

SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

HITACHI

SEPTEMBER 1999
VOL.42 No.1

目次

巻頭言

我が国の科学技術に思う

藤田廣志……………1

報文

中枢神経系に見られた特異な細胞質内
封入体の電顕的研究

桂木正一……………3

蛍光偏光度の計測と溶液中分子検出
への応用

鶴岡 誠 福原啓聡……………6

ラウンジ

“貝紫”との出会い

下山 進……………10

解説

HD-2000超薄膜評価装置とその応用

橋本隆仁 今野 充 矢口紀恵

上野武夫 砂子沢成人……………13

コンビナトリアルケミストリー用

高速精製システム-HTPAー

三浦順吉……………18

学会発表ミニファイル……………22

新製品紹介

・P-5000形 ICP質量分析装置の紹介 12

・TEM試料作製用前処理装置「マイ
クロサンプリング装置」の紹介…12

(計)会員制ホームページのご紹介 21

トピックス

・創立50周年記念

日本電子顕微鏡学会 報告……………5

・超高圧電子顕微鏡日米間で

遠隔操作に成功……………24

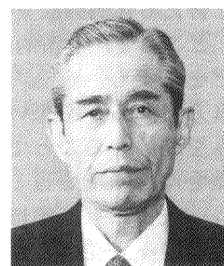
・第60回分析化学討論会……………24

巻頭言

我が国の科学技術に思う

A Suggestion for Science and Technology in Japan

藤田 廣志*



独創性の原点となる基礎科学部門の遅れが我が国ではよく問題になりますが、近代科学の導入を“学ぶは真似ろ”の掛け声で闇雲に行った結果、発想人のプライオリティの軽視と外人コンプレックスが後遺症となり、未だに“日本国内ではノーベル賞級の仕事は出来難い”と言われるのが現実です。更に、日本人の中にも“日本民族は独創性は苦手だが真似ることは旨い。何も苦手なことをせずとも、他人の見つけた物を真似してでも安くて良い物をどんどん作れば良い”と言って居る人がいます。

そのような人達は知的先進国としての責任は兎も角、既存の知識に基づき技術では既に発展途上国に急速に間を詰められている我が国の将来をどの様に考えているのでしょうか。

では、日本人は本来独創性に乏しいかと言えば、かつて世界の近代美術に大きな影響を与えた浮世絵を初め、多くの分野で独創的な仕事が多く行われています。これらは総て、他人の真似を嫌い、独創性のある成果に喝采を送った当時の人々の強い支持があった結果と考えられます。ところが、明治時代に欧米より輸入された近代科学を始めとする諸々の学問では、何故かこの独創性が失われています。本来、自然科学には専門分野という境界はなく、古くは“愛智”(哲学)という言葉で統一されていたものが、その発祥地・欧州で人類の要求に応じて各種の専門に分かれ、時代の進展と共に細分化を続けて来ました。しかし、欧州およびそれと流れを同じくする米国では、それら細分化された専門分野は総て一つの幹から別れ出た為に、異分野間でも“共通の言葉”は失われず、互いの情報交換は比較的容易に行われています。人類は自分達が得た知識を、“言葉”という符号で他人に伝え、それを代々蓄積出来たことが、現在の文明と文化を生んで来たといえます。その為には、誰にでも同一の情報を与える言葉で、異なる分野間でもそれぞれの立場から同一の話題について意見を交換出来る必要があります。これに対して、我が国での近代科学は、それらが細分された後に導入された為か、互いに関連性の殆どない状態で各専門分野が形成され、専門意識が強いばかりか、ともすれば排他的になり、互いを繋ぐ“共通の言葉”を失って自分の殻に閉じこもり、互いの情報交換を困難にしていると考えられます。最近では、この専門分野の細分化がさらに進んで、益々その傾向を強めていると言えます。

自然科学は自然の仕組みを理解することから始まりますが、自然自体は、生態

* 大阪大学名誉教授

機能一つを見ても理解出来るように、実に多様な要素から構成され、単にその一面だけを見ても到底その本質を理解することは出来ません。この点、欧米では異なる専門分野間で“共通の言葉”を持ち、互いに情報を交換することで多面的に自然を見つめて来ました。これに対して、狭い個々の専門知識では優れていても、学問の流れを変えるような新しい知見の創生を苦手とする我が国の弱点はその欠如にあると言えます。例えば、最近では所謂国際学会を含めて実に色々の学会やら研究会が驚く程多く国内外で開かれています。これらの会合の多くは狭い分野の人達だけの集まりのため、残念ながら発表される研究成果から画期的なものは望み難いことを多くの人達は経験しています。この欠点を取り除く為には、早急に異なる専門分野間で“共通の言葉”を求め合い、学術的会合では常に日頃とは異なる分野の意見が聞けるように、多面的に自然の仕組みを理解するという原点に立ち帰ることが必要不可欠と言えます。私達も、“新材料創製懇談会”や“超微細粒子とクラスター(Cluster Science and Technology)懇談会”などで、成熟した複数の学会が重要研究課題に協力し合える会合を試みて居ますが、一日も早く“共通の言葉”を取り戻して、互いに知恵を出し合える体制の設立が望まれます。

ところで、宇宙的出来事は勿論のこと、地震とか台風などを見ても、自然の仕組みの凄さに対して人類は如何に無力であるかを思い知らされます。科学とは自然の仕組みを理解することであり、技術とはそれによって得た知識を地球環境を良くすることに利用すべきですが、この科学技術にも人類はその蓄積した知識を過信している場合が屢々見受けられます。事実、従来の理論では予想も出来なかった新しい物質が最近次々と発見されています。絶縁体とばかり考えられていた酸化物が140K以上の高温で超伝導体に、C₆₀とかカーボン・ナノチューブなどの新しい炭素の仲間、空間を埋める事が不可能と考えられていた正五角形または正二十面体で構成された準結晶、高分子とか蛋白質と同様に信じられない特性を発揮する種々の無機元素の原子クラスター、などはその一例です。この事を見ても、現在最も進んだ学問の一つと考えられている物性物理でも、人類の知識はやっと自然の仕組みを理解し始めたに過ぎない事が分かります。

この奥深い自然の仕組みを更に理解するには、上述の異なる専門分野間の協力は勿論ですが、自然の仕組みにはそれぞれ或る“しきい値”があり、それを越えると全く新しい世界が見えて来ることに留意する必要があります。例えば、超伝導現象はアメリン・オネスの液体ヘリウムの製造無くしては発見出来なかったし、マッハの壁を越えると航空機の操縦方式が一変するなどの多くの実例

があります。光学顕微鏡の壁を一気に突破した電子顕微鏡もその一例であり、これ無くしては上述の新しい物質の発見は出来なかったと言えます。今後とも、価電子情報を得る手法と共に、この原子尺度の超微細組織を直接目で確かめられる電子顕微鏡は更に詳しい自然の仕組みの解明に必須の手段となるでしょう。その意味で、この方面で現在世界の頂点にある我が国の更なる発展を期待したいものです。

他人の蓄積した知識を習得することは容易ですが、誰も確かめていない新しい知識の獲得にはリスクも多く、大変な努力と能力、物質的のみならず金銭的投資が必要です。しかし、未知への挑戦は人類の夢であり、宝であり、今までに蓄積された知識はそのような先人の血の滲むような努力のお陰です。その意味で、これら既存の知識を利用するだけの創造性に乏しい国は、知的には後進国と呼ばれても仕方がありません。資源に乏しく、人件費の極めて高い我が国が今後国際的に指導的役割を果たすためには、知的財産しか考えられません。それが為には、既述の“共通の言葉”と“しきい値への挑戦”以上に、総ての人々がかって江戸時代に素晴らしい浮世絵を育てたように、他人の物真似を嫌い、新しい知識の創生に拍手を惜しまない土壌を創ることが不可欠でしょう。それによって、我が国内でも創造性に富んだ、ノーベル賞的成果の得られ易い環境が整えられることを期待する次第です。

著 者 略 歴

藤田廣志（大正15年9月7日生）

専攻 学科目 物性工学、電子線理工学

現職 大阪大学名誉教授

昭和27年 3月 大阪大学工学部冶金学科 卒業

昭和30年 3月 大阪大学大学院特別研究生前期終了

昭和32年 9月 大阪大学助手 産業科学研究所

昭和33年 4月 米国ニュージャージー州ラトガース大学客員
研究員

昭和36年 2月 工学博士

昭和38年 1月 大阪大学助教授 産業科学研究所

昭和38年 4月 科学技術庁金属材料技術研究所金属物理部
第4研究室長

昭和42年 2月 大阪大学教授 工学部

昭和46年 4月 大阪大学超高压電子顕微鏡室長 兼任

昭和58年 4月 大阪大学超高压電子顕微鏡センター長 併任

平成 2年 3月 大阪大学名誉教授

平成 2年 4月 近畿大学教授 理工学総合研究所

平成 5年11月 紫綬褒章

平成 6年 3月 日本学士院賞

平成 9年 3月 近畿大学定年退職

報 文

中枢神経系に見られた特異な細胞質内封入体の電顕的研究

Two Types of Peculiar Intracytoplasmic Inclusions in the Central Nervous System.----Electron Microscopic Study

桂木 正一*

はじめに

生物の細胞内には時として、その細胞が本来は持っていない構造物が出現し、核内であれば核内封入体、細胞質内であれば細胞質内封入体と称される。本稿では、中枢神経で神経細胞内と星状膠細胞に観察された特異な細胞質内封入体について各々1例ずつ、透過型電子顕微鏡で得られた所見を述べたい。

1. 抗癌剤による治療を受けた癌患者の海馬Sommer扇形部の神経細胞内の特異な封入体

本例は1981年に我々が報告した¹⁾。その後と同様な構造が他の研究者によって報告されることを期待しているが、1999年6月の時点で未だにない。そこで、先の報告に免疫組織化学的手法を加えるとともに、新たに超薄切片を作成し電子顕微鏡での観察を行った。

症例：死亡時67歳2ヶ月、女性。66歳6ヶ月で耳下腺腫瘍で摘出手術を受け、その後に1ヶ月に亘りブレオマイシン45mg、エンドキサン1200mg、5-FU2250mgの投与が行われた。術後6ヶ月後に再発が発見され、死亡の2ヶ月前から1ヶ月間にマイトマイシンC64mg、エンドキサン800mgの投与がなされた。神経症状としては顔面神経麻痺、回転性眼振のみで、記憶力障害等の知的機能障害を認めなかった。死因は化膿性肺炎、癌の組織型は粘液表皮癌であった。脳の重量は1220gで正常範囲で、癌の転移、浸潤を認めなかった。

電子顕微鏡試料作成：光顕標本の観察で、独特の封入体が海馬に見られたが、ホルマリン固定材料が保存されていなかったため、電顕材料はパラフィン包埋ブロックから脱パラを行って得られた。方法は以下のとおりである。パラフィン・ブロックから海馬Sommer扇形部を1mm角程度に細切し、キシロールに浸漬した。キシロールは新鮮なものを用い、12時間毎に4回入れ替えた。ついで、キシロールを除く目的で100%から50%のアルコール系列を用い各段階に30分ずつ浸漬した。その後pH7.3、0.1M磷酸緩衝液で1%としたオスミウム酸で1時間固定を行った。その後、通常の方法でエポンに包埋し、50nmの超薄切片を作成し、日立H-7000形およびH-7500形で電顕観察を行った。

結果：光顕的には、海馬Sommer扇形部の多数の神経細胞の細胞質内で核と頂上樹状突起の間に、円形の独特の封入体が存在した(図1)。染色性は嗜銀性とエオジン好性が特徴的であった。また、一部のもので抗ニューロフィラメント抗体が陽性であった。得られた電顕所見は、パラフィン・ブロックをキシレンで脱パラして標本を作るといふ、本来の電

顕試料作成から見るとかなり過酷な条件にも関わらず、封入体観察の目的からすれば満足できるものであった。電顕的にも、封入体は円形の構造をとっており、三層構造が観察された(図2, 3)。その直径は封入体の構成成分は直径9ないし27nmの線維で、各層の間で線維の走行状態、集合の密度が異なっていた(図3)。最内層は線維の密度は比較的疎で、走行方向もランダムであった。中間の層は、線維の密度が著しく高く、リング状の構造をとっていた。最外層はリング状の部分から束をなした線維が渦巻き状に伸びだしていた。この封入体は、全体として直径6.5ないし7.5μmの球状の構造をとっているものと考えられた。

考察：ここで述べた封入体は現在までに本例にしか見られておらず、形成機序を知るのは困難である。本患者では各種の抗癌剤が比較的に大量投与されているが、現在までに知られている抗癌剤によって形成される封入体はvinca alkaloidによるもので^{2,3,4)}、本例では使用されていない。しかしながら、投与された抗癌剤によって神経細胞の代謝過程になんらかの影響を与えたことは推測可能である。また、海馬Sommer扇形部の神経細胞は虚血や加齢による変化を受けやすい部位であり、顆粒空胞変性、神経原線維変化の好初部位である。その様な見地からすれば、他の部位の神経細胞には存在せずに、この部分にのみ出現したことは抗癌剤の影響と患者

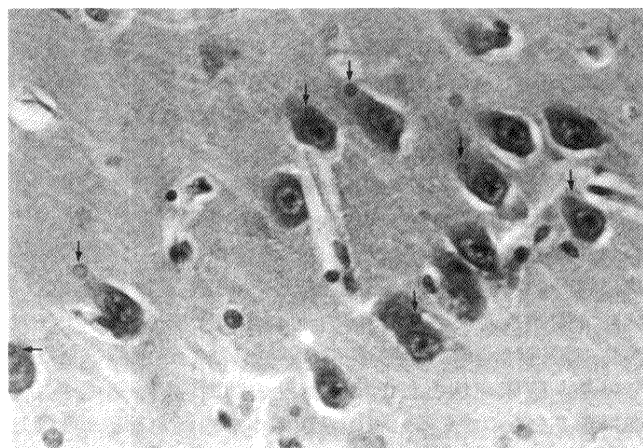


図1 海馬Sommer扇形部の錐体細胞。神経細胞の核と頂上樹状突起との間に、円形の細胞質内封入体を認める(矢印)。
H.E.染色 380倍

* 国立療養所 菊池病院 臨床研究部 部長 医学博士

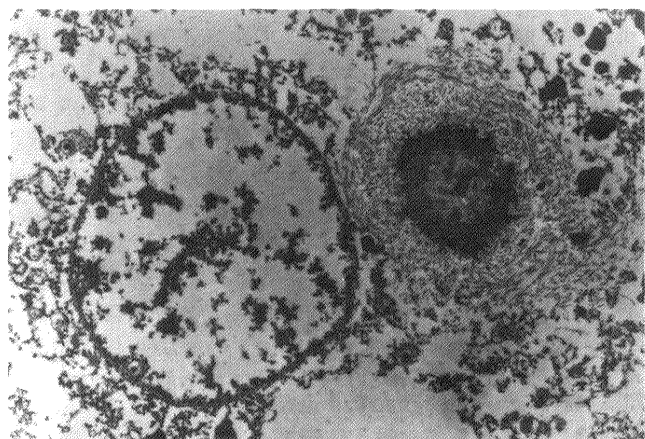


図2 封入体を持つ神経細胞の電顕像。封入体は三層構造よりなることが分かる。4,800倍

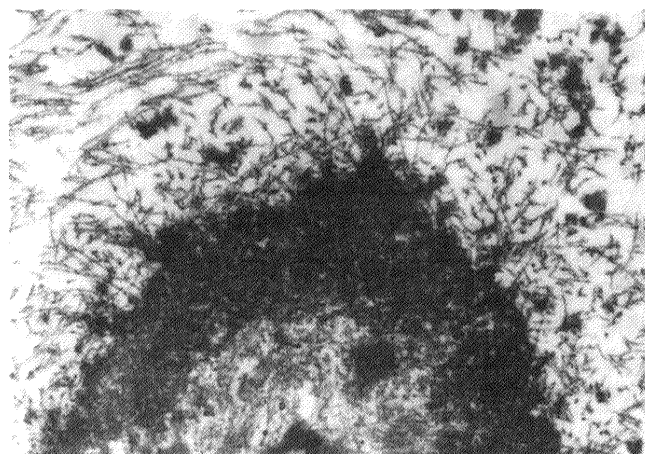


図3 封入体の強拡大。封入体は線維成分からなり、各層によってその密度と線維の直径が異なる。25,000倍

が66歳と老年期に含まれる年齢であることのいわば相乗効果と考えることが可能であるかもしれない。封入体が線維成分で形成されていた事についての考察は他稿で述べたい。

また、ここで得られた電顕所見は、パラフィン・ブロックをキシレンで脱パラして標本を作るという、本来の電顕試料作成から見るとかなり過酷な条件にも関わらず、封入体観察の目的からすれば満足できるものであった。

