

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 28 日現在

機関番号：14301

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

研究成果の概要（和文）：

本研究では、直上入射光でこ法を採用することで、あらゆる環境で動作するデュアルプローブ AFM を新規に開発した。本装置によって、ポリジアセチレン単結晶における主鎖方向への異方的なキャリア伝導をナノスケールで可視化することや、ペンタセンの単一グレイン薄膜内のトランジスタ特性の計測に成功した。さらに、刺激応答計測による生体分子の機能解析に向けて、生理環境下での高分解能マルチプローブ AFM 動作を確立した。

研究成果の概要（英文）：

A novel dual-probe AFM working in various environments has been developed based on vertical incidence optical beam deflection method. We succeeded in visualizing nanoscale anisotropic carrier conduction of a polydiacetylene crystal, especially in the diacetylene chain direction, as well as in measuring transistor characteristics of a single grain pentacene film. Furthermore, high-resolution dual-probe AFM measurements in physiological environments have been established toward the molecular-scale analysis of biological functions by use of the two-probe stimulus-response measurement.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	18,500,000	5,550,000	24,050,000
2008 年度	16,600,000	4,980,000	21,580,000
2009 年度	14,900,000	4,470,000	19,370,000
2010 年度	14,500,000	4,350,000	18,850,000
2011 年度	11,600,000	3,480,000	15,080,000
総計	76,100,000	22,830,000	98,930,000

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. 研究開始当初の背景

周波数変調検出方式の AFM は対象試料と探針間にはたらく相互作用力を周波数変化として高感度に検出することで、高空間分解能での構造観察、物性分析を可能にしており、実際、高分解能の構造・物性計測法として既に広く用いられているが、現状の AFM 計測

技術は、シングルプローブによる対象の特定部位 1 点の高分解能評価法であるため、刺激-応答系のような信号の空間相関が必要となる計測は困難である。また、AFM を表面加工・分子操作のツールとして利用する場合、計測プローブとしても同時使用するため最適なプローブとはなりえず、こうした応用を

大きく阻害してきた。

2. 研究の目的

本研究課題では、高分解能イメージングを可能とする周波数変調 AFM (FM-AFM) 技術に基づいて、真空、大気、液中環境において動作する、近接位置決め可能な複数の AFM プロブ技術を開発し、生体高分子を含む単一/少数分子系の電気・力学特性の空間的相関を計測するナノ空間相関マッピング法を確立する。さらに、加工・操作プロブと観察・計測プロブを分離することで、単一/少数分子系の配座・配向制御に向けての基盤技術を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

次の6つの研究テーマについて研究を進める。

(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ブ AFM を開発するとともに、絶縁基板上の π 電子共役分子薄膜系の電気特性・電子物性評価を行う。

(2) 1次元ナノ構造体のナノ空間相関計測：マルチプロブ AFM により、1次元ナノ構造体の特異な電導物性を評価する。

(3) 液中動作高分解能マルチ AFM プロブ技術：溶液環境におけるプロ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う。

(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する。

(5) 膜タンパク質分子の刺激応答マッピング：機能性プロブによってもたらされる、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するプロブマッピングシステムを構築する。

(6) ツインプロブによる分子制御・操作：マルチ AFM プロブでは、観察・分析用プロブおよび制御・加工・操作用プロブを同時にもちことが可能であり、AFM による分子制御・操作へ実用的に応用する。

4. 研究成果

(1) 環境動作マルチプロブ AFM の開発：真

空中・ガス中・液中などのあらゆる環境で動作する多環境マルチプロブ AFM を開発し、大気中でのペンタセンなどの分子薄膜観察、超純水中での Au(111) 単結晶表面の AFM 観察を行い、良好に動作することが確認された

