



夢・化学-21

化学への招待 in 愛媛

2022愛媛大学オープンキャンパス体験実験

主催：日本化学会中国四国支部・愛媛大学理学部・工学部

日時・会場・スケジュール

理学部企画 令和4年8月9日(火) 会場：愛媛大学理学部講義棟・本館3階化学実験室
愛媛大学理学部理学科化学コース

10:30～12:30 理学部オープンキャンパス、夢・化学-21受付(理学部講義棟1階)
(受付後、なんでも相談コーナー・理学部各コース・研究センター展示、サイエンスひめこ企画、休憩室を見学、利用できます。※12:30以降も、随時受付中です。)

12:30～13:10 理学部紹介、化学分野紹介

13:30～14:20 講義体験「結晶構造を探る」教授 高橋亮治 先生

13:30～14:20 体験実験1回目

実験①「色で見る遺伝子診断！」(担当：教授 座古保 先生)

実験②「ルミノール反応 ～血痕の鑑識～」(担当：教授 小原敬士 先生)

14:40～15:30 体験実験2回目

(実験①、②は、それぞれ2回行います。どちらかの実験に1回参加可能です。)

工学部企画 令和4年8月10日(水) 会場：愛媛大学工学部
愛媛大学工学部工学科化学・生命科学コース

12:00～12:15 工学部オープンキャンパス、夢・化学-21受付(工学部本館前)

12:15～13:00 愛媛大学工学部オープンキャンパスプログラムに参加

13:00～15:30 体験実験(以下の7つのテーマに分かれて体験します。)

- ① 藍染めにチャレンジ
- ② 3相にわかれる不思議な液体からゲルスポンジを作ろう
- ③ 水を吸収する不思議な高分子
- ④ エレクトロクロミック表示素子を作ってみよう
- ⑤ タンパク質を分けてみよう
- ⑥ 光により色が変わる化合物
- ⑦ ゲノムDNAを抽出してみよう

注1) 参加対象者は高校3年生と既卒者です。

注2) 事前申込がない方は、参加できません。愛媛大学オープンキャンパスサイトから、理学部企画・工学部企画それぞれに申し込みが必要です。

注3) 実験では、化学薬品や測定機器を使用します。安全のため、体調が悪いときは無理をせず参加を見合わせ、気分が悪くなった場合はすぐに申し出てください。

8月9日(火) 理学部会場 特別講義、実験の解説

1. 特別講義 「結晶構造を探る」

講演者： 無機化学研究室 教授 高橋亮治

場所： 理学部講義棟 3階 S31講義室

(理学部体験第1回、2回共通集合場所 理学部講義棟3階S33講義室)

2. 実験①:ルミノール反応 ～血痕の鑑識～

担当： 構造化学研究室 教授 小原敬士

実施場所： 理学部本館 3階 321実験室

3. 実験②:色で見る遺伝子診断！

担当： 分析化学研究室 教授 座古保

実施場所： 理学部本館 3階 324実験室

結晶構造を探る

愛媛大学大学院理工学研究科 教授 高橋亮治

高校の化学では二酸化ケイ素の結晶は共有結合結晶と学習します。しかし大学の化学では二酸化ケイ素の結晶はイオン結晶の一例として扱われます。そもそも結晶の定義は何でしょうか。ある辞書では「原子、分子、またはイオンが、規則正しく配列している固体である」とされています。それでは「規則正しく配列している」とはどのような状態の固体でしょうか。結晶中に存在する規則をどのように分類・表記すればいいでしょうか。そしてどのようにして結晶構造を決定するのでしょうか。そもそもどうして固体中で原子、分子、またはイオンが規則正しく配列するのでしょうか。原子、分子、またはイオンが規則正しく配列しない固体は存在するのでしょうか。

ある特定の条件下では溶液中で析出した結晶が急速に成長することが観察されます。この講義では簡単な演示実験を交えながら結晶構造と成長する結晶の形態の関係についてお話し、上の問いについて考えていきたいと思います。

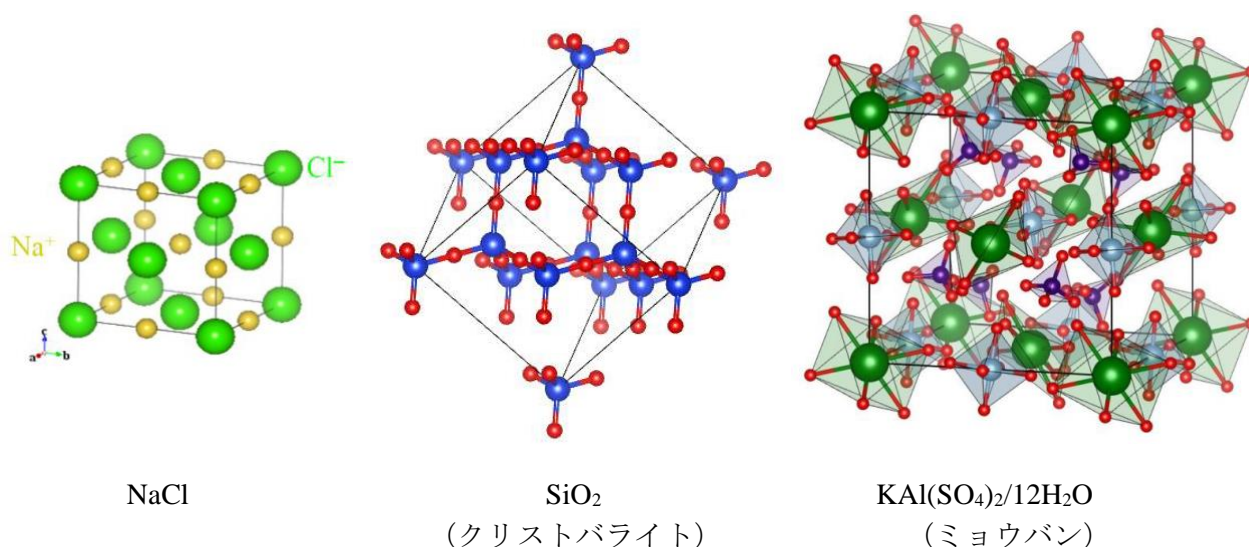


図. いくつかの結晶の構造

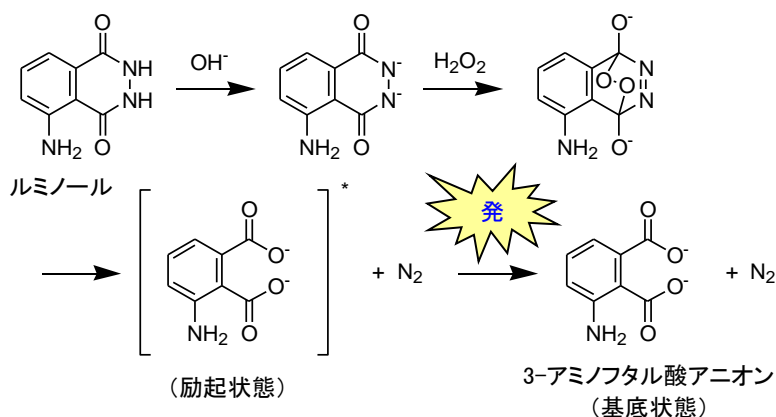
実験① ルミノール反応 ～血痕の鑑識～

(1) はじめに

TVのサスペンスドラマで『ルミノール反応』という言葉を目にしたことはないでしょうか。事件や事故の現場で警察の鑑識が血痕の判定に使うことで有名なルミノール反応。このルミノール反応を実際実験で起こし、発光の様子を観測しましょう。

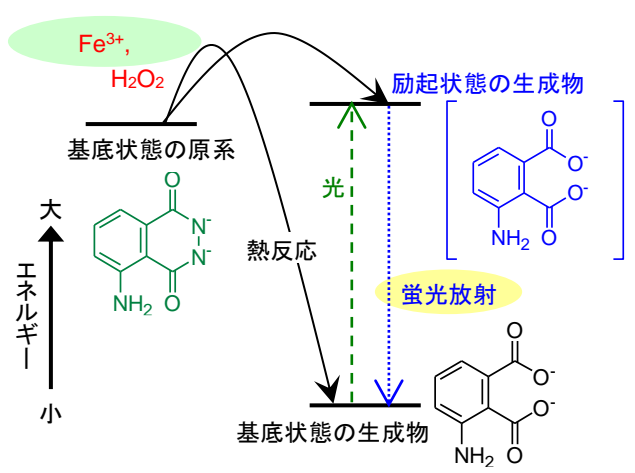
(2) ルミノール反応とその発光する原理

血痕と思われる痕跡にルミノール溶液を噴霧し暗所で観測すると、それが血痕であれば青い発光が見られます。インクや唾液・牛乳等では発光は起こりません。これがルミノール反応で、血痕とそれ以外の痕跡を区別するために利用されます。この発光現象は、右の化学反応式の通り、ルミノールが塩基性水溶液中で過酸化水素と反応し、3-アミノフタル酸アニオン（陰イオン）と窒素分子となる過程において起こります。血液中のヘモグロビン（鉄の錯体）がこの反応の触媒として働き、ごく微量の血液でも発光が観測されます。



