

中性子連携研究会 要旨集 *-session A & B -*

— 第4回 中性子小角散乱解析法研究会

— 第1回 Neutron in Biology 研究会

平成25年3月13日(水) 10:15 — 15日(金) 16:00

京都大学東京オフィス 会議室 I&II

中性子連携研究会

第4回中性子小角散乱解析法研究会, 第1回 Neutron in Biology 研究会, 第6回 CROSS Road(ダイナミクス解析装置最前線)研究会

プログラム

於: 京都大学東京オフィス会議室1及び2(東京都港区港南2-15-1 品川インターシティA棟27階)

3月13日(1日目)

第4回中性子小角散乱解析法研究会

(Session A)

- 10:15-10:30 研究会(SANS+NBの部分)について
(杉山・京大原子炉)
- 10:30-11:00 界面活性剤の会合体で動く界面のその場観察
--極小ビームを用いた SAXS & SANS
(住野豊・愛知教育大)
- 11:00-11:30 動的核スピン偏極を用いたコントラスト変調 SANS
(能田洋平・JAEA)
- 11:30-13:00 **昼食**
- 13:00-13:30 ラメラ組織を有する鋼の球状化過程における定量的観察
(諸岡 聡・横浜国大)
- 13:30-14:00 量子ビームを用いたポリオレフィンの構造物性研究
(桜井孝至・住友化学)
- 14:00-14:15 休憩
- 14:15-14:45 動き出した理研小型中性子源
(大竹淑恵・竹谷篤 理化学研究所)
- 14:45-15:15 SANS デバイス開発の現状
(古坂道弘・北海道大学)
- 15:15-15:45 J-PARC 中性子小角・広角散乱装置 TAIKAN の現状
(鈴木淳市・CROSS)
- 15:45-16:00 休憩

第1回 「Neutrons in Biology」 研究会

(Session B: 中性子小角散乱解析法研究会との合同 Session)

- 16:00-16:30 蛋白質の構造解析におけるコントラスト変調中性子小角散乱の活用
(藤原悟・JAEA)
- 16:30-17:00 溶液小角散乱による天然変性タンパク質の研究
(小田隆・横市大)

- 17:00-17:30 タンパク質と同等の分子サイズを持つ巨大カプセル状錯体の合成
～ 生体分子修飾による機能化をめざして ～
(佐藤宗太・東大院工、理研)
- 17:30-18:00 NMR と SANS によるタンパク質の動的構造解析
(加藤晃一・岡崎統合バイオ)

18:30-19:30 **懇親会(同会場 1, 2)**

3月14日(2日目)

- 10:15-10:45 ラフトモデル膜とアミロイド蛋白質との相互作用
(平井光博・群馬大)
- 10:45-11:15 中性子小角散乱と中性子スピネコーで観測するタンパク質の構造とダイナミクス
(遠藤仁・JAEA)
- 11:15-11:45 動的なヌクレオソーム構造によるクロマチン制御機構
(胡桃坂仁志・早大)
- 11:45-12:15 質量分析による構造生物学
(明石知子・横浜市大)

12:15-13:30 **昼食**

(Session C)

- 13:30-14:00 パルス中性子回折装置 iBIX の性能と成果
(田中伊知朗・茨大)
- 14:00-14:30 中性子結晶解析によるタンパク質の水素原子の決定
(玉田太郎・JAEA)
- 14:30-15:00 核酸化学を中心とした中性子結晶解析
(茶竹俊行・京大原子炉)
- 15:00-15:15 休憩
- 15:15-15:45 計算機シミュレーションによるDNAと水和水の塩基配列依存ダイナミクスの解析
(米谷佳晃、河野秀俊・JAEA)
- 15:45-16:15 X線・中性子散乱による水とタンパク質のTHzダイナミクス測定
(吉田亨次・福岡大)
- 16:15-16:30 休憩

(Session D : CROSS Road 研究会 (ダイナミクス解析装置最前線) との合同 Session)

- 16:30-17:00 中性子非弾性散乱法による蛋白質のダイナミクス解析
(藤原悟・JAEA)
- 17:00-17:30 BL02 DNA ダイナミクス解析装置の仕様と現状
(柴田薫・CROSS)
- 17:30-18:00 総合討論
(新村信雄(茨大)、青山浩(阪大)、中川洋(JAEA)、松尾龍人(JAEA)、
荒木克哉(阪大)、鯨井仁(阪大))

3月15日(3日目)

第6回 CROSS Road 研究会 (ダイナミクス解析装置最前線)

(Session E)

- 10:40-11:20 非晶性高分子のダイナミクス
(井上倫太郎・京大化研)
- 11:20-12:00 ブロック共重合体のマイクロ相分離構造中のダイナミクス
(山田武・CROSS)
- 12:00-13:00 昼食
- 13:00-13:40 メソポーラスカーボン中の水のダイナミクス
(山口敏男・福岡大学)
- 13:40- 14:20 スルホン酸基で修飾した多孔質シリカの乾燥及び微量吸着水状態及び超
プロトン伝導体 $\text{Rb}_3\text{H}(\text{SeO}_4)_2$ 単結晶のプロトンダイナミクス
(蒲沢和也・CROSS)
- 14:20- 15:00 (仮) 固体電解質中の Li 拡散解析
(野崎洋・豊田中研)
- 15:00- 15:40 中性子背面反射によるリラクサー誘電体の分極揺らぎ
(松浦直人・東北大)

第4回中性子小角散乱解析法研究会(Session A, B) :

主催、中性子小角散乱解析法研究会、京都大学原子炉実験所

共催、SPRING-8 ユーザー協同体 (SPRUC) 小角散乱研究会、中性子産業利用推進協議会、M
L F 利用者懇談会、CROSS

後援、日本原子力研究開発機構

第1回 Neutrons in biology 研究会(Session B, C, D) :

主催、日本原子力研究開発機構

共催、中性子小角散乱解析法研究会、CROSS

後援、京都大学原子炉実験所、J-PARC センター、日本中性子科学会、中性子産業利用推進協議会、MLF利用者懇談会

第6回 CROSS Roads 研究会 (Session D, E) :

主催、CROSS

協賛、J-PARC センター、日本中性子科学会、中性子産業利用推進協議会

研究会を迎えるにあたって

－中性子小角散乱から Neuron in Biology－

京都大学原子炉実験所 杉山正明

中性子連携研究会は従来の中性子小角散乱解析法研究会から始めます。小角散乱は、ナノスケールの構造を複雑な試料操作を必要とせずに測定できる手法として、固体金属材料から高分子・溶液中タンパク質までをも対象とする手法です。しかし、「広範囲な物質を測定対象」とすることを謳いながら、単純な系に対する慣性半径を求める手法(Guinier 解析)や揺らぎの相関長を求める手法(Ornstein-Zernike 則を用いた解析)などを除けば、一般的な解析手法は、確立していません。その一方、近年 J-PRAC をはじめとする高強度線源の出現や中性子光学機器の進歩により、利用できる中性子ビーム強度や測定の精度は一段向上しています。このような状況に呼応し、これまで得られなかった物性発現に関連する「より詳細なナノスケール構造を明らかにする」ための「中性子小角散乱(SANS)法の測定・解析法を開発する事」を目的として中性子小角散乱解析法研究会は立ち上げられました。年に1回開催している研究会では、基礎的な学術研究から産業応用研究まで SANS 法を用いた最新の研究成果を「どのような測定・解析手法」で得られたかを含めて紹介して頂いております。加えて、測定の基本となる分光器と近年注目されている小型中性子源も目を配りの最新情報の紹介をお願いしております。

さて、測定と言う視点において中性子を散乱プローブとして使う意義は、

1. 同位体効果
2. X 線に比して低いエネルギー
3. 高い試料透過能
4. 磁気感受性

の4点が挙げられ、これをどのように使いこなすかがキーポイントとなります。今回の研究会でも、これらは重水・軽水混合による溶媒コントラスト変調法・試料重水素化法・核スピンの偏極法などの測定手法とそれを用いた最新の研究例を紹介して頂きます。また、解析と言う視点で見ますとコンピュータシミュレーションを用いた解析手法の進展も重要であり、特にこの分野は、X 線をプローブとした X 線小角散乱(SAXS)法において一日の長があります。したがって、最近注目されている SAXS と Simulation を組み合わせた MD-SAXS の紹介もお願いいたしました。このように解析と言う視点で SANS をあらためて見てみますと SANS 単独で無く「他の手法との連携」する事により詳細な構造情報が得られる可能性が高い事は言うまでもありません。今回の研究会では、NMR・質量分析の専門家の先生もお呼びして、その手法を学ぶとともに SANS との連携の可能性を探りたいと考えております。

このような SANS 法は、先にも述べたように固体金属材料から高分子・溶液中タンパク質までをターゲットにしておりますが、今回は特にタンパク質をはじめとする Biology への

SANS の応用に注目したいと考えております。また、J-PARC の出現は、SANS のみならず多くの中性子散乱・回折手法を Biology 研究へ導く良い契機であると捉えております。そこで、この機会に合わせ Neutron in Biology (NIB) 研究会が立ち上がりました。今回第 1 回の NIB 研究会として、さまざまな中性子の Biology への応用を取り上げ、最新の研究成果の紹介をお願いいたしました。具体的には、SANS のターゲットは溶液中の生体試料の構造研究ですが、この分野では SANS のみならず、先ほども述べたように SAXS、質量分析、NMR と多様な手法が用いられています。NIB 研究会では、Biology 研究における溶液構造研究の現状を理解するとともに、手法連携による研究発展も探りたいと考えております。加えて、Biology の視点で見ると中性子を用いた研究は、SANS のみならず結晶構造解析があります。NIB 研究会では、中性子を用いた生物試料の結晶構造解析の現状を紹介して頂きます。さらに、タンパク質における機能発現と言う視点で見れば、動的な側面を理解することが重要となります。中性子では μeV のエネルギーレンジのダイナミクス測定で、タンパク質中の水素の運動性を測定する研究が行われています。NIB 研究会では、ダイナミクス研究グループと連携して中性子を用いたタンパク質の動的構造研究を紹介して頂いています。

このように今回の研究会では、中性子小角散乱の最新研究成果・分光器の現状を紹介した後、関連する生物学研究の紹介と展開します。生物研究は、SANS のみならず、SAXS、NMR・質量分析・結晶構造解析・中性子スピンエコー法 (NSE)・ μeV ダイナミクス測定と多様な手法での研究が行われており、この研究会がそれらの橋渡しになりたいと考えております。

界面活性剤の会合体で動く界面のその場観察 —極小ビームを用いた SAXS&SANS

(愛知教育大学) 住野 豊

ATP を用いたアクチンのモノマーからアクチンゲルの生成はアメーバの仮足の進展において重要な機構の一つとなっている. このように弾性体の生成・崩壊は生体の運動機構の中でも重要な役割を担っており, その制御機構には非平衡で生じる時空間パターンが重要であると考えられる. このような可能性を探る上で, 弾性体の生成・崩壊から運動を取り出す物理化学系を作成し解析をすることが一助となると考えられる.

以上のような目的意識の下, 我々は水/陽イオン性界面活性剤/補界面活性剤からなる会合体系に注目した[1,2]. 本系は O/W エマルジョンの安定化に寄与する系として, 化粧品業界で研究がなされており, 水相中で膜間距離が数 10 nm 程度のラメラ状会合体が生成することが知られている[1]. またこの会合体が分散した溶媒は kPa 程度のせん断弾性率を 10 Pa 程度の降伏応力まで保つことが示されている[2]. このように会合体が弾性を持つことに加え, この系で特筆すべき点として補界面活性剤が長鎖のアルコールあるいは脂肪酸であり, 単独では水相に溶解しない点が挙げられる.

この特性を利用し, 我々は補界面活性剤を油相中に, 陽イオン性界面活性剤を水相中に溶解させた, 油水系からなる実験系を作成した[3-6]. 油相としては長鎖の脂肪酸であるパルミチン酸を含んだテトラデカン, 水相としてはカチオン性界面活性剤である塩化ステアリルトリメチルアンモニウム (STAC) の水溶液を用いた. この系において, 油相を液滴とし水相上に静置すると, 油滴は図1に示すような円形の突出を展開・収縮させる変形をいたるところで繰り返した.

このような変形の生成機構は, 界面活性剤の会合体が(1)弾性を持つこと, (2)溶質を透過すること, (3)油水界面近傍のみで生成することを仮定すると, その変形サイズと液滴サイズの相関が導かれることが示されており[3], 相関関係を実験的に確認することもなされている[5]. しかしながら, 動的な様子を再現する数理モデルは依然として構築されておらず, このためには, 会合体の生成過程のその場観察が重要と言える.

このような状況の下, 本研究では疑似 2 次元条件下における会合体生成様相の観察とそれに伴う界面変形の観察を行った. 会合体生成様相の観察としては, mm スケールの観察に加え, マイクロビーム(BL-4A in PF, KEK)による X 線小角散乱により会合体生成過程の微小スケール構造のその場測定も行った. すると, 界面が数 mm 程度の空間周期をもつ変形を繰り返すことに伴い, 数 100 μm 程度の太さを持つ柱型の会合体集合が油水界

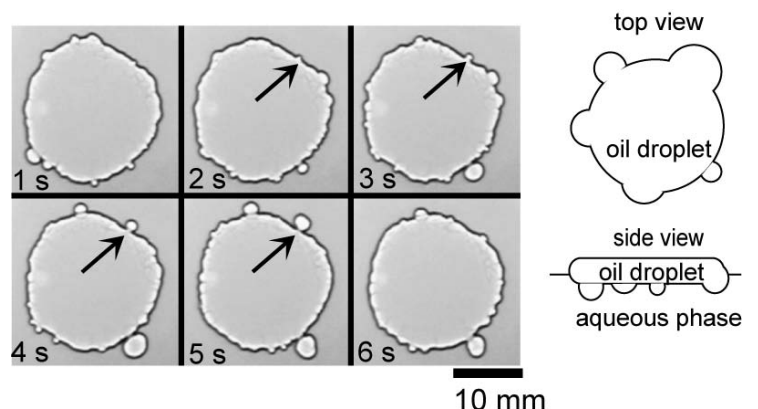


図1 会合体生成に伴う液滴の自発変形

面近傍で生成され、水相へと突き出すことが見出された(図2)。また、このような柱型の会合体集合内部を油水界面から 1 mm 下方部分において水平方向にマイクロビームによりスキャンすることで、会合体が膜間距離 40 nm 程度のラメラ状の構造を持つこと、会合体が界面に強く配向していることが示唆された[6]。

以上の SAXS の観察により、界面近傍での会合体の生成が界面運動と相関していることが示唆されたが、肝心の界面直上での観察ではラメラが観察されず、小角領域に強い散乱が見られるのみであった。また、ラメラ間隔が、油相溶媒のない系[1]に比べ数倍程度大きいことから、ラメラ中に油相が存在している可能性も否定できない状況であった。そこでこれらを明確にするため、SANS 測定(CG-2 in HFIR, ORNL)を行った。すると油相が膜間にほぼ侵入していないことにくわえ、運動している界面直上においてのみ、SAXS においては見られなかった小角領域($q < 0.1 \text{ nm}^{-1}$)において外側のラメラとは異なる位置に相当するピークを持つこと等が見出された。このように界面近傍での SANS その場解析により、界面運動の機構とつながりうる新たな知見が得られつつある。

