

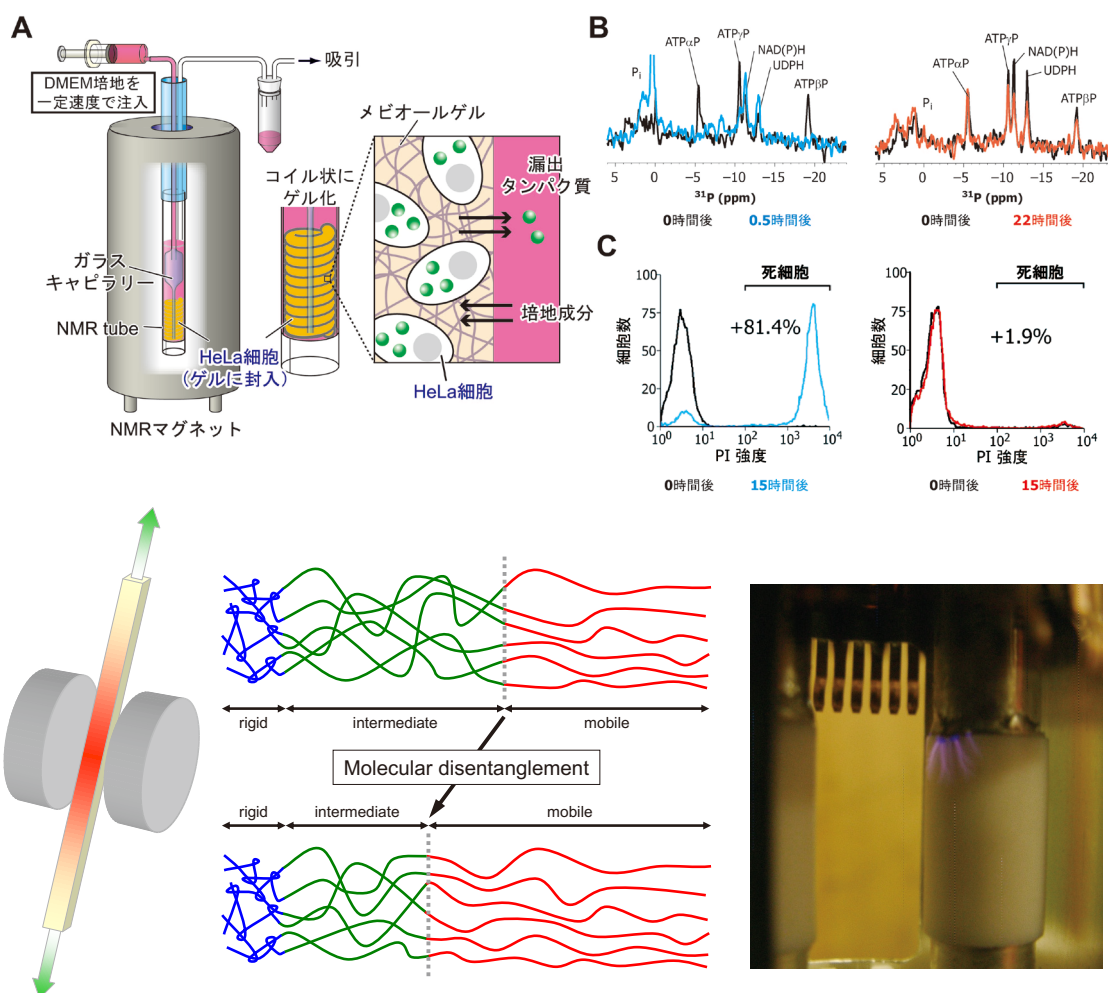
会長メッセージ 藤原敏道

巻頭エッセイ 山本泰彦

総説論文：解説 攪上将規、西田紀貴、三好利一

総説論文：NMR便利帳 根本貴宏

会員便り：ISMAR-APNMR2021報告 藤原敏道、大山貴子



表紙の図

(上 段): “In-cell NMR法を用いた細胞内生命現象のリアルタイム観測”(図2)

千葉大学大学院薬学研究院 西田 紀貴先生

(下段左): “*In situ* 計測の融合による高分子変形過程における動的構造変化の解析”(図9より改変)

群馬大学大学院理工学府 攪上 将規・高澤 彩香・上原 宏樹先生

(下段右): “NMRプローブの基礎”(図5より改変)

株式会社JEOL RESONANCE 根本 貴宏先生

NMR

*Bulletin of the Nuclear Magnetic
Resonance Society of Japan*

Vol. **12** No.1

August 2022

日本核磁気共鳴学会
The Nuclear Magnetic Resonance Society of Japan

CONTENTS

●会長メッセージ

日本 NMR 学会第 11 期 (R4-R5) 会長の挨拶	3
藤原 敏道	

●巻頭エッセイ

NMR に巡り合って始まった旅	4
山本 泰彦	

●総説論文：解説

<i>In situ</i> 計測の融合による高分子変形過程における動的構造変化の解析	6
攪上 将規	

In-cell NMR 法を用いた細胞内生命現象のリアルタイム観測	17
西田 紀貴	

結晶性高分子の軌跡、結晶化、未来	23
三好 利一	

●総説論文：NMR 便利帳

NMR プローブの基礎	32
根本 貴宏	

●会員便り：ISMAR-APNMR2021 報告

ISMAR-APNMR2021 開催概要報告	37
藤原 敏道	

ISMAR-APNMR2021 参加報告	40
大山 貴子	

日本NMR学会第11期(R4-R5)会長の挨拶

大阪大学蛋白質研究所

藤原 敏道

tfjwr@protein.osaka-u.ac.jp

NMRは、最初の実験からこの約80年間に科学技術の発展とともに、その測定法や応用実験法が開発され、学術だけでなく産業上の課題にも大きな影響を与えるようになりました。エレクトロニクス、コンピュータ、磁石、さらに同位体標識など試料調製法の発展を取り入れて、NMRは感度、分解能が向上して、物理、化学、生物学、医学などの領域で重要な役割を果たしています。これは、最初のNMR直接観測、効率的なフーリエ変換NMR、イメージング、タンパク質の構造決定などでのノーベル賞受賞にも表れています。このようなNMRの基礎と応用の発展は現在も続いています。

このような中で日本核磁気共鳴学会には、NMRの基礎と応用研究者を中心として、その利用者がグループ、さらに装置メーカーや試料調製、解析サービスなどに関する民間企業も含んだコミュニティとしての役割があります。学会の中心的な活動であるNMR討論会の主催に関連した多様な会員の交流を充実させて、NMRの継続的な発展と普及に貢献してきました。具体的には、2022年で第61回になるNMR討論会での最新の研究成果の発表・交流に加えて、若手の顕彰など人材育成、チュートリアルや学会誌出版などを行ってきています。

学会の一つの役割は、日本のNMRコミュニティとして国際協力することです。NMR討論会では海外の先進的な研究者を招くなど国際交流を進めています。日本からも優れた研究が海外の学会へ招待されるなど、独自の寄与が多くあります。日本のコミュニティの寄与やその規模に応じて、海外からは国際会議の日本開催を期待され、

またその開催は国内のコミュニティへも貢献します。代表的な会議は国際磁気共鳴会議ISMARや生体系のICMRBS、アジアオセアニア地区のAPNMRです。招致活動から開催まで6年程度の活動を要して、参加者も1,000名規模になり経費も多額で組織的な対応が望まれます。最近ではICMRBS 2018、ISMAR-APNMR 2021などで、学会が重要な役割を果たしています。

NMR学会は社会や科学技術の変化にも対応することが求められています。コロナ禍の中では2021年のISMAR合同会議はオンラインで開催しました。2020年からは、COVID-19に対する安全性を考慮して開催しています。今後のDX技術の発展によっては、対面だけでなくバーチャルな開催が会員にとって有益になるかもしれません。容易に参加できるので、出席者数の増加や国際交流には有効でしょう。すでに理事会はオンラインで開催して交通費支出は最小になりました。

今後、科学技術の発展でMNRが関与する領域の融合や発展に応じて学会も変化するでしょう。例えば、実験法の発展でDNP-NMRなど電子スピンと核スピン利用の親和性が増し、2019年と2021年には電子スピンサイエンス学会と並立や合同で学会を開催しました。また、NMRの超高感度化や検出法の発展で、その実験や応用法が大きく変わるかもしれません。生体系分子構造解析ではX線回折法や電子顕微鏡の最近の発展がNMR応用や研究者に大きな影響を与えています。

このような変化のある中で、学会は日本におけるNMRのコミュニティとして会員の交流を通じて柔軟にNMR分野の発展に貢献できればと思います。

NMRに巡り合ってしまった旅

筑波大学名誉教授

山本 泰彦

yamamoto@chem.tsukuba.ac.jp

この度は、NMR討論会特別講演者として表彰していただき、有難うございます。一生懸命に取り組んできたことが報われることほど、幸せなことはありません。学生時代にNMRに巡り合うことができたからこそ、40年以上に渡ってNMRと共に幸せな研究者人生を過ごして来られたと考えています。

有田みかん発祥の地である和歌山県有田市で生まれ育った私は、子供の頃、紀伊水道に面した海岸での魚釣りに明け暮れており、「将来は、釣りをして過ごしていきたい。」と考えていたほどでした。初めのうちは、釣り、昆虫採集、模型作製等、好きなことの選択肢が少なかったのですが、年齢を重ねて世界が広がると選択肢が急増し、未知の世界にはもっと楽しいことがあるのではと思うようになりました。好きな道を選ぶのは、簡単なようで実はむずかしいのだと実感した次第です。それとともに、人生の方向性が定まれば、自分の好きなことをして身を立てていくという夢と現実のギャップを埋めるエフォートは苦痛ではなく、夢を実現する努力をしないことの方がむしろ苦痛であることも実感いたしました。

東京工業大学に入学してから約2年間は、端艇部でひたすらに体を鍛えていました。埼玉県の前田漕艇場にある艇庫を兼ねた合宿所では、多くの貴重な体験を積むことができました。合宿中は、朝4時半に起床してから約2時間の練習を行った後で、合宿所から約1時間半をかけて大学に通っていました。また、日曜日や休日には合宿所近くの荒川での遠漕等もあり、まさに私の世界は端艇部を中心として回っていたのです。したがって、大学から徒歩3分の距離に借りていた下宿で私が過ごすのは、週に1日程度でした。携帯電話が存在しない当時、私にかかってきた電話は大家さんが取り次いでくれていましたので、いつも不在の息子のことを心配するあまり、母親が合宿所まで確認にきたほどでした。このように、端艇部では

充実した時間を過ごしておりましたが、卒業後もボート選手として活躍できるほどの能力がないことは明らかでしたので、自分の進むべき道を見つけないと思い始めました。

そんな時期に、西岡篤夫先生の講義で、NMRに巡り合うことができたのです。講義を通して、NMRスペクトルの単純明快さに感動すると同時に、従来の分光法とは質的にまったく異なる情報を与えるNMRは、無限の可能性を秘めていることを直感いたしました。そして、『パルスおよびフーリエ変換NMR (理論および方法への入門)』T. C. Farrar, E. D. Becker 著、赤坂一之、井元敏明 訳、吉岡書店 (1976) でNMRの理解を深める努力を始めるとともに、将来的にはNMRの研究に携わっていきたくないと漠然と考えるようになりました。中條利一郎先生の研究室に配属されて、晴れてJEOL製 JNM PS-100 NMR分光計に触れる機会が与えられ、私にとってNMRの道を究める第一歩を踏み出すことができました。さらに幸運なことに、私が研究室に配属された1978年の第17回NMR討論会は、西岡先生が世話人で開催されましたので、学生の私たちは準備等の手伝いのために会場に入ることが許されたのです。会期を通して、NMRに対して熱い思いをもつ多くの研究者を目の当たりにすることができ、NMRの研究者になりたいという気持ちがより一層強くなりました。そして、NMRに関する知識が増えてくると、米国の大学で研鑽を積みたいと考えるようになり、西海岸のUC Davisで常磁性ヘムタンパク質をNMRで研究しているGerd N. La Mar先生に留学希望の旨を伝える手紙を送りました。La Mar先生とは面識がなかったことから、返事が無くても致し方ないと思っておりましたので、UC Davisの大学紹介ブックレットが同封されたLa Mar先生からの返事が届いた時は、身も心も踊るような気持ちになったものです。

1980年秋に、東工大の大学院を休学して、私

はUC Davisに入学しました。そして、翌年、一旦帰国して東工大で修士を取得してから、今度は妻帯者として渡米いたしました。UC Davisでは、TAやRAの報酬に加えて、授業料の大幅減免の経済的サポートが得られ、私費留学生の私には大変有難いものでした。UC Davis時代は、Ph. D.候補者となるためのQualifying Oral Examination受験時は大変でしたが、1986年3月にPh. D.を取得するまで、本当に濃密で楽しいかけがえのない時間を過ごすことができました。1982年にStanford Univ.で開催されたICMRBSに参加する機会があり、第一線で活躍する日本および世界のNMR研究者と直に交流することができましたし、研究以外の話で恐縮ですが、私がUC Davis側の担当者として、懇親会で振舞われた100本以上のSonoma産ワインを抜栓したことは、大変懐かしい思い出です。また、1983年と1985年にAsilomarで開催されたENCに研究室メンバー全員で参加したことも、良い思い出として心に残っています。

私のパーソナルヒストリーだけでは内容が希薄だと思いますので、室町時代の能楽師である世阿弥が遺した『風姿花伝』から引用して、若い研究者に向けたメッセージとさせていただきます。『風姿花伝』の第一章で、世阿弥は、二十代半ばから三十代半ばまでは、心身ともに充実し、周囲から素晴らしいと認められる時期であるが、それに慢心して努力しなければ失敗すると言っています。そして、続く四十代半ばまでの10年間が全盛期であり、この時期にこれまでの人生を振り返り、今後の進むべき道を考えることが重要であると言っています。逆に言えば、この時期までに評判を取らなければ、本物の能役者とは言えないと言い切っているのです。世阿弥のこの人生論は、私の実感する研究者人生によく当てはまります。若い研究者は、このような世阿弥の人生論に照らし合わせて、理想的な研究者人生を考えてみてはいかがでしょうか。そして、より一層実りある研究者人生を歩むとともに、我が国のNMRの発展に貢献していただけることを願っています。



山本 泰彦 (やまもと・やすひこ)

1979年 3月 東京工業大学 工学部 高分子工学科 卒業
 1982年 3月 東京工業大学 大学院 修士課程 理工学研究科 高分子工学専攻 修了
 1986年 3月 米国カリフォルニア大学デビス校 大学院 化学研究科 Ph. D. 課程 修了
 1986年 5月 東京工業大学 工学部 助手
 1990年 4月 同 生命理工学部 助手
 1993年12月 筑波大学 化学系 助教授
 1999年 5月 同 大学院 数理物質科学研究科 教授
 2012年10月 同 数理物質系 教授
 2022年 4月 同 名誉教授、内閣府 食品安全委員会 技術参与

*In situ*計測の融合による高分子変形過程における動的構造変化の解析

群馬大学 大学院理工学府

攪上 将規、高澤 彩香、上原 宏樹

kakiage@gunma-u.ac.jp

1. はじめに

高分子の変形過程における構造形成メカニズムの解明において、変形過程で刻一刻と変化する動的構造変化を追跡し、ダイレクトに観察する計測法である *in situ* (その場) 計測 (インプロセス計測) は効果的な手法である。この高分子変形過程における動的構造変化の解明には、結晶相だけでなく、中間相・非晶相の構造変化の解析が不可欠である。特に、熔融非晶やエラストマーでは、変形過程の中間相・非晶相の構造変化が重要となる。例えば、高分子熔融体 (熔融非晶) を考えると、高分子の長い分子鎖に由来する分子鎖絡み合いや、長い緩和時間に由来する構造履歴が存在する。これら中間相および非晶相の構造は、高分子材料の成形性および物性に大きく影響する。よって、高分子変形挙動を理解するためには、結晶相だけでなく、中間相・非晶相を含む複雑な動的構造変化を *in situ* 計測する手法が重要となる。

2. 高分子変形過程における *in situ* 計測法： X線測定およびパルス NMR 測定

高分子変形過程における動的構造変化を評価することができる *in situ* 計測手法として、X線測定は代表的な手法である。我々も含め、多くの研究グループが各種高分子の変形過程における *in situ* X線計測を行ってきている。このX線測定は結晶相あるいは結晶相／非晶相の構造スケールの評価に適しているものの、中間相や非晶相のような規則構造をもたない構造の評価には不向きである。

一方、中間相・非晶相を含む高次構造を評価する手法として、核磁気共鳴 (NMR) 測定がある。分子鎖の運動性を評価するNMR測定は中間相・非晶相を評価する手法として有効である。特に、パルスNMR測定は、高分解能NMR測定とは異なり化学シフトに関する情報は得られないものの、系全体の緩和時間に関する情報が得られる。緩和時間は相構造や拘束状態の違いによる分

子運動性の違いを反映していると考えられることから、これを解析することで、分子運動性の観点から中間相・非晶相における構造の質 (分子運動性) と量 (成分比) の違いを検出できることが、パルスNMR測定における特長である^[1]。そこで我々は、*in situ* 計測手法としてパルスNMR法に着目した。永久磁石を用いるパルスNMR装置は小型で拡張性があり、測定が容易で、測定サンプル形状の制限が少ないことが特徴である。特に、¹HパルスNMRは検出感度がよく、比較的短時間で精度よく緩和時間を測定することができる。これらの特徴を利用し、我々はパルスNMR装置に一軸二方向引張試験機を組み込むことで、*in situ* パルスNMR計測システムを構築した (図1)^[1~3]。これにより、各種高分子の一軸伸長下での緩和時間挙動と変形応力の同時測定を可能としている。

我々はこれら *in situ* X線計測による結晶相あるいは結晶相／非晶相の構造解析と *in situ* パルスNMR計測による中間相・非晶相の構造解析を組み合わせることで、高分子変形過程の応力一ひずみ挙動に対する複雑な動的構造変化の解明に取り組んでいる。本稿ではこれまでの研究成果のうち、超高分子量ポリエチレン (UHMW-PE) の溶

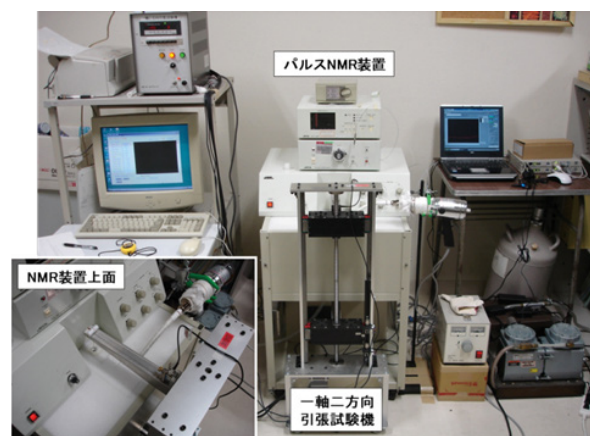


図1 *In situ* パルスNMR計測システム。延伸過程におけるNMRシグナルと変形応力を同時記録できるように設計されている。

融延伸過程における構造形成挙動の解明および直鎖状低密度ポリエチレン (LLDPE) 延伸フィルムの伸長／収縮動作におけるタイ分子の状態変化の解析について紹介する。

3. UHMW-PE 溶融延伸過程における

構造形成挙動の解明

分子量が100万以上のポリエチレンである UHMW-PE は分子鎖が非常に長いことから溶融状態で分子鎖絡み合いを多く形成する。この分子鎖絡み合いを応力の伝達点として利用することで、UHMW-PE は溶融状態から延伸することができる (溶融延伸法)^[2~17]。この溶融延伸法はポリテトラフルオロエチレン^[18] やケイ素系ポリマー^[19] にも適用され、超高分子量ポリマーにおける高性能化手法として、薄膜・多孔膜^[20~24] や繊維^[25]、テープ^[26] の作製に展開されている。この UHMW-PE 溶融延伸過程における配向結晶化挙動を *in situ* 広角X線回折 (WAXD) 計測^[8] により、配向結晶化前の溶融非晶鎖の構造 (分子鎖絡み合い状態) 変化を *in situ* パルス NMR 計測^[2] により評価した。

3.1. *In situ* WAXD 計測による配向結晶化挙動の解析

UHMW-PE の溶融延伸過程において、溶融非晶相から通常の結晶型である直方晶へと配向結晶化する途中で六方晶への一時通過的な結晶化が起こることが我々の研究から明らかとなっている^[7]。このような UHMW-PE の溶融延伸過程における相構造変化を応力と温度の相図として表すと、図2の矢印のようになる。この溶融延伸過程における一時通過的な六方晶の生成は、溶融状態で分子配向が導入されることで可能になると考えられる。一般に、溶融状態では分子運動性が高いために一

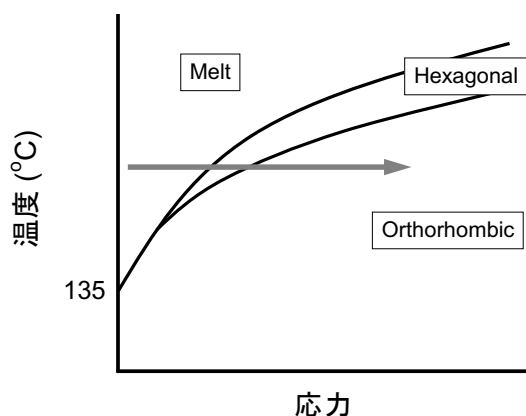


図2 UHMW-PE の応力－温度相図。矢印は溶融延伸過程を示す。

旦分子配向が導入されてもすぐに緩和してしまうが、分子量が極めて大きい UHMW-PE では緩和時間が非常に長く^[27]、溶融状態であっても配向状態が維持される。このような UHMW-PE の溶融延伸挙動は、試料の分子量特性、すなわち、分子鎖絡み合い特性に大きく影響される^[9, 14~17]。

