

令和 2 年 9 月 23 日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14124

研究課題名(和文) ナノメータ分解能を有する小型卓上の3次元透過X線顕微鏡の開発

研究課題名(英文) Development of a compact desktop 3D transmission-type X-ray microscope with nanometer resolution

研究代表者

入田 賢 (Irita, Masaru)

東京理科大学・理工学部機械工学科・助教

研究者番号：20792188

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ナノサイズの試料やウイルスの挙動を観察することを目的に、卓上-走査電子顕微鏡(DSEM)をベースに持ち運び可能な3次元透過X線顕微鏡(3D-TXM)の開発を行った。本研究で開発した装置は、電子ビームの照射位置を変えてX線の発生位置を制御し、X線を大気中に取り出せる構造を実現することができた。しかし、開発ベースに使用したDSEMの熱電子源(TFE)では発生するX線量が少なく、試料の3D-TXM像を観察できなかった。本研究で、TFEと冷陰極電界放出電子源(CFE)を比較することで、CFEの性能の高さを再確認した。今後、CFEを搭載したDSEMにすることにより、試料の3D-TXM像観察が可能になる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、卓上-走査電子顕微鏡(DSEM)をベースに持ち運び可能な3次元透過X線顕微鏡(3D-TXM)の研究開発に取り組んだ。試料の3D-TXM像の観察を実現できなかったが、DSEMに搭載されている熱電子源(TFE)では発生するX線量が少ないことを明らかにした。現在、市場で販売されているDSEMには、主にTFEが搭載されており、SEMとしての空間分解能は十分であることを確認した。冷陰極電界放出電子源(CFE)を搭載することにより、プローブ電流量の多さに加え、輝度の高さにより、DSEMを更なる分析装置にできることを示した。本研究成果は、CFEの重要性とDSEMへの搭載をより先導する成果である。

研究成果の概要(英文)：A portable 3D transmission-type X-ray microscope (3D-TXM) based on a desktop-scanning electron microscope (DSEM) was tried to develop, which is aimed to observe the behavior of nano-sized samples and viruses. The developed equipment in this research was able to realize a structure in which the X-ray generation position was controlled by changing the electron beam irradiation position and the X-rays could be extracted into the atmosphere. However, the 3D-TXM image of the sample could not be observed due to the small amount of X-ray generated by electron beam using the thermionic field emission electron source (TFE) installed in the DSEM. By comparing TFE and cold cathode field emission electron source (CFE), we reconfirmed the high performance of CFE. In the future, it will be possible to observe the 3D-TXM image of the sample by using the DSEM equipped with CFE.

研究分野：薄膜および表面界面物性

キーワード：走査電子顕微鏡(SEM) X線顕微鏡 電子源 カーボンナノチューブ(CNT)

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

世の中を脅かす不治の病であるエイズは、容易に変異を繰り返すためワクチンを作ることができていない。そのため、エイズウイルスに感染すると一生体内に潜伏し続けるため、抗ウイルス薬治療を一生継続することが必要である。2014年の西アフリカにて流行したエボラ出血熱では、エボラウイルスに感染した40%の11,313名が死亡している。発症後、仮に救命された人にも重篤な後遺症を残すバイオセーフティーレベルで言うリスクグループレベル4のウイルスの1つである。現在、エボラ出血熱に対する効果的な治療薬、ワクチンはともにない。その他にも人が感染するとほぼ確実に死に至る狂犬病ウイルスなどがある。このような、人を死に至らしめるウイルスは世界に共存しており人類の脅威である。エイズウイルス、エボラウイルス、狂犬病ウイルスなどの大きさはナノメートルサイズであり一般には電子顕微鏡で観察されている。電子顕微鏡では真空中に試料をおいて観察する必要があり、ウイルスの挙動を観察することは難しい。このようなウイルスの挙動が観察できる顕微鏡があれば、今後、ワクチンなどが開発される可能性が期待できる。

