ISSN 1880-0483

# **SCIENCE JOURNAL KANAGAWA UNIVERSITY** 神奈川大学理学誌

神奈川大学総合理学研究所 Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University

# Science Journal of Kanagawa University

Vol. 21

目 次

# 原著

Reaction Rate Constant as Indicator of Antioxidative Activity of Substances against Hydroxyl Radicals Produced by Fenton's System Chikara Amano, Kazuya Shinmura, Yasuno Nakajima	1
ハイパーリンクを用いた情報提供用電子文書の検索時間に影響を及ぼすいくつかの要因に関する実験的 検討	
田中健史、川口 修、桑原恒夫	• 7
日本の SNS 利用者の書き込み記事に対する主観的信頼度の調査 石渡 僚、桑原恒夫	13
光速変化モデルにおける宇宙生成の確率と真空のエネルギー 横山 愛、長澤倫康	17
湘南ひらつかキャンパス (SHC) 天文台可視光観測システムの立ち上げおよび太陽系外惑星 HD189733b のトランジット観測	
本田充彦、長澤倫康、粕谷伸太	23
高温イオン注入により形成した Fe ナノ粒子を種とした新しいカーボンナノチューブ成長法の研究 星野 靖、有馬広記、斎藤保直、中田穣治	31
高周波分光法による PEG-H <sub>2</sub> O 混合系中の束縛水の定量分析 杉谷嘉則、武井尊也	37
ポリ酸塩の欠損部位を新しい化学反応空間とした新規のクラスターカチオンサンドイッチ型化合物の 設計と合成	
野宮健司、力石紀子、松永 諭、坂井善隆、長谷川 剛、木村卓央	43
光学活性な置換基を有するベンゾチアゾリンより生成した白金(Ⅱ)錯体 川本達也、鈴木成美、會澤宣一、長澤五十六	47
ムラサキイガイ前足糸牽引筋の筋小胞体内 Ca 結合蛋白質に関する免疫電子顕微鏡的研究 渡辺真奈美、鈴木季直	51
発生に伴うオカダンゴムシ造雄腺ホルモン (AGH) の発現動態の解析 泉 進、齊藤 裕、長澤寛道、長谷川由利子、大平 剛	57
アメリカカブトエビの摂食と遊泳に関わる機能形態 平林丈嗣、金沢謙一	61

相模川河口域の海況と植物プランクトンの分布 児玉壮史、鈴木祥弘	65
透過型電子顕微鏡と原子間力顕微鏡を用いた花粉母細胞における減数分裂期染色体の形態変化に関す る研究 安積良隆、日下部千鶴、綾部仁美、北村 巧、大塚一郎	71
研究交流	
第五回神奈川大学—国立台湾大学学術交流の記 木原伸浩·····	77
2009 年度神奈川大学総合理学研究所事業報告	89
Science Journal of Kanagawa University 投稿規定	93
Auther Index	97
編集後記	98

Full-Length Paper

## Reaction Rate Constant as Indicator of Antioxidative Activity of Substances against Hydroxyl Radicals Produced by Fenton's System

## Chikara Amano<sup>1,2</sup>, Kazuya Shinmura<sup>1</sup> and Yasuno Nakajima<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

<sup>2</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: amano@kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** The activity of substances as antioxidants against hydroxyl radicals was studied by electron spin resonance spin-trapping experiments. An exact expression was derived from first principles to represent the antioxidative activity using the reaction rate constant. An approximation to the expression leads to a well-known expression for competitive reactions. By use of these expressions, some rate constants were determined for reactions of common organic substances with hydroxyl radicals. Two expressions revealed that the IC<sub>50</sub> index, an indicator of antioxidative activity, depended on the concentrations of both the antioxidant and a spin-trapping reagent.

*Keywords:* rate constant, antioxidative activity, hydroxyl radicals, ESR spin-trapping, Fenton's system

## Introduction

About two decades ago, the hazardous effects of excess amounts of active oxygen species (singlet molecular oxygen, superoxide, hydrogen peroxide, hydroxyl radical) in the human body were first observed. For example, Totter reported that cancer may be caused through the denaturation of DNA by superoxide ions or hydroxyl radicals that are not inactivated in tissues<sup>1)</sup>. Martin *et* al. and Boyce et al. found that lung damage was caused by hydroxyl radicals<sup>2,3)</sup>. They also found that desferrioxamine or dimethylthiourea could prevent such damage. At about the same time, it was discovered that some chemical reagents were able to eliminate active oxygen species: metallothionein eliminates superoxide ions and hydroxyl radicals<sup>4</sup>; and ascorbic acid is highly effective at eliminating them<sup>5)</sup>. At present, research is being carried out to find active substances that can eliminate hydroxyl radicals efficiently and also to examine the mechanisms involved in their eliminative effects<sup>6-11)</sup>. Such substances are sometimes called antioxidants.

Direct electron spin resonance (ESR) observation of hydroxyl radicals is considered difficult due to their unique electronic structure. Indirect ESR observation became possible, however, by the discovery of spin-trapping reagents<sup>12,13)</sup>. Harbour and Bolton employed 5,5-dimethyl-1-pyrroline 1-10xide (DMPO) in spin-trapping experiments and observed hydroxyl radicals produced by the decomposition of hydrogen peroxide with UV light indirectly as DMPO-OH<sup>14)</sup>. They also observed the ESR spectrum of DMPO-OOH produced from OOH radicals. By use of the same spintrapping reagent, Buettner and Oberley studied superoxide ions and hydroxyl radicals produced via an enzyme reaction, and hydroxyl radicals produced in Fenton's system<sup>15)</sup>.

These spin-trapping experiments indicated that the activity of a chemical reagent as an antioxidant was related to the reaction rate constant. Marriott *et al.* determined the rate constant for the formation of DMPO-OH through competitive reactions using the reaction of methanol with hydroxyl radicals<sup>16)</sup>. Finkelstein et al. also determined the rate constant of the same reaction using the reaction of ethanol with hydroxyl radicals as a reference<sup>17)</sup>. However, the expressions employed by these authors involved reaction rates, which are functions of time and difficult to determine experimentally. In photo-chemistry and radiation chemistry, an expression was employed for the same purpose to determine the rate constant through competitive reactions<sup>18-20</sup>. This expression appears in several reports, for example, that of Bors<sup>19</sup>. Since its derivation is not given in those reports, however, its reliability and applicability are rather unclear.

For some years we have been studying the antioxidative activity of substance against hydroxyl radicals by spin-trapping ESR, in the hope of being able to represent antioxidative activity quantitatively using the rate constant. We approached this from first principles and obtained an exact expression to determine the rate constant by means of two competitive reactions. An approximation of the expression leads to the well-known expression in Bors' report. The objectives of our study were to: (1) determine feasibility of representing the antioxidative activity of a substance using the rate constant; (2) elucidate the relationship between antioxidative activity and molecular structure, for example, the existence of specific functional groups; (3) derive an additive rule for antioxidative activity, namely, the representation of the rate constant of a molecule by the sum of the reaction rates of its functional groups; and (4) identify superior antioxidants or ways in which to design them. In this paper, we present our findings pertaining to the (1) above.

## Materials and Methods Theory

We used an improved Fenton's system to generate hydroxyl radicals <sup>21-23)</sup>, namely, a reductive decomposition of hydrogen peroxide with a diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) chelate complex of ferrous ions Fe(II)DTPA) being used in place of the original ferrous aquaion:

 $H_2O_2 + Fe(II)DTPA) \rightarrow OH \cdot + OH^- + Fe(III)DTPA)^+ (1)$ 

Since the direct ESR observation of hydroxyl

radicals is difficult, adduct radicals with a spintrapping reagent, for example, DMPO, were observed indirectly. When an antioxidative substance (SODL) was added to the system, it reacted with hydroxyl radicals competing with DMPO, decreasing the signal intensity of the adduct. The amount of decrease indicates the strength of the antioxidative activity; SODLs with high antioxidative activity caused a much greater decrease in intensity even at low concentrations.

We analyzed this measure of antioxidative activity, that is, representing it using the reaction rate constant. The experiments were carried out in two steps:

(1) The first step was carried out without SODL (control experiment) and involved the reaction of hydroxyl radicals with DMPO. It can be expressed by the following two-body reaction:

$$OH + DMPO \rightarrow DMPO - OH$$
; rate constant  $k_1$  (2)

Here, DMPO-OH represents the adduct radical of OH with DMPO, giving a quartet spectrum with an intensity ratio of 1:2:2:1. The reaction formula (2) leads to the rate equation:

$$\frac{d[\text{DMPO} - \text{OH}]}{dt} = k_1[\text{OH}][\text{DMPO}] \quad (3)$$

It is clear that DMPO-OH) after the completion of the reaction is equal to OH) produced, unless other substances that react with hydroxyl radicals are present in the system. This can be proved if satisfactory assumptions are made concerning the reaction. One assumption is that the production rate of OH is fast. In that case, assuming that the initial concentrations are such that  $OH_{0} = a \mod l a \mod DMPO_{0} = b \mod l l$ , and that the concentration at a later time *t* is DMPO-OH) =  $x(t) \mod l l$ , rate equation (3) leads to:

$$\frac{dx}{dt} = k_1(a - x)(b - x) (4)$$

This differential equation can be solved exactly giving the analytical solution x(t). When the reaction is completed, it holds that  $x(\infty) = a$  for  $a \le b$ , or  $x(\infty) = b$  for  $b \le a$ . In order to measure

the total concentration of OH generated, the condition  $a \le b$  is required.

(2) The second step was carried out with SODL. In this step, SODL reacted with hydroxyl radicals competitively with DMPO:

$$OH + DMPO \rightarrow DMPO-OH$$
;  
rate constant of  $k_1$  (5a)  
 $OH + SODL \rightarrow SODL/OH$ ;  
rate constant of  $k_2$  (5b)

In the reaction of hydroxyl radicals with SODL, several different end products are possible. All these are shown collectively as SODL/OH. The competitive reactions (5a) and (5b) may lead to the rate equations:

$$\frac{d \left[ \text{DMPO} - \text{OH} \right]}{dt} = k_1 \left[ \text{OH} \right] \left[ \text{DMPO} \right] (6a)$$
$$\frac{d \left[ \text{SODL} - \text{OH} \right]}{dt} = k_2 \left[ \text{OH} \right] \left[ \text{SODL} \right] (6b)$$

Assuming the initial concentrations of DMPO and SODL are such that  $DMPO_0 = b \mod/l$ ,  $SODL_0 = c \mod/l$ , and the concentrations of OH, DMPO-OH, and SODL/OH at a time *t* are such that OH)  $= a(t) \mod/l$ , DMPO-OH)  $= x(t) \mod/l$ , and SODL/OH)  $= y(t) \mod/l$ , the rate equations (6a) and (6b) lead to:

$$\frac{d x}{d t} = k_1 a (b - x) (7a)$$
$$\frac{d y}{d t} = k_2 a (c - y) (7b)$$

Taking the ratio of (7a) to (7b), and integrating it with respect to dy, we obtain the following expression without approximation:

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{\ln(1 - \frac{y}{c})}{\ln(1 - \frac{x}{b})} (8)$$

It can be shown that this expression holds true even when substances that react with hydroxyl radicals other than DMPO and SODL are included in the system. While expression (8) always holds true, the concentrations at the end of the reactions,  $x(\infty)$  and  $y(\infty)$ , were measured in standard experiments. If  $y(\infty)$  could be measured directly, then the first step control experiment may be unnecessary. Since it is difficult to measure  $y(\infty)$ directly, it is evaluated by using the relationship  $y(\infty) = a(\infty) - x(\infty)$ , where  $a(\infty)$  represents the total concentration of OH generated. This is equal to DMPO-OH) $_{\infty}$  in the control experiment. Then, we have

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{\ln(1 - \frac{y(\infty)}{c})}{\ln(1 - \frac{x(\infty)}{b})} = \frac{\ln(1 - \frac{a(\infty) - x(\infty)}{c})}{\ln(1 - \frac{x(\infty)}{b})}$$
(9)

Since in standard experiments the initial concentrations of SODL and DMPO are set to much higher values than those of DMPO-OH or SODL/OH, the inequalities  $y(\infty)/c \ll 1$  and  $x(\infty)/b \ll 1$  hold true. Then expression (9) can be approximated by:

$$\frac{k_2}{k_1} \cong \frac{b\left\{a\left(\infty\right) - x\left(\infty\right)\right\}}{c x\left(\infty\right)} = \frac{b\left(1 - f\right)}{c f}$$
(10)

Here f, defined by  $x(\infty)/a(\infty)$ , is the depletion ratio of DMPO-OH) due to the addition of SODL. Expressions (9) and (10) may be interpreted as representing the antioxidative activity by the relative rate constant; high activity results in small f at low c, giving a large value of the relative rate constant. In order to obtain the rate constant  $k_2$  through the expressions, the value of  $k_1$  is necessary as a standard.

Although the derivation of expression (8) is probably not novel, we were unable to find it in the existing literature. An approximate expression (10), on the other hand, can be easily found in reference 19, usually derived by using the steady-state approximation.

#### **Experimental procedure**

Hydroxyl radicals were generated using an improved Fenton's system, which is the decomposition of hydrogen peroxide by Fe(II)DTPA)<sup>21-23)</sup>. DMPO was used as a spin-trapping reagent (purchased from Labotec, Aldrich, and Sigma Co.). The experimental procedures previously described in reference 23

were used: (1) In the control experiment, 0.1 mM of an aqueous solution of iron(II) sulfate heptahydrate  $(50 \,\mu \,l)$  was mixed with 0.1 mM aqueous DTPA (50  $\mu$  l) to produce an aqueous solution of Fe(II)(DTPA)). Then 50  $\mu$  l pure water, to adjust concentration, and 50  $\mu\,l$  of an aqueous solution of DMPO were added. The pH of the solution was adjusted to 6.4 using hydrochloric acid or aqueous sodium hydroxide. Finally, 1 mM of an aqueous solution of hydrogen peroxide  $(50 \,\mu \,l)$  was added. (2) In the measurement with SODL, almost the same procedure as that used in the control experiment was employed, except for the use of a  $50 \,\mu$  l aqueous solution of SODL instead of pure water. As SODL, the common organic compounds summarized in Table 1 were used. ESR measurements were started two minutes after mixing. A thin rectangular-type sample cell for an aqueous solution was employed (60 mm  $\times$  10 mm  $\times$  2 mm, 150  $\mu$  l in volume). In order to confirm the validity of the analysis described in the previous section, the dependence of the rate constant on the concentration of SODL was examined. The concentration range examined depended on the type of SODL, as is summarized in Table 1. The concentration of DMPO-OH in the control experiments  $a(\infty)$  was determined using the aqueous solution of 4-hydroxy-TEMPO (0.01 mM) as a reference to confirm the applicability of the approximate expression (10).

In order to evaluate  $k_2$  by expression (10) or (9), a  $k_1$  value of  $5.8 \times 10^9 M^1 s^{\cdot 1}$  was employed. This was determined so as to make the  $k_2$  value of methanol equal to the recommended one of  $0.97 \times 10^9 M^1 s^{\cdot 1}$  previously reported.<sup>17)</sup>  $k_1$ values of  $3.6 \times 10^9 M^1 s^{\cdot 1}$  and  $4.3 \times 10^9 M^1 s^{\cdot 1}$ were also previously reported in references 24 and 25.

## **Results and Discussion**

DMPO purchased from the three manufacturers produced almost the same results. The concentration of OH in the control experiment  $a(\infty)$  was determined to be 0.018 mM. This value confirmed that two inequalities  $y(\infty)/c \ll 1$  and  $x(\infty)/b \ll 1$  hold true and that the approximate expression (10) can be used for nearly all substances except citric acid, methylamine, and ethylamine. For the latter substances in especially low concentrations, the exact expression (9) was employed in the evaluation of the rate constant.

The rate constants obtained in our experiments are summarized in Table 1 along with those reported in the literature. Almost all of the latter values were taken from previously reported rate constant data<sup>20)</sup>, compiled up to 1986. They were obtained mainly by pulse radiolysis experiments, and none of them used ESR experiments. A few reference data obtained after 1986 have since been added<sup>26)</sup>. The reported values for each substance are shown as a range, since several different values due to the difference in pH or other experimental conditions are published. Our measured rate constant values of many substances fell roughly within the reported ranges. The value for formamide is new. It was reported that the rate constants for acids and bases are dependent on pH: formic acid and acetic acid have greater values at high pH, which suggests that the anions have greater values than the neutral molecules. In the present study we did not carry out pH control nor measure pH dependence to eliminate the possible interference of buffer substances.

#### Antioxidative activity

In this study, we define and characterize effective antioxidants. Considering that rate constants for common substances, for example alcohols, are in the order of  $10^9 M^1 s^{-1}$ , we may define effective antioxidants as substances with a rate constant of more than  $10^{10} M^{\cdot 1} s^{\cdot 1}$ . By this definition, none of the substances in Table 1 is an effective antioxidant. Recently, a rate constant value of in  $4.62 imes 10^{11} M^1 s^{\cdot 1}$  has been reported for a substance the catechin group<sup>27)</sup>. A rate constant on the order of  $10^{11} M^{1} s^{1}$  seems unusual. By comparing the antioxidative activity among substances with the same functional group, it may be observed that a substance with more hydrogen atoms has higher activity. This observation suggests a mechanism in which hydrogen abstraction is one of the main reactions of antioxidants with hydroxyl radicals. By accumulating more rate constant data, we hope to determine an additive rule for antioxidative activity.

Substance	Concentration /mM	k (this work) /10 <sup>9</sup> $M^{1} s^{1}$	$k$ (reference)/10 <sup>9</sup> $M^1 s^{\cdot 1}$
methanol	35-570	0.97	0.78-1.0 (pH 6-10.7) [20]
ethanol	35-570	1.9	1.7-2.2 (pH 6-11) [20]; 2.1 [26]
formaldehyde	35-570	0.65	1.0 (pH 1) [20]
acetone	35-570	0.18	0.083-0.14 (pH 6-7) [20]; 0.21 [26]
methyl ethyl ketone	18-290	1.9	0.90 (pH 6-7) [20]
formic acid	35-570	5.1	0.13-4.1 (pH 1-11) [20]
acetic acid	14-910	0.10	0.0092-0.85 (pH 1-10.7) [20]
methyl acetate	140-480	0.13	0.12 (pH 6-7) [20]
ethyl acetate	21-710	0.64	0.40 (pH 6-7) [20]
formamide	35-570	0.22	_
acetamide	8.9-570	0.51	0.19 (pH 5.5) [20]

Table 1. Rate constants for the reactions of organic substances or reducing agents with hydroxyl radicals

#### Rate constant and IC<sub>50</sub>

IC<sub>50</sub> has been employed as an index of antioxidative activity, especially when the concentration of an antioxidant is unknown<sup>28, 29)</sup>. It is defined as the concentration of antioxidant required to reduce the amount of an active oxygen species by half. Although it is useful for the comparison of activities of antioxidants at a constant concentration of an active oxygen species, it is unsuitable for the comparison of activities at different concentrations of an active oxygen species.

This shortcoming can be seen by analyzing  $IC_{50}$  first by using the approximate expression (10). Applying the definition of  $IC_{50}$  to the expression (10), we have:

$$IC_{50} = \frac{bk_1}{k_2} (11)$$

This expression shows the dependence of  $IC_{50}$ on the concentration of the spin-trapping reagent b. We analyzed  $IC_{50}$  next by using the exact expression (9). By the same procedure used to obtain formula (11), we obtain the expression:

$$IC_{50} = \frac{a}{2\left[1 - \exp\left\{\ln\left(1 - \frac{a}{2b}\right)\frac{k_2}{k_1}\right\}\right]} (12)$$

This expression shows that  $IC_{50}$  depends upon the concentration of the active oxygen species a in addition to that of the spin-trapping reagent b. In contrast, the rate constant is, by definition, independent of concentration.

#### Conclusion

The activity of substances as antioxidants against hydroxyl radicals was studied by electron spin resonance spin-trapping experiments. An exact expression was derived from first principles to represent the antioxidative activity using the reaction rate constant. An approximation to the expression leads to a well-known expression for competitive reactions. Using these expressions, we were able to determine some rate constants for reactions of common organic substances with hydroxyl radicals. The rate constants obtained in our experiments are summarized in Table 1 along with those reported in the literature. Our measured rate constant values of many substances fell roughly within the reported ranges. Two expressions revealed that the  $IC_{50}$ index, an indicator of antioxidative activity, depended on the concentrations of both the antioxidant and a spin-trapping reagent.

## References

- Totter JR (1980) Spontaneous cancer and its possible relationship to oxygen metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 1763-1767.
- Martin D, Korthuis RJ, Perry M, Townsley MI and Taylor AE (1986) Oxygen radical-mediated lung damage associated with alpha-naphthylthiourea. Acta Physiologica Scandinavica, Suppl. 548: 119-25.
- Boyce NW, Campbell D and Holdsworth SR (1987) Modulation of normobaric pulmonary oxygen toxicity by hydroxyl radical inhibition. *Clin. Invest. Med.* 10: 316-20.
- Thornalley PJ and Vasak M (1985) Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals. *Biochim. Biophys. Acta* 827: 36-44.
- Cabelli DE and Bielski BHJ (1983) Kinetics and mechanism for the oxidation of ascorbic acid/ascorbate by HO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>- radicals. A pulse radiolysis and stoppedflow photolysis study. J. Phys. Chem., 87: 1809-1812.
- Bors W and Michel C (1999) Antioxidant capacity of flavanols and gallate esters: Pulse radiolysis studies. *Free Rad. Biol. Med.* 27: 413-1426.
- 7) Kabuto H, Yokoi I, Iwata-Ichikawa E and Ogawa N (1999) EPC-K1, a hydroxyl radical scavenger, prevents 6-hydroxydopamine-induced dopamine depletion in the mouse striatum by up-regulation of catalase activity. *Neurochem. Res.* 24: 1543-1548.
- Bonifacic M, Armstrong DM, Carmichael I and Asmus K-D (2000) β-Fragmentation and other reactions involving amunyl radicals from amino acids. J. Phys. Chem. B 104: 643-649.
- Obata T and Kubota S (2001) Protective effect of tamoxifen on 1-methyl-4-phenylpyridine-induced hydroxyl radical generation in the rat striatum. *Neurosci. Lett.* 308: 87-90.
- 10) Cheng Z, Li Y and Chang W (2003) Kinetic deoxyribose degradation assay and its application in assessing the antioxidant activities of phenolic compounds in a Fenton-type reaction system. *Analy. Chim. Acta* 478: 129-137.
- Joshi S, Husain MM, Chandra R, Hasan SK and Srivastava RC (2005) Hydroxyl radical formation resulting from the interaction of nickel complexes of L-histidine, glutathione or L-cysteine and hydrogen peroxide. *Hum. Exp. Toxicol.* 24: 13-17.
- 12) Janzen EG and Blackburn BJ (1968) Detection and identification of short-lived free radicals by an electron spin resonance trapping technique. J. Am. Chem. Soc. 90: 5909-5910.
- Janzen EG (1971) Spin trapping. Accounts Chem. Res. 4: 31-40.
- 14) Harbour JR and Bolton JR (1975) Superoxide formation in spinach chloroplasts: electron spin resonance detection by spin trapping. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 64: 803-807.
- Buettner GR and Oberley LR (1978) Considerations in the spin trapping of superoxide and hydroxyl radical in aqueous systems using 5,5-dimethyl-1pyrroline-1-oxide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 83: 69-74.

- 16) Marriot PR, Perkins MJ and Griller D (1979) Spin trapping for hydroxyl in water: a kinetic evaluation of two popular traps. *Can. J. Chem.* 58: 803-809.
- 17) Finkelstein E, Rosen GN and Rauchman EJ (1980) Spin trapping. Kinetics of the reaction of superoxide and hydroxyl radicals with nitrones. J. Am. Chem. Soc. 102: 4994-4999.
- 18) Adams GE, Boag JW, Currant J and Michael BD (1965) Absolute rate constants for the reaction of the hydroxyl radical with organic compounds. In: *Pulse Radiolysis*. Ebert M, Keene JP, Swallow AJ, Baxendale JH, eds. Academic Press, New York. pp.131-143.
- 19) Bors W, Michel C and Saran M (1985) Determination of kinetic parameters of oxygen radicals by competition studies. In: CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. Greewald RA, ed. CRC Press, Florida. pp.181-188.
- 20) Buxton GV, Greenstock CL, Helman WP and Ross AB (1988) Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals (OH/O-) in aqueous solution. J. Phys. Chem. Ref. Data 17: 513-886.
- 21) Yamazaki I and Piette LH (1990) ESR spin-trapping studies on the reaction of Fe<sup>2+</sup> ions with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reactive species in oxygen toxicity in biology. J. Biol. Chem. 265: 13589-13594.
- 22) Yamazaki I and Piette LH (1991) ESR spin-trapping studies on the oxidizing species formed in the reaction of ferrous ion with hydrogen peroxide. J. Am. Chem. Soc. 113: 8588-7593.
- 23) Kohno M, Yamada M, Mitsuta K, Mizuta Y and Yoshikawa T (1991) Spin-trapping studies on the reaction of iron complexes with peroxides and the effects of water-soluble antioxidants. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 64: 1447-1453.
- 24) Sridhar R, Beaumont PC and Powers EL (1986) Fast kinetics of the reactions of hydroxyl radicals with nitrone spin traps. J. Radioanalytica and Nuclear Chem. 101: 227-232.
- 25) Castelhano AL, Griller D and Ingold KU (1982) Do spin adducts of 5,5-dimethylpyrroline N-oxide dimerize? *Can. J. Chem.* **60**: 1501-1503.
- 26) Ervens B, Gligorovsky S and Herrmann H (2003) Temperature-dependent rate constants for hydroxyl radical reactions with organic compounds in aqueous solutions. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 5: 1811-1824.
- 27) Shi X, Ye J, Leonard SS, Ding M, Vallyathan V, Castranova Y and Rojanasakul V and Dong Z (2000) Antioxidant properties of (-)-epicatechin-3-gallate and its inhibition of Cr(VI)-induced DNA damage and Cr(IV)- or TPA-stimulated NF-kappaB activation. *Mol. Cell. Biochem.* **206**: 125-132.
- Berkaoui M, Souchard JP, Massol M and Nepveu F (1994) Hydroxyl radical scavenging activity of compounds with pharmaceutical interest: a quantitative analysis by ESR spectroscopy. J. Chim. Phys. 91: 1799-1808.
- 29) Hino T, Kawanishi S, Yasui H, Oka S and Sakurai H (1998) HTHQ (1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone), an anti-lipid-peroxidative compound: its chemical and biochemical characterizations. *Biochim. Biophys. Acta* 1425: 47-60.

## ■原 著■

# ハイパーリンクを用いた情報提供用電子文書の平均探索時間に 影響を及ぼすいくつかの要因に関する実験的検討

## 田中健史1 川口 修1 桑原恒夫1,2

Experimental Studies of Search Time Dependencies on Several Factors in Hypertext

## Kenji Tanaka<sup>1</sup>, Osamu Kawaguchi<sup>1</sup> and Tsuneo Kuwabara<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Information Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

<sup>2</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: kuwabara@info.kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** Search time dependencies in hypertext on the correspondence of the terms of links, the number of hierarchies of links, and the amount of information on the last page were examined experimentally. Among these three effects, the effect of the correspondence of the terms of links was the greatest. In this experiment, the search time ratio of the best corresponding terms to the worst was 16 : 1. The lower the target information on the last page, the longer the search time ; however, the effect of the amount of information is not so great. Although the ratio of the greatest number of characters to the least number of characters to the target information was 28 : 1 in this experiment, the longest search time was only 5 times that of the shortest. When the target information is located at the bottom of the last page, it is efficient to divide information using several links to reduce the search time. On the other hand, when the target information is located at the top, it is not efficient or rather has an inverse effect to divide information using several links

*Keywords:* hypertext, search time, terms of links, hierarchies of links, the amount of information, Web

## 序論

ハイパーリンクにより情報を階層的に配置して提 供する電子文書は、Web を始めとして様々なアプ リケーション上で数多く利用されている。このよ うなハイパーリンク型情報提供用電子文書の探索 の容易性に及ぼす要因としては、リンク表題の付 け方、リンク階層の深さ、階層ごとの情報量、ペー ジ内での情報配置法、文字の大きさ、配色などさ まざまな要因が影響すると考えられる。

この中でユーザの探索意図とリンク表題の適合 性は探索性に重要な役割を果たすとの指摘がある <sup>1.2)</sup>。また課題文の内容とリンク表題の適合性が検 索性に与える影響を実験的に検討した報告もある <sup>3)</sup>。また画面の見やすさといった知覚的側面から文 字の大きさや情報のグループ化などをパラメータ に実験を行った結果の報告もある<sup>4.5)</sup>。しかし情報 の探索性に対する複数の要因の影響を実験的・定 量的に比較し、その中の支配的要因を同定した例 はない。

本論文では、ユーザの探索意図とリンク表題の 適合性、リンク階層の深さ、最終ページにおける 目的情報までの情報量という3つの要因が検索時 間に及ぼす影響について実験的に検討した。その 結果、本研究の範囲ではユーザの探索意図とリン ク表題の適合性の影響が抜きんでて大きい影響を 及ぼすことを明らかにした。そしてハイパーリン ク型情報提供用電子文書では、ユーザの探索意図 に適合したリンク表題の設定法の研究が極めて重 要であるとの問題提起を行っている。

## 方法

## 概要

実験用の電子文書として仮想的な Web サイトを用

意し、被験者に課題を与えてこのWeb サイトから 目的情報を探索させた。そして被験者が目的情報を 探索するまでの時間を計測した。なお1つのWeb サイトに対して3問の課題を与えた。課題としては、 例えば「南半球の星座であるほうおう座の赤緯は?」 のようなもので、その解答は探索させるWeb サイ ト内に明確に記載した。

#### 用意した Web サイト

まず Web サイト用のコンテンツを6種類用意した。 この6種類のコンテンツの内容は一般的なものと し(各々の主題は国、星、食材、カクテル、スポー ツ、乗り物の6種類)、特別な知識を必要とせずに 一般の人が読めば解る程度の平易なものとした。

そしてこの6種類のコンテンツの各々に対し、ト ップページから目的情報の存在する最終ページまで の階層数が2階層、3階層、4階層の3種類を用意 した(トップページと最終ページしかないものは階 層数2とカウントする)。つまり合計で6×3=18 種類のWebサイトを用意した。

また次の階層に移行するためのリンク表題として 以下の2種類のものを用意した。 (1) 課題文中にある語句がそのまま表題になっているか、「あ行」、「い行」などの索引形式の表題から選択できるもの。以後、直接型表題と呼ぶ。
 (2) 表題を課題文の内容から推定する必要のあるもの(以後、間接型表題と呼ぶ)。

作成した6種類のコンテンツのうち3種類は(1) の方式でリンク表題を作成し、残り3種類は(2)の 方式でリンク表題を作成した。そして(2)の方式で 作成したコンテンツは、選択すべきリンク表題が課 題文から容易に推定できるもの(以後、強推定と呼ぶ)、推定が可能なもの(以後、中推定と呼ぶ)、推 定がほとんど不可能と思えるもの(以後、弱推定と 呼ぶ)の3種類として作成した。この推定の困難 さは設計者の主観で行った。

各サイトの課題文とリンク表題の例を表1に示 す。表1の強推定の例では、課題文中の「スキー」 という語句から「ウィンタースポーツ」という語句 を表題に含むリンクを容易に選択できると考えた。

中推定の例では、課題文中の「打ち上げ」という 語句から「ロケット」という語句を表題に含むリン クを選択可能であると考えた。一方弱推定の例では、 課題中の「おとぎ話の主人公」という語句からはリ

サイト		課題文の例	正解に導くリンクの表題 [そのページのリンク総数]			
		「てれに刈りる胜合」	第1階層	第2階層	第3階層	
	No 1	ヨーロッパにあるオランダの首	ヨーロッパ [6]	ア行 [8]	オランダ王国[6]	
	100.1	都は? [アムステルダム]				
		果菜類であるトマトは何科?	果菜類(ナス科、	タ行 [7]	トマト [6]	
直接型	No.2	[ナス科]	ウリ科、マメ科			
			など)[6]			
	No 2	南半球の星座であるほうおう座	南半球の星座 [5]	ハ行[7]	ほうおう座 [7]	
	10.5	の赤緯は? [-50°]				
		急でコブ(凹凸)の深い斜面を	スポーツ競技一	水上競技・マリ	ウィンタース	
		滑り、ターン技術、エア演技,	覧、世界記録 [5]	ンスポーツ・ウィ	ポーツ [3]	
	強推定	スピードを競うスキーのフリー		ンタースポーツ		
		スタイル競技とは何と言うス		[6]		
		ポーツでしょう? [モーグル]				
		20世紀中ごろ、ソ連でモルニ	乗り物の 歴史 [5]	ロケットの歴史	20 世紀中期 [3]	
間接型	中推定	ア1号の打ち上げが TV 中継さ		[6]		
		れたのは何月何日 でしょう?				
		[4月23日]				
		おとぎ話の登場人物が 名前に	カクテル 一覧 [5]	複数の酒ベース	ノンアルコール	
	弱堆定	なっているカクテル は何で		のカクテル、ノ	[3]	
	AN IEVE	しょう? [シンデレラ]		ンアルコールカ		
				クテル [5]		

#### 表 1. 作成した Web サイトの分類とその課題文及びリンク表題の例

ンク表題に使用されている語句のどれも選択対象と 推定できず、課題文からは正しいリンクの選択が困 難であると考えた。このような推定の難易度は上述 のように設計者の主観で設定したものだが、その順 序関係の妥当性は高いと考えている。

また(1)の直接型で作成したコンテンツでは、3 問の課題文の解答の存在場所をそれぞれ最終ページ の上方、中ごろ、下方の3種類に設定した。さらに 目的情報の場所を表中としたものと文中としたもの の2種類に設定した。なお直接型、間接型とも各 コンテンツの情報量は文字数で約4万文字とした。

#### 被験者

大学生9名とした。

## 被験者へのサイトの割り当て法

前述したように Web サイトは合計 18 種類を作成 した。各被験者にはその 18 種類の中から各々コン テンツの異なる Web サイトを 6 種類(直接型3種 類、間接型3種類)割り当てて実験を行った。その際、 直接型、間接型ともに階層数が2のWebサイト、 3のWebサイト、4のWebサイトを1ずつ割り当 てるようにした。上記のように9人の被験者に各々 6 種類のWebサイトを割り当てたので、作成した 18 種類のWebサイトは各々3人の被験者に提供さ れた。また1つのWebサイトあたり3間の課題が 設定されているので、各被験者には全部で18 問の 課題が与えられた。

#### 結果

#### 探索時間の正規化

同じWebサイトから同じ課題に対する解答を探索 する場合にも、探索時間の絶対値は被験者の個人 的特質(Webサイトの利用頻度、能力など)に大 きく依存すると考えられる。そこで被験者の個人的 特質の影響を排除するため、以下のような正規化を 行った。

$$T_k = \frac{\sum_{m=1}^{18} t_{k_m}}{18} \tag{1}$$

$$< t_{k_m} > = t_{k_m} / T_k \tag{2}$$

ここでk は被験者番号  $(1 \sim 9)$ 、m は被験者ごとに 与えた課題の通し番号  $(1 \sim 18)$ 、 $t_{k_m}$  は被験者 k の 第m 問目の実際の探索時間、 $T_k$  は被験者 k の平均 探索時間、< $t_{k_m}$ > は被験者 k の第m 問目の正規化 探索時間である。

本論文ではこの、< $t_{k_m}$ >を用いて Web 各サイトの探索時間の比較評価を行うことにする。

## リンク表題の適合性の影響

リンク表題の付け方はコンテンツ毎に異なる。そし てコンテンツと階層数の組み合わせは被験者ごとに 異なるものの、6 種類のコンテンツは全ての被験者 に1つずつ割り当てられている。また各コンテンツ は3問の課題が与えられている。そこで全てのリン ク階層数、被験者および課題に対するコンテンツ毎 の< $t_{k_m}$ >の平均値(以後、平均探索時間と呼ぶ)を 算出した。1つのコンテンツには階層数2、階層数3、 階層数4という3つのWebサイトのデータが各々3 人分、また1人につき3課題分のデータ含まれる。 したがって1つのコンテンツの平均探索時間は合計 27個のデータの平均値として求められる。この結果 を図1に示す。このように平均探索時間はリンク表 題の付け方によって極めて大きく変化した。

直接型のリンク表題を付与されたコンテンツはい ずれも平均探索時間が短く、以下間接型強推定、間 接型中推定、間接型弱推定の順に平均探索時間が増 大していく。その差は本実験の範囲内で最大約 16 倍に達する。また同じ間接型同士を比較しても、強 推定と弱推定で約 5.4 倍の開きがある。このように 平均探索時間は課題文に対するリンク表題の適合 性に極めて大きな影響を受けることが解った。こ の 16 倍もしくは 5.4 倍という値は、文献 [3] の表 1 で実験データとして示されている値(適合度の最 も強いものと弱いものの探索時間の差は最大でも約 30% と読み取れる)よりはるかに大きな値である。 これは本実験で使用したコンテンツ間でのリンク表 題の適合度の差が文献 [3] のものより甚だしかった ことを示唆している。

#### 解答(目的情報)の最終ページ中の位置の影響

リンク表題の適合性の影響がほぼ同じである直接型 について、探索時間に及ぼす最終ページ中での解答 の位置の影響を分析した。ここではリンク階層数の 影響を排除するため、階層数2のデータのみを使用 した。

階層数2を選択した理由は、最終ページの文字数 が階層数2で最も多くなり、文字数の影響を最も 広い範囲で分析できるからである。また目的情報の 存在場所はWebサイト毎に表中に設定したり、文 中に設定したりしていた。そこでここではその影響 も含めて分析する。図2に最終ページの先頭位置か ら解答の存在場所までの文字数と平均探索時間(そ



図1. 平均探索時間に及ぼすリンク表題の適合性の影響.



図 2. 平均探索時間に及ぼす最終ページでの目的情報までの 文字数の影響.

の Web サイトでその課題を実行した 3 人の被験者 の < $t_{k_m}$  > の平均値)を示す。

図2に示すように解答が存在するまでの文字数が 多いほど平均探索時間は長くなる。ただし図2のデ ータでは、文字数は最大で約28倍の開きがあるの に対し、平均探索時間は最大で約5倍に止まる。ま た目的情報が文中にあるほうが表中にあるよりやや 平均探索時間が長くかかっている。

#### リンク階層の影響

リンク階層と探索時間の関係ついて、解答位置が最 終ページの上方にあるものと下方にあるものに分



図 3. 平均探索時間に及ぼすリンク階層の影響(目的情報が下方).



