



単分子・分子集合体観察のための電子顕微鏡技術

原野幸治 Koji HARANO

分子材料の構造と機能の相関解明は合理的な材料設計への道を拓く重要な鍵である。しかし、有機材料や高分子、金属錯体といった「柔らかい材料」は電子線による損傷の影響が大きく、原子レベルでの高分解能観察が困難とされてきた。またその問題を解決するために必要な、分子と電子線との相互作用についての基礎的知見も十分に蓄積されていない。分子を一つ一つ見るための試料作製手法の開発に基づいた高分解能電子顕微鏡動画撮影は、分子の構造や挙動を統計的に解析し、電子線と分子の相互作用の本質を捉えることで、電子顕微鏡画像の合理的解釈を可能にした。これらの技術の進展により、分子ダイナミクスを視覚的に追究する映像分子科学研究の地平がさらに広がっている。

分子一つ一つを観察することの意義

電子顕微鏡は今日の材料科学研究において不可欠な装置であり、主に無機材料や金属材料などの「硬い材料」の構造解析分野で大きく進化してきた。一方、電子顕微鏡分野では「柔らかい材料」とされてきた分子材料への応用は長らく進展が遅れていたが、近年、電子顕微鏡を活用した分子構造解析手法が急速に発展し、分子科学との距離が大幅に縮まりつつある。例えば、クライオ電子顕微鏡法はタンパク質など生体分子の構造解析に革命をもたらし、マイクロメートルに満たない微小単結晶から低分子の結晶構造解析を可能にするマイクロ電子回折法などの技術も登場している。

これらの手法では、多数の分子の平均像からその構造を求めているが、一方で、高分解能の顕微手法を用いて分子一つ一つを原子分解能の映像として直接観察することは、分子とはそもそもどのように振る舞うものなのか、という化学の根本的な問いに迫る行為といえる。分子はそれぞれ異なる個性を持ち、同一分子種であっても多様な挙動を示す。個々の分子挙動を詳細に捉え、その統計的性質を把握することで、分子の真

の姿に迫ることができる。また、X線結晶構造解析との比較において、結晶サンプルの作製が困難な分子でも構造決定が可能である点も、電子顕微鏡法の強みといえる。

本稿では、本誌2020年1月号特集「分子を見る最前線」掲載記事「単分子原子分解能実時間電子顕微鏡法による化学反応研究」以降の単分子観察技術の発展、ならびにそれに基づく化学現象理解の進展について概説し、従来技術の限界を突破する最新成果に焦点を当てる。

電子線が引き起こす反応を理解し利用する

単分子観察の鍵となるのが、合成化学や超分子化学的手法に基づいた試料作製手法である。例えば、単層カーボンナノチューブ(CNT)をナノスケールの試験管として用い、その内部に分子を内包させたり(ナノ試験管法)、あるいはCNT表面の化学修飾により分子を結合することで(化学釣り針法)、個々の分子もしくは集合体を孤立化してサンプリングする。この試料に対して原子分解能で透過電子顕微鏡(TEM)動画を撮影することで、分子の構造変化や化学反応の過程を記録することが実現されている^{1,2)}。

TEM動画として記録される分子の反応は、一見ランダムに発生するよう見えるが、分子ごとに反応タイミングを記録し集計することで、全体として反応速度が一次反応式に従うことが確認された。これにより、各種反応条件下で温度を変化させた場合の反応速度を求め、アレニウス式から励起状態からの反応頻度因子と活性化エネルギーを導出することが可能となっ

はらの・こうじ
物質・材料研究機構 マテリアル基盤研究センター

〔経歴〕2007年東京大学大学院理学系研究科博士課程修了、博士(理学)。東北大学大学院理学研究科博士研究員、東京大学大学院理学系研究科助教、同大学総括プロジェクト機構特任准教授を経て、22年より現職。九州大学-NIMS 連携大学院教授、東京科学大学特定教授を兼任。〔専門〕電子顕微鏡、分子集合体科学。

