

高解像度走査型電気化学 顕微鏡の開発

高橋康史

金沢大学理工研究域電子情報学系 准教授

走査型電気化学顕微鏡(SECM)は、微小電極により試料表面を走査し、局所的な酸化還元物質由来の電流と位置情報から電流イメージを取得できるため、生体分子から触媒材料、電池材料に至るまで幅広く応用されてきた。著者らは、SECMの課題とされてきた空間分解能の向上させるため、走査型イオンコンダクタンス顕微鏡(SICM)の位置制御技術や、ナノスケールの電極の作製法を独自に開発してきた。本稿では、ナノ電極の作製法とSICMの計測原理、高解像度SECMの応用研究に関して紹介する。

はじめに

走査型電気化学顕微鏡(SECM)は、電動ステージを利用し、マイクロ電極を走査しながら酸化還元電流を検出する。電極の位置情報と電流計測の情報をリンクさせることで、局所的な化学物質の濃度に依存した電流の2次元イメージを取得できる(図1)。1989年にテキサス大学のBard教授により開発され^[1]、触媒材料、電池材料、生体試料の計測と幅広く応用されている。生体試料のSECMの研究は、1990年代前半から東北大学の末永智一教授らにより、細胞膜の透過性、呼吸量、遺伝子発現、内在酵素の発現状態、膜タンパク質の定量評価に利用している。SECMにより計測可能な化学物質は、酸素や過酸化水素、酵素反応生成物など電極で酸化・還元が可能なものだけでなく、電気化学メディエータを介して酵素反応をとらえることもできる。また、グルタミン酸などを酵素反応と電気化学メディエータを組み合わせて検出することもできる。

ナノスケールの電極の開発

SECMの解像度は、マイクロメートルスケールの電極を用いて、溶液中を拡散する化学物質を検出するため、他のSPMと比べ非常に低い。そのため、解像度の向上を

目指したナノ電極の開発が盛んに行われている。その手法は3つに大別できる。1つは、ガラス管内にPt細線(約10 μm)を内包させた状態で、CO₂レーザープレーヤーにより伸長する手法である。この手法は、最も一般的に行われている。電極先端に金属部分を露出させるため、集光イオンビームなどを利用し先端部を切断する必要があるが、比較的簡便にナノ電極を作製できる。2つ目は、Pt細線(約10 μm)を電解エッチングする手法である。この手法は比較的古くから行われているが、金属細線のエッチングを行い、細線を挿入したガラス管先端部を加熱して細線とガラスを密着させ、研磨を行うなどの職人技が要求される。3つ目の手法として、著者らが開発した焼成グラファイトナノ電極が挙げられる。先端を尖らせた石英管にブタンガスを充填し、先端部を加熱することで、石英管内に焼成グラファイト層を形成する。これまで10 nm以下の電極が作製されている^[2]。この手法は非常に簡便かつ迅速にナノスケールの電極を作製できる。

電極-試料間の距離制御

電極-試料間の距離制御は、試料の凹凸による形状への影響を排除するだけでなく、電極を細胞に近接させて、放出される化学物質を効率的に捉えることや、各測定点で得られる高さ情報から、形状イメージを同時に取得できるというメリットもある。特に凹凸の著しい単一細胞全体の電気化学イメージングでは、化学物質の放出部位と形状の相関性を調べるためには、不可欠な要素技術である。

生細胞の細胞表面形状の計測に特化した技術として、走査型イオンコンダクタンス顕微鏡 (SICM) が挙げられる。SICM は、ナノピペットを走査型プローブ顕微鏡の探針に利用し、イオン電流を利用してピペットの位置を制御する (図2)。インペリアルカレッジロンドンの Korchev 教授らが、SICM を利用した生細胞の形状測定や、細胞上にナノピペットを利用して、局所的に化学物質を放出する実験を行った。SICM の解像度に関しては、これまでの水平方向の分解能は、3 nm ほどの報告がある^[3]。著者は、この SICM と SECM の融合技術の開発に 2008 年から取り組み、2010 年から Korchev 教授のもとで開発を行い、PC12 細胞の表面形状と、放出される神経伝達物質の計測に成功した^[2,4] (図3)。

おわりに

走査型電気化学顕微鏡 (SECM) の高解像度化を目指して、焼成グラファイトナノ電極と、イオン電流を利用したプローブ-試料間距離制御システムを開発し、ナノスケールの神経細胞の形状イメージングと、局所的な神経伝達物質の放出を電流計測によりとらえることに成功した。本系は、これまで評価が困難であった細胞近傍の化学物質の濃度変化を時空間的にとらえるものであり、現在開発を進めているケミカルセンサー^[5]を導入することで、ATP やグルタミン酸の局所計測に発展させたいと考えて

いる。

最後に、本研究を推進するにあたり、ご指導、ご助言をいただきました東北大学環境科学研究科の末永智一教授、インペリアルカレッジロンドン・ナノメディスン研究室の Korchev 教授、それぞれの研究室の皆様感謝いたします。