図 4. 平均探索時間に及ぼすリンク階層の影響(目的情報が 上方).

けて分析する。この上方か下方かの判定は階層数2 のWebサイトでの解答の位置に基づいて行った。

前節と同様にリンク表題の適合性の影響を排除す るため、直接型のみを分析対象とする。また実験に 用いたサイトでは、ページ下部に解答が存在するも のは全て表中に解答を設定していた。そこでここで は解答が表中であるののだけを分析対象とした。

図 3, 図 4 に目的情報の最終ページ上の位置が上 方のものと下方のものの平均探索時間(その課題を 実行した 3 人の被験者の < $t_{k_m}$ >の平均値)のリン ク階層数依存性を示す。同じコンテンツの Web サ イトの同じ解答でも、階層数の多いサイトでは最終 ページの解答位置はより上方に移動する傾向にある。したがって図3、図4では、各プロットの横に 解答が存在する場所までの文字数を記載した。

解答位置がページ下方の場合、図3に示すように リンク階層を多くして解答までの文字数を少なくす ることで平均探索時間は短くなる。一方、解答位置 がページ上方の場合には図4に示すようにリンク階 層を多くすると却って平均探索時間が増加する。こ れは解答までの文字数が少ない場合、リンクを深く 辿っていく分却って手間がかかるためであろう。本 実験の結果だけでは、リンクの階層を増加させて目 的情報の位置をページの上方へ移動すべきかどうか の一般的な判断基準を設定することは困難である。 しかし図3、図4の結果から見る限り、1000-2000 文字あたりが一つの目安となりそうである。

## 討論

上述のようにリンク階層数や最終頁における目的情報までの情報量(本検討では文字数)も探索時間に 大きな影響を与える。しかしユーザの探索意図とリンク表題の適合性の影響はそれらよりはるかに大きい。したがってハイパーリンクを用いた情報提供用 電子文書の設計者は、なによりもまずこのユーザの 探索意図とリンク表題の適合性について適切な設計 を行うべきである。

本研究で行った実験では被験者に課題文を与える ことにより探索意図を予め規定し、その探索意図と の適合性を意識的に操作したリンク表題を作成して 実験を行った。しかし現実の情報探索ではユーザの 探索意図は多様であり、1つの意図に合わせてリン ク表題を決めることはできない。従ってできるだけ 多くのユーザの探索意図に適合するリンク表題を考 案することが目標となる。これが今後の最大の課題 である。

#### まとめ

ハイパーリンクを用いた電子文書の検索時間に及ぼ す各種要因の影響ついて実験的・定量的に検討した。 その結果、

(1) 課題文に対するリンク表題の適合性によって探索時間に最大 16 倍の開きが計測された。

(2) 最終ページ中の目的情報の位置までの文字数が 多いほど探索時間が長くなった。ただし本研究で行った実験では、文字数は最大で約28倍であるのに 対し探索時間は最大で約5倍に止まった。

(3) 目的情報の位置がページ下方の場合は、リンクの階層数が増加すると探索時間は減少した。一方目的情報位置がページ上方の場合は、リンクの階層数が増加すると探索時間は増加した。

これより、ハイパーリンクを用いた電子文書の検 索時間を減少させるには、リンク表題の適合性向上 の研究が極めて重要であることが解った。

#### 文献

- Pirolli P and Card S (1999) Information foraging. Psychol. Rev. 106: 643-675.
- 2) Chi EH, Pirolli P and Pitkow J (2000) The scent of a site: A system for analyzing and predicting information scent, usage, and usability of a web site. In: *Proceedings of the Conference on Human Factors in Computing Systems CHI2000*. pp. 161-168.
- Khan K (1998) Searching through cyberspace: The effects of link cues and correspondence on information retrieval from hypertext on the world wide web. J. Am. Soc. Info. Sci. 49: 1248-1253.
- 4) Parush A, Nadir R and Sthtub A (1998) Evaluating the layout of graphical user interface screens: Validation of a numerical computerized model. *Intern. J. Human-Computer Interaction* 10: 343-360.
- 5) 村田厚生,森若 誠(2007) ウェブ画面の見やすさ に関する若年層と高齢者の違い.文字の大きさ、グ ループ化,画面密度、アイテムの配置方法、リンク 情報の解りやすさの影響. 電子情報通信学会論文誌. J90D: 788-797.

## ■原 著■

## 日本の SNS 利用者の書き込み記事に対する主観的信頼度の調査

## 石渡 僚<sup>1</sup> 桑原恒夫<sup>1,2</sup>

## Research into Users' Subjective Reliability on SNS Articles in Japan

## **Ryo Ishiwata<sup>1</sup> and Tsuneo Kuwabara<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Department of Information Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

<sup>2</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: kuwabara@info.kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** Users' subjective reliability on SNS articles in Japan was researched based on a questionnaire. Reliability in 3 categories (game, medicine, job hunting) was 50-60%. In medicine, it is possible to increase reliability by obligatorily posting the job, age and sex of the article writer. In job hunting, it is possible to increase reliability by obligatorily posting the job, qualifications, affiliation, age and sex of the article writer. Moreover, voluntary posting of qualifications and affiliation in medicine and voluntary posting of a mailing address in job hunting should be encouraged by showing the effect of increasing reliability. On the other hand, in game, no method to increase reliability was found.

Keywords: SNS, reliability, posting of profiles, restriction of participation

## 序論

インターネットの普及はめざましく、近年では新聞、 テレビ、書籍などと並んで人々の重要な情報源にな っている。インターネットでは一般の人々が情報の 受信者としてだけではなく、発信者としても振る舞 えることが大きな特徴である<sup>1)</sup>。しかしこの事は利 点であるとともに、情報の質の観点からは問題点も 孕んでいる。インターネット上の情報は玉石混合で あるという批判が常に付きまとっている。

一般の人が気軽に情報発信でき、かつ誰でもその情報を閲覧できるシステムとしてはWeb上の掲示板がある。これは不特定多数の人々に開かれたシステムであるが、それゆえに情報の質に関する上述の問題点が如実に現れる。時として名誉棄損や犯罪予告にさえ悪用される場合がある事は周知の通りである。

このような問題点を緩和するシステムとして SNS(ソーシャル・ネットワーキング・サービス) が登場した。SNSは会員制のシステムであり、シ ステムのオープン性を多少犠牲にする代償として 信頼度の向上を狙っている。このSNSの利用者は 非常に多く、全世界で3億人、日本だけでも4000-5000万人が利用していると言われている<sup>2,3)</sup>。 SNS の会員になるには既存会員の推薦が必要な「招待制」を取っているコミュニティが多いが、誰でも自由に参加できる「オープン制」のものも存在する。また投稿記事の多くは匿名性である。実名で投稿する方式は米国ではビジネス SNS と呼ばれる一部のコミュニティで見られるものの、日本ではほとんど普及していない<sup>4</sup>。

したがって書き込まれた記事(本研究では以下、 単に「記事」という)の投稿者がどのような人なの か解らない場合も多く、このため記事の内容をどの 程度信頼して良いのか迷う場合も多いと推測され る。記事が信頼できないと考えれば SNS への利用 者は減少するだろう。従って SNS の運営者が利用 者を増やすためには、記事に対する利用者の信頼度 (主観的信頼度)を向上させることが重要である。

そこで本研究では、日本の SNS の利用者を対象 にアンケート調査を実施し、記事に対する利用者 の主観的な信頼度と記事の信頼度を上げる方策を 調査した。調査は異なる3つのカテゴリーに属す る6つずつ、合計18のコミュニティの利用者に対 して行った。その結果、所属するカテゴリーごと に利用者の意識が違うことが明らかになった。ま た一部のカテゴリーでは、利用者を減少させるこ となく記事の信頼度を上げられる可能性のある方 策が発見された。

## 方法

## 調査対象

ゲーム、医療、就職活動(以下、就活と呼ぶ)の3 つのカテゴリーに属するコミュニティを、日本国 内のユーザを対象とした SNS として著名な2つの SNS(以下、この2つをA,,Bと呼ぶ)から合計18 個選択した。そしてその利用者に対してアンケート 調査を実施した。調査時点(2009年11月)での2 つの SNSにおける各カテゴリーのコミュニティ総 数と調査したコミュニティ数、調査したコミュニテ ィの利用者の合計人数(調査対象人数)、回答者数 を表1に示す。

カテゴリー毎の回答者数の合計はゲームで 113 人、医療で 49 人、就活で 67 人であった。

#### 調査項目

(1)記事に対する信頼度

参加しているコミュニティの記事に対する主観的 な信頼度を、100%を満点として評価してもらっ た。

(2)プロフィールの公開に対する評価

実名、年齢、性別、職業、所属組織(以下、組織と 言う)、資格、メールアドレス、住所の8つのプロ フィールについて、

①投稿者が公開している場合に記事の信頼度が向上 する項目

②自分が公開しても良い項目

を各々選択してもらった。

(3)コミュニティの管理体制など

以下の項目について、達成されていれば信頼度が 向上するかを、「向上する」、「向上しない」、「どち らとも言えない」の3つの中から選択してもらった。

 ・コミュニティ参加への年齢制限 (例えば 20 歳以上)

- ・コミュニティ参加への管理人の許可
- ・投稿者の SNS 内の友人の数が多い事

#### 調査手順

各コミュニティの管理人に許可を得た後、対象コ ミュニティにアンケートを書き込んだ。そしてそれ に対するコメント(コミュニティの利用者が自由に 書き込み及び閲覧可能な通信手段)、もしくは著者 へのメールにて回答を回収した。

#### 表1. 調査対象コミュニティ

	SNS	А	В
	コミュニティ総数	3799	7919
ゲ	調査対象コミュニティ数	3	3
4	調査対象人数	9712	12096
	アンケートの回答者数	85	28
	コミュニティ総数	1699	561
医	調査対象コミュニティ数	3	3
療	調査対象人数	51094	179
	アンケートの回答者数	37	12
	コミュニティ総数	350	215
就	調査対象コミュニティ数	3	3
活	調査対象人数	35797	6291
	アンケートの回答者数	49	18





## 結果と討論

#### 記事に対する信頼度

回答してもらった信頼度をカテゴリーごとに平均し て図1に示す(縦線は標準偏差)。図1に示すよう にカテゴリー間で大きな差はなく、50-60%の信頼 度を示した。これは必ずしも低い値ではないが、十 分に高いとも言えないだろう。

#### プロフィールの公開に対する評価

各々のプロフィールの公開に対する評価を、その項 目を選択した回答者の割合として図2にまとめて示 す。図2に示すようにカテゴリーによって回答結果 が大きく異なったので、以下にカテゴリー毎に分析 する。

#### (1) ゲーム

図2より、プロフィールの公開によって記事の信 頼度はほとんど増加しない事が解る。ゲームに関す る知識とここで示したプロファイルには、直接関係 がないと利用者が判断しているためであろう。また 年齢、性別、職業以外のプロフィールはほとんどの



図2. プロフィール公開により信頼度が向上すると考える利用者の割合と公開して良いと考える利用者の割合.



図3. プロフィール以外の要因の信頼度に対する影響.

人が公開したくないという結果であった。

(2) 医療

職業、実名、資格、性別、年齢、組織の公開により 信頼度が上がると考える回答者が50%程度かそれ 以上いる。医療では職業,資格,組織などによる権 威付けや実名による責任の表明とともに、性別や年 齢によって投稿者の経験の有無が推察されるためで はないかと思う(例えば婦人病なら成年の女子の 回答が未成年の男子の回答より信頼されるのは当然 だろう)。

また性別、年齢、職業については80%以上の人 が自分のプロフィールとして公開しても良いと回答 している。従ってこの3つのプロフィールの公開 を義務付けることで、利用者の抵抗を受けることな くサイトの記事全体の信頼度を向上できる可能性が ある。

なお資格、組織については公開して良いとする人 が30-40%程度なので、これらの公開の義務化は弊 害が大きいだろう。むしろこの2つは任意公開とし、 公開により信頼性が上がる事を周知して公開の促進 を図ることが賢明であろう。 職業、資格、組織、年齢、性別、メールアドレスの 公開により信頼度が上がると考える回答者が50%程 度かそれ以上いる。この原因は、メールアドレスを 除くこれらの情報が投稿者の経験の予想に役立つか らではないかと考える。また性別、年齢、職業につ いては90%程度、資格、組織については70-80%程 度の人が自分のプロフィールとして公開しても良い と回答している。従ってこれら5つのプロフィール の公開を義務付けることで、利用者の抵抗を受ける ことなくサイトの記事全体の信頼度を向上できる可 能性がある。なおメールアドレスを公開しても良い と考える人は約50%に留まるので、医療における資 格、組織と同様に任意公開とする事が良いだろう。

#### プロフィール以外の要因に対する評価

調査項目の(3)で述べた項目に対して信頼度が向上 すると回答した人の割合を図3に示す。図3に示 すように、就活では全ての項目に対して信頼度が増 すと考えている人の割合が50%を越えている。特 に友人の数が約60%と最も高い。これは、就活で は投稿者の人的ネットワークの広がりが重視される ことを示唆している。医療については項目によって 評価が異なり、コミュニティ参加時の管理人の許可 により約70%、年齢制限により約50%の人が信頼 度が増すと考えている。医療では図2に示したプロ ファイル公開でも職業や資格が重視されており、参 加時の管理人の許可も含めた権威付けが信頼性確保 に重要であることを示している。またゲームでは、 信頼度が増すと考えている人はどの項目についても 20-30%に留まる。この原因は、ゲームに関する知 識にはここに示した項目はどれも関係ないと利用者 が判断しているためであろう。

ところで SNS 内の友人の数は投稿者の個人的な 属性によるもので、SNS の運営者が制御できるも

(3) 就活

のではない。またコミュニティ参加時の管理人の許 可や年齢制限は原理的に利用者の減少をもたらす要 因となる。SNS 運営による収入は広告料もしくは 会費の2つが主なものである。これらはいずれも利 用者の人数によって大きな影響を受ける。従ってこ れらの参加制限を採用するかどうかは、信頼度向上 よる利用者の増大と参加制限による利用者の減少を 慎重に見極める必要があるだろう。

#### まとめ

日本の SNS でゲーム、就活、医療の3つのカテゴ リーに属するコミュニティの利用者を対象にアンケ ート調査を実施した。その結果、いずれのカテゴリ ーに属するコミュニティの利用者も記事に対して平 均で50-60%の信頼を置いている事が解った。また 医療では性別、年齢、職業の3つ、就活では職業、 資格、組織、年齢、性別の5つのプロフィールの公 開を義務付けることで利用数の減少を招かずに記事 の信頼度を向上させる可能性のある事を明らかにし た。さらに医療では資格と組織、就活ではメールア ドレスを任意公開としつつ、公開により信頼性が上 がる事を周知して公開の促進を図ることが有効な施 策になると思われる。

また医療や就活はコミュニティへの参加に年齢制 限や管理人の許可を設けることでも信頼度を向上さ せる可能性がある。ただしこの施策の実行は、参加 制限による利用者数の減少との兼ね合いが問題とな るだろう。

今回調査した信頼度は、記事に対する利用者の主 観的な信頼度であり、記事が本当に正しいかどうか の客観的な信頼度ではない。しかし利用者は客観的 な信頼度を常に検証出来る訳ではなく、むしろ自分 の主観的な信頼度に基づいてコミュニティを利用す るものと想定される。また多くの人から信頼される コミュニティには多くの利用者が集まると考えるの が自然である。したがってコミュニティの利用者数 を増やすために主観的な信頼度を上げる施策を実施 することは、十分に意味のある事だと考えられる。

本研究で示したように、どの要因が信頼度向上に 寄与するかはカテゴリーの種類によって大きく変化 する。従って本研究で取り上げなかった他のカテゴ リーについては別途調査する必要があるだろう。ま た本研究で取り上げなかった要因(例えば記事に対 する第三者の評価結果の表示など)についても、そ の影響を検討していく必要があるだろう。

## 文献

- 1) 梅田 望(2006) Web 進化論. ちくま書房, 東京.
- 2) ニールセンカンパニー (2010) http://jp.nielsen.com/ news/documents/ J\_20100218\_Global\_Social\_Media\_ Sites. pdf.
- 日経 BP社 (2008) http://itpro.nikkeibp.co.jp/article/ NEWS/ 20080808/312452/.
- 4) 日経新聞社 (2008) http://it.nikkei.co.jp/internet/news/ index.aspx?n=MMIT2E000025062008.

## ■原 著■

# 光速変化モデルにおける宇宙生成の確率と真空のエネルギー

## 横山 愛<sup>1</sup> 長澤倫康<sup>2,3</sup>

## Creation Probability of Universe and Vacuum Energy in VSL Model

## Ai Yokoyama<sup>1</sup> and Michiyasu Nagasawa<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Department of Information Sciences, Graduate School of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

<sup>2</sup> Department of Information Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

<sup>3</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: nagasawa@info.kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** The creation probability of the universe was calculated based upon the variable speed of light model. It was shown that with particular numerical values of parameters, the probability becomes lower when the amplitude of vacuum energy density becomes larger. Although the estimation was performed using a greatly simplified model and the employed equations are just phenomenological, the result that a universe with a tiny amplitude of cosmological constant can be created and our universe is not so rare seems to be very interesting.

Keywords: creation probability of universe, vacuum energy, VSL model

## 序論

宇宙の創生は重要で興味深い問題ではあるが、我々 は時空を量子的に扱える完成された物理理論を持た ないため、これまでのところ単純化されたモデル で定性的な議論がなされているにすぎない<sup>1)</sup>。本論 文では特に光速が時間的に変化するとした場合を 取り扱う。光速が変化するモデルでは、宇宙が抱え る問題、例えば地平線問題などを解決できる可能性 があるからである<sup>2)</sup>。光速変化モデルにおける宇宙 生成確率に関しては先行研究が存在する<sup>3)</sup>が、「光 速」というものが意味する複数の側面に対して注意 を喚起する批判4にこたえて、あらゆる光速に宇宙 のスケールファクターへの依存性を持たせるという 現象論的モデルを採用している。しかし実際には、 有効ポテンシャルを導出するときにラグランジアン の係数に登場する光速を定数とみなしたことになっ ている。そこで本研究では、重力場とエネルギーを 結びつける係数部分の光速はあくまで定数であり、 現象論的な光速変化モデルに従う宇宙膨張の式を出 発点とする立場を貫いて、宇宙生成の確率を計算す る。その結果、真空のエネルギー密度に対する生成 確率の依存性が変化する境界値は Yurov and Yurov (2008)<sup>3)</sup>のものとは異なることになる。

## 方法

## ウィーラー・ドウィット方程式

宇宙全体の波動関数が量子重力理論の中で満たすべ き方程式をウィーラー・ドウィット方程式という。と はいえ、量子重力理論は未完成であるので、ウィー ラー・ドウィット方程式はアインシュタイン方程式 を形式的に正準量子化したものである。具体的には、

と書かれる<sup>1)</sup>。本研究では、真空のエネルギーをも った曲率正の閉じた一様等方宇宙を取り扱う。 一様等方な空間に時間を加えて作った時空の計量

$$ds^{2} = -c^{2}dt^{2} + a^{2}(t)[d\chi^{2} + \begin{cases} \sin^{2}\chi \\ \chi^{2} \\ \sinh^{2}\chi \end{cases} (d\theta^{2}\sin^{2}\theta d\phi^{2})],$$

$$k = \begin{cases} +1 \quad (曲率正) \\ 0 \quad (曲率ゼロ), \\ -1 \quad (曲率負) \end{cases}$$

$$c = 2.99792458 \times 10^{8} \text{ m} \cdot \text{ s}^{-1}: \text{ 光速度}$$

$$(2)$$

をロバートソン・ウォーカー計量 (Robertson-Walker metric) という。一様等方な宇宙のラグラ ンジアンLは、k = +1のロバートソン・ウォーカ ー計量を重力場のラグランジアン密度の式

$$L_{g} = \frac{c^{4}}{16\pi G} (-2\Lambda + R),$$
  
G = 6.67428×10<sup>-11</sup>m<sup>3</sup>·kg<sup>-1</sup>·s<sup>-2</sup>:万有引力定数、<sup>(3)</sup>  
A:宇宙定数、R:スカラー曲率

に代入し<sup>1)</sup>、かつ宇宙定数を真空のエネルギー密度  $\rho_v$ で表す式、

$$\Lambda = \frac{8\pi G \rho_{\nu}}{c^2} \tag{4}$$

を用いると、

$$L = \frac{3\pi c^4}{4G} \left\{ -a \left(\frac{\dot{a}}{c}\right)^2 + a - \frac{a^3}{{l_0}^2} \right\}$$
(5)

と得られる。ここで、

$$l_0 = c \left(\frac{8\pi G\rho_v}{3}\right)^{-\frac{1}{2}} \tag{6}$$

である。これより正準運動量

$$p \equiv \frac{\partial L}{\partial \dot{a}} = -\frac{3\pi c^2 \dot{a}a}{2G} \tag{7}$$

を定義すると、ハミルトニアン Hは

$$H = p\dot{a} - L = -\frac{3\pi ac^4}{4G} \left\{ \left(\frac{\dot{a}}{c}\right)^2 + 1 - \frac{a^2}{l_0^2} \right\}$$
(8)

となる。さらに Hを正準運動量を用いて書き直す と、

$$H = -\frac{2G}{3\pi a} \left( \frac{p^2}{2} + U_0(a) \right)$$
(9)

であり、 $U_0(a)$ は

$$U_0(a) = \frac{1}{2} \left(\frac{3\pi c^2}{2G}\right)^2 a^2 \left(1 - \frac{a^2}{l_0^2}\right)$$
(10)

と書ける。図示すると図1のようになり、a = 0から $a = l_0$ の間で $U_0(a)$ は正の値をとる。



図 1. U<sub>0</sub>(a) の a 依存性.

## ビレンキンの宇宙創成モデル <sup>1)</sup>

ビレンキンはa=0の状態を「無」の状態と呼んだ。 「無」の状態は量子論的に揺らぎゼロ点振動を持っ ているはずであり、ここからトンネル効果によって エネルギーの壁をくぐり抜け宇宙は創生される、と 考えた。つまり $l_0$ という有限の大きさをもった宇 宙が突然生まれるのである。

## 真空のエネルギー

真空のエネルギーとはアインシュタインが用いた宇 宙項Λに相当し、重力に逆らって宇宙を加速度的に 膨張させている源である。真空では仮想粒子の対生 成・対消滅が絶えず繰り返されているため、エネル ギーは完全にゼロにはなり得ない。この揺らぎが真 空のエネルギーの根源であるというのが一つの見方 である。宇宙が膨張し物質の密度が下がっても、真 空のエネルギーの大きさは変わらない。現在、真空 のエネルギーは暗黒エネルギーの有力候補となっている。

## 結果

## 宇宙の生成確率の真空のエネルギーに対する依 存性

真空のエネルギーの値に応じて、宇宙がトンネル効 果によって生成される確率 *P* がどのように変わる か、光速が一定の場合と光速が時間的に変化する場 合について計算する。

#### 光速が一定の場合

WKB 近似を使って、通常の量子力学の解の構成に 従うと、Pは

$$T_0 \sim \exp\left(-2\int_0^{l_0}\sqrt{2U_0(a)}da\right)$$
 (11)

で与えられる<sup>1)</sup>。横軸に $\rho_{\nu}$ 、縦軸に $T_0$ をとった図を、 図 2 に示す。横軸の単位はプランク密度

$$\rho_{pl} = \frac{c^5}{\hbar G^2} \cong 5.16 \times 10^{96} \,\mathrm{kg} \cdot \mathrm{m}^{-3} \quad (12)$$

を用いている。図2から、光速が一定の場合、 $\rho_v$ 



図 2.  $\rho_v \geq T_0$ の関係.

が大きいほど P が高くなることが分かる。

#### 光速が時間的に変化する場合

光速の時間的変化を

$$c(t) = sa^n \tag{13}$$

と書くことにする
$$^{3)}$$
。このとき $U(a)$ は

$$U_n(a) = \frac{1}{2} \left(\frac{3\pi c^2}{2G}\right)^2 \frac{s^2}{n+1} a^{2(n+1)} \left(1 - \frac{a^2}{l_n^2}\right)$$
(14)

となる。ただし、

$$l_n = c \left(\frac{8\pi G\rho_v}{3}\right)^{-\frac{1}{2}} \left\{\frac{n+2}{2(n+1)}\right\}^{\frac{1}{2}}$$
(15)

である。 $U_n(a)$ はaが $l_n\sqrt{n+1/n+2}$ のときに極大値

$$U_n\left(l_n\sqrt{\frac{n+1}{n+2}}\right) = \frac{1}{2}\left(\frac{3\pi c^2}{2G}\right)\frac{s^2}{(n+1)(n+2)}\left(\frac{3c^2}{16\pi G}\right)^{n+1}\rho_v^{-(n+1)} (16)$$

をとる。ここで、式(14)の係数部分の光速 c が定 数となっているところが、Yurov and Yurov (2008)<sup>3)</sup> との差異である。また、式(15)に現れる c も定数 であり、そのため、真空のエネルギー密度と宇宙項 の違いを意識する必要はなくなっている。式(14) から n が -1 を境に $U_n(a)$ のふるまいが変化するこ とが分かる。また式(16)から、-2 < n < -1のと きは極大値が負となりビレンキンの宇宙創生モデル を適用することができないと考えられる。これらの ことから、(i)n > -1のとき(ii)n < -2のときで 場合分けして P を求める。

(i) n >-1 のとき

 $U_n(a)$ を図示すると図 3 のようになる。図 3 より、 Pはa = 0から $a = l_n$ にトンネル効果で遷移する確 率とみなすことができる。 $a = l_n$ のときc(t)が現 在の光速に等しいとおくと、

$$s = \frac{1}{l_n^n} \tag{17}$$

となる。このとき、Pは

$$T_n \sim \exp\left(-2\int_0^{l_n} \sqrt{2U_n(a)}da\right)$$
(18)

から求めることができる。この式はn = 0において、 光速が一定の場合の式(11)の $T_0$ と一致する。図2 と同様に横軸に $\rho_v$ (単位はプランク密度)を、縦 軸に $T_n$ をとって関係を示すと、図4のようになる。 光速が一定の場合と同じく、式(13)でn > -1の場



図 3.  $U_n(a) \circ a$  依存性  $(n \ge 1 \circ d = 1)$ .



図 4.  $\rho_v \ge T_n$ の関係 ( $n \ge 1$ の場合).

合も、 $\rho_v$ が大きいほどPが増大していることが分かる。

なお、Yurov and Yurov (2008)<sup>3)</sup>の論文ではn > -1であってもn < -2/3ならば宇宙項の増大とともに宇宙の生成確率が低下するという結果が得られているが、先述の通りこれは光速のスケールファクター依存性の取り扱いに一貫性が欠如していることに起因する。

( ii ) n <-2 のとき

 $U_n(a)$ を図示すると図**5**のようになる。放射や 物質のエネルギーがあって宇宙が正のエネルギーを もつとすると、トンネル効果は有限のaで起こり うるが、ここでは真空を取り扱っているので、十分 大きいaでトンネル効果による遷移が終わるとし た。 $a = 10^3$ のときc(t)が現在の光速の $10^{-11}$ 倍に等 しいとおいて、

$$s = \frac{1}{10^{3n}}$$
(19)

とし、Pは

$$T_n \sim \exp\left(-2\int_{l_n}^{10^3} \sqrt{2U_n(a)}da\right)$$
(20)

から求めることができる。ここで、 $T_n \circ \rho_v$ に対す る依存性を見るために $T_n$ が十分大きい場合の領域 での計算を行うことにして、作為的な規格化を行っ ている。図 2 と同様に横軸に $\rho_v$ (単位はプランク



図 5.  $U_n(a)$ の a 依存性 (n < -2の場合).



図 6.  $\rho_v \geq T_n$ の関係 (n < -2の場合).

密度)を、縦軸に  $T_n$ をとって関係を示すと、図 6 のようになる。光速が一定の場合と異なり、式 (13) でn < -2の場合は、 $\rho_v$ が大きいほど Pが減少して いることが分かる。

## 討論

#### 光速が一定の場合

式 (6) より  $l_0$  はプランク長 $l_{pl}$ とプランク密度を用いて、

$$l_{0} = \left(\frac{8\pi}{3}\right)^{-\frac{1}{2}} l_{pl} \left(\frac{\rho_{v}}{\rho_{pl}}\right)^{-\frac{1}{2}},$$

$$l_{pl} = \sqrt{\frac{\hbar G}{c^{3}}} \approx 1.62 \times 10^{-35} \,\mathrm{m}$$
(21)

と書ける。これより、 $\rho_v$ が大きくなるほど $l_0$ が小 さくなることが分かる。つまり、宇宙生成時に通 り抜けるべきエネルギーの壁が薄くなる。また、  $U_0(a)$ の極大値は式(16)のn=0の場合であり、

$$U_{0}\left(\frac{l_{0}}{\sqrt{2}}\right) = \frac{1}{2}\left(\frac{3\pi c^{2}}{2G}\right)^{2} \frac{3}{32\pi} l_{pl}^{2} \left(\frac{\rho_{\nu}}{\rho_{pl}}\right)^{-1} (22)$$

となる。式 (22) から $\rho_v$ が大きくなるほどこの値が 小さくなることが分かる。つまり、通り抜けるべき エネルギーの壁が低くなる。エネルギーの壁が薄く 低くなるということは、壁を通り抜けやすくなる ということである。これは、 $\rho_v$ が大きくなるほど Pが高くなることを意味しており、結果と一致する。

#### 光速が時間的に変化する場合

式(15)より*l<sub>n</sub>*も同様に

$$l_n = \left(\frac{3}{16\pi}\right)^{\frac{1}{2}} \left(\frac{n+2}{n+1}\right)^{\frac{1}{2}} l_{pl} \left(\frac{\rho_v}{\rho_{pl}}\right)^{-\frac{1}{2}}$$
(23)

と書け、 $\rho_v$ が大きくなるほど $l_n$ が小さくなること が分かる。また、 $U_n(a)$ の極大値は式(16)より

$$U_{n}\left(l_{n}\sqrt{\frac{n+1}{n+2}}\right) = \frac{1}{2}\left(\frac{3\pi c^{2}}{2G}\right)^{2}\left(\frac{3}{16\pi}\right)^{n+1}\frac{s^{2}}{(n+1)(n+2)}l_{pl}^{2(n+2)}\left(\frac{\rho_{v}}{\rho_{pl}}\right)^{-(n+1)}$$
 (24)

と書ける。極大値の $\rho_v$ 依存性はnの値によって異なる。

(i)*n*>-1のとき

 $l_n$ が小さくなるということは、n > -1の場合においては通り抜けるベきエネルギーの壁が薄くなるということである。また、極大値は $\rho_v$ が大きくなるほど小さくなり、通り抜けるベきエネルギーの壁は低くなる。つまり、 $\rho_v$ が大きくなるほどPが増大することを意味しており、結果と一致する。

#### ( ii ) *n* <−2 のとき

 $l_n$ が小さくなるということは、n < -2の場合においては通り抜けるべきエネルギーの壁が厚くなるということである。また、極大値は $\rho_v$ が大きくなるほど大きくなり、通り抜けるべきエネルギーの壁は高くなる。エネルギーの壁が厚く高くなるということは、壁を通りにくくなるということである。これは、 $\rho_v$ が大きくなるほどPが減少することを意味しており、結果と一致する。

#### まとめ

本研究では、ビレンキンの宇宙創生モデルに基づい て宇宙生成の確率と真空のエネルギーとの関係を計 算した。光速が一定の場合を含んだ n >-1 のとき は、真空のエネルギーが大きいほど宇宙の生成確率 が高くなり、一方 n <-2 のときは真空のエネルギ ーが小さいほど宇宙生成の確率が高くなる。つまり、 光速がスケールファクターの何乗に比例するかによ って依存性が変化することが分かった。

我々の宇宙の真空のエネルギー密度はほぼ現在の 臨界密度で与えられるが、その値は 10<sup>-26</sup>kg·m<sup>-3</sup> で ある。この値は、本研究で用いたプランク密度(約 10<sup>96</sup>kg·m<sup>-3</sup>)の約 10<sup>122</sup>分の1の大きさである。つ まり、臨界密度はプランク密度に比べて非常に小 さいため、ビレンキンのオリジナルモデルにおいて 我々の宇宙のような真空のエネルギーを持つ宇宙は 非常に生成されにくい。それに比べて、光速の時間 的変化を考えると、n <-2 ならば我々の宇宙が相 対的に生成されやすくなることが確かめられた。

今回は、ビレンキンの宇宙創生モデルに基づいて、 光速が一定の場合と光速が時間的に変化する場合と いう単純なモデルでの宇宙の生成確率の真空のエネ ルギーに対する依存性を明らかにした。今後の展望 としては、より一般的な場合についての依存性を計 算することにより、どのようなモデルならば我々の 宇宙が生成されやすいか、また、どのような真空の エネルギーの値をもつ宇宙が生成されやすいか、に ついて追及していくことが挙げられる。

## 謝辞

本研究の一部は、2009年度神奈川大学総合理学研 究所共同研究助成を受けて行いました。所長ならび に所員各位に深謝いたします。

## 文献

- 1) 佐藤勝彦 (1996) 相対性理論. 岩波書店, 東京.
- 2) Albrecht A and Magueijo J (1999) A time varying

speed of light as a solution to cosmological puzzles. *Phys. Rev.* D 59 043516 arXiv: 9811018v2 [astro-ph].

- 3) Yurov AV and Yurov VA (2008) Quantum creation of a universe with varying speed of light: - problem and instantons. arXiv: 0812.4738v1 [hep-th].
- 4) Ellis GFR and Uzan JP (2005) 'c' is the speed of light, isn't it? Am. J. Phys. 73 240 arXiv: 0305099v2 [gr-gc].

■原 著■ 2009 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

# 湘南ひらつかキャンパス(SHC)天文台可視光観測システムの立ち上げ および太陽系外惑星 HD189733b のトランジット観測

本田充彦<sup>1,2</sup> 長澤倫康<sup>1</sup> 粕谷伸太<sup>1</sup>

Development of an Optical Observation System at Shonan Hiratsuka Campus (SHC) Observatory and Transit Observations of the Extrasolar Planet HD189733b

## Mitsuhiko Honda<sup>1,2</sup>, Michiyasu Nagasawa<sup>1</sup> and Shinta Kasuya<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Information Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

 $^{2}\;$  To whom correspondence should be addressed. E-mail: hondamt@kanagawa-u.ac.jp

Abstract: An optical observation system for imaging and photometry was installed at SHC (Shonan Hiratsuka Campus) observatory. This system consists of a 35 cm diameter telescope (Meade LX200R-35) and a cooled CCD camera (SBIG STL-1001E) with an additional guiding system. For performance verification of this system, we made observations of a transit of extrasolar planet HD189733b. A clear signature of the transit was successfully detected, and we derived the planet's radius  $Rp = 1.17 \pm 0.08 R_J$  and orbital inclination I =  $85.6 \pm 0.7^{\circ}$  under simple assumptions. These values are consistent with previous studies demonstrating that it is ready for further observational studies, such as monitoring the variation of orbital parameters due to perturbation from other planets. However, it was also found that the measured photometric accuracy was much worse than expected. We showed some improvement plans for observation and data reduction, which will contribute to the improvement of photometric accuracy.

Keywords: optical photometry, extrasolar planets, transit

## 序論

#### "Are we alone ?"

この広い宇宙において、人類は唯一の生命体なの だろうか?この人類共通の普遍的な問いに対し、科 学者は未だ明快な答えを導き出していないが、それ に至る重要なステップとしての太陽系外惑星の検出 が1995年に初めて成された1)。以来、2010年3 月16日現在431個もの惑星が発見されており、4 桁に迫るのも時間の問題であろう。また、系外惑星 の発見数の増加という量的な進展もさることなが ら、質的な進展も大きい。太陽系の惑星を見ても分 かるように、一口に惑星といってもその特徴は多様 であることは容易に理解できる。太陽系の惑星は、 その主成分から大きく3種程度に分類される。岩石 質からなる地球型惑星、主に水素・ヘリウムガスか らなる木星型惑星(巨大ガス惑星とも呼ばれる)、 さらに天王星型惑星(ガスよりも氷コア成分が多い) である。実はこれまでに発見された惑星のほとんど

は木星型の巨大ガス惑星、または天王星型の氷惑星 であり、おそらく生命の存在は難しいと考えられて いる。しかし、2009年にようやく岩石質な地球型 惑星 CoRoT-7bが発見され<sup>2,3)</sup>、惑星表面において 水が液体で存在できる"ハビタブルゾーン"に入る 地球型惑星、まさに第2の地球の発見も目前に迫っ ているといえるだろう。そのような惑星が見つかれ ば、いよいよその惑星の大気等にオゾンやその他の バイオマーカー(生命活動の兆候)が存在するかど うかの観測がなされ、地球外生命の存在を科学的に 議論できるかもしれない。このように、一昔前では 太陽系外惑星や太陽系外生命体という空想科学の世 界の話であったものが、現代天文学の非常にホット な研究分野となっている。

さて、ここで系外惑星の観測手法の現状について 簡単にまとめてみる。系外惑星の観測手法は大きく 直接的手法と間接的手法に分かれる。直接的手法は



図 1. SHC 天文台の直径3m天体観測ドーム.

惑星からの光そのものを検出する手法である。しか し、惑星は主星より圧倒的に暗くかつ主星の近傍に あるため、直接検出は観測的に大変難しい。ようや く 2008年11月になって直接撮像に成功との報告 がなされた4。このように直接(撮像)観測は大変 難しいため、さまざまな間接的観測手法が模索され た。間接的手法とは、惑星の存在によってもたらさ れる主星や背景星等の視線速度・光度の変化を検出 することで、間接的に惑星の存在を検出するという 観測手法である。その一つである「視線速度法(ド ップラー法)」は、惑星によりもたらされる主星の 視線速度の周期的なふらつきを、高波長分解能分光 観測により検出するという手法である。1995年の 人類初の太陽系外惑星の検出もこの手法でなされて おり、系外惑星の検出のかなりの数がこの手法によ っている。次に近年精力的に試みられているのが「ト ランジット法」である。これは惑星が公転運動中に 主星の前を横切ること(食)によって中心星が周期 的に減光することを測定する方法である。例えば、 太陽系外から太陽を観測したとして、木星によるト ランジットを観測した場合、約1%程度の減光を観 測できると予想できる。この程度であれば、市販の 観測機材を用いて注意深く観測・解析をおこなえば 十分に検出が可能であるため、近年精力的にすすめ られている。また、地球大気による観測精度劣化の ない宇宙にトランジット観測専用の衛星を打ち上げ ての観測も進められており、2006年にフランスは CoRoT、2009年にアメリカは Kepler という衛星 を打ち上げて、続々と成果が出つつある。その他の 間接的手法として、「マイクロレンズ法」、「アスト ロメトリ法」等があるが、今回は直接の関係がない ので省略する。

そのような状況の中、神奈川大学ひらつかキャン



図 2. LX200R-35 望遠鏡と冷却 CCD カメラ STL-1001E.

