



液中 3 次元原子間力顕微鏡の ナノバイオ研究への応用

福間剛士 Takeshi FUKUMA

近年、液中原子間力顕微鏡 (AFM) の発展は目覚ましく、ナノ生命科学分野への応用が盛んに模索されているが、その一方でナノバイオマテリアル分野への応用はまだまだ限定的である。本稿では、この問題の解決を目指した筆者らの取り組みの中から、液中周波数変調 AFM や 3 次元 AFM 技術を用いて実施したセルロースナノ結晶表面の液中高分解能解析の例を紹介する。

原子間力顕微鏡によるバイオマテリアル研究の現状

原子間力顕微鏡 (AFM) は、液中で導体だけでなく、絶縁体の表面も原子・分子レベルで観察できるため、比較的導電性の低い生体分子を対象としたナノレベルの研究、すなわちナノバイオ研究において極めて強力なツールとなり得る。従来の AFM によるナノバイオ研究は、生体分子を材料として活用するバイオマテリアル研究と、生命現象の仕組みを理解しようとする生命科学研究に大別できる。前者の例としては、セルロースやキチンのナノ結晶を対象としたバイオマス研究や、ペプチド/グラフェン界面などを利用したバイオデバイス研究が挙げられる。これらの研究では、AFM が表面形状観察技術として広く活用されてきたが、その多くは大気中での観察に留まっており、最先端の液中 AFM 技術は、限定的にしか応用されていない。

一方、生命科学研究には最先端の液中 AFM 技術が積極的に取り入れられている。例えば、高速 AFM によるタンパク質や核酸のナノ動態計測、周波数変調 AFM (FM-AFM) によるサブナノスケール表面構造計

測、3 次元 AFM (3D-AFM) による水和構造計測¹⁾などが挙げられる。一方で、これらの AFM 技術のバイオマテリアル分野への応用はいまだ限られている。

近年筆者らは、この課題の克服を目指し、最先端の液中 AFM 技術のバイオマテリアル研究への応用を推進してきた。本稿では、その一例として、FM-AFM や 3D-AFM によるセルロースナノ結晶 (CNC) の液中高分解能分析²⁾の結果を紹介する。

FM-AFM と 3D-AFM の原理

AFM では、尖鋭化された探針を先端に有する片持ち梁 (カンチレバー) を力検出器として用いる。FM-AFM では、振動するカンチレバーを試料に近づけた際に探針-試料間相互作用力によって生じるカンチレバー共振周波数の変化を検出し、それを一定に保つように探針-試料間距離を制御する (図 1a)。その状態で探針を水平方向に走査し、その際の探針の軌跡から表面形状像を得る。この手法は、元来真空中での原子分解能計測のために開発された動作モードであったが、筆者らは 2005 年にその液中動作を実現し、現在では生体分子

ふくま・たけし
金沢大学ナノ生命科学研究所 所長・教授
〔経歴〕2003 年京都大学大学院工学研究科電子物性工学専攻博士後期課程修了、博士 (工学)。Trinity College Dublin 主任研究員、金沢大学特任准教授を経て現職。〔専門〕ナノ計測工学、電気電子工学。〔趣味〕釣り。
E-mail: fukuma@staff.kanazawa-u.ac.jp

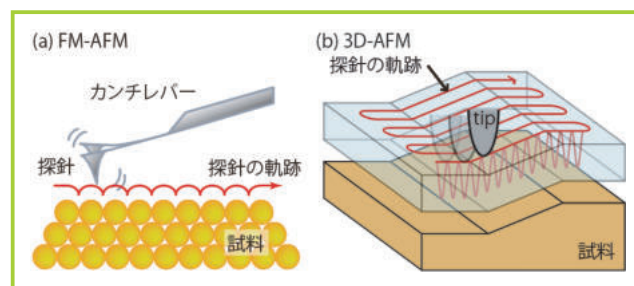


図 1 (a) FM-AFM と (b) 3D-AFM の原理

を含む様々な試料の液中原子・分子分解能観察が可能となっている。

さらに2010年には、AFMの動作原理を2次元から3次元へと拡張した3次元AFM (3D-AFM)を開発した¹⁾。この手法では、探針を水平方向だけでなく、垂直方向にも走査し、その間に探針が受けた力を3次元力分布像として記録する。探針は、走査中に界面の水分子や表面揺動構造と相互作用するため、得られた3次元力分布像には、それらの密度分布を反映したコントラストが得られる。特に、前者は水和構造と呼ばれ、生体分子系の構造や機能と密接に関係するため、その直接観察には大きなニーズがある。

