

周波数変調方式AFMによる液中での分子分解能測定

Molecular Resolution Investigations in Liquid by Frequency-Modulation Atomic Force Microscopy

長嶋 剣 [1]; 阿部 真之 [1]; 森田 清三 [1]; 大藪 範昭 [2]; 小林 圭 [2]; 山田 啓文 [2]; 村井 良多 [1]; 安達 宏昭 [3]; 高野 和文 [4]; 松村 浩由 [5]; 村上 聡 [6]; 井上 豪 [5]; 森 勇介 [1]; 大田 昌弘 [7]; 粉川 良平 [7]

Ken Nagashima[1]; Masayuki Abe[1]; Seizo Morita[1]; Noriaki Oyabu[2]; Kei Kobayashi[2]; Hirofumi Yamada[2]; Ryota Murai[1]; Hiroaki Adachi[3]; Kazufumi Takano[4]; Hirooyoshi Matsumura[5]; Satoshi Murakami[6]; Tsuyoshi Inoue[5]; Yusuke Mori[1]; Masahiro Ohta[7]; Ryohei Kokawa[7]

[1] 阪大院工・電気電子; [2] 京大院工・電子; [3] 創晶; [4] 阪大院工・生命先端; [5] 阪大院工・応用化学; [6] 東工大・生命理工・分子生命; [7] 島津製作所

[1] Grad. School of Eng., Osaka Univ.; [2] Electronic Sci. & Eng., Kyoto Univ.; [3] SOSHO Inc.; [4] Adv. Sci. and Biotech., Grad. School of Eng., Osaka Univ.; [5] Appl. Chem., Grad. School of Eng., Osaka Univ.; [6] Grad. School of Biosci. and Biotech., Tokyo Insti. of Tech.; [7] Shimadzu Corporation

<http://www.afm.eei.eng.osaka-u.ac.jp/>

原子間力顕微鏡 (AFM) は試料表面の3次元形状をナノスケールで観察するために広く使われており、主に結晶成長分野では接触方式 (コンタクトモード) や振幅変調方式 (タッピングモード、ダイナミックモード) のAFMが使われている。ただ、これらの方式ではカンチレバーが試料表面へと接触し強い斥力によって測定するため、真の原子・分子分解能を得ることは大変困難であり、また得られた像の評価も難しかった。

一方、周波数変調方式のAFM (FM-AFM) では共振周波数近傍で励振させたカンチレバーを表面に近づけ、試料表面との間に働く微弱な力を周波数変化という形で高感度に検出する。そのため、試料表面の構造を乱すことなく原子レベルでの3次元形状観察が可能となる (Morita et al., 2002)。しかし、高分解能FM-AFM像を取得するにはカンチレバーの高いQ値が得られる超高真空環境下に限られ、Q値が低くなる大気中・液中での観察は非常に困難であった。こういった背景から、FM-AFMによる結晶成長研究は少なく、特に溶液成長は扱うことすらできなかった。

しかし、近年、変位検出系などの改良によってQ値が低い液中であってもFM-AFMによる原子・分子分解能が達成できることがわかり (Fukuma et al., 2005a; 2005b; 山田, 2008)、例えばマイカ (Fukuma et al., 2005b) やカルサイト (Rode et al., 2009) へき開面などにおいて原子分解能像が液中でも観察されている。そこで、我々は島津製作所、京都大学等を中心に開発が進められている大気中・液中用に特化したFM-AFMを用いて、溶液成長界面の高分解能観察に取り組みはじめた。今回は、タンパク質結晶 (鶏卵白リゾチーム) の分子分解能観察を中心に報告する。タンパク質はアミノ酸が重合した巨大分子で、鶏卵白リゾチーム分子は比較的小さなサイズではあるが、それでも分子量が14000、直径数nmというサイズである。結晶性の良いタンパク質結晶を作成できればX線構造解析により分子構造が正確にわかるため、タンパク質分子を結晶化させる試みは数多く行われてきている (坂部, 2005; 高野, 2008)。

我々のFM-AFM観察は、正方晶リゾチーム (110) 成長面に対して行った。正方晶リゾチーム (110) 面は 11.2×3.8 nmのユニットセルを持ち、ユニットセル中には異なる方向を向いた4個のリゾチーム分子が横並びに配置されている。これまでのコンタクトモードによるAFM観察ではユニットセルを4個の分子に分解して観察することはできなかった (Li et al., 1999)、今回FM-AFMを用いることで初めて分子分解能での観察に成功した。また、分子分解能を達成したことで結晶表面における吸着分子や点欠陥を可視化することに加え、単位ステップ (高さ5.6 nm) の成長によりこれらのパターンがステップ成長後にどのように変化するかも合わせて観察することができた。以上のように、周波数変調方式AFM (FM-AFM) は結晶表面へダメージを与えることなく溶液成長過程を分子オーダーで観察することが可能であり、結晶成長メカニズムを考える上でより直接的な情報を得ることが期待できる。

Fukuma, Kobayashi, Matsushige, Yamada, Appl. Phys. Lett. 86 (2005a) 193108.

Fukuma, Kobayashi, Matsushige, Yamada, Appl. Phys. Lett. 87 (2005b) 34101.

Li, Perozzo, Konnert, Nadarajah, Pusey, Acta Cryst. D55 (1999) 1023.

Morita, Wiesendanger, Meyer (eds.); "Noncontact Atomic Force Microscopy", Springer, NanoScience and Technology (2002).

Rode, Oyabu, Kobayashi, Yamada, Kuhnle, Langmuir (2009) in press.

坂部知平 (監修); "タンパク質の結晶化", 京都大学学術出版会 (2005).

高野和文 (監修); "タンパク質結晶の新展開", シーエムシー出版 (2008).

山田啓文, 表面科学 29 (2008) 221.