

SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

日立ハイテク
HITACHI

SEPTEMBER 2003
VOL.46 No.1

目次

ご挨拶

Scientific Instrument News ご挨拶

林 将章……………1

報 文

電子線トモグラフィの新たな挑戦：
細胞内／溶液内における蛋白質1分子
の三次元再構成をめざして

片山栄作 馬場則男……………2

マイクロ化学チップの研究開発動向

北森武彦……………7

解 説

日立高速液体クロマトグラフL-2000
シリーズを用いた応用例

岩 渕 等 石川昌子

白崎 俊浩……………12

S-4300SE/N形走査電子顕微鏡

檀 紫 中山佳彦……………16

FIBマイクロピラーサンプリング法に
よる局所領域三次元構造解析法とその
応用法とその応用

矢口紀恵 黒田 靖 今野 充

上野武夫 橋本隆仁 大西 毅

梅村 馨 朝山匡一郎……………18

分析データ統合管理システムCyber-
LAB KESの紹介(FDA 21 CFR Part11
対応)

本田俊哉 白岩民雄……………21

日立標準メゾスケールのご紹介

長久保康平……………24

ラウンジ

麻痺性貝毒研究とLC/SSI-MS

西尾幸郎……………26

学会発表ミニファイル……………28

新製品紹介

・ G-6000形ガスクロマトグラフ…27

・ H-9500形日立透過電子顕微鏡…32

・ HD-2300形超薄膜評価装置 ……32

ご挨拶

Scientific Instrument News ご挨拶

林 将章*



日頃より、SINews (Scientific Instrument News) をご愛読いただき誠にありがとうございます。

私は本年6月に開催されました当社株主総会において、日立ハイテクノロジーズの社長に就任いたしました。就任にあたり、一言ご挨拶を申し上げます。

皆様ご承知の通り、当社は一昨年、日製産業と日立製作所の計測器および半導体製造装置グループとの事業統合により「株式会社日立ハイテクノロジーズ」としてスタートいたしました。そして本年、経営のスピードアップと透明性の向上を実現するため、株主総会の決議を経て「委員会等設置会社」に移行いたしました。

我々を取り巻く経済環境は大変に厳しい状況であり、アメリカの消費動向にも陰りが見え始めて世界の景気も今しばらくは不透明な状況が続くものと思います。しかしながら、この新しい経営体制の下、当社は環境変化に即応した経営資源の適正配分と成長分野への迅速な組織的取組みを実行して、事業の発展に努力してまいります。

そして、「ナノテクノロジー分野での世界トップ企業を目指す」という経営方針を掲げて、「市場に直結した経営」を推進して行く所存です。さらに、将来性のある「ナノテクノロジー」を中心とする「ハイテク分野」に着目し、半導体製造装置、ライフサイエンス関連機器といった次世代ナノテク技術を支える事業を展開してまいります。今後とも一層のご支援、ご鞭撻を賜りたくよろしくお願い申し上げます。

さて、本誌「Scientific Instrument News」は日立製作所理化学機器部門における成果を適切に皆様にお伝えする媒体として1958年1月に創刊されました。現在では社外での成果にも目を向け、著名な先生方の報文と当社製品の解説を中心に紙面を構成しており、その発行部数は15,000部を超えております。毎号、エレクトロニクス、バイオテクノロジー、環境などのナノテクノロジー関連分野における分析測定技術・評価技術の最新情報をお届けし、少しでも多くの皆様のご研究、お仕事にお役に立てるよう一層の充実を進めてまいります。是非忌憚なきご意見や、種々のご希望などをいただきたいと思います。

また、現在ではITの発展にともない、ホームページ等インターネットを利用した情報のご提供にも力を入れておりますが、印刷物として紙で皆様のお手元にお送りする大切さも忘れずに本誌を発行、継続していく所存です。

どうか皆様方には今まで同様ご愛読いただきますようお願い申し上げます。

*株式会社日立ハイテクノロジーズ執行役 社長

報 文

電子線トモグラフィの新たな挑戦： 細胞内／溶液中における蛋白質 1 分子の三次元再構成をめざして

A challenge to 3-dimensional reconstruction of single protein molecules in solution and in cells *in situ* by a new electron tomography

片山 栄作* 馬場 則男**

はじめに

ヒト遺伝子の長大な塩基配列が決定され、ヒトゲノム計画もその使命の大半を終えた。次の目標として、ゲノムの産物であり、現実の生体機能を担うさまざまな蛋白質の構造と機能に関する情報を網羅的に捉えようとするプロテオミクス計画が進行している。技術の進歩により、多種類そして少量の蛋白質試料のアミノ酸一次配列を相当な速度で決定することは十分に可能となってきた。しかし、それらの高次構造、そして機能ともなると、一挙に決定するための画期的な実験方法は未だ存在せず、一つひとつの蛋白質、あるいはその部分的な構造モチーフなどを選択し、適当な系で発現・精製して、従来の『構造生物学』の正統的手法であるX線結晶回折と多次元NMR解析を用いて一つずつ構造を解いていく以外にはない。それらはいずれも、原理からして空間的、時間的に高度に平均化された構造情報を与える方法であるが、結晶化が可能であるとか分子量がほどほどで高濃度でも凝集しないなど生物学的意義とは無関係の制限条件を満たす必要があり、興味深い試料を何でも解析できる訳ではない。さらに、それらの方法では細胞内における各蛋白質の存在様式や他の構成成分との相互作用などに関する情報を得ることは困難である。

『1 分子の構造生物学』の提案

20年ほど前に、分子モーターの作動メカニズムを追求する生物物理学の領域において、画期的な方法論『1分子生理学』が誕生した。高性能の機器や新技術の開発により一個一個の蛋白質分子やリガンドを蛍光顕微鏡下で直接観察できるようになったことを契機に、蛋白質分子を操作し、一切平均化することなく各種の物理量を測定するという斬新なやり方で、従来、想像もつかなかった多くの重要な、そして驚くべき実験事実が次々に明らかになった。そのような革新的な発想は、生命の基本原則を調べるための重要な手法として定着し、他の研究領域にも急速に波及してきた。

われわれは、空間分解能の点ではX線結晶回折や多

次元NMR解析には及ばないものの、対象を選ばず、個々の分子の実像を観察できるという優れた特性を持つ電子顕微鏡法、とりわけ「急速凍結ディーブエッチ・レプリカ法」(以下、フリーズ・レプリカ法と省略)を用い、さまざまな蛋白質分子複合体の表面の凹凸プロファイルを高い分解能で捉え得ることを示してきた^{1)~4)}。本法は、あらゆる生命現象を1ミリ秒以内に凍結固定し、その切断面にロータリー・シャドウィングを施して、写し取った材料の表面構造を透過型電子顕微鏡で観察する方法である。適切な処理が施されれば、溶液中^{1) 2)}あるいは細胞内^{3) 4)}における個々の蛋白質粒子の高コントラストの実像を1.5–2nmにおよぶ空間分解能で捉えることも可能である。これは、蛋白質分子内のサブドメイン構造の配置が識別できるほどの分解能であるが、溶液中の蛋白質分子はもちろん、*in situ*の組織・細胞中における一個一個の蛋白質分子の構造を直接に観察することを可能とするおそらく唯一の技術であろう。最近われわれは、レプリカ試料の高いコントラストと、電子線照射に対する耐久性を生かして、電子顕微鏡内で広範囲に傾斜して撮影した1個の分子の多数の像から、そのサブドメイン配置が明瞭に示されるほどの精度で立体構造を再構成することに成功した²⁾(これは、電子顕微鏡による構造解析に最近盛んに用いられている、いわゆる「単粒子解析法」とは全く異なる方法、概念である)。以下、方法の原理をごく簡単に述べる〔以下、図1を参照〕。

- 1) まず、傾斜撮影した多数の画像の回転軸の方向とそれに沿った位置を画像相関法を用いて検索し、一連の画像の相対位置を精密に揃える。それに並行して各画像の精密な傾斜角を決定する。

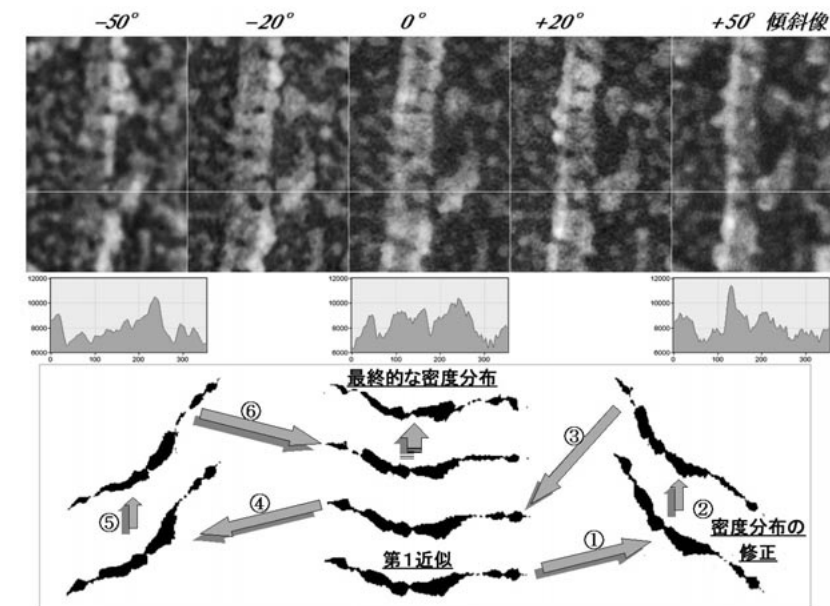


図1 レプリカ画像のための新しい三次元再構成法(本文参照)。

- 2) 各画像を、軸に垂直な断層面に分割し、それぞれの面内で相関法により見つけた対応点の高さを、立体視差を用いて精密計測する^{2) 4)}。これにより、後の処理の基本となる各点の高さのプロファイルが得られる。
- 3) 傾斜角0度の画像の断層面における輝度分布を、シャドウィングによる金属膜の厚さに比例するものと仮定し、前項で決めた高さのプロファイルの上に重ねて、断層面中の密度分布の初期近似とする。
- 4) 仮定した高さプロファイル上の密度分布をそのまま別の角度に傾斜投影し、その角度における実際の画像のデータと比較する。異なる場合には、それらが合致するように元の密度分布を修正する。
- 5) すべての傾斜画像にわたってこれらの処理を実行し、逐次近似法により連立方程式を解いて全体の誤差が最小となるようにする。
- 6) 画像中のすべての断層面に関して以上の処理を実行し、それらを再配置することにより。三次元像が再構成される²⁾。

一方、蛋白質の原子座標データが得られている場合には、透過型電子顕微鏡で観察されるべきレプリカ像を予測できると考えられる。仮想空間内で蛋白質分子のモデルを任意の向きに置き、座標データ中の各原子に適当な半径を与えて太らせた後、市販のレイ・トレーシング・ソフトウェアで多方向から影付けしてロータリー・シャドウィングの効果を得る。この方法を用いれば、推定される蛋白質の構造変化に応じて原子座標に修正を加え、そのシミュレーションで得られた像

を実際のレプリカの電子顕微鏡像と比較して、推定した構造変化の信憑性を検証できる²⁾。

透過型電子顕微鏡とこれらの新たな技術を組み合わせることで、機能遂行中の一瞬における蛋白質の三次元構造を捉えるという当初の目標を達成できる可能性が見えてきた。そのような進捗状況を基に、分子モーター研究の領域に始まり、さまざまな分子機械の作動機構の解析に大きな役割を果たした『1分子生理学』に対応する『1分子の構造生物学』の手法を確立することは、われわれの究極の目標である。実は、これはそのまま『細胞の構造ゲノミクス』に応用できる手法でもある。

ここでは、われわれの新たな手法を用いてどのような種類の情報が得られるのか、その一例をかいつまんでご紹介する。

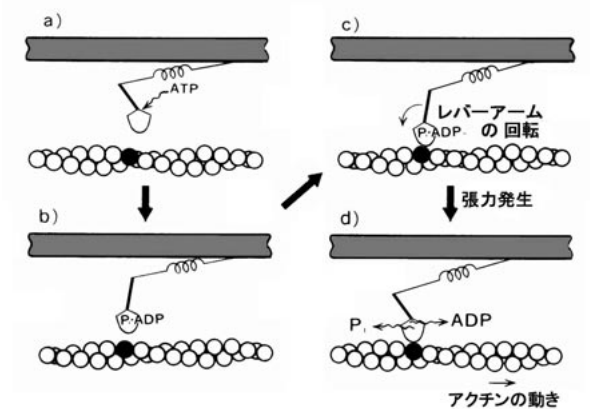


図2 「レバーアーム部分の首振り」による筋収縮の分子機構

* 東京大学医科学研究所 分子構造解析分野 教授 医学博士

** 工学院大学 電気工学科 教授 工学博士

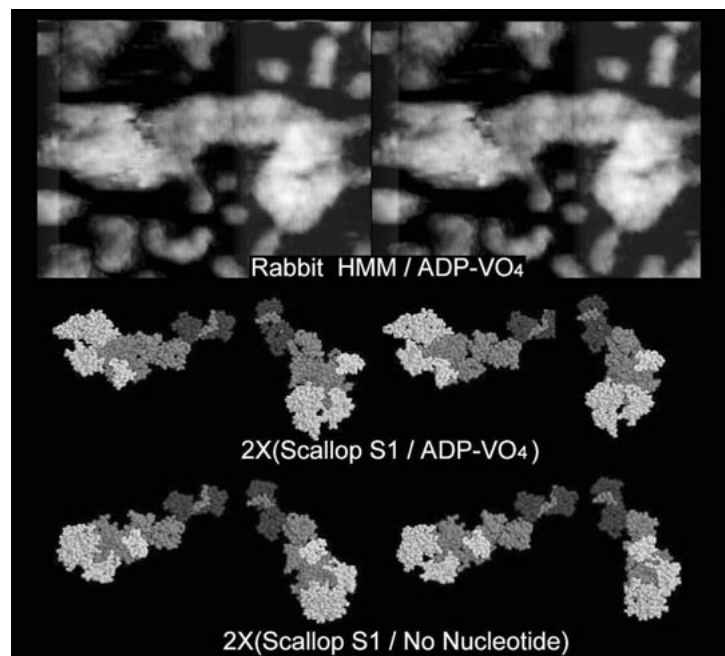


図3 ATP結合型HMMの三次元再構成像（上）、およびホタテミオシンS1のX線原子モデル。ATP結合型（中）および非結合型（下）・再構成像は中段の構造に酷似する（いずれもステレオ表示）。

機能遂行中の蛋白質複合体の立体構造解析の例

アクトミオシン滑り運動の分子機構として世界に最も広く受け容れられている仮説は「レバーアーム首振り説」[図2]である。その根拠は構造生物学の結果によるところが大きい。1993年にミオシン頭部S1の結晶構造が、引き続いてヌクレオチド結合状態のS1の構造が解かれた結果、ATP結合により、S1のモーター部分とそれに連なる長い α ヘリックス部分（レバーアーム）の間で分子が強く折れ曲がることが明らかになった。他のさまざまな状況証拠と併せて、ATP結合によるレバーアームの折れ曲がりこそが滑り運動の力の源と信じられるようになったが、実際に滑り運動が起きている現場を直接見る手段はなかった。そこでわれわれは、フリーズ・レプリカ法で滑り運動を観察し、新たに開発した構造解析法を用いて一個一個のミオシン・クロスブリッジの立体構造を個別に解析することを目論んだ。まず、方法の妥当性を検証する必要がある。重メロミオシン（HMM）にATPやADP／バナジン酸を結合させた試料のレプリカ像はレバーアーム部分の強い屈曲を示した¹⁾。その三次元像を再構成してミオシン頭部S1のX線結晶モデルと比較したところ、再構成像中の頭部はホタテ・ミオシンS1-ADP／バナジン酸の原子モデルと非常に良く似た構造を取っていた[図3]。本法が実際に役立つことを示す例である。

滑り運動中のアクトミオシンの構造を捉えるため、1分子生理学の基本となる「*in vitro* アクチン滑り運動アッセイ法」を改変して実験に用いた。アクチン・

フィラメントに骨格筋HMMを結合させて硬直複合体を作り、それを細かく砕いたマイカと混合した。複合体中のHMMはその尾部でマイカ表面に吸着してアクチンの軌道を作り、そこにATPを加えると、アクチンは一方向に滑り出す。この時、液体ヘリウムで冷却した純銅ブロック表面に材料を押し付けると、一瞬のうちにすべてを凍結固定することができる。それを処理して得られたレプリカ試料の像を透過型電子顕微鏡で観察した。この結果、滑り運動を始める前の硬直複合体と滑り運動中のミオシン頭部の構造には大きな違いが見出された¹⁾。硬直複合体中のHMMはすべてが二個の頭部を介してアクチンフィラメントに斜めに結合し、それぞれが細長い洋ナシ型の比較的均一な構造を取っていたのに対し、ATP存在下で滑り運動を起こしていると思われるHMM粒子はすべて一個の頭部のみでアクチンに結合していた。個々の頭部はさまざまな形状を取っており、平均化による従来の方法で構造解析ができないことは一見して明らかであった（文献1参照）。

