

二倍体イチゴにおけるオーキシン生合成制御機構の解明研究

公立大学法人横浜市立大学 木原生物学研究所 助教
中村 郁子

(研究目的)

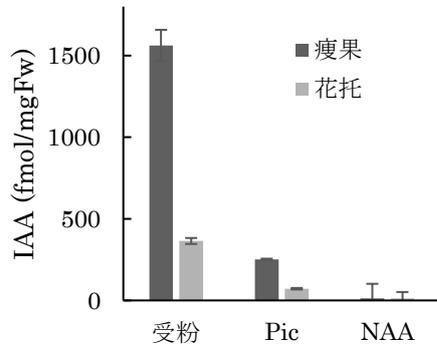
オーキシンは植物の成長を司るホルモンの中でも最も重要なホルモンの一つである。そのため、その生合成や作用機構については常に全世界で精力的に研究が進められている。オーキシンの生合成について、現在では、アミノ酸の一つであるトリプトファンより2段階のステップにより行われる、インドールピルビン酸(IPyA)を介する経路が多く、多くの植物に共通のオーキシン生合成経路であることが示されている。果実の発達においてもオーキシンは全ての発達過程で重要な役割を果たしている。そこで、二倍体イチゴの果実発達におけるオーキシンの作用解析を目的として、IPyA経路を標的としたオーキシン生合成阻害剤を投与し観察を行った。しかし、これらの生合成阻害剤は効かないか、効いた場合も非常に効果が弱かった。二倍体イチゴ果実ではモデル植物のシロイヌナズナと比較して高いレベルのオーキシンが蓄積している。しかし、二倍体イチゴの果実で最も遺伝子発現の高いオーキシン生合成酵素であるFvYUC10は*in vitro*の試験ではオーキシンの合成活性がシロイヌナズナのYUCの10倍程度低いことがわかっている。また、合成オーキシンにより、受粉を経ない果実の発達(単為結果という)を誘導した際に、ピーク時には受粉した果実の約20~80倍ものオーキシンが蓄積していたにも関わらず、果実の発達初期からピーク時に至るまでIPyA経路に関わる生合成遺伝子のいずれも受粉果実と発現が変わらないかほとんど発現してないことがわかった。これらの結果はイチゴ果実ではこれまでに得られているオーキシン生合成の制御とは異なる制御機構が存在する可能性を示唆している。そこで、本研究は二倍体イチゴを用いて果実の発達におけるオーキシン生合成の制御機構について検討することを目的として行った。

(研究方法)

Fragaria vesca (二倍体イチゴ) 'Baron solemacher' の自殖7世代目の植物を用いて、受粉あるいは250 μ M のピクロラム (Pic) またはナフチル酢酸(NAA) 溶液を開花直前の花から受粉を避けるために雄蕊を除去した雌蕊に滴下することにより果実誘導を行った。これらにより誘導した果実を誘導後7, 14, 21および28日後に種子となる瘦果と可食部である花托に分けてサンプリングし、オーキシン(インドール酢酸; IAA) の内生量測定を行なった。また、0, 3, 7, 13, 17, 21および29日目に果実全体をサンプリングし、IPyA経路に関わるTAA1/TAR遺伝子及びYUC遺伝子と最近オーキシンの生合成に関与が示唆されているCYP79A1遺伝子およびオーキシン代謝遺伝子の二倍体イチゴにおける相同遺伝子うち果実で発現が比較的高い遺伝子(FvTAR1, FvTAR2, FvYUC4, FvYUC11, FvCYP79A1-like, FvILR1, FvILR1L2およびFvILR1L3) の発現の定量的RT-PCRによる解析を行なった。

(結果)

本研究に先立ち、Pic誘導果実におけるオーキシン内生量の測定の結果、Pic誘導果実では誘導後21日目の果実で、これまで別途行ってきた受粉果実のオーキシン内生量と比較してオーキシンが高蓄積している可能性が示されていた。そこで、果実が成熟直前の時期に



なる、14日目の受粉果実と21日目のPicあるいはNAA誘導果実を用いてこの結果の再現実験を行なった。その結果、Pic処理果実は事前の結果とは異なり、果実の発達が成熟直前に停止するようなNAA誘導果実と比較すると高いが、受粉果実と比較すると1/3以下のオーキシン内生量であった (図1)。

図1. 14日目の受粉果実および21日目のPicあるいはNAA誘導果実のIAA内生量

そこで、Pic誘導果実の発達過程の瘦果と花托における内生オーキシン量の変動を解析するために、7, 14, 21, 28日目の果実の内生オーキシン量を受粉果実と比較した (28日目はPic誘導果実のみ)。その結果、受粉果実ではこれまでも報告されていた通り、瘦果、花托ともに14日目にピークが見られ、瘦果の方が高いオーキシンの蓄積量を示した (図2左)。Pic処理果実では7日目より瘦果、花托ともオーキシン量は徐々に減少し、瘦果では21日から28日目の成熟後期に増加傾向が見られた (図2右)。

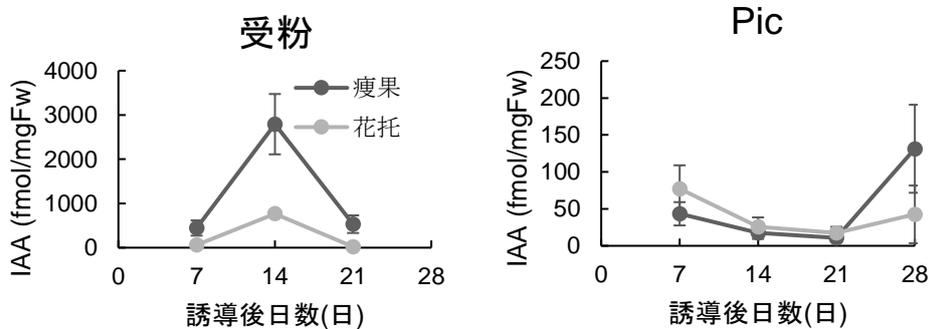


図2. 単為結果果実の発達にともなうIAA内生量の変化

Picにより誘導された果実では成熟後期に瘦果で内生オーキシン量の増加傾向が見られたため、これに先立つオーキシン生合成遺伝子発現の増加が見られるか検討した。オーキシン生合成遺伝子としては、シロイヌナズナで研究が進んでいるIPyA経路で作用するTAA1/TAR1ファミリーの遺伝子、*FvTAR1*および*FvTAR2*とYUCCA (YUC) のファミリー遺伝子の中から果実で活性を持ちかつ比較的発現が高い*FvYUCA*および*FvYUC11*の発現を調べた。受粉果実ではこれらの遺伝子はいずれも、受粉後13日目頃をピークとする高い発現を示した (図3)。一方、*FvTAR1*および*FvYUC11*は単為結果誘導果実では果実の発達を通じてほとんど発現が見られなかった (*FvTAR1*:図3左上、*FvYUC11*:図3右下)。*FvTAR2*および*FvYUCA*については単為結果果実では果実誘導後徐々に低下した (*FvTAR2*:図3右上、*FvYUC11*:図3左下)。

