

生体膜表面に吸着する環境ホルモンの計測システム

「変換と制御」領域 叶 深

要 旨

本研究は環境ホルモンのその場高感度計測法の開発や、環境ホルモン分子の吸着・侵入に伴う生体膜構造の変化について分子レベルでの解明を目標としている。機能性高分子薄膜で修飾された水晶振動子マイクロバランス (QCM) 電極を用い、環境ホルモンの一つとして疑われているビスフェノール A (BPA) の高感度計測に成功した。また、極めて高い界面感度をもつブロードバンド和周波発生 (SFG) システムを新たに構築し、従来の振動分光法では観測が困難とされる生体高分子薄膜やラングミュア-ブロジェット (LB) 超薄膜、脂質二分子膜等の擬似生体膜における界面構造の分子レベルでの計測に初めて成功したと同時に、BPAの吸着・侵入に伴う膜構造変化についても追跡した。

1. 緒 言

生体は体内に存在する極微量のホルモン物質によって多様な細胞活性を制御している。ところが、外部から取り込まれた一部の異物 (内分泌攪乱化学物質、いわゆる環境ホルモン) が極微量でも直接的間接的にホルモンレセプターと結合してしまうと、生体の内分泌系に対して重大な影響を及ぼす恐れがある¹。例えば、ポリカーボネートやエポキシ樹脂の原料として用いられる BPA はエストロゲン活性をもち、生殖機能阻害を引き起こす環境ホルモンとして疑われている²。

しかしながら、環境ホルモン汚染の実態や生体系への影響と作用機構はまだ十分解明されておらず、対策を取ることは困難である。これまでに環境ホルモンの計測は GC/MS や LC/MS といった分析装置を必要とし、分析に時間がかかり、また装置の操作と結果の解析に経験が必要であることから、検査を委託するのが一般的であった。現場での便利な環境ホルモンの計測法及び回収技術の開発も期待される。さらに、環境ホルモンと生体との相互作用機構を理解するためには、生体膜表面における環境ホルモンの吸着と進入挙動、またそれによって引き起こされる生体膜の構造変化について分子レベルで解明する必要がある。

本研究において、我々は環境ホルモンとして疑われている BPA とアルキルフェノール類

化合物の高感度その場計測法の開発や、擬似生体膜表面への環境ホルモン分子の吸着・侵入過程で起こる膜構造や配向の変化の分子レベルでの解明について取り組んできた。

QCM及び赤外反射分光 (IRRAS) 測定により、BPAとアクリレート系高分子材料の相互作用について詳細に調べた結果、ポリ(2-メトキシエチルアクリレート) (PMEA) 薄膜でQCM電極を修飾することにより、BPAの高感度検出に成功した。

さらに、本研究では生体膜界面の分子構造を高感度に計測するために、ブロードバンド和周波発生分光測定システムの開発を重点的に行い、短時間で高感度に単分子膜以下の界面分子構造を計測することに成功した。この手法を用い、生体高分子薄膜やLB超薄膜、脂質二分子膜等の擬似生体膜における界面分子構造の分子レベルでの解明に初めて成功したと同時に、BPAの吸着・侵入過程での膜構造変化についても追跡した。

2. 研究内容

(1) フェムト秒ブロードバンド和周波発生 (SFG) 分光測定システムの構築

和周波発生 (SFG) は二次非線形光学効果に基づく現象であり (図1)、周波数 ω_{vis} と ω_{IR} の二光子からその周波数の和となる一光子 $\omega_{\text{SFG}} = \omega_{\text{vis}} + \omega_{\text{IR}}$ への変換過程である³。SFGは反転対称性が壊れる界面や表面でのみ発生するため、極めて界面に敏感である。入射光の一つを赤外領域 (ω_{IR}) に置くことにより、振動分光法としてSFGは種々の界面 (固-気、固-液、気-液及び液-液等) における分子構造とそのダイナミクスの研究に応用され、特にその高い表面選択性と単分子層以下の高感度で注目を浴びている⁴⁻⁸。

これまでのSFG計測には、主にナノ秒或いはピコ秒の可視 (波長固定) と赤外 (波長可変) のパルスレーザーが光源として用いられているが、SFGスペクトルを得るためには、赤外光の波長を走査するという難点がある。また、これらのレーザーはパルス幅が長く、熱効果により生体試料を傷つけてしまう場合があり、生体試料への適用は困難とされてきた。一方、SFGの強度は入射光のエネルギー密度に比例するので、フェムト秒レーザーのような超短パルス光では、SFG発生効率を著しく向上させると同時に、熱効果による試料へのダメージも大きく減らせ、生体試料の構造研究に最適と考えられている。しかし、フェムト秒パルス帯域が数百 cm^{-1} と広く、そのままでは振動分光法としての適用は困難とされてきた。

本研究では、フェムト秒の可視光を狭帯域化させ、フェムト秒の広帯域赤外光と合わせSFGを発生する手

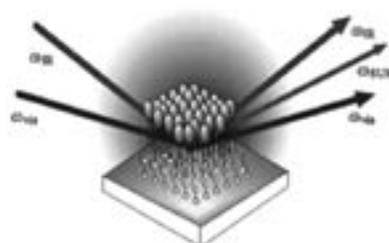


図1. 和周波発生 (SFG) 過程

法で、この問題の解決に挑戦した^{9,10}。図2に示すように、チタンサファイア再生増幅器Hurricaneを光源(波長: 800nm, パルス幅: 120fs, パルスエネルギー: 1.0mJ, 繰返周波数: 1kHz)として用いた。その出力の一部を分光器により切り出してから、回折格子により空間チャープを補償し、コリメートした狭帯域の可視光として出力する(半値幅: 5cm^{-1} ~)。残った出力を波長変換装置(TOPAS)により、 $3\sim 10\ \mu\text{m}$ の広帯域の赤外光を発生させる(半値幅: $\sim 250\text{cm}^{-1}$)。赤外光と可視光を試料表面に集光し、SFG光を発生させる。広い波長幅(約 250cm^{-1})のSFGスペクトルは、分光器($f=35\text{cm}$)に取り付けたCCD検出器によって同時に測定できるようになった。このように構築されたブロードバンドSFG測定システムに対して改良を重ねた結果、種々の環境(空気と水溶液)と基板温度($5\sim 100\ ^\circ\text{C}$)の条件下で、擬似生体膜における界面分子構造の高感度計測に成功した。計測時間とS/Nも従来のシステムと比べると大きく改善されている。例えば、従来のピコ秒レーザーの場合、金表面での有機単分子膜のC-H伸縮領域のSFGスペクトルを得るには、通常約30分掛かるが、本システムにより30秒で10倍以上の良好なS/NのSFGスペクトルを得ることができる^{10,11}。また、フェムト秒レーザーの高い時間分解能により、将来、生体膜表面における分子構造変化の高速ダイナミクスの追跡にも応用できると期待される。

