

## 2. 光を使って見る結晶の成長素過程

北海道大学 低温科学研究所 佐崎 元

### 1. はじめに

水は地球上に最も多量に存在する物質の一つです。そのため、気体の水（水蒸気）や液体の水が固体（結晶）の水である「雪」や「氷」になる現象は、地球上の幅広い重要な現象と密接に結びついています。たとえば、地球の気象や環境の問題です。空の上で水蒸気が水滴になると雲が発生しますが、雨が降るためには水滴が微細な氷の粒になる必要があります。また、太陽光が氷の粒を含む雲にあたると光は散乱され、地上に届きにくくなります。さらに、南極の氷床や氷河はもちろん氷結晶でできていますし、オゾンホールが発達には氷結晶上での触媒反応が重要な役割を果たしています。彗星などの宇宙に存在する氷も、太陽系の起源を解き明かすための重要な手がかりを与えてくれます。また、寒冷地の動植物は凍死しないように、特殊なタンパク質を作り氷結晶の成長を抑えています。このような様々な問題に、雪や氷の結晶がどのようなメカニズムと速度で成長するのかを明らかにする研究は、解決の糸口を与えてくれます。

### 2. 結晶の成長メカニズムを調べるための手段について

さて、それではどのようにすれば雪・氷結晶の成長メカニズムを明らかにすることができるでしょうか？実は成長メカニズムと一口に言っても、サイズスケールによって、分子（原子）レベルの「構造」に関するものから、 $\mu\text{m}$ ~ $\text{mm}$ スケールのパターン形成に至るまでいくつもの階層に分かれています。ここでは、個々の分子（原子）がどのように固体である結晶相に組み込まれるか、という表面・界面での分子（原子）取り込みカイネティクスに焦点を絞ります。

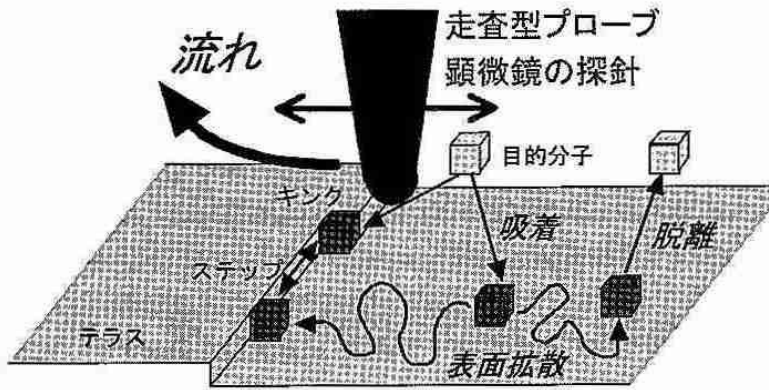


図1 真空中に近い気相から成長する結晶の表面. 液相から結晶が成長する際には, 走査型プローブ顕微鏡の探針は液相中の分子自身や流れに大きな擾乱を与える.

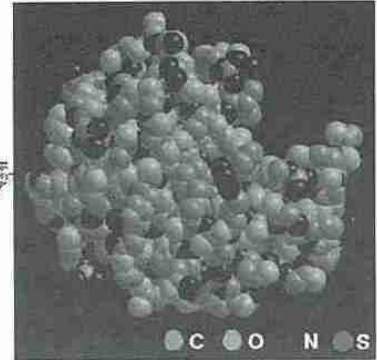


図2 鶏卵白リゾチーム分子の3次元構造. 分子の直径は約3nm.

さてそのメカニズムですが, 実は, 真空中に近い気相から成長する結晶については, 電子顕微鏡や走査型プローブ顕微鏡 (尖った探針の先端で物体表面をなで回すことによって観察する顕微鏡で, 原子・分子レベル分解能で固体表面を解像できるため, 近年盛んに用いられています; 固体表面を検出する原理によって走査型トンネル顕微鏡や原子間力顕微鏡などに分類されます) などを用いることによって, そのメカニズムがかなり明らかにされてきました (図1: 詳しくは次節で説明します). 液相から成長する結晶についても走査型プローブ顕微鏡を用いることで (液体中なので電子顕微鏡は使えません), 基本的には図1に示したような描像が適用できることがわかってきました. しかしながら, 走査型プローブ顕微鏡では探針によって結晶の表面をなで回すため, 結晶周囲の液相中の分子 (原子) 自身や流れに大きな擾乱を与えてしまいます. そのため, 結晶固体の「表面構造」を観察することはできても, 結晶表面上での分子・原子の吸着・脱離や表面拡散 (表面上を分子が動き回ること) など, 液相-結晶界面での「液相側の柔らかな構造に支配される現象」は, 原理上観察することができません. またそのため, 結晶が成長する「速度」を正確に測定することができません. これらの柔らかな現象をも「あるがまま」に観察するためには, 完全に非接触・非破壊な観察手法が必要とされます. 我々はそのような方法として「光学顕微鏡」を用いて来ました. 後で説明しますように, 光学顕微鏡は古くて新しい方法です. 最新の技術を応用することで, 後に詳しく説明します様に, 分子高さの構造などを用意に直接観察できるようになります.

