

公益社団法人 日本顕微鏡学会

第 67 回 シンポジウム

合同開催：令和 6 年度 北海道支部学術講演会

予稿集

テーマ

GX に貢献する顕微科学の未来

会期 2024 年 11 月 2 日(土)・3 日(日)

会場 北海道大学大学院工学研究院フロンティア応用科学研究棟
(〒060-8628 北海道札幌市北区北 13 条西 8 丁目)



日本顕微鏡学会 第 67 回シンポジウム

SPL-1

基調講演 1

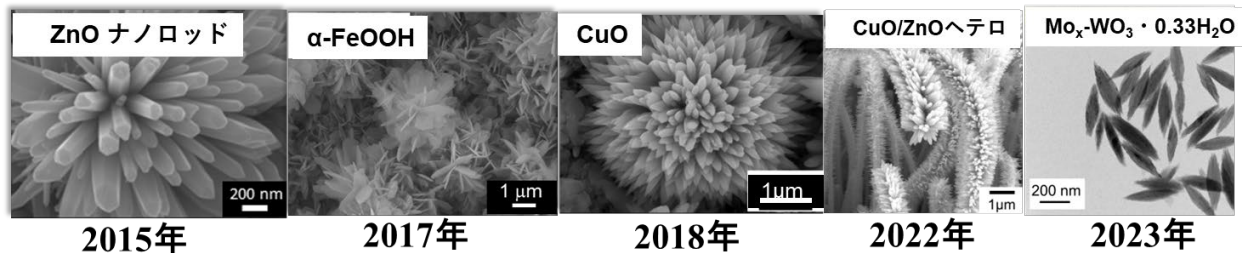
11 月 2 日（土） 13 : 20 ~ 14 : 20

第 1 会場（レクチャーホール）

光誘起効果利用の GX 材料開発研究における電子顕微鏡の役割

渡辺 精一^A,
北海道大学工^ARole of electron microscopy in the development of GX materials
via light-induced effectsSeiichi Watanabe^A^A Graduate School of Engineering, Hokkaido University.

将来を見据えたカーボンニュートラルやグリーントランスフォーメーション(GX)推進を具現化するために、太陽電池や光触媒による太陽光水分解利用水素生成、その他、光を用いる環境発電などの再生可能エネルギー源のための高効率な光エネルギー変換システム創製が渴望されている。こうした革新的な低炭素技術シーズの探索・創出は、国際的な地球規模の重要課題であると同時に、未来社会の変革に向けた産業界のイノベーションによる成長を牽引する役割を果たす。このような背景のもとナノ材料開発分野においても、低環境負荷・持続可能なグリーンテクノロジーに基づく材料創製手法の開発を必要としている。こうした発想の下、これまで発表者の研究グループでは光を利用した機能性ナノ材料開発研究を行ってきた。特に今回紹介する水中結晶光合成法 (SPsC: Submerged Photosynthesis of Crystallites) [1]は、原材料から水と光のみを用いてナノ材料を合成する手法であり、常温・常圧、不要な不純物混入無、さらに中性の水環境条件においても、金属原料からの酸化物ナノ構造体の一括 (One-pot) 作製を可能にする。これにより、太陽光を利用する光機能材料そのものを、太陽光を利用して材料創製を行うという、再生可能エネルギーの生成・利用の GX 化も可能となる。これまでに、以下に示すような各種ナノ結晶の作製を行ってきた。



水中結晶光合成法で作製してきた光機能半導体ナノ構造の電子顕微鏡写真(SEM)

さらには、より高機能化をもたらすマルチ元素のナノ酸化物作製に関しても、金属有機物や塩化物を利用する一般的な従来作製法とは全く異なり、不要な不純物混入の可能性を排除できる。また、通常必要な不純物除去のための高温での煅焼なども経ないでマルチ元素ドープの酸化物作製ができるため、所望の元素添加による化合物半導体作製やヘテロナノ構造作製にも適している。これらの特徴により、紫外-可視光-赤外光にわたる太陽光のすべての波長領域での光エネルギー利用が可能な全太陽光利用の高効率光機能材料開発[2]が期待できるので、太陽電池や光触媒など太陽光利用 GX の推進に貢献する。

本講演では、これまで行ってきた超高压電子顕微鏡を用いた、光誘起効果に関する電子顕微鏡による材料研究も交えながら水中結晶光合成がもたらす GX 材料開発の紹介を行う予定である。

[1] Melbert Jeem, Muhammad Rafiq Mirza bin Julaihi, Junya Ishioka, Shigeo Yatsu, Kazumasa Okamoto, Tamaki Shibayama, Tomio Iwasaki, Takahiko Kato & Seiichi Watanabe, “A pathway of nanocrystallite fabrication by photo-assisted growth in pure water”, *Scientific Reports* 5, 11429 (2015)

[2] Melbert Jeem, Ayaka Hayano, Hiroto Miyashita, Mahiro Nishimura, Kohei Fukuroi, Hsueh-I Lin, Lihua Zhang, Seiichi Watanabe, “Defect driven opto-critical phases tuned for all-solar utilization”, *Advanced Materials*, 2305494 (2023)



日本顕微鏡学会 第 67 回シンポジウム

SPL-2

基調講演 2

11 月 3 日（日） 13 : 00 ~ 14 : 00

第 1 会場（レクチャーホール）

活動依存的シナプス回路発達の分子細胞基盤の解明

渡辺雅彦

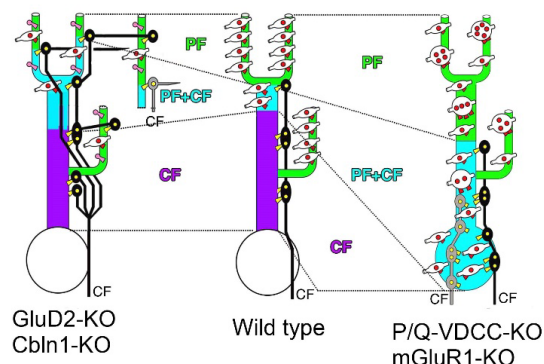
北海道大学大学院医学研究院

Molecular and Cellular Basis of Activity-Dependent Synaptic Circuit Development

M. Watanabe

Faculty of Medicine, Hokkaido Univ.

プルキンエ細胞は小脳情報処理系における中心的なニューロンで、精緻な運動や、練習や訓練による運動の上達や学習を可能にする。この機能発揮のため、プルキンエ細胞の樹状突起の近位部は一本の登上線維（下図のCF）による‘独占的’な強い支配を受け、遠位部は10万本にも及ぶ平行線維（PF）による‘群衆的’な支配を受けている。このシナプス回路の特徴を端的に表現すれば、遠近方向に分離した支配テリトリーと登上線維の単一支配といえる。登上線維支配は、出生時の複数の登上線維による多重支配に始まり、その後の活動依存的なシナプス刈り込みを経て、一本の優勢な登上線維による単一支配が確立する（図中央）。私は、この2つの回路特性の発達分子機構が、「細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇によるシナプス刈り込み」、「細胞外グルタミン酸除去によるシナプス刈り込みの最適化」、「特定の入力線維とのシナプス接着」の3つの制御機構の協同と競合によるものであることを明らかにしてきた。

■細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇によるシナプス刈り込み

通常、細胞内 Ca^{2+} 濃度は $0.1\mu\text{M}$ 程度と、細胞外濃度の1万分の1程度に低く押さえられている。このシナプス刈り込みを駆動するのは、入力線維の活動に伴って起こるシナプス後部の Ca^{2+} 濃度上昇である。プルキンエ細胞には、P/Q型 Ca^{2+} チャンネルと代謝型グルタミン酸受容体 mGluR1 が豊富に発現し、前者が登上線維活動に伴う細胞外からの Ca^{2+} 流入を、後者が平行線維活動の上昇に伴う細胞内ストアからの Ca^{2+} 放出を引き起こす。

P/Q型 Ca^{2+} チャンネルと mGluR1 いずれの遺伝子欠損マウスにおいても、優勢な登上線維による樹状突起の支配力が弱まり、劣勢な登上線維を刈り込まれずに残存して多重支配となるのが第1の表現型である。また、発達初期において平行線維シナプスは樹状突起の全域に渡って形成され、成熟とともに近位部の平行線維シナプスが刈り込まれることも見出した。両者の欠損マウスに共通する第2の表現型は、樹状突起近位部の平行線維シナプスの刈り込みが障害される結果、成熟期でも登上線維と平行線維の支配テリトリーが分離しなくなることである（図右）。これらの表現型から、登上線維活動や平行線維活動に伴う細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を導く分子機構が、樹状突起近位部における優勢な一本の登上線維支配を強化し、その支配領域から余剰な登上線維と平行線維シナプスを刈り込む駆動力になっていることが判明した。

■細胞外グルタミン酸除去によるシナプス刈り込みの最適化

登上線維と平行線維はグルタミン酸という共通の興奮性伝達物質を放出し、シナプス後部のグルタミン酸受容体の活性化し、前述のようなシナプス刈込みを駆動する。シナプス間隙に放出されたグルタミン酸は、グルタミン酸輸送体の働きにより素早く除去され、受容体活性化の時空間的特性を厳密に制限する。プルキンエ細胞のシナプスを取り囲むバグマングリアには、GLAST というグルタミン酸輸送体を豊富に発現し、この除去機能を担っている。

GLAST 欠損マウスにおけるプルキンエ細胞の回路表現型は、P/Q 型 Ca^{2+} チャネル欠損マウスや mGluR1 欠損マウスと共通していた。つまり、細胞外グルタミン酸濃度を低く保つことは、細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇によるシナプス刈込みが神経線維の活動性の違いに応じて適正に制御するための必要条件であることを物語る。例えるなら、細胞外グルタミン酸濃度が上昇するような騒然とした環境下では、大きな声（大量のグルタミン酸を放出する優勢な線維）も小さな声（少量のグルタミン酸しか放出できない劣勢な線維）も雑音の中に埋もれてしまい、その声の大小から発する声の由来すらわからなくなってしまうことと同じである。

■ 特定の入力線維とのシナプス接着

細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇によるシナプス刈込みだけが回路発達の競合原理であれば、活動性の低い入力線維、例えば平行線維シナプスは全て駆逐されてしまいかねない。しかし実際には、遠位樹状突起に 10 万個もの平行線維シナプスが形成されていて、それを媒介しているのが GluD2 によるシナプス接着機構である。

GluD2 は、グルタミン酸との結合能を失い、イオンチャネル機能も持たない奇妙なイオンチャネル型グルタミン酸受容体で、長い間 ‘オーファン受容体（孤児受容体）’と呼ばれてきた。しかし、クローニング時からこの分子が研究者の興味を引いた理由は、その選択的な発現特性にあった。GluD2 の発現特性とは、脳内ではプルキンエ細胞に圧倒的なレベルで発現するという細胞選択性と、平行線維シナプスに局在し登上線維シナプスには局在しないという入力選択性である。GluD2 欠損マウスでは、平行線維との結合を失った樹状突起スパイン（フリースパイン）が樹状突起遠位部に多数出現した（図左）。この入力選択的なシナプス接着機構については、プルキンエ細胞スパイン上の GluD2 と平行線維終末上のニューレキシンとが、Cbln1 という分泌性の補体系分子を介して結合して、シナプス間隙を架橋する接着分子複合体を形成することも解明された。同様のフリースパイン表現型は、Cbln1 欠損マウスでも再現された。

GluD2 欠損マウスでは、登上線維支配にも大きな変化が生じる。樹状突起の遠位部に生じた多数のフリースパインを標的として登上線維支配が遠位拡大し、その拡大支配が周辺のプルキンエ細胞にも及ぶことにより多重支配が頻発した（図左）。この観察結果は、樹状突起の遠位部において平行線維シナプスを確実に形成することが登上線維の単一化に必要であることを示すとともに、分離した支配テリトリーというものが動的平衡により保たれていることを物語る。ここでは、GluD2/Cbln1/ニューレキシンが平行線維シナプス側の強化分子としてその接着を強化して過度な登上線維支配の遠位拡大を防ぎ、P/Q 型 Ca^{2+} チャネルや mGluR1 は 1 本の優勢な登上線維の支配を強化して近位部における平行線維シナプスの刈込みを行う。運動会の綱引きに例えれば、縄の結び目が動かないのは両者の牽引力が均衡しているからであり、一方の引きが弱まれば他方へ向かって結節点が移動するのと同じである。

これまで取り上げてきた 3 種の分子機構は、どの一つが欠損しても分離した支配テリトリーと登上線維の単一支配を完成できなくなることから、これらの機構が協同し競合しあって特徴的な小脳のシナプス回路を発達させていることが明らかになった。

■ 回路発達機構の共通性

げっ歯類の脳皮質の体性感覚野には、バレルと呼ばれる顔面の触覚毛に対応するシナプス回路構築があり、活動依存的な回路発達を調べるよいモデルである。このモデルを用いて、バレルにおけるシナプスの刈込みが細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を媒介する NMDA 型グルタミン酸受容体と代謝型グルタミン酸受容体 mGluR5 が、刈込みの最適化にグルタミン酸輸送体 GLT-1 が関与しており、基本的に同質の分子機構が脳と小脳のシナプス回路発達を共に制御していることもわかってきた。

S-1

CLEM のための
多様なアプローチ

11 月 2 日 (土) 10 : 00 ~ 12 : 00

第 1 会場 (レクチャーホール)

CLEM のための多様なアプローチ

鈴木克之、中村元弘

日本電子株式会社

Diverse Approaches to CLEM

K. Suzuki, M. Nakamura

JEOL Ltd.

1. はじめに

CLEM は Correlative Light and Electron Microscopy の略であり、光学顕微鏡 (LM) で撮影した場所を電子顕微鏡 (EM) で撮影する方法です。LM では、高速に広い範囲を観察できるとともに、明視野・暗視野や微分干渉 (DIC)、蛍光等の観察のバリエーションがあり、EM では得られない色・偏光・蛍光などの情報を得ることができます。また、白色干渉計やラマン分光など、光学技術に応用した計測、分析手法があります。一方、EM では、LM よりも高い空間分解能で観察できるとともに、特性 X 線分析 (EDS) などにより組成成分の情報を得ることができます。

LM と EM のそれぞれの特徴を統合的に活用することにより、効率の向上や新たな機能が生まれるので、産業・材料系やバイオサイエンス系など多くの分野において広く使われるようになりました。特に産業・材料分野では異物などを LM で探したうえで、その異物を EM で高分解能観察し、さらに EDS を用いた元素分析を行うことにより迅速な不良解析が行えるため、広く使われています。バイオサイエンス分野では、様々なタグを用いて特定のタンパク質などに標識を付けることにより LM で分子の局在を観察後、同部位の超微細形態を EM で観察することができるため、近年注目を集めています。

2. リンケージ手法の紹介

CLEM を実現するための、LM と EM で同じ場所を観察するリンケージの手法には、大きく分けて 2 種類あります。LM で取得した画像上の特徴点を EM 画像と一致させることでリンケージを行う、画像リンケージと、LM のステージ座標情報を EM のステージ座標時変換することで、同一箇所を観察を行う座標リンケージです。画像リンケージは、システムの制約がなく、非常にシンプルな構成でリンケージが実現できますが、比較的低倍率の LM 画像を使用する必要があります。リンケージ可能なサンプルに制限があり、位置再現精度も座標リンケージと比較すると劣ります。座標リンケージはサンプルの制限も少なく、高い位置再現精度で LM と同じ個所を EM で観察することができますが、特定の LM と SEM の構成が必要となります。

3. CLEM 実施例の紹介

図 1 にモンシロチョウの鱗粉の観察例を示します。LM により、白黒 2 色の鱗粉のモザイク状の配列が観察されました。同じ場所の SEM 観察を行うと、白黒どちらの鱗粉にも格子状の構造が観察され、さらに格子内を拡大観察すると、白色の鱗粉の格子内のみ突起状の構造が観察されました。このように、LM での色情報と SEM での微細構造を比較することで、効果的な構造解析が行えるようになりました。

図 2 にハードディスク表面の異物の観察例を示します。明視野観察は、ハードディスクやウェハー等の鏡面サンプル表面の微小な異物や傷を観察するには不向きです。一方、暗視野観察は、微細な異物、キズの観察に効果的です。分解能以下の大きさのゴミ、キズも検出できるので、ウェハー等の表面の異物や欠陥の検査によく用いられます。凹凸の極端に少ないハードディスク表面の異物を SEM を用いて探索することは困難でしたが、暗視野で観察することで、明視野では観察できないサブミクロンの異物も検出でき、その部分の SEM 観察も短時間に簡単に行うことができます。

上記の実施例のほかにも、多岐にわたって CLEM が活用されており、使用するサンプルや目的に応じてそれぞれの CLEM 手法を用いることで、電子顕微鏡を用いた研究開発や品質管理の作業効率が格段に向上いたします。

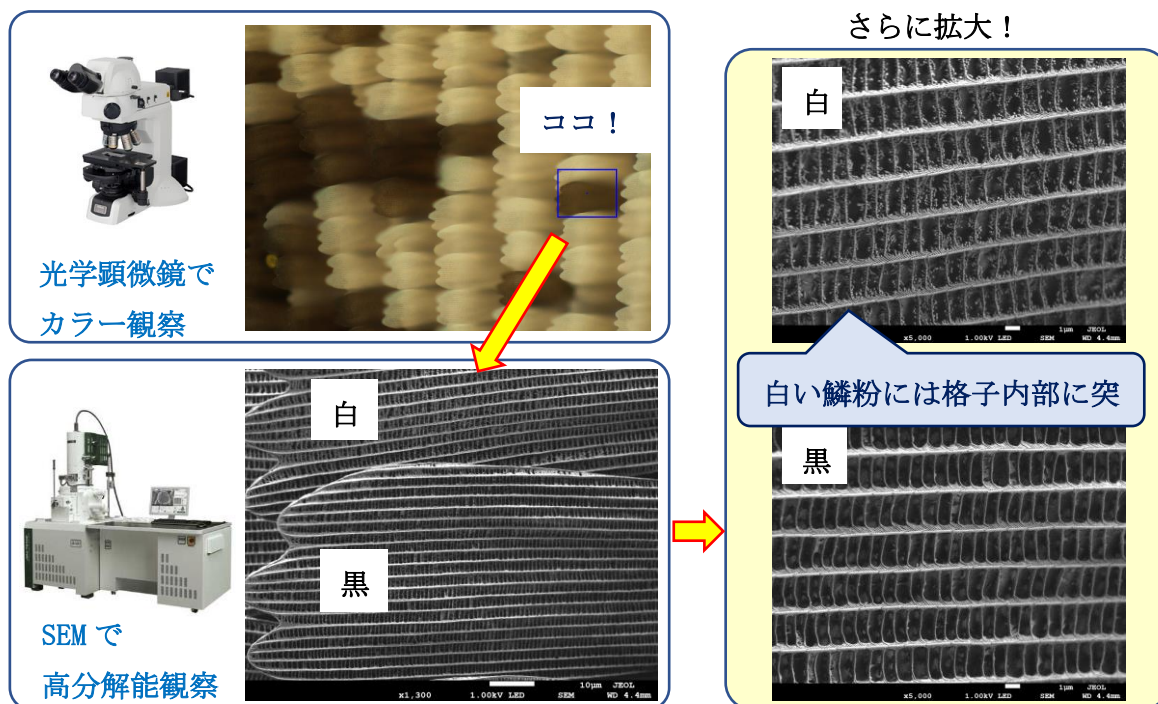


図1 モンシロチョウの鱗粉の観察

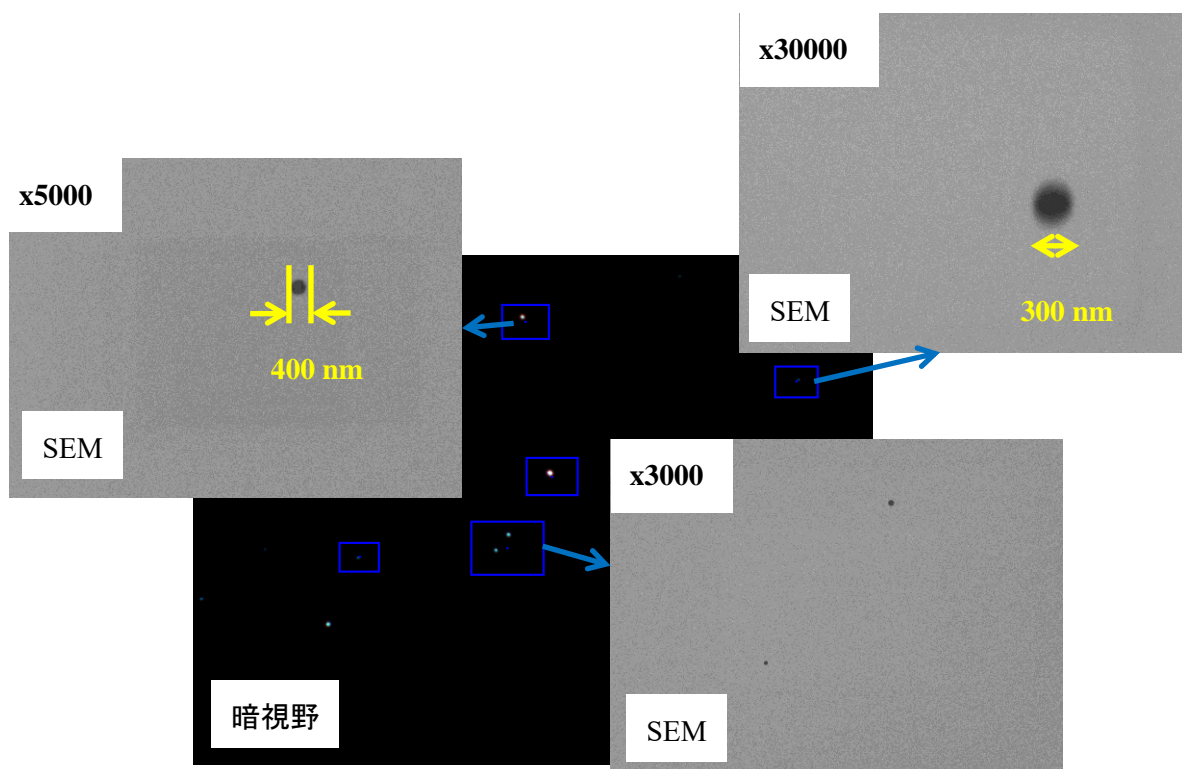


図2 ハードディスク表面の異物の観察

培養細胞のクライオトモグラフィ解析のためのクライオ CLEM の実際

吉川 知志
神戸大院医

Cryo-CLEM for Cryo-ET analysis of cultured cells

S. Kikkawa

Graduate School of Med. Kobe Univ.

クライオ光電子相関顕微鏡法 (Cryo-CLEM) は、クライオ電子線トモグラフィ (Cryo-ET) を用いて、細胞内や分子複合体の複雑な三次元構造をナノメートルレベルで解析するために重要な技術である。Cryo-ET では、試料を急速にアモルファス状態で凍結し、その後、クライオ電顕を用いて傾斜シリーズ画像データを取得する。この方法により、試料が生体に近い状態で保存され、自然な構造の解析が可能となるが、高分解能ゆえに観察部位を正確に特定することが難しい。そのため、Cryo-CLEM は、クライオ条件下で光学顕微鏡によって観察対象を事前に特定し、その後の詳細なトモグラフィ解析を行う手法として重要である。

Cryo-CLEM の実用上の制限としては、固定=凍結後に免疫染色や蛍光標識を施すことができない点がある。通常の CLEM であれば、免疫染色によりサンプル内の目的の構造を蛍光でラベルできるが、Cryo-CLEM ではこれが不可能であるため、別の方法で標的部位を同定する必要がある。培養細胞においては、解析対象となるタンパク質やオルガネラを GFP などの蛍光タンパク質との融合遺伝子発現により標識する。また、実験条件に合致する場合は、Hoechst (核染色) や MitoTracker® (ミトコンドリア染色) といった細胞膜透過性の蛍光ラベルにより、生細胞を標識することも可能である。

培養条件に関して、細胞は金グリッドに適切な細胞外マトリックス (ECM) をコーティングすることにより、通常の培養と同様に生着させることができることが多い。細胞が効率的にグリッドの格子内に配置されるよう、マイクロパターンニング技術を用いることで、特定の領域に選択的に細胞を配置させたり、細胞の形態をある程度コントロールすることも可能である。この技術により、Cryo-ET 解析を効果的に行うための標的領域を事前に確保し、解析の精度を向上させる。

培養した細胞は、急速凍結装置 (Vitrobot や EM GP2 など) を用いて凍結した後、クライオ光顕による撮影を行う。Cryo-CLEM 用の蛍光顕微鏡としては、共焦点蛍光顕微鏡が主流になりつつあるが高価である。一方、ワイドフィールド顕微鏡は感度と速度の点で優位である。いずれの場合も、グリッドの品質チェックなどのための広域像と、ターゲットの位置の特定のための精密画像データを二次元または三次元で取得する。後の電顕像との精密な相関のためには、蛍光ビーズなどのマーカ粒子の使用も有用である。取得した画像データは、次のクライオ電顕の操作ソフトウェアに読み込めるフォーマットで書き出しておく。

このようにして Cryo-CLEM 用データの取得が完了したグリッドを Cryo-ET 解析に進める。Cryo-ET においては試料の厚みが 300 nm 以下である必要があるため、細胞の厚みが大きい場合は Cryo-FIB-SEM を用いて集束イオンビームによりターゲット領域を薄片化する。この工程は、細胞の急速凍結ステップと並んで、最終的な Cryo-ET 試料の良し悪しを左右する重要なステップである。Cryo-CLEM データを基に Cryo-ET で傾斜シリーズ画像を取得する領域を特定する。得られた二次元画像データから三次元構造を再構成する。

ここ 10 数年来、Cryo-ET は細胞オルガネラの機能やシナプス伝達、ウイルス感染など、幅広い生命現象の解析に貢献している。近年では自動化などの技術開発も進んできており、より多様な分野の研究者にこの技術が活用されることが多いに期待される。

徳安凍結切片法とオスミウム浸軟法を組み合わせた免疫蛍光・走査電子顕微鏡 鏡相関観察法

甲賀 大輔
旭川医科大学

Correlative immunofluorescence and scanning electron microscopy by combining Tokuyasu cryosectioning and the osmium maceration method

D. Koga
Asahikawa Medical Univ.

【オスミウム浸軟法】

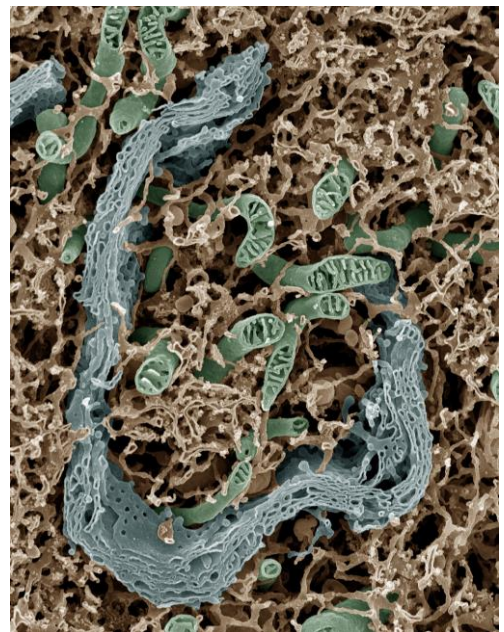
オスミウム浸軟法は、今から 40 年ほど前に、鳥取大学の田中敬一教授のグループによって開発された電子顕微鏡(EM)イメージング法であり、細胞内の微細構造(ゴルジ装置、ミトコンドリア、小胞体など)を走査電子顕微鏡(SEM)で直接観察できる唯一の技法である(Tanaka and Naguro 1981, Tanaka and Mitsushima 1984, Koga and Ushiki, 2006)。この手法では、希薄オスミウム酸液がもつタンパク質破壊効果を利用し、凍結切断した細胞切断面から可溶性タンパク質を溶かし出し、膜成分だけを選択的に残すことで、オルガネラの SEM 観察を可能としている。オスミウム浸軟法により観察される EM 像は、まるで教科書に記載されている模式図のようであり、この手法が開発されたことで、超薄切片の二次元的な観察から想像することしかできなかったオルガネラの三次元(3D)微細構造が解き明かされた。

【オスミウム浸軟法によるゴルジ装置の形態解析】

ゴルジ装置は、細胞内の分泌経路の中間地点に位置し、タンパク質の糖鎖修飾や、適切な行き先への仕分けを担っている。また、ゴルジ装置は、シス槽・中間槽・トランス槽・トランスゴルジネットワーク(TGN)が積み重なった層板構造(ゴルジ層板)から成り、空間的に複雑な構築を呈しているため、切片による二次元的な観察では、その 3D 微細構造は解明できない。そこで私たちは、このオルガネラの形態的謎を解明するため、オスミウム浸軟法によるゴルジ装置の 3D 形態解析を行ってきた (Koga and Ushiki, 2006, 2017, 甲賀と牛木, 2008)。これまでの解析結果から、ゴルジ装置の形態は、細胞種によって多様であること、シス槽は細胞種に依存することなく共通した微細構築を呈すること、また、TGN は、細胞種によって多様な微細形態を示すこと、を明らかにしてきた。

【オスミウム浸軟法の CLEM への展開】

オスミウム浸軟法によるゴルジ装置の形態解析を継続する中で、下垂体前葉細胞が発達した「球状」のゴルジ装置を有することを発見した。ところが、下垂体前葉には少なくとも 5 種類のホルモン産生細胞が存在しており、それらの細胞の同定には、免疫組織化学的手技を用いた形態解析が必要であった。しかし、オスミウム浸軟法は、多量の四酸化オスミウムを使用するため、試料作製時に組織・細胞内の抗原性が失われてしまい、この手法に免疫組織化学的手技を組み合わせることが困難であった。そこで、この重大な問題を解決するため、オスミウム浸軟法と凍結切片切削法(徳安法)を効果的に組み合わせた新たな光・電子相関顕微鏡観察法(CLEM 法)の開発を行った(Koga et al., 2015, 2017, 2024)。こ



脊髄神経節細胞ゴルジ装置の SEM 像
オスミウム浸軟法を用いることで、膜性オルガネラを SEM により直接的に観察できる。ゴルジ槽が積み重なった層板構造を呈するゴルジ装置(青)やミトコンドリア(緑)、小胞体(茶)の 3D 微細構築を撮影した。

日本顕微鏡学会写真コンクール受賞
作品
(日本顕微鏡学会第 63 回学術講演会)

Title : 細胞が魅せる造形美
甲賀 大輔

の手法では、はじめに徳安法に準じて組織の凍結切片(1 μ m 厚)を切削し、目的分子の局在を可視化するため、この切片に蛍光免疫組織化学染色を施す。次に、凍結切片の隣接組織ブロックを解凍後、オスミウム浸軟試料とする。最後に、蛍光免疫組織化学凍結切片とオスミウム浸軟組織ブロックの同視野を撮影することで、蛍光像と SEM 像の相関解析を可能とする。この新規 CLEM 法を用いることで、下垂体前葉細胞を免疫組織化学的に同定した上で、ゴルジ装置を含むオルガネラの 3D 微細形態解析が可能となった。その結果、性腺刺激ホルモン(LH/FSH)産生細胞のゴルジ装置が球体であることを明らかにすることができた。また、本 CLEM 法は、下垂体前葉組織に限らず、多数の細胞が混在する複雑な組織(膵臓のランゲルハンス島、副腎髄質、腸管の散在性内分泌細胞など)においても応用可能である点が特徴である。さらに近年は、徳安法により切削した凍結切片(蛍光免疫組織化学染色切片)を蛍光観察後・樹脂包埋し、さらに超薄切片を切削・EM 観察することで、蛍光(凍結)切片像とその超薄電顕像の CLEM 像とオスミウム浸軟像の相関解析も可能となっている。

本発表では、はじめに、オスミウム浸軟法のプロトコルや、この手法によって観察できるオルガネラについて紹介する。さらに、オスミウム浸軟法と徳安法を組み合わせた CLEM 法についての詳細な手順を解説し、この手法の具体的な応用例についても発表する。

【参考文献】

Tanaka K and Naguro T (1981) High resolution scanning elec-tron microscopy of cell organelles by a new specimen preparation method. *Biomed. Res.* 2: 63–70.

Tanaka K and Mitsushima A (1984) A preparation method for observing intracellular structures by scanning electron microscopy. *J. Microsc.* 133: 213–222.

Koga D and Ushiki T (2006) Three-dimensional ultrastructure of the Golgi apparatus in different cells: high-resolution scanning electron microscopy of osmium-macerated tissues. *Arch. Histol. Cytol.* 69: 357–374.

甲賀 大輔, 牛木 辰男 (2008) 走査型電子顕微鏡によるゴルジ装置の形態解析 顕微鏡 43: 283-286.

Koga D, Kusumi S, Bochimoto H, Watanabe T, and Ushiki T (2015) Correlative light and scanning electron microscopy for observing the three-dimensional ultrastructure of membra-nous cell organelles in relation to their molecular components. *J. Histochem. Cytochem.* 63: 968–979.

Koga D, Ushiki T, and Watanabe T (2017) Novel scanning electron microscopy methods for analyzing the 3D structure of the Golgi apparatus. *Anat. Sci. Int.* 92: 37–49.

Koga D, Kusumi S, Yagi H, and Kato K (2024) Three-dimensional analysis of the intracellular architecture by scanning electron microscopy. *Microscopy* 73: 215-225.

CLEM 観察アップグレード:SEM を用いた最新ワークフロー 太田啓介

Revolutionizing CLEM: Modern Workflows using SEM imaging K. Ohta

Advanced Imaging Res. Center, Kurume Univ. School of Med

Correlative light electron microscopy (CLEM)は光学顕微鏡（光顕）で観察した同じ試料の同じ場所を電子顕微鏡（電顕）で観察することを実現する手法の総称である。CLEM は、日本語で「光-電子相関顕微鏡法」や「光顕電顕相関観察法」とも訳される。このアイデア自体は電子顕微鏡の創成期から存在し、1944年には細菌を光顕・電顕で相関観察した事例が報告されている (Dubin, 1944)。現在、生物分野における CLEM は、主に蛍光顕微鏡で観察したシグナルがどのような構造の上に存在したのか、その周辺にどのような構造が存在するのかを、電顕で相関的に観察しその関係を明らかにするのに用いられる。これにより電顕観察のセレクションエラーを排除し、データの信頼性を高めるとともに、光顕による機能情報と超微形態情報を関連付け、細胞活動の理解を深めることが可能となる。

一方 CLEM の利用範囲は広く、前述のような相関を目的とした生物応用だけでなく、クライオ電顕の標的選定や、生物系以外にも製品中の異物検出などに利用される。標的もタンパクレベルから細胞レベルの大きさまで目的により様々である。したがって広範な対象・目的に対応した CLEM 手法も様々に発展し、これらの技術のいずれもが CLEM と表される。このような多様性のため CLEM という言葉を認知していても、自らの課題に対してどの手法が最適な結果をもたらすのかを判断するのはこれまでは難しい状況にあった。しかし近年、生物系の CLEM において、蛍光顕微鏡と走査電子顕微鏡 (SEM) を組み合わせた観察手法が急速に発達し、より実践的で効率的なワークフローとして整理されつつ。

そこで本講演では、生物系の応用に焦点を当て、これまでの CLEM ワークフローを振り返り、何が技術的な問題だったのかを見直すとともに、最新の CLEM 技術のがそれを解決するポイントであることを事例を紹介しながら解説する。かつて CLEM は、技術的に非常に難しい観察手技の一つとして知られてきた。従来の CLEM は主に光顕と透過型電子顕微鏡 (TEM) との間で相関観察を行っていたが、試料作製の問題と相関観察自体の難しさという2つの問題を抱えていた。試料作製においてトレードオフの関係にある蛍光残存性と形態保持性を、観察条件や結像原理が全く異なる2つの顕微鏡観察で両立するのは難しく、これを回避する方法として、光顕ではバルク試料や厚い切片などを観察し、その後光顕で観察した試料を再固定・脱水・樹脂包埋を行い、そこから超薄切片を作製して電顕観察を行い相関するという手法が多く用いられていた。しかし、この方法は本当の意味で同じサンプルを観察しているわけではなく、時には数百倍も厚さの異なる撮影像の間で相関を行うのは非常に難しかった。したがって、どの様に相関を行うのかという点で多くの工夫が開発され、また CLEM の多様な目的に対応するため、最も重視する所見を優先した結果、様々な試料作製法が開発されていくこととなった。

15年ほど前から、SEM 反射電子像を用いて樹脂包埋試料の切削面や切片を観察し TEM のような組織像を得る技術、また連続切片や連続断面を同様の方法で観察することで、擬似的な3次元構造得る volume EM 法 (SEM-vEM) が発達した。この技術により、従来の CLEM の問題点が大幅に解消され大きな進化を遂げた。SEM の切片観察は、従来の TEM に比べてカバー範囲が広く、ちょうど光顕と電顕両方の観察範囲をスケラブルに解析でき、その分解能は4nmに達するため、広範囲から特定の構造を探し出す CLEM には極めて有益に働いた。特に近年、蛍光色素や蛍光タンパクの一部が電顕用の試料作製後であってもある程度蛍光が残存することが確認され、同時に高感度な蛍光顕微鏡検出器によって超薄切片からの微弱な蛍光を取得できることが実証され、電顕用の切片上で CLEM を行うことが可能になった。この手法 (in-resin CLEM) により従来の相関の困難さが大幅に解消された。

また SEM-vEM と組み合わせることで、バルク試料と電顕像との間の相関も大幅に改善された。我々は、SEM-vEM を用いて組織の3次元構造の解析を進めてきたが、この時、形態のみから細胞種を同定し、その3次元構造を解釈することには難しい場面が多かった。たとえば、マクロファー

ジを従来の組織学的知見から同定できるのはその典型例のみであり、血管周囲に出てきたばかりのマクロファージなどを形態だけで同定することはおそらく不可能である。そのため、従来は複数の実験を重ねて信頼性を上げていくしかなかった。しかし前述の in-resin CLEM を SEM-vEM の一つであるアレイトモグラフィ解析に導入することで、細胞種を確実に同定したうえで、前後の連続切片を用いて3次元再構築していくことができるようになりつつある。この方法は、免疫組織学的に同定された細胞を余談なく形態解析へと繋げられることから、生物系の電子顕微鏡観察が古くから抱えてきた検証し辛いというジレンマを解消する強力な手法にもなる。

さらに、ライブイメージングと SEM-vEM を組み合わせることで、固定直後の状態細胞の時空間的な動きを直接観察することが可能になった(Ohta, 2021)。ミトコンドリア分裂は極めて動的な減少であるが、その瞬間を捉えるためミトコンドリアの分裂に関わる DRP1 に RFP 蛍光タンパクを連結したタンパクを発現する細胞を作製、ライブイメージングを行いつつ特定のタイミングで固定液を加えることで細胞を固定する。その後、画像を確認しミトコンドリア上に RFP シグナルが点状に局在する場所を特定、同じ場所を SEM-vEM で観察することで、ミトコンドリア分裂の動的な現場を捉えることができる。

この様に CLEM は最初の取り組みから 80 年を経て、蛍光観察技術や SEM や SEM-vEM 技術とともに実用的で応用性の高い技術にアップデートしている。そこで演者を含めたメンバーで CLEM を中心とした関連技術の情報共有や技術向上を目的として「多次元相関顕微鏡法研究部会」を日本顕微鏡学会に設置し活動している。CLEM を試みたいがどの手法が適しているのか悩んでいる方は、ぜひこの研究会に参加して CLEM の発展に貢献していただきたいと願っている。

Dubin, I.N. and D.G. Sharp, Comparison of the Morphology of *Bacillus megatherium* with Light and Electron Microscopy. *J Bacteriol*, 1944. 48(3): p. 313-29.

Ohta, K., et al., Correlation of organelle dynamics between light microscopic live imaging and electron microscopic 3D architecture using FIB-SEM. *Microscopy (Oxf)*, 2021. 70(2): p. 161-170.

S-2

X 線顕微鏡と電子顕微鏡の
融合：原子力から宇宙まで

11 月 2 日（土）10：00～12：00

第 2 会場（セミナー室）

**JAEA 専用ビームライン SPring-8 BL23SU における
走査型透過 X 線顕微鏡の開発と核燃料模擬試料への適用**
芝田 悟朗^A, 矢板 毅^{A,B}, 吉田 健太^C, 小無 健司^C, 有田 裕二^D
JAEA^A, QST^B, 東北大^C, 福井大^D

**Development of scanning transmission x-ray microscope at JAEA beamline
SPring-8 BL23SU and its application to simulated fuel materials**
G. Shibata^A, T. Yaita^{A,B}, K. Yoshida^C, K. Konashi^C, and Y. Arita^D
^AJAEA, ^BQST, ^CTohoku Univ., ^DUniv. of Fukui

1. 緒言

日本原子力研究開発機構(JAEA)は、大型放射光施設 SPring-8 RI 実験棟において硬 X 線(BL22XU)および軟 X 線(BL23SU)の 2 本の専用ビームラインを運用している。この度 JAEA では、福島第一原子力発電所の廃炉作業に資するための放射性物質の分析手段として、RI 実験棟内の BL23SU に走査型透過 X 線顕微鏡(STXM)装置を設置・整備した。本講演ではこの STXM 装置の概要と、実際の測定例として核燃料の模擬試料である Zr-Y₂O₃ 薄膜の分析を行った結果を紹介する。

2. 実験結果

BL23SU では 400~1900 eV の光エネルギーの軟 X 線を利用することが可能であり、酸素・窒素・ランタノイド・アクチノイド・3d/4d 遷移金属を含む幅広い元素が研究対象になる。特にウラン N_{4,5} 吸収端 (730~780 eV) を利用できるため、核燃料をはじめとする原子力材料の研究に適している。

本 STXM 装置では、フレネルゾーンプレートを用いることで数十 nm 程度の空間サイズまでの集光が可能である。テストパターンを用いた空間分解能評価では、最高で 30 nm の空間分解能を達成した。

実際の研究例として、本講演では、UO₂ と Zr の超高温での溶融反応を模擬した試料として、集束イオンビーム(FIB)加工によって薄片化した Zr-Y₂O₃ 試料について STXM 測定を行った。O 1s 吸収端 (~530 eV) において、図 1 のように明瞭な観察像を得ることができた。また、図 2 に示すように、O 1s 吸収スペクトルは粒界付近でピーク強度比および位置が変化するような位置依存性を示した。参照スペクトルとの比較によると、これは Zr/Y 組成比の空間的変調を反映したものと推測される。

本研究は文部科学省の原子力システム研究開発事業 JPMXD0223813709 の助成を受けたものです。また本 STXM 装置の設計開発および立ち上げにあたり、竹田幸治、福田義博、Tolek Tylliszczak の各氏に心より感謝申し上げます。

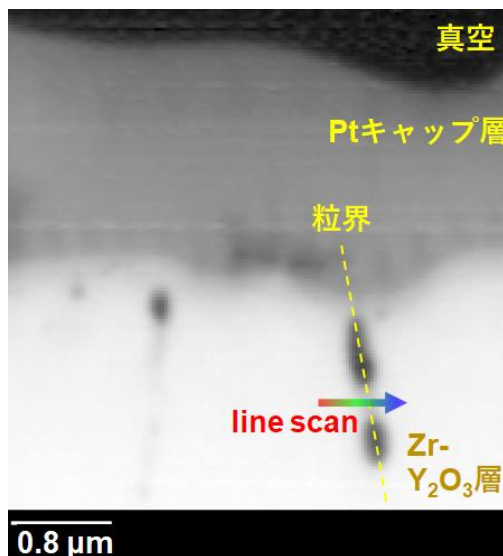


図 1: Zr-Y₂O₃ 薄片試料の
O 1s 吸収端における STXM 観察像

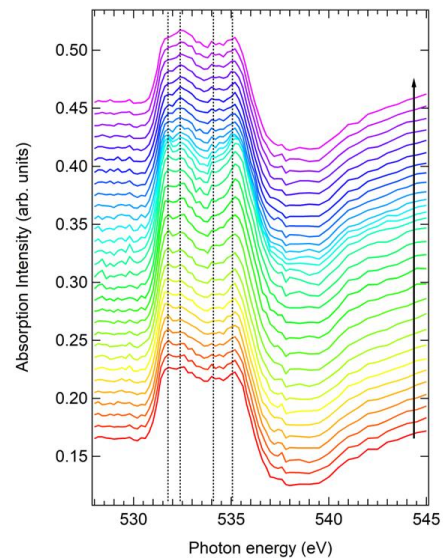


図 2: 図 1 の矢印線上における
O 1s 吸収スペクトルの line scan

磁区構造分析から探る小惑星リュウグウで起こった初期太陽系イベント

木村 勇気

北海道大学低温科学研究所

Early Solar System Events on Asteroid Ryugu Approached from Magnetic Domain Structure Analysis

Yuki Kimura

Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University

我々は、C型小惑星「リュウグウ」から持ち帰ったサンプルに含まれているマグネタイトと磁硫鉄鉱に注目し、その磁区構造を電子線ホログラフィーにより分析した。マグネタイトは、太陽系形成の初期段階における小惑星の水質変質の主要な生成物として、炭素質隕石中に普遍的に存在しており、残留磁化の主要な担い手であると考えられている。一方、同時期に形成したはずの磁硫鉄鉱は顕著な残留磁化を示さない。我々の分析から、その違いは磁区構造の安定性の違いに起因していることが明らかになった。その結果、マグネタイトも磁硫鉄鉱も、小惑星内部で水質変質が起こった際に同時に形成しても良いと結論付けられた。

小惑星から持ち帰った試料には、隕石に比べて小惑星表面に存在していた粒子の割合が圧倒的に大きい。そのため、リターンサンプルを分析することで、宇宙風化の痕跡から惑星間のプロセスを詳細に理解できる可能性がある。我々は、マグネタイトの宇宙風化に注目した。その結果、磁区構造を持たないフランボイドと、その周囲に渦状磁区構造を持つ鉄の微小な粒子を多数発見した。計算の結果、この組織はミクロンサイズの宇宙塵が秒速 15 km という高速で衝突した結果であると結論付けた。はやぶさ 2 が回収した試料のほとんどは小惑星表面から採取したものであることから、我々の分析結果は、残留磁化の起源を正確に解釈するためにはマグネタイトが宇宙風化の影響をどの程度受けているかを理解することが重要であることを示している。

講演では、これらの分析結果を元に初期太陽系内で起こったイベントについて議論する。

STXM の超ウラン元素分析への応用と NanoTerasu での最近の成果
 矢板 毅^{A,B}, 芝田 悟朗^B, 竹田 幸治^B, D. K. Shuh^C, Tolek Tyliczszak^C, 中村 哲也^D
 QST NanoTerasu 総括事務局^A, JAEA/SPring-8^B, LBNL^C, 東北大学^D

**Application of STXM to the analysis of transuranium elements
 and Recent results using NanoTerasu**

T. Yaita^{A,B}, G. Shibata^B, Y. Takeda^B, D. K. Shuh^C, Tolek Tyliczszak^C and T. Nakamura^C
^ANanoTerasu Secretariat, ^{QST}, ^BMaterials Sciences Research Center, JAEA, ^CLawrence
 Berkeley National Lab., ^DTohoku Univ.

本講演では STXM の応用先として U, Pu, Am, Cm などのウラン及び超ウラン元素を含む材料の測定および R6 年 4 月に運転を開始した NanoTerasu の現状と STXM の測定例について紹介する。

STXM について

走査型透過 X 線顕微鏡 (STXM) は、電子顕微鏡と比較すると空間分解能ではまだ及ばない。一方で、均一、不均質の状態を問わず、物質中における元素の種類・分布さらにはその電子状態の分析を行えるため、その応用先は、機能性材料評価、基礎物理・化学・生物、地球・環境科学など広い範囲に渡る。また、電子状態解明においては測定対象とする元素に固有な吸収端付近の電子状態を観察するため、元素選択的であり、軟 X 線から硬 X 線領域に跨がる様々な情報を得ることができ、試料損傷の程度も電子線よりは影響が小さいなどの利点もある。近年その有用性が認識され、電子顕微鏡と相補的なツールとして世界の放射光施設に STXM の設置が進んでいる。我が国においても PF や分子研などいくつかの施設に STXM が設置されているが、SPring-8 JAEA ビームライン 23SU にも、STXM が設置された。本装置は、米国ローレンスバークレー国立研究所 (LBNL) との共同製作で、設計は LBNL、製作およびコミッシングは JAEA が実施する形で導入され、放射性物質を含む多様な材料科学への応用が期待されている。スペック等に関しては、芝田の講演に譲る。本装置は、レアメタルの回収のための抽出剤開発、アクチノイド科学、機能性材料の物性、あるいは福島第一原子力発電所の廃炉研究など多様な研究が計画されている。現在は国際規制物質としてウランのみが測定可能であるが、将来的には核燃料物質の測定についても期待しているところである。また、NanoTerasu は、令和 6 年 4 月にその運用を開始した第 4 世代放射光施設である。NanoTerasu においても STXM の利用が開始されはじめており、先端的な光を得ることによってその利用は今後益々高まるものと思われる。

講演概要

本講演においては、STXM のアクチノイド化学への応用を中心に紹介する。アクチノイドは、ランタノイドと同様周期表の欄外に記載されている f 軌道充填系列元素であり、ランタノイドとはその化学的性質が Am 以降の元素において大変類似していることが知られている。これらの元素は、ウランまでは天然に存在する元素ではあるが、ウラン以上の重い元素は、原子炉などの多重中性子捕獲などで生成される。アクチノイドは、U, Pu などは原子力発電の燃料として利用され、その燃料の状態分析などに、また放射性廃棄物の処分においては、環境挙動の研究で STXM の利用が行われている。また、一般産業での利用は、すべてが放射性核種であるため原子力発電以外で利用されることは殆ど無かったが、 α 放射体として、その放射線としての特性を活かして、近年核医学の分野で短寿命 Ac-225 の利用などや、また土星探査機のカッシーニの動力源として原子力電池として利用されている。また、STXM の利用としては、核不拡散の観点から核鑑識などの分野でもその応用が進められている。

NanoTerasu は、日本初の第 4 世代放射光施設であり、新しいラティスの採用など低エミッタンス、高コヒーレンスな良質な X 線を発する放射光施設であり、SPring-8 の得意とする X 線領域とは相補的な軟 X 線領域に強い放射光施設である。この中でコアリションビームラインである BL14U では、STXM が設置されており、Nd 磁石の特性解明および隕石の分析などの成果が既に公開されている。本講演ではこれらの測定例についても紹介する予定である。

走査型透過 X 線顕微鏡を使った 「はやぶさ 2」リターンサンプル分析への挑戦

山下 翔平

高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所

Challenges in Analyzing Hayabusa2 Return Samples Using Scanning Transmission X-ray Microscopy

S. Yamashita

Institute of Materials Structure Science, High Energy Accelerator Research Organization (KEK)

小惑星探査機「はやぶさ 2」がオーストラリアの砂漠に落下させた小惑星リュウグウのかけらは、現在も世界中の多くの研究者によって分析されている。回収されたカプセル内のリュウグウ試料は約 5 g であり、宇宙航空研究開発機構 (JAXA) によって詳細な調査が行われた後、その一部は「はやぶさ 2 初期分析チーム」に託された。この初期分析において、KEK のフォトンファクトリー (PF) による放射光実験が重要な役割を果たしている。PF では、軟 X 線を用いた走査型透過 X 線顕微鏡 (STXM) を開発しており、ミクロな領域における物質中の元素情報や原子の化学状態の情報がマッピング画像として観測・分析可能である[1]。本講演では、リターンサンプルであるリュウグウの分析に貢献した PF の STXM について紹介し、初期分析チーム内で PF を活用した「石の物質分析チーム」や「固体有機物分析チーム」の取り組みについて、装置や測定環境を中心に述べる[2,3]。

また、最近では従来の透過法による STXM に代わる新たな分析手法の開発も進んでいる。PF BL-19A では新たに蛍光収量法および転換電子収量法による顕微分光法を採用・導入し、複数の分析手法による同時分析を可能としている。さらには、リュウグウの分析にも活用した嫌気性試料の観察が可能な大気非暴露搬送システムや濡れた試料の分析のための環境システムなど、様々な *in-situ* 環境の整備を進めている[4,5]。本講演では、多種多様な分析を目的とした STXM やその研究例、軟 X 線 XAS に関する最近の成果、*in-situ* 測定システムや新たに導入したマルチ分析手法についても紹介する。

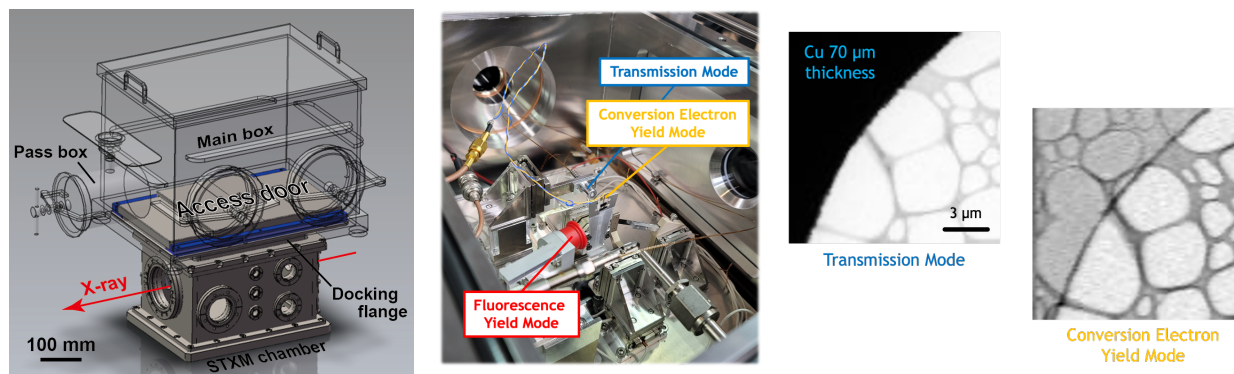


図 1. 大気非暴露搬送システムの概略図 (左) およびマルチ分析手法の装置 (中央) と取得データの一例 (右)。

- [1] Y. Takeichi et al., *Rev. Sci. Instrum.*, **87**, 013704 (2016).
- [2] T. Nakamura et al., *Science*, **379**, 787 (2023).
- [3] H. Yabuta et al., *Science*, **379**, 790 (2023).
- [4] N. Noda and S. Yamashita et al., *Minerals*, **11**, 1244 (2021).
- [5] S. Yamashita et al., *AIP Conf. Proc.*, **2990**, 040009 (2023).

S-3

Network Tele-Microscopy の 実際：遠隔操作と共有利用

11 月 2 日（土）10：00～12：00

第 3 会場（SDGs オアシス）

遠隔操作・遠隔観察に向けた電子顕微鏡用ソフトウェア開発

伊野家 浩司

アメテック株式会社 ガタン・エダックス事業部

Development of software for electron microscopes to the remote operation and observation process

K. Inoke

AMETEK Co., Ltd. Gatan / EDAX business unit

[はじめに]

電子顕微鏡は、平行照射した電子線が試料と相互作用することにより得られるコントラストを利用した透過像の観察に加えて、電子線を静電、電磁レンズで絞ることによって得られるナノスケールの電子ビームで試料上を走査し検出される信号を利用した走査透過像の観察も可能である。さらに、この微小電子ビームを制御し試料上の分析を行いたい領域に照射し得られる信号を適切な分析装置を用いて検出することで、試料の微小領域からの組成や化学情報が得られる。

この優れた観察、分析能力を広く活かすために、システムを遠隔地や時間外においてもアクセス可能とする遠隔操作や遠隔観察技術への要望が高まっている。

遠隔操作はあらかじめ試料を遠方から装置のある拠点に送付しておき、観察、分析の操作を離れた場所から行う。一方、遠隔観察は遠隔操作の一部ではあるが、操作そのものは遠隔地からは行わず、観察、分析結果のみを遠隔地から共有し評価することで研究の効率化が実現する。

[電子顕微鏡の遠隔操作、遠隔観察に求められるソフトウェアの機能とは]

現在、リモートデスクトップ機能を提供する様々なシステムが市販⁽¹⁾されており、認証方法などそれぞれ独自の特長を備えている。これらのシステムは基本的に接続元から接続先のひとつの端末に接続した上で遠隔操作を実現している。

一方、電子顕微鏡においては、電子顕微鏡本体を制御するためのコンピュータ、またそれぞれの分析機器を制御するためのコンピュータが独立して存在している。そのため、電子顕微鏡本体とそれぞれの分析機器を操作するためには、リモートデスクトップ機能を介して複数のコンピュータに接続する必要が生じてしまう。これは異なる観察、分析手法間の切り替え操作を煩雑にするだけでなく、遠隔操作、遠隔観察の環境そのものが複雑化するため望ましくない。

そこで、窓口となるコンピュータとソフトウェアを集約し、そこからその他のコンピュータへと接続することで効率的なシステムを構成することが可能となる。また各システムとお互いに通信を行うことで、異なる分析機器から得られる試料からの情報を統合することも可能となる。結果として、新たな知見を導くことが可能なマルチモーダルデータの取得が実現される。

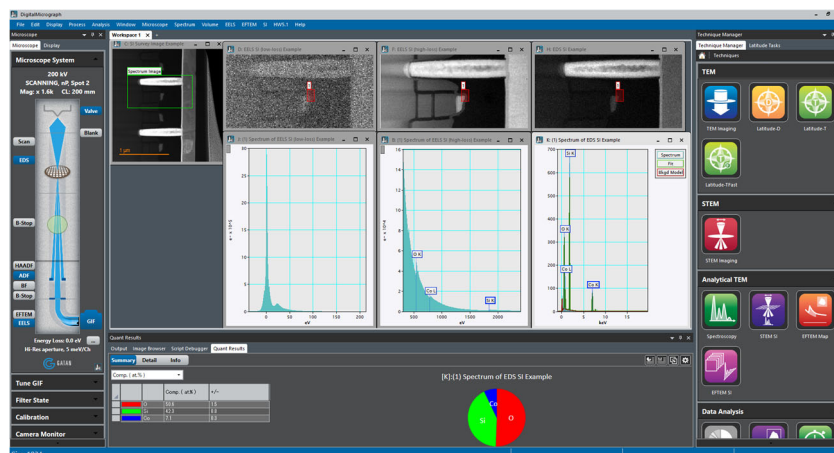


Fig.1. Software layout showing microscope status (Left), user interface (Right), and acquired and processed data (Center) in Gatan DigitalMicrograph software.