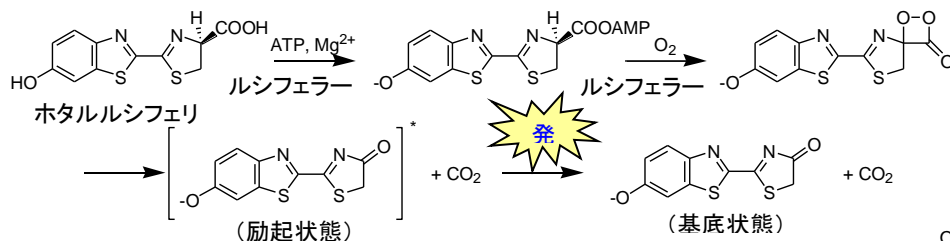
予備実験： 用意したルミノール溶液（ルミノール0.1 g, 無水炭酸ナトリウム 5.0 g, 30%過酸化水素水15.0 mL, イオン交換水100 mLの溶液）を血液抽出成分のヘミンを塗りつけた濾紙に加えて発光の様子を観測する。赤インクなどでも試してみる。

分子に熱や光を加えるなどの方法でエネルギーが与えられ、分子中の電子がエネルギーの高い状態になると、様々な活力（活性）を持つようになります。これを分子の「**励起状態 (Excited state)**」といいます。励起状態の分子は、より安定で低いエネルギーの状態：**基底状態 (Ground state)**に戻ります。このとき、分子は余剰なエネルギーを熱や光として外部に放出します。このような過程で放出される光が「分子の発光」として観測されるのです。発光を観測するためには、励起状態を何らかの方法で作らなければならない。例えば、光の照射（蛍光）や高温加熱（炎色反応）によって励起状態が生成され、発光が観測できます。ルミノール反応では、化学反応により励起状態の分子が生成し、発光を示します。このように、化学反応の結果として物質が自発的に発光する現象を「化学発光



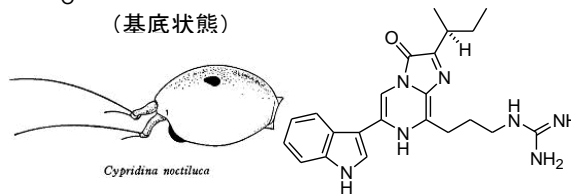
(Chemiluminescence)」と呼びます。化学発光は生成した分子の励起状態からの発光なので、発光が終了した後の基底状態の分子に光を照射して再び励起状態を生成させると、化学発光と同様の「蛍光」が観測できます。

化学発光は、夜釣り用の浮き、縁日・コンサートなどで見かける発光体でも利用されています。これらの商品では長時間発光が持続するように工夫されています。（ケミカルライト、ケミホタルなど）蛍の光も化学発光の一つです。（生物発光とも呼びます。）ホタルは体内に持つホタルルシフェリンを酵素のルシフェラーゼを触媒としてATP（アデノシン三リン酸）を用いて発光させます。化学反応式は次の通りで、不安定な4員環構造の結合が切れて二酸化炭素と励起状態の分子が生成し発光します。他にもウミホタルやクラゲ・イカなどが化学発光により身体の一部を発光させることができます。



(3) 実験

実際に血液を使ったルミノール反応を行うには血液採取や標本が必要なので、安全性などの問題がありますから、ここでは血液の代わりとなる物質を用い、同じ原理で発光させる実験をしましょう。



ウミホタル(ミジンコ的一种)とウミホタルルシフェリン

① 実験中の注意事項

溶液や試薬には「かぶれ」を起こしやすいものがあるので、皮膚や衣服に付着したら速やかに水洗いして下さい。試薬を目に入れないように注意して下さい。実験手順や実験器具の使い方がよくわからないときには、遠慮せずに質問して下さい。実験後の溶液は廃液タンクに回収しますので、流しに捨てないようにして下さい。紫外線ランプの光を直接見たり、長時間皮膚に照射してはいけません。

② 用意するもの (*印の試薬は薬包紙にはかり取ってあります。)

50 mLビーカー, 20 mLメスシリンダー, 駒込ピペット, ガラス棒, 小薬さじ, 紫外線ランプ
 *炭酸ナトリウム (Na_2CO_3), *炭酸水素アンモニウム (NH_4HCO_3), *炭酸水素ナトリウム (NaHCO_3), *硫酸銅 (CuSO_4), 30%過酸化水素水 (H_2O_2), ルミノール ($\text{C}_8\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2$), イオン交換水 (洗浄瓶)

③ 実験手順

- 溶液A: メスシリンダーでイオン交換水10 mLをはかり取り, 50 mLビーカーに入れる。薬包紙に包んである炭酸ナトリウム (80 mg) をビーカーのイオン交換水に加えて溶解する。これに, ルミノールを小薬さじ1杯 (約4 mg) 加えて溶解する。薬包紙に包んである炭酸水素アンモニウム (10 mg), 硫酸銅 (10 mg), 炭酸水素ナトリウム (0.5 g) を順に加え溶解する。全て溶解したらイオン交換水10mLを加える。
- 溶液B: 駒込ピペットで30%過酸化水素水0.5 ~ 1.0 mLを20 mLメスシリンダーに取り, イオン交換水を加えて全量を20 mLにする。
- 溶液A,Bの準備ができたなら, 指示があるまで待つ。
- 部屋を暗くしてから, 溶液Bを溶液Aに少しずつ加えると化学発光が観測される。
- 発光が終了した溶液を少量濾紙につけ, 紫外線ランプで照らし蛍光を観測する。

④ 後かたづけ

実験が終了したら, 溶液を廃液タンクに回収し, 使用した実験器具をイオン交換水で洗浄する。

(4) 質問と課題: 帰宅したら次の課題について考えてみましょう。

- ルミノール反応での過酸化水素の役割は?
- この実験で用いた硫酸銅の役割は?
- この実験で用いた炭酸水素アンモニウム, 炭酸水素ナトリウムの役割は?
- 光・熱・化学発光以外で分子を発光させる方法は?
- インターネットなどで, 「化学発光」「生物発光」「ルミノール」などをキーワードに検索し, より詳しい情報を手に入れる。また, ルミノール反応以外の化学発光について, 化学反応式を調べてみる。
- 商品の化学発光が長時間持続する仕組みについて考えてみる。
- 青い鳥や赤いポストがそのような色に見える理由は? 空が青く見える理由は?

(5) 参考図書と謝辞

ここで説明した実験法は, 下記の図書等を参考としており, 新居浜西高等学校の宇都宮生教諭及び丹原高等学校の菅野由紀子教諭をはじめとする化学教科担当の先生方のチェックを頂きました。

(1993年)ここに感謝の意を表します。

「光機能分子の化学」(講談社サイエンティフィック), 「化学実験虎の巻」(丸善), 「実験による化学への招待」(丸善), 「続実験による化学への招待」(丸善), 「分子の世界」(化学同人)

実験② 色で見る遺伝子診断！

はじめに

遺伝子診断は、病気の原因に関連した遺伝子を調べることで、その人が有する病気のなりやすさや体質、病状を知ることができる検査です。また、病状の診断のための指標になる分子をバイオマーカーといいます。今回は、遺伝子診断の例として、がんのバイオマーカー遺伝子の検出を行います。ここでは、遺伝子診断のための技術として、1本鎖DNAを固定化した金ナノ粒子(DNA-AuNPs)を利用します。金ナノ粒子(AuNPs)は分散状態で赤色、凝集状態で青紫色を示すことが知られています。DNA-AuNPsの1本鎖DNAが相補鎖を形成したときにDNA-AuNPsが凝集体を形成する現象を利用し、分散(赤色)→凝集(青色)に伴った溶液色変化を眼で観察することで、がんバイオマーカーのモデルDNAを検出してみましょう。

実験試料

- 150 pM 金ナノ粒子 (AuNPs)
- 100 μ M チオール化1本鎖DNA (AuNPs表面に固定化するDNA)
配列：Thiol - (CH₂)₆ - 5' ACC CTT ATC AGT TCT CCG TCC A 3'
- 超純水
- 5 M NaCl
- 100 nM miRNA184 DNA (がんバイオマーカーのモデルDNA)
配列：5' TGG ACG GAG AAC TGA TAA GGG T 3'
- 100 nM ネガティブコントロールDNA
配列：5' TAG CTT ATC AGA CTG ATG TTG A 3'

実験操作

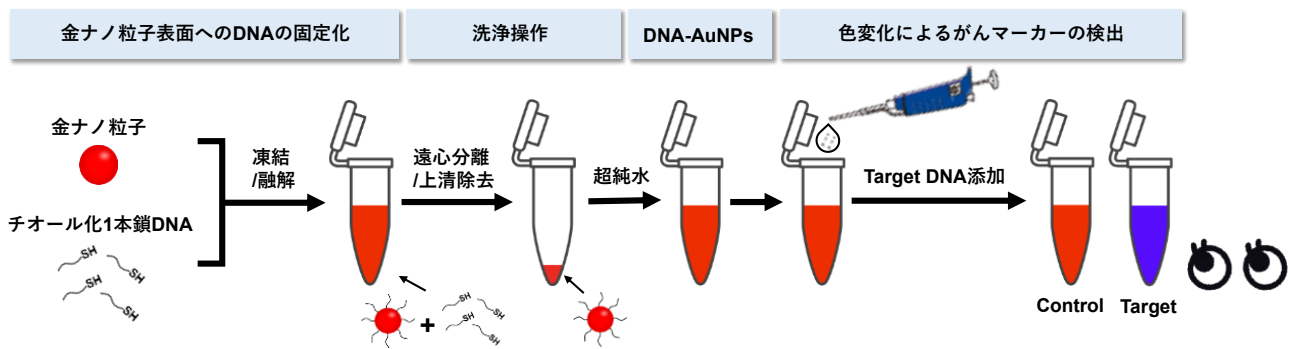


図1：実験概要

1. 150 pM AuNPs が 400 μ L 入ったチューブに 100 μ M チオール化1本鎖DNA を 24 μ L 加えて、転倒混和してよく混ぜる。
2. 1 で試薬混合したチューブを液体窒素に 2 分間浸し、完全に凍結させる。
※液体窒素の取扱いは危険が伴うため、アシスタントの大学院生が行います。
3. 凍結後、チューブをペーパーで巻き、体温で融解させる。
4. 高速遠心分離機(15000 rpm, 4°C)にセットし、10 分間遠心分離する。
※高速遠心分離機の取扱いは危険が伴うため、アシスタントの大学院生が行います。
5. 沈殿物を巻き上げないように注意し、上清のみを取り除く。
6. 沈殿物に超純水を 1000 μ L 加えて、転倒混和してよく混ぜる。
7. 再度、操作 4.5 を実施する。

