

# 検鏡法の発達を中心として見た 電子顕微鏡の応用研究\*

土 倉 秀 次\*\*

## Development and Application of Electron Microscopy

By Hidetsugu Tsuchikura

Central Research Laboratory, Hitachi, Ltd.

### Abstract

Japan is said to rank third following the U.S.A. and U.S.S.R. in the development and popularity of the electron microscope. In fact, the study to find its new frontier of application is ever so active in this country.

There are many problems, however, to be solved for the wider application, e.g. preparation of specimen in high vacuum and under electron bombardment, specimen techniques and interpretation of electron micrographs.

In this report, basic specimen technique, artefacts of specimen, shadow casting, replica technique, ultra-microtomy, cathodic vacuum etching, photographic consideration, and the tendency of the studies of application are discussed. Those are related to the metallurgy, biology, medicine, chemistry, and demand for electron microscope in further study.

This treatise is from a lecture delivered at the opening meeting of "Eastern Subdivision of Electron Microscopic Society in Japan," which was held in Tokyo Jikeikai Medical Institute, 27, Sept. 1952.

### 〔I〕 緒 言

今日米国及びソ連邦に次いで電子顕微鏡が普及したと云われる我国では活潑な応用研究が各所で始まっているが、さてこれを実際研究に役立てようとする問題が多く、電子顕微鏡の示す像をどう読むか、それが何を意味するのか、それぞれ専門的な立場から写真の意味づけが必要であろう。写真を上手に得るには標本の作り方が当面の問題となる。

いうまでもないことであるが電子顕微鏡に用いる標本は高真空内に置かれなければならないこと、標本を貫通する電子線のエネルギーは物理的に光の場合とは較べものにならない程大きな影響をもつことが大きな欠点

で、当分の間はこの制約の下に置かれることを覚悟しなければならない。

更に現在実用化されている電子顕微鏡は透過型でその像は主として電子線の散乱、吸収に依存した濃淡で判別される試料の透過像である。

鏡体の改良はさておき、この制約の下に標本をどこまで順応させ得るか、その実用期以来発達した検鏡法の主なものと応用の一部を紹介して見たいと思う。

### 〔II〕 基本的な標本技術

#### (1) 現状の概観

光学顕微鏡の載物硝子に相当する試料支持台が約 0.1 mm 径の単孔型のものから 200 メッシュ金網に代えられ、その結果 1 箇の試料支持台の鏡検視野を増して能率を向上した。金網の欠点はこの上に張る試料支持膜が平らにならないことであつたが、レクトロメッシュ<sup>(1)</sup>、或は我国で最近用いられるようになったシートメッシュ<sup>(2)</sup>

\* 本論文は 1952 年 9 月 27 日、電子顕微鏡学会関東支部発会式にあたり、東京慈恵会医科大学講堂に於て行なつた記念講演原稿に若干加筆、補捉したものである。

\*\* 日立製作所中央研究所



がある程度これを解決して呉れたことは喜ばしい。

試料支持膜は Ardenne<sup>(3)</sup> 以降、数十  $\mu$  の厚さを持つたコロジオン膜が依然として用いられているが、近頃フォルムバル膜<sup>(4)</sup>(ポリヴィニル、フォルマール)時としては耐熱、耐薬品性の立場からシリカ膜<sup>(5)</sup>、或はアルミナ膜<sup>(6)</sup>を用いることがある。これ等は比較的電子線照射及び鏡体内挿入に際しての気圧変化に対して強い。又 1944 年 McBain<sup>(7)</sup> が生体観察の目的で作つた水銀面上に張つたコロジオン膜がコンパクトで、2つの膜内にメディウムを維持出来ると報告したことは興味深い。

標本はこの支持膜の上に分散してのせられるが細かい色々なテクニックが必要である。微粒体標本は乳鉢、ミキサー、コロイドミル、ウェアリングブレンダー等で粉碎して支持膜上に散布、或は適当な分散媒に懸濁させてその一滴を支持膜上にのせ、溶媒を蒸発して、固体成分を支持膜上に乾涸させる方法やグリースでねつて支持膜上につけ、支持膜上でグリース内の油を溶媒で除去して固体成分を残す方法<sup>(8)</sup>等がある。

煙霧質、所謂エアロゾルは狭雑物の混入するおそれがないければそれを懸濁する大気中に支持膜を張つた支持台を静置し、自然にこの上に沈降するものを捕集して簡単に標本が得られる。

これ等のうち或るものは支持膜がなくてもメッシュの一端に足場を得て粒子同志の吸着力で空中に連なつて支えられる。

一般に支持膜があればその上に沈降したエアロゾルの占める位置は立体的で、シャドウイングを行なうと見事な空間的配列を示す。このようにして作られた標本は往々我々の意図しない、或は不用意に気付かれない変化影響を受け、後で問題を提起することがある。これがしばしばやかましく議論の種になる所謂人工産物である。

## (2) 標本作製中或は鏡体内に於て生ずる人工産物とその除去に関する研究

我々が大気中で標本を扱う限り、どう厳密に操作しても、標本によつては過度の乾燥、過度の吸湿、或は多少の酸化が避けられない。問題とするところは対象の定性、定量に対する影響量の測定或は推定と、可能な限りこの影響を除去しようとする努力である。

前項に於て述べた微粒体を分散させるため乳鉢、ミキサー等の分散器具を用いる場合に最も警戒しなければならないことは、先づ狭雑物の混入である。更に微細化に伴つて表面積が増加する結果、生ずる大気中に於ける変質、諸反応速度の増加である。特に敏感な標本は経験的に過去の研究例を参照するより他ないが、二三の代表的な例証を引用して見る。

分散媒に懸濁出来る標本は溶媒に対して化学的な変化

を受けてはならない。S.F. Fern, R.F. Kern<sup>(10)</sup> はシャドウイングを行わないポリスチロールよりもシャドウイングを行なつたポリスチロールの方が大きく撮ることを見出した。これについてシャドウイングを行わないポリスチロール周辺部の荷電が電子線の屈折を強める結果であるという仮説を唱えたが、最近 Ellis<sup>(11)</sup> が Kern の実験に於けるポリスチロール粒子径の見掛の増大は懸濁液に溶解した物質がポリスチロールを更に包んだための人工産物であるとの反証をあげた。このことは我々が無頓着に懸濁液標本を作ることに対する警告とも考えられる。

標本作製中の人工産物は、生物標本に於て更に生じ易い。乾燥に伴う生物標本のディメンジョン変化の実例については多くの報告がある。

Bernal, Fankuchen<sup>(13)</sup> の X線研究の結果によると、タバコモザイクウィールス (Tobacco Mosaic Virus) の水和によるディメンジョン増加は、長軸に起ることが認められ、他にもトマトバッシュィスタントウィールス (Tomato bushy shunt Virus) の水和が全容積の 47%、サザンビーンモザイクウィールス (Southern bean mosaic Virus) では沈降と拡散から 49%、粘度の測定から 60% の値が報告<sup>(14)</sup>されている。

乾燥不十分の標本は鏡体内に於て電子線照射による水和水の急激な気化によつて構造の破壊が予想される。この水和水の影響に対する対策として Wyckoff<sup>(15)</sup> は真空凍結乾燥法を電子顕微鏡標本に導入した。即ち水和水を液体空気、又はドライアイスで冷却し凍結したまゝ高真空鐘内におき、凍結水和水を液相を経ないで気化せしめて標本の容積変化を喰い止めようとした。この方法で検鏡したタバコモザイクウィールスには、コンパクトな para-cry stal が多い。

Hillier, Baker<sup>(19)(20)</sup> は培養基以降の細菌標本取扱中に生ずる人工産物を避ける目的で膜面培養法を提案した。この方法は培地面に標本支持用コロジオン膜を張つて、この上に細菌を植えつけ、コロジオン膜内を拡散する栄養分で細菌を培養して、適当な発育期にコロジオン膜と共に剥してその儘電子顕微鏡標本とする方法である。

Ardenne<sup>(12)</sup> が鏡体に、反応室 (Reaction chamber) を附属し、数 mmHg の瓦斯を供給しつゝこの中で標本の化学変化を起さしめ、諸種の化学反応、結晶の生成、生長、推移を観察しようとしたことは、この種の人工現象が容易ならぬ誤解を生ずる原因となることに対して、いち早く着目したものと思われる。最近我国でも、佐々木、上田<sup>(9)</sup> 両氏は鏡体内試料処理装置を電子顕微鏡に附属し、酸化モリブデンの酸化還元過程を鏡体内で処理し、観察している。

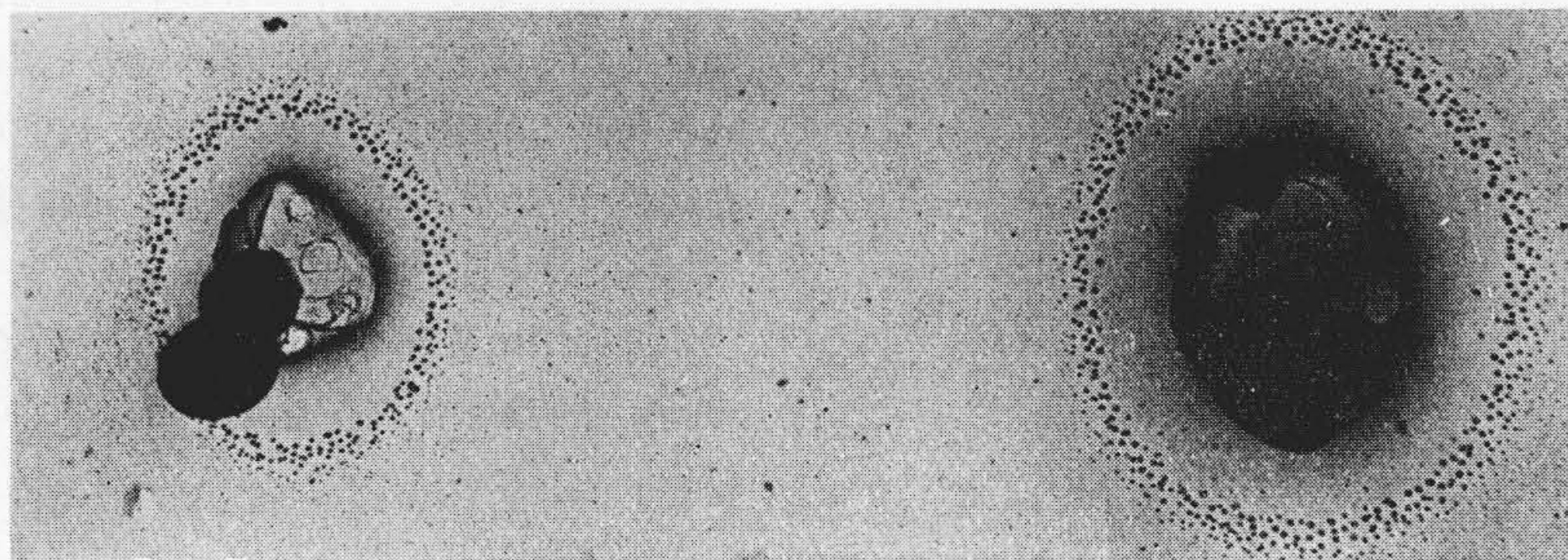


一方 Wyckoff の実験であるが、懸濁液から水分を蒸発した球形ウィールスについてクローズドパックな見事な規則的配列を示し、蛋白分子の挙動を明らかにした写真を得ているのは感銘深いものである<sup>(16)(17)(18)</sup>。

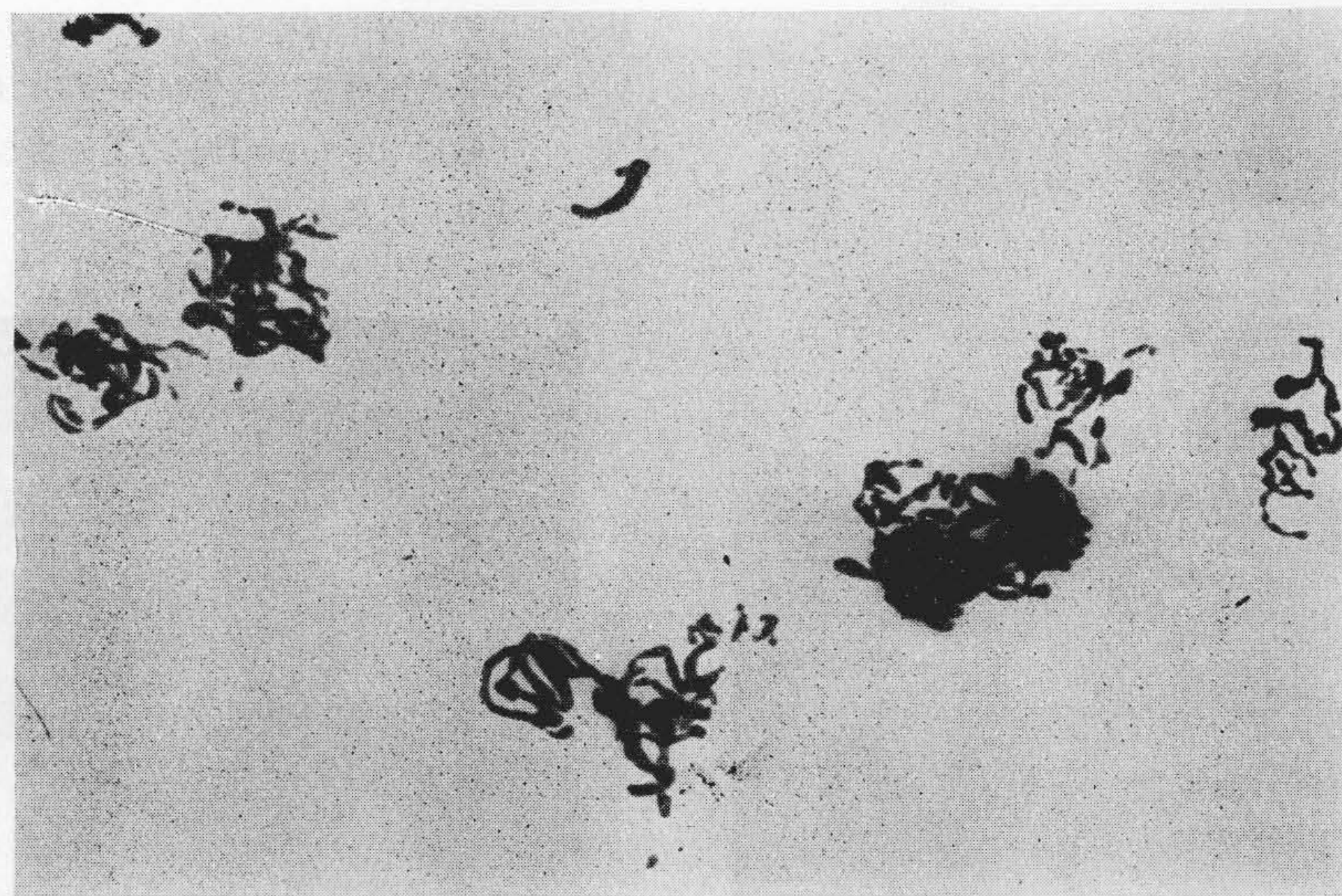
さて人工産物は鏡体内に於て更に附加される。高真空鏡体内に於ける標本の環境変化は大気中以上であつて電子流照射に伴なう汚染 (Specimen contamination), 擬構造 (Pseudo structure) の生成を導き<sup>(22)~(27)</sup>更に試料に完全吸収される入射電子、或は非弾性衝突をする入射電子のエネルギーはその一部を試料原子の励起に用いられイオン化及び熱に転化する。金谷氏の計算によると<sup>(21)</sup> 試料の温度上昇は  $0.1\mu$  の厚さを持つ銀で  $950^{\circ}\text{C}$  に達するといわれるから試料によつては焼損する危険が多分にある。これに加えて試料の荷電等を考え合わせると得られた写真は、かなり複雑なコースを経たことになる。

以上の対策として、消極的には電子線照射量の抑制、積極的には加速電圧上昇による試料負担エネルギーの軽減であるがこれ等は何れも限度のあることで、電子線を用いる以上その多い少いに差はあつても、これ等の人工産物は我々の念頭を去り得ない因縁つきの附帯現象である。

おそらく電子顕微鏡が示す像の人工産物に災される量は何倍とか、何分の1という変化ではなく、何%程度の量であると思うが、深井氏<sup>(29)</sup>が述べた、“電子顕微鏡が示すウィールス粒子についての大いさ又は形の上に、自然の姿からどれだけの距離があるかをはつきり知る方法を我々は持つていない”という言葉は、あながちウィールスに限らず一般試料についても云える場合があると思う。



未現像の結晶とハロー



$1\mu$

現像後のフィラメントフォーム

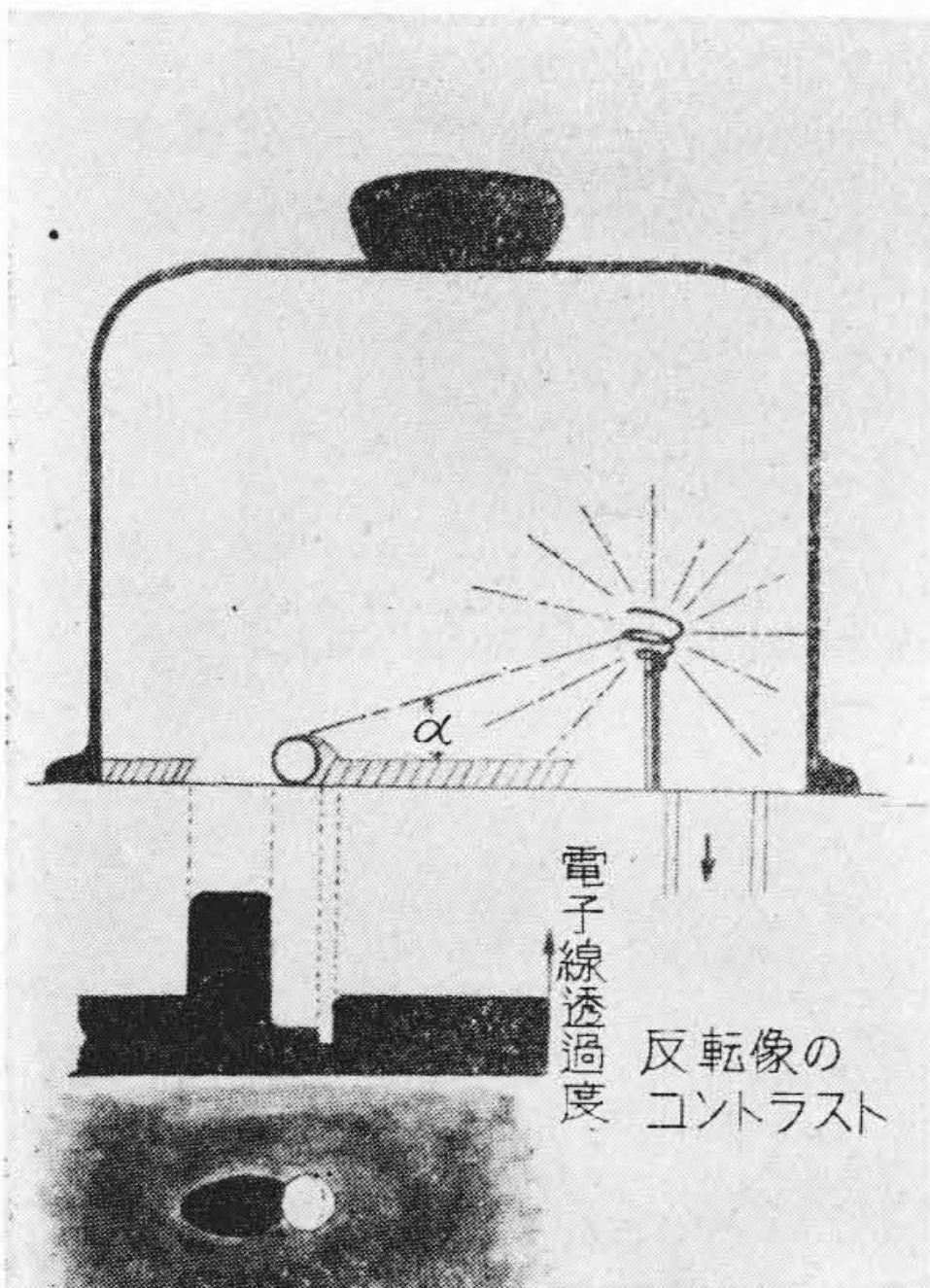
第1図 写真乳剤の沃臭化銀

Fig. 1. Silver Halide in Photographic Emulsion  
Upper, Undeveloped Crystals and their Haloes  
Lower, Filament Form of Developed Silver Crystals

