

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20H02689

研究課題名(和文) 3次元走査型AFMによる局所水和計測と疎水性相互作用の増強・抑制メカニズム解明

研究課題名(英文) Local hydration measured by 3D scanning AFM and elucidation of the mechanism of enhancement and suppression of hydrophobic interactions

研究代表者

浅川 雅 (Asakawa, Hitoshi)

金沢大学・物質化学系・准教授

研究者番号：90509605

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,900,000円

研究成果の概要(和文)：3次元走査型AFMを用いて固定化イオンの密度を変化させた疎水性平面モデルの水和構造を可視化でき、疎水構造とイオン密度・イオン配置が水和構造に与える影響を明らかにした。さらに疎水性空間モデルとして、新たにテトラポッド型分子の自己集合構造や環状分子のナノ空間の水密度に起因する特徴的な引力分布を定量的に議論できるようになった。疎水性構造とその周辺の水和構造を1分子スケールで可視化できるようになり、疎水性相互作用の増強・抑制メカニズムの理解を進展させることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

疎水性相互作用は化学・材料・生物・医療などさまざまな分子システムにおいて重要な相互作用であると考えられており、その分子スケールメカニズムの理解は極めて重要である。本研究の推進により進展した疎水性相互作用と局所水和構造の関係性を理解することはこれらの基礎研究・産業応用のあらゆる分野にも貢献する成果であり、学術的・社会的な両面で意義があると考えられる。3D-AFM手法で得られる微視的理解は実際の材料・分子システムの性能向上に向けた精密分子設計に貢献できる。

研究成果の概要(英文)：Using 3D scanning AFM technique, the hydrophobic planar model of hydrophobic structure with varying densities of immobilised ions can be visualized, revealing the influence of hydrophobic structure and ion density/ion configuration on the hydration structure. Furthermore, as a hydrophobic space model, the self-assembled structure of tetrapod-type molecules and the characteristic attraction distribution originated from the water density in the nanospace of cyclic molecules can be discussed quantitatively. The hydrophobic structure and the surrounding hydration structure can be visualised at the single-molecule level, advancing our understanding of the mechanisms of enhancement and suppression of hydrophobic interactions.

研究分野：ナノ計測

キーワード：原子間力顕微鏡 疎水性相互作用 水和構造

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

疎水性相互作用は両親媒性分子のミセル形成やタンパク質の折り畳み、ホストゲスト錯体形成、超分子集合体形成など、さまざまな分子スケール現象で重要な役割を果たす。無極性分子間に働く分散力だけでは説明できないことに加えて、水分子の存在下で疎水性相互作用が生じることから、水和構造が重要な役割を果たすと考えられている。その駆動力は、疎水性分子が表面積を最小にするように集合することで水と水を放出し、エントロピーが増大すること ( $\Delta S > 0$ ) であると言われている。しかしながら、疎水性表面に形成された局所的な水和構造を直接観察することはあらゆる分析手法でも困難であったため、疎水性相互作用の定量的な理解は未踏領域である。2015年にMaらが疎水性表面に固定化されたアンモニウムイオンによって疎水性相互作用が2倍も増強されることを実験的に示した[Nature 517, 347-350 (2015)]。一方、同じカチオンであっても化学種が変わると疎水性相互作用が抑制されることも報告している。この先行研究の結果は、疎水性表面に存在する固定化イオンが疎水性相互作用を「増強」もしくは「抑制」する調節機構が存在することを実験的に示した。しかし、増強・抑制メカニズムは未解明のまま残されている。そのメカニズムを解明するためには、固定化イオンによって局所水和構造やその物性がどのように変化したかを理解することが望まれるが、局所水和構造の直接計測は依然困難であり重要な研究課題であった。

