

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 4 月 13 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26246025

研究課題名(和文) 高エネルギークラスターイオンを用いた新しい顕微質量分析法

研究課題名(英文) Novel imaging mass spectrometry using high energy cluster ions

研究代表者

木村 健二 (Kimura, Kenji)

京都大学・工学研究科・教授

研究者番号：50127073

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 31,700,000円

研究成果の概要(和文)：高速イオンを非晶質シリコン窒化膜に担持した生体高分子材料の試料に照射した際に、前方に放出される無傷の2次イオン収量が後方に比べて大きくなることを見出した。この前方二次イオン質量分析法を2次電子顕微鏡と組み合わせることにより、新しい顕微質量分析法を開発した。この方法では、高速イオンが試料を通過した際に前方に放出される2次イオンの質量分析を行うとともに、試料後方に放出された2次電子を2次電子顕微鏡を用いて観察し、イオンの入射点を特定することにより、試料中の特定の分子の空間分布を測定することができる。開発した装置を用いて、1ミクロン程度の分解能でアミノ酸の空間分布が測定可能であることを示した。

研究成果の概要(英文)：We found that the yield of intact biomolecular ions emitted in the forward direction upon transmission of fast ions through a thin film sample is enhanced compared to that emitted in the backward direction. We developed a novel imaging mass spectrometry by combining this transmission secondary ion mass spectrometry with secondary electron microscopy. In this method, secondary electrons emitted in the backward direction are observed using the secondary electron microscope and the secondary ions emitted in the forward direction are mass analyzed simultaneously. It was demonstrated that molecular imaging can be performed with spatial resolution of 1 μ m using the developed equipment.

研究分野：イオンビーム分析

キーワード：2次イオン質量分析 分子イメージング フラレンイオン 熱スパイク

1. 研究開始当初の背景

分子イメージング法は、材料科学への応用をはじめ、医学研究や診断、新薬の開発など様々な分野への応用が期待され、種々の手法での開発が行われてきた。なかでもレーザービームを用いた MALDI(Matrix assisted laser desorption ionization)やクラスターイオンを用いた 2 次イオン質量分析法 (SIMS) が、質量数の大きな生体高分子のイメージング法に有効であることが示されている[1, 2]。しかしながら、いずれの方法も、空間分解能は十分とは言えない。例えば MALDI においては、マトリックスの影響により分解能は数 μm 程度が限界である。また、SIMS においても、クラスターイオンビームの微細化は困難であり、十分な強度を持った微細ビーム発生は容易ではない。そこで、サブミクロンの空間分解能で、高い検出感度を持って、質量数の大きな分子のイメージングを行う手法の開発が待たれていた。

2. 研究の目的

本研究では、クラスターイオン SIMS に基づく分子イメージング法の新しい手法を開発し、サブナノメートルの空間分解能を実証することを目的としている。

3. 研究の方法

本研究で提案する手法は、試料を自己支持膜で保持し、自己支持膜側から高エネルギーのクラスターイオンビームを照射して、イオンが試料を通過した際に放出される 2 次イオンの質量分析を行う、いわゆる透過型 SIMS の手法を利用する。これまでの研究で、透過型 SIMS においては、アミノ酸などの高分子が無傷のまま 2 次イオンとして放出される確率が非常に高いことがわかっている[3]。しかしながら、クラスターイオンビームのクオリティが不十分であり、十分な強度を持ってビームを微細化することが困難であるため、高い分解能を持った分子イメージングに応用することは困難と考えられていた。

本研究では、ビームを微細化することなく、サブミクロンの分解能を実現するために、このクラスターイオン透過型 SIMS と 2 次電子顕微鏡を組み合わせる方法を検討した。図 1 に装置の概略図を示した。図の左方向から高エネルギークラスターイオンを真空槽に入射して、真空槽の中心に置いた試料(自己支持膜に担持した試料)に支持膜側から照射する。試料を透過したイオンは、半導体検出器で検出する。また、試料を透過する際に放出された 2 次イオンは、斜め前方に設置した飛行時間型の質量分析器でその質量を分析して検出される。また、支持膜に入射した際に、入射面から後方に放出される 2 次電子を光電子顕微鏡を改造した 2 次電子顕微鏡で観測する。2 次電子像から試料表面に個々のイオンが入射した点を特定することができる。2 次イオンと 2 次電子像を同時に測定することに