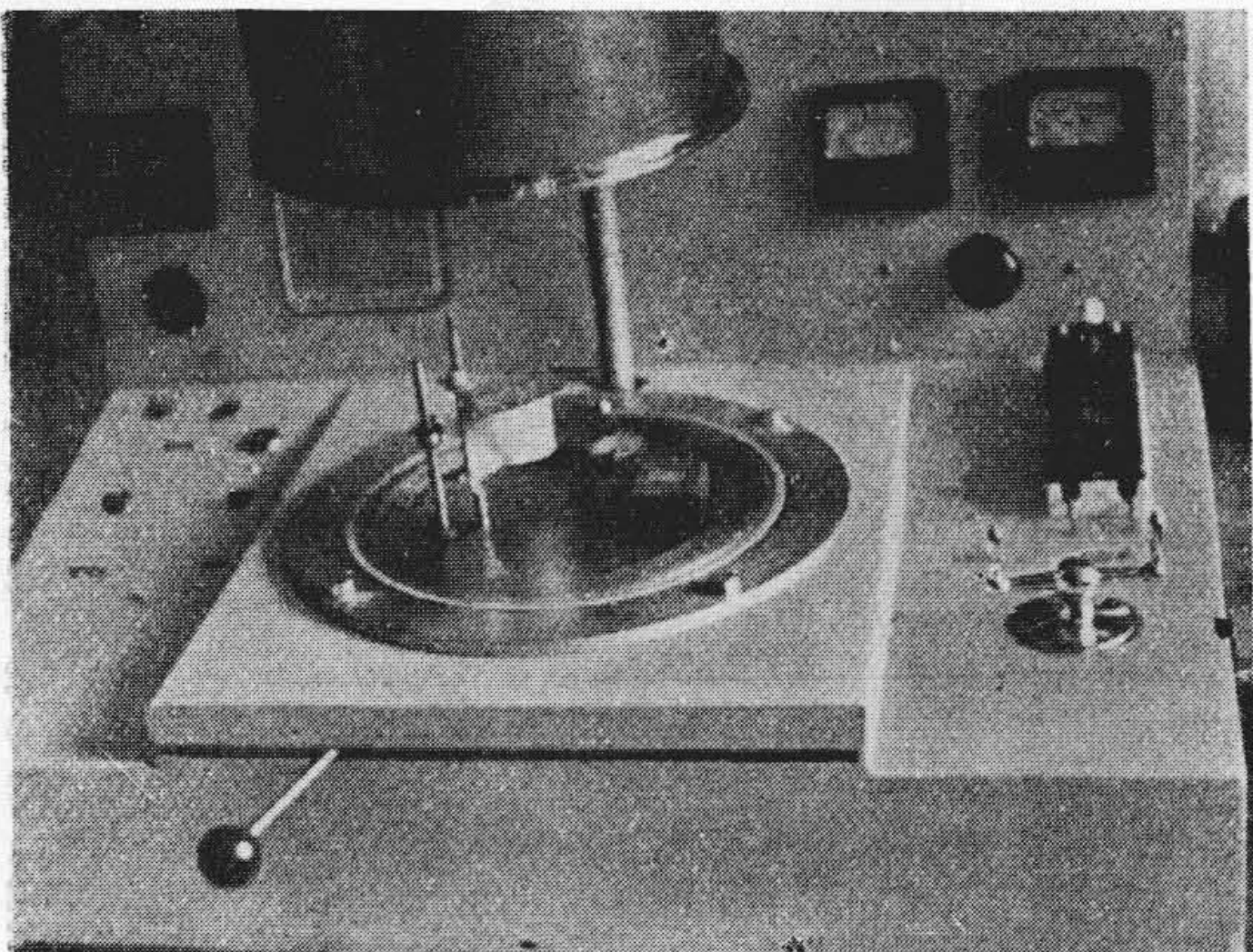


〔III〕 シャドウイング法とその諸問題

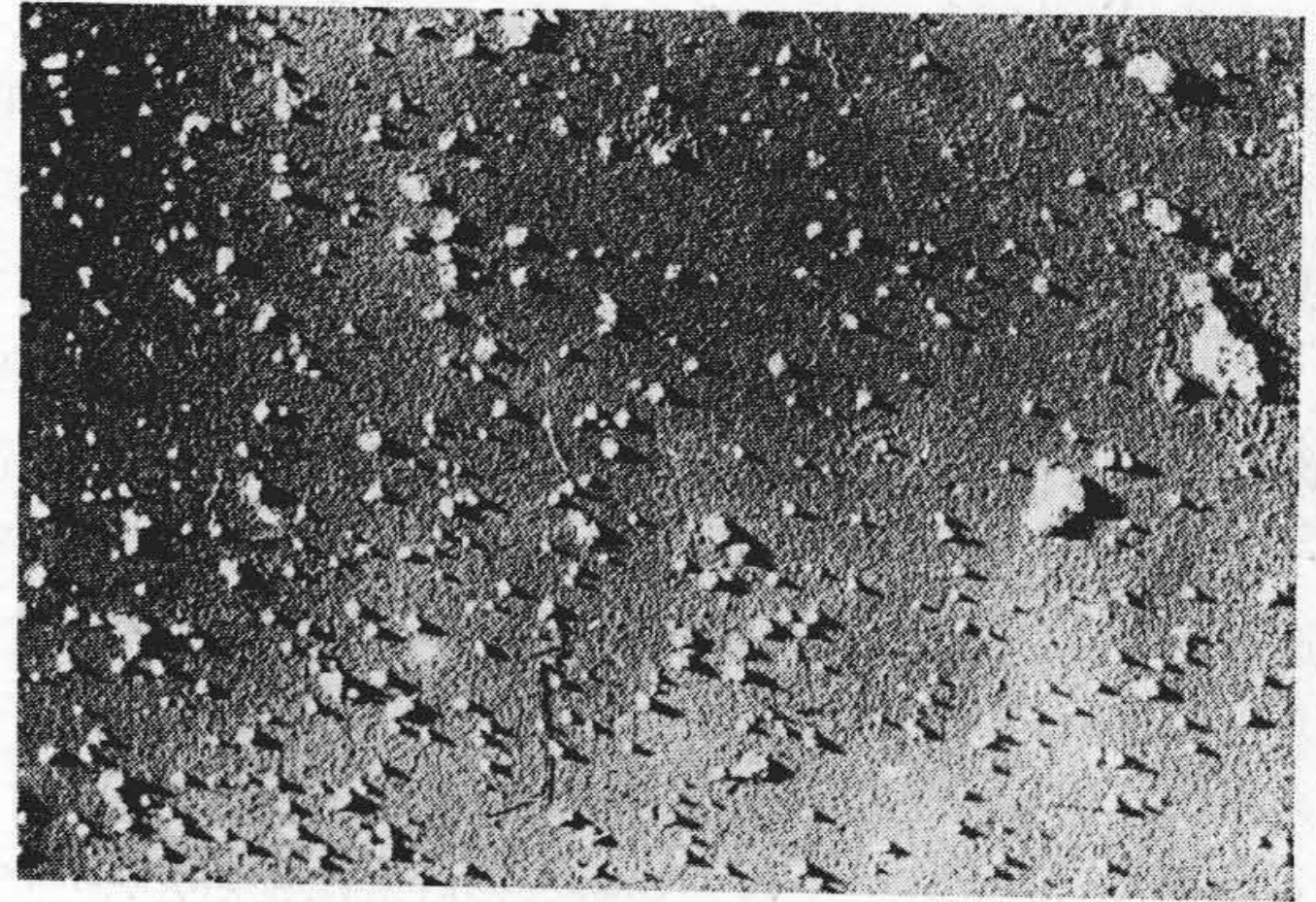
透過型の電子顕微鏡ですぐ頭に浮ぶことは、標本の透過像である拡大像が極めて平面的なものであるということ、即ち標本が球であろうと、半球であろうと、或は円板であろうと、一様に丸い像しか得られないということである。(尤も薄い試料で内部に密度、厚みの差があれば構造の差は示される。) この対策には立体写真の研究が行われている。1942 年 Müller<sup>(30)</sup> は真空蒸発に依る金属蒸気を斜にあて検鏡することにより試料に生ずる影の長さからその高さを求められないかと考えた。Williams, Wyckoff (1944 年) はこの蒸発金属にクロム、金等を用いると単に試料に影をつけるだけでなく試料のコントラストを増加し、よく微細部を鮮明にした立体効果を持った写真が得られることを見出して、所謂シャドウイング法<sup>(31)-(34)</sup>を確立した。



第2図 シャドウイング法の原理  
Fig. 2. Principle of Shadowing



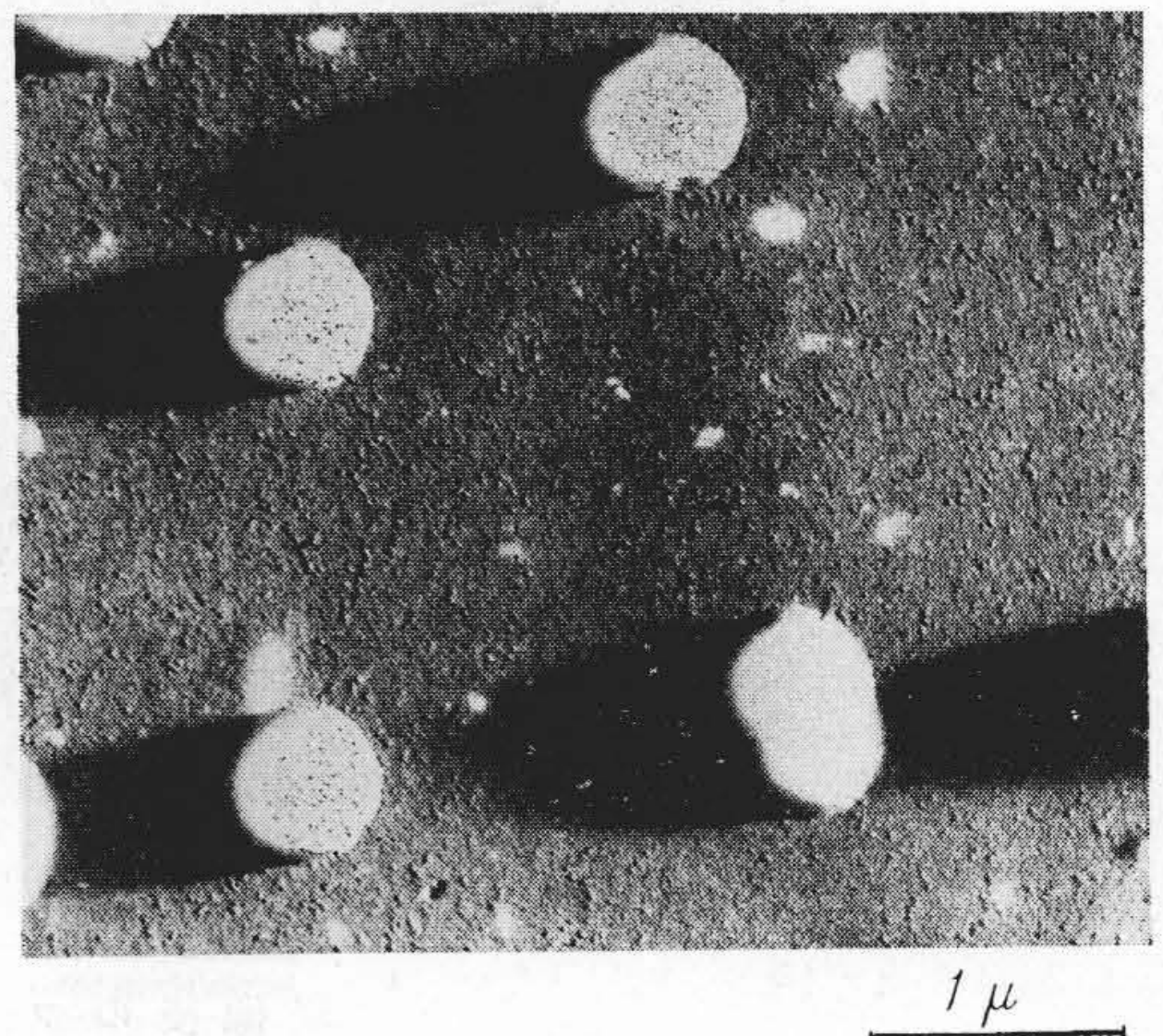
第3図 真空蒸発装置  
Fig. 3. Hitachi Vacuum Evaporator



第4図 シリカゾル  
Fig. 4. Silica Sol

シャドウイングの目標は簡単に蒸発出来る連続均一蒸着膜を作ること、鮮鋭な Shadow を画かしめることである。実際の装置は  $10^{-4}$  mmHg 以上の高真空に排気された内径 15 cm 以上の硝子製、或は金属製真空鐘内で、スパイラル、バスケット型に巻いたタングステンコイル内に蒸発用金属数十 mg をおき、タングステンを  $2,600^{\circ}\text{K}$  位の温度に加熱して、金属を沸騰蒸発せしめるものである。

試料支持台上に標本をセットし、予め蒸発源に対して角度と距離を決め、鐘内に対置する。この場合、蒸発金属原子の平均自由行程は鐘の内径に較べて十分大きくないと、蒸発金属原子は残留気体分子に妨げられて直進しない。一般に  $10^{-4}$  mmHg 以上の真空度を保てば、略々目的が達せられる。



第5図 シャドウイングの人工産物  
(ポリ醋酸ビニルエマルジョン)  
Fig. 5. An Artefact of Shadowing  
(Polyvinyl Acetate Emulsion)



初め Williams, Wyckoff<sup>(32)(33)</sup> によつて選出された金属は、クローム、金、マンガン、パラジウム、ウラニウム等で、後白金-パラジウム合金、金-マンガン合金<sup>(35)</sup>の研究も行われた。我国では日比氏<sup>(42)</sup>によつて週期表 VIII 属の 8 種の金属(ノズル系を用いる)が、また赤堀氏<sup>(43)</sup>は普通の方法によりクローム、鉄の酸化物を実用に供した。

シャドウイングを行なつた試料は、形が少々誇張される。例えば吹雪が電線に吹きつけられた時電線が太ると同様に、この生長効果は被検試料のディメンジョンが小さい程その割合が大きくなる。又用いる蒸発金属の原子量が多い程電子散乱能が大きいため、適当なコントラストを得るに必要な膜厚は薄くて済む。クロームではこの平均厚さが約 50 Å であるが、金、ウラニウムでは 10 Å で足りるので、ディメンジョンの小さい試料には原子量の大きい蒸発金属を用いれば生長効果が少なくて済む訳である。

シャドウイングの好ましからぬ現象として蒸着膜の粒状化(Granulation)の問題がある。即ち写真の到る所に粒状構造を与えシャドウイングの効果を減殺する。その原因は色々であるが、真空鐘の真空度不良と電子線の過度の照射が頻りに経験されるのが主な原因で、その防止策としては今の所電子線照射の抑制以外によい対策がない<sup>(36)-(38)</sup>。

真空鐘内に於て金属蒸発時フィラメントからの熱輻射と、高速度で飛来する金属原子の完全阻止によるエネルギー吸収のために試料変化の危険が考えられる。即ち球形であるべき粒子が扁平となつたり、歪んで見えることをしばしば経験する。特に熱に対して変化し易い軟かい試料には注意が必要である。(第 5 図)

Kern<sup>(10)</sup> がシャドウイングを行なつたポリスチロールと行わないポリスチロールの粒子の大きさが異なることを試料の荷電によつて説明したことを前に述べたのに対して Ellis<sup>(11)</sup> が反駁したのは両者の見掛の大きさにあまり差があることについてであつて、実際には Kern の仮説が正しいと思われる現象がシャドウイング像に現われる。

それは被検粒子の金属附着側と附着しない側、即ち陰影側とでは、Contour の様子が異なることで、この事実は我々が撮影した原板を調べて見ても容易に見出される。従つて Kern の得た二つの Dow Latex の値の差は訂正されても試料が荷

電するため粒子近傍の媒質(真空)が電子線を屈折するという説明に対しては反証がない。

シャドウイングを行なつたコロチオン、或はフォルムボール支持膜に 50~100 Å 位の構造が見出された。Williams, Wyckoff は、これを従来観察されなかつた——構造はあつても、膜自身だけでは結像にあつかる程のコントラストがなかつたものが、シャドウイングで強調されて、100 Å 以下の小粒子の判別を困難にしていると考え pre-shadowed Replica を工夫しているが、これについてはレプリカの項で述べる。