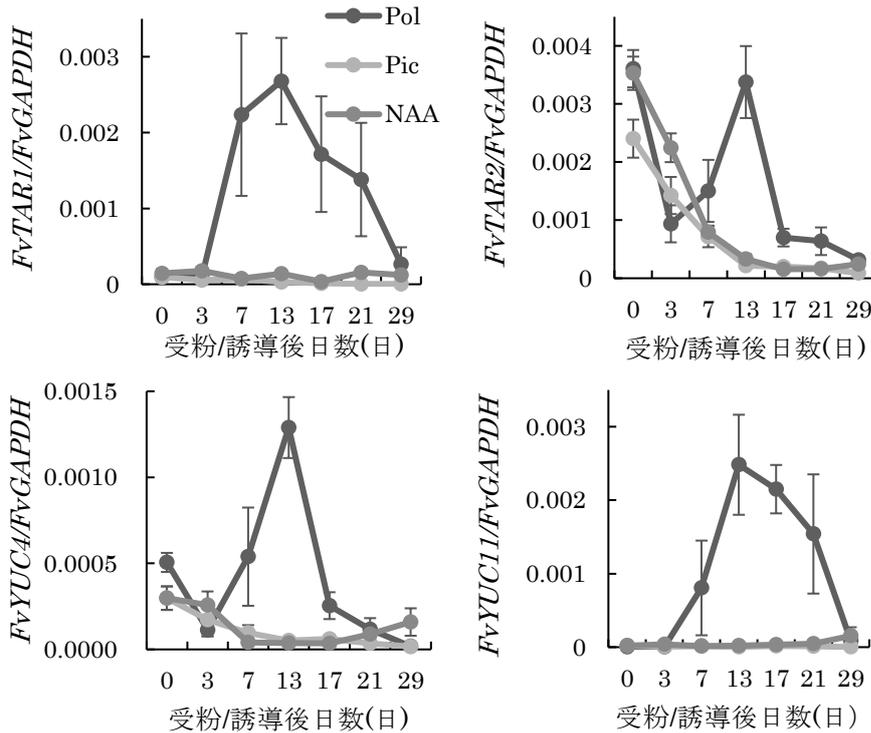
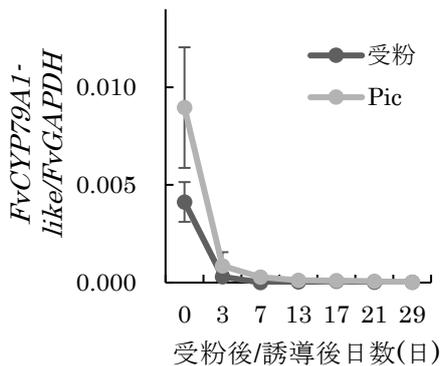


図3. IPyA経路で作用する遺伝子の発現。受粉後あるいはPicやNAAで誘導後の単為結果果実における*FvTAR1*(左上)、*FvTAR2*(右上)、*FvYUC4*(左下)、*FvYUC11*(右下)の発現を誘導後0, 3, 7, 13, 17, 21, 29日後に解析した。



←図4. *FvCYP79A1-like*遺伝子の発現

また、最近シロイヌナズナでIPyAとは異なる経路でオキシシン生合成への関与が示唆された*CYP79A1*の相同遺伝子である*FvCYP79A1-like*の解析も行なった。その結果、受粉果実、Pic誘導果実のいずれも開花時が最も発現が高く、開花直後に急激に発現が減少していた(図4)。さらに、これまでIAAの不活化酵素と考えられていたILR1

が貯蔵型IAAであるIAA-アミノ酸結合体からのIAA遊離酵素であることが示された。そこで*ILR1*の相同遺伝子(*FvILR1*, *FvILR1L2*, *FvILR1L3*)の発現も解析した(図5)。その結果、*FvILR1*および*FvILR1L3*が受粉後徐々に発現増加後、成熟期にも発現増加していることがわかった。成熟期の*FvILR1L3*の発現増加はPic誘導果実でも見られた。

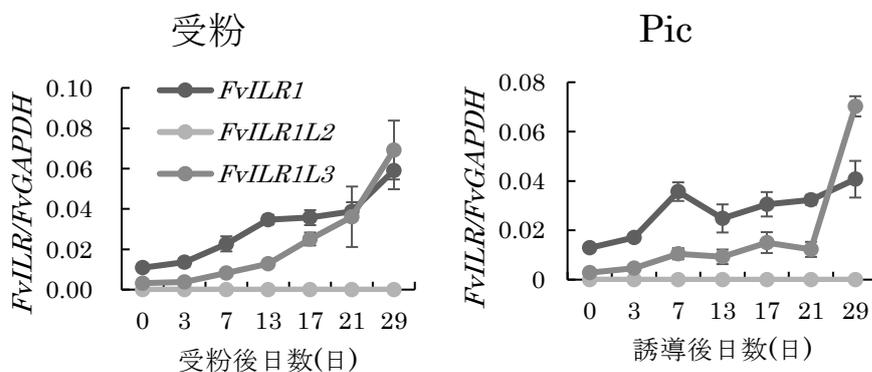


図5. *FvILRs*の発現

(成果・考察) 等

<考察>

本研究の結果、残念ながら前提としていたPicにより誘導された果実における受粉果実よりも高いオーキシン蓄積については再現性が得られなかった。一方で、Picで誘導された果実はNAAで誘導された、成熟直前で発達を停止する果実に比べると、果実誘導後21日目には高いオーキシン量を維持しており、果実の発達継続には内生のオーキシンも重要であることが示唆された(図1)。受粉果実では、*FvILR1*および*FvILR1L3*が果実の発達初期から発現増加していることから(図5)、受粉果実における急激なIAAの増加にはこれらの遺伝子が働き、貯蔵型IAAからIAAが遊離している可能性が示唆される。その場合には果実の発達過程でIPyA経路の生合成阻害剤の効果がないことが納得できる(図2)。Picで誘導した果実では受粉した果実とは異なり、果実の発達初期には徐々に内生オーキシン量の減少が見られた。果実の発達初期には*FvTAR2*、*FvYUC4*や*FvCYP79A1-like*などの遺伝子発現が見られたことから(図3, 4)、果実の初期の発達には果実誘導のために投与されたオーキシンおよび果実の発達開始期から発達初期に蓄積されたオーキシンで十分であると考えられる(図2)。一方、Picで誘導した果実の成熟後期には再びオーキシン内生量が増加した(図2)。成熟後期には次世代の発芽にともなうイベントのためにオーキシンの蓄積が必要である。しかし、IPyA経路およびCYP79A1が作用する経路のオーキシン生合成遺伝子は成熟後期には発現増加が見られず(図3, 4)、*FvILR1L3*の発現増加が見られたことから、この時期のオーキシン増加にも*FvILR1L3*が関わるIAA再生経路が関与している可能性が示唆される。今後は成熟後期に関わるオーキシンの生合成経路および代謝経路についてさらに検討を進めることにより、果実の発達段階ごとのオーキシンの使い分けやその緻密な制御について明らかにできると期待される。

