

## 電子線励起による微小光源を利用した実時間観察可能な近接場光学顕微鏡の開発

著者	川田 善正
発行年	2011-05-30
出版者	静岡大学
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10297/6232">http://hdl.handle.net/10297/6232</a>

機関番号：13801  
 研究種目：基盤研究(B)  
 研究期間：2008～2010  
 課題番号：20360030  
 研究課題名（和文） 電子線励起による微小光源を利用した実時間観察可能な近接場光学顕微鏡の開発  
 研究課題名（英文） Electron beam excitation for real-time imaging in near-field optical microscopy  
 研究代表者  
 川田 善正 (KAWATA YOSHIMASA)  
 静岡大学・工学部・教授  
 研究者番号：70221900

## 研究成果の概要（和文）：

本研究では、光を用いて生物試料を実時間で観察でき、50 ナノメートルの分解能をもつ光学顕微鏡を実現することを目的とし、実際にシステムを試作し、技術開発および理論構築を行なった。電子線を照射することにより、高効率に発光する蛍光薄膜材料について検討した。無機材料として ZnO をスパッタにより薄膜化するための製膜条件を確立した。微小光励起システムの基本構成について検討した。

## 研究成果の概要（英文）：

We have developed a new optical microscope with 50 nm resolution for the observation of biological specimens. The materials were investigated for high efficiency photoluminescence with electron beam excitation. ZnO thin film was prepared with sputtering techniques and the process conditions were optimized. The basic configuration of the optical microscope was designed.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	7,300,000	2,190,000	9,490,000
2009年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2010年度	2,400,000	720,000	3,120,000
年度			
年度			
総計	13,800,000	4,140,000	17,940,000

研究代表者の専門分野：工学

科研費の分科・細目：応用物理学、工学基礎・応用光学、量子光工学

キーワード：光計測

## 1. 研究開始当初の背景

光学顕微鏡は、生きた生物試料をそのまま観察できるため、生命現象の解明において、非常に有効なツールとして用いられてきている。しかしながら、光学顕微鏡の空間分解能は、光の波としての性質により制限され、たかだかサブミクロン程度の分解能しか実現できない。

## 2. 研究の目的

本研究では、光を用いて生きた生物試料を実時間で観察でき、数 10 ナノメートルオーダーの空間分解能を有する実時間・ナノイメージング手法を実現することを目的とし、実際にシステムの検討し、高分解能に観察するための理論構築を行うことを目的とする。

開発を目指す光学顕微鏡は、電子線ビームにより蛍光薄膜を励起し、微小光源を形成し

走査するシステムである。本システムでは、近接場顕微鏡の光源として走査型電子顕微鏡を用いて、電子ビームにより蛍光薄膜を励起する。電子顕微鏡の技術を光励起に応用することによって、10nm以下のスポット持ちかつ高速に走査可能な微小光源を実現することが可能となる。

### 3. 研究の方法

次のような計画で研究を実施した。  
(平成 20 年度)

- (1) 光電変換膜の構造の試作と評価  
(平成 21 年度以降)
- (2) 近接場光学を利用した光ナノイメージングシステムの設計
- (3) 光ナノイメージングのための生物試料のマニピュレーション法の検討

### 4. 研究成果

本研究では、光を用いて生物試料を実時間で観察でき、10 ナノメートルの分解能を有する、光学顕微鏡を実現することを目的とし、実際にシステムを試作し、生きた生物試料を実時間で高分解能に観察するための技術開発および理論構築を行なうことを目的としている。これらの目的を実現するために、次の研究項目を実施している。

#### (1) 光電変換膜の作製・評価・高機能化

電子線照射により発光する材料として、無機材料および有機材料など多くの材料について可能性を検討した<sup>1)</sup>。可能性の高い材料として ZnO について検討した。大気圧と真空を分離する基板として SiN 膜を利用することを考えているため、SiN 膜上への製膜状態について検討した。スパッタの際に導入するアルゴンガスの圧力を変化させて製膜し、膜の表面状態を観察した。図 1 にアルゴンガスの圧力を変化させてスパッタし、その表面状態を観察した結果を示す。観察範囲は 1 $\mu$ m x 1 $\mu$ m であり、アルゴンガス圧を 1.1Pa から 4.7Pa の間で変化させた。アルゴンガス圧を変化させてもあまり大きな変化は見られないが、ガス圧を高くすると粒状の形状が大きくなっている様子が観察できる。これらの材料に電子線を照射し、その発光特性を評価した。これらの基礎実験の結果から、スパッタ電力 40W、アルゴンガス圧 0.8-1.0Pa で製膜するのが最適条件であると判断した。