本発表では系の詳細・界面運動の機構に関して詳しく述べたのち、SAXS・SANS でのその場観察により得られた知見に関して述べる予定である。

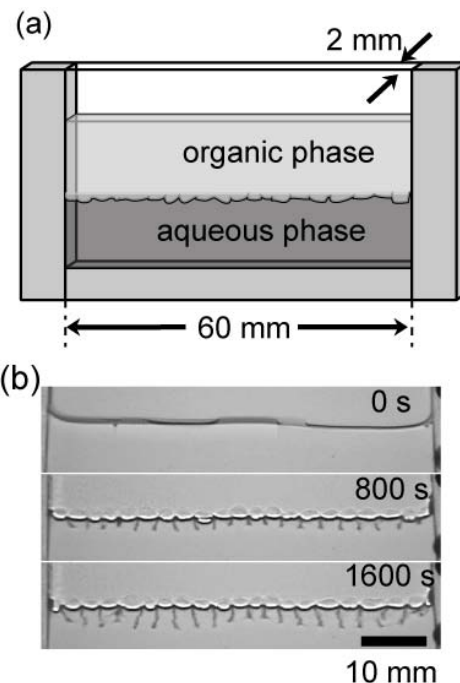


図2:薄型セルでみられる柱型会合体の生成様相。

[Reference]

- [1] M. Yamaguchi and A. Noda, *Nihon Kagaku Kaishi*, 1632–1638 (1987).
- [2] Y. Yamagata and M. Senna, *Colloids and Surface A* **132**, 251–256 (1998).
- [3] Y. Sumino, H. Kitahata, H. Seto and K. Yoshikawa, *Phys. Rev. E* **76**, 055201 (2007).
- [4] Y. Sumino, Y. Sumino, H. Kitahata, H. Seto, S. Nakata and K. Yoshikawa, *J. Phys. Chem. B* **113**, 15709 (2009).
- [5] H. Kitahata, H. Seto and K. Yoshikawa, *Soft Matter* **7**, 3204–3212 (2011).
- [6] Y. Sumino, H. Kitahata, Y. Shinohara, N. L. Yamada and H. Seto, *Langmuir* **28**, 3378–3374 (2012).

動的核スピン偏極を用いたコントラスト変調 SANS

能田洋平 (JAEA)

【緒言】 中性子干渉性散乱長が軽水素と重水素とで異なることを利用し、試料の構造を維持したまま散乱コントラストのみを変化させることのできる「コントラスト変調法」が、各種の水素含有試料のナノ構造解析に広く有効に活用されていることは周知の通りである。一方で、中性子はスピンを持ち、その向きが試料中の水素核スピンと平行なときと反平行なときとで散乱長が大きく異なるという特徴がある。これによってもコントラスト変調を実現できる (図1)。この「水素核スピン偏極法」は「重水素置換法」の約 2.5 倍もの幅で中性子散乱長を変化させることができるという高いポテンシャルを有する。しかしながら、その普及は未だ進んでいない。その一因は、水素核スピン偏極の実現には、多岐にわたる高度な試料環境 (強磁場・極低温・マイクロ波・NMR 計測など) の構築が要求される点にあると思われるが、重水素置換法という優れた手法が先行する中、これら試料環境構築の労力に見合う有効性のある応用対象がなかなか見出されないというのも問題であった。

我々はこのような背景の中、水素核スピン偏極コントラスト変調法を **重水素化困難な樹脂・ゴム材料** へと適用できないかと、その可能性を検討してきた。水素核スピン偏極を効率よく起こすためには、後述するように試料中へと電子スピン源となる安定ラジカルを導入する必要がある。ここでブレークスルーとなったのは密閉容器中で安定ラジカル TEMPO が蒸気となって樹脂・ゴム材料中の流動相へと浸透することを利用する「ラジカル蒸気浸透法」であった。水素核スピン偏極のための最適 TEMPO 濃度は約 0.5vol% と少ないもので試料のナノ構造に与える影響は無視できる。我々はポリエチレン[1] やブロックポリマー[2] を対象とした実証研究を経て本手法を確立し、現在は低燃費タイヤゴムを始めとした、フィラー充填ゴム中のフィラー分散性評価の研究に取り組んでいる[3]。

以下、シリカ充填 SBR ゴムを用いた研究について述べる。この試料は低燃費タイヤとして広く活用されているものである。補強材として添加されているシリカ微粒子の分散性がよいほど低燃費性能が向上することが経験的に知られている。更なる性能向上に向けた取り組みとして、SBR 鎖末端にシリカと親和性の高い置換基を導入するなどの分散性向上の試みがなされている。このような研究開発において、SANS による分散性評価は有用な情報を与えると期待される。しかしながら、本試料中には、シリカに加えて、硫黄架橋反応を促進させるための酸化亜鉛が添加されており、これら各成分に由来する散乱の重なりあいがシリカ分散性の高精度評価の妨げとなってきた。コントラスト変調法適用による部分散乱関数分解によって、この解決を試みた。

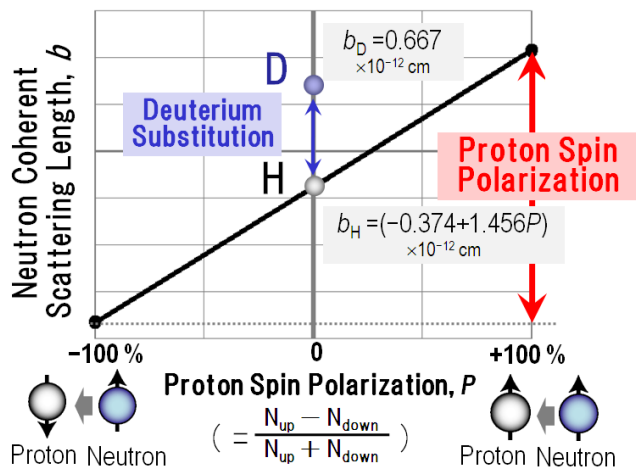


図1. 軽水素および重水素の中性子散乱長

【実験】 電子スピンは水素核スピンの約 600 倍の磁気モーメントを持つため、比較的にスピン偏極させやすい。強磁場・極低温環境にて、一旦、電子スピンの高偏極を実現した上で、電子スピン・水素核スピンの同時反転遷移に対応するエネルギーを持つマイクロ波を照射することで、電子スピンから水素核スピンへと偏極移動を起こすことができる。これを動的核スピン偏極(Dynamic Nuclear Polarization, DNP)といい、高い水素核スピン偏極度 (P_H = 上向きスピンと下向きスピンの存在比の差) を得るためには必須の手法である。蒸気浸透法により、TEMPO ラジカルを導入したシリカ充填 SBR ゴムをクライオスタット内に設置し、3.3Tesla の磁場、1.2K の低温環境にて、94GHz のマイクロ波照射を行う

ことで、核スピン偏極度 $-26\% \sim +20\%$ を得た。図2に SANS-J-II にて実験を行った際の写真を示す[4,5]。トップロード式インサートの採用により、試料交換は容易に行うことができる。

SANS 測定の際には、Fe/Si 多層膜から成るスーパーミラーを透過させることで得た偏極中性子ビームを用いた。なお、六極磁石型磁気レンズによる集光光学系と高い位置分解能を有するシンチレータ式光電子増倍管検出器を組み合わせることで、超小角散乱測定 ($q < 0.004 \text{ \AA}^{-1}$) を実現した[6,7]。

[結果] 水素核スピン偏極の結果、図 3(a)に示すように、SANS プロファイルの顕著な変化が観測された。本試料の主構成成分である SBR、シリカ、および酸化亜鉛の中性子散乱超密度はそれらの化学組成から図 3(b)のように算出される。水素を含む SBR ゴム成分のみが水素核スピン偏極に応じてその散乱長密度を変化させる。観測された SANS プロファイル変化は、以下のように理解される。すなわち、正偏極 ($P_H = +20\%$) では SBR-シリカ間のコントラストがほとんど消失し、結果として酸化亜鉛由来の散乱が支配的になっており、一方、負偏極 ($P_H = -26\%$) では、SBR-シリカ間のコントラストと、SBR-酸化亜鉛間のコントラストが共に増大し結果としてシリカ由来の散乱が強調されている。図 3(c)に中性子散乱超密度で色付けした試料構造の模式図を示している。

このような考察に基づき、試料を SBR、シリカ、酸化亜鉛の3成分と考え、部分散乱関数分解を行った。得られたシリカの部分散乱関数を図4に示す。結果として、核スピン偏極前のプロファイルとは大きく異なり、極めて明確なショルダーが観測された。このショルダーを Guinier 関数でフィットしたところ回転半径(R_g)として 80 \AA を得た。ここから、剛体球直径 $2R = 207 \text{ \AA}$ が得られるが、これはゴム混合前シリカ粉末の TEM 観察による一次粒子粒径(160 \AA)と近いものであった。さらに、このショルダーよりも小角側の領域では、 q^{-3} のべき乗則が観測された。これは、シリカ1次粒子同士がゆるく結びついて均一に広がるネットワーク構造を形成していることを意味する。このように、本試料の優れたシリカ分散性を高精度で定量評価できた。

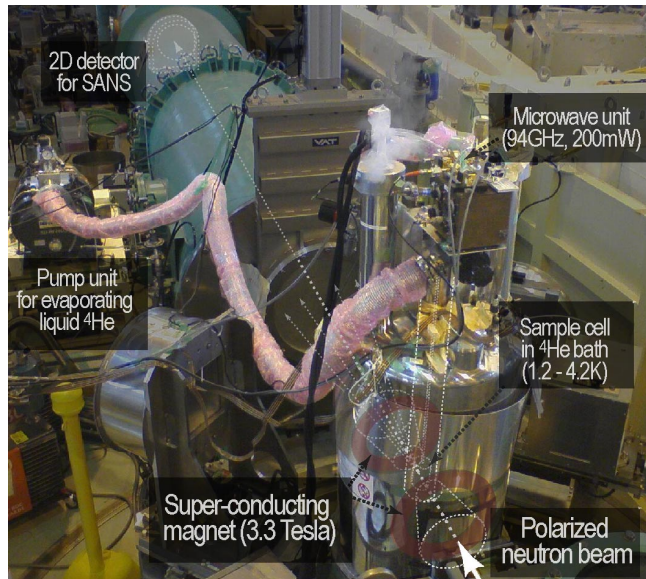


図2. SANS-J-II における DNP 実験の写真

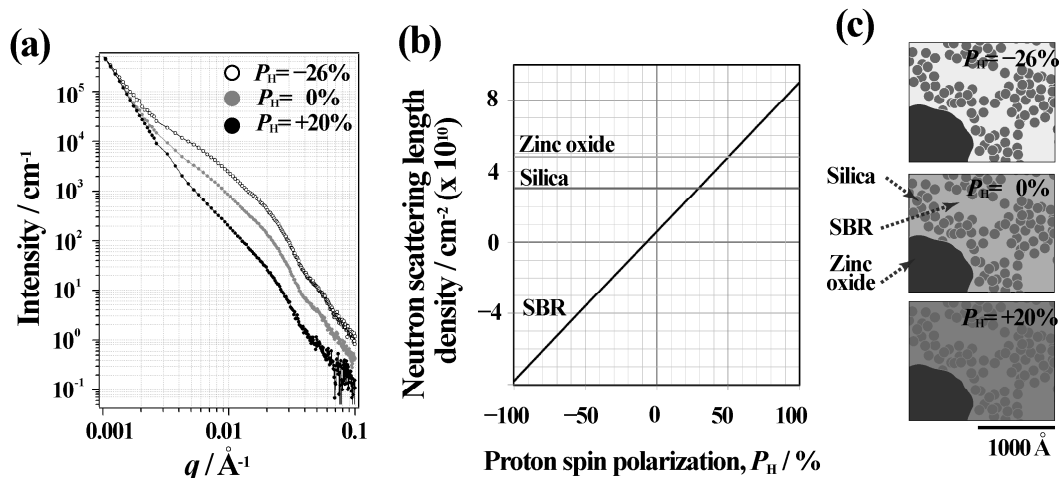


図3. (a)水素核スピン偏極による SANS プロファイル変化。(b)低燃費タイヤゴム中の各成分 (SBR ゴム、シリカ、酸化亜鉛) の中性子散乱長密度の水素核スピン偏極度依存性。(c)低燃費タイヤゴムの構造模式図 (中性子散乱超密度で色付けしている)。

ちなみに、小角側の端領域では、 q^{-3} のべき乗則よりも急勾配となっている。これは、バックグラウンド差し引きの際に、クライオスタットのアルミ窓由来の q^{-4} の高強度散乱が適切に差し引けていないためだと考えられる。今後の改善が必要である。

[まとめ・今後] 核スピン偏極コントラスト変調法を低燃費タイヤゴム材料である、シリカ充填 SBR ゴムへと適用することに成功した。その結果、シリカ部分散乱関数を分離し、シリカ分散性に関する高精度情報の取得に成功した。このように、重水素化困難な高分子から成る樹脂・ゴム材料のコントラスト変調が比較的容易に実現できるようになりつつある。

今回の実験では、水素核スピン偏極度は最大でも $\pm 20\%$ 程度であったが、その後のラジカルドープ条件などの最適化によって既に $\pm 40\%$ を達成している。コントラスト変調幅という観点では、既に重水素置換法と遜色ないところまで来ている。

重水素置換法は優れた手法であり標準的に用いられているが、それ故に意識されることのない「問題点」として、試料の作成段階に立ち戻って重水素化体を導入しなくてはならないという点がある(※)。すなわち、重水素置換法には以下に示すような苦手分野がある。「込み入った合成法が要求される試料」、「作成法が確立されていない試料(天然物など)」、「作成法が開示されていない市販品材料」、「偶然出来たがなかなか再現が難しい試料」、「大スケールで製造される試料(全てを重水素化体で置き換えることが困難)」など。一方で、水素核スピン偏極法は、試料が流動相を含みさえすれば、後処理としてラジカル蒸気浸透法を施すことでコントラスト変調可能となる。重水素置換が苦手とする領域を開拓することで本手法の有用性が認識され一般的な手法として広く活用されること、ひいてはコントラスト変調 SANS 適用対象の裾野が広がることを願う。

(※) 溶媒膨潤を用いる手法は、少なからず構造変化を引き起こすため、ここでは考えていない。

[参考文献]

- [1] Noda, Y. et al. *Physica B* **2009**, *404*, 2572-2574.
- [2] Noda, Y. et al. *J. Appl. Crystallogr.* **2011**, *44*, 503-513.
- [3] Noda, Y. et al. *Physics Procedia* (in press)
- [4] Kumada, T. et al. *Nucl. Instrum. Meth. A* **2009**, *606*, 669-674.
- [5] Kumada, T. et al. *Physica B* **2009**, *404*, 2637-2639.
- [6] Koizumi, S. et al. *J. Appl. Crystallogr.* **2007**, *40*, s474-s479
- [7] Oku, T. et al. *J. Appl. Crystallogr.* **2007**, *40*, s408-s413

