

Oral presentation | 6 Thin Films and Surfaces : 6.6 Probe Microscopy

📅 Tue. Sep 17, 2024 9:00 AM - 11:15 AM JST | Tue. Sep 17, 2024 12:00 AM - 2:15 AM UTC 🏛️ B4
(Exhibition Hall B)

[17a-B4-1~9] 6.6 Probe Microscopy

Yoichi Otsuka(Osaka Univ.), Keisuke Miyazawa(Kanazawa Univ.)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

9:00 AM - 9:15 AM JST | 12:00 AM - 12:15 AM UTC

[17a-B4-1]

Two-body interaction in molten metal analyzed by atomic force microscopy

○(M2)Yuto Nishiwaki¹, Toru Utsunomiya¹, Ken-ichi Amano², Takashi Ichii¹ (1.Kyoto Univ., 2.Meijo Univ.)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

9:15 AM - 9:30 AM JST | 12:15 AM - 12:30 AM UTC

[17a-B4-2]

Mechanism of triboelectric charging in fluorine-containing monolayer

○Masahiro Nakayama¹, Naoya Mishima¹, Tomoki Misaka¹, Takashi Yamada¹, Hiroshi Ohoyama¹, Takuya Matsumoto¹ (1.Osaka Univ.)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

9:30 AM - 9:45 AM JST | 12:30 AM - 12:45 AM UTC

[17a-B4-3]

Development of High-Precision Fluid Slip Measurement Using AFM

○Haruya Ishida¹, Hideaki Teshima¹, Qin-Yi Li¹, Koji Takahashi¹ (1.Kyushu Univ.)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

9:45 AM - 10:00 AM JST | 12:45 AM - 1:00 AM UTC

[17a-B4-4]

Analysis of Degradation Mechanism in All-Solid-State Battery Using Scanning Spreading Resistance Microscopy

○Hirofumi Gamo¹, Hikaru Sano¹, Tetsu Kiyobayashi¹, Zyun Siroma¹, Yasushi Maeda¹ (1.AIST)

◆ English Presentation

10:00 AM - 10:15 AM JST | 1:00 AM - 1:15 AM UTC

[17a-B4-5]

Investigation of solvation structures of Lithium-ion battery materials on clinocllore using frequency modulation atomic force microscopy

○(D)Yilin Wang¹, Kei Kobayashi¹ (1.Kyoto Univ..)

10:15 AM - 10:30 AM JST | 1:15 AM - 1:30 AM UTC

[17a-B4-6]

Development of ultra-small cantilever to realize ultra-high-speed AFM

○Karen Kamoshita¹, Umeda Kenichi², Koderu Noriyuki² (1.Grad. Sch. Math. & Phys., Kanazawa Univ., 2.WPI-NanoLSI, Kanazawa Univ.)

10:30 AM - 10:45 AM JST | 1:30 AM - 1:45 AM UTC

[17a-B4-7]

Assessment of Mechanical Stimulation Response in Plant Cells using Atomic Force

○Yuki Yamasaki¹, Kazunori Okano¹, Yoichiroh Hosokawa^{1,2} (1.Div. Mat. Sci.,NAIST, 2.MLC, NAIST)

10:45 AM - 11:00 AM JST | 1:45 AM - 2:00 AM UTC

[17a-B4-8]

Visualization of Biofilms Using Scanning Ion Conduction Microscopy

Syuntai Hattori¹, Yuhei Miwa², Nobumitsu Hirai², Kenta Nakazawa¹, ○Futoshi Iwata¹
(1.Shizuoka Univ., 2.National Inst. of Tech, Suzuka College)

11:00 AM - 11:15 AM JST | 2:00 AM - 2:15 AM UTC

[17a-B4-9]

Mass Spectrometry Imaging of Human Heart Disease Tissue by Tapping-Mode Scanning
Probe Electrospray Ionization

○Yoichi Otsuka^{1,2}, Shuichi Shimma³, Hidetaka Kioka⁴, Tomohito Ohtani⁴, Yasushi Sakata⁴
(1.Sci., Osaka Univ., 2.FRC, Osaka Univ., 3.Eng., Osaka Univ., 4.Med., Osaka Univ.)

溶融金属中二体間相互作用力の AFM 分析

Two-body interaction in molten metal analyzed by atomic force microscopy

京大院工¹, 名城大農² ○(M2) 西脇 悠人¹, 宇都宮 徹¹, 天野 健一², 一井 崇¹

Kyoto Univ¹, Meijo Univ², °Yuto Nishiwaki¹, Toru Utsunomiya¹, Ken-ichi Amano², Takashi Ichii¹

E-mail: nishiwaki.yuto.63c@st.kyoto-u.ac.jp

溶融金属中における微粒子の分散性は、合金の分散強化や不純物の凝集を抑制し、物性を向上させるために重要である。分散系の安定性は分散粒子間の二体間相互作用力に支配される。すなわち、微粒子間に斥力が働くことで微粒子は分散し、引力が働くことで凝集する。したがって、その計測手法の確立と理論構築が必要である。液体中の二体間相互作用理論として、DLVO (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek) 理論があるが、これは、電解質溶液中における二体間相互作用力を van der Waals 力と粒子の表面電荷による静電気力の和として記述する。したがって、電子伝導体である溶融金属中での二体間相互作用力には適用できない。実験に基づく新たな理論の構築が必要である。