Gatan 社製 DigitalMicrograph ソフトウェアの場合、電子顕微鏡本体のステータス表示、像観察、分析機器から得られたスペクトルなどのデータ表示、およびそれらの操作を行うインターフェイス部から構成されている(図 1)。特に電子顕微鏡との通信においては、電子顕微鏡メーカー毎に通信プロトコルが異なり、また同一メーカーにおいても装置の型式、ハードウェア構成が異なるなど様々なバリエーションが生じることになり、装置前における操作では問題とならないような点に対しても対応が必要となる。そのため装置に応じた通信プロトコルが求められ、それらが適切に動作することで機能が集約されたコンピュータから目的とする電子顕微鏡の設定情報の入手と基本操作が実現される。

また実際の操作においては、例えば透過像観察においては試料を挿入後、視野探し、ステージの高さ調整、必要に応じて対物レンズアライメント、非点補正、焦点合わせなど、最終的な像記録の前にさまざまな予備作業が必要となる。実機前での観察と同等の時差のない操作と像観察が遠隔地から実現できれば理想的ではあるが、実際には実現可能な通信速度は様々な要因によって左右されるため同レベルの反応速度は達成出来ないことが多い。ネットワーク速度が遅い場合には、操作とその後の像の変化などのフィードバックが得られるまでの一連の作業の速度も低下するため、実用上の遠隔操作、遠隔観察の障害となってしまう。

そこで先述の予備作業の自動化が実現されれば、遠隔地からの操作者は調整結果の評価に対してのみ注意すれば良く、遠隔操作の効率を大きく向上させることが出来る。

その他にもスクリプティング機能を用いて、日常操作以外の自動処理を組み込むことも可能となっており、より複雑な繰り返しを伴う作業も容易となっている。

最後に装置で取得したスペクトルや像のデータをローカルに保存しその後転送、または直接遠隔地に保存する際には、ネットワークへの負荷を抑えるため最適なデータサイズのフォーマットを選択することも必要であり、結果的に良好な遠隔操作、遠隔観察の環境実現に繋がる。

[まとめ]

電子顕微鏡の遠隔操作、遠隔観察は、ネットワークインフラストラクチャの拡充と共にその実用性が高まっている。しかしながら、広帯域の専用線を用いた高速ネットワークを利用することが理想的ではあるものの、それに伴うコストも非常に大きくなる。そのため、通信速度、セキュリティなど目的に応じた最適化を行って、効率的なシステム利用を実現するソフトウェアの開発が必要になっていくと考えられる。

[参考資料]

1. 無料のアプリケーションの例としては

Chrome リモートデスクトップ (<https://remotedesktop.google.com/>)

Microsoft リモートデスクトップ (<https://apps.microsoft.com/>)

TeamViewer (<https://www.teamviewer.com/>)

AnyDesk (<https://anydesk.com/>)

有償のアプリケーションの例としては

RemoteView (<https://help.rview.com/>)

SplashTop (<https://www.splashtop.co.jp/>)

MagicConnect (<https://www.magicconnect.net/>)

などがある。

学内、社内の認定外のアプリケーション使用時には、IT 部門への事前相談を推奨します。

産総研における電子顕微鏡遠隔操作の現状と課題

越野雅至^{A,C}, 佐藤雄太^{A,C}, 千賀亮典^{A,C}, 林永昌^{A,C}, 古賀健司^A

神内直人^{A,B}, 渡邊宏臣^B, 榊原圭太^B, 末永和知^C

産業技術総合研究所ナノ材料研究部門^A, 産業技術総合研究所機能化学研究部門^B,
大阪大学産業科学研究所^C

Current situation and challenges for remote TEM operation in AIST

M. Koshino^{A,C} and Y. Sato^{A,C}, R. Senga^{A,C}, Y.C. Lin^{A,C}, K. Koga^A,

N. Kamiuchi^{A,B}, H. Watanabe^B, K. Sakakibara^B, K. Suenaga^C

^ANMRI AIST, ^BRISC AIST, ^CSANKEN, Osaka Univ.

未来の社会で必要とされる技術をバックキャストする形での研究課題設定が求められるようになって久しい。産総研では、高速通信網の整備や電子顕微鏡の各種要素技術開発を行い「遠隔操作や自律制御により誰とでもつながる計測」を目指した技術開発に取り組んでいる。本講演では、産総研材料化学領域における電子顕微鏡遠隔操作の現状と課題についての近況を紹介する。

Society 5.0 では、人、モノ、サービスなどがフィジカル空間とサイバー空間で高度に融合した社会を目指している。それと同時に世界で達成目標が設定されているカーボンゼロエミッションや、持続可能でエコシステムな社会を実現するために、環境・資源・エネルギー・エレクトロニクス・創薬・医療など様々な分野で、高機能化や省エネルギー化に資する材料や素材の開発が重要になってきている。これら材料開発において、原子レベルでの原因究明ニーズを満たすには、高性能走査/透過型電子顕微鏡 (S/TEM)、エネルギー分散型分光法 (EDS)、エネルギー損失分光法 (EELS)、4D-STEM、Tomography、などの高度な計測評価技術から得られる情報が有益であるが、誰でも気軽に用いられる技術にまではまだ昇華されていない。例えばこれまでの電子顕微鏡では、計測、評価解析、試料作製それぞれのフェーズで様々な課題があり、これらを克服し高速な材料開発サイクルへとシフトする必要がある (図1)。

特に、計測のフェーズでは、地域、資本による制約や特殊技術の承継が困難、といった課題がこれまで存在したが、近年高速通信網が整備され、さらに Virtual Network Client や USB 仮想化環境を取り入れた実用的な遠隔操作システムを構築することで新しいスタイルの研究が可能となった (図2)。

2016 年頃に産総研つくばセンターで導入した電子顕微鏡遠隔操作システムは、大阪大学産業科学研究所 (産研) との共同研究や大学講義などの教育現場でも活用されている。一方 2023 年に AIST 中

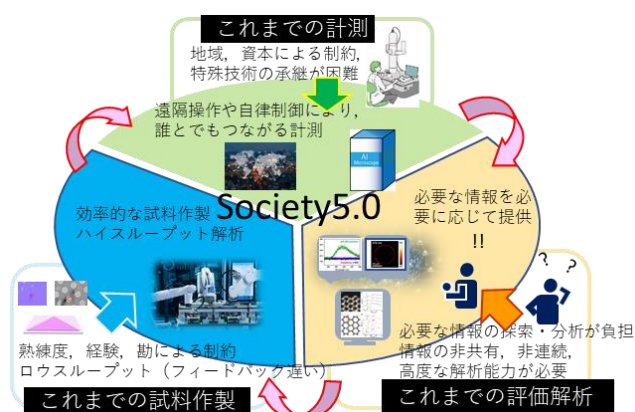


図1. Society 5.0 で目指す原子レベル計測評価技術。これまでの計測、評価解析、試料作製の技術課題を革新的技術開発により克服し、高速な材料開発サイクルを実現する。



図2. AIST 材料化学領域大規模ネットワークと大阪大学-AIST との電子顕微鏡遠隔操作

国センターに導入された電子顕微鏡は、経産省が推進する Material Process Innovation Platform (MPIP) を構築する装置群の一つである。天然由来のセルロースナノファイバー(CNF)材料の高機能化メカニズムの解明をはじめとして有機材料やポリマーの解析に特化した研究に利用され、遠隔操作を通じて高度な解析が利用できる環境が整備されている。

過去 2017 年に産総研はサイバー攻撃を受けてシステムが数ヶ月に渡り停止した^[1]ため、情報セキュリティの担保が最優先される傾向がある。遠隔操作などの利便性を向上させる一方で、情報機器のセキュリティを確保するなど、運用上の課題も多く存在する。ゾーン導入などこれまでの教訓を活かし、研究におけるアクセルとブレーキを上手に使い分けた研究開発が今後益々重要となる。

[1] 産総研「[産総研の情報システムに対する不正なアクセスに関する報告](#)」(2018/7/20)

最新の収差補正走査透過型電子顕微鏡の遠隔操作とリモート観察

大多 亮^A, 谷岡 隆志^A, 横平 綾子^A, 大久保 賢二^A,
 坂口 紀史^{A,B}, 中川 祐貴^{A,B}, 渡辺 精一^{A,B}, 柴山 環樹^{A,B}
 北海道大学複合量子ビーム超高圧顕微解析研究室・遠隔操作 (デモ)^A
 北海道大学大学院工学研究院^B

Remote operation and observation of Cs-corrected scanning transmission electron microscope

R. Ota^A, T. Tanioka^A, R. Yokohira^A, K. Ohkubo^A, N. Sakaguchi^{A,B}, Y. Nakagawa^{A,B},
 S. Watanabe^{A,B} and T. Shibayama^{A,B}

^A*MQB-HVEM laboratory, Hokkaido University*, ^B*Faculty of Engineering, Hokkaido University*

電子顕微鏡の遠隔操作やリモート観察は、放射性物質などの取り扱いが難しい物質の観察や高分解能観察で問題となる環境因子を取り除くため、コロナ禍前から様々な取り組みがなされていたが、初期費用が比較的高いことに加えてインターネットを経由した場合の遠隔操作の遅延やどのリモート観察のソフトを利用すれば遅延なく高精細に観察出来るかなど解決すべき問題は多かった。ところが、コロナ禍で在宅勤務とオンライン会議システムが一気に復旧したことにより、オンライン会議システムを利用するリモート観察は、在宅勤務やオンライン会議で使用している PC を流用すれば良く、遠隔操作システムも専用のシステムだけでなく装置の操作を司っている PC にリモートログインして遠隔操作することにより比較的容易に行えるようになった。しかしながら、遠隔操作には電子メールのウイルス対策のようなソフトが入っているとうまく動作しなかったりする問題もある。また、外部機関とインターネットを介して接続する場合は VPN (Virtual Private Network) 接続を構築する必要がある場合がある。しかし、VPN 接続を構築しても機関によってはネットワークセキュリティの関係から接続できない場合もあるので今後の検討課題である。

そこで、北海道大学の複合量子ビーム超高圧顕微解析研究室においてコロナ禍の文部科学省の支援事業で整備し、現在、本学のオープンファシリティ事業や文部科学省の ARIM 事業を通じて、学内外の研究者に広く利用していただいているオンライン会議ソフト (Cisco 社 Webex) を利用したリモート観察と電子顕微鏡室にいる人とのコミュニケーション並びに収差補正走査透過電子顕微鏡室にいるかのようにシンポジウム会場で遠隔操作 (FEI 社 Titan の専用システム) することを体験していただくことを企画しました。現在、遠隔操作やリモート観察の導入を検討している方だけでなく、リモート観察や遠隔操作が今後も広報活動や理科教育の一助となれば幸いです。



図 1. 光ケーブル通信の収差補正 STEM の操作室 (左)、遠隔操作可能操作パネル (右)

北海道の遠隔医療
東 幸彦^A
北海道保健福祉部地域医療推進局長^A

Telemedicine in Hokkaido
Y. Azuma Senior Director^A

^A*Department of Health and Welfare Bureau of Regional Medical Service Promotion ,
Hokkaido Government*

全国を上回るスピードで人口減少や高齢化が進行する中、一人ひとりが豊かで安心して住み続けられる地域をつくっていくためには、人口構造や医療ニーズの変化を見据えつつ、それぞれの地域の医療課題に的確に対応し、将来にわたって持続可能な医療提供体制を構築していくことが重要です。

広大な面積を有し、医療資源の偏在が著しい本道では、限られた医療資源を有効に活用する観点から、がんや脳卒中といった疾病、救急や周産期医療などの事業及び在宅医療それぞれについて医療連携体制の構築を図ってきており、本年3月に策定した「北海道医療計画」では、医療分野のデジタル化の促進を図っていくため、遠隔医療の導入支援やICTを活用した医療機関の勤務環境改善、また、市町村・医療関係者の方々に対する医療Ma a Sなど先進事例の提供にも取り組むこととしております。

本講演では、遠隔医療の現状や取組等を紹介させていただきます。

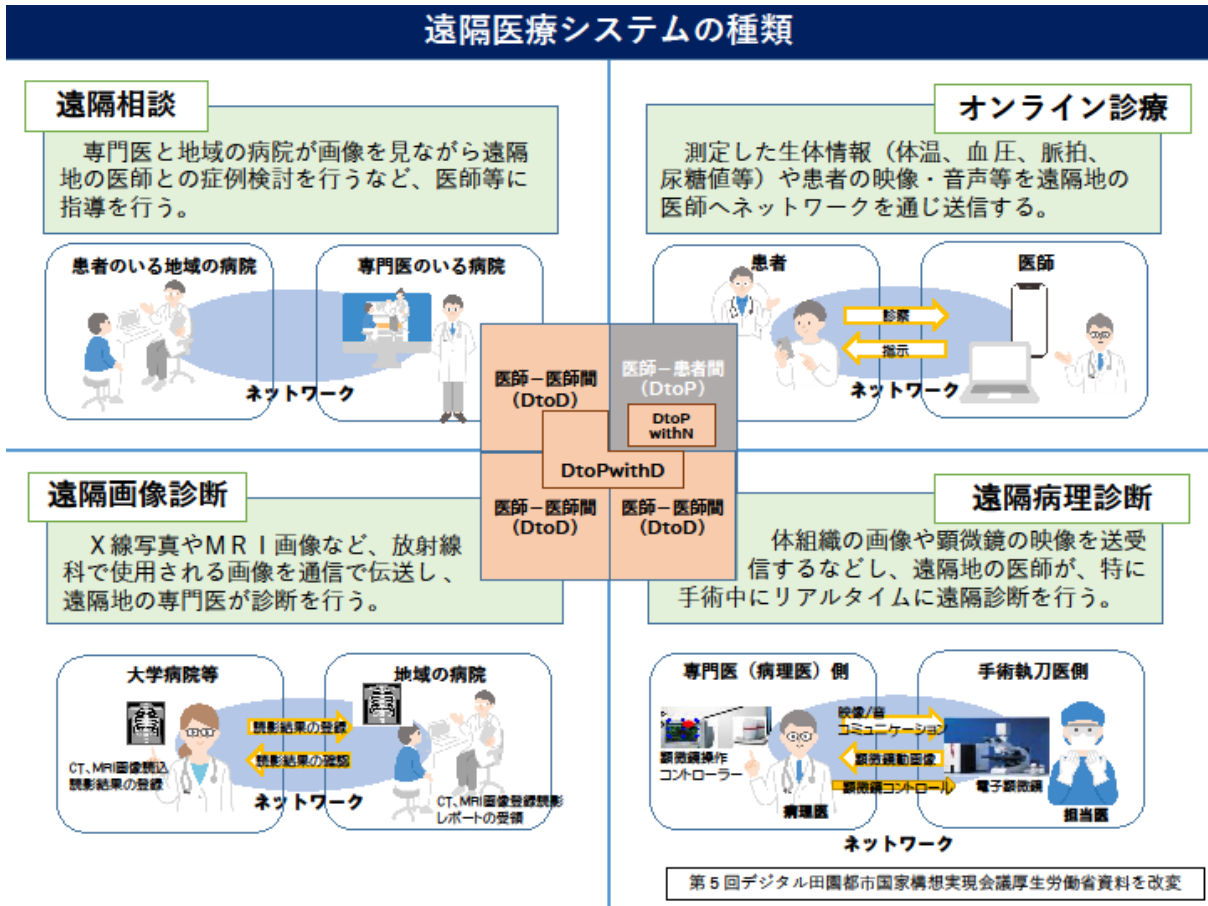
■遠隔医療の促進

現 状

- 遠隔医療は、様々な形態がありますが、令和2年10月1日現在、道内では、遠隔画像診断を74病院（病院全体の13.5%）、遠隔病理診断を9病院（同1.6%）が導入しています。また、診療所では、遠隔画像診断を60診療所（診療所全体の1.8%）、遠隔病理診断を11診療所（同0.3%）が導入しています。（図1参照）
- 本道は、面積が広大で、また、山間地や離島を有し、地域間で医療資源に格差があることから、へき地医療や在宅医療にとどまらず、少子高齢化が進行する中、地域で難病やてんかんなどの専門的な医療を確保する上で遠隔医療システムを活用した地域医療の確保が期待されています。
- 本道においては、医育大学や専門医のいる医療機関と地域の医療機関との間をネットワークで結び画像診断の支援が行われています。また、従来の遠隔画像診断や病理診断システムのような専門で高額な機器を整備せずともセキュアな通信が確保されたスマートフォン等アプリなどによって、安価にTV会議システムを導入できるようになっており、救急医療の場面ででの活用が増えています。
- 道においては、専門的な医療機関と地域の医療機関とを結ぶシステムの導入や専門医が地元かかりつけ医等に行う指導・助言（Dt o D）のほか、医療機関と在宅患者との間の遠隔医療に対する取組を支援しています。
- コロナ禍を経て、オンライン診療の拡大が図られ、へき地等における「医師が常駐しないオンライン診療のための診療所開設」の特例等、国による制度改正の動きがある中、医療Ma a S等、ICT技術を活用した新たな取組など、遠隔医療を取り巻く環境が大きく変化しており、適切な支援が必要となっています。

（「北海道医療計画（令和6年3月）」から関係部分を要約して抜粋）

図 1



S-4

シナプス膜分子のナノドメイン 構造とシナプス伝達調節の分子 機構

11 月 2 日（土）14：30～16：30

第 1 会場（レクチャーホール）

発達期マウスプルキンエ細胞における 「勝者」 登上線維シナプスの分子解剖学的強化

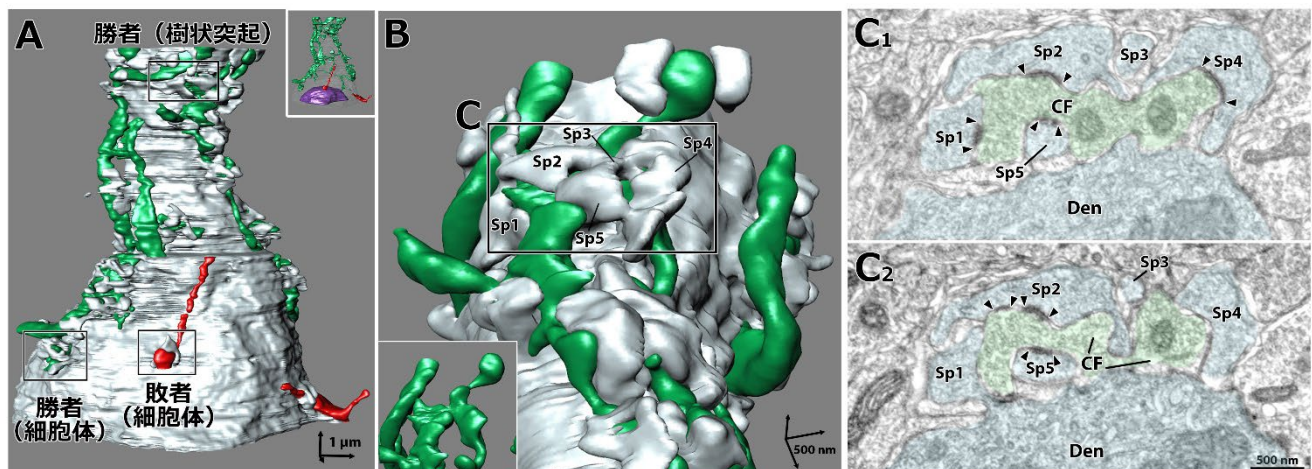
山崎 美和子
北大・院医・解剖発生

Molecular and Anatomical Strengthening of “Winner” Climbing Fiber Synapses in Developing Mouse Purkinje Cells

M. Yamasaki

Dept. Anatomy, Faculty of Med. Hokkaido Univ.

シナプスの伝達強度は、シナプス後部の受容体の数や、シナプス前終末からの伝達物質放出機能によって制御される。この伝達強度は活動依存的に変化し、よく使われるシナプスは強化されて維持され、不要なシナプスは弱められて除去される。こうした活動依存的な変化はさまざまな脳領域で未熟な神経回路の精緻化に関わり、効率的かつ成熟した回路の形成に寄与する。出生直後のマウスプルキンエ細胞は、同程度の強さの複数の登上線維によって支配されている。7日齢までに、細胞体を支配する単一の登上線維が選択的に強化され、9日齢から樹状突起へ移行し始める。この頃「勝者」と「敗者」の登上線維による細胞体シナプスが一時的に形成されるが、生後3週目には殆どが排除される。複数の登上線維の機能的分化過程はよく理解されているが、構造的分化については殆ど不明である。そこで私たちは樹状突起における「勝者」シナプス、および細胞体における「勝者」および「敗者」シナプスの3種類のシナプスに着目し、連続電子顕微鏡および免疫組織化学によってシナプス構造と分子発現の違いを検討した。その結果、樹状突起と細胞体における「勝者」シナプスは、細胞体における「敗者」シナプスよりも、より精巧なシナプス前部および後部の構造を発達させ、シナプス領域を拡大させていた(図)。さらに、「勝者」シナプス後部では AMPA 型グルタミン酸受容体が顕著に高発現していた。特に樹状突起における「勝者」シナプスのみが、シナプス前終末において Rab3-interacting molecule (RIM1/2)の顕著な高発現を示した。これらの結果は、「勝者」シナプスが伝達強度を強めてシナプス形成を促進し、他の入力に競り勝つための分子および解剖学的基盤であると考えられる。



【図】 発達期登上線維シナプスの微細構造と三次元再構築

ケミカルプローブおよび顕微技術を駆使して AMPA 型グルタミン酸受容体の分子動態を解明する

曾我 恭平^A, 清中 茂樹^{A,B}
名大・院工^A, 名大・未来社会^B

Quantification of AMPA-type glutamate receptor trafficking in neurons by combining chemical labeling and microscopy techniques

K. Soga^A and S. Kiyonaka^{A,B}

^AGraduate School of Eng. Nagoya Univ., ^BInFus. Naogyu Univ.

グルタミン酸は主要な興奮性神経伝達物質であり、脳内においてその伝達様式の違いが記憶や学習の基盤となる。グルタミン酸を認識して情報を伝達するグルタミン酸受容体は、イオンチャネル型と G タンパク質共役型に大別され、20 種類以上存在する。その中でも AMPA 型グルタミン酸受容体 (AMPA 受容体) は、ポストシナプス膜上で機能するイオンチャネル型受容体であり、記憶の分子メカニズムとして知られるシナプス可塑性に深く関与することが知られる。AMPA 受容体は、ポストシナプス膜上だけでなく、樹状突起や細胞内にも発現し、その動態変化がシナプス可塑性と深く相関することが明らかにされつつある。例えば、記憶学習時の細胞基盤と考えられている長期増強 (LTP) 時には、細胞内のエンドソームからの exocytosis により、もしくは樹状突起からの lateral diffusion により、AMPA 受容体がポストシナプス膜上に集積することで神経伝達が増強すると考えられている (図 1)。

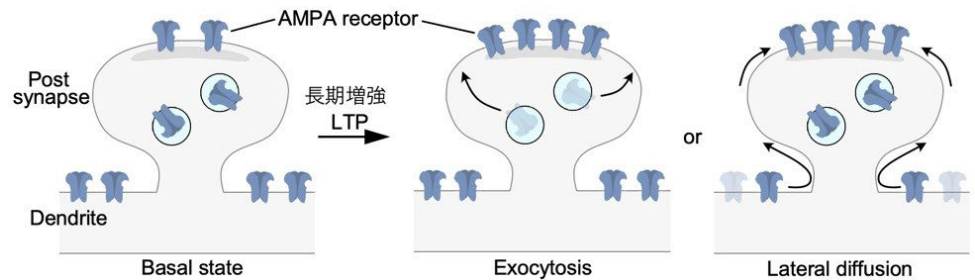


図1. 長期増強 (LTP時) の推定のAMPA受容体の同定変化

記憶・学習の分子メカニズム解明に向けて、様々な顕微技術を用いた AMPA 受容体の動態解析が強く望まれている。また、顕微観察を可能とする AMPA 受容体に対する可視化技術の開発が精力的に進められている。蛍光可視化に関して、従来は蛍光タンパク質を融合した AMPA 受容体を遺伝子導入により神経細胞に発現させるものが大多数であった。しかし、内在的に存在する AMPA 受容体に加えて蛍光タンパク質融合 AMPA 受容体も発現させるため、AMPA 受容体と他のシナプスタンパク質の発現バランスが崩れてしまい、生理的な状況を反映していないなどの懸念点が指摘されている。

このような背景のもと、我々は、神経細胞に内在的に発現する AMPA 受容体を標的とした蛍光可視化技術の開発を進めている。1 つ目の可視化技術は、AMPA 受容体に対する共有結合での蛍光色素ラベル化である。この手法では、リガンド指向性化学と名付けた受容体のリガンド結合部位近傍への化学修飾法を用いて、蛍光色素を AMPA 受容体に共有結合標識する (図 2)。この技術により、培養神経細胞および脳組織において、神経細胞に内在する AMPA 受容体の蛍光可視化に成功したり。生きたマウスの脳内にラベル化剤をインジェクションすることで、脳内における AMPA 受容体の蛍光ラベル化も実現した²⁾。また、本手法では蛍光色素を共有結合で標識するため、固定化後の蛍光解析も可能である。しかし、初期の方法では蛍光ラベル化に数時間を必要とするために、細胞膜の動態を解析できているかどうか不明瞭であっ

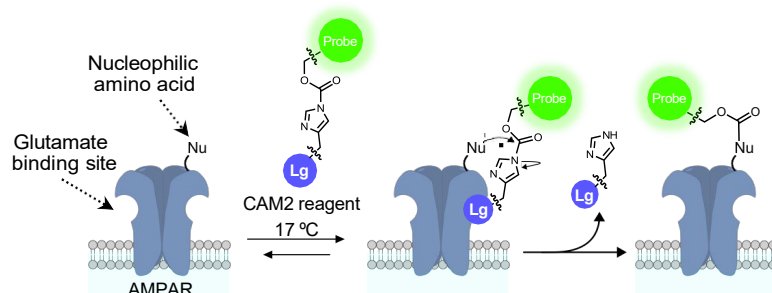


図2. リガンド指向性化学によるAMPA受容体(AMPA)ラベル化の模式図

た。その欠点を克服するために、リガンド指向性化学とクリックケミストリーとを組み合わせた2段階ラベル化法を開発した(図3)。この手法では、細胞

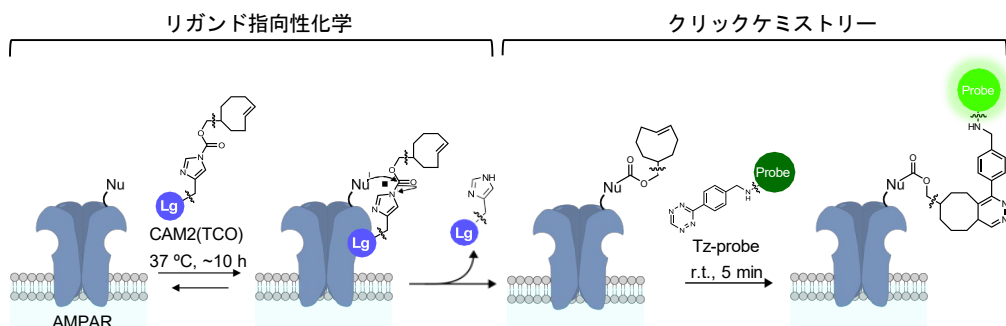


図3. リガンド指向性2段階ラベルによるAMPA受容体の蛍光可視化の模式図

表面層の AMPA 受容体を5分以内に蛍光可視化できる。この2段階ラベル化法と顕微技術を駆使して、細胞表面層に提示された AMPA 受容体の寿命や動態の解析に成功した³⁾。

上記のケミカルラベルでは、AMPA 受容体に蛍光色素を共有結合ラベル化して動態変化を追えるため、受容体の動態解析に有用な方法と言える。しかし、蛍光ラベル化時に細胞表面層に提示された AMPA 受容体しか標識されないため、細胞内から exocytosis する成分は可視化できない。そこで、任意のタイミングかつ迅速(30秒以内)に AMPA 受容体を可視化する方法を新たに開発した⁴⁾。その際には、AMPA 受容体選択的な拮抗剤と蛍光色素を適切に連結した蛍光プローブを用いる(図4)。この手法により、任意のタイミングで可逆的な AMPA 受容体の蛍光可視化が可能となり、LTP時にシナプス膜上に内在性 AMPA 受容体が集積することを蛍光ライブイメージングで可視化した。さらに、この蛍光プロ

ープと上記のケミカルラベル化とを組み合わせた解析により、従来、神経科学の分野で大きく意見が割れていた AMPA 受容体の動態解析機構(exocytosisもしくは lateral diffusion)の定量解析に成功した。

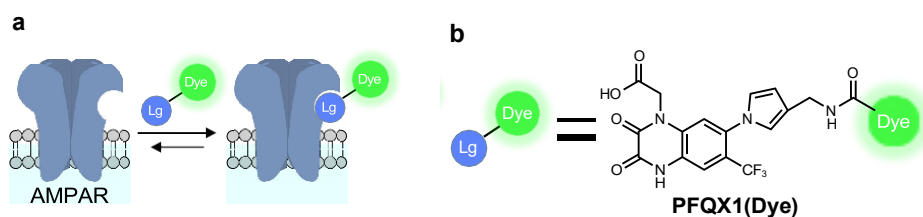


図4. a) AMPA受容体に対する可視化プローブの概念図
b) AMPA受容体可視化プローブ(PFQX1(Dye))の構造

本講演では、我々の複数の蛍光可視化技術と顕微技術を組み合わせた AMPA 受容体の精密動態解析に関して報告する。

参考論文

- 1) Wakayama S., Kiyonaka S., Arai I., Kakegawa W., Matsuda S., Ibata K., Nemoto L.Y., Kusumi A., Yuzaki M., Hamachi I. Chemical labeling for visualizing native AMPA receptors in live neurons. *Nat. Commun.* 8, 14850 (2017)
- 2) Ojima K., Shiraiwa K., Soga K., Doura T., Takato M., Komatsu K., Yuzaki M., Hamachi I., Kiyonaka S. Ligand-directed two-step labeling to quantify neuronal glutamate receptor trafficking. *Nat. Commun.* 12, 831 (2021)
- 3) Nonaka H., Sakamoto S., Shiraiwa K., Ishikawa M., Tamura T., Okuno K., Kondo T., Kiyonaka S., Susaki E.A., Shimizu C., Ueda H.R., Kakegawa W., Arai I., Yuzaki M., Hamachi I. Bioorthogonal chemical labeling of endogenous neurotransmitter receptors in living mouse brains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 121, e2313887121 (2024)
- 4) Soga K., Fujiwara T., Nakagawa M., Shibata A., Adriel H., Yatsuzuka K., Kakegawa W., Yuzaki M., Hamachi I., Nango N., Kiyonaka K. A fluorophore–ligand conjugate for the rapid and reversible staining of native AMPA receptors in living neurons. *bioRxiv* 2024.08.21.608930

凍結割断レプリカ標識法による神経細胞膜脂質分布様式の定量的解析

江口 工学^{A,B}, 重本 隆一^BOIST^A, IST Austria^B

Quantitative analysis of phospholipid distribution on neuronal cell membranes using freeze-fracture replica labeling method

K. Eguchi^{A,B} and R. Shigemoto^B^AOIST, ^BIST Austria

細胞膜リン脂質二重層内葉を構成するリン脂質群ホスホイノシチド (PI) は、ホスファチジルイノシトールを基本骨格とし、イノシトール環 1～3 個のヒドロキシル基がリン酸化された計 7 つの異性体から成る。細胞膜構成リン脂質における PI の割合は全異性体合わせても 1% 程度と低いが、細胞分化や形態、膜興奮性、細胞内情報伝達経路など、様々な細胞機能を制御しており、PI 代謝酵素の変異や失活による PI バランスの変化は様々な病理的要因となる¹。神経細胞間情報伝達の場合であるシナプスにおいても、PI は神経伝達物質放出やシナプス小胞回収機構、神経伝達物質受容体の分布、スパイン構造の制御などに関与していると考えられている²⁻⁴。

PI による細胞機能制御は、PI と蛋白質間の相互作用によって成立しており、したがってその機能の理解には PI が細胞膜上にどう分布しているかを知ることが重要である。しかし、PI を含む脂質分子を高空間解像度で可視化するには、様々な技術的問題がある。第一に、脂質分子はアルデヒド固定されないため、固定後も側方拡散してしまい、正確な分布様式を知ることが難しい。次に、脂質膜は有機溶剤や界面活性剤によって破壊されてしまうため、一般的な免疫組織化学的手法では観察が難しい。また、細胞膜上に多くの蛋白質が凝集していると、プローブ分子が対象 PI にアクセスできない。さらに、シナプスのような微小構造に分布する PI を観察するには、一般的な光学顕微鏡の空間分解能では不十分である。これらの問題を解決するため、我々は SDS 処理凍結割断レプリカ標識 (SDS-digested freeze-fracture replica labeling: SDS-FRL) 法を用い、神経細胞膜に分布する PI(4,5)P₂ の分布様式の可視化に挑んだ。SDS-FRL 法は細胞膜の構造や膜分子の二次元的な分布を電子顕微鏡 (EM) で観察する手法である (図 1 A)。高压化で瞬間凍結した生体標本を割断すると、細胞膜の脂質二重膜が疎水結合面で剥離されて内面が露出する。露出面に炭素を蒸着することで、膜脂質分子が物理的に固定された炭素膜 (レプリカ膜) を作製することができる。その後、イオン性界面活性剤 SDS で処理することでレプリカ上の固定されていない生体分子を除去し、目的膜分子を免疫金粒子標識抗体などで標識することで、細胞膜上に分布する目的分子を EM 下で可視化することができる。この手法では、脂質分子は凍結と炭素蒸着によって物理的に固定され、また膜構造を破壊する界面活性剤や有機溶剤を必要としないため、凍結時の脂質分子の分布様式を維持することができる。さらに、SDS 処理によって細胞質蛋白が取り除かれるため、高い標識効率で標識することが可能である。

我々は PI 異性体の一つ、ホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸 (PI(4,5)P₂) が神経細胞膜上にどのように分布しているかを調べるため、マウス急性小脳スライス標本⁵ からレプリカを作製し、特異的プローブ (GST 融合 PLC δ 1-PH ドメイン)、抗 GST 抗体、および金粒子標識二次抗体を用いて PI(4,5)P₂ を標識した (図 1 B)⁶。その結果、PI(4,5)P₂ が神経細胞膜内に直径 100 nm 程度のナノクラスターを形成しながら分布していることを発見した。平行線維-プルキンエ細胞 (PF-PC) シナプス前末端では、神経伝達物質放出の場合であるアクティブゾーン (AZ) 内で PI(4,5)P₂ 密度が有意に高く、また P/Q 型電位依存性カルシウムチャネル (Cav2.1) と共局在していることから、PI(4,5)P₂ が神経伝達物質放出を制御する可能性が示唆された (図 1 C)。シナプス後膜では、PI(4,5)P₂ は代謝型グルタミン酸受容体 mGluR1 α と共局在しており、mGluR1 α に伴う PLC β による PI(4,5)P₂ の加水分解およ

びイノシトール三リン酸 (IP₃) およびジアシルグリセロール (DAG) の産生を効率的に進めることに寄与していると考えられる。また、PI(4,5)P₂はPC 樹状突起膜やPF シナプス前末端膜でG 蛋白結合型内向き整流性カリウムチャネル (GIRK3) と共局在していた。GIRKチャネルはPI(4,5)P₂によって活性化することが知られており、PI(4,5)P₂とGIRKチャネルの共局在は神経細胞の興奮性を決定する一つの因子であると考えられる。

以上より、SDS-FRL法を用いたPI(4,5)P₂のナノスケールレベルでの可視化により、様々な技術的問題を解決して神経細胞およびシナプスにおけるPI(4,5)P₂の分布様式を明らかにすることができ、シナプス伝達におけるPI(4,5)P₂の役割を解明するうえで重要な「シナプス膜内分布様式」を提供できる。また、本手法は他のPI異性体や脂質分子に対しても適用できることから、シナプス膜構成リン脂質の分布様式やその動態を解明し、シナプス伝達の分子機構をより深く理解するために有用な手法である。

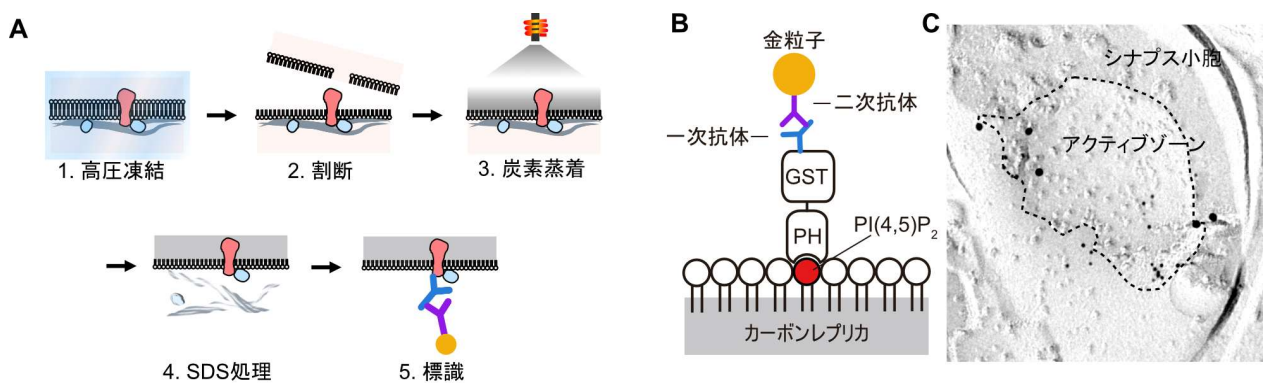


図1. SDS-FRL法によるPI(4,5)P₂標識。(A) SDS-FRL法の模式図。(B) PLCδ1-PHによるPI(4,5)P₂標識。(C) PF前シナプス膜に分布するPI(4,5)P₂(5 nm)およびCav2.1 (15 nm)標識金粒子。

1. Dickson, E. J. Recent advances in understanding phosphoinositide signaling in the nervous system. *F1000Research* **8**, (2019).
2. Eguchi, K., Nakanishi, S., Takagi, H., Taoufiq, Z. & Takahashi, T. Maturation of a PKG-Dependent Retrograde Mechanism for Exoendocytic Coupling of Synaptic Vesicles. *Neuron* **74**, 517–529 (2012).
3. Ueda, Y. & Hayashi, Y. PIP3 Regulates Spinule Formation in Dendritic Spines during Structural Long-Term Potentiation. *Journal of Neuroscience* **33**, 11040–11047 (2013).
4. de Jong, A. P. H. *et al.* RIM C2B Domains Target Presynaptic Active Zone Functions to PIP₂-Containing Membranes. *Neuron* **98**, 335-349.e7 (2018).
5. Eguchi, K. *et al.* Advantages of Acute Brain Slices Prepared at Physiological Temperature in the Characterization of Synaptic Functions. *Front. Cell. Neurosci.* **14**, 63 (2020).
6. Eguchi, K., Le Monnier, E. & Shigemoto, R. Nanoscale Phosphoinositide Distribution on Cell Membranes of Mouse Cerebellar Neurons. *J. Neurosci.* **43**, 4197–4216 (2023).

単一シナプス小胞ライブイメージングによる 高頻度シナプス伝達維持機構の解明

三木 崇史^A秋田大院医^A

Single vesicle imaging reveals actin-dependent spatial restriction of vesicles at the active zone, essential for sustained transmission

T Miki^A^AGraduate School of Med. Akita Univ.

高頻度で高信頼性のシナプス伝達は、精緻で高速な脳情報処理に重要である。この高頻度での神経伝達物質放出には、シナプス前膜へのシナプス小胞のリクルートメントが必須であると考えられている。しかし、この持続的な神経伝達時のシナプス小胞の再充填機構は未だ不明である。この再充填機構を明らかにするため、私たちは小脳苔状線維シナプス前終末で、全反射照明蛍光顕微鏡（TIRFM）を用いた単一シナプス小胞ライブイメージングと電気生理との同時測定を行った。その結果、アクチン重合阻害剤でアクチン脱重合を促進すると、シナプス小胞の刺激依存的な速いリクルートメントが阻害され、持続的な小胞の放出が減少することが分かった。一方で、アクチン重合を促進してもシナプス小胞のリクルートメントと放出には影響がなかった。このことから、迅速な小胞のリクルートメントにはアクチンダイナミクスよりもむしろ、アクチンフィラメントの存在自体が必要であることが示唆された。量子ドットで標識したシナプス小胞のナノスケールでの単粒子追跡実験では、アクチン重合阻害によって小胞がより速く拡散することを見出した。ベイズ推定を用いた隠れマルコフモデリングにより、シナプス小胞はコントロール条件では、速い拡散状態と遅い拡散状態の2つの拡散状態を取りうるということが分かった。アクチン重合阻害によりアクチンフィラメントが破壊されると、シナプス小胞は速い拡散状態のみを取る傾向が見られた。これは、シナプス小胞の遅い拡散状態がアクチンに依存することを示唆している。小脳苔状線維シナプス前終末でアクチンフィラメントの局在を調べたところ、アクチンフィラメントはアクティブゾーンの外縁部に局在した。また、同時に測定したシナプス小胞の軌跡のいくつかはアクチンフィラメントに取り囲まれていた。各小胞の拡散速度は、小胞の軌跡周囲にあるアクチンフィラメントの量に依存して遅くなるということが分かった。以上の結果からアクチンフィラメントはシナプス小胞の拡散を制限し、それによって迅速な小胞のリクルートメントと持続的なシナプス伝達を可能にすると考えられた。このシナプス小胞の拡散の制限と持続的なシナプス伝達との関係について確証を得るために、アクチン重合阻害以外の方法でも検討を行った。近年、相分離によるシナプス小胞のシナプス前終末内のクラスター化が示唆されていたため、シナプス小胞相分離への干渉により、クラスター化を阻害し小胞動態に摂動を加えた。その結果、シナプス小胞の拡散速度や拡散状態はアクチン重合を阻害したときと同様の変化を示し、それと同時に持続的な伝達物質放出も阻害された。

以上の結果から、シナプス前終末のアクチンフィラメントによりシナプス小胞がアクティブゾーン近傍に留められることで、迅速かつ効率的なシナプス小胞のアクティブゾーンへのリクルートメントと、それに続くプライミングと持続的なシナプス伝達が達成されることが示唆された（図）。

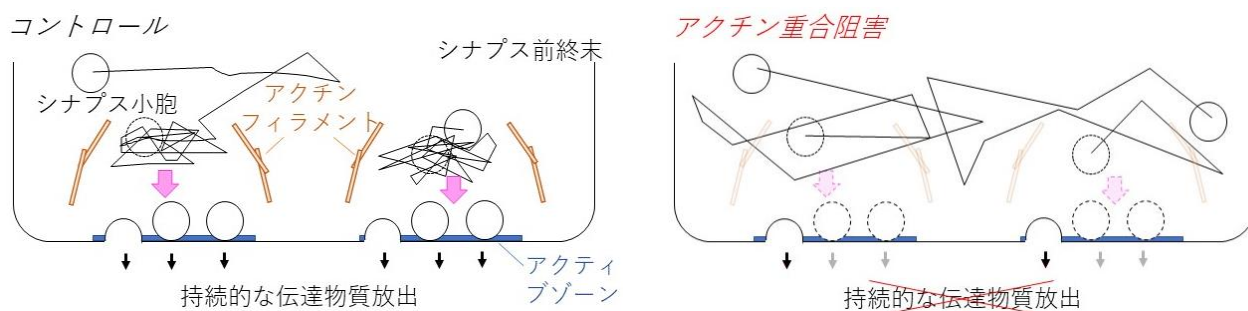


図. 研究の概要

化学シナプス伝達の基盤となるシナプス超分子ナノ構造の可視化

坂本 寛和

東京大学大学院 医学系研究科 細胞分子薬理学

Visualization of synaptic supramolecular nanostructures underlying chemical synaptic transmission

Hirokazu Sakamoto

Department of Pharmacology, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

神経細胞間の結合部位であるシナプスでは、シナプス前部（プレシナプス）から放出される神経伝達物質が、シナプス後部（ポストシナプス）に局在する受容体に結合することにより情報伝達が行われる。このような情報伝達様式は化学シナプス伝達と呼ばれ（図 1）、プレシナプス・ポストシナプスに存在する多数のタンパク質群から成る超分子集合体によりナノメートルスケール・ミリ秒単位で精密に制御される。これまでの遺伝学および分子生物学的な研究により、シナプスの超分子集合体を構成する主要なタンパク質は同定されてきたが、どのような動作原理によって化学シナプス伝達機構が制御されているのかについてはほとんど明らかとなっていない。シナプスの超分子集合体の動作原理を解明する事が、分子の観点からシナプス機能を理解する上で重要である。

本研究では、Stochastic Optical Reconstruction Microscopy (STORM)や Stimulated Emission Depletion (STED) などの超解像顕微鏡技術を用いて、プレシナプスおよびポストシナプスに集積する分子群のナノスケールのイメージングを行い、化学シナプス伝達の基盤となるシナプス超分子集合体の可視化解析を行った。具体的には、プレシナプスの小胞放出部位を構成するアクティブゾーンタンパク質群（Munc13, RIM, CAST, calcium channels など）とポストシナプスのシナプス後肥厚（PSD）の足場タンパク質群（PSD95, Homer1, Shank, SAPAP など）に着目し、それらの分子群が形成する超分子集合体のナノ構造とシナプス機能の関連を調べた。プレシナプスの小胞放出部位では、Munc13 や calcium channels などの機能分子が数十ナノメートルほど大きさのナノクラスターを形成しており（図 2）、情報伝達効率の異なる神経細胞間でそれらのクラスター構造の特徴が異なることを明らかにしてきた（文献 1-3）。また、シナプス機能の可塑的な変化や脳の発達に伴ってプレシナプス機能分子のナノクラスターの個数、大きさ、形状、クラスター間距離などの物理的特性が変動することを見出した（文献 4,5）。ポストシナプスにおいても、PSD 足場タンパク質群はナノクラスター構造を形成し、神経細胞の種類ごとに特徴的な形状を取っていた。特に、Homer1 および SAPAP から成る超分子ナノ構造は、トーラスや多孔トーラスなどの様々な形状を取り、神経伝達物質受容体の配置をナノスケールで調節する役割がある可能性が示している（未発表成果）。興味深いことに、これらの超分子ナノ構造は、動物個体のストレス応答によって変動することが分かってきた。

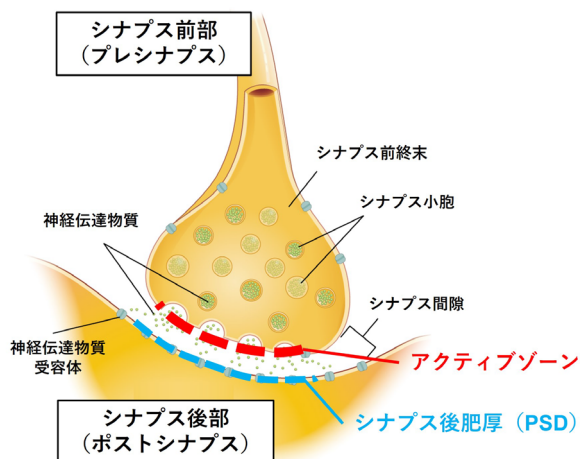


図1 化学シナプス伝達の模式図

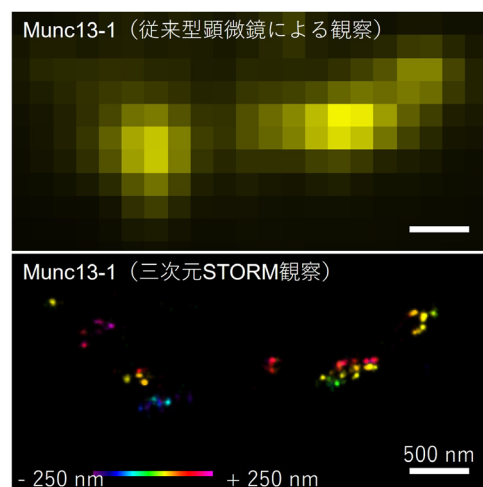


図2 プレシナプス分子Munc13-1の超解像顕微鏡観察像
3D-STORM法を用いてシナプスにおけるMunc13-1分子の局在を観察したところ、単一のシナプスに複数のナノクラスターが含まれていることが分かった。

また最近、我々はシナプス超分子集合体を細胞内で再構成する技術を開発することに成功しており、ライブセルでの超解像顕微鏡イメージングと組み合わせることで、その形成過程の物理的メカニズムの解明を進めている。特に、プレシナプスのアクティブゾーンタンパク質群から再構成した超分子集合体は、その内部に超高秩序な周期的ナノ構造を含むことを見出している（図3）。物理モデリングから、このような周期的ナノ構造はタンパク質の自己組織化・ナノ相分離現象によって形成されることが明らかとなった。シナプスにおける高秩序ナノ構造の形成は、シナプス小胞や *calcium channels*、受容体を規則的に配置するための基盤となっている可能性が高く、時空間的に精密な化学シナプス伝達機構を実現するための動作原理であると考えられる。

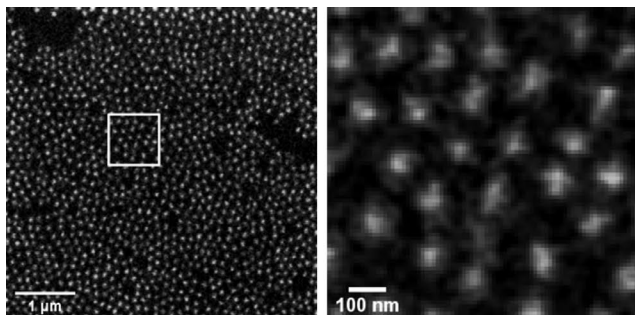


図3 細胞内再構成されたプレシナプス超分子集合体
ライブセル超解像顕微鏡を用いた観察によって、ダイナミックに動くタンパク質から周期性のある高秩序ナノ構造（およそ100 nm周期）が、自己組織化・ナノ相分離現象により超分子集合体内に形成されることを発見した。

参考文献

- 1) **Hirokazu Sakamoto**, Tetsuroh Ariyoshi, Naoya Kimpara, Kohtaroh Sugao, Isamu Taiko, Kenji Takikawa, Daisuke Asanuma, Shigeyuki Namiki, and Kenzo Hirose. Synaptic weight set by Munc13-1 supramolecular assemblies. *Nature Neuroscience* 21, 41-49 (2018).
- 2) **Hirokazu Sakamoto**, Shigeyuki Namiki, and Kenzo Hirose. Nanoscale molecular imaging of presynaptic active zone proteins in cultured hippocampal neurons. *Neuromethods* 154, 245-259, (2020).
- 3) **Hirokazu Sakamoto (corresponding author)**, Naoya Kimpara, Shigeyuki Namiki, Shun Hamada, Toshihisa Ohtsuka, and Kenzo Hirose. Synapse type-specific molecular nanoconfigurations of the presynaptic active zone in the hippocampus identified by systematic nanoscopy. *bioRxiv*, doi.org/10.1101/2022.03.11.483942, (2022).
- 4) Ryota Fukaya[#], Himawari Hirai[#], **Hirokazu Sakamoto[#] (equal contribution)**, Yuki Hashimoto-dani, Kenzo Hirose, and Takeshi Sakaba. Increased vesicle fusion competence underlies long-term potentiation at hippocampal mossy fiber synapses. *Science Advances* 9, eadd3616 (2023).
- 5) Mitsuharu Midorikawa[#], **Hirokazu Sakamoto[#] (equal contribution)**, Yukihiro Nakamura[#], Kenzo Hirose, and Mariko Miyata. Developmental refinement of the active zone nanotopography and axon wiring at the somatosensory thalamus. *Cell Reports* 43, 114770 (2024).

S-5-1

超高電圧と中高電圧の
電子顕微鏡による先端計測 1
(バイオ、3D)

11 月 2 日 (土) 14 : 30 ~ 16 : 20

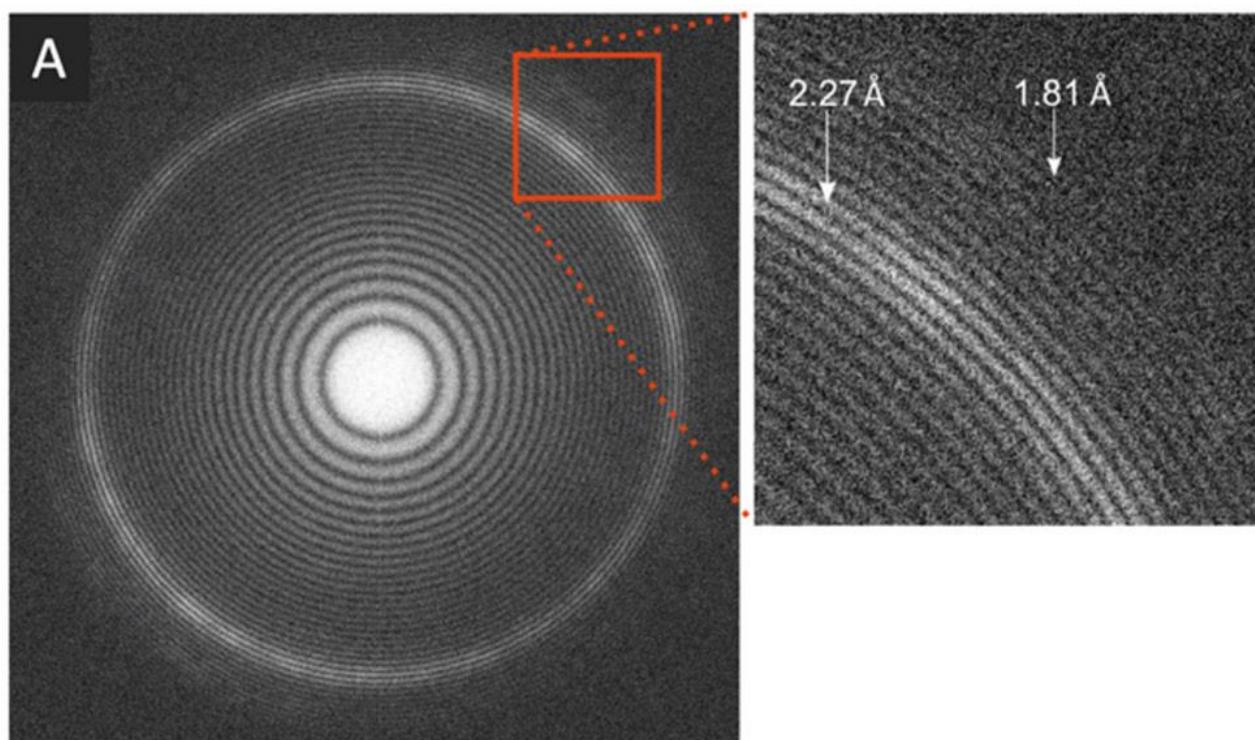
第 2 会場 (セミナー室)

超高压クライオ電子顕微鏡による生体試料の立体構造解析

光岡 薫^A阪大超高压電顕センター^AStructural Analysis of Biological Specimen by Ultra-High Voltage Electron
MicroscopyK. Mitsuoka^A^AResearch Center for Ultra-High Voltage Electron Microscopy, Osaka Univ.

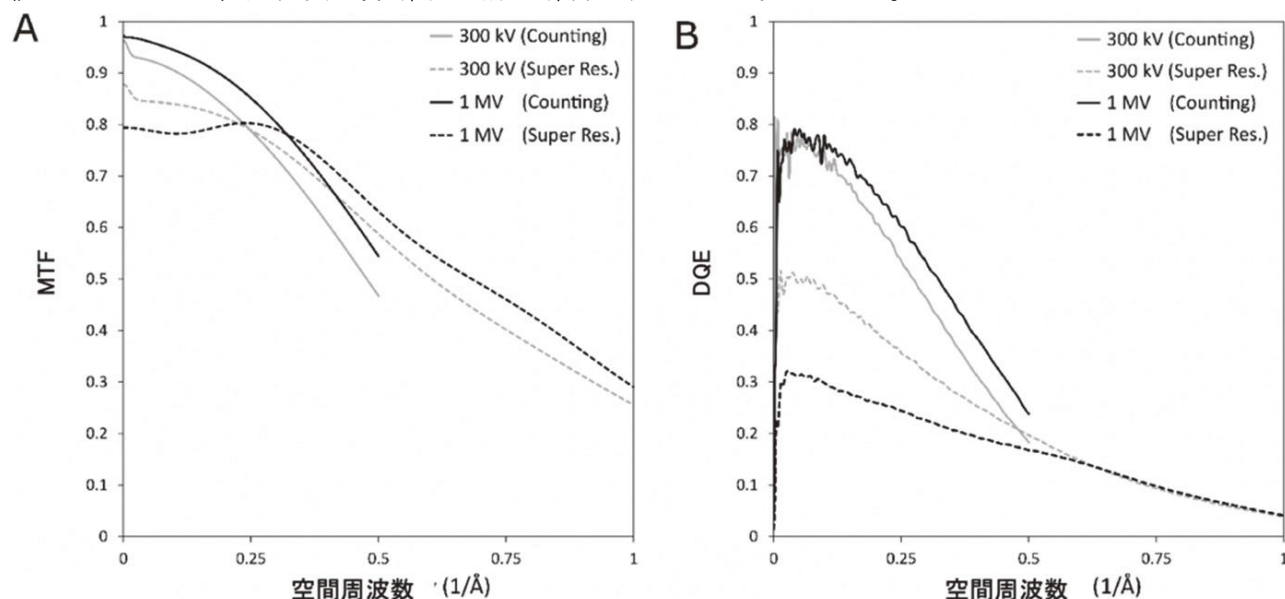
超高压電子顕微鏡（電顕）を用いると、通常の加速電圧の電顕を利用した場合と比較して、より厚い試料を観察することが可能となる。そこで我々は、加速電圧 1MV で低温ステージを持つクライオ超高压電顕を用いて生体試料を観察し、その立体構造解析を行ったので、その成果について報告する。

まず、我々は 1MV クライオ電顕により達成できる分解能を、Pt-Ir フィルムを撮影し、そのフーリエ変換図形から評価した。下図のようにフーリエ変換図形において 1.8 Å を超える領域まで明瞭な Thon リングを観察することができた。この撮影には、電子直接検出カメラ K2 (GATAN) を利用した。



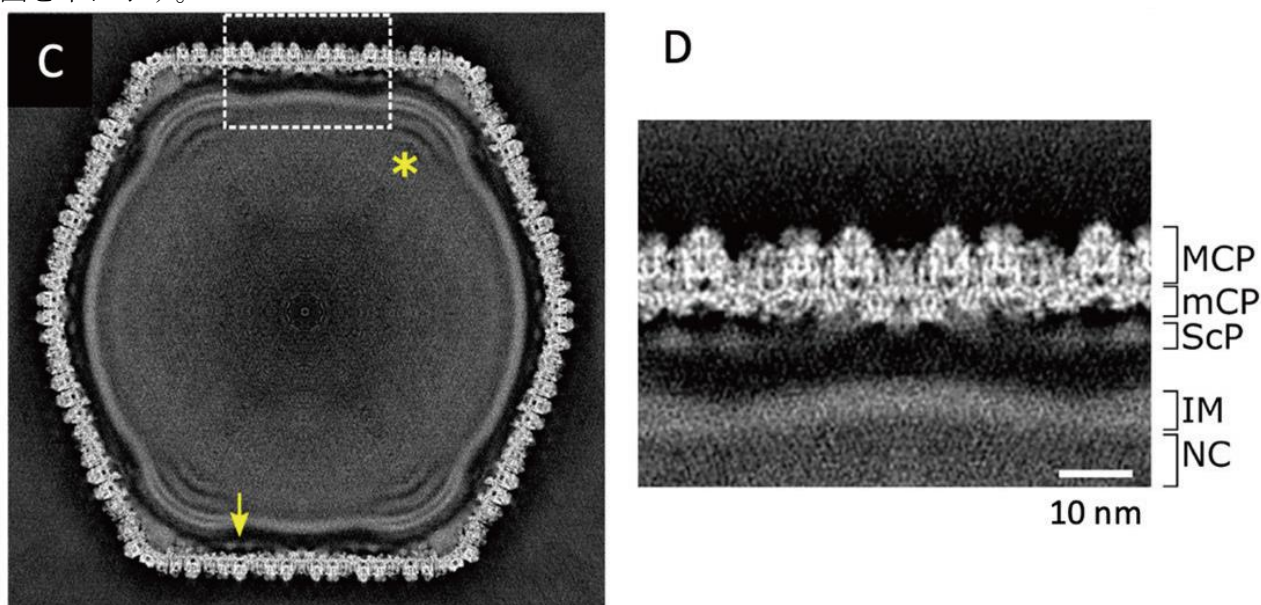
次に、その K2 カメラの 1MV 電子に対する性能を評価した。その評価には FindDQE を用いた¹⁾。FindDQE を用いることで、MTF (Modulation Transfer Function) と DQE (Detective Quantum Efficiency) を評価することができる。MTF は点広がり関数のフーリエ変換と理解することができ、得られた画像からの信号の値を逆空間で補正するのに利用する。そのため、構造解析の前に得ている必要があり、その値を用いて解析を行う。また DQE は、検出器がどれだけのノイズを信号に付加するかを評価した値であり、クライオ電顕での生体試料の構造解析分解能は信号とノイズの比で決まるため、この DQE により実質的に解析の分解能が左右されると考えられている。そこで、なるべく DQE が良い条件で測定を行うので、測定条件を決定するのに重要である。例えば、K2 カメラは、その利用法として電子カウンティングを行うカウンティングモードと、その際に複数のピクセルでの強度分布から 1 ピクセルを 4 等分した領域のどこで電子が検出されたかを評価する超解像モードがあり、そのどちらを用いるかを、DQE を検討することで決めることができる。その MTF と DQE について、そのカウンティング (Counting) モードと超解像 (Super Res.) モードでの値を、加速電圧 300kV と 1MV で比較したグラフを次ページに示す。どちらの加速電圧やモードでも、高周波数側では同等の

値となっており、同程度の分解能の構造解析が行えると考えられる。



さらに最近、我々はエネルギーフィルターを導入し、そのカメラとして K3 が利用できる状況となったので、K3 に対しても同様の解析を行ったので、その結果についても示す。

このように評価したデータを用いて、生理研の村田研との共同研究により直径が 250nm 程度と巨大なウイルスについて、単粒子クライオ電子顕微鏡法により、その構造を決定した²⁾。厚い試料については、被写界深度のため、その分解能が制限されることが知られており、高分解能解析にはブロック状に分けて構造解析する必要がある。しかし、ここでは超高压電頭の深い被写界深度を利用してブロック状に分けずに解析し、そのキャプシドについて 7.7 Å 分解能を実現した。その密度図を下に示す。



一方、生体試料において厚い試料を用いる利点は、単粒子クライオ電子顕微鏡法よりクライオ電子線トモグラフィー法での利用がより適していると考えられる。また、上記のようにエネルギーフィルターが導入されたことでゼロロス像を撮影することで、厚い試料での構造解析がより定量的に行うことができると期待できる。このようなクライオ電子線トモグラフィー法での構造解析の実例についても紹介する。

参考文献

- 1) Ruskin, A. I., Yu, Z., Grigorieff, N. *J. Struct. Biol.* **184**, 385-393 (2013).
- 2) Chihara, A., Burton-Smith, R. N., Kajimura, N., Mitsuoka, K., Okamoto, K., Song, C., Murata, K. *Sci Rep.* **12**, 21428 (2022).

