

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23560786

研究課題名(和文)電子線トモグラフィー法における高速自動撮影法の開発

研究課題名(英文)Development of the automated faster acquisition technique for the observation of "the ultra-high voltage electron tomography"

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・特任研究員

研究者番号：50263223

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円、(間接経費) 1,140,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、通常の方法では多大の労力と時間を要する「超高压電子線トモグラフィー」の観察を、自動化および高速化の手法を開発することにより「高速自動撮影法」を確立することを目的としている。そのために次のような項目を開発した。1、新アルゴリズムのオートフォーカス。2、画像認識による視野位置補正。3、制御用画像の新しい撮像方式。4、自動撮像シーケンスによるシリーズ画像の撮影。これらのうち、特にオートフォーカスについては超高压に適した新しい画像鮮鋭度方式を採用した。また画像記録用カメラと制御画像取得用カメラを専用とし、それぞれ最適化したことによって時間短縮、自動化を達成することができた。

研究成果の概要(英文)：This study is intended to develop the automated faster acquisition technique for the observation of "the ultra-high voltage electron tomography", however, the observation needs much effort and spends lots of time in the usual way. Therefore, we developed the following items in the operation support system; (1) A new algorithm for automatic focus (AF), (2) an automatic correction of field of view, (3) a new high-speed imaging for the control of electron microscope, (4) an automated sequence control for acquiring images. As regards this particular AF algorithm, the technique which an optimized focus condition was determined from the image sharpness, was newly developed. We use two cameras dedicated to recording images and to controlling the electron microscope from images, whose cameras are optimized for each task. As a result, we accomplished the automation and reduction in time for the tomography observation.

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：電子線トモグラフィー 超高压電子顕微鏡 高速撮影 観察支援

1. 研究開始当初の背景

電子線トモグラフィ法は他の方法では得られない高倍率高精度な 3 次元情報が得られる重要な手法である。ただし、厚い試料を透過観察する必要があり、試料の透過能力の高い超高压電子顕微鏡を用いた「超高压電子線トモグラフィ法」が多く用いられる。

この電子線トモグラフィ法は X 線 CT と同様に、少しずつ角度を変えて大量の画像を撮影し、その画像から立体情報を構築する手法である。従って、通常の方法では、角度変化とともに生ずる僅かな試料の位置変動が、高倍率で撮影するために無視できず、1 枚ごとに視野位置の補正、フォーカス合わせといった作業が必要となり、一連の撮影はこれらの作業の繰り返しでかなりの時間と労力を要する。

これら一連の作業を新たな自動化機能の開発によって観察支援を行い、自動で短時間で必要なシリーズ画像が得られるシステムを実現することが要望されている。図 1 にトモグラフィの概略図を示す。

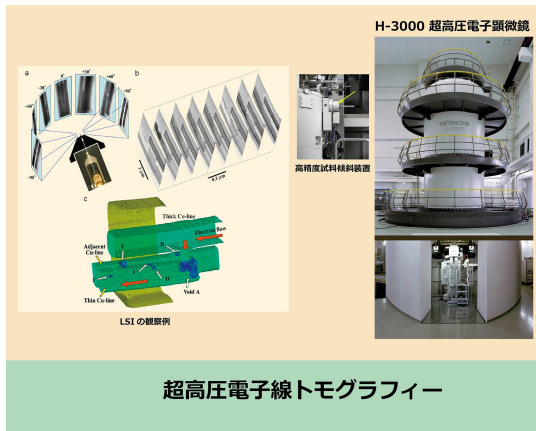


図 1

2. 研究の目的

試料の立体的な構造を微細に高解像度で観察できる電子線トモグラフィ法は他に代え難い重要な手法であり、広範な分野で多くの観察が行われている。

しかしながら少しずつ角度を変えた大量の画像から立体像を構築するため、観察には多大の時間と労力を要する。一般的に一連の撮影に 1 ~ 4 時間を要している。この時間を、フォーカスや視野位置補正といった煩雑な操作を新しいアイデアによる自動化機能を開発することにより、大幅に短縮できる高速自動撮影法を実現する。このことにより、透過電顕による金属物性の解明に有効な手法を大きく発展させる。

