ポリペプチドの STM 観察

Studies of Polypeptides by Scanning Tunneling Microscopy

佐野 正人
Masahito Sano

走査型トンネル顕微鏡 (STM) が開発されてから 10 年以上になり、金属や半導体表面の研究では輝かしい成果を上げてきた。導電性表面に金属の探針 (プローブ) をナノメートルぐらいまで近づけて、両端に電圧を加えると、微量のトンネル電流が流れる。STM は、プローブを走査して、表面での観測点を変えたときのトンネル電流の変化から画像情報を得る。原子分解能を有し、大気中や液体中でも観察可能とあって、当初から有機やバイオ分子の観察も多く試みられた。しかし、STM がトンネル電流を検出する以上、これらの絶縁性物質は導電性基板表面上にナノメートル程度の膜厚の超薄膜として調製されなければならない。その一般的手法が確立されていなかったのが、いままでの STM によるポリペプチド研究の最大の課題であった。

STM と同様にプローブを用いた表面観察法として近年注目されているのが、原子間力顕微鏡 (AFM) やその応用機種で、絶縁体も観察できる長所がある。しかし、現在のところ、STM ほどの分解能が一般に得られていない。また、STM で可能である光、電子特性の測定も、AFM 等では困難な場合が多い。AFM を用いたバイオ分子の実験報告数は年々着実に増加していて、分解能の向上や観察条件の緩和が進んでいるが、ここでは、STM に限定して述べる。

プローブ顕微鏡では、高分解能を得るために、試料表面とプローブ間の距離を分子レベルまで短縮しなければならない。必然的にプローブが試料に加える力は増大し、試料が破損したり、排除されたりする可能性が生じてくる。したがって、より高い分解能を望むほど、超薄膜を基板表面により強く固定しなければならない。また、分子中の炭素や酸素、窒素原子なども、特に識別できる指標のない、似たような形状でしか画像として現れない。そこで、得られた画像を認識するために、周期性のある分子凝集形態が望ましい。

これまでのペプチド分子の STM 観察としては、高配向性グラファイト表面上のグリシンやアラニンを始め数例の報告がある^{1)~3)}。また、ポリペプチドではグラファイト上のポリベンジルグルタメート^{4),5)}や白金上のポリグリシンやポリリシン⁶⁾が報告されている。

これらの研究で、ポリペプチドの個々のアミノ酸基まで分解できていないのは、液晶相や非結晶状態での観測が要因なのかもしれない。いずれの場合も、基板表面上にポリペプチド溶液を垂らし、乾燥させるか、溶液中で自然吸着させるかして、試料を調製している。しかし、この調製法だと、上記の STM 観察のための条件を再現性良く満たすのは、一般に難しいと思われる。

ところで、われわれは、溶液重合を固体表面近傍で行うことにより、生成される高分子が表面でエピタキシャル成長する現象 (Polymerization-Induced Epitaxy, PIE) を研究している。PIE は、表面触媒的な反応や固相重合を伴うのではなく、通常に行われる溶液重合を利用し、すでにさまざまな高分子をエピタキシャル成長させることが観測されている^{7),8)}。バルクの高分子に溶解性があれば、重合後、良溶媒で固体表面を洗浄してアモルファス層を取り除き、エピタキシャル成長している表面層だけを得ることができる。これらの膜は、単分子膜程度の厚さであることが多く、結晶性膜なので高分子が高い周期性で高密度でパッキングされ、物理的にも化学的にも安定している。固体基板が導電体であれば、STM で極めて再現性良く観察できる。

例えば、グラファイト基板を *N*-カルボキシ無水物 (NCA) 溶液中に浸しておいて、第一アミンにより重合すると、グラファイト上にポリペプチドのエピタキシャル成長が起る⁹⁾。停止後、反応溶媒やジクロロ酢酸などで基板を十分洗浄することにより、重合中に沈殿したり、自然吸着した分子を取り除く。このようにしてポリフェニルアラニンを成長させた表面からは、図 1 に示すような STM 像が得られた。また、同じ重合法で生成したポリベンジルグルタメート膜からは図 2 のような像が観察された。画像から、両者の詳細な違いも観察されるので、STM は各々のアミノ酸基を分別する分解能で見ていることになる。これらの画像のパターンから測定された周期は両方ともほぼ同じであり、繰り返しのピッチは 4.6 Å である。バルクで観測される α ヘリックスのピッチ 5.4 Å と一致しないので、エピタキシー特有の構造を呈していると考えら

図1 グラファイト表面上に成長したポリフェニルアラニンのSTM像

図2 ポリベンジルグルタメートのSTM像
分子軸は図の上下方向に伸びていると考えられる。

れる。

個々のポリペプチド分子が規則正しく配列していることは、画像の対称性から明らかであるが、その分子構造をSTM像から直接読み取ることは、現在のところ困難である。これは、STM像が表面近傍での特定のエネルギーを持つ電子の密度に深く関わっているため、ポリペプチドのような複雑な原子組成やコンフォメーションを持つ吸着分子の電子状態や基板表面に対する相対的な配位も考慮しなければならないからである。しかし、他の実験結果と照らし合わせるなどして、構造を推測することはできる。例えば、ポリグリシンでは、グラファイトの表面格子に整合して配位する(逆) β シートに対応する構造でSTM像を説明できた。

先に述べたように、PIEは重合法に依存しないで高分子をエピタキシャル成長できる特長がある。ポリグリシンでは、グリシンの重縮合により、NCAの場合と同様のSTM像が得られた。この手法により、結晶化における分子構造上の問題は別にして、一般に合成可能なポリペプチドがSTMや他のプローブ顕微鏡の観察対象となりうることを示された。これからの課題は、どのようにしてポリペプチドに関する情報をSTM画像から取り出すかにある。

また、構造評価に限らず、光学的、電子的な特性もSTMを利用すれば探索可能である。PIEは、ポリペプチド超薄膜を、個々の官能基が立体化学的に制御されたかたちで、極性ペプチド結合している分子を、2次元的に配列した膜として形成する。エピタキシーに

よる表面での拘束と水素結合による自由度が組み合わさって、新規な分子構造や凝集形態が可能となるかもしれない。STMは、そこから生じるさまざまな物性を原子レベルで研究できる機会を提供できると期待している。

文 献

- 1) L. Feng, C.Z. Hu, J.D. Andrade: *J. Microscopy*, **152**, 811 (1988)
- 2) J. Mou, W.S. Yang: *Ultramicroscopy*, **42~44**, 1025 (1992)
- 3) W.S. Yang, Y. Li, J. Mou, J. Yan: *Ultramicroscopy*, **42~44**, 1031 (1992)
- 4) T.J. McMaster, H. Carr, M.J. Miles, P. Carirns, V.J. Morris: *J. Vac. Sci. Technol.*, **A8**, 648 (1990)
- 5) J.J. Breen, G.W. Flynn: *J. Phys. Chem.*, **96**, 6825 (1992)
- 6) R.J. Wilson, K.E. Johnson, D.D. Chambliss, B. Melior: *Langmuir*, **9**, 3478 (1993)
- 7) M. Sano, D.Y. Sasaki, T. Kunitake: *Macromolecules*, **25**, 6961 (1992)
- 8) 佐野正人: 高分子, **42**, 943 (1993)
- 9) 佐野正人, サンドベリ マッツ, 吉村 進: 高分子年次大会予稿集, **43**, 1082 (1994)

(新技術事業団 パイ電子物質プロジェクト・グループ
リーダー, Ph. D., 専門=高分子物理)