次に, 観察するためのモデル結晶材料として, 我々は「雪や氷」ではなく「タンパク質」(図2)を用いました. それでは話が違うのでは, とお感じの方がおられることと思います. しかし, 材料が異なっても, 「バラバラであった分子 (原子) が秩序正しく整列してゆく」という結晶が成長する根本のメカニズムは全く変わりません (この点に関しては, 水であろうがタンパク質やシリコン, 金属であろうが変わりません). むしろ, 分子のサイズが数-10nm程度 (水分子のサイズの10-100倍) と極めて大きなタンパク質を用いることで, 結晶上の様々な構造 (図1) のサイズも大きくなるため観察しやすくなります. また, このような大きな分子はゆっくりとブラウン運動しますので, あらゆるプロセスが大変遅くなります. そのため, 一つの出来事をゆっくりと時間

をかけて観察できるようになり好都合です。そこで本日は、タンパク質結晶を題材にする事で、結晶の成長メカニズムについてお話をさせていただきます。

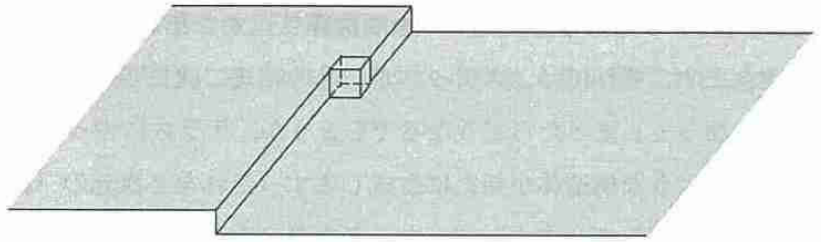


図3 結晶表面での吸着サイトと吸着分子の安定性. 簡単のため, 立方体状の分子から構成された結晶を想定した.

### 3. 結晶の成長メカニズムについて

#### 3-1. 2次元核成長

まず, 図3に示したような, サイコロ状の分子から出来ている結晶(専門用語ではコッセル結晶と呼ばれます)について考えましょう. 結晶表面の分子(原子)レベルで平らな平面は「テラス」と, そして単位分子(原子)だけ高さが異なる部分は「ステップ」と呼ばれています. 液相からやってきた分子がテラスに吸着すると, 分子は結晶と1本の結合で結びつくことができます. また, 分子がステップに吸着すると結晶と2本の結合を取り合うことができます. さらに, 図3中の「キック」と呼ばれる位置に分子が吸着すると結晶との間には3本の結合が形成されます. すなわち, 吸着した分子はキックで取り込まれると最も安定になることができ, 結晶の一部となることができます. そして, キックであった部分はステップに沿って1分子分成長したことになります. このようにしてキックがステップに沿って順次成長して結晶の端までたどり着くと(図4a), ステップ上にはキックがなくなってしまいます. しかし, ステップにやってくる分子が十分に多ければ, 2分子が偶然同時にステップ上で合体することで, 2つのキックが新たに生成し