生体膜上の膜タンパク質複合体の単粒子解析による in situ 構造解析

横山 謙^A, 中野敦樹^A, 光岡薫^B

京都産業大学 生命科学部^A, 大阪大学 超高压電子顕微鏡センター^B

In situ structural analysis of membrane protein complexes on biological membranes by single particle analysis

K. Yokoyama^A, A. Nakano^A, and K. Mistuoka^A

^A Department of Bio-Sciences, Kyoto Sangyo Univ., ^B Ultra High Voltage Electron Microscopy Center, Osaka Univ.

膜タンパク質は、生体膜上で受容体、イオンチャネル、生体エネルギー変換装置、イオンポンプ等として機能し、細胞機能を支える本質的な生体分子であり、重要な創薬ターゲット分子でもある。また、膜タンパク質のなかには、多量体のものや、調節因子と巨大な機能単位を形成するものもある。従来の膜タンパク質研究では、界面活性剤で膜タンパク質を生体膜から取り出し精製したものを構造・機能解析していた。そのため、生体膜で機能している本来の姿の膜タンパク質とは異なる構造を見ている可能性があった。

生体膜上の膜タンパク質の構造を見る方法として、クライオ電子顕微鏡トモグラフィ（クライオ ET）で再構成した立体像から単粒子立体構造を抽出し平均化するサブトモグラム平均法がある。小胞体膜上のリボソームの構造が比較的高い分解能で発表されているが、サブトモグラム平均法自体、難易度が高く計算量が大きい手法で、構造解析に用いる粒子数を増やすのが容易でない。そのため精子の鞭毛やウイルスなど限られた材料での研究が進んでいる。

我々はリボソームに再構成した ATP 合成酵素の構造解析に取り組み、直径 30~100 nm のリボソームに包埋された ATP 合成酵素の単粒子解析に成功した（図 1）。このときの経験から、直径 100 nm 以下のオルガネラ小胞上に存在する膜タンパク質なら、単粒子解析できるだろうとの着想に至った。

今回、ミトコンドリア内膜に存在する ATP 合成酵素 FoF₁、呼吸鎖複合体、およびリソソームなどの酸性小胞に存在するプロトンポンプである V-ATPase を標的として構造解析を行った。細胞分画によって得られた膜小胞のクライオグリッドを作成し、膜小胞にある膜タンパク質の単粒子画像をピックアップして 3次元再構成により立体構造を得た。ミトコンドリアから、遠心操作による分画で得られるサブミトコンドリア顆粒 (SMP) には、多くの F₁ 部分が小胞表面に観察され、立体構造も得られた。

SMP から界面活性剤で可溶化された FoF₁ の 4 量体構造が発表されているが、この 4 量体がミトコンドリアの内膜を湾曲させ ATP 合成効率を高めるクリステ形成を促進する分子基盤であることが先行研究で提唱されている。

予備実験の結果、SMP 上の 4 量体 FoF₁ と似た複合体構造が得られたが、おもしろいことに精製標品

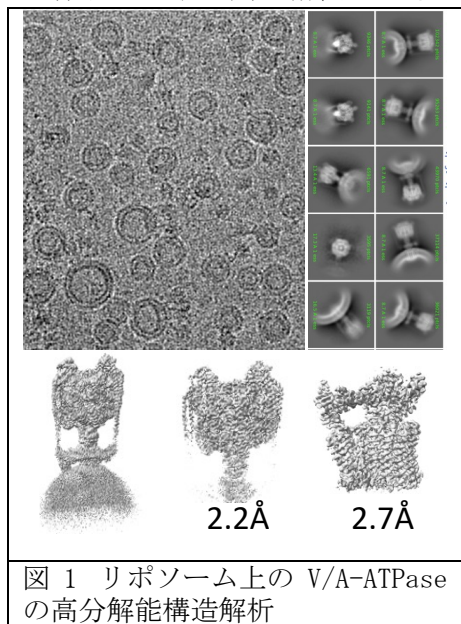


図 1 リポソーム上の V/A-ATPase の高分解能構造解析

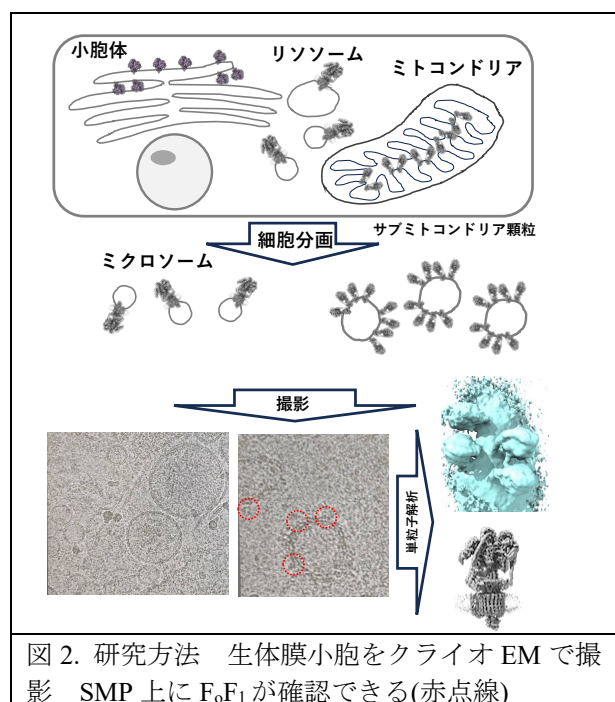


図 2. 研究方法 生体膜小胞をクライオ EM で撮影 SMP 上に FoF₁ が確認できる(赤点線)

から得られた構造と同一ではなかった (図 2)。このことは可溶化した膜タンパク質と生体膜上の膜タンパク質が必ずしも同一でなく、本来の姿の膜タンパク質の構造解析には、本申請研究の手法が必要であることを示している。

現在、リソソームなどの酸性小胞に存在する V-ATPase の構造解析を進めており、リソソーム上の V-ATPase がどのような調節因子と複合体を形成し、細胞機能を担うかについて探求を進めている。

[関連する研究業績リスト] すべての論文で責任著者

1. Nakanishi et al Nat Commun, 9: 89, 2018.
2. Kishikawa et al Nat Commun, 13(1): 1213, 2022.
3. Nakano et al PNAS Nexus, 1(3): pgac116, 2022.
4. Nakano et al Nat Commun, a 14 Article number: 4090, 2023.

超高压電子顕微鏡によるサブミクロン構造のトモグラフィー定量化

山崎 順

大阪大学 超高压電子顕微鏡センター,

Quantitative Tomography for Submicron Structures by High Voltage Electron Microscopy

J. Yamasaki

Research Center for Ultra-High Voltage Electron Microscopy, Osaka Univ.

0. はじめに

超高压電子顕微鏡は中高電圧電顕と比べると厚い試料（サブミクロン～ミクロン）を観察できるため、表面の影響を受けない物質本来の性質を反映したオペランド計測という優位性が考えられる。さらに鍵となる内部ナノ構造の3次元観察と組み合わせることで、反応素過程に関する飛躍的な情報量の増大が期待できる。透過電子顕微鏡を用いた最も普及した3次元観察法は傾斜シリーズトモグラフィーであり、その成立条件は、全方向からの投影像取得と投影近似の成立である。前者は物質の3次元形状の正確な再構成に必要であり、一方後者は物質内部の3次元密度分布の正確な再構成に重要である[1]。前者の条件は、ロッド形状にFIB加工した試料を全角傾斜ホルダーに取り付けることで達成できるが、加工の難易度的にロッド直径は数100nm程度になりがちであり、特に重い元素を組成に含む場合は透過能に優れた超高压電顕が威力を発揮する場合が多い。

一方後者の条件である投影近似は、TEM像の場合は、像強度が試料の散乱ポテンシャルの投影分布の指数関数になっていることを指す。しかし多くのTEM観察においてこの近似は成り立っておらず、超高压電顕で厚膜を透過観察できたとしても条件を満たしているわけではない。この投影近似の破綻は、回折コントラストが無いアモルファス試料であっても生じることが知られており[1]、厚膜内での多重散乱現象に起因していることが分かっている[2]。この多重散乱現象は厚膜試料の超高压電顕像にいくつかの異なる形で現出し、不正確な投影像を形成するため、正確な3次元再構成を得るための妨げとなっている。

本講演では、超高压電顕でのサブミクロンサイズ3次元観察における問題点として知られる、試料エッジ近傍に現れる偽の像コントラストの原因解明、再構成密度のアーティファクト要因となる電顕像強度の非線形減衰の補正、ロッド状試料の全角傾斜トモグラフィーにおける非対称な再構成の原因解明、について取り組んだ内容について紹介する。

1. 試料エッジコントラスト

全角傾斜計測用のロッド形状試料も含めて、トモグラフィーの計測対象となるような立体的形状を持つ試料の場合、膜状試料とは異なり試料エッジでの厚さ変化が急峻であることが多い。このような試料エッジ近傍には、フレネル縞に似たTEM像コントラストがフォーカス条件に関わらず常に現れる傾向があり、投影近似を前提としたトモグラフィー再構成におけるアーティファクト要因となる。

Fig.1はCu, Au等からなる多層膜を基板ごとFIBでロッド形状にくり抜いた試料のTEM像であり、ロッド両側の試料エッジ近傍にフレネル縞類似の明るいコントラストが現れている。このエッジコントラストについて、対物絞りサイズ依存性、ゼロロスフィルター有無の差異、多層膜の組成による違いを系統的に調べた。その結果、対物絞りが大きいほどエッジコントラストは強く現れ、組成の違いによる試料側の像コントラストが真空側にも反映される、ことなどが明らかとなった。電子ビームの多重散乱、非弾性散乱、レンズ収差の影響、試料形状の効果などを考慮したシミュレーションによって、Fig.1に示すように実験結果の特徴を再現することに成功した。これによって、謎のエッジコントラストの要因は弾性散乱と非弾性散乱の混在した多重散乱過程による色収差であり、サイズの小さな対物絞り

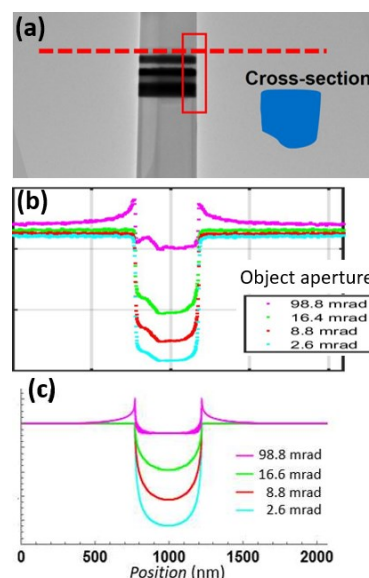


Fig 1. (a) BF-TEM image of a rod-shaped sample containing multilayers of metal elements. (b) Line profiles along the red broken line in (a) taken with various objective aperture sizes. (c) Calculations.

の使用が抑制に有効であることが明らかとなった[3]。

2. 多重散乱による非線形減衰と再構成密度アーティファクト

一般に TEM トモグラフィーは試料厚さ増加に伴う像強度の指数関数減衰を前提としているが、実際には多重散乱によって非線型な透過率減衰が生じるため、不正確な試料内部密度がしばしば再構成されてしまう[1]。しかもこの現象は対物絞りが小さいほど顕著に現れることが判明しているため[1]、先述のエッジコントラストの抑制条件とは両立できず、双方を同時解決できる根本的な方法の考案が必要となる。問題解決の糸口として、非線型減衰曲線を精度よく再現できる3パラメータのみを含む連続関数を決定することに成功した[2]。このことによって、もし計測対象物質のパラメータ値を決定できれば、非線型性の補正によって内部密度の正しい三次元再構成が原理的に可能となるはずである。このパラメータ値を決定する方法として、再構成画像の微分総和値(Total Variation 値)の最小化に基づくイタレーション手法を考案した。Latex 球の TEM 像から通常の3次元再構成を行った結果の断面像及び密度プロファイルを Fig.2(a), (b)に示す。非線型減衰の影響で球内部の密度が不自然に凹んだ再構成となっている。このデータに先述のイタレーション手法を適用してパラメータ値を決定し、非線型性を補正した後に再構成(定量密度再構成)を行った結果を Fig.2(c)に示す。内部密度の凹みがある程度補正されているものの、正しい一様密度には至っておらず、パラメータ値が正しい値に収束していないと推測される。この問題は、電顕像に含まれる強度ノイズの影響であることが判明したため、複数のノイズ処理フィルターを組み合わせ合わせた処理を考案し、これによって球内の一様密度が正しく再構成された結果が得られた (Fig.2(d))。

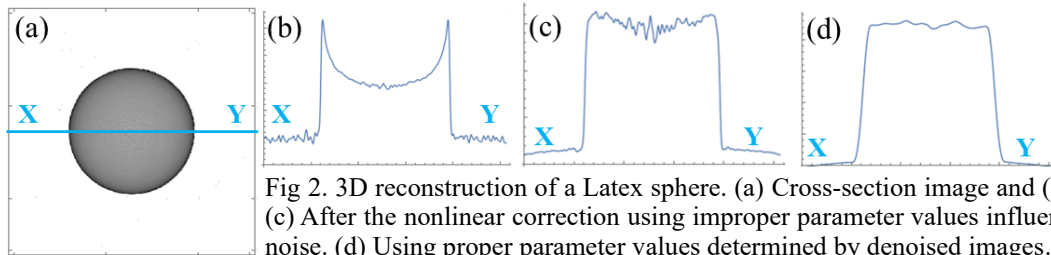


Fig 2. 3D reconstruction of a Latex sphere. (a) Cross-section image and (b) line profile. (c) After the nonlinear correction using improper parameter values influenced by image noise. (d) Using proper parameter values determined by denoised images.

3. 金粒子の非対称な再構成

ロッド形状試料の180度傾斜シリーズの取得を行い、Fig.3(a)に模式的に示すようなロッド表面に付着した金粒子を再構成したところ、傾斜軸と直行する方向への粒子の伸びが確認された。ミッシングウェッジは無いため他要因による非対称な再構成結果であり、厚膜観察における像のボケが要因と考えられる。このため、傾斜した際のロッドと金粒子の位置関係の変化をもとに TEM 像のボケの top-bottom 効果を考慮した場合、この異方性が説明できることが判明した[4]。この結果に基づき、さらに高いレベルでの定量的トモグラフィーを達成するには、ロッドの中心からの対象物の距離も考慮した補正が今後必要となることが示唆された。

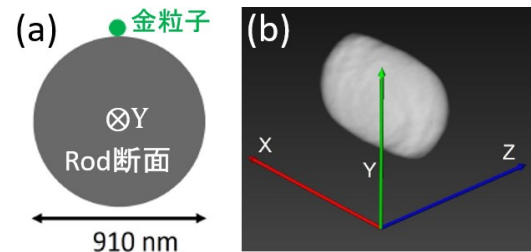


Fig.3: 3D reconstruction of a Au particle attached on a rod-shaped sample. (a) Schematic of the sample cross section. (b) Asymmetric reconstruction of the Au particle.

4. 将来展望

サブミクロン以上のサイズを持つ物質の定量的3次元計測を阻んでいる主要な阻害要因の原因解明と対策について述べた。この成果を足場として上積みする形で、結晶性物質の回折コントラストの補正が次なる重要課題であり、画像の二値化処理や4D-STEMの活用による打開策が期待される。さらに高速カメラを用いた高速トモグラフィーとの融合を確立することにより、オペランド3次元計測への道筋についての期待が高まる。

[1] J. Yamasaki, et al., *Microscopy* 63, 344-355 (2014).

[2] J. Yamasaki, et al., *Ultramicroscopy* 200, 20-27 (2019).

[3] M. Hayashida, M. Malac, and J. Yamasaki, *Micron* 162, 103348 (2022).

[4] M. Hayashida, J. Yamasaki, and M. Malac, *Micron* 177, 103562 (2024)

中高電圧電子顕微鏡を用いた原子分解能電子線トモグラフィー解析

山本 知一
九州大工

Atomic-resolution electron tomography using an aberration-corrected transmission electron microscope

T. Yamamoto
Fac. of Eng. Kyushu Univ.

電子線トモグラフィーは、材料の階層的なナノスケールの三次元構造を明らかにすることができる強力な手法であり、触媒材料や電池材料など様々な材料の三次元構造解析に応用されている。近年、中高電圧の TEM すなわち 200 kV および 300 kV の TEM では、収差補正器が普及したことにより、原子分解能観察が比較的容易に行えるようになり、原子分解能での電子線トモグラフィーも実現されている。一般に原子分解能電子線トモグラフィーでは、フォーカス条件によって原子コラムのコントラスト反転が起こらず、信号強度が試料の厚みに対して単調増加する HAADF-STEM 像が用いられる。つまり現在の原子分解能トモグラフィーは、インコヒーレントな信号を用いた STEM トモグラフィーである。現状の原子分解能トモグラフィーには、電子ビームの収束角に依存した分解能と被写界深度に対してトレードオフが存在しており、撮影対象のサイズに制限がある。原子分解能の電子線トモグラフィーでは、電子ビームにより誘起される原子移動が無視できる程度であることが再構成を行う上で重要であるが、透過ビームのコヒーレントな信号は再構成に用いられていないため、電子ビームダメージ低減の観点からすると必ずしも効率が良いイメージング手法とは言えない。一方、TEM モードでのトモグラフィーは、電子ビームダメージに対して有利であると考えられるが、HRTEM 像のコントラスト変調の問題から、TEM モードでの原子分解能トモグラフィーは、汎用的な手法としては未だ確立されていない。原子分解能トモグラフィーは、原子スケールでの非周期的な局所構造を解析することができる非常に強力な手法であるが、種々の課題を有する発展途上の手法とも言える。本講演では、我々のグループで行っている 200 kV もしくは 300 kV の電圧による原子分解能 STEM トモグラフィーを用いた合金ナノ粒子の三次元構造解析について紹介するとともに電子線タイコグラフィーを用いた原子分解能トモグラフィーの実現に向けた最近の研究について紹介する。

Fig.1 は、液相還元法により合成された Au-Ru 合金ナノ粒子[1]について JEM-ARM200F(JEOL)を用いて 120 kV の加速電圧で -55.6° to 65.6° の角度範囲で撮影した HAADF-STEM 像の傾斜シリーズから GENFIRE アルゴリズム[2]を用いて三次元再構成を行ったものであり、表面ファセットを有する多結晶体のナノ粒子が原子分解能で再構成できていることが確認できる。Fig.2 は、Fig.1 の再構成像のスライス画像を取り出したものであり、合金内部の Au リッチ相と Ru リッチ相の相分離構造および結晶粒界の存在を確認することができる。その一方で、再構成の精度は、Au 元素と Ru 元素を完全に識別するには至っていない。再構成精度を下げる一因としては、装置の傾斜角度の制限から再構成像にはミッシングウェッジアーティファクトが挙げられる。また像分解能は、方向に依存する。さらなる精度の向上には、傾斜シリーズのアライメントの精度の向上およびミッシングウェッジアーティファクトをさらに低減させた再構成アルゴリズムが必要である。

次に電子線タイコグラフィーを用いた原子分解能トモグラフィーの確立に向けた最近の取り組みについて少し紹介する。タイコグラフィーは、デフォーカスをしたプローブを用いて、試料上をスキャンしながら各点の回折図形を取得して、重複したプローブ照射領域の構造を拘束条件として、位相を再構成して実空間の構造を求める手法であり、透過ビームを含めた回折図形を用いることから、HAADF-STEM と比べて 1 桁少ない照射量で原子分解能の像を得ることができる。そのため、原子分解能トモグラフィーで課題となる電子ビームダメージの問題を軽減することができると考えられる。また、位相情報が得られることから HAADF-STEM 像では再構成が難しい軽元素の再構成にも有利に働くと考えられる。そこで、我々の研究グループでは、タイコグラフィーをトモグラフィーと組み合わせることで、どの程度の精度で三次元像が再構築できるかを明らかにすることを目的として py4DSTEM ライブラリ[3]を用いた像シミュレーションによる検討および合金ナノ粒子を用いた検証実験を行っている。像シミュレーションにおいては、3 nm 程度のサイズのナノ粒子に

対してトモグラフィ再構成が上手くいくことを確認している。その一方で実験においては、実際のナノ粒子に含まれる原子数が多いことおよびビームの走査位置の揺らぎ等の問題により、現状ではナノ粒子原子配列の三次元再構成には、成功していない。そのため、現在はこれらの課題の克服に取り組んでいる。講演ではこれらの取り組みの詳細についても説明する予定である。

本研究は、JST-ACCEL(JPMJAC1501)および JST さきがけ(JPMJPR23JD)の研究支援を受けて実施されました。

- [1] Q. Zhang *et al.*, Nat. Comm., **9** (2018), 510.
- [2] A. Pryor Jr. *et al.*, Sci. Rep., **7** (2017) 10409.
- [3] B.H. Savitzky *et al.*, Microsc. Microanal., **27** (2021), 712.

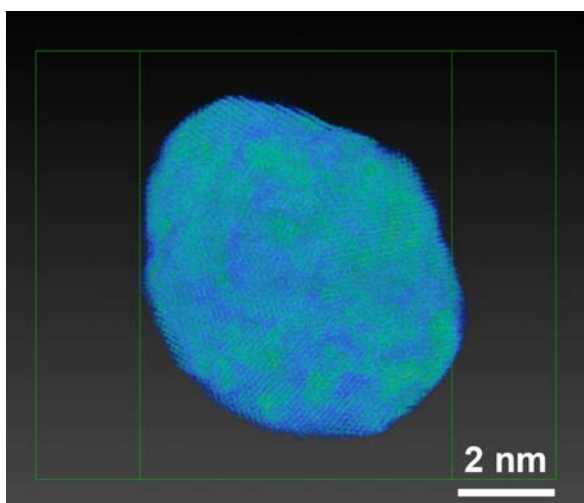


Fig.1 Au-Ru 合金ナノ粒子の三次元再構成像.

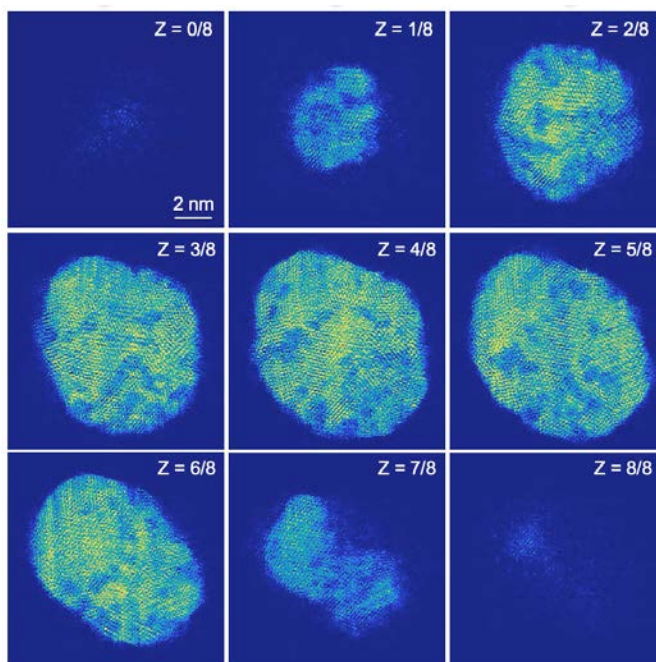


Fig.2 Au-Ru 合金ナノ粒子の三次元再構成像 (Fig.1) の z 方向の各位置におけるスライス像.

S-5-2

超高電圧と中高電圧の 電子顕微鏡による先端計測 2 (パルス、位相イメージング)

11 月 3 日 (日) 8 : 55 ~ 10 : 45

第 1 会場 (レクチャーホール)

高周波電子銃を用いた超高圧パルス電子顕微鏡の可能性

楊 金峰

大阪大学・産業科学研究所

High-voltage Ultrafast Electron Microscopy using Radio-frequency Accelerating Electron Gun

J. Yang

SANKEN, Osaka Univ.

1. はじめに

情報技術の発展に伴う情報量と処理速度の増大に対処するため、超高速の構造変化・反応等の現象の解明と、それを利用した高性能材料や高速デバイスの開発が精力的に進められている。例えば、フェムト秒・ピコ秒時間領域での光誘起絶縁体-金属相転移、アモルファス-結晶相転移の現象を利用した超高速光スイッチングデバイス、メモリ材料の開発が進められている。しかし、これらの高速現象に係わるナノレベルの構造変化や反応等の素過程は未だ全て解明されておらず、デバイスの高性能化・実用化に支障が生じている。これは、この超高速の構造変化・反応の素過程をとらえることが技術的に難しいことに起因する。

今まで、多くの構造変化や反応現象は、短パルスレーザーを利用した分光法、短パルス X 線・電子線を用いた時間分解回折法を用いて測定されてきた。しかし、これらの手法で得た情報は平均化された物質の動的マクロ挙動である。物質のマクロ挙動は、ナノレベル微細構造に係わる構造変化・反応の素過程（初期過程）の複雑な積み重なりで決まる。例えば、光誘起による物質の初期過程は光励起後の電荷移動、原子・分子振動、微視的な励起ドメインの生成によってフェムト秒・ピコ秒時間領域で引き起される。これらの初期過程は未観測であり、物性をどのように決定するか、その関連性はよくわかっていない。

初期過程を観察するための理想的な方法は、単原子の位置とその振動をリアルタイムで映し出すことである。すなわち、原子レベルの空間分解能と原子振動と同じ程度のフェムト秒時間分解能を両立した計測技術が必要である。その有望な方法の一つは、“超高速電子顕微鏡 (Ultrafast Electron Microscopy: UEM)” (高時間分解能を付加した電子顕微鏡) である。特に、“高速の超高圧電子顕微鏡” が注目されている。超高圧電子顕微鏡は、高エネルギーの電子を利用するため、高い物質透過能を持ち、“厚膜” (厚さ数 100nm 以上の試料) やナノデバイスのその場観察に適している。高時間分解能を付加すれば、物質やデバイスを破壊せず、実動作環境下における材料挙動の微視的計測と構造変化の初期過程の観察ができる。そこで、我々は、高周波加速型 (RF) 電子銃を用いてエネルギーが 1~3MeV のフェムト秒電子線パルスを発生し、フェムト秒時間分解能を持つ「超高圧パルス電子顕微鏡」の基礎研究を行い、実現可能性を探っている。

2. 高周波 (RF) 電子銃を用いた超高圧パルス電子顕微鏡実証機の製作

図 1(a)に、我々が世界に先駆けて製作した RF 電子銃を用いた超高圧パルス電子顕微鏡実証機を示す[1-4]。本装置は、①エネルギーが 1~3MeV の相対論的フェムト秒電子線パルスを発生するフォトカソード RF 電子銃と、②3MeV の電子ビームを利用可能な超高圧電子顕微鏡レンズ系から構成されている。

実証実験では、我々が独自で開発した 1.6 セルの S バンド (2.856GHz) 加速空洞から構成されたフォトカソード RF 電子銃を用いた。図 1(b)に、開発した 1.6 セルのフォトカソード RF 電子銃を示す。この電子銃の加速空洞にピークパワーが数 MW の RF を供給することにより、カソード表面に最大 100MV/m の強い加速電場を発生し、空間電荷効果による電子線パルス幅とエミッタンスの増大を抑えることができた。実験では、無酸素銅のカソードを利用し、波長が 266nm のフェムト秒レーザーの照射によるビームエネルギーが 3.1MeV、パルス幅が 100fs、電子数が 10^7 個/pulse のフェムト秒電子線パルスの発生に成功した。このとき、ビームのエミッタンスは 0.12mm-mrad であり、ビーム輝度は $2.1 \times 10^{10} \text{e}^-/\text{mm}^2\text{mrad}^2$ であった[1]。

電子レンズ系には、1970 年に大阪大学超高圧電子顕微鏡センターに設置された日立製作所製の超高圧電子顕微鏡用のレンズ系を活用した。このレンズ系はコンデンサレンズ 2 台、対物レン

中間レンズ 1 台と投影レンズ 2 台から構成され、1970 年代から 1990 年代まで使用されており、3 MeV の電子ビームを利用して最高空間分解能は 0.56 nm に達した。対物レンズの直径は 0.8 m であり、最大起磁力は 48 kAT であった。コンデンサレンズと対物レンズの中に非点収差補正用 Stigmator コイルを実装した。しかし、装置が老朽化し、長年放置したため、レンズ駆動用電源、絞りと試料の駆動装置、冷却機構、真空排気等を全て再設計し、更新した。TEM 像の観察では、高エネルギー電子ビームを利用可能な CsI シンチレーション検出器を用い、記録には低ノイズ・高解像度・高速読み出しを同時に実現する 2k×2k の CMOS カメラを用いた。

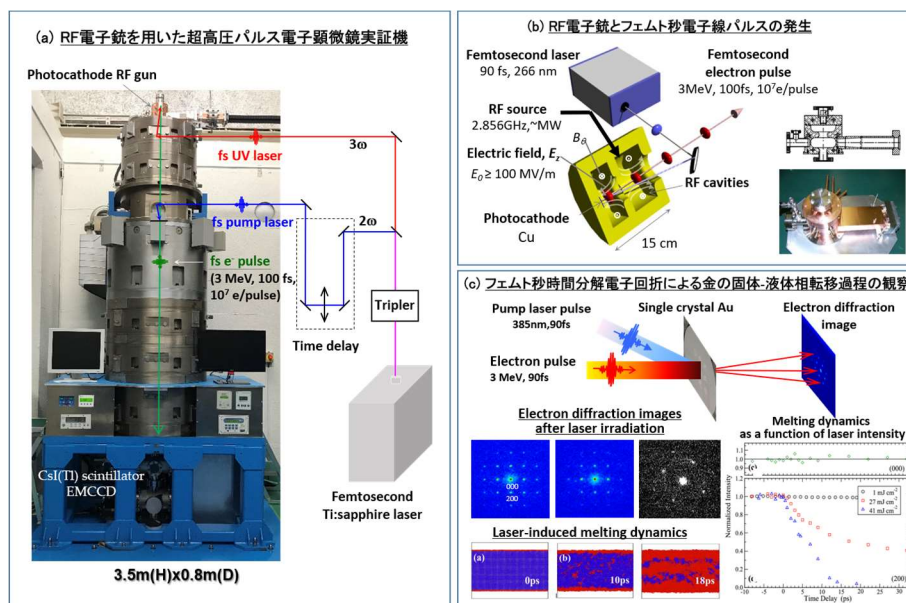


図 1 RF 電子銃を用いた超高圧パルス電子顕微鏡実証機と応用例

3. 実証実験の結果とまとめ

RF 電子銃から発生したエネルギーが 2~3MeV のフェムト秒電子線パルスを用いて、ナノ粒子、微結晶、結晶性薄膜の TEM 像と電子回折図形の観察を行った。以下に示す。

- 10,000 パルスの積算測定では、直径 200nm の金ナノ粒子の TEM 像の観察に成功し、RF 加速による発生した相対論的フェムト秒電子線パルスの電子顕微鏡への応用可能性が示された[2]。
- 低倍率の微結晶の TEM 観察では、単一のフェムト秒電子線パルス測定（シングルショット測定）で TEM 像が得られることが分った[3-4]。この成果は、超高速の不可逆な構造変化の観察に大きな意義を有する。
- 電子回折測定では、図 1(c)に示す金単結晶薄膜における不可逆なレーザー融融ダイナミクス、シリコンや VO₂ 等の試料における高速な構造変化過程の時間分解観察に成功した[5-7]。時間分解能は 100fs までに達した。

以上の実証実験の結果により、RF 電子銃を利用した超高圧パルス電子顕微鏡の実現可能性が示された。一方、今まで用いられた常伝導 RF 電子銃では、加速空洞内の発熱により、電子線パルスの繰返し周波数が 1kHz 以下、ビーム電流量が 1nA に制限されている。また、大電力の RF パルスを用いるため、RF 振幅と位相の変動によるパルスごとの電子エネルギーの安定度が 10⁻⁴、空間分解能は数 10nm に留まることが分かった。これらの限界を突破するために、我々が新たに超伝導 RF 電子銃を考案し、大電流・高安定のフェムト秒短パルス電子ビームを発生可能にする電子源を開発し、それを用いた超高圧パルス電子顕微鏡技術の確立を行っている。詳細については、本シンポジウムの講演に参考していただきたい。

参考文献

- 1) J. Yang, Y. Yoshida, H. Shibata, Electron. Commun. Jpn. 98, 50 (2015).
- 2) J. Yang, Y. Yoshida, H. Yasuda, Microscopy 67, 291-295 (2018).
- 3) J. Yang, Y. Yoshida, Advances in Condensed Matter Physics 2019, 9739241 (2019).
- 4) 楊金峰, 吉田陽一, 放射線と産業, 144, 4 (2018).
- 5) Y. Murooka, N. Naruse, S. Sakakihara, M. Ishimaru, J. Yang, K. Tanimura, Appl. Phys. Lett. 98, 251903 (2011).
- 6) Y. Giret, N. Naruse, S. L. Daraszewicz, Y. Murooka, J. Yang, D. M. Duffy, A. L. Shluger, K. Tanimura, Appl. Phys. Lett. 103, 253107 (2013).
- 7) J. Yang, K. Gen, N. Naruse, S. Sakakihara, Y. Yoshida, Quantum Beam Science 2020, 4, 4 (2020).

直流型光陰極電子銃を用いたパルス電子顕微鏡の特徴

桑原 真人^A

名大 IMaSS^A

Pulsed electron microscope using a DC photocathode electron gun

M. Kuwahara^A

^AIMaSS, Nagoya Univ.

偏向器による電子線の時間構造制御を超える高速パルス電子線発生法として、光陰極とパルスレーザーを組み合わせたパルス電子線発生がある。この光陰極を用いた電子銃では、その加速方式により RF 空洞型電子銃と DC 型電子銃の 2 方式に大別される。RF 電子銃では RF 空洞内に設置された光電面に加速電場が周期的に印加される構造のため、非常に高い加速電場を実現することが可能となり、空間電荷効果を抑えた高い電荷密度のパルス電子線を発生することができる。一方、DC 型電子銃では直流電圧による加速電場発生のため高い加速電場を光電面に長時間印加することが難しく制約がある。しかし、安定した加速電圧の印加や高い真空度の維持が可能であり、使用する光陰極に制限がないため、様々な特性を有する電子線発生が可能となる。

我々は負の電子親和性(NEA)表面を有する半導体光陰極を DC 型電子銃に採用し、透過電子顕微鏡に搭載することに成功した。これにより、電子線のスピンと時間を同時に制御した新しい顕微法の開発に成功した^[1]。この電子源は高い量子効率、単色性、高いスピン偏極度、低い初期エミッタンスを実現できており、局所状態の動的性質を明らかにし過渡現象の解明やエネルギー緩和過程の同定が可能となっている^[2]。さらに、高い電荷量を持ったパルス電子線発生を実現することでシングルショットイメージングを実現し、それに伴う空間電荷効果や Boersch 効果が顕著に発現する領域での動作に挑んでいる^[3]。

しかしながら、NEA 表面は真空環境に対して敏感であるため、超高真空が実現できる DC 型電子銃においてのみ実現されている。一方、DC 電子銃を用いることで透過電子顕微鏡において狭線幅 0.12 eV を得ることに成功した。光電子分光による実験では 80meV 程度のエネルギー幅が実測されていることから、DC 加速電圧の安定性を考慮すると妥当なエネルギー幅が実現されている。このため、DC 電子銃を用いたパルス電子線は、集束レンズの色収差を考慮する必要はなく、一般的な電子顕微鏡と同等の像質を確保することができる。しかし、空間電荷効果が現れる電荷量の場合、パルス電子線では Boersch 効果が顕著に観測される^[4]。このため、電子線イメージングに使用できる電子数を確保するためには、DC 電子銃においても空間電荷効果の抑制が重要な要素となっている。

高い加速電場で速やかに相対論領域の電子エネルギーに加速することが、空間電荷効果抑制に必要となる。このため加速電圧の向上、高い加速電場に耐える電極材の開発、電界放出が起きない平坦な光電子放出面の実現が重要となる。図 1 に DC 加速電場の距離を一定にして加速電圧を向上させた時のパルス輝度計算結果を示す^[5]。加速電圧向上に伴う運動量増加により輝度が高くなる効果に加えて、パルス輝度のピークとなる電荷量が増えていることがわかる。このように加速電場および加速電圧の向上は電子線輝度の向上に大きく寄与する。

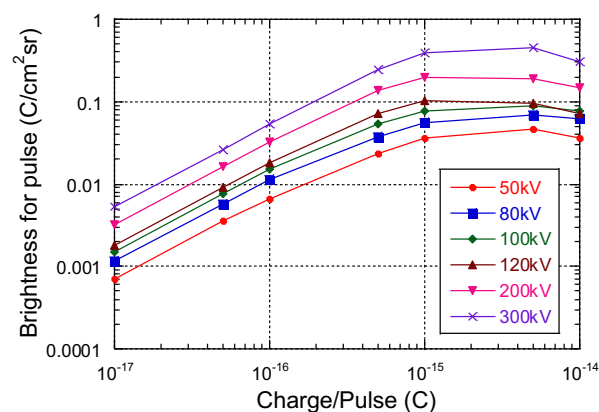


図 1. 空間電荷効果を考慮したパルス輝度の計算結果^[5]

[1] M Kuwahara, et al., *Appl. Phys. Lett.* **101**, 033102 (2012)

[2] M. Kuwahara, et al., *Microscopy* **62**, 607-614 (2013)

[3] M Kuwahara, et al., *Appl. Phys. Lett.* **105**, 193101 (2014)

[4] M Kuwahara, et al., *Appl. Phys. Lett.* **109**, 013108 (2016)

[5] 桑原真人 et al., 顕微鏡 **55**, 131-138 (2020)

超高压ホログラフィー電子顕微鏡による電磁場イメージング

谷垣 俊明

日立製作所 研究開発グループ

Electromagnetic Field Imaging by
High-Voltage Holography Electron Microscope

T. Tanigaki

Research & Development Group, Hitachi, Ltd.

環境中立社会を実現するため、グリーンエネルギー分野では脱炭素化技術、デジタルデバイス分野では低消費電力化・低発熱化技術が求められている。これら技術の開発には基礎的な新物性の発見やそれらの最適な組み合わせと制御が必要となる。デバイス機能の根幹となるのは原子の配列であり、その情報に加えて機能と深く関係する電場や磁場の情報を高い分解能で得ることは、様々な技術開発におけるメカニズム解明や不良解析において大変有用である。電子波は試料内や試料周りの電場や磁場の影響によりその波面が変化するため、電子波の波面の変化（電子波位相）を計測することで、構造観察のみでは解析することが困難な電場や磁場を解析することができる。Off-axis 電子線ホログラフィーは、In-line 電子線ホログラフィーや微分位相コントラスト法に比べ、微細な構造情報から大きな空間分布情報まで広い範囲の空間周波数情報を同時に得ることができ、電子波位相を解析するために用いられる一つの有用な手法である。この電子線ホログラフィーにおいて究極的な分解能を実現するため、加速電圧 1.2MV の「原子分解能・ホログラフィー電子顕微鏡」が開発された[1]。本装置は世界で初めて超高压電子顕微鏡に収差補正器を搭載しており、高分解能観察条件での分解能は 43 pm であり、磁場観察条件での分解能は 0.24 nm である。

電場観察では、化学反応に寄与すると考えられる触媒ナノ粒子の微弱な帯電量を電子一個の精度で計測することに成功し[2]、同時に観察されるナノ粒子と担体の結晶方位から、触媒ナノ粒子帯電量の結晶方位依存性を示唆する結果が得られている。現在、化学反応が実際に起こる環境での反応場（電場）を観察可能にするため、ガスや液体中での高精度電場観察技術の開発を進めている。

また、磁場観察では、超高压電子顕微鏡の高い透過能を活かし、三次元磁場解析がスキルミオンの解析などに应用されているが、高分解能磁場観察も有用な応用先である。我々は高分解能磁場観察向けに、パルス磁場を印加することで試料を固定したまま試料の磁場の向きを反転させ、電場成分と磁場成分を高精度に分離する方法を開発した[3]。また、計測後のデジタル収差補正と組み合わせ、フェリ磁性ダブルペロブスカイト酸化物($\text{Ba}_2\text{FeMoO}_6$)中の Fe^{3+} と Mo^{5+} のスピン秩序が逆向きになり形成された(111)格子面磁場の観測に成功した[4]。

- [1] T. Akashi et al., *Appl. Phys. Lett.* **101**, 043101 (2012).
 [2] R. Aso et al., *Science* **378**, 202–206 (2022).
 [3] T. Tanigaki et al., *Sci. Rep.* **7**, 16598 (2017).
 [4] T. Tanigaki et al., *Nature* **631**, 521–525 (2024).

本研究の一部は、総合科学技術会議により制度設計された最先端研究開発支援プログラムにより、日本学術振興会を通して助成されたものです。また本研究の一部は、JST-CREST (JPMJCR1664) の支援、防衛装備庁が実施する安全保障技術研究推進制度 JPJ004596 の支援を受けたものである。

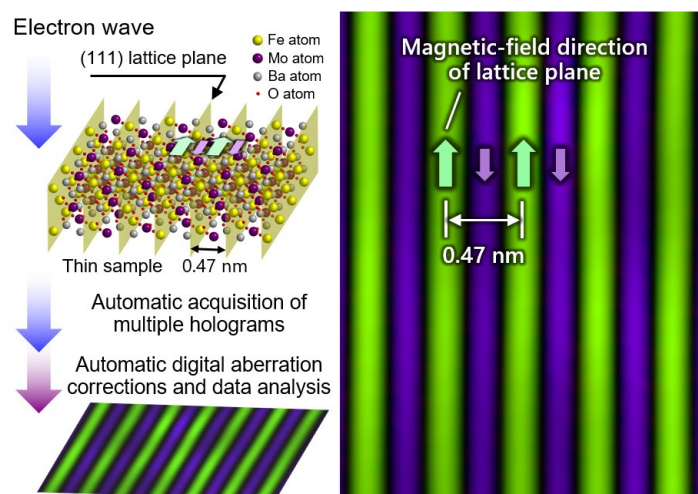


Figure 1. Schematic of observation method and observed magnetic field distribution of individual (111) lattice planes of $\text{Ba}_2\text{FeMoO}_6$.

STEM 位相イメージング法の最近の展開

関 岳人^{A,B}, 柴田 直哉^{A,C}^A東大工, ^BJST さきがけ, ^CJFCC

The Recent Advances in STEM Phase Imaging Techniques

T. Seki^{A,B} and N. Shibata^{A,C}^ASchool of Eng. Univ. of Tokyo, ^BJST PRESTO, ^CJFCC.

走査透過電子顕微鏡 (Scanning Transmission Electron Microscopy: STEM) は収差補正装置の普及以降、主に局所原子構造の観察を目的として使われてきた。高角度散乱暗視野 (High-Angle Annular Dark Field: HAADF) 法や環状明視野 (Annular Bright Field: ABF) 法などが代表的な STEM 手法である。最近、高速な分割型検出器やピクセル型検出器が開発され STEM 結像の自由度が拡大したことと、明視野領域の STEM の結像が理解されたことにより、STEM による位相イメージングが発展を見せている。本講演では主に、現在我々のグループで取り組んでいる STEM 位相イメージング手法である、微分位相コントラスト (Differential Phase Contrast: DPC) 法と、最適明視野法 (Optimum Bright Field: OBF) 法の最近の展開について紹介する。

DPC STEM 法は細く絞った電子線が試料内の電磁場により偏向する様子を分割型検出器やピクセル型検出器で計測することで、試料内の電磁場を高分解能に結像する手法である (図 1) [1,2,3]。これまで、磁区、p-n 接合界面、スキルミオン、原子電場、原子磁場などが可視化されてきた。また、原子分解能プローブを用いることで、原子核と電子雲がつくる原子電場や反強磁性体中の原子磁場の可視化も可能になっている。DPC 法では、より小さい収束角のプローブを用いた方が電磁場の検出感度が向上するため、検出感度と空間分解能にトレードオフが存在し、観察対象に合わせて最適な収束角を選択する。通常メソスケールの電磁場の観察には、1 mrad 程度の収束角を選択し透過ディスクに回折ディスクが重ならない条件を設定する。プローブ系は単位胞よりも大きくなるため、DPC 信号には原子構造由来の情報は重畳しないように思われるが、実際には透過ディスク内部には結晶の回折に由来する電子強度分布が生じるため、試料のひずみなどにより回折条件が変化すると DPC 信号に影響を与え、電磁場観察を阻害する。そのため、長い間 DPC 法による観察は単結晶性の試料に限定され、多結晶試料や界面近傍における電磁場観察は困難であった。この問題を解決するために、我々は試料に対する入射電子線の相対方位をさまざまな条件にわずかつつ変えて DPC 像を取得し、平均化することで回折コントラストを低減する手法を開発した。簡便には、試料の傾斜条件をわずかつつ変えながら数十枚の DPC 像を取得し、位置合わせ後に像を平均化することで回折コントラストを大幅に低減することができる [4]。ただし多量の手間と時間がかかるため、スキャンと信号検出に同期しながら電子線を傾斜するシステムを開発した [5,6]。本手法は傾斜平均 DPC (tilt-scan-averaged DPC: tDPC) 法と命名し、さまざまな局所電磁場観察への応用を進めている。講演では半導体ヘテロ接合における二次元電子ガス [7]、セラミックス粒界に形成する空間電荷層 [8]、強誘電体のドメイン界面の固定電荷とスクリーニング電荷 [9] を観察した結果について紹介する。

STEM 法の位相イメージングのもうひとつの応用として、高感度イメージングがある。我々のグループでは任意の分割形状で利用できる最適明視野 (optimum bright field: OBF) 法を開発し、低電子ドーズ観察への応用を行っている。OBF 法では分割型検出器などを使って同時取得した STEM 像に対して、結像理論とショットノイズ

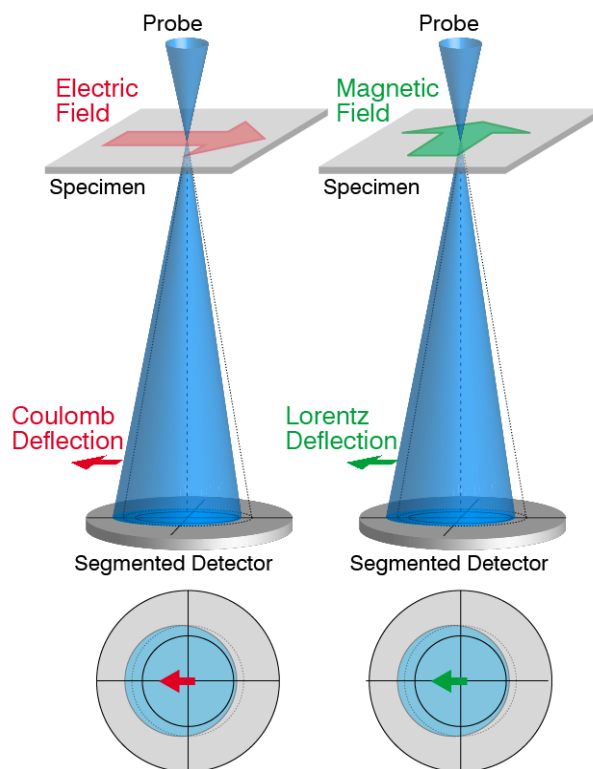


図 1. DPC STEM の模式図

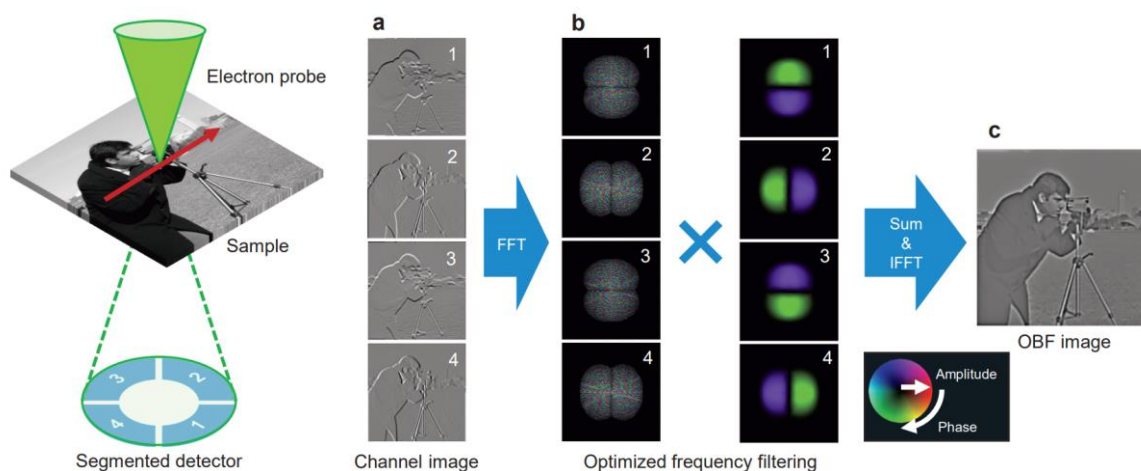


図2. OBF STEMの結像原理の模式図。(a) 分割型検出器の各チャンネルより STEM 像が同時取得され、(b) 各チャンネル像に対して周波数フィルタが施される。なお、各画像の周波数成分およびフィルタは複素数であるため、振幅と位相をカラーホイール表示にて示した。(c) 最終的に各チャンネル像を足し合わせ逆フーリエ変換を行うことで、OBF 像が得られる。(文献[11]より転載)

の理論に基づいて信号ノイズ比を定量的に扱うことで、理論上最大の信号ノイズ比が得られるように像を生成する[10,11]。図2にOBF像の生成方法を模式的に示す。まず分割型検出器で得た像をフーリエ変換する。検出器の分割計上と光学パラメータに基づいて事前に設計された最適化フィルタをそれぞれかけた後、和をとり逆フーリエ変換することで、OBF像を得ることができる。OBF STEM法は任意の分割形状の分割型検出器またはピクセル型検出器で利用することができ、電子線のスキャンに同期して像を生成できるという利点がある。本手法は環状明視野(annular bright field: ABF)法に比べおよそ2桁の電子ドーズを低減が可能であり、代表的な電子線敏感材料であるゼオライトでは、局所領域でシリコンと酸素の全原子サイトの可視化に成功している[12]。最近、我々はOBF STEM法をさらに発展させ、データ取得時の残留収差、試料傾斜の調整誤差を計測する方法を開発している。弱位相物体近似の下での厚みのある試料からの散乱を定式化することで、残留収差ゼオライトなどの動力的効果が強く現れない試料では、正確な計測が可能となっており、これらの計測パラメータを考慮してOBF像を生成することでより鮮明な原子像を得ることが可能となった。本手法、一般の試料でも利用できる手法へと拡張することができれば、STEMの自動化の要素技術となることが期待される。

DPC法やOBF法は、明視野領域を用いたSTEM法であるが、最近我々は、熱散漫散乱が存在する暗視野領域を分割型検出器やピクセル型によって検出することで、熱振動に関する情報を取得することが可能であるかに注目している。そこでクラスレート化合物中の異方的原子振動をモデルケースとして、異方的な熱散漫散乱を分割型検出器で検出可能かを実験とシミュレーションで検証した。その結果、熱振動の振幅を異方性も含めて定量的に検出することに成功した[13]。

【参考文献】

- [1] N. Shibata *et al.*, *Acc. Chem. Res.* **50**, 1502–1512 (2017).
- [2] T. Seki, Y. Ikuhara, N. Shibata, *Microscopy* **70**, 148–160 (2021).
- [3] T. Seki *et al.*, *Ultramicroscopy* **240**, 113580 (2022).
- [4] Y. O. Murakami *et al.*, *Microscopy* **69**, 312–320 (2020).
- [5] Y. Kohno *et al.*, *Microscopy* **71**, 111–116 (2022).
- [6] S. Toyama *et al.*, *Ultramicroscopy* **238**, 113538 (2022).
- [7] S. Toyama *et al.*, *Nat. Nanotechnol.* **18**, 521–528 (2023).
- [8] S. Toyama *et al.*, *Nat. Commun.*, Accepted. DOI:10.1038/s41467-024-53014-w
- [9] M. Takamoto *et al.*, *submitted*.
- [10] K. Ooe, T. Seki, Y. Ikuhara, N. Shibata, *Ultramicroscopy* **220**, 113133 (2021).
- [11] 大江ら, *顕微鏡* **57**, 49–53 (2022).
- [12] K. Ooe *et al.*, *Sci Adv.* **9**, eadf6865 (2023).
- [13] K. Tabata *et al.*, *Small Sci.* **4**, 2300254 (2024).

