

先端光源を駆使した光科学・光技術の融合展開  
平成 21 年度採択研究代表者

H25 年度 実績報告
----------------

川田 善正

国立大学法人静岡大学 電子工学研究所  
教授

電子線励起微小光源による光ナノイメージング

## §1. 研究実施体制

### (1)「静大」グループ

- ① 研究代表者:川田 善正 (静岡大学電子工学研究所、教授)
- ② 研究項目
  - ・光電変換膜の作製・評価・高機能化
  - ・微小光源励起システムの設計・製作・評価

### (2)「浜医大」グループ

- ① 主たる共同研究者:寺川 進 (浜松医科大学メディカルフォトニクス研究センター、教授)
- ② 研究項目
  - ・光ナノイメージングのための生物試料のマニピュレーション法の確立と評価

## §2. 研究実施の概要

研究項目：光電変換膜の作製・評価・高機能化

本研究では、収束電子線を蛍光薄膜に照射し微小点光源を励起して試料を観察する高分解能光学顕微鏡の開発している。ナノメートルスケールの分解能を持つ光学顕微鏡を実現するために、電子線ビームにより蛍光薄膜を励起し、微小光源を形成し走査するシステムを提案し、開発を進めている。電子線照射による微小光源を実現するための蛍光薄膜の開発を行なった。電子線照射により、高輝度・高効率に発光する材料について検討し、ZnO 蛍光薄膜の開発、Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>を用いたベースとした新規な蛍光材料の開発を行なった。蛍光膜は真空と大気圧を分離する封止膜としても機能するため、機械的強度が必要である。そこで機械的強度の高い Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 膜上に ZnO 膜を形成した。RF マグネトロンスパッタ法によって、基板温度を 500°C 以上に加熱して成膜することにより、より高い発光強度を有する蛍光薄膜を形成した。基板温度 500°C で成膜した基板では、高い発光強度が得られ、200°C で成膜した基板より、37 倍も増強されることを確認した。

研究項目：微小光源励起システム的设计・製作・評価

走査型電子顕微鏡光学系を用いて電子ビームを収束させ、蛍光薄膜に照射するシステムの課題について検討した。蛍光薄膜状に電子線を照射し、微小光源を励起し、その微小光源の基礎特性を検討した。平成 24 年度までに開発した基礎システムにおいて、試料観察を行ない、システムの問題点を明らかにするとともに、高機能化を検討した。具体的には、検出器の感度を向上させ、より高感度に検出可能なシステムを構築した。微小光源の発光波長、発光強度、走査速度などを詳細に検討し、また観察システムにおいて、2 色同時に観察できる顕微鏡光学系を組み込んだ。生物試料を観察する際に電子線照射によって試料から生じる自家蛍光と蛍光薄膜からの発光強度が混在すると、試料の結像特性が複雑になる。そのためそれぞれの蛍光を分離かつ同時に検出するためのシステム構成を検討し、実際に基礎システムに組み込んだ。実際に HeLa 細胞、MARCO 細胞などの観察を行い、システムの有効性を検証した。

研究項目：光ナノイメージングのための生物試料のマニピュレーション法の確立と評価

細胞を Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 基板に接着させるための基板表面の改質方法について検討した。開発を進めている顕微鏡では、蛍光薄膜表面を高分解能で観察できるため、細胞と基板との密着性を向上させることが大きなキーポイントの一つとなる。細胞を基板に密着させるために、Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 薄膜の表面をカルボキシル基で改質し、生体適合性を向上させた。Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 薄膜にカルボキシル基を結合させ、その濃度を制御することにより、基板の親水性を制御した。その結果、カルボキシル基濃度が  $3 \times 10^{31}$  [cm<sup>-2</sup>] 程度の濃度で高い密着性を示すことを明らかにした。また、密着性を向上させた基板上に HeLa 細胞を培養し、電子線励起による観察を行なった。密着性を向上させたことにより、試料内部の顆粒の分布などが高分解能で観察できることを確認した。

また電子線照射による細胞へのダメージを軽減する手法について検討した。蛍光膜上に金属薄膜をコーティングすることにより、電子線の透過率を軽減する方法について検討した。モンテカルロ・シミュレーションと時間差分有限領域法を組み合わせた解析手法により、金薄膜を 10-20nm の厚みでコートすることにより、分解能を低下させずに電子線の透過率を小さくすることが可能であることを示した。

### §3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### 論文詳細情報(国内)

1. 三宅 亜紀、金森 聡、居波 涉、小南 裕子、川田 善正、中西 洋一郎, “蛍光体薄膜の電子線励起アシスト顕微鏡光源への応用”, 映像情報メディア学会誌, (in press).

##### 論文詳細情報(国際)

1. Hiroaki Satoh, Ken Kawakubo, Atsushi Ono, Hiroshi Inokawa, “Material Dependence of Metal Grating on SOI Photodiode for Enhanced Quantum Efficiency”, IEEE Photonics Technology Letters, Vol. 25, No. 12, pp. 1133-1136, 2013 (DOI: 10.1109/LPT.2013.2260138).

2. Wataru Inami, Yasunori Nawa, Yoshimasa Kawata, “Nanophotonics for Live Cell Observation with High Resolution”, 2013 International Conference on QiR (Quality in Research), pp. 1-4, 2013 (DOI: 10.1109/QiR.2013.6632524).

