

S1 招待講演

11月24日(水) 13:05 ~ 14:45 大ホール

電子顕微鏡が先導する材料科学

ー ミクロ~マクロをつなぐ顕微学の未来 ー

Materials Science Guided by State-of-the-art Electron Microscopy

Future perspectives of a role of microscopy to bridge the gap between 'micro' and 'macro'

阿部 英司 東大工

E. Abe

School of Engineering, University of Tokyo

材料中の原子配列を直接観察できる電子顕微鏡法は、他手法では解析困難な対象に対してしばし ば唯一無二の機会を与えてくれる。材料科学を成す柱の一つは、マクロな材料特性を支配するミク ロ状態(組織,格子欠陥等々)の特徴を理解することにある。最新の電子顕微鏡を駆使して容易に ミクロスケールの組織・構造に接する我々は、常に「葉を見て森を見ず」とならぬよう心がけねば ならない。

近年、世界的な注目を集めるに至った高強度 LPSO 型 Mg 合金には、Mg 本来の hcp 構造とは異 なる新奇な長周期構造(シンクロ型 LPSO 構造)が形成されている。それゆえ、発見当初は LPSO 構造特有の原子配列に起因して高強度が実現していると考えられたが、実際には LPSO 構造を形成 しただけでは合金は強化されない。LPSO 構造相を含む Mg 合金に高温加工を施し、合金中に高密 度のキンク変形領域を導入(図1)することによって初めて高強度が発現する。従来、異方性が強 い結晶固体の格子回転を伴うキンク変形は、強度劣化の原因とされることはあっても、材料強化に 寄与し得るとは考えられていなかった。LPSO 型 Mg 合金がキンク強化されることは、予想外の発 見であった。添加元素量を抑えた希薄 LPSO 型 Mg 合金系では、LPSO 構造の構造ユニットである 添加元素が濃化した積層欠陥(SESF)が hcp-Mg マトリクス中にまばらに、かつ無秩序に配列する 層状構造が形成される。最近、このように無秩序かつ疎な層状構造においてもキンク変形が生じ、 高強度が発現するという興味深い事実が判明しつつある。

双晶と同様の格子回転型の変形であるにもかかわらず、なぜキンクがミクロな破壊起点を与えず、 材料強化に有効となり得るのであろうか。我々は、キンク変形の微視的理解のためには回位

(disclination)¹⁻³⁾(図2)が鍵であると考えている。結晶固体における回位の有無は、1970年代に 集中的に議論されたことがあったが、結晶変形は転位(dislocation)による解釈でほぼ事足りてしま うこともあり、回位の議論がそれ以上深まることは無かった。講演では、回位に着目したキンク変 形組織の解析を中心に、層状構造を持つMg合金のミクロ構造の特徴を述べる。

- (1) A. Romanov, Dislocation in solids 9 (1992)
- (2) 石田洋一, 日本結晶学会誌 18 (1976) 383.
- (3) 北野保行, 電子顕微鏡 25 (1990) 2.



図1 層状構造型 Mg 合金のキンク変形組織



図2 Volterra による転位・回位の分類

顕微解析対象としての生命科学の根本規範:ゲノムからエピゲノムへ 小路武彦 長崎大研究開発推進機構

Microscopic Analysis of "Grundnorm" in Life Science; from Genome to Epigenome

T. Koji

Office of Research Initiative and Development, Nagasaki University

生命の理解に於いて、細胞の増殖、分化及び死をパラメーターとする細胞の生理状態及び病理状 態を正確に把握することが求められている。その為には細胞単位で特異的な遺伝子発現とその制御 機構の解明が不可欠であり、その機構の一つとして劇的なリバイバルを遂げたのがエピジェネティ クスである。エピジェネティクスは、Waddington(1942)によって提唱された遺伝子 DNA 配列(ゲ ノム)に変化を起こすことなく細胞特異的な遺伝子発現を長期的に且つ世代を超えて制御する機構 であり、その本体(エピゲノム)は DNA のメチル化及びヒストン蛋白の修飾パターンであるが、 miRNA 等の non-coding RNA やエクソソーム等もエピジェネティックな制御機構として知られてい る。特に前二者はクロマチン構造変化を基盤とする調節であり本質的である。更にこれらの解析に は、細胞内での特定分子の正確な挙動を追うシステムが必要であり、顕微鏡学と組織細胞化学との 融合が成否を分ける。我々はこれまで、哺乳類精子形成過程、特に高頻度な生殖細胞死の誘導機構 に興味をもち、生命の renewal への洞察を試みている。実際、精子形成細胞分化過程では精子核へ 向けて規則的にクロマチン凝集が進行する。この凝集には DNA メチル化が必要であるが、高頻度に 生じるアポトーシス細胞では CCGG 配列に特異的な脱メチル化が HELMET 法により検出され、また 5azadC 投与による DNA の脱メチル化による生殖細胞死誘導等、クロマチン凝集異常とアポトーシス 誘導の関連が示唆された。更に、ヒストン蛋白修飾の解析では、種々のモノクローナル抗体を利用 した免疫組織化学的解析により、ヒストン H3K9 や H3K18 のアセチル化や H3K4 及び H3K27 のメチル 化が精子形成細胞分化段階で大きく変動することが判明し、例えばヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC)阻害剤によるアセチル化の促進やヒストンアセチル転移酵素(HAT)の shRNA によるノックダ ウンによるアセチル化阻害が異なる分化段階の細胞死を引き起こす事を示してきた。これらの研究 結果や下垂体細胞の分化転換及びがん細胞動態への影響など、最近の研究成果を中心としてエピジ ェネティクス研究の生命科学領域での今後の発展性と超解像顕微鏡を含めた視覚的・形態学的解析 方法の不可分性をお示ししたい。

References

• Koji T & Shibata Y (2020) Global changes in epigenomes during mouse spermatogenesis: Possible relation to germ cell apoptosis (Review). Histochem Cell Biol 154: 123-134. • Tun N et al (2019) Histone deacetylase inhibitors suppress transdifferentiation of gonadotrophs to prolactin cells and proliferation of prolactin cells induced by diethylstilbestrol in male mouse pituitary. Histochem Cell Biol 151: 291-303. • Zhu K et al (2018) Analysis of H3K27me3 expression and DNA methylation at CCGG sites in smoking and non-smoking patients with non-small cell lung cancer and their clinical significance. Oncol Lett 15: 6179-6188



S3 基調講演

11月24日(水) 16:30 ~ 17:30 大ホール

Nanoscale Crystal Cartography and Scanning Electron Diffraction P.A. Midgley Department of Materials Science and Metallurgy, University of Cambridge, 27 Charles Babbage Road, Cambridge, CB3 0FS, UK.

Over the past decade or so there has been some remarkable advances in transmission electron microscopy, not just with the advent of aberration correctors and monochromators but also new direct electron cameras and super-fast and efficient detectors. Moreover, there has been a rapid rise in associated computational power with new software available to enable fast analysis of very large data sets. Over this time there has been a renewed interest in quantitative crystallographic mapping, or 'crystal cartography', using the (scanning) transmission electron microscope, (S)TEM. These advances have led to a convergence of interest between the electron imaging and diffraction communities, both of whom are now acquiring large multi-dimensional data sets composed of diffraction patterns acquired at every real space pixel within the scan.

For crystallographic mapping at the nanoscale, a near diffraction-limited (almost parallel) beam is used to form 'spot' patterns which extend out in reciprocal space, with a resolution beyond 0.1nm⁻¹, but are formed with (real space) probes typically 3-4nm in diameter. This type of mapping is often called 'scanning electron diffraction', or SED and is ideal for nanoscale crystallography. Of course, improved real space resolution (<0.1nm) can be achieved with highly convergent (aberration-corrected) beams but the resulting overlap of convergent beam discs seen in the diffraction patterns lends itself more to ptychography (imaging) than crystallography (diffraction).

A series of diffraction patterns recorded by SED may be used to determine relative changes to the geometry of individual patterns across the region of interest and those changes used to determine crystal orientations and strain. Spatial variations in diffracted intensity can be used to form 'virtual' dark field (VDF) images whose interpretation, to a good approximation, can be based on the traditional column approximation used in conventional DF imaging.

In this paper we will show how SED may be used to provide nanoscale crystallographic information not readily obtained using other techniques. In particular we will highlight how fast acquisition of SED patterns (ca. a few ms) allows for the study of highly beam-sensitive materials, such as low-dimensional and pharmaceutical crystals, and semi-crystalline polymers. Examples will also be highlighted that show how SED may be used to identify complex metallic phases, to determine orientation relationships in alloys, and be combined with electron tomography to investigate crystallography in 3D.

I will also look to the future, with a brief discussion of how SED may develop further using the new CMOS-based cameras with new scan geometries and data acquisition strategies, and the increasingly important use of machine learning and automation.



S4

トモグラフィーと関連技術の最前線 材料科学の展開

11月25日(木) 9:00 ~ 10:30 大ホール

ソフトマテリアルの電子顕微鏡観察における最近の話題 陣内 浩司^A 東北大 多元研^A

Current Topics of Electron Microscopy in Soft Materials H. Jinnai^A

^AInstitute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University

我が国の輸出品目の上位は、自動車およびその部品、半導体などの電子部品、鉄鋼、プラスチック、 有機化合物などの材料デバイスや製品であり、これらの素材産業および機械産業が我が国を支えて います。素材産業は我が国が伝統的に強い分野であり、様々な材料の複合化により多種多様の先端 材料が開発されてきました。特に高分子に代表されるソフトマテリアルとナノスケールの無機材料 (ハードマテリアル)の複合化は、新機能性材料の創成の鍵となる組み合わせであり、このような "ナノコンポジット"における構造と機能の相関関係の解明は、新素材開発に極めて重要と言えま す。航空産業で日本勢が圧倒的なシェアを確保している「炭素繊維強化プラスチック(CFRP)」、ま た、カーボンブラックとゴムを複合化した「タイヤ」などは最も成功した複合化材料の例と言えま す。

さて、ナノコンポジットの構造において検討すべき項目は多岐にわたります。構成要素である無 機材料や高分子の性能改良はもちろんですが、構造面では、高分子の結晶構造、特に、無機材料極 近傍での配向や結晶化度の制御、無機材料のソフトマテリアル中での分散状態、などがナノコンポ ジットの諸物性に重要であることは産業界でも古くから認識されてきました。無機物質の3次元分 散構造については、X線散乱による解析が見られる一方、やはり透過型電子顕微鏡(TEM)や走査 型電子顕微鏡(SEM)による実像観察が直感的です。今世紀初頭の電子線トモグラフィ法(3D TEM) [1]の登場は、ナノコンポジットの構造解析に大きな進歩をもたらしました。この手法によると、ソ フトマテリアル中の無機材料の3次元構造の直接可視化が実現可能となるばかりでなく、3次元像 を有限要素法と共に用いることで、ナノコンポジットの力学物性の予測が可能となりました[2]。こ のような実験(3D TEM)と計算科学(有限要素法、FEM)の融合研究は、低燃費タイヤの基礎確立 に貢献し [3]、その技術は実用タイヤにすでに応用されています。

しかし、この融合研究には問題があります。3D TEM の実験結果は FEM の入力データとして使われるだけで、(延伸や圧縮などの)変形時のナノコンポジットの内部構造は、FEM により予測されたに過ぎず、実験的に確認されたものではありません。そのため、延伸下でのナノコンポジットの3次元構造が(FEM により)予想されたものと同一かどうかは分からないということになります。つまり、変形下の構造を確認することは、FEM の妥当性を検証するためにも重要でしょう。

そこで、私たちは、試料延伸ホルダーを新規開発し[4]、延伸下のナノコンポジットの構造を実際 に観察することを試みました[5]。また、このような実験を行うことで、材料内の(歪みと)応力分 布を実験的に可視化することも可能となります。講演では、ナノコンポジットの変形下での(3次 元)観察や、高分子結晶の 4D-STEM による構造解析例[6]など、ソフトマテリアルにおける電子顕 微鏡観察の最近の(私たちの)実験例についてお話ししたいと思います。

参考文献

[1] H. Jinnai, R. J. Spontak, T. Nishi, Macromolecules, 43(4), 1675-1688 (2010).

[2] K. Akutagawa, K. Yamaguchi, A. Yamamoto et al., Rubber Chem. Technol., 81(2), 182-189 (2008).

[3] NEDO ナノテク・先端部材実用化研究開発「三次元ナノ階層構造制御による超低燃費タイヤ用 ゴム材料の研究開発」、2009-2011、研究代表者:芥川恵造((株) ブリヂストン)

- [4] T. Higuchi, T. Gondo, H. Miyazaki et al., Microscopy, 67(5), 296-300 (2018).
- [5] T. Miyata, T. Nagao, D. Watanabe et al., ACS Appl. Nano Mater., 4, 4452-4461 (2021)..
- [6] S. Kanomi, H. Marubayashi, T. Miyataet al., Macromolecules, 54, 6028-6037 (2021).

X 線 CT と XRD を組み合わせたマルチモーダル CT とその鉄鋼への応用 戸田 裕之^A,平山 恭介^A,藤原 比呂^A 九大工^A

Multi-modal CT Combining X-ray CT and XRD and its Application to Steel Research H. Toda^A, K. Hirayama^A and H. Fujihara^A

1. 100a⁻⁻, K. Hirayama⁻⁻ and H. Fujihara ^ASchool of Eng. Kyushu Univ.

A combination of X-ray micro-tomography (the projection-type CT: 1 μ m in spatial resolution), X-ray nano-tomography (hereinafter XNT: 0.16 μ m in spatial resolution) and pencil-beam diffraction tomography (beam focused to 1.5 / 2.0 μ m (V / H) for full width at 75 % of maximum), which is shown in Fig. 1, was constructed in SPring-8. In the XNT set-up, a characteristic large-scale X-ray microscope was used,

with a camera length of 165 m, as shown in Fig. 1 (b). Köhler illumination with a rotating condenser zone plate was used. An annular aperture was placed in front of the condenser zone plate. A specially designed Fresnel zone plate for high X-ray energy was located 500 mm downstream from the sample, and an annular phase plate was placed at the back focal plane of the objective zone plate, thereby providing the phase shift necessary for the Zernike phasecontrast X-ray microscope.

The set-ups were utilized for the multimodal assessment of the mechanically induced transformation of individual retained austenite grains during tensile deformation in a C-Mn-Si multi-phase steel. In the present study, a newly developed high energy / high resolution X-ray nanotomography technique was for the first time applied to the in-situ

Slit Detector Aperture \sim Front-end slit SR Π Sample X-ray i..... Monochromator 20 mm (a) Projection-type tomography 2nd Hutch Order selecting aperture (OSA) Fresnel zone plate (FZP) Phase plate Rotating condenser zone plate 🖌 165m (b) Imaging-type tomography (Nano-tomography, XNT) Spot FŹP Center beam stop 20 mm (c) Pencil-beam XRD

1 st Hutch

Fig. 1. Schematic illustrations of the three set-ups for the X-ray nanotomography and pencil-beam XRD experiments in a synchrotron radiation facility.

observation of relatively heavy metal materials like a steel under external loading. The gradual transformation, plastic deformation, and rotation behaviour of the individual austenite grains were clearly observed in 3D as shown in Fig. 2. It was revealed that the early stage of the transformation was dominated by the stress-assisted transformation that can be associated with measured mechanical driving force, whilst the overall transformation was dominated by the strain-induced transformation that is interrelated with measured dislocation multiplication. The transformation behaviour of individual grains was classified according to their

initial crystallographic orientation and size. Noteworthy was the high stability of coarse austenite grains, contrary to the tendencies reported in the literature. Characteristic rotation behaviour and wide data dispersion were also observed in the case of the individual austenite grains. It was conclusively demonstrated that such characteristic behaviour partly originated from interactions with surrounding soft and hard phases. The origins of these characteristics are discussed by combining the image-based and diffraction-based information.



Fig. 2. Typical example of austenite-to-martensite transformation during loading. The green retained austenite grain was connected to the three adjacent austenite grains highlighted in grey.

超秩序構造と原子分解能ホログラフィー 林 好一 名エ大

Hyper-ordered structures and atomic resolution holography K. Hayashi Nagoya Institute of Technology

原子分解能ホログラフィーは、固体中の特定元素周辺の三次元像を再生できることから、不純物 やドーパントの局所構造解析に有効である。我々はこれまでに、様々な先端材料にこの手法を適用 し、多くの実績を残してきた。それらの研究の中で、単純な置換サイトや格子間サイトでは説明で きないナノ構造体の発見をいくつか成し遂げてきた。このようなナノ構造体において、特に機能発 現の源となっているものを、我々は「超秩序構造」と呼んでいる。(学術変革領域研究(A)プロジ ェクト「超秩序構造が創造する物性科学」(令和2~6年度)において、そのように定義している。) [1] 例えば、高温強磁性半導体である Co:TiO₂においては、Co 周辺に自然界では存在し得ない亜酸 化ナノ構造体が形成されていることを、蛍光 X 線ホログラフィーによって発見した。[2] また、次 世代軽金属材料として期待されている LPSO(Long-Period Stacking-Ordered)構造マグネシウム合金に おいては、Y と Zn によって構成されるクラスターのイメージングに成功した。[3]

原子分解能ホログラフィーは、X線や中性子線、電子線などを照射して、試料から放出される蛍 光 X線などの二次放射線を計測することによってホログラムを計測する。本講演で主に紹介する 蛍光 X線ホログラフィー[4]については、試料の周辺に形成される蛍光 X線強度の分布を計測する ことによってホログラムを記録するが、その振幅は、全蛍光 X線強度の0.1%程度と非常に微弱で ある。従って、ホログラムの統計精度を向上させることが最も重要であり、そのため、効率よく蛍 光 X線を検出できるシステムの開発が進められてきた。同時に、線源には強力な単色 X線が必要 であり、さらに、正確な原子像を得るためには波長を変えながら複数のホログラムを計測しなけれ ばならない。このため、実験はラボの X線発生装置では難しく、放射光を用いて進められてきた。 特に、SPring-8においては専用の蛍光 X線ホログラフィー装置を有しており、多くのユーザーが利 用している。

測定試料に関しては、長時間の放射線照射に対して強く、結晶対称性が高く、解析の行いやすい 無機物質を中心に行われてきたが、最近では、有機材料やタンパク質への展開も図っている。有機 超伝導体として有名なκ-(BEDT-TTF)₂Cu [N(CN)₂]Br は、欠陥を導入することでモット絶縁体-金属 転移を起こすことが知られているが、その欠陥構造が分子鎖の結合組み換えに起因することを解明 した。[5] このような有機材料の超秩序構造は無機材料に比べるとはるかに複雑で、再生原子像の みでは解釈が困難なことが多い。このため、第一原理計算や分子動力学計算なども組み合わせによ る構造精密化も一つの方向性となっている。

他にも、中性子や電子線を用いた原子分解能ホログラフィーによって、いくつかの超秩序構造が 発見されてきた。材料機能性の宝庫である「超秩序構造」を、より多く正確に決定し、高機能な新 規材料設計に繋げることを我々は目標としている。

- [1] https://sites.google.com/hyperordered.org/home
- [2] W. Hu, et a; l., Appl. Phys. Lett. 106, 222403 (2015).
- [3] T. Nishioka, et al., *Materialia* **3** 256 (2018).
- [4] K. Hayashi and P. Korecki, J. Phys. Soc. Jpn. 87, 061003 (2018).
- [5] A. K. R. Ang, et al., Phys. Rev. B 103, 14106 (2021).



S5

トモグラフィーと関連技術の最前線 生命科学の展開

11月25日(木) 10:45 ~ 12:15 大ホール

SEM 電顕ボリューム解析で観る組織・細胞・オルガネラ

そこから見えてくるもの

太田 啓介

久留米大学医学部先端イメージング研究センター

Volumetric analysis of cells and tissues revealed by serial slice scanning electron microscopy

Keisuke Ohta

Kurume Univ. Sch. Med.

走査電子顕微鏡(SEM)をもちいたボリューム解析は、分解能こそ透過型電子顕微鏡(TEM)を 用いた単粒子解析法や電子線トモグラフィー法に劣るものの、生命が形作る組織・細胞・オルガネ ラの詳細な三次元構造を可視化することができる。もちろん、このような組織レベルの三次元構造 の解析は古くから連続切片を TEM で観察することで実現されていたが、要求される技術レベルは 高く、安定してデータを得ることは困難であった。ボリューム解析に SEM を用いることの最大の メリットは、データ取得が TEM 連続切片法に比べて格段に安定したことにあり、手法によっては 目的とするボリュームデータをほぼ自動で得る事ができる。

SEM を用いた電顕ボリューム解析には主に FIB-SEM tomography 法、Serial block face SEM 法、 Array tomography 法の3つの方法が知られており、いずれも2000 年代なかばに確立してきた技術で ある。いずれの技術も試料には TEM 観察などで一般的な樹脂包埋標本を用いるが、TEM は異なり 試料の表面、もしくはそこから得られた切片を基板に貼り付けたものから直接組織像を得るのが特 徴である。試料を少しずつ削りながら、または基板上の連続切片を SEM で連続的に観察すること で、パラパラ漫画のようなボリュームデータを得るわけである。

これらの方法で見えてきたものは、前述の通り細胞組織の三次元構造である。一言で言えばそれ だけであるが、この領域の三次元構造は今まで簡単に観察することができなかった、いわゆるメソ スケール構造である。その目的は神経系の構築を理解する Connectmics であったり、細胞間の関係 性、オルガネラ間の相互作用であったりと様々であるが、実際に三次元化すると、2次元像からで は想像できなかった多くの特徴を見いだせることも頻繁に経験する。

一方で、生物学の分野では、微細な構造が見えるだけでは議論が難しいものも多く、細胞や構造 の同定が必要になってきた。これに対応する電子顕微鏡技術が光学顕微鏡との相関観察である。近 年様々な可視化技術との間でマルチモーダルな相関観察研究が進んでいるが、correlative light electron microscopy(CLEM)すなわち光学顕微鏡と電子顕微鏡との相関観察は古くから様々な方法が 開発されてきた。TEMを用いた CLEM はボリューム解析と同様技術的に困難なものも多かったが、 SEM ボリューム解析の基本となるブロック表面や切片の観察技術はこの CLEM の難易度をも大き く低下させ、新しく簡便な CLEM 法が次々と報告されている。例えば免疫染色によく用いられるア クリル系樹脂を用いて連続切片 TEM 観察するのは困難であったが、切片を基板上に貼り付ける SEM 観察では極めて安定して、光顕での免疫染色と詳細な電顕観察が実現できる。また、この方法 は光学顕微鏡の広い範囲で観察される特徴を高い分解能で再観察できるため、形態科学の弱点の一 つである by chance 的な要素を補完する技術となる。

SEM ボリューム解析は 2004 年の Denk 等によって報告された Serial block face SEM 法に端を発し、日々技術も高まって来たが、今後は同じ技術を用いる SEM ベースの CLEM 技術との融合を進めることで機能と相関した生命現象の側面を観る技術として進展していくことが期待される。

卓上低真空走査型電顕で生体物質の局在を可視化する

新たな金ナノ粒子標識法の開発

澤口 朗 宮崎大学・医

In situ strategy for biomedical target localization under low-vacuum SEM via nanogold nucleation and secondary growth. Akira Sawaguchi Faculty of Med., Univ. of Miyazaki

わたくしども共同研究グループでは本開発に先行し、光学顕微鏡用の切片に帯電防止処理を加え ず観察することができる低真空走査電子顕微鏡の特性を活かしながら、生体を構成する組織や細胞 を立体的に捉える「厚切り切片観察法」を確立しました(参考文献1)。これを応用した本開発にお いて、医学・生物学研究で標的とするタンパク質や遺伝子の発現部位を電子顕微鏡レベルで高精細 に可視化する新たな手法を確立しました(参考文献2)。