パス (SHC) で 2008 年に天文台を立ち上げることと なった。観測機材の導入・整備等をすすめ、ようや く基本的な可視光における測光観測ができるシステ ムがほぼ整備されたので、その性能試験観測として、 既知の系外惑星トランジットの観測を行ったので報 告する。また、そこで出てきた観測システムの問題・ 課題などを指摘し、今後の研究の方向性について議 論する。

## 方法:観測機材と観測・データ解析 望遠鏡および観測装置

湘南平塚キャンパスハイテク研究棟脇に設置された ヒューマンコム(株)製3m天体観測ドームの中に、 Meade 社製のLX200R-35と呼ばれる35cm反射望 遠鏡を設置した(図1,2)。一般にカセグレン型の 望遠鏡は、屈折望遠鏡やニュートン式反射望遠鏡に 比べ比較的大口径望遠鏡をコンパクトに導入できる という特徴がある。また、フォーク式架台はドイツ 式赤道儀に比べて子午線通過前後での架台姿勢変更 の必要がなく、実際の観測運用が容易であるという 特色がある。以上の点を含めて、望遠鏡と架台を含 めたシステムとしての実用性・コストの観点から当 該機の導入を選定した。主要なスペックは表1にま とめてある。

また、望遠鏡に取り付ける観測機材として、 Santa Barbara Instrument Group (SBIG) 製 の STL-1001E 冷却 CCD カメラを 2009 年 5 月に導入 した。当該機は CCD チップに比較的ダイナミック レンジが大きい Kodak 製 KAF-1001E を搭載して おり、天体の測光観測用途に向いている。また、天 体観測用途として、CCD の暗電流を減らすための 冷却機能を持っている。こちらの主な仕様も表2に まとめてある。なお、天文学における測光観測シス テムとして標準的な Johnson-Cousins システムの U, B, V, Rc, Ic の5色のフィルタも導入してある。 また、本機は天体の追尾誤差を補正するためのセル フガイドチップを内蔵しているが、望遠鏡の焦点距 離が長く、かつチップが小さいためガイド星が見つ

表 1. LX200R-35 望遠鏡の主な仕様

有効口径	356 mm
焦点距離(f值)	3556 mm (f/10)
光学系	リッチークレチアン式
	(カセグレン型)
架台	自動導入内蔵フォーク式経緯台
導入精度	1 arcmin

表 2. 冷却 CCD カメラ STL-1001E の主な仕様

使用 CCD chip	Kodak KAF-1001E NABG
冷却能力	外気温-40℃(空冷時)
画素サイズ	$24.6~\mu\mathrm{m} imes24.6~\mu\mathrm{m}$
画素数	$1024~{ m pixel}  imes 1024~{ m pixel}$
フィルタ	2 inch 径フィルタ 5 枚内蔵
	(Johnson-Cousins UBVRcIc)
最大電荷容量	200,000 e- / pixel
暗電流	9 e- / sec @ 0°C
読出ノイズ	14.8 e-
ゲイン	2 e-/ADU
読み出し時間	~2.5 sec (USB1 接続のため)



図 3. R-band 観測画像例.ターゲットの HD189733 と 比較星 HD345459 の位置を示している.

からないことが多く、実際には外付けのサブスコー プを用いてガイドをせざるを得なかった。

#### 系外惑星 HD189733b トランジットの観測

本観測システムの性能試験観測も兼ねて、系外惑 星 HD189733b による主星 HD189733 の恒星面通 過(トランジット)観測を行った。HD189733を観 測対象に選んだのはV等級が7等台と明るく、トラ ンジットの検出が比較的容易であるからである。観 測は日本時間 2009 年 10 月 13 日 20 時 40 分~23 時40分にかけてSHC 天文台のLX200R-35 望遠 鏡に、SBIG STL-1001E を取り付けて行われた<sup>注1</sup>。 CCD チップの設定温度は-5℃とした。観測には Johnson-Cousins システムの R-band フィルタ(中 心波長 λc=630 nm、波長幅△ λ<sub>FWHM</sub>=118 nm)を用 いた。これは大気透過率変動の影響が少ない波長帯 であるからである。天体がR等級で7.1等級と明る いため画素電荷の飽和を防ぐために、最初は1枚あ たりの積分時間を3秒に抑えて画像を取得した。し かし、画像の読み出しに約2.5秒以上かかるため、 観測効率が50%程度と低くなってしまった。そこで、 その後ピントを多少ぼかすことで恒星の光を多めの 画素に分散させ、飽和しない積分時間を6秒まで伸 ばし、観測効率を約70%に向上させて観測を継続 した。最終的に 3sec 積分画像を 537 枚、6sec 積分 画像を482枚取得した。典型的な観測画像は図3に 示した。また、サブスコープ(口径 80mm 焦点距 離 480mm 屈折望遠鏡)を同架し、別の冷却 CCD カメラ ST-402ME を用いてガイディングを行った。 ガイディングとは、架台によるトラッキング(日周 運動追尾)のみでは完全に天体を追尾できない誤差 を、星の位置を別に観測してズレをフィードバック して補正することである。本来はSTL-1001E内蔵 のガイドチップを用いてガイドするのがベストであ るが、ガイド星が見つからなかったため、別の方法 をとった。それでも、観測中に数100 画素にわたる 視野移動が生じた。これはガイドスコープの焦点距 離が短いことと、ガイドスコープと望遠鏡の機械的 変形の差に由来すると考えられる。

#### 観測データ解析(1 次処理と開口測光)

まず、観測データから検出器・観測機器の影響を取 り除く1次処理として、暗電流(ダーク)引き、お よび画素間の感度ムラ補正(感度の平滑化、フラッ トフィールディング)を行なう。ダーク画像として、

<sup>&</sup>lt;sup>注1</sup> トランジット予想時刻は Exoplanet Transit Database (http://var2.astro.cz/ETD/index.php)を参照

シャッターを閉じたまま、観測画像と同じ積分時間 の画像を15枚取得した。宇宙線の影響を避けるため、 この15枚の中央値をとって平均化し、マスターダ ーク画像を作成した。このマスターダーク画像を各 観測画像から差し引き、暗電流の影響を除去した。

次に、画素間の感度ムラの補正をおこなう。画素 間の感度は検出器そのものの感度ムラに加えて、光 学系のケラレなどによる周辺減光も含めて一様では ない。そこで、観測時と同じセッティングで一様面 光源の画像を取得し、これをダーク引き・規格化す ることで画素間の相対的な感度を示す画像(フラッ トフレームという)を作成することができる。ダー ク引き済の観測画像をこのフラットフレームで割る ことで、画素間の相対的な感度ムラを補正すること ができる。原理は単純であるが、精度の良いフラッ トフレームをどのように作成するかには様々な手法 があり、状況によって最も良い手法は異なる。今回 はトワイライトスカイフラットと呼ばれる手法で作 成した。これは、薄明時の空を一様面光源として用 いる方法である。薄明の空に望遠鏡を向けて、望遠 鏡を動かしながら画像を取得し、ダーク引き、規格 化を行い、複数画像で中央値をとることで写った天 体・宇宙線の影響を除去し、フラット画像を作成し た。作成したトワイライトスカイフラット画像が図 4 である。この図を見ても分かるように、四隅では 大きくケラレが発生している。また、四隅以外でも 周辺に向かってなだらかに効率の低下が見られ、天 体の位置によって、天体からのカウントに数%以 上の系統的なズレが生じると予想できる。よって、 この影響を除去するため、ダーク補正をした天体観 測画像をフラットフレームで割り、画素間の感度ム ラ補正をおこなった画像を作成した。

以上の1次処理を終えた画像に対し、天体からの 光の強度を測定する測光解析をおこなう。なお、こ こでの測光は相対測光であり、明るさが既知の星 を基準に未知の天体の明るさを計測する手法であ る。測光解析手法にもいくつかあるが、ここでは一 般的な開口測光を行う。開口測光とは、観測画像に おいて天体像の中心から、ある半径内のカウント 値(ADU = Analog to Digital Unit)の総和を、そ の天体からの信号として計測する方法である。明る さ既知の天体(比較星)と未知の天体のカウント値 総和を比較することで、未知の天体の明るさを求め る。ここでは、比較星として HD345459 (R=7.5 等 級; USNOB カタログ<sup>5</sup>より)を用いると、観測天 体である HD189733 の R 等級は 7.1 等級と導出さ れた。これは先行研究の結果と一致する。今回は明 るさの時間変化に興味があるので、トランジット前



図 4. 作成したトワイライトスカイフラット画像と1% 間隔で記した等高線.周辺減光が見られる.

の HD189733 の明るさで規格化し、3 分ごとの相対 的な明るさを図示したのが図5 である。時間として 日心準ユリウス日で表示した。

## 結果

## トランジットの検出

図5を見て分かるように日心準ユリウス日で約 55118.02日から約55118.10日にかけて、恒星 HD189733の明るさが約2%減光している。これは、 惑星 HD189733bのトランジットによると考えられ る。ここで、大雑把な近似ではあるが、恒星が一定 の面輝度で輝く円盤であり、惑星も光を通さない球 体であると近似すれば、この観測結果は惑星の断面 積が恒星の断面積の約2%であると単純に解釈で



図 5. HD189733 の明るさの時間変動観測結果.惑星 HD189733bによるトランジットが有意に検出されている.赤実線はフィットしたモデル光度曲線.

きる。このように近似すれば、そもそも恒星と惑星 の2体問題であるので惑星軌道は解析的に取り扱う ことができ、2体問題における軌道要素を決めれば、 モデル光度曲線を計算することが可能となる。よっ て、観測された光度曲線から、惑星の軌道要素につ いて制限を与えることを考える。

#### モデルフィットによる惑星系パラメータの導出

2体問題では運動の自由度に相当する6つの軌道要 素を指定すれば、軌道運動は一意に定まる。先行研 究から軌道離心率 e がほぼ 0 であることが知られて いるので、ここでは惑星軌道は円として扱う。ま た、軌道半径aもトランジット周期からケプラー の第3法則を用いて0.03099±0.0006 AU(天文単 位)と求まっているので既知として扱う<sup>6)</sup>。さらに、 今回は光度曲線のみに注目しているので、昇降点経 度は考慮しない。結局、軌道要素のフリーパラメー タとしては軌道傾斜角Iと位相を決める近点通過時 刻t0の2つとなる(なお、円軌道を仮定したため 近点が一意に定まらないため、ここではトランジッ ト中央時刻を t0 として扱う)。また、光度を扱うに 際し、恒星半径 Rs、惑星半径 Rp としたとき、惑 星断面積の恒星断面積に対する割合 (Rp/Rs)<sup>2</sup>もフ リーパラメータとした(図6)。

上記の3つのフリーパラメータを用いて、観測 光度曲線へフィッティングをおこなった結果、軌 道傾斜角 I = 85.6 ± 0.7°、トランジット中央時刻 t0 = 55118.062 ± 0.004 HJD、 $(Rp/Rs)^2 = 0.023 \pm$ 0.003 と求まった。これらのパラメータを用いたモ デル光度曲線が図5の赤実線である。なお、先行研 究では I = 85.58 ± 0.06°と求まっており、我々の 求めた値は矛盾しない<sup>60</sup>。また、惑星断面積の割合  $(Rs/Rp)^2$ から、恒星半径 Rs=0.788 R<sub>Sun</sub>(太陽半径) を用いると、惑星半径が Rp = 1.17 ± 0.08 R<sub>J</sub>(木 星半径)と求まり、これも先行研究の Rp=1.154 ± 0.017 R<sub>J</sub>と一致している<sup>60</sup>。



図 6. モデルで想定する惑星系の状況.

## 討論

#### 惑星の平均密度の推測

惑星 HD189733b はトランジット法だけでなく、ド ップラー法でも主星の視線速度の周期的な変動が 検出されており、そこから惑星の質量 Mp(正確に は Mp sin I) が求められている。トランジット法 では惑星の半径 Rp と軌道傾斜角 I が求められてい るので、2つの観測手法の結果を組み合わせること で、惑星の平均的な密度を導出することができる。 実際に、我々の求めた値と、ドップラー法により 求められた惑星質量 Mp=1.14 ± 0.06 MJ(木星質 量)を用いると<sup>60</sup>、平均密度  $\rho$  = 0.96 ± 0.20 gcm<sup>-3</sup> と求まる。木星の平均密度  $\rho$  = 1.33 gcm<sup>-3</sup>、土星 の平均密度  $\rho$ s = 0.69 gcm<sup>-3</sup> なので、土星と木星の 中間的な密度であることが分かり、いずれにせよ HD189733b は巨大ガス惑星と考えて矛盾しない。

#### 今後の展開:惑星の軌道要素のモニタ観測

SHC 天文台に設置した LX200R-35 望遠鏡と冷却 CCD カメラ STL-1001E を用いて、系外惑星 HD189733bのトランジットの検出に成功した。簡単なモデルを用いて観測から求めた惑星半径、軌道 傾斜角、および平均密度等は先行研究と矛盾しない ものであった。以上より本観測システムは測光観測 的研究に使用できることを検証できた。

今後の展開としてまず考えられるのは、トラン ジット周期のモニタリング観測である。惑星と恒星 の2体問題であれば、トランジット周期などの軌道 要素は時間的に一定である。しかし、惑星が複数存 在するとすれば、第3体の摂動により、例えばト ランジット周期などの変動(TTV; Transit Timing Variability)が起こる可能性が指摘されている<sup>¬</sup>。 これは、19世紀に天王星への摂動から海王星が発見 された状況に似ている。また、トランジット周期だ けでなく、軌道傾斜角がTrES-2bにおいて徐々に変 化しているという報告もあり<sup>®</sup>、離心率等のさまざ まな惑星軌道要素のモニタリング観測の重要性が指 摘されている。よって、今後の方向性としては、発 見された系外惑星トランジット観測を継続し、軌道 要素の時間変化を調べるモニタ観測を考えている。

#### 技術的な課題:観測測光精度の向上

技術的な面での課題としてまず挙げられるのが、測 光観測精度の向上である。今回、観測結果の解釈に おいて、簡単なモデルを仮定したが、これはデータ の SN が限られているため、モデルパラメータの数 を減らすことが念頭にあった。実際には恒星は等面 輝度ではありえないし、惑星大気なども考慮すると トランジットの光度曲線は単純な幾何学的考察では 求められなくなる。また、惑星の反射光なども無視 している。ただし、これらの影響を評価するには、 もっとS/N比の良いデータが必要である。そこで、 観測・解析手法の改善により、観測精度の向上に取 り組みたいと考えている。具体的な精度向上のポイ ントを以下に挙げる。

(1) 広視野化による複数の明るい比較星の確保

今回比較星として HD345459 のみを用いたが、 複数の比較星を用いたアンサンブル測光をおこなう ことで、比較星に由来したノイズの増大を最小限に 抑えることが可能となる。しかし、今回は観測視野 が狭いため、残念ながら観測ターゲットより明るい 比較星を1つしか確保できなかった。そこで、焦点 距離を短縮する光学系(レデューサ)を導入し、広 視野化することで比較星を複数確保すべきである。 (2) ガイディングエラーの低減

今回、サブスコープを用いてガイドをおこなった が、機械的なたわみに由来した観測視野のシフト(ガ イディングエラー)が観測中に顕著に見られた。ガ イディングエラーが生じると、天体からの光は時間 とともに異なるピクセルに入るため、フラット補正 精度が最終的な測光精度に大きく影響する。しかし、 そもそもガイディングエラーを無くせられれば、ほ ぼ同じピクセルで天体を観測することになるので、 異なるピクセル間の感度ムラによるノイズの混入を 減らすことができる。よって、サブスコープの取り 付け方法等を再検討し、ガイディングエラーを極力 減らすべきである。

#### (3) フラット補正手法の精度評価

今回はピクセル間感度ムラの補正にトワイライト スカイフラットを用いた。本観測システムにおいて、 この方法がベストかどうかは別に評価する必要があ る。フラット画像の別の作成方法には、一様面光源 を観測する方法、積分球を作成しその内部を観測す る方法等がある。これらの手法の中でどの手法が最 も精度が良い結果が得られるかを評価していきたい。

上記以外にも CCD チップの適切な設定温度の評価、ダークの安定性評価、GPS 受信機を導入した 観測用 PC 時刻の同期補正など、観測システムの性 能改善・評価を積み重ねていく必要がある。

定量的にどのくらいの測光精度改善の可能性があ るのかを、観測データから見積もってみたのが表3 である。この表から分かるように、原理的な検出限 界に対して、約4等級もの精度の劣化が見られる。

表	3.	本観測	シス	テム	の現状	の検	出限	界
---	----	-----	----	----	-----	----	----	---

	1 分積分 10σ R 等級
測光限界 (実測)	9.6 等級
ポアソンノイズ限界	13.6 等級

よって、この精度劣化をもたらしているノイズ源を 特定し低減できれば、測光精度のかなりの向上が期 待できる。

#### 本観測システムを用いた他の研究可能性

最後に、本観測システムを用いたその他の観測的 研究の可能性について触れておきたい。本観測シス テムは可視測光という基本的な観測機能を持つの で、トランジット観測に限らず、様々な観測的研究 テーマが可能である。一般に大口径望遠鏡のニーズ は高いため、そのマシンタイム(観測時間)を自由 に確保することは難しい。一方、本観測システムの ような小口径望遠鏡は、豊富な観測時間を生かして、 時間変動を追うようなテーマや突発的な現象の観測 に向いているといえる。たとえば、種々の変光星光 度変化の観測、小惑星の変光観測による形状の推定、 Ia型に限らない超新星の測光モニタ観測等、観測 的研究テーマは無数にある。

また、光赤外線の天体観測・解析手法は、望遠鏡 の大小に関係なく基本的に共通である。よって、本 観測システムで観測研究の経験をつめば、すばる望 遠鏡等の一般公募観測へ観測提案を応募することで、 大口径望遠鏡を用いた観測研究へ発展させることも 十分可能である。そのための第一歩として、本観測 システムで観測経験をつむことは大変有益である。

#### 謝辞

まずはじめに、情報科学科諸先生方の資金的な面を 含めた様々なご協力に深く感謝いたします。並びに、 総合理学研究所共同研究助成に採択していただき、 ありがとうございました。

## 文献

- 1) Mayor M and Queloz D (1995) A Jupiter-mass companion to a solar-type star. *Nature* **378**: 355-359.
- 2) Léger A, Rouan D, Schneider J, Barge P, Fridlund M, Samuel B, Ollivier M, Guenther E, Deleuil M, Deeg H J, Auvergne M, Alonso R, Aigrain S, Alapini A, Almenara J M, Baglin A, Barbieri M, Bruntt H, Bordé P, Bouchy F, Cabrera J, Catala C, Carone L, Carpano S, Csizmadia Sz, Dvorak R, Erikson A, Ferraz-Mello S, Foing B, Fressin F, Gandolfi D, Gillon M, Gondoin Ph, Grasset O, Guillot T, Hatzes A, Hébrard G, Jorda L, Lammer H, Llebaria A, Loeillet B, Mayor M, Mazeh T, Moutou C, Pätzold M, Pont F, Queloz D, Rauer H, Renner S, Samadi R, Shporer A, Sotin Ch, Tingley B, Wuchterl G, Adda M, Agogu P, Appourchaux T, Ballans H, Baron P, Beaufort T, Bellenger R, Berlin R, Bernardi P, Blouin D, Baudin F, Bodin P, Boisnard L, Boit L, Bonneau F, Borzeix S, Briet R, Buey J-T, Butler B, Cailleau D, Cautain R, Chabaud P-Y, Chaintreuil S, Chiavassa

F, Costes V, Cuna Parrho V, de Oliveira Fialho F, Decaudin M, Defise J-M, Djalal S, Epstein G, Exil G-E, Fauré C, Fenouillet T, Gaboriaud A, Gallic A, Gamet P, Gavalda P, Grolleau E, Gruneisen R, Gueguen L, Guis V, Guivarc' h V, Guterman P, Hallouard D, Hasiba J, Heuripeau, F Huntzinger G, Hustaix H, Imad C, Imbert C, Johlander B, Jouret M, Journoud P, Karioty F, Kerjean L, Lafaille V, Lafond L, Lam-Trong T, Landiech P, Lapeyrere V, Larqué T, Laudet P, Lautier N, Lecann H, Lefevre L, Leruyet B, Levacher P, Magnan A, Mazy E, Mertens F, Mesnager J-M, Meunier J-C, Michel J-P, Monjoin W, Naudet D, Nguyen-Kim K, Orcesi J-L, Ottacher H, Perez R, Peter G, Plasson P, Plesseria J-Y, Pontet B, Pradines A, Quentin C, Reynaud J-L, Rolland G, Rollenhagen F, Romagnan R, Russ N, Schmidt R, Schwartz N, Sebbag I, Sedes G, Smit H, Steller M B, Sunter W, Surace C, Tello M, Tiphène D, Toulouse P, Ulmer B, Vandermarcq O, Vergnault E, Vuillemin A and Zanatta P (2009) Transiting exoplanets from the CoRoT space mission. VIII. CoRoT-7b: the first super-Earth with measured radius. Astronomy & Astrophysics 506: 287-302

3) Queloz D, Bouchy F, Moutou C, Hatzes A, Hébrard G, Alonso R, Auvergne M, Baglin A, Barbieri M, Barge P, Benz W, Bordé P, Deeg H J, Deleuil M, Dvorak R, Erikson A, Ferraz Mello S, Fridlund M, Gandolfi D, Gillon M, Guenther E, Guillot T, Jorda L, Hartmann M, Lammer H, Léger A, Llebaria A, Lovis C, Magain P, Mayor M, Mazeh T, Ollivier M, Pätzold M, Pepe F, Rauer H, Rouan D, Schneider J, Segransan D, Udry S and Wuchterl G (2009) The CoRoT-7 planetary system: two orbiting super-Earths. *Astronomy & Astrophysics* **506**: 303-319.

- 4) Marois C, Macintosh B, Barman T, Zuckerman B, Song I, Patience J, Lafrenière D and Doyon R (2008) Direct imaging of multiple planets orbiting the star HR 8799. Science **322**: 1348-1352.
- 5) Monet DG, Levine SE, Canzian B, Ables HD, Bird AR, Dahn CC, Guetter HH, Harris HC, Henden AA, Leggett SK, Levison HF, Luginbuhl CB, Martini J, Monet AKB, Munn JA, Pier JR, Rhodes AR, Riepe B, Sell S, Stone RC, Vrba FJ, Walker RL, Westerhout G, Brucato RJ, Reid IN, Schoening W, Hartley M, Read MA and Tritton SB (2003) The USNO-B Catalog. *Astronomical J.* **125**: 984-993.
- Torres G, Winn JN, and Holman MJ (2008) Improved parameters for extrasolar transiting planets. *Astrophysical J.* 677: 1324-1342.
- Agol E, Steffen J, Sari R, and Clarkson W (2005) On detecting terrestrial planets with timing of giant planet transits. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Soc.* 359: 567-579.
- Mislis D and Schmitt JHMM (2009) Detection of orbital parameter changes in the TrES-2 exoplanet? Astronomy and Astrophysics 500: L45-L49.

## ■原 著■ 2009 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

# 高温イオン注入により形成した Fe ナノ粒子を種とした 新しいカーボンナノチューブ成長法の研究

## 星野 靖<sup>1,2</sup> 有馬広記<sup>1</sup> 斎藤保直<sup>1</sup> 中田穣治<sup>1</sup>

## A New Growth Procedure of Carbon Nanotubes from Fe Nano-Particles Formed by Hot Ion-Implantation

## Yasushi Hoshino<sup>1,2</sup>, Hiroki Arima<sup>1</sup>, Yasunao Saito<sup>1</sup> and Jyoji Nakata<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Information Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

<sup>2</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: yhoshino@kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** We have investigated a new procedure of carbon nanotube (CNT) growth from Fe nano-particles formed by hot ion implantation at 600 and 1000°C in a thermally grown SiO<sub>2</sub> layer. An advantage of this method is that the size and the density of the nano-particles are readily controlled by the conditions of ion implantation. We found in the present study that the cluster formed by the 600°C implantation had a significantly uniform size with an average diameter of 2.6 nm and standard deviation of 0.6 nm. On the other hand, the size distribution of the 1000°C-implanted sample was slightly scattered around 3-13 nm. The cluster size mainly depends on the substrate temperature during implantation. We clearly observed some CNTs in the 1000°C-implanted sample treated by a micro wave-plasma-enhanced chemical vapor deposition (MPCVD) method. The region where CNTs were observed was limited to a narrow area however. In contrast, no CNT structure was observed in the 600°C-implanted sample. Carbon nano-wall (CNW) was grown on a bare SiO<sub>2</sub> layer by the MPCVD method. It is suggested that CNW growth is responsible for radical species of hydrocarbons generated by irradiated micro wave.

*Keywords:* carbon nanotube, ion implantation, micro wave-plasma-enhanced chemical vapor deposition

## 序論

カーボンナノチューブ(CNT)の発見以来、その 成長方法や応用に関する研究において、多くの研究 がなされてきた<sup>1,2)</sup>。CNTは、既存のデバイス構成 材料に比べ極めて優れた物性を有し、21世紀の新 しい電子デバイスを実現させる可能性がある。特に、 理論上の電気伝導度や熱伝導率は銅に比べ約10倍 という値を持ち、素子の高集積化に加え、省エネル ギーデバイスとなり得るポテンシャルを有する。ま た、螺旋度(カイラリティ)やチューブ直径により 電気伝導度やバンドギャップを制御することが可能 な稀有の材料でもある。さらに原材料である炭素は 地球上に豊富にあり、極めて地球環境に優しい素材 の一つであることも CNT が注目され研究が進めら れている理由の一つである。近年、非常に簡便な化 学気相蒸着法(CVD 法)による成長法が見出され、 着実に研究の底辺は広がりつつある。

しかし、このような夢のデバイスを実現するにあ たり、現在でも多くの克服すべき課題が残されてい ることも事実である。とりわけネックになっている のが CNT の成長制御法に関する点である。近年、 ナノメートルオーダーの触媒微粒子が CNT 成長の 核になることが報告され、これが突破口となり日本 を中心に活発に研究が進められている。これまでの 研究の中で、CNT の直径は触媒微粒子のサイズと 大きな相関があることが見出されているが、期待す る(1)サイズ (直径・長さ)、(2)表面形成密度、(3) 成長方向、(4)欠陥密度、(5)階層(単層・多層)お よび(6)カイラリティを持つ CNT の成長制御は未 だ実現していない。CNT の成長制御には、成長の 種となる微粒子の形成制御が必要になることから、 いかに所望の微粒子を形成するかがカギとなる。

本研究では、高温イオン注入を用いた新しい触媒 微粒子の形成・評価とこの表面に対して CNT の成 長を試みた。一般に、高温で絶縁膜基板中にイオン 注入された原子は互いに凝集して、均一な直径の ナノ粒子を形成することが知られている<sup>3-5</sup>。今回、 この現象を利用して作製したナノ粒子の原子レベ ルでの評価とその表面に対するマイクロ波プラズマ CVD (MPCVD) 法による CNT 成長の結果を報告 する。

## 方法

イオン注入は湘南ひらつかキャンパスの 200 kV 中 電流型イオン注入装置を用いた。この装置は、液体 窒素温度から 1000°C までの幅広い基板温度でイオ ン注入可能な特別仕様となっている。今回の注入に 用いた Fe<sup>+</sup>イオンは、Fe のリペラプレートを Ar プ ラズマによりスパッタすることにより得た。30 kV で引き出されたイオンは、電磁石により <sup>56</sup>Fe<sup>+</sup>のみ に質量分離され、さらに逆電場により 5 keV まで 減速した。表面近傍に高濃度で注入する目的から、 今回このような低エネルギー(5 keV)を選択した。 試料直前に設置されたファラデーカップにより計測 した電流密度は、~50 nA/cm<sup>2</sup> であった。

注入基板としては、Si (100) 基板上にウェット 酸化により約 200 nm 形成した SiO<sub>2</sub>/Si 試料を用い た。酸化膜厚は、エリプソメータにより評価した。 この SiO<sub>2</sub>/Si 試料に対して、5 keV で <sup>56</sup>Fe<sup>+</sup> イオン を基板温度 600°C および 1000°C で注入した。注入 量は 2 × 10<sup>16</sup> cm<sup>-2</sup> とした。TRIM コードを用いた イオン注入分布のモンテカルロ計算により、平均射 影飛程は約 8 nm、SiO<sub>2</sub> に対する Fe のピーク濃度 比は約 50 atoms% であった。なお表面スパッタリ ング効果による SiO<sub>2</sub> 膜のエッチングは、数 nm と 見積もられる。イオン注入により形成されたクラス ターの直径分布と結晶性は、高分解能電子顕微鏡 (TEM) 像および制限視野電子回折(SAD)を用いた。

CNT の形成には、周波数 2.45 GHz、出力 750 W のマイクロ波プラズマを用いた。まず Fe 注入 試料を約 8 × 8 mm<sup>2</sup> のサイズに切り出し、C 製の ホルダーに乗せた。ターボ分子ポンプで 10<sup>-7</sup> Torr まで真空引きした後、H<sub>2</sub> と CH<sub>4</sub> の混合ガスをそ れぞれ 200 sccm および 10 sccm の流量比で全圧 25 Torr 導入した。試料温度が 800°C に近づいた ところでマイクロ波を導入し、10 分間の成長を 行った。

## 結果と討論

20 nm

形成した Fe 微粒子のキャラクタリゼーション

図 1 に、基板温度 600°C (a),(b) および 1000°C (c),(d) で Fe 注入した試料に対する断面 TEM 像を示す。(b) および (d) は、形成微粒子の拡大図である。 なお、図 1(a),(c) に示した矢印は SiO<sub>2</sub> 表面に対応 する。なお SiO<sub>2</sub>/Si 界面はこの像内には観察されて いない。図中に示される黒いコントラストは、SiO<sub>2</sub> 中に注入され凝集した Fe クラスターである。観測 された Fe はほぼ TRIM シミュレーションから見積 もられた深さ分布に一致する。

まず図 1(a) から分かるように、基板温度 600°C で形成したクラスターはかなり均一なサイズを持っ ていることが分かる。一方、1000°C 注入試料は、 やや直径分布にばらつきがある。図 2 にそれぞれの TEM 像から見積もった微粒子の直径分布を示す。



図 1. 基板温度 600°C(a)(b) および 1000°C(c)(d) で Fe イ オンを注入した試料に対する断面 TEM 像.



図 2. 基板温度 600°C(a)(b) および 1000°C(c)(d) で Fe イ オンを注入した試料に対する断面 TEM 像.



図 3. 1000°C 注入試料に対して観察された SAD パターン.

基板温度 600°C で作製した Fe 微粒子の平均直径 は、2.6 nm、標準偏差は 0.6 nm であった。基板温 度 1000°C の試料では、それぞれ 6.1 nm、2.1 nm となり、直径のばらつきが大きくなった。このよう に粒子直径が大きくなった要因としては、熱拡散が 重要な役割を果たしていると考えられる。

次に図 1(d) から分かるように、1000°C 注入試料 には明瞭な格子縞が観察される。Siの格子面間隔 を基準に、このクラスターの格子面間隔を見積も ると 0.202 nm となり、α-Fe の {220} 面間隔と一 致する。図 3 に 1000°C 試料に対して観察された SAD パターンを示す。

図中に矢印で示したように、弱いハローリング の中に、α-Feの {220} 回折に対応するスポットお よびリングが観察された。このことからも、形成 した微粒子はα-Feと言える。α-Feは、常温で安 定な形態である。一方、600°C 注入試料では、この ような格子編はほとんど見られない。したがって、 600°C で作製したクラスターは非晶質になっている 可能性が高いと考えられる。

#### CNT の成長

MPCVD 法により上記作製試料に対して CNT の成 長を行った。図4に成長させた試料表面を撮影し た写真を示す。600°C および 1000°C ともにほぼ同 じような外観であった。図4に示す Region(A) は SiO₂ 膜がすべて CH₄/H₂ プラズマによりエッチン グされ、Si 表面が露出している。このように不均 ーなエッチングが起こる理由としては、プラズマ密 度の偏りが関係していると考えられる。この領域 (A) を走査電子顕微鏡 (SEM) により観察すると、 いずれの温度の試料に対しても、カーボンマイクロ ボールが観察された。

次に Region(B) に対して、観察した SEM 像を図 5 に示す。この領域では、グラフェンシートの 3 次



図 4. MPCVD 処理後の試料表面を撮影した写真.



図 5. 600°C(a) および 1000°C(b) 注入試料に対して MPCVD 処理をした後、領域 B を観察した SEM 像.

元構造体であるカーボンナノウォール (CNW)が 観察された。この CNW の下地は、SiO<sub>2</sub> がエッチ ングされずに残っている。

図6に領域(A)と(B)の境界域を観察したSEM 像を示す。それぞれ、600°C(a)および1000°C(b) 注入試料に対するものである。まず、600°C 試料 に対しては、領域(A)と同様にCNWが成長してい ることが分かる。一方、1000°C 注入試料に対して は、CNT が成長した。SEM の倍率から考えて、お そらく多層 CNT である可能性が高い。ここで、今 回 Fe 微結晶粒子はイオン注入法で形成しているた め、表面よりやや深い層に存在していることに注 目すると、このような境界領域にのみ CNT が形成 していることが説明できる。CNT の成長機構とし



図 6. 600°C(a) および 1000°C(b) 注入試料に対して MPCVD 処理をした後,領域AとBの境界域を観察した SEM 像.



図 7. CNT 成長機構の概略図.

ては、図7に示すように、プラズマによりSiO2が エッチングされ、表面に露出したFe 微粒子を種に CNTが形成したと推測される。このように、非常 に限られた領域のみにCNTが観察された要因とし ては、MPCVD法は炭素構造の成長と基板のエッ チングが競合した過程であることが考えられる。つ まり、エッチング速度の速い中心領域ではCNTが 成長する以前にSiO2およびFeが削り取られてし まい、一方、エッチング速度の遅い周辺部ではFe が表面に露出する前に、CNWが成長したと言える。 また、600°C注入試料に対して、CNTが観測され なかった原因としては、2つ考えられる。一つ目と しては、粒子径が非常に小さいため、周囲のSiお よびOによる影響が大きく、酸化物またはシリサ イドなど CNT 成長には不活性な触媒に変化した可 能性がある。また、もう一つの可能性としては、非 晶質粒子であることが CNT 成長に影響しているか もしれない。しかし現段階では、その原因は確定し ていない。

最後に、CNWの形成に関して考察する。今回、 MPCVD 法を用いると、触媒粒子の露出していな い周辺部 (領域 B)に CNW が観察された。そこで、 全く Fe を注入していない熱 SiO<sub>2</sub>/Si 基板上に上記 の条件で MPCVD を試みたところ、同様に CNW が成長した。一方、 $C_2H_4$  ガスを用いた熱 CVD 法 では、MPCVD 試料に見られた CNW は全く観察 されなかった。したがって、SiO<sub>2</sub> 上への CNW の 形成には、マイクロ波により生じた炭化水素活性種 またはイオンなどが重要な役割を果たしていると考 えられる。

#### 結論

600°C および 1000°C における高温イオン注入法に より SiO<sub>2</sub> 膜中に形成した Fe 微粒子を種とした新 しい CNT 成長を試みた。600°C で形成した Fe 微 粒子は極めて均一な直径分布を持つことが分かっ た。一方、1000°C 試料では、やや直径分布にばら つきがあるが、TEM 像では格子縞が観察された。 この微粒子の格子間隔および SAD パターンからα -Fe相であることが分かった。これらの試料に対し て MPCVD を行ったところ、プラズマ密度の偏り により不均一なエッチングが起こった。SiO<sub>2</sub>膜が 残っている周辺部では、いずれの試料も CNW が 観測された。一方、境界領域では、1000°C 注入試 料において CNT が成長した。しかし 600°C 注入 試料では、CNW のみが観測された。600°C におい て形成された Fe 微粒子は、CNT の成長の関して 不活性な種触媒となっていることが分かる。また、 MPCVD 法により触媒なしに SiO2 膜上に CNW が 成長したことから、マイクロ波プラズマにより形成 した活性炭化水素が CNW の成長に重要な役割を果 たしていると考えられる。

## 謝辞

本研究にあたり、情報科学科教員から多大な資金援助を受けました。この場を借りて、お礼申し上げます。また本研究に携わった中田研究室の卒業生、大学院修了生に感謝いたします。

## 文献

- Iijima S (1991) Helical microtubules of graphitic carbon. Nature 354: 56-58.
- 2) Bethune DS, Klang CH, de Vries MS, Gorman G, Savoy R, Vazquez J and Beyyers R (1993) Cobaltcatalysed growth of carbon nanotubes with singleatomic-layer walls. *Nature* 363: 605-607.
- Zhang GL, Liu WH, Xu F and Hu WX (1992) Preparation of Fe nanocrystalline in SiO<sub>2</sub> by ion implantation. *Appl. Phys. Lett.* 61: 2527-2529.
- 4) Nakajima A, Futatsuhi T, Nakano H, Usuki T, Hori-

guchi N and Yokoyama N (1998) Microstructure and electrical properties of Sn nanocrystals in thin, thermally grown  $SiO_2$  layers formed via low energy ion implantation. J. Appl. Phys. 84: 1316-1320.

