

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26620001

研究課題名(和文) 巨大自己集合体の規則的運動制御に向けた走査NMR顕微鏡による分子レベル動態解析

研究課題名(英文) Dynamic property at molecular scale in large molecular assembly

研究代表者

武田 定 (TAKEDA, SADAMU)

北海道大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00155011

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：小さな分子が集まった巨大な分子自己集合体(数十～百 μm)にアゾベンゼン誘導体を少量ドープして光照射を行うと、分子自己集合体が目に見える運動を行うことを、我々の研究室で見いだした。これは、分子レベルの構造や運動の変化が、協奏的・協同的な発展を遂げて巨視的な運動に至るものと考えられ、生体における分子の運動や変化の階層的発展とも関連して重要である。本研究では、分子レベルの状態の変化をin situで観測し、巨大な分子自己集合体のマクロな運動に発展する過程を調べるため、百 μm の空間分解能を持つ「走査NMR顕微鏡」の開発を試みた。また、ESRとNMRを合体させた動的核分極によるNMR信号増強を行った。

研究成果の概要(英文)：In our laboratory, we have found reversible macroscopic motion of supramolecular aggregate was induced by photo-isomerization of doped azo-benzene derivative as a minor component. This phenomenon is similar to biological system, in which motion of molecules is hierarchically and cooperatively developed to induce macroscopic movement. In this research project, we made an attempt to develop "Scanning NMR Microscope" for investigating change at molecular level in supramolecular aggregate at spatial resolution of 100 micrometer by use of micro-coil NMR method. As a complementary approach of this "Scanning NMR Microscope", enhancement of NMR signal was investigated by use of dynamic nuclear polarization.

研究分野：化学 基礎化学 物理化学

キーワード：マイクロコイルNMR 分子自己集合体 動的性質

1. 研究開始当初の背景

(1) 測定対象物質と分子自己集合体の運動現象の背景

オレイン酸ナトリウムなどの両親媒性分子が水中でミセルやベシクルなどの自己集合体を形成することは良く知られている。我々の研究室では、極限られた pH の条件 (7.5~8.0) でオレイン酸が長さ mm オーダーに達する螺旋状構造体を形成し、アゾベンゼンのカルボン酸誘導体を少量ドープして光照射を行うと、アゾベンゼン誘導体の cis, trans の変化に対応してラセンの回転・逆回転が可逆的に起こることを見いだしていた。また、同様に卵黄レシチンの二重ラセン鎖の膨張・収縮が可逆的に起こることも見いだしている (図 1)。このような少量ドープされた分子の変化が、分子自己集合体の目に見える運動に繋がる動的メカニズムの解明は行われていない。このメカニズムは、生体における分子の運動や変化の階層的発展と機能発現にも関連して重要であるが、分子論的な実験に基づく研究は進んでいない。

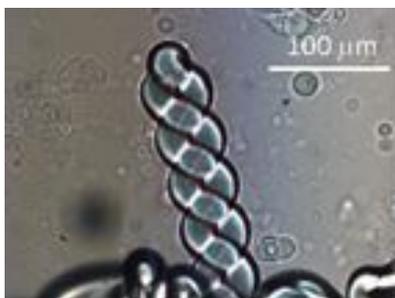


図 1 卵黄レシチン二重ラセンの顕微鏡写真

(2) マイクロコイル NMR 法の背景

NMR コイルの直径を ~100 μm 程度 (導線直径は 10~20 μm) に小さくすると、このマイクロコイル内に発生する高周波磁場が極めて強くなり、測定試料の直径が数 100 μm 程度になるように小さくして体積を小さくしても、NMR 信号の検出感度がさほど低くならないことが知られており、いくつかの応用研究も報告されていた。本研究代表者自身も以前に、直径 400 μm の常磁性物質の単結晶の重水素核 NMR 信号を観測した実績がある (図 2)。

