

「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2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2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。

2008年度は、酸化インジウムスズ(ITO)上に培養した細胞 1 個を観察するための前処理技術やエッチング加工技術を開発した。細胞膜の主たる構成分子であるリン脂質分子からのリン酸イオン( $\text{PO}_3^-$ )を用いることにより、数ミクロンの分解能で1個の細胞をイメージングすることができ、本手法が生命科学分野で広く用いられている培養細胞の分析に有効であることを示した。さらに、クラスターイオンを用いて有機物を低ダメージでエッチングする技術の開発を行い、有機半導体薄膜の深さ方向分析などに用いることが可能であることを明らかにした。

### 2. 研究実施内容(文中にある参照番号は 4.(1)に対応する)

#### 「3D 分子イメージング分析手法開発」

培養細胞など生命科学で用いられる実際のサンプル評価を行い、本手法を生命科学に応用したときの課題抽出を行った。培養液に由来する表面汚染や表面形状効果など天然由来の試料特有の問題があることを明らかにした。細胞培養後の基板洗浄法など前処理の工夫を行い、ITO 基板上に培養した細胞 1 個をリン酸イオン( $\text{PO}_3^-$ )を用いることにより分子イメージングすることができた(17,23)。分子イメージ像のクオリティーは2次イオンの信号強度だけでなくバックグラウンドにも依存しているため、2次イオン質量分析計の質量分解能を向上させバックグラウンドを低減することで分子イメージ像のクオリティー向上をはかっていく。

質量分解能の向上や測定時間の短縮、更には低真空下での計測などを実現できる直交型 ToF 質量分析装置による2次イオン計測に成功した。5000以上の質量分解能を得ることができ脂質などの複雑な分子構造を直接決めることが可能となった。また、入射ビームをパルス化する必要がないため入射ビームを効率的に使用でき計測時間の短縮も可能となる。さらに、数百 Pa以上の低真空でも2次イオン計測に成功し、細胞や組織切片などの生体試料を濡れた状態で計測できる Wet-SIMS の実現へも道筋をつけることができた。質量分析部とのインターフェイスをさらに改良し、大気圧下での計測を目指す。

磁場型四重極レンズによる高速重イオンの収束を英国サリー大学と共同で実施した。10MeVの酸素イオンを用いることにより2マイクロメートルまで収束することができ、DNA チップなどの分子イメージ像を取得した。磁場型四重極レンズを用いることにより現在のコリメータ方式と比較すると、1000倍以上のイオン電流が得られおり、計測時間の短縮が可能であることを実証した。また、高速重イオン生成に必要な小型永久磁石を用いた10GHz コンパクト ECR を試作し、ExB 法を用いて Ar や Xe の多価イオンの生成を確認した。磁場分布は設計値に近いことがわかったが、効率的に多価イオンを引き出し、輸送するためには真空度の改善、引き出し電極やアインレンズ系の最適化が必要である。

深さ方向のエッチングを行う高輝度でコンパクトなクラスターイオンソースの設計・製作に着手した。テストベンチを使って収束光学系を評価し、数十  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  以上の電流密度を維持しながら  $\phi$  100  $\mu\text{m}$  以下に収束できる対物レンズ系を実現した。今後これらの要素技術を組み合わせ、高性能な質量イメージング装置の構築を行う。

#### 「ソフトマテリアルエッチング技術」

ソフトマテリアルを深さ方向にエッチングしながら高分子の2次元イメージング像を測定することにより3次元的な空間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に損傷を与えることなくエッチングする必要がある。このために様々な有機ポリマーや有機半導体などの高分子の単原子イオン、クラスターイオンによるエッチングダメージを評価した。入射クラスターイオンのクラスターサイズやエネルギーを最適化することにより、ソフトマテリアルにダメージをほとんど与えることなく高速にエッチングできることを明らかにした。さらに細胞膜の主な構成分子であるリン脂質の薄膜や培養細胞のエッチング加工も行い、クラスターイオンによるエッチングが表面汚染除去や細胞内部の露出などに効果的であることを明らかにした (23,24)。

また、有機半導体として実用化されている有機発光ダイオード(OLED)の有機多層膜構造(NPD, Alq3膜)を低エネルギーのクラスターイオンビームを用いた2次イオン質量分析法(SIMS)により深さ分析を行った。有機半導体分子に由来する特徴的な質量を用いた深さ分析が可能であること明らかにし(図1)、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不可欠な高精度の深さ方向分析技術を確立した (16,20)。今後、先端有機薄膜の分析への応用を進めていく。

