋳型とし PCR 法により、Asn55Leu56Pro57 をランダム配列に変異させた GST 様遺伝子ライブラリー DNA を構築した。これを鋳型とし鋳型とし転写、翻訳を行った。そして、翻訳複合体をグルタチオンを固定したカラムに結合させ、複合体と回収した。これより得られた mRNA を RT - PCR 法により再増幅させることに成功した。そして、この操作を 6 cycle 繰り返し得られた配列と野生型の GST とを競合セレクションした結果、リボソームディスプレイ法により得られた配列を持ったタンパク質がより多くセレクションされることが確認された。現在、これを証明するために結合活性を測定している。今後は、グルタチオンの代わりに同サイズ程度の様々なペプチドをターゲットとすることを考えている。そして、GST 骨格を持ちながらも様々なペプチドを標的分子とし結合特異性を示すような、いわば抗体的機能を持った新規タンパク質の構築を目指していきたい。

無細胞葉緑体移行スクリーニングシステムの開発

(無細胞遠藤研)

瀬藤 拓也

【緒言】 植物における独自の細胞小器官である葉緑体は、光合成による炭酸同化、グルタミン酸への窒素同化等、植物特有の機能を有している。葉緑体ゲノムの存在が知られているが、葉緑体内で機能するタンパク質の大半は核内のゲノム DNA にコードされている。葉緑体移行タンパク質は、N末端に配列の保存性がないトランジットペプチドと呼ばれるアミノ酸配列を保持しているため、タンパク質合成の場である細胞質では不活性型として存在し、トランジットペプチドを利用した機構により葉緑体へと輸送される。移行時にトランジットペプチドは切断されると共にタンパク質は活性型に変化し、葉緑体内で機能する。葉緑体プロテオームや既知のトランジットペプチドを元にした予測プログラム等から、核内でコードされる遺伝子の10%程度が葉緑体へ移行すると予測されているが、正確にはわかっていない。そのためゲノムワイドに葉緑体移行タンパク質を調べる実験系が望まれている。そこで得られるデータは、活性型タンパク質の配列同定にも貢献するものと期待される。そこで本研究では、無細胞系を用いた葉緑体移行タンパク質のスクリーニングシステムの開発を試みた。

【実験方法】 葉緑体移行予測プログラムである ChloroP を用いて、スコア値が高い遺伝子を96種類選び、コムギ無細胞タンパク質合成系を用いて、放射性同位元素 ^{14}C でラベルされたタンパク質合成した。播種後1週間ほど生育させたエンドウの子葉から葉緑体を単離し翻訳液と反応させ、プロテアーゼ処理後 SDS-PAGE により分離し Autoradiography を用いて検出した。

【結果及び考察】 タンパク質合成が確認された60種類のうち、13種類について葉緑体移行実験を行ったところ、3種類については葉緑体への移行が確認できた。現在、残りのクローンについても、同様の実験を行いゲノムワイドな葉緑体移行スクリーニングシステムの構築を目指す。

コムギ無細胞系をベースとした単鎖抗体ハイスループット

1 分子蛍光スクリーニングシステムの構築

(応用生物化学) 中山聖湖

緒言： バイオ素子を使った特定の分子を特異的に認識する技術は、病原因子を同定できるため、医薬や診断薬などに広く用いられている。その代表例である抗体分子を用いた診断キットは、既に我々の生活の一部として機能しており、ヒトや家畜などへの甚大な被害をもたらすインフルエンザウイルスや狂牛病の蔓延を未然に防いでいる。また、近年、抗体分子は特定の病原因子を特異的に不活性化するため、医薬品としても重要視されている。しかし、有用な抗体価の高い抗体分子を作成するためには、非常に長い時間と多大な労力を必要とする。抗体IgG分子のL、H鎖の抗原結合部位をペプチドリンカーで繋いだ単鎖抗体(scFv)は完全な抗体分子に見合う結合力を保持していることから、抗体医薬品の他、バイオセンサーなどへの応用が期待されている。しかし生細胞発現を基盤とする従来の組み替え法においては、目的とする機能・構造を保持するscFvの設計、調製の観点から手法に限界がある。我々が実用化したコムギ胚芽無細胞タンパク質合成法は、生細胞法と並ぶ組み替えタンパク質調製法で、真核生物遺伝子の発現に優れた特性を発揮する。本研究は、1分子蛍光分析システムを利用するscFvのハイスループット抗原スクリーニングシステムを構築することを目的とした。

実験方法： サルモネラO-抗原を認識するscFvの遺伝子に、蛍光プローブとしてGFP遺伝子を結合した融合遺伝子をPCR法により構築した。このDNAから転写したmRNAを鋳型としてコムギ胚芽無細胞タンパク質合成系を用いて、蛍光標識単鎖抗体(GFP-scFv)を合成した。合成反応としては、分子内S-S結合を促す酸化的環境下で反応を行った。活性測定には、O-抗原を固定したビーズ(粒径500nm)を抗原として用い、1分子蛍光分析システムの解析手法の一つであるFIDA法(蛍光強度分布解析法)により、抗原・抗体反応後の1分子あたりの明るさを検出した。

結果・考察： 実験の結果、以下のことが明らかとなった：1) 1分子蛍光分析システムを用いる抗原・抗体結合能の測定には、GFP-scFvを精製することなく希釈した合成液を希そのまま抗体溶源として用いることができる 2) ; GFP-scFvはサルモネラO-抗原を特異的に認識結合した 3) ; 合成したGFP-scFvの抗原結合能にはscFv分子内のS-S結合が必須である

以上の結果から、コムギ無細胞タンパク質合成法と1分子蛍光分析システムを組み合わせる本システムが単鎖抗体の抗原選択はもとより、単鎖抗体分子のハイスループットセレクションに有用な手段を提供するものと考えた。今後、全自動合成機を用いてランダムプールからハイスループットに異なる抗原を認識する新規単鎖抗体の合成、スクリーニングを行う。

9 無細胞系を用いたマウスのヒト疾患関連 PK を中心とした

機能解析およびカタログ化

(応用生物化学) 宮本和雅

【緒言】 プロテインカイネース (PK) は細胞内情報伝達機構において中心的役割を担っており、PKの変異が癌化の多くを引き起こしていることがわかり始めている。ヒトゲノムには518種類のPK遺伝子がコードされており、マウスゲノムにはその内510種類のヒトオソログPKを含む計540種類のPKがコードされていると考えられている。日本の理化学研究所には世界最大の60,770種類からなるマウスの完全長 cDNA リソース (FANTOM) が保存されており、我々はその中に約250種類のマウスPKが含まれていることを見出している。このマウスPK cDNA リソース鑄型として、容易にタンパク質に変換できれば、情報伝達ネットワーク解明に向けた強力なリソースになると考えられるが、従来の遺伝子組み換え法で高品質のタンパク質をハイスループット合成することは困難を伴うことが多いため、大半のマウスPKの生化学的解析はまだ進んでいないのが現状である。我々は、真核生物遺伝子からの高品質タンパク質の合成に優れた特性を発揮するコムギ無細胞合成法の開発に成功している。本研究は本タンパク質合成法を基盤としたヒト疾患関連マウスPKを中心に細胞情報伝達ネットワークの研究手法の開発を目指して研究を行った。

【実験内容】 FANTOM より、15種類のヒト疾患オソログPKを含む66種類のマウスPKクローンを選択し、小麦胚芽無細胞系により合成し、それらの合成量、可溶化率、自己リン酸化活性、他のタンパク質リン酸化活性を調べ、それらのデータをデータベース化 (カタログ化) した。その結果、平均合成量 $0,556 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、平均可溶化率 58%、11種類が自己リン酸化活性を、27種類がヒストンタンパク質のリン酸化活性を有していることがわかった。以上の結果は、試みたマウスPKの多くは、最も広く用いられている組み換えタンパク質調製法である大腸菌内での発現が困難なものであったことを考慮すると、我々が開発したコムギ無細胞タンパク質合成系は、マウスPKの合成に非常に有用であることが示された。現在、残りの190種類のマウスPKについて、同様にカタログ化を進めている。今後は、細胞情報伝達ネットワークを解明するため、これらの活性が確認されたヒト疾患関連マウスPKを中心に、それらがリン酸化するタンパク質の網羅的スクリーニングを行う予定である。

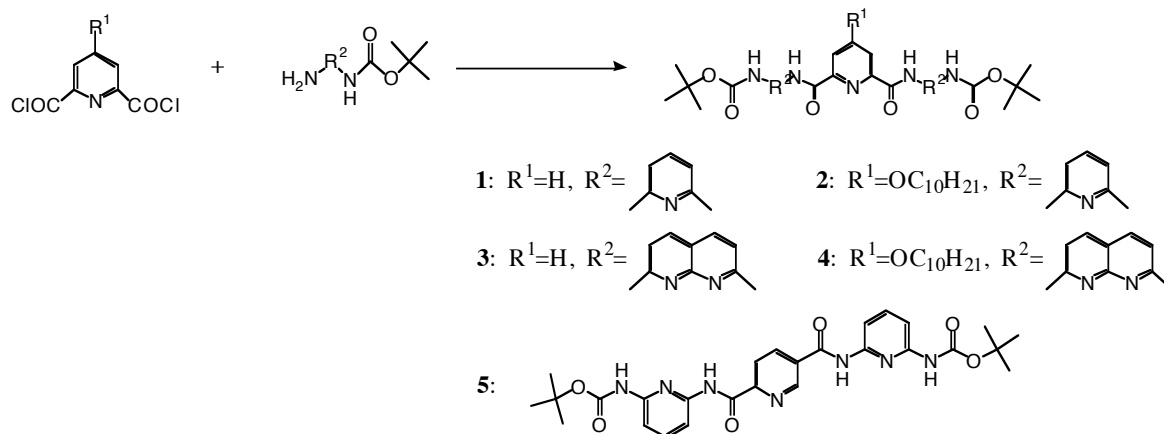
ナフチリジン-ピリジンアミドホストの包接能と包接錯体の構造

構造有機化学分野 ○池内 貴宏

1. 緒言

ホスト化合物は分子認識能をもち、分解しやすい有機化合物の保持などの機能を有する新しい機能性分子として興味を持たれている。今回、ナフチリジン-ピリジン誘導体のホスト化合物(**1**~**5**)を合成し、その包接能と包接錯体の構造について調べたので報告する。

2. 結果と考察

Table 1 Inclusion ability of **1**~**5**.

guest	1	2	3	4	5
THF	×	○	○	○	○
dioxane	○	×	○	○	○
DMF	○	○	×	○	○
DMSO	○	○	○	○	○
pyridine	○	○	○	○	○
CH ₂ Cl ₂	×	×	○	×	×
cyclopentanone	×	×	×	×	○
cyclohexanone	×	×	×	×	○

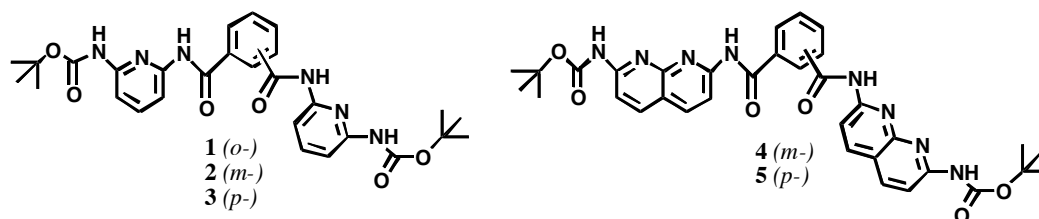
ホストの包接能について比較を行なった結果(Table1)、**1**, **2** のようなピリジン骨格で構成されたものと **3**, **4** のようなナフチリジン骨格で構成されたものの包接能については特に大きな変化は見られなかった。一方、**5** は **1** と比較して良い包接能を示した。

2 とピリジンの 1:1 包接結晶の X線結晶構造解析を行なった結果、ピリジンに加えて水分子も包接していることが判明した。解析によると **2** : ピリジン : 水 = 1 : 1 : 0.5 で包接結晶を形成していた。ピリジンは外側のアミド結合のプロトンと水素結合しており、ホストのピリジン環に対して垂直な方向に保持していた。一方、水分子は両端のピリジン環の隣のアミド結合と水素結合をしており、腕に囲まれるように保持していることが判明した。

フタル酸アミドホストの合成と包接能
(構造有機化学) ○ 藤岡 純

1. 緒言

ピリジン又はナフチリジンを有するフタル酸アミドホスト (**1**~**5**) を合成し、それらの包接能を調べた。



2. 実験と結果

フタル酸クロリド, (6 - アミノ - ピリジン - 2 - イル) -カルバミン酸 *tert* - ブチルエステル, およびトリエチルアミンを THF 中で反応すると、フタル酸アミドホスト (**1**) が得られた。同様に、**2**~**5** を合成した。テレフタル酸アミドホスト (**3**, **5**) は、フタル酸アミドホスト (**1**)、イソフタル酸アミドホスト (**2**, **4**) と比較すると様々なゲスト分子を包接することが判った (Table 1)。また、ピリジン誘導体ホスト (**2**, **3**) とナフチリジン誘導体ホスト (**4**, **5**) を比較すると包接結晶の比率に違いがみられた。

Table 1. Inclusion complex of 1-5

	1	2	3	4	5
acetone	—	—	—	—	—
methanol	—	—	—	—	—
toluene	—	—	—	—	—
cyclopentanone	—	—	1:1	—	1:1
cyclohexanone	—	—	1:1	—	1:1
AcOEt	—	—	—	—	—
THF	—	—	1:2	—	1:1
dioxane	—	—	1:2	—	1:1
DMF	—	1:2	1:2	1:1	3:1
DMSO	—	1:2	1:2	—	1:3
CH ₂ Cl ₂	—	—	—	—	2:1
pyridine	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1

次に、ゲスト分子としてエチレンウレアを用いてホスト **3** の ¹HNMR チューブに等量を少しずつ増やしながら ¹HNMR スペクトルを測定していくと、おもしろいことにアミド結合のプロトンのみが少しずつ低磁場にシフトしていった。このことから、ホスト **3** ゲスト分子をとりこむ理由として、ホスト分子内の4つのアミド結合が関与していると考えられる。

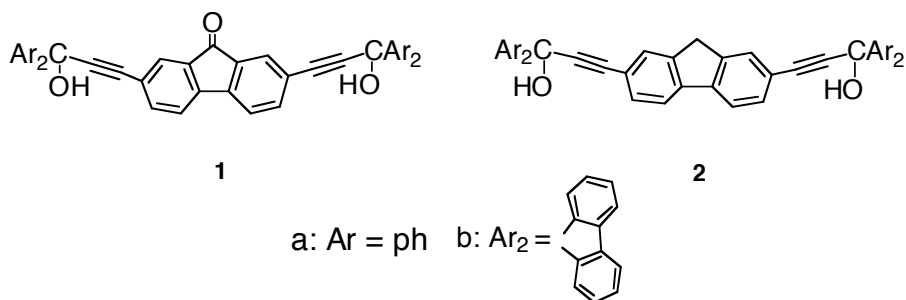
そして、ホスト **3** とゲスト分子である DMF との包接結晶について X 線結晶構造解析を行ったところ、ホスト **3** の中央のベンゼン環の隣のアミド結合の水素原子と DMF の酸素原子との間で水素結合を形成していることが判った。また、外側のアミド結合の水素原子はゲスト分子を包接する際、ホスト分子同士での会合に用いられていることが判った。

フルオレン誘導体ホストのゲスト包接による固体蛍光発光

(構造有機化学分野) ○山田智彦

1. 緒言

包接や結合による溶液中での蛍光増進の現象は、特有な分析による検出の方法として使われる。しかし、ホスト-ゲスト錯体の固体状態でのルミネセンス増進はより稀である。そこで今回、フルオレン誘導体ホスト(1),(2)を合成し、様々なゲストの取込みによる蛍光発光特性について調べたので報告する。



2. 実験及び結果

2,7-ジブromoフルオレンおよび2,7-ジブromoフルオレンを出発物質に用いて新規蛍光性ホスト(1),(2)を合成した。包接結晶は再結晶法により得られ、固体状態での蛍光は結晶に254 nmの紫外光を照射することで調べた。その結果、フルオレン誘導体ホスト(1)自身の結晶は蛍光を示さないが、THF、ジオキサン、DMF、DMSO、ピリジン、トリエチルアミンなどのゲストを取り込んだ包接結晶からは黄色の蛍光($\lambda_{em}=544$ nm)が観測された。一方、フルオレン誘導体ホスト(2)はそれ自身の結晶が青色の蛍光($\lambda_{em}=402$ nm)を示すが、ジオキサン、DMF、*N*-メチルピロリドンなどのゲストを取り込んだ包接結晶は黄色から黄緑色の蛍光($\lambda_{em}=514$ nm)を示すことが分かった。(Table 1, Figure 1.)

Guest	h:g	Fluorescence
Methanol	1:1	blue
Acetone	1:1	blue
Ethyl acetate	—	—
Tetrahydrofuran	—	—
Tetrahydropyran	1:1	blue
Dioxane	1:1	yellow
<i>N,N</i> -Dimethylformamide	1:1	yellow
<i>N,N</i> -Dimethylacetamide	1:2	yellow
<i>N</i> -Methyl-2-pyrrolidone	1:2	yellow
Dimethyl sulfoxide	1:1	blue
Pyridine	1:3	blue
Triethylamine	—	—
<i>N</i> -Methylpyrrolidine	1:2	blue
<i>N</i> -Methylpiperidine	1:3	blue

Table 1. Host:guest ratio and fluorescence of inclusion complexes of **2a**.

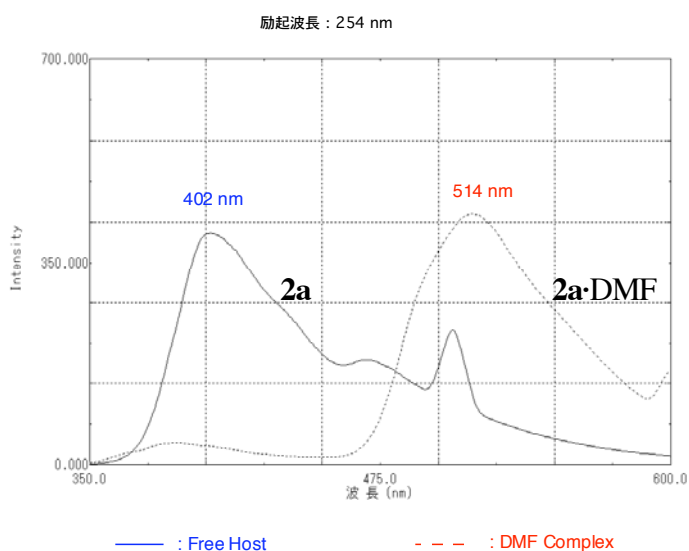
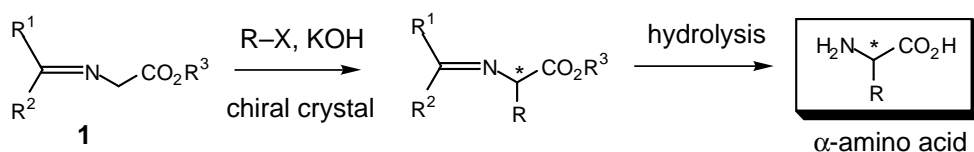


Figure 1. Emission spectra of **2a** and **2a**·DMF complex.