これまで常法とされている包埋後標識法は、金ナノ粒子を結合させた抗体の調製に始まり、樹脂 に包埋した観察対象から超薄切片を作製して抗体標識を完了するまでに、長い時間と熟練の技を要 しました。今回、新たに開発された方法は、光学顕微鏡で汎用されるパラフィン切片や凍結切片を 使用し、酵素抗体法でジアミノベンジジン(DAB)標識を施した後、0.01%塩化金酸水溶液で10分 間処理することで DAB 標識部位に限局して金ナノ粒子が形成(平均粒子径=6 nm)され、続いて 37℃で12時間、高湿度に保つことで金ナノ粒子が成長(平均粒子径=47 nm)して可視化される画 期的なアプローチとなります。金ナノ粒子の形成が pH に依存することや、粒子径の成長が形成さ れた金ナノ粒子の集合と融合に基づくこと、粒子表面加工によって粒子径の成長が促進/抑制され ること等々、Material Science にも通じる端緒を得ることにも成功しました。

本研究では15年前にDAB標識された切片上で金ナノ粒子が形成・成長することも証明されてお り、保管庫にストックされた光顕標本を電顕レベルで再検証する応用に加え、CLEM (Correlative Light and Electron Microscopy)免疫電顕標識や in situ hybridization 電顕標識の実例も獲得されていま す。光学顕微鏡と電子顕微鏡の隔たりを埋める低真空走査電子顕微鏡の特性を活かした本法が医 学・生物学研究に幅広く応用されることで、生体組織や細胞を構成する構造と機能の相関を解き明 かす研究が加速・進展されるものと期待を寄せながら、新たな金ナノ粒子標識法の詳細をご紹介し ます。

参考文献: 1. Sci Rep 8: 7479 (2018) 参考文献: 2. Communications Biology 4:710(2021)

クライオ電子顕微鏡による生物試料の3次元構造解析の最先端研究 重松 秀樹 理化学研究所 放射光科学研究センター

Cutting-edge research on 3D structural analysis of biological specimens by electron cryo-microscopy H. Shigematsu *RIKEN SPring-8 Center*

クライオ電子顕微鏡による生体分子の構造解析は、単電子検出型の検出器の登場とそれまでの画 像解析技術の進展が相まって、急速に発展を遂げています。近年、単粒子解析と言われる手法での 到達分解能が、X線結晶構造解析に近づくにつれ結晶化が困難な生物試料を中心にその利用が盛ん になっています。この流れは、2017年のノーベル化学賞が3人のクライオ電子顕微鏡の研究者に与 えられるという結果につながります。「溶液中での生体分子の高分解能構造決定のためのクライオ 電子顕微鏡の開発」に対する授与ですが、現状では単粒子解析という手法の開発と言える状況です。 単粒子解析は、X線結晶構造解析と比較すると、「溶液中」と「結晶中」という対比と、「高分解能」 という共通点があげられます。溶液状態の生体高分子を結晶という形で構造を揃えた上で解析する X線結晶構造解析に対して、単粒子解析では、結晶化しにくい試料、すなわち構造が安定な一状態 を取りにくい、複数状態の平衡にあるような試料に対する構造解析が期待されます。動的構造解析 あるいは構造多型の解像といったX線結晶構造解析では難しい構造解析が期待されています。

クライオ電子顕微鏡単粒子解析における高分解能化は、「分解能革命」と題されたレビュー記事[1] が 2014 年にサイエンス誌に掲載されるほど、大きなそして待ち望まれた変化と言えます。このレ ビューで紹介された成果の一つに、TRPV1 イオンチャネルの構造解析があります[2,3]。Yifan Cheng と David Julius の共同研究は、その後も重要な TRP チャネルの構造を数多く発表しますが、直近に セル誌に掲載された論文[4]では、TRPV1 の構造多型を 3 つのデータから 26 の高分解能構造として 報告しています。他方、高分解能構造という観点では、より高速な検出器の開発、モノクロメータ ーや ColdFEG といった技術の導入が相まって、炭素ベースの生体分子においては、原子分解能と言 える 1.2 オングストロームが達成されるに至っています[5,6]。

本講演では、これら単粒子解析の近年までの発展をご紹介するとともに、現在の開発の中心になりつつあるトモグラフィーに関しても最先端の研究事情をご紹介します。

[1] Kühlbrandt W. Biochemistry. The resolution revolution. Science. 2014 Mar 28;343(6178):1443-4. doi: 10.1126/science.1251652. PMID: 24675944.

[2] Cao E, et al., TRPV1 structures in distinct conformations reveal activation mechanisms. Nature. 2013 Dec 5;504(7478):113-8. doi: 10.1038/nature12823. PMID: 24305161; PMCID: PMC4023639.

[3] Liao M, et al., Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy. Nature. 2013 Dec 5;504(7478):107-12. doi: 10.1038/nature12822. PMID: 24305160; PMCID: PMC4078027.

[4] Zhang K, et al., Structural snapshots of TRPV1 reveal mechanism of polymodal functionality. Cell. 2021 Sep 30;184(20):5138-5150.e12. doi: 10.1016/j.cell.2021.08.012. Epub 2021 Sep 7. PMID: 34496225; PMCID: PMC8488022.

[5] Nakane T,et al.. Single-particle cryo-EM at atomic resolution. Nature. 2020 Nov;587(7832):152-156. doi: 10.1038/s41586-020-2829-0. Epub 2020 Oct 21. PMID: 33087931; PMCID: PMC7611073.

[6] Yip KM, et al., Atomic-resolution protein structure determination by cryo-EM. Nature. 2020 Nov;587(7832):157-161. doi: 10.1038/s41586-020-2833-4. Epub 2020 Oct 21. PMID: 33087927.



S6

企画セッション

FIB 技術の国際標準化・自動化と顕微鏡化

11月25日(木) 9:00 ~ 10:30 中ホール

FIB 技術の国際標準化に向けた日本の提案と今後の展開 杉山 昌章^A, 金子 賢治^B, 亀井 一人^C 阪大エ^A, 九大エ^B、日鉄テクノロジー^C

Proposal and Development of ISO activity for FIB applications in Japan M. Sugiyama^A, K. Kaneko^B and K. Kamei^C

^AGraduate School of Engineering, Osaka Univ., ^BKyushu Univ., ^CNippon Steel Technology

1. 技術的な背景

透過電子顕微鏡観察のための試料作製技術の一つとして、集束イオンビーム(Focused Ion Beam) 加工法が幅広い産業分野で活用されている。その対象材料は、半導体材料から金属材料、無機材料、 さらには有機材料など多岐に渡り、イオンビームで加工するという視点からは様々な技術的工夫が なされている。特に TEM 試料作製法としては、操作に関する基本的な技術から試料ダメージに関 わる領域まで、技術ノウハウから物理的側面まで幅広く本学会では議論されている。利用者に着目 すると、産業界から大学、色々な国公立機関も含め利用環境は多岐に渡り、熟練者から専門家、ま た一方では学生への教育目的での活用など幅広い技術レベル層で活用されている。2019 年度に国 内外を含め、この FIB 技術の利用に関する訪問調査を行った所、このような汎用的技術に関して、 そこで使われている用語の統一性や、ガイドラインのような操作手順、また日常的に活用している 装置の安定性などを含め、その性能を正しく評価して最適な状態で活用できているかなど、試料作 製システム全体で眺めた時の課題感を持っていることが判ってきた。つまり「技術の標準化」とい う観点での検討の必要性が顕在化してきたのである。

2. 技術の標準化に向けた国内活動

FIB 装置の市場を調べてみると、単独装置というよりも最近は SEM と組み合わせた Dual Beam 装置としての製品市場の方が伸びている傾向にある。その先には、3 次元可視化装置としてのさら なる発展も期待されているが、技術の標準化という視点では、汎用的な技術から着実に積み上げて いく方が望ましい。その観点から、正しい透過電子顕微鏡用の試料作製技術としての普遍化が重要 であり、経済産業省に「電子顕微鏡試料作製のための集束イオンビーム (FIB) 加工技術に関する国 際標準化」を提案し、今年度より3年間の期間で標準化活動の地固めを行うことになった。この活 動は(一社)表面化学分析技術国際標準化(JSCA)委員会傘下の国内委員会(ISO TC/202)委員会 内に、FIB 技術の標準化に関するチームを立ち上げて活動を開始している。この3年間の活動では、

①FIB 用語に関する国際標準

②FIBの基本的な操作方法のガイドラインに関する国際標準

③照射イオンビームの加工特性の客観的な評価指標に関わる国際標準

④FIB 加工時の試料表面の保護方法や試料へのダメージ低減に関わる国際標準

を検討項目として挙げ、①②については ISO 規格原案の策定、③④については技術的な議論を展開 し、専門家からの意見集約を行う予定である。操作法のガイドライン策定に関しては、来年度に世 界主要国におけるラウンドロビンテストを実施する計画である。これらの詳細について紹介する。

3. 標準化技術と顕微鏡学会

透過電子顕微鏡用の試料作製法としての FIB 技術の普及は、従来の電解研磨法とは異なり、局所 的に観察したい部位を比較的誰にでも手軽に薄片化できる技術を発展させている。さらに近年では、 その自動加工技術の開発が精力的に行われている。こうなると TEM 観察をする時に用意された微 小薄片試料に対して、①目的の場所を正確に薄片化しているか、②FIB 加工中に試料組織を改変し ていないか、③自動化技術の中での操作がブラックボックス化されていないか、というような多岐 に渡る検証も併せて必要になる。また FIB 装置を自動制御する時の言語処理や薄膜試料の取り扱い に関する互換性等も問題になってくる可能性がある。従来の顕微鏡学会では最先端技術の討論が主 流であったが、このような試料作製技術の汎用化や自動化の流れの中は、「技術の標準化」という新 たな視点での議論の必要性が出てきている。時代の流れに併せた新しい議論を開始したい。

FIB-SEM 技術の観察装置としての可能性 原 徹 物質・材料研究機構 電子顕微鏡解析ステーション

FIB-SEM as a tool for microstructure analysis T. Hara

Electron Microscopy Analysis Station, National Institute for Materials Science

1. 背 景

電子顕微鏡を用いて材料の観察や分析を行う際の集束イオンビーム(FIB)装置の利用目的として は、TEM 用薄膜試料の作製であることが多い。その目的だけなら FIB 単体機でも達成できるが、 SEM と複合させることで従来にないさまざまな観察・分析手法を追加して、新たな材料組織情報の 取得が可能になる。本発表では観察装置としての FIB-SEM 複合機の応用例をいくつか示し、今後 FIB をさらに有効に活用するための可能性を考えたい。

2. 組織解析への FIB の応用例

FIB を組織観察に応用するケースとして主要なものは、1)FIB を加工装置として利用する、2)FIB

を観察や分析のための励起源(一次ビーム)として利用する, の2種類がある。どちらの場合でも,SEM単体機にはない機 能や観察手段を実現するものである。

1) FIB を加工装置として利用する

- i) FIB によって表面の酸化膜や加工層などを除去したり不要 な凹凸を除去したりすることで,真空中でフラットかつ清 浄な表面を現出させる。酸化膜や加工変質層を除去するこ とで,よりクリアな EBSD パターンや低加速電圧での SEM 像が取得でき,組織に関する情報の量が増大する(図 1)。 さらに,FIB でフラットにした面では,表面の凹凸によるト ポグラフィックなコントラストではない,マテリアルコン トラストによる SEM 二次電子像が観察可能である。
- ii) FIB-SEM を用いたシリアルセクショニング観察によって、三次元的組織観察を行うことが可能となる。i)と同様の、平滑な面の形成と低加速電圧での SEM 観察の繰り返しである。TEM 観察試料を FIB で作製することが目的の場合でも、その TEM サンプル周囲の 3 次元組織情報を取得しておくことが重要な情報になる場合がある。
- 2) FIB を観察・分析のための励起源として利用する
- i) SIM(Scanning Ion Microscope)として、イオンビーム 励起の二次電子像や二次イオン像の観察が行える。 特に FIB-SEM では、多彩なコントラストの SEM 像 に加えて、SIM によりさらに同時に別の情報を得る ことが可能になる。
- ii) SIMS(Secondary Ion Mass Spectrometry)を FIB-SEM でも利用可能にする試みが行われている。従来 SEM での分析は EDS や WDS といった X 線分光によるも ののみであったが、SIMS が十分に取得可能であれ ば、SEM での軽元素の高感度分析実現への期待が高 くなってくる。

3. おわりに

FIB-SEMの観察装置としての利用法は、イオン源の多様化や分析装置の進展により、適用範囲が 大きく拡がっており、今後は SEM-FIB(FIB を搭載した SEM)として、観察・分析機能を主体とする 複合機が広く使われるようになる可能性がある。また、FIB-SEM で TEM 用試料を作製する目的に おいても、あらかじめ FIB-SEM を観察装置として積極的に活用して、より多くの組織情報を得て おくことで、より正確な組織解析に結びつくことが期待できる。



図 1.FIB で酸化膜を除去して SEM 観察 することで情報量が増大する(耐熱鋼)。



図 2. 同一視野の, (a)SEM-SE 像 (b)EBSD (IPF+IQ)マップ (c) SIM(二次イオン)像 (d) SIM(二次電子)像。 SIM で異なる情報が得られる。(Ni 基合金,長田,未発表)。

FIB-SEM の自動化技術 伊井 由花,渡邉 慶太郎,佐藤 高広,富松 聡 株式会社 日立ハイテク

FIB-SEM automation technique Y. Ii, K. Watanabe, T. Sato and S. Tomimatsu *Hitachi High-Tech Corporation*

1. 背景

近年、我々の労働時間は大きく変化しており、業務の効率化や省人化が推進されている。FIB 装置に対しては、高度な加工を担当者の技量に依存することなく自動で実施したいという要望が高まっており、加工作業の自動化やスキルレス化のための施策検討が求められている。こうした背景から、連続自動加工機能や自動マイクロサンプリング[®]機能(自動 MS)、自動薄膜機能(A-TEM II)などの各種自動化機能が開発され、2020年には上記機能を連結し、周辺加工から薄膜加工までの自動化技術を報告した[1]。自動化実現のための重点要素は、薄膜加工する試料により異なる。半導体試料の場合、ある特定の構造(ターゲット)を、繰り返し構造の中から狙う必要があるため、加工の位置精度が要求される。また、金属やセラミックス試料の場合、イオン源打ち込みによるダメージ低減を考慮する必要がある。本発表では、FIBマーキングを用いた加工位置精度の向上と、Ar 照射仕上げ加工を組み込んだ低ダメージ薄膜作製の自動化技術を検討した。

2. 目的

FIB マーキングを用いた自動加工条件を検討し、SRAM 試料の pMOS 構造を含む 100 nm 厚の薄膜を作製する。また、低ダメージの Cu 薄膜試料を自動加工することを目的とした。

3. 実験

3-1.自動化における加工位置精度の向上

SRAM 試料の pMOS 直上に位置するパターンが露出するまで試料表面を機械研磨した。FIB-SEM を用いてそのパターンを自動認識し、FIB マーキングを実施、本マーキングを画像認識しながら周 辺加工から薄膜加工を自動で実施した。加工位置の確認は、pMOS および pMOS と同列に位置する 径 120 nm の W プラグを用いて行った。

3-2. Ar 照射を組み込んだ自動化によるダメージ低減した薄膜試料作製

FIB-SEM のプログラム機能を用いて、最終工程に Ar 照射を組み込んだ周辺加工から薄膜加工レシピを開発した。Ar 条件を 1 kV、照射角 20°、照射時間 16 min とし、本レシピを用いて Cu 薄膜 試料を作製した。

4. 結果

4-1. pMOS 構造をターゲットとした SRAM 試料の自動加工

3-1 で作製した SRAM 薄膜試料の両断面を SEM 像で確認した結果、いずれの断面からも pMOS 構造が確認された。また、薄膜の一部を FIB 加工し、その加工断面を SEM で直接観察した。その 結果、W プラグの中心部分を含む、厚さ約 100 nm の薄膜を作製できたことを確認した。

4-2. Ar 照射を組み込んだ自動加工用いたダメージ低減 Cu 薄膜の作製

図 1(a)(b)に **3-2** の方法で作製した Cu 薄膜試料の TEM 観察結果 (a: 低倍像, b: 高倍像)を示す。図(a) より、周辺加工から約 80 nm 厚の薄膜を自動作製で きたことがわかる。また、図(b)より、作製された薄膜 は、Ar 照射による仕上げ加工がなされ、FIB ダメージ を低減した高品位の薄膜であることが分かった。

5.結論

本発表で検討した自動加工技術(FIBマーキング、 Ar 照射仕上げ)は、加工位置精度とダメージ除去効 果を持ち、半導体や金属の薄膜作製に活用できる。

6.参考文献

[1] Y. Aizawa et al., The 40th NANO Testing Symposium (NANOTS2020), 70-75., (2020).

(a)低倍像 C デポ Cu 薄膜 2 μm (b)高倍像

図 1. Cu 薄膜試料の TEM 観察結果(a:低倍像, b:高倍像)

装置: HF5000, 加速電圧: 200 kV



S7

企画セッション

その場観察・環境制御の最前線

11月25日(木) 10:45 ~ 12:15 中ホール

ナノテクノロジーを支援する ETEM の開発 矢口 紀恵

(株) 日立ハイテク

Development of ETEM to assist Nanotechnology T. Yaguchi *Hitachi High-Tech Corporation*

ナノテクノロジーの飛躍的な発展の中で、エネルギー関連分野においても様々なナノ構造材料が 開発され、その積極的な応用が進められている。それらの材料の微細構造の変化を高分解能で、か つリアルタイムでその場 (*in-situ*) 観察できる環境制御型透過電子顕微鏡 (ETEM: Environmental TEM) の役割は極めて重要であり、そのニーズは年々増大している。そのような状況を背景に、我々はE TEM およびその応用技術の開発に取り組んでいる。1993 年に汎用分析電子顕微鏡を用いて最高加 熱温度 1,500 ℃における材料内部微細構造変化を原子レベルの高分解能で観察できる試料加熱ホル ダを開発[1]して以来、ガス導入機構を設けた試料加熱ホルダ[2]、大気圧雰囲気の形成可能な密閉型 環境セルホルダ[3]など各種ホルダの開発を進めてきた。TEM 本体も 300 kV 分析 TEM をベースに 差動排気を強化した ETEM を開発[2、4]し、透過像と二次電子像の同時観察による表面構造と 内部構造の同時高分解能その場観察[5]を可能とした。

エネルギー関連分野で用いられるナノ材料解析の実際を見てみると、電子線による影響をできる だけ少なく、材料全体の大局的な変化を理解し、次々に開発される材料を容易に確認できるシンプ ルな構成による新システムの開発が求められている。そのようなニーズに応えるため、我々は、コ ンパクトでシンプルな構成の ETEM を目指し、加速電圧 120 k V の ETEM を開発した。電子源は、 目的に合わせて LaB₆単結晶や W を選択可としており、W フィラメントを採用した場合、試料室に 6 Pa まで空気を導入しても電子銃領域の圧力を 0.01 Pa で維持できるよう差動排気を強化した。 開発した ETEM にガス導入方式試料加熱ホルダと卓上型ガス供給装置を併用することにより、ガ スを所望の条件で試料近傍に導入し、少量のガスで分析が可能であり、かつ置換も早く効果的な分 析が行える。少量のガス使用量は TEM 本体への負担も軽減できる。ETEM 機能に加え、ナノ材料 解析機能としても、加速電圧 120 kV にて軸上照射で 0.19 nm の格子分解能の観察が可能な高分解 能対物レンズを開発し、電極触媒などに使用される貴金属粒子の格子像を観察可能とした。また、 孔径 1 µm の制限視野絞りを装備し、試料面上約 20 nm の微小領域の低損傷構造解析を可能にした。

開発した ETEM を用いて、(株)真空デバイスおよび(財)日本自動車研究所と共同で、固体高 分子燃料電池の膜電極複合体の出力電圧測定と空気極(カソード)および燃料極(アノード)の電 極触媒材料構造変化 *in-situ* 観察を同時に行えるセミオペランド解析ホルダを開発し、燃料電池劣化 過程の解明などに応用している[6]。

また、*in-situ* TEM 技術とホロコーン暗視野(HCDF: Hollow cone Dark Field)TEM 法を併用する ことにより、特定方位への結晶成長速度の測定など新しい解析法の道が拓ける。我々は、大阪府立 大と共同で、次世代全固体電池電極材料で劣化の原因と考えられている微結晶析出過程の観察に HCDF TEM 法を併用し *in-situ* 観察することを検討した[7]。

本システムが、実環境下でのナノ材料の *in-situ* 観察に広く使用され、エネルギー関連ナノ材料開発に役立てられることを期待する。

- [1] T. Kamino and H. Saka (1993) Micros. Microanal. Microstruct, 4, 127-135.
- [2] T. Kamino, et al., (2005) J. Electron Microsc. 54, 497-503.
- [3] T. Yaguchi, et al., (2011) J. Electron Microsc. 60(3), 217-225.
- [4] T. Yaguchi, et al., (2012) J. Electron Microsc. 61(4): 199–206.
- [5] H. Matsumoto et al., (2013) Microscopy and Analysis 11, 13–18.
- [6] T. Kamino, et al., (2017) Microsc. Microanal. 23 945–950.
- [7] H. Tsukasaki, et al., (2021) Microscopy, https://doi.org/10.1093/jmicro/dfab022

触媒その場観察のための TEM 試料ホルダーの開発 橋本 綾子 物質・材料研究機構, 筑波大大学院, JST さきがけ

Development of TEM specimen holder systems for *in-situ* observation of catalytic materials Ayako Hashimoto

National Institute for Materials Science, University of Tsukuba, JST Presto

昨今の環境・エネルギー問題の解決策の一つとして、触媒は注目さ、触媒材料のその場透過型電 子顕微鏡観察も報告されてきている。触媒が使用される環境は、気相/液相、高温下であることが 多く、環境制御技術が必要である。今までに多くの環境制御技術が提案され、市販化も進み、触媒 のその場観察は広がりを見せている。私達も、触媒材料のその場観察のために、ガス雰囲気下で加 熱ができる TEM 試料ホルダーシステムを独自に構築してきた[1]。窓材ではなく、オリフィスを用 いる差動排気効果を利用したもので、現在約 20 Pa のガス雰囲気を試料近傍に形成できる。加熱は MEMS ヒーターチップを利用し、1200℃まで加熱ができる。本発表では、開発した試料ホルダーシス テムの説明とともに、本試料ホルダーを用いた触媒の観察例を紹介する。

図1に本研究で使用している試料ホルダーシステムを示す。差動排気効果を利用するため、試料の上下にオリフィスプレートを設置し、試料近傍の空間に少量のガスを流し入れ、試料近傍部分だけの圧力を高くするように設計した。また、微小センサを試料近傍の空間に設置し、試料近傍のガス圧力を測定した。一方、試料の加熱は、MEMS技術を利用してSiウェハから作られたヒーターチップ(Protochips, USA)を利用した。0リングの設置などによる機密性の向上により、約20 Paのガス雰囲気を形成できるようになった。また、バルブの改良によりガス導入の微量調整が安定的に行えるようになり、現在は、収差補正機構付きTEM(JEM-ARM200F, JEOL Ltd., Japan)に試料ホルダーシステムを組み込んでいる。それにより、高分解能なTEMやSTEM観察とともに、EELSによる組成や化学結合状態、価数評価も行えるようになった。

これまで、いくつかの触媒をその場観察してきた。まず、グラフェン上に分散させた触媒ナノ粒子の観察では、触媒ナノ粒子によるグラフェンの酸化・還元エッチングの現象をその場観察した[2]。 試料は市販のCVD多層グラフェンをヒーターチップに転写させ、その上に白金などの金属ナノコロ イド粒子を分散させて作製した。酸素や水素ガス雰囲気下で700~1000 ℃に加熱すると、触媒粒子 がグラフェン上を移動しながら、エッチングすることが観察できた。その際、エッチング中のナノ 粒子にはグラフェンとの界面にファセットが見られ、さらに、エッチング方向には規則性も見られ た。

また、最近は、触媒研究者との連携し、メタン転換触媒をその場観察している。Ni系触媒につい

て、メタン転換反応の一つであるドライリフォーミング反応 (CH₄とCO₂→2CO+2H₂)中の触媒の様子を観察した。従来型の担 持触媒だけでなく[3]、新規に合成されたナノ相分離触媒[4]も 混合ガス下でその場観察している。TEM/STEMによる構造観察と ともに、EELSも併用して元素や化学結合状態の分析、価数の評 価も行い、反応素過程について考察している。

[1] A. Hashimoto, Y. Han, H. Akimoto, R. Hozumi, M. Takeguchi, Microscopy (in press).