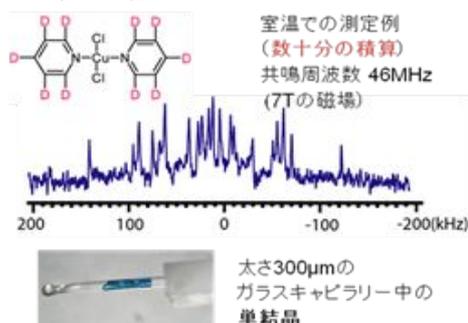


図 2 マイクロコイルを用いた重水素核 NMR 信号の検出

(3) コイルの外の試料の信号観測

(2)で述べたように、NMR コイルの直径を ~100 μm 程度に小さくすると、コイル内の小さな試料の信号検出感度がさほど小さくならないだけでなく、コイルの軸方向のコイル外でも強い高周波磁場が得られることが知られている。このコイルの外にはみ出した高周波磁場を利用して、NMR 信号検出を試みる。

2. 研究の目的

巨大な分子自己集合体 (数十~百 μm) に少量ドープされた分子の光異性化による構造変化が、分子自己集合体の目に見えるマクロな運動を誘起することを我々の研究室で見いだした。例としては、水中でオレイン酸や卵黄レシチンの集合体を作る巨大構造体などである。この現象は、分子レベルの構造や運動の変化が、協奏的・協同的な発展を遂げて規則的なマクロな運動に至るものと考えられる。本研究は、将来的には、分子レベルの運動状態の変化を in situ で調べ、巨大な分子自己集合体のマクロな運動メカニズムの解明につなげることを目的とする。そのために、下記の(1)~(3)を萌芽研究として試みる。

(1) 「走査 NMR 顕微鏡」用 NMR 分光器の構築

研究室に既設の 7T 超電導磁石にあわせて、~130MHz までの NMR 信号を観測することができる NMR 分光計を構築する。

(2) 既設 NMR 信号測定プローブの改造による「走査 NMR 顕微鏡」プローブの試作

研究室所有の二重共鳴用 NMR プローブの試料室および信号観測用 NMR コイル部分を改造して、

マイクロコイルを設置する。

試料をカメラで観察するための顕微鏡を設置する。

照明光を照射するためのライトガイドを設置する。

試料を移動させる (走査する) ために、非磁性 3 軸 XYZ ピエゾアクチュエータを設置する。

(3) 「走査 NMR 顕微鏡」と相補的な局所観測能を持つ動的核分極 NMR 法の改良

「走査 NMR 顕微鏡」は水溶液中に浮遊する ~百 μm の巨大な分子自己集合体にマイクロコイルの位置を合わせて、局所的な NMR 信号を観測することを目指す観測技術である。一方、局所的な NMR 信号を増強させて、局所的な情報を得ることができる「動的核分極法」がある。この方法は「走査 NMR 顕微鏡」による信号観測と相補的であるため、「動的核分極法」の改良も行う。

3. 研究の方法

(1) NMR 分光器の構築

比較的安価なことで知られる、米国 Tecmag 社製の LapNMR シングルボード分光器を購入し、様々な高周波部品と組み合わせることにより、~130MHz までの NMR 信号を観測することができる NMR 分光計を組み立てる。

(2) NMR プロープの改造

作成した自動巻取り器により、銅線径 20~30 μ m、直径 200 μ m の NMR コイルを作製する。

NMR プロープにあわせた顕微鏡用アダプタを作成し顕微鏡を設置する。

市販のライトガイドから、磁性材料を取り外して、NMR プロープに挿入する。

非磁性 3 軸 XYZ ピエゾアクチュエータを設置するためのアダプタを作製する。

(3) 「動的核分極」の改良

ここで用いる「動的核分極」とは、レシチンの巨大ベシクルの膜に有機ラジカル分子を取り込ませ、このラジカルが電子スピン共鳴を起こすマイクロ波を照射しながら NMR 信号測定を行うことにより、このラジカル近傍の H-NMR 信号を増強させて観測することである。このために、最大~10W のマイクロ波を連続照射する必要があり、水溶液試料の温度が上昇するが、これをできるだけおさえる必要がある。このため、水溶液試料から熱を効率よく奪うために、不活性なフルオロノート液体を用いるとともに、試料部に効率よく送風を行う。