FM-/3D-AFMによるCNC表面の液中高分解能解析

CNCは、植物由来のバイオマスであるセルロースから、アモルファス部を除去することで生成された結晶性のナノ材料であり、その優れた機械特性や生分解性などから、多様な機能性材料・デバイスへの応用が盛んに研究されている。しかし、その液中における表面構造や表面物性を分子レベルで調べた例はほとんどなく、未解明の点が多く残されている。

そこで筆者らは、FM-AFMおよび3D-AFMにより、純水中のCNC表面を高分解能観察した(図2)²⁾。CNCは一般に直径数十nm、長さ数百nmのファイバー形状を有する。比較的大きなスケールのFM-AFM像(図2a)では、ファイバー表面の一部に欠陥が見られ、その結晶性が必ずしも完全ではないことがわかる。

平坦な領域の拡大像(図2b)には、異なるコントラストを示す2つの平坦面が観察されている。この結果は、CNC表面に異なる結晶面のテラスが露出していることを示唆している。画像を詳細に解析すると、図中矢印で示したファイバー軸方向に沿って、グルコース間隔(0.52 nm)と、その2倍のセロビオース間隔(1.04 nm)に相当する周期構造が確認できる。

このような結晶面上で取得した3D-AFM像(図2c)からファイバー軸方向(白矢印)に沿って取得したZ断面には連続的な水和層が確認できるのに対し、ファイバーを横断する向きに取得したZ断面に見られる水和構造はより不連続な分布を示している。このようなCNC表面における水和構造の違いは、分子やイオンの吸着性、さらにはCNC同士の集合挙動に直接影響

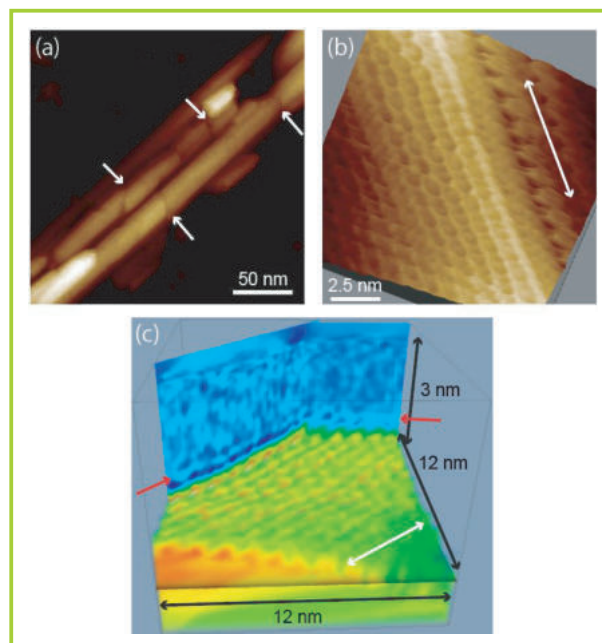


図2 純水中で取得したCNC表面の(a, b) FM-AFM像と(c) 3D-AFM像

(Adapted with permission from Ref. 2). Copyright (2022). American Chemical Society.)

を及ぼす可能性がある。したがって、その微細な違いを理解することは、CNCを用いた材料の設計や機能の最適化に向けて、極めて重要な手掛かりとなる。

おわりに

本稿では、最先端の液中AFM技術を用いたバイオマテリアル研究として、FM-/3D-AFMによるCNC表面の液中分析結果を紹介した。この例では、CNC表面における局所的な欠陥の存在、露出結晶面の分布、さらには水和構造の結晶方位依存性といった、従来のAFM技術では捉えきれなかった分子レベルの情報が明らかとなった。これらの成果は、高分解能液中AFM技術が、バイオマテリアル研究において新たな知見をもたらす強力な計測手段であることを示している。本稿が、こうした計測技術に関心を持つ契機となり、今後の応用研究の展開へとつながれば幸甚である。

- 1) T. Fukuma, Y. Ueda, S. Yoshioka, H. Asakawa, *Phys. Rev. Lett.* **2010**, 104, 016101.
- 2) A. Yurtsever, P. X. Wang, F. Priante, Y. Morais Jaques, K. Miyazawa, M. J. MacLachlan, A. S. Foster, T. Fukuma, *Sci. Adv.* **2022**, 8, eabq0160.

© 2025 The Chemical Society of Japan