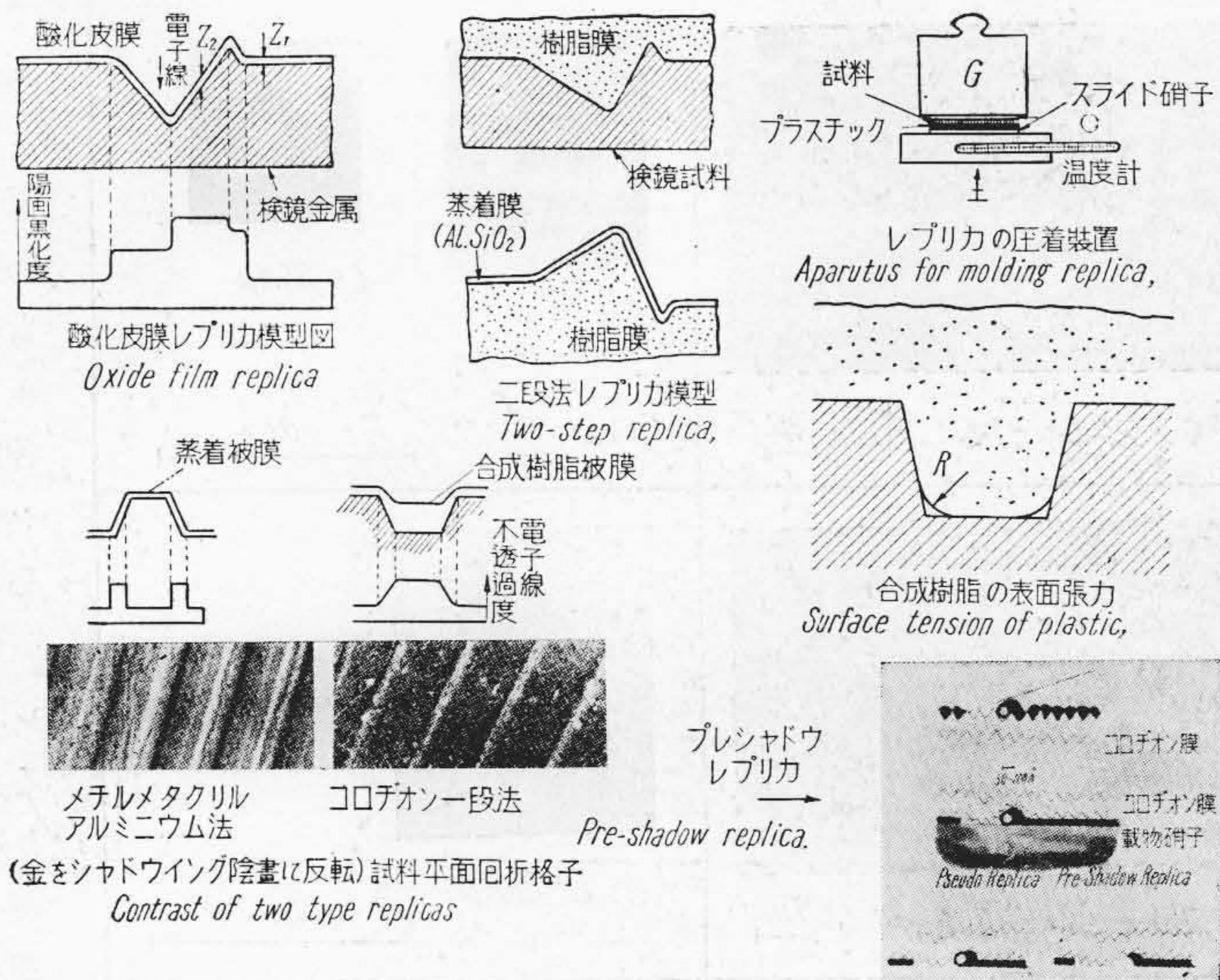
シャドウイングが高さを測る目的からスタートしたのにかゝらず、この目的のためにかなりの誤差を生じ易い<sup>(41)</sup>ことは皮肉なことである。これは試料支持膜が、ゆるやかにうねりを持つた起伏があり幾何学的な平面を画かないこと<sup>(61)</sup>、蒸発金属原子が理想的に直進しないため、実験的には多くの場合陰影の長さが図形的に求めた値より短くなることが多い。

ノズル系を用いる方法は<sup>(42)</sup>、この直進原子以外を除去するが、この方法は一回のシャドウイングで1箇の試料しか出来ないので、特殊な目的を持たない限り一般には利用されない。

〔IV〕 レプリカとその功罪

反射型電子顕微鏡が実用化しない現在物体の表面、或いは厚い標本の観察にはこのレプリカによらなければならない。

レプリカは Mahl<sup>(44)</sup> (1940) が、アルミニウム、ニッ



第 6 図 レ プ リ カ 法

Fig. 6. Principle of Replica



ケルの表面に電気化学的、或は化学的に厚さ数十  $m\mu$  の酸化被膜を作り、これを母体金属から剥がして標本とする着想及び実験によつて初められた。

その後金属以外の標本に応用する意図で酸化被膜の代りに高分子合成樹脂の薄い膜を作つてこれを標本とする方法<sup>(50)</sup>更に高分子合成樹脂面に一度印象を写してから、この転写面に適当な物質を真空蒸発し、均一連続な数十  $m\mu$  の蒸着膜を作つて、初めのレプリカを溶解し、二番目の蒸着膜レプリカを標本とする所謂二段法が考えられた。

この二段法の代表的なものは、Heidenreich, Peck<sup>(52)</sup><sup>(53)</sup>(1943)のポリスチレンシリカ法で、この方法はポリスチレンの粉体をモールド(mold)しつゝ被検体面に 1,500 lb/in<sup>2</sup> の圧力を加えて圧着し、160°C に加熱して高分子の熱可塑性を利用し、標本表面の転写面を写しとる。更にこの面に SiO<sub>2</sub> を真空蒸発して厚さの均一な蒸着膜を作り、ポリスチロールを溶解し去つて残りの SiO<sub>2</sub> 膜を

鏡検標本とする方法である。その後数多くのレプリカが報告されているが、原理的には上の三種類のレプリカが基礎となつている。

金属の酸化被膜の中で酸化のために母体金属よりも容積を増してしかも緻密なもの、つまり防護被膜の役割を果すものは比較的連続であるが、酸化被膜が金属よりも容積を収縮するものは概ね酸化膜が不連続で、従つて酸化作用、或は水酸化作用を内部に誘導し、防護の役割を果さない。

電子顕微鏡標本として酸化被膜が用いられているものはアルミニウム、ニッケル、不銹鋼、ニッケル合金、純鉄等で他の金属についての観察は行われていない<sup>(45)-(49)(54)</sup>。

合成樹脂の被膜を標本とする一段法では主にコロジオン醋酸アミール溶液<sup>(50)</sup>、フォルムバル、エチレンジイクロライド、或はダイオキサン溶液<sup>(4)</sup>が用いられる。

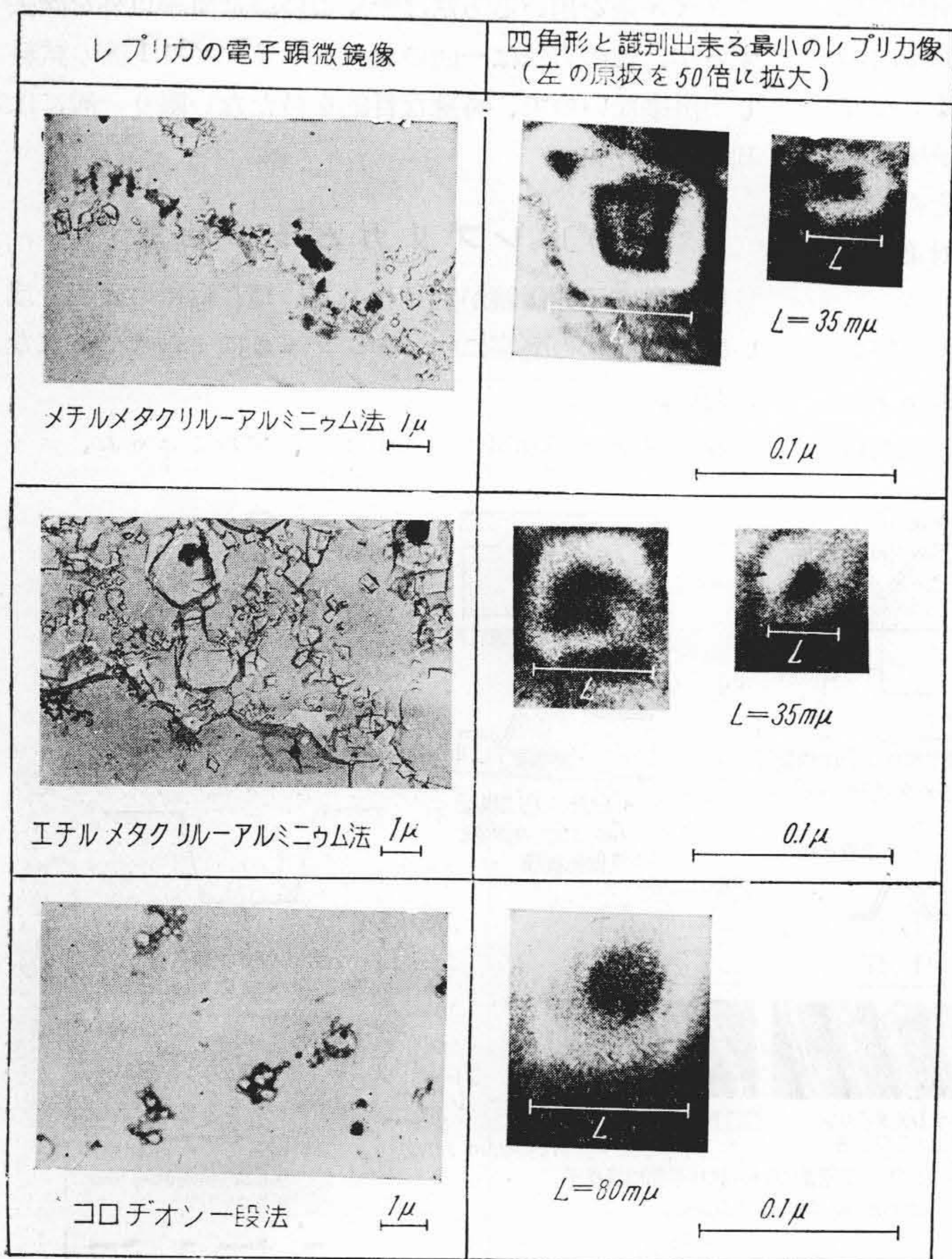
我国で考えられた二段法には、只野氏<sup>(55)</sup>のメチルメタクリルモノマーを標本上で塊重合固化させる方法、筆者

及び赤堀氏<sup>(56)</sup>のエチルメタクリル、或いは n-ブチルメタクリルポリマーを低圧、低温(数 kg/cm<sup>2</sup>, 100~120°C) で圧着する方法があり、蒸発物質としてはアルミニウム、クロム<sup>(57)</sup>が用いられている。

レプリカが表面の形を写しとる忠実さの程度に、この最初のレプリカと、二番目の蒸着物質の挙動が関係する。その原因は前者では高分子合成樹脂の表面張力であり、後者では蒸発物質原子の蒸着面に於ける移動現象<sup>(37)(38)</sup>である。この移動現象というのは蒸着面(この場合は合成樹脂転写面)に於けるポテンシャルエネルギーが不均一なために蒸着された原子が到達した地点からエネルギー分布の低い所へ落ち付かうと動くためといわれているもので、例えば蒸着膜の電気抵抗変化、ピンホール現象等もこれで説明し易い。蒸着膜の各部分が均一な厚みを有するのはこのためでシャドウイングにこの傾向のある金属は用いられない。

実際には、立方晶粒子(例えば MgO) のレプリカを撮影して角の丸まり方<sup>(58)(61)</sup>を測るか、或は転位(dislocate)させた金属の辻り帯(Slip band)が何本レプリカするかを調べて<sup>(57)</sup>レプリカの精度を比較している。現在この方法で形を判定出来る範囲は 200~350 Å, 又識別出来る大いさは 100 Å 程度である。

前項でシャドウイングが支持膜の構造を強



第 7 図 MgO 煙粒子の各種レプリカ像と忠実度

Fig. 7. Various Replicas and their Reproductive Limit (MgO Smokes)



調することを述べた。Wyckoff<sup>(39)(40)</sup> はシャドウイングを行なう際凹凸のない載物硝子上に試料をのせこれにシャドウイングを行なった後、この上にコロジオン液を流して乾燥、一段レプリカを作つて、出来たコロジオン膜を剥すことによつて蒸着金属がコロジオンに移行して支持膜の構造を強調しないシャドウ像を得ている。この際試料が硝子面上に残るものを Pre-Shadowed-Replica、コロジオン膜に移行したものを Pseudo-Replica と称し、ウィールス、高分子等の見事な写真を得ている<sup>(16)-(18)</sup>。

レプリカが電子顕微鏡の応用範囲を拡張したことには異議がないが、酸化被膜を除けばこれ程又悉く人工的に出来た標本も他に例がない。検鏡試料の性状に応じたレプリカの方法改良に依る種類が非常に多く<sup>(63)-(69)</sup>、それぞれ名称がつけられているが利用者にとっては甚だわづらわしい。得られる写真は同じ標本でも各種のレプリカ方法に依つて像が異なり<sup>(59)(60)</sup>、又同じレプリカでもシャドウのかけ方で像が表面の凹凸を正しく、或は逆に再現する<sup>(61)</sup>。これは通例ポジティブ型レプリカ<sup>(62)</sup>、又はネガティブ型レプリカと呼ばれるもので、活字の凹版と凸版の違いを想起すればよい。レプリカの像を読むためには何のレプリカを使つて何ういう作り方によるかを確認しないと写真を判断することが出来ない。

レプリカ像の今一つの特徴は、レプリカを作る標本では表面の立体構造だけが問題で、例えば金属組織を見るのに結晶粒の色の違いは全く役をなさない。従つて腐蝕方法の選び方も、従来光学顕微鏡で使われていたものと別の観点から行なうことが必要である。

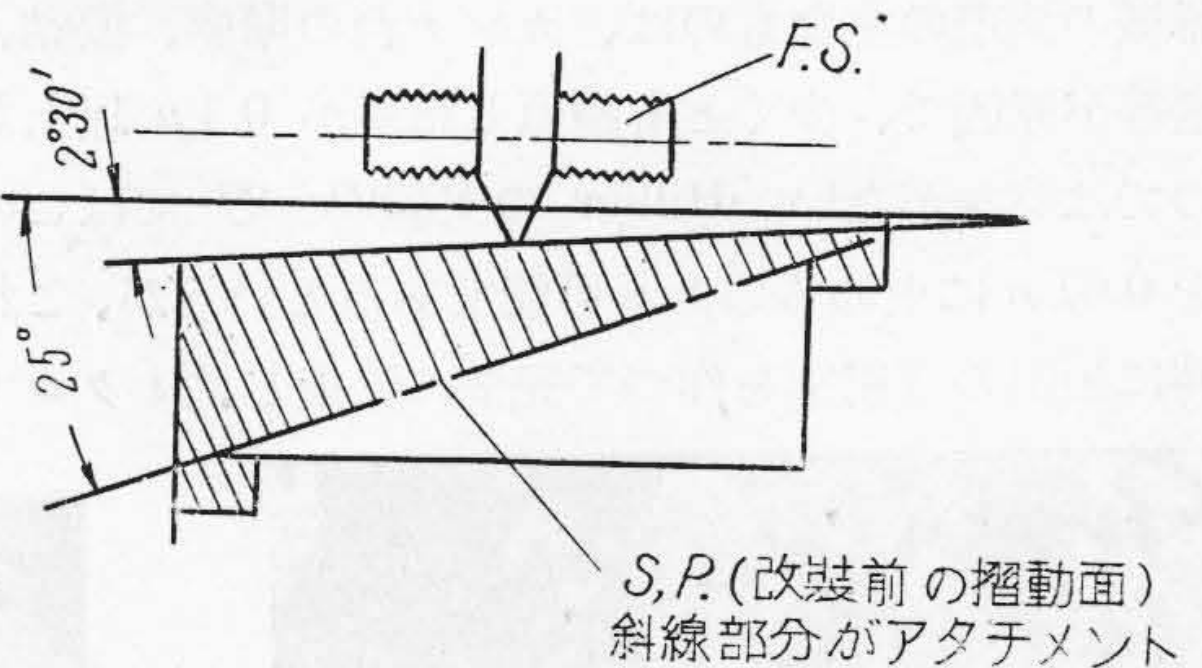
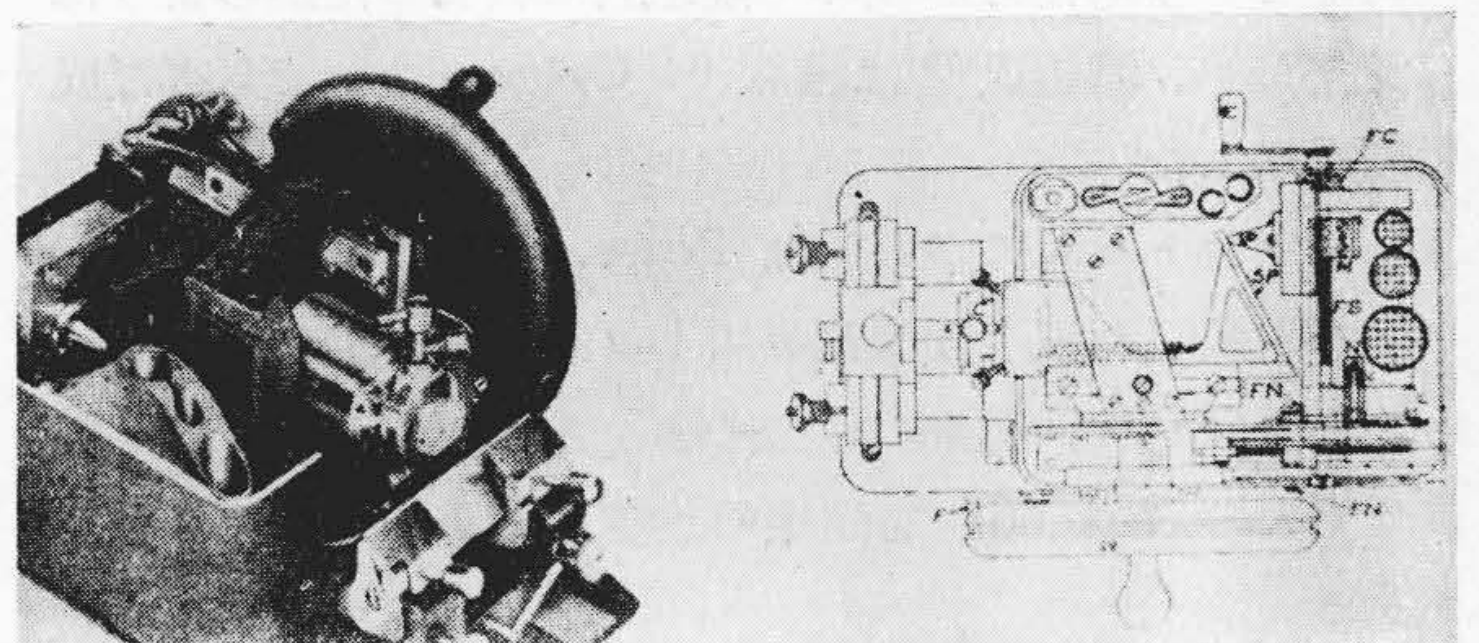
レプリカの優れた点は真空蒸着膜が比較的電子線に強いいため、電子線照射による変形を気にしなくてもよいということである。このために電子線に極端に敏感な標本にはこの方法の併用が望ましい。