液中での二体間相互作用力の測定手法として、原子間力顕微鏡 (AFM) による液体中探針-基板間相互作用力の計測がある。われわれのグループは、W 探針を用いた溶融 Ga 中での AFM 分析により、マイカ基板上では強い引力が働くが、Au 基板 (Au-Ga 合金) の場合は引力が弱まることを実験的に示した (Fig. 1(a, b)). さらに、その違いの原因として、探針と基板の疎溶媒性 (W, マイカ) ・親溶媒性 (Au) に基づく理論的説明を提案した [1]。この理論は親溶媒性探針-基板間には斥力が働くことを予測しているが、これまでそれは実験的に検証されてこなかった。そこで本発表では、親溶媒性探針を用いた溶融金属中での相互作用計測について報告する。

貴金属などの親溶媒性探針は、貴金属素材自体が柔らかいことに加え、溶媒 (溶融金属) との合金化によって測定中に探針先端形状が変化する。今回、われわれは Pt / GaInSn の合金化が Au / Ga の場合より遅いことを見出し、純 Pt よりも剛性の高い PtIr 合金を探針として用いることで、溶融 GaInSn 中での親溶媒性探針による AFM 分析を行うことに成功した。この結果、マイカ基板を用いた場合 (Fig. 1(c)) では、W 探針の場合 (Fig. 1(a)) よりも引力が抑制された。さらに、Au 基板を用いた場合では、長距離にわたって斥力が働いた (Fig. 1(d)). すなわち、溶融金属中での斥力相互作用の実験的検出に初めて成功し、さらにわれわれの提案する理論の妥当性も示された。

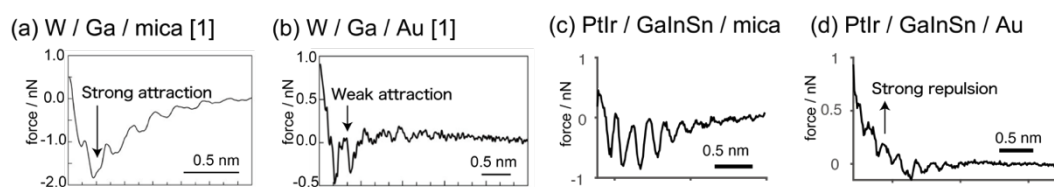


Figure 1 (a, b) Force-distance curves obtained in Ga melt with W probe on mica (a) / Au (b) substrate [1].

(c, d) Force-distance curves obtained in GaInSn melt with PtIr probe on mica (a) / Au (b) substrate.

[1] K. Amano, K. Tozawa, M. Tomita, R. Takagi, R. Iwayasu, H. Nakano, M. Murata, Y. Abe, T. Utsunomiya, H. Sugimura, T. Ichii, *RSC Adv.*

13, 30615 (2023)

フッ素含有単分子膜における摩擦帯電メカニズム

Mechanism of triboelectric charging in fluorine-containing monolayer

阪大院理¹, [○]中山 優弘¹, 三島 直也¹, 三坂 朝基¹, 山田 剛司¹, 大山 浩¹, 松本 卓也¹

Osaka Univ.¹, [○]Masahiro Nakayama¹, Naoya Mishima¹, Tomoki Misaka¹, Takashi Yamada¹,

Hiroshi Ohoyama¹, Takuya Matsumoto¹,

E-mail: nakayamam21@chem.sci.osaka-u.ac.jp

摩擦帯電は、もっとも古くから知られる帯電現象の一つである。摩擦帯電のメカニズムはいくつか提案されているが、いまだ確定されていない。最近では、フレキシエレクトリック効果が摩擦帯電の起源であるという説が提案されている [1]。フレキシエレクトリック効果とは、誘電体材料がひずみ勾配によって自発的に電気分極を示し、高い表面電位が発現する特性のことである。しかし、これらの報告の多くはシミュレーションに基づいており [1, 2]、実験的な研究は少数にとどまっている。さらに、ほとんどの研究はバルク材料を対象としており、単層材料に関する研究はほとんど行われていない。そこで本研究では、膜表面に電荷をもつフッ素含有自己組織化単分子に注目し、振幅フィードバック周波数変調原子間力顕微鏡(AM-FM AFM)[3,4]を用いて中真空・常温条件下での摩擦帯電現象を周波数シフトで検出した。参照実験として摩擦帯電が生じにくいヘキサノチオール(6-HT)膜についても同様の測定を行った。

試料作製において、マイカ表面上に真空蒸着した Au(111)基板を作製し、UV-オゾン処理をした。次に 1H,1H,2H,2H-Perfluorodecanethiol (F-DT) (Fig. 1a)のエタノール溶液に 2 時間浸漬させ、SAM 膜を作製した。6-HT 膜についても同様に作成した。

