

## 歯の研究へのトンネル顕微鏡の応用

小澤 幸重\*

### 1. 一般的原理

原子と原子の間に働くトンネル電流を利用したものがトンネル顕微鏡であり、その原理からいけば試料の原子配列をじかに観察できる可能性のある顕微鏡といえる。トンネル顕微鏡と呼ばれるものにはAFM (atomic force microscope) とSTM (scanning tunneling microscope) の2機種がある。

両者共に鋭い金属の探針(できれば先端は原子1個が望ましい)を試料面上にまんべんなく走査し、試料表面と探針との間を約1 $\mu\text{m}$ の微小間隔に保ちながら、針先と試料との間のトンネル電流の変化や原子間力によって起こる現象をとらえるものである。

まずSTMであるが、針と試料の間にバイアス電流(数ボルトの電圧)をかけトンネル電流の変化を測定する。即ち針を試料の原子の凹凸にかかわらず試料から一定の位置を走査し、針の先端の1個から数個の原子の局在する電流を測定する。この方法は、試料から垂直な距離の変化に敏感であり、垂直方向に高い分解能を示す。この場合針の先の尖鋭さが分解能と深く関係する。

AFMは、針を走査するのは同じだが、STMでは導電性の試料だけであり、蒸着が必要である。AFMでは絶縁体の試料でも使用できるものである。鋭い探針と試料表面との間で生じる原子間力(atomic force)を測定するものである。

両者ともに鋭い針、如何に針を試料の目的部位に近づけるか(1 nmの単位)、鋭い針を原子のオーダーで試料面をまんべんなく走査させられるかの問題がある。更に大気中で観察する場合はゴミの汚染の問題も控えている。更に重要なことは測定した像が何の原子配列(鉱物の種類、結晶面)かを決定するのも重大な問題といえる。ミクロの分野になればなるほど何を観察しているのかを自省する必要がある。

### 2. 歯への応用

歯を走査電顕で観察する場合と同様に、研磨(鏡面仕上げ)をして、ハイドロキシアパタイトの結晶がみ

られるか、その原子配列がどのような状態であるのか観察することを目的とした。但し、歯の結晶は方向が不規則であるため、エナメル質の表面に接線方向に研磨面をつくった。

#### (1) 歯の研磨

荒砥→カーボラシム No. 1500→カーボラシム No. 3000→ダイヤモンドペースト 2 $\mu\text{m}$ →ダイヤモンドペースト 1 $\mu\text{m}$ →ダイヤモンドペースト 1/4 $\mu\text{m}$ の順序で研磨した。

カーボラシムはガラスの上、ダイヤモンドペーストは布の上で研磨した。研磨後、実体顕微鏡50~100倍で観察し研磨傷がほとんどない(いわゆるピカッとした状態)ことを確認する(研磨をしすぎるとエナメル質の構造がでてくる)。

#### (2) 観察

TMX-200形 SPM システム (Topo Metrix, 日製産業)を使用した。システムは観察用のユニットとTVモニター及び制御ソフトウェア、プリンターの二部分に大きくわかれるが、すべて1.5m $\times$ 2 mの机上に納まってしまう手頃なものである。大きさより、むしろ試料へのコンタミネーションの問題から、きれいな部屋に設置したい。とくに大気中で観察する場合は、この点に注意を払いたい。

高価なのは他社のものも含めて、カンチレバーの先の探針である。試料へ近づけ過ぎると接触破損してしまい、遠すぎるとトンネル電流が測定できない。

実際には、顕微鏡下で手動にて試料面に近づけてゆき、その後電氣的な補助(ゆっくり動くモーターなど)を借りて、最終的に1 nm近くまで達するよう操作する(図1)。この場合、目的のポイントを定めることがかなり困難である。走査範囲(観察範囲)は、10nm四方まで拡大できる。電子顕微鏡での20~40万倍に相当するが、操作性はトンネル顕微鏡のほうがごくごく容易である。