X線顕微鏡は試料内部構造を観察できる顕微鏡であり、日常生活においてもレントゲン写真として技術が使用されている。X線は少量の照射であれば生体を傷つけることなく透かし内部構造を見ることが可能である。これまでのX線顕微鏡の研究では、ナノメートル分解能を得るためには大型放射光施設を利用することが必須であった。山本らは、立命館大学SRセンター軟X線顕微鏡ビームライン(BL12)を使用し、NIH3T3細胞(マウス線維芽細胞由来株化細胞)の光学顕微鏡像とX線顕微鏡像(X線波長は2.3 nm)の観察に成功している(Yamamoto et al. J. Phys.: Conf. Ser. 2009)。生体挙動を明らかにするため、X線顕微鏡観察を用いた研究は精力的に行われている。また、技術的には位相回復計算ができる制約の中で、金属ナノ中空粒子の内部構造を観察できる(Takahashi et al. Nano Lett. 2010)。本研究計画では、特別な拘束条件なしに、研究室の机の上で、ナノメートルサイズの試料を立体視できるX線顕微鏡の開発を行う。観察試料によっては、放射光施設のビームラインに持ち込めない場合がある。したがって、応募者が開発する持ち運び可能な小型卓上のX線顕微鏡は、特別危険で移動が難しいウイルスの研究、また、遺跡などの発掘調査や惑星探索などの現場での利用が期待される。

2. 研究の目的

本研究目的は、卓上-走査電子顕微鏡(DSEM)をベースにナノメートル分解能を有する持ち運び可能な小型卓上の3次元透過X線顕微鏡(3D-TXM)の開発である。これまで、大型放射光施設などでしか観察することのできなかつたナノメートル分解能のX線顕微鏡像を、応募者が考えた方法を用いることにより、研究室の卓上で観察することが可能になる。更には、生体試料の動的な観察、ナノメートル分解能の3D-TXM像の観察も可能にする研究である。放射光施設においても、試料の中心軸に対しナノメートルオーダで回転させることは難しく、位相回復計算ができる場合にのみ3次元X線顕微鏡像の観察が可能であった。本手法は従来の手法とは異なり、試料位置を固定し、卓上-SEMの電子ビーム収束位置を動かすことにより、X線発生位置を動かして試料の3D-TXM像を観察するものである。そのため、特別な拘束条件は必要なく、ナノメートルサイズの試料を立体視できる3D-TXMである。このような顕微鏡が実現されることにより、ナノサイズのウイルスの挙動を観察することができるようになる。上記の背景及びこれまでの研究成果をもとに、本研究では大気圧下にあるナノメートルサイズの試料を立体視できる3D-TXMの開発を行う。

3. 研究の方法

(1)当初の検討案と変更点

本研究計画申請時、研究代表者が研究開発してきた多層カーボンナノチューブ(MWNT)の冷陰極電界放出電子源(CFE)を搭載した卓上-SEM(Tiny-SEM, TECHNEX)をベースに装置の研究開発を行うことを計画していたが、異動に伴い装置を使用することができなくなった。そこで、代わりとなるタングステン(W)の熱電子源(TFE)を搭載した卓上-SEM(JCM-6000Plus, JEOL)とX線検出器(XRI-UNO Si 500 um, IMATEK)を準備し、設計を一新し研究に取り組んだ。そのため当初の予定より装置の研究開発に時間を要した。

以下、先行研究で開発したMWNTのCFEを搭載した卓上-SEMをCFE-DSEM1、今回研究開発に用いたWのTFEを搭載した卓上-SEMをTFE-DSEM2と呼ぶ事とする。

(2)方法および進め方

本研究では、TFE-DSEM2の走査電子顕微鏡(SEM)としての機能はそのままに、ナノメートル分解能を有する小型卓上の3D-TXMの開発を行なった。装置の設計は研究代表者が行い、装置製作は東京理科大学 理工学部 機械工学科 工作室において行なった。

