

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 8 月 31 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2014

課題番号：23681026

研究課題名(和文)電子顕微鏡による分子の動的解析法の高速化

研究課題名(英文)Accelerating Dynamic Analysis of Molecules by Electron Microscopy

## 研究代表者

越野 雅至 (KOSHINO, MASANORI)

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

研究者番号：00505240

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：分子や原子ひとつひとつを可視化し、その時間的構造変化や化学変化を原子レベルで解析することを目的とし、高速画像撮影およびその解析のために必要となる要素技術の開発を行った。画像位置補正技術の適用により、信頼度の高い解析が可能となった。低温で化学反応を抑えることにより、個別分子の異なる反応様式を明らかにした。また、走査透過型電子顕微鏡(STEM)と電子エネルギー損失分光法(EELS)を組み合わせることにより、個別原子の結合状態や、異種原子の区別、異なる分子の区別などが可能となった。特に高温測定から安定な実験データが得られ、計算化学的なアプローチから理論的な検証を行った。

研究成果の概要(英文)：Aiming at the visualization of individual molecules and atoms with their structural transformation or chemical reactions at atomic level, the analytical method and its peripheral elemental techniques of high-resolution transmission electron microscopy (TEM) has been developed. Imaging with high temporal resolution enhances the reliability of image quality by applying image alignment of molecular and atomic positions. Simultaneous analysis of scanning transmission electron microscopy and electron energy-loss spectroscopy (STEM-EELS) has clarified bonding states of individual atoms, distinguished different elements and different molecules. In particular, elevated temperature reduces the transformation of atomic structures, which has realized the acquisition of experimental data with atomic position and its energy states. Further study by theoretical calculations has verified the feasibility of the STEM-EELS technique.

研究分野：複合新領域

キーワード：ナノ・マイクロ科学 ナノ材料 ナノバイオサイエンス

1. 研究開始当初の背景

単分子イメージングは、透過型電子顕微鏡でも可能になったが、本研究では1ナノメートル程度の小さい分子をカーボンナノチューブなどの新炭素材料に固定し、それらを電子顕微鏡により可視化する手法を開発することを目指して研究を開始した。このように小さい分子や原子の構造を正確に特定するためには、画像を取得する際に、構造変化や像質の劣化を補てんするだけの時間分解能の向上と画像補正技術を適用することにより、より高感度(高信頼度)な撮影を達成することが必要である。

2. 研究の目的

分子や原子ひとつひとつを可視化し、その時間的構造変化や化学変化を原子レベルで解析する測定手法を開発することを目的とした。特に結晶構造解析のように周期構造や平均情報解析を必要としない、局所領域構造の単分子および単原子による解析を試みた。また時間変化を解析することにより、高感度(=高信頼度)の測定を実現し、分子ひとつひとつの化学反応の解析などに応用した。高速 CCD カメラを用いた測定により研究開始当時の 0.5Hz に比較して 10 倍以上の速い動きに対応したミリ秒での分子の動きや化学反応の解析を目指した。

3. 研究の方法

高速画像撮影およびその解析のために必要となる要素技術の開発を目指した。具体的には、1. 高速 CCD カメラの導入および画像解析技術の確立、2. 原子ラベリング法の開発、3. 温度やエネルギーなどの外部環境変化に対する分子の動きの解析、4. 超薄膜、真空への試料固定による超高感度測定の実現、などを目指して研究を進めた。

(1) 透過型電子顕微鏡用高速プログレッシブインターライン CCD カメラ GATAN 社 Orius SC200 を導入し、動画録画手法および画像解析技術を確立した。

(2) 異種原子および電子状態の異なる同種原子の区別を STEM-EELS 法により取得するとともに、電子構造同定のための計算的手法を開発した。

(3) 極低温 4K による分子の化学変化の低下を利用した複数の個別分子について、化学反応の同時解析を行った。また、高温 773K 付近での炭素再結合を利用したグラフェンおよび六方晶窒化ホウ素(h-BN)の STEM-EELS 解析を行った。

