

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14148

研究課題名(和文)ビデオレート超解像近接場光学顕微鏡

研究課題名(英文)video-rate super-resolution near-field optical microscopy

研究代表者

馬越 貴之(Umakoshi, Takayuki)

大阪大学・工学研究科・助教

研究者番号：00793192

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)： ナノスケールの空間分解能で高速光学イメージングができる高速近接場光学顕微鏡の要素技術開発を行った。金属探針の高速走査に追従するミラーティルトを開発し、精密に二次元走査し、画像を取得できることを確認した。高速近接場光学顕微鏡に用いるマイクロカンチレバーの先端に金属探針を作製する技術を開発した。また、金属化したカンチレバーをリサイクルできる方法も確立した。DNAの断片を高速連続イメージングし、発せられる蛍光がクエンチングする様子をダイナミックに観察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の近接場光学顕微鏡は、1画像取得するのに早くとも数分を要していたため、先端材料のダイナミックな現象や、生体試料の動的振る舞いを観察することはできなかった。本研究で達成される高速化は、これまで近接場光学顕微鏡が対象としていなかったこれらの現象を観察できるため、近接場光学顕微鏡の新たな展開を期待できる。また、高解像度・広視野に観察できるようになるため、半導体ウェハーの丸ごとイメージングなど社会的にも貢献できる可能性を有する。

研究成果の概要(英文)： We have developed some of critical technologies for high-speed scanning near-field optical microscopy, which realizes high-speed optical imaging with the nanoscale spatial resolution. We developed a mirror tilter for incident laser focus spot to track the high-speed raster scan of the metallic tip. We confirmed that it was capable of precisely scan the laser beam to obtain an optical image. We also developed a fabrication method of metallic tips at the end of the micro-cantilevers for high-speed scanning near-field optical microscopy. In addition, we realized a way of reuse the micro-cantilevers that were metallized. By performing successive high-speed imaging of a DNA fraction, we observed the dynamics of quenching of fluoresce signals omitted from the sample.

研究分野：近接場光学、プラズモニクス、光計測

キーワード：近接場光学顕微鏡 高速原子間力顕微鏡

### 1. 研究開始当初の背景

近接場光学顕微鏡(散乱型)は、金属探針の先端でプラズモン共鳴を励起し、生成する増強電場をナノサイズの光源として用いる光学顕微鏡であり、回折限界を超えた空間分解能を実現できる。いわゆる超解像蛍光顕微鏡と異なり、物理的に小さい光を用いるため、蛍光分子に依存せずあらゆる光学計測をナノスケールに落とし込める特長を有する。分子レベルの空間分解能を達成するなど、めざましく発展を続けている。

一方で、試料ステージを物理的にスキャンする構成上、時間分解能はなかなか向上されることがなく、早くとも1画像取得するのに数分を要していた。先端材料のダイナミックな特性変化や、生体試料の動的振る舞いを観察することは不可能であった。また、高解像度・広視野でイメージングすることも困難であった。

### 2. 研究の目的

本研究は、高速原子間力顕微鏡(高速AFM)の高速探針走査技術を応用して、試料のダイナミクスを観察できる高速近接場光学顕微鏡を開発する事を目的とした。高速AFMは、高速に試料ステージもしくは探針を高速走査することによって、ビデオレートでAFM観察できる技術である。様々な要素技術開発があったが、高い共振周波数を持つマイクロカンチレバーの開発などを通して、生体タンパク質の構造変化ダイナミクスを観察することも可能である。近接場光学顕微鏡の撮像速度は、試料ステージ/探針の走査速度が律速となっていたため、高速AFMの高速走査技術を組み込むことによって大幅な高速化を実現できると考えた。生体分子の動体観察にも適応できる10フレーム/秒のイメージング速度を目指した。

