

原子間力顕微鏡を用いた固液界面の原子スケール観察

Atomic-Scale Imaging of Solid/Liquid Interfaces by Atomic Force Microscopy

福間 剛 士

Takeshi Fukuma

金沢大学フロンティアサイエンス機構

要旨 原子間力顕微鏡 (AFM) は、液中動作が可能であるため固液界面でのナノスケール構造観察へと従来から用いられてきた。しかしながら、原子スケールの構造・物性観察や原子操作を実現している超高真空 AFM に比べ、液中 AFM の性能は大きく劣っていた。超高真空中における原子分解能観察は、周波数変調 AFM (FM-AFM) と呼ばれる動作モードを用いることにより実現していたが、これを液中で動作させることは非常に困難であると予想されていた。ところが、2005 年に、これを実現する技術が開発され、FM-AFM による液中原子分解能観察が実現すると、液中 AFM 技術は急速な進展を遂げ、生体分子や水和層などの、従来観察できなかった対象の原子・分子スケール観察を実現してきた。本稿では、液中 FM-AFM 技術の基本原理解説し、その最近の応用事例を紹介する。

キーワード：周波数変調原子間力顕微鏡、水和現象、原子分解能観察、脂質膜、マイカ

1. はじめに

周波数変調原子間力顕微鏡 (FM-AFM)¹⁾ は、1990 年代後半からのナノテクノロジーの進展に呼応して急速に発展してきた技術であり、従来超高真空中での原子・分子分解能観察に用いられてきた。近年では、表面構造だけでなく表面電位分布も原子分解能で観察可能となり²⁾、個々の原子を識別・操作することも室温で可能となっている^{3,4)}。しかしながら、これらの最先端の AFM 技術は超高真空中でのみ利用可能なものであった。

2000 年代前半になると、それまで基礎科学を中心として使われてきたナノテクノロジーを、医学・薬学などの医療技術あるいは、産業技術・材料の研究開発へと応用することを求める社会的要請が強まってきた。その一方で、2003 年にヒトゲノム計画の終焉を迎えた分子生物学分野では、その後の発展の道を模索する中で、ゲノム情報をもとに作られるタンパク質の構造やダイナミクスを一分子レベルで理解することを目指すポストゲノム研究の必要性が強く認識されるようになってきた。これらの2つのトレンドから、ナノ計測技術を用いて生体分子機能の1分子レベルでの理解を目指すとともに、そこで得られた知識を応用して新規ナノデバイスの創成を目指す、いわゆるナノバイオサイエンスと呼ばれる複合新領域が誕生した。

このような社会的背景の中で、液中におけるナノ計測技術の需要は大きく高まっていた。AFM は、液中動作が可能であることから、従来より液中でのナノスケール観察へと応用

されてきた。しかしながら、その性能は真空中でのそれに比べてはるかに劣っていた。真空中での原子スケールの観察・分析技術は、すべて FM-AFM と呼ばれる動作モードを用いることで実現されてきたが、液中で FM-AFM を用いることは非常に困難であるとされていた。しかしながら、2005 年に、この予想を覆して液中での FM-AFM の動作を実現する新たな技術が開発され⁵⁾、世界で初めて液中 FM-AFM による原子分解能観察が実現された⁶⁾。これ以降、液中 AFM の性能は急速な進展を遂げ、従来技術では不可能であった生体分子^{7~11)} や水和層¹²⁾ の分子分解能観察が実現された。さらに最近では、従来2次元画像を得る手法であった液中 FM-AFM の動作原理に改良を加え、その3次元動作を実現し、固液界面における水分子の3次元分布を原子スケールで可視化する技術も開発された¹³⁾。以下では、FM-AFM の基本原理と、その液中応用を可能とした要素技術を解説した後、最新の応用事例を紹介する。

2. FM-AFM の基本原理

図1(a)に FM-AFM の装置構成を示す。FM-AFM では、鋭く尖った探針を先端に有する片持ち梁 (カンチレバー) を力検出器として用いる。カンチレバーは、その近傍に取り付けられた圧電アクチュエータに交流電圧を印加することによって機械的に振動させられる。振動するカンチレバーの背面にレーザ光を照射し、その反射光の変位を位置検出フォトダイオード (PSPD) により検出する。PSPD からの電流信号を電圧信号に変換するのがプリアンプである。このプリアンプの出力は、カンチレバーの変位に比例して変化する電圧信号であり、変位信号と呼ばれる。変位信号は移相回路および自動ゲイン調整 (AGC) 回路によって、その位相と振幅を