2. 脳表ヘモジデリン沈着症の星状膠細胞の封入体 (いわゆるovoid body)

脳表ヘモジデリン沈着症は持続する、もしくは反復するくも膜下出血に由来するヘモジデリンが中枢神経系の表層に沈着し、神経細胞の変性・壊死をきたす疾患で、以前は剖検時に偶発的に発見され、生前には脳腫瘍や正常圧水頭症の診断で開頭術がなされる時にしか診断できなかった^{5,6)}。しかし、最近では画像診断の進歩で早期に診断が可能⁷⁾となっている。臨床症状としては進行性の聴力障害、小脳症状、痴呆が主なものである。脳の光顕標本を観察すると、変性した神経細胞や沈着したヘモジデリンとともに、強いエオジン好性を呈する小球状の構造物が多数存在し、ovoid bodyの名称で知られてきた。この構造物の由来は長いこと不明であ

ったが、我々は抗GFAP抗体を用いて免疫組織化学的に星状膠細胞の細胞体もしくは突起に形成されることを証明し、また最初に電顕的に観察し、その微細構造を明らかにした⁸⁾。

症例：78歳、男性。65歳頃より次第に聴力低下、歩行不安定が出現し、66歳からは知的機能の障害も加わった。髄液は検査の度毎に黄褐色でクモ膜下の出血が持続していることが分かった。他方、髄液内に注入された放射性同位元素の吸収が遅延していることなどから、正常圧水頭症と診断され開頭術を受けた時に、脳の表層が黄褐色をしていたことから本症の診断が付けられた。最終的に無動無言の状態に陥り、発病から13年後に嚥下性肺炎で死亡した。脳の表層はチョコレート色を呈し、小脳の萎縮が著しかった。また、脳神経の表層も同様の色素沈着を認めた。脳の重量は1180gであった。

電子顕微鏡試料作成：剖検時に得られた脳の各部位を細切り、通常の方法でエボンに包埋し、日立H-7000形ならびにH-7500形電子顕微鏡で観察した。

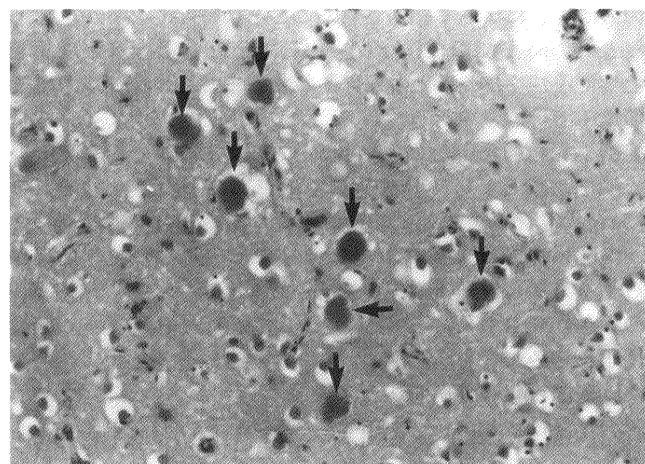


図4 大脳皮質に見られた、いわゆるovoid body (矢印)。H.E.染色 300倍

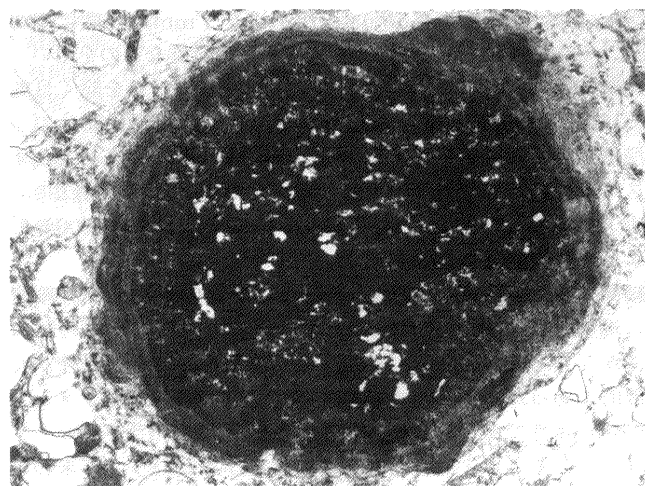


図5 ovoid bodyの電顕像。著しく電子密度の高い物質の集積からなっている。4,000倍

結果：破壊された大脳皮質に、多数のエオジン好性の小球状の構造が観察された（図4）。この構造はいわゆるovoid bodyと呼ばれているもので、抗GDAP抗体で陽性に染色されたことより、星状膠細胞内に形成されたことが分かった。電顕的には細胞膜に囲まれており、densityの高い物質が集合して形成されていた（図5）。拡大を上げると、densityの高い物質は直径2ないし3nmのferritinの電顕像に類似した微細顆粒状構造物が集合して直径20ないし30nmの顆粒状構造の部分とferritin類似の顆粒が集合し0.1 μ を超える集塊の部分からなっていた。なお、光顕の鉄反応はいずれも陽性であった。ここで注目されたのは、他の全ての鉄陽性の物質、例えばneuropileに遊離して存在するヘモジデリンや小膠細胞に吞食されたもの等は全て、光顕的にH.E.染色で黄褐色調を呈していたが、本封入体はエオジンの色を強くとっていた。

考察：電顕所見より、この封入体の構成成分のうち主要なものはヘモジデリン由来のferritinであると考えられた。当初は本封入体は吞喰能が活発な小膠細胞由来ではないかと想定した。しかしながら、星状膠細胞由来であることが判明した。この点と、光顕で他の鉄陽性成分が黄褐色を呈するのとは異なって、本封入体はエオジン好性であった点で、星状膠細胞の鉄の代謝機能を理解する上で重要であると考えられる。

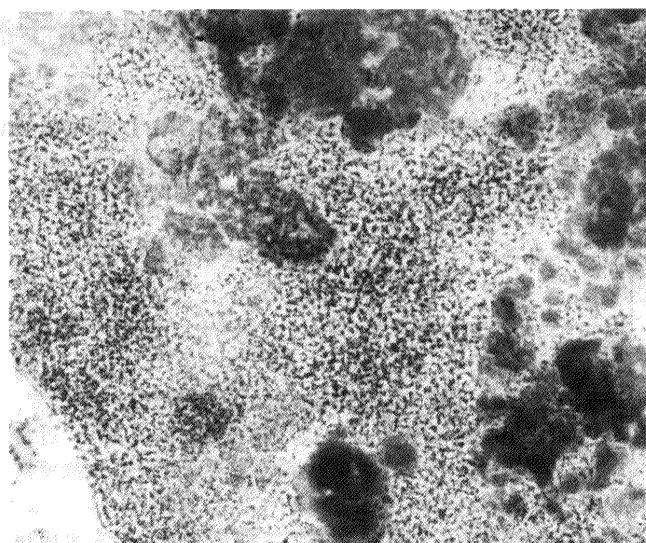


図6 ovoid bodyの拡大像。内部は電子密度の高い直径2ないし3nmの小顆粒が凝集して直径20ないし30nmの顆粒と0.1 μ を超える集塊からなっていた。59,000倍

参考文献

- 1) 桂木正一 他：癌患者の海馬錐体細胞に見られた新しい型の細胞質内封入体について—好酸性小球状封入体。脳神経, 33: 725, 1981
- 2) Hirano A., et al.: Honeycomb-like tubular structure in axoplasm. Acta Neuropathol., 10: 17, 1968
- 3) Schochet SS., et al.: Neuronal change induced by intrathecal vincristine sulfate. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 27: 645, 1968
- 4) Hirano A., et al.: Some effects of vinblastine implantation in the cerebral white matter. Lab. Invest., 23: 507, 1970
- 5) 湯浅亮一 他：脳表ヘモジデリン沈着症について、臨床神経, 7: 167, 1967
- 6) 木下和夫 他：脳表ヘモジデリン沈着症について、脳神経, 23: 1431, 1971
- 7) 中根俊成 他：脳表ヘモジデリン沈着症の1例、脳神経, 51: 155, 1999
- 8) Katsuragi S.: An autopsy case of idiopathic superficial hemosiderosis of the central nervous system: a microscopic and immunohistochemical study. Neuropathol., 7: 87, 1988

Topics

創立50周年記念 日本電子顕微鏡学会 報告

去る5月18日から21日の4日間、名古屋国際会議場にて創立50周年記念の日本電子顕微鏡学会が開催された。今回は創立50周年記念学会で日本臨床電顕学会、医学生物学電顕技術学会、日本学術振興会マイクロビームアナリシス第141委員会とのジョイントシンポジウムや記念公開講演会が約700名の



電子顕微鏡関連の技術者を集めておこなわれた。

日立展示ブースでは「日立が創るサブナノワールド」をテーマに掲げ新製品の超薄膜評価装置「HD-2000」を実機展示した。明るい部屋で快適に原

子レベルの500万倍をCRT上で直接観察し、ご来場頂きました多数の人からこんなに簡単に観察できるのかとの感嘆の声を聞くことができた。

また、イオンミリング装置、クライオミクロトームシステム等実機も展示し多くの注目を集めた。

パネル展示では集束イオンビーム加工観察装置「FB-2000A」の新製品マイクロサンプリングシステム、1800℃まで加熱できる加熱試料ホルダーの紹介と応用データについての問い合わせが数多く寄せられ関心の高さが伺えた。 (田中 取 記)

蛍光偏光度の計測と溶液中分子検出への応用

Measurement of fluorescence polarization and application for detecting molecules in solution

鶴岡 誠* 福原啓聡**

1. はじめに

蛍光偏光法は、過去に物理化学的な基礎研究の分野で、溶液中の分子運動の解析などに用いられている¹⁾。近年では、化学物質やタンパク質と抗体との免疫反応（抗原抗体反応）の測定に応用されている²⁻⁴⁾。蛍光偏光法を応用し、血中の医薬物質を免疫反応を用いて測定する方法も実用化されている⁵⁾。最近では、核酸（DNAまたはRNA）のハイブリッド形成反応（ハイブリダイゼーション）の解析や検出法として研究されている⁶⁻¹²⁾。その他、生体関連分子間相互作用の解析にも応用可能である¹³⁻¹⁵⁾。

蛍光偏光法は、簡単には、蛍光特性を有する分子の回転運動の速さを計測する方法といえることができる。具体的には、同法の指標の一つである蛍光偏光度と、一定条件における分子の回転速度との間に相関が存在する。この観点から、蛍光偏光法の基礎と応用について、筆者らの最近の研究も含めて概説したい。

2. 蛍光偏光法

2.1 概説

蛍光偏光法は、Perrin¹⁶⁾およびWeber¹⁷⁾により、理論的研究の礎が築かれたといえる。また後者の文献には、Einsteinによる粒子の回転運動に関する基礎理論も引用されている。それは、蛍光偏光法が粒子の回転運動を計測する一つの手法であることと関係している。上記の理論研究によれば、蛍光偏光法の一つの指標である蛍光偏光度 P に関して、以下の式が成り立つことが説明されている。

$$P = \frac{I_{\parallel} - I_{\perp}}{I_{\parallel} + I_{\perp}} \quad (a)$$

$$\frac{1}{P} = \frac{1}{P_0} + \left(\frac{1}{P_0} - \frac{1}{3} \right) \frac{RT\tau}{V\eta} \quad (b)$$

式(a)は蛍光偏光度の定義式である。蛍光偏光法において、通常は、直線偏光の励起光が用いられ発生する蛍光を計測するが、この蛍光を、励起光と電界の向きが平行な成分 $I_{\parallel}$ と垂直な成分 $I_{\perp}$ とに分けて計測し、式(a)によって蛍光偏光度 P の計測値が求まる。ただし実際の測定では、溶液等に起因するベースノイズや偏光の向きによる装置側の感度補正を行う必要がある。また類似の指標として蛍光異方性を用いることもある^{16, 17)}。

理論式(b)を簡単に説明すると、 P は偏光度、 P_0 は絶対0度における偏光度、 R は気体定数、 T は絶対温度、 τ は蛍光寿命、 η は溶液の粘度、 V は蛍光物質の実効体積である。ただし、蛍光物質は球体であるとして計算されて

いる。式(b)より、偏光度は、他の変数が一定の条件では、温度が低いほど、蛍光寿命が短いほど、粘度が高いほど、そして実効体積が大きいほど大きくなることが分かる。例えば V の変化に着目する場合、溶液の温度、粘度が一定のもとで、ある一定の蛍光物質（蛍光寿命は不変）の実効体積が大きくなれば、偏光度は大きくなるはずである。

現実には、蛍光特性を変えずに蛍光物質の体積を変化させることは、基礎研究としても非常に困難で、また応用上の意味からも、ある実験対象とする物質（例えばタンパク質や核酸など）にいろいろな方法で、一定の蛍光物質を標識（ラベル）する方法をとることが多い。また、分子の実効体積の増加に伴う微妙な蛍光偏光度の変化を計測する際は、必然的にその他のパラメータ（温度、粘度、蛍光寿命）の変化を最小限に抑えることが必要となる。これは、基礎研究や応用研究において、蛍光偏光法を計測法として使用する際の難しさの一要因と考えられる。なお、粘度等、他のパラメータの変化に着目しても興味深い実験が考えられる。

蛍光偏光法の基礎および応用に関する原理については定性的な説明も可能であるが、拙著文献にゆずる¹⁸⁾。蛍光偏光法は、偏光蛍光解消法等と呼ぶこともあるが、分子が回転運動をしている限り、蛍光偏光の解消（蛍光の偏光面の分散）は必然的に起こる現象である。そこで、結合反応等により、分子が実効的に大きくなるときは、分子の回転が遅くなるので、偏光の「解消の程度が小さくなる」（すなわち偏光度が大きくなる）という変化が生じることに留意する必要がある。つまり、この方法で測定しているのは、基本的には偏光の程度（偏光度）であるといえる。

2.2 偏光解析法としての類似例

蛍光偏光法は分類によっては、偏光解析法の一つであると考えられ、物理化学、生化学等の分野でよく知られる旋光性や円偏光二色性を利用した解析法もそのグループだといえる。ここでは、偏光解析法の一つでありながら、解析や利用対象としての分野が最も異なると思われる方法を例示したい。

直線偏光を磁性体に照射し、反射する光の偏光面を測定すると、磁性体でない場合の偏光面に比べ、面の向きの回転が観察される。これはKerr効果と呼ばれるが、この現象は、情報の記録媒体やオーディオで用いられている光磁気ディスク（MO）やミニディスク（MD）の技術の重要な土台となっている。実は、Kerr効果の測定にも偏光解析法の一つが用いられる。例えば、磁性体に直線偏光を照射し、反射光の偏光角を偏光板の回転や信号の変化により測定する方法は、蛍光偏光法と類似している。両者の違いは、蛍光を利用するかしないか、および、偏光の分散を測るか回転を測るか位である。よくみると、装置の構成も似

* 広島市先端科学技術推進室 室長 工学博士

** 広島市先端科学技術推進室 技師

ているのだが、前者は光磁気記録媒体の計測に利用でき、後者は核酸ハイブリダイゼーションの計測に応用可能なのである。

さらに両者には別の共通点もある。蛍光偏光法は、計測値としてのダイナミックレンジが狭いという問題が指摘されることがある。概述すると、Kerr効果の回転角度の測定でも、同様に、ダイナミックレンジが狭く当初は問題とされた経緯があったと思われる。しかし光磁気ディスク装置等では、様々な改良に加え、技術的には、測定値の正確性および再現性を向上させることによって、実用化が可能になったと考えることができる。