### 3. 研究の方法

従来の近接場光学顕微鏡は、構成の簡易さ故に、探針と入射光を固定し、試料ステージを二次元走査する方式が用いられていた。しかし、顕微鏡の大きく重い試料ステージは高速に走査することができない。既に、光学顕微鏡に搭載可能な高速AFMは開発されているが、これも顕微鏡の試料ステージではなく探針走査型の高速AFMである。この高速AFMを用いて、近接場計測を実現するには、走査方式を大きく見直す必要がある。実際に、探針走査型高速AFMを用いてプロトタイプ的高速近接場光学顕微鏡を開発することはできていたが、入射光と試料ステージを固定して、探針のみが高速走査する仕様であるために、近接場光の励起効率が低く所望のイメージング速度は実現できていなかった。そこで、入射光も探針と同期して走査できるミラーフィルターの開発を行った。試料ステージを固定で、入射光と金属探針を位置同期して高速走査することによって、励起効率を大幅に向上することができる。また、ミラーフィルターは、探針走査型高速AFMの光でこのシステムで類似の物が用いられているため、探針の走査速度に追従できることも確認できている。

また、近接場光学顕微鏡において肝となるのが、近接場光を生成する金属探針である。高速AFMと複合化させる場合、マイクロカンチレバー上に金属探針を作製する必要がある。再現性良く安定してマイクロカンチレバー上に金属探針を作製できる技術を開発するため、真空蒸着法から微細加工技術を駆使した方法まで網羅的に検証した。また、高価なマイクロカンチレバーのリサイクル技術も開発した。

### 4. 研究成果

図1(a)に独自開発したミラーフィルターを示す。x方向とy方向にミラーを傾けられるようにピエゾ素子を配置し、二次元ラスタ走査できるようにプログラム制御した。入射レーザー光を試料面上で1-2 μm程度走査できることを確認した。近接場顕微鏡観察においては十分な視野を確保できた。図1(b)に示すように、ポリスチレンビーズの散乱光を検出しながら二次元走査することによって、散乱光イメージを取得することも確認した。像の歪みもなく、精密に二次元走査できている。また、この散乱光イメージングを用いて金属探針の散乱光イメージを取得すれば、金属探針先端の位置を精密に特定できるため、画像取得毎に散乱光イメージを行い、入射光と金属探針の位置ズレがないかも確認することができる。位置ズレ補正を自動で行えるアルゴリズムを構築し、長時間安定して測定できる計測系を構築した。このミラーフィルターを用いて、精密に金属探針と入射フォーカススポットと一致させ、高効率に近接場光を励起することによって、先端増強ラマン散乱光を検出することにも成功している(図1(c))。

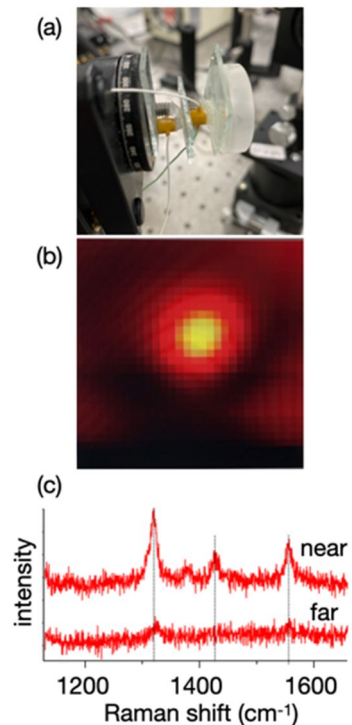


図 1. (a)開発したミラーフィルター (b)ミラーフィルターを用いて撮像したポリスチレンビーズの散乱像 (c)ミラーフィルターで探針-入射光位置を精密制御し取得した4-NTPの先端増強ラマンスペクトル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

金属探針の作製方法も、真空蒸着法やスパッタリング法、電子ビーム堆積法との組み合わせなど、様々に検討した。高速 AFM では、マイクロカンチレバーの先端に、電子ビーム堆積法によって先鋭なアモルファスカーパーボン探針を堆積させる。このアモルファスカーパー

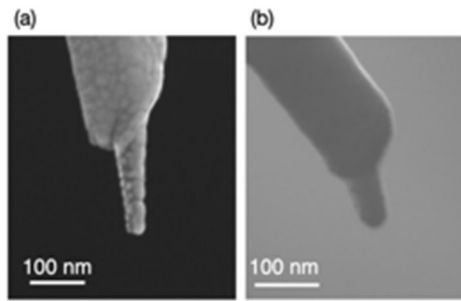


図 2. (a) 真空蒸着法を用いて作製した金属探針の電子顕微鏡像 (b) スパッタリング法を用いて作製した金属探針の電子顕微鏡像

探針に、真空蒸着法やスパッタリング法で金属を堆積させた。図 2(a)が銀を真空蒸着した探針の電子顕微鏡像であり、図 2(b)がスパッタリング法で銀を塗布した探針の電子顕微鏡像である。真空蒸着法を用いた方は、銀が粗くコートされており、この粗い構造がプラズモン