S-6

FIB-SEM 技術を活かした種々の 3次元解析や顕微鏡応用

11月2日（土）14：30～16：30

第3会場（SDGs オアシス）

プラズマ FIB-SEM を用いた大領域 3 次元構築の実際

吉田 竜視¹、水田 安俊¹、加藤 丈晴¹、木村 禎一¹

¹一般財団法人ファインセラミックスセンター

Large-volume 3D reconstruction using plasma FIB-SEM

R. Yoshida¹, Y. Mizuta¹, T. Kato¹, T. Kimura¹

¹Japan Fine Ceramics Center(JFCC)

材料の 3 次元観察は材料本来の特性を把握するために重要な観察手法である。3 次元観察の手法には、X 線 CT、SEM アレイトモグラフィー、FIB-SEM、TEM トモグラフィーなどがある。それぞれの手法は、主にその分解能と解析対象領域のサイズによって手法が選択される。X 線 CT は X 線の吸収コントラストで結像する。分解能としては数 μm だが、大きな材料を非破壊で観察することが可能である。TEM トモグラフィーは、数 nm 以下の分解能で観察が可能であるが、電子線が透過する必要があるので、試料サイズが大きく制限される。SEM アレイトモグラフィーは高分子材料や生物試料でよく使用される手法であり、ミクロトームによる連続切片作製と SEM を用いた高分解能観察が特徴である。FIB-SEM 法は、装置内で FIB によるスライス加工と断面 SEM 観察を繰り返し、3D データを得る手法である。

従来の Ga イオンを用いた FIB-SEM 法では、その 3D 構築領域は $50\mu\text{m}$ 角程度である。これは Ga イオンのビーム電流量の制限によるものである。近年、プラズマ FIB-SEM が各社から日本国内にリリースされた。プラズマ FIB-SEM では、Xe 等のイオンビームが Ga に比べて 20 倍以上の大電流で使用可能である。そこで、これまでの Ga-FB-SEM では不可能であった大領域の 3 次元構築が可能となった。図 1 に、その一例を示す[1]。試料は Li イオン電池両面正極シートである。 $750\mu\text{m} \times 310\mu\text{m} \times 143\mu\text{m}$ の領域を、ボクセルサイズ 200nm で可視化した例である。3 次元構築領域は、Ga-FIB-SEM のおよそ 260 倍の体積を有している。図 2 に、0603 サイズ ($0.6\text{mm} \times 0.3\text{mm} \times 0.3\text{mm}$) の積層セラミックコンデンサ(MLCC)のプラズマ FIB-SEM による 3 次元構築結果を示す。 $612\mu\text{m} \times 120\mu\text{m} \times 330\mu\text{m}$ の領域をボクセルサイズ 100nm で可視化した例である。3 次元構築領域は Ga-FIB-SEM のおよそ 150 倍の体積を有する。このようにプラズマ FIB-SEM を用いることで、X 線 CT と比較可能な大領域の 3 次元構築が可能となった。

プラズマ FIB-SEM 法の最大の問題点は、データ取得時間の長さである。前述の図 1 のデータは、1550 枚の反射電子像をおよそ 103 時間 (4 日と 7 時間) かけて取得している。図 2 のデータは 1200 枚の反射電子像をおよそ 160 時間 (6 日と 16 時間) かけて取得している。大電流が使えるものの、加工体積も大きくなっていること、またスライス枚数の増加により、長時間の加工観察が必須となる。また SEM 像の取得も、高解像度にするると長時間のスキャンが必要となる。将来的にはこの問題を改善することが望まれる。

また、3 次元構築で重要となるセグメンテーションについても、画像サイズが大きいことから、従来多用されてきた手塗りでのセグメンテーションは現実的ではない。最近では深層学習を用いたセグメンテーションがソフトウェアに実装されてきたため、この分野の進展も期待したい。

参考文献：[1] Ryuji Yoshida et al., *Microscopy*, Volume 73, Issue 4, August 2024, Pages 354–357

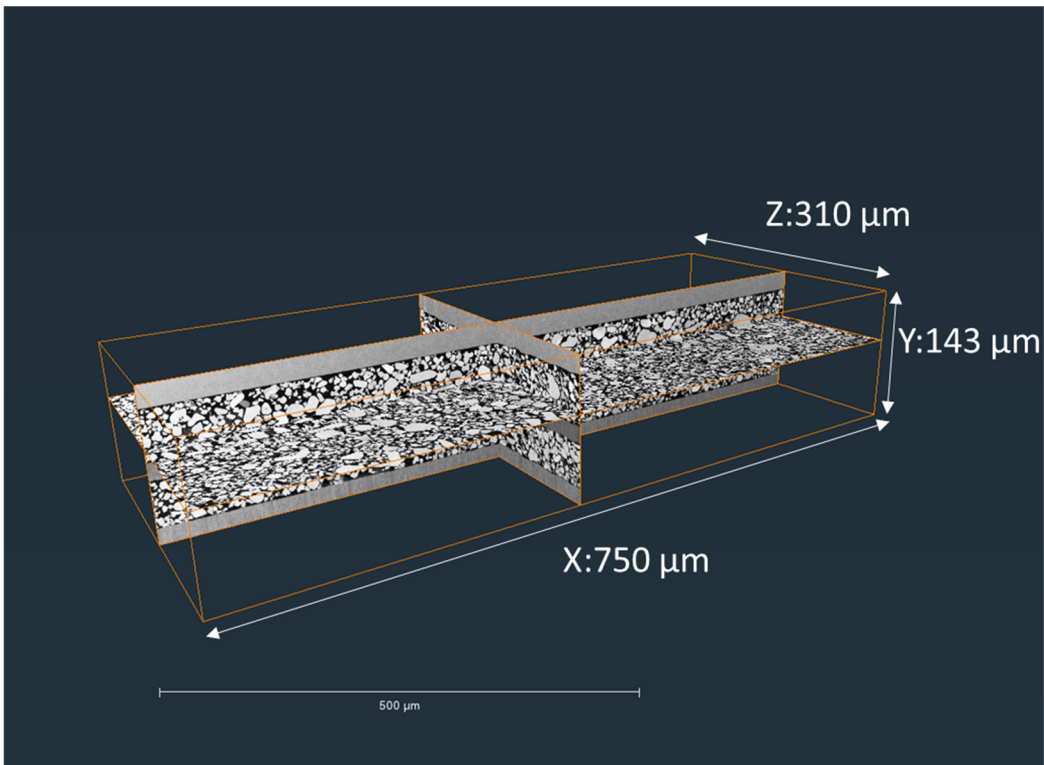


図 1. プラズマ FIB-SEM を用いた Li イオン電池正極シートの 3 次元構築結果。

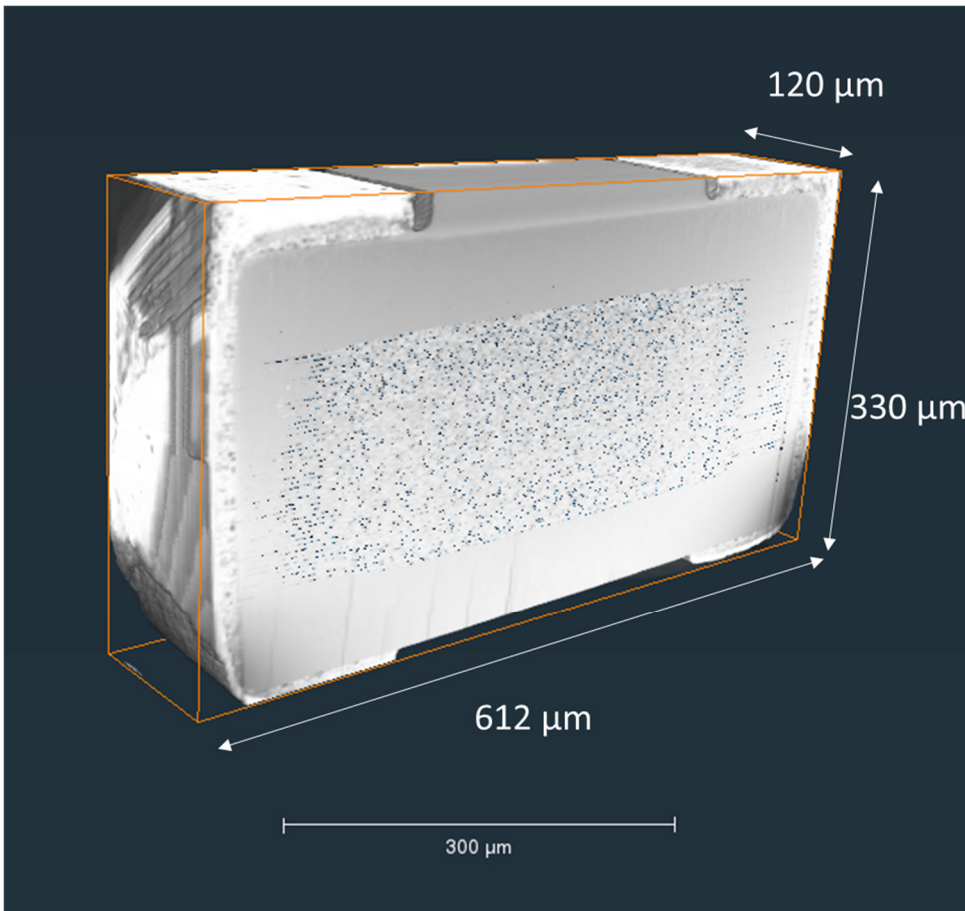


図 2. 積層セラミックコンデンサの 3 次元構築結果。

FIB によるソフトマテリアルの加工と 3 次元観察

陣内 浩司^A
東北大多元研^A

Fabrication and 3D observation of soft materials using a focused ion beam (FIB)

H. Jinnai^A^A*Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials (IMRAM), Tohoku Univ.*

集束イオンビーム (FIB) 技術は、半導体関連の処理に強力なツールであり、故障解析・集積回路のデバッグや修復などに日常的に使用されている。マスクレスパターニングに高エネルギー FIB を使用することは、マイクロエレクトロニクスやマイクロファブリケーションなどの分野では確立された技術であり、とりわけ、シリコンのマイクロミリングは、マイクロセンサーやアクチュエータなどの広範な分野で有用である。そのため、シリコンの FIB ミリングの基本メカニズムに関しては、多くの研究が存在する。

このような金属や半導体などの「硬い材料(ハードマテリアル)」に対して、「柔らかい材料(ソフトマテリアル)」、例えば、高分子(ポリマー)・細胞・複雑流体などへの FIB の応用は、2000 年初頭まではほとんど見られなかった。これは、ソフトマテリアルは、高強度のイオンビームに耐えられず、したがって、簡単に損傷するであろうという“常識”によるものと思われる。Melngailis によってモデル化されたイオンビーム下での局所的な温度上昇は、汎用的なポリマーの一つであるポリスチレンで約 115 °C と推定され[1]、このような集束イオンビームによる局所的な加熱がポリマーに大きな損傷を与えるであろうと考えられており、室温でのポリマーの FIB 加工は現実的ではないとされてきた。しかし、その一方で、最近の新規素材の多くは、ソフトマテリアルを含む複合材料が支配的となってきており、電子顕微鏡用の超薄切片作成などにおいて、ソフトマテリアルの FIB 加工は避けて通れない問題となっている。

例えば、硬いガラス基板上に堆積された柔らかいポリマー層からなるポリマーベースの太陽電池について、ポリマー層の厚さと界面粗さを調べる必要がある、そのために透過型電子顕微鏡(TEM)用の超薄切作製されたのが FIB のソフトマテリアルベースの試料への最初の応用例と思われる[2]。この太陽電池材料の場合には、ポリマーよりも熱伝導率の高いガラス基板という硬質部品によってポリマーが支持され、したがって、ポリマー層の下に存在する基板が“ヒートシンク”のように機能し、集束イオンビームによる局所的な熱が基板を流れ、室温でもポリマー/ガラス基板の FIB 加工が可能になったと考えられる。このポリマー/ガラス基板の例は、従来のマイクロトーム法などの薄片作製技術では、固い基板をガラス(またはダイヤモンド)ナイフで切断することができないことから、FIB が非常に有力な試料作製手法となった一例であるが、ソフトマテリアルのみから構成される試料に対する応用は限定的であった。

そこで、我々は、支持材料が無い状態のブロック共重合体(block copolymer, BCP)フィルムを極低温で FIB によって自由にミリングおよび処理できるかどうか検討してみた[3]。BCP とは、異なる種類の複数の高分子が共有結合で連結されたポリマーであり、BCP では異種のポリマー間の斥力相互作用により分子内で相分離を起こし、分子サイズ(約 10~20nm)の周期的な規則構造を自発的に形成されることが知られている[4]。本稿で示す実験で用いた BCP は、ポリスチレン(PS)とポリイソプレン(PI)から成る二元のブロック共重合体(以後、SI ブロック共重合体とする)であり、それぞれのポリマーのガラス転移温度(Tg)は、約 100°C と約 -50°C である。すなわち、室温においては、PS は固体、PI は液体であり、PI は分子内に二重結合をもつことから、電子線やイオンビームには耐性が低い。そこで、TEM での相分離構造の観察が必要であることもあり、PI 部分を OsO₄ で電子染色した[5]。つまり、電子染色により PI 部分は事実上 Os に置換されたことになる。しかし、それでも PS は 100°C 付近の Tg 以上の温度では熔融することから、イオンビームによる局所温度の上昇には耐

えられそうも無い(と予想された)。

図1に示すのは、OsO₄染色したSIブロック共重合体を極低温(-177°C)に保ち、超薄片化を想定して、図1bに模式図を示すような3段階の厚みをもつ形態にFIBによる加工を行った結果である。TEMで実際に観察してみると(図1c)厚みの異なる薄片となっている様子が見られる。図1c中の○で示した部分を拡大すると、図2aに示すように、このSIブロック共重合体に特徴的な3次元構造[6,7]に特有な透過像が得られた。図中の白い相と黒い相は、それぞれ、PS相と(OsO₄により染色された)PI相である。さらに興味深いのは、厚みの異なる切片位置(それらの境界線は図2bの一点鎖線で示した)において、透過像は対応するシミュレーション像と一致し、すなわち、SIブロック共重合体の相分離構造はFIBによる超薄切片化により破壊されていないことである。

FIBによる超薄切片作製は、マイクロームによる切片化の際に時々見られる、(i)ナイフによる試料の圧縮や伸張が無いこと、また、(ii)複合材料の切片化において均一の厚みの超薄切片が得られることなど、利点も多い。前者(i)はTEM像からの定量的な計測を可能とし、後者(ii)は切片の厚みムラによるコントラストを除去できる点で有効である。特に、均一の厚みは電子線トモグラフィー[8]における傾斜像観察では(高傾斜角での)画像取得において有利となる。

FIBによる3次元観察(slice & view)においては、電子線トモグラフィーよりも大きな体積の3次元観察が可能であり、この点は、例えば、BCPの相分離構造における欠陥の3次元分布を調べる際に有効であることが示されている[9]。また、OsO₄によるバルク電子染色がフィルム表面からどの程度まで浸透するか、という基本的な問題についてもFIBは極めて有効であり、結果として、数μmまで染色が行われることが見いだされた[10]。これらの研究例は、FIBの大体積3次元観察の賜物と言えるが、同時に、FIBには(大体積の見返りとして)分解能が電子線トモグラフィーに劣るという欠点もある。この欠点を補うために、我々は、機械学習をFIB観察に応用し、FIBの分解能を上げることを試みた研究例もある[11]。講演では、FIBのソフトマテリアルの構造観察例の紹介および解析面での進歩について概説する予定である。

参考文献

1. J. J. Melngailis, *Vac. Sci. Technol.*, B5, 469 (1987).
2. J. Loos, J. K. J. van Duren, F. Morrissey, R. A. Janssen, *J. Polymer*, 43, 7493 (2002).
3. K. Niihara, T. Kaneko, T. Suzuki, Y. Sato, H. Nishioka, Y. Nishikawa, T. Nishi, H. Jinnai, *Macromolecules*, 38, 3048 (2005).
4. K. Mori, H. Hasegawa, T. Hashimoto, *Polym. J.*, 17(6), 799 (1985).
5. K. Kato, *J. Electron Microsc.*, 14, 220 (1965).
6. H. Hasegawa, H. Tanaka, K. Yamasaki, T. Hashimoto, *Macromolecules*, 20, 1651 (1987).
7. H. Jinnai, Y. Nishikawa, R. J. Spontak, S. D. Smith, D. Agard, T. Hashimoto, 84(3), 518 (2000).
8. H. Jinnai, R. J. Spontak, T. Nishi, *Macromolecules*, 43(4), 1675 (2010).
9. X. Y. Feng, H. Guo, E. L. Thomas, *Polymer*, 168, 44 (2019).
10. M. Kato, T. Ito, Y. Aoyama, K. Sawa, T. Kaneko, N. Kawase, H. Jinnai, *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.*, 45, 677 (2007).
11. K. Hagita, T. Higuchi, H. Jinnai, *Sci. Rep.*, 8, 5877 (2018).

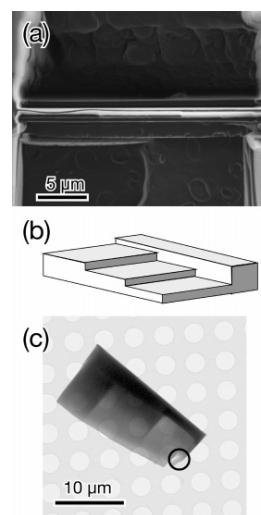


Figure 1. (a) In situ FIB SIM image during sample preparation, top view. (b) Schematic of "three-story" TEM section. (c) TEM micrograph of SI diblock copolymer section. Three different thicknesses are seen.

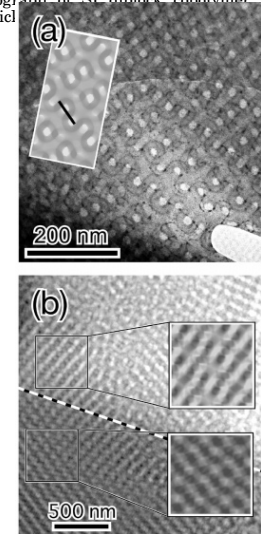


Figure 2. (a) High magnification TEM micrograph ($\times 20000$) of the three-story section shown by a circle in Figure 1c. A computer simulated TEM image based on ordered double Gyroid (G) structure was overlaid on TEM micrograph. Solid line in the figure represents $\sqrt{3}a/2$ (a is a lattice constant of G structure). $a \approx 130$ nm. (b) A TEM micrograph of the three-story section of SI diblock copolymer prepared by FIB, in which two different regions with different thicknesses, i.e., 155 (top) to 270 nm (bottom), and their boundary (a broken line) are observed. Computer-generated projections simulated using the lattice constant and each thickness were shown as insets.

FIB-SEM 複合装置を用いた EDS/EBSD 分析の特徴と課題

森田 博文^A, Mark Coleman^B, Simon Burgess^B

オックスフォード・インストルメンツ^(株)^A, Oxford Instruments NanoAnalysis^B

Characteristics and Notes on EDS/EBSD Analysis With a FIB-SEM Combined System

H. Morita^A and M. Coleman^B, S. Burgess^B

^AOxford Instruments KK, ^BOxford Instruments NanoAnalysis

FIB-SEM 複合装置には大きく分けて電子銃とイオン銃の位置関係が V 型のもものと L 型（いわゆる直交タイプ）のものがあるが、どちらのタイプでも分析装置として EDS と EBSD が付属していることが多い。多くの場合、EDS 分析時及び EBSD 分析時または EDS/EBSD 同時分析時には試料を傾斜している。この時試料が水平な時と比べて、EDS の取り込み角(TOA)や方位角(Azimuth)、WD の違いを認識しているかどうかでデータの解釈が重要なポイントになってくるとともに課題もでてくる。(Fig.1) 最新の EDS ソフトウェアでは、EDS の定量値などは正しいジオメトリを登録してあればある程度理想位置からずれても自動的に補正してくれる。

さらに EBSD では結晶方位を測定している関係上、試料の加工断面と方位の座標も考慮する必要である。SEM 画像の座標、FIB の座標、EBSD データの座標など、一つの装置に複数の座標が混在するため、しばしばデータ解釈の混乱のもとになっている。

特に FIB-SEM 複合装置では 3D 収集ができるため、データ収集時のみならず沢山の 2 次元画像を 3 次元に構築するときには正確な構築が必要である。例えば Z 方向に逆側に構築していくと鏡像のような 3 次元データが出来上がってしまうなど、確認すべき点が多い。

今回の発表では、普段曖昧にしがちな EDS/EBSD 測定時のパラメータの座標系や走査系に関連する特徴と課題について検討する。

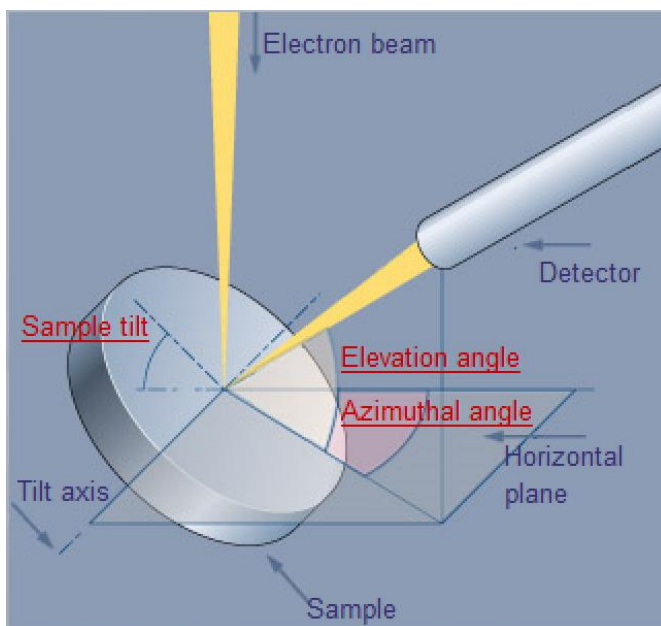


Fig.1 試料傾斜時の EDS ジオメトリのパラメータ

マルチイオン集束イオンビームの新たなフロンティア

村田 薫^A, Adam Stokes^Aサーモフィッシャーサイエンティフィック^A

Multi-Ion Species: The New Frontier in Focused Ion Beam Technology

K. Murata^A and A. Stokes^A^AThermofisher Scientific

半導体産業は構造の微細化、高集積化が進むだけでなく、2.5D や 3D といった新たなパッケージが採用され、電子顕微鏡に求められる視野範囲は微小部から広域になるとともに分析点数は増え、さらに解像度を落とすことなく短時間で解答することが要求される。こうしたとめどもない要求に試料処理能力の高いプラズマ FIB の利用が増え、中でも一台の装置で必要に応じて利用するイオン種を切り替えられるマルチイオンタイプの重要性が増している。しかしながら解析の要求に対してどのイオンが適切であるかが曖昧である。今後解析の需要が増大する先端パッケージとパワー半導体を例に FIB のイオン種として利用されている Ga⁺、Xe⁺、Ar⁺、O⁺ についてどのような加工の性質が異なるのかを考察する。

1. 先端パッケージの解析課題

生成 AI や自動運転の利用が現実になりつつあり、デバイスの高性能化は大集積化、高密度化に始まりそれらデバイスの高密度積層パッケージング化に依存している。単位面積の集積度を上げるために flip-hip、Fan-out、Fan-in、などの積層や張り合わせ技術が使われており、必要とされる解析エリアは数 100 μm 深さにまで及ぶ。ここで FIB により大面積を高速で処理するのだが、利用するイオンによってその断面処理スピードに違いが生じる。

加工の速度を考えるために図 1 にイオンの加速電圧ごとの Si のスパッタ収率をシミュレーションした結果を示した。この図から高加速のイオン半径が大きいイオンが原子の弾き飛ばしが強く、逆に高速の酸素イオンや窒素イオンでは 1 個のイオンで 1 個の Si 原子も弾き飛ばせないことが予測される。また加工の速度は入射イオン電流量にも依存する。Thermofisher 社の Helios 5 Hydra では Xe⁺ イオンの 2.5 μA に対して Ar⁺ イオンでは 4.3 μA まで選べる。これらを掛け合わせて考えると加工の速度としては Xe⁺ イオンが加工の速度において有利である。

では実際に Xe⁺ イオンと Ar⁺ イオンの最大電流量を利用して同じ加工サイズ、同じ加工方法で加工した結果を図 2 に示した。2 つの加工スピードを比較してみると Ar⁺ イオンの方が高速である

ことがわかる。これはおそらくインプラネーション範囲が Ar⁺ は大きく、Si 基板から奥深くまでイオンが入り込み内部でスパッタには寄与しないまでもノックオン破壊が起きており、イオン入射をつづける過程でスパッタの効率が高められるのではないかと推測される。

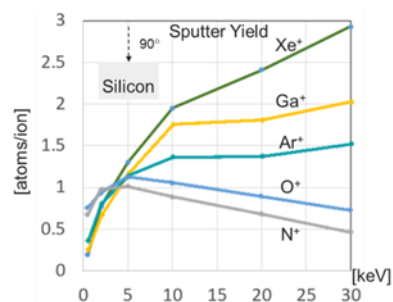


図1 加速電圧毎の各種イオンスパッタレート
(緑: Xe⁺、黄: Ga⁺、緑青: Ar⁺、青: O⁺、灰: N⁺)

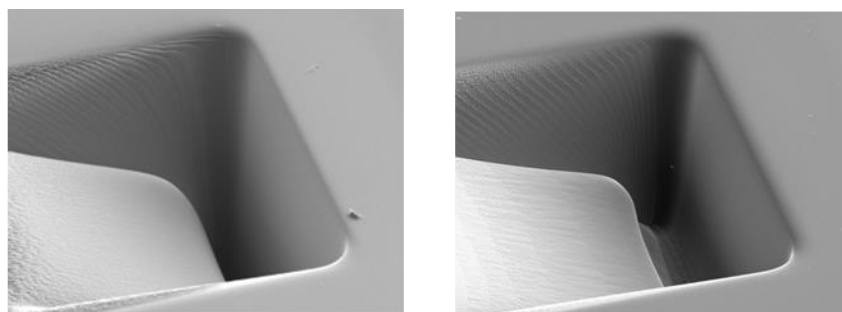


図2 Xe⁺ (左) と Ar⁺ (右) の最大イオン電流で断面加工を実施した結果
(処理時間 Xe⁺: 1分42秒 Ar⁺: 58秒)

また半導体デバイスはSi以外にもCuやAlなど複数の材料によって構成されるため、Siだけの加工速度だけでなく、複合材料の加工についても検討が必要である。図3にSiに対するWの収率差をイオンの入射角度事にAr⁺、Xe⁺、Ga⁺において計算させた結果を示す。このグラフから硬さの異なる材料をいかに平滑に加工できるかを予測できる。0に近い値であれば、スパッタレートに差はないことを示しており、異種材料であっても平滑な加工が期待できることを意味する。この表からXe⁺イオンよりもAr⁺イオンがレートに差が少なく、Si基板にW配線がある場合でも加工のレートは同じであり、結果として加工スジのない加工が期待できる。加工スジができるとそのスジの除去に余計に時間をかけるため、結果として仕上がりまでの時間は長くなる。図4には平滑な断面を得るために消費した時間の結果と得られた断面のSEM像を示した。

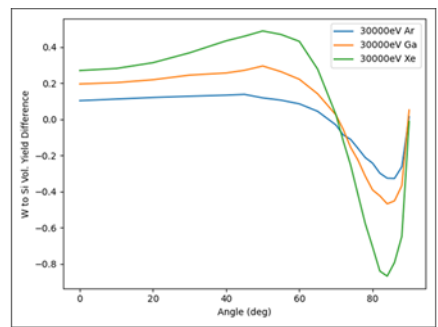


図3 Xe⁺ (緑)、Ga⁺ (橙)、Ar⁺ (青) のイオン入射角度毎のSiに対するWのスパッタ収率差

2. パワー半導体におけるFIBの課題

高電圧、高周波対応のパワー半導体にはSiCやGaN基板が利用される。これらの基板で電子顕微鏡による解析の課題はFIBによる加工においてスパッタレートが低くSi基板に比べて平滑な断面をえるまでの時間が長くなることである。またパワー半導体の性能を高めるためには基板に混入する結晶欠陥を低減することであり、それらの結晶欠陥を高速で定量的に評価することが求められている。ここでもXe⁺イオンとAr⁺イオンのそれぞれのビームで断面を得るまでの時間を計測を試みた。結果を図5に示す。断面の仕上がりまでの合計時間は、Xe⁺イオンがGaNで20分、SiCで51分。それに対してAr⁺イオンではGaNは13分、SiCで34分であった。ここでもやはりAr⁺イオンの断面処理の方が圧倒的に速く断面処理されていることがわかる。これは異種材料のフラット加工性がAr⁺イオンでは高いゆえに高速で加工されたものと考えられる。

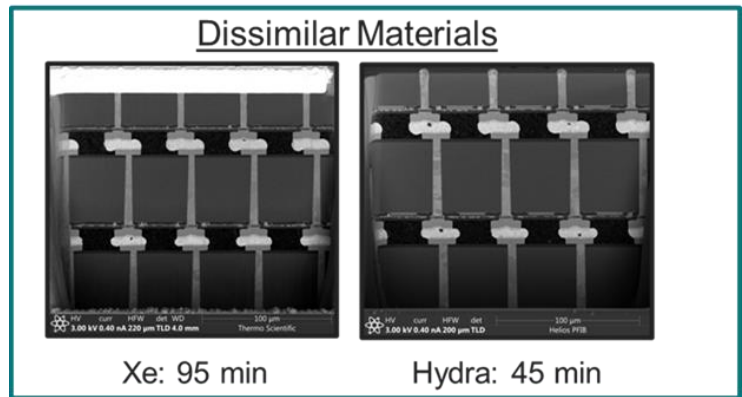


図4 Xe⁺ (左)とAr⁺ (右)による異種材料の断面加工の結果

Device	Ga ⁺ (note*)	Xe ⁺	Ar ⁺
GaN	500m	20m	13m
SiC**	1000m	51m	34m

図5 Xe⁺とAr⁺によるパワー半導体の断面加工の処理時間 (Ga+の数値は予測)

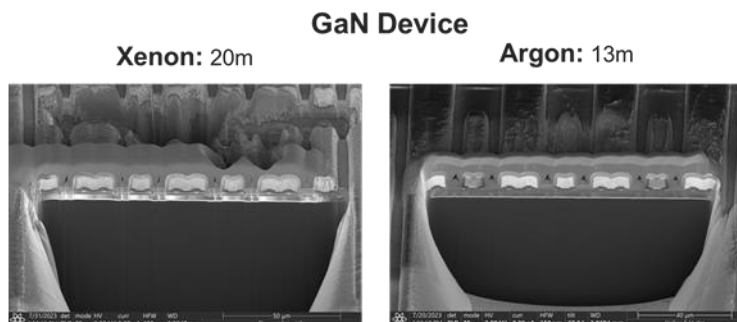


図6 Xe⁺とAr⁺によるパワー半導体の断面加工の結果

最後に

本報告ではこの他にもイオン種のTEM試料仕上げの効果についても報告し、各種イオンがパワー半導体の基板に与える影響についても議論したい。特に利用するイオン種によっても仕上がりに違いがTEM観察結果から見て取れておりダメージについて報告する。



日本顕微鏡学会 第 67 回シンポジウム

S-7

水素材料の先端顕微解析

11 月 3 日（日） 8 : 55 ~ 10 : 55

第 2 会場（セミナー室）

水素関連材料のその場 TEM 観察

松田 潤子

九州大学 水素エネルギー国際研究センター

In situ TEM Observations of Hydrogen-Related Materials

J. Matsuda

International Research Center for Hydrogen Energy, Kyushu University

2050年に脱炭素社会の実現を目指す中で、エネルギー媒体としての水素が注目されている。水素は、二酸化炭素を排出せず、化学反応エネルギーを直接電気エネルギーに変換することができる二次エネルギーであり、再生可能エネルギーの有効活用にも利用される。水素は地球上に豊富にある水の電気分解で製造することができるが、より高効率に低コストで製造するために、様々な方法が検討されている。一方で、水素ガスはガソリンなどに比べて、単位体積当たりのエネルギー効率が低いいため、効率の高いエネルギーシステムを構築するには、よりコンパクトに水素を貯蔵・輸送する技術が必要になる。

筆者はこれまで、主に TEM を用いて、水素貯蔵や燃料電池、水（蒸気）電解、水素脆性など水素に関連する材料の微構造解析を行ってきた。その中で、材料開発を直接サポートするための観察・解析を行うと同時に、反応のメカニズムや劣化の原因を解析するために、反応前後の材料を観察したり、反応・セル作動環境を模擬した条件でその場 TEM 観察を行ったりしている。

水素を貯蔵・輸送する方法は、高压タンクを用いる方法、液体で輸送する方法、水素貯蔵合金など固体の水素化物として水素を貯蔵する方法などがある。金属水素化物は、それ自体の体積の千倍以上の水素ガスを貯蔵することができるが、水素を吸蔵・放出する際に、格子欠陥やクラックが導入され、吸蔵・放出サイクルを繰り返すうちに、見かけの吸蔵量が減少していくことが問題のひとつである。そのため、水素吸蔵前後、吸蔵・放出サイクル後などの水素貯蔵材料の TEM 観察を行い、格子欠陥導入の有無や導入される欠陥の種類、および構造変化と吸蔵・放出特性との関係を調べた。その中で、 $V_{1-x}Ti_x$ 合金について、サイクル試験において見かけの水素吸蔵量が減る場合 ($x > 0.5$) は、水素吸蔵過程で合金中に双晶境界が導入されることを明らかにした。

水素貯蔵材料の水素吸蔵・放出反応をその場 TEM 観察しようとする、反応温度と圧力が材料によって熱力学的に決まるため、観察環境によっては、観察できる材料に限られることになる。筆者らは、環境制御型 TEM (ETEM) を用いて、常温、100 Pa 程度で水素を吸蔵する Mg-Ni 薄膜について、水素ガス雰囲気中で構造変化を高分解能 TEM でその場観察した。また、常温、大気圧付近で水素吸蔵する材料を観察するために、日本電子に *ex-situ* セル付の TEM 試料ホルダを作製していただき、Pd 粉末などの水素吸蔵過程の観察を行った。

燃料電池については、特に固体酸化物形燃料電池 (SOFC) について、ETEM を用いて、酸化・還元雰囲気中で試料を加熱し、電極・電解質材料の微構造変化をその場観察したり、EELS で電子状態の変化をその場測定したりしている。今後は、電圧印加した状態でのその場観察を行っていきたいと考えている。

<参考文献>

1. J. Matsuda, T. Yamamoto, S. Takahashi, H. Nakanishi, K. Sasaki, S. Matsumura, *ACS Appl. Nano Mater.*, 4, 2175-2182 (2021).
2. J. Matsuda, T. Kawasaki, S. Futamura, T. Kawabata, S. Taniguchi, K. Sasaki, *Microscopy*, 67(5), 251-258 (2018).
3. J. Matsuda, K. Yoshida, Y. Sasaki, N. Uchiyama, E. Akiba, *Appl. Phys. Lett.*, 105, 083903 (2014).

水素顕微鏡による透過水素二次元分布の可視化

板倉 明子^A, 宮内 直弥^A, 艸分 倫子^A, 青柳 里果^B, 吉田 肇^C
NIMS^A, 成蹊大^B, 産総研^C

2D visualization of permeated hydrogen with Operando Hydrogen Microscope

A. N. Itakura^A, N. Miyauchi^A, T. Kusawake^A, S. Aoyagi^B, and H. Yoshida^C

^ANational Institute for Material Science, ^BSeikei University

^CNational Institute of Advanced Industrial Science and Technology

1. はじめに

金属系構造材料の劣化につながる腐食と水素脆化は、社会インフラの安全性確保からも重要な研究課題の一つだが、腐食が錆を酸化位置として可視化しやすいのに対し、水素は元素の特性や実験的制約から可視化が非常に困難である。このため、耐食材料の研究で行われているような構造制御まで含めた材料開発が、十分に進められていない。

2. 水素顕微鏡について

我々は、水素環境材料の開発には水素の可視化が必要だと考え、表面科学の分野で使われている電子遷移誘起脱離 (Electron Stimulated Desorption : ESD 法) を用いた水素の可視化装置、オペランド水素顕微鏡 (Operando Hydrogen Microscope : OHM) を開発した (図 1) [1-3]。市販の走査型電子顕微鏡に、水素イオンの検出機構と、試料への水素導入機構を組み込むことで、試料内部に固溶され表面に湧き出した水素、あるいは試料背面から試料を透過する水素の位置情報をリアルタイムで画像化する。水素を通しにくい金属材料に対して、水素を試料背面から補給しながら長時間 (数時間から二週間) の計測を行い積算することで、微量の水素透過チャンネルも検出することができる。また非破壊・非汚染であることから、それぞれの時間に試料を透過してくる水素を、試料表面のスナッフショットとして撮影することができるなどの特徴がある。いくつかの金属試料について、水素透過と材質や構造との関係をとらえたので、紹介する。

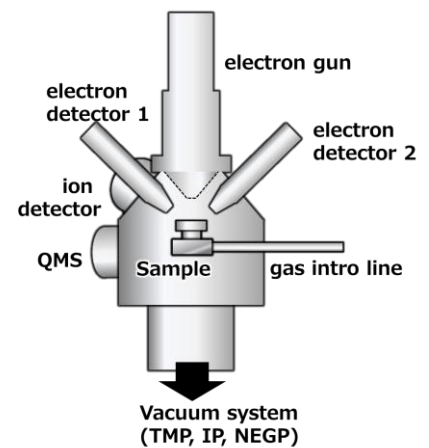


図 1. 水素顕微鏡模式図

3. ステンレス鋼の構造と水素透過計測

真空容器材として使われるステンレス (SUS304 鋼) を圧延して加工変態を導入し、母材のオーステナイト構造 (FCC) とマルテンサイト構造 (BCC) を共存させた試料の水素透過計測を行った (厚さ 100 μm 、結晶粒径 100-150 μm)。試料背面に 0.1MPa の重水素を供給し、試料を介して計測室に湧き出す水素を画像化した (図 2) [4]。試料温度 473K、65 時間の計測結果と、電子線後方散乱回折 (Electron Back Scattered Diffraction, EBSD) による構造分布をピクセルごとに対応させてマルチモーダル化し、主成分分析他の手法を用いて関連性を引き出した [5]。また、各領域での水素放出量の時間応答性を Fick の拡散式で Fitting して解析したところ、BCC 粒では拡散係数は大きいものの透過量は少なく、FCC 粒では拡散係数は小さいがゆっくりした拡散で透過流

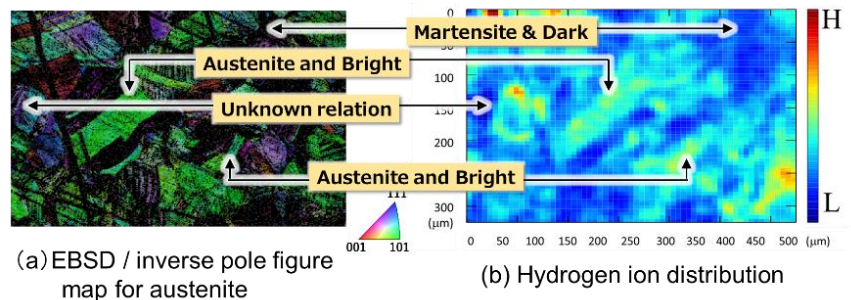


図 2. SUS304 鋼の構造分布と水素透過の分布 (65 時間積算)。BCC, FCC など水素と構造との関係のわかりやすい結晶粒のほかに、目視では関係のわからない領域も確認され、この部分は $\Sigma 3$ の対応粒界があることが分かっている。

量が多くなることが分かった。FCC の中に BCC が混ざりこんだ構造の粒では、単一成分で Fitting できる領域と、二成分を示す領域があった。混合領域では、成分 1 は FCC 起因、成分 2 は BCC 起因であると考えられる[6]。

4. 水素透過防止膜の計測

FF-SPP 処理は酸処理と熱処理を繰り返すことでステンレス鋼表面に緻密な酸化クロム膜を形成し、腐食を防ぐ表面処理法である[7]。真空容器の内表面処理として利用されるため、超高真空下での残留ガスの主成分である水素の放出に関して調査を行った(図 3)。電解研磨した試料と電解研磨後に FF-SPP 処理をした試料からの水素放出を比較すると、FF-SPP 処理により、水素の放出が平均して 50%以上低減することが分かった。しかし、マイクロインクルージョン(材料中の不純物の塊)が抜けた後が、井戸状の穴になりそこから水素が放出されていた[8]。効果的な表面処理を行うためには母材の選定も重要であることが分かった。

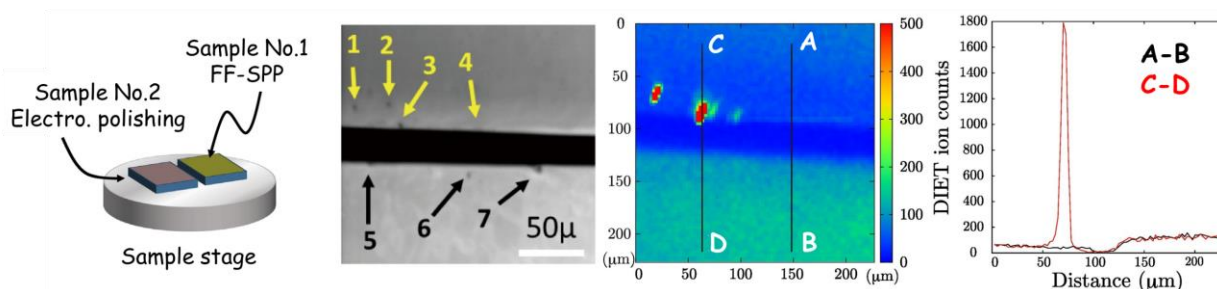


図 3. 左から試料配置。SEM 像(中央の黒い部分は、二つの試料を並べて置いた時の隙間。画面下側が電解研磨表面の試料、上側が FF-SPP 処理面の試料)。水素放出像(SEM 像と同じ位置。1,3 の傷からのみ水素が放出されている)。A-B, C-D の線上の水素カウント数。

5. リーク位置の特定と水素検出の定量化

ESD 信号(水素イオン数)の画像化からみられる局所的な水素透過量を、一般的なガス透過量 ($\text{Pa} \cdot \text{m}^3/\text{s}$ 、あるいは molecules/s) に対応づけるため、圧力校正用に開発された標準コンダクタンスエレメント (SCE[9]) に水素を透過させ、水素の透過分布を計測した(図 4)。リーク位置の特定が可能なることから、封止デバイスの漏れ位置の特定にも利用できることが確認された[10]。

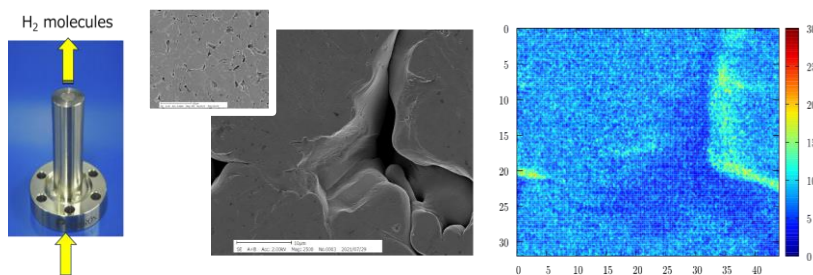


図 4. SCE の背面から透過した水素の画像化。SCE 温度 373K, 水素供給圧力 100Pa, 7 日間の積算の結果。ステンレスの焼結体の隙間 (pore) から水素が漏れ、pore の内壁や出口付近に吸着しているのがわかる。

参考文献

- [1] N. Miyauchi, et al., Scripta Materialia 144, 69 (2018)
- [2] 特許 06796275 号、7016096 号他
- [3] N. Miyauchi, et al., Journal of Vacuum Science & Technology A 42, 013201(2024)
- [4] N. Miyauchi, et al., Applied Surface Science 527, 146710 (2020)
- [5] T. Akiyama, et al., Journal of Vacuum Science & Technology B 38, 034007 (2020)
- [6] A.N. Itakura, et al., Scientific Reports 11, 8553 (2021)
- [7] A.N. Itakura, et al., Vacuum and Surface Science 61, 675 (2018) in Japanese
- [8] N. Miyauchi, et al., Applied Surface Science 492, 280 (2019)
- [9] H. Yoshida, et al., Journal of Vacuum Society Japan 55, 226 (2012) in Japanese
- [10] A.N. Itakura, et al., Vacuum 228, 113471 (2024)

ブラッグコヒーレント X 線回折イメージング法によるナノ結晶粒子の 3 次元可視化と水素関係材料への適用

町田 晃彦^A, 押目 典宏^A, 大和田 謙二^A, 菅原 健人^A, 綿貫 徹^A,
佐藤 良太^B, 寺西 利治^B, 山内 美穂^{C,D}, 黒岩 芳弘^E
量研放射光^A, 京大化研^B, 九大 IMCE^C, 東北大 AIMR^D, 広大院先進理工^E

3-dimensional visualization of nanocrystalline particles by Bragg coherent X-ray diffraction imaging method and its application to hydrogen related materials

A. Machida^A, N. Oshime^A, K. Ohwada^A, K. Sugawara^A, T. Watanuki^A, R. Sato^B,
T. Teranishi^B, M. Yamauchi^{C,D}, and Y. Kuroiwa^E
^ASRRC, ^{QST}, ^BICR, ^CIMCE, ^DKyushu Univ., ^EAIMR, ^FTohoku Univ.,
^EGrad. Sch. Adv. Sci. Eng., ^{Hiroshima Univ.}

近年の放射光計測・解析手法の発展や技術の向上により、結晶等の内部が「均質な」理想系だけでなく「不均質な」実在系の解析が可能になってきた。物性や機能性に大きな影響を与える結晶内部のひずみや格子欠陥、あるいはドメインの形成等の結晶内部構造を捉えることは、それらと物性や機能性との相関を理解するために重要である。結晶粒子内部構造を非破壊で観測する手法として、近年コヒーレント X 線回折イメージング (coherent X-ray diffraction imaging: CDI) 法が注目されている。これは第 3 世代の放射光光源によって空間的にコヒーレントな X 線、すなわち波面の揃った X 線を利用できるようになり発展した手法であり、X 線顕微鏡法の一つである。コヒーレントな X 線を微結晶試料に照射し散乱された X 線は斑点状のスペックルと呼ばれるパターンで観測されるが、CDI 法ではこのスペックルパターンを反復的位相回復計算することによって 3 次元実空間像を得る。CDI 法は小角散乱を用いる測定が一般的であり、小角散乱は試料内部の電子密度差に感度があるため、電子密度差を反映した 3 次元実空間像が再構成される。一方、我々は微結晶試料のブラッグ回折を観測し、位相回復計算から 3 次元実空間像を得るブラッグコヒーレント X 線回折イメージング (Bragg coherent X-ray diffraction imaging: BCDI) 法[1]に注目し、大型放射光施設 SPring-8 の BL22XU において国内で初めて本手法を導入した[2]。測定対象は結晶試料に限定されるが、ブラッグ回折を用いるために試料の原子配列に敏感であり、試料内部のひずみや転位、ドメイン分布等が位相情報に反映された 3 次元実空間像を取得することができる。

金属は水素原子が結晶格子間に侵入することで金属水素化物を形成する。金属水素化物は母物質よりも結晶格子が 10–20%ほど大きく膨張しているため、水素化の過程で結晶内部にはひずみや格子欠陥が導入される。水素との反応の圧力–組成等温曲線では一般的に水素固溶体と水素化物との共存を示す平坦なプラトーが存在する。我々は常圧以下で水素と反応をするパラジウム (Pd) を対象にして BCDI 測定を実施している。Pd はナノ粒子化すると圧力–組成等温曲線でプラトーが傾斜する、すなわち水素固溶体と水素化物の間で組成が連続的に変化する。しかしながら、立方体形状の Pd ナノ粒子 (Pd nano-cube [3]) ではバルク的な平坦なプラトーを持つため、水素固溶体と水素化物が共存している。この水素化過程において Pd nano-cube の内部構造がどのように変化をしているのか興味を持たれる。そこで、Pd nano-cube での BCDI 測定を可能とするための開発を行い、40-nm 級の Pd nano-cube で実空間三次元イメージを得ることに成功した[4]。本講演では BCDI 法の測定や解析法について紹介するとともに水素ガス雰囲気下測定等について現状と今後の展望についても紹介する。

[1] I. Robinson and H. Ross, *Nat. Mater.* **8**, 291 (2009).

[2] K. Ohwada, *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* **58**, SLLA05 (2019).

[3] Y. Sato *et al.*, *ACS Appl. Nano Mater.* **2**, 5761 (2019).

[4] N. Oshime, *et al.*, *Jpn. J. Appl. Phys.* **60**, SFFA07 (2021).

アトムプローブによる重水素の分析—V 膜および Fe/V 多層膜を例に—

源馬 龍太^{A,B}, Talaat Al-Kassab^C, Astrid Pundt^D
 東海大工^A, 東海大マイクロナノ研究開発センター^B,
 ゲッティンゲン大 (旧)^C, カールスルーエ工科大^D

Analyzing D by Atom Probe Tomography -D in V and Fe/V-

R. Gemma^{A,B}, T. Al-Kassab^C, Astrid Pundt^D

^ASchool of Eng. Tokai Univ., ^BMicro/Nano technology center. Tokai Univ.,

^CUniv. Göttingen (ex.), ^DKarlsruhe Institute of Technology

1. 緒言

アトムプローブ分析法 (Atom Probe Tomography: APT) [1] は、針状に加工した試料を、極低温 (例えば 70 K 以下) にて高電界 (数十 Vnm^{-1}) をかけ、試料表面から電界蒸発したイオンを位置敏感型検出器により順番に検出し、その飛行時間 (Time-of-Flight: ToF) から質量電荷比 (m/e) を求める。各イオンの位置についての 2 次元情報を 3 次元に再構成することにより、試料に含まれる元素分布を 3 次元の実空間に原子レベルでマッピングすることができることから、APT は強力な材料分析ツールとして活用されてきている。原理的には全元素同時分析が可能であることから、水素も検出可能である。実空間における水素を可視化すること [2] は、例えば金属材料における水素脆化の研究 [3-5]、半導体における水素の影響 [6]、さらには水素貯蔵材料の開発や CO_2 メタン化反応 [7] のような触媒反応機構を調査するにあたり重要な役割を果たすと考えられる。

そのため、電界イオン顕微鏡 (Field Ion Microscope: FIM) の発明者としても知られる Erwin W. Müller 教授によるアトムプローブ分析法の発明 (1968 年) 以降、特に水素脆化機構の解明を目指し、APT による金属材料中の水素の検出と分布の可視化の試みがなされ、多大な努力が払われてきた。それにも関わらず、APT による金属中水素分布の可視化および定量は近年になるまで成功せず、従って、論文として発表されることも殆ど無かった [8]。著者がゲッティンゲン大学 (当時) の Astrid Pundt 教授および Talaat Al-Kasasb 教授のグループ所属時に行ってきた研究結果 [9-12] から、この原因には主に以下の 3 つの側面があることがわかっている。

- (I) 分析チャンバー中の残留水素のイオン化 (残留水素と試料中水素の区別が不可能)
- (II) 水素の高い拡散性 (試料搬送中や分析中に水素が拡散し、表面へ偏析するために元の分布が失われる)
- (III) 大気中酸素への暴露による試料からの水素脱蔵・脱離 (試料中の水素が表面で酸素と結合し水分子となり失われる)

(I) については、軽水素 (H) の代わりに重水素 (D) を使用し試料中に導入することにより、残留軽水素と区別することができるようになる。また、(II) についても、H よりも拡散係数の小さい D を用いることで影響を最小化できる (分析が行われる極低温域ではこの効果はより大きくなるため、分析温度も重要となる)。(III) は、水素導入段階から分析段階まで試料を大気から完全に遮断することで解決可能である。これらの側面に注意を払った APT 分析が行われるようになってきた結果、最近では様々な金属材料中の D 分布について報告がなされるようになってきている。

本講演では、単層 V または Fe/V 多層膜試料中の APT による重水素分布および定量分析の結果を示す。V は水素吸蔵金属である一方、Fe には水素は殆ど溶けない。このため、Fe/V 多層膜においては、水素のほぼ全ては V に吸蔵されるため、Fe/V 界面で水素分布は明瞭なコントラストを示すはずである。先に述べた通り、重水素は軽水素に比べて拡散係数が小さいため、材料に水素種を添加する場合には重水素の使用が強く推奨される。さらに、重水素は APT 分析チャンバーから発生するバックグラウンド水素と区別することができる。ポータブルチャンバーなどを用いて試料を酸素に曝さないようにした結果、V または Fe/V 試料中の重水素濃度を広い濃度範囲で測定することに成功した。APT によって測定された D 濃度を、同様の試料について測定した起電力 (Electromotorical force: EMF) の水素濃度依存性の測定結果と比較した結果、試料中の平均重水素濃度を APT により正しく評価できることがわかった。

2. 実験方法

電解研磨と FIM での電解蒸発により予め針状に加工した W 基板の上に V 単層膜および Fe/V 多層膜をスパッタ成膜することにより、試料を作製した。基板に用いた W の作製には、0.2 mm ϕ の W 線を作動電極とし、Pt を対向電極として用いて、2N NaOH 水溶液中、3.5 V a.c. で電解研磨を行った。得られた針状の W の表面はまだ原子レベルでの平滑性が無いため、これを電界イオン顕微鏡 (FIM) で電界蒸発させることで平滑な表面を得た。これを基板とし、到達真空度 1×10^{-8} Pa の超高真空チャンバー内でイオンビームスパッタ成膜を行い、針状 W 基板の上に V 膜または Fe/V 多層膜を成膜した。スパッタ成膜は Ar 雰囲気下、 1×10^{-2} Pa の圧力で行い、成膜速度はそれぞれ V が 0.63 nm/min、Fe が 0.75 nm/min であった。成膜中の基板温度は 306 K に保った。最後に、表面での D₂ 解離を促進する約 20 nm 厚の Pd 層を表面に成膜した。試料への D チャージは、自作した D₂ ガスチャージチャンバーを用い、気相にて行った。この自作チャンバーは、D チャージした試料を D₂ 雰囲気を壊すことなく D チャージチャンバーから APT チャンバーへ移動できるように、ゲートバルブ付きマグネット式トランスファーロードを備えている。D チャージとその後の APT 分析は、文献 [9] と同様の手法で行った [9]。EMF 測定についても、文献 [9] に記載の方法で行った。

3. 結果

APT 分析結果の一例として、293 K、D₂ 10 Pa にて D をチャージした Fe/V 試料の分析結果を Figure 1 に示す。分析温度は 30 K である。Figure 1 (a) の色付けされた各ドットは、一つのイオンの位置を示す。緑は V、赤は Fe、水色は D、灰色は Pd、青は W を示している。Figure 1 (b) には、金属中 D 濃度をコンターマップで示している。Figure 1 (c) には、試料中心付近直径 5 nm の円柱領域における深さ方向濃度プロファイルを示した。D と V の親和力が強いいため、D 原子は主に V 層で検出されたが、隣接する Fe 層では検出されていない。V 中の D 濃度は、同様の試料について測定した EMF 曲線と同じ値を示したことから、APT による定量が正しくなされていることが確認された。実験方法および結果の詳細については、講演の中で紹介したい。

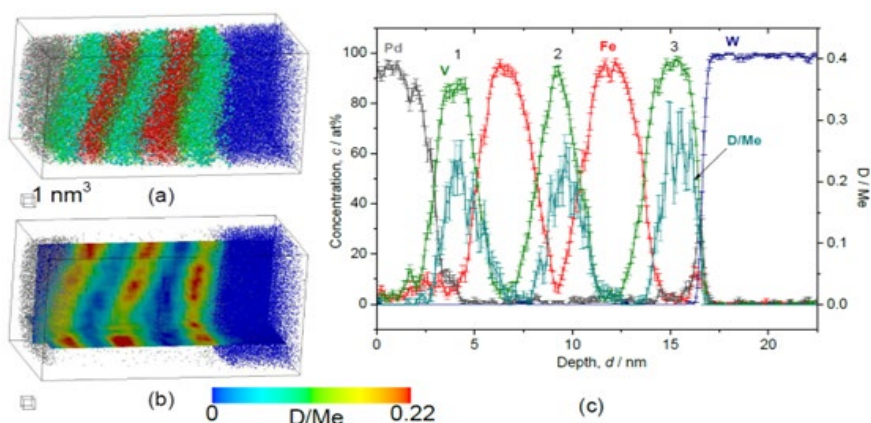


Figure 1: The reconstructed volume of Fe/V multi-layer (12 nm x 12 nm x 23 nm), loaded with D₂ at 10 Pa, analyzed at 30 K. (a) The whole volume of reconstruction (grey: Pd, green: V, red: Fe, blue: W, light blue: D). (b) Iso-concentration map of c_D of (a). (c) Depth concentration profile from a 5-nm- ϕ cylinder.

- [1] E. W. Müller, J. A. Panitz and S. B. McLane, Rev. Sci. Instrum., 39, 83 (1968).
- [2] P. Felfer et al., Microsc. Microanal. 28, 1255 (2022).
- [3] M. E. Jones et al., Microsc. Microanal. 28, 1245 (2022).
- [4] A.J. Breen et al., Acta Mater. 188, 108 (2020).
- [5] J. Takahashi et al., Acta Mater. 153, 192 (2018).
- [6] H. Takamizawa et al., Appl. Phys. Express. 6, 066602 (2013).
- [7] K. Yatagai et al., Int. J. Hydrog. Energy. 45, 5264 (2020).
- [8] G. L. Kellog, J. K. G. Panitz, Appl. Phys. Lett., 37, 625 (1980).
- [9] R. Gemma, T. Al-Kassab, R. Kirchheim, A. Pundt, Ultramicroscopy, 109, 631-636 (2009).
- [10] R. Gemma, T. Al-Kassab, R. Kirchheim, A. Pundt, J. Alloys Comp., 509S, S872-S876 (2011).
- [11] R. Gemma, T. Al-Kassab, R. Kirchheim, A. Pundt, Scr. Mater., 67, 903-906 (2012).
- [12] R. Gemma, "Hydrogen in V-Fe thin films and Fe/V Fe multi-layered thin films (Ph.D. Thesis)", University of Göttingen, Germany (2011).

S-8

材料科学の異分野における
TEM・STEM 利用の実際

11 月 3 日（日）8：55～11：15

第 3 会場（SDGs オアシス）

原子力材料研究における透過電子顕微鏡利用

～微細炭化物の照射下相安定性評価～

叶野翔^A, 安堂正己^A, 濱口大^A, 渡辺淑之^A, 柴山環樹^B, 野澤貴史^A量子科学技術研究開発機構^A, 北海道大学^B

Transmission Electron Microscopy Study of Nuclear Materials

～ Phase instability of fine carbides upon irradiation ~

S. Kano^A, A. Masami^A, D. Hamaguchi^A, Y. Watanabe^A, T. Shibayama^B, and T. Nozawa^A^AQST, ^BSchool of Eng. Hokkaido Univ..

本研究グループでは、核融合原型炉の建設に向けた材料開発とその評価を行っている。本発表では、炉内構造材料の一つである“低放射化フェライト鋼 (F82H 鋼)”に焦点を当て、電子顕微鏡法を用いた当該材料の照射劣化挙動評価に関する研究成果について紹介する。

低放射化フェライト鋼は、トカマク型核融合炉においてドーナツ形状の核融合プラズマを覆う構造部材である。そのため、材料は核融合反応に伴って発せられる高エネルギー中性子やプラズマからの輻射熱に晒され、このような過酷環境に耐えうる材料として F82H 鋼が開発されてきた。F82H 鋼の微細組織特徴は従来の耐熱鋼と類似しており、焼き戻しマルテンサイト組織中に微細な $M_{23}C_6$ (M: Cr, Fr, W) や MX (M: Ta, V / X: C, N) 系の析出物が存在している。ここで、結晶粒界では、中性子照射によって材料中に形成される照射欠陥 (空孔や格子間原子) の消滅サイト (シンクサイト) として機能するため、当該組織特徴は他の材料系よりも優れた耐照射性能を有する。

このように、当該材料は、人類未踏環境下で使用されることから、多角的観点から材料の性能劣化について検討を進める必要がある。そこで、本研究では、F82H 鋼中の微細析出物の照射下相安定性に着目し、超高压電子顕微鏡 (HVEM : High Voltage Electron Microscopy) ならびに、イオン照射法を駆使した評価を実施してきている。以下にこれらの研究成果を要約する。なお、HVEM 照射では空孔と格子間原子との対 (フレンケルペア) の蓄積によって材料中に照射欠陥が蓄積されるのに対し、イオン照射では、空孔と格子間原子との集合体が局所的に高密度に形成するため、両試験法では、照射組織発達挙動に差異が生じる点に留意いただきたい。

MX に関しては、HVEM 照射下では、析出物サイズは照射量の増加に伴い収縮し、当該反応がフレンケルペアの蓄積とその拡散挙動に支配されていることを明らかにした。一方、イオン照射下では、MX の収縮速度は HVEM 照射に比べて遅く、これは、HVEM 照射特有の空孔拡散機構が析出物の相不安定化を助長していると考えられた。

$M_{23}C_6$ では、HVEM 照射下では、析出物の外周部に低コントラスト域が形成し、この形成量は照射温度の上昇に伴って増した。一方、イオン照射下では、630 K 以下の低温照射条件において、析出物の非晶質化 (照射誘起非晶質化) が確認されたが、高温照射条件下において微視的な特徴変化は確認されなかった。また、収差補正電子顕微鏡を用いた微細組織観察より、照射された $M_{23}C_6$ では、化学/位相的不連続を有した原子配列 (結晶構造) を呈することを明らかにした。このような、結晶の長周期構造の乱れに端をなした、系のエントロピー増加が非晶質化のトリガーになっていると推察される。

また、興味深い知見として、イオン照射された $M_{23}C_6$ では、非晶質化の臨界温度近傍で析出物の中心が結晶、外周部が非晶質のコア-シェル構造を呈することが分かった。ただし、結晶粒界は照射欠陥のシンクサイトであり、この粒界部近傍では、鏡像力によって照射欠陥の吸い込みが生じる。よって、上述の通り、非晶質化は系のエントロピー増加がキーファクターと推察されるものの、コア-シェル構造の形成機構については更なる検討が必要と考えられる。

ここでの成果は、照射下における析出相の相安定性を理解する上で重要であり、今後も更なる洞察を進め、実炉下における相安定性予測に発展させる計画としている。また、近年では、 $SrTiO_3$ を用いた微小バブル/ボイドの評価手法検討も行ってきており、この研究成果についても簡単に紹介したいと考えている。これらより、発表当日は、これらの一連の研究結果を取り上げ、原子力材料研究における透過電子顕微鏡利用について報告する。

反応科学超高压電子顕微鏡によるその場観察

荒井 重勇
名古屋大学

In-situ observation using Reaction Science High-Voltage Electron Microscopy

Shigeo Arai
Nagoya Univ.