そこで、溶融延伸における分子量分布の効果を見積もるため、異なる触媒系、すなわちメタロセン系触媒およびチーグラ系触媒で重合された UHMW-PE を試料として選択した。分子量分布は、前者では狭く、後者では広いことから、これらの試料を用いることによって、溶融延伸過程での相構造形成における試料分子量分布の効果が明らかになると期待される。そこで、分子量が同程度 (粘度平均分子量 1,000 万) で分子量分布の異なるメタロセン系およびチーグラ系 UHMW-PE から作製したフィルムを融点 (約 135°C) 以上の 160°C、延伸速度 24 mm/min にて一軸延伸し、溶融延伸過程における WAXD 像変化を *in situ* で測定した。また、延伸装置に装着したロードセルにより延伸応力を同時測定した^[8]。

図3に、分子量分布が狭いメタロセン系 UHMW-PE の溶融延伸過程における WAXD 像と応力プロファイルの変化を示す。まず応力プロファイルを見ると、延伸開始とともに応力が上昇し、溶融延伸の特徴である平坦領域が出現している。また、応力平坦領域通過後、応力の上昇によってひずみ硬化現象が起こっていることがわかる。次に WAXD 像変化を見ると、延伸前は無配向の非晶

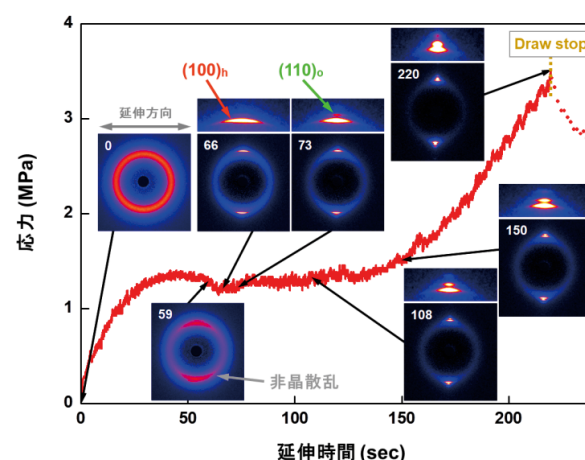


図3 メタロセン系 UHMW-PE の溶融延伸過程における WAXD 像変化と応力変化。延伸温度は 160°C、延伸速度は 24 mm/min。WAXD 像における延伸方向は横方向。結晶反射領域の拡大像も併せて示してある。添え字の“h”および“o”は、それぞれ六方晶および直方晶を意味している。

散乱のみが認められる。このことから、延伸開始時にはフィルムが完全に融解していることがわかる。延伸開始とともに応力の上昇にともなって非晶散乱が赤道線（延伸方向と垂直）上に集まってくる。これは、非晶鎖の配向を示している。その後降伏点に達するものの、結晶反射は認められない。この降伏点通過後、応力平坦領域の開始点で非晶散乱が急激に減少し、それと同時に赤道線方向に強い六方晶100面反射が突如として出現する。この時、直方晶反射はほとんど認められない。その直後から直方晶110面反射が出現し始め、応力平坦領域を通過する間は徐々に強くなっていく。この間、六方晶100面反射と共存している。その後、応力が立ち上がるとともに直方晶110面および200面反射が強くなり、同時にアーク状からスポット状へと変化していく様子が見られる。

これに対して、分子量分布が広いチーグラ系UHMW-PEの溶融延伸過程（図4）では、その相構造変化がメタロセン系UHMW-PEと大きく異なっている。まず応力プロファイルを見ると、メタロセン系UHMW-PEと同様に平坦領域が出現しているが、その応力値はチーグラ系UHMW-PEの方が低いことがわかる。これは、チーグラ系UHMW-PEは分子量分布が広く、同程度の分子量であっても低い分子量を有する成分を多く含んでいるためと考えられる。次にWAXD像変化を見ると、降伏点まではメタロセン系UHMW-PEと同様であることがわかる。しかし、応力平坦領域に入っても依然として結晶反射は認められない。そして、応力平坦領域の中間点付近

から六方晶100面反射のみが出現し、次第に強くなっていく。その後直方晶110面反射も出現し始め、応力が立ち上がるとともに直方晶110面および200面反射が強くなっていく。このような応力平坦領域の中間点付近からの穏やかな六方晶結晶化は、メタロセン系UHMW-PEでは観察されなかった挙動である。

そこで、これらメタロセン系およびチーグラ系UHMW-PEを溶融延伸した際の相構造変化の違いを、積分強度変化によって相対的に比較した。赤道線方向の六方晶100面反射と直方晶110面反射の強度変化を比較することで、溶融延伸過程における結晶化機構を検討することができる。また、赤道線方向と子午線（延伸方向と平行）方向の非晶散乱の積分強度を比較することで、溶融延伸過程における非晶鎖の配向挙動を評価することができる。溶融延伸過程における各成分の積分強度変化を、メタロセン系およびチーグラ系UHMW-PEについてそれぞれ図5 (a) および (b) にまとめた。なお、図中の斜線部は各試料の応力プロファイル（図3および図4）における平坦領域を示している。まず六方晶100面反射の積分強度変化を見ると、メタロセン系UHMW-PE（図5 (a)）では応力平坦領域の開始点で急激な六方晶結晶化が進行していることがわかる。その後、応力平坦領域の間は一定強度で推移し、ひずみ硬化にともなって強度が増加していく。一方、チーグラ系UHMW-PE（図5 (b)）では応力平坦領域の開始点で六方晶結晶化が起らず、中間点付近から六方晶反射が出現し、徐々に増加していく。次に直方晶110面反射の積分強度変化を見ると、メタロセン系UHMW-PE（図5 (a)）では六方晶結晶化直後から徐々に増加し、さらに延伸後期で急激な増加が見られる。一方、チーグラ系UHMW-PE（図5 (b)）では六方晶結晶化の後にわずかに出現し、ひずみ硬化領域で急激な増加が進行している。

さらに、溶融延伸にともなう非晶散乱の積分強度変化を検討した。どちらの試料も赤道線および子午線方向の非晶散乱の強度は延伸とともに減少しているが、これは延伸によってフィルム厚が減少していくことによるものである。メタロセン系UHMW-PE（図5 (a)）の溶融延伸過程においては、延伸開始とともに赤道線および子午線方向の強度の差が増大していくことから、非晶鎖の配向が進行していることがわかる。その後、応力平

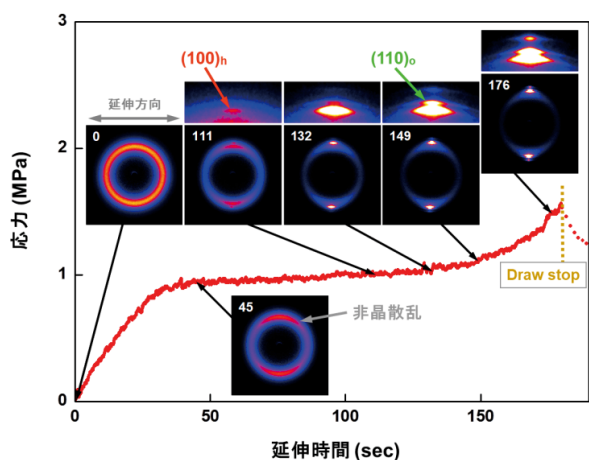


図4 チーグラ系UHMW-PEの溶融延伸過程におけるWAXD像変化と応力変化。延伸温度は160℃、延伸速度は24mm/min。WAXD像における延伸方向は横方向。結晶反射領域の拡大像も併せて示している。

坦領域の開始点で六方晶への急激な結晶化にともなってどちらの方向の非晶散乱強度も急激に減少している。同様に、チーグラ系 UHMW-PE (図 5 (b)) の溶融延伸過程においても延伸開始とともに非晶鎖の配向が進行していることがわかる。しかし、応力平坦領域の開始点から中間点の間では非晶散乱強度の差はあまり変化せず、このことは、このひずみ領域では非晶鎖の配向がほとんど進んでいないことを示している。チーグラ系 UHMW-PE は分子量分布が広く、メタロセン系 UHMW-PE に比べて低い分子量を有する成分を多く含んでいることを考えると、この領域では分子鎖すべりをともなう絡み合いの解きほぐしが進行していると推測される。すなわち、分子量分布が広いチーグラ系 UHMW-PE では、中程度の分子量成分によって高低の分子量成分との間に絡み合いネットワークが形成されるために、穏やかな六方晶結晶化が進行すると言える。

これら重合触媒系の異なる、すなわち分子量分布の異なる UHMW-PE の溶融延伸過程における相構造形成メカニズムをまとめると、次のようになる。メタロセン系 UHMW-PE では、まず延伸開始とともに溶融非晶鎖の配向が進行する。そして降伏点通過後、応力平坦領域の始まりで配向非晶から六方晶への結晶化が急激に進行する。そして、その直後から直方晶が出現し始め、その後ひずみ硬化領域で直方晶結晶化が進行する。すなわち、メタロセン系 UHMW-PE の溶融延伸過程は、「非晶鎖の配向」、「応力平坦領域の開始点での急激な六方晶結晶化」、「延伸後期での直方晶結晶化」の主に 3 つのカテゴリーからなっていると言える。一方、チーグラ系 UHMW-PE でも、メタロセン系 UHMW-PE と同様に延伸開始とともに溶融非晶鎖の配向が進行する。しかし、降伏点を越えると非晶鎖の配向はそれ以上進行せず、応力平坦領域の開始とともに配向非晶鎖のすべりをともなう絡み合いの解きほぐしが進行する。この分子鎖すべりが飽和し、分子鎖が引っかかり始める応力平坦領域の中間点付近から、徐々に六方晶結晶化が進行する。その後直方晶も出現し、ひずみ硬化領域で六方晶から直方晶への結晶転移が急激に進行するために、六方晶の減少と直方晶の増加が認められる。このように、チーグラ系 UHMW-PE の溶融延伸過程では、「非晶鎖の配向」の後に「分子鎖すべりをともなう絡み合いの解きほぐし」という、メタロセン系 UHMW-PE で

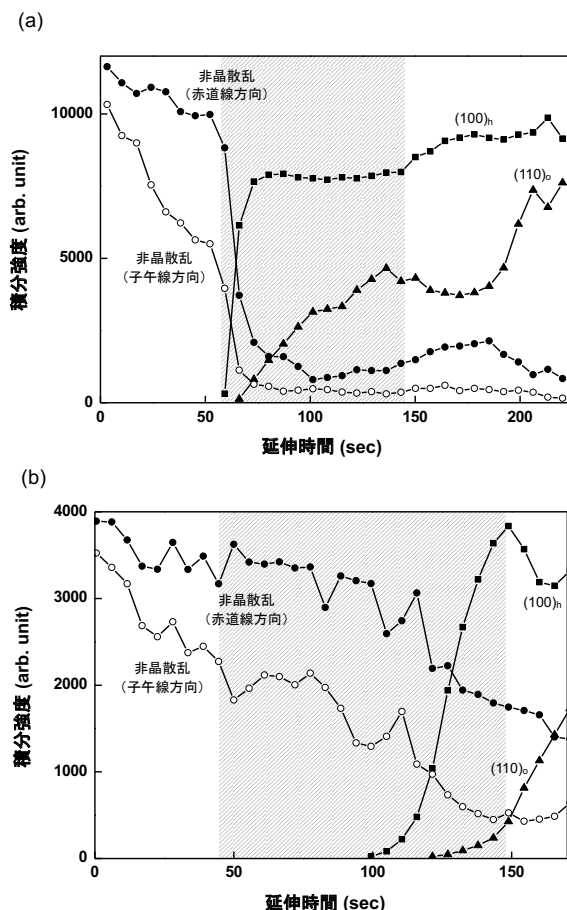


図5 (a)メタロセン系および(b)チーグラ系 UHMW-PE の溶融延伸過程における非晶散乱、六方晶 100 面反射、および直方晶 110 面反射の積分強度変化をまとめたもの。非晶散乱の積分強度変化については赤道線方向および子午線方向の両方をプロットしてある。斜線部は応力プロファイルにおける応力平坦領域を示している。

は見られないカテゴリーを経てから六方晶結晶化が徐々に進行していることがわかった。このような六方晶結晶化挙動の違いは、UHMW-PE の溶融状態での分子鎖絡み合い状態および溶融延伸過程での分子鎖絡み合いの解きほぐし挙動が分子量分布によって異なることを意味している。

3.2. *In situ* パルス NMR 計測による分子鎖絡み合い状態変化の解析

上記のように、分子量分布の異なる UHMW-PE の溶融延伸過程における配向結晶化挙動について *in situ* WAXD 計測により解析したところ、溶融非晶鎖の変形挙動 (分子鎖絡み合い状態の変化) が配向結晶化挙動を支配していることが示唆された。このような溶融延伸挙動の違いは、応力平坦領域以前の溶融非晶状態での分子鎖絡み合いの解きほぐし挙動の違いによるものと考えられる。したがって、溶融延伸過程における六方晶結

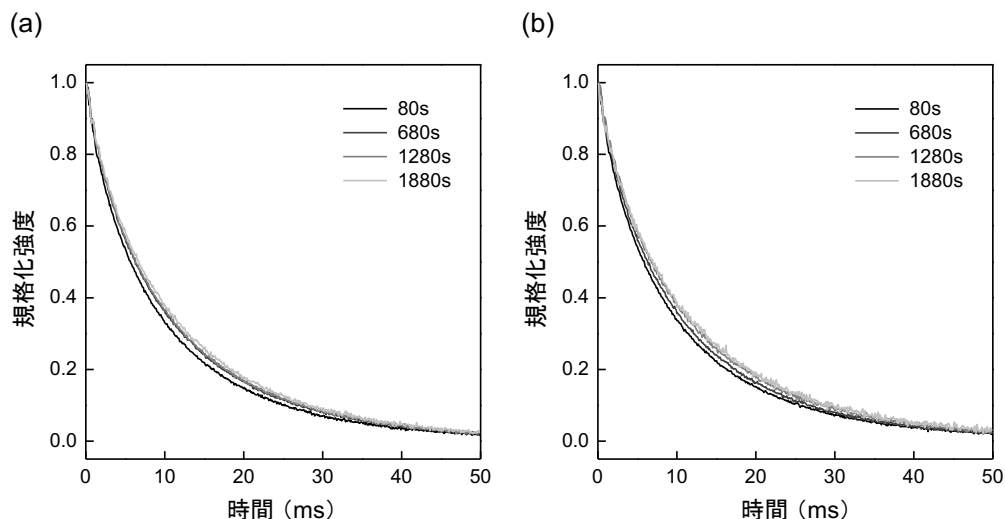


図6 UHMW-PE 溶融延伸過程における緩和曲線変化。延伸温度は150℃、延伸速度は2mm/min。(a) メタロセン系UHMW-PE、(b) チーグラール系UHMW-PE。

晶化挙動を解明するためには、それ以前の非晶鎖の変形挙動を追跡することが不可欠である。そこで、溶融延伸過程の*in situ*パルスNMR計測により溶融非晶構造の変化を緩和時間挙動の変化として追跡することで、分子運動性から分子鎖絡み合い状態の変化を評価した^[2]。

メタロセン系およびチーグラール系UHMW-PE試料を図1の*in situ*パルスNMR計測システムに取り付け、延伸温度150℃、延伸速度2mm/minにて溶融延伸を行った。延伸速度については、パルスNMR測定における測定時間(160秒/1測定)の関係で、*in situ* WAXD計測(7秒/1測定)での延伸速度よりも遅く設定した。その際、UHMW-PEの溶融延伸においては温度一ひずみ速度換算則が成り立つ^[8]ことから、延伸速度の違いを考慮して、延伸温度を150℃とした。得られた応力プロファイルを見ると、図3および図4と同様に、溶融延伸に特徴的な応力平坦領域の出現が確認された。このように応力プロファイルを同時測定することで、延伸挙動の確認とともに、*in situ* X線計測など他の*in situ*計測結果との重ね合わせが可能となる。*In situ* X線計測により応力平坦領域から配向結晶化が進行することが明らかとなっていることから、応力平坦領域に至る前の、非晶変形領域と考えられる延伸時間領域において*in situ*パルスNMR計測を実施した。

パルス系列には溶融非晶やエラストマーなど緩和時間の長い試料の測定に適しているCPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill) 法^[28]を用い、スピンスピン緩和時間(T_2)を測定した。溶融延伸過程における緩和曲線変化を図6に示す。差は小

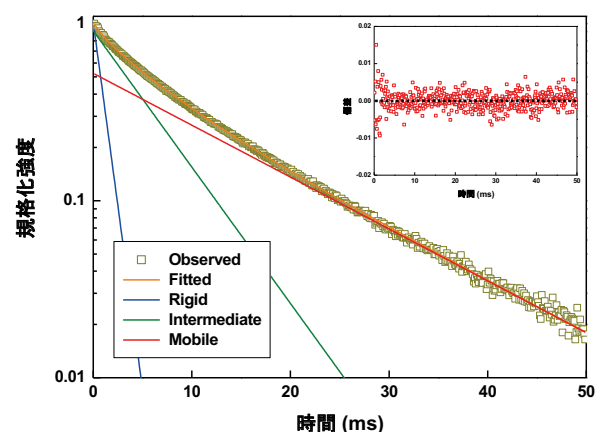


図7 UHMW-PE 溶融延伸過程で得られた緩和曲線に対する3つの指数関数成分を用いた成分分離の例。

さいが、延伸時間が長くなるにつれて緩和曲線がゆっくり減衰する様子がわかる。つまり、 T_2 の長い成分の増加が観測された。そこで、得られた緩和曲線に対して、結晶性高分子の非晶相の解析に用いられる指数関数の和としてフィッティングを行った結果、 T_2 の異なる3つの指数関数で表されることがわかった(図7)。 T_2 は分子運動の速さと相関があり、運動が速いほど T_2 は長い。そこで、最も T_2 の短い成分を硬いrigid成分、最も T_2 の長い成分を柔らかいmobile成分とし、その中間の T_2 を有する成分をintermediate成分とした。各成分の T_2 および成分比の、延伸時間に対する変化を図8に示す。まず、 T_2 (図8(a))については、両試料ともに延伸にともなう変化はほとんど認められない。ただし、すべての延伸時間でチーグラール系UHMW-PEの方が高い値を示していた。このことは、チーグラール系UHMW-PEの方がメタロセン系UHMW-PEに比べて分子運動

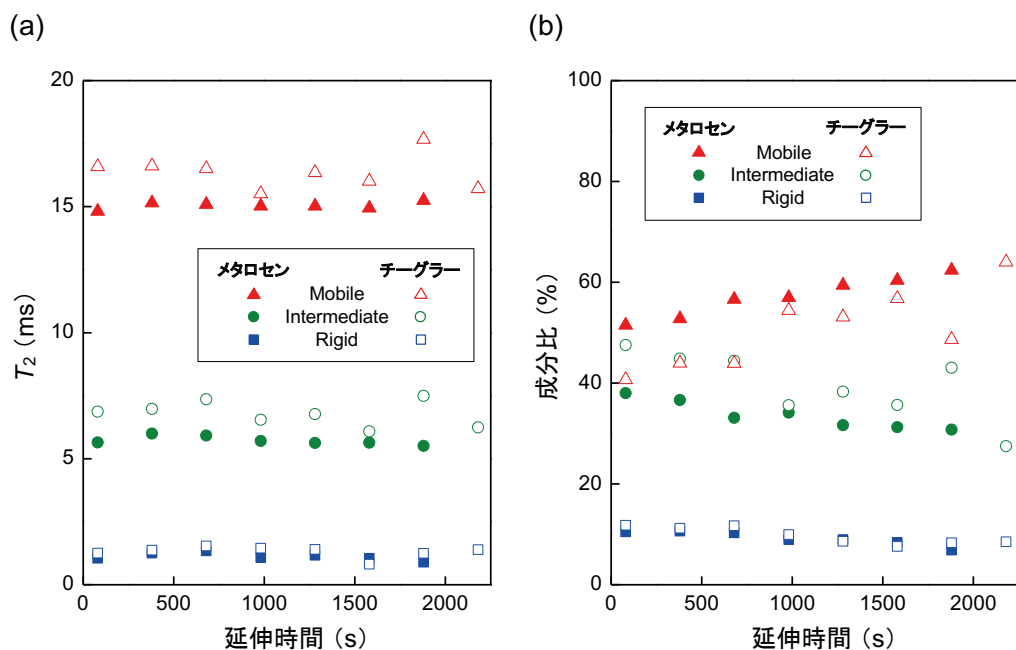


図8 UHMW-PE 溶融延伸過程におけるrigid、intermediate、mobile成分の (a) T_2 および (b) 成分比変化。

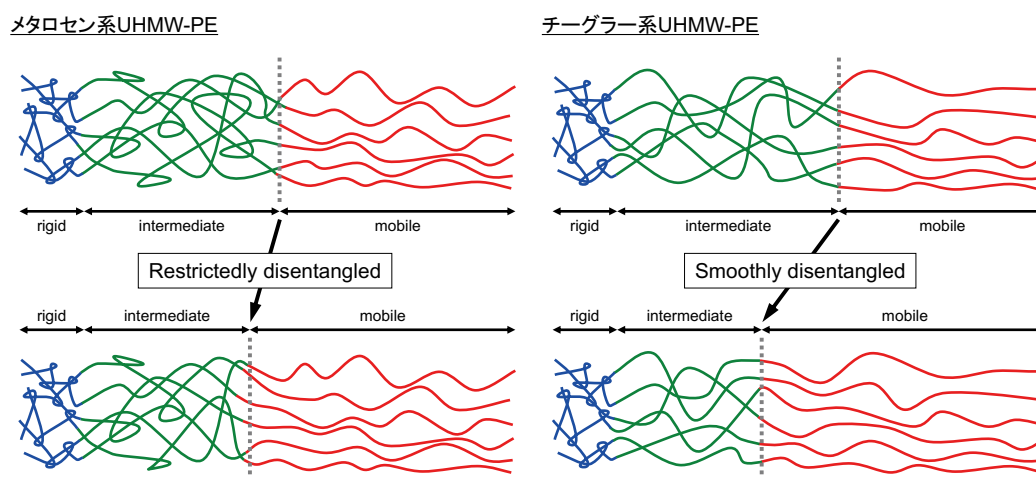


図9 UHMW-PE 溶融延伸過程における分子鎖絡み合い状態の変化。

性が高いことを示している。一方、成分比変化 (図8 (b)) からは、メタロセン系UHMW-PEとチーグラ系UHMW-PEの違いが明瞭に見られた。延伸初期においては、メタロセン系UHMW-PEの優勢相がmobile成分であるのに対して、チーグラ系UHMW-PEではintermediate成分が最も多い。延伸が進行すると、どちらの試料もmobile成分は増加し、intermediate成分は減少している。この変化は、チーグラ系UHMW-PEで顕著であることがわかる。Rigid成分に関しては両試料ともほぼ同じ10%程度の値を示しており、延伸してもほとんど変化しない。

