

単一高分子鎖の非平衡ダイナミクスと粘弾性計測

東京学芸大学教育学部・准教授 影島賢巳

1. 初期の研究目標と実際の研究推進

タンパク質などの生体高分子の天然構造形成過程（フォールディング）は、天然状態という自由エネルギーの極小へと向かう非平衡過程と見なせる。また、生体高分子には孤立もしくはそれに近い状態で機能・性質を発揮するものが多いため、一連の単一分子計測において計測されている状態は、現実の系の挙動に近いも考えることができる。

一般に高分子鎖は階層的な空間構造と緩和時間を持つので、フォールディング時間を、粘弾性に起因する階層的緩和時間の重ね合わせと考えれば、粘弾性スペクトルはそれを周波数で切り分けたものと見なせる。そこで、単一分子計測手法の中でも粘弾性計測に適する原子間力顕微鏡(AFM)を単一高分子鎖の粘弾性スペクトルの計測に用い、その外力による構造相転移との相関を探ることを考えた。磁場によって広帯域で力センサーに変調を加える機能を有する AFM を独自に開発し、試験的に単一分子鎖の粘弾性応答を計測する成果を得ていたので[1]、本研究では、この装置をさらに高度化して、外力による分子鎖の相転移と粘弾性スペクトルの関係から分子の非平衡応答の時間スケールを議論する方針で研究を実施した。

2. 研究成果

2-1. デキストラン単一分子鎖の粘弾性スペクトルと外力の関係

本研究では、デキストランの単一分子鎖を取り上げた。この分子は、ピラノース環が多数連なった構造を持ち、分子鎖に 700-800 pN 程度の張力が加えられると、個々のピラノース環が構造相転移を起こし、分子鎖全体が伸長する。水中でガラス基板上に吸着させたデキストラン分子鎖の一部を、窒化シリコンの AFM 探針に物理吸着させて引き揚げ、分子に印加される張力が 360 pN と 720 pN の 2 状態でそれぞれ保持しながら力センサーに 1kHz から 1MHz まで周波数掃引変調を印加し、振動伝達関数を計測した。力センサーの 1 次および 2 次共振周波数に相当する 19 kHz, 120 kHz に加

