

令和 3 年 7 月 11 日現在

機関番号：13301

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2017～2020

課題番号：17KK0112

研究課題名（和文）多角的計測・計算の連携による界面分子鎖の構造・物性に関する分子論的理解

研究課題名（英文）Molecular-scale understanding of the structure and properties of interfacial chains by collaboration of multiple measurements and calculations

研究代表者

浅川 雅（Asakawa, Hitoshi）

金沢大学・ナノマテリアル研究所・准教授

研究者番号：90509605

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 7,800,000円

渡航期間： 5ヶ月

研究成果の概要（和文）：材料・分子機能に関わる界面分子鎖の構造や物性を分子スケールで理解するために、種々の計測・計算手法を組み合わせる課題に取り組んだ。特に原子間力顕微鏡（AFM）と蛍光デフォーカスイメージングで共通使用できる界面ナノ分子鎖モデルを分子設計し、その調製条件を検討した。その結果、ヒュスゲン環化によるカップリング反応により界面分子鎖モデルを導入し、その構造変化をAFMで可視化できた。さらにその配向やダイナミクスを蛍光デフォーカスパターンから評価できた。同じ試料をAFMと蛍光デフォーカスイメージングで計測できるようになり、それぞれの情報を相補的に組み合わせることで、ナノ分子鎖の分子スケール理解が進展した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

界面は極めて小さな空間であるため、そこに存在する分子の構造や物性の理解することは挑戦的な課題である。申請者はこれまで開発してきた原子間力顕微鏡（AFM）を用いて、この挑戦的な課題を解決し、界面に存在するナノ分子鎖の構造と機能の関係を解明することを目指している。本研究課題の成果により、AFM手法では直接的に得ることができない分子配向やダイナミクスの情報を蛍光デフォーカスイメージングで獲得し、AFMで可視化されるナノ分子鎖の理解を深めることが可能となった。これにより、これまで議論が困難であった界面構造と材料機能の理解が大幅に進展し、次世代材料の創出に繋がると期待される。

研究成果の概要（英文）：In this project, we combined various measurement and computational methods to understand the structures and properties of interfacial chains at the molecular scale, which are related to materials and molecular functions. In particular, we designed a structural model of interfacial chains that can be applied for both atomic force microscopy (AFM) and defocus imaging using super-resolution fluorescence microscopy. As a result, we were able to introduce the interfacial chains by coupling reaction at the interface using Huisgen cycloaddition and visualize its structural changes by AFM. In addition, the orientation and dynamics of the interfacial chain model were evaluated by the defocused patterns obtained by fluorescence defocus imaging. The same sample can be measured by AFM and fluorescence defocus imaging, and the complementary combination of the information obtained by each method has advanced our understanding of the interfacial chains at a molecular scale.

研究分野：ナノ計測

キーワード：原子間力顕微鏡 1分子蛍光顕微鏡 蛍光デフォーカスイメージング

1. 研究開始当初の背景

界面に存在するナノ分子鎖は、分子吸着・接着・エネルギー変換など重要な役割を果たしており、その構造・物性の分子論的理解が求められている。しかし、一般的に用いられる分析手法では界面という微小空間に存在する分子鎖の構造・物性を計測・理解することは容易ではない。そこでこれまで開発してきた3次元走査型AFM(3D-AFM)を用いて、界面分子鎖の構造・物性を実空間で直接計測できる新規手法を確立することを目指している。従来の水平方向走査だけのAFMでは3次元空間に広がるナノ分子鎖の一部しか計測できなかったが、3D-AFM手法を進展させ、ナノ分子鎖の空間分布やダイナミクスを計測可能となる。親・疎水性や構造自由度の異なる界面分子鎖モデルを構築し、3D-SFM計測による単一分子スケールの空間分布像が得られている。しかし、予想とは異なる空間分布が可視化される場合があるなど、それが実際の分子鎖モデルの構造・物性を正しく反映しているのか、あるいはAFM探針走査による変形などの影響が大きいのか、AFM像だけでは分子スケールの理解が難しいのが現状である。そのためほかの単一分子計測や計算科学と連携する必要性を強く感じた。