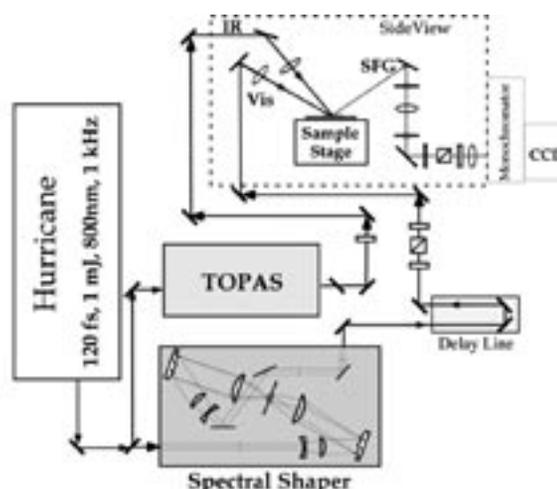


図2. ブロードバンドSFGシステム

(2) 機能性高分子薄膜修飾QCM電極によるBPAの高感度検出法の開発

本研究では、質量変化を高感度で測定できるQCM法を用い、BPA検出を試みた。QCMはナノグラムレベルで質量変化を測定できるが、分子選択性がないことが問題点である¹²。BPAとポリアクリレートとの相互作用を詳細に調べた結果、BPAを特異的に吸着できるPMEA薄膜をQCM電極に固定することで、BPAの超微量検出に成功した。

ATカットQCM電極(5MHz)の片面に、下地としてポリスチレン(PS)薄膜を、その上にPMEA薄膜をスピコート法により作製することで、安定なPMEA薄膜を製膜した。図3に示すような測定システムにより、BPA導入に伴う質量変化を周波数カウンタで測定した。なお、本計測システムは水溶液中において、 0.1Hz 以下の周波数変化を高感度で測定できる¹³。

図4 aにPMEA膜(膜厚: 83nm)に対して、エタノール、水及びフェノールを注入した場合、周波数変化がないのに対し、溶液全体の濃度が0.2ppmとなるようにBPAを注入した場合、約0.6Hzの周波数減少(質量増加に対応)が観測された。逐次BPAを注入しても同じ周波数減少が観察された。このような周波数変化はPS膜に対してまったく観測されていなかった(図4 b)。さらに、図5に示すように、BPAの濃度の増加に伴い周波数の減少は大きくなり、濃度と周波数変化の関係はべき数で表せる。この周波数変化から溶液中のBPA濃度を計測できる¹³。



図3. QCM計測システム

PMEAの周波数応答はPMEAの膜厚にも強く依存する。図6に示すように、同じ10ppm BPA注入に対して、厚いPMEA膜ほど、BPAに対する応答速度が遅くなるものの、周波数変化の絶対値が大きくなったことが分かる。すなわち、膜厚を増やすことにより、検出感度を上げることができる。例えば、膜厚が600nmのPMEA薄膜では、1ppbのBPAの濃度変化に反応できることが分かった(図7)。PMEAの膜厚をさらに最適化することにより、より低濃度のBPAの検出も期待できる¹³。

さらに、PMEA薄膜をBPA溶液に浸漬すると、PMEA側鎖のカルボニル基はBPAのOH基との間に水素結合を形成することがIRRAS測定で確認された。これはBPAを膜中に固定する化学的要因となる。しかし、この水素結合はあまり強くなく、エタノールでリンスすることにより、BPAに帰属する赤外ピークが消えたが、PMEAに帰属されるピークだけに変化せず残ることから、エタノール洗浄によりBPAをPMEA薄膜から完全に溶出でき、

