

平成21年5月11日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19560663
 研究課題名（和文） 超高圧電子線トモグラフィの撮影に要する時間を1/100以下にする
 高速撮影法の開発
 研究課題名（英文） Design of a high-speed image recording technique for ultra high energy electron
 tomography which enables us to reduce the necessary total recording time to
 1/100 or below of that with the current conventional technique
 研究代表者
 吉田 清和（YOSHIDA KIYOKAZU）
 大阪大学・超高圧電子顕微鏡センター・特例嘱託教務職員
 研究者番号：50263223

研究成果の概要：

超高圧電子顕微鏡を用いた電子線トモグラフィの実験において、従来多大の時間と労力を必要としていたが、本研究において主として、(1)高精度試料傾斜装置の開発、(2)画像の高速撮影法の開発、(3)撮影の自動化と支援システムなどの開発を行うことにより、1枚あたりの撮影時間においても、またトモグラフィの1シリーズの撮影時間においても所要時間を当初目標通りの1/100の時間短縮を達成することができた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：材料工学・金属物性

キーワード：超高圧電子顕微鏡、電子線トモグラフィ、高速撮影法

1. 研究開始当初の背景

超高圧電子顕微鏡は厚い試料が観察できるのが大きな特徴である。そのために、ある程度の厚さの試料を必要とする立体構造の観察にはなくてはならない装置である。立体構造を得るには、X線CTと同様に試料の多くの方向から撮影した画像を基に再構築を行

う電子線トモグラフィの手法が用いられる。ところがこの撮影には多大の時間と労力を要していた。これは、高倍率で試料を回転（傾斜）させると注目している視野位置が移動してしまうことによる。つまり、傾斜軸と視野位置が完全に一致していないと、試料を傾斜することにより視野が移動する、フォー

カスがずれる、試料の実効厚さが変化するため明るさかわるといったことが生じる。これを1枚撮影するごとに修正する作業を必要とする。一般的な $\pm 60^\circ$ の角度範囲で 1° 間隔で撮影すると121枚になり、3～5時間の根気と労力を要していた。これを大幅に短縮する必要があると考えた。

2. 研究の目的

超高圧電子顕微鏡は試料の透過能力が高いため、試料の立体的情報を得られる「電子線トモグラフィー」がさかんに行われている。最近では例えば、半導体LSIデバイスの故障箇所の立体的構造解析、神経組織の形態と病気の関係の解析などである。これらはいずれも対象物を含む試料厚さが厚いため、通常の電子顕微鏡では観察困難で超高圧電子顕微鏡でしかできない領域である。

電子線トモグラフィーでは立体像を得るために、試料を一般的な条件では 1° 間隔でほぼ $\pm 60^\circ$ 傾斜して多数の像を撮影する必要がある。具体的には、まず視野と倍率を決めた後、フォーカスを合わせてフィルムまたはCCDで撮影する。次に試料の角度を 1° 傾ける、動いた視野を修正してフォーカスを合わせ直して撮影する、ということを121回繰り返す必要がある。これにはおよそ3～5時間必要である。これでは1日に1～2個の試料しか観察できないばかりか、目的の対象物が試料にうまく入っていない場合や、シリーズの途中でうまく撮影できていないコマがあると全てが無駄になってしまう。さらに、撮影画像から再構築像をうるには画像の正確な位置合わせが必要であるが、現在はひとの手で行っており数日を要する。

このうち、電子線トモグラフィー観察の撮影に要する3～5時間を約 $1/100$ 以下に短縮する「電子線トモグラフィー高速撮影

法」を開発し、より多くの研究者が多くの観察を効率的に行えるようにするのが本研究の目的である。

3. 研究の方法

上記目的を達成するために、大きく分けて3つの問題を解決する。まず、(1)撮影に時間を要している原因の一つは傾斜に伴う像の位置とフォーカスの変化の修正作業である。この作業を不要にするあるいは軽減するために高精度試料傾斜装置を開発する。次に、(2)現在撮影に用いている冷却CCDカメラは1コマ撮影に1分弱の時間が必要である。これに代わって高速連写ができる撮像システムを構築する。(3)根気よく同じ操作を繰り返す作業をできるだけ自動化する撮影支援システムを構築する。

