

共同利用研究ハイライト

近接場顕微分光イメージングによる金ナノ微粒子低次元集合構造における電場分布と構造との関係

島田 透 弘前大学教育学部理科教育講座 講師

1. はじめに

近年、ナノテクノロジーの基本材料の一つとして、金属ナノ微粒子が着目されている。金属ナノ微粒子は、そのサイズゆえバルクとは異なる新しい物性を示すことが多いためである。分光分野においては、金や銀などの貴金属ナノ微粒子集合体に分子の光学応答を増強させる特異な性質があることが知られている。このような性質は、表面増強ラマン散乱 (SERS) などに利用され、単分子計測や超高感度センサーの開発などを目指した研究が数多く行われている。

ラマン散乱強度の増大の主な起源は、金属ナノ微粒子の自由電子の集団運動 (表面プラズモン) によって局在した増強電場によるものと考えられている。しかしながら、金属ナノ微粒子集合体に分布する増強電場と粒子配列構造との関係については完全には理解されていない。そこで、本研究では、数

多くの金属ナノ微粒子が集まった集合体として、金ナノ微粒子二次元集合体および金ナノ微粒子一次元構造に着目し、これらの集合体における増強電場の空間分布と微粒子構造との関係を明らかにすることを目的に研究を行った。

2. 走査近接場光学顕微鏡による増強電場分布の可視化

金属ナノ微粒子集合体における光学応答の分布 (増強電場の空間分布) を観察するためには、光の回折限界を超えた十分な空間分解能が得られる走査近接場光学顕微鏡 (SNOM) を用いる必要がある。本研究を計画した当時、分子科学研究所の岡本グループでは、自作した SNOM を用い、金属ナノ微粒子集合体の基本構造である二量体及び三量体に関し、増強電場が粒子間に局在していることを実験的に明らかにしたところであった^[1,2]。このことは、それまでの理論による予測が正しい

とした。

3. 走査電子顕微鏡によるナノ構造の観察

実際に装置を利用させていただき、高空間分解能光学像は得られるものの、同時に得られる形態像はファイバースコープの先端形状が畳みこまれてしまい、金ナノ微粒子低次元集合体中の個々の微粒子形状をはっきりと得ることが難しいことが分かった。そこで、岡本グループ所有の走査電子顕微鏡 (SEM) も利用させていただき、金ナノ微粒子低次元集合体の詳細な構造観察も行った。SNOM で得た電場の空間分布像と、SEM で得た形態像とを対応させる方法の確立を行うことで、金ナノ微粒子低次元集合体における局在電場とナノ微粒子構造との相関を可視化することに成功した。

4. 結果と考察

SNOM 像と対応付けるために射影変換を行った SEM 像と、入射光と平行な偏光成分の発光で観察した二光子誘起発光 (TPI-PL) 像とを重ね合わせた結果を図1と図2に示す^[3,4]。二光子励起確率は、電場の四乗に比例するため、TPI-PL 像は電場分布を反映している。図1と図2は、それぞれ金ナノ微粒子二次元集合体および金ナノ微粒子一次元構造に対する結果である。図1から増強電場が配列構造周辺部に分布していることを明らかにすることができた。理論計算により、このような電場分布が双極子-双極子相互作用によりこの装置を利用させていただくこ

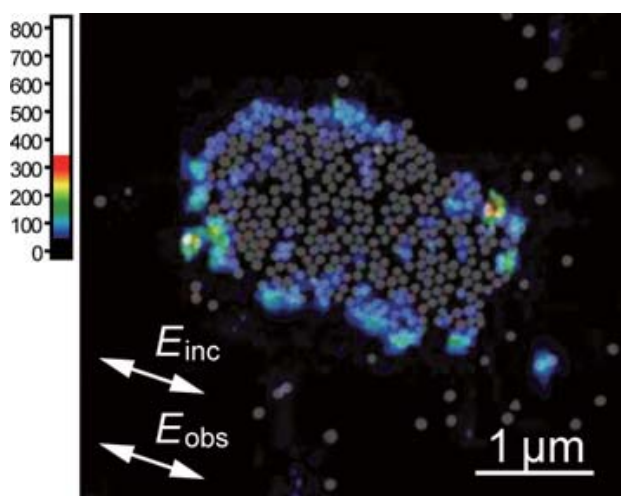


図1 球形の金ナノ粒子 (直径 100 nm) 二次元集合体の走査背電子顕微鏡 (SEM) 像と走査近接場光学顕微鏡 (SNOM) 像を対応付けし、重ね合わせた像。特に強い増強電場は周辺部に分布している。