3D-AFM計測で得られた空間分布像が実際の分子鎖モデルの構造・物性をどう反映しているのか、あるいはAFM探針走査による変形などの影響が大きいのか、分子スケールの理解が難しいのが現状である。もし探針走査の影響があったとしても、それを正確に見積もることができれば、3D-AFM計測を界面分子鎖の構造・物性解析手法として確立することができる。しかし、特に3次元的な探針走査が界面分子鎖の空間分布へ与える影響や、探針形状によって可視化される空間分布がどれほど拡張されるかなど、AFM探針の影響を見積もることはAFM計測だけでは極めて困難である。

界面分子鎖とAFM探針の相互作用による可視化メカニズムを1分子スケールで理解する方法論を確立する必要がある。これを実現する方法としては、他の1分子計測技術や計算機シミュレーションを組み合わせることで理解を深めることが有用である。界面分子鎖の構造や物性を分子スケールで相補的に解明できる手法として、単一分子蛍光分光・ESR顕微鏡・赤外分光(IR)・和周波発生分光(SFG)・計算機シミュレーションなどが挙げられる。なかでも近年、超解像光学顕微鏡を用いた単一分子蛍光分光は、単一分子スケールの配向性やダイナミクスに関する情報を得ることができる計測手法として大幅に発展している。さらに実空間の分子論的描像を得るには計算機シミュレーションと連携することが有用である。

2. 研究の目的

本研究では、得られたデータを直接比較できる共通した界面分子鎖モデルを調製し、多角的な計測・計算が協力し、3D-AFM計測による分子論的理解を大幅に進展させることを目的とする。最終的には、界面に存在するナノ分子鎖の構造・物性の理解とそれが材料・分子機能に与える影響を分子スケールで解明することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1) 共通試料として用いることができる界面分子鎖モデルの調製

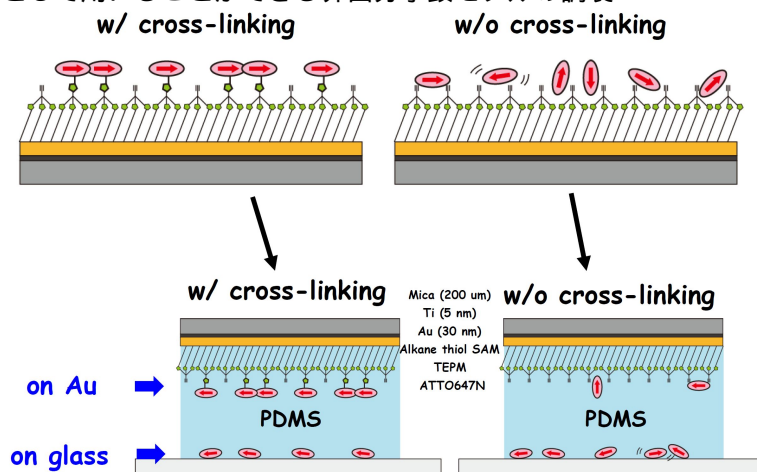


図1 共通試料とできる界面分子鎖モデルの設計と計測方法

3D-AFMと超解像光学顕微鏡を用いた単一分子蛍光観察を共通試料で実現するための界面分子鎖モデルを分子設計し、調製した。また計算機シミュレーションとの連携を考えると、分子スケールで構造のバリエーションを持たない界面とするために、アルカンチオール自己組織化膜(SAM)をベース構造として用いた。以下に、その分子設計を説明する。まず、アジド末端アルカンチオール分子を用いたSAMを真空蒸着で作製したAu(111)上に形成した。さらにエチル基を末端に有するテトラエチルフェニルメタン(TEPM)をヒュスゲン環化付加(Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition)により架橋することで、ナノ分子鎖の固定化基点を導入した。ここにナノ分子鎖モデルとして用いる蛍光分子を架橋・固定化した。AFM計測する場合、観察溶

液を滴下して用いた。倒立型の蛍光顕微鏡観察では、カバーガラスに水や PDMS を介して裏返して固定化することで計測を行なった。

(2) ナノ分子鎖モデルの液中 AFM 計測

超低ノイズのカンチレバー変位センサを備えた自作の液中周波数変調原子間力顕微鏡 (FM-AFM) および 3 次元走査型原子間力顕微鏡 (3D-AFM) を用いた計測を行なった。おもに PPP-NCHAuD (Nanoworld 社製) や 160AC (MikroMasch 社製) を AFM プロブとして用いて、超純水中の FM-AFM 計測によって、表面カップリング反応による構造変化やナノ分子鎖モデルの立体構造の直接観察に取り組んだ。