蛍光偏光法を用いる基礎または応用研究において、対象物質の検出感度を上げるには、レーザー光源による励起法が考えられ、筆者らも1990年に研究を開始した経緯がある。上記光磁気記録における偏光解析でも、すでに半導体レーザーが用いられていることは興味深く思われる。

3. 溶液中分子の実効体積と蛍光偏光度

蛍光偏光度の、分子の実効体積あるいは分子量依存性については、少なからず他所でも報告されているが、筆者らは、新たに数種の試薬を用いて測定実験を行い、前節理論式(b)を用いて理論と実験データとの相関を検討した。

3.1 実験条件

蛍光偏光測定装置は、日立製F-4500（偏光付属装置P/N250-0393）を用いた。励起光および蛍光の中心波長は、それぞれ485 nm, 525 nmとし、スリット幅はそれぞれ5 nm, 10 nmとした。フォトマル電圧は950 Vとし、セルホルダーは循環水により37℃に保持した。装置固有の補正係数(G factor)は、1.67と決定された。

使用した試薬は、フルオレセイン（和光純薬）、フルオレセイン標識デキストラン（分子量3000および10000, Molecular Probes）、フルオレセイン標識ヒト血清アルブミン（Cappel）である。また、以下(c)に示す配列のフルオレセイン標識合成オリゴDNA、およびこれと相補で同じ鎖長のオリゴDNA（いずれもサワディーテクノロジー）を用いた。Fはフルオレセイン標識を示す。溶媒には、リン酸緩衝液（0.07 M, pH 7.0）を用いた。

(c) 5'-F AGT.ATC.GGG.GAG.AGG.ATG.GTG.TC -3'

3.2 結果および考察

図1に、各サンプルの分子量と蛍光偏光度との関係を示す。サンプルは、左から、フルオレセイン（332）、フルオレセイン標識デキストラン（約3000）、フルオレセイン標識オリゴDNA（約8270）、フルオレセイン標識デキストラン（約10000）、フルオレセイン標識オリゴDNAと相補オリゴDNAとの2本鎖（約15800）、フルオレセイン標識ヒト血清アルブミン（約69000）である。括弧内は分子量を示す。図1で、分子量が大きいほど、蛍光偏光度は大きい値を示している。図の点線で表した曲線は、前節2.1で示した理論式(b)に基づいて計算したものである¹⁸⁾。実測データは理論式に近い挙動を示しており、実験と理論との比較的良好な相関が得られたといえる。また、オリゴ核酸同士の2重鎖が形成されているとして図中にプロットしたが、これが理論と比較的良好な一致を示したことは興味深い。計算では、 P_0 として0.5、蛍光寿命 τ として10 nsec、比体積として0.73 ml/gの値を用いた。なお、実効体積（1モル当たり）は比体積と分子量の積とした。

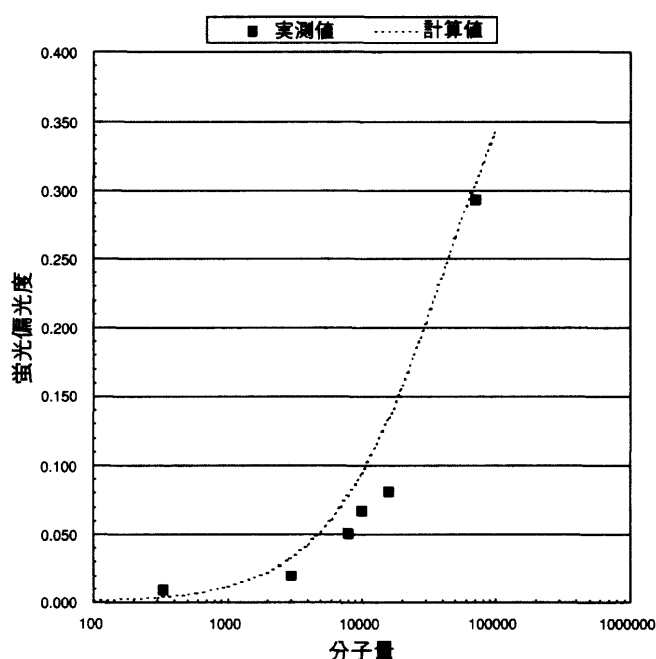


図1 蛍光偏光度と分子量との関係

ここで注記すべきことは、各サンプルは、糖、核酸、タンパク質等、構造上それぞれ異なる物質なので、比体積は同一ではなく、およそ10%程度の誤差を見込む必要がある。また、蛍光寿命についても標識等の条件による誤差を考慮しなければならない。重要なのは、図の対数的な変化が理論でほぼ説明できるということである。また実験では、各試薬の純度や加水分解等による誤差にも留意する必要がある。

従来、実効体積と偏光度との関係を測定したデータは、理論式(b)の形より、両者の逆数を用いて比例型のプロットを行っているが、図1の形のプロットを行うと、他のパラメータが一定の条件で、実際にどの程度の分子量領域で偏光度の変化が生じやすいかがよく分かる。また本稿では省略するが、非常に大きな分子量の領域で、偏光度の増加が飽和する傾向も明瞭に説明することができる^{4, 18)}。

4. 核酸ハイブリダイゼーションの測定

蛍光偏光法は、核酸ハイブリダイゼーションの解析や遺伝子の検出に用いることができ、いくつかの方法が提案されているが、ここでは筆者らの実験を中心に簡単に説明する。

前節で述べたように、本法は分子の溶液中での実効体積を相対的に計測することができるので、蛍光標識した核酸が他の核酸とハイブリダイゼーションにより結合すれば、蛍光標識物質からみれば実効体積が増大することから、蛍光偏光度が大きくなるはずである。図2には、この反応の簡略な模式図を示す。実は、このようなハイブリダイゼーション反応を測定あるいは検出することはそれほど容易にできるわけではない。現在でも生化学等の分野で多用されているサザンブロットハイブリダイゼーション法やドットブロットハイブリダイゼーション法は、巧妙な検出法であるが、高度な手技と長時間の操作を必要とする。これに対し蛍光偏光法によると、基本的に、蛍光標識した核酸を、一定の反応条件の下で検出対象とする核酸に加えるだけで

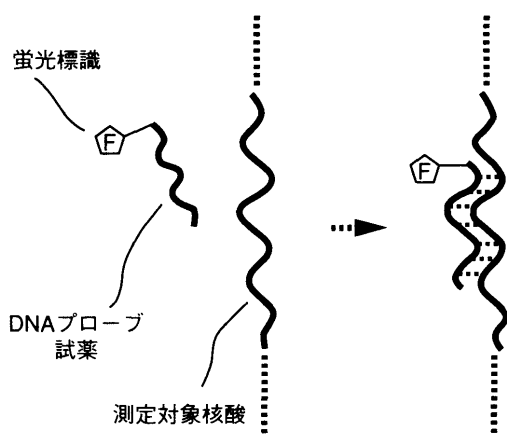


図2 核酸ハイブリッド形成反応の模式図

ある。このような操作なら、例えば筆者らのような核酸や生化学物質の取扱いに不慣れな研究者にも十分実験できる計測法である。本法はその分、装置や光技術および計測技術に比重が高いとも考えられる。

過去に、蛍光偏光法により核酸のハイブリッド形成反応について研究されているが⁶⁻⁸⁾、その反応速度および迅速性の観点から研究された例はみられなかった。筆者らは、5'末端に蛍光物質フルオレセインを標識した一定の塩基配列のオリゴDNA（23塩基長）、およびこれと相補配列のDNA（同塩基長）を合成し、蛍光偏光法により、これらのハイブリッド形成反応について、溶液の塩濃度および温度あるいはミスマッチの存在で、どのように反応速度が変化するかを研究した^{9, 10)}。また、求めた条件により微生物遺伝子の増幅産物の検出実験を行い、実際にこの条件が、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、腸管出血性大腸菌・志賀毒素、およびレジオネラ菌等の遺伝子の検出にも適用可能であることを確認した^{9, 11, 12, 19-22)}。

本節では、ヒトC型肝炎ウイルス（HCV）のRNA遺伝子を増幅し、これを蛍光偏光法により迅速に検出した研究について概説する。

4.1 実験条件

蛍光偏光測定装置および測定条件は、保温温度を除き、前節3.1と同じである。

蛍光標識DNA（プローブDNA）、これと同じ鎖長で相補のRNA、および遺伝子増幅用プライマーは化学合成品を用いた。蛍光標識物質はフルオレセインとした。プローブDNA(d)、およびプライマー(e)、(f)の塩基配列は下に示した。HCV遺伝子の増幅にはNASBA法を用い、Toyobo, NASBA Amplification Kitを使用した。増幅する遺伝子の鎖長は230塩基とした。HCVサンプルは学術研究用に国内で採取され、そのRNA遺伝子は既報に従って一定温度41℃で90分間増幅され²³⁾、本法とは別に、電気泳動法およびドットプロットハイブリダイゼーション法により増幅産物の確認が行われた。蛍光標識DNAの塩基配列は、遺伝子増幅の区間内に設定した。他に3種類のコントロール用陰性試料（サケ精子DNA（N1）、プローブと相補でないオリゴRNA（N2）、純水を用いて同じ増幅操作を施した試料（N3））を用意した。

測定手順は、内寸10×10 mmの石英キュベットに各試料

を80 μl入れ、蛍光標識DNA溶液を800 μl加えた後、46℃、10分間保温後、蛍光偏光度を測定した。その他のハイブリダイゼーション条件は文献²⁴⁾に従った。

(d) 5' F- GTG.GTC.TGC.GGA.ACC.GGT.GAG.TAC.A 3'

(e) 5' AAT.TCT.AAT.ACG.ACT.CAC.TAT.AGG.GCA.

AGC.ACC.CTA.TCA.GGC.AGT.A 3'

(f) 5' GTC.TAG.CCA.TGG.CGT.TAG.TA 3'

4.2 結果および考察

図3に、プローブDNA(d)と各サンプルを混合して10分後の蛍光偏光度を示す。HCV・NASBA産物（AP）に関する偏光度は、陰性のコントロール試料の場合と比べ、明らかに高い値を示している。これは、プローブDNAとHCV・NASBA産物中のRNAとが、DNA/RNAハイブリダイゼーションにより特異的に結合したためと考えられる。NASBA法は、RNAを鋳型として1本鎖RNAを増幅する方法であり、結合部位によっては高次構造による障害もあり得るが、本蛍光偏光法における短鎖の蛍光プローブがハイブリダイゼーションにより結合する対象としては、比較的適している増幅法と思われる。また、プローブと相補のオリゴRNA（PC）に対する偏光度は、陰性コントロール試料の場合と比べ若干高いが、NASBA産物の場合よりも低い。これは、プローブ（25塩基鎖長）が、同鎖長のRNAと結合するか、230塩基鎖長の増幅産物RNAと結合するかで、実効体積変化の相違により説明できる。

図4に、上記実験で用いたものと同一のHCV・NASBA産物に対して、ドットプロットハイブリダイゼーション法による確認のデータを示す。ドットプロット用プローブの塩基配列は4.1 (d)と同じで、標識にはアルカリフォスファターゼが用いられた。HCV・NASBA産物に対しては染色が認められ、産物とプローブとがハイブリダイゼーションにより結合したことが分かる（図4、(1)、(2)）。プローブは、テンプレート陰性のNASBA産物とは結合せず（図4、(3)、(4)）、蛍光偏光法によるデータとよい一致が観られた。

以上、遺伝子増幅産物RNAの試験的な検出実験の一例を示したが、本蛍光偏光法および遺伝子の検出法は、微生物等の遺伝子（塩基配列）の迅速検出に有用と考えら

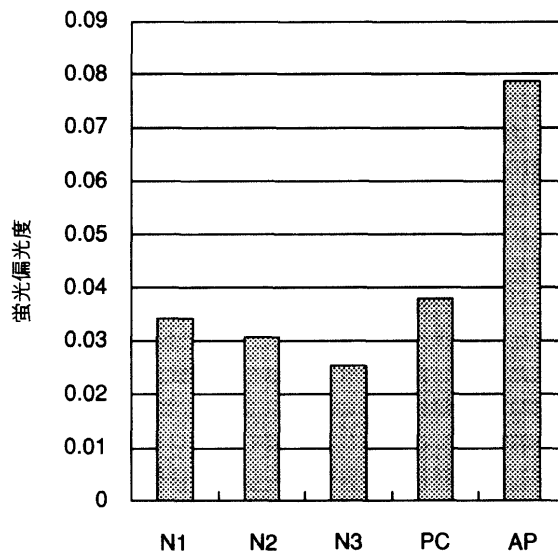


図3 各サンプルに対する蛍光偏光度

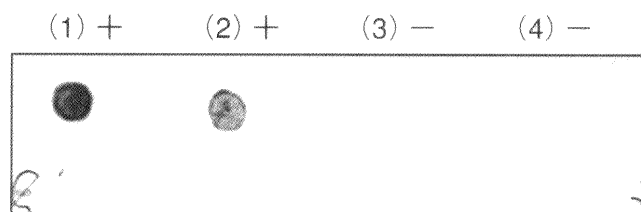


図4 HCV遺伝子増幅産物のドットプロットハイブリダイゼーション

れ、NASBAやPCR等の遺伝子増幅法との組合せにより高感度検出も可能である。

5. おわりに

蛍光偏光法は偏光解析法の一つとして考えられ、分子運動や分子間の相互作用を計測する基礎研究手法として用いることができる。また、応用範囲や計測技術としての感度および再現性について研究課題も残っているが、核酸ハイブリッド形成反応や抗原抗体反応等の相互作用解析に用いることができる。本報告で述べた核酸ハイブリダイゼーションの解析あるいは検出手法は新しく、引き続きさまざまなケースでの実験・検討が必要である。今後、他の生体関連成分の分析や基礎研究手法、物質探索等の高速なスクリーニング法、あるいはゲノム情報分野での高速検出法としての新たな展開も期待できると考えられる。

末筆ながら、本原稿の準備にあたり、ご協力いただいた関係各位及び共同研究者諸氏に深く感謝する。

参考文献：

- 1) Azumi, T. and McGlynn, S. P. (1962) J. Chem. Phys. 37, 2413-2420.
- 2) Haber, E. and Bennett, J. C. (1962) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 48, 1935-1942.
- 3) Dandliker, W. B., Schapiro, H. C., Meduski, J. W., Alonso, R., Feigen, G. A. and Hamrick, Jr. J. R. (1964) Immunochemistry 1, 165-191.
- 4) Tsuruoka, M., Tamiya, E. and Karube, I. (1991) Biosensors Bioelectron. 6, 501-505.
- 5) Popelka, S. R., Miller, D. M., Holen, J. T. and Kelso, D. M. (1981) Clin. Chem. 27, 1198-1201.
- 6) Kobayashi, S., Tamiya, E. and Karube, I. (1989) MRS Int'l. Mtg. on Adv. Mats. 14, 95-101.
- 7) Herning, T., Kobayashi, S., Tamiya, E. and Karube, I. (1991) Anal. Chim. Acta. 244, 207-213.
- 8) Murakami, A., Nakaura, M., Nakatsuji, Y., Nagahara, S., Qui, T.-C. and Makino, K. (1991) Nucleic Acids Res. 19, 4097-4102.
- 9) Tsuruoka, M., Yano, K., Ikebukuro, K., Nakayama, H., Masuda Y. and Karube, I. (1996) J. Biotechnol. 48, 201-208.
- 10) Tsuruoka, M., Yano, K., Ikebukuro, K., McNiven, S., Takeuchi T. and Karube, I. (1996) Anal. Lett. 29, 1741-1749.
- 11) Tsuruoka, M., Fukuhara, K., Murano, S., Okada, M., Honda T. and Karube, I. (1997) Int. Cyber Cong. Anal. BioSciences (CCAB97), Pharm. Soc. Jpn.
- 12) Tsuruoka, M., Fukuhara, K., Murano S. and Okada, M. (1998) Nucleic Acids Symposium Series, Oxford University Press, 39, 115-116.
- 13) Molla, A., Oda, T. and Maeda, H. (1987) J. Biochem. 99, 199-205.
- 14) 軽部, 民谷編著, 鶴岡 (1994) バイオエレクトロニクス, 朝倉書店, p.p. 62-78.
- 15) 峰野. (1997) 蛋白質 核酸 酵素, 42, 77-84.
- 16) Perrin, M. F. (1926) J. Phys. Radium 7, 390-401.
- 17) Weber, G. (1953) Adv. Prot. Chem. 8, 415-459.
- 18) Tsuruoka, M., Shibata, S., Tamiya, E. and Karube, I. (1994) Trans. Mat. Res. Soc. Jpn., 15A, 463-466.
- 19) 鶴岡, 本田, 軽部, (1997) 日本臨床, 55, 741-746.
- 20) 村野, 福原, 岡田, 鶴岡, 伊藤, 河本, 山岡, (1998) 日本食品衛生学会, 第75回学術講演会講演要旨集, p. 23.
- 21) 大磯, 保科, 鶴岡, (1998) 日本臨床病理学会総会, 臨床病理総会号 46, 265.
- 22) 藤井, 大田, 鶴岡, 河野, 猿田, 保科, (1998) 日本化学会, バイオテクノロジー部会, 3C115.
- 23) Hollingsworth, R. C., Sillekens, P., Deursen, P., Neal, K. R., and Irving, W. L. (1996) J. Hepatol., 25, 301-306.