<論文>

1. Umemura, H, Nakajima, M., Ishii, H., Tsuchiya, R., Kurokura, T., Shimada, Y., Asami, T., Nakamura, A. “Picrolam, a synthetic auxin induces parthenocarpic fruit which is comparable to pollinated one in size and maturity rate in strawberries: The role of plant hormones in the parthenocarpic fruit development.” 投稿準備中

圧電効果を生み出す自己組織化ペプチドの配向制御に関する研究

横浜国立大学大学院工学研究院 機能の創生部門 准教授
川村 出

(研究目的)

アミノ酸2~3残基からなる疎水性ペプチドは貧溶媒の存在下で容易に自己集合し、超分子を形成する。このようなペプチド超分子構造は生体適合性などの観点から様々な応用が期待されているとともに、末端修飾(蛍光発色団や細胞小器官選択タグ)や芳香族アミノ酸の配列順序などによってその特性が大幅に変化することが知られている(E. Gazit, *Chem. Soc. Rev.* 2007, 36, 1263.)。我々は分子の立体化学的な効果をペプチド分子集合体へ付与するために、Dアミノ酸を位置選択的に導入したペプチドを合成し、超分子構造におけるペプチドの特定の分子構造に注目して研究を行ってきた(B. Mijiddorj et al. *BCSJ* 2020)。その中でL-Phe-L-Phe-D-Pheのトリペプチドにおいて、立体化学的な影響から自己集合したペプチドの二次構造はガンマターンとなる。これによって相補的な水素結合と芳香環のスタッキング効果によってペプチド同士が集積することで熱安定性の高いナノ構造体を形成することを発見している(Y. Ozawa et al. *PCCP* 2019)。

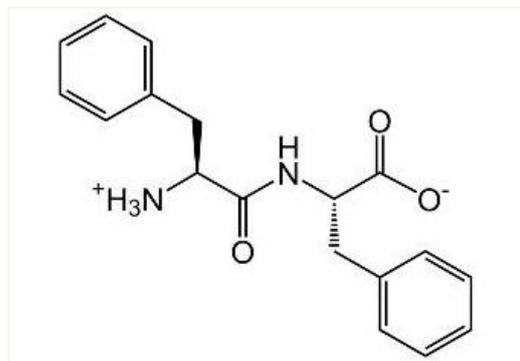


図1 フェニルアラニル-フェニルアラニンジペプチド (Phe-Phe; FF)の化学構造

本研究の目的は、特異的なコンフォメーションによって集積したペプチド集合体の分極に注目し、電圧印加下のもとでペプチドを自己組織化させた構造体を作成し、外部からの力による抵抗値の変化によって電流を発生させる刺激応答材料の創生である。さらに作成した圧電素子をウェアラブルシートとして成形し、微弱な力を加えることで電流パターン応答できるハンドサイン型端末の開発を目指すものである。そのため、本申請課題の目標は、FF(図1)などの自己組織化ペプチドによる超分子構造と圧電効果の関係に注目し、電圧印加条件の元で作成したペプチド分子集合体の配向と機械的刺激に対する電圧応答を計測することである。

(研究方法)

ペプチド合成: L-Phe-L-Phe (FF)(図1), D-Phe-L-Phe (dFF), およびL-Trp-L-Phe (WF)をFmoc固相ペプチド合成法によりペプチド合成機(バイオタージ)を用いて化学的に合成した。C18 ODSカラムを備えた逆相HPLCによって精製し、純度は95%以上のものを圧電素子製作に使用した。精製したペプチドはマトリックス支援レーザー質量分析装置(MALDI-TOF MS)で分子量を確認した。

自己組織化と圧電素子の作成: シャーレ内に設置したAl電極基板を直流安定化電源装置の負極と接続した。別のAl基板上に対してペプチドをキャストするスペース(1 cm×1 cm)のためにシリコンゴムを設置した。そこに100 mg/mLの濃度のペプチド40 μLをドロップキャストした。デシケータ内で乾燥させた後、シャーレの上に設置し、直流電源の正極と接続した。ペプチドフィルムを形成した基板に対して水蒸気雰囲気下でおよそ1分間保持した。その後、80 V/0.1 Aの電圧を印加しながら、上側のAl板を1分間、100 mM NaCl水溶液に完全に浸し、自己組織化させた。この際、電極板間隔は0.8 cmに固定させた。得られた試料は40°Cの恒温槽内で十分に乾燥させた。走査型電子顕微鏡(FDU-8100)により、基板上におけるペプチドの超分子構造を観察した。

圧電応答の計測: 図2のように自己組織化ペプチドを組み込んだ圧電デバイスを設計・自作した。圧電応答計測の際に、外部からの電気的作用を遮断するため、デバイス全体を絶縁性のカプトンテープで覆った。電位計Keithley DMM6500を用いて、機械的的刺激に対する圧電デバイスの電圧・電流を計測した。

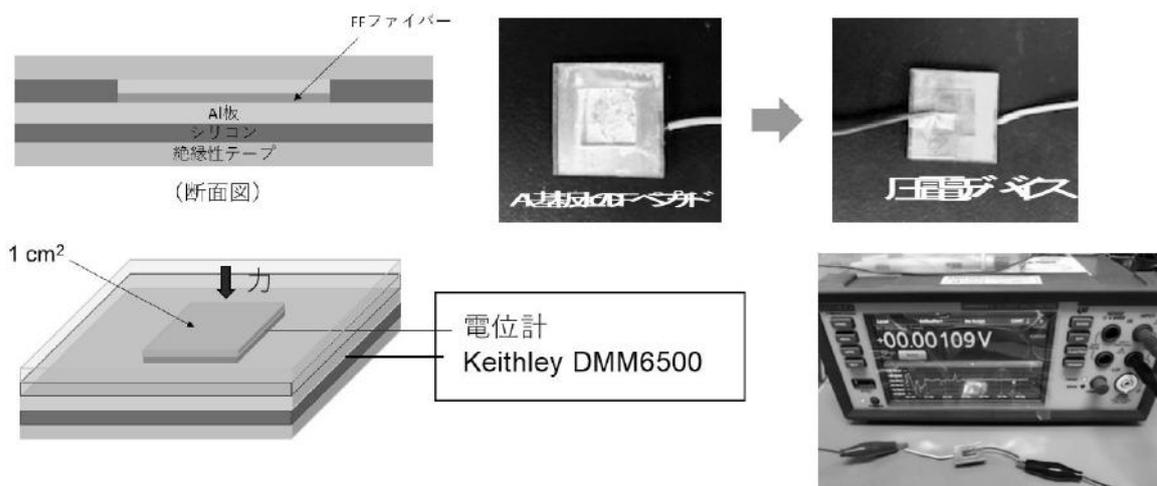


図2 圧電デバイスのモデル。(左上) 圧電素子の断面図。(中央上) シリコンゴムで区画した部分で自己組織化。(右上) 圧電デバイスを電位計に接続し、カプトンテープで覆った状態。

(左下) 電位計に接続した圧電デバイス中央に機械的的刺激(指で押す)を与える。(右下) Keithley DMM6500 による実際の測定の様子

(結果・考察)