4. 研究成果

(1) 装置機構

初めに、本研究で実現したい装置機構について説明する。図1に示した装置機構概略図の様に、透過X線顕微鏡(TXM)像観察時に偏向コイルで電子ビームを曲げ照射位置を変え、X線の発生位置を変えることにより、角度の異なるTXM像の観察を行う。図1では、1番目の位置に照射した電子ビーム1と発生する点X線光源1、そして、電子ビームを移動させN番目の位置に照射した電子ビームNと発生する点X線光源N、それぞれ観察されるTXM像を重ね合わせることに、3D-TXM像の観察が可能となる。

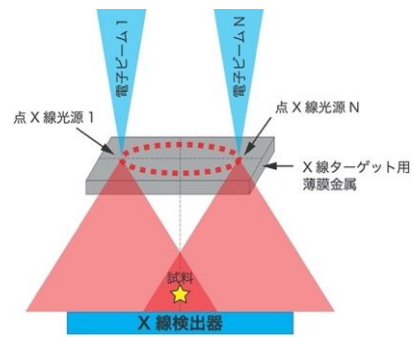


図1：装置機構概略図

(2) 電子ビームの収束位置と装置設計

このような機構を実現するために、図2(a,b)の様にアルミフレームの上にTFE-DSEM2の試料室がくるように組み換えた。標準の試料室は、xy-クロスステージ機構になっており、下面よりX線を取り出すことが困難であった。また、初年度は、窒化シリコンメンブレンX線用窓(X05-A50Q10)を試料室底面に導入し、X線を大気圧下に取り出せる様に改造を進めていたが、底面だと電子ビームを十分に収束させることができないことがわかった。TFE-DSEM2は、最大加速電圧が15 kVであり、作動距離(WD)は約10 mm程度が最も電子ビームを収束させることができ、高い分解能が得られた。これは、対物レンズと2次電子検出器の位置の関係より、最適なWDが決まっているためである。以上を踏まえ、図2(b,c)の様に2次電子検出器が出来る限り試料室上部の近い位置で、対物レンズの下面に来る様に試料室を設計した。

X線透過窓は、図2(c)に示す様に、Be円板 30×厚さ1 mmとO-ring(G-25)を用い、有効なX線透過窓サイズ 22.4となる様に設計した。X線透過窓は、大気圧側に試料を設置しやすい様にできる限り幅を広く、また、WD 10 mm程度になる様に設計した。本研究では、臨界励起電圧 9.712 keVのAu-L₁を用いTXM像の観察を試みたため、10 keV程度のX線が透過できる窓が必要である。Beとアクリル樹脂(PMMA: (C502H8)n)のX線透過率Tを図3に示す。TFE-DSEM2の試料室には、内部の状態を確認できる様に、アクリルで窓を作製した。アクリルで窓を作製する際、O-ringを保持するため、厚みは5 mm程度は必要であった。10 keVのX線に対して、アクリルの厚さ5 mmでT 0%、厚さ1 mmでT 50%である。アクリルは、X線をあまり透過できないので、X線透過窓には適さない。一方Beでは、10 keVのX線に対して、Beの厚さ5 mmでT 60%、厚さ1 mmでT 90%である。したがって、本研究では厚さ1 mmのBeを用いた。

X線の検出器の位置によって、X線が大気中を通過する距離が変わる。先行研究で開発したCFE-DSEM1では、X線が大気中を通過する距離は約42 mmであった。X線の大气中(1気圧)の透過距離を図3に示す。10 keVで 1 mであるので、ある程度X線検出器を離して設置しても問題ないことがわかる。本研究では、図2(a,b)に示した様にX線透過窓の直下面にX線検出器を設置し実験した。この時、X線が大気中を通過する距離は約46 mmである。以上の検討を踏まえ作製した装置を図4に示す。図4(a)に示す様に、装置本体は単管の台車の上に設置しており、