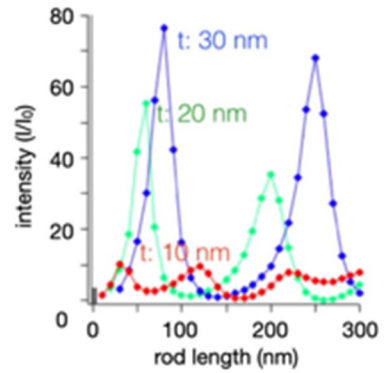


図 3. 銀ナノロッド構造の電場増強度シミュレーション

共鳴励起に有効であるとも考えられるが、再現性の点で課題があると考えられた。一方、スパッタリングを用いた方は、極めて滑らかに銀がコートされており、ロッド状の銀ナノ構造が形成されていた。銀ナノロッド構造は一般的に非常に強い増強電場を生成することが知られている。また、表面粗さなどランダムなプロセスに依存しないため、常に極めて滑らかなコーティング及び銀ナノロッド構造が形成される。スパッタリングで金属探針を複数本作製し、構造再現性が非常に高いことも確認できた。スパッタリングで作製した銀探針が高い電場増強度を示すことを確認するため、電磁場計算も行った。図 3 の通り、最大で約 80 倍の電場強度の増強が確認できた。これは近接場計測に十分な増強度である。また、濃硝酸に金属探針を 1 時間ほど浸すことによって、銀が溶解し探針をリサイクルできることも見いだした。

