

平成 17 年度
(社) 日本顕微鏡学会北海道支部
学術講演会

セミナー
顕微鏡科学への招待

プログラム・予稿集

(社) 日本顕微鏡学会北海道支部
平成 18 年 2 月 28 日 (火)
北海道大学学術交流会館 小講堂

平成17年度学術講演会

セミナー「顕微鏡科学への招待」開催にあたって

日本顕微鏡学会北海道支部講演会は、札幌雪祭りの開催期間中の土曜日に、支部会員による一般講演と共に、道外から著名な顕微鏡学会会員の先生をお招きして特別講演を行うのが慣例化しておりました。しかし、このような形で続けてきた講演会も、数えますと今回が第46回になり、支部講演会のありかたについても、それなりの見直しをする必要があると感じたところです。

このため、本年度は、基本的に一般講演会を行わず、セミナー形式とさせていただきます。セミナーは「顕微鏡科学への招待」というタイトルとして、最新の電子顕微鏡技術から光学顕微鏡技術を用いた多様な研究成果の一部を選び、北海道でご活躍されている諸先生の研究を中心に計画をいたしました。講演を快くお引き受けいただいた諸先生に心より感謝申し上げます。講演会の開催日も、これまでと同じ2月中ではありますが、平日開催とすることにより、より多くの、新たに顕微鏡科学へ興味を持たれる会員以外の方も参加しやすいように工夫したつもりです。多くの参加者により、活発な論議が行われることを期待しています。

また、本年9月には、4年毎に世界各地で開催されてきた、国際顕微鏡学会議（IMC16）が札幌で開催される運びとなりました。我々北海道支部会員も協力して、国際会議の成功のために尽力しているところです。支部講演会終了後に、講師の先生を囲んで行われる懇親会に多数の皆様のお参加をいただき、益々、北海道支部のチームワークを高め、来るべく IMC16 を成功裏に終わらせることができる事を願っています。

平成18年2月

日本顕微鏡学会北海道支部長 藤川清三

平成 17 年度 日本顕微鏡学会北海道支部学術講演会
セミナー「顕微鏡科学への招待」
プログラム・予稿集 演題名一覧

<特別講演>

座長：平 義樹（旭川医大医）

- ・味蕾細胞の神経栄養因子
武田 正子（北海道医療大歯学部）

座長：石政 勉（北大院工）

- ・電子顕微鏡と結晶界面 -羨むべき相思相愛-
市野瀬 英喜（北大エネルギー変換マテリアル研究センター）

<招待講演>

座長：荒川圭太（北大院農）

- ・北大ニコイメーキングセンターに期待する
上田 哲男（北大電子科学研究所）
- ・蛍光・発光タンパク質を利用した生理機能の可視化と操作
永井 健治（北大電子科学研究所）
- ・蛍光相関分光による細胞機能解析 -揺らぎで探るダイナミックバイオイメー
ジング-
金城 政孝（北大電子科学研究所）

座長：竹花一成（酪農学園大獣医）

- ・細胞内の張力分布を可視化するナノフォース走査型プローブ顕微鏡の開発
芳賀 永（北大院理学研究科）
- ・日立卓上顕微鏡 Miniscope での観察例の紹介
平島 小百合（株式会社日立ハイテクノロジー）
- ・歯科用合金を含む口腔組織中のセレンの分布と状態分析
宇尾 基弘¹、赤坂 司¹、亘理 文夫¹、朝倉 清高²
(¹北大院歯学研究科、²北大触媒化学研究センター)

座長：郷原一寿（北大院工）

- ・水素化反応観察のための TEM 用環境セルの開発と応用
奥寺 公也¹、谷敷 圭介²、浜田 弘一²、須田 孝徳²、
大貫 惣明² (¹北大工学部、²北大院工学研究科)
- ・分析走査電子顕微鏡とラマン分光光度計の複合化
川内 一晃（日本電子株式会社）
- ・アルゴンイオンビームを用いた SEM 用断面試料・TEM 用薄膜試料作製装
置の紹介
服部 隆（日本電子データム株式会社）

特別講演

味蕾細胞の神経栄養因子

武田 正子 (北海道医療大歯)