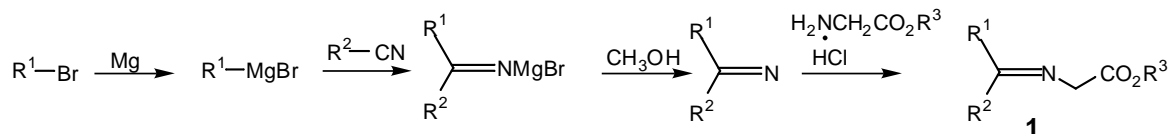
グリシンイミンエステルのキラル結晶の創製とアルキル化によるアミノ酸の不斉合成

(構造有機化学) 小野幸太郎・小島秀子

【緒言】 光学活性 α -アミノ酸は、最も重要な生体物質であり、最近では医薬品の原料としても需要が高まっている。アキラルな有機分子から自然に生成したキラルな結晶を反応させることにより、外部からキラル源を加えることなくキラルな生成物を得る「絶対不斉合成」は、未来型の夢の不斉合成法である。グリシンイミンエステルのキラル触媒を用いる不斉アルキル化は、 α -アミノ酸を不斉合成法の一つとして知られている。今回、アミノ酸の結晶相絶対不斉合成を目標として、一連のグリシンイミンエステル **1** を合成し、単結晶を作製して X 線結晶構造解析を行った。その結果、キラル結晶を見出した。



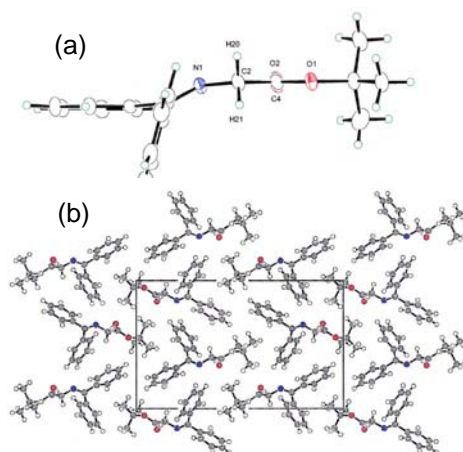
【結果と考察】 グリシンイミンエステル **1** は、Grignard 試薬から作ったケトンイミンと、グリシンエステル塩酸塩または *p*-トルエンスルホン酸塩の縮合により合成した。



これらグリシンイミンエステルの単結晶の X 線結晶構造解析を行った結果、**1b** のグリシンイミンエステルの空間群は $P2_12_12_1$ に属し、アキラル（光学不活性）な分子であってもキラル（光学活性）な結晶を形成することがわかった（表 1）。図 1 a はキラル結晶 **1b** の分子である。この分子中の 2 つの芳香環のねじれが原因となって、図 1 b のような対称中心のないキラルな分子配列をとると考えられる。

表1 グリシンイミンエステル**1** の結晶構造

1	R ¹	R ²	R ³	mp()	Space group
1a	Ph	Ph	Et	41-42	$\bar{P}1$
1b	Ph	Ph	<i>t</i> -Bu	114-115	$P2_12_12_1$
1c	Ph	Ph	Bz	95-97	$Pca2_1$
1d	1-Na	Ph	<i>t</i> -Bu	83-84	$\bar{P}1$
1e	1-Na	Ph	Bz	75-77	$P2_1/n$

図1 グリシンイミンエステル**1b** 結晶中の (a) 分子構造と(b) 分子配列図

選択的なメタン転換触媒の開発とその機能解析に関する研究

無機物質化学分野 宮崎 隆文

[緒言]

メタンを主成分とする天然ガスはその大部分が燃料として利用されており、化学原料としての利用は限られている。それはメタン (C_1) が炭化水素の中で化学的に最も安定な物質であることに起因している。一方、エチレンは別名“化学産業のコメ”と呼ばれるほど現在の化学工業にとってなくてはならない大変重要な化学品である。メタンからエチレンへの転換反応 (メタンのカップリング反応) はメタンの二分子が結合しただけの化合物であるが、その一段合成は容易ではない。その理由は、生成したエチレンが原料のメタンよりもはるかに酸化され易く、逐次的に酸化されてもっとも安定な生成物、つまり二酸化炭素まで酸化されてしまうからである。従って、この研究のテーマは選択的な部分酸化プロセスが開発できるかどうか、言い換えれば選択的な酸化活性種を作り出せるかにかかっている。通常、活性化状態を作るには温度を上昇することが最も容易な方法である。しかし、反応温度の上昇だけでは活性化状態は一元的に決まらず、無秩序な酸化反応が進行してしまい、選択的な酸化カップリング反応は達成できない。酸化活性種の形態および反応性を限定するためには、均一な表面状態と選択的な部分酸化の経路を制御する触媒を開発する必要がある。これまでに報告された金属酸化物触媒の活性評価実験ではメタン転換率は約35%および C_2 -選択率は約70%に止まっている。本研究室では選択的なメタンカップリング触媒の開発を目的として希土類酸化物やLi-Ni系複合酸化物の調製と活性評価およびその表面活性種の電子状態について実験研究を実施している。

[実験]

触媒の活性評価ならびに表面分析の実験は愛媛大学工学部と自然科学研究機構分子科学研究所のUVSOR-BL8B2にて行った。触媒の活性評価は $CH_4/O_2/He$ の混合ガスを触媒上に流して生成ガスの定量分析を行った。表面分析はシンクロトロン放射光を使って光電子スペクトル測定を行い、フェルミ準位近傍の価電子帯領域の電子状態を調べた。

[結果と考察]

$Li_xNi_{2-x}O_2$ ($0 < x \leq 1.0$) の結晶構造は $x \geq 0.65$ の積層型と $x < 0.65$ の非積層型に分類され、前者の化合物は選択的にメタンを C_2 炭化水素に転換する。これらの紫外光電子スペクトルにはフェルミ準位を基準にしてNi3d (A:0.4~2.2eV)、 $O2p_z$ (C:4.5~5.5eV)、 $O2p_{xy}$ (D:5.5~6.5eV)、Ni3dサテライトピーク (E:9.0~11.0eV) に帰属される各ピークを確認することができ、3.5eV付近 (B) には新たな構造が観測された。積層型Li-Ni系複合酸化物の場合、励起光エネルギーに対する各バンドの光電子放出強度は $h\nu = 40 \sim 55eV$ 範囲では単調に変化しているのに対し、非積層型Li-Ni複合酸化物では顕著な強度変化している。また、 $h\nu = 65 \sim 67eV$ ではAとEバンドがNiの内殻励起共鳴のため特徴的な強度変化していることがわかる。非積層型のフェルミ準位近傍の電子構造はNi3dと $O2p$ の各軌道が混在して形成されているのに対して積層型では各軌道の分裂が認められ、分子軌道計算結果とも一致していることがわかった。これらの結果はメタンの反応選択性の違いが積層型および非積層型の複合酸化物の表面の電子状態の違いに反映されていると推察される。

15 遷移金属元素含有酸化物ナノチューブの合成と構造解析

(無機物質化学) ^{いのうえ}○井上 ^{よしひこ}佳彦・^{おおかわ}大川 ^{まさし}政志・^{やまぐち}山口 ^{つとむ}力

1. 諸言

イモゴライトは、 $\text{SiO}_2 \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ の組成を有する、外径 2nm、内径 1nm の含水酸化物ナノチューブである。イモゴライトは化学的に安定であり、反応場として利用するためには、他元素の導入が必要となる。そこで、本研究では Fe 及び Cr を導入した遷移金属元素含有イモゴライトの合成を試みた。また、Si を Ge に変え、Fe や Cr を含むチューブ径の異なるイモゴライトの合成も試み評価を行った。

2. 実験方法

典型的なイモゴライトの合成法を以下に示す。0.1M Na_4SiO_4 水溶液(A)100ml と 0.15M AlCl_3 水溶液(B)100ml を混合攪拌後 0.1M NaOH 水溶液を pH 5.5 まで滴下し、得られたゲル状物質を遠心分離器を用いて脱塩処理を行った。その後沈殿物を 2l の水に分散し、0.1M 塩酸を加え透明になるまで攪拌した。この溶液を 100°C、40 時間で静置した。室温まで冷却後、さらに半透膜を用いて透析を行った。この溶液を 100°C で乾燥しイモゴライトを得た。

イモゴライトへの異種元素の導入は Table 1 に示した組成の水溶液を用いた。(以後 Table 1 に示した名称を用いる。)

イモゴライトの構造は FT-IR を用いて確認した。

FeIm は EXAFS を用いて構造解析を行った。Fe K 吸収端近傍の X 線吸収スペクトルを EXAC 820 を用いて測定した。 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 及び Fe_2O_3 を EXAFS 測定の参照物質とした。

Table 1 異種元素導入イモゴライトの出発溶液

名称	溶液 A	溶液 B
CrIm	$\text{AlCl}_3:\text{CrCl}_3=19:1$	—
FeIm	$\text{AlCl}_3:\text{FeCl}_3=19:1$	—
GeIm	—	$\text{GeO}_2+4\text{NaOH}$
(Cr+Ge)Im	$\text{AlCl}_3:\text{CrCl}_3=19:1$	$\text{GeO}_2+4\text{NaOH}$
(Fe+Ge)Im	$\text{AlCl}_3:\text{FeCl}_3=19:1$	$\text{GeO}_2+4\text{NaOH}$

3. 結果と考察

合成したイモゴライトの IR スペクトルを Fig. 1 に示した。IR スペクトルにおけるイモゴライ

トの特徴は 990 cm^{-1} 付近のダブルレットの吸収バンド及び、 $400\sim 600\text{ cm}^{-1}$ に 3 つのピークである。CrIm 及び FeIm はイモゴライトと同様の IR スペクトルの特徴を示した。この結果より Cr や Fe が Al を置換し、イモゴライトと同様の構造になったと考えられる。また、GeIm では、イモゴライトで測定されたダブルレットの吸収バンドが低波数側にシフトし、このことは Wada and Wada¹⁾による既報の結果と一致した。(Cr+Ge)Im、及び(Fe+Ge)Im は、GeIm と同様にダブルレットの吸収バンドが低波数側にシフトした。以上のことから、Al が Cr と Fe に、Si が Ge にそれぞれ置換された新しいタイプのイモゴライトが合成された可能性が示された。

EXAFS の測定結果をフーリエ変換したスペクトルを Fig. 2 に示した。FeIm は $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ とは異なり Fe_2O_3 と類似したスペクトルを示した。FeIm と Fe_2O_3 には、Fe-O 及び Fe-Fe 距離に対応する 1.5 \AA 及び 2.7 \AA 付近にピークが観測された。FeIm と Fe_2O_3 の Fe-O に関するピークが類似していること及び XANES 領域にプレッジが観測されないことから、Fe は 6 配位で存在すると考えられる。しかし、FeIm では Fe-Fe のピーク以外に 2.1 \AA 付近にピークが観測された。これは Fe と Al に起因するピークが現れたのではないかと考えられる。今後 Fe と Al を含んだ物質を測定し比較検討することが必要である。

参考文献

1) Wada and Wada, Clay, Clay Miner.,30, 123,(1982).

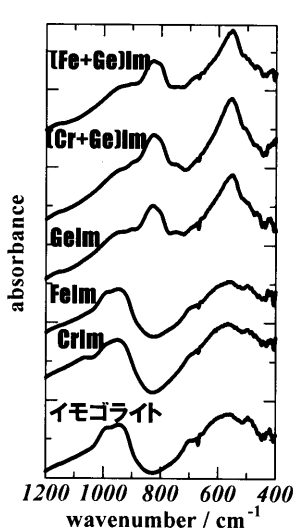


Fig. 1 合成imogoliteのIRスペクトル

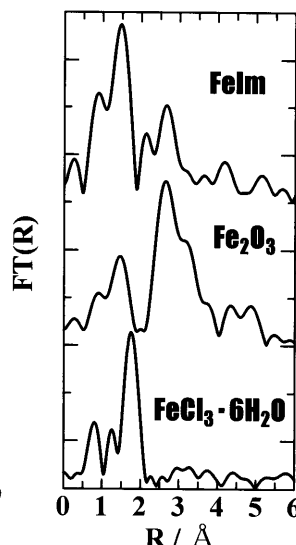


Fig. 2 フーリエ変換スペクトル

プロピオン酸とホルムアルデヒドの縮合反応

(無機物質化学)

ひろせ よういち
広瀬 陽一

固体酸塩基触媒を用いてプロピオン酸(PA)とホルムアルデヒドの気相アルドール縮合反応を試みた。固体酸触媒を用いることによりメタクリル酸(MAA)が主生成物として得られるが、酸強度の弱いチタニアやジルコニアでも得られる。副生成物としてプロピオン酸メチル(PM)や3-ペンタノンが得られる。気相アルドール縮合・固体酸触媒・プロピオン酸

1. 緒言

α 位に活性な水素を有するアルデヒドは多様な反応に利用することができることから、当研究室ではアルデヒド類を出発物質とする固体酸塩基触媒反応の展開を試みている。本報告では現在イソブテンの気相酸化法で生産されている MAA を、固体酸を用いて PA とホルムアルデヒドの縮合により合成することを検討した。

本反応には酸触媒及び塩基触媒のいずれも活性があると思われるが、固体塩基触媒では反応基質、特に PA の吸着が強いことが予想されるので、主として固体酸触媒を用いる方法について検討を加えた。

2. 実験

反応は N_2 (50ml/min) をキャリアガスとする常圧流通系反応装置を使用し、リアクタントは PA/HCHO = 1、リアクタント流量 19.5 mmol/h で供給した。HCHO 源としてトリオキサンを用いた。触媒には $Nb_2O_5 \cdot nH_2O$ 、 WO_3/Al_2O_3 等を 0.5g を用い、反応前に 350°C で前処理を行った後、反応温度 250°C、300°C、350°C にて行った。反応生成物はドライアイス-アセトン温度で捕集し、生成物の分析には FID-GC、GC-Mass を用い、収率は PA 基準で求めた。

3. 結果と考察

予熱部分に充填した充填剤によりトリオキサンは 100 % 分解するが、少量のメタノールの生成が認められた。また、PA との反応により微量の MAA および PM の生成も認められた。

固体酸触媒を用いることにより既報¹⁾のように PA と HCHO から主生成物として MAA が得られることがわかった。主な副生成物は PM であったがその生成経路はエステル化反応によると思われる。しかしトリオキサンの分解生成物のメタノールによるものか、吸着 HCHO 経由であるかは不明である。他の副生物として、チタニア、ジルコニアにおいては 3-ペンタノンが得られるが、PA の縮合脱炭酸反応に由来すると思われる。3-ペンタノンの生成は下図に見られるようにジルコニアで特に顕著であった。

中程度の酸強度を有するニオブ酸やアルミナ担持酸化タンゲステンが活性である他、ルイス酸型といわれるアルミナも同程度の活性を示した。酸性を有しないシリカが低活性であるのは妥当と思われるが、強い酸点を有しない TiO_2 、 ZrO_2 がニオブ酸より高い活性を示すことは興味深い。本反応においては固体酸触媒が用いられる他、アルカリ金属塩処理アルミナやシリカも用いられることからリアクタントの活性化過程が一樣ではないことをうかがわせる。極めて弱い酸性のみを有するチタニア、ジルコニアが活性であることは、吸着 PA により誘起された酸性が反応に関与しているか、あるいは吸着 HCHO の状態が典型的酸触媒と異なるためとも思われるが、一層の検証が必要と思われる。

1) 特開昭 61-229840、M. Ai、Appl. Catal., 36, 221-230 (1988)

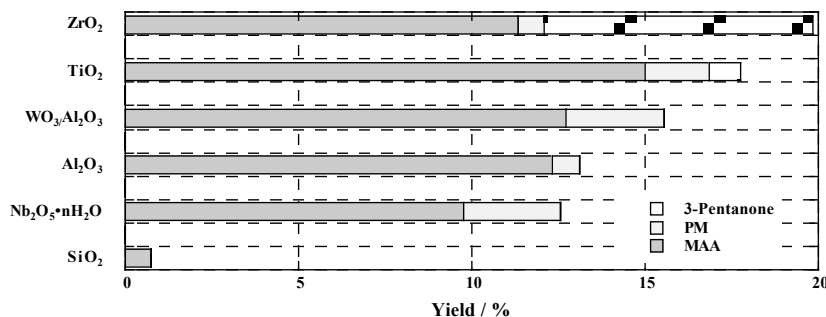


Fig. 1 Reaction of formaldehyde with propionic acid at 350°C

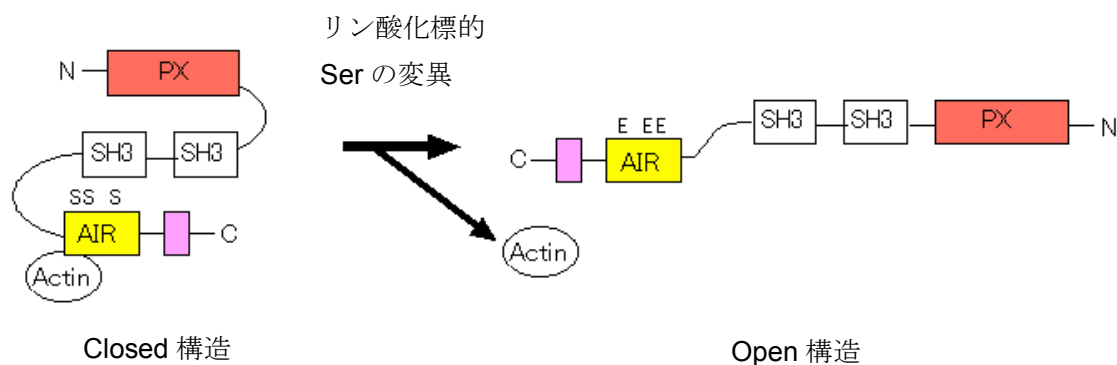
NADPH oxidase 成分 p47^{phox} の unmasking による Actin 結合性の変化

○伊藤 克法 ・ 中井 優子 ・ 田村 実

[目的] 白血球の O₂ 産生酵素 NADPH oxidase は、膜成分の Cyt.b₅₅₈ とサイトソル由来の p47^{phox}、p67^{phox}、Rac および p40^{phox} からなる多成分酵素であり、刺激により複合体を形成し、活性化する。p47 は分子内制御によりクローズ構造をとっているが、リン酸化によりオープン構造へと変化し、これが Cyt.b₅₅₈ と会合して活性化を引き起こすと考えられている。以前、当研究室では p47^{phox} と細胞骨格タンパク Actin が相互作用することを見出した。今回は、p47^{phox} の open 型模倣変異体を用い、p47^{phox} の構造変化で Actin との結合性がどう変わるかを dot blotting で検討した。また、Actin の重合により、この相互作用に変化が見られるかどうか検討した。さらに、種々の p47 短縮型と Actin との結合を dot blotting で検討し、相互作用部位を決定した。

[方法] p47^{phox} のリン酸化を模倣する変異体として、自己制御領域(AIR)のリン酸化標的セリン(S)を酸性アミノ酸(D or E)に換え p47^{phox}S(310,328)D (変異体 1) と p47^{phox}S(303,304,328)E (変異体 2) を大腸菌で発現精製した。Actin は、ヒト β-Actin を大腸菌を用いて発現、精製した。重合 Actin は、モノマー Actin の溶液の塩濃度を上げるにより得た。p47^{phox} と Actin の相互作用は、dot blotting により検討し、画像解析により半定量した。この方法で推定した、p47^{phox} の Actin 結合部位の配列をもつペプチドを化学合成し、Actin との結合を検討した。

[結果] 作成した二つの p47 変異体について、無細胞活性化系において oxidase 活性化能を見たところ、両者とも SDS なしで SDS 存在下の 70%以上の活性をそれぞれ示した。したがって、両変異体ともほぼオープン構造をとっていることが明らかになった。Actin に対する結合は、変異体 1, 変異体 2 とともに wild の半分程度であった。このことから、p47^{phox} はオープン構造になると Actin から離れる可能性が考えられた。一方、Actin を重合しても、p47^{phox} との結合能はほとんど変わらなかった。また、p47^{phox} 短縮型を用いて検討した結果、p47^{phox} の 319~337 残基が結合サイトであることが見い出された。さらに、この配列を持つ合成ペプチドは、Actin と結合と結合することが確かめられた。これらの結果は、NADPH oxidase の活性制御においてサブユニット p47^{phox} と Actin の結合が何らかの役割を持っていることを示唆した。



NADPH oxidase 構成タンパク質の結晶化による構造解析に向けて

(分子生命化学) ○小林周平・遠藤隆博・田村 実

[緒言]

ヒトの貪食細胞 NADPH oxidase を構成する因子の一つである p67^{phox} は酵素の制御サブユニットとして中心的な役割を果たしている。その立体構造 についてはいくつかのグループが挑戦しているが未だ十分に解明されていない。そこで当研究室では p67^{phox} の短縮型をもう一つのサブユニット p47^{phox} 短縮型とつないだ p67N-p47N について結晶化を試みた。結晶化タンパクについて X 線構造解析を行うことで 3 次元構造で解明することを最終目的とした。

[実験方法]

遺伝子工学を用いて作成した p67N-p47N 融合タンパク遺伝子をベクター pGEX-2T に組み込み、大腸菌 BL21 内で GST との融合タンパク質として発現させた。得られたタンパク質を Glutathione Sepharose に吸着させ Thrombin で GST から目的タンパクを切り出した。さらにゲルろ過カラム Superdex 200 をクロマトシステム AKTA に装着して精製して最終標品とした。SDS PAGE と Native PAGE (SDS なし) を行って純度を調べた。また大阪大学 蛋白質研究所の協力を得てこれについて動的光散乱 (Dyna Pro 使用) を測定して精製タンパク質の分散状態を見た。

[結果と考察]

ゲルろ過では図 1 のように 65kD の位置に大きなピークが表れた。Fraction16~18 を分け取り濃縮して精製サンプルとした。精製した融合タンパク p67N-p47N は SDS-PAGE で 57kD の位置に単一なバンドを示し、Native PAGE が単一なバンドが得られ分子量、電荷ともに均一であることが明らかになった。動的光散乱で精製タンパク質の分散状態を見た結果分子量約 15 万からなる単分散であることが明らかになった。これらの測定により純度が確認されたので次に結晶化に必要な多量のタンパク質を精製する行程を工夫した。現在種々のリザーバー液を用いて結晶化の最適条件をハンギングドロップ法 (図で検索している。

図1 ゲルろ過カラムの流出パターン

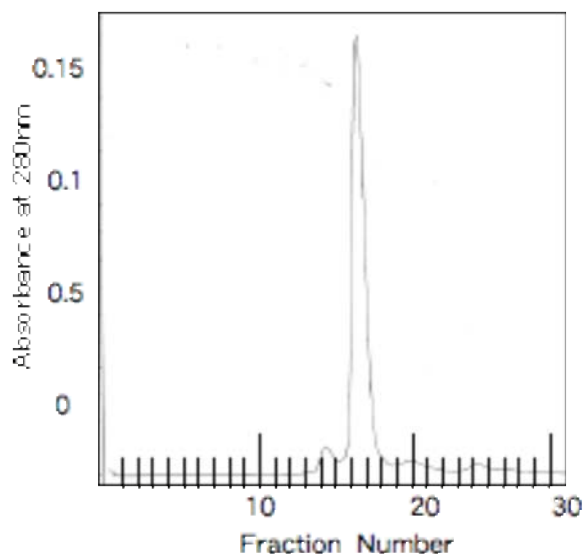
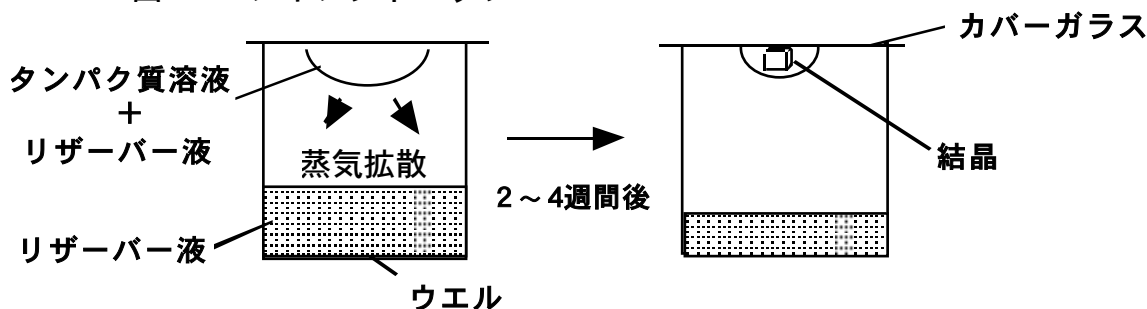


図 2 ハンギングドロップ



大腸菌を用いた Nox1 サイトソル因子タンパク質の発現・精製

○大原 卓也 ・ 楠野 太郎 ・ 田村 実

[緒言]