〒920-1192 石川県金沢市角間町
TEL: 076-243-4847; FAX: 076-243-4632
2010年8月15日受付

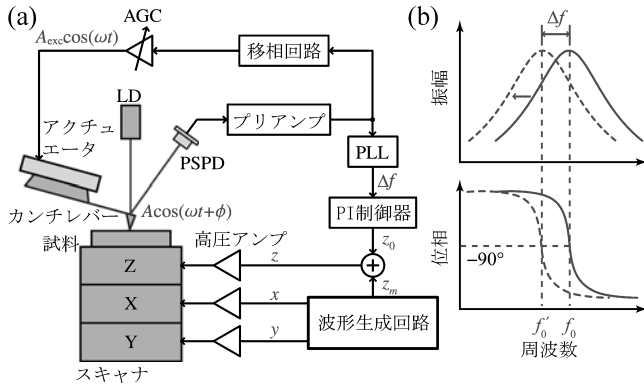


図1 (a) FM-AFMの装置構成. (b) カンチレバー振動振幅と位相の共振周波数依存性.

調整された後、圧電アクチュエータへと印加される。ここで、カンチレバー、プリアンプ、移相回路、AGC回路、アクチュエータで構成されるループは自励発振回路と呼ばれる。

この回路において、カンチレバーは機械的な共振子として働き、常にその共振周波数において振動する。この原理を図1(b)を用いて説明する。共振周波数において、カンチレバーの振動振幅(A)は最大に、励振信号に対する位相遅れ(ϕ)は -90° になる。ここで、自励発振回路が持続的に発振し続けるためには、回路内の一周の位相遅れは -360° の整数倍になる必要があるため、移相回路での移相遅れ量を適切に設定すれば、常に $\phi = -90^\circ$ にすることができる。したがって、カンチレバーは常に $\phi = -90^\circ$ となる周波数、すなわち、共振周波数で振動する。

カンチレバーが試料に近付くと、探針に相互作用力(F_z)が働く。これによりカンチレバーの共振周波数がシフトする(Δf)。このとき、自励発振回路の働きにより、カンチレバーの振動周波数も同じだけ変化するため、 Δf は位相同期ループ(PLL)回路によって変位信号の周波数変化として検出できる。PI制御回路では、 Δf が一定となるように、出力信号 z_0 を制御する。この信号は、高圧アンプを通してZスキャナを駆動して、試料の垂直位置を制御する。ここで、カンチレバー、プリアンプ、PLL回路、PI制御回路、高圧アンプ、Zスキャナで構成されるループを、探針-試料間距離制御回路と呼ぶ。この回路の働きにより、探針の試料に対する相対的垂直位置は常に Δf が一定となるように制御される。このとき、 Δf の探針-試料間距離に対する変化が一定であると仮定すれば、探針-試料間距離も常に一定に保たれる。

波形生成回路からは、XおよびYスキャナを駆動するための電圧信号 x, y が生成される。これらの信号は、試料を水平方向に走査するようにXYスキャナを制御する。この時、探針-試料間距離制御回路の働きにより、探針-試料間距離は一定になるように制御されるため、Zスキャナの垂直位置は試料の凹凸をなぞるように上下する。したがって、Zスキャナを制御している信号 z_0 を、探針の試料に対する相対的なXY位置に対して記録すれば、試料表面の2次元画像を得ることができる。

3. FM-AFMの液中応用技術

一般的なカンチレバーの共振のQ値(つまり、振動エネルギー損失の小ささ)は、真空中で1,000-100,000、液中で1-10程度となる。FM-AFMにおける力検出限界は、Q値が低いほど大きくなる。また、Q値が低下すると、共振周波数近傍における位相の周波数依存性(図1(b))が弱くなるため、自励発振回路の動作も不安定になる。これらの理由により、FM-AFMの液中応用は非常に困難であると考えられていた。