(3) 蛍光デフォーカスイメージング

基板に固定化したナノ分子鎖モデルの配向やダイナミクスを理解するために、固定化した蛍光分子を蛍光デフォーカスイメージングで評価することを試みた。ナノ分子鎖を基板に固定化するため基点構造に対して、長時間安定で強い発光を示す蛍光分子を架橋する条件 (濃度、反応時間、温度など) を検討した。

4. 研究成果

(1) 界面分子鎖モデルの調製方法と液中 AFM 計測の検討

アジド末端アルカンチオール自己組織化膜の表面にヒュスゲン環化反応によるカップリングによりナノ分子鎖モデルを固定化して表面構造変化を AFM 観察した。ナノ分子鎖モデルとしてジエチレングリコールを固定化した場合、低濃度条件では分散状態で固定化されるのに対して、高濃度条件では島状構造を形成する様子を可視化することができた。島状構造の高さはナノ分子鎖が伸びた状態の長さがほぼ一致しており、ナノ分子鎖がトランス構造に近いコンフォーメーションで集合することで島状構造を形成していることが分かった。

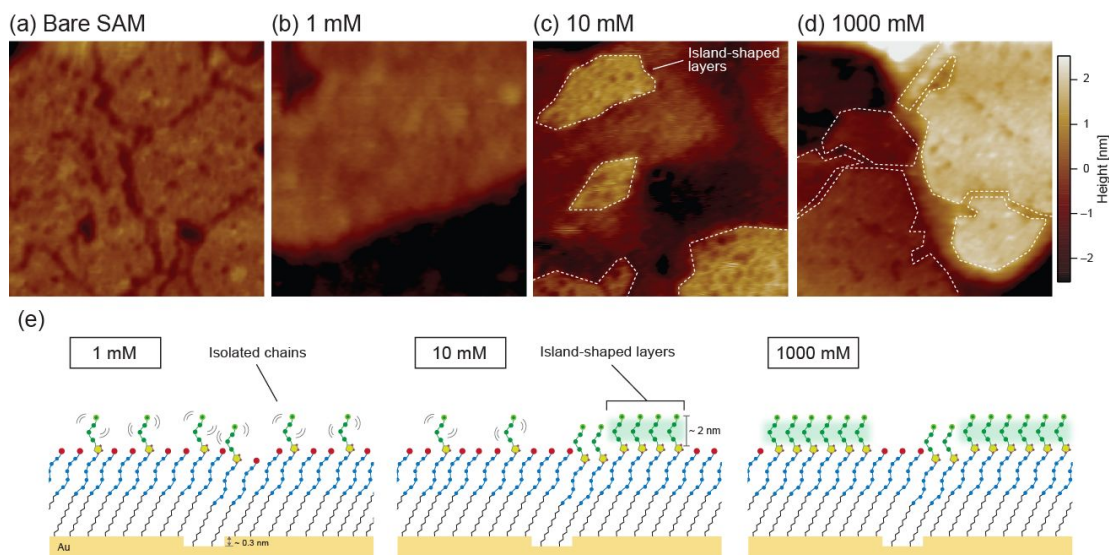


図2 表面カップリング反応による界面分子鎖モデルの調製と AFM 評価

(2) 蛍光デフォーカスイメージングによる分子配向・ダイナミクスの評価

アジド末端アルカンチオール自己組織化膜にナノ分子鎖モデルをカップリング反応により固定化し、その分子配向・ダイナミクスを蛍光デフォーカスイメージングによって評価することを検討した。一般的な架橋濃度で固定化をおこなったところ、1分子蛍光顕微鏡で観察したところ、蛍光分子の凝集構造と思われる強い輝点が観察され、界面分子鎖の1分子スケールの配向・ダイナミクスの評価が困難であった。そこで蛍光分子を架橋する際の濃度を最適化すると、蛍光分子が微小な輝点として可視化される条件を確立できた。

その後、蛍光デフォーカスイメージングを行なうと、分子配向を反映したデフォーカスパターンを得ることができた(図3)それぞれのデフォーカスパターンを比較してみると、そのパターンの対称性に違いが存在することが分かった。

