

HITACHI
Inspire the Next

S CIENTIFIC
I NSTRUMENT
NEWS

SEPTEMBER 2017

Vol. **60** No.2

September 2017
Vol.60 No.2

«コラム

5275

構造と機能

平山 司

«研究報文

5277

天然物研究への蛍光指紋分析利用法の提案

福田 隆志

5283

**走査透過(STEM)像，走査(SEM)像同時計測
クライオ電子顕微鏡の開発と応用**

臼倉治郎，成田哲博，松本友治，臼倉英治，砂押毅志，丹波裕介，長久保康平，
東淳三，水尾考志，二村和孝，大隅正子，多持隆一郎，小瀬洋一

«技術解説

5291

透過電子顕微鏡HT7800シリーズの特長と応用

長沖 功，田村 圭司，三瀬 大海，藤井 孝史，和久井 亜希子，和山 真里奈

«新製品紹介

5295

Regulus® シリーズ FE-SEM

新型卓上顕微鏡 TM4000シリーズ

高性能FIB-SEM複合装置「ETHOS」

LA8080 高速アミノ酸分析計「AminoSAAYA」

紫外可視赤外分光光度計UH4150 自動測定システム

エネルギー分散形蛍光X線装置 SPECTRO XEPOS

加熱脱離質量分析計(フタル酸エステル類検査装置) HM1000

«技術解説

5303

電子顕微鏡用サンプルクリーナー Zone II for SEM

西村 雅子，中島 里絵，長谷川 伸一，砂押 毅志

5308

日立イオンミリング装置の最前線

伊藤 寛征，稲木 由紀

構造と機能

Structures and functions



一般財団法人 ファインセラミックスセンター
執行理事 ナノ構造研究所副所長

平山 司 博士(工学)

元素の周期表に表されているとおり、地球上にはわずか 100 種類余りの元素しかない。しかし、その 100 種類余りの元素の組み合わせや結晶構造の違いにより、星の数ほどの種類の物質ができる。その中で、有用な機能を持ち安全で安価な物質が工業材料として使用される。そして、より優れた「機能」を持つ工業材料を開発するために「構造」を積極的にコントロールする研究開発が盛んに行われている。

構造をコントロールするためには、まず構造を「観る」必要がある。構造を調べる手法はたくさんあるが、顕微鏡は結果を最も直感的に理解しやすい便利な道具である。原子レベルで構造を「観る」ためには透過電子顕微鏡がよく使われる。透過電子顕微鏡が結晶構造だけでなく材料の機能を支配する結晶欠陥の解析に非常に有効であることが認識されて久しいが、近年の収差補正技術の実用化によってその分解能は一気に 0.1 nm を割るレベルに達し、材料の構造評価にはなくてはならないものとなっている。また、透過電子顕微鏡では試料は真空中に置かれるというかつての常識を破り、ガス中あるいは液体中で観察ができるような環境制御型電子顕微鏡もますます進化している。

一方、「機能」には、機械的機能、生物学的機能、電磁氣的機能などたくさんの機能があるが、たとえば電磁氣的機能を「観る」手法として、日立製作所基礎研究所にいらっしゃった故外村彰氏が開発された電子線ホログラフィーがある。電子線ホログラフィーを用いると、材料のミクロン～ナノメートル領域の磁性体磁区構造や半導体内あるいはイオン伝導体内の電位分布などを直接観察できるため、微小領域の磁氣的または電氣的機能の直接観察手法として活用することができる。

材料の構造と機能を「観た」ら、次にそれらの関係を調べなくてはならない。ある材料の中に特徴的な構造と優れた(あるいは劣った)機能が観られたとしても、実は両者に直接的関係が無い場合もある。観察結果が真実であったとしても、不十分な考察によって間違った結論や開発指針が示されれば、材料やデバイスの開発担当者はたまったものではない。

構造と機能の間の関係を正しく理解する最も確かな方法は、最近の第一原理計算等の理論計算の活用である。これは、量子力学の基本原則(シュレディンガー方程式)だけを使って、様々な物質の特性を理論的に計算するもので、最近では、結晶の相転移温度、強誘電体の特性、イオン伝導体のイオン伝導率などをかなり正確に示すことができるようになってきている。さらに、計算によって新しい材料の設計指針を示すことができた例も報告され、新材料の開発創成にはなくてはならぬ分野に成長しつつある。

筆者の所属する一般財団法人ファインセラミックスセンターでは、ちょうど 10 年前に以上記述したような研究分野の将来性に関する議論を行い、その結果、電子顕微鏡解析と理論計算を研究の二本柱とするナノ構造研究所を設立した。そして、自分たちが研究を行うだけでなく、この研究手法と研究設備を企業の研究開発にも活用していただくために、企業からの出向者を受け入れ、企業の業務をファインセラミックスセンターの設備を使って実施して頂く「オープンラボ制度」を作り、企業の皆様との共同研究実施体制を整備した。お陰様で、多くの企業の方々との共同研究が成立し、学会発表や学術論文だけでなく、新聞記事やテレビ放送になる結果にも結びつき、今日に至っている。企業の利益に直結する製品開発や不良解析に貢献する例も出始めた。

研究者である限り、自らの思考と決意によって学問や技術の地平を切り開くことを目指すことは当然であるが、企業の人々からの要請は、「世の中は何を求めているのか」、「何をすれば社会的価値があるのか」を学び理解することにもものすごく役立つ。天才であれば、自分の考えだけで突き進めばいい結果が得られるかもしれないが、私のような凡人は、自ら考えることと他の人から要請されることの両方を考えてバランスを取ると最大の結果が得られるように思う。まさに孔子が説いた「学而不思則罔、思而不学則殆（くらびて思わざれば則ち罔し、おもいて学ばざれば則ち殆し）」でもあり、本多光太郎先生の「産業は学問の道場なり」でもある。若いときは自分の思いだけで突っ走ろうとしたこともあったが最近こんなことを思うのも、60歳になり「六十にして耳順う」ようになったからだろうか？

構造と機能の研究は、学問と産業両方を発展させる。この重要な研究の中で、いままでお世話になった方々に恩返しができれば、それ以上の喜びはない。そして、この分野で重要な計測・観察装置を世に出しておられる株式会社日立ハイテクノロジーズへの期待は非常に大きい。

天然物研究への蛍光指紋分析利用法の提案

The application of fluorescence fingerprint measurement with F-7100 to the natural product researches



近畿大学農学部水産学科
水産利用学教室
准教授

福田 隆志 博士(農学)

1. はじめに

微生物を資源とした創薬研究は、1928年のアレクサンダー・フレミングによる青カビからのペニシリンの発見とその後の実用化により、大きく発展した。その過程で、抗生物質のストレプトマイシンやエリスロマイシン、抗真菌剤ではアンホテリシン B、抗がん剤ではマイトマイシンやアドリアマイシン、さらには免疫抑制剤のタクロシムスといった、今まさに臨床で用いられている医薬品が微生物より発見された。それら医薬品の中でも最も我々の記憶に新しいのは、2015年大村智博士のノーベル生理学・医学賞の受賞理由にもなったエバーメクチンである¹⁾。エバーメクチンは、放線菌 *Streptomyces avermitilis* が生産する二次代謝産物であり、抗寄生虫薬として多くのアフリカ住民を失明の危険から救った。本受賞は、大村先生の功績を讃えるのみならず、微生物からの天然物創薬研究の重要性を再認識させるものでもあった。

一方で最近の天然物創薬研究の興味は、陸上から海洋へとその対象を変化させている。海洋には10億種以上の微生物が生育していると推測されているが、その90%以上が未知であると推定されている。このことから、海洋由来微生物は創薬研究の材料として大きなポテンシャルを有していると考えられている。例えば pinabulin²⁾ や marizomib³⁾ は海洋微生物が生産する化合物であり、現在米国で抗がん剤としての臨床試験が進められている。また申請者がやはり海洋微生物培養液中より発見したメラノーマ選択的な抗がん活性を示す seriniquinone A⁴⁾ は、現在米国の製薬会社に注目されている。

このように海洋由来微生物は創薬資源として現在非常に注目を浴びているが、常に我々天然物研究者の頭を悩ませているのが、いかに早い段階で有用な物質生産を行う菌株を選択するか、または今までに報告例の無い新規化合物を生産する菌株(他とは異なった物質生産能を有する菌株)を選択するか、である。この悩みを解決するため、研究者は日々様々な努力、検討を行っている。例えば、難培養性菌や生物共生菌の培養条件検討、通常は眠っている生合成遺伝子を起こす培養条件検討、遺伝子を改変させて新規物質生産を促す検討、さらには遺伝子そのものを環境中より取得しホストとなる微生物で異種発現させる手法などが挙げられる。しかし、何れの場合もその後に二次代謝産物の生産条件の検討を行う必要があり、新規有用物質発見の近道とは言い難い。やはり確実なのは、従来通り分離できた菌を培養し、その二次代謝産物を様々な分析・比較をすることで、その中から特徴的な培養液を選択することが一番だと考えられる。

培養液中に含まれる二次代謝産物の分析方法としては、液体クロマトグラフィーに紫外可視吸光光度検出器(LC-UV)を用いたUV吸収による網羅的な代謝物の分析、液体クロマトグラフィーに質量検出器(LC-MS)を用いた分子量による網羅的な代謝物の分析、さらにはLC-MS/MSを用いたモレキュラーネットワーキング⁵⁾の手法などが用いられている。しかし、これら手法はいずれも高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて化合物を分離する必要があるため、1サンプルの解析に多少なりとも時間を有する。もし分離の必要がない培養液のままでの分析ができ、それら個々の培養液の特徴を可視化(数値化)する手法があれば、理想である。そこで今回は、微生物培養液に含まれる蛍光物質に着目した。

蛍光物質とは、吸収した光エネルギーを蛍光として放出する特徴を有した化合物群である。このような特徴を有する化合物には、構造中にベンゼン環やトリアゾール環を含むものが知られており、工業的には染料、顔料、インク、研究試薬などに利用されている。これら化合物群の検出には、励起波長の光を照射し、放出された蛍光波長を測定することで行う。そのため微生物培養液のような複数の化合物の混合液でも、蛍光物質のみの網羅的な検出が可能と考えられる。すなわち本研究は、蛍光物質を利用した特徴ある微生物培養液の簡便な選択方法の提案である。

2. 実験

2-1 菌の分離

実験に使用した菌の分離は、東シナ海、瀬戸内海および種子島の海洋環境より採取した土壌サンプルおよび海洋生物サンプルから行った。

滅菌水で希釈したサンプルの上清(100 μ l)を天然海水のみの寒天培地に塗布し、27℃の条件で培養を行った。4週間後シャーレ内に現れたコロニーを釣菌することで、海洋由来放線菌およびバクテリア(48 サンプル)を分離した。

2-2 菌の培養および抽出

菌の培養は M1 (+) 培地(天然海水使用)と M1 (-) 培地(蒸留水使用)の2種の培地条件で行った。M1 (+) 培地は Soluble starch (1.0%), Bacto™ Yeast extract (0.4%), Bacto™ Peptone (0.2%), CaCO₃ (0.1%), KBr (0.01%), Fe₂(SO₄)₃·7H₂O (0.004%) を天然海水(1 L)で溶解した。M1 (-) 培地は M1 (+) 培地の天然海水を蒸留水に置き換えたものとした。

各培地を 100 ml 三角フラスコにそれぞれ 25 ml 加え綿栓後、121℃、15 分間滅菌処理を行った。培地を室温に戻し、純培養を行った 48 種の菌(菌株番号 153 ~ 200)をそれぞれ 1 白金耳ずつ植菌し、生産培養を行った。生産培養は 27℃、160 rpm の条件で行った。14 日間培養後、25 ml のエタールを加え 1 時間振とうすることで微生物抽出液とした。(計 96 サンプル)

2-3 サンプルの調整

微生物抽出液の上澄み(1 ml)をエッペンチューブに移し、10,000 rpmで15分遠心後、上清300 μ lを蛍光測定用96 wellプレートに移し、測定サンプルとした。

2-4 測定

測定は図1に示す機器を用いて、200 ~ 600 nm の励起波長に対し 200 ~ 600 nm の蛍光波長を網羅的に測定する三次元蛍光スペクトル(蛍光指紋)を取得した。

使用機種

F-7100 形分光蛍光光度計

- ・EEM アシストプログラム (P/ N: 5J0-0356)
- ・マイクロプレート付属装置 (P/ N: 5J0-0118)



図1 測定に使用した機器

3. 測定結果

3-1 蛍光波長：390 ～ 400 nm で強い蛍光が見られた培養液

菌株番号 153(－), 153(+), 171(－), 171(+), 188(－), 188(+), 190(－), 191(－), 193(－), 194(－) の培養液で、蛍光波長 390 ～ 400 nm の波長範囲において強い蛍光を確認した。そのデータを図 2 に示す。

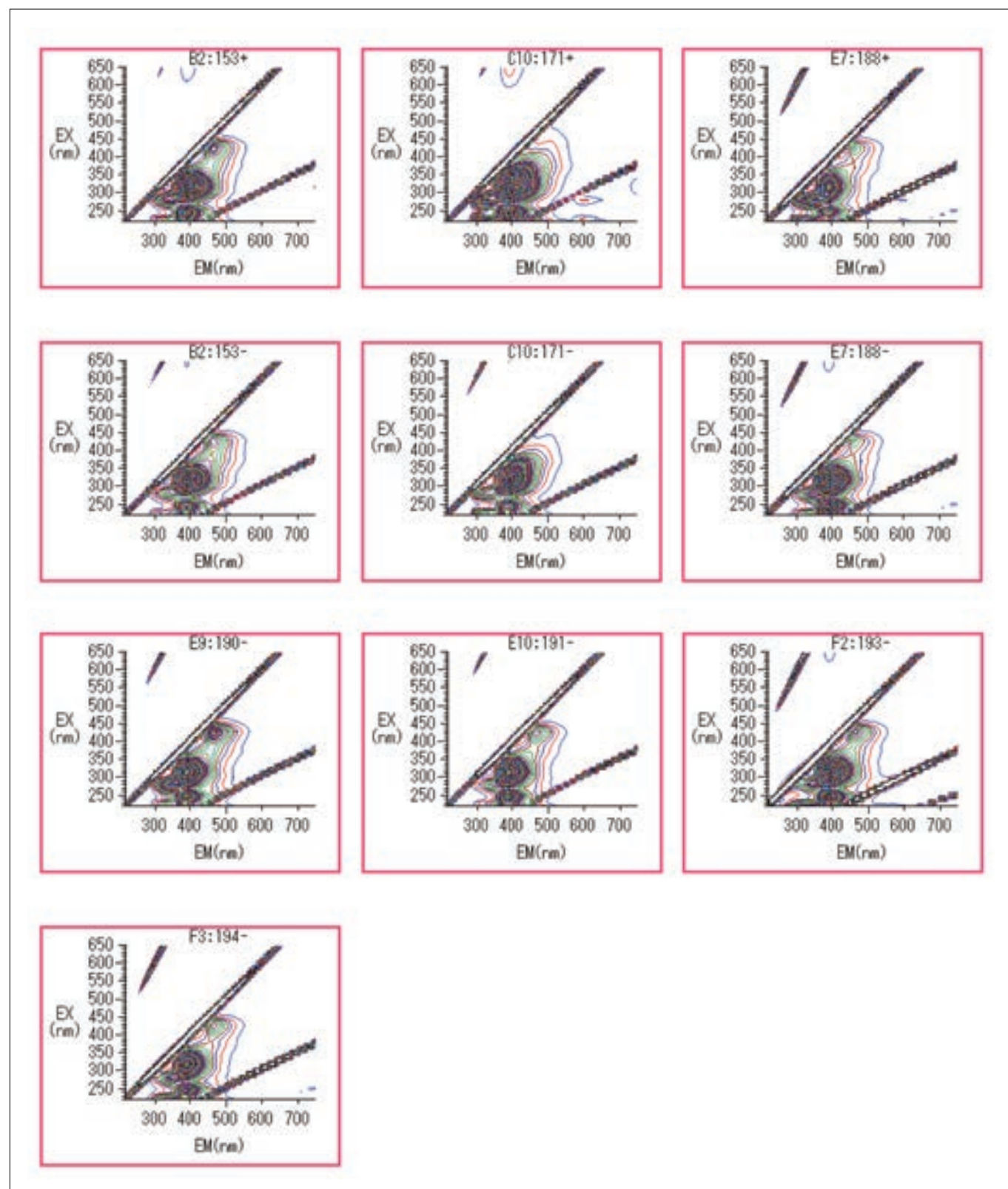


図 2 蛍光波長：390 ～ 400 nm で強い蛍光が見られた培養液

3-2 蛍光波長：430 nm 以上で強い蛍光が見られた培養液

菌株番号 175 (+), 176 (+), 177 (-), 177 (+), 180 (-) の培養液で、蛍光波長 430 nm 以上の波長範囲において強い蛍光を確認した。そのデータを図3に示す。

