

液中原子間力顕微鏡による分子吸着を制御する自己組織化膜の分子スケール研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 稲田, なつみ, Inada, Natsumi メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/48055

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



学位論文要旨

液中原子間力顕微鏡による
分子吸着を制御する自己組織化膜の
分子スケール研究

Molecular-scale investigations on self-assembled monolayers
with a control function of molecular adsorption
by atomic force microscopy in liquid

金沢大学大学院 自然科学研究科 電子情報科学専攻

稲田 なつみ

Abstract

Control function of molecular adsorption (i.e. adsorption control) has been studied in various fields such as biochemistry, medical science and environmental industry. As a model surface structure to understand the function, alkanethiol self-assembled monolayer (SAM) has been widely used because of the surface controllability and high structural reproducibility. On the other hand, understanding of mechanisms of the adsorption control requires investigation on a molecular-scale distribution of interaction forces between adsorbed molecules and surface structures. However, such method for measuring a solid-liquid interface with molecular scale in real space has not been established. Therefore, the molecular mechanisms remain unclear.

In this study, I investigate some different alkanethiol SAMs with the adsorption control by frequency-modulation atomic force microscopy and three-dimensional scanning force microscopy (3D-SFM) in liquid. As a result, the molecular-scale interfacial structures related to the adsorption control were revealed. In addition, real-space distributions of energy barrier at the interface where is a reaction field of molecular adsorption were visualized at sub-nm resolution, which enable to discuss adsorption sights on the model surfaces for adsorption control. These results demonstrate that 3D-SFM can measure interfacial structures and the force distribution related to an origin of adsorption control and investigate the mechanisms with molecular scale.

1. 研究背景

高分子、コロイド、液晶、生体分子などのソフトマターは電気・電子物性、生体適合性、摩擦、吸着・防汚性など多様な機能を有しており、我々の身の回りの様々な場所で応用されている。ソフトマターの有する表面や界面はソフト界面と呼ばれ、その多様な機能はソフト界面で生じることが明らかになってきていることから近年注目されている。そのためソフト界面を調べ、理解することが求められており、本研究では吸着・防汚機能に着目して分子吸着制御機能を有するソフト界面計測についての研究を行った。

タンパク質などの分子や細胞の吸着を制御する機能は生化学、医療、環境産業、海洋産業など広範な分野で必要とされ、応用されている。このような様々な分野で応用されている分子吸着制御材料の一つにポリエチレングリコール(PEG)が挙げられる。PEGはエチレングリコール(EG)が多数重合した高分子で、タンパク質などの分子吸着を抑制することが広く知られている。このPEGの分子吸着抑制能を分子レベルで詳細に調べることを目的に、1991年に少数のEGが重合したオリゴエチレングリコール(OEG)をアルカンチオール自己組織化膜(SAM)に修飾したOEG末端アルカンチオールSAM(OEG-SAM)がPEGのモデル構造として提案された。このOEG-SAMについて現在まで非常に多くの研究が行われ、様々な分子に対して高い吸着抑制能を示すことが明らかになっており、その吸着抑制能の起源について議論が行われている。

OEG-SAMの他にも様々なアルカンチオールSAMが分子吸着制御表面モデルとして広く使用され、研究されてきた。なぜならアルカンチオールSAMは分子スケールで精密な構造を構築でき、様々な化学構造を末端に導入することができるため用途に合わせた表面化学修飾が可能であるからである。また異なる官能基末端のアルカンチオール分子を混合して調製することで混合SAMを形成することもできる。例えば正電荷や負電荷に帯電した官能基を有するSAMは生体分子が非常に吸着しやすい一方で、それらのアルカンチオール分子を1:1の割合で混合して形成した混合SAMは高い吸着抑制能を示すことが報告されている。

以上のように分子吸着制御の基礎研究にアルカンチオールSAMは広く使用されており、その起源を調べるため多くの研究が行われているが、分子吸着制御能を理解するためには吸着分子と固液界面に働く相互作用力と、その相互作用力を決定する固液界面に存在する構造やそれらのダイナミクスを分子スケールで理解する必要がある。これまでOEG-SAMの吸着抑制能については、OEG-SAM界面で働く相互作用力を調べるため表面力測定やAFMによるフォースカーブ計測が行われてきた。一方、その固液界面構造については分光測定、回折測定、反射率測定、顕微鏡観察によって構造解析されてきた。しかし、これらの計測技術で取得された情報は空間的に平均化されており、そこから分子スケールの情報を予想している。例えば表面力測定では試料間に働く相互作用力を計測するがマイクロスケールの領域でその情報は平均化され、分光測定ではレーザ光