In situ パルスNMR計測の結果から提案された、UHMW-PE溶融延伸過程における分子鎖絡み合

い状態の変化を図9に示す。Mobile成分は分子鎖絡み合いが解きほぐされた非晶鎖に由来すると考えられる。これに対して、mobile成分よりも分子運動性が制限されたintermediate成分は解きほぐれやすい「緩い (loose)」絡み合いを多く含む成分であると解釈される。このことから、溶融延伸過程におけるintermediate成分の減少とmobile成分の増加は、分子鎖絡み合いの解きほぐしが起こっていることを意味している。一方、rigid成分に関しては極端に分子運動性が低いことから、延伸しても解きほぐされない「強固な (tight)」絡み合い成分であると定義できる。溶融延伸過程においてこの成分の T_2 および成分比がともにほとんど変化しないことも、この成分では解きほ

ぐしが起こらないことを示している。このように T_2 の短い成分は通常分子量のPEにおいては観測されず、UHMW-PEに特徴的な成分である。UHMW-PEでのみ熔融延伸が可能であることを考えると、熔融状態において延伸による応力を伝達することのできる成分がこの「強固な」絡み合い成分であると言える。

メタロセン系UHMW-PEとチーグラ系UHMW-PEを比較すると、分子運動性の高いチーグラ系UHMW-PEの方が分子鎖絡み合いの解きほぐしが進行していた。これは、分子量分布の広いチーグラ系UHMW-PEではメタロセン系UHMW-PEに比べて多くの低分子量成分を含むためと考えられる。低分子量成分では絡み合いが少なく運動性が高いため、延伸にともない分子鎖すべりによる絡み合いの解きほぐしが容易に進む。これに対して、メタロセン系UHMW-PEでは分子量分布が狭いために低分子量成分が少なく、intermediate成分の絡み合いが少し強いために解きほぐしがあまり進まない。このことから、 T_2 の値は分子鎖絡み合いの解きほぐし易さの指標となると考えられる。 T_2 の短いメタロセン系UHMW-PEでは分子鎖絡み合いの解きほぐしが起こりにくく、結果としてintermediate成分とmobile成分の変化量が小さくなる。以上のことから、UHMW-PE熔融延伸過程では絡み合いの解きほぐしにより分子運動性の高い成分が増加しており、この解きほぐしは分子量分布の広いチーグラ系UHMW-PEの方が顕著であることがわかった。*In situ* X線計測の結果より分子量分布の広いチーグラ系UHMW-PEでは分子鎖すべりをともなう絡み合いの解きほぐしが起こることが示唆されていたが、*in situ* パルスNMR計測によってこの分子鎖絡み合いの解きほぐし易さを証明できたと言える。

このように、*in situ* パルスNMR計測によりUHMW-PE熔融延伸過程におけるintermediate成分の量(成分比)と質(分子運動性)の変化を捉えることで、試料間の分子鎖絡み合い特性の違いを定量的に説明できた。

4. LLDPE 延伸フィルムの伸長／収縮動作におけるタイ分子の状態変化の解析

高分子の固相変形における *in situ* パルスNMR計測の一例として、LLDPE延伸フィルムの伸長／収縮動作におけるタイ分子の状態変化の解析^[29]

について紹介する。

LLDPE延伸繊維に荷重をかけた状態で昇温すると、ゴム材料同様のエントロピー弾性により収縮する。この特徴を利用して、高荷重で作動するLLDPE製のアクチュエータが開発されている^[30]。LLDPEのような結晶性高分子においては、結晶ラメラ(折りたたみ鎖結晶)間をつなぐ「タイ分子」の状態変化により伸縮性を有していると予想される^[30]。しかし、このような伸縮機能が発現するメカニズムについては明らかになっていない部分が多い。これは、非晶分子鎖であるタイ分子の動的挙動を解析する手法が限られているためである。そこで、LLDPE延伸フィルムを繰り返し伸縮させた際の構造変化を、非晶分子鎖の挙動を直接的に追跡できる *in situ* パルスNMR計測により評価した^[29]。

パルス系列には、結晶性高分子など T_2 の短い試料の測定に適している solid-echo 法^[31] を用いた。LLDPE延伸フィルムを70℃にてひずみ20%まで伸長後、ひずみ8%まで収縮させるサイクルを繰り返し、その過程における *in situ* パルスNMR計測を行うことで分子運動性の変化を評価した。伸長時間および収縮時に記録したFID(自由誘導減衰)プロファイルを図10に示す。収縮時のプロファイルは、伸長時のプロファイルよりも高い位置にあった。特に、伸長時間と収縮時で100 μ s付近のプロファイルに差異があることがわかる。このようなFIDプロファイル形状の変化は伸長／収縮動作で繰り返されていた。

これらのFIDプロファイルには結晶成分と非

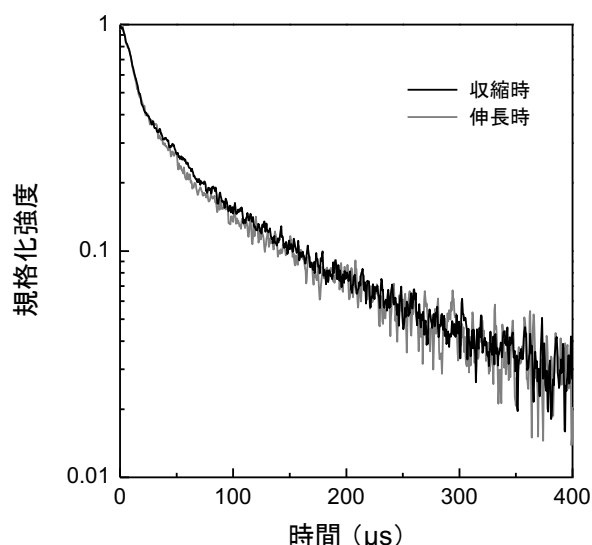


図10 LLDPE延伸フィルムの伸長時および収縮時に記録したFIDプロファイル。

晶成分の両方が含まれている。そこで、得られたFIDプロファイルに対してフィッティングによる成分分離を行った。これまでの研究^[1]から、結晶成分のように分子運動が極端に束縛されている成分はGauss/Sine関数、非晶成分は指数関数によって定義した。一方、動きが部分的に制限されている非晶成分(中間成分)はWeibull関数によって定義した。これら結晶(Gauss/Sine関数)、中間(Weibull関数)、非晶(指数関数)の3成分を想定して成分分離を試みたところ、FIDプロファイルをよく再現できた。対照的に、結晶成分と非晶成分の2成分を想定した場合、統計誤差を示していた。したがって、LLDPE延伸フィルムは結晶成分と非晶成分だけでなく、中間成分も含むことがわかった。このような中間成分を検出できることがパルスNMR測定の特長である。これらのGauss/Sine、Weibull、および指数関数は、その T_2 からそれぞれrigid成分(運動性が低い成分)、intermediate成分(運動性が中程度の成分)、およびmobile成分(運動性が高い成分)として定義され、分子運動性の観点から構造変化を判断することができる。

In situ パルスNMR計測により得られた、伸長／収縮動作における各成分の成分比および T_2 の変化を図11に示す。横軸の奇数番号は伸長時、偶数番号は収縮時に対応している。まず成分比(図11(a))を見ると、すべての成分で成分量は伸長／収縮しても一定であった。このことは、結晶成分が伸長と収縮を繰り返しても変形しないことを

意味している。次に T_2 (図11(b))を見ると、伸長／収縮動作を行ってもrigid成分およびmobile成分の運動性に大きな変化はなかった。このことから、伸長／収縮動作によりラメラ結晶の変形や微細化は起きておらず、また、mobile成分で表される非晶成分は拘束されていない分子鎖であると考えられる。対照的に、intermediate成分の T_2 は連続的な変化をしており、収縮(偶数番号)では運動性が増加するのに対して、伸長(奇数番号)では運動性が減少していた。このような T_2 の変化は可逆的に繰り返された。Intermediate成分は拘束された非晶分子鎖であり、収縮時は力が掛からず運動性は高くなり、伸長時は力が掛かり運動性が束縛されることから、結晶ラメラ間をつなぐタイ分子に対応すると考えられる。ひずみ印加にともなってこのような構造変化が起こっていることから、ラメラ結晶をつないでいるタイ分子が緊張状態と緩和状態を繰り返していると考えられる。つまり、伸長によりタイ分子の運動性が低下、収縮すると運動性が増加する可逆的な変化が起きたと考えられる。これは、伸長／収縮状態での*in situ* パルスNMR計測により明らかになったものである。

In situ パルスNMR計測による分子運動性解析と、ここでは詳細は割愛するが*in situ* X線計測による結晶／非晶構造解析の結果を組み合わせることで、LLDPE延伸フィルムの伸長／収縮における構造変化をモデル化した(図12)。ラメラ結晶の配列や長周期の変化は、*in situ* X線計測により

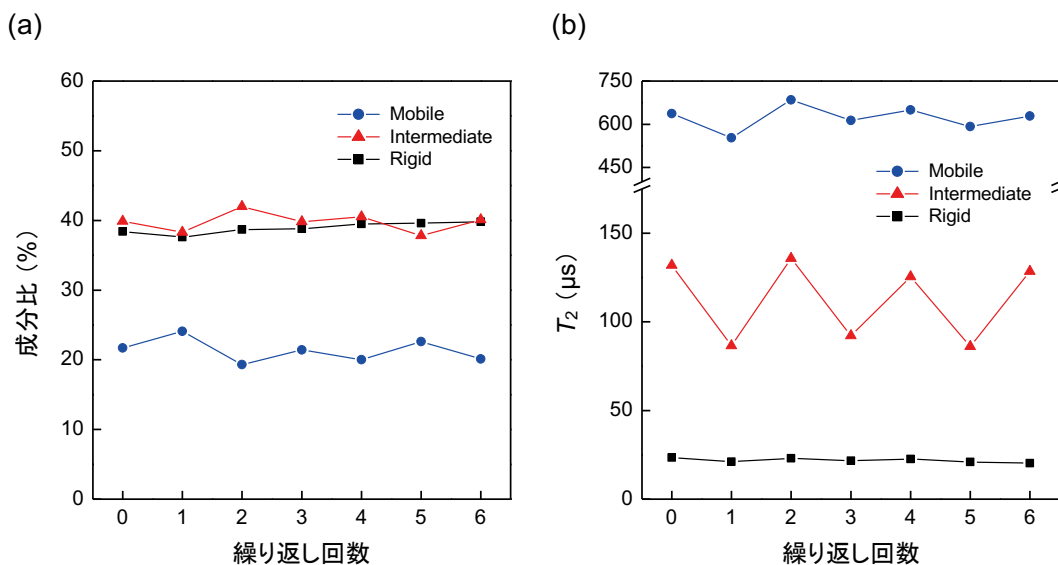


図11 LLDPE延伸フィルムの伸長／収縮動作におけるrigid、intermediate、mobile成分の(a)成分比および(b) T_2 変化。横軸の奇数番号は伸長時、偶数番号は収縮時に対応している。

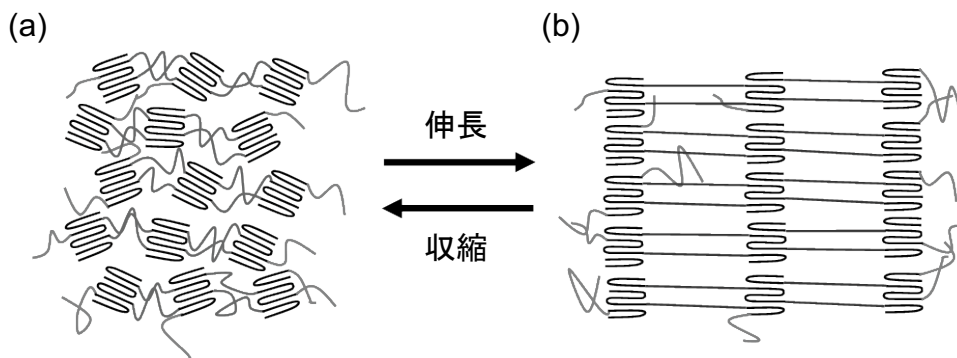


図12 LLDPE延伸フィルムの伸長／収縮における構造変化。(a) 収縮時、(b) 伸長時。伸長／収縮により、結晶ラメラ（折りたたみ鎖結晶）間をつなぐタイ分子が緊張状態と緩和状態を繰り返している。

得られた結果を反映したものである。LLDPE延伸フィルムの初期の収縮状態ではラメラ結晶は傾斜し、タイ分子は緩和している。伸長によりタイ分子が引き伸ばされ、それにともないラメラ結晶も伸長方向に対して垂直に配列する。このようなラメラ結晶の配列は、収縮によるタイ分子の緩和により最初の傾斜状態に戻る。伸長／収縮によるこのような構造変化は可逆的に繰り返されていた。このように、LLDPE延伸フィルムの伸長／収縮動作にはタイ分子が緊張したり緩和したりする状態変化が大きく関係し、この変化がラメラ結晶の配列変化を誘起していることが示唆された。このミクロレベルでの伸縮ひずみは巨視的な試料ひずみとよく一致しており、LLDPE延伸試料ではこのようなタイ分子の状態変化に由来して伸縮機能が発現していることが明らかとなった。

5. おわりに

本稿では、*in situ* X線計測と*in situ*パルスNMR計測の融合による、UHMW-PEの溶融延伸過程およびLLDPE延伸フィルムの伸長／収縮動作における動的構造変化の解析について紹介した。特に、*in situ*パルスNMR計測による緩和時間測定から分子運動性を評価することで、変形過程における非晶相（分子鎖絡み合い）あるいは中間相（タイ分子）の状態変化を定量化することができ、応力－ひずみ挙動に対する複雑な動的構造変化を解明することができた。本手法は超高分子量ポリプロピレンの溶融延伸^[3]やポリビニルアルコール繊維の加熱延伸^[32]、各種エラストマーの変形過程にも用いられ、さまざまな高分子材料の変形過程における中間相・非晶相の動的構造変化を明らかにしている。

このように、*in situ* X線計測による結晶相ある

いは結晶相／非晶相の構造解析と*in situ*パルスNMR計測による中間相・非晶相の構造解析を組み合わせることで、高分子変形過程における複雑な構造形成メカニズムを解明することができる。本手法およびこれらの知見が、高分子変形過程における動的構造変化を理解するための一助となれば幸いである。

謝 辞

In situ X線計測は高輝度光科学研究センター（JASRI）・SPring-8を利用して行われました。厚く御礼申し上げます。*In situ*パルスNMR計測は群馬大学大学院理工学府・山延健教授のご指導のもと行われました。深く感謝申し上げます。

参考文献

- [1] Yamanobe, T., Uehara, H., and Kakiage, M. (2010) Practical NMR Analysis of Morphology and Structure of Polymers. *Annu. Rep. NMR Spectrosc.* **70**, 203-239.
- [2] Kakiage, M., Uehara, H., and Yamanobe, T. (2008) Novel *in situ* NMR Measurement System for Evaluating Molecular Mobility during Drawing from Highly Entangled Polyethylene Melts. *Macromol. Rapid Commun.* **29**, 1571-1576.
- [3] 山延 健, 攪上 将規, 宮崎 紀明, 森田 翔, 上原 宏樹 (2012) 高分子材料の延伸過程における*in situ* NMR測定法の開発と応用. *高分子論文集* **69**, 235-241.
- [4] Uehara, H., Nakae, M., Kanamoto, T., Zachariades, A. E., and Porter, R. S. (1999) Melt Drawability of Ultrahigh Molecular Weight Polyethylene. *Macromolecules* **32**, 2761-2769.
- [5] Nakae, M., Uehara, H., Kanamoto, T., Ohama, T., and Porter, R. S. (1999) Melt drawing of ultra-high molecular weight polyethylene: Comparison of Ziegler- and metallocene-catalyzed reactor powders. *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* **37**, 1921-1930.
- [6] Nakae, M., Uehara, H., Kanamoto, T., Zachariades, A. E., and Porter, R. S. (2000) Structure Development upon Melt Drawing of Ultrahigh Molecular Weight

- Polyethylene: Effect of Prior Thermal History. *Macromolecules* **33**, 2632-2641.
- [7] Uehara, H., Kakiage, M., Yamanobe, T., Komoto, T., and Murakami, S. (2006) Phase Development Mechanism during Drawing from Highly Entangled Polyethylene Melts. *Macromol. Rapid Commun.* **27**, 966-970.
- [8] Kakiage, M., Yamanobe, T., Komoto, T., Murakami, S., and Uehara, H. (2006) Effects of Molecular Characteristics and Processing Conditions on Melt-Drawing Behavior of Ultrahigh Molecular Weight Polyethylene. *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.* **44**, 2455-2467.
- [9] Kakiage, M., Yamanobe, T., Komoto, T., Murakami, S., and Uehara, H. (2006) Transient crystallization during drawing from ultra-high molecular weight polyethylene melts having different entanglement characteristics. *Polymer* **47**, 8053-8060.
- [10] Uehara, H., Yoshida, R., Kakiage, M., Yamanobe, T., and Komoto, T. (2006) Continuous Film Processing from Ultrahigh-Molecular-Weight Polyethylene Reactor Powder and Mechanical Property Development by Melt Drawing. *Ind. Eng. Chem. Res.* **45**, 7801-7806.
- [11] Kakiage, M., Sekiya, M., Yamanobe, T., Komoto, T., Sasaki, S., Murakami, S., and Uehara, H. (2007) *In situ* SAXS analysis of extended-chain crystallization during melt-drawing of ultra-high molecular weight polyethylene. *Polymer* **48**, 7385-7392.
- [12] Kakiage, M., Sekiya, M., Yamanobe, T., Komoto, T., Sasaki, S., Murakami, S., and Uehara, H. (2008) Phase Transitions during Heating of Melt-Drawn Ultrahigh Molecular Weight Polyethylenes Having Different Molecular Characteristics. *J. Phys. Chem. B* **112**, 5311-5316.
- [13] Kakiage, M., Tamura, T., Murakami, S., Takahashi, H., Yamanobe, T., and Uehara, H. (2010) Hierarchical constraint distribution of ultra-high molecular weight polyethylene fibers with different preparation methods. *J. Mater. Sci.* **45**, 2574-2579.
- [14] Kato, S., Tanaka, H., Yamanobe, T., and Uehara, H. (2015) In Situ Analysis of Melt-Drawing Behavior of Ultrahigh Molecular Weight Polyethylene Films with Different Molecular Weights: Roles of Entanglements on Oriented Crystallization. *J. Phys. Chem. B* **119**, 5062-5070.
- [15] Tanaka, H., Saijo, S., Kakiage, M., Yamanobe, T., and Uehara, H. (2021) *In-situ* analysis for melt-drawing behavior of ultra-high molecular weight polyethylene/normal molecular weight polyethylene blend films. *Polymer* **213**, 123213.
- [16] Takazawa, A., Kakiage, M., Yamanobe, T., Uehara, H., Shimizu, Y., Ohnishi, T., Wakabayashi, Y., Inatomi, K., Abe, S., and Aoyama, K. (2022) Effect of blending small amount of high-density polyethylene on molecular entanglements during melt-drawing of ultrahigh-molecular-weight polyethylene. *Polymer* **241**, 124528.
- [17] 渡邊 希, 高澤 彩香, 山延 健, 上原 宏樹, 攪上 将規 (2022) 超高分子量ポリエチレンの溶融延伸における原料パウダー種の影響. *成形加工* **34**, 103-110.
- [18] Morioka, T., Kakiage, M., Yamanobe, T., Komoto, T., Higuchi, Y., Kamiya, H., Arai, K., Murakami, S., and Uehara, H. (2007) Oriented Crystallization Induced by Uniaxial Drawing from Poly(tetrafluoroethylene) Melt. *Macromolecules* **40**, 9413-9419.
- [19] Uehara, H., Obana, T., Kakiage, M., Tanaka, H., Masunaga, H., Yamanobe, T., and Akiyama, E. (2014) Robust and transparent membrane of crystalline silicone via a melt-drawing technique. *J. Mater. Chem. C* **2**, 373-381.
- [20] Uehara, H., Tamura, T., Kakiage, M., and Yamanobe, T. (2012) Nanowrinkled and Nanoporous Polyethylene Membranes via Entanglement Arrangement Control. *Adv. Funct. Mater.* **22**, 2048-2057.
- [21] Uehara, H., Arase, Y., Suzuki, K., Yukawa, Y., Higuchi, Y., Matsuoka, Y., and Yamanobe, T. (2014) Highly Transparent and Robust Poly(tetrafluoroethylene) Membrane Prepared by Biaxial Melt-Drawing. *Macromol. Mater. Eng.* **299**, 669-673.
- [22] Uehara, H., Tamura, T., Hashidume, K., Tanaka, H., and Yamanobe, T. (2014) Non-solvent processing for robust but thin membranes of ultra-high molecular weight polyethylene. *J. Mater. Chem. A* **2**, 5252-5257.
- [23] Uehara, H., Tamura, T., Yamashita, H., Yamanobe, T., and Masunaga, H. (2015) Phase Transition during Heating of Nanostructured Ultrahigh Molecular Weight Polyethylene Membranes. *J. Phys. Chem. B* **119**, 15909-15918.
- [24] Tanaka, H., Takazawa, A., Kakiage, M., Yamanobe, T., and Uehara, H. (2021) Nanoporous Membranes Prepared from Homogeneous Lamellar Structure Developed via Biaxial Melt-Drawing of Ultra-High Molecular Weight Polyethylene/Normal Molecular Weight Polyethylene Blend Films. *Macromol. Mater. Eng.* **306**, 2100095.
- [25] Kakiage, M. and Fukagawa, D. (2020) Preparation of ultrahigh-molecular-weight polyethylene fibers by combination of melt-spinning and melt-drawing. *Mater. Today Commun.* **23**, 100864.
- [26] Kakiage, M. and Komatsu, K. (2021) Preparation of Ultrahigh-Molecular-Weight Polyethylene Tapes by Multiple Melt Processing. *J. Fiber Sci. Technol.* **77**, 1-8.
- [27] Bastiaansen, C. W. M., Meyer, H. E. H., and Lemstra, P. J. (1990) Memory effects in polyethylenes: influence of processing and crystallization history. *Polymer* **31**, 1435-1440.
- [28] Meiboom, S. and Gill, D. (1958) Modified Spin-Echo Method for Measuring Nuclear Relaxation Times. *Rev. Sci. Instrum.* **29**, 688-691.
- [29] Yoshizawa, H., Takazawa, A., Kakiage, M., Yamanobe, T., Hayashi, N., Hiraoka, M., Masunaga, H., Aoyama, K., and Uehara, H. (2021) Actuation mechanism of drawn polyethylene evaluated by structural change during cyclic stretching/shrinking. *Sens. Actuator A-Phys.* **323**, 112634.
- [30] Hiraoka, M., Nakamura, K., Arase, H., Asai, K., Kaneko, Y., John, S. W., Tagashira, K., and Omote, A. (2016) Power-efficient low-temperature woven coiled fibre actuator for wearable applications. *Sci. Rep.* **6**, 36358.
- [31] Mansfield, P. (1965) Multiple-Pulse Nuclear Magnetic Resonance Transients in Solids. *Phys. Rev.* **137**, A961-A974.
- [32] 須田 裕斗, 攪上 将規, 上原 宏樹, 山延 健, 津村 佳弘 (2021) ポリビニルアルコール繊維の延伸による構造及び物性変化. *高分子学会関東支部第2回北関東地区講演会予稿集*, P14.