5) Tsuji H, Arai N, Matsumoto T, Ueno K, Gotoh Y, Adachi K, Kotaki H and Ishikawa J (2004) Silver nanoparticle formation in thin oxide layer on silicon by silver-negative-ion implantation for Coulomb blockade at room temperature. *Appl. Surf. Sci.* 238: 132-137.
# ■原 著■

# 高周波分光法による PEG-H2O 混合系中の束縛水の定量分析

# 杉谷嘉則<sup>1,2,3</sup> 武井尊也<sup>1,2</sup>

# Quantitative Analysis of Bound Water in PEG-H<sub>2</sub>O Mixed System by High Frequency Spectroscopy

# Yoshinori Sugitani<sup>1,2,3</sup> and Takaya Takei<sup>1,2</sup>

- <sup>1</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan
- <sup>2</sup> Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan
- <sup>3</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: sugitani@kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** Application of High Frequency Spectroscopy (HFS) to the quantitative analysis of bound water in a PEG-H<sub>2</sub>O system is presented. HFS measurements were made during the melting process from a frozen state at -150 °C. Two obvious changes in resonance frequency f have been observed, one around -30°C, and the other between -20°C and 0 °C. These were assigned to the melting of bound and free water, respectively. From the amount of frequency change ( $\Delta f$ ), the changes of permittivity ( $\Delta e$ ) for the melting processes were estimated. In region  $X_W < 0.7$ , the increase of  $\Delta e$  arising from the increase of water content was relatively small, showing that water molecules are strongly bound to the polymer chain of PEG. On the other hand, at  $X_W > 0.7$ , the increase of  $\Delta e$  is large, showing the existence of free water molecules. These results were found to be in good agreement with those by DSC measurements.

*Keywords:* high frequency, quantitative analysis, dielectric constant, polymer, bound water, differential scanning calorimetry

#### 序論

ポリエチレングリコール(PEG)は、高い親水性を 示す粘稠な液体または固体であり、ゴム成形、繊維、 金属加工の際の潤滑剤や、化粧品、医薬品の原料(分 散剤)として広く用いられている。また最近では、 親水性表面と生体成分との相互作用の研究における 表面高水和性高分子層(拡散層)の作成にも利用さ れている14,この場合、基材表面に固定化された PEG が水和されることにより表面拡散層が形成さ れ、タンパク質などの生体成分の癒着(adhesion) を抑制すると考えられている。この様な PEG の多 様性は、水との特殊な相互作用に由来すると考え られている。PEG と同様に優れた生体適合性を示 す poly(2-methoxyethyl acrylate) (PMEA) を用い た研究から、freezable bound water の存在が血小 板適合性(platelet compatibility)の主要因(main factor) であるとしている<sup>5)</sup>。また高分子ゲル中の水 の状態や性質が、各種分離膜や液体クロマトグラフ

ィー用カラム充填剤の分離機構にとって重要である ことが知られており<sup>60</sup>、様々なLC用カラム充填剤 の含水高分子ゲル中の水の状態と、溶質分離選択性 との関係について検討した研究<sup>7-90</sup>なども行われて いる。このように、高分子中の水の状態やその量を 測定することは、様々な分野で重要となる。

PEG などの高分子中の、不凍水 (non-freezable bound water) や凍結可能束縛水 (freezable bound water) そして自由水の定量には、主に DSC が用 いられている<sup>10)</sup>。最近では、高分子マトリックス 中の潜熱水 (thermally latent water in a polymer matrix) を IR で検出する試み<sup>11)</sup> や、高速度の時 間分解赤外測定 (ultrafast infrared polarization selective pump-probe 測定) による水の OH 基 緩 和 ダイナミクスの研究などが行われている<sup>12)</sup>。

一方、我々は独自に開発した高周波分光法を用いて、溶液構造変化<sup>13-15)</sup>や高分子中に含まれる水



Fig. 1. High frequency spectra of various water mole fractions  $(X_W)$  at -150 °C . Curve (a), (b), and (c) show the spectrum of  $X_W = 0.50, 0.75$ , and 0.94 respectively.

分子の束縛状態変化<sup>16-18)</sup>について検討を行ってきた。さらに試料の凍結 – 融解過程における温度による共振周波数変化を温度で微分することにより、 DSC と非常に類似した結果が得られることを見出し、これを報告した<sup>19)</sup>。得られた結果は、DSC 測定結果<sup>20)</sup>や他の誘電測定結果<sup>21,22)</sup>と良い一致を示し、高分子中の水の新しい状態分析法として有用であることが示された。

そこで本研究では、高分子中に含まれる束縛状態 の異なる水の定量的解析について検討を行ったの で、これを報告する。

# 材料と方法

#### 試薬および試料調製

ポリエチレングリコールは分子量 1000 (Wako, 特級)を用いた。これと超純水を混合し、水のモル 分率が 0.5 から 1.0 の混合溶液を調製した。これを 40℃の恒温槽中で一週間保持し、PEG に対する水 和を十分進行させたものを測定試料とした。試料調 製に用いた超純水は、全て Milli-Q Academic A10 システムで精製したものを用いた。

#### 測定

PEG-H<sub>2</sub>O 混合溶液約 5mL をポリエチレン製試料 容器に入れ、測定用電極をセットした。この状態 で試料周囲に液体窒素を満たし-150℃まで急冷し、 試料を凍結させた。その後、試料周囲の液体窒素を 蒸散させながら徐々に昇温させ(heating rate:0.8



Fig. 2. High frequency spectra of various water mole fractions  $(X_W)$  at 20°C. Curve (a), (b), and (c) show the spectrum of  $X_W = 0.50, 0.75$ , and 0.94 respectively.

℃/min in average)、-150℃~室温までの温度範囲 で高周波分光測定を行った。測定中の試料温度は、 蛍光式温度計 (Anritsu meter co. Ltd., FL-2000)を 用いて計測した。

さらに調製した試料の一部を用いて DSC 測定 を行った。DSC 測定は、Rigaku の Thermoplus2, DSC8240D に冷却ユニットを装着したシステムを 用いて行った。測定温度範囲は -100℃~ 20℃、昇 温レートは 1℃ /min とした。

#### 結果と討論

Fig. 1 に、種々の水モル分率の試料の、-150℃での 高周波スペクトルを示す。図中の曲線(a), (b), (c) は、 それぞれ水モル分率 Xw = 0.50, 0.75, 0.94 のスペク トルを示している。図のように、いずれの水分率 でも 1650 MHz に共振周波数を示すスペクトルが 得られた。この温度では、ほとんどの水が凍結した 状態で存在すると考えられる。水の誘電率は液体状 態では約 80 と大きな値を示すが、凍結して固体状 態となると 3 ないし 4 程度まで大きく誘電が低下 することが知られている。このため水分率が多くて も誘電率の増加にはほとんど寄与できないため、凍 結状態では誘電率の差が生じず、いずれの水分率で もほぼ同じ共振周波数を示したと考えることができ る。

Fig. 2 に、種々の水モル分率の試料の、20℃における高周波分光スペクトルを示す。図中の曲線 (a),
(b) および (c) は、Fig.1 と同じく水モル分率 Xw=



Fig. 3. Resonance frequency change against temperature of PEG-H<sub>2</sub>O mixture of  $X_W = 0.75$  at melting process.

0.50, 0.75, 0.94 のスペクトルをそれぞれ示してい る。・150℃で測定したスペクトルでは、いずれの水 分率でも 1650 MHz 付近に観測された共振周波数 が、20℃では水分率の増加に伴って低周波側へシ フトしていることが分かる。これは凍結状態で大き く誘電が低下していた水が、融解することによりそ の誘電率の増加が起きるが、その割合は含まれる水 分率によって異なるため、このようなシフト量の差 として観測されたためである。

そこで、PEG·H₂O 混合試料の融解過程における 共振周波数変化を詳細に検討した結果を、Fig. 3 に 示す。水分率(Xw)は0.75 である。図のように、37 ℃より低温側ではほとんど共振周波数の変化は観測 されないが、これより高温側になると、急激な低周 波数側へのシフトが観測されている。この低周波数 側へのシフトは、・20℃付近で一旦緩やかとなり、そ の後・10℃ 付近から再び急激なシフトを示した。高 周波分光法における共振周波数変化は試料の誘電率 変化に対応したものであるため、これらの変化から 異なる融解温度を示す束縛状態の異なる水の存在が 示唆される。低温で融解を示す成分(低融点成分) は高分子からの強い束縛を受けた束縛水、高温で融 解する成分(高融点成分)は、高分子の束縛をあま り受けていない自由水に対応すると考えられる。

そこで、種々の水モル分率で調整した試料の、融 解過程について高周波分光測定を行い、得られた温 度による周波数変化の、温度による微分解析を行 った。その結果を Fig. 4 に示す。 $X_w = 0.50$  では、



Fig. 4. Plots of df/dT against temperature of sample of molar fraction  $X_W = 0.50, 0.71, 0.85, 0.88$ , and 0.91.

-35 ℃付近に鋭いピークが見られた。Xw = 0.71 に なると、Xw = 0.50 と比べて -40℃ から -20℃ に掛 けてのピーク面積が広がっており、水分率の増加と 共に低融点成分(束縛水)が増加していることを示 唆している。また -10℃ 付近にわずかなピークが観 測されている。このピークは水モル分率が増えるに 従って強くなり、また徐々に高温側にシフトしてい ることから、自由水の融解に基づくピークであると 帰属できる。この自由水の融解ピークは、水分率の 増加に従いピーク面積が増加し、かつ高温側へピー クがシフトしていた。

同様に測定を行った DSC の結果を、Fig. 5 に示 す。図のように  $X_W = 0.50$  では -30 ℃付近に吸熱ピ ークが観測された。これは束縛水の融解に対応した ピークである。 $X_W = 0.71$  になると、-30 ℃ 付近の 吸熱ピークが大きくなり、束縛水の量が増加してい ることを示している。 $X_W = 0.85$  になると、-30 ℃ 付近の吸熱ピークの他にさらに高温側に新たな吸熱 ピークが観測された。これは自由水の融解による吸 熱ピークである。 $X_W = 0.88$  になると、高温側の吸 熱ピークが大きくなり、水分率の増加によって自由 水の量が増えていることを示している。この傾向は  $X_W = 0.91$  でも同様であった。また融解ピーク温度 は水分率の増加に従い、高温側へのシフトを示して いた。

Fig. 4 および Fig. 5 を比較すると、両者の融解 挙動が良く一致していることが分かる。このことか ら、PEG-H<sub>2</sub>O 混合試料の融解過程の高周波分光測



Fig. 5. DSC curves of the sample of mole fraction  $(X_W)$  0.50, 0.71, 0.85, 0.88 and 0.91.



そこで、PEG-H<sub>2</sub>O 混合試料の融解過程の、詳細 な解析を行った。Fig. 6 に、試料の融解過程の高 周波分光測定の結果の一例を示した。図は -40 $^{\circ}$  よ り高温側を拡大したものであるが、図から分かるよ うに、共振周波数の低周波数側へのシフトが二段階 に分かれていることが分かる。低融点成分の融解に 基づく波数シフトが開始する温度における共振周波 数を  $f_1$ 、終了したときの共振周波数を  $f_2$  とすると、 高周波分光法の原理より、

$$f_1 = \frac{A}{\sqrt{\varepsilon_1}} \tag{1}$$

$$f_2 = \frac{A}{\sqrt{\varepsilon_2}} \tag{2}$$

という、関係式が成り立つ。ここで *ε*<sub>1</sub>、*ε*<sub>2</sub>は、それぞれ凍結状態の試料の誘電率、束縛水が融解した後の試料の誘電率である。この関係式より*ε*<sub>1</sub>、*ε*<sub>2</sub>は、

$$\varepsilon_1 = \frac{A^2}{f_1^2} \tag{3}$$

$$\varepsilon_2 = \frac{A^2}{f_2^2} \tag{4}$$



Fig. 6. Schematic diagrams to obtain parameters used in calculation of  $\Delta \varepsilon$ .

として求めることができる。PEGの誘電率は非常 に小さく、共振周波数変化にほとんど関与しないた め、この融解過程における誘電率増加量  $\Delta \varepsilon$  は、融 解した束縛水の量に比例すると考えられる。 $\Delta \varepsilon$  は、 融解前後の試料誘電率の差として、

$$\Delta \varepsilon = \varepsilon_2 - \varepsilon_1 \tag{5}$$

で求められる。これを(3),(4)式を代入すると、

$$\Delta \varepsilon = \mathbf{A}^2 \times \frac{f_1^2 - f_2^2}{f_1^2 f_2^2}$$
(6)

となる。同様に高融点成分融解による誘電率変化量、 両成分を合わせたトータルの誘電率変化量 ( $\Delta \epsilon$ ',  $\Delta \epsilon$ ") も、図中の値を使って、

$$\Delta \varepsilon' = \mathbf{A}^2 \times \frac{f_{1'}{}^2 - f_{2'}{}^2}{f_{1'}{}^2 f_{2'}{}^2} \tag{7}$$

$$\Delta \varepsilon'' = \mathbf{A}^2 \times \frac{f_1''^2 - f_2''^2}{f_1''^2 f_2''^2} \tag{8}$$

と求めることができる。ここで A は装置定数であ り一定であるため、 $\Delta \epsilon$  は  $(f_1^2 - f_2^2)/(f_1^2 f_2^2)$  に比例する ことになる。

そこで、縦軸に  $(f_1^2 - f_2^2)/(f_1^2 f_2^2)$  の計算値、横軸に 試料の水分率を取り解析を行った結果を、Fig. 7 に



Fig. 7. Plots of  $(f_1^2 \cdot f_2^2)/(f_1^2 f_2^2)$  value vs. mole fraction of water.

示す。図のように水のモル分率が 0.5 から 0.7 付近 では高融点成分による誘電率増加はほとんど見られ ず、低融点成分の融解に基づく誘電率増加が主であ ることが分かる。水のモル分率が0.7を超えてくる と、高融点成分の融解に基づく誘電率増加が支配的 となり、低融点成分の融解の寄与率は徐々に低下す ることが分かった。水のモル分率が0.7の試料では、 エチレンオキシド1モルに対する水の付加モル数は 2.3 モルとなる。エチレンオキシドには二つの非共 有電子対が存在する。このため、このモル分率0.7 以下では、試料中に均一に水が分散した場合、全て の水分子が直接 EO 鎖に水和した束縛水として存在 することが考えられる。このような状態の水は、高 分子からの強い束縛を受けるため、交番電場に対す る配向分極が阻害され、誘電率が低下する。このた め融解しても誘電率の増加が僅かとなったと考えら れる。

これに対して水のモル分率が0.7より高くなる と、EO 鎖の非共有電子対への水和は既に充足され ているため水分子同士の会合が進み、自由水として 振る舞う水が徐々に増加していくものと考えられ る。このように水同士の会合が進むと、通常の水と 同様に交番電場に対する配向分極が可能となり、誘 電率の著しい増加が見られたと考えられる。

図中の直線は、それぞれモル分率 0.7 以下、0.7 以上の測定結果を用いて最小自乗計算した結果であ る。得られた直線の傾きを比較してみると、ほぼ 5 倍もの差となっている。これはモル分率 0.7 以下で



Fig. 8. Plots of heat of melting vs. mole fraction of water.

は、水が高分子からの束縛によって自由水の 1/5 程 度まで誘電率が低下していることを意味している。 自由水の誘電率を約 80 とすれば、束縛水の誘電率 は約 16 と見積もられる。この値は 1- ブタノール の 17.8、1-ペンタノールの 15.1 などと近く、OH 結合の片方がエチレンオキシドの非共有電子対に水 素結合によって強く束縛され、配向分極にほぼ寄与 できなくなっていることが示唆される。

Fig. 8 に、DSC 測定結果より得られた、束縛水、 自由水の融解熱量変化を示す。図のようにモル分率 0.7 以下では、束縛水の融解ピークのみが観測され た。モル分率 0.7 以上になると、自由水の融解ピー クが観測されはじめ、水分率の増加に従って束縛水 の融解熱量は減少、自由水の融解熱量は増加した。 この傾向は、高周波分光測定結果の挙動と同様であ り、モル分率 0.7 を境に自由水が生じてくることが 確認できた。またモル分率 0.7 前後での直線の傾き を求めたところ、約 5 倍の差となり、高周波分光 測定の結果と良い一致を示した。

以上の結果より、以下のことが言える。

- (1) 水モル分率 0.5 から 0.7 までは、PEG の酸素原 子の 2 つの非共有電子対に直接水和した束縛水 として存在する。
- (2) 水モル分率 0.7 以上では、高分子鎖による束縛 をあまり受けない、自由水が生成し始める。
- (3) 束縛水はエチレンオキシドからの束縛によって 配向分極が阻害され、誘電率が自由水の1/5程

度まで低下していると見積もられる。

(4) 高周波分光測定の結果と DSC 測定の結果が良 く一致しており、高周波分光測定によって得ら れる結果が、水の束縛状態に依存していること が確認された。

このように高周波分光測定は凍結・融解過程にお ける高分子中の水分子束縛状態の差を検出可能であ ることが見出された。同様の測定結果は、DSC 法 によっても得ることが可能であるが、高周波分光法 は電極が設置できれば試料の大きさに因らず測定可 能であるため、生体組織の凍結・融解過程の測定な ど、より広範囲な応用が期待される。

### 文献

- Mori Y, Nagaoka S, Takiuchi H, Tanzawa H and Nishiumi S (1982) Interaction between polymers with poly(ethylene oxide)(PEO) chains and blood components. *Jpn. J. Artif. Organs* 11: 971-974.
- Kishida A, Mishima K, Corretge E, Konishi H and Ikada Y (1992) Interactions of poly(ethylene glycol)grafted cellulose membranes with proteins and platelets. *Biomaterials* 13: 113-118.
- Tseng YC and Park K (1992) Synthesis of photoreactive poly(ethylene glycol) and it's application to the prevention of surface-induced platelet activation. J. Biomed. Mater. Res. 26: 373-391.
- Gombotz WR, Guanghui W, Horbett TA and Hoffman AS (1991) Protein adsorption to poly(ethylene oxide) surfaces. J. Biomed. Mater. Res. 25: 1547-1562.
- Tanaka M and Mochizuki A (2004) Effect of water structure on blood compatibility-thermal analysis of water in poly(meth)acrylate. J. Biomaterials Res. 68A:684-695.
- Taniguchi Y and Horigome S (1975) The states of water in cellulose acetate membranes. J. Appl. Polym. Sci. 19: 2743-2748.
- Shibukawa M, Ohta N and Onda N (1990) Investigation of the state of water in water-swollen hydrogels by liquid chromatography and differential scanning calorimetry. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 63: 3490-3494.
- Shibukawa M (2006) Studies on the states of water in separation media of aqueous liquid chromatography in relation to separation selectivity. *BUNSEKI KA-GAKU* 55: 149-162.
- 9) Shibukawa M, Ichikawa R, Baba T, Sakamoto R, Saito S and Oguma K (2008) Separation selectivity of aqueous polyethylene glycol-based separation systems: DSC, LC and aqueous two-phase extraction

studies. Polymer 49: 4168-4173.

- Hatakeyama T, Nakamura K and Hatakeyama H (1979) Determination of bound water contents adsorbed on polymers by differential scanning calorimetry. *Netsu Sokutei* 6: 50-52.
- Gemmei-Ide M, Ohya A and Kitano H (2010) Thermally latent water in a polymer matrix. J. Phys. Chem. B 114: 4310-4312.
- 12) Fenn EE, Moilanen DE, Levinger NE and Fayer MD (2009) Water dynamics and interactions in waterpolyether binary mixtures. J. Am. Chem. Soc. 131: 5530-5539.
- Takei T, Sugitani Y, Amano C and Nishimoto Y (1996) Dielectric property and micro-structure of wateralcohol solutions. *BUNSEKI KAGAKU* 45: 903-908.
- 14) Takei T, Amano C, Nishimoto Y and Sugitani Y (1997) Stepwise change in the resonance frequency of wateralcohol mixtures, suggesting a rearrangement of the solution structure. *Anal. Sci.* 13:1043-1045.
- 15) Sugiyama K, Takei T, Tachibana K, and Sugitani Y (2002) High-frequency spectroscopic study on the isomerization of a d-glucose aqueous solution. BUN-SEKI KAGAKU 51: 735-739.
- 16) Takei T, Kageshima K, Tomita M, Sugitani Y, Min KH and Matsumoto K (1999) State analysis of water in polyether-polyol by high-frequency spectroscopy. *Anal. Sci.* 15: 1083-1086.
- 17) Takei T, Kurosaki K, Nishimoto Y and Sugitani Y (2002) Behavior of bound water in polyethylene oxide studied by DSC and high-frequency spectroscopy. *Anal. Sci.* 18: 681-684.
- 18) Takei T, Inoue Y and Sugitani Y (2008) State analysis of bound water in hydrophilic polymer by high frequency spectroscopy. *Transaction of the Materials Research Society of Japan* 33: 1371-1374.
- 19) Takei T and Sugitani Y (2010) High frequency spectroscopic study of the bound state of water in PEG-H<sub>2</sub>O system during heating from frozen state. *Anal. Sci.* 26: 337-341.
- 20) Bogdanov B and Mihailov M (1985) Melting of water/ poly (ethylene oxide) system. J. Polym. Sci. Polym. Phys. Ed. 23: 2149-2158.
- 21) Murthy SSN (2000) Experimental study of the dynamics of water and the phase behavior of the super-cooled aqueous solutions of propylene glycol, glycerol, poly(ethylene glycol)s, and poly(vinylpyrrolidone). J. Phys. Chem. B 104: 6955-6962.
- 22) Sudo S, Shimomura M, Kanari K, Shinyashiki N and Yagihara S (2006) Broadband dielectric study of the glass transition in poly(ethyleneglycol)-water mixture. J. Chem. Phys. 124: 044901(1-6).

■原 著■ 2009 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

# ポリ酸塩の欠損部位を新しい化学反応空間とした 新規のクラスターカチオンサンドイッチ型化合物の設計と合成

野宮健司<sup>1,4</sup> 力石紀子<sup>1</sup> 松永 諭<sup>1</sup> 坂井善隆<sup>1</sup> 長谷川 剛<sup>2</sup> 木村卓央<sup>3</sup>

Synthesis and Design of Cationic Cluster-Containing Sandwich Compounds Utilizing Lacunary Sites of Polyoxometalates as Useful Chemical Reaction Field

# Kenji Nomiya<sup>1,4</sup>, Noriko Chikaraishi Kasuga<sup>1</sup>, Satoshi Matsunaga<sup>1</sup>, Yoshitaka Sakai<sup>1</sup>, Takeshi Hasegawa<sup>2</sup> and Takao Kimura<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

<sup>2</sup> R&D Center, KIMOTO CO., LTD, Suzuya Chuou-ku, Saitama 338-0013, Japan

<sup>3</sup> Technical Development Division, Tokuriki Chemical Research Corporation, Sagami Factory, Yamato City, Kanagawa 242-0012, Japan

<sup>4</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: nomiya@kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** Two types of tetra-zirconium(IV)/hafnium(IV) cluster compounds sandwiched between two di-lacunary  $\alpha$ -Keggin polyoxotungstates were synthesized and structurally characterized, *i.e.*, [[{M(H<sub>2</sub>O)}<sub>2</sub>{M(H<sub>2</sub>O)}<sub>2</sub>( $\mu$ -OH)<sub>3</sub>( $\mu$ <sub>3</sub>-OH)<sub>2</sub>]( $\alpha$ -1,2-PW<sub>10</sub>O<sub>37</sub>)<sub>2</sub>]<sup>7-</sup> (M = Zr (1,2-Zr4), Hf (1,2-Hf4)) and [{M<sub>4</sub>( $\mu$ -OH)<sub>2</sub>( $\mu$ <sub>3</sub>-O)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>}( $\alpha$ -1,4-PW<sub>10</sub>O<sub>37</sub>)<sub>2</sub>]<sup>8-</sup> (M = Zr (1,4-Zr4), Hf (1,4-Hf4)). The former was composed of tetra-M cluster cation species [{M(H<sub>2</sub>O)}<sub>2</sub>{M(H<sub>2</sub>O)}<sub>2</sub>( $\mu$ -OH)<sub>3</sub>( $\mu$ <sub>3</sub>-OH)<sub>2</sub>]<sup>11+</sup> sandwiched between two 1,2-di-lacunary  $\alpha$ -Keggin polyoxotungstates [ $\alpha$ -1,2-PW<sub>10</sub>O<sub>37</sub>]<sup>9-</sup>, while the latter was composed of another tetra-M cluster cation species [M<sub>4</sub>( $\mu$ -OH)<sub>2</sub>( $\mu$ <sub>3</sub>-O)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>]<sup>10+</sup> sandwiched between two 1,4-di-lacunary  $\alpha$ -Keggin polyoxotungstates [ $\alpha$ -1,4-PW<sub>10</sub>O<sub>37</sub>]<sup>9-</sup>. As for 1,2-Zr4 and 1,2-Hf4 as Lewis acid catalysts, their catalytic activities in the Mukaiyama aldol reaction in acetonitrile/water mixed solvent at room temperature in air were evaluated.

*Keywords:* 1,2-/1,4-di-lacunary Keggin-type polyoxometalate, zirconium(IV)/hafnium(IV), tetra-nuclear cluster, sandwich structure, Lewis acid catalysis

# 序論

分子性の金属酸化物クラスターであるポリ酸塩 (polyoxometalate: POM) は均一系の(酸および 酸化)触媒、表面化学、材料化学、医薬などの観点 から広く研究されている<sup>1)</sup>。ポリ酸塩骨格を構成す る金属を位置選択的に欠損させた欠損型ポリ酸塩は その欠損部位に高い表面塩基性度を有するため、金 属イオンや錯イオンのカチオン性化学種を有効に担 持(結合)できる化学反応空間として利用できる。 これまでに第4族元素であるTi<sup>IV</sup>、Zr<sup>IV</sup>およびHf<sup>IV</sup> が欠損型ポリ酸塩に組み込まれた化合物が合成さ れ、構造解析がなされている。ポリ酸塩中のTi<sup>IV</sup> は通常6配位をとり、欠損型ポリ酸塩の欠損部位に Ti<sup>IV</sup>が挿入された化合物が形成される。一方、Zr<sup>IV</sup>, Hf<sup>IV</sup>はイオン半径が大きく、多様な配位数(6,7,8 配位)をとるため、Zr<sup>IV</sup>, Hf<sup>IV</sup>含有ポリ酸塩はZr<sup>IV</sup>, Hf<sup>IV</sup>の種々のクラスターカチオン種が2つの欠損 型ポリ酸塩でサンドイッチされた構造をとる。また、 配位不飽和なZr<sup>IV</sup>, Hf<sup>IV</sup>中心のルイス酸触媒作用が 注目され、Zr<sup>IV</sup>, Hf<sup>IV</sup>含有ポリ酸塩の研究が最近盛 んに行われている<sup>2)</sup>。本報告では欠損部位の異なる 二種類のKeggin型三欠損種(A-site/B-site三欠損 種)とZr<sup>IV</sup>またはHf<sup>IV</sup>の塩の反応から、Zr<sup>IV</sup>/Hf<sup>IV</sup>4 核クラスターカチオンをα-Keggin型二欠損種2つ でサンドイッチされた新規ポリ酸塩(1,2-Zr4, 1,2-Hf4, 1,4-Zr4, 1,4-Hf4)を合成し、その構造を明ら かにした。さらに、1,2-Zr4, 1,2-Hf4 についてはル イス酸触媒活性を向山アルドール反応により評価した。

# 材料と方法

# 材料

二種類の Keggin 型三欠損種は既報<sup>3)</sup>に従い合成した。Zr(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, ベンズアルデヒドは和光純薬工業㈱より入手した。Hf(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, HfCl<sub>4</sub>は Aldrich より入手した。Z-1-フェニル-1-トリメチルシロキシ-1-プロペンは既報<sup>4)</sup>に従い合成した。

#### 測定方法

単結晶X線構造解析はBruker SMART APEX CCD回折計を使用した。HPLCはShimadzu LC-20ADを使用した。

# 結果と討論

# 二種類の Zr<sup>IV</sup>/Hf<sup>IV</sup> 4 核クラスターカチオンサンド イッチ型ポリ酸塩の合成、構造解析

 $Zr(SO_4)_2$ または HfCl<sub>4</sub> と Keggin 型ポリ酸塩 A-site 三欠損種 [A-PW<sub>9</sub>O<sub>34</sub>]<sup>9</sup> をモル比 2(Zr<sup>IV</sup>):1 または 4(Hf<sup>IV</sup>):1、塩酸酸性水溶液中 (pH = ca. 0)、室温で 反応させ、Me<sub>4</sub>NCl を加えることで粗生成物を得た。 これを水または 0.1M 塩酸に溶解し、不溶物を除去 した。その後、Na<sup>+</sup>を充填した陽イオン交換樹脂で カチオン交換し、溶液を濃縮した後、CsCl を加え ることで 1,2-Zr4 および 1,2-Hf4 の Cs 塩を白色粉 体として得た (収率: (1,2-Zr4); 17.9 %, (1,2-Hf4) ; 28.6 %)。さらにこれらを pH = 2.0 の塩酸水溶液 から再結晶することで無色透明粒状結晶を得た。

一 方、 $M(SO_4)_2$  ( $M = Zr^{IV}$ ,  $Hf^{V}$ ) と Keggin 型 ポリ酸塩 B-site 三欠損種 [B-PW<sub>9</sub>O<sub>34</sub>]<sup>9</sup>を pH = 1.4~1.5 の酸性溶液中、モル比 M: [B-PW<sub>9</sub>O<sub>34</sub>]<sup>9</sup> = 3:1、氷浴中で反応させた。1,4-Zr4 ではこの溶液 に Me<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>Cl を加えて冷蔵庫で冷却し、析出した 白色粉体をろ別し、ろ液を室温で静置することで、 Me<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>塩の無色透明板状結晶を得た(収率:18.7 %)。1,4-Hf4 では、反応溶液に Me<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>Cl を加え た後、析出した粉体をろ別し、さらに Me<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>Cl を加えて三昼夜撹拌することで、粗生成物を得た。 これを水から再結晶することにより、Me<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>塩の 無色透明板状結晶を得た(収率:4%)。

#### 単結晶 X 線構造解析

**1,2-Zr4**と**1,2-Hf4**は同一の構造であり、1,2-位 (A-site, 頂点共有部位)の欠損した *a*-Keggin 型 二欠損種 [*a*-1,2-PW<sub>10</sub>O<sub>37</sub>]<sup>9-</sup>2つが M4 核クラス ターカチオン [{M(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>}<sub>2</sub>(M(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>)<sub>2</sub> (µ-OH)<sub>3</sub>(µ<sub>3</sub>-



図 1. 1,2-Zr4 および 1,2-Hf4 の (a) 多面体モデル, (b) ORTEP 図, (c)M4 核クラスターカチオン (M = Zr<sup>IV</sup>, Hf<sup>IV</sup>) 構造.



図 2. 1,4-Zr4 および 1,4-Hf4 の (a) 多面体モデル, (b) ORTEP 図, (c)M4 核クラスターカチオン (M = Zr<sup>IV</sup>, Hf<sup>IV</sup>) 構造.

OH)<sub>2</sub>]<sup>11+</sup>(M = Zr<sup>IV</sup>, Hf<sup>V</sup>) をサンドイッチした錯 体 [[{M(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>{M(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>}<sub>2</sub>( $\mu$ -OH)<sub>3</sub>( $\mu$ <sub>3</sub>-OH)<sub>2</sub>]( $\alpha$ -1,2-PW<sub>10</sub>O<sub>37</sub>)<sub>2</sub>]<sup>7-</sup>(M = Zr (1,2-Zr4), Hf (1,2-Hf4))であっ た(図1)。1,2-Zr4 と 1,2-Hf4 中には7 配位と8 配 位のZr<sup>IV</sup>/Hf<sup>IV</sup>がそれぞれ2 つずつ存在しており、 ポリ酸アニオンの対称性はどちらもC<sub>2</sub>対称のキラ ル錯体であった。本合成ではそれぞれラセミ体とし て得られた。

1,4-Zr4と1,4-Hf4も1,2-Zr4,1,2-Hf4と同様に、 M4核クラスターカチオンをα-Keggin型二欠損種 2つがサンドイッチした構造であったが、1.4-Zr4 と1,4-Hf4 では1,4-位(B-site, 稜共有部位)が 欠損した欠損種 [α-1,4-PW10O37]<sup>9・</sup>2つとM4核ク  $\neg \land \land \lor - [\{M_4(\mu - OH)_2(\mu_3 - O)_2(H_2O)_4\}]^{10+} (M = Zr^{IV},$ Hf<sup>IV</sup>) で構成された [{M<sub>4</sub>(µ-OH)<sub>2</sub>(µ<sub>3</sub>-O)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>}(α-1,4- $PW_{10}O_{37})_2]^{8}$  (M = Zr (1,4-Zr4), Hf (1,4-Hf4)) であっ た(図2)。1,2-Zr4, 1,2-Hf4 では5つのOH 基に よって、M4核のクラスター構造を形成している のに対し(図1(c))、1,4-Zr4, 1,4-Hf4ではOH基 2つとO2つでM4核クラスターが構成されており (図 2(c))、M4 核カチオンの構造が若干異なってい た。このポリ酸アニオン中のすべてのMは7配位 であり、対称性はCi対称であった。1,4-Zr4, 1,4-Hf4 の構造は Dawson 型ポリ酸塩三欠損種と Zr<sup>Ⅳ</sup>, Hf<sup>IV</sup>の反応から得られる M4 核クラスターカチオン サンドイッチ型 Dawson 型二欠損種 [M<sub>4</sub>(µ<sub>3</sub>-O)<sub>2</sub>(µ- $OH)_2(H_2O)_4(P_2W_{16}O_{59})_2]^{14}$  (M = Zr<sup>IV 5)</sup>, Hf<sup>IV 6)</sup>) と非 常によく似ていた。

# 向山アルドール反応に対するルイス酸触媒活性の 評価

**1,2-Zr4** と **1,2-Hf4** をルイス酸触媒に用い、向山ア ルドール反応 (Scheme 1) を水存在下で行い、ル イス酸触媒活性を評価した。また、比較としてす でに構造が明らかになっている単核の M (M = Zr<sup>IV</sup>, Hf<sup>IV</sup>)/a-Keggin 型一欠損種サンドイッチポリ酸塩 [M(a-PW<sub>11</sub>O<sub>39</sub>)<sub>2</sub>]<sup>10-</sup> (Zr1, Hf1:8 配位)<sup>7</sup>、M2 核クラ



表 1. 向山アルドール反応の結果(24 hr 後)

Yield (%)	TON	syn/anti ratio
15	3.0	20/80
33	6.6	18/82
42	8.4	20/80
42	8.4	19/81
15	3.0	19/81
13	2.6	20/80
75	15.0	14/86
87	17.6	15/85
trace	_	_
n.d.	—	_
	Yield (%) 15 33 42 42 15 13 75 87 trace n.d.	Yield (%)       TON         15       3.0         33       6.6         42       8.4         42       8.4         15       3.0         13       2.6         75       15.0         87       17.6         trace       -         n.d.       -

スター/a-Keggin 型一欠損種サンドイッチポリ酸塩 [ $\{a$ -PW<sub>11</sub>O<sub>39</sub>M( $\mu$ -OH)(H<sub>2</sub>O) $\}_2$ ]<sup>8</sup> (**Zr2**, **Hf2**:7配位)<sup>9</sup>、 M3 核クラスター/a-Keggin 型 A-site 三欠損種サン ドイッチポリ酸塩 [M<sub>3</sub>( $\mu$ -OH)<sub>3</sub>(PW<sub>9</sub>O<sub>34</sub>)<sub>2</sub>]<sup>9</sup> (**Zr3**, **Hf3** : 6 配位)<sup>9</sup>、Ti<sup>IV</sup> 三置換 Keggin 型ポリ酸塩二量体 [(a-1,2,3-PW<sub>9</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>37</sub>)<sub>2</sub>O<sub>3</sub>]<sup>12</sup> (Ti6), Keggin 飽和型ポリ 酸塩 [a-PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>]<sup>3</sup> (PW12) についても触媒活性を評 価した。各ポリ酸塩は Na<sup>+</sup>型の陽イオン交換樹脂で カチオン交換してから使用した。反応は基質に Z-1-フェニル -1-トリメチルシロキシ -1-プロペン (I), ベンズアルデヒド (II) をそれぞれ 0.5 mmol、ポリ 酸塩触媒 0.025 mmol、CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (4.5/2.0 mL)の 混合溶媒、室温、空気中で行い、生成物の定量は HPLC により行った。

表1に結果を示す。Zr<sup>IV</sup>/Hf<sup>IV</sup>含有ポリ酸塩によ る24 hr 反応後、アルドール体の生成が確認でき、 anti 体が syn 体より選択的 (anti: syn = ca.80: ca.20) に生成した。Ti6 や PW12 ではまったく反 応が進行しなかったことから、ポリ酸塩中の Zr<sup>IV</sup>/ Hf<sup>IV</sup>が活性点として作用していると考えられる。触 媒活性の大きさは 1,2-Hf4 > 1,2-Zr4 > Zr2~Hf2 > Hf1 > Zr1~Zr3~Hf3 であり、1,2-Hf4 では24 hr 反応後の TON は ca.18 (アルドール体収率 ca.90 %) であった。Zr3, Hf3 は活性が低く (TON ca. 3)、 Zr<sup>IV</sup>/Hf<sup>IV</sup>の配位数よりもZr<sup>IV</sup>/Hf<sup>IV</sup>クラスターカチ オンの構造が密接に関連していると思われる。特に 1,2-Hf4の触媒的安定性は高く、4回の再使用後も 触媒活性に変化はなく、再利用可能であった。4回 の再使用後に行った FT-IR や<sup>31</sup>P NMR による触媒 のキャラクタリゼーションの結果は触媒反応前の結 果と一致したため、触媒反応による構造の変化はな いと思われる。

#### まとめ

欠損部位の異なる二種類の Keggin 型ポリ酸塩三 欠損種と Zr<sup>IV</sup>/Hf<sup>IV</sup> の塩の反応から、二種類の Zr<sup>IV</sup>/ Hf<sup>IV</sup> 4 核クラスターカチオンサンドイッチ型ポリ酸 塩二欠損種 (1,2-M4, 1,4-M4; M = Zr,Hf) を合成し、 その構造を明らかにした。また 1,2-M4 については 向山アルドール反応に対するルイス酸触媒活性を評 価した。1,2-M4 は水存在下でもルイス酸触媒作用 を示し、アルドール体が高収率で得られ、立体選択 性も高かった。また、触媒的安定性も高く、再利用 可能であることが明らかになった。

#### 文献

- Hill CL, Ed. (1998) Polyoxometalates. Chem. Rev. 98: 1-390.
- Boglio C, Micoine K, Rémy P, Hasenknopf B, Thorimbert S, Lacôte E, Malacria M, Afonso C and Tabet JC (2007) Increased Lewis acidity in hafnium-substituted polyoxotungstates. *Chem. Eur. J.* 13: 5426-5432.
- Domaille PJ (1990) Vanadium(V) substituted dodecatungstophosphates. *Inorg. Synth.* 27: 96-104.
- 4) Li HJ, Tian HY, Wu YC, Chen YJ, Liu L, Wang D and Li C-J (2005) Aqueous asymmetric Mukaiyama aldol reaction catalyzed by chiral gallium Lewis acid with Trost-type semi-crown ligands. *Adv. Synth. Catal.* 347: 1247-1256.