味覚の受容器である味蕾の細胞は、周囲上皮細胞と同じくケラチンフィラメントを持っているが、神経細胞のように大きく、神経細胞接着分子 (NCAM, neural cell adhesion molecule) や神経栄養因子 (neurotrophic factor) のようなニューロンが含む分子を持つ。神経栄養因子は、神経細胞の増殖、分化の調節、生存および機能維持などに働く。この因子の枯渇は細胞死を惹起する。マウスの有郭乳頭味蕾について、神経栄養因子の NGF、BDNF、NT3、NT4、GDNF および NTN、さらにそれらのレセプターの TrkA、TrkB、TrkC、GFR α 1 および GFR α 2 の発現を、それぞれの抗体を用いて免疫組織化学的方法で調べた。結果は、用いた抗体のうち GDNF と NT4、TrkC を除くすべての抗体に対して味蕾のほとんどの細胞が免疫陽性を示した。GDNF と NT4 は一部の味蕾細胞のみが陽性であった。つまり、味蕾細胞には種々の神経栄養因子およびそれらのレセプターが共存していることがわかった。免疫電顕により、味蕾のⅢ型細胞は細胞膜が NCAM に免疫陽性を示し、PGP9.5 はⅢ型と一部のⅡ型の胞体に免疫陽性で、 α -gustducin がⅡ型細胞の胞体に免疫陽性であることがわかっているため、これらを細胞型のマーカーとして用いた。そこで GDNF 陽性細胞がⅠ、Ⅱ、Ⅲ型のどの細胞型に発現するかを調べるために二重免疫蛍光染色を行ったところ、GDNF 免疫陽性細胞のすべては、NCAM や PGP9.5 陽性細胞とは重ならず、 α -gustducin 陽性細胞とほぼ重なったことから、GDNF を含む細胞は α -gustducin をも含むⅡ型細胞であることがわかった。GDNF は、培養系で中脳黒質ドーパミン作動性ニューロンに対して生存維持作用を示し、ドーパミンの取り込みを促進させる。また、ドーパミンはⅢ型の細胞の求心性シナプスにおける神経伝達物質の一つとして働く可能性が考えられている。したがって、味蕾細胞に発現する GDNF はドーパミンの作用を助け、シナプス伝達を円滑に行わせることに役立つのではないと思われる。このさいⅡ型細胞の GDNF はⅢ型細胞の膜の受容体 GFR α 1 と結合してシナプス伝達に関与するものと考えられる。BDNF、NT3、NT4、NTN、およびそれらのレセプターに対してもそれぞれ免疫陽性細胞の一部が PGP9.5 免疫陽性細胞に重なることから、Ⅲ型細胞がこれらを含むことがわかった。つまりⅢ型細胞におけるシナプス伝達にこれらの因子やレセプターが関与するものと思われる。

さらに、味蕾細胞に存在する神経栄養因子は、それぞれのレセプターと結合して自己および近隣の細胞に栄養作用を及ぼすのかもしれない。

特別講演

電子顕微鏡と結晶界面-----羨むべき相思相愛-----

市野瀬英喜

(北海道大学エネルギー変換マテリアル研究センター)

結晶粒界（界面）を“発見”したのは光学顕微鏡で、19世紀半ば（1864）のイギリス人によるらしい。強加工した金属塊の表面に見える条模様（滑り帯）の方向が、領域ごとに一方向に固まっていることから、金属塊は一様な連続体ではなく非常に小さな単位のカタマリ（粒？）からなることに気づいたといわれる。同時に、それぞれのカタマリの繋ぎ目としての「粒界」が意識されたというわけである。しかし粒界研究はすぐには進まなかった。対応格子（CSL）粒界モデルがBrandonによって提唱される1964年まで、実に1世紀の間、見るべき成果は提出されていない。勿論人々は手をこまねいていたわけではない。ブリルアン、バーガス、ブラッグ、レナード・ジョーンズ、モット、フリーデルといった歴史に高名な科学者たちが、この新しい研究対象に対して、知的には高度なやり方で挑戦はしたのである。にもかかわらず100年間が無為に終わった原因は、「観測手段の欠如」にあったと言って良い。レントゲンがエックス線を発見したのが1895年で、1912年には早くもラウエが回折現象を見つけ、これによって、原子が無限に周期的に並ぶ結晶物質の構造解析は長足の進歩を遂げたけれど、結晶粒界はその恩恵に浴することができなかったのである。数原子程度の厚みしかない粒界は、エックス線回折で観測するには「小さすぎる構造物」だったからである。1932年に原理的には数原子程度の小さな領域から構造信号を取り出せる電子顕微鏡が、Ruskaによって発明されるのだが、当初の倍率は10倍の桁であるから、役には立たなかった。この八方塞がりの中でBrandonの対応格子粒界幾何学モデル（CSLモデル）が忽然と姿を現すのである。実際には忽然ではなく、1951年にMullerが発明した電界イオン顕微鏡（FIM）が先導役を果たしたであろうことは、想像に難くない。当時としては一大センセーションを巻き起こしたこのCSLモデルを機に、電子顕微鏡の八面六臂の活躍は始まった。特に高分解能電子顕微鏡の威力は大で、まずCSLモデルに市民権を与えたが、さほどの時も経ずこれを半ば剥奪し、EELSの協力を得てCSLガイドルールが実は単なる分類法にすぎないことを露にして、主役はあくまで物理であることを示した。今はさらさら新たな体系の構築に向けて進みつつある。他方電子顕微鏡はカタチだけでなく、物理までが見える道具に成長し、今後も成長しそうな気配である。展開の歩度は予見しがたいが、結晶界面が電子顕微鏡抜きで科学できないことは自明であり、電子顕微鏡にとって結晶界面が最大のお得意さまであることも今後とも変わりはない。その更に先には、バイオの海が広がっている。