3. Atsushi Ono, Masakazu Kikawada, Rentaro Akimoto, Wataru Inami, Yoshimasa Kawata, “Fluorescence enhancement with deep-ultraviolet surface plasmon excitation”, Optics Express, Vol. 21, No. 15, pp. 17447-17453, 2013 (DOI: 10.1364/OE.21.017447).

4. Shuichi Suzuki, Akinori Konno, Keiji Okada, “Photoinduced electron transfer of platinum(II) bipyridine diacetylides linked by triphenylamine- and naphthaleneimide-derivatives and their application to photoelectric conversion systems”, Phys. Chem. Chem. Phys., Vol. 15, No. 21, pp. 8088-94, 2013 (DOI: 10.1039/c3cp50182e).

5. Akito Chiba, Shinnosuke Tanaka, Wataru Inami, Atsushi Sugita, Kazumasa Takada, Yoshimasa Kawata, “Amorphous silicon nitride thin films implanted with cerium ions for cathodoluminescent light source”, Optical Materials, Vol. 35, No. 11, pp. 1887-1889, 2013 (DOI: 10.1016/j.optmat.2013.02.018).

6. F. Iwata, Y. Ohashi, I. Ishisaki, L.M. Picco, T. Ushiki, “Development of nanomanipulator using a high-speed atomic force micro scope coupled with a haptic device”, Ultramicroscopy, Vol. 133, pp. 88-94, 2013 (DOI: 10.1016/j.ultramic.2013.06.014).

7. Atsushi Sugita, Yasuaki Sato, Kazuma Ito, Kenta Murakami, Yasuaki Tamaki, Nobuyuki Mase, Yoshimasa Kawata and Shigeru Tasaka, “Second-order nonlinear

optical susceptibilities of nonelectrically poled DR1-PMMA guest-host polymers”, *J. Phys. Chem. B*, Vol. 117, No. 47, pp.14857-14864, 2013 (DOI: 10.1021/jp407892b).

8. Atsushi Sugita, Masashi Kamiya, Chiyu Morita, Aki Miyake, Yasunori Nawa, Yuriko Masuda, Wataru Inami, Hiroko Kominami, Yoichiro Nakanishi, Yoshimasa Kawata, “Nanometric light spots of cathode luminescence in  $Y_2O_3:Eu^{3+}$  phosphor thin films excited by focused electron beams as ultra-small illumination source for high-resolution optical microscope”, *Optical Materials Express*, Vol. 4, No. 1, pp. 155-161, 2014 (DOI: 10.1364/OME.4.000155).

9. Kazuma Ito, Yasuaki Sato, Ryosuke Takasu, Nobuyuki Mase, Yoshimasa Kawata, Shigeru Tasaka and Atsushi Sugita, “Second order nonlinear optical susceptibilities in non-electrically poled guest-host polymers with novel tricyanofuran chromophores”, *Jpn. J. Appl. Phys.* vol. 53, pp. 01AD09, 2014 (DOI: 10.7567/JJAP.53.01AD09).

10. Yasunori Nawa, Wataru Inami, Aki Miyake, Atsushi Ono, Yoshimasa Kawata, Sheng Lin, and Susumu Terakawa, “Dynamic autofluorescence imaging of intracellular components inside living cells using direct electron beam”, *Biomedical Optics Express*, Vol. 5, No. 2, pp. 378-386, 2014 (DOI: 10.1364/BOE.5.000378).

11. Atsushi Ono, Masakazu Kikawada, Wataru Inami, Yoshimasa Kawata, “Surface plasmon coupled fluorescence in deep-ultraviolet excitation by Kretschmann configuration”, *Frontiers of Physics*, Vol. 9, No. 1, pp. 60-63, 2014 (DOI: 10.1007/s11467-013-0385-x).

12. F. Iwata, K. Yamazaki, K. Ishizaki, and T. Ushiki, “Local electroporation of a single cell using a scanning ion conductance microscope”, *Jpn. J. Appl. Phys.*, Vol. 53, pp. 036701 (5 pages), 2014 (DOI: 10.7567/JJAP.53.036701).

13. N. Dematage, E.V.A. Premalal and A. Konno, “Employment of CuI on  $Sb_2S_3$  Extremely Thin Absorber Solar Cell: N719 Molecules as a Dual Role of a Recombination Blocking Agent and an Efficient Hole Shuttle”, *Int. J. Electrochem. Sci.*, Vol. 9, pp. 1729-1737, 2014.

14. Yasunori Nawa, Wataru Inami, Sheng Lin, Yoshimasa Kawata, Susumu Terakawa, Chia-Yi Fang, Huan-Cheng Chang, “Multi-Color Imaging of Fluorescent Nanodiamonds in Living HeLa Cells Using Direct Electron-Beam Excitation”, *ChemPhysChem*, Vol. 15, No. 4, pp. 721-726, 2014 (DPI: 10.1002/cphc.201300802).

15. Aki Miyake, Satoshi Kanamori, Yasunori Nawa, Wataru Inami, Hiroko Kominami, Yoshimasa Kawata and Yoichiro Nakanishi, "Formation of ZnO luminescent films on SiN films for light source of high-resolution optical microscope", Japanese Journal of Applied Physics (in press).

16. S. Ito and F. Iwata, "Development of a Self-Sensing probe for Local Depositions in Liquid Condition", International Journal of Nanomanufacturing (in press).  
[proceedings]