しかしながら、このような懸念とは対照的に、液中FM-AFMの飛躍的な性能改善は、この問題を解決することではなく、カンチレバー変位検出器のノイズを低減することにより達成された⁵⁾。液中におけるQ値の低下が、液中FM-AFMの性能を制限する大きな要因であることは間違いない。しかしながら、それが唯一の性能律速要因であるという根拠や、このQ値において原子分解能観察が不可能であるとする根拠は、実験的にも理論的にも示されていなかった。著者らはこの点に着目し、液中FM-AFMの性能を制限しているノイズ要因を詳細に調べ、それらを理論的予測値と比較した。その結果、液中FM-AFMの性能はQ値だけでなく、変位検出器のノイズによっても大きく低下していることが明らかとなった⁵⁾。

当時、変位検出器の変位ノイズ密度は、 $100-1,000 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ 程度が一般的であった。この値は、AFMを液中で動作させた場合、さらに増大する。図1(a)に示したように、カンチレバーの変位は、レーザー光をカンチレバーの背面に照射して、その反射光をPSPDで受光することにより検出される。液中AFMでは、レーザーの光路にガラス/水、ガラス/空気の界面が存在し、これらの界面において光が反射・散乱する。これらの光の一部はレーザーに戻り、モードホップノイズを増大させ、また一部は、PSPDに入射し光干渉ノイズを増大させる。著者らは、レーザーの強度を300-500 MHzという高周波で変調することによりこのレーザー光由来のノイズを大幅に低減できることを見出した⁵⁾。レーザーを高周波変調すると、レーザーの発振モードがシングルモードからマルチモードへと変化し、モードホップノイズが大幅に抑制される。さらに、レーザーのコヒーレンス長も大幅に低下するため、光干渉ノイズも同時に低減される。この技術により、変位ノイズ密度を大気中で $17 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ 、液中で $40 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ まで低減させることに成功した⁵⁾。

液中FM-AFMにより、高分解能観察を行うためには3つの重要な条件がある。まず、第一に比較的硬いカンチレバーを使うことである。従来、液中AFMではバイオ応用を意識して、比較的柔らかいカンチレバーを用いる傾向があった(ばね定数: $k < 0.1 \text{ N/m}$)。しかし、このようなカンチレバーは、室温程度の熱エネルギーで100 pm以上の振幅で振動しているため、探針先端の原子位置をそれ以上の精度で制御することは不可能である。そのため、10-100 pm程度の精度で探針の垂直位置を制御する必要がある原子分解能観察には、

$k = 10 - 40 \text{ N/m}$ の比較的硬いカンチレバーの使用が必要とされる。

第二に、カンチレバーを比較的小さい振幅で振動させる必要がある。振幅が大きいと、探針は振動周期の中で一瞬しか試料表面からの短距離力を受けず、ほとんどの時間は長距離力を受けることになる。AFMにおける水平分解能は、力感度が十分にある場合には、短距離力に対する感度と長距離力に対する感度の比で決まる。したがって、振幅を 0.5 nm 以下にすることにより、原子スケールの短距離力への感度を向上させ、水平分解能を大幅に向上させられる。

最後に、硬いカンチレバーを液中で用いて、かつ十分な力検出感度を得るためには、低ノイズ変位検出器が必要である。FM-AFMにおける力検出限界は、カンチレバーの熱振動によって決まる(熱ノイズ限界)。カンチレバーが硬くなれば熱振動は小さくなる。そのため、熱ノイズ限界の性能を達成するために必要とされる、変位ノイズも低くなる。また、カンチレバーを 0.5 nm 以下という低振幅で安定に振動させるためにも、変位信号に含まれるノイズは抑制する必要がある。現在、液中 FM-AFM で一般的に用いられるカンチレバー(例: NCH (ナノセンサー社), AC160 (オリンパス) など) の場合、液中で熱ノイズ限界の性能を達成するためには、変位ノイズ密度を $40 \text{ fm}/\sqrt{\text{Hz}}$ 以下に抑制する必要がある。