[謝辞]

本研究は、以下の協力・援助のもと実施されました。深く謝意を表します。

JAEA 量子ビーム応用研究部門	熊田高之, 山口大輔, 橋本竹治(客員), 社本真一
JAEA J-PARC センター	奥高之, 鈴木淳市(CROSS)
JAEA 先端基礎研究センター	神戸振作, 徳永陽, 酒井宏典, 中堂博之, 安岡弘
茨城大学	小泉智
中部大学	堀川直顕
Paul Scherrer Institute	P. Hautle, J. Kohlbrecher, B. van den Brandt
JSR 株式会社	湯浅毅, 富永哲雄, 曾根卓男
住友ゴム工業	増井友美, 間下亮, 岸本浩通, 若林昇
日本学術振興会	若手(B) (Grant No. 23750263)

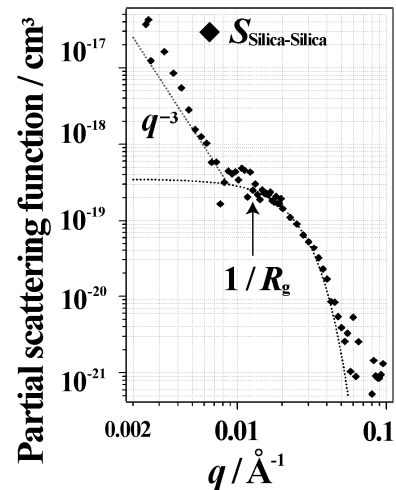


図4.シリカ部分散乱関数

ラメラ組織を有する鋼の球状化過程における定量的観察

諸岡 聡^{*1}, 大沼正人^{*2}, 足立吉隆^{*3}, 鈴木淳市^{*4}, 友田陽^{*5}

*1 横浜国立大学, *2 物質材料研究機構, *3 鹿児島大学, *4 日本原子力研究開発機構, *5 茨城大学

1. 緒言

自動車用部品など多くの機械構造部品は高い硬度が求められ、最終製品として硬度600Hvレベル以上を達成するために炭素が0.4mass%以上添加されている。またCrやMoなどの合金元素も添加され、高い硬度を得るために焼き入れ・焼き戻し処理が施されて最終部品となる。このような中高炭素合金鋼は高い最終硬度が求められるが、冷間鍛造などにより部品形状に加工するためにはプロセスの途中で一度硬度200Hvレベルまで軟質化することが必要となる¹⁻⁴。従来、この軟質化を達成するために973K近傍で約24時間程度という長時間の熱処理が施されている。軟質化処理により層状セメンタイト組織（パーライト組織と呼ばれている）が球状セメンタイトとなる。このセメンタイトの球状化が軟質化に不可欠である。つまり、軟質化とは、硬質相であるセメンタイトを分断し、母相であるフェライトの拘束効果を減少させることであり、セメンタイトの粒子サイズ(アスペクト比)・形状・分布・数密度・体積率などの組織因子を評価することで定義することが可能である。このような組織因子と力学的特性の関係は、それぞれミリメートル以上の大きさを有する試料で評価する場合がほとんどであるため、得られる特性も測定試料の「平均特性」であり、それを左右する組織因子も「バルク平均値」となる。近年、SEM観察と画像処理を併用することで容易に組織因子を算出することが可能となった。しかしながら、それはあくまで局所的な平均値であり、ミリメートル以上の試料サイズに対して組織の不均一性を考慮した平均的な組織因子を算出することは極めて困難である。そこで小角散乱(Small Angle Scattering: SAS)法に注目した。特に、中性子線を用いた小角散乱 (Small Angle Neutron Scattering: SANS) 法⁵⁻⁶は、鋼において厚さ2mm、15x15mm²程度の試料サイズに含まれる介在物や析出物の組織因子を非破壊測定できる。この応用により迅速高精度な定量測定法が確立できると期待される。本研究では、高い透過能を有し、バルク平均の情報が得られるSANS法によるパーライト組織の球状化処理過程の評価した結果を報告する。

2. 実験方法

供試材には0.8 mass%Cの2元系共析鋼を用い、1473Kで3.6ks間、オーステナイト化処理後、炉冷にてパーライト組織を得た。その後、973Kにおいて0.6ks、3.6ks、21.6ksの時効処理を行い、セメンタイトを球状化させた。それぞれFC-0、FC-10、FC-60、FC-360と称する。機械的特性の評価は硬さ試験および引張試験を実施した。SANS測定は茨城県東海村にある日本原子力研究開発機構の研究用原子炉JRR-3に設置されたSANS-JIIを使用し、厚さ2mm、15x15mm²程度の試料を1 Tの磁場中で $0.003 < q < 0.2 \text{ nm}^{-1}$ ($q = 4\pi \sin\theta / \lambda$)の領域の測定を行った。BCC鋼は強磁性であるため、核散乱成分と磁気散乱成分を分離するため磁場中測定を行う。また、同一試料を用いてSEM観察と画像処理により組織因子を算出した。

3. 実験結果および考察

Fig.1 に球状化処理過程におけるパーライト組織の核散乱プロファイルの変化を示す。 q が小さな領域(a) (low- q 領域)を見ると、球状化焼鈍の時間経過に伴う粒子サイズ・形状の変化が伺える。FC-0 材の散乱プロファイルでは、円盤形状に特徴的な傾き(q^{-2})が現れている。球状化の進行(FC-10 からFC-360 へ)に伴い、 q^{-2} 依存性は不明瞭になる。つまり、円盤形状から球形や回転楕円体へ変化していることを意味する。このように low- q 領域では、球状化焼鈍によるセメンタイトの形状変化の情報が得られる。この領域に対して、粒子サイズ分布を考慮した local mono-disperse hard sphere model⁷⁾でモデル近似することで粒子サイズ・粒径分布・数密度・体積率を精度良く求めることが可能である。 q が大きな領域(b) (high- q 領域)を見ると、球状化焼鈍の時間経過に伴い、散乱強度の減少

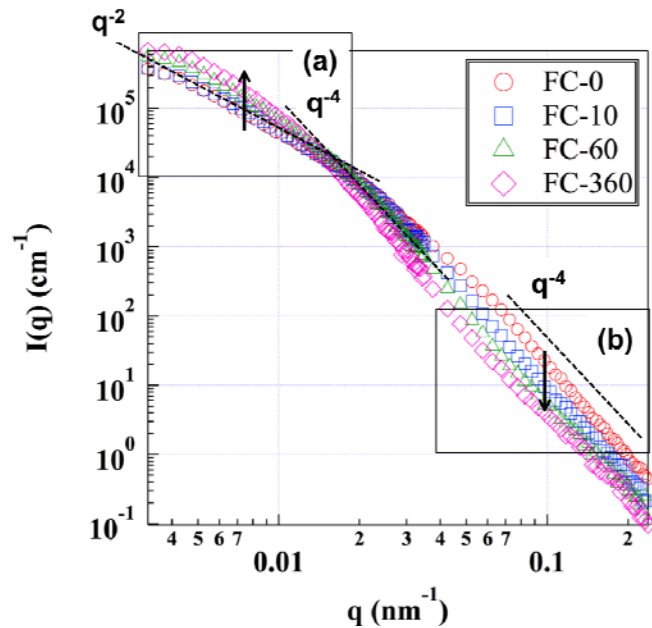


Fig.1 Effect of spheroidizing on the nuclear scattering component of SANS profiles. Plateau region where Guinier plot is applicable are indicated by the box (a). q^{-4} dependence region where the analysis of interfacial area using Porod's law are indicated by the box (b).

が見られる。この強度レベルは球状化処理過程において、散乱プロファイルが Porod 則 q^{-4} を満たし、母相とセメンタイト相の組成分配に変化がなければ試料単位体積内に含まれる母相とセメンタイト界面の面積の総和(総界面積)に比例する。この high- q 領域の散乱強度 $I(q)$ は $I(q)=2\pi\Delta\rho^2NSq^{-4}$ により近似できる。ここで、 N はセメンタイトの数密度、 S は単位体積あたりのフェライト/セメンタイトの総界面積、 $\Delta\rho$ は母相とセメンタイトの散乱長密度の差である。数密度の変化がなければ総界面積の減少がアスペクト比の減少に対応する。Guinier plot⁷⁾からセメンタイトの平均厚さが求められるので、総界面積から直接、長手方向の粒子サイズ(つまり、アスペクト比も換算可能)を得ることができる。この high- q 領域は、界面を持つ粒子であればどんな形状でも得られるパラメータであることから、迅速かつ平均的なアスペクト比を測定する手法として有効である。

参考文献

- 1) 井上 毅, 落合義隆, 木下修司: 鉄と鋼, 61(6), 808-816, 1975.
- 2) 金築 裕, 安永恵一, 森 博太郎: 鉄と鋼, 78(3), 477-484, 1992.
- 3) 鹿磯正人, 金築 裕, 勝亦正昭: 鉄と鋼, 84(10), 721-726, 1998.
- 4) 原田智也, 笥 幸次, 竹野裕之, 吉田 功, 深尾勇人: 鉄と鋼, 94(4), 130-133, 2008.
- 5) 大沼正人, 鈴木淳市: 分析化学, 55(6), 381-390, 2006.
- 6) 大沼正人: 非破壊検査, 60(2), 86-92, 2011.
- 7) LA. Feigin, DI. Svergun: "Structure Analysis by Small-angle X-ray and Neutron Scattering", Plenum Press, 1987.

量子ビームを利用したポリオレフィンの構造物性研究

住友化学(株) 石油化学品研究所
桜井 孝 至
野末 佳 伸
笠原 達 也*
山口 登

Material Characterization of Polyolefins by Synchrotron X-ray and Neutron Scattering

Sumitomo Chemical Co., Ltd.
Petrochemicals Research Laboratory
Takashi SAKURAI
Yoshinobu NOZUE
Tatsuya KASAHARA
Noboru YAMAGUCHI

Synchrotron X-ray and neutron scattering are very useful methods to investigate the hierarchical structure and structure-property relationship of polymeric materials at a microscopic level. Our company makes extensive use of quantum beams such as those from synchrotron and neutron sources in cooperation with advanced research facilities for deeply understanding the nature of polymeric materials. In this paper, we introduce state-of-art experimental techniques and industrial applications of advanced quantum beam sources to polyolefin materials as part of our research activities.

はじめに

近年、「量子ビーム」という言葉をよく目や耳にする。量子ビームとは、中性子、光子、電子、イオン、ニュートリノなど、加速器や原子炉、高出力レーザー装置等から供給される高品位のビームを表す総称であり、ソフトマテリアルをはじめとした物質科学、生命科学や医療利用など多くの分野において活用されている。これら量子ビームを利用した物質の評価法の一つに、試料に照射された量子ビームの散乱から、サブナノメートルからマイクロメートルまでの幅広いスケールの構造を解析する手法がある。量子ビームは、特殊環境や雰囲気下での物質の形態、階層的凝集構造などの計測プローブとして、機能性材料や複合材料における構造形成機構や機能発現機構の解明に大きく貢献している。また近年では、学術研究のみならず産業界からの量子ビーム利用も増加傾向を示しており、この傾向は高分子産業においても同様のものとなっている。今後の科学技術の進展

ならびに新たな科学領域創成の担い手として、また産業界での材料開発に貢献する強力な手法として、量子ビームの更なる高性能化と利用機会の拡大に大きな期待が寄せられている。

当社では、研究開発の更なる促進を図るため、シンクロトロン放射光や中性子など社外研究施設を活用した研究を積極的に押し進めている¹⁾⁻⁸⁾。本稿では、量子ビームの利用技術ならびにポリオレフィンの構造物性研究への応用展開について、X線/中性子散乱を用いたフィルム延伸挙動の観察技術や成形加工品の構造解析などの事例を通して紹介する。

シンクロトロン放射光利用研究

1. シンクロトロン放射光によるX線散乱法⁹⁾

X線が物質に入射すると、物質中の電子によってX線が散乱され、散乱されたX線を観測することで物質の構造についての情報を得ることができる。高分子の多くは、Fig. 1に示すような結晶格子、ラメラ周期構造、球晶構造などサブナノメートルからマイクロメートルに及ぶ幅広いスケールの階層構造を形成し

*現職：ラービグリファイニングアンドペトロケミカルカンパニー

ており、広角X線散乱 (WAXS: Wide-Angle X-ray Scattering) により結晶のパッキングや配向性、小角X線散乱 (SAXS: Small-Angle X-ray Scattering) によりラメラ周期構造 (結晶部(Cr)と非晶部(Am)の電子密度差に起因する散乱) のサイズや配向状態などを測定することができる。そのため、X線散乱法は高分子の構造研究において必要不可欠な手法となっているが、その中でも、シンクロトロン放射光を散乱法の線源として利用することにより、得られる構造情報の質が飛躍的に向上する。

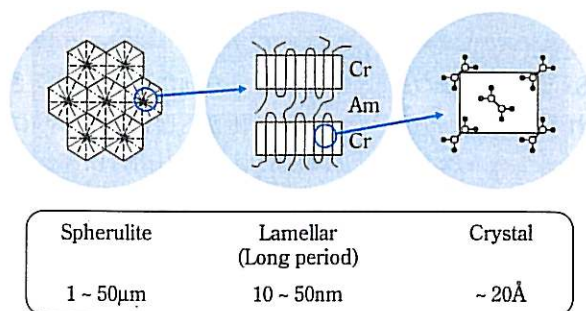


Fig. 1 Hierarchical structure of polyolefin material

シンクロトロン放射光とは加速器中で光速に近い速度で運動する電子が、電磁石によって加速度を受け、その進行方向を変えられたときに発生する電磁波のことをいい、Fig. 2にその原理を模式的に示す。シンクロトロン放射光の特徴としては、1) 極めて高輝度である、2) 赤外からX線までの広い波長領域にわたって連続したスペクトルを有する、3) 平行性が高く、指向性のよいX線ビームが得られる、4) 高度の偏光性を有する、などが挙げられる。輝度とは、単位時間・単位面積・単位立体角・特定の波長幅($d\lambda/\lambda$)あたりに存在するX線光子の数であり、シンクロトロン放射光の輝度は、通常のX線発生装置の約1億倍にも達する。

