

「電子顕微鏡技術の修得」に関わる成果報告

三重大学工学部工学研究科技術部

○藤田由紀子

fujita@chem.mie-u.ac.jp

1. はじめに

配属1年目当時、殆ど教育・研究活動の役に立たないことを自覚して現状を改善したいと考え、ご相談にのっていただいた方々のお勧めもあり「電子顕微鏡技術の修得」と称して自部署での個別研修制度を利用したことが発端である。電子顕微鏡施設、研究室をはじめ沢山の方々のお世話になりつつ、ご理解、ご協力を賜りました皆さまのおかげで、電子顕微鏡技術の一端を修得できたのではないかと存じますので、成果並びに勉強させていただいたことについて報告いたします。

2. 東海・北陸地区合同研修（生物・生命コース）

外部研修（Off-JT）制度を使って参加した講習会を参考に、凍結乾燥による生物系試料の観察を課題にした。電子顕微鏡の鏡筒は電子線を通過させるため真空中に保たれており、そこに水分を含むものを入れると、収縮、変形してしまうが、融点がほぼ常温のt-ブチルアルコールに置換して昇華させると形状を保って乾燥できる、という原理である。具体的には、蒸留水で薄めた味噌及び納豆を試料としてシリンジにフィルター付試料載台（ナノパーコレーター）を取り付けて菌を捕集、固定液などの廃液はプランジヤを引いて回収し、ナノパーコレーターのみ取り外して凍結乾燥、金属コーティング装置に入れて調製した（図1）。試料は入手しやすさを基準に選んだが、実験を成功させるための条件などの検討は十分ではなかったため、当日参加者に作製していただいた試料は、酵母菌、胞子は凹んでしまった様子のももあり、置換もしくは凍結が十分ではなかったことが伺える（図2）。

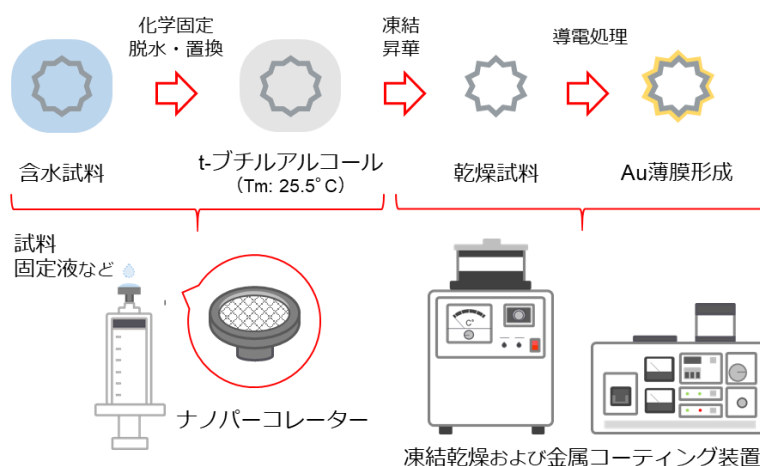


図1. 凍結乾燥試料作製の概要

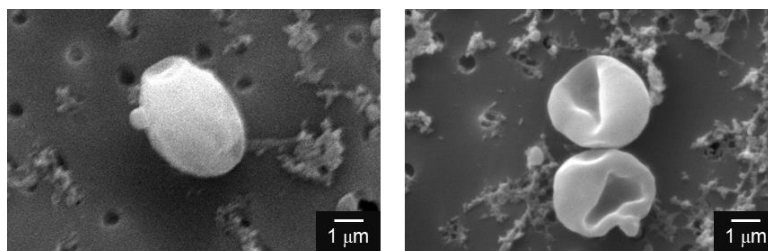


図2. 味噌に含まれる酵母菌・胞子（参加者撮影写真一部）

3. 夏休み地域貢献イベント

2019年及び2021年に毎年実施している自部署の夏休み地域貢献イベントに顕微鏡を使った課題を加えていただいた。夏休みの自由研究への利用、三重大学の見学及び科学に興味を持っていただける機会になることを期待して、レンズによる見え方の違い、技術進歩の一端が体験できることを意図した。図3は左から単式レンズ（タブレット端末とガラス球）、複式レンズ（実体顕微鏡）、電磁レンズ（走査電子顕微鏡: SEM）での撮影例。電子顕微鏡施設には設備のほか1回目にはスタッフとして参加していた

だいたり、生物資源学研究所 中島先生からは、レーウエンフック顕微鏡のレプリカをお借りしたり、自部署以外のご協力もあって成立している。偏見かもしれないが、他者の操作を横で見ているよりも、自分で操作していたほうが良いのではないかと考えて殆ど操作しなかった為に、分かりやすい説明が出来なかったことも一因だが、当日初めて SEM を使う参加者に対して難しい要求をしてしまったように思った。画像調整についての技量不足及び最初に目安時間をお伝えして進行すべきだったことを特に反省している。今後実施する際は、物品の準備・検討まで行っていただいたオンライン開催と内容についても再考したい。

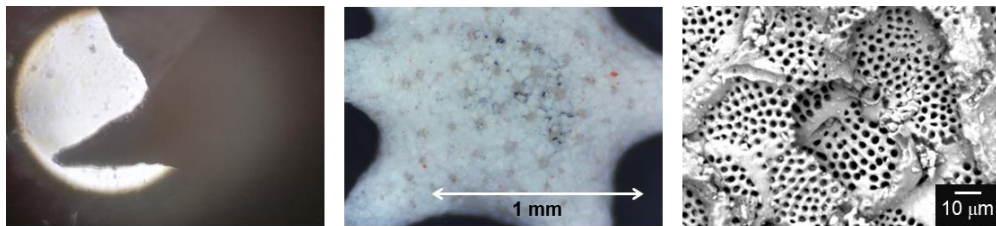


図 3. レンズによる違い (試料: 星の砂)

