

水素結合を介した DNA 塩基分子の 2 次元超構造形成

—STM が明らかにした表面分子の世界—

川合知二・田中裕行・中川孝臣・古川雅士

大阪大学産業科学研究所 ☎ 567-0047 大阪府茨木市美穂ヶ丘 8-1

(1997 年 10 月 30 日受理)

Formation of Two Dimensional Superstructure of DNA Base Molecules through Hydrogen Bonding

Tomoji KAWAI, Hiroyuki TANAKA, Takaomi NAKAGAWA and Masashi FURUKAWA

ISIR-Sanken, Osaka University
8-1 Mihogaoka, Ibaraki, Osaka 567-0047

(Received October 30, 1997)

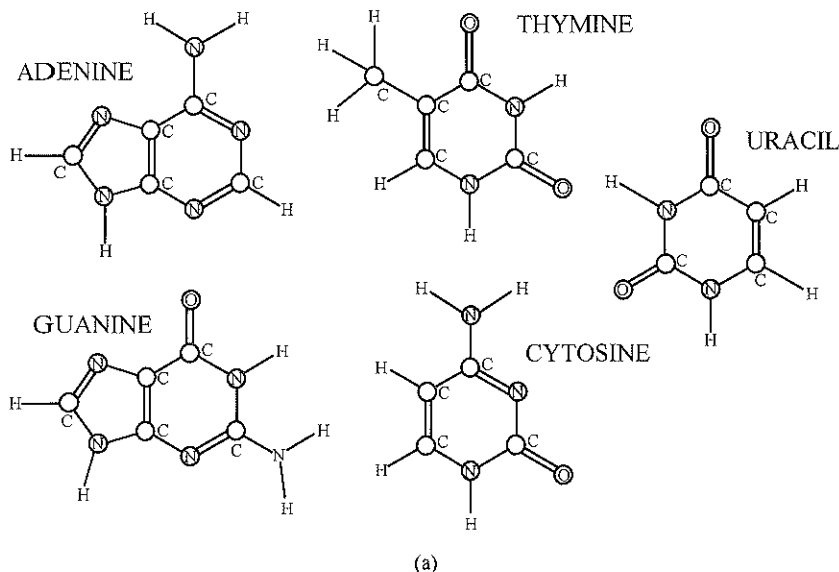
Scanning tunneling microscopic observations at room temperature and 70 K have revealed that the DNA and RNA base molecules which are randomly dispersed on Cu(111) surfaces self-assemble to form two dimensional superstructure through the interaction of hydrogen bonding.

1. は じ め に

DNA はリン酸-糖鎖に沿って配列した塩基分子間の水素結合を介して 2 重らせん構造を形成し、それによって遺伝情報が複製・伝達されることはよく知られている。このように水素結合は DNA の情報伝達メカニズムにおいて最も重要な役目を果たすのであるが、ここで紹介する研究の興味は、これら DNA の塩基分子 (Fig. 1 (a)) をリン酸-糖鎖から解き放ち、固体の表面にばらまいた時に、一体どのような分子集合体の世界が展開されるのだろうかということである。本稿でこれから示すように、固体表面に吸着した塩基分子は特定の方向を向いた水素結合を介してみずから組織化し、華麗な 2 次元超構造の世界を形づくることを、STM (走査トンネル顕微鏡) は明らかにした。この 2 次元自己組織化の現象は、Fig. 1 (b) に示すように、固体表面にランダムに着地した分子の“無秩序から秩序ある状態の創成の現象”と意義づけることができる。ここで、私達は、塩基分子が生きもののように、表面をはいまわりきわめて個性的な 2 次元超構造を形成することを分子スケールで目のあたりにすることとなる。