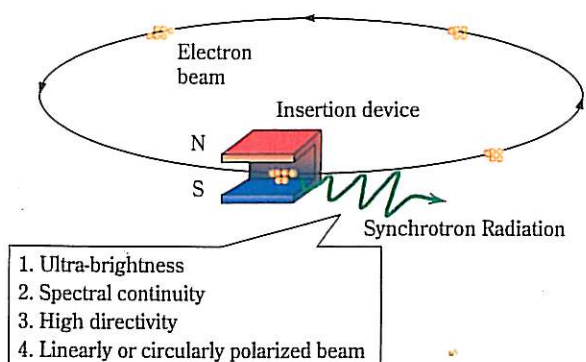


Fig. 2 Generation of Synchrotron Radiation

シンクロトロン放射光が高輝度であるという特徴は、とりもなおさず、通常のX線発生装置では測定に数時間を要する構造情報がミリ秒オーダーで取得できること示している。これは、フィルム延伸や流動結晶化過程などの際に生じるナノ構造の変化を追跡するのに十分な時間分解能である。また、全反射鏡やフルネルゾーンプレートなどの集光光学系を用いることにより、高輝度・高指向性X線マイクロビームの生成が実現可能となる。なお、指向性が高いという特徴は、散乱X線を、高い角度分解能でより小さな角度の散乱まで測定するのに有利であることを意味しており、薄膜の極表面 (数nm) を評価する上でもその威力を発揮する。

シンクロトロン放射光によるX線散乱実験は、基本的には従来のX線発生装置を用いた実験と同様のセットアップで可能であり、光源からスリット系、試料部、検出器の順に配列された光学系をとる。また、検出器の性能は光源と同様に重要であり、実験の目的に応じてパルス計測型や積分型などを選択することができる。近年では、時分割測定が可能なCCD型X線検出器¹⁰⁾に代表される二次元検出器の開発ならびに実験技術の進歩に伴い、流動場などの外場下で異方性を持ったナノ構造変化とサブナノ構造変化をミリ秒オーダーで同時に追跡する二次元WAXS/SAXS同時測定も実現可能となってきている。

2. フィルム加熱延伸挙動のその場観察

(1) 加熱一軸延伸挙動のその場観察^{3), 4)}

高分子の流動結晶化過程や変形挙動のその場観察は代表的なシンクロトロン放射光利用研究の一つであり、せん断流動場における結晶化過程のその場観察や、多成分系における相転移現象の動的解析、フィルム・繊維・ゴムなどの変形挙動のその場観察などに適用されている。中には、実際に熔融紡糸機や射出成形装置を放射光施設に持ち込んで、押出成形の際の結晶化過程や反応性高分子ブレンドの混練過程での相分離挙動のその場観察を行うなど、成形加工研究に応用した事例などもある。

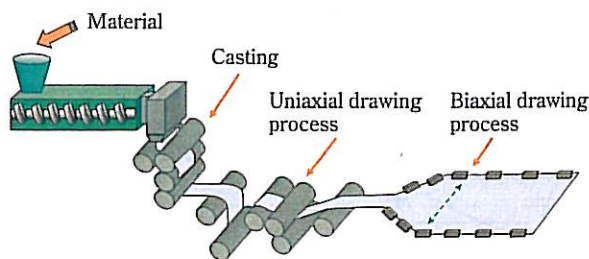


Fig. 3 Schematic illustration of sequentially biaxial drawing process

成形加工プロセスに関して、Fig. 3に示すようなポリプロピレンの延伸方式の一つであるテンター逐次二軸延伸工程を例にとって説明する。まず、縦延伸（一軸延伸）工程では複数個のロールを使用し、そのロール回転速度差を利用してフィルムが延伸され、変形機構はネッキングによる。このような場合、引張試験による変形挙動を理解することにより、成形加工時における現象をおよそ把握することができる。

Ziegler-Natta触媒系のポリプロピレン (zPP) およびメタロセン触媒系ポリプロピレン (mPP) の加熱延

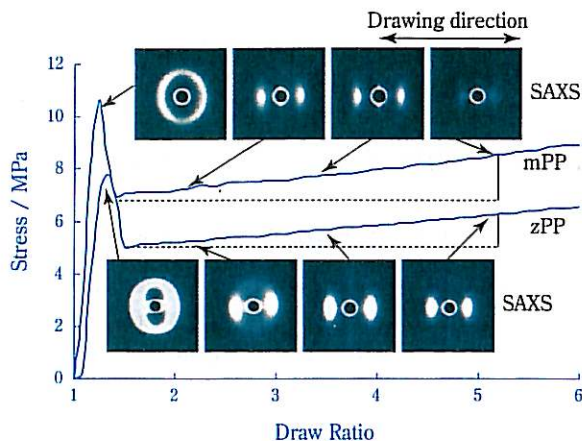


Fig. 4 Stress-strain curves and corresponding time-resolved 2D SAXS patterns

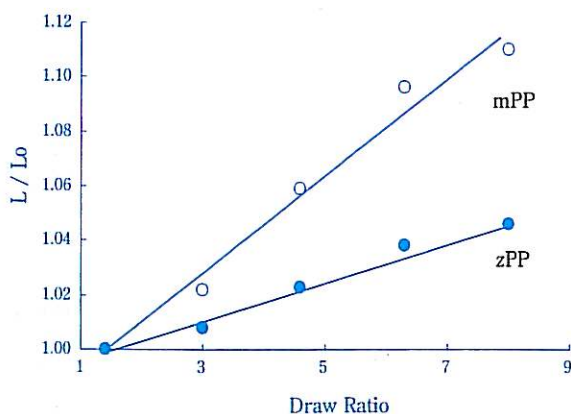


Fig. 5 Changes of long period as a function of DR; L/L_0 is normalized value by dividing long period at each DR by that obtained at the point just beyond necking

伸挙動（延伸温度120℃、延伸速度10% strain/sec）を比較検討した事例をFig. 4およびFig. 5に示す。加熱延伸挙動のその場観察は高エネルギー加速器研究機構の小角散乱ステーション (BL-15A) において実施した。また、実験で用いた試料の基本構造をTable 1にまとめた。

Fig. 4に示すように、降伏応力 (DR = 1.2) やネッキング後の延伸応力の変化 (DR = 1.5 ~ 6.0) が試料により異なり、延伸応力の違いがポリプロピレンの高次構造変化の違いとしてSAXS像に反映されている。mPPでは、ネッキング後の延伸領域においてスポット状のSAXS像のみが延伸方向に観測されるが、zPPでは、スポット状SAXS像以外にストリーク状のSAXS像が延伸方向とは直交する方向において観察されることがわかる。スポット状SAXS像は延伸方向に配列したラメラ構造の構造周期（長周期）に起因する散乱であり、Fig. 5に長周期変化の延伸倍率依存性を比較して示した。mPPはzPPに比べ長周期の変化が大きいことがわかる。

上述のように、シンクロトロン放射光は構造と物性との相関を検討するうえで有力な手法であり、成形加工時における延伸応力の発現機構をナノ構造変化と関連付けて考察することが可能となる。mPPのような分子量分布が狭いポリプロピレンは高次構造が比較的均一であると考えられ、延伸においてラメラ構造が協同的に変形に関与し大きな延伸応力を要する一方で、zPPのように分布が広いポリプロピレンになると、あまり変形に関与しないラメラ構造から変形しやすいラメラ構造までその高次構造に分布があり、延伸に対して一部のラメラ構造が低応力でその秩序性を失う程度にまで塑性変形を起こしていることがわかってきた。

(2) 加熱二軸延伸挙動のその場観察

ポリプロピレンのテンター逐次二軸延伸プロセスでは、Fig. 3に示すように、縦（一軸）延伸ならびに横（二軸）延伸により製品であるフィルムが製造される。そこで、縦延伸に続く延伸工程である横延伸における加熱変形挙動を検討するために、小型の加熱二軸延伸装置¹¹⁾を試作し、ポリプロピレンの逐次二軸延伸挙動の観察を試みた。

Table 1 Characteristics of iPP samples

Sample	M_w	M_w/M_n	CXS ^a (wt%)	[mmmm] ^b	$[\eta]$	Tm (°C)	Density (g/cm ³)
zPP	435,000	5.1	4.0	0.91	2.1	160.9	0.901
mPP	364,000	1.9	0.1	>0.99	2.2	160.1	0.905

^aFraction soluble in *p*-xylene at 20°C

^bIsotactic pentad fraction determined by ¹³C NMR

Fig. 6に装置の概要ならびに逐次二軸延伸実験（延伸温度160℃、延伸速度10% strain/sec）で観察されたSAXSおよびWAXS像の一例を示す。本装置では、上下および左右それぞれ対をなした延伸バーが等しい距離だけ反対方向に移動する機構を有しており、同時二軸延伸や逐次二軸延伸などの延伸操作を行うことができる。また、延伸挙動をその場観察するために、延伸中において常に静止状態にある試験片中心部にX線が照射されるよう設計した。

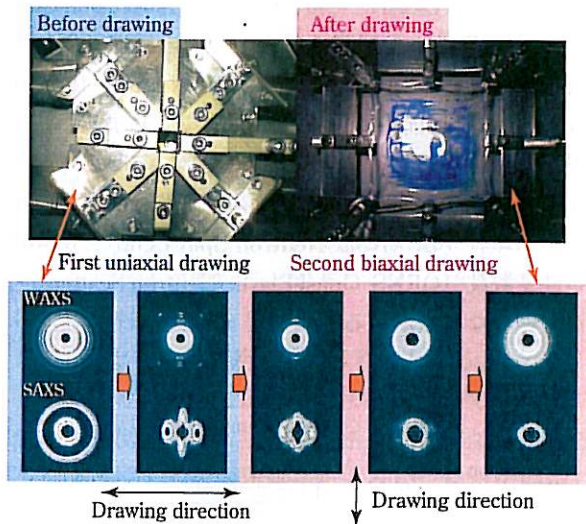


Fig. 6 Newly designed biaxial drawing machine and changes of WAXS and SAXS patterns observed during sequentially biaxial drawing process

用いた試料はTable 1に記載のzPPであり、延伸温度は異なるものの前述と同様のSAXS像が初めの一軸延伸過程で観測されている。またWAXS像は、ポリプロピレンの α 晶が延伸方向に対してc軸配向していることを示している。一軸延伸に引き続いて行われる直交方向の延伸（二軸延伸）過程では、スポット状のSAXS像は比較的早い段階でアーク状に変化し、分裂したのち二軸延伸方向に移行する一方、ストリーク状のSAXS像は菱形から円形へと徐々にその形態が変化するなど興味深い結果が得られる。このようなナノ構造変化についての情報は、材料設計における設計指針を提案する上で有用な情報となる。

3. マイクロビームX線による局所構造解析^{9),12)}

ミクロンサイズに絞ったX線マイクロビームは、単繊維、人間の毛髪や高分子球晶内部の微細構造評価など、ナノ構造の空間的な不均一性の評価に応用されている。我々は、ネッキング変形について更に詳細な検討を行うために、加熱延伸過程におけるポリプロピレン球晶構造の延伸挙動のその場観察を新た

に試みた。Fig. 7にSPring-8のビームライン（BL40XU）にて実施したマイクロビームWAXS・SAXS同時測定による延伸挙動のその場観察実験のレイアウトを示す。

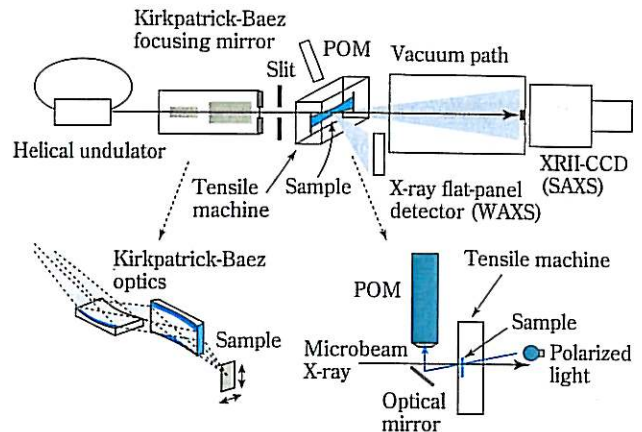


Fig. 7 Experimental setup for in-situ microbeam SAXS-WAXS simultaneous measurement

本手法では、延伸中においても常に特定の観察部位にマイクロビームを照射するために、偏光顕微鏡（POM: Polarized Optical Microscope）によりマイクロビームの照射位置ならびに試料の観察部位を観察するシステムや、試料位置を1 μ mの精度で移動可能な機構を有する延伸観察用引張試験機¹³⁾が適用されている。

Fig. 8は、加熱延伸挙動のその場観察により得られたzPPのSAXS、WAXSならびにPOM像であり、本手法は一つの球晶内部に形成されているナノ構造の空間分布ならびにその変形挙動を評価できることが最

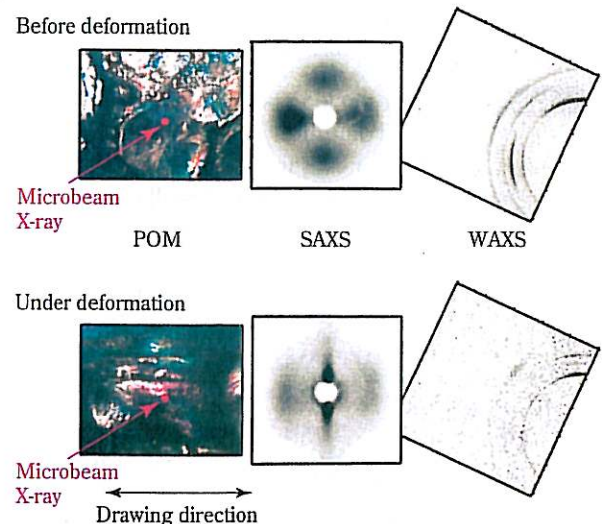


Fig. 8 Representative POM-SAXS-WAXS data sets of zPP observed during hot drawing

大の特徴である。紙面左右方向のSAXS像および上下方向のWAXS像から、球晶の動径方向に成長した“親ラメラ構造”と呼ばれる構造の結晶形態や長周期に関する情報、また親ラメラ構造とは向きを異にして形成される“娘ラメラ構造”と呼ばれる構造に関する情報が紙面上下方向のSAXS像および左右方向のWAXS像から評価することができる。なお、通常のX線では、ビーム径が大きく、変形前のWAXS像およびSAXS像は多数の球晶構造に内在する全ての方向に形成されたラメラ構造が散乱体となるためにリング状パターンとして観測されるにすぎない。

Fig. 9に、延伸過程における親ラメラ構造ならびに娘ラメラ構造の長周期およびSAXSプロファイルの半値幅 (FWHM) の変化を解析した事例を示す。親ラメラ構造の長周期やFWHMはFrame No.の小さい変形初期の段階から変化している様子がわかる。これらを含めた詳細な検討から、zPPの変形挙動には少なくとも二つのステップ、すなわち 1) 初めに延伸方向に配列している親ラメラ構造が変形し、2) 親ラメラ構造の断片化が起きる変形領域で娘ラメラ構造の変形が起きることなどが明らかとなった。異なる観察部位におけるラメラ構造変形挙動の検討などにより、今後さらに機構解明が進展していくものと思われる。

