マテリアル先端リサーチインフラ利用報告書
ARIM User's Report

【Release：2025.07.10】　【Update：2025.07.10】

課題データ / Project Data

課題番号 Project Issue Number	22AT5004
利用課題名 Title	溶液中高速AFM像の質に探針が与える影響の評価
利用した実施機関 Support Institute	産業技術総合研究所 / AIST
機関外・機関内の利用 External or Internal Use	外部利用/External Use
ARIM半導体基盤PF 関連課題 Related to ARIM-SETI	指定なし / No Designation
横断技術領域 Cross-Technology Area	計測・分析/Advanced Characterization 加工・デバイスプロセス/Nanofabrication
重要技術領域 Important Technology Area	次世代バイオマテリアル/Next-generation biomaterials 次世代ナノスケールマテリアル/Next-generation nanoscale materials
キーワード Keywords	高速AFM,原子間力顕微鏡,カンチレバー

利用者と利用形態 / User and Support Type

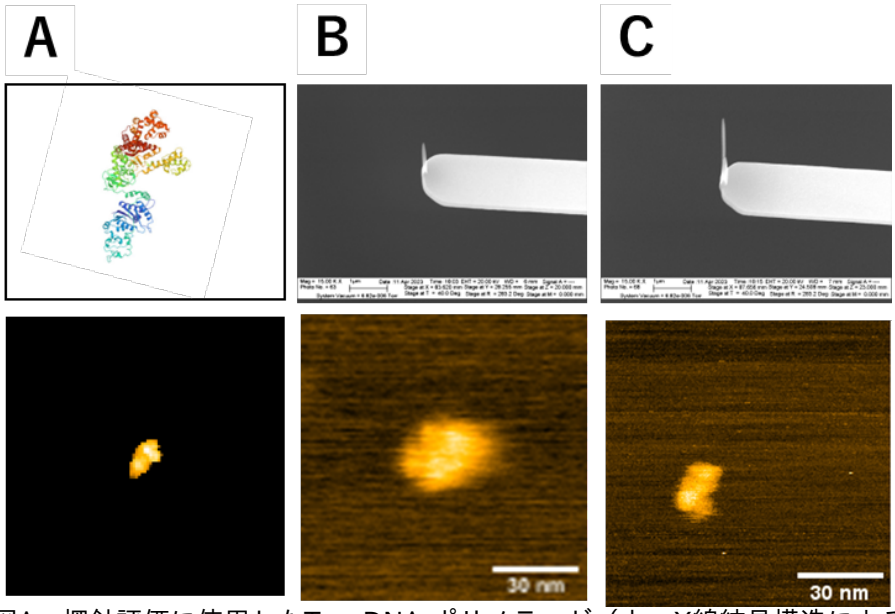
利用者名（課題申請者） User Name (Project Applicant)	伊藤 大直
所属名 Affiliation	株式会社生体分子計測研究所
共同利用者氏名 Names of Collaborators Excluding Supporters in the Hub and Spoke Institutes	
ARIM実施機関支援担当者 Names of Supporters in the Hub and Spoke Institutes	井藤浩志
利用形態 Support Type	機器利用/Equipment Utilization,技術補助/Technical Assistance

利用した主な設備 / Equipment Used in This Project

利用した主な設備 Equipment ID & Name	AT-504：リアル表面プローブ顕微鏡(RSPM)

報告書データ / Report

概要（目的・用途・実施内容） Abstract (Aim, Use Applications and Contents)	高速AFMは、従来型のAFMと同様に、振動させたカンチレバーの先端にある探針が試料表面を走査することにより像を取得する。カンチレバーと試料間に形成される空間にはバルク状態の水分子が存在しており、カンチレバーを振動させると水分子の粘性抵抗によってプローブや試料に対して好ましくない振動が発生する。これらの現象（スクイーズフィルム効果）は観察試料を低速で走査する従来型AFMであれば無視できる現象であったものの、観察試料を高速で走査する場合には、影響が顕在化すると考えられる。しかしながら、高速AFMは比較的新しい技術であり、スクイーズフィルム効果による像への影響はほとんど研究されてこなかった。そこで本研究では、長さの異なるカンチレバーを用いて、柔らかな構造を有するタンパク質の高速イメージングを行い、探針が高速AFM像に与える影響を評価した。
実験 Experimental	・測定試料 Ex Taq（タカラ株式会社）を10m M $MgCl_2$, 25 mM KCl, 10 mM HEPES水溶液を用いて原液から5×10^{-5}の濃度へ段階的に希釈した。へき開したマイカに希釈したEx Taq溶液を滴下した後5分間静置し、その後、表面を希釈に用いた水溶液で数回リンスしたものをAFM観察に使用した。また、構造比較のための疑似AFM像はTaq DNA ポリメラーゼ1（PDBID: 1TAQ）を用いてBio AFM viewer（http://www.bioafmviewer.com/）によってシミュレーションを実施した。・カンチレバーUSC-F1.2-k0.15-TL（Nanoworld）にEBD法を用いて探針を形成したものを使用した。探針は約1umと約2.5umの2種類を作製しそれぞれをイメージングに使用した。・AFM リアル表面プローブ顕微鏡（RIBM）を用いて溶液中イメージングを行った。走査速度は1 fps, 走査範囲は100 nm ×100 nmに設定した。
結果と考察 Results and Discussion	図Aは、Taq DNA ポリメラーゼの結晶構造を用いて、探針曲率半径を1nm、コーン角1°という理想の条件でミュレーションした疑似AFM像を示している。Taq DNA ポリメラーゼは1本のアミノ酸がフォールディングし、左手（親指、4本指、掌）に例えられる特徴的な立体構造を示す。シミュレーションした疑似AFM像ではそれぞれのドメインが異なる高さで計測されうることが示された。図B、図Cは探針長さの異なるカンチレバーでイメージングしたTaq DNAポリメラーゼのAFM像を示している。探針長さ1umのカンチレバーでイメージングしたTaq DNAポリメラーゼは高さにおける各ドメインの差異が殆ど計測されなかった（図B）。一方で、探針長さ2.5umのカンチレバーでイメージングしたTaq DNAポリメラーゼは各ドメインが明瞭に解像され、シミュレーションした疑似AFM像に近い形状が確認された（図C）。このように、探針の長さが異なるカンチレバーにより、高速AFM像の質に変化が生じる結果となった。しかしながら、この差異が探針の長さに起因するものであるかどうかを議論するには十分ではない。AFM像の質は探針曲率半径に依存する部分が多いところ、本研究で使用したEBD探針について、探針曲率半径の大きさを揃えるまでには至っていない。そのため、今後の課題として、探針長さが高速AFM像に与える質を評価するためには、長さだけでなく曲率半径もコントロールする探針形成方法の確立が必要である。

図・表・数式 1 Figures, Tables and Equations 1	 図A：探針評価に使用したTaq DNA ポリメラーゼ（上：X線結晶構造による立体構造 下：シミュレーションした疑似AFM像）図B：探針長さ1 umカンチレバーの電子顕微鏡像（上）とAFM像（下）図C：探針長さ2.5umカンチレバーの電子顕微鏡像（上）とAFM像（下）
その他・特記事項（参考文献・謝辞等） Remarks(References and Acknowledgements)	

成果発表・成果利用 / Publication and Patents

DOI（論文・プロシーディング） DOI (Publication and Proceedings)	
口頭発表、ポスター発表および、その他の論文 Oral Presentations etc.	
特許出願件数 Number of Patent Applications	0件
特許登録件数 Number of Registered Patents	0件