(4) 上記(2)および(3)のグラフェン、h-BN およびフラーレン分子内包ナノチューブなどの超薄膜試料における超高感度 STEM-EELS 測定を行った。

4. 研究成果

(1) テーマ1に関しては、初年度に高速 CCD カメラの選定および仕様の詳細を詰めてい

き、国内メーカー、海外メーカーなどの高速 CCD カメラを取り扱う会社数社に連絡をとり、高速撮影の可否、感度、電子顕微鏡に取り付けの可否、インターフェースの制御、画像取得ソフトおよび解析ソフトなどについて詳細に比較検討を行った。研究開始の 2011 年当時まだ UCSF で開発段階にあった電子直接検出装置などの情報も入ってきたが獲得予算の 10 倍以上の費用が必要であること、商用製品の販売時期が未定であったことなどから現実的な選択肢には入らなかった。公募入札の結果、日本電子社が取り扱うプログレッシブインターライン CCD カメラとコントローラー、制御ソフトを納入した。新規導入カメラには、高画質測定モードと高速測定モードがあり、高画質モードにおける撮影は 512x512pixels の取り込みに対し、5Hz での高速撮影が可能であった。しかしこの高画質モードにおいても既存のウルトラスキャンカメラ(USC)の画質には及ばず、ピクセルノイズが詳細な解析の妨げになった。しかし、低倍率における高速撮影モードを利用すれば、さらに高速で形態変化などを追跡することが可能であった。この高速撮影に対してはそれを制御するソフトウェア側での対応ができなかったため、市販の数百 fps まで対応可能な画像キャプチャソフトおよび動画コーデック、さらに動画および静止画変換ソフトの整備を行った。一方、Gatan 社 Digital Microscopy Suite (GMS)への画像取り込みをするための script 作成、位置補正をするための script 作成した。しかしながら、GMS に新規実装された各種 filter 処理を利用した画像位置補正機能が予想以上に優れており、開発した script と同等あるいはそれ以上の精度で画像位置補正が可能となった。

(2) TEM 像における原子ラベリングは、位相コントラストが測定装置のフォーカス値や厚みにより変化することなどから難しい一面があるものの、薄い試料における重金属原子などの同定は可能である(文献)。

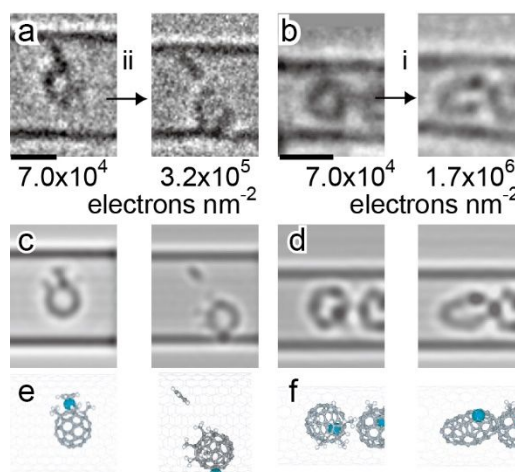


図1.  $C_{70}H_{20}Ru$  = bucky ruthenocene の分解反応の TEM 観察像。暗点が Ru 元素に対応する。(文献)

一方,STEM 法においては,コントラストが原子番号  $Z$  の 2 乗に比例するため,重元素の同定が TEM 法に比べて容易である他,EELS 法を併用することにより,元素固有のエネルギーに対応したピークによる同定が可能となる.さらに,近年において同一元素の化学結合状態の違いに応じた EELS の微細構造の違いが得られることが,実験と理論の両方で実証されつつある.

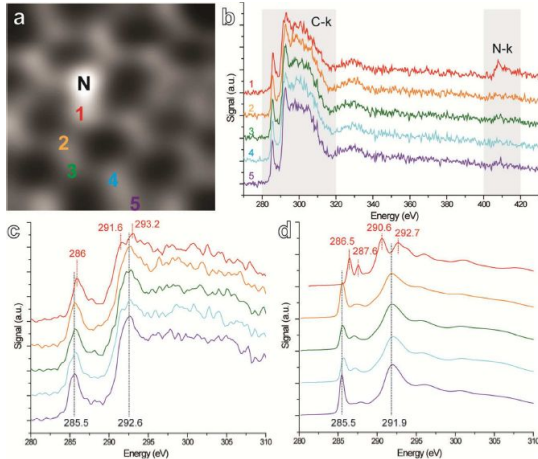


図 2. N ドープグラフェンの原子レベル STEM-EELS 分析. 温度 773K. (a) ADF 像, (b) (a)中 1-5 の原子位置に対応した炭素 K 殻 EEL スペクトルおよび窒素 K 殻 EEL スペクトル. (c)高エネルギー分解スペクトル(d) DFT 計算による EELS シミュレーション. 文献