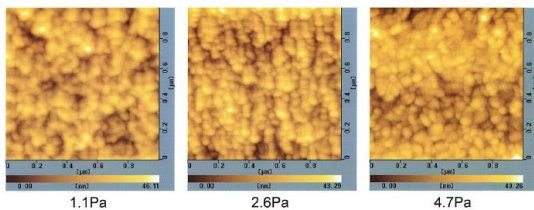
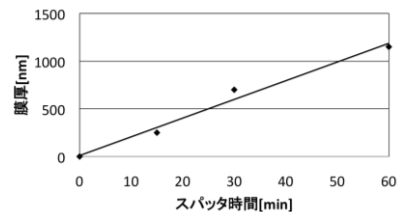


図 1. アルゴンガス圧の変化による ZnO スパッタ膜の変化

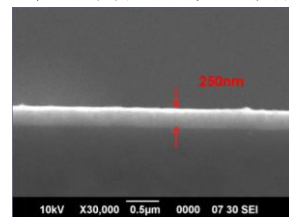
本研究で開発するシステムにおいて、より高い分解能を実現するためには、蛍光薄膜を薄くする必要があるので、ZnO 薄膜化するための条件とその発光特性について検討した。図 2(a)に製膜条件と膜厚との関係、(b)に膜厚 250nm の膜の SEM による観察結果を示す。スパッタ時間を変化させることにより、線形的に膜厚が変化しており、時間制御のみで膜厚を制御できることを確認した。図 2(b)から厚みが一定の均一な膜が形成されていることが確認できる。

図 2(c)に、作製した薄膜に電子線を照射し、その発光強度を測定した結果を示す。この測定では、ZnO 薄膜を SEM 内に配置して電子線を照射し、発光強度を SEM の試料室内に設置した集光レンズおよび光電子増倍管で検出した<sup>2)</sup>。膜厚が大きくなるに従って発光強度が大きくなっている。膜厚が大きくなると電子線の散乱により空間分解能が低下すると予想されるため、信号強度と空間分解能のより詳細な評価が必要である。また、製膜した材料を 800 度で 1 時間アニリングすることによって発光波長が橙から緑に変化し、強度が 2-3 倍に増強することを確認した。

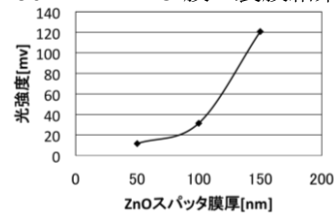
電子線励起により発光する材料として、電子線検出に用いられるシンチレータ材料 B498 の製膜条件についても検討した。B498 はスピコート法によって製膜できるため、表面の均一性の高い膜が形成できることが期待できる。有機材料である B498 でも濃度を制御することにより数 100nm の発光膜を作製でき、高い効率で発光することを確認した。電子線を照射することによって ZnO 膜よりも 10 倍以上高い効率で発光することを確認した。



(a) 製膜条件と膜厚との関係



(b) 250nm の ZnO 膜の製膜結果



(c) 電子線による発光強度

図 2. ZnO の薄膜化と電子線励起による発光

## (2) 微小光源励起システムの設計

電子線による微小光源を励起するための基礎システムを検討した。これまでの基礎データは、現有の電子源にタングステンによる熱電子放出を用いた走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて取得してきた。熱電子放出の電子源では、光源サイズが大きいと空間分解能が制限されるとともに、輝度をあげる点についても限界がある。本プロジェクトでは、10 ナノメートルの空間分解能を実現する基礎システムを設計する。高速に電子を走査するために、電界放出型SEM(FE-SEM)を基礎システムに用いる。FE-SEMのステージ部分を改造し、蛍光薄膜および試料台、光検出部を設置するとともに、大気圧と真空を分離するための構成について設計・検討し、対応可能な機種を選定を行った。