これらを統合することによって当初目的の時間短縮を実現する。

4. 研究成果

成果として、(1)高精度試料傾斜装置の開発：別途進めていた試料傾斜装置の高精度化をさらに発展させた。一般には注目している視野が試料ホルダーの傾斜軸と一致していることはまずない。このまま試料を傾斜すると視野は大きく振り回されるために像は大きく移動する。これを防ぐために傾斜装置にはユーセントリック調整機構が組み込まれ傾斜軸と一致させることができるようになっていた。しかし、装置の精度が十分でないと調整をしてもすぐにずれてしまい意味がない。傾斜に伴う像の位置とフォーカスの変化を小さくし修正の作業を不要あるいは僅小にするために①ギヤーや軸受けの機構部品の高精度化、②試料ホルダーの保持機構の変更、③真空シール部の応力に対する

配慮、④ユーセントリック調整機構のデジタル精密制御化、⑤調整ステップの微細化などを行った。その結果、 $\pm 60^\circ$ 傾斜しても像の移動が $4 \mu\text{m}$ 以内の性能が実現できた。これは1万倍以下であれば傾斜しても目標物が視野内に留まる量であり、修正の作業が不要であることを意味し、大幅な時間短縮につながる。像の移動量の実測値の一例を図1に示す。

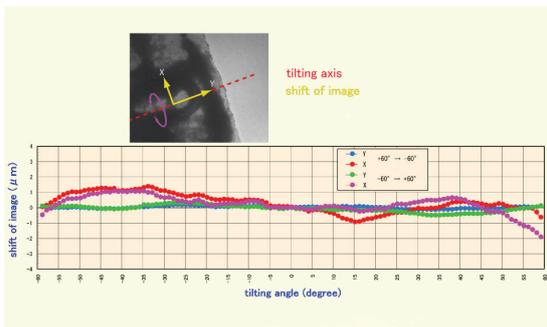


図1 傾斜角度と像移動量の実測例

(2) 画像の高速撮影法の開発： 現在撮影に用いている冷却CCDカメラは1コマ撮影に1分弱の時間が必要である。121枚の撮影だとこれだけで約1.5時間を要する。これに代わる高速撮影法として二つの方法を開発した。まずひとつは高速連写ができる一眼デジタルカメラを用いる方法である。冷却CCDカメラと同様に高精細な蛍光スクリーンによって電子像を光像に変換したものをデジタルカメラによって撮影する。カメラ位置はX線環境下であるのでリモートコントロールによって操作室から操作して撮影する必要がある。そのために電子顕微鏡の傾斜装置とリンクして撮影シーケンスが進行する制御ボックスを自作した。もうひとつは試料を傾斜しながらハイビジョンカメラで連続撮影を行い必要な傾斜角度の像を静止画として取り出す方法である。従来のCCDカメラによる撮影と今回の二

つの方法でLSI断面試料を撮影した画像の比較を図2(a)と、四角で囲った部分を5倍に拡大したものを図2(b)に示す。冷却CCDとデジタルカメラは露光時間4秒の画像を示した。拡大した画像で冷却CCDと比較すると、一眼デジカメの場合S/N比が僅かに劣っているが十分な画質が得られ

