

# 透過形電子顕微鏡

## Transmission Electron Microscopes for Bio-Technology

透過形電子顕微鏡は、近年その応用分野が拡大されるとともに、マイクロコンピュータを搭載しイージーオペレーション化が進んできている。性能、機能も大幅に向上し、その利用分野の拡大に貢献している。

H-7000透過形電子顕微鏡は、バイオテクノロジー向けに開発した電子顕微鏡であり数多くの新機能・特長を持つ。従来から強い要望はあったものの実現できなかった像回転機能を可能とし、高コントラストな対物レンズ及び鏡体構造を開発した。更に、操作性向上のため撮影フィルム辺と像の動き方向を一致させた結像レンズ系を開発し、制御はすべてマイクロコンピュータで行い操作性の向上を図った。また、テレビジョンシステムを組み込み電子顕微鏡のバイオ関連への応用を広げた。

小林弘幸\* *Hiroyuki Kobayashi*

岡村定彦\* *Sadahiko Okamura*

### 1 緒言

近年、科学技術の進歩は著しく、特に新素材、半導体などの材料分野・エレクトロニクス分野ばかりでなく、医学、生物学、生命工学などのバイオテクノロジー分野などの研究・開発も急速にその加速度を増し高度化してきている。このような研究・開発分野では極微小領域の分析、原子レベルでの形態観察に電子顕微鏡は欠かせないものとなっている。

最近の電子顕微鏡は、1 Å以下の格子像を識別できる高分解能の透過形電子顕微鏡が製品化<sup>1)</sup>されているように、電子顕微鏡そのものの性能が大幅に向上してきている。また、電子顕微鏡にマイクロコンピュータを搭載し、電子顕微鏡の複雑な制御シーケンスをこれによりコントロールさせ、だれにでも容易に操作できるようにイージーオペレーション化された電子顕微鏡も次々に製品化されている<sup>2),3)</sup>。以上のように電子顕微鏡そのものも急速に進歩し、特に分解能ではほぼ理論値に達するほどに完成しつつある現状である。

本稿では高度化・多様化してきた顧客ニーズにこたえるべく、とりわけバイオテクノロジー向けに開発したH-7000透過形電子顕微鏡(以下、H-7000と略す。)の装置の構成・特長を紹介し、電子顕微鏡を使用しての観察例について述べる。

### 2 装置の構成

図1にH-7000の外観を示す。H-7000は、大別して左右の操作盤と鏡体、高電圧発生部を含めた電源に分けることができる。

図2にH-7000の鏡体断面図を示す。鏡体は電子銃部、照射レンズ系、結像レンズ系、観察室及びカメラ室から構成されている。電子銃のフィラメントとアノード間には、最高125kVの電圧が印加され熱電子が射出される。この電子線の量は、ウェーネルト電極に印加される電圧(バイアス電圧)によって

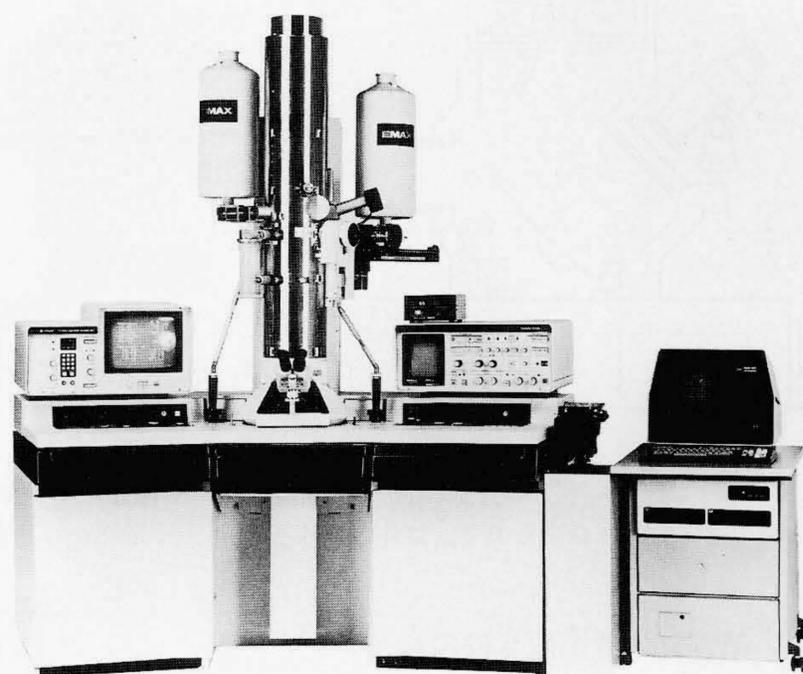


図1 H-7000透過形電子顕微鏡の外観 テレビジョンシステム、走査像観察装置、X線分析装置を装着したH-7000透過形電子顕微鏡の外観を示す。

制御できる。バイアス電圧を制御する回路は、日立独自の半固定バイアス方式でバイアス電圧を微調整可能であり、安定した電子線を引き出すことができる。この半固定バイアス方式のためフィラメントも通常のヘアピンタイプをはじめ、ポイント、LaB<sub>6</sub>など目的に応じ容易に使い分けることができる。照射レンズ系は3段の電子レンズにより構成され、電子銃から射出した電子線を収束させ試料に照射するためのものであり、ビームのスポット径を0.3~8 μmの8ステップで可変で

