

研究種目： 基盤研究 (S)  
研究期間：2007~2011  
課題番号：19106001  
研究課題名 (和文) 周波数検出型 AFM に基づく大気・液中ナノ空間相関計測・制御法の開発  
研究課題名 (英文) Proximal multi-probe measurement and control method for nanometer-scale structures based on frequency modulation AFM  
研究代表者  
山田 啓文 (YAMADA HIROFUMI)  
京都大学・大学院工学研究科・准教授  
研究者番号：40283626

研究分野：工学

科研費の分科・細目：応用物理学・工学基礎、薄膜・表面界面物性

キーワード：走査型プローブ顕微鏡、マルチ AFM プローブ技術、ナノ空間相関、  
ナノ刺激応答、液中高分解能、生体分子

### 1. 研究計画の概要

本研究課題では、多環境高分解能マルチ AFM プローブ技術、ナノ空間相関マッピング法 (マルチプローブナノ物性計測)、多環境下でのナノスケール表面計測加工・分子操作技術、および生体分子の刺激-応答計測を確立することを目的としている。

上記目的を達成するために、相互に密接に連携する、以下の研究テーマに沿って研究を推進する。(1) FM-AFM による分子スケール物性分析技術、(2) 1 次元ナノ構造体のナノ空間相関計測、(3) 液中動作高分解能マルチ AFM プローブ技術、(4) 膜タンパク質分子の機能計測のための生体分子固定化、(5) 膜タンパク質分子の刺激応答マッピング、(6) ツインプローブによる分子制御・操作。

### 2. 研究の進捗状況

(1) FM-AFM による分子スケール物性分析技術：各種 SPM モードで動作可能なマルチプローブ AFM を開発するとともに、絶縁基板上の  $\pi$  電子共役分子薄膜系の電気特性・電子物性評価を行った。具体的には、導電性プローブ 2 本を同一/隣り合うペンタセン薄膜グレインの 2 点に接触させ、各々をドレイン・ソース電極、基板をゲート電極とする、局所領域における電界効果トランジスタ特性の測定に成功した。

(2) 1 次元ナノ構造体のナノ空間相関計測：マルチプローブ AFM により、1 次元ナノ構造体の特異な電導物性を評価した。これまで、1 次元電気伝導的な特性を示すポリジアセチレン単結晶の電気伝導異方性の評価に成功した。現在、金属ナノロッドの電気特性評価

のため、試料調整を進めている。

(3) 液中動作高分解能マルチ AFM プローブ技術：溶液環境におけるプローブ間での運動干渉を低減するため、小振幅 FM-AFM 動作、環境擾乱の抑圧、カンチレバーの最適化を行った。現在、カンチレバーの運動変位ゆらぎの低減、カンチレバー変位測定系における雑音低減、FM 検出における信号雑音比の向上などにより、振動振幅 0.1nm の小振幅動作を達成し、液中動作マルチ AFM プローブ動作を実現した。

(4) 膜タンパク質分子の機能計測-AFM 計測のための生体分子固定化：AFM による生体分子機能計測の実現に向けて、シリコン基板上に、センサータンパク質を埋め込んだ脂質二重膜を、堆積・固定化するための手法を開発している。現在までに両親媒性のアンカーを用いて脂質 2 分子膜を固定化することに成功した。

(5) 膜タンパク質分子の刺激応答マッピング：機能性プローブによってもたらされうる、生体膜上のセンサータンパク質へのさまざまな信号刺激と、それに応じて生じる構造・物性の変化を可視化しうるプローブマッピングシステムを構築している。

(6) ツインプローブによる分子制御・操作：マルチ AFM プローブでは、観察・分析用プローブおよび制御・加工・操作用プローブを同時にもつことが可能であり、AFM による分子制御・操作の実用的な応用が可能となる。現在、カーボンナノチューブの操作および電気-機械応答計測について検討を行っている。

### 3. 現在までの達成度

区分：(2) おおむね順調に進展している。

本研究において開発された装置の基本的性能は計画通りであり、さらには各研究サブテーマの目標についても当初の計画通りに達成されている。一方、研究遂行上の問題点もいくつか生じたが、解決するに十分な見通しを得た。

[多環境マルチプローブ AFM 技術開発]：近接位置決め可能なマルチプローブ AFM 装置を開発した。(大気中での最少探針間距離は 200 nm)多環境対応マルチプローブ AFM 装置を開発し、真空、大気、液中にて AFM 観察が実現した。液中でマルチプローブ動作する上での問題（カンチレバー間の運動相互干渉・プローブ間ドリフト）が生じたが、その解決方針を策定した。