AM-FM AFM を用いて一定の電圧を印加した場合、F-DT の周波数シフト測定においてのみ、間欠的にスパイクが観測された(Fig. 1b)。また、電圧の有無にかかわらずスパイクが発現することが分かった。一方で、スパイク現象はカンチレバーのローディングフォースに強く依存しており、力を大きくしていくとスパイク頻度が増加することが分かった。さらに、スパイク発生頻度のローディングフォース依存性は、フレキシエレクトリック帯電モデルの予測と良い一致を示した[1,2]。これらの結果は、周波数シフトのスパイク現象がナノスケールのフレキシエレクトリック効果によって誘発されたチップと F-DT 単分子膜間の電子移動による瞬時の表面電位変化に起因することを示唆している(Fig. 2)。今回の結果は、単一単分子層上でのナノスケールにおけるフレキシエレクトリック帯電の観察の初めての例である。

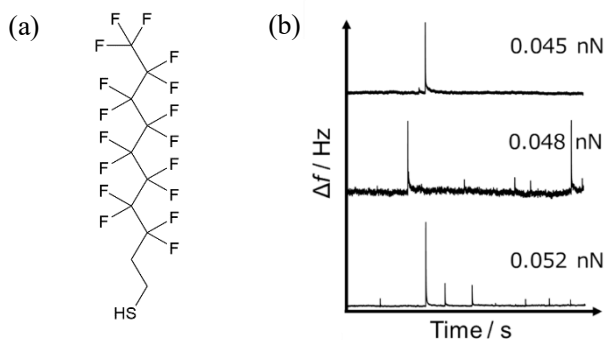


Fig.1 (a) 1H,1H,2H,2H-Perfluorodecanethiol (F-DT)
(b) Loading force dependence of spike phenomenon

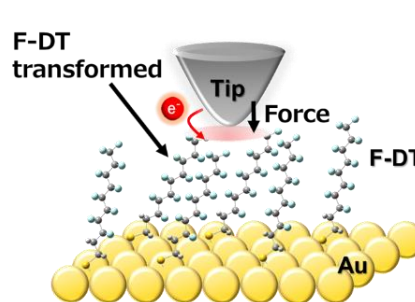


Fig.2 Mechanism of electron transfer associated with triboelectric charging

- [1] C. A. Mizzi, *et al.*, *Phys. Rev. Lett.*, **123**, 116103 (2019). [2] H. Qiao *et al.*, *Adv. Sci.* **8**, 2101793 (2021).
[3] T. Misaka *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **59**, 090906 (2020). [4] M. Nakayama *et al.*, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **15**, 47704 (2023).

AFM を用いた高精度な流体のすべり計測手法の開発

Development of High-Precision Fluid Slip Measurement Using AFM

九州大 °石田 遥也, 手嶋 秀彰, 李 秦宜, 高橋 厚史

Kyushu Univ., °Haruya Ishida, Hideaki Teshima, Qin-Yi Li, Koji Takahashi

E-mail:hteshima05@aero.kyushu-u.ac.jp

相変化伝熱デバイスや lab on a chip といったマイクロ、ナノスケールの流路中の流れを利用したデバイスの性能向上が求められている。そのような微細スケールでは比表面積が大きいいため、摩擦抵抗の低減、つまり「流体がよくすべる表面」の実現が喫緊の課題である。20 世紀後半における計測技術の発展により流体の「すべり」の存在が実験的に確かめられた一方、固液界面において流体がすべる原理はほとんど解明されていない。原因の 1 つにはすべり長さ計測手法の信頼性の低さによる実験的知見の不足が挙げられる。

本研究では、原子間力顕微鏡 (AFM) を用いたすべり長さ計測(Fig.1)における解析方法の改良を行った。これまで主に使用されてきた 2 種類の手法「切片法」「漸化式法」を比較するため、実際に SiO_2 、HOPG、マイカ表面で計測を行って異なる手法での解析結果を比較した。その結果、既存の手法では事前に校正するばね定数と流体の粘度に大きな系統誤差が含まれ、それらがすべり長さの計算結果に大きな影響をもたらすことが分かった。そこで、これらの問題を解決する新しい手法「二変数法」を開発した。この方法では、事前に校正が必要なパラメータを 1 つのフィッティングパラメータにまとめ、そのパラメータとすべり長さを変数としてフィッティングを行う。これにより、より高精度で信頼性の高いすべり長さを導き出すことが可能になった(Fig.2)。

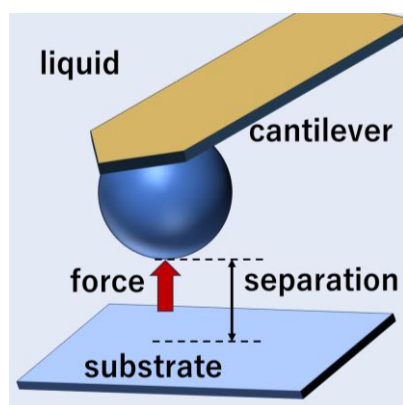


Fig.1 Schematic diagram of slip length measurement using AFM. Slip length is measured via the viscous drag generated by the flow between the probe and the substrate.

