

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：22701
研究種目：挑戦的萌芽研究
研究期間：2013～2014
課題番号：25600050
研究課題名(和文)STMを用いた生体分子の単一分子構造観察

研究課題名(英文)Single bio-molecular imaging by STM

研究代表者

横山 崇 (Takashi, Yokoyama)

横浜市立大学・生命ナノシステム科学研究科・教授

研究者番号：80343862

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、超高真空・低温・走査型トンネル顕微鏡を用いてタンパク質などの生体分子を単一分子レベルで構造解析することであり、分子の蒸着法としてエレクトロスプレーイオン化法を利用する。本研究では、このエレクトロスプレーイオン化法を利用することにより、巨大有機分子や生体分子の真空蒸着に成功し、走査型トンネル顕微鏡による単一分子計測に成功した。

研究成果の概要(英文)：Our purpose of this study is "deposition on a surface" and "scanning tunneling microscopy imaging" of single isolated biomolecules. To deposit biomolecules on surfaces, electrospray ionization method is used in this study. We have succeeded the deposition and single molecular imaging of long oligothiophene molecules and biomolecules.

研究分野：表面科学

キーワード：単一分子計測 走査型トンネル顕微鏡 分子蒸着

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで、超高真空・低温・走査型トンネル顕微鏡(STM)の高分解能観察技術を駆使し、基板上に吸着したナノサイズ有機分子の構造や電子状態を単一分子レベルで明らかにするとともに、基板上での分子自己組織化の解析や制御を行ってきた(Nature2001, J.Chem.Phys.2004, Appl.Phys.Lett.2006, Adv.Mater.2007, Phys.Rev.Lett.2007, J.Phys.Chem.C 2008, J.Phys.Chem.C 2009)。これらの分子は、加熱昇華による真空蒸着を利用してきた。

生体分子を大気中・大気圧下で STM 観察することは可能であるが、単一分子の微細構造を詳しく観察するには、超高真空・低温環境が必須である。しかしながら、生体分子などでは加熱昇華は不可能なので、基板への真空蒸着を行うことはできない。したがって、生体分子を真空中に導入する手法の開発が必要となる。

また、我々はこれまで、巨大分子の基板への真空蒸着法として、溶媒に溶かしたターゲット分子を、パルスバルブを用いて真空中に直接噴霧するパルス噴霧法を用いてきた。この方法を用いて、約 10nm の鎖長を有するオリゴチオフェン分子ワイヤ (24T-Si-Dod) の STM による直接観察を実現し、その構造の詳細を明らかにしてきた(J.Phys.Chem.C 2008)。Au(111) 表面上に吸着した 24T-Si-Dod 分子の STM 計測結果から、分子のコンフォメーションなどの詳細が明らかになった。しかしこの方法では、溶液が液滴状で真空中に噴霧されるため、分子が表面上で凝集してしまい、蒸着条件の最適化が難しいという問題があった。

そこで、本研究では、クーロン爆発によって液滴を微細化できる エレクトロスプレーイオン化法に着目した。この方法は、飛行時間型の質量分析装置のイオンソースとして多く用いられている。一方、真空蒸着法としての研究は進んでいない。本研究では、STM による単一分子レベルでの高分解能計測が

可能となる蒸着法の開発を目指し、生体分子構造の高分解能単一分子計測の実現を目的とする。

2. 研究の目的

近年、走査型プローブ顕微鏡の発達でたんぱく質などの生体分子の構造を直接的に観察することが可能になってきている。しかしながら、観察環境が室温の大気中の場合がほとんどであり、走査型プローブ顕微鏡の高分解能観察に適した真空中・低温下の観察例は、ほとんどない。そこで本研究では、結晶基板表面上に吸着した生体分子の構造を、超高真空・低温・走査型トンネル顕微鏡 (STM) で高分解能観察し、その微細構造を単一分子レベルで明らかにすることを目的とする。さらに、本研究で重要となる生体分子の真空中への導入は、質量分析に多く使われるエレクトロスプレーイオン化法を応用した新しい方法を開発する。