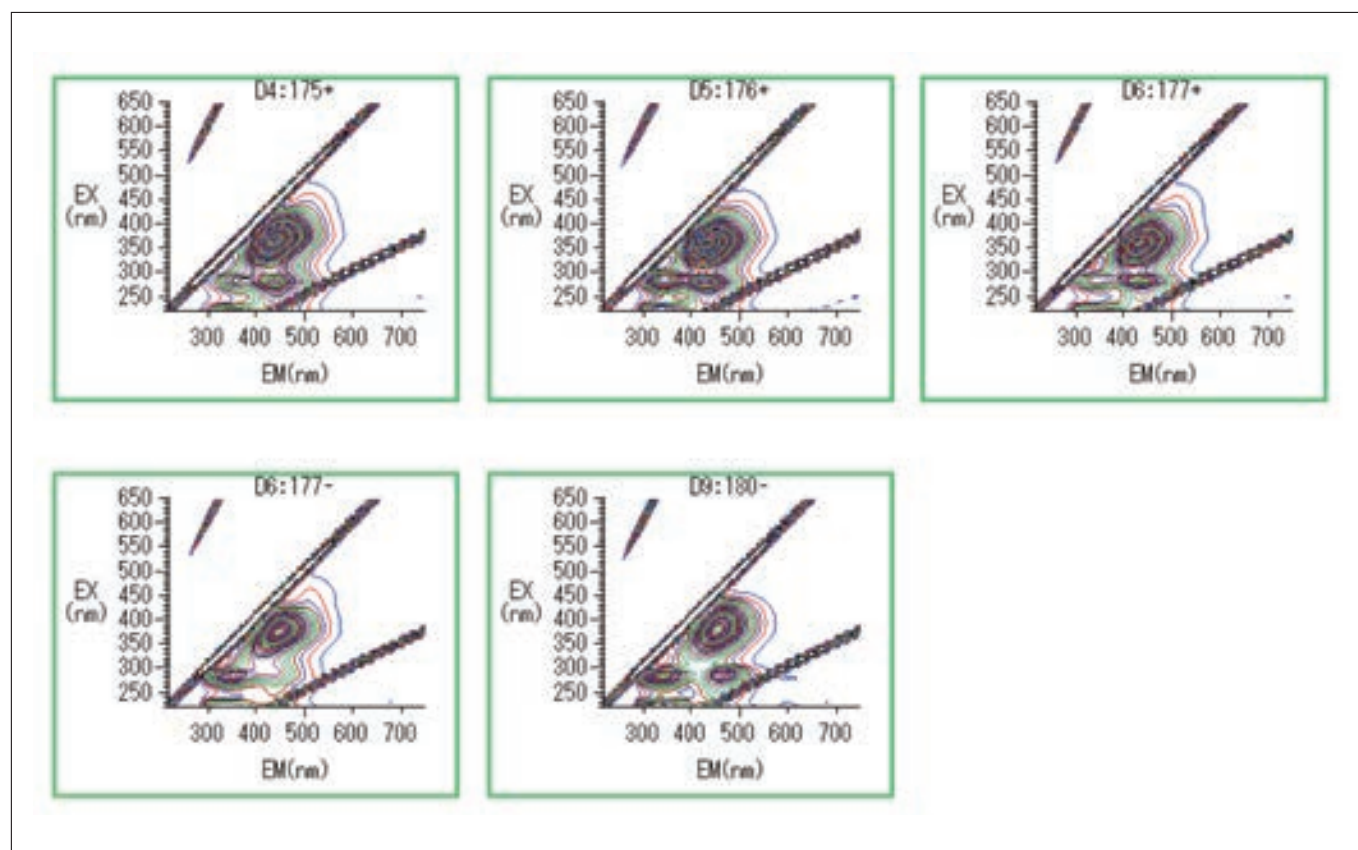


図 3 蛍光波長：430 nm 以上で強い蛍光が見られた培養液

4. 多変量解析

3で得られた結果をもとに、ピークトップおよびピークバレーに相当する特徴的な13波長選択し(図4)、多変量解析ソフト JMP 12.2 を用いて主成分分析を行った。

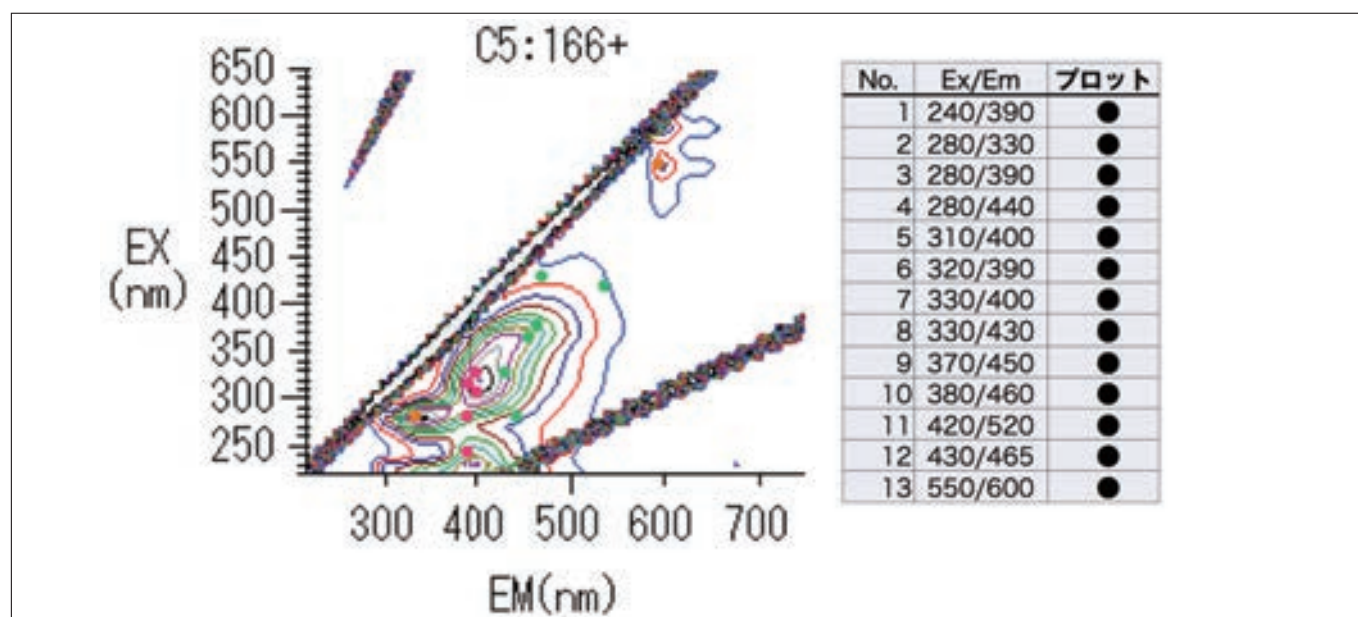


図 4 選択した13波長

その結果を図5示す。多くの培養液は中心部にプロットされたが、390～400 nmで強い蛍光が見られた培養液は右下部にプロット（赤枠内）された。また、430 nm以上で強い蛍光が見られた培養液は右上部に一群としてプロット（緑枠内）された。

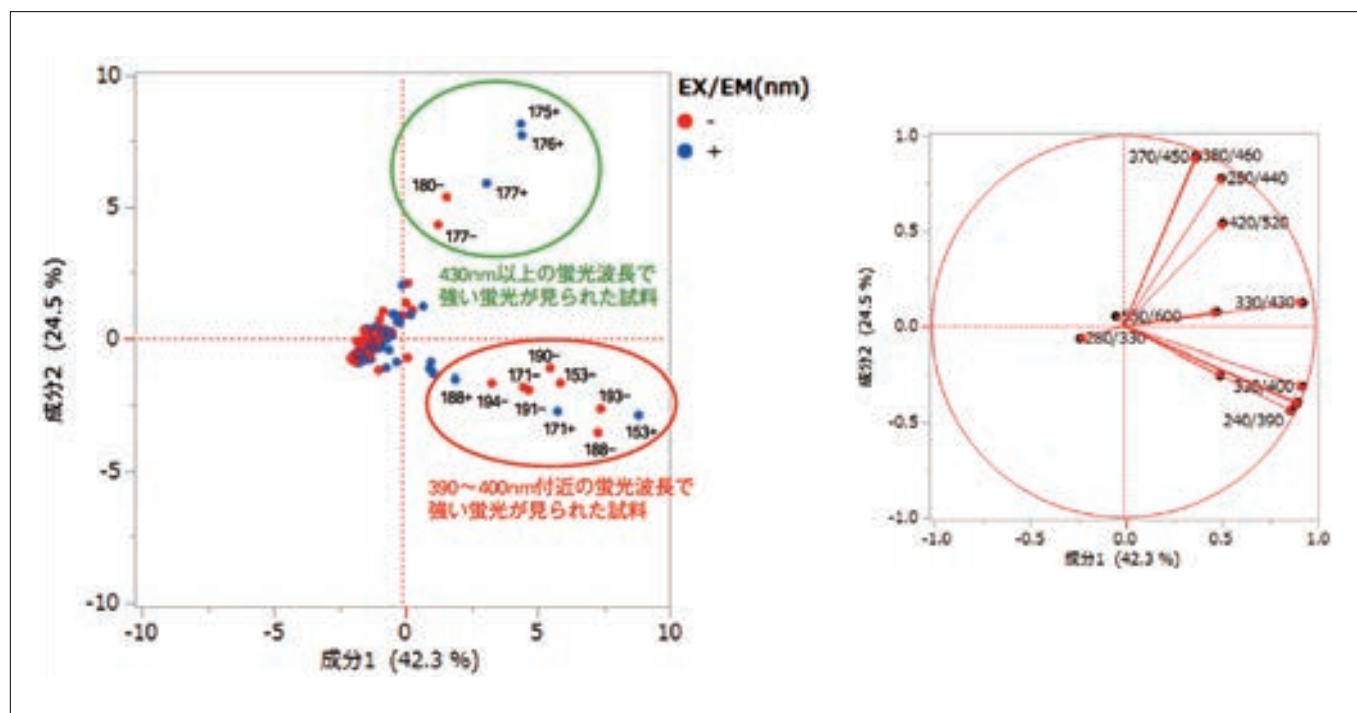


図5 多変量解析結果

5. 考察

今回我々は、特徴的な海洋微生物の培養液を選択する一つの方法として、蛍光指紋を利用した多変量解析を試みた。本方法を用いることで、特徴的な2つのグループを見出すことに成功した(図5)。菌株171および188は、培地中の海水の有無にかかわらず390～400 nmの蛍光波長で強い蛍光物質の産生が確認され、同様に菌株177でも培地中の海水の有無にかかわらず430 nm以上の蛍光波長で強い蛍光物質の産生が確認された。この結果は、それぞれの蛍光物質がそれぞれの菌を特徴付ける化合物である可能性が考えられ、非常に興味深い。

また海水の有無による蛍光物質の生産に対する影響に着目すると、蛍光波長：390～400 nmで強い蛍光が見られた10培養液中、7つが海水非添加の生産培地であった。逆に蛍光波長：430 nm以上で強い蛍光が見られた5培養液では3つが海水添加培地であった。まだサンプル数が少ないため断言はできないが、海水添加培地より高波長側で蛍光を発する化合物の生産が促されている可能性が示唆された。

6. まとめと今後

現在蛍光指紋は、食品科学の分野で品質評価(異物の混入や生産地の判定)に用いられている。本手法は、食品のような多数の化合物が混在したサンプルでも蛍光物質を網羅的に計測することが可能であること、ごく簡単な必要最低限の前処理で測定が可能であること、さらには得られる情報が膨大で網羅的解析が可能であることから、食品の一次スクリーニング(有害物質の検出)としての応用も期待されている⁶⁾。

今回この蛍光指紋の考え方を微生物培養液の選択に応用し、特徴的な蛍光物質生産を行う菌株を迅速に選択することに成功した。今後、本手法が新規有用物質発見の強力な手助けになることを期待する。また、従来のLC-UVやLC-MSを用いた分析結果と情報を共有させることで、さらに精度の高い有用菌株の選択が可能になると期待されるため、現在共同研究者と共に分析を進めている。この成果については続報を待たたい。

最後に、「なぜ暗い海底に生きる海洋微生物が、蛍光物質を生産する能力を有しているのか？」この謎の答えもこれら微生物を調べることで、明らかにしたい。

謝辞

今回紹介した研究は、北里大学薬学部供田洋教授のもとで行われました。また東シナ海の海洋サンプルは、東京海洋大学今田千秋教授よりご提供いただきました。また本資料を作成するにあたり、東北医科薬科大学薬学部内田龍児教授にご協力及びご助言をいただきました。この場を借りて深く感謝いたします。

参考文献

- 1) R. W. Burg *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **15**, 361 (1979)
- 2) W. Fenical *et al.*, WO 1999/48889 (1999)
- 3) R. H. Feling *et al.*, *Angew Chem. Int. Ed.*, **42**, 355 (2003)
- 4) L. Trzoss *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **111**, 14687 (2014)
- 5) D. D. Nguyen *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **110**, E2611 (2013)
- 6) 蔦瑞樹, 杉山純一, 化学と生物 **53**, 285 (2015)

走査透過(STEM)像，走査(SEM)像同時計測 クライオ電子顕微鏡の開発と応用

Development of a new type of cryo-electron microscope for simultaneous STEM, SEM imaging and its application to biological samples

臼倉治郎^{*1}，成田哲博^{*1}，松本友治^{*1}，臼倉英治^{*1}，砂押毅志^{*2}，丹波裕介^{*2}，長久保康平^{*2}，
東淳三^{*2}，水尾考志^{*2}，二村和孝^{*2}，大隅正子^{*3}，多持隆一郎^{*2}，小瀬洋一^{*2}

*1 名古屋大学 理学研究科 *2 (株)日立ハイテクノロジーズ *3 日本女子大学

1. はじめに

クライオ電子顕微鏡(クライオ電顕)の必要性はここ数年で急速に高まっている。その主な用途は精製タンパク質，ウイルス及び微小オルガネラの構造解析(単粒子解析)である。従来の負染色によるタンパク質分子の観察では，内部の構造解析が困難である。負染色はいわば空気乾燥であり，たとえ瞬時に染色剤が分子周囲を囲んでも構造変化を完全に防ぐことは難しい。また，染色剤の浸透具合により像も変化する。クライオ電顕では染色のような前処理をせず，精製タンパク質分子であればそのまま急速凍結して観察することになる。このため，生物試料であっても，電子顕微鏡(電顕)の分解能で観察することができる。この点は重要で，従来の超薄切片法やレプリカ法では前処理の段階で試料分解能が低下している。とはいえ生のタンパク質は極めて電子線に弱く，液体窒素温度での観察では照射電子数が約 20 個 /Å² で試料を失うことになってしまう。このため，常時 1～3 個 /Å² で観察しなくてはならない。最近の電子直接検出(direct detection)の高感度カメラ(DD カメラ)の発展はこれを可能にしている。また，単粒子解析は結晶化を必要とせず，分散系での構造解析が出来る。最近のチャンピオンデーターによれば分解能も 3Å に達しており，結晶の X 線回折による構造解析に近づいている(Meyerson et al, 2016)。しかも，このような解析が生に近い凍結状態で得られることは特筆に値する。

一方で，クライオ電顕は単粒子解析だけではなく，従来通り構造観察にも極めて有用で，凍結切片のクライオ電顕観察により細胞間接着装置であるデスモゾームや遺伝子情報に沿ってタンパク質を合成するリボゾームなどの分子構造が明らかになっている(Al-Amoudi et.al, 2004)。今後は細胞内の病態解析などにも必要な装置となるであろう。実際，インフルエンザウイルスの細胞内への取り込み過程の構造解析に利用されている(Fontana & Steven, 2015)。一般的に生命現象を理解するためには，細胞内で機能状態のタンパク質分子やその複合体の構造，それとともにそれらが集合した空間構造(いかなる構造でどのような細胞内環境に位置するかという情報)を知る必要がある。これらを新鮮状態で観察するにはクライオ電顕が必須である。しかし，日本におけるクライオ電顕の普及は欧米に比べ十分とは言えない。新鮮な組織細胞をクライオ電顕で観察するためには急速凍結装置やクライオミクロームなどの前処理装置が不可欠である。従って，クライオ電顕で細胞を観察するには，かなりの予算(全体で約 7 億円程度)を必要とする。これが普及を妨げている一番の原因であろう。しかし，医学生物学の今後の発展に必須であれば設備せざるを得なく，欧米の主要大学では設置が急速に進んでいる。前処理装置を含めクライオシステムの開発が全て EU を中心に進められ，日本の貢献が少ないことも残念である。後発ではあるが，我々は市場に出回っていない，多様性に富むクライオ電顕の開発をおこなっているので紹介する。

2. 目的

医学生物学の全領域において，誰もが様々な場面で容易に使用できる低加速電圧クライオ STEM の開発を目指した。特に STEM 機能を持つ SEM を開発ベース機とすることで，STEM 像と SEM 像の同時計測ができる次世代型走査透過クライオ電顕を開発した。一方，電顕開発はその応用法と一体で考える必要がある。如何に高性能な観察機器を開発しても，試料を最適な形で持ち込まない限り，性能は発揮されないし，観察結果の信頼性も薄れる。したがって，機器開発と標本作製技術開発はいわば車の両輪である。今回，我々は膜細胞骨格を観察するための前処理装置である細胞膜剥離装置の開発もおこなった。