北大ニコンイメージングセンターに期待する

上田 哲男 (北大 電子研)

2005年11月1日に、ニコンイメージングセンターが設立されました。北大に、新しくすばらしい教育・研究上の施設が一つ加わりました。わたしたちは、本センターをよりよく知っていただき、皆様によりよく活用していただきたいと考えています。装置施設等研究につきましても、永井教授がくわしく話されます。そこで本講演では、本センターをさらに発展させるために取り組むべき方策を考えてみたい。センターのあり方、運用・支援体制、人材育成などであるが、これらは総合大学としての視点から捉えるべき課題である。

考える資料として、本センターの概要と活動内容を、ホームページ：<http://nano.es.hokudai.ac.jp/nikon/outline.html> から、抜粋します。

センターの概要：

北海道大学 電子科学研究所 ニコンイメージングセンター(NIC@北大)は最新の生物顕微鏡を利用できる環境を北海道大学のみならず日本全国の研究者に提供するための施設として、[ニコンインステック](#)の協力により設立されました。NIC@北大は他にも[浜松ホトニクス](#)、[日本ローパー](#)、[横河電機](#)、[日本モレキュラーデバイス](#)、[プロメガ](#)、[インビトロジェン](#)、[東海ヒット](#)、[システムブレイン](#)、[北海道和光純薬](#)という複数の企業の協力によって成り立っています。

NICは世界にハーバードメディカルスクール([NIC@HMS](#))、ハイデルベルグ大学([NIC@HD](#))、北海道大学([NIC@北大](#))の3つの拠点があります。

活動内容：

- * 最先端の顕微鏡とイメージング関連機器を設置し、基礎研究の環境を提供する。
- * 顕微鏡に馴染みのない研究者からハイエンドユーザーまで様々なレベルに合わせて、顕微観察法のトレーニングコースを行う。
- * イメージング操作について専属スタッフが指導を行う。
- * 顕微鏡ユーザーのアイデアを反映した新型顕微技術の開発を行う。

蛍光・発光タンパク質を利用した生理機能の可視化と操作 永井 健治 (北大 電子研)

特定の外界刺激に応じて、細胞内では特定のシグナル伝達反応が起こり、細胞の分化、形態変化、分裂、死などの現象が誘起される。こうした細胞内の情報伝達に関わる分子群とそれらの相互作用に関する知見は我々の頭では記憶できないほど蓄積している。しかし、これらの知見からは“生体システムに潜む原理”を理解することは難しい。これはちょうどコンピュータ回路図を手にし、それに従ってコンピュータを作ることができても、コンピュータが何故作動するのかを理解できないのと同じである。“生体システムに潜む原理”を理解するためには、生体情報がどのように動き回っているのかを“見る”技術と生体分子を“操作”する技術が必要である。本セミナーでは特に前者に重点をおき、今何ができるようになったのか？そして今後どのような技術が開発されなければならないのか等々について議論したい。

参考文献

永井健治、宮脇敦史

"GFPを利用した蛍光バイオセンサーの作成法と生体機能の可視化"