ここで、一つひとつのコンフォメーションについて記述する紙面の余裕はないが、アクチンに結合した頭部はいずれも、従来のような単純な形のレバーアームの首振りでは説明困難な形状をしていた[図4]。周囲に存在する、アクチンに結合していないHMM粒子では前述のように屈曲している粒子も見られることから、滑り運動中にアクチンに結合したクロスブリッジは、単独のミオシン頭部とは異なる構造変化をすることが考えられる。その中に、通常のATP結合型とは逆方向に

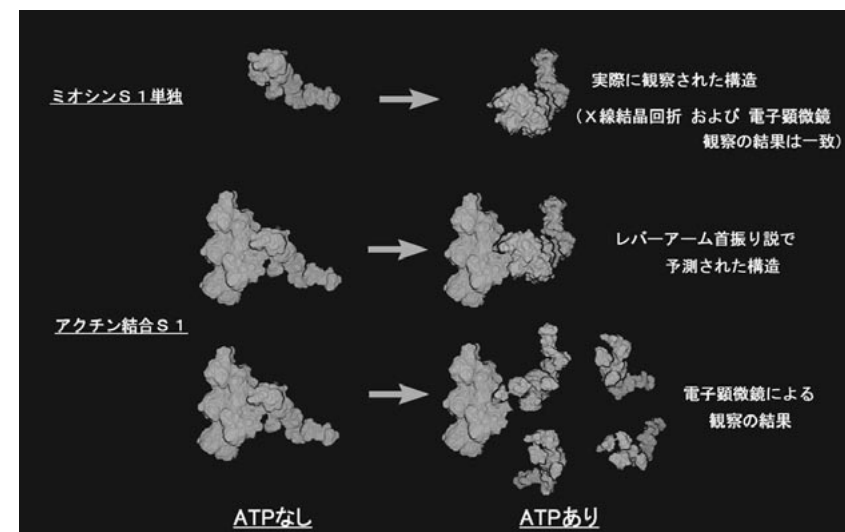


図4：レバーアーム首振り説から予想されるミオシンの構造変化とレプリカ像中で実際に観察された構造の比較。

屈曲しているように見える粒子が多数存在していた。そこでアクトミオシンの反応中間体アナログを安定化するのではないかと想定されている、ある化学架橋によってHMMを処理し、その構造と比較して調べてみることにした。そのような架橋産物のフリーズ・レプリカ像を観察した結果、予想通り、HMM頭部はATP型とは逆の屈曲を示した。さらにこれらの粒子においては、レバーアームからS2への連結部分の構造が通常のATP型とは大きく異なり、奇妙なうねりを示すのが特徴的であった（図5矢頭）。このような粒子の素性を調べるために、コンピュータ・シミュレーションによりミオシン頭部のどの面がレプリカ像として見えているのかを検討した。原子モデルのレバーアーム部分の向きを色々な方向に自由に回転し、それぞれの構造について前記の方法で影付けした像を実際のレプリカ像と比べることにより、電子顕微鏡で観察された頭部表面の凹凸のプロファイルがどのモデルと最も良く一致するのかを調べた。その結果、われわれが化学架橋したHMMで見出した構造は、レバーアーム部分が通常のATP型とはほぼ逆方向に向いており、これまでX線結晶解析の結果が発表されているどの分子種とも一致しない、新しい、そしておそらく滑り運動中にのみ実現されている構造ではないかと結論した[図5]。そのような架橋HMMは、生化学的にも他のさまざまな分子種とは異なることが明らかになった²⁾。

新技術の今後の展開

われわれは「1分子生理学」に対応する「1分子の構造生物学」を実現するための技術として急速凍結フリーズ・レプリカ法を活用することを提唱してきた。本法は本来、組織・細胞中の細胞骨格や小器官の膜構

造を透過型電子顕微鏡で観察するために開発された方法である。蛋白質1分子のサブドメイン構造を観察できるほどの空間分解能を有することを併せれば、細胞内で実際に働いている蛋白質複合体の構造を直接捉え、その立体構造を再構成することも可能なはずである。ポストゲノミクスの大きな流れであるプロテオミクスにおいては、細胞中で発現されている多くの蛋白質の構造を網羅的に決めることが最重要課題の一つであるが、前述の通り、現実にはそのような手段は存在しない。また細胞内におけるそれらの存在様式や相互作用を直接解析する基本技術も見つかっていない。筆者は以前、生きた神経細胞中で結晶状態を呈するイノシトール3燐酸受容体の構造を上記フリーズ・レプリカ法で解析し、リアノジン受容体と似た、しかしサイズの全く異なる4量体構造を取っていることを示した³⁾。その際、観察された粒子が確かにその受容体であることを証明する上で大変苦勞した経験から、もし細胞中で用いることのできる適切な特異的標識が開発できれば、当方法が「細胞生物学」あるいは「細胞内蛋白質の構造プロテオミクス」のための新手法となり得べきことを痛感した。

in situ で機能中の蛋白質の一瞬の姿を捉え、その表面構造の三次元構造解析を可能とするわれわれの手法は、構造プロテオミクスのユニークな解析法として有効に利用できる可能性がある。そのためには画像解析処理の一層の高速化を進めるとともに、細胞内に観察される特定の蛋白質粒子を同定するための新たな標識法が必要である。

われわれの開発した三次元再構成法は、元々レプリカ試料の立体構造解析のみを目標にして開発したものである。しかし原理的には、対象をレプリカ試料に限

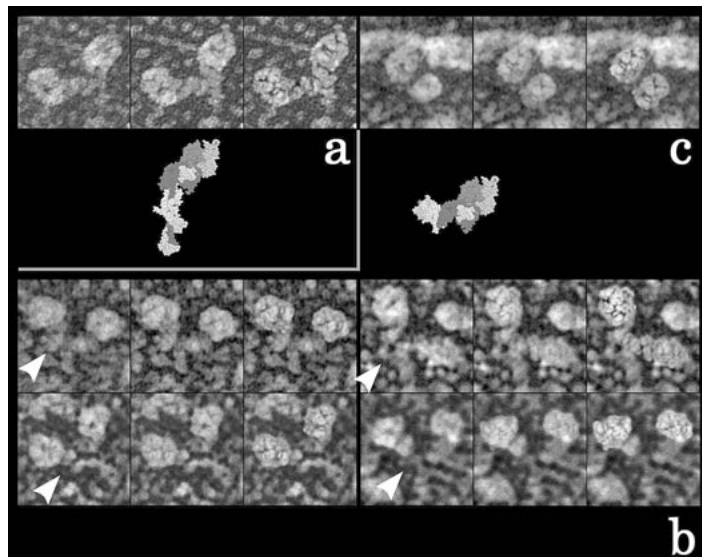


図5 HMMの各コンフォメーションのレプリカ像（各3つ組パネル左端）とそれぞれに対応する原子モデル表面のシミュレーション像（右端）。その間は両者を重ねた像。a) ATP結合型コンフォメーション、b) 新たに見出されたコンフォメーション、c) 滑り運動中のアクチン結合型コンフォメーション。b) c) は同じコンフォメーションである。

る必然性はなく、それ以外の一般の生物試料（切片、ネガティブ染色などを含む）にも十分に適用できそうである。また、それにより応用範囲は一挙に広がる可能性が高い。現在、その方向に向けて再構成ソフトウェアを改良中である。

20世紀終盤には、蛍光顕微鏡による生体分子の1分子観察を中心とした技術が大きな発展を遂げ、「光学顕微鏡のルネッサンス」とも称される時代であった。各部品の高精度化と大幅なコンピュータ制御の採用に伴う最近の透過型電子顕微鏡ハードウェアの改良は目覚ましいものがある。さらに急速凍結法を中心とする各種試料作成技術の長足の進歩、そして新たな画像解析技術の導入と相まって、21世紀前半にわれわれは、「電子顕微鏡のルネッサンス」を迎えることになるであろう。

参考文献（膨大な数になるので、筆者の関連した最小限のものだけに止める）

- 1) E. Katayama : Quick-freeze deep-etch electron microscopy of the actin-heavy meromyosin complex during the in vitro motility

assay. J. Mol. Biol. 278 : 349-367, 1998

- 2) E. Katayama, N. Ichise, N. Yaeguchi, T. Yoshizawa, S. Maruta & N. Baba : Three-dimensional structural analysis of Individual myosin heads under various functional states. In : H. Sugi & J. Pollack (eds), Proceedings of the Fourth Fujihara Seminar on "Molecular and Cellular Aspects of Muscle Contraction" in press, Kluwer/Plenum Press, 2003
- 3) E. Katayama, H. Funahashi, T. Michikawa, T. Shiraishi, T. Ikemoto, M. Iino & K. Mikoshiba : Native structure and arrangement of Inositol-1,4,5-trisphosphate receptor molecules in bovine cerebellar Purkinje cells as studied by quick-freeze deep-etch electron microscopy. EMBO J. 15 : 4844-4851, 1996
- 4) E. Katayama, T. Shiraishi, K. Oosawa, N. Baba & S.-I. Aizawa : Geometry of the flagellar motor in the cytoplasmic membrane of Salmonella typhimurium as determined by stereo-photogrammetry of quick-freeze deep-etch replica images. J. Mol. Biol. 255 : 458-475, 1996

マイクロ化学チップの研究開発動向

R & D trends in microchip chemistry

北森 武彦*

1. はじめに

分析システムや生産システムをマイクロチップ上に集積したマイクロ化学チップは小さくて効率よく、高速に化学プロセスを処理することができる。その結果、マイクロ化学チップは分析技術、化学合成技術、バイオ関連技術などの広範な分野において従来のマクロな手法と比較して桁違いな性能をもたらす画期的な手法として注目を集めている。多くの可能性に対する期待感は今や世界的に広がり、激しい研究開発競争が繰り広げられている。マイクロ化学チップと一口に言っても、マイクロ流体デバイスをベースにしたものや電気泳動をベースにしたものなど、目的に応じてさまざまなアプローチがある。世界的な視点からもそれぞれに勢力分布や研究開発動向は異なり、また、研究を実際に進めている主体や、産学官の各分野の動向も、最近では国によって大きく異なってきている。こうした情勢の中にあって、我々のマイクロ化学チップ技術について世界の研究開発の動向や戦略などと比較してみたい。

2. 世界の研究拠点

論文や国際会議で積極的に発表しているグループを主体とした世界の研究拠点を図1に示した。北米のカナダはアルバータ大学が初期から高いアクティビティを維持してきており、ベンチャー企業も発足している。アメリカではオークリッジやサンディアの国立研究所、MIT、シンシナティや西海岸各地の大学が活発に研究を進めている。特にオークリッジ国立研究所は一大拠点である。また、シリコンバレーには大企業アジレントテクノロジー社やそれを支えるベンチャーのキャリパー社など、電気泳動チップをいち早く製品化し、上市した企業が集まっている。アメリカではここに示した以外に、いわゆるマイクロフルイディックスあるいはマイクロ流体デバイスなどと呼ばれるマイクロチップに流体システムを集積する研究が非常に盛んである。しかし、こ

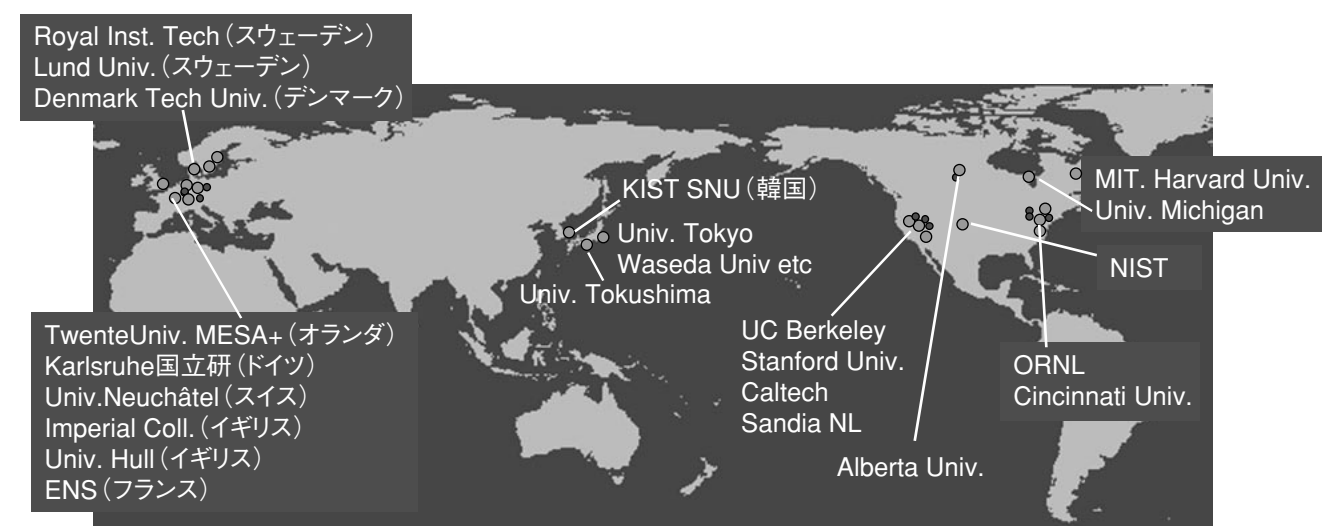


図1 代表的なマイクロ化学チップ研究拠点

*東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻 専攻長
(財)神奈川科学アカデミープロジェクトリーダー

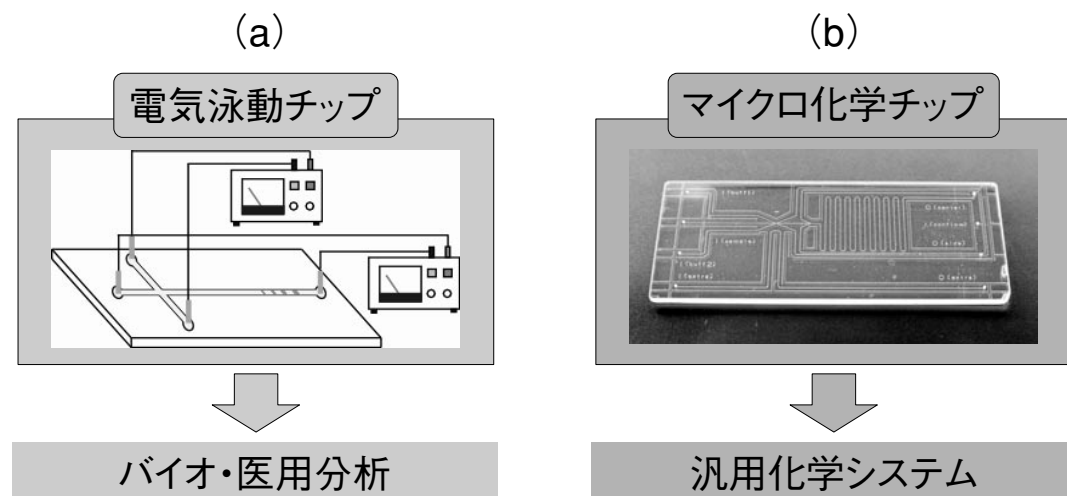


図2 電気泳動チップと汎用マイクロ化学チップ

これらの研究の応用先はあまり明確ではなく、とりあえず化学やバイオを当面の出口として重用されているようである。ヨーロッパでは、老舗のスイス、イギリス、オランダ勢が活発で、このグループはもとチバガイギー社やヌシャテル大学のグループが発展展開してきた一大勢力であり、カナダのアルバータ大学との関連も深い。あとで紹介するマイクロチップ電気泳動、また、化学とMEMS (Micro Electro Mechanical System) との協力という観点でも発祥の地の一つであろう。北欧ではスウェーデンの王立科学技術アカデミーやルンド大学に拠点があり、どちらかというともMEMSやマイクロ流体デバイスからのアプローチが盛んである。ドイツはカールスルーエ国立研究所やIMMとよばれる我が国で言えばNPOに相当する組織などが、マイクロ化学チップではなくマイクロ化学プラント機器の視点からの研究開発を精力的に進めている。最近フランスでは急速に研究体制が立ち上がりつつあり、一昨年末にはエコール・ノルマル・スペリオールでグランベール研究所という化学やバイオ応用を中心にしたマイクロ科学とMEMSの研究所が発足した。ヨーロッパ全体としてもマイクロ化学技術に関するユニオンをつくっている。これはヨーロッパ版の連邦制度のようなもので、各国が資金を提供して研究開発を公募し、国を越えて審査して採択することを主な活動としている。企業の実用化研究を重視しているようである。