#### 「ナノ・バイオ材料分析プロトコル」

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ル確立が不可欠

である。本年度は培養細胞1個をイメージングするために必要な前処理法について検討を行った。

培養細胞の表面には培養環境由来の様々な汚染があり、良好な分子イメージ像を得るためには、汚染除去プロセスの確立が必要である。細胞培養技術で通常用いられている洗浄方法では、無機・有機分子が表面に残っているため、表面敏感な質量イメージング法に適した細胞洗浄法を新たに開発した。これにより細胞1個を質量イメージング法で分析できるようになったが、培養液由来の汚染が若干ではあるが残ってしまう。低ダメージのクラスターイオンエッチングで汚染を完全に除去することは可能であるが、洗浄方法にも更なる工夫が必要である。

水分子を60%程度含む細胞を真空中で計測するためには、水分子をアモルファス状態で凍結し、細胞の構造を壊すことなく乾燥させる冷凍乾燥法が必要である。新たに開発した急速凍結乾燥法を用いて乾燥させた培養細胞を蛍光顕微鏡法で観察したところ、細胞内部の小器官の構造や形態を維持したまま乾燥することができた。高真空下( $<1E^{-3}Pa$ )でも大気圧下でも細胞構造を維持したまま乾燥することが可能であるが、高真空下で乾燥したほうが表面の分子汚染が少なく、ノイズの少ない分子イメージ像が得られることもわかった(24)。今後、これらの前処理技術をさらに高度化し、培養細胞の分析プロトコルを確立するとともに、組織切片イメージング測定へも応用を進めていく。