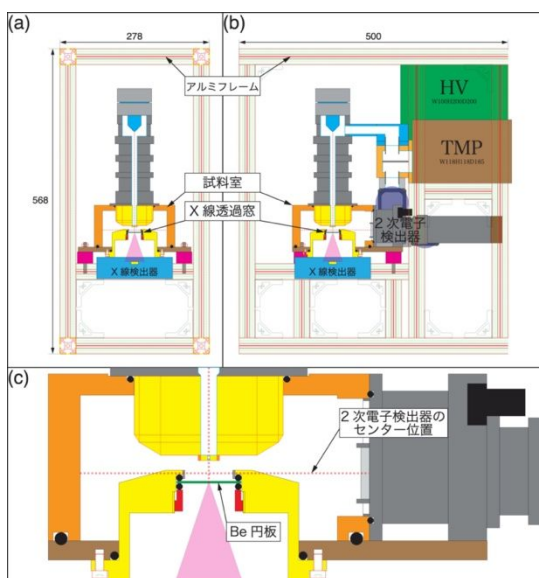


図2：TFE-DSEM2の装置設計図。(a)正面図、(b)右面図、(c)電子ビームの収束位置と2次電子検出器の位置関係を示した(b)の部分拡大図。装置本体サイズ W278・D500・H568。

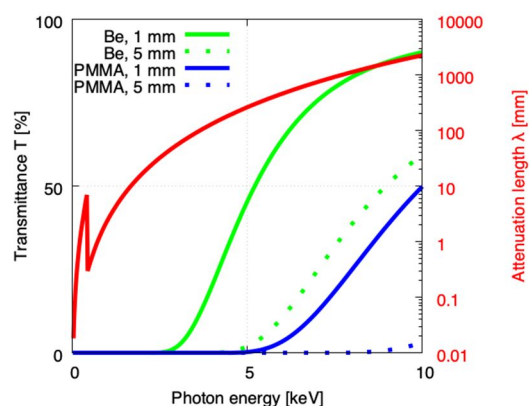


図3: BeとPMMAの試料厚みに依存したX線透過率TおよびX線の大气中(1気圧)の透過距離(赤線、右軸)。横軸は共通でX線のエネルギーを示す。PMMAはC502H8、大気は窒素78%で主成分なのでN2と仮定し、(Henke et al. Atomic Data and Nuclear Data Tables Vol. 54, 181, 1993)を参照し計算した。

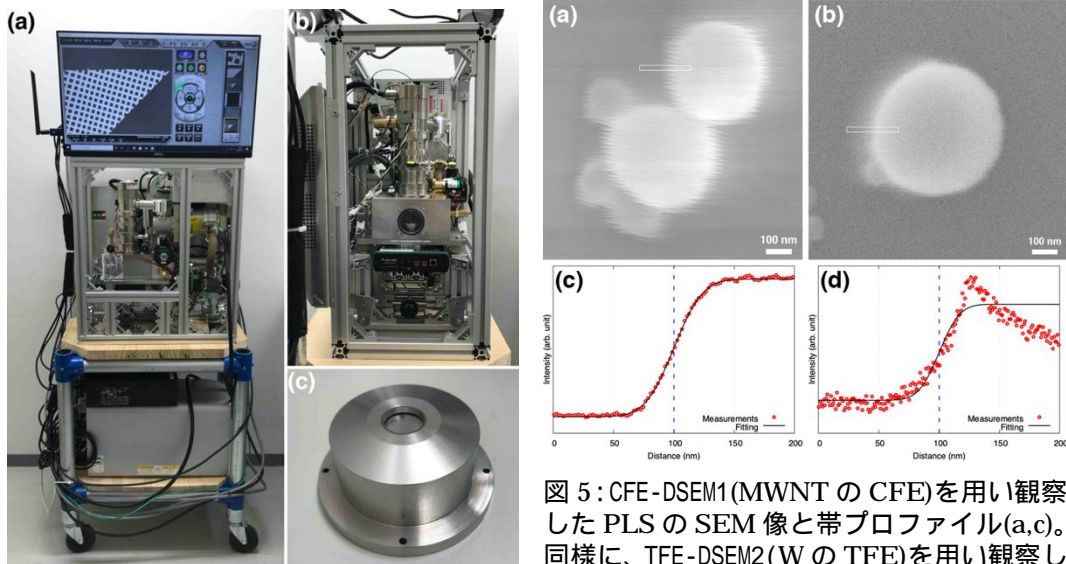


図 4 : 本研究で開発した TFE-DSEM2。(a) 全体、(b) 本体正面、(c) X 線透過窓の写真。

図 5 : CFE-DSEM1(MWNT の CFE)を用い観察した PLS の SEM 像と帯プロファイル(a,c)。同様に、TFE-DSEM2(W の TFE)を用い観察した結果(b,d)。SEM 像中の白枠領域は、帯プロファイルの位置を示す。