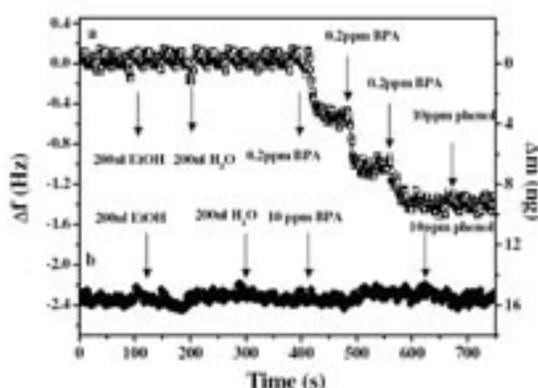


図4. (a) PMEAと(b) PS薄膜修飾QCM電極の周波数応答

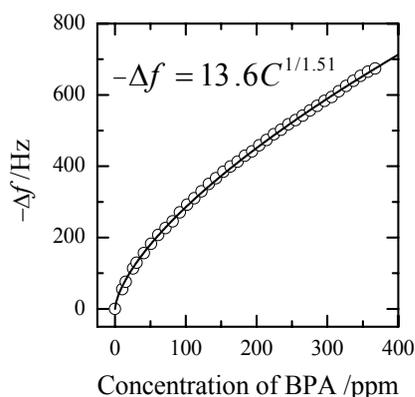


図5. PMEA薄膜の周波数応答とBPA濃度の関係

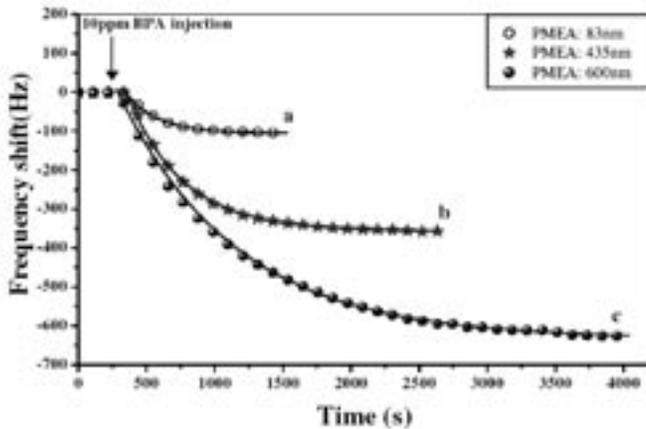


図6 . 10ppm BPA導入のQCM応答の
PMEA膜厚依存性

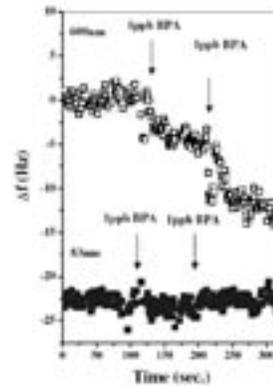


図7 . 1ppb BPA導入のQCM
応答のPMEA膜厚依存性

PMEA膜をセンサーとして再利用できることが確認された^{11,13}。将来、金属や高分子のナノ粒子表面にPMEA薄膜を担持し、溶液中に分散し、環境ホルモン分子の吸着効率を一層高めると同時に、膜内に吸収した高濃度の環境ホルモン物質を回収し、環境修復型再生システムの実現が期待できる。

(3) 環境ホルモン分子吸着による生体高分子薄膜の界面分子構造変化の解明

PMEAは生体適合性に優れていることが知られており¹⁴、そのことはPMEA表面の分子構造が密接に関係するものと考えられる。しかし、従来の分析手法だけでは、高分子表面とバルク構造の違いを区別することが困難であり、表面分子構造と機能性の関係はまだ解明されていない。そこで、我々は、生体高分子PMEAへのBPAの特異的な吸收到に着目し、SFG分光法を用いて、PMEA界面を分子構造変化の視点から調べることを試みた¹¹。

図8は金基板上に、種々の膜厚のPS中間層(0~220nm)の表面に構築されたPMEA(75nm)のSFGスペクトルを示す(2750~3100 cm^{-1})。対応する各ベースラインの位置は矢印で示される。3000 cm^{-1} 以下のピークは主にPMEAの側

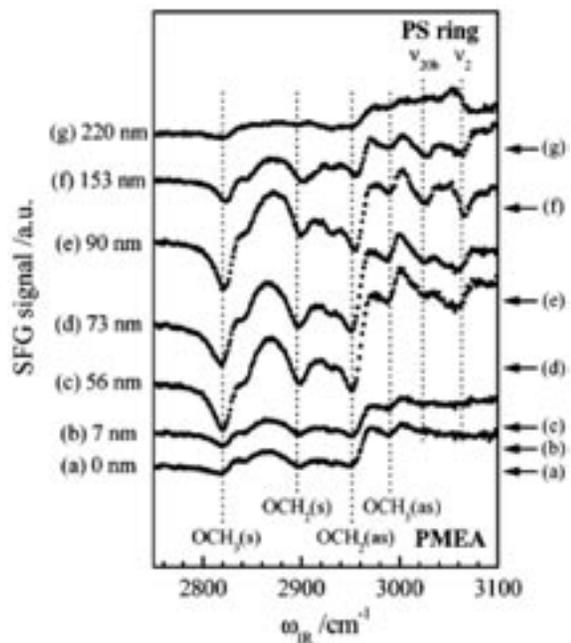


図8 . PMEAs75nm/PS/AuのSFGスペクトル。PSの膜厚は図に示す。

鎖の $-OCH_3$ と $-OCH_2$ に、また 3000cm^{-1} 以上ではPSの ν_{20b} と ν_2 にそれぞれ帰属できる。これらの共鳴と非共鳴SFG信号はPS中間層の膜厚に強く依存する。PS膜厚が 7nm までには(図8 a~b)、PMEAの下向きのピークのみ観測されたが、膜厚が増えると(図8 c~f、 $56\sim 153\text{nm}$)、PMEAとPSのピークが同時に観測されるようになった。また、PS膜厚が 220nm になると、PSピークが上向きへと変化した(図8 g)。詳細に解析した結果、PMEA/空気界面(自由界面)及びPMEA/PS界面(高分子界面)で発生する反射及び透過SFG光がお互いに干渉しあい、膜厚による光路長が変化したため、このような強度と位相の違いが観測された。従って、PMEAと中間層PSの膜厚制御により、選択的に自由界面または高分子界面の分子構造をSFGによりプローブできることを示した¹¹。

そこで、BPA吸着によるPMEA界面構造変化について調べるため、膜厚が(i) 7nm と(ii) 90nm のdPS中間層を持つPMEA薄膜のBPA浸漬前後について調べた(図9)。dPSの使用により、PMEAのC-H伸縮振動($2750\text{-}3100\text{cm}^{-1}$)、BPAのフェニル環C-H($3000\text{-}3100\text{cm}^{-1}$)とdPSのC-D伸縮振動($2200\text{-}2350\text{cm}^{-1}$)を分離して観察できた。上記にも述べたように、PMEAに帰属される OCH_3 基の対称(2822cm^{-1})と非対称(2990cm^{-1})ピークはいずれの試料においてもはっきりと下向きに観測されているのに対して、 90nm のdPSの場合のみdPS由来の ν_{20b} (2263cm^{-1})と ν_2 (2274cm^{-1})モードが観測されたことから、PMEA/dPS 7nm /Au試料がair/PMEAの自由界面を、PMEA/dPS 90nm /AuがPMEA/dPS界面の高分子界面を選択的に観察していることを示した¹¹。

自由界面(図9 i)と高分子界面(図9 ii)の両方において、(b) BPAを吸着させることにより、 3071cm^{-1} にBPAの ν_2 モードに帰属されるピークが新たに観測された。また、SFGスペクトルの強度が大きく変化するものは、BPA吸着によるPMEA膜の膨潤により、SFG信号の干渉度合いの変化によるものである(図8)。(c) エタノールで洗浄することによりそのピークが完全に消失したことから、BPAの吸着はPMEA表面だけで起こるのではなく、内部に侵入し、基板界面にまで