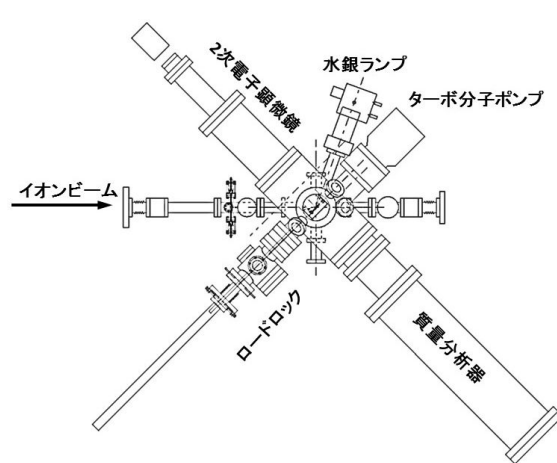


図 1 開発した分子イメージング装置の概略図

より、試料上のどの位置から 2 次イオンが放出されたかを知ることができるので、分子イメージングが可能となる。原理的には、イメージングの分解能は 2 次電子顕微鏡の分解能により決まる。本研究では、市販の光電子顕微鏡 (PEEM) を 2 次電子像が測定できるように改造して使用した。

4. 研究成果

まず、クラスターイオンを用いた透過型 SIMS において、無傷の分子イオン収量が通常の SIMS のジオメトリーである後方放出に比べて増加するメカニズムの解明を目指した研究を行った。図 2 に、自己支持膜に担持したフェニルアラニン試料に 5 MeV の C_{60} イオンを照射したときに観測した 2 次イオン質量スペクトルを示した。実線が、支持膜側からイオンを照射して前方に放出された 2 次イオンの質量スペクトルである。また、フェニルアラニン側からイオンを照射して、後方に放出された 2 次イオンのスペクトルを破線で示した。質量数 165 に、無傷のフェニルアラ

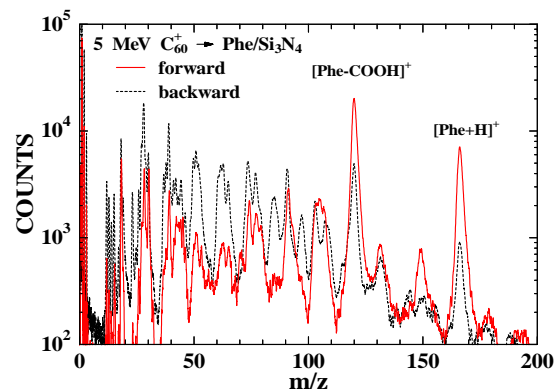


図 2 自己支持膜に担持したフェニルアラニン試料に 5 MeV の C_{60} イオンを照射したときに観測した 2 次イオン質量スペクトル。赤実線は前方放出、黒破線は後方放出の結果。

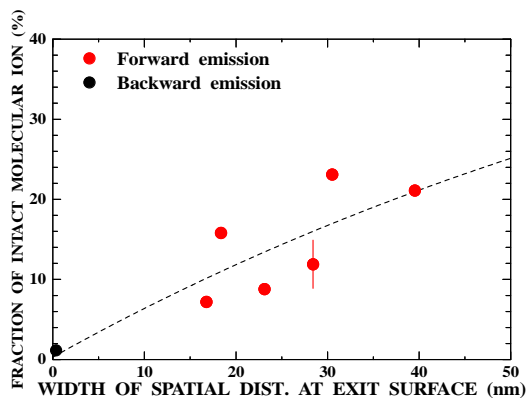


図3 自己支持膜に担持したフェニルアラニン試料に5 MeVの C_{60} イオンを照射したときに、前方放出の全2次イオン収量に占める無傷の分子イオン収量の割合を、試料透過時の炭素イオンの空間分布の分散値の関数として示す。参考のため後方放出の結果も示した。

ニに陽子が付加したイオンの信号が見えている。また、それより質量数が小さな領域に多くの解離片イオンのピークが見えている。前方放出の場合に、無傷の分子イオンの収量が増加し、解離片イオンの収量が抑制されていることがわかる。