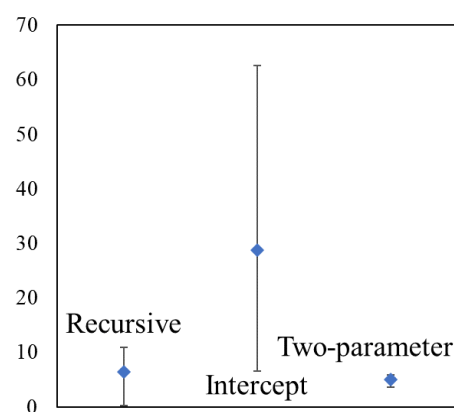


Fig.2 Slip length of water on SiO_2 surface calculated using existing methods "recursive method" and "intercept method" as well as the developed "two-parameter method."

走査型広がり抵抗顕微鏡による全固体電池の劣化機構解析

Analysis of Degradation Mechanism in All-Solid-State Battery Using Scanning Spreading Resistance Microscopy

(産業技術総合研究所) ○蒲生浩忠, 佐野光, 清林哲, 城間純, 前田 奏

Hirota Gamo, Hikaru Sano, Tetsu Kiyobayashi, Zyun Siroma, Yasushi Maeda
National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 1-8-31 Midorigaoka, Ikeda, Osaka 563-8577, Japan
E-mail: h.gamou@aist.go.jp

1. 緒言

従来のリチウムイオン電池の有機電解液を固体電解質に置き換えた全固体リチウムイオン電池は、高い安全性および出力特性を可能とする次世代蓄電池として期待されている。しかし、全固体電池の性能は、正極活物質と固体電解質(SE)の界面劣化によって制限されている。¹ 高いエネルギー密度およびサイクル性能の要求を満たすには、充放電に伴う正極合材中の劣化機構を理解することが重要である。我々はこれまでに走査型広がり抵抗顕微鏡(SSRM)を用いることで全固体電池用正極合材の微視的な電気伝導メカニズムを解析し、正極活物質粒子間の電気的な接触抵抗が与える影響を明らかにしてきた。² 本研究では、劣化させた全固体リチウムイオン電池の正極合材について SSRM を用いて局所抵抗を評価し、充電に伴う正極合材内の劣化機構を解析した。

2. 実験方法

LiNi_{0.5}Co_{0.2}Mn_{0.3}O₂(NCM)に LiNbO₃ を 2 - 10 nm 程度均一に被覆したものとアルジロダイト型 SE を乳鉢で混合することで、70NCM-30SE 正極合材(重量比)を作製した。得られた正極合材を用いて、Li-In | SE | 70NCM-30SE 全固体ハーフセル(正極合材量 12.7 mg cm⁻²)を作製した。作製したセルに対して、電流密度 0.064 mA cm⁻²、電位範囲 3.0 - 4.25 V および 3.0 - 4.55 V (vs. Li⁺/Li)で充放電試験を行った。SSRM 測定用試料として、別途用意したセルを 4.25 V および 4.55 V まで充電し、その電位で温度 60 °C で 120 h 保持し、平坦な断面を得るために断面イオンミリングを行った。SSRM 測定は、Ar 雰囲気下で、試料バイアス電圧 2 V、探針荷重 600 nN で行った。

3. 結果と考察

充放電サイクル試験における 50 サイクル後の容量維持率は、上限電圧 4.25 V で充放電したセルでは 95%、上限電圧 4.55 V で充放電したセルでは 68%であった。より高い電位まで充電した電池において、顕著なサイクル劣化が観察された。この劣化要因について検討するために別途用意した試料について SSRM 測定を行った。Figure 1 に 4.25 V で保持した後の 70NCM-30SE の局所抵抗マッピング像を示す。全ての NCM 粒子が同程度の局所抵抗を示し、集電体まで電気的に接続されていることが示唆された。一方、4.55 V で保持した後の正極合材では、一部の NCM 粒子が、150 GΩ以上の非常に高い抵抗を示し、電気的に孤立していることを示唆した。この孤立粒子の存在は充電に伴う NCM の体積収縮に由来する可能性もある。上限電圧 4.55 V で充放電した電池で見られた容量劣化は、NCM の電気的な接触抵抗の増大が影響している可能性が示唆された。

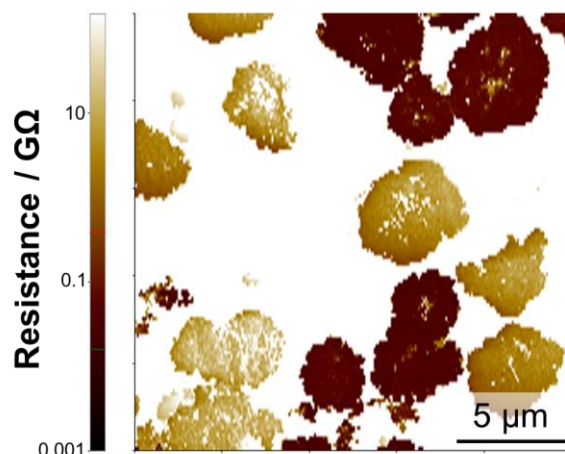


Figure 1. Local resistance mapping image of 70NCM-30SE after floating at 4.25 V vs. Li⁺/Li at 60 °C for 120 h.