### 〔V〕 ウルトラマイクロトミーについて

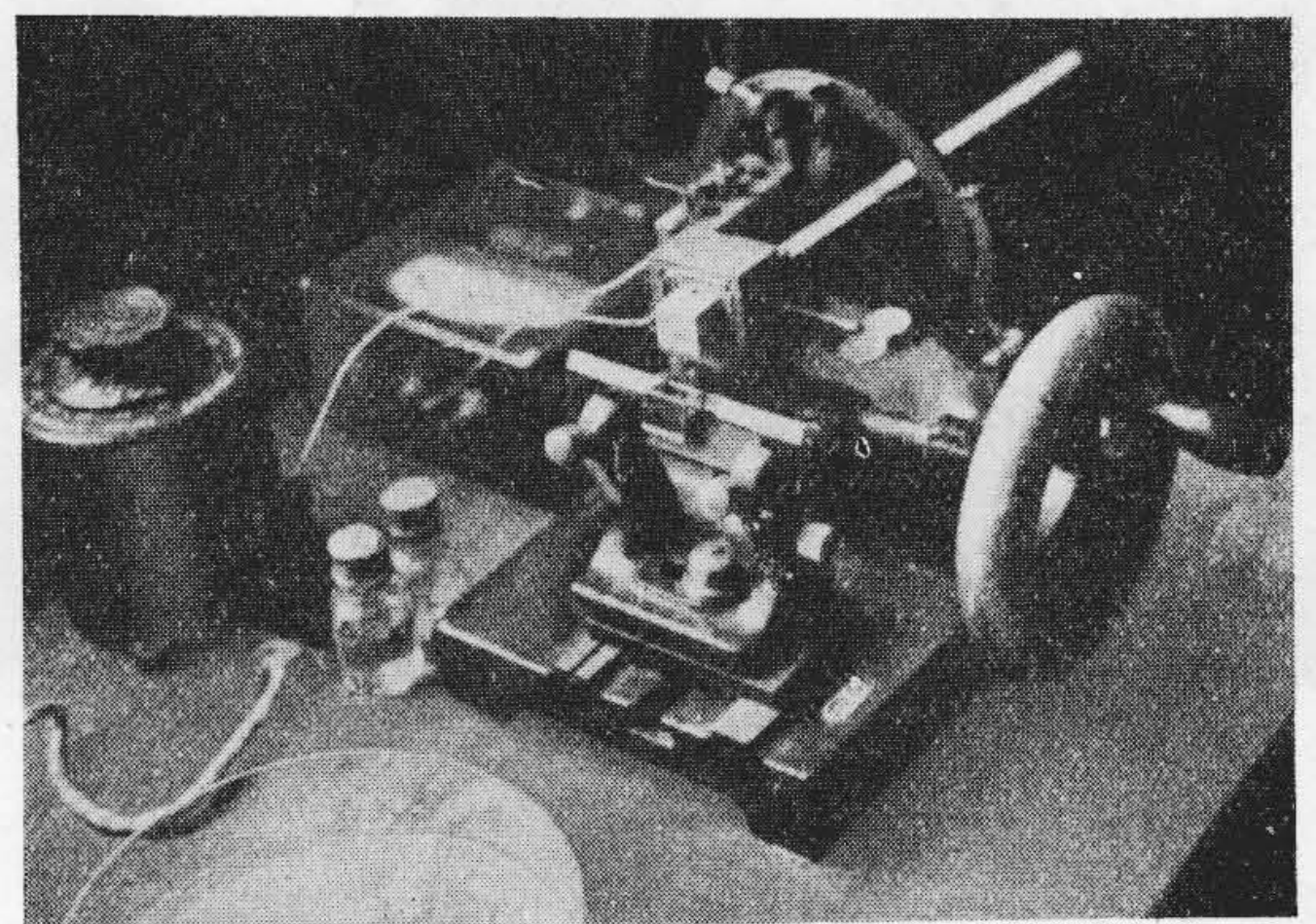
細胞学、或は病理診断に於て今日の顕微技術はその根底を支えるものであるが、電子顕微鏡に於ても切片による組織検査を行はうとする試みは早く Ardenne が楔状の切片を作ろうとした努力に見られる<sup>(70)(71)</sup>。1948年 Pease と Baker<sup>(72)(73)</sup> はスペンサー廻転マイクロトーム No. 820 を改装し、 $0.1\sim 0.2\mu$  の電子顕微鏡用切片を作つて、猩々蠅唾線染色体中に遺伝子らしいものを見た報告して大きな衝動を与えた。この遺伝子云々については色々批判されているようであるが、Pease と Baker の業績はこの超切片技術の基礎を行つて今日の隆盛を促がしたことを高く評価されてよいと思われるし、たしかにこの方面での電子顕微鏡の応用に一線を劃したものといえると思う。

現在商品化された電子顕微鏡の加速電圧 50kV に於て透過電子像を可能ならしめる切片の厚さは  $0.2\mu$  程度までであることが必要である。このような超切片を得るために、従来のマイクロテクニクの固定、包埋、薄切の一連の操作に再検討が加えられなければならない。

電子顕微鏡用固定液として賞用されるものにオスミック酸と中性フォルマリンがある。前者が強い還元力によつて組織を変化固定するのに較べて、後者が強い酸化力によるのは対蹠的で興味深い。利用度はオスミック酸が圧倒的に多く、その使い方については、色々な方法が報告<sup>(74)(75)</sup>されているが、他の固定液についての報告はあまり見当たらないようである。



第 8 図 スペンサー廻転マイクロトームと Pease and Baker の改良  
Fig. 8. Spencer Rotary 820 Microtome and Attachment Devised by Pease and Baker



第 9 図 マイノット型マイクロトームを熱膨脹式に改装 (筆者)  
Fig. 9. Minot Rotary Microtome Improved to Thermal Expansion Type



脱水については漸強アルコールの区劃を細かくすべきであるように思えるが、Palade<sup>(74)</sup>の実験を見ると70%位から始めているのは面白い。

Pease, Bakerはツェロイデン、パラフィン二重包埋を提唱し薄切に対して従来のパラフィン単独包埋よりも優れている点を力説している。その後Newman, Borysko, Swerdlow<sup>(77)</sup>は *n*-ブチルメタクリレートのモノマーに組織塊を投じ、これを重合固化せしめる方法を導いたがこの方法は特に米国で普及したらしい。又プラスチックの硬度を増すために10%メチルモノマーを加える方法がよいといわれている。

薄切切片の包埋には従来のパラフィン単独包埋では不可能という考え方が極めて観念的に広まったかのように見えたが、渡辺氏<sup>(79)</sup>は融点64°Cパラフィンで見事な成績を示した。

マイクロームについてはPease, Bakerのアタッチメントを附属した電子顕微鏡専用マイクロームがスペンサーから発売され、我国にも二三輸入された。筆者<sup>(78)</sup>もかつて東大のNo. 662を同様に改装して使つて見たことがある。

器械の誤差の主なものは、カンナ台の摩擦、振動、熱膨脹等が原因で、少くとも繰返し誤差が0.1 $\mu$ 以上あつたのでは意味がない。Hillierの実験<sup>(81)-(83)</sup>ではこの誤差を0.01 $\mu$ に止めることも可能であるというが、これには特に恒温の専用室を作つて完全に除震し、マイクロ-

ームの廻転もベルトによるモートル駆動で空気振動も避けるという大げさなものである。

Fullam, Gessler<sup>(84)(85)</sup>の高速マイクロームはその後顧られず、低速マイクロームの改良によるものが多い。

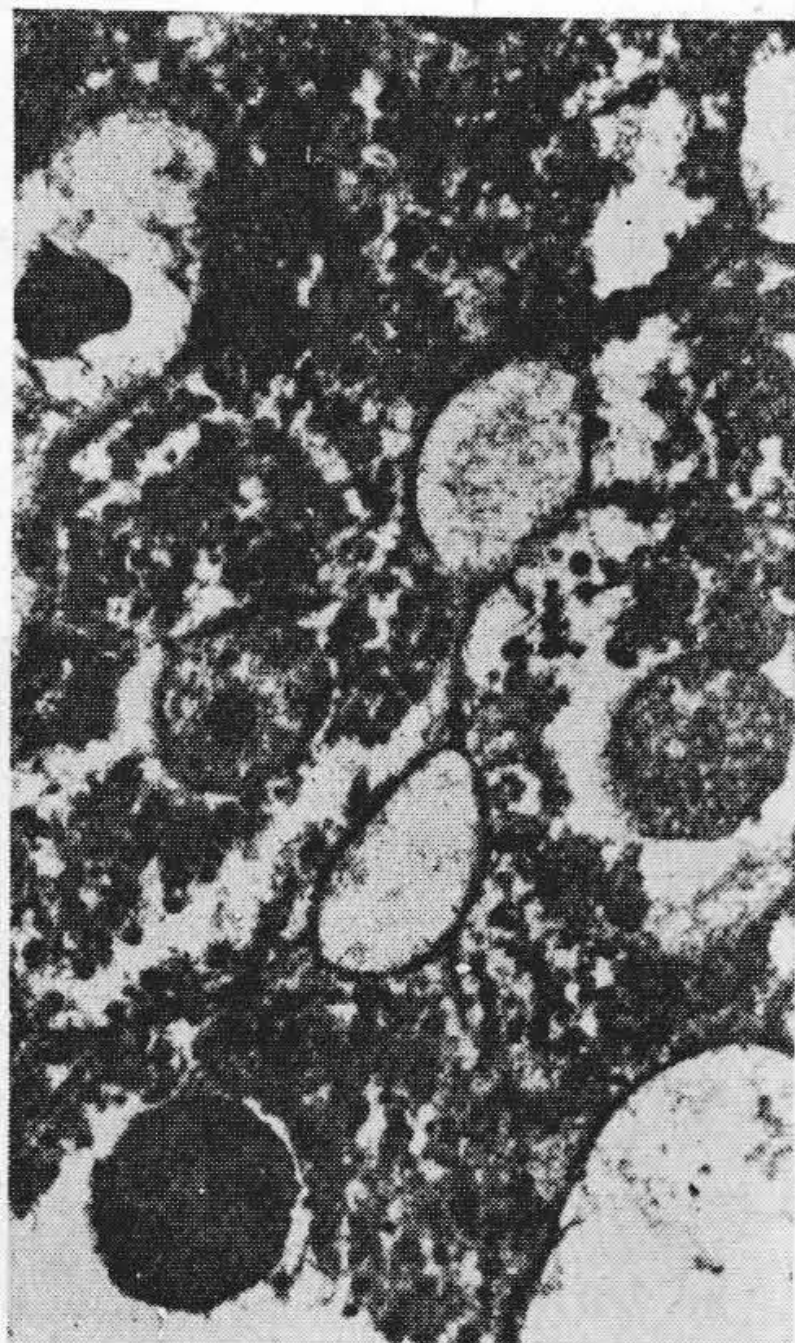
Newman, Borysko, Swerdlow<sup>(77)</sup>の冷却装置を附した熱膨脹式マイクロームは手軽に手持ちのマイクロームを改装出来て便利である。筆者は今マイノット型にこの逆のニクロム線を巻きつけた加熱式アタッチメントを附して使用しているが慣れると便利である。他にも色々マイクロームのメカニズムを考えた製品もあるが、渡辺氏はジャンツェで切つて居る。現在の段階では器械の性能よりも研究者の熟練度によつて左右される段階である。

ナイフの問題も、研ぎ方について詳しい報告<sup>(83)</sup>があるが、我国の現状では500倍位の光学顕微鏡でよく検査した安全剃刃の刃(Gillet, Valet等がよい)が最も簡便で確実性が高い。シャープナーの研磨機でも使用しない限りナイフを研ぐのに苦勞する。又硝子ナイフについては我国では未だ成績が公けにされていない。

刃面にナイフポートを附すること<sup>(81)(82)(86)</sup>、或は少なくとも刃面を絶えずアルコール、ダイオキサン等で濡らすことは今日常識のように思われる。切片の脱パラフィン、脱プラスチックについては劃一的な方法がなく、キシロール、醋酸アミル、アセトン等の溶媒による除去法、或は真空鐘内で熱輻射によつてプラスチックを昇華させる方法が研究者によつて適宜選択利用されている。

10  $\mu$ 

第10図 モルモットの肝細胞, Champy 固定パラフィン包埋  
Fig. 10. Section of Marmot Liver Fixed by Purfution with 1% Osmic Acid Acetate Veronal Buffer Soltion (pH 7.4)

10  $\mu$ 

第11図 ラットの肝細胞(厚い切片)1%オスミウム酸アセテート・ベロナール緩衝液固定パラフィン包埋 右: 50kV像 左: 100kV像  
Fig. 11. Section of Rat Liver Fixed by Purfution with 1% Osmic Acid Acetate Veronal Buffer Solution (pH 7.4) Embedded in Paraffin Only



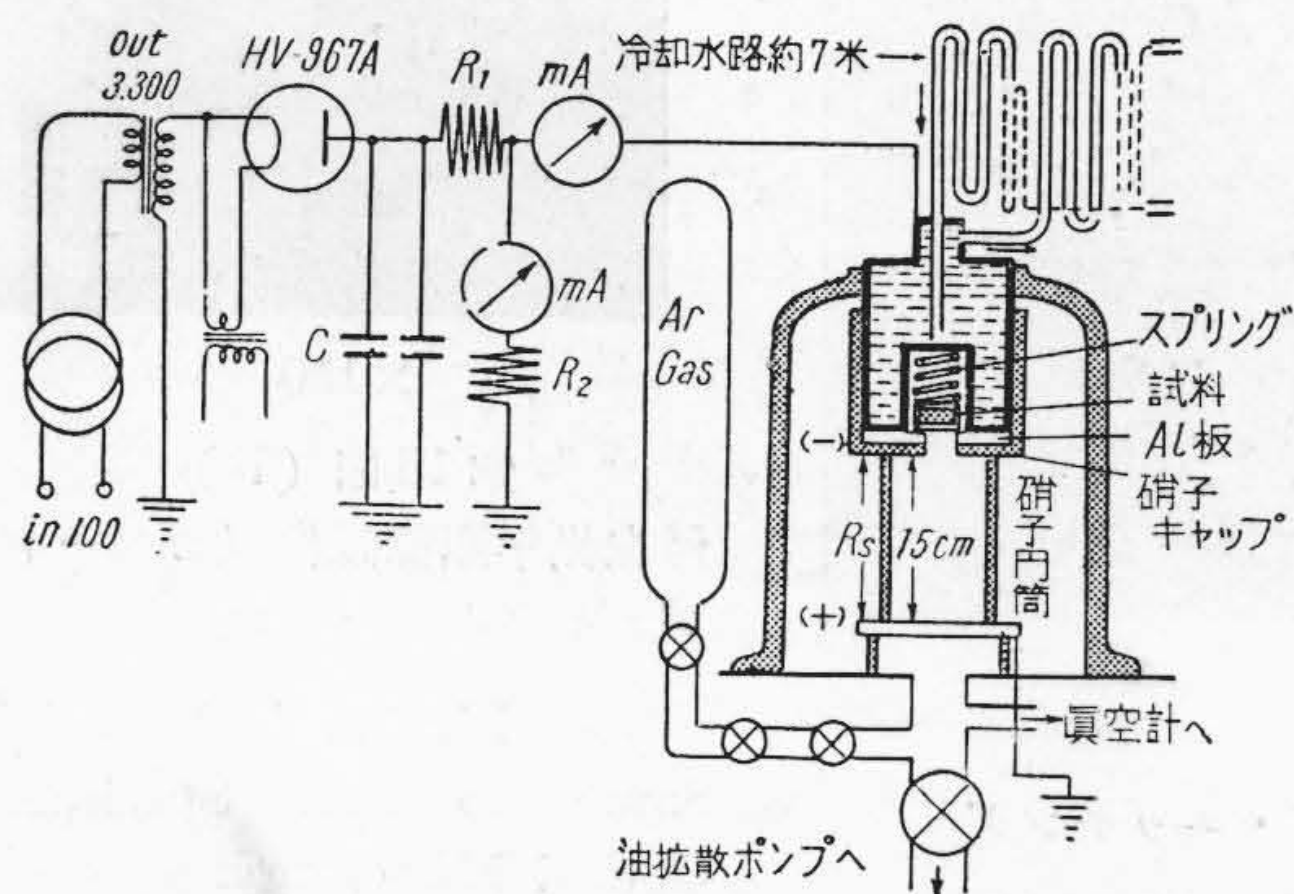
Hillier<sup>(87)</sup>は特にマイクローム専用の長焦点レンズ ( $f=12\text{ mm}$ ) に  $240\text{ }\mu$  径の絞りをを用い (限界角度  $10^{-2}\text{ rad}$ ) 切片像の適切なコントラストを得たと述べ、又片桐氏<sup>(123)</sup>は色収差補償レンズによる厚い試料の効果について報告しているが、最近の写真には薄過ぎてコントラストの少ない切片が現れ始めている。内部の透過ということだけを考えると切片技術は照射系の改良や超高压電子顕微鏡を必要としない程成長したが、ここで考えて見たいことは同じ透過度であれば細胞を厚く切つたものの方がより立体的な観察が出来るであろうということである。

〔VI〕 カソード・ヴァキウム・エッチング  
の経験

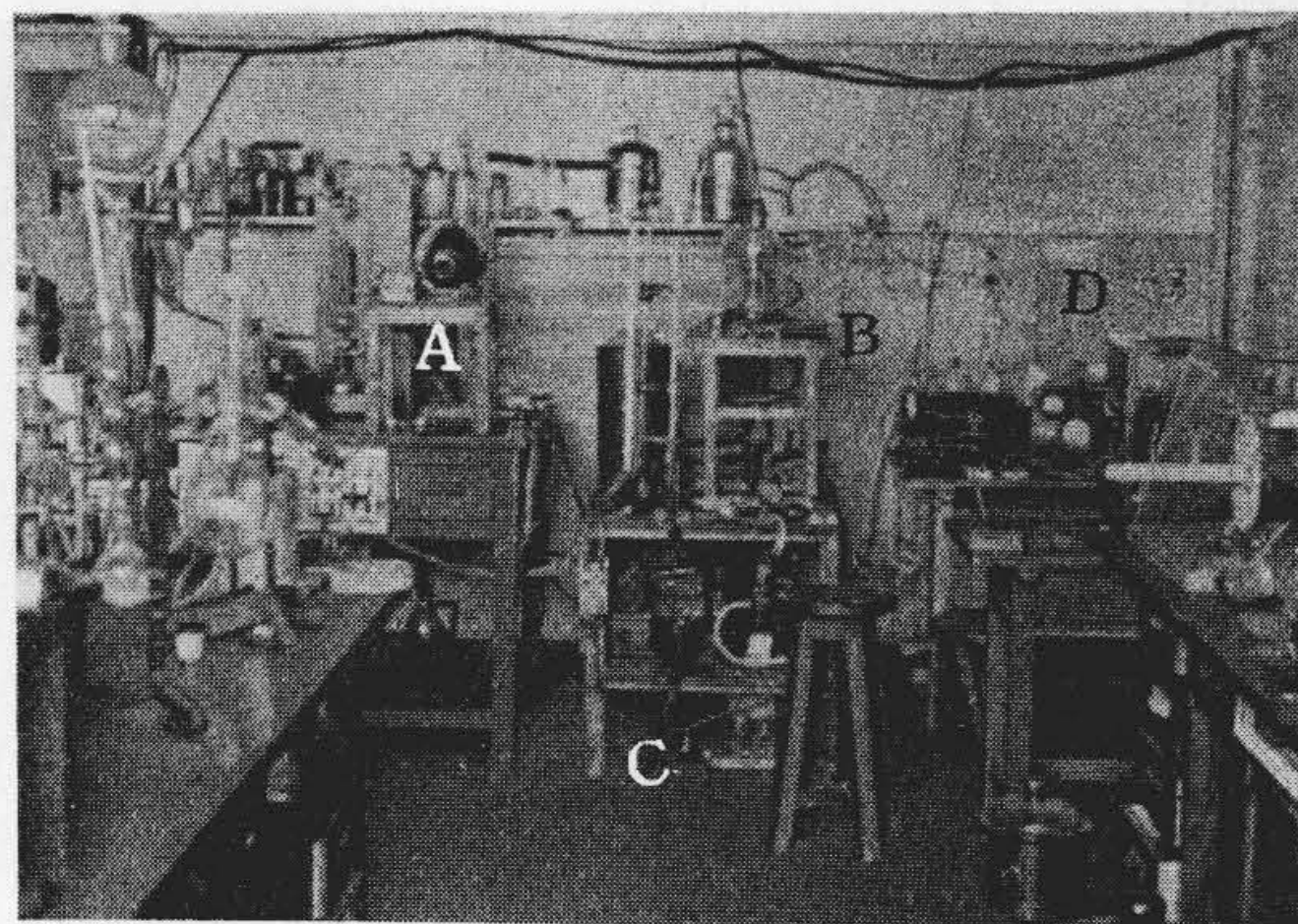
金相学に於ける金属の腐蝕法は例外なく化学的な腐蝕法によつたが、最近サーマル・エッチング、或は此所で述べるカソード・ヴァキウム・エッチングがこの方面に応用され始めている。