3. 開発機器の特長

国費を調達した研究開発としては、世界一のクライオ透過型電顕（クライオ TEM）を目指すべきところであるが、すでにユーザーフレンドリーな 300 kV クライオ TEM が存在し、チャンピオンデータを出している現実がある。大変高価という欠点はあるが、これを凌ぐ機器の開発には多くの要素技術開発が必要であり、多額の費用がかかる。我々が現在受けている日本医療研究開発機構（AMED）からの支援だけでは難しい。これが原子分解能を目指さない主な理由であるが、本研究課題である STEM、SEM 同時計測の低加速電圧クライオ電顕開発も優れた点が多々あり、今後の開発研究次第ではダークホースとなりえる。例えば、一般にクライオ TEM で生物の凍結試料を観察すると正焦点ではコントラストが極めて低い（under 側ヘビントをずらし位相コントラスト（フレネルコントラスト）を生じさせ観察する。これは電顕本来の分解能を低下させることになる。このような画像データをもとに単粒子解析を行うには、コントラスト伝達関数（CTF）の補正とともに多くの画像データが必要となる。我々の開発機では走査電子顕微鏡（日立ハイテクノロジーズ製 SU9000）の STEM 光学系をそのまま使用して透過像を得ている。STEM では極めて細いビームで走査し、試料を透過した電子の密度分布が画像となる。要するにレンズによる結像ではなく、電子密度のビットマップが画像となるので、CTF の影響を最小限に抑えることが出来る。当然のことながら正焦点での像観察も可能であり、分解能の低下も抑えられる。したがって、単粒子解析には有利で、TEM に比べ、比較的少数の画像データですむ。もう一つ大きな違いは画像の記録法にある。TEM では画像を記録するためにカメラが必要であるが、STEM では電子を捕捉するためのシンチレータがあれば良い。今後の研究開発次第ではこの差は重要な意味を持ってくるかもしれない。現状では、クライオ TEM に取り付けて使用する CMOS からなる DD カメラが圧倒的に優れている。しかし、カメラ単体で 1 億円近くする高価なものである。一方、STEM 用のシンチレータは電子を捕捉するだけであるから、フォトンカウントできるほどの高感度化であれば良い。例えば、蛍光物質を厚く塗るなどして、もし 1 電子を捕捉できるほどの高感度化が実現できれば、DD カメラよりも遙かに安く、同等の像が得られることになる。今後の研究開発の結果に依存している。特別な電顕室を作る必要がなく、研究室の片隅に設置しただけで、1 nm 程度の分解能で単粒子解析が容易にでき、また、生きている状態に近い細胞内微細構造も観察できるとなれば、大多数の医学生物学の研究者は満足するはずである。このような特長のクライオ電顕の開発を目指した。

4. 研究開発成果の具体的内容

クライオトランスファーホルダー

クライオトランスファーホルダーの開発は開発計画の中で最も重要な要素技術である。ホルダーアームの 2/3 ほどを真空二重パイプ化し、液体窒素を先端近くまで満たすことにより、冷却速度を上げることができた。さらに、充填した液体窒素から脱気するための真空システムを追加し、液体窒素をスラッシュ化することを試みた。これにより、最終的に -190℃ の低温を達成した。クライオトランスファーホルダーでスラッシュ窒素を利用するのは世界で初めての試みであった。さらに、液体窒素の IN/OUT の経路を最適化したことにより、冷却速度の向上および冷却効率の向上をはかった。本ホルダーを -180℃ に温度制御することで実試料測定が可能となった。しかし、-185℃ 付近ではクライオトランスファーホルダーの温度変動による画像ドリフトが激しく、長時間の観察が困難であった。これは、クライオトランスファーホルダー先端に配置されたステージとの接触部からの熱浸入によるものである。したがって、非接触タイプのステージの開発をすることで画像ドリフトが低減し長時間の観察を行なうことが可能であると判断する。

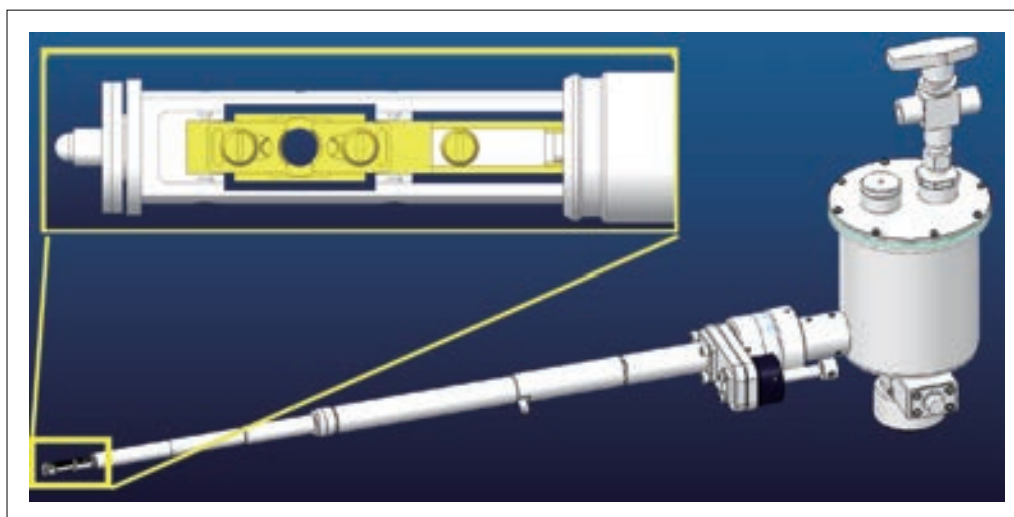


図 1 試作クライオトランスファーホルダーの CAD 図 左上は先端の試料ホルダー部の拡大

アンチコンタミネーショントラップ

クライオ電顕では試料が極低温下にあるため、試料へのコンタミネーションを防ぐために試料温度以下に冷却されたコンタミネーショントラップが必須である。トラップのアーム部分もパイプ化を施し、先端近くまで液体窒素が流入できるようにした。さらに、排気システムを追加し、窒素をスラッシュ化することにより -200°C まで冷却することに成功した。トラップ先端はクライオトランスファーホルダー先端の試料部分を包み込むような形状に設計した。また、これに付随し、顕微鏡本体 (SU9000) のバッファタンクを冷却することで、試料室の真空度 2×10^{-6} Pa (従来: 7×10^{-6} Pa) を達成した。これらの改良により、試料上への再氷結をほぼ完全に防ぐことができた。



図2 アンチコンタミネーショントラップのCAD図
スラッシュ化窒素を用いることにより -200°C まで冷却することに成功した。トラップ先端部は試料ホルダーの先端部 (試料部分) を包み込むように設計されている。

細胞膜剥離装置の開発

前述のように高性能な観察機器でも、試料処理を誤れば、機器の性能も引き出せないし、信頼性のある観察結果も期待できない。機器開発と標本作製技術開発は表裏一体である。クライオ電顕観察の前処理技術も残念ながら欧米に後れをとっている。試料を急速凍結し、クライオ切片を作り観察するというオーソドックスな方法は全て欧米で開発された。全部揃えると1億円近くする前処理装置群が存在する。我々はあえてオーソドックスな凍結切片法をとらずに、背側の細胞膜を剥ぎ、腹側の細胞膜に付着する膜細胞骨格をクライオ電顕で観察することを考えた。そこで、freeze-etching 法の前処理としてすでに使用されていた超音波による unroofing (細胞膜剥離) 法の改良、再開発をおこなった。この方法では、細胞内の可溶性成分が流出するが、それにより細胞骨格などの構造体は相対的にコントラストが増加するはずである。実際、膜細胞骨格やオルガネラを高コントラストで観察できた。この方法により処理された試料は膜の細胞質側表面を俯瞰できるなど予想以上の成果があった。しかし、市販のプロープ型超音波発生装置をそのまま使用したのでは出力が強すぎ、電顕用のメッシュに張られたカーボン支持膜上で培養した細胞に適用すると、支持膜ごと細胞が破壊されてしまうなど、再現性に問題があった。そこで、どの程度の出力が適当であるのかを調べた結果 1 W 以下でなければならないことがわかった。一般に市販されているプロープ型の超音波発生器は 50 W 以上で、5 W 以下の出力制御は困難である。そのため、出力が 5 W 以下で 0 ~ 1 W でも制御出来る装置をメーカーに特注した。細胞膜剥離装置はこの特注の低出力超音波発生制御装置のほか超音波発生プローブを試料に正確に近づけるためのポジションコントローラー及び細胞膜剥離過程を観察するための実体顕微鏡から構成されている (図3)。これにより、細胞膜剥離が極めて容易になった。また、クライオ電顕だけでなく、その他の観察機器の標本作製法としても有用であることが分かった。特に原子間力顕微鏡 (AFM) では細胞内の構造観察は難しいと考えられていたが、細胞膜剥離標本を用いることで細胞内の構造を水中で初めて観察することに成功した (Usukura et al. 2016)。図4は本開発機を用いて、標本をつくり、AFM で観察した像である。細胞内 (in situ) でアクチン 1 本 1 本の分子構造解析も可能である。



図3 試作した細胞膜剥離装置の正面写真（左）と斜めからの近景写真（右）：低出力プローブ型超音波発生装置，プローブのポジションコントローラー，実体顕微鏡，水平照明装置から構成されている。矢印は超音波発生用プローブ，アステリスク（※印）は水平照明装置

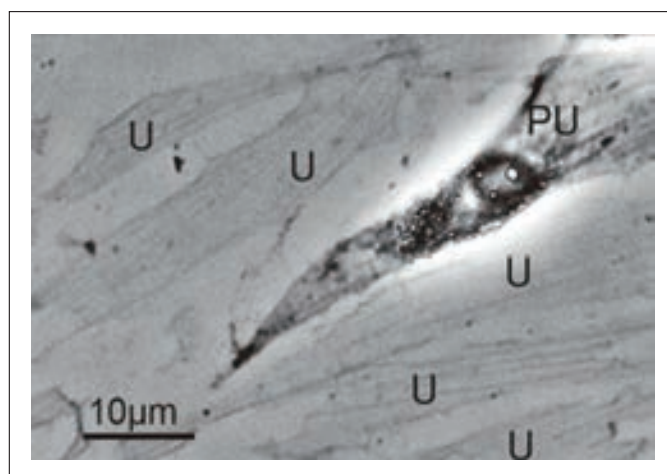


図4 細胞膜剥離後の細胞の位相差光学顕微鏡像
腹側の細胞膜上に細胞骨格（ストレス線維）が載っているのが観察される（U）。PUは部分的に細胞膜が剥離された細胞を示す。

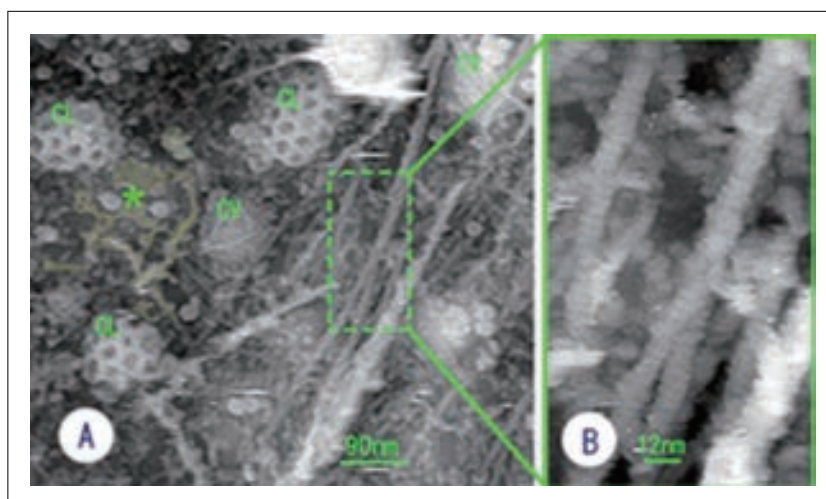


図5 NRK 培養細胞の細胞膜の裏打ち構造。BはAの四角に囲んだ部分の拡大図。アクチン線維の短周期構造が容易にわかる。CL: クラスリンコート，CV: カベオラ，アステリスク：細胞膜に密着する滑面小胞体

5. 応用研究

開発当初の目的であった無固定新鮮状態の膜細胞骨格のクライオ STEM、クライオ SEM の同時計測については、現在ではほぼルーチンに観察できるようになった(図6)。細胞膜剥離により可溶性タンパク質を流出させているため、十分なコントラストが得られるので、不足焦点ではなく正焦点での観察が可能であった。また、細胞膜剥離後も予想以上にリボソームや小胞体も残っており、膜細胞骨格のみならず、様々な構造が観察された(図7)。中には細胞膜のほんの一部だけが破損していると思われる細胞では、まだ可溶性成分がかなり残っているにもかかわらず、十分なコントラストで観察できた。30 kV の低加速電圧にもかかわらず、厚さが 200 nm 以上と推定される部分でも、支障なく観察できたのはうれしい想定外であった。これが STEM 光学系の特徴なのか否かは分からないが、生物試料では 30 kV 加速電圧でも STEM で細胞内構造を支障なく観察、計測できることが分かった。これは今後新しいタイプの電顕を開発する上で、重要な一歩である。

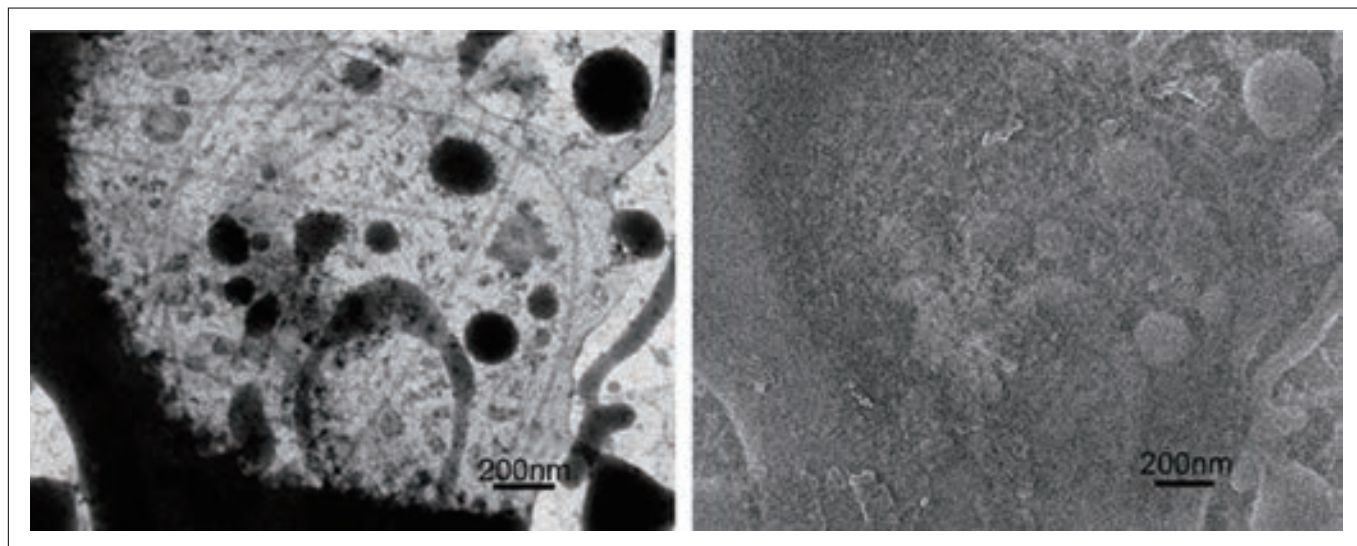


図6 クライオ STEM (左) とクライオ SEM (右) の同時記録(無固定)

完全に氷包埋されている時(最初)、SEM 像は氷で覆われているので平坦であるが、電子線照射によるダメージや温度を上昇させ、氷の一部を昇華させると右図のように構造が現れる。

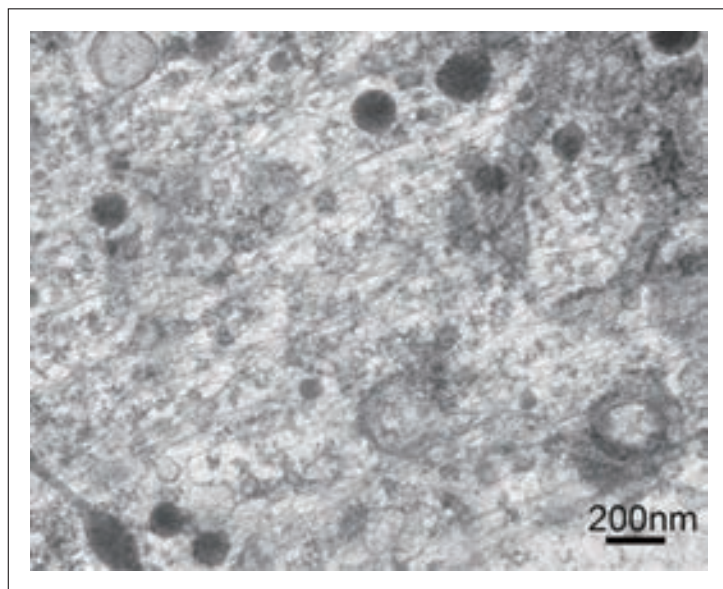


図7 膜剥離標本のクライオ電顕像(無固定) アクチン線維や微小管からなる細胞骨格に加え、粗面小胞体、滑面小胞体、リボゾームなどが観察される。

もうひとつ本開発プロジェクトの応用研究で明らかになったことがある。それは最初に述べたとおり、STEM では対物レンズが直接結像に関与しないため、単粒子解析には最適であることが判明した。特に本開発機は cold FE 電子銃を装備しているため、ビーム径が細く、この傾向がさらに強い。実際、アクチンフィラメントの分子構造解析において、通常の 100 kV 透過型電子顕微鏡写真から求められた分子構造より、さらに高分解能の分子構造をわずか 20 枚程度の画像から導き出すことが出来た (図8参照)。少数で分子構造解析できるということは分離精製タンパク質ではなく、細胞内に散在する少数の標的分子の構造解析ができることを意味しており、本機器開発の方向性が正しかったと考えられる。アデノウイルスの負染色像の解析に用いた場合も同様に、少量で十分な解析結果が得られた (図9)。