4. 生体分子観察への応用

液中 FM-AFM は、ナノバイオサイエンスへの応用を目指して開発された経緯もあって、その開発直後から生体分子イメージングへの応用が模索され始めた。液中 FM-AFM では比較的硬いカンチレバーを使用するため、柔らかい生体分子の非破壊観察が可能かどうかという点が当初は疑問視されていた。著者らは、紫膜を構成するタンパク質であるバクテリオロドプシンの 3 量体や、タンパク質のフォールディングを補助するシャペロン GroEL のリング構造などを、非破壊で分子分解能観察することに成功し、硬いカンチレバーを使っても、生体分子の非破壊観察が可能であることを実証した⁷⁾。これは、探針—試料間距離制御回路が正しく動作している限り、試料に与える影響はカンチレバーの硬さではなく、力検出限界によって決まるためである。この結果は、Hoogenboom らによってもすぐに確かめられた。彼らもバクテリオロドプシンの 3 量体を液中で FM-AFM により分子分解能観察し、生体分子イメージングへの実用性をさらに確かなものとした⁸⁾。

上記の結果は、生体分子観察への実用性を証明したものの、コンタクトモード AFM や振幅変調 AFM といった従来技術に対する優位性を示すには至らなかった。著者らは、液中 FM-AFM の持つ最大の特長であるサブナノメートルスケールのイメージングを目指して、脂質二重層の観察を行った。脂質二重層は、細胞の外壁を成す細胞膜の基本構造とされ、その構造・物性は生物物理の分野で幅広く研究が行われている。脂質分子は、図 2 (a) に示すように親水性の頭部と疎水

性の尾部から成る。そのため、水溶液中では、頭部が水に接するように、尾部が水から隠れるように、自発的に二重膜を形成する(図 2 (b))。この脂質二重膜をマイカ基板上に形成して、AFM 観察を行った(図 2 (c))。約 0.5 nm 間隔で並んだ脂質分子が明瞭に観察されており、生体分子のサブナノメートルスケール観察が可能であることが示された⁹⁾。また、アルツハイマー病やパーキンソン病など、数多くの神経変性疾患の発病に関与するとされるアミロイド線維の表面構造も観察し、それを構成する約 0.5 nm 周期で並んだ β 鎖の構造を直接観察した¹⁰⁾。この結果は、生体膜とは異なり、マイカ基板上に弱く吸着した孤立した生体分子集合体の表面を観察したものであるため、コンタクトモード AFM では、観察することが原理的に不可能であることから、従来手法に対する優位性を明確に示すものとなった。

5. 脂質/水界面研究への応用

固液界面においては、AFM 探針は固体表面を構成する原子や分子から力を受けると同時に、周囲にある水分子やイオンからも力を受ける。したがって、水分子やイオンの分布に偏りがあれば、それを反映して力も変化するのははずである。たとえば、PBS 溶液中で探針を脂質膜表面に徐々に近づけたながら、 Δf の変化を記録した Δf -距離曲線は、図 3 (a) に示すように振動的なプロファイルを示す¹²⁾。前述のように Δf は、探針にかかる力 F_t によって変化する。そのため、この関係を利用して計算によって、 Δf -距離曲線から F_t -距離曲線を求めることができる(図 3 (b))¹⁴⁾。これらの曲線に見られる 2 つのピークの間隔は、およそ 0.25 nm であり、水分子