(図 1)。液中で動作する高分解能マルチプロブ AFM を動作させることへの各研究分野からの期待は大きく、タンパク質や細胞等の生体分子の外的刺激による構造変化の追跡を使った機能解析や、次世代の分子電気機械デバイスの開発などに大きく貢献することが期待できる。一方、液中動作のマルチプロブ AFM では、近接するカンチレバーの運動相互干渉を減らすため、FM-AFM 小振幅動作が必須となるため、液中 FM-AFM の最適化を行った。その結果、プラスミド DNA の B 型の二重らせん構造、さらには個々のリン酸基に対応する凹凸を明瞭に観察することができた。STM、AFM による液中二重らせん構造観察はもちろん、個々のリン酸基を可視化したのも世界で初めてである。今後、既知の塩基配列を有する DNA や、特定の塩基配列へ結合するタンパク質の結合状態の分子分解能観察により、遺伝子発現メカニズムの解明や DNA コンピュータの開発など、広範な研究分野に大きな進展をもたらすことが予想される。

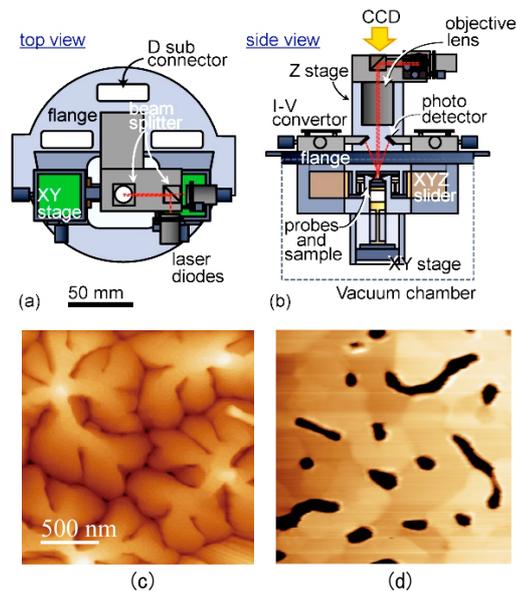


図 1 直上入射マルチプロブ AFM.

(a) 模式図/上面 (b) 模式図/前面.

(c) ペンタセン表面形状像/真空中 FM-AFM.

(d) 金(111)単結晶面表面形状像/超純水中 AM-AFM.

(2) ナノスケール物性測定：マルチプロブ AFM システムを用いて、高分子結晶や有機薄

膜を対象に電子物性評価を行った。ポリジアセチレン結晶の電気伝導異方性を2本のプローブにより評価し、プローブから注入された電荷のジアセチレン主鎖方向への異方的な伝導を可視化することに成功した。また、シリコン酸化膜上に堆積したペンタセン薄膜に対して、2本のプローブを各々ドレイン、ソース電極（ゲート電極は基板）として用いることで、局所的な電界効果特性の測定を行い、p型半導体特性を示す結果を得ることができた（図2）。また、探針表面を白金コートした2つのAFMプローブを対電極として用い、シリコン熱酸化膜上に孤立堆積した金ナノロッドへ接触力を20 nN以下で一定となるよう制御して電流計測を行った。得られた電流・電圧特性から接触抵抗の影響を加味して算出した抵抗値は数十 Ω オーダーであり、バルク導電率から求めた理論値とよく整合する結果が得られた。このように、マルチプローブAFMを用いることで、試料上に電極を作製することなく材料の導電率やその異方性の測定を行うことができ、今後、カーボンナノチューブやシリコンナノワイヤーなど、次世代電子材料の物性測定ツールとしての利用が期待できる。

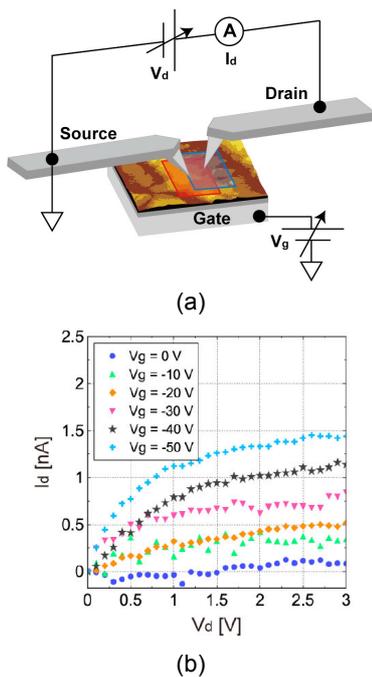


図2 ペンタセン・シングルグレイン薄膜上での局所電流-電圧特性測定 (a) 測定原理の模式図 (b) シングルグレイン上で得られた、さまざまなゲート電圧に対するドレイン電流-電圧特性。