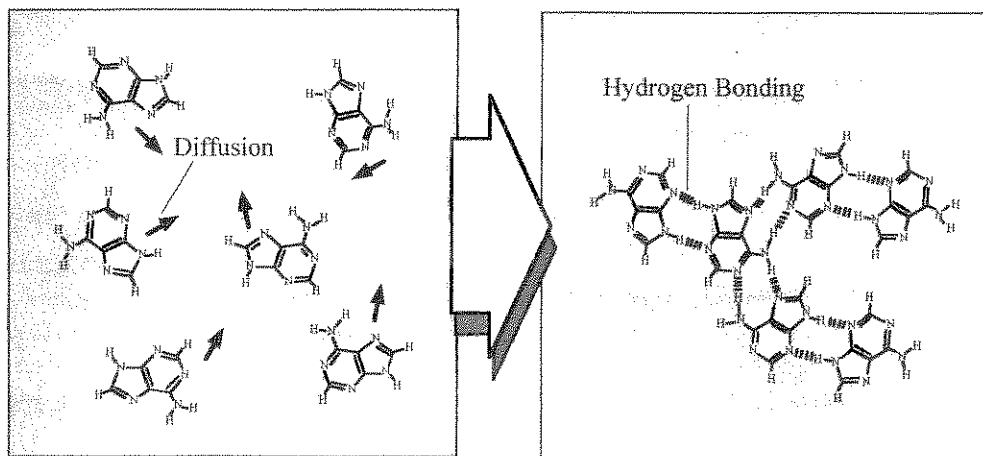
この研究は、4 種類の DNA 分子 (アデニン (A), チミン (T), グアニン (G), シトシン (C)) および RNA 分子 (ウラシル (U)) を固体表面上に蒸着し、そこで起こる自己組織化現象を STM で分子スケール観察することにより行う。

そもそも、固体表面に飛来し、ランダムに着地した分子は、その後どのようにふるまうのだろうか？ これについて考えるべき重要な要素は、分子と表面との相互作用の強弱 (吸着エネルギー)、原子スケールでの表面凹凸 (表面コラゲーション) と拡散のしやすさおよび分子どうしの相互作用の強さである。パラジウム (110) 面^{1, 2)} やシリコン (100) 面³⁾ 等では d 軌道や sp³ 共有結合を通して、分子が表面に強く吸着し、また、表面の大きなコラゲーションのために、拡散が起こりにくいが、Cu (111) 表面では、表面コラゲーションが小さく、DNA 分子の表面拡散障壁が低いために、吸着した分子は容易に表面を移動、拡散する。やがて他の分子と出会い、そこで水素結合を介して新たな 2 次元超構造を形成していく。これが本稿の主題である。そこで、まず、Cu (111) という舞台の上で、役者を演じる 5 種類の核酸塩基の分子構造を Fig. 1 (a) でよく見てみよう。ここで、N, N-H,



Randomly Dispersed Molecules

Microscopic Superstructure



Generation of Ordered State from Disordered State

Fig. 1 (a) Molecular structures of four kinds of DNA base molecules; Adenine (A), Thymine (T), Guanine (G) and Cytosine (C). Uracil (U), the RNA base molecule, is also presented. These molecules can be connected through hydrogen bonds, $N\cdots H\cdots N$, $O\cdots H\cdots O$ or $N\cdots H\cdots O$. (b) Adenine molecules are dispersed randomly on a Cu(111) surface to migrate and form two dimensional superstructure through hydrogen bond between molecules.

O など特定の箇所で決まった方向に $N\cdots H\cdots N$, $N\cdots H\cdots O$, $O\cdots H\cdots O$ の水素結合が形成されることとなる。Fig. 1 (b) には、アデニンを例として、表面に無秩序にバラまかれた分子が表面を拡散し、水素結合を介して独特な超構造を形成する様子が模式的に示されている。

2. DNA 塩基分子の 2 次元自己組織化 STM 像

Fig. 2 に、4 種の DNA 塩基分子が、それぞれ Cu(111) 表面に室温で蒸着された時生じる自己組織化パターン分子スケール STM 像を示す^{4, 5)}。4 種の塩基によって