だ配列構造の結果からは、一次元構造に閉じ込められた増強電場は、一次元構造に均一に分布するのではなく、その両端部に集中することが明らかとなった。さらに理論に基づいた電場分布シミュレーションにより、このような特徴的な光電場の空間構造は、一次元構造を構成するナノ粒子の粒子数と励起する光の波長に依存する可能性があるという結果が得られた^[4]。今後は、一次元構造を構成するナノ粒子の粒子数と励起する光の波長との依存に関しても明らかにしていきたい。

5. おわりに

本研究は、分子科学研究所の協力研究課題として、岡本裕巳教授、井村孝平助教（現 早稲田大学教授）の御協力のもと行われました。とくに岡本教授には、装置の提供だけでなく、実験結果のモデル化や理論計算に関しても、多大なる御協力をいただきました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

分子科学研究所の共同利用制度は、研究予算が乏しく、最先端装置を所有しない若手研究者にとっては、自身の研究室では実現困難な研究アイデアを、貴研究所内の先生に御協力いただきながら実現させることのできる貴重な制度だと考えております。この制度の継続とさらなる充実をお願いしたいと思います。

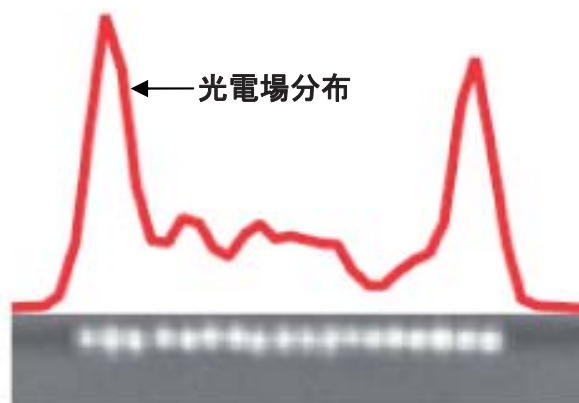


図2 球形の金ナノ粒子（直径100 nm）が18個並んだ一次元構造の走査電子顕微鏡（SEM）像と、走査近接場顕微鏡（SNOM）で測定した光電場の空間構造。増強電場は、一次元構造に均一に分布するのではなく、両端部に局在する。

参考文献

- [1] Kohei Imura, Hiromi Okamoto, Mohammad Kamal Hossain and Masahiro Kitajima, *Chem. Lett.* **35**, 78 (2006).
- [2] Kohei Imura, Hiromi Okamoto, Mohammad Kamal Hossain and Masahiro Kitajima, *Nano Lett.* **6**, 2173 (2006).
- [3] Toru Shimada, Kohei Imura, Mohammad Kamal Hossain, Hiromi Okamoto and Masahiro Kitajima, *J. Phys. Chem. C* **112**, 4033 (2008).
- [4] Toru Shimada, Kohei Imura, Hiromi Okamoto and Masahiro Kitajima, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **15**, 4265 (2013).
- [5] Hiromi Okamoto, Kohei Imura, Toru Shimada, Masahiro Kitajima, *J. Photoch. Photobio. A* **221**, 154 (2011).



しまだ・とおる

2001年早稲田大学理工学部化学科卒業。2006年東京大学大学院理学系研究科博士課程修了、博士（理学）。物質・材料研究機構ナノ計測センター博士研究員、立教大学理学部化学科助教、ベルリン自由大学物理学博士研究員（アレキサンダー・フォン・フンボルト奨学金）、フリッツ・ハーバー研究所物理化学部門博士研究員を経て、2012年より弘前大学教育学部理科教育講座講師。専門は物理化学、特に分光学と表面科学。

Pdナノクラスター触媒による耐熱素材「芳香族ポリケトン」の迅速合成—ナノクラスター触媒との出会い—

前山 勝也 山形大学大学院有機材料システム研究科 准教授

1. はじめに

主鎖が芳香環とケトンカルボニル基から構成される「芳香族ポリケトン」は、耐熱性・機械的特性に優れ、ポリエステルなどのように加水分解性基を含まないことから、酸やアルカリ等に侵されにくいという特長を有している。その中で、1978年にICI社（英）により開発されたポリエーテルエーテルケトン（poly (ether ether ketone), 通称PEEK）は、ガラス転移温度（ T_g ）が143℃、融点（ T_m ）が343℃であり、スーパーエンジニアリングプラスチックの一つとして注目され、特に薬品に侵されにくい点を生かし、HPLCなどの配管等ステンレス代替材料として近年使用されるようになってきている。その一方で、有機溶媒に不溶であり、ウエットプロセス（スピンコート法・溶液キャスト法）による成形加工を行うことができない。