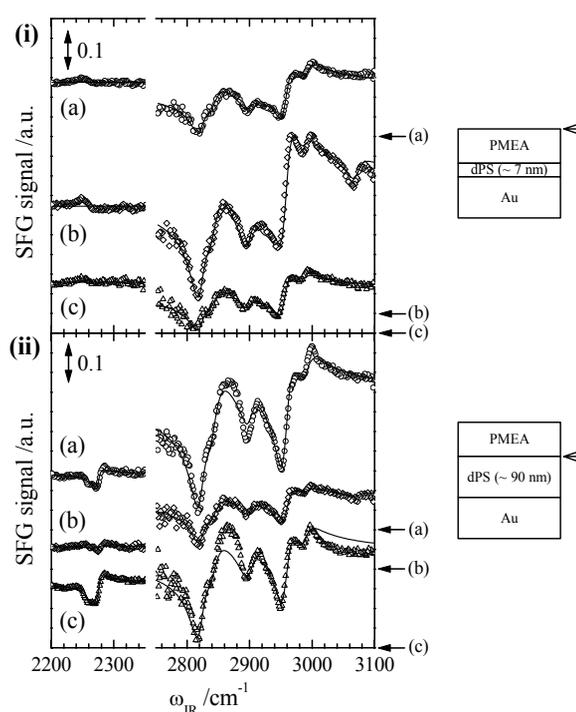


図9. 得られたSFGスペクトル

到達していることがわかり、また、吸着したBPAはエタノール洗浄により両界面において完全に除去できることが分かった¹¹。

さらに、このスペクトル変化を定量的に解析するために、BPA吸着に伴うPMEA薄膜の界面における側鎖末端OCH₃基の配向角 θ を見積もった。図9のスペクトルをフィッティングすることにより各振動モードの強度を抽出し、注目するOCH₃基の非対称と対称伸縮振動のピーク強度比 R' を算出した。 R' は配向角 θ と次のような関係にある、

$$R' = \frac{\langle \cos \theta \rangle - \langle \cos^3 \theta \rangle}{\langle \cos \theta \rangle (1+r) - \langle \cos^3 \theta \rangle (1-r)}$$

ここで r は官能基に依存する定数でありOCH₃基の場合、 $r=1.8$ を用いて配向角 θ を求めると、自由界面では37°、基板界面では30°と、基板界面の方が若干垂直に配向していることが分かった。このように、生体適合性に優れた高分子材料であるPMEAは、アモルファスであるバルクに比べ、自由界面及び基板界面で側鎖を垂直に配向させた秩序だった分子構造を持つことが分かった。また、BPAの吸着に伴い、自由界面では37°から22°に、基板界面では30°から22°に変化することが分かり、どちらにおいてもより垂直に配向を変化させることが分かった。さらに配向分布を詳細に計算すると、図10に示すように、自由界面では分布が広いのに対し、基板界面では若干分布が狭いことが分かり、また、BPA吸着により両界面における配向分布が狭くなることが分かった¹¹。さらに、図9bのC-D伸縮領域から、PMEA/PS界面におけるフェニル環の配向についても計測したが、BPA吸着により、フェニル環が界面に対してより垂直になったことが分かった¹¹。

この吸着は、PMEAの側鎖カルボニル基とBPAのヒドロキシル基との水素結合によるものであることがIRRAS測定から分かっており、カルボニル基を有する類似アクリレート系高分子でもBPAの吸着が期待される。そこでPBMA等と比較を行ったところ、類似アクリレート系でもBPAの吸着を示すことが分かり、PMEAが最も多くのBPA吸着を示すことが分かった。また、非アクリレート系であるdPSではBPAの吸着が観察されず、また、PMMAはアクリレート系であるにもかかわらず、IRRAS及びQCMからはBPAの吸着が観察されなかった。dPS表面で

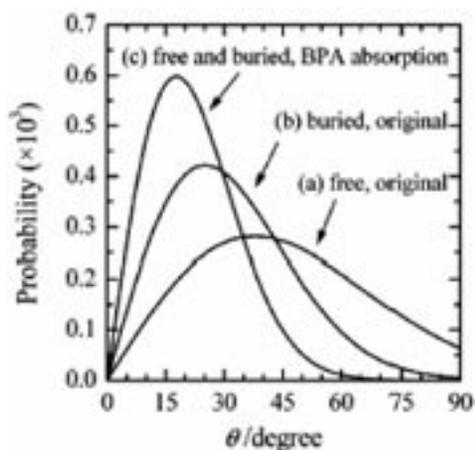


図10. OCH₃配向角の分布

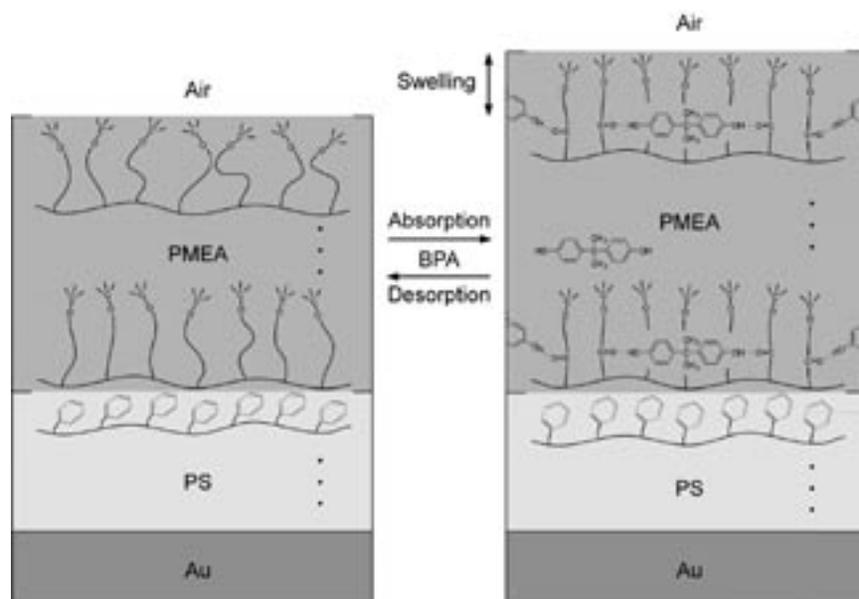


図11. BPA吸着脱離に伴うPMEA/PS/Au界面分子構造の変化の模式図

はBPAの存在が確認されなかったが、PMMAの表面ではBPAが吸着していることが分かった。このことは、BPAはPMMA表面に吸着するが、内部には侵入しないことを示している。この結果をガラス転移温度 (T_g) によるものと考えている。即ち、 T_g の低いPMEA ($-50\text{ }^\circ\text{C}$) の場合、室温ではラバー状態であり、自由体積が大きくなることでBPAは内部にまで侵入できるが、 T_g の高いPMMA ($105\text{ }^\circ\text{C}$) とdPS ($\sim 100\text{ }^\circ\text{C}$) の場合、室温ではガラス状態であり、主鎖のミクロブラウン運動が凍結され、BPAは内部にまで侵入できないと考えられる^{11,15}。