アジア各国の動きも活発になってきている。特に、日本と韓国のアクティビティーが高く、日本はヨーロッパやアメリカと並んで研究の着手も古く研究勢力としても一大勢力になっている。マイクロ化学チップ分野で最も大きい国際会議 μ -TASの開催国としてもアメリカ、ヨーロッパ、日本をローテーションしており、

ステアリングコミティー（理事会相当）メンバーもアジアからは日本からのみ3名が参画している。韓国もKAISTやソウル国立大学が中心となって活発な活動を始めている。中国や台湾でも関心を集めている。

このように、研究拠点は世界に拡がり、新しい研究分野を形成しつつあることは確かである。しかし、その反面、国際会議を開催すればすぐに数百人集まるほどの活況を呈していても、発表は各国とも大学や国立研究所が大半を占め、企業からの発表はまだ数少ない。発表論文数の倍近い参加者を集めることも特徴的で、その中には企業からの参加者も多数含まれる。つまり、実用化や事業化を目指している企業の立場としてはまだ模様眺めであると考えてよいだろう。しかし、この傾向も国により相当に異なってくる。例えば、我が国では企業も積極的に取り組み始めている。もちろん、研究開発のステップによっても違いは出てくるが、むしろ、次に述べるように、研究開発の方向と戦略に関わってくるところが大きいようである。

3. 技術の動向と研究開発戦略

マイクロ化学技術の急速な進展はここ10年間くらいの世界的な潮流である。もちろんそれ以前にも、MEMSの分野あるいは分析化学やバイオ技術の分野いずれでも、分析や合成システムを小型化しようとする前哨的な研究は進められていた。しかし、この両分野を融合して新しい科学技術を生もうと歩み出し始めたのはそう古いことではない。

分析化学の分野では1970年代に既にシリコンチップにマイクロ加工した微細な溝でガスクロマトグラフィーを実現する研究が行われていた。1980年代に入ってからガスクロマトグラフィーだけでなく、その頃に

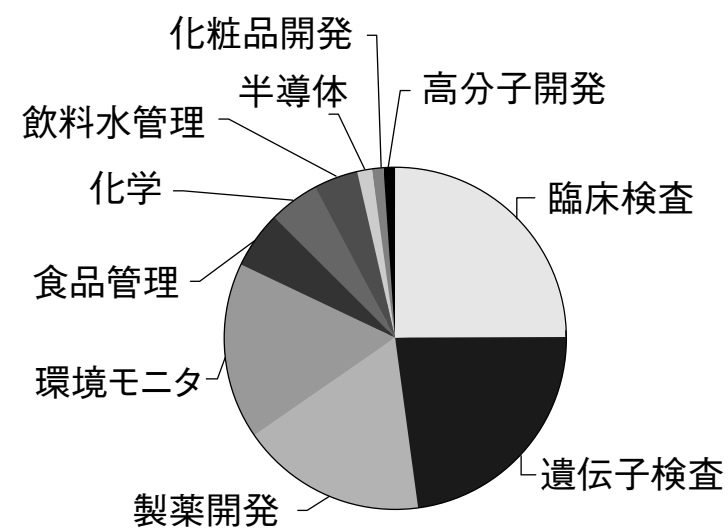


図3 マイクロ化学チップの実用化を期待する市場調査結果（企業数の割合）

研究全盛であったキャピラリー電気泳動法を同様にシリコンデバイスに集積しようとする研究が始まった。図2aにごく初期の電気泳動チップの概念図を示す。電気泳動で物質分離し、電気浸透流で流体を制御しようとする研究は瞬く間に世界に拡がり、長い髪の毛のようなキャピラリー管を使った次元電気泳動からチップという二次元へ拡張することにより、より高機能でハンドリングのよいチップ技術が期待されるようになった。図2aのごく初期のものよりはるかに複雑なチップがいくつも提案されている。技術的な背景としては、電気を使った流体制御や分離技術はマイクロ技術に取り入れやすく、さらに、既に技術として確立したキャピラリー電気泳動の手法を応用するやり方は見通しがよかった。さらに、キャピラリー電気泳動を用いたDNAシーケンサーも実用化に入りつつあり、出口イメージも持ちやすかった。

このように急速に進展してきたいわばマイクロチップ電気泳動とでも言うべき技術は、しかし、近年急速に減速傾向にある。例えば、欧米諸国では政府や企業からの研究資金が絞られるようになり、毎年ピッツバーグコンファレンス（世界最大の分析機器展）に出展していたこの分野のベンチャー企業数が激減していることなどからその傾向を読むことができる。原因の多くはあれほど明確だった出口イメージがにわかにあやしくなってきたことにあるようである。原理的に長さのいる電気泳動ではキャピラリー管が適し、チップでも長さは稼げると主張しても、既に定着してしまった技術の単なる置き換えでは難しい。徳島大学の馬場嘉信教授が進めているナノストラクチャーを導入したチップのように、単に小ささや早さだけでなく新規な機能を実現しないと、ユーザーには新しい技術として

の説得力が乏しくなる。

一方、我が国の進め方は、先の馬場教授をはじめとするナノ・マイクロテクノロジーによる新しい機能付与を目指した電気泳動チップという戦略と、電気泳動に頼らないさらに高機能な技術を目指した戦略が特徴的である。電気泳動に頼らない方法とは、図2bに示したように、マイクロシリンジポンプなどで圧送した液体をチップの中で混合したり2相や3相の多相流をつくって抽出や精製に使ったりすることで、化学工学の単位操作に相当するさまざまなマイクロ単位操作をチップ上で実現した我々の研究グループ独自のものである。電気を使わないので、有機溶媒や中性分子を扱うことができ、より一般的な化学システムをマイクロ集積化することができる。また、設計の自由度、システムの柔軟性や拡張性などにもすぐれている。この技術の狙いは、化学やバイオのさまざまな応用に供することができるチップを創成することである。応用の自由度が大きいので、分析だけでなく合成化学や細胞を取り扱うバイオ技術にも展開することができる。プロセスの処理能力が高いので、物質生産に対しては少量というデメリットはプロセスの処理能力の高さを利用してチップの数を増やすことでカバーできる。化学装置のしめる単位体積当たりの生産能力を通常のマクロなプラントよりずっと大きくすることも可能で、後で紹介するようにマイクロチップ化学プラントが実現されている。この他にも、コンビナトリアル合成、細胞や微生物を使ったバイオアッセイなど、さまざまな応用に展開することができる。

さらに、さまざまな分析法の前処理チップとしても極めて重要である。例えば、電気泳動チップの前処理チップとして、超微量の試料からDNAやタンパクの

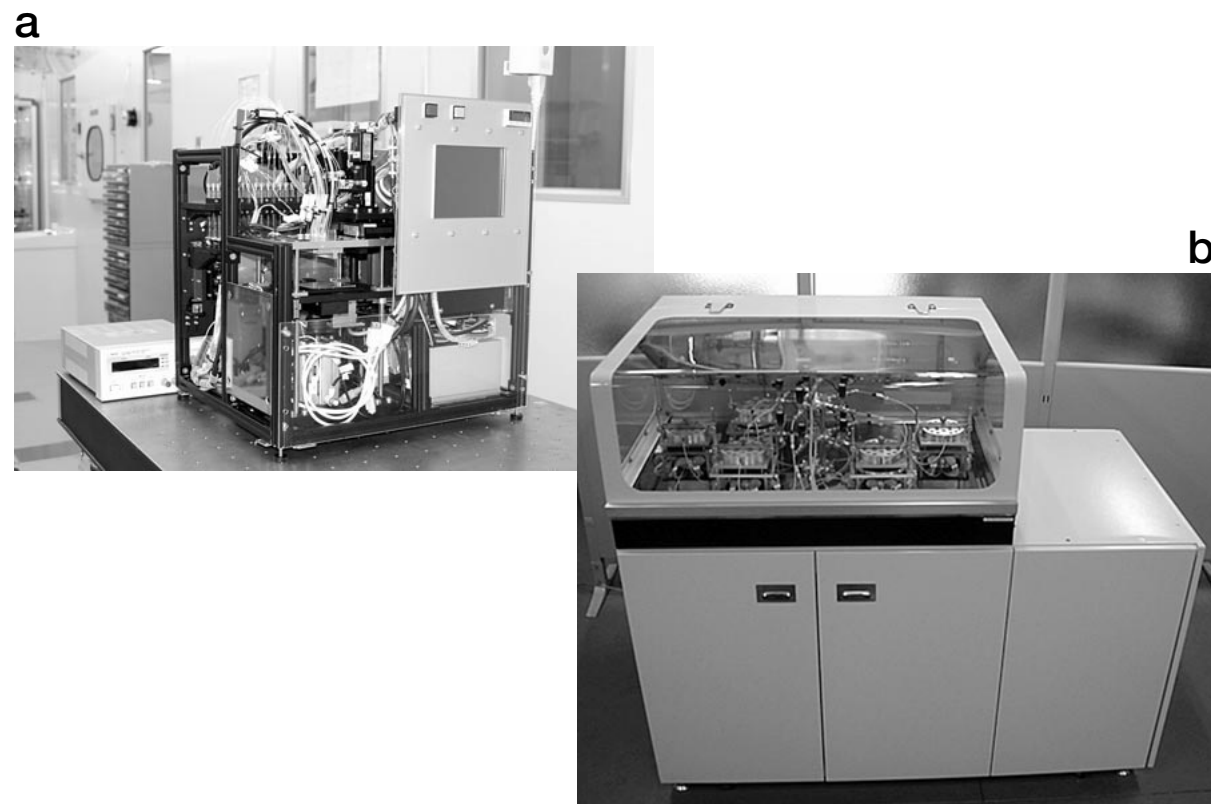


図4 マイクロ化学チップを搭載したプロトタイプ機器
a: 32チャンネルマイクロELISAシステム
b: ゲル微粒子製造用マイクロチップ化学プラント (提供: 東ソー(株)東京研究所)

精製から増幅などまでを担わすことができれば、電気泳動チップが目指している市場と同じ大きさの市場をねらうことができる。また、分離分析としては非常にすぐれた電気泳動チップに対して、前処理のような苦手な所をカバーさせれば、他にない強力なツールを生むこともできる。実際に質量分析装置やICPの前処理インターフェースチップなど、既存分析装置の競争力向上についてもおもしろい展開がはかれるだろう。

このような戦略を裏付ける市場調査結果を図3に示す。これは2001年に(社)日本分析機器工業会が調査した結果の一部であるが、マイクロチップ技術に期待している化学関連企業の数を経種ごとに整理したものである。図の中で遺伝子とあるのがいわゆるゲノムテクノロジーで、SNPsによる疾病診断のような応用である。一方、医療診断とあるのは免疫診断や生化学分析など遺伝子技術ではない現行の分析技術による診断分析である。この図3から明らかなように、マイクロチップ技術を要望している技術分野の割合ではゲノムテクノロジーは全体の4分の1に満たないことがわかる。4分の3を超える分野が期待しているのは電気泳動では対応できない化学プロセスが主体になっている。もちろん、各業種の市場の絶対値は加味されていないの

で、この割合がそのまま市場の大きさの比較にはならないが、対象とする市場の広がりには確実に反映している。

このような技術動向と市場の期待感から、我が国では大学や国立研究機関はもちろん、企業からの参画も積極的で、いくつもの国家的なプロジェクトが発足している。おおよそ年間一億円以上の大きなプロジェクトだけでも、経産産業省・NEDOに関連して3つ、文部科学省に関連して3つが走っている。その他のプロジェクトは枚挙にいとまがないほどで、減速傾向にある欧米と対照的に加速傾向にある。日本のこうした動きに各国も注目しており、アメリカのWTECをはじめとする各国の調査機関の視察やその申し出も少なくない。

4. 既に動き出した第二フェーズ

マイクロ化学チップについて言えば、どのようにして汎用の化学プロセスをマイクロチップに集積化すればよいかということがわかってきた。つまり原理原則やそれを実現するハードの方向が定まったと言えよう。これを第一フェーズとすると、研究開発は第二フェーズにステップアップしていると考えてよい。第二フェーズの課題は大変明瞭である。一つは実用化へ向けた技術開発。もう一つは新しい研究分野の創出である。

実用化へ向けた研究の一端として、図4に分析装置と化学合成装置の例をそれぞれ一例ずつ示した。図4aはELISAとよばれる分析法を集積化したマイクロチップを心臓部に持つ分析装置である。ELISAは疾病やアレルギー診断、環境ホルモン分析や創薬などに広く使われる免疫分析法の一種であるが、非常に多くの検体を短時間に処理する技術が望まれている。

図4aのマイクロELISA装置は32チャンネルの分析チャンネルをもつチップが装填されている。このチャンネル一つずつが免疫分析セルに相当し、32検体を同時に処理することができる。100ナノリットルの試料で分析時間は従来の100分の1程度にまで短縮されている。装置の大きさも小型で、これまで大病院や分析専業会社でしか備えられていなかった装置が、中小の病院や将来は家庭や職場でも利用できるようになり、病気は治す時代から予防する時代や安心した生活環境の創成などの具体的なツールとしても期待できる。

一方、図4bは(株)東ソーが開発したマイクロチップ化学プラントである。分取用の80 μ mゲル微粒子を年間30トン生産する能力を持つ。同じスケールの生産量を得るための従来のプラントは20m \times 10m \times 4mの大きさであったのに対して、図4bのようにこのマイクロ化学チッププラントは下駄箱の大きさでしかない。如何にマイクロチップ化学プラントが高効率な生産性を有するかを示す好例である。また、この装置の開発には2年程度しかかかっておらず、一つのチップで実験的に成功すると、大きさのスケールアップではなく数を増やすことで対応するため、研究室から現場までの開発期間が大幅に短縮されるメリットも具体的に証明している例でもある。

以上のように、分析や合成いずれの分野でもほぼ実用の域に達している例も出始めている。しかし、図4の写真を見ておわかりのように、チップは小さくても、32本のシリンジポンプがずらっと並んでいたり、配管用のキャピラリーチューブが張り巡らされ、配管とチップのコネクターも無骨である。このように、より洗練されたコンパクトな製品として世に出るためには、MEMS、特にポンプ、バルブ、コネクターなどのマイクロ流体デバイスの開発と実装技術が進展する必要がある。また、化学プロセスとしても、液液や固液だけでなく気液系のプロセスが扱えるチップやシステムの開発が必須である。さらに、チップやコネクターなど

が消耗品としていつでもどこでも利用できるためには、標準や規格の戦略も極めて重要になる。また、特許は企業を守り、規格や標準は産業と国を守る。

第二フェーズのもう一つの課題として、新しいナノ・マイクロ化学の創出も極めて重要である。集積化がどんどん進み、チャンネル幅がミクロンを切るようなレベルになったときに、液体はマクロと同じ性質を保つのか、化学反応は教科書に記載されているとおりに進むのか、などなど次世代チップの基盤研究としても重要である。実際に、我々の研究室で作成した300 nm幅のチャンネルにおいてでさえ、水の粘性は4倍増加し誘電率は0.17倍に低下し、固体、つまり氷としての水の性質に近づいていることがわかった。液体を構成する分子やクラスターに対してはまだとんでもなく大きな空間で、物性に影響を及ぼすようなサイズではないと考えていたが、この例のように既に特異なサイズ効果が発現し始めている。これまでに無い人工メソ空間を実験ツールとして手に入れたので、新しい研究領域を拓いていくことができる。

また、マイクロ化学技術の高速高効率な特性は空間の化学的な特性ではなく、物理的な特性に由来するものである。比界面積が桁違いに大きく、液体の熱容量が極微小であれば、物質やエネルギーのフラックスは自動的に桁違いに大きくなるためである。しかし、空間の小ささを化学反応の場として直接利用するような技術はあまり踏み込んで研究されてはいない。空間を限定した触媒作用領域の設定、小さな距離を利用した強磁場強電場の利用、微小界面による空間選択的あるいは異方的な反応場の構築など、ミクロ空間を積極的に利用したあたらしい化学反応場の構築も、マクロではできなかった化学を実現する道となろう。

以上のように、汎用的なマイクロ化学を目指した研究開発は、新しい科学と技術、新しい学問と産業の創成を目指して第二フェーズにステップアップしている。既に述べてきたように、我が国の動向は極めてアクティブであり、非常に好ましい産学官の連携が構築されている。ひいき目に見なくても世界をリードする立場に立っていると言って過言でないが、コロンブスの卵的な発想が多い分野だけに容易に追随されるだろう。独創技術を産業や科学の創成に結びつけるためには、標準や規格も含めた戦略的なプロジェクト構築と推進が今後とも重要である。

解 説

日立高速液体クロマトグラフL-2000シリーズを用いた応用例

Model L-2000 Hitachi High Performance Liquid Chromatograph and It's applications.