- 5) Gaunt AJ, May I, Collison D, Holman KT and Pope MT (2003) Polyoxometal cations within polyoxometalate anions. Seven-coordinate uranium and zirconium heteroatom groups in  $[(UO_2)_{12}(\mu_3-O)_4(\mu_2-H_2O)_{12}(P_2W_{15}O_{56})_4]^{32}$  and  $[Zr_4(\mu_3-O)_2(\mu_2-OH)_2(H_2O)_4(P_2W_{16}O_{59})_2]^{14}$ . J. Mol. Struct. **656**: 101-106.
- Saku Y, Sakai Y and Nomiya K (2009) Tetrahafnium(IV) cluster cation sandwiched between 2 di-lacunary Dawson polyoxotungstate anions: Synthesis and structure of [Hf<sub>4</sub>(μ<sub>3</sub>-O)<sub>2</sub>(μ-OH)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>(P<sub>2</sub>W<sub>16</sub>O<sub>59</sub>)<sub>2</sub>]<sup>14</sup>. Inorg. Chem. Commun. 12: 650-652.
- 7) Kato CN, Shinohara A, Hayashi K and Nomiya K (2006) Syntheses and X-ray crystal structures of zirconium(IV) and hafnium(IV) complexes containing monovacant Wells-Dawson and Keggin polyoxotungstates. *Inorg. Chem.* 45: 8108-8119.
- 8) Nomiya K, Saku Y, Yamada S, Takahashi W, Sekiya H, Shinohara A, Ishimaru M and Sakai Y (2009) Synthesis and structure of dinuclear hafnium(IV) and zirconium(IV) complexes sandwiched between 2 mono-lacunary α-Keggin polyoxometalates. *Dalton Trans.* 2009: 5504-5511.
- 9) Saku Y, Sakai Y, Shinohara A, Hayashi K, Yoshida S, Kato CN, Yoza K and Nomiya K (2009) Sandwich-type  $Hf^{IV}$  and  $Zr^{IV}$  complexes composed of tri-lacunary Keggin polyoxometalates: structure of  $[M_3(\mu$ -OH) $_3(A-\alpha$ -PW $_9O_{34})_2]^{9}$  (M = Hf and Zr). *Dalton Trans.* **2009**: 805-813.

■原 著■ 2009 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

# 光学活性な置換基を有するベンゾチアゾリンより生成した白金(II)錯体

# 川本達也<sup>1,4</sup> 鈴木成美<sup>1</sup> 會澤宣一<sup>2</sup> 長澤五十六<sup>3</sup>

Platinum(II) Complexes Derived from a Benzothiazoline with Chiral Substituent

### Tatsuya Kawamoto<sup>1,4</sup>, Narumi Suzuki<sup>1</sup>, Sen-ichi Aizawa<sup>2</sup> and Isoroku Nagasawa<sup>3</sup>

- <sup>1</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan
- <sup>2</sup> Faculty of Engineering, University of Toyama, Toyama City, Toyama 930-8555, Japan

<sup>3</sup> Department of Chemistry, Fukuoka University of Education, Munakata City, Fukuoka 811-4148, Japan

 $^4~$  To whom correspondence should be addressed. E-mail: kaw@kanagawa-u.ac.jp ~

**Abstract:** A new benzothiazoline was prepared from the chiral aldehyde  $(1R) \cdot (-)$ -myrtenal. The reaction of the benzothiazoline with  $[Pt(hfacac)_2]$  in toluene afforded the sulfur-bridged tetranuclear platinum(II) complex 1. The molecular structure of 1 was determined by the single-crystal X-ray diffraction method. Crystal data were as follows: a = b = c = 18.473(5) Å, V = 6308(3) Å<sup>3</sup>, space group =  $P4_3$ , Z = 4. On the other hand, a similar reaction in methanol led to the deep blue complex 2, which was characterized by absorption and <sup>1</sup>H NMR spectra, the results suggesting that 2 has an electronic structure of semiquinone form.

*Keywords:* benzothiazoline, chiral substituent, platinum(II) complex, X-ray diffraction, semiquinone

# 序論

硫黄原子を含むシッフ塩基金属錯体は酸素を配位 原子とするものと比較してその合成例は極端に少 ない。その理由として硫黄原子の高い反応性によ り配位子であるシッフ塩基が酸素原子の場合のよ うに容易には得ることができないことが挙げられ る。これまで我々は、そのような含硫シッフ塩基 金属錯体を硫黄の高い反応性を環状構造をとるこ とにより押さえたベンゾチアゾリン類を用いて合 成してきた。その結果、いくつかの特異な反応性 や特性を示す金属錯体を見出すことができた。そ の中でもニッケル錯体においては側鎖ベンゼン環 上の置換基に依存して多様な生成物が得られるこ とが明らかとなっている 1-3)。一方、同族の白金錯 体においては同じベンゾチアゾリン類を用いても ニッケル錯体とは生成物に違いが見られる。側鎖 ベンゼン環上に特に置換基のない 2- フェニルベン ゾチアゾリンから生成する両錯体を比較すると図 1のようにまとめられる。ニッケルおよび白金錯 体として、いわゆるノンイノセントな配位子を有 する錯体は得られるが、ニッケル錯体においては 白金の四核錯体に相当するものは得られず、逆に 白金錯体においてはニッケルのシッフ塩基錯体に 対応する錯体は単離されていない<sup>1,4)</sup>。また、これ までにベンゾチアゾリン類より得られたほとんど の含硫シッフ塩基金属錯体の側鎖はフェニル基で 代表されるように芳香環からなっている。そこで 本研究では、芳香環以外の側鎖を有する錯体の形 成が期待できる新たなベンゾチアゾリンを配位子 として用いることとした。さらにその際、CDスペ クトルにて生成物のキラリティーに関する情報を 得ることができるように不斉炭素も導入した。そ して、この新しいベンゾチアゾリンを用いて置換 不活性な白金(Π)錯体を合成し、その生成物につ いて検討した。

#### 材料と方法

具体的には原料として光学活性なアルデヒドである (1*R*)-(-)-ミルテナールを用いて光学活性な置換 基を有するベンゾチアゾリンを合成し、それを配位 子として用いた。また、中心金属である白金の原料



図 1. 2-フェニルベンゾチアゾリンから得られたニッケル(Ⅱ) 錯体と白金(Ⅱ) 錯体.

としては白金錯体合成の優れた出発物質として知られている [Pt(hfacac)<sub>2</sub>]を使用した。

#### 結果と討論

#### 光学活性な置換基を有するベンゾチアゾリンを用い た白金錯体の合成

まず、配位子である光学活性な置換基を有するベン ゾチアゾリンはエタノール中、2-アミノベンゼン チオフェノールと(1R)-(-)-ミルテナールを1:1 の比で混合し、それを窒素下、3時間還流すること により合成した。生成物は固体としては単離できず、 溶媒を乾固させることでオイル状のまま、その後の 錯体合成に使用した。また、[Pt(hfacac)<sub>2</sub>](hfacac = ヘキサフルオロアセチルアセトネート)は文献 50の 方法により合成し、出発物質として使用した。錯体 の合成は、窒素下、オイル状の光学活性な置換基を 有するベンゾチアゾリンに溶媒としてトルエンを加 え、それに [Pt(hfacac)<sub>2</sub>] をモル比 2:1 で加えた後、 1時間還流することにより行った。その反応溶液に ヘキサンを加えることで析出した暗褐色の沈殿物を ろ別した後、ろ液をシリカゲルカラムにかけた。溶 離液としてはジクロロメタンとヘキサンの 2:1 混合 溶媒を用いた。その結果、最も早く溶出した赤色バ ンドの溶液を集め、エバポレーターにて濃縮、乾固 した。そして、得られた暗赤色の粉末(錯体1)を ジエチルエーテルに溶解し、ゆっくりと濃縮するこ とにより黒色のブロック状結晶を得た。なお、錯体 1の重クロロホルム溶液の<sup>1</sup>H NMR スペクトルで は、数多くのシャープなシグナルが観測されたが、 各シグナルを帰属するまでには至らなかった。一方、 溶媒をトルエンからメタノールに変え、同様な操作 により白金錯体を合成したところ、まず、暗褐色の 沈殿物が得られた。それをろ過して除いた後、ろ液 をシリカゲルカラムにかけ、ジクロロメタンで溶離 したところ、トルエン中での合成では観測されなか った青色バンドが溶出した。この溶液をエバポレー ターにて濃縮、乾固し、得られた濃青色の粉末(錯 体 2)の吸収、CD および NMR スペクトルを測定 した。

#### キャラクタリゼーション

錯体1の黒色ブロック状結晶の単結晶X線結晶解 析の結果を示す(図2)。空間群  $P4_3$  (a = b = c =18.473(5) Å, V = 6308(3) Å<sup>3</sup>, Z = 4) に属し、R 値は12.16%であった。また、絶対構造の正しさ の尺度となる Flack パラメーターは 0.01(3) であっ た。錯体は4つの白金ユニットからなる硫黄原子で 架橋された四核構造を有し、図1中の四核錯体に 相当する。Pt1とPt4間およびPt2とPt3間を2 等分するところに C2 軸があり、錯体全体としてほ ぼ C₂ 対称とみなせる。それぞれの白金(II) イオン はひとつの配位子からの炭素、窒素、硫黄原子と隣 の配位子からの硫黄原子が配位することで四配位平 面構造を形成している(図3)。また、各白金ユニ ットは head-to-tail の様式で硫黄原子を介して架橋 されており、その結果 Pt<sub>4</sub>S<sub>4</sub> からなる八員環は舟型 配座をとっている(図4)。Pt-C, Pt-N, Pt-Sの各 結合距離は類似の錯体のものとよく似た数値を示し た<sup>4)</sup>。また、Pt…Pt間は 3.509 Å (Pt1…Pt4) と 3.364 Å (Pt2…Pt3) とちょうど白金のファンデル ワールス半径の和程度の距離にあり、大きな相互作



図2. 硫黄架橋白金四核錯体1の分子構造.



図 3. 四核錯体1の合成スキーム.



図4. 四核錯体1の骨格構造.

用はないものと考えられる。

錯体1のクロロホルム溶液の吸収スペクトルは
 365 nm 付近に1つの吸収の肩と460,530,645 nm
 付近に3つの吸収ピークを示し、また、CDスペク
 トルにおいては可視部に長波長側から負、正、負、正、
 負の明確なCDピークを示すことから、キラルな自
 金錯体の構造は溶液中でも保持されているものと推
 測される(図5)。

一方、合成溶媒をメタノールに変えることで得ら れた濃青色の化合物は、当初、その色から図1中の ノンイノセントな配位子を有する錯体に相当するも のと予想した。しかし、それは CD および NMR ス ペクトルから側鎖のシッフ塩基部位を持たない(不 斉炭素がない)反磁性の白金(II)錯体であると推 定された。その濃青色の化合物の CD スペクトルに おいては全くピークが観測されず、<sup>1</sup>H NMR スペ クトルは 4.08 ppm にブロードなシグナルを示すと



図 5. 錯体1のクロロホルム溶液の吸収および CD スペクトル.



図 6. 重クロロホルム中、錯体 2 の芳香環領域の<sup>1</sup>H NMR スペクトル.

ともに、芳香環領域は図6に示すとおりであった。 ここで観測された2つのダブレットと2つのトリプ レットは二置換ベンゼンのものと考えられる。また、 その吸収スペクトルは721 nm(メタノールとアセ トンの1:1溶液)に非常に強い吸収ピークを示し、 これはすでに構造が決定されたトランスのセミキノ ン型錯体(図7)<sup>60</sup>とよく対応しており、同一物で あると結論づけた。

トルエン中での合成において析出した暗褐色の沈 殿物とメタノール中での合成において析出した同色 の沈殿物は、いずれも吸収スペクトルにて可視部に 明確なピークは観測されず、また、<sup>1</sup>H NMR スペ



図7. 錯体2の予想構造.

クトルにおいてもシャープなシグナルは観測されな かった。さらに CD スペクトルにおいてはいずれも 極めて弱い正のピークを 400 nm 付近 (クロロホル ム溶液)に示すだけであった ((1*R*)-(-)-ミルテ ナールは 345 nm 付近に正のピークを示す)。これ らのことより両者は光学活性部位を有する同一物で あると推測されるが、詳細を明らかにすることはで きなかった。

#### まとめ

今回、光学活性な置換基を有するベンゾチアゾリン を新たに合成し、それを用いて白金錯体の合成を試 みた。トルエン中での反応では、置換基としてフェ ニル基を有するベンゾチアゾリンから合成された錯 体に匹敵する硫黄架橋四核錯体(錯体1)を得るこ とができた。このことから側鎖が芳香環でないべ ンゾチアゾリンにおいても C-H 結合は活性化され、 シクロメタレーションに伴い C,N,S の三座配位子 として機能することがわかった。また、メタノール 中での反応より得られた濃青色の化合物(錯体2) は各種スペクトルから側鎖のシッフ塩基部位のない セミキノン型の錯体であると同定した。この白金 (Ⅱ) 錯体はセミキノン型配位子への逆供与により安 定化されたものと考えられる。今回の研究において も同族のニッケル錯体では容易に得られるシッフ塩 基錯体の生成を確認することはできなかった。これ

は、白金錯体ではシッフ塩基 CH=N の二重結合部 位と白金との相互作用が大きいためにシッフ塩基錯 体として安定には存在できず、その結果単離できな いものと推測できる。

# 謝辞

本研究は、研究課題「光学活性な配位子を有するへ リカルな金属錯体の立体選択的反応」として 2009 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成を受け て行いました。

#### 文献

- Kawamoto T, Kuma H and Kushi Y (1997) Valence isomerization. Synthesis and characterization of cobalt and nickel complexes with non-innocent N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> ligand. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **70**: 1599-1606.
- Kawamoto T, Kuma H and Kushi Y (1996) Formation of a nickel(II) complex with a new N<sub>2</sub>S<sub>2</sub> macrocyclic ligand by C-Cl bond cleavage and C-S bond formation. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1996: 2121-2122.
- Kawamoto T and Kushi Y (2004) Three types of nickel(II) complexes derived from 2-substituted benzothiazoline; formation of a tetranuclear complex by a sterically induced orthometallation reaction. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 77: 289-294.
- Kawamoto T, Nagasawa I, Kuma H and Kushi Y (1997) Synthesis and characterization of the platinum complexes with N,S or C,N,S ligands derived from 2-phenylbenzothiazoline. *Inorg. Chim. Acta* 265: 163-167.
- Okeya S, Ooi S, Matsumoto K, Nakamura Y and Kawaguchi S (1981) Bis(β-diketonato)-palladium(II) and -platinum(II) Complexes. Bull. *Chem. Soc. Jpn.* 54: 1085-1095.
- Matsumoto K, Fukutomi I, Kinoshita I and Ooi S (1989) Crystal structure and X-ray photoelectron spectroscopy of bis(o-amidothiophenolato) platinate(II). *Inorg. Chim. Acta* 158: 201-204.

### ■原 著■

# ムラサキイガイ前足糸牽引筋の筋小胞体内 Ca 結合蛋白質 に関する免疫電子顕微鏡的研究

# 渡辺真奈美1 鈴木季直1.2.3

An Immuno-Electron Microscope Study on a Ca-Binding Protein in the Sarcoplasmic Reticulum of *Mytilus* Anterior Byssus Retractor Muscle

#### Manami Watanabe<sup>1</sup> and Suechika Suzuki<sup>1,2,3</sup>

<sup>2</sup> Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

<sup>3</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: suechika-bio@ kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** To examine whether the sarcoplasmic reticulum (SR) of *Mytilus* anterior byssus retractor muscle (ABRM) contains calsequestrin as a Ca-binding protein, immuno-electron microscope observations were performed by using the anti-calsequestrin antibody. For the immuno-electron microscope study, the ABRM fibers were chemically fixed with a paraform-aldehyde solution, dehydrated and embedded in Lowicryl K4M resin. Ultrathin sections were treated successively with anti-calsequestrin IgG and goat anti-rabbit IgG conjugated with colloid gold. Then they were examined with a JEM 2000EX electron microscope. In the ABRM fibers prepared with the conventional fixation procedure, the SR located along the inner surface of plasma membrane contained many clusters of numerous electron-dense particles in its lumen and on the inner surface of SR membrane. When the sections were stained with antibodies, the gold particles recognizing the existence of calsequestrin were exclusively found on the clusters of electron-dense particles in the SR. This result indicates that the major Ca-binding protein of SR is calsequestrin in the ABRM fibers, and is located not only in the SR lumen but also on the inner surface of SR membrane.

*Keywords: Mytilus* anterior byssus retaractor muscle (ABRM), Ca-binding protein, calsequestrin, sarcoplasmic reticulum (SR), immuno-electron microscopy

# 序論

一般に、平滑筋の収縮を引き起こす Ca イオンは、 細胞内の Ca 貯蔵部位からの遊離、細胞外液から の流入および小陥凹などの細胞外 Ca 貯蔵構造か らの遊離・流入などに由来すると考えられている <sup>1-3)</sup>。活性化 Ca の起源は、動物種および筋種ごと に異なるため、それぞれの平滑筋について個々に 活性化 Ca の起源に関する研究が必要とされてい る。ピロアンチモン酸法(PA法)は、筋収縮を制 御する Ca イオンの細胞内局在と収縮 - 弛緩にと もなう細胞内移動を可視化できる唯一の細胞化学 法であり、活性化 Ca の起源に関する研究には極 めて有効な手法である<sup>4</sup>。この方法により、軟体 動物のムラサキイガイ Mytilus edulis の前足糸牽 引筋 (ABRM: anterior byssal retractor muscle)<sup>5)</sup> や、タツナミガイ Dolabella auricularia の体壁 縦走筋 (LBWM: longitudinal body wall muscle)<sup>6)</sup> および体壁網状筋 (RBWM: reticular body wall muscle)<sup>7)</sup>では、筋形質膜直下に局在する筋小胞 体および筋形質膜内表面が活性化 Ca の細胞内局 在部位であることが明らかにされている。当然 のことながら、これらの活性化 Ca は、静止時に は、それぞれの細胞内貯蔵部位に特異的に局在す る Ca 結合蛋白質に結合していると考えられる。 この観点から、これらの平滑筋の Ca 結合蛋白質

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

を明らかにする試みが既になされており、ムラサ キイガイの ABRM については、筋形質膜に局在 する Ca 結合蛋白質として MCBP-450 と名付けら れた蛋白質が単離されている<sup>8)</sup>。しかし、この筋 の筋小胞体内に局在する Ca 結合蛋白質について は殆ど研究されていない。Calsequestrin は骨格 筋の筋小胞体終末槽に局在することが知られてい る Ca 結合蛋白質である<sup>9,10)</sup>。構造と機能の類似 性から、平滑筋の筋小胞体にも calsequestrin が Ca 結合蛋白質として局在している可能性は高く、 実際にこれまでにいくつかの平滑筋でその存在が 報告されている 11,12)。免疫電子顕微鏡法は、特定 の蛋白質の細胞内局在を明らかにするための有効 な電子顕微鏡技法であり、著者らもこれまでに抗 calsequestrin 抗体を用いてタツナミガイ体壁縦走 筋の筋小胞体内に calsequestrin が局在すること を明らかにしている13が、本研究では、同じ技法 により、ムラサキイガイ前足糸牽引筋の筋小胞体 に含まれる Ca 結合蛋白質を明らかにすることを 試みた。

#### 材料と方法

市販のムラサキイガイ Mytilus edulis を購入し、 専用の飼育籠に入れ、実験直前まで天然海水が循環 する水槽内(18℃)で飼育した。筋線維束標本作 製のため、ムラサキイガイの殻頂付近で殻の隙間 からメスの先端を挿入し、閉殻筋を切断して殻を 開いた。内蔵や筋周囲の結合組織を除去して前足 糸牽引筋 (ABRM) を露出し、体内長を確認した後、 筋を摘出した<sup>4,14,15)</sup>。次に、摘出した筋を 10<sup>-6</sup> M の セロトニンを含む人工海水 (513 mM NaCl、10 mM KCl, 10 mM CaCl<sub>2</sub>, 50 mM MgCl<sub>2</sub>; pH7.2, NaHCO<sub>3</sub>で調節)を満たした、底部にシリコンラ バーを敷いたシャーレ内に移し、体内長になるよ う伸長して筋の両端をピンで固定した。シャーレ 内でそれぞれの筋を縦に裂き、直径およそ1mm の筋線維束とし、人工海水を固定液と交換するこ とにより化学固定した。

微細構造観察のため、ABRMの筋線維束を0.1 Mのカコジル酸緩衝液(pH 7.2)で希釈した6% glutaraldehyde (GA)液と2% osmium tetroxide



図1. ムラサキイガイ ABRM 筋線維の横断切片像. 筋線維中央部は収縮要素の2種のフィラメントで占められており,周辺部の形質膜直下に筋小胞体(矢印)やミトコンドリアが局在している. 筋線維間の間隙にはコラーゲン繊維が顕著に見られる. スケール:2 µm.

(OsO<sub>4</sub>)液で二重固定した。固定後、各試料をエ タノール系列で脱水し、propylene oxide (PO) で脱水置換し、Quetol 812を主剤とする Epoxy 樹脂に置換した。その後、包埋板を用いて筋線 維束を Epoxy 樹脂に包埋し、40℃と60℃で加 温重合した。ウルトラミクロトーム (Reichert Ultracut-N) で厚さ70 nm の超薄切片を作製 し、コロジオン膜を張り、さらにカーボン蒸着で 補強した Cu-150 メッシュに載せ、酢酸ウランと クエン酸鉛で二重電子染色し、透過型電子顕微鏡



図 2. ムラサキイガイ ABRM 筋線維の縦断切片像. 筋線維中央部は筋フィラメント(写真下部)で占められているが, 形質膜の内表面に沿って筋小胞体(矢印)やミトコンドリアが見られる. スケール:1 µm.



図 3. ムラサキイガイ ABRM の筋小胞体とその免疫染色. A. 形質膜直下に局在する筋小胞体. 筋小胞体膜内表面の随 所と内腔中央部には高電子密度粒子の集合体が認められる. 筋小胞体膜の一部(矢印)は形質膜と junction を形成して いる. B. 抗 calsequestrin 抗体による免疫染色像. Calsequestrin の局在を示す金粒子は筋小胞体膜内表面や内腔内に 認められる高電子密度粒子上に顕著に観察される。スケール: 200 nm (A,B).

#### (JEOL JEM2000EX) で観察した。

免疫電子顕微鏡法のために筋線維束を 0.1 M 燐酸 緩衝液 (PBS、pH7.2) で希釈した 4% paraformaldehyde (PF) 液で固定し、50 mM glycine を含む 0.1 M PBS で洗浄した後、細切し、エタノール系列 で脱水した。Lowicryl K4M 樹脂に包埋し、樹脂を 紫外線重合した後、ウルトラミクロトーム (Reichert Ultracut-N) で厚さ80 nm の超薄切片を作製し、 カーボン蒸着したコロジオン膜を支持膜とする Ni-150 メッシュに載物した。PBS で希釈した 20 μM の抗 calsequestrin 抗体 (Upstae Biotechnology Inc.) を一次抗体としてこれらの超薄切片を免疫染色し た。0.05%の Tween 20 (Sigma 社) で洗浄した後、 1%の bovine serum albumin (BSA) を含む PBS で希釈した金コロイド標識した IgG (10 nm gold labeled goat anti-rabbit IgG; Amersham) を 二 次 抗体として二次免疫染色を行なった。Tween20 お よび PBS で洗浄した後、分子架橋補強のため 2.5 % GA で処理した。免疫染色後、一部の切片には uranyl acetate および lead citrate で電子染色を 行ない、透過型電子顕微鏡 (JEOL JEM 2000EX) で観察した。

# 結果と討論

図1は、GAおよびOsO4液を用いて二重固定した ムラサキイガイ ABRM 筋線維束の横断切片像で ある。筋線維中央部から周辺部まで、全体にわた り、筋形質基質の殆どは2種の筋フィラメント(太 いフィラメントと細いフィラメント)で占められ ていた。図には示されていないが、核が切片内に 含まれている場合には、おおむね筋線維中央部に 局在し、その周囲は筋フィラメントで囲まれてい た。筋線維周辺部の形質膜内表面に沿った、筋フィ ラメントが存在しない基質領域にはミトコンドリ アや筋小胞体などの細胞内小器官が局在していた。 筋小胞体の筋形質膜内表面に沿った細胞内局在は ABRM の縦断切片の電子顕微鏡観察でも確認され た(図2)。筋小胞体の大きさや形状は様々である が、筋形質膜と dyad を構成し、その包膜の一部は 筋形質膜に著しく近接して junction を形成してお り、しばしば両膜間に粒状の架橋様構造(feet)が 観察された。筋小胞体の内腔では、包膜内表面や内 腔中央部の基質内に電子密度の高い粒状物質が多 数集合して様々な規模の会合体を形成しているの が観察された(図3A)。その電子顕微鏡的イメー ジはそれが特定の蛋白質の会合体であることを示唆 し、筋小胞体の機能からそれが Ca 結合蛋白質であ る可能性は極めて高いと考えられる。実際に類似の

高電子密度粒子の会合体は軟体動物タツナミガイ の体壁縦走筋や体壁輪状筋の筋小胞体内にも見ら れ、抗 calsequestrin 抗体を用いた免疫電子顕微鏡 法による観察では、体壁縦走筋の筋小胞体内の高電 子密度粒子が calsequestrin であることが確認され ている<sup>13)</sup>。図 3B は抗 calsequestrin 抗体および金 コロイド標識された二次抗体により免疫染色された ABRM 筋線維の超薄切片像である。Calsequestrin の局在を示す標識金粒子は筋小胞体内腔の基質部と 包膜内表面に局在する高電子密度粒状物質の会合体 上に観察された。標識金粒子は筋小胞体以外の細胞 小器官や形質膜上には殆ど見られず、免疫染色の過 程で、抗 calsequestrin 抗体の染色を省略した超薄 切片ではいかなる細胞構造上にも見られなかったの で、本研究での免疫染色法は極めて適切に行なわれ たと考えられる。

ムラサキイガイ ABRM の抗 calsequestrin 抗体 による免疫染色では、抗原抗体反応は GA-OsO4 固 定の試料で筋小胞体内に観察された電子密度の高 い粒子と特異的に反応していることから、これら の粒子は calsequestrin であり、calsequestrin が ABRM 筋小胞体の主たる Ca 結合蛋白質と考えら れる。

### 文献

- Suzuki S and Sugi H (1982) Mechanisms of intracellular calcium translocation in muscle. In: *The Role* of *Calcium in Biological Systems, Vol. I.* Anghileri LJ and Tuffet-Anghileri AM eds., CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 201-217.
- 鈴木季直,杉 晴夫 (1986) 興奮収縮連関-細胞化学 的アプローチ. 新生理科学大系 第4巻 筋肉の生理学. 冨田忠雄,杉 晴夫 編,医学書院,東京. pp. 178-189.
- 3) 鈴木季直 (2002) 筋. <u>生物</u>学データ大百科事典 石原他 編,朝倉書店,東京.pp. 1462-1503.
- Suzuki S and Sugi H (1989) Evaluation of the pyroantimonate method for detecting intracellular calcium localization in smooth muscle fibers by the X-ray microanalysis of cryosections. *Histochemistry* 92: 95-101.
- 5) Atsumi S and Sugi H (1976) Localization of calcium-accumulating structures in the anterio byssal retractor muscle of *Mytilus edulis* and their role in the regulation of active and catch contraction. *J. Physiol.* **257**:549-560.
- 6) Suzuki S and Sugi H (1978) Ultrastructural and physiological studies on the longitudinal body wall muscle of *Dolabella auricularia*. II. Localization of intracellular calcium and its translocation during mechanical activity. J. Cell Biol. **79**: 467-478.
- 7) Kawamura S, Tahara S, Imai M, Mochizuki H and Suzuki S (2009) Physiological and cytochemical studies on the excitation-contraction coupling and the intracellular calcium movement during the con-

traction-relaxcation cycle in the reticular body wall muscle of *Dolabella auricularia*. *Sci.J. Kanagawa Univ.* **20**: 65-76.

- Yamanobe T and Sugi H (1993) Purification and characterization of a Ca<sup>2+</sup>-binding 450-kDa protein(MCBP-450) in the plasma membraneenriched fraction from a molluscan smooth muscle. *Biochim. Biophus. Acta.* 1149: 166-174.
- 9) Ostwald TJ and MacLenan DH (1974) Isolation of a high affinity calcium-binding protein from sarcoplasmic reticulum. J. Biol. Chem. 249:974-979.
- Ikemoto N, Ronjat M, Meszaros LG and Koshita K (1989) Postulated role of calsequestrin in the regulation of calcium release from sarcoplasmic reticulum. *Biochemistry* 28:6764-6771.
- 11) Wuytack F, Raeymaekers L, Verbist J, Jones LR and Casteels R (1987) Smooth-muscle endoplasmic reticulum contains a cardiac-like form of calsequestrin. *Biochim. Biophys. Acta* **899**:151-158.
- 12) Villa A, Podini P, Panzeri MC, Solling HD, Volpe

P and Meldplesi J (1993) The endoplasmic-sarcoplasmic reticulum of smooth muscle: Immunocytochemistry of vas deferens fibers reveals specialized subcompartments differently equipped for the control of  $Ca^{2+}$  homeostasis. *J. Cell Biol.* **121**:1041-1051.

- 13) Kinamai M and Suzuki S (1993) Structural analysis of dyadic contacts in the longitudinal body wall muscle of a mollusc *Dolabella auricularia*. Sci. J. Kanagawa Univ. 17: 21-30.
- 14) Sugi H and Suzuki S (1978) The nature of potassium- and acetylcholine-induced contractures in the anterior byssal retractor muscle of *Mytilus edulis*. *Comp. Biochem. Physiol.* **61**: 275-279.
- 15) Funabara D, Hamamoto C, Yamamoto K, Inoue A, Ueda M, Osawa R, Kanoh S, Hartshorne DJ, Suzuki S and Watabe S (2007) Unphosphorylated twitchin forms a complex with actin and myosin that many contribute totension maintenance in catch. J. Exp. Biol. 210: 4399-4410.

■原 著■ 2009 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

# 発生に伴うオカダンゴムシ造雄腺ホルモン (AGH) の発現動態の解析

# 泉 進1 齊藤 裕1 長澤寬道2 長谷川由利子3 大平 剛1.4

Dynamics of Protein and mRNA Expression of Androgenic Gland Hormone in Juvenile Terrestrial Isopod Armadillidium vulgare

# Susumu Izumi<sup>1</sup>, Yutaka Saito<sup>1</sup>, Hiromichi Nagasawa<sup>2</sup>, Yuriko Hasegawa<sup>3</sup> and Tsuyoshi Ohira<sup>1,4</sup>

- <sup>1</sup> Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan
- <sup>2</sup> Department of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan
- <sup>3</sup> Department of Biology, Faculty of Business and Commerce, Keio University, Yokohama City, Kanagawa 223-8521, Japan
- <sup>4</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: ohirat-bio@kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** Male sexual characteristics in crustaceans are induced by androgenic gland hormone (AGH), which is produced in a male-specific organ, the androgenic gland (AG). In this study, protein and mRNA expression of AGH in AGs of the juvenile terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* were examined using immunohistochemistry and RT-PCR, respectively. AGs of 7th and 8th instar larvae were immunostained with an anti-*A. vulgare* AGH antibody, although no positive reaction was observed in the AGs of 5th and 6th larval stages. On the other hand, AGH mRNA was detected in all subjected larval stages (2nd to 8th instar larvae). Amplified cDNA was detected as a faint band in 2nd to 4th instar larvae and as a thick band in 5th to 8th larval stages. This discrepancy of protein and mRNA expression may be due to the detection sensitivities for AGH of immunohistochemistry and RT-PCR. These results suggest that AGH regulates the development of male characteristics at least from the 7th larval stage.

*Keywords:* androgenic gland hormone, terrestrial isopod, *Armadillidium vulgare*, immunohistochemistry, reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

# 序論

無脊椎動物の性決定や性分化機構の研究は、昆虫と 甲殻類を用いて行われてきた。昆虫では、キイロシ ョウジョウバエを用いてその性決定の機構が詳細に 研究されており、性は常染色体と性染色体の数の比 によって決定されることが分かっている<sup>1)</sup>。昆虫で は、個体を構成する個々の細胞ごとに、性が胚発生 の早い段階で決定され、後天的に変わることはない。 このように、昆虫においては性ホルモンが関与しな い性決定、性分化のしくみが働いている。一方、同 じ節足動物である甲殻類では内分泌的な性分化の制 御機構が働いていることが明らかとなっている。

**1954**年、フランスの Charniaux-Cotton によって 端脚目のオオハマトビムシ Orchestia gammarella を 用いて、その雄の二次性徴が造雄腺と呼ばれる雄の みに存在する器官によって支配されていることを明 らかにした<sup>20</sup>。すなわち、このオオハマトビムシの 雄においては第二顎脚が大きく、雌においては小さ いが、造雄腺を雌に移植すると第二顎脚が大きくな り、また雄から造雄腺を摘出すると第二顎脚は小さ くなった。さらに、この造雄腺の抽出物を雌に注射 することによって移植と同様の効果を示したことか ら、初めて造雄腺ホルモン(AGH)の存在を明ら かにした。その後、端脚目だけでなく、広く甲殻類 の軟甲亜綱に属する動物一般についても、同様の機 構によって性分化が制御されていることが明らかと なった<sup>30</sup>。まもなくこのホルモンの精製が開始され たが、つい最近までその正体は不明であった。しか し、日本とフランスの研究グループの長年の努力が 実り、ほぼ同時にオカダンゴムシ Armadillidium vulgare の AGH の正体を明らかにした<sup>4,5)</sup>。オカダ ンゴムシの AGH は A 鎖と B 鎖がジスルフィド結 合で架橋されたヘテロ 2 本鎖ペプチドであり、さら に A 鎖には N- 結合型糖鎖が付加していた。驚くべ きことに、その前駆体は 1 本鎖のペプチドであり、 脊椎動物のインスリンと同様に 2 本鎖をつなぐ C ペプチドが存在していた。

AGH が甲殻類の性分化を制御していることは前 述の通りであるが、造雄腺が形成される時期と性分 化が始まる時期は一致していない<sup>6)</sup>。オカダンゴム シでは造雄腺原基と思われる細胞群は4齢幼生から 精巣の先端に認められるが、発達した造雄腺が認め られるのは7齢幼生以降である。しかし、内部生殖 器官の雌雄差は3齢幼生の終わり頃から認められ始 める。また、5齢幼生になると、雄においてのみ見 られる第一腹脚内肢がわずかに伸びるので、雌と区 別することができる。この様に、造雄腺が形成され る遙か以前に、オカダンゴムシの性分化は始まって いるが、造雄腺が形成される以前の性分化制御機構 についてはよく分かっていない。

本研究では、AGH がどの段階で性分化を制御し ているかを解明するための端緒として、発生に伴 うオカダンゴムシ AGH の蛋白質レベルおよび遺伝 子レベルの発現動態を明らかにすることを目的と した。

# 材料と方法

#### 実験動物

実験で使用したオカダンゴムシArmadillidium vulgare は慶應義塾大学日吉キャンパス生物学教室 で飼育された個体を用いた。オカダンゴムシの2齢 から4齢幼生までは外部形態による雌雄判別ができ ないため、同腹から生まれた幼生の半分をAGHの RT-PCR 用に液体窒素を用いて凍結し、残り半分の 幼生は飼育を継続して雌雄比の確認に用いた。5齢 以降は顕微鏡下で雄のみを選別して凍結保存、ま たは免疫組織化学染色用に4%パラホルムアルデヒ ドを含む 0.1 M リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) pH 7.4 で固定した。

#### オカダンゴムシ AGH の免疫組織化学染色

5 齢から8 齢のオカダンゴムシ幼生と、9 齢のオカ ダンゴムシ成虫の雄性生殖器官全体をホールマウン ト免疫組織化学染色に供した。抗オカダンゴムシ AGH 抗体を 5,000 倍に希釈して使用した以外の実 験条件は Hasegawa らの論文に従った<sup>7)</sup>。抗オカ ダンゴムシ AGH 抗体の免疫陽性反応が特異的であ ることを確認するために、抗オカダンゴムシ AGH 抗体の代わりにウサギ正常血清を用いた対照実験も 行った。

#### オカダンゴムシ AGH の RT-PCR

2 齢から 4 齢のオカダンゴムシ幼生(雌雄混合)、 5 齢から 8 齢の幼生(雄のみ)の個体全体から、 ISOGEN (Wako)を用いて全 RNAを抽出した。1 pmolのオリゴ dT プライマーを各齢のオカダンゴ ムシ幼生の全 RNA (500 ng)にアニールさせ、逆 転写酵素 ReverTra Ace® (TOYOBO)を用いて first strand cDNA を合成した。

オカダンゴムシのAGH cDNA を増幅する ために2種類のプライマー(プライマー1:5' -CAATCGCATATGTGCCTACC-3'、プライマー2: 5'-GTGGTTCGATTGCATTTGTG-3')を設計し た。オカダンゴムシの β-actin を増幅するためのプ ライマー2種類 (actin-F と actin-R) は Ohira ら の論文と同じものを用いた<sup>8)</sup>。これらのプライマー セット、オカダンゴムシ幼生の first strand cDNA、 GoTaq® Master Mix (Promega) を用いて PCR を行った。増幅反応は [1 cycle (94°C -1 min)]、[30 cycles (94°C -30 sec, 53°C -30 sec, 72°C -30 sec)] の 条件で行った。増幅産物は 2% TAE アガロースゲ ルを用いて電気泳動し、エチジウムブロマイドを用 いて染色した。

#### 結果

### 発生に伴うオカダンゴムシ AGH の蛋白質レベルの 発現動態

2 齢から 9 齢のオカダンゴムシから生殖腺を摘出 し、ホールマウント免疫組織化学染色用の試料の作 製を試みた。しかし、2 齢から 4 齢の個体は体長が 小さく(2 齢:約1.7 mm、3 齢:約2.0 mm、4 齢 :約2.4 mm)、無傷の状態で生殖腺を摘出すること が困難であった。そのため、本研究では5 齢から 9 齢の雄オカダンゴムシから摘出した生殖腺を免疫組 織化学染色に用いることにした。

抗オカダンゴムシ AGH 抗体を用いてホールマウ ント免疫組織化学染色を行ったところ、9 齢のオカ ダンゴムシ成虫の造雄腺で免疫陽性反応が観察さ れた(図1)。対照として用いたウサギ正常血清を 用いた免疫染色では、9 齢のオカダンゴムシ成虫の 造雄腺は染色されなかった(図1)。このことから、 抗オカダンゴムシ AGH 抗体は造雄腺中に存在する AGH に特異的に反応していると考えられた。 同様に、5齢から8齢のオカダンゴムシ幼生の雄 性生殖器官をホールマウント免疫組織化学染色に供 した結果、7齢から8齢の幼生の造雄腺は免疫染色 されたが、5齢から6齢の幼生の造雄腺は免疫染色 されなかった(データ不掲載)。



図 1. 抗オカダンゴムシ AGH 抗体を用いた,9齢オカ ダンゴムシ成虫の雄性生殖器官のホールマウント免疫組 織化学染色.A. 一次抗体に抗オカダンゴムシ AGH 抗体 を使用.B. 一次抗体にウサギ正常血清を使用.T:精巣, Sv:貯精嚢,Vd:輸精管,AG:造雄腺.