以上の解析から、BPAの吸着と脱離に伴うPMEAの界面分子構造に関する知見を図11に模式図として示す¹¹。

(4) LB超薄膜及びリン脂質二分子膜の界面分子の構造評価

LB法は、機能性分子を固体表面に累積する有効な手法として、種々の機能性材料の創製に用いられている。特にLB法で作製されるリン脂質二分子膜は擬似生体膜のモデルとして広く使用されている。これまでにLB薄膜のバルク構造について赤外分光法やX線回折法により詳しく調べられてきたが、材料の性能と安定性を大きく左右するLB薄膜の表面分子構造や表面欠陥に関する情報は非常に限られていた。本研究では、界面や表面を選択的に測定できるSFG分光法を用い、飽和脂肪酸分子であるステアリン酸 (SA)^{10,16}とリン脂質分子であるホスファチジルコリン (DPPC) とホスファチジルセリン (DPPS) のLB超薄膜の界面分子構造を分子レベルで解明した上、擬似生体膜と環境ホルモンの相互作用の解明を目指す。

図12には、0.2 mMの Cd^{2+} イオンを含む緩衝溶液中 (pH=6.8) で、親水石英基板上に作製した種々の膜厚 (1~12層) のSAのLB薄膜のSFGスペクトルを示す^{10,16}。これらのSFGスペクトルは膜厚に依存せず、ほぼ一定である。all-transで配列するSA分子が密に積層するため、LB多層膜内部のSA分子がSFG信号に殆ど寄与せず、膜最外層にあるSAのメチル基のみ観測された。特に奇数層と偶数層のLB膜のSFGスペクトルが類似することから、空気中では両者の最外層の分子構造が類似していることが示唆された。偶数層SAのLB膜を下層水中から引き上げる際に、その最外層の分子構造が変化していることが、SFG測定により初めて明らかになった^{10,16}。

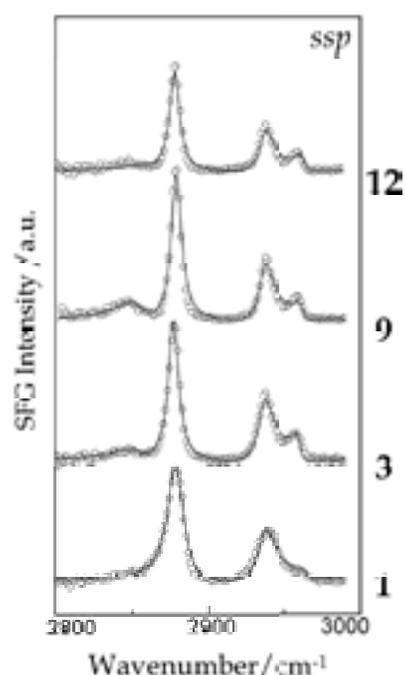


図12. SAのLB薄膜のSFG
スペクトルの膜厚依存性。

さらに、LB薄膜を作製する水溶液中で偶数層LB膜の構造と安定性についてその場SFG分光法によって調べた¹⁶。図13は、0.2 mMの Cd^{2+} イオンを含む緩衝溶液中 (pH=6.8) で観測されたSAの二分子膜のその場SFGスペクトルである (2800~3000 cm^{-1})。ここで一層目と二層目にそれぞれD (重水素) とH (普通水素) 置換SAを用いたため、二分子膜の局所対称性がなくなり、各層からのSFG信号を正確に測定できる。二分子膜が作製された直後のSFGスペクトル (図13 a) は単分子膜SAのもの (図12) と類似するため、ほぼ理想的な二分子膜が形成されたことが示唆された。しかしながら、浸漬時間とともにSA末端メチルのピークが徐々に弱くなり、5時間浸漬後、最初の強度の約1/3となる。このことから、SAの二分子膜の最外層では、最初の分子構造を維持できず、 Cd^{2+} を含む緩衝溶液への浸漬時間に依存し、浸漬とともに変化することが分かった¹⁶。これと対照に、図14には、同じD/H二分子膜を Cd^{2+} を含まない緩衝溶液中 (pH=6.8) で観測されたSFGスペクトルを示す。この場合、界面の水分子のOH伸縮振動からの影響が大きくなるものの、浸漬とともに末端メチルのピークのSFG信号強度がほとんど変化していないことが分かる。従って、下層水溶液中における Cd^{2+} の存在は、二分子膜の最外層の分子構造に大きな影響を及ぼしていることが分かる¹⁶。詳細に解析した結果、SA二分子膜の最外層は、 Cd^{2+} イオンが存在する場合にのみ、図15の模式図に示すように再配列が起こり、表面分子の一部が反転し、局所対称性により、末端メチルからの信号が弱くなることが分かる。この分子再配列のドライビングフォースは、SA末端の