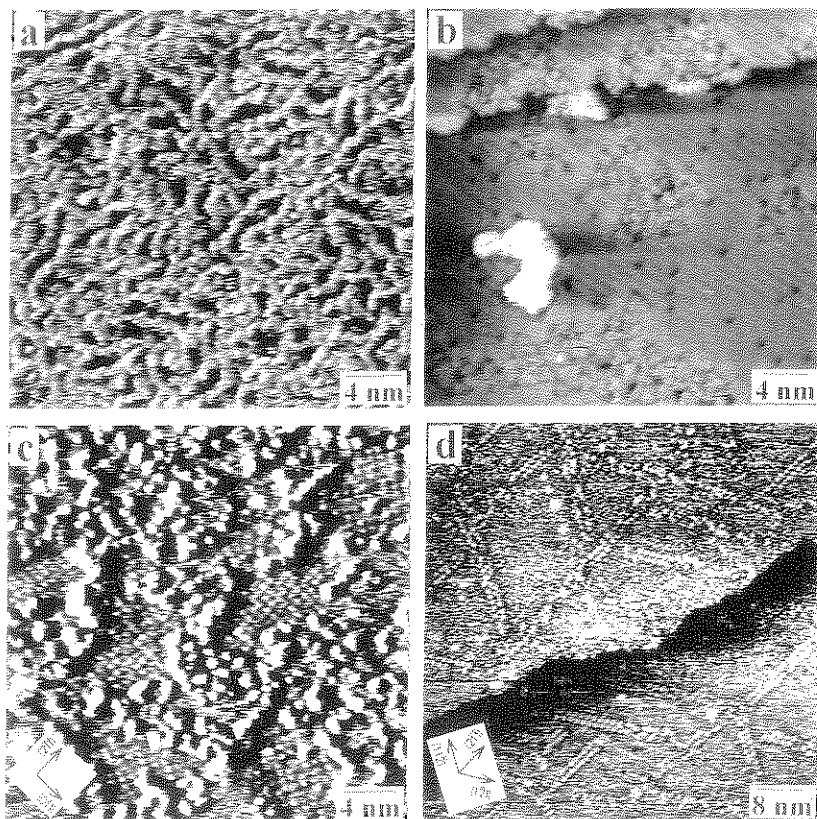


Fig. 2 STM images of self-assembled superstructure of (a) adenine, (b) thymine, (c) guanine and (d) cytosine on Cu(111) surfaces at room temperature.

わめて異なった自己組織化構造のSTM像が得られている。アデニンは1次元の鎖が集まりランダムな2次元ネットワークを形成、チミンは2次元の島を形成、グアニンは正方格子、シトシンは最も興味深く、ジグザグのドットからなる1次元鎖が下地の特定方位の6方向に向かって伸びている。これらはすべて、分子スケールのSTM像である。アデニンを例に取れば、1本の鎖は分子の太さおよび高さに対応している。すなわち、幅6Å、高さ2Åであり、それぞれの鎖がアデニン分子鎖からできていることを示している。高さ2Åは、 π 環を持つ有機分子が分子面を表面と平行に吸着していることを示しており、幅6Åの値もアデニン分子の大きさと一致することから、分子面を表面に平行に、いくつもの分子がつながって鎖を形成していることを示している。一体どのようにして、これら4つの自己組織化パターンが生じるのだろうか？これを順序だてて説明していこう。

3. 分子は表面を動き回り自己組織化する

Fig. 2 (d) で示した神経ネットワーク状の興味深いパ

ターンを形成するシトシンを例にとり、パターンが成長していく様子をみてみよう。

Fig. 3 は、室温において、シトシン分子が動き回り、自己組織化が徐々に進行することを示す実時間のパターン変化である⁹⁾。シトシン分子をまず一定量蒸着し、時間経過を追うと、Cu(111) 表面の対称性を反映した特定の6方向に鎖がのび、網目を形成していく。図では、ほぼ1分間に1分子の成長速度で、鎖がのびている。表面のそれぞれの分子は、動き回っているためSTM探針では画像化されていない（白いノイズとなる）が、分子が鎖の先端に来て結合をつくると固定され、鎖が伸びていくことがわかる。このように分子は徐々に自己組織化していくが、その方向は下地の方位に影響されている。

4. 分子の表面拡散過程の凍結；低温での振る舞いの観察

塩基分子が、表面を拡散し、自己組織化する様子を、低温で凍結してSTM観察することにより示そう⁷⁾。Fig. 4 (a), (b) にアデニンの低被覆率吸着時の常温および