[2] A. Hashimoto, H. Akimoto, M. Takeguchi, AMTC Letters 6 (2019) 108.

[4] A. Hashimoto and Y. Han, Microscopy and Microanalysis 27 (2021) 2416.

[3] S. Shoji, X. Peng, S. Ueda, Y. Yamamoto, T. Tokunaga, S. Arai, A. Hashimoto, N. Tsubaki, M. Miyauchi, T. Fujita, H. Abe, Chemical Science 10 (2019) 3701.



図1 開発した差動排気型のガス 雰囲気加熱試料ホルダーシステム

次世代二次電池用負極のその場 SEM/TEM 観察 津田 哲哉 阪大院エ

In Situ SEM/TEM Observation of Negative Electrodes for Future Secondary Batteries T. Tsuda Graduate School of Engineering, Osaka University

二次電池はユビキタス社会や低炭素化社会を支える重要な蓄電デバイスであり、その適用範囲は 広がる一方である。それに伴い、より高性能な二次電池の登場が期待されている。特に、電池の高 容量化については自動車業界からのニーズが高く、熾烈な研究開発競争が世界的に繰り広げられて いる。このような背景から、より多くの電気を化学エネルギーとして貯め込むことのできる電極活 物質に関する報告が数多く存在し、既存のリチウムイオン電池用活物質の容量を大きく超えるもの も珍しくない。しかしながら、充放電容量の飛躍的な増大は活物質の著しい体積変化を引き起こし、 電池の劣化を加速する。そのため、充放電時における活物質の形態変化を正しく理解することは、 電池性能の向上に直結する極めて重要な情報となる。

イオン液体は難揮発性、非帯電性、イオン伝導性を有する室温で液体の塩であり、我々はこれを 利用した電子顕微鏡観察法の構築に取り組んできた[1,2]。この方法の特徴は液体であるにもかかわ らず、密閉セルを使用することなく像が得られる点にあり、電気化学反応の観察時においても例外 ではない。イオン液体電解液を用いて電池反応をその場観察する際のセルやホルダーの例を Fig. 1 に示している。いずれもセルのセットアップや電極の交換を容易に行うことができ、単極評価で使 用するハーフセルはもちろんのこと、フルセルでの観察や電気化学の分野ではスタンダードな3電 極での測定にも対応可能である。我々はこれまでに、シリコン、リチウム、マグネシウム、亜鉛と

いった次世代二次電池用高容量負極活 物質のイオン液体電解液中における充 放電挙動をその場 SEM/TEM 観察により 調査してきた。どちらの方法でも、充放 電時の挙動は明瞭に捉えられるが、SEM 観察では電子線の影響を受けにくいこ ともあり、条件によってはアーティファ クト無く、二次電子像による形態の変化 や反射電子像を利用した組成変化を operando 観察することも可能である[1]。 高容量負極の充電時には電極活物質と 電解液の界面において、被膜(SEI: Solid Electrolyte Interface)が生じる事も多い。 この被膜は電池の性能に大きな影響を 及ぼすため、そこに含まれる物質の同定 は極めて重要である。このような場合に は、電子線回折による組成分析が可能な *in situ* TEM 観察を用いることが多い[2]。 本講演では、イオン液体電解液を用いた 次世代電池の中で起こる反応を直接的 に観察した結果だけでなく、得られた情 報を電池性能の向上に利用した例につ いても紹介する。



Fig. 1. Schematic drawings and photographs of (a, b) the three electrode cell, (c, d, f) the coin-type cell for *in situ/operando* SEM observation and (g) the window-less miniature cell for *in situ* TEM observation. (e) SEM image of a cross-sectional view of the coin-type cell depicted in Fig. 1d. (f) This coin-type cell is used for obtaining the information on the variation in anode surface during battery reactions.

1. T. Tsuda and S. Kuwabata, *Microscopy*, 69, 183-195 (2020) and references therein.

2. C.-Y. Chen, T. Tsuda, Y. Oshima, and S. Kuwabata, Small Struct., 2, 2100018 (2021).



S8

トモグラフィーと関連技術の最前線 装置・手法の開発

11月25日(木) 13:45 ~ 15:15 大ホール

情報欠落を回復し投影枚数削減を実現した濃度量子 CT 再構成法(QURT) 馬場 則男 エ学院大学総合研究所

Grey-level quantisation units-based reconstruction method (QURT) that recovers 'missing wedge' and reduces the number of projection images Norio Baba *Res. Inst. Kogakuin Univ.*

電子線トモグラフィにおける情報欠落(missing wedge)を回復し投影像枚数の削減を目的とする 新奇な再構成法(QURT)が完成した[1]。本手法は独自に考案した濃度量子化単位(QU)を用いた非 線形再構成法である。ディジタル画像において画素の濃度は量子化されているが、解像度と階調数 によって決まる最小単位が QU である。2 次元断層像面に QU の階調数の軸を加えた 3 次元画像空 間にトモグラフィの理論に基づいて適切に QU を配置・積み上げすれば断層像は再構成出来る。投 影の線形理論からすると、断層像を構成する QU の総数は一定数(N)で与えられ、この N は任意方 位の投影データから求まる。また、投影方位に直交する座標 x 上の QU の分布が投影データから決 まる。これらを拘束条件に、投影データとの誤差を最小にする QU の配置方法を考案したところ上 記の課題解決に効果を発揮した。シミュレーションと実験結果(Fig.1)は missing wedge 問題を大 きく改善することを示した。また、QURT は、一般的な撮影枚数から 1/4~1/5 に削減してもほぼこ の改善を維持することが分かった。電子線損傷に弱い試料に期待が持てる。また、取得枚数の少な い EDX 像からも欠落の影響を回避した EDS 断層像を得ている。最近のその他の結果で、低コント ラストの微細構造が、データ欠落があっても劣化や偽像なく解像度高く得られている。これまでの FBP や SIRT では断層像のフーリエ変換パターンに投影切断面定理による放射状に広がる線状スペ クトルが現れるが、OURT では自然な連続的スペクトル分布が現れ(Fig.1、FFT パターン)、もはや Shannon の標本化定理とは異なっている。

投影データの不足による断層像の劣化は、解の自由度を増やしてしまうため起こる。自由度を増 やさないための拘束を設けることが重要である。上述した、必要な限られた数のQUで断層像を作 ることが強い拘束となった。仮に、一定数のNを維持したままで正解の断層像を崩そうとすると複 数方位の投影QU分布を変えることになり抑制が働く。

圧縮センシング法(CS)や TVR-DART などでは、何らかの sparse モデリングが導入されるが、QURT ではモデリング等の事前情報は一切いらない。FBP や SIRT と同様、位置合わせされた傾斜シリーズ像と傾斜角度データをコンピュータに入力するのみである。QURT は、電子線 CT のみならず、 X線 CT など、その他の CT でも利用できる。現在、そうした他分野への応用も検討している。



Fig.1 Experimental results. (*a* & b) HAADF STEM images of TiN-Ag nanocomposite particle by courtesy of Dr. K. Kaneko Kyusyu Univ. (c) conventional cross-section image with SIRT. (d) result with our QURT, the missing-wedge range is recovered. (e & f) similar comparison when reducing the number of projection images to one quarter, QURT considerably suppresses image deterioration, which is confirmed from the comparison between their FFT patterns.

[1] Baba,N.,Kaneko,K.& Baba,M.、Sci. Rep. 10, 20146 (2020)

導電性粘着テープのビーム交点型

フェムト秒パルス Laser-FIB-SEM による大容量三次元構造観察

村田 薫 ^{A,C}, Alex Bright^A, 原 徹 ^{B,C} サーモフィッシャーサイエンティフィック ^A, 物質・材料研究機構 ^B, 九州大学 ^C

Large volume analysis of Conductive Adhesive material by Laser-FIB-SEM K.Murata^{A,C} A.Bright^A and T.Hara^{B,C} Thermofisher Scientific^A NIMS^B and Kyushu University^C

これまでさまざまな材料開発に貢献してきた FIB にも断面加工に適さない材料が存在する。例 えば Tg の低いものや熱容量の小さい繊維状のポリマーでは、イオン照射時に瞬時に溶解が起こり、 材料そのものが変形を起こす。また粘着剤はイオン照射を必要以上に続けても除去されずそのまま の構造を維持していることが多い。多くの場合このような材料には試料冷却の方法が取られ、イオ ン照射による温度上昇を抑えることで、ほとんどの場合に断面加工は可能になる。

しかしながらある程度大きな面積の加工を必要とする場合は、高いイオン電流量の照射が必要 とされ、その照射によって冷却を上回る勢いで温度上昇が起こり構造破壊を招く。つまり冷却では 局所領域の観察のみに制限されていた。

そこで我々はこのような材料に対して大面積の加工においても熱の影響が少ないとされるフェ ムト秒レーザーを使用して大容量の三次元可視化を試みたのでその結果を紹介する。

試料には厚み 50 μ m 以上の粘着層が存在する、走査電子顕微鏡 (SEM) 観察用の Al の導電テー プを用いた。粘着層には導電性を確保するための多数の導電性粒子が含まれており、これらの粒子 が Al 箔と SEM の試料ステージの導電を担う。粘着剤は接着剤とは異なり固化されず粘性を伴うた

め、FIBでは 50 µ m 以上の厚みのある層 の加工は困難である。ここではレーザー による粘着部の断面の加工性を、また Al 金属層と粘着層の全く異なる性質の 2 層 構造に対してレーザー加工の影響を、最 後に導電物質が粘着層内にどのように分 散し、帯電防止に役立っているかを調べ るためにレーザーによる断面加工、およ びシリアルセクショニングを試みた。

結果と考察

観察結果の一部を図1に示す。Alテー プの両面を含み幅 300 µm の加工を行っ た観察の結果から Al の層、粘着層ともに シュリンクは見られずレーザーの熱影響 が少ないことがわかる。また各層の断面





は平滑に加工され溶けている様子は見られない。また Al と粘着層の界面に注目するとボイドなど は見られず、膜剥がれを起こしてないことがわかる。さらに粘着層に注目すると大小さまざまな導 電粒子が観察されるものの、不均一分散していることがわかる。

これらの結果から、イオン照射では広い領域の粘着剤断面の加工、および観察は困難であったが フェムト秒レーザーを用いることで、これまで困難であった材料の加工も可能となった。これは SEM による断面解析の範囲を拡張させるものである。観察する範囲を本報告ではレーザーのコン セプトを含め、ダメージを低減する条件についても議論し、三次元構造観察の結果から導電材料の 粘着層内ネットワークについても報告する。

格子光シート顕微鏡による細胞動態の高時空間分解能計測と情報解析 清末 優子 理化学研究所 BDR 分子細胞動態研究チーム

High spatiotemporal measurement and information analysis of cellular dynamics using lattice light-sheet microscopy Y. Mimori-Kiyosue RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research

自然科学において、ありのままの自然をとらえる可視化技術は必要不可欠な手段でありながら、 イメージング(撮影)技術には様々なトレードオフが潜在し、必要十分な分解能と次元を含むデー タの取得が困難であることが多い。細胞や分子の機能解析においては、GFP技術がライブイメージ ングを変革したものの、三次元空間で刻々と変遷する生命活動をとらえるための時間と空間次元の 十分な情報を得ることは困難であった。

この問題を打開するために新たに開発された格子光シート顕微鏡(lattice light-sheet microscope: LLSM)は、ベッセルビーム技術を応用して生成した厚み 1µm 以下の超薄光シートを用いた高速ス キャンにより、1 秒以内に 100~200 枚の断層像を取得して高解像 3D ボリューム撮影することがで きる(Science 346, 6208, 2014)。LLSM は、Eric Betzig 博士(HHMI Janeria Research Campus, 2014 Nobel Prize in Chemistry)らが開発し、本申請者が研究開発に参画して 2014 年に初めて発表された技術で、 現在は技術情報の提供を受けて当研究室にも構築して運用している。

ベッセルビームは、回折現象により生成される、ビーム径が広がらずに細い幅を保って伝搬する ことができる非回折ビームの一種で、これを掃引することで従来のライトシート顕微鏡よりも薄い シートを生成することができる。しかしベッセルビームは中心の0次ベッセルビームの周囲にサイ ドローブリングも同時に発生させる。ライブイメージングにおいて、サイドローブは蛍光の褪色を 早め、光毒性を増加させる上、背景光も増加して画質を劣化させる。また、1本のビームで広範囲 を照射しようとすると掃引に時間がかかるため、撮影速度の高速化が困難であった。そこで、ベッ セルビームを格子状に配してマルチ化して高速化を図ったのがLLSMである。同時に、各ベッセル ビームを最適な間隔で照射すると、サイドローブを打ち消すことができる。この効果により撮影速 度と侵襲性を大幅に改善し、超薄ライトシートを用いることで特にz方向の空間分解能を向上して x, y, z いずれの方向にも等方的に高い分解能を達成したことで、かつてない高い時空間分解能での 3D ライブイメージングが可能となった。

LLSM を用いることで、微小管や輸送小胞、細胞膜をはじめとする微細構造動態の完全 3D 追跡 に成功したが、時系列 3D データの解析は、人の判断や手作業が必要な従来の方法では対応てきな くなったことからデータ解析技術を開発する必要が生じた。これまでに数理統計的にデータ解析す る技術を開発して微小管動態を解析し、新たな生命機能の発見につなげるなどしてきたが、解析対 象ごとに特化したアルゴリズムを開発するのではその度に膨大な手間と長い時間を要し、タイムリ ーにライフ研究に活用することが困難であった。

そこで現在、AI 技術を活用して細胞構造の動的特徴を抽出する手法の開発を進めている。3 次元 画像データ(3 次元静止画または時系列 2D)のための機械学習ツールキットは既に開発され汎用化 されているが、計4次元である時系列 3D 画像を扱うツールはまだ存在していなかったため、新規 なアルゴリズムの開発を行う必要があった。このアルゴリズムを用いて、細胞の立体的な構造の特 徴の抽出にも成功したが、これは同時に、LLSM 画像が高精度な 3D 情報を包含していることを示 している。

本発表では、LLSMの技術と映像の紹介とともに、新たなデータ解析手法の開発の取り組みについても紹介したい。



S9

トモグラフィーと関連技術の最前線 動的観察に向けて

11月25日(木) 15:30 ~ 17:00 大ホール

放射光によるミリ秒X線トモグラフィの開発 矢代 航^{A,B}, Wolfgang Voegeli^C,工藤 博幸 ^D 東北大国際放射光センター^A,東北大多元研^B,東京学芸大教育^C,筑波大システム情報系^D

Development of millisecond X-ray tomography using synchrotron radiation W. Yashiro^{A,B}, W. Voegeli^C, and H. Kudo^D

^ASRIS, Tohoku Univ., ^BIMRAM, Tohoku Univ., ^CFaculty of Education, Tokyo Gakugei Univ., ^DFaculty of Engineering, Information and Systems, Univ. Tsukuba

非可逆・非平衡系の内部には様々な未 知の高速現象が存在すると考えられる。 図1は、可視光に対して不透明な試料内 部を三次元的に非破壊で観察する計測 法の時空間分解能を概略的に示したも のである。我々は、これまで未開拓であ った ms オーダー時間分解能、10 μm オ ーダーの空間分解能の4D(3D+時間) X線CTを実現してきた[1-4]。本研究の 応用は多岐にわたり、例えば、材料の破 壊、接着界面破壊、液体・粘弾性体の挙 動、生きた生物(昆虫など)内部の現象 の観察などの学術的な研究から、機能性 インテリジェント材料の開発、動的バイ オミメティクスなどの応用研究に至る 広い分野のフロンティアの開拓を目指 している。

X線光学、最先端のデータサイエンス (圧縮センシング)、大型放射光施設な どを駆使することにより、空間分解能5



図 1 試料内部を三次元的に非破壊で観察する計測法 の時間分解能および空間分解能の概略図。観察対象の 厚さは空間分解能の概ね 1000 倍と仮定してある。

μm~数 10 μm、時間分解能 1 ms~10 ms 程度の 4DX線 CT が実現できている。図2 にタイヤゴムの 引張破壊過程の 4DX線 CT の例を示す[3]。また、図3 には別の例として、放射光マルチビーム化 による試料回転なし1 msX線 CT の結果を示す[4]。







図3 放射光マルチビーム光学系で 得られた直径 50 μm タングステン ワイヤーの CT 再構成像(撮影時 間:1 ms) [4]。

[1] W. Yashiro et al, Appl. Phys. Express 10 (2017) 052501.

- [2] W. Yashiro et al., Appl. Phys. Express 11 (2018) 122501.
- [3] R. Mashita, W. Yashiro et al., J. Synchrotron Rad. 28 (2021) 322.
- [4] W. Voegeli, W. Yashiro, et al., Optica 7 (2020) 514.

機械学習支援高速 STEM の開発とトモグラフィーへの応用 斉藤 光^A,井原 史朗^A,波多 聰^B,村山 光宏^A 九大先導研^A,九大総理エ^B

Development of rapid STEM assisted by machine learning and its application for tomography H. Saito^A, S. Ihara^A, S. Hata^B and M. Murayama^A ^AInst. for Mater. Chem. Eng., Kyushu Univ., ^BDept. of Adv. Mater. Sci. Eng., Kyushu Univ.

対象が機能する様子をナノスケールで可視化することを目的とした透過電子顕微鏡によるオペ ランド観察では、試料の形状や配置される環境ができるだけ本来のものに近いことが望ましい。周 囲の環境を含めた対象を観察する必要があり、従来よりも試料全体が厚くなってしまう。走査透過 電子顕微鏡法(STEM)は結像レンズ系の色収差による空間分解能の劣化を回避できるため、厚い試 料の観察に向く。一方、撮像速度の面ではパラレル検出型の透過電子顕微鏡法(TEM)が有利であり、 ms/frame を突破した高速度カメラの開発も相まって、動的 TEM 観察の応用はますます広がってい くと期待される。しかしながら本研究では、あえて速度の面で不利な STEM の高速化について検討 した。その結果、機械学習を含む画像処理を援用することで用途を大きく広げられること、特にト モグラフィーの高速化には非常に有望なアプローチであることが判明したので報告する。

速度の面で劣る STEM であるが、現在流通する装置も 10 fps 程度に達する。本実験に用いた電子 顕微鏡(Thermo Fisher Scientific 社製 Titan Cubed G2)の STEM モードは、走査速度は最高約 100 ns/pixel、 画像サイズ 512×512 pixels では約 30 ms/frame、14 fps の撮像速度に達する。しかしながら、この上 限速度で取得された画像には、特徴的なノイズと非線形な像歪みが含まれるため(Fig. 1a)、ノイズ フィルターと歪み補正が必要である。後者は標準試料等を用いたキャリブレーションで補正可能で ある。前者については、いわゆるホワイトノイズやその他特性が明らかなノイズではなく、BM3D[K. Dabov et al., IEEE Trans. Image. Process. 16, 2080 (2007).]に代表される汎用的なノイズであるため、機械学習により

専用のノイズフィルターを作成することにした。機械学習の アーキテクチャとして U-Net[O. Ronneberger et al., In MICCAI, 234, Springer (2015).]を採用し、計 175 視野から得た 高速走査像(高ノイズ)とその積算像(低ノイズ)のペアを教師 データとし、高速走査像と積算像間の平均二乗誤差を目的関 数とした学習を実行した。 作成されたノイズフィルターを学 習に用いていない新たな視野から取得された高速走査像に 適用したところ、大幅なノイズ低減を確認できた(Fig. 1b)。 ノイズ低減効果を BM3D(Fig. 1c)と比較したところ、U-Net ノ イズフィルターの方が画像中の細かな特徴を保持したまま (空間分解能をより劣化させずに)ノイズを低減できている ことがわかる。上記の U-Net ノイズフィルターの応用とし て、STEM トモグラフィーの高速化を試みた。 本研究に用い た電子顕微鏡の試料傾斜速度の上限(約 28 %)で試料を傾斜 しながら高速走査像を連続取得し、計140°の傾斜角度区間 で71枚の画像を取得した。全ての画像を取得するのに要し た時間は5秒であった。Fig. 1eにオーステナイト鋼中の転位 の3次元再構成像を示す。当日は、同一視野から得た低速走 査による STEM トモグラフィー(取得時間:数10分)との比 較から評価した高速 STEM トモグラフィーの精度、ノイズ フィルターの更なる高性能化の指針についても報告する。そ の他、上述の高速 STEM トモグラフィーの詳細については、 著者らの論文[Y. Zhao et al., Sci. Rep. (2021), inpress]を参照さ れたい。



Fig. 1 a. オーステナイト鋼中の 転位の高速走査像. b. U-Net フィ ルター適用後. c. BM3D 適用後. d. 50 枚積算像. e. U-Net 支援高速 STEM トモグラフィー. f. 低速 STEM トモグラフィー.

HVEM トモグラフィー高速化の実現と展望山崎 順^{A,B},石井 智仁^C阪大超高圧電顕センター^A,名大未来研^B,阪大工^C

Rapid Electron Tomography in High-Voltage Electron Microscope J. Yamasaki^{A,B} and T. Ishii^C

^ARC-UHVEM, Osaka Univ., ^BIMaSS, Nagoya Univ., ^CSchool of Eng. Osaka Univ.

近年の電子顕微鏡用高速カメラの開発に伴い、傾斜シリーズをわずか 10 秒前後で取得する高速 電子線トモグラフィーへの取り組みが広まりつつある[1,2]。我々はミクロンサイズ材料の形態変化 のその場三次元観察を念頭に、超高圧電子顕微鏡を用いた高速トモグラフィーへの取り組みを行っ ている。その過程で明らかとなってきた難点の一つは、ゴニオメーターの高速傾斜に伴う試料ホル ダー振動によって分解能が低下する問題であり、本研究ではこの改善に取り組んだ。

実験には大阪大学物質・生命科学超高圧電子顕微鏡(JEOL: JEM-1000EES)を使用し、直径100 nm以下のポリスチレン球が連なった試料の±70°連続傾斜像を14秒で取得した。電子直接検出型高速 CMOS カメラ(Gatan: K2-IS)を用いて1600 fps(625 µ s/frame)で撮影したため、総フレーム数は22,400枚となった。これら全てを三次元再構成計算に用いると計算量が膨大になるため、0.25度の角度範囲に相当する40フレームごとの組に分けて各組1枚の画像に合成し、0.25度ステップの560枚の傾斜シリーズに編成し直して再構成を行うこととした。

Fig.1 に示すのは、ある 40 フレーム 1 組の中から抽出した数フレームであり、鮮明な像とぼやけた像が混在している。これはゴニオメーターを高速で傾斜することにより試料ホルダー先端が100nm 以下程度の振幅で機械的に振動しているためであり、画像記録時間の 625 µ s と同等かそれよりも早い周期での振動が生じていると考えられる。これらのぼやけた画像は三次元再構成分解能に影響を及ぼすと予想されるため、鮮明な画像のみを選択して再構成を行うことに取り組んだ。

一般に画像の鮮鋭度を数値化する手段として微分画像の画素値総和が用いられることが多いが、 短時間露光に伴うノイズのために微分値が増大し有効に機能しなかった。そのため低 S/N 比画像で も安定して画像鮮鋭度を数値化できる指標を新たに考案し、Fig.1 中に数値で示すように直観と反 しない一意的な判別が可能となった。560 枚の傾斜像作成において、ぼやけた像も含めた 40 フレー ム全て積算した場合と上記の計算に基づき鮮鋭度上位のみを選択して積算した場合について、三次 元再構成結果を比較した。再構成断面の密度プロファイルから物質表面のボケ幅を計測した結果、 鮮鋭度上位を選択した場合の三次元再構成分解能に明らかな改善が見られた。選択割合と再構成分 解能の間には相関が得られたため、現実的には S/N 比とのトレードオフを考慮して選択割合を決め ることが有効であると考えられる。この他、レンズによる結像自体におけるボケ量や、傾斜シリー ズのアライメント不備に伴うボケ量についても議論する。

References

- [1] V. Migunov, et al., Sci. Rep. 5 (2015) 14516.
- [2] S. Koneti, et al., Mater. Charact. 151 (2019) 480.