E-mail: harano.koji@nims.go.jp



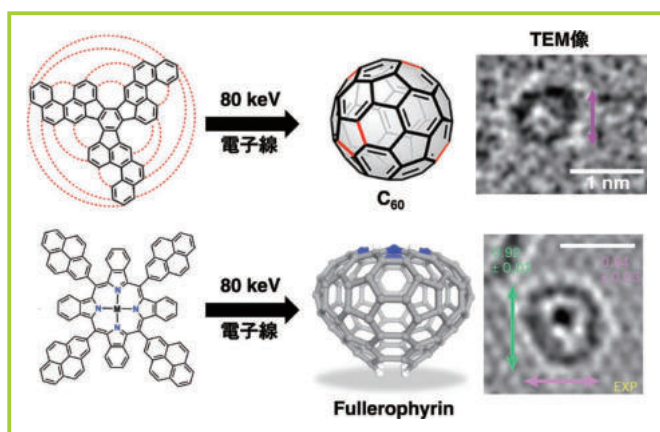


図1 電子線照射による脱水素環化反応の可視化： C_{60} および Fullerophyrin (Pb 原子内包) 形成

文献 6, 7 から許可を得て転載。

た³⁾。さらに、電子線の加速電圧すなわちエネルギーを変化させることにより、分子反応機構の変化を詳細に追跡した。その結果、80～120 kV という一般的な電子顕微鏡観察条件下では、フラーレン C_{60} の二量化反応が電子励起状態から進行すること、電子線の加速電圧によって一重項および三重項励起状態を制御できることが明らかとなった^{4,5)}。これらの知見は、導電性支持体（今回の場合は CNT）上の分子試料に対し、電子線が誘起する化学反応が光化学反応と同様のメカニズムで説明可能であることを示している。

電子線によってどのような反応を引き起こせるかが理解できれば、狙った反応を引き起こし、新しい合成反応として用いることも可能になる。例として、筆者らはグラフェン上に担持した多環芳香族炭化水素 $C_{60}H_{30}$ が、電子線によって引き起こされる段階的な酸化的環化反応を経て C_{60} へと変化する様子を逐次的に可視化することに成功した（図1）⁶⁾。同様に、環拡張型ポルフィリン分子から球状のフラーレン様分子“fullerophyrin”を合成することにも成功している⁷⁾。分子が反応する様子を見ながら新分子を合成するという、かつてない分子合成機としての TEM の可能性を示した成果である。

STEM による単分子原子分解能観察

材料科学分野での電子顕微鏡観察や分析について、近年その主流は TEM から走査透過電子顕微鏡 (STEM) に移りつつある。TEM は電子線を広範囲に照射し、視野全体を同時に映し出す一方、STEM ではオングストロームレベルまで電子線を細く絞り、プローブとして視野を走査することによって像を取得する。この方法では、散乱電子や発生した X 線の検出に

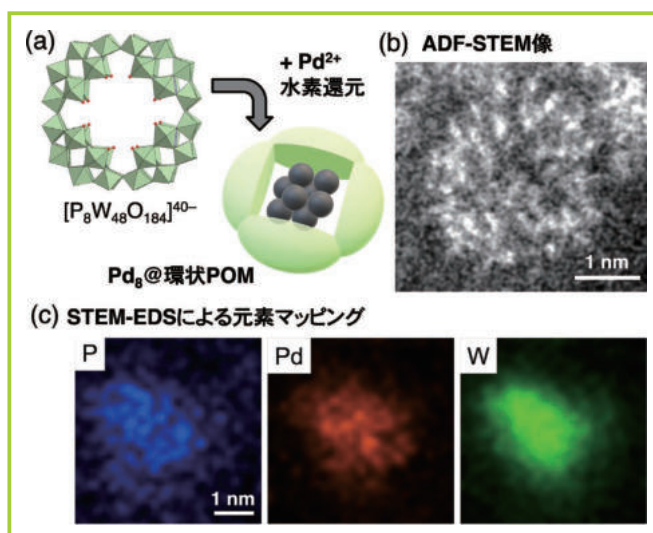


図2 Pd ナノクラスター内包環状 POM 単分子の原子分解能 STEM 像および元素マッピング

文献 10 から許可を得て掲載。

より元素分析や状態分析が可能であり、検出器を切り替えることで原子番号依存のコントラスト調整もできるという利点がある。一方、絞った電子線は時間当たりの単位面積に照射させる電子線量が TEM より高いため、STEM は電子線に弱い試料には一般的に不向きとされており⁸⁾、分子材料への応用は限定的であった⁹⁾。