\* 日立製作所那珂工場

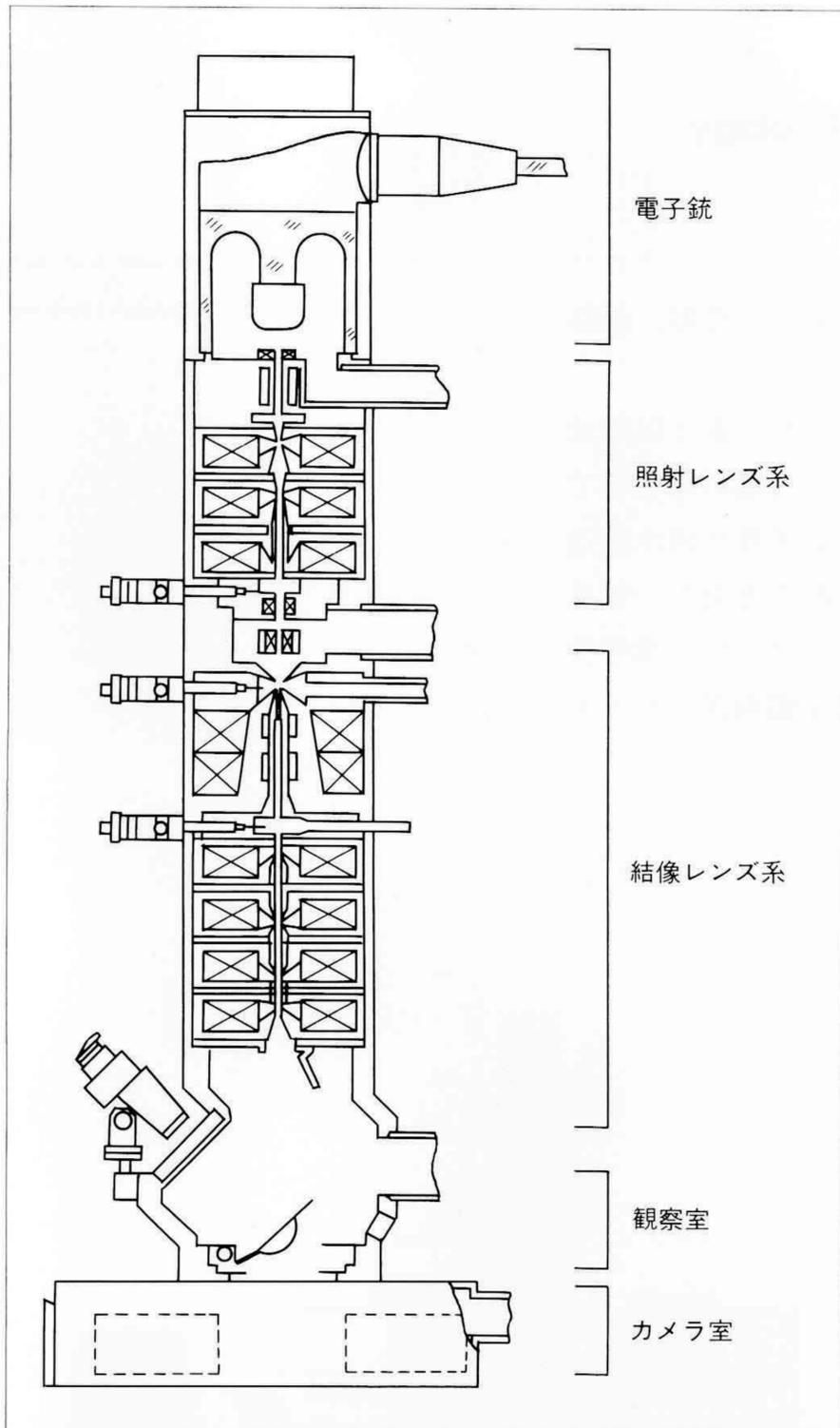


図2 H-7000透過形電子顕微鏡の鏡体断面図 H-7000透過形電子顕微鏡の鏡体断面を表すもので、鏡体の構成を示す。

きる。結像レンズ系は5段のレンズから成り、試料を透過した電子線を拡大するもので、50倍から60万倍まで拡大し観察室内の蛍光板上に結像する。電子線は蛍光体によって光に変換され電子顕微鏡像として観察される。通常、これを直接あるいは双眼ルーペを介して行う。電子顕微鏡像を記録するにはカメラ室内に設置されるシートフィルムにこの拡大・結像された電子線を露出することによって行う。この電子顕微鏡像の撮影に際してのフィルム設置とシャッター駆動は自動的に連動されており、撮影を容易に行えるように配慮した。

左右操作盤には加速電圧切換スイッチ、観察モード切換スイッチ、倍率切換つまみ、明るさ制御つまみ、焦点合わせつまみ、光軸調整用の電子線偏向つまみなど電子顕微鏡の操作に必要なものを使いやすく並べた。これらのスイッチ、つまみ類はすべてマイクロコンピュータによって読み込まれ、それぞれの機能に対応した処理を行う。マイクロコンピュータ(HD6809)は排気系制御、電子顕微鏡本体制御、条件表示のため計3個が使用されている。また、電子線偏向のためにワンチップマイクロコンピュータが3個組み込まれ、本体制御マ

イロクコンピュータを中心とし、電子顕微鏡全体のシステムを制御している。各電子レンズの電流、偏向器のコイル電流、加速電圧などはD-A変換器を介して制御し、電子線量、試料位置などはA-D変換器を介して常時その値を読み込むような構成とした。

また図1に示したように、カメラ室下部にテレビジョンカメラを装着し、電子顕微鏡像を左操作盤上のCRT(Cathode Ray Tube)に映し出す構成とした。右操作盤上のCRTを含めたユニットは走査像観察装置で、二次電子像、透過走査電子像を観察し、更にX線元素分析を行うためのものである。

