

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「新機能創出を目指した分子技術の構築」
研究課題「新しい電子顕微鏡科学を基軸とした
ゆらぎ分子システムの分子技術」

研究終了報告書

研究期間 2014年10月～2020年3月

研究代表者：中村 栄一
(東京大学大学院理学系研究科
特任教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

本研究は、「電子顕微鏡を化学の基盤的ツールとして確立する」ことを究極目標として、電子顕微鏡学的 (Electron microscopy) 基盤技術の研究を行うのみならず、研究グループ内および外部との共同研究を通して、分子の関わる諸分野の研究における具体的な問題の解決に取り組むことで「分子電子顕微鏡学 (Molecular electron microscopy)」の確立を目指した研究を遂行した。5年間の研究によって、分子科学と分子技術の間に横たわるボトルネックである「ナノ・メゾスコピック領域でのゆらぎ分子システム」の解析と制御、および生命の本質である「制御された構造ゆらぎの解明」において大きな成果を得た。具体的には、高分解能電顕 (原子分解能透過電子顕微鏡 (TEM)、特に単分子実時間電顕動画撮影 (SMART-EM) とサブナノメートル分解能の走査電子顕微鏡 (SEM)) を有機化学の新しい研究手段として確立することを中心課題に据え、この技術と既存の構造解析法および合目的物質合成手法の開発とを組み合わせる研究を遂行した。大学及び企業との共同研究を通して、そこでしばしば問題になる分子集合体と結晶生成の科学・技術の展開、グリーンケミストリーの根幹となる高効率低環境負荷触媒の有機合成、今後の電気・電子産業の担い手となることを期待されている有機エレクトロニクスに注目して研究を行い、グリーン、ライフイノベーションや元素戦略の展開に寄与する科学・技術の基盤を構築に貢献する成果を得た。

東京大学に2016年に設置された直接電子検出カメラを持つ最新鋭の原子分解能電顕の利活用を研究の要に据え、中村Gと柳澤Gが協力して3年間かけてこれを立ち上げた。ここにSEMイメージング法と従来分析手法を組み合わせ、グループ外研究者も巻き込んで金属ナノ粒子、ミセル、ベシクル集合体形成、ペプチドなど分子集合体や巨大分子のゆらぎ構造の研究の基盤を確立した。その結果、TEM画像取得の自動化プログラム開発 (柳澤G)、単分子有機分子の動きの定量化 (中村G)、TEMトモグラフィーによる単分子タンパク構造決定の解像度向上 (柳澤G)、単一金クラスターの原子配列の決定 (山添G、柳澤G) で成果を挙げた。また低着地電圧SEMによる分子集合体の観察により、ナノ構造表面でのタンパク分子、金クラスターおよび金属触媒の集合と機能制御に成功し (中村G)、有機薄膜および鉛ペロブスカイト太陽電池のnmレベルの薄膜内での相分離機構を解明して (中村G)、企業と共同して行う塗布印刷型太陽電池の実用化に貢献した。

以上の成果の基盤になるのが、単分子観察のためのサンプリング手法の開発とゆらぎ分子系の高速度動画解析技術の開発という分子顕微鏡学の基盤研究である。化学反応の中で次々と生成しては消えていく中間的生成物 (反応中間体) の一分子一分子を溶液中で捕捉し、反応中間体の構造を原子分解能TEM観察により決定する手法を開発した。このような中間体は一つ一つ構造が異なる上に、反応溶液中では平衡によりたえず構造変化しているため、実験的に構造を捉えることは困難とされてきた。そこで反応中間体に強い親和力を持つ「分子の釣り針」をカーボンナノチューブに装着し、このナノチューブを反応容器に入れて反応を行い、急冷と濾過により素早く反応を止めることで、反応進行の各段階で生じる一連の中間体を釣り針上に捕まえ、一網打尽に構造解析することに成功した。本研究で最初に取りあげたのが、ガス貯蔵材料や触媒として用いられるMetal-organic framework (MOF) の中間体の捕捉である。MOF-2、MOF-5と呼ばれる構造体の生成中間体である、一次元から三次元構造を持つ集合体 (クラスター) の構造を原子レベルで決定し、その統計情報から微小な分子集合体が結晶へと成長する反応機構を解明した。この成果は分子電子顕微鏡学のマイルストーンとなるものであり、未知化合物の同定や人工的な化学合成反応の中間体に加え、天然の鉱物や骨などのミネラル生成のような材料形成の反応解析に適用でき、高効率化学反応の開発や生命現象の解明につながると期待される。