4. 研究成果

(1) 構築した NMR 分光器の外観を図 1 の写真に示す。



図 1 構築した NMR 分光器

(2) 顕微鏡を取り付け、改造したワイドボア用 NMR プロープの写真を図 2 に示す。ただし、見やすくするために、3 軸 XYZ ピエゾアクチュエータとマイクロコイルは取り外している。

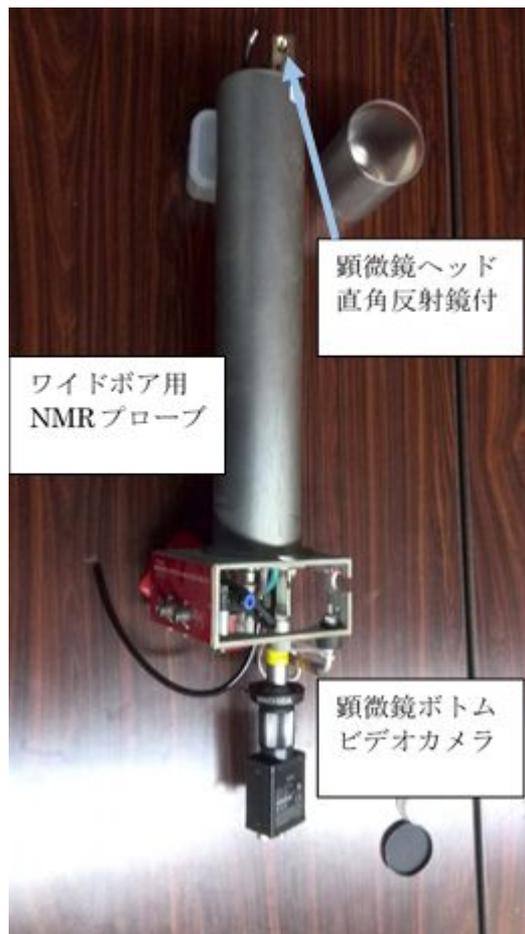


図 2 顕微鏡を取り付けたワイドボア用 NMR プロープ

「走査 NMR 顕微鏡」を用いた、巨大分子自己集合体の局所的な NMR 信号測定にはまだ成功していないが、今後、さらに改良を進めていく。

(3) 「動的核分極 H-NMR」

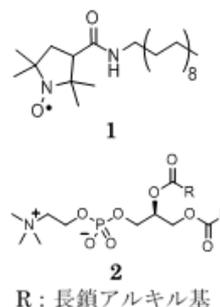


図 3 ベシクルの主成分分子レシチン 2 とドーブする両親媒性有機ラジカル分子 1

図3に示す両親媒性ラジカル分子 **1** と卵黄レシチン **2** からなる混合ベシクル（分子自己集合体）の分散水を対象にした DNP-NMR 測定を行い、ベシクル表面での水の流動性について検討した。ベシクルの模式図を図4に示す。