の照射域で構造情報が平均化される。そのため OEG-SAM の吸着抑制能の起源は完全には明らかになっておらず、この問題を解決するためには局所的に分子スケールで直接計測する手法が必要となる。

一方、原子間力顕微鏡(AFM)は近年長足の進歩を遂げ、周波数変調 AFM(FM-AFM)の技術発展により液中原子分解能観察が可能となった。FM-AFM を用いて今日まで結晶、有機分子膜、生体分子など様々な表面の液中原子分子分解能観察が行われている。さらに 2010 年には FM-AFM をさらに発展させた 3 次元走査型力顕微鏡(3D-SFM)が開発され、試料表面に対して水平方向の構造情報に加えて、鉛直方向に広がる固液界面構造情報も取得できるようになった。3D-SFM では固液界面で探針を 3 次元に走査しながら探針に受ける力を全て記録することで、相互作用力の 3 次元分布を取得することができる。その力分布は固液界面に存在する構造を反映しているため固液界面構造とそこで働く相互作用力を同時取得することになる。この 3D-SFM はサブナノスケール空間分解能とピコニュートン力分解能を有しており、水分子 1 個分に相当する大きさの水和構造を探針が貫く時の非常に小さな相互作用力を計測することができる。これまで実空間で計測できなかった界面構造が可視化されたことで構造解析技術として注目されてきたが、そもそも探針に働く相互作用力を計測して構造を見ている。このことから 3D-SFM がソフトマテリアル/水界面の相互作用力計測に応用できる可能性に気づき、AFM 計測の標準試料としても使用されるアルカンチオール SAM を用いて、分子吸着制御能のメカニズムに関わる分子的描像を議論できるのではないかと考えた。

他方、FM-AFM 装置には更なる発展のため改善が望まれる箇所が複数存在し、例えば探針先端の形状や化学構造の再現性、イメージング速度、カンチレバーの励振効率などが挙げられる。これらの中で本論文ではカンチレバーの励振効率向上に取り組むことにした。本研究で使用した FM-AFM では、寄生励振の寄与が小さく装置構成が簡便なことから光熱励振法を用いてカンチレバーを励振している。しかし、この光熱励振法は比較的励振効率が低いことが知られており、バネ定数の大きい固いカンチレバーを大振幅で励振することが難しい。原子分子分解能観察には小振幅励振が求められるが、ソフトマテリアル表面を計測するには大振幅励振が求められる場面が多々ある。それはソフトマテリアル表面には nm \sim μ m オーダーの凹凸を有することが多く、試料に接触するのを避けるためにカンチレバーを大振幅励振する必要があるからである。また液中 FM-AFM の原子分子分解能観察においてはカンチレバーが高感度になるほどバネ定数が大きくなる傾向があり、そのようなカンチレバーで様々なソフトマテリアル表面を観察するには光熱励振法の励振効率改善が強く望まれる。

2. 研究目的

そこで本研究ではアルカンチオール SAM を用いて分子吸着制御表面を形成し、その分子スケール構造を明らかにするため液中 FM-AFM による表面構造計測を行った。また分子吸着制御の分子論的描像を理解するため、液中 3D-SFM を用いて固液界面の 3次元力分布を取得し、固液界面構造とそこで働く相互作用力の特徴を調べた。一方で 3D-SFM のソフトマテリアル計測応用への有用性を実証するため、それらの構造だけでなく機能に関わる重要な情報も計測できるか検討を行った。また大振幅励振が必要な場合が多いソフトマテリアル計測に向け、光熱励振法の励振効率を向上させることを目指した。

3. 分子吸着制御機能を有する自己組織化膜の液中 AFM 計測

本研究では分子吸着制御機能を有するアルカンチオール SAM として以下の 3 つの SAM を調べた。標準試料として生体分子が吸着しやすい OH 末端アルカンチオール SAM (OH-SAM)、分子吸着抑制能が知られている OEG-SAM として EG 鎖が 6 つ重合して最末端が OH 基の EG₆OH 末端アルカンチオール SAM (EG₆OH-SAM)、負に帯電して分子や細胞が非常に吸着しやすい SO₃⁻基を末端に持つアルカンチオール SAM (SO₃⁻-SAM)を分子吸着制御表面モデルとして用いた。