### 3 装置の特長

H-7000は性能・操作性向上のため、新規に開発した数多くの特長がある。以下に主な特長である3項目について述べる。

#### 3.1 透過電子顕微鏡像の任意回転

従来の電子顕微鏡では、倍率を変えるごとに観察する最終像が回転していた。これは電子レンズ内の磁場によるためのものである。すなわち、電子レンズ内の磁場は電子線を収束させると同時に、ローレンツ力によって回転作用を及ぼすからである。最近の電子顕微鏡では、結像レンズ系の各レンズの励磁をうまく組み合わせることによって、倍率を変えても像が回転しない像無回転の電子顕微鏡が製品化されてきた<sup>2)</sup>。

H-7000では、上述のような像無回転になるレンズ系に加え、倍率を変えずに観察像の視野を中心にして回転できるレンズ系を開発した。この機能の目的は、写真撮影を行う際の像のトリミングを行うためである。すなわち、横長の像を縦長のシートフィルムに露出するよりも、像を回転させて縦長の像として撮影できるようにするためである。これは医学・生物学分野の顧客で長年の強い要望であり、まさに顧客のニーズに合った機能と言える。

単一の電子レンズによる像回転量 $\theta_i$ は次式で与えられる。

$$\theta_i = \sqrt{\frac{e}{8mE}} \int Bi(Z) dZ = 0.1863 \frac{I_i N_i}{\sqrt{E}} \dots\dots\dots(1)$$

結像レンズ系では、(1)式の組合せとレンズ光学的な反転による像回転とを考慮し、最終像の回転量 $\theta$ を求めると次式のように与えることができる。

$$\theta = \sum_i \theta_i + n\pi = \frac{0.1863}{\sqrt{E}} \sum_i I_i N_i + n\pi \dots\dots\dots(2)$$

- ここに  $Bi(Z)$ : 磁束密度
- $E$ : 加速電圧
- $I_i$ : レンズ電流
- $N_i$ : レンズコイルの巻数
- $n$ : 反転回数

したがって、像回転を行うには、総合倍率が一定のまま(2)式で示した回転量 $\theta$ を変化できるように、各レンズ電流を制御することで行うことができる。

図3は像回転の一例であり、H-7000では1,000倍から5万倍までの広い倍率範囲で15度ステップ、 $\pm 90$ 度の角度範囲で像回転ができる。

#### 3.2 高コントラスト化

透過電子顕微鏡像のコントラストは、医学・生物学分野で

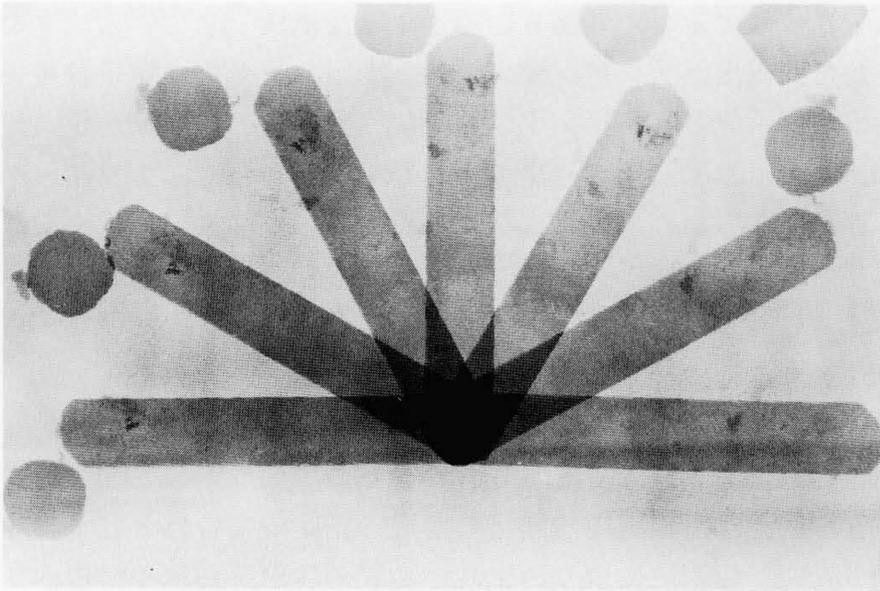


図3 像回転の一例 観察している視野中心で、像回転している様子を多重露出したものである。

は非常に重要な性能の一つである。コントラストを悪くする原因として、一つには結像レンズ系内で発生する散乱電子が挙げられる。通常、結像レンズ系の電子線通路には金属製のライナチューブが組み込まれており、電子線がこのチューブの内壁に衝突し散乱電子が発生してコントラストに悪影響を及ぼしている。H-7000では、FA(Flare Absorbing)ライナチューブを開発した。FAライナチューブは軽元素材で構成し、内壁で衝突する電子線の反射を小さくするとともに二次電子の発生効率を低くし、コントラストへ悪影響を与える散乱電子を減少させた。図4にFAライナチューブの効果を表す模式

