

原子間力顕微鏡 (AFM) による液中観察 Visualization of Samples in Liquid by Atomic Force Microscopy

竹原真紀, 太田裕治

Maki TAKEHARA and Yuji OHTA

お茶の水女子大学大学院 ライフサイエンス専攻

1. 原子間力顕微鏡(AFM)

光学顕微鏡は、肉眼では観察できない細胞や微生物を観察することができ、現代の生物学の基礎を築いた。試料が生命活動状態に近く、かつ非破壊的に観察することが可能で、生物観察において理想的な特徴を持っている。しかし、その分解能は $0.2 \mu\text{m}$ が限界であり、細胞や粒子などの微細な領域の観察には 0.1 nm 程度の分解能を持つ電子顕微鏡を用いる必要がある。電子顕微鏡観察ではその原理上、真空中での観察となるため、試料は乾燥状態にある。さらに導電性を求められるため金属コーティングなどの前処理が必要であり、自然な状態での観察は困難である。

一方、レンズ系の顕微鏡とは異なり、微細プローブを用いて試料の表面形状を画像化する走査型プローブ顕微鏡 (Scanning Probe Microscopy: SPM) と呼ばれる顕微鏡が近年開発されてきた。SPM の分解能は電子顕微鏡と同程度かそれ以上である。SPM の開発は、1981年 IBM 社の Binnig, Rohrer らによって発表された走査型トンネル顕微鏡 (Scanning Tunneling Microscopy: STM) に始まる¹⁾。STM では探針と試料間に流れるトンネル電流が一定となるように制御しながら走査し、像を得る。しかし、電子顕微鏡観察と同様に STM 観察においても、試料に導電性を必要とするため、生きた状態の生物試料観察はできない。

その後 1986 年に Binnig, Quate, Gerber によ

って原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscopy: AFM) が発表された²⁾。AFM は STM におけるトンネル電流に代わり、探針と試料間に働く原子 (分子) 間力を利用するものである。測定原理から、真空中である必要はなく、大気中観察が可能で、さらに液体中の観察も可能である。金属や半導体だけでなく、生きた状態により近い生物試料の観察が可能となった。

近年、SPM は STM, AFM として表面形状を測定するだけにとどまらず、粘弾性測定、磁気力顕微鏡、電気力顕微鏡、電流測定などとしても用いられている。さらにフォースカーブを力の測定、吸着力の測定、探針によるナノ加工も可能である。

2. 液中 AFM

液中 AFM では大気中測定と同様に、カンチレバーの変位を光てこ方式で検出している。光が透過する環境であれば動作するため、レーザーを透過する液体中であれば観察が可能である。

サンプルを液中観察用シャーレに固定し、溶液を満たし、液中においてプローブを試料に近づけ走査する (Fig. 1)。

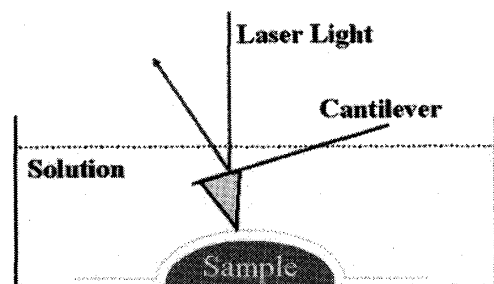


Fig. 1 液中測定 の原理

液中観察では、試料は乾燥させず生体に近い環境にあり、生体機能などを保持したまま測定することができる。近年では生物学、医学へ応用されている。試料の経時的変化を直接観察することも可能である。

生物試料では、探針による試料の変形や破壊を受けやすいため、高分解能を得るのは困難であり、現状では原子レベルの分解能は得られていない。

生物試料の観察例としては、細菌類、細胞、コラーゲン、タンパク質、染色体、DNA³⁾などがある。Fig. 2には、生きた臍静脈内皮細胞、親水性ポリマーの液中 AFM 観察像を示す。

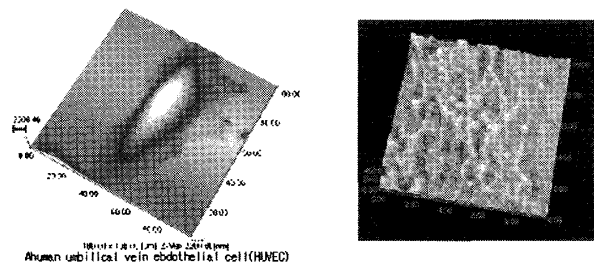


Fig. 2 (左) 生きた臍静脈内皮細胞の AFM 像

(右) 親水性ポリマーの AFM 像

(出典 島津製作所 HP)

3. 高分子の観察

観察試料として、温度変化に应答して親水性・疎水性変化を起こし、その構造を変化させる温度応答性高分子を用いた。分子量 10330 の高分子をシランコートスライドガラスに固定し、液中観察用シャーレを用いて AFM (走査型プローブ顕微鏡 SPM-9500, 島津製作所製) の液中観察を行った。常温下において、測定モードはコンタクトモード、走査速度は 0.5 Hz, 走査範囲は 500 nm とした。測定した AFM 像を Fig. 3 に示す。

観察像において、分子単位での識別はできな

いが、基板となるスライドガラスの AFM 像と形状が異なるため、基板に高分子が結合しているといえる。

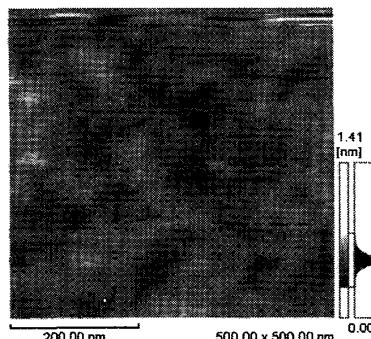


Fig. 3 高分子の AFM 像

4. おわりに

液中 AFM は操作が容易でない上、柔らかい試料の観察では原子レベルの分解能を得るのは困難である。しかし、フォースカーブや粘弾性測定、電気力測定など、形状計測時に同時に物性を測定することも可能であり、AFM は顕微鏡という枠を超えた表面解析の手法として今後ますます用いられるだろう。

[謝辞]

本研究を行うにあたり協力して下さった、共立薬科大学・金澤秀子教授ならびに同大学院・綾野絵里修士に感謝致します。

[参考文献]

- 1) G. Binnig, H. Rohrer., *Helv. Phys. Acta*, **56**, 726, (1982)
- 2) G. Binnig, C. F. Quate, Ch. Gerber., *Phys. Rev. Lett*, **56**, 930-933. (1986)
- 3) Hansma, H. G., et al., *Science*, **256**, 1180 (1992).