謝辞

本研究は NEDO 委託事業「次世代全固体蓄電池材料の評価・基盤技術開発 (SOLiD-Next, JPNP23005)」により実施された。

参考文献

- 1) T.T. Zuo et al., *Nat. Commun.*, 12, 6669 (2021).
- 2) H. Gamo et al., *J. Mater. Chem. A*, in press. DOI: 10.1039/D4TA01634C

Investigation of solvation structures of Lithium-ion battery materials on clinochlore using frequency modulation atomic force microscopy

Kyoto Univ.¹, °Yilin Wang¹, Kei Kobayashi¹

E-mail: wang.yilin.24f@st.kyoto-u.ac.jp

At the electrode/electrolyte interface of lithium-ion batteries (LIBs), various phenomena occur, such as lithium-ion insertion/extraction, solvation/desolvation, and double electric layer formation. These processes are crucial to the functionality and performance of LIBs. However, measuring the microstructure and reaction mechanisms at this interface is challenging. Although computational methods like density-functional theory (DFT)-based simulations have been increasingly used in recent years [1], experimental techniques for direct analysis of the interfacial structure formed by electrolytes are still rare. Frequency modulation atomic force microscopy (FM-AFM) detects shifts in the resonance frequency of a cantilever beam, providing high spatial resolution and sensitivity in detecting force gradients. This allows for accurate measurement of solvated structures formed near solid-liquid interfaces with sub-nanometer precision [2,3].

In this study, we investigated the solvation structure of lithium bis(trifluoromethanesulfonyl)imide (Li-TFSI) in propylene carbonate (PC) on clinochlore, which exhibits heterogeneously charged terraces, to understand the solvation structures at the interface and their dependence on the surface charges. Figure 1 shows the AFM topographic images of clinochlore in a solution of Li-TFSI in PC. Two different structures were observed on the clinochlore surface: a positively charged brucite-like layer on a negatively charged talc-like layer. Figure 2 presents a two-dimensional frequency shift map of the area marked by the green dashed line in Fig. 1(b). The averaged frequency shift curve for the talc-like more peaks compared to the brucite-like area. This difference may be attributed to the formation of different molecular assemblies by TFSI anions in the two regions, resulting in different solvation behaviors at the interface.

References

1. H. G. Steinrück, *et al.*, *Energy & Environ. Sci.* **11**, 594 (2018).
2. K. Umeda, *et al.*, *Nature Commun.* **8**, 2111 (2017).
3. Y. Yamagishi, *et al.*, *Nano Lett.* **22**, 9907 (2022).

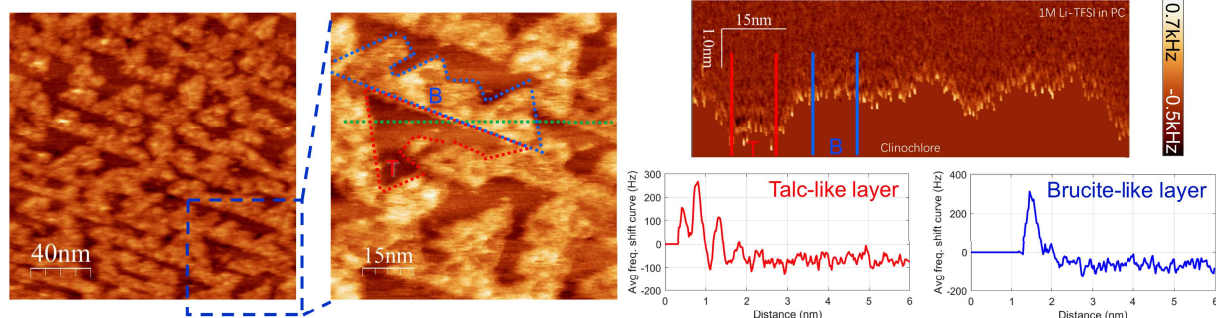


Fig. 1. (a) Large and (b) Small-area topographic images of clinochlore observed in 1M Li-TFSI in PC. (B) and (T) represent brucite-like and talc-like layers, respectively.

Fig. 2. Frequency shift map of clinochlore in 1M Li-TFSI in PC. Averaged frequency shift curves in the talc-like layer and brucite-like layers are also shown.