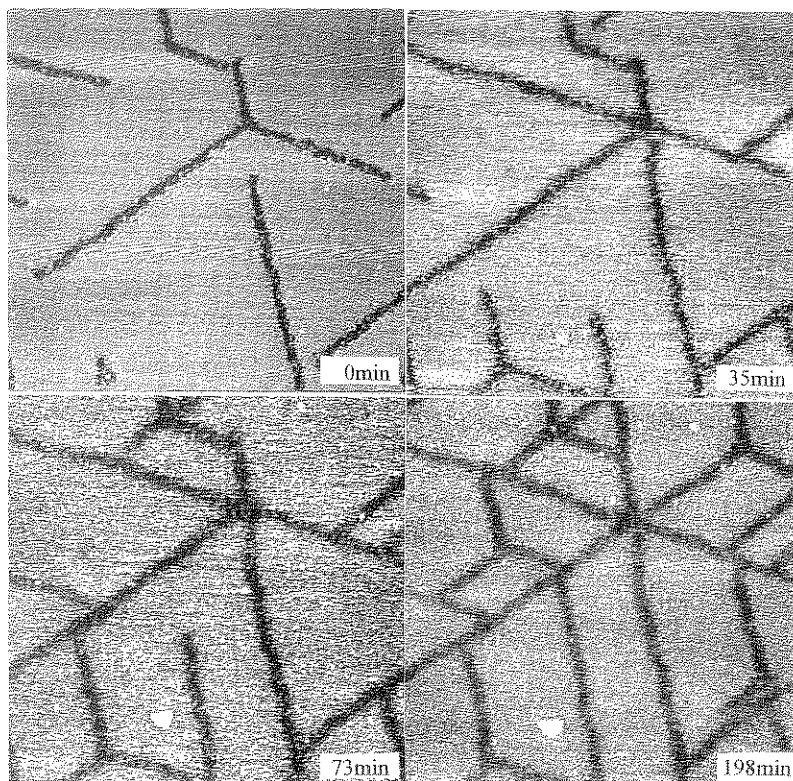


Fig. 3 Time dependent STM images of self-organization of cytosine molecules at room temperature. Molecular chains are imaged as dark stripes (Scan area: $1100 \text{ \AA} \times 1100 \text{ \AA}$).

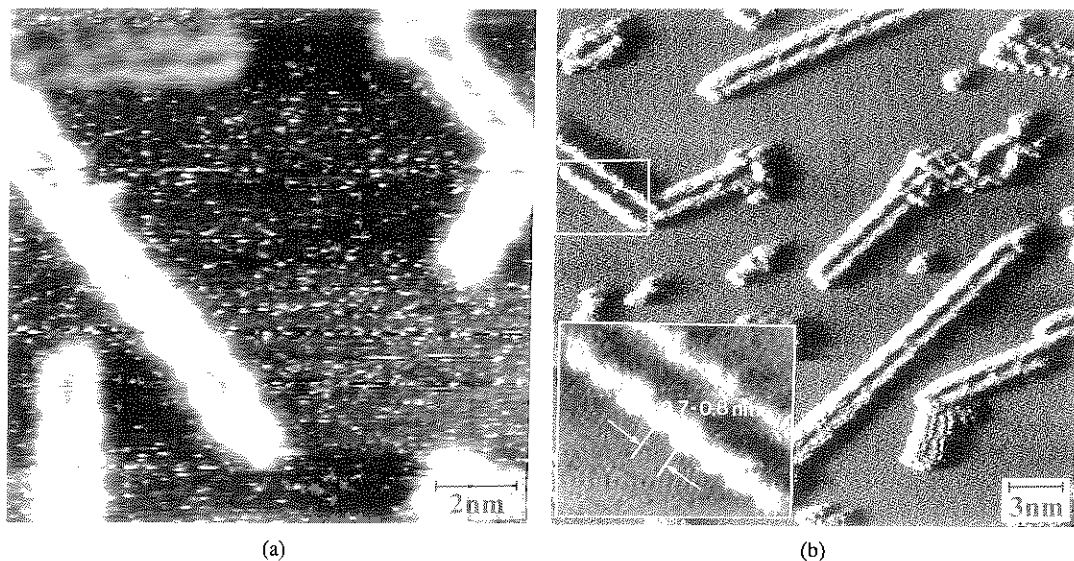


Fig. 4 STM images of self-assembled adenine molecules with low surface coverage at room temperature (a) and at 70 K (b).