観測された、無傷の分子イオンの収量が増加し、解離片イオンの収量が抑制のメカニズムを解明するために、様々な膜厚の試料を用意して前方放出2次イオンの測定を行い、全2次イオン収量に占める無傷の分子イオン収量の割合を図3に示した。図の横軸は、試料透過時の炭素イオンの空間分布の分散である。図から C_{60} イオンを構成していた炭素イオンの空間分布が大きくなるほど、無傷の分子イオン収量の割合が大きくなることがわかった。このことは、炭素イオンの空間分布が広がると、試料への比較的穏やかなエネルギー付与が広い領域で生じるため、フェニルアラニン分子の分解が抑えられ、無傷の分子イオンの放出確率が大きくなったと考えられる。

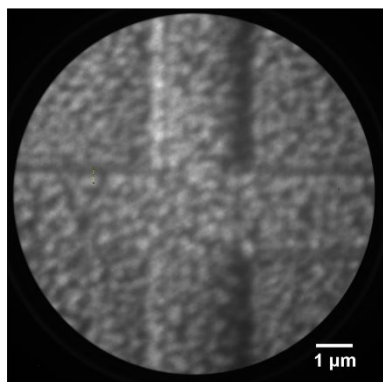


図4 標準試料のPEEM像

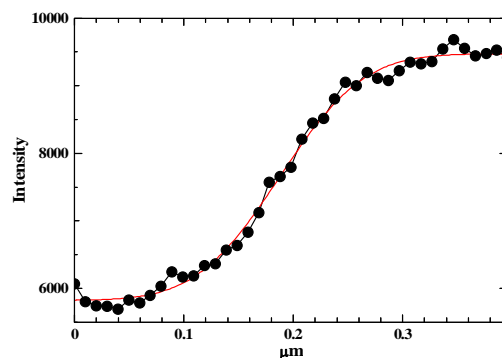


図5 図4のPEEM像から得られた光電子強度分布。実線は誤差関数にフィッティングした結果。

次に、本研究のために、市販のPEEMを改造して作成した2次電子顕微鏡の空間分解能を評価した。試料にはシリコンウエファーに銀をパターン蒸着した標準試料を用いて、水銀ランプの光を照射して、光電子像の観察を行った。得られた光電子像の例を図4に示す。格子状のパターンが確認できる。パターンを横切る直線状の光電子強度分布を図5に示した。これを誤差関数でフィッティングした結果を実線で示した。この結果から、空間分解能は $0.1\mu\text{m}$ と評価することができた。従って、本研究で開発した分子イメージング装置では、最高で $0.1\mu\text{m}$ の空間分解能で分子イメージングが可能であると考えられる。

次に、開発した装置で実際に分子イメージングが可能であることを実証するために、シリコン窒化自己支持膜に、電子顕微鏡用のグリッドをマスクとしてフェニルアラニンをパターン蒸着した試料を作成した。また、作成した装置を京都大学量子理工学教育研究センターの1.7 MVタンデトロン加速器に、作動排気装置を介して接続した。タンデトロン加速器で6 MeVの Cu^{3+} イオンを加速して、試料に照射して、2次イオンの測定と2次電

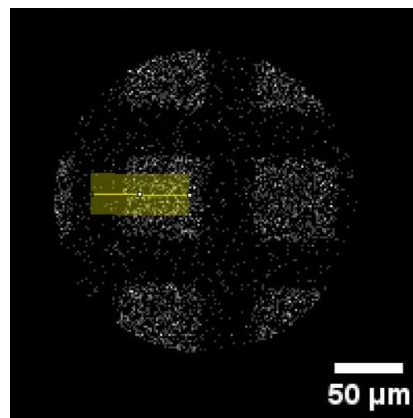


図6 フェニルアラニン分子のイメージング像

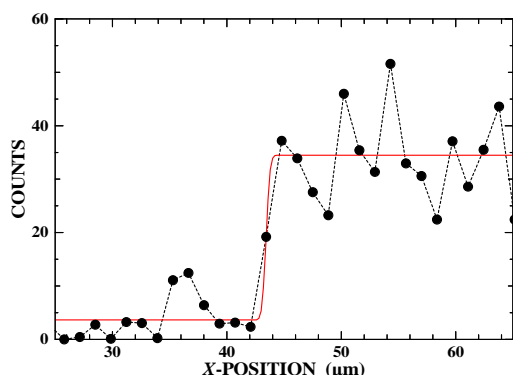


図7 図6のフェニルアラニンのイメージング像に示した網掛けの領域の2次イオン収量分布。実線は誤差関数でフィッティングした結果。これより空間分解能は0.64 μmと求めることができた。