当教室ではこれまで、好中球などの貪食細胞に含まれる O_2 産生酵素 NADPH oxidase (Phox) の活性化について研究を行い、その活性化因子である p67、p47、Rac を大腸菌で大量発現する系を確立し、タンパク工学により活性化因子の分子改変を行って NADPH oxidase の安定化に成功してきた。

最近、貪食細胞以外の体細胞に Phox のホモログである Nox1 が見出され、Phox を含めた Nox family の存在が明らかになったが、Nox1 は p67、p47、Rac で活性化されず、新しい活性化因子 p51、p41 (p67、p47 のホモログ) によって活性化されることが見出された。しかし、p51、p41 は疎水性アミノ酸に富み、溶解度が低いことから大腸菌での発現が難しく、いまだ遺伝子工学による大量発現が行われていない。そこで、今回私達は、この p51 について機能はそのまま、溶解度を高めた分子をデザインし遺伝子工学を用いて大腸菌で発現・精製することを試みた。

[実験]

大腸菌での発現は、ヒトの p51 遺伝子を鋳型とし PCR で適切な長さの cDNA を増幅し、pGEX-2T ベクターに組み込み、さらに他の活性化因子の遺伝子を導入して新しい融合タンパク遺伝子を構築した。この遺伝子を大腸菌 BL-21 内で発現させ、得られたタンパク質を G-Sepharose に吸着させ、Thrombin で GST と切り離すことによって精製した。この融合タンパク質を Phox の他の活性化因子と組み合わせて酵素の再構成を試みた。発生する O_2 は cyt.c 法で測定した。

[結果]

大腸菌による培養の結果、p51N を含む融合タンパク質を 2 日培地から 1mg 程度精製することができた。また、このタンパクを用いて、Phox の活性化を行ったところ、明らかに O_2 が産生されていることが確認された。活性は Phox の活性化因子 p67 を用いた場合に比べ、最大速度で約 3 分の 1、 K_m は約 100 倍となった。このことは p51 が p67 より cyt.b558 に対する親和性が低いことを示唆している。

今後このタンパク質の本来の標的である Nox1 の活性化を含め、その機能解析が進むことが期待される。

新開発 O₂⁻ 発生デバイスの改良と応用

(分子生命化学) ○北原 博貴, 田村 実

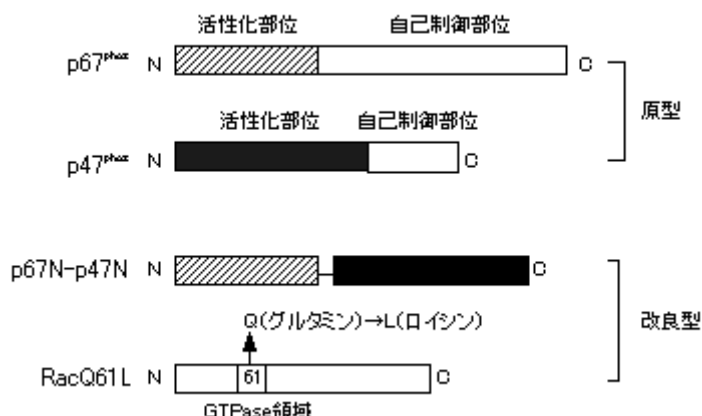
[緒言]

白血球は体内に侵入してきた病原菌を殺菌する役割を担っているが、その際、殺菌剤としてスーパーオキシド (O₂⁻) を発生させる。白血球にはこの O₂⁻ を生成する酵素 (NADPH oxidase) が潜在的に存在する。最近、白血球以外の体細胞にも NADPH oxidase のホモログが存在することが見出されており、O₂⁻ やそれから派生する活性酸素が細胞分裂やアポトーシスへのシグナルとして働いていることが予想されている。一方で O₂⁻ の産生過多や異常発生がもたらす酸化ストレスが高血圧や動脈硬化などの生活習慣病、アルツハイマー病などの神経疾患にも関わっていることが示唆されている。

そこで当研究室では O₂⁻ が細胞に与える影響を解明し、関連する疾病の治療に役立てることを目標に、この酵素を O₂⁻ 発生デバイスとして使えるように改良することを試みた。さらにその結果から得られた改良型酵素を用いて、酸化ストレスの細胞に与える影響を検討した。

[実験方法]

右図のように改良したサイトソル由来の制御タンパク質 (p67N-p47N、RacQ61L) と膜タンパク質 cyt.b558 を混ぜ、反応条件を工夫して酵素の再構成と活性化を行い、安定で使いやすい改良型酵素を得た。これを培養細胞 HEK293 (ヒト胎児の腎臓細胞) へ添加し、30 時間後、その効果を見た。



[結果と考察]

NADPH oxidase の制御タンパク質および活性化法を改良することにより、すぐれた性質をもつ酵素を得た。この改良型酵素は元の酵素と比べて、表1のような利点をもった。また従来 O₂⁻ 発生よく用いられてきた Xanthine oxidase 系に比べ活性酸素生成物が単一であり、基質が扱いやすく、副産物に問題がないなど数々のメリットを持っていた。

細胞への効果として、HEK293 に加えてみたところ、低濃度では細胞の成長が止まり、高濃度では細胞死が起こった。

表1 NADPH oxidaseの原型と改良型の比較

項目	従来型	改良型
Racの活性化	必要	不要
活性化剤	必要	不要
活性化	活性を測る直前	随時
冷凍保存	個々の因子	活性複合体
安定性	低い	非常に高い

表2 新しいデバイスのメリット

項目	Xanthine oxidase	NADPH oxidase
基質	Xanthine	NADPH
生成する活性酸素	O ₂ ⁻ , H ₂ O ₂	O ₂ ⁻
副産物	尿酸	NADP ⁺
他の活性	Xanthin DH	なし
冷凍保存	不可	可能

銅フタロシアニン含有ゼオライト触媒の合成とキャラクタリゼーション

(材料物性) きもと くにひろ やひろ ひでのり おかだ げんじ
木本 邦博・八尋 秀典・岡田 元次

1. 緒言

ゼオライトのような無機多孔体中に固定化された金属フタロシアニン錯体はエポキシ化などの酸化反応触媒として有効であることが報告されている[1]. 本研究では種々の金属イオン交換 Y 型ゼオライト中での銅フタロシアニン (CuPc) の合成および得られた試料の電子スピン共鳴 (ESR) によるキャラクタリゼーションを行った。

2. 実験

東ソー製 Na-Y 型ゼオライト (Si/Al = 2.7) とその亜鉛イオン交換体 (Zn-Y) およびカリウムイオン交換体 (K-Y) を担体として用いた。Na-Y を所定濃度の酢酸銅水溶液に入れ、銅イオンの部分置換体 (CuNa-Y) を調製した。銅イオン交換率は ICP 測定により決定した。得られた試料を N₂ 雰囲気中で 473K, 2h 乾燥し、その後同温度で 8h, 1,2-ジシアノベンゼン (DCB) 蒸気を導入した [2]。試料は Soxhlet 抽出器により洗浄した。同様な調製を CuZn-Y, CuK-Y でも行った。DCB 処理前後の試料を真空中, 473K で 2h 処理し, ESR 測定 (77K) を行った。スペクトルのシミュレーションには Bruker 製 SimFonia プログラムを用いた。

3. 結果および考察

Fig. 1 (a), (b) に CuNa-Y (銅イオン交換率, 1.9%) の DCB 処理前後の ESR スペクトルを示す。CuNa-Y では 2 種類の孤立した Cu²⁺ に特徴的なシグナル (Cu(I), $g = 2.322$, $A // = 161.5\text{G}$; Cu(II), $g = 2.382$, $A // = 123.8\text{G}$) が観察された (Fig. 1(a))。DCB 処理後 (DCB-CuNa-Y) では処理前の孤立銅イオンに帰属されるシグナルは消失し, 新しいシグナル ($g // = 2.13$, $g \perp = 2.05$) が観察された。このシグナルは "neat" な CuPc の ESR スペクトルとほぼ一致した。Fig. 1 (c) に濃硫酸溶液中に溶かした DCB-CuNa-Y の ESR スペクトルを示す。Cu 核による 4 本の *hfs* に加えて, N 核による 9

本の *shfs* をもつ CuPc に特徴的な ESR シグナルを与えた ($g // = 2.201$, $g \perp = 2.061$, $A // (\text{Cu}) = 200.0\text{G}$, $A \perp (\text{Cu}) = 17.0\text{G}$, $A // (\text{N}) = 13.5\text{G}$, $A \perp (\text{N}) = 16.8\text{G}$)。また, DCB-CuNa-Y の拡散反射 UV-vis. スペクトルには 430nm 付近および 550-750nm にそれぞれフタロシアニン環から中心金属への電子遷移による LMCT (ligand-to-metal charge-transfer) の吸収および Q バンドと呼ばれる π -遷移に基づく吸収が認められた。以上の結果から, 本調製法により CuPc がゼオライト上に生成していると結論した。また, 得られた試料中の ESR スペクトルがブロードになった理由は近接した CuPc 分子間での相互作用によるものと推定される [2]。

Fig. 2 に銅イオン交換率の異なった NaCuY (Si/Al 410) の ESR スペクトルを示します。Si/Al 比を大きくする、すなわち Al 含有量を減らすことによって、交換率を抑えると CuPc 独特の ESR シグナルが確認されました。

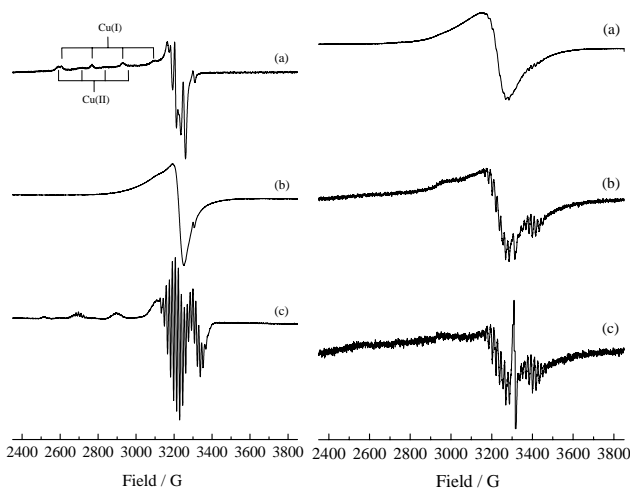


Fig. 1 ESR spectra of (a) CuNa-Y, (b) DCB-CuNa-Y, and DCB-Cu(375)Na-Y, (c) DCB-CuNa-Y in conc. (20) Na-Y, and (c) DCB-Cu(5)Na-H₂SO₄.
Fig. 2 ESR spectra of (a) CuNa-Y, (b) DCB-CuNa-Y, and DCB-Cu(375)Na-Y, (c) DCB-Cu(5)Na-H₂SO₄.

【参考文献】

- [1] D. E. de Vos, B. F. Sels, P. A. Jacobs, *Adv. in Catal.*, **46**, 1 (2001).
[2] S. Seelan, A. K. Sinha, *Appl. Catal. A*, **238**, 201 (2003).

CH₄燃料を利用したSOFCのセリア系アノードの最適化

(材料物性化学) 齋藤 聡洋・八尋 秀典・岡田 元次

1. 緒言

CH₄を燃料として利用した固体酸化物形燃料電池(SOFC)は燃料効率の点から注目されている。Y₂O₃-ZrO₂(YSZ)電解質を用いたSOFCではSm₂O₃-CeO₂担持Niがアノード材として有効であることが報告されている[1,2]。本研究ではYSZより導電率が高いSc₂O₃-ZrO₂系電解質を用いたH₂-O₂, CH₄-O₂燃料電池におけるNi/Sm₂O₃-CeO₂のアノード特性について検討した。

2. 実験

担体として用いる(CeO₂)_{0.8}(SmO_{1.5})_{0.2}(SDC)は、共沈法により調製した。Ni/SDCは酢酸ニッケル水溶液を含浸させ、973 K, 4時間, 空気中で焼成することにより得た。以後, Ni(x)/SDC(x, 担持量(wt%))と略記する。得られたNi/SDCをアノード, La_{0.7}Sr_{0.3}MnO_{3-α}(LSM)をカソード, 固体電解質には(ScO_{1.5})_{0.18}(CeO₂)_{0.01}(ZrO₂)_{0.81}(第一稀元素(株)製, 直径10 mm 厚さ2.5 mm)を使用し, CH₄-O₂およびH₂-O₂燃料電池測定を行った。電極の過電圧はカレントインターラプション法により評価した。

3. 結果および考察

図1にNi担持量を変化させた時のNi/SDCアノードの過電圧を示す(測定温度973 K)。燃料にはH₂(P_{H₂}=0.1atm)を用いている。Niの担持により過電圧は低下した。これはNi上で水素が活性化したためであると考えられる。Ni担持量を増加しても, アノード過電圧にそれほど大きな変化は認められなかった。類似の結果は, 電解質にYSZを用いた場合でも認められた[2]。

これに対し, CH₄を燃料としたSOFCではアノード過電圧はNi担持量に大きく依存した。図2に測定温度973-1173 KでのNi(20)/SDCおよびNi(60)/SDCのアノード過電圧を示す(P_{CH₄}=1atm)。何れの測定温度でも, Ni(20)/SDCの方がNi(60)/SDCよりアノード過電圧は低くなり,

Wangら[1]のYSZ電解質を用いたSOFCにおいてCH₄を燃料としたときの最適Ni担持量は60wt%であると報告している。従って, 最適なNi担持量はSOFCの電解質によって影響されるのかもしれない。

また, 本発表ではCH₄分圧とアノード過電圧の関係についても報告する。

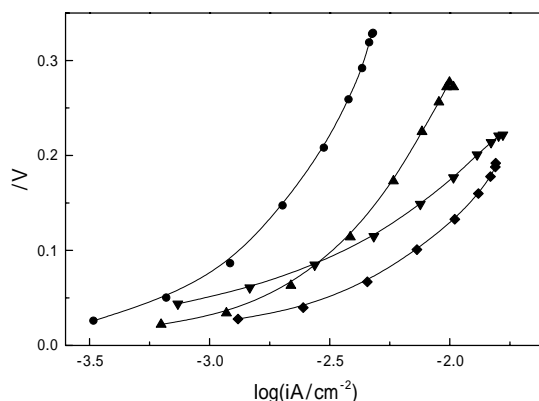


図1. Ni/SDCのH₂燃料(P_{H₂}=0.1atm)を用いた時のアノード過電圧(973 K)。○, Ni(0)/SDC; △, Ni(20)/SDC; □, Ni(40)/SDC; ●, Ni(60)/SDC

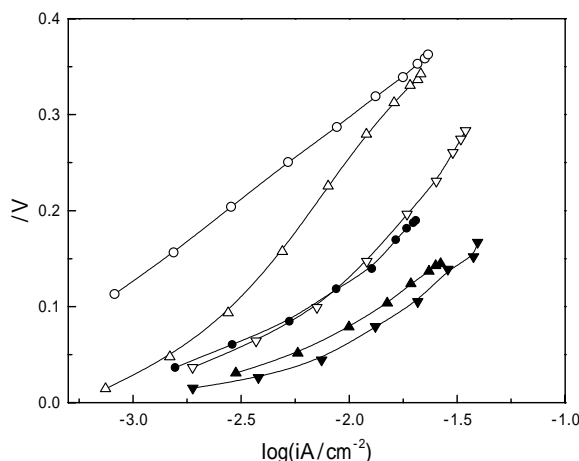


図2. Ni(20)/SDC(○, △, □)とNi(60)/SDC(●, ▲, ◆)のCH₄燃料(P_{CH₄}=1atm)を用いた時のアノード過電圧。温度: (○, △, □)973, (●, ▲, ◆)1073, (◇, ◆, ◆)1173 K

[1] J. B. Wang, J.-C. Jang, T.-J. Huang, *J. Power Sources*, **122**, 122 (2003).

[2] 齋藤, 八尋, 岡田, 電気化学会第71回大会講演要旨集, p.350 (2004)

希土類金属イオンを共存させた Cu-MFI ゼオライトの NO 分解反応

(材料物性化学) ながの たつや やひろ ひでのり あかだ げんじ
長野 達也・八尋 秀典・岡田 元次

1. 緒言

Cu-MFI は NO 直接分解に高い活性を示すことが報告されている[1]. Cu-MFI の活性を向上させるために種々の金属イオンを導入することが検討されている[2]. 本研究では共存する希土類金属イオンが Cu-MFI の NO 分解活性に与える影響について検討した.

2. 実験

触媒は希土類金属イオン(M=La, Ce, Pr, Nd, Sm, Gd)交換 MFI を酢酸銅水溶液でイオン交換することにより調製した. 得られた触媒は Cu(x)M(y)Na(z)(x, Cu²⁺交換率; y, M³⁺交換率; z, Na⁺交換率)と略記する. 反応は常圧固定床流通式反応装置を用い, He 中, 773K, 4h の前処理を行った後, NO=2.18%(He バランス), GHSV=1800h⁻¹, 反応温度 573-973K の条件で行った. 生成物は TCD ガスクロマトグラフにより分析し, 活性は N₂ 転化率で評価した.

3. 結果と考察

Table 1 に希土類金属イオンを共存させた Cu-MFI 触媒の NO 分解活性をまとめた. 何れの触媒でも 773 K で最大の活性が得られ, 最大活性を示す温度には共存カチオンの影響がほとんどないことがわかった. 最大活性の大きさは共存イオンの種類に依存した. 773K での活性の比較から, Sm, Gd の共存が Cu-MFI の NO 分解活性の向上に効果的であった.

Fig. 1 に Cu(x)Sm(y)Na(z)および Cu(x)Gd(y)Na(z)触媒の比活性(= [希土類イオン共存系の活性] / [非共存系の活性]) の Cu イオン交換率依存性を示す. 低銅イオン交換率では希土類イオンの添加は活性を低下させ, Cu イオン交換率増加するとともに活性の向上効果が発現した. また, 測定温度が低いほどこの活性向上効果は大きいことがわかった.

Table 1 には Sm イオン交換 Cu イオン交換 (Cu(73)Sm(10)Na(11)), Cu イオン交換 Sm イ

オン交換 (Sm(5)Cu(71)Na(9)) および Cu イオンと Sm イオンを同時にイオン交換 (Cu(63) - Sm(29)Na(14)) で調製した触媒の活性の比較も示している. 交換の順序によって活性への影響は異なり, Sm イオン Cu イオンの順でイオン交換する調製法が活性向上に最も効果的であることがわかった.

Table 1. Temperature dependence of catalytic

Sample	Conversion into N ₂ / %				
	573K	673K	773K	873K	973K
Cu(84)Na(14)	1	20	47	37	13
Cu(85)La(10)Na(7)	1	19	46	40	19
Cu(73)Ce(13)Na(10)	1	24	46	34	10
Cu(83)Pr(9)Na(10)	1	22	47	40	16
Cu(82)Nd(8)Na(6)	1	22	44	30	10
Cu(84)Sm(7)Na(8)	0	25	53	42	21
Cu(85)Gd(10)Na(7)	1	23	51	43	22
Cu(69)Na(27)	1	13	30	20	7
Cu(73)Sm(10)Na(11)	0	19	40	29	11
Sm(5)Cu(71)Na(9)	0	19	24	3	-
Cu(63)-Sm(29)Na(14)	1	15	33	21	7

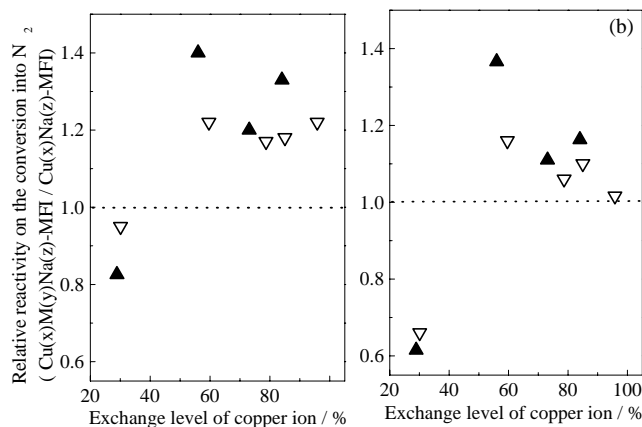
HSV=1800 h⁻¹.

Fig. 1 The relative catalytic activity of Cu(x)M(y)Na(z) catalysts as a function of the exchange level of copper ion. Catalysts: \blacktriangle ; Cu(x)Sm(y)Na(z) and ∇ ; Cu(x)Gd(y)Na(z). Reaction conditions: Temperature=(a)673 K and (b)773 K, NO=2.18%, GHSV=1800 h⁻¹.

[1]H. Yahiro, M. Iwamoto, *Appl. Catal. A*, **222**, 163 (2001).

[2]Y. Yokomichi et al., *Appl. Catal. B*, **28**, 1 (2000); Y. Teraoka et al., *Chem. Lett.*, 407 (1991).