ラウンジ



“貝紫”との出会い

An encounter with “Tyrian Purple”

下山 進*

1993年5月、初夏を思わせる新緑の頃、紫に染めた絹糸と“アカニシ *Rapana thomasiana* (図1)”の写真を手にして玉川大学の梶原新三教授を訪ねた。この三日前、初対面の梶原教授から「君たちが分析した“貝紫”の染織物と染色に用いた貝の写真を提供してほしい！」と電話を頂いたのである。

貝紫 (Tyrian Purple) は、アキガイ科 Muricidae の貝に由来する染料で、発祥の地は紀元前千六百年頃の地中海沿岸フェニキア地方である。フェニキアの「フェニケ」はギリシャ語で“紫の衣”を指し、貝紫で染めた衣は「帝王紫」とも呼ばれペルシャの王やローマ皇帝のみが着用できた。貝紫の染料を生成するアキガイ科の貝は、地中海沿岸に生息するツロツブリ *Murex trunculus* (シリア) やシリアツブリ *Murex brandaris* (イタリア、ギリシャ)、メキシコ沿岸に生息するヒメサラレイシ *Purpura patula* L., そして日本の沿岸に生息するアカニシ等である。いずれも、巻き貝の一種で、その内蔵の鰓下腺に貝紫の染料となる前駆体が含まれている。私たちが用いたアカニシは、知多半島の内海海岸で採取したものである。アカニシを割って内蔵の鰓下腺から黄色の粘調な分泌液を取り出し、これを溶かした海水に繊維を浸け、日光にさらして染色した。この分泌液に含まれている前駆体 (tyrindoxylsulfate) から紫色の染料 (6,6'-dibromoindigotin) が生成するのである。私と妻の野田裕子 (旧姓: 著作名) は、この貝紫や植物由来の染料で染色した染織物から直接三次元蛍光スペクトル (3DF スペクトル) を測定し、それを等高線図に書き現せば、そこに描かれた等高線のパターンとピークの位置からその染織物に染着している染料がそれぞれ非破壊的に同定できることを論文で発表していた。

この突然の依頼は、ベルギー王立自然科学研究所の Andre Verhecken 氏から梶原教授が受けたものであった。Verhecken 氏は、貝紫の発祥の地である地中海沿岸の貝類を採取し、その染料分析を行っていた。そして、私たちが発表した貝紫の非破壊分析法に注目したのである。

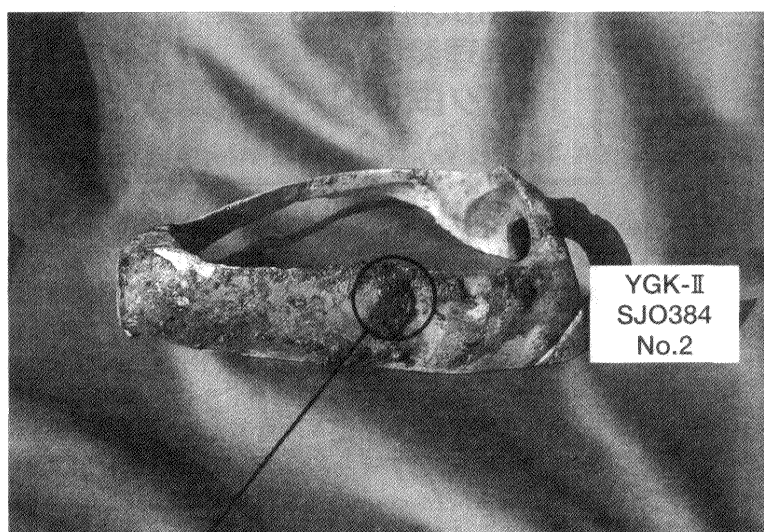
そんなことがあって、四ヶ月後の残暑も厳しい9月の初め、ベルギー王立文化財研究所の Dr. Jan Wouters からファックスが届いたのである。彼は、HPLC による貝紫の同定を行っていた。ファックスには「貝紫に関する論文を発表しているが、11月にベルギー王立文化財研究所で開催される天然染料の国際学会 “Dyes in History and Archaeology” で発表しないか！」と書かれていた。私たちのことを Verhecken 氏が Dr. Wouters に話して下さったのである。しかし、国際学会で発表することなど、とても無理なことと思い返事も出さずにいった。

月日も変わり涼しさを感じる10月に入った頃、いわき明星大学におられた恩師の吉村寿次教授 (東京工業大学名誉教授) にお会いした。私はベルギーからのファックスを思いだして「先生、実はベルギーで開催される国際学会で発表しないか、誘いがあったのですが、自信がありません。」と話した途端、「馬鹿! 名誉なことではないか、ベルギーに行って発表してこい、発表原稿は僕がみてやる!」と叱咤激励して下さいました。また、私たちがこの研究に入る以前から、いつも私たちを温かく見守り励まして下さる弁理士の松田三夫・和子ご夫妻は、発表すべきか否か迷っていた私に「やるか! やるまいか! 迷ったときには実行しなさい。実行しなかったことを後で後悔しても始まらないよ!」とおっしゃって下さったのです。

“よし、発表しよう!”, 発表内容は3DFスペクトルによる非破壊分析によって貝紫と同定した日本古代の染織遺物

図1 アカニシ (*Rapana thomasiana*)

* デンマテリアル(株) 色材科学研究所 取締役研究所長
平成10年「三次元表示蛍光スペクトルによる古代染織遺物及び浮世絵版画に使用された染料の非破壊的同定法に関する研究」により、いわき明星大学から博士(理工学)の学位を得る。



Colored textile remnant
on Shell bracelet from burial jar SJ0384 at Yoshinogari

図2

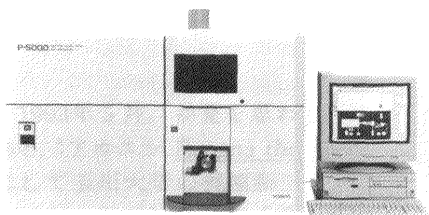
とすることとし、さっそく準備に取り掛かった。この染織遺物は、佐賀県・吉野ヶ里遺跡の甕棺から出土した弥生時代中期（紀元前1世紀）中頃の貝製の腕輪に付着している布片（図2）である。私たちは、その2年前に佐賀県から依頼を受け、この貝輪に付着している染織遺物を日立F-4010形分光蛍光光度計を用いて分析し、得られた3DFスペクトルから染着している染料は貝紫であると特定していた。しかし、この国際学会での発表に当たっては、新たに開発された日立F-4500形分光蛍光光度計を用いて再分析することにした。学会発表の許可と貝輪の貸し出しを佐賀県にお願いしなければならない。この染織遺物は弥生時代の歴史的背景を解きあかす貴重な資料であるにもかかわらず、佐賀県文化財課の高島忠平課長と七田忠昭主査は、学会発表を快く承諾し、貝輪を再び貸し出して下さったのである。後日談になるが、七田主査のお父上（七田忠志氏）は、考古学者として最初に吉野ヶ里遺跡の重要性に着目した方で高等学校の教師も勤められていた。実は、先にご紹介した松田三夫先生の高校時代の恩師が七田主査のお父上であった。松田先生を通して私たちと吉野ヶ里遺跡は見えない糸で繋がっていたのである。さっそく厚木の研究所に持ち帰り再分析を行った。その結果、日立F-4500による3DFスペクトルデータは歪みのない明瞭なもので、当初の結果と同様、この染織遺物に染着している染料は貝紫がおおよそ二千年の間に経年変化（劣化）したものであると再確認できたのである。

1993年11月25日、いよいよ学会発表の当日である。この日のブルッセルはヨーロッパ特有のどんよりと曇った今にも雪が降りそうな寒い日であった。会場には、ベルギー王立文化財研究所の方々、ロシア、オランダ、フランス、イギリス、ドイツ、オーストリア、イスラエルそしてアメリカなどの美術館、博物館あるいは大学などで古文化財の保存修復の研究に携わっている方々が多数出席していた。座長は、発表の機会を与えて下さったVerhecken氏である。30分間の発表を終えて思いもかけず会場一杯の拍手を受けた。その瞬間、それまでの緊張は解け、学会発表の準備と英文原稿を何度も読み込んだ苦労が消え去っていた。その夜のベルギービールが大変美味しかったことを覚えている。

このときの感動が励みとなり、その後に開催されたエジンバラ、アムステルダムそしてマンチェスターでの学会発表を毎年続けることができ、3DFスペクトルによる非破壊分析の対象を染織遺物から浮世絵版画に適用拡大できたことから、実用性の高い分析手法であることが認められ、この5月に「分析化学」論文賞を妻とともに受賞することもできた。これは、“貝紫”との出会いがあり、私たちの研究を暖かく見守り励まし続けて下さる恩師、支援して下さい多くの先輩諸氏、そして協力して下さい日立製作所の方々との“出会い”があったからこそである。

新製品紹介

P-5000形 ICP 質量分析装置の紹介



上下水、排水、河川、湖沼水などに含まれる鉄、ウラン、ヒ素など重金属の極微量元素を測定するP-5000形ICP質量分析装置を製品化し、平成11年6月24日より販売を開始した。本製品は、ICP質量分析装置の質量分析部に3DQMS技術を採用し、妨害イオンの影響を軽減することで、従来のQMSのICP質量分析装置では測定が難しかった極微量の元素分析を実現した。

〈特長〉

アルゴン起因の分子イオン、元素の酸化物イオン等の妨害イオンによるバックグラウンドノイズの影響を受けにくい3DQMSを採用した。3DQMSはイオンを一定時間内部に閉じ込めてから分析するため、バックグラウンドノイズの影響を大幅に低減でき、従来困難であった鉄(Fe)やセレン(Se)、ヒ素(As)などの高感度分析ができる。さらに長時間閉じ込めることにより、高感度で分析することが可能である。

(奥本 豊治 記)

TEM試料作製用 前処理装置 「マイクロサンプリング 装置」の紹介

イオンビームを用いて微小領域、TEM試料の抽出を実現、試料作製時間も約3割短縮

この度(株)日立製作所は当社の集束イオンビーム加工観察装置(以下、FIB:Focused Ion Beam)「FB-2000A」に組み込み可能な、透過電子顕微鏡(以下、TEM:Transmission Electron Microscope)試料作製用前処理装置「マイクロサンプリング装置」を開発した。本装置はFIB装置の中でイオンビームを用いて直接微小領域を取り出すもので、試料作製の位置精度を向上させるとともに、作製時間も約3割短縮することができ、微細構造を有する先端デバイスの解析の効率化に大きく寄与する。

近年、半導体デバイスや磁気記録デバイスはますます微細化が進展しており、これらのデバイスや薄膜の欠陥解析および製造プロセスのコントロールのために、デバイスの微細構造高倍率観察や微小部高感度分析にTEMが必要不可欠になっている。しかしながら、TEMで観察、分析を行うためには試料の厚さを $0.1\mu\text{m}$ 程度にする必要があり、FIBを用いたTEM試料作製前処理法が注目されている。しかしながら、FIBではサブミクロン単位での加工が可能な反面、大きな領域を加工することは実用上不可能であり、FIBの前処理としてダイシングと呼ばれる切削加工等が必要となる。一方化合物半導体やGMR

(giant magnetoresistive)ヘッ드의薄膜の積層強度は非常に弱いために、機械加工によって薄膜が剥離してしまうことがある。また、デバイスの欠陥箇所はウエーハの特定箇所であるため、ダイシングを行いウエーハが切断されてしまうとその位置出しは極めて困難になるといった問題点があった。

今回開発した「マイクロサンプリング装置」(図1)は、チップサイズの試料の表面から観察部位を含む部分をイオンビームを用い、 $5\mu\text{m} \times 20\mu\text{m}$ 深さ $15\mu\text{m}$ という微小領域にして切出すとともに、金属針をマイクロマニピュレータとして微小移動させ、ピンセットのように使い、その微小領域を直接摘出しTEMのメッシュ上に固定することを可能とした(図2)。狙った箇所を機械的な力を加えずにFIB加工ができる数十 μm サイズに切り出すマイクロサンプリング法を実現したことにより、不良箇所や分析箇所を位置データを基にTEM試料を正確に作製できるだけでなく、機械加工では破壊してしまうような試料のTEM試料も容易に作製できるようになった。

(近藤 芳正 記)

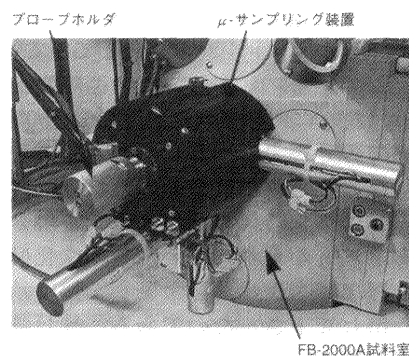


図1 マイクロサンプリング装置の外観

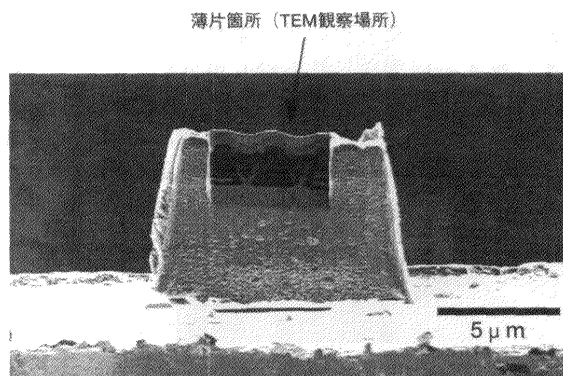


図2 TEM試料作製例

解 説

HD-2000 超薄膜評価装置とその応用

HD-2000 Ultra-thin Film Evaluation System and Some Applications

橋本 隆仁* 今野 充** 矢口 紀恵**
上野 武夫** 砂子沢 成人*

1. はじめに

半導体デバイスは構造の微細化・多層化が日々進行し、それに伴い解析個所の極微小化が進んでいる。ゲート酸化膜の厚さを例にとると、1G bitでは6.3 nmになると予想されており、寸法測定にはその1/10の精度が必要となる¹⁾。このようなデバイスを開発し安定して製造してゆくには、酸化膜の厚さ、組成の均一性を制御することが不可欠である²⁾。半導体以外でも、ハードディスクのデータの読み書きに用いられるMR.GMRヘッドは清浄で平滑な厚さ数ナノメートルの層を積層させたものが製造されようとしている³⁾。また近年、オプトエレクトロニック素子、触媒および様々な新素材においても、必要な機能を発揮させるためには、大きさが数ナノメートル(nm)から数十ナノメートル程度の薄膜、多層膜、粒界、マイクロクラスターなどの大きさや組成を評価し、かつそれを制御できなければならないようになりつつある。