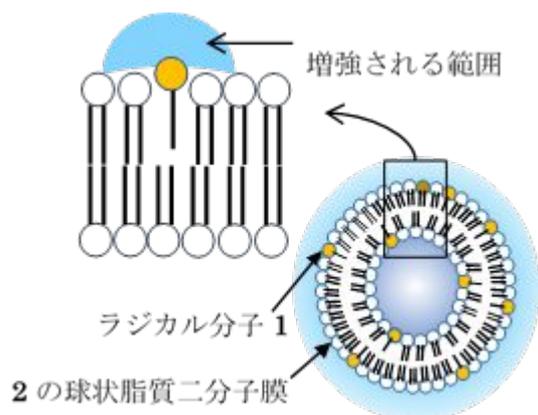


図4 水中のベシクルの模式図

分子自己集合体であるベシクルの二重膜に取り込まれたラジカル分子近傍の水分子の H-NMR 信号が、動的核分極により主として増強されると考えられる。ベシクルは、ラージベシクル (LV) とジャイアントベシクル (GV) を用いた。動的核分極による H-NMR 信号増強度のマイクロ波電力依存性の結果、LV の直径は 300-500 nm、GV の直径は 6-10 μm であった。取り込まれた有機ラジカル分子の X-バンド ESR スペクトルの形状から、ラジカル分子が二重膜中に取り込まれていることを確認した。

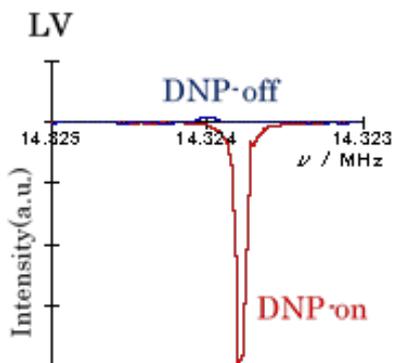


図5 動的核分極 (DNP) ,あり (ON) なし (OFF) による信号強度の違い

ラージベシクル (LV) の場合の、動的核分極による H-NMR の信号増強の結果を図5に示す。また、図6にラージベシクル (LV) とジャイアントベシクル (GV) H-NMR 信号増強度のマイクロ波電力依存性を示す。マイクロ波 10W の照射により、ラージベシクル (LV) で約 30 倍、ジャイアントベシクル (GV) で約 50 倍近い信号の増強が得られた。

マイクロ波照射下における H-NMR の縦緩和時間の測定などを行い、ベシクル膜近傍の水分子の運動の相関時間 (ほぼ運動の速さの逆数) を見積もった結果、ラージベシクル (LV)

とジャイアントベシクル (GV) とともに、 10^{-7} 秒程度であった。

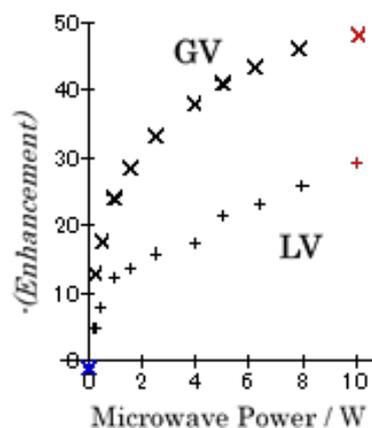


図6 動的核分極 (DNP) による H-NMR 信号増強度のマイクロ波電力依存性

卵黄レシチンと両親媒性ラジカル分子、アゾベンゼン誘導体の混合物からアゾベンゼン誘導体含有ベシクル分散液を得た。動的核分極による H-NMR 信号増強度のマイクロ波電力依存性の結果、LV の直径は 300-500 nm、GV の直径は 6-10 μm であった。取り込まれた有機ラジカル分子の X-バンド ESR スペクトルの形状から、ラジカル分子が二重膜中に取り込まれていることを確認した。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

- (1) 近藤僚太・景山義之・武田定
アゾベンゼン誘導体を含んだベシクル膜表面近傍の水の動的核分極 NMR 測定
日本化学会 第 96 春季年会, 2016/3/24-27, 同志社大学 京田辺キャンパス (京都府・京田辺市)
- (2) 近藤僚太・景山義之・武田定
動的核分極 NMR 法を用いた大きさの異なるベシクル表面での水の流動性の解析
分子科学討論会, 2015/9/16-19, 東京工業大学大岡山キャンパス (東京都・目黒区)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武田 定 (TAKEDA SADAMU)

北海道大学・大学院理学研究院・教授

研究者番号: 00155011

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

景山 義之 (KAGEYAMA YOSHIYUKI)

北海道大学・大学院理学研究院・助教

研究者番号: 90447326