子像の撮影を同時に行い、フェニルアラニン由来の2次イオンを使って、分子イメージング像を得た。得られた分子イメージング像の例を図6に示した。蒸着で作成した正方形が規則的に配列したパターンが観測でき、開発した装置で実際に分子イメージングが可能であることが示せた。

このイメージングの空間分解能を評価するために、図6の網掛けの領域における2次イオンの収量を長辺に平行な軸に投影して得られた1次元分布を図7に示した。正方形パターンの境界に明瞭なステップが見られる。このステップを誤差関数でフィッティングした結果を実線で示した。この結果から空間分解能は0.64 μmと求めることができた。

以上をまとめると、本研究において透過型SIMSと2次電子顕微鏡を組み合わせ、新しい分子イメージング装置を開発し、その性能評価を行った。その結果、フェニルアラニンの分子イメージングを0.64 μmの空間分解能を持って行えることを実証することができた。

<引用文献>

- L.A.McDonnell, R.M.A. Heeren, Mass Spectrom. Rev. 26 (2007) 606.
 A. Brunelle, O. Laprevote, Curr. Pharm. Design 13 (2007) 3335.
 K. Nakajima, K. Nagano, M. Suzuki, K. Narumi, Y. Saitoh, K. Hirata, and K. Kimura, Appl. Phys. Lett. **104** (2014) 114103.

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7件)

- T. Kitayama, K. Nakajima, M. Suzuki, K. Narumi, Y. Saitoh, M. Matsuda, M. Sataka,

M. Tsujimoto, S. Isoda and K. Kimura, "Temperature of thermal spikes in amorphous silicon nitride films produced by 1.11 MeV C_{60}^{3+} impacts", Nucl. Instr. and Methods B 査読有 **354** (2015) 183-186.

T. Kitayama, Y. Morita, K. Nakajima, K. Narumi, Y. Saitoh, M. Matsuda, M. Sataka, M. Tsujimoto, S. Isoda, M. Toulemonde, and K. Kimura, "Formation of ion tracks in amorphous silicon nitride films with MeV C_{60} ions", Nucl. Instr. and Methods B 査読有 **356-357** (2015) 22 - 27.

Kaoru Nakajima, Takumi Kitayama, Hiroaki Hayashi, Makoto Matsuda, Masao Sataka, Masahiko Tsujimoto, Marcel Toulemonde, Serge Bouffard, Kenji Kimura, "Tracing temperature in a nanometer size region in a picosecond time period", Scientific Reports 査読有 **5** (2015) 13363-1 - 13363-8.

H. Hayashi, T. Kitayama, S. Matsuzaki, K. Nakajima, K. Narumi, Y. Saitoh, M. Tsujimoto, M. Toulemonde, K. Kimura, "Evaluation of local temperature around the impact points of fast ions", Nucl. Instr. and Methods B 査読有 **365** (2015) 569-572.

T. Kitayama, Y. Morita, K. Nakajima, K. Narumi, Y. Saitoh, M. Matsuda, M. Sataka, M. Toulemonde, and K. Kimura, "Sputtering of amorphous silicon nitride irradiated with energetic C_{60} ions: Preferential sputtering and synergy effect between electronic and collisional sputtering", Nucl. Instr. and Methods B 査読有 **365** (2015) 490-495.

S. Matsuzaki, H. Hayashi, K. Nakajima, M. Matsuda, M. Sataka, M. Tsujimoto, M. Toulemonde, and K. Kimura, "Temperature of thermal spikes induced by swift heavy ions", Nucl. Instr. and Methods B 査読有 in press.

H. Hayashi, S. Matsuzaki, K. Nakajima, K. Narumi, Y. Saitoh, M. Tsujimoto, M. Toulemonde, and K. Kimura, "Local heating induced by single MeV C_{60} ion impacts", Nucl. Instr. and Methods B 査読有 in press.