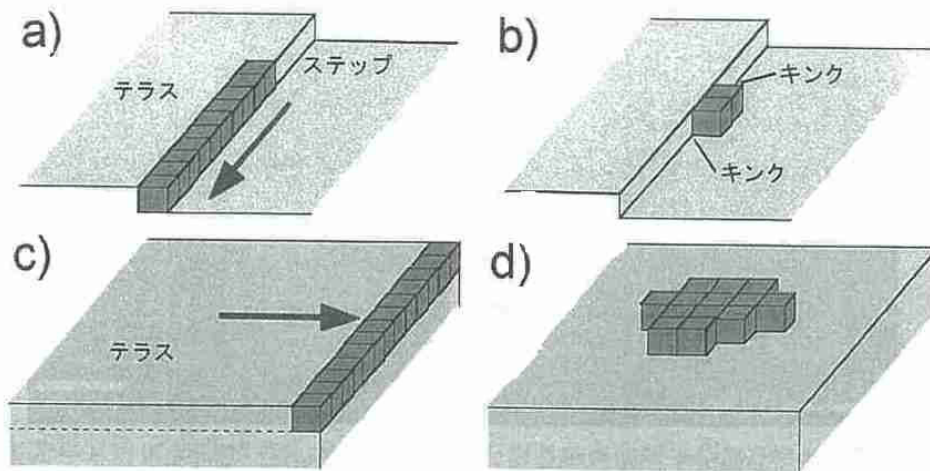


図4 結晶の沿面成長メカニズム. a)ステップに沿ったキックの成長. b)ステップ上での1次元核形成(2つのキックが新たに生成). c)ステップが結晶端まで成長. d)テラス上での2次元核形成.

まず (図 4b: この現象は1次元のステップ上でキंकが核形成することから, 1次元核形成と呼ばれます). このようなプロセスを順次繰り返すことで, ステップはテラス上を水平方向に成長してゆきます. それでは, ステップが結晶の端まで成長してしまい (図 4c), テラス上にステップがなくなってしまうらどうなるでしょうか. テラスにやってくる分子が十分に多ければ, 図 4d に示したような構造体が新たに生成します (これを2次元の「核」ができるという意味で, 2次元核形成と読んでいます). いったん新たな2次元核ができれば, そこを新たなステップ源として, 結晶は新たに1分子層だけ水平方向に成長することができます. このような成長を, 「2次元核成長」と呼んでいます.

実際の成長の例を図5に示します. 鶏卵白リゾチームと呼ばれるタンパク質の結晶が2次元核成長する様子を, レーザー共焦点微分干渉顕微鏡と呼ばれる我々がオリンパスと近年作製した顕微鏡で観察しています. 図5 (a)-(c)では, 結晶表面上の2次元島が成長し, 合体する様子を示しています. 島の合体に伴い, 隣合った島のステップのコントラストが完全に消えることより, 2つのステップの高さは同じであることがわかります. また, 図5 (d)に示すように, そのようなイベントが結晶のいたるところで起こっていることより, ここで観察しているステップは単位高さ (この場合は5.6nm=約20万分の1mm) であることがわかります. 図のように, 光学顕微鏡でも