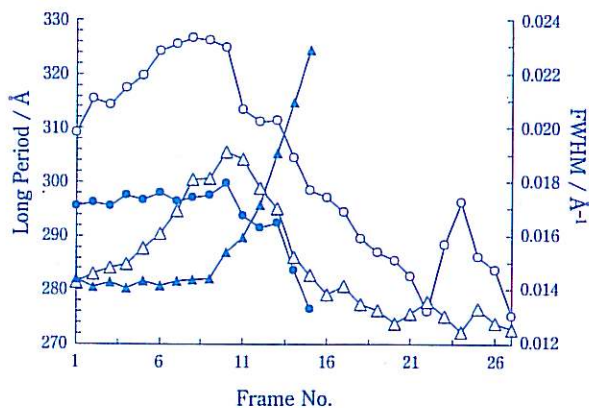


Fig. 9 Changes in long period and FWHM in parent and daughter lamellae obtained from the sector averaged SAXS profiles of zPP; ○ long periods (parent lamellae), ● long periods (daughter lamellae), △ FWHM (parent lamellae), ▲ FWHM (daughter lamellae)

中性子利用研究

1. 中性子による散乱法^{14), 15)}

中性子とは、電荷0、質量1u (u:1原子質量単位 = 1.661×10^{-27} kg)、スピン1/2のフェルミ粒子であり、特徴としては、1) 電荷0により原子核の周りにある電

子に遮られることなく原子核まで到達し、原子核によって散乱されることや、2) スピン1/2のため原子核の周りにある電子が磁場を作る場合には、その磁場によって散乱されることであり、Fig. 10にその原理を模式的に示す。中性子による散乱現象は、弾性散乱と呼ばれる物質と中性子との間でエネルギーの交換がない散乱とエネルギーのやり取りを伴う非弾性散乱とに大別される。ナノスケールからミクロンスケールにおける構造研究で利用される中性子小角散乱 (SANS: Small Angle Neutron Scattering) や超小角中性子散乱 (U-SANS: Ultra-Small Angle Neutron Scattering)、薄膜や多層膜の表面・界面の構造評価に利用されている中性子反射率法 (NR: Neutron Reflectometry) などは前者の弾性散乱現象を計測する手法に属する¹⁶⁾。後者は、格子振動や高分子のセグメント運動など動力学的な研究で主に扱われ、中性子スピンエコー法 (NSE: Neutron Spin Echo)、準弾性中性子散乱 (QENS: Quasi-Elastic Neutron Scattering) など様々な手法がある。

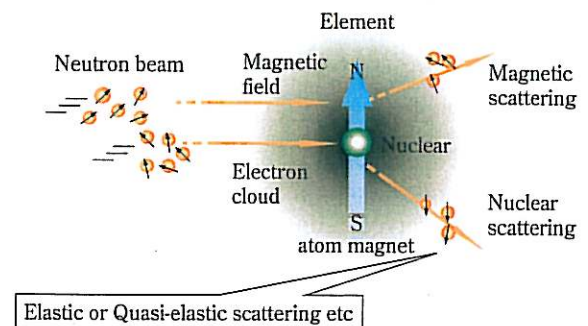


Fig. 10 Schematic illustration of neutron scattering

中性子は、高分子をはじめソフトマテリアルの構造研究に極めて有効なプローブであり、中性子を線源とした散乱法は、光散乱やX線散乱とは異なる散乱起源に起因した独特の特徴を持っている。Table 2にシンクロトロン放射光を用いたSAXSとSANSの特徴を比較して示す。中性子を用いる場合も散乱の基本原則は同じであり、フラックス (輝度) や分解能の点では放射光SAXSが格段に優れている。しかしながら、Table 3に比べて示すように、中性子に対する原子核の散乱能 (Scattering length) が水素(H)と重水素(D)とで大きく異なっており、この違いがSANSにおいて散乱コントラストを与える。高分子などのソフトマテリアルはその多くが水素を持っているため、高分子凝集系中の特定の分子のHをDに置換 (重水素ラベル法) することや溶媒にD₂Oを用いてD-H散乱コントラストをSANSにて計測することにより、バル

Table 2 Comparison of SAXS and SANS features

	Flux	Scattered body	Scattering	Resolution	Wavelength	Beam size	Energy
SAXS	$\sim 10^{11}/\text{cm}^2$	Electron	Electron density	$\sim 0.1\%$	$\sim 1.5\text{\AA}$	$\sim 1\text{mm}$	$\sim 10\text{keV}$
SANS	$\sim 10^6/\text{cm}^2$	Nuclear	Scattering length	$\sim 10\%$	$\sim 10\text{\AA}$	$\sim 5\text{mm}$	$\sim 1\text{meV}$

Table 3 Neutron scattering length of fundamental elements

	H	D	C	N	O
Scattering length/fm	-3.74	6.67	6.65	9.40	5.80

fm = 10^{-15}m

クや溶液中における高分子鎖の形態や、高分子鎖間に働く相互作用の程度を直接調べることが可能となる。その他の特徴として、SANSはSAXSに比べエネルギーレベルが低いことが挙げられ、中性子の照射による試料損傷が少ないといった点は、ソフトマテリアルはじめ生体関連物質には利点となる。

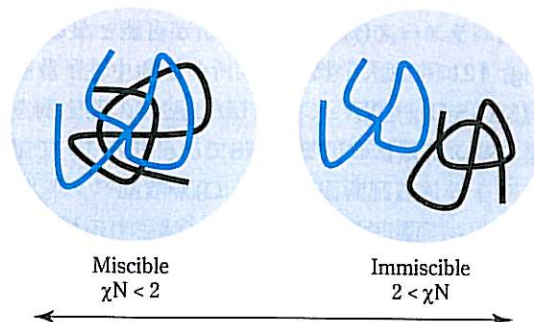
中性子の発生源には、原子炉からの ^{235}U 燃料の核分裂連鎖反応による定常中性子と加速器で発生するパルス中性子の主に二通りがあるが、原子炉等からの冷中性子（液体水素などの冷却剤で冷却された長波長の中性子）がSANSの線源としては主流となっている。SANS実験では、基本的には原子炉から出た波長分布を有する冷中性子を単色化するモノクロメータ、単色化された冷中性子の進行方向を高精度で制限するピンホール型コリメータ、試料部および真空の移動管に検出器を組み込んだ検出部の順に配列された光学系をとり、調べたい構造スケールに応じてコリメータや検出器の位置調整が行われる。

2. 熔融状態における構造物性研究

(1) ポリオレフィンブレンドの相溶性評価⁶⁾

1932年にChadwickによって発見された中性子は、古くは無機物質の磁気構造解析や有機物質の水素原子の位置決定などに用いられていた。高分子科学の分野で登場するのは、1970年代に入ってからであり、“バルク中の高分子鎖はGauss鎖である”というFloryの理論的予測がSANSにより実験的に検証されたことに端を発し、de Gennesによるスケーリング理論の構築に中性子が大きく貢献する。1980年代に入ると高分子ブレンド系における高分子鎖の形態解析やFlory-Hugginsの相互作用パラメータ(χ)の評価、ブロック共重合体の相転移挙動などの研究で多くの業績が挙げられた¹⁶⁾。

熔融状態における高分子鎖の形態や分子間相互作用はその後の成形プロセスならびに成形加工品の諸

**Fig. 11** Conformation of polymer chains in binary blend

物性に大きく影響するため、工業的にも注目されるようになる。相互作用パラメータ(χ)とは、混合に伴う系の自由エネルギー変化を記述する際に定義され、重合度(N)との積(χN)として相互作用の強さを示す指標であり、Fig. 11に χN と高分子鎖の形態との関係を模式的に示す。

SANSは、オレフィン系高分子などの分子構造や電子密度、屈折率など諸物性が類似しているブレンド系においても利用でき、実際に種々のエチレン α オレフィン共重合体とアイソタクチックポリプロピレン(iPP)との相溶性検討などに用いられ、共重合体の分子構造（短鎖分岐の量や長さ）と結び付けた相互作用の定量的解析がなされている¹⁷⁾。

水素結合など特異的な分子間相互作用がないポリオレフィン系ブレンドでは、分散力が高分子鎖間に働く支配的な相互作用であると考えられているが、

Table 4 Characterization of fractionated polymer samples

Sample name	M_w	M_w/M_n	M_z
d-iPP	15,000	1.44	20,000
h-iPP	16,000	1.38	21,200
aPP	35,000	1.34	44,600
a(P/B) (P/B = 80 : 20) ^a	32,600	1.30	42,900
a(P/B) (P/B = 60 : 40)	32,000	1.50	47,000
a(P/B) (P/B = 37 : 63)	37,000	1.34	47,000
a(P/B) (P/B = 13 : 87)	34,000	1.42	44,300
aPB	26,000	1.44	35,100

^aThe ratios between propylene and butene in a(P/B)s are molar ratios

ポリオレフィンブレンドの相溶性の機構はよくわかっていない。そこで我々は、アタクチック系プロピレン α オレフィン共重合体を新たな研究対象としてiPPとの相互作用をSANSにより評価することを試みた。Table 4にSANSで用いた試料の基本構造を示すが、1) 重水素化した試料や、2) 分子量分布が狭く共重合組成が均一である試料を用いることにより、相互作用パラメータ(χ)の定量的解析が可能となる。

Fig. 12に東京大学物性研究所の小角中性子散乱装置(SANS-U)を用いて実施したSANSの測定例を示す。ブレンド系におけるSANSでは、(Eq. 1)で記述される干渉性散乱断面積($d\Sigma/d\Omega$)が散乱ベクトル(q)の関数として測定され、(Eq. 2)で表される構造因子 $S(q)$ を用いて実験データを再現する(実線)ことにより、慣性半径 R_g ならびに χ が実験的に見積もられる¹⁸⁾。

$$\frac{d\Sigma}{d\Omega} = \left(\frac{b_D}{v_D} - \frac{b_H}{v_H} \right)^2 \cdot S(q) \quad (\text{Eq. 1})$$

$$S(q)^{-1} = [v_D N_{w,D} \phi_D P_D (q^2 R_{g,D}^2)^{-1}]^{-1} + [v_H N_{w,H} \phi_H P_H (q^2 R_{g,H}^2)^{-1}]^{-1} - 2\chi_{DH}/v_0 \quad (\text{Eq. 2})$$

ここで、 b は散乱長、 v は比容積、 N_w は重量平均分子量、 ϕ は体積分率、 $P(q^2 R_g^2)$ は構造因子、 q は散乱ベクトル、 R_g は慣性半径であり、添え字DおよびHは重水素ならびに水素の表記である。

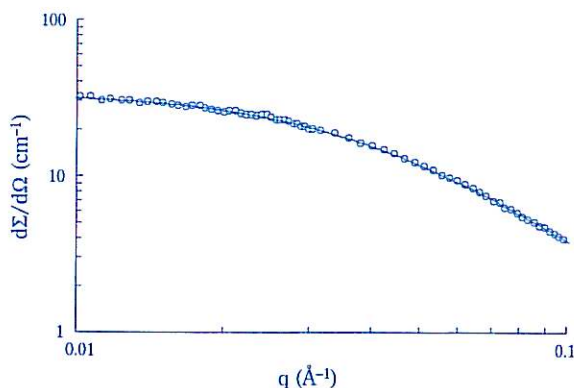


Fig. 12 SANS intensities obtained from d-iPP/a(P/B) (P : B = 60 : 40) blend at 190°C

Fig. 13に相互作用パラメータ(χ)の解析例を示す。aPBとiPPとの相互作用パラメータ(χ)が負値であることや、共重合組成に依存して相互作用パラメータ(χ)が変化することがわかる。この結果はiPPとアタクチック系プロピレン-ブテン共重合体とのブレンドは熔融状態で“相溶系”であることを示している。また、相互作用パラメータ(χ)の温度依存性など解析

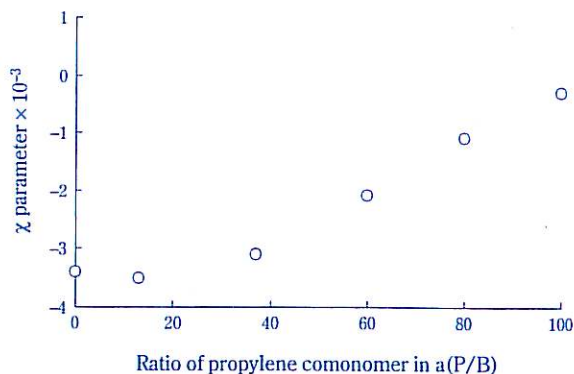


Fig. 13 Flory-Huggins interaction parameter plotted against propylene content in a(P/B)

から、オレフィン系ブレンドに働く相互作用の全貌を解明するためには、分子間相互作用の理論¹⁹⁾⁻²¹⁾を更に拡張する必要があることが本研究からも明らかになってきた。

(2) 外部場下における高分子鎖の形態観察⁷⁾

近年は、装置開発や実験技術の進歩に伴い、流動場における高分子鎖の形態観察²²⁾やリビング重合過程のその場観察²³⁾など動的構造解析にSANSが適用されるようになってきている。Fig. 14に、日本原子力開発機構の中性子小角散乱装置(SANS-J)にて実施した定常流場におけるSANS像の測定例を示す。試料には重水素化高密度ポリエチレン(D-HDPE)と直鎖状低密度ポリエチレン(H-LLDPE)のブレンドならびに低密度ポリエチレン(H-LDPE)とのブレンドを用い、SANS仕様の小型加熱せん断装置を使用して得られたSANS像を比較して示した。静止場ではD-HDPEの分子鎖が等方性な形態であることを示唆するSANS像がどちらの系においても観測されるが、定

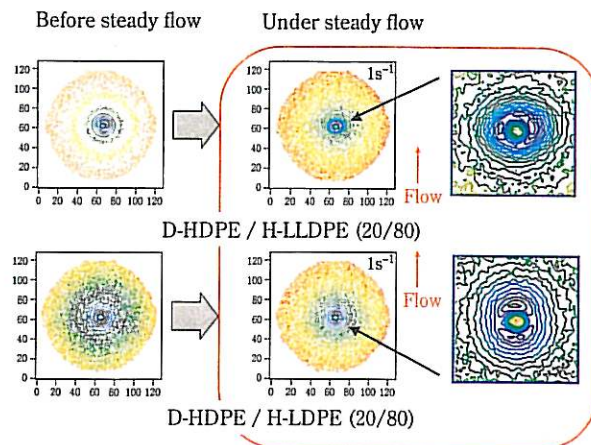


Fig. 14 2D SANS patterns before and under steady flow

常流場に対しては、D-HDPE/H-LLDPEブレンドではD-HDPEの分子鎖が流れ方向に伸長していることを示すSANS像が観測される一方、D-HDPE/H-LLDPEブレンドではD-HDPEとH-LLDPEとが流動誘起相分離を起こしていることを示唆するSANS像が観測される。

SANSは外場下における高分子鎖の形態や相溶性の評価にも極めて有効な手法であり、強度や時間分解能などの克服すべき課題が幾つか残されてはいるものの、その場観察の計測プローブとして今後も積極的に活用されていくものと思われる。