低温 (70 K) での STM 観察像を示す。常温では 2 本鎖の形成が見られているが、熱擾乱のため、分解能が悪いこと、また、表面に多くのノイズ (白い点) が生じていることがわかる。このノイズは表面を熱拡散しているアデニン分子が画像化されずに STM 探針に引っかかるために生じるものである。この状態から温度を下げ、70 K

にした。このとき、Fig. 4 (b) に示すように、きわめて平坦な Cu(111) 表面上にアデニンの 2 本鎖と室温では動き回って観察されなかったアデニンのクラスターがこつぜんと現れる。また、Fig. 4 (b) 挿入図に示すようにアデニン 1 分子ずつ (各々高さ 2 Å, 径 7 Å) が観察され、鎖をつくっていることがわかる。この図は、室温で

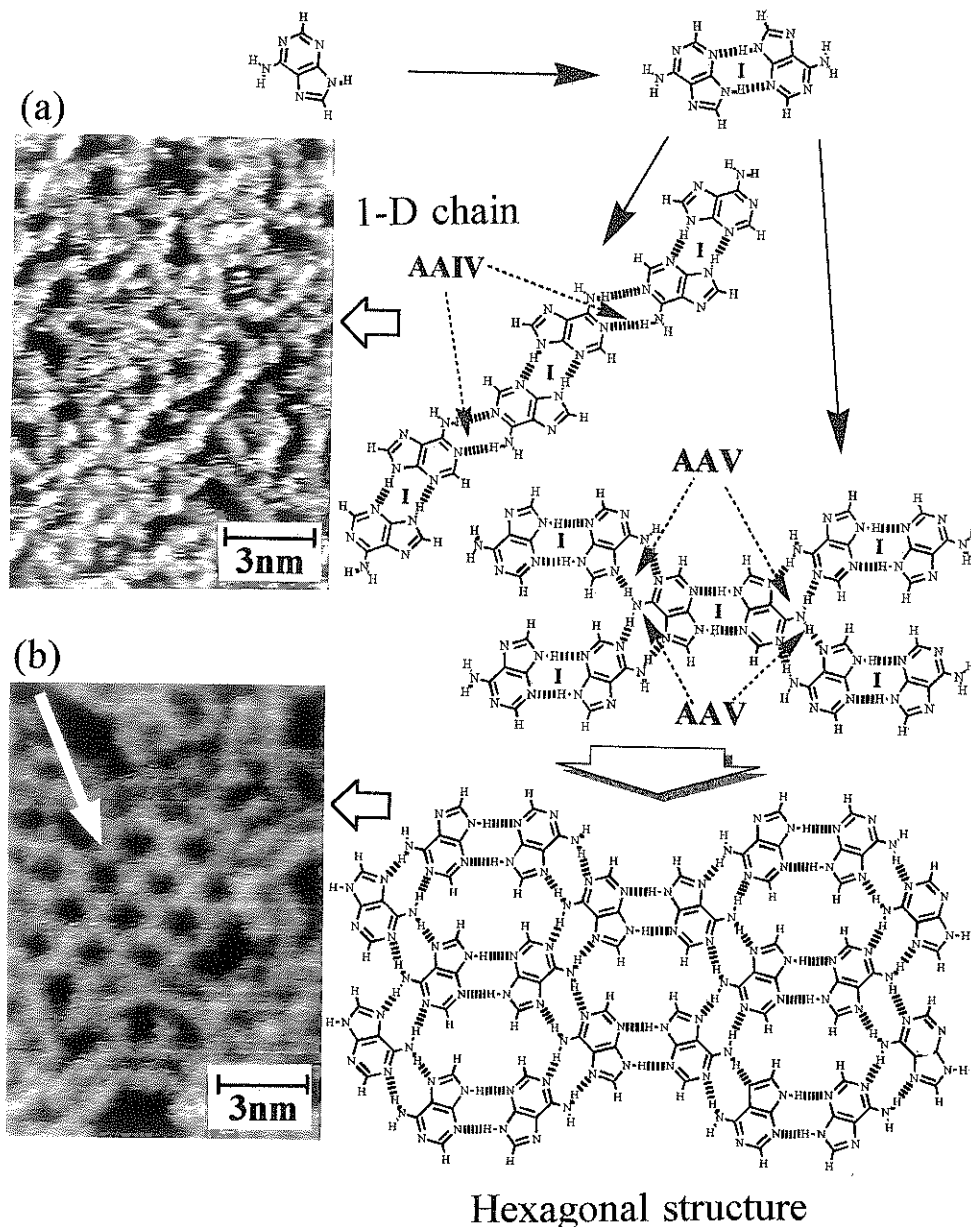


Fig. 5 Self-assembled superstructure of adenine molecules with high deposition rate (a) and low deposition rate (b). Microscopic models for the self-organization is presented at the right hand side. Adenine molecules are dimerized and combined each other through AAIV and AAV to form one dimensional chain and hexagonal structure, respectively.