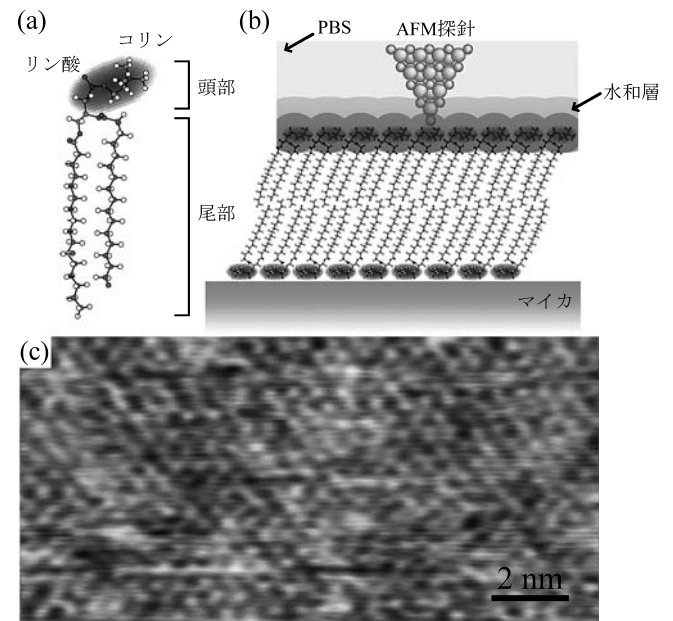


図 2 (a) DPPC 脂質分子の構造。(b) マイカ上に形成した DPPC 脂質二重層表面を AFM 観察している様子の模式図。(c) リン酸緩衝生理的食塩水 (PBS 溶液) 中で観察したマイカ上に形成した DPPC 脂質二重層の FM-AFM 像⁹⁾。

の直径とほぼ一致している。脂質膜表面では、水分子が脂質分子頭部との相互作用のために、不均一な層状分布を示し、図2(b)に示すような水和層を形成する。図3(b)に示した F_z -距離曲線は、AFMによって測定される力の分布が水分子の分布を反映していることを強く示唆している。

FM-AFM 観察時には、探針-試料間距離は、 Δf が一定となるように制御される。したがって、 Δf -距離曲線が振動的なプロファイルを持つ場合、一定に保つ Δf の値(セットポイント)を図3(a)の点線で示すような位置に設定した場合、同図中に矢印1-3で示したような複数の安定点が存在することになる。したがって、FM-AFM 観察中に探針位置がこれらの安定点間を移動することがしばしばある。図3(c)はこのような例を示している¹²⁾。図中の1-3で示したテラスは、それぞれ、図3(a)に示した Δf -距離曲線の各ブランチに対応している。探針は、テラス1上では脂質分子の上を、テラス2上では第一水和層上を、テラス3上では第二水和層上を、それぞれ走査している。各テラス間の高さの差は、やはり0.2-0.3 nm となっており、水分子の直径とほぼ一致している。この結果から、脂質膜表面に水和層がナノスケール以上の広がりを持って安定に存在していることが分かる。また、FM-AFM が水和層を壊すことなく観察できるほどに、非常に弱い相互作用力で試料表面を観察できるということも、この結果から明らかとなった。

著者らは、脂質二重層と第一水和層との界面をさらに詳細

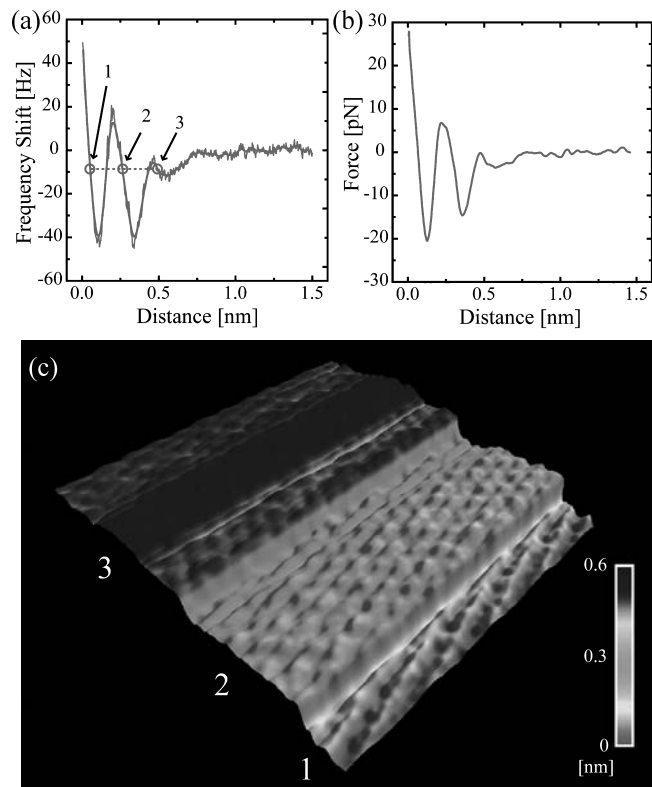


図3 PBS 溶液中の DPPC 二重層表面で計測した (a) Δf -距離曲線と、それから計算した (b) F_z -距離曲線. (c) PBS 溶液中の DPPC 二重層表面で計測した FM-AFM 像 ($8 \times 8 \text{ nm}^2$)¹²⁾.