FFペプチドを基板上で自己組織化させた試料を電子顕微鏡で観察した様子を図3に示す。超分子形成することでナノチューブ構造を形成し、それらが密に配向していること(画像の奥行き方向)がわかった。これは水蒸気と電圧印加による自己組織化で成長方向が限定されたことによるもので、バルク成長ではできないと考えられる。WFペプチドではこのような成長が見られたが、dFFペプチドでは十分な成長は見られなかった。

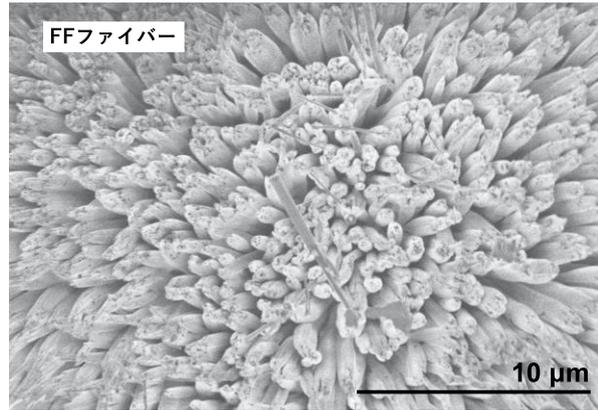


図3 基板上でのFFペプチドの自己組織化. FFペプチドのナノチューブ構造が密に成長した様子

このようにして作成した圧電デバイス(図2)に対して機械的刺激(指で力を加える)を加えた際の応答を計測した。図4に示すように機械的刺激によって圧電デバイス内の自己組織化ペプチド(FF)が収縮した際(Push)と圧力が解放されて元の状態に伸長した際(Release)の電圧と電流をそれぞれ計測し、迅速な応答性とサイクル特性(400回以上)を示した。一方、dFFペプチドで作成した圧電デバイスでは良好な応答は見られなかった。これは自己組織化プロセスにおいてdFF同士の相互作用が弱く、圧電素子として機能するための超分子形成が見られなかったことが原因と考えている。WFペプチドではPushの応答電圧は弱いだが、Releaseの際の応答電圧はFFと同じ程度であった。この原因としては、圧電素子中での自己組織化ペプチドの密度や弾性的な性質が関わっていると考えられるので、今後、固体NMR分光法など他の構造解析手法などを活用しながら超分子構造を調査していく。現時点としては、FFペプチドが圧電デバイスとして最も良いペプチドであることがいえるが、出力としてはWFペプチドであっても遜色はないと考えている。最後に、圧電デバイスを液晶ディスプレイに直接接続し、ディスプレイへの出力を試みた(図5)。FFおよびWF圧電デバイスへの機械的刺激(PushおよびReleaseの瞬間)にディスプレイに数字が表示されたことを確認することができ、ペプチド圧電デバイスの作成に成功した。

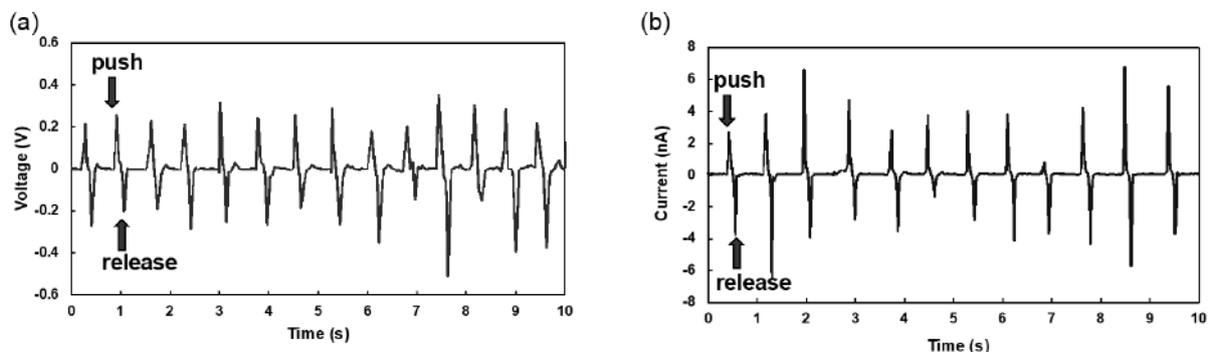
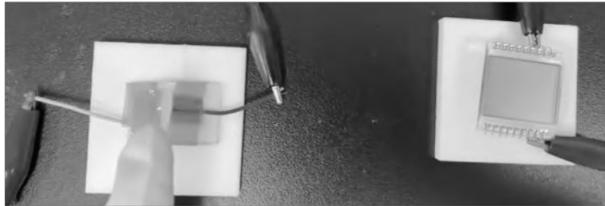


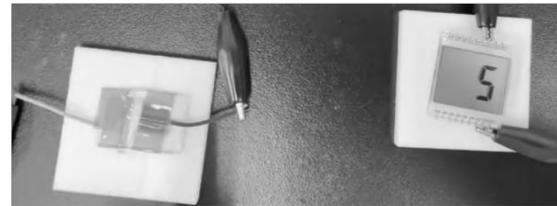
図4 (a)機械的刺激に対する電圧変化 (b)電流変化 二つのデータはFFペプチドによるもの。



機械刺激前



Push 直後



Release 直後

図5 (左)ペプチド圧電デバイスへの機械刺激前。(右上) push直後、(右下)release直後の圧電応答によるディスプレイへの出力の様子。

(成果) 自己組織化ペプチドFFとWFにおいて、応答性に差があったものの圧電素子の作成に成功した。これにより、ハンドサインなどの微弱な力に対して応答信号を発生させる生体適合型圧電デバイスの開発につながるものと考えられる。今後は追実験を進めるとともに、原著論文発表に向けて論文原稿を執筆中である。

本研究課題は横浜学術教育振興財団 2021年度の研究助成の支援を受けて遂行いたしました。この場をお借りして財団の関係者の皆様に深く感謝申し上げます。

有機結晶における機械的雙晶の設計指針の提唱

横浜市立大学理学部 助教

佐々木 俊之

(研究目的)

有機結晶は応力負荷によって雙晶化を示す。この現象は機械的雙晶と呼ばれ、機械的な刺激によって結晶中で原子・分子配向が変化し、元の結晶と配向の異なる別の結晶ドメイン(雙晶)が生じる。雙晶化に伴って結晶が変形することから非拡散型(原子や分子の相対的な位置関係が維持される)塑性変形の1種として知られており、弾性変形や分子のすべりを伴う拡散型の塑性変形とは異なる変形能である。