名古屋大学の超高压電子顕微鏡は、1954年に303kV超高压電子顕微鏡の導入に始まる70年におたる長い歴史があり、超高压電子顕微鏡によるその場観察技術を培ってきた。2010年に名古屋大学に設置された1000kV反応科学超高压走査透過型電子顕微鏡（日本電子製：JEM-1000K RS, Reaction Science High-Voltage Electron Microscopy, 以下RS-HVEM）は、触媒反応や金属の酸化・還元反応などを直視するために、試料近傍に差動排気方式の最大0.1気圧まで各種ガスを導入可能なガス導入機構を有し、化学反応の動的その場観察などを主な使用目的として設計・製作された。

近年、地球レベルでのエネルギー問題や環境問題が、技術開発や材料開発にも重要な視点として上がってきている。省エネルギーという観点からも材料そのものの材質や製品を作製するための設計段階から細やかな配慮と評価が要求されるようになってきた。特に、ナノ材料開発や微小ナノデバイスを創製する場合には、材料やデバイスを実際に働かせている状態や雰囲気および環境で評価や解析をする必要がある。透過型電子顕微鏡(TEM)はナノ材料やナノデバイス評価のための有効な方法の一つであるが、電子顕微鏡で試料を観察するには、電子を試料に透過させるために試料の厚みを0.1 μm 以下にまで薄く加工しなければならず、また真空中に保持して観察するという問題点があった。名古屋大学の顕微鏡グループはこのような問題点を低減する種々の試みを長年行ってきた。RS-HVEMは、金属や生物の厚い試料の観察、電子顕微鏡内に各種ガスを導入し金属の酸化実験や触媒反応を原子レベルで直視するその場観察を主な目的としている。

RS-HVEMの主なスペックは、最高加速電圧1000kVにおいて、透過像(TEM)点分解能0.15nm以下、走査透過像(STEM)分解能1nm以下、電子エネルギー損失(EELS)スペクトル分解能1.5eV以下であり、触媒や金属の酸化還元反応のその場観察を主要な目的として2010年に導入された¹⁻⁴⁾。本装置は図1に示すように高压・加速管部の高さ6.7m、鏡筒部の高さ3.6mもある非常に大型の電子顕微鏡であり、地下1階、地上3階建ての建物内に設置されている。地下1階には重さ300トンの除振台があり、それを基礎として1階部分には重さ10トンの鏡筒部、2階部分には重さ20トンの高压タンクで構成されている。高压タンク内の加速管部で電子を1000kVに加速する。加速された高エネルギー電子は、対物レンズ内に挿入した試料を透過し、中間レンズ、投影レンズなどで結像・拡大され観察室に取り付けた蛍光板やCCDカメラで試料内部を観察することができる。カメラ室下部には、元素分析が可能なポストコラム型電子エネルギー損失分光装置(Gatan: GIF Quantum)が搭載されている¹⁻³⁾。

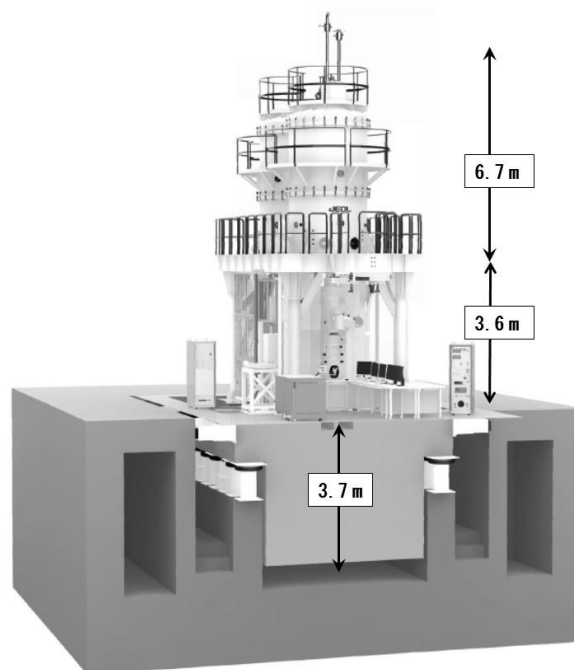


図1：反応科学超高压電子顕微鏡の外観図

通常、電子顕微鏡の鏡筒内は高真空(10^{-5} Pa 台)に保持されているが、In/Out 可能なリトラクタブル方式を採用し、電子顕微鏡内に各種ガス導入を可能とした。また高分解能像を観察可能にするため、差動排気型のガス供給システムとした。これは、ガス実験時のみモータ駆動で試料ホルダーを囲むようにガス導入システムを挿入し、限られた狭い空間にのみガスを封じ込める方式である。リトラクタブル方式の利点として、①ガスを封入する壁膜がない差動排気方式のため分解能が悪くならない、②どんなホルダーでもガス実験が可能、③通常の実験からガス導入機構を挿入するだけで簡単にガス実験へ移行できるなどがある。

図2は試料近傍に窒素ガスを真空からガスの圧力を段階的に上げ、0.1気圧以上(11,000Pa)まで導入した時の金単結晶の(100)結晶の格子像とFFT図形である。超高圧電子顕微鏡(HVEM)の特徴である高い透過能力を反映し、濃いガス中でも真空条件とほぼ同様の高分解能像が得ることが出来る。

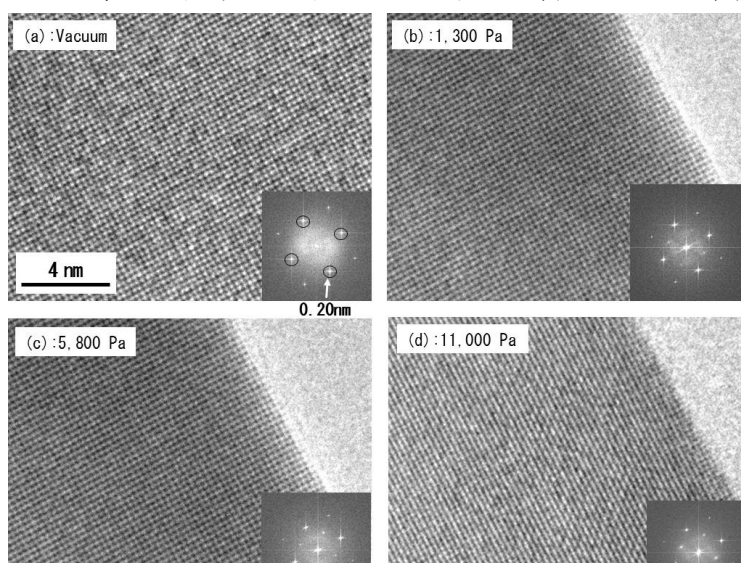


図2：窒素ガス環境下における金単結晶の高分解能像とフーリエ解析(FFT)パターン (a):真空下, (b):1,300Pa, (c):5,800Pa, (d):11,000Pa

近年、地球環境問題がクローズアップされている。ガス環境実験の可能な電子顕微鏡として本機の需要は高く、自動車などの排気ガス浄化用触媒研究のみならず、水素貯蔵・燃料電池電極材料、転位観察など多岐にわたった研究課題の申し込みが多い^{4~14)}。また、ガス実験後に排出される微小なガス種の変化を捉えるために、高感度4重極質量分析装置(QMS)を組み込み、触媒反応前後で生じるガス種の違いが区別できるようにしたなど新たな技術開発も行っている^{15~17)}。

謝辞

RS-HVEMが導入されて10年以上経過し、関連する論文数は約80報にもなりました。これらの実験は名古屋大学以外に、文部科学省ナノテクノロジープラットフォームおよび文部科学省マテリアル先端リサーチ事業で実施されました。本事業をご利用いただいた方々、武藤俊介教授を初めとする名古屋大学および超高圧電子顕微鏡施設委員の先生方、RS-HVEMを製作いただいた日本電子(株)の皆様方に心より感謝申し上げます。

文献

- 1) N. Tanaka, et al. *Int. Microscopy Congress-17, Brazil*, I9-2 (2010)
- 2) 田中信夫ら、顕微鏡 **46-3**, 156-159 (2011)
- 3) N. Tanaka, et al. *Microscopy*, **62**(1), 205-215 (2013)
- 4) T. Fujita, et al. *Nature Materials*, VOL 11, SEPTEMBER (2012), 775-780
- 5) T. Fujita, et al. *Nano Lett.* 2014, 14, 1172-1177 dx. doi.org/10.1021/nl403895s (2014)
- 6) K. Yoshida, et al. *Micron*, 76 pp.19-22 (2015)
- 7) M. Ozawa, et al. *Catalysis Today*, vol.332, 251-258, (2019)
- 8) T. Tanabe, et al. *Chem. Sci.*, vol.8, 3374-3378, (2017)
- 9) K. Kamatani, et al. *Scientific Reports* (2015), DOI: 10.1038/srep10161
- 10) Y. Takahashi, et al. *Experimental Mechanics*, Vol. 55, No. 6, (2015), 1047-1056
- 11) T. Fujii, et al. *Mater. Char.*, vol.136, 206-211, (2018)
- 12) Y. Oshima, et al. *Science*, 360 (2018) 772-774.
- 13) K. Arakawa, et al. *Nature Materials*, vol.19, 508-511 (2020)
- 14) T. Sumigawa et al. *Acta Materialia* 277 (2024) 120208
- 15) S. Muto, et al. *Microscopy*, 68(2) (2019) 185-188.
- 16) H. Tanaka, et al. *Appl. Catal. A*, vol.626 (25), 118334 (2021)
- 17) Longshu Tang, et al. *Microscopy*, 73(4), 358-366 (2024)

誘電体の原子分解能 STEM 解析

佐藤 幸生^A熊本大半デジ機構^A

Atomic-resolution STEM analysis of dielectrics

Y. Sato^A^ARes. Edu. Inst. Semi. Info. Kumamoto Univ.

【緒言】

誘電体は誘電体・圧電体・強誘電性などの諸特性を示す物質群である。これらの諸特性は、結晶における単位格子の格子定数や各イオンの内部位置、同一方向の極性を有する単位格子の集まりであるドメインの構造やその分布に由来する。したがって、特性発現のメカニズムを本質的に理解するためには、格子定数や各イオンの内部位置を正確に測定することが必要となる。このような視点から、我々の研究グループでは、近年、原子分解能走査透過型電子顕微鏡法 (STEM) を用いた原子位置測定による誘電体の解析を行っている。

【結果および考察】

例えば、鉄酸ビスマス (BiFeO₃: BF) とチタン酸バリウム (BaTiO₃: BT) の固溶体である BF-BT においては、放射光 X 線回折による結晶構造解析から、単位格子内で Bi イオンが 1 つの <100> 方向に 44 pm (0.044 nm) 程度変位している「partial order」の結晶構造モデルが提唱されていた。しかしながら、セラミックス中における極性構造の大きさ、形態やその分布などは未解明であった。電場印加で回折点強度が変化する 210 回折点を用いた暗視野透過型電子顕微鏡 (TEM) 像からは、大きさが数 nm で等方的な形状をした暗いコントラストが均一に分布していることが明らかになった (Fig. 1(a)および(b)) [1]。Fig. 1(c)に示す原子分解能 STEM 像から、原子位置を測定したところ、ペロブスカイト型結晶構造の B サイトイオンが作る単位格子の中心から、Bi を含む A サイトイオンの位置が変位していることが明らかになった。同一の方向に変位している領域は等方的で、大きさがおおよそ数 nm であり (Fig. 1(d))、暗視野 TEM 像と整合する結果であった。これらの結果から、Bi イオンの partial order は、実空間においては均一に分散した大きさ数 nm のナノドメインとして存在していることが明らかとなった。

また、原子分解能 STEM 像からは結晶の格子定数を求めることができる。測定された格子定数は試料ドリフトに由来する像の歪みと電子顕微鏡装置に由来する像の歪みをアフィン変換で補正すると誤差を低減した測定が可能となる[2]。各層の厚さが約 4 nm である Pb(Zr_{0.30}Ti_{0.70})O₃/Pb(Zr_{0.65}Ti_{0.35})O₃ の組成変調超格子における原子分解能 STEM 像から得た面内方向の格子定数は双方の層ではほぼ同一であるのに対して (Fig. 2(a))、面外方向の格子定数は異なっていた (Fig. 2(b)) [3]。通常菱面体晶であるはずの Pb(Zr_{0.65}Ti_{0.35})O₃ は正方晶的な形状の単位格子、通常 c 軸方向が長い正方晶の Pb(Zr_{0.30}Ti_{0.70})O₃ は c 軸方向が短い正方晶的な形状の単位格子となっており、いずれもバルク体中とは異なる特異な状態が得られていた。このような特異構造の積層により、極性構造の長距離に渡る発達が阻害されることが明らかとなっている。

【参考文献】

- [1] Kim *et al.*, Adv. Mater., 35, 2208717 (2023).
- [2] Funinaka *et al.*, J. Mater. Sci. 55, 8123 (2020).
- [3] Sato *et al.*, J. Mater. Sci. 59, 8134 (2024).

【謝辞】

本研究の一部は文部科学省科研費補助金 (JP23K26382)、学術変革領域研究(B)「超軌道分裂による新奇巨大界面応答」(JP23H03804) による支援の下で行われた。また、実験の一部は熊本大学・工学研究機器センターならびに九州大学超顕微解析研究センターにて行われた。

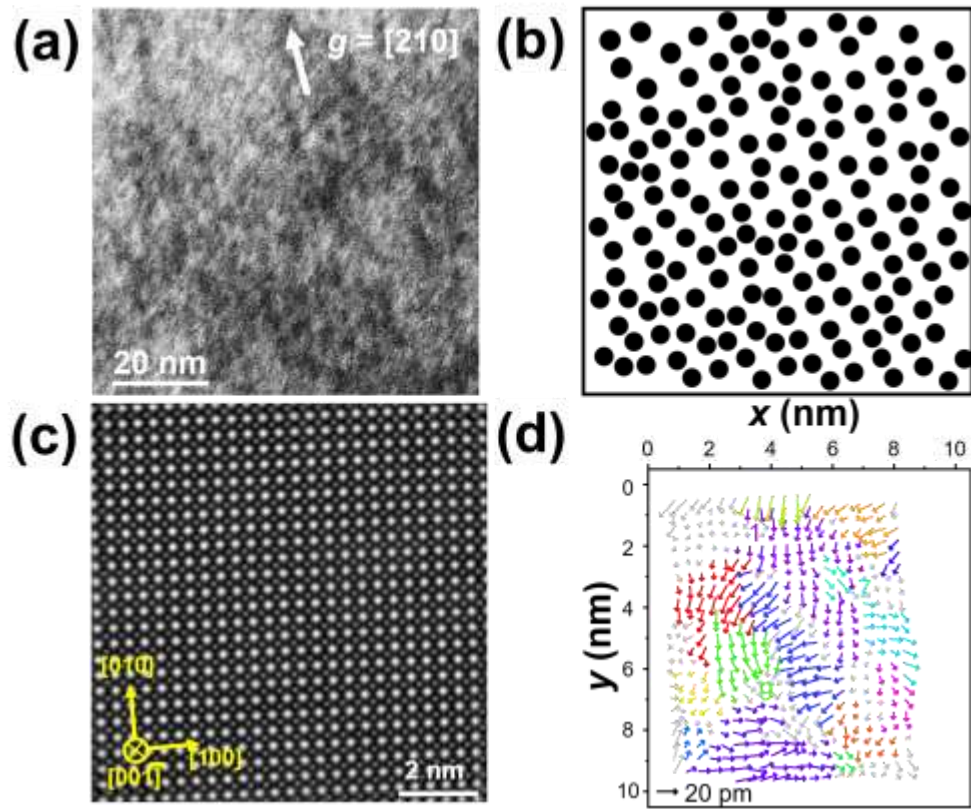


Fig. 1 (a) Dark-Field TEM image and (b) schematic drawing of domain structure in 0.6BF–0.4BT. (c) Annular Dark-Field STEM image and (d) A-site cation displacement map calculated from the image in (c), where displacement magnitude and direction are indicated by length and direction of arrows. Regions of identical displacement directions are denoted by different colors. [1]

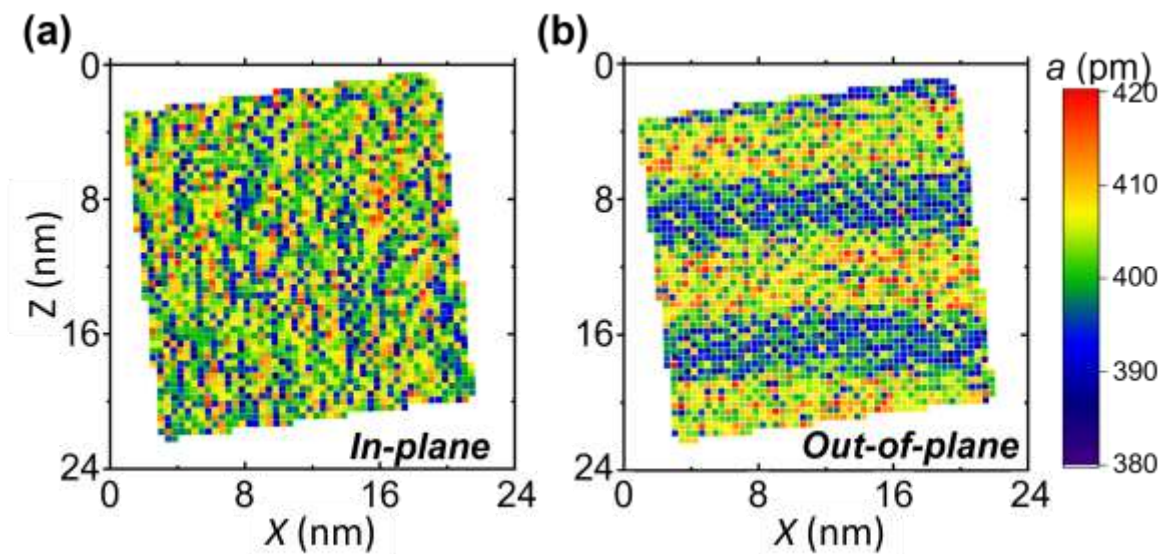


Fig. 2 (a) In-plane and (b) Out-of-plane lattice parameter maps measured from $\text{Pb}(\text{Zr}_{0.30}\text{Ti}_{0.70})\text{O}_3/\text{Pb}(\text{Zr}_{0.65}\text{Ti}_{0.35})\text{O}_3$ composition-modulated superlattice. [3]

高速原子分解能電子顕微鏡法の開発と応用

石川 亮^A

東大工^A

High Spatiotemporal Resolution STEM Imaging

R. Ishikawa^A

^AInstitute of Engineering Innovation, The University of Tokyo,

走査透過型電子顕微鏡 (STEM) は、電子線を走査し、各位置において透過・回折強度を計測し結像する。したがって、すべての位置から同時に像強度を計測できる TEM と比較すると時間分解能が極めて低くなる。STEM における時間分解能の向上には、各位置における滞在時間を短くすれば良いが (走査速度を上げる)、原子分解能ではそれほど容易ではない。一般に、走査速度を上げると、電子プローブの位置安定性が低下し、原子分解能像には様々なノイズが導入されることになる。我々は、STEM における大幅な時間分解能の向上を目指し、インダクタンスを極小化した磁気走査コイルの開発を行った。従来の走査コイルでは、各位置における滞在時間は最速でも 1–2 $\mu\text{s}/\text{pix}$ であったが[1]、新規開発した走査コイルでは、滞在時間を 83 ns/pix まで短縮し、 512×512 ピクセルの像を 1 秒間に 25 フレーム (fps) 取得可能となり、40 ms の時間分解能を達成した[2]。本講演では、新規開発を行った高速原子分解能電子顕微鏡法および応用について紹介する。

図 1(a)に滞在時間 ($\mu\text{s}/\text{pix}$) とフライバック時間 ($\mu\text{s}/\text{line}$) を変数としたフレームレートを示す (512×512)。通常の走査コイルでは、滞在時間は 1–2 $\mu\text{s}/\text{pix}$ 、フライバック時間は 500 $\mu\text{s}/\text{line}$ である。しかし、TV レート (30 fps) を目指すには、滞在時間は 100 ns/pix、フライバック時間は 30 $\mu\text{s}/\text{line}$ 以下にまで低減する必要がある。これらの目標値を実現するため、走査システム全体のインダクタンスを従来の 200 分の 1 まで低減し、応答速度の早い新たな走査コイルを開発した (図 1(b))。これにより、滞在時間 83 ns/pix、フライバック時間 35 $\mu\text{s}/\text{line}$ を達成し、25 fps のリアルタイム観察が実現した[2]。

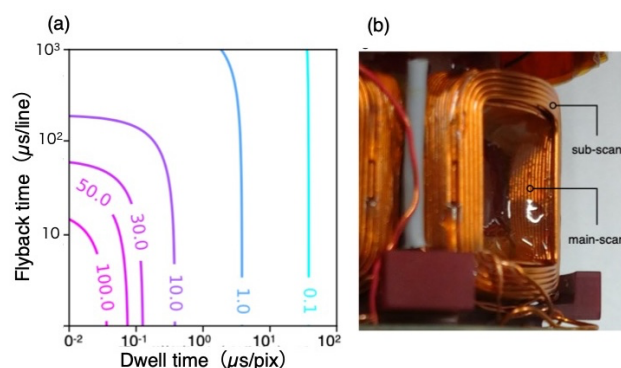


図1(a) STEM像における時間分解能, (b) 高速走査コイル

高速 STEM 法を用いた応用例として、代表的な不均一触媒である TiO_2 (110)基板に担持した白金ナノ粒子の観察を行った[3,4]。図 2 に白金 3 量体の構造変化を追跡した環状暗視野像を示す。40ms の時間分解能で白金 3 量体の追跡が可能であることが分かる。また、幾つかの拘束条件の下で、3 量体の 3 次元構造の再生が可能であり、立体構造の時間発展の追跡に成功した。

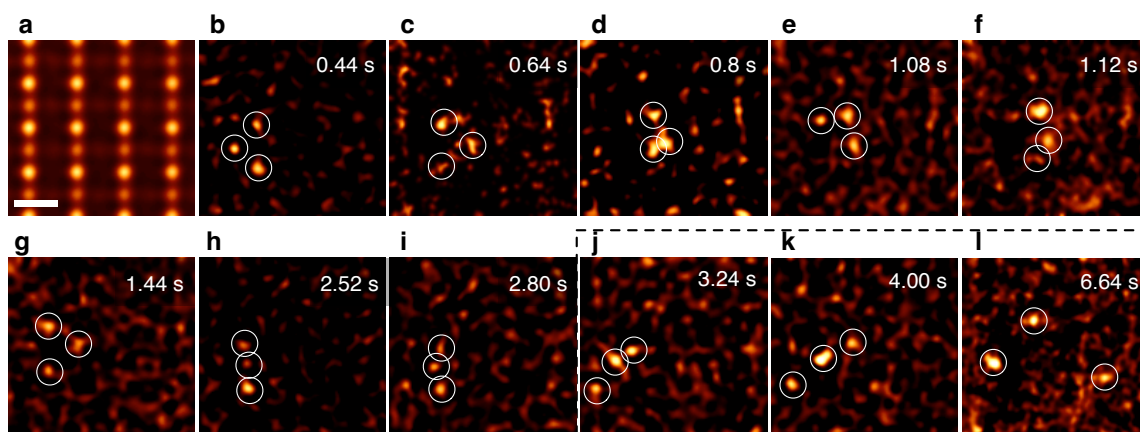


図 2. (a) 時間方向へ平均した ADF-STEM 像であり、 $\text{TiO}_2(110)$ 基板のみが可視化されている。(b) – (l) 代表的な構造の ADF-STEM 像。スケールバーは 3 Å。

参考文献

- [1] R. Ishikawa et al., Phys. Rev. Lett. **113** 155591 (2014).
- [2] R. Ishikawa et al., Microscopy **69** 240 (2020).
- [3] R. Ishikawa et al., Nano Lett. **22** 4161 (2022).
- [4] R. Ishikawa et al., Sci. Adv. **10** eadk6501 (2024).

謝辞

本研究は、日本電子の神保雄氏、東京大学の二塚俊洋博士、川原一晃助教、柴田直哉教授、幾原雄一教授との共同研究であり、感謝を申し上げます。また、本研究の一部は、JST さきがけ (JPMJPR1871) JST 創発 (JPMJFR2033)、JST-ERATO (JPMJER2202)、JSPS 科研費 (JP19h05788, JP21H01614, JP22H04960, JP24H00373) の支援により遂行された。

グラフェン膜を用いた TEM 用液中試料の作製

鈴木 清一^A, Hans Radhoe^B

(株) TSL ソリューションズ^A, vitroTEM^B

Making Liquid cell specimens with Graphene film

S. Suzuki^A and Hans Radhoe^B

^ATSL Solutions KK, ^BvitroTEM B.V.

1. はじめに

TEM を用いた試料観察では、試料は高真空中に持ち込まれるため、通常試料は完全にドライな状態にする必要がある。一般に無機材料の試料では、この点は問題にならない。しかし、生物試料や液中の触媒等乾燥させたくない試料もある。このような試料の観察のため、液中試料ホルダーやクライオトランスファーホルダーが用意されている。液中試料ホルダーは、2枚の Si₃N₄ 等の隔膜で 100nm 程度のスペースを持つセルを形成し、その中に試料を含んだ液体を封じ込め TEM 観察に供するというものである。液中試料ホルダーの場合は、試料を隔膜で挟まれるセルに入れること自体も容易ではない。また隔膜の Si₃N₄ 膜には一定の厚さがあり、さらに液体が 100nm 程度あるので試料全体としてかなりの厚さとなり、高分解能観察は困難となっている。クライオトランスファーホルダーの場合は、試料を含む液体を液体窒素等で凍結・薄片化し、液体窒素温度に冷却したまま、クライオトランスファーホルダーに装着し TEM 観察に供するものである。これには試料を液体窒素温度に近い状態に保つ必要があり、試料の取り扱いが容易ではないという課題がある。

これらの問題を解決するために単層グラフェン膜を用いて液体中の試料を挟み込むことで、極めて狭い領域に試料を液体とともに封じ込め TEM 試料とする技法が紹介されている¹⁾。本研究開発では、その有用性を確認し、試料作製の一連の操作を自動で行う装置を開発した。グラフェン膜は単層膜としては非常に強度が高く、また電子線に対してほとんど透明でかつ導電性にも優れるという TEM 試料の作製には極めて都合の良い特性を有している。本発表では、このグラフェン膜を用いた TEM 試料作製の原理と、その応用例を紹介する。

2. グラフェン膜を用いた試料作製

グラフェン膜を使用した TEM 用液中試料の作製の概念は極めて単純で、その概要を Fig.1 に示す。最初に Holly carbon 支持膜を張った通常の TEM 試料用 Cu グリッドに単層または2層グラフェン膜を張り支持グリッドを作製する。この支持グリッドにマイクロピペット等を使用し液体中に支持された試料を載せる。次にこの水滴の上にグラフェン膜をかぶせると同時にろ紙を使用し試料を支持している余分な水分を吸い取る。これにより上下のグラフェン膜が接触すると、グラフェン膜はファンデルワールス力により吸着する。いわば2枚の食品用ラップが張り付くようなイメージである。この時、試料とその周りの取り残された支持液体がグラフェン膜で密封され水泡のように存在する。Fig.1 のイラストでは大きなイメージで描いてあるが、実際的水泡の大きさは数十 nm~200nm 程度である。このような水泡が無数にできるので、ここから目的の視野を探すことになる。試料は支持液体中にあるが、上下のグラフェン膜でも支持されており、水泡の厚さは試料の厚さとさほど変わらない。また水泡が十分に小さいので、グラフェン膜間のファンデルワールス力はこの水分を高真空中でも保持することが可能である。また試料がほどよく

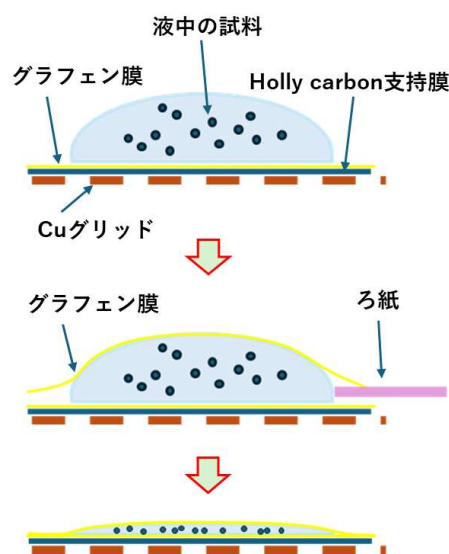


Fig.1; グラフェン膜を用いた液中試料作製の概念図

固定され、その厚さも非常に薄くなることから高分解能観察にも適している¹⁾。このようにグラフェン膜を使用した液中試料は、従来の液中試料ホルダーと比較し非常にメリットが多いが、単層グラフェン膜等の扱いは容易ではない。この問題を解決するため、グラフェン膜は3φのCuディスク上で形成し、使用時にCuを溶剤で溶かしグラフェン膜を遊離させて使用できるようにした。また、そのグラフェン膜を試料液体にかぶせて、余分な水分を抜き取る作業も微妙な操作が必要となるため、この過程もすべて自動で行えるような装置として開発した。

3. グラフェン膜を用いた液中試料の観察例

Fig.2にはこのようにして作製したAuのナノ粒子を水溶液中に分散させた試料の観察例を示す。Au粒子の格子像が鮮明に観察されているのが判る。この画像は動画として記録したものから切り出したもので、動画ではAu粒子が動き合体する様子も観察されている。また支持膜地の像が粒子状で通常の支持膜の見え方と少々異なるが、これはグラフェン膜の結晶としての特性が反映されたものと考えられる。Au粒子が水溶液中にフリーで分散している状況では、粒子が簡単に動くので高分解能観察は難しいが、グラフェン膜を使用した場合は、グラフェン膜がAu粒子に接触していると考えられ、Au粒子は完全に拘束されているわけではないが完全にフリーでもないという状況で、実際の観察には極めて好都合な環境となっていることが推察できる。

Fig.3には、ネガティブ染色を施したフェリチンを観察した例を示した。この観察ではフェリチンを含む水溶液をグラフェン膜で閉じ込め、室温で観察したものである。フェリチンは最初の支持液体とともにグラフェン膜で密封されており、より実態に近い状態で観察できていると考えられる。

4. まとめ

グラフェン膜は、極めて優れた特性を持っている。このグラフェン膜の使用によりこれまでは必ずしも容易ではなかったWetな状態の試料をTEMで容易に観察可能とする試料作製法を提供できることが確認できた。またクライオ観察用の試料作製でも、一度グラフェン膜で試料を仮固定しその後凍結することで、凍結試料が容易に試料作製できることも確認されている。このようなことから、グラフェン膜を用いた液中試料の作製法は、試料をより本来の姿に近い状態で観察できる技法としてその使用が広がるものと期待される。

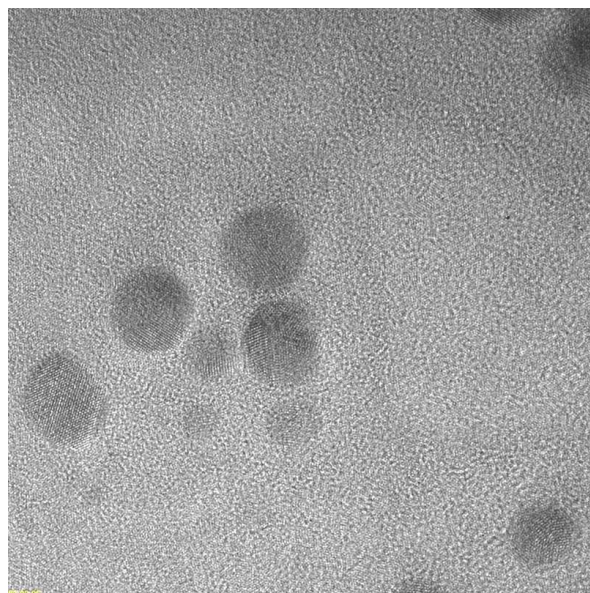


Fig.2; 水溶液中のAu粒子の観察例

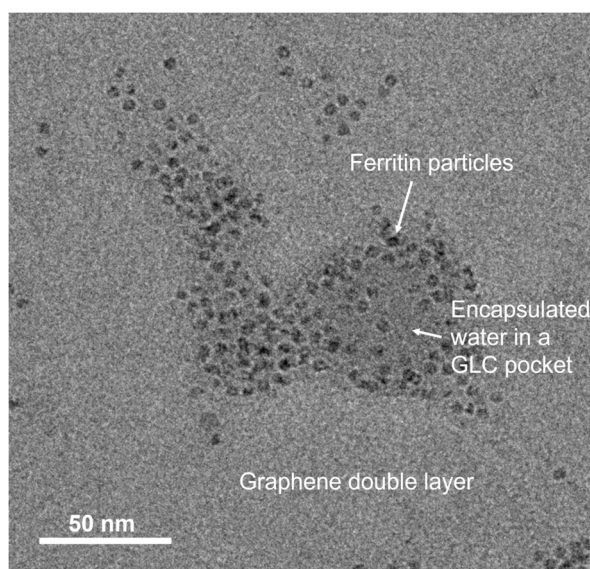


Fig.3; フェリチンの観察例

参考文献

1) Yuki SASAKI, et al. Chemical Physics Letters, Vol650,16 (2016): 107-112



日本顕微鏡学会 第 67 回シンポジウム

S-9

令和 6 年度 日本顕微鏡学会
北海道支部学術講演会

11 月 3 日（日）14 : 00 ~ 16 : 00

第 1 会場（レクチャーホール）

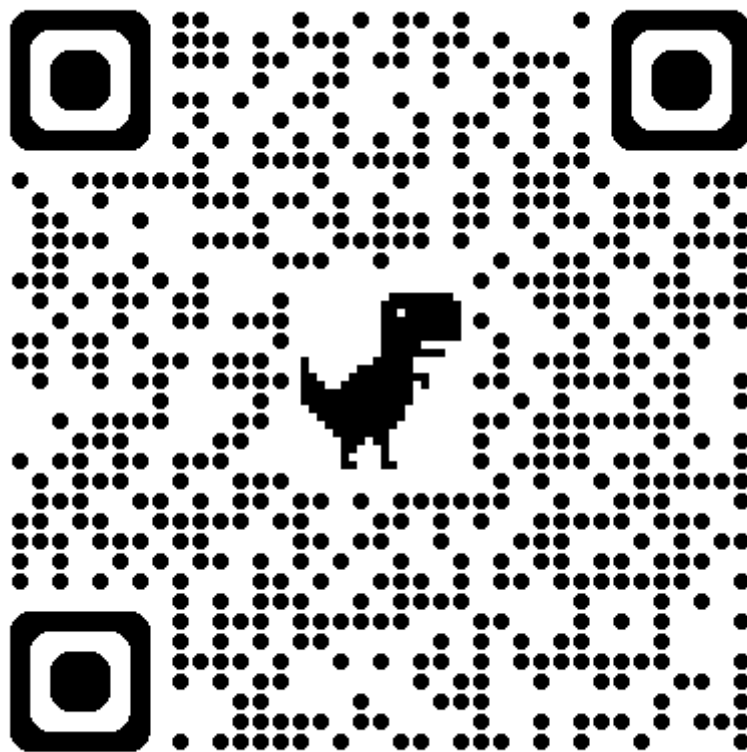
令和6年度 日本顕微鏡学会北海道支部学術講演会

講演要旨集

【リンク】

<https://drive.google.com/file/d/1tR1c4jAhRtLKnnE0IAOVSGr5t5GSgEyl/view?usp=sharing>

【QRコード】



TEM and Cs-corrected STEM Characterization of Pt-doped LaNiO₃ Electrocatalysts

○Wei Jian Sim¹, Mai Thanh Nguyen², Tetsu Yonezawa²

¹Grad. School of Eng., Hokkaido Univ., ²Fac. of Eng., Hokkaido Univ.

[Introduction]

Lanthanum-based perovskite oxides are well-known Oxygen Reduction Reaction (ORR) and Oxygen Evolution Reaction (OER) electrocatalysts¹. Among them, LaNiO₃ exhibits the best electrical conductivity and catalyst activity. Doping of these perovskites with heteroatoms is a common way to fine tune the crystal and electronic structure². In our recent work, noble metals Pd and Pt were separately doped in LaNiO₃. Detailed crystal structure, composition and morphology of Pt- and Pd- doped LaNiO₃ were investigated with the use of transmission electron microscope (TEM) and spherical aberration corrected (Cs) scanning TEM (STEM). The analysis visually confirmed lattice expansion as a result of the heteroatom dopant and B-site as the doping site.

[Method]

The catalysts were synthesized from La, Ni, Pt and Pd nitrate precursors by mixing them in stoichiometric ratios in deionised water. Pt and Pd doping were carried out by replacing 5 mol% of Ni nitrate with Pt or Pd nitrate. LaNiO₃, LaNi_{0.95}Pd_{0.05}O₃ and LaNi_{0.95}Pt_{0.05}O₃ were obtained after sintering at 850 °C under air atmosphere. These were characterized with powder X-ray diffraction (XRD, Rigaku Miniflex II X-ray diffractometer), TEM (JEOL JEM-2000FX, 200 kV) and Cs-corrected STEM (JEOL JEM-ARM200F, 200 kV) with EDS.

[Results and Discussions]

XRD analysis revealed a significant shift to the left in the [100] peak of the doped samples (Fig. 1a). This lattice expansion indicates successful incorporation of the noble metal dopants in the perovskite structure. Pt doping concentration was increased to 20 mol% (LaNi_{0.80}Pt_{0.20}O₃) to visually identify the doping site in the ABO₃ perovskite structure. High contrast dots in the Ni region together with EDS mapping confirmed the doping site of Pt by direct observation under Cs-corrected STEM. The increase in lattice parameters is believed to contribute to the stability of the electrocatalysts in battery cycling tests by allowing faster diffusion of oxygen anions from the bulk of the perovskite to the surface. More analysis is in progress to directly observe the different rate of degradation of the perovskite structure during electrochemical tests due to heteroatom doping.

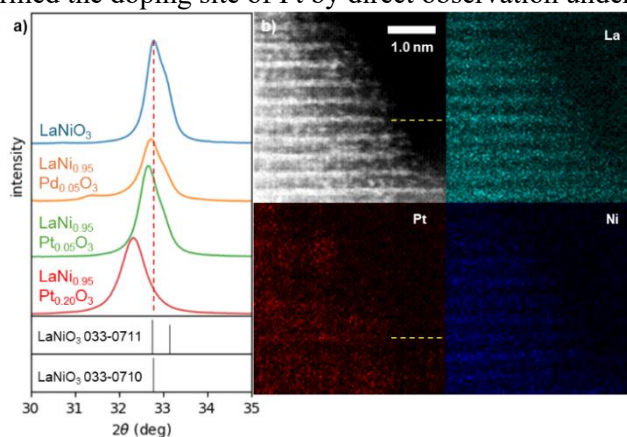


Fig. 1a) Powder XRD of Pd- and Pt-doped LaNiO₃.

Fig. 1b) EDS elemental mapping of LaNi_{0.8}Pt_{0.2}O₃.

[References]

1. S. Ingavale, M. Gopalakrishnan, C. M. Enoch, C. Pornrungraj, M. Rittirum, S. Prasertdam, A. Somwangthanaroj, K. Nootong, R. Pornprasertsuk and S. Kheawhom, *Small*, 2024, **20**, 2308443
2. S. Somdee, M. Rittirum, T. Saelee, P. Khajondetchairit, A. Ektarawong, S. Kheawhom, B. Alling, P. Prasertdam and S. Prasertdam, *Adv. Theory Simul.*, 2024, **7**, 6, 2301235.

新型ウルトラマイクロトーム UC Enuity のご紹介

○伊藤喜子

ライカマイクロシステムズ(株)

本年2024年3月下旬、弊社では、ウルトラマイクロトームの新型モデルを発売いたしました。1958年 Reichert-Jung社が発売した初代の系譜を受け継ぎ、20年ぶりとなるメジャーバージョンアップで第7世代へと進化いたしました。直近モデルのEM UC7等で、ご愛顧いただいておりますウルトラマイクロトームとしての基本機能の使い勝手をそのままに、新開発の先進機能をビルドアップ方式で搭載可能となっています。注目としては、新設計タッチパネルのデザイン、ダイヤモンドナイフ等と試料の精密アプローチの自動化、医学生物分野で好評のSEMを用いたVolume EM向けの連続切片作製及び回収のための各種機能、 μ CTデータと連携した面だし機能、高倍率蛍光実体顕微鏡の載せ替えなど、初心者の方から経験者の方まで幅広くご活用いただける機能を盛り込んでいます。また、高分子をはじめ材料系分野で広く使われております、クライオ機能は、超薄切片作製は、従来通りの使い勝手となっております。さらに、クライオ下での断面作製試料のVCT-Linkワークフローを用いたcryo-SEM等への拡張性も標準搭載いたしました。本講演では、これら各種機能をご紹介します。



図1 UC Enuity Standard/Advanced



図2 UC Enuity+Cryo チャンバー

図1、ウルトラマイクロトーム UC Enuity
アクティブ除振台と共に。

図2、専用防霜ボックス Cryosphere に
入った、クライオ・ウルトラマイクロトーム構成。

図3、蛍光実体顕微鏡バージョン。

最高 160 倍まで観察可能な、M205FA 搭載の
UC Enuity。



図3 UC Enuity,実体顕微鏡付きバージョン

SEMを活用したvEMへの取り組み

○中畠 香織¹, 中村 元弘¹, Eudri Venter², 山口 祐樹¹, 中小原 順一³

¹ 日本電子株式会社, ² JEOL (U.K.) LTD., ³ 株式会社システムインフロンティア

3D イメージングは生体組織、微生物、植物などの内部構造を明らかにするために役立っている。従来、ソフトマテリアルにおける微細構造解析には、透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いたトモグラフィ法が用いられてきた。近年では、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いたアレイトモグラフィ、集束イオンビーム SEM (FIB-SEM)、シリアルブロックフェース SEM (SBF-SEM) などによる 3D イメージングが行われている。特に、アレイトモグラフィ法と SBF-SEM 法は、100 μ m 以上の広領域を観察できることから、nm~mm オーダーの構造物に対する 3D 解析の有効性が期待されている。本講演では、弊社が取り組んでいる SEM を用いたアレイトモグラフィ法と SBF-SEM 法の 3D 解析 (Volume EM : vEM) について、最新情報を交えて紹介する。

アレイトモグラフィ法は、試料サイズの制約が少なく、切片の再観察が可能であり、また光電子相関顕微鏡法 (CLEM) にも対応できるなどの特長を有している。ソフトマテリアル特有の低コントラストに対応し、長時間の画像撮影における電子線の安定性を確保しつつ、大照射電流下でも高分解能を実現できることから、一般的には高分解能 SEM が用いられる。一方で、高分解能 SEM は高価で設置面積が大きく、装置維持にコストがかかる。そこで、弊社では、安価で設置面積が小さい卓上 SEM でアレイトモグラフィ法を適用した。電動ステージを搭載した卓上 SEM は、高分解能 SEM と同様にアレイトモグラフィが自動で行える。さらに、両 SEM 間のステージ位置連携が可能のため、効率的な 3D 解析ができる (Fig. 1 左)。

SBF-SEM 法は、試料表面を連続的にスライスしながら、その表面を SEM で観察する手法である。ConnectomX 社製の Katana は、ユニットに超音波振動刃を備え、高精度な切削が可能である。また、katana は SEM 試料室内への着脱が簡便なため、一台の SEM でアレイトモグラフィ法と SBF-SEM 法を行うこともできる (Fig. 1 右)。

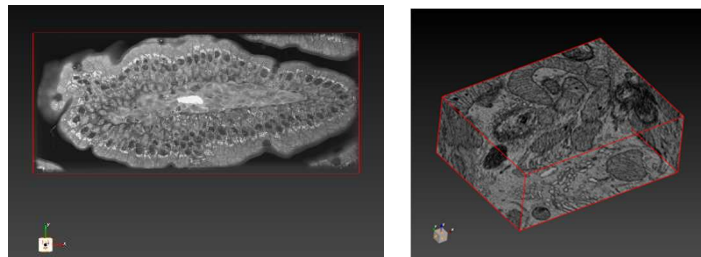


Fig. 1 アレイトモグラフィ法 3D イメージ (試料:マウスの小腸切片、使用装置:卓上 SEM) (左)

SBF-SEM 法 3D イメージ (試料:マウス腎臓、使用装置:高分解能 SEM) (右)

Precession Electron Diffraction の応用

○鈴木清一

(株) TSL ソリューションズ

近年ローレンツ TEM を用いた PN Junction 等試料中の電場の観察への要望が高まっている。しかし一般的な PN Junction では 1V 程度の電位差しかなく、Low Mag モードでは観察できる場合もあるが、通常の MAG モード/STEM モードではその観察は困難である。STEM モードにおける観察の原理は、完全な平行照射でビームをスキャンした場合は、Diff モードにおける回折パターンのダイレクトビームは動かない。しかし試料中に電場の変化(電位差)があると、このダイレクトビームはその電位差により少し動かされる。この動きを検出することで試料中の電位差を検出しようというものである。実際には、この動きは極めて小さいためカメラ長を極力長く設定して測定を行う。しかしその場合は、回折パターンのスポットも拡大されるためディスク状になってしまう。その様子を Fig.1a)に示した。この場合は CBD パターンのように高次の回折等を反映したいろいろな模様がスポット中に現れる。このディスク状のスポットの中心位置を加重平均等で求めるが、この模様の変化が正確な中心位置の算出に障害となる。ここで Precession Electron Diffraction(PED)法を適用すると、Fig.1b)に示すように回折スポット内の模様を消失させることができる。この Precession を施したビームで試料を走査し、ダイレクトビームの動く量および動く方向を反映したマップを作成することができる。Fig.2a) には、GaAs/AlAs の界面における電場の変化を測定した例を示す。色はカラーキーに従った電場の方向を示している。また Fig.2b)には仮想暗視野像(VDF)で得たマップに相ごとに色付けしたマップを示した。このマップにより、この試料の界面では約 0.6V 程度の電位差があると推察できる。このように PED 法の使用により、高分解能 STEM 像でもローレンツ TEM 法による試料中の電場の変化を検出できることが示された。本講演では、PED 法と電場の測定に関して報告する。

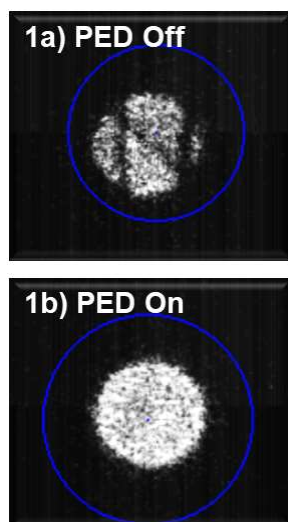


Fig.1: PED On/Off によるダイレクトスポットの変化

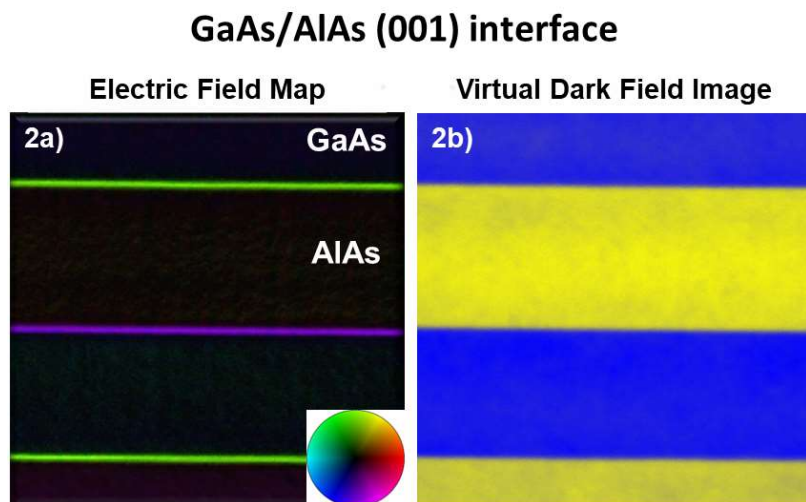


Fig.2: 2a)の Electrical Field Map では、緑は上向き、紫は下向きの電場の変化があることを示している。

電池材料の極低加速電圧観察とSEM-AFM相関観察による

電位コントラスト像の評価

○長岡豊、橋本陽一朗、相蘇亨、藪修平、笹島正弘

株式会社日立ハイテク

SEMによる極低加速電圧観察は、電子線照射時、試料への電子散乱体積が極めて小さいため、電子線照射による試料ダメージ低減や試料最表面の可視化が可能となる。一方で、電子の放出量に依存する電位コントラスト (VC) は、極低加速電圧条件下ではその挙動が変化するため、撮影した像の解釈が複雑になる。これまで筆者らは、極低加速電圧条件である50 V以下の加速電圧において、リチウムイオン電池負極材のバインダーと活物質によって形成されるVC像について報告した[1]。加速電圧の低下と共にVCのコントラストが低下し、30 VではほぼVCが消失したが、20 Vにおいてはバインダーの形状を反映しているような粒子状の特徴ある像が観察された。この特徴的なVC像は、材料の表面電位に起因し得られていると考えられるが、そのVC像形成原理は詳細に調べられていない。そこで本発表では、極低加速電圧条件下におけるVC形成原理を明らかにするため、LiB負極材上のバインダーを模した単純化した系の試料において、極低加速電圧条件下におけるVC形成原理をSEMとAFMとの相関観察により評価した。

SEMは日立ショットキーFE-SEM SU8700を用いて観察した。試料はシリコン基板上にオスミウムを約7 nmコーティングした基板に、LiB負極材のバインダーであるStyrene-butadiene-rubber (SBR)を滴下し、乾燥させたものを標準試料とした。SEMとAFMの相関観察では日立 AFM5300Eを用いて、電子線照射後の残留電位差をKelvin Probe Force Microscopy (KPFM)で測定した。

図1に加速電圧10~50 VにおいてSBRを観察した結果を示す。本実験系においてもLiB負極材活物質上のSBRと類似したVC観察結果が得られた。このVC形成原理を評価するため、SEM観察後、雰囲気遮断システムを用いて高真空状態を維持したままAFMに搬送しKPFM残留電位差を測定した。その結果、加速電圧に応じて観察されるVC像とKPFM残留電位差には相関関係があることが明らかとなった。

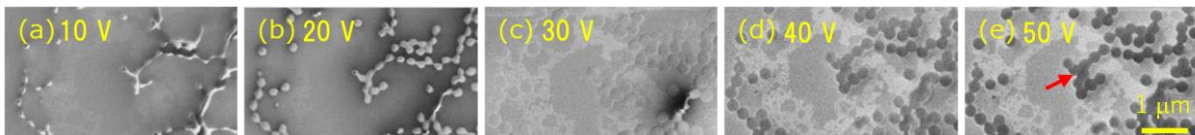


図1 オスミウムコーティングしたシリコン基板上におけるSBRの極低加速電圧観察結果。(a) 10 V, (b) 20 V, (c) 30 V, (d) 40 V, (e) 50 V。

[1]長岡豊ら、日本顕微鏡学会第79回学術講演会、1amB_I-2-02 (2023)。

EELSの常識を変える最新Cs-STEM Iliad (イリアド) のご紹介

○石丸 雅大、Alex Bright

Thermo Fisher Scientific

電子エネルギー損失分光法(EELS)は、高いエネルギー分解能を有するために組成分析だけではなく、化学結合状態や酸化状態を評価することができる。更に収差補正機能付き走査透過型電子顕微鏡(Cs-STEM)と組み合わせたCs-STEM-EELS分析は、原子分解能レベルでの解析が可能なることから、様々な機能性材料の特性向上に寄与する知見が取得可能な微細構造解析手法として注目されている。

これまで一般的にCs-STEM本体と分光装置の開発や生産は別々で行われることが多いため、それぞれのハードウェア性能を十分に発揮することは難しく、観察者がその弊害に気が付くことも少なかった。また、操作に関しても別のソフトウェアを使用する必要があり、観察時の効率を削ぐ要因の一つとなっていた。

今回我々は、Cs-STEMと分光装置が完全に一体化された新型装置「Iliad」を開発した。結像レンズ系を含めたEELS測定のための装置の見直しをすることによって、常にフォーカスが合ったスペクトルが取得できるようになり、特に高エネルギー側でのスペクトル形状が大幅に改善され、より詳細な解析が可能となった(図1)。また、5つまでの異なるエネルギー帯のスペクトルをほぼ同時に取得できるようになり、それぞれのエネルギーに適した露光時間等の設定が行えるようになっている。また、すべての観察や分析も一つのソフトウェア上で完結するため、より観察に集中できる。

その他ビームブランカー機能などの新機能について、詳細にご紹介する。

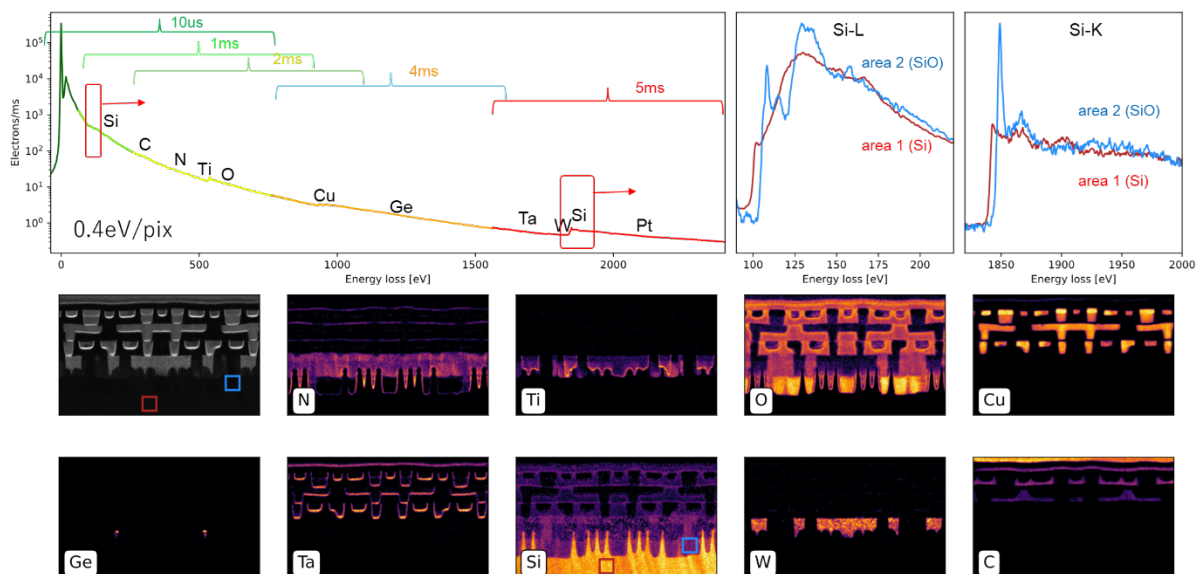


図 1. Iliad で取得した Multi-EELS 分析結果



日本顕微鏡学会 第 67 回シンポジウム

ポスター発表

討論

11 月 2 日（土） 16 : 30 ~ 17 : 30
ポスター会場（N301 & N303 教室）

エボラウイルス様粒子出芽過程における形質膜の動的構造解析

大久保 達成^{A,B}、谷中 慶三郎^{B,C}、新井 達也^{C,D}、佐々木 大輔^{B,C}、

古山 若呼^E、南保 明日香^E、三尾 和弘^{A,B}、佐々木 裕次^{B,C}

横浜市大院生命医科^A、産総研・東大オペランド OIL^B、東大院新領域^C、北大院先端生命^D

長崎大・高度感染症研究センター^E

Structural dynamic analysis of the cell membrane during the budding of Ebola virus-like particles

T. Ohkubo^{A,B}, K. Taninaka^{B,C}, T. Arai^{C,D}, D. Sasaki^{B,C},

W. Furuyama^E, A. Nanbo^E, K. Mio^{A,B} and Y.C. Sasaki^{B,C}

^AGrad. Sch. Med. Sci., Yokohama CU, ^BOperando OIL, AIST,

^CGrad. Sch. of Front. Sci., The Univ of Tokyo, ^DFaculty of Adv. Life Sci., Hokkaido Univ,

^ECCPID, Nagasaki Univ.