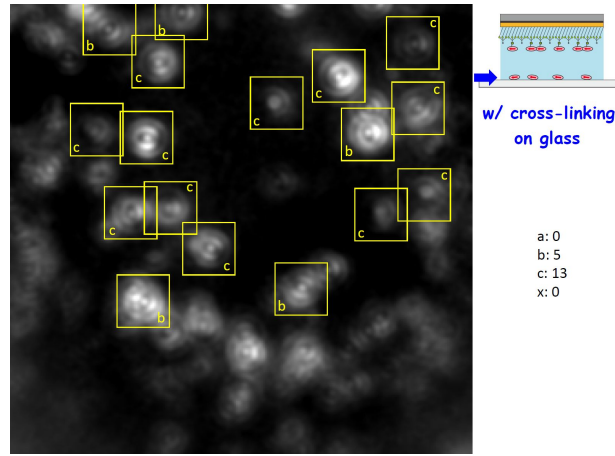


図3 界面分子鎖モデルの蛍光デフォーカスイメージング

そこで各条件でカップリング固定化した蛍光分子のデフォーカスパターンを4種類に分類し、その出現頻度を評価した結果を図4に示す。その結果、ヒュスゲン環化のカップリング反応により固定化した蛍光分子(w/ click on Au)とそれ以外の条件ではその配向やダイナミクスに差があることが分かった。この結果は、蛍光デフォーカスイメージングにより界面分子鎖モデルの配向やダイナミクスを評価するという目的のひとつを達成できたことを示すことができた。

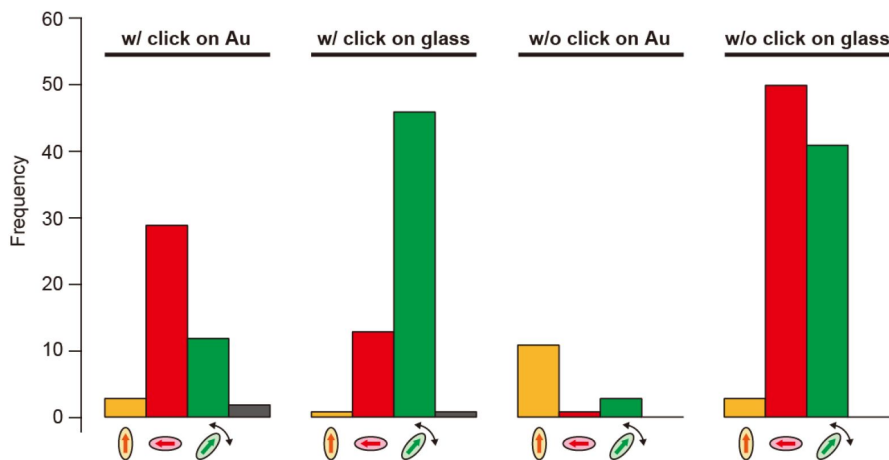


図4 各条件におけるデフォーカスパターンの出現頻度

【その他】

正確な分子スケールの描像を得るためには、配向性の異なる界面分子モデルを追加で調製し、詳細な比較検討を行うことが極めて重要であるという結論に至った。そのため新規界面分子鎖モデルの調製と蛍光1分子計測に時間を要するため期間延長を申請した。その後、コロナウイルス感染症の拡大のため渡航困難となり、国内で試料調製方法の検討を継続することとした。同じ蛍光分子で配向性が異なる界面分子モデルを調製することが困難であったため、架橋構造・リンカー構造の異なる市販蛍光分子を選択した。1分子蛍光観察で得られた分子配向性の情報と3D-AFMで得られた力分布を比較し、構造・物性の議論が可能となった。

上記のように、研究期間の延長申請後、コロナウイルス感染症の拡大により渡航不可の状態が長くなり、渡航期間が6ヶ月間に満たなくなった。一方、渡航先とオンライン会議等で密に連携し、研究進捗に影響が出ないように努めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 1. 著者名 Asakawa Hitoshi, Matsui Sayaka, Trinh Quang Thang, Hirao Hajime, Inokuma Yasuhide, Ogoshi Tomoki, Tanaka Saki, Komatsu Kayo, Ohta Akio, Asakawa Tsuyoshi, Fukuma Takeshi | 4. 巻 124 |
| 2. 論文標題 Chiral Monolayers with Achiral Tetrapod Molecules on Highly Oriented Pyrolytic Graphite | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry C | 6. 最初と最後の頁 7760 ~ 7767 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jpcc.9b11246 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------------------|------------------------------|---------------------------------------------|----|
| 主たる渡航先の主たる海外共同研究者 | 雲林院 宏 (Uji-i Hiroshi) | KU Leuven・Department of Chemistry・Professor | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 | | |
|---------|----------------------|--|--|
| ベルギー | University of Leuven | | |