

高分子1本鎖の延伸測定による分子内相互作用の評価

岡嶋 孝治 [北海道大学電子科学研究所／助教授]

背景・目的

近年、原子間力顕微鏡(AFM)を用いて、单一高分子を引き延ばし、その弾性挙動を調べることが可能になってきた。この1分子計測は、パレク溶液の測定ではぼやけてしまう基本物性を明確に捉えられる可能性があることから、単にこれまでの研究を補完するのではなく、新しい物性研究の手法として発展することが期待される。AFMの1分子延伸法は、未だそれ自体が発展途上の計測法である。分子内相互作用を定量化するためには、測定の信頼性および精度を向上させる技術の開発が不可欠である。そこで、本研究では、長鎖高分子鎖の分子内相互作用を高精度に評価するための基礎技術の開発を行った。

内容・方法

1分子延伸測定では、探針は高分子と反応性の高い架橋剤で修飾して、探針と分子とを共有結合をさせて延伸する。この化学修飾を行うことによって、单一分子を探針で引っ張り上げる際に、分子と探針との間の”滑り”のアーティファクトを防ぐことができるが、一方で、延伸前後の分子を通常の方法でイメージングすることは困難になってしまふ。化学修飾した探針を用いて基板に吸着した分子を観察するために、探針と試料との間の接触力を従来の方法以上に小さくしてイメージングすることが必要となる。

AFM装置を室温・溶液中で動作させる場合、溶媒の流れや温度変化によるドリフトが存在する。そのため、单一の分子を長時間継続して測定することは非常に難しく、ましてや、温度や溶媒等の外部環境の変化に対する計測を行うことは不可能である。上記2つの問題を解決する方法を研究した。

結果・成果

独自に作成した自励発振系回路を用いて、液中におけるカンチレバーの自励発振状態を調べた。その結果、圧電アクチュエータに与える振幅を大きくするほど、自励発振系の周波数安定性は向上することが分かった。現状の装置では、カンチレバーの振動振幅10nmにおける、周波数誤差は1Hz程度であった。球状タンパク質の1つであるアルブミン分子を劈開した雲母基板に静電的に吸着させ、そのときにイメージングされる分子の高さを、タッピング法と自励発振法とで比較した。その結果、タッピング法で観察される分子の高さは、 3.2 ± 0.3 nmであった。そして、自励発振法で観察された高さは、 3.4 ± 0.6 nmであり、

タッピングモードのそれと同じかそれより若干高いことが分かった。このことは、自励発振法における探針とタンパク質の接触力が小さいことを示唆している。液中におけるカンチレバーの振動では、カンチレバー以外の部位からの振動も重畠されているが、そのような場合でも斥力・引力に対応して正負の周波数変化が得られることが分かった。観察された分子の高さは、”真”的高さよりも、若干低く見積もられ、今後も若干の装置の改良が望まれる。

基板に吸着した分子の一端とAFM探針とを接触させ、基板に対して垂直方向に延伸した場合、探針の移動方向と分子の伸張方向とは完全に一致しない。つまり、従来のAFM1分子計測法は、正確な一軸延伸測定になっていない。そこで、分子が基板と固定している部分と延伸により基板から引き離された部分との間の境界点(以下、剥がれ点、と呼ぶことにする)の垂線上に探針が移動する機構を開発した(特許出願済)。これにより、分子の延伸方向は、基板に対して常に垂直方向になり、測定量であるAFMによる装置の移動距離と、非測定量である分子の延伸距離とを一致させることができる。本手法の利点は、(1)基板上の分子がどのような形状であるのかを延伸測定から判断できること、また(2)基板とカンチレバーとの間の距離で発生する温度ドリフトに追従して探針を制御するため、長時間計測が可能になることである。このような制御を行うソフトウェアを開発して、探針と基板との間の吸着力を排除し、分子の張力のみをフィードバックさせることができた。そして、一定の延伸距離で、延伸中の分子の張力が極小になるよう制御することができるようになった。

今後の展望

本研究で開発・改良した方法を用いて、1分子延伸法の精度・信頼性を向上させることができるとなる。1軸延伸法のフィードバック系を最適化させることにより、これまで不可能であった温度変化や溶媒置換に対する分子の応答を1分子レベルで計測することができる。本手法は、分子内摩擦や分子と溶媒との間の摩擦に起因する粘弾性特性を計測する方法にも応用できる。また、高分子内相互作用だけでなく、高分子間の相互作用を1分子レベルで計測を行う方法を考案した(特許申請準備中)。これらの手法を融合することにより、強力なAFM1分子計測法を実現することができる期待される。