これらの素子の極微小な構造を観察し評価するためには走査電子顕微鏡(SEM)が広く用いられている。SEMは、観察データが得られるまでに要する時間が試料作成を含めて1～2時間と、速い利点があるが、最近SEM分解能より高分解能で観察したいケースが増えてきている。また表面的な形状のみならず組成、特に不純物濃度の情報も重要性を増している。一方、透過電子顕微鏡(TEM)は約0.2nmの分解能を有することと1nm程度の極微小部の分析能力の点で、その必要性が高まってきてはいるものの、試料作成、観察に時間がかかる上に、操作や像の解釈が難しく専任のオペレーターを必要とすることなどから、観察データが得られるまでに、通常、数日間を要するため、SEMほど広く使われるまでには至っていない。そのために、SEMと同程度の操作性で、TEMと同程度の性能を有する装置が求められるようになってきている。HD-2000⁴⁾は、このような極微細構造の解析を高分解能・高コントラスト観察機能とサブナノメートル領域の高感度な分析機能によって誰にでも容易に行えるようにすることを目的として開発された。

2. 装置の構成

2.1 原理と構成

SEMで半導体を観察する場合はチャージアップを避けるために1kV以下の加速電圧で観察しているが、このままの加速電圧ではEDX分析を行うことはできない。またEDX分析を行えるまでに加速電圧を高くしても、試料が

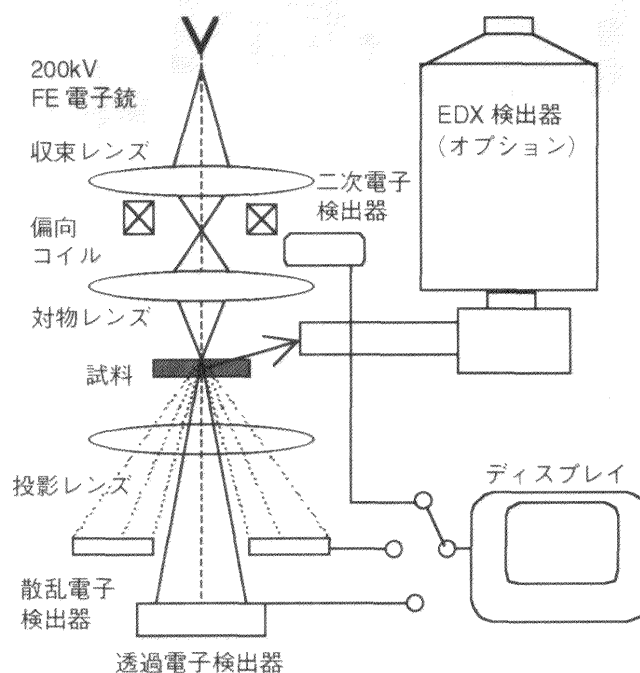


図1 HD-2000の原理

バルク状では、たとえプローブサイズがナノメートルオーダーになっていても、試料中での電子が広がりX線発生領域がマイクロメートルオーダーになってしまい、空間分解能の高い分析を行うことができない。TEMのように薄くした試料に数百kVの加速電圧の電子線を照射する場合は、大部分の電子が試料を通り抜けてしまうのでチャージアップは問題にならない。また試料中での電子の散乱を考慮してもナノメートルオーダーの空間分解能で分析を行うことは可能である。そのためHD-2000超薄膜評価装置は薄い試料を高加速電圧の電子線プローブを用いて観察するように設計された。

図1に装置の原理図を示す。薄い試料に加速電圧200kVの電子線を細く絞ったプローブを照射して、発生する二次電子、散乱電子、透過電子、特性X線(オプションのエネルギー分散型X線(EDX)検出器をとりつけた場合)を検出する。SEMと同様に試料上の微小な領域を電子線でラスタースキャンしながら、ラスタースキャンと同期したディスプレイにこれらの検出信号の強度に応じた明るさの点を順次ならべてゆくと拡大像が形成される。このようにして、微小部の観察およびEDXの情報から観察部位の組成分析を行うことができる。

* (株)日立製作所計測器グループ

** (株)日立サイエンスシステムズ

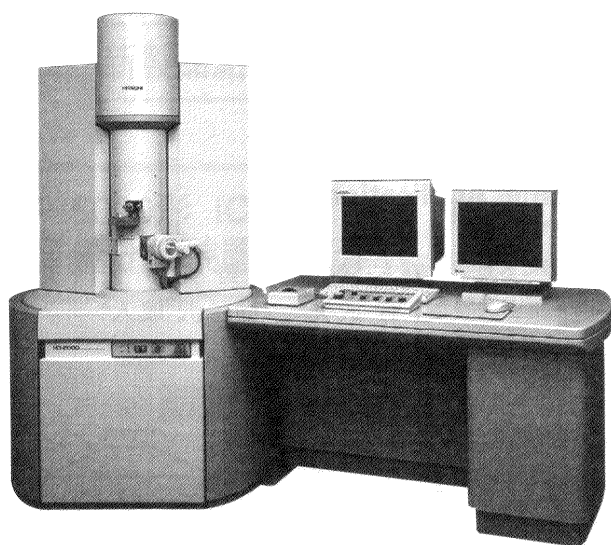


図2 HD-2000超薄膜評価装置の外観

図2にHD-2000型の外観を示す。装置の主要部分は電子光学系によって構成される鏡体部と画像の表示および操作を行うディスプレイ部からなる。

鏡体部は、極微小なプローブサイズで大きいプローブ電流が得られるように200kVの冷陰極電界放出(FE)電子銃を搭載している。鏡体の照射系は二段のコンデンサーレンズと対物レンズによって構成され、観察および分析用途に応じたスポットを形成する。対物レンズ部にはEDX検出器(EDX)を取り付けることが可能である。高分解能な画像と高感度なEDX分析を同時に実現できるように、対物レンズとEDX検出器はともに新設計された。特性X線の検出立体角は0.3srであり、従来の分析電顕の約2.5倍に向上させた。

HD-2000で得られる像は、二次電子を検出して得られるSEM像、散乱電子を検出して得られるDF-STEM(Dark Field STEM)像、透過電子を検出して得られるBF-STEM(Bright Field STEM)像である。SEM像は試料の表面形状を観察することができ、STEM像は内部の構造を観察することができる。高加速電圧のSEM像は、試料の表面ばかりではなく内部の密度の高い部分の情報も含んでいる。内部が見える特徴はFIB試料作成の際に有用である。このことについては2.3節で述べる。

DF-STEM像のうちでも大きい角度で散乱された電子を検出して結像した場合はZコントラスト像と呼ばれている。散乱電子の強度は試料の原子番号(Z)、密度(ρ)、厚さ(t)に依存する。微小領域を観察している場合は、観察範囲内では t はほぼ一定とみなせるので、最もコントラストがつくのは物質の差、すなわちZに由来するからである。また、散乱角が大きくなると弾性散乱電子の強度が低下して、回折コントラストは弱くなるので、Z-コントラスト像は像の明るさのちがいが物質のちがいを表わすという特徴がある。そのため、Z-コントラスト像は像の解釈がTEM像に比べて容易である。

BF-STEMの対物レンズとTEMの対物レンズは等価な光学系を逆向きにみている関係にある。光学の相反定理からBF-STEM像はTEM像と原理的等価の像が得られる⁹⁾。

スポットサイズが格子定数よりも小さく、照射角がその格子の回折角より大きい場合はTEMと同様に結晶格子像も観察することが可能である⁹⁾。

一方、BF-STEMはTEMよりも厚い試料の観察に有利である。TEMの場合は試料を透過した電子を対物レンズで結像する。このときエネルギーを損失した電子は色収差によって像にボケやにじみを発生させる。ところがBF-STEMの場合、対物レンズで試料面上にどれくらい小さいスポットを形成できるかによって分解能が決まり、エネルギー損失による色収差の影響を受けないからである。

2.2 HD-2000の操作性

HD-2000はディスプレイ部に格納された一台のパーソナルコンピュータによって制御されており、操作は人間工学的にデザインされた操作卓で、PCモニターの画面を見ながら行えるようになっている。図3にHD-2000制御ソフトウェアのGUI (graphical user interface)を示す。主な操作はこの画面上でマウスを用いても、操作パネルのつまみとボタンを用いても行えるようになっている。コンピュータのOSはMicrosoft® Windows® 95である。制御ソフトには装置の制御、調整のほかに簡単な画像処理機能なども含んでいる。Windows®95を介してHD-2000をネットワークへ接続することも可能である。

図3ではSi/SiO₂界面の位相コントラスト像がメインウィンドウに表示されている。この例が示すように画面上の2点間の距離を測定する機能が備えられている。高分解能像より得られる結晶格子の面間隔を基準として測長機能で得られた寸法データ、倍率を校正することができる。

2.3 集束イオンビーム加工観察装置(FIB)によるピンポイント試料作成

HD-2000はTEMと同様に薄片化した試料を観察するように設計されており、TEMによる検鏡の過程で最も時間がかかるのは試料作成であった。解析個所を容易に薄膜試料に加工できるように、HD-2000の試料ホルダはFB-2000A集束イオンビーム(FIB)加工観察装置[®]システムと共に

* Microsoft® はMicrosoft Corp., USAのregistered trademarkです。
Windows® 95 はMicrosoft Corp., USAのtrademarkです。

* 高精度(<0.5 μ m)測長機能はオプション

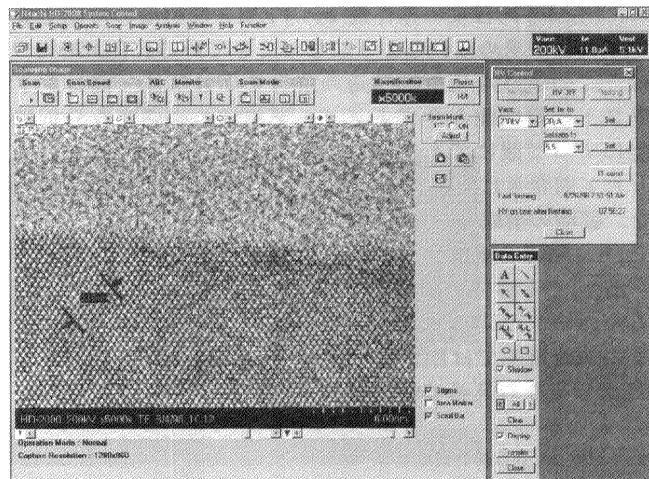


図3 HD-2000制御ソフトウェアのGUI

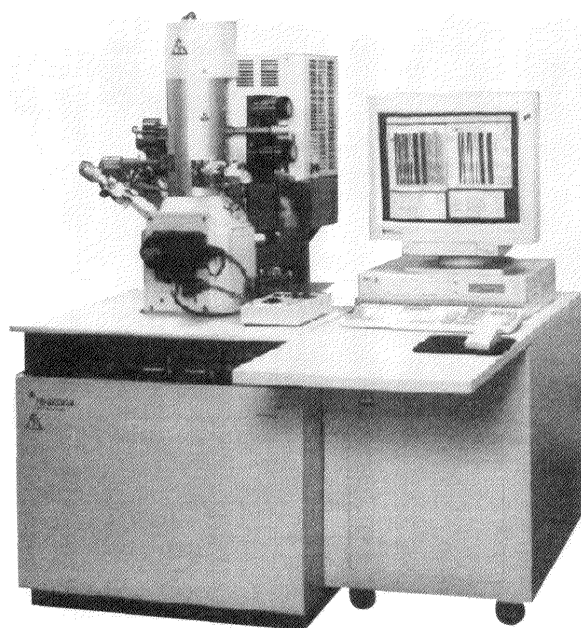
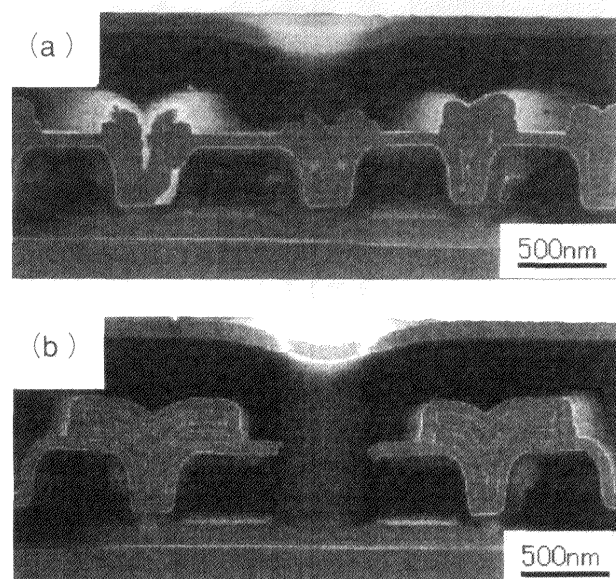


図4 FB-2000Aの外観

用可能である。

図4はFB-2000Aの外観である。FB-2000Aは2時間ほどで、試料を自動的に数百nmの厚さまで加工することが可能である。高加速電圧のSEM像は試料の表面ばかりではなく内部の情報も含んでいる。図5はFB-2000Aによって64M-DRAMを薄膜加工する各過程におけるSEM像の例である。(a)は厚さ数 μm の段階である。手前の配線の奥にコンタクトホール、キャパシタが内部にあるのが確認できる。(b)は $0.3\mu\text{m}$ 追加工した結果である。コンタクトホールはまだ試料内部にある。(c)はさらに $0.1\mu\text{m}$ 追加工した結果である。コンタクトホールが削られ始めている。



(d)は最終的にコンタクトホールの中心を断面観察できるまで加工した結果である。これらの像からわかるように、HD-2000とFB-2000Aを組み合わせると、高加速二次電子像で確認しながらFIBで加工を進めると、試料厚さ 0.1mm までの加工で約2.5時間と効率よく試料作成を行えるのみならず、位置精度約 0.1mm のピンポイント解析が可能となる。

3. 応用例

図6はHSG (hemispherical grained capacitor)のSEM像とBF-STEM像、Z-コントラスト像を比較したものである。HSGは二つの酸化シリコンの層の間に多結晶シリコン、窒化シリコンの絶縁層、非晶質シリコンの層がはさまれた構造になっている。静電容量を大きくするために多結晶シリコンの層は半球上の突起が作られている。SEM像(a)では試料表面にある絶縁層の様子が確認できる。BF-STEM像(b)では同じシリコンでも非晶質の層は均一な明るさであるのに対し、多結晶シリコンの部分は結晶粒の方位によって強い回折コントラストがついている。これは結晶の分布を観察するには適しているが、絶縁層は強い回折コントラストに埋もれて見づらくなっている。Z-コントラスト像(c)では酸化シリコン、シリコン、窒化シリコンの順に明るいコントラストがついており、試料内部にある突起の分布が観察できる。これらの情報を組み合わせると、試料の組成の差や結晶性の差などの三次元的な分布を確認することができる。

図7は倍率4百万倍で撮影されたグラファイトに白金を担持した触媒のBF-STEM像である。TEMによる高分解能像と同様の、格子間隔 0.24 nm のPt [111]面とC[002]面の 0.34 nm の結晶格子像が観察できている。

図8は厚さ $1\mu\text{m}$ の半導体試料のシリコン基板部のBF-STEM像である。格子欠陥が観察できている。このような厚さの試料は従来は超高圧電子顕微鏡やエネルギーフィルター付きのTEMを用いないと観察できなかった。通