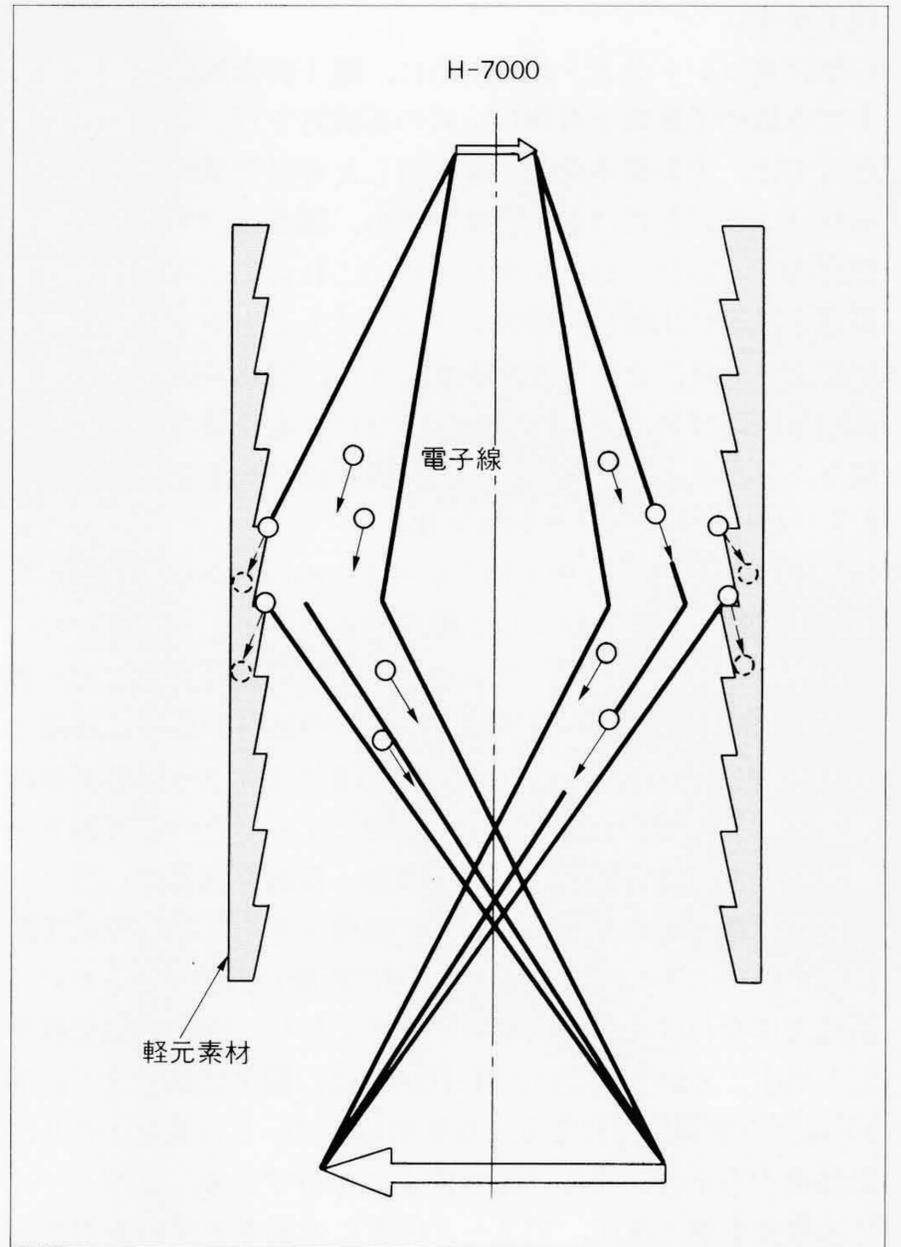


図4 ライナチューブの模式図 FA(Flare Absorbing)ライナチューブの効果を表す模式図を示す。

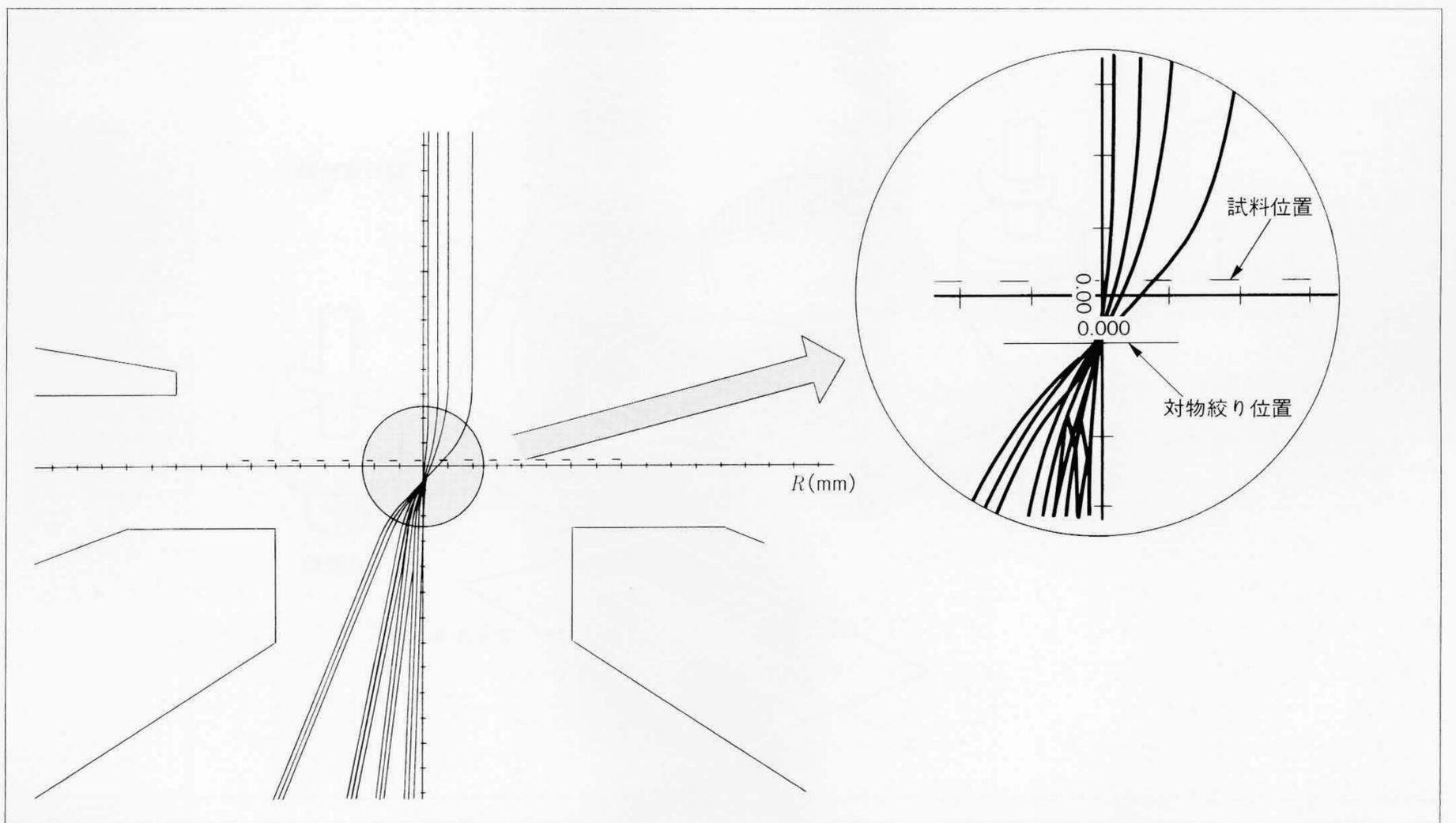


図5 電子軌道シミュレーション結果 対物レンズ内の電子線軌道の様子を表す。

図を示す。

次に高コントラスト化のために、電子顕微鏡像の像質を左右する極めて重要な対物レンズの新設計を行った。設計に当たっては、大形電子計算機を利用した有限要素法によるシミュレーションを行い最適形状を求め、**図5**に示すように電子軌道のシミュレーションを行った。これらによって球面収差係数を従来に比較し $\frac{1}{2}$ 程度に小さくすることができ、分解能を向上させた。また同図で示すように、対物可動絞りの最適位置も決定でき、低倍でもこの絞りによる視野カットのない高コントラストの電子顕微鏡像を得ることができた。

### 3.3 イージーオペレーション化

H-7000では、操作性を向上させるために様々な新機能がある。まず撮影のフィルム辺と像の動き方向とを一致させたことが挙げられる。従来、フィルム辺と像の動き方向とが一致しないために、オペレータは視野選択や試料の傾斜に時間と労力を要していた。H-7000では、**図6**に示すように試料微動装置の配置、結像レンズ系の新開発によってその両方向を一致させ、直観的な操作で試料の移動・傾斜を容易にした。

次の新機能としてアノード上下機構がある。通常電子顕微鏡ではフィラメントとアノード間の距離が固定であるため、低加速になればその間の電界が小さくなり、十分な電子線を引き出すことができない。H-7000では、**図7**に示すように50 kV以下の加速電圧になると自動的にアノード位置が上がり、低加速でも十分に明るい像を得ることができる。また、バイアス電圧も加速電圧、アノード位置に連動させているので、加速電圧を変化させても自動的に同一ビーム電流が得られる。