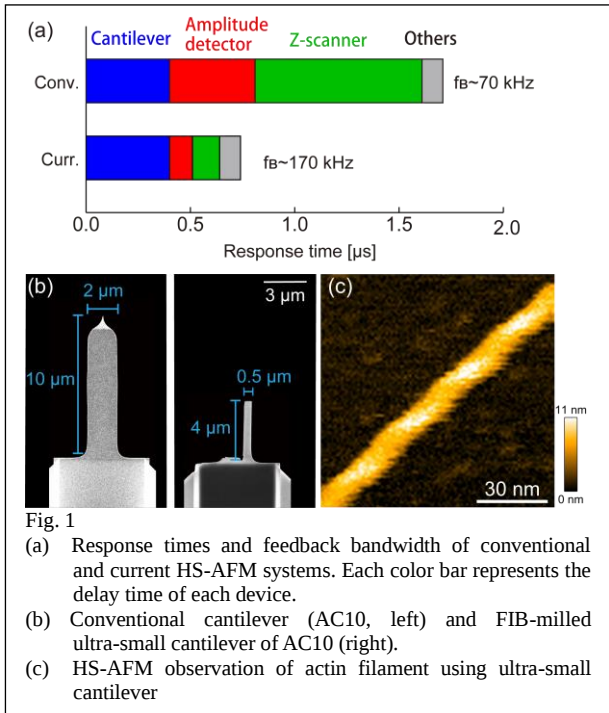
超高速 AFM の実現に向けた超微小カンチレバーの開発

Development of ultra-small cantilever to realize ultra-high-speed AFM

○(M2) 鴨下 香恋¹, 梅田 健一², 古寺 哲幸²Grad. Sch. Math. & Phys., Kanazawa Univ.¹, WPI-NanoLSI, Kanazawa Univ.²

E-mail: karen130131@stu.kanazawa-u.ac.jp

高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）はこれまで多くの生命現象を解明してきた。しかし、現在の高速 AFM では可視化できない生命現象が数多く存在する。これは、高速 AFM の時間分解能が不十分であることが主な原因である[1]。この問題を解決するためには、律速要因である Z スキャナー、振幅計測器、カンチレバーの速度を上げる必要がある。これまで、Z スキャナーと振幅計測器の高速化が行われてきた[2] [3]。そこで、本研究では液中で高い共振周波数をもつ超微小カンチレバーの開発を行っている。従来、長さ 10 μm 、幅 2 μm で共振周波数が 500 kHz であったカンチレバーを、集束イオンビーム（FIB）を用いて加工することで、長さ 4 μm 、幅 0.5 μm で共振周波数が 3 MHz の超微小カンチレバーを製作することに成功した。また、カンチレバーのたわみを高精度に検出するための光学系の最適化に取り組んでいる。レーザーの非点収差と拡がり角、コリメーションレンズと対物レンズの開口数を適切に選択することで、より感度の高い光学系を使用した。さらに、レーザー光の戻り光ノイズを消すための工夫も取り入れ、安定的に超微小カンチレバーの変位を検出できるようになった。本発表では、改良した光学系を用いた超微小カンチレバーでの生体分子のイメージングについて議論する。



Reference

1. Umeda, K., S.J. McArthur, and N. Kodera, *Spatiotemporal resolution in high-speed atomic force microscopy for studying biological macromolecules in action*. Microscopy (Oxf), 2023.
2. Shimizu, M., et al., *An ultrafast piezoelectric Z-scanner with a resonance frequency above 1.1 MHz for high-speed atomic force microscopy*. Review of Scientific Instruments, 2022. **93**(1).
3. Umeda, K., et al., *Architecture of zero-latency ultrafast amplitude detector for high-speed atomic force microscopy*. Applied Physics Letters, 2021. **119**(18): p. 181602.

原子間力顕微鏡による植物細胞の外部応力による応答評価

Assessment of Mechanical Stimulation Response in Plant Cells using Atomic Force Microscopy

奈良先端大物質¹, 奈良先端大 MLC² ○(D)山崎 勇輝¹, 岡野 和宣¹, 細川 陽一郎^{1,2}

Div. Mat. Sci., NAIST.¹, MLC, NAIST² ○Yuki Yamasaki¹, Kazunori Okano¹, Yoichiroh Hosokawa^{1,2}

E-mail: Yamasaki.yuki.yr3@ms.naist.jp

育った場所から動かずに生きる植物が、外的環境に如何に順応しているかを知ることは、植物生理学における重要な課題である。我々はこれまでに、AFM で得た植物細胞の表面形状と荷重変位曲線（フォースカーブ）により、植物細胞の植物壁の弾性率と細胞内圧（膨圧）を解析できる手法を開発してきており、植物細胞の定常状態の力学特性が膨圧に大きく依存することを示している。しかし、膨圧は数秒単位で調整されるため、植物細胞の外的環境の適応能力を知る上では、過渡的な力学特性も併せて明らかにする必要がある。我々はまず、膨圧の外力に対する応答に注目した。本研究では、AFM 探針により植物細胞の定点に外力加え続け、その外力に対する表面の歪の時間変化を測定することで、植物細胞の外力による応答を明らかにしようとした。

単層剥離したタマネギ表皮組織をガラスボトムディッシュ上にシリコンゴムで固定し、生理条件が保たれる純水中、もしくは浸透圧調整により膨圧が完全に失われる 0.8 M マンニトール水溶液で AFM 計測を行なった。AFM は、細胞への荷重を一定するようにカンチレバーのたわみ量を維持する測定モードで使用した。また参照試料として AFM 探針の荷重により歪まないと仮定できるハウケイ酸スライドガラスの測定も行なった。