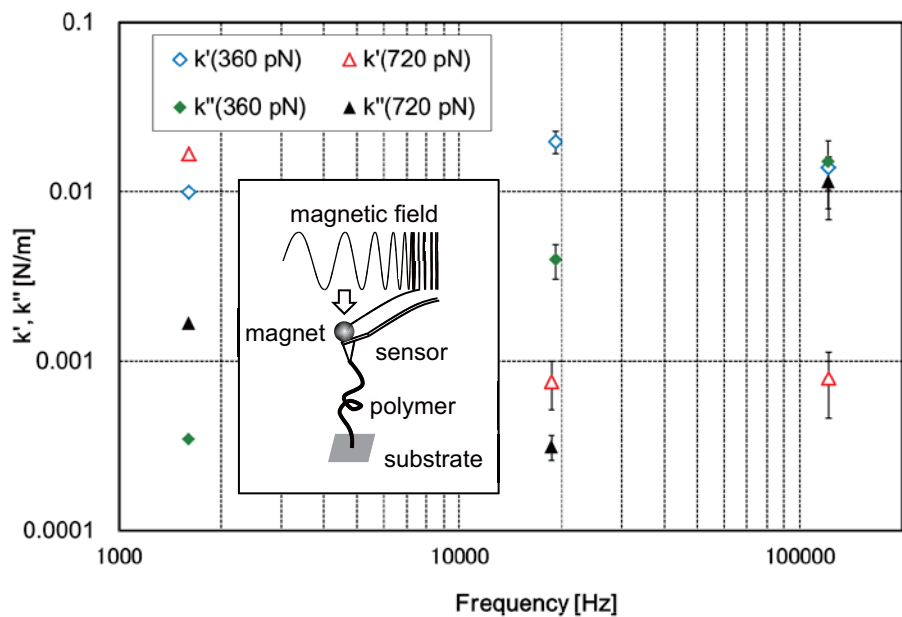


図1 張力 360 pN と 720 pN の 2 状態について 3 周波数で測定したデキストラン単一分子鎖の粘弾性（挿入図は測定の模式図）

え、共振より十分低い約 1.6 kHz の 3 つの周波数について、粘弾性を算出し比較した。結果を図 1 に示す。ピラノース環が相転移を起こすと貯蔵弾性(k')、損失弾性(k'')ともに減少している様子が認められる。最も感度の高い 19kHz でのデータに特に顕著であるが、120 kHz でのデータにも兆候がうかがえる。しかし、これらの変化からは、これ以上系統的な解釈を導き出すことは困難であった。周波数掃引に 10 秒近い時間を要するため、印加される張力の制御が温度揺らぎやノイズの影響で困難になったことが考えられる。

2-2. AFM を用いたステップ応答計測による粘弾性計測の検討

上記の計測は、測定可能な周波数が離散周波数に限られ、さらに、分子を捕捉した状態で周波数を掃引するために長い時間を要する。そこで、相補的な方法として、ステップ応答計測法を試行した[2]。試料と相互作用している力センサーの、ステップ力に対する応答を計測すれば、力センサーと試料の合成系の複素コンプライアンスが得られる。試行系として、親水性のマイカ表面と相互作用する水を用いた。ステップ応答計測を実現するため、水中で力センサーにステップ力を印加した際に、共振によって生じる複数周波数でのリングングをアクティブダンピングで抑圧した。純水中で探針がマイカ基板から約 600 nm 離れた状態(図 2 “mild”)と、約 3 nm 離れた状態(同 “strong”)について、500Hz の矩形波状の力を力センサーに印加してステップ応答を計測した。500Hz の矩形波の場合 256 回の積算でも 1 秒程度で計測できるため、温度揺らぎやノイズの影響をより低減できる。得られたステップ応答をフーリエ変換して得た複素コンプライアンスを図 2 に示す。実部の低周波数端には、“strong”状態で矩形波のパルス幅が短いために生じたアーティファクトもあるが、ほぼ全帯域で実部、虚部ともに基板との相互作用で抑圧される様子が見られ、計測の有意性を示している。

この手法は、AFM を用いた連続周波数で高速な粘弾性スペクトル計測を可能にし、緩和などの非平衡応答計測への応用も可能であり、ソフトマター一般の微視的物性計測に貢献しうる手法である。

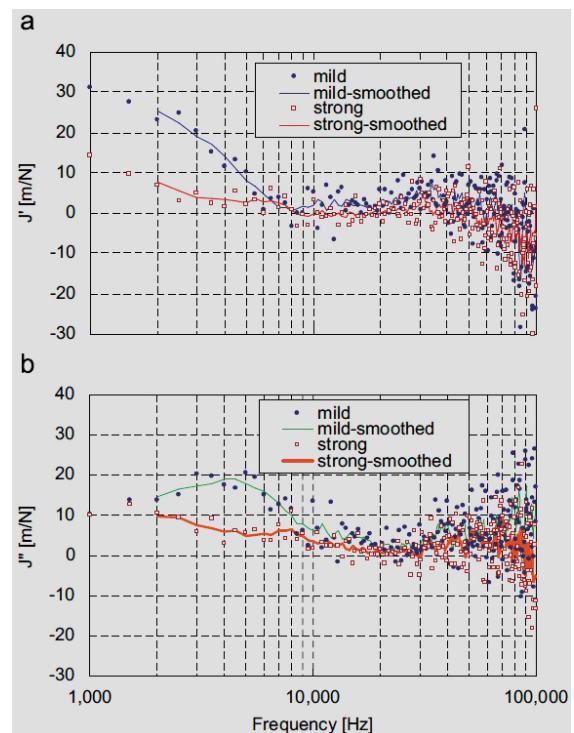


図 2 カセンサーと水の合成系のコンプライアンスの実部(a)および虚部(b)

<参考文献>

- [1] M. Kageshima, T. Chikamoto, T. Ogawa, Y. Hirata, T. Inoue, Y. Naitoh, Y. J. Li, and Y. Sugawara, Rev. Sci. Instrum. **80** (2009) 023705.
- [2] T. Ogawa, S. Kurachi, M. Kageshima, Y. Naitoh, Y. J. Li and Y. Sugawara, Ultramicroscopy, **110** (2010) 612-617.