

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 28 日現在

機関番号：14401  
 研究種目：挑戦的萌芽研究  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23651096  
 研究課題名（和文） 物性マップ機能を有する溶接中ナノダイナミクス高速顕微鏡法の開発  
 研究課題名（英文） Development of Dynamics High-Speed Atomic Force Microscopy  
 with a Function of Mapping in Liquid  
 研究代表者  
 李 艶君 (LI YANJYUN)  
 大阪大学・大学院工学研究科・准教授  
 研究者番号：50379137

## 研究成果の概要（和文）：

本研究では、物性マップをナノ解像で得ることのできる「マルチ高速 AFM」を開発することをめざす。具体的には、AFMの高感度化を実現するとともに、高速・高感度な物性測定法を開発し、この装置がタンパク質分子の機能解明のための強力な最先端の計測機器であることを実証することをめざす。

## 研究成果の概要（英文）：

The objective of this research is to develop "multi-high-speed AFM" with the capability to map physical-properties in liquid. This technique enables the simultaneous imaging of the surface topography, energy dissipation and elasticity of materials. We experimentally demonstrated the high-speed imaging of topography, energy dissipation and elasticity at a scan speed of 10 frames/s in water.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

## 研究分野：工学

科研費の分科・細目：応用物理学・工学基礎 薄膜・表面界面物性

キーワード：マルチ高速原子間力顕微鏡、物性マップ、固液界面、

## 1. 研究開始当初の背景

水中にある個々のタンパク質分子のナノメータ世界に潜む巧妙な仕組みを解明するためには、静止構造の解明だけでは不十分であり、時々刻々変化する構造（動的構造）や、エネルギー散逸、親水性・疎水性、表面電位と言った様々な物性の動的変化を高速に捉えて画像化することが重要である。ダイナミックに変化する個々の生体分子の構造を高速に画像化することができるようになった現在、次の重要なステップは、様々な物性の動的変化を高速に捉えることである。タンパク質分子に局在するこれらの物性を、構造情報と分離して高精度で測定する方法が開発されれば、生体機能を理解するうえでブレイクスルーとなることは間違いない（図

1)。溶液中の生体分子のダイナミックな現象をナノスケールの分解能で追跡できる手法に高速原子間力顕微鏡がある。これまで高速原子間力顕微鏡では、カンチレバーの振動振幅の変化から探針・表面間相互作用力を検出する振幅変調(AM)方式が使用されてきた。しかし、この方式では、試料表面を原子分解能で測定するだけの力の検出感度はない。他方、溶液中の表面を原子分解能で測定できる方式として、周波数変調(FM)方式がある。この方式は、カンチレバーの振動周波数の変化から相互作用力を検出し、力の検出感度が高い。しかし、周波数検出回路の帯域が狭いため、高速測定は困難である。

申請者は、振幅変調方式の高速性と周波数変調方式の高感度性の両方の利点を有す

る新しい測定方式（位相変調方式）を開発した（Appl. Phys. Lett., 90, 194104, 2007）。この位相変調方式は、周波数変調方式と同等の力検出感度があり、また、広帯域の位相検出回路を使用できるため、高速測定も可能である。

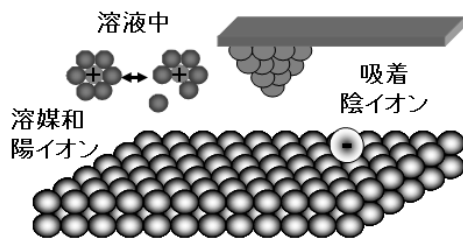


図1 高速原子間力顕微鏡による溶液中での固体表面の動的現象の観察

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、物性マップをナノ解像で得ることのできる「マルチ高速 AFM」を開発することをめざす。具体的には、AFMの高感度化を実現するとともに、高速・高感度な物性測定法を開発し、この装置が、タンパク質分子の機能解明のための強力な最先端の計測機器であることを実証することをめざす。

## 3. 研究の方法

試料の様々な物性の変化を高速に捉えるためには、探針と試料との間に何らかの外部刺激を与え、それに対する微弱な力学応答を高感度・高速に捉えて画像化することが重要となる。現在の高速 AFM では、探針が表面に周期的に接触し、その時のカンチレバー（板ばね）の振動振幅の変化から、探針・表面間の相互作用力を検出するイメージングモード（振幅変調モード、あるいはタッピングモード）が用いられている。振幅変調（AM）モードでは、十分な力検出感度が得られず、十分な信号雑音比（SN 比）を確保するためには、どうしても帯域幅を狭めなければならない。これは、マルチ高速 AFM 開発において本質的な問題点となる。そこで、マルチ高速 AFM に適する新たな高感度なイメージングモードに関して検討した。なお、このイメージングモードに関する検討は、探針と試料との間に働く力を軽減し、生体分子の動的構造をソフトに撮像する高速 AFM の高性能化にも寄与することになる。