8. 沈殿物に超純水を 80 μL 加えて、チューブの底を指でタップし、よく混ぜる。ここで分散させたサンプルを DNA-AuNPs とする。
9. 4 連チューブを利用して、各チューブにおいて、以下に示す容量で試薬を混合し、溶液色変化を観察する。

チューブ①

DNA-AuNPs	8 μL
超純水	12 μL
20 μL	

チューブ②

DNA-AuNPs	8 μL
超純水	8 μL
5 M NaCl	4 μL f. 1 M
20 μL	

チューブ③(標的分子)

DNA-AuNPs	8 μL
100 nM miRNA184 DNA	8 μL f. 40 nM
5 M NaCl	4 μL f. 1 M
20 μL	

チューブ④(ネガティブコントロール)

DNA-AuNPs	8 μL
100 nM control DNA	8 μL f. 40 nM
5 M NaCl	4 μL f. 1 M
20 μL	

解説：DNA-AuNPsの凝集メカニズム

DNA-AuNPsの相補鎖形成に由来した、凝集体形成のメカニズムについて解説します。DNA-AuNPsが相補鎖を形成していない場合、固定化されているDNAは負電荷(リン酸由来の電荷)を有しており、かつ密に固定化されているため、高塩濃度(1M NaCl)下において、DNAの電荷や立体障害による反発効果により分散状態を維持します。一方でDNA-AuNPsが相補鎖を形成した場合、高塩濃度(1M NaCl)下において、ある程度の距離(約2 nm)までDNA-AuNPsが近づくことで、2本鎖DNAの末端間に π - π 相互作用が働くため、凝集体を形成すると言われています。 π - π 相互作用とは、有機化合物の芳香環の間に働く分子間力であり、ここで働く π - π 相互作用はDNAのプリン塩基・ピリミジン塩基に由来しています。そのため完全な2本鎖を形成した場合のみ凝集体が形成されます。

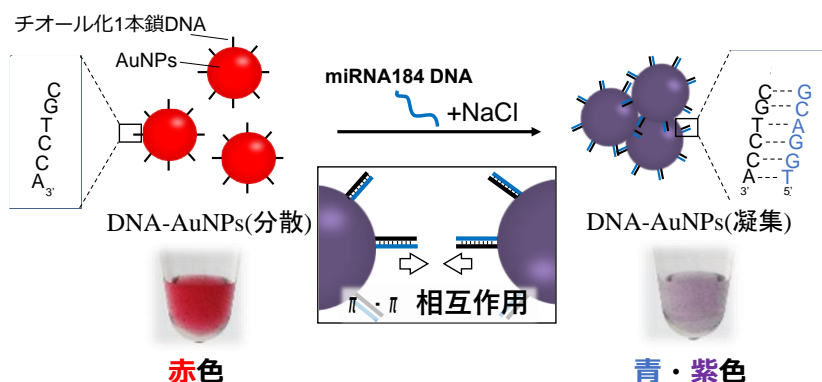


図2：DNA-AuNPs凝集メカニズムの模式図

8月10日(水) 工学部会場 実験の解説

1. 藍染めにチャレンジ

反応有機化学研究室(担当 太田 英俊)

工学部1号館 6階 602号室

この実験では、ブルージーンズの染料である「インジゴ」という化合物を使って「藍染め」をします。白い布のあちこちを糸でくくって絞り染めにチャレンジ!! 結び方が模様の決め手。どんな模様ができるでしょうか?

2. 3相にわかれる不思議な液体からゲルスポンジを作ろう

応用物理化学研究室(担当 芝 駿介)

工学部1号館 4階 402号室・409号室

ゲルは私たちの生活と深く関わりのある高分子材料です。この実験では、3相に分かれる不思議な液体を使ったナノテクノロジーを用いて、ナノサイズのゲルスポンジを作ります。普通のゲルとどんな違いがあるのか、色々調べてみましょう。

3. 水を吸収する不思議な高分子

高分子化学研究室(担当 伊藤大道、下元浩晃)

工学部1号館 5階502号室・7階 703号室

紙おむつなどの原料として用いられている吸水性高分子を、化学反応を行って自分で合成してみます。そして、吸水性高分子が実際に水を吸う様子を観察します。吸水性高分子が大量の水を吸収できる原理について学びましょう。

4. エレクトロクロミック表示素子を作ってみよう～えっ、固体の中をイオンが動く?～

無機材料化学研究室(担当 山浦弘之)

工学部3号館 1階 101号室

エレクトロクロミック材料は、乾電池などをつなぐことで色が変化する材料です。この材料の一種である酸化タングステン溶液の状態から透明なガラス板の上に析出させて、実際に色が変化するかどうかを確かめます。

5. タンパク質を分けてみよう

化学工学研究室(担当 富川千恵)

工学部3号館 5階 509号室

動物や植物その他の生き物のからだの中では、数千から数万種類のタンパク質が、それぞれ、役割を持ってはたっています。鶏の卵白に、どんなタンパク質が含まれているのか、調べてみましょう。

6. 光により色が変わる化合物

分析化学研究室(担当 石橋千英)

工学部3号館 2階 210号室

光によって物質の色が変化する現象を「フォトクロミズム」といいます。この実験ではフォトクロミック分子で作ったインクを使って、光をあてると一瞬で浮かび上がったり、消えたりする絵(スパイの手紙)を描いて、その反応について学びましょう。

7. ゲノムDNAを抽出してみよう

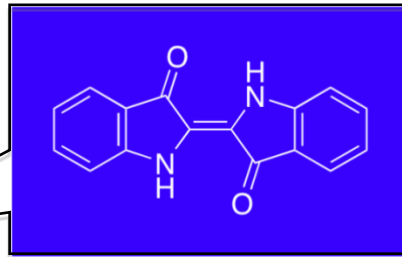
応用生物化学研究室(担当 山上龍太)

工学部3号館 4階 408号室

私たちヒトを含む全ての生き物は、「遺伝情報」を持っています。タンパク質は、この遺伝情報をもとに合成されます。遺伝情報は、細胞の中にあるゲノム DNA 上に書き込まれています。この実験では、細胞からゲノム DNA を抽出して、その性質について学びましょう。

