

SPM シミュレータによる表面構造の決定

—液中でのタンパク質結晶を例として—

2014/8/8

北海道大学低温科学研究所 長嶋 剣

nagasima@lowtem.hokudai.ac.jp

はじめに

結晶構造が決定された結晶であっても表面構造は自明では無く、決定が困難な場合も多い。本報告書では溶液中におけるタンパク質結晶の表面構造を取り上げるが、例として示した正方晶リゾチーム(110)面の場合、2種類の表面構造が候補としてあげられる。タンパク質分子の原子配列を決定するには良質なタンパク質単結晶を育成してX線構造解析することが必要である。そのため表面構造の決定は分子レベルでの結晶成長メカニズムを議論する上で不可欠となる。このような場合にSPM観察による原子・分子分解能像は表面構造決定に重要な役割を果たしてきた。

ところがタンパク質分子は分子自体が数 nm 以上と大きく、分子形状の異方性も強いいため分子の中心位置とSPM像の凹凸が単純に一致するわけではない。そこで、SPMシミュレータ像とSPM像を比べることで容易に表面構造を決定できるのではないかと考え、正方晶リゾチーム(110)面を例に取りその結果を以下に示す。なお、本文中で用いたSPM像（液中FM-AFM像）については既に論文になっているため詳細は省く[1]。

正方晶リゾチーム単結晶の分子構造

正方晶リゾチームの(110)観察面を横から見たのが図1aである。リゾチーム結晶はリゾチーム単分子から成る結晶であるが分子の向いている方向によって8色の色分けをしてある。(110)面は破線部分で紙面に垂直に切った切断面であるが、分子自体が分断されて表面が形成することは無いと仮定し、A層とA'層、B層とB'層の位相は異なるが結晶学的に等価であること、B'-A切断面を上から見たA層表面と下から見たB'層表面も結晶学的に等価であることに気をつけて整理すると、(110)表面構造はB'-A切断面を上から見た(110)a表面、A-B切断面を上から見た(110)b表面の2種類のみとなることがわかる。各々の表面構造の模式図を図1b、cに示した。なお、今回は溶液中観察であるため超高真空環境に比べ起こりにくいであろう表面再構成は考慮しない。

リゾチームの結晶が溶液から成長する様子をその場観察すると、分子ステップの高さは5.6nmであることがわかっている。よって、(110)a面が成長した場合は(110)a面だけが、(110)b面が成長すれば(110)b面だけが表面として現れることとなる。ただし、実際に(110)a、(110)bのどちらの表面が常に現れているのかは、結晶構造だけでは決定できないため、SPM像とSPMシミュレータ像との比較により決定を行う。

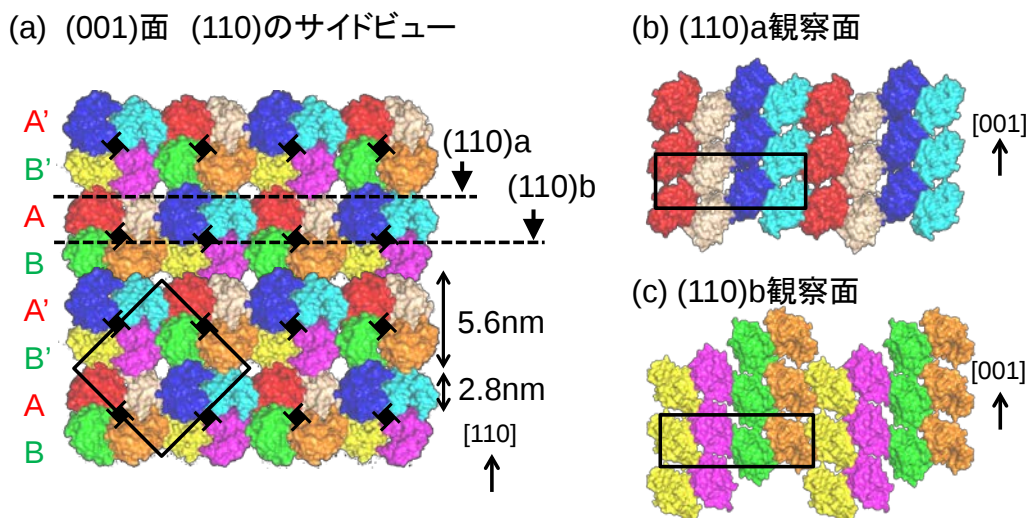


図1 正方晶リゾチームの結晶構造の模式図
四角は表面ユニットセル。PyMOL[2]を用いて作成した。

SPM シミュレータ像の作成

図1に示したように、(110)面には(110)a面、(110)b面の2種類があることがわかったが、実際にSPMでどのように見えるのかは非常に予測が難しいため、(株)アドバンスリアルゴリズム&システムズ社のSPMシミュレータを使用してどのようなSPM像が得られるか予測画像を作成した(図2)。