これは最初 Don, M. McCutcheon<sup>(88)(89)</sup> (1949年) が二三の金属試料に応用して化学的な腐蝕法では得られない微細構造を鮮やかに出した光学顕微鏡写真を発表したのに始まる。

方法は真空鐘内の低圧ガス気流中で試料を陰極としてグロー放電を行わせ、電離して生ずる気体イオンで叩かれて飛散した<sup>(90)</sup>陰極金属の面を、逆に金相学的な蝕面として利用しようという考え方である。実際の装置は、十分排気した硝子製真空鐘内に約  $10^{-2}\text{ mmHg}$  の瓦斯を封入し、アース側のアルミニウム板を陽極として、両極間 (距離約  $15\text{ cm}$ ) に D.C.  $1,000\sim 4,000\text{ V}$  の電圧を加え、数十  $\text{mA}/\text{cm}^2$  (陰極に於ける電流密度) の放電々流を流して約  $1\text{ hr}$  の放電を行なう。電離したガスイオンは陰極表面に衝突して陰極表面を蝕刻するのであるが、この作用については、陰極金属表面が、原子的に気化するか



第12図 カソード・ヴァキウムエッチング装置  
Fig. 12. Apparatus for Cathodic Vacuum Etching



第13図 実際の装置全景  
A アルゴンガス容器 B 真空鐘  
C 排気回路 D 高压電源部

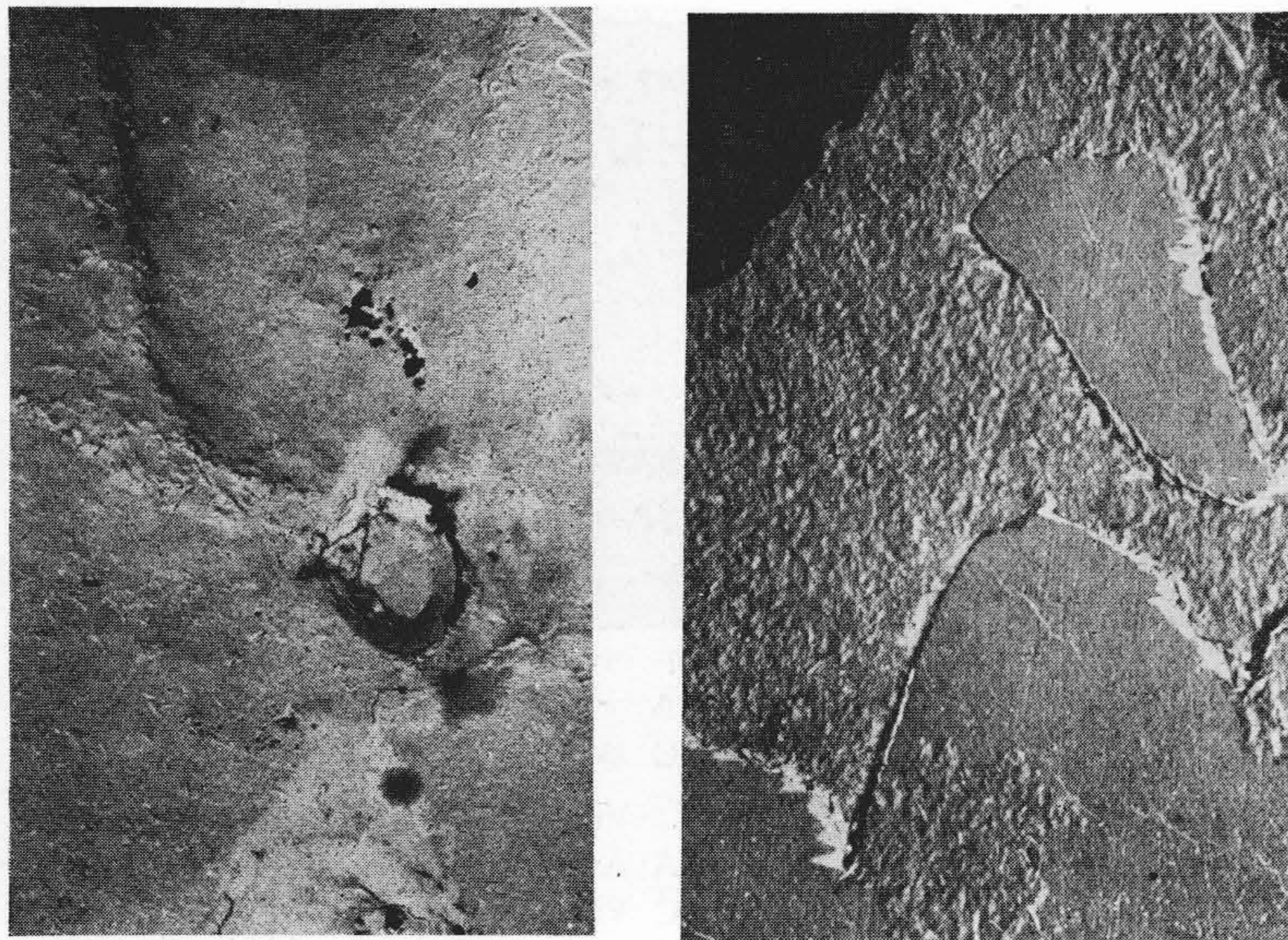
Fig. 13. View of Testing Instruments  
A Argon Tank B Ball Jar  
C Vacuum Circuit D Power Supply

(Thermal Vaporization), 或いはイオンで叩かれる衝撃で原子が機械的に飛散する等と説明<sup>(91)</sup>されている。

実際試料を  $1\text{ hr}$  も放電すると試料はかなり加熱され  $300\sim 400^\circ\text{C}$  位に達するようで、このため金属によつて変態を起す危険があるので特に陰極に X線ターゲットの冷却と同様な冷却装置を附した。McCutcheon によると電離イオンは質量の大きい程能率がよく、従つて封入気体も原子量の大きい方がよい。キセノン、アルゴンは同程度、ネオンはこれよりも能率が低く、水素はアルゴンの  $1/5$ , ヘリウムは寧ろ飛散を抑制するといわれている。窒素は窒化物を作り易く、空気は酸化物を作り易い。鐘内に水銀を置いて水銀蒸気を共存させると能率がよいともいわれている。

さて、この方法を電子顕微鏡に応用した筆者<sup>(92)</sup>の経験は先ず鋳鉄中の黒鉛について興味ある結果が得られ、現在これらについては系統的に金属学的な観察を続けている<sup>(93)</sup>。McCutcheon は鍛造流線がこの方法でよく出ると述べているが、筆者は四六真鍮について実験を行つたところ、双晶帯 (twin band) の検出にも効果があつた。この双晶帯が出る効果は少々問題で、例え試料を冷却しても、イオン衝撃を受けた試料表面は局部的に加熱され、すべりを生じ易くするのではないかという懸念がある。真鍮の表面組織はカソード・ヴァキウム・エッチングを行うと光学顕微鏡的には見事な蝕像であるが、電子顕微鏡的には化学的な腐蝕法を行なつたものの方が寧ろ微細な構造をよく示している。従つてこの方法がオールマイティである訳ではない。シルミンの場合は、カソード・ヴァキウム・エッチングのものも化学的腐蝕のものも光学顕微鏡的にはあまり変らない樹状晶 (Dendrite) を作るが、電子顕微鏡で覗くと大分様子が異なる。カソード・



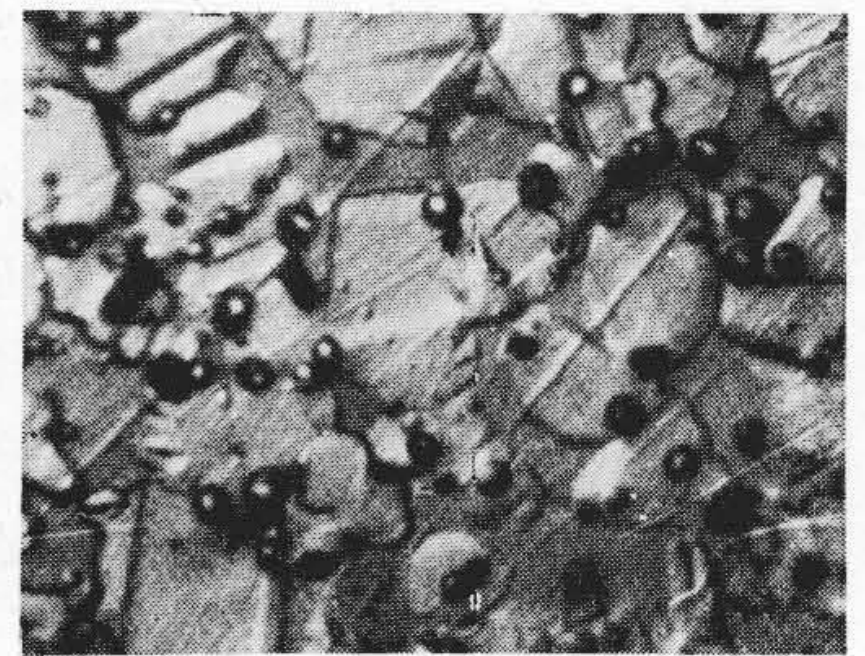


10 μ

カソード・ヴァキウム・エッチング 過酸化水素+アンモニア水・エッチング

第 14 図 (A) 四六真鍮の蝕像

Fig. 14. (A) Etching Figure of Brass by Cathodic Vacuum Etching, (Left) and Chemical Etching (Right)



×150

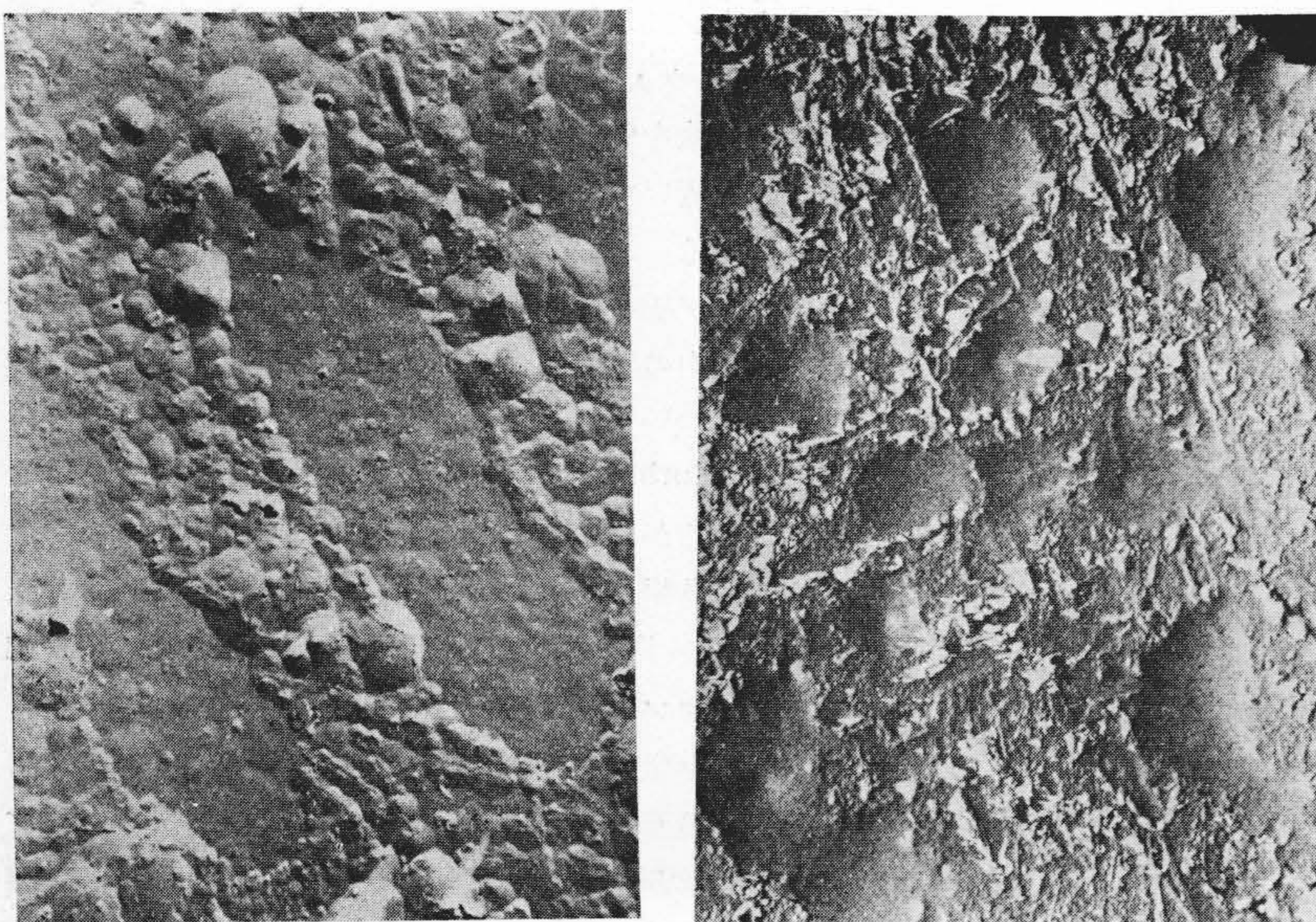
第 14 図 (B)

同左光学顕微鏡像 (カソード、ヴァキウムエッチング)

Fig. 14. (B)

Same to Left Specimen Optical Micrographs

(Cathodic Vacuum Etching)



10 μ

カソード・ヴァキウム・エッチング

苛性ソーダ・エッチング

第 15 図 (A) シルミンの蝕像

Fig. 15. (A) Etching Figure of Silmin by Cathodic Vacuum Etching, (Left) and Chemical Etching (Right)



×150

第 15 図 (B)

同左光学顕微鏡像 (カソードヴァキウムエッチング)

Fig. 15. (B)

Same to Left Specimen Optical Micrograph (Cathodic Vacuum Etching)



ヴァキウム・エッチングを行つたものでは共析晶の部分にドーム型モザイク構造をよく示すが、化学的な腐蝕法では不規則な蝕面しか得られない。

最近サーマルエッチングによる転位 (dislocate) した試料の効果が伝えられているが、カソード・ヴァキウム・エッチングも、鋭敏な金属表面に効果があるのかも知れない。特に電子顕微鏡的ディメンジョンを持つた金属組織の研究に新しい応用面があるように思われる。

### 〔VIII〕 写真化学的な諸問題

#### (1) 感光材料と現像処理

ハロゲン銀一箇を現像可能にするため、光学的には 10~100 箇の有効光量子を必要とするのにかゝらず 50~100 kV に於ける 1 箇の電子は平均 5 箇の粒子を現像可能にする<sup>(94)</sup>といわれるから、電子エネルギーの変換装置として、写真乾板は極めて能率がよいわけである。従つて螢光増感は電子線に対して問題にならない。それは螢光体よりも臭化銀の方が遙かに電子線に対する効率が高いためである。

乾板の電子線感度は乳剤中の銀濃度に依存することが Ardenne<sup>(3)</sup> によつて指摘されている。田島氏<sup>(95)</sup>の報告でも銀量の多少が、感度に影響するのは光の場合と電子の場合では逆であることが述べられている。即ち電子線に対しては銀濃度の高い方が感度が高いのである。電子線感度は乳剤中で電子が臭化銀に衝突する確率が問題で、感光核の多少又は大小は感度に影響しないらしい。従つて光に対する感度差と電子線に対する感度差とは同じ比率にならない。Baker, Ramberg, Hillier<sup>(96)</sup>の報告ではある加速電圧で感度の早いものと遅いものゝ比が光では 100/1 であるものが電子線に対しては 13/1 であることがたしかめられた。又加速電圧の上昇に伴つて感度が増加し、100~200 kV の間に最大の感度があると報告されている。つまり乳剤中を電子線が貫通し過ぎても感度が落ちる。

一方  $r$  は 50~100 kV に最大がある。これは加速電圧の上昇に伴つて電子線の乳剤貫通力を増し、像のコントラストは失はれるが、露出エネルギー (この場合電子線照射量) の増大が  $r$  増加の助成因であり、両者の兼ね合いが、50~100 kV の間で最大となるのである。電子線の写真乾板に対する今一つの特徴は、加速電圧 50 kV 程度では、露出量と乾板黒化濃度との間に、Lenard の吸収則<sup>(97)</sup>が成立たず乾板の特性曲線に直線部分が得られない。Borries の実験<sup>(94)</sup>及び伊藤、四本氏<sup>(98)</sup>の実験によつてこれをたしかめている。従つて写真乾板の黒化濃度を定量的に取扱うことが出来ない。これは差迫つた必要ではないが、黒化濃度を定量出来ることも望

まれることである。最もこれには乳剤中の電子線速度変化、散乱及び X 線効果等の因子が及ぼす影響等複雑な問題がある。

シャドゥイングの出現以降コントラストに対する要望は少ないし、あつても特殊な場合に限られている。乳剤或は現像処理法に於ける増感法に対する要望の方が余程切実である。露出時間の短縮は鏡体の電圧、電流安定装置を簡易化し、撮影能率を著しく高める。解像度の点からも、ゼラチン量の多い乾板はあまり意味がない。

フィルムの問題も将来の電子顕微鏡の普及を考へて等閑に出来ないことでフィルムの持つ欠点を克服することが望ましい。最近我国にも専用乾板の発売を見たことは喜ばしいことで、光の場合の D.I.N. とか Weston といつたような感度表示方式が欲しいと思う。

