

「ナノ科学を基盤とした革新的製造技術の創成」

平成 19 年度採択研究代表者

松尾 二郎

京都大学大学院工学研究科 附属量子理工学研究実験センター 准教授

ソフトナノマテリアル 3D 分子イメージング法の開発

1. 研究実施の概要

本研究は、有機物や生体高分子などのソフトナノマテリアルを、高速重イオンによる電子励起を用いた二次イオン質量分析法により分子イメージングすることを目的としている。高速重イオンを用いる分子イメージング法は、固体内で核衝突をほとんど起さずに電子的に分子を脱離・イオン化させる原理に基づいており、これまで困難と考えられてきた原子衝突によるソフトなイオン化を実現する画期的な手法である。高速重イオン励起法による二次元分子イメージング法と有機物を破壊することなくエッチングする手法を有機的に組み合わせて、有機物や生体高分子などのソフトナノマテリアルの 3D 分子イメージング法を確立し、ナノ・バイオテクノロジー分野に画期的な評価手法を提供する。

前半の 3 年間で、分子イメージングに最適な高速重イオン種やエネルギーの探査を行うと共に、小型分析装置の概念設計およびその試作を行う。分子イメージング像取得時間を 1 桁程度短縮する新しい二次イオン計測システムの構築や、等価的に低エネルギーのクラスターイオンビームを用いた有機分子低ダメージエッチング技術の研究開発を行う。また、壊れやすく変質しやすい生体高分子の評価技術の開発を進める上で欠かせない標準試料作成手法を確立する。さらに、生体組織切片や細胞の分子イメージングに必要な急速冷凍法や薄片化法など様々な前処理技術を検討し、実サンプル評価に向けた課題抽出を行う。

2. 研究実施内容

「3D 分子イメージング分析手法開発」

有機物や生体高分子のイオン化効率が、入射イオン種やそのエネルギーに大きく依存していることをこれまでの研究で明らかにしている。高い空間分解能で質量イメージングを実現するために

は、イオン化効率だけでなく、損傷断面積を低くすることも必須である。アミノ酸、ペプチド、脂質などの生体高分子に対し、様々な入射イオンを用いてイオン化効率と損傷断面積を測定し、重イオンの加速エネルギーが高いほど質量イメージングに有利であるということを明らかにした。さらに、実サンプルを測定したときに妨害イオンとなるイオン衝突によって生じる分解片(フラグメントイオン)の低減にも、エネルギーの高い重イオンが効果的であることを明らかにした。高速重イオンを効率的に生成するために、10価以上の電荷を持つ多価イオンを生成する10GHzのECRイオン源を設計・製作に着手した。

また、質量イメージング法を確立するために不可欠なパターンのある生体高分子の標準試料として、質量数1000Daを超えるペプチドを市松模様配置した試料を作成した。この試料を用いて、6MeVのCuイオンを用いて質量イメージングを行い、図1に示すようにマイクロオーダーの空間分解能で分子イメージ像を得ることができた。この試料を用い現在の空間分解能を決めている要因についても検討し、空間分解能向上に必要な課題を明らかにした。さらに、高い質量分解能と測定時間の短縮を同時に実現する新しい2次イオン計測システムの構築にも着手し、その基本性能を確認した。

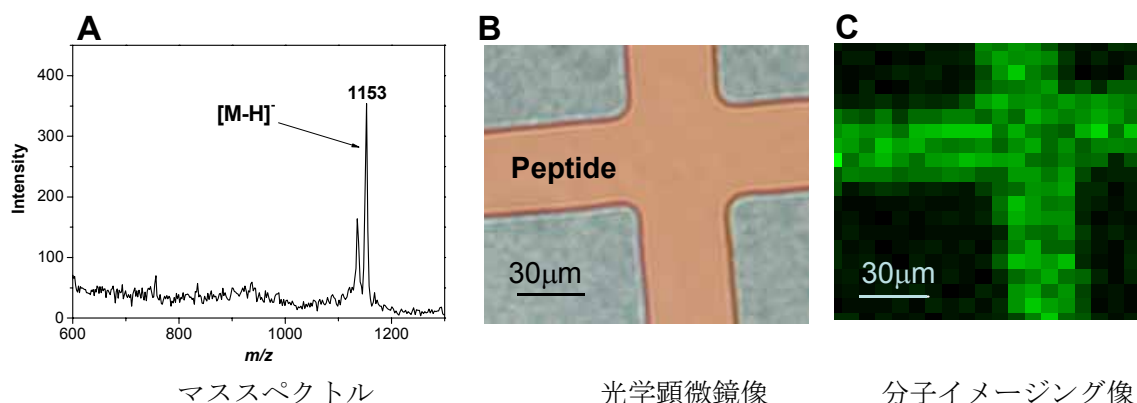


図1 ペプチド (MOCAC) 分子の質量スペクトルとパターンニングした標準試料の光学顕微鏡像と 1153Da イオンによる分子イメージング像

「ソフトマテリアルエッチング技術」

分子の面内分布の情報だけでなく3次元的な空間分布情報を得るためには、深さ方向にソフトマテリアルをエッチングしながら2次元イメージング像を取得することが必要である。また、有機エレクトロニクスデバイス・プロセスの研究開発においても、高精度の深さ方向分析技術の確立が欠かせない。しかし、有機分子の深さ方向分布情報を得るためには、イオン衝撃に極めて弱い有機物や生体高分子を損傷を与えることなくエッチングする必要がある。等価的に低いエネルギーを実現できるクラスターイオンを用いて、PMMAや有機EL材料、さらにアミノ酸薄膜のエッチングを行った。エッチングしたこれらの有機薄膜の表面状態は、イオンの入射エネルギーやクラスターサイズに依存しており、エネルギーが低くクラスターサイズが大きいほど低損傷のエッチングが可

