

4D05 自己組織化単分子膜で修飾した探針及び試料間の 電位制御下フォースカーブ測定

(理研¹、東大新領域²) ○横田泰之¹、山田太郎¹、川合真紀^{1,2}

【序】 近年、生体膜の機能を微視的に探るといった観点から、水溶液中における様々な相互作用の検出手法の開発が期待されている。原子間力顕微鏡(AFM)は静電相互作用の高分解能測定に威力を発揮してきたが[1]、イオン濃度を变化させる必要があるなど、生理環境下では何らかの工夫が必要になる。我々は、電気化学的な電位制御が吸着種の荷電状態を变化させ得ることに注目し、電位制御したカンチレバーを用いた自己組織化単分子膜(SAM)の研究を行っている。本研究では、最もシンプルな電気化学活性種であるフェロセン(Fc)を探針及び試料に固定し、電位制御下でのフォースカーブ測定を試みた(図1)。

【実験】 AFM装置(アサイラムテクノロジー社、MFP-3D-SA)にバイポテンシオスタット(北斗電工社、HR-101B)を組み込み、探針と試料の電位を独立に制御した。金コートカンチレバー(オリンパス社、OMCL-TR800PB)は、UV オゾン法により洗浄を行って使用した[2]。金基板は、マイカ上に金を蒸着して作製し、使用直前にフレイムアニール処理をした。それぞれの金表面上に分子1と2の混合SAM(SAM1、溶液仕込み比は9:1)を作製し、探針及び試料として用いた(図1)。測定は0.05 M HClO₄水溶液中で行い、参照電極はAu/AuO_x、対極にはPt線を用いた。個々のカンチレバーのバネ定数は、熱振動法により見積もり(~0.18 N/m) [3]、電位によるバネ定数の変化がフィッティング誤差より小さいことを確認している。

【結果と考察】 図2に、分子2のみで修飾した探針と試料を用いてフォースカーブ測定を行った結果を示す。探針及び試料電位はそれぞれ-0.8、-0.4 Vで(つまり、試料に対する探針のバイアス電圧は-0.4 V)、この電位範囲ではSAM2が理想的なキャパシタンスとして振る舞い、脱離などの反応が起こらないことが分かっている[4]。疎水的な表面特性を反映して、試料-探針間に大きな付着力(~8 nN)が働いていることが分かる。上記の範囲内で電位を様々に変化させて測定を行ったところ、フォースカーブはアプローチ、リトラクト時共にほとんど変化しないことが分かった。一方、絶縁性溶媒のドデカン中でバイアス電圧を試料-探針間に印加してフォースカーブを測定すると、バイアス電圧に依存する長距離の引力相互作用(静電相互作用)が検出された。このことから、電気化学制御下でのフォースカーブに電位依存性が現れないのは、① 探針と試料がこの電位範囲で共に正に充電されていること[5]、② 0.05 M HClO₄水溶液中では電荷の遮蔽長(いわゆるデバイ長)が1.4 nm程度と短く、また帯電量自体も小さいことから、静電的な力の寄与が非常に小さいためであると考えている。

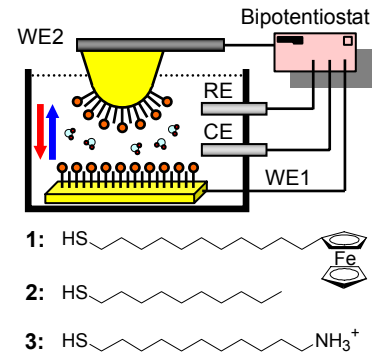


図1. 電位制御下でのフォースカーブ測定の模式図と本研究で用いた分子。

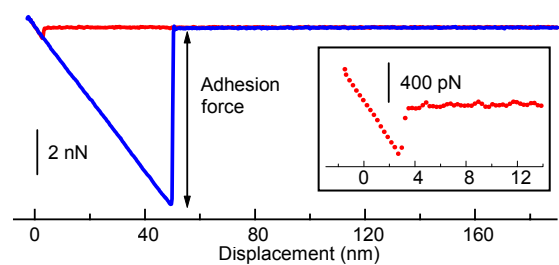


図2. SAM2で修飾した探針及び試料を用いて0.05 M HClO₄中で得られたフォースカーブ。探針及び試料電位はそれぞれ-0.8、-0.4 V vs Au/AuO_x。

ほとんど変化しないことが分かった。一方、絶縁性溶媒のドデカン中でバイアス電圧を試料-探針間に印加してフォースカーブを測定すると、バイアス電圧に依存する長距離の引力相互作用(静電相互作用)が検出された。このことから、電気化学制御下でのフォースカーブに電位依存性が現れないのは、① 探針と試料がこの電位範囲で共に正に充電されていること[5]、② 0.05 M HClO₄水溶液中では電荷の遮蔽長(いわゆるデバイ長)が1.4 nm程度と短く、また帯電量自体も小さいことから、静電的な力の寄与が非常に小さいためであると考えている。