3. 研究の方法

単一生体分子を走査型トンネル顕微鏡 (STM) によって高分解能観察しようとする場合、超高真空や低温などの極限環境が必要となる。加熱による昇華が可能な有機分子は、真空蒸着が可能であるが、熱的に不安定な分子や分子量が大きい巨大分子・生体分子はそれが不可能となる。そのような分子の真空蒸着を可能にするため、揮発性溶媒に溶かして瞬間的に真空中に噴霧するパルス噴霧法が用いられてきたが、分子が凝集するなどの問題があった。

そこで、我々はエレクトロスプレーイオン化法に着目した。エレクトロスプレーイオン化法は、先鋭化したキャピラリーに高電圧を加え、そこにターゲット分子を溶かした溶媒を注入することで、テーラーコーンを形成してイオンビームがスプレーされる現象を利用している。イオンのクーロン爆発によって、液滴は微細化し、パルス噴霧法のような分子凝集を防ぐことが可能になる。この方法は、質量分析装置のイオンソースとして多く使われている方法だが、超高真空下での蒸着法としてはほとんど応用されていない。

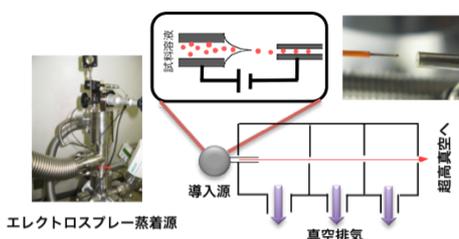
我々は、予備実験を目的に、すでに右図のようなエレクトロスプレー蒸着源を導入し、超高真空下での真空蒸着を開始している。右下図は、約 30nm の鎖長を持つオリゴチオフェン分子(72T-Si-Hex)を Au(111)表面に蒸着したときの STM 像である。分子は、凝集することなく、分散して吸着していることが分

かるとともに、個々の分子形状を確認することができる。一方で、溶媒分子も基板に多数残留している。これは、高分解能観察の大きな妨げとなっている。

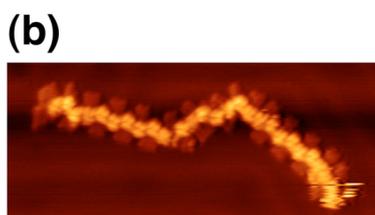
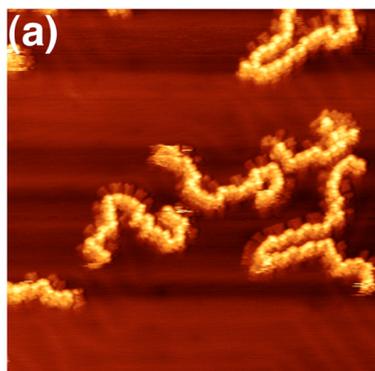
これらの問題点を解決するように改良した、新たなエレクトロスプレー蒸着源を開発および最適化する。具体的には、ビーム作成条件の最適化を行うとともに、ビーム内に混入した中性溶媒とイオンビームを分離するため、ビームリフレクタを設置し、基板上への蒸着を最適化して行く。

4. 研究成果

以下は、本研究で開発したエレクトロスプレー蒸着装置の概略図である。このイオン化条件や真空への条件を検討するために、溶液の流量、イオン化電圧、真空への導入位置を最適化した。その時に基板として Au(111) を用い、分子としてはオリゴチオフェンを用いた

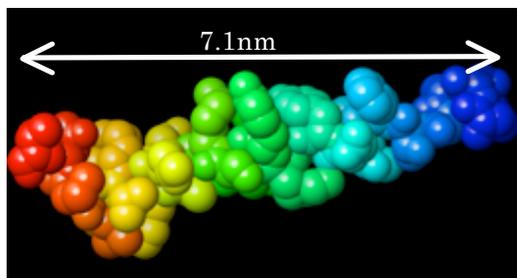


下図は、鎖長 20nm のオリゴチオフェン (72T-Si-Dod を蒸着後に得られた STM 像である。単一分子が基板表面上に分散して吸着しており、各分子の形状を確認することができる。また、溶媒分子は基板に残留しておらず、分子の側鎖であるアルキル鎖も STM 像から確認することができる。