筆者らは、重元素を含む場合にはこの常識が当てはまらず、重元素の強いコントラストによって、低線量でも高いシグナルノイズ比の像が得られるので、これを活かせば TEM では捉えにくい分子像を明瞭に観察できるのではないかと考えた。この仮説は、環状ポリオキソメタレート (POM) に内包された Pd クラスターの観察を通じて実証された（図2a）¹⁰⁾。TEM による観察条件では環状構造を確認することはできなかったが、環状暗視野 (ADF)-STEM 像取得において電子線を極力弱くし、フォーカス合わせなどの過程を工夫し像取得までの分子への電子線照射を最小限に抑えることで、環状 POM の構造を鮮明に捉えることができた（図2b）。POM 内部のコントラストからパラジウム (Pd) ナノクラスターが内包されていることも示唆され、エネルギー分散型 X 線分析 (EDS) による元素分析と合わせて、Pd ナノクラスターの包接を環状 POM 単分子レベルで確認することに成功した（図2c）。

集積化構造をみるための新包埋手法

溶液構造の観察技術としてはクライオ電子顕微鏡法が広く用いられている。しかし、この手法は水を急速

冷凍することによって非晶質の水となる現象に基づいているため、非水溶媒系への適用には様々な課題が存在する。加えて、空間分解能の限界や装置へのアクセスの制約もある。そのため、特に分子集合体のような比較的弱い相互作用から構築される材料群において、汎用的な電子顕微鏡を用いて溶液中の構造を維持しながら高分解能で観察する方法の確立が求められている。

実際、筆者らは金属クラスターを有機配位子で架橋した IrAu_{12} クラスター集積体の観察においてこうした問題に直面した。従来の方法では、試料溶液をキャストする過程で乾燥に伴い非特異的な凝集が発生し、個々の集積体を明瞭に可視化することは困難だった。そこで、集積体溶液にポリスチレン (PS) を加え、TEM グリッド上にキャストすることで、PS に包埋された状態の試料を作製した。ADF-STEM 観察の結果、 IrAu_{12} クラスターをイソシアニド配位子で架橋したダンベル型二量体が適切に分散し、個々の構造が明確に捉えられた (図 3)¹¹⁾。PS 薄膜のナノサイズ空隙に集積体が捕捉されることで、良好な分散状態が実現したと考えられる。さらに、直線三量体や三角形三量体、多量体に関してもイメージングに成功している。STEM-EDS 分析では、各クラスターに含まれる Ir 単原子由来のシグナル取得にも成功しており、電子線照射に対する試料安定性が十分に担保されている。高分子と混ぜてキャストするという手法の簡便さと汎用性にも優れ、他の金属ナノ構造体にも応用が期待できる。