能であることが分かった。さらに、クラスターサイズが100を超えるような大きなクラスターイオンの場合には、表面損傷がクラスターイオンの入射速度(eV/atom)によって決まっており、数 eV/atom 以下の極めて低速のイオンビームを用いる必要があることを明らかにした。数 eV/atom 以下の入射速度が適しているという結果は、最新の分子動力学シミュレーションの結果とも一致している。さらに、C₆₀などの小さなクラスターイオンでは加工の難しい有機 EL 材料のエッチング加工も行い、ガスを原料とする巨大なクラスターイオンを用いることで他のクラスターイオンでも困難な壊れやすい有機分子のエッチングが可能であることを明らかにした。また、有機物表面の損傷量の定量評価法探査や分析装置にボルトオンできる小型クラスターイオンソースの設計も進めている。

「ナノ・バイオ材料分析プロトコール」

質量イメージング法を生命科学の分野で応用していくためには、蛋白質、脂質、糖質など生体内に存在する壊れやすく変質しやすい様々な生体高分子材料の分析プロトコール確立が不可欠である。特に、生体組織切片や培養細胞などは水分を多量に含んでおり、細胞内の構造を維持するためには水分子を1000K/s以上の速度で急速冷凍しアモルファス状態にする必要がある。このように、真空中にこれらの試料を導入するためには、観察対象となる試料に応じたさまざまな前処理工程の工夫が必要である。透明で導電性を持つITO基板上に培養した3T3細胞の急速冷凍・高真空下(<1E-3Pa)での凍結乾燥を試みた。基板に固着した培養細胞内部の微細構造が維持できているかどうかは不明であるが、顕微鏡観察による評価では培養細胞の形態は維持されていることが分かった。凍結状態における細胞内部構造の観察とフリーズフラクチャー条件探査を進め、前処理条件の確立をはかる。

さらに、水分が少なく強固な細胞壁を持ち乾燥にも強い植物細胞のひとつである花粉を用いて実サンプルの分子イメージングの計測を試みた。花粉の固定・薄片化を行い、高速重イオンによる分子イメージング法を用いて観察を行った。細胞質に多く含まれる脂質による2次イオンを用いることにより、花粉細胞1個のイメージングに成功した。細胞質中の脂質の種類まで同定することは今回できなかったが、質量分解能を向上させ脂質の種類と局在に関する情報取得を目指すとともに、他の細胞への応用も試みる。

3. 研究実施体制

(1)「分子イメージング法の研究」グループ

① 研究分担グループ長: 松尾 二郎(京都大学、准教授)

② 研究項目

- ・高速重イオンを用いる分子イメージング装置に関するイオン種やエネルギーの探査
- ・革新的な2次イオン計測システムを用いる分析装置の概念設計

(2)「生命科学、バイオテクノロジーへの応用」グループ

① 研究分担グループ長:大川 克也(京都大学、グループリーダー)

② 研究項目

・壊れやすく変質しやすい蛋白質、脂質、糖質など生体高分子分析プロトコール確立に向けた課題抽出

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

- 1 S. Ninomiya, K. Ichiki, Y. Nakata, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo
“The Effect of Incident Cluster Ion Size on Secondary Ion Yields Produced from Si”
Transactions of the MRS-J 32 [4] pp.895-898 (2007)
- 2 Y. Nakata, Y. Honda, S. Ninomiya and J. Matsuo
“Ion-Induced Emission of Amino Acid Molecular Ions from Thin Films”
Transactions of the MRS-J 32 [4] pp.899-901 (2007)
- 3 J.Matsuo, S. Ninomiya, T. Aoki and T. Seki
“Recent progress in cluster ion beam –Toward Nano-Processing and advanced material analysis”
Journal of Surface Analysis(accepted)
- 4 J. Matsuo
“What size of cluster is most appropriate for SIMS?”
Applied Surface Science(accepted)
- 5 T. Aoki, T. Seki, S. Ninomiya and J. Matsuo,
“MD simulation study of the sputtering process by high-energy gas cluster impact”
Applied Surface Science(accepted)
- 6 S. Ninomiya, Y. Nakata, Y. Honda, K. Ichiki, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo,
“A Fragment-free ionization technique for organic mass spectrometry with large Ar cluster ions”
Applied Surface Science(accepted)
- 7 S. Ninomiya, K. Ichiki, Y. Nakata, Y. Honda, T. Seki and J. Matsuo,
“Secondary ion emission from Si bombarded with large Ar cluster ions under UHV conditions”
Applied Surface Science(accepted)
- 8 Y. Nakata, Y. Honda, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo,
“Yield Enhancement of Molecular Ion with MeV-Ions Induced Electronic Excitation”

- Applied Surface Science(accepted)
- 9 K. Ichiki, S. Ninomiya, Y. Nakata, Y. Honda, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo,
“High sputtering yields of organic compounds by large gas cluster ions”
Applied Surface Science(accepted)
 - 10 T. Seki, T. Aoki, J. Matsuo,
“High-Speed Nano-Processing with Cluster Ion Beams”
Transactions of the MRS-J (accepted)
 - 11 S. Ninomiya, J. Matsuo, K. Ichiki, H. Yamada, Y. Nakata, Y. Honda, T. Seki, T. Aoki
“Low Damage Etching and SIMS Depth Profiling with Large Ar Cluster Ions”
Transactions of the MRS-J (accepted)
 - 12 Y. Honda, Y. Nakata, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki, J. Matsuo
“SIMS Analysis of Biological Mixtures with Fast Heavy Ion Irradiation”
Transactions of the MRS-J (accepted)