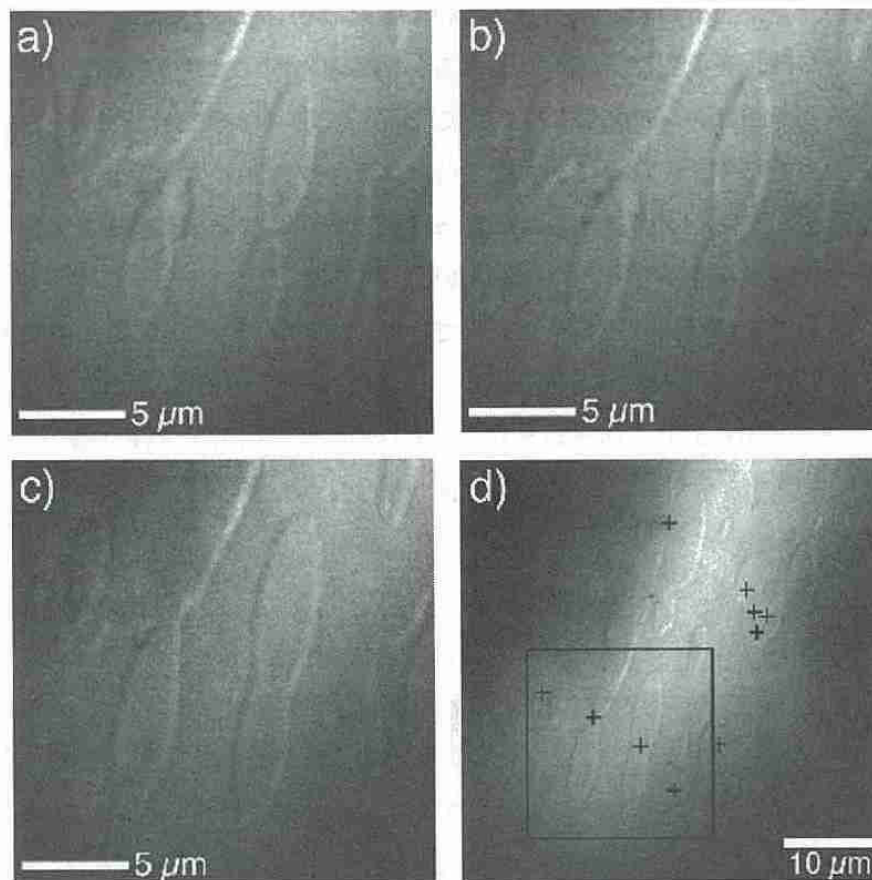


図5 レーザー共焦点微分干渉顕微鏡を用いてその場観察した, 鶏卵白リゾチーム正方晶系結晶{110}面上での2次元核成長. ステップの高さ: 5.6nm. (a) 0秒, (b)26.9秒, (c),(d)53.8秒. (d)において, 図中の四角は(a)-(c)で観察している領域を, そして+印は隣り合った2次元島の合体に伴い, ステップのコントラストが消滅した部位を示す.

nm 高さのステップを十分なコントラストで可視化できることがわかりいただけると思います。2次元核の生成とそれに引き続くステップの前進は、走査型プローブ顕微鏡を用いてもこれまでに観察されていますが、光学顕微鏡での観察は、系に対して完全に非接触・非破壊であるところがポイントです。

### 3-2. うずまき成長

それでは図 4c の状況で、テラスにやってくる分子の量が少なく、2次元核（図 4d）を形成できない場合はどうなるでしょうか？他にステップ源となるものが何もなければ結晶の成長は止まってしまいます。しかし、結晶を構成している分子の数は極めて多数ですので、結晶が成長する際にはいろいろな「ミス」が起こりえます（このようなミスは格子欠陥と呼ばれます）。それらの中でも、図 6a に示したミスは「らせん転位」と呼ばれています。すなわち、結晶に何らかの力がかかったために、分子の並びが上下方向に1列だけずれてしまった場合に相当します。そうすると、図 6b に示したように、ステップに次々と分子が吸着することで、ステップはうずまき状に成長してゆくことになります。ステップの辺が場所によらず同じ速さで成長すると、中心付近ほど角速度が速くなることで、ステップによるうずまきが巻かれてゆく理由です。最終的には、うずまきの中心を頂点とする円錐が出来上がります。

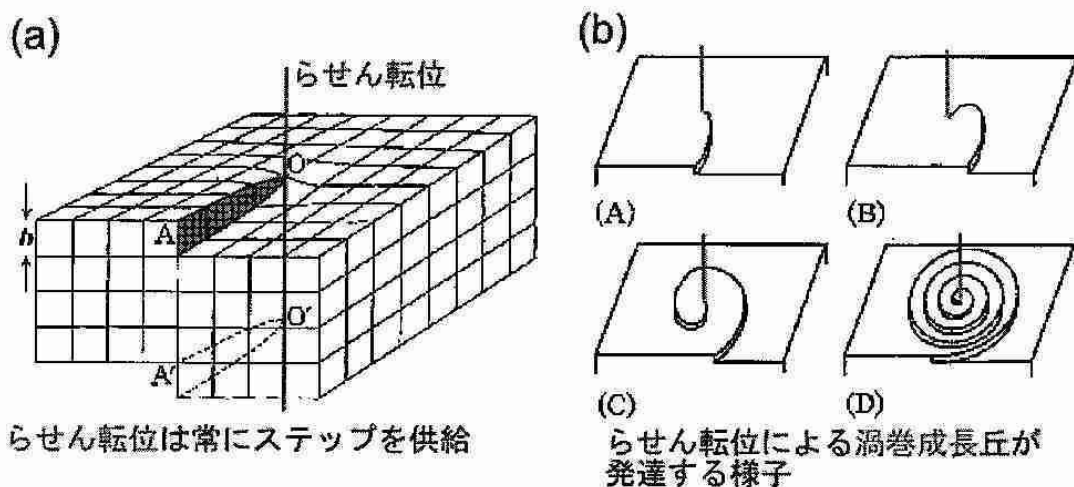


図 6 うずまき成長機構。(a)結晶表面とらせん転位。らせん転位によって結晶表面に露出しているステップは、ステップが前進しても消滅しない。(b)ステップが成長するにつれて、うずまきを巻いてゆく様子。