図2aは(110)a面の分子配置図で、それに対応するシミュレータ予測画像が図2eである。分子の色と図2eのシンボルの色を対応させてあるが、両者を見比べると分子配置だけでは予測できないような場所に凹凸が生じていることがわかる。例えば、予測画像では白と青の分子の凸部分はほぼ隣り合っているが、分子配置から見た分子の中心位置は大きくずれている。

図2fは(110)b面のシミュレータ予測画像で、(110)a面と比較すると、(110)a面(図2e)はユニットセル幅あたり2本のジグザグ構造が[001]方向に伸びているのが特徴的である。また、(110)b面(図2f)は1本のジグザグ構造が特徴的であり両者の表面構造が大きく異なることがわかった。

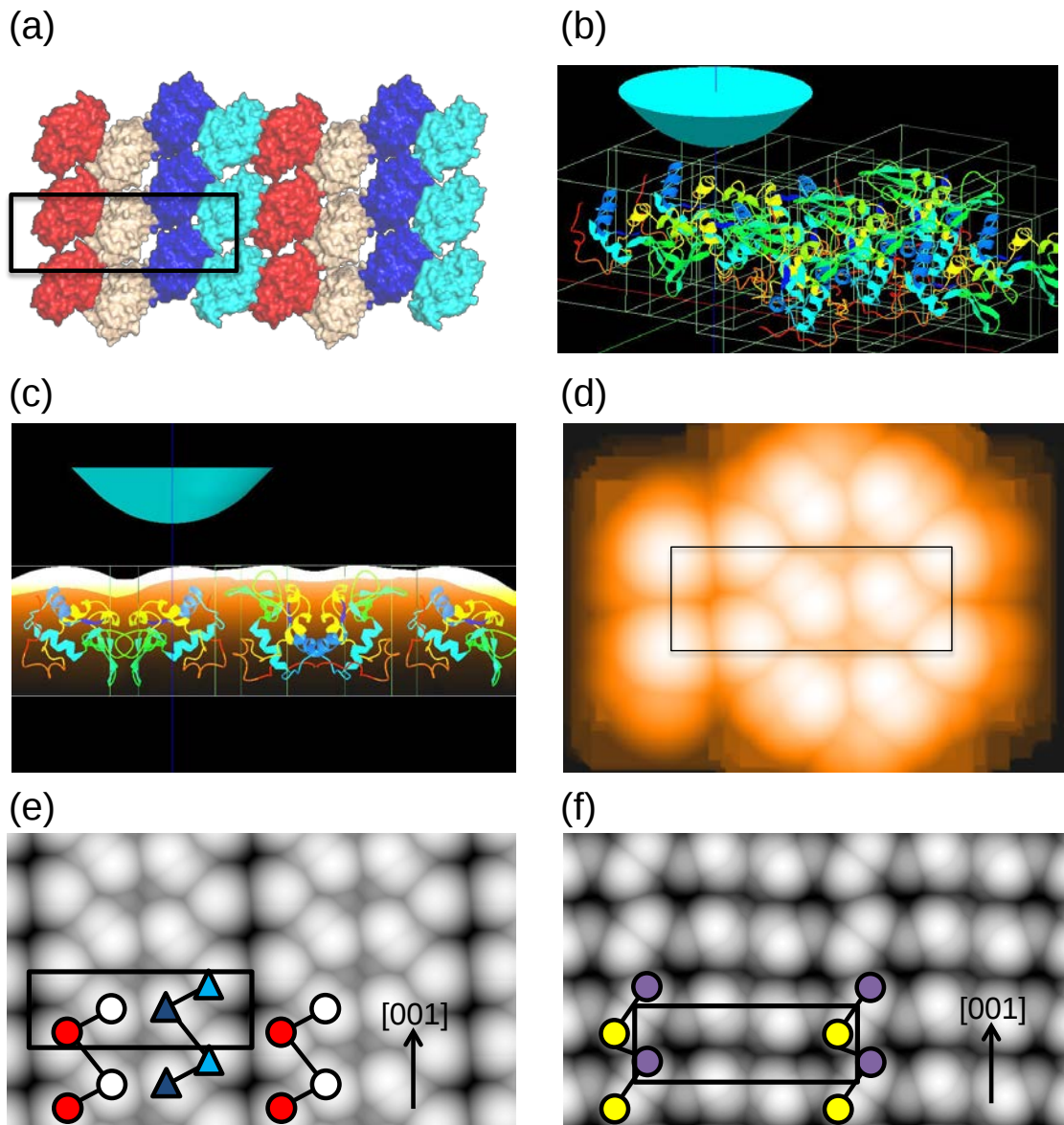


図2 SPM シミュレータ像の作成

(a) (110)a 面の模式図。(b) SPM シミュレータの高速相互予測シミュレータ(GEO) モードの様子。リゾチーム分子を(110)a 面と同様の分子位置に配置してある。(c) (001)側面から見た予測画像。分子の形に応じた凹凸が描かれているが、探針の曲率半径と比べ微細な凹凸は像として現れない事もわかる。(d) (110)面の予測画像。四角は表面ユニットセル。(e) (110)a 面の予測画像。(d)の表面ユニットセル部分を抜き出して敷き詰めたもの。(f) (110)b 面の予測画像。

液中 FM-AFM 像との比較

正方晶リゾチームは水溶液中で成長するため、溶液中で得られた分子分解能の FM-AFM 像と比較を行った。像取得に関する詳細は文献[1]に記してあるが、使用した FM-AFM は島津製作所 SPM-8000FM 相当品である[3]。