梶上 将規 (かきあげ・まさき)

2004年 3月 群馬大学工学部材料工学科卒業
 2006年 3月 群馬大学大学院工学研究科博士前期課程材料工学専攻修了
 2008年 3月 群馬大学大学院工学研究科博士後期課程物質工学専攻修了 博士(工学)
 2007年 4月 日本学術振興会特別研究員DC2(群馬大学)
 2008年 4月 日本学術振興会特別研究員PD(東京工業大学)
 2009年 4月 東京工業大学大学院理工学研究科 産学官連携研究員
 2009年 7月 埼玉大学大学院理工学研究科物質科学部門 助教
 2015年10月 信州大学先鋭領域融合研究群国際ファイバー工学研究所 助教
 2019年 4月 群馬大学大学院理工学府分子科学部門 助教



高澤 彩香 (たかざわ・あやか)

2020年3月 群馬大学理工学部総合理工学科卒業
 2022年3月 群馬大学大学院理工学府物質・生命理工学教育プログラム修了 修士(理工学)
 2022年4月 群馬大学大学院理工学府物質・生命理工学領域 博士後期課程1年



上原 宏樹 (うえはら・ひろき)

1992年3月 東京理科大学理学部第I部化学科卒業
 1994年3月 東京理科大学大学院理学研究科修士課程化学専攻修了
 1997年3月 東京理科大学大学院理学研究科博士課程化学専攻修了 博士(理学)
 1995年4月 米国マサチューセッツ大学高分子科学研究員
 1997年4月 群馬大学工学部材料工学科 助手
 2007年5月 群馬大学大学院工学研究科応用化学・生物化学専攻 准教授
 2016年4月 群馬大学大学院理工学府分子科学部門 教授

In-cell NMR法を用いた細胞内生命現象のリアルタイム観測

千葉大学大学院薬学研究院

西田 紀貴

nnishida@chiba-u.jp

1. はじめに

NMR法は溶液中におけるタンパク質などの生体高分子の立体構造情報を原子レベルで観測する手法として発展を遂げてきた。タンパク質の立体構造決定の手法としては、X線結晶構造解析や近年発展の著しいクライオ電顕にその主要な地位を譲っていることは否めないが、NMR法を用いて存在割合が数パーセント程度のマイナーコンフォメーションの構造決定や、複数の構造状態をとるタンパク質のアンサンブル構造の解析など、構造に揺らぎのあるタンパク質の構造を可視化できるようになっている^[1,2]。また、NMR法の真価は立体構造決定のみならず、溶液中におけるタンパク質のピコ秒から秒単位の幅広いタイムスケールにおける運動性の解析や、タンパク質や薬物などの低分子化合物との弱い相互作用の解析など、幅広い情報を得ることができる点にある^[3]。さらに、一定の構造をとらない天然変性タンパク質の構造解析にもNMR法は適用可能であり、液液相分離(LLPS)形成タンパク質の分子動態の解明が期待されている^[4]。このような動的な構造情報は、主として単一の立体構造決定を目指す結晶構造解析やクライオ電顕では得ることは難しく、構

造生物学分野におけるNMR法の独自性は今後も揺るがないものと考えられる。

NMR法のもう一つの特徴として、分子夾雑系における解析が可能である点があげられる。通常の構造生物学的解析では精製されたタンパク質を解析対象とするが、NMR法では解析対象分子に安定同位体標識(^{13}C 、 ^{15}N など)を施しているため、さまざまな生体分子が混在する分子夾雑系においても、標的タンパク質に由来するNMR信号を選択的に観測して、その構造情報を抽出することができる。特に、タンパク質が実際に機能を発揮する細胞内環境は、多種多様な生体高分子が混雑して存在する分子夾雑系である(図1A)。細胞内では特定の制御タンパク質による活性調節に加え、さまざまな内在性タンパク質やメタボライトとの非特異的相互作用や、多数の高分子が空間を占有することによって生じる体積排除効果により(図1B)、細胞内タンパクの構造や活性が影響を受けることが示されている^[5]。このような細胞内環境下における標的タンパク質の立体構造情報を原子レベルで観測するため、細胞に安定同位体標識タンパク質を導入してNMRシグナルを直接観測する手法がin-cell NMR法である。In-cell NMR法

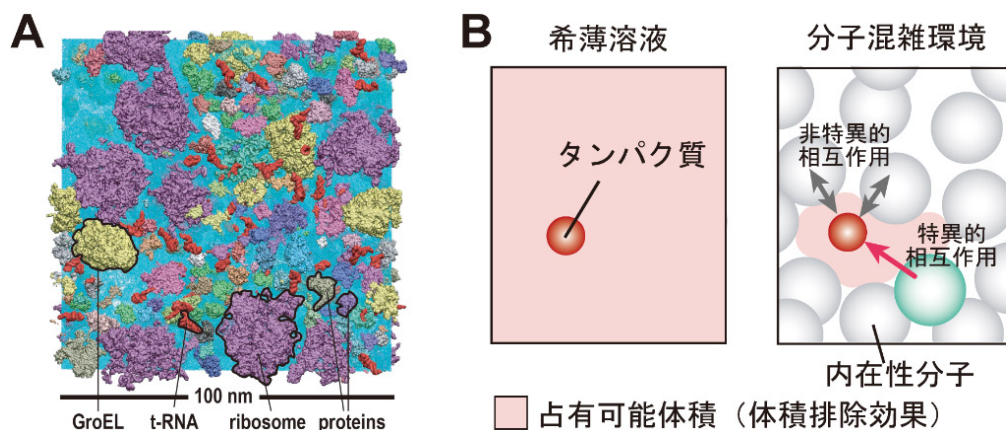


図1 細胞内分子混雑環境

(A) 細胞質内分子の全原子シミュレーション(文献^[13]より転載)、(B) 細胞内分子混雑環境と希薄溶液中の違い。

はまず大腸菌を対象とした研究が行われ、2001年に ^{15}N 標識培地で培養した大腸菌内に大量発現させた金属結合タンパク質の2次元HSQCスペクトルを高分解能で観測できることが示された^[6]。大腸菌は標的タンパク質の大量発現を容易に行うことができるため、大腸菌内におけるタンパク質の立体構造決定^[7]や相互作用解析^[8]などに応用された。その後in-cell NMR法は真核細胞にも適用されるようになり、アフリカツメガエルの卵母細胞にマイクロインジェクション法により導入する方法^[9]や、哺乳細胞に対して膜透過性ペプチド^[10]、ボア形成タンパク質^[11]、エレクトロポレーション^[12]を用いて導入する方法が相次いで開発され、多様な細胞系においてin-cell NMR観測が可能となっている。

In-cell NMR法では、通常NMRサンプル管内に 10^7 個程度の数の細胞を充填して測定を行う。しかし、当然ではあるが、このような条件ではNMRサンプル管内で栄養源や酸素が枯渇して細胞内環境が劣化し、細胞死が生じる。特に問題となるのは、死細胞から漏出したタンパク質は細胞内タンパク質と比べて先鋭なシグナルを与えるため、細胞内タンパク質の観測の妨げとなる。そのため、従来のin-cell NMR法ではこのような細胞死が起こるよりも前に測定を終える必要があり、短時間の観測（通常2～3時間程度）しか行うことができなかった。筆者らはこの問題を解決するために、NMRサンプル管内の細胞に培地を供給して生存状態に保つバイオリアクター装置を開発

した。本稿では、バイオリアクター装置の詳細とその応用例についてわれわれのグループの研究を中心に概説する。

2. バイオリアクター装置の開発^[14]

細胞を生理的条件下に保ったままin-cell NMR測定を行うため、NMR試料管内の細胞に培地を供給するバイオリアクター装置を開発した（図2A）。培地を灌流しながらNMR観測を行うためには、細胞が浮遊しないようにNMRサンプル管内の適切な位置に保持する必要がある。そこで、メビオールゲル（Mebiol gel）を用いて細胞を固定化することにした。メビオールゲルは温度可塑性のポリマーで、25℃よりも高温でゲル状態に遷移する性質を持つ。この性質を利用すると、低温のゾル状態で細胞と混合し、NMRサンプル管に充填後に温めることでゲル化することが可能である。またサンプル管内でパストールピペット（内径1.5mm）を用いてコイル状にゲル化し、表面積を大きくすることで、ゲル内の細胞に効率よく培地成分が浸透するように工夫している。ゲルに封入した細胞に対して、サンプル管上部からガラスキャピラリーを挿入し、シリンジポンプを用いてサンプル管底部から培地を一定速度で供給した。また、サンプル管上部の過剰な培地はアスピレーターに接続したチューブより吸引した。メビオールゲルを用いることにより、NMR測定後にNMRサンプル管を冷却してゲルをゾル状態に戻して細胞を回収することも可能である。

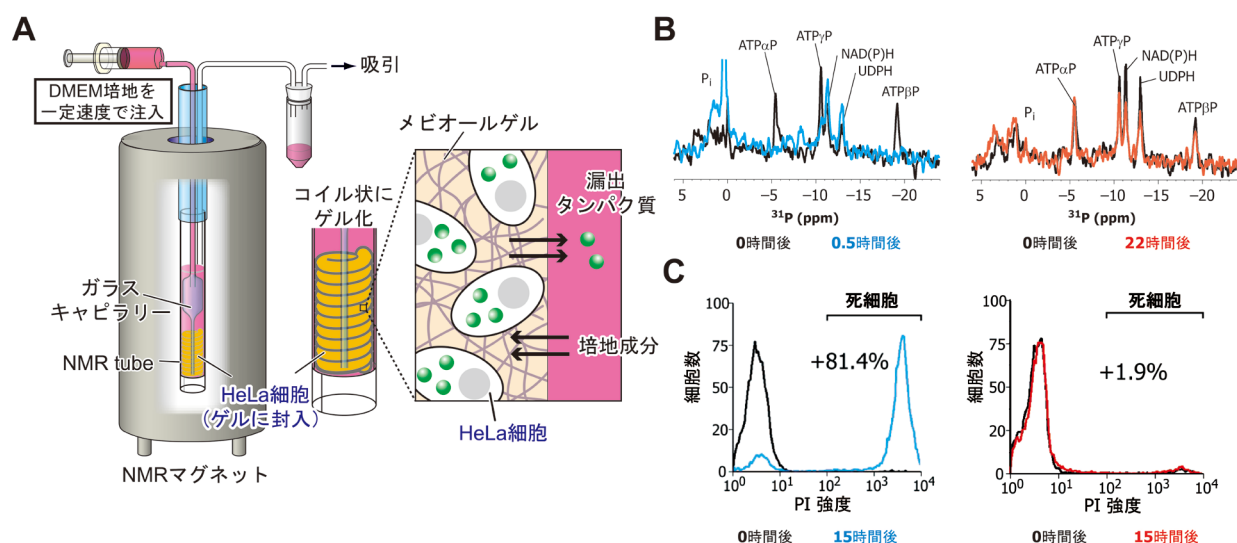


図2 In-cell NMR測定中の細胞を生理的に保つバイオリアクター装置

(A) バイオリアクター装置の概略図、(B) ^{31}P NMRによる細胞内ATP濃度の計測、(C) In-cell NMR測定前後の死細胞割合の変化。左は懸濁液をそのまま測定、右はバイオリアクターで培地を灌流した場合。非膜透過性の核染色試薬であるpropidium iodide (PI) で処理した細胞をフローサイトメーターを用いて解析し、死細胞割合を見積もった。

バイオリアクターを用いることでin-cell NMR測定中の細胞が生理的に保持されているか調べるため、細胞内ATP濃度の時間変化を ^{31}P NMRにより測定した。懸濁状態の細胞のATP濃度は開始30分後にはほぼ枯渇していたのに対し、バイオリアクターを用いて培地を灌流しながら測定を行うと、細胞内ATP濃度はほとんど減少せず、22時間経過後も80%以上に保たれていた(図2B)。また、死細胞割合についても、懸濁状態では15時間後には80%以上に増加したのに対し、培地を灌流した場合は同時間経過後もほぼ生存状態に保たれていることが分かった(図2C)。以上より、バイオリアクターを用いることで、細胞を生理的条件下に保持したまま長時間のin-cell NMR測定が可能になった。これにより、NMRスペクトルを連続的に取得することにより、細胞内で起こる生命現象をリアルタイム観測することができるようになった。

3. 酸化ストレスに対する細胞内応答の観測^[15]

バイオリアクター装置を用いて、酸化ストレスに対する細胞内分子応答の観測を行った。チオレドキシン(Trx)は細胞内の代表的な抗酸化タンパク質であり、活性中心に2つのCys残基(C32とC35)を持つ。Trxは細胞内で酸化された基質タンパク質を還元したり、酸化還元電位にตอบสนองしてシグナル伝達を誘起する“レドックスセンサー”としての機能を有している。細胞内の酸化還元状態は細胞内に高濃度で存在するグルタチオンの酸化型(GSH)および還元型(GSSG)の量比によって規定され、ネルンストの式によって酸化還元電位を算出できる。細胞内のTrxが酸化還元電位の変化に対してどのように応答するかを調べるため、Trxとグルタチオンの両方が安定同位体標識された細胞を用いて酸化ストレスを添加しながらin-cell NMRによる観測を行った。

酸化還元状態を観測するプローブとして、Trxは活性中心近傍に存在するAla29の側鎖メチル基を、グルタチオンについてはCysの β 位メチレン基

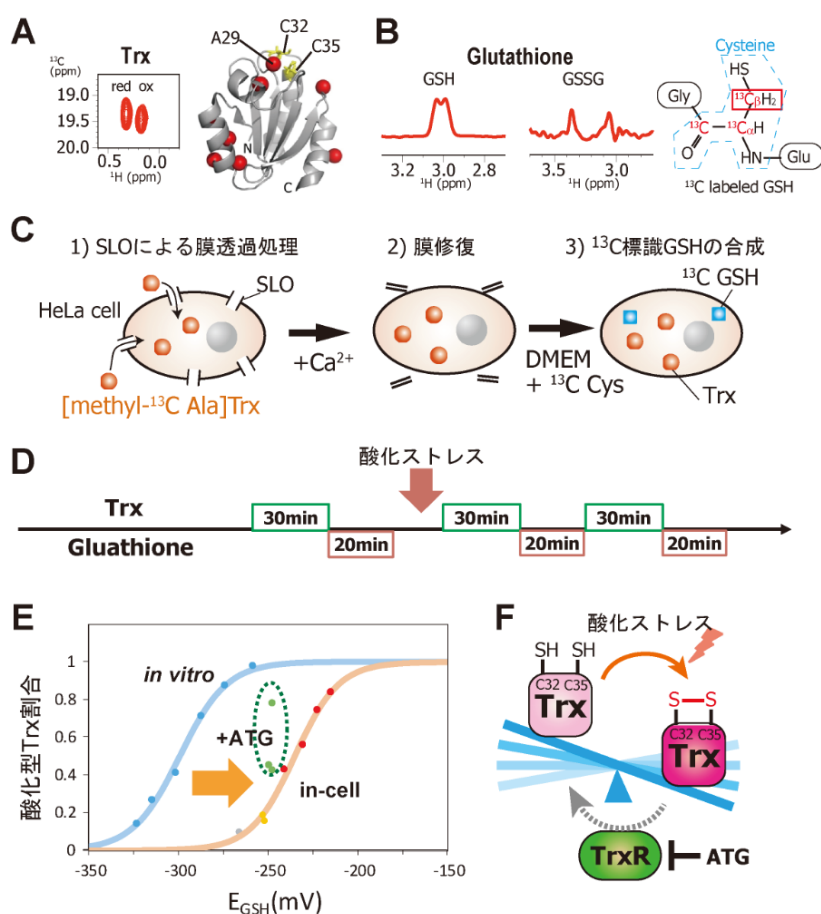


図3 細胞内酸化ストレスに対するTrxの応答の観測

(A) Trxと(B) グルタチオンの酸化還元状態を反映するNMRシグナル、(C) グルタチオンとTrxを安定同位体標識した細胞の調製方法と(D) in-cell NMR観測、(E) 細胞内とin vitroにおけるTrxの酸化還元プロファイルの比較。(F) 細胞内Trxの酸化還元状態の制御。

のシグナルを用いた (図3A、B)。TrxのAla側鎖メチル基を選択的に ^{13}C 標識し、SLO (Streptolysin O) を用いた可逆的な膜透過処理^[11]によりHeLa S3細胞内に導入した後、Trx導入細胞を ^{13}C 標識Cys含有培地中で一晚培養し細胞内で ^{13}C 標識グルタチオンを生合成した (図3C)。調製した細胞をバイオリアクター装置による培地還流下でTrxとグルタチオンのin-cell NMRスペクトルを交互に取得した (図3D)。酸化ストレス非存在下ではTrx、グルタチオンともに還元状態として観測されたが、酸化剤としてTBH (*tert*-butyl hydroperoxide) を添加すると酸化型グルタチオンの増加と細胞内Trxの酸化型への移行が観測された。細胞内酸化還元電位の上昇に対するTrxの酸化還元状態の変化を*in vitro*の測定結果と比較した結果、細胞内のほうが酸化的な環境においてTrxが還元的に保持されており、実際に細胞内シグナル伝達が誘導される電位幅で酸化型へと移行が起こることが明らかとなった (図3E)。また、還流する培地にTrx還元酵素 (TrxR) の阻害剤であるATG (aurothioglucose) を添加して同様のin-cell NMR実験を行うと、細胞内Trxの酸化型の割合が顕著に増大することも分かった。以上より、細胞内Trxの酸化還元状態は細胞内酸化還元電位の上昇と細胞内Trx還元酵素のバランスの上

に成り立っており、これにより細胞内の酸化ストレスに応答するレドックスセンサーとして機能していることが明らかとなった (図3F)。

4. 細胞内Rasの活性状態のリアルタイム観測^[16]

Rasは代表的な低分子量GTPaseであり、GDP (guanosine diphosphate) が結合した不活性状態からGTP (guanosine triphosphate) が結合した活性化状態に変換されることで、受容体チロシンキナーゼを起点とするシグナル伝達において分子スイッチとして機能する。また、Rasの特定の残基に変異が導入されると恒常的な活性化が引き起こされ、細胞増殖が亢進してさまざまな種類のがんを引き起こすことが知られている。Rasの活性はGTPの加水分解活性定数 (k_{hy}) と、GDP-GTP交換速度定数 (k_{ex}) によって規定され (図4A)、*in vitro*ではNMR法を用いてRasの k_{hy} と k_{ex} をNMRによって測定できる^[17]。また k_{hy} と k_{ex} の値から、Rasの活性化の指標であるGTP結合型割合を算出できる (図4B)。G12Vなどの発がん性変異体では恒常的な活性化を反映して野生型よりも高いGTP結合型割合を示す。一方、野生型Rasについても40%程度がGTP結合型として存在すると算出されており、*in vitro*の測定結果はRasのシグナル伝達依存的に活性化する分子スイッチとしての

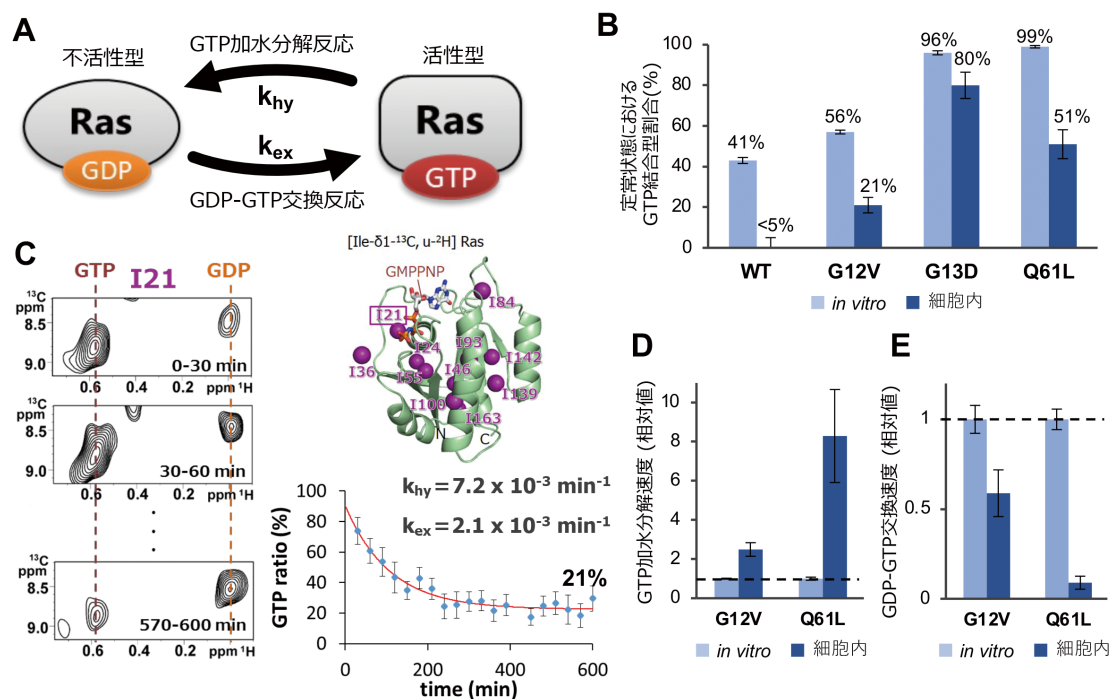


図4 細胞内RasのGTP結合型割合のリアルタイム観測

(A) Rasの活性を規定する2つの反応速度定数、(B) Ile21の側鎖メチル基のNMRシグナルに基づくRasG12V変異体のGTP結合型割合のリアルタイム観測と k_{hy} 、 k_{ex} の定量、(C) Ras野生型および発癌性変異体のGTP結合型割合の細胞内と*in vitro*の比較。G12VとQ61L変異体について(D) k_{hy} および(E) k_{ex} の細胞内と*in vitro*の比較。