実際の成長の例を図 7a に示します。ルマジン・シンセターゼと呼ばれるタンパク質の結晶ですが、回転方向が同じ2つのうずまきからステップが成長している様子が分かります。もし、2つのうずまきの回転方向が互いに逆であればどうなるでしょうか？そのような場合の例を図 7b に示します。2つのうずまきの回転方向が互いに逆であるため、ステップが衝突した際にうずまきが閉じてしまい、うずまきには見えなくなります。しかし、2次元の島が一定の周期で生成し続けている点が、ランダムに発生する2次元核形成による2次元島とは異なります（このようなステップ源は専門用語ではフランク・リード・ソース呼ばれます）

光を用いると、以上示したように結晶上で結晶成長の大本となるステップが成長する様子を直接観察することができます。光学顕微鏡の「横方向の分解能」は用いる光の波長により制限されるために、サブミクロン程度にとどまります。しかし、「試料高さ方向のコントラスト」は原理的に制限をいっさい受けないため、1nm以下の段差を十分に可視化できます。そのため、光学顕微鏡は「高さ方向」にはまさに走査型プローブ顕微鏡に匹敵する分解能を持つこととなります。1950-1960年代に行われた結晶表面の観察実験においても、反射率を増大させるために銀などを蒸着した「ピカピカと光る」表面であれば、同様の観察がなされていました。しかし、タンパク質結晶表面のように、反射率が1%程度と小さくほとんど「透明な」表面でこのような観察ができるようになったことが、約半世紀間の光学顕微鏡の進歩です。繰り返しになりますが、完全に非接触・非破壊であることが重要なポイントで、現在、流れ下や高圧力下など、走査型プローブ顕微鏡では行い得ない条件下で様々な観察が行われており、結晶の成長速度を決定する要因を調べるための研究が行われています。