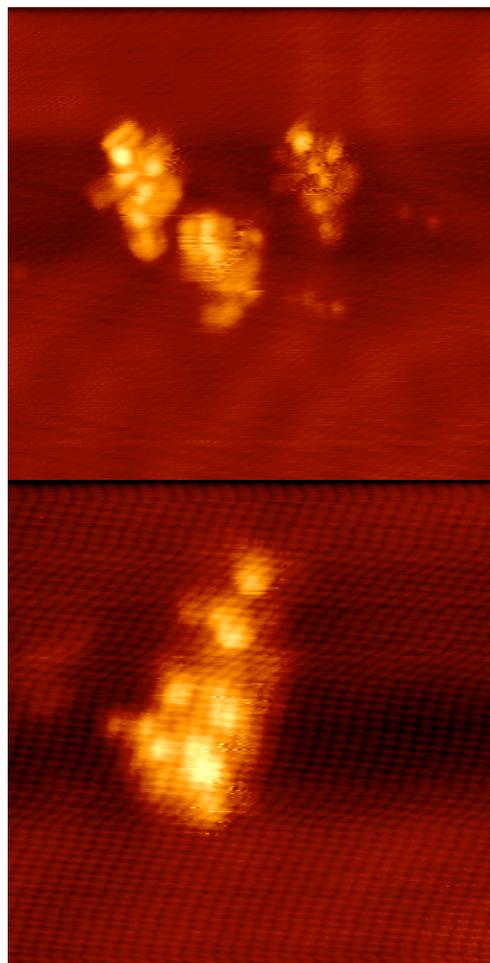


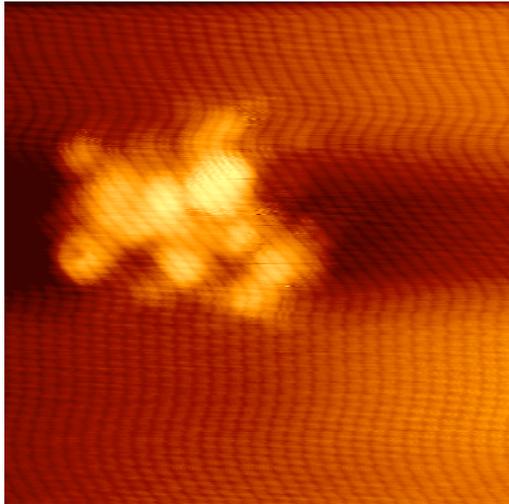
この結果は、The Journal of Physical Chemistry C で発表した。

この結果より、エレクトロスプレー蒸着法の巨大有機分子に対する有用性が明らかになったので、次に生体分子の蒸着および STM 観察を試みた。用いた生体分子はタンパク質であるグルカゴンである。下図に示すように、分子長は約 7.1nm である。



エレクトロスプレー蒸着後に得られたグルカゴン分子の STM 像が以下の通りである。オリゴチオフェン分子同様に、基板に残留溶媒は見られなく、単一分子に相当すると思われる像を得ることが出来た。しかしながら、各分子によって形状は異なっており、分子本来の形状を求めるのは難しいのが現状である。





今後は、DNA など判別しやすい分子の観察を試み、段階的にタンパク質などの複雑な形状の分子に移行して行く必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① T. Yokoyama, Y. Kogure, M. Kawasaki, S. Tanaka, and K. Aoshima, J. Phys. Chem. C, 117, 2013, 18484-18487
DOI: 10.1021/jp405411f

[学会発表] (計 3 件)

- ① 川崎光徳、小暮勇太、横山崇、田中章治
単一分子 STM 観察のためのエレクトロスプレー蒸着法
日本物理学会 2013 秋季大会
2013. 9. 27-27 (徳島大学)
- ② M. Kawasaki, Y. Kogure, T. Yokoyama, S. Tanaka,
STM investigation of large oligothiophene derivatives deposited on Au(111) using electrospray ionization
ACSIN-12
2013. 11. 5 (Tsukuba)
- ③ 林云、横山崇、田中章治
ESI 蒸着したオリゴチオフェン分子の STM 観察
第 10 回ナノテク交流シンポジウム
2015. 3. 6 (横浜)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

<http://www-user.yokohama-cu.ac.jp/~nano/NanoSurface/Welcome.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横山 崇 (YOKOYAMA, Takashi)

横浜市立大学・大学院生命ナノシステム科学研究科・教授

研究者番号：25600050