SAM は全て浸漬法で調製しており、エタノールもしくは純水を用いてアルカンチオール溶液を調製して金(111)基板を一晩浸漬した。形成された SAM 表面を洗浄して乾燥させた後、直ちにイメージング溶液を滴下して AFM 計測を行った。本研究で使用したアルカンチオール分子のアルキル鎖の炭素数は全て 11 (C₁₁)で、上記の調製条件においては一般的に standing-up 構造をとると考えられている。

3.1 OEG-SAM 表面のサブナノスケール構造解析とタンパク質吸着抑制能

液中 FM-AFM によって分子吸着抑制能を有する EG₆OH-SAM(図 1a)と有さない OH-SAM(図 1b)の表面構造を計測し、分子スケール構造を調べた。図 1c と d は EG₆OH-SAM の FM-AFM 像であり、図 1e は OH-SAM のものである。点線で示したように線状の欠陥構造が観察され、これらはチオール分子の配向性の異なりによる境界構造である。境界構造に区切られた領域(ドメイン)ではチオール分子は同じ配向性をとっている。ドメインの端から端までの最大距離をドメインサイズとしたとき、EG₆OH-SAM のドメインサイズは 0-200 nm で、OH-SAM のものは 10-40 nm であることが AFM 像からわかった。EG₆OH-SAM のドメインサイズが OH-SAM のものよりも明らかに大きいのは、それぞれの分子配置の安定さとドメイン形成時においてチオール分子の再配置に必

要なエネルギーの差に起因すると考察している。また図 1d から EG₆OH-SAM のドメイン内では 0.5 nm または 1.0 nm のピーク間隔を有する分子スケールのコントラストが可視化され、OH-SAM のコントラストパターンとよく似た特徴を有していることが明らかになった。この結果から EG₆OH-SAM はチオール分子が高密度充填し、非常に精密な分子配列を形成していることが強く示唆される。

さらにタンパク質吸着評価を行うため、タンパク質をそれぞれの表面に吸着させた後に FM-AFM 観察を行った。チオール分子が高密度充填した領域では OH-SAM と EG₆OH-SAM の表面構造はどちらもサブナノスケールで平坦であったが、OH-SAM ではその平坦な領域でも多くのタンパク質が吸着しているのに対し、EG₆OH-SAM では吸着していない様子が観察された。この結果から高い充填構造を有した EG₆OH-SAM でもタンパク質吸着抑制能を示すことが明らかになった。ただし、EG₆OH-SAM 表面に存在するナノスケールの欠陥構造には吸着したタンパク質が観察され、この結果はこれまでに報告されている分子吸着抑制能の不完全性に強く関連すると考察している。

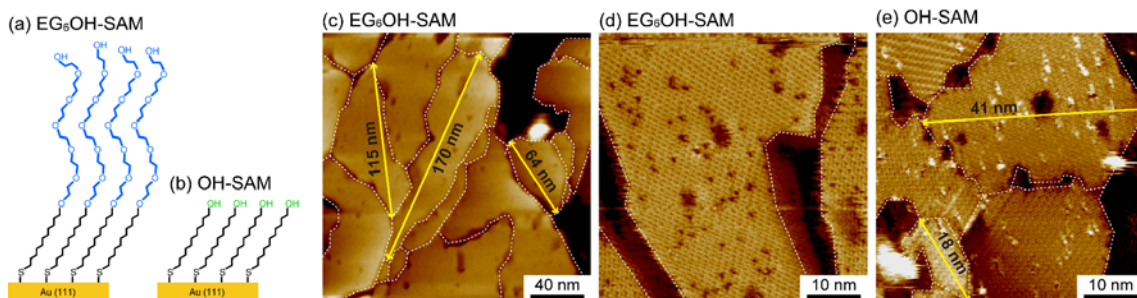


図 1: (a) EG₆OH-SAM と (b) OH-SAM の分子モデル。 (c)(d) EG₆OH-SAM と (e) OH-SAM の液中 FM-AFM 像。