芳香族ポリケトンを合成するにあたり、用いられる重合反応は三通り、すなわち、(1) 芳香族ジフルオリドと芳

香族ジオールを用いる求核芳香族置換反応（PEEKの合成方法）、(2) 電子活性芳香族化合物と芳香族ジカルボン酸（あるいは酸塩化物）を用いる親電子芳香族アシル置換反応（path A）、(3) 芳香族ジハライドの低原子価ニッケル錯体媒介カップリング反応（path B）である。筆者らはこれまで上記芳香族ポリケトンへの溶剤可溶性の付与を目指し、これら三通りの重合反応を用いて種々の溶剤可溶性芳香族ポリケトンの開発を行ってきた。中でも(3)の方法は、出発物質である二官能性芳香族化合物とハロ安息香酸との反応によりハロベンゾイル基を芳香環の適切な位置に導入したモノマーを用いて、高重合反応性を示すニッケル錯体媒介カップリング重合を行うということにより短工程で合成でき、極めて有効な合成ツールであった。

一方、芳香族ハライドと芳香族ホウ酸化合物との鈴木-宮浦クロスカップリング反応も芳香環同士を繋ぐ有力な手法の一つであるが、上記合成ツールに

従って、ハロベンゾイル化したモノマーに対し、芳香族ジホウ酸とのカップリング重合を行っても（path C）、高分子量ポリマーを得ることができなかった。これはケトンカルボニル基の電子求引効果により重合反応性が低下しているためと考えられる。

2. 高活性重合触媒との出会い

図1に示す、ビス（ハロベンゾイル）化されたモノマーを用いる鈴木-宮浦カップリング重合に適用可能な高活性Pd触媒の探索を行うこととし、パラジウム触媒および配位子を種々変えて検討を行ったが、一向に重合度の改善は見られなかった（path C）。

貴所櫻井G（現 櫻井英博 大阪大学大学院教授）において、Pdナノクラスター触媒が新たに開発され、ヨードノルボルネンから光学活性syn-ベンゾシクロトリマーが効率よく合成できることが報告された（Higashibayashi, Sakurai, *Chem. Lett.*, **2007**, 36, 18.）。炭酸ナトリウム存在下、ジオキサン中で酢酸パラジウム(II)、トリフェニルホスフィン、テトラブチルアンモニウムアセテートをかき混ぜることにより反応系内で、パラジウムナノクラスター錯体が形成され、Mizoroki-Heck反応の高活性触媒として機能しているという研究であった。

そこで、この高活性触媒を用いることで筆者らの芳香族ポリケトンの合成にも有効なのではないかと考え、櫻井Gとの共同研究を開始した。櫻井G研究室にてパラジウムナノクラスター触媒の調製方法を実演していただき、筆

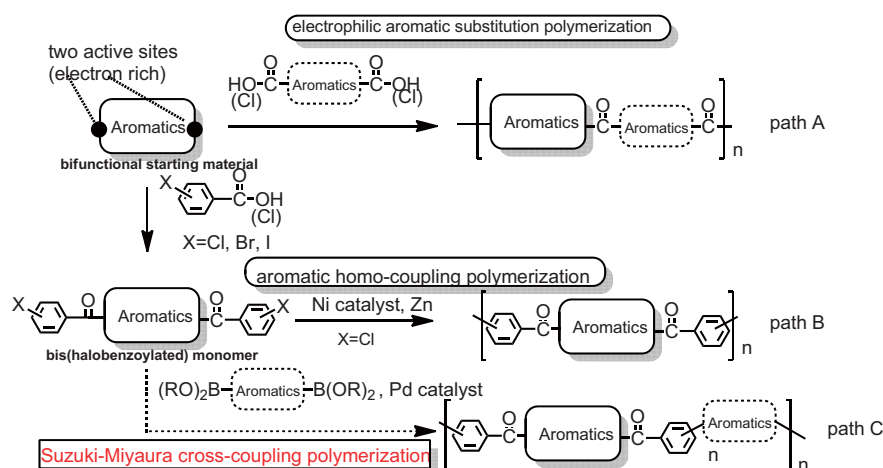


図1 芳香族化合物からの一連の芳香族ポリケトン合成経路。

者も大学院学生を引き連れ、実際に実験をさせていただいた。実際に体験させていただき、ナノクラスター触媒が調製できるとコーヒー牛乳のようになり、徐々に触媒が凝集し失活していくと反応系内が黒く変化していくなど、目でも楽しめる反応であった。大学に戻り、重合度の向上を目指し、ナノクラスター触媒に用いる試薬の再検討を行った。炭酸ナトリウムの代わりに炭酸カリウムを用い、試薬の加え方を工夫することで、反応時間わずか3時間で高重合度のポリケトンを得ることに成功した。得られたポリケトンはガラス転移温度が最大で276 °Cと、芳香族ポリケトンの中では最高水準の高T_gポリマーであった^[1a-c]。