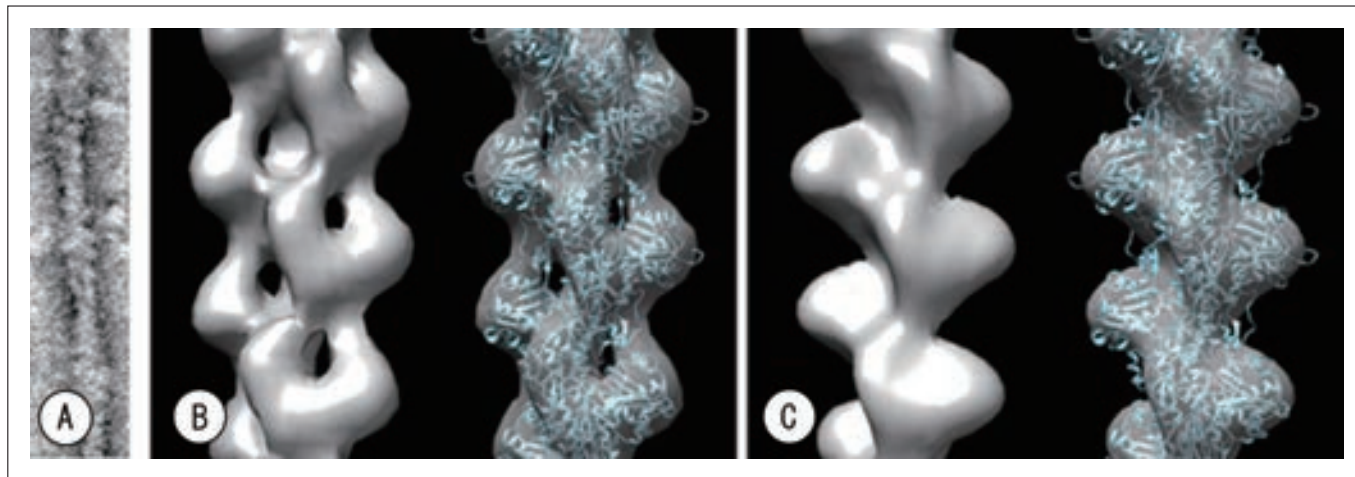


図8 開発機と通常の TEM との比較。負染色像 (A) から、ラセン対称性を考慮した単粒子解析により三次元再構成を行った。(B) 開発機 30 kV STEM。(C) 通常の 100 kV TEM。

原子座標モデル (Oda *et al.* 2009) とのフィッティングを行った結果、通常の 100 kV TEM 像から三次元再構成した像 (C) では合致しない部分が存在するが、開発機 STEM 像から三次元再構成した像 (B) では大変良く一致していることが分かる。

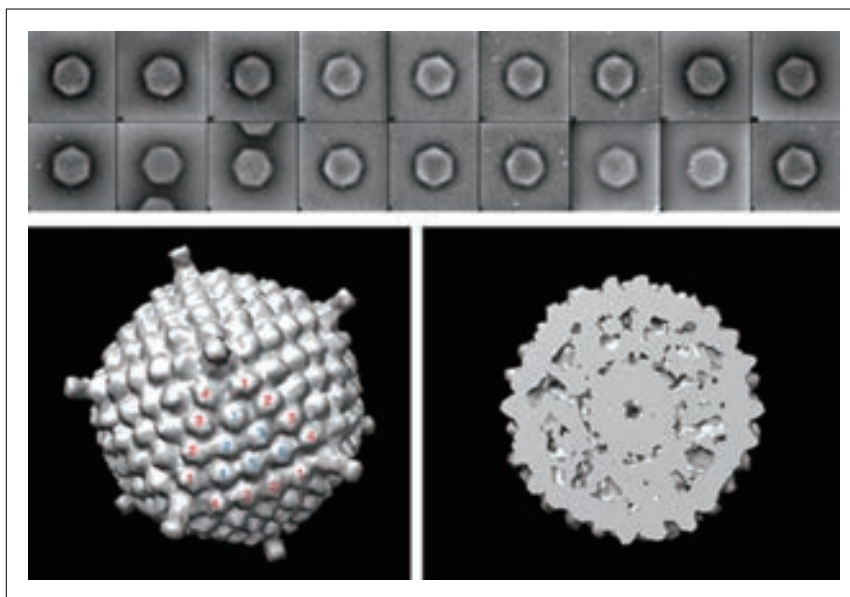


図9 開発機を用いて撮影したアデノウイルス粒子像 18 個 (上部) からの再構成

6. 材料系への応用

クライオトランスファーホルダーを用いたクライオ電顕は主として生物の凍結試料を観察するために開発されたが、照射ダメージを軽減する効果もあるので材料系でも今後は使用されるだろう。少しややこしいがクライオホルダーを用いたクライオ観察は材料系でも以前から行われていた。トランスファーという用語が使われていないのは電顕に挿入してから、冷却を始めるからである。金属などでは問題にならないが、水を含むものでは結晶状の氷が出来てしまい使い物にならない。そのため、生物材料では急速凍結によりアモルファス氷（非晶質）としてから、凍ったまま電顕に持ち込むのでトランスファーの一語が追加されている。氷（結晶）は液状の物質では重要な問題である。最近、我々は水の中に形成されるナノバブル(100 nm 前後の気泡)の観察に成功した(図 9)。これは従来のクライオ TEM でも観察できると思うが、我々の開発機では STEM, SEM 同時観察が可能であることから、実際にバブルが水の中に存在することを証明できる。これは新たな利用法であり、今後、化粧品、医薬品、食品、ソフトマテリアル部門の研究所等での本開発機の需要が見込まれる。

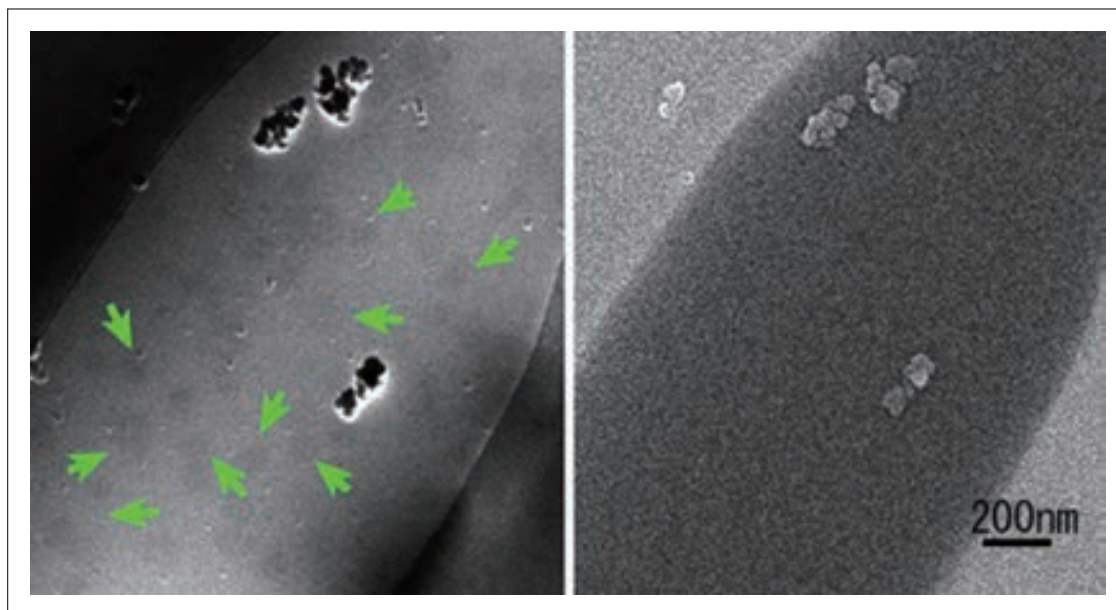


図 10 開発機で捉えた水中に生じたナノバブル。QUANTIFOIL の膜穴に水を張って急速凍結し観察した。左がクライオ STEM 像。右が同時に撮影した SEM 像。矢印はバブルを示す。透過像ではバブルは黒く見えることが多いが、相対的なもので、白っぽく見える時もある。

7. おわりに

SEM を開発ベース機とした関係で、現時点では SEM に付随している STEM 機能を用いているが、将来的には STEM を中心に設計し、それに高機能 SEM を付帯させるのが望ましい。クライオ電顕で通常の電顕の画質を維持するには、冷却に伴うドリフトが顕在化しないよう走査速度を上げたい。AFM では 10 年前には高分解能記録だと 1 フレームに 20 分もかかっていたが、今では 10 秒 / フレームが標準になりつつある。一方、SEM の記録時の走査速度は 30 年間変わっていないのが実情である。電顕で走査速度を上げるにはプローブ電流を増やすのが正攻法であるが、試料ダメージが懸念される。検出系の高感度化と最新のドリフト補正技術を組み合わせることで、高倍率で高画質なクライオ電顕像の形成を目指す。

謝辞

本研究は国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の医療分野研究成果展開事業 (先端計測分析技術・機器開発プログラム) の支援によって行われた。

参考文献

1. JR. Meyerson, S. Chittori, A. Merk, P. Rao ,TH. Han, M. Serpe, ML. Mayer, S. Subramaniam. Structural basis of kainate subtype glutamate receptor desensitization. *Nature* , 537, 567-571 (2016)
2. A. Al-Amoudi, J-J. Chang, A. Leforestier, A. McDowall, LM. Salamin, LP. Norlen, K. Richter, NS. Blanc, D. Studer & J. Doubochet, Cryo-electron microscopy of vitreous sections., *EMBO J*, 23, 3583-3588 (2004)
3. J. Fontana & A. Steven, Influenza virus-mediated membrane fusion: Structural insights from electron microscopy Arch. *Biochem. Biophys.*, 5891, 86-97 (2015)
4. E. Usukura, A. Narita, A. Yagi, S Ito & J. Usukura, An unroofing method to observe the cytoskeleton directly at molecular resolution using atomic force microscopy, *Sci. Rep.*, 6: 27472 (2016)
5. T. Oda, M. Iwasa, T. Aihara, Y. Maeda, A. Narita, The nature of the globular-to fibrous-actin transition, *Nature* , 457, 441-445 (2009)

透過電子顕微鏡HT7800シリーズの特長と応用

Introduction of the HT7800 series TEM and its application

長沖 功¹, 田村 圭司¹, 三瀬 大海², 藤井 孝史¹, 和久井 亜希子³, 和山 真里奈³

1. はじめに

透過電子顕微鏡（以下、TEM：Transmission electron microscope）は、医学・生物学分野での研究・診断から食品・高分子・化学・ナノ材料の研究・開発まで、幅広い分野で活用されており、微細構造の形態観察に必要な不可欠なツールとなっている。今回、様々な分野に対応するため、120 kV 透過電子顕微鏡（TEM）HT7800 シリーズを開発した。

本シリーズでは、高コントラストを極めたレンズを搭載し、広視野高コントラスト観察を実現する HT7800 と、クラス最高レベルの分解能をもつ高分解能レンズを備えた HT7830 を揃えた。

本稿では、開発した HT7800 シリーズの特長とその応用例を紹介する。

2. HT7800の概要と特長

HT7800 の外観写真を図1に示す。従来機種 HT7700 を継承し、蛍光板観察用スクリーンカメラによる明るい部屋での TEM 操作を実現している。HT7800 シリーズは、加速電圧を 20 kV から 120 kV まで印加することができ、倍率は、50 ～ 1,000 倍（Low Mag モード）、200 ～ 600,000 倍（Zoom モード、HT7830 は最高倍率 1,000,000 倍）に対応している。



図1 HT7800 シリーズ透過電子顕微鏡の外観

本装置は以下の4つの主な特長を有している。

(1) 操作性

明るいうちで簡単操作。新しいグラフィックユーザーインターフェース (GUI) と操作パネルにより、簡単かつ迅速な TEM 解析を実現。倍率変更時のモード切り換えを不要とした (オプション)。

(2) 高画質

日立独自の複合対物レンズの搭載に加え電子光学系の改良により、HT7800 では低倍率の広視野・高コントラスト観察、あるいは HT7830 での高分解能観察と、試料・解析目的に応じ選択可能とした。さらに加速電圧 20 kV での観察も可能とし、無染色試料などの高コントラスト観察が実現した。

高分解能レンズ搭載の「HT7830」では軸上格子分解能 0.19 nm を保証している。図 2 に、一例として HT7830 を用いて撮影した格子間隔 0.19 nm の Si の高分解能 TEM 像を示す。

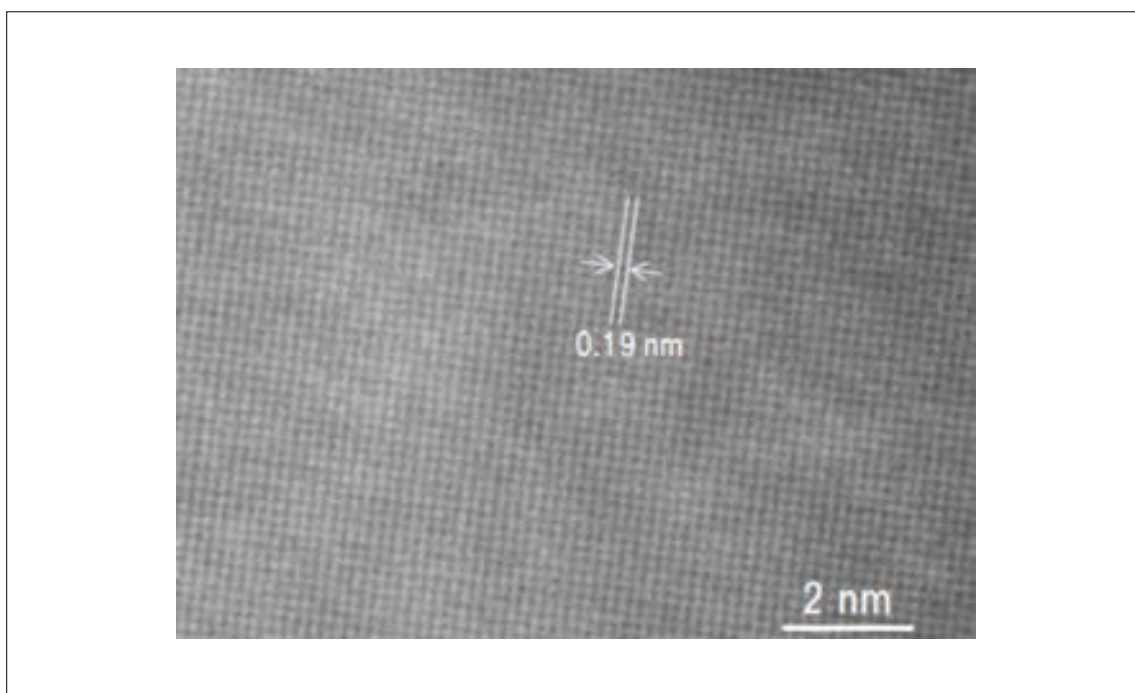


図 2 Si 単結晶高分解能観察例
観察装置: HT7830 試料: Si 単結晶 加速電圧: 120 kV
観察倍率: 1,000,000 倍

(3) 高機能

各種オート機能を標準搭載。

HT7800 では、70 度傾斜標準で 3D 用画像取り込み、並びに再構成機能を標準装備とした。

また、HT7800 / HT7830 両機種に視野探しをサポートするナビゲーション機能を搭載した。「Image Navigation」機能は直感的な視野探しを実現し、読み込んだ画像上でエリアを指定することで、自動取得できるなど機能の向上を実現した。

(4) 拡張性

各種カメラの選択、トモグラフィ、CLEM、STEM、EDX など各種機能に対応し様々なニーズに応じ拡張性を持たせた。

3. 応用例

3-1. 無染色生物切片の高コントラスト観察

図3はHT7800を用いてラット坐骨神経の無染色切片を加速電圧80 kV, HCモード, 直接倍率12,000倍で撮影した画像である。電子染色を施していない切片においてもラット坐骨神経内のミエリンがコントラスト良く観察されている。さらに, 図3aの□部分を拡大して観察した結果を図3bに示す。ミエリンの層状構造が明瞭に観察されていることがわかる。このように, HT7800では, 無染色切片を高コントラストで観察することが可能である。

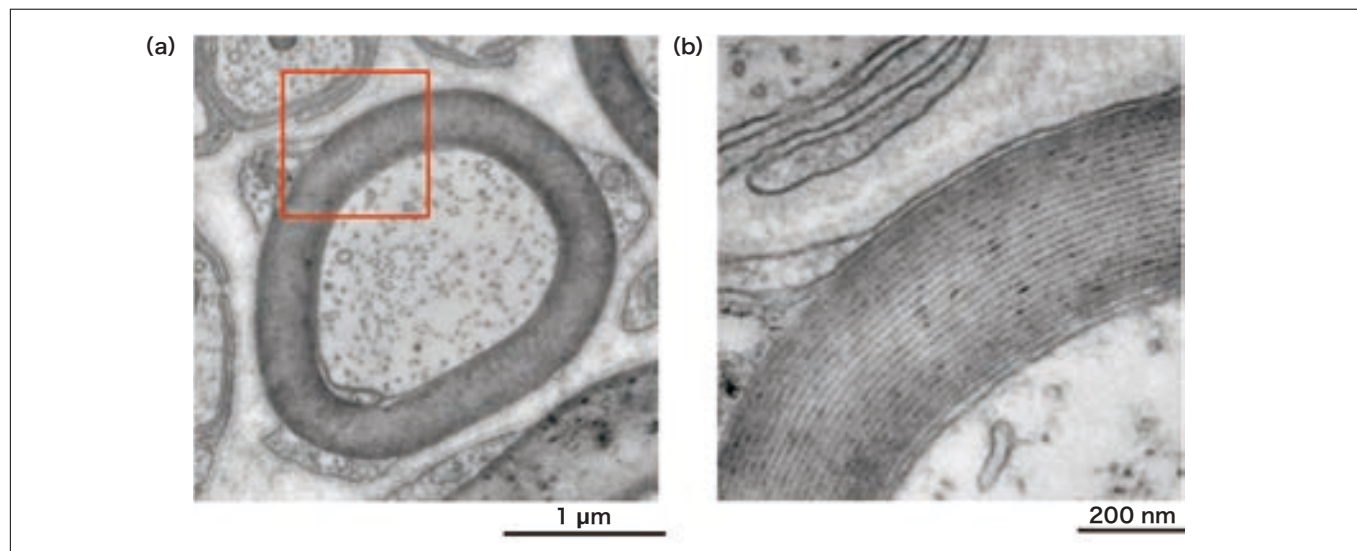


図3 無染色生物切片の高コントラスト観察例
観察装置: HT7800 試料: ラット坐骨神経 加速電圧: 80 kV
(a) 観察倍率: 12,000 倍
(b) 観察倍率: 40,000 倍