岩 渕 等* 石 川 昌子* 白 崎 俊浩*

1. はじめに

’03年5月からL-7000シリーズの後継機として発売された新しい2種類のコンセプトをもつL-2000シリーズは発売以来、数々の周辺機器の発売を行ってきた。L-2000シリーズは流量範囲に応じて最適化されたSMASH (Semi-micro Applicable Standard HPLC) システムとHTA (High Throughput Analyzer) システムを提供している。

SMASHシステムの推奨流量範囲は、0.05～1.0mL/minで、セミマイクロカラムからコンベンショナルカラムによる分析まで対応している。

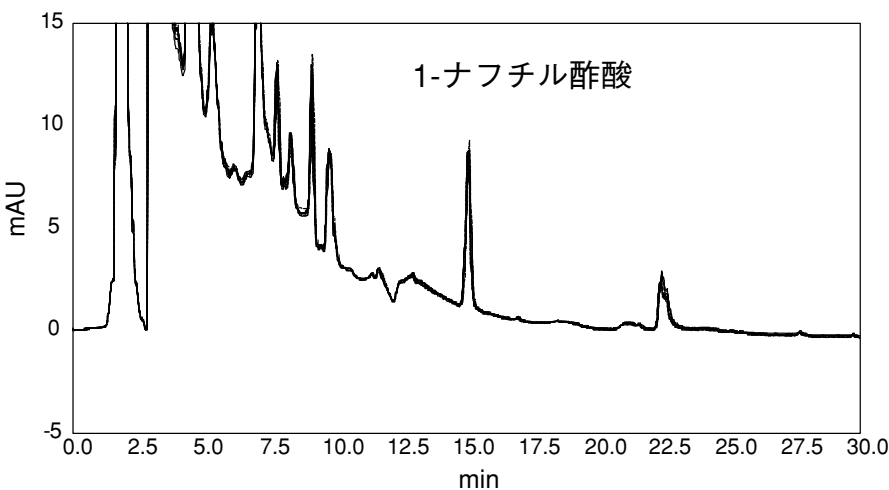
HTAシステムは、コンベンショナルカラムによる分析に対応し高流量域（5 mL/min）においても安定した性能を有するシステムとなっている。

今回は、SMASHシステムの応用例の紹介と最近発売されたL-2450形三次元検出器、L-2480形蛍光検出器を用いた応用測定例について述べる。

2. SMASHシステムの応用例

SMASHシステム用ポンプはL-2100形を使用する。このポンプはグラジエントモードで流速50 μ L/minという低流量を追及し、セミマイクロ領域での高精度・高安定性を実現したポンプである。さらに、4液グラジエントシステムを搭載しており、多彩な分析条件に対応が可能である。

ここでは、1-ナフチル酢酸の分析例を紹介する。ナフチル酢酸は、果樹や野菜等の植物成長調整剤として登録されていた農薬で、昭和51年に再申請を行わず、



分析条件
Column : Hitachi Inertsil ODS-3 (3 μ m) 1.5mmIDX150mm
Eluent : (A) 0.2% Acetic acid/water
(B) 0.1% Acetic acid/acetonitrile
Flow rate : 0.1mL/min.
Pump program : 0min (A) 80% (B) 20%, 30min (B) 100%
30.1min (A) 80% (B) 20%, 45min (A) 80% (B) 20%
Detector : L-2400 280nm (semimicro flow cell)

図1 りんごジュースに1-ナフチル酢酸 1 mg/Lを添加

* 株式会社日立サイエンスシステムズ

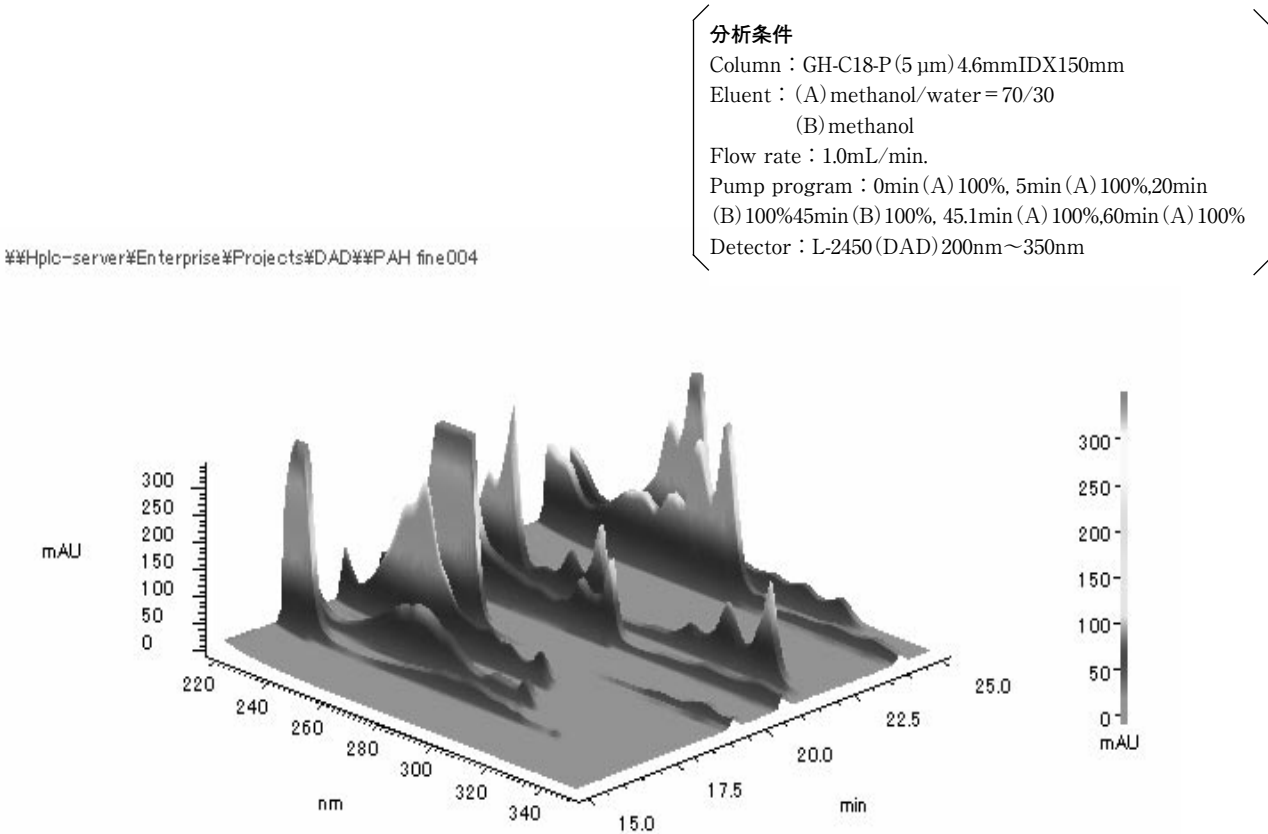


図3 芳香族炭化水素混合物16成分の三次元スペクトル

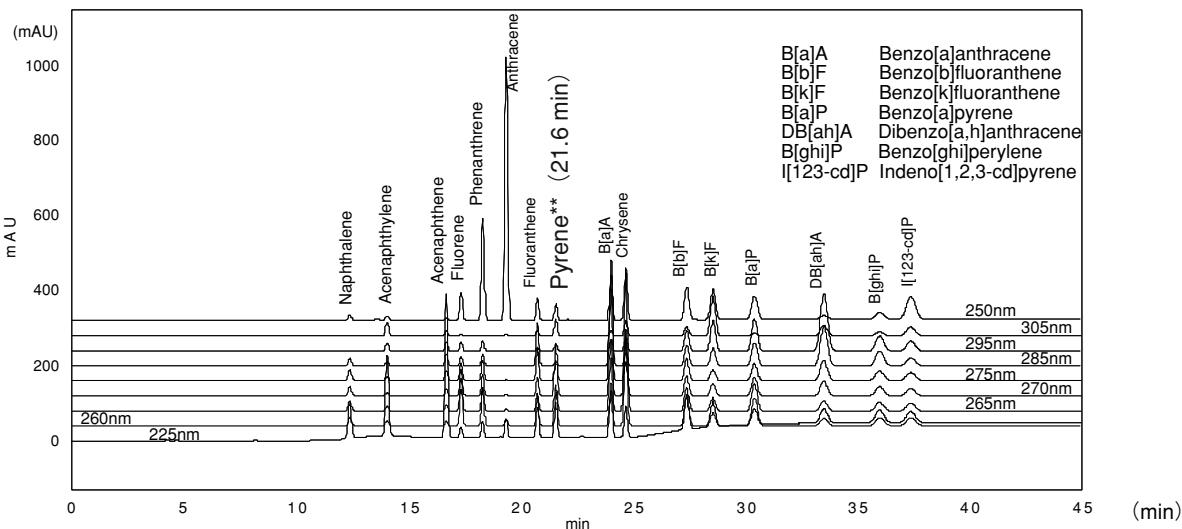


図4 芳香族炭化水素標準混合試料の分析例

登録が失効している。現状では、食品中の残留基準も定められていないが、農薬取締り法登録時の暫定基準は、果樹で0.1mg/kgであった。

分析は流量100 μ L/minで高圧グラジエントモードを用いて行った。カラムは、新発売のHitachi Inertsil

ODS-3 (3 μ m) セミマイクロカラムを用いた。サンプルは、L-2300カラムオープン内でプレヒート後カラムに導入し、分離後、UV検出器 (L-2400) で検出を行った。フローセルは、バンドパス 5 mmのセミマイクロフローセルを用いた。

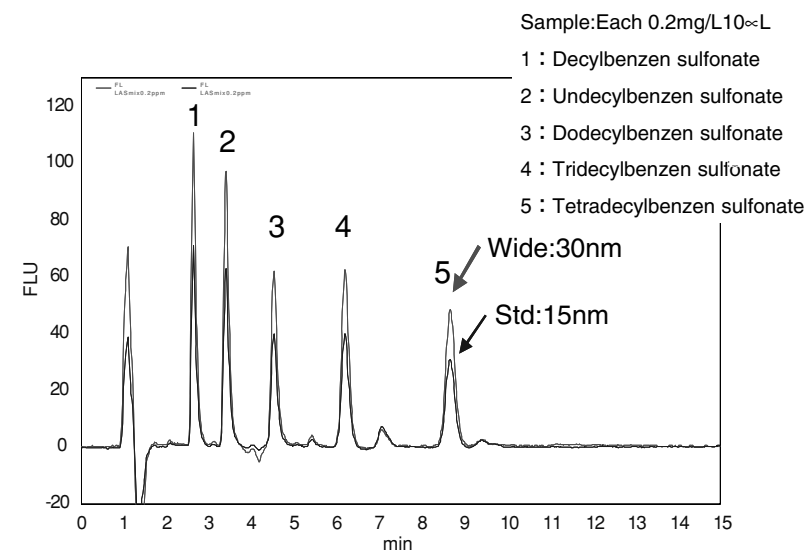


図5 陰イオン界面活性剤標準試料5成分の分析例

図1にりんごジュースに1-ナフチル酢酸1mg/Lを添加し、固相抽出を行い繰り返し10回分析し重ね書きした例を示す。保持時間の再現性は、CV 0.15%、ピーク面積の再現性は、CV 0.49%が得られた。これは、SMASHシステムが従来のコンベンショナルカラムでの分析と同等の性能を持つことを示している。

3. L-2450形三次元検出器の応用

三次元検出器は、光源に重水素放電管とタングステンランプを搭載し、190～900nmと広範囲な波長範囲で測定できる検出器である。新形では、高い波長分解能と高感度を得るために次の2点を採用した。

- 1) 従来比；2倍のビット数を持つ、1024 bit PDA（ホトダイオードアレイ）を採用
- 2) 高分解能グレーティングを新開発、光学系を最適化

分析例として芳香族炭化水素混合物16成分の測定例を図3、4に示す。図3は、15分から25分の間の三次元スペクトルを示す。図4は、各成分の最適波長で記録したクロマトグラムを示す。このように滑らかな分解能の良いスペクトルが検出でき、スペクトルによる定性も可能となった。

さらに感度も向上し、従来のUV-VIS検出器とほぼ同等の性能が得られ、多成分同時定性・定量分析に威力を発揮することが確認された。

4. L-2480形蛍光検出器の応用

蛍光検出器も高感度化を実現したL-2480形をラインアップした。新たに、三次元光軸配置光学設計を採用、新形集光ミラー、スリットフローセルを搭載、透過光

SPE Cartridge Sep Pak PS-2
 ← Methanol 5mL
 ← Pure water 5mL
 Sample(mineral water) 100mL
 LAS STD 0.004mg/L addition
 ← Methanol 5mL
 Extraction
 Concentration to 2mL with N2 gas flow
 HPLC analysis

図6 陰イオン界面活性剤前処理手順

モニタ方式の最適化など日立独自の最新技術により、光ロスの少ない光学系を実現した。この結果、水ラマン光のS/Nで600以上（ベースライン法、蛍光側スリット15nm）の高感度測定を実現した。そのほかに蛍光側スリットが15/30nmを切り替えることで、目的により最適化を図った分析が可能となった。また、Hgランプを搭載する事により波長校正の自動化やランプエネルギー確認、ランプ点灯時間等のGLP対応機能を備えている。

ここでは、陰イオン界面活性剤の分析例を紹介する。陰イオン界面活性剤は、水質基準1)の基準値0.2mg/L以下であることが定められている。

図5に陰イオン界面活性剤標準試料5成分の分析例を示す。スリット幅15nmと30nmで測定し感度を比較し

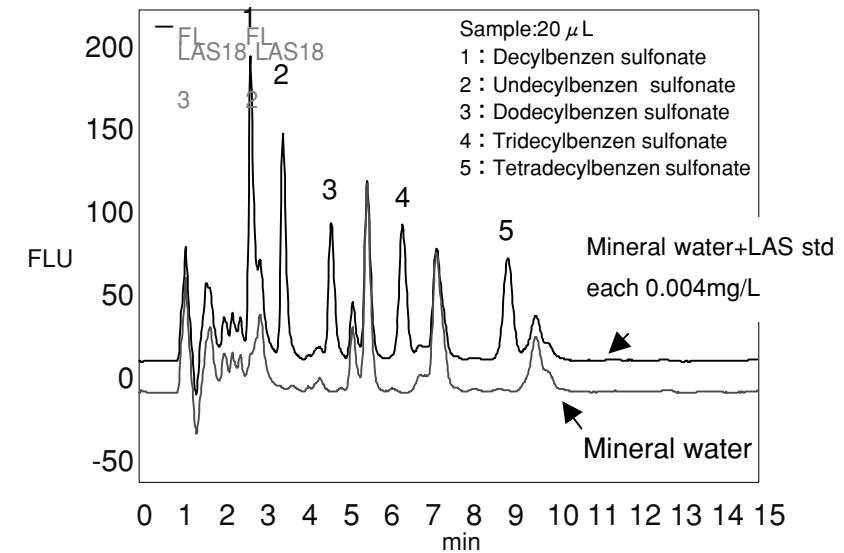


図7 ミネラルウォーターの分析例

た。この場合広いスリット幅の採用で感度が向上しテトラデシルベンゼンスルホン酸は、ピーク高さ比で27%高く検出された。

図7にミネラルウォーターの分析例を示す。前処理は、図6に示した手順で行い50倍に濃縮した。標準試料は、各0.004mg/L（基準値の1/10）を添加して測定した。上水試験法では、500倍濃縮を推奨しているが、蛍光検出器の感度が高いため50倍濃縮でも十分に分析が可能である。

5. おわりに

LaChromEliteは大きな特長であるセミマイクロ分析法や高感度、高分解能機能をもつ三次元検出器、蛍光検出器は幅広い分野において威力を発揮できるものとなっており、今後は、さらにアプリケーションの充実を図っていく予定である。

参考文献

上水試験法2001年度版477-482

S-4300SE/N形走査電子顕微鏡

Model S-4300SE/N Scanning Electron Microscope

檀 紫* 中山 佳彦**

1. はじめに

近年、走査電子顕微鏡（以下SEM）に求められるニーズとして、微細構造観察のための高分解能化や大型試料観察への対応、非導電性試料の非破壊/無処理観察などがあり、それらに応えるためSEMは多様化している。その中でも特に品質管理においては試料の非破壊/無処理観察に対する要求が高く、低真空タイプのSEM¹⁾が普及している。一方、低真空SEMの高分解能化への取り組みも行われており、低真空二次電子検出器（ESED；Environmental Secondary Electron Detector）²⁾の開発やショットキーエミッション電子銃の搭載によりその分解能は飛躍的に向上した。今回は低真空雰囲気で高分解能観察を実現したS-4300SE/N形SEMの特長を紹介する。図1にS-4300SE/N外観を示す。

2. S-4300SE/Nの特長

2.1 高輝度・高分解能のショットキーエミッション電子銃の採用

S-4300SE/Nは表1に示すショットキーエミッション電子銃を搭載し高真空モードで1.5nm（加速電圧30kV）、低加速電圧領域で5nm（加速電圧1kV）の高い分解能を実現した。また低真空領域においても3.5nm（加速電圧30kV）の分解能を保証しており、低真空モード

