周波数変調原子間力顕微鏡を用いた溶液環境下の ナノスケール電位・電荷密度計測

山 田 啓 文

京都大学大学院工学研究科 615-8510 京都府京都市西京区京都大学桂

(2016 年 7 月 25 日受付 ; 2016 年 8 月 9 日掲載決定)

Nanometer-Scale Electric Potential and Charge Density Measurements in Electrolyte Solution Using Frequency Modulation Atomic Force Microscopy

Hirofumi YAMADA

Kyoto University, Katsura, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8510

(Received July 25, 2016 ; Accepted August 9, 2016)

Surface charges on nanometer-scale structures in liquids play an essentially important role in various physical, chemical and biochemical phenomena such as ionic adsorptions, microscopic electrode reactions and specific ligand bindings. These molecular-scale interactions are mediated through local electric double layers (EDLs) formed by the counter ions in electrolyte solution. Although static-mode atomic force microscopy (AFM) including colloidal probe AFM is a powerful technique for surface charge density measurements and EDL analysis on a submicron scale in liquids, precise surface charge density analysis with molecular resolution has not been realized because of its limitation of the resolution and the electrical force detection sensitivity. Here recent molecular-scale surface charge measurements of self-assembled micellar structures and biomolecules by three-dimensional (3D) force mapping based on frequency modulation AFM are presented.

KEYWORDS : electric double layer force, solid-liquid interface, frequency modulation AFM, 3-dimensional force mapping

1. は じ め に

固液界面は、結晶成長、触媒反応など種々の物理・化学現象、さらには様々な生体機能が発現する活性場として重要な役割を担っており、近年、その役割の分子レベルでの理解を目指す研究が急速に進展しつつある。特に、界面におけるイオン吸着や電気二重層形成あるいは電極反応過程には、上記活性場の発現が密接にかかわっており、電気二重層内外ではたらく電氣的相互作用は本質的な役割を担っているところから、現在、溶液中でのナノスケール電位・電荷計測が強く求められている¹⁻⁷⁾。

大気・超高真空中においては、静電気力顕微鏡 (EFM : Electric Force Microscopy)^{8,9)}やケルビンプローブ

原子間力顕微鏡 (KFM : Kelvin-probe Force Microscopy)^{10,11)}など局所電場の変調に基づく走査プローブ計測によって、ナノメートルスケールでの局所電荷や表面電位計測法は完全に確立しており、実際、幅広い分野に応用されている。しかしながら、電解質中の局所電荷は電気二重層によって遮蔽されるために、上記手法による電気計測は著しく困難なものとなる¹²⁻¹⁴⁾。一方、拡散二重層の重なりによって生じる浸透圧力を起源とする電気二重層力¹⁵⁻¹⁷⁾を検出することで、拡散二重層の3次元分布を測定することによって、界面における電荷分布を計測することが可能であることがわかり、液中電位・電荷分布計測に応用されつつある^{18,19)}。

本稿では、周波数変調原子間力顕微鏡を用いた3次元フォースマッピング法に基づく電気二重層力計測について概説するとともに、界面活性剤ミセルおよび生体分子

周囲のナノスケール電位・電荷密度計測の最近の研究成果について述べたい。

2. 電気二重層力の検出

2.1 溶液中における局所電場測定—交流電場応答—

KFM や EFM は、探針（あるいは試料）にはたらく局所的な Maxwell 応力の計測，すなわち局所電場の検出であり，また，この局所電場が探針-試料間距離に高感度に依存することに基づき高い空間分解能計測を実現している。一方，電解質溶液中では，Fig. 1 (a) の模式図で示されるように，探針上およびカンチレバー表面上に電気二重層が形成され，探針-試料間だけが容量結合している大気・真空中とは異なり (Fig. 1 (b))，その電気的環境は著しく複雑なものになる¹²⁻¹⁴⁾。