は分子およびクラスターが熱エネルギーのため動き回っており、それが自己組織化することにより、新たな超構造(分子面を表面と平行にしてつながった鎖)をつくることを示している。

5. 分子スケールの微視的メカニズム

さて、分子が小さな2次元核をつくり、さらにそれらが集合して、自己組織化した2次元超構造を形成する微視的メカニズムを考えよう⁷⁾。

アデニンは、分子の表面への供給速度(蒸着速度)の大小により形成されるパターンが異なることが実験で観察されている⁷⁾。これが、微視的メカニズムを知るカギとなる。Fig. 5 (a), (b) に示されるように分子供給速度が速い場合はランダムな1次元鎖からなる無秩序な網目構造をとるが(Fig. 5 (a)), ゆっくり供給することにより蜂の巣状の構造の形成が観察される(Fig. 5 (b))。そこでこのような分子の供給速度の違いによって何故パターンが異なるかを考察する。

アデニンは2量体を形成しやすいことが報告されてお

り⁸⁾、表面を拡散する分子は、まずダイマーを形成すると考えられる。そこで Fig. 6 に示すように水素結合を介したアデニン2量体の安定構造とその安定化エネルギーを計算した。AAI~AAVで示される5種類の2量体構造は、その安定性が異なりAAIの組み合わせが最も安定であることがわかる。したがって、蒸着された分子はAAIをまず形成すると考えられる。この時、AAI2量体同士がさらにAAIVという形を経て連なっていくと1次元鎖ができる(Fig. 5 (a))。また、AAI同士がAAVという形でつながっていくと蜂の巣状構造(Fig. 5 (b))ができる。Fig. 5の構造式を順に追って理解してほしい。ここで、注意すべきは、AAI2量体同士がつながるには、AAIVとAAVの組み合わせしかないため、AAII, AAIIIは考えなくてよい。ただし、AAIダイマーに1分子のアデニンが水素結合をつくる時には、AAII, AAIIIも起こり得る(少しわかりにくいFig. 6を見て下さい)。もし、蒸着速度が非常に速く、AAIダイマー同士の結合だけでなく、1つのアデニン分子がAAIIやAAIIIの形で水素結合すると、ここで異なった構造ができる。それ

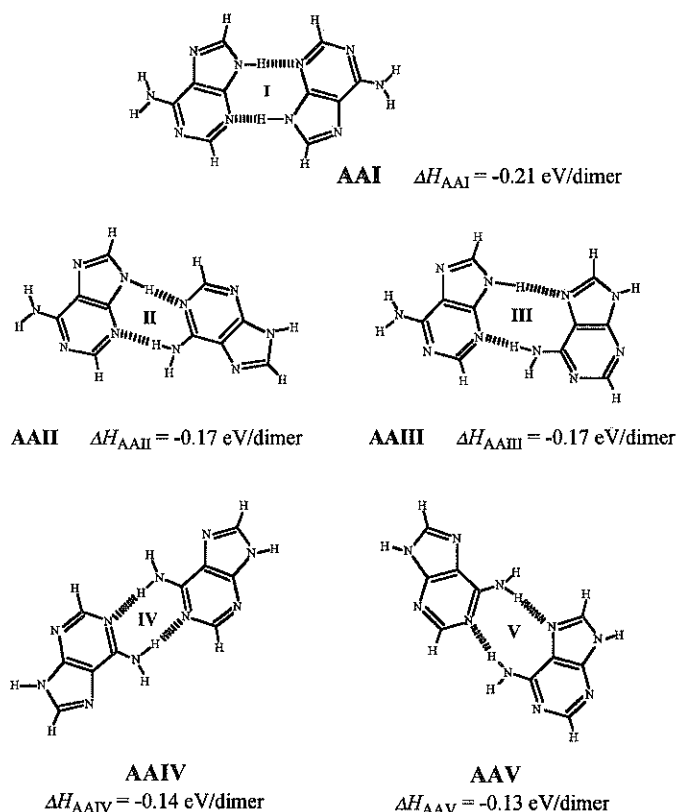


Fig. 6 Structure and stability of adenine dimers. Calculation has been made by MOPAC-PM 3.