3.2 3D-SFM による OEG-SAM/水界面の 3 次元相互作用力分布の直接計測

EG₆OH-SAM と OH-SAM でチオール分子が高密度充填している領域を液中 3D-SFM 計測し、それぞれの界面構造と相互作用力分布を比較することで EG₆OH-SAM の吸着抑制能の起源について議論した。

OH-SAM/水界面を液中 3D-SFM 計測した結果、界面に明瞭な層状の水和構造が可視化され、カプロファイルは振動的で表面近傍では引力が働いていた。また周りに比較して大きな引力が働くスポットが 0.5 nm 間隔に分布していることがわかった。この引力と水和構造に由来する斥力ピークにより接近してきた分子は表面近傍でエネルギーを失って捕獲され、吸着が促進されると考察している。

一方、EG₆OH-SAM/水界面を液中 3D-SFM 計測した結果、SAM 分子上分子間すべての場所で単調な斥力が増加するカプロファイルになっていることが明らかになった。また界面に層状の水和構造は見られず、探針が表面に接近すると EG 鎖が変形する様子が可視化された。このことからサブピコニュートンオーダーの力で EG 鎖は変形し、探

針が水和構造を貫く前に表面上の水和構造も EG 鎖と共に変形していることが考えられる。これまでに EG 鎖が非常に親水的であるために EG 鎖内に水分子が存在することが報告されており、また EG₆OH-SAM 表面上には長距離におよぶ水和構造の存在が提唱されている。つまり、EG₆OH-SAM/水界面に接近したタンパク質などの吸着分子は、チオール分子が高密充填した領域において常に水和構造と作用することになり、そのために EG₆OH-SAM のすべての場所で常に斥力を受けると考えられる。以上のことが EG₆OH-SAM の有する分子吸着抑制能の分子論的描像であると考察している。

3.3 SO₃-SAM のサブナノスケール構造解析

液中 FM-AFM を用いて末端官能基が負に帯電したアルカンチオール SAM の SO₃-SAM 表面の分子分解能観察を行った。さらに SO₃-SAM と OH-SAM を構成するそれぞれの分子である SO₃ 末端アルカンチオール(SO₃-チオール)と OH 末端アルカンチオール(OH-チオール)を混合して形成した混合 SAM を調製し、混合割合を変化させて表面構造の違いを調べた。またこれらの SAM を電気化学測定によっても調べ、大きな領域で平均化された構造情報と FM-AFM 計測から得られた局所的な構造情報を比較しながら分子スケール構造を詳細に議論した。

長鎖 C₁₁ の SO₃-SAM と OH-SAM の混合 SAM($\chi_{\text{SO}_3} = 1.0, 0.75, 0.5, 0.25, 0.0$)の分子スケールの構造を電気化学測定と液中 FM-AFM 計測によって調べた結果、取得された電流-電圧曲線は SO₃-SAM と OH-SAM の混合 SAM が相分離構造を形成していることを示し、AFM 像からも $\chi_{\text{SO}_3} = 0.75, 0.5$ の混合 SAM は高さの異なる相分離構造を形成することが確かめられた。高分解能観察により高い領域は OH-SAM であり、低い領域は SO₃-SAM であることがわかった。

相分離した SO₃-SAM 領域では縞状コントラストが可視化され、その縞幅と SO₃-チオールの分子長と比較した結果、分子が基板に平行に配向した lying-down 構造に近い構造を形成していると考えられている。一方で、 $\chi_{\text{SO}_3} = 0.25$ では OH-SAM に SO₃-チオールが均一に混合している様子が観察され、このとき周りの standing-up 構造の OH-SAM の影響により SO₃-チオールも standing-up 構造をとっていると考えられる。つまり、OH-チオールを混合することで SO₃-チオールを lying-down 構造から standing-up 構造に制御できることがわかった。

さらに水溶媒のみで調製した SO₃-SAM はランダムな構造を形成するが、エタノールと水の混合溶媒で調製することで lying-down 構造を形成することがわかった。

これまでに報告されている長鎖 SO₃-SAM の応用研究では standing-up 構造をとっているとして取り扱われている場合が多かったが、本研究結果により長鎖 SO₃-SAM の分子スケール描像を実空間で初めて明らかにし、さらに配向性や周期性を制御する調製方法を提案した。