に観察することで、そこに形成される脂質-イオン複合体のネットワーク構造を直接可視化することにも成功している¹⁵⁾。さらに、連続して同じ範囲の画像を取得することで、脂質-イオンネットワークがダイナミックに変化する様子をも可視化した¹⁵⁾。これらの結果は、FM-AFM が固液界面において表面構造だけでなく、それと相互作用する水分子やイオンの分布をも可視化できることを示したという点において、非常に重要な意義を持っている。

6. 水和計測への応用

液中 FM-AFM で1次元的な F_z -距離曲線を測定することで水和層のZ方向の広がりに関する情報が得られる(図3(b))。また、2次元的なFM-AFM 像を得ることで水和層のXY方向の広がりに関する情報も得られる。原理的には、これらの情報を組み合わせることで、水分子の3次元的な広がりに関する有用な情報を得ることができる。実際、上記の脂質/水界面の研究例では、従来手法では得られなかった新たな情報が得られた。しかしながら、水和分布に限らず、固液界面現象に関わる様々な物理量は3次元的な空間分布を有しており、それを1次元プロファイルと2次元画像の組み合わせから理解しようとするのは、実用上大きな問題がある。第一に、非常に効率が悪く時間がかかる。第二に、1次元プロファイルを取得するXY位置を原子レベルで制御することは容易ではなく、2次元画像と正確に比較・対照することは困難である。第三に、探針-試料間距離はすべてのZ位置において制御できるわけではないため、特定のZ位置においてしか2次元画像を得ることができない。

以上のような問題を解決するために、著者らは、固液界面の3次元イメージングを可能とする3次元走査型原子間力顕微鏡(3D-SFM)を開発した¹³⁾。従来のFM-AFM イメージング(2D-SFM)では、 F_z が一定となる面、すなわち等相互作用力面を、Z方向の厚みを持たない2次元画像として可視化していた(図4(a))。一方、3D-SFMでは、探針をXY方向だけでなく、Z方向にも高速に走査する。そして、この間に生じる Δf の変化をリアルタイムに記録する。これにより、探針は3次元界面空間全体を走査することになるため、 Δf の3次元分布像を取得することができる。

この3D-SFMを用いるために必要となる装置構成は、従来の2D-SFMと大きくは変わらない。図1(a)において、波形生成回路から正弦波状(もしくは三角波状)のZ変調信号

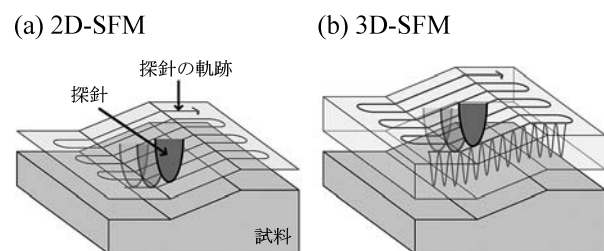


図4 (a) 2D-SFM と (b) 3D-SFM の動作原理¹³⁾。

z_m を生成する. これを PI 制御器からの出力 z_0 と加算して, Z 制御信号 z を生成する. このとき, Z 変調信号の周波数は, 探針-試料間距離制御回路のフィードバック帯域よりも十分高く設定する必要がある. そうしなければ, Z 変調信号に同期した探針の Z 方向の動きは, 探針-試料間距離制御回路によって打ち消されてしまうためである. 一般的な測定条件では, 探針-試料間制御回路の帯域は 100 Hz 程度であるため, Z 変調周波数は 200 Hz 以上に設定することが望ましい. また, 固液界面の広がり分子 1-2 層程度, すなわち 0.5 nm 程度である. したがって, Z 変調の振幅は 1 nm 前後に設定すれば十分である. したがって, 高速な変調周波数にも関わらず探針の走査速度は著しく増大することはない.