での高倍率観察も可能である。さらに、高輝度と合わせビーム安定性に優れることから長時間の分析などの用途にも適している。

2.2 多段差動排気システムの開発

S-4300SE/Nで搭載したショットキーエミッション電子銃はCold FE電子銃と同様に超高真空（ $\sim 10^{-8}$ Pa）状態が必要であり、試料室を低真空に保つためには $10^0 \sim 10^{11}$ の差圧を維持する必要がある。この課題をクリアするためS-4300SE/Nでは新開発の多段差動排気システムを採用した。これは、電子銃室と試料室間に中間室を4室設けそれぞれ独立した排気系で真空排気することで試料室の低真空化を実現するものである。これにより電子銃室を超高真空状態に保持したまま試料室の圧力を10～1000Paに維持することが可能となり、非導電性試料の無処理観察が実現した。

2.3 多様なオプション装備

S-4300SE/Nは二次電子検出器に加え、高真空・低真空両方で使用可能な高感度反射電子検出器を標準搭載している。さらに、低真空雰囲気中で表面の二次電子情報を得ることが可能な低真空二次電子検出器（ESED）や、水分・油分の蒸発を抑えながら観察可能なクールステージ、X線分析装置（EDS，WDS），結晶方位解析装置（EBSP），カソードルミネッセンス（CL）など多彩なオプションを装備することができる。これらを併用することにより食品・生物・高分子材料の低ダメージ観察や、電子部品などの製造ラインにおける欠陥・故障解析，各種材料の研究開発，構造解析などへ活用できる。

表1 各種電子源の比較

項目	単位	ショットキーエミッション SE	冷陰極電界放出 Cold FE	熱電子放出 W
輝度	A/cm ² sr (at 20kV)	$\sim 10^7$	$\sim 10^8$	$\sim 10^5$
エネルギー幅	eV	0.3～1.0	0.2～0.3	～4
放出電流	μA	10～100	1～20	100
ビーム電流(最大)	nA	～25	～1	～100
ビーム電流安定度		2%/h以下	約4%/h以下	1%/h以下
特長		ビーム安定 高輝度	高分解能 高輝度	保守容易 非超高真空

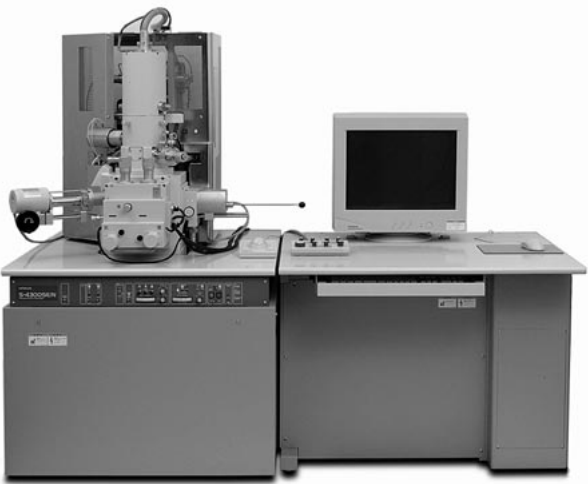
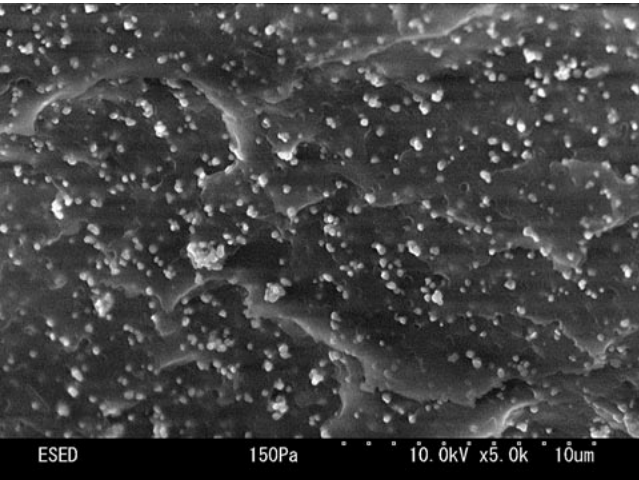
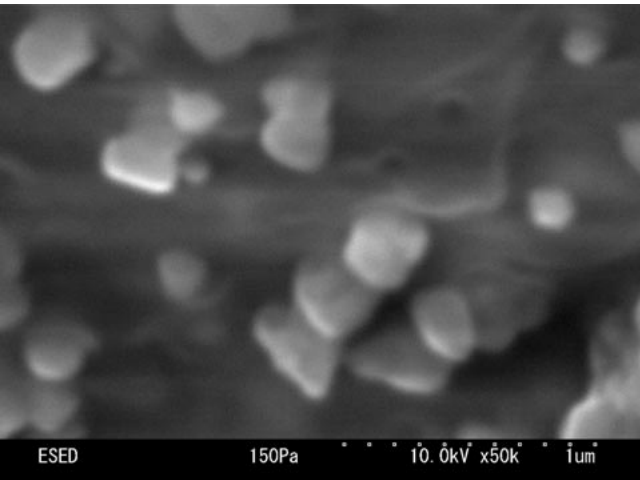


図1 S-4300SE/N形走査電子顕微鏡（大型ステージ，二軸オートステージ搭載）

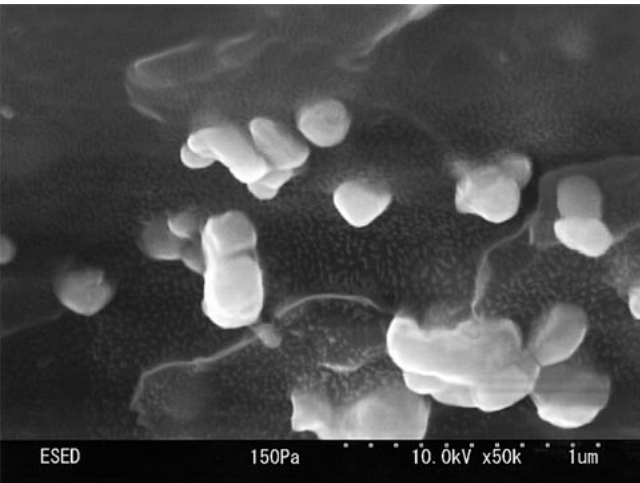
* (株)日立サイエンスシステムズ 那珂カスタマーセンタ 物性評価部
** (株)日立サイエンスシステムズ 設計開発センタ電子装置システム設計部



(a) 汎用SEM 観察倍率：5,000倍



(b) 汎用SEM 観察倍率：50,000倍



(c) S-4300SE/N 観察倍率：50,000倍

図2 高分子フィルム上のチタン粒子の低真空二次電子像観察例

3. 広がるアプリケーション

図2に高分子フィルム上の蓄光体の観察例を示す。この試料は高分子樹脂中に無機蛍光材のチタン粒子を混合させフィルム状に成形している非導電性試料である。高真空モードの観察では金属コーティングなど導電処理が必要であるが、高分子材料はコーティング時のダメージを受けやすく無蒸着観察が望ましい。この試料を無処理のまま低真空モード（150Pa）を用いて熱電子放出形電子銃を持つ汎用SEMとS-4300SE/Nにて低真空二次電子像による比較観察を行った。図2(a)に示す汎用SEMの5,000倍の観察結果からチタン粒子の分散状態が把握できるが、さらに(b)に示すように高倍率観察は装置性能上困難である。(c)に示すS-4300SE/Nを用いた50,000倍観察結果からは、チタン粒子と高分子材料との密着状態を把握することができる。このように低真空モードによる無蒸着試料の高倍率観察がS-4300SE/Nにて可能となった。

4. おわりに

S-4300SE/Nはあらゆるタイプの試料に適応し、高倍率観察から低真空モードでの無処理観察まで幅広い観察・分析に対応することができる。低真空タイプのSEMでは、分析操作の高スループット化や大型試料観察などへ対応してきたが、本稿で紹介したS-4300SE/Nの出現によって高分解能化が実現し、今後更なる新しい知見が期待される。

参考文献

- 1) V.N.E.Robinson：J.Microsc.,71,103（1975）
- 2) A.N.Farley and J.S.Shah：J.of Microscopy, 158,3, 389（1990）

FIBマイクロピラーサンプリング法による局所領域三次元構造解析法とその応用法とその応用

Pin-point 3D material characterization using a micro-pillar sampling technique

矢口 紀恵* 黒田 靖* 今野 充* 上野 武夫*
橋本 隆仁** 大西 毅** 梅村 馨***
朝山 匡一郎****

1. はじめに

電子材料、高機能性材料の高集積化および高密度化に伴い、精密な計測、評価技術が要求されており、高い分解能で材料の微細構造を直視できる電子顕微鏡の役割はますます重要になってきている。電子顕微鏡で材料内部構造を観察するためには、電子線が十分透過できる程度に薄膜化する必要がある。原子レベルの高い分解能で観察する場合の試料厚さは約0.1 μm である。しかし、そのような薄膜試料から得られる情報は、二次元的であり、立体的な広がりを持つ構造の評価には適さない。最近の電子デバイスなどの実装素子は多種の機能を有する材料が緻密に配置されており、その構造評価および故障解析にはサブミクロン領域の三次元微細構造解析が不可欠となっている。ここでは、そのようなニーズへの対応を目的として開発された局所領域三次元微細構造解析法とその応用について述べる。

2. 方法

局所領域の試料作製には、マイクロサンプリング装置を備えたFB-2100 FIB (Focused Ion Beam; 集束イオンビーム) 加工観察装置 (加速電圧: 10~40kV) (図1) を、観察にはSTEM (Scanning Transmission Electron microscope; 走査透過電子顕微鏡) 像およびSE (Secondary Electron; 二次電子) 像観察機能を備えたHD-2300超薄膜評価装置 (加速電圧: 200kV) (図2) を用いた。試料ホルダーには、FIB加工とSTEM/SE像観察の両方が可能で、装填した試料が回転できる機構を備えたFIB/STEM共用3D解析ホルダー (図3 a: 全体写真, 図3 b: ホルダー先端部) を用いた。試料は、回転機構に取り付けられた試料台「ニードルステージ」先端部に固定される。ニードルステージは、FIBおよびSTEM試料室内で360°回転できる。試料加工手順を図4に示す。まず、FIBマイクロサンプリング法により試料の摘出を行い (a)、次に、ニードルステージにWデポジションにより固定する (b)。最後に、解析個所を含む領域を0.1~5 μm 角にFIB加工し、柱状試料 (マイクロピラーサンプル) (c) とする。SiデバイスマイクロピラーサンプルのSE像観察例を図5に示す。



図1 FB-2100集束イオンビーム加工観察装置



図2 HD-2300超薄膜評価装置

* (株)日立サイエンスシステムズ
** (株)日立ハイテクノロジーズ
*** (株)日立製作所中央研究所
**** (株)ルネサステクノロジ

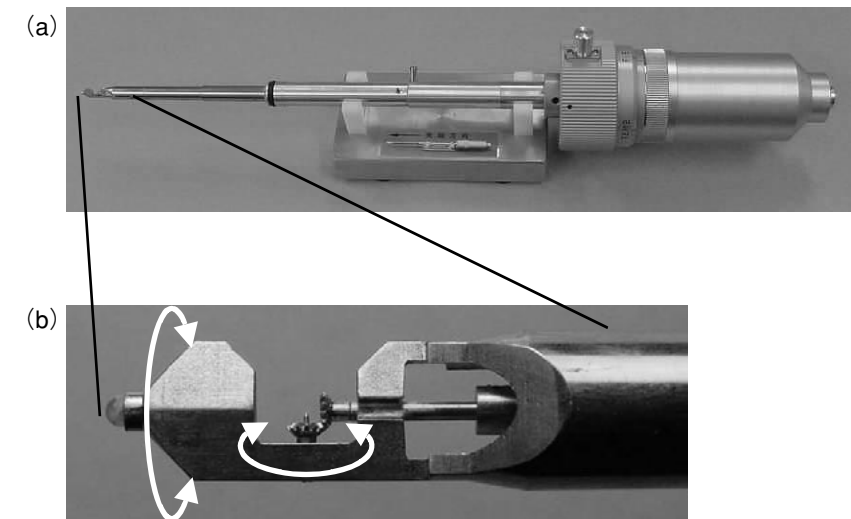


図3 マイクロサンプラー用 FIB-STEM共用 3D解析ホルダー

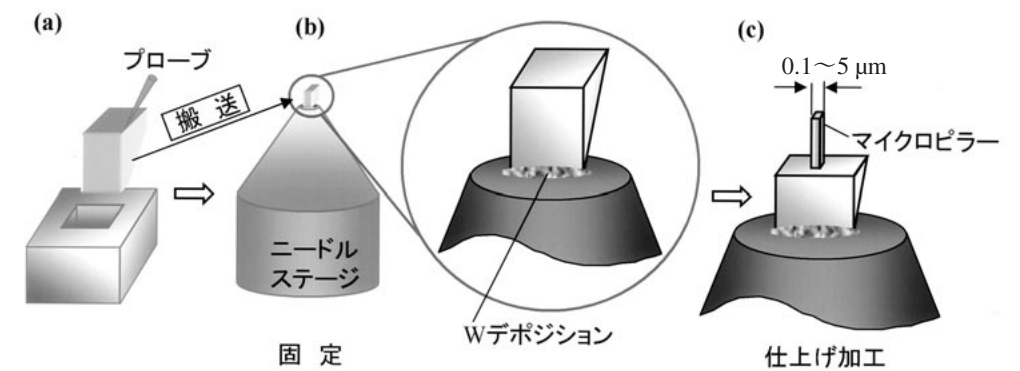


図4 マイクロサンプラーサンプルの試料加工手順

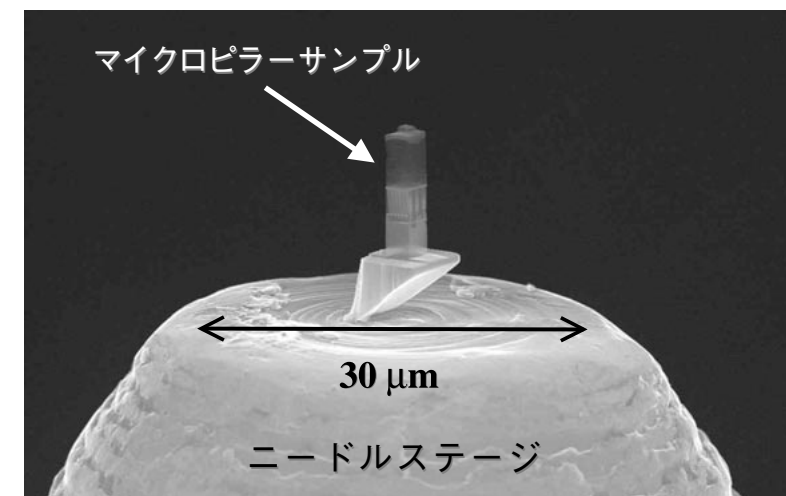


図4 マイクロサンプラーサンプルSE像

使用したニードルステージの先端部は直径約30 μm の大きさに平坦加工してある。

3. 観察例

本方法を用い、エレクトロマイグレーション起因の配線破壊部を有する配線信頼性評価用のTEG (Test

elements Group) パターンを観察した。電圧5 V、電流密度2.5MA/ cm^2 の電流を流し、Cu配線の一部を破壊したものである。サンプリングでは、まず破壊領域を光学顕微鏡によって確認し、その領域を包含する幅20 μm ×奥行き7 μm ×高さ20 μm のマイクロピラーサンプルを取り出した。その試料の観察で破壊個所を確認し