(2) 顕著な成果

本研究は、分子電子顕微鏡学の基盤となる科学技術開発を中村グループを中心として実施する一方で、グリーン、ライフイノベーションや元素戦略の展開にかかる様々な研究行っている研究グループ内および外部の研究者との共同研究を通してそこにおける具体的な問題点を解決することによって、分子顕微鏡学の確立を目指した。前者が「分子技術としての特筆すべき成果」に、また共同研究として行った後者の研究が「科学技術イノベーションに大きく寄与する成果」に分類される。

<優れた分子技術としての特筆すべき成果>

1. 化学反応における微量中間体の直接構造解析に成功

概要：化学反応の中で次々と生成しては消えていく反応中間体の一分子一分子を溶液中で捕捉する「化学釣り針」手法を開発した。従来の分析手法では、溶液中で生起するさまざまな化学反応中間体の混合物の平均的な分子像、またはごく一部のものの解析しかできなかったが、本手法によりこれまで未知であった反応中間体の構造を電子顕微鏡を用いて決定することに成功した。材料科学から生命化学にわたる幅広い学術的応用や産業応用が期待される。

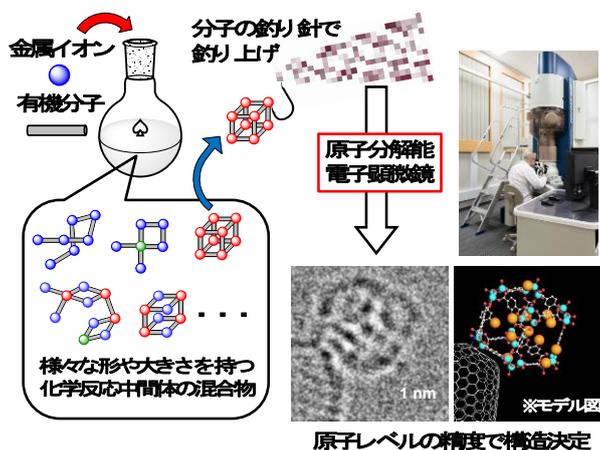


図 1-1. 「化学釣り針」概念図、有機金属構造体 (MOF)生成に関する中間体の解析に成功

2. 量子力学が予言した化学反応理論を初めて実験で証明

概要：量子力学的遷移状態理論は、一つ一つの反応はランダムに起きるが平均すれば一次反応速度式に従う挙動を示す、と述べる。我々は、一次元に配列した分子の化学反応を電子顕微鏡で一つ一つ観察し、そのイベントを積算することでこの記述が正しいことを初めて実験的に示した。わずか数百個の分子を観察するだけで速度論解析が行えるこの研究手法は、分子構造の変化を個々の量子力学的イベントとして解析できる手法として分子科学研究の革新をもたらすであろう。

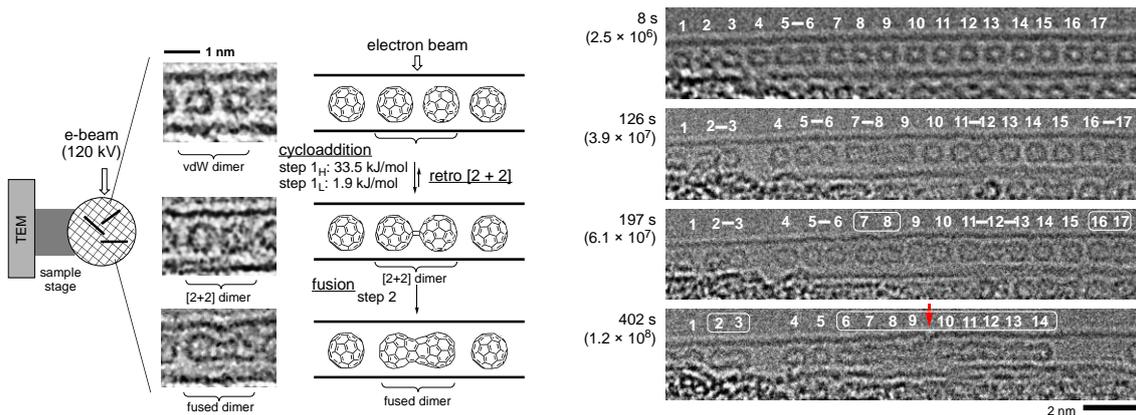


図 1-2. 電子照射によるフラーレン二量化反応(左)、および化学反応が進行する過程をとらえた透過電子顕微鏡像(右)