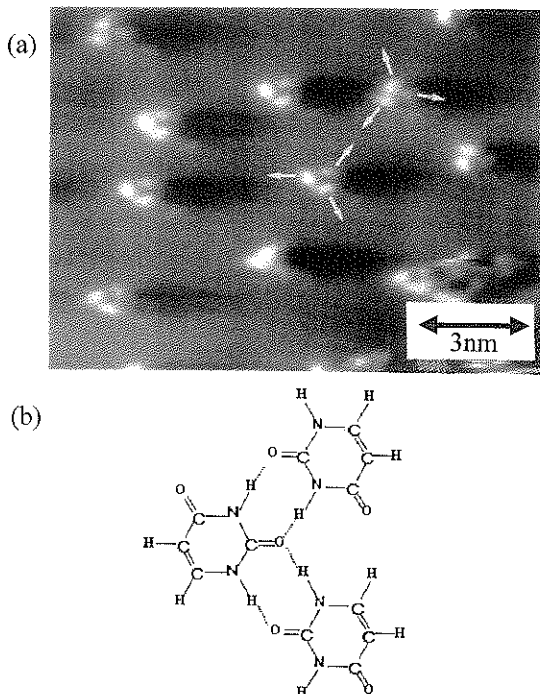


Fig. 7 (a) Low temperature (70 K) STM images of uracil molecules at low coverage. (b) Molecular models of a uracil trimer.

がランダムに次々と起こるために、比較的無秩序な1次元鎖ができてくると考えられる。このように分子の供給速度を変え、その形成パターンをみることにより、水素結合を介した分子スケールでの自己組織化構造形成のメカニズムを明らかにすることができた。

6. 2次元分子集合体の最小単位：ウラシルの場合

アデニンは2量体が最小単位であったが、これは、塩基分子の種類によって当然異なる。このことが、分子集合のパターンを大きく変化させる。RNA塩基分子であるウラシルは、その結晶を昇華させたものを質量分析計で観察すると3量体を形成していることが報告されている⁹⁾。

Fig. 7 (b) に3角形状のウラシル3量体の最安定構造を示す。実際、ウラシル分子を表面に吸着し70 Kで観測するとFig. 7 (a) に示すように分子の3量体が観察される¹⁰⁾。これらは室温では表面を拡散し動き回っているためにSTMでは観測されない。供給量を増すと、この3量体が最小単位となり、Fig. 8 (a) に示すように、3量体が集まって雪の結晶状のパターンを形成する。3量体からの雪の結晶状パターンの形成は、3量体どうしが

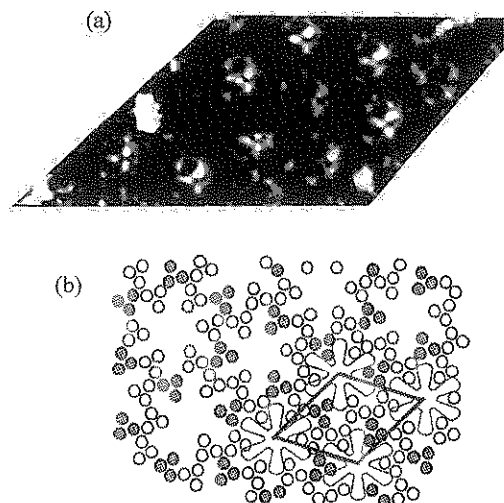


Fig. 8 (a) Low temperature (70 K) STM images of uracil at high coverage. Snow-like two dimensional pattern is observed. (b) Model for the snow-like pattern consisting of uracil trimers.