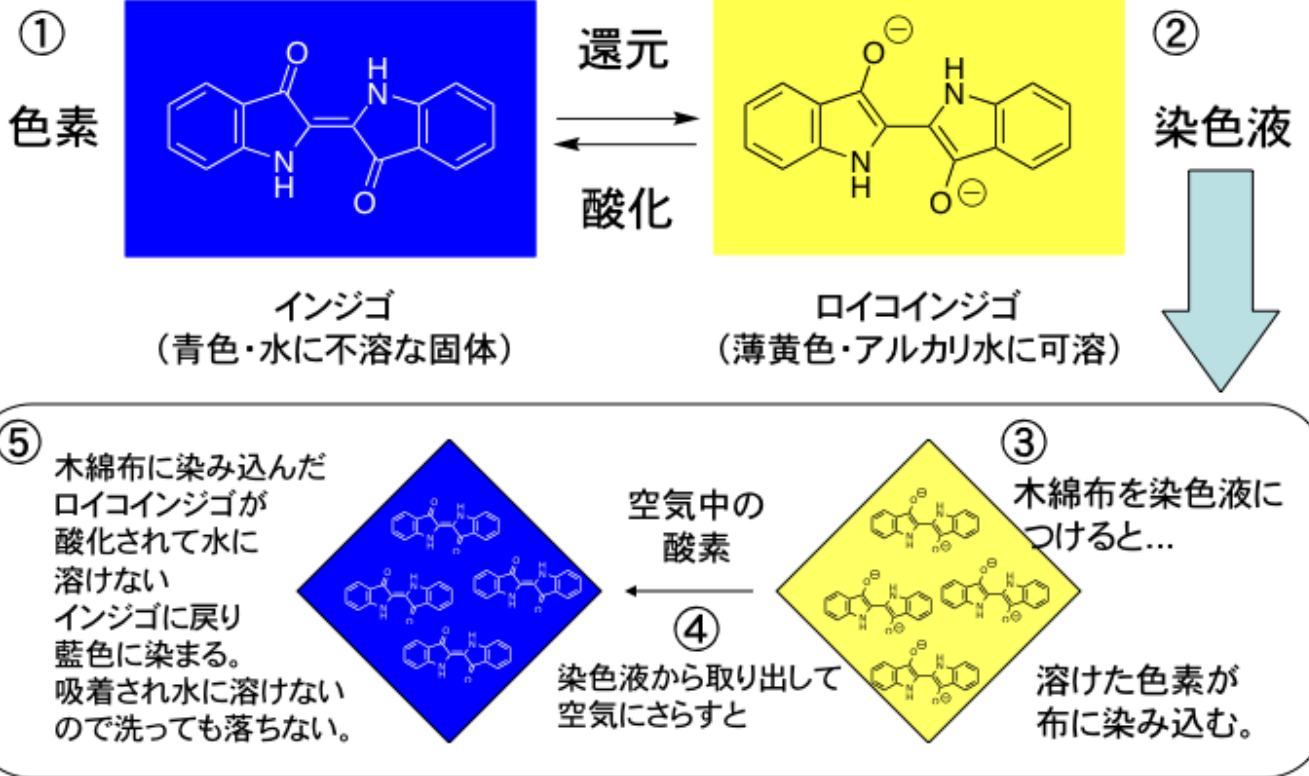
1. 藍染めにチャレンジ

皆さんが普段着ているブルージーンズの染料である**インジゴ**という化合物を使って、藍染めにチャレンジします。



これが藍色の正体
インジゴという色素
(有機化合物)
の構造式

インジゴで藍染め(絞り染め)ができる原理



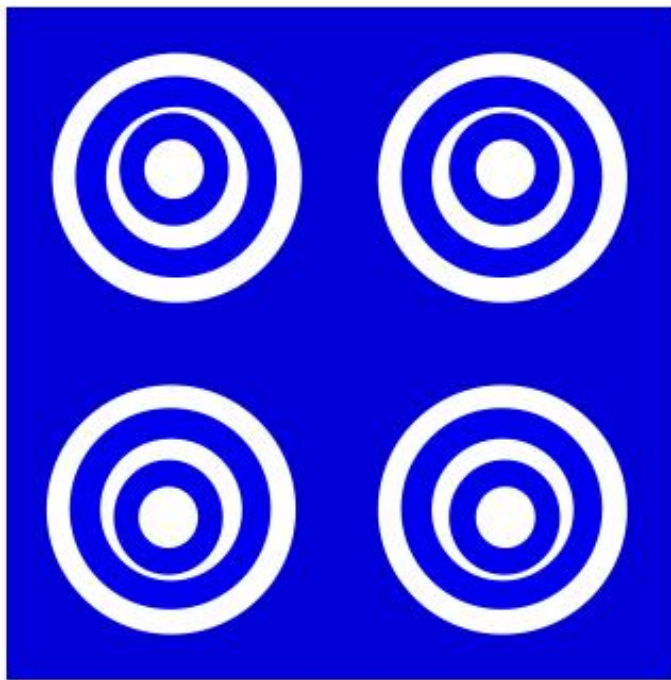
<原理の説明>

水に溶けない**インジゴ**は、アルカリ性水溶液中でヒドロサルファイトナトリウム ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) で還元すると、水に溶ける黄色の**ロイコインジゴ**になります。

その溶液（染色液）に木綿の布を入れると、溶けた**ロイコインジゴ**が布繊維に染み込んでいき木綿繊維のセルロース中に水素結合で固定されます。布を染色液から取り出し、**空気にさらすと**空気中の酸素で酸化されて元の**インジゴ**に戻り、水に不溶になるので洗っても落ちません。

空気に触れないと酸化されずに水溶性の**ロイコインジゴ**のまま残り、後で洗い流されるので、タコ糸で縛って空気に触れない所を作っておくと白い部分が模様として残り、「絞り染め」ができます。

どうやって縛ったらどんな模様になるか、染め上がりを想像しながら縛ってみましょう。また染色後、色素が空気酸化される前に洗い流せるように、水洗しながらタコ糸をほどいて、すばやくよく洗い流してください。

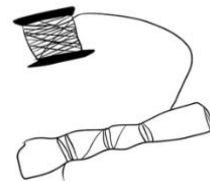


どんな模様ができるか想像しながら、布をしばってみよう

テレビなどで見たことがある諸君も多いと思いますが、このコーナーでは、皆さんがいつも着ているブルージーンズの染料のインジゴという化合物を使って、藍染めにチャレンジして頂きます。

手順その1

原理：インジゴは、還元されるとアルカリ水溶液に溶けます（黄色い溶液）。木綿をこの溶液に浸すとよく吸着されます。これを空気にさらすと、酸化されて元のインジゴ（藍色）に戻り、木綿に固着して残ります。たこ糸などで縛って染まり具合を観察して見て下さい。縛った所には染料が届かず、その部分だけ白くなり模様ができます。いろんな模様を作って楽しんでみて下さい。



実験の手順

手順その1：木綿の布の準備

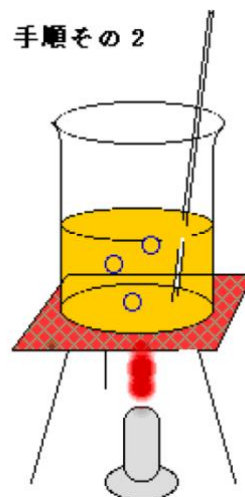
まず、できる模様を想像しながら、たこ糸で木綿の布をかたく縛って下さい。

最後に、たこ糸の端30cm くらいを残し、端にビニールテープをつけて、名前を書いてください。

手順その2：染液作り

1) また、別の1Lのビーカー中に600mLの水を入れ、それに0.8gのインジゴを加えてください。次に2M NaOH水溶液100mLと3gの $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ を加えてガスバーナーで加熱して、沸騰させます。液が黄色になるまで様子を見ながら、さらに1gの $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ を追加して下さい。もしなかなか黄色にならなかつたら、2M NaOH水溶液を追加して下さい。

手順その2

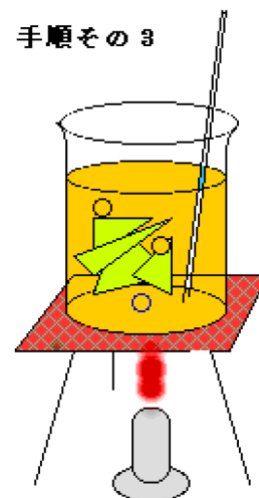


手順その3：染色過程

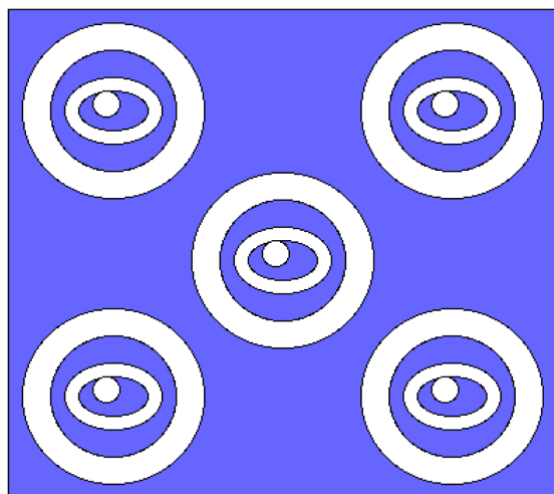
1) 得られた染液にたこ糸で縛った木綿の布を入れ、15分間穏やかにガスバーナーで加熱して、沸騰させます。

2) 布を引き上げて15分間たってから、水で洗い、広げて色の変化をみんなよく観察して見て下さい。

手順その3



完成図例



2. 3相にわかれる不思議な液体からゲルスポンジを作ろう

【はじめに】

高分子ゲルと聞くと、透明でプルプルしたものを思い浮かべる方が多いと思います。実は、ゲルの応用範囲は極めて広く、我々の生活のありとあらゆる製品に見かけることができます。たとえば匂いを吸収するゲル、コンタクトレンズ、寒天やゼリー、防振ゲル、ペットシートの内側にある青いプルプルもゲルです。この実験では、実際にみなさんでゲルを作ってみましょう。

ゲルの構造を専門的に説明すると、化学的あるいは物理的に架橋された3次元網目状の高分子、あるいはその膨潤体といえます。一般的な製法で作られるゲルは、マイクロメートルオーダーくらいの大きさの三次元網目構造を持っています。だいたい髪の毛の太さくらいだと思ってください。ただ、今までと同じものを作っても面白くないので、今回は、網目構造のサイズが一桁小さい、ナノメートルオーダーの三次元網目状ゲル、つまり“ナノゲル”を皆さんと一緒に作ってみたいとおもいます。

問題は、どうやって作るか、です。3相にわかれる不思議な液体を使って、作ってみたいと思います。

【三相にわかれる不思議な液体の正体は？】

この三相にわかれる液体は、水、油、界面活性剤、アルコールの4種類を適切な割合で混ぜることで生じる一種の「エマルション」溶液です。透明度が高いため、その溶液は一見、水と同じようなただの液体に見えるかもしれませんが、しかし、その溶液は、実は水分子よりも350倍程度大きな太さ（100ナノメートル以下）を有する「水」と「油」の管が、界面活性剤とアルコールの壁に仕切られた状態で、三次元網目状に絡み合った複雑な構造をしています。複雑なのに透明なのは、この複雑な構造のサイズが、我々が目で見ることのできる可視光の波長よりも小さな領域であり、光の散乱を受けないためです。水と油が両方とも連続的につながっており、ミセルのようにどちらかが閉じた構造でない特徴から、このナノ構造溶液は“両連続相マイクロエマルション（BME）”と呼ばれています。

このBMEに、水溶性のゲルの元を溶かすとどうなるのでしょうか？BMEは水と油の“ナノ管”が絡み合った溶液構造です。この水のほうにだけ、ゲルの元が溶けます。つまり、ゲル化する前から、ゲルの元は水の“ナノ管”に局在し、マイクロメートルオーダーよりも一桁小さいナノサイズの三次元網目状に分布することになります。この状態でゲル化をスタートさせると、上記で説明した“ナノゲル”を作ることができます。

【ナノゲル化することで何が変わるのか？】

このナノゲル、原理上、面白い特徴があります。通常、ゲルは一種類の溶媒中、たとえば水中で作られます。そのため、ゲルの中には水が多く含まれています。そのため、強制的にゲルを乾燥させたあと、水をかけると、水で膨らむはずですが、ただし乾燥後に油をかけても、膨らまないはずですが、水を含みやすいということは、油を含みにくいことを意味するた