エボラウイルスはヒトや霊長類に致死率の高い出血熱を引き起こす。エボラウイルスのマトリクスタンパク質 VP40 は単独でウイルス様粒子 (virus-like particle: VLP) を形成する。感染細胞形質膜から VLP が放出される出芽過程は創薬ターゲットの 1 つとなっているが、未だ不明な点が多い。本研究では、出芽過程における形質膜の動的構造を明らかにするため、走査型電子顕微鏡とクライオ電子顕微鏡による形態観察および回折 X 線明滅法 (Diffracted X-ray Blinking: DXB) による高速時分割動態計測を実施した。

トランスフェクション後 24 時間が経過した野生型 VP40 発現 HEK293F 細胞において、細胞表面には直径約 600 nm の突起が、細胞外には長径約 1 μ m のひも状粒子が観察された。これらの構造的特徴は出芽過程を示している可能性があると考えられた。出芽に伴う膜動態をリアルタイムで検出するため、DXB 法を用いた動態解析を行った。

DXB 法は X 線回折を利用した 1 分子動態計測法である。目的タンパク質や細胞表面に結合された金属ナノ結晶は、単色 X 線照射によりビームの中心から 2θ の位置に X 線回折輝点として検出される。数千フレームから成る回折データを時分割で取得し、輝点の運動を示す 1 ピクセルあたりの経時的な強度変化から 1 分子動態を解明する。DXB 計測では VP40 発現細胞の表面に酸化亜鉛ナノ結晶 ($\phi=500$ nm) をラベルした。KEK PF-AR/NW14A ビームラインを用い、1 フレームあたり 12.5 ミリ秒の時分割で 5,000 フレーム取得した。トランスフェクション後の培養時間として 12 時間、24 時間、48 時間の 3 条件設定した。12 時間培養の細胞において既に膜動態の亢進が認められた。24 時間培養の細胞では 12 時間培養の細胞と同程度の亢進が認められたが、48 時間培養では膜動態の速さを示す減衰定数が他の条件と比較して 2.5 倍に増加した。これらの結果はウエスタンブロッティングで確認した発現量変化と同調しており、膜動態変化は遅くともウイルス感染後 12 時間以内に開始されることを確認した。

ラット腱分岐部のコラーゲン走行とグリコサミノグリカン鎖の構造解析
高橋 直紀^A, 長谷川 靖洋^B, 鈴木 大輔^C, 岩崎 智仁^B, 小林 良祐^A, 渡邊 敬文^A
酪農学園大 獣医^A, 酪農学園大 食と健康^B, 北海道千歳リハビリテーション大 健康科学^C

**Morphological analysis of collagen fibril running and glycosaminoglycan chains
at the rat tendon bifurcation**

N. Takahashi^A, Y. Hasegawa^B, D. Suzuki^C, T. Iwasaki^B, R. Kobayashi^A, and T. Watanabe^A
^A*Department of Veterinary Medicine Rakuno Gakuen Univ.*, ^B*Department of Food Science and Human Wellness Rakuno Gakuen Univ.*, ^C*Department of Health Sciences Hokkaido Chitose Collage of Rehabilitation*

腱を構成するコラーゲン細線維は、腱に対して平行に整列することで筋の収縮を骨に伝える役割を担っている。そのコラーゲン細線維の走行を規定する構造として、グリコサミノグリカン(GAG)鎖が挙げられる。GAG鎖はコラーゲン細線維の一定間隔にある d-バンドの位置に巻き付くように存在し、リングメッシュ構造と呼ばれる 3次元構造が報告されている。我々はこれまでにウシ浅趾屈筋腱の遠位側で趾に対して分岐する腱分岐部というユニークな部位について観察した。実体顕微鏡下にて、コラーゲン細線維が束ねられたコラーゲン線維が交差している様子が観察された。この部位を詳細に観察するため、各種電子顕微鏡を用いてコラーゲン細線維の走行方向と GAG鎖の 3次元超微形態を明らかにした。腱分岐部ではコラーゲン細線維が交差しており、一部で編み込むように走行していた。GAG鎖の形態は既報と異なりコラーゲン細線維に巻き付かず、直線的な形態を呈していた。この結果は、コラーゲン細線維の走行に関わらず、GAG鎖は普遍的に d-バンドの部位に付着することを意味する。一方、GAG鎖の形態の差異はコラーゲン細線維走行の違いに起因するものと考えられるが、動物種の違いであることも否定はできない。そのため、本研究は既報の動物種に基づき、ラット深趾屈筋腱の腱分岐部をキュプロメロニックブルーにて GAG鎖を特異的に染色した樹脂包埋標本を作製し、電子顕微鏡にて観察した結果を報告する。

ブロイラー異常硬化胸肉の発現と胸肉内血管分布との関係

長谷川 靖洋^A, 川崎 武志^B, 高橋 直紀^C, 山田 未知^D, 渡邊 敬文^C, 前田 尚之^A,
岩崎 智仁^A

酪農大食と健康^A, 人と鳥の健康研究所^B, 酪農大獣医^C, 酪農大循環農^D

Relationship between the occurrence of wooden breast in broilers and the vascularity in the breast meat

Y. Hasegawa^A, T. Kawasaki^B, N. Takahashi^C, M. Yamada^D, T. Watanabe^C, N. Maeda^A, and T. Iwasaki^A

^ADepartment of Food Science and Human Wellness Rakuno Gakuen Univ., ^BResearch Office Concerning the Health of Humans and Birds., ^CDepartment of Veterinary Medicine Rakuno Gakuen Univ., ^DDepartment of Sustainable Agriculture Rakuno Gakuen University

【目的】我々はブロイラー異常硬化胸肉（以下、WB）発現には著しい体格の増大速度が関係し、胸肉の急速な発達に対して血管網の形成が追いつかず、筋肉内で虚血を引き起こしていると仮説立てて研究を展開している。本研究では医療用 CT および組織化学的手法を用いてブロイラー胸肉内の血管分布について検討した。

【方法】本学で飼育した Ross308 系ブロイラーを翼の挙上によって選別した。WB 発現および WB 非発現の個体を医療用 CT で胸肉内の血管走行を可視化した後、6ヶ所から筋組織採材し、筋組織の形態を観察した。さらに、36羽に対して WB 重症度の分類を行い、血管系の観察および各種遺伝子発現量を調査した。

【結果】CT 撮像の結果、WB を発現している個体は胸筋の腹側頭側部に走行する胸鎖動脈が末梢まで可視化できなかった。これら個体の筋組織を HE 染色で形態を観察したところ、胸鎖動脈の末梢部で WB の特徴である筋線維の円形化が進行していた。組織化学的手法を用いて腹側頭側部の毛細血管および細動脈を観察すると、いずれも重症群で多く観察された。低酸素誘導因子および血管内皮細胞増殖因子の遺伝子発現量は重症度間で差は得られなかったが、これらの遺伝子は重症群で有意な正の相関が認められた。以上のことから、WB が重症化したものでは、筋組織内で低酸素状態と血管新生が生じていることが示唆された。

角膜固有質に存在する角膜細胞と抗原提示細胞の 3 次元電子顕微鏡解析
星野信隆^A, 高橋直紀^A, 岩崎智仁^B, 長谷川靖洋^B, 亀谷清和^A, 小林良祐^A, 渡邊敬文^A
酪農学園大 獣医^A, 酪農学園大 食と健康^B

Three-dimensional electron microscopic analysis of keratocytes and antigen presenting cells in corneal stroma

N. Hoshino^A, N. Takahashi^A, T. Iwasaki^B, Y. Hasegawa^B, K. Kametani^A, R. Kobayashi^A,
T. Watanabe^A

^A*Department of Veterinary Medicine Rakuno Gakuen Univ.*, ^B*Department of Food Science and Human Wellness Rakuno Gakuen Univ.*

角膜の約 90%を占める角膜固有質は、コラーゲン細線維と角膜細胞から構成され、角膜細胞は角膜全体にわたる巨大なネットワークを形成している。このネットワークには抗原提示細胞が関与する可能性がある。本研究では、アレイトモグラフィ法を用い、角膜細胞間の連結と抗原提示細胞のネットワークへの関与を解析した。ブタ角膜を導電染色後、エポキシ樹脂で包埋し、200 nm 厚の連続切片を作製した。電界放出型走査電子顕微鏡 (FE-SEM) で得た連続画像を三次元再構築し、角膜固有質内の細胞構造を解析した。角膜細胞は水平および垂直方向にギャップ結合で連結し、ネットワークを構築していた。また、異なる形態を持つ樹状突起の抗原提示細胞が角膜前上皮側に存在し、角膜細胞と連結してネットワークに寄与していた。これにより、抗原提示細胞が外界の侵襲に反応し、その情報がギャップ結合を介して角膜全体に迅速に伝達される可能性が示唆された。

新奇エンドソームの微細構造学的解析**釜崎とも子, 佐藤絢, 藤岡容一郎, 柏木彩花, 天野麻穂, 大場雄介
北大医****Ultrastructural analyses on the novel endosomes****T. Kamasaki, A. O. Satoh, Y. Fujioka, S. Kashiwagi, M. Amano and Y. Ohba
*School of Med. Hokkaido Univ.***

細胞は生存や恒常性維持のため、受容体などの細胞膜タンパク質や細胞外の物質をエンドサイトーシスによって細胞内に取り込み、エンドソームに内包する。一般的に分解経路を辿るエンドソームの成熟過程では、そのオルガネラ膜において Rab5 から Rab7 への局在変換が起こることが知られている。これらは相互排他的であることから、それぞれ初期および後期エンドソームマーカーとして用いられる。しかし我々は最近、この定説に当てはまらない小胞の存在を見出した。その小胞においては、エンドサイトーシスが開始して間もない段階から Rab5 と Rab7 の両方が長時間共存していた。現在のところ、このような Rab5/Rab7 ダブルポジティブ小胞（以下 Rab5/7 小胞とする）は、EGF 刺激によりエンドサイトーシスを惹起した際に頻繁に観察されることがわかっている。本研究では Rab5/7 小胞を微細構造学的に同定するため、光-電子相関顕微鏡法を用いて Rab5/7 小胞の透過電子顕微鏡観察を行った。初めに、Rab5/7 小胞における各種のエンドサイトーシス関連マーカーの局在や EGF 受容体の取り込みについて蛍光顕微鏡観察した結果、Rab5/7 小胞は EGF 受容体を輸送し、分解経路を辿ることが示唆された。次に、Rab5/7 小胞の微細構造を解析したところ、直径は 2-5 μm であり、小胞の内包物として直径約 0.2-1 μm の細胞質断片がしばしば見られた。また、Rab5/7 小胞の膜上やごく近傍には、直径約 0.1-0.2 μm の小胞も存在した。今後は、Rab5/7 小胞の形成および成熟を制御するメカニズムや、生理的意義を追究して行く予定である。

Array tomography における非線形歪み補正の高精度化 Accuracy improvement of non-linear distortion correction for array tomography

須賀三雄¹、本多珠巳²、窪田芳之^{2,3,4}

¹日本電子株式会社, ²理化学研究所 CBS, ³生理学研究所, ⁴総合科学技術大学院大学

Mitsuo Suga^{1,*}, Tamami Honda², Yoshiyuki Kubota^{2,3,4}

¹JEOL Ltd., 3-1-2, Musashino, Akishima, Tokyo, Japan, ²Riken CBS, ³NIPS, ⁴SOKENDAI.

生体の超微細構造を3次元的に調べるために、電子顕微鏡を用いた array tomography が用いられるようになった。Array tomography ではウルトラミクロトームを用いて連続切片を作製するが、それらの切片には、特有の歪みが入る[1, 2]。この歪みは、3次元再構成の際に誤差の要因となる。線形な歪みは affine 変換で補正できるが、局所的な歪みである非線形な歪みについては、すべての切片が同程度に歪んでいることを仮定した上で、バネで接続されたネットワークモデルを用いた弾性変形により補正を行っている[3]。しかしながら、切片のコンディション次第で、画像が大きく変形する場合があった。

本研究では、画像の変形が少ない歪補正方法を検討した。各切片の歪を定量化した結果、歪の大きな切片と小さな切片があることがわかった。そこで、歪の大きな切片を除外して歪の小さな切片のみでアライメントと歪み補正を行った後で、アライメント後の切片を基準として歪みの大きな切片の形状補正を行う方法を検討した。このようにすることで、変形が少ない歪補正とアライメントを実現できた。

[1] 本多ら、日本顕微鏡学会 第80回?学術講演会 P-I_40 (2024).

[2] Tegethoff and Briggman, Front. Neurosci. 18:1286991 (2024).

[3] Saalfeld et. al., Nature Methods 9, 717 (2012).

有機液体試料のクライオ SEM 観察における昇華エッチング条件

岡田 賢^A海洋研究開発機構^A

Sublimation etching temperature for cryo-SEM of organic liquids

S. Okada^A*^AX-star, Japan Agency for Marine-Earth Science and Technology*

クライオ走査電子顕微鏡（クライオ SEM）は、液中構造を観察する手法の一つとして有用である。水系の場合は、高圧凍結に代表される急速凍結法と、 -110°C 前後での昇華エッチングにより凍結断面の構造を可視化できる。一方、有機溶媒系の場合は、急速凍結法が必ずしも最適でなく、溶媒によっては構造アーティファクトが生じることを前回のシンポジウムおよび学術講演会で示した。本ポスターでは、有機溶媒系の観察条件をさらに検討し、断面構造観察に必要な昇華エッチングの条件および昇華可否を推定した。

75 種類の汎用有機溶媒に対して、昇華エンタルピー $\Delta_{\text{sub}}H$ を分子構造パラメータの経験的フィッティングから、飽和蒸気圧を $\Delta_{\text{sub}}H$ を用いて Clausius-Clapeyron 式から、固体密度を液体密度の外挿からそれぞれ算出し、Hertz-Knudsen-Schrage 式により昇華エッチング速度を計算した。その結果、最大昇華速度が 10 pm/s ($3 \text{ nm}/5 \text{ min}$) を下回り実質上昇華できない溶媒が 18 種、この昇華速度が達成できる温度が融点以上であり分散状態の保持が不完全となる溶媒が 14 種存在した。そのため、適切な観察を行うためには 1-プロパノールを 2-プロパノールに置き換えるなど製法上の工夫が必要となる。当日は、混合溶媒系への拡張に関する道筋および、溶媒物性からクライオ SEM に関わる温度・圧力情報を可視化する Microsoft Excel ベースのシステムについても紹介する。

STEM-EELS low-loss スペクトル特徴量を用いたポリマー分類モデル構築の 試み

梅本 大樹^{A,B}, 荒井 重勇^B, 武藤 俊介^{A,C}
名大院工^A, 旭化成(株)^B, 名大 未来・材料システム研究所^C

An approach on polymer classification model construction via feature values extraction from STEM-EELS low-loss spectrum

H. Umemoto^{A,B}, S. Arai^B and S. Muto^{A,C}

^A Graduate School of Engineering, Nagoya Univ., ^B Asahi Kasei Corp.,

^C Institute of Materials and Systems for Sustainability, Nagoya Univ.

走査型透過電子顕微鏡 (STEM) と電子エネルギー損失分光スペクトルイメージング法 (EELS-SI) の組み合わせは、高空間分解能での実空間観察とともに、化学状態・電子構造を解析することができる手法である。ポリマーなどの炭素系有機材料では、K 殻吸収スペクトル (CK 吸収端) において、化学状態の定性に有用な σ^* および π^* ピークが現れる。しかし、高エネルギーの電子線照射によって、特徴ピークの消失や損傷由来の新たなピークの発生、あるいは試料穿孔を生じる。また、低 SNR も問題となる。このような電子線損傷、低 SNR への対策として、Core-loss スペクトルに比べて 2-3 桁以上のシグナルが得られる Low-loss スペクトルを活用した事例が報告されている[1]。一方で、ポリマーの Low-loss スペクトルのピークはブロードで定性性に劣ることから、化学状態解析への活用は限定的であった。そこで本研究では、Low-loss スペクトルによる化学状態解析の定性性向上のためのアプローチとして、Low-loss スペクトルから特徴量を抽出し、機械学習による分類モデルを構築すること方法を試みた。

超高压電顕を用い、複数種のポリマーについて Low-loss スペクトルを取得した。EM アルゴリズムによるスペクトルフィッティング[2]を行い、各基底関数に由来した計 12 特徴量を抽出し、各種の次元削減と分類アルゴリズムを用いて分類モデルを構築した。その中でも、次元削減せずにランダムフォレストアルゴリズムおよびサポートベクターマシンアルゴリズムを適用して構築したモデルで、正答率 90% 程度の分類精度が得られた。Poly Ether Ether Ketone のように分子構造に明確な特徴を有するポリマーで、特に分類精度が高くなる傾向があり、分子構造特徴がスペクトルおよび抽出特徴量に反映されていると考えられた。さらに、分類モデルを合成ゴム系ポリマーアロイのスペクトルイメージングデータに適用したところ、ポリマーアロイのモルフォロジー、化学状態分析あるいは物質界面での化学反応有無・反応生成物の空間分布可視化への応用可能性が示された。本手法は、厚い試料・高空間分解能で、コントラスト情報およびポリマー種情報を同時に取得可能な唯一の手法であり、標準スペクトルデータの拡充により、汎用性向上が期待される。

References:

- [1] H. Umemoto, S. Arai, S. Muto, Polym. J., 55, 997-1006 (2023).
[2] T. Matsumura, N. Nagamura, S. Akaho, K. Nagata, Y. Ando, Sci. Technol. Adv. Mater.: Methods, 3, 2159753 (2023).

透過型電子顕微鏡による膜試料の動態観察

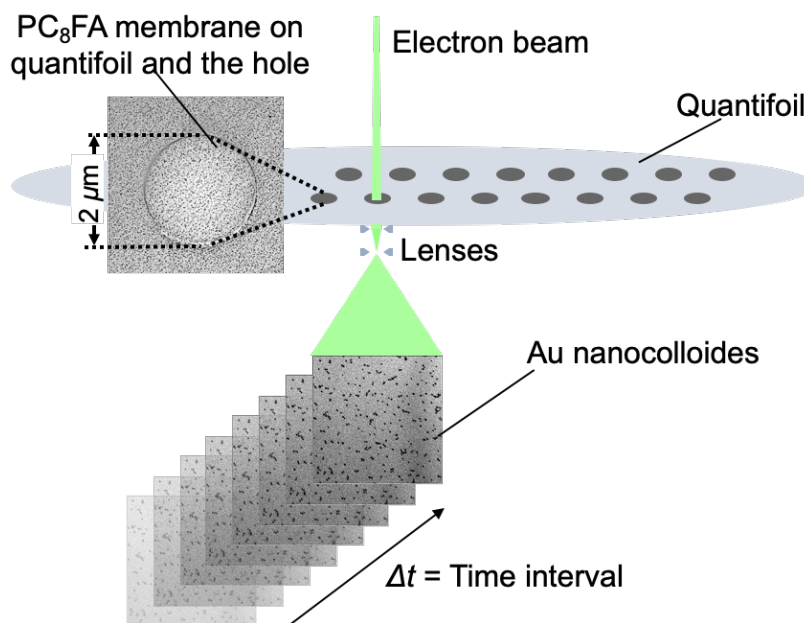
椎名 孝明^A, 稲益 礼奈^{B,C}, 新井 達也^{C,D}, 佐々木 裕次^C, 三尾 和弘^A
産総研^A, ダイキン工業^B, 東大新領域^C, 北大先端生命研^D

Membrane dynamics observed by transmission electron microscope

T. Shiina^A, R. Inamasu^{B,C}, T. Arai^{C,D}, Y. C. Sasaki^C and K. Mio^A

^ANational Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), ^BDaikin Industries, Ltd., ^CGraduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, ^DFaculty of Advanced Life Science, Hokkaido University

本研究は透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いてナノ粒子の運動を実空間で直接観察する新規技術を開発し、材料の動的状態と構造・機能の関係を理解することを目的とした。発表では金ナノ粒子を追跡プローブとして使用し、in-situ で温度変化を加えた条件下で有機系物質膜の動態を観察した結果について報告する。具体的には、孔径 $2\mu\text{m}$ の Quantifoil に膜状の試料を作製し、さらに直径 5nm の金ナノコロイドを膜表面に分散させた。透過型電子顕微鏡 JEM 1230 (日本電子) による観察を、加速電圧を $100\sim 120\text{kV}$ 、倍率を $40,000$ 倍で行い、画像は CCD カメラで取得した。温度変化はペルチェ式加熱冷却ホルダーを用いて $0.1\text{ }^\circ\text{C/s}$ 以下の昇降温速度で加熱・冷却サイクルを繰り返した。得られた TEM 画像中の金ナノコロイドの移動を TrackPy により追跡し、平均二乗変位 (MSD) 曲線を算出した。MSD 解析の結果、ポリ 2(パーフルオロオクチル)エチルアクリレート (PC8FA) とポリステアerylアクリレート (PSA) で軟化温度や固化温度付近に顕著な MSD ピークが観察され、ジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC) では初回の加熱サイクルで複数の MSD ピークが見られたがその後のサイクルでは単一のピークに収束することが示された。ポリマー膜での結果は示差走査熱量測定 (DSC) の結果とも有意に対応付けられ、試料膜の熱吸収に伴う動的状態変化に関する洞察が得られることが示された。今回開発した手法は一般的な TEM 装置で容易に実施可能であり、高分子をはじめとする材料科学分野での利用やリン脂質を主要構成要素とする生体膜の動態計測への応用が期待される[1, 2]。



計測手法の概念図

[参考]

[1] T. Shiina, H. Yamaguchi, R. Inamasu, T. Arai, Y.C. Sasaki and K. Mio, "Nano-particle tracking method for analysis of polymer chain's dynamics using transmission electron microscope", The 20th International Microscopy Congress, Busan, Korea, September 2023

[2] 稲益, 山口, 椎名, 新井, 三尾, 佐々木, 「量子ビームを用いたフルオロアルキルアクリレートポリマー表面の温度変化分子動態計測法の検討」, 第 72 回高分子討論会, 香川, 2023 年 9 月

NBD 回折円盤を用いた面間隔評価手法の精度検討

古屋 丞司^A, 有元 圭介^A, 馬場 梓^A, 原 康祐^A, 土井 稔^B, 山中 淳二^A
山梨大学^A, 名古屋工業大学 (名誉教授)^B

Accuracy study of d -spacing measurements using NBD disks
J. Furuya^A, K. Arimoto^A, A. Baba^A, K. O. Hara^A, M. Doi^B, J. Yamanaka^A
^AUniversity of Yamanashi, ^BNagoya Institute of Technology (Emeritus).

結晶性試料の局所領域面間隔測定において、ナノビーム電子回折(NBD)は制限視野電子回折法を上回る空間分解能を有する。しかし、試料に電子を集束させているために円盤状に広がった回折図形から正確な中心位置を求める必要がある。我々は、面間隔の差が 0.002 nm の Ni-Al-Ti 合金中の γ 母相と γ' 析出物を対象に実験を行い、着目する回折円盤の中心位置の差を大きな画素数で区別できるカメラ長とすることと、主要な回折円盤を全て一枚の回折パターンに収めて測定することの両要素が測定精度向上に寄与することを示した[1]。一方、本手法は完全自動測定ではなく、回折円盤の外周と中心位置判定の際の信頼性が重要である。本研究では、同一データを二名が独立に解析し、結果の差異を検討することとした。測定対象は Ni-8.5at%Al-5.4at%Ti 合金中の γ' 析出物とした[2]。測定には二段集束レンズ型 FE-TEM である FEI 製 Tecnai Osiris を用いた。装置状態の変動を確認する意味で、同一析出物に対して約 45 時間断続的にデータを取得した。入射方位[001]、カメラ長 330 mm で NBD による回折円盤を得た後、二名が独立して解析を行った。図 1 に主な結果を示す。二名間の解析結果の差も、45 時間経過してのデータの変動も、約 1%以下の違いであった。

[1] 古屋ら、日本顕微鏡学会 第 80 回学術講演会、2024 年 6 月、千葉、P-M_24

[2] T. Maebashi and M. Doi, Materials Science and Engineering A 373(2004)72.

【謝辞】本研究は JSPS 科研費 JP23K04599 の助成を受けたものです。

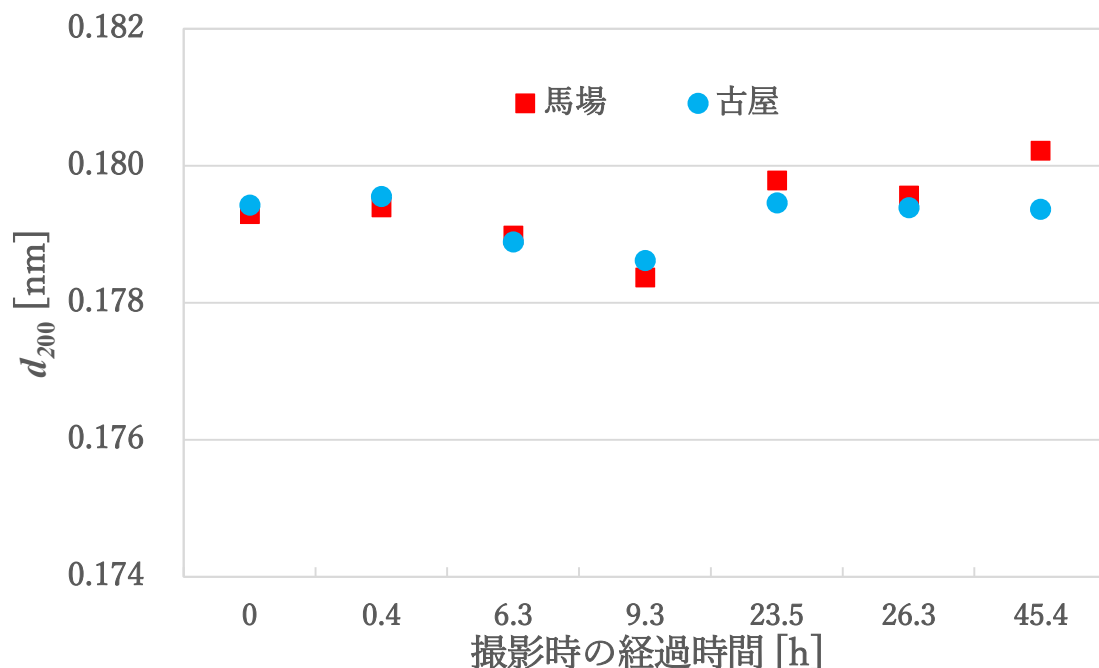


図 1. NBD から算出した、Ni-8.5at%Al-5.4at%Ti 合金中 γ' 析出物の {200} 面の面間隔。解析者・経過時間による、算出結果差異の比較。

Chirality identification using qualitative Bijvoet difference by 3D ED analysis

T. Liu^A, D. Morikawa^A, H. Kurokawa^A, S. Narai^A, Y. Seto^B, K. Yonekura^A, K. Tsuda^A

^AInstitute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku Univ., ^BOsaka Metropolitan Univ.

Identification of crystal chirality is crucial in fields such as materials science and pharmaceuticals, and 3D electron diffraction (3D ED) experiments have advanced this task through absolute crystal structure determination [1]. Electron diffraction experiments can accurately measure crystal structures due to their dynamical nature, which also causes Bijvoet pairs of reflections to exhibit broken symmetry specifically arising from crystal chirality [1][2]. However, precise characterizations often require extensive dynamical refinements of specimen thickness, structure factors etc. In this work, we propose a simplified approach that identifies crystal chirality through qualitative analysis of Bijvoet differences in continuous-rotation 3D ED experiments. We observe that the integrated intensities of certain Bijvoet pairs display significant differences between enantiomorphs, allowing for straightforward identification of handedness (see Fig 1). By focusing on key Bijvoet pairs with pronounced chirality differences, our method reduces the need for complex dynamical refinements, offering an efficient alternative for crystal chirality identification.

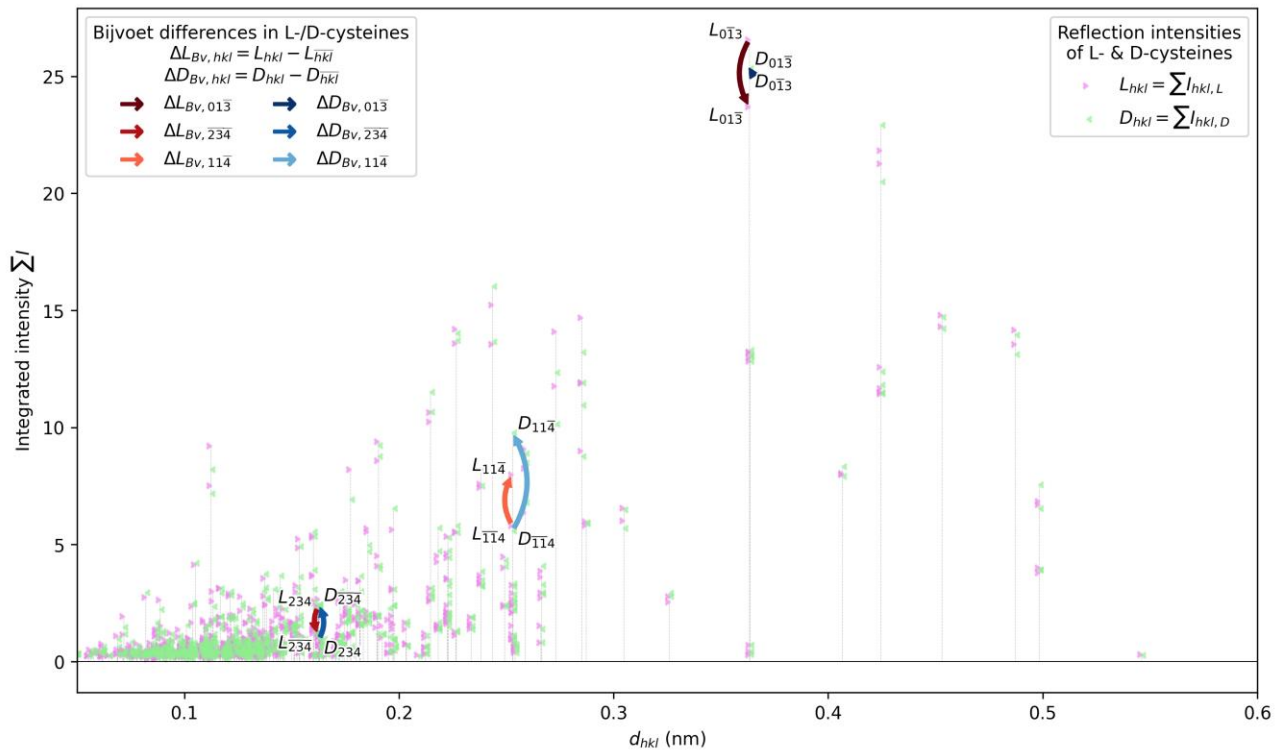


Fig 1. Integrated reflection intensities of L- & D-cysteines by continuous-rotation 3D ED dynamical simulations. The simulations rotated around axis $[16\ 5\ \bar{9}]$ for 90° . The mismatched integrated intensities in L-cysteine (L_{hkl}) and D-cysteine (D_{hkl}) indicate the common intensity changes between the enantiomorphs. The L/D differences of some Bijvoet pairs are marked for instances ($\Delta L_{Bv,hkl}$ for Bijvoet differences in L-cysteine, and $\Delta D_{Bv,hkl}$ in D-cysteine). The Bijvoet pair of $234/\bar{234}$, with their red/blue arrows pointing the opposite directions, has $L_{234} > L_{\bar{234}}$ in L-cysteine while $D_{234} < D_{\bar{234}}$ in D-cysteine. Similar Bijvoet pair (with significant L/D differences $|\Delta L D_{Bv,hkl}| = |\Delta L_{Bv,hkl} - \Delta D_{Bv,hkl}|$) can be used as qualitative constraints for the handedness of cysteine. Relatively, Bijvoet pairs like $01\bar{3}/0\bar{1}3$ and $11\bar{4}/\bar{1}14$ have less distinct $|\Delta L D_{Bv,hkl}|$, because a) $|\Delta L D_{Bv,hkl}|$ is small compared to the L_{hkl} or D_{hkl} values or b) the $\Delta L_{Bv,hkl}$ and $\Delta D_{Bv,hkl}$ have the same direction.

[1] Klar PB, Krysiak Y, Xu H, et al. Accurate structure models and absolute configuration determination using dynamical effects in continuous-rotation 3D electron diffraction data. Nat Chem. 2023;15(6):848-855.

[2] Inui H, Fujii A, Tanaka K, Sakamoto H, Ishizuka K. New electron diffraction method to identify the chirality of enantiomorphous crystals. Acta Crystallogr B. 2003;59(Pt 6):802-810.

マテリアル先端リサーチインフラ事業(ARIM)における SEM のデータ構造化の取り組みについて

遠堂 敬史^A, 松波 成行^B

北海道大学^A, 物質・材料研究機構^B

Efforts of SEM Data Structuring in the ARIM Project

T. Endo^A and S. Matsunami^B

^AHokkaido Univ., ^BNational Institute for Materials Science.

我が国では、令和3年4月に内閣府によって決定された「マテリアル革新力強化戦略」の下、「マテリアルDXプラットフォーム」の構築が進められている。その中で、文部科学省「マテリアル先端リサーチインフラ事業(以下、ARIM:エイリム)」では、全国的な最先端共用設備体制と高度な技術支援提供体制に加え、リモート化・自動化・ハイスループット化された先端設備を導入し、設備共用支援を継続する。加えて、設備共用に伴って創出されるマテリアルデータは、第三者が利活用しやすく、かつ機械可読性の高い構造化された形で、収集・蓄積およびデータ共有を推進している。

ARIM 事業における走査型電子顕微鏡 (SEM) データの構造化は、撮影ファイルおよびそれに対応する撮影条件ファイルを1つのセットとし物質・材料研究機構が整備・運用するデータ構造化システム (RDE) に登録することを前提とする。その後、登録されたデータファイルは、Python を用いて設計されたデータ処理スクリプトに従い、自動的にデータの変換や抽出等の処理が行われ、データの構造化が達成される。この過程において、測定条件などのメタデータは、事前に定義されたメタデータのスキーマに基づき抽出される。最終的に、装置から取得可能な測定メタデータは、json 形式で、装置から直接取得することが難しい試料の前後処理情報は、csv 形式で整理され、データの一貫した構造化が実現される。

このような構造化データは、全ての共用装置において統一的に運用されることが理想であるが、装置のメーカーや機種などの仕様の違いにより、完全な一致を実現することは困難である。こうした課題に対応するため、ARIM では国内 14 機関の SEM 担当者が連携した SEM 分科会で、測定メタデータの選定 (最大公約数化) および運用指針の作成を通じて、SEM におけるデータの均質化と品質向上を目指している。本発表では、これらの取り組みとその指針について詳細に紹介する。

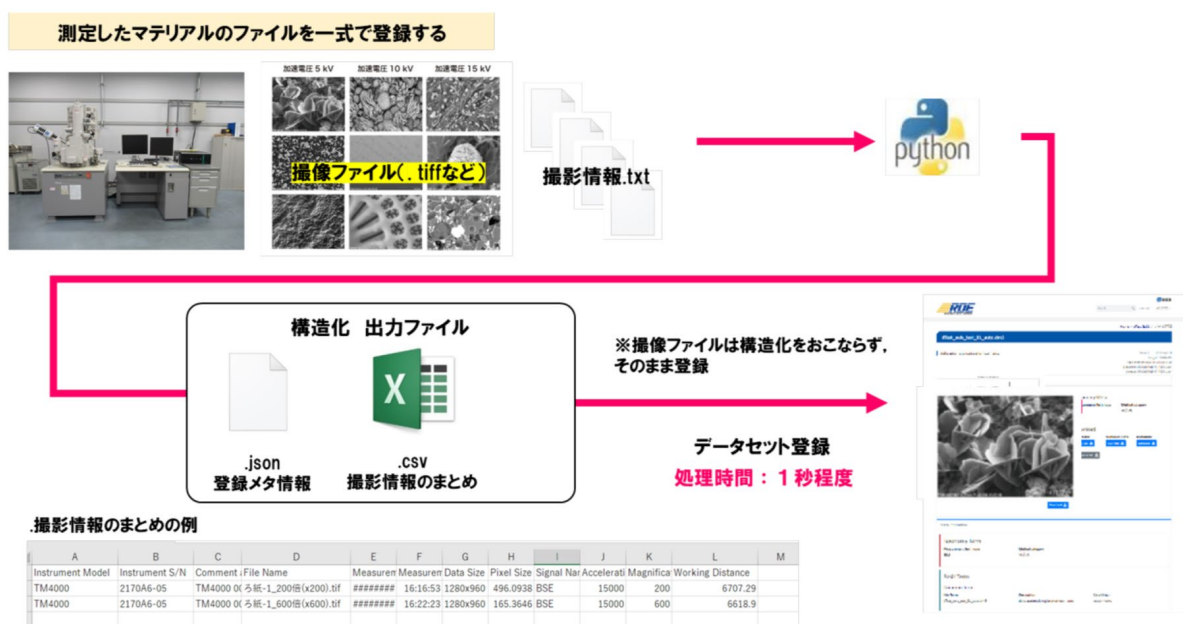


図 ARIM データ構造化システム (RDE) を利用した SEM データの構造化

たたら製鉄試料を用いた Network tele-microscopy の教育利用
 山本 航^A, 新橋 創太^A, 永瀬 文嗣^A, 関 一郎^B, 西 竜治^C, 市川 聡^D
 兵庫県立大学^A, 津山工業高等専門学校^B, 福井工業大学^C, 大阪大学^D

Educational Applications of Network tele-microscopy Using Tataru
 Steelmaking Specimens

K. Yamamoto^A, S. Shimbasi^A, T. Nagase^A, I. Seki^B, R. Nishi^C and S. Ichikawa^D
^A University of Hyogo, ^B National Institute of Technology, Tsuyama College, ^C Fukui University
 of Technology, ^D Osaka University

Network tele-microscopy は、顕微鏡像を、クラウドを介したオンライン会議システムやクラウドを使用しないテレビ会議システムを通じて、遠隔地からリアルタイムで同時に観察可能にする顕微鏡法である。Network tele-microscopy の主な利用方法として、次の4つが考えられる。(1) 様々な分野の専門家による顕微鏡観察像の同時共有と、その場での検討による最先端研究の効率化。(2) 高度専門機器の共有化による地域間格差の解消と、顕微鏡および人材リソースの集約化。(3) 文化財調査への応用。専門家だけでなく、文化財の所有者や関係者も参加するオープン型調査。(4) 教育への応用展開。電子顕微鏡を対象とした場合、(1)・(2) はハイエンドユーザーから一般ユーザーまでを対象とし、特に (2) では電子顕微鏡の維持コストや運用管理を担う専門人材の確保が困難な地方自治体レベルのユーザーが想定される。(3)・(4) は、これまで電子顕微鏡像に触れる機会がなかった潜在的ユーザーが対象となる。本研究では、特に (4) 教育への応用展開に焦点を当て、兵庫県を中心に実施した事例を報告する。

Network tele-microscopy を利用した電子顕微鏡像の共有は、これまで電子顕微鏡に触れる機会がなかった小・中・高校生に、リアルな電子顕微鏡の世界を体験させることが可能とし、将来的には日本の基礎研究や産業の発展を担う電子顕微鏡に興味を持つ若手研究者の育成に貢献することが期待される。我々は、たたら製鉄法で得られる玉鋼をサンプルに用い、小・中・高校生および高専生を対象とし、Network tele-microscopy を活用した教育利用を実施してきた。玉鋼をサンプルに選定した理由は、日本刀の材料として広く認知されており、子どもたちの興味を引きやすいと考えたためである。たたら試料は、津山高専で作製されたものを使用し、電子顕微鏡観察には兵庫県立大学姫路工学キャンパスの JEOL JEM-8530FPlus を利用した。Network tele-microscopy は、大阪大学超高压電子顕微鏡センターを中心に開発されたクラウド IP 併用方式を採用した。図1にたたら試料の外観図と電子顕微鏡組織の一例を示す。以下に具体的な活用事例を示す。

教育利用事例： 2024年3月11日 育英高校（兵庫県立大学・高校見学）
 2024年7月26日 青少年のための科学の祭典 豊岡会場
 2024年7月27日-28日 青少年のための科学の祭典 豊岡会場
 2024年8月2日 明石高校（兵庫県立大学・高校見学）
 2024年8月6日 神戸高専（兵庫県立大学・高専見学）
 2024年8月11日-12日 兵庫県立大学 姫路工学キャンパス オープンキャンパス
 2024年8月17日-18日 青少年のための科学の祭典 姫路会場

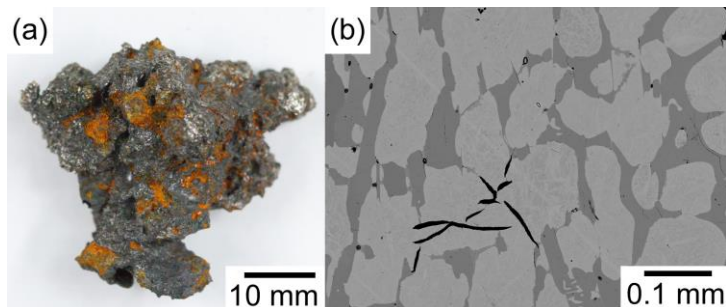


図1 津山高専で作製されたたたら試料の外観図(a)と FE-EPMA 反射電子顕微鏡像(b)の一例

Defocus CBED 法と CBIM 法による pn 接合界面の観察

齋藤桃子^{A,B}、森川大輔^B、佐々木宏和^C、津田健治^B^A 東北大工, ^B 東北大多元研, ^C 古河電気(株)

Observation of p-n junction using

Defocus Convergent-beam Electron Diffraction and Convergent beam Imaging

M. Saito^{1,2}, D. Morikawa², H. Sasaki³ and K. Tsuda²¹Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ., ²IMRAM, Tohoku Univ., ³Furukawa Electric Co., Ltd.

半導体の pn 接合界面はその整流効果から産業上有用であるが、pn 接合界面を直接観察する手法は限られている。これまでに電子線ホログラフィー [1]や微分位相コントラスト(DPC)法 [2]による報告があるが、どちらも異種接合などの歪みを含む解析には困難がある。一方、収束電子回折(CBED)法では歪みを含めた解析が可能であり、また局所領域の電子密度分布解析も実現し得る点の特徴である。

テストケースとして、歪みのほぼない GaAs の pn 接合界面の検出を試みた。pn 接合界面におけるごくわずかな CBED 図形の変化を高次ラウエ帯(HOLZ)反射線で検出したものの、詳細な解析は困難であった。続いて Defocus CBED 法と Convergent Beam Imaging (CBIM)法 [3]により pn 接合界面を観察した。Defocus CBED 法とは、試料の広い領域に収束電子線を照射して回折図形を観察することにより、位置情報と角度情報を同時に得る方法である。収束電子プローブのオーバーフォーカスとアンダーフォーカスの切り替えにより実空間情報は反転する。図 1 に Defocus CBED 法を用いて pn 接合界面を観察した際の透過ディスクを示す。フォーカスを変えても逆空間情報は反転しないため、矢印で示した pn 接合界面由来のコントラストが逆空間情報であることが分かる。一方、試料に収束電子線を照射して、像面で観察する方法が CBIM 法である。図 2 にオーバーフォーカスとアンダーフォーカスで撮影した CBIM 像を示す。ここでは逆空間情報由来の回折線の強度が反転していることがわかる。当日はそれぞれの手法で観察した結果の詳細について報告する。

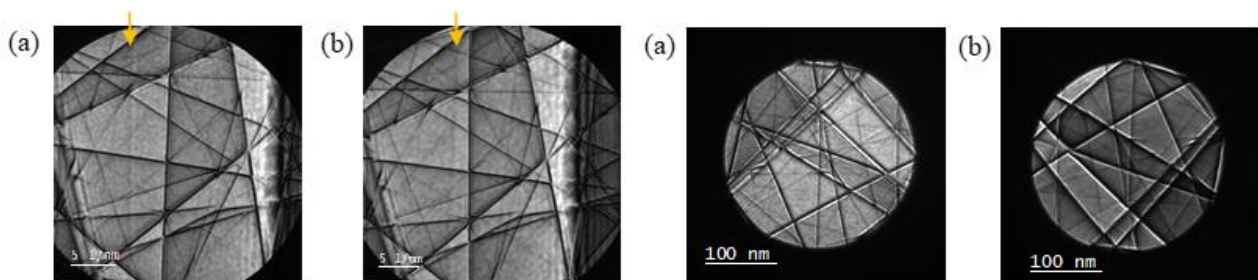


図 1 Defocus CBED 法による pn 接合界面の観察. 図 2 CBIM 法による pn 接合界面の観察.

(a) オーバーフォーカス. (b)アンダーフォーカス. (a) オーバーフォーカス. (b)アンダーフォーカス.

[1] H. Sasaki *et al.*, *Microscopy*, **63**, 235 (2014).[2] N. Shibata *et al.*, *Sci. Rep.*, **5**, 10040 (2015).[3] Jean-Paul Morniroli *et al.*, *Microsc. Microanal. Microstruct.* **8**, 187 (1997).

永久磁石レンズを用いた光電子顕微鏡

和島達希^A, 米澤 彬^B

武藤正雄^C

PEEM consists of permanent magnet lenses

T. Wajima^A, A. Yonezawa^B and M. Muto^C

^AHybridge Co.Ltd. ^BYonezawa-giken. ^CHokkai Photoelectron Co.Ltd.

理科教育から産業用まで幅広く用いられる実体顕微鏡は、最高倍率100倍程度が限度で、それ以上の倍率は電子顕微鏡を必要とするが、価格が500万円を超え、操作も複雑で維持費もかかるため、導入を諦めている層が存在している。しかしながら近年のナノテクノロジーの進歩は目覚ましく、製造業での加工精度や研磨仕上げの確認や、出荷前の異物検査、原材料の受入検査などでは光学顕微鏡の100倍程度の最大倍率では困難で、もう少し細かいところが見たいというニーズが急拡大し、教育分野でも小型大容量電子デバイスや細胞の各器官を直視して科学する心を育てる必要性が叫ばれている。

我々は上記の市場のニーズに応えるために、最高倍率5000倍、価格300万円、維持費原則不要の開発課題を設定した。

課題の解決のために、

1. 電子顕微鏡の電子銃を紫外光源に置き換える。

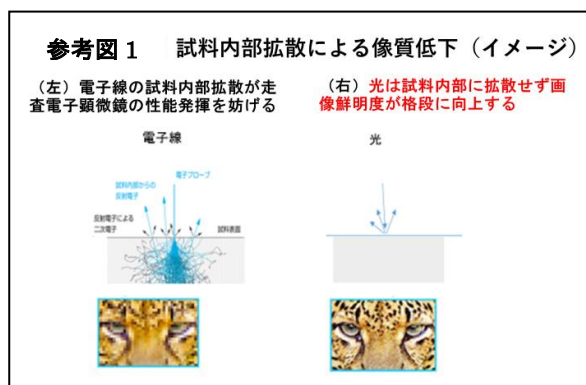
これはアインシュタインの光電効果によるもので、光電子顕微鏡と呼称されているが、光（紫外光）は電子線と異なり試料内部への拡散を生じないため原理的にはSEM以上の分解能を達成することができる。（参考図1）

2. レンズに永久磁石を採用

光電子顕微鏡は集束レンズ系が不要で、結像レンズ系は永久磁石を採用し、倍率は光学顕微鏡同様、レンズの上下移動にて行うことにより、大幅なコストダウンを実現する。

2項については透過型電子顕微鏡で結像系の一部に永久磁石レンズを採用した例はあるが、表面観察用の電子顕微鏡で複数の永久磁石レンズを機械的に駆動させることにより、倍率を適切に調整可能な像を得る先行技術は存在しない。

我々はシミュレーションによりコンパクトな装置サイズの制約のもと歪収差等の軸外収差を極力小さくした電子顕微鏡像を得る目途をつけ特許を出願した。（特願 2024-147420）



3DAP ファントムデータの非剛体レジストレーションの試み

赤瀬 善太郎^{AB}, 大竹 義人^C, 岩満 一功^{BA}, 富谷 茂隆^{AB}
奈良先端大 DSC^A, 奈良先端大 物質^B, 奈良先端大 情報^C

Attempt at Non-Rigid Registration in 3DAP Phantom Data

Z. Akase^{AB}, Y. Otake^C, K. Iwamitsu^{BA} and S. Tomita^{AB}

^ADSC, NAIST, ^BDiv. Materials Science, NAIST, ^CDiv. Information Science NAIST

先端半導体デバイスは、更なる省エネ化と高速化の実現に向け構造の微細化と三次元的複雑化が進んでいる。このような状況下で、性能に影響する微量不純物の三次元分布を正確に把握する必要性が高まっており、当研究グループでは三次元アトムプローブ(3DAP)と電子線トモグラフィーのマルチモーダル解析による高検出感度かつ高位置分解能での微量不純物元素の測定の実現を目指している。三次元アトムプローブデータとは原子の座標のリストからなるポイントクラウド型データであり、電子線トモグラフィデータは空間が領域分割されたデータである。また、両者は生データの状態では座標軸やスケールがあっていない状態で、さらに前者には像に歪が存在している。このような異種データのマッチングは、医用画像解析の分野では、「非剛体レジストレーション」として、臓器等の柔軟物体の画像を正確に対応付ける技術が確立されている。本研究では 3DAP 像と TEM 像のファントムデータ（模擬データ）を用いて、B スプライン変形場に基づく非剛体レジストレーションを試行した。二次元の極簡単なモデルにおいては、14,902 回の反復計算（所要時間 3 分）で結果は十分に収束し、想定通りの元素分布が得られた。

本研究は奈良先端科学技術大学院大学データ駆動型サイエンス創造センター新規課題発掘活動助成金の助成を受けたものである。

ベイズ超解像のノイズ除去および解像度向上における入力画像枚数依存性

金光 祐樹^A, 齋藤 晃^B
名古屋大院工^A, 名古屋大未来研^B

Dependence of the number of input images on noise reduction and resolution improvement in Bayesian super-resolution

Y. Kanemitsu^A and K. Saitoh^B

^AGraduate School of Eng., Nagoya Univ., ^BIMaSS, Nagoya Univ.

電子顕微鏡観察において、電子線による試料の損傷は深刻な問題であり、克服すべき課題の1つである。このため照射電子線量を低減して撮像した像から真の情報を抽出するさまざまな手法が提案されていることは極めて重要である。本研究ではその手法の1つであるベイズ超解像⁽¹⁾のノイズ低減、空間分解能向上および入力画像の枚数依存性の評価を目的として、ベイズ超解像を解像度評価用画像および電子顕微鏡像へ適用した結果について報告する。

Fig 1(a)は解像度評価用像である。この画像は強度が動径方向に正弦波状に変化し、その正弦波の空間周波数が方位角に比例して $0[1/\text{pix}]$ から $0.29[1/\text{pix}]$ まで増大する。この FFT 図形に現れるスパイラル状の筋の終端までの長さから解像度を評価した。ノイズの評価は、ピーク信号対ノイズ比 (PSNR) をもちいた。Fig 1(b)は Fig 1(a)を 50×50 ピクセルに低解像度化し、ショットノイズと読み取りノイズを加えた画像である。ショットノイズは各ピクセル値を分散としたポアソンノイズとした。また、読み取りノイズとして画像の最大値 1 に対し標準偏差 0.3 のガウスノイズを加えた。

Fig 1(c),(d)はそれぞれ Fig 1(b)を 4 枚, 16 枚もちいて合計信号量は同一として 2 倍のベイズ超解像を行った結果である。Fig 1(e),(f)はそれぞれ Fig 1(c),(d)の FFT 図形である。Fig 1(c),(d)どちらも積算画像と比較した結果、積算を超える PSNR および解像度は得られなかった。しかし入力画像枚数依存性に関しては、枚数が多いほど解像度が向上するという結果が得られた。

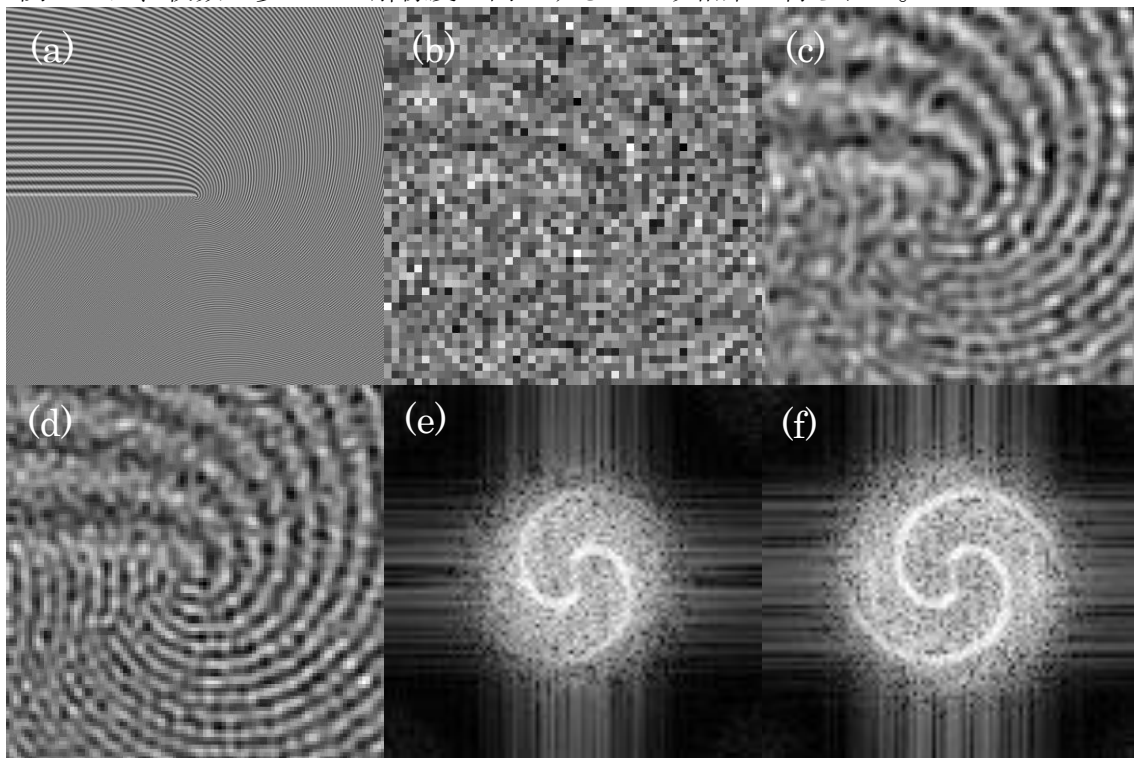


Fig 1.(a)解像度評価用画像。(b)ベイズ超解像にもちいる低解像度画像 (50×50 pixels)。(c)低解像度画像を 4 枚もちいたベイズ超解像画像。(d)低解像度画像を 16 枚もちいたベイズ超解像画像。(e)(c)の FFT 図形。(f)(d)の FFT 図形。

(1) Michael E. Tipping and Christopher M. Bishop. Bayesian Image Super-Resolution. Advances in Neural Information Processing Systems 15 (2003)

単粒子構造解析における解析ソフトウェアの比較

末宗 周憲^A

サーモフィッシャーサイエンティフィック^A

Comparison of Data Processing Software in Single Particle Analysis

H. Suemune^A

^A*Thermo Fisher Scientific/NanoPort Japan*

近年、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子構造解析は、構造生物学や生化学の分野で非常に革新的なツールとして注目されている。この単粒子構造解析では、取得されるデータセットが非常に大容量であるため、効率的なデータ取得を行うためには、処理結果の迅速なフィードバックが重要である。現在、主に利用されている解析ソフトウェアとしては、RELION と cryoSPARC があり、それぞれ異なるアルゴリズムを用いて高精度な結果を提供している。

今回、EMPIAR に公開されているいくつかの単粒子構造解析データを用い、これら 2 つのソフトウェアによる解析結果の違いなどについて検討した。特に、データ品質の迅速な確認を目的に、少ないデータセットから粒子ピッキングや 2D Classification を行い、それらの結果を詳細に検討した。本発表では、特徴的な 2D Class を得るための粒子数や、各ソフトウェアにおける解析パラメータの調整が結果に与える影響についても報告する。

低コストディンプルグラインダーの提案

真柄 英之, 森川 大輔, 津田 健治
東北大多元研

Proposal for a Low-Cost Dimple Grinder

H. Magara, D. Morikawa, and K. Tsuda

Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku Univ.

[緒言]

ハード材料の TEM 試料作製方法として、現在 FIB 法がよく用いられている。一方、従来の機械研磨と Ar イオンミリングによる TEM 試料作製法は、FIB 法に比べ広い観察視野が得られ、平均的な試料構造を把握できるメリットがある。イオンミリング法では、試料薄片化の時間短縮のため、イオンミリング前にディンプルグラインダー（以下、ディンプラー）を用いて、あらかじめ試料に「くぼみ」を作製する方法がよく用いられる。今回、既製品のディンプラーに比べて格段に低コスト（約 3 万円）で同様なくぼみが作製できる方法として、マイクロステージ付き卓上ボール盤を用いる方法を提案する。既存品とボール盤でのくぼみ作製後、イオンミリングにて TEM 試料を作製し、試料構造の比較を行った結果について報告する。

[実験方法]

2 つの Si 試験片 (2 mm×2 mm) をガラスプレート上にワックスで固定し、試料片面は購入時の鏡面仕上げのまま、もう片面を研磨紙による荒仕上面 (仕上げ粒子 #2400) とした。この荒仕上面に対し既製品のディンプラー (Model 656n, Gatan) による従来法と、本手法で使用するマイクロステージ付き卓上ボール盤 (28128S, PROXXON) (図 1) でそれぞれくぼみを作製した。くぼみの作製条件を表 1 に示す。本手法の各工程ではボール盤にビットとなるつまようじまたはめん棒を装着し、研磨液を塗布した試料上にビットを密着させる。次にビットを回転させながらくぼみ底面を平らにするため試料ステージを ±100 μm スキャンさせくぼみを作製した。

表 1 くぼみの作製条件

工程	従来法	本手法
荒仕上	りん青銅ホイール +ダイヤ1 μm	つまようじ +ダイヤ6-20 μm
バフ仕上	フェルト +ダイヤ1 μm	めん棒 +ダイヤ1 μm
最終仕上	フェルト +アルミナ0.05 μm	めん棒 +アルミナ0.05 μm

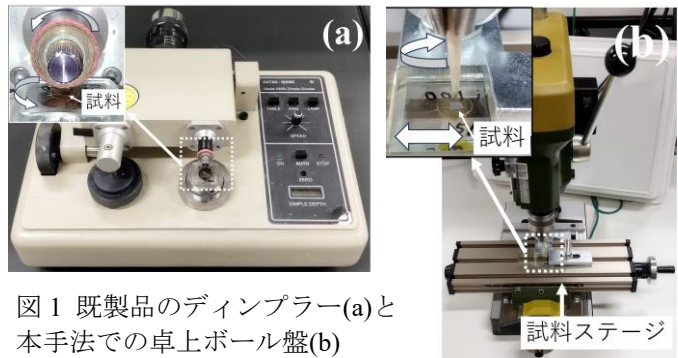


図 1 既製品のディンプラー(a)と本手法での卓上ボール盤(b)

[結果・考察]

図 2 に従来法と本手法で作製したくぼみの外観を示す。くぼみ表面はいずれもなめらかで鏡面に仕上がっている。くぼみ底面の形状は、従来法では円形、本手法ではステージスキャンのため楕円形になる特徴がある。くぼみ底面の研磨キズについては、本手法の方が従来法より少なくすることができた。また、従来法と本手法を用いて作製した試料の TEM 観察による比較については当日報告する。

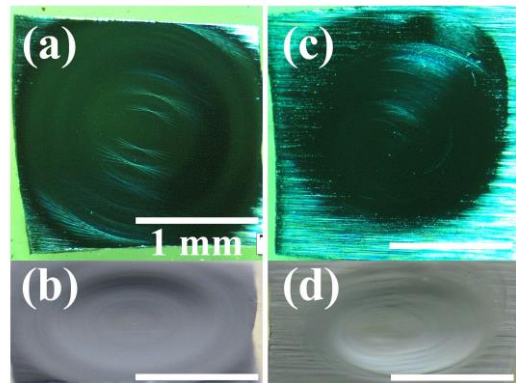


図 2 従来法によるくぼみ ((a)平面、(b)鳥観図) と本手法によるくぼみ ((c)平面、(d)鳥観図)。

Blade-TEM で撮影した大容量電顕画像データの画像処理

上地龍治^{1,3}、須賀三雄²、宮崎隆明^{1,3}、渡我部昭哉¹、窪田芳之^{1,3,4}¹理化学研究所 CBS, ²日本電子株式会社, ³生理学研究所, ⁴総合科学研究大学院大学

Image processing of a large volume EM data acquired using Blade-TEM

Nilton L Kamiji^{1,3}, Mitsuo Suga², Takaaki Miyazaki^{1,3}, Akiya Watakabe¹, Yoshiyuki Kubota^{1,3,4}¹Riken CBS, Wako, Japan, ²JEOL Ltd, Tokyo, Japan, ³NIPS, ⁴SOKENDAI, Okazaki, Japan

近年、電子顕微鏡の連続画像から神経構造を3次元再構築して画像解析する手法が注目を浴びている[1-3]。大容量電顕画像データセット (vEM : large volume EM data set) の画像処理技術の開発を進めているが[4, 5]、その進展を報告する。大脳皮質の基本構造のカラム構造を解析するため、我々は、1立方mm程度の撮影を短期間(数ヶ月程度)で可能にする新しいハイスループット電子顕微鏡画像撮影システム(Blade-TEM)を導入し、マーマセット大脳皮質前頭前野の切片(解像度2.2 nm/pixel、34 MB/tile、99 x 144 tiles = 14,256 tiles/section、478 GB/section、連続切片1004枚、1.1 x 1.6 x 0.05 mm サイズ)の撮影を行い、vEM (514 TB)を獲得した。数TB程度のvEMで利用していたNIH-imageのプラグインソフトTrakEM2では画像処理ができなかった。vEM画像処理Python library「FEABAS (Finite-Element Assisted Brain Assembly System)」を用い、クラスタCPUコンピューターでタイル画像をスティッチングしてモンタージュ画像を作成し、その連続切片のアラインメントを行った。TrakEM2と比べ、タイル画像間のズレ、画像の歪み、連続画像間のジッターなどを大幅に軽減することができ、良好なvEMを獲得した。

[1] Kubota Y, Sohn J, Kawaguchi Y (2018)

Large Volume Electron Microscopy and Neural Microcircuit Analysis.

