

「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」

平成 18 年度採択研究代表者

永山 國昭

(自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター 教授)

「 ns - nm 分解能の光子・電子ハイブリッド顕微鏡の開発」

1. 研究実施の概要

課題： 光・電子ハイブリッド顕微鏡 期間：06 年 10 月～07 年 3 月末

電子顕微鏡の鏡筒内に光学顕微鏡の光学系を配置し、電子顕微鏡像と光学顕微鏡像を同じ標本から完全同時に、または、ほぼ同時に取得し、両者において欠けている情報を補うことにより、標本内の分子の種類と局在に関する知見を完全なものにする。

電子顕微鏡組み込み型の位相差光学顕微鏡の可能性について検討、顕微鏡の 4 種の観察方法（通常法、暗視野法、位相差法、蛍光観察法）すべてが可能で、光学レンズ系を基本構想としてまとめた。同一視野を、光学顕微鏡と TEM の二つの方法で相互干渉なくリアルタイムで観察可能となる。

基礎実験として、同一生物試料の光学顕微鏡観察と TEM 観察の比較実験を企画、光学顕微鏡の観察データ取得は完了した。4 月から、TEM 観察を始める。ハイブリッド顕微鏡本体の詳細は設計中であるが、光学レンズ部品、照射ランプ、等の主な備品購入は終了。光学レンズ部品の孔あけ加工も終了した。

課題： 光電子銃の開発 期間：06 年 10 月～07 年 3 月末

生物試料が損傷を受ける前に、極短時間パルス電子線で TEM 像観察するため光電子銃開発が課題である。以下の検討を進めた。

光電子を得る方法は、光源として、金、銅、などに紫外線 Laser を照射する方法（発光効率は～0.004%と低い光源は安定な金属なので通常真空でよい、しかし、紫外線強力 Laser が必要で大型、危険が伴う。）と、発光効率の良い Cs 等の化合物に、Ar イオン Laser を当てる方式（発光効率は～10%と高いが、発光効率の良い物質は化学的に極めて活性で酸素、水分と反応し劣化するため、超高真空が必要）。

後者の Cs 化合物による光電板の開発を行うことを決定し、設計を開始した。また、従来の「電子銃と照射レンズ系」では、発生電子の一部のみ利用しているが、極短時間パルス電子線では、電子数の不足が想定でき、発生電子線を有効利用できる「専用の電子銃と照射レンズ系」の開発を開始した。

2. 研究実施内容

課題： 光・電子ハイブリッド顕微鏡

期間：06年10月～07年3月末

電子顕微鏡と光学顕微鏡の分解能には大きな差があるが、それらの装置で得られる画像の質を比較した場合、どのような評価となるのであろうか？この問題は、これまでそれぞれがあまりに違う観察手段として認識されていたので、微細な形態観察をする研究者の間でもあまり考えられてこなかった。本計画を進めるにあたり、実際の装置ができる前に評価してみることを進めた。すなわち、電子顕微鏡用の超薄切片を作り、電子顕微鏡用の染色と光学顕微鏡用の染色を重ね、2つの別々の装置で観察し、その画像のS/Nを比較した。当初、光学顕微鏡による画像生成が行えないのではないかという心配があったが、超薄切片の微分干渉法と位相差法とによる観察で、共に十分な光学的コントラストが得られ、高いS/Nがあることが分かった。このことにより、本計画の基本的アイデアが間違っていないことが確認された。

電子顕微鏡の光学系の軸上に、ガラスレンズ系を装填し、光での観察と、電子線での観察が同一試料で同時観察でき、倍率も独自に設定可能とする方法を検討した。4種の光学観察方法（通常法、暗視野法、位相差法、蛍光観察法）すべてが可能とするための条件は以下となった。光学レンズ系：OM最高倍率は $\sim 40\times$ 、CCDからdisplay上への拡大を $20\times$ として、総合： $\sim 800\times$ 分解能としては、 $\sim 1\mu$ 程度が見込まれる。

光学レンズ、ミラー等のガラス器材はEdmund社から購入した。ガラスレンズの加工は、(株)サートンワークスに依頼し、実用十分な加工結果が得られた。接眼レンズは、Nikonのカメラ用市販zoomレンズを購入した。光学部品：照射ランプ等備品は全てOlympus製品を購入した。CCDカメラとしてワテック(株)のCCDカメラを購入した。

今後の課題として、以下がある。

孔加工後、導電性を持たせる表面処理の処理を行う。軸合わせ可能な、各取付け部の設計。光学系の真空外での性能評価終了後、TEMに装着し、光・電子ハイブリッド顕微鏡としての総合評価を行う。

課題： 光電子銃の開発

期間：06年10月～07年3月末

Laserで光電子を得る方法は以下二つの方式が考えられる。

- A) 金、銅などの金属に紫外線Laserを照射する。発光効率は $\sim 0.004\%$ （光子25000個で電子一個）光源は安定な金属なので通常真空でよいが、紫外線強力Laserが必要で大型、危険が伴う。
- B) 発光効率の良いAs、Cs等の化合物に、ArイオンLaserを当てる方式。発光効率は $\sim 10\%$ （光子10個で電子一個）発光効率の良い物質は化学的に極めて活性で酸素、窒素と反応するため、超高真空が必要。一方、Laserとしては比較的安価な半導体Laserの使用も可能。この結果、電子発生効率が2500倍のすぐれているB)の方法に重きをおいて可能性の検討を進めた。

As、Cs等の化合物の光電子発生部：光電子Emitter製作には、専用の超高真空蒸着装置の開発が必要不可欠であり、真空排気は水分圧を下げるために、TMPとcryo-pumpで排気することを決めた。生成したEmitterの特性は、Laser照射してテストする機能をつける。

主な仕様

真空排気系	TMP、cryo-pump、	～100°Cのbaking可能
到達真空度	10 ⁻⁷ Pa order	
真空計	ピラニー、ペニング、BAゲージ	
真空蒸着	電流過熱方式、及び、電子ビーム加熱	

TEMの電子銃としての機能は、従来の「電子銃と照射レンズ系」では、発生電子の一部のみ利用しているが、極短時間パルス電子線では、電子数の不足が想定でき、発生電子線を有効利用できる、最小のレンズ数で、光源と試料の距離が最小になる「専用の電子銃と照射レンズ系」の開発が必要と判断、構想設計を進めている。

開発要素が多数ある比較的困難な課題であるので、2007年度は装置づくりに専念する。As、Cs等の化合物の光電子発生部の製作条件を開発する事が大きな課題である。専用電子銃・照射レンズ系については、従来のLaB6 emitterと組み合わせて、TEMに装着し実装評価を行う計画である。

3. 研究実施体制

(1)「岡崎統合バイオ」グループ

①研究分担グループ長：永山 國昭(自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター 教授)

②研究項目

- ・光電子パルスによる電子線損傷低減法の開発

(2)「日本電子」グループ

①研究分担グループ長：大蔵 善博 (日本電子(株) チームリーダー)

②研究項目

- ・電子・光子ハイブリッドレンズ系の開発