容易に移動が可能である。また、図 4(b)の様に X 線検出器(黒色)を設置した。図 4(c)に、作製した X 線透過窓を示す。

(3)TFE-DSEM2 の SEM としての性能評価

先行研究と同様に、Au-Pd を真空蒸着したポリスチレンラテックス球(PLS)の SEM 像より、空間分解能を評価した。評価方法としては、観察した PLS の SEM 像について、底面と PLS の境界に対しフィッティングした帯プロファイルの 80-20%の幅を空間分解能とした。SEM の空間分解能は、電子ビーム直径に相当し、X 線の発生について重要なパラメータとなっている。図 5 に CFE-DSEM1 と TFE-DSEM2 を用い観察した PLS の SEM 像を示す。WD はそれぞれ最適な値に設定した。分解能を評価した PLS の直径は 500 nm であり、図 5(a,b)に示した SEM 像からも確認することができる。CFE-DSEM1 で観察した SEM 像(図 5(a))には、60 Hz のノイズが入っていた、また、帯プロファイルより求めた分解能は 32 nm であった。一方、TFE-DSEM2 で観察した SEM 像(図 5(b))には、大きなノイズは無く、分解能 23 nm であった。今回の観察結果では、TFE の電子銃であってもノイズが無いことで、先行し開発した CFE-DSEM1 と同程度の分解能を得られることがわかった。したがって、電子ビームスポットも同程度で、また、TFE なのでプローブ電流も多く、X 線発生に有効であると考えた。

(4)TXM 像の観察と考察

本研究で開発した TFE-DSEM2 を用い、X 線透過窓の真空側の Be 面上に Au-400-mesh を貼付け X 線ターゲットとし、大気圧下での試料の TXM 像の観察を試みた。実際に観察した TXM 像を図 6(a,b)に示す。図 6(a,b)の TXM 像では、X 線量が少なく、試料形状を判断することができなかった。X 線の発生効率 は、(定数 1.1×10^{-6}) \cdot (電子の加速電圧 V [kV]) \cdot (衝突物質の原子番号)と表される。先行研究(Irita et al. Surf. Sci. Nanotech 2018)では、主に $V=17$ kV を使用しており、本研究では $V=15$ kV を使用した。X 線ターゲットが Au の場合、 $V=17$ kV で 0.15%、 $V=15$ kV で 0.13%であり、ほとんど大差ないと考えられる。そこで、先行研究で観察した X 線像を図 6(c,d)に並べ、X 線像とフォトンカウント数を比較した。照射時間が長いほど、フォトンカウント数が多いことが確認できる。また、CFE-DSEM1 の場合に比べ、TFE-DSEM2 の方が明らかにフォトンカウント数が少ない。これは、加速電圧の違いによるものではないと考えられる。