#### (3) 結果

未知の試料を観察することが多い生物試料では、対象物が何かを決定するのが非常に困難である。歯の場

合、エナメル質のアパタイト結晶がC軸に直交する面が出現する可能性が大きい面を研磨することができる。そのため六角形の外形(図2)を確認することができた。

成熟したエナメル質の結晶を電子顕微鏡で観察する場合パウダーにするとエナメル質での部位が不明確になるため、いきおい目的部位近くまでトリミングし、そのまま樹脂包埋し、ダイヤモンドナイフで超薄切片を作製、電子線のビームダメージを気にしながらの電顕観察となる。像はきわめて明瞭で美しいが、包埋、薄切、電顕の調整に高度の技術水準が要求され、試料のアーチファクトの問題も考慮されねばならない。

これに対し、研磨による試料作製は高度の技術を必要としない。また破断してその一部を観察する方法もあり、試料作製の問題は多々あるものの、一応容易であるといえよう。試料の表面をコーティングしたり、試料中を電子線が通過するわけではないので、観察による試料破壊はない。試料そのものの実像を観察できるというメリットがある。但し表面観察しかできない。

今回、ヒトのエナメル質のアパタイトが六角形か、その組み合わせによる石垣状か、問題はあったが、ほぼ六角形との結果を得た(図2)。これを応用し、電子配列まで観察できれば、エナメル質結晶へのフッ素の取り込み、Mgなどとアパタイトの関係など解決できる見込みのものは沢山ある。我々もその一部の観察に成功している。

#### (5) 問題点

装置は同じ分解能の電子顕微鏡より格段に安価であり、操作性も容易である。人工産物を防ぎ、自然の生の状態を観察するために、試料の作製を工夫しなければならぬ点が多いが、試料作製法も容易である。こ