遺伝子医学Mook別冊/分子生物学実験シリーズ 図・写真で観るタンパク質構造・機能解析
実験実践ガイド、メディカル ドゥ、173-182、2005

Okamoto K, Nagai T, Miyawaki A & Hayashi Y

Rapid and persistent modulation of actin dynamics regulates postsynaptic reorganization underlying bi-directional plasticity

Nat. Neurosci 7 : 1104-1112, 2004

Nagai T, Yamada S, Tominaga, T, Ichikawa M & Miyawaki A

Expanded dynamic range of fluorescent indicators for Ca^{2+} by circularly permuted yellow fluorescent proteins.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101 : 10554-10559, 2004

Nagai T & Miyawaki A

A high-throughput method for development of FRET-based indicators for proteolysis.

Biochem Biophys Res Commun. 319 : 72-77, 2004

Takemoto K, Nagai T, Miyawaki A & Miura M

Spatio-temporal activation of caspase revealed by indicator that is insensitive to environmental effects.

J. Cell Biol. 160 : 235-243, 2003

Nagai T, Ibata K, Park ES, Kubota M, Mikoshiba K & Miyawaki A

A variant of yellow fluorescent protein with fast and efficient maturation for cell-biological applications.

Nat. Biotechnol. 20 : 87-90, 2002

Nagai T, Sawano A, Park ES & Miyawaki A

Circularly permuted green fluorescent protein engineered to sense Ca^{2+} .

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98 : 3197-3202, 2001

蛍光相関分光による細胞機能解析

一揺らぎで探るダイナミックバイオイメージング

金城 政孝 (北大、電子研)

分子同士が結合すると、もとの分子より大きくなり、分子が分解するとそれぞれ小さな分子になる。それが、溶液の中であれば、分子のブラウン運動は分子の大きさに依存して遅くなったり速くなったりする。また、分子同士が結合すると分子の数は減少し、分解すると分子の数は増加する。この単純な原理を前提として、蛍光相関分光法 (Fluorescence Correlation Spectroscopy、FCS) は標識に用いた蛍光色素が引き起こす蛍光強度の「ゆらぎ」からこのような『分子の動き』と『分子の数』の情報を得ようとするものである。

FCS は「ゆらぎ」を検出するために観察視野を極微小にすることで、観察対象を単一分子レベルまで極端に減らし、個々の分子の動きが蛍光測定に反映するようにした測定方法である。FCS は一つの分子を画像として見たり追跡する方法ではないが、蛍光検出を利用した単一分子検出の一つと言われる。それは通常の蛍光測定とは異なり、測定に個々の分子の動きが反映すること、検出レベルが蛍光分子一個以下であることなどの理由による。さらに 2 色の蛍光色素が観察視野に同時に存在するかどうかを検出する蛍光相互相関分光法 (Fluorescence Cross Correlation Spectroscopy、FCCS) を用いて生きた細胞内で分子間相互作用を高感度に検出する手法の開発を試みた。

この講演では、蛍光相関法ならびに相関関数に関する厳密な説明や解説を行うのは避け、直感的な説明を試みることにする。

FCS の特徴は蛍光測定に由来する高感度性と溶液の中の自由な分子運動を検出する分析方法と言える。特に顕微鏡を利用することで画像と重ね合わせることが可能となる。レーザー顕微鏡が提供する非常に精緻な画像と FCS から得られる『分子の動き』や『数の変化』と言う動的な情報を合わせることで、一つの細胞を生きた状態に保ちながら特定の場所や個々の小器官を画像として捉え、細胞内外からの情報がどのように伝えられ、形態やその代謝調節にダイナミックに影響を与えていることを単一分子レベルで明らかにしたいと考えている。

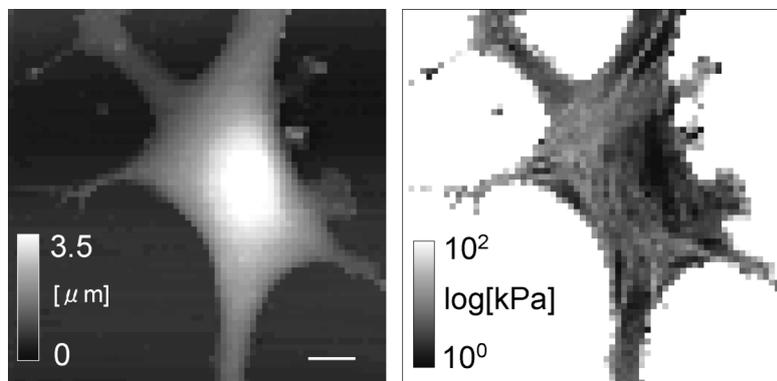
細胞内の張力分布を可視化する
ナノフォース走査型プローブ顕微鏡の開発
芳賀 永（北大・院理・生物科学）