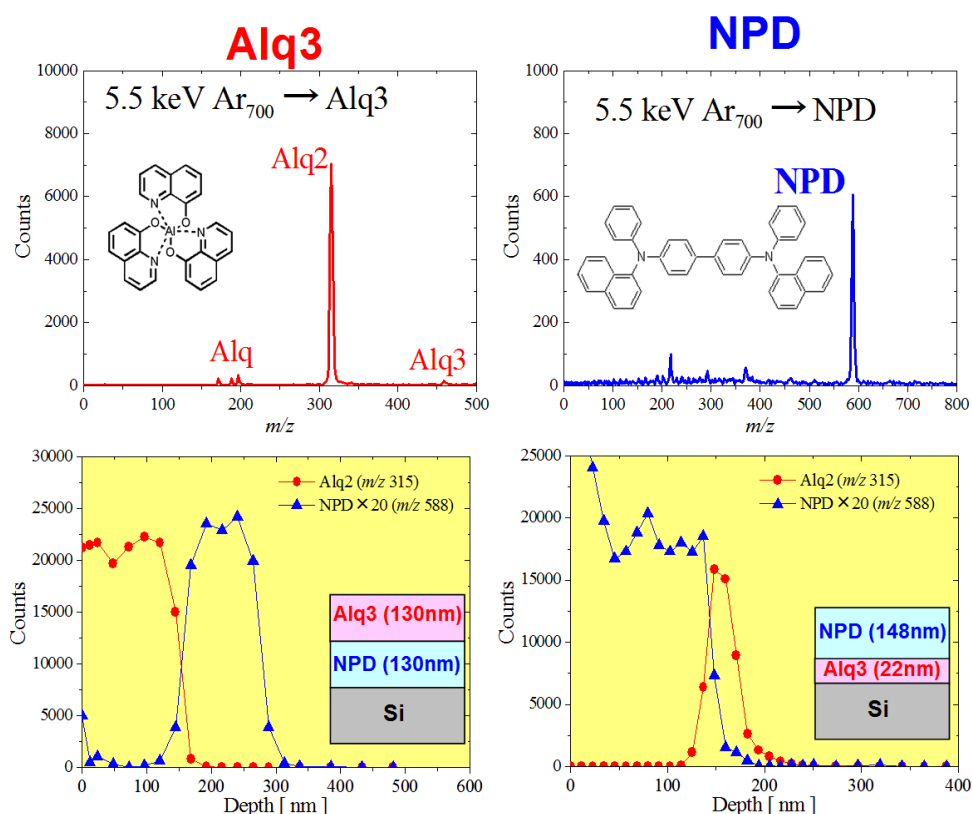


図1 有機発光ダイオード(OLED)多層膜の深さ分析結果 従来は不可能であった壊れやすい有機半導体分子からなる積層膜の深さ分析が可能であることがわかる。

### 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

### 4. 研究成果の発表等

#### (1) 論文発表 (原著論文)

1. 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 Vol.14, No.3, pp196-203 (2008. Apr.)
2. T. Hikata, K. Hayashi, T. Mizukoshi, Y. Sakurai, I. Ishigami, T. Aoki, T. Seki and J. Matsuo  
“Carbon Nanotubes from a Divined Catalyst: the Carbon Transmission Method”  
Applied Physics Express Vol.3, No.3, 034002 (2008. Apr.)
3. T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo  
“Investigation of Damage with Cluster Ion Beam Irradiation Using HR-RBS”  
AIP Conf. Proc. Vol. 1066, pp. 423-426 (2008. Nov.)
4. I. Yamada, J. Matsuo and N. Toyoda  
“Summary of Industry-Academia Collaboration Projects on Cluster Ion Beam Process Technology”  
AIP Conf. Proc. Vol. 1066, pp. 415 (2008. Nov.)
5. T. Aoki, T. Seki and J. Matsuo  
“Computer modeling of cluster ion impacts”  
IWJT2008 Extended Abstracts art. no. 4540016, pp. 49-54 (2008)
6. J. Matsuo, S. Ninomiya, Y. Nakata, Y. Honda, K. Ichiki, T. Seki and T. Aoki  
“What size of cluster is most appropriate for SIMS?”  
Applied Surface Science 255 (2008, Dec.) 1235-1238
7. 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 255 (2008, Dec.) 944-947
8. S. Ninomiya, K. Ichiki, Y. Nakata, Y. Honda, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo  
“Secondary ion emission from Si bombarded with large Ar cluster ions under UHV conditions”  
Applied Surface Science 255 (2008, Dec.) 880-882
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 255 (2008, Dec.) 1148-1150
10. 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 255 (2008, Dec.) 1588-1590
11. Y. Nakata, Y. Honda, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo,  
“Yield Enhancement of Molecular Ion with MeV-Ion Induced Electronic Excitation”  
Applied Surface Science 255 (2008, Dec.) 1591-1594
  12. T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo,  
“High-Speed Nano-Processing with Cluster Ion Beams”  
Transactions of the MRS-J 33 [4], pp. (2008, Dec.)
  13. S. Ninomiya, J. Matsuo, K. Ichiki, H. Yamada, Y. Nakata, Y. Honda, T. Seki and T. Aoki  
“Low Damage Etching and SIMS Depth Profiling with Large Ar Cluster Ions”  
Transactions of the MRS-J 33 [4], pp.1043-1046 (2008, Dec.)
  14. Y. Honda, Y. Nakata, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo  
“SIMS Analysis of Biological Mixtures with Fast Heavy Ion Irradiation”  
Transactions of the MRS-J 33 [4], pp.1039-1041 (2008, Dec.)
  15. 中田由彦, 山田英丙, 本田善郎, 二宮啓, 瀬木利夫, 青木学聡, 松尾二郎,  
“高速重イオンを利用したイメージング質量分析”,  
Journal of the Mass Spectrometry Society of Japan, 56(4), 201-208 (2008).
  16. S. Ninomiya, K. Ichiki, H. Yamada, Y. Nakata, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo,  
“Low Damage Etching of Polymer Materials for Depth Profile Analysis Using Large Ar Cluster Ion Beam”  
Journal of Surface Analysis Vol.15, No.3, pp275-278 (2009, Feb.)
  17. Y. Nakata, Y. Honda, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo,  
“Matrix-free high-resolution imaging mass spectrometry with high-energy ion projectiles”  
Journal of Mass Spectrometry 2009, Vol.44, pp128-136 (2009, Mar.)
  18. T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo,  
“High-speed processing with Cl<sub>2</sub> cluster ion beam”  
Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, (In Press)
  19. T. Aoki, T. Seki, S. Ninomiya, K. Ichiki and J. Matsuo  
“Study of crater formation and sputtering process with large gas cluster impact by molecular dynamics simulations”  
Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, (In Press)
  20. S. Ninomiya, K. Ichiki, H. Yamada, Y. Nakata, T. Seki, T. Aoki, J. Matsuo,  
“Precise and fast SIMS depth profiling of polymer materials with large Ar cluster ion beams”  
Rapid Communications in Mass Spectrometry (2009), (In Press)
  21. S. Ninomiya, K. Ichiki, H. Yamada, Y. Nakata, T. Seki, T. Aoki, J. Matsuo,  
“SIMS Depth Profiling of Organic Materials with Ar Cluster Ion Beam”,  
Transactions of the Materials Research Society of Japan, (2009), (accepted)
  22. S. Ninomiya, K. Ichiki, T. Seki, T. Aoki, J. Matsuo,  
“The emission process of secondary ions from solids bombarded with large gas cluster ions”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B (2009) , (In Press)
  23. H. Yamada, K. Ichiki, Y. Nakata, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki, J. Matsuo,  
“Processing Techniques of Biomaterials: Using Gas Cluster Ion Beam for Imaging Mass Spectrometry”,  
Transactions of the Materials Research Society of Japan, (2009), (accepted)
  24. H. Yamada, K. Ichiki, Y. Nakata, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki, J. Matsuo,  
“A Processing Technique of Cell Surface Using Gas Cluster Ions for Imaging Mass Spectrometry”,  
Journal of the Mass Spectrometry Society of Japan, (2009), (accepted)

(2) 特許出願

平成 20 年度 国内特許出願件数 : 0 件 (CREST 研究期間累積件数 : 0 件)