3-2. 燃料電池用電極触媒の高分解能観察

図4にHT7830を用いた燃料電池用電極触媒の高分解能観察例を示す。図4aは, 加速電圧120 kV, HCモード, 直接倍率100,000倍で撮影した画像である。カーボン(C)担体の上に担持された白金(Pt)粒子の分布が観察されている。さらに, 図4aの□部分を拡大して観察した結果を図4bに示す。カーボン担体に0.34 nm間隔の格子像が鮮明に観察されている。HT7830では, このようなカーボンなどの軽元素を含んだ担体に担持された金属触媒粒子などナノ複合材料を高コントラストでかつ高分解能で観察が可能である。

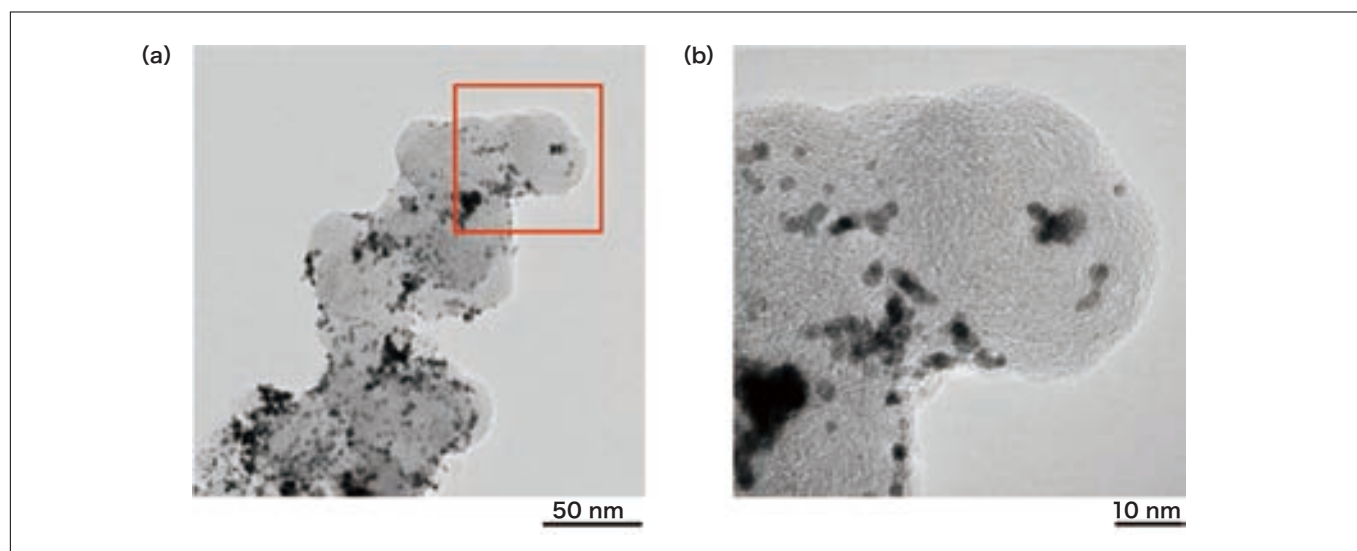


図4 燃料電池用電極触媒の高分解能観察例
観察装置: HT7830 試料: Pt/C 触媒 加速電圧: 120 kV
(a) 観察倍率: 100,000 倍
(b) 観察倍率: 400,000 倍

4. まとめ

バイオメディカル、ナノテクノロジー、ソフトマテリアルなどの幅広い分野に対応するため HT7800 シリーズを開発した。本シリーズでは、従来機を継承したスクリーンカメラや複合対物レンズを搭載し、さらに性能、操作性、汎用性、拡張性を向上させた。広視野高コントラスト観察を実現する医生物向け HT7800 と、高分解能レンズを備えた材料向け HT7830 を揃えたことにより、様々な分野でのスクリーニングや、研究開発用ツールとしての適用が期待される。

著者紹介

^{*1} 長沖 功, 田村 圭司, 藤井 孝史

(株) 日立ハイテクノロジーズ 科学・医用システム事業統括本部 科学システム製品本部 電子顕微鏡第二設計部

^{*2} 三瀬 大海

(株) 日立ハイテクノロジーズ 科学・医用システム事業統括本部 科学システム製品本部 電子顕微鏡ソリューションシステム設計部

^{*3} 和久井 亜希子, 和山 真里奈

(株) 日立ハイテクノロジーズ 科学・医用システム事業統括本部 科学システム製品本部 アプリケーション開発部

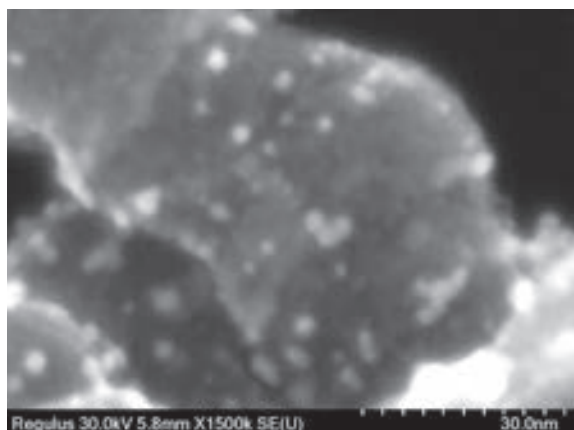
Regulus® シリーズ FE-SEM

Regulus series FE-SEM

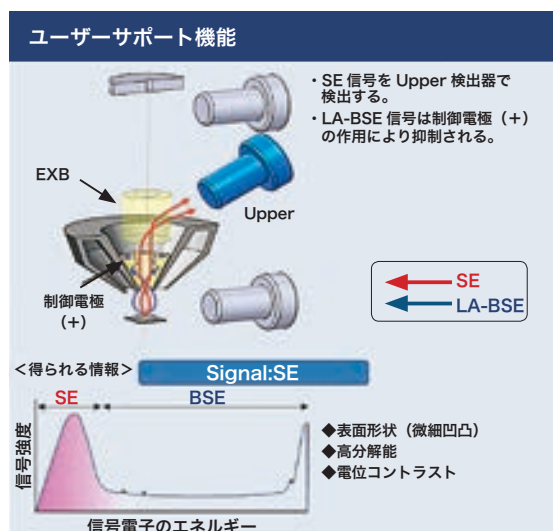
日立ハイテクノロジーズは、電界放出形走査電子顕微鏡 (FE-SEM) の新ブランド「Regulus シリーズ」を発売しました。「SU8010」の後継機種として開発した「Regulus8100」と、プラットフォーム共通化により「SU8200 シリーズ」の機能を拡張した「Regulus8220」「Regulus8230」「Regulus8240」の4機種をラインアップし、分解能と操作性を向上する機能強化を実現しました。

主な特長

- (1) 収差が小さく低加速電圧での高分解能観察に最も適したコールド FE 電子銃を搭載
- (2) 従来機種比、約 20% の分解能向上を実現
(Regulus8220/8230/8240 : 0.9 nm/1 kV, Regulus8100 : 1.1 nm/1 kV)
- (3) 最大倍率を従来の 100 万倍から 200 万倍まで拡張 (Regulus8220/8230/8240)
- (4) 高い性能を十分に発揮するユーザーサポート機能



拡張された倍率
触媒の二次電子像 (倍率 : 150 万倍)



ユーザーサポート機能の一つ
SEM 信号検出状態表示機能
使用されている検出器の動作原理と得られる信号を表示し、多様な検出系による観察をサポートします。

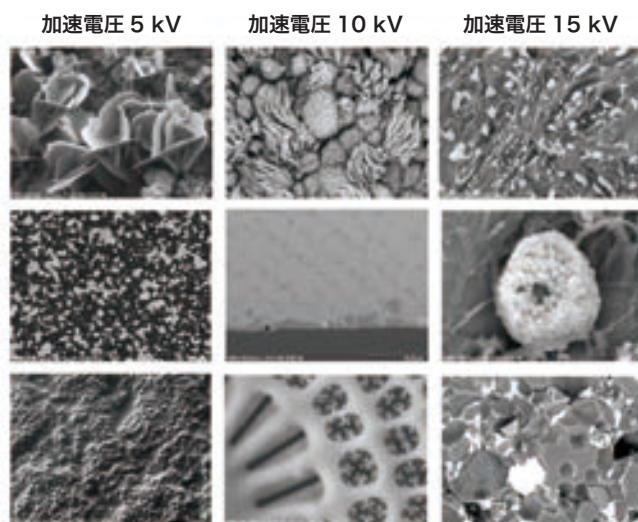


Regulus8240 外観

新型卓上顕微鏡 TM4000シリーズ

The TM4000 series of Tabletop Microscope

走査電子顕微鏡 (SEM) は、物質表面の微細構造を観察する装置として、バイオテクノロジー分野や材料分野をはじめ、あらゆる産業分野において、幅広く利用されています。TM4000 形卓上顕微鏡は、TM3000 シリーズに引き続き熱電子銃型低真空 SEM として、装置の小型化と、操作の簡易化を追求することで、電子顕微鏡に触れることが初めての方でも、手軽にご使用いただけます。また、卓上顕微鏡は製造・品質管理分野で非常に多くの反響をいただいているため、TM4000 シリーズではお客様のルーチン作業を支援する装置をコンセプトに設計されています。真空引き時間中に真空試料室内に配置されたカメラで撮影した画像を基にサンプルをナビゲートし、ワンクリックで観察箇所への移動を可能な SEM-MAP 機能と、観察が終わった後に観察画像レポートを生成してくれるレポート作成ソフト (標準機能) などが新たに付加されました。また、TM3000 シリーズと同様に TM4000 シリーズでは半導体型反射電子検出器を標準搭載し、TM4000PLUS では高感度低真空二次電子検出器 (UVD) が搭載されます。TM4000 シリーズは卓上顕微鏡の世界を拡げ、さらなるお客様のイノベーション創出をお手伝いします。



高性能FIB-SEM複合装置「ETHOS」

“ETHOS” High-Performance Composite FIB-SEM

日立ハイテクのコア技術である世界トップレベルの高輝度冷陰極電界放出型電子銃と新開発の電磁界重畳型複合対物レンズを搭載した、高性能 FIB^{*1}-SEM^{*2} 複合装置「ETHOS」を開発しました（発売は 11 月予定）。

FIB-SEM 複合装置は、試料の加工を行う FIB カラムと、高倍率で観察を行う SEM カラムを同一試料室に配置し、試料表面のみならず試料内部の特定箇所の微小な形状や構造を高倍率で解析することができます。半導体をはじめ、ナノテク、材料、医学・生物など幅広い分野において、試料の断面観察や TEM^{*3} 用の薄膜試料作製に活用されており、特に近年微細化が進む最先端デバイスや高機能ナノ材料においては、その微細構造や組成の観察・分析、欠陥の解析・評価を行う際に必要となる薄く均一で高品位な TEM 用薄膜試料を作製する装置として重要な役割を担っています。

ETHOS は、低加速電圧での高分解能 SEM 観察を可能とし、高品位な TEM 用試料加工を実現する ACE^{*4} 技術（FIB での断面加工する際に発生する加工スジ^{*5}を抑制する技術）を組み合わせることで、加工ダメージが小さく、加工断面が均一で高品位な TEM 用薄膜試料作製を実現しています。

また、新開発の大容量試料室には、EDS^{*6} や EBSD^{*7} などの各分析装置に対応する多数のアクセサリポートを設置するとともに、直径 150 mm サイズの試料の全面加工観察ができる新開発の大型試料ステージを搭載しています。これにより、最先端半導体デバイスだけでなく生物組織から鉄鋼などの磁性材料まで、さまざまな試料の複合解析に対応しています。

*1 FIB：Focused Ion Beam（集束イオンビーム加工装置）

*2 SEM：Scanning Electron Microscope（走査電子顕微鏡）

*3 TEM：Transmission Electron Microscope（透過電子顕微鏡）

*4 ACE：Anti Curtaining Effect：（カーテン効果（加工スジ）抑制機能）

*5 加工スジ：FIB で加工を行う際、試料の構造や材質により加工レートが異なることが原因で表面に発生する凹凸

*6 EDS：Energy Dispersive x-ray Spectrometer（エネルギー分散型 X 線分析装置）

*7 EBSD：Electron Backscatter Diffraction（電子線後方散乱回折分析装置）

主な特長

1. 高輝度冷陰極電界放出型電子銃と電磁界重畳型レンズにより高分解能観察を実現
2. SEM カラム内に 3 つの検出器を搭載することで、二次電子による形状コントラストや反射電子による組成コントラストなど、複数のコントラストによる観察が可能
3. 高電流密度 FIB による高速加工に対応
4. さまざまなアプリケーションに対応できる大容量試料室と高安定・高精度ステージを搭載
5. マイクロサンプリング[®]* やトリプルビーム[®]システム* による高品位 TEM 試料作製が可能

* オプション



高性能 FIB-SEM 複合装置「ETHOS」

主な仕様

SEM 光学系	
電子源	冷陰極電界放出形
加速電圧	0.1 ～ 30 kV
分解能	1.5 nm@1 kV, 0.7 nm@15 kV
FIB 光学系	
加速電圧	0.5 ～ 30 kV
最大ビーム電流	100 nA
分解能	4.0 nm@30 kV
ステージ	
駆動範囲	X: 0 ～ 155 mm, Y: 0 ～ 155 mm, Z: 0 ～ 16.5 mm, T: -10 ～ 59°, R: 360° * 試料ホルダによりストロークに制約があります。
試料サイズ	最大 150 mm 径

「トリプルビーム[®]」は、株式会社日立ハイテクサイエンスの日本国内における登録商標です。

「マイクロサンプリング[®]」は、株式会社日立製作所の日本国内における登録商標です。

LA8080

高速アミノ酸分析計「AminoSAAYA」

Model LA8080 High Speed Amino Acid Analyzer

1962 年以来、日立のアミノ酸分析計は、ニンヒドリン・ポストカラム反応検出方式のイオン交換クロマトグラフィー専用分析装置として販売しています。食品中の旨味成分や、健康サプリメントの有効成分の測定からバイオ医薬品の品質管理まで広く使用いただいております。今回発売の LA8080 高速アミノ酸分析計 Amino SAAYA は 8 代目のモデルになります。

特長


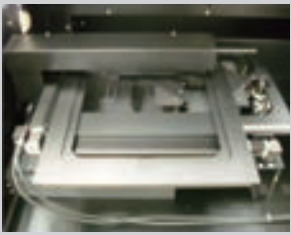
1. Comfortable : 快適な操作性
ユーザーの操作目線や動作工程に配慮し、人間工学に基づく配置設計をしました。ニンヒドリン試薬は、2 液を誘導体化直前に混合する方法を採用し冷蔵不要としました。緩衝液（溶離液）と反応試薬は市販品をそのままセットできます。
2. Compact : コンパクトな設計
卓上型を初めて採用し、今までの床置きデザインを刷新しました。設置面積も約 3 割減の省スペース設計です。試薬ボトルと試料バイアル用ラックの置き易さや、カラムやシール類の交換作業性なども考慮したフロントアクセス設計となっています。
3. Reliable : 高いデータ信頼性
従来機種 L-8800 や L-8900 を継承し、多様なイオン交換クロマトグラフィー分析法の互換性を持たせました。安定性の高いニンヒドリン反応によりたんぱく質加水分解物および生体液分析法において良好な定量精度を実現します。



紫外可視赤外分光光度計UH4150 自動測定システム

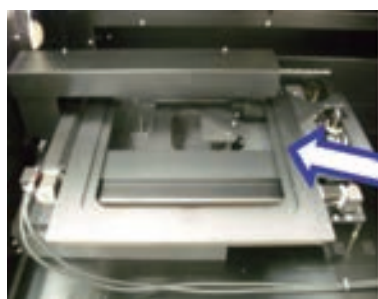
UV-VIS-NIR Spectrophotometer UH4150 Automatic Measurement System

ご好評を戴いております UH4150 形分光光度計と自動角度可変絶対反射付属装置，自動偏光付属装置，自動X-Yステージ付属装置をそれぞれシステム化し，販売を開始しました。測定の自動化を図ることにより，測定値の再現性向上，また測定に関わる時間の短縮が図れます。

システム	写真	特長
自動偏光測定システム		<ul style="list-style-type: none"> 自動偏光付属装置は偏光解消板を内蔵しており，装置の光学特性を含まない測定が可能。 透過率の最も低くなるクロスニコルの状態を最小 0.01° 単位で自動検出し，再現性の良い測定結果の取得可能。 色彩 (X, Y, Z)、L*, a*, b*, L, a, b、L*, u*, v*、色度座標 x, y、偏光度の算出が可能
自動角度可変測定システム		<ul style="list-style-type: none"> 自動角度可変付属装置は任意設定した条件（偏光子，入射角度，受光角度）の透過，反射スペクトルを連続自動で測定。 絶対正反射率（5° ～ 60°）を自動で測定 1 サンプル^{注1)}の作業時間を約 96% 削減可能。 <p>注 1) 5 ～ 70 度（5 度毎），波長 300 ～ 800 nm，反射スペクトル測定計 28 (S, P 偏光) 測定の場合</p>
自動 X-Y ステージ測定システム		<ul style="list-style-type: none"> 自動 XY ステージ付 5° 反射 / 透過測定付属装置を搭載し，自動で入射角 5° の相対反射スペクトル及び入射角 0° の透過スペクトルが測定可能。 あらかじめ測定箇所を指定する事で，指定した箇所を連続測定。 試料の設置などに関わる時間を大幅に削減することが可能^{注2)}。 <p>注 2) 測定箇所 25 点, 実測定時間を除いた作業時間を 92%削減可能。</p>