走査型プローブ顕微鏡（Scanning Probe Microscopy; SPM）は、液中環境下において生体試料（組織、細胞、生体高分子など）の3次元表面形状を固定処理することなく観察できる装置である。このため、培養液中における生きた生体標本の形態変化を直接観察することができ、生命活動の研究をする上で有効な手段となる。さらに、SPMは板バネの先端に付いた探針（カンチレバー）を試料に直接接触させながら測定するため、表面形状の測定のみならず、弾性や粘性といった試料の力学的な性質も測定することができる。

我々の研究グループでは、細胞や組織内にどのような力が伝わり細胞運動や組織形成を制御しているのかを明らかにするために、細胞内に働く局所的な力の空間分布を0.1ナニュートンレベルで計測することが可能なナノフォース走査型プローブ顕微鏡（NF-SPM）や上皮細胞コロニー全体の観察が可能な広域走査型プローブ顕微鏡（WR-SPM）などの開発をこれまでに行ってきた。

さらに、我々は、100ナノメートルの空間分解能で局所弾性率の定量的測定が可能な『フォースマッピング法』を実用化し、上皮細胞や繊維芽細胞などの組織化および運動時における細胞内張力分布の時間変化測定に成功している。『フォースマッピング法』とは、試料にカンチレバーを徐々に押し込みながらカンチレバーに発生する力と試料の変形量との関係（フォースカーブ）を測定し、弾性率の空間分布を定量的に求める測定法である。この測定法を用いることで、

生きた細胞の硬さが細胞表面において一様ではなく、場所によって数kPaから100kPaの範囲で分布していることと、その分布は細胞表面層付近に存在するストレスファイバーの分布



に対応していることを明らかにした（左図：形状像，右図：弾性像）。

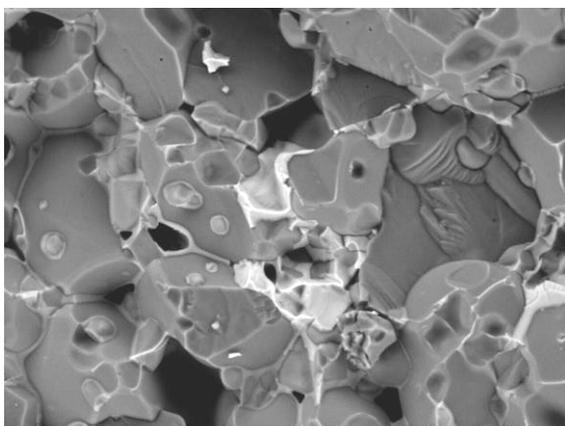
本講演では、細胞運動に伴う張力緩和機構や細胞内張力ホメオスタシスなどSPMを用いた生体試料の観察結果について幾つか紹介し、細胞生物学への今後の展開について述べる。

日立卓上顕微鏡 Miniscope での観察例の紹介

平島小百合 ((株) 日立ハイテクノロジーズ先端製品営業本部
アプリケーション技術部)

専門のオペレーターが必要だった走査電子顕微鏡 (SEM) もオート機能の充実に伴い使い勝手が向上し、そのユーザー層も増えてきている。しかし、価格としては、まだ高額で、煩わしい観察条件の設定や難しい光軸の調整を行わなくてはならず、気軽に使える身近な装置とはなっていないのが実状である。そこで、そのような点を改善し、光学顕微鏡並みの使いやすさで操作できる装置として小型卓上顕微鏡「Miniscope」を開発した。主な改善点は以下となる。①設置面積を小さくして机の上に設置できるようにし、ユーティリティーも 100V、5A、3P コンセント 1 つあれば設置できる。②観察条件を汎用的な条件に固定したことで特殊な知識がなくても綺麗な像がえられる。③低真空専用 SEM なので、非導電性試料も金属コーティングなしで観察できる。④ターボポンプを使用しているので、クリーンかつ装置立ち上げ時間も約 3 分と大幅な時間短縮ができる。