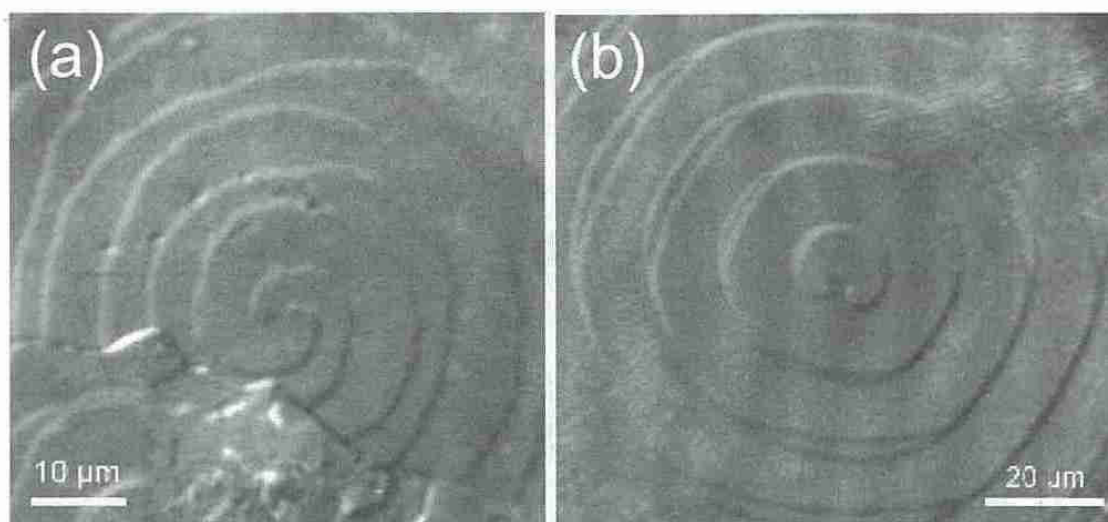


図7 うずまき成長するルマジン・シンセターゼ結晶。(a)2つのうずまきの回転方向が同じ場合。(b)2つのうずまきの回転方向が逆の場合。

### 3-3. 結晶表面上での1分子観察

前節では、図1に示した描像のうち、ステップの直接観察について説明しました。しかしそれだけではなく、最新の光学顕微法を用いると、結晶の表面上で個々のタンパク質分子が吸着・脱離・拡散する様子も直接観察することができます。主に生物物理の分野でこの15年ほどで目覚ましく発達した全反射型蛍光顕微法という手法を利用します。まずは実際の例をお見せしましょう。図8に、蛍光色素でラベルしたタンパク質（鶏卵白リゾチーム）を、全反射型蛍光顕微法で観察した結果を示します。図中の輝点の1つ1つが、個々の蛍光ラベル化リゾチーム分子に相当します。分子1つのサイズは極めて小さいため見ることはもちろんできませんが、分子が蛍光という「ちょうちん」を持つため、ちょうちんから発せられる光を観察することはできます。夜空で遠く離れた恒星を観察できるのと同じ原理です。恒星は地球から極めて離れていますので恒星そ

のものを観察することはできませんが、恒星から発せられる光を観察することで、そこに恒星が存在することがわかります。

図8では、画面左側が「溶液中」を、そして画面右側が「結晶表面上」を表しています。この図で我々が面白いと思っているのは、画面左右での像の大きな違いです。画面左側の溶液中では、分子は自由に3次的にブラウン運動しているため、分子の運動は極めて速く、個々の分子を追跡することができていません。それに対して画面右側の結晶表面上では、個々の分子を明瞭に観察できています。すなわち、液相と結晶との

界面では、結晶表面からの強い引力（水素結合）で液相中の分子が強く引きつけられ、分子運動が遅くなっているために、個々の分子が観察さ

れていることとなります。結晶表面からの相互作用が液相中の分子の運動にこれほど強い拘束力を与えていることは、結晶表面上で1分子観察を行うことで初めて明らかにすることができました。ご紹介した一例のように、液相と結晶の界面で「個々の分子を直接観察する」ことで、様々な「新しい物理的描像」が明らかになりつつあります。これまでの観察手法が、多数の分子について平均化された情報を捉えるのに対して、1分子観察法では個々の分子の情報を平均化することなしに直接捉えることができるためです。

#### 4. これからの研究について

本日は、「タンパク質結晶」を題材に結晶が成長するメカニズムについてご紹介しましたが、このような観察手法を今後、「氷結晶」に応用してゆきたいと考えています。本日はこれまで敢えてご説明しませんでした。タンパク質結晶と氷結晶とでは決定的に異なることが1つあります。それは環境相（液相）中の目的分子の濃度です。タンパク質結晶が「溶液」と呼ばれる薄い液相から成長するのに対して、氷結晶は「融液」と呼ばれる濃い液相（水は氷が解けたものそのものですから）から成長します。融液からの氷結晶の成長に今日ご紹介した光学顕微鏡法を初めて応用することで、融液に特有な新たな物理的描像を見つけることができると期待しています。

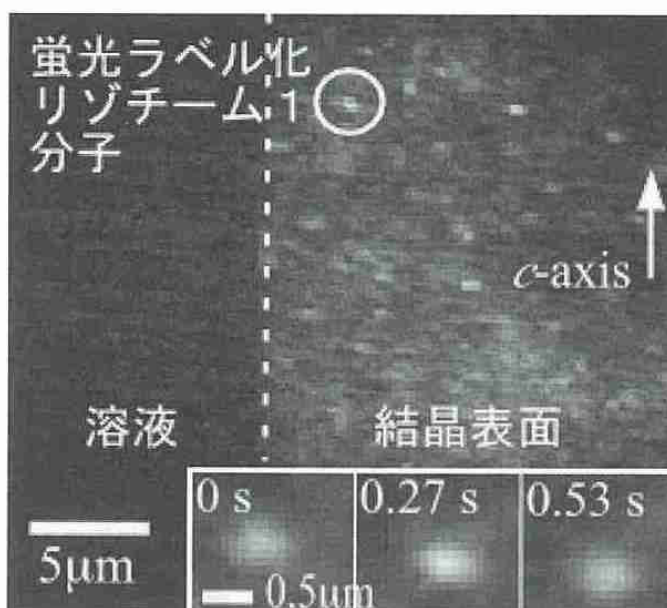


図8 溶液-リゾチーム結晶界面での1分子観察。画面右側は結晶表面を、そして左側は溶液を示す。結晶表面上の1つの輝点が蛍光ラベル化リゾチーム1分子に相当する。蛍光ラベル化リゾチーム分子は挿入図の様に拡散運動をしている。