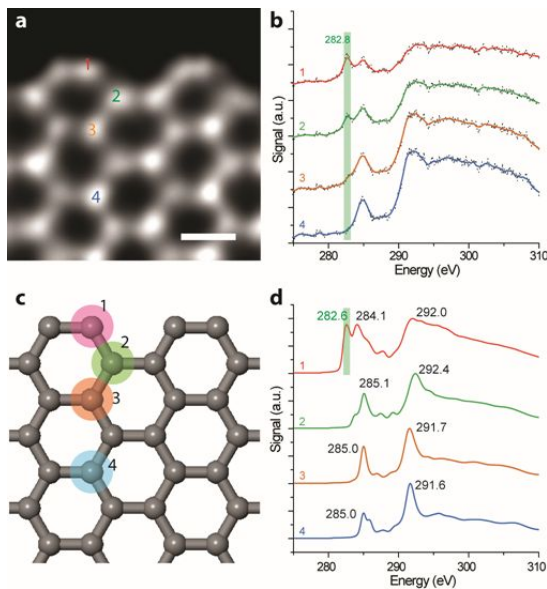
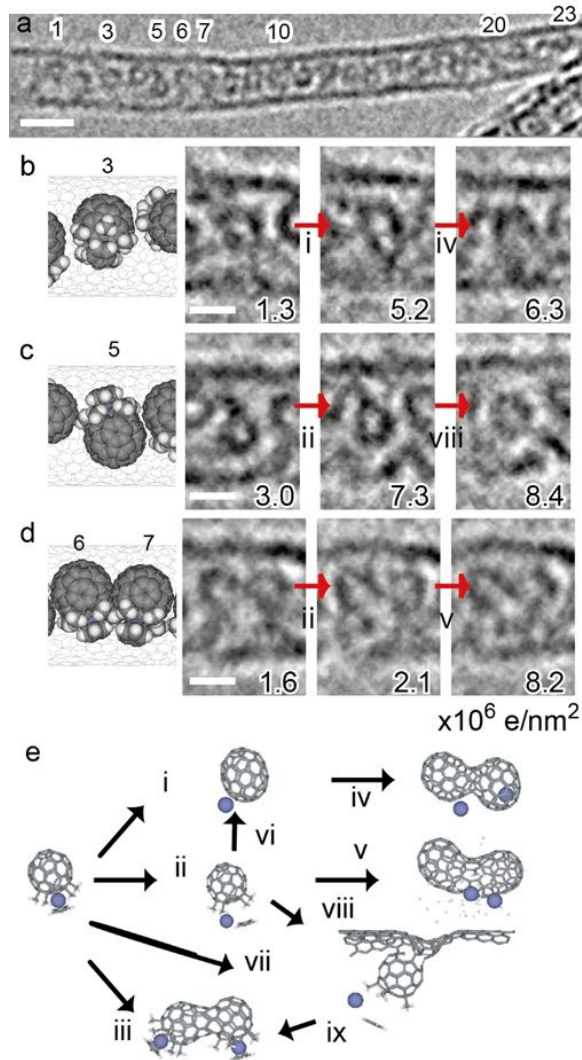


図 3. armchair グラフェン端の STEM-EELS 解析. 温度 773K. (a) ADF 像, (b)各原子から得られた EELS, (c)そのモデル構造,および (d)その構造を元に理論計算から求めた各原子位置のスペクトル. 文献

(3) Fe, Ru など VIII 族遷移金属を含むフラレン型有機分子は,含まないものに比べて融合反応,分解反応が速やかに進行する.この試料を極低温(4K)まで冷却すると,反応速度を抑えることができ,同時にいくつかの化

学反応が起こるような系において個別の解



析が可能となる.