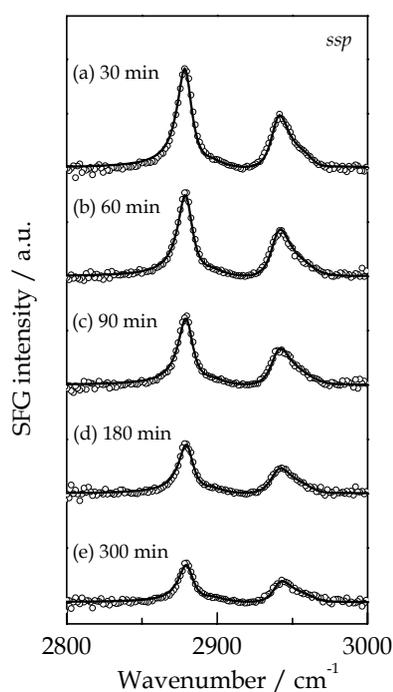


図13. 0.2mM Cd²⁺を含む0.3mM NaHCO₃溶液中でのSAの二分子膜のSFGスペクトル

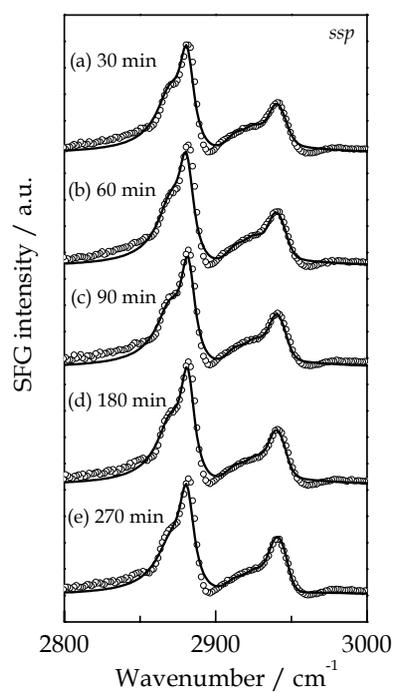


図14. 0.3mM NaHCO₃溶液中でのSAの二分子膜のSFGスペクトル

COO⁻基と Cd²⁺ イオンの強い静電的キレート結合と考える¹⁶。空気中での構造変化も同じように考えられる (図12)¹⁰。

さらに、マイカ表面における LB 薄膜の表面形状について空気中で原子間力顕微鏡 (AFM) によって観察した (図16)¹⁰。1 と 3 層の LB 膜が非常に広い範囲にわたり、平坦な表面構造を示すのに対して、偶数層の 2 層膜の表面では、多くのアイランド構造ができたことが分かる。これらのアイランドドメインの表面は平坦であり、その高さは約 5 nm で、SA の二分子の高さに相当する。この結果は上記に示した SA の LB 多層膜表面再配列のモデルを証明した¹⁰ (図15)。

一方、リン脂質分子の DPPC の二分子膜構造についても検討したが、二価カチオンに誘起される界面分子構造の変化が全く観測されておらず、Cd²⁺ 誘起界面分子構造変化は SA のような飽和脂肪酸分子に特有な現象であることを示唆した¹⁶。

さらに、リン脂質二分子膜のコレステロールによる安定化構造や環境ホルモンとの相互作用による膜構造変化について、その場 SFG により調べ、興味深い結果が得られている。

