

機関番号：12608

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21710103

研究課題名(和文) 生体分子の認識能を利用した固体表面のナノスケール組成分析プローブ顕微鏡技術の開発

研究課題名(英文) Nanoscale Chemical Composition Analysis Using Peptides Targeting Inorganic Materials

研究代表者

林 智広 (Hayashi Tomohiro)

東京工業大学・大学院総合理工学研究科・准教授

研究者番号：30401574

研究成果の概要(和文)：

本研究の目的は2000年代前半から注目されてきた”特定の材料に対して特異的に高いアフィニティーを示すペプチド(以後、材料結合ペプチドと示す)”の材料認識能を利用し、従来不可能であった溶液中におけるナノスケールの分解能での表面化学組成分析技術を開発することである。我々は以前の研究でターゲット材料に対する結合メカニズムが明らかにされているTi結合ペプチドを用いて探針の設計、測定条件の最適化を中心に上記技術の開発を行った。

研究成果の概要(英文)：

Chemical composition analysis by scanning probe microscopy (SPM) in water is a method whose introduction has been long-awaited. Here we propose a simple method for performing chemical composition analyses of solid surfaces in water using atomic force microscopes (AFM) with probes functionalized with peptides targeting inorganic materials. In this work, bicompositional surfaces of gold and titanium oxide were scanned with AFM probes modified with the titanium-binding peptide (TBP). We found that surface chemical composition clearly appeared as contrasts in the mapping images of adhesion forces with nanometer-scale resolutions. We further discuss appropriate designs of the AFM probes and appropriate imaging conditions for the chemical composition analysis based on the results of force measurements of the single TBP-titanium bond.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学 ・ ナノ材料・ナノバイオサイエンス

キーワード：走査型プローブ顕微鏡・生体分子・ペプチド・表面科学・固液界面・吸着・分子認識

## 1. 研究開始当初の背景

走査型トンネル電子顕微鏡(STM)、原子間力顕微鏡(AFM)などのプローブ顕微鏡技術はこの20年で飛躍的な進歩を遂げ、真空中のみならず、空气中、液中など様々な環境下で原

子分解能での観察が可能となった。しかしながら通常のプローブ顕微鏡の最たる欠点はプローブ顕微鏡単体では組成分析を行うことができない点である。今までに「特定の官能基を特異的に高コントラストで可視化す

る STM]、「ラマン散乱などの光学的な手法と組み合わせた AFM による組成分析」、「非接触型 AFM を用いた超高真空中での表面の原子種の識別」、「X 線照射下での探針-表面の相互作用の変化によって原子種分析を行う AFM」などの報告が存在するが、いずれも応用できる系が限られており、通常の大気中もしくは液中で動作するプローブ顕微鏡を用いて簡便に行うことは出来ない。

## 2. 研究の目的

本研究では近年注目を集めている「ターゲット有機物・無機物を認識するペプチド」2 のターゲット材料認識能に着目した。現在までに Au, Ag, Cu, Pd, Pt, Ti などの金属、GaAs, Si, ZnS などの半導体、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Co<sub>2</sub>O<sub>3</sub> などの酸化物、さらには C<sub>60</sub>, カーボンナノチューブなどのナノカーボン材料、PMMA などの合成高分子など様々な材料に特異的な相互作用を示すアミノ酸配列が報告されている(表 1)。本研究ではこれらのターゲット認識ペプチドのターゲット認識能と pN レベルで表面-プローブ間の相互作用を測定可能な AFM を組み合わせることによって、水溶液中におけるナノスケールでの固体表面の組成分析技術を確立することを目的とする。

## 3. 研究の方法

本研究では申請者の以前の研究により、ターゲット認識メカニズムが明らかとなっている Ti 認識ペプチドを用いて、Ti を含む表面の組成分析の技術を確立する(プローブの修飾方法、AFM 測定モードなど)を確立する。

