解禁時間（ﾃﾚﾋﾞ、ﾗｼﾞｵ、WEB）：日本時間 平成21年7月6日（月）午前2時
（新聞）　　：日本時間 平成21年7月6日（月）付 朝 刊

平 成 ２ １ 年 ７ 月 ３ 日

独立行政法人 科学技術振興機構（JST）
独立行政法人 産業技術総合研究所
独立行政法人 物質・材料研究機構
日 本 電 子 株 式 会 社

カルシウム原子の可視化に成功
－単分子・単原子の分析を可能にする新型電子顕微鏡を開発－

ＪＳＴの目的基礎研究事業の一環として、独立行政法人 産業技術総合研究所（以下、産総研） ナノチューブ応用研究センターの末永 和知 研究チーム長らは、有機分子・生体分子などの分析を可能にする電子顕微鏡を開発しました。

この新型電子顕微鏡では、単分子・単原子の元素分析技術を飛躍的に向上させ、特にカルシウム単原子の元素分析を実現しました。具体的には、まったく新しい球面収差[注1)]補正機構（デルタ型収差補正機構）を考案し組み込むことで、通常２００～１０００キロボルト（kV）である電子顕微鏡の加速電圧[注2)]を３０～６０kV まで低減することに成功しました。

この技術を組み込むことにより、これまで高電圧の電子線によって壊れやすく観察が困難であった有機分子や生体分子一つひとつの観察が実現可能になりました。中でも、従来の技術では不可能だった、生体材料で重要なカルシウムなどの軽元素を単原子レベルで検出できます。

本研究は、独立行政法人 物質・材料研究機構（以下、ＮＩＭＳ） ナノ計測センターの木本 浩司 主席研究員、日本電子株式会社 電子光学機器本部の金山 俊克 チームリーダと共同で行ったものです。

本研究成果は、２００９年７月５日（英国時間）に英国科学雑誌「Nature Chemistry」のオンライン速報版で公開されます。

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。
戦略的創造研究推進事業 チーム型研究（ＣＲＥＳＴ）
研 究 領 域：「物質現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」
（研究総括：田中 通義　東北大学 名誉教授）
研究課題名：ソフトマターの分子・原子レベルでの観察を可能にする低加速高感度電子顕微鏡開発
研究代表者：末永 和知
（独立行政法人 産業技術総合研究所 ナノチューブ応用研究センター　研究チーム長）
研 究 期 間：平成１８年１０月～平成２４年３月

ＪＳＴはこの領域で、物質や材料に関する科学技術の発展の原動力である新原理の探索、新現象の発見と解明に資する新たな計測・分析に関する基盤的な技術の創出を目指しています。上記研究課題では、従来不可能であった、電子顕微鏡を使った有機・生体分子など「軽元素からなる非周期性物質（ソフトマター）」の観察を可能とするべく、低加速電子顕微鏡と新型収差補正技術を中心とする電子顕微鏡開発を行っています。

＜研究の背景と経緯＞

最近の分子生物学においては、生体機能の基礎的理解のために、単一分子を直接観察する単分子イメージング技術とともに、分子内にどういう元素がどのように分布しているか調べるための元素マッピング技術の需要が急速に高まっています。

電子顕微鏡は光学顕微鏡などと比較すると空間分解能も非常に高く、電子線エネルギー損失分光（EELS）[注3)]と呼ばれる電子分光技術と組み合わせることで元素マッピングも可能です。しかし電子線によるダメージを受けやすい生体分子については、その高分解能元素マッピングの成功例はほとんどありません。それは電子顕微鏡では高い空間分解能を実現するために、加速電圧を通常２００kV以上と高く設定しており、観測をする前に生体分子が電子線によって壊れてしまう（電子線ダメージを受ける）ためでした。

＜研究の内容＞

本研究グループは今回、電子顕微鏡を用いた生体分子の元素マッピングを実現するため、加速電圧を通常より著しく低く（３０～６０kV）設定することで電子線ダメージを軽減しつつ、十分な空間分解能である０．１ナノメートル（nm）程度を実現できる新しい技術の開発に挑戦しました。