#### (2) 映画撮影及び色彩写真に対する批判と期待

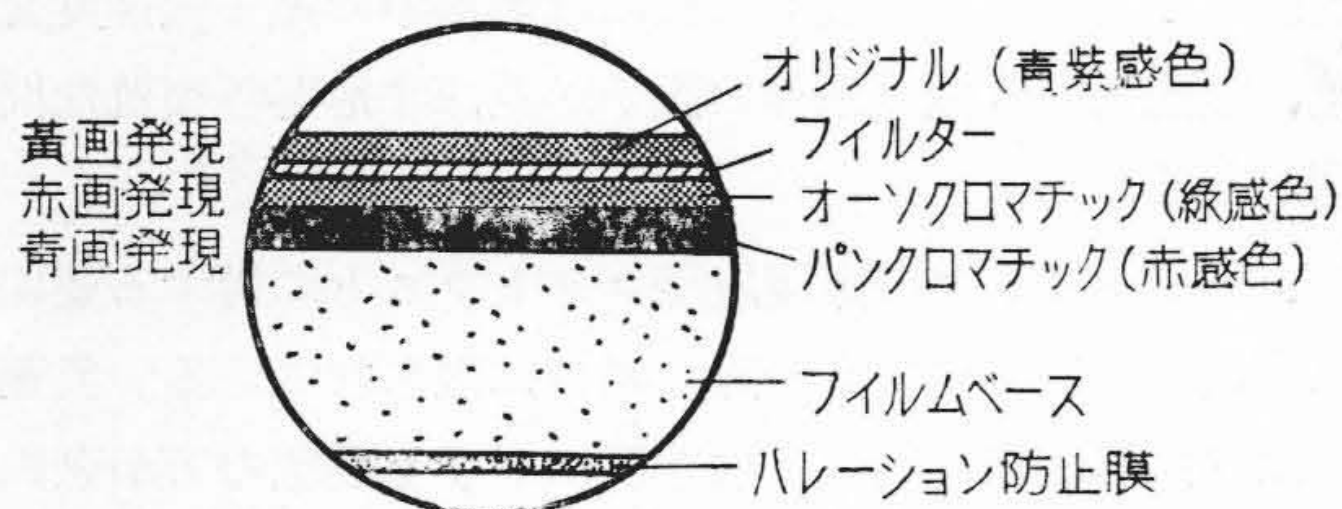
映画撮影については Ardenne<sup>(99)</sup>の報告に既に記載されているが、Watson<sup>(100)</sup>によつて試料の電子線によつて生ずる変化が追跡された。最近我国でも田島、深見、伊藤等の諸氏<sup>(101)</sup>によつて同様の実験が報告されている。この実験で得られた結果を見て感ずることは、この場合得られた動く標本は寧ろ除去されることが望ましい人工現象によるもので、映画撮影の場合謂はゞ禍が転じて福となつたような現象である。我々が本来見たいダイナミックな現象は電子線照射による影響のない標本の化学変化、或は生体の観察であつて、この線に沿つた鏡体の進歩がない限り映画撮影技術だけが進歩してもその結果は応用研究に大した意味を持つて来ないだろうと思う。

筆者はこの実験で最も成功したと思う一例として、f. 5.6 で 1/50 sec, f. 2 で 1/400 sec という高速度シャッターを用いた間接撮影技術が行なえたということで、これは感光材料の進歩に負う所が大きい。X 線診断に間接撮影技術が果たした役割は大きなもので、電子顕微鏡の品質管理、臨床診断への進出を考へる時、この芽生えは十分尊重されてよいと思う。

1949 年 Bamberg<sup>(102)</sup>が色彩写真技術を発表した。その詳細は省略するが、カラーフィルムと同様な多層乳剤で、中間層に金属膜を置いて速度の早い電子を下の層に、遅い電子を上層に分け、上層と下層にはおそらく異つたカップラーを用いて異つた色に発色現像を行なうものであろう。つまり標本を通過した電子の速さの不揃いを乾板上で色の違いに変えようというのである。

標本中で散乱された非弾性散乱電子は絞りの限界角度 ( $10^{-2}$  rad) 内に殆んど含まれて試料の像形成にその多くがあずかるといわれているが、この非弾性散乱電子は試料内の衝突原子を励起してエネルギーの一部を失ない、その速度が遅くなる。





酸 16 図 カラーフィルムの構造

Fig. 16. Structure of Color Film

この速度損失の実験については Hillier, Baker<sup>(104)</sup> の磁界を利用したマイクロアナライザーによる測定、Möllenstedt<sup>(105)</sup> の静電レンズの収差を利用したマイクロアナライザーによる測定があり、コロチオン支持膜上の  $10^{-14} \sim 10^{-16} \text{g}$  の種々の金属薄膜に対し(プローブの大きさ  $2,000 \text{ \AA}$ ) 数  $+eV$  の速度損失が報告されている。試料の電子線スペクトルには励起準位に相当する固有エネルギーの損失が認められるが、量的には問題にならず、色彩写真に効果をもたらすとすれば前者である。然るに実際にこの程度の速度差でうまく乳剤の中で電子が上の層と下の層に分れて呉れるかどうか筆者は疑問だと思ふ。

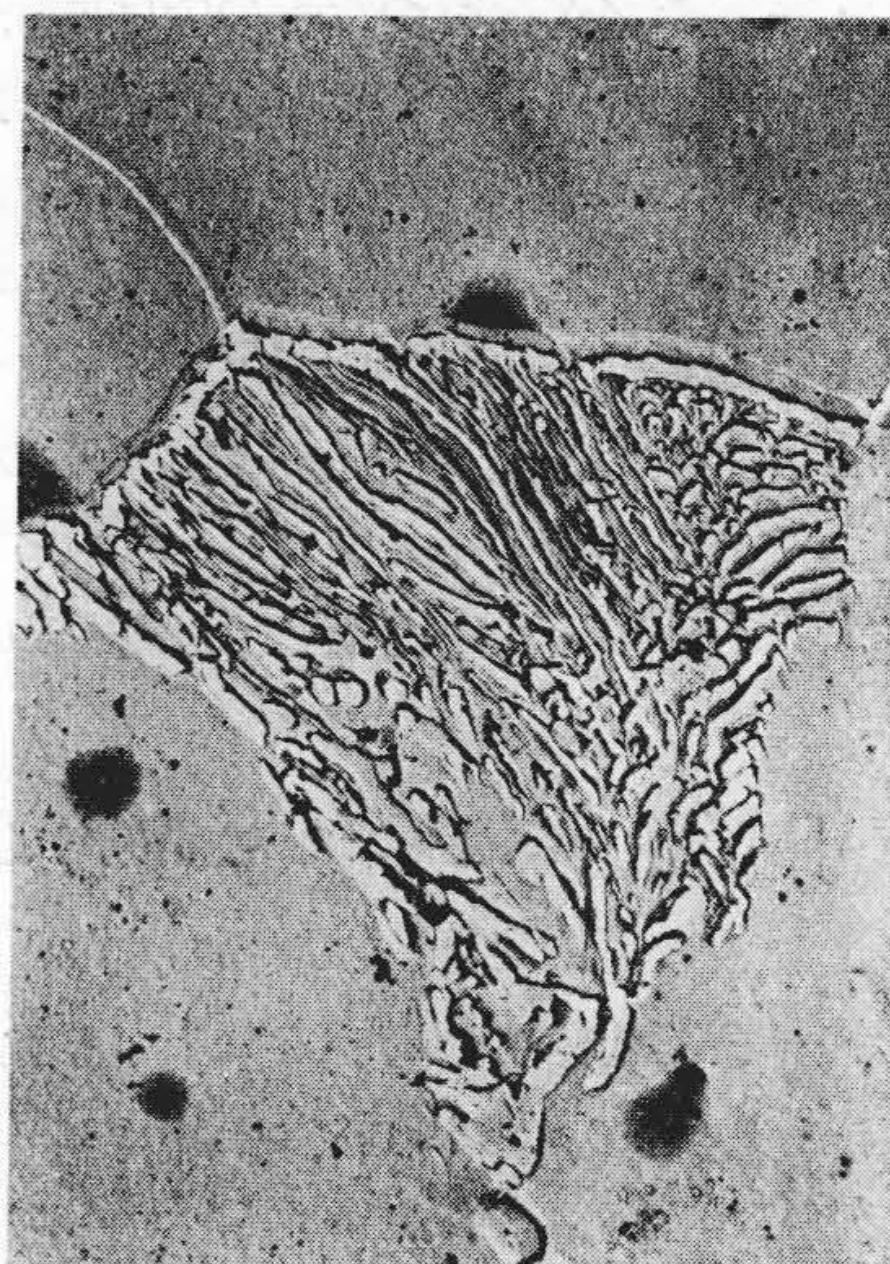
面白いのは Seitz と Harig<sup>(106)</sup> の行つた実験で、乳剤中で銀の黒化する深さは同一加速電圧でも全照射量が大い程深く、小さいと乳剤の上の方だけしか銀が黒化されないということである。つまり色彩写真で色別け出来るのはむしろ標本を通過した電子線のコントラストの方がきいて来るのではないかと思われる。

最近筆者<sup>(104)</sup> は市販のアンスコカラーフィルムを使って加速電圧及び露出量を変えて実験を行なつて見た所、どちらも或る程度の色別けが出来た。即ち速度に大きな変化があれば、たしかに乳剤内への滲透度が異なるし、又色別けに Seitz と Harig の実験結果があてはまることも事実のようである。そうすると Ramberg の初めの考えは訂正されなければならないと同時にこの色付きの写真が何を意味するのか、どういう風に応用研究に役立てゝ行けばよいのか頗る問題である。筆者は一つの案としてウルトラマイクロミーエの応用を考えている。つまり切片固定の際重金属塩が染着し、細胞内要素の特定のものを染着する色々な固定液を導き、そのコントラストを色彩像に置きかえて行くことである。

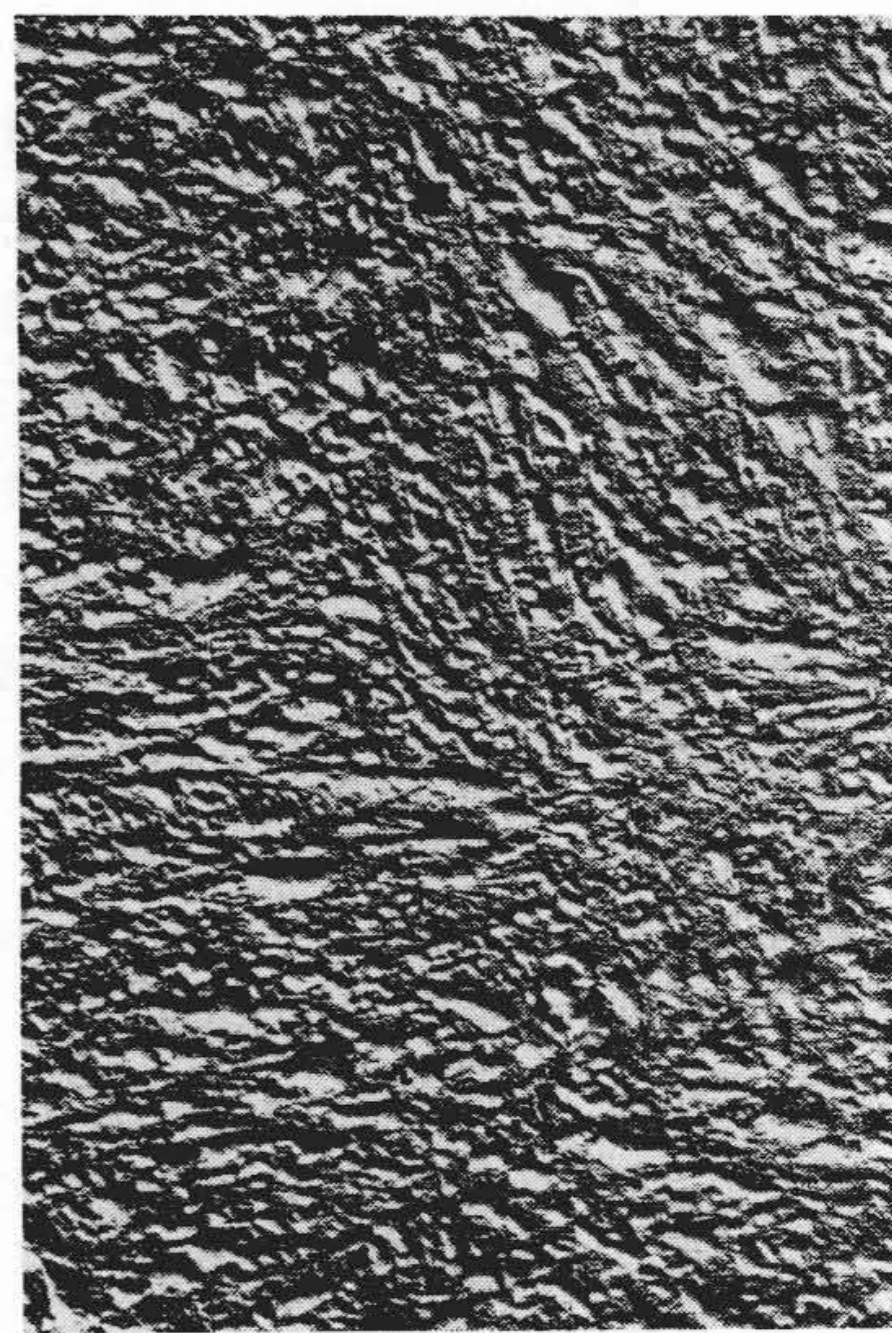
或は案ずるよりも生むが易く、色彩乾板が出来れば又色々な用途が考え出されるのかも知れない。

### 〔VIII〕 応用研究の動向

電子顕微鏡の応用分野といつても広く、それぞれ専門的な研究に対して批判を加えることは困難であるが、概観的に見た応用研究の傾向について述べて見たいと思



第 17 図 船舶鋼のパーライト組織  
Fig. 17. Pearlite Structure of Steel



第 18 図 Mn, Cr, Mo 鋼 (250°C 等温変態)  
Fig. 18. Mn, Cr, Mo Steel (250°C Isothermal Transformation)

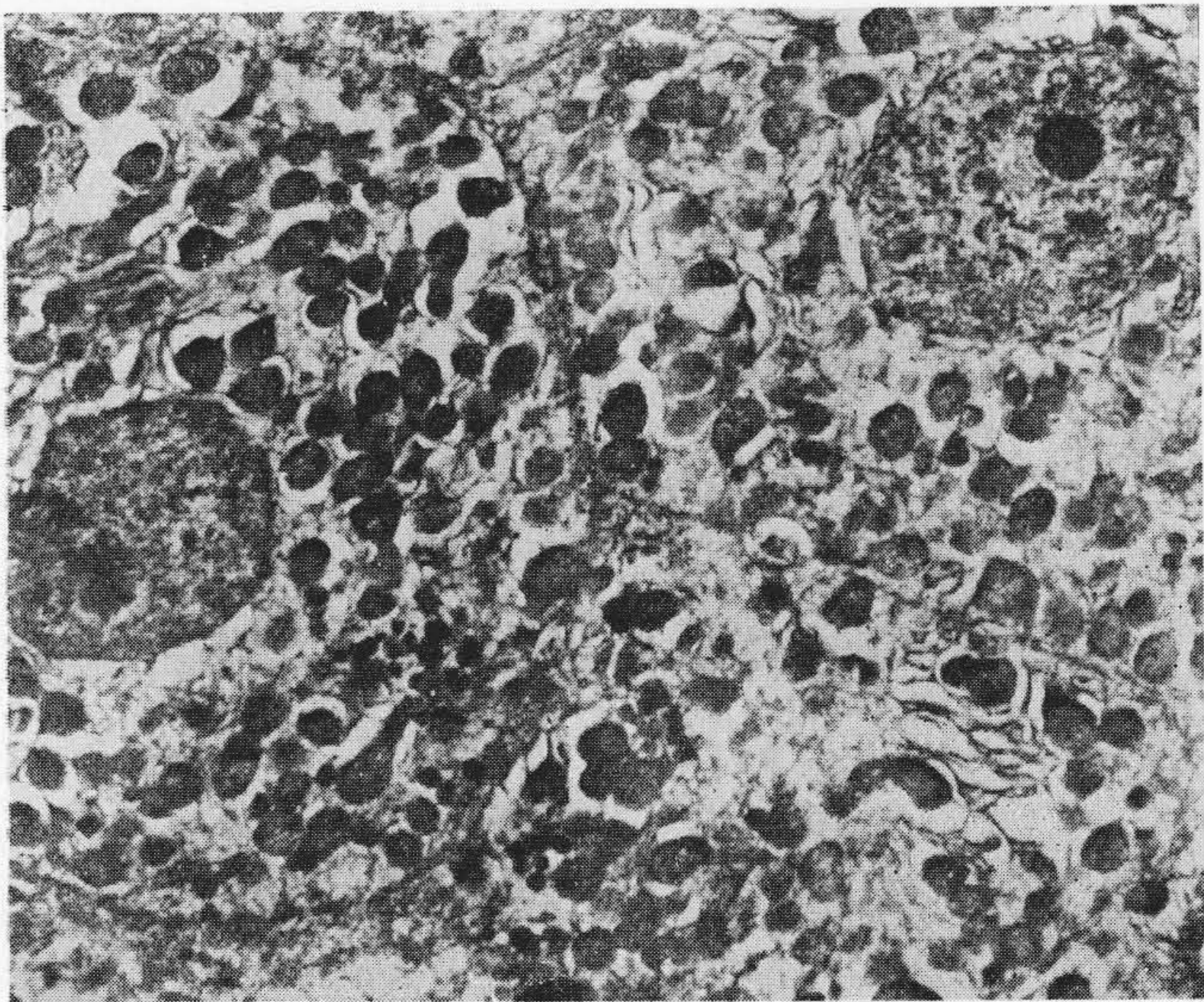
う。研究分野を大別して、金属に関するもの、医学、生物学に関するもの、化学に関するものゝ三つに分けて考えて見る。

#### (1) 金属に関するもの

金属の中で最も問題が多いのは組織の問題で、先づ大部分がレプリカによる研究であり、像の読み方はレプリカの解釈を基盤としてこの上に組立てられる。

応用研究の立場から言つてレプリカは成可く統一され





第19図 ラット肝細胞 1% オスミウム酸アセテートベロナール緩衝液固定パラフィン包埋、色収差補償レンズによる撮影例<sup>(124)</sup>

Fig. 19. Section of Rat Liver Fixed by Purfution with 1% Osmic Acid Acetate Veronal Buffer Soutlion

5μ

の方がよい。この分野では特にポジティブ型のレプリカが喜ばれるようである。レプリカに關聯して腐蝕の問題が頗る重要で<sup>(109)</sup>、前にも述べたように結晶粒の傾きや色は問題にならず、専ら粒子間の蝕刻差が像を作る。従つて従来の光学顕微鏡で用いられた腐蝕法をその儘踏襲しても必ずしもよい結果が得られるとは限らない。一般にレプリカのコントラストをつけるためには深い腐蝕が効果的であるが、これも度が過ぎるとレプリカの剝離に際してレプリカの微細な転写構造を壊し、(所謂 Keying) 人工産物を生ずるのでこの間のかね合いが肝要である。最近、A.S.T.M. の中に電子顕微鏡委員会が設けられ、こゝで電子顕微鏡で得られた金属組織の中で標準組織の代表的なものを蒐め、同時に効果的な腐蝕液についての研究がまとめられている<sup>(108)</sup>のは今後の研究を組織化して行く上に大きな意義があると思う。

腐蝕の問題にからんで Etching Pit<sup>(110)</sup> や、研磨の問題も新しい注意を喚起した。電子顕微鏡的視野では、ピットが既にピットでなく、腐蝕液によつて面指数を変える多面体を正確に記録する<sup>(110)</sup>。バフ研磨は超顕微鏡的な迂り (dislocation) を生ずることがあり、研磨に際して生ずる flowlayer が極めて粗雑な面を呈することが指摘された。<sup>(111)</sup> 電子顕微鏡的金相学の展開にはなされなければならない基礎的な問題が多いようである。