## 4. 研究成果

多種の材料により形成される複雑なナノ構造を持つハイブリッドナノデバイスへの注目を集めている。それに対応して表面、物質の構造とその化学組成を同時に観察する技術の重要性が高まっている。エネルギー分散形 X 線分光器(EDX)と走査型電子顕微鏡(SEM)、あるいは電子エネルギー損失分光法(EELS)と透過型電子顕微鏡(TEM)の複合システムはナノサイズの構造を有する材料の形状、化学組成を同時にモニターできる強力な手段である。しかしながらこれらの手法では測定は高真空中で行われ、試料も真空環境への互換性が要求される。それ故これらの手法を電気化学、あるいはコロイド界面化学など、溶液環境下でのその場観察を行うことは出来ない。一方、走査型プローブ顕微鏡は真空中、大気中、溶液中など様々な環境下での測定が可能であるが、局所的な化学組成・化学状態の分析には適さない。本研究では近年注目を集めている「特定のターゲット材料に特異的に吸着するペプチド」を応用し、水溶液環境下におけるナノスケールの化学組成分析技

術の確立を目指した。

当該年度では Ti を認識するペプチドで修飾した原子間力顕微鏡(AFM)を用いて、水溶液中で固体表面を走査することで、Ti を含む領域とそれ以外の領域を明確に区別することに成功した。本研究成果は水中でナノスケールで化学組成分析を行った初めての例である。さらに Ti と Ti 認識ペプチド間の単分子の相互作用測定も行い、その結果から水中における弱い静電的相互作用、水素結合などを利用して表面の化学分析を行うには高い負荷速度での測定が適しているという知見を得た。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

1. ‘Nonfouling self-assembled monolayers: mechanisms underlying protein and cell resistance’

T. Hayashi, and M. Hara,  
*Current Physical Chemistry*, 1, 90-98, 2011. 査読有

2. “Nanoscale chemical composition analysis using peptides targeting inorganic materials”

Yuki Arai, Ken-Ichiro Okabe, Hiroshi Sekiguchi, Tomohiro Hayashi, and Masahiko Hara  
*ACS Langmuir* 2011, 27, (6), 2478-2483. 査読有

3. ‘Ag nanoparticle sheet as a marker of lateral remote photocatalytic reactions’

Takeshi Nagahiro, Kenichi Ishibashi, Yasuo Kimura, Michio Niwano, Tomohiro Hayashi, Yasuhiro Ikezoe, Masahiko Hara, Tetsu Tatsuma, and Kaoru Tamada  
*Nanoscale* 2 (2010) 107-113 査読有

4. 「生体分子をプローブとした表面の化学組成分析」

林智広・新井勇貴・原正彦  
*Molecular Electronics and Bioelectronics* v. 21 (2) (2010) p. 73-78 査読有

5. ‘Behavior of Hydroxide Ions in Vicinity of Self-Assembled Monolayers of Alkanethiols on Metals’

Tomohiro Hayashi, Yusaku Tanaka, Hiroaki Usukura, and Masahiko Hara  
*e-Journal of Surface Science and Nanotechnology* 7 (2009) p. 601-605 査読有

6. 'Blinking Kinetics of Single CdSe/ZnS Nanocrystals by Photon-Counting Statistics at High Temporal Resolution' Sang Yun LEE, Takashi Isoshima, Tomohiro HAYASHI, and Masahiko HARA e-Journal of Surface Science and Nanotechnology 7 (2009) p. 701-707 査読有

7. 'Quantitative Study of the Gold-Enhanced Fluorescence of CdSe/ZnS Nanocrystals as a Function of Distance Using an AFM Probe' Sang Yun Lee, Kouta Nakaya, Tomohiro Hayashi, and Masahiko Hara Physical Chemistry Chemical Physics 11 (2009) p. 4403 - 4409 査読有

8. 'Self-Assembled Monolayers with Chemical Gradients: Fabrication and Protein Adsorption Experiments' Tomohiro Hayashi, Nagomi Makiuchi, and Masahiko Hara Japanese Journal of Applied Physics 48 (2009) p. 095503 1-5 査読有