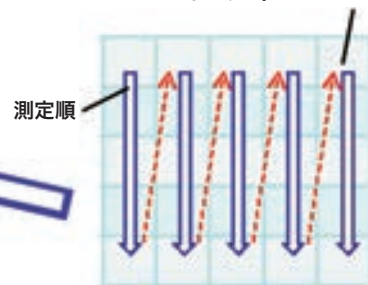


UH 4150 形分光光度計



自動 XY ステージ付 5° 反射 / 透過測定付属装置外観

カラーフィルタ (50 mm×50 mm)



カラーフィルタ 25 枚の測定イメージ

自動 XY ステージ付 5° 反射 / 透過測定付属装置外観と試料測定イメージ

エネルギー分散形蛍光X線装置 SPECTRO XEPOS

Energy Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometer

「SPECTRO XEPOS」装置は、Pd-Co 合金アノード X 線管球と高計数率半導体検出器を搭載し、偏光光学系やバンドパスフィルタによるバックグラウンド低減により、軽元素から重元素までの成分分析において優れた感度と検出限界を達成しました。また、様々なマトリックス成分に対応可能な Turboquant II ソフトウェアにより、エネルギー分散形蛍光 X 線装置でありながら卓越した正確度と繰り返し性を実現しました。石油化学、環境、地質、セメント、医薬品など広い分野の研究開発、品質管理に活用できます。

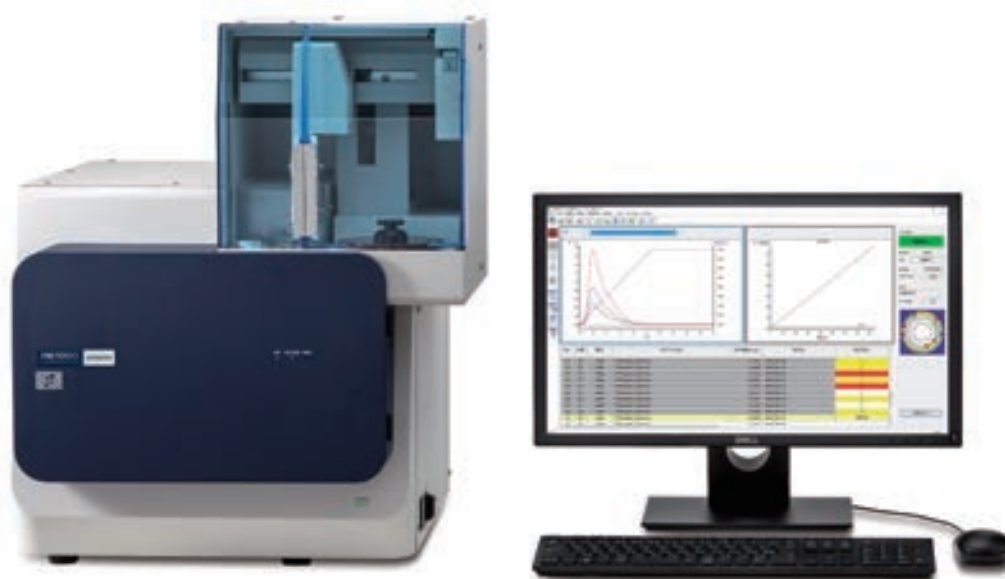


加熱脱離質量分析計(フタル酸エステル類検査装置) HM1000

The HM1000 Thermal Desorption MS: An Instrument for Phthalates Screening

EU の RoHS 指令で 2019 年 7 月以降使用が制限されるフタル酸エステル類を迅速・簡単に検査する「HM1000」をリリースしました。フタル酸エステル類は樹脂やゴム等を柔らかくする可塑剤で、特に電線被覆、電気絶縁テープ、包装用フィルムなど、塩化ビニル製品で多く使用されています。従来の検査方法では「前処理に時間がかかる」「多量の溶媒が必要」「高価なヘリウムガスが必要」「装置メンテナンスが複雑」等といった課題があり、調達や製造の現場で簡単に検査ができるスクリーニング装置が求められていました。

「HM1000」は一試料あたり 10 分以下で含有量を測定します。また、オートサンプラーにより最大 50 個の試料を連続自動測定することもできます。操作は一つの専用ソフトウェアにより、試料成分の検出、定量、含有判定までを簡単に自動で行なえます。これらにより検査工程の効率化とコスト削減に貢献します。



電子顕微鏡用サンプルクリーナー Zone II for SEM

西村 雅子¹, 中島 里絵¹, 長谷川 伸一², 砂押 毅志³

1. はじめに

走査電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope : 以下, SEM) を用いたナノメートルオーダーレベルの高倍率観察, 低加速電圧による試料の最表面観察においては, 観察時に微細な表面構造が徐々に不明瞭になったり, 倍率を下げると今まで観察していた領域が黒くなる, といった現象がしばしば見られる。これは, 試料表面および周辺の炭化水素系のガス分子が, 電子線照射によって重合, 架橋し, 試料表面に凝集, 固着することにより, 試料から発生した二次電子が堆積した物質に吸収されるためと考えられており, この現象はコンタミネーション (試料汚染) と呼ばれている。

コンタミネーションを低減するには, ①電子顕微鏡の試料室内に存在する残留ガス分子を減らす, ②試料や試料台の表面, 内部に吸着している試料由来の炭化水素系ガス分子を少なくすることが必要となる。

具体的な対策として, ①については冷却したトラップ板にガス分子を吸着させるアンチコンタミネーショントラップやオイルフリーのドライ真空排気系のように, 装置本体にコンタミネーション対策を施し, 極力残留ガス分子が試料に付着しないように設計されているが, ②については電子顕微鏡の試料室に入れる前に処理を施すことが望ましい^{1), 2)}。

そこで今回, 観察前の試料に紫外線を照射することにより, 試料表面に吸着した炭化水素系ガス分子を減少させ, 試料にダメージを与えることなくコンタミネーション付着を低減できる装置として電子顕微鏡用のサンプルクリーナー Zone II for SEM (以下, Zone II for SEM) を発売した。本稿では, Zone II for SEM の概要と観察例について紹介する。

2. Zone II for SEMの概要

2-1. 装置の外観と仕様

図1にZone II for SEMの装置外観, 表1に主な仕様を示す。

本体寸法は300 mm (幅) × 262 mm (奥行き) × 326 mm (高さ), 重さは約18kgであり, 小型・軽量化を実現している。また, 一般的なAC100V アース付き3Pコンセントのみで稼動できるため, 設置場所の制約が少ない。

試料は最大φ100 mm, 高さ37 mmまで対応し, 試料台をホルダーから外すことなくクリーニングすることが可能である。また, 試料室内の真空度を変えることで, 酸素濃度に依存するオゾン量を可変でき, 試料に応じた条件を登録することができる。



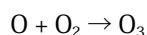
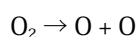
図1 電子顕微鏡用サンプルクリーナー Zone II for SEM の装置外観

表 1 主な仕様

項目	内容
UV ランプ	波長 185 nm, 257 nm ほか
装置寸法	300 mm(W) × 262 mm(D) × 326 mm(H)
装置重さ	約 18 kg
最大試料サイズ	Φ 100 mm, 高さ 37 mm
処理モード	UV クリーニングモード (レシピ機能搭載) 真空保持モード
真空設定	100 段階の真空度に設定可能
処理時間設定	1 分～約 24 時間
オゾンスクラバー	触媒式オゾン除外装置内蔵
真空ポンプ	ダイヤフラムポンプ (オイルフリー)

2-2. 紫外線による試料クリーニングの原理

Zone II for SEM の紫外線ランプからは、図 2 に示すように、炭化水素除去に効果的な 185 nm と 254 nm の 2 波長の紫外線が照射され、有機化合物（炭化水素）の化学結合を切断する。また、同時に 185 nm の紫外線は、低真空に制御した試料室内の酸素分子 (O_2) を酸素原子 (O) に分解し、酸素分子 (O_2) と酸素原子 (O) の結合によりオゾン (O_3) を生成する。



254 nm の紫外線は、オゾン (O_3) を分解し活性酸素原子 (O^*) と酸素分子 (O_2) を生成する。



このように、オゾン (O_3) の連続的な生成と分解の過程において発生した活性酸素原子は、試料表面の炭化水素と化学的に結合し、分子量の小さい CO_2 や H_2O などの揮発性分子に分解されて試料表面から脱離し、真空排気される。

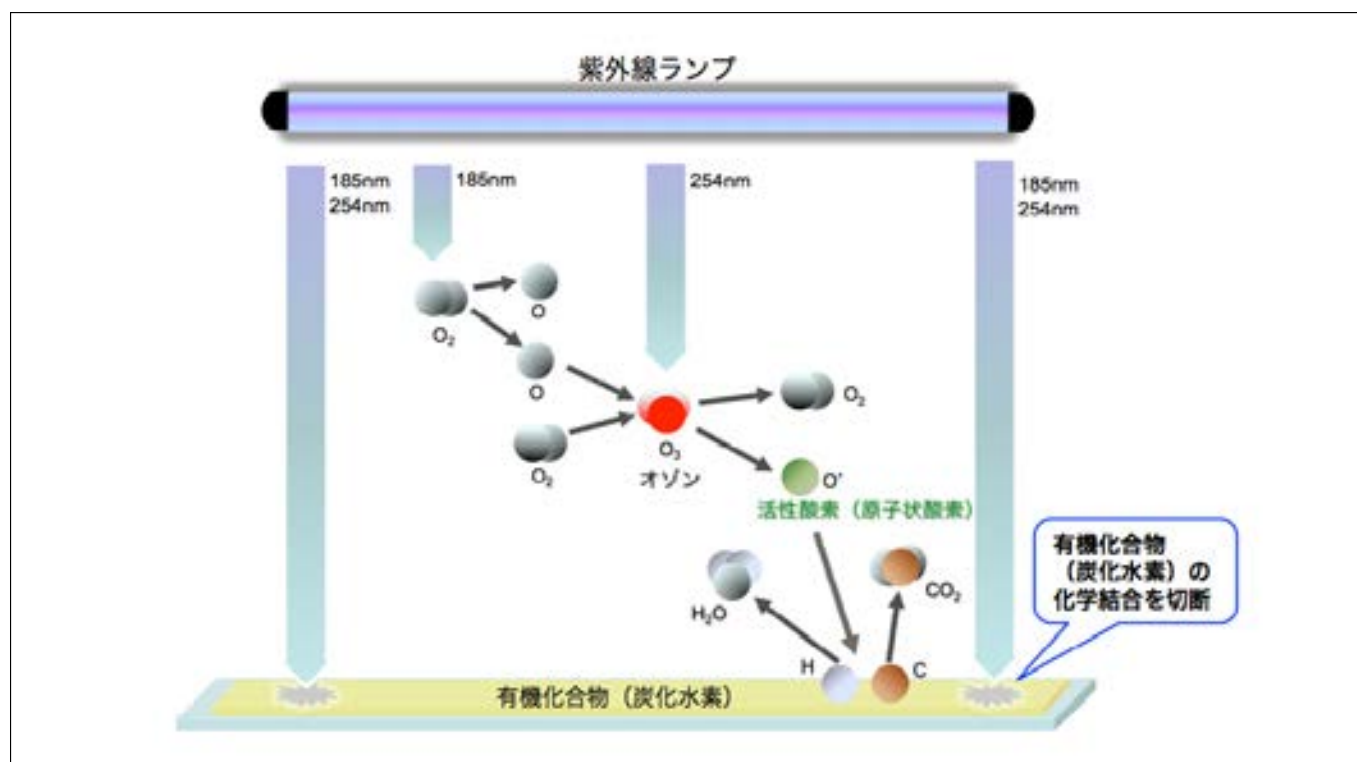


図 2 紫外線による試料クリーニングの原理

3. 応用例

3-1 カーボン支持膜上の金粒子の観察

図3はカーボン支持膜上の金粒子を照射電圧30 kV、30万倍で観察後、電子線によるコンタミネーションの付着具合を確認するため、10万倍に倍率を下げて観察した結果である。紫外線クリーニングを実施せずに観察した試料では、(a)に示すようにコンタミネーションの付着により観察領域は暗いコントラストとして観察された。一方、観察前に紫外線クリーニングを支持膜の片面4分ずつ実施した試料では、(b)に示すようにコンタミネーションの付着は観察されなかった。

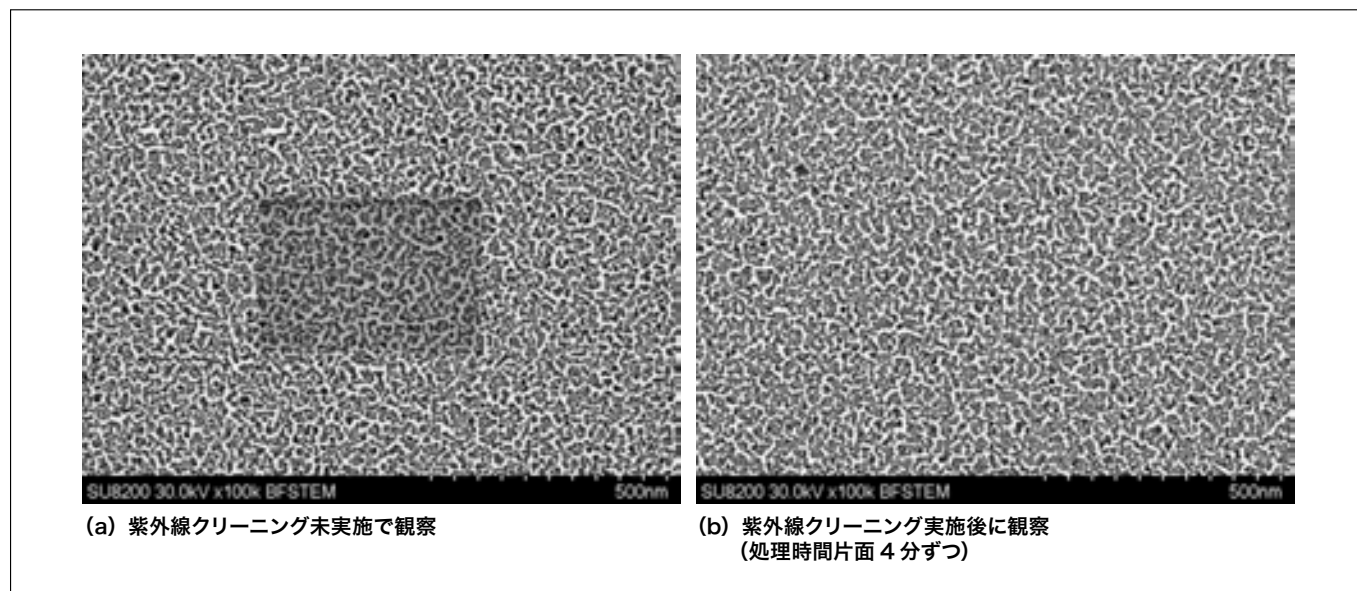


図3 カーボン支持膜上の金粒子観察結果(照射電圧30 kV、倍率10万倍)

3-2 シリカ粒子の観察

図4はシリカ粒子を有機溶剤で分散後、アルミ箔の上に塗布し、照射電圧500 V、20万倍で観察した結果である。各画像の左上には、観察後に倍率を下げてコンタミネーションの付着具合を確認した画像を示す。シリカ粒子などの多孔質材料は、コンタミネーションの原因となる分散媒などからの炭化水素を孔の中に内包しやすい。紫外線クリーニングを実施せずに観察すると、(a)に示すようにコンタミネーション付着により、20 nm以下の微細な孔が埋もれてしまい、試料本来の構造の観察が困難となる。一方、観察前に紫外線クリーニングを5分実施した試料では、(b)に示すようにコンタミネーション付着はほとんど観察されず、試料本来の微細孔の構造を明瞭に確認することができた。

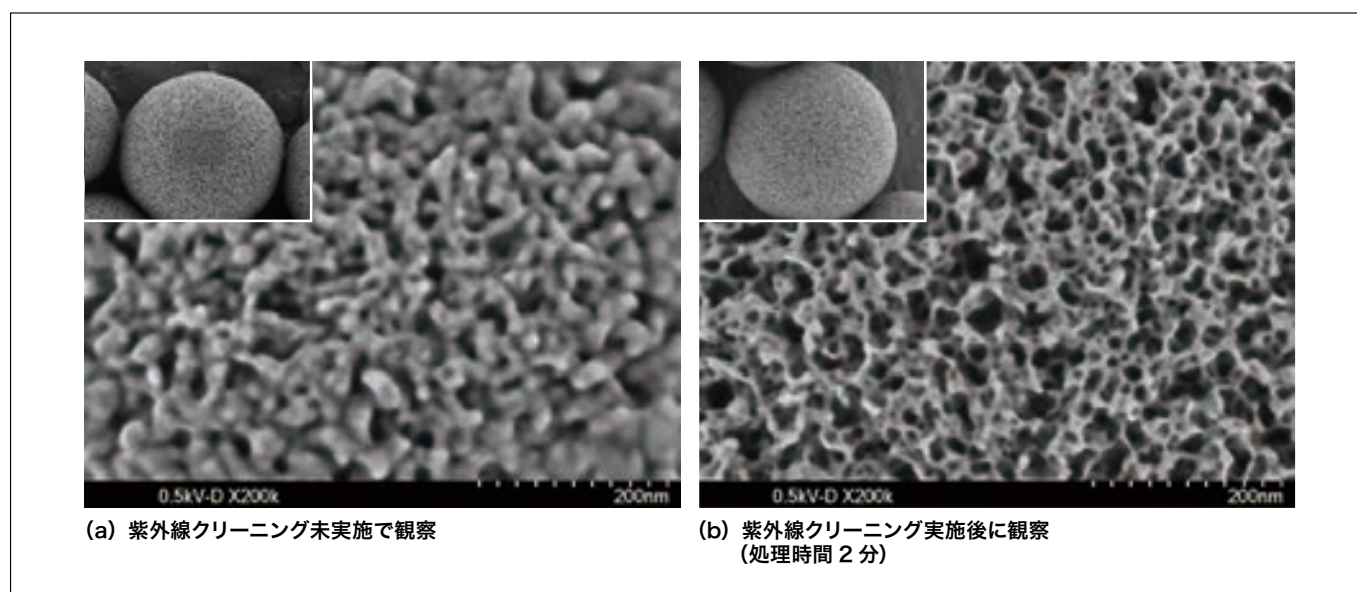


図4 シリカ粒子の観察結果(照射電圧500 V、倍率20万倍)