この電気二重層内の電場の強さは，基本的には外部電圧と下記で表されるデバイ遮蔽長 κ_D^{-1} ($=\lambda_D$) によって決まる。

$$\kappa_D^{-1} = \sqrt{\frac{\epsilon k_B T}{2 n_{ion} Z^2 e^2}}$$

ここで n_{ion} , Z , e および ϵ は，それぞれイオン濃度，イオンの価数，素電荷および溶液の誘電率を表す。また k_B および T はそれぞれボルツマン定数，絶対温度を示す。 λ_D は通常数 nm 程度であり，遠方にあるカンチレバー表面にも強い Maxwell 応力がはたらき，結果的に電気力の探針-試料間距離への依存性はきわめて小さくなる。このため，局所的な電気力検出は困難なものとなる。

探針-試料系の周波数応答を，Fig. 2 (a)-(c) に示されるように単純化した等価回路によって考える^{12,13)}。ここで C_D , C_B および R_B は，それぞれ電気二重層に相当する電気容量，溶液の電気容量および溶液抵抗を示す。低周波域では C_D にすべての電圧が加わり，電気二重層内には強い電場が閉じ込められ (Fig. 2 (d))，カンチレバーが遠方にあっても，大きな Maxwell 応力が作用することから，静電相互作用の距離依存性は失われ，EFM 動作は困難となる。一方，探針-試料間に加わる交流周波数が，イオン濃度 n_{ion} に依存する次の特性周波数 f_D

$$f_D = \frac{1}{2\pi(C_D/2)R_B} \propto \sqrt{n_{ion}}$$

を越えると，電気二重層の効果は減少していく。さらに周波数が上がり，もう一つの特性周波数 f_c

$$f_c = \frac{1}{2\pi C_B R_B} \propto n_{ion}$$

を越えると，溶液の容量インピーダンスが R_B より小さくなり，等価回路は (c) のようになる。表面電場は探

Fig. 1. (color online). Schematic models of AFM cantilever with a tip electrostatically interacted with a sample surface in electrolyte solution (a) and in air/vacuum (b).

Fig. 2. Simplified model circuits between tip (T) and sample (S) in electrolyte in the following frequency ranges, $f < f_D$ (a), $f_D < f < f_c$ (b) and $f_c > f$ (c), where f_D , f_c , C_D , C_B and R_B are defined in the text. Typical electrical potential between tip and sample (d).

針-試料間距離に依存するようになり，局所電場の検出が可能となる。しかしながら，現実的な電解質濃度を考えると f_c は非常に大きくなるため，その実現は容易ではない^{13,14)}。

2.2 電気二重層力

溶液中において探針が試料にデバイ遮蔽長程度まで近づくと，探針表面および試料上に形成されている電気二重層の重なりによって相互作用力が生じる（電気二重層力）。この相互作用は，電気二重層が重なる領域だけに限定されるため，局所的な相互作用検出が可能となる。電気二重層力は，静電的な相互作用であるマクスウェル応力と，統計力学的な浸透圧力の和で表される。探針-試料間の静電ポテンシャルを $\phi(r)$ とすれば， $\phi(r)$ は次の Poisson-Boltzmann 方程式により記述される。

$$\nabla^2 \left(\frac{Ze}{k_B T} \phi(r) \right) = -\kappa_D^2 \sinh \left(\frac{Ze}{k_B T} \phi(r) \right)$$

この方程式は非線形であり容易には解けないが，線形近似が成立し，2 平面間の問題に帰着できる場合には比較的簡単な表式となる (Derjaguin 近似)¹⁷⁾。たとえば，探針を半径 R の球とし，距離 d だけ離れた試料を平面とし，各々の表面電荷密度を σ_t , σ_s とすれば，電気二重層

力 F_{EDL} は,

$$F_{EDL} = \frac{2\pi R}{\epsilon\kappa_D} [(\sigma_i^2 + \sigma_s^2)e^{-2\kappa_D d} + 2\sigma_i\sigma_s] \frac{1}{1 - e^{-2\kappa_D d}}$$