9. 「生体分子の吸着忌避特性を持つ表面が引き起こすナノメートルスケールの相互作用」林智広・田中勇作・原正彦 表面科学 v. 30, (2009) p. 444-447 査読有

10. 'Critical amino acid residues for the specific binding of the Ti-recognizing recombinant ferritin with oxide surfaces of titanium and silicon' Tomohiro Hayashi, Ken-ichi Sano, Kiyotaka Shiba, Kenji Iwahori, Ichiro Yamashita, and Masahiko Hara Langmuir (2009) 25, p. 10901-10906 査読有

11. 'Effect of Steric Hindrance on Desorption Processes of Alkanethiols on Au(111)' Tomohiro Hayashi, Kenji Wakamatsu, Eisuke Ito, and Masahiko Hara Journal of Physical Chemistry C v. 113 (2009) 18795-18799 査読有

[学会発表] (計 10 件)

1. Hayashi, T.; Arai, Y.; Okabe, K.-I.; Hara, M., Chemical analysis at nanoscales by atomic force microscopy with an assistance of peptides targeting inorganic molecules. In Pacificchem 2010, Honolulu, 2010. (2010 年 12 月 17 日)

2. Arai, Y.; Okabe, K.-I.; Hayashi, T.; Hara, M., Nanoscale chemical composition analysis using material-binding peptide aptamers. In MRS-Japan, Yokohama, 2010. (2010 年 12 月 22 日)

3. “材料を識別するペプチド: その識別メカニズムと固体表面組成分析への応用” 林智広  
2010 年度 粉体工学会若手勉強会 静岡県 伊東市 2010 年 8 月 5-6 日(金) 発表は 6 日 (招待講演)

4. “ペプチドアプタマーを利用した組成分析プローブ顕微鏡の開発” 岡部健一郎, 新井勇貴, 林智広, 原正彦  
2010 年春季第 57 回応用物理学関係連合講演会 2010 年 3 月 17 日 東海大学湘南キャンパス

5. “Ti 結合ペプチドとターゲット材料間の相互作用”, ATI「DFS を考える」研究会, 東京 財団法人 新世代研究所, 2010 年 3 月 11 日 (招待講演)

6. “Interaction between Ti-binding Peptide and Ti Surfaces Explored by Atomic Force Microscopy: From Dynamic Force Spectroscopy to Chemical Composition Analysis” Yuki Arai, Ken-ichiro Okabe, Tomohiro Hayashi, and Masahiko Hara  
17th International Colloquium on Scanning Probe Microscopy (ICSPM17)  
熱川ハイツ(静岡県賀茂郡静岡県賀茂郡)  
2009 年 12 月 10-12 日(発表は 10 日)

7. “Interactions induced by nonfouling surfaces at a nanometer scale: from monolayers to polymer surfaces” Tomohiro Hayashi and Masahiko Hara  
19th Academic Symposium of MRS-Japan 2009  
横浜情報文化センター他 2009 年 12 月 7-9 日 (発表は 7 日) (招待講演)

8. “材料認識ペプチドとターゲット材料間の相互作用の動的力分光 (DFS) 測定”, ATI「DFS を考える」研究会, 東京 財団法人 新世代研究所, 2009 年 11 月 26 日 (招待講演)

9. “原子間力顕微鏡を用いた材料認識ペプチドの認識メカニズムの解析” 林智広・新井勇貴・原正彦  
高分子討論会  
熊本大学 2009 年 9 月 17 日 (依頼講演)

10. “無機物認識ペプチドを用いた液中 AFM  
による表面材料分析”

林 智広

(社) 表面技術協会 ナノテク部会 研究会  
東京理科大 2009 年 5 月 28 日 (招待講演)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 智広 (ハヤシトモヒロ)

東京工業大学・大学院総合理工学研究科・准  
教授

研究者番号：30401574