3. 成形加工品の固体構造評価⁹⁾

現在、高分子物理の分野において盛んに議論されている話題の一つに流動誘起結晶化があり、先に述べたような高分子鎖の伸長や流動誘起相分離などの現象がその後の結晶化過程に影響するため複雑なものとなる。紡糸や射出成形などの成形プロセスでは、“トルコ料理の串焼き”にその形が似ていることから「シシケバブ構造」と名付けられた、Fig. 15に示すような板状の構造（ケバブ構造）と針状の構造（シシ構造）からなる結晶構造が、流動誘起結晶化により形成されることがある。このシシケバブ構造は、高分子量のポリマーを追添することによりその形成が促進されることが古くから知られているが、その形成機構やその他の分子量のポリマーが流動誘起結晶化に果たす役割についてはよく理解されていない。

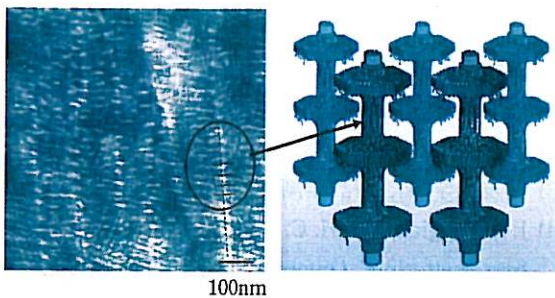


Fig. 15 TEM image of injection molded iPP and schematic illustration of “Shish-Kebab” structure

現在のSANSでは、流動誘起結晶化をその場観察することは中性子強度の点で不可能であるが、1) 重水素ラベル法や、2) 小型の成形加工装置による少量での加工技術を駆使することにより、流動結晶化によって成形加工された試料を構成する全分子量成分のうち、注目する特定の分子量のポリマーの形態を直接評価することが可能である。

Fig. 16に高分子を対象試料とした時にSANSで用いられる重水素ラベル法の概念を模式的に示す。水

素化ポリマー（H体）に対して、特定の分子量のH体ポリマーを重水素化ポリマー（D体）に置換する、あるいは少量追添することによりD体ポリマーの形態がSANSにより観測される。D体ポリマーとH体ポリマーの量比は逆の関係になってもよい。我々は、分子量の異なるH体およびD体ポリプロピレンをそれぞれ重合し、高分子量、中分子量、低分子量成分を2:4:1の比で混合して分子量分布の広いモデルポリマーを作成し、構成している各分子量成分のうち、一つの成分のみを重水素ラベルした各種モデル試料を作成した。Table 5にSANSで用いた試料の基本構造を示す。そして特殊な小型射出成形装置²⁴⁾を利用して各種モデル試料を射出成形した成形品においてSANS測定を行った。

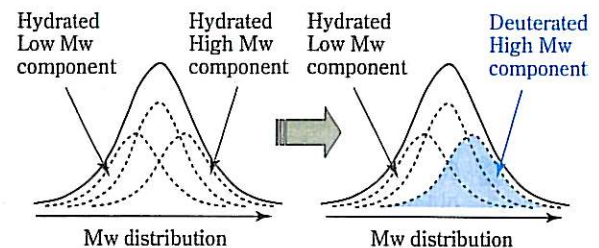


Fig. 16 Schematic illustration for deuterated labeling technique

Table 5 Weight-average molecular mass (M_w) and polydispersity (M_w/M_n) of the deuterium-labeled fraction and of the blend as a whole

Sample	D-labeled polymer		Blended whole material ^a	
	M_w	M_w/M_n	M_w	M_w/M_n
Low-D	41,000	2.4	467,000	8.3
Mid-D	197,000	3.2	486,000	7.9
High-D	1,781,000	3.1	557,000	8.6

^aD-labeled polymer contents=13wt%

Fig. 17に各成形品から得られたSANS像とSAXS像を比較して示すが、試料の電子密度差に由来して観測されるSAXS像はどれも同様のパターンを示している。一方、D-Hコントラストに由来する散乱が観測されるSANS像においては、重水素ラベルしたポリマーの分子量の違いを反映して、試料間で大きく異なる散乱パターンが得られた。詳細な検討の結果、1) シシ構造に由来するSANS像が流れ方向と直交する方向に存在していることや、2) 低分子量や中分子量成分もシシ構造の形成に関与していることが確認された。この実験事実は、シシ形成機構が、これまで考えら

れてきた“高分子量成分のみが凝集してシシ構造を形成する機構”ではなく、“高分子量成分が中分子量ならびに低分子量のポリマーも巻き込みながらシシ構造を形成していく機構”であることを示唆している。この知見は、シシケバブ構造の形成機構の本質を解明するうえで非常に重要なものである。

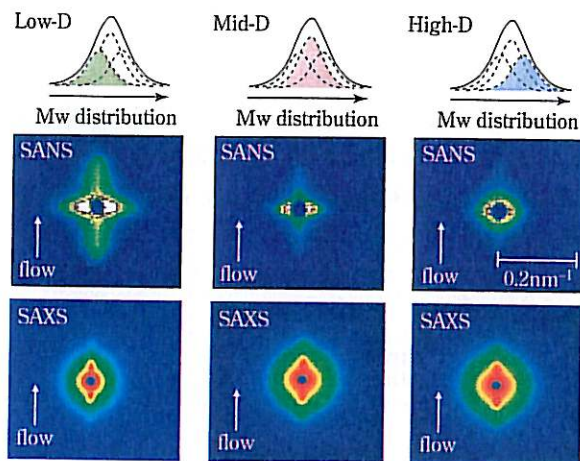


Fig. 17 Comparison of SAXS and SANS patterns obtained from injection molded iPPs with different deuterated Mw component

おわりに

本稿では、シンクロトロン放射光ならびに中性子をプローブとして利用したポリオレフィンの構造解析研究について、散乱法によるフィルム延伸挙動の観察技術や成形加工品の構造解析などを事例として述べてきた。これら量子ビームの利用研究は、最先端高分子科学のみならず高分子産業においても極めて有効であり、新規材料の開発や製品加工研究に今後ますます活用されていくものと思われる。また、今後の量子ビームを用いた研究は、赤外・X線自由電子レーザーをはじめ、茨城県東海村に建設予定の世界最高の陽子ビーム強度をもった加速器群によるパルス中性子源やSPring-8にて計画中的「フロンティアソフトマター開発産学連合ビームライン」の建設など大きな転機を迎えようとしており、更なる期待が寄せられている。

謝辞

本研究は、SPring-8における一般課題、また、高エネルギー加速器研究機構、日本原子力研究開発機構、ならびに東京大学物性研究所との共同研究により実施されたものであり、本研究を実施するにあたりご指導頂きました東京大学新領域創成科学研究科

雨宮慶幸教授ならびに篠原佑也助教、名古屋大学工学研究科 松下裕秀教授、東京大学物性研究所 柴山充弘教授、ならびに日本原子力研究開発機構 橋本竹治教授ならびに小泉智博士に深く感謝致します。

引用文献

- 1) 伊地知 靖人, 佐賀 祐司, 藤井 丈志, 山本 圭作, 住友化学, **1995-II**, 30 (1995).
- 2) 笠原 達也, 山口 登, 水沼 考二, 藤井 丈志, 住友化学, **1999-II**, 4 (1999).
- 3) 桜井 孝至, 笠原 達也, 山口 登, 高分子加工, **53** (1), 24 (2004).
- 4) T. Sakurai, Y. Nozue, T. Kasahara, K. Mizunuma, N. Yamaguchi, K. Tashiro, and Y. Amemiya, *Polymer*, **46**, 8846 (2005).
- 5) Y. Nozue, Y. Shinohara, Y. Ogawa, T. Sakurai, H. Hori, T. Kasahara, N. Yamaguchi, N. Yagi, and Y. Amemiya, *Macromolecules*, **40**, 2036 (2007).
- 6) Y. Nozue, T. Sakurai, H. Hozumi, T. Kasahara, N. Yamaguchi, M. Shibayama, and Y. Matsushita, *Macromolecules*, **40**, 273 (2007).
- 7) T. Kasahara, T. Sakurai, T. Fujii, and S. Koizumi, *JAERI-Review*, **2002-028**, 77 (2002).
- 8) S. Kimata, T. Sakurai, Y. Nozue, T. Kasahara, N. Yamaguchi, T. Karino, M. Shibayama, and J. A. Kornfield, *Science*, **316**, 1014 (2007).
- 9) “シンクロトロン放射光の基礎”, 大柳 宏之編, 丸善 (1996).
- 10) 伊藤 和輝, 雨宮 慶幸, 放射光, **13**, 372 (2000).
- 11) 住友化学(株), 特開2003-207430 (2003).
- 12) 野末 佳伸, 雨宮 慶幸, 放射光, **19**, 356 (2006).
- 13) 住友化学(株), 特許申請中.
- 14) J. S. Higgins, and H. C. Benoît, “Polymers and Neutron Scattering”, Oxford University Press (1994).
- 15) 松下 裕秀, “中性子による計測と利用” 日本アイソトープ協会編, 丸善 (1999), p. 94.
- 16) 松下 裕秀, 化学と工業, **52** (1), 25 (1999).
- 17) M. Seki, H. Uchida, Y. Maeda, S. Yamauchi, K. Takagi, Y. Ukai, and Y. Matsushita, *Macromolecules*, **33**, 9712 (2000).
- 18) P. G. de Gennes, “Scaling Concepts in Polymer Physics”, Cornell University Press (1979).
- 19) F. S. Bates, M. F. Schultz, J. H. Rosedale, and K. Almdal, *Macromolecules*, **25**, 5547 (1992).
- 20) W. W. Graessley, R. Krishnamoorti, G. C. Reichart, N. P. Balsara, R. J. Butera, L. J. Fetters, and D. J. Lohse, *Macromolecules*, **28**, 1260 (1995).
- 21) K. F. Freed, and J. Dudowicz, *Macromolecules*, **31**,

6681 (1998).

22) Y. Takahashi, Y. Ukai, M. Seki, and Y. Matsushita, *Kobunshi Ronbunshu*, **62**, 23 (2005).

23) R. Motokawa, S. Koizumi, T. Hashimoto, T.

Nakahira, and M. Yasunaka, *Physica B; Condensed Matter*, **385-386** (1), 780 (2006).

24) J. A. Kornfield, G. Kumaraswamy, and A. M. Issaian, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **41**, 6383 (2002).

PROFILE



桜井 孝至
Takashi SAKURAI
住友化学株式会社
石油化学品研究所
主任研究員 工学博士



笠原 達也
Tatsuya KASAHARA
住友化学株式会社
石油化学品研究所
主席研究員
(現職: ラーベグリファイニングアンドペトロケミカルカンパニー)



野末 佳伸
Yoshinobu NOZUE
住友化学株式会社
石油化学品研究所
主任研究員 工学博士



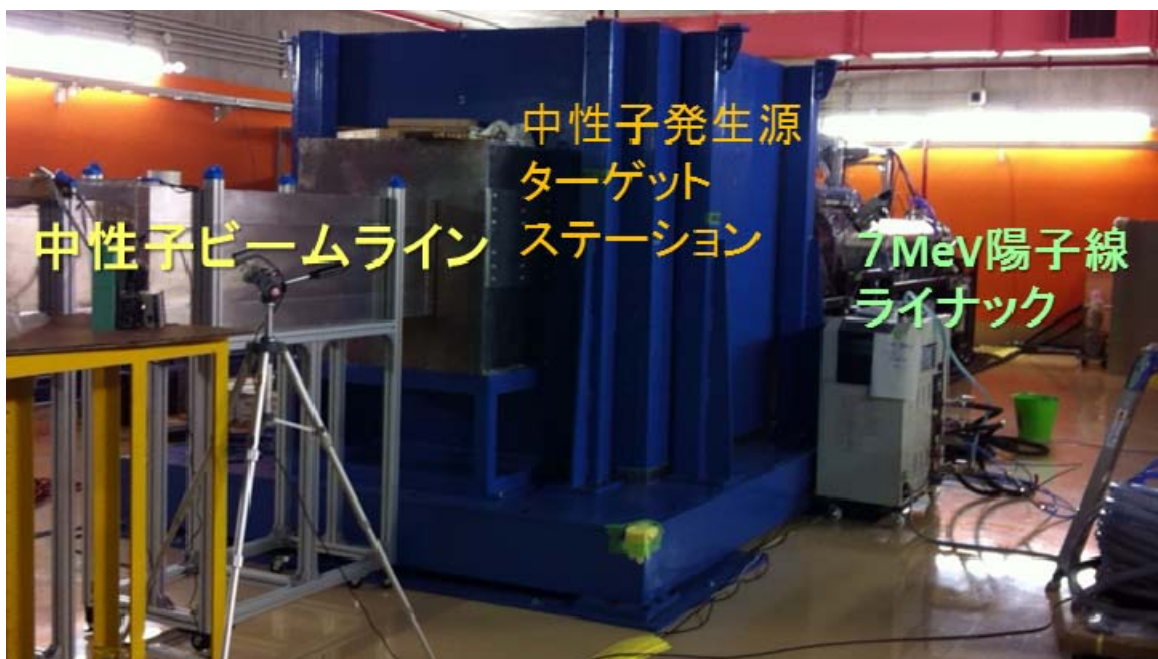
山口 登
Noboru YAMAGUCHI
住友化学株式会社
石油化学品研究所
研究グループマネージャー 主席研究員

動き出した RANS（理研小型中性子源システム）

理化学研究所 竹谷篤 大竹淑恵

理化学研究所では 7MeV の陽子線ライナックを用いた小型中性子源（RIKEN Accelerator-driven compact Neutron Source）の開発を進めてきた。2012 年 2 月から理研和光キャンパスの RIBF 棟の地下 1 階の K1 エリアに設置を開始し、1 2 月に中性子発生を確認し、明けて 2013 年 1 月に施設検査合格、2 月より中性子ビームの調整を始め、高速中性子イメージング実験、企業利用による実験を開始した。RANS での研究の柱は、熱・冷中性子を使った内部構造、結晶歪、温度、磁場等の測定と、MeV オーダーの透過力の強い高速中性子を使ったイメージングである。前者では加速器からの熱・冷中性子を使った測定を行うだけではなく、解析システムまで含めた計測システムの構築を目指している。後者において、橋梁等の大型構造物の非破壊検査システムの構築を目指している。本講演においてはまず RANS の概略、これまでの建設の経緯について報告を行う。また高速中性子イメージングの開発状況についても報告する。

写真はビームライン側からとったもので、RANS の全景写真で、陽子線ライナック、中性子発生ターゲット、ビームラインが直線状に並んでいる



SANS opportunities for the rest of us

北海道大学大学院工学研究院 古坂道弘

中性子散乱は特殊な手法で、中性子を中心として研究を行なっている研究者が使うもの、あるいは放射光、電子顕微鏡、その他の手段で調べつくし、中性子でなければ分からない情報を測定するものというのが現在の常識ではないでしょうか？しかし、それは中性子にアクセスする機会が限られたものであるという前提があつての話のように思われます。さらに、中性子散乱で何が測定でき、どんな情報を得られるのかについては、原理的には分かっているはずのことという暗黙の了解があり、状況を難しくしています。とりあえず測定をやってみることはある程度できるものの、じっくり落ち着いて測定、解析をやってみるといふほどの余裕は無いのが、中性子研究界の現状です。