本共同研究によりさらに、 π 共役系の拡張されたジヨード体モノマーを用いることで、蛍光量子収率は低いものの青色発光特性を有する高耐熱有機材料が得られること^[1d]、さらにはジヨード体モノマー1とジビニルベンゼン化合物とのMizoroki-Heck重合同により優れた耐熱性・溶剤可溶性・青～緑色蛍光特性を有するポリアリーレンビニレンケトンを合成できることを明らかにすることができた(図3)^[2]。

本研究を進めるにあたり、光学活性(CD特性)・蛍光特性をはじめとする多くの分析評価・ディスカッション等において、櫻井Gの櫻井英博先生・東林修平先生をはじめグループのみなさまに大変お世話になりました。ここに感謝いたします。

共同研究に基づく成果報告

- [1] a) K. Maeyama, T. Tsukamoto, M. Suzuki, S. Higashibayashi, H. Sakurai, *Chem. Lett.*, **2011**, 40, 1445-1446; b) K. Maeyama, T. Tsukamoto, M. Suzuki, S. Higashibayashi, H. Sakurai, *Polym. J.*, **2013**, 45, 401-406; c) K. Maeyama, M. Suzuki, T. Tsukamoto, S. Higashibayashi, H. Sakurai, *React. Funct. Polym.*, **2014**, 79, 24-28; d) K. Maeyama, T. Tsukamoto, H. Kumagai, S. Higashibayashi, H. Sakurai, *Polym. Bull.*, **2015**, 72, 2903-2916.
- [2] a) T. Tsukamoto, K. Maeyama, S. Higashibayashi, H. Sakurai, *Chem. Lett.*, **2015**, 44, 1780-1782.; b) T. Tsukamoto, K. Maeyama, S. Higashibayashi, H. Sakurai, *React. Funct. Polym.*, **2016**, 100, 123-129.