次に、X 線ターゲットにどれだけの

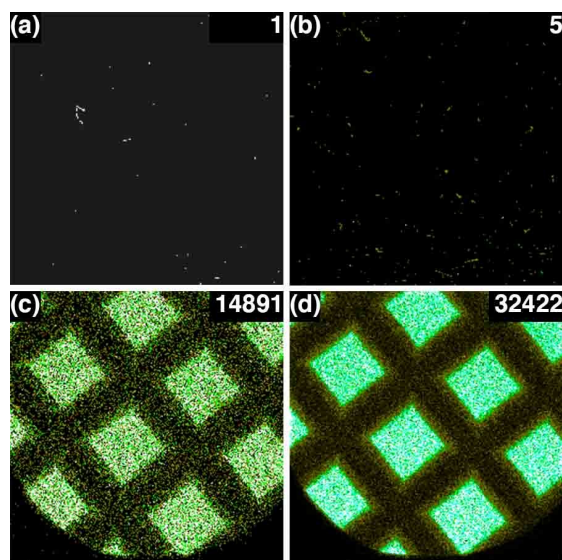


図 6: 本研究で観察した TXM 像と先行研究との比較。(a,b) 本研究、 $V=15$ kV で観察した TXM 像。(c,d) 先行研究、 $V=17$ kV で観察した X 線像。先行研究では TXM 像を観察できていないので、投影型 X 線像と比較する(Irita et al. Surf. Sci. Nanotech 2018)。X 線ターゲットに Au-400-mesh を用い、それぞれ、X 線照射時間を(a,c)1 分、(b,d)10 分とした。また、X 線像におけるピクセルの最大フォトンカウント数を各 X 線像の右上に示す。

電子が衝突しているのか評価するために、X線透過窓の位置にファラデーカップを設置し、プローブ電流量 I を測定した。JCM-6000Plus の設定では、「フィラメント輝度 = 標準、高輝度」と「プローブ電流 = 小、標準、大」の中から選択できる様になっており、ここでは、「フィラメント輝度 = 高輝度」で「プローブ電流」を変化させたものを図7に示す。プローブ電流 I 50 pA であることが確認できた。TFE-DSEM2 においてプローブ電流の計測を何度か行ったが、測定回毎 50 pA 程度は、容易に変動していた。プローブ電流の変動は、CFE-DSEM1 においても同様であった。図6(c,d)の測定の際、CFE-DSEM1 ではプローブ電流 I 700 pA を使用していたことから考えると、TFE-DSEM2 ではプローブ電流が少なく、X線の発生量が少ないことがわかった。

本研究で TFE-DSEM2 の開発のベースにした JCM-6000Plus では、TFE であるがプローブ電流は小さく、その結果、SEM 性能としては高い空間分解能を示した。一方、プローブ電流量が少ないため、X線をあまり発生させることができず TXM 像の観察を実現できなかった。TFE で単にプローブ電流量を増やせば、電子ビーム直径が大きくなり、結果として、TXM 像の分解能が悪くなる。プローブ電流量が多く、輝度の高い電子源でないとは 3D-TXM を実現することは難しいことがわかった。

(5)まとめ

本研究で開発した TFE-DSEM2 は、電子ビームの照射位置を変えて X線の発生位置を制御し、X線を大気中に取り出せる構造を実現することができた。しかし、TFE では発生する X線量が少なく、試料の 3D-TXM 像を観察できなかった。本研究で、TFE と CFE を比較することで、CFE の性能の高さを再確認する結果となった。今後、CFE を搭載した DSEM2 にすることにより、試料の 3D-TXM 像観察が可能になると思われる。

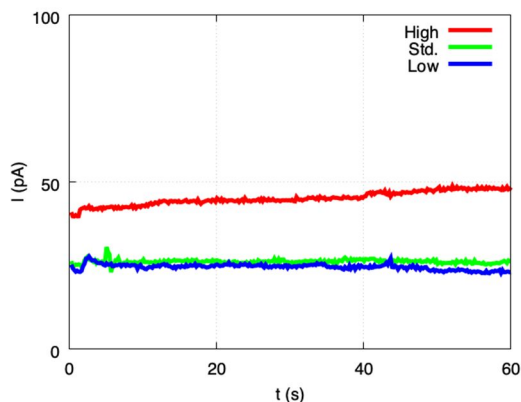


図7:TFE-DSEM2 の X 線透過窓の位置でのプローブ電流 I の測定結果。「フィラメント輝度 = 高輝度」で「プローブ電流」を変化させたものを示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 入田 賢
2. 発表標題 卓上-走査電子顕微鏡の電子源とその安定性
3. 学会等名 日本表面真空学会若手研究会[第2回]
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----