4. ソフトマテリアル計測に向けたカンチレバー励振の高効率化

カンチレバー励振に用いている光熱励振法の励振効率を向上させるため、コロイド状グラファイトで形成した光熱変換層をカンチレバーに導入することを提案した(図 2a)。光熱変換層を形成する手順を確立し、最適化を行い、安定性評価を行った。

カンチレバーの変位検出には光てこ法を用いているためカンチレバーの自由端はコロイド状グラファイトを被覆させないようにする必要があった。そこでコロイド状グラファイト分散液を調製し、マニピュレータを用いてマイクロスケール液滴を形成することでカンチレバーの根元部のみに光熱変換層を被覆することに成功した(図 2b)。

光熱変換層の導入によって PPP-NCHAuD (Nanoworld)では励振効率が 6 倍向上したが、よりバネ定数の高い AC55 (Olympus)では向上率が低い結果となった。そこで AC55 で光熱変換層の最適化を検討した結果、コロイド状グラファイトの被覆率が 70 %までは被覆率が大きくなるほど光熱励振効率が向上するが、70-100 %になると励振効率が著しく低下することがわかった。被覆率 70 %の AC55 では、励振効率の 2.5 倍向上を実現した(図 2c)。この改善率はこのようなバネ定数の高いカンチレバーで大振幅励振するのに十分な値である。

また光熱変換層の液中安定性評価を行うため励振効率を長時間計測した結果、2 時間の間ほぼ変化しないことがわかった。さらにマイカの液中連続イメージングを行った結果、常にマイカ構造由来のサブナノスケールのコントラストが可視化されており、原子分解能観察にも影響しないことを実証した(図 2d-h)。

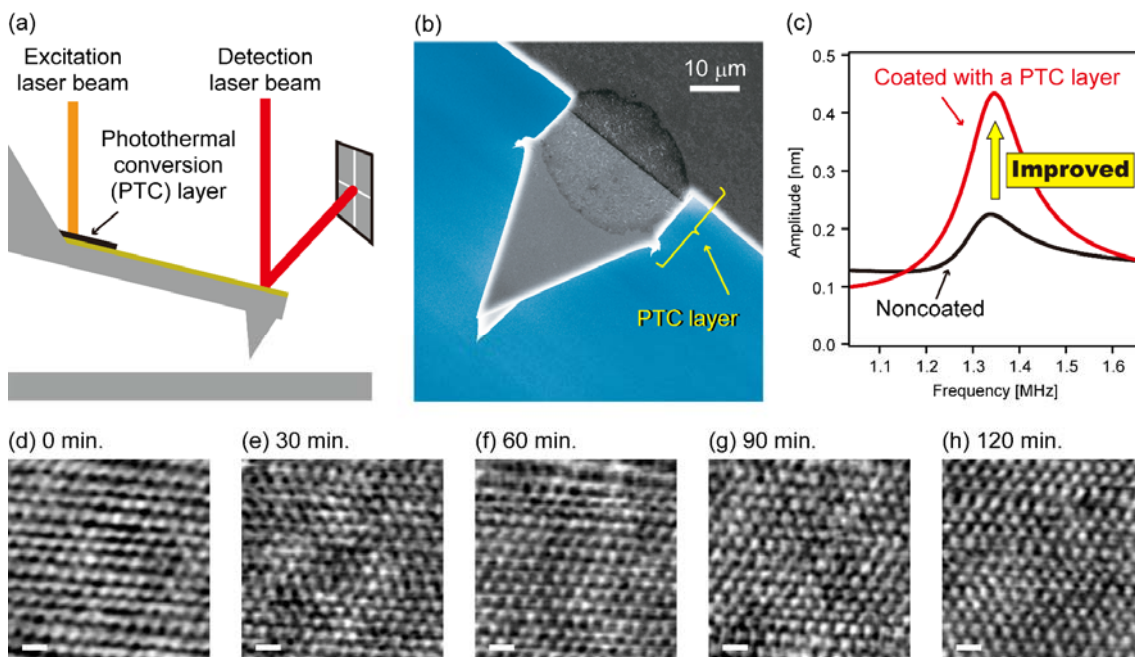


図 2: (a) 光熱変換層を形成したカンチレバーと光熱励振の装置構成。(b) 光熱変換層を形成した AC55 の SEM 像。(c) AC55 を用いて液中で計測した周波数に対する振動振幅曲線。(d)-(h) マイカの液中長時間連続イメージング。スケールバーは 1 nm。