TiO₂/MCM-41 の光酸化反応

(材料物性化学) 宮本尚明・山浦弘之・八尋秀典・岡田元次

MCM-41 に TiO₂ を担持した触媒の α -メチルスチレンの光酸化反応について検討した。反応系に水を添加することにより活性が向上することがわかった。

TiO₂・MCM-41・光触媒・ α -メチルスチレン・酸化

1. 緒言

TiO₂ 光触媒は種々の有機反応に応用されている [1]。本研究では MCM-41 に TiO₂ を担持した触媒 (TiO₂/MCM-41) の α -メチルスチレンの光酸化反応について検討した。

2. 実験

MCM-41 は常法により調製した。TiO₂/MCM-41 は Xu らの方法 [2] を参考にして調製した。MCM-41 をイソプロパノール中で懸濁した後、チタンイソプロポキシドを加えて、ホットプレート中で含浸した。得られた試料をイオン交換水中で1時間攪拌、濾過、乾燥後、450 °C で3時間焼成した。 α -メチルスチレンの光酸化反応は、200 °C で1時間熱処理した所定量の触媒、基質 0.30ml、溶媒(アセトニトリル)50.0ml をパイレックスセルに入れ、酸素雰囲気下、室温で行った。光源には高圧水銀灯を用いた。生成物の定量は GC-MS で行った。

3. 結果と考察

図1に調製後の触媒の UV-vis.スペクトルを示す。TiO₂/MCM-41 のスペクトルは TiO₂ のスペクトルと比べて全てブルーシフトした。このことは TiO₂/MCM-41 中の平均 TiO₂ 粒子径は TiO₂ 単独触媒の平均粒子径より小さいことを示唆する。すなわち、担持触媒系では TiO₂ が MCM-41 上に高分散した状態で存在していると考えられる。

図2に種々の触媒上での α -メチルスチレンの光酸化反応活性の水の添加効果を示す。本実験条件下では生成物としてアセトフェノン (AP)、2-フェニルプロパンアルデヒド (2-PPA) のみが認められた。無触媒および MCM-41 単独試料では反応はほとんど進行しなかった。

活性の序列は TiO₂+MCM-41 > TiO₂/ZSM-5 > TiO₂ > TiO₂/MCM-41 であった。TiO₂ と MCM-41 を混合した試料 (TiO₂+MCM-41) が最も高い活性を示した。すべての触媒において H₂O の添加量が増える

に従い、転化率が増大した。

TiO₂(50wt%)/MCM-41 触媒の AP 選択率は 95%、TiO₂(50wt%)+MCM-41 触媒では 87%であった。Beaune ら [3] は TiO₂ と H+Y の混合触媒で同様の実験を行い、AP の選択性が向上することを報告しているが、MCM-41 担持 TiO₂ 触媒の選択性は TiO₂ の選択性と大きな差はなかった。

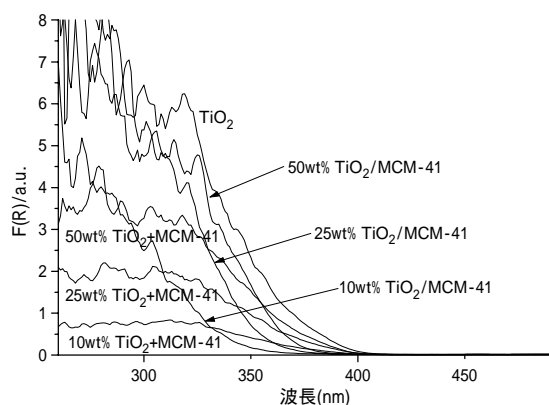
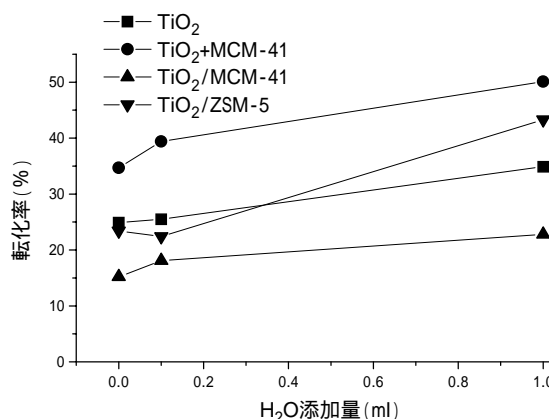


図1. TiO₂/MCM-41 触媒の UV-vis.スペクトル



[1] 埜田, “可視光応答型光触媒開発の最前線”, NTS (2002) p.52.

[2] Y. Xu et al., *J. Phys. Chem. B*, **101** (1997) 3115.

[3] O. Beaune et al., *Chem. Commun.* (1992) 1649.

固体酸を用いた燃料電池の開発

(材料物性化学) 佐藤麗・山浦弘之・八尋秀典・岡田元次

1. 緒言

燃料電池は化学エネルギーを電気エネルギーに変換する装置であり、近年あたらしい発電システムとして関心を集めている。固体高分子形燃料電池は低温で作動でき、小型化が可能である。しかし、提案されている固体高分子電解質膜のほとんどは十分含水した状態でなくてはプロトン導電性を示さないため、加湿が必要であり水分管理が問題となる。これに対し、無機固体酸化物の中には無水でもある温度以上でイオン伝導度が大きく上昇する Superprotonic 相転移を示すものがある。そこで本研究では、固体酸を電解質とした燃料電池への応用について検討した。

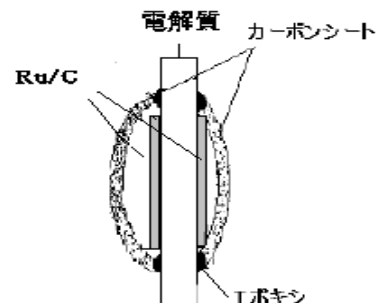


Fig.1 セル図

2. 実験

固体酸として CsHSO₄ および CsH₂PO₄ を用いた。Cs₂SO₄:H₂SO₄:H₂O = 1:2:12 のモル比で混合し、エタノールを加え CsHSO₄ を沈殿させた。同様に Cs₂CO₃:H₃PO₄:H₂O = 1:2:12 のモル比で混合し、メタノールを加え CsH₂PO₄ を沈殿させた。これらの固体酸試料を乾燥させ、真空中で圧縮成型することにより膜を作製した。Fig.1 にセル図を示す。膜の両面に電極としてカーボンに貴金属を担持したものを使用し、集電材としてカーボンメッシュで覆い H₂-O₂ 燃料電池測定を行った。

3. 結果と考察

Fig.2 に CsHSO₄ を電解質として用いたときの燃料電池測定結果を示す。Pt/C 電極に比べ Ru/C 電極が高い開放電圧(OCV)を示し、また電流もよく流れることがわかった。また、Ru 担持量を 5wt% に変えて測定した結果、OCV が 540mV まで増加した。Fig.3 には電解質に CsH₂PO₄ を、電極に Ru(5wt%)/C を用いて 200, 220, 238, 245 で H₂-O₂ 燃料電池測定を行った結果を示す。CsHSO₄ に比べ、高い OCV を示した。特に、238 (CsH₂PO₄ の相転移温度)では OCV は 802mV と最も高く、かつ大きな電流密度が得られた。

- 1) M. Komukae, T. Osaka, Y. Makita, T. Ozaki, K. Itoh, E. Nakamura, *J. Phy. Jpn.*, 50 (1981) 3187.
- 2) D. A. Boysen, T. Uda, C. R. I. Chisholm, S. M. Haile, *SCIENCE*, 303 (2004) 68.

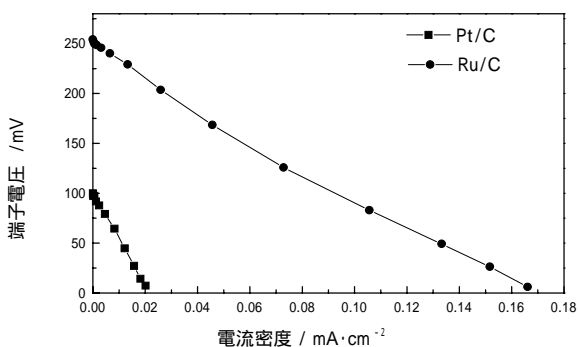


Fig.2 M(1.5wt%)/C を電極に用いた CsHSO₄ の燃料電池における I-V 特性 M;Pt,Ru

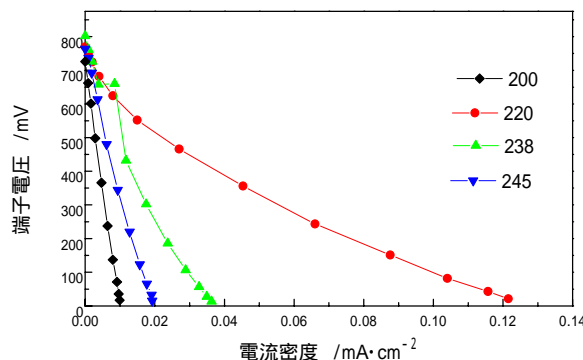


Fig.3 Ru(5wt%)/C を電極に用いた CsH₂PO₄ の燃料電池における I-V 特性

担持 Cu 触媒の水性ガスシフト反応
(材料物性化学) 中塚真理子・中矢健太・八尋秀典・岡田元次

1. 緒言

燃料電池の普及に伴い、水素製造の重要性が高まっている。水素は炭化水素やメタノールの水蒸気改質によって製造されるが、副生する CO が燃料電池電極を被毒することが問題となっている。そのため、CO を除去することが必要となる。CO シフト反応($\text{CO} + \text{H}_2\text{O} = \text{CO}_2 + \text{H}_2$)は改質後の燃料中の CO を低減させるために重要な反応であり、活性点が Cu^0 であることが報告されている。本研究では、活性の向上を目的として担体に Cu 担持した触媒の低温(200~250)CO シフト反応について検討した。

2. 実験

担持 Cu 触媒は硝酸銅水溶液に担体を含浸することで調製した。用いた担体は、 Al_2O_3 (JRC-ALO-8) である。含浸後の触媒を 500 ~ 900 で 8 時間空气中焼成した。CO シフト反応は、前処理として水素還元(20% H_2 , 250 , 2h)を行い、改質ガス雰囲気 $\text{CO}(5.4\%) + \text{H}_2(57\%) + \text{H}_2\text{O}(21.6\%) + \text{CO}_2(16\%)$ 、 $\text{GHSV} = 6000 \text{ h}^{-1}$ の条件で行った。生成物は TCD ガスクロマトグラフにより分析し、活性は CO 転化率により評価した。焼成触媒の結晶構造については、XRD を用いて測定した。

3. 結果・考察

$\text{Cu}(12\text{wt}\%)/\text{Al}_2\text{O}_3$ (JRC-ALO-8) を用い、調製条件 - 触媒 (活性点) 構造 - 活性との関係について検討した。図 1 に焼成温度の異なる $\text{Cu}(12\text{wt}\%)/\text{Al}_2\text{O}_3$ 触媒の CO シフト活性を示す。CO シフト反応はモデルガス雰囲気で行った。いずれの触媒でも活性は反応温度の上昇とともに増加した。焼成温度によって触媒活性は異なり、700 および 800 焼成の試料が高い活性を示し、両触媒は 250 ではほぼ平衡転化率に到達した。

図 2 に良好な活性を示した 700、800 焼成触媒の水素還元後の XRD パターンを示す。700 では CuO に帰属されるピークは消失して、Cu と担体の γ -アルミナに帰属されるピークが認められた。800 焼成触媒ではスピネル型酸化物 CuAl_2O_4 に帰属されるピークが出現した。

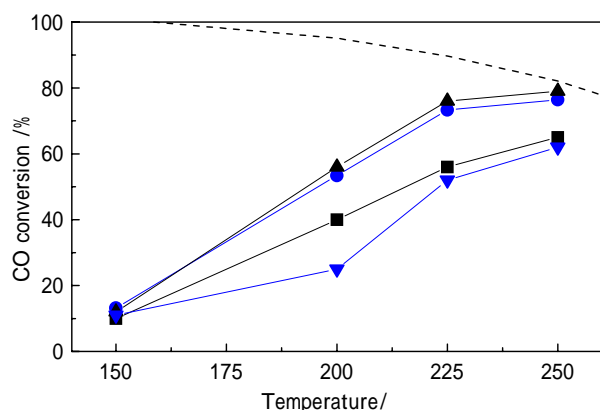


図 1 $\text{Cu}(12\text{wt}\%)/\text{Al}_2\text{O}_3$ の CO 転化率
焼成温度: 500 (○), 700 (□), 800 (△), 900 (◇)
還元処理条件: 20% H_2/He , 250、2 時間
反応条件: $\text{CO}(5.4\%) + \text{H}_2(57\%) + \text{H}_2\text{O}(21.6\%) + \text{CO}_2(16\%)$, $\text{GHSV} = 6000\text{h}^{-1}$, 点線は平衡転化率

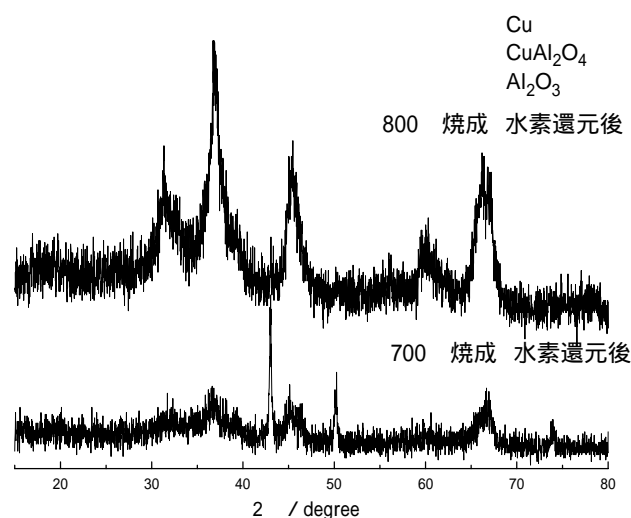


図 2 $\text{Cu}(12\text{wt}\%)/\text{Al}_2\text{O}_3$ 触媒の XRD パターン

ヒト大腸癌治療に用いる ESA 固定化ベシクルのマウス体内挙動

竹乗秀樹⁽¹⁾ 秋山浩一⁽²⁾、増田晴造⁽²⁾ 菅原卓也⁽³⁾、加藤敬一⁽¹⁾

(1) 愛媛大工 (2) 愛媛大総研支援 (3) 愛媛大農

1 緒言

本研究の目的は、大腸癌細胞表面の異常糖鎖構造を特異的に認識して結合する癌標的物質として海藻由来レクチン ESA を固定化した Span80 を主成分とするベシクルを用いて、DDS (Drug Delivery System) における大腸癌治療の実用化を目指すものである。まず生体内で安定なベシクルの調製について検討した。さらに放射性同位体 ¹²⁵I を用いて BSA をヨードゲン法により標識した ¹²⁵I-BSA を内包させたベシクルを用いて、ヒト大腸癌細胞 colo201 の発癌した担癌マウス内でそのベシクルの体内動態を検討した。

2 実験方法

2-1 糖脂質添加ベシクルの安定性

糖脂質 (Glc-Bn-3、Glc-L6-3) を Span80 に対して 0~3mol% の範囲で、またコレステロール¹⁾ をベシクル総量 (150mg) に対して 4~10wt% の範囲で添加して調製したベシクルを 37 恒温槽内の安定性を検討した。

2-2 ESA の活性測定

体内動態実験で使用する ESA の活性を検討するためにヒト大腸癌細胞 colo201 を用いて細胞接触実験を行った。ESA、control として BSA はそれぞれヨードゲン法により ¹²⁵I-ESA、¹²⁵I-BSA に標識し、大腸癌細胞に添加した後、任意の時間放置した後、細胞自身を β -カウンターによって測定を行った。

2-3 担癌マウスの体内動態

ヨードゲン法を用いて ¹²⁵I-BSA を調製し、ベシクルの内水に使用をすることで体内動態のトレーサーとして用いた。このベシクルを担癌マウスに静脈投与した。サンプル投与後の担癌マウスは心灌流法により脱血処理した後、マウスの各臓器の放射能を、 β -カウンター及びオー

トラジオグラフィにより測定を行った。

3 結果と考察

3-1 糖脂質添加ベシクルの安定性

ベシクルの生成率、安定性はそれぞれ最大値で約 15%、および約 20% の上昇が確認された。

3-2 ESA の活性測定

ESA が control の BSA に比べヒト大腸癌細胞 colo201 に特異的に結合していることが判明した。

3-3 担癌マウスの体内動態

ノーマルベシクル (NV)、ESA 固定化ベシクル (EV) および PEG 脂質を修飾した ESA 固定化ベシクル (EPV) を担癌マウスに静脈投与することにより、体内動態を検討した結果、図 1 に示すようにノーマルベシクルでは時間の経過と共に各臓器で ¹²⁵I-BSA が減少するのに対し、ESA 固定化ベシクルでは腫瘍への集積の増加が確認された。

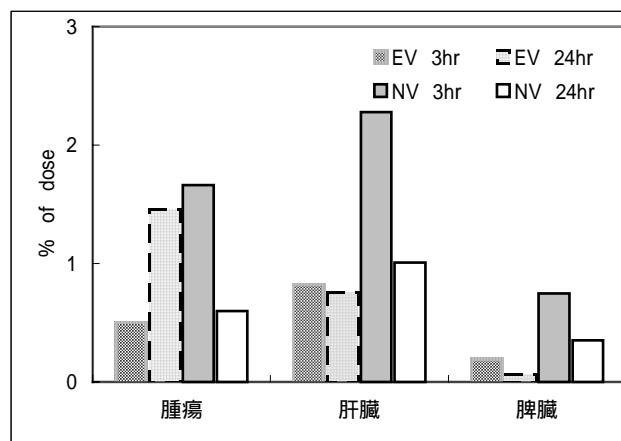


図 1 時間経過による各臓器の放射能

【文献】

1) D.VOET・J.G.VOET・C.W.PRATT

ヴォート 基礎生化学 p162 (2001)

*Keiichi Kato Dept. of Applied Chem. Univ., Bunkyo chou 3, Matsuyama, 790-8577
TEL&FAX089-927-9928
E-mail kato@en3.ehime-u.ac.jp

脳腫瘍治療をめざしたイムノベシクルの創製とマウス体内挙動

生体環境機能工学 ○水岡大樹(M1)¹⁾・秋山浩一²⁾・菅原卓也³⁾・増田晴造²⁾・加藤敬一¹⁾

1) 愛媛大工・2)愛媛大総研支援・3)愛媛大農

1. 緒言

本研究では抗体をミサイル装置として固定化した人工細胞ベシクル(抗体固定化ベシクルをイムノベシクルと総称する)を用いた脳腫瘍治療を開発しようとするものである。

これまでの研究で *in vitro* (生体外)で抗 EGFR 抗体固定化イムノベシクルのヒト脳腫瘍モデル細胞 ERM5-1 に対する特異標的機能が確認された。そこで次に放射性同位元素 ¹²⁵I を用い *in vivo* (生体内)での標的機能調べるため ERM5-1 担癌ヌードマウスの体内挙動の検討を行った。

2. 実験・方法

2.1 ベシクル調製

ベシクル主成分として、Span80 を使用し添加剤としてレシチン、コレステロールを用いた。ベシクルの内包物としてヨードゲン法を用いて BSA に放射性同位元素 ¹²⁵I を結合させた ¹²⁵I-BSA を使用した。抗体をミサイル装置としてベシクル表面に固定化する際、抗体の抗原認識部位(Fab)を外方向に向け固定化するために Fc 領域と特異結合する ProteinA をベシクル表面にあらかじめ固定化させその固定化 ProteinA に抗体を固定化させた。

2.2 ベシクル安定性

ベシクルの安定性を PEG 脂質修飾ベシクルと非修飾のベシクルで比較検討をおこなった。

2.3 体内挙動実験

ERM5-1 担癌マウスに尾静脈より ¹²⁵I-BSA で標識したサンプルを投与した。任意の時間放置した後血管に残った ¹²⁵I-BSA を取り除くため脱血し血管内を PBS で洗浄した。その後 γ -カウンタ、オートラジオグラフィーによる測定を行った。

3. 結果と考察

3.1 ベシクル安定性

PEG 脂質で修飾することにより安定性は向上した。これは PEG でベシクル膜を覆うことにより水への親和性が増したためと考えられる。

3.2 体内挙動実験

3.2.1 PEG 脂質修飾イムノベシクルによる体内挙動実験

ヌードマウスに植え付けられた癌細胞に対する標的機能をベシクル表面に PEG 脂質を修飾させたイムノベシクルで検討を行った。サンプルとしてコントロールに ¹²⁵I-BSA、PEG ベシクル、イムノ PEG ベシクルを使用した。投与方法は静脈投与を用いた。実験の結果 free の BSA に比べベシクルに内包された BSA は短時間で臓器に蓄積され代謝されるという動態の変化が確認できた、しかし PEG ベシクルとイムノ PEG ベシクルの動態の差は確認できなかった。これはベシクル表面に修飾された PEG の立体障害のため抗原抗体反応が阻害されたと考えられる。

3.2.2 PEG 脂質非修飾イムノベシクルによる体内挙動実験

次に PEG 脂質を使用しないイムノベシクルでヌードマウスに植え付けられた癌細胞に対する標的機能を検討した。静脈投与によりサンプルを投与し3時間後の体内分布はイムノベシクルの腫瘍部への ¹²⁵I-BSA の取り込みは抗体の無いベシクルの約二倍であった。この差がイムノ効果、即ち抗原抗体反応の効果であり *in vivo* での標的機能を確認することに成功した。

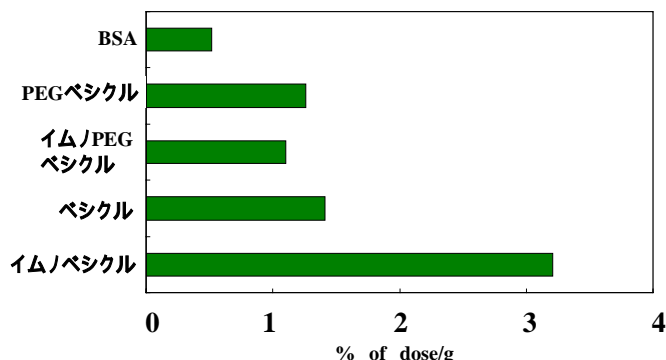


図1 打ち込み3時間後の腫瘍部放射能

【参考文献】

- 1) 橋田 充: ドラッグデリバリーシステム-創薬と治療への新たな挑戦-, 化学同人
- 2) 寺田 弘, 吉岡哲朗, ライフサイエンスにおけるリボソーム-実験マニュアル-, シュプリンガー・フェアラーク東京
- 3) K. Maruyama, T. Takizaki, N. Takahashi, T. Tagawa, K. Nagaïke, M. Iwatsuru: Targeting efficiency of PEG-immunoliposome-conjugated antibodies at PEG terminals: *Advanced Drug Delivery reviews* 24(1997) 235-242

凍結融解処理による余剰活性汚泥の生物活性の変化

(化学工学) 所 博通、川崎 健二、松田 晃

1. 緒言

汚泥の処理プロセスにおいて大量に発生する余剰活性汚泥は含水率が99%を超えるうえに非常に難脱水性であるため、固液分離を行う際に前処理が必要である。無薬注で環境に優しい前処理法として凍結融解処理がある。

