

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。

H22年度は、低真空でも計測可能な“wet-SIMS”装置を用いて、組織切片の分子イメージングに成功した。ラットから取り出した小脳中の3層構造を観察し、解剖学的な知見と分子イメージング像を対応させることにより、分子分布が層により異なることを明らかにした。さらに、既存の表面分析装置に取り付け可能な小型クラスター装置を完成させ、その性能評価を行った。高い電流密度と2段階パルス機構による短パルス化を実現し、加工ビームとしてだけでなく1次イオンビームとしても利用可能であることを示した。

§2. 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

- ・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ル確立に向けた課題抽出

§3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

(3. 1) 3D 分子イメージング分析手法開発

高速重イオンと o-ToF(orthogonal time of flight)を使い 2000Pa の低真空下で試料分析を可能とする新しい二次イオン質量分析法“Wet-SIMS”法^{1,8)}を用いて、組織切片の質量イメージング測定を進めた。この手法は分析環境を高真空から低真空まで自由に設定でき、水分を含む試料の分析が可能であるという優れた特徴を有している。

このイメージング装置を用いてラット小脳組織切片中の生体高分子分布の分子イメージング像観察をおこなった結果を図に示す。ラットから摘出した脳組織を急速凍結し、クライオミクロームで切片化した試料を用いた。ラットの小脳中にあるコレステロール [m/z:369.5]、フォスファチジルコリン(PC(32:0)) [m/z:772.5]、フォスファチジルエタノールアミン [m/z:716.5]を分子イメージングした。小脳は白質層、顆粒層、分子層からなることが解剖学的に知られており、図に示すように光学顕微鏡像からも明確にこれらの領域が区別されている。脳の中には様々なリン脂質分子が含まれており、分子種によってその分布は大きく異なっている。質量イメージング分析から、コレステロールは白質層に多く含まれており、フォスファチジルコリン(PC(32:0))は分子層と顆粒層に多く含まれている。また、フォスファチジルエタノールアミンは白質層と顆粒層に多く含まれていることがわかる。このように組織切片においても、高速重イオンを用いる高感度の分子イメージング法で観察することにより組織内の詳細な分子分布を測定することが可能であることを明らかにした。さらに、同じときに切り出した組織片を、これまで最も高感度に生体分子を計測できると考えられてきた SIMS 装置を用いて測定を行なった。実サンプルである組織切片の質量イメージング像を用いて従来法と比較することにより、100倍以上の高感度化¹⁰⁾が高速重イオンを用いることで実現できることを明らかにした。

さらに、静電型四重極レンズの試作を行い、テストビームラインにおいてイオンビームの収束特性を調べ、組み上げ精度に由来する誤差のために所望の性能が得られないことを明らかにした。この問題を打開するため、自己

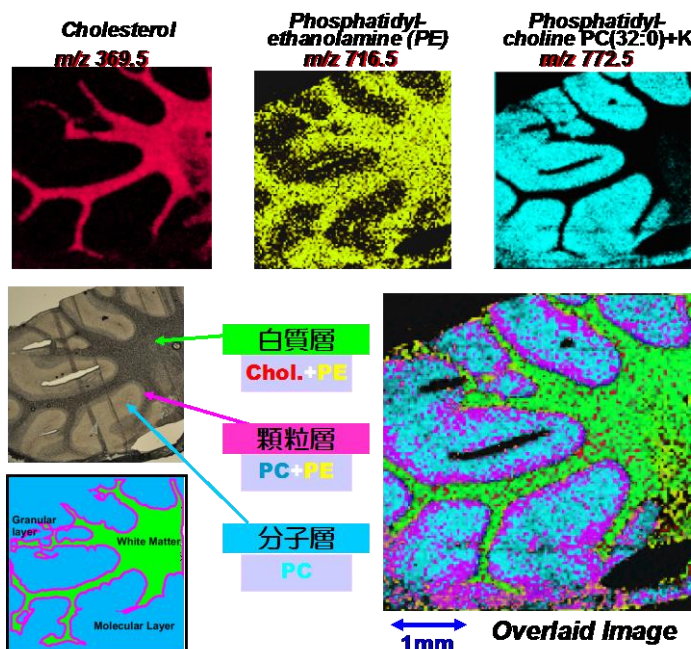


図 ラット小脳の分子イメージング像 様々な分子が異なる分布を持っており、その様子が明瞭に観察されている。脂質分子の分布は解剖学的な知見や光学顕微鏡像と良い一致を示している。