4. 電子回折法

これまで個別研修、学会及びメーカー主催の講習会では生物系試料についてご教授いただく機会が多かったが、工学研究科では主に材料系試料を取り扱うこと並びに折角ご依頼いただいたにも関わらず、ご要望に対する理解が不十分だったため対応できず、機械工学専攻 高橋先生のご厚意で解決していただいた案件があったことから電子回折法を勉強したいと考えた。高橋先生には練習試料、材料と作り方だけでなく、基本的な解析方法もご教授いただいた。

透過電子顕微鏡: TEM で結晶性をもつ試料の観察面を後焦点面に切り替えると電子回折図形が観察できる (図 4)。結晶は周期的に並んだ原子で、電子線を照射すると、ある特定の格子面で散乱された電子は波の性質を持つので強め合う。逆空間を使うと実空間で Bragg 条件が成立する格子面を決定していくよりも簡単に考えることができ、図 5 に記す 3 組の整数は逆格子点で、実空間の格子面に対応している。

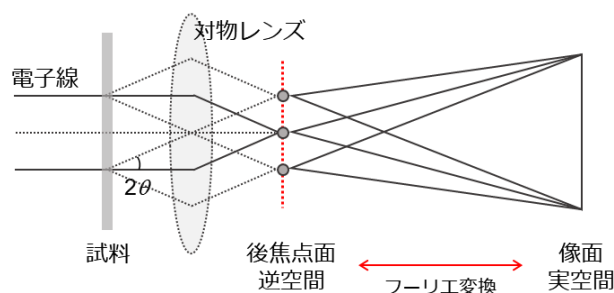


図 4. TEM 観察面に関する模式図

図 5. a は、頂戴したアルカリハライド単結晶のへき開面に金属コーティング装置を使って Au 薄膜を作製した試料。Au は面心立方晶で、格子定数も分かっているので、中心から同心円までの距離について、計算値と実測値を照らし合わせて指数付けしている。図 5. b は単結晶の回折パターンで、練習試料としていただいたアルミニウム薄膜。試料は傾けて、制限視野絞りをに入れて観察している。

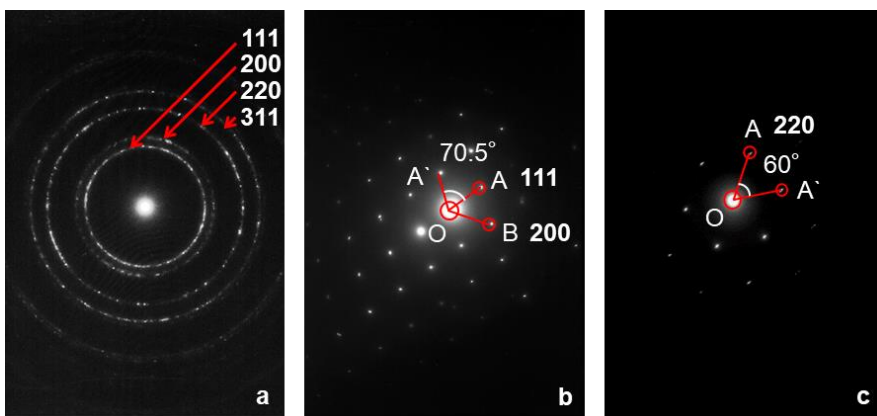


図 5. 電子回折図形 (a: Au 薄膜, b: Al 薄膜, c: Si 粉末)

同じく Al も面心立方晶、格子定数の既知データより回折点 A は{111}、B は{200}、ベクトル積から電子線の入射方向は[011]だと計算できる。距離は条件が悪いと 10%ほど誤差が出てしまうことがあるが、

角度は $2\sim 3^\circ$ もずれることはなく、AA'の角度が 70.5° で、正確に長方形であることを確認しておくように、と教えていただいた。図 5. c も単結晶の回折パターンだが、試料はエタノール中で Si 粉末を砕いて上澄みをグリッドに滴下したもの。Si もダイヤモンド構造であること及び格子定数が分かっており、中心 O から回折点 A、A'までの距離と角度 60° から {220}、電子線の入射方向は [111]だと分かる。

電子顕微鏡から逸脱するが、電子回折を勉強することによって講習会などを担当させていただいている、X 線回折装置（機器分析部門所属）の測定結果が示す意味を理解する助けにもなった。

5. おわりに

皆さまのご恩情と研修制度により、僅かながらではありますが教育・研究支援の幅を広げることができたのではないかと考えております。電子顕微鏡に限らず、今後も特に工学研究科で役立てられる知識もしくは技術と考えられること、現存の設備で出来ること、超薄切片作製などこれまで習得したことについて研鑽を積んでいきたいと存じます。

謝辞

紙面をお借りして、機会を与えてくださいました全ての方々に心よりお礼申し上げます。

参考文献

- 1) 日本電子株式会社「走査電子顕微鏡用テキスト 生物試料作製テキスト」(2003)
- 2) 坂公恭「結晶電子顕微鏡学—材料研究者のための—」内田老鶴圃 (1997)
- 3) 社団法人日本顕微鏡学会「電顕入門ガイドブック改訂版」株式会社国際文献印刷社 (2011)
- 4) 公益財団法人日本顕微鏡学会「電子顕微鏡大学講義テキスト (26 訂版 2021 年度)」