Front. Neural Circuits, 2018, fncir.2018.00098

[2] 窪田 芳之 (2022)

ATUM-SEM法を用いた大脳皮質局所神経回路の超微細構造三次元解析の標準化と迅速化

生体の科学 Vol.73 No.5 2022年10月号(増大号)増大特集 革新脳と関連プロジェクトから見えてきた新しい脳科学, p420-421

[3] 窪田 芳之 (2022)

脳組織の大容量電顕画像データセット撮影と自動セグメンテーション

顕微鏡 Vol.57 No.1, p31-34

[4] Kubota Y, Sohn J, Hatada S, Schurr M, Straehle J, Gour A, Neujahr R, Miki T, Mikula S, Kawaguchi Y (2018)

A carbon nanotube tape for serial-section electron microscopy of brain ultrastructure.

Nature Communications, 9: 437

[5] Fang I, Monroe F, Novak SW, Kirk L, Schiavon CR, Yu SB, Zhang T, Wu M, Kastner K, Kubota Y, Zhang Z, Pekkurnaz G, Mendenhall J, Harris K, Howard J, Manor U (2021)

Deep Learning-Based Point-Scanning Super-Resolution Imaging.

Nature Methods, 18, 406-416

MD シミュレーションが導く KcsA におけるイオン流制御の構造基盤

矢野 甲拓^A, 高崎 寛子^B, 清水 啓史^C, 安永 卓生^A九州工業大学大学院情報工学府^A, 大阪大学蛋白質研究所^B, 福井大学^C

Revealing KcsA dynamics by single-particle analysis and molecular dynamics

Kotaku Yano^A, Hiroko Takazaki^B, Hirofumi Shimizu^C, Takuo Yasunaga^A^AGraduate School of Computer Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology., ^BIPR, Osaka University., ^CUniversity of Fukui.

生体高分子であるタンパク質の生体内における構造や機能を解析するための方法の一つとして、クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析法が挙げられる。この方法では急速凍結された複数の試料の投影像から中央断面定理に基づき立体構造を再構成するため、試料とその他の分子との相互作用と、作用の影響下にある立体構造を保存した上での解像が可能である。一方で、多くのタンパク質は機能する際に自身の構造を変化させるが、その一連の動きを捉え、解像する手法はいまだに数少ない。

KcsA は *streptomyces lividans* が持つ四量体の K⁺チャンネルであり、アミノ酸残基数は 160 残基と、K⁺チャンネルとしては最小のものである。その機能もまた K⁺チャンネルとして最小限の機能を備えており、KcsA の機能を解明することが、その他の K⁺チャンネルの機能の解明の糸口となると考えられている。これまでも多くの KcsA 研究がなされており、pH 依存性^[1], K⁺濃度勾配依存性^[2], TMD (膜貫通ドメイン) における選択性フィルタの存在^{[1][3]}が報告されている。

KcsA を構造解析するにあたり、細胞内領域の柔軟性由来の構造の不均一性が KcsA 全長構造の一意決定の障害となってきた。そのため、KcsA の細胞内領域の構造に関する研究は数少ない、一方で、KcsA の細胞内領域の構造変化に起因するイオン流の機械的制御の存在が DXT (Diffracted X-ray Tracking)^[4]を用いた解析結果から指摘されている^[5]。

クライオ電子顕微鏡の性能向上や解析手法の発達により、KcsA に対し、全長構造を決定することが可能となった。今回、酸性条件下 (pH 4) と中性条件下 (pH 7) で得られた複数の KcsA の全長構造に対し分子動力学法 (MD: Molecular Dynamics) を用いることで構造の環境応答による変化とその動的過程の解明を目指した。本会ではその経過報告を行う。

系は分子描写ソフトウェア VMD^[6]と CHARMM-GUI^[7]を用いて作成された。K⁺濃度勾配、脂質二重膜の種類、アミノ残基のプロトン化など分子とその周辺の環境を変更した上で、MD 計算を行った。計算には分子動力学計算ソフトウェア NAMD^[8]を用いることで、KcsA の分子軌道やエネルギーを出力した。得られた各分子の軌道情報を用いて、初期構造との RMSD (Root Mean Square Deviation: 平均二乗偏差) を計算し、構造変化の有無の指標とした。RMSD をカラーマップにより K⁺濃度の影響による細胞内領域の構造の揺らぎの差異を確認した。今後は KcsA の閉口時、開口時の構造変化に注目し、細胞内領域におけるイオン流抑止機能のメカニズムの解明を試みる。

Reference:

- [1] Sumino, A. *et al* (2014) *J. Phys. Chem. Lett.* 5, 578-584.
- [2] E. Zakharian and R.N. Reusch (2004) *BBRC* 316, 429-436.
- [3] Florian T Heer, *et al* (2017) *Elife* Oct 10;6:e25844.
- [4] Sekiguchi H. *et al* (2018) *Scientific reports*, 8, Article number: 17090.
- [5] Hirofumi Shimizu (2020) *BBA – General Subjects*, volume 1864, Issue 2.
- [6] Humphrey, et al (1996) *JMG* 14.
- [7] Jo, et al (2008) *JCC* 2008 Aug;29(11):1859-65.
- [8] Kalé, et al (1999) *J Comp Phys* 151 (1): 283-312

AIによるアレイトモグラフィ法の自動電顕画像処理の効率化

本多 珠巳¹, 須賀 三雄², 窪田 芳之^{1,3,4}

理化学研究所 CBS¹, 日本電子株式会社², 生理学研究所³, 総合科学技術大学院大学⁴

AI assisted generation of training datasets can be efficiently used for the automated segmentation of subcellular organelle

T. Honda¹, M. Suga² and Y. Kubota^{1,3,4}

¹RIKEN CBS, ²JEOL Ltd., ³NIPS, ⁴SOKENDAI

アレイトモグラフィ法は、細胞やオルガネラなどの微細な構造を高解像度で解析処理するために大変有用な手法である。連続電顕画像処理の過程で、目的のオルガネラなどを抽出（アノテーション）するセグメンテーション処理を行うが、多大な時間・知識・技術・根気・労力が要求される。この効率化のために AI 技術が徐々に利用されつつある。しかし、AI 技術を利用するには教師データが必要であり、その準備に多大な時間を要していた。

そこで、本研究では、AI に用いる教師データを、学習済みの自動セグメンテーションソフトである「empanada」を利用して作成した。まず、Empanada を用いて脳組織のミトコンドリアを自動セグメンテーションした。セグメンテーションが不完全と思われる部位を手作業で校正してクリーンな教師データを作成した。この教師データを用いて AI の学習を行い、学習したモデルを用いてセグメンテーションを行った。その結果を、F1 スコアを用いて定量評価した。各ソフト間のデータ変換には、python で作成したスクリプトを用いた。これにより、教師画像データ作成の労力を大幅に低減し、電顕画像データの 3 次元再構築画像処理を迅速かつ高精度に行うことが可能になった。

[1] Conrad and Narayan, Cell systems 14 (2023) 58.

色収差考慮による低加速条件での OBF STEM 法の改良山本 七海^A, 埜上 満^A, 関 岳人^{A,B}, 幾原 雄一^{A,C}, 柴田 直哉^{A,C}東京大学大学院工学系研究科^A, JST さきがけ^B, ファインセラミックスナノ構造研究所^C**Improvement of OBF STEM under low-acceleration conditions considering chromatic aberration**N. Yamamoto^A, M. Nogami^A, T. Seki^{A,B}, Y. Ikuhara^{A,C}, and N. Shibata^{A,C}^A*The University of Tokyo.*, ^B*JST PRESTO.*, ^C*Japan Fine Ceramics Center.*

走査型透過電子顕微鏡法 (Scanning Transmission Electron Microscopy: STEM) は、材料の局所的な原子構造を直接観察する方法として広く用いられている。しかし、STEM は試料に高エネルギーの電子線を照射するため、電子線に対して耐性の低い試料は原子構造がしばしば破壊される。このような電子線敏感材料の観察には、電子線の照射量を抑えた低ドーズ観察が必要となるが、その場合像の信号ノイズ比 (SN 比) が低下してしまうという問題がある。近年、低ドーズ条件でも高い SN 比を実現できる観察手法として、最適明視野法 (Optimum Bright field: OBF 法) が開発された[1,2]。OBF 法は、取得した複数の実験データの SN 比に応じて重みづけを行うことで、理論上最大の SN 比で像を再構成できる。

OBF 法は 2 次元材料の観察にも有用であると考えられるが、ノックオン損傷を防ぐために低加速条件で観察する必要があり、色収差の影響を無視できなくなる可能性がある。本研究では、まず色収差が OBF 像に与える影響を検討し、色収差を考慮した OBF 像の再構成方法を開発した。

低加速電圧で色収差が存在する条件下において、SN 比伝達関数の計算と像シミュレーションを行った。その結果、色収差の影響で OBF 像の SN 比も低下するが、色収差を考慮した再構成を行うことで OBF 像の SN 比を改善できることがわかった。本手法の詳細については、発表で議論する。

[1] K.Ooe et al., *Ultramicroscopy* **220**, 113133 (2021), [2] K.Ooe et al., *Science Advances* **9**, eadf6865 (2023)

鉄系燃料デブリのマイクロサンプリングと隔膜式環境セルの作製方法

吉田 健太^A, 小無 健司^A, 芝田 悟朗^B, 矢板 毅^{B,C}, 谷田 肇^B, 岡本 芳浩^B
 東北大^A, JAEA^B, OST^C

**Micro-sampling and a membrane-type environmental cell package of Fe-U-Zr-O
 fuel debris**

K. Yoshida^A, K. Konashi^A, G. Shibata^B, T. Yaita^{B,C}, H. Tanida^B and Y. Okamoto^B
^ATohokuUniv., ^BJAEA, ^COST

燃料デブリの生成時の温度や雰囲気の推定のために必要な構造・組成情報を取得することを目的として、U:Zr:Fe = 3:1:1 Fe-U-Zr-O 燃料デブリ（酸化雰囲気焼成）のマイクロサンプリング走査透過電子顕微鏡法 (STEM) による微細組織観察と EDS 分析を実施し、隔膜式環境セルを作製し、走査透過 X 線顕微鏡法 (STXM) を試みた。

Ga-FIB-SEM を用いて、20 μm サイズの薄膜形状を Mo メッシュにサンプリングした後、Ar イオンビームを用いて観察視野の膜厚を 50nm 以下に調整した。STEM-EDS によって U-M, Zr-K, Fe-K, O-K 吸収ピークを確認、最終的な膜厚は AC-TEM の干渉像で確認した。

作製した極薄薄膜は 2 枚の SiN 膜 (50nm) 付き Si グリッド (ウインドウ幅 50 μm × 50 μm) で挟み、着脱カートリッジ式の試料台に固定した密封核燃料試料として Spring-8 に輸送した。

その結果、STXM の課題であった多重散乱過程に起因する吸収スペクトルの飽和を克服して、数十 nm の空間分解能 Fe の L_{3,2} 殻、U の N_{5,4} 殻 X 線吸収スペクトルをマッピングすることができるようになった。軟 X 線吸収スペクトルで、ウラン N 殻吸収端が初めて捕えられ U,ZrO₂/FeO 界面にウランと鉄が混じった領域があることが明らかになった。

本研究は、JAEA 英知を結集した原子力科学技術・人材育成事業 JPJA24H24020125 の助成を受けた。

SUS316L 鋼 LPBF 材の溶融池境界近傍における微細組織と溶質偏析

阪大電顕セ^A、阪大工^B、阪大 AM セ^C、富山大アルミセ^D

佐藤 和久^A、高木 空^A、市川 聡^A、石本 卓也^{B, C, D}、中野 貴由^{B, C}

Microstructure and Solute Segregation around the Melt-Pool Boundary of 316L Austenitic Stainless Steel Produced by Laser Powder Bed Fusion

K. Sato^A, S. Takagi^A, S. Ichikawa^A, T. Ishimoto^{B, C, D}, and T. Nakano^{B, C}

^A Research Center for UHVEM, Osaka Univ., ^B Faculty of Eng., Osaka Univ., ^C AM Center, Osaka Univ., ^D Aluminium Research Center, Univ. Toyama

3D プリント(3DP)は、従来にない巨大温度勾配を利用した溶融・凝固プロセスであり、3DP 中の結晶成長には未解明な点が多い。近年、レーザー粉末床溶融結合法(LPBF)において、スキャンストラジェーの制御により、結晶配向制御(Crystallographic Lamellar Microstructure: CLM)が実現されている[1,2]。講演者らは、この CLM を有する SUS316L 鋼 LPBF 材において、溶融池内部のセル状組織の境界部に Cr、Mo が濃化(~1 wt%)していること、溶融池境界底部において Cr、Mo 濃度が低下(~0.5 wt%)していることを明らかにした[3]。本研究では、これら微量の凝固偏析が構成元素の化学状態に及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。

LPBF により造形した SUS316L 鋼[1, 2]の YZ 面(レーザ走査方向を X、造形方向を Z とする)から、FIB 加工により平面 TEM 観察用試料を作製した。微細組織観察には 200 kV TEM (JEM-ARM200F)を用いた。元素分析には EDS(JED-2300)を、状態分析には EELS(GIF Continuum K3)を用いた。

STEM-EDS 元素分析により、セル境界ならびに溶融池境界での Cr、Mo の偏析を確認後、STEM-EELS 測定を行った。セル内とセル境界、溶融池境界で測定したエネルギー損失スペクトルを比較した結果、Fe、Cr の L エッジには凝固偏析の有無による変化は見られなかった。この結果は、微量の凝固偏析は本合金の耐食性には影響を及ぼさないことを示している[4]。

【謝辞】本研究は科学研究費補助金学術変革領域研究(A)(21H05196)の支援を受けて実施した。

[1] S.-H. Sun, T. Ishimoto, K. Hagihara, Y. Tsutsumi, T. Hanawa, T. Nakano, *Scr. Mater.* **159** (2019) 89.

[2] T. Ishimoto, S. Wu, Y. Ito, S.-H. Sun, H. Amano, T. Nakano, *ISIJ International* **60** (2020) 1758.

[3] K. Sato, S. Takagi, S. Ichikawa, T. Ishimoto, T. Nakano, *Materials* **16** (2023) 218.

[4] K. Sato, S. Takagi, S. Ichikawa, T. Ishimoto, T. Nakano, *Mat. Lett.* **372** (2024) 136978.

超高压電子顕微鏡による 4H-SiC における観察可能試料厚さの定量評価細野 航太郎^A, 高木 空^B, 佐藤 和久^B阪大工院^A, 阪大電顕セ^B**Quantitative Evaluation of the Observable Thickness in 4H-SiC using High-Voltage Electron Microscopy**K. Hosono^A, S. Takagi^B, and K. Sato^B^A *Grad. School of Eng., Osaka Univ.*, ^B *Research Center for UHVEM, Osaka Univ.*

超高压電子顕微鏡(HVEM)は高い空間分解能と透過能を有することから、厚膜試料における微細組織解析に適している。HVEM による観察可能試料厚さは加速電圧、回折条件、露光時間などに依存するため、統一の見解は得られていない。走査透過電子顕微鏡法(STEM)では、収束ビームに起因して等厚干渉縞や等傾角干渉縞が現れず、さらに結像系レンズを用いないことから色収差の影響を受けないなど、厚膜観察において通常の透過電子顕微鏡法(TEM)と比較して多くの利点を有する[1-3]。本研究では、4H-SiC 中の転位に着目して、HVEM による観察可能試料厚さを定量評価することを目的とする。

4H-SiC ウェハにピッカース硬度計を用いて圧痕を形成し、熱処理により転位を増殖させた。続いて集束イオンビーム加工装置を用いてクラック近傍から楔形試料をサンプリングし、TEM 観察用試料を作製した。HVEM(JEOL JEM-1000EES、加速電圧 1 MV)を用いて 11 $\bar{2}$ 0 反射を励起し、2 波条件にて明視野(BF)TEM 及び STEM 像を観察した。転位線に直交した像強度プロファイルの半値幅を転位線幅とした。

楔形試料には多数の転位が観察された。観察可能試料厚さの評価を行ったところ、試料厚さ約 5.9 μm まで転位線が観察された。このとき、BF-STEM 像では転位線幅に明確な試料厚さ依存性は見られなかった。これは転位線の試料深さ方向への分布に起因すると考えられる。一方、BF-TEM 像では試料厚さ約 5 μm 以上においてほぼ同一の厚さにおいても転位線幅が大きく異なる場合があることが判明した。これは、色収差の影響によると考えられる。

[1] K. Sato et al. *Jpn. J. Appl. Phys.* **56** (2017) 100304.

[2] K. Sato et al. *Mater. Trans.* **60** (2019) 675.

[3] K. Sato and H. Yasuda, *ACS Omega* **3** (2018) 13524.

MoS₂ へ Li 挿入反応のその場 ADF-STEM 観察

仲山 啓, 小林 俊介
ファインセラミックスセンター

In Situ ADF-STEM Observation of MoS₂ Lithiation

K. Nakayama and S. Kobayashi
Japan Fine Ceramics Center

Li挿入反応は特にLiイオン電池において重要である。反応の動的過程を包括的に理解するため、付随して起こる原子・ナノスケールの局所構造変化に対する原子レベルのその場観察が必要である。そのような技術の開発は、従来、高分解能透過型電子顕微鏡法を中心に進められてきたが、原子位置の解釈の観点からは像コントラストがしばしば複雑になりすぎるという課題があった。本研究では、より直接的な像コントラストの解釈が可能と期待される環状暗視野（ADF）走査透過型電子顕微鏡法（STEM）を使用して、モデル電極材料である MoS₂ への Li 挿入反応に対してその場観察を実施した。

タングステン製の可動プローブを備えた特殊試料ホルダーを使用し、プローブに付着させた Li（大気暴露により Li₂CO₃ 等が生成）を MoS₂ に電子顕微鏡内で接触させた。低倍でのその場 ADF-STEM 観察および静的 EELS 解析により、所望の Li 挿入反応が起こることを確認した。次に、高倍でのその場 ADF-STEM 観察を行ったところ、サブナノメートル分解能でのコントラスト変化が観察された。生データの像質は非常に悪いものの、周波数フィルターおよび移動平均フィルターを施すことで視認性が向上し、段階的なドメイン構造の形成が明らかになった。

本研究は、JST さきがけ(JPMJPR23J9)、JSPS 科研費(JP23K13567, JP23H00241)、日本板硝子材料工学助成会、池谷科学技術振興財団(0341198-A)、ATLA (JPJ004596)の支援を受けて実施されました。

走査透過電子顕微鏡法を用いた全固体電池固固界面の原子分解能構造解析

小林 俊介, 加藤 文晴, 桑原 彰秀

ファインセラミックスセンター

Atomic-Scale Structural Analysis of the Solid-Solid Interface in All-Solid-State Batteries using Scanning Transmission Electron Microscopy

S. Kobayashi, T. Kato, A. Kuwabara

JFCC, Nagoya, Japan

全固体電池は次世代電池の有力な候補として研究開発が進められられている。全固体電池の実用化への課題の一つに固体電解質と電極材料との界面、すなわち固固界面を制御することが挙げられる。本研究では走査透過電子顕微鏡法を用いて充放電サイクル後の硫化物系固体電解質と LiNbO_3 をコートした層状系正極の界面構造の解析を実施した。

固体電解質と層状系正極が直に接する固固界面では表面に劣化層（アンチサイト欠陥）が形成されることを原子分解能観察より明らかにした。さらに電解質側では正極活物質のアンチサイト欠陥形成に伴う酸素放出が起源となる劣化を電子エネルギー損失分光法による電子状態解析により確認した。ここで重要なことはサイクル試験後に形成される欠陥層は不可逆的な反応物であり元に戻ることはないということである。一方、 LiNbO_3 コート層が十分に形成されている領域では正極の劣化が少なく酸素放出が抑制され、電解質と正極ともに劣化が少ないことも観察の結果明らかとなった。これらの固固界面における構造解析の結果から LiNbO_3 コート層は正極活物質と電解質の両方の劣化を抑制する重要な役割を担っていると結論付けることができる。

謝辞：本研究は JSPS 科研費（JP22H04914, JP23H00241, JP 24K21228）、一部は MEXT 事業（JPMXP1122683430）の助成を受けて行われたものです。また、トヨタ自動車の水野史教博士、渡邊秀明様にご協力を頂きました。

1F 事故 MCCI デブリのクラック先端部観察のための
 コントラスト変調処理法の検討
 宮田穂高、杜玉峰、小無健司、吉田健太
 東北大

Investigation of contrast modulation processing
 for crack tips of Molten Corium–Concrete Interaction fuel debris
 from the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant incident

H. Miyata, Y. Du, K. Konashi, K. Yoshida
 Tohoku Univ.

福島第一原発事故では、冷却能力の喪失により溶融した燃料棒等が、燃料集合体の構造部、圧力容器を貫通して格納容器下部に落下、構造部のコンクリートと高温で反応(Molten Corium–Concrete Interaction: MCCI)して MCCI デブリが形成されたと考えられている[1]。廃炉に向けて MCCI デブリを取り出し・保管・処分する上で、デブリ中のクラックの分布や特性は重要な情報であるが、MCCI デブリ中にはコンクリートに由来するガラス質が含まれており、電子顕微鏡によるクラック先端部の微細組織観察ではチャージアップ等のコントラスト変調が障害になると考えられる。本研究では、MCCI デブリ模擬試料に対して FIB-SEM によるシリアルセクションングを行って得られた画像データセットを用いて、クラック先端部を三次元観察する事を目標とした。障害となるチャージアップには、画像データセット取得後にコントラスト欠損領域を復元できるだけでなく、数百枚に渡る画像データに対して半自動的にコントラスト変調処理を適用可能な画像処理システムである多階層位置ズレ補正法[2]を開発し適用した。

図 1(a)に、多階層位置ズレ補正法を適用した X-Y 断面の画像データと、処理を行ったデータセットから再構成した Z-Y 断面、X-Z 断面を示す。X-Y 断面中の黄破線、青破線位置が Z-Y 断面、X-Z 断面の黄枠、青枠とそれぞれ対応する。暗いグレーの $(Zr, U)SiO_4$ 領域が、明るいグレーの $(U, Zr)O_2$ 領域を取り囲むように存在していることが分かる。白飛びしている領域は SiO_2 領域である。黒い線状のコントラストはクラックもしくは空隙であり、 SiO_2 と $(Zr, U)SiO_4$ の境界部に多く存在し、一部は $(Zr, U)SiO_4$ の内部にも進展しているが、 $(U, Zr)O_2$ 内部には進展しない事が分かる。図 1(b)に、本研究で明らかとなったクラック先端部の微細組織の模式図を示す。発表では、多階層位置ズレ補正法の詳細に加えて、図 1(b)に示した MCCI デブリ中の金属相の観察結果も報告する。

[1] TEPCO. (2021), 福島第一原子力発電所事故発生後の原子炉圧力容器内・格納容器内の状態推定について

[2]宮田 他、2022 年 5 月、日本顕微鏡学会第 78 回学術講演会、ポスター発表

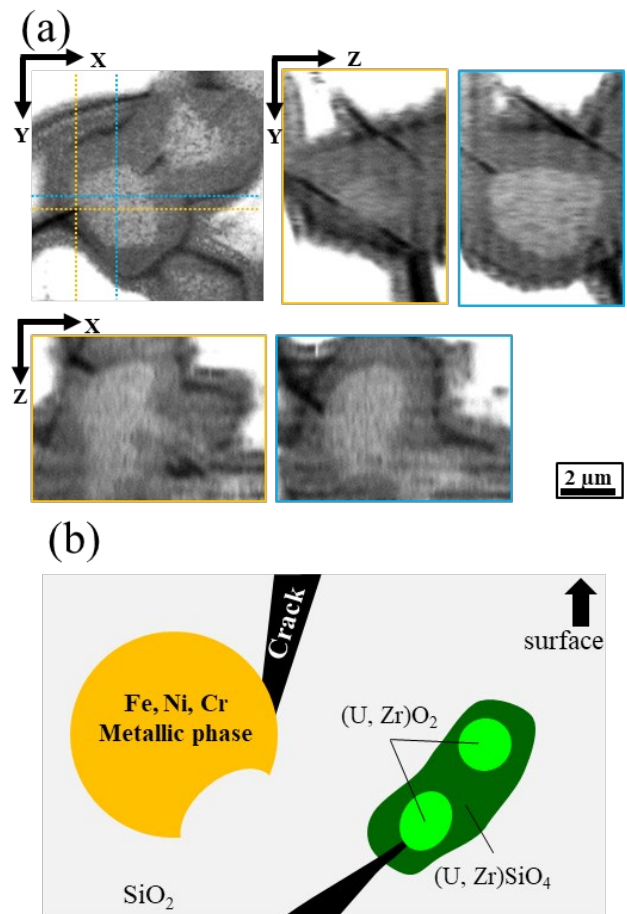


Fig.1 (a) 多階層位置ズレ補正法により復元された MCCI デブリ模擬試料中の U,Zr 酸化物層周辺の微細組織、(b)MCCI デブリ模擬試料中のクラック先端部に存在する微細組織の模式図

Sc₂O₃-HfO₂系蛍石型類似構造における照射誘起構造の透過電子顕微鏡観察

五十嵐 拓都、泉 隆博、石丸 学

九州工業大学

Transmission Electron Microscopy Study on Radiation-induced Structural Changes of Fluorite Structural Derivatives in the Sc₂O₃-HfO₂ System

T. Igarashi, T. Izumi and M. Ishimaru

Kyushu Institute of Technology.

[緒言]:原子力発電所から発生する高レベル放射性廃棄物の処理には、ホウケイ酸ガラスと固化した後、地層処分することが検討されている。しかしながら、ガラスの寿命は放射性元素の半減期よりも短いため、新たな固化体が求められている。固化体には、元素崩壊時に発生する大量の放射線を浴びても劣化しない優れた耐照射性が求められる。蛍石型構造を有するセラミックス酸化物は優れた耐照射性を示すことから、蛍石型類似構造の照射挙動も検討されている。Sc₂O₃-HfO₂系にはいくつかの蛍石型類似構造が存在するため、この系は酸素空孔の配置が照射耐性に及ぼす影響を調査するために有効である。本研究では、β-Sc₂Hf₇O₁₇およびγ-Sc₂Hf₅O₁₃のイオン照射下での構造変化を解析することを目的としている。

[実験方法]:焼結法により作製したβ-Sc₂Hf₇O₁₇及びγ-Sc₂Hf₅O₁₃多結晶ペレットに、液体窒素温度にて400 keVのNeイオンを $2 \times 10^{14} \sim 2 \times 10^{15} / \text{cm}^2$ で照射した。試料の評価には、透過電子顕微鏡(TEM)を用いた。

[結果]:図1は、 $2 \times 10^{15} / \text{cm}^2$ で照射した(a, b)β-Sc₂Hf₇O₁₇と(c, d)γ-Sc₂Hf₅O₁₃の未照射領域と損傷領域から得られた電子回折図形である。未照射領域から得られた回折図形(図1(a)、1(c))では、超格子反射が観察された。一方、図1(b)、1(d)では、超格子反射が消失しており、照射によって規則-不規則変態が起こったことがわかる。損傷領域からの回折図形で散漫散乱が観察された(図1(b)、1(d))。図2(a)は、基本格子反射で結像した暗視野像である。表面を除いて全体的に明るくなっており、この領域で結晶方位が同じであることがわかる。一方、超格子反射と散漫散乱で結像した暗視野像では、損傷領域に酸素空孔の乱れによる暗いコントラストが確認できる。図2(c)の拡大図から、損傷領域には2nm以下の微弱な明るいドットが分散していることがわかった。これはマイクロドメインの形成によるものである。

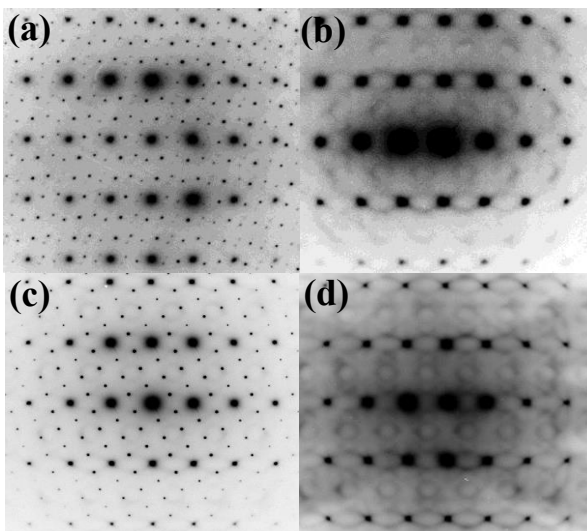


図1 (a,c)未照射領域と(b,d)損傷領域の回折図形:(a,b)はβ相、(c,d)はγ相

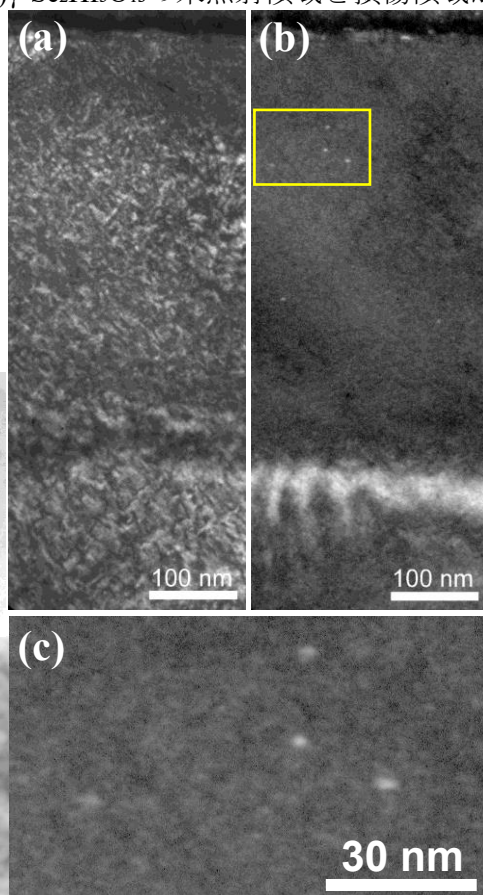


図2 照射量 $2 \times 10^{14} / \text{cm}^2$ のβ試料の暗視野像。(a)基本格子、(b)超格子反射によって結像。(c)(b)の黄色の枠の拡大図

オニオン状の単一ナノ粒子：航空機排気の HRTEM 観察

伏見 暁洋¹, 藤谷 雄二¹, Lukas Durdina^{2a}, Julien G. Anet^{2b}, Curdin Spirig²,
Jacinta Edebeli², 桜井 博³, 村島 淑子³, 齊藤 勝美^{4,1}, 竹川 暢之⁵

¹ 国立環境研究所, ² Zurich University of Applied Sciences (ZHAW), Switzerland,
³ 産業技術総合研究所, ⁴ イサラ研究所, ⁵ 東京都立大学

Onion-like single nanoparticles: HRTEM observation of aircraft exhaust

Akihiro Fushimi¹, Yuji Fujitani¹, Lukas Durdina^{2a}, Julien G. Anet^{2b},
Jacinta Edebeli², Curdin Spirig², Hiromu Sakurai³, Yoshiko Murashima³,
Katsumi Saitoh^{4,1}, Nobuyuki Takegawa⁵

¹ National Institute for Environmental Studies, ² Zurich University of Applied Sciences, Switzerland,

³ National Institute of Advanced Industrial Science and Technology,

⁴ Environmental Science Analysis and Research Laboratory, ⁵ Tokyo Metropolitan University.

^a Now at GreenLet Research, Switzerland,

^b Now at Federal Office of Meteorology and Climatology MeteoSwiss, Switzerland.

航空機の排出粒子が人の健康や気候に与える影響に世界的な関心が寄せられている。民間航空機に広く用いられるターボファンジェットエンジンの排気中の粒子数濃度は、不揮発性粒子（主にすす）よりも揮発性粒子（硫酸塩や有機物）が概して支配的である。しかし、揮発性粒子の排出・生成メカニズムはよく分かっていない。本研究では、ターボファンエンジンの排気粒子をエンジン出口と 25m 下流で採取し、粒子の形態・微物理構造を評価した。総粒子試料を 400 メッシュコロジオン膜コーティング銅グリッド上に採取し、HRTEM (JEM-2100plus、日本電子) を用いて加速電圧 200kV で粒子形態を観察した。下流のサンプルでは、燃焼で典型的に生成される乱層状グラフェン状構造を持つ煤粒子の個数は、粒子総数の 1%以下と少なかった。残りの大部分は、トレースアモルファス粒子（像が薄く非晶質）、アモルファス粒子（非晶質）、グラフェン状円形層を有するオニオン状粒子であった（図 1）。航空機排気に含まれる後者 3 種の粒子の微物理構造が、今回新たに同定された。この 3 種の粒子は主に直径約 10~20 nm の単一（非凝集）球形粒子であったことから、核生成と部分的な熱分解によって生成された粒子であり、専ら煤粒子と凝集せず存在していることが示唆された。粒子の特徴的な内部構造は、粒子の揮発性、表面反応性、溶解性などの物理化学的特性に影響し、人の呼吸器の沈着部位や体内動態に変化をもたらす可能性がある。

謝辞 本研究は環境省環境研究総合推進費（JPMEERF20205004、JPMEERF20245005）、国立環境研究所所内公募型提案研究 B、Scientific Exchanges grant of Swiss National Science Foundation（IZSEZ0_198063）、Swiss Federal Office of Civil Aviation projects（AGEAIR SFLV 2017-030, AGEAIR 2 SFLV 2018-048）の支援を受けた。国立環境研究所基盤計測機器の HRTEM を使用した。

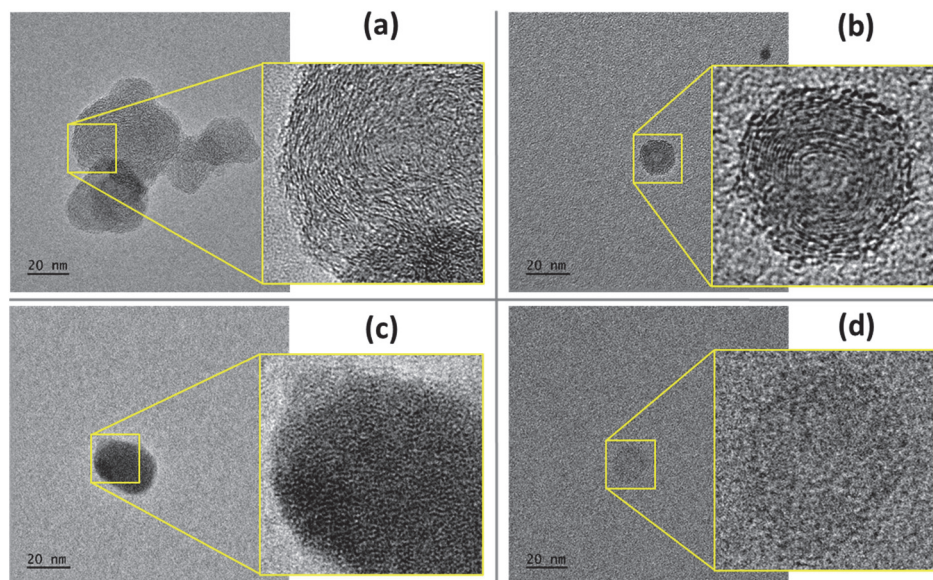


図 1. HRTEM で観察された内部構造の異なる 4 種のジェットエンジン排出粒子。(a)乱層構造（煤）粒子（CFM56-7B, D: 66.5 nm）、(b) オニオン状粒子（PW4000-100, D: 16.6 nm）、(c) アモルファス粒子（PW4000-100, D: 26.4 nm）、(d) トレースアモルファス粒子（PW4000-100, D: 17.0 nm）。

噴霧乾燥法により作製した銀添加生体活性ガラスにおける不均一構造の透過型電子顕微鏡法による解析

荒木 二望哉^A, 石丸 学^A, Shao-Ju SHIH^B
九州工業大工^A, 台湾科技大工^B

Heterogeneous Structure in Ag-Doped Bioactive Glasses Studied by Transmission Electron Microscopy

F. Araki^A, M. Ishimaru^A and S.-J. Shih^B

^AKyushu Institute of Technology, ^BNational Taiwan University of Science and Technology

〔背景〕骨移植材料である生体活性ガラス (BG) に添加された銀は生体内で抗菌性を発揮するとともに、ヒドロキシアパタイト相の形成を促進する。これまでの研究から、銀添加により BG のアモルファス構造が変化することが示唆されている。生体特性を制御するためには、ガラスの短距離規則構造と元素分布に関する情報が必要である。本研究では、透過電子顕微鏡 (TEM) を用いて銀添加 BG の構造を調べた。

〔実験方法〕BG 粉末 ($\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$, $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-Ag}_2\text{O}$) を噴霧乾燥法で作製した。粉末をマイクログリッド上に載せた試料を用いて、形態観察と元素マッピングを行った。一方、電子線動径分布解析による構造解析のため、FIB とイオンミリングにより薄膜試料を作製し、観察中の汚染を避けるために液体窒素冷却ホルダーを用いた。電子回折図形はイメージングプレートに記録した。

〔結果と考察〕得られた BG 粒子は不純物を含まないアモルファスであることが確認された。元素マッピングにより、Ag は BG 粒子上および粒子内にナノ粒子として存在することが明らかになった。無添加 BG と比較して、Ag 添加 BG の表面には P と Ca に富む層が形成されていた。BG 粒子の表面と内部でナノスケールの構造変化が起きていることが確認されたため、直径 10nm の電子ビームを用いて電子線動径分布解析を行なった。Ag 添加 BG の内部から得られた電子回折図形は無添加 BG と類似していたが、粒子表面では異なる回折図形が観察された。電子回折強度の定量分析によって得られた二体分布関数 (PDF) により、無添加 BG では、0.16nm、0.27nm、0.30nm にそれぞれ Si-O、O-Si-O、Si-O-Si 原子対に起因する顕著なピークが観察された。同様の PDF は、Ag 添加 BG の内部でも観察された。一方、Ag 添加 BG 表面の PDF の第 1 ピークと第 2 ピークは短距離側にシフトしており、それぞれ P-O 原子対と Ca-O 原子対に対応していることが示唆された。元素マッピングの結果から、BG 粒子の表面では P と Ca の濃度が高く、P-O 原子対は Si-O 原子対よりも原子間距離が短いことがわかり、この結果は妥当である。詳細な解析により、銀添加 BG の内部では第一隣接原子間距離が無添加 BG よりも長くなっていることが明らかとなった。本研究において、銀は銀ナノ粒子として析出している Ag とアモルファスネットワークに取り込まれた Ag という二つの状態で存在していたが、BG ネットワークに取り込まれた Ag は、図 1(a)のように網目修飾剤として働く。しかし、ガラス表面上の Ag 結晶が、Ag の網目修飾剤の役割を奪うことが指摘されている[1]。その結果、図 1 (b)に示すような変化が起これば架橋酸素数は増加する。架橋酸素の結合強度は非架橋酸素の結合強度よりも弱いいため、Ag 添加 BG における結合長の増加は妥当である。

[1] R. Borges et al., Open Ceram. 16 (2023) 100449.

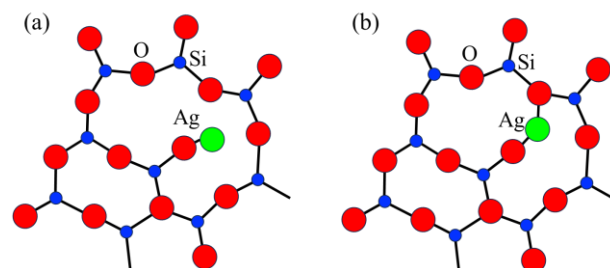


図 1 アモルファスネットワーク内に取り込まれた Ag の結合状態

(a)銀ナノ粒子なし (非架橋酸素構造)、(b)銀ナノ粒子あり (架橋酸素構造)

Ba_{0.6}La_{0.4}F_{2.4} 固体電解質の微細構造解析・化学分析佐々野 駿^A, 石川 亮^A, 川原 一晃^A, 嶺重 温^B, 柴田 直哉^{A,C}, 幾原 雄一^{A,C}^A東京大学, ^B兵庫県立大学, ^CファインセラミックスセンターMicrostructure and chemical analysis of Ba_{0.6}La_{0.4}F_{2.4} solid-state electrolyteS. Sasano^A, R. Ishikawa^A, K. Kawahara^A, A. Mineshige^B, N. Shibata^{A,C}, Y. Ikuhara^{A,C}^AThe University of Tokyo, ^BUniversity of Hyogo, ^CJapan Fine Ceramics Center

全固体フッ化物イオン電池は安全性に優れるとともに、現行のリチウムイオン電池と比較して5倍以上の理論エネルギー密度を示すため、次世代二次電池として有望である[1]. Ba_{0.6}La_{0.4}F_{2.4} (BLF) は広い電位窓と比較的高い伝導度を有するため、数少ない固体電解質候補である[2]. BLFはメカノケミカル合成により、単結晶よりも伝導度が向上することが報告されている. しかし、原子レベルでの微細構造解析が不足しており、伝導度向上のメカニズムは不明である. 本研究では、原子分解能を有する走査透過型電子顕微鏡 (STEM) および電子エネルギー損失分光 (EELS) を用い、BLFの微細構造解析・化学分析を行い、伝導度と微細組織の関係性を明らかにすることを目的とする[3].

BaF₂, LaF₃の原料試薬をモル比率6:4で混合し、600 rpm・3 hの条件でボールミリングを行った. 得られた混合粉末をペレット状に加圧成形し、1073 Kで5時間焼結した. 合成はすべてアルゴン雰囲気化で行った. EDX分析の結果、焼結体の組成 (BaF₂/LaF₃) は59.9:40.1であり、所望のモル比率であった.

図1(a)にBLFの結晶粒内において[111]入射方位から取得した原子分解能 ADF-STEM像を示す. ADFでは原子番号に依存した像強度が得られるため、明るい輝点がBaおよびLaを含む原子コラムに対応している. 図1(a)中に赤で示す領域ではBLF本来のフルオライト構造 (図1(b)) が観察された一方、緑で示す領域ではLaF₃に代表されるタイソナイト構造 (図1(c)) が観察された. また、他の領域では2つの構造が投影方向に重畳して特定のパターンが形成されていることが分かった. さらに、EELSによる化学分析の結果、Ba-richなフルオライトの母相中にLa-richなタイソナイト構造がナノスケールで析出していることが明らかとなった.

【謝辞】

この成果は、国立研究開発法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 (NEDO) のRISING3プロジェクト (JPNP21006) の結果得られたものです.

【参考文献】

- [1] M. Anji Reddy et al., J. Mater. Chem. **21** 17059 (2011)
 [2] K. Mori et al., ACS Appl. Energy Mater. **3** 2873 (2020)
 [3] S. Sasano et al., J. Power Sources **557** 232581 (2023)

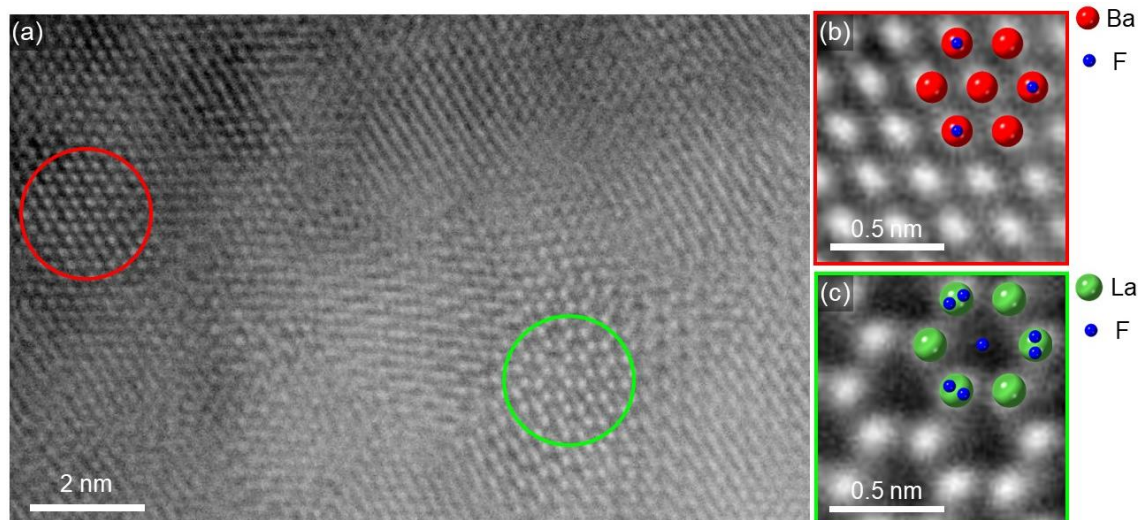


図1(a)BLFの結晶粒内において[111]入射方位から取得した ADF-STEM像, (b)赤および(c)緑で示す領域における拡大像.

HAADF-STEM による Al-Cu-Si 合金の固液相転移における加熱中その場観察
ジェーム メルバート^A, 坂口 紀史^A, 能村 貴宏^A
北海道大学^A

In-situ heating observation of phase transition in Al-Cu-Si alloy using HAADF-STEM

M. Jeem^A, N. Sakaguchi^A, and T. Nomura^A
^A*Hokkaido Univ.*

合金系相変化マイクロカプセル(MEPCM)は、高蓄熱密度と優れた熱伝導率を持ち、高温廃熱の貯蔵材料として有望視されている。しかし、潜熱放熱時に発生する過冷却が、熱エネルギー貯蔵システムの効率低下を引き起こす。そこで本研究では、500°Cで作動する Al-Cu-Si 合金 MEPCM のコアシェル構造の最適化と、過冷却現象のメカニズム解明を目的とした。先行研究により、コアシェル界面のナノ粒子が過冷却抑制に寄与する可能性が示唆されているため、本研究では STEM による加熱その場観察を行い、相転移およびナノ粒子形成の様子を直接観察した。加熱その場観察では、MEMS チップに薄膜片を固定し、Titan G2(300kV)を使用して固液相転移の過程を高速 HAADF-STEM で観察した。元素および化学状態の分析は、EDX マッピングと STEM-EELS 法を用いて行った。観察の結果、Al₂Cu 金属間化合物の収縮と同時に、Si が Al₂Cu 界面に偏析する現象が確認された。また、熔融状態まで加熱した結果、Al-Cu-Si ナノ粒子が形成され、これらが α -Al₂O₃ 格子内に局在することが観察された。このナノ粒子が不均一核生成サイトとして機能し、凝固過程での核生成を促進することで、過冷却現象の抑制に寄与している可能性が示された。

低放射化 M/HEA の照射欠陥観察と耐照射性評価

齋藤 宏平^A, 橋本 直幸^A, 岡 弘^A, 磯部 繁人^A^A 北海道大学

Observation of irradiation defects and evaluation of irradiation resistance of reduced activation M/HEA

K. Saito^A, N. Hashimoto^A, H. Oka^A, and S. Isobe^A^A Hokkaido Univ.

【緒言】

原子炉材料では中性子エネルギーによる原子のはじき出しが起こり空孔や格子間原子などの点欠陥が材料中に導入される。導入された点欠陥の一部は再結合やシンク(消滅源)へ拡散し消滅するが、生き残った分は集合しポイドなどの空孔型二次欠陥やフランク型転位ループなどの格子間原子型二次欠陥を形成する。これらが照射の進行に伴って成長するとスウェリング(体積膨張)や照射硬化といった材料劣化の原因となり得る。近年、この照射損傷による材料劣化の低減を目指した新規高耐照射性材料の創製を目指し、ハイエントロピー合金(HEA)の開発研究が進められている^[1]。代表的な HEA として Cantor 合金(CoCrFeMnNi)が挙げられるが、Cantor 合金の構成元素である Co は放射化元素であるため、原子炉材料中の構成元素として好ましくない。そこで本研究では、低放射化合金の Co フリー M/HEA を作製し、照射欠陥を観察することで材料の耐照射性を評価した。

【実験方法】

Cr_{0.8}FeMn_xNi (x = 0.4, 1.0) 合金をアーク溶解法により作製した。また比較材として既存の原子炉構造材料として用いられている市販の 316L ステンレス鋼を準備した。それぞれの合金に対して均質化熱処理、冷間圧延、再結晶熱処理を施し、供試材とした。原子炉環境下での原子のはじき出しを再現するため、高崎量子応用研究所 TIARA にて Au⁴⁺イオンを 500°C で試験片に照射した。その後 FIB 法にて薄膜試料を作製し、TEM を用いて試料表面から深さ 0.2~0.5 μm の範囲で形成した照射欠陥の観察を行った。

【結果】

Fig.1 に観察された照射欠陥の TEM 像を示す。観察においては、フランク型転位ループに由来する *relrod* を結像した暗視野像を取得した。作製した MEA では観察領域において照射欠陥が観察されなかったのに対し、316L は多数のフランク型転位ループが確認できた。以上から MEA では 316L と比べフランク型転位ループの形成が抑制されており、この観点からは耐照射性が優れていることが示唆された。

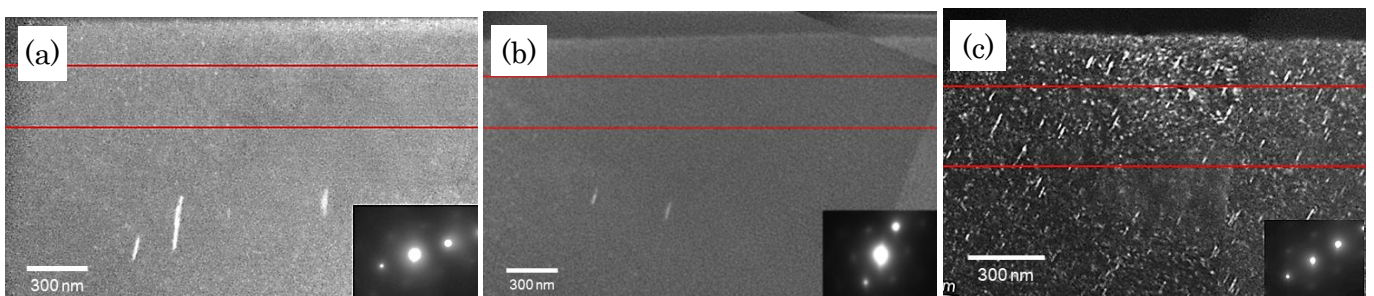


Fig.1 観察されたフランク型転位ループの TEM 像 (a) Cr_{0.8}FeMn_{0.4}Ni (b) Cr_{0.8}FeMn_{1.0}Ni (c) 316L (赤線内が観察領域)

【参考文献】

[1] Z. Zhang et al. Progress in Materials Science 123, (2022), 100807.

謝辞：本研究は、文部科学省マテリアル先端リサーチ事業課題(課題番号 JPMXP1224HK0080)として北海道大学の支援を受けて実施されました。

また、北海道大学ナノ・マイクロマテリアル分析研究室の技術的支援を受け実施されました。

Mo ケミストリーを活用した 2 相共連続シリカの微細構造解析

吉村 巧己^A, 渡辺 孝典^A, 魚田 将史^A, 袁 建軍^ADIC 株式会社 総合研究所^A

Advanced characterization of bicontinuous silica mediated by molybdenum chemistry

T. Yoshimura^A, T. Watanabe^A, M. Uota^A and J. Yuan^A,
^A Central Research Laboratories, DIC Corporation

これまで鋳型合成法による、様々な形状・サイズを有するポーラスシリカが合成され、新素材や触媒材料等の新規材料開発に活用されてきた。一方、DICにおいてもポリアミン系ポリマーを用いた鋳型合成法により様々な形状のシリカ材料を創成し、サステナブル材料開発等への展開を模索してきた。

それに対して近年、鋳型合成法と異なり、Mo ケミストリーを活かすことでナノサイズのシリカ骨格と空気相が連続した 2 相共連続シリカの創成に成功した²⁾。このシリカ粒子は、特異なポーラス構造および制御された粒子径や粒子径分布を有し、化粧品用途を含めた高機能新素材として期待されている。課題はシリカ骨格の微細構造解析であり、シリカのマトリックス及びシリカのマトリックス中に存在する Mo 構造などを明らかにして、材料設計および用途の拡大に繋げたい。

そこで FIB-SEM および ADF-STEM を用いて、シリカ粒子の内部構造や骨格を明らかにしたうえで、特に Mo の存在状態について詳細解析した結果を報告する。

1) J.-J. Yuan, R.-H. Jin, *Advanced Materials*, 2005, 17, 885-888.

2) 特許番号：特許第 5987514 号 特許の名称：2 相共連続型シリカ構造体及びその製造方法

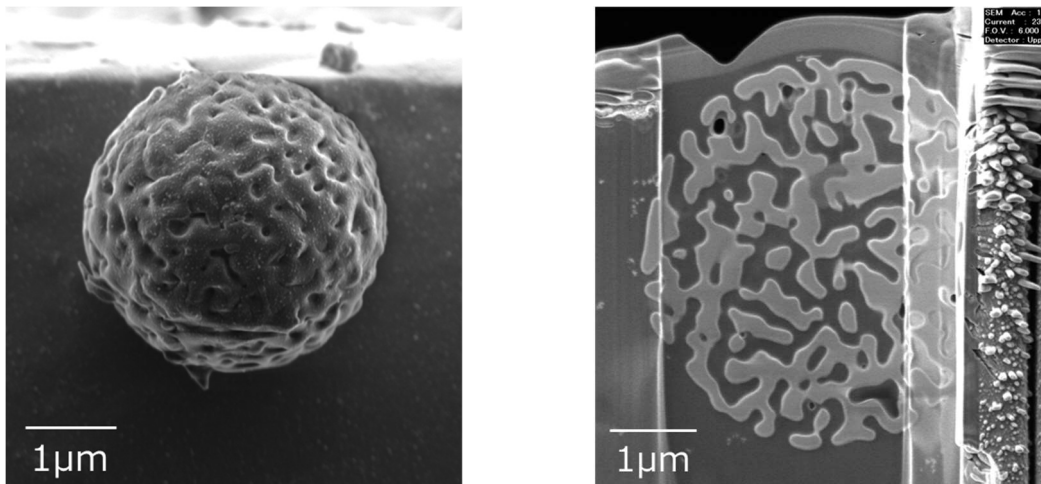


図 1 2 相共連続シリカ粒子表面の SEM 像 (左)、FIB-SEM で薄片化した粒子内部の SEM 像 (右)

深層学習によるチタン酸バリウムのナノドメイン積層構造解析

渥見大成^{A,B}, 森川大輔^B, 津田健治^B

^A 東北大工, ^B 東北大多元研

Analysis of Stacked Nanodomain Structure of Barium Titanate using Deep Learning

T. Atsumi^{1,2}, D. Morikawa² and K. Tsuda²

Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ., IMRAM, Tohoku Univ.

チタン酸バリウムは電場の印加によって分極方向が変化する強誘電体であり、積層セラミックコンデンサ(MLCC)をはじめとして広範に応用されている重要な材料である。チタン酸バリウムはナノサイズの分極領域(分極ナノドメイン)からなる構造を持つことが報告されており[1]、電場印加によって分極ナノドメインの空間分布の変化が観察されている[2]。ナノドメインのサイズから、試料の深さ方向にも異なるナノドメインが積層していることは明らかで、積層方向も含めた分極ナノドメインの3次元分布情報を得ることは、材料性能の向上をはかる上で重要である。透過電子顕微鏡で深さ方向の構造情報を得る方法として Depth-sectioning STEM などが提案されているが、このようなナノドメインの積層構造の解析には適用されていない[3]。

本研究では、CBED 法および深層学習を用いた新しいナノドメインの積層構造解析の試みについて報告する。当研究室で開発した CBED 図形シミュレーションパッケージである MBFIT を用いて、様々な積層モデルに対する CBED 図形をシミュレートし、これを教師データとして深層学習を行って、実験の CBED 図形を再現する積層構造を、逆問題として解く。最終的には、4D-STEM データの各プローブ位置における CBED 図形をそれぞれ解析することで、ナノドメインの3次元分布の解析や電場応答の解明を目指している。最初のステップとして、シミュレーションデータを仮想実験データとした解析によって、逆問題を解き得るかどうかのテストを行っている。解析や学習の詳細について当日は報告する。

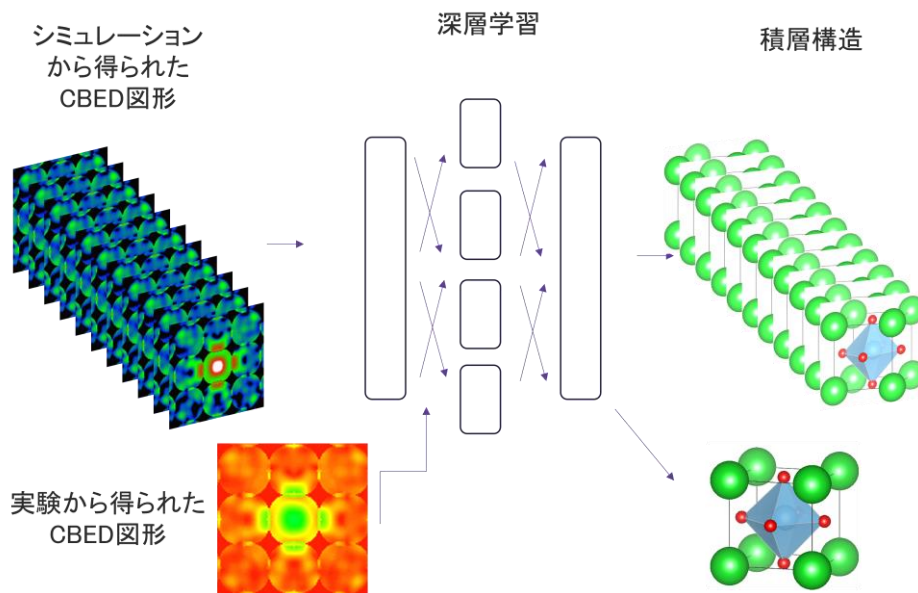


図 1. 深層学習を用いた積層構造解析の概念図

[1] K. Tsuda, A. Yasuhara, and M. Tanaka, *Appl. Phys. Lett.* **103**, 082908 (2013).