これまでに、余剰活性汚泥についても固液分離特性は大幅に向上すること、-6~-30の範囲では冷凍温度の影響は無いこと、凍結速度は遅い方が良いが2mm/h以下では変化が見られないこと、そして凍結装置の管径が40mm以上では管径によらず凍結融解処理の効果に変化のないこと等を明らかにしてきた。

そこで今回は汚泥中の微生物の活性に凍結融解処理および凍結速度が及ぼす影響を明らかにすることを試みた。また、凍結継続による変化も調べた。

2. 実験

下水処理場の返送汚泥を採取し、一晚静置沈降して上澄みを取り除き濃縮したものを『未凍結汚泥』とした。円筒容器に入れた上記汚泥を-16.5で凍結(凍結速度:2mm/h, 25mm/h)後、直ちに融解した『凍結汚泥』およびこれを-16.5の冷凍庫内で凍結を継続したものを試料とした。酸素利用速度(OUR)の測定を行い、凍結融解処理の及ぼす影響を調べた。

3. OUR(Oxygen Utilization Rate)

生物活性の指標としては、汚泥中の酸素濃度の減少速度を直接測定し、次式を用いることによって得られる、酸素利用速度を使用した。

$$OUR[\text{mg-O}_2/\text{g-SS}\cdot\text{h}] = \frac{DO}{t} \cdot \frac{1}{MLSS}$$

DO(Dissolved Oxygen Concentration)

= 汚泥中に溶けている酸素濃度

MLSS(Mixed Liquor Suspended Solid Concentration)

= 汚泥中に存在する固形物濃度

Fig.1に汚泥中の微生物に対するエネルギー源の割合を表すTOC/MLSSによるOURの変化のグラフを示した。これよりTOC/MLSSは0.03以上であればOURの値は安定して得られ、試料の特性値とみなすことができると考えられる。よってこれより先の実験はTOC/MLSSを0.03以上に保って行うこととした。

4. 結果及び考察

Fig.2に凍結継続時間によるOURの変化を示した。

まず、未凍結のものと凍結融解処理を施したものを比較すると、凍結融解処理を施したもののOURの値が未凍結より低いことがわかる。

次に凍結継続時間による影響を見てみる。凍結を継続することによって、OURの値はかなり減少することが見てとれる。

また凍結速度による影響は、凍結直後すなわち継続時間0hにおいては緩速凍結の方が大きく減少したが、継続時間24h、7dではその差が小さくなり、継続時間30dになると差はほとんどなくなり同じような値を示した。

これらより、凍結融解処理を施すことで汚泥中の微生物がダメージを受け、活動が衰えるため酸素消費量が減り、OURの値が減少すると考えられる。凍結を継続すると更なる圧縮応力が微生物にかかるために継続時間が長くなるにつれてOURの値は減少していく。

さらに長い期間でこの実験を行うことで減少の限界が見えてくると思われる。

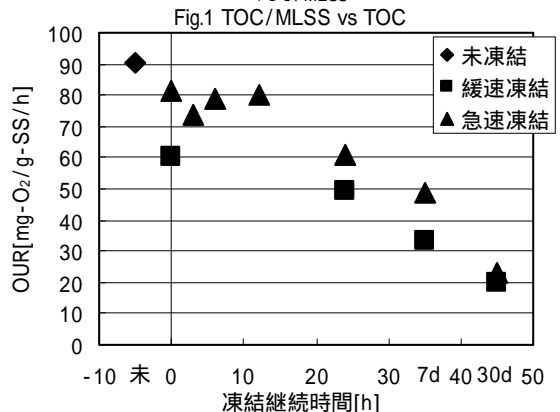
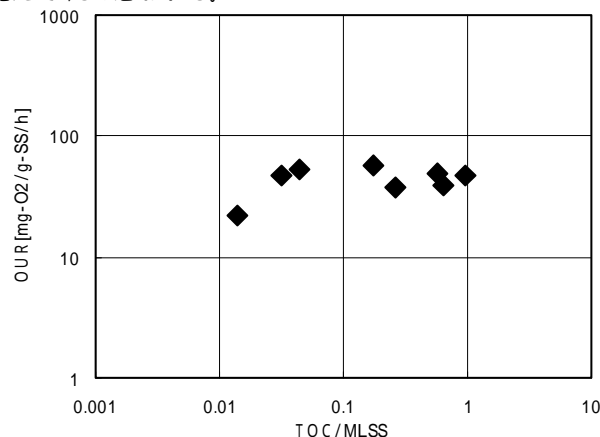


Fig.2 凍結継続時間 vs OUR

環境に優しい冷房 吸収冷凍機の開発研究
(化学工学) 野田康司・川崎健二・松田 晃

1.緒言 現在最も広く普及している圧縮冷凍機にはフロンを使用しているためオゾン層破壊という問題を抱えている。また圧縮冷凍機は電気で動くので、電力需要のピークが夏の昼間に生じるようになっている。そこで非フロン・非電力駆動の空調システムが必要になっている。吸収冷凍機は水やアンモニアのような自然冷媒を使用しており、ガス・油・蒸気や排熱、太陽熱などで駆動できるため、まさに時勢に合った空調システムといえる。特にガスコージェネレーション(熱電併給)の排熱を利用すれば総合効率も極めて高く、最も合理的な使い方となる。

2.研究目的 従来の吸収冷凍機の吸収器として水平管式装置が広く用いられており、低温再生器としても使用されることもある。また垂直平板式装置は熱・物質移動特性が優れており、単位体積あたりの表面積も大きくできる利点も持っている。ここでは、水平管式装置の再生・吸収の性能と、垂直平板式装置の性能の比較・検討を行う。また、再生器の加熱水温度、吸収器の冷却水温度の影響についても調べる。

3.実験 実験装置を Fig.1 に示す。サンドブラストして表面の濡れ性を高めた垂直平板式装置と平滑な水平管式装置で構成されていて、1つを再生器、もう1つを吸収器として使用している。減圧した装置内で約57mass%のLiBr水溶液を循環させ、再生器で濃縮したLiBr水溶液を吸収器に送り、再生器で発生した水蒸気を吸収させる循環式で実験を行った。再生器に流す加熱水温度と、吸収器に流す冷却水温度を Table 1 のように設定し、定常状態に達した後に再生器、吸収器の入口でのLiBr水溶液の濃度、温度、流量と、加熱・冷却水の入口・出口での温度、流量及び系内圧力を測定した。

4.結果および考察 Fig.2 に垂直平板式装置におけるLiBr水溶液の流下液膜熱伝達係数 h_L と単位幅あたりのLiBr水溶液流量 $[\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}]$ の関係を示す。流量が大きくなるにつれ h_L は少し増加している。また垂直平板を吸収器として用いた場合の方が再生器として用いた場合よりも h_L の値は大きくなっていて、両方ともに循環水温度が高い方が値は大きくなっている。

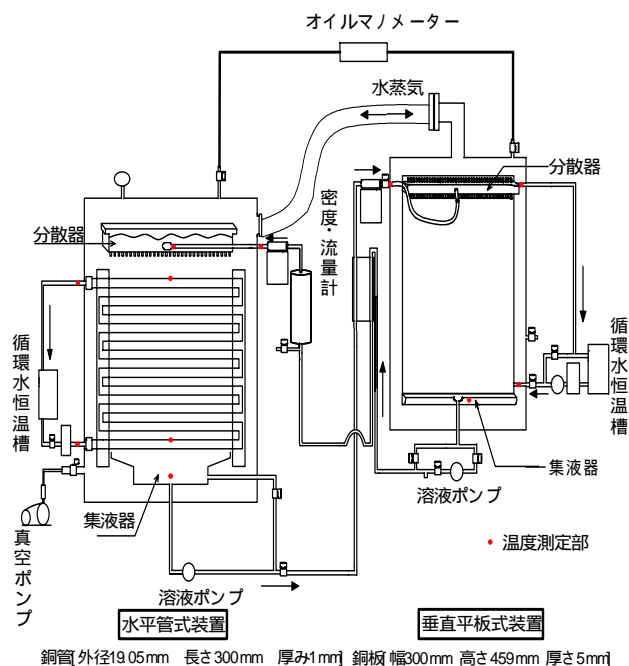


Fig.1 実験装置図

Table.1 垂直平板式装置の実験条件

吸収器 (冷却水温度)	(21)	(27)	(33)
再生器 (加熱水温度)	(47)	(53)	(59)

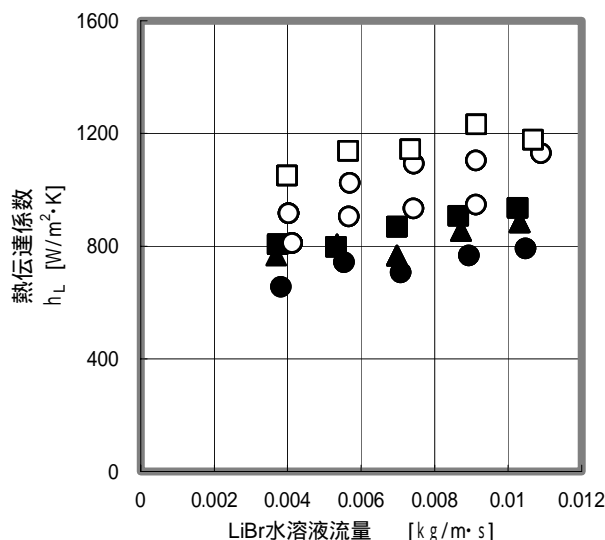


Fig.2 垂直平板式装置における熱伝達係数 h_L とLiBr水溶液流量の関係

超音波照射による液中不純物の凍結濃縮分離

(化学工学) 山村昌弘・川崎健二・松田晃

1. 緒言

溶質や懸濁固形物を含んだ水を端から凍結すると凍結部に純粋な氷が成長し、溶質などは未凍結部に押し出され、濃縮、分離することができる。この原理を利用したのが本研究で行っている凍結濃縮分離法である。(Fig.1 参照)

凍結濃縮分離法のメリットには次のようなものがある。

・溶質成分の変質を防ぐ

低温で操作され、しかも気液界面を少なくできるため、微生物汚染、溶質の劣化、揮発芳香成分の散逸を極めて低いレベルに抑えられる。

・加熱濃縮分離法に比べてエネルギー的に有利

蒸発熱：2257kJ・kg⁻¹ 凝固熱：334kJ・kg⁻¹

凍結濃縮分離法を実用化するには、処理量を多くとる必要があるため凍結速度を速くする必要はあるが、この場合、氷界面の凹の部分に溶質が入ったまま凍結が進行して濃縮分離効率が低下してしまう。しかし、凍結界面付近を激しく乱しながら凍結すると凍結界面は滑らかな形状で成長し、溶質が液全体に拡散され凍結界面付近の濃度を低く保てることできるため、濃縮分離効率が增加する。凍結界面を乱す方法として、プロペラを用いる方法が一般的であるが、本研究では洗浄が容易で汚染が生じにくい超音波照射法を採用した。この方法は振動子を液に浸すだけで簡単に凍結界面付近の液を攪拌でき、凍結濃縮分離法の適用範囲を広げることができると考えられる。

2. 実験方法

実験装置図を Fig.2 に示す。約0 の試料を作成し、ステンレス製凍結管 2 本 (照射用 1 本) に 500mL ずつ入れ、照射機を照射距離一定に保てるように設置し、超音波照射をしながら冷媒中に所定速度で降下させて凍結する。凍結速度としては 20~120mm/h に変化させた。所定時間後に冷媒から取り出した試料は、凍結部と未凍結部に分離し、それぞれの濃度と体積を測定し、高さ方向の濃度分布も調べた。(照射距離は照射器先端から凍結界面の間の距離)

3. 結果

今回の実験は 3 成分混合溶液 0.01mol/L (塩化ナトリウム、フェニルアラニン、スクロース) を使用しており、Fig.3 は凍結速度を変えて行った実験の分配係数 vs 凍結距離 (3 成分中の NaCl) のグラフである。分配係数とは凍結部の濃度とそれに対応する未凍結部濃度の比を示し、小さいほど良く濃縮分離されていることを表す。未照射については分配係数が 1 付近に分布しているため、凍結速度に関わらず濃縮分離はほとんどされていない。一方、照射では凍結速度が遅いほうが濃縮分離効率は良いが、本実験装置の場合 40mm/h 程度以下であれば十分良好な濃縮分離を行うことができることが分かった。

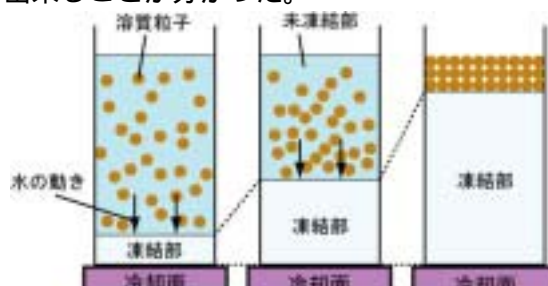


Fig.1 凍結濃縮分離法のメカニズム

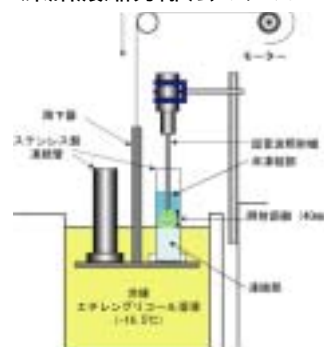


Fig.2 実験装置

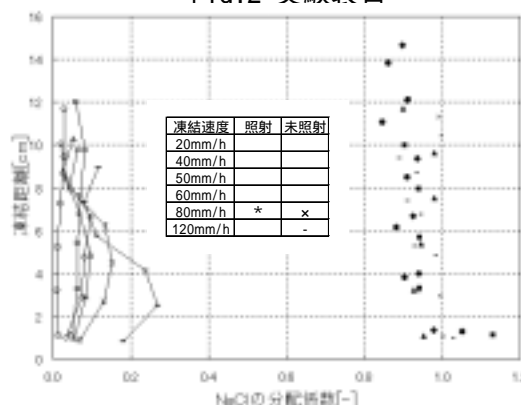


Fig.3 分配係数 vs 凍結距離 (3 成分中の NaCl)

中空糸膜を用いた微生物による排水処理システムの研究 ~ 膜のろ過特性について ~

(化学工学) 吉岡 純・川崎健二・松田 晃

1. 緒言 現在、我が国で広く用いられている排水処理方法である活性汚泥法は、懸濁固形物の除去、排水中有機物の微生物（活性汚泥）による除去を経た後、活性汚泥を重力沈降によって沈殿槽で分離し、上澄み液を処理水として放流している。浸漬型膜分離活性汚泥法は、重力沈降による活性汚泥と処理水の分離を膜ろ過で行う。分離膜を生物反応槽である曝気槽に直接浸漬して処理水を吸引濾過するため沈殿槽が不要となり、生物反応槽の微生物の濃度を高濃度に保てることから、装置のコンパクト化が可能となる。又、活性汚泥の沈降性に左右されずに安定して清澄な処理水を得ることができるため、従来の活性汚泥法に代わる処理システムとして期待されている。しかし、生物代謝に伴い産出される高分子代謝産物や生物によって分解されない溶解性物質が膜の細孔内に付着すると目詰まりが生ずることから、処理の経過とともに膜に流れる水量(水透過流束)が低下する問題がある。

本研究では、浸漬型膜分離活性汚泥法を用いた家庭用排水処理のための膜処理試験を実施し、装置立ち上げから継続的に長期安定運転を行うためにはどのような条件での運転がふさわしいかを検討するために、各条件での膜の各ろ過抵抗より考察を行った。

2. 実験 浸漬型膜分離活性汚泥法装置図をFig.1に示す。処理試験は有効容量20LのPVC樹脂製円筒槽に所定微生物濃度の活性汚泥を加え、同量のグルコースとペプトンを基質とする合成排水を用いて行った。

処理水は、三菱レイヨン(株)の精密ろ過中空糸膜モジュール(膜面積0.4m²、公称孔径0.1μm)を活性汚泥混合液に浸漬し、6分吸引4分停止の間欠吸引によって得た。吸引ろ過の膜の水透過流束を20L/m²・hに設定した。膜透過流束を一定の状態では吸引を行っているため、膜に目詰まりが生じると吸引圧が高くなり安定した処理ができなくなる。槽底部に取り付けた多孔質のディフューザーより、16L/minの風量で空気を供給し、活性汚泥に対しての酸素供給だけでなく、中空糸膜表面への活性汚泥の付着を防止する役目も果たしている。

膜の水透過流束測定試験は、蒸留水を満たした水槽に膜モジュールを浸漬し、蒸留水を吸引ろ過させ、各吸引圧力における単位時間あたりの透過流量を測定し、水透過流束および水透過係数を求めた。測定対象の膜モジュールは、膜処理装置内での活性汚泥の吸引ろ過によって汚泥が付着したものと、水洗浄によって付着汚泥を剥離したものである。膜モジュールの全濾過抵抗(R_t)は、新膜の抵抗(R_m)と膜細孔への各種物質の付着による膜目詰まり抵抗(R_{cl})と膜表面に付着している汚泥(ケーキ)の抵抗(R_c)の直列のつながりで表すことにする。(R_t=R_m+R_{cl}+R_c)

3. 実験結果および考察

Fig.2に吸引圧の経日変化を示す。汚泥滞留時間10,120日は実験開始から吸引圧は上昇している。500日(汚泥の抜き取りを行わない)は横ばいあるいは緩やかに上昇し長期の安定した操作ができた。

Fig.3にRUN1,3の各濾過抵抗の経日変化を示す。RUN1は反応槽内に溶存TOC、すなわち高分子代謝物

などが蓄積したためR_{cl}が35日目の測定で急激に上昇し、R_cも大きな割合を占めている。RUN3はR_cは小さくR_{cl}の上昇は緩やかで低い値で安定している。

以上より、汚泥滞留時間が短いと槽内汚泥の性状が安定せず吸引圧が上昇すると考えられる。逆に汚泥滞留時間が長くBOD容積負荷が低いと吸引圧の上昇は小さい。抜き取りを行い長期安定運転ができる条件を検討していくのが今後の課題である。

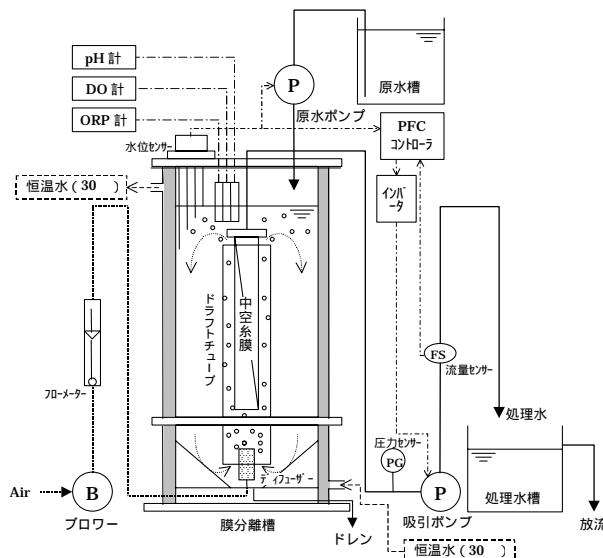


Fig.1 実験装置図

	RUN1	RUN2	RUN3
BOD容積負荷 [kg/m ³ ・d]	1.3	0.5	0.5
汚泥滞留時間[d]	10	120	500
Key			

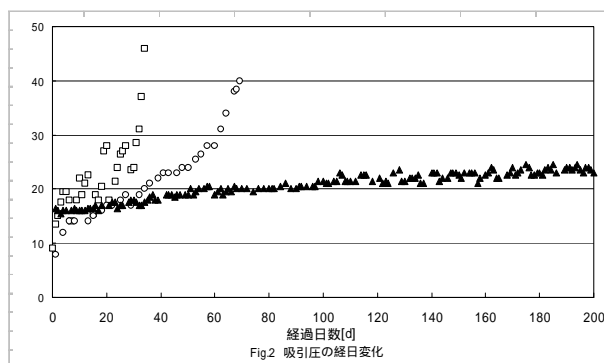


Fig.2 吸引圧の経日変化

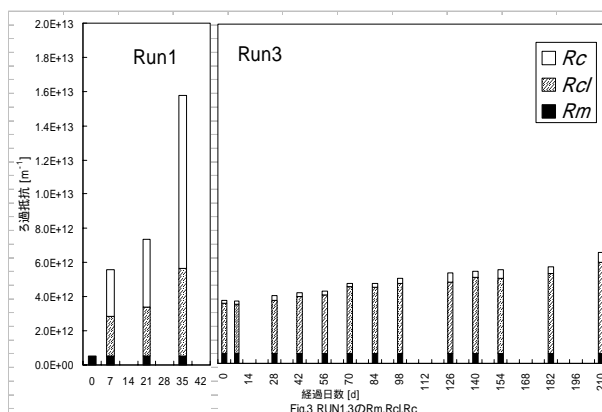


Fig.3 RUN1,3のR_m,R_{cl},R_c

余剰活性汚泥中の各種固形物が中空糸精密濾過膜に及ぼす影響

(化学工学)吉川徹太郎、川崎健二、松田晃

1. 緒言

膜分離を用いた排水処理システムは水中に含まれる微粒子・細菌等の非溶解性物質及び高分子量の溶解性物質を高度に分離でき、消費エネルギーが小さい等の利点があるので、今後の利用と拡大が期待されている。その一つとして浸漬型膜分離活性汚泥法がある。この方法は、高い汚泥濃度での処理が可能であり、装置をコンパクトにできる。また、汚泥の沈降性に左右されずに良好な処理水が得られるなどの利点がある。しかしながら、濾過の経過に伴い膜の細孔が目詰まりを起こしたり、膜の表面上に汚泥が付着して、膜の透過性能が低下するという問題点がある。

よって本研究では膜分離の基礎的な知見を得ることを目的とし、実際に水処理に用いられる中空糸精密濾過膜を用いて余剰活性汚泥および遠心分離液またはガラス繊維濾過液を用いた定圧濾過実験を行い、結果を報告する。