まず低加速電子顕微鏡開発の第一歩として、電子線の加速電圧が低くても高い空間分解能が得られるように、球面収差と５次の幾何収差[注4)]を同時に補正する「デルタ型収差補正機構」と呼ばれる新型収差補正装置を開発しました（図１、２）。今回の開発のポイントは、十二極子三段の多極子レンズを導入したことです。従来の六極子二段レンズによる球面収差補正を使用した場合は、球面収差をゼロにすることは可能でも（球面収差以外の）高次の幾何収差が大きく現れてしまい電子顕微鏡の分解能を制限する要因となっていました。この問題を克服するために、球面収差（３次の幾何収差）だけでなく高次の幾何収差（４次および５次まで）をも同時に補正する新機構を考案しました。二段レンズの使用時には従来強調されてしまっていた５次の幾何収差が、三段レンズを用いることでバランス良く補正できるようになりました。５次の幾何収差を完全に補正できる機構としては世界初の技術です。

次にカーボンナノチューブ[注5)]の中に、４種の金属原子を含むフラーレン[注6)]分子を閉じ込めました（図３）。金属原子としては、カルシウム(Ca)、ランタン(La)、セリウム(Ce)、エルビウム(Er)などを選びました。特にカルシウムに注目したのは、生体のなかでも、カルシウム原子の移動が神経伝達を司るイオンチャネルというたんぱく質の構造や機能を調べるのに重要だからです。これまでにもイオンチャネルの構造を調べる研究は数多く行われてきましたが、イオンチャネルは観察中にとても壊れやすくなるため、一つひとつの元素分析をした例はありませんでした。今回の手法は、このように従来法では壊れて全く見えなかった観察対象にも応用されていくことが期待されます。

図４、５、６に、それぞれの単一原子の観察結果を示します。この観察結果より、多様な元素において分子を壊すことなく単原子の分析が行えるようになったことが分かります。

例えば図４にカルシウム原子の元素マッピング像を示しました。左は通常の電子顕微鏡像でカルシウム原子は観察されていませんが、右の元素マッピング像を見るとカルシウム原子７つが検出されています。この７つのカルシウム原子は各々左の電子顕微鏡像に見られるフラーレン分子の中にあります。

図５は加速電圧６０kVで撮影されたエルビウム原子を含むカーボンナノチューブの電子

顕微鏡像です。通常の電子顕微鏡像を用いて加速電圧２００kV で撮影するとすぐに壊れてしまう分子が､新型電子顕微鏡を用いるとほとんど壊さずに観察できることが分かります。

また、異なった元素を、それぞれ異なった色の元素マップとして撮影することができます。図６は、ランタンとエルビウムの２種類の原子を含むカーボンナノチューブの元素マップです。これにより２種類以上の元素が存在する場合も、それぞれの原子の分布状態をマッピングできることが分かります。

＜今後の展開＞

球面収差補正や色収差[注7)]補正は、光学顕微鏡やカメラのレンズではすでに当然の技術となっていますが、電子顕微鏡においては未だに確立されていません。各種の収差補正技術は電子顕微鏡の性能を向上させるために必須のもので、その技術開発は現在世界中で盛んに競われている最新テクノロジーです。

今回開発した技術は、これまでの球面収差補正技術に加えて５次の幾何収差を補正した画期的なものですが、まだ電子顕微鏡には色収差という分解能を制限する極めて重要な収差が残っています。私たちは今後、この色収差補正技術の開発を通して、電子顕微鏡をより広範なナノ材料や生体材料観察に応用できるよう研究を進めていきます。