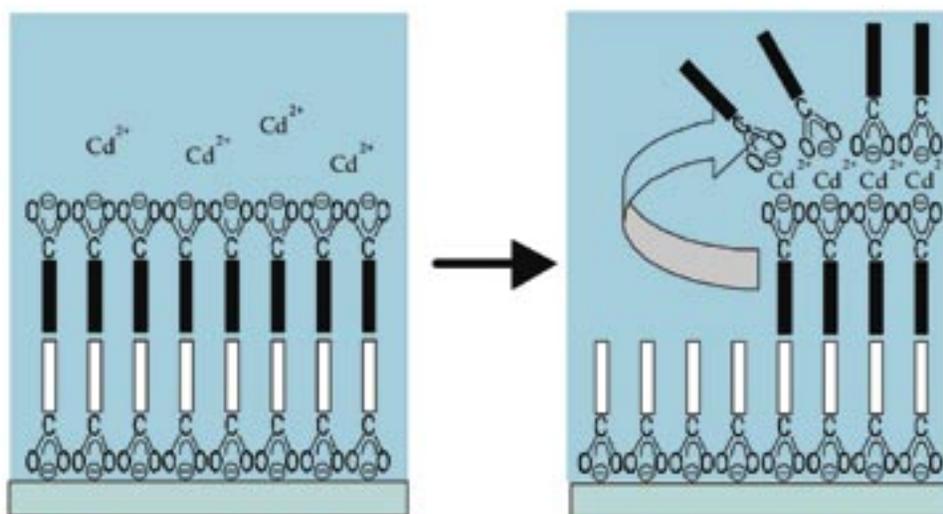


図15. Cd^{2+} を含む溶液中でのSAの二分子膜の表面再配向の模式図。

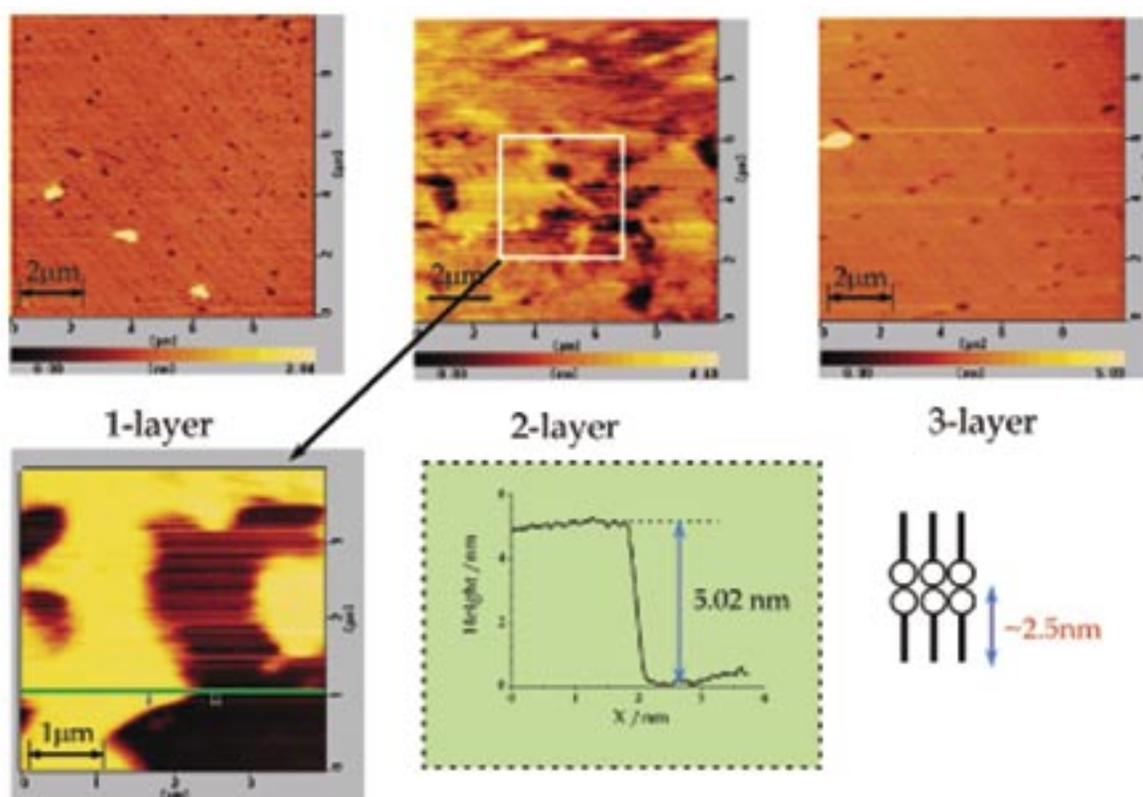


図16. マイカ表面での1, 2, 3層のSA薄膜の表面AFM観察結果。

3. 結 論

本研究は、環境ホルモンのその場計測法の開発や擬似生体膜表面で環境ホルモン分子の吸着・侵入に伴う膜構造や配向の変化の分子レベルでの解明を目指して取り組んできた。PMEA修飾QCM電極により、環境ホルモンの一つとして疑われているBPAの高感度計測に成功した。さらに、SFGの高い界面感度を利用し、従来の振動分光法では観測が困難とされる生体適合性高分子薄膜やLB超薄膜、脂質二分子膜等の擬似生体膜における界面分子構造の分子レベルでの解明に初めて成功したと同時に、BPAの吸着・侵入で起こる膜構造変化についても追跡した。この研究は将来、蛋白質や糖質などの機能性分子と生体膜の作用機構と機能性発現の理解に、さらに道を開くものと考えられる。また、強力な界面研究手段となるブロードバンドSFG分光法は環境化学の界面計測のみならず、表面化学、表面物理や生物学などの広い研究分野に役に立つものと考えている。

4. 謝 辞

本研究は科学技術振興事業団さきがけ研究「変換と制御」領域の支援のもとで行われたものである。合志領域代表を始めとするアドバイザーの先生たち及び領域事務所の方々に深く感謝致します。本研究はグループメンバーの野田浩之と森田成昭、及び大学院生の李桂峰、周尉、西田拓磨、東基らとの共同努力によるものであり、心から感謝致します。

5. 参考文献

- 1) Wright, A. N.; Fischli, A. E. *Pure Appl. Chem.* **1998**, 70, 1617-1865.
- 2) Hunt, P. A.; Koehler, K. E.; Susiarjo, M.; Hodges, C. A.; Ilagan, A.; Voigt, R. C.; Thomas, S.; Thomas, B. F.; Hassold, T. *J. Curr. Biol.* **2003**, 13.
- 3) Shen, Y. R. *The Principles of Nonlinear Optics*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1984.
- 4) Shen, Y. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, 93, 12104-12111.
- 5) Bain, C. D. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1995**, 91, 1281-1296.
- 6) Richmond, G. L. *Chem. Rev.* **2002**, 102, 2693-2724.
- 7) Buck, M.; Himmelhaus, M. *J. Vac. Sci. Technol. A* **2001**, 19, 2717-2736.
- 8) 叶, 魚崎, 「SFG計測」, ナノテクノロジーハンドブック, II編「観る」3章「短パルスナノ光で観る」, 69-74, オーム社, 2003年.
- 9) Richter, L. J.; Petralli-Mallow, T. P.; Stephenson, J. C. *Optics Lett.* **1998**, 23, 1594-1596.
- 10) Ye, S.; Noda, H.; Morita, S.; Uosaki, K.; Osawa, M. *Langmuir* **2003**, 19, 2238-2242.
- 11) Ye, S.; Morita, S.; Li, G.; Noda, H.; Tanaka, K.; Uosaki, K.; Osawa, M. *Macromolecules* **2003**, 36, 5694-5703.

- 12) Buttry, D. A.; Ward, M. D. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1355-1379.
- 13) Li, G. F.; Morita, S.; Ye, S.; Tanaka, M.; Osawa, M. *submitted*.
- 14) Tanaka, M.; Motomura, T.; Kawada, M.; Anzai, T.; Kasori, Y.; Shiroya, T.; Shimura, K.; Onishi, M.; Mochizuki, A. *Biomaterials* **2000**, *21*, 1471-1481.
- 15) Morita, S.; Ye, S.; Li, G. F.; Osawa, M. *Vibrational Spectroscopy*, accepted.
- 16) Ye, S.; Noda, H.; Nishida, T.; Morita, S.; Osawa, M. *Langmuir*, in press.

6. 研究業績

[原著論文]

- 1) Quayum, M. E.; Ye, S.; Uosaki, K. Mechanism for Nucleation and Growth of Electrochemical Palladium Deposition on an Au(111) Electrode, *J. Electroanal. Chem.*, **2002**, *520*, 126-131
- 2) Miki, A.; Ye, S.; Osawa, M. Surface-enhanced IR absorption on Pt nanoparticles: an application to real-time monitoring of electrocatalytic reactions, *Chem. Commun.*, **2002**, 1500-1501
- 3) Miyake, H.; Ye, S.; Osawa, M. Electroless deposition of gold thin films on silicon for surface-enhanced infrared spectroelectrochemistry, *Electrochem. Comm.*, **2002**, *4*, 973-977
- 4) Ye, S.; Noda, H.; Morita, S.; Uosaki, K.; Osawa, M. Surface Molecular Structures of Langmuir-Blodgett Films of Stearic Acid on the Solid Substrate Studied by Sum Frequency Generation Spectroscopy, *Langmuir*, **2003**, *19*, 2238-2242.
- 5) Ye, S.; Li, G.; Noda, H.; Uosaki, K.; Osawa, M. Characterization of Self-Assembled Monolayers of Alkanethiol on GaAs Surface by Contact Angle and Angle-resolved XPS Measurements, *Surf. Sci.*, **2003**, *529*, 163-170
- 6) Chen, Y.X.; Miki, A.; Ye, S.; Sakai, H.; Osawa, M. Formate, an Active Intermediate for Direct Oxidation of Methanol on Pt Electrode, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*, 3680-3681.
- 7) Abe, M.; Michi, T.; Sato, A.; Kondo, T.; Zhou, W.; Ye, S.; Uosaki, K.; Sasaki, Y. Electrochemically Controlled Layer-by-Layer Deposition of Metal Cluster Molecular Multilayers on Gold, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, *42*, 2912-2915.
- 8) Ye, S.; Morita, S.; Li, G.; Noda, H.; Tanaka, M.; Uosaki, K.; Osawa, M. Structural Changes in Poly(2-methoxyethyl acrylate) Thin Films Induced by Absorption of Bisphenol A: an Infrared and Sum Frequency Generation (SFG) Study, *Macromolecules*, **2003**, *36*, 5694-5703.
- 9) Morita, S.; Ye, S.; Li, G.; Osawa, M. Effect of Glass Transition Temperature (T_g) on the Absorption of Bisphenol A in Poly(acrylate)s Thin films, *Vibrational Spectroscopy*, accepted.