Fig.1A に植物細胞への一定加重による細胞壁の歪の時間変化を示す。生理条件にあるタマネギ試料（赤線）で細胞の粘弾性によると考えられる変形が確認されたが、3 秒以降に粘弾性では説明できない正方向の変位が確認された。スライドガラス（黒線）にも同様の歪がみられるが、タマネギ細胞の変位に比して遥かに小さく、カンチレバーのクリープ変位は無視できるほど小さいといえる。一方で、膨圧が失われた生

理条件にない細胞（青線）では単純なクリープ変型が確認された。Fig.1B に各測定における変化量を比較した結果を示す。生理条件にない細胞（赤色）は外力により押しつぶされるだけであるが、生理条件にある細胞（青線）に外力を加えた時間に比例して膨張する傾向が見られた。これらの結果は、膨圧をもった生理条件にある生細胞に外力を加えると、細胞が外力に過剰に抵抗し、膨圧が上昇して細胞が膨張することを示唆する。

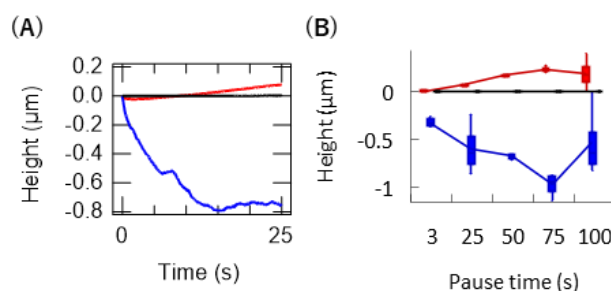


Fig. 1. AFM-based pseudo creep test to assess the mechanical properties of onion cells under different conditions. The data obtained from onion cells in water and 0.8 M mannitol, and from the glass slide in air are depicted in red, blue and black respectively. (A) depicts the height of the cantilever when paused with a constant pressing force, with the negative direction indicating the sample indentation direction. (B) displays the amount of creep measured at different pause times. The number of samples for each box plot is N = 4.

走査型イオン伝導顕微鏡を用いたバイオフィルムの 3D 可視化

Visualization of Biofilms Using Scanning Ion Conductance Microscopy

静大工¹, 鈴鹿高専², 静大電研³, 服部 俊大¹ 三輪有平², 平井信充², 中澤謙太, ○岩田 太^{1, 3}

E-mail: iwata.futoshi@ipc.shizuoka.ac.jp

バイオフィルムとは、物質表面に付着した細菌などの微生物が集団化し、細胞外高分子物質 (Extracellular polymeric substances : EPS)等から形成した膜状の三次元構造材料のことである¹⁾。バイオフィルム中の微生物は、抗生物質や宿主免疫などの外部環境に対する耐性があり、金属表面での微生物による腐食、医療における感染危険性、食品表面の腐敗を引き起こす可能性がある。一方、バイオフィルム形成は悪影響を及ぼすだけでなく、発酵食品や発酵飲料、排水処理、海洋の石油汚染分解、土壌のバイオレメディエーションなど、バイオフィルムを積極的に利用することで、恩恵を受けられる側面もある。よって、バイオフィルムの形成を制御することは非常に有用であり、その構造の観察や物性の評価および形成メカニズムの解明などが求められている。現在、共焦点レーザー顕微鏡 (Confocal Laser Scanning Microscopy : CLSM)を用いたバイオフィルムの 3D イメージングが実現されている²⁾が、バイオフィルムへの染色の必要性や光学顕微鏡の回折限界による分解能の制限が課題である。ナノスケールでの生体試料の観察手法として、走査型プローブ顕微鏡の一種である走査型イオン伝導顕微鏡 (Scanning Ion Conductance Microscope : SICM)³⁾が開発されている。SICM は、培養液などの電解液中でイオン電流を信号として検出することで、非接触・低侵襲で試料表面の観察が可能である。よって SICM は生きた状態での生体試料の観察に適しており⁴⁾、バイオフィルムにおいても SICM のナノスケール計測が期待できる。しかしながら、表面の境界が曖昧なバイオフィルムでは、試料表面を検出して画像化する SICM の計測原理上、イメージングが困難であり、計測手法の改良が望まれる。

本研究では、SICM による試料表面近傍の 3D イメージング法を開発し、表面の境界が曖昧なバイオフィルムの可視化を目的とした。SICM のホッピングモードにおいてプローブをバイオフィルムにアプローチさせる際のイオン電流の微弱な変化を高感度に検出し、記録および表示することで、バイオフィルムのイメージングを可視化した結果について報告する。

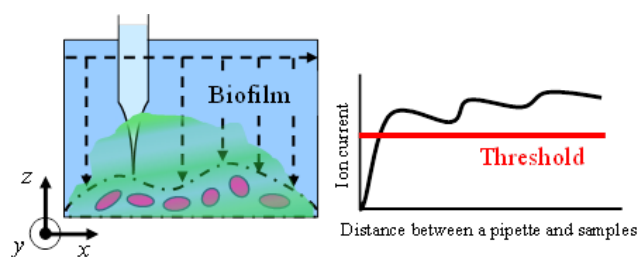


Fig. 2 Current imaging using SICM
(a) Approaching using a nanopipette,
(b) Approach curve measured on biofilms