2. 実験

2.1 実験試料 松山市中央浄化センターの返送汚泥を冷蔵庫内に一晩静置して、上澄みを除いて調整したものを「活性汚泥」とした。また、遠心沈降分離法(遠心加速度 1600g、2500g)で得た上澄み液「遠心分離液」およびガラス繊維濾過法(公称孔径 $0.1\ \mu\text{m}$ のガラス繊維濾過膜で濾過)で懸濁固形物を除いた濾液「ガラス繊維濾液」を実験試料として用いた。Table1 に各試料の懸濁固形物濃度をガラス繊維濾過法で求めた結果を示している。

2.2 実験方法 ポリエチレン製、孔径 $0.1\ \mu\text{m}$ の中空糸精密濾過膜を有効濾過長さ:10cm にして 10 本束ねて作製した膜モジュールを使用した。この膜モジュールを Fig.1 に示すように装置にセットして恒温槽を 30 一定のもと、アスピレーターで吸引圧力 34.7kPa で吸引し、100 分間定圧濾過実験を行い、メスシリンダーに透過する濾液量の経時変化(透過流束 J_v)を測定した。

3. 結果と考察

Fig.2 にそれぞれの試料の濾過時における濾過抵抗の値を示す。ここで R_t は全濾過、 R_c はケーキ、 R_m は膜自身、 R_{cl} は目詰まりの抵抗を表している。また濾過抵抗値は、測

定した J_v から $R_t=R_m+R_c+R_{cl}= P/\mu \cdot J_v$ の関係を用いて算出する。 P は吸引圧、 μ は溶液の粘度を表している。Table1 と Fig.2 を見ると定圧濾過時に懸濁固形物の濃度が減少すると R_t と R_c も減少している。しかし懸濁固形物濃度がゼロのガラス繊維濾過液の R_c はかなり大きい。これは懸濁固形物以外(高分子物質やコロイドなど)のゲル状のケーキが濾過時に生成したためにこのような結果になったと考えられる。

Table1 試料の性状

	懸濁固形物濃度[mg/L]
活性汚泥	7497
1600g 遠心分離液	33.3
2500g 遠心分離液	21.1
ガラス繊維濾液	0

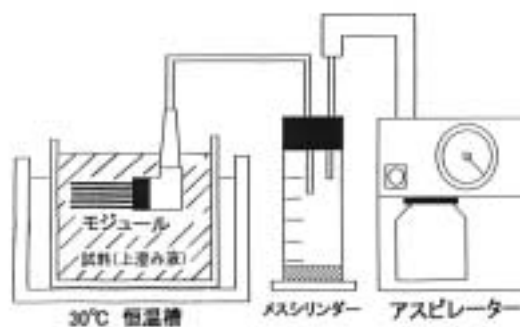


Fig.1 実験装置図

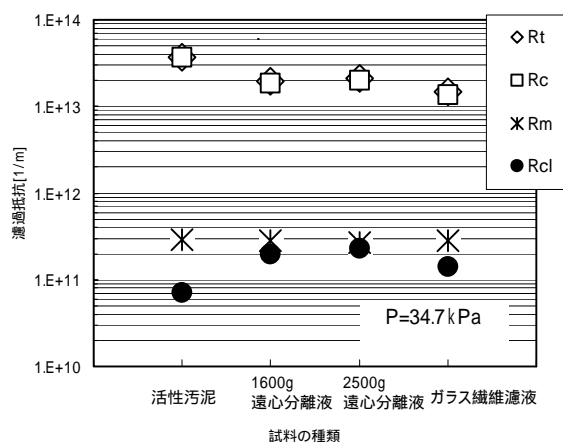


Fig.2 各試料の濾過抵抗

HClおよびNO₂ガス検知のための水晶振動子型ガスセンサの開発

(工業物理化学) 門脇良人・松口正信

【緒言】私達の健康や、地球環境に対して多大な被害をもたらす様々な化学物質に対して、厳しい排出規制が行われている。今後さらに環境問題解決への取り組みを進めていくためには、これらの化学物質による汚染状況を世界規模で広域的かつ恒常的にモニタリングする必要がある。そこで我々は、酸性ガスを簡便にモニタリングするためのセンサの開発について検討を行っている。センサの検知原理としては、高分子膜へのガス吸着による重量変化を水晶振動子の共振周波数変化として検出する、「水晶振動子マイクロバランス法」を用いた。昨年までの研究で、morpholineを有する高分子は、HClやNO₂と不可逆に反応し、この現象を利用すれば不可逆型(蓄積型)簡易ガス検知器への応用の可能性があることを提案している。今回は、この検知膜にさらに架橋構造を導入し、膜中のスペースを増加させることでガス拡散性を向上させ、センサのより高感度化を目指した結果について報告する。

【実験】スチレン(St)とクロロメチルスチレン(CMSt)モノマーの混合物に、さらに3種類の架橋剤[ジビニルベンゼン(DVB)、エチレングリコールジメタクリレート(ED)、トリエチレングリコールジメタクリレート(3ED)]のうちいずれかを任意の量で混合し重合させ、架橋構造を有するコポリマーを合成した。この架橋コポリマーに酸性ガスの吸着サイトとなるmorpholineを導入した。このコポリマーをトルエンに溶解させ、水晶振動子(金電極、基本周波数9MHz)上へスピンコートし、80℃で熱処理したものをセンサ素子として用いた。作製した素子を測定装置にセットし、HClまたはNO₂ガスセンサとしての特性を調べた。

【結果・考察】作製したセンサのHClガス検知特性を調べた結果をFig.1に示す。未架橋のもの比べると、架橋コポリマーを用いたものの方が、期待通りHCl導入後の共振周波数変化は大きくなった。また、今回作製したコポリマーの中では、鎖長の短いDVBやEDを架橋剤として用いたものの方が、鎖長の長い3EDを用いたものより大きな共振周波数変化を示した。Fig.2は、DVBを架橋剤として用いたときのセンサ感度の膜厚依存性を示している。ここでセンサ感度 $f(1h)$ は、ガス導入1時間後の共振周波数変化量と定義した。矢印で示した膜厚までは感度は単調に増加しており、HClガスが膜内部まで吸着していることが示唆される。コポリマー中のCMStの組成を一定にし、DVBの導入量を増加させると [() ()]、DVBを1wt.%導入した場合はほとんど影響は見られなかったが、5wt.%導入するとより膜内部までHClガスの吸着が起こるようになり、これによって感度が増加した。次に、コポリマー中のDVBの組成を一定にし、CMStの導入量を増加させると [() ()] ガスの拡散する深さにはほとんど影響はないものの、センサ感度はかなり大きくなった。この場合は単純に、吸着サイトであるmorpholineの量が増加したために感度が大きくなったと言える。ED、3EDを架橋剤として用いたときも同様の結果が得られた。一方、NO₂ガスの検知感度に対しては架橋効果はほとんど見られなかった。これは、NO₂は常温では主に二量体を形成しており分子サイズがHClよりもかなり大きいため、スペース増加によるガス拡散性の向上の効果がみられなかったためと思われる。

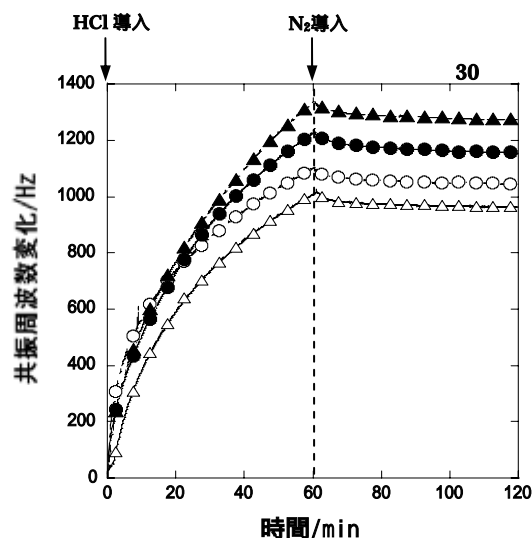


Fig.1 モルホリンを導入したコポリマーを用いたセンサの100ppmHClガスに対する応答特性
) CMSt-DVB(20-5%)) CMSt-3ED(17.4-9.6%)
) CMSt-ED(17.5-5.8%)) CMSt(20%)

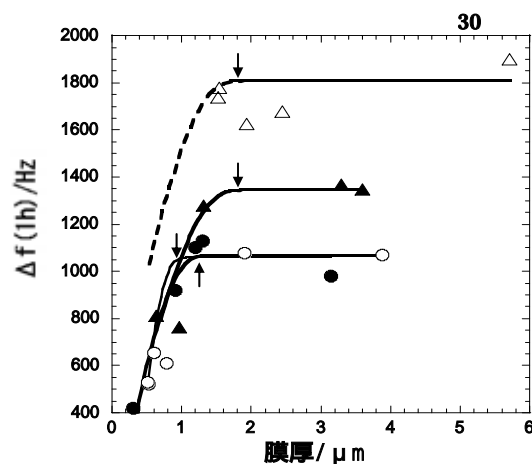


Fig.2 モルホリンを導入したコポリマーの100ppmHClに対する $f(1h)$ と膜厚の関係
) CMSt-DVB(20-5%)) CMSt(20%)
) CMSt-DVB(20-1%)) CMSt-DVB(40-5%)

導電性高分子膜の電気伝導度に対する酸素の影響

(工業物理化学) ○ 田中友梨・松口正信

1. 緒言: 導電性高分子は、高分子主鎖に共役系が高度に発達した高分子であり、多量の動きやすい π 電子が存在している。これらに酸化剤や還元剤を添加(ドーピング)すると、高分子は電荷移動を起こし電気伝導度を発現する。この電気伝導度の変化は、その電子状態に影響を及ぼす様々なガスとの相互作用によっても起こるため、この性質を利用したガスセンサへの応用が可能となる。そこで本研究では、導電性高分子として数多く研究されているポリアニリン(PANI)及びポリピロール(PPy)を検知材料に用いて、その電気伝導度に及ぼす酸素の影響について調べ、常温作動型酸素センサとしての応用の可能性について検討を行なった。

2. 実験: HCl, DBSA, DiOHPをドーピングしたPANI及びFeCl₃, NSAをドーピングしたPPyを、それぞれ低温化学酸化重合により合成した。いずれも溶媒にはほとんど不溶であったため分散溶液を、櫛型金電極を焼き付けたアルミナ基板上へ塗布し熱処理を行なったものをセンサ素子とした。これらの素子を温度一定に保った測定チャンバー内にセットし、窒素雰囲気中で電気伝導度がほぼ安定した後20% O₂に暴露し、その後再び窒素を流した際の電気伝導度の変化を、エレクトロメーターを用いて測定した。

3. 結果と考察: 図1に、HClドーピングPANI膜の測定温度30°CにでのO₂導入による電気伝導度の変化を示す。20% O₂導入より伝導度は増加し、再びN₂を導入すると、伝導度は減少するという可逆的な変化を示した。ここで酸素に対するセンサ感度を $\log \sigma(O_2) - \log \sigma(N_2)$ と定義し、以下の議論に用いることにする。図2には、今回作製した全てのPANI膜及びPPy膜の20% O₂に対するセンサ感度の測定温度依存性を示す。図1でも述べたようにPANIにおいては、今回の研究で目指している室温付近では正の可逆的な電気伝導度変化を示した。ただし、その感度は非常に小さかった。一方、高温での測定では、負の大きなセンサ感度を示したが、この場合の電気伝導度変化は不可逆で、センサとして利用することは出来ないことが分かった。これらの不可逆変化の原因としては、TGA及びIR測定の結果から酸化などによるPANIの分解反応ではないことは分かっているが、詳細はまだ不明である。一方、PPyを用いた場合は、用いたドーパントの種類や測定温度に関わらず、今回行なった全ての測定において負の不可逆なセンサ感度しか得られなかった。

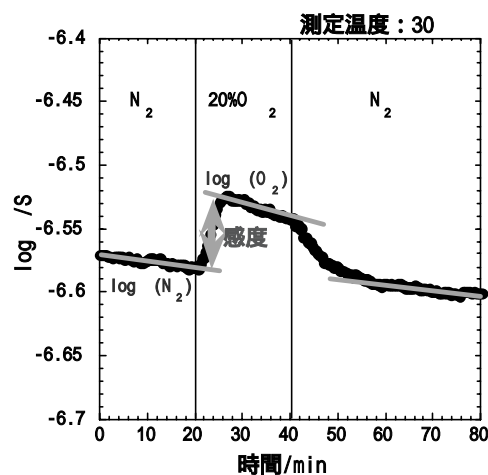


図1 PANI/HCl膜の伝導度変化

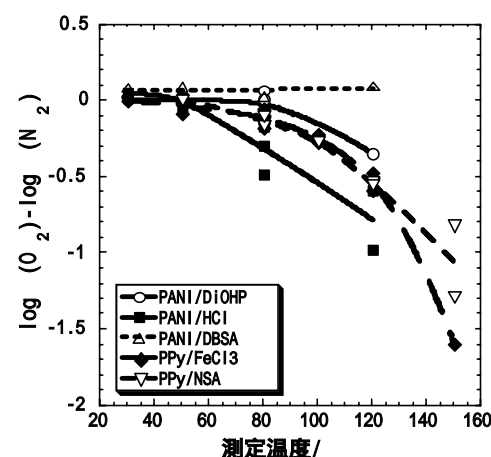


図2 PANI及びPPy膜における感度の温度依存性

tRNA の修飾は polyU-poly(Phe)合成に影響するか？

応用生物化学分野 粟井 貴子

緒言

DNA 情報をもとにしたタンパク質の合成は生命現象の根幹をなす。タンパク質の合成過程（翻訳）における tRNA の役割は、コドン・アンチコドン対合により遺伝子上に暗号化された情報をアミノ酸に対応させることである。

tRNA は様々な修飾塩基を含むという特徴をもつ。これまで、当研究室の曾我部らにより、小麦胚芽の tRNA^{Phe} には、従来知られていたペルオキシワイブトシン 37 の修飾をもつ分子種以外に、ハイドロキシワイブトシン 37 の修飾をもつ分子種も存在することが判っている。これらの修飾塩基は、翻訳系でどのような役割をもつのであろうか？本研究では、修飾塩基の有無やその種類が、アミノアシル化および polyU-poly(Phe) 合成に影響を与えるかどうかを調べることを目的とする。

実験方法

各種修飾の異なる tRNA を調製する目的で、以下の方法を検討している。

- (1) 小麦胚芽より、天然の tRNA^{Phe} を、DE52、BD-cellulose など、各種カラムクロマトグラフィにより、調製する。
- (2) 人工的に合成した遺伝子より、未修飾 tRNA^{Phe} を試験管内転写し、Qae カラムクロマトグラフィにより、調製する。
- (3) 人工的に作成した遺伝子をプラスミドベクターに挿入し、大腸菌内で発現させ、大腸菌型に修飾された tRNA^{Phe} をえる。

一方、Phe-tRNA 合成酵素画分は、小麦胚芽抽出液の 10 万 x g 超遠心上清画分を DE52 カラムクロマトグラフィにより脱核酸して、調製した。また、リボソームおよび翻訳因子群は、小麦胚芽抽出液の 10 万 x g 超遠心の沈殿・上清画分を脱核酸して用いた。さらに、アミノアシル化活性を定量的に分析するために、CCA 末端の修復酵素（tRNA-CTP/ATP 依存性ターミナル・ヌクレオチジル・トランスフェラーゼ）の大腸菌内大量発現系を構築し、現在、精製を行っている。

結果・考察

現在、本研究は進行中であるが、以下の結果を得ている。

(1) 小麦胚芽 100 g より、約 7300 A260unit の低分子 RNA 画分を得た。¹⁴C-Phe 受容活性から、この画分には、0.9% のアミノアシル化活性をもつ tRNA^{Phe} が含まれていることを確認した。¹⁴C-Phe 受容活性を指標とし、DE52 および BD-cellulose カラムクロマトグラフィを行い、37 位に疎水性修飾塩基をもつと思われる tRNA^{Phe} を、88.0 A260unit 精製した。この精製 tRNA^{Phe} 画分は、少なくとも、1A260unit あたり、77000 dpm の ¹⁴C-Phe 受容活性を保持していることを確認した。

(2) 人工合成遺伝子を PCR 反応により増幅し、これを転写鋳型として用い、転写産物（未修飾 tRNA^{Phe}）を、7.3 A260unit 精製した。驚いたことに、この未修飾転写産物は、小麦 Phe-tRNA 合成酵素により、ほとんどアミノアシル化されないことがわかった。この事実は、修飾塩基が小麦 Phe-tRNA 合成酵素の認識に関与する可能性を示唆している。

tRNA(m⁷G46) methyltransferase の結晶化への試み

(応用生物化学) 稲田 賀久

細胞内では、核酸の持つ遺伝情報をタンパク質へと変換するために、転写、翻訳が行われている。この流れは、核酸とタンパク質が相互作用し、非常に複雑にコントロールされている。また、核酸には様々な修飾ヌクレオチドが存在することが知られており、転写、翻訳効率の安定化や核酸の立体構造の維持などに働いていると考えられている。そして、tRNA は L 字型立体構造を形作っているが、これは分子内で多数のヌクレオチド間の相互作用が存在しているからである。なかでも、7-メチルグアノシン (m⁷G) は三塩基対対合を形成し、三次元コア構造の維持に重要であると考えられる。

7-メチルグアノシン (m⁷G) は、tRNA、rRNA および mRNA や snRNA の Cap 構造等にみられる最も普遍的な修飾ヌクレオチドである。また、m⁷G の tRNA や rRNA への修飾は、RNA の分子種、部位特異性の高い別々の酵素によってもたらされることがわかっている。

従来、tRNA (m⁷G46) methyltransferase の酵素活性は大腸菌や高度好熱菌 *Thermus flavus* の部分精製標品についてのみ報告されていたが、いかなる遺伝子産物に由来し、どのような基本認識メカニズムによって修飾がなされるのかなどは不明であった。しかし、2004年3月、当研究室の岡本等によって、当該酵素の同定と基質認識の解明が報告された。超高度好熱菌 *Aquifex aeolicus* は最も初期に分岐した真正細菌で、生命の維持に必要な最小クラスのゲノムを持っている。本菌の機能未知遺伝子(aq065)が tRNA (m⁷G46) methyltransferase 遺伝子であった。

この報告を基にして、我々は tRNA (m⁷G46) methyltransferase の基質認識機構を原子レベルで解明する事を目的とし、X線結晶構造解析に着手した。これまでの精製法では、イオン交換樹脂に酵素を結合させることが難しく、他のタンパク質と分離することが困難であった。そのためサンプル量が少なくなり、高濃度で精製できないといった問題点があった。そこで、これらの問題を解決するために緩衝溶液の種類を変え、pHを少し低くするといった工夫により、精製条件の再検討を行っている。

超好熱菌 *Aquifex aeolicus* 由来 tRNA (m^2G26) methyltransferase の発現系の構築

応用生物化学分野 竹原 徹

1. 緒言

RNA 修飾は、タンパク質合成系を正確かつ円滑に動作させるために必須の因子である。それでは、原始地球上に最初に誕生した生命は、どのようなタンパク質合成系をもち、いかにしてそれを制御していたのであろうか？このような観点から、我々は超好熱菌 *Aquifex aeolicus* に着目した。16S rRNA 遺伝子配列の解析にもとづく、この真正細菌はもっとも初期に分岐したことが示されている。すなわち、本菌の RNA 修飾酵素の解析は、地球上で最初に誕生した生命のタンパク質合成系制御システムの解明につながるかもしれない。

当研究室の武田らにより、本菌は真正細菌に属するにも関わらず、tRNA (m^2G26) methyltransferase 遺伝子 (*trm1*) を保持していることが確認された。*trm1* 遺伝子は、従来、真核生物と古細菌だけに発見されており、真正細菌と古細菌が分岐した後、分子進化したものと考えられてきた。それでは、*Aquifex aeolicus* の *trm1* 遺伝子は、古細菌などから水平伝播したものであろうか？それとも、古細菌と真正細菌が分岐する以前の起源生物に由来するのであろうか？武田らは、*trm1* 遺伝子をグルタチオン-S-トランスフェラーゼとの融合タンパク質として発現・解析したため、本来の高温環境下における実験が困難であった。本研究は、大腸菌での *trm1* 遺伝子大量発現系を構築し、精製酵素によって、その性質の詳細を検討することを目的とする。

2. 実験方法および結果、考察

すでに、当研究室における解析により、*Aquifex aeolicus* の Trm1 は、もとの遺伝子配列のままでは、大腸菌内での発現がきわめて困難であることがわかっている。我々は、この原因は、*Aquifex aeolicus* のコドン使用頻度がきわめて A-T rich であるため、大腸菌のタンパク質合成系に適していないためであろうと予測した。そこで、まず、pET30a ベクターに組み込んだ *trm1* 遺伝子の A297 を T に置換し、アミノ酸配列を変化させることなく、制限酵素サイト (HindIII) を導入した。次に、このベクターの NdeI サイトと導入した HindIII サイト間を合成 DNA で置換し、N 末端領域 99 アミノ酸残基をコードする塩基配列を大腸菌翻訳系に対して、最適化した。現在、この発現ベクター系によって、Trm1 の発現条件を検討している。

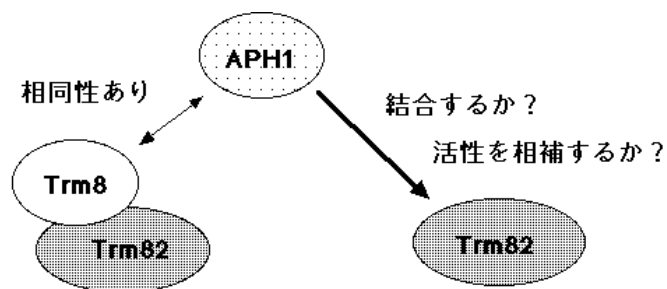
無細胞翻訳系によるウリ類炭ソ病菌 APH1 遺伝子産物の解析

応用生物化学分野 松本 啓介

緒言：ウリ類炭ソ病菌 (*Colletotrichum lagenarium*) は真菌類に属していて、スイカなどのウリ類に感染する病原菌である。感染にともない、カビの菌糸が葉や茎に侵入し、その部分の組織が死んで褐色の斑点になる。京都大学の高野らは、このウリ類炭ソ病菌から感染性をもたない変異株を単離し、その原因遺伝子 APH1 を発見した。