我々は大型施設の中性子源だけに頼るのではなく、小型加速器中性子源を沢山つくり中性子散乱装置を設置する、あるいは京大原子炉のような通常1MWで運用されている研究用原子炉に同様な装置を設置する、あるいは大型施設の一つのビームラインに多数の小型の実験装置を設置すればこのような現状を打破できると考えています。実際、現在国内の幾つかの小型中性子源を立ち上げるための協力関係、JCANS (Japan collaboration on compact accelerator driven neutron source) がアクティブに活動しています。

さて、そこで問題になるのは、小型加速器中性子源での測定が十分に実用的な研究をやるだけの性能を持っているかどうかです。これは中性子線源の最適化、どんな測定がこのような小型線源に向いていて、どのような装置の最適化が必要か、試料の大きさ、散乱能に、必要なQ領域などによって、何倍どころか何桁も変わります。

小型加速器中性子源の線源に関しては、現在のところ最適化により2倍程度強度を上げることができる程度かと思っています。陽子線、電子線のパルス幅も問題になります。電子線の場合にはパルス幅は数 μsec 以内にできますが、陽子線では0.1-1msecの範囲になります。その代わり、電子線の場合には γ 線が多量に出てきます。さらに小角散乱を行うためには冷中性子源が有ったほうがかなり有利です。

小角散乱装置に関しては必要な測定のQ領域を決めてしまうとほとんど性能が決まってしまう。必要なQ分解能は最小の測定可能なQで決まりますので、基本的性能はそこで決まってしまう。中性子散乱強度はQ分解能の4ないし5乗で決まりますから、最小のQを 0.05 nm^{-1} にするか、 0.1 nm^{-1} にするかによって、 2^4 ないし 2^5 、つまり16倍ないし32倍も強度が変わることになります。

原理的にはQ分解能が決まるとコリメータの分解能も決まってしまう。基本的に試料の大きさが同じであれば、強度はそれで決まってしまう。中性子を収束しようが、集束コリメータを使おうが、ピンホール配置に使用が基本的には変わりません。集束をすることで助かるのは装置の大きさと、全長がその分だけ短く出来るということです。定常中性子源ではそれによる利点はほとんど有りませんが、パルス中性子源の場合には全長が短くなった分だけ長い波長領域が使えることになり、その分だけ角度分解能、つまりコリメータの分解能を緩くすることが出来、数倍ないし数百倍の強度増を達成することが出来ます。つまり、測定可能な最小のQをちょっと大きくし、集束により装置の全長を1/2に出来れば数千倍の強度増を達成することが出来ます。これで大きな施設の線源強度と小型加速器中性子源の強度比は1-2桁ということになり、大型施設で測定時間が数分であったとすれば、同じものを小型線源でも数時間で測定可能だということです。また、試料と検出器間の距離は約0.7mと非常に短いのも特徴です。このため、広角領域に48本の管状のHe-3ガス中性子検出器、LPSD (Linear position sensitive detector) を用いることで非常に大きな立体角を覆うことができ、 0.5nm^{-1} から 5nm^{-1} のQ領域を高感度で測定することが出来ます。

このような集束型の小角散乱装置の原型器については、日本原子力研究開発機構の3号炉に小型集束型中性子小角散乱装置 (mfSANS) として設置されています。図1に標準試料であるベヘン酸銀からの散乱を、図2にはナノ析出物がある鉄鋼材料からの小角・中角散乱を示しました。

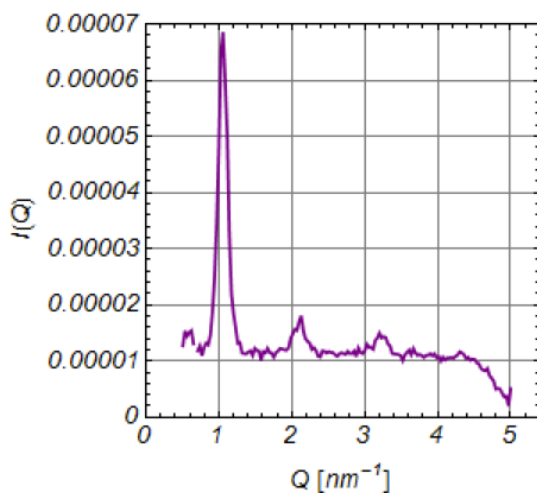


図 1. JRR-3 に設置された小型集束型中性子小角散乱装置 mfSANS で測定されたベヘン酸銀からの散乱。

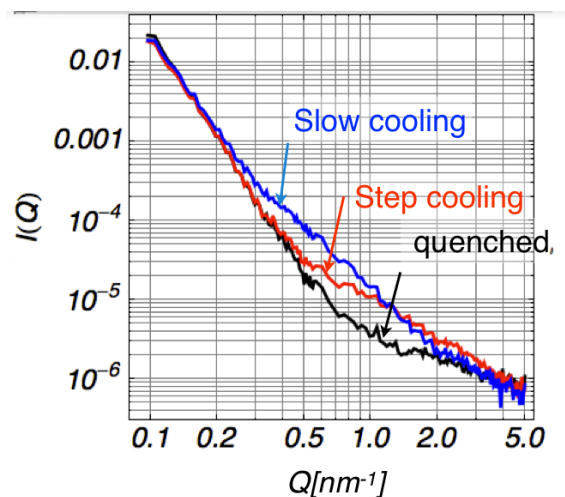


図 2. JRR-3 に設置された小型集束型中性子小角散乱装置 mfSANS で測定されたナノ析出物を持つ鉄鋼試料からの小角散乱。

mfSANSの単色化装置としてはシリコンの完全結晶板を多数重ねて、0.6mと非常に強い湾曲半径で湾曲させたものを用いて、入射ビーム方向から135度の回折角とすることで、0.58 nmの入射中性子を取り出し、mfSANSに入射しています。現在、この単色化素子からの単色中性子束を上げるため、入射ビームの発散角を大きくし、シリコンだけでなく、格子定数が4%大きなGeの単結晶と組み合わせるようなものを開発中です。

集束ミラーについては、現在、その表面粗さによる散乱が小角散乱バックグラウンドとなっているため、新たな回転楕円体型のものを開発中です。2次元曲面の加工を行おうとすると現在のところ切削による超精密加工が不可欠ですが、ガラス基板を用いると加工に数ヶ月を要してしまいます。一方、金型業界ではSUSあるいはAlの基板にアモルファスNiPをメッキしたものを使っています。粗加工した金属基板にNiPをメッキし、その表面を超精密加工することで簡便に高性能の集束ミラーが作成できないか、現在開発を進めているところです。

もう一つの重要なデバイスは検出器です。集束した中性子ビームは1-2mmの程度ですから、それと同程度の空間分解能をもつ検出器が必要です。現在はZnSのシンチレータを抵抗分割型の2次元光電子増倍管（RPMT）と組み合わせたものを利用していますが、検出効率が20%程度で、かつ40kHz程度の計数率しか有りません。現在、マイクロストリップ型の検出器及び、新しいシンチレータであるLiCaFを用いた検出器を開発中です。どちらも検出効率はHe-3検出器に近いものが作成でき、計数率も一桁程度上げることが出来ます。

さらに、北海道大学では最小のQを 0.2 nm^{-1} 程度とした中性子中間領域散乱装置（iANS）を試験すると共に、最小のQがさらに一桁小さな領域を測定できる多数の1mmのピンホールコリメータを用いた小角散乱装置を開発中です。

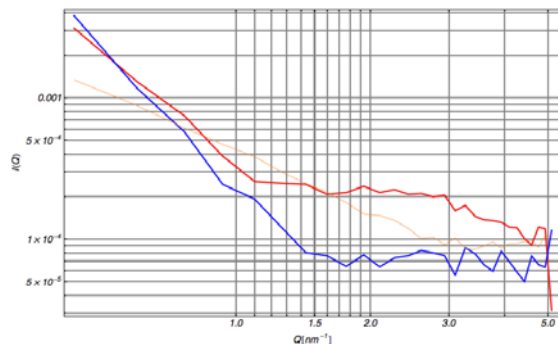


図 3. 北海道大学電子加速器中性子源（HUNS）に設置された中性子中間領域散乱装置（iANS）による中間領域散乱の測定。上側の曲線はナノ析出物のある、下側の曲線は焼入れ直後の鉄鋼材料試料からの散乱。

図3に北海道大学電子加速器中性子源（HUNS）に設置された中性子中間領域散乱装置（iANS）によるナノ構造を持った鉄鋼材料試料からの散乱を示しました。まだ予備的な解析ですが、1測定あたり5時間の測定でナノ構造の測定ができることが確認されました。

溶液小角散乱による天然変性タンパク質の研究

◎小田 隆¹、杉山 正明²、荳口友隆³、佐藤 衛¹

(¹横浜市立大学 ²京都大学 ³慶応義塾大学)

タンパク質はアミノ酸がつながってできた“ひも”であり、そのひもが特定の構造に折れたたまることで機能できる天然状態となる。しかし、近年、生体内にはこのような折れたたまった堅い構造をとらないタンパク質も数多く存在することが明らかとなった。このようなタンパク質は“天然変性タンパク質 (Intrinsically Disordered Protein: IDP)”と呼ばれ、ペプチド鎖が大きく揺らいだ非常に柔軟な構造をとる。天然変性タンパク質は特に真核生物の核内タンパク質に多く見出され、転写や DNA 複製・修復、組換えなど多くの核内イベントに関与している。天然変性タンパク質には相互作用相手と複合体を形成することで構造を形成するものも多く(結合と連結した折れ畳まり機構)、また様々なタンパク質と相互作用し機能するいわゆるハブタンパク質としての役割を持つものも多い。このとき、異なる相互作用相手に対し形を変えて結合する例も多く、柔軟な構造の重要性がうかがわれる。このような柔軟な構造を持つタンパク質がどのようにして機能するのか、どのように相互作用相手を認識するのか、構造の柔軟性と機能はどのように関わっているのかを明らかにするためには従来の結晶構造解析を中心とした静的な構造解析のみでは困難である。

我々は天然変性タンパク質である Hef を例に溶液小角散乱を用いた解析を進めている。Hef は、ヘリカーゼドメイン、ヌクレアーゼドメインという 2 つの折れたたまったドメインとそれらをつなぐ約 100 残基の天然変性領域 (IDR) からなる。Hef は損傷を受けた DNA の修復機構に関わるタンパク質で、ヘリカーゼドメイン、ヌクレアーゼドメインは協調して機能すると考えられ、また IDR 部分で DNA クランプである PCNA と相互作用する。Hef の IDR がどのようにして機能するかを明らかにするために、我々はまず Hef-IDR が PCNA と複合体を形成することでどのような構造をとるのか調べた。中性子小角散乱では溶媒の重水濃度を 40% に設定して測定を行うと、通常の軽水素体タンパク質と溶媒の平均散乱密度が等しくなるため、散乱はほぼ消失する (コントラストマッチ)。したがって、軽水素体 PCNA と重水素体 Hef-IDR との複合体では、複合体中の Hef-IDR のみからの散乱を観測することができる。この方法を用いて得られた散乱パターンを、IDR がコンパクトに fold している複合体モデル、および unfold 状態のままの複合体モデルから計算した散乱パターンと比較したところ、実測の散乱パターンは後者により近いことが示された。

DNA の修復は非常に複雑な過程であり、数多くのタンパク質が関わるため、Hef-IDR はそれらの修復関連タンパク質との複合体形成の足場として働くものと推測

している。あるいは天然変性領域の柔軟性がヘリカーゼドメインとヌクレアーゼドメインの協調的な働きに必要なのかもしれない。

また、我々は天然変性タンパク質の動的な構造解析手法についても開発を進めている。本発表では慶應義塾大学 荳口らが開発を進める MD-SAXS 法についても紹介したい。MD-SAXS 法は天然変性タンパク質が溶液中でとる様々な構造状態を SAXS の散乱パターンとして観測し、その散乱パターンを再現できる構造をシミュレーションにより構築するというものである。このような動的構造解析手法が確立できれば天然変性タンパク質の構造・機能の解明に向けた研究が加速するものと考えられるが、現状では問題点も多い。MD-SAXS 法の確立に向けた取り組みについて紹介する。

タンパク質と同等の分子サイズを持つ巨大カプセル状錯体の合成 ～生体分子修飾による機能化をめざして～

東大院工・理研 佐藤宗太

両端に金属イオンと結合を作るサイトを有する折れ曲がった有機配位子(L)と、Pd²⁺イオン(M)とを溶液中で混合するだけで、M₁₂L₂₄組成の中空の球状錯体が自己組織化により効率よく得られる。この錯体分子は、構造が厳密に規定された人工分子としては最大級に大きく、分子量は1万～5万、直径は4～10 nmにもおよぶ。このタンパク質にも匹敵する分子骨格を基盤として、生体分子を化学修飾することで新たな化学を展開してきた。

一例として、タンパク質を丸ごと閉じ込めた錯体の合成を行った。これまでに、タンパク質のカプセル化は構造安定化や酵素固定などの興味から検討されているが、タンパク質を丸ごと閉じ込められるほど大きな精密カプセル状分子は存在しなかった。我々の研究グループは、ユビキチンを連結した配位子と、糖鎖を連結した配位子とを合成し、これらを混合してPd²⁺イオンと錯形成反応させる手法により、1分子のユビキチンが23分子の糖鎖に覆われる形で丸ごと錯体に閉じ込められた分子を合成した(図1左)。この新しい分子を合成できたことを証明するために、分子の拡散係数を求める2次元DOSY NMR解析や、MEM法を併用した放射光X線による単結晶構造解析を行った。溶液状態における精密な分子構造を得るために、通常は超高分解能質量分析(UHR MS)により分子量を決定できるが、この分子に対してはマスペクトルを得ることができず、最終的に超遠心解析によって分子量を求めた。

錯体の外部を利用した展開として、ガングリオシドGM1という生理活性糖鎖を錯体表面に等間隔に化学修飾し、この糖鎖クラスターの機能を探索した(図1右)。GM1クラスターはアルツハイマー病の原因物質であるアミロイドβペプチド(aβ)と相互作用することが知られているが、aβは凝集性で速やかに沈殿し、また、生体膜上の糖鎖クラスターは巨大で精密解析が困難であるために、糖鎖クラスターとaβとの相互作用機構は未解明であった。我々の研究グループはこの人工糖鎖モデルを用いて、GM1糖鎖部位がaβと相互作用する様子をNMRによって分子レベルで解析することに初めて成功した。

以上のような、厳密な構造をもつ生体分子で修飾した錯体の化学を展開する上で、精密な構造決定法は必須である。溶液構造を分解能に応じて反映できるSANS, SAXSは装置状況に依存する質量分析にとってかわる、確実に測定できる手法として期待しており、特に、錯体骨格と修飾した生体分子とを、溶媒の重水素化率によって識別できるSANSは決定打になると信じている。