と表される。上記電気二重層力は、Derjaguin, Landau, Verwey, Orverbeek らによる先駆的研究によって詳細に解析されたことから、van der Waals 力 F_{vdW} と合わせて DLVO 力 F_{DLVO} と呼ばれる。

$$F_{DLVO} = F_{EDL} + F_{vdW}$$

現実的な σ_i , σ_s の組み合わせにおける F_{DLVO} の距離依存性を計算してみると, σ_i , σ_s の符号が異なる場合, 静電的には引力となるが, 条件によっては F_{EDL} は符号によらず, 浸透圧力が主要な寄与となるため, 斥力となる。

2.3 3次元フォースマッピング法

周波数変調原子間力顕微鏡 (FM-AFM) では, 周波数シフトの距離依存性 (周波数シフトカーブ) から相互作用力を定量的に求めることが可能である。現在, もっとも一般的な手段は Sader の変換式によりフォースカーブを得る方法である²⁰⁾。さらに, 試料の測定対象領域上での3次元の周波数シフトデータを取得すれば, 表面形状の再構成が可能となり, 取得した周波数シフトカーブ (したがってフォースカーブ) と測定位置との対応が明確となる。この手法は3次元フォースマッピング法と呼ばれ, 溶液環境下において水和力や F_{EDL} の空間分布を計測することが可能となる^{21~23)}。

3次元の周波数シフトデータが結果的に取得できれば, 探針走査の方法はどのような方法でも構わないが, 液中測定では, 探針を z 方向に走査して通常の周波数シフトカーブ測定を行い, x 座標を変化させながらこれを繰り返すことで, z - x 面内の周波数データを取得, さらに y 方向に探針を動かすことで, 最終的に3次元のフォースマップデータを得る方法が一般的となっている²³⁾。その測定模式図を Fig. 3 に示す。

Fig. 3. (color online). Schematic of three-dimensional (3D) force/frequency shift (Δf) mapping method.

3. 表面ミセル上の局所電荷密度¹⁸⁾

溶液中の両親媒性分子は, その臨界濃度 (臨界ミセル化濃度) を越えると, ミセル構造を形成する。親水性部がイオン性の場合は, ミセル表面はイオン解離によって帯電し, ミセル上には電気二重層が形成される。われわれは, 典型的な両親媒性分子であるドデシル硫酸ナトリウム (SDS : sodium dodecyl sulfate) のミセル構造の表面電荷密度を電気二重層力測定によって評価した。SDS のミセル構造はグラファイト表面上にも形成されることが知られており²⁴⁾, 本実験ではこの表面ミセル構造上の電気二重層力を測定した¹⁸⁾。

Fig. 4 (a) に, グラファイト-SDS 溶液 (34 mM) 界面で得られた FM-AFM 像の一例を示す。AFM 像には約 5 nm 周期のストライプ構造が見えるが, この構造は, Fig. 4 (b) のモデル図で示すように, グラファイト上の SDS によって形成される半円筒ミセルを反映している。Fig. 5 (a) に, この半円筒ミセルストライプ構造の3次元周波数シフトマップを示す。図中の濃淡はカンチレバーの共振周波数シフト量を示し, z - x 断面にはミセル半円筒状構造が現れている。Fig. 5 (b), (c) は, (a) 中

Fig. 4. (color online). (a) Topographic FM-AFM image of SDS self-assembled aggregates on graphite, showing a stripe structure with a periodicity of 4.8 nm. The image size is 49 nm $\times$ 49 nm. (b) Schematic of hemicylindrical SDS molecular assembly on graphite.

Fig. 5. (color online). (a) 3D Δf map on SDS molecular assembly. (b) Two-dimensional (2D) Δf map corresponding to a z - x cross-sectional slice indicated as (b) in (a). (c) 2D Δf map corresponding to another z - x slice indicated as (c) in (a).