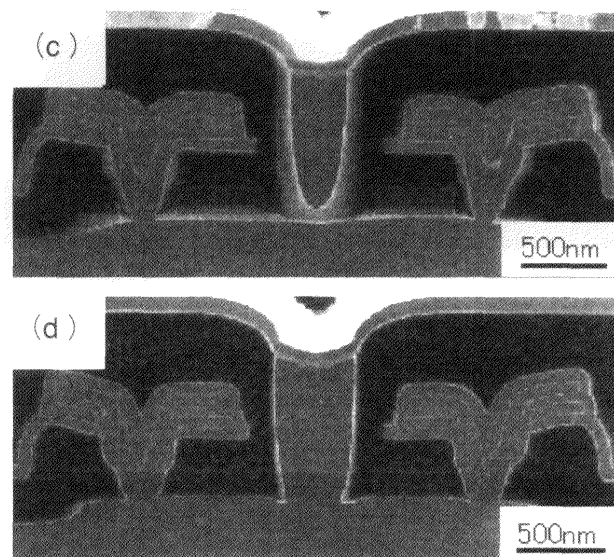
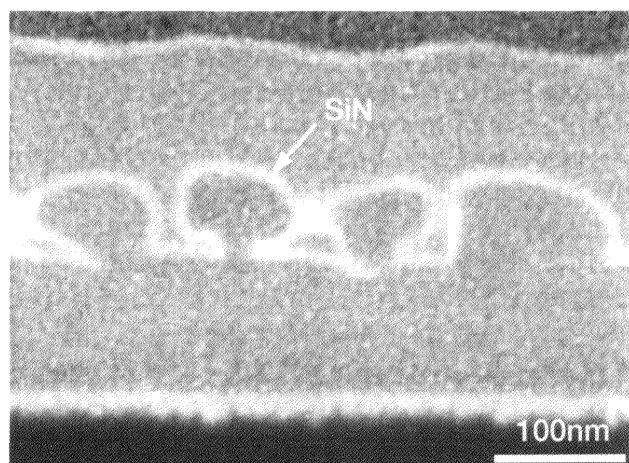
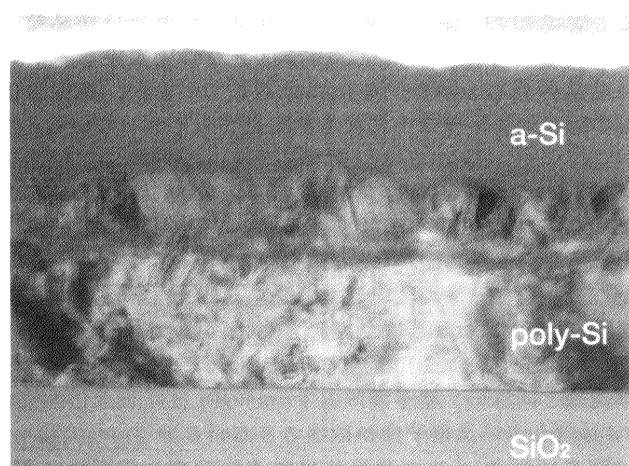


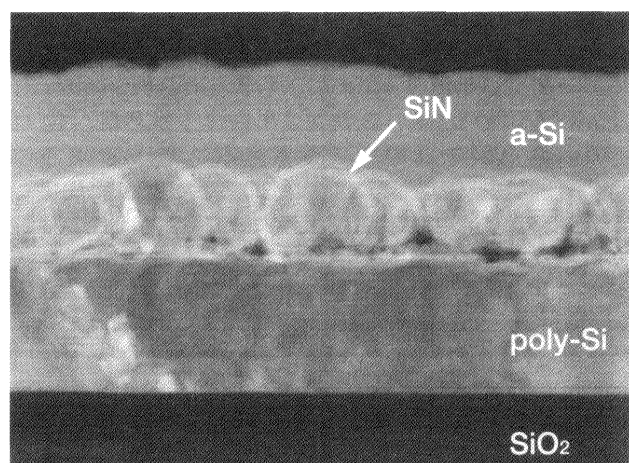
図5 FB-2000Aを用いて加工中の64M-DRAMのSEM像



(a)



(b)

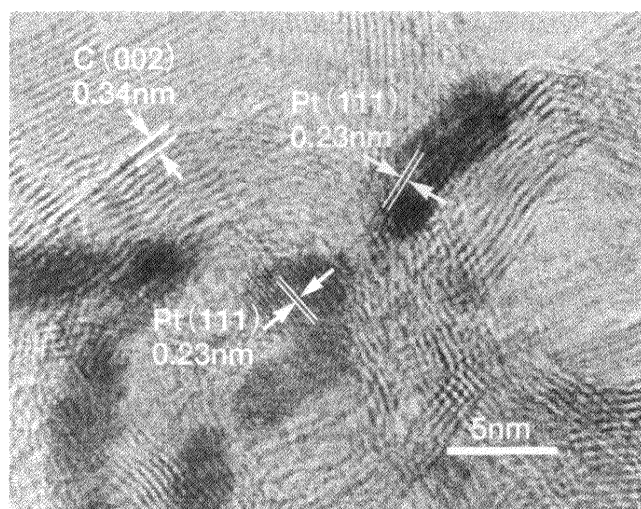


(c)

検出信号の比較 試料：HSGキャパシタ
加速電圧：200kV
観察倍率：300,000倍

図6 各種信号の比較

常の200kVクラスのTEMで観察しやすい厚さに加工しようとすると、欠陥の場所を削り取ってしまったり、欠陥が移動して試料から逃げてしまうため、TEMで格子欠陥を観察するのは非常に困難であった。試料が厚くても見え



分解能観察の一例 プローブ径：0.2nm (UHRモード)
試料：Pt触媒粒子/グラファイト
観察倍率：4,000,000×

図7 触媒のBF-STEM像

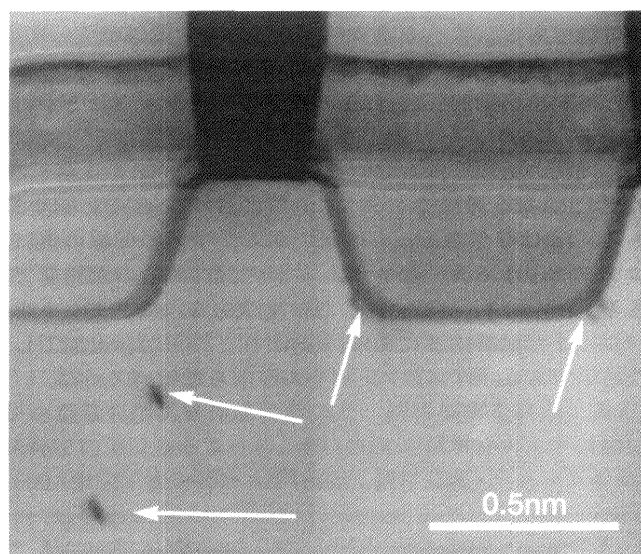


図8 厚さ1μmのBF-STEM像

るということは試料作成も容易になる。

図9はGMR (Giant magnetoresistance)ヘッドの試料の元素マッピングを行った一例である。厚さ1nmと3nmのCoの層とその間の2nmのCuの層が観察できている。分析感度が向上しているので、画像取り込みに要した時間は8分未満と、従来の分析電顕よりも2.5倍速く結果が得られている。

4. まとめ

HD-2000はTEMと同等の分解能、分析の空間分解能、TEMの2.5倍のEDX分析感度、Z-コントラスト像の観察や厚い試料の観察などTEMではできない機能をSEMと同等の操作性で実現した。最後に、表1にHD-2000の主な仕様を示す。著者らはHD-2000とFB-2000Aによって突破口が開かれ電子材料、新素材の研究開発の進歩に貢献できることを期待する。

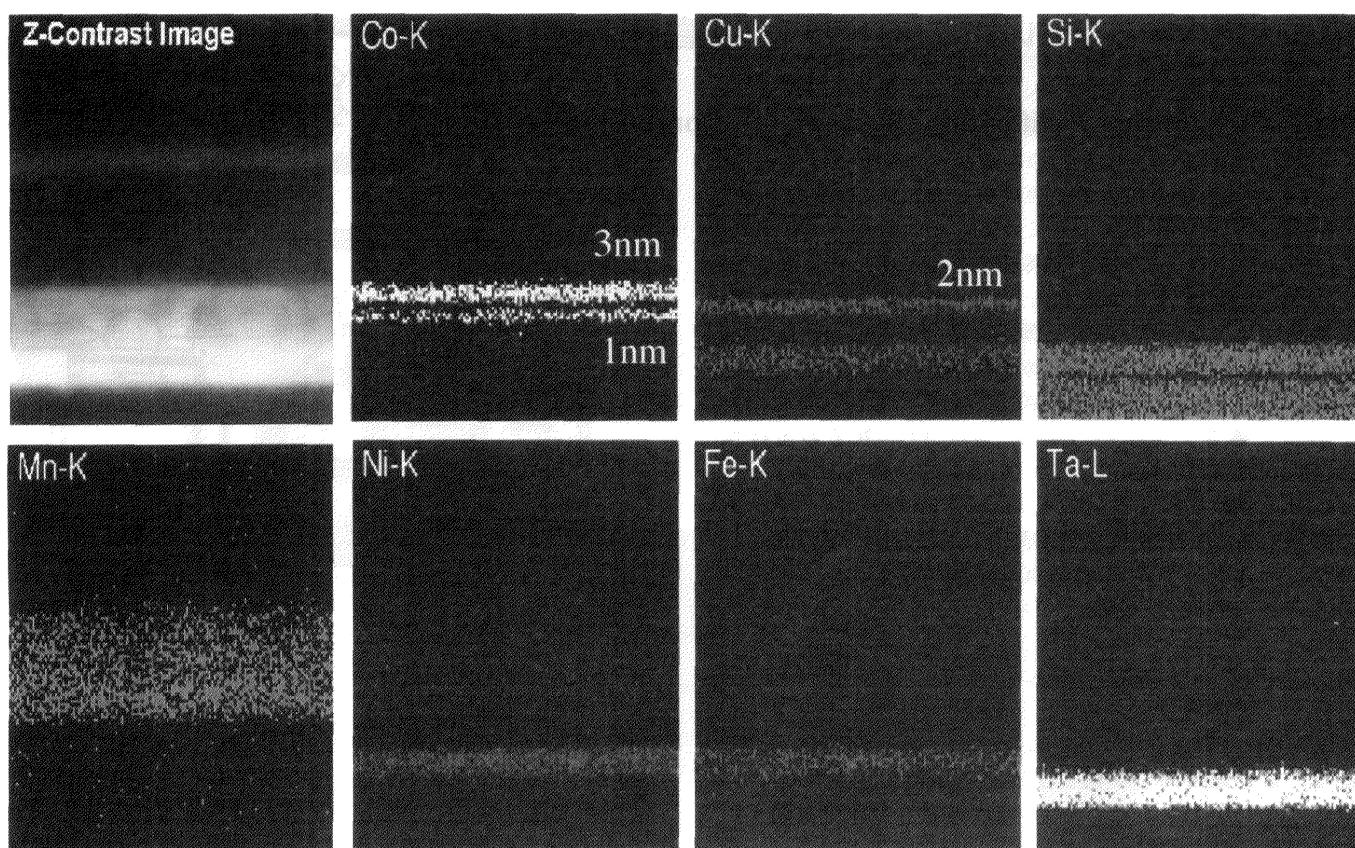


図9 GMRヘッド試料元素 マッピング

表 1. HD-2000の主な仕様

項 目	仕 様
加速電圧 [kV]	200 kV
保証分解能 [nm]	0.24(BF-STEM像)
倍率	×100～×5,000,000
検出信号	二次電子, 散乱電子, 透過電子, 特性X線*
EDX*検出立体角 [sr.]	0.3
画像解像度	(表示) 640 × 480 (記録) 640 × 480 1,280 × 960 2,560 × 1,920
使用OS	Windows® 95

*: option

参考文献

- 1) 社団法人 日本機械工業連合会・財団法人 日本品質保証機構 「平成6年度半導体製造プロセスにおける超精

密計測技術及び校正システムの確立に関する調査研究報告書」 平成7年5月

- 2) Semiconductor industry association " The National Technology Roadmap For Semiconductors" 1997
- 3) Singer P. Semiconductor International Feb.197 71-77
- 4) Hashimoto T. et al. Proc.ICEM-14 Vol.I (1998)85-86
- 5) 橋本, 中村ほか, 日本電子顕微鏡学会55回発表要旨集, 200
- 6) Ishitani T et al. J.Electron Microsc.43(1994)322-326
- 7) Cowley J. M. " Principles of analytical Electron microscopy" (Joy D.C., Romig A.D., Goldstein J.I. 編) 1986 ISBN0-306-42387-1 Plenum press
- 8) Spence J. C.H. and Carpenter R.W. " Principles of analytical Electron microscopy" (Joy D.C., Romig A.D., Goldstein J.I. 編) 1986 ISBN0-306-42387-1 Plenum press Spence J. C.H. and Zuo J. M. " Electron microdiffraction" 1992 ISBN0-306-44262-0 Plenum press

コンビナトリアルケミストリー用高速精製システム—HTPA—

High Throughput Purification System for Combinatorial Chemistry -HTPA-

三浦 順吉*

1. はじめに

新薬にとどまらず、新規な機能性化合物を見つけること、すなわち、新規化合物の獲得が企業戦略上重要であり、ファインケミカル及び製薬分野の企業の死命を決するといっても言い過ぎではない。そのためには、分子の多様性 (molecular diversity) に基づいた効率的な合成方法、そして、合成された化合物を高速に評価するアッセイシステムが必須である。従来の有機合成の手法で合成できる化合物数は、一人が一年間で10~100個程度であり、アッセイ系のスピード (100万~10億個/年間) と大きなギャップがあった。

2. コンビナトリアルケミストリーとは

近年、爆発的なブームとなっているコンビナトリアルケミストリーは合成とアッセイ系のギャップを埋めることが可能な、より短時間で多様な化合物を合成する技術である。コンビナトリアルケミストリーをとりまく全体像は図1に示すようになる。ここで、コンビナトリアルケミストリーを効率的に進めるためには、自動合成装置を導入すればこと足れりというわけではない。何を、どのようにして作るかという合成戦略や、合成したサンプルの分取・精製など図1に示す各ステップがそれぞれ効率的かつ有機的に連携が図れないとその部分がボトルネックとなり、全体のスピードを決めることになる。

3. 高速精製装置の必要性

目的物の収率が低い場合には、評価の過誤を防ぐために、次のステップに進む前に分取・精製をして目的物の純度を上げる必要がある。この分取・精製には分取スケールの高速液体クロマトグラフが主に使われているが、コンビナトリアル合成で作られられる物量を処理するには能力が不足してい

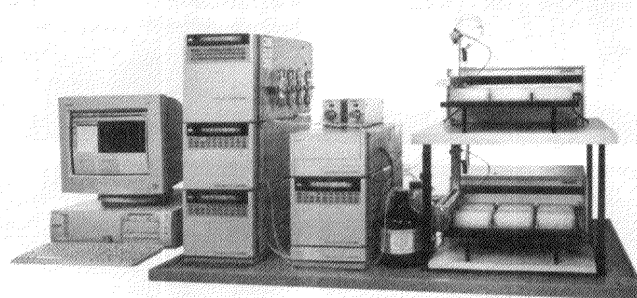


図2 高速精製装置 (HTPA) の外観 (一部オプションを含む)

る。さらに、分取専用として設計されていないことから、例えば、分取では使用しない定量分析の機能が装置の取り扱いを難しいものになっているのが現状である。今般、われわれはコンビナトリアルケミストリーに合致した高速精製装置「HTPA」を開発した。

この装置の外観を図2に示す。本装置は分取の専用装置であるとともに次のような特徴を持っている。

1) 高スループット分取HPLCHPLCを分取・精製装置として使用する場合、分離速度が大きな障壁となる。そのため、ここでは図3に示すように、1システムの中に平行2流路を構成し、従来比2倍のスループットを実現した。さらに、2液グラジェント溶出で必要なカラム再生を、リジェネレーションポンプ (低圧グラジェントユニット付) と2つの10方バルブからなるリジェネレーションユニット (オプション) を付加することで、さらにスループットを向上させることが可能である (図4リジェネレーション流路参照)。

例えば、図5のようなグラジェントプロファイルで分取・精製をしたとすると、96穴のマイクロプレート1枚分のサンプルを終了するのに、通常のHPLCでは25.6時間、HTPAでは半分の12.8時間、さらに、リジェネレーションユニットを付加した場合にはカラム再生に必要な時間4分が