3. 単一有機分子の配座変換の実時間観察と加速電圧による制御に成功

概要: 相互相関係数を用いた TEM 動画の定量解析を通して、TEM 条件下における分子運動のメカニズムを解明した。すなわち、孤立した有機分子の動きは、従来考えられてきた入射電子のエネルギーではなく、試料との散乱断面積と正の相関を持つことが明らかとなった。この発見に基づき、長さ4ナノメートルの有機分子の配座変換を数分にわたる動画として記録し、柔軟な鎖状部位が芳香族部位に比べより活発に配座変換する様子を実験的に捉えることに成功した。

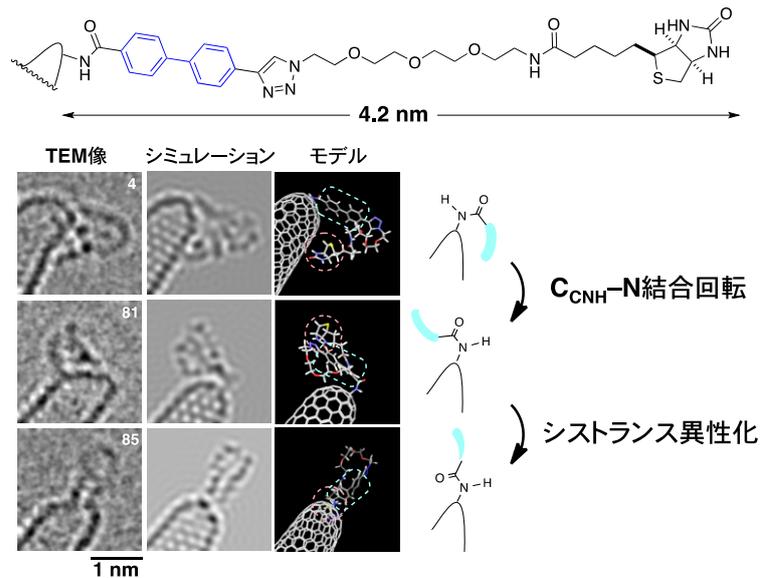


図 1-3. カーボンナノホーンに結合した鎖状分子の配座変換. 加速電圧 80 kV で撮影. 図中の番号は撮影開始からのフレーム数(1フレーム=0.4 秒)

< 科学技術イノベーションに大きく寄与する成果 >

1. 有機無機ハイブリッド太陽電池の生成機構解明

概要: 塗布印刷型太陽電池開発の鍵は 50-500 nm 厚の薄膜のナノ構造解析と制御である。1 nm を切る空間解像度を持つ走査電子顕微鏡を駆使して、有機固体と相分離微細構造の解析を行った。その結果、二種の低分子有機材料からなる単独の材料よりも高い効率を示す有機固体を発見した。また、鉛ペロブスカイトの生成機構を解明することで、結晶モルフォロジーの制御を達成した。企業との密接な共同研究を通して塗布印刷型有機太陽電池の実用化に貢献した。

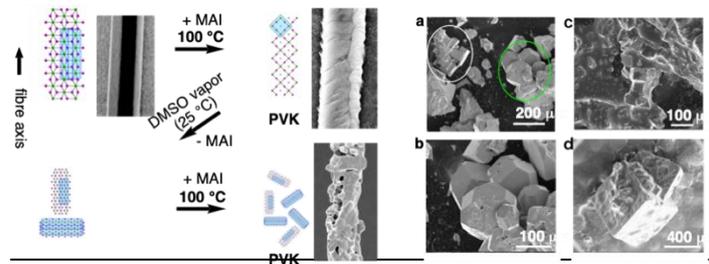


図 1-4. (左)ヨウ化鉛からペロブスカイト結晶生成経路. (右)鉛ペロブスカイト結晶生成とクエン酸添加による結晶モルフォロジー制御. 通常の $\text{MA}^+\text{PbI}_3^-$ の長菱形十二面体 (a 緑丸) と融合直方体結晶 (白丸) およびクエン酸と塩化物イオンの添加で大きく成長した直方体結晶 (c, d)