役割と矛盾するものであった。

そこで実際の細胞内環境下におけるRasの活性を調べるため、in-cell NMRによるリアルタイム観測を行った。RasのIle21の側鎖メチル基は、GTP結合型とGDP結合型で異なる化学シフト値を示すため、これらのシグナル強度に基づいてGTP結合型割合を算出できる。HeLa S3細胞にIleメチル標識Ras (GTP結合型)を導入してバイオリアクター装置で培地を灌流しながら1測定30分間のNMR測定を連続的にを行い、RasのGTP型割合の経時変化を観測した。その結果、たとえばG12V変異体では経時的にGTP型割合の減少が観測され、20%程度で定常状態に達した(図4C)。他の発がん性変異体や野生型についても同様の測定を行いin vitroの結果と比較すると、いずれの場合も定常状態におけるGTP型割合はin vitroよりも低い値を示していた。特筆すべきことに、野生型Rasについてはほぼ完全に不活性型のGDP結合型として存在しており、細胞内で測定した結果はRasの分子スイッチとしての機能を正しく説明するものであった(図4B)。また、G12VやQ61L変異体では細胞内のGTP結合型の経時変化が観測されており、細胞内における k_{hy} と k_{ex} を算出することができる。得られた結果をin vitroと比較すると、細胞内の k_{hy} は上昇(図4D)、細胞内の k_{ex} は低下しており、これにより細胞内のGTP結合型割合が低下していることが明らかとなった(図4E)。このような細胞内における活性の変化を引き起こす要因として、 k_{ex} の低下については分子混雑環境における高い粘性が原因であることを突き止めている。また、G12V変異体の k_{hy} の上昇については、細胞内に存在する30~50 kDaの未知のタンパク質分子が引き起こしていることを見いだしている。このように、細胞内におけるRasの活性は細胞内環境下特有のさまざまな要因により適切に制御されていることが明らかとなった。

5. おわりに

以上のように、バイオリアクター型in-cell NMR法を用いることで、細胞内で起こる分子応答をNMRシグナルの経時変化を指標に直接かつリアルタイムに観測可能であることが示された。また、Trxの酸化型割合やRasの活性型割合の測定結果は、細胞内とin vitroでは大きく異なっており、細胞内での測定結果はこれらの分子の機能を正しく

説明するものであった。最近では、筆者らが開発したものと同様なバイオリアクター装置が他のグループにおいても標準的に利用されている^[18~20]。今後、in-cell NMRを用いることで細胞内の翻訳後修飾をはじめとするさまざまな分子応答や、細胞内における標的タンパク質と薬物の相互作用など、細胞内における分子反応を直接観測する研究する道が開けたといえる。

また、このような分子混雑環境がタンパク質の立体構造そのものにおよぼす影響にも興味を持たれる。近年の真核細胞内におけるタンパク質の立体構造決定から、細胞内環境下におけるGB1の立体構造の一部がin vitroとは異なることが示されている^[21]。また、細胞内の分子混雑環境はタンパク質のエネルギーランドスケープを変化させ、SOD1のフォールド状態とアンフォールド状態間の平衡^[22]や、解糖系酵素の基質認識に関わる構造平衡^[23](存在割合やその交換速度)に変調を与えることも示されている。今後、このような細胞内における動的構造平衡に着目したタンパク質の機能解明がさらに進展することが期待される。

蛍光顕微鏡をはじめとする蛍光プローブを用いた他の手法と比較して、in-cell NMR法による細胞内分子の観測は、観測標的分子そのもののシグナルを観測しているため、得られる情報の定量性が高く、さらには解析対象分子の立体構造変化などの情報も得られる点で優れている。一方で、in-cell NMRで観測されるシグナルは細胞内に存在するタンパク質からの総計であり、細胞内での位置情報を含んでいない。今後、特定のオルガネラなどに適切に局在化させることにより、細胞内の位置情報を含めた解析が望まれる。またこのような観測を行うためには、測定感度の向上が必要であり、今後は高磁場装置の開発や、パルスシーケンスなどの測定手法、安定同位体標識法の改良などハード・ソフトの両面からの開発が求められる。

謝 辞

本総説で紹介した研究は、主に東京大学大学院薬学系研究科 嶋田一夫先生(現・理研 BDR)のご指導の下で行ったものです。ともに研究を行っていただいた嶋田研究室のスタッフ・学生の皆様に感謝いたします。本研究は、新学術領域研究(動的構造生命:26119005 分子夾雑化学20H04693)などの支援を受けて行われました。

参考文献

- [1] K. Takeuchi, K. Baskaran, H. Arthanari, *Journal of Magnetic Resonance* 2019, **306**, 195-201.
- [2] J. B. Stiller, R. Otten, D. Häussinger, P. S. Rieder, D. L. Theobald, D. Kern, *Nature* 2022, **603**, 528-535.
- [3] T. R. Alderson, L. E. Kay, *Cell* 2021, **184**, 577-595.
- [4] A. C. Murthy, N. L. Fawzi, *Journal of Biological Chemistry* 2020, **295**, 2375-2384.
- [5] H.-X. Zhou, G. Rivas, A. P. Minton, *Annu. Rev. Biophys.* 2008, **37**, 375-397.
- [6] Z. Serber, V. Dötsch, *Biochemistry* 2001, **40**, 14317-14323.
- [7] D. Sakakibara, A. Sasaki, T. Ikeya, J. Hamatsu, T. Hanashima, M. Mishima, M. Yoshimasu, N. Hayashi, T. Mikawa, M. Wälichli, B. O. Smith, M. Shirakawa, P. Güntert, Y. Ito, *Nature* 2009, **458**, 102-105.
- [8] D. S. Burz, K. Dutta, D. Cowburn, A. Shekhtman, *Nat. Methods* 2006, **3**, 91-93.
- [9] P. Selenko, Z. Serber, B. Gadea, J. Ruderman, G. Wagner, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2006, **103**, 11904-11909.
- [10] K. Inomata, A. Ohno, H. Tochio, S. Isogai, T. Tenno, I. Nakase, T. Takeuchi, S. Futaki, Y. Ito, H. Hiroaki, M. Shirakawa, *Nature* 2009, **458**, 106-109.
- [11] S. Ogino, S. Kubo, R. Umemoto, S. Huang, N. Nishida, I. Shimada, *Journal of the American Chemical Society* 2009, **131**, 10834-10835.
- [12] F.-X. Theillet, A. Binolfi, B. Bekei, A. Martorana, H. M. Rose, M. Stuiver, S. Verzini, D. Lorenz, M. van Rossum, D. Goldfarb, P. Selenko, *Nature* 2016, **530**, 45-50.
- [13] I. Yu, T. Mori, T. Ando, R. Harada, J. Jung, Y. Sugita, M. Feig, *eLife* 2016, **5**, e19274.
- [14] S. Kubo, N. Nishida, Y. Udagawa, O. Takarada, S. Ogino, I. Shimada, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2013, **52**, 1208-1211.
- [15] A. Mochizuki, A. Saso, Q. Zhao, S. Kubo, N. Nishida, I. Shimada, *Journal of the American Chemical Society* 2018, **140**, 3784-3790.
- [16] Q. Zhao, R. Fujimiya, S. Kubo, C. B. Marshall, M. Ikura, I. Shimada, N. Nishida, *Cell Reports* 2020, **32**, 108074.
- [17] M. J. Smith, B. G. Neel, M. Ikura, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2013, **110**, 4574-4579.
- [18] K. Inomata, H. Kamoshida, M. Ikari, Y. Ito, T. Kigawa, *Chem. Commun.* 2017, **53**, 11245-11248.
- [19] L. Breindel, C. DeMott, D. S. Burz, A. Shekhtman, *Biochemistry* 2018, **57**, 540-546.
- [20] E. Luchinat, L. Barbieri, T. F. Campbell, L. Banci, *Anal. Chem.* 2020, **92**, 9997-10006.
- [21] T. Tanaka, T. Ikeya, H. Kamoshida, Y. Suemoto, M. Mishima, M. Shirakawa, P. Güntert, Y. Ito, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2019, **58**, 7284-7288.
- [22] J. Danielsson, X. Mu, L. Lang, H. Wang, A. Binolfi, F.-X. Theillet, B. Bekei, D. T. Logan, P. Selenko, H. Wennerström, M. Oliveberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2015, **112**, 12402-12407.
- [23] H. Yagi, T. Kasai, E. Rioual, T. Ikeya, T. Kigawa, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2021, **118**, e2112986118.



西田 紀貴 (にしだ・のりたか)

1999年3月 東京大学薬学部卒業

2004年3月 東京大学大学院薬学系研究科 博士後期課程修了(博士(薬学))

2004年4月－2007年5月 ハーバード大学医学部 博士研究員

2007年6月－2010年12月 東京大学大学院薬学系研究科・NEDO特別講座 特任助教

2011年1月－2016年3月 東京大学大学院薬学系研究科・生命物理化学教室 助教

2016年4月－2019年3月 東京大学大学院薬学系研究科・生命物理化学教室 准教授

2019年4月－現在 千葉大学大学院薬学研究院・薬品物理化学研究室 教授

結晶性高分子の軌跡、結晶化、未来

The University of Akron, School of Polymer Science and Polymer Engineering

三好 利一

miyoshi@uakron.edu

1. はじめに

ポリマーは我々の生活になくてはならない重要な材料である。例えば、柔軟なプラスチックバッグは日常の買い物などに使われる一方、高度に配向した繊維は防弾チョッキや最先端の航空機や電気自動車のボディーの製造に必要な炭素繊維材料の前駆体として利用されている。約70%のポリマーは半結晶性であり、様々な距離スケールでの構造解析や異なる時間スケールでのダイナミクスなどの基礎研究から、熱、力学特性から成形加工までの広範囲にわたる物性研究まで活発に研究が進められている。著者らが興味のある分子レベルの構造に関しては、コンフォメーションやパッキング構造などが十分に解析されてきた。しかし、非常に長いポリマー固有の鎖の三次元構造に関しては多くの研究が行われているにも関わらず、未だに十分な情報は得られていない。本報では、高分子結晶化機構とその構造解析における歴史の端緒と、著者が挑んできた固体NMR法を用いたポリマー鎖の折り畳み構造に関する研究成果について紹介したい。

2. 高分子結晶と高分子鎖の折り畳み構造

高分子結晶の歴史を紐解くと1950年初頭にまで遡る。Kellerは電子顕微鏡を用いて、希薄溶液から結晶化することにより単結晶が生成することを報告した^[1]。電子線回折によりポリマー鎖が単結晶の上下面に垂直に配向していることから、ポリマー鎖が幾重にも折り畳み構造を形成していることが示唆された。電子線回折やエックス線構造解析により結晶領域のコンフォメーションやパッキング構造が明らかになっている^[2~4]。更に、結晶ラメラの厚みやその分布、より大きな球晶など幅広い距離スケールや時間スケールでの構造変化などが十分に解析されてきた^[2~4]。様々な距離、時間スケールでの構造情報を基に、非常に長いポリマー鎖の結晶化のメカニズムについて多く

の議論がなされてきた。

HoffmanとLauritzenは低分子の結晶化機構を基に、二次核生成機構により高分子結晶化を説明した^[5,6]。存在する結晶の成長表面にポリマー鎖が吸着し二次核を形成した後、折り畳み構造を伴い成長表面を埋める機構である。高温領域では一本鎖の吸着と折り畳み構造による成長が結晶化を支配し、温度が下がるにつれて、複数の分子の吸着と成長が競合するといったように、結晶化温度に伴うミクロなポリマー鎖の構造の違いを具体化する理論である。マクロな球晶の成長速度と二次核形成機構に基づく結晶化機構の温度依存性はよい相関が得られており、現在でも、高分子結晶化のキネティクスを分子論的にうまく説明できる唯一の理論である。

AllegraやMuthukumarらは、溶液結晶化に着目し、二次核生成前にポリマー鎖の折り畳みが起こり一次核を形成するモデルを提唱している^[7,8]。また、Kajiらは熔融状態では結晶化前に濃度揺らぎが起こり、秩序高い領域と低い領域ができるスピノーダル分解機構を提唱した^[9,10]。更に、Stroblは熔融状態からポリマーの状態が連続的に秩序高い構造に変化していくマルチステージモデルを提唱している^[11]。これら以外にも複数の理論やモデルが提案されている。どのようにポリマーが結晶化していくのか？ 鎖レベルでの構造解析が必要となる。

3. 各種分析技術の中での固体NMRの位置づけ

1970～90年代にわたり、中性子散乱がポリマー鎖の構造解析に幅広く適用されてきた。この方法では、重水素で同位体標識したポリマーと標識しないポリマーをブレンドすることにより、重水素化物の孤立鎖を標識のないマトリックス中に作り出す。そして、水素化物と重水素に由来する中性子の散乱断面積の違いに基づいて構造解析が行われた^[12~15]。この方法はポリマー鎖の広がり

を示す慣性半径に関しては十分な情報を示してきた。しかし、局所的な折り畳み構造の場合は、十分な精度で構造を獲得することができなかった。更に、高温での結晶化では、分子運動が活性化され、重水素化物と水素化物の拡散の違いから分離してしまうため、中性子を用いた研究は過冷却温度が大きな条件のみに制限されてきた。このような問題を克服すべく、Ungarらは末端近傍のみを重水素化した低分子量の単分散エチレンオリゴマーの合成に成功した^[16]。単分散試料は構造の均一性から、中性子散乱パターンの分解能が飛躍的に向上した。更に、水素化・重水素化物が同一のオリゴマー鎖に存在するため、異種分子の相分離の問題を回避することに成功した。その結果、幾つかの結晶化温度において、単分散オリゴマー鎖は折り畳みが乱れた構造を経由して、高温側から、伸び切り構造、一回折り畳んだヘアピン構造、そして伸び切りと折り畳み構造の混在構造を

形成することが明示された(図1a)^[16]。結晶化温度に応じた分子鎖レベルの構造の違いが実験により初めて証明された成果である。より一般的な多分散の高分子量の試料でも、単分散オリゴマー同様の構造変化が起こるのか? 非常に興味深いところである。しかし、多分散試料では実験が困難なため、多分散試料での結晶化に伴う構造変化は十分にわかっていない。

近年、原子間力顕微鏡 (AFM) を用いた高分子鎖の挙動を調べる研究が活発に行われている。Kumakiらはアイソタクチックポリメチルメタクリレート単分子膜を基板状で結晶化後、AFMを用いて疑似二次元結晶内の高分子鎖の折り畳み構造を世界で初めて直視することに成功した(図1b)^[17]。更に、同グループはポリマー鎖の末端と中心部における折り畳み構造の違い^[18]や一次核形成の直接観察^[19]など、非常に興味深い構造を報告している。Zhangらは、末端部位を化学修飾したポリマー鎖の高分子単結晶を作製して、AFMの先端と化学修飾部位との相互作用を利用して、AFMでポリマー鎖の引き抜き(フィッシング)に伴い検出される微弱なフォースカーブを解析することにより、末端近傍の折り畳み構造解析に成功している(図1c)^[20]。しかし、AFMの直視は特殊な基板上での単分子膜が必要である。また、AFMフィッシングでは整然とした単結晶のポリマー鎖の末端近傍の構造解析にのみ適用されるなど、AFMによる実験の適用は大きく制限される。

4. 固体 NMR による高分子鎖の構造解析

著者が学生の頃はマックスプランク研究所のSpiessらが、多次元固体NMR法を用いてポリマーの分子運動解析研究を活発に行っていた^[21]。ガラス転移に伴うセグメント運動や半結晶性高分子鎖の結晶・非晶領域を分子鎖が行き来する姿を示した二次元NMRの結果は一目瞭然であった。NMR研究者のみならず、多くの高分子物理学者が興味を示した特筆すべき成果であった。その後、固体状態のタンパク質の三次元構造がCastellaniらに報告された^[22]。同じことがポリマーでもできないだろうか? という素朴な疑問が、著者らのポリマーの折り畳み構造解析への大きなモチベーションになったことはいうまでもない。著者らは、結晶内に存在するポリマー鎖(ステム)が結晶の外に出た後、折り畳み構造を形成して最近接サイトに戻ってくる adjacent re-entry と呼ばれる折り畳

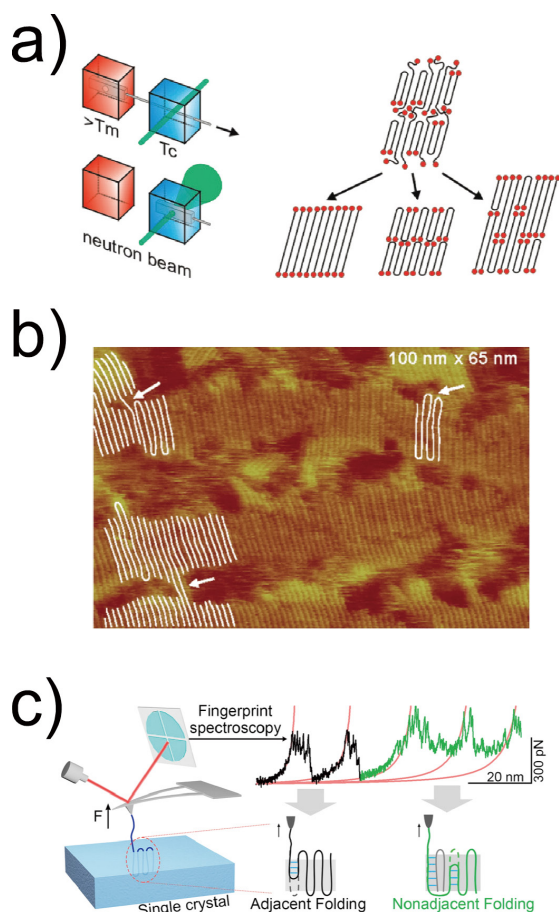


図1 最先端分析技術によるポリマー鎖の構造解析。(a) 中性子散乱による結晶化に伴う鎖の構造のリアルタイム観察^[16]、(b) AFMによる基板上の単分子膜におけるポリマー鎖の直視^[17]、(c) AFMフィッシングによる単結晶中のポリマー鎖末端近傍の折り畳み構造解析^[20]。アメリカ化学会から文献16、17、20からの複写使用許可。

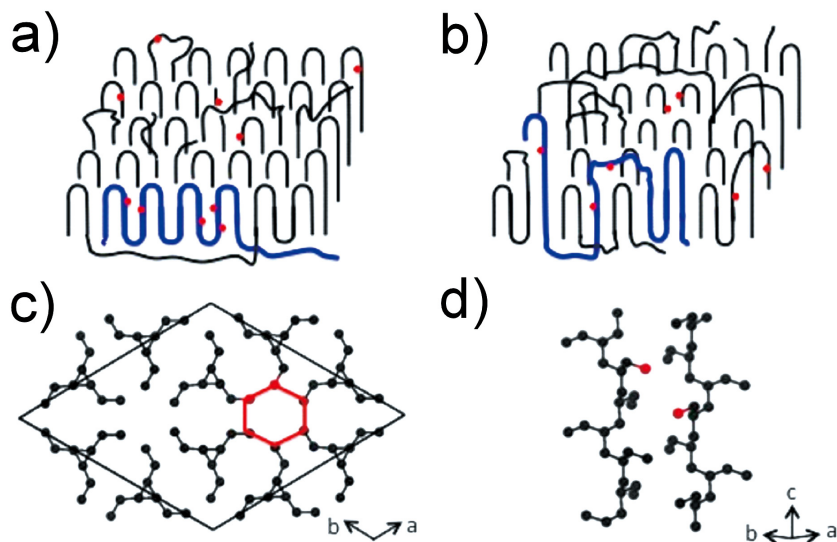


図2 同位体標識したポリマー鎖の (a) adjacent re-entry と (b) random re-entry 構造の模式図。青色の曲線は同位体標識されたポリマー鎖、黒の曲線は標識なしのポリマー鎖。(c) ポリブテン結晶のパッキング構造と (d) 隣接する二本のステム。赤で着色された2つの炭素は同位体標識された2スピンシステムになっている (原子核間距離は4.2 Å)。

み構造を検出することを目的とした。

図2にアイソタクチックポリブテンの構造を例に著者の実験の概念を示した。 ^{13}C で同位体標識したポリマー鎖を未ラベル試料で十分に希釈することにより、バルクな試料の中に一本鎖の構造を作りだす。規則正しく adjacent re-entry 構造 (図2a) を形成した場合、隣接ステム間の双極子相互作用を利用して、折り畳み構造に関する情報を二量子コヒーレンス信号として取り出すことが可能である。一方、ポリマー鎖の構造が乱れていれば (図2b)、双極子相互作用は急激に弱くなるため、二量子信号は観測されない。観測される二量子信号強度から、折り畳み構造の量を同定するというアイデアである^[22, 23]。

NMR法を用いた折り畳み構造の解析は全てのポリマーに適用できるわけではなく、実験の成否にかかわる条件について説明する。図2dに示すように、ポリブテンの側鎖の先端のメチル基を同位体標識することにより、隣接ステム間の炭素核間距離 (4.3 Å) が同一ステムの同距離 (6.3 Å) より、短い距離を作り出すことができる。この距離条件が非常に重要になってくる。もし、同一ステム間の核間距離が隣接ステム間距離より短い場合には、同一ステム内の相互作用が強くなるため、折り畳み構造による隣接ステム間の双極子相互作用は見えなくなってしまう。そのような理由で、化学構造が最も単純なポリエチレンでは解析できない。一般的に側鎖を有するポリマー鎖はヘリッ