Fig 1. Some frames in the tilt series of 22,400 images. Image sharpness values are displayed.



S10

企画セッション

調査報告/公開討論会

11月25日(木) 13:45 ~ 15:15 中ホール

調査報告:海外に研究拠点を置いて活動する 日本人研究者・技術者の動向に関する将来展望 諸根 信弘^{ヘB,C} ケンブリッジ大学^ヘ,京都大学高等研究院^B,認定 NPO 法人綜合画像研究支援^C

Investigation Research for the Japanese Scientist and Engineer based Overseas N. Morone ^{A, B, C}

^AMRC Toxicology Unit, University of Cambridge, ^BKyoto University Institute of Advanced Study, ^CIntegrated Imaging Research Support (IIRS)

パネリスト

前日本学術振興会ロンドン研究連絡センター長 上野信雄

研究環境のグローバル化が加速している。EU-UK の自然科学分野では、EMBO や MRC (UKRI)を中心 とした研究交流と共同研究の推進規模が拡大され、最先端の研究実験施設を共有化できるように、若手ト レーニングプログラムや研究グラントが整備され始めている。このような知をめぐる厳しい国際競争の潮流 のなかで、日本が世界をリードする(世界の為に一役を担う)ためには、日本国内研究拠点の高い研究水 準の維持と併せて、グローバル化に対応できる日本人研究者が国内外で活躍できるようなシステムを整え ることが課題である。本調査研究(一般財団法人新技術振興渡辺記念会・調査研究助成事業)に際して、 綜合画像研究支援(認定特定非営利活動法人)では、日本顕微鏡学会生体解析分科会と連携して、「海外 に研究拠点を置いて活動する日本人研究者・技術者の動向」に関する無記名式アンケートを実施した。在 英日本人研究者に対しては、独立行政法人 JSPS-London JBUK を利用した。以下に詳述する2点を中心 に、日本の学術・科学技術の国際性・学際性を持続・発展させるために、必要な要素を考えてみたい。 (1)海外に研究拠点を構築しようとする「日本人研究者の人材像」

平成を経て令和の日本の研究環境のなかには、先進諸国の中でも卓越したレベルにある研究拠点が存在し、海外で学ぶ必要はないと考える大学院生、ポスドクが大半となり、海外に向かう日本人研究者数は激減してしまった。こうした現状が、日本の研究レベルにおいて良いことなのか、良くないことなのか、評価は分かれるところであろう。ただし唯一、確かなのは、研究者のグローバル化においては逆行していることである。こうした状況にありながら、その一方で、現代日本の恵まれた研究環境にあっても、あえて海外で学ぶ日本人研究者は存在する。彼らは、なぜ海外に拠点をおいて研究生活を送るのか、そのような研究者に必要とされる要素は何か?今後の日本人研究者のグローバル化に欠かせないと考えられる。 (2)海外の研究拠点で推進される「真のグローバル化」

現在、産官学をあげた「グローバル化に対応できる人材の育成・確保」の方策のお陰で、外国人留学 生及び外国人研究者の受入れと併せて、日本から海外への日本人留学生と日本人研究者の派遣に関する 制度が拡充されている。国際学会への参加・渡航助成や国際共同研究の推進に対する制度も用意されて いる。実際の科学研究ばかりでなく、現地の文化、伝統、生活全般に触れることも、国際的な人材育成 の面では大切な要素である。知の創出と人材育成の拠点となるべき高等研究機関に対して、現在から将 来に向けてグローバル化に対応できる研究拠点には何が必要なのか?誰に対しても機会は平等にあり、 多様性が認められることに、グローバル化に対応できる人材育成のヒントが含まれていると考えられる。

公開討論会;生体大規模3次元データ解析における 情報系研究者との共同ニーズと人材育成

太田 啓介1・北原 卓弥2・馬水 信弥2,3 ・森 裕子2 1. 久留米大学医学部 2.(株)システムインフロンティア 3.九州工業大学

Collaborative needs and human resource development with informatics researchers in biomedical large-scale 3D data analysis

Keisuke Ohta

Kurume Univ. Sch. Med.

研究環境は社会的にもまた研究装置としても日々大きく変化し、研究者個人に求められる能力も 変容している。顕微鏡分野においてはデジタル化やカメラの高速度化に伴って、そこから得られる データは大規模化の一途をたどっている。したがって、研究者はこのような大きなデータを用いて 解析を進めていくことになり、そのためには情報スキルが必須な要素となりつつあると考えられる。 しかし、生物分野の研究をしている著者自身を省みても情報スキルの教育は十分ではなかったと感 じているし、現在も、巨大なデータの扱いに苦慮しているのが実態である。そこで、他の多くの生 物系研究者は情報系技術をどのように利用しているのか?またその必要性をどの程度感じているの か?何らかの困難さを感じているのか?等の実態を明らかにする目的で、新技術振興渡辺記念会の 支援をうけ生物学特に形態科学を行う研究者における情報系研究者との共同ニーズの調査を実施 してきた。昨年度の顕微鏡シンポジウムにおいても概要をお話し、参加者にアンケートをお願いし たところ、その結果をみても、多くの研究者がこれらの必要性を強く感じていることが明らかとな ってきた。ただ、このアンケートは研究者側からのデマンドを明らかにしたに過ぎない。そこで、 今回、これらの結果を受けて、情報系の立場からどのようにこの結果を捉えるのか?実際に技術系 企業に務めている方々と情報を共有し、公開討論という形で議論を行うことで、そのニーズと現実 の認識のズレや問題点を検討したい。



S11

企画セッション

In-situ 観察に向けた Cryo 技術の国内最新情報

11月25日(木) 15:30 ~ 17:00 中ホール

S11-1

クライオ電子顕微鏡を用いた In Situ 観察の生物学、医学への応用 今崎 剛^A,吉川 知志^A,高崎 寛子^B,加藤 貴之^B,青山 一弘 ^{C,D},光岡 薫^D, 仁田 亮^A 神大医^A,阪大蛋白研^B,阪大超高圧^C,サーモフィッシャーサイエンティフィック^D

Applications of in situ cryo electron microscopy in biology and medicine T. Imasaki^A, S. Kikkawa^A, and R. Nitta^A

^AKobe University Graduate school of Medicine, ^BOsaka University Institute for Protein Research, ^COsaka university Research Center for Ultra-High-Voltage Electron Microscopy, ^DThermo Fisher Scientific

クライオ電子顕微鏡トモグラフィー法は、細胞、組織、そして蛋白質のような生体試料の構造を、 生理的条件に近い状態で観察出来る非常に強力な手法の一つである。近年、検出器の高性能化や解 析手法の向上により、電子線が透過する薄い試料に関しては、微小管やアクチン、リボソーム等細 胞内の分子の構造が識別出来る分解能で解析が可能となってきた。しかし実際に良いデータを撮ろ うとなると、細胞のような試料は高分解能で観察するには巨大であり、観察したい領域をピンポイ ントで見つけ出すのは非常に難しく、また試料によっては電子線が透過しないほど厚いなど様々な 問題が存在する。このように In Situ 観察において試料調製や測定箇所の選定、さらにはサンプルの 厚みをどうするか?というのは非常に頭が痛い問題であるが、良いデータを撮るためにはこれらの 問題解決が必須である。本発表では、我々が現場の視点で、これらの問題について細胞培養法の検 討、クライオ光電子相関顕微鏡 (cryo-CLEM) や FIB-SEM の導入などを通して我々がどのように対 処しようとしているのかについて紹介する。

クライオ TEM 観察を支援するための、PRIMO によるグリッドマイクロパター ニング法のご紹介 瀬口 武史^A ^Aプライムテック株式会社

Introduction of grid micropatterning method by PRIMO to support cryo-TEM observation. T. Seguchi^A ^APrimetech Co.Ltd.

PRIMO 法は仏 Alveole 社の表面パターニング装置、PRIMO/PRIMO2(製品名)により、均一 PEG コート表面への光反応性試薬の塗布とマイクロメートルオーダーの描画パターンに従った UV 光照 射の組み合わせにより、標的表面の親水性・疎水性をマイクロメートルレベルのパターン状に形成 させることで、1 細胞からの接着・非接着性をパターン状に制御できる画期的な手法である。

本発表では、この PRIMO 法を応用し、PEG コートを施した TEM グリッドのエッジ部分に PEG を残し、グリッド内部の PEG を除去、またはパターン状に除去することで、グリッド上に TEM 細胞観察に好ましい位置、好ましい形状で細胞が接着することを支援する技術について紹介する。

本発表では、始めに PRIMO 法と装置の概論を、続いて実際に TEM グリッドにパターニングを施 す方法論について紹介し、最後に TEM グリッドに理想的に配置された細胞に対してクライオ TEM 観察を実施した実例について紹介する。

クライオ単粒子解析における構造分類のトレンド 馬水 信弥 ^{AB}, 安永 卓生 ^A 九大工・院情報エ^A, (株)システムインフロンティア^B

Trends in structural classification in cryo-EM single particle analysis N. Mamizu^A and T. Yasunaga^B ^AGrad. Sch. Comp. Sci., Kyushu Inst. Tech., ^BSYSTEM IN FRONTIRER INC.

クライオ単粒子解析は 2010 年代初頭のハード,ソフト両方のブレイクスルーを経て今ではタンパク質構造解析において重要な位置を占めるようになった. 試料の結晶化を経ずに,水和状態から 急速凍結することにより分子を固定して観察を行う点で X 線結晶解析と比較してより生体状態に 近い構造を得られる利点を有している.生体状態のタンパク質は柔軟なため,固定された構造は 様々な形をとりうるが,一般的な単粒子解析の計算フローにおいては,それらを似た構造ごとに分 類し,個別に三次元再構成を行うことで分解能を向上させている.この手法では構造変化はいくつ かのクラスへの分類という形で表現されることになるが,クラス間の連続的なダイナミクスが失わ れるという問題を抱えている.

しかし近年,発展の目覚ましい深層学習の技術を用いて,構造の連続的な変化をとらえる試みが 報告されてきている.深層学習は人間が今まで経験に基づいてデザインしてきたデータの特徴量を, 自動で抽出することが可能だが,その能力を用いて構造変化の連続的な特徴量空間を構築するので ある.

本発表では 2020 年に発表されたオートエンコーダーベースのエンドツーエンドな再構成手法で ある cryoDRGN と,その翌年に cryoSPARC のグループより発表された,統一構造とその変形場の 組により柔軟な構造の再構成を行う 3DFlex について紹介する.また当研究室での深層学習を用い た構造分類の試みについても紹介する.
Advanced Electron Tomography Sample Preparation by Cryo-DualBeam Technology

A. Rigort^{A,B} and J. Kuba^B

^A Department Molecular Structural Biology, Max Planck Institute of Biochemistry, Martinsried, Germany, ^BThermo Fisher Scientific s.r.o., Brno, Czech Republic

Cryo-electron tomography allows imaging of the molecular machinery of a cell at close-to-native conditions and high resolution. To render cells accessible for tomographic imaging in the TEM, electron-transparent regions, so-called cryo-lamellae, must be prepared using a cryo-focused ion beam scanning electron microscope (cryo-FIB/SEM). Cryo-lamellae can be directly (*'in situ'*) prepared from cells which are grown and vitrified on EM grids [1] or from bulk high-pressure frozen (HPF) samples, such as small organisms or tissue biopsies. The latter requires the use of cryo-lift-out technology to extract a small sample volume and transferring it to a receiver-grid for lamella preparation. Additional imaging modalities such as cryo-fluorescence microscopy and cryo-SEM imaging are highly useful when it comes to localizing the target sites for lamellae preparation [2]. Here, we introduce the current state of developments that enable the production of cryo-lamellae from vitrified cellular specimens. Advances include a Pt-GIS deposition-free cryo-lift-out method, slice and view imaging of vitrified samples (Figure 1), and the development of a new built-in fluorescence module, which allows correlation between signals from light and electron microscopy in the same Cryo-FIB system. In this talk we will highlight our latest progress in cryo-tomography sample preparation enabling the investigation of cells and tissues at molecular resolution.



Figure 1: Cryo-Lift-Out from a HPF frozen mouse brain sample. (A) schematic (B) 'cut-free' bulk cryo-lamella (white arrowhead) (C) GIS deposition-free cryo-lift-out from HPF planchette with cooled micromanipulator needle (D) bulk cryo-lamella attached to receiver grid. The neuronal tissue can be visualized by cryo-slice and view SEM imaging.

[1] Rigort, A., et al., Focused ion beam micromachining of eukaryotic cells for cryo-electron tomography. PNAS, 2012. 109 (12): p. 4449-4454

[2] Kuba, J., et al., Advanced cryo-tomography workflow developments - correlative microscopy, milling automation and cryo-lift-out. J Microsc, 2021. 281(2): p. 112-124.



日本顕微鏡学会 第64回シンポジウム

ポスター発表 1階 交流ホール

ポスター紹介セッション 11月26日(金) 9:00 ~ 10:20 大ホール

磁区構造変化その場観察のための CMOS カメラの導入とドリフト補正処理 赤瀬 善太郎^A,佐藤 隆文^A,真柄 英之^A,安原 聡^B ^A東北大多元研,^B日本電子(株)

Introduction of a CMOS Camera and Drift Correction Process for In-situ Observation of Magnetic Domain Structure Change Z. Akase^A, T. Sato^A, H. Magara^A, A. Yasuhara^B

AIMRAM, Tohoku Univ., ^BJEOL Ltd.

磁気シールド対物レンズ、磁場印加試料ホルダ、およびビーム振り戻し磁極を組み合わ せることで、軟磁性材料の動的磁場下での磁区構造変化をその場観察することができる[1]。 この手法ではローレンツ顕微鏡観察(フレネル法)に必要なデフォーカス条件において、 試料に印加する磁場とビーム振り戻し磁極の磁場を同期させ、その時の磁場の強度比を像 の移動が最小になるように調整して動画の撮影を行う。これまで撮影にはビデオカメラを 用いていたため、像質や動画の定量解析に限界があった。そこで今年度 CMOS カメラ

(OneViewIS)を導入することで、本手法の改善を図る計画である。本発表では、カメラ導入に先立ち、すでに OneView カメラが搭載された電子顕微鏡 (JEM-ARM200F)を用いて、対物レンズ磁場と試料の連続傾斜を利用した動的磁場印加による MnZn フェライト試料の磁壁移動を 2048×2048 pixel、100 fps で撮影した例、および、合わせて開発した位相限定相関法とロバスト回帰を利用したドリフト補正スクリプトを適用した例と、旧システム (JEM-3000F) でビデオカメラにて撮影した動画へ上記ドリフト補正スクリプトを適用した例を紹介する。本研究は科研費基盤研究 (A) 21H04608 の助成を受けたものです。

[1] Z. Akase and D. Shindo, In situ Lorentz microscopy in an alternating magnetic field, Journal of Electron Microscopy 59 (2010) 207-213.

PI-02

Gabor Wavelet を用いた電子顕微鏡画像上の輪郭線抽出支援ソフトの開発 前田 元¹,馬場 美鈴²,馬場 則男^{1,2} 工学院大学 情報学専攻¹,工学院大学 総合研究所²

Development of a software to support contour line extraction of specific objects from electron microscope images with Gabor Wavelet

<u>Gen Maeda</u>¹, Misuzu Baba² and Norio Baba^{1,2}

¹Grad. School, Kogakuin Univ., ²Res. Inst., Kogakuin Univ.

電子顕微鏡画像上の物体輪郭線抽出は、画像解析や計測における煩雑さや曖昧さを解消する手法 として長きに亘り研究が続けられてきたテーマである。このテーマに関して、我々はこれまでに、 機械学習を用いた電子顕微鏡画像上の各領域の種別に応じた自動画像分類等の研究[1]、及びその結 果を利用した自動輪郭線探索並びに抽出を行う手法[2]の研究等を行ってきた。

本手法では、Gabor Wavelet による信号解析の手法を応用し、特に生物超薄切片画像中の細胞小器 官の膜輪郭線の抽出などを行う。楕円型に拡張した Wavelet 関数の周波数とサイズパラメータを適 切に変えることでほぼ正確な輪郭線抽出を行えることが、モデル画像に対するシミュレーションか らも確認されている。細胞の切削の位置によっては境界が曖昧で膜構造が出現していない小器官も 現れるが、こうした場合でも、本手法によって像パターンの境界として最もふさわしい位置で輪郭 線を引けることが分かっている。現在は、本手法の応用範囲を調べつつ抽出精度を高める為の改良、 並びに上述したパラメータの最適値を効率的に求める方法の検討を行っている最中である。

開発中の本支援ソフトは、現在多く行われている FIB シリアルセクショニングやアレートモグラフィーにおける深層学習の教師学習取得にも貢献すると考えている。

[1] Gen Maeda et al., Microscopy Vol.64 No.S1, p.i142. (2015).

[2] Gen Maeda et al., Microscopy and Microanalysis Vol.23 No.S1, pp.138-139. (2017).

2 段集東レンズ TEM を用いた NBD による SiGe 面間隔評価の試行 小國 琢弥^A, 佐野 雄一^A, 大島 佑介^B, 原 康祐^B, 有元 圭介^B, 山中 淳二^A 山梨大学機器分析センター^A, 山梨大学クリスタル科学研究センター^B Feasibility Study to Evaluate Lattice-Spacing of SiGe by NBD using twocondenser-lens TEM

T. Oguni^A, Y. Sano^A, Y. Oshima^B, K. O. Hara^B, K. Arimoto^B, J. Yamanaka^A ^ACenter for Inst. Analysis, University of Yamanashi, ^BCenter for Cry. Sci. & Tech., University of Yamanashi

微小領域の面間隔測定に、三段集束レンズを備えた FE-TEM を活用したナノビーム電子回折 (NBD)が注目され、様々な研究発表がなされている。これは、入射電子の収束角を小さく保ちなが ら照射領域を数 10 nm 径以内とすることが可能で、NBD でありながらシャープな回折斑点を得る ことができるためと考えられる。一方で、二段集束レンズの一般的な TEM で同様の観察をすると、 回折ディスクは円盤状に広がる。このため、面間隔測定に利用されることは少なかった。我々は、 円盤状回折ディスクの画像データから中心位置を読み取り、無歪み Si のデータで補正することで、 一定精度での SiGe の面間隔測定が可能と考え、これを検証することを研究目的とした。

対象試料は、分子線エピタキシー法で SiGe 混晶半導体を Si(001)基板上に成長させたものとした。 透過電子顕微鏡は、二段集束レンズ型 FE-TEM(FEI、Tecnai Osiris)を加速電圧 200 kV で使用した。 TEM 明視野像で SiGe 層と Si 基板を容易に判別できる照射系の条件とし、各層から NBD を得た。 前回の発表では、円盤状に広がった各回折ディスクに対して、輝度の二値化を行い、回折ディスク の中心座標を読み取り、Si 基板での(111)面間隔の差が最大で 0.03 Å であったことを報告した。今 回の発表では、試料内標準試料を Si 基板のデータとし、SiGe のデータを補正し、SiGe の面間隔の 評価を行った。

PI-04

OBF STEM 法によるゼオライト原子構造の低ドーズ直接観察 大江 耕介^A,関 岳人^{A,B},吉田 要^C,河野 祐二^D,幾原 雄一^{A,C},柴田 直哉^{A,C} 東京大学^A,JST さきがけ^B,ファインセラミックスセンター^C,日本電子株式会社^D

Low dose observation of zeolites at atomic-resolution using OBF STEM K. Ooe^A, T. Seki^{A,B}, K. Yoshida^B, Y. Kohno^C, Y. Ikuhara^{A,B}, and N. Shibata^{A,B} ^AThe University of Tokyo, ^BJST PRESTO, ^CJapan Fine Ceramics Center, ^DJEOL Ltd.

ゼオライトは内部に規則正しく配列したナノ細孔を有する多孔性材料であり、触媒やイオン交換 剤・ガス吸着などに利用されている。ゼオライトの材料物性とその発現メカニズムを本質的に理解 するためには、ナノ細孔を構成する骨格構造を原子スケールで直接観察することが重要となる。し かし、ゼオライトは容易に電子線照射損傷を受ける材料として知られており、従来手法では原子分 解能像を得ることができていなかった。昨年度のシンポジウムにて、高速分割型 STEM 検出器[1]を 利用した新しい結像法である最適明視野(OBF) STEM 法の開発について報告した。OBF 法は、分 割型検出器から得られた複数の像に対して、弱位相物体近似のもとで最も信号ノイズ比を高めるよ う重み付けがなされた空間周波数フィルタを適用し足し合わせることで像を得る手法である[2]。 OBF 法は従来軽元素観察法として利用されてきた環状明視野(ABF) STEM 法と比較して 70 倍程 度の感度を有しており、また従来手法と同様にライブイメージングも可能であることから、低ドー ズ観察手法として強力である。

そこで本研究では、OBF 法を利用することで従来では困難とされてきたゼオライトの原子分解能 直接観察を試みた。本手法および観察結果の詳細に関しては、発表にて報告する。

[1] N. Shibata et al., J. Electron Microsc. 59, 473 (2010). [2] K. Ooe et al., Ultramicrosc. 220, 113133 (2021).

大気圧電子顕微鏡内における観察と操作を両立する光ピンセット技術の開発 仁木 彰太 4. 石田 忠 4

東京工業大学 А

Development of optical tweezers technique for both visualization and manipulation in an atmospheric scanning electron microscope S. Niki^A and T. Ishida^A

^ATokyo Institute of Technology.

これまで我々は電子顕微鏡を用いて生細菌を高分解能観察することを目指し、電子線透過膜とマ イクロ流路を組み合わせた Micro Electro Mechanical Systems (MEMS)液体セルを開発してきた[1]。 しかし、加速電圧数十 kV の電子線では散乱により、水中での観察範囲が三次元的に電子線透過膜 近傍(um オーダー)のみに制限されてしまう。そのため、観察したい試料の観察が困難であり、水中 にある試料を電子線透過膜近傍まで三次元的に搬送する技術が必要であった。そこで、我々は観察 のための電子顕微鏡と試料搬送のための光ピンセットを統合した。しかし、光ピンセットは電子顕 微鏡内の反射電子検出器と干渉する。そこで光ピンセットの光学系にチョッパーを組み込み、レー

ザを間欠的に照射するシステムを構築した。この結果、デューティー比 25%のチョッパーを用いて レーザの射出間隔と SEM のスキャン速度(25 Hz)を合 わせることで、レーザ導入前の SEM 像の 64%(面積 比)を取得することに成功した(図1)。さらに同一条 件において、光ピンセットによる直径 10 µm のマイク ロビーズの三次元搬送にも成功した。



図1 チョッパーの有無による SEM 像の比較 (a)通常の SEM 像 (b)チョッパーなし (c)チョッパーあり

1. T. Ishida, Electron. Commun. Jpn, 102, 55-60 (2019)

PI-06

軟 X 線 MCD 顕微鏡による磁石表面形状と磁化分布の立体観察の試行

小谷 佳範^A, 鈴木 基寬^{A,B}, 中村 哲也^{A,C} A高輝度光科学研究センター、B関西学院大学、C東北大学 国際放射光イノベーション・スマート研究センター

Development of 3D observation method for fractured surface of permanent magnet using soft X-ray MCD microscopy Y. Kotani^A, M. Suzuki^{A,B} and T. Nakamura^{A,C}

^AJASRI, ^BKwansei Gakuin Univ., ^C SRIS. Tohoku Univ.