[2] D. Morikawa, and K. Tsuda, *Appl. Phys. Lett.* **119**, 052904 (2021).

[3] A. Borisevich, A. Lupini, and S. Pennycook, *PNAS*. **103**, 3044 (2006).

アセトン溶媒中で YAG パルスレーザー照射した WO₃の構造解析笹山 泰輔^A, 中川 祐貴^B, 柴山 環樹^B北海道大学大学院工学院^A, 北海道大学大学院工学研究院^BStructural Analysis of WO₃ Irradiated with YAG Pulsed Laser in Acetone SolventT. Sasayama^A, Y. Nakagawa^B and T. Shibayama^B^AGraduate School of Engineering, Hokkaido University,^BFaculty of Engineering, Hokkaido University.

酸化タングステン(WO₃)は可視光領域での反応が期待される光触媒材料であり、先行研究では、Pt, Au などの高価な貴金属の代わりに、低コストな WC を助触媒として WC/WO₃複合材料を作製し、触媒活性を向上させていた [1]。本研究では WO₃粉末をアセトン溶媒中でエネルギー密度が 312mJ/cm²と 120mJ/cm²の Nd:YAG Pulse レーザー(Continuum, InliteII, 波長 532nm)を照射し、WC/WO₃複合粉末材料を作製し、XRD(RIGAKU, MiniFlex), XPS(JEOL, JPS-9200), SEM(JEOL, JSM-7001FA), STEM(JEOL, JEM-ARM200F NEOARM)による構造解析や表面観察を行った。

312mJ/cm²のレーザー照射試料では未照射の WO₃や 120mJ/cm²のレーザー照射をした試料と比べて、XRD の各ピークの半値幅や強度は低下したものの、WO₃のピークと一致した。312mJ/cm²の照射試料の XPS フィッティングでは、W⁵⁺の存在が確認され、酸素欠損の生成が示唆された。SEM より、照射後の試料の表面の形状に大きな差異はなかったものの、TEM 像では丸みを帯びた粒子が観察された (Fig1)。また、STEM 像では数 nm 程度の球状粒子も確認された。電子回折像からは、スポットとハローが混在していることが確認され、XRD と矛盾しない結果が得られた。これらの結果から WC の生成は確認できなかったが、アセトン溶媒中のレーザー照射により、WO₃粒子がレーザー光を光学吸収して熱に変換し、融点を越えることでサブミクロン球状粒子が生成され、有機溶媒が還元雰囲気として機能することで、WO₃粉末が高温還元され、結晶子サイズや結晶性の低下が起こったことが示唆された。

[1] S.L.Wang et al., Adv. Funct. Mater. 2018, 28 ,1705357.

本研究は、文部科学省マテリアル先端リサーチ事業課題(課題番号 JPMXP1224HK0013)の支援を受けて実施されました。

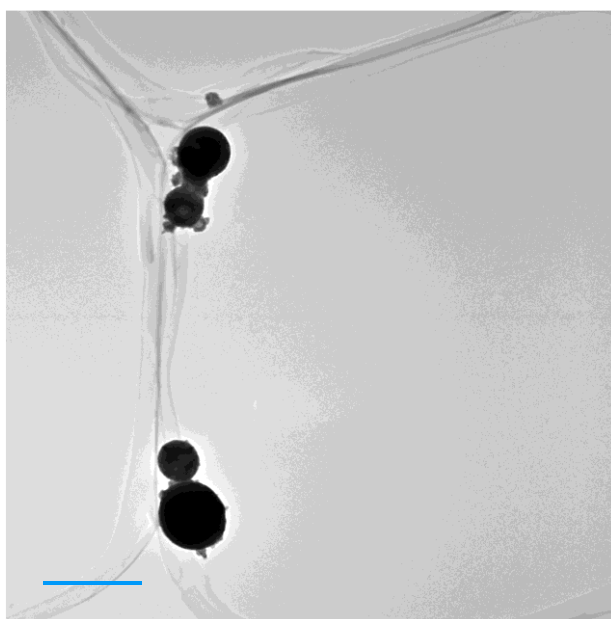


Fig1 TEM image of a sample irradiated with pulsed laser at 312 mJ/cm²

レーザー照射による加熱効果の時間分解計測 に向けた MoS₂ 熱膨張効果の観察

永見 洸陽^A, 長尾 全寛^{A,B}, 齋藤 晃^{A,B}, 石田 高史^{A,B}, 桑原 真人^{A,B}
名古屋大学大学院工^A, 名古屋大学未来材料・システム研究所^B

Observation of Thermal Expansion Effects in MoS₂ toward Time-Resolved Measurement of Laser Heating Effects

K. Nagami^A, M. Nagao^{A,B}, K. Saitoh^{A,B}, T. Ishida^{A,B} and M. Kuwahara^{A,B}

^AGraduate School of Eng. Nagoya Univ.,

^BInstitute of Materials and Systems for Sustainability, Nagoya Univ.

熱膨張による構造変化は材料特性に大きく影響を与える。表面プラズモン共鳴によって光を強く吸収する金ナノ粒子では光熱変換効果に伴う温度上昇によって熱膨張する。我々はフェムト秒レーザーによって励起した金ナノ粒子を時間分解計測した結果、格子の熱膨張によって、電子線エネルギー損失ピークが低エネルギー側にシフトする効果を計測することに成功した[1]。ナノ材料の電子-フォノン散乱を介した熱緩和過程を時間分解計測することで、ナノデバイスの電子・フォノン物性の理解を通して性能向上に寄与することが期待される。

本研究では、次世代半導体材料として注目されている二次元材料である二硫化モリブデン (MoS₂) の熱膨張効果を、そのモアレ縞観察を利用することで空間分解能の低い時間分解透過電子顕微鏡 (TRTEM) においても十分観測できる条件を示す。

二次元材料は層状の結晶構造を備えているため三次元材料と比較して薄い膜状に加工しやすいという利点からナノデバイスへの応用が期待されている[2]。その一方で、二次元材料は層間の距離や結合によって性質が変化する。

MoS₂ は、バルクで約 1.3 eV の間接遷移型のバンドギャップを持ち、単層で約 1.8 eV の直接遷移型のバンドギャップを持つ[3]。よって熱膨張による MoS₂ 層間の変化を観察することは物性制御および性能向上の観点から重要となる。

本研究では、TRTEM を用いてレーザー照射による加熱効果を定量的に比較するために、加熱ホルダーを用いた層状 MoS₂ の熱膨張過程観察を実施した。熱膨張過程の観察に、2つの異なる方位の結晶を重ねることで形成するモアレ縞を用いた。図 1 は六方晶窒化ホウ素 (hBN) に挟まれた層状 MoS₂ を加熱ホルダーで 211 °C まで加熱した際の回折図形と TEM 像である。回折図形からは加熱による格子間隔の熱膨張を観測した。その一方で、TEM 像から得られたモアレ縞の間隔は加熱によって小さくなった。これは加熱による試料の回転が原因であると考えられる。試料の回転および熱膨張の過程の詳細、時間分解計測の結果についてはポスターセッションにて報告する。

[1] M. Kuwahara *et al.*, Applied Physics Letters Vol. 121, Issue 14 (2022).

[2] D. Lembke *et al.*, ACS Publications Vol. 48, Issue 1 (2015).

[3] A. Splendiani *et al.*, Nano Letters Vol. 10, Issue 1271 (2010).

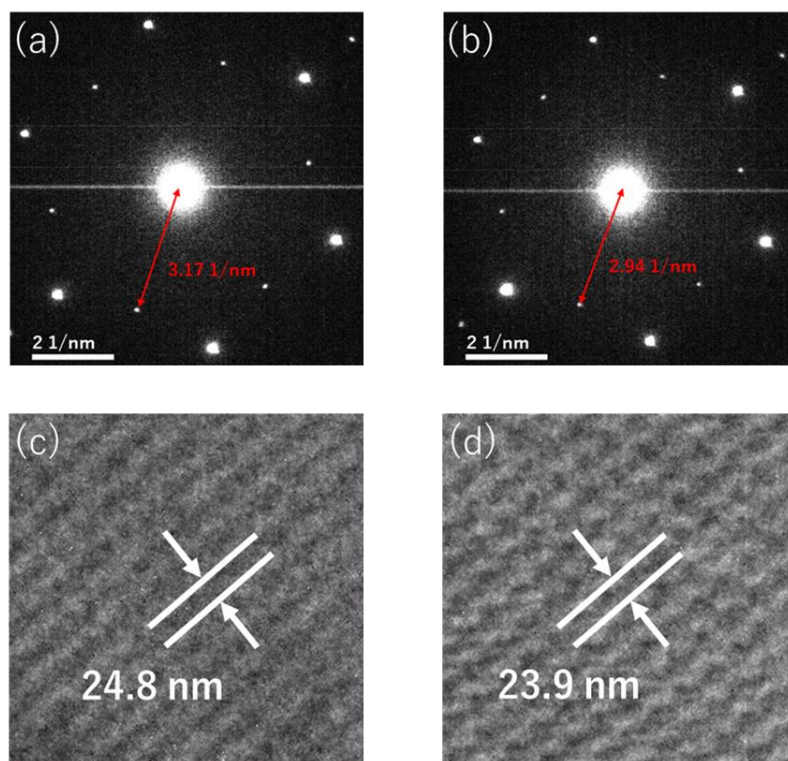


図 1.(a) 26°C における回折図形。(b) 211°C における回折図形。
(c) 26°C における TEM 像。(d) 211°C における TEM 像。

スピン偏極電子線を用いたスピン-磁気散乱が及ぼす 動力学的効果の検証

中根 爽太^A, 齋藤 晃^{A,B}, 石田 高史^{A,B}, 桑原 真人^{A,B}
名古屋大学大学院工^A, 名古屋大学未来材料・システム研究所^B

Verification of dynamical effects of spin-magnetic scattering using spin-polarized electron beam

S. Nakane^A, K. Saitoh^{A,B}, T. Ishida^{A,B} and M. Kuwahara^{A,B}

^AGraduate School of Eng. Nagoya Univ.,

^BInstitute of Materials and Systems for Sustainability, Nagoya Univ.

優れた磁性材料の開発のためには、磁性体の磁気構造の詳細な理解が重要であり、スピン偏極した中性子線等の方法により、その微視的構造が解明されてきた[1]。一方で電子線を用いた磁性体の観察は、電子線が磁気相互作用に比べてクーロン相互作用が大きい性質からその手法は限られているが、実験室スケールで分析が可能であるという大きなメリットが存在するため現在でも盛んに研究がなされている。その中で、我々が開発した90%以上のスピン偏極度を誇るスピン偏極電子顕微鏡(SP-TEM)[2]を用いた磁性材料の観察は、入射電子のスピンの向きとそれに依存する磁気散乱の非対称な項を取り出すことで、実験室スケールでの磁性体の構造を解析する新たな手法となり得ることが期待されている。

しかし、電子散乱の解析は試料厚さによる多重散乱の効果が無視できず、加えて電子のスピンの試料磁場の効果を踏まえた動力学的現象の解析解を求めるのは非常に困難である。そこで本研究では、計算によりスピン-磁気依存散乱項が及ぼす動力学的効果を検証する。具体的には、多重散乱する電子波を計算可能なマルチスライス法[2]に対して、ディラック方程式により計算された入射電子のスピン偏極効果とその電子が感じる試料内磁場の効果を導入することで、磁性試料の微視的構造における重要な情報を得ることを目指した。

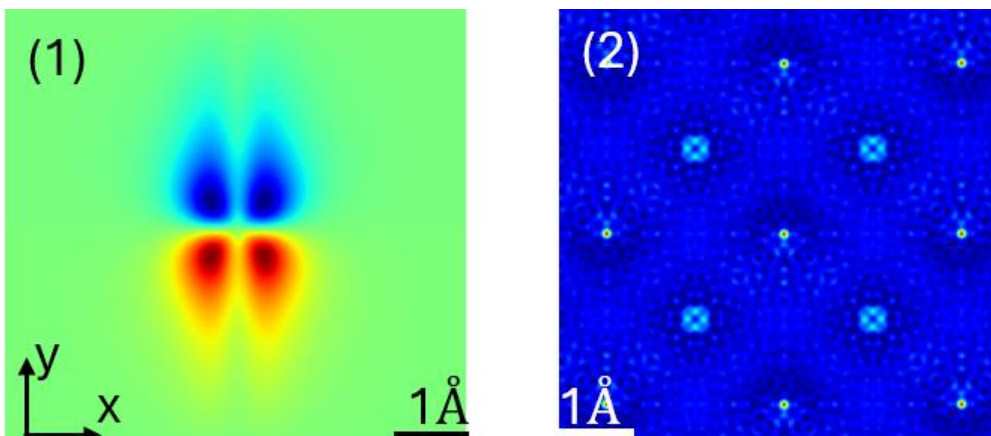
開発したコードによりスピン偏極電子を用いたときの散乱効果を計算した。図(a)は鉄単原子に対してx方向にスピン偏極した電子が感じる磁場とベクトルポテンシャルを図示したものである。この際位相が90度変化することによりy方向に非対称な影響を及ぼす。図(b)は仮想的にbcc構造の鉄原子の磁気モーメントをx方向に交互に向けた際のHREM像である。いずれもスピン偏極電子により非対称な散乱効果を見出すことができている。

手法及び結果の詳細については、ポスターセッションにて発表する。

[1] D. Lebeugle et al., *Phys. Rev. Lett.* 100, 227602 (2008).

[2] M. Kuwahara, M., Kusunoki, S. et al.: *Appl. Phys. Lett.*, **101**, 033102 (2012).

[3], E. J. Kirkland, "Advanced Computing in Electron Microscopy", (2009).



(1) Fe 単原子に対して入射電子が感じる磁場及びベクトルポテンシャル

(2) Fe [薄膜結晶](#)の仮想的 HREM 像

貴金属ハイエントロピー合金ナノ粒子の微細組織解析と光学特性評価

西山直輝^A, 柴山環樹^B, 中川祐貴^B

北海道大学大学院工学院^A, 北海道大学大学院工学研究院^B

Microstructural Analysis and Optical Properties Evaluation of Noble Metal High-Entropy Alloy Nanoparticles

Naoki Nishiyama^A, Tamaki Shibayama^B, Yuki Nakagawa^B

^AGraduate School of Engineering, Hokkaido Univ., ^BFaculty of Engineering, Hokkaido Univ.

金属ナノ粒子は、バルク体にはない特異な性質を示すことが知られている。先行研究では、Au を SiO₂ 基板に蒸着し、イオン照射およびレーザー照射によりナノ粒子を形成した結果、照射誘起の周期的配列によって特異な局在表面プラズモン効果が発現することを明らかにした[1]。本研究では、貴金属ハイエントロピー合金(HEA)のナノ粒子を作製して、その光学特性について明らかにすることを目的とする。合金の組成を5種類の貴金属(Pd, Ag, Re, Pt, Au)に設定し、アルゴン雰囲気下でスパッタリングを行い SiO₂ 基板に蒸着させた。次に Ar⁺照射を行い、FE-SEM および EDS 分析による表面の観察、TEM による微細組織の観察、XRF による組成分析を行った。

FE-SEM の観察から、照射部では薄膜が網目状、ナノ粒子化していることを確認した。断面 TEM 観察から、カーボンデポと SiO₂ 基板の間に合金薄膜が存在していることを確認した。ところどころ合金薄膜が消失し、その部分にバブルが形成していた (Fig.1)。点分析を行ったところ、試料内部で Ar が検出されたことから、Ar⁺が合金薄膜を貫通し基板にまで到達し Ar バブルを作ったと考えられる。XRF の結果より、この合金は、ターゲットの面積比に反して組成が均一にならず、混合のエントロピー値が HEA の定義値を下回っていることが分かった。

[1]于睿譔 複合量子ビーム同時照射による表面ナノ構造構築とその光学特性に関する研究 北海道大学大学院工学院 2016 年博士論文

本研究は、文部科学省マテリアル先端リサーチ事業課題(課題番号 JPMXP1224HK0013)として北海道大学の支援を受けて実施されました。

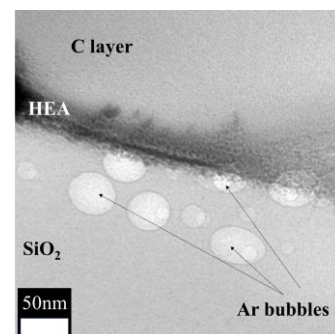


Fig 1. Cross-sectional TEM images of irradiation-induced Ar bubbles in HEA

収束電子回折法による GaN/AlGaIn ヘテロ接合界面の微細構造解析

北上 偉武暉^{A,B}, 森川 大輔^B, 松岡 隆志^C, 津田 健治^B^A 東北大工, ^B 東北大多元研, ^C 東北大 NICHeStructure analysis of GaN/AlGaIn heterojunction
using convergent-beam electron diffractionI. Kitakami^{A,B} and D. Morikawa^B and T. Matsuoka^C and K. Tsuda^B^AGrad. Sch. Eng., Tohoku Univ., ^BIMRAM, Tohoku Univ., ^CNICHe, Tohoku Univ.

我々は収束電子回折(CBED)法と走査透過電子顕微鏡(STEM)法を組み合わせた 4D-STEM 法を活用して、結晶界面やナノドメイン構造のような非周期・不均一構造における局所結晶構造・静電ポテンシャル分布の定量構造解析手法の開発に取り組んでいる。本手法を用いて、携帯電話の基地局における増幅回路に用いられている高電子移動度トランジスタ(HEMT)の基本構造である GaN/AlGaIn ヘテロ接合界面の微細構造解析を行った。HEMT は、分極によって発生した二次元電子ガス(2DEG)を利用している。これまでに、電子線ホログラフィー[1]および微分位相コントラスト走査透過電子顕微鏡(DPC-STEM)法[2]による GaN/AlGaIn 接合界面の電場観察が報告されているが、ヘテロ接合による格子歪みを含めた解析は困難であった。これに対し、4D-STEM 法では、電場・電位分布に加え、界面の格子歪みや結晶の電子分極等の複合的な情報を得ることができる。4D-STEM 法で得られる CBED 図形の回折ディスクの強度分布を、多重散乱によるシミュレーション強度と定量的に比較することで、結晶構造、電子分極、電位分布、格子歪み等を定量的に決定することが可能である。現在、ポテンシャル障壁を含む界面構造に対してこのような解析を行うため、解析コードの機能拡張を進めている。

実験では、GaN/AlGaIn 界面に対して垂直な c 軸方向に沿ったラインスキャンによって 4D-STEM 測定を行い、CBED 図形に現れる変化を調べた。GaN/AlGaIn 界面の STEM 像、および、異なる位置から得た GaN [120]入射 CBED 図形とその差分強度を図 1 に示す。界面近傍の GaN 領域の位置★1 と、界面から離れた GaN 領域の位置★2 の CBED 図形の強度分布に明瞭な差が見られる。これらの CBED 図形の強度分布を定量解析することによって、界面のポテンシャル障壁、並びに、2DEG および格子歪みの空間分布を得ることができる。多重散乱シミュレーションに基づく実験データの定量解析結果については当日報告する。

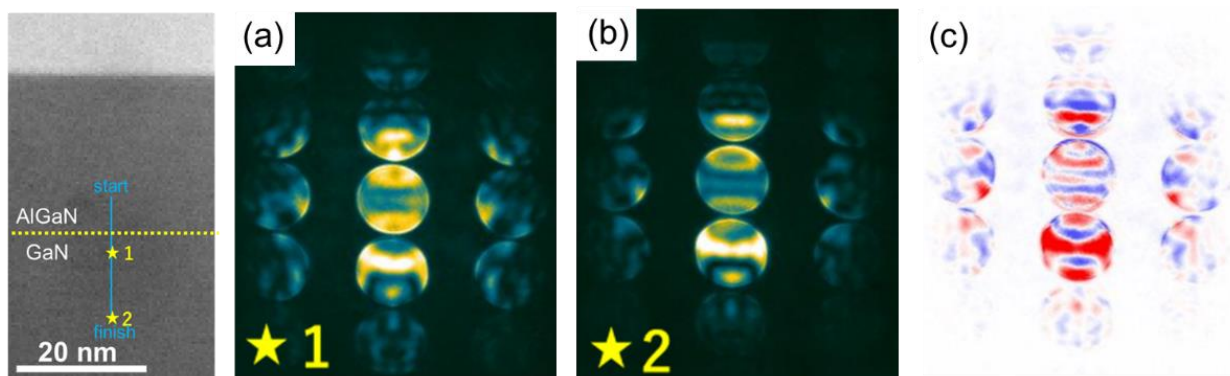


図 1. GaN/AlGaIn 界面の STEM 像、(a)界面近傍の位置★1 における CBED 図形、(b)界面から離れた位置★2 における CBED 図形、(c) ★1 および★2 の CBED 図形の差分強度。

[1] K. Yamamoto *et al.*, *Microscopy* **70**, 24 (2021).

[2] S. Toyama *et al.*, *IEEJ Transactions on Electronics, Information and Systems* **142**, 367 (2022).

PMN リラクサーの局所構造における電場応答の解析

古池佑紀^{1,2}, 森川大輔², 符徳勝³, 伊藤満⁴, 津田健治²¹東北大工, ²東北大多元研, ³静岡大, ⁴産総研

Analysis of the Electric Field Response in the Local Structure of PMN Relaxors

Yuki Koike^{1,2*}, Daisuke Morikawa², Desheng Fu³, Mitsuru Itoh⁴ and Kenji Tsuda²¹ Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ., ²IMRAM, Tohoku Univ., ³Shizuoka Univ., ⁴AIST

リラクサー強誘電体は、広い温度領域で高い誘電率および圧電定数を示し、自動車、医療、航空宇宙分野におけるアクチュエーター・センサーなど、産業的にも広く用いられている。しかしながら、この系の構造は、分極を持たない母相中に、極性ナノ領域(PNR)と、Mg と Nb が規則配列した化学秩序領域(COR)がナノスケールで分布する、複雑な不均一構造であるため構造解析が困難であり、多くの研究にも関わらずいまだ不明な点が多く残されている。

われわれはこれまでに、リラクサー強誘電体の典型例である $\text{Pb}(\text{Mg}_{1/3}\text{Nb}_{2/3})\text{O}_3$ (PMN) に、収束電子回折(CBED)法を適用し、PNR および COR の局所対称性と分布および温度依存性を調べた[1]。その結果、COR が PNR の成長を抑制し、PNR が数ナノメートルの大きさに留まることを明らかにした。本研究では、次のステップとして、PMN リラクサーの局所構造の電場応答を、CBED 法を用いて直接観察することを試みた。

FIB 加工により電圧印加その場観察が可能な TEM 試料を作成し(図 1)、印加電圧を変化させて CBED 図形を取得した。電圧オフおよび+9 V と -8.7 V 印加下での CBED 図形を図 2(a)~(c)に示す。また、(a)と(b)の差分強度を(d)に、(a)と(c)の差分強度を(e)に示す。電圧反転に伴って差分強度も概ね反転していることがわかる。当日は電圧印加下における CBED 図形の対称性変化を定量的に評価した結果と、局所構造の空間分布について報告する。

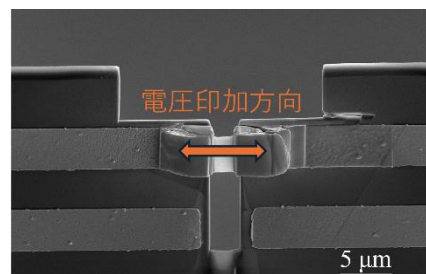


図 1. FIB 加工によって作成したその場観察用 TEM 試料

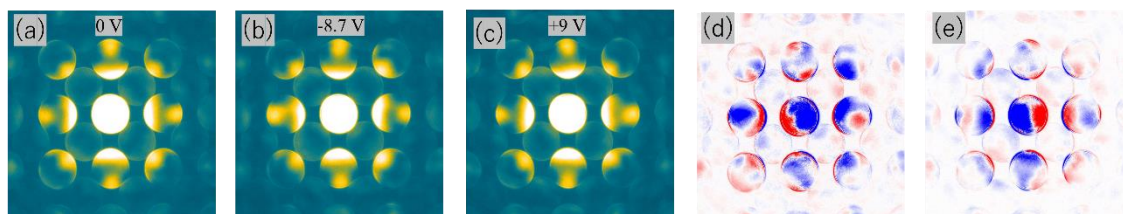


図 2. (a) ゼロ電場下での PMN [100] CBED 図形. (b) -8.7 V 印加, (c) +9 V 印加下での PMN [100] CBED 図形. (d) CBED 図形(a)と(b)の差分強度、(e) CBED 図形(a)と(c)の差分強度.

[1] 日野康平, 東北大学大学院工学研究科 修士論文 2022 年.

4D-STEM による電池正極材料の結晶相マッピング

掛谷 尚史^A, 麻生 浩平^A, 伊藤 広貴^B, 平山 雅章^B,
増田 卓也^C, 三石 和貴^C, 大島 義文^A

北陸先端科学技術大学院大学^A, 東京工業大学^B, 物質・材料研究機構^C

Crystal Phase Mapping of Battery Cathode Materials by 4D-STEM

T. Takeya^A, K. Aso^A, H. Ito^B, M. Hirayama^B, T. Masuda^C,
K. Mitsuishi^C, Y. Oshima^A

^A *Japan Advanced Institute of Science and Technology (JAIST)*,

^B *Tokyo Institute of Technology*,

^C *National Institute for Materials Science (NIMS)*

リチウムイオン電池の正極材料 LiCoO_2 (LCO) の研究が進められている。充放電を重ねると、LCO の結晶相が不可逆変化し、電池特性の劣化を引き起こす。劣化機構の解明に向けて、結晶相変化の観察が求められる。従来は、走査透過電子顕微鏡 (STEM) による原子分解能観察が主流であった。しかし、原子間距離よりも小さい間隔で電子線を走査する必要があり、電子線照射にともなう試料ダメージが課題であった。

そこで本研究では 4D-STEM に着目した。4D-STEM は、各電子プローブ位置で回折図形を得て構造を解析するため、走査間隔をより広くとれる。従来法と比べて、照射範囲を 1/100 にまで低減でき、試料ダメージの抑制が期待できる。

くりかえし充放電させた LCO を観察した。原子分解能 STEM 観察から、表面 1~3nm が単斜晶の Co_3O_4 に変化していることを確認した。 Co_3O_4 では、LCO で生じる回折波に加えて新たな回折波が出現する。4D-STEM をおこない、回折ディスクの有無を判別することで、正極表面に生じた Co_3O_4 をマッピングできた。4D-STEM によって、従来よりも低ダメージで、電池特性に直結する結晶相の可視化が期待できる。

In-situ STEM による接着界面の破壊のその場観察

齋藤 徳之, 堀内 伸

産業技術総合研究所 ナノ材料研究部門

In-situ STEM observation of failure behavior of adhesive interfaces

N. Saitoh and S. Horiuchi

Nanomaterials research Institute (NRI), AIST

接着接合部の破壊メカニズム究明に向けて、接着接合部の破壊現象に伴う極微小な変形現象をリアルタイムで STEM 観察することを検討した。Al6061 のエポキシ系接着剤との接合界面組織を FIB マイクロサンプリング法により採取し、試料両端を引っ張る機構を備えた試料ホルダー（メルビル社製）に固定し、試料両端を引っ張ることで、接着部が破壊される様子をリアルタイム観察した。き裂は接合面近傍で発生し(a)、接合面に沿って進展するものの(b)、接合面の形状により不連続となり(c)、枝別れしながら破壊に至った(d)。また、アルミ結晶相の回折コントラストから接合面近傍の応力の変化の様子や、破壊後のアルミ側に接着剤がわずかに残っていることも確認された。

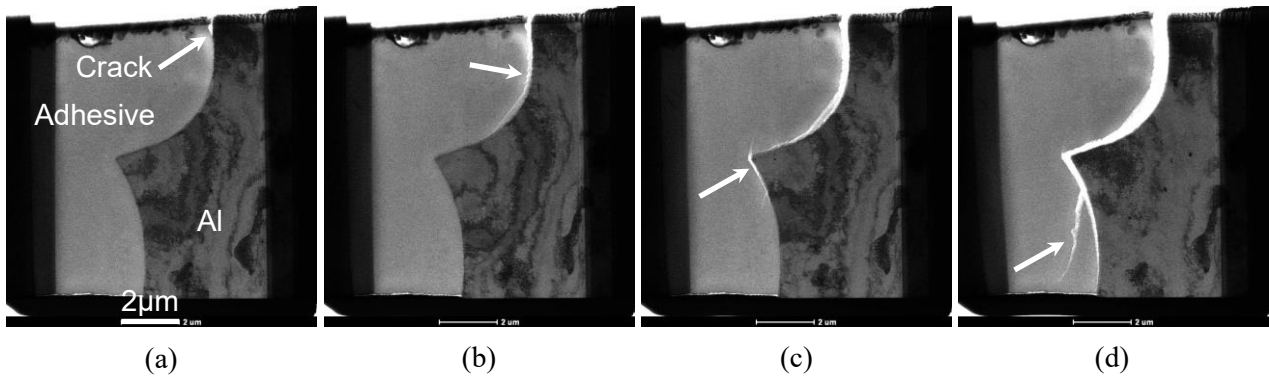


Fig.1 In-situ STEM analysis of failure of adhesive interface

Ref. 1) Horiuchi *et al.*, *Inter. J. Adhes. Adhes.*, doi.org/10.1016/j.ijadhadh.2021.103003

2) Horiuchi *et al.*, *Discover Mechanical Engineering*, doi.org/10.1007/s44245-024-00041-y

謝辞：この成果は JST、未来社会創造事業、JPMJMI18A2 の結果得られたものです。

はやぶさ 2 探査機が持ち帰った小惑星リュウグウ試料の 組織構造と磁区構造解析

山本 和生^A, 木村 勇気^B, 加藤 丈晴^A, 穴田 智史^A, 吉田 竜視^A, 谷垣 俊明^C,
明石 哲也^C, 葛西 裕人^C, 佐藤 雅彦^D, 中村 智樹^E, 塚本 尚義^B, 野口 高明^F,
藪田 ひかる^G, 奈良岡 浩^H, 岡崎 隆司^H, 橋 省吾^{D,I}

フィンセラミックスセンター^A, 北海道大学^B, 日立製作所^C, 東京大学^D, 東北大学^E,
京都大学^F, 広島大学^G, 九州大学^H, 宇宙航空研究開発機構^I

Morphological and Magnetic Analyses of Asteroid Ryugu Sample Brought by HAYABUSA-2

K. Yamamoto^A, Y. Kimura^B, T. Kato^A, S. Anada^A, R. Yoshida^A, T. Tanigaki^C, T. Akashi^C,
H. Kasai^C, M. Sato^D, T. Nakamura^E, H. Yurimoto^B, T. Noguchi^F, H. Yabuta^G,
H. Naraoka^H, R. Okazaki^H, S. Tachibana^{D,I},

^AJapan Fine Ceramics Center, ^BHokkaido Univ., ^CHitachi Ltd., ^DUniv. of Tokyo, ^ETohoku Univ.,
^FKyoto Univ., ^GHiroshima Univ., ^HKyushu Univ. ^IISAS/JAXA

我々のグループでは、S/TEM や電子線ホログラフィーを用いて、小惑星リュウグウ試料の磁性粒子（マグネタイト： Fe_3O_4 およびピロータイト： Fe_{1-x}S ($0 \leq x \leq 0.125$)) の組織構造や磁区構造観察を行ってきた[1-3]。本発表では、観察に必要な実験条件やその結果の詳細について報告する。

リュウグウの試料は、試料の変質や劣化を避けるため、できるだけ大気非暴露の状態で行う必要がある。そこで、大気暴露は卓上 SEM (JCM-7000) にバルク試料を搬送する短い時間（約 15 秒）のみに抑え、その後は大気非暴露ホルダー等を用いて観察を行った。また、今回は、太陽系形成時に記録された磁区構造を観察するため、試料の受け取りからホログラフィー観察まで、少なくとも地磁気（50 μT ）以下に抑える必要があった。そこで、JFCC が所有する FIB-SEM (NB5000, SEM は OFF) および大気非暴露冷却 FIB ホルダーを用いて -90°C で TEM 試料を作製し、その後、ホログラフィー電子顕微鏡 (HF3300-EH) のローレンツ観察位置（17 μT ）に TEM 試料を挿入し、ホログラフィー観察を行った。STEM を用いた分析は、試料が強磁場に晒されるため、ホログラフィーの実験終了後に行った。

図 1 (a) は、直径 1 μm 程度のマグネタイト粒子の TEM 像である。このような粒子はフランボイドマグネタイトと呼ばれており、水質変成により形成されたとされている。また、無重力かつゆっくりとした結晶成長により、図 1 (b) に示すような渦状磁区が形成されていることがわかった。渦状磁区は保持力が高く、太陽系形成時に獲得された 46 億年前の磁場の情報を記録している。

図 2 (a) は、別のフランボイド粒子の HAADF-STEM 像である。STEM-EDS 分析からマグネタイトと思われたが、ホログラフィーの結果（図 2 (b)）から、磁性を持たないことがわかった。また、STEM-EELS 分析から、マグネタイトとウスタイト (FeO) の両方の特徴を有していることがわかった。このような粒子は、宇宙風化によってリュウグウ表面が加熱され（800~1000 K）、マグネタイトの熱分解により形成されたとされる。その周辺には、渦状磁区を持つ Fe 粒子が多数発見された。

本研究は、文部科学省先端研究基盤共用促進事業（先端研究設備プラットフォームプログラム, JPMXS0450200421, JPMXS0450200521）で共用された機器を利用して得られたものである。

参考文献 [1] T. Nakamura et al., *Science* **379** (2023) eabn8671. [2] Y. Kimura et al.,

Scientific Reports **13** (2023) 14096. [3] Y. Kimura et al., *Nature Communications* **15** (2024) 3493.

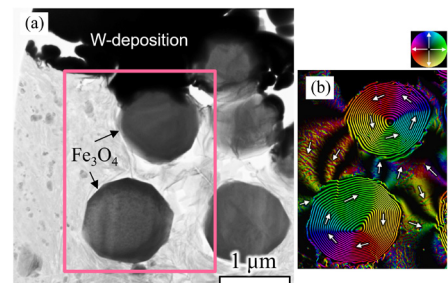


図 1 マグネタイト粒子の(a)TEM 像と(b)磁束分布像(カラーホールターマップ) ([1]より)

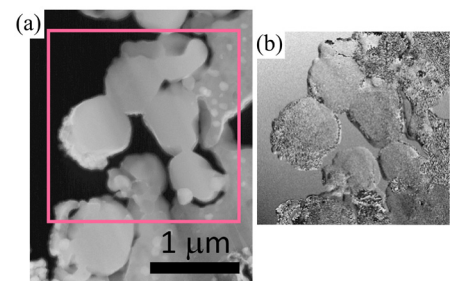


図 2 疑似マグネタイト粒子の(a)HAADF-STEM 像と(b)磁束分布像(位相像) ([3]より)

GaSe ナノリボンの電子照射によるスイッチング動作の検証

中嶋 まい^A, Chen Limi^A, 麻生 浩平^A, 高村 (山田) 由起子^A, 大島 義文^A
北陸先端科学技術大学院大学^A

Verification of Switching Operation in GaSe nanoribbon by Electron Irradiation

M. Nakashima^A, L. Chen^A, K. Aso^A

Y. Yamada-Takamura^A, and Y. Oshima^A

^ASchool of Materials Science, Japan Advanced Institute of Science and Technology

セレン化ガリウム (GaSe) は、光や電子に応答しキャリアを増加させる性質を有する層状物質として知られている[1]。この GaSe を単結晶から剥離して作製したナノリボンをチャンネル層として電子デバイスを作製できれば、ゲート電圧に代えて、電子照射によるキャリア電流の変化で ON/OFF 状態の制御が可能となり、超小型のスイッチングデバイスへの応用が期待できる。これまで、二硫化タングステン (WS₂) ナノリボンの電子照射への応答が調べられ、電子照射により電流が減少するという結果が得られている[2]。これは、予想に反するもので、コンタミネーションの影響が指摘されている。本研究では、電子照射に対する GaSe ナノリボンの応答を定量的に明らかにするため、独自に開発したその場 TEM 計測法 [3,4] を用いて、ソース・ドレイン間の電流計測と TEM 観察を同時に行った。

GaSe ナノリボンを電極間に架橋することで、TEM 観察と同時にキャリア電流計測が可能な Si チップデバイスを作製した。Si / SiN 基板に蒸着によって Au 電極 (幅: 10 μm) を作製し、この Au 電極の中央を集束イオンビーム (FIB) で切断することでナノギャップ (幅: 200 nm) を得た。GaSe ナノリボンは、粘弾性樹脂 (PDMS) を用いてピックアップし、ナノギャップにスタンプを押す要領で押し付けて転写した。GaSe ナノリボンは、この電極間を架橋するように転写したが、このドライ転写法によって、コンタミネーションが低減できていることを確認した (図 2)。

加速電圧 120 kV にて GaSe ナノリボンの形状や構造を TEM 観察しながら、印加電圧 2V でナノリボンに流れる電流を計測した。電子照射は、10 秒間照射し、60 秒間照射を停止するサイクルを繰り返した。照射がない時の電流値は 25 nA だったが、照射時には 10 倍近くの電流値に急増し、電子照射を停止すると直ちに減少した (図 3)。このような結果から、GaSe ナノリボンへの電子照射量に対する電流の増加率 (= 応答率) を導くことができた。本研究の成果は、GaSe ナノリボンの ON / OFF スwitching 速度が極めて高いことが確認され、トランジスタのゲート制御機能として期待できることを示している。

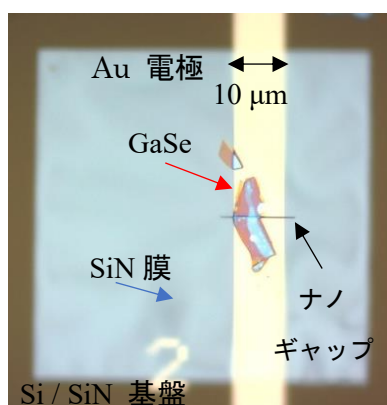


図 1 ナノギャップ上に架橋した GaSe ナノリボン像

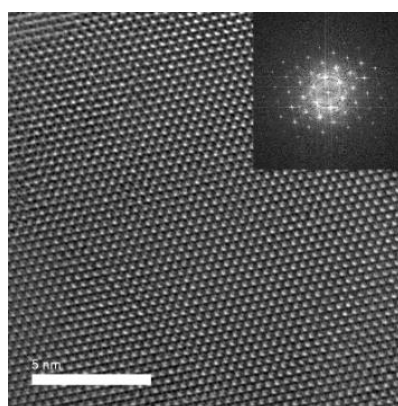


図 2 GaSe 高分解能 TEM 像

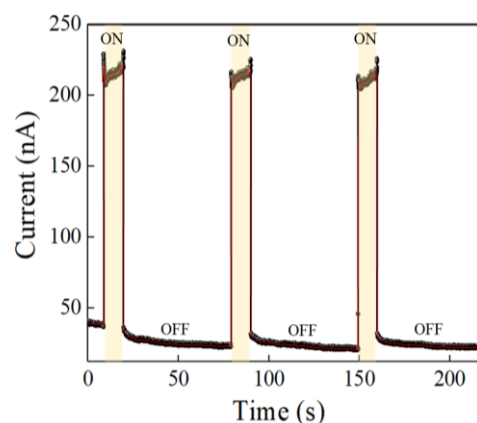


図 3 電子照射 ON/OFF サイクルの応答性

[1] D. J. Late et al., Adv. Mater. Vol.24, no.26,3549-3554 (2012).

[2] Y. Fan, et al., ACS Appl. Mater. Interfaces 8, 32963 (2016).

[3] C. Liu, et al., Carbon 165, 476-483 (2020).

[4] C. Liu, et al., Nanotechnology 32, 025710 (2020).

STEM-EDS の組成相関図を用いた Al-Mg-Si 合金の析出過程の解析
齊藤 元貴^A、武藤 俊介^A、水野 和也^B、鳥越 翔真^B、高田 健^B、岡島 敏浩^C
名古屋大学^A、大同大学^B、あいちシンクロトロン光センター^C

Precipitation evolution in Al-Mg-Si alloys using STEM-EDS compositional correlation diagram

G. Saito^A, S. Muto^A, K. Mizuno^B, S. Torigoe^B, K. Takata^B and T. Okajima^C
^ANagoya Univ., ^BDaido Univ., ^CAichi Synchrotron Radiation Center

Al 合金は軽量かつ高強度であり、加工性や耐食性に優れるため、輸送分野における構造材などに幅広く使われている。自動車に用いられる Al-Mg-Si 合金は、約 180°C の塗装焼き付け時に針状の β'' 相が析出し強化される。一方、溶体化後に 100°C 程度で保持すると、微小な時効生成物が形成し、その後の塗装焼き付け時における β'' の析出を促進する。100°C で形成する時効生成物は微小かつ母相に埋まっているため、これまで、構造や数密度等の解析が難しかった。そこで本研究では低角環状暗視野(LAADF)-STEM と STEM-EDS の組成相関図を用いて、100°C における Al-Mg-Si 合金の析出過程を調査し、引張強さの変化との相関を調査した。Al-0.59Mg-0.79Si (mass%) 合金を溶体化し、100°C で 1 h、10 h、400 h の等温時効を施した。10 h 時効材の LAADF-STEM 像から β'' 相の構造の一部を持つ GP ゾーンの形成が確認できたが、これらは 1 h の時効材では観察されず、400 h では β'' 相に発展した。マッピングの各ピクセルにおける Mg と Si の EDS 強度を、組成相関図を用いて解析し、時効生成物を抽出した。得られた数密度は 3 次元アトムプローブで得られた結果とも対応し、引張強さは生成物のサイズおよび体積分率と相関がある可能性が示された。

α -Ti 結晶の強化機構解明に向けた TEM 観察

国吉洸矢^A, 市川聡^B, 掛谷尚史^A, 麻生浩平^A, 神尾浩史^C, 大島義文^A
 北陸先端科学技術大学院大学^A, 大阪大学^B, 日本製鉄株式会社^C

TEM observation for elucidating strengthening mechanism of α -Ti structure

K. Kuniyoshi^A, S. Ichikawa^B, T. Kakeya^A, K. Aso^B, H. Kamio^C, and Y. Oshima^A
^AJAIST, ^BOsaka Univ., ^CNippon Steel Corporation.

金属材料における機械的性質の特性向上を図る手法の一つとして、溶質原子の添加が知られている。これはいわゆる固溶硬化としてよく知られた強化機構の一種である。このような溶質原子の添加による強化効果は、溶質原子により生じた格子間ひずみと転位との間の弾性相互作用に起因するものと考えられてきた¹⁾。しかし、近年の第一原理計算を用いた研究により、弾性論の適用できない”転位芯”近傍の構造と溶質原子との相互作用が材料強度に対して支配的な影響を与えることが報告されており²⁾、溶質原子と転位芯構造の相互作用が注目されている。六方晶 α -Ti について、Qian Yu らは、Ti-0.3wt%O の転位芯領域は、Ti-0.1wt%O よりも狭く、空隙が広がるため酸素原子が侵入した結果、降伏強度が増加すると報告している。本研究では、Qian Yu らの結果を検証するため、六方晶 α -Ti の試料作製を行い、透過型電子顕微鏡観察を行うことを計画した。

一般的な試料作製方法として知られている電解研磨は、作製過程で水素化物が生成することや、転位の再配列ならびに消滅などが懸念される。そこで、今回は物理的研磨であるイオンスライサを用いた試料作製を行った。初めに、切り出しと機械研磨により、厚さ 100 μ m、幅 2.5mm 程度の Ti 試料片を作製した。この試料片の上方より遮蔽ベルトを介して Ar+イオンビームの角度を連続的に変化させながら照射することで薄膜化させ、Fig.1 の赤丸で示したような穴を得る。この穴の周辺部が薄い領域となっている。Fig.2 は、穴およびその周辺領域の低倍 TEM 像である。

上述の試料作製法により、比較的広い範囲の薄膜化を達成し、TEM 観察を行うことが出来た。Fig.3 に示すように、Ti 材内に転位ループが形成していることを観察した。



Fig.1 イオンスライサによる研磨部位

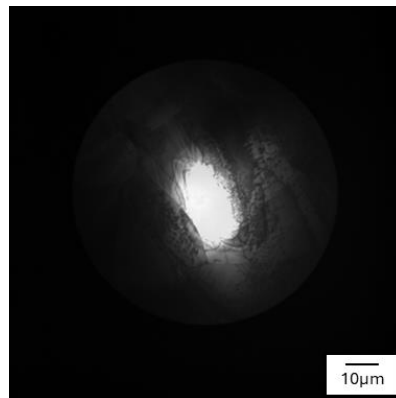


Fig.2 穴およびその周辺の薄膜部領域の TEM 像

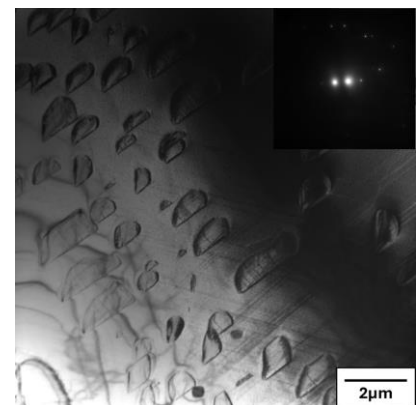


Fig.3 Ti内部組織のTEM像

- 1) 木村宏：改訂材料強度の考え方,アグネ技術センター(2002),p317
- 2) Qian Yu, Liang Qi: Origin of dramatic oxygen solute strengthening effect in titanium, SIENCE Vol 347 (2015),635-639

その場 DPC STEM によるナノ結晶軟磁性材料の磁区構造観察

許 マイケル^A, 関 岳人^{A,B}, 太田 元基^C, 河野 祐二^D, 柴田 直哉^{A,E}
東京大工^A, JST さきがけ^B, 島根大次世代たたら協創センター^C, 日本電子^D, JFCC^E

***In situ* observation of magnetic domain structure changes in nanocrystalline soft magnetic materials by DPC STEM**

M. Xu^A, T. Seki^{A,B}, M. Ohta^C, Y. Kohno^D, and N. Shibata^{A,E}

^A*School of Eng. The Univ of Tokyo.*, ^B*JST PRESTO.*, ^C*Shimane Univ.*, ^D*JEOL Ltd.*, ^E*JFCC*

ナノ結晶軟磁性材料は、液体急冷法によりアモルファス薄帯を得た後、熱処理により約 10 nm の結晶粒を析出させることで高いエネルギー効率を実現する磁性材料である。熱処理時に薄帯の長手方向に磁場印加しながら熱処理 (longitudinal field annealing: LFA) を行うことで、磁場印加しない通常の熱処理 (normal annealing: NA) を行った場合よりも保磁力が小さくなる。これは NA の場合、磁化容易軸方向に分布を持った一軸磁気異方性が生じるが、LFA の場合、磁場印加により、磁場印加方向である薄帯の長手方向に一軸磁気異方性が一様に誘導されるためであると考えられている。しかし、材料中の一軸異方性の詳細な分布は不明であり、更なる高性能材料を開発するためには局所磁気異方性分布の解明が不可欠である。本研究では微分位相コントラスト走査透過電子顕微鏡法 (DPC STEM) を用いて LFA 試料と NA 試料の磁場印加その場観察を行い、磁区構造の変化挙動を直接観察することで、磁気異方性の空間分布の調査を試みた。試料はプロテリアルの提供による。

その場 DPC STEM 観察の結果、LFA 試料と NA 試料で異なる磁区構造変化挙動が観察された。マイクロマグネティックシミュレーションと組み合わせることで、LFA 試料では薄帯長手方向に一様に一軸磁気異方性が生じているのに対し、NA 試料では異なる分布を持った一軸磁気異方性の存在が示唆された。結果の詳細は発表にて報告する。

SEM、TEMによる豆乳クリームの微細構造観察(2)

芦田 祐子^A, 柳澤 昌伸^A, 吉川 真一^B, 佐藤 亮太郎^A, 松島 英輝^C, 中山 智香子^C,
細木 直樹^C

不二製油株式会社^A, 不二製油グループ本社株式会社^B, 日本電子株式会社^C

Microstructural observation of soy milk cream by SEM and TEM II

H.Ashida, M.Yanagisawa, S.Yoshikawa, R.Sato, H.Matsushima, C.Nakayama, N.Hosogi
^AFuji Oil Co.,LTD, ^BFUJI OIL HOLDINGS INC., ^CJEOL Ltd.

大豆は、古くは古事記にも記載があり、日本の食において欠かすことのできない食材のひとつである。弊社では、特許技術であるUSS (Ultra Soy separation) 製法により、大豆から豆乳クリームを製造している。豆乳クリームは、従来の豆乳にはない深いコクを持つことがわかっている。このコクには油脂が関与していると考え、豆乳クリームにおける油脂の形態や存在状態を調べた。

豆乳製品は、水分昇華時に表面に湯葉状の被膜を形成する特性があり、昇華が進まず、低真空SEM法などでの観察が困難である課題があった。前報ではアガロースゲル包埋法による油滴表面の構造やフリーズフラクチャー法による油滴界面の構造を解析した。既報は希釈を経ているが、本報告ではCryo-FIB-SEM (CryoLameller) による観察~3D構築により、試料そのものを観察した。レーザ回折など、粒度分布の分析では夾雑するタンパク質と油滴の判別が難しいが、本法では輝度差から「油滴」として識別でき、その大きさを明確に捉えた。他、氷包埋法-Cryo-TEMなど他のクライオ技法についても研究の進捗を述べる。

1)第66回顕微鏡学会シンポジウム

グラファイトの C-K 発光異方性の定量解析

皇山雄大¹、佐藤庸平¹、寺内正己¹

¹東北大学多元物質科学研究所

Quantitative Analysis of Anisotropic C-K Emission of Graphite

Yudai Hatakeyama¹, Yohei K. Sato¹ and Masami Terauchi³

¹Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University

グラファイトの C-K 発光の異方性は、 σ 結合軌道と π 結合軌道の空間分布の異方性によって理解されており、X 線発光強度の角度依存性から σ, π 結合軌道成分の状態密度 (DOS) 分布を導出するための理論式[1]が提唱されている。しかし、そこでの理論式は各軌道が c 軸および c 軸垂直方向に沿って双極子が分布しているという近似をもとに導出されており、原子軌道の広がりには考慮されていなかった。本研究では、X 線発光異方性の定量解析を実現するため、グラファイトの結合軌道の空間的広がりを考慮した発光強度の角度依存性のシミュレーションを行った (図 1、本年 6 月の顕微鏡学会にて発表)。これまでの近似式では、Angle=0 で強度ゼロであるが、軌道の空間的広がりを考慮すると、Angle=0 でも有限の強度が観測されるはずである。実際、それに対応する実験を行った所、シミュレーション結果と同じく有限の強度を観測できた (図 2)。この実験結果を再現する発光強度角度依存性の評価式の構築を行っており、それによる X 線発光分光スペクトルの成分分離を試みている。発表では、シミュレーションと実験の結果に基づく評価式の進展状況と、その理論式による成分分離の精度向上の可能性について議論する。

[1] A.Mansour, et al., PRB 31, 6521-6524 (1985).

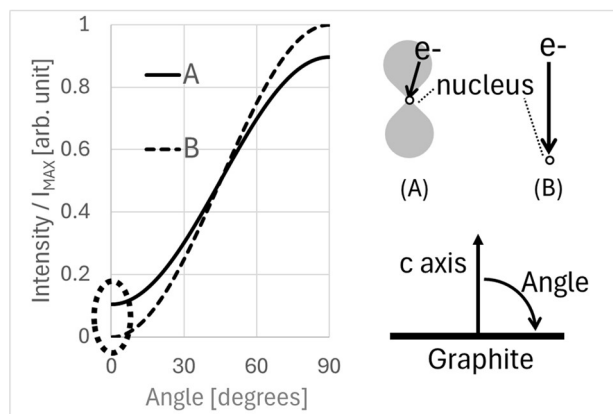


図 1 シミュレーション結果。軌道の空間的広がりを考慮したモデル (A) と広がりを考慮していないモデル (B)。

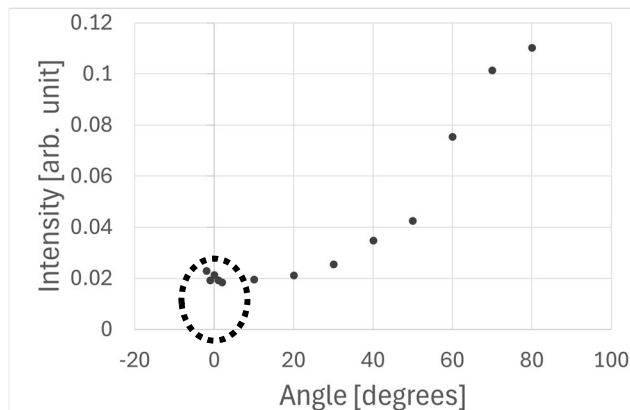


図 2 グラファイトの C-K 発光スペクトルにおける、 π 成分領域の積分強度の角度依存性の実験結果。Angle=0 においても有限の発光強度が観測されている。

全太陽光利用のためのマルチ元素タングステン酸における結晶欠陥の効果

林 學毅^A、Melbert Jeem^B、張 麗華^B、渡辺 精一^B

北海道大学工学院^A、北海道大学工学研究院^B

Effect of Crystalline Defects in Multielement-Doped Tungstic Acids for All-Solar Utilization

Hsueh-I Lin^A, Melbert Jeem^B, Lihua Zhang^B, Seiichi Watanabe^B

^AGraduate School of Engineering, Hokkaido Univ., ^BFaculty of Engineering, Hokkaido Univ.

【緒言】

太陽光エネルギーを有効に利用するため、発電電力を貯蔵する方法は極めて重要である。しかし、太陽光発電装置から充電材料に輸送する途中のエネルギー損失は避けられない。そのため、直接充電できる太陽光エネルギー変換材料への期待が高まっている。光照射により充電反応を誘発されることができる材料開発において、全太陽光波長を対応させるために多元素ドーピングにより複合酸化物を合成して、バンドギャップを調整するのは有用な手法である。しかし、既存の複合酸化物合成法は、高温高压での反応、煅焼の必要性や溶液内不純物の混入の影響などの問題が懸念される。これらの問題を解決するため、本研究室では水中結晶光合成 (SPsC) 法を提案する。SPsC 法は常温常圧の水中で試料に光を照射することで結晶を合成する方法であり、不純物無、低環境負荷のメリットが期待できる。先行研究で、SPsC 法により簡便に二元複合系ナノ酸化物を合成することを示した[1-2]。そこで本研究では、SPsC 法によりマルチ元素ナノ複合タングステン酸を作製し、元素ドーピング由来の欠陥が光電気化学性能に対する影響を調査した。

【実験方法】

Mo と W 金属を過酸化水素に溶解させ、その後溶液を3日間紫外線照射した。その後 Cu、Fe、Mn 粉末を溶液に入れ、1日間紫外線照射した。その結果、溶液の色が変化し、酸化物を晶出した。晶出した沈殿物を遠心分離させ、乾燥機にて乾燥させた。試料は XRD、SEM、STEM、XPS、EDS-Mapping を用いて微細構造の解析を行った。光吸収性能を評価するため、UV-Vis-NIR 吸光度測定および DFT 計算により解析した。また、太陽光貯蔵能力の解析は、疑似太陽光の照射に伴う電気化学測定によって光静電容量を計算した。

【結果】

SPsC 法により、W、Mo、Cu、Fe、Mn を含むマルチ元素ナノ酸化物の作製を成功した。ドーピング後のタングステン酸は高い可視・近赤外吸収を示した。また、元素ドーピング後、太陽光照射によって生成した静電容量が 18.7 倍に増加した。

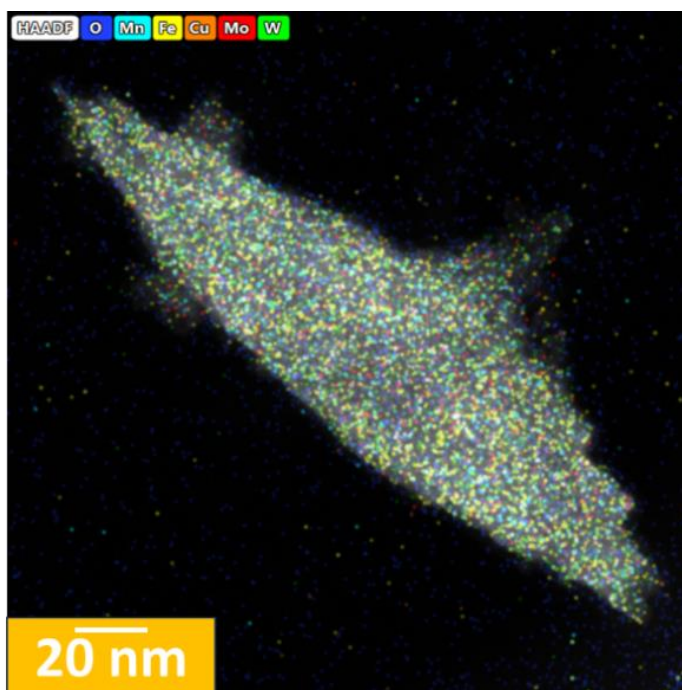


Fig 1. マルチ元素ナノ酸化物の STEM-EDS-Mapping 図

[1] H.-I. Lin et al., ACS Appl. Nano Mater. 2023, 6, 8325–8334

[2] M. Jeem, A. Hayano, H. Miyashita, M. Nishimura, K. Fukuroi, H.-I. Lin, L. Zhang, S. Watanabe, Adv. Mater. 2023, 2305494

公益社団法人 日本顕微鏡学会
第 67 回 シンポジウム
予稿集

発 行 日 令和 6 年 10 月 28 日

編集・発行 公益社団法人 日本顕微鏡学会

第 67 回シンポジウム実行委員長 柴山 環樹
北海道支部長 橋本 直幸