# 発生に伴うオカダンゴムシ AGH の遺伝子レベルの 発現動態

**RT**-PCR によるオカダンゴムシ AGH の増幅産物は 2 齢から 8 齢幼生まで、全ての発生段階で確認でき た(図 2)。対照の β-actin のバンドは各齢でほぼ同 様に検出されたが、2 齢から 4 齢幼生の AGH のバ ンドは 5 齢から 8 齢幼生のバンドと比べると薄い ものであった(図 2)。



図 1. RT-PCR によるオカダンゴムシ β-actin と AGH の 発生段階別遺伝子発現の解析. レーン 1 から 3:2 齢か ら 4 齢幼生(雌雄混合), レーン 4 から 7:5 齢から 8 齢 幼生(雄のみ).

# 討論

本研究はオカダンゴムシ AGH の蛋白質レベルの発 現を、抗オカダンゴムシ AGH 抗体を用いた免疫組 織化学染色で調べた。その結果、7 齢幼生以降で免 疫陽性反応が観察された。この結果は、形態的に造 雄腺が形成される時期と一致している。造雄腺原 基は4齢幼生から観察されるが<sup>6</sup>、免疫組織化学染 色では5~6齢幼生には免疫陽性反応は観察され なかった。免疫組織化学染色は抗原蛋白質の量、す なわち造雄腺中に存在する AGH の量に依存して免 疫陽性反応が強くなる。これらの結果より、AGH は7齢以降の幼生に形成される造雄腺で本格的に合 成を開始することが明らかとなった。7齢幼生は既 に性分化が完了し、9齢の成体に向かって交尾器や 内部生殖器官が発達していく時期であることから、 AGH は雄の性特徴を完成させるために重要な役割 を果たしているのであろう。

免疫組織化学染色の検出感度は一般的に高いとは いえない。すなわち、6齢以前の幼生でも免疫組織 化学染色では検出できないレベルの AGH を合成し ている可能性が考えられた。そこで簡便かつ高感度 に遺伝子レベルの発現を検出できる RT-PCR 法を 用いて、オカダンゴムシ AGH の遺伝子発現を調べ た。その結果、オカダンゴムシ AGH の遺伝子発現 は性分化が始まる前の2齢幼生から検出できた。こ の結果は、AGH が少なくとも2齢幼生において遺 伝子レベルで発現し、何かしらの役割を演じている 可能性を示唆している。AGH の2齢から4齢幼生 のバンドは5齢から8齢幼生のバンドと比べると 薄いものであった。2齢から4齢幼生までは雌雄を 判別できないため、それら発生段階の雄の AGH 発 現量は検出された量の約2倍になると考えられる が、これを考慮しても雌雄判別が可能な5齢から8 齢幼生の雄における AGH 発現量と比べて少なかっ た。AGH の遺伝子発現量が増加する時期と、外部 形態から雌雄判別が可能になる時期が一致している ことから、AGH は5 齢以降の性分化の制御に重要 な役割を演じていると考えられた。

オカダンゴムシ AGH の本格的な遺伝子レベルの 発現は5齢幼生以降で観察されたが、蛋白質レベル の発現は7齢幼生以降で観察された。これは、5齢 から6齢幼生では造雄腺が未発達で、造雄腺細胞が 少なく、しかも造雄腺細胞が一カ所に集まらずに散 在しているためかもしれない。今後、これらの可能 性を検証するために、免疫組織化学染色の実験条件 の最適化を行い、検出感度を向上させる必要がある と考えられた。

最後に、本研究では少なくとも2齢幼生において

AGH 遺伝子の発現を検出できた。今後はオカダン ゴムシの AGH がどの発生段階から発現しているの かを明らかにするために、孵化前の胚や、育児嚢内 で孵化する1齢幼生における AGH の発現を同様に RT-PCR で調べる予定である。

### 謝辞

本研究は 2009 年度神奈川大学総合理学研究所共同 研究助成「発生に伴うオカダンゴムシ造雄腺ホルモン (AGH)の発現動態の解析」で行われたものです。 ここに謝意を表します。

#### 文献

- 山元大輔(1999)環境昆虫学、第6章. <u>性行動を制</u> 御する遺伝子 fruitless の研究. 日高敏隆. 松本義明監 修,東京大学出版会,東京. pp. 85-99.
- Charniaux-Cotton H (1954) Déouverte chez un crustacé amphipode Orchestia gamarella d'une glande endocrine responsible de la différenciation des caratères sexuels premières et secondaries males. C. R. Hebd. Seances Acad. Sci. 27: 780-782.
- 3) Hasegawa Y, Hirose E and Katakura Y (1993)

Hormonal control of sexual differentiation and reproduction in Crustacea. *Am. Zool.* **33**: 403-411.

- 4) Okuno A, Hasegawa Y, Ohira T, Katakura Y and Nagasawa H (1999) Characterization and cDNA cloning of androgenic gland hormone of the terrestrial isopod Armadillidium vulgare. Biochem. Biophys. Res. Commun. 264: 419-423.
- 5) Martin G, Sorokine O, Moniatte M, Bulet P, Hetru C and Van Dorsselaer A (1999) The structure of a glycosylated protein hormone responsible for sex determination in the isopod, *Armadillidium vulgare. Eur. J. Biochem.* 262: 727-736.
- 6) 片倉康寿(1982)節足動物(ダンゴムシ)の性決定. 遺伝 36: 41-45.
- Hasegawa Y, Okuno A and Nagasawa H (2002) Immunohistochemical study of androgenic gland hormone: localization in the male reproductive system and species specificity in the terrestrial isopods. *Gen. Comp. Endocrinol.* 125: 218-225.
- 8) Ohira T, Hasegawa Y, Tominaga S, Okuno A and Nagasawa H (2003) Molecular cloning and expression analysis of cDNAs encoding androgenic gland hormone precursors from two Porcellionidae species, *Porcellio scaber* and *P. dilatatus. Zool. Sci.* 20: 75-81.

# ■原 著■

# アメリカカブトエビの摂食と遊泳に関わる機能形態

# 平林丈嗣<sup>1,3</sup> 金沢謙一<sup>1,2</sup>

# Functional Morphology Related to Feeding and Swimming of the Tadpole Shrimp *Triops longicaudatus*

# Takeshi Hirabayashi<sup>1,3</sup> and Ken'ichi Kanazawa<sup>1,2</sup>

- <sup>1</sup> Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan
- <sup>2</sup> Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan
- <sup>3</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: r200970175bj@kanagawa-u.ac.jp

Abstract: In the tadpole shrimp *Triops longicaudtus*, the morphology of the trunk limbs, which are used for feeding and swimming, was observed, and their detailed movement was analyzed using a high-speed camera. While swimming, the 5th and posterior anterior trunk limbs push water backward, propelling the animal forward. While feeding, the 1st to 4th anterior trunk limbs seek food just in front of and under the body by stirring sediment. Large food particles are soon placed in the food groove by the endites of the anterior trunk limbs, whilst small particles are carried by the current induced by the posterior trunk limbs and converge at the end of the food groove at the base of the 11th trunk limbs. The 5th and posterior anterior trunk limbs form a 'food-trap funnel,' narrowing backward converge at the base of the 11th trunk limbs, and this structure guides the food carrying stream into the posterior end of the food groove. The concentrated food particles are subsequently moved forward in the food groove to the backward opening mouth. *Keywords:* カブトエビ, 鰓脚類, 摂食様式, tadpole shrimp, Triops

#### 序論

アメリカカブトエビは、鰓脚綱に属する全長約2~ 3 cmの甲殻類で、南北アメリカ大陸、日本、太平 洋の島々に分布する<sup>1)</sup>。時折干上がるような水たま りに生息することが多く、日本では一般に水田で見 つかる。背側に背甲と呼ばれる扁平な殻を持ち、他 のカブトエビ類と同様、原始的な甲殻類の特徴を多 く保持している。

鰓脚類の遊泳方法と摂食様式については、 Cannon (1933)の総合的な研究以降<sup>2</sup>、カイエビ 類<sup>3,4</sup>、無甲類<sup>5,6</sup>、枝角類など個々の分類群ごとに 多くの研究がある<sup>7,8</sup>。カブトエビ類については、 Fryer (1987)が、電子顕微鏡による詳細な形態観 察を行い、機能形態学的観点からの考察を行ってい る<sup>9</sup>。これまでの研究から、カブトエビは腹側の胴 肢を用いて遊泳と摂食を行うことがわかっている。 しかし、胴肢の動きは極めて速いため、その正確な 動きを解析することは不可能であった。そこで本研 究では、形態と行動の観察を改めて行う一方、最新 鋭のハイスピードカメラを用いて、これまで不明で あった胴肢の詳細な動きを解析し、カブトエビの遊 泳と摂食の方法を明らかにした。

#### カブトエビの形態

カブトエビは胴部に35~71対の胴肢をもち、そ れらは細長く三叉に分岐する第1胴肢から生殖嚢の できる第11胴肢までの前方胴肢(胸肢)とそれよ り後の後方胴肢(腹肢)からなる(図1)。胴肢は 外肢、内肢、外葉、内葉を備え、基部内葉は顎基と 呼ばれる。胴部正中には顎基と胴部腹面によって構 成される食溝と呼ばれる溝がある。



図1. カブトエビの腹側.

### 材料と方法

実験観察には、神奈川県川崎市多摩区長尾町の水田 で採集したカブトエビを用いた。

#### 摂食様式と胴肢が起こす水流の観察

カブトエビを水槽(10×10×10 cm)に入れて約 30分放置した後、実験観察を行った。摂食様式は、 人工飼料(フィッシュミールを主体とした金魚の餌: 径約5mmの粒状および砕いて径0.2mm程度にし た粉状のもの)を水底に撒き、それを食べる様子を 水槽の下面から観察した。胴肢が起こす水流は、ピ ペットで墨汁を滴下して流れを可視化することで観 察した。これらはビデオカメラ(HDR-SR12)で 記録して解析した。

#### 胴肢の動きの解析

輪を作った針金の先端に釣り糸を結び、シアノアク リレート系の接着剤でカブトエビの背側を釣り糸に 接着した。腹側を下にしたカブトエビが水底から4 cm上に位置するように吊るし、約30分放置した後、 胴肢の動きを側面からハイスピードカメラ(VW-6000, KEYENCE)で撮影して解析した。

#### 胴肢の形態観察

10 %ホルマリンで固定した標本をエタノールの上 昇系列で置換した後、観察に用いた。胴肢の前後方 向の配列様式を調べるために、胴部正中の縦断面を 観察した。また、胴部に対する左右の胴肢の配置を 調べるために、第7胴肢の位置で横断面をつくり、 前方から観察した。いづれの場合も、観察にはデジ タルマイクロスコープ(VHX-600, KEYENCE)を 用いた。

# 結果と討論 摂食様式と水流

堆積物表面に餌を撒くと、カブトエビは堆積物表面 を這うようにして餌の近くへ寄って来た。体の前部 が餌に接すると、ゆっくりと前進しながら体の前と 下にある餌を掻き集めた。大きな粒状の餌は胴肢が 叩き込むようにして近くの食溝へ送り込んだ。一方、 微小な粉状の餌は後方胴肢が起こす水流により後方 へ運ばれて第11 胴肢の付け根へ集められ、そこで 食溝の後端部へ取り込まれた(図2)。食溝へ入っ た餌は前方へと運ばれ、後向きに開いている口の中 へと取り込まれた。

摂食中、体の下を前方から後方へと流れる水流が 常に観察された。体の幅内の前方から体の下へ流れ 込む水流は、重なり合う胴肢がつくる壁に沿って後



図2. カブトエビの腹側.



図3. カブトエビの腹側.

方へ流れ、その左右の壁が第 11 胴肢へ向かって漏 斗状に狭まるのに伴って収束する(図 3)。この収 束する流れによって、微小な餌は食溝後端部へと効 率よく集められて取り込まれる。一方、体の幅より 外側前方の水は体の側部を外肢に沿って後方へと流 れ、第 11 胴肢へ向かうことなく後方外側へ流れ出 る。このことは、カブトエビは体の幅の範囲内にあ る餌をゆっくりと前進しながら摂食していることを 示している。

#### 胴肢の動き

胴肢の動きは、遊泳移動している時と、摂食時に停 止あるいはゆっくりと前進している時で異なる。遊 泳移動時、第1 胴肢は斜め前方へ伸びた状態でほ とんど動かない。それより後の前方胴肢は、その先 端をまず前方へ向けるようにして大きく傾き、そこ から先端が弧を描くように後方へ向かって動く(図 4)。この時、すべての前方胴肢が同時に同方向へ 動くのではなく、後方の肢から前方の肢へと一本づ つ独立に順番に動く。この後方への動きでは、各胴 肢はまっすぐに伸びて棒状になり、外肢が大きく広 がって水を捕えて後方へ押す様子が観察された。最 初に動き出した最後部の前方胴肢は、肢全体が後方 へ大きく倒れ、先端が後方へ向く位置まで来ると、 今度は反対方向、すなわち前方へ向かって動き出 す。前方へ動き出した胴肢は、遅れて後方へ倒れて きた一つ前の胴肢にすぐにぶつかる。すると、その 胴肢もそこから反転し、前方へと動き始める。この 一つ前の胴肢にぶつかり、その胴肢が反転前方へ動 くという動作は、順次、前方の胴肢へと伝わり、最 終的にすべての胴肢(第1~4胴肢を除く)が前 方へ傾いて最初の状態へと戻る。ただし、後方への 動き出しが遅い前部に位置する胴肢の場合、十分に 後方へ倒れる前に後方から戻ってくる肢にぶつかる ため、腹面に対しておよそ垂直の位置まで動いた時 点で反転し、前方へと戻る。前方へ動く時の胴肢は、 外肢が後方へなびいて後方へ緩やかに屈曲し、水を 捕え難い状態になる。

摂食時、第1胴肢は斜め前方へ伸びた状態で左右 に動き、前方の餌を探るような動きをする。それ以 外の前方胴肢の基本的な動きは遊泳時と同じだが、 動く範囲がはるかに狭い(図4)。最前部の胴肢が 腹面に対してほぼ垂直の位置から後方へ倒れる範囲 (約60°)を動くのが最大で、後方の胴肢はほぼ常 に後方へ傾いた状態で約15°の範囲を前後に行き 来するのみである。このため、後部の胴肢の外肢は 水を捕えて後方へ押すことはなく、前部の胴肢の外 肢がわずかに水を後方へ押すのみである。すなわ



図 4. 胴肢の動き.上図は移動時の胴肢の動き.下図は 移動していない時の胴肢の動き.



図 5. 縦断面を左側から見た写真. スケールバーは 1mm.



図 6. カブトエビの胴肢. 上図は横断面を前から見て模式的に示した. 下図は左胴肢を前からみて模式的に示した. スケールバーは 1mm.

ち、摂食時のゆっくりとした前進運動は、前部の胴 肢によってもたらされ、また、この胴肢の動きは体 の下にある堆積物を掻き混ぜて餌を探す機能を同時 に担っている。一方、後部の胴肢は後方へ傾いた状 態でほとんど動かないことから、互いに重なり合っ て明瞭な壁をつくり、左右の胴肢の間に漏斗状の空 間を維持する。この構造により、前方から流れてく る餌は確実に第11 胴肢の付け根に収束し、食溝に 取り込まれる(図4,5,6参照)。

#### 胴肢の形態

胴肢の長さは後方へ向うに従って短くなる(図5)。 これは内葉が付く基部の長さが徐々に短くなるため で、このことが左右の胴肢基部と内肢がつくる空洞 を後方へ向って漏斗状に狭くさせ、第11 胴肢付近 に収束させる構造をつくりだす。一方、胴肢の外側 へ付く外肢は、後方へ向って少しづつではあるがむ しろ大きくなる。外肢は薄く柔軟性があり、後面 が窪むように湾曲しているので(図5)、後方へ動 く時に水を捕えるのに好都合な形である。内肢は胴 肢がつくる空洞に蓋をするように胴肢基部に付いて おり(図5,6)、その付け根には関節様の構造があ り、内側へ動く。内肢は他の内葉とともに前方から 流れてくる餌を食溝に押し込む働きをすると考えら れる。胴肢の付け根、食溝に蓋をするような位置に ある顎基は前方へ傾いており、胴肢の前後の動きで、 食物を前方へと運ぶ機能を果たすと考えられる。

#### 結論

本研究で明らかになったカブトエビの胴肢を用いた 遊泳と摂食の様式は、Fryer(1988)の記述と基本 的に一致する。胴肢が遊泳移動と摂食という2種類 の機能を果たすことはこれまでも知られていたが、 実際、どのような機構でそれを行っているのかは不 明であった。今回、ハイスピードカメラによって、 胴肢の詳細な動きが明らかになり、その機構がはじ めて明らかになった。その要点は次のとおりである。 1) 遊泳移動時に主として推進力を与える胴肢は体 の後部に位置する前方胴肢である。前部の胴肢に比 べて大きな範囲を動き、かつ、水を捕えて後方へ押 す外肢が前部のものに比べて大きいことはこの機能 によく合っている。

2) 摂食時、体の後部に位置する前方胴肢は、後方

へ倒れた状態で前後にわずかに動くだけであり、こ の動きにより餌を集める漏斗状の空間を左右の胴肢 の間に形成する。この時、これらの胴肢の外肢は水 を捕えて後方へ押すことができず、前進のための推 進力を与えない。一方、体の前部に位置する胴肢は、 腹面にほぼ垂直に立った状態で狭い範囲を動き、体 の下にある堆積物を撹拌して餌を探すと同時に、前 進のための推進力を与える。

#### 謝辞

本研究を行うにあたり、神奈川県川崎市多摩区長尾 町会長の井田肇氏にはカブトエビの採集にご協力頂 いた。また、神奈川大学理学部生物科学科集団生物 学研究室第二の大学院生及び卒業生には有意義な討 論をして頂いた。以上の方々にこの場を借りて厚く 御礼申しあげる。

### 文献

- 1) 秋田正人 (2000) カブトエビのすべて: 生きている 化石「トリオップス」, 八坂書房, 東京.
- Cannon HG (1933) On the feeding mechanism of the Branchiopoda. *Phil. Trans. Soc. Lond.* B 222: 267-352.
- Fryer G and Boxshall G (2009) The feeding mechanisms of Lynceus (Crustacea: Branchiopoda: Laevicaudata), with special reference to L. simiaefacies Harding. Zool. J. Linnean Soc. 155: 513-541.
- Martin JW (1989) Morphology of feeding structures in the Conchostraca with special reference to Lynceus. *Functional Morphology of Feeding and Grooming in Crustacea.* 6: 123-136.
- Lowndes AG (1933) The feeding mechanism of *Chirocephalus diaphanous* Prévost, the fairy shrimp. *Proc. Zool. Soc. Lond B* 103: 1093-1118
- 6)長縄秀俊(2006)東アジアの大型鰓脚甲殻類:10. ホウネンエビ類の摂食メカニズム. 海洋と生物 286: 656-667.
- Fryer G (1987) The feeding mechanisms of the Daphniidae (Crustacea: Cladocera): recent suggestions and neglected considerations. J. *Plankton Res.* 9 (3):419-432.
- 8)田中祐志(2004)動物プランクトン採餌機構の直接 観察(日本プランクトン学会・日本ベントス学会合 同シンポジウム プランクトン研究とベントス研究の フロンティア). 日本プランクトン学会報 51:151-154.
- 9) Fryer G (1988) Studies on the functional morphology and biology of the Notostraca (Crustacea:Branchiopoda). *Phil. Trans. Soc. Lond.* B 321: 27-124.

#### ■原 著■ 2009 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

# 相模川河口域の海況と植物プランクトンの分布

# 児玉壮史<sup>1</sup> 鈴木祥弘<sup>1,2</sup>

# Sea Condition in the Estuary of the Sagami River and Its Effects on the Distribution of Phytoplankton

### Masafumi Kodama<sup>1</sup> and Yoshihiro Suzuki<sup>1</sup>,

- <sup>1</sup> Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan
- $^{\scriptscriptstyle 2}$   $\,$  To whom correspondence should be addressed.

**Abstract:** Stratifications of the sea water-body and distributions of phytoplankton in winter were estimated in the Estuary of the Sagami River. Fresh water from the river made a cold but low-density water-body, which covered the surface of this area to 40 m depth. Vertical mixing was limited in this layer and water-bodies in this area were totally stratified in spite of the cooling of surface water by low temperature air. Biomass of the phytoplankton was maintained at more than 2.6 µg/L in this layer.

Keywords: sea condition, the Sagami River, phytoplankton, chlorophyll

# 序論

相模湾は伊豆半島から三浦半島を経て房総半島に至 る、太平洋にむかって開かれた湾である。この湾の 沖合には黒潮が流れ、様々な河川から淡水が流入す る。このため湾内は複雑な環境を形成している<sup>1)</sup>。 中でも、平塚市周辺の海域には、この湾に流入する 主要な河川の一つである相模川が流入している。そ の河口付近では、降雨などで変化する淡水の流入や 潮汐などにより、環境が複雑に変動することが予想 される。この海域に生息する生物は、変動が予想さ れる。環境の下で生息している。特に、能動的な移 動能力をもたない植物プランクトンには、この変動 する環境への対応が顕著であると考えられる。本研 究では、河口域の環境変動に対する植物プランクト ンの対応を調べるため、その基礎となる相模川河口 域の主要な環境要因について測定を行い、これと対 応づけて植物プランクトンの分布の測定を行った。

## 材料と方法

2009年12月16日の9:00~13:00の時間内に、 以下の手順で測定を実施した。

#### 測定地点

模川河口から平塚沖合約 2200 m まで、約 150 m

間隔で南北方向の直線上に、測定地点を20点設 定した。全地球測位システム(GPS)端末(FG-0530,EMPEX社日本)を用いて、測定地点の位置 を確認した。

# 主要な環境要因(電気伝導度・温度・水深(CTD)) とクロロフィル蛍光強度の測定

測定に用いた遊漁船(栄宝丸 1700 トン)上に、移 動式簡易巻き上げ機(離合社)を設置した。これ に大型電動リール(CX-7S,ミヤマエ社日本)を 固定して簡易ウィンチとした。各測定地点に到 着後、このウィンチを利用して CTD 自動測定器 (OceanSeven316, IDRONAUT 社 Italy) を一定の 速度(1.0 ms<sup>-1</sup>)で海面から海底直上まで垂下し、 その後、同じ速度で海面まで巻き上げた。この間、 1.0 mごとに電気伝導度、温度、圧力とクロロフィ ル蛍光強度を測定した。得られた測定結果は、測定 器付属のソフトウェアにより塩濃度、水温、水深と クロロフィル濃度に換算した。測定中に確認した緯 度と経度より、測定地点を算出し、河口からの距離 を計算した。河口からの距離と水深および各測定値 の関係をソフトウェア(Gsharp,dlp社日本)を用 いて図表化し、コンターマップで表示した。



図1. 相模川河口付近海中の塩濃度. A. 相模川河口からの距離と水深による塩濃度の変化. 図中の数字は等直線上の推 定塩濃度(‰)を表す. 海底を表す曲線上の黒四角(■)は,この点と直上の海面の間で測定を行ったことを示している. B. 河口付近での塩濃度の鉛直分布. C. 沖合 2200 m での塩濃度の鉛直分布.

# 結果と考察 相模川河口付近の南北方向の水深の変化

河口から南方 2000 m 付近までの南北方向の水深 は、3 段階で変化し、沖へ進むほど急に水深が増加 した(図 1A)。まず、河口付近から沖合 800 m ま では、 $2.0 \times 10^2$ の割合で緩やかに傾斜していた。 河口で 3.7 m であった水深は、沖合 800 m で 19.6 m となった。次に、この地点から沖合 1400 m まで の傾斜は  $7.3 \times 10^2$  となった。沖合 1400 m での水 深 63.5 m に達した。さらに沖合では、傾斜は 15.5 ×  $10^2$  と急になった。このため沖合 2200 m での水 深は 290 m に達した。

#### 塩濃度の分布

20ヶ所の測定地点で塩濃度の鉛直分布を求め、これらの結果から、海中の塩濃度の分布を求めた(図 1A)。相模川から流入する淡水の影響を最も大きくうける河口付近では、海面の塩濃度は20.0~23.0 ‰であった。塩濃度は水深とともに急激に上昇し、 水深1.5 mで34.0‰に達し、海底7.3 mに達する までこの値に大きな変化はなかった(図1B)。一方、 淡水の影響が最も小さいと考えられる沖合2200 m では、海面の塩濃度は32.0‰であった。塩濃度は 水深とともに上昇し、水深 2.0 m で 34.0%となり、 その後水深 65.9 m で 34.4 ‰となるまで、海底付 近よりわずかながら低い塩濃度が維持された。水深 50 m 付近で、塩濃度が一時的に低下して 34.3 ‰と なった。しかし、水深 65 m 以深で再び塩濃度が上 昇し、水深 80.4 m で 34.5‰となり、水深 110 m ま で同じ値を示した(図1C)。河口付近表層での塩濃 度は沖合水深 100 m 付近、34.5‰のおよそ半分で あった。しかし、水深 1.5 m 以深では、その 98.5 %に達しており、淡水の影響は表層のわずかな水深 に限られていた。一方、沖合 2200 m でも、わずか ではあるが海面の塩濃度は海中より低かった。また、 水深 50~65 m で塩濃度が一時的に低下したこと は、河川の影響をうけた低い塩濃度の水塊が河川の 影響のない水塊の下に入り込んでいたためであると 考えられる。下層に入り込んだ低い塩濃度の水塊は、 沖合 1500 m 付近から 2200 m に認められた。低い 塩濃度の水塊は、沖合 1500 m では水深 20 ~ 60 m と 40 m の厚さに見積もることができたが、沖合に 行くほど低塩濃度の層は薄くなった(図1A)。

#### 海水温の分布

20ヶ所の測定地点で水温の鉛直分布を求め、これ



図 2. 相模川河口付近海中の水温. A. 相模川河口からの距離と水深による水温の変化. 図中の数字は等直線上の推定水 温を表す. 海底を表す曲線上の黒四角(■)は、この点と直上の海面の間で測定を行ったことを示している。B. 河口 付近での水温の鉛直分布. C. 沖合 2200m での水温の鉛直分布.

らの結果から、海中の水温の分布を算出した(図 2A)。相模川から流入する低温の淡水の影響を受け る河口付近では、海面の水温は11.8 ℃であったが、 水深とともに急激に上昇し、水深 3.0 m で 20.0 ℃ に達した。それ以深で水温は次第に低下し、海底 7.3 m 付近で 19.5℃となった (図 2B)。一方、淡水 の影響が最も小さいと考えられる沖合2200mでは、 海面の水温は18.8 ℃であり、水温は水深とともに 上昇し、水深 3.4 m で 20.0℃となった。水深 3.0 ~ 48.8 m でこの水温に大きな変化はなかった。さら に深くなると、水温は徐々に低下し、水深 110 m で 16.1 ℃に低下した(図 2C)。海面数 m の水温は低 かった。これは、低温の外気により冷却されるため であることが予想される。河口付近のさらに低温の 表層水は、河川から流入する低温の淡水の影響を受 けているためであると考えられる。これらの低温の 表層の下にも20℃以下の比較的低温の水塊が存在 し、20℃の水塊の上部を覆っていた(図 2A)。比較 的低温の水塊の分布は、海底より低い塩濃度の水塊 の分布と対応していた(図 1A)。河口から沖合 500 mまでは、この水塊は海面から海底まで認められた。 さらに沖合では20℃の水塊の下に低温の水塊が存 在し、水深とともに水温が低下していた(図2A)。

#### 海水密度

海水の密度(kg/m<sup>3</sup>)から1000を引いて表した海 水密度の指標<sup>2)</sup>(δ)を塩濃度と水温、水深(圧 力)から算出した。これにより、20ヶ所の測定地 点でδの鉛直分布が求められ、さらに、海中のδの 分布が算出された(図 3A)。河口付近の海面のδ は16.0~17.0kg/m<sup>3</sup>であり、水深とともに急激に 上昇し、水深 1.0m で 24.0kg/m<sup>3</sup> に達した。それ以 深ではほとんど変化はなく、水深 6.0m で 25 kg/m<sup>3</sup> となった(図 3B)。一方、沖合 2200m では、海面 のδは23.0 kg/m<sup>3</sup>であり、水深6.0 mで25 kg/m<sup>3</sup> に達した。その後、水深が増すにつれて圧力とと もに海水密度は増加し、CTD 測定限界水深である 110 m で 36kg/m<sup>3</sup> に達した (図 3C)。全測定地点 で26.0 kg/m<sup>3</sup>以下の低密度の水塊が上部に存在し た。低密度層は、相模川からの淡水の影響を大きく 受ける河口付近では海底にまで達した。沖合1700 m付近で一時的に薄くなったが、沖合1000m以遠 では約30mの厚さで変化はなかった(図3A)。

#### クロロフィル濃度

20ヶ所の測定地点でクロロフィル蛍光の鉛直分布 を測定し、海中のクロロフィル濃度の分布を算出



図 3. 相模川河口付近海中の海水密度. A. 相模川河口からの距離と水深による海水密度(δ)の変化. 図中の数字は等 直線上の推定密度(δ)を表す. 海底を表す曲線上の黒四角(■)は、この点と直上の海面の間で測定を行ったことを示 している。B. 河口付近での海水密度(δ)の鉛直分布. C. 沖合 2200 m での海水密度(δ)の鉛直分布.

した(図4A)。河口から沖合1000m付近までの 測定地点では、海底まで3.4µg/L以上の値を示し た。さらに沖合では、この層は次第に薄くなり、沖 合2200mでは水深20m以下になったが、2.6µg/ L以上の値が水深40m以浅で維持されていた(図 4A)。河口のクロロフィル濃度は、水深とともに上 昇し、海底7.0m付近で4.6~6.5µg/Lとなった(図 4B)。一方、沖合2200mでは、水深42.3m以浅 でクロロフィル濃度が3.1~4.2µg/Lの範囲にあっ た。水深40m以深では、クロロフィル濃度が低下し、 水深90.1mではクロロフィル蛍光が測定されなか った(図4C)。

#### 海況

2009年12月16日の調査では、比較的高温(20.0 ℃)の海水に低温(12℃以下)の河川水が流入し 影響を与えていた。特に、表層数mには著しく低 温で塩濃度の低い水塊が広い範囲で認められた(図 3A)。さらに、わずかに塩濃度の低い水塊が、水深 60m以浅に存在していた(図1A)。塩濃度の差は 僅かではあるが、この水塊により、相模川河口で は密度による成層構造を維持されていた(図3A)。 中緯度海域では、冬期に表層の温度が低下し、密 度が上昇すると、鉛直混合が起きる<sup>3)</sup>。測定海域の 水深 100m の水温がおよそ 16 ℃であり、表層の最 低水温が11.8℃であることを考えると、この海域 の鉛直混合の水深は100 m以上となる可能性もあ る。しかし、この海域では、表層水は本来の海水 塊の下まで沈降できず、混合の水深は比較的浅く なっていた。温度低下による密度の上昇にもかか わらず、低塩濃度の表層海水が本来の海水の密度 以上にはならないためである。鉛直混合の水深が 深いと植物プランクトンは無光層まで移動するこ ととなり、水深の深い海域では植物プランクトン の生物量が低下する<sup>3)</sup>。この海域では、植物プラン クトン生物量の指標となるクロロフィル濃度は河 口で高く、沖合で低い傾向が認められた。その差 は小さく、この海域全体で、海面から水深 40.0 m までほぼ一定の高いクロロフィル濃度が維持され ていた(図4A)。こうした均一な植物プランクト ンの分布も、鉛直混合がこの水深以浅に限定され ている可能性を示している。我々の研究から、相 模川からの淡水の流入は、冬期の鉛直混合の深度 を限定しており、この結果、海域の一次生産を高 く保っていることが示唆された。



図 4. 相模川河口付近海中のクロロフィル濃度. A. 相模川河口からの距離と水深によるクロロフィル濃度の変化. 図中の数図は等直線上の推定クロロフィル濃度(µg/L)を表す海底を表す. 曲線上の黒四角(■)は、この点と正上の海面の間で測定を行ったことを示している. B. 河口付近でのクロロフィル濃度の鉛直分布. C. 沖合 2200m でのクロロフィル濃度の鉛直分布.

# 謝辞

沖合での調査を実施するために、神奈川県平塚市漁 業協同組合と組合所属栄宝丸のご協力が不可欠でし た。神奈川県平塚市漁業協同組合の伏黒哲司氏と栄 宝丸船長の上谷きよし氏に深く感謝いたします。

# 文献

- 1) 日本海洋学会編 (1985) *日本全国沿岸海洋誌*.東海大 学出版会,東京.
- 2) Protocols for the joint global ocean flux study(JGOFS) core Measurements(1994UNESCO).
- Lalli CM and Parsons TR (1995) Biological Oceanography : An Introduction (Open University Oceanography Series). Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford, UK.

■原 著■ 2007~2009年度神奈川大学共同研究奨励助成論文

# 透過型電子顕微鏡と原子間力顕微鏡を用いた花粉母細胞における 減数分裂期染色体の形態変化に関する研究

安積良隆 1.3 日下部千鶴 1 綾部仁美 1 北村 巧 1 大塚一郎 2

Analysis of Morphological Change of Meiotic Chromosomes in Pollen Mother Cells Using Transmission Electron Microscope and Atomic Force Microscope.

# Yoshitaka Azumi<sup>1,3</sup>, Chiduru Kusakabe<sup>1</sup>, Hitomi Ayabe<sup>1</sup>, Ko Kitamura<sup>1</sup> and Ichiro Ohtsuka<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan

 $^{\rm 2}~$  Faculty of Engineering, Kanagawa University, Yokohama City, Kanagawa 221-8686, Japan

<sup>3</sup> To whom correspondence should be addressed. E-mail: adumiy01@kanagawa-u.ac.jp

**Abstract:** We have been engaged in analysis of chromosome behavior at meiosis of pollen mother cells of wild-type and meiotic mutant *Arabidopsis thaliana* using light microscopes. In order to examine the structural changes of chromosomes during meiosis in more detail, we tried transmission electron microscope (TEM) and atomic force microscope (AFM). Meiotic chromosomes stained with silver nitrate were successfully spread on a plastic membrane and clearly observed under TEM. AFM analysis revealed that synapsed homologous chromosomes at pachytene contained a specialized structure, in which homologous telomeres were connected.