図 3 a は分子分解能像ではないが、ユニットセル幅ごとに[001]方向に伸びた 2 種類のジグザグ構造が見られ、(110)a 表面 (図 2 e) であることが示唆される。また、図 2 e の凸部分の位置は AFM 像にぴったりと重なり、さらに拡大した分子分解能像 (図 3 b) でも図 2 e の凸部分の位置が合うことがわかった。

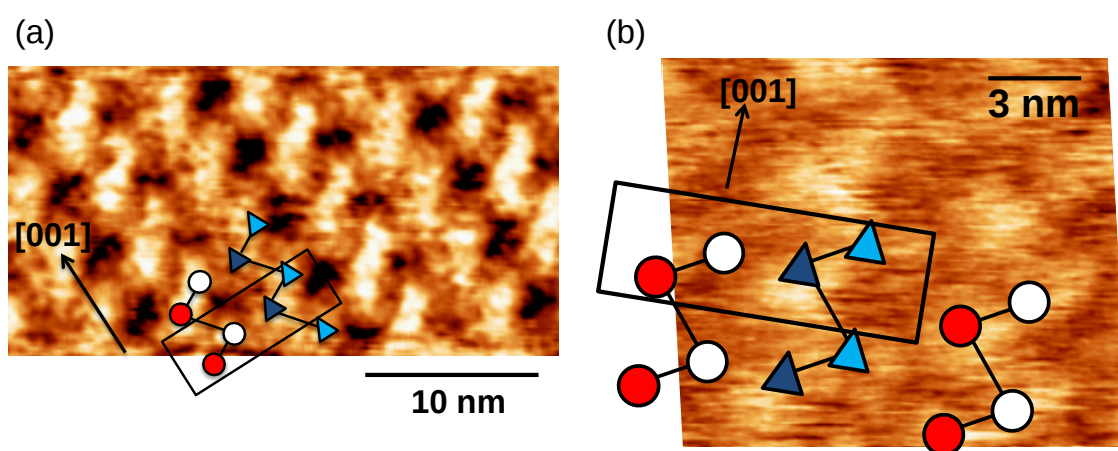


図 3 溶液中での正方晶リゾチーム(110)面の FM-AFM 像

(a) 高分解能像。(b) 分子分解能像。四角は表面ユニットセル。得られた FM-AFM 像より(110)a 面に相当することがわかる。図中のシンボルの色は(110)a 面である図 1 b の分子の色と対応させてある。

以上のことから、正方晶リゾチーム(110)面は(110)a の構造を持つことがわかった。この結論はコンタクトモード AFM 像による過去の研究でも指摘されていたが[4]、分子分解能では無い像をかなり画像処理した上での結論であった。本報告書では FM-AFM による分子分解能像の生データと SPMシミュレータ像を見比べるだけで一目瞭然に判別が可能であり、表面構造決定における液中 FM-AFM と SPMシミュレータ両者のポテンシャルの高さを示したと言える。

参考文献

- [1] K. Nagashima et al., J. Vac. Sci. Technol. B 28, C4C11 (2010).
- [2] PyMOL: <http://www.pymol.org/>
- [3] 島津製作所 SPM-8000FM: http://www.an.shimadzu.co.jp/surface/8000fm_01.htm
- [4] H. Li et al., Acta Cryst. D55, 1023 (1999).