- 1) A. J. Bard, F. R. F. Fan, J. Kwak, O. Lev, *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 132-138.
- 2) a) Y. Takahashi, A. I. Shevchuk, P. Novak, Y. J. Zhang, N. Ebejer, J. V. Macpherson, P. R. Unwin, A. J. Pollard, D. Roy, C. A. Clifford, H. Shiku, T. Matsue, D. Klenerman, Y. E. Korchev, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 9638-9642; b) Y. Takahashi, A. I. Shevchuk, P. Novak, B. Babakinejad, J. Macpherson, P. R. Unwin, H. Shiku, J. Gorelik, D. Klenerman, Y. E. Korchev, T. Matsue, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2012**, *109*, 11540-11545.
- 3) A. I. Shevchuk, G. I. Frolenkov, D. Sanchez, P. S. James, N. Freedman, M. J. Lab, R. Jones, D. Klenerman, Y. E. Korchev, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2212-2216.
- 4) a) Y. Takahashi, A. I. Shevchuk, P. Novak, Y. Murakami, H. Shiku, Y. E. Korchev, T. Matsue, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 10118-10126; b) M. Sen, Y. Takahashi, Y. Matsumae, Y. Horiguchi, A. Kumatani, K. Ino, H. Shiku, T. Matsue, *Anal. Chem.* **2015**, *87*, 3484-3489; c) P. Actis, S. Tokar, J. Clausmeyer, B. Babakinejad, S. Mikhaleva, R. Cornut, Y. Takahashi, A. L. Cordoba, P. Novak, A. I. Shevchuk, J. A. Dougan, S. G. Kazarian, P. V. Gorelkin, A. S. Erofeev, I. V. Yaminsky, P. R. Unwin, W. Schuhmann, D. Klenerman, D. A. Rusakov, E. V. Sviderskaya, Y. E. Korchev, *Acs Nano* **2014**, *8*, 875-884.
- 5) Y. Zhang, J. Clausmeyer, B. Babakinejad, A. Lopez Cordoba, T. Ali, A. Shevchuk, Y. Takahashi, P. Novak, C. Edwards, M. Lab, S. Gopal, C. Chiappini, U. Anand, L. Magnani, R. C. Coombes, J. Gorelik, T. Matsue, W. Schuhmann, D. Klenerman, E. V. Sviderskaya, Y. Korchev, *Acs Nano* **2016**, *10*, 3214-3221.



たかはし・やすふみ
2009 年東北大学環境科学研究科環境科学専攻博士後期課程修了。博士(学術)(指導教員:末永智一教授)。2008 年 4 月より日本学術振興会特別研究員(指導教員:末永智一教授)。2010 年 4 月インペリアルカレッジロンドン・海外特別研究員(研究室主宰者:Yuri Korchev 教授)、2011 年 10 月東北大学原子分子材料高等研究機構・助手、2013 年 4 月東北大学原子分子材料高等研究機構・助教を経て、15 年 10 月より現職。
E-mail: yasufumi@se.kanazawa-u.ac.jp

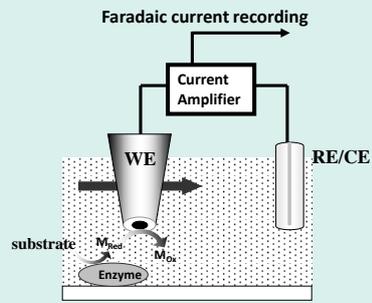


図1 SECMの測定原理図

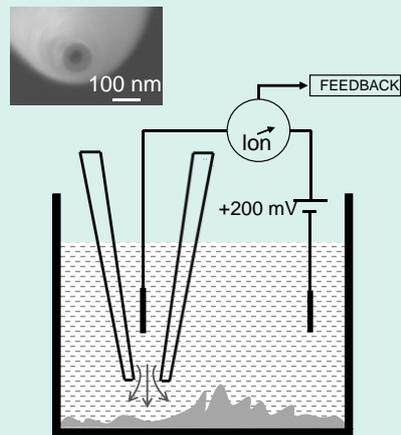


図2 SICMの測定原理図とピペット先端部の電子顕微鏡写真

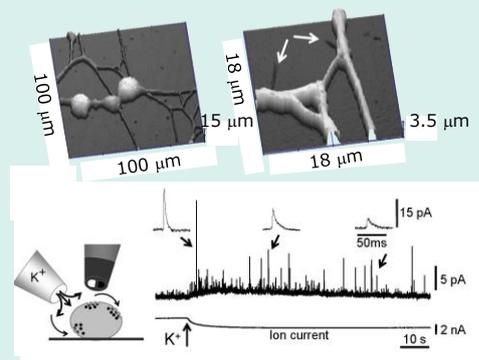


図3 SECM-SICMによる分化させたPC12の形状イメージと、PC12から放出された神経伝達物質のリアルタイム計測