クス構造を形成し、うまく合成個所を選べば、距離問題を回避することができる^[22, 23]。実際のポリブテンや他試料を用いた実験では、多スピン系の相互作用を抑える目的で同位体ラベル濃度を30%程度に希釈した試料を合成した。ラベル試料と未ラベル試料の組成比は1:9に揃えた^[22, 23]。

図3a～dにはポリブテン鎖の異なる折り畳み構造を示す。同一炭素の双極子信号を検出するには、PostC7²⁴シーケンスを使って二量子コヒーレンス信号を励起した。図3eには高分子鎖の異なる折り畳み構造をもった場合の二量子信号の励起時間に応じた信号強度の計算曲線である^[22]。計算曲線はスピンの空間配置と横緩和によって決まる。CF0構造は、隣接サイトへ再突入しない多くの鎖の折り畳み構造を含む孤立鎖である。この構造では、同一ステム内のメチル炭素核間の相互作用のみが二量子コヒーレンス信号に影響する。6.3 Å以上の微弱な核間相互作用により二量子コヒーレンス信号の強度が非常に弱いことがわかる (図3e中のピンクの実線)。一方、CFI-CFIIIは再突入サイトが異なる折り畳み構造である。再突入サイトの違いにより、形成する核スピン間の距離、相互作用する核スピンの数、トポロジーが変化して、二量子コヒーレンス信号強度が大きく変化する (図3e中の緑、青、赤の実線)。注意点として、これらの計算結果は高分子鎖の折り畳みが無限に続くという条件に基づいての計算結果である。実験との対比では、折り畳み後の再突入サ

イトの選択、連続する折り畳み構造の繰り返し数 (n)、折り畳み構造の分率 (F) などのパラメーターを考慮して、二量子コヒーレンス信号曲線の強度を解析し、折り畳み構造の決定を行う^[25]。

4. 希薄溶液からの結晶化

長い高分子鎖を十分に希釈した濃度で溶解すると、孤立鎖を形成する。結晶化させるには、ある程度溶媒とポリマーの親和性が低い貧溶媒が望ましい。孤立鎖ができるほどの十分に希釈した希薄溶液を溶解温度から温度を下げて、比較的高い温度でゆっくり結晶化させると、対称性の高い単結晶が得られる。図4aには60℃で結晶化したポリ

ブテン単結晶の電子顕微鏡写真を示した^[26]。結晶格子が反映された正六角形の形態である。AFMで厚みを計測したところ、6nmであることが示された。同溶液を0℃に制御した過剰の貧溶媒に滴下して急冷すると熱い溶液と冷めた液体の界面で高分子が冷やされて急速に結晶化する。この試料を電顕で観察すると、単結晶の角がとれて丸みがかった形態が観測された(図4b)。丸い形は急速に結晶化することによる構造の乱れによる。AFMの厚みの測定から、急冷した結晶は数百nmの厚みを持った構造であることが明示された^[26]。このような厚みは薄いラメラが積層しているためと考えられる。

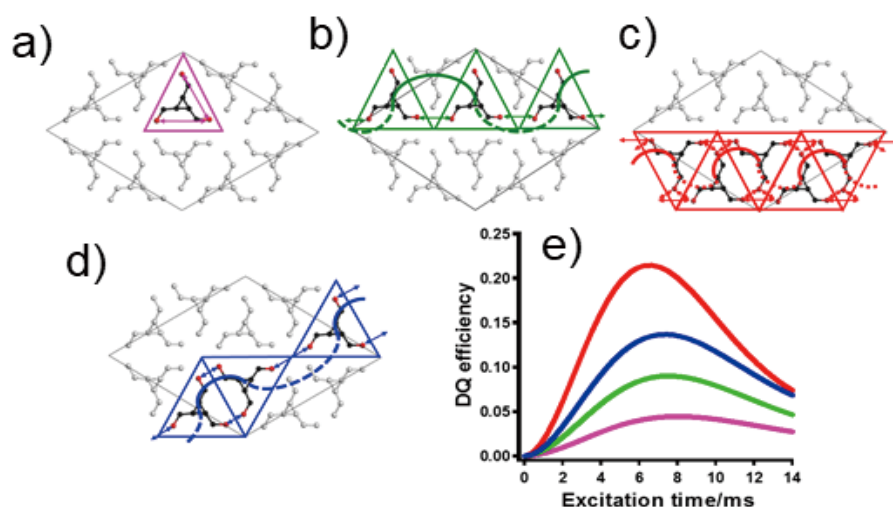


図3 (a～d) ポリブテン鎖の異なる折り畳み構造 ((a) CF0、(b) CFI、(c) CFII、(d) CFIII) と (e) ^{13}C 同位体標識したポリブテン鎖のそれぞれの折り畳み構造の二量子コヒーレンス信号の励起時間依存性の計算結果。アメリカ化学会から文献23からの複製使用許可。

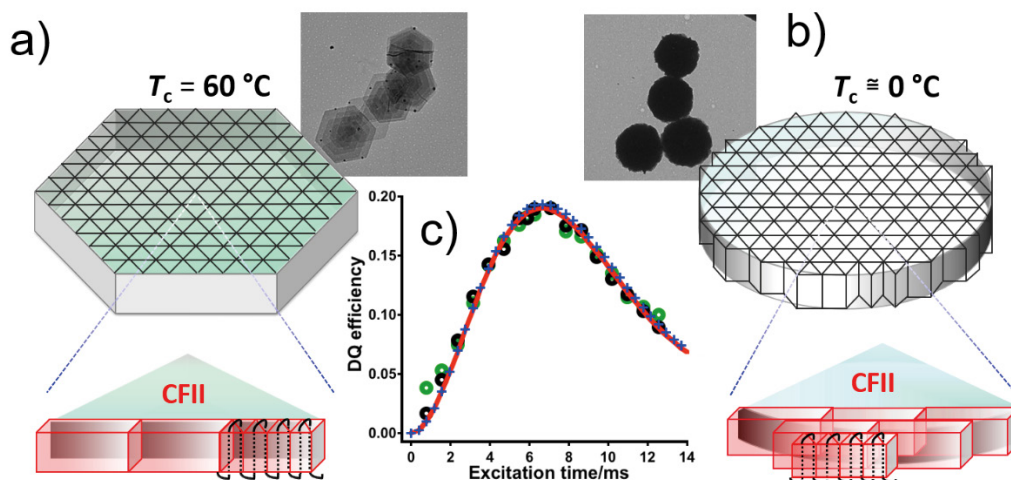


図4 ポリブテンの希薄溶液から (a) 60℃と (b) 0℃における結晶化により得られた結晶の電子顕微鏡写真と、モルフォロジーと成長面での折り畳み構造の模式図。(c) 同位体標識されたポリブテンの結晶中におけるメチル基の二量子コヒーレンス信号強度の励起時間依存性。結晶は60℃(○)と0℃(○)にて作製。折り畳み構造が8回のCFIIモデルに基づく計算曲線(赤い実線と青クロス)^[26]。

図4cにポリブテン単結晶のメチル基の二量子コヒーレンス信号曲線の励起時間依存性(○)を示す^[26]。幾つかのモデルに基づく計算結果と実験結果を比較することにより、ポリブテン鎖は折り畳み回数が連続8回以上のCFII構造を形成していることがわかった。ポリマー鎖の折り畳み構造についての最初のNMRの解析結果である。近年、AFMフィッシングにより、同程度の折り畳み回数が報告されていることは非常に興味深い。同様に、急冷試料の実験結果(○)を図4cに示した。驚いたことに、大きく異なる温度で結晶化させた試料の二量子コヒーレンス信号はよく一致していることが示された。この結果は、希薄溶液から結晶化させたポリマーの折り畳み構造は結晶化温度に依存しないことを初めて明示した貴重なデータである。モルフォロジーと分子鎖の折り畳みのように異なる距離スケールでの構造形成のデカップリング現象が他ポリマーでも観測されるのだろうか？それを明らかにするために、次に同位体標識の濃度を揃えた分子量の異なる複数のポリ乳酸試料を合成し、同様の実験を行った^[27, 28]。その結果、ポリ乳酸の折り畳み構造も複数回繰り返し、その回数は過冷却温度に依存しないこと、更に、折り畳みの繰り返しの長さは分子量にも依存しないことが明示された。

これらの結果から、著者らは溶液中のポリマー鎖の折り畳みと結晶化過程を以下のように説明した。まず、温度の低下に伴う溶液中でのポリマー鎖と溶媒との相互作用の低下により、ポリマー鎖は溶媒分子を吐き出し、ポリマー鎖の部分凝集が始まる。この際、ポリマー鎖が折り畳まり、折り畳み構造からなるクラスターを形成する。そして、クラスターを一つの構造単位とするブロックが凝集し結晶を形成するという二段階の結晶化プロセスを提案した^[27~29]。ブロックの配列の仕方が過冷却温度に応じて変化し、マクロな結晶のモルフォロジーが変化するという機構である。著者らが提案するモデルは、従来考えられてきた二次核生成に基づく結晶成長機構^[5, 6]とは異なり、バンドルモデル^[7]とよく一致する。近年、ミネラル^[29]、有機分子^[30]、タンパク質^[31]などの結晶化においても新しい実験結果の報告が増えており、二段階結晶化機構が提案されている。異なる物質の結晶化機構の再考に一石を投じる実験成果である。

5. 溶融状態からの結晶化

希釈溶液からの結晶化とは異なり、溶融結晶化では、結晶と非晶領域が交互に連なる積層構造を形成する。結晶部は力学強度に、非晶部は韌性に貢献している。特徴的なモルフォロジーの理由は溶融状態で複数の高分子鎖が絡み合う構造に起因する。絡み合い構造はゆでたスパゲッティを思い浮かべればイメージがつくと思う。溶融状態では均一に存在する絡み合いが結晶化に伴い非晶部に押し出される。絡み合いが存在する溶融状態からの結晶化に伴う高分子鎖の折り畳み構造はどうなるのか？結晶化後の絡み合いの数はどうなるのか？多くの疑問が自然と湧いてくる。

そこで、著者らは先述の¹³C標識したポリブテン試料の異なる結晶化温度における結晶化を試みた^[25]。最初の試料は融解後、結晶化の上限温度である95℃にて二日間等温結晶化した。もう一つは、氷水温度で急速固化した。ポリブテンのガラス転移温度は-20℃前後であるため、過冷却度の大きな急速冷却でもポリマーは結晶化する。過冷却度の違いは個々のラメラ厚や結晶核の数、球晶のサイズなど様々な構造に影響を及ぼす^[25]。二量子コヒーレンス法を用いて、溶融結晶化の折り畳み構造を調べた結果、高温で結晶化させた試料の二量子コヒーレンス信号強度は溶液結晶の強度に比べて大きく低下することが明らかになった。実験と計算結果を比較すると、折り畳み数は2回であることがわかった。また、溶液結晶化に比較して、折り畳み構造の持続長が大きく低下していた。この構造は二つの構造因子によると考えられる。一つは異なる高分子鎖同士の絡み合いである。絡み合いは、結晶化における高分子鎖の構造変化を制限する役割を担っている。もう一つは、高分子自身の濃度である。結晶化の際には、折り畳みに伴う分子内のパッキング構造の形成と異種分子間のパッキング構造が競合するわけであるが、溶融状態からの結晶化においては、溶液結晶化より分子間のパッキング寄与が高くなる。この両者がどのように折り畳み構造に貢献しているかはいまだに明らかになっていない。今後の更なる研究が必要である。更に、氷水を使い、急冷結晶化させた試料の二量子信号強度は高温のそれに比べて、ほとんど変化しないことが明らかになった。この結果は大きく異なる過冷却温度を使っても、局所的な折り畳み構造には影響を及ぼさないことを意味する。結晶の厚みやモルフォロジーは

結晶化温度に応じて大きく変化するが、局所的な高分子鎖の折り畳み構造は変化しないという結論が得られる。同様の結果は、他高分子試料^[32, 33]においても得られている。

6. 鶏と卵、どっちが先？

著者らの実験では幾つかの異なる結晶性高分子の過冷却温度や結晶化速度を変化させて折り畳み構造や他の高分子構造を調べてきた。著者らは、異なるポリマーにおいて以下のような共通の構造を得ている。1) 溶液結晶、溶融結晶において折り畳み構造は結晶化する前の絡み合いの度合いと高分子の濃度に大きく依存する。2) 折り畳み構造は過冷却温度や結晶化速度には依存しない。二つ目の実験事実は、従来考えられてきた二次核生成モデルでは説明することはできない。著者らは、高分子鎖は結晶化の前段階において、折り畳み構造を既に形成しており、折り畳み後に形成された高分子鎖のクラスターが結晶化するのではないかと考えている。二次核生成理論^[5, 6]では、存在する結晶の成長表面において高分子鎖が吸着して折り畳みが導入されると考えられるため、折り畳みが先なのか？ それとも結晶化が先なのか？ このような高分子結晶形成機構の分子論的な議論においては、鶏と卵の議論を思い浮かべる読者も少なくないと思う。

固体NMR法の最大の利点は三次元的な規則性のない試料に対しても適用可能なことである。我々は¹³C標識したポリ乳酸試料を用いて、溶融とガラス状態から150°Cで等温結晶化させた二種類の結晶試料と溶融状態から急冷して得られたガラス試料（ガラス転移温度、 $T_g = 60^\circ\text{C}$ ）を作製した（図5a）^[34]。それぞれの試料の光学顕微鏡写真、広角X線回折、固体NMRスペクトルを図5b～dに示した。いずれの方法でも目的の試料が形成されていることを確認した。同位体標識ラベル試料を用いてパッキング構造を調べると結晶化試料とガラス試料の両方において、高分子鎖間平均距離は6.1Åであることがわかった^[34]。この距離はX線回折^[35]により得られた隣接ステム間距離とよく一致する。NMRの結果は、ガラス状態の試料は長距離秩序構造を持たないが、局所的にはヘリックス構造がパッキングした疑似結晶構造を形成していることを示唆している。このようなミクロな構造はバルクな密度実験結果とよく一致している^[36]。ポリ乳酸のパッキング構造は、結晶化前後で有意差は観測されなかったが、折り畳み構造はどうだろうか？ 図6aに¹³C同位体標識した高分子鎖の未ラベル試料で十分に希釈した溶融結晶（○）と冷結晶（○）の試料の二量子コヒーレンス信号の励起時間依存性を示す。両試料とも折り畳み回数1のヘアピン構造を形成していること

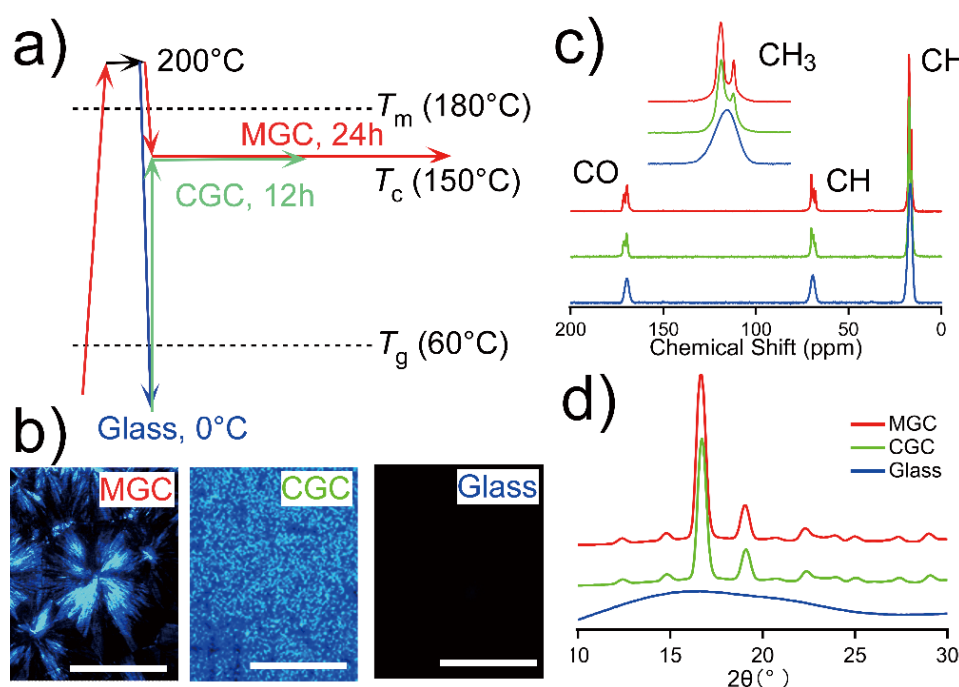


図5 (a) ポリ乳酸試料の結晶とガラス試料の作製条件^[34]。溶融 (MGC)、冷結晶化 (CGC)、ガラス試料 (Glass) の (b) 光学顕微鏡写真 (スケールバーは50μm)、(c) 固体¹³C高分解能NMRスペクトル、(d) X線回折パターン (アメリカ化学会から文献34の複写使用許可)。

が明らかになった。また、驚いたことに、ガラス状態の二量子コヒーレンス信号の励起時間依存曲線は結晶のそれとほぼ同じであることが明らかになった(図6b)。シミュレーションと実験との比較から、ガラス内の折り畳み回数は、結晶内部のポリマー鎖の同様の1であることが明示された。この結果は、結晶化が始まる前段階において、高分子鎖は既に、折り畳み構造を形成していることを意味する。つまり、熔融結晶化においては、存在する折り畳み構造は、結晶化の前後において、大きく変化することなく、ポリマーのセグメントが局所的に配置換えを行い、三次元的な規則構造を形成していく描像が明らかになった(図6c～e)。この機構は二次核生成モデルを真っ向から否定する興味深い結果である。

7. おわりに

中性子散乱、AFM、固体NMRなどの利用により、高分子結晶中のポリマー鎖の構造が明らかになりつつある。特に、固体NMRは1) 試料の形態、2) 分子量やその分散性、3) 温度や高分子濃度等の結晶化条件などの制約をほとんど受けない

ため、様々な条件で結晶化後のポリマー鎖の構造情報を獲得できる。他の分析技術では得難い構造情報である。したがって、固体NMRは高分子結晶化の分子論的な考察に使われる理論やモデリングの妥当性の検証、並びに、真の結晶化機構を解明できる数少ない分析技術の一つであると言える。今後の更なる方法論の展開により、ポリマー分野の研究が大いに発展することを期待する。

最後に、著者らの今後の研究に少し触れておく。著者らは熔融結晶の前駆体において高分子鎖の折り畳み構造が既に存在することを示した。しかし、前駆体での折り畳み構造を生み出すメカニズムに関しては釈然としない。その正体がポリマーに共通の絡み合いなのではないのか？と著者は考えている。今後、絡み合いと折り畳み構造の関係を明らかにしていきたい。溶液結晶化においては、二段階の結晶化機構を提案してきた。しかし、結晶化前の前駆体の構造を未だに捕えきれていない。良溶媒と貧溶媒をうまく組み合わせて適度なポリマーと溶媒の相互作用の条件を作り出し、適度な条件で急冷して構造を凍結できれば、前駆体構造を検出できるのではないかと期待している。

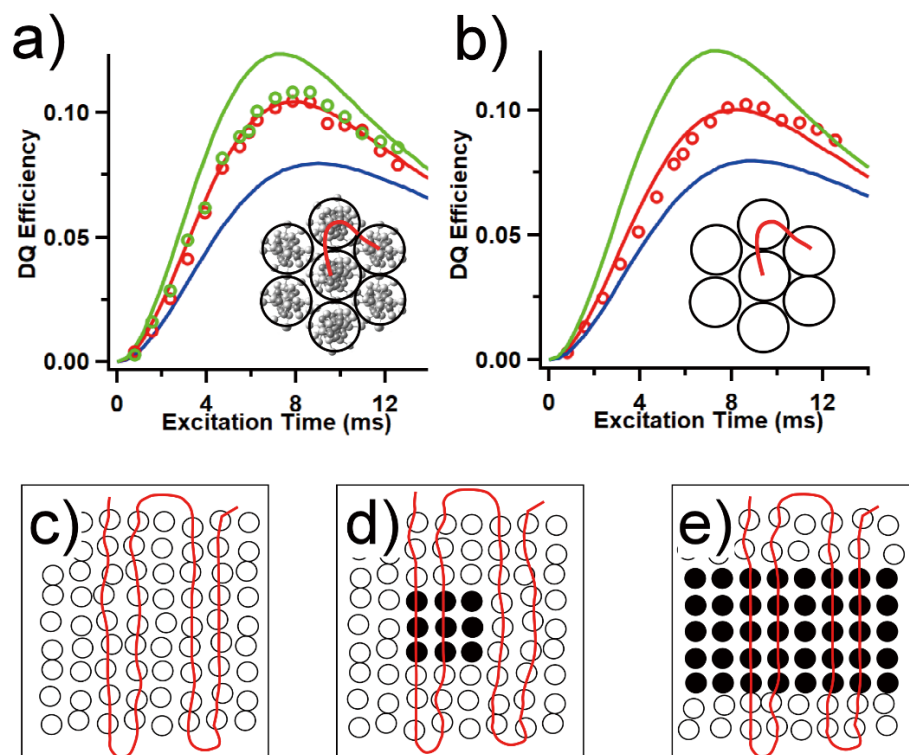


図6 ポリ乳酸試料の (a) 熔融結晶 (○) と冷結晶試料 (○) と (b) ガラス試料 (○) の二量子コヒーレンス信号の励起時間依存性と折り畳み回数, $n = 0$ (青実線)、1 (赤)、2 (緑) に基づく二量子信号の計算曲線^[34]。(c～e) ポリ乳酸の熔融結晶化機構の模式図。白丸はガラス、熔融状態の非晶セグメント、黒丸は結晶セグメント、赤の実線は高分子鎖の折り畳み構造(アメリカ化学会から文献34の複写使用許可)。