Fig. 6. (color online). Illustrations of AFM tip position with respect to SDS molecular assembly. The tip in Region I is above the assembly (a) while it starts to press the molecules in Region II (b).

Fig. 7. (color online). (a) Frequency shift curve obtained by averaging on the top of SDS hemicylinder (dotted curve) and that obtained on the valley between the two cylinders (solid curve). The peak (P1) and the shoulder peak (P2) appeared in both frequency shift curves are caused by the solvation force of the SDS molecules. (b) Force versus distance curves converted from the corresponding two curves in (a).

の異なる y 座標 ((a) 内の (b), (c)) における z - x 面の 2 次元周波数シフトマップを示すが、どちらの図においても半円構造 (= 半円筒構造断面) が確認できる。Fig. 5 (c) における Region I は、探針がミセル表面に到達する前の領域であり (Fig. 6 (a)), 一方, Region II は、探針がミセル表面に接触し、さらにはミセル貫通した後の領域における周波数シフトデータに相当する (Fig. 6 (b))。

Fig. 7 (a) の二つの曲線は、各々、Fig. 5 (b) における破線 (1) および実線 (2) に沿って得られた周波数シフトカーブを示す。すなわち、(1) は SDS 半円筒ミセル構造の山部を通る周波数シフトカーブに相当し、(2) は、ミセル構造の谷部を通る周波数シフトカーブに相当

する。どちらの曲線においても、遠方から $z=2$ nm 付近まで、周波数シフト量は (指数関数的に) 増加しているが、これは探針が電気二重層斥力を受けることを示している²⁴⁾。山部を通る曲線は $z=2.1$ nm 付近で周波数シフト量が急激に減少するが、これは、この点で SDS ミセルが探針によって破壊されることを示唆している。さらに探針がグラファイト基板に接近すると、周波数シフト曲線は複雑に増減する。アルキル長鎖をもつ分子はグラファイト表面に水平配向しやすいことから、これは、探針と分子の接触によって引き起こされた水平配向構造 (層状構造) に由来する溶媒和力を示すと考えられる (Fig. 7 (a) の P₁, P₂ および Fig. 5 (b) の P₁, P₂ を参照のこと)。一方、谷部では (曲線 (2)), ミセル構造は、より基板に接近した点 ($z=1.5$ nm 付近) で破壊されることがわかる。これらの周波数シフトカーブを、Sader の方法により力に変換して得られたフォースカーブを Fig. 7 (b) に示す。これより、SDS の集合体構造は 0.1 nN 程度の力で破壊されることがわかる。

3 次元の電気二重層力分布から局所電荷密度を求めるには、境界条件を含む Poisson-Boltzmann 方程式を解く必要があるが、一般にこれは難解である。一方、もっとも簡単な近似法として、Derjaguin 近似があるが、デバイ長 λ_D に比べて微小な領域 (Δx とする) に適用すると、近似精度は著しく低下する。これに対して、探針・試料の各点における面素間の相互作用を積分することで、電気二重層力を求める方法が SEI 法 (Surface Element Integration) であり、その応用範囲は Derjaguin 近似より遥かに拡大し、 $\Delta x/\lambda_D=0.3$ から $\Delta x/\lambda_D=10$ の範囲で、比較的よい一致を示す。しかしながら、より微小な領域では SEI 法の近似度も低下し、実際、ミセル構造では、その谷部では 1 nm 以下の領域で電荷密度が急峻に変化することが予想される。われわれは、微小領域においても近似度の高い変形グリーン関数法 (single-layer potential 法) を新たに開発し¹⁸⁾、これによって実験で得られた試料形状および電気二重層力分布 (Fig. 8 (a)) からミセル構造の局所電荷密度を求めた。特に、試料構造が周期的であるような場合、フーリエ展開を利用することで変形グリーン関数法の適用はより容易になる。Fig. 8 (b) は変形グリーン関数法によって求められた電荷密度分布を示す。ミセルの凹凸構造に従って、表面電荷密度はほぼ 0 (谷部) から約 -250 mC/m² (山部) まで変化する。谷部では、SDS 分子のスルホン酸頭部の電荷的反発から分子密度/電荷密度が低下し、その影響で逆に山部の密度が高くなることに起因すると思われる。平均的な電荷密度は -110 mC/m² となるが、この値は、先行研究の巨視的な実験から推定される値 -100