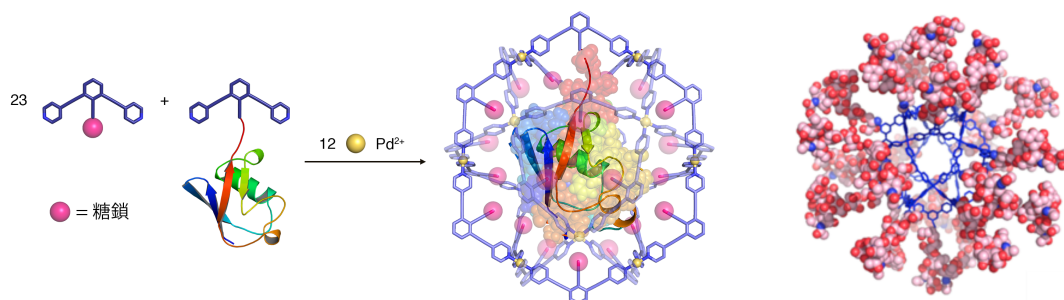


図1 (左) タンパク質を丸ごと閉じ込めた錯体の合成。(右) 生理活性糖鎖を修飾した錯体。

NMR と SANS によるタンパク質の動的構造解析

加藤晃一^{1,2,3}

¹自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター

²名古屋市立大学・大学院薬学研究

³CREST/JST

生命現象の特質は、システムを構成する多数の分子素子がダイナミックな集合離散を通じて秩序構造を形成し、外的環境との相互作用を行いつつ、自律的に時間発展していくことにある。それらの素子が協奏的・自律的に柔軟かつロバストな高次秩序系を創発する仕組みを理解することは、これからの生命科学の重要な課題である。そのためには、生命システムの動秩序形成におけるマイクロ-マクロ相関の探査を可能とする物理化学的計測手法の開発が不可欠である。私たちは、タンパク質をはじめとする生命分子素子の集合体が非対称な 4 次構造と様々な時空間スケールのダイナミクスを発現することを通じて、自己組織化し、高次機能を発現するメカニズムを、核磁気共鳴 (NMR) 法や中性子小角散乱 (SANS) 法をはじめとする様々な計測手法を組み合わせ探求してきた。

本講演では、細胞内におけるタンパク質の分解を司るユビキチン-プロテアソームシステムにおいて機能するタンパク質群を主たる対象として、それらの高次構造のダイナミクスと相互作用の様式について、安定同位体標識を活用した NMR 法と SANS 法を活用して得られた知見を報告する。特に、ユビキチン鎖の動的構造、プロテアソームサブユニット複合体の 4 次構造とそのダイナミクス、プロテアソーム集合補助シャペロンの機能発現メカニズムに関するトピックスについて、複雑なタンパク質 (巨大タンパク質複合体、多ドメインタンパク質、天然変性タンパク質など) の動的構造解析を目指した私たちのアプローチ法を交えつつ紹介したい。

参考文献

M.Sugiyama, H.Sahashi, E.Kurimoto, S.Takata, H.Yagi, K.Kanai, E.Sakata, Y.Minami, K.Tanaka, and K.Kato: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **432**, 141-145 (2013) Spatial arrangement and functional role of α subunits of proteasome activator PA28 in hetero-oligomeric form

M.Sugiyama, E.Kurimoto, H.Yagi, K.Mori, T.Fukunaga, M.Hirai, G.Zaccai, and K.Kato: *Biophys. J.* **101**, 2037-2042 (2011) Kinetic asymmetry of subunit exchange of homooligomeric protein as revealed by deuteration-assisted small-angle neutron scattering

T.Hirano, O.Serve, M.Yagi-Utsumi, E.Takemoto, T.Hiromoto, T.Satoh, T.Mizushima, and K.Kato: *J. Biol. Chem.* **286**, 37496-37502 (2011) Conformational dynamics of wild-type Lys-48-linked diubiquitin in solution

ラフトモデル膜とアミロイド蛋白質との相互作用

Interaction between Raft-Model Membrane and Amyloid- β Protein ----- SAXS and NSE Study on Structure & Dynamics -----

平井光博, 群馬大学大学院工学研究科

Mitsuhiro Hirai, Graduate School of Engineering, Gunma University

* mhirai@gunma-u.ac.jp

Plasma membranes are dynamic assemblies of a variety of lipids and proteins. In this decade, it has been revealed that glycosphingolipid (GSL) and cholesterol assemble into microdomains in plasma membranes which have functions as platforms for membrane-associated events such as signal transduction, cell adhesion, lipid/protein sorting, and so on. While the steady-state existence in the size and shape of liquid-ordered microdomains, so-called 'lipid rafts', still remain the subject of debate, agreement has been reached on the fact that raft domains coalesce upon cross-linking to form signaling and sorting platforms [1]. In addition, abnormalities in microdomains and associated molecules have been found in various diseases, including atherosclerosis, muscular dystrophy and neurodegenerative disorders such as Alzheimer's disease (AD). Recent spectroscopic studies show that the interaction between monosialo-ganglioside (G_{M1}) and amyloid β -protein ($A\beta$) promotes the transition of $A\beta$ from the native structure to the cross-beta fold in amyloid aggregates. $A\beta$ is the key mediator of AD pathology. Gangliosides are acidic GSLs rich in central nervous systems. On the other hand, the interaction between lipid and protein (hydrophobic coupling between a protein and a surrounding lipid bilayer) is suggested to induce the conformational change and function of the protein associated with deformation of the bilayer [2]. However, there is few evidence on the dynamics of 'lipid rafts' membranes.

As the neutron spin-echo (NSE) technique is well known to detect directly slow dynamics of membrane systems in situ, by the combination of NSE and small-angle X-ray scattering we have studied the effect of the interaction between raft-model membrane and $A\beta$ on the structure and dynamics of a large uni-lamellar vesicle (LUV) consisting of G_{M1} - cholesterol-phospholipid ternary mixtures as a model of lipid-raft membrane. We have found that the interaction between the $A\beta$ proteins and the model membrane at the liquid crystal phase significantly suppresses a bending-diffusion motion with a minor effect on the LUV structure. The present results would suggest a possibility of non-receptor-mediated disorder in signaling through a modulation of a membrane dynamics induced by the association of amyloidogenic peptides on a plasma membrane. In this lecture, our previous SANS and SAXS results relating to the above topics are also reviewed.

[1] K. Simons, D. Toomre, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2**, 216 (2001).

[2] J. A. Lundbaek et al., *J. Gen. Physiol.* **123**, 599 (2004).

中性子小角散乱と中性子スピネコーで観測する タンパク質の構造とダイナミクス

遠藤 仁

日本原子力研究開発機構 量子ビーム応用研究部門 分子ダイナミクス研究グループ

黄色ブドウ球菌由来の核酸分解酵素である Staphylococcal Nuclease (SNase) の水溶液中の構造とダイナミクスを、中性子小角散乱法及び中性子スピネコー法を用いて評価した。中性子小角散乱は J-PARC・MLF の時間飛行法小角散乱回折装置 BL15「大観」を用い、 $0.02 < Q [\text{\AA}^{-1}] < 2$ という広範な Q 領域での散乱データの取得に成功した。また、中性子スピネコー測定は、Institut Laue-Langevin の IN15 を用い、最長 200 ナノ秒を越える時間領域での中間相関関数を得た。図 1 に「大観」で測定した NaCl0.1N 重水中の

SNase 5wt% から得られた散乱プロファイルを示す。強度は Glassy Carbon を標準試料として絶対強度化した。各原子の水に対する排除体積を考慮して散乱強度を計算すると、測定結果における前方散乱強度は理論値の半分程度であった。各原子の周りに水和層を考慮したモデルで評価すると、絶対強度及び Q 依存性共に実験値を良好に再現出来る事が解った。図 2 には中性子スピネコー実験によって測定した SNase の中間相関関数を片対数プロットで示す。 $0.03 < Q [\text{\AA}^{-1}] < 0.24$ の領域における最長 250 ナノ秒における動的相関関数が、ほぼ直線で近似でき、キュムラント解析から拡散係数を良好に評価可能である事が解った。得られた拡散係数は Q 依存性を示し、並進拡散運動以外の回転運動及び内部運動を個別に評価することを可能としている。詳細は当日発表する。

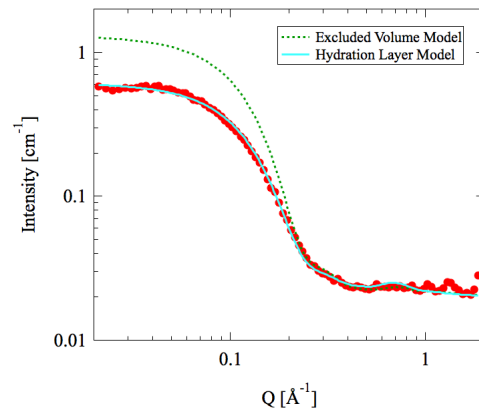


図 1 : SNase (5wt%・NaCl0.1N) の重水中での散乱プロファイル. 破線は各原子の水に対する排除体積を考慮した結晶構造に基づく散乱強度. 実線は、排除体積に水和構造を考慮してフィッティングを行った結果.

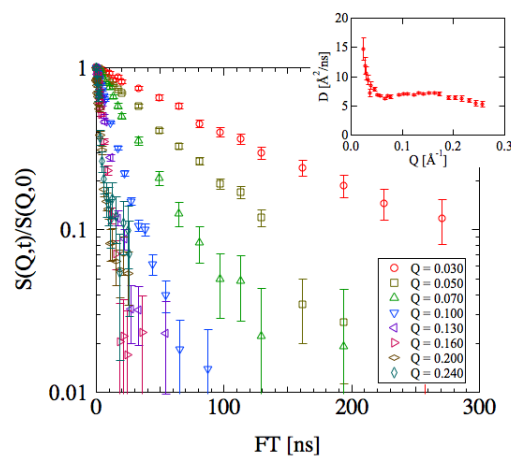


図 2 : SNase (5wt%・重水中) の中間相関関数. 右上の図にキュムラント解析によって評価した拡散係数の Q 依存性を示す.

動的なヌクレオソーム構造によるクロマチン制御機構

胡桃坂仁志

早稲田大学理工学術院 先進理工学部・研究科

真核生物の巨大なゲノム DNA は、染色体として機能的に細胞核内に収納されている。染色体中でゲノム DNA は、クロマチンと呼ばれる高次の階層構造に折りたたまれているが、このクロマチンによる DNA の折りたたみは、ゲノム DNA の発現、複製、修復、組換えのすべてを担うプラットフォームとしての機能を担保するものでなくてはならない。クロマチンは、DNA を収納するための静的な構造体と考えられて来たが、近年、遺伝子の機能調節に重要な役割を持つ機能的な構造体であることが明らかになってきた。このようなクロマチンを介した遺伝情報制御が、エピジェネティクスの基盤であると考えられている。

クロマチンの基本構造はヌクレオソームである。ヌクレオソームは、4種類のヒストン H2A、H2B、H3、H4 それぞれ 2 分子からなるヒストン 8 量体に、DNA が左巻きに 1.65 回巻き付いた円盤状の構造体である。エピジェネティクスの基盤はクロマチンの動的な性質であると考えられるが、これらヒストンの化学修飾やヒストンバリエーションの選択的な利用がクロマチンダイナミクスに中心的な役割を果たすことが示唆されてきた。我々はこれまでに、リコンビナントとして精製したヒストンを用いて、ヌクレオソームおよびクロマチンを再構成する系を確立してきた。そして、クロマチンの動的な性質を介した遺伝情報の制御機構の解明を目標に、ヒストンバリエーションやヒストン化学修飾のクロマチン構造と機能における役割を、生化学的および構造生物学的手法を中心に解析している。

今回、これらの解析によって得られた新知見に基づいて、ヌクレオソームの立体構造と多様性、動的性質などについて議論し、エピジェネティクスの分子基盤・構造基盤について考察したい。

質量分析による構造生物学

横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科 明石知子

近年の質量分析 (MS) の技術的な革新により、 10^{-12} ~ 10^{-11} mol 程度の微量試料でタンパク質や核酸など生体高分子の分子量をルーチンで正確に決定できるようになった。タンパク質の場合、ペプチドに断片化して質量を測定するとともにタンデム質量分析 (MS/MS) で部分配列を解析し、データベースに登録されている配列と照らし合わせることで、タンパク質を容易に同定できるようになった。一般に、「MS によるタンパク質の解析」というと、プロテオーム解析に用いられるこのような実験手法がまず思いつくが、共有結合でつながれた分子の質量情報のみだけが MS で得られる有用な情報ではない。実験手法を理解して MS を用いることで、非共有結合で形成されている複合体の分子量を正確に決定したり、タンパク質の折り畳まれ方や相互作用部位など機能に関連した構造情報を獲得したりすることができる。そのため、MS は構造生物学でも大いに利用されている。ここでは、X 線結晶構造解析では得ることができない構造に関する情報を MS で得られること、X 線小角散乱や MD シミュレーションと MS を組み合わせることで溶液と気相での構造の違いが解析できることなどを中心に、筆者らの最近の研究について紹介する。

(1) 混合物でも複合体の分子量を決定できる

複合体の混合物試料を結晶化すると、対称性の良いもののみが結晶化され構造が解かれることがある。これに対し、同じ試料について、精査した測定条件の下、ナノエレクトロスプレー (nanoESI) でイオン化し質量分析すると、複合体イオンは解離せずインタクトの状態で見測され、その試料に存在する各複合体の質量を正確に求めることができる (誤差は大きくても数%程度)。その結果、溶液中の各成分の存在状態を表わすスナップショットを得ることができ、結合のストイキオメトリーを元に機能について考察することができる。このような特徴を利用して、ヒトヌクレオソームコアを再構成した時に得られる生成物や、*Bacillus* 属細菌の転写翻訳制御因子 TRAP とそのレギュレーター anti-TRAP との複合体等について得られた結果を紹介し、MS で得られる情報が生物機能を考える上でどのように役立つかについて紹介する。

(2) イオンモビリティ質量分析で“形”がわかる

近年、同じ質量をもつタンパク質のイオンでも、形 (コンフォメーション) の違いで分けることができるイオンモビリティ分離部を組み込んだ質量分析装置が開発され、さまざまなタンパク質複合体のコンフォメーションの解析が行われるようにな

った。我々は、このイオンモビリティ質量分析 (IM-MS) を用いて、単独で存在するときは一定の構造を有しないが、ターゲットを認識することで構造が形成され機能する天然変性領域を有するタンパク質 (天然変性タンパク質) について解析している。これまでに、組換えメディエーター Swi5-Sfr1 複合体やヒストン多量体について、IM-MS と X 線小角散乱や MD シミュレーションを組み合わせることで、フォールドした構造は気相でもほぼ保たれるが、天然変性領域は気相では極端に縮んでしまう (つぶれてしまう) ことを明らかにしており、これらの研究について紹介する。

質量分析では、複合体でも全体の質量を正確に決定でき、種々の手法と組み合わせることで、構造 (形) に関わる情報や、結合の強さ、複合体の安定性に関する情報を得ることができる。最近では膜タンパク質の複合体でも丸ごとイオン化できることが示されており、今後、ますます構造生物学で活用されることと思われる。