機械的雙晶では、機械的にもろく変形性に乏しいとされる有機結晶であっても、結晶性を維持したまま数百%以上の歪みを示す変形が可能となる。このような弾性限界を超えた可逆的な大変形と、それに続く永久歪み(強弾性)もしくは自発的形狀回復(超弾性)という特異な変形能を示すことから、機械的雙晶は結晶性固体の実用性の高い変形能の付与につながる重要な機構となっている。有機結晶由来の高機能性と機械的雙晶による柔軟性を両立することは、次世代のフレキシブル有機結晶材料の開発につながる。例えば最近、Diaoらは機械的雙晶の変形能を利用し、13%以上の歪みを与えても元の7割以上の電荷キャリア移動度を維持可能なフレキシブル単結晶電子デバイスを報告している(Angew. Chem. Int. Ed. 2020, 59, 13004)。しかしながら有機結晶における機械的雙晶は、ランダムスクリーニングの結果偶然見つかるものであり、目的の機能を持った結晶で発現させることは困難となっている。

そこで本申請研究では、多種類の有機単結晶での機械的雙晶化を分子レベルで解析することで、機械的雙晶化に必要な因子を見出す。これに基づき、有機単結晶における機械的雙晶の設計指針の提唱を目指す。

(研究方法)

これまでの申請者の研究から、分子の2回回転対称性が機械的雙晶化につながる1つの因子である可能性が示唆されている(Cryst. Growth Des. 2019, 19, 5491など)。この可能性の検証と別の因子の探索のため、本申請研究では2回回転対称性を持つ分子に着目して機械的雙晶を示す有機結晶の探索と評価を行った。

①単結晶の作製

市販品の購入もしくは有機合成によって、分子構造中に1つ以上の2回回転軸を持つ化合物サンプルを準備する。このサンプルをガラス容器中でアルコールなどの有機溶媒に溶解させ、再結晶(溶媒蒸発法、溶媒冷却法、蒸気拡散法)により単結晶を作製する。

③ 機械的雙晶化能の評価

作製した単結晶について、偏光顕微鏡下でピンセットを用いてあらゆる方向からせん断する。弾性変形や拡散型塑性変形による曲線を描くような曲がりではなく、機械的雙晶化による明確な角度を持った“屈曲”を示す結晶を探索する。機械的雙晶化を確認した結晶について、万能試験機を用いた機械試験を行う。これにより、機械的雙晶化に必要な応力を評価する。

③分子レベルでの機構解明

機械的雙晶化により屈曲した結晶について、X線結晶構造解析を行う。これにより、変形前後の分子の配向を調べ、機械的雙晶化に伴う結晶中での分子の動きを解明する。また、CrystalExplorer(計算ソフトウェアの1種)を用いて結晶中での分子間相互作用の強さを評価する。実験から得られた結晶構造、機械的雙晶化に伴う分子の動き、切断されうる分子間相互作用の強さなどの情報に基づき、2回回轉対称性の効果などの分子レベルでの機械的雙晶の機構を解明し、設計指針を提唱する。

(結果)

直交する2方向への機械的回轉雙晶

申請者は以前、1,3-bis(4-methoxyphenyl)urea (1)のカラム状結晶がせん断方向に応じて機械的雙晶による強弾性と超弾性を示すことを見出している(Angew. Chem. Int. Ed. 2020, 59, 4340)(図1)。今回、1が2回回轉軸を持つことに着目し、さらに注意深くせん断実験を行った。その結果、カラム状結晶の長軸方向に沿ったせん断によっても機械的雙晶による超弾性が誘起されることを見出した。

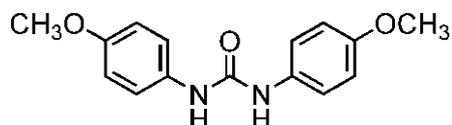


図1. 1,3-bis(4-methoxyphenyl)urea (1)の分子構造.

顕微鏡観察および単結晶X線構造解析の結果、新たな超弾性における雙晶界面は以前の超弾性の雙晶界面と直交関係にあることが分かった。さらに、どちらの超弾性においても結晶中での1の擬2回回轉軸と回轉雙晶(雙晶ドメイン同士が回轉対称の関係にある)における雙晶軸(回轉軸)とほぼ一致していた。すなわち、同じ雙晶軸に基づいた機械的雙晶でありながら、変形方向は直交する2方向となっている。過去の研究によると、機械的雙晶では雙晶軸と雙晶界面が直交するType Iと、雙晶軸と雙晶界面が平行なType IIが存在する。今回の例では、1つの結晶で2つのTypeの機械的雙晶が共存しているということになる。1の擬2回回轉軸と雙晶軸が一致しているということからも、分子への2回回轉軸の導入が機械的雙晶発現に有効であることが示唆される。より具体的には、回轉雙晶では元の結晶ドメインと生成した雙晶ドメインは180度回轉対称の関係にある。すなわち、結晶への応力負荷によって分子が180度回轉したと捉えられる。しかし実際には、結晶中では分子の動きが制限されるため、180度回轉という大きな動きは柔粘性結晶のような特殊な結晶以外では不可能である。今回のように分子が結晶中で擬2回回轉軸を持つ場合、実際に180度回轉することなくわずかな分子配向・分子配座の変化によって分子が“擬似的に”180度回轉し、雙晶ドメインが生成される。

1の結晶についてさらに、万能試験機(島津社製 オートグラフ AGS-X、10 Nロードセル)を用いて変形応力の評価を行った。せん断実験用の結晶は、1のDMF溶液にイオン交換水蒸気をさらすことで調整した。せん断用の治具は、アルミ棒の先にカットしたスライドガラスおよびカバーガラスをエポキシ樹脂で固定して作製した。カットしたカバーガラスをエポキシ樹脂で銅板に固定して土台を作製し、そこにエポキシ樹脂で1結晶を固定した。試験時に機械的雙晶による超弾性を選択的に発現させるため、あらかじめ雙晶界面を出した状

態の1結晶を用いた。室温でのせん断実験の結果、0.12 MPaでの双晶変形と0.08 MPaでの自発的逆変形挙動が観察され、超弾性に特徴的な応力-歪曲線が得られた。これらの値を以前の超弾性の値と比較したところ、今回の超弾性変形応力はそれぞれ、0.15 MPaと0.08 MPa小さな値であることが分かった。この結果と単結晶X線構造解析から明らかとなった分子レベルでの超弾性の機構をあわせて考えると、機械的雙晶時により強い分子間相互作用による束縛を打ち破って分子が動く場合により大きな変形応力が必要になると考えられる。

以上のような結果から、機械的雙晶変形を発現させるには2回回転軸の導入が有効であること、また、変形時の応力を制御するには分子間相互作用の設計が有効であることが示された。