(2) 医学的生物学に関するもの

医学、生物学方面ではウルトラマイクロトミーの発達が清新の気を吹き込んだように見える。電子顕微鏡的に得られた形態に関する知識が機能とどう結びつくかを問題にする時、従来の精製標本の電子顕微鏡像はあまりにも人為的な誤差を内包するようと思われる。

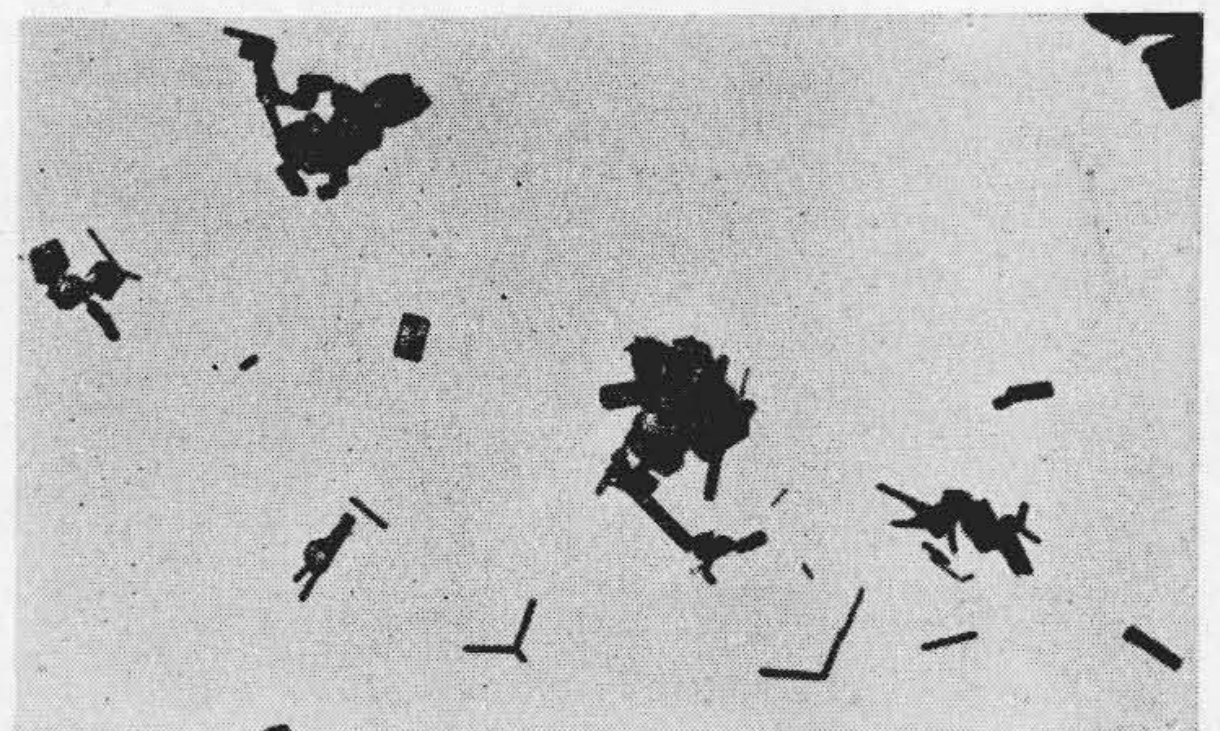
ウィールス学に於けるウィールス同定の問題、ノーマルコンポーネントとの判別は、ウィールス精製以降の人

工産物に対する検討に手間のかゝるよい実例であり、確とした決め手の整わないところに問題を残している。<sup>(114)</sup>

生体内の要素或いは感染源の精製標本を見ることに少々食傷気味であつたこの方面では細胞内にその対象を求め、相対的な変化を追跡することに主眼点が注がれ始めている。細胞学的な新しい知見は、次第に細胞のより詳細な形態学を確立しつつあるし<sup>(112)(113)</sup>、殊にウィールス性疾患の細胞病理学的研究がスタートされている。

Morgan, Wyckoff<sup>(115)-(118)</sup> 等の鶏卵漿尿膜 (Chorio allantoic membrane) 中のフォウルポックスウィールス (fowl pox virus), 植物細胞中のタバコモザイクウィールス chorio allantoic membrane 上皮細胞及びマウス肺上皮細胞内のインフルエンザウィールス (Influenzavirus) T<sub>3</sub>-Bacterio phage 或は東氏<sup>(80)</sup> の T<sub>2</sub> phage 感染大腸菌像等は何れも見事な写真である。

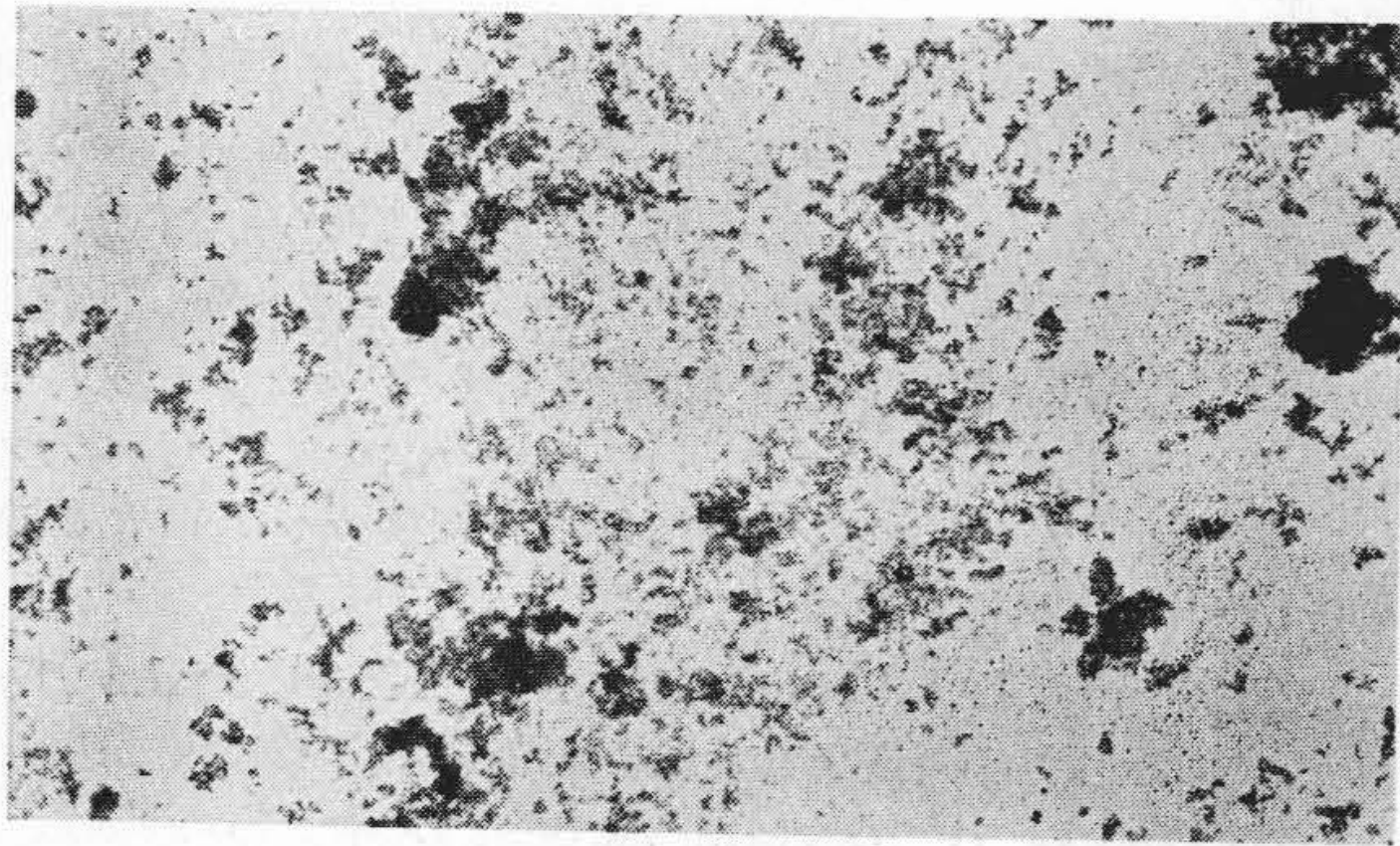
電子顕微鏡の臨床医学への進出はウルトラマイクロトミーの進出によつて意外に早められるのではないかと考えられるのである。



1μ

第20図 亜鉛華粉末  
Fig. 20. Zinc Oxide Powder

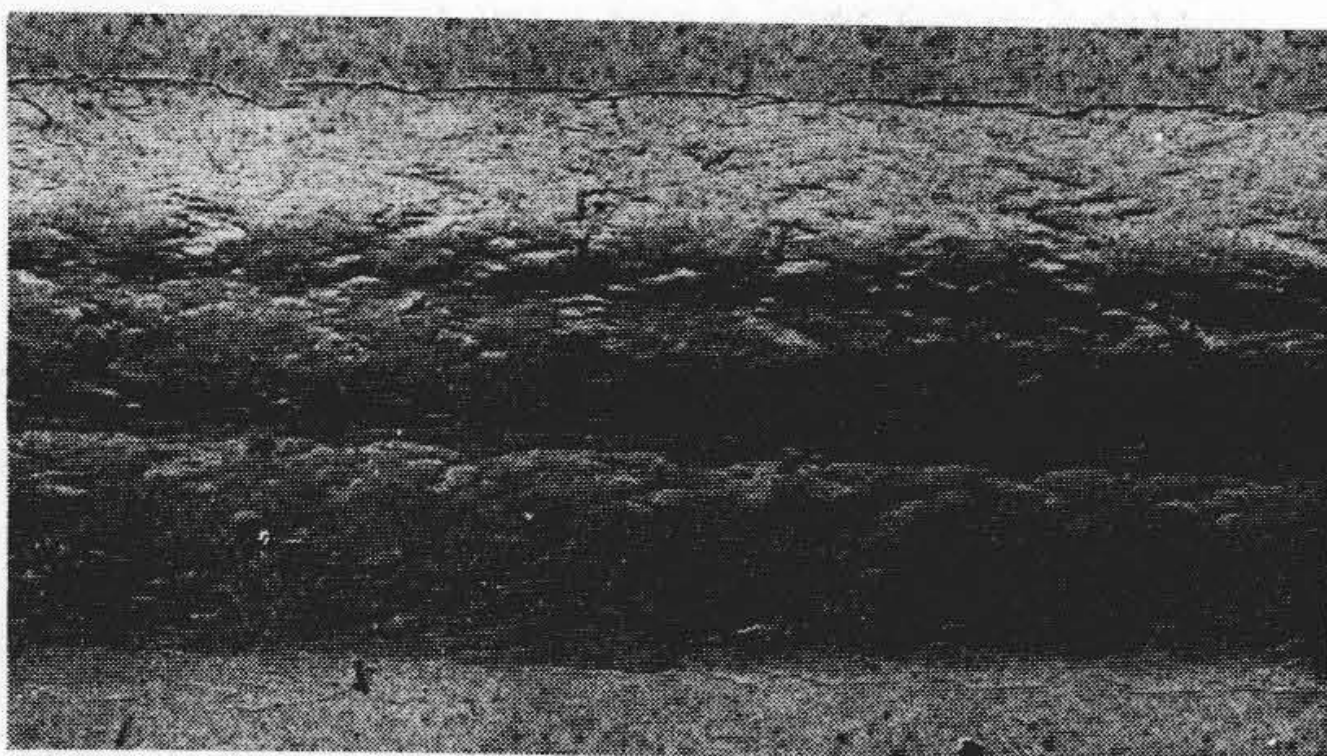




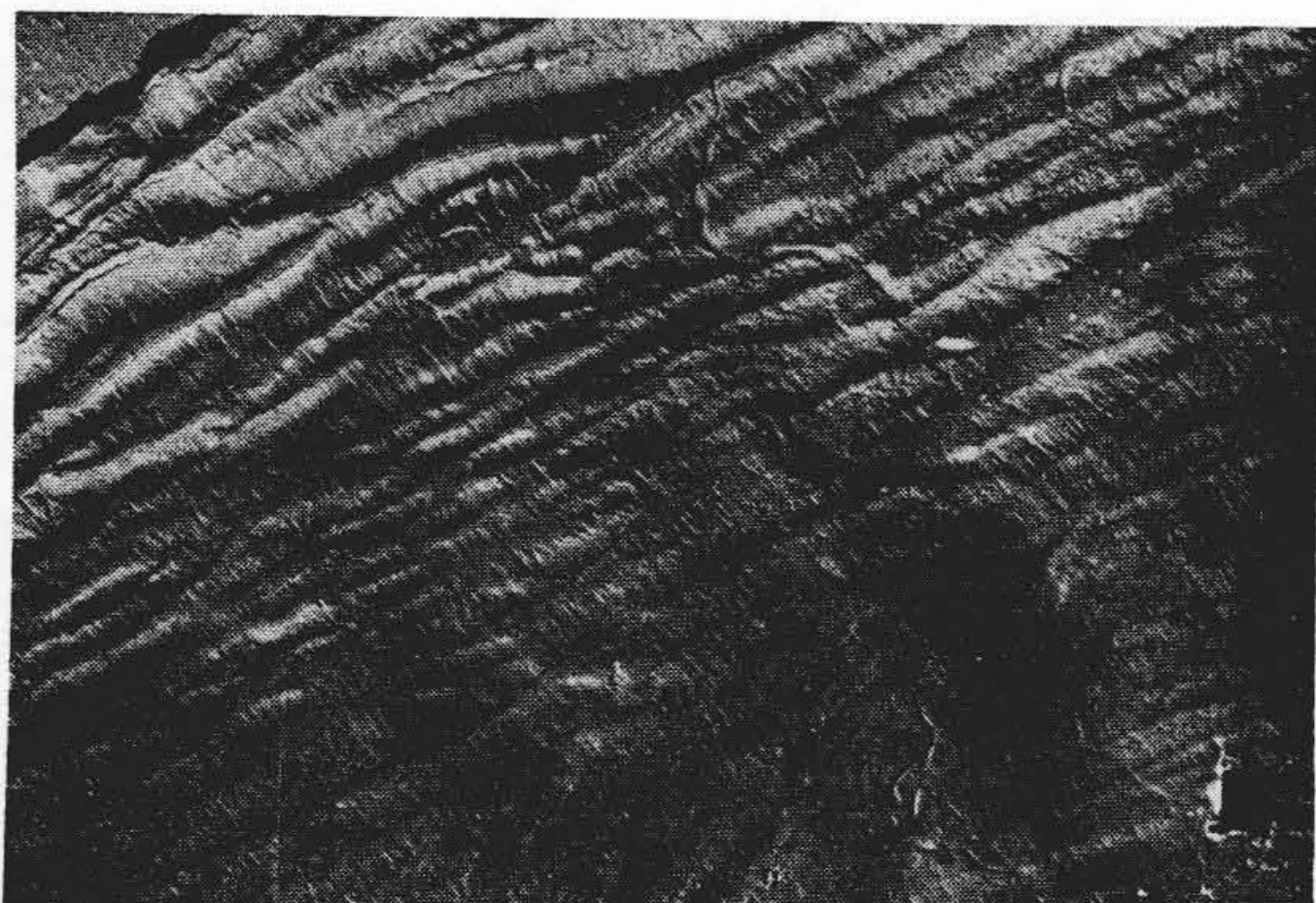
第21図 炭酸ニッケル触媒  
Fig. 21. Catalytic Nickel Carbonate

(3) 化学に関するもの

化学の分野ではコロイド的ディメンジョンをもつ各種標本の大きさ、形態、分布、化学変化の形態的な追跡、電子顕微鏡の併用による定性の問題等が取上げられている。一部の試料を除いては比較的標本の作り方、或いは



第22図 メラミン樹脂加工を行ったヴィスコース人絹  
Fig. 22. Viscose Fiber Finished Meramin Resin



第23図 人絹パルプの表面  
Fig. 23. Pulp for Making Viscose



第24図 巻煙草用仙花紙の表面  
Fig. 24. Rolled Paper for Cigaretts

鏡体内での問題が、少ない試料が多く、生産に直接結びついた研究成果も少ない。工業的な品質管理と言うような面に直ちに電子顕微鏡が役立つ機会が多いと思う。もつとも試料の熱変化、化学変化等が電子線の照射によって敏感に行われるものもあり、その主なものは既に述べて来たが、臭化銀の変化などはその最たるものであろう。ダイナミックな標本の観察に対する要望は医学、生物学に於けるそれに劣らない。これについては、Abrams, McBain<sup>(7)</sup> の金ゾルのブラウン運動に関する記載例がある。

繊維化学に於ける繊維の表面構造或いは内部構造は染着性、保温性、強度等に影響するであろうし、これにはレプリカとウルトラマイクロトミーが、そのまま利用される。

Heidenreich, Sturkey<sup>(119)(120)</sup> は結晶を通過する際、Bragg反射をする電子線の廻折波の干渉が縞模様を作ることを見出した。最近この縞模様から逆に結晶の面指数を求めて結晶の歪み、厚さ、その他の特性を調べることが話題となつている。<sup>(121)</sup>

〔IX〕 将来の電子顕微鏡に対する希望

使い易い電子顕微鏡、高性能で多能な電子顕微鏡或いは超高圧電子顕微鏡というような当面考えられ、又既に一部製品化されつつあるような電子顕微鏡は省略して実現に幾分距離のありそうな電子顕微鏡を想像して見たいと思う。

先づ電子顕微鏡による生体の観察は生物学者の夢であると同時に切実な欲求である。Ardenne は芽胞を観察中、電子線照射を受けた芽胞が発芽するのを見たとき報告し、Abrams, McBain<sup>(7)</sup> の繊毛虫の繊毛(Cilia)に関する記載例が目をつけた。このことは電子線照射を受けてもすぐ死滅しない生物標本もある、(必ずしも試料負担エネルギーを零にしなくとも、或る程度の所まで行けば、



死滅寸前の場合でも動き得る標本が見付かるかも知れない)ということを示唆している。何も初めから細菌の運動や、フェーゼの攻撃が映画にならなくてもよいので、要は少しでも動いて呉れる標本の手掛りを得るための時間の消費をどれだけ節約出来るかということである。

鏡体内に於ける化学標本の化学変化も又全く同様のことがいえる。

第二に反射型の電子顕微鏡が欲しいということである。レプリカの示す像が定性にあずかる所は全くその表面の凹凸だけであつて、レプリカの像に余程慣れないと、これも又誤解と混乱を導く可能性が大きい。酸化被膜を除いたレプリカが標本の複製で、模造品であることは何と言つても弱味である。従つてこの方法も標本の本質を採るのに完璧な方法とは言えない。

おそらく反射型電子顕微鏡が出来て、反射電子がうまく処理出来たとしても標本の変化が問題となるであろうが、この合場にはレプリカのこれまでの像がこれを補つて呉れると思うのである。