3-3 ガラス基板上の ITO 薄膜の観察

図 5 はガラス基板上の ITO 薄膜を照射電圧 1 kV, 15 万倍で観察した結果である。

各画像の左上には、図 4 同様、観察後に倍率を下げてコンタミネーションの付着具合を確認した画像を示す。高倍率での観察要求が多い薄膜試料は活性な物質が多いため、コンタミネーションが付着しやすい。紫外線クリーニングを実施せずに観察すると、(a) に示すようにコンタミネーション付着により、構造は不明瞭になってしまうが、観察前に紫外線クリーニングを 5 分実施した試料では、(b) に示すようにコンタミネーション付着は低減され、微細な構造を明瞭に確認することができた。

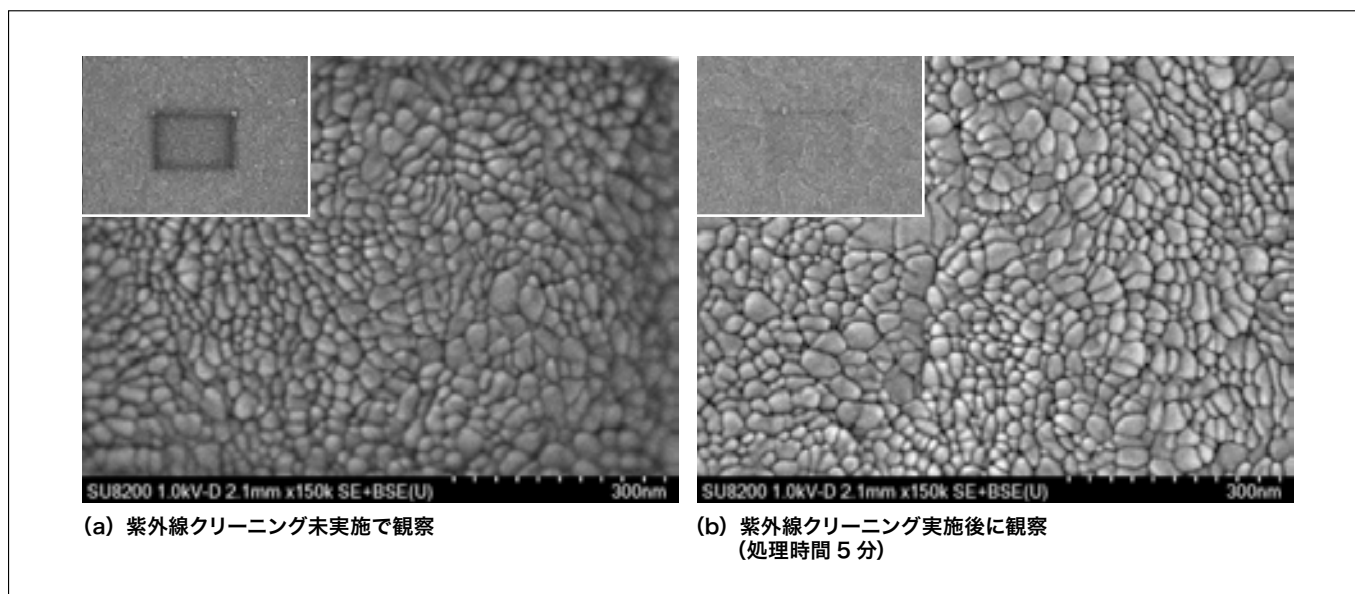


図 5 ガラス基板上の ITO 薄膜観察結果 (照射電圧 1 kV, 倍率 15 万倍)

4. おわりに

電子顕微鏡用サンプルクリーナー Zone II for SEM の概要と観察例について紹介した。Zone II for SEM は観察前の試料に 185 nm と 254 nm の 2 波長の紫外線を照射することで、生成するオゾンと活性酸素により試料表面に吸着した炭化水素系のガス分子を減少させ、SEM 観察時に発生するコンタミネーションを効果的に低減させることができる。ナノメートルオーダーの高倍率観察や低加速電圧による試料の最表面観察に有効であり、試料本来の微細構造を明瞭に観察することが可能となる。今後は材料、半導体、バイオロジー分野など幅広い分野の試料で活用されることを期待している。

参考文献

- 1) D.A. Cullen, et al, : "Utility of the Hitachi 'ZONE' UV Cleaning System for Mitigating Contamination Effects during STEM Imaging" *Microsc. Microanal.* 18 (Suppl 2) , pp.1240 ~ 1241 (2012)
- 2) 竹内秀一, 砂押毅志, 高須久幸 : UV クリーナーによる電子顕微鏡サンプルの清浄化, 「センターニュース」, 36, 1, pp.5 ~ 7, 九州大学中央分析センター (2017)

出典

月刊誌「工業材料」10月号掲載

著者紹介

^{*1} 西村 雅子, 中島 里絵

(株) 日立ハイテクフィールドイング 科学・医用システムサービス本部 電装部アプリサポートグループ

^{*2} 長谷川 伸一

(株) 日立ハイテクフィールドイング 科学・医用システムサービス本部 電装部東京サービス課

^{*3} 砂押 毅志

(株) 日立ハイテクノロジーズ 科学システム製品本部 アプリケーション開発部 電子顕微鏡アプリケーショングループ

日立イオンミリング装置の最前線

伊藤 寛征¹, 稲木 由紀²

1. はじめに

イオンミリング装置は、走査電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope : SEM) の断面試料作製装置として材料分野や半導体分野など、多方面で活用されている。SEM 用試料に広く使われているイオンミリング法には、平面ミリング法と断面ミリング法があり¹⁾、当社ではこれらのイオンミリング装置を開発・販売している。SEM の観察対象となる半導体、電気・電子部品、ソフトマテリアルなどの構造の複雑化に伴いイオンミリング装置への要求も変化している。特に、ミリング時間短縮の要求は高く、断面ミリングレートは最近の 10 年で 10 倍以上^(*) 向上させた。

本稿では、はじめにイオンミリングの原理について述べ、次に最新のイオンミリング装置の機能や特徴とイオンミリング処理例を紹介する。

(*) 当社製 E-3500 形 (2007 年製) と ArBlade5000 (2017 年製) の断面ミリングレート比較。

2. イオンミリング法の概要

電界で加速したイオンを試料に照射して試料表面の原子を弾き飛ばす、スパッタリング現象²⁾を利用して試料を削るイオンミリング法は、ミリメートルオーダーの平滑な観察面を作製できる。イオン材は、ほとんどの試料組成に対して化学変化の小さいアルゴンガスを用いることが多い。

2-1. 断面ミリング法

断面ミリング法は図 1 に示すように試料とイオンガンとの間にマスキングを目的とした遮蔽板を配置し、試料の一部を遮蔽板から突出させて試料にイオンビームを照射する。遮蔽板端面から突出した部分を遮蔽板の端面に沿ってスパッタリングすることによって、平坦な面を得ることができる。遮蔽板の端面からの試料の突出量は数 10 μm から 100 μm 程度にセットし、試料ホルダを $\pm 15 \sim 40^\circ$ スイングさせ、イオンミリング痕 (筋) の形成を抑える。一般的に断面ミリングは、バルク材料や多層構造などの機械研磨が難しい試料に用いる。

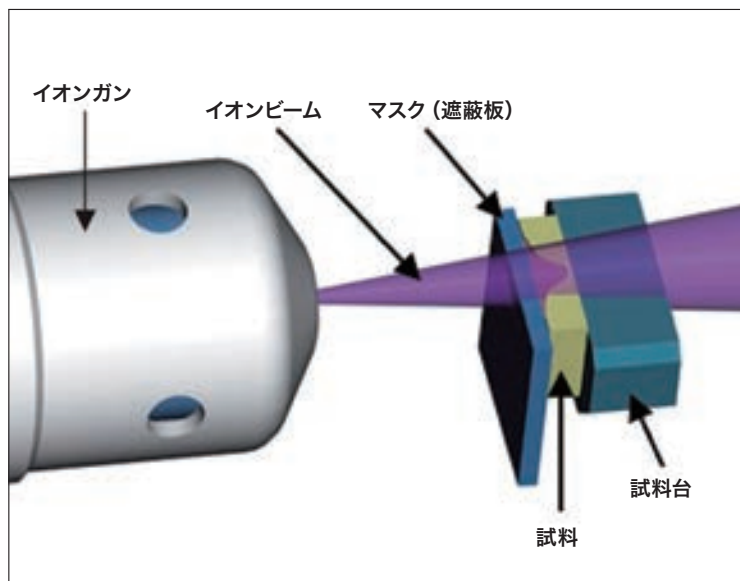


図 1 断面ミリング法の概略図

断面ミリングの例として感熱紙の適用例を示す。図2は、感熱紙をカミソリ切断(a)と断面ミリング(b)でそれぞれ加工したSEM像である。感熱紙をカミソリで切断するとカミソリの歯との接触応力によって各層が潰れてしまい各層構造の確認が困難である。これに対し、断面ミリングでは、外部応力をかけずに断面を露出できるので、各層が潰れることなく層構造や厚さを確認することができる。

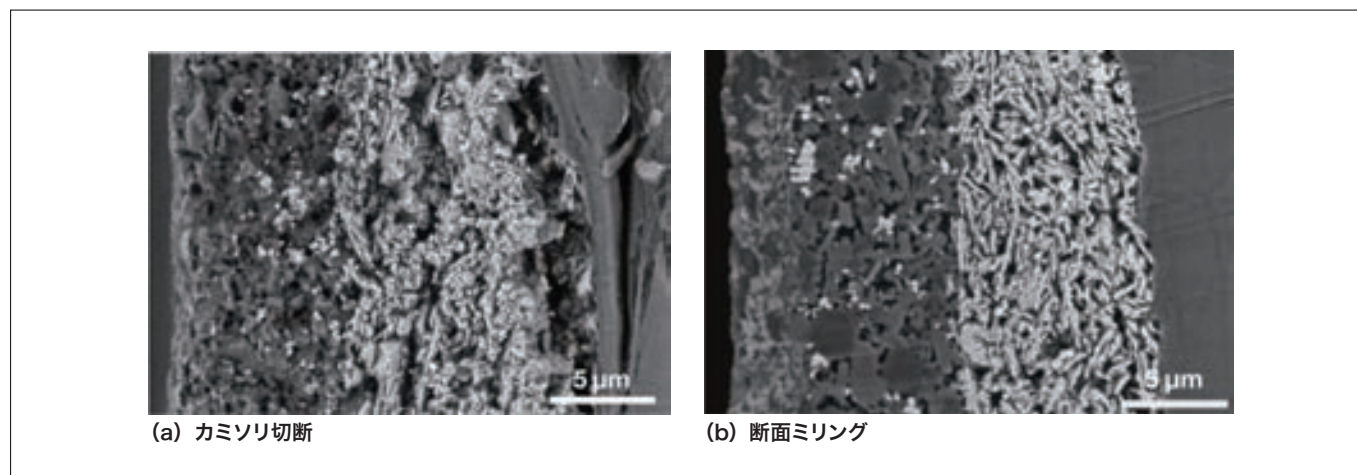


図2 感熱紙の断面 SEM 像

2-2. 平面ミリング法

図3に平面ミリングの概略図を示す。平面ミリング法は、アルゴンイオンビームを試料表面に対して斜めに照射し、アルゴンイオンビームの中心と試料回転の中心を偏心させることによって広範囲を加工する手法である³⁾。また、アルゴンイオンビームの照射角度(θ)は $0^\circ \sim 90^\circ$ に調整できる⁴⁾。 θ を 80° 以上に設定すると、イオンビームの照射角度は試料加工面に対して平行に近づくので、結晶方位や組成のエッチングレート差による凹凸形成を低減した加工面を形成できる。これは、機械研磨を施した樹脂包埋試料の研磨傷の除去を目的とした最終仕上げに多用される。 θ を低角度側に設定すると、エッチングレート差を利用した凹凸を強調した加工が可能である。この凹凸を利用することで、多層膜の層判別などに使用することができる。

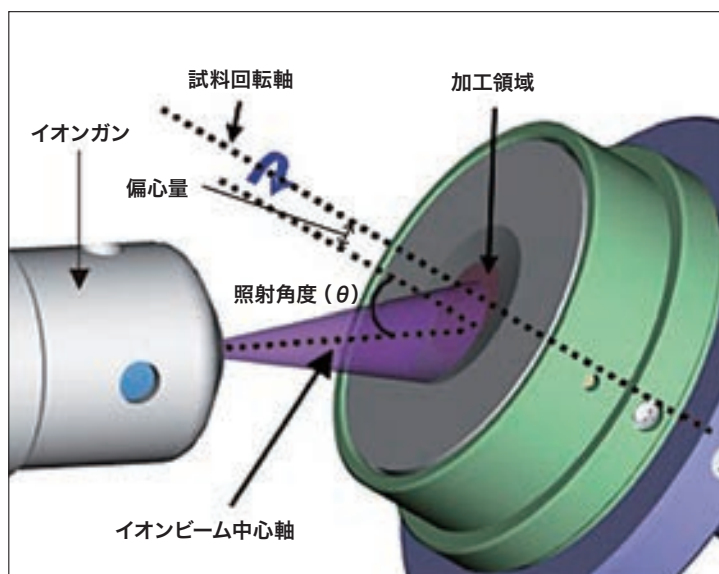


図3 平面ミリング概略図

図4に、樹脂包埋した鋼材を機械研磨した後に(a)、平面ミリング(b)を実施したSEM像を示す。機械研磨だけでは、試料面の清浄が不十分であるために結晶粒の観察が困難であるが、平面ミリングにより研磨材の残渣や機械研磨時に形成された傷を除去することができ、明瞭な結晶粒が観察されている。

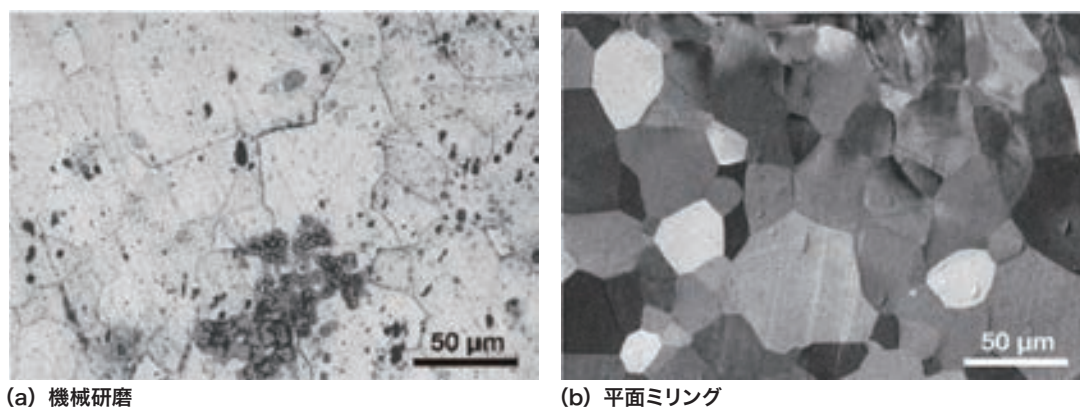


図4 鋼材の平面ミリング事例

3. 日立イオンミリング装置の紹介

当社は、1985年から電子顕微鏡試料用のイオンミリング装置を開発・販売している。本稿では、現在、発売しているイオンミリング装置2機種を紹介する。

3-1 IM4000PLUS

IM4000PLUSは前述した断面ミリングと平面ミリングの2つの機能を備えたハイブリッドイオンミリング装置である。多様な用途に対応できること、リチウムイオン電池材の解析のための雰囲気遮断ミリングホルダや、樹脂・高分子材のビーム照射時の熱ダメージ低減のための試料冷却機能をオプションとしてラインアップしたことにより用途がさらに拡大し、市場に多く受け入れられている。さらにIM4000PLUSではミリング時間短縮の要求を受け、断面ミリングレートを500 $\mu\text{m}/\text{h}$ 以上^(*)の高レートイオンガンを搭載したモデルである。図5には、各種オプションを装備したIM4000PLUSの外観を示す。

(*) 日立の断面ミリングレートの定義：遮蔽板の端面からSi試料を100 μm 突出させ、1時間加工したときの最大加工深さである。



図5 各種オプションを装備した日立イオンミリング装置IM4000PLUSの外観(雰囲気遮断ユニット、試料冷却温度調整ユニットを装備)