1) N. Tanaka, *et al.*, *Sci. Rep.* **9** (2019) 8070

2) Y. Liu, *et al.*, *ACS Nano* **10** (2016) 4779-4789

3) P. K. Hansma, B. Drake, O. Marti, S. A. C. Gould, and C. B. Prater, *Science* **243** (1989) 641-643

4) T. Ushiki, M. Nakajima, M. Choi, S. J. Cho and F. Iwata, *Micron* **43** (2012) 1390-1398

タッピングモード走査型プローブエレクトロスプレーイオン化法を用いたヒト心臓疾患組織の質量分析イメージング

Mass Spectrometry Imaging of Human Heart Disease Tissue by Tapping-Mode Scanning Probe Electrospray Ionization

阪大院理¹, 阪大 FRC², 阪大院工³, 阪大院医⁴ °大塚 洋一^{1,2}, 新聞秀一³, 木岡秀隆⁴,
大谷朋仁⁴, 坂田泰史⁴

Osaka Univ., °Yoichi Otsuka, Shuichi Shimma, Hidetaka Kioka, Tomohito Ohtani, Yasushi Sakata

E-mail: otsuka@phys.sci.osaka-u.ac.jp

生物の構造的・機能的な最小単位である細胞は、恒常性を維持するための多種多様な分子を含む。細胞膜の構成要素でもある脂質は、生命活動において重要な役割を果たす。多様な分子構造を有する脂質・代謝物の、生体組織中の分布とその機能は未解明な点が多い。これらの分布情報を計測し、疾患状態を表現する特徴量を抽出し、生化学的・医学的意義を理解するアプローチは、細胞恒常性の変容、破綻機構を追求するうえで重要となる。

質量分析イメージング (MSI, mass spectrometry imaging) は、一度の計測で複数の分子の試料内分布を可視化でき、疾患組織の細胞変容を可視化する場合に有効である。我々はこれまでに、極微量の溶媒を用いて、生体組織の局所領域を抽出・イオン化する、タッピングモード走査型プローブエレクトロスプレーイオン化法 (t-SPESI, tapping-mode scanning probe electrospray ionization) の要素技術の開発と生体組織の MSI を報告した。t-SPESI は、生体組織の前処理を施すことなく、MSI を実施できる。

本研究では、t-SPESI 計測システムを用いて、難病疾患であるヒト拡張型心筋症 (DCM, dilated cardiomyopathy) の患者から提供された心臓組織の MSI を実施した。DCM は、心臓左室の収縮低下と左室内腔の拡張を特徴とする難病であり、本邦の心臓移植の原疾患として最も多い。一方で、DCM の診断は除外診断であり、分子病態の詳細は明らかではない。心筋細胞の健康状態を、化学情報に基づいて詳細に判別することができれば、心筋症の病理診断や治療法の研究開発への新たな情報の提供に繋がることが期待される。

t-SPESI による MSI では、クライオミクロトームで心臓組織の切片 (厚さ 10 μ m) を作製し、スライドガラスに乗せ、そのまま使用した (大阪大学研究倫理委員会承認番号 T10081)。抽出とイオン化のための溶媒として DMF/MeOH 混合溶媒 (1/1 v/v) を用いた。四重極・飛行時間型質量分析装置 (LCMS-9030、島津製作所) に接続された、t-SPESI 計測システム¹⁾を用いて、正イオンモード、および負イオンモードの計測を実施した。MSI で得られるイオン像のピクセル間距離が 25 μ m となるように、プローブの走査速度と、質量分析装置のデータ積算時間を設定した。イメージングデータの解析では、IMAGEREVEAL (島津製作所) と LIPID MAPS データベースを用いた。MSI を実施した組織切片をヘマトキシリン・エオシン (H/E) 染色を施し、イオン像との比較を行った。

正イオンモードの MSI の結果、線維化領域に局在する脂質 (図 1b)、心筋に広く分布する脂質 (図 1c) が可視化された。興味深いことに、H/E 染色組織において一見正常に見える線維化周囲の心筋細胞 (図 1a) において、アシルカルニチンと推定された脂質群のイオン信号強度が著明に低下することを見いだした (図 1d)。アシルカルニチンは、ミトコンドリア内の ATP 産生において、脂肪酸代謝のためのアシル CoA を供給する役割を担う。本結果は、線維化領域周辺における、心筋細胞のミトコンドリア代謝機能の局所的な減弱領域を可視化できる可能性が想定された。

参考文献

- 1) Y. Otsuka, et al., *Analyst*, **148**, 1275-1284 (2023).

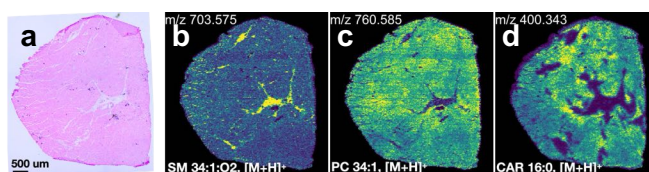


Fig.1. Representative ion images of myocardial tissue from patients with dilated cardiomyopathy.