光学顕微鏡よりも高倍率で観察でき、SEM よりも観察が早くて簡単な特長を生かし、ミクロンオーダーの形態観察を必要とするあらゆる分野の研究、評価、さらに学校教育にも重要なツールとして広く利用されることが期待される。今回は装置の概要をふまえ、Miniscope で観察した応用例を紹介する。



バリスタ



カビ

歯科用合金を含む口腔組織中のセレンの分布と状態分析

○宇尾 基弘¹, 赤坂 司¹, 亘理 文夫¹, 朝倉 清高² (¹北大院歯, ²北大触媒セ)

【はじめに】

セレンは必須微量元素であり、グルタチオンペルオキシダーゼなど酸化還元酵素の構成成分である。また体内のセレン濃度は水銀や銀の濃度と相関が報告されており、これら金属元素に対する生体の防御機構との関係が提唱されている¹⁾。本研究では粉末状の歯科用アマルガム及び銀合金を含む口腔内組織中のセレンの分布と合金粉末との相関、セレンの化学状態について検討した。

【実験方法】

着色のため病理組織検査を目的として切除されたヒト歯肉組織中の各種元素分布を X 線分析顕微鏡 (XSAM : 堀場 XGT-2000V) により測定し、金属元素とセレンの分布状態を評価した。さらにセレンの化学状態を X 線吸収微細構造 (XAFS) 測定により行った。XAFS 測定は高エネルギー加速器研究機構 放射光科学研究施設 (KEK-PF) BL-9A にて行った。XSAM により Se の局在が確認された部位を中心に蛍光法により XAFS スペクトルを測定した。

【結果及び考察】

図 1 に歯肉組織の XSAM による透過 X 線像及び S, Hg, Ag, Se 分布像を示す。X 線不透過部に Hg 及び Ag が存在していることから、歯科用アマルガムが点在すると思われた。アマルガム近傍に Se 高濃度部 (矢印) が認められた。通常組織中の Se は XSAM の検出限界以下であり、本試料では粉末状アマルガム近傍に Se が濃縮されていると考えられた。

同様に粒子状の銀合金を含む歯肉組織でも、銀合金近 Se 高濃度部 (矢印) が認められた (図 2)。

XAFS 測定において Se の K 吸収端エネルギーを標準物質と比較した結果、歯肉組織中の Se は低価数の状態にあるが、12.66keV 付近に僅かにピークが見られることから価数に分布を持つ可能性が推測された。

Se は生体内ではタンパク質の構成成分となっており、水銀などの有害金属の無毒化への関与が示唆されているが、本研究では歯科用アマルガム及び銀合金を含むヒト歯肉組織で上記金属近傍への Se の局在が可視化され、生体内で Se が Hg 及び Ag に対して無毒化などの作用を示す可能性が示唆された。