整合型四重極レンズの設計を進めている。このレンズシステムでは、組み立て誤差を最少にするように自己整合的に組みあがるという優れた特徴を有しているため、組み上げ精度が高い。さらに、すべての部品に円筒研磨加工による仕上げを行うことが出来るので、部品の加工精度もこれまでの NC 加工に比べて 1 桁以上向上させることが可能となる。高速重イオンの集束レンズ系の性能向上を目指し、更なる試作と改良をおこなっている。

(3. 2) ソフトマテリアルエッチング技術

既存の SIMS や XPS 装置にも取り付け可能な小型クラスターイオン源の試作を行い、 $100\text{ }\mu\text{A/cm}^2$ 以上のビーム電流密度を実現した。このイオン源は小型であるだけでなく 2 段のディフレクターによるパルス化も可能な機構を有しており、 100 ns 以下のパルスビームを発生させることが可能である。このイオン源を使って有機膜の深さ方向分析を行い、これまでの装置と同等以上の性能を有していることを確認した。この装置を用いてモノマーイオン衝突によって生じるダメージを評価したところ、分子イオン強度をモニターすることによりダメージ深さを測定できることを明らかにした。

また、このときのダメージ深さは、TRIM (TRAnsport In Matter: モンテカルロ計算コード) を使って計算した値とよく一致しているが、ダメージ層のスパッタ率が変化するため、ダメージ層のスパッタ率を測定して深さに換算することが必要である。また、モノマーイオンの照射量によってはフラグメントイオンの強度が増加する場合も見られ、イオンビームで改質したソフトマテリアルの構造評価にも使うことができることも明らかにした。ポリマーなどの表面をプラズマやイオンビームで処理することにより撥水性などを制御しているが、これらのプロセスにより表面がどのように変化したのかを調べるのが可能となった。

さらに、投影型の二次イオン光学系とクラスターイオン銃を組み合わせるイメージング測定も実現した。このために開発した新型イオン銃は既存の分析装置に設置可能であり、エッチングビーム・プローブビームの両方に利用可能なクラスターイオン源はきわめて汎用性が高く、クラスターイオンビーム技術の実用化に向けた基盤を確立した。さらに、イメージング分析に必須のビーム集束カラムを開発するために、イオン軌道のシミュレーションを行っている。様々な形状をシミュレーションすることにより、色収差の少ないレンズ系の設計を試み、レンズ径を小さくし加速型のアインツェルレンズもしくはバイポテンシャルレンズを用いることで、現状の半分以下に集束することが可能であることを明らかにした。今後さらにビーム径を収束するための対物レンズ系の開発を行い、質量イメージング法への適用も目指す。

(3. 3) ナノ・バイオ材料分析プロトコル

組織切片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。分子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、糖質など生体組織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。ラットの組織切片を作成し、生体高分子分布の分子イメージ

ング像の観察をおこなった。ラットから摘出した脳、脊髄、筋肉などの組織を凍結し、クライオマイクロームで数十ミクロンの厚みに切片化した試料を用いた。数cmの大きな組織を正確に切片化するためには、切削温度やサンプル固定方法など様々なパラメータの最適化が必要である。さらに、組織の固定に使われている固定剤からも多くの低分子二次イオンが放出され、妨害イオンとなることが分かった。