以上の二つの問題は別に新しい問題ではなく、既に電子顕微鏡の初期の頃から先達の指向する所であつて、これを打開する試みがなされた所である<sup>(122)</sup>。鏡体研究者の念頭を去らぬ懸案問題であることを知り乍ら敢て要望を繰り返す愚をいたすのは、応用研究者にとつても切実な絶え間ない慾求をはらんでいるためである。

ミクロな世界が色彩映画にでもならぬものかと思う。誰か、現代の Abbe によつてその将来を予言されれば幸いである。

筆を擱くにあたり、電子顕微鏡学会々長瀬藤象二先生、同関東支部長寺田正中先生、電子顕微鏡総合研究委員会、谷安正先生、山下英男先生、笹川久吾先生並びに委員各位、日立中央研究所前所長鳥山四男博士、現所長菊田多利男博士、副所長豊田博司理事、主任研究員浜田秀則博士、只野文哉博士、森戸研究員及び第四研究室の各位に厚く御礼申上げる。

#### 参 考 文 献

- (1) Practical Using in America at Now.
- (2) 深見 章: 電顕 2 126 (1952)
- (3) アルデンネ文部省専門学務局訳: 超電子顕微鏡 289 (1942) 丸善刊
- (4) Schaefer, V.J. and Harker, D.: J. App. Phys 13 427 (1942)
- (5) Gerould, C.H.: Ibid, 18 333 (1947)
- (6) Hass, G. Kahler: Kolloid, Z. 95 26 (1941)
- (7) Abrams, J. A. and McBain, J. W.: J. App. Phys 15 607 (1944)
- (8) Mottlau, A.Y.: Ibid, 20 1055 (1949)
- (9) 佐々木伸二、上田隆三: 電顕 2 87 (1952) R.S.I
- (10) Kern, S. F. and Kern, R. A.: J. App. Phys 21 705 (1950)
- (11) Ellis, S.G.: Ibid. 23 728 (1952)
- (12) Ardenne, M.: Z. f. Phys, Chem. 61 61 (1942)
- (13) Bernal, J.D. and Fankuchen, I.: J. Gen. Phys, 25 111 (1941)
- (13) 例えば Lauffer, M. etal: Advances in enzynology 9 (1949) の Table を参照
- (15) Wyckoff, R. W. G.: Science 104 36 (1946), Biochem. Biophys. Acta 1 139 (1947)
- (16) Price, W. C. and Wyckoff, R. W. G.: Nature 157 764 (1946)
- (17) Wyckoff, R.W.G. etal: Nature 159 577 (1947)
- (18) Wyckoff, R.W.G.: Acta, Crystallographica 1 292 (1948)
- (19) Hillier, J., Knaysi, G. and Baker, R. F.: J. Bact 56 569 (1948)
- (20) Hillier, J. and Baker, R.F.: Ibid. 52 411(1946)
- (21) 金谷光一: 電顕 2 718 (1952)
- (22) Watson, J.H.L.: J. App. Phys 18 153 (1947)
- (23) Cosslet, V.E.: Ibid. 18 844 (1947)
- (24) Hillier, J.: Ibid. 19 226 (1948)
- (25) Burton, E.F. etal: Nature 160 565 (1947)
- (26) Hillier, J.: J. App. Phys 17 411 (1946)
- (27) 只野文哉: 電顕 1 19 (1950)
- (28) Hillier, J. and Ramberg, E.G.: J. App. Phys 18 48 (1947)
- (29) 深井孝之助: 電子顕微鏡(笹川編) 本田書店刊 (1951)
- (30) Müller, H.O.: Kolloid, Z. 99 6 (1942)
- (31) Williams, R. C. and Wyckoff, R. W. G.: J. App. Phys 15 712 (1944)
- (32) Williams, R. C. and Wyckoff, R. W. G.: Ibid. 17 23 (1946)
- (33) Williams, R. C. and Backus, R. C.: Ibid. 19 98 (1949)
- (34) 土倉秀次: 電顕 1 32 (1951)
- (35) Edited by Drumond, D.G.: J. Roy. Microscop. LXX (1950)
- (36) Picard, R.G. and Duffendack, O.S.: J. App. Phys 14 291 (1943)
- (37) Sennet, R.S. and Scott, G.O.: J.O.S.A 40 203 (1950)
- (38) Levinstein, H.: J. App. Phys 20 306 (1949)
- (39) Williams, R.C. and Wyckoff, R.W.G.: Science



- 101 594 (1945)
- (40) Wyckoff, R.W.G.: *Electron Microscopy*, New York (1949)
- (41) Kehler, H. and Lloyd B. J.: *J. App. Phys* **21** 699 (1950)
- (42) 日比忠俊: *電顕* **2** 121 (1952)
- (43) 赤堀 宏: *電顕委報* 58-D-2 (1951)
- (44) Mahl, H.: *Z. Tech. Phys* **21** 17 (1940)
- (45) Phelps, R. T. et al: *Ind. Eng. Chem.* **18** 391 (1946)
- (46) Evans, U.R.: *J. Chem. Soc.* 1020 (1927)
- (47) Sutton, H. and Wilstop, W.: *J. Inst. Metal* **38** 259 (1927)
- (48) Wernick, J.: *Electrode, Posit. Tech. Soc.* **9** (1933-4)
- (49) Evans, U.R. and Stockdale, J.: *J. Chem. Soc.* 2651 (1929)
- (50) Mahl, H.: *Z. Tech. Phys.* **22** 23 (1941)
- (51) Zworykin, V.K. and Ramberg, E.G.: *J. App. Phys.* **12** 692 (1941)
- (52) Heidenreich, R.D. and Peck, V.G.: *Ibid.* **14** 23 (1943)
- (53) Heidenreich, R.D. and Matheson, L.A.: *Ibid.* **15** 423 (1944)
- (54) Mahla, F.M. and Nielson, N.A.: *Ibid.* **19** 378 (1948)
- (55) 只野文哉: *応物*, **16** 113 (1947)
- (56) 土倉秀次、赤堀 宏: *電顕*, **2** 127 (1952)
- (57) 日比忠俊: *電顕学会講演(東京)* (1952)
- (58) Heidenreich, R. D.: *J. App. Phys.* **14** 312 (1943)
- (59) 例えば Deacon, B.M. et al: *Ibid.* **19** 704 (1948)
- (60) Trotter, J: *Nature* **164** 227 (1949)
- (61) 土倉秀次: *電子顕微鏡(笹川編)* 本田書店刊 (1952)
- (62) Schwartz, C. M. et al: *J. App. Phys.* **20** 202 (1949)
- (63) Barnes, R. B. et al: *Ibid.* **16** 730 (1945)
- (64) Hunger, J. and Seeliger, R: *Metallforschung* **2** 65 (1947)
- (65) Hass, G. and McFarland, M.E.: *J. App. Phys.* **21** 435 (1950)
- (66) Hass, G.: *J.O.S.A* **39** 532 (1949)
- (67) Hall, C.E.: *J. App. Phys.* **21** 61 (1951)
- (68) Kay, W.: *Ibid.* **20** 209 (1949)
- (69) Baker, R. F. and Nicoll, F. H.: *Ibid.* **15** 803 (1944)
- (70) Ardenne, M. von: *Z. Wiss. Mikroskop.* **36** 8 (1949)
- (71) Richard, G. et al: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* **51** 148 (1942)
- (72) Pease, D.C. and Baker, R.F.: *Science* **107** 8 (1949)
- (73) Pease, D.C. and Baker, R.F.: *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* **67** 470 (1948)
- (74) Palade, G.E.: *J. Exp. Med.* **95** 285 (1952)
- (75) Dalton, A. J.: *J. Nat. Cancer. Inst.* **11** 439 (1950), *Nature* **168** 244 (1951)
- (76) Wyckoff, R.W.G. et al: *Biochem. et, Biophys. Acta.* **6** 334 (1950)
- (77) Newman, S.B., Borysko, E. and Swerdlow, M.: *Science* **110** 2846 (1949). *J. Resear, Nat. Beur. Stand* **43** 183 (1949)
- (78) 佐藤正一、土倉秀次: *科学* **21** 541 (1951)
- (79) 渡辺陽之輔: *電顕学会講演(東京)* (1952)
- (80) 東 昇: *科学* **22** 480 (1952)
- (81) Hillier, J. and Gettner, M.E.: *J. App. Phys.* **20** 480 (1949)
- (82) Hillier, J. and Gettner, M. E.: *Science* **112** 520 (1950)
- (83) Hillier, J.: *R.S.I* **22** 185 (1951)
- (84) Fullam, E.F. and Gessler, A.E.: *Ibid.* **17** 23 (1946)
- (85) Fullam, E. F. and Gessler, A. E.: *Am. J. Anat* **78** 245 (1945)
- (86) Baker, R.F. and Pease, D.C.: *J. App. Phys* **20** 480 (1949)
- (87) Hillier, J.: *Ibid.* **22** 135 (1951)
- (88) McCutcheon, Don, M.: *Ibid.* **20** 414 (1949)
- (89) McCutcheon, Don, M. and William, Pahl: *Metal Progress* **56** 674 (1949)
- (90) Strong, J.: *Procedure in Experimental Phys.* New York
- (91) Compton, K.T. and Langmuir, I.: *Rev. Mod. Phys* **2** 186 (1930)
- (92) 土倉秀次: *科学* **21** 35 (1951). *Chem. Abst.* **46** 3425 i (1952)
- (93) 草川隆次、土倉秀次、奥本武臣: *金属学誌* **15A** 424 (1951)
- (94) Borries, B. von.: *Z. Phys.* **119** 498 (1942). *Chem. Abst.* **38** 3557 (1944)
- (95) 田島又一: *電顕* **1** 86 (1950)



- (96) Baker, R. F., Ramberg, E.G. and Hillier, J.: J. App. Phys **12** 450 (1942)
- (97) Lenard: Quantative über Kathoden Strahlen, Heiderberg. (1918)
- (98) 伊藤一男、四本晴男: 電顕学会講演(東京)(1952)
- (99) Ardenne, M. von.: Z. Physik **121** 1 (1943). Chem. Abst. **37** 4963 (1943)
- (100) Watson, J. H. L. and Preuss, L. E.: J. App. Phys **21** 902 (1950)
- (101) 田島又一、深見章、伊藤一夫: 電顕 **2** 115 (1952)
- (102) Ramberg, E.G.: B. J. Phot. Almac. **31** 170 (1949)
- (103) Cochran, G.W. and Chidester, J.: E.M.S.A Meeting (1951-11) の色彩写真は漂白銀の再現像によるもので Ramberg とは原理的に異なる
- (104) Hillier, J. and Baker, R. F.: J. App. Phys. **15** 663 (1944)
- (105) Möllenstedt, G.: Optik **5** 499 (1949)
- (106) Seitz, W. and Harig, G.: Phys, Z. **30** 758 (1929)
- (107) 土倉秀次: 電顕学会講演(名古屋) (1952)
- (108) A. S. T. M. Comittee, E-4 on Metallography (1950)
- (109) 例えば Geach, G.A.: Metallurgia **319** (1949)
- (110) Mahl, H. Strauski: Naturwiss **31** 12 (1943)
- (111) Cooper, B. S. and Bassett, G. A.: Metal Treatment, Prop. Frog. (1949-50)
- (112) 例えば Beam, H.W. etal: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. **74** 717 (1950)
- (113) Baker, R. F. and Pease, D. C.: Nature **163** 282 (1949)
- (114) 例えば福見香雄、内田久雄: 電顕 **2** 16 (1951) の綜説を参照
- (115) Morgan, C. and Wyckoff, R. W. G.: J. Immunol **65** 285 (1950)
- (116) Black, L. M., Morgan, L. and Wyckoff, R. W. G.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. **73** 119 (1950)
- (117) Eddy, B.E. and Wyckoff, R.W.G.: Ibid. **75** 290 (1950)
- (118) Wyckoff, R.W.G.: Ibid. **71** 144 (1949)
- (119) Heidenreich, R.D. and Sturkey, L.: J. App. Phys **16** 97 (1945)
- (120) Heidenreich, R.D.: Ibid. **20** 293 (1949)
- (121) 例えば水渡英二、植田夏: 科学 **21** 598 (1951)
- (122) 例えば Ruska, E.: Z. Phys. **83** 492 (1933)
- (123) 片桐信二郎: 電顕学会講演(名古屋) (1952)
- (124) 土倉秀次、片桐信二郎: ミクロトーム委報(名古屋) (1952)



実用新案 第 393934 号

黒 羽 逸 平

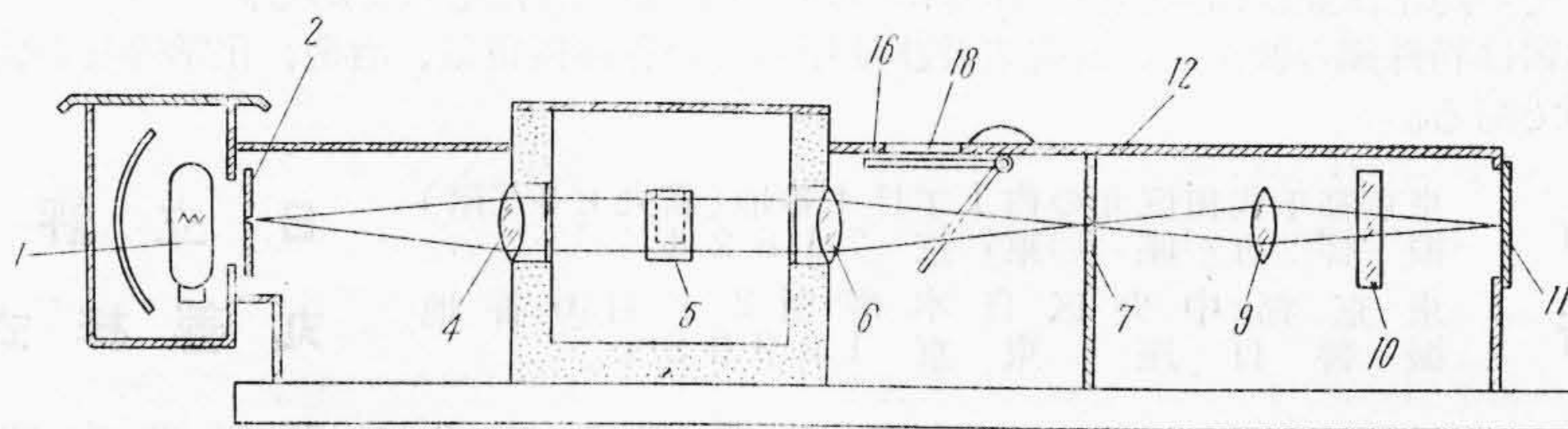
シュリーレン写真装置

各種の蛋白質を含有する溶液に電界を附与すると各種蛋白質はそれぞれ電気泳動度を異にしているのので、これらの蛋白質は一定時間後に層をなしてくる。これらの層に光線を照射するとそれぞれの蛋白質は光に対する屈折率を異にするのでこの屈折した光線をシュリーレン写真装置にて撮影すると、この曲線より溶液中の蛋白質の濃度を知ることができることはチセリウス装置として広く医学研究に使用されている。

この新案は光源電球(1), 水平スリット板(2), コリメ傾斜スティングレンズ(4), 資料(5), ビューイングレン

ズ(6), リット板(7), カメラレンズ(9), 円嚮レンズ(10)及び写真乾板(11)等を順次配列してなる光学系を遮光ケース(12)中に収納し、ビューイングレンズ(6)の直後に回転自在に反射鏡(16)を設け、この反射鏡に対向してケース(12)に覗き孔(18)を設けたものである。従つてケース内の光学系の状態を点検しようとするときには反射鏡を鎖線系の位置に回転してこの反射鏡に映る資料(5)の状況を孔(18)より覗き見ることができるともつて、点検並びに調整極めて簡便な特長をもつている。

(田 中)





第 35 卷 日 立 評 論 第 3 号

- ◎ 北海道電力株式会社然別第一発電所水車発電機に就て.....  
日立製作所・日立工場 {田 中 重 三  
伊 藤 文 雄
- ◎ 回転機の衝撃電圧試験及び層間絶縁試験に於ける故障発見法.....  
日立製作所・日立研究所 井 上 利 夫
- ◎ 浚 渫 船 電 気 設 備.....  
日立製作所・本 社 中 野 二 郎  
日立製作所・日立工場 平 川 克 己
- ◎ ドレ ッ チ ャ ー ケ ー ブ ル の 特 性 向 上 に 関 す る 考 察.....  
日立製作所・日立電線工場 {橋 本 博 治  
高 橋 長 一 郎
- ◎ 超 高 圧 用 変 流 器.....  
日立製作所・日立工場 {村 山 隆 男  
浅 野 次 夫
- ◎ 八 木 ア ン テ ナ.....  
日立製作所・戸 塚 工 場 古 谷 勝 美
- ◎ 天 井 走 行 起 重 機 の 衝 撃 応 力 の 測 定.....  
日立製作所・亀 有 工 場 川 勝 康
- ◎ 二 回 転 凸 版 印 刷 機 に 於 け る 印 刷 圧 の 測 定 ....  
日立製作所・川 崎 工 場 {小 川 正 典  
片 山 繼 輔
- ◎ 塩 化 ビ ニ ル 電 線 の 短 時 間 電 流 容 量 .....  
日立製作所・日立電線工場 {久 本 方  
橋 本 博 治
- ◎ 耐 薬 品 性、 耐 磨 耗 性 を 改 善 し た ス タ ン ド ラ イ ト 成 型 品 に つ い て.....  
日立製作所・多 賀 工 場 {磯 野 蕃  
石 田 重 信
- ◎ 製 鋼 過 程 に 於 け る Cr の 挙 動 に 就 て の 二 三 の 考 察.....  
日立製作所・安 来 工 場 {渡 部 秋 行  
伊 達 山 静 静  
鈴 岡 本 禎 一  
岡 本 禎 夫

東京都千代田区丸ノ内1ノ4  
(新丸ノ内ビルディング内)

日 立 評 論 社

誌代 {1ヵ月 ¥100 下12  
6ヵ月 ¥430(送料共)  
1ヵ年 ¥840(送料共)

特 殊 鋼

日立製作所冶金研究所長 小 柴 定 雄 著  
工 学 博 士

新 刊 ( 昭 和 27 年 11 月 発 行 ) B 列 5 版 317 頁 定 価 ¥ 850.

本書は著者の約20年間に於ける特殊鋼に関する研究と経験を基とし特殊鋼全般について記述したもので、その内容としては先づ特殊鋼の製造法、次に熱処理に関する基礎的事項を詳細に述べ、更に合金元素別により特殊鋼の基本的性質並びに特に実用特殊鋼の種類、熱処理、性質及びその取扱等に重点を置いて記述されている。

又重要な特殊合金材料についてもその概要を記述し、実際製造上及び使用上の参考に資するため、鋼塊及び鋼材の欠陥とその防止法並びに試験検査法等についても記述されたものである。

以上の通り本書は特殊鋼の製造者、研究者及び使用者等の各機械電気、冶金、化学等その他の技術者の好伴侶となるものである。

発 行 所 東京都千代田区丸の内1丁目4番地(新丸ビル7階)  
振 替 口 座 東 京 7 1 8 2 4  
発 賣 所 東京都中央区日本橋通2丁目6番地  
振 替 口 座 東 京 1 0 9 9 8 1

日 立 評 論 社  
丸 善 株 式 会 社