＜参考図＞

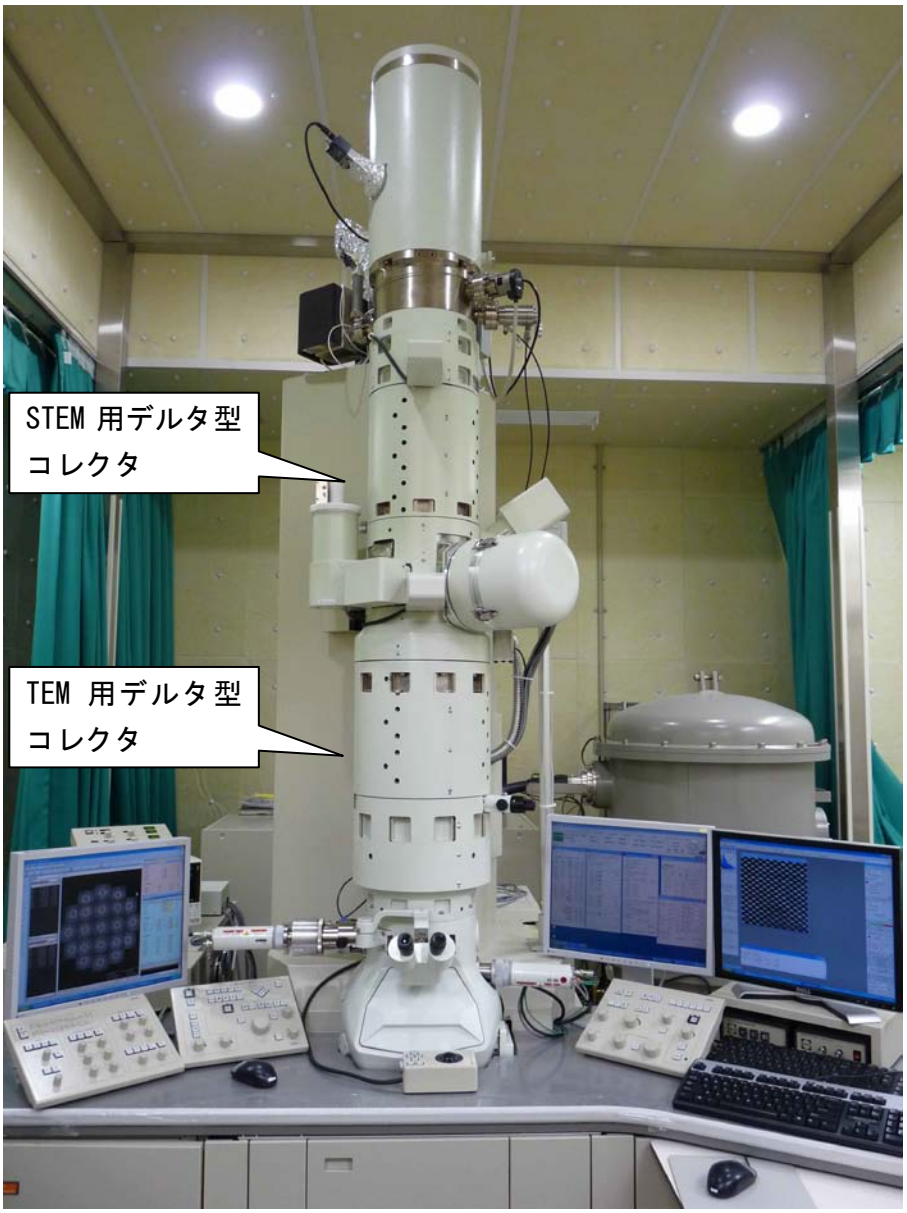

図１　デルタ型収差補正機構を搭載した新型電子顕微鏡の外観写真（産総研）

光を利用する光学顕微鏡では、一般的に光の波長よりも小さな構造を識別できないが、電子顕微鏡の照明(光源)に用いる電子線は、加速電圧を変えることにより電子線の波長を変えることができることから、電子顕微鏡に用いる加速電圧１００～２００kV で波長０.００３７nm～０.００２５nm 程度（加圧電圧が高いほど波長が短くなる）と、光の波長よりはるかに短く、より微小な構造や原子レベル（数 nm）での情報を得ることが可能となる。また電子顕微鏡のレンズは、ガラスではなく電磁石の組み合わせで構成された磁界レンズを利用する。ここでは電子線を電子レンズ[注8)]で集束または発散させて、拡大した像を結ばせた。

電子顕微鏡には大きく分けて、電子銃からの電子線を観察しようとする試料に照射し、薄い試料を透過した（通り抜けた）電子を蛍光面に衝突させて試料の拡大像を見る透過型電子顕微鏡（TEM）と、厚い試料の表面に電子を当てて、そこから反射または発生してくる電子を捕捉して表示装置を通して見る走査型電子顕微鏡とがあり、今回開発の対象となったのは、透過型電子顕微鏡である。透過型電子顕微鏡には通常の TEM と走査型透過電子顕微鏡(STEM)があり、今回開発したデルタ型収差補正機構はその両方に応用することができる。