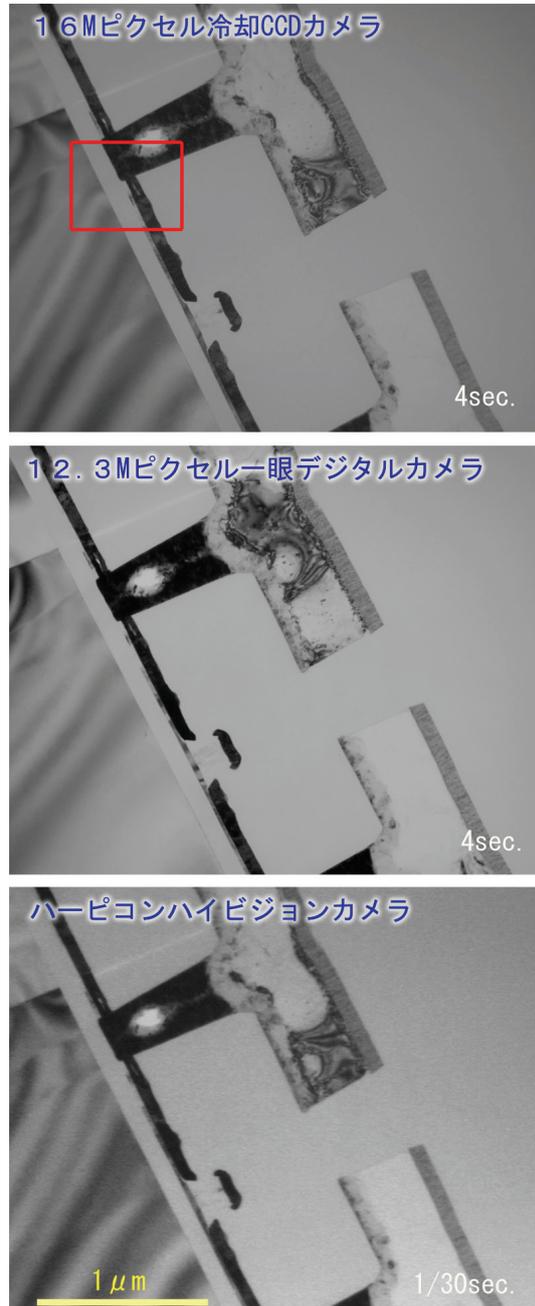


図2(a) 各カメラによる撮像画像の比較。上から冷却 CCD カメラ、12.3M ピクセルデジタルカメラ、ハーピコンハイビジョンカメラ

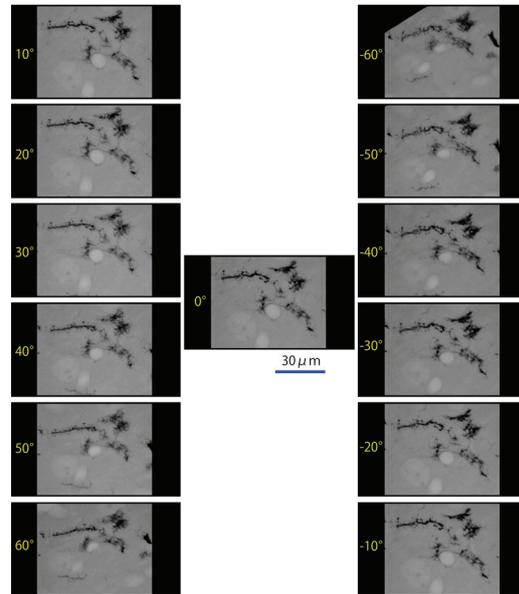
ている。ハイビジョンカメラの場合は解像度が少し劣っている。



図2(b) 各カメラによる撮像画像の比較で図2(a)の四角で囲った部分を5倍に拡大したもの。

撮影に要する時間はデジタルカメラの場合は1枚あたりの撮影時間は数秒から1/15秒で撮影できた。ハイビジョンカメラでは、高精度試料傾斜装置の機能を利用して視野位置やフォーカスの補正作業が不要な1万倍以下では±60度の角度範囲を約7

5秒という極めて短時間で撮影できた。この方法で得られた2000枚以上の画像のうちから10°ごとの画像を選び出したものを図3に示す。



ラットの海馬 試料提供 日本医科大学 小澤一史先生
ハイビジョンカメラによって75秒で得られた+60°から-60°の画像
(10°ごとの画像を抜き出して示した)

図3 ±60°の範囲を75秒で撮影した2000枚以上の画像のうちから10°間隔で選び出した画像の例

三次元像再構築に用いるピクセル数は通常1Mピクセル程度なので画質や撮影時間の優先順位に合わせて選択すればいずれも十分実用可能である。

(3) 撮影の自動化と支援システム :

高精度試料傾斜装置や高速撮影法によって大幅時間短縮が実現したが、これらに加え、撮影効率をより向上するために、傾斜装置と連動して撮影シーケンスが進むソフトウェアを開発した。また、必要に応じてオートフォーカス、視野位置自動補正、明るさ自動補正といった観察支援機能を組み込んだ。これら全体の概念図を図4に示す。これらの機能は本体側操作室、遠隔観察に