軟 X 線 MCD 顕微鏡[1]は軟 X 線ビームをフレネルゾーンプレートによって集光し、磁気円二色 性を利用して磁性体の磁区構造をナノスケールで描画できる走査型のイメージング装置である。ま た、入射 X 線エネルギーや外部磁場を走査することでスペクトル情報を伴う多軸的な顕微分光測 定を実施できる。試料電流からX線吸収量を換算する全電子収量法は、超高真空内のレイアウトが シンプルであるため積極的に利用されてきた。しかし、絶縁性試料や電圧印加デバイスのような一 部の試料では適用できない。また、試料表面の微小な凹凸や微傾斜が光電子放出におけるエッジ効 果を生み出し、X線吸収コントラスト像の定量的な解析を妨げていた。試料表面の形状を予め知る ことはこの画像解析の問題を解決できると期待される。そこで本研究では、4象限型のフォトダイ オードを光電子検出器として利用するイメージング法を開発した。光電子の放出角度を演算的に導 出することで試料表面のラフネスの起源となる微結晶のファセットや微斜面の角度を X 線吸収強 度と同時に検出することを試みた。この同時計測によって、磁石表面形状と磁区像の対応が明確に なり、永久磁石材料の磁化反転過程の研究に寄与できるものと期待できる。

本研究で利用した顕微鏡装置は、文部科学省元素戦略磁性材料研究拠点の助成で開発したもので あり、実験および解析は JSPS 科研費 JP20K12492 の助成を受けて行われた。

[1] Y. Kotani et al., J. Synchrotron Radiation, 25 (2018) 1444-1449.

PI-07

DPC STEM を用いた結晶界面電荷分布の観察 遠山 慧子^A, 関 岳人^{A, B}, 馮 斌^A, 幾原 雄一^{A, C}, 柴田 直哉^{A, C} 東京大学工学系研究科総合研究機構^A, JST さきがけ^B, JFCC ナノ構造研究所^C

Observation of charge density distribution at crystal interfaces by DPC STEM S. Toyama^A, T. Seki^{A, B}, B. Feng^A, Y. Ikuhara^{A, C}, N. Shibata^{A, C} ^AInstitute of Eng. Innovation, The Univ. of Tokyo, ^BJST PRESTO, ^CJapan Fine Ceramics Center

微分位相コントラスト(DPC) STEM 法は, 試料内部電場による透過電子の偏向を捉えることで材 料内部の局所電場および電荷分布を高い空間分解能で可視化, 定量化することができる手法である [1]. しかしながら, 粒界やヘテロ接合等の結晶界面近傍においては, 試料の局所構造変化に伴う回 折コントラストが電場信号と重畳するため, 電場の定量観察が極めて困難であった. そこで本研究 では, 回折コントラストを効果的に低減し, 結晶界面近傍における電場, 電荷分布の高精度且つ定 量的な観察手法を開発することを目的とする.

本研究では STEM スキャン時に複数の電子線傾斜条件を用いて DPC 信号を平均化する tilt scan DPC 法を用いて回折コントラストの低減を試みた[2].回折コントラストは電子線傾斜に対して鋭 敏に変化するが、電場による信号はわずかな傾斜に対しては影響を受けないとみなせるため、多数の傾斜像の平均化により回折コントラストのみを低減できると考えられる.さらに大角度収束電子 回折法(LACBED)を用いたシミュレーションにより、tilt scan DPC 使用時の残留回折コントラスト について定量評価を行ない、結晶界面に局在する電場・電荷分布の直接観察を試みた[3].詳細は発表にて議論する.

[1] N. Shibata et al., Acc. Chem. Res. (2017). [2] Y. Kohno et al., to be submitted (2021). [3] S. Toyama et al., to be submitted (2021).

PI-08

分割型 STEM 検出器を用いた局所原子振動直接観察法の開発 田畑 浩大^A, 関 岳人^{A, B}, 幾原 雄一^{A, C}, 柴田 直哉^{A, C} 東大エ^A, JST さきがけ^B, JFCC^C

Development of direct observation of local atomic vibrations with segmented detector STEM

K. Tabata^A, T. Seki^{A, B}, Y. Ikuhara^{A, C} and N. Shibata^{A, C} ^AInst. of Eng. Innovation, Univ. of Tokyo, ^BJST PRESTO, ^CJFCC

近年,電子デバイスの小型化や熱電材料開発の進展に伴い,フォノンの理解に基づくナノスケールの熱伝導制御に対する要求が高まっている.実材料では格子欠陥におけるフォノンの散乱現象を 理解することが重要であるが,局所領域における原子振動を直接計測することは極めて困難である. 材料局所領域における原子構造観察手法の一つに走査透過型電子顕微鏡(STEM)があり,中でも高 角度に散乱された電子を環状型検出器によって検出する暗視野(ADF)法は原子位置の直接観察に強 力な手法として広く用いられている.高角度に散乱された電子は原子番号と原子の平均二乗変位に 依存する熱散漫散乱によるものが支配的になると考えられる.しかし,従来の環状型検出器では振 動の方向も含めた局所原子振動の定量的な直接観察には至っていない.一方,近年開発された分割 型 STEM 検出器では方位角方向に分割された複数の検出領域から像を取得できるため,電子の散乱 方向に依存した信号を取得できるようになった.そこで本研究では,分割型 STEM 検出器を用いた 原子分解能 STEM による局所原子振動の直接観察の可能性について検討した.本研究では,異方的 な原子振動サイトを有する Ba₈Ga₁₆Ge₃₀ に注目して,原子振動の異方性を変化させた像シミュレー ションを行うことで原子振動の異方性に起因する STEM 像コントラストを定量的に解析した.また 実際に同材料で STEM 観察を行い,理論計算との比較検証を行なった.詳細は発表にて報告する.

結晶化ガラスのための 4D-STEM データ解析ソフトウェアの開発 池田 錬太^A,梶原 貴人^{AB},満田 彩欄^A,斉藤 光^A,村山 光宏^A,波多 聰^A 九州大学^A, AGC 株式会社^B

Development of 4D-STEM data analysis software for crystallized glass R. Ikeda^A, T. Kajihara^{A,B}, A. Mitsuta^A, H. Saito^A, M. Murayama^A and S. Hata^A ^AKyushu Univ., Fukuoka, Japan, ^BAGC Inc., Yokohama, Japam

講演者らは4次元走査透過電子顕微鏡法(4D-STEM)と呼ばれる手法での結晶化ガラスの観察に 取り組んでいる.4D-STEM はナノビーム電子回折図形(NBD)を自動多点収録しながら走査透過 電子顕微鏡(STEM)像を撮影する手法であり[1],電子線照射によるダメージよって構造が変化す る可能性がある結晶化ガラスの微細構造解析の手法として有効と考えられる.これまで講演者らは, NBDの回折ディスク検出および NBDの対称性評価を行い,その評価結果を4D-STEM 像にマッピ ングするソフトウェア AutoNBDを開発し,Au 多結晶薄膜のAutoNBDを用いた指数付けに成功し ている.本研究では,Li₂O-Al₂O₃-SiO₂(LAS)系結晶化ガラス等の4D-STEMデータに対して,AutoNBD を用いて X線回折で結晶相の同定が困難な核形成剤由来の結晶相の同定と指数付けを行うことを 目的とした.

透過電子顕微鏡(FEI Titan Cubed 60-300 G2,加速電圧: 300 kV)の電子銃部と照射レンズ系の調整により照射電子プローブの電流量を10 pA 程度まで抑えた条件で4D-STEM データを取得した. AutoNBDの対称性マップ機能を用いて、ディスク状に広がった回折波の自動認識が可能な NBD 図形を探し出した結果,候補として考えられている結晶相(ZrSnO4等)が同定されるとともに、その回折波の積分強度マップ(暗視野像)から結晶相のサイズや分布を可視化することができた. [1] C. Ophus, *Microscopy and Microanalysis*, **25** (2019) 563-582.

PM-01

焼戻し過程が 10 mass%Mn 鋼の微構造に及ぼす影響の解明 下地頭所 輝^A,河原 康仁^A,佐藤 幸生^B,金子 賢治^B,植森 龍治^B, 前田 拓也^C,白幡 浩幸^C 九大院エ^A,九大エ^B,日本製鉄^C

Microstructure of 10 mass% Mn steel in the tempering process A. Shimojitosho^A, Y. Kawahara^A, Y. Sato^B, K. Kaneko^B, R. Uemori^B, T. Maeda^C and H. Shirahata^C

^A Department of Materials. *Kyushu Univ.*, ^B Department of Materials. *Kyushu Univ.*, ^CNippon Steel.

[緒言] 中 Mn 鋼は、強度と延性のバランスが優れ、輸送機器材料への応用が期待されている。本研究では、焼き戻し時間の異なる中 Mn 鋼の微構造解析を行い、その Mn 濃化への影響を解析した。 [実験方法] 10 mass%Mn 鋼を 900 ℃で 0.5 h 保持し溶体化処理を行った後、焼き入れを行いマルテンサイト組織とした。これを焼き入 れ材とする。その後、600 ℃で三種類の時間(0.5 h,1 h,5 h)で保持し水 冷して焼き戻し材を得た。その後、STEM とエネルギー分散型 X 線 分光法(EDS)を用いて Mn の濃化現象を解析した。



[結果] Fig.1 に焼き入れ材及びそれぞれの焼き戻し材の Mn の元素 マップを示す。焼き入れ時においては均一に Mn が分布していたが、

Fig.1 Mn elemental distribution map

焼き戻し時間の増加に伴い、ラス境界に Mn が濃化している様子が判明した。コアシェル型の濃 化領域の分布も確認され、濃化領域のコア部が ϵ 相、シェル部が γ 相であることも判明した⁽¹⁾。そ して、焼き戻し時間の増加に伴い γ 相及び ϵ 相の厚みが増加する傾向にあった。

(1) Y. Tomoda: Tetsu-to-Hagane, 77, (1991), pp.315-325

PM-02

非調質鋼における V 添加,Nb 添加及び V-Nb 複合添加の影響 徳久 朝佳^A,河原 康仁^A,佐藤 幸生^B,金子 賢治^B,植森 龍治^B, 前田 拓也^C,白幡 浩幸^C 九大院エ^A,九大エ^B,日本製鉄^C

Influence of V, Nb, and V-Nb in Untempered Steel

A. Tokuhisa^A, Y. Kawahara^A, Y. Sato^B, K. Kaneko^B, R. Uemori^B,

T. Maeda^C and H. Shirahata^C

^A Department of Materials. *Kyushu Univ.*, ^B Department of Materials. *Kyushu Univ.*, ^CNippon Steel.

[緒言] 非調質鋼とは、オーステナイト相とフェライト相の界面に発現するナノ析出物により、低

コストでの高強度化が期待されている材料である。本研究では、合 金元素の影響に着目し、V鋼、Nb鋼、V-Nb複合添加鋼、それぞれ に発現したナノ析出物の微構造解析を行い、比較した。

[実験方法] Fe - 0.15 wt% C を基本組成(Base 鋼)とし、それに 0.2 wt%V(V 鋼)、 0.03 wt%Nb(Nb 鋼)、 0.2 wt%-0.03 wt%Nb(V-Nb 鋼)を 添加した試料を用いた。それぞれの試料を 1200 ℃で 600 s 加熱後、 0.5 ℃/s の連続冷却を施した。解析には OM、SEM、TEM、STEM を用い、ビッカース硬さ試験による強度の評価も行った。

[結果] ビッカース硬さ試験より、V-Nb 鋼で強度上昇が確認された。また、本研究で得られた DF-TEM(Fig. 1)から、V-Nb 鋼のフェライト相では、他の試料よりも微細な炭化物が観察され、これが高強度化に寄与していると考えられる。 Fig



Fig. 1 DF-TEM of (a)V steel (b)Nb steel (c)V-Nb steel

3次元精密構造解析を通じた逆浸透膜ひだ構造の改良 高田 皓一⁻,峰原 宏樹⁻,志村 晴季⁻,小川 貴史⁻,高橋 弘造⁻ 東レ株式会社⁻

Improvement of protuberance structure in reverse osmosis (RO) membrane by 3D precise structural analysis.

K. Takada^A, H. Minehara^A, H. Shimura^A, T. Ogawa^A and K Takahashi^A ^ATORAY Industries, Inc.

近年、世界人口の急増や産業発展に起因した水不足や水質汚濁に加 え、世界的な気候変動による異常渇水の発生などの水問題が顕在化 し、安全かつ安定した十分な水資源を確保するための水処理技術とし て、逆浸透(RO)膜技術への期待が高まっている。界面重縮合により形 成される架橋ポリアミドを分離機能層とする RO 膜は、微細なひだ構 造を有しており、そのひだの形態や、ひだ内の細孔などが膜性能発現 に重要な役割を果たしていると考えられている。本研究では、RO 膜 の高性能化の指針を得るべく、微細なひだの構造、すなわちひだ厚み、 ひだ高さの解析を実施した。

TEM トモグラフィ等の解析技術を用い、分離機能層のひだ構造に ついて、ひだ厚みや表面積等のナノ構造の定量化に成功し(Fig.1)、構 造と膜性能の関係を明らかにした。また、本研究では、ひだ構造が 重合中に自発的に構造形成される過程を制御することにより、厚み がナノレベルで制御された高性能膜を創出することに成功した。



Fig.1 TEM-tomography image of a protuberance structure.

PM-04

複相マルテンサイト組織を有する中 Mn 鋼の不均一変形挙動
 松田 恭輔^A,河村 慎也^A,前田 拓也^{B,D}増村 拓朗^C,土山 聡宏^C,
 川本 雄三^D,白幡 浩幸^D,植森 龍治^B
 九大院エ^A,九大鉄鋼リサーチセンター^B,九大エ^C,日本製鉄^D

Deformation behavior of duplex martensitic medium Mn steel M. Matsuda^A, S.Kawamura^A, T. Maeda^{B,D}, T. Masumura^C, T. Tsuchiyama^C, Y. Kawamoto^D, H. Shirahata^D and R. Uemori^B ^AGraduate Student of Engineering, Kyushu Univ., ^BResearch Center for Steel, Kyushu Univ., ^CDepartment of Material, Kyushu Univ., ^DNippon Steel Corporation

3~10%の Mn を添加した鋼である中 Mn 鋼は強度-延性バランスの優れた次世代の構造材料として期待 されている。中 Mn 鋼は Mn 添加量により形成組織が大きく変化するため、中 Mn 鋼の機械的性質を理解 する上では、Mn 添加に伴う組織形態の変化、並びに組織と変形挙動の関係を調査することが非常に重要 となる。そこで本研究では、Mn 量の異なる 5%Mn-0.1%C 鋼と 10%Mn-0.1%C 鋼をモデル材とし、SEM-EBSD を用いた組織観察とデジタルイメージ相関法 (DIC 法)によるひずみ分布解析を用いて、組織形態 とミクロスケールでの変形挙動の関係を調査した。

5Mn-0.1C 鋼では平均 3.7µm のブロック幅を有する典型的なラスマルテンサイト組織が確認された。さら に、そのひずみ分布はマルテンサイトブロックに沿っており、著しく局在していた。一方、10Mn-0.1C 鋼で は、 $\gamma \rightarrow \epsilon \rightarrow \alpha$ '変態に起因するものと考えられる超微細かつ γ 、 ϵ 、 α 'からなる複相組織が観察され、そのブロ ック幅は平均 0.34µm であった。ひずみ分布を調査したところ、非常に微細なブロック単位でのひずみ集中 により、5Mn-0.1C 鋼に比べ相対的に均一なひずみ分布が観察された。また、ひずみ分布と ϵ 、 γ の分布を 照らし合わせたところ、両者の間に相関関係は確認されなかった。これは変形の初期段階で加工誘起変 態($\gamma \rightarrow \epsilon \rightarrow \alpha$ ')変態が生じ、 ϵ 、 γ 相が消失したことが可能性として考えられる。

IL-FE-SEM と ICP-MS による燃料電池用 Pt/C 触媒の定量的劣化解析

渡邊 実希^A, Pierre-Yves Olu^B, 松岡美紀^B, 衣本太郎^B 大分大院工^A, 大分大理工^B

Quantitative Analysis of Pt/C Fuel Cell Catalyst Degradation by IL-FE-SEM and ICP-MS M. Watanabe^A, Pierre-Yves Olu^B, M. Matsuoka^B and T. Kinumoto^B

^AGraduate School of Eng. Oita Univ., ^BFac. of Sci. and Tech. Oita Univ.

固体高分子形燃料電池(PEFC)は家庭用燃料電池や燃料電池自動車に実用されている。その空気極には、白金を構成成分とする金属ナノ粒子がカーボン材料に担持された触媒が用いられており、その劣化は PEFC の性能低下の大きな一因となっている。

触媒の劣化に関する既往の研究のほとんどでは TEM が使用されている。空間分解能から妥当で あるが、発表者らは、観察時のダメージは無視できないと考え、比較的ダメージが少ないと考えら れる FE-SEM を使い、独自に同一視野観察技術(Identical Location FE-SEM; IL-FE-SEM)を構築して、 加速劣化試験(ADT)中の特定の触媒の形態変化を明らかにしてきた【T. Kinumoto, et al., *Electrochemistry*, 83, 12 (2015)】。さらに、ADT 中に溶出した白金量を誘導結合プラズマ質量分析(ICP-

MS)で測定し、劣化の定量的解明を進めている。 PEFC 用触媒の一例として、市販の白金ナノ粒子 担持カーボン(Pt/C)の ADT 中の IL-FE-SEM 画像を Fig. 1 に示す。ADT は過塩素酸水溶液を用いたハ ーフセルで行い、任意のタイミングで観察した。白 く見えている粒子が白金ナノ粒子で、その形態変 化と粒子数の変化の両方を確認できた。当日は、 ICP-MS の結果も含めて報告する。



Fig. 1 Typical IL-FE-SEM images of Pt/C catalyst upon ADT.

PM-06

TEM 内加熱ホルダを用いたその場観察による Ag-Cu 二元系粒子の構造変化 安原 聡^{A,B}、本間 雅大^B、三宮 エ^B 日本電子^A,東京工業大学^B

In-situ TEM observation of structural changes in Ag-Cu binary metal particles using specimen heating holder A. Yasuhara^{A,B}, M. Homma^B and T. Sannomiya^B

^AJEOL Ltd., ^BTokyo institute of Technology

Au, Ag, Cu などの元素で構成される金属ナノ構造体は、可視光の波長領域で局所表面プラズモン 共鳴を示すことから、様々な分野で応用され、研究対象とされている。我々は種々の組成を持つ Ag-

Cu, Au-Ag-Cu 金属粒子を Dewetting 法により作 製し、その構造と光学特性の解析を行ってきた [1]。本発表では、加熱ホルダを用い TEM 内で試 料加熱を行い、温度制御を行うとともに Ag-Cu 粒 子の構造変化の観察、分析を行った。

図1に室温および400 ℃での STEM-EELS を用 いた Ag-Cu 粒子の観察結果を示す。TEM 内で試 料加熱を行うことで粒子の粒径が粗大化し、 Janus 型二相分離粒子が作製されていることが 分かる。

[1] A. Yasuhara et al., J. Phys. Chem. C. 124 (28), 15481–15488, 2020.



Fig 1. STEM-EELS elemental maps of Ag-Cu binary metal nanoparticles at Room Temp(a) and 400 $^{\circ}$ C(b). Green and red colors in elemental maps indicate Cu and Ag distribution, respectively.

アンチペロブスカイト型ホウ化物固溶体 CeRh_{3-x}Pd_xB_{0.5} の構造化学 湯葢 邦夫 ^A, I. Zeiringer^B, A. Grytsiv^B, P. Rogl^B 九大エ^A、ウィーン大^B

Structural chemistry of anti-perovskite-type solid solution CeRh_{3-x}Pd_xB_{0.5} compounds

K. Yubuta^A, I. Zeiringer^B, A. Grytsiv^B, P. Rogl^B ^ASchool of Eng. Kyushu Univ., ^BUniv. Vienna

希土類元素を含む三元系ホウ化物は、磁性、超伝導、熱電変換、硬さ、触媒といった広範囲にわたる物性への興味から研究が行われてきた. アンチペロブスカイト型構造を有する希土類三元系ホウ化物 *RE*Rh₃B_y (*RE* = 希土類元素)に注目し、その結晶構造と物性の相関について調べてきた。 *RE*Rh₃B_yでは、Rh 八面体中心サイトを B 原子が非化学量論的 ($0 \le y \le 1$) に占める. 希土類元素のうち Sc, Ce 系のみが、ボロン量 y=0~1 の組成域に渡り Cu₃Au 型 (y=0) もしくはアンチペロブスカイト型 (y=1) 構造を連続的に持つ. 両系ともに、X 線回折では構造変化は捉えられていないが、ボロン量 y=0.5 付近で異常軟化が起こることが報告されていた. 電子回折と高分解能 TEM 観察から、Sc, Ce 系ともに y=0.5 付近に存在する (i) 1/2 1/2 型規則格子反射を伴う「超格子構造」と (ii) Bragg 反射の周りの衛星反射を伴う特徴的な「ドメイン構造」が、異常軟化に強い影響を与えていることが明らかになった.

本研究では、規則格子反射と衛星反射が現れるボロン量 0.5 に固定し、八面体を構成する Rh サイトへの貴金属元素 Pd による置換が引き起こすホウ化物固溶体 CeRh_{3-x}Pd_xB_{0.5} の結晶構造の変化を電子顕微鏡観察によって捉えることを目的とした.置換域 $x \le 0.5$ では、1/2 1/2 22規則格子反射が確認されたが、置換量が増えると規則格子反射は現れなかった.一方、衛星反射は置換全域で現れた.

PM-08

Si/SiGe/Si(110) 内双晶分布の X 線回折と TEM による評価 坂田 千尋^A,有元 圭介^B,各川 敦史^B,原 康祐^B,山中 淳二^A 山梨大学機器分析センター^A,山梨大学クリスタル科学研究センター^B XRD and TEM observation of Distribution of Twins in Si/SiGe/Si(110) C. Sakata^A, K. Arimoto^B, A. Onogawa^B, K. O. Hara^B and J. Yamanaka^A ^ACenter for Inst. Analysis, University of Yamanashi,

^BCenter for Cry. Sci. & Tech., University of Yamanashi

電界効果型トランジスター高性能化のために、歪系 ヘテロデバイスが注目されている。我々は、特に Si/SiGe/Si(110)に着目し、移動度や結晶構造評価を進め てきた。この中、MBE 法で作製した Si/SiGe/Si(110)の 一部で、X線逆格子マッピングにおいて図1に示す特 徴的強度分布を示すものがあった。我々は、基板/薄膜 間の応力誘起双晶とこれを引き継いだ成長双晶が、こ の現象と関連深いことを示してきた。本研究では、図 1のように SiGe の信号が明確にわかれる試料につい て、双晶の分布を評価することを目的とした。



そして、X線ロッキングカーブ実空間マッピング測定の結果から、試料全体を cm²単位で概観すると二つの方向の双晶が概ね均等に存在しているが、mm²単位程度以下でモザイク状に双晶の向きに偏りがある領域が混在していることが、明らかとなった。TEM 観察では、これを裏付ける結果として、観察部位によって特定方向の双晶の比率が高い領域があることを示す結果を得た。 謝辞:本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金 21K04900 の助成を受けて実施した。

PM-09

低温焼戻し炭素鋼マルテンサイトの微細構造解析

浦中 祥平^A, 前田 拓也^{B,D} 増村 拓朗^C, 土山 聡宏^C,

川本 雄三^D, 白幡 浩幸^D, 植森 龍治^B

九大院エ^A, 九大鉄鋼リサーチセンター^B, 九大エ^C, 日本製鉄^D

Microstructure characterization of low-temperature-tempered martensitic steel

S. Uranaka^A, T. Maeda^{B,D}, T. Masumura^C, T. Tsuchiyama^C,

Y. Kawamoto^D, H. Shirahata^D and R. Uemori^B

^AGraduate Student of Engineering, Kyushu Univ., ^BResearch Center for Steel, Kyushu Univ.,

^CDepartment of Material, Kyushu Univ., ^DNippon Steel Corporation

炭素鋼マルテンサイト(α')に対して高硬度を保持しつつ靱性を向上させる熱処理である低温焼戻 しは、473 K 以下の温度で施されるので残留オーステナイト(γ)の分解は生じない。このことから、 残留γを有する炭素鋼α'の低温焼戻しでは準安定炭化物の析出および残留γへの炭素濃化が競合する と考えられるが、残留γの影響を詳細に調査した例は少ない。そこで、本研究では残留γを有する炭 素鋼α'の 373 K での低温焼戻しに伴う組織変化を TEM 観察および電気抵抗測定法を併用して解析 し、ビッカース硬さ変化を調査した。

TEM 観察の結果、残留γの有無にかかわらず焼戻しに伴い斜方晶の Fe₂C 準安定炭化物(η炭化物) の析出が確認されたが、残留γを有する鋼(A 鋼)は、残留γが存在しない鋼(N 鋼)に比べて焼戻しに伴 うη炭化物析出量が 1/5 程度と非常に少ないことが明らかになった。一方で、電気抵抗測定によっ て得られたα'中における固溶炭素量は A 鋼の方が 2 倍近く大きく減少した。焼戻しに伴うビッカー ス硬さ変化を調査すると、N 鋼では準安定炭化物の析出に伴い一度硬さの上昇が生じた後に緩やか に軟化したが、A 鋼では硬さの上昇は見られず、単調に大きく軟化することが明らかになった。こ れらの結果は、残留γの存在が焼戻しに伴う固溶炭素量の吸収サイトとして働き、α'中の固溶炭素量 を大きく減少させ、α'母相の軟化を促進させ得ることを示唆している。

PM-10 Al-Mg-Si 合金の析出強化機構への Cu 添加量の影響 吉川 有太⁴,河原 康仁⁴,佐藤 幸生⁴,金子 賢治⁴

九大院工 А

The effect of Cu addition on the precipitation strengthening mechanism of Al-Mg-Si alloys Y. Kikkawa^A, Y. Kawahara^A, Y. Sato^A, K. Kaneko^A

^ASchool of Eng. Kyushu Univ.