## (3) 光ナノイメージングのための生物試料のマニピュレーション法の検討

電子線照射をするためのSiN薄膜上に、標準的な細胞を培養する条件を探った。この基質は負に帯電しており、細胞膜に存在する陰性電荷を持つ分子との反発が起こり、接着しにくい。通常使われているポリリジンのような陽性電荷の分子を支持体の上にコーティングする方法では、多少の改善が見られたが、不安定な結果であった。これに対して、基質に対する紫外線照射を施すと、表面電荷量が変化すると考えられ、多くの場合に細胞の接着性が総じて高まる結果を得た。紫外線の波長と照射時間に対して詰めを行っている。

また、電子顕微鏡の観察方法と光学顕微鏡の観察方法を融合させる際の課題として、電子線照射は真空中で、光学観察は一気圧の水で行なう必要がある。この点を解決する可能性として、薄膜上に培養した細胞をイオン液体で覆って真空に露出するという方法を検討している。イオン液体は、水や油に溶けず第三の液体と呼ばれ、真空中で蒸発しないという特徴を持つ。この液体の各種性質を調べ、細胞に毒性のないものを候補として選り出した。次期においてこれ入手し、実際の毒性の有無を調べる予定である。

## 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 18 件)

1. 松村 行真, 居波 涉, 川田 善正, “自己組織多孔膜のナノ秒パルスレーザー照射による構造制御,” レーザー研究, 査読有, Vol.39, No.2, 2011, pp.129-132.

2. 宮川厚夫, 石川達也, 川田善正, “レーザーによる単一細胞分離の基礎的検討,” レーザー研究, 査読有, Vol.39, No.2, 2011, pp.123-128.
3. Yusuke Watanabe, Wataru Inami, Yoshimasa Kawata, “Deep-Ultraviolet Light Excites Surface Plasmon for the Enhancement of Photoelectron Emission,” Journal of Applied Physics, 査読有, Vol. 109, No. 2, 2011, pp. 023112.
4. Yukimasa Matsumura, Wataru Inami, and Yoshimasa Kawata, “Laser Light Control of Self-Organization Process,” Journal of Nonlinear Optical Physics & Materials (JNOPM), 査読有, Vol. 19, No. 4, 2010, pp. 745-751.
5. Masatoshi Tsuji, Wataru Inami, and Yoshimasa Kawata, “Alignment-Free Fiber Confocal Microscope and All-Fiber Optical System for Multilayered Optical Memories,” Jpn. J. Appl. Phys., 査読有, Vol. 49, No. 8, 2010, pp. 08KF03-01-06.
6. Keisuke Kato, Atsushi Ono, Wataru Inami, and Yoshimasa Kawata, “Plasmonic Nanofocusing Using a Metal-Coated Axicon Prism,” Optics Express, 査読有, Vol. 18, No. 13, 2010, pp. 13580-13585.
7. Chihiro Moriguchi, Wataru Inami, Chikara Egami, Yoshimasa Kawata, Susumu Terakawa, Masaaki Tsuchimori, and Osamu Watanabe, “Near-Field Recording Technique for High-Resolution Fluorescent Imaging,” Appl. Phys. Lett., 査読有, Vol. 96, 2010, pp. 2431.
8. Wataru Inami, Kentaro Nakajima, Atsuo Miyakawa, and Yoshimasa Kawata, “Electron Beam Excitation Assisted Optical Microscope with Ultra-High Resolution,” Optics Express, 査読有, Vol. 18, No. 21, 2010, pp. 12897-12902.
9. 川田 善正, 居波 涉, “電子線励起を利用した近接場光学顕微鏡,” 光学, 査読有, Vol. 39, No. 5, 2010, pp. 241-243.
10. Yoshimasa Kawata, Masatoshi Tsuji, and Wataru Inami, “Femtosecond Photonics for Three-Dimensional High Density Optical Data Storage,” Journal of Automation, Mobile Robotics & Intelligent System, 査読有, Vol. 3, No. 4, 2009, pp. 9-11.
11. A. S. M. Noor, M. Torizawa, A. Miyakawa, and Y. Kawata, “Simultaneous Observation of Single- and Two-Photon Excitation Photoluminescence on Optically Quenched Wide-Gap Semiconductor Crystals,” Appl. Phys. Lett., 査読有, Vol. 93, 2008, pp. 171107-1-3.