めです。

一方、BME中で形成したゲルは、水も油も両方含まれた状態でゲル化されます。ということは、乾燥させたナノゲルは水だけでなく油も吸い取るのでしょうか・・・？

【両連続相マイクロエマルジョンの調製・ゲル化】

#試薬を取り扱うときは手袋とゴーグルをつけ、服や身体に付着しないように十分に注意してください。付着した場合は、あわてずに大量の水で洗ってください。

(1) ナノゲルと通常のゲルの作製

薬包紙と電子天秤を使って、ドデシル硫酸ナトリウムを0.50 g、イソプロピルアクリルアミド(NIPAM)を0.90 g、N, N' -メチレンビスアクリルアミド(MBA)を0.10 gはかりとり、試験管に入れてください。そこにマイクロピペットを使って、2-ブタノールを600 μ L添加し、蓋をしてよく振り混ぜたあと、中身の溶液が溶けるまで超音波照射します。溶けたら常温まで冷やしたあと、シクロヘキサンを5 mL入れ、また振り混ぜてください。以上を、2本作ってください。

上記で作った二つの溶液の一方に0.10 gの硫酸アンモニウム(APS)を添加、もう一方に35 μ LのN,N,N',N' テトラメチルエチレンジアミン(TEMED)を添加して、よくふりまぜてください。その後、両方の溶液に、三相の溶液が得られるまで2-butanolをちよつとずつ (20 μ Lずつ) 添加してください。その後、1時間放置してください。

以上により、3相に分かれた液体が2種類できるはずですが(右写真参照)。その中間層がBMEです。このBMEをパスツールピペットで取り出し、別の容器に慎重に入れて、混ぜてください。混ぜた瞬間から、ゲルの形成が始まります。

また、比較として、水溶液中でゲルを作ったものを用意してみましょう。やり方は、NIPAM 0.90 g, MBA 0.10 gを試験管にはかりとり、水5 mLに溶かしてください。その後、APS 0.10 g, TEMED 35 μ Lを順次加えて、混ぜたあと放置してください。



(2) 得られたゲルを使っていろいろ遊んでみましょう。

手袋をつけて、できあがったゲルを触ってみましょう。あらかじめ乾燥させたゲルをこちらで用意しますので、水をかけたり、油をかけたりして様子を見てみましょう。また、得られたゲルは温度応答性ポリマーとも呼ばれており、32°C以上でポリマーが親水性から疎水性に変化することが知られています。そこで、得られたゲルを湯浴してみたり、あるいは反対に氷浴してみたりして、変化を観察してみましょう。

3. 水を吸収する不思議な高分子

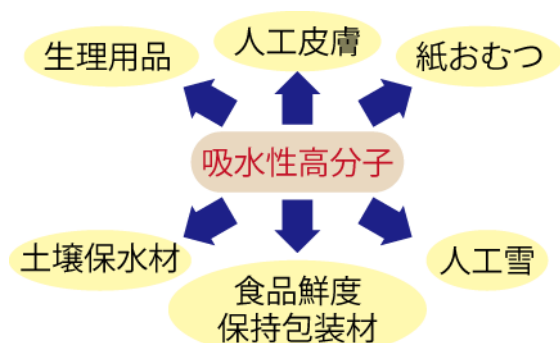
紙おむつの中に何が入っているか知っていますか？

紙おむつを開けてみると、その中から白い粒状の物質が出てきます。この物質がおしっこを吸収して逃がさないすごい物質です。それでは、この物質を合成して、水を吸わせる実験をやってみましょう。



その前に・・・。水を吸う物質の正体は？

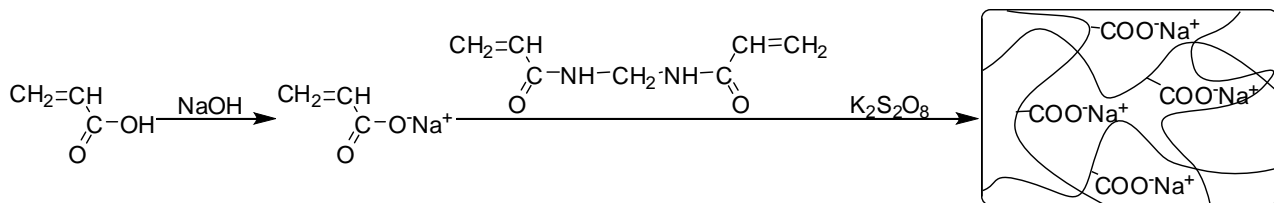
この水を吸う物質は**吸水性高分子**と呼ばれます。吸水性高分子は水に溶けることなく自重の数百～1000倍の水を吸収し、保持する能力を持っています。綿、パルプ、スポンジなどと異なり圧力を加えても吸った水をほとんど離しません（実験3で確かめましょう）。



現在、吸水性高分子は紙おむつ以外にも食品の鮮度を保つ包装材、人工雪など多方面で使われています。また、土壤保水剤として砂漠の緑化にも一役かっています。

【実験1】吸水性高分子の合成

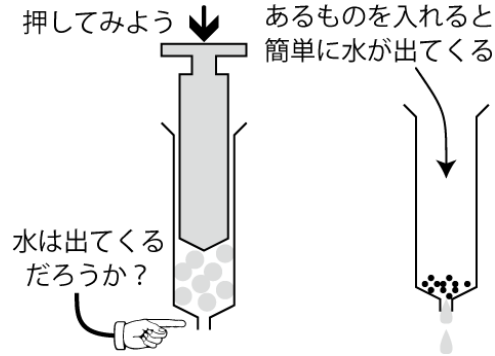
アクリル酸5gを三角フラスコにはかりとる。ここに水酸化ナトリウム水溶液（2.7g / 15mL）を温度が上昇しないように少しずつ滴下する。さらにN, N'-メチレンビスアクリルアミド（架橋剤）0.1gと過硫酸カリウム0.2gを加えてよく溶かす。60℃で30分間加熱した後、取り出して、生成した高分子をメタノールで洗浄する。



【実験2】水を吸収していく様子

3つのビーカーに吸水性高分子をそれぞれ1gずつはかりとる。ここに水、1%食塩水、10%食塩水をそれぞれ入れてかき混ぜた後、放置して、高分子の吸水量を比較する。

ここに水、1%食塩水、1あるものを入れると簡単に水が出てくる



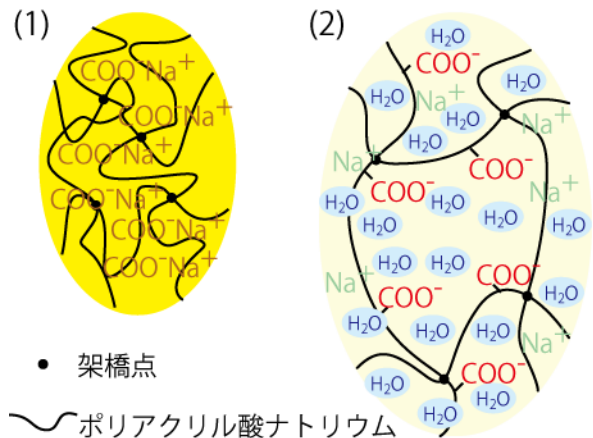
【実験3】吸水性高分子が吸った水を出してみよう

注射器の中に水を吸った吸水性高分子を入れ、ピストンを押して水が出てくるのかを確認する。また、圧力を加えなくても水を取り出す方法があるので、考えてやってみよう。

【原理】吸水性高分子の分子構造は三次元の網目状になっていて、網目の中に水を取り込みます。

(1) 吸水性高分子の分子構造

この実験で合成したものはポリアクリル酸ナトリウムという長い鎖状の**高分子**がたくさん集まったもので、本来であれば水に溶ける物質です。しかし、ところどころでポリアクリル酸ナトリウムの鎖同士を結合（架橋）させて、お互いが離れていかないようにしています。



(2) 吸水のしくみ

吸水性高分子に水を接触させると、ポリアクリル酸ナトリウムは水に溶けていこうとします。しかし架橋しているので、鎖がバラバラになることはありません。水が入り込むことで、密集して縮こまっていたポリアクリル酸ナトリウムの鎖が広がって網目が大きくなります。また、ポリアクリル酸ナトリウムと水分子との結びつきが強いために、吸水性高分子が水を保持する能力は高く、圧力をかけて水を押し出そうとしてもほとんど出てきません。

(3) 吸水量を決めるもの

吸水性高分子の膨らみを決めるのは主に①鎖の結合点間の距離、②高分子の親水性の強さ、③イオン同士の反発、④ゴム弾性、そして⑤浸透圧です。合成するときに加える架橋剤を減らすことで①を広げて、水を取り込む網目のある程度までは大きくすることができます。また、カルボン酸（ $-COOH$ ）をカルボン酸ナトリウム基（ $-COO^-Na^+$ ）にして親水性を向上させている②の作用と、これが電離してカルボキシラート（ $-COO^-$ ）になることで負電荷同士が反発して網目が広がる③の作用がはたらきます。これらはいずれも高分子鎖を引き伸ばす作用ですが、高分子鎖にはゴムひものように引き伸ばすと縮もうとする④の性質があるので、これらのバランスで網目の広がりが決まります。⑤の浸透圧とは、濃度の異なる溶液が接触したときに均一な濃度になるように溶媒（水）が移動する作用によるもので、溶液の濃度差を大きくすれば浸透圧を上げることができます。