Al-Mg-Si 合金は Cu を微量添加することにより強度が上昇することが報告されているが^[1]、その強化機構は未解明である。本研究では、TEM を用い、Cu 添加量が Al-Mg-Si 合金の析出強化機構に及ぼす影響を解明した。

Cuを0,0.2,0.7 wt%添加したAl-Mg-Si合金(以後、0Cu, 0.2Cu, 0.7Cuとする)に、185 ℃で時効処理をそれぞれ 20,180,1440 min 施し、JEM-3200FSK を用いて、析出物のサイズ、数密度を測定し、析出強化量との比較を行った。



λ値(平均粒子間距離)を算出したところ、

Fig.1 平均粒子間距離と析出強化量の関係

Cu 添加合金と Cu 無添加合金では Cu 無添加合金の方が λ 値が大きい傾向が伺え、時効時間毎の析 出強化量の差が大きいことが判明した。また、0.2Cu と 0.7Cu では λ 値がほぼ同じであったが、0.7Cu では 220 MPa に対し、0.2Cu では 160~180 MPa と、析出強化量が大きかった。0・0.7Cu は 180 min 時効後に粗大化が、0.2Cu は 180 min 時効後も微細析出が起こったと考えられる。

[1] Y.Weng et al: J.Alloys Compd., 695(2017), 2445.

リチウム酸化物正極材料の STEM 構造解析 麻生 亮太郎^A,島田 未月^A,中村 崇司^B,村上 恭和^A 九大エ^A,東北大多元研^B

Structural analysis of lithium oxide cathode materials by STEM R. Aso^A, M. Shimada^A, T. Nakamura^B, and Y. Murakami^A ^AFaculty of Eng. Kyushu Univ., ^BIMRAM. Tohoku Univ.

全固体リチウムイオン二次電池に使用される蓄電固体材料の開発において、イオンの組成制御は 重要な構造設計アプローチの一つである。本研究では、イオン伝導性と強い相関のあるアニオンを 制御した三元系リチウム酸化物正極材料 Li_{1.2}Ni_{0.13}Co_{0.13}Mn_{0.54}O₂₋₈、LiNi_{0.33}Co_{0.33}Mn_{0.33}O₂₋₈ について、 STEM、EDS、EELS を用いたナノ構造解析を試みた。

独自開発した固体電解質リアクター[1]を用いて、酸素欠損を多量に含有したサンプル: Li_{1.2}Ni_{0.13}Co_{0.13}Mn_{0.54}O_{1.94}、LiNi_{0.33}Co_{0.33}Mn_{0.33}O_{1.93}を合成した。酸素脱離処理前後のサンプル表面なら びに内部のナノ構造を比較したところ、高分解能 STEM 像では明瞭な違いは見られず、結晶構造が 保持されていることがわかった。充放電処理後のサンプルでは、酸素脱離量が増えるにつれて、リ チウム原子層への遷移金属原子のマイグレーションと考えられるコントラストが観測された[2]。 EDS による組成分布や EELS による価数変化の調査、X 線吸収分光の測定結果との比較検討を進め ることで、アニオン制御が蓄電固体材料中のイオン移動にどのように影響するかを原子スケールで 解き明かす。

[1] T. Nakamura, et al., ACS Appl. Energy Mater. 3, 9703–9713 (2020).

[2] T. Nakamura, et al., J. Mater. Chem. A, 9, 3657–3667 (2021).

PM-12

超高圧透過電子顕微鏡法によるマイクロキューブ MgO 中の転位組織の解析

矢吹創^A,河原康仁^A,佐藤幸生^A,金子賢治^A 九大院工^A

Characterization of dislocation structures of a micro-cube MgO by high-voltage transmission electron microscopy So Yabuki^A, Yasuhito Kawahara^A, Yukio Sato^A, Kenji Kaneko^A ^ADepartment of Materials. Kyushu Univ.

酸化物の表面構造は、表面近傍の転位組織に依存し、その触媒及び半導体特性に影響を及ぼす^[1]。 一般的に転位組織の解析には TEM が使用されるが、 数百 nm まで試料を薄膜化する必要があるた め、その過程において構造緩和が生じ、 バルク内の真の転位組織を観察することが困難である^[2]。

本研究では、JEM-1300NEF(加速電圧:1250kV)を用い、 マイクロキューブ MgO 中の転位組織の解析を行った。 観察時に Ω フィルターを併用し、240~340 eV を選択す ることで、鮮明な像を取得することに成功した。

Fig.1 に一辺 1.6 μm の MgO キューブ中の転位組織の 観察結果を示す。回折条件を変えることで、転位の消滅 が確認された。直線転位は、これまで MgO において頻 繁に観察されているらせん転位ではなく、刃状転位であ ることが判明した^[1]。表面効果によって、転位の性格が



繁に観察されているらせん転位ではなく、刃状転位であ Fig.1 Filtered-BFTEM images of ることが判明した^{II}。表面効果によって、転位の性格が dislocation structures of a MgO cube 変化した可能性が考えられ、触媒や半導体の設計に新しい知見を与えることが期待される。

[1] J. Amodeo et al: Crystals, 240(2018), 8. [2] 山田ら: 鉄と鋼, 98(2012), 469.

L1₀型 FePd 規則合金エピタキシャル薄膜の STEM による微細構造観察 西嶋 雅彦^A,永沼 博^{B, C, D, E} 大阪大蛋白研^A,東北大エ^{B,}NICHe^C, CIES^D, CSRN^E, CSIS^F

Structural analysis of L1₀ ordered FePd epitaxial thin film by STEM M. Nishijima^A, H. Naganuma^B

^AIPR. Osaka Univ., ^BSchool of Eng. Tohoku Univ., ^CNICHe, ^DCIES, ^ECSRN, ^FCSIS

L1₀-FePd エピタキシャル膜は高い結晶磁気異方性と低い磁気摩擦定数を持ち、次世代不揮発性 磁気メモリの記録層やスピンダイナミクス用材料として注目されている。FePd 薄膜の結晶磁気異 方性は結晶の規則度と相関がある事から、熱処理方法の最適化等により高いL1₀規則度と高い結晶 磁気異方性を得ることができた。本研究では、走査透過型電子顕微鏡法(STEM)により高L1₀規則 度のL1₀-FePd エピタキシャル膜の微構造観察を行った。

図に示すように FePd エピタキシャル膜の断面 STEM 観察から、薄膜の大部分において高い L1₀ 規則度を有している事が確認された。一方で↓で示す右上から斜め左下に向けてのように、転位もいくつか観察されており、この部分では L1₀の c 軸が面内と面直方向を向いている。また基板との界面(囲み)においても、c 軸が面内方向を向いている界面層が 1~2 単位格子分の極薄層を形成している。このような c 軸が面内方向を向く領域が膜内に広く形成されていた。今回作製された FePd エピタキシャル薄膜の観察から、高い L1₀ 規則度を有している事が確認されると共に、残留磁化比の低くなる一因となる転位や二次元極薄界面層が形成されている事が確認された。



図 FePd 薄膜の HAADF 像

PM-14

SrTiO₃ 基板上に成膜した LaFeO₃ 薄膜中のエピタキシャル歪 玉岡 武泰^A,山本 知一^A,麻生 亮太郎^B,村上 恭和^{A,B} 九大超顕微セ^A,九大エ^B

Epitaxial strain in LaFeO₃ thin film grown on SrTiO₃ substrate T. Tamaoka^A, T. Yamamoto^A, R. Aso^B, and Y. Murakami^B

^A Ultramicroscopy Research Center, Kyushu Univ., ^B Graduate School of Med. Fukuoka Univ.

SrTiO₃ (STO)基板上に成膜した LaFeO₃ (LFO)薄膜中のエピタ キシャル歪を,HAADF-STEM を用いて解析し (Fig. 1)、LFO 薄 膜内の電気分極について議論する。LFO は [110]方向(成膜方向) に沿って LaO 原子層と FeO₂ 原子層が交互に積層したように見 え、LaO 原子層中の La 原子カラムは界面に平行な方向にジグザ グに並んでいる。界面から離れた LFO 中ではジグザグ構造の角 度は 173.2°だが,界面近傍の 6 原子層程度では STO に整合する ように角度が上昇していることが明らかとなった。原子界面近 傍の不均一な歪は LFO の中心対称性を崩し、自発分極を発現す ると解釈できる。当日は LFO 中の Fe 原子についての解析結果 も交えた議論を行う。

謝辞:本研究を遂行するにあたり、試料をご提供頂いた理化学研 究所の中村優男先生と川崎雅司先生、日立製作所の谷垣俊明様 に感謝申し上げます。



Fig. 1 (a) HAADF-STEM image of an interface between LaFeO₃ and SrTiO₃. (b) The distribution of φ along the growth direction of LaFeO₃.

PB-01

ヒト慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 肺線維芽細胞におけるニコチン刺激およびニコ チン刺激除去後の形態変化について 立花 利公^A,五十嵐(武内)寛子^{A,B},沼部 幸博^B,馬目 佳信^A 慈恵医大^A,日歯大^B

Morphological changes after nicotine stimulation and nicotine stimulation removal on human chronic obstructive pulmonary disease (COPD) primary lung fibroblasts

T. Tachibana^A, H. Igarsahi-Takeuchi^{A, B}, Y. Numabe^B, Y. Manome^A ^A The Jikei Univ of medicine., ^B The Nippon Dental Univ.

慢性閉塞性肺疾患は、タバコ煙を主とする有害物質を長期に吸入曝露することで生じた肺の炎症 性疾患である。ヒト COPD primary 肺線維芽細胞に対しタバコに含まれる有害成分であるニコチン を培養培地に最終濃度が 1µg/ml になるように作用し 24 時間培養後、ニコチンを含まない培地に交 換し観察を行った。

細胞増殖活性は、ニコチン添加後時間依存的に優位な減少を認め、培養上清交換後は増加傾向を 示した。コントロール群において細胞内に空胞変性が認められた他、粗面小胞体の拡張やミトコン ドリアの伸長が認められた。ニコチン作用 24 時間後、TEM による観察では、細胞質内に空胞様構造 物が認められ、それに伴い細胞小器官の圧平化が認められ、特に、ミトコンドリアは短く丸みを帯 びる傾向が認められた。細胞膜表面は連続性が保たれた円形状の陥凹が認められた。SEM による観 察では、細胞膜表面にエンドサイトーシスが認められた。しかし、培養上清交換後は、これらは時 間依存的に減少した。

以上より、ニコチン刺激により細胞への為害作用が認められたものの、ニコチン刺激を除去する ことにより回復傾向を示すことが示唆された。

本研究は、学術研究助成基金助成金:基盤研究(C)(一般)、課題番号:20K10280の助成を受けて行われた。

カリウムチャネル KcsA の開閉時の構造変化 高崎 寛子^A,清水 啓史^B,安永 卓生^C 阪大蛋白研^A,福井大医^B,九工大情工^C

Conformational Changes between the Closed and Open States in KcsA K⁺ Channel H. Takazaki^A, H. Shimizu^B and T. Yasunaga^C ^AIPR. Osaka Univ., ^BSchool of Med. Sci. Fukui Univ., ^CGraduate School of Comp. Sci. Syst. Eng. KIT.

KcsA は、高いイオン選択性を持つカリウムチャネルである。その膜貫通ポアとイオン導入口の構造は、原核生物から真核生物まで高く保存されている。KcsA はアミノ酸 160 残基からなる単量体が4量体を形成し、4量体でもその分子量が70kと非常に小さい。以上のことから、チャネル機能を持つ最小単位として、KcsA をモデルとした研究が盛んに行われている。KcsA は、中性条件ではチャネルが Closed 状態、酸性条件では Open 状態となる。X線1分子追跡法による解析では、Closed と Open 状態間で大きな構造変化を見出しているが、X線結晶構造解析では、それに対応した構造変化は明らかになっていない。そこで本研究では、溶液中の KcsA の Closed と Open 状態の構造を明らかにするため、クライオ電子顕微鏡法と単粒子解析法を用いて、中性(pH7.5)と酸性(pH 4.0)条件下での構造取得に取り組んだ。まず、KcsA が水中に単分散する条件を検討した結果、amphipolを使用することで、中性、酸性のいずれの条件でもゲルろ過法、負染色法および、クライオ電子顕微鏡法により粒子の単分散性が確認できた。単粒子解析の結果、-7Å分解能の構造が取得でき、主要な α -ヘリックスを可視化できた。3次元構造のクラスタ解析によって、中性・酸性条件 それぞれで複数の構造が得られ、そのほとんどが C2対称性を持っていた。唯一、酸性条件の1クラスで C4 対称性の構造が確認された。このことから、イオン透過には C4 対称性が必要であり、C2 から C4 への大きな構造変化がイオン透過性の違いを導くことが考えられる。

PB-03

タンパク質の2D 投影像の深層学習によるミオシンの構造分類法の研究 和田眸^A,安永卓生^A

九工大情 А

Structure classification of myosin by deep learning of 2D projection images H. Wada^A and T. Yasunaga^A

^ASchool of Info. Kyushu Institute of Technology Univ.

筋収縮は、アクチンフィラメントとミオシンフィラメントが互いに滑り込むことで起こる。これ は、ミオシンの構造変化に着目したレバーアーム説に関連がある。この構造変化を捉えることは、 筋収縮メカニズムを解明する上で重要である。また、近年、Deep Leaning を用いた画像解析の進歩 は著しい。そこで、本研究では、教師ラベルを付与せずに学習を行う教師なし学習を使用した。 これは、教師あり学習と比較すると、高い学習認識への実用化が難しいとされている。しかし、ノ イズ除去・画像生成・異常検知のほか、本研究で利用した潜在空間にマッピングを行うことで特徴 ごとの分類へ応用できる可能性がある。

そこで、本研究では、タンパク質の2D投影像を教師なし学習の一種である変数オートエンコー ダ(VAE)で解析することで、投影向きも考慮しながら、ミオシンの構造分類を行うことを目的とし た。モデルケースとして、タンパク質データバンク(PDB)から作成した各種ミオシンの2D投影像の 解析から得られた潜在空間の構造を確認した。その結果、ミオシンヘッドの投影角とともに、ネッ ク角度による分布の違いを観察できることが分かった。今後、これを、従来の電子顕微鏡の構造生 物学の解析と組み合わせることで、構造変化と投影角を分離し、詳細な構造変化の分類に対応でき、 その結果として、3Dモデルの高分解能化が可能になると予想される。将来的には、この深層学習 のネットワークモデルをクライオ電子顕微鏡の生データに応用したいと考えている。

Cryo-CLEM 法を用いた糸状仮足観察に関する研究 中深迫美穂^A,肥後智也^A,五味渕由貴^A,森本雄祐^A,安永卓生^A 九工大院情報工学研究院^A

A study on the observation of Filopodia using the Cryo-CLEM method Miho Nakafukasako^A, Tomoya Higo^A, Yuki Gomibuchi^A, Yusuke V. Morimoto^A, and Takuo Yasunaga^A

^A Graduate School of Computer Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology, Fukuoka, Japan,

細胞は、糸状仮足(Filopodia)をアンテナのように使いながら細胞運動を行う。私達の研究室では、 細胞運動時の糸状仮足の先端構造には2種類の構造があることを明らかにしてきた^[1]。1つは、先 端まで F-アクチンの束が存在している "Sharp"構造。もう1つは、内部に F-アクチンはなく、全 体が丸みを帯びている "Round"構造である。また、蛍光顕微鏡法による観察により、伸長時に Sharp 構造、退縮時に Round 構造をとっている可能性が示唆されている。

このように、私達はクライオ顕微鏡法および蛍光顕微鏡法を用いて糸状仮足の動的な構造変化を 研究してきたが、クライオ-EMでイメージングする前に、伸長・収縮しつつある糸状仮足のターゲ ットを探すのは困難であった。そこで、蛍光ビーズを位置マーカーとして散布した、クライオ電子 顕微鏡に適したグリッドの開発を試みた。サイズの異なる3種類の蛍光ビーズをグリッド上に散り ばめて、カーボンで固定した。そのグリッド上で蛍光顕微鏡にて NG108-15 細胞を動的観察し、そ の後、急速凍結後 Cryo-CLEM 法による糸状仮足観察を試みている。現状の問題点と進捗を報告す る。

[1]Higo et al. 日本顕微鏡学会 第 59 回九州支部集会



日本顕微鏡学会 第64回シンポジウム

S13 招待講演

11月26日(金) 10:30 ~ 12:10 大ホール

マルテンサイト変態の顕微解析 西田 稔 九大総理工

Microscopy study of martensitic transformation M. Nishida Faculty of Eng. Sci. Kyushu Univ.

マルテンサイト(以下, M)変態は「母(高温)相の隣り合う原子が拡散によって別個に動くのでは なく,互いに連携を保ちながら1原子距離以下"せん断的"に移動し,新しい結晶構造を持つ低温 (M)相に変化する変態」と定義され,拡散を必要としないため極低温でも起こる. M 変態は熱弾性 型と非熱弾性型に大別され,前者は形状記憶・超弾性合金,後者は鋼等で発現する.熱弾性 M は変 態温度履歴が極めて狭く,温度・応力・磁場等の外場の変化に追随して母相/M 相, M 相/M 相界面 が容易に移動するため形状記憶効果や超弾性の担い手となる. 非熱弾性 M 変態は鉄鋼の強靭化に 大きな役割を果たしている. 講演の前半ではこれまでの M 変態の研究において顕微鏡が果たした 役割を概観し,後半では演者が継続してきた熱弾性 M 変態に伴う組織形成過程の研究を報告する.

M 変態の組織および結晶学の研究では熱弾性,非熱弾性を問わず,日本の研究者が多くの足跡を 残してきた.当初は光学顕微鏡,X線回折,レプリカ観察が主な手段であったが,1950年代後半か ら透過電子顕微鏡による直接観察が隆盛となった.その嚆矢は大阪大学産業科学研究所の西山善次 先生,清水謙一先生のご研究であり,両先生は「金属薄膜によるM変態の電子顕微鏡的研究」によ り本会第7回(1962年)学会(瀬藤)賞を受賞されている.1950年代後半から現在まで透過電子 顕微鏡(TEM),さらに走査透過電子顕微鏡観(STEM)はM変態の研究には不可欠なToolとなって いる.また,1990年代中盤からは走査電子顕微鏡(SEM)および後方散乱電子回折(EBSD)の利用も 盛んになり,2000年代に入るとTEM,STEMによる研究報告数を凌駕するようになった.以上の 経緯について,演者の印象に残る論文や解説記事を交えて紹介する.

形状記憶合金の熱弾性M相の強度は鋼の非熱弾性M相と比較して母相のより相対的に低いため、 組織観察においては試料調製の段階から細心の注意と解析目的に応じた観察手法の選択が重要で ある.以下,代表的な形状記憶合金であるTi-Ni系合金の中心として,熱弾性M変態に伴う組織形 成過程の階層的および動的組織観察と解析に関するこれまでの成果を数例紹介する.① 熱弾性 M 相の形態に及ぼす機械研磨の影響:Ti-Ni合金のM相(単斜晶 B19'構造)の表面起伏(レリーフ)は 光学顕微鏡やSEM よって多く観察されているが,同一組成の合金であっても研究者ごとに異なる 形態が報告されている.それらの一部には機械研磨によって生じた応力誘起生成物の可能性がある ことを指摘する.② 自己調整構造:熱弾性Mの自己調整構造を的確に評価する方法として逆変態 レリーフの利用を提案する.③ 動的観察:M 変態開始温度が室温以下の数種類の多結晶合金を用 いて,M相の核生成サイトと自己調整構造の形成過程を調べた.母相の弾性異方性の小さいと考え られる合金系では粒内から,大きい合金系では粒界から核生成した.母相の EBSD-GROD(Grain Reference Orientation Deviation)マップを取得した結果,前者ではひずみの集中は認められなかった が,後者では粒界近傍にひずみが集中していた.また,動的観察ではこれまで見過ごしていた現象

に遭遇する. 例えば図 1 は Ti-Ni-Fe 合金で M 相に先立って 現れる R 相(三方晶)の Herringbone 型自己調整構造(a)が粒中 央部に生成した M によって再配列する過程(b)である. さら に, TEM および SEM 内冷却その場観察の得失についても紹 介する. ④ 変態によって導入される転位組織: 形状記憶合 金は熱サイクルに伴い母相中に変態誘起転位が導入され変 態温度が変化することが知られているが, M 組織と転位と の関係は明らかにされていない. Ti-Ni 合金の自己調整構造 と転位組織の関係をバルク状態で広い領域を観察できる SEM を用いた電子チャンネリングコントラスト像と TEM, STEM 観察の結果を比較して,変態誘起転位が"いつ: When", "どこに: Where" に発生するかを検証する.



図1 (a) R 相の自己調整構造, (b) M 相の生成による R 相の再配列.