有機結晶における機械的雙晶のまとめ

本研究期間内に、これまで見出した機械的雙晶を示す有機結晶についてまとめた。文献調査の結果、調べられた中で機械的雙晶による最も古い超弾性の例は、Cadyによる cyclotetramethylenetetranitramine (HMX)であった(private communication, 1979; MRS Online Proc. Libr., 1992, 296, 243)。この時代、無機結晶での同様の挙動が弾性雙晶 (elastic twinning)と呼ばれていたため、論文の中では超弾性ではなく弾性雙晶と言及されている。その後、Hollingsworthらによって尿素の包接結晶での超弾性が報告された (Nature, 1995, 376, 323)。類似した現象として応力誘起相転移に基づく超弾性があるが、これはKanekoらによる現象の確認が最初である (J. Phys. Chem. B, 1997, 101, 285)。一方で強弾性は、SemingsenによるSquaric acidでの観察 (Acta Chem. Scand., Ser. A, 1975, 29, 470)とSuzukiらによる応力-歪ヒステリシスループの報告が最も古い例である (Solid State Commun., 1979, 29, 759)。これらのうち、有機結晶の機械的雙晶はいくつか報告があるが、有機結晶の本質的な機械的もろさのため、無機結晶ほど研究は行われてこなかった。しかし最近では、有機結晶の機能性と機械的雙晶の変形性を利用したフレキシブル単結晶電子デバイスが報告されるなど、有機結晶における機械的雙晶が注目を集めている。特に、コンピューターや分析機器の発展による分子レベルでの機構解明 (Chem. Mater., 2021, 33, 1883)や機械的特性評価 (Angew. Chem., Int. Ed., 2013, 52, 2701)は、この分野のさらなる発展につながる。

アルキル鎖長に依存した超分子連結様式の変化

機械的雙晶を示す有機結晶を探索する中で、alkyldiammonium triphenylacetate (2)が結晶中で特異な分子集合様式をとることを見出した(図2)。すなわち、カルボン酸とアミンによる電荷補助型水素結合で形成される1次元のカラム状超分子がアルキル鎖長(-CH₂)_n-に依存して、孤立型(n=6)、1

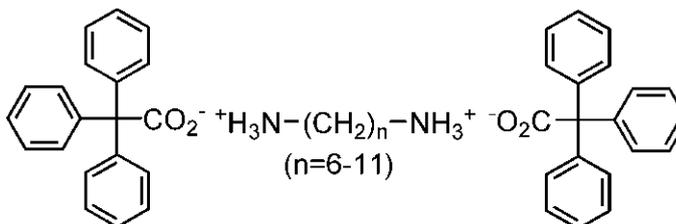


図 2. Alkyldiammonium triphenylacetate (2)の分子構造.

次元連結型 (n=7-9)、2次元連結型 (n=10, 11) の3種類の集合様式をとっていた。孤立型では、両末端のアンモニウム基が同一のカラム内で水素結合を形成しているのに対し、1次元および2次元連結型では別々のカラム内での水素結合形成が見られた。さらに興味深いことに、n=10とn=11ではアルキル鎖長が異なるにもかかわらず、結晶構造が同じ同形結晶となっていた。この時、アルキル鎖が柔軟に回転することでアルキル鎖長の違いや偶奇効果が打ち消されている。

以上のように、アルキル鎖長をうまく利用することで結晶の次元性制御を達成した。また、アルキル鎖は偶奇効果を示すことが良く知られているが、今回の系の様に分子設計によってその効果を打ち消すことも可能である。これらの結果は、アルキル鎖に基づく結晶工学的アプローチの有用性を示しており、今後の機械的雙晶を示す有機結晶の設計につながる。

(成果)

本研究期間中に、以下の成果を報告した。

【査読付き学術論文】

1. **Toshiyuki Sasaki**, Shunichi Sakamoto, Satoshi Takamizawa, Four Directional Twinning Deformation of an Anisotropic Molecular Single Crystal Based on Three Different Modes of Mechanical Twinning. *Cryst. Growth Des.* **2022**, *22*, 174-179.
2. **Toshiyuki Sasaki**, Mechanical twinning in organic crystals. *CrystEngComm* **2022**, *24*, 2527-2541. (*Highlight*)
3. **Toshiyuki Sasaki**, Alkyl Chain Length-dependent Dimensionality in Linking of Hydrogen-bonding Supramolecular Columns. *Cryst. Growth Des.* **2022**, *22*, 3326-3332.

応力刺激応答性ソフトクリスタルを利用した機能制御

神奈川大学物質生命化学科 特別助教

楠本壮太郎

(研究目的)

外部力学刺激にマクロスコピックな応答を示す単結晶、つまり「柔軟な結晶」が新奇ソフトマテリアル群として注目を集めている。金属結晶、イオン結晶、分子結晶などの結晶材料は、原子や分子の強固な相互作用および結合から外部応力刺激に弱く脆い性質を示すが、分子結晶においては応力刺激を緩和できる“弱い相互作用”からなるソフトな空間の存在により、柔軟な結晶の作製が可能であることが近年見出されている。柔軟な結晶に関する報告は、そのほとんどが特異な曲げ挙動に関する報告であるが、機械的特性の制御と機能性への応用に関する知見は少ない。本研究では、柔軟性の制御方法を模索する。また機能性として誘電特性に着目し、機械的特性と誘電性の相関に関して明らかにする。

(研究方法)

ハロゲン置換基を含んだ有機分子に焦点を当て、溶媒濃縮法によりマクロスコピックな結晶を作製することでその機械応答性を調査する。単結晶構造解析、および分子間相互作用計算を用いて、メカニズムを特定した。

(結果および考察)

本研究で設計した分子**1**をFig. 1に示す。合成した粉末を様々な有機溶媒(メタノール、ジクロロメタン、クロロホルム、アセトン)により再結晶した。興味深いことにジクロロメタン(DCM)で再結晶した場合は針状結晶、テトラヒドロフラン(THF)で再結晶した場合、板状結晶が得られた(Fig. 1)。これらの化合物の単結晶構造解析を行った。**1**^{DCM}は単斜晶($P2_1/n$)、**1**^{THF}は三斜晶($P-1$)であり、それぞれ異なる集合構造を示した。いずれの結晶格子にも溶媒分子は含まれていなかった。結晶面の指数付けを行うと両結晶はa軸方向に成長し、その結晶構造とFace indexをFig. 2に示す。**1**^{THF}は、アルキル鎖が重ならず、完全に伸びた状態で結晶化し、head-to-head、tail-to-tailで整列したラメラ二重層(約36Å)を形成していた。**1**^{THF}のテトラクロロフタルイミド部分は、Cl $\cdots\pi$ ($d = 3.571, 3.623 \text{ \AA}$) とCl $\cdots\text{O}$ ($d = 2.865 \text{ \AA}$) 相互作用、およびカルボニル基と隣接するアルキル基の水素原子間のCH $\cdots\text{O}$ 相互作用

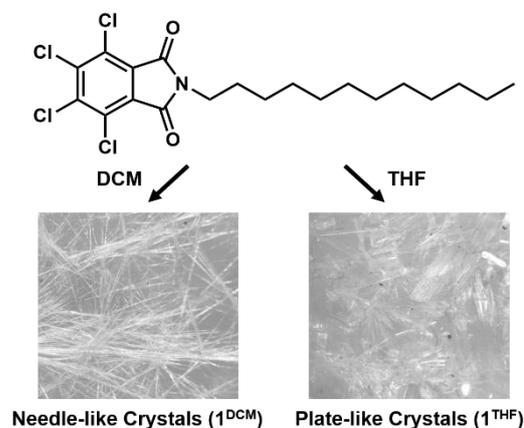


Fig. 1 分子構造と再結晶溶媒依存による結晶形状の変化

用 ($d = 2.439, 2.579 \text{ \AA}$) のb軸にスリップスタックした状態で積層していた。一方、 1^{DCM} のテトラフルイミド部位はCl--- π ($d = 3.389, 3.647 \text{ \AA}$) とCO--- π ($d = 3.647 \text{ \AA}$) を介してa軸方向にスリップスタックしていた。アルキル鎖は隣接する分子が互いに反対方向を向いて完全に重なっていた。また、結晶構造はa軸方向に2次元シート状構造(約 28 \AA)を示し、ステイッチ状のCl---Cl ($d = 3.490 \text{ \AA}$) の相互作用で3次元パッキングを形成した。