4. エレクトロクロミック表示素子を作ってみよう

～ えっ、固体の中をイオンが動く？ ～

表示素子にはどんなものがあるの？

私達の回りには情報を視覚的に伝達する手段として様々な仕組みがあります。広告の看板のように内容を固定しているものと、電光ニュースのように刻々情報を更新しながら伝達するものがあります。後者について考えてみる事にしましょう。それには、テレビジョンのブラウン管(CRT)に代表されるような発光型素子と、電卓の液晶表示に使われているような受光型素子があります。

発光型

発光ダイオード(LED)
蛍光表示(FLD)
エレクトロルミネッセンス(ELD)
プラズマ発光素子

受光型

液晶表示素子(ECD)
エレクトロクロミック素子(ECD)
電気泳動表示素子(EPID)

上記のうち、自らが発光して表示する発光型の素子には、常にエネルギーを供給して光(電磁波)を発生させる必要がありますが、受光型の素子では、周りの光を選択的に吸収あるいは反射して表示するので、エネルギーの消費(消費電力)を少なくすることができます。その他、動作原理と様式によって、表示密度、寿命、信頼性、視認性、経済性、商品価値などにおいて長所と短所をそれぞれ持っています。

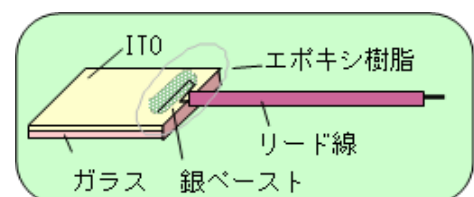
色がみえるとは？

色が見えると云うのは、特定の波長の光が発生または選択吸収されることです。化学的に考えると、原子核の周りに存在する電子のエネルギー準位(レベル)は飛び飛びになって(量子化されて)います。高いエネルギー準位から低いエネルギー準位に移る時に電磁波を発生し、可視光の部分の色として見るすることができます(発光型)。電子のエネルギー準位を高くするには、電圧(電場)、高エネルギーの電子線紫外線などの波長が短い電磁波、熱などを加える事になります。また、適当な波長の光を照射すると低いエネルギーの電子が高いエネルギー準位に移る時に、光の吸収がおきます(受光型)。

ここでは、受光型素子である酸化タングステンを使ったエレクトロクロミック現象の実験を行ってみましょう。

実験手順

1. 透明電極(作用極)を準備しよう。
 - (1) 透明導電ガラス(ITOガラス)を10 mm × 15 mmに切ります。
 - (2) 超音波洗浄器を用い、アセトン及び蒸留水で洗浄して乾かします。



- (3) ガラスの上部に銀ペーストでリード線を固定し、乾燥させます。
- (4) リード線を固定した部分をエポキシ樹脂で覆い、乾燥させます。

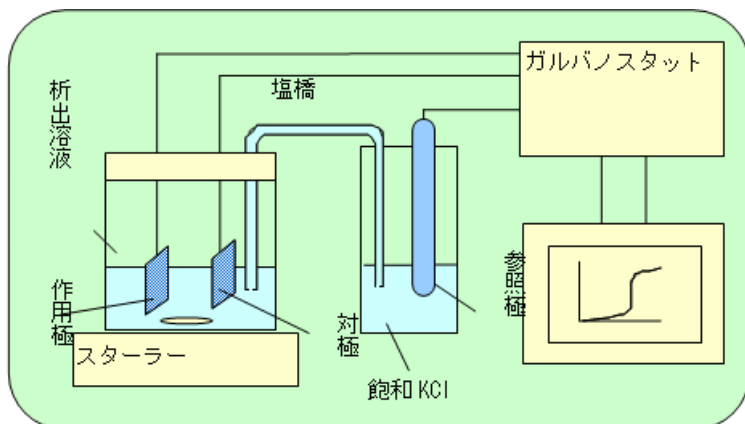
2. 酸化タングステンの析出溶液を準備しよう。

- (1) 金属タングステン約1 gを過剰の過酸化水素水に溶解させ酸化タングステン溶液をつくります。
- (2) (1)の溶液に白金黒付き白金箔を浸し、過剰分の過酸化水素水を分解させます。
- (3) 蒸留水を加え100 mlにします。
- (4) 溶存酸素を取り除くために窒素ガスを溶液中に流します。

3. 表示素子をつくろう。

- (1) 下のような電析系を用い、透明電極に酸化タングステンの薄膜を析出(電流密度1.5 mA/cm²、5 min)させます。
- (2) 電析後、電極を蒸留水で洗浄し乾かします。
- (3) 硫酸(0.01 mol/l)溶液中に表示素子を浸し、定電圧装置を用い+1.5 V ~ -1.5 Vの電圧をかけて色の変化を観察しましょう。

このとき+側と-側で何がおこっているのか考えてみましょう。



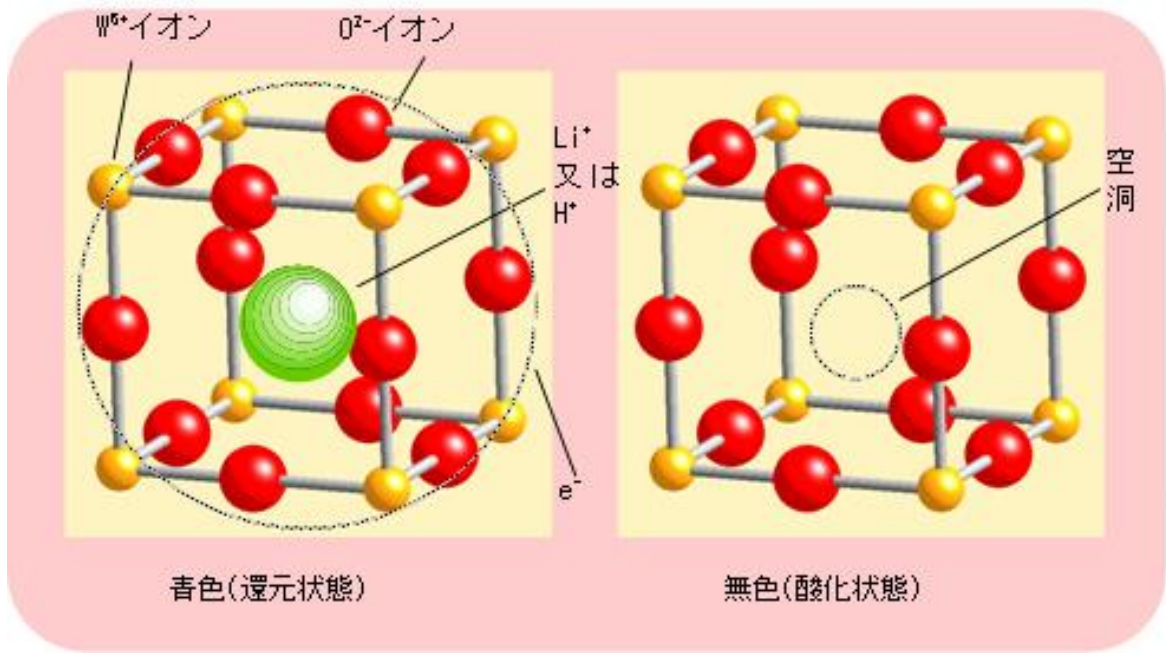
エレクトロクロミック現象って何?

エレクトロクロミック材料は電圧の印加により色変化を示す材料です。電極間に電圧を印加する事によりイオンと電子をエレクトロクロミック材料中に挿入、または材料から引き抜きが可能となります。材料を構成している遷移金属の原子価が変化することにより可視光領域の光を吸収し着色されたり、透明になったりします。下では、酸化タングステンの着色メカニズムを表しています。

固体中をイオンが動けるの?

固体中の各元素の位置は固定されています。常温では固定位置を中心に格子振動をしていますが動いて行くことはありません。しかし、一部に格子欠陥(イオンが抜けている所)があると、そこを利用してイオンが移動して空きを埋める事があれば、新たな格子欠陥が生成する事になります。結果としてイオンが動くことができます。また、結晶格子中にトンネル構造を持つものや、層状の構造をもつ固体では、イオンが容易に動けます。このような結晶では、電圧を印加すると、結晶構造は変わらずに特定のイオンだけが移動します。

実験で用いた酸化タングステン中でもプロトンやリチウムイオンが動けるので、結晶の内部までイオンが出入することで、着色状態と消色状態を繰り返す事ができます。その時のイオンの動く速度があまり大きくないので、色の変化速度は遅くなっています。しかし、電圧をかけずに放置するとイオンは動かないので、着色や消色状態がそのままに保たれます。したがって、長時間同じ表示をする場合には都合がよいことになります。



5. タンパク質を分けてみよう

動物や植物その他の生き物のからだの中では、数千から数万種類のタンパク質が、それぞれ、役割を持ってはたらいています。鶏の卵白に、どんなタンパク質が含まれているのか、調べてみましょう。

【実験の概要】

- 1) 鶏の卵から卵白を取り出し、一部を保存します（試料 1）。
- 2) 残りの卵白のうち、半分程度の量を、100 ml の水の中に注ぎながら、よくかきまわします。白い沈殿物が生じます。
- 3) 溶液（試料 2）と沈殿物とをそれぞれ回収します。
- 4) 沈殿物を、できるだけ少量の食塩水に溶かします（試料 3）。
- 5) 試料 1, 2, 3 から、ほんの少しを使って、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）法で分析します。
(おそらく、他の実験よりも時間がかかります。当日、より詳細な実験手順を配布します。)