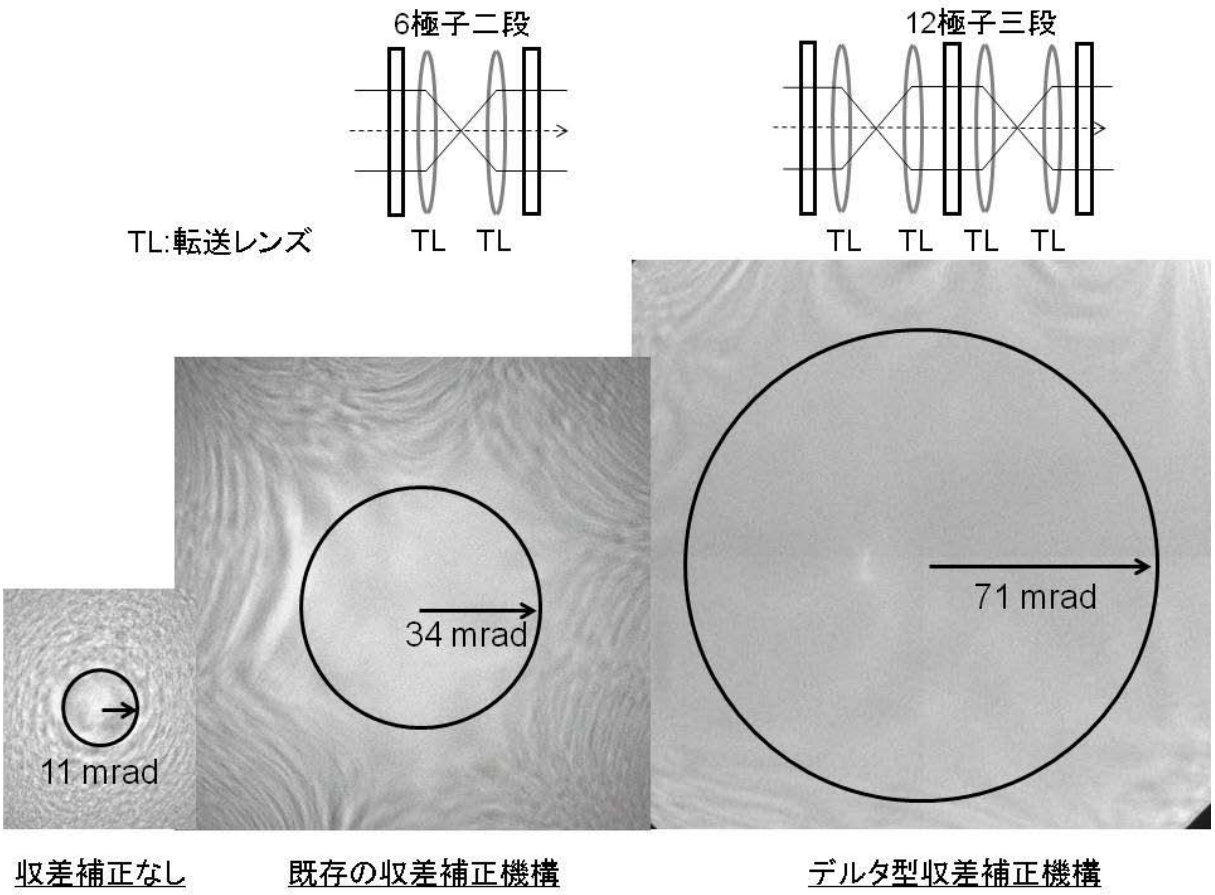

図２　デルタ型収差補正機構の仕組みとその効果（ロンチグラム）

左：収差補正機構なし

中：既存の収差補正機構（６極子二段）

右：新デルタ型収差補正機構（１２極子三段）

ロンチグラム（レンズ後焦点面）での一様なコントラストが広いほど収差補正の効果が大きい。新デルタ補正機構では既存の収差補正と比べて、ほぼ２倍の収束角が得られる。収束角が広いほど電子顕微鏡の分解能は向上する。