結晶サイズは、 1^{THF} が厚さ $20 \sim 30 \text{ \mu m}$, 幅 $500 \sim 1,500 \text{ \mu m}$, 長さ $5 \sim 20 \text{ mm}$, 1^{DCM} が厚さ $10 \sim 55 \text{ \mu m}$, 幅 $30 \sim 60 \text{ \mu m}$, 長さ $1 \sim 10 \text{ mm}$ であった。結晶の曲げ挙動を調べるために、両端をガラス面にグリースで固定した後、金属針で機械的外力を加えた。 1^{THF} 結晶をガラス板上に垂直に置き、その最も広い面に力を加えたところ、永久変形を示し、結晶の可塑性が観測された (Fig. 3b)。一方、 1^{DCM} は半ループ状に変形しただけでなく、力を取り除いても永久変形や破損の兆候はなく元の直線状に戻り、結晶の弾性を示した (Fig. 3a)。

弾性結晶である 1^{DCM} の機械的特性を定量化するために、結晶の厚さを t 、曲率半径を R とし、 $\epsilon_n = (t/2R)$ という Euler-Bernoulli式を用いて弾性ひずみ (ϵ_n) を見積もった。その t と R の値はそれぞれ 52.4 \mu m と 947 \mu m で、 ϵ_n は 2.8% と算出された。これは、機械的応力に弱い結晶の弾性歪みが 0.5% 以下という値に対し、 1^{DCM} は非常に高い

柔軟性を持つことを意味している。ナノスケールの機械的特性を調べるために、 1^{DCM} と 1^{THF} の曲げ面に対してナノインデンテーション試験を行った (Fig. 4a, b)。両結晶の荷重-変位 ($P-h$) 曲線を求め、硬度解析を行った。このうち、 1^{DCM} は (010) 面の荷重力の増加に対して滑らかな曲線を示し、最大荷重 ($P_{\text{max}} = 620 \text{ \mu N}$) 時に最大の圧痕深さ ($h_{\text{max}} \sim 605 \text{ nm}$) が観察さ

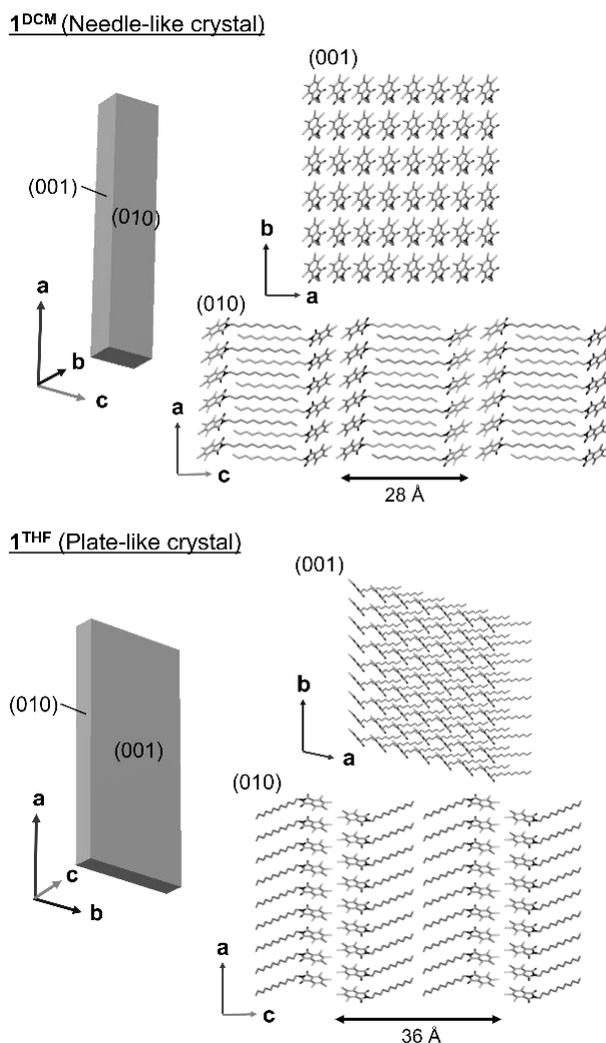


Fig. 2 Face index と集積構造

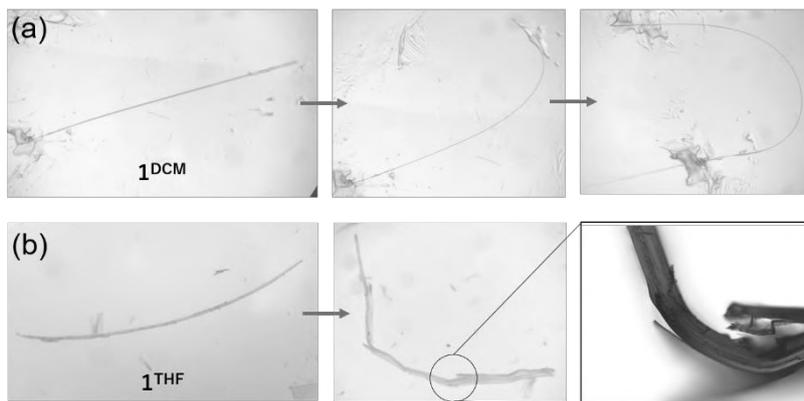


Fig. 3 (a)弾性変形を示す 1^{DCM} と(b)塑性変形を示す 1^{THF}

れた。無負荷にすると結晶は53%(282 nm)まで回復し、高い弾性特性を示した。また、 P - h 曲線では、加圧を完全に解除した後も貫入深さが残っており、結晶が最終的に塑性変形を起こすことを示している。圧痕深さ200-800 nmにおける E と H の平均値はそれぞれ 1.52 ± 0.58 GPaと 0.10 ± 0.031 GPaであった。 1^{THF} の場合、(001)面で荷重力が増加すると、その P - h 曲線は圧痕深さ20 nm付近の結晶中の分子の滑りに関連したポップイン(変位バースト)を数回示した(Fig. 4c)。これは分子層に対して垂直な圧痕試験でよく観察される。分子結晶中の二層膜の距離は約36 Åであることから、このポップインは5~6枚の