3. 研究の方法

超高压電子線トモグラフィ高速自動撮影法を実現するために次のことを行う。

(1)新しいアルゴリズムのオートフォーカス
電子顕微鏡のオートフォーカスはウオブラ

ー方式が一般に用いられている。しかしながら超高压電顕の場合はビーム傾斜角が大きできないことから精度が悪く不向きである。そこで新しいアルゴリズムとして少しずつフォーカスを変えて(対物レンズ電流を変化させる)撮影した複数枚の画像の鮮鋭度を測定し、その鮮鋭度の変化から最良のフォーカス位置を決定する方式を考案した。この方式における撮影枚数、フォーカス変化量の最適値をさらに追求することと、この方式は、複数枚の撮影が必要なことから時間がかかることがこの方式の欠点であるので、鮮鋭度測定用に別カメラを用いるなど、新しい撮像方式によってこの欠点を解消する。

(2)高 S/N 比の制御画像を用いた画像認識による視野位置補正

画像認識による視野位置補正は、画像認識に用いる制御画像の S/N 比が大きく精度に影響すると予想している。そのために画像記録に用いる冷却 CCD カメラの画像を制御画像に用いると高 S/N 比が得られることがわかっていて要する時間が長くなってしまふ。そこで、制御画像を別の専用カメラで高 S/N 比で撮像する方法を試みる。また、撮影画像に対して制御画像に必要な視野の大きさ、画素数を追求し最適条件を求める。

(3)上記(1)(2)が高速で行える制御用画像の新しい撮像方式

記録画像撮影用の高精細冷却 CCD カメラとは別に制御画像用に別のカメラを用いる。通常では 2 台のカメラで撮影する場合にはレンズ、ミラーといった光学系を機械的に移動して光路を切り替える必要がある。別の方法として、電子像を光像に変換する蛍光板において、通常は片面の発光しか利用しない構造に工夫をして支持基板を透明のものにして両面の発光を利用できるようにする。そうすれば画像記録と制御画像の同時撮影が機械的切り替え不要で両立する。またそれぞれのカメラの条件を最適にセットできる。ただし装置の大きかりな改造を要する。

(4)自動撮像シーケンスによる一連のシリーズ画像の撮影

上記(1)(2)(3)の方法とともに、試料の角度変化、位置補正、フォーカス、撮影を連続的に



図 2

自動で最適なタイミングで制御・進行するソフトウェアおよび制御機器を開発する。これらの成果により、従来1～4時間の時間と労力を要していたシリーズ画像の撮影を自動で短時間で行えるようにする。概念図を図2に示す。

4. 研究成果

(1) 試料を傾斜した際のフォーカスの変化を補正するための、新しいアルゴリズムのオートフォーカス

汎用機で一般的に用いられているウオブラー方式ではなく、新たな方式としてフォーカスを変えた複数枚の画像から最適なフォーカス位置を検出する「画像鮮鋭度方式」を中心に開発を行った。目標値付近でフォーカスを変化させ、複数枚（主に5枚）の画像のそれぞれの鮮鋭度を4方向について求め、鮮鋭度の変化から最も鮮鋭度の高い（ジャストフォーカス）位置を予測して求める。その値で取得画像を撮影する。図3に動作例を示す。