12. A. S. M. Noor, A. Miyakawa, Y. Kawata, and M. Torizawa, "Two-Photon Excited Luminescence Spectral Distribution Observation in Wide-Gap Semiconductor Crystals," Appl. Phys. Lett., 査読有, Vol. 92, No. 16, 2008, pp. 161106-1-2.

[学会発表] (計 93 件)

1. Yoshimasa Kawata and Wataru Inami, "Optical Nano-Imaging for Biotechnology," International Joint Symposium "Emerging Technologies in Nano-Bioscience", 2/28/2011, 静岡大学.
2. Yoshimasa Kawata, "Development of Compact Fiber Laser for Multilayered Optical Data Storage," CISD 18th International Consortium Meeting "The 10th Anniversary of CISD Consortium", 1/21/2011, Ramada Plaza Hotel, Jeju, Korea.
3. Wataru Inami, Yasunori Nawa, Atsuo Miyakawa, and Yoshimasa Kawata, "Development of Electron Beam Excitation Assisted (EXA) Optical Microscope," Joint Symposium for Nano Oriented Mechanical Engineering and its Applications to Optical Memory, 6/25/2010, Industry-University Research Center, Yonsei University, Seoul, Korea.
4. Yoshimasa Kawata, "Development of Compact Femtosecond Fiber Laser and Alignment Free Confocal System for Multilayered Optical Memory," Optical Data Storage, 5/24/2010, UMC/Univ. of Colorado at Boulder, Boulder, Colorado, USA.
5. Yoshimasa Kawata and Wataru Inami, "High Resolution Optical Microscopy with Electron Beam Excitation," the 7th Asia-Pacific Laser Symposium jointly organized with the 9th Advanced Lasers and Their Applications, 5/13/2010, Seogwipo KAL Hotel, Jeju Island, Korea.
6. Masatoshi Tsuji, Tatsuya Tsukamoto, Wataru Inami, Yoshimasa Kawata, Masaharu Ito, "Parallel Signal Readout for Roll-Type Optical Advanced Memory," International Symposium on Optical Memory 2010 (ISOM'10), 10/26/2010, Parkview Hotel, Hualien, Taiwan.
7. Yukimasa Matsumura, Wataru Inami, Yoshimasa Kawata, "Control of Self-organization Microporous Honeycomb Film by the Irradiation of Nano Second Laser Pulse," International Symposium on Optomechatronic Technologies

(ISOT2010), 10/25/2010, Metro Tronto Convention Center, Tronto, Ontario, Canada.

8. Yasunori Nawa, Wataru Inami, Atsuo Miyakawa, and Yoshimasa Kawata, "Development of Ultrahigh-Resolution Fluorescence Microscope for Live Cell Imaging with Focused Electron Beam Excitation," 17th International Microscopy Congress (IMC17), 9/21/2010, Windsor Barra Convention Center, Rio de Janeiro, Brazil.
9. Wataru Inami, Yasunori Nawa, Atsuo Miyakawa, and Yoshimasa Kawata, "Electron Beam Excitation Assisted Optical Microscope With High Resolution," 17th International Microscopy Congress (IMC17), 9/23/2010, Windsor Barra Convention Center, Rio de Janeiro, Brazil.
10. Wataru Inami, Yasunori Nawa, Atsushi Ono, Atsuo Miyakawa, Yoshimasa Kawata, and Susumu Terakawa, "Nano-imaging with Electron-beam Excitation Assisted Optical Microscope," 11th International Conference on Near-Field Optics, Nanophotonics & Related Techniques, 9/1/2010, Yingjie Exchange Center, Peking University, Beijing, China.

[その他]

ホームページ等

<http://optsci.eng.shizuoka.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

川田 善正 (KAWATA YOSHIMASA)  
静岡大学・工学部・教授  
研究者番号：70221900

### (2) 研究分担者

金子 透 (KANEKO TORU)  
静岡大学・工学部・教授  
研究者番号：50293600  
江上 力 (EGAMI CHIKARA)  
静岡大学・工学部・教授  
研究者番号：70263600  
居波 涉 (INAMI WATARU)  
静岡大学・若手グローバル研究リーダー育成拠点・特任助教  
研究者番号：30542815  
宮川 厚夫 (MIYAKAWA ATSUO)  
静岡大学・工学部・学術研究員  
研究者番号：10283376