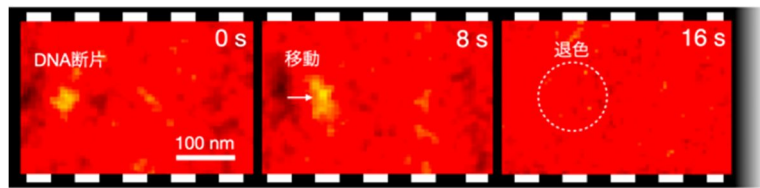


図 4. DNA 断片の連続近接場光学イメージング

図 4 に示す通り、DNA 断片を 8 秒の撮像速度で連続イメージングすることに成功した。画像中央に DNA 断片を移動させる過程で、クエンチング現象が観察された。従来の分オーダーからの大幅な高速化であり、かつ近接場顕微鏡の連続イメージングによってダイナミックな現象を観察した世界初の例を示すことができた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takayuki Umakoshi, Shingo Fukuda, Ryota Iino, Takayuki Uchihashi, Toshio Ando*	4. 巻 1864
2. 論文標題 High-speed near-field fluorescence microscopy combined with high-speed atomic force microscopy for biological studies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BBA General Subjects	6. 最初と最後の頁 129325
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2019.03.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ryo Kato, Takayuki Umakoshi*, Rhea Thankam Sam, Prabhat Verma	4. 巻 114
2. 論文標題 Probing nanoscale defects and wrinkles in MoS2 by tip-enhanced Raman spectroscopic imaging	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Applied Physics Letters	6. 最初と最後の頁 7315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5080255	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshiro Ohashi, Bikas Ranjan, Yuika Saito, Takayuki Umakoshi, and Prabhat Verma	4. 巻 11
2. 論文標題 Plasmonic transfer of near-field light from subwavelength objects through a gold-nanorod chain	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Applied Physics Express	6. 最初と最後の頁 102001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 0.7567/APEX.11.102001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshiro Ohashi, Bikas Ranjan, Yuika Saito, Takayuki Umakoshi, and Prabhat Verma	4. 巻 9
2. 論文標題 Tapered arrangement of metallic nanorod chains for magnified plasmonic nanoimaging	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-39624-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Bishwajeet Singh Bhardwaj, Takeshi Sugiyama, Naoko Namba, Takayuki Umakoshi, Takafumi Uemura, Tsuyoshi Sekitani, and Prabhat Verma	4. 巻 12
2. 論文標題 Raman spectroscopic studies of Dinaphthothienothiophene (DNNT)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Materials	6. 最初と最後の頁 615
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma12040615	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Bishwajeet Singh Bhardwaj, Takeshi Sugiyama, Naoko Namba, Takayuki Umakoshi, Takafumi Uemura, Tsuyoshi Sekitani, and Prabhat Verma	4. 巻 9
2. 論文標題 Orientation analysis of pentacene molecules in organic field-effect transistor devices using polarization-dependent Raman spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-51647-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takayuki Umakoshi, Masaki Taniguchi, and Prabhat Verma	4. 巻 124
2. 論文標題 Anharmonic effects in single-walled carbon nanotubes analyzed through low-temperature Raman imaging	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry C	6. 最初と最後の頁 6922-6928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.0c00416	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Bishwajeet Singh Bhardwaj, Rhea Thankam Sam, Takayuki Umakoshi, Naoko Namba, Takafumi Uemura, Tsuyoshi Sekitani, and Prabhat Verma	4. 巻 13
2. 論文標題 Probing inter-molecular interactions of dinaphthothienothiophene (DNNT) molecules in a transistor device using low-frequency Raman spectroscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Physics Express	6. 最初と最後の頁 22010
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.35848/1882-0786/ab6e0d	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 8件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 馬越貴之、福田真悟、内橋貴之、バルマ プラブハット、安藤敏夫
2. 発表標題 高速走査型近接場光学顕微鏡の開発
3. 学会等名 2019年春期第66回応用物理学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryo Kato, Shun Igarashi, Takayuki Umakoshi and Prabhat Verma
2. 発表標題 Nanoscale investigation of interwall interactions in multi-walled carbon nanotube by near-field Raman spectroscopy
3. 学会等名 The International Symposium for Materials Scientists , (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Umakoshi, Shingo Fukuda, Takayuki Uchihashi, Prabhat Verma, and Toshio Ando
2. 発表標題 High-speed scanning near-field optical microscopy
3. 学会等名 JSAP-OSA joint symposia 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ryo Kato, Shun Igarashi, Takayuki Umakoshi, Prabhat Verma
2. 発表標題 Tip-enhanced Raman study of interwall interactions in multi-walled carbon nanotubes
3. 学会等名 JSAP-OSA joint symposia 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayuki Umakoshi, Yuika Saito and Prabhat Verma
2. 発表標題 Metallic tips for efficient plasmon nanofocusing and advanced optical nano-imaging
3. 学会等名 SPIE Optics + Photonics 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 馬越貴之
2. 発表標題 プラズモン超集束現象と近接場光学顕微鏡への応用
3. 学会等名 第21回光科学若手研究会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 馬越貴之、齊藤結花、バルマ プラブハット
2. 発表標題 広帯域プラズモン超集束を用いたナノ散乱スペクトルイメージング
3. 学会等名 令和元年度日本分光学会年次講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Umakoshi, Shingo Fukuda, Takayuki Uchihashi, Prabhat Verma, and Toshio Ando
2. 発表標題 High-speed near-field optical imaging
3. 学会等名 SPIE Optics + Photonics 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 馬越貴之、福田真悟、内橋貴之、バルマ プラブハット、安藤敏夫
2. 発表標題 高速AFMを用いた近接場光学顕微鏡の高速化
3. 学会等名 レーザー顕微鏡研究会 第44回講演会・シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Umakoshi, Ryo Kato, Bikas Ranjan and Prabhat Verma
2. 発表標題 Tunable Plasmonics for Sensing and Nano-Raman-Imaging
3. 学会等名 Optics & Photonics Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 馬越貴之、福田真悟、内橋貴之、バルマ プラブハット、安藤敏夫
2. 発表標題 高速走査型近接場光学顕微鏡の開発
3. 学会等名 2019年第80回応用物理学会秋期学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 馬越貴之
2. 発表標題 近接場分光イメージング：高感度化、高速化、広帯域化で拓く材料分析
3. 学会等名 2019年第80回応用物理学会秋期学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 馬越貴之
2. 発表標題 近接場光学顕微鏡の先端技術 高感度化・高速化・広帯域化
3. 学会等名 第4回JSAPフォトニクスワークショップ（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takayuki Umakoshi and Prabhat Verma
2. 発表標題 Plasmon nanofocusing for near-field optical imaging
3. 学会等名 Global Nanophotonics 2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考