[総説]

- 1) Ye, S.; Uosaki, K. "Atomically Controlled Electrochemical Deposition and Dissolution of Noble Metals" in *Encyclopedia of Electrochemistry* (ed. Bard, A. J.), Vol. 1, (eds. Gileadi, E.; Urbakh, M.), Wiley-VCH, Weinheim, 471-512, 2002.
- 2) 叶, 魚崎, 「SFG計測」, ナノテクノロジーハンドブック, II編「観る」3章「短パルスナノ光で

観る」, 69-74, オーム社, 2003年

- 3) 叶, 大澤, 魚崎, 和周波発生 (SFG) による水素終端 Si 表面の研究, 「真空」, 印刷中
- 4) 叶, 大澤, 和周波発生 (SFG) による有機薄膜の界面分子構造の研究, 「表面科学」, 受理

[国際学会, 国内学会 (一部)]

- 1) 叶, 野田, 森田, 大澤, ブロードバンド和周波発生 (SFG) 分光測定による固体表面に構築する有機単分子層の構造研究, 2001年分子構造総合討論会, 2001/9/24, 札幌 (口頭発表)
- 2) 叶, 森田, 野田, 大澤, 和周波発生 (SFG) 分光法を用いた有機薄膜表面分子構造の研究, 2002年分子構造総合討論会, 神戸, 2002/10/2 (口頭発表)
- 3) 森田, 李, 野田, 叶, 大澤, 高分子薄膜の異なる界面における分子構造の評価, 2003年分子構造総合討論会, 2003/9/25~27, 京都 (口頭発表)
- 4) 叶, 和周波発生 (SFG) 分光法による界面分子構造の解明, 第19回ライラックセミナー, 2002/6/22, 大滝村 (招待講演)
- 5) 森田, 李, 野田, 叶, 大澤, 和周波発生 (SFG) 分光法を用いた poly (2-methoxyethyl acrylate) (PMEA) 薄膜の表面分子構造研究, 第51回高分子学会年次大会, 2002/5/30, 横浜 (口頭発表)
- 6) 森田, 李, 野田, 叶, 大澤, SFG 及び QCM 測定による高分子薄膜へのビスフェノール A の吸着過程解析, 日本化学会第83春季年会, 2003/3/18-21, 東京 (口頭発表)
- 7) 野田, 森田, 叶, 大澤, 和周波発生分光法による有機分子薄膜修飾電極表面のその場構造解析, 電気化学会創立70周年記念大会, 2003/4/1-3, 東京 (口頭発表)
- 8) 叶, ブロードバンド SFG 分光測定による LB 膜の界面分子構造の解析, 物質国際研ワークショップ「和周波混合分光法」, 名古屋, 2003/3/13~14 (招待講演)
- 9) 叶, 和周波発生法による H-Si(111) の Si-H 結合の安定性の研究, 2003年日本物理学会年会, 仙台, 2003/3/28-30 (依頼講演)
- 10) 叶, 和周波発生 (SFG) 分光法による超親水 TiO₂ 表面における分子構造の研究, 第3回光触媒研究討論会, 東京, 2003/7/7 (招待講演)
- 11) 周, 叶, 阿部, 佐々木, 魚崎, 大澤, その場赤外反射測定によるルテニウム多核錯体自己組織化単分子膜の構造と機能性の評価, 第53回錯体化学討論会, 山形, 2003/9/24~26 (口頭発表)
- 12) 叶, 非線形振動分光法による界面分子構造の研究, 2003年電気化学秋季大会, 札幌, 2003/9/11-12 (依頼講演)
- 13) 叶, 和周波発生 (SFG) 分光法による固液界面分子構造に関する研究の進展, 2003年電気化学秋季大会, 札幌, 2003/9/11-12 (招待講演)
- 14) Structural Study of Organic Monolayers on Solid Surface by Using a Broad-bandwidth SFG Spectroscopy, International Chemical Conference Taipei 2002 (ICCT-2002), 2002/2/23, Taipei (ポスター)
- 15) Ye, S.; Noda, H.; Morita, S.; Osawa, M. Molecular Structures on Solid Surface Studies by Broad-band SFG Spectroscopy, 201st ECS Meeting, 2002/5/15, Philadelphia, USA (口頭発表)
- 16) Ye, S.; Noda, H.; Morita, S.; Osawa, M. Molecular structure of organic thin layers at electrode/electrolyte interface studied by sum frequency generation (SFG) spectroscopy, 53rd Annual Meeting of the

- International Society of Electrochemistry, 2002/10/20, Dusseldorf, Germany (口頭発表)
- 17) Ye, S.; Noda, H.; Morita, S.; Nishida, T.; Osawa, M. Outmost Layer Structure of Langmuir-Blodgett Films on the Solid Substrate Investigated by SFG, The 2nd International Conference on Advanced Vibrational Spectroscopy (ICAVS-2), 2003/8/24~29, Nottingham, UK (口頭発表)
- 18) Ye, S.; Noda, H.; Morita, S.; Nishida, T.; Osawa, M. Interfacial Structure and Stability of *Langmuir-Blodgett* Films on Solid Substrates Studied by Sum Frequency Generation (SFG), The 10th International Conference on Organized Molecular Film, Beijing, 2003/10/6~11 (キーノート講演)