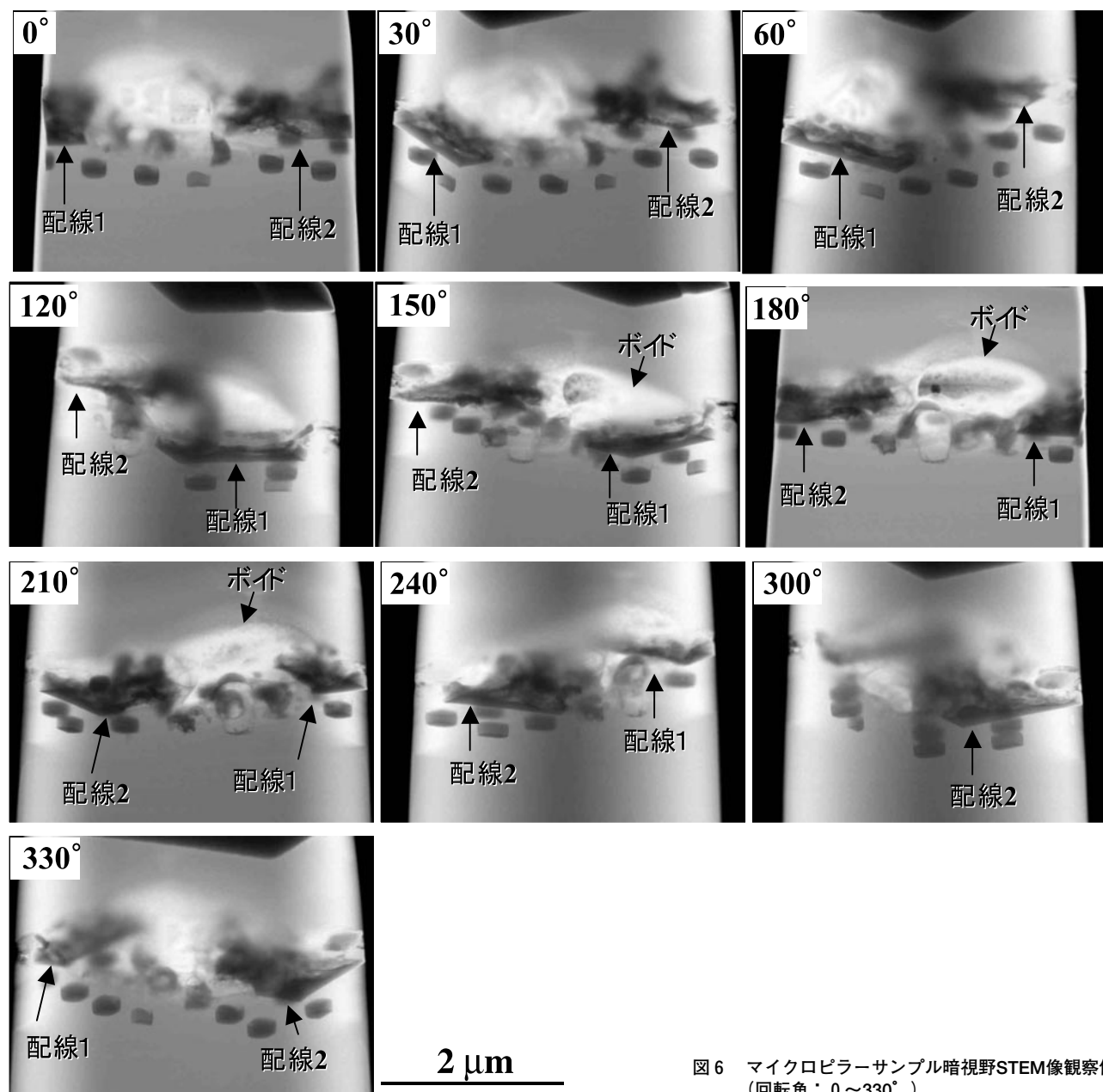


図6 マイクロピラーサンプル暗視野STEM像観察例
(回転角：0～330°)

た後、さらに破壊個所近傍まで、幅4 μm ×奥行き2 μm ×高さ20 μm にトリミングし、その暗視野STEM像観察を行った。その試料を30°ステップで回転したときの暗視野STEM像を図6に示す。破壊の規模や状態が3次元的に観察されている。破壊は約2 μm の領域にわたっており、配線1、2とともにマイグレーションを起こした部分が大きな損傷を受けていること、両配線間にボイドが発生していることなどが鮮明にとらえられている。

4. おわりに

従来の電子顕微鏡による解析では、試料前処理とその観察はそれぞれ独立した作業となっており、得られる情報も限られていた。今回提案の方法は、加工装置

と観察装置のシステムをベースとしているため、加工と観察を繰り返し行うことができ、特に、局所領域の三次元微細構造解析に適している。

参考文献

- [1] 矢口他、日本顕微鏡学会第59回学術講演会発表要旨集（2003）106
- [2] 今野他、日本顕微鏡学会第59回学術講演会発表要旨集（2003）107

分析データ統合管理システムCyberLAB KESの紹介 (FDA 21 CFR Part11対応)

CyberLAB Knowledge Engineering System

本田俊哉* 白岩民雄**

1. はじめに

1997年に米国FDAにより出された「21 CFR Part 11」は、FDAに提出されるドキュメントを電子化した場合の規則について述べられている。これには、従来の紙の記録を電子化した場合に必要な「電子記録の要件」が述べられており、さらに手書きの署名に替わって使用される電子署名についての取り決めについても述べられている。このように、記録の媒体が「紙」から「電子媒体」に急速に移行していくなか、紙の媒体の管理と同様に、電子記録の有効な保存方法が求められている。このような要求下で、従来の紙の記録と同じイメージを保存するソフトウェアが開発され、利用されるようになってきた。今回紹介するCyberLABもこの目的のために開発されたソフトウェアである。さらに、管理面においても先に紹介したPart11への対応機能を有していることから、特に分析装置の統合データ管理においても有効に利用されている。以下、CyberLABの機能と特長を解説する。

2. システムの概要

図1は研究室におけるCyberLABシステムのイメージを示す。CyberLABにはデータを保存・管理するサーバーが必要になる。サーバーでは、データファイルの管理のほかに、データの検索を行うためのデータベース機能も備えている。また、一括したユーザー管理もこのサーバー上で行う。このサーバーを中心としたネットワーク環境下で各種分析装置が接続される。これらの分析装置によって生成されるデータはCyberLABのサーバーに転送され管理される。また、分析装置が接続されていない別のPCからもCyberLABにログオンして、データの登録状況などを閲覧することも可能であり、EZChromElite（日立のHPLCデータ処理装置）のデータであれば、ビューアーが用意されているので、すべてのPC端末からクロマトグラムを閲覧可能である。CyberLABは実験室の小規模レベルから、研究本部全体などの大きなシステムへの対応が可能である。

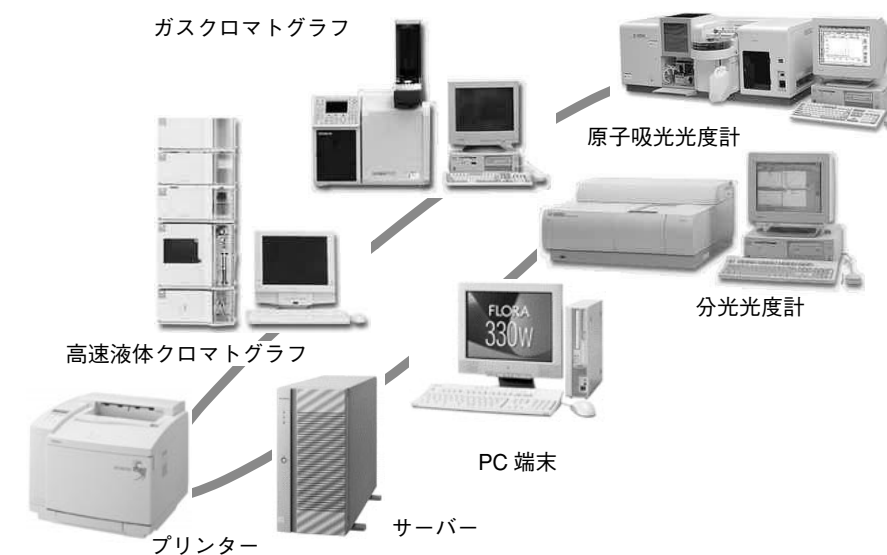


図1 CyberLABのシステム構成例

* (株)日立ハイテクノロジーズ
** (株)日立サイエンスシステムズ

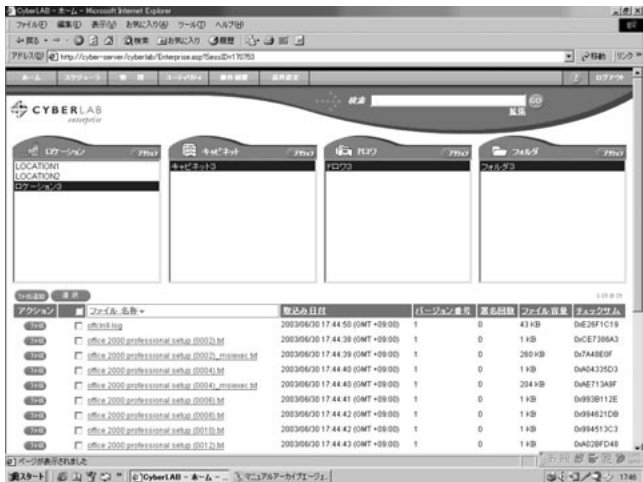


図2 CyberLABのホーム画面（初期画面）

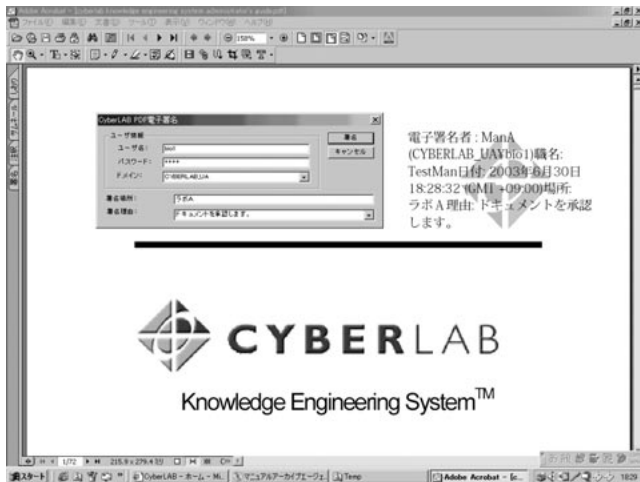


図3 電子署名実行画面と電子署名名例

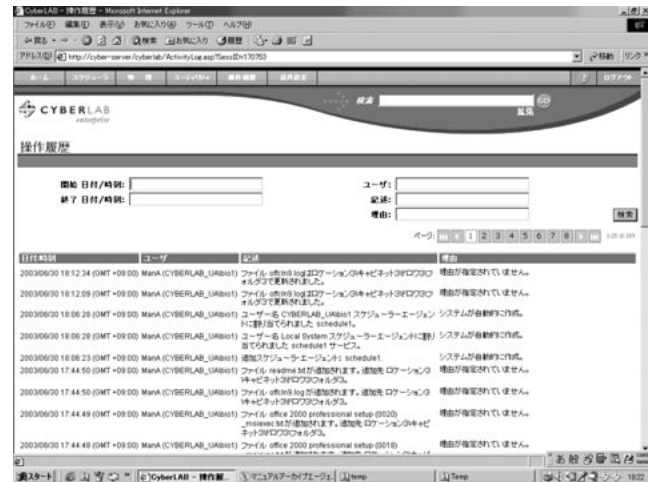


図4 Audit Trailの表示例

3. 機能および特長

(1) 汎用性の高いブラウザの使用

図2にCyberLABのホームの画面（初期画面）を示す。CyberLABの画面表示は汎用性の高いInternet Explorer（以下IEと略する）を使用している。ファイル構造は「ロケーション」-「キャビネット」-「ドロー」-「フォルダー」の4層に分かれており、「書庫」のイメージになっている。接続する分析装置からは、この「書庫」にデータを保存することとなる。

クライアント側のPCは特にソフトウェアをインストールすることなくCyberLABを利用することが可能である。さらに、オープンシステム（インターネットを経由したシステム）では、世界中どこからでもIEを介してCyberLAB上にアクセスすることが可能であり、出張先のPCからでもデータを閲覧することが可能である。

(2) 登録できるデータの形式・数およびデータの登録方法

CyberLABに登録できるデータの形式に制限はない。クライアント側のコンピュータ上に生成されるファイルは、ほとんど登録可能である（手動および自動）。また、サーバーの容量にもよるがその数にも制限がない。このように分析装置から生成されるデータをその形式・数にとらわれることなく保存できるのが特長である。次にデータの登録方法を示す。IEを介して、データを登録することが可能である。これは、標準操作手順書（SOP）などの文書ファイルの登録に便利な方法である。また分析装置から生成されるデータを自動で登録する方法がある。これは、一般にスケジューラーと呼ばれている。分析装置上に作成されるファイルの場所を指定するだけで、一定時間ごとにデータをサーバーに転送できる。この機能により、ネットワーク上に接

続されている分析装置のデータがすべて自動的にCyberLABのサーバー上に保管される。

CyberLABにはもう一つ特長的なデータの登録方法がある。それは「CyberPrinter」と呼ばれている。分析装置から出力されるレポートをPDF（Adobe社のAcrobatにより生成されるファイル形式）形式に変換し、自動的に所定の場所に保存する機能である。

従来は沢山のレポートがプリンターを通じて紙に出力されていたが、この機能の活用によりレポートを電子化・保存することが可能となり、生産性が向上する。

(3) 登録されたデータの履歴・検索機能

CyberLABに登録されたデータは、そのデータ個々に履歴が付与される。同じファイル名で登録されるファイル（修正されたファイル）は、バージョン管理の元で保存されるので、逐一ファイル名を変えて保存するという面倒もない。また、登録時にさまざまな情報を登録できるので、多量に保存されたファイルから必要なファイルを簡単に検索できる。特にEZChromEliteのデータは、登録時に自動的に検索用のインデックスが付与される。このため、サンプルIDや分析者名での検索も可能である。

(4) 電子署名機能

CyberLABに登録されているPDF形式のファイルには「電子署名」を付加することが可能である。図3に電子署名作成画面を示す。電子署名はPart11が要求する要件（ユーザーID（名前）、パスワード、理由）を満たしている。さらにCyberLAB上では、署名がいくつ行われたかの情報を見ることが可能であり、署名状況を確認することができる。なお、電子署名を利用する場合は、Acrobat5.0以上が必要になる。

(5) 監査証跡（Audit Trail）機能

CyberLABは操作履歴を残すことができる。図4にAudit Trailの例を示す。

個々のファイル操作に履歴情報が付加されるとともに、「誰が」、「何時」「何をした」という情報が記録される。これらの情報に関しては検索機能があり、特定のユーザーの履歴だけを取り出すことも可能である。この機能は特にPart11が要求しているものであり、記録の信頼性を確保するために必要な機能である。CyberLABではこの機能はサーバーにインストールした時点から記録される。

(6) 21 CFR Part 11対応機能

既に（1）～（5）まで特長を述べてきたが、その中で（3）～（5）についてはPart11が要求している項目でもある。その他のPart11対応機能としては、ユーザー管理機能、セキュリティ機能（不正ログインの防止）、データのバックアップ（アーカイブ）などの機能を有している。これらの機能はCyberLABの管理者が設定できるようになっている。

4. まとめ

CyberLABは一般の文書管理は勿論のこと、特に分析装置のデータの管理に重点をおいたデータ統合管理ソフトウェアである。特に電子記録のPart11対応に重点をおいた内容になっており、個々の分析装置のデータを「同じ環境下」で保存するのに適している。なお、CyberLABは那珂カスタマーセンタのサイエンスラボ（茨城県ひたちなか市）において、実際に業務として使用しているHPLCをはじめとした種々の分析装置と接続されており、希望者は見学することができる。

（注）Internet Exploror (IE) は米国マイクロソフト社の製品です。

Acrobatは米国Adobe社の製品です。

CyberLAB KES（Knowledge Engineering System）は米国SSI社の登録商標です。

日立標準メゾスケールのご紹介

Introduction to Mesoscale metrological standard for SEM

1. はじめに

さまざまな分野で、走査電子顕微鏡（SEM）による高精度微小寸法計測の要求が高まっている。サブミクロン領域の高精度寸法管理の用途には標準マイクロスケール（ $240 \pm 1 \text{ nm}$ ピッチ格子パターン）が商品化され、SI単位へのトレーサビリティが確立された標準物質として広く活用されている。一方、SEMで日常的に用いられる数百～数万倍程度の低・中倍領域に対応する適切な寸法標準試料は現在入手困難なため、新たな標準物質の登場が望まれていた。このような背景から、測長専用ではなく一般的なSEM用のSI単位にトレーサブルな寸法標準試料として標準メゾスケール（図1）を開発した。本稿では標準メゾスケールの概要と特長を紹介する。

2. 標準メゾスケールのトレーサビリティ体系

標準メゾスケールは、標準マイクロスケールを基準として値付けされた二次標準物質である。その標準値および不確かさは、日本適合性認定協会（JAB）より認定を受けたISO17025の要求事項に適合した試験所が標準マイクロスケールを用いて校正された測長SEM測定の実験結果によって付与されている。図2に標準メゾスケールのトレーサビリティ体系を示す。

3. 標準メゾスケールの寸法校正用パターンについて

標準メゾスケールでは、シリコン基板上に形成されたラインパターンのピッチ寸法を標準値として用いる。基板上的パターンレイアウトは図3に示すとおりで、寸法校正用パターンと識別用パターンで構成されてお



図1 標準メゾスケールの外観

*（株）日立サイエンスシステムズ 那珂カスタマーセンタ業務部

長久保康平*

り、その特長は次のとおりである。

- (1) 3種類のパターンピッチ（ $20 \mu\text{m}$ 、 $6 \mu\text{m}$ 、 $2 \mu\text{m}$ ）が用意されており、それぞれのパターンすべての領域に対して標準値が付与されている。
- (2) すべてのラインパターンをXY 2方向に配置。
- (3) 非点・焦点調整用パターン、観察領域識別用文字パターンおよび視野探し用ガイドパターンを配置。
- (4) トレーサビリティ確保のため、識別番号用のパターン領域を設けた。