2. 階層的集積化を鍵とした低毒性薬剤輸送システムの機構解明

概要: カチオン性フラレンを薬剤輸送キャリアとして用いた肺選択的 siRNA 輸送システムについて、フラレンと siRNA の血中における複合体形成を顕微鏡観察を中心とした分析手法により追跡した。その結果、血中において siRNA とフラレンのサブミクロンサイズ集合体が血清タンパク質とさらに階層的に集積化しミクロンサイズ凝集体となり、肺の毛細血管へ選択的に蓄積され、肺選択的輸送を実現していることが明らかとなった。東京大学医学部附属病院の研究者との密接な共同研究を通じて、低毒性の薬剤輸送システムの開発に繋がる成果を挙げた。

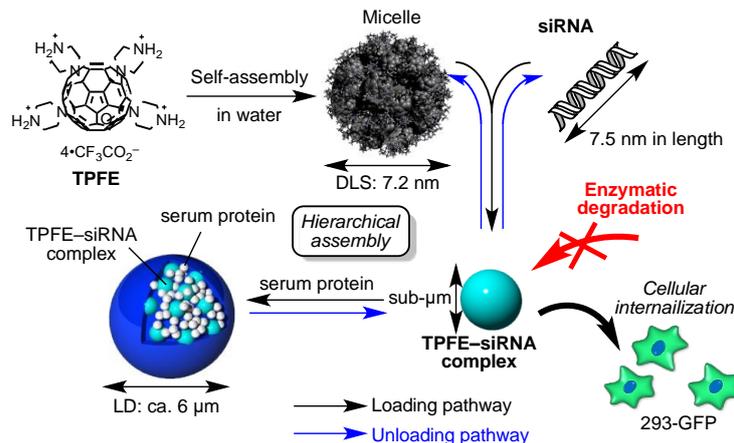


図 1-5. カチオン性フラレン・siRNA および血清タンパク質による階層的集合体形成と細胞への薬剤輸送

3. 真空下でも水が漏れないナノ小胞体を開発

概要: 独自開発したコニカル両親媒性フラレン分子の自己集合により形成する直径 28nm の二重膜ベシクルについて、中性子散乱法および高分解能電子顕微鏡観察によりベシクル構造および二重膜の物質透過能を精査した結果、脂質膜に比べ最大 10 億倍水を通しにくく、真空中でも水を保持する特異な性質を有することを明らかにした。特に電子顕微鏡観察において、 10^{-10} 気圧という高真空下においても内水相に由来する水分子からの酸素原子のシグナルが検出された。このようなナノスケールの器に閉じ込められた水相の物理化学性質に興味を持たれると共に、電子顕微鏡により水相内の分子・ナノ材料の動的挙動を追跡できる可能性を秘めている。ドイツのハイデルベルク大学との長期にわたる共同研究の成果である。

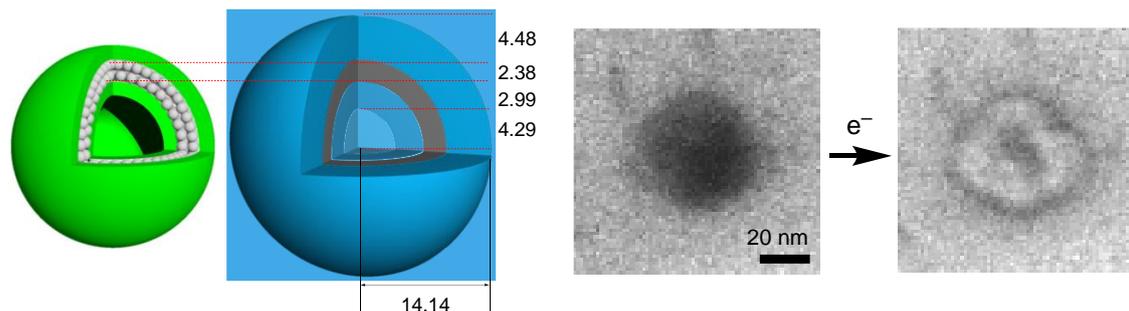


図 1-6. コニカル両親媒性フラーレンから形成される二重膜ベシクルの中性子散乱から求めた各層の構造(左、単位ナノメートル)、および、化学的に不安定化した膜に対して電子照射を行うことにより水が失われる過程をとらえた走査透過電子顕微鏡像(右)