収差補正機構のない電子顕微鏡では１１mrad という狭い領域でしかレンズを使用することができない。既存の収差補正機構を用いた場合は、３４mrad と領域が拡がるが、その六角形の形状から５次の幾何収差（六回対称の非点収差）が分解能を制限していることが分かる。デルタ型収差補正機構を用いた場合は、ロンチグラムから六角形の模様がなくなり、より広い領域（およそ７１mrad）で一様なコントラストが得られている。(mrad:ミリラジアン、角度の単位。１ラジアンは約５７.２９度)この理由は、６極子二段レンズを用いた場合は各々のレンズが六回対称非点（５次の幾何収差）を強調し合うのに比べて、１２極子三段の場合は、３つのレンズがそれぞれの六回対称非点を打ち消し合うために、広い一様なコントラストが得られる。

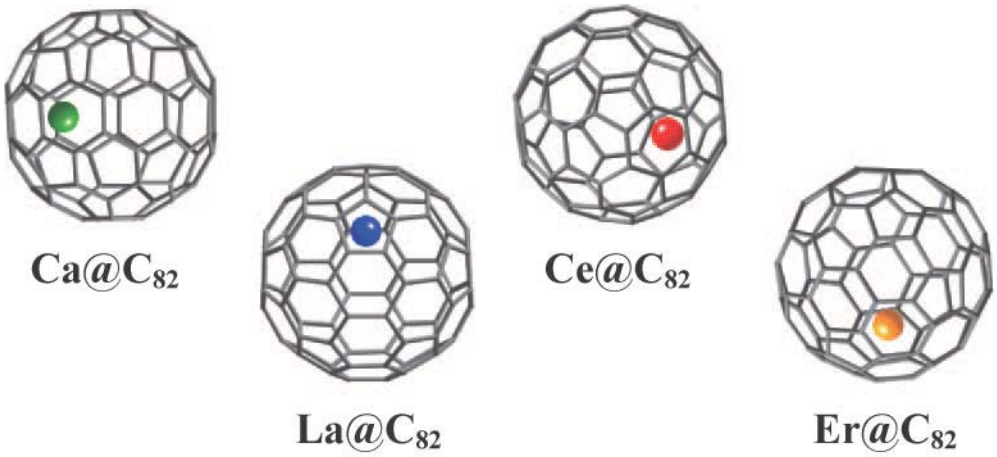

図３　各種金属原子を含むフラーレン分子

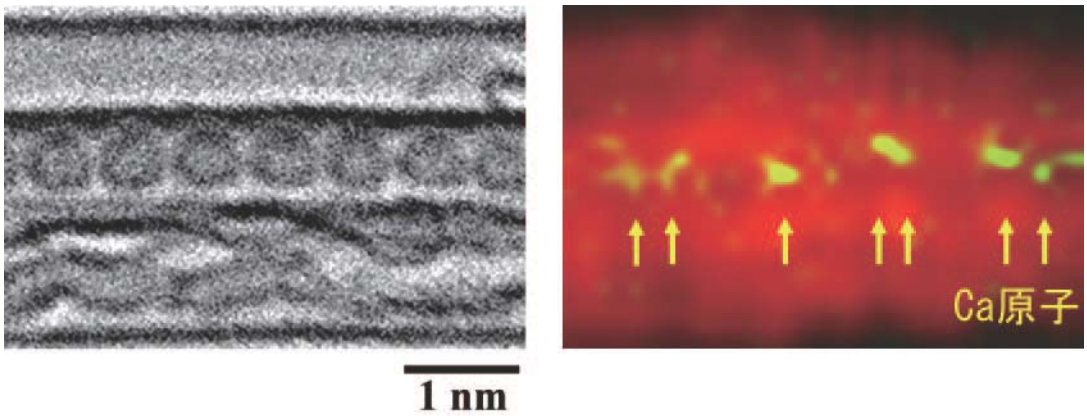

図４　カルシウム金属入りフラーレン（左）の元素マップ像（右）
　右のカラー表示の黄色部分はカルシウムで、赤色はカーボン。７つのカルシウム原子（矢印）がきちんと検出されている。