またH-7000のテレビジョンシステムでは、テレビジョン上の電子顕微鏡像を観察しながら露出、焦点合わせ、写真撮影

を容易にするため、**図8**に示すような構成としている。すなわち、露出はテレビジョンカメラ専用の蛍光板の電子線量を読込み可能とし、ワブラ(焦点合わせモニタ)の周期をテレビジョン走査と同期させ焦点合わせを容易とした。また撮影を容易にするため、テレビジョン専用シャッタスイッチを設けている。

## 4 観察例

電子顕微鏡を用いての観察は、医学・生物学・バイオテクノロジーの分野内であっても、各々の専門によって様々である。例えば、細胞内の詳細な構造、細胞の集合体としての組織異変、細胞内に取り込まれた物質の検出、細胞や組織内での移動物質の移動経路の解明、細菌・ウイルスの微細構造など観察する対象が専門により異なっている。

ここでは、一観察例として最近、話題となったAIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome)ウイルスの電子顕微鏡像を**図9**に示す。AIDSウイルスはHTLV-III (Human T-cell Lymphotropic Virus Type III)と名づけられており、同図は人のリンパ球に感染したHTLV-III AIDSウイルスが細胞内から細胞外へ分離する過程を撮影したものである。上段二つの写真は、ウイルス粒子の出芽している様子を表し、左下の写真は分離した未成熟の細胞外のウイルス粒子である。右下の写真は、棒状の核様体を持った分離・成熟したウイルス粒子である。