[液中での高分解能観察技術]：小振幅動作の実現、雑音低減、液中での高分解能観察技術を確立した (DNA・タンパク質分子観察等)。

[1 次元ナノ構造体のナノ空間相関計測・ナノ刺激応答マッピング手法]：ポリジアセチレン単結晶に対し電荷注入（局所刺激）を行い、同時にその近傍における電位分布計測（応答マッピング）をおこなった。ポリジアセチレンの 1 次元電導を可視化した。

[膜タンパク質分子の機能計測-AFM 計測のための生体分子固定化]：現在までに、両親媒性のアンカーを用いて脂質 2 分子膜を固定化することに成功した。一方で、固定化した埋め込み膜タンパク質分子が失活していないかの定量評価が問題となったが、その解決方針を見出した。

#### 4. 今後の研究の推進方策

これまでの開発、成果の下、今後の実施予定の研究テーマ、1 次元ナノ構造体のナノ空間相関計測、膜タンパク質分子の刺激応答マッピング、ツインプローブによる分子制御・操作、を推進し、多環境マルチ AFM プローブ技術によるナノ空間相関マッピング法、多環境下でのナノスケール表面計測加工・分子操作技術、および生体分子の刺激-応答計測を確立する。また、これまでの研究遂行時に生じた問題点、液中環境におけるカンチレバー振動の相互干渉、2 プローブ間の熱ドリフト、機能保持率の定量評価についても、下記のように解決する見通しが得られている。

(1) カンチレバー駆動の相互干渉：溶液環境で複数のプローブを接近させて動作させる上で、カンチレバー振動の相互干渉は、当初の予想以上に大きな問題であることが判明した。しかしながら、これまでの予備実験により、小振幅振動動作および光熱励振法によるカンチレバーの直接励振が、相互干渉の低減に有効であることを見だし、解決の見通しを得た。

(2) 装置の熱ドリフトとその低減：溶液中

での膜タンパク質の刺激応答マッピングを行うにあたっては、複数のプローブの精密な位置制御が非常に重要となるが、液中 AFM においては、環境温度による試料のドリフトが非常に顕著となり、高精度のプローブの位置制御および高分解能観察を大きく妨げることが判明した。しかしながら、装置の設置環境の温度を精密に制御することで、このドリフトを大幅に低減できることを見だし、解決の見通しを得た。

(3) 固定化膜タンパク質の機能保持：膜タンパク質の機能計測に当たっては、予めその機能保持率を算出する指標を得る必要があるが、単位タンパク質量あたりの活性を評価することで機能保持率を算出できることを見いだした。これにより、機能保持率の定量評価が可能となり、マルチプローブ AFM による生体機能計測を推進できる見通しを得た。

#### 5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 5 件)

1. M. Hirose, E. Tsunemi, K. Kobayashi, K. Matsushige and H. Yamada: "Investigations of Local Electrical Properties of Pentacene Thin Films by Dual-Probe Atomic Force Microscopy", Jpn. J. Appl. Phys., 49, 8B (in press) 査読有
2. E. Tsunemi, K. Kobayashi, K. Matsushige and H. Yamada: "Visualization of anisotropic conductance in polydiacetylene crystal by dual-probe frequency-modulation atomic force microscopy/Kelvin-probe force microscopy", J. Vac. Sci. Tech. B, 28, 3 (in press) 査読有
3. T. Ichii, T. Fukuma, T. Yoda, K. Kobayashi, K. Matsushige and H. Yamada: "Submolecular-scale Investigations on metal-phthalocyanine monolayers by frequency modulation atomic force microscopy", J. Appl. Phys., 107, 024315 (2010) 査読有
4. H. Yamada, K. Kobayashi, T. Fukuma, Y. Hirata, T. Kajita and K. Matsushige: "Molecular Resolution Imaging of Protein Molecules in Liquid Using Frequency Modulation Atomic Force Microscopy", APEX, 2, 095007 (2009) 査読有
5. T. Nishio, Y. Miyato, K. Kobayashi, K. Matsushige, H. Yamada: "Piezoresistive properties of carbon nanotubes under radial force investigated by atomic force microscopy", Appl. Phys. Lett., 92, 063117 (2008) 査読有

[その他]

<http://piezo.kuee.kyoto-u.ac.jp/jp/research/multi-spm>