【原理と背景】

生き物の体の中には、たくさんの種類のタンパク質があります。大腸菌などのバクテリアの場合は数千種、ヒトの場合は数万種のタンパク質を持っています。

卵白には、たくさんの種類のタンパク質が含まれていますが、その中で含量が多いのは数種類です。いちばん多く含まれているタンパク質は水によく溶けます。一方で、2番目に多く含まれているタンパク質は食塩水にはよく溶けますが、塩分が少ない水にはあまり溶けません。ひとくちにタンパク質と言っても、タンパク質の種類によってそれぞれ性質が違います。

そのような、個々のタンパク質によって異なる性質を利用することで、タンパク質を分離することができます。この実験では、水に対する「溶解度」の違いによって分離していることになりま

すね。そうやって得られた試料について、次に、SDS-PAGE法で分析することで、どんなタンパク質が含まれているか、調べます。このSDS-PAGE法というのは、高分子のゲルの中でタンパク質を分子の大きさの違いを利用して分離して、目で見えるようにする方法です。

図 1 は、実際にコムギ胚芽のタンパク質などをSDS-PAGE法で解析したときに得られたものです。コムギ胚芽（1,3）にはたくさんの種類のタンパク質が含まれています。その中から特殊な方法で分離して得られた試料（2,4）も一緒に分析しています。

こんなふうに、タンパク質を分けて単一の試料として得ると、そのタンパク質の性質を詳しく

M 1 2 3 4

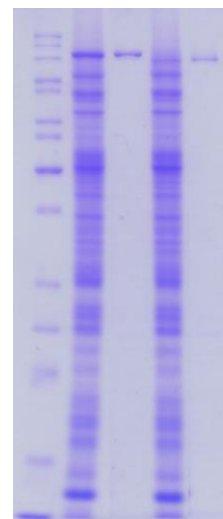


図 1. SDS-PAGEの例。M: 分子量マーカー、1: コムギ胚芽抽出液中でRNAリガーゼタンパク質を合成させた試料、2: 精製したRNAリガーゼ、3, 4: RNase Rタンパク質について1,2と同様に行った試料。

調べることができるようになります。図1の2のタンパク質は2種類のRNA分子をつなげる化学反応を触媒するはたらきを持っています。4のタンパク質は、RNA分子を壊すはたらきを持っています。生物の体の中には、他にも何千種、何万種のタンパク質があるわけですが、それらのはたらきをひとつひとつ調べることで、生物がどのようにできているか、理解が進むのです。

SDS-PAGE法では、タンパク質が電気の力で引っ張られて、ポリアクリルアミド高分子のゲルの中を移動します。そのとき、同じ分子量（ここでは、タンパク質の大きさだと考えてください）を持つタンパク質なら、だいたい同じ位置まで動くのです。そのままではタンパク質は見えないのですが、青い色素の溶液に浸すと染まって見えるようになります。

ポリアクリルアミド高分子ゲルには、細かい網目構造があります。ですので、電気の力で引っ張ると、大きなタンパク質ほど網に引っかかりやすいので、よりゆっくり動きます。SDSのはたらきで、どのタンパク質でも同じくらいの力でプラス極に引っ張られるようになるので、だいたい、分子の大きさに移動度が決まるのです。

つまり、SDS-PAGE法で、その試料に、どのくらいの大きさのタンパク質がどのくらいの濃度で含まれているか、がわかるのです。

SDSは、家庭用の洗剤として広く用いられている物質です。「ラウリル硫酸ナトリウム」というやつです。皆さんがふだん使っている食器用の洗剤とか、シャンプーとか、そういうものに含まれているかもしれませんから、成分表示をよく見てください。SDSは、タンパク質の大きさは変えませんが、タンパク質を壊してしまいます。ですから、たいいていのバイ菌に対して殺菌効果があります。

【実験】

[用意するもの]

鶏卵1個、純水、0.15 M NaCl水溶液、氷、ビーカー、ガラス棒、マイクロピペット（ピペットマン）、チップ、マイクロチューブ（エッペンチューブ）、遠心分離機、SDS-PAGE用電気泳動装置（すぐに開始できるように予めセットしておく）、サンプリングバッファー、染色液、タッパー、カメラ 等

[手順]

- (1) 鶏卵から卵白の部分を取り出します（試料1）。
- (2) 卵白の半分（残りは氷の上で保存しておく）を、100 mlの水の中に注ぎ、ガラス棒でよく攪拌します。このとき、白い固形物が出てきます。
- (3) 試料を遠沈管（2本）に移し、遠心分離機で、7000×g（注1）、4℃、5分間の条件で遠心分離します。固形物が沈殿します。
- (4) 上清をビーカーにあげます（試料2）。このとき、沈殿物は、遠沈管の底に貼りついて取れないはずですが、一方、底に貼りついた沈殿物から液体をできるだけよく除きます。そうしたうえで、沈殿物を、できるだけ少量（片方の遠沈管について2 ml程度）の0.15 M NaClに溶

かします（試料3）。

(5) 試料1～3を、それぞれ一部とって、電気泳動します。

(a) 次の通り、試料をマイクロチューブに取ります。

試料1：水で100倍に希釈して1 μ Lを取ります。

試料2：そのまま1 μ Lを取ります。

試料3：そのまま1～4 μ L程度取ります（量の異なる2通りの試料を作っても構いません）。

(b) 等容のサンプリングバッファーを加えます（試料が1 μ Lなら1 μ L，試料が4 μ Lなら4 μ L）。

(c) よく混ぜて、95°Cで3分間加熱します。

(d) 液体がマイクロチューブの底に集まるように、遠心機で軽く回します。

(e) 組み立ててある電気泳動装置のゲルの上端には、試料を載せるための穴ができています。この試料穴（ウェルと呼びます）を、周りの溶液を吹き付けて洗います。（注2）

(f) ウェルに試料を載せます。1つのウェルには1種の試料を全量載せましょう。

(g) 25 mAで40分間程度電気泳動します。

(h) 装置からゲルを取り出して、染色液に浸します。電子レンジを使ってタンパク質を青色に染めます。（注3）

(i) ゲルの写真を撮ります。よく観察しましょう。

（注1）重力の7000倍の遠心力がかかるように、という意味です。

（注2）溶液に指を浸したりしないでください。指のタンパク質が溶けだして、結果に影響が出てしまうことがあります。また、電気泳動中は、溶液には高電圧がかかっています。感電の危険がありますので、溶液を触らないように気をつけてください。

（注3）染色液は、タンパク質を染める試薬ですから、もし手で触れると、手が染まってしまうので、手袋を着用しましょう。

6. 光によって色が変化する化合物

【はじめに】

皆さんの身近に存在し、生活には欠かせない光、この光のエネルギーを使った様々な製品が私達の身の回りにあふれています。最近、よくテレビやラジオで耳にするキーワードとして、「光合成」、「太陽電池」、「光触媒」などがあります。どれも光のエネルギーを使って、物質に化学反応を起こさせて、別の物質に変えたり、別の形でエネルギーを取り出したりしています。その他にも、光のエネルギーによって材料の色を一瞬で変化させることができます。この現象のことを「**フォトクロミズム**」といい、フォトクロミズムを示す材料のことをフォトクロミック物質と呼ばれています。ここ数年、調光材料（サングラスや窓ガラス）、化粧品、印刷インク、玩具などにも使われ始めています。

今回の実験では、フォトクロミズムを示す有機化合物（ジアリールエテン誘導体、分子構造は図1を参照）を使って、光によって色が一瞬で着脱色する様子を観察してもらいます。またこれらの微結晶が光照射によってどのような変化をするのか、調べてもらいます。

【実験方法】

- ①ジアリールエテン誘導体の粉末10 mgをはかり取り、10 mLのサンプル瓶に入れる。そこにエタノール5 mLを加え、粉末を溶かす。
- ②調整した溶液にカメラのフラッシュランプの光を当てて色の変化を観察する（天気の良いければ、太陽光でもOK）
- ③調整した溶液を使って、ろ紙に文字や絵を描いて、スパイの手紙を書いてみる（図2）。カメラのフラッシュランプを当てて実際に手紙のやり取りを試してみる。
以下の④と⑤時間にゆとりがあれば、挑戦しましょう。
- ④調整した溶液をガラス基板上にパストールピペットで1滴滴下し、乾燥させ結晶を析出させる。このガラス基板上的結晶にカメラのフラッシュランプを当ててフォトクロミズムを示すかどうか調べる。
- ⑤光学顕微鏡を用いて結晶を観察し、顕微鏡下で結晶に光を当ててみると、どう変化するか調べる。

【原理】

フォトクロミズムは、端的に「可逆的光誘起異性化反応」と言います。光照射によって、色の異なる2つ以上の異性体（分子量は等しいが、構造が異なる）間で結合の組み替えが起こる反応です。実験で使ったジアリールエテン誘導体は、主に2つの異性体（開環体と閉環体）を有します。どちらか一方の異性体に光を照射すると、6つの炭素間で化学結合の組み替えが起こります（図1、赤線で示した結合）。開環体は無色透明で、閉環体は可視光領域に色を持ちます。したがって、開環体に紫外光を照射すると、環が閉じる反応（閉環反応）が起こり、着色します。生成した閉環体（着色体）に可視光を照射すると、環が開く反応（開環反応）が起こり、元の開環体（無色透明）に戻ります。

ジアリールエテン誘導体は、開環体と閉環体の間で、色が異なるだけでなく、発光の有無、屈折率や電気伝導度などが異なっています。これらの光物性を光照射によって一瞬で変化させることができるので、光メモリーや光スイッチ、調光材料などへの応用が期待されています。さらに、ジアリールエテン誘導体は、固体中においても、フォトクロミズムを示し、光照射前後で結