1 M. Molin, B. Bergman, S. L. Marklund, A. Schütz, S. Skerfving, *Acta Odontol. Scand.*, **48**, 189, 1990

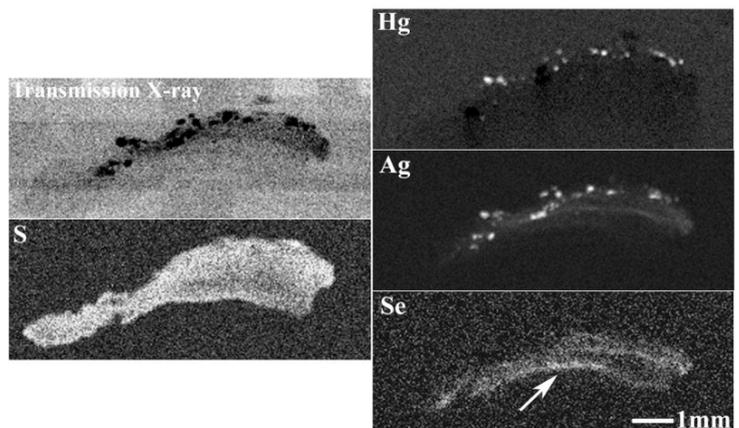


図 1 粒子状アマルガムを含む歯肉組織中の元素分布

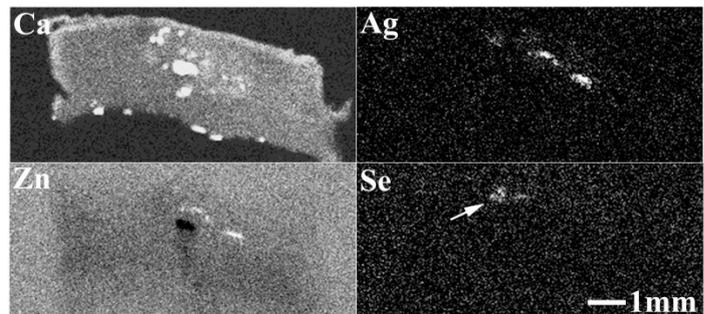


図 2 粒子状銀合金を含む歯肉組織中の元素分布

水素化反応観察のための TEM 用環境セルの開発と応用

○奥寺 公也²、谷敷 圭介¹、浜田 弘一¹、須田 孝徳¹、大貫 惣明¹
(1 北大院工、2 北大工)

【緒言・目的】次世代のエネルギーメディアとして水素への期待は大きく、その貯蔵手段として水素吸蔵材料がある。しかし、材料の評価と制御を目的とした水素化過程のナノレベルでの解析は行われていない。本研究は、水素化反応のその場観察を目指した TEM 用環境セルの開発をし、軽量の水素吸蔵材料である Mg の水素化反応を観察した。

【方法】新規に試作した環境セルのホルダー(図1)はクローズ型環境セルであり、試料取付部に 0.5mmφの孔があり、強化カーボン膜を張った 2 枚の 3mmφグリッド間(図2)に試料と反応ガスを通すタイプである。Mg 粉末試料を反応防止のために Ar 雰囲気グローブボックス内で装填する。JEOL2010FASTEM の鏡体へ装着し、真空排気した後水素ガスを減圧弁からガス溜めを経て導入する。観察は室温で 1 気圧程度で観察した。記録は連続フィルム撮影によった。

【結果】図3は Mg の水素化反応過程を連続観察した例である。時間経過とともに粒子が膨張することより、水素化により MgH_2 が形成すると判断した。また、対応する電子回折も得られた。しかし、今回は、長時間の観察により、電子線照射部分が次第に変質し、鮮明な像が得られなくなった。今後はその原因と解決法の検討、隔膜の改良や温度・圧力の制御等を行う。



図1: 環境セルの先端部分

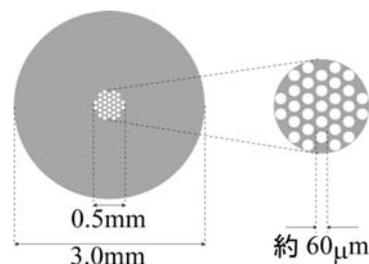


図2: グリッドの形状

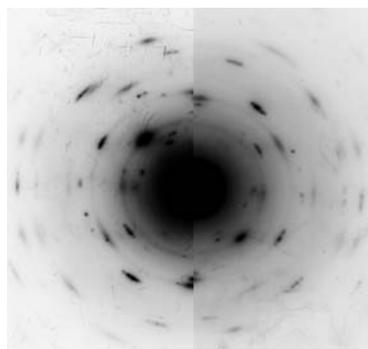
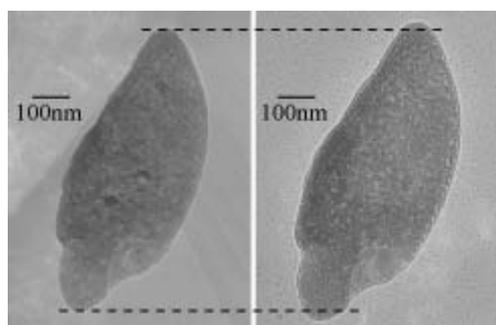