### 2. 研究の目的

疎水性表面に存在する固定化イオンが疎水性相互作用を「増強」もしくは「抑制」する調節機構を明らかにするために、固定化イオンの周辺に存在する局所水和構造の空間分布・物性変化を理解することが本研究の目的である。研究代表者(浅川雅)らは液中で原子分解能を有する原子間力顕微鏡をさらに発展させることで独自に開発してきた3次元走査型原子間力顕微鏡(3D-AFM)技術を有する。これを用いて疎水性表面に形成された局所水和構造の直接観察し、疎水性相互作用との関係性の解明することを目指す。これを実現するために、アルカンチオールSAMを疎水性平面モデルとして用いて、疎水性表面に局所的に配置した固定化イオンが水和構造の空間分布・物性に与える影響をイオンの有無やイオン種を変えて比較した。さらに研究分担者(生越)が独自に発見したピラー[n]アレーンやテトラポッド型分子の自己組織化構造を用いて、ナノ空間の周囲に形成された特異的な水和構造と疎水性相互作用の関係性を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 課題(1) 疎水性平面モデルに形成された水和構造の3D-AFM計測

主に金基板表面に形成されるアルカンチオール分子の自己組織化膜を用いて疎水性平面モデルの調製方法を検討し、固定化イオンによる水和構造への影響を調べる。具体的には、 $\text{CH}_3$ 末端アルカンチオール自己組織化単分子膜に異なる固定化イオンモデルが分散した試料を調製した。電荷(アニオン/カチオン・価数)やイオン種が局所水和構造へ与える影響を定量的に理解するために、周囲の水和構造への影響が水平・垂直方向に及ぶ距離について3D-AFMで評価した。またアルカンチオール分子の密度を制御すると垂直配向から水平配向へ変化し、末端官能基がアルキル鎖の疎水性表面に局在するような表面モデルを調製できることが分かったため、これも疎水性平面モデルとしてもちいた。さらに調製方法を確立した疎水性平面モデルを用いて、対イオンやpHを変化させながらその影響についても詳細に調べた。

#### 課題(2) 疎水性空間モデルに形成された水和構造の3D-AFM計測

疎水性空間モデルの調製方法を検討し、疎水空間に存在する水密度を反映した相互作用力変化を3D-AFMで可視化した。疎水性平面モデルに対して、3次元的な疎水空間が水和構造や水の密度や物性に与える影響を評価する。1つの疎水性空間モデルとして、テトラポッド型分子の自己組織化により疎水性空間を形成することを検討した。さらに研究分担者(生越)が独自に発見したピラー[n]アレーンを基板表面に高密度に固定化し、ピラー[n]アレーン分子の分子内および分子間の水密度と相互作用力分布を可視化し、相互作用力との関係性を議論した。

#### 課題(3) 水和構造の高感度検出と解析方法の検討

水和構造に由来する力変化の解析方法を検討する。AFM探針を垂直方向に走査しながら相互作用力の変化を計測すると、水和構造は振動的な相互作用力プロファイルとして現れることが知られている。この力分布の情報は3D-AFM像からZ方向の相互作用力変化を抽出することでも得られる。振動的相互作用力プロファイルの「振幅(A)」、「ピーク間距離(d)」、「減衰長( $\tau$ )」などの特徴パラメータから、水和構造・物性を定量的に評価する方法を確立する。ほかにも散逸エネルギー信号から局所水和構造の流動性を評価する。水和構造の緩和時間が関わる粘性的な流動挙動が疎水性相互作用に与える影響を評価する。散逸力の検出感度はカンチレバーの共振周波数に比例するため、高い共振周波数のカンチレバーを用いて散逸力の検出感度を大幅に向上する。

#### 4. 研究成果

##### 研究成果（1）疎水性平面モデルの調製

疎水性表面のモデルとして、分子設計が容易で定量的な議論が可能と考えられるアルカンチオール自己組織化膜を用いた調製方法を検討した。アルカンチオール自己組織化膜は、さまざまな末端官能基を有するアルカンチオール分子を用いることができる。疎水性のメチル基末端を持つ分子に電荷や極性官能基末端を持つ分子を一定量混合することで、電荷や極性構造が疎水性表面中に固定化されたモデルを形成することができる。さらにアルカンチオール自己組織化膜の濃度や時間などの形成条件を調製することでアルカンチオール分子の密度や配向を制御できることを明らかにした。特に電荷末端を有するアルカンチオール分子の金表面での密度を低下させると、表面に対して水平配向となり、疎水性のアルキル鎖が高密度に配列した平面構造に電荷が局所配置した表面モデルを形成できることが分かった。固定化イオンとしてスルホ基の密度を変化させた表面モデルを調製し、その周辺相互作用の変化を 3D-AFM で評価した。興味深いことに、イオン近傍の水和構造に由来する相互作用力分布に加え、疎水性表面にも水和構造由来の相互作用力が広がっていることが明らかになった。これは、疎水性相互作用における固定化イオンの役割を示唆しており、さらなる理解を深めるための重要なステップであると考えている。