(3) 表面微細加工・分子操作・生体分子操作へ向けたプローブ作製：窒化シリコン製カンチレバーに集束イオンビーム加工により微小開口を形成し、単一のフェリチンタンパク

質や金ナノ粒子の堆積に成功した（図3）。さらに、金ナノ粒子の堆積に関しては、導電性探針と基板との間に交流電界を印加して誘電泳動を誘起することで、金ナノ粒子を探針側から基板側へ輸送することを可能とし、堆積粒子数を正確に制御する技術の開発に成功した。また、シリコン探針表面に自己組織化膜を形成することで、表面をメチル基で終端して疎水化処理、またはオゾン処理によって表面を親水化処理する技術を確立した。

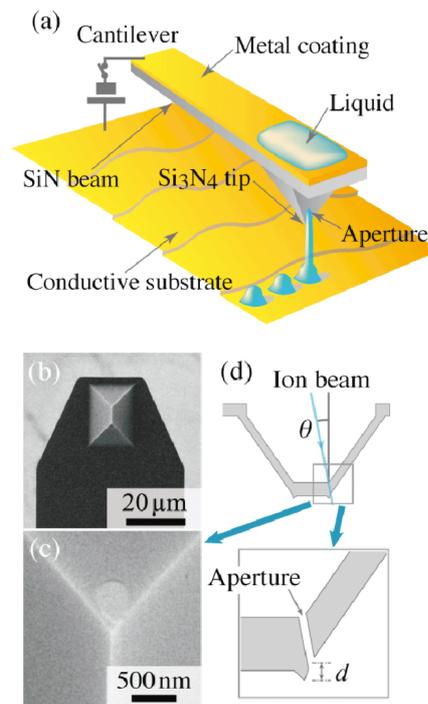


図3 微小開口を探針先端近傍に有するカンチレバーを用いた新規液滴堆積技術 (a) 本液滴堆積法の概念図 (b), (c) 開口作製の前後におけるカンチレバー先端の二次電子SEM像 (d) 開口近傍の断面模式図

マイカやグラファイト等の標準試料を対象に基板-探針間相互作用力を測定することで探針の親疎水性との相関を調べた。

(4) 生体高分子系におけるナノ空間マッピング：AFMによる生体分子機能計測の実現に向け、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た。シリコン表面をシラン化修飾剤で修飾しカルボキシル基が露出した表面とし、これに脂質膜に潜り込む事の可能な脂溶性のアンカー型リンカーを結合させた。さらにフォスファチジルコリンを主成分とする天然型脂質よりなるリポソームを表面で融合させる事により脂質2分子膜の層を形成した。目的の膜タンパク質は、あらかじめ所定の界面活性剤にて可溶化させ、これをリ

ポソーム懸濁液と混合・透析する事でポソーム中に組み込んだ。この2分子膜は脂溶性のアンカー分子が部分的に貫通する事で安定に保持され、かつ、埋め込まれたタンパク質の機能を阻害する事なく脂質2分子膜の流動性を保持していると考えられる。洗浄後も脂質が脱着せず、蛍光消光後に50%程度の回復率を持つことから、膜流動性の保持を確認した。さらに、マルチプローブを用いた生体試料計測への応用として、基板上に固定した導電性バイオナノワイヤー（シュワネラ・オネイデンシス株のべん毛）の電気伝導性の直接評価を試み、局所的な導電度や導電度の異方性について、通常の巨視的計測結果との比較等を行った。

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5件)