まず、カンチレバーの周波数変化（周波数シフト）から探針・試料間の相互作用を検出するイメージングモード（周波数変調モード）が、高速 AFM に適用できるかどうかを考えてみた。周波数変調モード（FM）は、従来のイメージングモード（振幅変調モード）に比べて、一桁以上の力検出感度の向上が可能である。周波数変調モードでは、周波数シフトの検出回路として、一般に位相ロックル

ープ（PLL）回路を使用するが、この PLL 回路は、位相検出回路、電圧制御発振器（VCO）、ループフィルターからなるループ回路構成となるため、応答速度が遅く高速 AFM には適さないという問題点がある。また、カンチレバーは、発振器からの信号により常に励振されているのではなく、正帰還ループを用いてカンチレバー自体の振動信号により励振されているため、何らかの理由により探針が試料に強く接触した場合、カンチレバー自体の振動が停止してしまう。このカンチレバーの振動停止は、イメージングそのものをだめにし、探針と試料に強いダメージを与えてしまうという問題点もある。

そこで、カンチレバーの位相変化から探針・試料間の相互作用を検出するイメージングモード（位相変調モード）について検討した。理論的検討より、カンチレバーの位相変化から探針・試料間の相互作用を検出するイメージングモード（位相変調モード）が、周波数変調モードと同様に、従来の振幅変調モードに比べて、一桁以上の力検出感度の向上が可能であることを明らかにした。しかし、研究を進める中で、カンチレバーの励振振幅が一定の場合には、探針・試料間の非線形相互作用（双安定性）に起因して、位相の探針・試料間距離依存性に不連続が生じ、安定なイメージングが困難であることが判明した。これは、位相変調（PM）モードでのイメージングの極めて深刻な問題であり、力検出感度が高いにもかかわらず、位相変調モードがこれまで使われてこなかった最も大きな原因でもある。この問題に対しては、カンチレバーの振動振幅が一定となるように制御すれば、探針・試料間の非線形相互作用に起因する不安定性（双安定性）が完全になくなり、極めて安定なイメージングが可能となることを数値シミュレーションと実験により初めて明らかにした。なお、カンチレバーの振動振幅を一定に保ちながら、カンチレバーの位相変化から探針・試料間の相互作用を検出する新しいイメージングモード（位相変調モード）は、探針・試料間の相互作用力を劇的に軽減させることができるだけでなく、カンチレバーの位相シフトを位相検出回路で検出し、ループ回路を使用しないため、応答速度が速く高速 AFM に適するという利点がある。また、カンチレバーは、常に発振器からの信号により励振されているので、周波数変調モードのような振動停止の問題は生じず、探針や試料に強いダメージを与えてしまうこともない。さらに、熱ドリフトによるカンチレバーの共振周波数の変化や溶液の体積変化は、カンチレバーの励振効率の変化を引き起こすが、新しいイメージングモードでは、カンチレバーの振動振幅を一定に保つことにより、励振効率の変化を自動的に補償することが

可能となる。このため、非常に弱い探針・試料間相互作用で極めて安定な長時間イメージングを実現できるという利点もある。

新たに考案したイメージングモードでは、カンチレバーの振動振幅を一定に保持しながら、探針・表面間相互作用によるカンチレバーの位相シフトを捉えてイメージングを行う。そのため、カンチレバーの1周期ごとの振動振幅や位相を高感度・高速に測定することが重要となる。振動振幅や位相測定に使用しているサンプル・ホールド回路のノイズは、サンプリング時のスイッチングノイズや電圧保持時の電圧ドロップが大きな原因となっている。そこで、サンプル・ホールド回路の構成をシングルエンド型から差動変換型に変更することにより、同相ノイズ成分をキャンセルし、大幅なノイズ低下を実現し、振動振幅と位相シフトを高感度・高速に測定できるようにした。

また、水中のカンチレバーにレーザー光を照射してカンチレバーを励振する光熱励振法では、有限な熱伝導速度の影響により周波数の増加とともに位相が大きく遅れることが判明した。そこで、比例回路と微分回路を利用した位相補償法を適用することにより、この位相遅れの問題を解決し、高速にカンチレバーの振動振幅と位相を検出できるようにした。さらに、高速振幅測定回路、高速AGC回路、高速位相検出回路、高速フィードバック回路からなる測定回路を実際に構築し、共振周波数が約600kHzのカンチレバーを用いて、10 frame/sでの高速撮像が可能であることを明らかにした。これは、位相変調モードを用いて高速AFMを実現できることを世界で初めて実証した成果である。