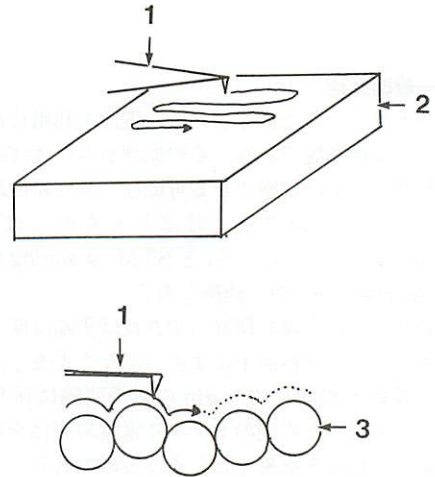


図1 AFMの機構図

探針(1)が試料(2)の表面を走査する。試料表面の原子(3)との原子間力によって原子の形状の表面が観察できる。

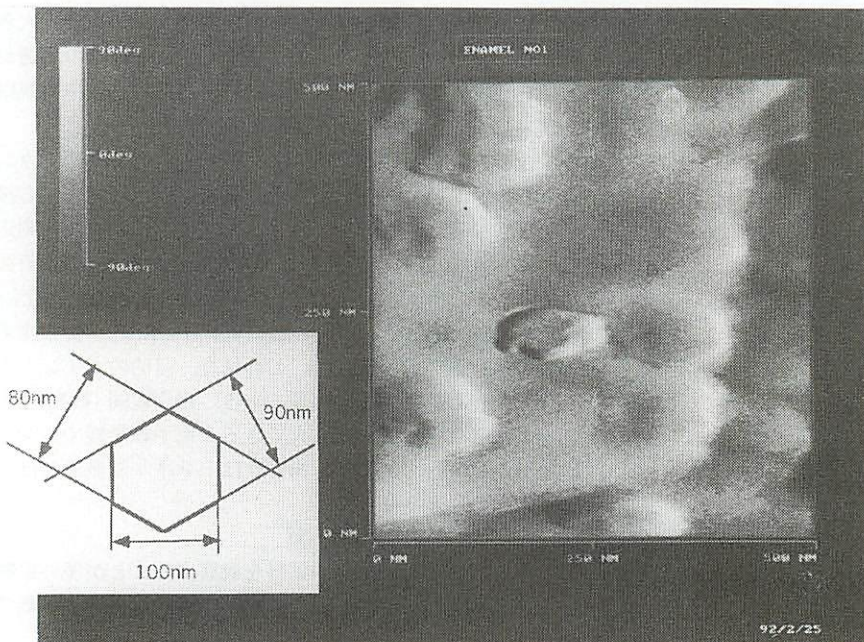


図2 舌側エナメル質のAFM像



れまで、生体硬組織の原子像を電顕で得るためには、超薄切片の技術の習得、高価なダイヤモンドナイフの使用(近年安価になったとはいえ30万円はする)、電顕の整備、観察技術(電子ビームによる破損、コンタミなどを防ぐ)、撮影の向上に、これ努めなければならなかった。

トンネル顕微鏡は、上記の点をまったく考えなくて良い。試料の表面を観察するのであり、目的面を如何にして観察ポイントに置くかという問題がある。大気中のゴミが試料上にちょっと載っても、何を観察しているか判らなくなってしまう。

しかし、何よりも重要なことは、原子の自然な像を観察できる点に、この装置の最大の特徴がある。試料を破壊せずに原子像を得られるのは、いまのところ他に考えられない。

自然の原子像であることの判定のためには、他の機器との併用、そして何よりも数多くの観察が必要である。

本研究の、AFMの使用にあたり日製産業の神道千秋氏、石川純一氏、吉田賢氏の技術援助を受けたことに深謝する。

## Abstract

Atomic force microscope (AFM) and scanning tunneling microscope (STM) are useful for the observation of atomic images. The former uses the atomic force and the latter uses the tunneling current following between the probe tip and the sample surface. Therefore, the resolution can logically get the atomic image.

The author tries to observe the enamel surface, which is only polished, using this method. The hexagonal apatite crystals are observed on the surface. The shape of these crystals may be limitless nature images, because there are not any artifacts on the electron microscopy. It is useful for the study of fossil hard tissue to get the micro-images from mm to nm resolution.

### ◆本の紹介◆

柴崎達雄・君枝 (1994)  
ジャワ原人 200年の旅

築地書館

インドネシアの地質調査に20年間かかわってきた著者の主張の本である、と理解した。主張といっても読むうちに引き込まれる。面白く、かつ赤裸々な人間対人間の記録であり、夢であると感じた。

著者は、ピテカントロプスを追いインドネシアからオランダを巡る。そこでピテカントロプスにかかわる様々な人間に接し、調査を進める。我々にとってはあまりに有名なオイゲン・デユボアの後継の問題、それに先立つインドネシアのラデン・サーレ、ピテカントロプスと天皇の関係とすべての項目が興味を引きつける。それにしても、私個人としてもインドネシアは興味が尽きない。本書には登場しないが、ミニゾウ(ミニステゴドン)がいたのもインドネシアだ。ピテカントロプスのペットになっていたらどんなに楽しいだろうか。ここで日本の援助で、しかも団研方式の足跡化

石の発見と調査が行われていることを知る人も多いであろう。

そのような立場に立つとき、この本から受けるのは視点が常に現地の人々から物を見るという点が貫かれていることである。次に、(多少照れもあるのだろうが)夫人の協力によって自分の仕事が完成したと率直に独白している点が共感を呼ぶ。

このような立場から行ってきた著者の主張する地学団体研究会の団体研究方式の国際共同研究が成功するかどうかは、後継者の努力と実行によると思われるが、少なくともその試み、暫新的な実験ととらえることができるのではないだろうか。それを本書で見る限り、できるだけ自分の相手も楽しみつつ実行してきた、と読める。これまで続けてこられた能力と努力は並のものではないだろうと、推察するのはうがち過ぎであろうか。

我々には、今後もアジアに目を向ける研究が山積している。良くも悪しくも何らかの関連をアジアに持って進めることが多くなりつつある今、本書を読むことを是非お勧めする。(小澤幸重)