図3: Mg 粒子の水素化過程。室温、0.1MPa

分析走査電子顕微鏡とラマン分光光度計の複合化

川内 一晃（日本電子株式会社）

1. はじめに：走査電子顕微鏡 (SEM) は高い空間分解能と深い焦点深度を有しており、材料観察に欠くことができないツールになっている。さらにこの SEM に X 線分光器 (EDS : SEM/EDS) を装着 (接続) して元素分析も行われ、画像観察と元素分析による材料解析に大きな威力を発揮している。しかしながら、この SEM/EDS から得られる情報は構成元素であり、その結合状態を知ることは困難である。結合情報を得るための手法として赤外やラマン等の分光分析が広く普及している。このうちラマン分光は気体、液体、固体のすべての状態において様々な形状の試料をそのままの状態で測定することができ、多くの場合、特別なサンプリングを必要としない手法である。最近では光学顕微鏡の機能を付加した顕微ラマン分光が一般的になっている。顕微ラマン分光は紫外から近赤外領域のレーザを用いているため、サブマイクロメートルオーダーの分析が可能である。今回我々はこの特徴を生かし、SEM/EDS の試料室にレーザを導入し、さらにラマン分光計を接続することにより、同一視野内での元素分析とラマンスペクトルの取得が可能な複合装置を開発した。

2. 装置：装置はSEM/EDS、ラマン分光計とそれらを接続するインターフェース、レーザの4つのユニットで構成されている。分光計とインターフェースは光ファイバで連結され、光ファイバはレーザとラマン散乱光を伝送する。試料へのレーザ照射はSEM試料ステージとその直上の対物レンズとの間の可動放物面鏡を介して行っており、この鏡はレーザの導入およびラマン散乱光伝送に用いている。ラマン測定時にはこの放物面鏡を挿入し、試料にレーザ光を照射してラマン散乱光を得る。ラマン散乱光は放物面鏡に集光反射させて光ファイバにて分光計へ伝送し、スペクトルを取得している。放物面鏡には電子線通過用の孔が空いており、鏡挿入時においてもSEM像の取得が可能である。

3. おわりに：SEM/EDSラマン複合装置は微小領域の観察画像による形態情報と同一視野での元素組成分析およびラマンスペクトルによる化学結合の情報が取得できる。それらの利用により、本装置は材料開発から品質管理等の様々な分野での材料解析のツールとして期待される。

アルゴンイオンビームを用いた

SEM用断面試料・TEM用薄膜試料作製装置の紹介

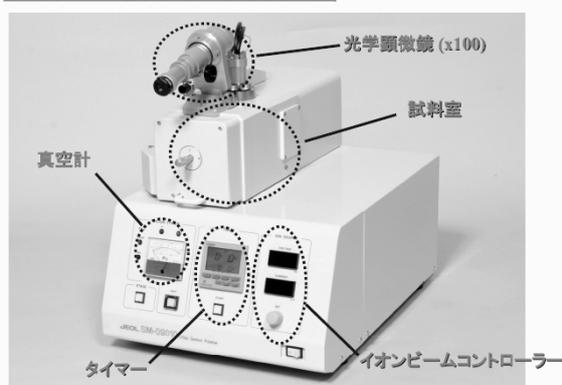
服部 隆 (日本電子データム株式会社 国際技術研修センター)

走査電子顕微鏡(SEM)や透過電子顕微鏡(TEM)を用いて材料観察を行う際、各種観察条件や像解釈だけでなく、試料作製のテクニックが非常に重要なファクターとなる。とくに材料系試料の断面作製には技術・ノウハウが必要である。SEMでは層状材料の断面試料を作製すると、界面が機械研磨などで変形し解釈が困難となるケースが多い。また、TEMでは試料を薄膜化するのにイオンミリング法やFIB法が一般的であるが、ダメージの少ないイオンミリング法では、鏡面研磨後10 μ m厚程度までのディンプリングなど高度な前処理技術が必要であり、FIB法ではイオンドープによる試料ダメージが問題となる場合がある。

今回紹介するSEM用断面試料作製装置のクロスセクションポリッシャ(CP)とTEM用薄膜試料作製装置のイオンスライサ(IS)は、それぞれアルゴンイオンビームをシールド材料で整形する新サンプリング法のため、前加工は表面状態が#800程度までの研磨仕上げでよく、特殊な鏡面研磨を必要としない。またイオンビームを低角で試料に入射するためダメージの少ない試料の作製が可能となる。特に薄膜作製の前加工ではディンプリング工程が無く、脆く機械研磨が困難な材料や、研磨による歪みが入りやすい材料においても高度な前処理技術を必要とせずに作製可能となった。

SEM用断面試料作製装置(CP)

CP(クロスセクションポリッシャ)



JEOL

TEM用薄膜試料作製装置(IS)

IS イオンスライサ



JEOL