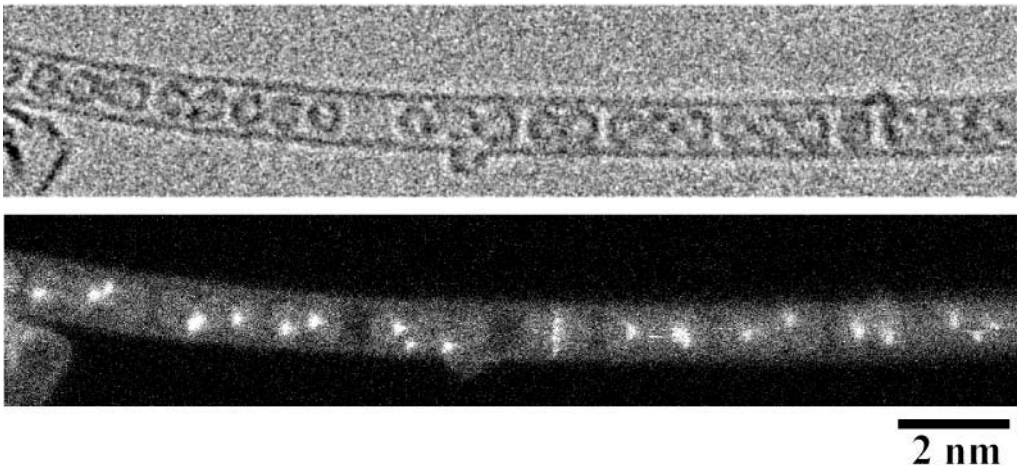

図５　新型電子顕微鏡で撮影されたエルビウム金属入りフラーレンの電子顕微鏡像
加速電圧を低くした（６０kV）ために、フラーレン分子が壊れることなく撮影されている。

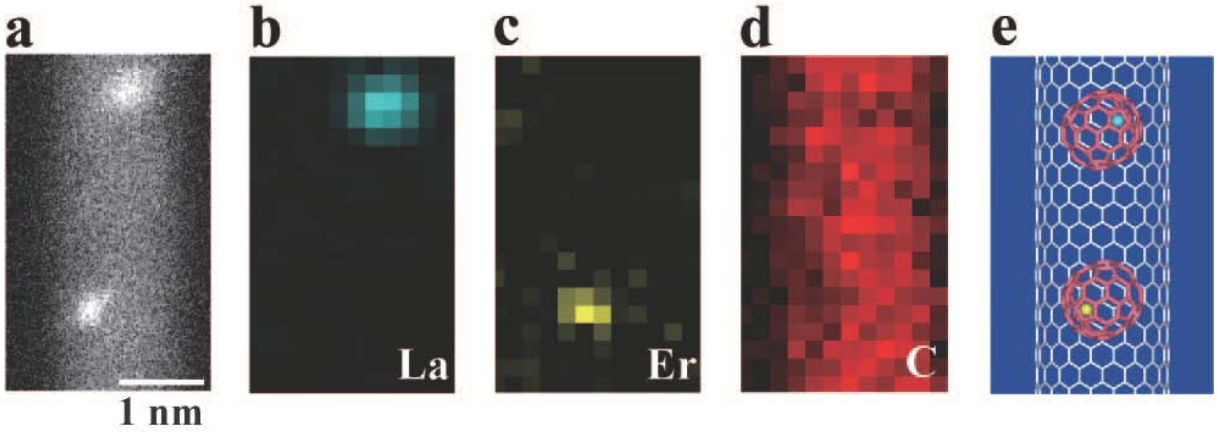

図６　カーボンナノチューブ中の金属原子の元素マッピングの例
(a)：電子顕微鏡暗視野像。２種類の金属原子が光っている。
(b)(c)(d)：ランタン(La)、エルビウム(Er)、カーボン(C)、それぞれ単独での元素マップ像。
(e)：これらの分析結果に基づいて作成した構造モデル図。