かかわらず機能する。

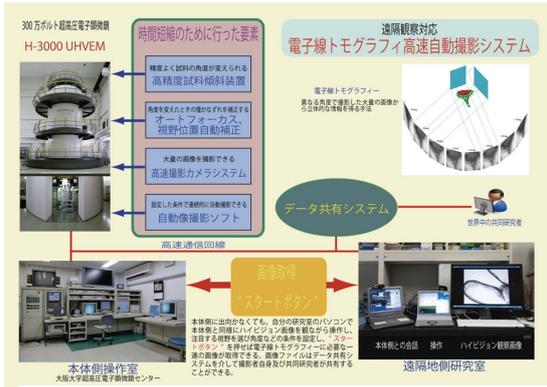


図4 撮影の自動化と観察支援システム全体の構成図。遠隔観察にも対応している。

これらを統合して実際に電子線トモグラフィの撮影に要する時間が短縮できた結果を表1に示す。

1度間隔 1シリーズ 121枚撮影に要する時間

項目	画素数 全体 有効	手動撮影	自動撮影 自動位置合わせ機能使用	自動撮影 自動位置合わせ機能不使用
カメラ				
16Mピクセル 冷却CCDカメラ	4096 × 4096 4096 × 3850	2 ~ 5hr	80min.	80min.
12Mピクセル 一眼レフデジカメ	4256 × 2832 2500 × 2300		30min.	150sec.
ハイビジョンカメラ	1920 × 1080 1200 × 1000	-	-	75sec.

表1 電子線トモグラフィの1シリーズ121枚を撮影するのに要した時間

これらの結果をまとめると、撮影機能単独では、従来冷却CCDで1枚約50秒を要していたものがデジタルカメラを用いる方法で数秒から1/15秒で、ハイビジョンカメラを用いる方法では1/30秒で撮影でき、当初目標の1/100の時間短縮を十分達成できた。

また、電子線トモグラフィの1シリーズ121枚を撮影するのに要する時間についても、従来3から5時間要していたものが表

1に示したようにデジタルカメラを用いる方法で150秒、ハイビジョンカメラを用いる方法では75秒で撮影でき、こちらも当初目標の「超高压電子線トモグラフィの撮影に要する時間を1/100以下にする高速撮影法」を実現することができた。

この成果によって、従来多大の時間と労力を要した実験が大幅な時間短縮と自動化支援機能を用いて省力化が実現でき、超高压電子顕微鏡を利用する研究者に大きく貢献できると考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0件)

[学会発表] (計 5件)

①

Kiyokazu Yoshida, Ryuji Nishi and Hirotarō Mori

System for high-speed tomography using the 3MV HVEM
5th Asia-Pacific Congress on Electron Tomography (5APCET), Jan 31 - Feb 4, 2009, Brisbane

②

Kiyokazu Yoshida, Ryuji Nishi, Tadao Furutsu and Hirotarō Mori

Design of an observation support system for a 3MV ultrahigh voltage electron microscope

9th Asia-Pacific Microscopy Conference (APMC9), Nov 2 - 7, 2008, Jeju

③

Kiyokazu Yoshida, Ryuji Nishi and Hirotarō Mori

Design of high-speed tomography with the
3MV ultrahigh voltage electron microscope
14th European Microscopy Congress
(EMC2008), Sep 1 - 5, 2008, Aachen

④

吉田清和、西 竜治、森博太郎、岩野 恵、
坂根栄作、古津忠夫、茂垣宏明、小沢 賢第
3MV 超高压電子顕微鏡におけるトモグラフ
ィーシリーズ写真の遠隔自動撮影支援シス
テム

6 5 回日本顕微鏡学会, 2009. 5. 26-29, 仙台

⑤

吉田清和、西竜治、森博太郎、馬見新秀一、
古津忠夫、茂垣宏明、小沢 賢
3MV 超高压電子顕微鏡におけるトモグラフ
ィーシリーズ写真の高速撮影に関する研究
第 6 4 回日本顕微鏡学会, 2008. 5. 21-23,
京都

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 清和 (YOSHIDA KIYOKAZU)

大阪大学・超高压電子顕微鏡センター・特
例嘱託教務職員

研究者番号：5 0 2 6 3 2 2 3

(2) 研究分担者

森 博太郎 (MORI HIROTARO)

大阪大学・超高压電子顕微鏡センター・教
授

研究者番号：1 0 0 2 4 3 6 6

(3) 連携研究者