#### 4. 研究成果

##### 1) 試料形状とエネルギー散逸の高速同時マッピング法の開発

探針・試料間の力学的な相互作用によって散逸されるエネルギーは、生体試料や水和殻の粘性やゆらぎ、探針・試料間相互作用の凝着ヒステリシス過程など、非常に多くの貴重な物理情報を含んでいると考えられる。振幅変調モードのAFMに関しては、カンチレバーの位相が探針・試料間のエネルギー散逸に比例することが明らかにされているが、新たな高感度なイメージングモードである位相変調モードに対しては、エネルギー散逸を測定する方法は全く検討されていない。そこで、位相変調モードのAFMに対して、形状とエネルギー散逸を高速に同時測定する方法について検討した。まず、エネルギー散逸の関係式を理論的に導出し、位相変調モードに対しては、カンチレバーの振動振幅を一定にするためのフィードバック信号が、エネルギー散逸に比例することを明らかにした。また、カ

ンチレバーの振動振幅を一定にするための高速AGC回路のフィードバックを高速化するとともにフィードバックパラメータを最適化することにより、撮像速度を低下させることなく、表面形状とエネルギー散逸を同時に測定できることを実証した。

##### 2) 分極可変探針を用いたタンパク質の親水性・疎水性測定法の開発

AFMを用いて分極情報を測定する手段としては、従来からケルビンプローブ顕微鏡法などが知られているが、これは、試料-探針間にバイアス電圧を印加する必要がある、その動作には、試料表面・探針表面ともに電極との電荷の授受が可能であることを前提としている。これは、溶液環境に置かれた生体試料に対して普遍的に適用できる方法とは到底いえない。そこで、生体試料の分極の動的変化を高速に捉えるために、光による異性化反応で分極の有無が切り替わるフォトクロミック材料で探針を修飾し、外部からの刺激光により探針の分極を高速で切り替えながら、親水性・疎水性計測を行う方法について検討した。

##### 3) 2次の共振モードを利用した新しい物性測定法の開発

カンチレバーを1次の共振モードだけでなく2次の共振モードでも同時に振動させ、探針・試料間に非線形な力学的相互作用を引き起こすことにより、生体試料の物性を測定する方法について検討した。理論的検討から、2次の共振モードの位相情報は、探針・試料間に働く保存力、すなわち、試料の弾性情報に比例することを見出した。1次と2次の共振モードを同時に用いることにより、試料形状とエネルギー散逸、弾性の3つの情報を高速に同時測定することに世界で初めて成功した(図2)。

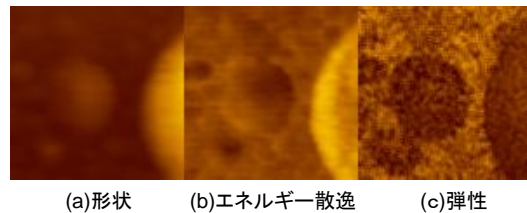


図2 (a)形状、(b)エネルギー散逸、(c)弾性のマルチ高速AFM測定の例(試料:高分子ブレンド膜)