このように 2D-SFM から 3D-SFM への拡張は, 原理的には簡単であるが, 実際に使用する場合にはいくつかの留意点がある. 第一に Z 位置を高速に変調する必要があるため, スキャナの動作速度が比較的高速である必要がある. 第二に, Δf の高速な変化を検出するために, PLL 回路の動作帯域が十分高速である必要がある. 最後に, 高速に変化する Δf 信号をリアルタイムに XYZ 位置に対して記録するデータ収録システムが必要である. これは現在の最先端のデジタル信号処理技術の速度を考えると, 比較的容易に実装できる要求仕様であるが, 現在一般に市販されている AFM コントローラの速度では, 十分でない場合が多い. 特に, 今後, Δf 信号だけでなく, カンチレバーの直流変位, 励振振幅, 振動振幅, 位相などの情報を同時に記録する需要が高まり, より高速なデータ収録システムが必要となることが予想される. 著者らは, FM-AFM 動作の高速化を目指して, 高速な Z スキャナ¹⁶⁾, PLL 回路¹⁷⁾ の開発を行っており, これらの技術を 3

次元計測技術の開発へと応用することで, これらの問題を解決した.

図 5 に, 3D-SFM をマイカ/水界面のイメージングへと適用した例を示す¹³⁾. まず, 3D-SFM を用いてマイカ/水界面の 3 次元 Δf 像を取得する. この例では, 1 つの 3 次元画像を約 53 秒で取得した. 次に, 3 次元 Δf 像を計算により 3 次元 F_1 像へと変換する. 後は, 任意の位置における 1 次元の F_1 -距離曲線や, 2 次元の XY 断面, Z 断面などを抽出することで, 水分子の 3 次元分布を詳細に解析できる. 図 5 (c) は, このようにして 3D-SFM 像から抽出した XY および Z 断面から構成したマイカ/水界面の 3 次元構造モデルである. マイカ表面に平行な帯状に分布する水和層と, OH 基の上部に局在する吸着水に, それぞれ相当する明るいコントラストが観察されていることが分かる. この結果は, これまでに X 線反射率測定¹⁸⁾ やモンテカルロシミュレーション¹⁹⁾ によって予測されてきたマイカ/水界面のモデルとよく一致しており, 3D-SFM により固液界面の 3 次元水和分布を可視化できることを強く示唆している.

7. まとめ

液中 FM-AFM の開発により, 液中 AFM の性能は著しく向上した. 液中 FM-AFM により, 無機材料のみならず, 有機分子, 生体分子システムの表面構造をもサブナノメートルの分解能で液中観察できるようになった. また, 固体表面だけでなく, それと相互作用する水分子・イオンの分布をも可視化できる可能性が示された. さらに, 2D-SFM から 3D-SFM への拡張により, 固液界面の水分子の 3 次元分布をサブナノメートルの分解能で直接可視化できるようになった. 特に, 固液界面における水和現象は, 生物学だけでなく, 電気化学, トライボロジーなど様々な分野に深く関係しているため, 3D-SFM の開発によって, 液中 FM-AFM の応用分野は今後さらに拡大するものと予想される. これらの結果を受けて, 数年前から国内外の AFM メーカーの多くが FM-AFM 動作モードを備えた製品の開発に着手しており, 間もなく一般ユーザが利用できる環境が整う見込みである. 本稿が, これらのユーザが液中 FM-AFM を使い始める際のの一助となれば幸いである.

文 献

- 1) Albrecht, T.R., Grütter, P., Horne, D. and Ruger, D.: *J. Appl. Phys.*, **69**, 668-673 (1991)
- 2) Kitamura, S. and Iwatsuki, M.: *Appl. Phys. Lett.*, **72**, 3154-3156 (1998)
- 3) Sugimoto, Y., Pou, P., Abe, M., Jelinek, P., Pérez, R., Morita, S. and Custance, O.: *Nature*, **446**, 64-67 (2007)
- 4) Sugimoto, Y., Pou, P., Custance, O., Jelinek, P., Abe, M., Perez, R. and Morita, S.: *Science*, **322**, 413-417 (2008)
- 5) Fukuma, T., Kimura, M., Kobayashi, K., Matsushige, K. and Yamada, H.: *Rev. Sci. Instrum.*, **76**, 053704 (2005)
- 6) Fukuma, T., Kobayashi, K., Matsushige, K. and Yamada, H.: *Appl.*