晶の形状や形態も変化することも報告されています。これは、ジアリールエテン結晶が光エネルギーをそのまま力学的エネルギーに変化させるフォトアクチュエーターとして機能すること意味しています。

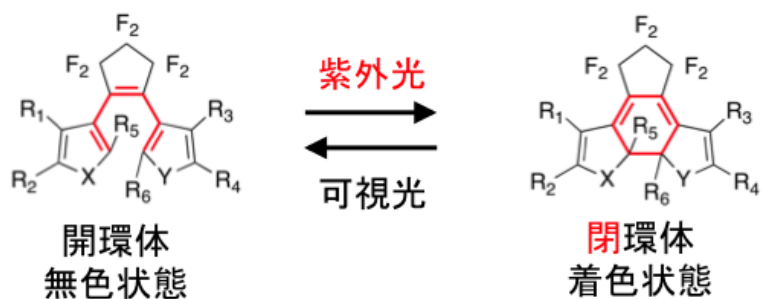


図1. ジアリールエテン誘導体の分子構造とフォトクロミック反応

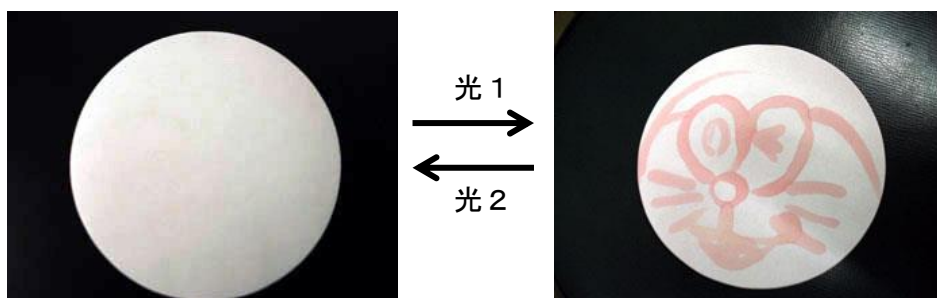


図2. ろ紙上に絵を描いて、光照射によって浮き上がらせたり、消したりした様子

7. ゲノムDNAを抽出してみよう

【実験の背景】

遺伝子は、私たちの体を構成するタンパク質の設計図（情報）です。ヒトをヒトたらしめる、あるいは、自分を自分たらしめる要因は、遺伝子のわずかな違いに由来しています。遺伝情報は、細胞の中にあるゲノム DNA という生体高分子の中に格納されています。ヒトを含む全ての生き物は、ゲノム DNA から必要な情報を RNA にコピーし、タンパク質へと変換したり、ゲノム DNA 自身を複製したり、あるいは、その制御を行なっています。この遺伝情報の流れを「セントラルドグマ」といいます（図 1）。遺伝情報は、正しいタイミング、正しい場所で正しく使われる必要があります。すなわち、セントラルドグマの制御は、全ての生き物にとって、とても重要です。事実、遺伝情報が突然変異によって狂ってしまい、その制御が失われると、がんなどの病気のきっかけとなります。



図 1 | 遺伝情報の流れ

ゲノム DNA は、細胞よりも小さいので、私たちが日常生活で目にする機会はありません。そこで、本実験では、ゲノム DNA の化学的性質を利用し、細胞からゲノム DNA を抽出してみることで、ゲノム DNA の存在を実感してみましよう。

【実験の原理】

本実験では、ブロッコリーからゲノム DNA を抽出してみます^{注1}。DNA は、塩基・糖・リン酸から構成されるヌクレオチドがつながった生体高分子です。今回は、エタノール沈殿という操作を行って、DNA を抽出してみましよう。

DNA のリン酸部分は、細胞の pH 条件下（すなわち、中性領域）では、負電荷を保持していません（次ページ：図 2 左）。したがって、細胞の中では、負電荷同士が反発し合うため、DNA の分子が無秩序に凝集することはありません。

そこで、塩化ナトリウムや酢酸ナトリウムのような塩を加えます。そうすると、ナトリウムイオンが持つ正電荷とリン酸部分の負電荷が静電的に相互作用し、DNA の負電荷を中和します（図 2 中）。この状態の DNA にエタノールを加えて、DNA の溶解度を落としてあげると、DNA の分子同士が凝集し、沈殿します。この操作を「エタノール沈殿」といいます。エタノール沈殿は、生物系の研究分野で日常的に使う実験操作です。

（注 1：今回は、ブロッコリーを用いて実験を行いますが、原理上、他の野菜でも同様に実験可能です。ただし、細胞の破碎しやすさ、夾雑物の多さ、ゲノム DNA の長さ・多さによって、ゲノム DNA の抽出効率は、野菜ごとに変わります。）

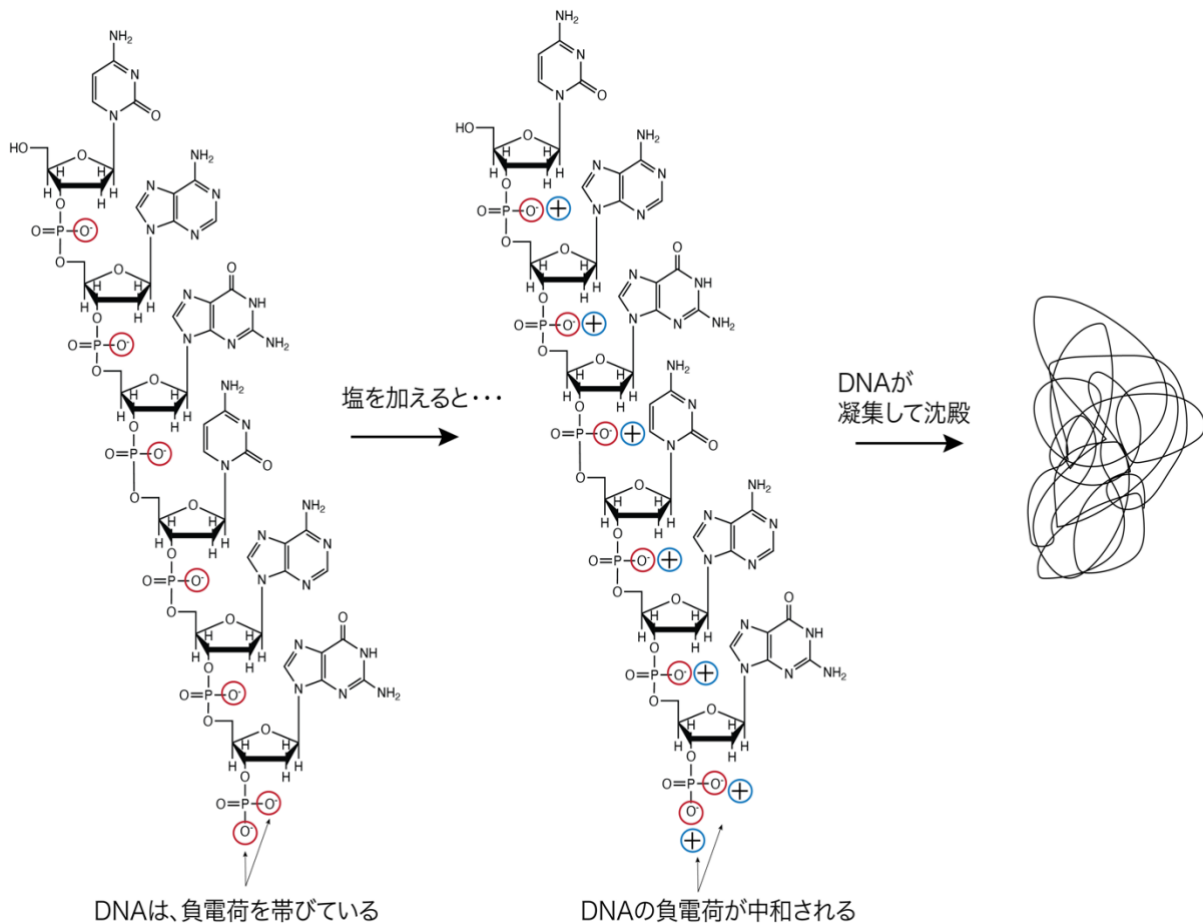


図2 | DNAの化学構造とエタノール沈殿の原理

【実験方法】

1. ブロccoliの蕾、乳鉢、エタノール、塩化ナトリウム、中性洗剤、ろ紙、核酸染色試薬を用意する。（必要な物は全て主催者側で用意します。）
2. 塩化ナトリウム 4 g に対して、50 mL の水を加える（溶液 A）。
3. 溶液 1 に数滴の中性洗剤を加える（溶液 B）。
4. ブロccoliの蕾を乳鉢に入れ、氷上で手早くすりつぶす。
5. 乳鉢に溶液 B を 10 mL 加え、静かにかき混ぜる（細胞抽出液）。
6. 細胞抽出液を濾過する。
7. 濾過した細胞抽出液をチューブに移す。
8. 濾過した細胞抽出液と等量のエタノールを静かに注ぐ。エタノール層と水層ができることを確認する。
9. エタノール層と水層の界面を割り箸でそっと混ぜる。白い繊維状のゲノム DNA を割り箸で巻き取る。
10. ろ紙にゲノム DNA をスポットし、乾燥させる。
11. ろ紙を核酸染色試薬に数分間ひたす。
12. その後、ろ紙を水に浸けて脱色する。
13. ゲノム DNA の染色を確認する。

キャンパスマップ



編集者

日本化学会中国四国支部愛媛地区幹事

〒790-8577 愛媛県松山市文京町2-5 愛媛大学学術支援センター

倉本 誠

〒790-8577 愛媛県松山市文京町3 愛媛大学大学院理工学研究科（工学系）

山浦 弘之