Fig. 8. (color online). (a) Experimental and calculated force profiles (indicated by dots and solid curves, respectively) at the heights (A), (B) and (C), as shown in Fig. 7 (b), respectively. Shaded area surrounded by two dashed curves is a theoretical force profile region for the height (C), obtained by taking the measurement noise in the force data (indicated by dots) into account. (b) Surface charge density distribution on SDS aggregates obtained from the force curves fitted to the experimental data. Shaded area is the charge density distribution corresponding to that of theoretical force profile in (a).

mC/m² にきわめて近い²⁴⁾。

4. DNA 上の電荷密度測定¹⁹⁾

DNA 分子は、デオキシリボース（5 炭糖）とリン酸で構成される 2 本の鎖（糖-リン酸鎖）が、アデニン、グアニン、シトシン、チミンの 4 種の核酸塩基の相補 2 量体によって平行に結合した構造（二重鎖）をしており、広く知られているように二重らせん構造を形成している。これら塩基の配列順序は遺伝情報を担っており、生体維持の根源的役割を果たしている。近年では、DNA の相補結合を利用して、所望のナノ構造を設計・プログラムし、構築しようとする DNA タイルや DNA オリガミなどの DNA ナノテクノロジーも急速に進展しつつある。

DNA の糖-リン酸鎖上には 0.34 nm 周期でリン酸基が並ぶが、pH 7 の水溶液中ではリン酸基上のプロトンが解離するため、DNA 分子は負に帯電する。DNA における様々な生機能発現にかかわる DNA 結合タンパク質分子は、多くの場合、このリン酸部の負電荷と強く相互作用することで、DNA 鎖に結合することから、DNA 上の局所電荷分布の解明が求められている。

Fig. 9. (color online). Representations of 3D- Δf map of plasmid DNA molecule on a PL layer obtained in 100 mM KCl solution.

Fig. 10. (color online). (a) Constant Δf topographic image ($\Delta f = +100$ Hz) of plasmid DNA molecule on a PL substrate, reconstructed from the 3D- Δf data in 100 mM solution. The arrows indicate the helical periodicity of the DNA molecules, which is about 3.6 nm. (b) XY-2D- Δf map obtained 0.4 nm above DNA. (c) ZX-2D- Δf map extracted from the 3D- Δf data in a ZX plane crossing DNA.

一般に DNA 分子の固定基板には原子的平坦性を有する muscovite mica が用いられるが、mica 表面は負帯電しているため、2 価カチオンを添加することで、カチオンを介して DNA を基板に吸着させる方法^{25, 26)} が用いられる。しかしながら、2 価カチオンを用いる方法では、表面の電荷状態は複雑であり、定量的電荷密度の評価に向けては難点があるといわざるを得ない。われわれは、細胞接着等にしばしば用いられる poly-L-lysine (PL) を

mica 表面に堆積し、これを基板とすることでこの問題を回避した。PL 膜は pH 7 の水溶液中において正に帯電している。また本実験では λ -phage より抽出した λ DNA を用いた。