<代表的な論文>

1. Electron Microscopic Observation of Selective Excitation of Conformational Change of a Single Organic Molecule, R. M. Gorgoll, E. Yücelen, A. Kumamoto, N. Shibata, K. Harano, E. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.*, **137**, 3474-3477 (2015).
2. Direct Microscopic Analysis of Individual C₆₀ Dimerization Events: Kinetics and Mechanisms, S. Okada, S. Kowashi, L. Schweighauser, K. Yamanouchi, K. Harano, E. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.*, **139**, 18281-18287 (2017).
3. Atomistic Structures of Reaction Intermediates in MOF-2 and MOF-5 Syntheses, J. Xing, L. Schweighauser, S. Okada, K. Harano, E. Nakamura, *Nat. Commun.*, in press.

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 「中村」グループ

- ・研究代表者: 中村 栄一 (東京大学大学院理学系研究科研究科 特任教授)
- ・研究項目
 - ・非周期性有機固体、分子集合体、有機単分子系の構築と電子顕微鏡観察
 - ・サンプリング技術開発
 - ・有機分子の溶液中や固体中での相分離や結晶化の機構の解明
 - ・分子集合体の観察
 - ・結晶化プロセスの合理化
 - ・生体分子観察技術開発

② 「柳澤」グループ

- ・主たる共同研究者: 柳澤 春明 (東京大学大学院医学系研究科 講師)
- ・研究項目
 - ・直接電子検出カメラを用いた生体分子の高解像度構造解析
 - ・新規有機材料の電子線トモグラフィ法による観察と生体分子観察への応用
 - ・microED 法による低分子有機化合物の構造決定

③ 「山添」グループ

- ・主たる共同研究者: 山添 誠司 (首都大学東京大学院理工学研究科 教授)
- ・研究項目
 - ・高分解能 TEM による極細金ナノロッド・ワイヤーの構造評価
 - ・高分解能 TEM による有機配位子保護金クラスターの直接観察
 - ・精密合成した担持金属クラスターの構造評価およびその触媒作用の解明
 - ・金属酸化物クラスターの塩基触媒応用

④ 「荒牧」グループ(平成 29 年 3 月 31 日まで)

- ・主たる共同研究者: 荒牧 晋司 ((株)三菱化学科学技術研究センター 主席研究員)
- 「松田」グループ(平成 29 年 4 月 1 日から)
- ・主たる共同研究者: 松田 広久 (三菱ケミカル(株) Science & Innovation Center 主任研究員)
- ・研究項目
 - ・産業応用における TEM-SEM 将来像の調査研究

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

CREST 領域内では今野 T と協同でイオン性固体の触媒活性と結晶形態の相関を高分解能顕微鏡観察で明らかにし、共著論文発表を行った。また分子技術さきがけの藪博士とは高分子・金属ナノ粒子ハイブリッドの SEM による三次元構造解析で共同研究を行い、共著論文発表を行った。分子技術領域外では、TEM、SEM、中性子散乱を融合した統合電顕分析についてハイデルベルク大の田中求教授、原子分解能 TEM 観察によるナノシート構造解析において西原寛教授、高分解能 SEM による有機無機ハイブリッド材料の解析について東京大学平岡秀一教授、お茶の水大学三宅亮介講師との共同研究を行い、それぞれ共著論文を発表した。またゆらぎ分子システムの研究対象拡大を領域外にも求め、スイス連邦工科大学チューリヒ校、カルフォルニア大学アーバイン校、ノースウエスタン大学、ケンブリッジ大学、ブリストル大学などと連携を進めている。

世界初の取り組みである超高速撮像素子を用いた単分子原子分解能電顕観察は、電顕の開発元である日本電子株式会社、撮像素子の開発元である米国 Gatan 社と密に連絡を取り合い、データを蓄積している。