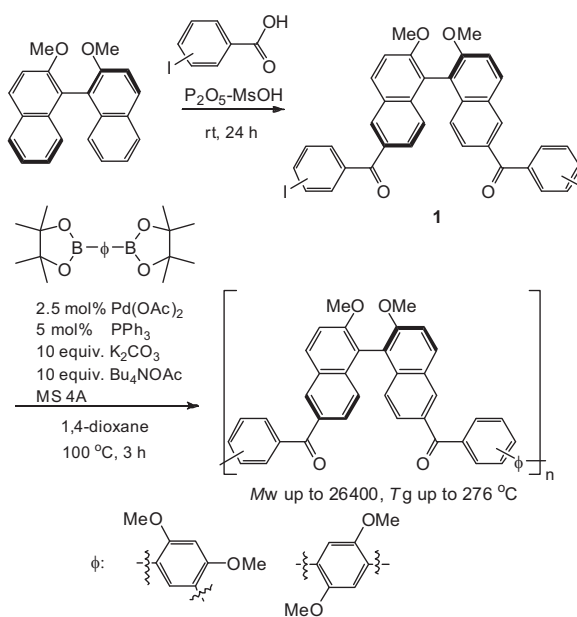


図2 Pdナノクラスター触媒を用いる鈴木-宮浦カップリング重合による溶剤可溶性芳香族ポリケトンの合成。

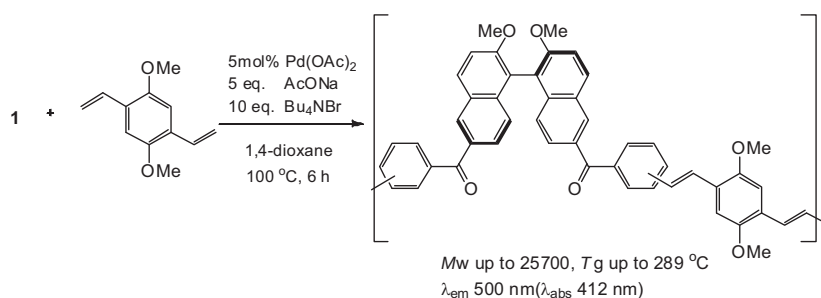


図3 Pdナノクラスター触媒を用いる溝呂木-Heckカップリング重合による溶剤可溶性ポリアリーレンビニレンケトン (PAVK) の合成



まえやま・かつや

1994年東京大学理学部卒業。1998年東京大学大学院理学系研究科博士課程中途退学(1999年東京大学より博士(理学)取得)。1998年東京農工大学工学部助手。2005年同・講師。2009年山形大学大学院理工学研究科・准教授。2016年改組により大学院有機材料システム研究科・准教授(現職)。

研究分野：適切な分子設計・反応設計に基づく高性能・高機能性有機材料を開発・高効率アニオン捕集有機高分子ゲルの開発。

神経変性疾患の病態形成に関わるタンパク質の構造変化

古川 良明 慶應義塾大学理工学部生命機構化学研究室 准教授

1. はじめに

多くのタンパク質は天然構造と呼ばれる個々にユニークな立体構造を構築することで、その生理機能を発揮する。しかし、アミノ酸変異や様々な環境変化が引き金となって、天然構造を構築できずに異常な立体構造を形成することがある。このプロセスは「ミスフォールド」と称され、タンパク質の機能喪失や新たな毒性獲得などを通じて、様々な疾患の発症に関わると考えられている。

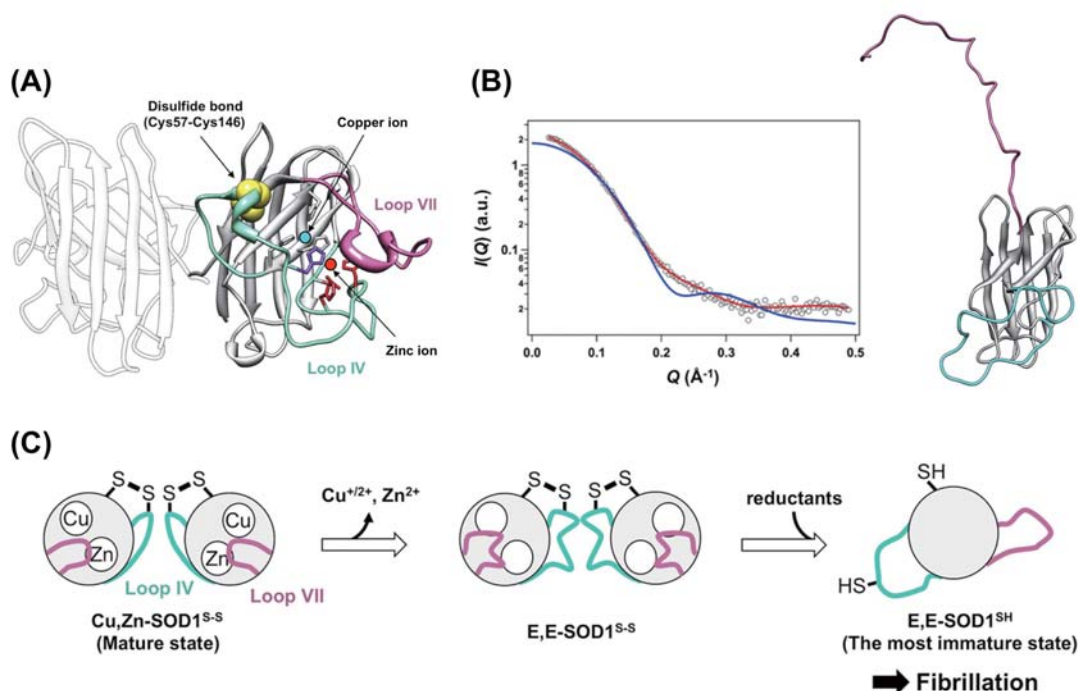
Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD1) 遺伝子の優性変異は、神経変性疾患の一種である筋萎縮性側索硬化症 (SOD1-ALS) の原因となることが知られており、変異に伴う SOD1 タンパク質のミ

スフォールドが疾患発症や病態進行に関与することが提案されている^[1]。しかし、なぜ・どのように SOD1 がミスフォールドするのかは明らかでなく、SOD1-ALS に対する有効な治療・予防法についても未だ確立していない。