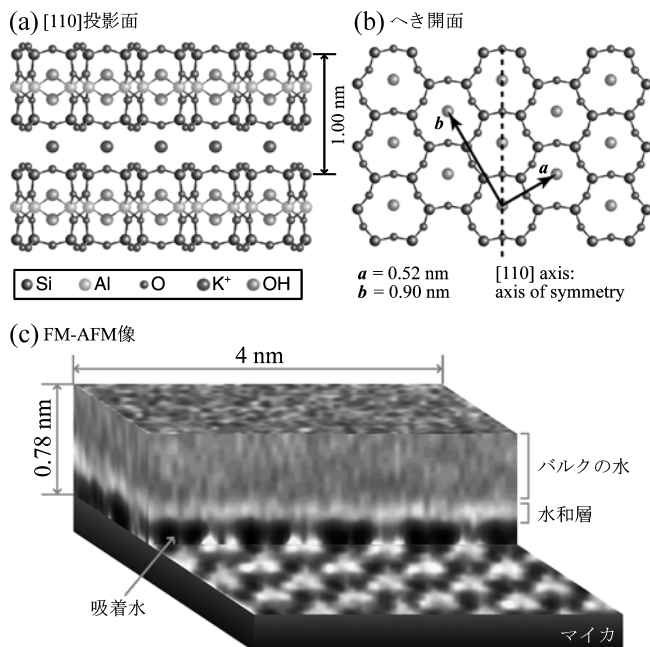


図 5 マイカの (a) [110] 投影面と (b) へき開面の結晶構造モデル. (c) マイカ/水界面の 3D-SFM 像から XY および XZ 断面を抽出して構成した 3 次元構造モデル¹³⁾.

- Phys. Lett.*, **87**, 034101 (2005)
- 7) Yamada, H., Kobayashi, K., Fukuma, T., Hirata, Y., Kajita, T. and Matsushige, K.: *Appl. Phys. Express*, **2**, 095007 (2009)
 - 8) Hoogenboom, B.W., Hug, H.J., Pellmont, Y., Martin, S., Frederix, P.L.T.M., Fotiadis, D. and Engel, A.: *Appl. Phys. Lett.*, **88**, 193109 (2006)
 - 9) Higgins, M.J., Polcik, M., Fukuma, T., Sader, J.E., Nakayama, Y. and Jarvis, S.P.: *Biophys. J.*, **91**, 2532–2542 (2006)
 - 10) Fukuma, T., Mostaert, A.S., Serpell, L.C. and Jarvis, S.P.: *Nanotechnology*, **19**, 384010 (2008)
 - 11) Asakawa, H. and Fukuma, T.: *Nanotechnology*, **20**, 264008 (2009)
 - 12) Fukuma, T., Higgins, M.J. and Jarvis, S.P.: *Biophys. J.*, **92**, 3603–3609 (2007)
 - 13) Fukuma, T., Ueda, Y., Yoshioka, S. and Asakawa, H.: *Phys. Rev. Lett.*, **104**, 016101 (2010)
 - 14) Sader, J.E. and Jarvis, S.P.: *Appl. Phys. Lett.*, **84**, 1801–1803 (2004)
 - 15) Fukuma, T., Higgins, M.J. and Jarvis, S.P.: *Phys. Rev. Lett.*, **98**, 106101 (2007)
 - 16) Fukuma, T., Okazaki, Y., Kodera, N., Uchihashi, T. and Ando, T.: *Appl. Phys. Lett.*, **92**, 243119 (2008)
 - 17) Mitani, Y., Kubo, M., Muramoto, K. and Fukuma, T.: *Rev. Sci. Instrum.*, **80**, 083705 (2009)
 - 18) Cheng, L., Fenter, P., Nagy, K.L., Schlegel, M.L. and Sturchio, N.C.: *Phys. Rev. Lett.*, **87**, 156103 (2001)
 - 19) Park, S.-H. and Sposito, G.: *Phys. Rev. Lett.*, **89**, 085501 (2002)