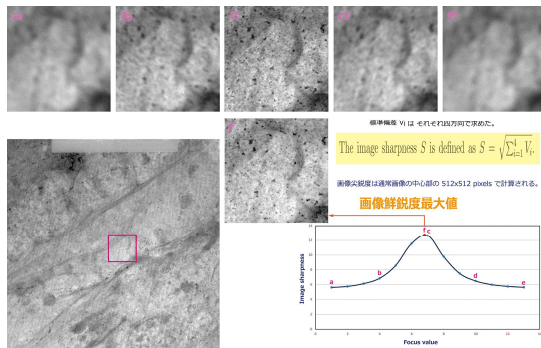


図 3

このとき倍率や要求する精度に合わせて複数枚の変化のピッチや枚数を選択できるようにした。また、当初予定していなかったが、試料の傾斜角とフォーカスの変化をあらかじめ測定しておき、このデータを参照する機能を用い、各角度ごとにオートフォーカスを行うだけでなく、例えば10°ごとに修正を行う機能などを加えた。このことにより所要時間の短縮が図れた。これらの方法で総合的に撮影に十分な精度が得られた。

(2) 試料を傾斜した際の試料位置のずれを補正するための、制御画像を用いた画像認識による視野位置補正

制御画像の中心512×512ピクセル程度で画像認識により位置ずれを検知した。この信号からイメージシフトコイルによって像位置を制御した。位置ずれが大きい場合イメージシフトのみでは像の端が欠ける場合が生じることがわかり、試料位置も制御するようにした。

(1), (2)とも用いる制御画像は S/N 比が高いことが重要である。そのために上記実験では最も高い S/N 比が得られる冷却 CCD の画像を用いている。ただしこの方法では撮影時間が他のカメラよりながいため所要時間がながいという問題があるので、これを解決するた

め次の(3)を開発し所要時間を短縮した。(3)上記(1)(2)が高速で行える制御用画像の新しい撮像方式

最も S/N 比が高い画像記録用冷却 CCD カメラの画像を制御画像用にも用いてきたが、所要時間が長いという問題があった。この問題を解決する手法として、制御用画像を別の専用カメラで高 S/N で撮影できる構成にした。光路切り替えの方法として、いくつか考案したなかから2組の光学系を用意し高速で切り替える方法を選択した。例えば図4に示す光路

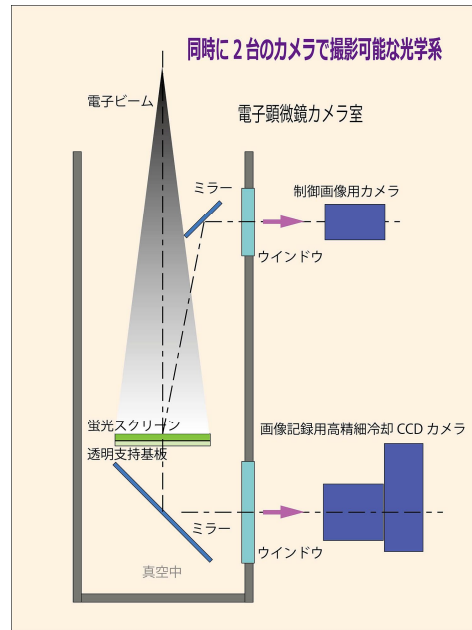
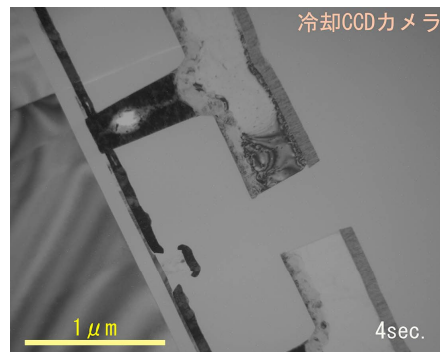


図 4



露光時間 2sec + 読み出し時間 1sec = 3sec
制御用画像取得に要する時間の比較例

図 5

切り替えを必要としない方法も考案したが、

装置の大幅改造を要することから今回は断念した。制御画像撮像カメラとして高感度の CMOS デジタルカメラを用いた。また、操作室から試料傾斜装置と連動して、撮影のタイミングや画像転送ができる制御装置を製作し、一連の動作の一体性にも努めた。この結果、1枚あたり冷却 CCD の場合露光時間4秒に処理時間を含めると約17秒要していたものが、露光時間2秒で約3秒で撮影できるようになった。上記(1), (2)の処理には計6枚の制御用画像が必要であるため、この1枚あたりの時間短縮はトモグラフィー自動撮影の大幅短縮の実現につながった。図5にカメラの比較例を示す。