2. ミスフォールド型 SOD1 タンパク質の構造解析

SOD1 は分子内にジスルフィド結合を有する金属タンパク質で (図 A)、成熟型の SOD1 は高い熱安定性 ($T_m > 90^\circ\text{C}$) を有していることから、ミスフォールドするとは考えにくい。しかし、金属イオンが解離し、分子内ジスルフィド結合が切断した未成熟型の SOD1 は、 T_m が体温 ($\sim 37^\circ\text{C}$) 近くま

で低下し、天然構造を維持することができずに、線維状に凝集することが知られている^[2]。そこで我々は、ジスルフィド切断型 (SOD1^{noCys})、及び、ジスルフィド結合型の SOD1 (SOD1^{S-S}) について、円二色性 (CD) 分光法を利用した二次構造レベルでの評価を行った。その結果、ジスルフィド結合が切断すると、 β -strand に特徴的な CD スペクトル (208 nm に負のピーク) から、不規則構造に特徴的なスペクトル (200 nm に負のピーク) へと変化することが分かった^[3]。また、ジスルフィド結合の切断が SOD1 の構造に及ぼす影響を残基レベルで明らかにするために、二次元 NMR (^1H - ^{15}N HSQC) を利用した H/D 交換法による検討を進めたところ



(A) SOD1の結晶構造。(B) SAXSで得られたSOD1^{noCys}の散乱曲線(○)は、結晶構造から予測される散乱曲線(青色)とは一致しないのに対して、Loop IV/VIIが大きく揺らいだ状態(右図)を考慮することで予測される散乱曲線(赤色)でうまく説明できる。(C) 本研究で提案するSOD1の線維化メカニズム。金属イオンの解離とジスルフィド結合の切断によって、Loop IV/VIIの構造が大きく揺らぎ、通常はタンパク質内部に埋もれている領域が露出する。

ろ（北海道大学・石森研との共同研究）、SOD1の2つのループ領域（ループIV, VII：図A）の揺らぎが特に増大することが分かった^[3]。一方で、SOD1の構造的なコアを構成する β -barrel領域への揺らぎに対しては、ジスルフィド結合の有無が及ぼす影響は小さいと考えられた。さらに、X線小角散乱（SAXS）を駆逐することで、ジスルフィド結合の切断がSOD1の溶液中での形状に与える影響について検討した^[3]。散乱曲線のギニエプロットから得られるSOD1^{S-S}の回転半径（ $21.5 \pm 0.2 \text{ \AA}$ ）は、結晶構造（天然構造）から予測される値（ $20.9 \text{ \AA}$ ）と良く一致し、二量体を形成していることが確認された。一方で、SOD1^{noCys}は単量体化し、その回転半径（ $18.4 \pm 0.2 \text{ \AA}$ ）は結晶構造から予測される値（ $15.5 \text{ \AA}$ ）よりも大き

いことが分かった。そこで、NMRやSAXSデータに基づく構造モデリングを行うと、ジスルフィド結合の切断に伴って、ループIV, VIIが不規則構造として揺らぎ、SOD1の構造的なコアである β -barrel領域が溶媒側に露出した形状になることが示唆された（図B）。このような内部構造の露出がSOD1分子間の異常な相互作用につながり、線維状に凝集する原因になると考えられる（図C）。現在は、本課題で得られた未成熟型SOD1の構造的特徴を利用することで、SOD1のミスフォールド過程をターゲットとしたSOD1-ALSの新たな予防・治療法の開発に挑んでいる。

3. おわりに

本研究において、CD、及び、SAXSを用いた実験は、分子科学研究所の秋

山修志教授、向山厚助教との協力研究として行なったものである。特に、SAXSについては、装置の扱い方や測定手法はもちろんのこと、サンプル調製に関する指導から、具体的なデータ解析に至るまで、手取り足取りのお世話になった。単なる装置利用に留まらず、有効かつ友好的な共同研究として大いに勉強させて頂いた。共同利用システムの多大な恩恵を受けたことに感謝するとともに、同システムのさらなる発展を期待する。

参考文献

- [1] Rosen et al. *Nature* **1993** 362 59.
- [2] Furukawa et al. *J Biol Chem* **2008** 283 24167.
- [3] Furukawa et al. *J Biol Chem* **2016** 291 4144.



ふるかわ・よしあき

2002年京都大学大学院工学研究科分子工学専攻修了、博士（工学）取得。米国ノースウェスタン大学でのポスドク（海外学振など）、理研・脳科学総合研究センターでの研究員（基礎特研など）を経て、2010年4月より現職。
専門：生物無機化学、タンパク質化学
趣味：クワガタ飼育