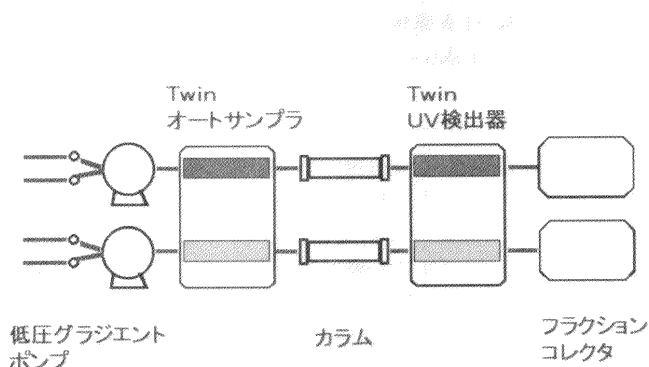


図3 HTPAの流路概略

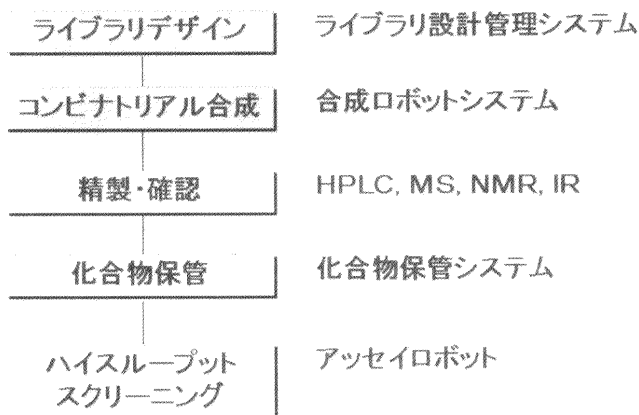


図1 コンビナトリアルケミストリーをとりまく全体像

* (株)日立製作所 計測器グループ環境システム本部 技術部

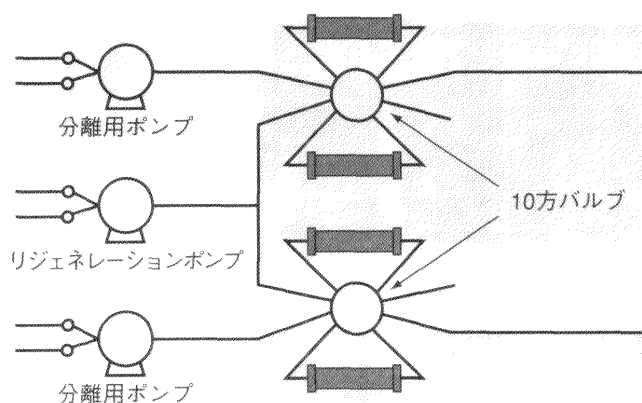


図4 リジェネレーション流路

短縮できるので、9.6時間となる。これにより、通常のHPLCの約3倍の処理能力を持つことになる。

2) 専用データステーション (HTPM) で

データの一括管理が可能

合成したサンプルは専用の容器に入れて装置にかけることになるが、ここでは使用可能な容器を図6に示すサンプルテーブル画面のプルダウンキーで選択する。各種のマイクロプレート及び試験管が選択可能である。

面倒なサンプル名の入力には合成機からインポートすることもできる。

また、図7のラックリザルト画面では、合成サンプルからどんなクロマトグラムが得られて、そのフラクションがフラクションコレクター上のどのプレートのどのウェルに分

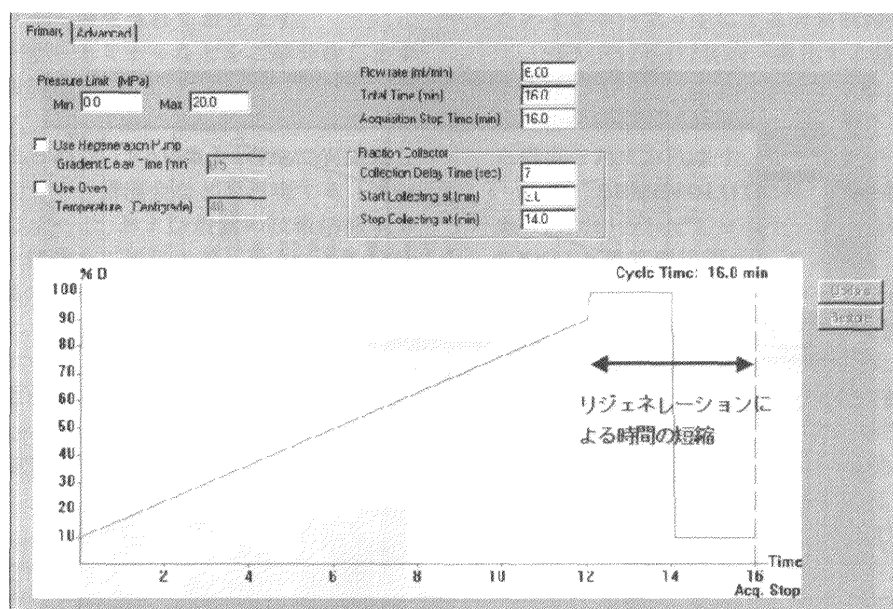


図5 グラジエントプロフィール

HTPM: Sys 1 - HTPM - [Example 2 (regeneration)]

Sample Table Name: Example_2 (regeneration) Method Name: Example_2 (regeneration)

Sample Rack Setup: Sample Rack/Pattern: 96 deep wells Partitioned - Flow by R Parameters: FC Rack Setup: FC Rack/Pattern: 96 deep wells - Columns by Column Parameters: Injection Volume (μl): 500.0 Number of Sample Racks: 1 Number of Racks on Tray: 1 Maximum number FC wells per sample

Sample Rack 1: ID: Example_2 Description: Installation FC Tray 1: ID: Example_2_FC1 Description: Installation

Sample Rack 2: ID: Description: Installation FC Tray 2: ID: Example_2_FC2 Description: Installation

Vial Pos.	Sample Name	Sample Description	MW	FC Vial
A1	Methyl Salicylate-1	50 ppm-1	152.2	1
A2	Methyl Salicylate-2	50 ppm-2	152.2	2
A3	Methyl Salicylate-3	50 ppm-3	152.2	3
A4	Methyl Salicylate-4	50 ppm-4	152.2	4
A5	Methyl Salicylate-5	50 ppm-5	152.2	5
A6	Methyl Salicylate-6	50 ppm-6	152.2	6
E1	Methyl Salicylate-7	50 ppm-7	152.2	7
E2	Methyl Salicylate-8	50 ppm-8	152.2	8
E3	Methyl Salicylate-9	50 ppm-9	152.2	9
E4	Methyl Salicylate-10	50 ppm-10	152.2	10
E5	Methyl Salicylate-11	50 ppm-11	152.2	11
E6	Methyl Salicylate-12	50 ppm-12	152.2	12

For Help, press F1 [04/23/1999 01:47:15 PM] [MENU]

図6 サンプルテーブルの一例

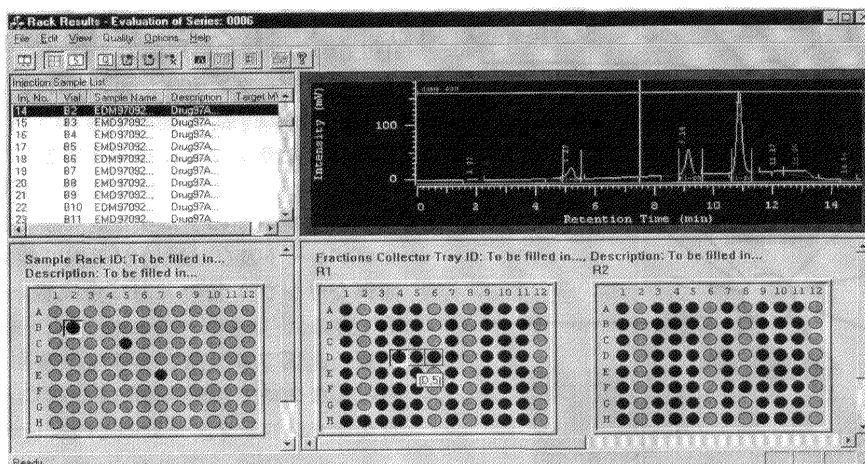


図7 ラックリザルト画面の一例 (その1)

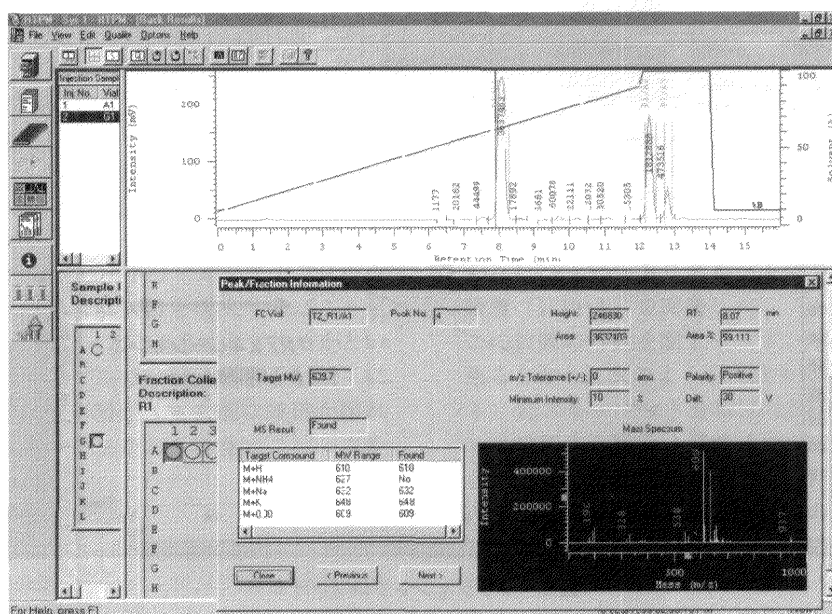


図8 ラックリザルト画面の一例 (その2)

取されたかが容易にわかるようになっている。コレクトされたフラクションは質量分析計で質量数から合成確認する。このとき、日立M-8000形液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS)とLAN接続することで、図7のフラクションコレクタ上のプレート情報を分取時のLC/MS側のサンプルテーブルとしてエクスポートできる。さらに、サンプルテーブルで質量数を入力しておけばクロマトグラム情報とMSスペクトルの情報を一括して管理できる(図8 ラックリザルト画面(その2)参照)。

3) イージーオペレーション

グラフィカルな装置条件画面で容易に条件設定が可能である。例えば、図5のグラジエントプロフィールは曲線をマウスでドラッキングすることで作成できる。

4) オプションソフトの適用

分離最適化支援ソフト「クロムソード」を用いれば、分取をスタートする時度にカラムへの保持状態が判定でき、分取の失敗が防止できる。化合物情報としては構造式を入力するが、モルファイルをインポート可能としている。

4. おわりに

コンビナトリアルケミストリーは欧米が先行し、日本が追いかけている状況にある。冒頭に述べたように、新規化合物の獲得は将来に重要な意味を持つ。しかし、残念ながらこれをサポートするシステムの分野への国内メーカーの参入は多くはないのが現状である。われわれは、今回開発した高速精製システム(HTPA)を通して新薬等の開発の効率化に貢献していきたいと考えている。

(計) 会 員 制 ホ ム ペ ー ジ の ご 紹 介

日立製作所計測器グループでは、分析機器装置をお使いのお客様と、走査電子顕微鏡をお使いのお客様に向けて、インターネットによる会員制情報サービスを開設しております。(https://websign.hitachi.co.jp/keisokuki/)

「日立分析ユーザズルーム」

日頃、日立分析機器装置 (HPLC/アミノ酸分析計/GC/分光光度計/蛍光光度計/原子吸光光度計/LC・MS/GC・MS) をご愛用頂いているお客様向けに開設致しました。当ユーザズルームは、以下のコンテンツから構成されております。

展示会・ユーザーセミナーなどをご紹介致します「お知らせ」、新製品情報をいち早くお知らせする「新製品ニュース」、お客様から比較的良好にいただく質問内容をまとめた「FAQ集」、各地で実施致しておりますセミナー・講演会などを再現する「インターネットセミナー」、および最新の技術情報やアプリケーション情報をご提供する「テクニカルデータ」など、会員の皆様のお役に立つ情報を満載してお届け致します。(毎月15日更新) さらに「ご意見・お問い合わせ」では、いつでもお気軽にお問い合わせいただけるようになっております。

(お問合せ先 a_center@cm.naka.hitachi.co.jp)

(本田 俊哉 記)

ユーザズ ルーム

最終更新日 8月10日

CONTENTS

ぶんせき

以下の内容の最新情報をご提供致します。

- ・セミナー、展示会のご案内
- ・新製品ニュース
- ・FAQ
- ・インターネット上で開催するセミナー
- ・テクニカルデータ
- ・フォーラム
- 他。

What's new

以下の内容の最新情報をご提供致します。

- ・セミナー、展示会のご案内
- ・新製品ニュース
- ・FAQ
- ・インターネット上で開催するセミナー
- ・テクニカルデータ
- ・フォーラム
- 他。

ご意見・お問い合わせ

ご意見・ご質問等ございましたらお気軽にお問い合わせ下さい。

まだご入会頂いていないお客様に
入会のお申し込み

製品別情報

現在までに掲載致しました全内容を製品別にまとめました。

LC	UV-VIS
GC	FL
MS	元素分析
その他	

All Rights Reserved Copyright (C)1998 Hitachi, Ltd.

「SEMEVOLUTION」

一日立汎用SEMインターネットサービス

日頃、日立走査電子顕微鏡 (SEM) をご愛用頂いているお客様との双方向コミュニケーションを図るためインターネットによる会員制情報サービスとして「SEMEVOLUTION (進化するSEMの意味)」を開設致しました。当ホームページは、SEMに関する様々な情報をご提供するため、以下のコンテンツから構成されております。

この「SEMEVOLUTION」は新着情報 資料請求 お問い合わせ/セミナー展示会情報をはじめ汎用SEMと前処理装置のラインナップをご紹介する「ショールーム」、各分野のデータを掲載する「応用データ」、SEM用語集、論文などを掲載する「SEM講座」、試料別観察手法を掲載する「撮影テクニック」、消耗品のオンライン注文が可能な「メンテナンス」、お客様からのお問い合わせと回答をまとめた「FAQ集」などのコンテンツから構成されます。(毎月20日更新) SEMEVOLUTION (セメボリューション) とは、「SEM」と「EVOLUTION」の造語で、進化するSEMという意味を表わしています。その名前の通り、21世紀に向けて、SEMをお客様と一緒に進化させていければと考えております。

(お問合せ先 Sem@cm.head.hitachi.co.jp)

(佐藤 敦子 記)

SEMEVOLUTION

Aug 30, 1999

最新情報

▶ S-4700ユーザーへ取扱説明CD-ROMプレゼント
※この夏、発売する新製品情報！
▶ PC-SEM, Windows NT 4.0にバージョンアップ！
▶ 新着情報更新(08/30/20)
▶ 海外リポート in USA

資料請求

▶ 最新セミナー情報

ショールーム

▶ メンテナンス

応用データ

▶ 撮影テクニック

FAQ集

SEM講座

ご入会申込み

ご案内

LATEST NEWS

1999/8/20
・生物、医学系分野
・材料、エレクトロニクス分野
・食品分野
・その他装置関係

1999/8/20
・試料別観察手法

1999/7/20
・観察方法
・SEM一般
・観察要について
・画像処理について

1999/7/21
・用語集
・日本電子顕微鏡学会
発表論文

ショールーム

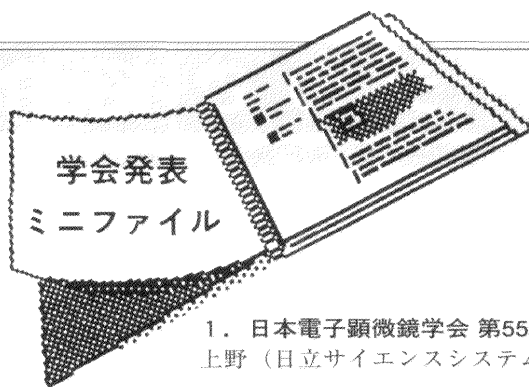
- ・電鏡のラインナップ
- ・試料作製装置
- ・画像取得装置
- ・冷却水循環装置

メンテナンス

- ・消耗品リスト
- ・サービス問合せ先

S-3500N
画像撮影からLANまで、ラボのあらゆるニーズに対応

(株)日立製作所計測器グループ (株)日立サイエンスシステムズ
日立計測器サービス(株) 日立計測器(株)
All Rights Reserved, Copyright (C) 1998, Hitachi Science Systems, Ltd.