DNP法を用いることにより、溶液結晶化の難問に答えをだせるのではないかと考えている。

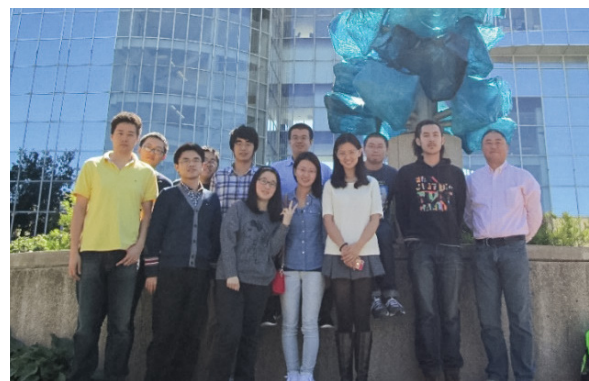
近年、プラスチックのゴミが世界的な問題になっている。再利用を視野に入れた高分子材料の設計に興味を持っている。ポリエチレンとポリプロピレンは高分子プラスチックの全世界の生産量の半分を占める。共に結晶性高分子であり成形性に優れ、素晴らしい力学特性を示す。これらの特性は固体NMRで実証された結晶内部の分子運動に起因する。二大プラスチックの問題は一度混ざり合ったゴミを再利用するために、再成型後に試料の力学強度が大きく低下することである。二種類のポリマーは化学的には同じような構造でも、分子レベルで混ざり合わないのである。著者らのグループでは共結晶化可能な次世代のオレフィン材料の開発に舵をとり始めた^[37, 38]。再利用可能な次世代のポリオレフィン材料が利用できると、プラスチック由来のゴミの量は大幅に削減されると考える。核スピンの実験に由来した構造とダイナミクスのハーモニーからユニークな物性をもつ次世代ポリマーを開発したいという夢を抱いている。

8. 謝 辞

本研究は、著者が渡米直後の2011年から現在に至るまでの長きに渡るアメリカ科学技術財団の支援 (NSF1105829、1408855、1708999、2004393) による研究成果であり、この場を借りて感謝する。また、全く高分子化学ができない著者をサポートしてくれた多くの優秀な学生さんに感謝する。

文 献

- [1] Keller, A. Single crystals in polymers: evidence of a folded-chain configuration *Phil. Mag.*, **1957**, *2*, 1171-1175.
- [2] Cheng, S. Z. D. *Phase Transitions in Polymers*; Elseviers, **2008**.
- [3] Lotz, B.; Miyoshi, T.; Cheng, S. Z. D. Polymer Crystals and Crystallization: Our Personal Journeys in this Challenging and Rediscovering Research Field 50th Feature Perspective, *Macromolecules*, **2017**, *50*, 5995-6025.
- [4] Ungar, G.; Zeng, X. B. Learning Polymer Crystallization with the Aid of Linear, Branched and Cyclic Model Compounds. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 4157-4188.
- [5] Hoffman, J. D.; Lauritzen, J. I., Jr. Crystallization of bulk polymers with chain folding: theory of growth of lamellar spherulites *J. Res. Natl. Bur. Stand., Sect. A*, **1961**, *65A*, 297-336.
- [6] Hoffman, J. D.; Miller, R. Kinetics of crystallization from the melt and chain folding in polyethylene fractions revisited: theory and experiment. *Polymer* **1997**, *38*, 3151-3212.
- [7] Allegra, G.; Meille, V. S. The bundle theory for polymer crystallization. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1*, 5179-5188.
- [8] Liu, C.; Muthukumar, M. Langevin dynamics simulations of early-state polymer nucleation and crystallization. *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 2536-2542.
- [9] Imai, M.; Mori, K.; Mizukami, T.; Kaji, K.; Kanaya, T. Structural formation of poly (ethylene terephthalate) during the induction period of crystallization: 2. Kinetic analysis based on the theories of phase separation. *Polymer* **1992**, *33*, 4457-4462.
- [10] Kaji, K.; Nishida, K.; Kanaya, T.; Matsuba, G.; Konishi, T.; Imai, M. Spinodal crystallization of polymers: Crystallization from the unstable melt In *Interphases and Mesophases in Polymer Crystallization III*; Springer: **2005**; pp 187- 240.
- [11] Strobl, G. Crystallization and melting of bulk polymers: New observations, conclusions and a thermodynamic scheme. *Prog. Polym. Sci.* **2006**, *31*, 398-442.
- [12] Yoon D. Y.; Flory, P. J. Molecular Morphology in Semi-crystalline Polymers *Faraday Discuss.* **1979**, *68*, 288-196.
- [13] Guttman, C. M.; Hoffman, J. D.; Dimarzio, E. A. Monte Carlo Calculation of SANS for Various Models of Semicrystalline Polyethylene. *Faraday Discuss.* **1979**, *68*, 297-309.
- [14] Stehling, F. C.; Ergos, E.; Mandelkern, L. Phase Separation in n-Hexatriacontane-n Hexatriacontane-d74 and Polyethylene-Poly(ethylene-d4) Systems. *Macromolecules* **1971**, *4*, 672-677.
- [15] Sadler, D. M.; Spells, S. J. A neutron scattering study of slowly crystallized bulk polyethylene. *Polymer* **1984**, *25*, 1219-1226.
- [16] Zheng, X.; Ungar, G.; Spells, S. J.; King, S. M. Real Time Neutron Scattering Study of Transient Phases in Polymer Crystallization. *Macromolecules* **2005**, *38*, 7201-7204.
- [17] Kumaki, J.; Kawaguchi, T.; Yashima, E. Two-Dimensional folded Chain Crystals of a Synthetic Polymer in a Langmuir-Blodgett Film. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5788-5789.
- [18] Anzai, T.; Kawauchi, M.; Kawauchi, T.; Kumaki, J. Crystallization behavior of Single isotactic Poly(methyl methacrylate) Chains Visualized by Atomic Force Microscopy. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *119*, 338-347.
- [19] Ono, Y.; Kumaki, J. In Situ Real-Time Observation of Polymer Folded-Chain Crystallization by Atomic Force Microscopy at the Molecular Level. *Macro-*



- molecules* **2018**, *51*, 7629-7636.
- [20] Ma, Z.; Yang, P.; Zhang, X.; Song, Y.; Zhang, W. Quantifying the Chain Folding in Polymer Single Crystals by Single Molecule Force Spectroscopy. *ACS Macro. Lett.*, **2019**, *8*, 1194-1199.
- [21] Schmidt-Rohr, K.; Spiess, W. H. Multidimensional Solid-State NMR and Polymers. Academic Press: London, **1994**.
- [22] Hong, Y., Miyoshi, T. Chain-Folding Structure of a Semicrystalline Polymer in Bulk Crystals Determined by ^{13}C - ^{13}C Double Quantum NMR. *ACS Macro. Lett.* **2013**, *2*, 501-505.
- [23] Hong, Y.-l.; Chen, W.; Yuan, S.; Kang J.; Miyoshi T. Chain Trajectory of Semicrystalline Polymers As Revealed by Solid-State NMR Spectroscopy (Invited Article: Viewpoint, ACS Editors Choice). *ACS Macro Lett.* **2016**, *5*, 355-358.
- [24] Hohwy, M.; Jakobsen, H. J.; Eden, M.; Levitt, M. H.; Nielsen, N. C. Broadband dipolar recoupling in the nuclear magnetic resonance of rotating solids: A compensated C7 pulse sequence. *J. Chem. Phys.*, **1998**, *108*, 2686-2694.
- [25] Hong, Y.-l., Koga, T., Miyoshi, T. Chain Trajectory and Crystallization Mechanism of Semicrystalline Polymer in Melt- and Solution-Grown Crystals as Studied by ^{13}C - ^{13}C Double Quantum NMR. *Macromolecules* **2015**, *48*, 3282-3293.
- [26] Hong, Y.-l., Miyoshi, T. Elucidation of the Chain-Folding Structures of a Semi-crystalline Polymer in Single Crystals by Solid-state NMR Spectroscopy. *ACS Macro Lett.* **2014**, *3*, 556-559.
- [27] Wang, S.; Yuan, S.; Chen, W.; He, Q.; Hong, Y.-L.; Miyoshi, T. Solid-State NMR Study of the Chain Trajectory and Crystallization Mechanism of Poly(L-Lactic Acid) in Dilute Solution. *Macromolecules* **2017**, *50*, 6404-6414.
- [28] Wang, S.; Yuan, S.; Chen, W.; He, Q.; Hong, Y.-L.; Miyoshi, T. Structural Unit of Polymer Crystallization in Dilute Solution. *Macromolecules* **2018**, *51*, 8729-873.
- [29] Yoreo, J. J. D.; Gilbert, P. U. P. A.; Sommerdijk, N. A. J. M.; Penn R. L.; Whitlam, S.; Joester, D.; Zhang, H.; Rimer, J. D.; Naavrotsky, A.; Banfield, J. F.; Wallace, A. F.; Michel, F. M.; Medrum, F. C.; Colfen, H.; Dove, P. M. Crystallization by particle attachment in synthetic, biogenic, and geologic environments. *Science* **2015**, *349*, aaa6760.
- [30] Erdemir, D.; Lee, A. Y.; Myerson, A. S. Nucleation of Crystals from Solution: Classical and Two-Step Models. *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 621-629.
- [31] Kovalchuk, M. V.; Blagov, A. E.; Dyakova, Y. A.; Gruzinov, A. Y.; Marchenkova, M. A.; Peters, G. S.; Pisarevsky, Y. V.; Timofeev, V. I.; Volkov, V. V. Investigation of the Initial Crystallization Stage in Lysozyme Solutions by Small-Angle X-Ray Scattering. *Cryst. Growth Des.* **2016**, *16*, 1792-1797.
- [32] Wang, S.; Yuan, S.; Chen, W.; He, Q.; Hong, Y.-L.; Miyoshi, T. Intramolecular and Intermolecular Packing in Polymer Crystallization. *Macromolecules* **2019**, *52*, 4739-4748.
- [33] Li, Z.; Hong, Y.-l.; Yuan S.; Kang J.; Kamimura A.; Ohtsubo A.; Miyoshi, T. Determination of Chain Folding Structure of Isotactic-Polypropylene Melt-Grown α Crystals by ^{13}C - ^{13}C Double Quantum NMR and Selective Isotopic Labeling. *Macromolecules* **2015**, *48*, 5752-5760.
- [34] Jin, F.; Yuan, S.; Wang, S.; Zheng, Y.; Zhang, Y.; Hong, Y.-L.; Miyoshi, T. Polymer Chains Fold Prior to Crystallization. *ACS Macro. Lett.* **2022**, *11*, 284-288.
- [35] Sasaki, S.; Asakura, T. Helix Distortion and Crystal Structure of the α -Form of Poly (L-Lactide). *Macromolecules* **2003**, *36*, 8385-8390.
- [36] Miyata, T.; Masuko, T. Crystallization behavior of poly (L-lactide). *Polymer* **1998**, *39*, 5515-5521.
- [37] Kifle, N.; Makita, Y.; Zheng, Y.; Kurosu H.; Pan P.; Nakama, Y.; Hayano, S.; Miyoshi, T. Roles of Conformational Flexibility for the Crystallization of Stereo-irregular Polymer. *Macromolecules* **2021**, *54*, 5705-5718.
- [38] Zheng, Y.; Kifle, N.; Nakama, Y.; Hayano, S.; Pan P.; Eagan, J.; Miyoshi, T. Asymmetric Molecular Dynamics and Anisotropic Phase Separation in Co-crystal of Crystalline/Crystalline Polymer Blend. *ACS Macro Lett.* **2022**, *11*, 193-198.



三好 利一 (みよし・としかず)

1992年 北海道大学理学部高分子学科卒業

1994年 北海道大学理学研究科高分子学科修士課程修了

1997年 京都大学大学院理学研究科化学教室博士課程修了

1997 - 1999年 京都大学大学院理学研究科化学教室 日本学術振興会特別研究員

1999 - 2000年 Institute of Polymer Research Dresden 博士研究員

2001 - 2010年 産業技術総合研究所 (AIST) 研究員

2010 - 2018年 The University of Akron, Department of Polymer Science, Associate Professor

2018年 - The University of Akron, Department of Polymer Science, Professor

2020年 - The University of Akron, School of Polymer Science and Polymer Engineering, Assistant Director, Professor

現在に至る

NMRプローブの基礎

株式会社JEOL RESONANCE

根本 貴宏

tnemoto@jeol.co.jp

1. 序

本稿を目にされる方々の殆どは“NMRプローブ”と聞けば外見がどんなものを想像できると思いますが、その中身に関しては目にしたことが無い方々が殆どだと思います。皆様が使用・管理するNMRプローブは千差万別であり、汎用的な溶液用・固体用プローブといったものから、特殊な実験に合わせカスタマイズされたものまで、幅広く存在します。本稿では各種プローブの特徴に拘らず、機械的・電氣的な側面から、一般論として“NMRプローブ”を紹介します。

2. プローブの構造

どのプローブにも大きく別けて3つの構成要素(筐体、電気回路、サンプルコイル)が存在します。ここでは各構成要素の特徴を紹介します。

1) 筐体

筐体は円筒形状であり、そのサイズはマグネットとシムコイルから大きな制限を受けて決まります。直径はナローボアマグネットであれば4cm程度、長さはマグネットの大きさによって異なります。この非常に長細い筒に電気回路、サンプルコイル、測定に応じた必要な機能などを“詰め込む”ことになります。プローブに使用される材料

は、基本的に非磁性であることは皆さんがご存じだと思います。主な材料としては銅、リン青銅、アルミなどの金属から、テフロン、Kel-Fなどの樹脂まで様々な材料を、コスト、加工のしやすさ、磁性、剛性、耐熱性、電気性能という観点から選別し使用します。

皆様が実施されるNMR測定の内容によってはバックグラウンド信号が気になる時があると思います。特にプローブには樹脂が多く使われ、皆様が観測したいNMR信号と“被る”場合が多くあります。 ^{13}C 、 ^1H 、 ^{19}F 核は様々な樹脂に含まれているため、なるべくサンプルコイル周辺にはこのような樹脂を使わないのが理想ですが、多様な機能を持たせるためには使わざるを得ません。こういったところがプローブ設計者を常に悩ませています。

2) 電気回路

皆様がプローブの電気回路と言われ想像するのは、最も基本的なものでは、抵抗、コイル、コンデンサの3つの回路素子を思い浮かべると思います。しかし実際にプローブを開けてみると、目に見える抵抗素子はありません。コンデンサー、コイルは目に見えて解るものが回路上に存在しますが、プローブには見えない素子が存在します(図1)。例えば、金属同士が近いとそこに電

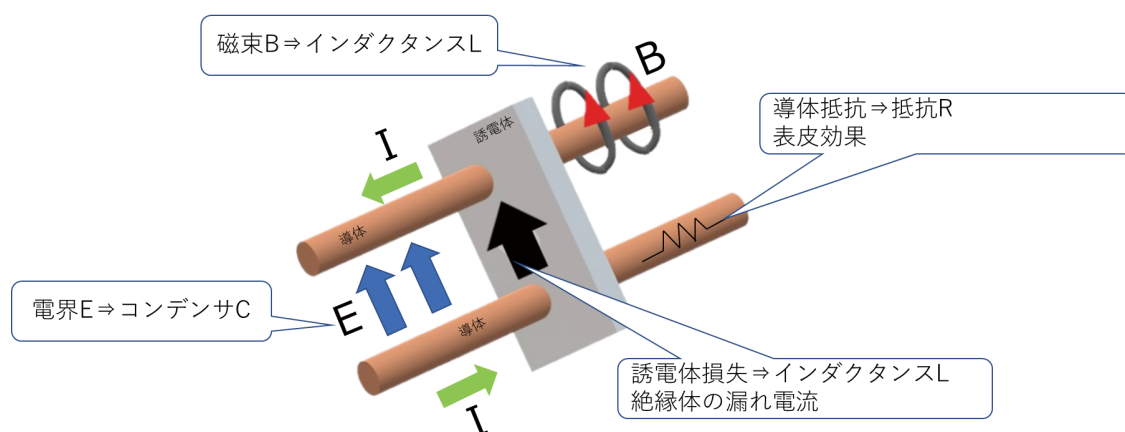


図1 見えない素子の例 プローブには様々な見えない素子が存在する

界が発生し、目に見えないコンデンサー素子になり、また導体を電流が流れるだけで磁束が発生しコイル素子と同じような性質を持ちます。高周波特有の表皮効果というものも抵抗の一種として作用します。こういった目に見えない空間的な素子がプローブの調整を困難にさせる原因となります。

3) サンプルコイル

サンプルコイルには様々な形状があり、ソレノイド、サドルなどその特徴に応じコイルを使い分けます(図2)。例えばソレノイドコイルは強いパルス磁場強度を稼げますが、磁場均一度に関してはサドルコイルに分があります。コイルに発生する電界を小さくすることにより、サンプルが温まるのを防ぐコイルもあります^[1]。

サンプルコイルは、まさにプローブの最前線でありサンプルへの信号の送受信を行うため、マグネットが発生する静磁場が最も均一かつ強くなる場所に置かれます。そのためサンプルコイルには形状以外にも様々な工夫がされており、なかでも重要なのが磁化率補正で、サンプルコイルにより乱される静磁場の歪みを最小にするべく工夫がされています。

3. 電気回路の初歩

1) チューニングとマッチング

NMR測定を始める前によく皆様が前準備として行うのがチューニングではないでしょうか？装置にサンプルをセットし、測定開始ボタンをセットすると自動で調整されます。この時実際は、チューニングとマッチングの両方が調整されています。これはプローブ内にある“可変コンデンサー”と呼ばれる素子を調整しています。まずは簡単にチューニングの説明をします。話を簡単にするために、プローブの電気回路を図3とします。

この回路の共振周波数 f は以下の式で表されます。

$$f = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}} [\text{Hz}]$$

回路の共振周波数と静磁場に応じた核磁気共鳴周波数が一致したときが“チューニングが取れた”状態になります。共鳴周波数と回路の共振周波数が一致するようにコンデンサーの容量 C を調整することをチューニングと呼びます(サンプルコイルのインダクタンスは固定とする)。では、可変コンデンサーの容量はどのような仕組みで変

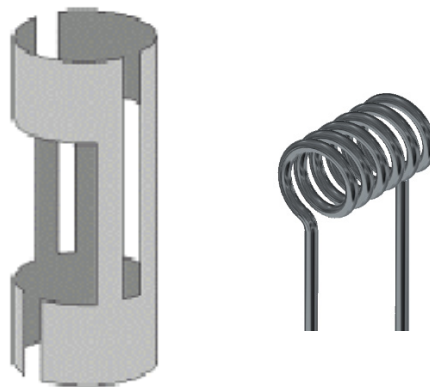


図2 コイル形状の例 左:サドルコイル 右:ソレノイドコイル

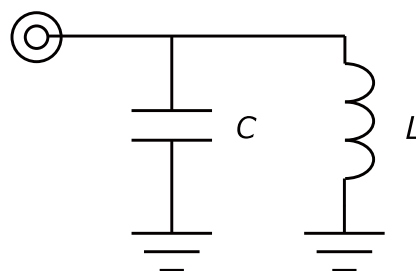


図3 初歩的なプローブの回路図 (L はコイルのインダクタンス、 C はコンデンサーの容量)

化するのでしょうか？コンデンサーの容量 C は以下の式で表されます。

$$C = \epsilon_r \epsilon_0 \frac{S}{d} [F]$$

ϵ_r は比誘電率と呼ばれ、コンデンサーを形成する極板間に挟まる物質で決まります。この数値が大きいほど同じサイズのコンデンサーでも容量が稼げます。空気では約1ですがテフロンが約4ですので、テフロンを使ったコンデンサーの方が容量を4倍稼ぐことができます。 S は向かい合う極板の面積、 d は極板間の距離となります。

可変コンデンサーは1) 筐体で述べた要件を満たしかつ、必要な共振周波数が得られるよう、慎重に選別されます。通常は極板間の距離を変化させるよりも、向かい合う極板の面積を変化させる可変コンデンサーが一般的で、市販されているものもあれば、自作する場合があります。また静電容量を少ないスペースで稼ぐため誘電体にテフロンなどを使用しています。

次にマッチングに関して説明します。マッチングとはその通りで、あるものとあるものを適合させることを言います。ここでは“プローブ”と“分光計”をマッチングさせます。では何をマッチングさせるのでしょうか？

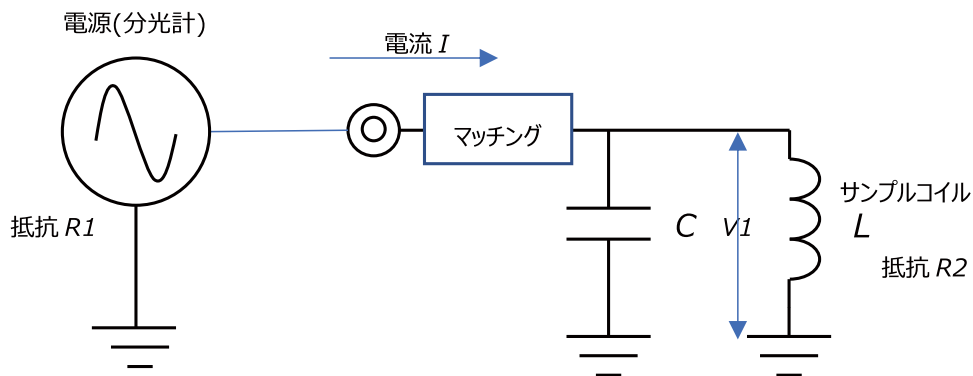


図4 初歩的なプローブ回路と電源を接続したイメージ図 マッチング回路を挟むことによりサンプルコイルで消費するエネルギーを最大にできる。

高周波回路においては、その周波数に応じて変化するインピーダンスというのがあり、直流抵抗のように振舞います。ここでは簡単にするためインピーダンスと抵抗を等価として扱います。

分光計の持つ抵抗を ($R1$) とし、プローブが持つ抵抗を ($R2$)、サンプルコイルで消費される電力を (P)、流れる電流を (I) とすると

$$P = I^2 \times R2$$

$$I = V1 / (R1 + R2)$$

$$P = V1^2 R2 / (R1 + R2)^2$$

コイルで消費される電力 (P) が最大になる条件は $R1 = R2$ なので、分光計の持つ抵抗とプローブの抵抗を合わせることで、負荷（ここではサンプルコイル）で消費されるエネルギーを最大にすることができます（図4）。これをインピーダンスマッチングと言います。