##### 研究成果（2）疎水性空間モデルの調製（テトラポッド型分子）

テトラポッド型構造を有するテトラフェニルメタン分子が高配向性熱分解グラファイト (HOPG) 表面で自己組織化し、分子が高密度に集積した 2 次元結晶であることを明らかにした。特にエチニル基を三脚末端構造、基板に対して垂直方向にオリゴエチレングリコールのナノ分子鎖を導入した分子では、エチニル基間の CH- $\pi$  相互作用ネットワーク形成により、疎水性空間が形成されたハニカム状の 2 次元結晶を形成することが分かった。1 つの疎水性空間は 9 個のフェニル基パネルで形成されていることが特徴である。この 9 個のフェニル基パネルで形成された疎水性空間は約 1 ナノメートルのサイズを有しているが、導入したオリゴエチレングリコール鎖の長さを大きくすることで、疎水性空間がわずかに大きくなることが分かった。さらにその疎水性空間のわずかなサイズの違いが空間内の特徴に大きな変化を与えることも発見した。小さな疎水空間では特徴的な引力分布が存在するのに対して、わずかにサイズが大きくなるとその引力分布は消失した。これは疎水性の狭い制限空間が水分子間の水素結合形成を抑制し、バルク水中と比べて密度が低下していることが要因であると結論づけた。疎水性空間には疎水性平面における水和構造形成だけでなく水素結合形成の阻害、水の密度低下に起因する引力が働くということも 3D-AFM 計測で直接明らかにすることができた。この引力分布に基づいて、ナノ空間内でのゲスト分子の捕捉メカニズムを理解し、水中におけるホスト-ゲスト相互作用のさらなる解明に貢献することが期待される。

##### 研究成果（3）疎水性空間モデルの調製（ピラー[n]アレーン）

疎水性ナノ空間を有するピラー[n]アレーンの側鎖構造を変化させながら、マイカや HOPG を基板としながら高密度集積化に最適な分子設計と集積条件を検討した。側鎖にアルキル鎖を導入した場合、分子集積を促進すると考えていたが、規則的な集合構造を明瞭には形成しなかった。分子間相互作用が強くなりすぎると基板との相互作用の寄与が少なく、基板表面を反映した分子配列を形成できなくなることが分かった。一方、側鎖の末端に電荷を有するピラー[n]アレーンはマイカ表面に高密度集積できることが分かっており、電荷が空間分布した疎水性空間モデルとして有用であった。

##### 研究成果（4）水和構造と疎水性相互作用の相関解明に向けた分析手法の開発

本研究では、液中周波数変調原子間力顕微鏡 (FM-AFM) および 3D-AFM 手法を用いて局所的な電荷配置が周囲の力分布に与える影響を評価することを目指した。そこで形成された水和構造の水平方向の距離依存性解析するプログラムを開発した。水和構造に起因して可視化される振動的相互作用プロファイルから、疎水性平面および疎水性空間に存在する電荷が水和構造に与える影響についてその距離依存性を定量的に解析・議論できるようになった。さらに FM-AFM や 3D-AFM で計測できる局所的な相互作用力分布とマクロな疎水性相互作用の関連を評価する新しい手法としてナノ粒子の吸着分析に基づく定量法を検討した。サイズの分散度が極めて小さなナノ粒子を選択し、それを疎水性平面モデルおよび疎水性空間モデルに吸着させて吸着量を評価した。吸着量の評価には走査型電子顕微鏡 (SEM)、X 線電子分光法 (XPS)、AFM が使用できることを確認した。粒子サイズの分散度は小さいものを選んだため、SEM でも粒子の吸着量・位置も特定が容易であった。また XPS を用いることで基板全体の平均的なナノ粒子の固定化量を定量評価できることを示した。さらに粒子吸着にも AFM 計測を用いることで粒子固定位置の詳細な理解も可能であることを示した。