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

1) Z. Ma, L. Kou, Y. Naitoh, Y. J. Li and

- Y. Sugawara, “The stray capacitance effect in Kelvin probe force microscopy using FM, AM and heterodyne AM modes”, *Nanotechnol.*, 査読有, **24**, 225701(1-8), 2013.  
DOI:10.1088/0957-4484/24/22/225701.
- 2) Y. J. Li, S. Jarvis, Y. Naitoh, Y. Sugawara, and L. Kantorovich, “Complex Design of Dissipation Signals in Non-Contact Atomic Force Microscopy”, J. Bamidele, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 査読有, **14**, 16250-16257, 2012.  
DOI: 10.1039/c2cp43121.
- 3) Y. Naitoh, T. Kamijo, Y. J. Li and Y. Sugawara, “Quantification of atomic-scale elasticity on Ge(001)-c(4×2) surfaces via noncontact atomic force microscopy with a tungsten-coated tip”, *Phys. Rev. Lett.*, 査読有, **109**, 215501(1-5), 2012.  
DOI: 10.1103/PhysRevLett.109.215501.
- 4) J. Bamidele, Y. Kinoshita, R. Turanský, S. H. Lee, Y. Naitoh, Y. J. Li, Y. Sugawara, I. Štich, and L. Kantorovich, “Chemical tip fingerprinting in scanning probe microscopy of an oxidized Cu(110) surface”, *Phys. Rev. B*, 査読有, **86**, 155422(1-8), 2012.  
DOI: 10.1103/PhysRevB.86.155422.
- 5) Y. Sugawara, L. Kou, Z. Ma, T. Kamijo, Y. Naitoh, and Y. J. Li, “High potential sensitivity in heterodyne amplitude modulation Kelvin probe force microscopy”, *Appl. Phys. Lett.*, 査読有, **100**, 223104(1-4), 2012.  
DOI: 10.1063/1.4723697.
- 6) Y. J. Li, K. Tenjin, Y. Kinoshita, Z. Ma, L. Kou, Y. Naitoh, M. Kageshima and Y. Sugawara, “Force Mapping on NaCl(100)/Cu(111) Surface by Atomic Force Microscopy at 78 K”, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 査読有, **51**, 035201(1-5), 2012.  
DOI: 10.1143/JJAP.51.035201.
- 7) Y. Kinoshita, Y. Naitoh, Y. J. Li, and Y. Sugawara, “Fabrication of Sharp Tungsten-coated Tip for Atomic Force Microscopy by Ion-beam Sputter deposition”, *Rev. Sci. Instrum.*, 査読有, **82**, 113707(1-5), 2011.  
DOI:10.1143/JJAP.51.035201.
- 8) Y. Aburaya, H. Nomura, M. Kageshima, Y. Naitoh, Y. J. Li and Y. Sugawara, “Switching surface polarization of atomic force microscopy probe utilizing photoisomerization of photochromic molecules”, *J. Appl. Phys.*, 査読有, 109, 064308(1-8), 2011.  
DOI: 10.1063/1.3552926.
- [学会発表] (計 10 件)  
(国際会議) (8 件) そのうち、招待講演 4 件)
- 1) Y. Sugawara and Y. J. Li, “Atom Manipulation and Force Spectroscopy on Cu(110)-O Surface with Low-Temperature AFM”, Annual Meeting of The Chinese Vacuum Society (CVS-2012), , Lanzhou, China, (September 21-24, 2012).
- 2) Y. J. Li, S. Oozawa, Y. Naitoh and Y. Sugawara, “Identification of Al Atoms with Different Coordination on Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/NiAl(110) Surface with NC-AFM”, The 10-th Japan-Russia Seminar on Semiconductor Surfaces, University of Tokyo, Japan, ( 28-30 September, 2012) .
- 3) Y. J. Li and Yeek Energy Materials Nanotec. Sugawara, “Identification of Aluminum Atoms with Different Coordination on Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/NiAl(110) Surface by NC-AFM with a stiff Si tip”, 2012 EMN Open Access Whnology, Chengdu, China , (23-26, October, 2012) .
- 4) Y. J. Li and Y. Sugawara, “Atom Manipulation and Force Spectroscopy on Cu(110)-O Surface with Low Temperature Noncontact AFM”, International Symposium on Test and Measurement (ISTM), Suzhou, China (August 4-7, 2011).
- 5) Y. J. Li, Y. Tsukuda, Y. Naitoh and Y. Sugawara, “Stable Contrast Mode on TiO<sub>2</sub> (110) Surface using AFM with Tungsten-coated Tips”, 14th International Conference on Noncontact Atomic Force Microscopy 2011, Lindau, Germany, (September 18-22, 2011).
- 6) Y. Sugawara, Y. Kinoshita, Y. Naitoh, and Y. J. Li, “Tip-induced heating of Co atoms on Cu (110)-O surface with low-temperature AFM”, 14th International Conference on Noncontact Atomic Force Microscopy 2011, Lindau, Germany, (September 18-22, 2011).
- 7) Y. J. Li, O. Shuhei, Y. Naitoh and Y. Sugawara, “Identification of Al Atoms with Different Coordination on

Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/NiAl(110) Surface with NC-AFM” ,  
NC-AFM 2012, Cesky Krumlov, Czech  
Republic, (2-6, July, 2012).

- 8) Y. J. Li, T. Kamijo, L. L. Kou, Z. M. Ma,  
Y. Naitoh, and Y. Sugawara, “Atomic  
Scale Surface Potential measurement on  
TiO<sub>2</sub> (110) Surface with Kelvin Probe  
Force Microscopy Using Ir-tip”  
International Conference on  
Nanoscience & Technology (ICN+T 2012),  
Paris, France, (23-27, July, 2012).

(国内会議) (2件)

- 1) 李艶君, “低温 NC-AFM を用いた Cu(110)-O  
表面での原子操作と 2 次元フォース分光”,  
SPM 研究会 豊田中央研究所 12 月 2 日  
(2011) .
- 2) 李艶君, “AFM による Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 薄膜表面での  
配位数の異なる Al 原子の識別”, 大阪大  
学 (吹田キャンパス) 1 月 23 日 (2013)

[図書] (計 1 件)

- ① 菅原康弘、李艶君、内藤賀公、“プローブ  
顕微鏡用高速アクチュエータの開発”、エ  
ヌ・ティー・エヌ、新アクチュエータ開発  
の最前線、pp. 131-135, 2011.

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://nanophysics.ap.eng.osaka-u.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

李 艶君 (LI YANJUN)

大阪大学・工学研究科・准教授

研究者番号 : 50379137