なお、測定対象の寸法に対して使用すべき寸法校正用パターンピッチを表1に示す。

4. 標準メゾスケールを用いた未知試料測定値の校正方法

- (1) 寸法校正用パターンピッチの任意の部位を10回以上繰り返し測定し、その平均値を算出する。図4は、 $20 \mu\text{m}$ パターンピッチを10回繰り返し測定し、その平均が $19.99 \mu\text{m}$ の結果が得られた例である。

- (2) (1)で算出した平均値と対応する寸法校正パターン

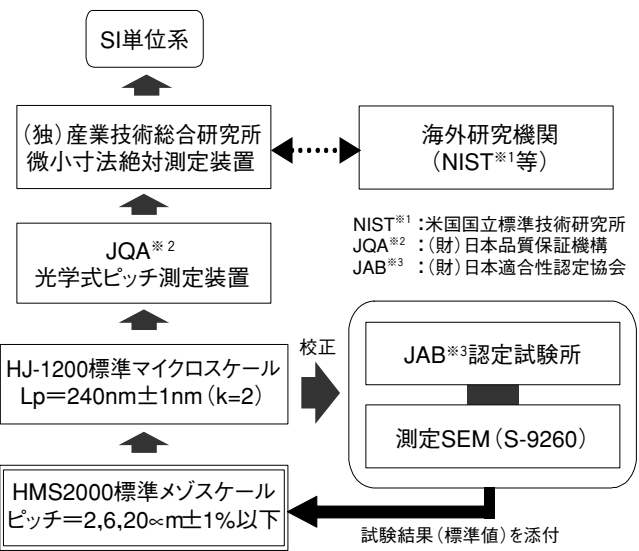


図2 標準メゾスケールのトレーサビリティ体系

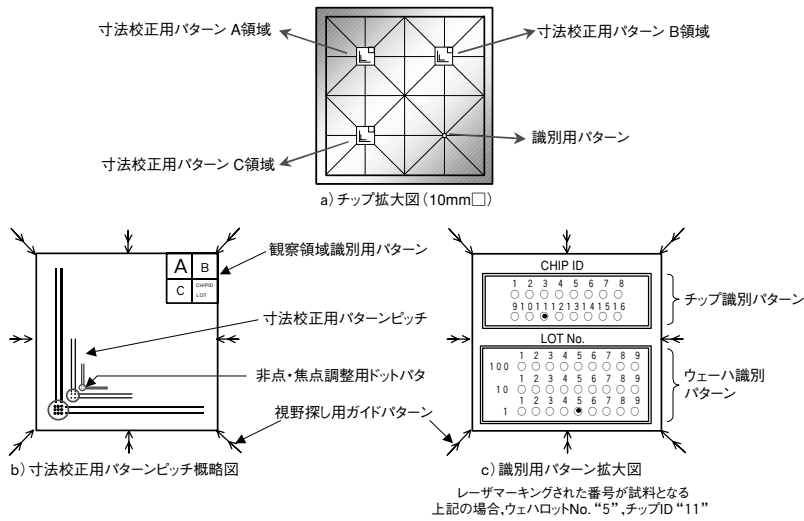


図3 標準メゾスケールのパターン概要

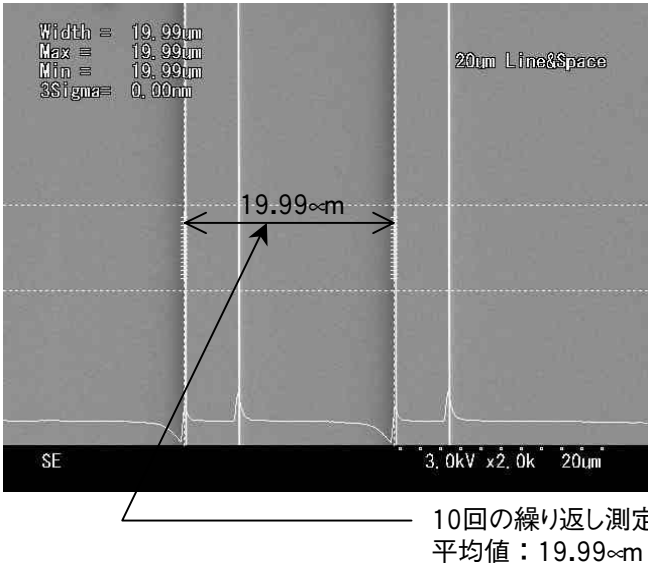


図4 標準メゾスケールのパターンピッチ測定例

ピッチの実験報告書に記載された平均値（標準値）から校正係数を算出する。

寸法校正用パターンピッチ10回以上繰り返し測定の平均値

対応する寸法校正用パターンピッチの実験報告書に記載される平均値

= 校正係数

表1 寸法校正用パターンピッチの測定対象

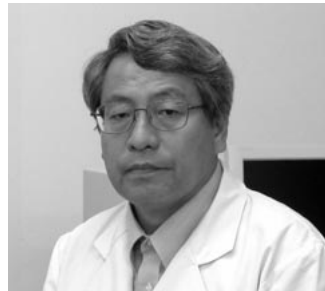
	寸法校正用パターンピッチ	測定対象
1	20μmピッチ	約100～10 μm
2	6 μmピッチ	約30～1 μm
3	2 μmピッチ	約10～0.5 μm

- (3) 未知試料を寸法校正用パターンピッチ測定時と同一条件で10回以上繰り返し測定し、その平均値に(2)で算出した校正係数を掛けることにより補正された測定値を得る。

5. まとめ

今回紹介した標準メゾスケールは、SEMを利用されるユーザが手軽にSI単位にトレーサブルな寸法測定を行うことを可能にするものである。今後、さまざまな分野で信頼性の高い寸法測定が要求されることは必至であり、標準メゾスケールが生産の歩留り向上や品質管理の高信頼化に役立つことを期待する。

ラウンジ



麻痺性貝毒研究とLC/SSI-MS

LC/SSI-MS Application for Paralytic Shellfish Poisons

西尾 幸郎*

麻痺性貝毒（Paralytic Shellfish Poisons, 以下PSPと略記）を代表するsaxitoxinは化学兵器に分類される神経毒で国際条約によって厳重な管理が義務づけられている。

このような海産の天然物と私が巡り会ったのは今から29年前、海洋天然物化学のメッカである東京大学農学部故橋本芳郎先生の研究室で1年間過ごし、香川大学農学部の岡市友利先生の研究室へ戻ってきた年であった。1975年、三重県尾鷲湾に渦鞭毛藻*Alexandrium catenella*が発生し、翌年には瀬戸内海東部、岡山、兵庫、香川、徳島の沿岸海域にも広がった。私は日本での麻痺性貝毒研究の出発に遭遇した幸せ者の一人である。

その後、日本各地に広がった有毒渦鞭毛藻は*A.tamarense*, *A.tamiyavanichii*, *Gymnodinium catenatum*と種類も増え、それに応じて新しいPSP成分の化学構造が解析され、おおよそ30種類の誘導体が知られることとなった。日本、北米、中南米、アジア、ヨーロッパ、オセアニアで発生し、死者を数えることもある食中毒が頻発し、研究すべき分野は年ごとに拡大している。

このような時代の要請に応えうる精密で絶対的な分析方法のLC/MSをPSP研究に使えないかと漠然と考え始めたのが1990年頃であった。当時、研究室で使えた装置がTLC/FAB-MSとFRIT-LC/FAB-MSであった。同じ海産神経毒のtetradotoxin（ふぐ毒）は比較的容易に分析できるのに、PSPはなかなか測定できなかった。水産庁の委託による貝毒被害防止対策事業に平成5年度（1993）から加わることができ、研究課題の一つにLC/MSによるPSP分析の実現を表記した。ところが、モノスルホン化saxitoxinであるgonyautoxin 2とgonyautoxin 3のLC/MS分析によりやく漕ぎ着けたのが1996年であった。当時、日本のメーカだけでなく無理矢理あちらこちらに分析をお願いし、PSP研究に適したイオン化法を探した。

最近社名を日立ハイテクノロジーズとした当時の日製産業四国営業所で、私どもと親交のあった三橋氏が、

*四国大学短期大学部化学研究室 教授 農学博士

余り詳しいことを言わない割に、少し自信があるのでと試料を預かって行かれた。そして見せてくれたマススペクトルは驚くほどすばらしいものであった。これはどういうイオン化かとしつこくお聞きしたのだが、今はまだ申し上げられないの一点張りだった。思えばこの時が難揮発性生体成分に最適なイオン源、ソニックスプレイイオン化法（SSI）との出会いであった。SSIイオン源を装着したイオントラップ型日立 M-8000質量分析装置が製品となったのが1997年、大阪での展示会に出席し、装置を使わせてほしいと直談判したことを記憶している。

LC/MSは正直な装置である。SSIに出会うまでの日々は苦痛であった。今日こそはと分析に出かけ、ESIを主なイオン源とする幾つかの装置を使わせてもらった。ある種のPSP成分は分析できた。だがどのような条件にしても検出されない物がある。また、マススペクトルに説得力がない、検出感度が従来の蛍光LCに比べ低すぎる、等々。ところがSSIを用いるとこれまで絶望視していたPSP成分が次から次へと分析されて行った。1998年3月の水産庁研究会でsaxitoxin 2重スルホン化PSPであるprotogonyautoxin 1 (C1), protogonyautoxin 2 (C2)のLC/MSによるスペクトルを初めて発表した。これら2種の低毒性PSPは11位に結合するスルホン基の α 、 β 立体異性体で、ネガティブモードで $[M-H]^- = m/z$ 474 を与えるが、ポジティブモードにすると脱スルホン+脱水したピークが主となり、 α 、 β を区別できるスペクトルが得られた。この内容は日立サイエンスシステムズの吉岡氏が詳しいので興味を持たれた方はご本人にお聞きくださると良い。

一度PSP成分がLC/MSで安定して分析され始めるとsaxitoxin群、gonyautoxin群の検出も順調に進み、幾つかの成果を発表できるようになった。その内の一つがHITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS 1999 Vol.41 No.2に掲載されている。SSIは文字通り非加熱非高電圧のイオン化システムのため、ESIなどで分析しにくいPSP成分のLC/MSイオン化法にうってつけであった。このようにSSIを営めると“言い過ぎ”と思われる方がいらっしゃるかもしれない。しかし、私は経験に基づきSSIは評価すべきイオン化法だと考えている。



私のここ数年の興味は、saxitoxin群、gonyautoxin群、protogonyautoxin群に分類される30種PSP誘導体の60分間一括分析である。目下、20成分を蛍光LCとLC/SSI-MSの両システムで定量できるまでになった。地球温暖化の影響を受け、年ごとにこれまで見られなかった有毒プランクトンが日本沿岸に出現し始めている。これらの生物は新しいPSP成分産生能を有している可能性があるので、成分分析にLC/SSI-MSをルーテ

インに使用できるようにするのも課題だ。思えば、1990年にPSPのLC/MSを思い、約10年で実現した。これからの10年でどのような世界が展開するのであろうか。

最後にこれら海産毒物に関係して今日まで多くのご指導を賜った橋本周久先生（元東京大学教授）、岡市友利先生（元香川大学学長）、野口玉雄先生（元長崎大学教授）、そして多くの学兄にこの場を借りて感謝申し上げます。

新製品紹介

G-6000形
ガスクロマトグラフ

暮らしと科学の絶え間ない発展に伴い、大気、水、食品等、生命の根源にかかわる環境問題が近年ますます重要視されています。当社では、これらの複雑かつ多様化した高度の環境分析技術にお応えするガスクロマトグラフとして放射線源(⁶³Ni等)を用いない新しいECD検出器や可燃性ガス(水素)を用いない非水素炎有機物検出器など、数々の新技術をラインアップしてお応えします。

新機能

1. 新形検出器
- 1) 放射線源を用いない届出不要のECD検出器(特許出願中)
Nr-ECD: Non-radioactive Electron Capture Detector

- 非放射線電子捕獲検出器
有機塩素系農薬等の検出に有効です。
- 2) 水素炎を用いない安全な有機物検出器
NFOD: Non Flame Organic Detector
- 非水素炎有機物検出器
ガソリン等有機化合物の分析に有効です。
2. *¹EZChrom Eliteをデータ処理/制御装置として採用
- 1) EZChrom Elite搭載のPCから直接制御可能
- 2) クライアント/サーバシステムの構築が可能
(*²Windows®2000のドメイン環境下において)
- 3) *³FDAのPart11へも容易に対応
- 4) GC 2台制御可能/PC
3. デジタルフローコントローラ(DFC)を標準装備
- 1) 3モード(圧力 線速度 流量)
- 2) プログラム可能

4. 高速昇温冷却によるスループットの向上
- 1) 昇温 50℃～450℃ 10分以内
(従来22分以内)(当社比)
- 2) 冷却 450℃～50℃ 6分以内
(従来12分以内)(当社比)



- *1 EZChrom, EZChrom Elite, および EZChrom Elite クライアント/サーバは Scientific Software, Inc. の商標です。
- *2 Windows®は米国Microsoft Corporationの登録商標です。
- *3 FDAはU.S.Food and Drug Administrationの略称です。

学会発表
ミニファイル山田満彦 望田康平
(株式会社日立サイエンスシステムズ)

1. 日本-スイス合同TEMセミナー(2003・3/2-5, Arosa, Switzerland)

上野(日立サイエンスシステムズ) : The dedicated FIB-STEM system for nano-materials characterization.

2. 日本顕微鏡学会関東支部講演会(2003・3/15, 東京)

上野(日立サイエンスシステムズ), 他: FIBが拓いた材料解析

3. Nano FIB 2003(2003・4/4, Cambridge, UK)

上野(日立サイエンスシステムズ), 他: FIB micro-sampling and its application to material characterization and micro-machining

4. 金属学会ナノプレーティング研究会(2003・4/16)

上野(日立サイエンスシステムズ), 他: 表面および界面構造評価のためのFIB-STEM技術

5. 日本解剖学会(2003・4/1, 福岡)

中澤(日立サイエンスシステムズ), 他: H-7600の新機能とその応用

6. 医生物電子顕微鏡技術学会(003・4/26-27, 東京)

中澤(日立サイエンスシステムズ), 他: H-7600における自動試料傾斜機能とその応用
西村(日立サイエンスシステムズ), 他: 日立走査電子顕微鏡S-4300SE/Nによる口腔細菌観察

7. 日本電子顕微鏡学会(6/7-9, 札幌)

小笠原(日立ハイテクノロジーズ), 他: H-7600の新機能について
稲田(日立ハイテクノロジーズ), 他: 新形HD-2300超薄膜評価装置における自動調整機能の紹介
中川(日立サイエンスシステムズ), 他: S-4800がカバーするアプリケーションのダイナミックレンジ

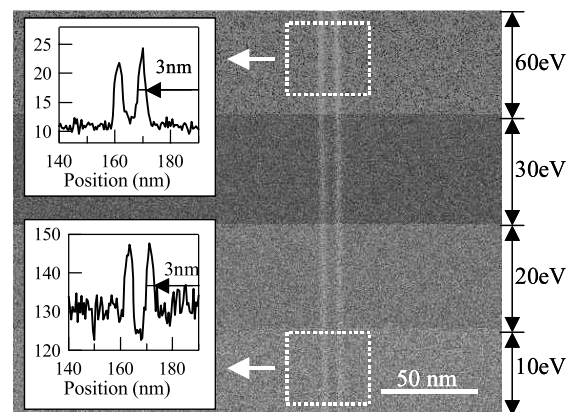
葛西(日立製作所 基礎研究所), 他: 高温超伝導体における異方性を反映した鎖状磁束量子列の観察

上野(日立サイエンスシステムズ), 他: 高温その場観察・装置と観察例

石谷(日立ハイテクノロジーズ), 他: SEM分解能評価法の標準化(III) 画像の濃度勾配を利用した分解能評価法(CG法)

砂子沢(日立ハイテクノロジーズ), 他: 高S/N元素マッピングEELSを備えたSTEM装置

【要旨】走査透過電子顕微鏡(STEM)に電子線エネルギー損失分光器(EELS)を装着した元素分析システムでは、原理的に色収差によるボケがないことから高い空間分解能およびS/Nの元素分布像が期待できる。図1はHD-2300形STEMにELV-2000形EELSを装着し、エネルギー幅を順次60, 30, 20, 10eVに切り替えて観察したときの半導体素子断面である。すべてのエネルギー幅において2層の Si_3N_4 膜(約3nm厚さ)におけるNの分布が明瞭に捉えられており、STEMを用いた元素分析システムでは広いエネルギー幅(60eV)の観察条件においても空間分解能が劣化することなく良いS/Nの元素分布像が得られることが確認できた。