以上のように疎水性平面モデルや疎水性空間モデルの調製方法を確立した。さらに局所水和構造の空間分布を定量分析するために解析プログラムを作成した。これらを組み合わせることによって疎水構造中に存在する電荷が水和構造に与える影響を FM-AFM や 3D-AFM で定量的に評価することができた。局所水和構造とマクロ現象を繋げるためにナノ粒子を用いた評価方法も確立することができた。これらの成果から疎水性相互作用の理解がさらに発展することが期待できる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6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 Ide Yuki, Manabe Yumehiro, Inaba Yuya, Kinoshita Yusuke, Pirillo Jenny, Hijikata Yuh, Yoneda Tomoki, Shivakumar Kilingaru I., Tanaka Saki, Asakawa Hitoshi, Inokuma Yasuhide	4. 巻 13
2. 論文標題 Determination of the critical chain length for macromolecular crystallization using structurally flexible polyketones	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 9848 ~ 9854
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D2SC03083G	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 -
1. 著者名 Morimoto Masayuki, Hirao Haruna, Kondo Masaharu, Dewa Takehisa, Kimura Yukihiro, Wang-Otomo Zheng-Yu, Asakawa Hitoshi, Saga Yoshitaka	4. 巻 1
2. 論文標題 Atomic force microscopic analysis of the light-harvesting complex 2 from purple photosynthetic bacterium Thermochromatium tepidum	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Photosynthesis Research	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11120-023-01010-4	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 -
1. 著者名 Lebitania Julie Ann, Inada Natsumi, Morimoto Masayuki, You Jiaxun, Shahiduzzaman Md., Taima Tetsuya, Hirata Kaito, Fukuma Takeshi, Ohta Akio, Asakawa Tsuyoshi, Asakawa Hitoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 Local Cross-Coupling Activity of Azide-Hexa(ethylene glycol)-Terminated Self-Assembled Monolayers Investigated by Atomic Force Microscopy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 14688 ~ 14696
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.langmuir.1c02451	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 -
1. 著者名 Sueyoshi Shingyo, Taniguchi Tsuyoshi, Tanaka Saki, Asakawa Hitoshi, Nishimura Tatsuya, Maeda Katsuhiko	4. 巻 143
2. 論文標題 Understanding the Polymerization of Diphenylacetylenes with Tantalum(V) Chloride and Cocatalysts: Production of Cyclic Poly(diphenylacetylene)s by Low-Valent Tantalum Species Generated in Situ	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 16136 ~ 16146
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/jacs.1c06811	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 -

1. 著者名 Onishi Katsuto, Ohtani Shunsuke, Kato Kenichi, Fa Shixin, Sakata Yoko, Akine Shigehisa, Ogasawara Moe, Asakawa Hitoshi, Nagano Shusaku, Takashima Yoshinori, Mizuno Motohiro, Ogoshi Tomoki	4. 巻 13
2. 論文標題 State- and water repellency-controllable molecular glass of pillar[5]arenes with fluoroalkyl groups by guest vapors	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 4082 ~ 4087
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2SC00828A	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 -

1. 著者名 Yang Lei, Igarashi Takumi, Cao Yu, Holmstrom Eero, Hirata Kaito, Asakawa Hitoshi, Ohno Teruhisa, Fukuma Takeshi, Foster Adam S.	4. 巻 124
2. 論文標題 Photo-sensitive 2D Arrangement of -OH/H <sub>2</sub> O on Brookite TiO <sub>2</sub> (210)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry C	6. 最初と最後の頁 19091 ~ 19100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.0c05151	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2件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 浅川雅
2. 発表標題 液中周波数変調AFMを用いた超分子会合体の分布・動態解析
3. 学会等名 NANOSPEC 2021 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 浅川 雅
2. 発表標題 原子間力顕微鏡による固液界面現象の原子・分子スケールその場観察
3. 学会等名 日本分析化学会中部支部北陸地区講演会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔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
研究 分担 者	生越 友樹  (Ogoshi Tomoki)  (00447682)	京都大学・工学研究科・教授    (14301)	

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
---------	---------