図 4. 温度 4K におけるカーボンナノチューブに内包した  $C_{70}H_{20}Fe =$  bucky ferrocene の化学反応. (a)左から 1-23 までの分子を個別に TEM 像で可視化, (b-c)個別分子の反応解析, (e)起こりうる化学反応モデル,分子内部での融合 i,隣接分子同士との融合 iv, viii, 分解 ii, ナノチューブ壁面との融合 vii など. (文献)

### 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 7 件)

Cretu, O.; Lin, Y.-C.; Koshino, M.; Tizei, L. H. G.; Liu, Z.; Suenaga, K., Structure and Local Chemical Properties of Boron-Terminated Tetravacancies in Hexagonal Boron Nitride. Physical Review Letters 2015, 114, 075502.  
Warner, J. H.; Lin, Y.-C.; He, K.; Koshino, M.; Suenaga, K., Stability and Spectroscopy of Single Nitrogen

Dopants in Graphene at Elevated Temperatures. ACS Nano 2014, 8, 11806-11815.  
Warner, J. H.; Lin, Y.-C.; He, K.; Koshino, M.; Suenaga, K., Atomic Level Spatial Variations of Energy States Along Graphene Edges. Nano Letters 2014, 14, 6155-6159.  
Tizei, L. H. G.; Liu, Z.; Koshino, M.; Iizumi, Y.; Okazaki, T.; Suenaga, K., Single Molecular Spectroscopy: Identification of Individual Fullerene Molecules. Physical Review Letters 2014, 113, 185502.  
Masanori Koshino, Multiple Reaction Pathways of Metallofullerenes Investigated by Transmission Electron Microscopy. Dalton Transactions 2014, 43, 7359-7365.  
Suenaga, K.; Kobayashi, H.; Koshino, M., Core-Level Spectroscopy of Point Defects in Single Layer H-Bn. Physical Review Letters 2012, 108, 075501.  
Kazu Suenaga, Kotone Akiyama-Hasegawa, Yoshiko Niimi, Haruka Kobayashi, Midori Nakamura, Zheng Liu, Yuta Sato, Masanori Koshino, and Sumio Iijima. Atomic imaging and spectroscopy of low-dimensional materials with interrupted periodicities. J Electron Microsc. 61, 2012, pp. 285-291. DOI: 10.1093/jmicro/dfs054.

〔学会発表〕(計 9 件)

越野雅至, 有機単分子励起運動の高分解能電子顕微鏡観察法の開発. 第7回風戸賞 受賞講演, 幕張国際会議場, 2013/9/3  
Masanori Koshino, How Can We See Molecules in Motion and Reaction? The 2nd Canada-Japan Nanotechnology Workshop, Tokyo Big Sight, Japan, 2013/1/29.  
Masanori Koshino, Atomic level imaging and spectroscopy of nano materials. AtMol conference series 2012. 2012/9/24. Berlin, Germany.  
越野雅至, 実験的な単分子・単原子解析とそのエネルギー状態の理論解釈. 第25回 DV-X 研究会, 2012/8/8, 福岡大学, 福岡県福岡市.  
Masanori Koshino, Atomic level imaging and spectroscopy of nano-carbon materials. Simposia Metrology & Methodology: Thirteenth International Conference on the Science and Application of Nanotubes.

2012/6/29, Brisbane, Australia.  
越野雅至, 加速電圧, 分解能, 感度, 観察試料のダメージ. 第68回日本顕微鏡学会(指定講演). 2012/5/16, つくば国際会議場, 茨城県つくば市.  
越野雅至, フラールン・ナノチューブ・グラフェン若手研究会(招待講演) 2011/9/4 東京, 東京大学.  
Masanori Koshino, Hiroki Kurata, Seiji Isoda, Kazutomo Suenaga. Molecular Orbital Calculations of Small Graphene-Like Species to Interpret Their Site-Dependent EELS. CCTN11: Seventh International Symposium on Computational Challenges and Tools for Nanotubes. 2011/7/15, Cambridge, UK.  
Masanori Koshino, Hiroki Kurata, Seiji Isoda, Kazutomo Suenaga. Molecular Orbital Calculations of Small Graphene-Like Species to Interpret Their Site-Dependent EELS. NT11 International Conference on the Science and Application of Nanotubes. 2011/7/12, Cambridge, UK.

〔図書〕(計 1 件)

M. Koshino & K. Suenaga. Motional Analysis of a Single Organic Molecule by TEM Using Nanocarbon Materials: Scope of Atomic Level Imaging and Spectroscopy. in Imaging and Manipulating Molecular Orbitals (L. Grill & C. Joachim Eds), Springer, Sep 2013, ISBN:3642388086.

〔産業財産権〕

出願状況(計 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 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等  
<http://staff.aist.go.jp/m-koshino/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

越野 雅至 ( KOSHINO MASANORI )

研究者番号 : 00505240

(2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

(3) 連携研究者

( )

研究者番号 :