図 3a に、SAM 1 で修飾した探針及び試料を用いてフォースカーブ測定を行った結果を示す。別に行った電気化学測定の結果から、下段は Fc 骨格が全て 0 価、上段は全て +1 価であることが分かっている[6]。0 価状態では疎水性相互作用により試料-探針間に大きな付着力(~4 nN)が働くが、Fc 骨格が電荷を持つと劇的に減少した。この付着力変化は電位操作に対して可逆であった。

図 3b は、探針及び試料の価数を変えて得られた付着力のヒストグラムである。探針側と試料側の価数が異なる場合には、同じもの同士の中間の付着力を示すことが分かる。(Fc/Fc⁺)と(Fc⁺/Fc)で付着力が異なるのは、探針と試料で金表面のモルフォロジーや膜質などが異なるためと考えている。測定後に、タッピングモード AFM によるイメージングを行い再び一連のフォースカーブ測定を行うと、ほぼ同じヒストグラムが再現されることから、測定による探針のダメージ等はほとんど無いことが分かった。Fc 修飾 SAM は、酸化されて正味の電荷を持つと親水的になることが実験的に分かっており[7]、本研究で行った付着力測定では、疎水的な力の増減を検出していると考えられる。

Fc⁺同士のアプローチカーブでは、予想と異なり正味の反発力が観測されなかった(図 4a、下段)。比較実験として、SAM 3 で修飾した探針及び試料を用いて同じ実験条件でフォースカーブ測定を行った(図 4a、上段)。SAM 3 はプロトン化して帯電しており、アプローチ、リトラクト時共に正味の反発力が検出された。SAM 1 の Fc 骨格と SAM 3 のアミノ基の表面密度は、ほぼ同様と見なせるため、反発力の有無は、SAM の正電荷と溶液中のアニオンとのイオン対形成の違いによると考えられる。図 4b と 4c にイオン対形成の単純なモデルを示した。本研究の結果から、Fc⁺末端 SAM のイオン対形成は表面に平行な図 4b、NH₃⁺末端 SAM では表面に垂直な図 4c に近い構造を取っていると思われる。このイオン対形成モデルは表面増強ラマン散乱測定の結果と矛盾しないことから[8]、本手法が溶液中でのイオン種の振る舞いを微視的に研究する有効なツールであることが示唆された。

【参考文献】 [1] A. Philippsen et al., *Biophys. J.*, **82**, 1667 (2002). [2] M. Fujihira et al., *Ultramicroscopy*, **82**, 181 (2000). [3] J. L. Hutter et al., *Rev. Sci. Instrum.*, **64**, 1868 (1993). [4] Y. Yokota et al., *J. Phys. Chem. B*, **109**, 23779 (2005). [5] T. Kakiuchi et al., *Langmuir*, **18**, 5231 (2002). [6] Y. Yokota et al., *J. Phys. Chem. C*, **111**, 7561 (2007). [7] R. Yamada et al., *Langmuir*, **21**, 4254 (2005). [8] K. Nishiyama et al., *Chem. Lett.*, **29**, 930 (2000).

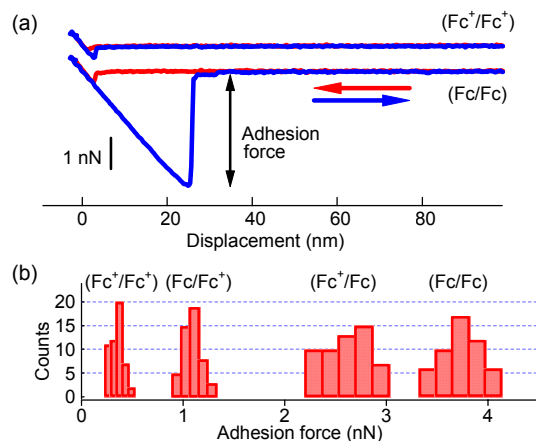


図3. (a) SAM 1 で修飾した探針及び試料を用いて 0.05 M HClO₄ 中で得られたフォースカーブ。探針と試料電位は -0.8 V (下段)、-0.4 V vs Au/AuO_x (上段)。(b) 探針及び試料の酸化状態を変えた時の付着力のヒストグラム。(Fc/Fc⁺)は、探針が 0 価、試料が +1 価の時のヒストグラム。

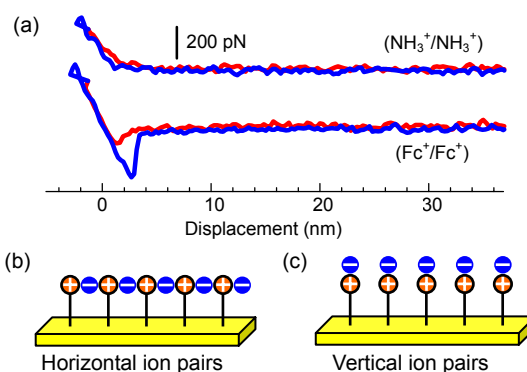


図4. (a) SAM 1 及び 3 で修飾した探針と試料を用いて 0.05 M HClO₄ 中で得られたフォースカーブ。探針と試料電位はいずれも -0.4 V vs Au/AuO_x。(b, c) 正電荷を持つ SAM とアニオンのイオン対形成の模式図。