図1 エネルギー幅を60, 30, 20, 10eVに順次切り替えながら観察した Si_3N_4 膜のN分布像鍛示(日立製作所日立研究所), 他: 3ウィンドウ型検出器を用いたリアルタイム元素マッピング
朝山(日立製作所半導体事業部), 他: TEM-EELSによる半導体コンタクトの信頼性解析
西村(日立サイエンスシステムズ), 他: 低真空SEMによる微生物試料の観察
山田(日立サイエンスシステムズ), 他: 細菌試料の高精度寸法計測
高口(日立製作所中央研究所), 他: 高感度STEM-EDXによるn-MOSトランジスタ拡散層プロファイルの評価矢口(日立サイエンスシステムズ), 他: FIB-STEM共用3D解析ホルダーの開発(1)
基本機能と分析に関する検討今野(日立サイエンスシステムズ), 他: FIB-STEM共用3D解析ホルダーの開発(2)
半導体故障解析への応用

黒田(日立サイエンスシステムズ), 他: FIBによる金属材料の低損傷加工

【要旨】集束イオンビーム(FIB: Focused Ion Beam)加工観察装置はTEM試料作製に広く用いられているが、一部の金属材料や化合物半導体では薄膜加工中にイオンビーム損傷を生じることが知られている。今回は、金属材料の中でも特にイオンビーム損傷を受けやすいとされているMg合金に対する低損傷加工条件を検討した。FB-2100形集束イオンビーム加工観察装置を用いた実験結果から、仕上げ加工を10kVで行うことにより損傷を大幅に低減できることが分かった。図2は仕上げ加工を40kV(a)および10kV(b)で行ったときのMg合金薄膜試料のSTEM像を比較したもので、(b)では(a)に見られるような厚さムラや非晶質化は確認されず、結晶粒が鮮明に観察されている。

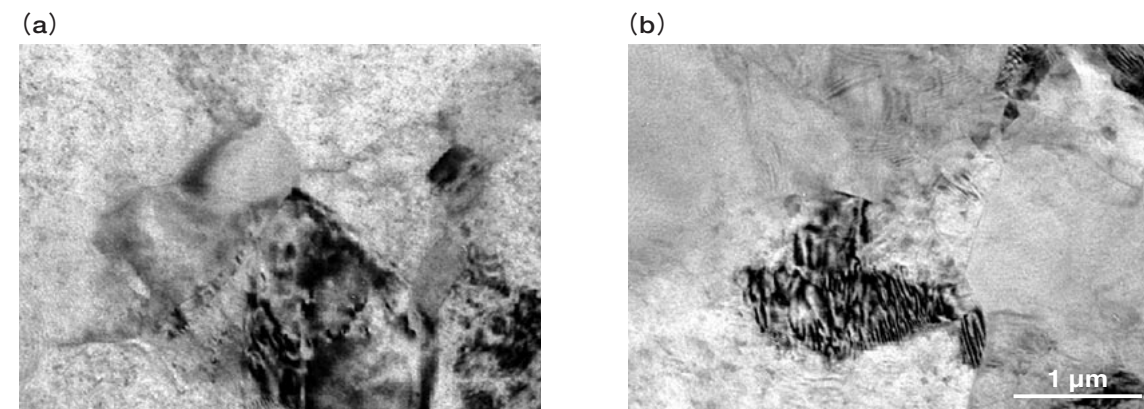


図2 加速電圧40kV (a) および10kV (b) で仕上げ加工を行った試料のSTEM像比較

依田(日立製作所), 他: 計装化ウルトラミクロトームを用いたハンダ/Cu接続界面の評価
中澤(日立サイエンスシステムズ), 他: H-7600における3D像観察システムとその応用
荒川(日立製作所 半導体事業部), 他: 分析STEMによる半導体配線の不良解析技術
外村(日立製作所 基礎研究所), 他: 1MV電界放出電子顕微鏡による高温超伝導体中の磁束量の観察

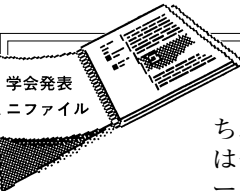
植木(日立サイエンスシステムズ), 他: 300kV高分解能PC-TEMの開発とその応用

佐野(日立計測器サービス株式会社), 他: 電子顕微鏡の性能と設置環境

伊藤(日立サイエンスシステムズ), 他: 低真空SEMによるEBSD解析の可能性

武藤(日立サイエンスシステムズ), 他: 二次電子検出器による暗視野STEM像取得の検討

【要旨】S-4800形SEMにおいて、暗視野STEM像を観察するための新しい手法を開発した。それは、試料とSTEM検出器の間に反射板を設け、暗視野情報を持つ散乱電子を反射板に照射したの



ち二次電子に変換し、標準装備の二次電子検出器で検出するものである。なお、明視野STEM像は一般的なSTEM検出器を用いて形像される。図3 (a)にFe微粒子を内包したカーボンナノチューブの明視野像を、また図3 (b)にその暗視野像を示すが、前者では特にナノチューブの構造が、後者ではナノチューブ内のFe微粒子の分布が明瞭に観察されている。

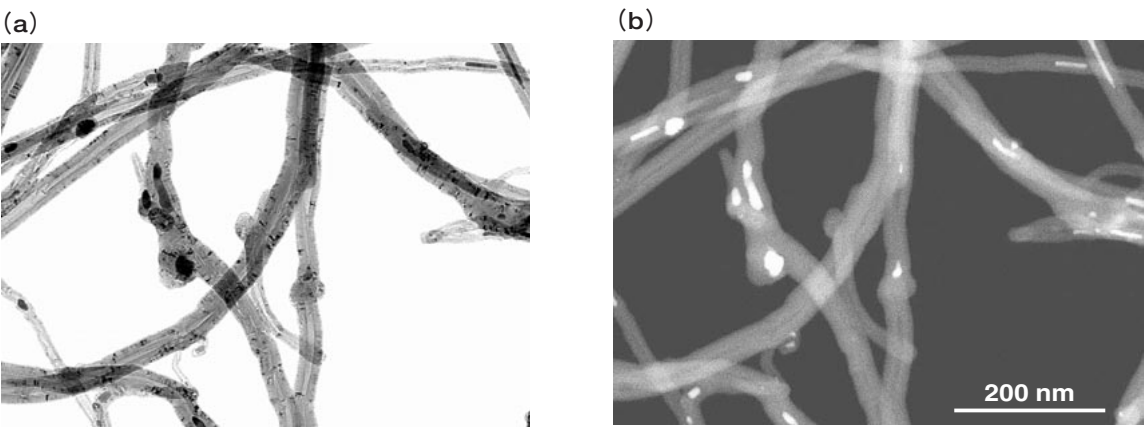


図3 Fe微粒子を内包したカーボンナノチューブの明視野STEM像 (a) と新しい検出方式による暗視野STEM像 (b) 装置：S-4800

渡邊(日立サイエンスシステムズ), 他：低加速電圧STEM法による暗視野像観察の試み
振木(日立サイエンスシステムズ), 他：FIB機能付SEMを用いた加工中のモニタリングの試み
黒田(日立サイエンスシステムズ), 他：幻花(写真コンクール金賞受賞作品)

【要旨】美しい輝きを放つ「幻花」, 実はSiO₂中に成長したpoly-Si結晶である。この試料はFIBマイクロサンプリング法を用いて試料厚さ約1 μmに加工したもので、FE-STEM(加速電圧200kV)の明視野STEM像観察機能により立体的な結晶構造が鮮明に観察されている。



8. LCテクノプラザ；(2003・2/1～2, 東京)

伊藤(日立ハイテクノロジーズ), 他：アミノ酸分析の高分離化

【要旨】イオン交換クロマトグラフィーポストカラム誘導体化法を用いたアミノ酸分析計で、分離カラムサイズおよび流速を最適化することにより生体液中のアミノ酸類を高分離に分析できる方法を開発した。2本直列のカラムを装備し、流量グラジエント溶出法を採用、さらに反応液も流量グラジエント送液することにより特に中性アミノ酸の高分離を実現した。

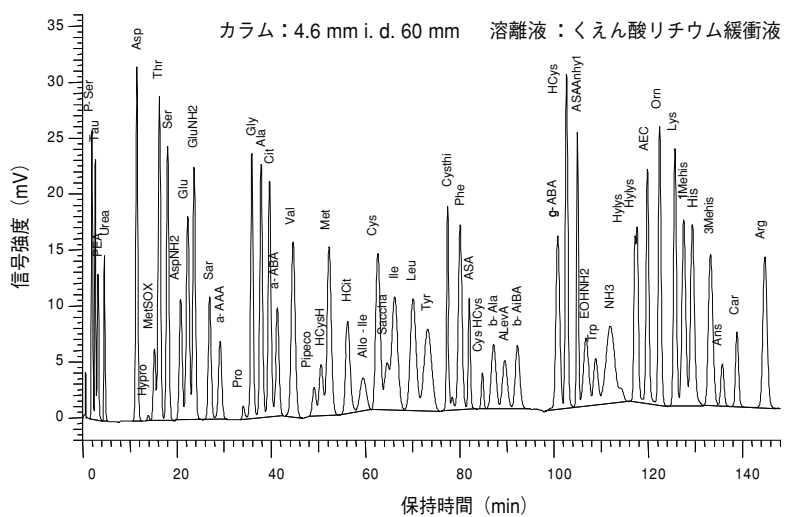


図4 代謝異常症関連アミノ酸を含む53成分分析

本田(日立ハイテクノロジーズ), 他：高速分析・セミマイクロ分析に対応したHTA/SMASHシステム

9. 2003 Pittsburgh Conference(2003・3/9～14, Orlando,USA)
秋山(日立ハイテクノロイーズ), 他：Comprehensive Two-Dimensional High Performance Liquid Chromatography using Monolithic Column
吉岡(日立サイエンスシステムズ), 他：Enhanced Mass Detection of Modified Oligonucleotides on Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Ion-Trap Mass Spectrometry

10. 近畿分析技術研究会 第6回講演会(2003・3/7, 大阪)
白崎(日立サイエンスシステムズ), 他：環境分析とプラズマイオン源質量分析法

11. 51回質量総合討論会(2003・5/14～16, つくば)
奥村(日立中央研究所), 他：直交加速式Trap-TOF質量分析計の開発(1)
橋本(日立中央研究所), 他：直交加速式Trap-TOF質量分析計の開発(2)

12. 日本分析化学会第64回分析化学討論会(2003・5/24-25, 高知)
坂元(日立サイエンスシステムズ)：ICP/3DQMSによるPb同位体比分析

【要旨】プラズマイオン源質量分析を用いた同位体分析法は広く利用され、特にPbは産出地点により同位対比が異なることから、考古学や環境汚染の起源分析に応用されている。今回、二つの標準試料を用い未知試料の同位体を精度良く補正する手法を考案した。同位対比既知の試料に適用し、良い一致が得られた。

【スズ粒子】				【黄砂標準試料】			
206Pb/207Pb		206Pb/208Pb		206Pb/207Pb		206Pb/208Pb	
P-5000(3DQM)	P-6000(QMS)	P-5000(3DQM)	P-6000(QMS)	P-5000(3DQM)	P-6000(QMS)	P-5000(3DQM)	P-6000(QMS)
1.140	1.147	0.472	0.468	1.1966	1.202	0.483	0.480

13. 第167回液体クロマトグラフィー研究懇談会(2003・5/29, 東京)
本田(日立ハイテクノロジーズ)：ときどき遭遇するトラブルとその解決法

14. 51st ASMS Conference(2003・6/8～12, Montreal, Canada)
伊藤(日立ハイテクノロジーズ), 他：Analysis of isomeric oligosaccharides by reverse phase high performance liquid chromatography/sonicspray ionization (SSI) ion trap mass spectrometry

新製品紹介

H-9500形 日立透過電子顕微鏡

多くのユーザーを魅了した300kV電子顕微鏡H-9000の優れた高分解能像観察をPC制御とデジタルカメラの標準装備により操作性を格段に向上させた透過電子顕微鏡H-9500を発売した。

半導体から各種材料まで幅広い分野で高スループットで原子像を観察できる。

主な特長

- 1) 高分解能像が容易に観察可能なデジタルTEM。
- 2) PC制御とデジタルカメラのインテグレーションにより、簡単にデジタル画像が得られ、画像データ管理、画像処理ができる。
- 3) 従来から定評のある多段加速管、抵抗ケーブルの使用により安定した高圧を実現し、高圧昇圧3分、試料交換1分でスループットの高い像観察が行える。
- 4) 5軸ハイパーステージを標準装備。オートドライブ、試料位置トレース機能が可能。

主な仕様

分解能：0.1nm（格子像）
0.18nm（粒子像）
加速電圧：300kV
電子銃：LaB6フィラメント
試料ステージ：5軸ハイパーステージ



HD-2300形 超薄膜評価装置

『欲しい結果を、素早く、簡単に！』のコンセプトで好評を頂いておりましたHD-2000形超薄膜評価装置の後継機として『HD-2300形超薄膜評価装置』を6月6日より販売開始いたしました。HD-2300では、HD-2000の基本性能である像分解能、分析の性能をさらに向上し、高精度な解析を可能とするとともに、オペレーターをサポートする各種自動調整機能を

新規開発、搭載し、『より高精度な結果を、よりすばやく、より簡単に』実現できる装置です。サブナノメートルレベルの解析が必須となっている半導体デバイス産業、ナノテクノロジー分野での必須評価ツールとして、ますますお役に立てると確信しています。

【特長】

1. 軸調整機能の自動化を実現
2. 画像調整機能の自動化を実現
3. 高分解能STEM像、SEM像
4. ナノエリア電子線回折：STEM像と同時表示*
5. 高感度、高精度EDX分析*
6. 高速、高感度、高精度：自社製EELSイメージング装置搭載可能*

*はオプションです。



HD-2300の外観

*モニター上の画面は印刷時のため込み合成です。
右側のモニターはオプションです

◎ 株式会社日立ハイテクノロジーズ

北海道支店 電話 札幌 (011) 221-7241
東北支店 電話 仙台 (022) 264-2219
筑波支店 電話 土浦 (029) 825-4801
中部支店 電話 名古屋 (052) 583-5811

本社 電話 東京 (03) 3504-7211
北陸営業所 電話 金沢 (076) 263-3480
関西支店 電話 大阪 (06) 4807-2511
京都営業所 電話 京都 (075) 241-1591

四国営業所 電話 高松 (087) 862-3391
中国支店 電話 広島 (082) 221-4511
九州支店 電話 福岡 (092) 721-3511

＜編集後記＞

本号から編集人を担当することになりました。今年はイラクや北朝鮮の国家間の問題や冷夏など暗いニュースがあった反面、4月には人ゲノムの解説終了、景気の上昇機運への兆候、あるいは科学立国やものづくり日本への機運の高まりなど良い方向への兆しも見られるようになり、今年後半に期待したいものです。

さて、本号は、報文として東京大学医科学研究所の片山先生と工学院大学の馬場先生に電子線トモグラフィの新たな挑戦と題する蛋白質構造の電子顕微鏡での決定法、東京大学の北森先生にマイクロ化学チップの研究開発動向をいただきました。いずれの報文も時宜を得た内容で読者の皆様には興味深く読んでいただけるものと思います。解説には新形高速液体クロマトグラフ、低真空での高倍率SEM、FIBマイクロビラーサンプリング法の各アプリケーションの他、分析データ統合管理システムCyberLAB KES、日立標準メソスケールを紹介します。ラウンジには四国大学の西尾先生に麻痺性貝毒の研究談に

についてお話をいただきました。

小誌も話題性のある研究等の掲載をするなど、皆様にご興味を持っていただけるよう、今後共さらなる充実を目指します。 (原田 記)

■インターネットホームページ

○(株)日立ハイテクノロジーズ
ライフサイエンス関連
URL: <http://www.hitachi-hitec.com/science/>
ナノテクノロジー関連
URL: <http://www.hitachi-hitec.com/device/>

■本ニュースに関するお問い合わせは、下記、または、(株)日立ハイテクノロジーズの上記各事業所へご連絡ください。

○(株)日立ハイテクノロジーズ
販売促進部
〒105-8717 東京都港区西新橋1-24-14
電話 (03) 3504-7811 (ダイヤルイン)
FAX (03) 3504-7756

○(株)日立サイエンスシステムズ

那珂カスタマーセンター
〒312-0057 茨城県ひたちなか市石川町11-1
電話 (029) 354-1970 (代)

HITACHI
SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS
SEPTEMBER, 2003 VOL. 46 No. 1

発行 2003年9月10日
発行人 小林 紀雄
編集人 原田 勝仁
発行 株式会社日立ハイテクノロジーズ
〒100-8717
東京都港区西新橋1-24-14
電話 (03) 3504-7811 (ダイヤルイン)
印刷 日立インターメディアックス株式会社