- (1) M. Hirose, E. Tsunemi, K. Kobayashi, K. Matsushige, H. Yamada: “Investigations of Local Electrical Properties of Pentacene Thin Films by Dual-Probe Atomic Force Microscopy”, Jpn. J. Appl. Phys., 49, 査読有, 08LB10, DOI: 10.1143/JJAP.49.08LB10 (2010).
- (2) E. Tsunemi, K. Kobayashi, K. Matsushige, H. Yamada: “Visualization of anisotropic conductance in polydiacetylene crystal by dual-probe frequency-modulation atomic force microscopy/Kelvin-probe force microscopy”, J. Vac. Sci. Technol. B, 28, 査読有, pp. C4D24-C4D28, DOI: 10.1116/1.3367983 (2010).
- (3) 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”, Applied Physics Express, 2, 査読有, 095007, DOI: 10.1143/APEX.2.095007 (2009).
- (4) N. Satoh, E. Tsunemi, Y. Miyato, K. Kobayashi, S. Watanabe, T. Fujii, K. Matsushige and H. Yamada: “Multi-Probe Atomic Force Microscopy Using Piezoelectric Cantilevers”, Jpn. J. Appl. Phys., 46, 査読有, pp. 5543-5547, DOI: 10.1143/JJAP.46.5543 (2007).
- (5) E. Tsunemi, N. Satoh, Y. Miyato, K. Kobayashi, K. Matsushige and H. Yamada: “Multi-Probe Atomic Force Microscopy with Optical Beam Deflection Method”, Jpn. J. Appl. Phys., 46, 査読有, pp. 5636-5638, DOI: 10.1143/JJAP.46.5636 (2007).

[学会発表] (計7件)

- (1) M. Hirose, K. Kobayashi, H. Yamada and K. Matsushige: “Local Electrical Transport Measurements of Organic Thin Films by Dual-Probe Atomic Force Microscopy”, 5th International Conference on Thin Films (ICTF-15), 2011年11月8日(京都).
- (2) E. Tsunemi, N. Oyabu, K. Kobayashi, K. Matsushige, and H. Yamada: “Development of multi-environment dual-probe AFM system”, 13th International Conference on Non-Contact Atomic Force Microscopy (NC-AFM 2009), 2010年8月2日(石川).
- (3) E. Tsunemi, K. Kobayashi, K. Matsushige, and H. Yamada: “Visualization of Anisotropic Conductance in Polydiacetylene Crystal by Two-probe FM-AFM/KFM”, 12th International Conference on Non-Contact Atomic Force Microscopy (NC-AFM 2009), 2009年8月14日(ニューヘブレン, アメリカ合衆国).
- (4) E. Tsunemi, N. Satoh, K. Kobayashi, K. Matsushige, H. Yamada: “Development of Two-Probe with Optical Beam Deflection Method”, International Conference on Nanoscience and Technology (ICN+T 2008), 2008年7月24日(コロラド, アメリカ合衆国).
- (5) 常見英加, 佐藤宣夫, 小林圭, 松重和美, 山田啓文: “光てこ法を用いたマルチプローブ AFM の開発”, 日本顕微鏡学会第63回学術講演会, 2007年5月20日(新潟).
- (6) E. Tsunemi, N. Satoh, K. Kobayashi, K. Matsushige, H. Yamada: “Development of multi-probe AFM with optical beam deflection method”, 10th International Conference on Non-Contact Atomic Force Microscopy (NC-AFM 2007), 2007年9月17日(アンタルヤ, トルコ).
- (7) E. Tsunemi, N. Satoh, K. Kobayashi, K. Matsushige, H. Yamada: “Development of Multi-probe AFM with Optical Beam Deflection Method”, 2007 Materials Research Society Fall Meeting, 2007年11月28日(ボストン, アメリカ合衆国).

[図書] (計1件)

- (1) H. Yamada, K. Kobayashi, Springer-Verlag, “Frequency Modulation Atomic Force Microscopy in Liquids, “Noncontact Atomic Force Microscopy Volume 2” (S. Morita, F. J. Giessibl, Franz, R. Wiesendanger (Eds.)), pp. 303-328 (2009)

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

名称：走査型プローブ顕微鏡の出力処理方法
及び走査型プローブ顕微鏡

発明者：常見英加、佐藤宣夫、小林圭、山田啓文、松重和美

権利者：国立大学法人京都大学

種類：特許

番号：特願 2008-314113

出願年月日：2008年12月10日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

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

6. 研究組織

(1)研究代表者

山田 啓文 (YAMADA HIROFUMI)

京都大学・工学研究科・准教授

研究者番号：40283626

(2)研究分担者

小林 圭 (KOBAYASHI KEI)

京都大学・産官学連携本部・助教

研究者番号：40335211

平田 芳樹 (HIRATA YOSHIKI)

産業技術総合研究所・主任研究員

研究者番号：10357858