内野興一 (株式会社日立サイエンスシステムズ)

1. 日本電子顕微鏡学会 第55回学術講演会 (1999. 5. 18 ~ 21名, 古屋国際会議場)
上野 (日立サイエンスシステムズ) : SiO_2 膜中のSiナノ結晶成長の高分解能その場観察

分析電子顕微鏡用直接加熱方式の試料加熱ホルダをもちいて, Siベース発光素子の高温における微細構造変化の動的観察をおこなった。約900℃では SiO_2 膜中のSiの凝集 (図1), 1100℃ではSi単結晶の成長が観測された (図2)。

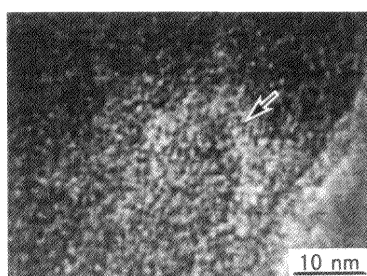


図1 アモルファスSi クラスタ
の形成 (900℃)

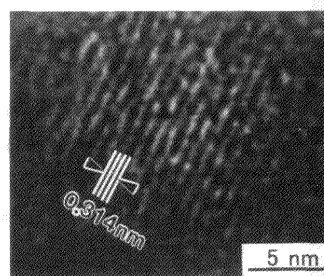


図2 Si 結晶成長 (1100℃)

外村(日立・基礎研究所): 電子波で見るミクロの世界
松本(日立サイエンス), 他: 他FIB-TEMシステムの金属材料への応用
梅村(日立・中央研究所), 他: TEM試料作成のためのマイクロサンプリング法
中澤(日立サイエンス), 他: H-7500のトータルシステム化とその応用
青山(日立・中央研究所), 他: $\text{SiO}_x\text{Ny}/\text{Si}$ 界面の位置分解EELS計測
常田(日立・中央研究所), 他: 位相限定相関法のTEM自動焦点解析への適応性の検討
西村(日立サイエンス), 他: カラーSEM法の食品組織学への応用
吉田(日立サイエンス), 他: SEMにおける遠隔観察, 制御の試み
長我部(日立・基礎研究所), 他: カーボンナノチューブの熱振動の観測によるヤング率の決定
橋本(日立・計測器グループ), 他: HD-2000形超薄膜評価装置の開発
矢口(日立サイエンス), 他: HD-2000のプロブ径と観察および分析性能
田中(日立・計測器グループ), 他: 走査透過形電顕(HD-2000)によるスペクトルイメージング
中村(日立・中央研究所), 他: HAADF-STEM像コントラスト解釈のための基礎検討
葛西(日立・基礎研究所), 他: 高温超伝導体 $\text{Bi}_2\text{Sr}_2\text{CaCu}_2\text{O}_{8+\delta}$ における磁束粒子の動的観察
長我部(日立・基礎研究所), 他: 時束粒子のTEM/TED像
鈴木(日立サイエンス), 他: 試料予備排気室にイオンシャワー機能を備えた無蒸着観察用SEM(II)
今野(日立サイエンス), 他: 高加速STEM/SEM情報の有効活用

写真コンクール

松本(日立サイエンス), 他: ラビット (1999)

FIB任意形状加工システムをもちいて, Si基板上に今年の干支である『うさぎ』を加工したもの。イオンビームを点(ドット)のレベルで制御でき, 試料上の認識点のみ加工することができます。

試料: Si 加工: FB-200A収束イオンビーム 加工観察装置

加速電圧: 30 kV

黒田(日立サイエンス), 他: まりも
今野(日立サイエンス), 他: 銀河
加藤(日立サイエンス), 他: シリコンナノピラミッド
武藤(日立サイエンス), 他: 輝く未来 (21世紀) に羽ばたく孔雀の舞い
中田(日立サイエンス), 他: モダンピラミッド
森本(日立サイエンス), 他: Micro-Submarine
生田(日立サイエンス), 他: ジュラシックエッグ
中澤(日立サイエンス), 他: 火星からのメッセージ

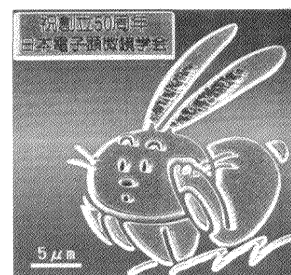


図3 ラビット (1999)

2. 第60回分析化学討論会 (1999.5.15~16, 弘前大学)

MIP-MSはプラズマは、有機溶媒を導入しても安定に測定可能であるという特徴を持っている。半導体製造工程での不良解析を目的として、MIP-MS/HPLCシステムによる接着剤中・錫の化学種の同定を試みた。テトラヒドロフラン(THF)で溶解した試料を、GPCカラムに導入して、MIP-MSで化学種を検出した。接着剤中の錫は塩化錫であることがわかった。

照井(日立・計測器グループ), 他: プラズマ/三次元四重極質量分析計による高感度測定

高田(日立・中央研究所), 他: 大型トラップを用いたプラズマイオン源三次元四重極質量分析計

永井(日立・計測器グループ), 他: ソニックスプレーイオン化LC/MSによる糖脂質の分析

鍋島(日立・中央研究所), 他: プラズマイオン源三次元四重極質量分析計におけるイオン光学系の検討

平林(日立・中央研究所), 他: CE対応ソニックスプレーイオン化質量分析計

山本(日立サイエンスシステムズ), 他: プラズマ-MSの化学形態分析への応用

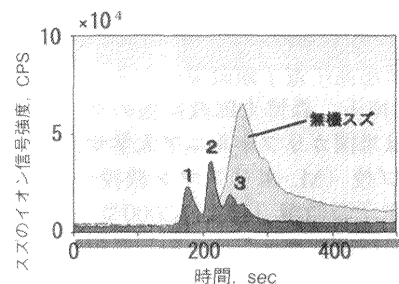


図4 接着剤中スズ及び無機スズのクロマトグラム

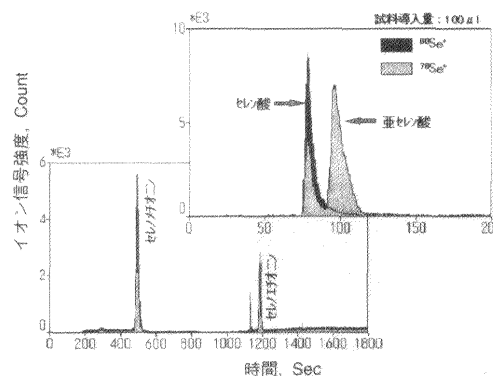
3. プラズマ分光分析研究会第45回講演会(1999.3.12, 広島市)

山本(日立サイエンスシステムズ), 他: MIP-MSによる化学種分離分析の試み

MIP-MSとODSカラムを用いたHPLCを接続し、主に食品試料中のセレンの形態分析を行うシステムを開発した。

本システムを用いてセレンアミノ酸および無機セレン化合物の分離を試みた。下記のクロマトグラムに示すように試料中に含まれるセレンメチオニン、セレンエチオニン、セレン酸、亜セレン酸の分離定量が可能となった。

図5 セレン化合物のクロマトグラム
(上: セレン酸, 亜セレン酸, 下: セレンエチオニン, セレンメチオニン)

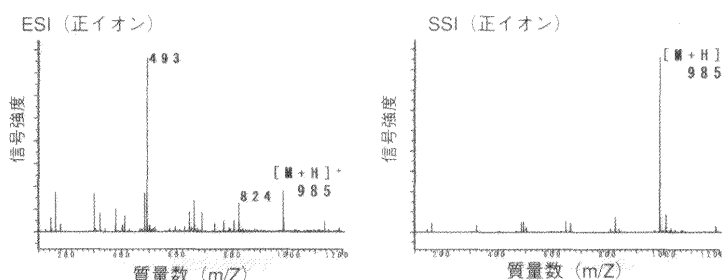


4. 1998機器分析東京討論会 (1998.11/16~17, 東京理科大学)

吉岡 信二(日立サイエンスシステムズ), 他: ソニックスプレーイオン化法 (SSI) を用いたLC/MS測定例の紹介

ソニックスプレーイオン化法は、高電圧の印加や試料の加熱を行わないソフトなイオン化法であり、従来イオン化が困難であった物質に対しても高感度で安定したスペクトルを得ることができる。熱的に不安定な多糖類(キトサンオリゴ糖)麻痺性貝毒等にソニックスプレーイオン化法による測定を試み、好結果を得た。

図6 キトサンオリゴ糖のマススペクトル



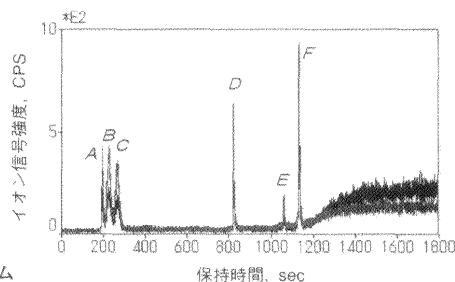
5. 第9回クロマトグラフィー科学会議 (1998. 11/19~20, 東京大学)

永井(日立・計測器グループ)他: LC/MSによるカルバメート系農薬の分析の検討

甲田(日立サイエンスシステムズ)他: HPLC-MIP-MSによる有機金属化合物の高感度分析

ODSカラムを用いた液体クロマトグラフとMIP-MSを結合させたシステムによりセレン元素を含む有機化合物に対し高感度で分析できる手法を確立した。本法によりかつを節中に存在する数種のセレン化合物を数100 µg/Lを検出した。

図7 かつを節のクロマトグラム



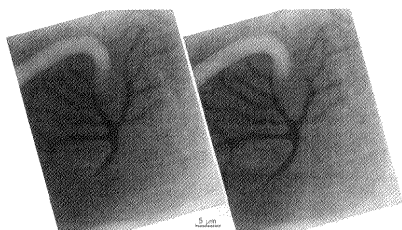
Topics

超高压電子顕微鏡 日米間で遠隔操作に成功

大阪大学超高压電子顕微鏡センター(吉田清和博士、森博太郎教授他のグループ)は米国カリフォルニア大学サンディエゴ校(M. エリスマン教授)と超高压電子顕微鏡(日立H-3000型)の遠隔操作によりラットの小脳神経細構造を観察することに成功した。

新開発のミニ操作卓と国際高速通信ネットワーク(APAN)を使って大阪大学の常用加速電圧3000キロボルトの電子顕微鏡を米国で操作し、厚さ4マイクロメートルの切片を立体的に観察した。

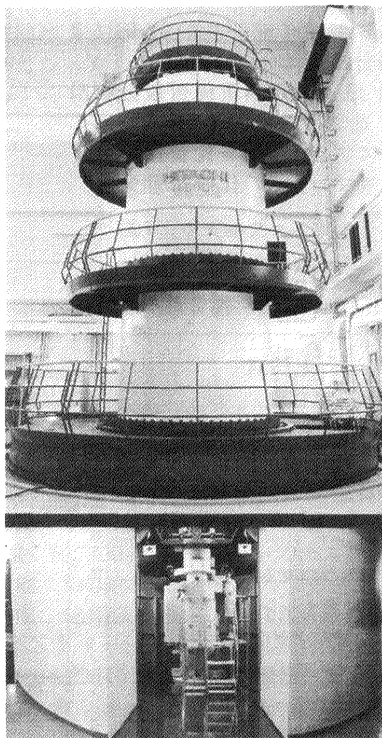
観察画像はデジタルビデオ方式で記録された。倍率は2,000倍と低いが、ラット小脳プルキンエ細胞の表面から出



ステレオ観察されたプルキンエ細胞

ている突起が3次的に捕らえられた。

ミニ操作卓は日立製作所との共同開発。ウインドウズNT環境で操作可能で実機と同じ操作性を実現した。また、高速回線で実験したのも成果に繋がった。実験ではAPANで大阪とシカゴを結び、サンディエゴへは別の回線で接続した。電子顕微鏡の制御と観察画像の通信速度は32メガビット/秒の占有



超高压電子顕微鏡H-3000形の外観

状況で行った。エリスマン教授は操作中時間の遅れは感じられなかったとのコメント。

この成果は大阪大学グループが名古屋で開かれた日本電子顕微鏡学会で報告した。エリスマン教授はマイアミで開かれる米国ニューロサイエンス学会で発表する。(松井 功 記)

第60回分析化学討論会

5月15日16日、弘前大学にて分析化学討論会が行われた。今回の特長は、マイクロチップ応用技術を含むライフサイエンスにおける各種機器分析、環境汚染物質分析など、テーマが多岐にわたっていたことであろう。

この中で、日立関連の発表は、すべて質量分析計に関するものであった。テクノリサーチセンタのHPLCとMIP-MSを結合した形態分析は、生化学分野・環境分野双方の参加者の注目をあびた。また、日立のMIP-MSをご使用中の複数の顧客より極微量ホウ素の分析の発表が連続してあり、活発な論議がなされた。ICP-3DQMSに関する発表は、従来の課題である分子イオンのバックグラウンドの低減が評価を受けた。この他、LC-DQMSにおけるソニックスプレーの糖脂質分析への応用、3DQMSによる煙道排ガス分析もそれぞれ注目を集めた。(野上 太郎 記)

日製産業株式会社

北海道支店 電話 札幌 (011) 221-7241
東北支店 電話 仙台 (022) 264-2211
筑波支店 電話 土浦 (0298) 23-7391
関西支店 電話 大阪 (06) 6366-2551

本社 電話 東京 (03) 3504-7211
横浜支店 電話 横浜 (045) 451-5151
新潟営業所 電話 新潟 (025) 241-3011
北陸営業所 電話 金沢 (076) 263-3480
中部支店 電話 名古屋(052) 583-5841

京都営業所 電話 京都 (075) 241-1591
四国営業所 電話 高松 (0878) 62-3391
中国支店 電話 広島 (082) 221-4514
九州支店 電話 福岡 (092) 721-3501

(編集後記)

今年は8月らしい暑い日と熱帯夜が続いている。しかし、最近の日本の四季は冷夏や暖冬とか今一つはつきりしない傾向にある。やはり、春夏秋冬、夏は夏らしくカッと暑く、冬は冬らしく寒くならないと景気も上向かないのではないだろうか。

この暑さでクーラー、扇風機、冷蔵庫が売れ、ビール、清涼飲料水、アイスクリーム等の消費量も増え、夏物衣料が売れば、個人消費も上向き、景気の下支えにもなるだろう。

本SI-ニュースは多くの読者と編集委員の協力によって発行されている。編集委員にも高齢化の波が押し寄せており、逐次若い人々に交代される予定である。

編集と称する仕事には、内容の計画、執筆予定者の選定及び依頼、原稿の収集、添付される写真、図、その他資料の確認、原稿の並べかた(レイアウト、デザイン)の検討、各種の校正作業等が在り、実にさまざまな工程を決められた時間の中での確に処理して行かねばならない。ニュースの発行が遅れ

たり、誤字・脱字等の誤りあってはならぬからである。同時に読者の皆様にとって役に立つ記事が掲載されているかどうかが大変気になるところである。御気付きの点は遠慮無くご連絡頂ければ幸いである。編集委員一同、SI-ニュースが皆様方の良きパートナーとなるよう今後とも努力することを誓いたい。(小西記)

■インターネットホームページ

○(株)日立製作所計測器グループ
http://www.hitachi.co.jp/Div/keisokuki

○日製産業(株)

http://www.nisseisg.co.jp

■本ニュースに関するお問い合わせは、下記、または、日製産業株式会社の上記各事業所へご連絡ください。

○(株)日立サイエンスシステムズ

テクノリサーチセンタ
〒312-0033 茨城県ひたちなか市市毛882番地
電話 (029) 273-2111(代)

○日製産業(株)

科学システム販売促進部
〒105-8717 東京都港区西新橋1-24-14
(日製産業ビル)
電話 (03) 3504-7811(ダイヤルイン)
FAX (03) 3504-7756

HITACHI

SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS
SEPTEMBER, 1999 VOL. 42 NO. 1

発行 平成11年9月10日
発行人 柴田 史雄
編集人 塚田 勝男
発行 株式会社日立製作所計測器グループ
〒100-8220
東京都千代田区丸の内1-5-1(新丸ビル)
電話 (03) 3214-3122(直通)
印刷 日立印刷株式会社