5. 結論

液中 FM-AFM 計測によって OEG-SAM と SO₃-SAM の分子スケール構造が初めて明らかになった。また液中 3D-SFM 計測によって OEG-SAM/水界面と OH-SAM/水界面の相互作用力分布をサブナノ分解能で計測し、その違いから分子吸着抑制能の分子論的描像を議論した。このことは 3D-SFM を用いて固液界面の 3 次元力分布を取得することで分子吸着抑制能に重要な固液界面構造とそこに働く相互作用力を同時計測できることを示し、またそれによって分子吸着制御能の起源を分子スケールで議論できることを実証した。加えて光熱励振法の励振効率を改善させ、大きな凹凸のある試料でも感度の高いカンチレバーを用いた計測を可能にした。本研究で得られた成果は試料側と測定技術側の 2 つの面で発展や貢献が期待される。

これまで OEG-SAM や SO₃-SAM の分子吸着制御能に対し、その界面で働く相互作用力やそれらを決定する固液界面構造は表面力測定や分光測定で調べられてきた。それらの従来測定技術では空間的に平均化された情報を測定し、そこから分子スケールの情報を予想してきた。これに対し、本研究では FM-AFM・3D-SFM を用いて分子スケールの直接計測を実現した。この成果によりこれまでに得られている相互作用力・構造情報と比較検証することができるようになり、より詳細な議論が可能となる。また OEG-SAM 以外の SAM に加えて PEG ブラシやポリマブラシのような複雑な系についても分子スケール情報を取得できることが期待され、様々なソフト界面の分子吸着制御機能のメカニズム解明につながる議論ができる可能性を示した。

これまで 3D-SFM は主に結晶の固液界面構造計測に使用されてきたが、本研究成果によってソフト界面計測への応用性を示した。OEG-SAM と OH-SAM の 3D-SFM 計測結果により固液界面の水和・表面構造のサブナノスケール計測に加えて、その機能の発現メカニズムを分子スケールで議論できることを実証した。このことはソフト界面の有する様々な機能の一つである接着・防汚性のメカニズムを分子スケールで理解できる可能性を示し、またこれからの技術発展により様々なソフト界面機能も調べられることも期待される。

学位論文審査報告書（甲）

1. 学位論文題目（外国語の場合は和訳を付けること。）

液中原子間力顕微鏡による分子吸着を制御する自己組織化膜の分子スケール研究

2. 論文提出者 (1) 所属 電子情報科学 専攻

(2) 氏名 稲田 なつみ

3. 審査結果の要旨（600～650字）

平成29年2月7日に第1回学位審査委員会、口頭発表、および第2回学位論文審査会を開催し、慎重審議の結果、以下のとおり判定した。なお、口頭発表における質疑応答を最終試験に代えるものとした。

物質の表面に分子膜を形成して、その表面に対する分子吸着を制御する技術は、生体医療や環境科学などの幅広い分野で実用化されているが、それらの分子膜の分子吸着制御機構は分子スケールでは十分に理解されておらず、その性能改善を妨げる主たる要因となってきた。本論文では、周波数変調原子間力顕微鏡（FM-AFM）を用いて、自己組織化単分子膜（SAM）の分子吸着制御機能の起源を分子スケールで調べた。エチレングリコール（EG）末端を持つSAMの表面構造を分子分解能観察し、EG鎖が高い規則性を持った周期構造を形成していることを明らかにした。さらに、EG-SAM/水界面で3次元力分布を計測し、その結果から、EG鎖の親水性と柔軟性が分子吸着抑制能の発現にどのように関係しているかを分子レベルで明らかにした。また、SO₃末端およびOH末端を持つ分子の混合SAMについては、分子の混合比を変えることで表面の構造と電荷、さらには分子吸着制御機能を制御できることを明らかにした。

以上の研究成果は、液中FM-AFMのソフト界面科学分野への応用を切り拓くとともに、SAMの分子吸着制御機能の分子レベルの起源に関する重要な知見を与えるものであり、本論文は博士（工学）に値すると判定した。

4. 審査結果 (1) 判定（いずれかに○印） 合格 ・ 不合格

(2) 授与学位 博士（工学）