＜用語解説＞

注１）球面収差

収差とは、理想的な結像と、実際の結像とのズレを指す。電子顕微鏡の分解能は、「入射電子の加速電圧」と「レンズの球面収差」の２点で決まる。球面収差補正は電子顕微鏡の分解能を向上させるため、対物レンズの収差（球面収差）を補正する新技術で、加速電圧を上げることなく分解能を向上させることができる。球面収差は３次の幾何収差のひとつである。

注２）加速電圧

電子銃というピストルのようなもので加速して作られた電子線から放出され、試料に照射する電子を加速するための電圧。

注３）電子線エネルギー損失分光（EELS）

電子線が試料を透過するとき、試料中に存在する元素に特有のエネルギーを電子線が失うことを利用して、試料中の元素、電子状態などを調べる分析手法。

注４）５次の幾何収差

電子顕微鏡において球面収差を補正した後に残存する収差のひとつで、球面収差補正を施した電子顕微鏡の空間分解能を制限する因子。５次の幾何収差は、六回対称の非点収差を生じさせる。そのため、この５次の幾何収差を低減・補正すると電子顕微鏡の分解能はさらに向上する。

注５）カーボンナノチューブ

炭素からなる極細の円筒状物質。ここで扱われる単層カーボンナノチューブは、直径が１～２㎚ほどで、内部空間にさまざまな物質を取り込むことができる。特に電子顕微鏡観察において試験管の役割を果たすことが示されてきた。

注６）フラーレン

炭素原子からなる籠状の分子。特に６０個の炭素原子からなるサッカーボール型の C60 分子がよく知られている。カーボンナノチューブの中へ特に取り込まれやすく、電子顕微鏡観察においても球殻状の形状から認識しやすい。

注７）色収差

光や電子線の波長が、顕微鏡本体や観察試料からさまざまな要因を受けて広がり（幅）を持つと、レンズでの屈折の仕方にばらつきが出て、像がぼける。これを色収差と言う。球面収差とともに電子顕微鏡の分解能を制限する収差の１つ。

注８）電子レンズ

ガラスレンズで光を屈折させるのと同じように、電界や磁界で電子線を曲げて像を結ばせる。

＜論文名および著者名＞

“Visualizing and identifying single atoms using electron energy-loss spectroscopy with low accelerating voltage”

（低加速電子顕微鏡と電子分光による単原子の可視化と元素識別）

末永 和知、佐藤 雄太、劉 崢、片浦 弘道、岡崎 俊也（以上、産総研）、木本 浩司（ＮＩＭＳ）、沢田 英敬、佐々木 健夫、富田 健、應本 和也、金山 俊克、近藤 行人（以上、日本電子）

＜お問い合わせ先＞

＜研究に関すること＞

末永 和知（スエナガ カズトモ）

独立行政法人 産業技術総合研究所 ナノチューブ応用研究センター

カーボン計測評価チーム　研究チーム長

〒305-8565 茨城県つくば市東１－１－１ 中央第５

Tel：029-861-6850　携帯Tel：090-2238-4175　Fax：029-861-4806

E-mail：suenaga-kazu@aist.go.jp

＜ＪＳＴの事業に関すること＞

廣田 勝己（ヒロタ カツミ）

独立行政法人 科学技術振興機構　イノベーション推進本部 研究領域総合運営部

〒102-0075 東京都千代田区三番町５ 三番町ビル

Tel：03-3512-3524　Fax：03-3222-2064

E-mail：crest@jst.go.jp

＜報道担当＞

独立行政法人 科学技術振興機構　広報ポータル部

〒102-8666 東京都千代田区四番町５番地３

Tel：03-5214-8404　Fax：03-5214-8432

E-mail：jstkoho@jst.go.jp

独立行政法人 産業技術総合研究所　広報部 広報業務室

〒305-8568 茨城県つくば市梅園１－１－１ 中央第２

Tel：029-862-6216　Fax：029-862-6212

E-mail：presec@m.aist.go.jp

独立行政法人 物質・材料研究機構　企画部 広報室

〒305-0047 茨城県つくば市千現１－２－１

Tel：029-859-2026　Fax：029-859-2017

日本電子株式会社　経営戦略室 広報・ＩＲグループ

Tel：042-542-2106　Fax：042-546-9732

E-mail：ir@jeol.co.jp