3次元微細構造解析:この40年と明日への憧れ 中村 桂一郎 久留米大医

Three-dimensional ultrastructural analysis: Past forty years to the exciting tomorrow K. Nakamura *Kurume Univ. School of Med.*

構造解析において3次元情報が求められることはいうまでもない。学生時代の組織学実習において1枚の切片観察から立体的組織構築を理解しなさいと教えられ、また、後輩たちにそう指導してきた。機能解剖学を意識した形態研究においては、光顕、電顕を問わず様々な手技・手段を編み出して、まずは3次元構造を明確にすることに力点があった。Beauty is truth, truth beauty.のもと当たり前のようにそう考え、かたちの妙に感動してきたのであるが、うまくいってない反省もしばしばで、実現の厳しさを思い知ることも多かった。

私が大学で過ごした 40 余年、生命科学はすさまじく変化し、電顕レベルの3次元微細形態観察の ための装置、試料作製法も大いに進化した。SEM の結合組織除去法では線維・細胞に覆い隠され た構造を、鋳型法では血管・リンパ管など体腔の構造を、また、割断・オスミウム浸軟法は細胞 内部構造の観察を実現した。TEM では Deep etching によるタンパクレベルの解析が可能となり、 また、特定の細胞を可視化した厚切り切片の超高圧電顕観察も成果をあげてきた。ステレオ画像 描出も効果的であった。光顕と電顕を繋ぐ CLEM の発展も目覚ましい。

古くより試みられてきた連続切片再構築法の延長として 2013 年に久留米大に FIB 搭載型 SEM が 導入され、比較的簡便に電顕レベルの連続画像再構築ができるようになった。超薄切片の TEM 像 と同等の画像が樹脂ブロック表面の SEM 観察により得られ、それまで高度な技術と莫大な時間・ 労力を必要とした組織・細胞の連続超薄切片画像取得・3 次元微細構造解析が効率的にできる。3D 観察のみでなく、光顕試料に匹敵する広範囲のブロック表面観察により適切な領域を探し当て、 その部位の連続画像取得により、個々の切片の観察ではつい見過ごしがちな対象が捉えられる。1 枚の切片だと人工産物との区別も難しい exosome のような断片構造に光を当てることもできる。 電子線や検出器等装置の技術革新の恩恵であり、教室や本学会の仲間がいたからこそ実現できた と感謝する。

この手法に、結合組織中の間質細胞/線維芽細胞ネットワークの直接的証明の可能性を感じた。身体各所の所見を一つ一つ押さえながらも、紙のように薄く扁平な細胞の網目・敷石様配列があち こちに分布することを想像し、昨今の"筋膜"再評価や経絡・つぼに関係付けられないかと妄想 する。上皮下隅々に拡がる結合組織においてそのような細胞連結が枠組みとなり、機能分化する ことをいかに証明できるか、パラダイムシフトを求めつつ、道半ばである。

顕微技法は日進月歩であり、微細構造レベルの再構築はスクリーン上 in silico に移行、3D プリン ターも日々精密となり活躍している。蛍光技術の発展、遺伝子ラベルによる構造の可視化、組織 の透明化、AI-assisted analysis など、40 年前には夢想だにしなかった新しい展開が始まっている。

仮説の前に正確な観察が求められる、形態学はその基礎たる情報のソースであると教わった。し かし、同じ形をみても、各人の性分・苦悩・学習によりみえているものが異なるのかもしれない。 ある人は、連続画像をパラパラめくるだけで3次元構造がみえているのかもしれない。何に注目 して、どう表現し、いかに画像化・言語化して皆と共有するか、それが形態研究者に求められて いる。そういえば心眼でみることも教わった。そんなことを思いながら、皆さんの飛躍を夢見る この頃です。



日本顕微鏡学会 第64回シンポジウム

S14 若手セッション 材料系 I 11月26日(金) 13:30 ~ 14:45 大ホール

Al-Mg-Si 合金の析出強化に及ぼす Cu 添加の影響 河原康仁^A, 寺西亮^A, 金子賢治^A, 宍戸久郎^B 九大院エ^A, 株式会社神戸製鋼所^B

The influence of Cu addition on precipitation hardening in Al-Mg-Si alloys Yasuhito Kawahara^A, Ryo Teranishi^A, Kenji Kaneko^A and Hisao Shishido^B ^ADepartment of Materials. Kyushu Univ., ^BKobe steel, LTD

析出強化型合金である Al-Mg-Si 合金に Cu を添加すると強度上昇することが報告されている^[1]。

Cu 添加は析出物の微構造を変化させていると考えられ、 特にその構造や分散状態、転位ピン止め機構に及ぼす影響 を解明することが望まれる。本研究では原子分解能 STEM 法により、Cu 添加が微構造に及ぼす影響を調査した。

Cu 無添加及び Cu を 0.2 wt%添加した Al-Mg-Si 合金(以 後、0Cu, 0.2Cu とする) に、185 ℃で時効処理を施した。 JEM-ARM200F を用い、析出物の結晶構造及びサイズ、数 密度を解析し、時効硬化挙動との比較を行った。



Fig.1 HAADF-STEM images of 0Cu and 0.2Cu aged for 86.4 ks

0Cu 及び 0.2Cu における析出物の HAADF-STEM 像を

Fig.1 に示す。0.2Cu では、Cu クラスタを内包した β"が析出していることが判明した。析出物の分 散状態を基に析出物の転位ピン止め力(Fm)を見積もったところ、Cu を添加することで Fm 値が低下 することが判明した。これは Cu クラスタが β"中に侵入することで、母相界面の整合度が低下した ためと考えられる^[2]。Cu 添加による強度上昇は、析出物の数密度の増加に起因すると考えられる。 [1]Q. Xiao et al: J. Alloys Compd., 695(2017), 1005. [2] H. Chen al: Acta Mater., 185(2020), 193.

S14-2 空素添加オーステナイト系ステンレス鋼の転位密度測定 小畠 駿哉¹, 多久島 睦子², 濱田 純一²,金子 賢治¹ ¹九大工、²日鉄ステンレス

Dislocation density measurements of Nitrogen-added Austenitic Stainless Steels S. Kobatake¹, C. Takushima², J. Hamada² and K. Kaneko¹ ¹Department of Materials. Kyushu Univ., ²Nippon Steel Stainless Steel Corporation

オーステナイト系ステンレス鋼へ窒素を添加することで、高温強度が上昇することが知られている⁽¹⁾。更なる高温強度の向上のためにはその強化機構を明らかにすることが必須である。強化機構の1つに加工硬化が知られており、本鋼においても支配的であると考えられる。

そこで本研究では、窒素が転位密度に及ぼす影響を明らかにすることで、強化機構の解明を試みた。窒素を 0.01,0.09,0.19 wt%添加した試料を 573 K,773 K,973 K の温度で 5%の歪みを与えるように 引張試験を行った。転位組織の観察には JEM-2100HC を加速電圧 200 kV で使用した。転位密度の 測定には JEM-3200FSK を加速電圧 300 kV で使用し、EELS を用いた膜厚測定を行った。

Fig.1 に窒素をそれぞれ(a)0.01 (b)0.09 (c)0.19 wt%添加した試料の転位組織を示す。窒素を添加す

るにつれて、直線状の転位が 増加していく傾向にあった。 また、転位密度には大きな変 化がないことから、転位の性 質が強度に大きな影響を与え ると考えられる。

(1) M.Okamoto, R.Tanaka, R.Fujimoto and T.Naito: Tetsuto-Hagané, 48(1962), 123.



Fig.1 TEM image of (a)0.01N, (b)0.09N and (c)0.19N

電子照射による Au-Si 準安定化合物の形成 太田 和弥^A, 市川 修平^{AB}, 畑中 修平^B, 佐藤 和久^{AB} 阪大エ^A, 阪大電顕センター^B

Formation of Au-Si Metastable Compounds by Electron Irradiation K. Ota^A, S. Ichikawa^{AB}, S. Hatanaka^B, and K. Sato^{AB} ^ADiv. Mat. Mfg. Sci., Osaka Univ., ^BResearch Center for UHVEM, Osaka Univ.

Au-Si 二元系は合金組成 Au-19at%Si において 363℃に共晶点を有し、半導体素子用のはんだ材料として知られている。Au、Si ともに相互に固溶しないが、薄膜において準安定化合物の生成が多数報

告されている[1]。しかしながら、その構造や形成メカニズムは 明らかになっていない。本研究では、電子照射による Au-Si 準 安定化合物の形成とその極微構造解析を目的とする。電子ビー ム蒸着により、Au ナノ粒子をアモルファス(a-)SiO_xで挟んだ a-SiO_x/Au/a-SiO_x薄膜を作製した。電子照射及び組織観察には透過 電子顕微鏡 (Hitachi H-7000、JEOL JEM-ARM200F)を用いた。 図 1(a)に as-depo.試料の制限視野電子回折 (SAED) 図形を示す。 Au の Debye-Scherrer リングと a-SiO_xからのハローリングが観察 される。室温で 75 keV 電子照射 (9.0×10²⁶ e/m²)を行うと、図 1(b)に示すように回折リングが不連続となり、さらに新たな回折 リングが観察された。これらは、電子照射によるナノ粒子組織 の形態変化と a-SiO_xの分解が関与した化合物生成によるものと 考えられる[2]。[1] L. Hultman et al., *J. Appl. Phys.* 62 (1987) 3647. [2] K. Sato et al. *Acta Mater.* 154 (2018) 284. [3]本研究の一部は、科研費 基盤研究(B)(21H01764)の支援を受けて実施した。



図 1. a-SiO_x/Au/a-SiO_x 薄膜の SAED 図形. (a)as-depo. 試料, (b)75 keV 電子照射後.

S14-4

冷間圧延した Ti 添加極低炭素鋼における結晶粒分割過程 赤井 周平^A, 森川 龍哉^B, 田中 將己^B, 市江 毅^c, 村上 健一^c 九大院^A, 九大工^B, 日本製鉄(株)^c

Process of grain subdivision in cold rolled Ti-added ultra-low carbon steel S.Akai^A, T.Morikawa^B, M.Tanaka^B, T.Ichie^Cand K.Murakami^C ^AGraduate school of Kyushu Univ., ^BSchool of Eng. Kyushu Univ., ^C NipponSteel.

[緒言] 鋼板の持つ集合組織は鋼板の加工特性や磁気的特性に大きく寄与する. 冷間圧延により発 達する変形組織は,その後の熱処理により生じる再結晶集合組織の発達に影響を与えるため,加工 段階での組織の様相を観察し,形成機構を捉えることは重要である. 本研究では,変形組織の中で も特に, 圧下率の増大に伴い元々1 つであった結晶粒が複数に分割される挙動に着目し,圧延前後 の同一領域を観察により,結晶粒の分割に影響を与える因子について検討することを目的とした. [実験方法] 供試材は熱延ままの Ti 添加極低炭素鋼を用いた. この板材の板側面に対して SEM-EBSD 法による結晶方位測定を行った. その後,観察面を保護するため同じ鋼種で作製した枠に観 察した試料と同一形状の試料をはめ込み, 20%まで圧延し,同一領域の結晶方位分布を捉え圧延前 と比較した. また,同様の検討を圧下率2%についても行った.

[実験結果および考察] 20%圧延材において,初期方位から異なる2つの安定方位へ結晶回転が生じ ていた結晶粒が複数存在し,これらの結晶粒は初期方位が不安定な方位を有している傾向があった. このことは,結晶粒の分割の程度は初期方位に依存していることを示している.また,2%圧延材で のすべり帯観察により,隣接結晶粒からすべり帯が貫通したような様相が観察された.この領域は 他の領域とは全く異なる方位へと結晶回転していたため,このような挙動が結晶粒の分割に影響を 及ぼすと考えられる.このすべりの貫通の要因として隣接結晶粒の不均一変形について検討する.

クロム系耐熱鋼溶接金属中の MX 型析出物の微構造解析

高山 慧太^A, 金子 賢治^B, 大阿見 祥子^C, 岡部 俊明^C, 武田 裕之^C 九大工院生^A, 九大工^B, コベルコ溶接テクノ株式会社^c

Characterization of MX precipitates in Cr-Based heat-resistant steel weld metal K. Takayama^A, K. Kaneko^B, S Ooami, T Okabe and H Takeda ^ADepartment of Materials. Kyushu Univ., ^BDepartment of Materials. Kyushu Univ, ^CKobelco Welding TechnoSolutions Co. Ltd.

[緒言]現在、火力発電では二酸化炭素排出量の削減が求められている^[1]。火力発電プラントの操業温度を向上させることで二酸化炭素排出量が削減できるため、プラントに用いられる耐熱鋼はよりよい高温特性が求められている^[1]。本研究では耐熱鋼溶接金属に着目し、MX型析出物の微構造が特性に及ぼす因子を解明することを目的とした。

[方法]高温特性が異なる耐熱鋼溶接金属2種類を観察した。試料1の高温特性が試料2の特性より 倍以上の値を示していた。溶接し熱処理をした後、FIB加工している。暗視野像観察はJEM-2100HC で行った。JEM-ARM200Fを用いて走査透過電子顕微鏡(STEM)とエネルギー分散型X線分光(EDS) を組み合わせ、EDSマッピング像の取得を行った。

[結果・考察]2 種類の試料について MX 型析出物の析出に差があった。試料1の MX 型析出物が試料2に比べて微細に析出していた。MX 型析出物の輝点から結像した暗視野像では試料1の MX 型 析出物の平均粒径は7.43 nm であり、試料2の MX 型析出物の平均粒径は10.9 nm であった。また 構成元素はどちらもV、Moが主体であったが試料1の方が試料2に比べてV が少なかった。

[1] Feng-Shi Yin, Woo-Sang Jung : Metallurgical and Materials Transactions, 40/302-309/(2009)



日本顕微鏡学会 第64回シンポジウム

S15 若手セッション 材料系 Ⅱ 11月26日(金) 14:55 ~ 15:55 大ホール

STEM その場観察法による金単結晶の双晶成長と回復過程の直接観察 曹 旻鑒^A,栃木 栄太^{A,B},柴田 直哉^{A,C},幾原 雄一^{A,C} 東大エ^A, JST PRESTO^B, JFCC^C

Direct Observations of Twinning and Detwinning Process in Au by in-situ STEM M. Cao^A, E. Tochigi^{A,B}, N. Shibata^{A,C} and Y. Ikuhara^{A,C} ^AInstitute of Eng. Innovation, Univ. Tokyo, ^BJST PRESTO, ^CJFCC

TEM その場機械試験法は、荷重負荷機構を備えた試料ホルダーを用いて変形中の微細組織変化 を直接観察する手法である.しかし、従来の機械試験用試料ホルダーは荷重負荷精度や安定性が十 分でなく原子分解能観察が困難であった.近年、微小電気機械システム(MEMS)デバイスを利用し た TEM その場機械試験システムの開発研究が進められており、極めて高い精度でのその場観察試 験が実現されつつある[1].本研究では、我々が開発した二軸荷重印加機構を持つ MEMS デバイス 並びに STEM を用いたその場機械試験法により、金単結晶における変形素過程の原子レベルでの直 接観察を試みた.

集束イオンビーム法(FIB)を用いて金単結晶基板から薄片を切り出し,観察方位が<110>, {111}変 形双晶が優位に活動する試料方位となるよう MEMS デバイス上に貼付,加工,薄膜化して STEM 観察用試料とした.本 MEMS デバイスを二軸傾斜電圧印加ホルダー(Aduro300, Protochips 社製)に搭 載し,STEM(ARM-200F, JEOL 社製)内にて荷重負荷試験を行った.段階的に負荷荷重を増大させた ところ,試料端から{111}変形双晶が原子面1層ずつ形成・成長する過程が観察された.その後除荷 したところ,双晶が段階的に回復する様子が観察された.講演ではこれらの変形に伴う原子構造変 化が生じるメカニズムを議論する.

[1] T. Sato, et al., Microel. Eng., 164, 43-47 (2016).

S15-2

パルス電子顕微鏡を用いた Ti₃O₅ 光誘起相転移の時間分解その場観察 土屋 汰朗^A, 畑中 修平^B, 市川 修平^{A,B}, 佐藤 和久 ^{A,B} 阪大エ^A, 阪大電顕センター^B

In-Situ Observation of Photoinduced Phase Transition of Ti₃O₅ by Ultrafast Electron Microscopy T. Tsuchiya^A, S. Hatanaka^B, S. Ichikawa^{A,B}, and K. Sato^{A,B} ^ADiv. Mat. Mfg. Sci., Osaka Univ., ^BResearch Center for UHVEM, Osaka Univ.

Ti₃O₅ は室温で可逆的な光誘起相転移をする β および λ 相を持つことが知られている[1]。これまで時間分解粉末 X 線回折測定等で、相転移および緩和過程における構造変化についての研究が行われてきたが、時間分解能の不足や局所的な観察がなされていないことから、その詳細は解明されていない。本研究ではパルス電子顕微鏡を用いて $β \rightarrow λ$ 相転移をその場観察し、そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

集束イオンビーム装置によって β - Ti₃O₅ 焼 結体から TEM 試料を作製した。試料を励起す るパルスレーザー (波長 800 nm、約 8 mJ cm⁻²) と観察に用いるパルス電子との間の遅延を変 えて電子回折図形を撮影した。電子回折図形 (図 1) が示すように光励起直後に β 相の一部 が λ 相に変化した。当日は時間分解測定の解析 結果を報告する予定である。[1] S. Ohkoshi *et al.*, *Nat. Chem.* 2, 539(2010) [2] 本研究の一部は科研 費若手研究 (No. 20K15174) の支援を受けた。



図 1.光励起後の電子回折図形. (a) 励起直後 (b) 緩和後(約 40 µs)

AuTe₂スパッタ薄膜の極微構造と相変態 薄井 洸樹^A, Sun Haiming^B, 市川 聡^B, 市川 修平^{A,B}, 畑中 修平^B, 佐藤 和久^{A,B} 阪大工^A, 阪大電顕センター^B

Microstructure and Phase Transformation of AuTe₂ Sputtered Thin Films K. Usui^A, H. Sun^B, S. Ichikawa^B, S. Ichikawa^{A,B}, S. Hatanaka^B, and K. Sato^{A,B} ^ADiv. Mat. Mfg. Sci., Osaka Univ., ^BResearch Center for UHVEM, Osaka Univ.

天然鉱物である Calaverite (AuTe₂)は単斜晶であり、高圧・極低温下 で三方晶に相変態し、超伝導を示す[1]。講演者らのグループでは、 AuTe₂薄膜が液体窒素温度で構造変化することを見出した。本研究 では、TEM その場観察により、AuTe₂スパッタ薄膜の極微構造と 低温での構造変化の起源を明らかにすることを目的とする。AuTe₂ 薄膜は RF マグネトロンスパッタ法を用いて作製し、膜表面をアモ ルファスカーボン膜で覆った。試料薄膜の極微構造は 200 kV-TEM (JEM-ARM200F)を用いて冷却その場観察した。図 1 (a)に作製した AuTe₂薄膜の室温での制限視野電子回折(SAED)図形を示す。Debye-Scherrer リングは単斜晶の AuTe₂で指数付できた。97 K に冷却する と、図 1(b)に示すようにディフューズな回折リングが観察された。 HRTEM 及び HAADF-STEM 観察の結果、低温では結晶性が著し く低下していた。冷却後、室温に昇温すると、図(c)に示すように 再びシャープな回折リングが現れた。冷却前後において薄膜の化



図 1. AuTe₂ スパッタ薄膜の SAED 図形. (a) 室温, (b) 97 K, (c)冷却後の室温.

学組成に変化は見られず、温度に対して可逆的に構造変化することが判明した。[1] S. Kitagawa et al. J. Phys. Soc. Jpn. 82 (2013) 113704. [2]本研究の一部は科研費挑戦的研究(萌芽)(No.20K21129)の支援を受けて実施した。

S15-4 成長メカニズムで説明されるメタチタン酸ナノ粒子の結晶構造 麻生 浩平⁴,東嶺 孝一⁴,大島 義文⁴ 北陸先端大マテ⁴

Structure of Metatitanic Acid Nanoparticles Explained by a Growth Mechanism K. Aso^A, K. Higashimine^A, and Y. Oshima^A ^ASchool of Mater. Sci., Japan Adv. Inst. of Sci. and Tech.

酸化チタン (TiO₂) や酸化チタン水和物 (H_xTiO_y) の結晶構造は、複数の TiM₆(M=O, OH, H₂O) 八 面体が組み合わさっていく結晶成長メカニズムによって決まると予想されている。例えば、酸化チ タン水和物の一種であるメタチタン酸 (H₂TiO₃) は、TiO₆ が六角形状に並ぶシートとなり、複数の シートが H を介して積層する構造を有する。しかし、一部のメタチタン酸ナノ粒子は積層シート構 造とは異なることが X 線回折から示唆されてきた一方、具体的な構造は不明であった。そこで本研 究では、メタチタン酸ナノ粒子の未知の構造を決定することを目的とした。

TiM₆ 八面体を積み重ねて六量体を形づくり、多数の六量体を三次元的に結合させていくことで、 構造モデルを考案した。このモデルは、アナターゼ酸化チタンの(002)について半分の Ti を取り払 って 4 つの H で置き換えたとも解釈でき、[001]方向について TiO₂(004)面とそれに対して Ti の個数 が少ない H₄TiO₄(004)面が交互に現れるのが特徴である。

モデルを検証するために、メタチタン酸ナノ粒子 (三津和化学薬品製)を原子分解能 ADF-STEM 観察した。Ti を示す像コントラストの明暗が[001]方向について交互に変化している様子が見られ、 モデルから予想された TiO₂(004)面と H4TiO₄(004)面の交互な並びに対応すると考察された。

このように、TiM₆ 八面体の成長メカニズムに基づいて構築したモデルの妥当性が実験的に示され、メタチタン酸ナノ粒子の構造を解明することができた。



日本顕微鏡学会 第64回シンポジウム

S16 若手セッション 材料系 田 11月26日(金) 16:05 ~ 17:05 大ホール

共還元法により調製された Au @ Ag @ Pt ナノ粒子の組成変化の影響 Lee Hujun ^A, 佐藤幸生 ^A, 寺西亮 ^A, 金子賢治 ^A, Dao Thi Ngoc Anh ^B, 笠井均 ^B 九大院工 ^A, 東北大学多元物質科学研究所 ^B

Influence of changes in the composition of Au@Ag@Pt nanoparticles prepared by co-reduction method

Hujun Lee^A, Yukio Sato^A, Ryo Teranishi^A, Kenji Kaneko^A, Anh T. N. Dao^B and Hitoshi Kasai^B ^ADepartment of Materials, Kyushu Univ, ^BIMRAM. Tohoku Univ.

Trimetallic platinum (Pt)-based nanoparticles (NPs) synthesized via co-reduction method represents a new strategy to maximize Pt utilization and catalytic activities ^[1]. In this study, we investigated the influence of compositional variation between Ag and Pt for Au@Ag@Pt NPs over Ag-Pt shell thickness. The molar ratio between Ag and Pt were modified from 6:5 (standard), 3:5 (Ag reduced), and 6:1.75 (Pt reduced) to confirm the effect on the thickness of Ag-Pt multi-shell.

The average thickness of Ag-Pt multi-shell was measured as 3.9 ± 0.3 (Ag: 2.7 ± 0.5 , Pt: 1.2 ± 0.2), 4.0 ± 0.2 (Ag: 1.4 ± 0.1 , Pt: 2.6 ± 0.1), 2.9 ± 0.3 (Ag: 2.2 ± 0.2 , Pt: 0.7 ± 0.1) nm in standard, Ag

reduced, and Pt reduced sample, respectively. In the case of Ag reduced sample, Ag shell decreased, and Pt shell increased compared to standard sample. In the case of Pt reduced sample, both Ag and Pt shell decreased compared to standard sample. As a result, it is considered that changes in Ag:Pt molar ratio during synthesis by co-reduction has a great influence on the thickness of Ag-Pt multi-shell.



[1] X. Xie et al., Adv. Mater., 27(2015), 5573-5577.

S16-2

ガウス原子モデルを用いたナノ粒子の原子分解能トモグラフィー再構成 山本知一^A,松村晶^B 九大 URC^A,九大工^B

Model-based atomic-resolution tomography reconstruction of nanoparticles using a gaussian atom model T. Yamamoto^A and S. Matsumura^B

^AUltramicroscopy Research Center, Kyushu Univ., ^BSchool of Eng. Kyushu Univ.

ナノ粒子の光学特性、触媒活性などの物性は、ナノ粒子のサイズ、形状、表面の原子配列、双晶 などの格子欠陥の有無に強く依存するため、それらを原子スケールで明らかにすることが重要であ る。表面ファセットなどのナノ粒子の3次元形態を明らかにする上で、電子線トモグラフィーは非 常に有効な手法である。近年、HAADF-STEM 像の傾斜シリーズを用いることで原子分解能での電 子線トモグラフィーも可能となっている。角度制限された傾斜シリーズからフーリエ変換を基礎と したトモグラフィー再構成を行う場合、逆空間のミッシングウェッジに伴う再構成アーティファク トが本質的に発生する。そのため、アーティファクトの少ない再構成手法の開発が望まれる。本研 究では、個々の原子を3次元ガウス関数で近似し、離散トモグラフィーのアルゴリズムによりナノ 粒子の3次元構造を再構成する手法について検討を行なった。2-5 nm サイズのナノ粒子の像シミュ レーションを行い、そのシミュレーション画像を用いて、トモグラフィー再構成の検討を行なった。 数百原子のモデルの場合には、十分な精度で再構成が可能であることが分かった。当日の発表では、 画像粒子サイズや投影枚数、ノイズ等の再構成精度に与える影響および実際のナノ粒子の HAADF-STEM 像の傾斜シリーズを用いた再構成について報告する。

非負値行列因子分解の EELS イメージングへの応用 出原舞依子 ^A, 山本知一 ^B, 松村晶 ^A 九大エ ^A, 九大 URC^B

Sparse modelling of EELS Image by Non-negative Matrix Factorization M. Idehara^A and T. Yamamoto^B and S.Matsumura^A ^ASchool of Eng. Kyushu Univ., ^BURC. Kyushu Univ.