*Keywords: Arabidopsis thaliana*, meiosis, chromosome, transmission electron microscope, atomic force microscope

# 序論

ほとんどの高等生物は、雌性配偶子と雄性配偶子が 合体(受精)することによって次世代が生み出され る有性生殖を行う。受精の際に、染色体の倍加が起 こるが、世代を通じて染色体数を一定にするために、 減数分裂を行い、予め配偶子の染色体数を半減させ ておく。減数分裂はせっかく二組ある染色体を一組 に減らす分裂であり、染色体数を維持するのに不可 欠なものではあるが、減数分裂の結果、染色体が一 本でも多かったり、あるいは少なかったりしても致 命的な影響が現れる大変な危険を伴う分裂である。

減数分裂は一度の染色体複製の後、二度の分裂が 起こる。それぞれ第一分裂、第二分裂と呼ばれ、前期、 中期、後期、終期からなる。減数第一分裂の前期は、 染色体が細い糸状に見え始める細糸期(レプトテン 期)、相同染色体がペアリングし始める合糸期(ザ イゴテン期)、完成したシナプトネマ複合体を介し て相同染色体同士が互いに接着する太糸期(パキテ ン期)、シナプトネマ構造が崩壊し染色体がさらに 凝縮する複糸期(ディプロテン期)、凝縮がほぼ完 成する移動期(ディアキネシス期)の5つの時期に 分けられる。太糸期の相同染色体同士の全体的な接 着は対合と呼ばれる。複糸期には組換えの結果生じ たと考えられる交差(キアズマ)が観察されるよう になる。減数第一分裂中期には二価染色体が赤道面 に整列し、後期には相同染色体同士が分かれて別々 の極へと移動する。減数第一分裂終期には核が形成 され、その中で染色体は脱凝縮する。減数第二分裂 前期には染色体は再び凝縮を始め、第二分裂中期に は観察されるようになった染色体が各々の赤道面に 整列する。後期には今度は姉妹染色分体間の分離が 起こり、それぞれ違う極へと移動する。終期には1 つの母細胞から4つの核が形成され、最終的に4つ の細胞がつくられる。減数分裂と体細胞分裂の最も 重要な違いは第一分裂前期に相同染色体が対合する ことで、このことが相同染色体の正常な均等分配の 前提条件となる。太糸期以後も相同染色体は連結さ

れた二価染色体の状態を減数第一分裂後期が始まる まで維持していなければならない。相同染色体同士 が対合しない変異体や連結を減数第一分裂中期が終 わるまで維持できない変異体では相同染色体の分配 は不均等になり(不分離)、異常な配偶子が形成さ れる。

シロイヌナズナ(Arabidopsis thaliana) はゲノ ムサイズが小さい、世代時間が短い、栽培が容易な どの理由からモデル植物として採用されたが、染 色体が小さいため染色体の観察は容易ではなかっ た。しかし、現在では Ross らが開発した、細胞壁 を酵素処理によって消化しスライドガラス上に染色 体を展開させる消化展開法によって減数分裂期の各 ステージの染色体を光学顕微鏡レベルでは比較的簡 便に観察することが可能となっている<sup>1)</sup>。そのため 1990 年代後半から減数分裂に関する変異体がシロ イヌナズナで数多く単離・解析され、植物における 減数分裂研究の牽引役となっている<sup>2,3)</sup>

透過型電子顕微鏡は光学顕微鏡よりも分解能が 1000 倍高いと言われている。展開されたシロイヌ ナズナの減数分裂期染色体の電子顕微鏡を用いた解 析も行われているが4)、技術的に困難で普及してい ない。樹脂に包埋された染色体の切片の電子顕微鏡 観察も行われているが
<sup>5)</sup>、この方法は染色体の一断 面しか観察できないという問題がある。原子間力顕 微鏡は走査型プローブ顕微鏡の一種で、試料の調製・ 観察が非常に簡便である。この顕微鏡を用いると染 色体などの立体的な構造が描き出される<sup>6)</sup>。また原 子間力顕微鏡は蛍光顕微鏡などと組み合わせて使用 することもできる。相同染色体の正常な均等分配に 必要な相同染色体間の連結に着目しながら、平面上 に展開したシロイヌナズナの染色体を材料にして、 減数第一分裂前期から後期までの染色体の構造の変 化を、透過型電子顕微鏡や原子間力顕微鏡を用いて 調べることにした。

# 材料と方法

# 実験植物

シロイヌナズナ (Arabidopsis thaliana) は、神奈 川大学・平塚キャンパス内の植物育成棟内で栽培し た。60  $\mu$ molm<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>の白色光、14 時間 10 時間の明 暗周期、気温 24℃、湿度 60%の条件下で、ハイポ ネックスと MS 培地を交互に、週に一度与えながら 栽培した。播種後、5 ~ 7 週間目の植物の花序を採 取し、ファーマー液 (Ethanol, Acetic Acid; 3:1) 中、 室温で 20 時間程度置くことによって固定した。そ の後は -20℃で保存した。

#### 花粉母細胞の消化

花粉母細胞の染色体試料作製は Azumi らの方法<sup>¬</sup> に従った。固定した試料を 10 mM クエン酸緩衝 液 (pH4.5) 中で洗った後、cytohelicase (Sigma)、 cellulase "ONOZUKA" R-10 (Yakult)、pectolyase (Kikkoman) (各 0.4%(w/v)) を含む同緩衝液中、適 宜脱気をしながら、37℃3時間保温し、細胞壁を 消化した。同緩衝液で洗った後、4℃で保存した。

#### 原子間力顕微鏡観察

消化処理がなされた花序をシャーレ上の 60%酢酸 に浸し、その中の適当な大きさのつぼみを選んで スライドガラス上の 60%酢酸に移した。スライド ガラス上でつぼみから葯を取り出し、つぶして花粉 母細胞を拡散させた。45℃のホットプレート上に 1分間置き、氷冷したファーマー液(エタノール: 酢酸=3:1)と混合した後、乾燥させた。0.15µg /µL DAPI(4',6-diamino-2-phenylindole)で蛍光 染色し、カバーガラスをかけずに、そのまま原子 間力顕微鏡 MFP-3D-SA-J(アサイラムテクノロジ ー)を用いて観察した。取得したデジタル画像は Photoshop(アドビ)を用いて加工した。

#### 透過型電子顕微鏡観察

プラスチックシャーレ (IWAKI) をクロロホルム に溶かし、0.9% (w/v) コーティング溶液を作製し た。コーティング溶液にスライドガラス (松浪) を 1分間浸し、すばやく引き上げ、乾燥させることに よってスライドガラス上にプラスチックの薄膜を作 製した。

消化した花序をシャーレ上の 60% 酢酸中に移し た後、適当な大きさの蕾を選抜し、同じシャーレ 上の 60% 酢酸中で解剖した。 葯をつぶして花粉母 細胞を拡散させたのち、プラスチックの薄膜の上 に移し、45℃のホットプレート上に30秒間保温 した。氷冷したファーマー液を周囲に滴下し、緩 やかに混和させた後、ファーマー液を捨て、スラ イドを乾燥させた。4%パラフォルムアルデヒド, 0.05% TritonX-100, PBS 溶液を細胞のある位置に 滴下し、20分間室温で保存した。超純水で洗浄後、 乾燥させた。20%硝酸銀、1%ゲラチン、0.5%蟻 酸溶液を細胞に滴下し、55℃のホットプレート上 で150秒間保温することで染色した。超純水で洗 浄し、乾燥させた後、細胞のある部分の周りをカ ッターで切り、水中で細胞のある部分だけを浮遊 させた。電子顕微鏡観察用のグリッドで薄膜をす くい、乾燥させた。

透過型電子顕微鏡 JEM2000EX(JEOL)を用

いて観察を行い、撮影したフィルムをスキャナー で取り込み、デジタル画像を取得した。画像は Photoshop (アドビ)を用いて加工した。

# 結果

#### 電子顕微鏡による解析

Ross らが開発したシロイヌナズナの減数分裂期染 色体の観察法(消化展開法)は、花粉母細胞の細胞 壁を消化酵素によって取り除き、細胞をスライドガ ラス上に非常に薄く平板状に貼り付け、染色体を DNAに非常に親和性の高い蛍光試薬である DAPI で染色し、蛍光顕微鏡を用いて観察するもので、操 作が比較的簡便でそれぞれの細胞が有する染色体全 体の挙動を調べるには非常に適している。しかし、 個々の染色体の変化を詳しく調べるためにはより解 像度の高い顕微鏡を用いた観察が必要となる。それ で光学顕微鏡よりもはるかに高い分解能を持つ電子 顕微鏡を使用することにした。しかし、電子顕微鏡 で観察で一般に行われている方法は、樹脂中に包埋 した試料を超薄切片にしたものを観察するものであ る。この方法では染色体全体を同一切片中に観察す ることはできない。

我々はこれまでの光学顕微鏡用の試料調製に利用 してきた消化展開法のノウハウを応用して電子顕微 鏡用の試料調製を行うことにした。光学顕微鏡用試 料調製時と同様に、ファーマー液で固定したシロイ ヌナズナの花序をサイトヘリカーゼ等を含む消化液 で処理したものを準備した。光学顕微鏡観察ではこ れをスライドガラス上に直接展開するところ、スラ イドガラス上に張ったプラスチックの薄膜の上に展 開した。パラフォルムアルデヒド溶液で再固定した 後、硝酸銀で染色したものを電顕観察用のグリッド に載せ、電子顕微鏡で観察を行った。

スライドガラスに直接展開する場合と比べると、 プラスチック薄膜に固着する細胞の割合は低いもの の、多くの体細胞の中に減数分裂中の花粉母細胞が 観察された。図1は相同染色体の対合がほぼ終わ ろうとしているザイゴテン期からパキテン期への移 行期の染色体像を示している。多くの部分で相同染 色体同士がほぼ平行して走っているのがわかる。白 く太く見える部分はヘテロクロマチン化している 領域でセントロメア領域に相当すると考えられる。



図1. 透過型電子顕微鏡による減数分裂染色体の観察. 合糸期の染色体. シロイヌナズナの 花粉母細胞をファーマー液で固定後,減数分裂期染色体を消化展開法によりプラスチック薄 膜の上に展開した. 硝酸銀を用いて染色した後,透過型電子顕微鏡を用いて観察した. ス ケール:2 µm.



図2. 原子間力顕微鏡による減数分裂期染色体の観察.シロイヌナズナの花粉母細胞をファーマー液で固定後,減数分裂 期染色体を消化展開法に従い,スライドガラス上に展開した. DAPIを含む水溶液中の染色体を原子間力顕微鏡で観察した. A. 合糸期の染色体の全体像. B. Aの矢印部分を拡大したもの. C. 太糸期の染色体の全体像. D. Cの矢印部分(デ ロメア)を拡大したもの. E. 移動期の2つの花粉母細胞. F. Eの矢印の染色体を拡大したもの. 色調により起伏を 表し,各パネルの右側のバーは起伏のスケールである.
DAPI 染色した光学顕微鏡像<sup>80</sup>と比較すると分かる が、光学顕微鏡では観察することのできない染色体 間の絡み合いなどを観察できた(図1矢印)。

#### 原子間力顕微鏡による観察

透過型電子顕微鏡では電子が通過できない部分が影 としてスクリーン上あるいはフィルム上に現れるの に対し、原子間力顕微鏡は試料の表面の凹凸をプロ ーブが感知し、それを像として描き出す。電子顕微 鏡では見る事のできない染色体の構造が観察される ことを期待して、原子間力顕微鏡での観察を行った。 蛍光顕微鏡観察用の試料調製法に従ってスライドを 準備するため、方法は簡便で多くの花粉母細胞を観 察することができた。

図 2A, B の染色体は合糸期と考えられる。図 2A の方では文献8等の光学顕微鏡観察像と大きな差は 認められないが、図 2B のように倍率を上げると、 それぞれの相同染色体はらせん状のソレノイド構造 をとっているのがわかる。相同染色体が対合してい る領域でもそれぞれの染色体のソレノイド構造は維 持されているのが観察された。図 2C, D は太糸期 の染色体であるが、この時期ではそれぞれの染色体 のソレノイド構造は不鮮明であった。図 2D はテロ メア部分を拡大したものである。テロメア以外の部 分では相同染色体同士は互いに 400 nm 程度の距離 を保ちながら平行に並んでいるのに対し、相同染色 体の姉妹関係あるテロメアも相同関係にあるテロメ アも互いに密着している様子が観察された。図 2E, F は移動期の染色体を示している。倍率を上げても それぞれの染色体を構成している姉妹染色分体を識 別することはできなかった。相同染色体同士はテロ メア領域あるいはキアズマによって連結されている 様子が覗える。

#### 討論

本研究は光学顕微鏡では分離能の限界のため解析で きないような染色体の微細な構造の変化を調べるた め、透過型電子顕微鏡と原子間力顕微鏡の利用を試 したものである。まだまだ、固定方法や染色方法な どのさらなる条件検討が必要であるが、これまでに 得られた成果をまとめて報告する。

透過型電子顕微鏡を用いると光学顕微鏡では観察 し得ない染色体の細部まで観察することができた。 ヘテロクロマチン化したセントロメア領域が他の部 分よりも早く対合しているように見えるが、テロメ ア領域でも対合が早期に起こると考えられており、 テロメア領域を識別できるような工夫をこらすこと によって、テロメアとセントロメアのいずれがより 早く対合するかといった問題の解決にも電子顕微鏡 観察は非常に有用であると考えられる。しかし、透 過型電子顕微鏡で観察を行うにはプラスチックの薄 膜上に細胞を固着させる必要があるが、固着する割 合がガラスに比べると100分の1程度ではないか と推測される。今後、この点を改善し、より効率的 に観察できるようにしたいと考えている。また、相 同染色体間に形成されるシナプトネマ構造などの蛋 白質性の構造をより詳細に観察できるように固定・ 染色方法も改善し、相同染色体間の連結構造を明ら かにしたいと考えている。

原子間力顕微鏡は観察する試料の調製は、光学 顕微鏡観察用のものと同じで非常に簡便でありな がら、非常に解像度の高い像が得られる。基本的 に原子間力顕微鏡は表面の凹凸といった形状を感 知するもので、観察対象の硬軟についても調べる ことはできるが、色など対象物を同定するような 情報は得られない。しかし、蛍光顕微鏡と組み合 わせることで、目的の蛋白質や DNA 配列がどこに あるかを、調べることが可能となる。本研究でも 染色像を示していないが、DAPI で試料を蛍光染色 し、蛍光顕微鏡を用いて、数多くある体細胞の中 から僅かしかない減数分裂期の花粉母細胞を探し 出しておいてから、原子間力顕微鏡による観察を 行っている。さらにコヒーシン複合体、シナプト ネマ構造、テロメア構造の蛋白質に対する抗体を 使えば、姉妹染色体を繋ぎとめているコヒーシン 複合体、相同染色体間に形成されるシナプトネマ 構造、二価染色体状態を最後まで維持するの必要 なのではないかと考えているテロメア構造などが、 減数分裂が進行する過程でどのような変化を示す のかを、光学顕微鏡では不可能であったレベルで 調べることが可能になるものと思われる。

#### 謝辞

本研究は神奈川大学共同研究奨励助成の補助金を得て、実施された。

#### 文献

- Ross KJ, Fransz P and Jones GH (1996) A light microscopic atlas of meiosis in Arabidopsis thaliana. Chromosome Res. 4: 507-516.
- 2) Azumi Y, Liu D, Zhao D, Li W, Wang W, Hu Y and Ma H (2002) Homolog interaction during meiotic prophase I in *Arabidopsis* requires the SOLO DANCERS gene encoding a novel cyclin-like protein. *EMBO J.* 21: 3081-3095.
- Mercier R and Grelon M (2008) Meiosis in plants: ten years of gene discovery. Cytogent Genome Res. 120: 281-290.
- 4) Albani SM (1994) A karyotype of the Arabidopsis

*thaliana* genome derived from synpatonemal comples analysis at prophase I of meiosis. *Plant J.* **5**: 665-672.

- 5) Wijeratne AJ, Chen C, Zhang W, Timofejeva L and Ma H (2006) The *Arabdiopsis thaliana* PARTING DANCERS gene encoding novel protein is required for normal meiotic homologous recombination. *Mol. Biol. Cell* **17**: 1331-1343.
- 6) Ushiki T and Hoshi O (2008) Atomic force microscopy for imaging human metaphase chromosomes. *Chro*-

mosome Res. 16: 383-396.

- 7) Azumi Y, Toyama T, Igarashi A and Suzuki H (2001) A sensitive fluorescence in situ hybridization procedure applicable to whole stages of male maiosis of *Arabidopsis thaliana*. *Chromosome Sci.* **5**: 1-6.
- Azumi Y, Sakai A, Kuromori T and Matsunaga S (2006) Analysis of chromosome behavior of *Arabidopsis* mutans defective in reproductive processes. *Sci. J. Kanagawa Univ.* 17: 77:80.

## ■研究交流■

# 第五回神奈川大学 - 国立台湾大学学術交流の記

#### 木原伸浩<sup>1,2</sup>

Report of the 5<sup>th</sup> International Exchange Program between the Kanagawa University and the National Taiwan University

## Nobuhiro Kihara<sup>1,2</sup>

- <sup>1</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka City, Kanagawa 259-1293, Japan
- $^{\rm 2}$   $\,$  To whom correspondence should be addressed. E-mail: kihara@kanagawa-u.ac.jp  $\,$

### はじめに

2006年(平成18年)に始まった本学と国立台湾 大学との国際学術交流事業は、毎年新しい試みを付 け加えながら開催されてきた。その第五回目の国際 交流活動が2010年1月21日(木)から24日(日) にかけて本学湘南ひらつかキャンパスを中心に行な われた。本学術交流協定は、結ばれてから5年が 経過し、この機会に本学術交流協定を発展的に見直 す機運が双方に生じている。今回の交流では、将来 につながる様々な新しい工夫が凝らされたこともあ り、ここで、今回の交流の記録を残すと共に、今後 の交流のあり方についても記しておくことは意味の あることであると思われる。

国立台湾大学化学科(化学系)と神奈川大学理学 部化学科との学術交流協定が平成17年3月に結ば れてから平成20年12月の第四回学術交流国際会 議が開かれるまでどのように発展してきたかについ ては、折りに触れて本誌に報告されてきた<sup>1:3</sup>。そ こで本稿では第五回の学術交流の内容に絞って報告 することとする。

#### 第五回学術交流

#### 概要

第四回の学術交流では、それまでの学術交流と大き く異なり、初めて学生が参加し、本学からは化学専 攻の大学院生6名が訪台した。学術交流の中心行 事として行われた国際会議では、国立台湾大学の学 生も多数参加するポスター発表が行われた。国際交 流への学生の参加は、本学から参加した学生はもと より、国立台湾大学の学生にも非常によい影響を与 えたので、第五回学術交流でもその流れを受け、国 立台湾大学から9名の大学院生を含む総勢14名が 来日した。まず、その一行の名簿を記載しておく。 所属名中、学系とは日本では学科に相当する単位で ある。また、化学系は理学院(College of Science) に属し、生物系は全て生命科学院(College of Life Science)に属する。

```
化学系教授·主任
             周必泰 (Chou, Pi Tai)
化学系副教授
             陳平
                 (Cheng, Richard Ping)
生化科技学系副教授 李昆達(Lee, Kung-Ta)
動物学研究所副教授 潘建源 (Pan, Chien-Yuan)
化学系大学院生
             華紹安 (Hua, Shao-An)
化学系大学院生
             鍾佳蓓 (Chung, Chia-Pei)
化学系大学院生
             蔡智文 (Tsai, Chih-Wen)
化学系大学院生
             謝承志 (Hsieh, Cheng-Chih)
化学系大学院生
             黃千睿 (Huang, Qian-Rui)
動物学研究所大学院生
             曾志祥 (Tzeng, Chih-Hsiang)
植物科学研究所大学院生
             林玉梅 (Lin, Yu-Mei)
分子及細胞生物学研究所大学院生
             黃倖妍 (Huang, Hsing-Yen)
微生物及生化学研究所大学院生
             林志輝 (Lin, Jr-Hui)
化学系事務員
             林佳貞(Lin, Jia-Chen)
このうち、鍾佳蓓さん、林玉梅さん、黄倖妍さん、
および、林佳貞さんが女性である。大学院生はほと
んどが博士課程の学生で、黄千睿君だけが修士課程
の学生である。ただし、台湾の学制は日本の学制と
は異なるので、日本での課程とは意味が異なる。
第五回学術交流の日程は以下のようであった。
21日:成田空港到着 箱根保養所泊
22日:横浜キャンパス訪問・学長表敬訪問・横浜
```

観光・歓迎会(湘南ひらつかキャンパス) 秦野(職員)およびキャンパス(学生)泊
23日:第五回学術交流国際会議 秦野(職員)およびキャンパス(学生)泊
24日:秋葉原観光 成田空港から帰国以下、交流の様子を時系列的に述べる。

#### 21日

国立台湾大学からの一行は 13:30 に中華航空 100 便で成田空港に到着した。この日のうちに箱根ま で移動する必要があるので、早めに来ていただいた のである。国立台湾大学の学生のために、後述する Welcome 委員会のメンバーから白取愛さんと森春 樹君にも来てもらい、空港まで出迎えた。白取さん は昨年の訪台メンバーの1人である。マイクロバス をチャーターして、一路箱根に向かった。約2時間 半の旅程である。

箱根路には、その前の週にはかなりの雪が降った ようであったが、当日には雪が残っておらず、雪景 色を楽しんでいただけなかったのは残念であった。 しかし、刺身と日本酒と温泉は存分に楽しんでいた だいた。夕食からは鈴木祥弘准教授が合流した。長 旅の疲れを取って十分に休んでもらおうと思った が、学生たちは興奮していたのか夜遅くまで歓談を していた。

#### 22日

筆者は1限の授業があるので早朝に日本人学生たち と湘南ひらつかキャンパスに戻り、鈴木祥弘准教授 が横浜キャンパスまで案内した。今日もマイクロバ スで移動である。

まず、バーチャル地球史博物館を見学した。ここ から鈴木陽一外国学部教授が合流し、通訳の労を 取ってくださった。1号館の8階で昼食を取った後、 学長を表敬訪問した。森和亮常務理事(理学部教授)、 池上和夫副学長も出席されて歓談した。席上、学長 から本学術交流協定をより全学的なものに発展させ るよう希望が述べられた。

その後、中華街とランドマークタワーの見学に向 かった。マイクロバスの中では鈴木陽一教授が中華 街をめぐる台湾と大陸の歴史について解説され、大 変興味深かった。関帝廟では案内の女性が台湾出身 で盛り上がったりもした。また、ランドマークタワー では短時間であったがショッピングを楽しんだ。そ の後、湘南ひらつかキャンパスに移動して、歓迎会 を開いた。曾志祥君はパスポートのトラブルで到着 が遅れていたが、歓迎会の直前に合流した。

さて、今回の国際交流において大事な要点は、本 学の学生が積極的に国際交流にかかわることであ る。そのために、2つの試みを行なった。そのうち 1つは、23日の国際交流国際会議において学生も 参加してポスター発表を行なうことであり、もう1 つは、国立台湾大学の一行のうち学生には別に宿泊 してもらい、その世話を本学の学生で行なうことで ある。いずれの試みも湘南ひらつかキャンパス 20 周年記念事業で設置された施設を利用することで初 めて可能になったことである。

歓迎会の後、国立台湾大学の職員は神奈中グラン ドホテル(秦野)で宿泊してもらったが、学生は湘 南ひらつかキャンパス 20周年記念事業で整備され た国際交流研修室(宿泊施設)へ案内した。研修室 はこの前の週にとりあえず完成したばかりである。 まだ各部屋にカーテンもついておらず、今回が使い 初めとなる。また、研修室には簡単な炊事設備はあ るものの、食堂がないので、自炊をしなければなら ない。その他の関連する生活の支援をするために、 D2の谷村昌俊君を委員長とする Welcome 委員会 が組織された。学生は Welcome 委員会のメンバー



図1. 神奈川大学長への表敬訪問.



図2. 歓迎会終了後一同で.

と共に、夜遅くまでゲームなどをして交流を深め た。以下に Welcome 委員会のメンバーを示してお く。Welcome 委員会は初めての試みであったため、 横の連絡を密に取るために化学専攻の有機系大学院 生によって組織されている。メンバーの中には、交 流当日に新型インフルエンザでダウンして参加でき なくなってしまった者もおり、急きょ参加したメン バーも含まれている。

松本研究室	谷村	昌俊	(D2、委員長)
	菊池	真人	(D1)
	長谷川	智司	(M2)
	小山	洋平	(M1)
	阿部	誠子	(M1)
	鈴木	春菜	(研究生)
山口研究室	伏見	大輔	(M1)
	清水	隆史	(M1)
	藤田	悟	(M1)
木原研究室	白取	愛	(M2)
	森	春樹	(M2)
	内野	奈菜	(M1)
	加藤	甫規	(M1)

#### 23日

一番心配されたのは学生たちの朝食であったが、 Welcome 委員会が交渉し、「いしけん」から朝食バ イキングのケータリングを受けることで快適に過ご した。

交流3日目となる本日は、国際交流事業の中心 となる国際交流国際会議が開催された。やはり湘南 ひらつかキャンパス20周年記念事業で整備された サーカムホールを活用した。

1月23日にはもともとハイテク・リサーチ・ センターの研究補助者による研究報告会の開催 が予定されていた。そこで、本国際会議はJoint International Conference on the Kanagawa University – National Taiwan University Exchange Program and the High-Tech Research Center として、ハイテク・リサーチ・センターの 研究報告会を兼ねて開催された。国際交流国際会議 の Time Table と講演題目は後掲する。

国際交流国際会議は齊藤光實学部長による挨拶 からはじめられた。招待講演は本学から4名、国 立台湾大学から4名である。本学からの講演者は、 理学部化学科杉谷嘉則教授、工学部物質生命化学科 工藤宏人准教授、理学部生物科学科風間真特別助手、 理学部化学科川本達也教授であった。第四回の時と 同じく、化学科から2名、生物科学科から1名、物 質生命化学科から1名となった。

午後のプログラムはポスターセッションから始め た。学生が参加するということで、十分にディス カッションできるように、ポスターセッションの時 間を2時間と設定したが、少々長過ぎたようであ る。ポスター発表者の中から、本学の2名と国立 台湾大学の2名に、午前中の最後のセッションで ショートスピーチを依頼した。このショートスピー チは講演のみで、質問はポスターセッションで受け 付ける方式である。本学からの講演者は、理学研究 科化学専攻博士後期課程の川上義輝君と菊池真人君 である。ポスターセッションの参加者は、理学部化 学科職員・PD3 名、理学部生物科学科職員・PD5 名、理学研究科化学専攻大学院生17名、生物科学 専攻大学院生7名、工学研究科応用化学専攻大学院 生6名、そして、国立台湾大学の大学院生9名の、 合わせて47名である。本国際会議はハイテク・リ サーチ・センターの発表会を兼ねていることもあり、 本学からは、ハイテク・リサーチ・センターのメン バーの研究室を中心として発表が行なわれている。 ポスター会場にはサーカムホールのホワイエを利用





図 3. ポスターセッションの様子.



図 4. 国際交流研修室での懇親会.

した。少々狭かったが、各所で熱心な討論が繰り広 げられ、大変盛況であった。なお、ポスターボード は学内の備品では全く足りないため、レンタルで臨 んだ。

閉会の挨拶は理学部化学科主任でありハイテク・ リサーチ・センター運営委員会委員長でもある山口 和夫教授からいただき、国際交流学術会議は成功裏 に閉幕した。なお、国立台湾大学からの参加者に は、湘南ひらつかキャンパス 20 周年記念の置時計、 USB メモリ、および文房具一式を記念品としてお 渡しした。

閉会後、講演者と関係者は秦野の「月の洞くつ」 で懇親の時を持った。一方、学生は国際交流研修 室でWelcome 委員会の主催による懇親会に参加 した。いしけんのケータリングを利用することで、 食堂がなくとも十分な懇親会が開催できた。夜が 更けるにつれて多くの参入者が来場し、キャンパ ス全体で大いに盛り上がった。ただ、盛り上がり 過ぎて、深夜にいくつかのトラブルが起こったの は反省材料である。

#### 24日

朝食後、学生一行はマイクロバスで湘南ひらつか キャンパスを出発した。Welcome 委員会で当直に 当たったメンバーが見送ったが、たくさんの写真を 撮りあって、涙ながらに別れを惜しんだ。このよう に、学生同士で深い交流ができて、友情を育んだの は今回の国際交流の大きな成果であったと思う。途 中、神奈中グランドホテルで教員の一行を乗せた後、 秋葉原に向かった。上野にも行きたいという希望の 学生もいたが、結局、全員秋葉原でショッピングを 楽しんだようである。昼食後秋葉原を出立し、成田 空港に向かった。16:30 発の中華航空 101 便に乗る 一行を見送ってから、湘南ひらつかキャンパスに帰 着した。

#### 国際交流協定の改定問題

23日の国際交流学術会議で開かれた昼食会において、本国際交流協定の現状についての報告がなされると共に、将来についての議論が持たれた。

現在交わされている国際交流協定は2005年に結 ばれたものであり、2010年の今年はその期限を迎 えている。交流協定にはその延長についての条文が あるが、その解釈は日本側と台湾側では異なってお り、現在のままでは、本国際交流協定は2011年で 無効になってしまう。この経緯については、協定の 締結時の責任者の1人でもあった森和亮教授から、 事務方を含めたスリ合わせを十分に行なう時間がな く締結されたことが原因であるとの説明があった。

本学と国立台湾大学は、本学術交流協定を元に、 この5年間、毎年様々な工夫を凝らして交流を続 けてきた。関係者の努力の成果として、今回の交流 も含め、毎回非常に実りの多い交流が行われ、本協 定の国際交流には本学にも国立台湾大学にもメリッ トが大きいという共通認識が確認された。そのため、 十分にスリ合わせを行なった後、改めて交流協定を 結び直す必要があることが合意された。また、交流 協定の再締結に当たっては、現在の学科間交流から、 大学間交流へと規模を拡大することが現状に則して おり、また、今後の発展性の観点から望ましいとい う点についても合意された。国際交流のますますの 発展は大学全体の希望でもあり、本年度は国際交流 協定の発展的な改定に向けた努力に注力しなければ ならない。

#### おわりに

第四回の国際交流ではじめて学生同士の交流が実現 したが、本学の学生にとって、それが実感できたの は訪台した6名だけであった。それに対して、今回 の国際交流では、多くの大学院生が国際交流に参加 した。実際には、事後に行なったアンケートを見る と、極めて積極的に関わった者から、無視を決め込 んだものまで様々ではあったが(その違いの主な原 因は英語に対する意識である)、それぞれの大学院 生が、希望しさえすれば、手が届くところに同年代 の外国の学生がいてコミュニケーションが取れる、 友達になろうと思えばなることができる、という状 況に置かれたのであった。しかも、互いに非母国語 の英語でコミュニケーションを取るわけであり、ハ ンディは互角である。たとえ無視を決め込んだ者で あっても、心騒ぐ日々であったであろう。アンケー トによれば、学術交流国際会議に出席しただけの、 最小限に関わっただけの者でも、十分刺激的だった ようである。ましてや、主体的に関わった学生に とっては、一生忘れられない機会となったであろう。 実際、Welcome 委員会のメンバーの中には、来日 した学生と個人的な交流を始めた者もいるようであ る。このような個人的な関係は彼(女)らが将来社 会に出た時に必ずや役に立つものと期待できる。

大学院教育の中に国際交流を盛り込んでいくのは時 代の要請である。しかし、通常の国際会議に学生を 出席させたところで、真の国際交流にはなりにくい。 本国際交流のように日常生活レベルの交流が図れる 場は貴重であり、今後も大事にしていく必要がある。 今回は、準備不足の面もあり、学生や教員への周知 が十分でなかったことは反省点である。今回の経験 を踏まえ、学部大学院を挙げて、できるだけ多くが 参加できるような場として育てていければと思う。 そのためにも、また、従来からの懸案であるが、本 交流を学生の長期の研究交換へと発展させていくた めにも、諸先生方の一層のご協力をお願いしていき たい。

今回の国際交流国際会議では、化学専攻の学生と 生物科学専攻の学生の交流という副産物もあった。 教員レベルでは両者は深い関係にあるが、学生レベ ルでは、学問的にも人間的にも、互いのことをほと んど知らない。このような機会に、互いの研究分野 などにも興味を持ってもらえれば、学生の視野も大 いに広がるのではないかと期待できる。

なお、第三回の学術交流国際会議を契機に台湾と の共同研究を始め、その成果で日本 DNA 多型学会 の優秀研究賞を受賞された黒瀬奈緒子特別助教(当 時)は2010年4月から北里大学の准教授に着任さ れた。本学術交流が学生だけでなく教員にも大いに プラスとなっているという良い証左である。

### 謝辞

第五回神奈川大学 - 国立台湾大学学術交流は2009 年度国際交流事業として神奈川大学の援助により行 われました。この場をお借りしまして深く感謝をい たします。

#### 文献

- 杉谷嘉則(2007)「国立台湾大学」訪問の記. 神奈川 大学理学誌 18: 103-105.
- 竹内重夫(2007)台湾大学における第2回化学科合同シンポジウムに参加して. 神奈川大学理学誌 18:107.
- 木原伸浩(2009)第四回神奈川大学-国立台湾大学学 術交流国際会議. *神奈川大学理学誌* 20: 93-103.

Time Table					
9:30		Opening Remarks, Professor Terumi Saito (齋藤光實,Dean, Faculty of Science)			
9:35	IL1	Yoshinori Sugitani, Professor (杉谷嘉則, Department of Chemistry, KU)			
10:05	IL2	Hiroto Kudo, Associate Professor (工藤宏人,Department of Material and Life Chemistry, KU)			
10:35	IL3	Kung-Ta Lee, Associate Professor (李 昆達, Department of Biochemical Science and Technology, NTU)			
11:05		Coffee Break			
11:15	SS1	Shao-An Hua, Graduate Student (華 紹安,Department of Chemistry, NTU)			
11:25	SS2	Chih-Hsiang Tzeng, Graduate Student (曾 志祥, Institute of Zoology, NTU)			
11:35	SS3	Yoshiteru Kawakami, Graduate Student (川上義輝, Department of Chemistry, KU)			
11:45	SS4	Masato Kikuchi, Graduate Student (菊池真人,Department of Chemistry, KU)			
11:55		Lunch			
13:00		Poster Session			
15:00	IL4	Makoto Kazama, Associate Professor (風間 真,Department of Biological Sciences, KU)			
15:30	IL5	Chien-Yuan Pan, Associate Professor (潘 建源,Institute of Zoology, NTU)			
16:00		Coffee Break			
16:10	IL6	Richard Ping Cheng, Associate Professor (陳 平, Department of Chemistry, NTU)			
16:40	IL7	Tatsuya Kawamoto, Professor (川本達也,Department of Chemistry, KU)			
17:10	IL8	Pi-Tai Chou, Professor (周 必泰,Department of Chemistry, NTU)			
17:40		Closing Remarks, Professor Kazuo Yamaguchi (山口和夫, Chairman, Department of Chemistry, High-Tech Research Center)			

Invited Lectures (IL 1-8)
Yoshinori Sugitani (IL1) Hydration in Macromolecules: a Case in Pullulan Solution1
Hiroto Kudo and Tadatomi Nishikubo (IL2) Synthesis of Ladder Macrocycles Based on Dynamic Covalent Chemistry System and Their Application for EB and EUV Resist Materials2
Kung-Ta Lee (IL3) Metabolic Engineering of the Lignan Biosynthesis in Hairy Root cultures3
Makoto Kazama (IL4) Mitochondrial Changes in Sea Urchin Spermatozoa during Fertilization4
Chien-Yuan Pan (IL5) Interactions between Calmodulin and Calcium Channels5
Richard P. Cheng (IL6) Effect of Highly Fluorinated Amino Acids on Secondary Structure Stability7
Tatsuya Kawamoto (IL7) Reversible Electronic Structural Transition in a Cyclic Copper Complex
Pi-Tai Chou (IL8)

Recent Development of Materials in My Lab Toward Energy Relevant Issue ......9

# Short Speeches (SS 1-4)

Shao-An Hua (SS1, P9) Probing the electronic communication of linear nickel string complexes by utilizing two redox-active $[Ni_2(napy)_4]^{3+}$ moieties
Chih-Hsiang Tzeng (SS2, P41) A Revision and Phylogeny of <i>Trichiurus</i> (Perciformes: Trichiuridae): Utility of Mor- phological and Molecular Data
Yoshiteru Kawakami (SS3, P14) Meta-Selective Friedel Crafts Acylation of Phenylsilsesquioxane
Masato Kikuchi (SS4, P15) The first synthesis of thermally stable sulfanyl-, sulfinyl-, and sulfonyl-substituted bicyclic dioxetanes and their base-induced chemiluminescence

Poster Presentations (P 1-47)
Hisako K. Ijuin (P1)Mass spectrometric approach to chemiexcitation in CT-induced decomposition of diox- etane 12
Michiko Ito (P2) Development of Microarray using Photolithography: Synthesis and Application of Surface Modi- fication Agents containing High Sensitive Photodegradable Group
Yoshitaka Sakai (P3) Mukaiyama aldol reaction catalyzed by zirconium(IV)/hafnium(IV)-containing polyoxometa- lates as Lewis acid catalysts
Seiko Abe (P4) Synthesis of 1,10-diaza-18-crown-6 ethers bearing two long chains substituted with anthra- cen-9-yl group at the ω-position and their clathrate ability
Shotaro Aoki (P5) Synthesis and Molecular Structure of Keggin Polyoxometalate (POM)-Based Inorganic- Organic Hybrid Compound
Chia-Pei Chung (P6) Reactions of Ruthenium Cp Phosphine Complex with 4,4-Disubstituted-1,6-Enynes: Effect of Methyl Substituents in the Olefinic Fraction
Daisuke Fushimi (P7) Synthesis of photodegradable polymerization initiator to fabricate patterned polymer brushes on inorganic surfaces 15
Cheng-Chih Hsieh (P8) Probing the Excited-State Intra molecular Proton Transfer Reaction of ortho-Green Fluores- cent Protein Chromophore by Ultrafast Time-resolved Mid-infrared Spectroscopy 15
Shao-An Hua (SS1, P9) Short Speech Section (P.10)
Qian-Rui Huang (P10) A Comparative Study on Charge Transport Through a Single Molecular Wire Based on Multinuclear Extended Metal Atom Chains: A NEGF/EHT Approach
Masaki Katoh (P11) Development of molecularly imprinted polymers crosslinked by non-covalent bonding be- tween functional groups

Tsuyoshi Kawaji (P12) Synthesis of Substituted Anthracenes, Pentaphenes and Trinaphthylenes via Alkyne Cy-	
clotrimerization Reaction	
H. Kawakami (P13)	
Thermoelectric properties of Perovskite-Type oxide Ca1-xLa2x/3 🗆 x/3MnO3 system having	
A-site vacancy ······ 17	
Yoshiteru Kawakami (SS3, P14) Short Speech Section (P.11)	
Kikuchi Masato (SS4, P15)Short Speech Section (P.11)	
Youhei Koyama (P16)	
Synthesis and Chemiluminescent Decomposition of Dioxetanes Bearing a Phenanthryl or	
Benzophenathrenyl Moiety 18	
Wataru Kuwana (P17)	
Syntheses and Molecuar Structures of Silver(I) Clusters with Pentachlorobenzenethiol and	
Triphenylphosphine Ligands 18	
Koichiro Mikami (P18)	
Helical Folding of Poly(naphthalenecarboxamide) Bearing Hydrophobic Side Chain … 19	
Yuhei Miyazaki (P19)	
Water photo-reduction reaction using MMX type Ru coordination polymers 19	
Kentaro Nagashima (P20)	
Synthesis of Oxidatively Degradable Polymers by Oxidative Coupling Polymerization 20	
Yutaka Nanashima (P21)	
Catalyst-Transfer Polymerization for the Synthesis of Poly(2-alkoxypyridine-3,5-diyl) with	
Controlled Molecular Weight and Low Polydispersity	
Yoshihiro Ohta (P22)	
Synthesis of Well-Defined Hyperbranched Polyamides by Condensation Polymerization of	,
AB2 Monomer ····· 21	
Satomi Onuki (P23)	
Application of Novel EGA- IA MS with Skimmer Interface to the VOC-Adsorption and Des-	
orption Properties of Woodceramics Prepared from Cedar	
Takafumi Shimizu (P24)	
Synthesis and Nano-structural Analysis of Crystalline-Amorphous Block Copolymer 22	