[学会発表](計23件)

K. Nakajima, K. Nagano, M. Suzuki, K. Narumi, Y. Saitoh, K. Hirata, K. Kimura, "Transmission secondary ion mass spectrometry of biomolecules using 5 MeV C_{60}^{+} ions", 7th International Meeting on Recent Developments in the Study of Radiation Effects in Matter, Budapest,

Hungary, July 9th-12th, 2014.

K. Nakajima, K. Nagano, M. Suzuki, K. Narumi, Y. Saitoh, K. Hirata, K. Kimura, "Transmission secondary ion mass spectrometry of phenylalanine on silicon nitride membranes using MeV monoatomic and cluster ions", 26th International Conference on Atomic Collisions in Solids, Debrecen, Hungary, July 13th-18th, 2014.

中嶋薫, 丸毛智矢, 永野賢悟, 木村健二, 鳴海一雅, 齋藤勇一, "高速 C_{60}^+ イオン透過による SiN 薄膜上のアミノ酸の前方二次イオン放出 II", 日本物理学会 2014 年秋季大会 中部大学 2014 年 9 月 17-20 日

丸毛智矢, 中嶋薫, 木村健二, 鳴海一雅, 齋藤勇一, "高速 C_{60}^+ イオン透過によるアミノ酸およびペプチドの前方二次イオン放出", 日本物理学会 第 70 回年次大会 早稲田大学 2015 年 3 月 21-24 日

T. Kitayama, Y. Morita, K. Nakajima, K. Narumi, Y. Saitoh, M. Matsuda, M. Sataka, M. Toulemonde, and K. Kimura, "Synergy effect between electronic and collisional sputtering: The case of amorphous silicon nitride irradiated with energetic C_{60} ions", 9th International Symposium on Swift heavy Ions in Matter, 18-21 May, 2015, Darmstadt, Germany.

H. Hayashi, T. Kitayama, K. Nakajima, K. Narumi, Y. Saitoh, M. Matsuda, M. Sataka, M. Tsujimoto, M. Toulemonde, K. Kimura, "Measurement of local temperature around the impact points of fast ions", 9th International Symposium on Swift heavy Ions in Matter, 18-21 May, 2015, Darmstadt, Germany.

K. Nakajima, K. Nagano, K. Narumi, Y. Saitoh, K. Hirata, and K. Kimura, "Transmission secondary ion mass spectrometry using 5 MeV C_{60}^+ ions", 22nd International Conference on Ion Beam Analysis, June 14 - 19, 2015 - Opatija, Croatia. 招待講演

K. Nakajima, K. Nagano, T. Marumo, K. Narumi, Y. Saitoh, K. Hirata, and K. Kimura, "Transmission SIMS: A novel approach to achieving higher secondary ion yields of intact biomolecules", The 17th Scientific International Symposium on SIMS and Related Techniques Based on Ion-Solid Interactions, June 25 - 26, 2015, Tokyo, Japan. 招待講演

山本和輝, 丸毛智矢, 中嶋薫, 木村健二, "高速 Cu^{4+} イオン透過による SiN 薄膜上のペプチドの前方二次イオン放出", 日本物理学会 2015 年秋季大会 関西大学 2015 年 9 月 16 日(水)~19 日(土)

林宏昭, 北山巧, 中嶋薫, 松田誠, 左高正雄, 辻本将彦, 木村健二, "高速イオンの照射点付近における温度の測定 II", 日本物理学会 2015 年秋季大会 関西大学 2015 年 9 月 16 日(水)~19 日(土)

K. Nakajima, "Transmission Secondary Ion Mass Spectrometry of Organic Molecules using 5 MeV C_{60}^+ Ions", 21th International Workshop on Inelastic Ion Surface collisions, October 18-23, 2015, San Sebastian, Spain. 招待講演

T. Marumo, K. Yamamoto, K. Nakajima, K. Narumi, Y. Saitoh, K. Hirata and K. Kimura, "Transmission secondary ion mass spectroscopy of a peptide using 5 MeV C_{60}^+ ions", 21th International Workshop on Inelastic Ion Surface collisions, October 18-23, 2015, San Sebastian, Spain.