筋肉など比較的脂質が少ないと考えられる組織でも 10 種以上のリン脂質が検出された。脂質のヘッドグループや直鎖の長さ、さらには不飽和度などの異なる様々なリン脂質の分子構造を質量スペクトルから決定することが必要である。脳などの臓器ではさらに多くの脂質分子が検出され、質量からリン脂質の分子構造を決定することは容易ではない。さらに、生体組織の場合には水素原子付加イオンだけでなくイオン化ポテンシャルの低い Na や K などが付加されたアルカリ付加イオンも同時に検出され、質量スペクトルを複雑にしている^{5,17)}。このようなアルカリ付加イオンは質量スペクトルの解析を複雑にしている反面、質量分解能が高い場合には付加イオン情報をうまく使うことによりデーター解析精度の向上に有効に使うこともできる。正確に測定データーを解析するためには、脂質マスマススペクトルなどのデーターベースの構築なども必要となる。測定データーが膨大であるため、どのような質量に注目するか？どのような分子が異なる分布をしているのか？などを人が見て判断するには限界があり、これを助けるため PCA (Principal Component Analysis: 主成分分析法)、MVA (MultiVariate Analytical technique: 多変量解析法) などデーター解析手法の検討も進めている。

§4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. 松尾二郎
“高密度励起ビームによる二次イオン質量分析法の有機・生体材料への新展開”
応用物理 第 79 巻 第 4 号 p.326-330, 2010
2. 松尾二郎, 瀬木利夫, 二宮啓, 青木学聡
“クラスターイオンビームによる平坦化加工技術”
砥粒加工学会誌 (Journal of the Japan Society for Abrasive Technology) Vol. 54 No. 5, pp.272-275, 2010
3. 松尾二郎, 北川晃幸, 瀬木利夫, 青木学聡
“ガスクラスターイオンビームによるナノ加工技術”
トライボロジスト 第 55 巻 第 11 号 p. 776-782 (2010)
4. 松尾二郎, 瀬木利夫, 青木学聡
“クラスターイオンビーム技術の最近の進展”

表面科学 Vol. 31, No. 11, pp.564-571 (2010)

5. H. Yamada, K. Ichiki, Y. Nakata, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo
“MeV-Energy Probe SIMS Imaging of Major Components in Animal Cells Etched Using Large Gas Cluster Ions”
Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, 268, pp. 1736-1740, 2010 (DOI: [10.1016/j.nimb.2010.02.038](https://doi.org/10.1016/j.nimb.2010.02.038))
6. T. Aoki, T. Seki and J. Matsuo
“MD simulation of small boron cluster implantation”
IWJT2010 Extended Abstracts art. no. 5474974, pp. 114-115, 2010 (DOI: 10.1109/IWJT.2010.5474974)
7. M. Hada, K. Okimura and J. Matsuo
“Characterization of structural dynamics of VO₂ thin film on c-Al₂O₃ using in-air time-resolved X-ray diffraction”
Physical Review B, 82, 153401, 2010 (DOI: 10.1103/PhysRevB.82.153401)
8. J. Matsuo, S. Ninomiya, H. Yamada, K. Ichiki, Y. Wakamatsu, M. Hada, T. Seki and T. Aoki
”SIMS with highly excited primary beams for molecular depth profiling and imaging for organic and biological materials”
Surface and Interface Analysis Vol. 42 [10-11], pp. 1612-1615 (2010, Oct) (DOI: 10.1002/sia.3585)
9. Y. Yamamoto, K. Ichiki, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo
“Evaluation of surface damage on organic materials irradiated with Ar cluster ion beam”
AIP Conference Proceedings Vol. 1321 (IIT2010) , pp. 298-301 (2010)
10. Y. Wakamatsu, H. Yamada, S. Ninomiya, B. N. Jones, T. Seki, T. Aoki, R. Webb, and J. Matsuo
“Biomolecular Emission by Swift Heavy Ion Bombardment”
AIP Conference Proceedings Vol. 1321 (IIT2010) , pp. 233-236 (2010)
11. K. Ichiki, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki, and J. Matsuo
“Energy Effects on the Sputtering Yield of Si Bombarded with Gas Cluster Ion Beams”
AIP Conference Proceedings Vol. 1321 (IIT2010) , pp. 294-297 (2010)
12. M. Hada, Y. Hontani, S. Ibuki, K. Ichiki, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo
“Evaluation of Surface Damage of Organic Films due to Irradiation with Energetic Ion Beams”