3つの方向で手を結ぶことによって解釈できる。すなわち、Fig. 8 (b) に示すように、3量体が水素結合をつくること可能な（水素結合の手が余っている）3つの方向に向かって手を伸ばし、組立玩具のようにつながることにより、興味深い雪の結晶状パターンを形成する。

7. 2次元自己組織化現象を支配するエネルギーは何？

以上の実験および計算の結果から、固体表面上での分子の自己組織化には次の3つの要素が重要であることが理解されよう。第1は水素結合を介した分子間の相互作用である。これは、1水素結合あたりほぼ20 kJ/mol程度であり、これを介して特定の方向に水素結合をつくり、はじめて超構造を形成する。第2の要素は分子/表面相互作用の強さ（とりわけ分子の表面拡散エネルギー）である。これが大きすぎると表面を拡散できないが、Cu(111)においてはおそらく10数 kJ/molと考えられるために、室温(300 K)で熱エネルギーにより表面拡散を起こし、自由に表面を動き回ることができるのであろう。第3が上の2つと拮抗する熱エネルギーの効果である。300 Kは、ほぼ2.5 kJ/molである。したがって、300 Kでは個々の分子は、この熱エネルギーによって表面拡散を起こし、室温ではSTM観察ができない。しかし、70 Kに下げることにより、ほぼ0.6 kJ/molの熱エネルギーの状態が出現する。この条件では、もはや分子の表面拡散を促進することなく、個々の分子が表面に固定化されてSTMで観察されるのである。このようにして、室温

では分子が表面を拡散し、2次元超構造をつくる現象がエネルギー的考察でも理解される。ここで、超構造は表面の方位によっても影響されることは注意すべきである。つまり、表面の並びに沿った安定な特定の方向に成長することも実験から明らかになった。

8. ま と め

固体表面の DNA, RNA 分子には、華麗でミクロな 2 次元の世界があることを、私達は、STM で知った。塩基分子は表面と分子の相互作用が弱く拡散しやすい Cu (111) 表面において、水素結合を介した特定方向のつながりにより、様々な 2 次元超構造を形成する。この“無秩序から秩序を生じるプロセス”は、それぞれの分子の持つ個性、すなわち、特定な方向の水素結合によって決められる。吸着分子は室温では、熱エネルギーによって表面拡散しており、他の分子と出会うことにより、水素結合を介して自己組織化を起こしはじめる。この様子は基板を低温にし、分子を凍結することによって STM により直接観察することができた。アデニン分子では 2 量体が素構造であり、その連結の仕方では 1 次元鎖にもなり、また、蜂の巣状パターンも形成する。ウラシル分子では 3 量体とその素構造であり、それが集まり雪の結晶状の 2 次元結晶へと成長していくことが明らかになった。さらに、表面への分子供給量に対応したパターン形成から、いくつかの安定構造が組み合わさって様々な興味深いパターンができていくというメカニズムも知ることができ

た。このように、分子の持つ特定方向への水素結合という引き金によって、“分子の持つ個性的な素晴らしい 2 次元超構造の世界”が生まれることが STM によって明らかにされた¹¹⁾。

文 献

- 1) H. Tanaka and T. Kawai: Jpn. J. Appl. Phys. **35**, L 244 (1996).
- 2) J.T. Kim, T. Kawai, J. Yoshinobu and M. Kawai: Surf. Sci. **360**, 50 (1996).
- 3) M. Kasaya, H. Tabata and T. Kawai: Surf. Sci. **342**, 215 (1995).
- 4) H. Tanaka, T. Nakagawa and T. Kawai: Surf. Sci. **364**, L 575 (1996).
- 5) H. Tanaka and T. Kawai: Jpn. J. Appl. Phys. **35**, 3759 (1996).
- 6) T. Kawai, H. Tanaka and T. Nakagawa: Surf. Sci. **386**, 124 (1997).
- 7) M. Furukawa, H. Tanaka and T. Kawai: Surf. Sci. **392**, L 33 (1997).
- 8) P. Hobza and C. Sandorfy: J. Am. Chem. Soc. **109**, 1302 (1987).
- 9) I.K. Yanson, A.B. Teplitsky and L.F. Sukhodub: Biopolymers **18**, 1149 (1979).
- 10) T. Nakagawa, H. Tanaka and T. Kawai: Surf. Sci. **370**, L 144 (1997).
- 11) 川合知二: 日本物理学会誌 **52**, 667 (1997).