インピーダンスマッチングさせる方法は様々ありますが、プローブではコイルとコンデンサーを用いインピーダンスマッチングを行います。これもチューニング同様に可変コンデンサーを用い周波数に応じて調整を行うのが一般的です。

2) 表皮効果

見えない抵抗素子の一例として表皮効果という高周波特有の現象があります。表皮効果とは、交流電流が導体を流れる時に、その導体断面を見た場合、電流密度が表面（外側）ほど高く、離れる（内側）ほど低くなる現象です。皆さんがなじみのある交流は数十 Hz なので、電流はほぼ導体全体を流れますが、NMRにおいては数百 MHz の交流ですので、その殆どが導体表面を流れることになります。そのためプローブ内部の電流が流れるパーツには、金メッキなどを施すことがありま

す。直流では金属間の接点という役割が大きいです。直流では酸化膜の形成を防ぎ、常に綺麗な表面状態で電気を通す目的があります。

3) 放電

NMR プローブの中で特に多いトラブルとして挙げられる“放電”ですが、実際の現象は見る事ができず、スペクトルが異常であることで気が付くことがあると思います。放電の主な原因としては、プローブへの電力の入れ過ぎが一番多いですが、例えば極低温プローブの真空悪化、プローブへ供給させる圧縮空気中の汚れ、保管中の金属酸化など様々な理由で発生します。一度発生した放電は、プローブへの入力電力を下げることで一時的に回避できますが、殆どの場合プローブに大きなダメージを与え、再び電力を入れることができません（図5）。放電現象には様々なものがありますが、ここではコロナ放電に関し

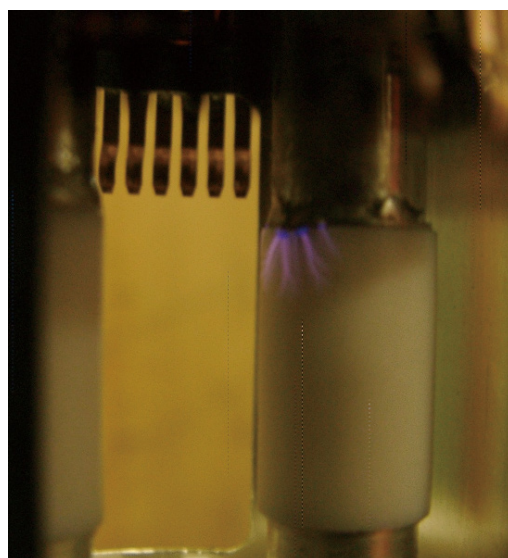


図5 プローブ内での放電の様子。紫色に光る部分が放電箇所

て説明します。

電気回路中に非常に尖った個所があると、そこには集中的に電界が発生します。その電界が発生する箇所に空気があると、この空気が電界によって電離し、そこに大きな電位差が生じると電気が流れ放電を起こします。

実際のプローブでの放電防止対策は、電位差が大きな個所の距離を離すのが定石です。しかし筐体に制限があるため中々これができません。次に電界が集中する箇所を無くします。要するに角をとり部品の端を丸くさせ電界の集中を防ぎます。次に空気に触れさせないような工夫をし電離を防止します。

4. プローブの特性評価

前述ではプローブの基本的な構成要素（筐体、電気回路、サンプルコイル）に関して説明しましたが、その中でも電気回路を調整時に最も重要な測定器であるネットワークアナライザーに関して説明します。

ネットワークアナライザーは、プローブの電気回路調整に使う計測器です（図6）。これを使えば測定対象のプローブがどんな回路特性を持っているのかが解ります。以前は非常に高価な物でしたが、最近ではPCを使った非常にコンパクトかつ安価なものが市販されています。値段は測定できる周波数（数十MHz～数十GHz）とチャンネル数によって決まります。NMRプローブを測定するには多くて3チャンネル、測定可能周波数は1GHz程度あれば調整が可能です。

プローブを調整する場合、ネットワークアナライザーからプローブに周波数掃引しながら、プローブからの信号の応答を測定します（掃引する範囲は設定で変更可能）。例えば600MHzに回路

が共振しているかを見たい場合、ネットワークアナライザーから600MHz周辺の周波数を掃引し印加します。プローブが600MHzに共振している場合、その周波数の反射量が最小になっていれば共振が取れていることになります。

皆様が使用している分光計にもこの機能を簡易的にしたものが搭載されているものもあり、皆様を手動でチューニングを取る際に使用していると思います。自動チューニングも同様で、設定された周波数に対し、反射量を電氣的にモニターしながら、チューニングを行います。もしチューニングが取れてなければ、最悪の場合、入力した電力の全てがプローブから反射し分光計に戻り、最悪の場合には分光計を破損します。また、2チャンネルあるプローブには、片方に信号を加え、もう片方のチャンネルへの通過量を測定することができます。

またネットワークアナライザーを使って測定した物理量から回路の良し悪しを推測することができます。これは回路の共振の鋭さを示す指標 Q （回路 Q ）であり共振時の抵抗値とも言うべきものです。 Q の定義は厳密には異なりますが、近似的には共振周波数 f_0 を吸収曲線の半値幅 Δf で割った量として測定可能です（図6）。

Q は、その回路において吸収される電力の強さを示すため、 Q が高いほど、より強度の高いラジオ波の照射ができ、感度のよさを示す指標として利用されます。要するに Q 値が高い回路＝感度の良いプローブとなります。

このように皆様が所有するプローブはネットワークアナライザーによって、各プローブの回路特性が最適化されています。

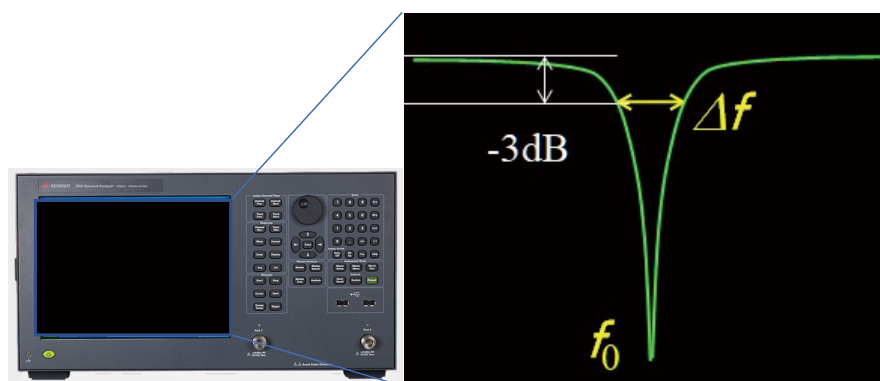


図6 ネットワークアナライザーでの Q 値測定の例。図では便宜的に f_0 と Δf を表示しているが、通常のネットワークアナライザーであれば自動で計測可能

5. おわりに

本稿では、NMRプローブが持つ初歩的な機械的・電氣的な性質についてお話させて頂きましたが、普段皆様が、NMR測定をする時に少しでもプローブのことを思うきっかけになれば幸いです。

古臭い技術と最新の技術が融合したプローブですが、皆様の研究の縁の下の力持ちになれるよう、今後の発展に期待します。

参 照

- [1] Stringer, J.A., Bronnimann C.E., Mullen, C.G., Zhou, D.H., Stellfox, S. A., YingLi, Williams, E. H., and Rienstra, C. M. (2005)., Reduction of RF-induced sample heating with a scroll coil resonator structure for solid-state NMR probes. *J Magn Reson* **173** (1): 40-8.



根本 貴宏 (ねもと・たかひろ)

1999年 学習院大学理学部物理学科 卒業

2002年 学習院大学自然科学研究科物理学専攻前期博士課程 修了

2002年 日本電子株式会社入社

2011年 株式会社JEOL REONANCE転籍 現在に至る

ISMAR-APNMR 2021開催概要報告

大阪大学蛋白質研究所

藤原 敏道

tjfwr@protein.osaka-u.ac.jp

2021年8月22～27日の期間に、ISMAR-APNMR-NMRSJ-SEST 2021を大阪でのオンライン会議として開催した。正確には22nd International Society of Magnetic Resonance (ISMAR)、9th Asia Pacific NMR Symposium (APNMR)、第60回NMR討論会 (NMRSJ)、第60回電子スピンスサイエンス学会年会 (SEST) の4つの会議を合同で開催したものであり、それぞれの代表者は、藤原敏道、内藤晶、片平正人、秋元郁子であった。この中で中心になったのは、磁気共鳴の会議としては世界最大規模のISMARである。ISMARは、ヨーロッパ、アジア・オセアニア、アメリカを巡回して隔年で開催されている。ISMARは第1回が藤原鎮男を委員長として東京で1965年に開催されたので、2021年

の開催は46年を経た日本開催になる。この開催に合わせて、アジア・オセアニアで日本が担当する順番になったAPNMR、これに国内のNMR討論会と電子スピンスサイエンス学会年会を合同して開催した。この学会では、アジアと日本からも参加しやすく、世界の最先端の研究者も含めてその成果を国際的に交流することを意図した。

ISMARの日本開催が決定した2017年には、2021年に国際会議として世界からの参加者を受け入れて、1,000名規模で大阪中之島の国際会議場で開催することを提案していた。しかし、2020年当初からのパンデミックによる感染症対策・旅行制限の下で、開催予定日を変更せずにオンライン会議の形式で開催することになった(図1)。延



図1 ISMAR-APNMR 2021のホームページ。日本NMR学会のサイト (<https://www.nmrj.jp/NMR2021/>) で記録として公開されている。

期しなかったのは、磁気共鳴分野が進展する中で研究交流は定期的に進めるのが重要であり、オンラインでも交流の主な目的を達成できると考えたからである。主催者にとっても初めての国際オンライン会議であり、紆余曲折はあったが最終的な参加登録者は919名、投稿されたアブストラクト総数は646で開催できた。内訳は全体会場の招待講演数15、3つの平行会場の講演数214（うち招待講演は101）、ポスター発表数406、最終日のNMR討論会での日本語発表数11件であった。閉会後の発表録画は2,800回の視聴があった。また、会期中には顕著な研究成果や優れたポスターについての表彰を行った。ノーベル賞学者のR.R. Ernstが2021年6月に逝去したことを受けて、急遽、追悼セッションを設けた。このように、パンデミック以前に想定していた規模の国際会議としてタイムリーに開催して、磁気共鳴に関して交流することができ、財務的にも最終的には黒字となった。閉会後のISMARの理事会でもISMAR-APNMR 2021は成功であったと評価された。

オンライン国際会議としての運営と開催

今回の会議実施形式は、国際会議としては時差の影響を受けるオンラインであった。対面の会議と同様に活発な質疑や交流ができるように、オンデマンドではなくライブで、講演とポスター発表をすることとした。オンライン会議では、発表者は世界各地の現地時間帯で活動しながら、会議に出席すると考えられる。開催地の日本との時差を配慮して、なるべくアメリカの発表者には午後から夜の時間帯になる、日本の早朝7時から15時の

セッションに発表を割り当て、ヨーロッパの発表者には午後に相当する、日本の夜19時から24時のセッションに割り当てた。これにより、発表者は各現地時間の真夜中に発表することはないようにした。また、懇親会がなく、対面での交流ができないことを補うために、発表のセッションの後には、すべてディスカッションタイム、Mixing time時間帯をプログラム上で設けて講演者との交流をオンラインで行えるようにした。

口頭発表では、平行会場はZoomミーティング、全体会場はZoomウェビナーで開催した。ポスターと企業ブースでは少人数でよりリアルな発表・交流ができるRemoを利用し、実際の発表・対面の環境を再現しようとした（図2）。心配した世界各地の発表者の通信や発表環境に由来する大きな問題はなく、オンラインとしては十分な交流ができたと思う。ただ、Remoでは、通信環境に敏感であり接続が途切れて再入室することがあった。このような開催期間中の学会運営では、日本の朝7時から夜の24時までの開催に対応するため主要な運営メンバーや世話係は、ホテルフクラシア大阪ベイに宿泊してその会議室を使った。このホテルは企業の研修会などによく利用される会場で、今回はインターネット通信回線も補強して、学会実施本部やオンライン会議ホストによる運営と支援の場として利用した。

オンライン開催にすることで、仕事や家庭、健康上の事情で時間と旅費を使って現地出席することが困難な人の出席が容易になるなど、利点はあったと思う。また、大きな講演会場の費用が不要になった分、登録費は安くできた。しかし、対

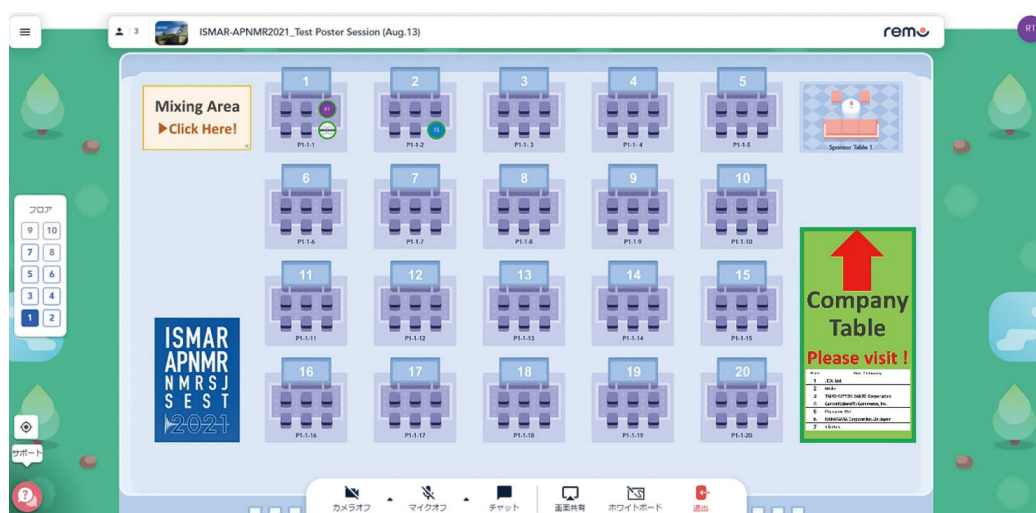


図2 Remoで行ったオンライン・ポスター会場。展示 (Company Table) や参加者の交流サイト (Mixing Area) もある。

面での開催で予想される参加者数に比べて、参加者は特に増えず、また、今後の開催形式についての開催後のアンケートでも、「対面でのISMAR開催を望む」との回答が多数あった。将来、会議の通信環境やアバターを使うなど、システムが整うと大規模な国際会議はオンライン会議に移行するかもしれないが、しばらくは参加者の希望に応じて、ハイブリッド形式も含めて対面の学会開催形式は続くだろう。

合同会議として実施するための調整

学術的会議が成功と評価されるためには、そこで発表される内容のインパクト、先進性、交流のしやすさ、得られる情報の有用性、研究分野の広がりなどが重要だろう。ISMARの会議は世界各地の研究グループ・学会によって順番に運営され、その学術的な強み、研究分野構成、地域性も異なっている。このような毎回異なる運営グループにかかわらず、会議の品質を保つために、ISMARでは会長のR. Tycko、会議担当のS. Grzesiekらの4名からなるExecutive Committeeとその下で作られるScientific Program Committeeが招待講演者、会場について強い決定権を持つ。これは、各回を担当する各地域の運営グループが大きな力を持つNMR討論会やICMRBSとは異なるISMARの特徴である。

今回は、日本を含むアジア太平洋地域に属する他の3つの学会と合同して日本でISMARが開催され、その特徴も生かした国際会議にすることを日本側の実行委員会では望んだ。また、アジアでは溶液生体系NMRの応用研究者が多いという特徴もある。ISMARの科学的な品質と本会議の地域性を考慮するために、プログラム委員会には従来よりも多くの委員をアジア地域から選び、また、Grzesiekらと日本の実行委員会代表らでオンライン会議を何回も持って調整した。この点で、投稿された発表アブストラクト総数の約半数と口頭発表数でも約1/3がアジア太平洋地区からとなり、日本開催でAPNMR、NMRSJ、SESTとの合同会議として開催した意義があったと考える。また分野構成も、溶液NMR、固体NMR、EPR、MRI、超偏極など新領域、の各分野について、前回2019年ベルリン開催と同様の高い品質

のISMARらしい学会になったと考える。

また、会員の方は、NMR討論会2019を武蔵小杉の同一会場でSEST年会と並行して開催したことを覚えているだろう。これは、分野に応じて慣習の違う二つの学会の会員がISMAR-APNMR 2021実施のために、円滑に協力する関係を作るために努力しようとした結果である。

開催へのNMR学会の重要な寄与

日本NMR学会設立の2002年から重要な目的の一つは、ISMARやICMRBSなど大規模な国際会議を日本で開催することに対して、組織的に対応することである。これは、国際的な開催要請に応えることに加えて、国内の磁気共鳴分野振興のためにも寄与すると考えたからである。ISMAR-APNMR 2021では、NMR学会の合意の下で日本開催を目指して、2016年に招致委員会を作り、開催の立候補をした。書類審査の後、ISMAR 2017(カナダ)の理事会でのヒアリング審査の結果、3か国の中から日本の大阪開催が選ばれた。2022年の現在、開催後に受け取る助成金の執行と報告書作成が終わろうとしている。このように国際会議開催の事業は6年程度の長期間、組織的に対応することを要する。

また、NMR学会からの支援は、財務的にも安定で健全な会議運営に不可欠であった。例えば、パンデミックによる予期しなかったスポンサー収入の減少や国際会議場キャンセル料への対応などで役立った。また、NMR学会の評議委員などをはじめNMR学会と会員には、充実した国際会議とするために、開催期間中の会議運営に加えて、国内実行委員会委員への就任、プログラム作成、収入を得るための宣伝や関連団体への働きかけ、会議実施形式の検討などで不可欠な役割を担ってもらった。

現在、ISMAR-APNMR 2021のウェブページと要旨が、日本NMR学会のサイト(図1)で公開されている。そのサイトに掲示されている国内委員リストからも多くのNMR学会会員の方が協力されたことが分かるだろう。最後に、これらの方を含めて学会員と学会には、ISMAR-APNMR 2021を成功裏に開催できたことについて感謝する。

ISMAR-APNMR2021 参加報告

国立研究開発法人理化学研究所 生命機能科学研究センター
先端NMR開発・応用研究チーム

大山 貴子

takako.ohyama@riken.jp

筆者の参加した22nd ISMARは9th APNMR、第60回NMR討論会、第60回電子スピンスサイエンス学会の4つの学会の合同開催であり、大阪での開催が予定されていた。しかし、2020年春頃より世界規模で爆発的に感染の広まったコロナウイルスの感染予防の観点から、会期2021年の8月22～27日の5日間、講演や口頭発表はZOOM、ポスター発表はREMOを用いたオンライン開催となった。4学会合同開催ということで演題の総数は600件以上、磁気共鳴というキーワードのもとに内容は多岐に渡り大変に充実したプログラムであった。また、本会の直前の21年6月にご逝去されたErnst教授の記念セッションが初日に開催された。

時差に配慮して各国での標準時がプログラムに記載されていたことも印象深かった。開催地の日本（アジア）と欧州の時差が6～8時間、米国とは13～17時間と、開催地である日本の時間に合わせつつも、各国の時差にも対応したプログラムを組んだ先生方の苦労は大変なものであったことだろう。各日とも日本時間の朝7時～深夜24時頃まで、溶液NMR、固体NMR、超偏極および新技術、MRI、EPRの5つの大分類がさらにテーマごとに分類され、合計44分野214講演がアサインされた。会期中はパスワードの設定された会場ページにアクセスすると、プログラムとリンクされた3つのZOOMセッションが閲覧可能で、それぞれを自由に出入りできた。筆者の個人的な印象としては、タンパク質のdynamics、複合体や分子間のinteractionの研究が一層増えてきたように感じた。また、ウイルスのセッションではSARS-CoV-2由来のタンパク質に関する発表も複数あり、興味深かった。筆者は「Secondary structure determination of functional long non-coding RNA SINEUP」の題でポスター発表を行った。167塩基（～55kDa）の構造未知の機能性RNAの2次構造をNMRにて決定し、活性部位を同定した。こ

れまで、核酸の構造をNMRにて解析する研究の数はタンパク質を対象とした研究に比べあまり多くなかったが、本会では以前よりも少し多くなったように感じた。ここ数年はエピジェネティクス解析やmRNA医薬（たとえば、コロナウイルスワクチン）が脚光を浴びつつある。今後はRNAのNMRもタンパク質のNMRと同様に活発な研究が行われてほしいと思う。最終日である27日は、ISMARとAPNMRの閉会後に、NMR討論会と電子スピンスサイエンス学会の講演がそれぞれ行われた。このNMR討論会セッションでは、筆者の恩師である山本泰彦先生のhonorary lectureもあった。筆者が学生の頃に取り組んでいたDNAとヘム等のポルフィリン錯体との複合体の研究が山本先生の御指導のもと後輩たちに引き継がれ、その成果を知ることができて大変に感慨深かった。

本会はこれまでにないオンライン開催ということで、現地開催と比べ、友人や知人を介した思いがけない人や研究との出会いは少し難しく、Remoの休憩室やmixing timeでもやはりすでに交流のある方と話すことがほとんどであった。この点は現地開催で顔を合わせてのコミュニケーションの方が良いと感じた。一方、オンライン開催は参加のしやすさという点では現地開催よりも良いと感じた。移動の交通手段や現地での宿泊地等の手配が必要なく、実際に現地に移動する時間も必要ない。本会だけでなく、これまで費用や時間の問題であきらめていた海外で開催されるシンポジウムやワークショップ等にも時差さえ気を付ければ参加できたので、オンライン開催は先端の研究発表を聴けるチャンスが増えるという点ではかなり利点があるといえる。コロナ禍という非常事態をうけてのオンライン開催であったが、参加者としても貴重な体験となった。開催にご尽力された諸先生方・スタッフの皆様、素晴らしい会をありがとうございました。

NMR

*Bulletin of the Nuclear Magnetic
Resonance Society of Japan*

Vol.12 No.1

2022 年 8 月 31 日発行

発 行：日本核磁気共鳴学会

編 集：NMR 学会機関誌編集室 株式会社クバプロ
〒 102-0072 東京都千代田区飯田橋 3-11-15-6F
TEL：03-3238-1689 FAX：03-3238-1837