Fig. 9 に PL 膜上の DNA の 3 次元周波数シフトマップを示す (100 mM KCl 溶液中)。Fig. 10 (a) は、3 次元周波数シフトマップから再構成された AFM 形状像 (周波数シフト Δf 一定像: $\Delta f = 100$ Hz) で、上方から右方に屈曲している DNA が見える。PL 膜の平坦性が十分でないため見えにくいものの、矢印で示されている部分に、3.6 nm のらせん周期構造もかろうじて見える。解像度は電気二重層力にも関連する。100 mM 溶液のデバイ長は上記らせん周期と同程度である。Fig. 10 (b) は、DNA 分子上約 0.4 nm の位置における高さ一定の 2 次元 (XY 面) 周波数シフト再構成像であり、DNA 周囲の電気二重層力を反映する。一方、Fig. 10 (c) は、(b) 内の破線 A-B を含む ZX 面の周波数シフト再構成像である。左の DNA 上の周波数シフトが正であるのに対し、周囲の平坦部 (PL) 上では周波数シフトは負を示し定性的にも電気二重層力の正負、すなわち、表面電荷の正負を反映している。この Fig. 10 (c) の中に示される破線 E-E' (DNA 上) および F-F' (PL 上) に沿って得られた各々の周波数シフトカーブを Fig. 11 (a) に示す。近距離では化学結合力や van der Waals 力が支配的であるが、0.5 nm 以上離れた領域では、指数関数的距

離依存性を示す電気二重層力が支配的となる。実験データから得られた周波数シフトデータを基に、 F_{EDL} 計算し、これを周波数シフトに変換した半理論的な周波数シフトマップを Fig. 11 (b) に示す。この計算から、DNA 上の F_{EDL} は PL 上から分離されていることがわかる。得られた電荷密度は -0.15 mC/m² (± 0.03 mC/m²) となり、リン酸基が全電離した場合となる理論電荷密度ときわめて近いことがわかった。

5. お わ り に

これまで溶液下で困難であった局所電位・電荷測定が、電気二重層力の 3 次元フォースマッピングにより可能となり、今後様々な電氣的測定へと応用されることが予想される。一方で、この方法は基本的にフォースカーブ解析に基づいていることから、いくつかの課題がある。一つには、空間分解能の点で重要となる近距離部の解析であるが、近距離領域のフォース解析においては、水和構造力、van der Waals 力、化学力など様々な相互作用力が混在するため、電気二重層力を分離して計測できるかどうかは鍵となる。また、測定データの解析においては、複雑な Poisson-Boltzmann-Nernst 方程式を解く必要があるため、境界条件が単純でない場合、計算精度を十分に考慮する必要がある。さらに、本手法はフォースカーブ測定である静的計測であるため、動的応答が求められる場合には、新たな時間分解手法を織り交ぜていく必要があると考える。今後のさらなる進展に期待したい。

謝 辞

本稿で紹介した研究は、日本学術振興会・科学研究費補助金基盤研究 (S)「複合機能プローブシステムによるバイオ・ナノ材料の分子スケール機能可視化」の下に遂行されました。また、京都大学工学研究科・小林圭准教授、同・鈴木一博博士 (現東芝ナノアナリシス(株)) および同・梅田健一博士 (現東京大学新領域創成科学研究科) を始めとして、本研究に携わった研究者の皆様にはここに深く感謝致します。

文 献

- 1) S. Manne, J.P. Cleveland, H.E. Gaub, G.D. Stucky and P.K. Hansma : Langmuir **10**, 4409 (1994).
- 2) S. Manne and H.E. Gaub : Science **270**, 1480 (1995).
- 3) I.A. Aksay, M. Trau, S. Manne, I. Honma, N. Yao, L. Zhou, P. Fenter, P.M. Eisenberger and S.M. Gruner : Science **273**, 892 (1996).
- 4) C. Rotsch and M. Radmacher : Langmuir **13**, 2825

Fig. 11. (color online). (a) Frequency shift (Δf) curves obtained from the ZX-2D- Δf map in 100 mM solution (E-E', F-F' in Fig. 10 (c)). The red and blue curves were obtained on the DNA molecules and the PL substrate, respectively. Black dotted curves are the theoretically fitted curves to the experimental curves. (b) Theoretically calculated 2D (ZX)- Δf map (30×15 nm²). The gray circle indicates the position of the DNA molecule.