IM4000PLUS の試料冷却は、デュワーに充填した液体窒素を冷却源として銅網線を介して試料近傍を冷却する間接冷却方式である。樹脂およびゴム系の試料では、間接冷却であってもガラス転移点以下となるため、過冷却を防止する目的として、ヒーターを併用して 0℃から -100℃の間で温度制御する機能を搭載している。図 6 は、シリコンゴムを常温断面ミリング (a) と冷却断面ミリング (b) でそれぞれ加工した SEM 像である。常温での断面ミリングは、アルゴンイオンビーム照射による温度上昇によって母材のゴムの至る所にシワが確認される。これに対して、冷却ミリングは、大幅にシワが低減され、試料の温度上昇を抑制できたことを示している。

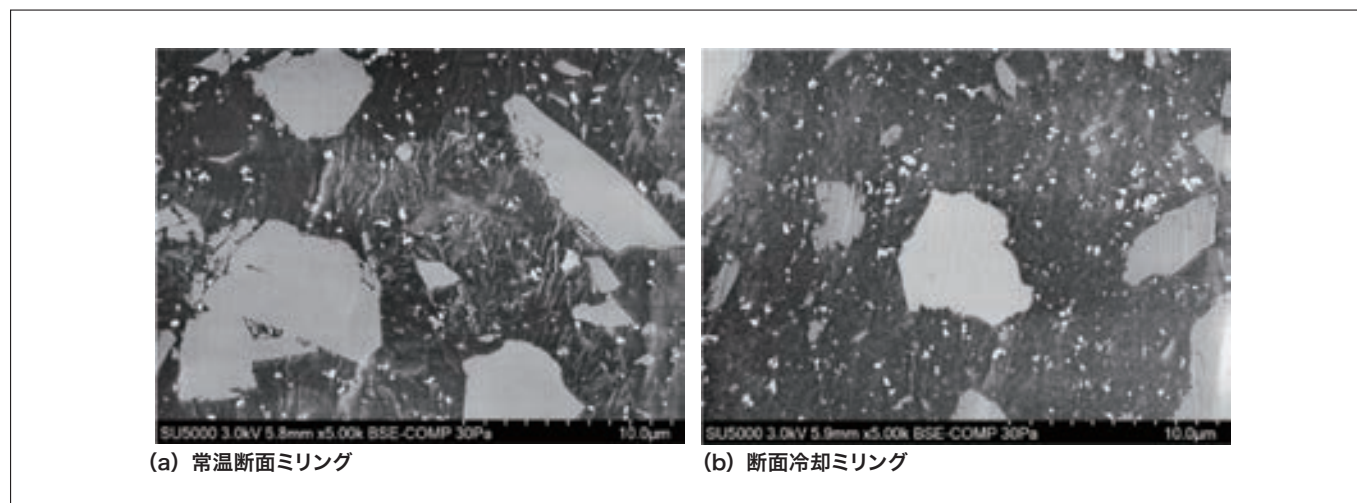


図 6 シリコンゴムの断面ミリング事例

雰囲気遮断断面ミリングホルダは、大気中の酸素や水分と反応して形状が大きく変化してしまうリチウムイオン電池材料を対象として開発した。ねじ込み式キャップで密閉し、試料を大気と接触させることなく、イオンミリング加工後に SEM 観察が可能である。参考までに雰囲気遮断断面ミリングの操作手順を下記する。

<操作手順>

- ①酸素濃度と露点温度を制御したグローブボックス内で試料を雰囲気遮断試料ホルダにセットしてからキャップで密閉する。
- ②グローブボックス外に取り出し、イオンミリング装置にセットする。
- ③真空排気した試料室内でキャップを取り外す。
- ④イオンミリング加工
- ⑤真空状態でキャップを装着
- ⑥大気開放し、試料ホルダを取り出す。
- ⑦雰囲気遮断試料交換対応の SEM で観察する⁵⁾。

図 7 は、雰囲気遮断断面ミリング機能で加工したリチウムイオン電池負極材の SEM 像 (a) と雰囲気遮断の効果を確認するために加工した試料を約 10 分間大気に曝した後の SEM 像 (b) である。(a) ではグラファイトの層構造が明瞭に確認されているが、(b) は大気中の水分や酸素に接触したことで負極材断面の至るところに析出物が発生しており、雰囲気遮断ミリングホルダの効果が確認できる。

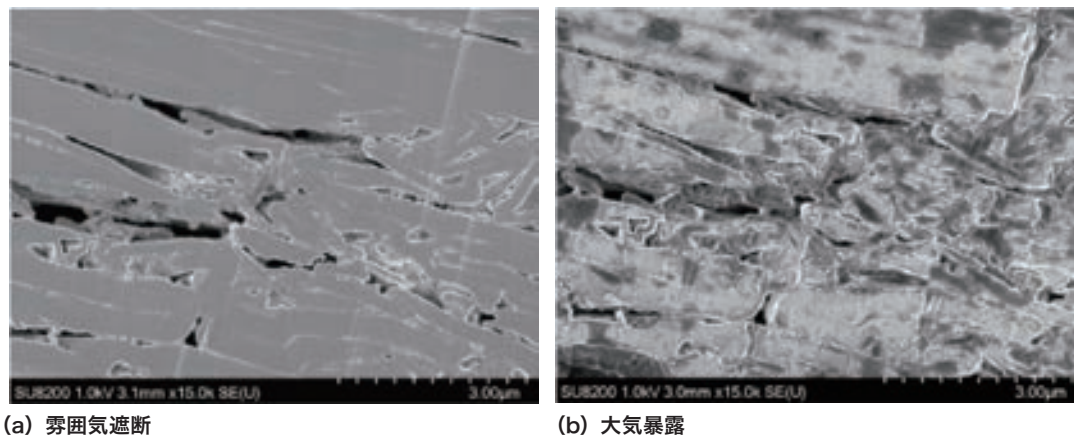


図 7 リチウムイオン電池負極材の断面ミリング事例

以上のように IM4000PLUS は、試料冷却機能、霧囲気遮断ミリング機能のオプションを追加し、多様な用途に対応できる日立イオンミリング装置のスタンダードモデルである。

3-2 ArBlade 5000

アルゴンイオンで試料をブレードのように迅速に切断(断面作製)する装置をイメージして開発した ArBlade 5000 は「アルブレード」と読む。本機は、IM4000PLUS の上位機種として 2017 年 4 月に発売した装置で、IM4000PLUS でも定評のある断面ミリングと平面ミリングに対応したハイブリッドイオンミリング機能を装備している。ArBlade 5000 の外観を図 8 に示す。



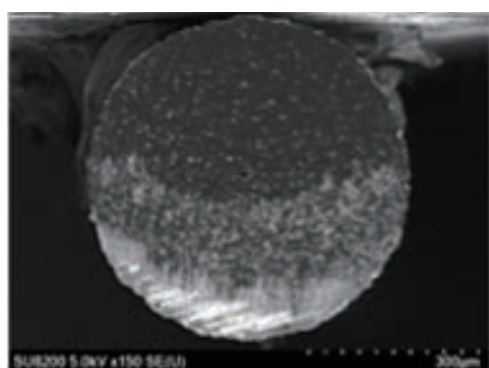
図 8 ArBlade 5000 の外観

ArBlade 5000 には新開発の高ミリングレートイオンガン (PLUS II イオンガン) を搭載し、断面ミリングレートは IM4000PLUS 比で 2 倍以上の 1 mm/hr 以上 (加速電圧 8 kV, Si 試料, マスクからの突出 100 μm) を実現した。特に長時間のミリング加工が必要だったスパッタ収率^(*)の小さい材料においても短時間で断面試料を作製することができる。イオンガンの高レート化に伴い、低スパッタ収率材の断面ミリング用遮蔽板「SH マスク」をラインアップした。従来の純 Ti マスクよりイオンビーム耐性が高く長時間の断面ミリングに有用である。「SH マスク」は Co (コバルト) を含有しない WC (タングステンカーバイド) 系材料である。

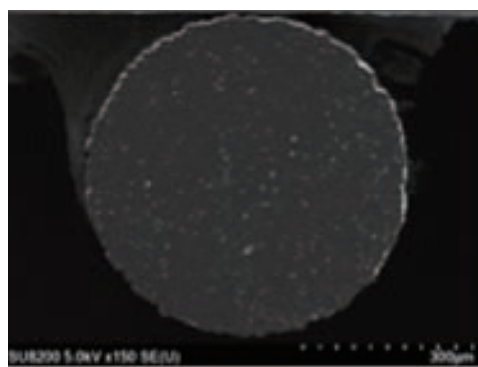
(*) スパッタ収率: sputtering yield

イオン 1 個を加速して原子に衝突させたときに弾き飛ばされる原子の数。照射するイオンと照射される試料 (原子) により固有の値を持ち、照射するイオンの加速電圧や照射角度にも依存する。スパッタ収率が小さい材料はイオンビーム照射によって削れにくい。

図 9 にシャープペンシルの芯 (硬度 4H) を IM4000PLUS (a) と ArBlade 5000 (b) でそれぞれ 90 分間断面ミリングした結果を示す。シャープペンシルの芯の主成分はスパッタ収率の小さいグラファイトカーボンで、イオンミリングでは削れにくい材料である。IM4000PLUS では、シャープペンシルの芯の上半分の加工領域に対し、ArBlade 5000 では、シャープペンシルの芯全体が加工されており ArBlade 5000 の高ミリングレートを示す結果である。



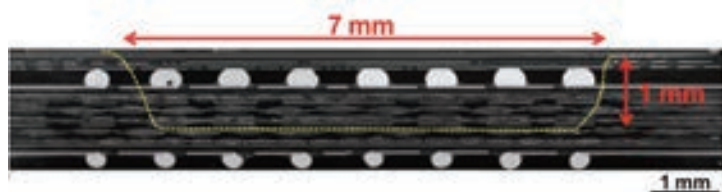
(a) IM4000PLUS



(b) ArBlade 5000

図 9 シャープペンシルの芯（硬度 4H）の断面ミリング比較

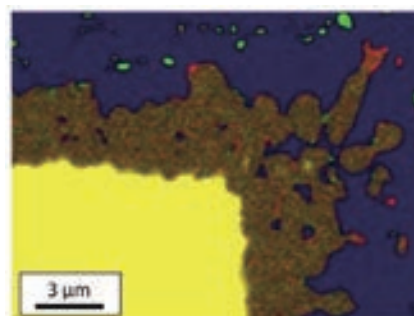
ArBlade 5000 には新開発のワイドエリア断面ミリング機能を標準装備している。従来の断面ミリング加工幅が約 1 mm に対し、最大ミリング幅 8 mm まで加工できる。ワイドエリア断面ミリング機能を用いて電子基板を加工した結果を図 10 に示す。それぞれ、加工面の全体像 (a) と電極と半田の接合部の拡大像 (b)、拡大像の領域の EDX マップ像 (c) である。(a) の全体像に示した黄点線は、加工された領域を示しており、加工幅は約 7 mm、深さは約 1 mm の範囲が加工されていることがわかる。このときの断面ミリングに要した時間は 5 時間であり、PLUS II イオンガンにより短時間で広域の断面ミリング面を得ることができる。電極と半田の接合面の拡大像（反射電子像）および EDX マップ像から接合面特有の銅と錫の合金層やその他の組成分布が明瞭に確認でき、高倍率 SEM 観察、EDX 分析を満足するミリング面を得ることができる。



(a) ワイドエリア断面ミリング後の全体像



(b) a 赤枠付近の拡大像



(c) EDX マップ像 (Cu：黄，Sn：青，Ag：緑，Au：赤)

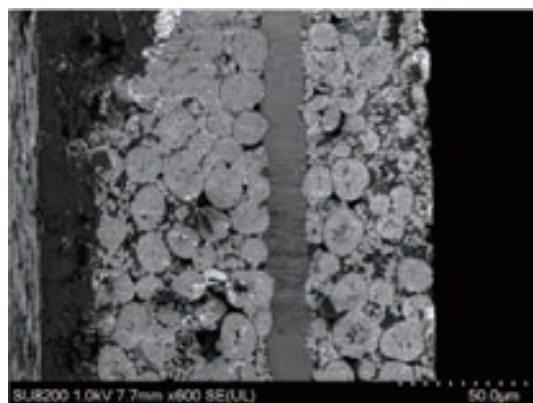
図 10 電子基板のワイドエリア断面ミリング事例

また、ArBlade 5000 では液晶タッチパネルを採用した。タイマー機能（ミリング開始までの時間を設定する機能）や 2nd ミリング機能（加工条件を 2 種設定し、自動実行する機能）などのユーザー操作の負荷を軽減する機能を設けた。加速電圧や放電電圧の設定は、IM4000PLUS がボリュームのつまみで設定していたのに対し、0.1 kV ステップで設定でき、詳細なミリング条件設定に対応させた。

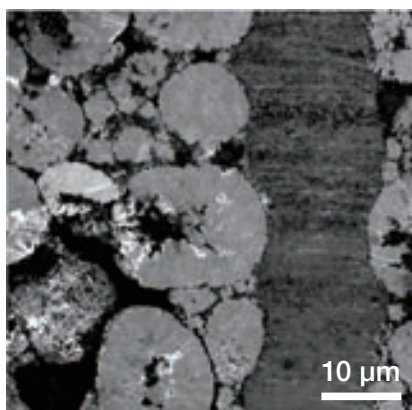
以上、ArBlade 5000 はミリングレートの飛躍的な向上と数ミリメートルオーダーの幅広加工を実現した日立イオンミリング装置のハイエンドモデルであり、特にイオンミリング装置の需要が高い電子部品や金属部品には有効と考える。

4. AFM用前処理事例

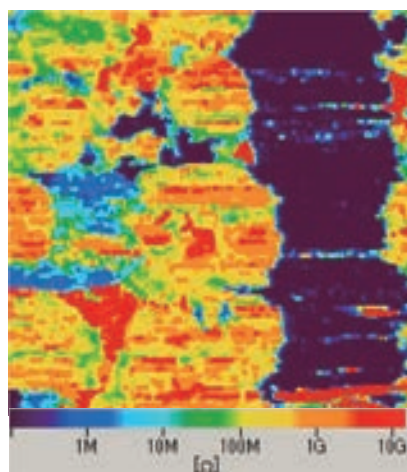
イオンミリング装置の主な用途である SEM 試料の加工について述べたが、最後に AFM (Atomic Force Microscope) のリチウムイオン電池材の適用例⁶⁾を紹介する。AFM の SSRM (Scanning Spread Resistance Microscopy) 像からリチウムイオン電池正極材内部の電気抵抗の違いを把握するためにイオンミリング法を活用した。図 11 は断面ミリングで作製したリチウムイオン電池正極断面の SEM 像 (a) と拡大像 (b) および拡大像と同一視野の SSRM 像 (c) である。SSRM 像からは導電体の金属箔と活物質が電気抵抗の違いとして明瞭に観察されている。さらに (b) の拡大像で観察されている特異なコントラスト (輝度の高い部位) により、低抵抗であることがわかる。このように断面ミリングは、AFM 試料作製としても有用である。



(a) SEM 像



(b) 拡大像



(c) SSRM 像

図 11 リチウムイオン電池正極材断面の SEM-AFM 観察結果

5. おわりに

最新のイオンミリング装置の特徴・機能、および適用例を紹介した。特に、イオンガンのミリングレートは最近の 10 年で 10 倍以上向上させ、ミリング加工時間の大幅短縮化を実現できた。また、冷却ミリング機能、ワイドエリア断面ミリング機能、雰囲気遮断ミリング機能により用途も AFM などに拡大している。今後もユーザーの要求に対応した機能を開発し、イオンミリングを用いた各種分析や構造解析技術に貢献できることを期待している。

参考文献

- 1) 日本顕微鏡学会関東支部編, 新・走査電子顕微鏡, p.195, 共立出版(2011)
- 2) 平坂雅男, 朝倉健太郎, FIB・イオンミリング技法 Q & A, p.8, アグネ承風社(2002)
- 3) 許斐麻美, 他, フラットミリング法を用いた SEM 解析のための広域試料作成, 日本顕微鏡学会第 66 回学術講演会発表要旨集, p.205, (2010)
- 4) 伊藤寛征, 他, イオンミリングによる多様な試料前処理例, 日本顕微鏡学会第 61 回学術講演発表要旨集, p.97, (2005)
- 5) 細谷幸太郎, 他, 雰囲気遮断試料交換による酸化防止観察手法, 日本顕微鏡学会第 66 回学術講演会発表要旨集, p.197, (2010)
- 6) 山岡武博, 他, SPM でナノ表面物性を観る～真空中の電磁気物性観察と SEM・ミリング技術連携～, 第 34 回ナノテストニングシンポジウム, p.13-p.18, (2014)

出典

月刊誌「工業材料」11 月号掲載

著者紹介

^{*1} 伊藤寛征

(株) 日立ハイテクノロジーズ 科学・医用システム事業統括本部 科学システム営業本部 マーケティング部

^{*2} 稲木由紀

(株) 日立ハイテクノロジーズ 科学・医用システム事業統括本部 科学システム製品本部 アプリケーション開発部

株式会社 日立ハイテクノロジーズ

本社(サポートセンタ)	東京	(03)3504-7211	中部支店	名古屋	(050)3139-4566
北海道支店	札幌	(050)3139-4994	関西支店	大阪	(050)3139-4801
東北支店	仙台	(050)3139-4985	九州支店	福岡	(050)3139-4151

分析機器に関する各種お問い合わせは…
お客様サポートセンタ 電話(03)3504-7211
受付時間 9:00~11:50 12:45~17:30
(土・日・祝日および弊社休日を除く)

本ニュースに関するお問い合わせは、下記へご連絡ください。

HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS September 2017 VOL. 60 No. 2

発行日 2017年9月5日
編集人 多持隆一郎
発行人 内田憲孝

発行 株式会社日立ハイテクノロジーズ
〒105-8717
東京都港区西新橋1-24-14
電話 (050)3139-4298(ダイヤルイン)

ホームページ URL: www.hitachi-hightech.com/jp/science/