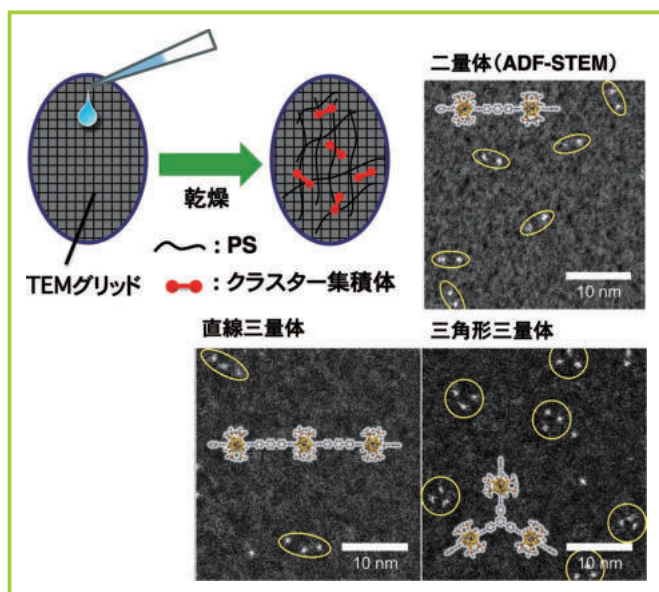


図 3 ポリスチレン (PS) を包埋材とした IrAu_{12} ナノクラスター集積体の STEM 観察
文献 11 から許可を得て掲載。

おわりに

2007 年の最初の単分子 TEM 動画の報告以来¹²⁾、「分子観察によって何がわかるのか」という問いに対する答えとして、分子一つ一つの挙動の統計解析や、他手法で明らかにできない複合体構造解析、さらには TEM を合成機として用いた新分子創製など、その研究の幅は多方面に広がってきた。そしてこれらの研究は、観察対象に応じて、化学的デザインに基づいた新しい試料作製法を化学者が開発することにより支えられてきた。今後、より実環境に近い条件での観察、例えば、液中観察やオペランド計測は、実際に機能を発現する場における分子の本来のふるまいを理解する上でますます重要になってくるであろう。また、単分子観察のターゲットとして、触媒¹³⁾や光学材料¹⁴⁾など対象分野が広がっており、分子観察の必要性は高まる一方である。電子顕微鏡を用いた分子科学研究の価値を数々の応用例を通して積極的に伝えていくことに加え、現状では電子顕微鏡が高額な装置であるがゆえに、多くの化学者が使いやすい環境を国内外のネットワークを通して整えることも、筆者らの大切な役割だと考えている。

本稿で紹介した研究成果は、中村栄一特別教授、中室貴幸特任准教授、佃達哉教授、鈴木康介教授 (東京大学)、Dominik Lungerich 博士 (韓国 IBS) をはじめ、多くの研究者の方々と共同研究であり、厚く御礼申し上げます。

- 1) E. Nakamura, *Acc. Chem. Res.* **2017**, *50*, 1281.
- 2) K. Harano, T. Nakamuro, E. Nakamura, *Microscopy* **2024**, *3*, 101.
- 3) S. Okada, S. Kowashi, L. Schweighauser, K. Yamanouchi, K. Harano, E. Nakamura, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 18281.
- 4) D. Liu, S. Kowashi, T. Nakamuro, D. Lungerich, K. Yamanouchi, K. Harano, E. Nakamura, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2022**, *119*, e2200290119.
- 5) D. Liu, D. Lungerich, T. Nakamuro, K. Harano, E. Nakamura, *Micron* **2022**, *160*, 103316.
- 6) D. Lungerich, H. Hoelzel, K. Harano, N. Jux, K. Yu. Amsharov, E. Nakamura, *ACS Nano* **2021**, *15*, 12804.
- 7) H. Hoelzel, S. Lee, K. Yu. Amsharov, N. Jux, K. Harano, E. Nakamura, D. Lungerich, *Nat. Chem.* **2023**, *15*, 1444.
- 8) T. Susi, J. C. Meyer, J. Kotakoski, *Nat. Rev. Phys.* **2019**, *1*, 397.
- 9) N. Sasaki, J. Kikkawa, Y. Ishii, T. Uchihashi, H. Imamura, M. Takeuchi, K. Sugiyasu, *Nat. Chem.* **2023**, *15*, 922.
- 10) R. Xi, K. Yonesato, T. Yatabe, Y. Koizumi, S. Kikkawa, S. Yamazoe, K. Harano, K. Yamaguchi, K. Suzuki, *Adv. Sci.* **2025**, *12*, e09418.
- 11) Y. Fukumoto, S. Takano, Y. Asami, H. Hirai, K. Harano, T. Tsukuda, *Nano Lett.* **2025**, *25*, 12248.
- 12) M. Koshino, T. Tanaka, N. Solin, K. Suenaga, H. Isobe, E. Nakamura, *Science* **2007**, *316*, 853.
- 13) Y. Kratish, Y. Liu, J. Li, A. Das, L. O. Jones, A. Agarwal, Q. Ma, M. J. Bedzyk, G. C. Schatz, T. Nakamuro, E. Nakamura, T. J. Marks, *Chem* **2025**, *11*, 102541.
- 14) S. Maity, T. Komagata, S. Takano, S. Masuda, J. Kikkawa, K. Kimoto, K. Harano, T. Tsukuda, *Nano Lett.* **2024**, *24*, 13206.