APH1 遺伝子産物は、酵母の tRNA (m^7G46) methyltransferase 遺伝子産物 (Trm8) とアミノ酸配列がよく似ている。事実、当研究室で、ウリ類炭ソ病菌 APH1 遺伝子破壊株の tRNA を解析したところ、tRNA 中に m^7G46 の修飾が欠失していることを確認した。すなわち、APH1 遺伝子は、ウリ類炭ソ病菌 tRNA (m^7G46) methyltransferase のサブユニットをコードしている可能性が高い。

酵母の tRNA (m^7G46) methyltransferase は、二つのサブユニット、Trm8 と Trm82 からなっている。それでは、APH1 遺伝子産物は、Trm82 とヘテロ二量体を形成し、Trm8 の機能を相補するであろうか？本研究では、APH1 遺伝子の機能を明らかにすることを遠望し、まず、酵母サブユニットとの互換性を検討することにした。

酵母 tRNA (m^7G46) methyltransferase

実験方法：まず *trm8*、*trm82*、APH1 の3つの遺伝子に、人工的に His タグ配列を付加し、それぞれ無細胞翻訳系用汎用ベクター-pEU3 に組み込んだ。次に、Trm8、APH1 双方に結合する可能性のある Trm82 に関して、タンパク質合成の最適化を検討することにした。プラスミドを鋳型として、Trm82-mRNA を転写し、*in vitro* バッチ合成法により、タンパク質合成量の経時変化を追跡した。

結果と考察： ^{14}C -Leu で標識合成された Trm82 は、18%SDS-ポリアクリルアミドゲル上で、分子量 50.5 kDa の位置に電気泳動され、目的どおりの大きさのタンパク質が合成されていることが確認できた。また、合成量の経時変化を追跡したところ、この実験条件下で 45 分間、一次関数的に合成が継続することが確認された。今後は、この実験結果をもとに、順次、Trm8、APH のタンパク質合成をおこない、各々の生産量を最適化し、サブユニット会合の詳細について検討を加えていきたい。

ホウケイ酸ガラスの構造とガラス転移点との関係 -NMR と DTG による検証-

(分離分析化学) ○相本 恭正・山下 浩・前川 尚

【諸言】 Na_2O や K_2O のようなアルカリ金属酸化物を含有するガラスはアルカリガラスと呼ばれ、板ガラスを始め、様々な分野で使用されている。また、アルカリ金属酸化物を含まず、 CaO のようなアルカリ土類金属酸化物を含有するガラスは無アルカリガラスと呼ばれ、液晶ディスプレイ用ガラスがその代表的なものである。本研究室ではこれまで、単一のアルカリ、アルカリ土類金属酸化物を含む系について、ガラス中に $\text{SiO}_2, \text{Al}_2\text{O}_3, \text{B}_2\text{O}_3$ という網目を形成する酸化物が共存するときのアルカリ、アルカリ土類金属酸化物との反応の優先順位について調べてきた。それはまず Al_2O_3 と優先的に反応し、その後は、電気陰性度の小さいものほど B_2O_3 と反応するというものだった。

本研究では電気陰性度が小さく B_2O_3 との反応性が高いアルカリ金属と電気陰性度が大きく SiO_2 との反応性が高いアルカリ土類金属酸化物を含むホウケイ酸塩ガラスについてその組成を変化させたときその構造がどのように変化するかを、 ^{11}B MAS-NMR 測定を行うことで比較検討し、また示差熱分析(TG-DTA)装置を用いガラス転移点(T_g)を測定してホウ素の配位との関係を比較検討した。

【実験方法】測定試料として炭酸カルシウム(CaCO_3)、アルカリ金属酸化物(K_2CO_3 or Na_2CO_3)、ホウ酸(H_3BO_3)、二酸化ケイ素(SiO_2)を所定のガラス組成 $r\text{M}_2\text{O}-(0.139-r)\text{CaO}-0.188\text{B}_2\text{O}_3-0.673\text{SiO}_2$ ($\text{M}=\text{Na}, \text{K}$) ($r=0.139, 0.119, 0.099, 0.079, 0.059, 0.039$)になるように調整したバッチをアセトン中で混合、均一化し、アセトンを蒸発させてから、白金るつぼを用いて電気炉中約 1200°C で熔融後、急冷し、ガラスを作成した。作成したガラスを粉砕し、粉末化したものを ^{11}B NMR 測定試料、示差熱分析試料とし測定を行った。

【結果と考察】Fig.1 に $r\text{K}_2\text{O}-(0.139-r)\text{CaO}-0.188\text{B}_2\text{O}_3-0.673\text{SiO}_2$ ガラスの ^{11}B MAS-NMR 測定の結果を示す。ホウ素は平面構造の3配位ホウ素 $\text{B}(\text{Q}3)$ を基本構造としているが、近くに Na^+ や K^+ のような網目修飾イオンが存在する事で正四面体構造の4配位ホウ素 $\text{B}(\text{Q}4)$ として存在するため Na や K などのアルカリ金属酸化物の増加に伴って $\text{B}(\text{Q}4)$ も増加したものと考えられる。

Fig.2 にアルカリ金属酸化物の含有量と4配位ホウ素 $\text{B}(\text{Q}4)$ 存在割合との関係を示す。r一定の場合 Na より K の方が $\text{B}(\text{Q}4)$ の割合が大きい。これは K が Na より電気陰性度が低いことにより B_2O_3 と優先的に働いたためではないかと思われる。Fig.3 に $r\text{K}_2\text{O}-(0.139-r)\text{CaO}-0.188\text{B}_2\text{O}_3-0.673\text{SiO}_2$ ガラスの r の変化量とガラス転移点(T_g)の関係を示す。rが増加、つまり $\text{B}(\text{Q}4)$ の割合が増えるとともにガラス

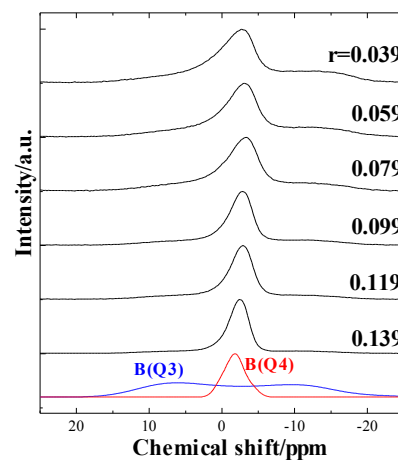


Fig.1 ^{11}B MAS-NMR spectra of $r\text{K}_2\text{O}-(0.139-r)\text{CaO}-0.188\text{B}_2\text{O}_3-0.673\text{SiO}_2$

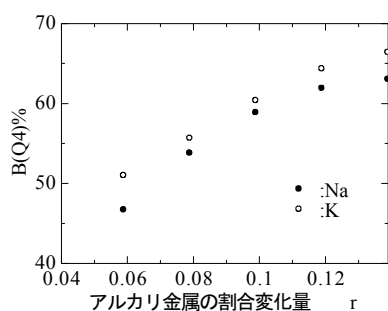


Fig.2 アルカリ金属の違いによるホウ素の配位の相違

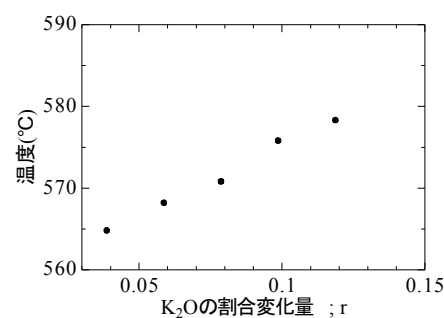


Fig.3 rの変化量とガラス転移点 (T_g)

が増えるとともにガラス転移点(T_g)が上がっている。これは r の増加と共に $\text{B}(\text{Q}4)$ と $\text{Si}(\text{Q}4)$ の割合が増加し、ガラス中により密なネットワークが形成されたためにガラス転移点(T_g)が上がったと思われる。

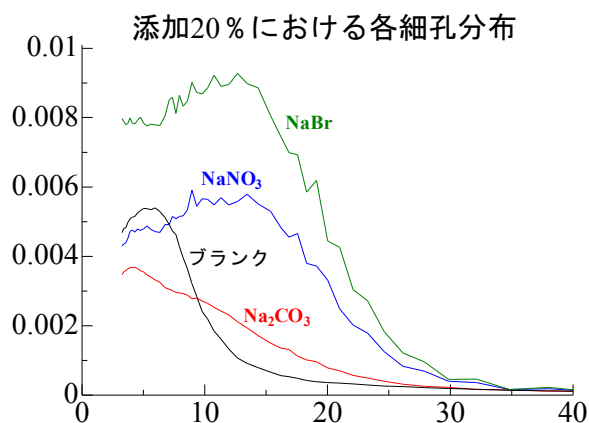
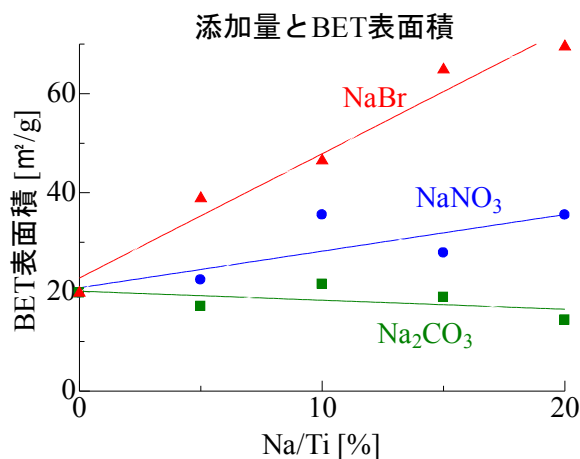
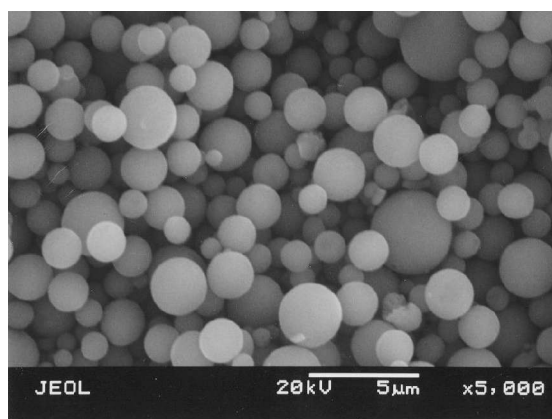
球状多孔質 TiO_2 粒子合成時におけるナトリウム塩の添加効果

分離分析化学 ○梶田享祐・山下浩・前川尚

1. 緒言 近年、酸化チタンは触媒、塗料、顔料、吸着剤、コーティング剤等さまざまな分野に利用され、その用途も拡大している。また、光触媒作用、紫外線吸収能、半導体特性など酸化チタンの持つ基本的性質を活かした新しい機能材料の分野にも展開されている。そんな中、化学工業のみならず、食品、製薬、環境関連等の幅広い産業で利用されている効率のよい分離技術として高速液体クロマトグラフィー (HPLC) があり、その充填剤としても現在もっとも広く利用されているのは粒径、細孔径が整っているシリカゲルである。一般的に HPLC カラムの充填剤は、化学的安定性の維持、高選択性、高物理的強度、高表面積が性能として求められている。しかし、シリカゲルは耐薬品性、特に塩基性領域において溶出してしまおうという問題があり、使用可能な pH 領域も狭くなっている。この問題点を解決する新しい充填材として、チタニアの優れた耐塩基性、物理的強度に着目し本研究室ではシリカゲルに代わる多孔質チタニアの合成を検討してきた。本実験では、チタニア粒子は合成後行う熱処理によって単位粒子間で焼き締りが起こり、より大きな粒子となり細孔が潰れ表面積が大きく下がってしまうので、シリカガラスにおいて Si-O の結合の一部を切る作用のある Na が、チタニアにおいても同様の作用があると考え、これによって焼き締りによる表面積の低下を抑制しようと試みた。

2. 実験 チタンテトライソプロポキシドと溶媒としてメタノール、ジエタノールアミンを加え攪拌しながら、それぞれ臭化ナトリウム、硝酸ナトリウム、炭酸ナトリウムを溶かした水を滴下した。これを出発ゾル溶液として、60℃に保たれた界面活性剤とケロシンで構成される油相に噴出した。これを3時間攪拌し、球状湿潤ゲルを得た。この球状湿潤ゲルをヘキサン、及びアセトンで洗浄し、その後乾燥させ、500℃で12時間熱処理を施した。その後蒸留水で洗浄、乾燥させ球状多孔質 TiO_2 粒子を得た。粒子の性状の評価には SEM、細孔分布計、XRD を用いた。

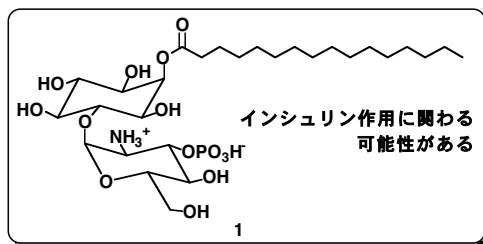
3. 結果・考察 得られた粒子は右図の SEM 写真に示すような球状の粒子となった。ナトリウム塩の添加による比表面積並びに細孔径の変化は、臭化ナトリウム、硝酸ナトリウムでは共に増加したが、炭酸ナトリウムでは合成時の pH の変化により比表面積、細孔径共に減少した。カウンターアニオンによって大きく表面積、細孔径が変わったが、ナトリウム塩の粒子の熱処理による焼き締りを抑制する効果が得られる事が確認された。



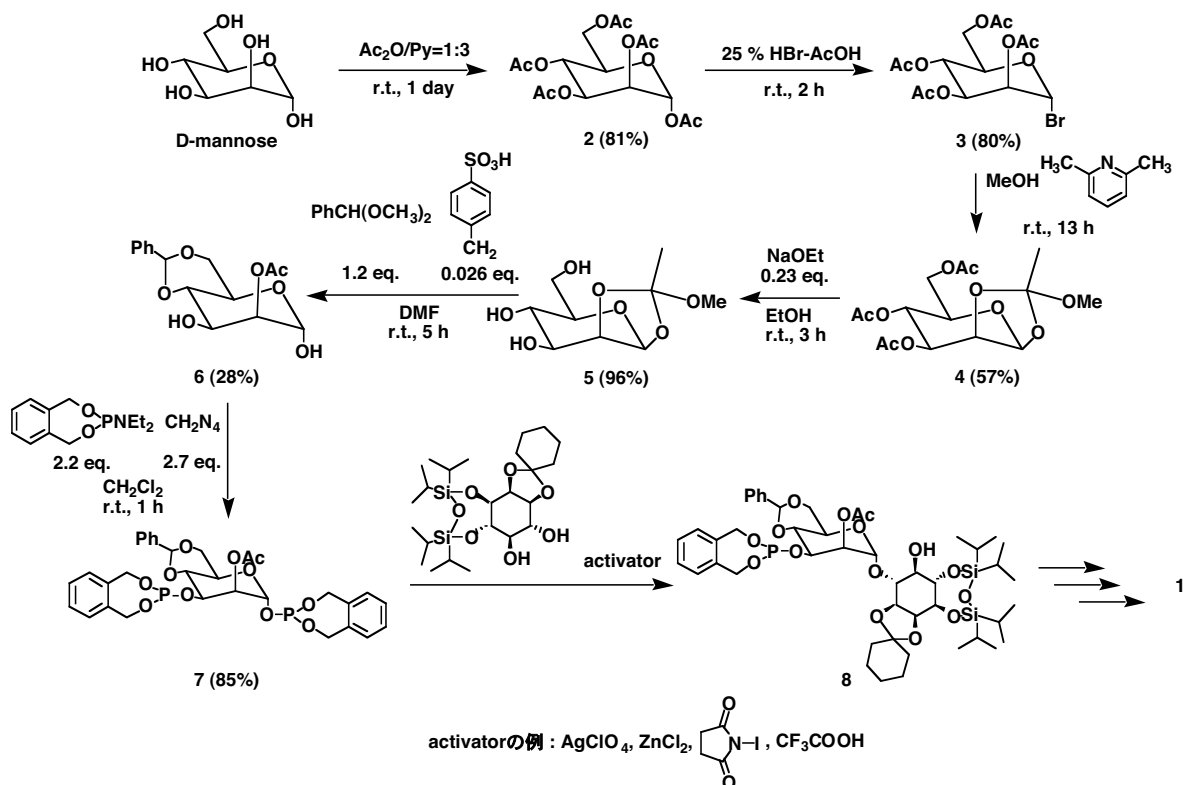
インシュリン作用に関わる可能性のあるイノシトールグリカン類の合成

(反応有機化学) 岩永 隆之

糖質は近年その生理学的意義および疾病との関わりから注目されている。こうした背景から有機化学の分野でも糖質合成に関する研究が活発に展開されている。その中でイノシトールグリカン類はインシュリン作用に関わっていることが示唆され、その絶対構造や機能の詳細を明らかにすることが近年の重要な研究課題となっている。当研究室ではグリコシルホスファイトとルイス酸とを組み合わせた効率的なグリコシル反応を開発をした。これらを駆使してイノシトールグリカン **1** の合成を検討している。



マンノースを出発原料としてまずアセチル化を行い **2** を得た。続いて1位をブロモ化し、その後1位と2位をオルトエステルで保護し **4** を得た。次にアセチル基を脱保護した後、4位と6位をベンジリデンで保護し **6** を得た。さらに1位と3位をリン酸化することによって **7** を得た。今後は次のグリコシル化反応を検討し **8** を得て、イノシトールグリカン類の合成を目指していく。

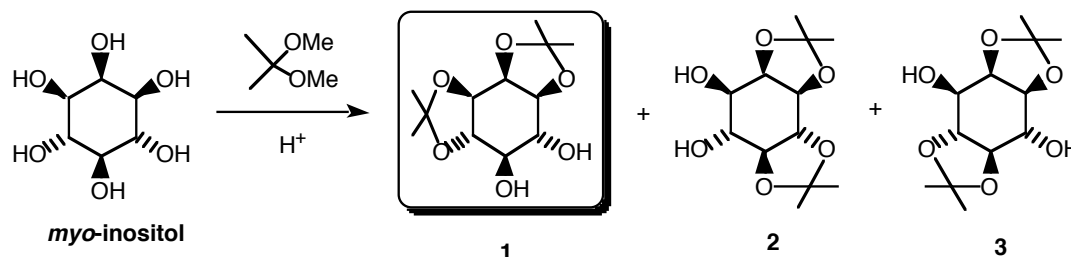


結晶場におけるイノシトールジケタールのケタール交換反応

(反応有機化学) 村上知弘

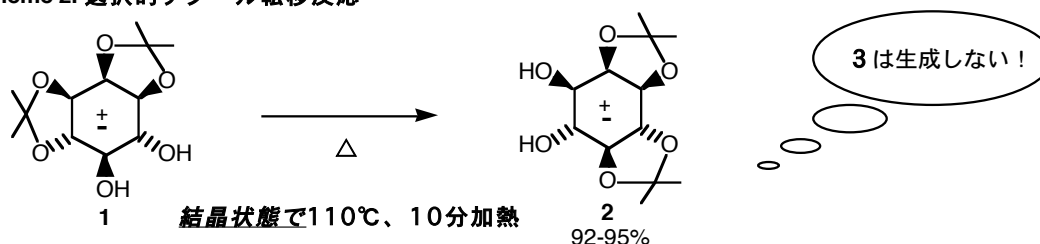
Scheme.1 に示した反応によって得られるミオ-イノシトールのジケタール誘導体は有効な合成中間体として用いられている。しかし、なぜかこれまで1,2:3,4-di-O-isopropylidene-*myo*-inositol (1) は単離されたという報告が限られ、利用されてこなかった。今回私達は初めてこれを結晶として得ることに成功した。そしてその結晶は非常に興味深い性質をもっていることがわかったので、報告する。

Scheme 1. ジケタール合成



得られた結晶 1 の¹H-NMR、Mass スペクトル、元素分析はすべてこの構造を支持した。ところが、融点測定をすると、融点が測定ごとに異なるという結果が得られた。(obsbd. 137°C、145°C、149°C、155 °C) そして、融点測定後の¹H-NMR をみると、原料 1 の他に 1,2:5,6-di-O-isopropylidene-*myo*-inositol (2) が生成していることが分かった。このことから、融点測定時の加熱の仕方によってにより 2 の生成比が変わることで一定の融点を与えなかったと考えた。

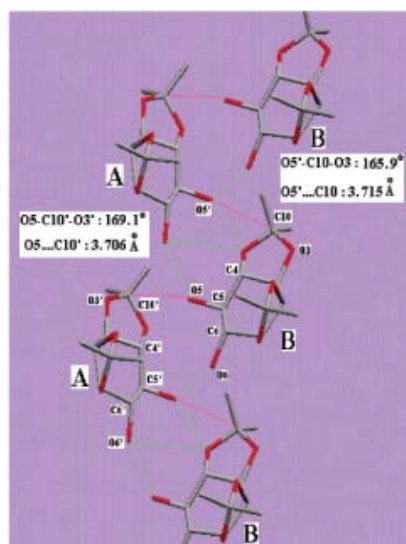
Scheme 2. 選択的ケタール転移反応



そこでジケタール合成で得られたラセミ体 1 を結晶状態を保ったまま 110°C で 10 分加熱したところ、全て転移が起こり 2 が 92-95% で得られ、もうひとつのジケタール体 3 は生成しないことが分かり、この反応が極めて高度に制御されて選択的に転移反応が起こっていることが明らかとなった。

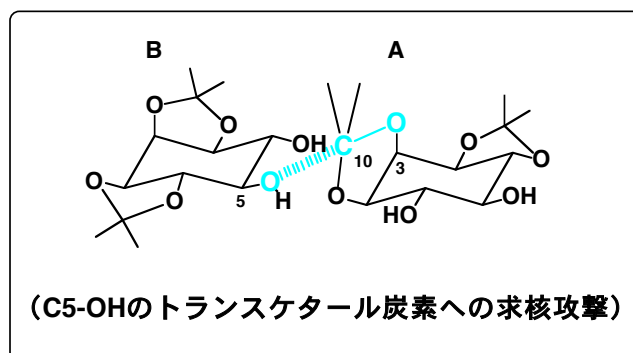
反応機構の解明のため X 線結晶構造解析をおこなったところ、この結晶は図のような構造をしていることがわかった。この構造は隣接する分子同士が求核置換反応の遷移状態に近い状態に位置しあっており、C5-OH のトランスケタール炭素への求核攻撃で始まるケタール交換反応が起こることを示している。