## 5 結 言

以上、バイオ向けに開発されたH-7000について主に紹介した。このH-7000は、像回転可能な結像レンズ系とという画期

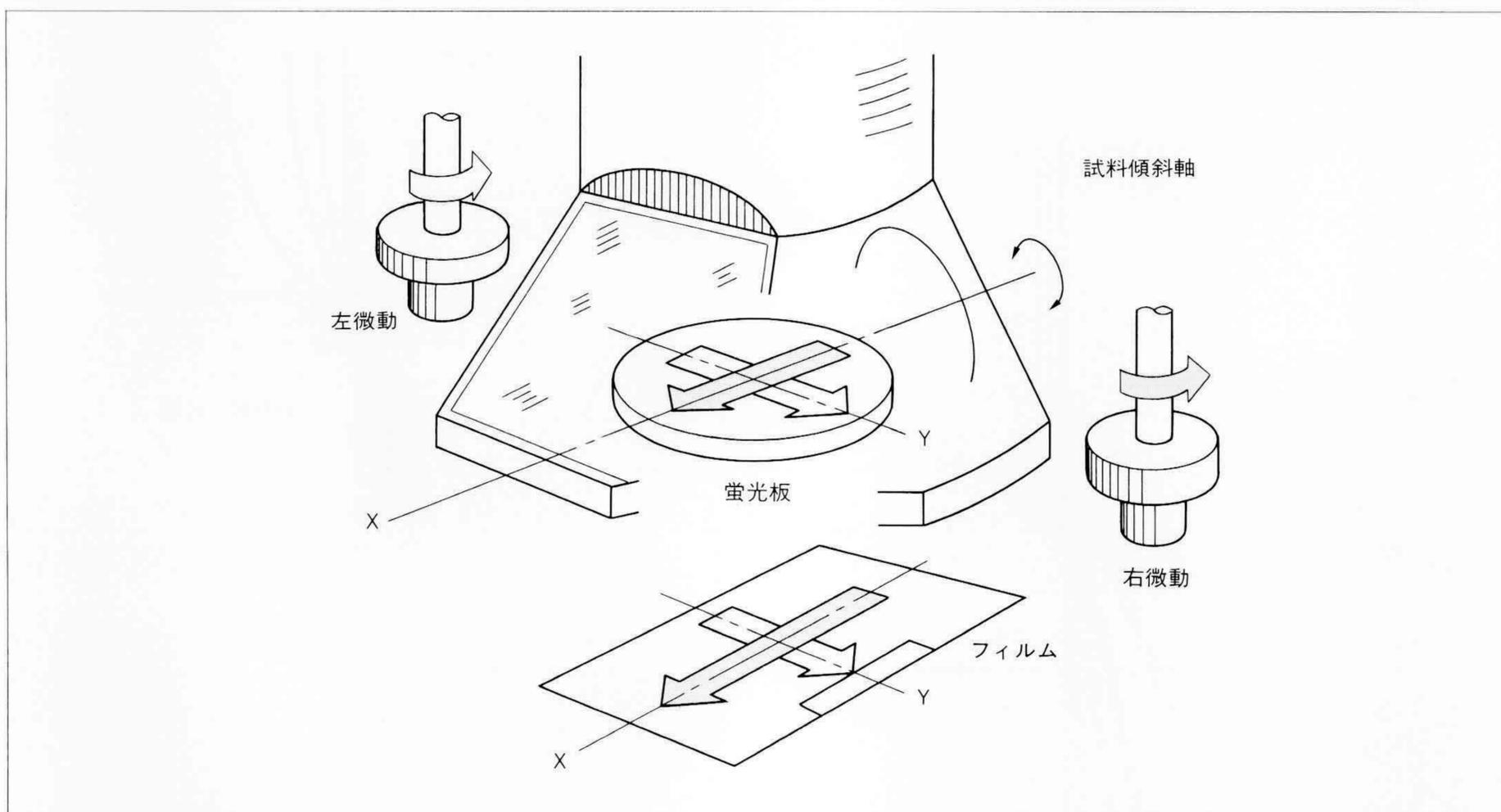


図6 撮影フィルム辺と像の移動方向の説明図 試料微動装置による観察像の移動方向が、撮影するフィルム辺と一致していることを示す模式図である。

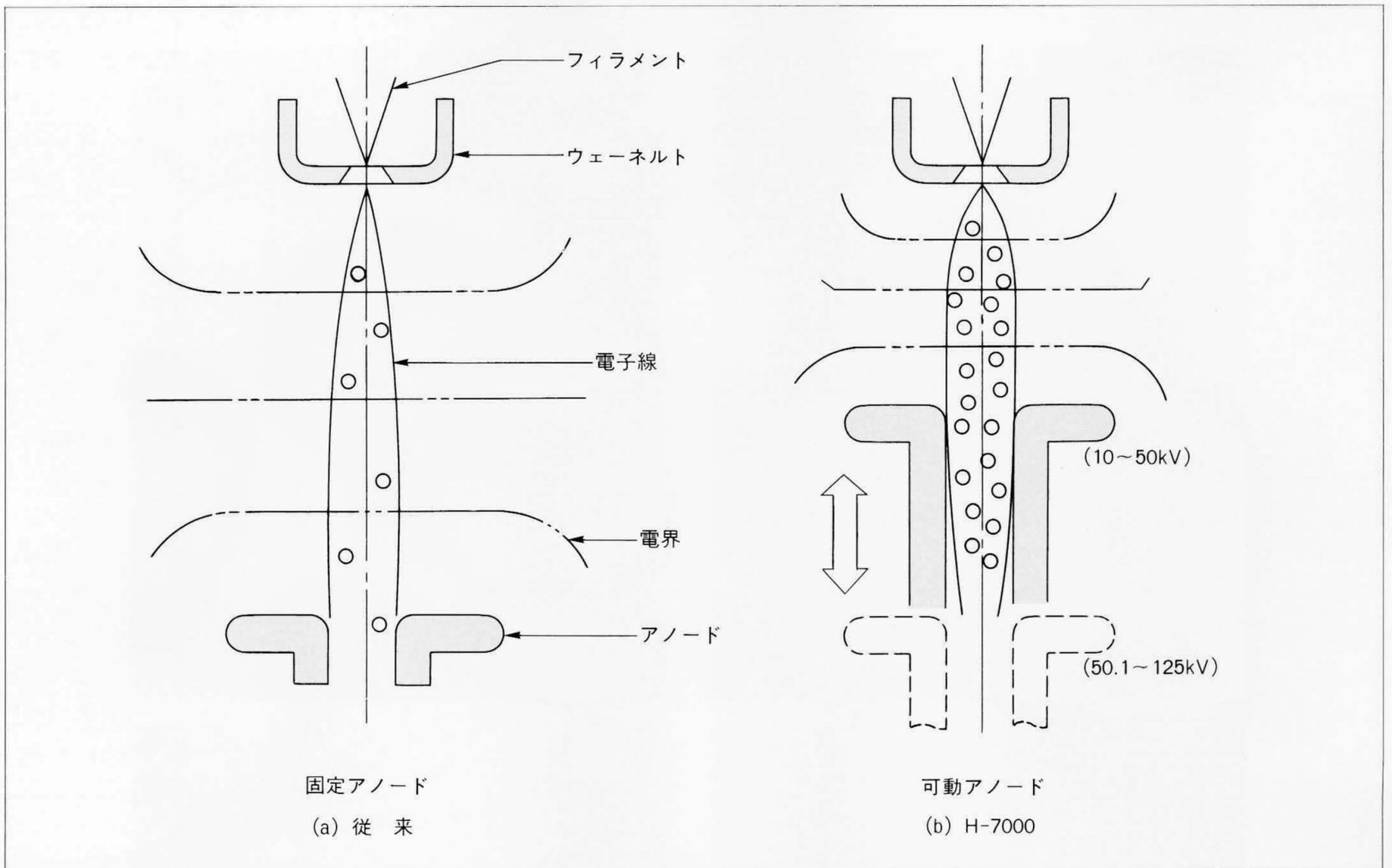


図7 アノード上下機構図 可動アノードによって、低加速でも十分に電子線を引き出す様子を示した模式図である。

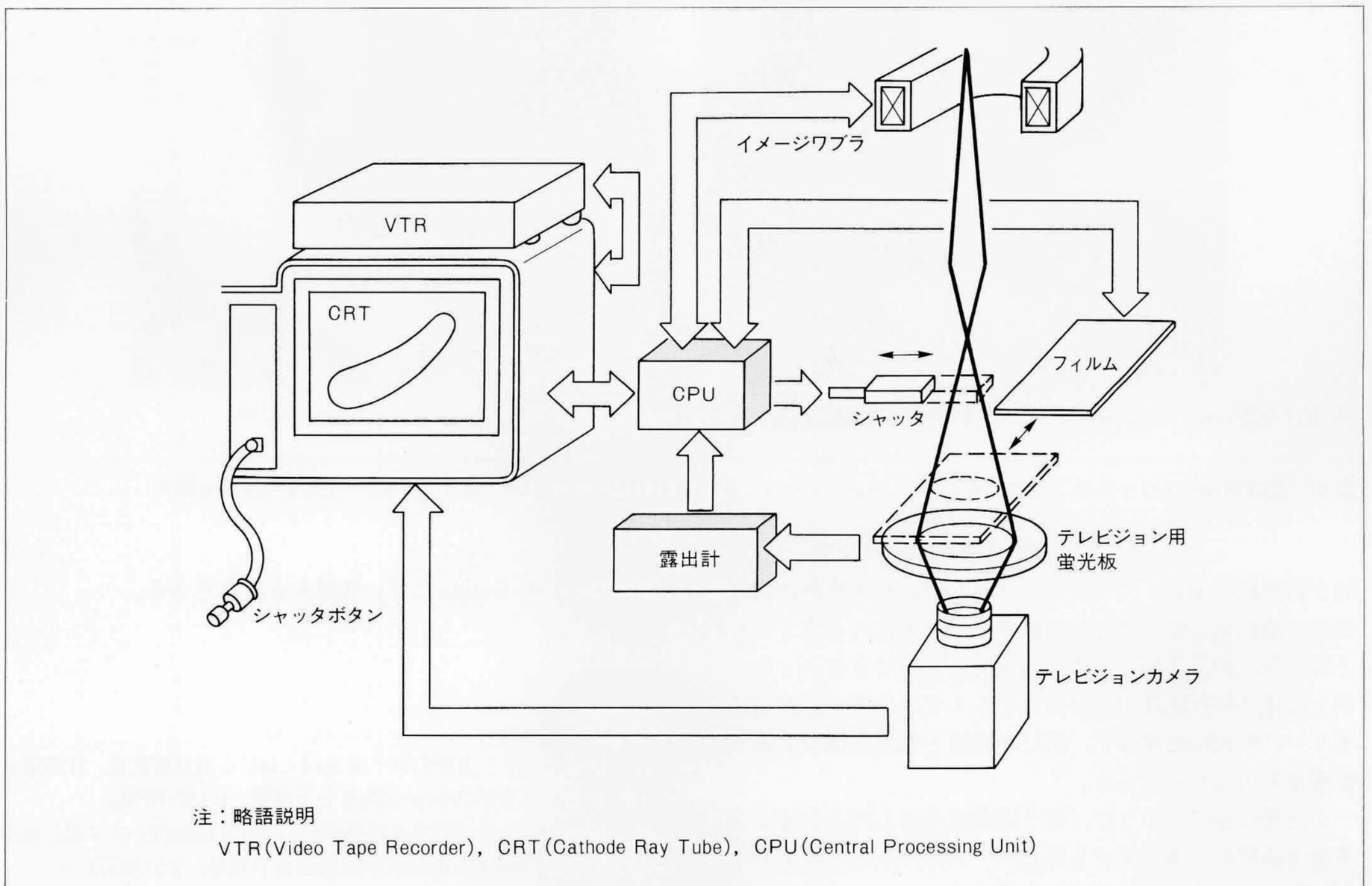
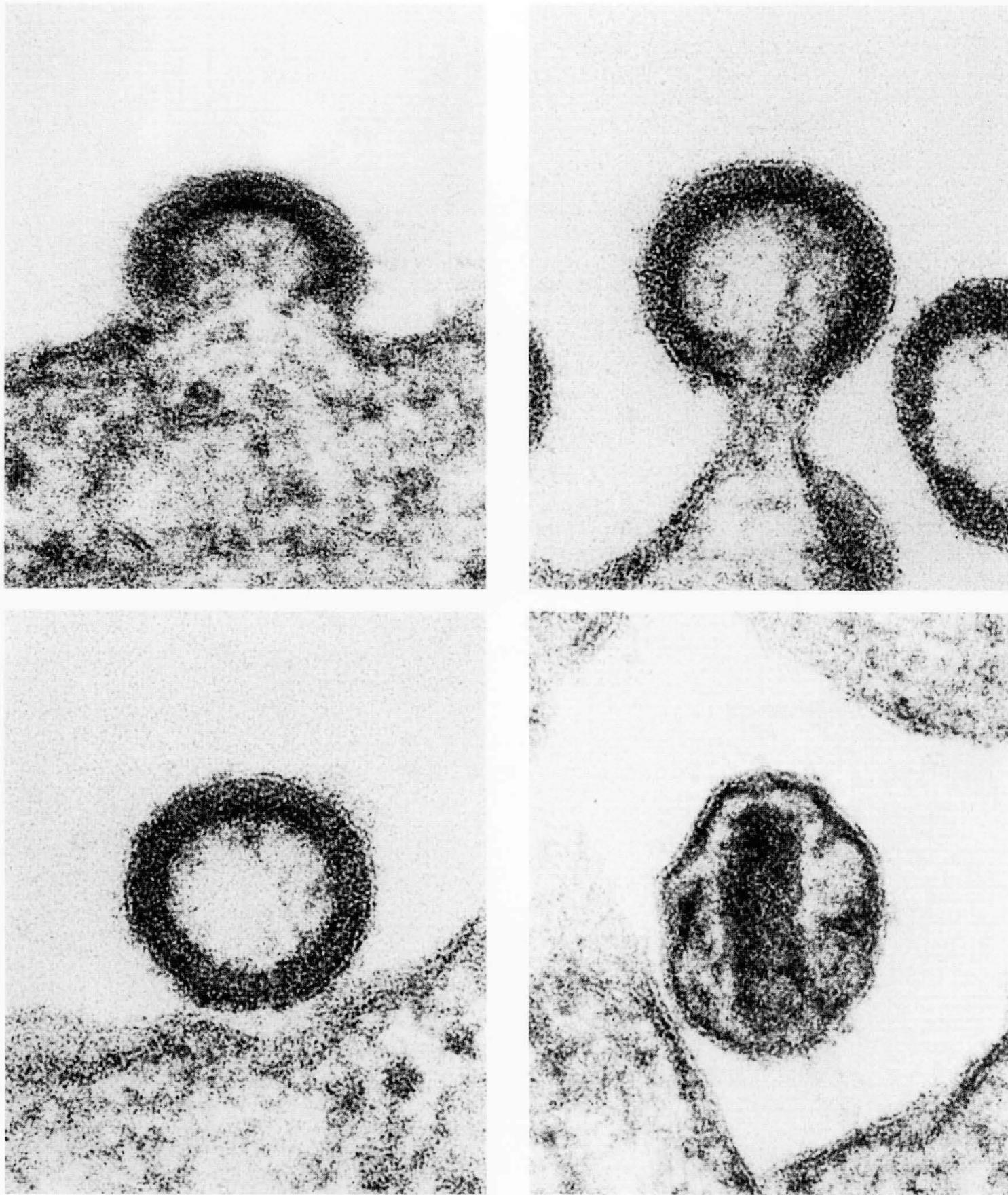