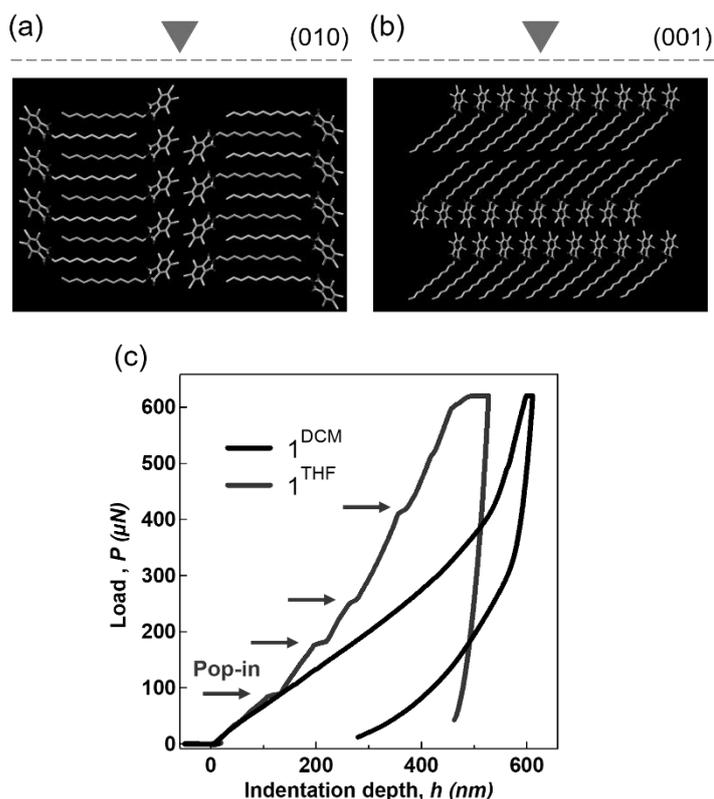


Fig. 4 (a) 1^{DCM} および(b) 1^{THF} の集積構造とインデンテーション面 (c)ナノインデンテーションによる P - h 曲線

二層膜が滑っていることに相当する。この結晶は除荷後、

12%まで回復し、 1^{DCM} よりも弾力性に乏しいことがわかった。 1^{THF} の E と H に依存する h_{max} を 1^{DCM} と同様に測定したところ、200-800 nmの範囲における平均値はそれぞれ 5.37 ± 0.66 GPaと 0.13 ± 0.037 GPaとなった。これらの結果から、両結晶は非常に似た硬さと特に柔らかい性質を有していた。マクロな変形モード(塑性変形と弾性変形)が異なるにもかかわらず、ナノ領域の硬さはほとんど変化せず、これは結晶内の非常に弱い相互作用との関連によるものであると考えられる。

両結晶の構造から力学的特性を調べるために、エネルギーフレームワーク解析を適用した。2次元シート状構造を持つ 1^{DCM} の相互作用トポロジーでは、Cl--- π , CO--- π , CH---O相互作用に基づく比較的大きなエネルギー($IE = -33.1 \sim -55.3$ kJ mol $^{-1}$)、およびハロゲン相互作用に基づく弱いエネルギー($IE = -2.9 \sim -13.8$ kJ mol $^{-1}$)が見られた(Fig. 5a)。面指数の結果を考慮すると、2次元シートのa軸に沿ったテトラクロロフタルイミド部位のスリップスタック構造は、内側の円弧が縮み、外側の円弧が広がっており、柔軟な弾性変形をもたらすと考えられる(Fig. 5c)。 1^{THF} トポロジーの2次元シートにおける IE は-20.9~-59.1 kJ mol $^{-1}$ だが、2次元シート間の IE は-7.9 kJ mol $^{-1}$ 以下である(Fig. 5b)。結晶の各平面間の分子間相互作用が弱い滑り面の存在が塑性変形を引き起こすのに対し、 1^{THF} ではハロゲン(滑り面A)とアルキル基(滑り面B)の相互作用からなるヘテロ滑り面が塑性変形を伴う屈曲の原因になっている可能性があることが明らかになった(Fig. 5d)。また、曲げ面(001面)に平行に機械的応力を加えると結晶の層が破壊されるが、滑り後に回復すると全体の集合構造が保たれ、永久変形が

生じる。これらの結果を踏まえると、両結晶において異方性を引き起こす塑性曲げの特徴と非常に弱い分子間相互作用が観察されたが、**1^{DCM}**では塑性変形と滑りが起こらなかったのは、Cl---Cl相互作用のエネルギー ($\sim -13.8 \text{ kJ mol}^{-1}$) が**1^{THF}** ($\sim -3.9 \text{ kJ mol}^{-1}$) に比べて強いいためか、滑り面が曲げ面に対して平行に形成されていないからであると考えられる。

以上本研究では、有機分子を再結晶溶媒によって弾性変形や塑性変形可能な屈曲型に結晶化させた分子性結晶の作製を初めて報告した。これは分子結晶の機能性の一つである硬度や変形様式の制御に向けた有用な知見である。

更なる発展として、これら柔軟な結晶を用いた誘電性の制御を予定していたが、その測定には至っていない。今後の課題として、これら柔軟な結晶は、応力刺激を利用した機能性の制御に応用できるのか明らかとする予定である。

(成果) 等

[発表論文]

"Recrystallization solvent dependent elastic/plastic flexibility of an n-dodecyl-substituted tetrachlorophthalimide"

S. Kusumoto, R. Suzuki, M. Tachibana, Y. Sekine, Y. Kim, S. Hayami,
Chem. Commun., 2022, 58, 5411-5414. (DOI:10.1039/D2CC00663D)

[学会発表]

- 2022.3.25 日本化学会 第102春季年会 (2022)
講演タイトル「Drastic changes in the mechanical properties of long alkyl-chained organic crystals depending on recrystallizing solvent」
- 2021.12.21 Pacific Chem 2021
講演タイトル「Flexible crystals with salen-typed molecules」
- 2021.9.16 第71回錯体化学討論会
シンポジウム「Interplay between mechanical and physical properties of functional molecular crystals」
講演タイトル「Properties and Mechanism of Mechanically Flexible Molecular Crystals Composed of Salen-Derived Compounds」

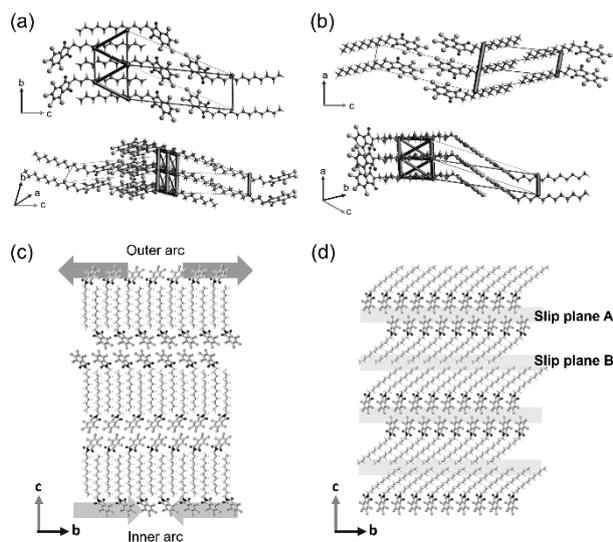


Fig. 5 (a) **1^{DCM}** および (b) **1^{THF}** のエネルギーフレームワーク (c) 弾性変形メカニズム (d) 塑性変形メカニズム