Keita Shimura (P25) Syntheses of Silyl and Sulfonyl substituted Open-cage Fullerenes
Hiroshi Tanaka (P26) Synthesis of three dimentional Ruthenium coodination polymer and Hydrogen evolution by water photo chemical splitting
Masatoshi Tanimura (P27) Thermodynamic profiles of thermal decomposition and charge-transfer-induced chemilumi- nescent decomposition for bicyclic dioxetanes bearing a 4-(benzothiazol-2-yl)-3-hydroxyphe- nyl moiety
Chi-Wen Tsai (P28) Ni/NiO Core-Shell Structures of Nitrogen-Doped InTaO4 for Solar-Driven High Efficient CO2 Reduction to Methanol 24
Yuhji Yagi (P29) Oxide-ion conduction and dielectric relaxations in Ca-doped ZrO2 system
Junya Yasumatsu (P30) Syntheses of silacycles using enyne metathesis reaction
Mao Yasutomi (P31) Interaction between Amino acids and Hypochlorous acid
Kota Banzai (P32) Molecular cloning of cDNAs encoding insulin-like androgenic gland factors from two fresh- water prawn species Macrobrachium lar and Palaemon paucidens
Shun Hayakawa (P33) Analysis of Homologous Chromosome Behavior during Plant Meiosis
Hsing-Yen Huang (P34) Arl6ip1 functions in differentiation, mitosis, and ER-stress mediated apoptosis during retinogenesis of zebrafish embryos 27
Takafumi Koganei (P35) The structural analysis of microtubule-binding domain fragment of MAP4 using NMR                               27
Yu-Mei Lin (P36) Study of tomato signaling pathways and genes involved in defense against bacterial wilt 28

Chih-Hui Lin (P37)
Universal multiplex-PCR based genetically modified crops screening system
Kazuya Nemoto (P38)
Taxonomy and Palaeoecology of the genus Linthia (Echinoidea: Spatangoida) from Japan $\ \cdots \ 29$
Masaya Saitoh (P39)
Relationship among Morphology, Mode of Life and Habitats in Spatangoid Echinoids $\ \cdots \ 29$
Michiko Shiga (P40)
Functions of the components of thiosulfate-oxidation multienzyme system in the green sul- fur bacterium Chlorobaculum tepidum
Chih-Hsiang Tzeng (SS2, P41) Short Speech Section (P.10)
Takahiro Ushioda (P42)
Normal development and the regeneration of the barbels of the catfish, Corydoras aeneus $\cdots$ 30
Manabu Hayatsu (P43)
Electron Probe X-ray Microanalysis Studies on the Gravitropism in Soybeans Roots … 31
Kimiko Ichikawa (P44)
Saltwater preference and adaptation of the fish
Kazuyuki Matsushima (P45)
Interaction between a neural isoform of Microtubule-associated protein 4 and actin fila-
Kazue Mogi-Toyoizumi (P46)
mation by matrix metanoproteinase-expressing cens is important for primitive streak for-
Keiichi Uchino (P47)
Metabolism of polyhydroxyalkanoates

List of Poster	Presentations
----------------	---------------

P1	Ijuin, Hisako K.	P17	Kuwana, Wataru	P33	Hayakawa, Shun
P2	Ito, Michiko	P18	Mikami, Koichiro	P34	Huang, Hsing-Yen
P3	Sakai, Yoshitaka	P19	Miyazaki, Yuhei	P35	Koganei, Takafumi
P4	Abe, Seiko	P20	Nagashima, Kentaro	P36	Lin, Yu-Mei
P5	Aoki, Shotaro	P21	Nanashima, Yutaka	P37	Lin, Chih-Hui
P6	Chung, Chia-Pei	P22	Ohta, Yoshihiro	P38	Nemoto, Kazuya
$\mathbf{P7}$	Fushimi, Daisuke	P23	Onuki, Satomi	P39	Saitoh, Masaya
$\mathbf{P8}$	Hsieh, Cheng-Chih	P24	Shimizu, Takafumi	P40	Shiga, Michiko
P9	Hua, Shao-An	P25	Shimura, Keita	P41	Tzeng, Chih-Hsiang
P10	Huang, Qian-Rui	P26	Tanaka, Hiroshi	P42	Ushioda, Takahiro
P11	Katoh, Masaki	P27	Tanimura, Masatoshi	P43	Hayatsu, Manabu
P12	Kawaji, Tsuyoshi	P28	Tsai, Chi-Wen	P44	Ichikawa, Kimiko
P13	Kawakami, H.	P29	Yagi, Yuhji	P45	Matsushima, Kazuyuki
P14	Kawakami, Yoshiteru	P30	Yasumatsu, Junya	P46	Mogi-Toyoizumi, Kazue
P15	Kikuchi, Masato	P31	Yasutomi, Mao	P47	Uchino, Keiichi
P16	Koyama, Youhei	P32	Banzai, Kota		

# List of Participants

PAbe, Seiko	P4	Kikuchi. Masato	SS4. P15	Shimura. Keita	P25
Aoki, Shotaro	P5	Koganei, Takafumi	P35	Sugitani, Yoshinori	L1
Banzai, Kota	P32	Koyama, Youhei	P16	Tanaka, Hiroshi	P26
Cheng, Richard P.	L6	Kudo, Hiroto	L2	Tanimura, Masatoshi	i P27
Chou, Pi-Tai	L8	Kuwana, Wataru	P17	Tsai, Chi-Wen	P28
Chung, Chia-Pei	P6	Lee, Kung-Ta	L3	Tzeng, Chih-Hsiang	SS2, P41
Fushimi, Daisuke	P7	Lin, Chih-Hui	P37	Uchino, Keiichi	P47
Hayakawa, Shun	P33	Lin, Yu-Mei	P36	Ushioda, Takahiro	P42
Hayatsu, Manabu	P43	Matsushima, Kazuyuki	P45	Yagi, Yuhji	P29
Hsieh, Cheng-Chih	P8	Mikami, Koichiro	P18	Yasumatsu, Junya	P30
Hua, Shao-An	SS1, P9	Miyazaki, Yuhei	P19	Yasutomi, Mao	P31
Huang, Hsing-Yen	P34	Mogi-Toyoizumi, Kazue	eP46		
Huang, Qian-Rui	P10	Nagashima, Kentaro	P20		
Ichikawa, Kimiko	P44	Nanashima, Yutaka	P21		
Ijuin, Hisako K.	P1	Nemoto, Kazuya	P38		
Ito, Michiko	P2	Ohta, Yoshihiro	P22		
Katoh, Masaki	P11	Onuki, Satomi	P23		
Kawaji, Tsuyoshi	P12	Pan, Chien-Yuan	L5		
Kawakami, H.	P13	Saitoh, Masaya	P39		
Kawakami, Yoshiteru	1 SS3, P14	Sakai, Yoshitaka	P3		
Kawamoto, Tatsuya	L7	Shiga, Michiko	P40		
Kazama, Makoto	L4	Shimizu, Takafumi	P24		

## 2009 年度 神奈川大学総合理学研究所事業報告

## 1 人事

- (1) 所長・運営委員 所 長: 生物科学科教授 鈴木季直 運 営 委 員: 情報科学科 准教授 張 善俊 情報科学科 准教授 長澤倫康 化学科 教授 加部義夫 化学科 教授 野宮健司 生物科学科 教授 小笠原強
- (2) 顧問・特別所員・客員研究員
  - 問: 藤原鎭男、門屋 卓、 雇 村田健郎、武内義尚

生物科学科教授 小谷 享

- 特别所員: 竹内重夫
- 客員研究員: 市川貴美子、大和田正人、 小野真菜美、亀田 豊、 河合 忍、岸 康人、 北島正治、木村卓央、 斎藤保直、鈴木 温、 辻本和雄、中野陽子、 中原昌明、長谷川剛、 濱元千絵子、藤林俊生、 渡部徳子、渡辺 担
- (3) 理学部産官学連携推進委員会 委員長: 化学科 教授 大石不二夫 総合理学研究所所長: 生物科学科 教授 鈴木季直 情報科学科: 教授 水野智久 化 学 科: 教授 松本正勝、山口和夫 生物科学科: 准教授 鈴木祥弘 産官学連携推進室: 課長 田口澄也 産官学連携推進室平塚: 部長 梶川 隆

#### 2 セミナー・シンポジウム・講演会

- (1) 第30回湘南ハイテクセミナー -機器分析入門-
- 日時: 2009年6月4日(木)·5日(金) 10時~16時30分
- 会場: KU ポートスクエア (みなとみらいクイーンズタワー14階)
- 主催: 神奈川大学総合理学研究所

- 後援: 日本分析化学会関東支部
- 演題・講師:
  - 1)「分析総論」
  - 杉谷嘉則(神奈川大学理学部化学科)
  - 2) 「NMR 分析」
  - 3) 「環境分析」 西本右子(神奈川大学理学部化学科)
  - 高柳正夫(東京農工大学大学院共生科学 技術研究院)
- -研究開発と分析技術-
- 10 時~ 16 時 30 分
- (みなとみらいクイーンズタワー14階)
- 後援: 日本分析化学会関東支部
- 演題・講師:
  - 1) 「超微量分析の新展開」 原口紘炁(社団法人国際環境研究協会)
  - X線分析と研究開発 嶋田一夫(東京大学大学院薬学系研究科) 3) 「環境分析」
  - 渋川雅美(埼玉大学大学院理工学研究科)
  - 4)「研究開発とIR分光」 古川行夫(早稲田大学理工学部化学科)
  - 5) [X 線分析と研究開発] 田沼繁夫(独立行政法人物質·材料研究構) 6)「研究開発と材料分析」
  - 志賀雄之(株式会社 日産アーク)
- (3) 第20回神奈川大学平塚シンポジウム
- 日時: 2010年3月12日(金) 11時00分~17時30分
- 会場: 神奈川大学湘南ひらつかキャンパス (1号館 332 室 AV 教室)
- 主催: 神奈川大学理学部化学科

- 天野 力(神奈川大学理学部化学科)
- 4)「地球環境モニタリング」 功刀正行 (東京理科大学)
- 5)「赤外分光」
- 6)「有機材料分析」 宇野佳孝(株式会社日東分析センター)
- (2) 第 31 回湘南ハイテクセミナー
- 日時: 2009年12月4日(木)·5日(金)
- 会場: KU ポートスクエア
- 主催: 神奈川大学総合理学研究所

神奈川大学総合理学研究所

共催: 日本化学会

- 演題・発表者:
- 1)「縮環オリゴチオフェンの電子・構造修飾」
   鈴木善丈(住友化学有機合成研究所)
- 2)「硫黄修飾金を利用した環境調和型パラジウム Pa@(S-Au)の開発」
   星谷尚亨(㈱フルヤ金属・北海道大学薬学部大学院薬学研究院)
- 3)「ニッケル錯体の構造変換とその反応経 路の考察」
  - 川本達也(神奈川大学理学部化学科)
- 4)「ルテニウム・ピリジルアミン錯体の化学」 小島隆彦(筑波大学大学院数理物質化学 研究科)
- 5)「柔軟な単結晶ホストでみられるガス包 接特性」 高見澤 聡(横浜市立大学大学院生命ナ ノシステム科学研究科)
- 6)「錯体結晶空間に閉じ込められた水分子 クラスターのダイナミクス」
   田所 誠(東京理科大学理学部)
- 7)「バイオ燃料電池・金属錯体の役割を中心に」 中村暢文(東京農工大学大学院工学部)
- 8)「白金錯体の単結晶フォトクロミズム 松下信之(立教大学理学部)
- (4) 講演会
- 日時: 2009年8月28日(金) 15時10分~16時40分 16時50分~18時20分
- 会場: 神奈川大学湘南ひらつかキャンパス (6号館 228室)
- 主 催: 神奈川大学総合理学研究所 神奈川大学ハイテク・リサーチ・センター
- 演 題・講演者:
  - 「質量分析法の基礎と最近の進歩」 大橋 守(電気通信大学名誉教授)
  - 2)「質量分析法による生体関連物質の構造 解析」
     大橋陽子(理化学研究所 脳科学総合研 究センター博士)
- (5) 講演会
- 日 時: 2009年10月7日(水) 13時30分~15時00分 15時10分~16時40分
- 会 場: 神奈川大学湘南ひらつかキャンパス

(6号館 209 室)

- 主 催: 神奈川大学総合理学研究所 神奈川大学ハイテク・リサーチ・センター
- 演題: 「New Functional and Thermally Stable Polymer for Optoelectronic Application:Synthesis and Charac terization」
- 講演者: 廖 徳章(国立台湾鍵大学)
- (6) 講演会
- 日時: 2009年10月15日(木) 15時10分~
- 会 場: 神奈川大学湘南ひらつかキャンパス (11 号館 212 室)
- 主 催: 神奈川大学理学部生物学科
- 共 催: 神奈川大学院理学研究科 神奈川大学総合理学研究所 神奈川大学光合成水素生産研究所 神奈川大学ハイテク・リサーチ・センター
- 演題:「緑色硫黄細菌における色素合成系 とアンテナに関する研究」
- 講演者: 原田二朗(久留米大学医学部医科学 講座 助教)
- (7) 講演会
- 日時: 2009年11月19日(木) 15時10分~
- 会場: 神奈川大学湘南ひらつかキャンパス (11 号館 211 室)
- 主 催: 神奈川大学理学部生物学科
- 共 催: 神奈川大学院理学研究科 神奈川大学総合理学研究所 神奈川大学ハイテク・リサーチ・センター
- 演題:「転写因子のNMRによる構造解析」
- 講演者: 長土居 有隆(横浜市立大学大学院 ナノシステム科学研究科 助教)
- (8) 講演会
- 日時: 2009年11月27日(金) 15時10分~
- 会 場: 神奈川大学湘南ひらつかキャンパス (11 号館 211 室)
- 主 催: 神奈川大学理学部生物学科
- 共催: 神奈川大学院理学研究科 神奈川大学総合理学研究所 神奈川大学光合成水素生産研究所 神奈川大学ハイテク・リサーチ・センター
- 演題:「光合成生物であるラン藻という生き物 を通じて学んだことと将来に向けて」

- 講演者: 加藤 浩(三重大学生命科学研究支援セ ンター植物機能ゲノミクス部門 助教)
- (9) 講演会
- 日時: 2010年1月28日(木) 16時00分~17時30分
- 会場: 神奈川大学湘南ひらつかキャンパス (11 号館 211 室)
- 主催: 神奈川大学ハイテク・リサーチ・センター
- 共 催: 神奈川大学院理学研究科 神奈川大学総合理学研究所
- 演題: 「化学より精神医学を読み解く」
- 講演者: 諸岡良彦(東京工業大学名誉教授)
- (10) 平塚祭 特別参加企画
- 日時: 2008年10月24日(土)、25(日) 10時00分~16時30分
- 会場: 神奈川大学湘南ひらつかキャンパス (6号館 226 室)
- 主 催: 神奈川大学総合理学研究所
- 共催: 神奈川大学ハイテク・リサーチ・センター 日本電子株式会社
- 演題:「モバイル走査電子顕微鏡で見たいものをみよう」
- (11) ハイテク・リサーチ・センター研究発表会
- 日時: 2009年6月20日(土) 9時30分~17時00分
- 会場: 神奈川大学湘南ひらつかキャンパス (1号館 332 室)
- 主 催: 神奈川大学ハイテク・リサーチ・センター
- 共 催: 神奈川大学総合理学研究所 神奈川大学大学院理学研究科
- 演題・発表者:
  - 「ケイ素・ゲルマニウムの特性を生かした光機能性超分子の合成」
     加部義夫(理学研究科化学専攻)
  - 高度の選択性を有する有機反応場の開発」
     木原伸浩(理学研究科化学専攻)
  - 3)「環境影響を考慮した光感応性物質の評 価法の確立」
  - 西本右子 (理学研究科化学専攻)
  - 4)「蛍光分子を利用した細胞骨格成分の即 時観察」
    - 小谷 亭 (理学研究科生物科学専攻)
  - 5)「脊椎動物発生の蛍光ツールを用いた解析」 豊泉龍児(理学研究科生物科学専攻)
  - 6)「光合成微生物を利用した光一水素エネ

ルギー変換系の構築」

井上和仁 (理学研究科生物科学専攻)

- 7)「微生物ポリエステルと関連化合物の代謝」 齊藤光實(理学研究科生物科学専攻)
- 8)「欠損型ポリ酸塩の化学反応空間を利用した新規機能性ポリ酸塩の構築」
- 野営健司 (理学研究科化学専攻)
- 9)「電子顕微鏡技法による細胞調節系イオ ン動態の解析」
- 鈴木季直(理学研究科生物科学専攻) 10)「海氷藻類の一次生産を補助する色素系 の解析」 鈴木祥弘(理学研究科生物科学専攻)
- 11)「微視的異方性環境で働く蛍光・発光物 質の開発」
- 松本正勝(理学研究科化学専攻) 12)「ナノ細孔を持つ光触媒の開発と環境・
- エネルギー問題への展開」 森 和亮 (理学研究科化学専攻)
- 13)「光リソグラフィーを利用したマイクロ アレイの開発」
   山口和夫(理学研究科化学専攻)
- 14)「溶液中の芳香族閉殻イオン種の光励起 状態の動的挙動の解明」平田善則(理学研究科化学専攻)
- 15)「真核生物鞭毛の振動発生機構・ダイニンの活性制御を '見る'」
   真行寺千佳子(東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻)
- 16)「細胞の生理機能を光制御するケージド 化合物の設計と合成」 古田寿昭(東邦大学理学部生物分子科学科)
- (12) ハイテク・リサーチ・センター研究発表会
- 日時: 2008年11月7日(土) 0時00分~17時00分
- 会場: 神奈川大学湘南ひらつかキャンパス (1号館 332 室)
- 主 催: 神奈川大学ハイテク・リサーチ・センター
- 共 催: 神奈川大学総合理学研究所 神奈川大学大学院理学研究科
- 演題・発表者:
  - 「ケイ素・ゲルマニウムの特性を生かした光機能性超分子の合成」
     加部義夫(理学研究科化学専攻)
    - 高度の選択性を有する有機反応場の開発」
       木原伸浩(理学研究科化学専攻)
    - 3)「蛍光分子を利用した細胞骨格成分の即

時観察」

小谷 亭 (理学研究科生物科学専攻)

- 4)「電子顕微鏡技法による細胞調節系イオン動態の解析」」
  - 鈴木季直 (理学研究科生物科学専攻)
- 5)「脊椎動物発生の蛍光ツールを用いた解析」 豊泉龍児(理学研究科生物科学専攻)
- 6)「溶液中の芳香族閉殻イオン種の光励起 状態の動的挙動の解明」」 平田善則(理学研究科化学専攻)
- 7)「微視的異方性環境で働く蛍光・発光物 質の開発」
   松本正勝(理学研究科化学専攻)
- 8)「光リソグラフィーを利用したマイクロ アレイの開発」
- 山口和夫(理学研究科化学専攻)
- 9)「光合成微生物を利用した光一水素エネルギー変換系の構築」
   井上和仁(理学研究科生物科学専攻)

- 10)「微生物ポリエステルと関連化合物の代謝」 齊藤光實(理学研究科生物科学専攻)
- 11)「海氷藻類の一次生産を補助する色素系 解析」

鈴木祥弘(理学研究科生物科学専攻) 12)「環境影響を考慮した光感応性物質の評

- 価法の確立」 西本右子(理学研究科化学専攻) 13)「欠損型ポリ酸塩の化学反応空間を利用
- した新規機能性ポリ酸塩の構築」 野営健司(理学研究科化学専攻)

14)「ナノ細孔を持つ光触媒の開発と環境・
 エネルギー問題への展開」
 森 和亮(理学研究科化学専攻)

- 15)「多機能性チャンネルの構造生理学」 藤吉好則(京都大学大学院理学研究科)
- 16)「生命ホモキラリティーと光化学」 井上佳久(大阪大学大学院工学研究科)

# Science Journal of Kanagawa University 投稿規定

## 1 編集方針

Science Journal of Kanagawa University は、 神奈川大学総合理学研究所の事業および研究の 成果を公表する科学誌であり、事業報告、公募 研究の成果報告論文、情報科学、化学、生物学 その他理学全般にわたる所員による一般研究論 文、所員が所外の研究者と行なった共同研究に 関する論文等を掲載する。投稿者は原則として 神奈川大学総合理学研究所所員であるが、編集 委員会の承認により所員以外の投稿論文も掲載 する。論文の共著者については特に規定しない。 なお、本誌名称の略記は Sci. J. Kanagawa Univ. とし、和名は神奈川大学理学誌である。

#### 2 掲載論文の種類

研究論文は、総説(Review)、原著(Full-length Paper/Note)、および報告書(Report)とする。 原著には短報(Note)を含み、報告書は原著に 準ずる。

上記論文の他に、テクニカルノート(Technical Note)および研究交流報告(Report of Research Communication)を掲載する。 掲載する論文は知文な上び英文である

掲載する論文は和文および英文である。

## 3 原稿の体裁(総説および原著)

総説および原著論文(短報を含む)の原稿は、 下記要領に従って、そのまま印刷できるように 仕上げる。なお、報告書、テクニカルノートお よび研究交流報告についてはそれぞれ以下の 4、5、6に示す。

- (1) 頁数 短報は、刷り上がり4頁以内とするが、それ 以外の論文には特に頁制限はない。但し、編 集委員会により論文が冗長と判断された場合 には頁数は限定される。
- (2) 原稿用紙サイズ
   A 4 版の用紙を用いる。本文および図表の占
   める範囲(紙面)は縦横 245 × 170mm とす
   る。この場合、余白は、上辺 30 mm、下辺 20
   mm、左辺 20 mm、右辺 20 mm である。

(3) 段組み

研究課題名、著者名、研究課題名(英語)、著 者名(英語)、所属(英語)、Abstract(英文)、 Keywords(英語)は1段組みとする。但し、 所属、Abstract、Keywordsは紙面内で更に左 右およそ10mmずつの余白を置く。 研究課題名、著者名、研究課題名(英語)、 著者名(英語)は中央揃え、所属(英語)、 Abstract(英文)、Keywords(英語)は左右 両端揃えとする。 序論、材料と方法、結果、討論、謝辞、文献 は2段組み、左右両端揃えとする。

- (4)使用文字(フォントの種類) 基本的に、和文はMS明朝、英文はCentury とする。但し、µなどのギリシャ文字や数学記 号などを部分的に異なる字体にすることは差 し支えない。
   図の説明文および表もこれに準ずるが、図中 の文字や記号については特に限定しない。文 字サイズは下記の各項目で指示する。
- (5) 論文構成

研究課題名、著者名、研究課題名(英語)、著 者名(英語)、所属(英語)、Abstract(英文)、 Keywords(英語)、序論、材料と方法、結果、 討論、謝辞、文献(英語または日本語)の順 とする。図と表は本文中の適切な位置に挿入 する。

- (6) 論文種の表示
  第1頁、第1行目に左揃えで、前後に■記号を付して論文種を記入する。
  例えば、■総 説■、■原 著■、■原著(短報)■、■報告書■など、
  英 文 で は、■ Review ■、■ Full-length Paper ■、■ Note ■、■ Report など。
  最終的には編集委員が判断して論文種を決定する。
  文字は、MS ゴシックで 11P (ポイント)とし、
  太字にはしない。
  次の研究課題名まで1行あける。
- (7)研究課題名、著者名、所属
   本文が和文の場合、研究課題名(日本語)は
   太字(Bold)で14P(ポイント)、著者名(日本語)は太字で12Pとする。著者と著者の間

は1文字分のスペースをあける。 続く、研究課題名(英語)は13P、著者名(英 語)は12P、所属(英語)は9Pとし、これら は太字にしない。 本文が英文の場合、研究課題名は太字で14P、 著者名は太字で12P、所属(英語)は太字に せず 9P とする。 それぞれの間は1行あけを原則とするが、著 者名(英語)と所属(英語)の間は行間をあ けない。 著者の所属が複数の場合には、各著者名末尾 および対応する所属の先頭に上つき数字(1、 2、3、など)を付し区別する。 本文が英文の場合、研究課題および所属は前 置詞、冠詞、接続詞を除き各語の最初の文字 を大文字で記述し、著者名はフルネームで名 姓の順に記述する。最終著者の前は"and"を 置く。 次の Abstract までは1行あける。 (8) Abstract 要旨は原則的に英文とする。語数は250 語程 度が適切であるが、特に制限しない。 見出し(Abstract:)からは1文字あけて要 旨本文を書く。 文字サイズは、見出し(Abstract:) は太字 で11P、要旨本文は10Pとする。 (9) Keywords 要旨に続けて、行間をあけず、Keywords:の 見出しを置き、1字あけて、5語程度(英語) の Keywords を付す。 文字は 10P を用い、見出し(Keywords:) は イタリックで太字とする。 次の本文との間は1行あける。 (10) 本文 横2段組、各段48行とする。 1行の文字数は和文23文字、英文46文字と する。 序論、材料と方法、結果、討論、謝辞の各項 目の見出しは左揃えとする。 各項目間は1行分のスペースをあける。 文字サイズは、各項目の見出しは太字で12P、 本文は10Pとする。 各項目の第1段落の出だしは左寄せではじめ、 第2段落から出だしを1文字(英文では2文 字) あける。 必要なら、各項目内で小見出しを設ける。小 見出しは太字で10Pとする。 項目の見出しと小見出しの間は1行スペース

をあける。

小見出しの文章の出だしは左寄せとする。

- (11) 文献 文献の項目見出しは左揃えとする。 文献は本文に引用した順に番号を付し、記載 する。
  番号は片括弧(閉じ括弧のみ)表示とする。
  本文中では、片括弧つき番号を"上つき文字" とし、該当する部分に必ず記入する。
  文字サイズは、項目の見出しは太字で12P、
  各文献は9Pとする。
  文献が日英混合の場合、和文の文献のアルファ
  ベットと数字には、Centuryのフォントを用 いる。
  - 以下は記入例である。
  - Fawcett DW and Revel J-P (1961) The sarcoplasmic reticulum of a fast-acting fish muscle. J. Cell Biol. 10 Suppl: 89-109.
  - Suzuki S, Hamamoto C and Shibayama R (2005) X-ray microanalysis studies on the calcium localization along the inner surface of plasma membranes in the anterior byssus retror muscle of *Mytilus eduis. Sci. J. kanagawa. Univ.* 16: 9-17.
  - Squire J (1981) The Structural Basis of Muscular Contraction. Plenum Press, New York.
  - Suzuki S and Sugi H (1982) Mechanisms of intracellular calcium trans- location in muscle. In: *The Role of Calcium in Biological Systems, Vol. I*. Anghileri LJ and Tuffet-Anghileri AM, eds., CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 201-217.
  - 5) 鈴木季直 (1989) 電子顕微鏡による生物試 料の元素分析法. *微生物* 5:34-44.
  - 6) 佐藤賢一,鈴木季直 (1998) 生命へのアプ ローチ. 弘学出版,東京.
  - 3 鈴木季直(1992)凍結技法,第6章.よく わかる電子顕微鏡技術.平野 寛.宮澤 七郎監修,朝倉書店,東京.pp.137-148.
  - 安積良隆,鈴木秀穂 (2003) シロイヌナズ ナを用いた植物の有性生殖研究における 最近の展開 2003. 神奈川大学総合理学研究 所年報 2003. pp.41-80.

(12) 表

本文中の適切な部分に挿入し、紙面内では中央揃えとする。

表の上部には必ず番号(表 1.、Table 1. など) とタイトルを付し、本文との整合を期す。 表のタイトルは、表の幅にあわせて両端揃え とする。 表のスタイルについては特に定めないが、用 いる文字や数字のサイズは本文のそれを超え

(13) 図

ないように配慮する。

本文中の適切な部分に挿入し、紙面内では中 央揃えとする。

図には必ず番号(図1.、Fig.1. など)を付し、 本文との整合を期し、図の下部に番号と説 明文を加える。図が細分化されている場合 には、A、B、C… (図1A.、Fig.1A. など) をつけて区別する。

図の説明文は、図の幅にあわせて両端揃えと する。

図の説明文に限り、和文でもピリオド(.)と カンマ(,)を用いる(和文の句読点は用いない)。

図の番号および説明文の文字サイズは 9P とする。

図はできるだけ分かりやすいものとし、図中 の文字や記号は高さ3~5mm程度にする。 写真はデジタル化で不明瞭にならないよう、 極度の圧縮は避ける。

#### (14) 単位

SI unit を用いる。和文であっても、原則的 に、数値および単位には半角文字を用い、%お よび℃を除き、数値と単位の間は必ず半角分ス ペースをあける。

(15)作製見本 希望者には作製見本を配付する。 原稿は、作製見本および既に発表されている本 誌の各論文を参照して作製する。

## 4 原稿の体裁(報告書)

これに該当するものは、神奈川大学および総合 理学研究所より研究費助成を受けた研究の報告 書である。

下記要領に従って、原稿はそのまま印刷できる ように仕上げる。

個別の助成研究の報告書は原著と同等に扱うの で3の規定に準じて原稿を作製する。 多人数による共同研究のうち、

(1) 各研究者が全員原著と同等の論文(短報

の場合も含めて)を投稿出来る場合は、 それらを原著として扱い、原稿は3の規 定に準じて作製する。

(2)各研究者が要約を作製し、代表者がそれ らを一つの報告書としてまとめる場合 は、編集委員会の指示に従ってこれを作 製する。この場合も、文書のレイアウト、 フォントの種類とサイズなどの基本的な 原稿作製基準は3の規定と同じである。

報告書のうち、著者が希望し編集委員会が採択 したもの、あるいは編集委員会が選択し著者の 同意が得られたものは原著または短報として掲 載する。

## 5 原稿の体裁(テクニカルノート)

これに該当するものは、研究技術および研究装 置の紹介記事である。 研究論文(原著および報告書)の規定に準じて 原稿を作製する。

## 6 原稿の体裁(研究交流報告)

これに該当するものは、研究交流を目的とした 他大学・研究所訪問記、海外研究留学報告、国 内外開催の国際学会参加報告などである。 本誌、18巻掲載の該当論文を参照し、英文要旨 を省略できることを除いて、研究論文(原著お よび報告書)の規定に準じて原稿を作製する。

## 7 投稿と略題名提出

明瞭に印刷された図を含むオリジナルの印刷さ れた原稿1部とそれがファイルされているデジ タル記録媒体(FD、MO、CDなど)を編集委 員会(神奈川大学総合理学研究所)に提出する。 論文の課題名が長い場合には、和文で25字、 英文で50字以内の略題名(Running Title)が 必要である。略題名は原稿に加えず、別紙に記 入して提出する。

## 8 投稿論文の審査

 適時、レフリーによる校閲を行ない、採否や再 投稿請求は編集委員会で決定する。
 総説、および編集委員会が認める特殊な報告書の場合を除き、既に発表されている論文の版権 を侵害するような原稿は採用されない。

## 9 原稿の校正

掲載決定原稿は、ゲラ刷りの段階で著者の校正 を依頼する。校正は最低限の修正に留める。

## 10 投稿料

原則として投稿は無料であるが、カラー印刷を 含むものについての著者経費負担の有無および 負担額は編集委員会で決定する。投稿原稿の体 裁が規定にあわず、編集段階で修正に経費が生 じた場合は著者が実費を負担するものとする。

## 11 別刷

掲載された総説および原著(短報を含む)は別 刷り50部が著者に無料贈呈される。50部を超 えて希望された別刷部数については実費を徴 する。

# 12 版権等

掲載論文の内容についての責任は著者が負うものとする。その著作権は著者に属するが、出版 権は神奈川大学総合理学研究所に属する。

# Auther Index

## Α

Aizawa, Senichi	會澤富	ī-		47
Amano, Chikara	天野	力		• 1
Arima, Hiroki	有馬口	去記		31
Ayabe, Hitomi	綾部住	二美		71
Azumi, Yoshitaka	安積目	良隆		71
н				
Hasegawa, Takeshi	長谷り	[ 岡 ]		43
Hasegawa, Yuriko	長谷り	山由利	利子	57
Hirabayashi, Takeshi	平林マ	と嗣		61
Honda, Mitsuhiko	本田尹	記彦		23
Hoshino, Yasushi	星野	靖		31
I				
Ishiwata, Ryo	石渡	僚		13
Izumi, Susumu	泉	進		57
К				
Kanazawa, Ken'ichi	金沢調	兼 <b>一</b>		61
Kasuga, Noriko Chikaraishi	力石約	己子		43
Kasuya, Shinta	粕谷伸	申太		23
Kawaguchi, Osamu	川口	修		• 7
Kawamoto, Tatsuya	川本遺	撞也		47
Kihara, Nobuhiro	木原伸	申浩		77
Kimura, Takao	木村国	巨央		43
Kitamura, Ko	北村	巧		71
Kodama, Masafumi	児玉粘	±史		65
Kusakabe, Chiduru	日下音	羽千畬	髩	71
Kuwabara, Tsuneo	桑原恆	巨夫		13
Μ				
Matsunaga, Satoshi	松永	諭		43

## Ν

Nagasawa, Hiromichi	長澤寛道 57
Nagasawa, Isoroku	長澤五十六 47
Nagasawa, Michiyasu	長澤倫康 17,23
Nakajima, Yasuno	中嶋康乃 1
Nakata, Jyoji	中田穰治 31
Nomiya, Kenji	野宮健司 43
0	
Ohira, Tsuyoshi	大平 剛 57
Ohtsuka, Ichiro	大塚一郎 71
S	
Saito, Yasunao	斎藤保直 31
Saito, Yutaka	齊藤 裕 57
Sakai, Yoshitaka	坂井善隆 43
Shinmura, Kazuya	新村和弥 1
Sugitani, Yoshinori	杉谷嘉則 37
Suzuki, Narumi	鈴木成美 47
Suzuki, Suechika	鈴木季直 51
Suzuki, Yoshihiro	鈴木祥弘 65
т	
Takei, Takaya	武井尊也 37
Tanaka, Kenji	田中健史 7
W	
Watanabe, Manami	渡辺真奈美 51
Y	
Yokoyama, Ai	横山 愛 17

**98** 



Vol.21 は総合理学研究所研究助成論文6報、神奈 川大学共同研究奨励助成論文1報、一般投稿論文7 報、および第5回神奈川大学―国立台湾大学学術交 流の記1編からなっている。昨年度は年報の Vol.20 に加えて湘南平塚キャンパス開設 20 周年記念特別 号が出版されたにもかかわらず、Vol.21 が例年並み のページ数を維持できたことはまことに喜ばしい。 「継続は力なり」、で今後も原稿集めに励みたい。本 誌をさらに充実させるための提案は Vol.20. No.1. No.2 の編集後記にある加部氏や長澤氏によるもの など、従来からいろいろなされてきた。編集委員と して発言が求められている気がするので1つ加えさ せて頂く。近年学問分野が細分化されて皆が専門家 になってしまい、昔レフェリー(査読者)と呼ばれ 今レビューアーと呼ばれる人が深く広い知識に基づ いた公正な判断ができなくなってしまったように思 われる。そのような時代ではこの Science Journal of Kanagawa Universityの様な紀要の存在が意味 を増すのではないか。そのためには雑誌のさらなる 宣伝と折にふれての言及が必要ではないかと思われ る。

本号に私達の抗酸化性の論文を掲載して頂いた。 その論文に関わる個人的な経験のうちにも普遍的な ものが少しは含まれていると思うので、院生や学生 のためにその経験を記しておきたい。まず私は研究 を始めるずっと前から既にバイオの時代であること を感じていた。ノーベル化学賞受賞者の業績を遡っ て調べたところそれを裏書きしていたし、物理を 止めて生物に転向した物理学者もいたようだ。一 方 ESR (電子スピン共鳴) は私がそれを手段とし て研究を始めたなじみ深い方法である。ESR との 出会いは恩師藤原鎮男先生との出会いに発するもの である。抗酸化性のテーマはバイオの潮流の健康科 学に含まれる大切なものであろう、もしそれが完全 に解ってしまったものでないならば。抗酸化性を ESR を用いて研究するテーマに私はS氏により導 かれた。S氏は彼の周囲の研究環境、周囲でのテー マの流行の見聞により興味を持ったと思われる。本 号に掲載された論文作成の直接の動機は1980年に JACS に掲載された Finkelstein 等の論文である。 その論文では抗酸化性が反応速度定数として表わさ れていたが、私にはその方法が妥当とは認められな かった。そこでその問題を反応速度論に基づいて考 え、まず妥当と思われる結果に到達した。その応用 として活性酸素種の濃度が未知の場合に用いられる 抗酸化性の指標 IC50 の分析を行った。その結果を記 した論文を生物物理化学分野のある英文誌に投稿し たところ、外国人による英文校閲を受けるようにと いう理由ですぐに返された。他の雑誌に私が書いた 論文ではそのような扱いを受けたものがなかったの で、査読者を探すための時間稼ぎをされたのではな いかと解釈した。しかし特別に英作文に厳しい編集 長であった可能性も否定できない。そこで商業的に 英文校正をしている会社に何万円か支払って校正を してもらったところ、確かに多様な気のきいた表現 が用いられた良い英語論文になった。それを再提出 したが、1,2ヵ月して却下になった。却下の理由 はある種の物質の速度定数の測定値が非常識に大き 過ぎたためである。その欠点は私も知っていたのだ が。今では大きすぎる値が出る理由は解っていて、 欠点は克服されつつある。その理由の1つは信号が 弱くてやっと測定できるような条件下の測定では未 知の原因により信頼できない値が表れることがある ことである。2つ目は溶液内反応は一般にそのpH の違いに大きく依存する場合があることである。

天野 力

神奈川大学理学誌編集委員会		Science Journal of Kanagawa University	
委員長 鈴木季直 委 員	生物科学科	Editor-in-Chief Suechika Suzuki Editors	Department of Biological Sciences
天野 力	化学科	Chikara Amano	Department of Chemistry
井上和仁	生物科学科	Kazuhito Inoue	Department of Biological Sciences
加部義夫	化学科	Yoshio Kabe	Department of Chemistry
張 善俊	情報科学科	Shanjun Zhang	Department of Information Sciences
長澤倫康	情報科学科	Michiyasu Nagasawa	Department of Information Sciences

## Science Journal of Kanagawa University Vol. 21 (Sci. J. Kanagawa Univ.)

発行日	2010年6月30日
編集者	Science Journal of Kanagawa University 編集委員会
発行者	神奈川大学総合理学研究所
発行所	〒 259-1293 平塚市土屋 2946
	Tel.0463-59-4111 (内 2500)
	Fax. 0463-58-9684
印刷所	光和サービス株式会社

神奈川大学総合理学研究所

Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University