図8 テレビジョンシステムの構成図 H-7000のテレビジョンシステムの機能を表す構成図を示す。



注：写真提供 Ph.D. Matthew A. Gonda Head, Laboratory of Cell and Molecular Structure, Program Resources, Inc.

図9 観察例(AIDSウイルス：倍率14万倍) 人のリンパ球に感染したHTLV-III AIDSウイルスが細胞外へ分離する過程を表す。

的な新機能に加え、テレビジョンシステムを本格的に電子顕微鏡に組み込んだものとして電子顕微鏡の流れを変えたものと言える。紙数のつごうで、本稿では紹介できなかったが、例えば電子顕微鏡のテレビジョンシステムを用いた画像ファイリングや画像処理など、新たな機能・利用価値を提示した影響は多大なものである。

また先に述べたように、電子顕微鏡そのものも急速な技術革新と高度化・多様化する顧客ニーズに伴いますますその応用分野を広げ、発展していくと考える。

最後に、AIDSウイルスの写真を御提供いただいたPh.D.

Matthew A. Gondaに対し感謝する次第である。

#### 参考文献

- 1) 砂子沢, 外：透過形電子顕微鏡における高分解能化, 日本電子顕微鏡学会第39回学術講演会予稿集, p.132(昭58)
- 2) 上村, 外：透過形電子顕微鏡における5段結像レンズ系, 日本電子顕微鏡学会第38回学術講演会予稿集, p.5(昭57)
- 3) 窪添, 外：H-600形高性能電子顕微鏡の諸特性, 日立評論, 63, 2, 145~150(昭56-2)