- (1997).
- 5) T. Miyatani, M. Horii, A. Rosa, M. Fujihira and O. Marti : Appl. Phys. Lett. **71**, 2632 (1997).
 - 6) W.F. Heinz and J.H. Hoh : Biophys. J. **76**, 528 (1999).
 - 7) X. Yin and J. Drelich : Langmuir **24**, 8013 (2008).
 - 8) Y. Martin, D.W. Abraham and H.K. Wickramasinghe : Appl. Phys. Lett. **52**, 1103 (1988).
 - 9) J.E. Stern, B.D. Terris, H.J. Mamin and D. Rugar : Appl. Phys. Lett. **53**, 2717 (1988).
 - 10) M. Nonnenmacher, M.P. O'Boyle and H.K. Wickramasinghe : Appl. Phys. Lett. **58**, 2921 (1991).
 - 11) J.M.R. Weaver and D.W. Abraham : J. Vac. Sci. Technol. **B 9**, 1559 (1991).
 - 12) K. Umeda, K. Kobayashi, N. Oyabu, Y. Hirata, K. Matsushige and H. Yamada : J Appl. Phys. **113**, 154311 (2013).
 - 13) K. Umeda, K. Kobayashi, N. Oyabu, Y. Hirata, K. Matsushige and H. Yamada : J Appl. Phys. **116**, 134307 (2014).
 - 14) L. Collins, S. Jesse, J.I. Kilpatrick, A. Tselev, O. Varenyk, M.B. Okatan, S.A.L. Weber, A. Kumar, N. Balke, S.V. Kalinin and B.J. Rodriguez : Nat. commun. **5**, 3871 (2014).
 - 15) D. Gingell and V.A. Parsegian : J. Colloid Interface Sci. **44**, 456 (1972).
 - 16) L.D. Landau, E.M. Lifshitz and L.P. Pitaevskii : "Electrodynamics of Continuous Media" 8 (1st ed.) (Butterworth-Heinemann, 1984).
 - 17) J.N. Israelachvili : "Intermolecular and Surface Forces" 2nd ed. (Academic Press, 1991).
 - 18) K. Suzuki, K. Kobayashi, N. Oyabu, K. Matsushige and H. Yamada : J. Chem. Phys. **140**, 054704 (2014).
 - 19) K. Umeda, K. Kobayashi, N. Oyabu, K. Matsushige and H. Yamada : Nanotechnology **26**, 285103 (2015).
 - 20) J.E. Sader and S.P. Jarvis : Appl. Phys. Lett. **84**, 1801 (2004).
 - 21) K. Kimura, S. Ido, N. Oyabu, K. Kobayashi, Y. Hirata, T. Imai and H. Yamada : J. Chem. Phys. **132**, 194705 (2010).
 - 22) T. Fukuma, Y. Ueda, S. Yoshioka and H. Asakawa : Phys. Rev. Lett. **104**, 016101 (2010).
 - 23) K. Kobayashi, N. Oyabu, K. Kimura, S. Ido, K. Suzuki, T. Imai, K. Tagami, M. Tsukada and H. Yamada : J. Chem. Phys. **138**, 184704 (2013).
 - 24) E.J. Wanless and W.A. Ducker : J. Phys. Chem. **100**, 3207 (1996).
 - 25) D. Pastré, O. Piétrement, P. Fusil, F. Landousy, J. Jeusset, M.O. David, C. Hamon, E. Le Cam and A. Zozime : Biophys. J. **85**, 2507 (2003).
 - 26) F. Kienberger, L.T. Costa, R. Zhu, G. Kada, M. Reithmayer, L. Chtcheglova, C. Rankl, A.B.F. Pacheco, S. Thalhammer, V. Pastushenko, W.M. Heckl, D. Blaas and P. Hinterdorfer : Biomaterials **28**, 2403 (2007).