中嶋薫, 丸毛智矢, 山本和輝, 鳴海一雅, 齋藤勇一, 平田浩一, 木村健二, "高速 C_{60} イオンを用いたペプチドの透過型二次イオン質量分析", 日本物理学会 第 71 回年次大会, 東北学院大学 泉キャンパス, 2016 年 3 月 19 日(土)~22 日(火).

松崎勝太, 林宏昭, 北山巧, 中嶋薫, 木村健二, 鳴海一雅, 齋藤勇一, 辻本将彦, "高速イオンの照射点付近における温度の測定 III", 日本物理学会 第 71 回年次大会, 東北学院大学 泉キャンパス, 2016 年 3 月 19 日(土)~22 日(火).

S. Matsuzaki, H. Hayashi, K. Nakajima, M. Matsuda, M. Sataka, M. Tsujimoto, M. Toulemonde, and K. Kimura, "Temperature measurement of thermal spikes produced by swift heavy ions", 27th International Conference on Atomic Collisions in Solids, Lanzhou, China, July 24th-29th, 2016

H. Hayashi, S. Matsuzaki, K. Nakajima, K. Narumi, Y. Saitoh, M. Tsujimoto, M. Toulemonde, and K. Kimura, "Local heating induced by single MeV C_{60} ion impact", 27th International Conference on Atomic Collisions in Solids, Lanzhou, China, July 24th-29th, 2016.

K. Nakajima, K. Nagano, T. Marumo, K. Yamamoto, K. Narumi, Y. Saitoh, K. Hirata, K. Kimura, "Transmission SIMS: A novel

approach to achieving higher secondary ion yields of intact biomolecules”, 8th International Workshop on High-Resolution Depth Profiling, London, Ontario, Canada, August 7th – 11th, 2016. 招待講演

石井洋晶, 山本和輝, 中嶋薫, 木村健二, “高速イオンを用いた透過型 SIMS における生体分子の消失断面積”, 日本物理学会 2016 年秋季大会 金沢大学 (角間キャンパス), 2016 年 9 月 13 日(火) ~ 16 日(金)

中嶋薫, 林宏昭, 松崎勝太, 木村健二, 鳴海一雅, 斎藤勇一, 辻本将彦, “高速イオンの照射点付近における温度測定 IV” 日本物理学会 2016 年秋季大会 金沢大学 (角間キャンパス), 2016 年 9 月 13 日(火) ~ 16 日(金)

H. Hayashi, S. Matsuzak, K. Nakajima, K. Narumi, Y. Saitoh, M. Matsuda, M. Sataka, M. Tsujimoto, M. Toulemonde, S. Bouffard and K. Kimura, “Temperature measurement of local heating induced by single MeV C₆₀ ion impact”, International Meeting on Recent Developments in the Study of Radiation Effects in Matter, Kyoto, Japan, October 27-28, 2016.

21 K. Nakajima, “Transmission secondary ion mass spectrometry of a peptide using 5 MeV C₆₀ ions”, International Meeting on Recent Developments in the Study of Radiation Effects in Matter, Kyoto, Japan, October 27-28, 2016.

22 中嶋薫, 山本和輝, 石井洋晶, 澤田純平, 木村健二, “二次電子顕微鏡を用いた SIMS イメージング装置の開発”, 日本物理学会 2017 年春季分科会 大阪大学 (豊中キャンパス) 2017 年 3 月 17 日(金) ~ 20 日(月)

23 古株弘樹, 松崎勝太, 李曉星, 中嶋薫, 木村健二, 松田誠, 左高正雄, 鳴海一雅, 斎藤勇一, 辻本将彦, “高速イオンの照射点付近における温度測定 V” 日本物理学会 2017 年春季分科会 大阪大学 (豊中キャンパス) 2017 年 3 月 17 日(金) ~ 20 日(月)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木村健二 (KIMURA KENJI)
京都大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号: 50127073

(2) 研究分担者

中嶋薫 (NAKAJIMA KAORU)
京都大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号: 80293885

鳴海一雅 (NARUMI KAZUMASA)
量子科学技術研究開発機構・量子ビーム
科学研究部門・室長代理
研究者番号: 90354927

(3) 連携研究者

斎藤勇一 (SAITOH YUICHI)
量子科学技術研究開発機構・量子ビーム
科学研究部門・課長
研究者番号: 40360424

(4) 研究協力者

なし