(4)自動撮影シーケンスによる一連のシリーズ画像の撮影

これについては(1), (2)に対応した処理ソフトの変更、トモグラフィー撮影の全体のシーケンスの高速化設定、最適な撮影の制御の本体との一体化を進めた。図6にシーケンスの概略図を示す。

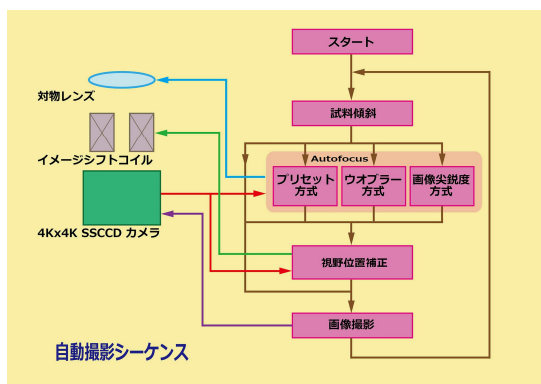


図 6

得られた成果の全体を統合し、当初目標のトモグラフィー高速自動撮影のシステムが構築できた。特に、別途行っている遠隔観察とも組み合わせた場合、実用性の高いシステムが構築できたと考えている。

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 1 件)

R. Nishi, Y. Moriyama, K. Yoshida, N. Kajimura, H. Mogaki, M. Ozawa, S. Isakozawa
An autofocus method using quasi-Gaussian fitting of image sharpness in ultra-high-voltage electron microscopy
Microscopy, Vol.62, 2013, 515-519
DOI: 10.1093/jmicro/df1030
査読あり

〔学会発表〕(計 6 件)

吉田清和、西竜治、超高压電子線トモグラフィーにおける自動撮影の高速化、第69回日本顕微鏡学会、2013年05月20日~2013年05月22日、大阪

西竜治、森山宣孝、吉田清和、梶村直子、茂垣宏明、小沢賢、砂子沢成人、超高压電子顕微鏡トモグラフィー用画像鮮鋭度オートフォーカス法における近似関数、第69回日本顕微鏡学会、2013年05月20日~2013年05月22日、大阪

吉田清和、西竜治、保田英洋、茂垣宏明、砂子沢成人、汎用性を高めた HD 画像伝送方式超高压電顕自動撮影支援遠隔観察システム、日本顕微鏡学会第68回学術講演会、2012年05月14日~2012年05月16日、つくば国際会議場

森山宣孝、西竜治、吉田清和、梶村直子、茂垣宏明、小沢賢、砂子沢成人、超高压電子顕微鏡トモグラフィーにおける画像鮮鋭度を用いた自動焦点合わせ法、日本顕微鏡学会第68回学術講演会、2012年05月14日~2012年05月16日、つくば国際会議場

Kiyokazu Yoshida, Ryuji Nishi, Hiroaki Mogaki, Shigeto Isakozawa and Hidehiro Yasuda, Design of an operation support system for the ultrahigh voltage electron tomography, The 10th Asia-Pacific Microscopy Conference (APMC10), 8 February 2012, Perth, Australia

R. Nishi, Y. Moriyama, K. Yoshida, N. Kajimura, S. Isakozawa, H. Mogaki, M. Ozawa, and H. Yasuda, Quasi Gaussian fitting of image sharpnesses for automatic focusing in ultrahigh voltage electron microscopy, The 10th Asia-Pacific Microscopy Conference (APMC10), 8 February 2012, Perth, Australia

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

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
特任研究員
研究者番号：50263223

(2) 研究分担者

西 竜治 (NISHI, Ryuji)
大阪大学・超高压電子顕微鏡センター
准教授
研究者番号：40243183

森 博太郎 (MORI, Hirotaro)
大阪大学・超高压電子顕微鏡センター
特任教授
研究者番号：10024366

(3) 連携研究者