- AIP Conference Proceedings Vol. 1321 (IIT2010), pp. 314-316 (2010)
13. T. Seki, Y. Yoshino, T. Senoo, K. Koike, S. Ninomiya, T. Aoki, and J. Matsuo
 “High Speed Si Etching with ClF₃ Cluster Injection”
 AIP Conference Proceedings Vol. 1321 (IIT2010) , pp. 317-320 (2010)
 14. M. Hada, K. Ichiki and J. Matsuo
 “Characterization of vapor-deposited L-leucine nanofilm”
 Thin Solid Films 519, pp.1993-1997 (2011) (doi:10.1016/j.tsf.2010.10.011)
 15. H. Yamada, Y. Nakata, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki, J. Tamura and J. Matsuo
 “MeV-Energy Probe SIMS Imaging of Major Components in Washed and Fractured Animal Cells”
 Surface and Interface Analysis Vol. 43[1-2] pp. 363-366 (2011, Jan.-Feb.). (DOI: 10.1002/sia.3408)
 16. K. Ichiki, S. Ninomiya, Y. Nakata, H. Yamada, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo
 “Surface morphology of PMMA surfaces bombarded with size-selected gas cluster ion beams”
 Surface and Interface Analysis Vol. 43[1-2] pp. 120-122 (2011, Jan.-Feb.). (DOI: 10.1002/sia.3444)
 17. M. Hada, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo
 “Using ellipsometry for the evaluation of surface damage and sputtering yield in organic films with irradiation of argon cluster ion beams”
 Surface and Interface Analysis Vol. 43[1-2] pp. 84-87 (2011, Jan.-Feb.). (DOI: 10.1002/sia.3452)
 18. B. N. Jones, J. Matsuo, Y. Nakata, H. Yamada, J. Watts, S. Hinder, V. Palitsin and R. Webb
 “Comparison of MeV monomer ion and keV cluster ToF-SIMS”
 Surface and Interface Analysis Vol. 43[1-2], pp.249-252 (2011, Jan.-Feb.). (DOI: 10.1002/sia.3520)
 19. S. Ninomiya, K. Ichiki, H. Yamada, Y. Nakata, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo
 “Analysis of organic semiconductor multilayers with Ar cluster secondary ion mass spectrometry”
 Surface and Interface Analysis Vol. 43[1-2], pp.95-98 (2011, Jan.-Feb.). (DOI: 10.1002/sia.3587)
 20. S. Ninomiya, K. Ichiki, H. Yamada, Y. Nakata, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo
 “The effect of incident energy on molecular depth profiling of polymers with large Ar cluster ion beams”
 Surface and Interface Analysis Vol. 43[1-2], pp.221-224 (2011, Jan.-Feb.). (DOI: 10.1002/sia.3587)

10.1002/sia.3656)

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 MRS-J 35 [4] pp. 785-788 (2010, Dec.)
22. Kazuya Ichiki, Satoshi Ninomiya, Toshio Seki, Takaaki Aoki, Jiro Matsuo
“Sputtering Properties of Si by Size-Selected Ar Gas Cluster Ion Beam”,
Transactions of the MRS-J 35 [4] pp. 789-792 (2010, Dec.)
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 MRS-J 35 [4] pp. 793-796 (2010, Dec.)
24. T. Aoki, T. Seki and J. Matsuo
“Molecular dynamics simulations of large fluorine cluster impact on silicon with
supersonic velocity”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B,
(2011 *in press*)
(doi:10.1016/j.nimb.2010.12.013)
25. Y. Wakamatsu, H. Yamada, S. Ninomiya, B. N. Jones, T. Seki, T. Aoki, R. Webb and
J. Matsuo
“Highly Sensitive Molecular Detection with Swift Heavy Ions”
Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B (2011, *in press*)
(doi:10.1016/j.nimb.2011.02.069)
26. G. Sciaini, M. Hada, J. Matsuo, A. Karantza, G. Moriena and R. J. D. Miller
“Coherent Acoustic Phonons in Highly Oriented Bismuth Films Monitored by
Femtosecond Electron Diffraction”
Ultrafast Phenomena 17 (Proceeding) 2010 (*accepted*)

(4-2) 知財出願

- ① 平成22年度特許出願件数(国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 0 件)