スパースモデリングの手法の一つである非負値行列因子分 解(NMF)の EELS への応用が近年注目されている。NMF を用 いることによりスペクトルデータ行列を基底スペクトル行列 と係数行列の二つの非負行列に分解することができる。本研 究では、Ni/CeO2触媒の STEM-EELS データに対して NMF の 適用方法を検討し、ドライリフォーミング(DRM)反応にお ける触媒の価数変化の可視化を試みた。右図に Ni/CeO2触媒 を1気圧の DRM 反応雰囲気(40% CH4, 40% CO2, 20% Ar, 1.0 scem)において 800 ℃の温度で 30 分反応させた後に取得した EELS データに対して NMF 適用して作成した元素価数マップ を示す。図(b)には約 10 nm 径の 3 個の Ni 粒子が存在してお り、(c)(d)の Ce⁴⁺/Ce³⁺の価数マップから、CeO2粒子の約 10 nm 厚の表面層が Ce³⁺に還元されていることが分かる。STEM-EELS データに NMF を適用することでノイズ成分を取り除 き、価数マップを作成することができることが分かった。



図 Ni/CeO₂の DRM 反応後の HAADF-STEM 像(a)と Ni²⁺ (b), Ce⁴⁺ (c), Ce³⁺元素価数マップ(d).

S16-4

AuRh 二元合金ナノ粒子の酸化・還元雰囲気における元素分布変化 伊藤 大悟^A, Xuan Quy Tran^A, 山本 知一^B, 草田 康平^C, 北川 宏^C, 松村 晶^{A,B} 九大エ^A, 九大 URC^B, 京大理^C

Element redistribution in AuRh binary alloy nanoparticles under redox conditions

D. Ito^A, Xuan Q. Tran^A, T. Yamamoto^B, K. Kusada^C, H. Kitagawa^C and S. Matsumura^{A, B} ^ASchool of Eng. Kyushu Univ., ^BURC Kyushu Univ., ^CSchool of Sci. Kyoto Univ.

Rh は自動車排ガス中の NOx 還元触媒などとして需要の高い元素であるが、極めて高価で希少な ため、他の元素との合金化により触媒中の Rh 使用量を削減することが求められている。合金ナノ 粒子においては粒子中の元素分布が触媒活性に大きな影響を及ぼすため、実際に触媒が使用される 酸化および還元雰囲気下での挙動を知ることは重要である。本研究では、酸化還元雰囲気変動によ る二元合金ナノ粒子触媒の元素分布変化を明らかにすることを目的として、AuRh 固溶型合金ナノ 粒子を酸化および還元雰囲気下で熱処理した試料の STEM 観察および第一原理計算を実施した。

Fig.1に示す同一粒子の観察により、AuRh 固溶体を大気圧空気中において700 ℃で2時 間酸化処理後にはRh₂O₃シェル構造へ変化し た。さらに、大気圧 4%水素雰囲気下におい て 500 ℃で 1 時間還元処理後には再び固溶 体へ変化した。また、酸化雰囲気下で Rh が 粒子表面に移動し酸化物シェルを形成する ことは第一原理計算でも示唆された。



Fig. 1. HAADF-STEM images of the same NPs (a) As-prepared (b) After calcination for 2 hrs@700 °C (c) After reduction for 1 hr@500 °C



日本顕微鏡学会 第64回シンポジウム

S17 若手セッション 生物系

11月26日(金) 13:30 ~ 14:45 中ホール

S17-1

[|] 三次元光-X 線-電子相関顕微鏡法による組織内皮細胞の形態解析 吉村 安寿弥 ^A, Natalia Reglero-Real^B, Sussan Nourshargh^B, Lucy Collinson^C

山口大医 A, クイーン・メアリー ロンドン大 B, フランシス・クリック研究所 C

Volume Correlative Light X-ray and Electron Microscopy (CLXEM) of Endothelial Cells in Tissue Samples

A. Yoshimura^A, N. Reglero-Real^B, S. Nourshargh^B and L. Collinson^C

^AGrad. School of Med. Yamaguchi Univ., ^BQueen Mary Univ., ^CThe Francis Crick Institute

医学・生物学研究おいて三次元光-電子相関顕微鏡法(volume Correlative Light and Electron Microscopy, vCLEM)は蛍光観察によって特定した領域の微細構造を可視化するための欠かせない 手法となっている。しかし組織試料中の特定の細胞を観察するためには、大きな試料中の小さな領 域を効率よく見つけ出す必要がある。本発表では、組織試料において効率良く目的領域を絞り込む 手法として vCLEM と X線マイクロトモグラフィー(µCT)を組み合わせた CLXEM のワークフローを紹介する。マウス精巣挙筋細静脈中の標的内皮細胞を電子顕微鏡試料中で特定するために、組 織の樹脂包埋前蛍光データと包埋後 µCT データを、*in vivo* 蛍光標識した血管パターンをもとに相 関させ、段階的に領域を絞り込んで serial block face SEM データを取得した。更に、蛍光タンパク質 標識された内皮細胞核の位置を蛍光・X線・電子データ中で特定することで標的内皮細胞の微細構 造の解析を達成した。このワークフローの利点は、1)ある程度薄く透明な組織試料であれば適用可能である、2) 用いた蛍光標識は細胞の透過処理を伴わないため、微細構造を損なわずに形態を解析 できる、3) 相関にはセグメンテーションなど時間のかかるステップは含まれない、4) 全てオープンソースのプログラムで行えることである。そのため幅広い試料への適用を期待している。

S17-2

超伝導転移端センサを用いた微弱光の共焦点イメージング

佐野 千佳歩 A, 岡野 千草 B, 堀江 千紘 A, 今野 俊生 C, 衞藤 雄二郎 DE, 丹羽 一樹 C, 福田 大治 CD, 野村 暢彦 BF, 八幡 穰 BF

筑波大院・生命地球科学研究群 A, 筑波大・生命環境系 B, 産総研・物理計測 C,

産総研・東大オペランド計測 OIL^D, 京大・エ^E,

筑波大・微生物サステイナビリティ研究センター^F

Confocal Imaging of Faint Light by Transition Edge Sensor

C. Sano^A, C. Okano^B, C. Horie^A, T. Konno^C, Y. Eto^{DE}, K. Niwa^C, D. Fukuda^{CD}, N. Nomura^{BF},

Y. Yawata^{BF}

Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba^A, Faculty of Life and Environment Sciences, University of Tsukuba^B, NMIJ/AIST^C, OPERANDO-OIL^D, Graduate School of Engineering, Kyoto University^E, Microbiology Research Center for Sustainability, University of Tsukuba^F

共焦点蛍光顕微鏡法によるライブセルイメージングは、生きた状態で細胞の構造や細胞内部の タンパク質、有用物質の時間的ダイナミクスを追跡できる。しかし励起光は細胞に対して光毒性を 示し、ダメージフリーなイメージングは困難だった。そこで本研究では、超伝導転移端センサ(TES) を用いて微弱蛍光を検出できる共焦点顕微鏡を開発し、弱い励起光パワーでの低ダメージな長時間 ライブセルイメージングを実証した。TESは単一光子検出器の一つで、超伝導体の転移領域を利用 して入射した光のエネルギーを熱として検出する。検出器の暗計数率は微弱光の検出を制限するが、 可視領域における TES の暗計数率は無視できるほど小さい(2×10-3 cps 以下)。TES は断熱消磁冷凍 機の中に設置されており、常温下で構築した共焦点顕微鏡とは光ファイバーで連結した。サンプル には GFP を恒常的に発現する GFP-Hela 細胞 (Hela/GFP cell line; Cell Biolabs inc.)を用いた。ステー ジインキュベータ下で細胞を培養しながら GFP 蛍光を 30 時間観察した (照射条件: 405 nm レーザ ー,180 nW)。長時間観察にも関わらず GFP の蛍光量は減少しなかった。

TES には低い暗計数率以外にもユニークな特徴が2つある。まず検出器で唯一エネルギー分解 能があるため、複数の光子が同時に入射しても光子数を識別できる。そして高い量子効率で近赤外 光を検出できる。これらの特性を生かしたライブセルイメージングの今後の可能性についても議論 したい。

LVSEM を用いた TEM 切片の新たな STEM 観察による方法と 病理診断への応用

南雲 佑^A, 高木 孝士^B, 坂上 万里^C, 若月 萌音^D 井上 由理子^A, 向井 俊平^E, 矢持 淑子^A

昭大医^A,昭大電顕室^B,株式会社日立ハイテク^C,昭大院歯^D,昭大横浜市北部病院^E A Novel Technique of STEM Observation of TEM Specimen Using LVSEM and The Application to Pathological Diagnosis

T. Nagumo^A, T. Takaki^B, M. Sakaue^C, M. Wakatsuki^D, Y. Inoue^A, S. Mukai^E and T. Yamochi^A ^A School of Med. Showa Univ., ^BDiv. of Electron microscopy. Showa Univ., ^CHitachi High-Tech Corp., ^DGrad School of Dent. Showa Univ., ^EShowa Univ. Northern Yokohama Hosp.

従来から透過電子顕微鏡(Transmission Electron Microscope: TEM)は腎生検や心筋生検をはじめとす る病理診断に用いられてきており、その有用性は明らかである.しかしながら、TEM には試料作製 が煩雑であること、観察視野が限定されること、装置の導入や維持に高額な費用がかかること、装 置が巨大であるといった欠点がある.そのため、病理診断にとって非常に強力なツールでありなが ら、自施設において TEM を利用することは限定的となりつつある.近年簡易的な卓上型低真空走 査電子顕微鏡(以下 Low-Volume Scanning Electron Microscope: LVSEM)が開発され、電子顕微鏡病理 診断への応用が期待されている.低真空専用高感度検出器(Ultra Variable-pressure Detector: UVD)を 使って LVSEM で STEM 像を取得することを可能とする明視野 STEM ホルダーが新たに開発され 薄膜切片での更なる高分解能観察の可能性が期待されており、病理診断に応用することで従来の TEM 観察における欠点を補った電子顕微鏡病理診断が可能性になると考えた.今回我々は LVSEM を用いて TEM 切片を観察する技術が実際に病理診断に応用可能か検証するために、IgA 腎症とア ミロイドーシスの腎針生検検体について TEM 観察との比較を試みた.当院で採取された検体の中 から IgA 腎症では高電子密度物質が明瞭に観察可能なものを、アミロイドーシスではアミロイド線 維が明瞭に観察されるものを1例ずつ選び比較した.結果、従来とほぼ同様に診断可能な画像を取 得できただけでなく広い視野での観察が可能であった.今後の病理診断への応用が期待される.

S17-4

C₄植物シコクビエの葉肉細胞と維管束鞘細胞の三次元構造解析

前田 芽依奈,松永 隼,菊谷 里美,谷口 光隆,大井 崇生

名大農

Three-dimensional anatomy of mesophyll and bundle sheath cells

in a C₄ plant, finger millet

M. Maeda, H. Matsunaga, R. Kikutani, M. Taniguchi, and T. Oi. Graduated School of Bioagr. Nagoya Univ.

C4植物の葉組織には機能および形態が異なる2種類の光合成細胞,葉肉細胞と維管束鞘細胞が存在し,両細胞にまたがってC4光合成回路が機能している。両細胞の葉緑体配置は異なり,葉肉葉緑体は細胞周縁に散在する一方,維管束鞘葉緑体は植物種に応じて求心または遠心的に局在している。しかし,それら両細胞の形態や葉緑体の細胞内配置について三次元的な解析はなされていない。そこで,本発表では,イネ科C4植物のシコクビエ葉身の葉肉細胞,維管束鞘細胞それぞれについて,細胞外形と葉緑体を対象として観察・比較に取り組んだ。 試料を固定・樹脂包理した連続切片をスライドガラスに回収し、卓上SEM(TM3000またはTM4000PlusII, Hitachi)によって切片の表面組成像を順々に撮影して,画像解析ソフトウェア

(Image-Pro 3D)上で三次元構築・解析を行った。葉肉細胞の三次元再構築像からは、多数の 複雑なくびれ(有腕構造)を生じた細胞外形と、楕円体の葉緑体が観察された。維管束鞘細 胞の三次元再構築像からは、扇形柱の細胞外形と、細胞内の維管束側を中心にバラの花弁状 に延び広がった葉緑体が重なり合っている様子が観察された。本発表では、各細胞の体積や 葉緑体の個数および細胞に占める割合などについても報告する。

連続切片-走査型電子顕微鏡法によるシコクビエ葉肉細胞の三次元形態解析 松永 隼, 菊谷 里美, 谷口 光隆, 大井 崇生 名大農

Three-dimensional anatomy of mesophyll cell in finger millet leaves by serial section scanning electron microscopy H. Matsunaga, R. Kikutani, M. Taniguchi, and T. Oi. School of Agr. Nagoya Univ.

C4 植物の葉組織には、機能や形態が異なる葉肉細胞および維管束鞘細胞の2つの光合成細胞が存在し、それぞれ C4 光合成回路を組織的に分業している。C4 植物の葉肉細胞葉緑体は、通常時は細胞周縁に散在しているが、強光、乾燥、塩などの環境ストレス下では葉緑体が維管束鞘細胞側へ局在する凝集運動が観察される。この現象の詳しい移動様式については未解明であり、これまでは主に切片の二次元像で観察が行われてきたが、葉肉細胞は立体としては多数の複雑なくびれ構造(有腕構造)を有しており、凝集時の葉緑体はそれぞれが密に重なって観察される。このため、より多角的で詳細な解析が行える三次元観察を試みた。細胞内微細構造の三次元解析として、固定・樹脂包埋した試料の連続切片をスライドガラスなどに回収し、走査型電子顕微鏡(SEM)によって切片の表面組成像を順々に撮影して立体像を再構築する手法が近年確立されてきている。しかし、これまでの報告事例は電界放出型機(FE-SEM)などの大型で高性能な機器によるものが多数である。本研究では、C4 植物であるシコクビエの葉肉細胞に凝集運動を誘導し、その葉身組織の連続切片から小型で操作が簡便な卓上 SEM (TM3000 または TM4000PlusII, Hitachi)を用いて観察像を取得した後、画像処理ソフトウェア(Image Pro 3D)によって三次元再構築を行った。これにより、複雑にくびれた葉肉細胞における葉緑体の細胞内配置を立体的に示すことができた。更に体積値や形状についての比較・解析を予定している。



日本顕微鏡学会 第64回シンポジウム

S18 若手セッション 装置・手法系 11月26日(金) 14:55 ~ 15:55 中ホール

循環障害治療戦略のための肺グリコカリックス観察法の確立 若月萌音¹²、高木孝士³⁴、牛山明⁷、南雲佑⁵、井上由理子⁶、本田一穂³、飯島毅彦² 昭和大学大学院歯学研究科歯科麻酔科学講座¹、昭和大学歯学部全身管理歯科学講座歯 科麻酔科学部門²、昭和大学医学部解剖学講座顕微解剖学部門³、昭和大学電子顕微鏡教 室⁴、昭和大学大学院医学研究科臨床病理診断学講座⁵、昭和大学医学部解剖学講座肉眼 解剖学部門⁶、国立保健医療科学院生活環境研究部⁷

Establishment of pulmonary glycocalyx observation method for treatment strategy of circulatory disorders

M. Wakatsuki¹, T. Takaki^{2 3}, A. Ushiyama⁵, T. Nagumo⁴, Y. Inoue², K. Honda², T. Iijima¹

¹Department of Perioperative Medicine, Division of Anesthesiology, Showa University School of Dentistry,²Department of Anatomy, Showa University School of Medicine,³Division of Electron Microscopy, Showa University,⁴Department of Pathology and Laboratory Medicine, Showa University School of Medicine,⁵Department of Environmental Health, National Institute of Public Health

血管内皮には糖タンパクやグリコサミノグリカンなどの糖鎖を主体としたグリコカリックス

(GCX)があり、これらは血管透過性やがん細胞自身の保護作用がある。このGCX 解明が敗血 症での急性呼吸促迫症候群(ARDS)の治療やがん治療研究に貢献すると考えられているが、従 来の電子顕微鏡によるGCX 観察法では灌流固定が必要で、ヒト利用できず、主に動物実験での 研究が行われていた。我々はヒト組織利用のため、アルシアンブルー(ALB)浸漬固定液を用い たマウス腎組織のGCX 観察法を2020年に確立した(MMM.2021 Jun;54(2):95-107. doi: 10.1007)。 今回、この方法を応用して、光学顕微鏡による組織内へのALB 固定液の浸漬条件の検討と電子顕 微鏡による肺 GCX の形態観察を行うことで、肺組織の新たな脱気浸漬固定方法を確立した。 脱気をしない肺組織は、組織全体に固定液が浸透せず、脱気 30 回以上行った肺組織では、脱気回 数、浸漬時間に関わらず光学顕微鏡下で固定液の浸漬具合に差は認められなかった。LV-SEM 下 では、脱気 100 回後に浸漬固定1 日行った肺組織が最も GCX を明瞭に観察することができた。 現在、TEM による本固定法の評価、臨床応用に向けた試料作製の迅速化の検討、敗血症マウスを 用いた研究を推進している。



脱気浸漬固定法した肺組織内微小血管の GCX 観察
MicroED 法における試料へのダメージの定量化 高比良恵吾^{1,2},田中康太郎¹,神田浩幸²,山野昭人²,安永卓生¹ ¹九州工業大学情報工学府情報創成工学専攻,²(株)リガク

Quantification of radiation damage to samples in the MicroED method Keigo Takahira^{1,2},Kotaro Tanaka¹,Hiroyuki Kanda², Akihito Yamano² and Takuo Yasunaga¹ ¹Department of Creative Informatics KIT ,Fukuoka, Japan, ²Rigaku Corporation,Tokyo,Japan

MicroED 法は、電子線回折によって微小な結晶サンプルから構造情報を得る手法である。これまでは、構造解析手法として主に使われてきたのは X 線結晶構造解析である。近年の X 線源の高輝度化、検出器の進歩等によって、数 µm³程度の大きさまでの結晶であれば、解析が可能であるが、1µm³よりも小さな結晶では、測定が困難で、データの収集にも時間がかかる。そこで、1µm³よりも小さい結晶でも高速に回折データの収集が可能である MicroED 法が近年注目されている。電子線と結晶との相互作用が強いため、MicroED 法では 1µm³よりも小さい極微小な結晶サンプルから回折データの収集が可能である。しかし、相互作用が強いことの裏返しとして、試料への電子線損傷が問題となり、構造解析に十分な回折データを収集できない場合がある。電子線によるダメージを軽減することができる撮影方法の検討が必要である。電子線損傷を軽減させる方法として、試料を冷却させた CryoEM 法がある。本研究では、複数の性質の異なる試料を用いて、電子線による試料のダメージと、CryoEM 法等による電子線損傷の軽減を定量化することを試みた。

同じ微小結晶試料に対して、傾斜範囲 10°を数回繰り返して回折像を撮影した。収集した回折像の 回折スポットの強度の変化をもとに、解析を行い、損傷のモデル式を提案し、試料ダメージの定量 化を試みた。本会では、モデル式からダメージを評価する指標を提案する。今後は、試料の種類を 増やし、電子線損傷を受けやすい試料の特徴の解明、試料毎での構造解析に必要な分解能での回折 像の収集の際の総電子線量の検討を行なっていく。

S18-3

DPC STEM 法による Nd-Fe-B 系磁石中の磁壁幅測定 村上 善樹^A,関 岳人^{A,B},木下 昭人^C,庄司 哲也^C,幾原 雄一^{A,D},柴田 直哉^{A,D} 東大エ^A,JST さきがけ^B,トヨタ自動車^C,JFCC^D

Measurement of Magnetic Domain-Wall Width in Nd-Fe-B magnets by DPC-STEM Y. O. Murakami^A, T. Seki^{A, B}, A. Kinoshita^C, T. Shoji^C, Y. Ikuhara^{A, D}, N. Shibata^{A, D} ^AInst. of Eng. Innovation, Univ. of Tokyo, ^BJST PRESTO, ^CToyota Motor Corporation, ^DJFCC

電気自動車のモーター等に使われる永久磁石の高性能化において、ミクロな磁性組織である磁区 およびその境界である磁壁の挙動を理解することは極めて重要である.特に磁壁幅は局所的な磁気 異方性と交換相互作用の大きさに依存するとされ、局所的な磁気特性を直接的に反映する.そこで 本研究では、走査透過電子顕微鏡法(scanning transmission electron microscopy: STEM)を用いた高分解 能電磁場観察手法である微分位相コントラスト(differential phase contrast : DPC) STEM 法[1,2]を用い て、Nd-Fe-B 系磁石中の磁壁幅を直接測定することを目的とした.磁区構造を破壊せずに高い空間 分解能で観察するため、新型の対物レンズを搭載した原子分解能磁場フリーSTEM[3]を用いて DPC 観察を行った.DPC 観察の際には回折コントラストの重畳が避けられないため、電子線をわずかに 傾斜させながらスキャンする傾斜平均化法[4]を用いて回折コントラストを低減し、磁壁幅測定の精 度向上を試みた.組成の異なる複数の領域で取得したデータに対して、磁壁の解析解とされる双曲 線正接関数を用いてマルコフ連鎖モンテカルロ法によるフィッティングを行い、磁壁幅を算出した. 詳細は発表で報告する.

[1] N. Shibata et al., Acc. Chem. Res., 50 (2017) 1502. [2] T. Seki et al., Microscopy 70 (2021) 148.

[3] N. Shibata et al., Nat. Commun., 10 (2019), 2308. [4] Y. O. Murakami et al., Microscopy, 69 (2020) 312.

A Framework for Stereo Reconstruction in Scanning Electron Microscopy

Y. M. Ma^A and S. Hata^A ^AInterdisciplinary Graduate School of Engineering Sciences, Kyushu University

Stereo reconstruction of specimens using stereo images has become a popular research topic in the field of computer vision due to its intuitive nature. The stereo reconstruction of SEM images can be used to analyze the topographical features of small-sized specimen surfaces. Here, we improve the existing stereo reconstruction methods and propose a fast and accurate framework for the stereo reconstruction of SEM images and evaluation of the results. Our experiment uses classical algorithms, such as SIFT, SGBM and Gold Standard Method [1] with optimized image correction algorithms [2] which takes just seconds to complete. The evaluation of reconstruction results is achieved by comparing the cross-sectional heights of reconstructed volumes and specimens. The height difference between the reconstructed volume and the specimen ($\sim 40\mu$ m) is less than 1µm. Figures demonstrate SEM images and resultant stereo reconstructions of (a) polystyrene microspheres, (b) a Cu-made mesh for TEM.

- Hartley, R. and Zisserman, A., *Multiple View Geometry* in Computer Vision, (Cambridge University Press, West Nyack) (2004).
- [2] Kudryavtsev, A.V., Dembele, S. and Piat N., 2017 International Conference on Manipulation, Automation and Robotics at Small Scales (MARSS), pp. 1–6 (2017).





日本顕微鏡学会 第64回シンポジウム

ランチョン

11月25日(木) 12:30 ~ 13:30 大ホール カールツァイス株式会社 中ホール 株式会社東陽テクニカ

11月26日(金) 12:20 ~ 13:20 大ホール 株式会社メルビル



プラズマFIB-SEMの断面作製における アーティファクト抑制技術と 3次元イメージングへの応用

【演者】株式会社東陽テクニカ

兒玉 優

- 【定員】30名
- 【日時】2021年11月25日(木) 12:30~
- 【場所】中ホール1,2



プラズマFIBによってアレイ状に作製された超微細粒アルミ合金の圧縮試験用ピラ







協会社団法人 第64回シンポジウム
日本顕微鏡学会 第64回シンポジウム

The 64th Symposium of The Japanese Society of Microscopy(合同開催:第63回九州支部集会·学術講演会)

ランチョンセミナー



メルビル社製 その場観察システムの紹介



TEM試料ホルダー

冷却2軸大気非暴露ホルダー

MEMS通電2軸大気非暴露ホルダー

SEMステージ

ペルチェ式SEM冷却ステージ -100℃













株式会社メルビル 〒819-0025 福岡県福岡市西区石丸2-11-36



TEL:092-891-5111