これは結晶場における酸触媒を必要としない初めてのケタール交換反応の発見となった。



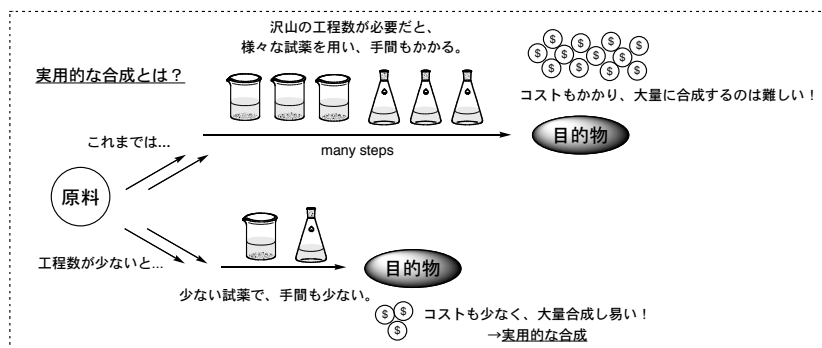
X線結晶構造解析図

結晶中O5がC10の反対に位置し距離も近い



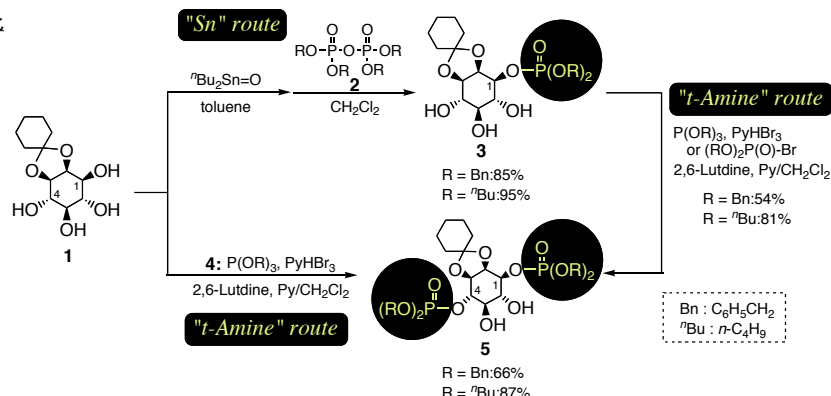
実用的に利用できる簡便なイノシトールリン脂質合成法の開発 (反応有機化学) 兵頭小百合

イノシトールリン酸 (InsP) 、及びイノシトールリン脂質 (PtdIns) は細胞内において重要な役割を担っており、近年多大な注目を集めている。しかし、これらは生体内にはごく微量しか存在しないため、生理機能解明のために化学合成は重要な立場にある。



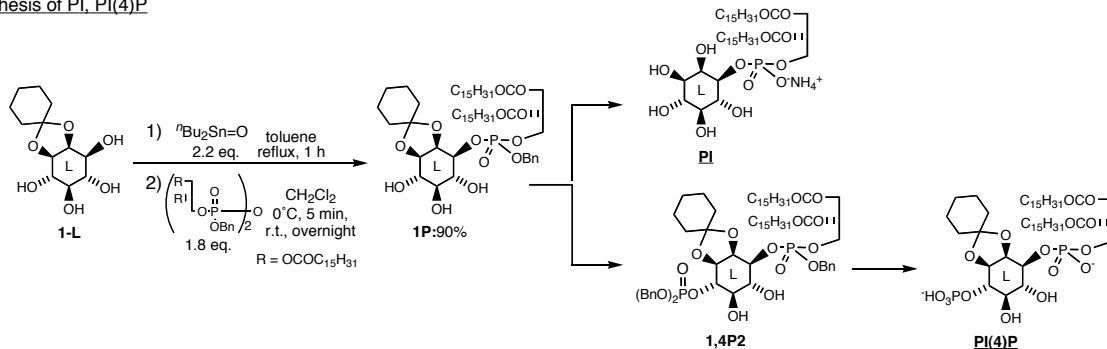
これまではイノシトールリン脂質の合成には長い工程数が必要であった。しかし、実用的な合成を考えた場合、より簡便な合成法の開発が望まれる。その解決策は、保護基を最小限にし選択的反応を駆使することである。この考えに基づき、今回はPI, PI(4)Pの効率的かつ実用的な合成を目指した。その結果、下図に示すような二つの選択的リン酸化手法を見出し、これを利用して目的とするリン脂質類の効率的合成法の開発に成功した。

選択的リン酸化



まず、**1**と $\text{t-Bu}_2\text{SnO}$ を反応させた後、ピロリン酸(2)と反応を行ったところ、高収率かつ選択的に 1 位モノリン酸エステル(3)を得ることに成功した ("Sn" route)。次に、スズ誘導体を用いずピロリン酸よりも反応性の高い臭化物(4)を用いて反応を行ったところ、選択的に 1,4-ジリン酸エステル(5)が得られることが分かった ("t-Amine" route)。また、ピリジニウムトリブロミドと 2,6-ルチジンの存在下トリベンジルホスファイト(4)を反応させると同様に 1,4-ジリン酸エステル(5)が選択的に得られることも分かった。

Synthesis of PI, PI(4)P



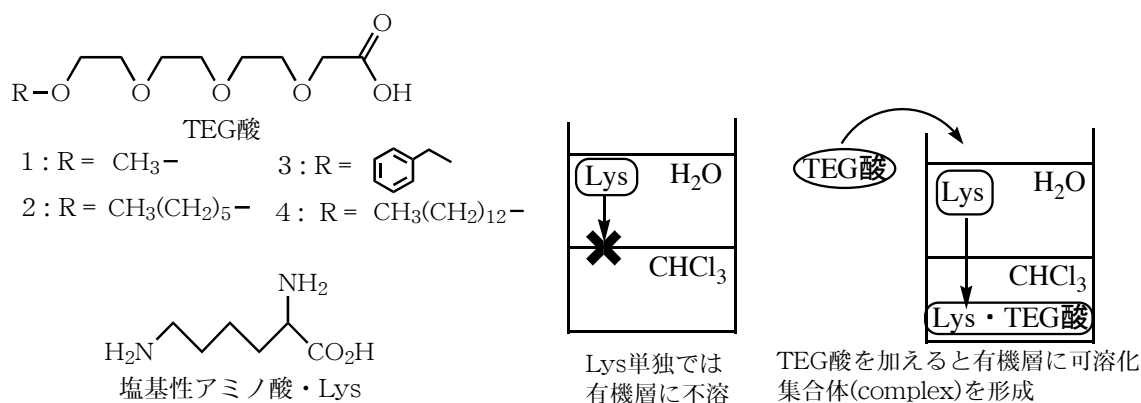
上記で述べた 'Sn' routeを用いて活性な**1-L**の一位に脂質を導入し**1P**を高収率で得た。その後、 H_2 , Pd/Cで脱保護を行い、**PI**を高収率で得ることに成功した。また、**1P**の4位に't-Amine' routeを用いて、**1,4P2**を合成し、その後脱保護を行うことで、**PI(4)P**を得た。以上、選択的リン酸化を使いわけることで、イノシトールリン脂質である**PI, PI(4)P**を簡便に合成することに成功した。

ポリオキシカルボン酸による塩基性アミノ酸の水相から有機相への選択的抽出

(反応有機化学) ○丹 康賢

1. 目的

通常アミノ酸は有機溶媒に不溶であるが逆ミセル法や液膜法、相間移動触媒を用いることによって有機相へ抽出することが出来る。しかし、従来の方法では抽出能力の低さや試薬が高価である等の様々な問題を抱えている。当研究室ではポリオキシカルボン酸(TEG酸)**1**を相間移動触媒として用いることで、塩基性アミノ酸をポリオキシカルボン酸との塩として選択的に有機相に抽出できる事を見出した。しかし、TEG酸**1**では水相から有機相への抽出能力は低い為、本研究ではアミノ酸のさらなる有機相への可溶化や選択性を目的とし、末端構造を変更したポリオキシカルボン酸誘導体**2-4**を合成し、それらと塩基性アミノ酸の塩の脂溶性や水相から有機相への抽出能力について検討を行った。



2. 実験結果

塩基性アミノ酸であるリジン(Lys)の水溶液について当モル量のTEG酸**1**を含むクロロホルム溶液で抽出を行なったところLysが2%有機相に抽出できた(run 1)。同様に化合物**2-4**についても抽出を行なったところ末端の炭素数が増加するに従い抽出能力も増加する傾向にあることが分かった(run 2-4)。また、クロロホルム以外の抽出溶媒を用いた抽出実験の結果より、抽出溶媒を変更することにより高収率で水相中のLysを有機相に抽出できることがわかった(run 5-12)。

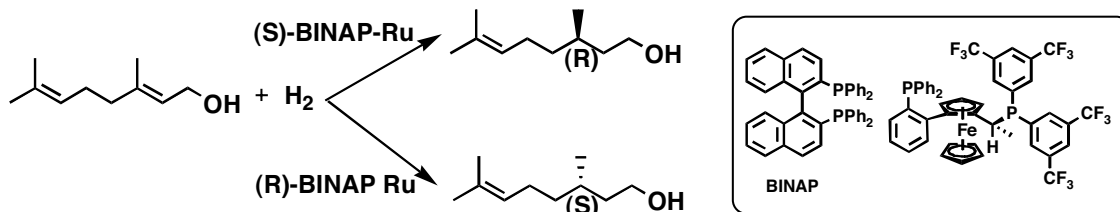
fig1 Lys 抽出実験

run	TEG酸	溶媒	抽出率(%)	run	TEG酸	溶媒	抽出率(%)
1	1	CHCl ₃	2*	7	4	toluene, CH ₃ OH	20
2	2	CHCl ₃	10*	8	4	benzene, CH ₃ OH	7
3	3	CHCl ₃	15*	9	4	toluene, C ₃ H ₇ OH	47
4	4	CHCl ₃ , CH ₃ OH	32	10	4	toluene, C ₄ H ₉ OH	59
5	2	toluene, CH ₃ OH	37	11	4	CHCl ₃ , C ₃ H ₇ OH	62
6	3	toluene, CH ₃ OH	9	12	4	C ₄ H ₉ OH	0

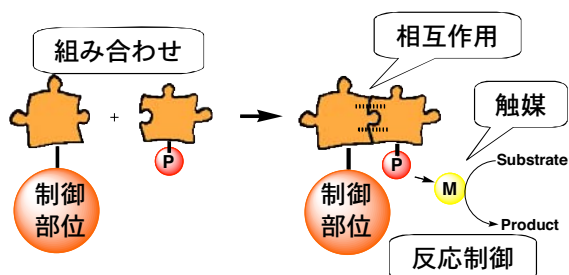
*Lys-TEG酸塩(1:1)粗収率

分子間相互作用を利用する新規リン配位子の開発 (反応有機化学) ○鶴岡 奈美・松浦 豊・林 実・渡辺 裕

近年、金属触媒を用いる反応は有機合成化学において広く利用されている。触媒反応において金属と共に用いられるリン化合物などの配位子は、反応制御において重要な役割を担っており、用いる配位子の種類により触媒の反応性や選択性が変化する例は数多く知られている。このため、高度な反応制御を目的として精密に分子設計された配位子の開発が行われている。例えば、不斉リン配位子を用いる水素添加などはその代表的な例である。

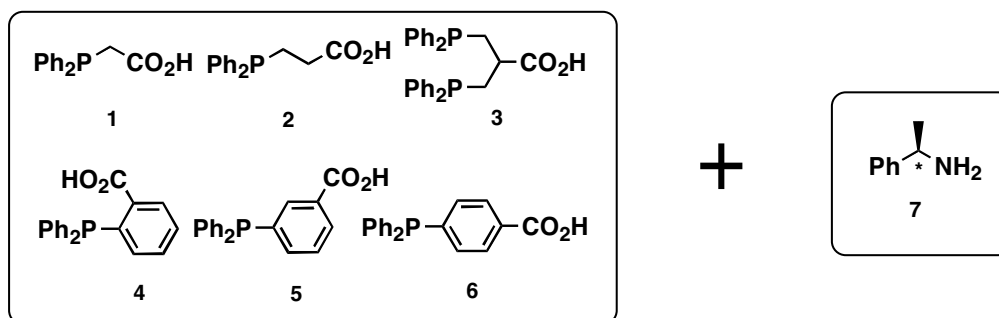


しかしながら、これらの配位子は高度な反応制御の為に構造が複雑なものが多く、その合成や反応に応じた構造最適化は容易ではない。そこで、リン配位子の構造を「金属に配位する部位」と「反応を制御する部位」に分け、それらを組み合わせることによって多様な配位子を簡便に調達できないかと考えた。すなわち、比較的簡単な構造のリン化合物と反応を制御するための部位をもつ化合物を水素結合等の分子間相互作用で集合させ、その構造の配向を利用して触媒反応を制御することを試みた。



本研究ではまず、配位子による触媒反応制御がエナンチオ選択性として現れる不斉触媒反応をモデルとし、アキラルなリン含有カルボン酸とキラルなアミンからなる塩を配位子として用いることにした。

アキラルなリン含有カルボン酸として以下に示す化合物1~6をデザインした。今までに2、4、6の合成を完了しており、キラルなアミン7との塩を収率よく得ている。特に化合物2と7の塩はX線構造解析より、水素結合ネットワークによる螺旋構造をとることでリン原子上の置換基の配向を規制していることを明らかにしており、不斉触媒反応における選択性の発現が期待できる。

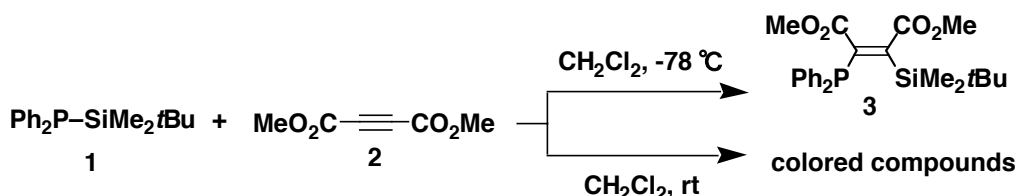


現在、モデル反応としてオレフィンの水素化反応やケトンのヒドロシリル化反応を選び、合成した配位子塩を実際に不斉触媒反応に用いた検討を行っている。

シリルホスフィンとアルキンの多重付加反応

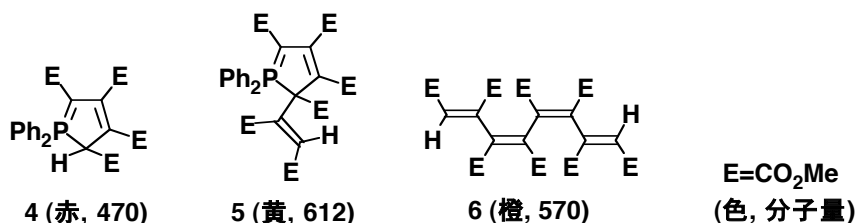
(反応有機化学) ○河村 有香・栗原 勝利・林 実・渡辺 裕

当研究室では、リン-ケイ素結合 (P-Si) を有するシリルホスフィンを用いる合成反応について研究を行っており、これまでにシリルホスフィンとアルキン類の反応により、シリルホスフィン化生成物が収率良く得られることを見出している。この反応の際に、アルキンとしてアセチレンジカルボン酸ジメチル **2** を用いると、低温では付加体 **3** が得られるが、室温では複数の着色生成物が生成することが分かった。質量分析により、ホスフィンに対しアルキン **2** が多重付加したものの混合物が生成していることが判明した。リンを含む共役系分子はその構造・物性共に興味を持たれるため、それぞれの分離・構造決定を試みた。



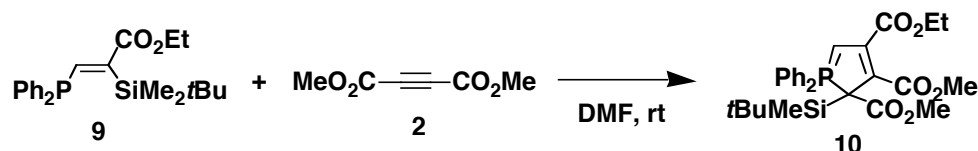
上記の反応生成物を、カラムクロマトグラフィーを用いて分離を繰り返すことにより **3** の他、赤 **4**、黄 **5**、橙 **6**、緑 **7**、青 **8** といった様々な色を有する化合物を分離した。

質量スペクトルから、化合物 **3**、**4**、**5**、**6** はアルキンがそれぞれ 1、2、3、4 分子付加した分子量を持つことが分かった。**4** は ^{13}C -NMR において ^{31}P とのカップリングから、環状リンイリド構造であると予想した。また、**7**、**8** はより共役の拡張された構造をもつと予想されるが、現在のところ詳細な構造は不明である。



一方、低温ではシリルホスフィン化生成物 **3** が収率良く得られる (アルキンが 1 分子付加した状態で反応が止められる) ため、**3** を出発原料とする段階的な反応を試みた。その結果、**3** と **2** を室温で反応させると上と同じ生成物 **4**、**5** が得られ、付加体を経由して段階的に多重付加反応が進行することが分かった。

同様に **9** と **2** の反応により、類似の環状イリド **10** が収率 75% で得られ、異なる 2 種類のアルキンを段階的に付加できることが分かった。

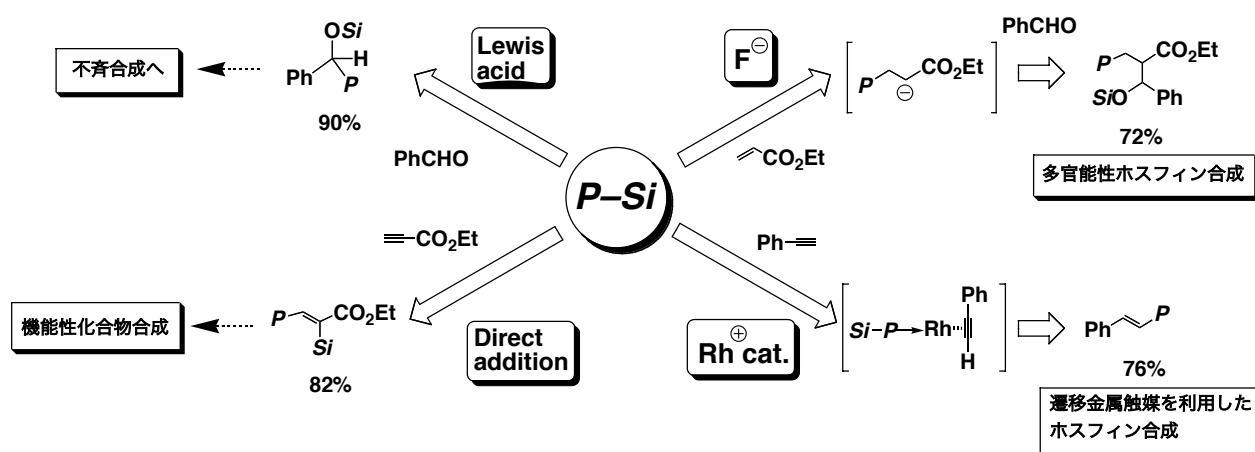


以上のようにシリルホスフィンとアルキンの多重付加反応により、リンを含む共役系化合物が合成できることが分かった。今後構造未知の化合物の構造決定を行うとともに、これらの化合物の選択的合成を検討していく予定である。

シリルホスフィン類を用いた新規合成法の開発

(反応有機化学) ○松浦豊・林 実・渡辺裕

ヘテロ元素間結合を有する化合物は、それぞれの元素の電子的特徴とヘテロ元素間結合の反応性を併せ持つため、それらを活かすことにより多官能性化合物合成への利用が期待できる化合物である。中でも、リン-ケイ素結合を有するシリルホスフィン類は遷移金属触媒反応の配位子等に用いられる有機リン官能基と、多様な変換反応が知られている有機ケイ素官能基を含むにもかかわらず、酸素や湿気に対して不安定であることが多く、一般的な有機リン化合物の合成に用いられることはまれであった。そこで、その反応性を制御しつつ、リン-ケイ素結合の性質を活かした有機リン化合物合成法の開発を目的として研究を行っている。



1. フッ化物イオンを用いたシリルホスフィン類の反応

シリルホスフィン類は電子吸引性の官能基を有するアルキン類との反応により、高収率で付加生成物を与えるが、その他のアルキンやアルケン類との反応は進行しなかった。フッ化物イオンはケイ素に対して高い親和性を示すことが知られているため、シリルホスフィン類に作用させることにより、リン原子の求核性を向上させる効果が期待できる。実際に、フッ化物イオンを用いて、種々の求電子剤との反応を行ったところ、付加反応が収率よく進行することがわかった。

2. 遷移金属錯体を用いたシリルホスフィン類の反応

遷移金属触媒によるヘテロ元素間結合の切断とその利用が活発に研究されているが、リン-ケイ素結合を有するシリルホスフィン類を基質とした触媒反応はあまり知られていない。そこで、様々な遷移金属触媒を用いてシリルホスフィン類の反応を検討した結果、カチオン性ロジウム錯体を触媒として用いることにより、シリルホスフィンがアルキンと位置選択的に反応し、対応するアルケニルホスフィンを収率良く与えることを見出した。

3. ルイス酸触媒を用いたアルデヒドのシリルホスフィン化反応

嵩高いケイ素置換基を有するシリルホスフィンはアルデヒドに対する反応性が低く、そのままではほとんど反応が進行しないが、触媒量のルイス酸の添加により、反応性が著しく高まり、円滑に付加体を与えることを見出した。今後、キラルなルイス酸を用いることにより、触媒的不斉合成への展開も可能であると考えられる。

以上のようにシリルホスフィンは、適切に活性化することにより様々なホスフィン化合物の合成に利用できることを明らかにした。