

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2020-177915  
(P2020-177915A)

(43) 公開日 令和2年10月29日(2020. 10. 29)

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)  
HO 1 J 37/20 (2006.01) HO 1 J 37/20 A 5 C O O 1

審査請求 未請求 請求項の数 9 O L (全 16 頁)

(21) 出願番号 特願2020-75216 (P2020-75216)  
(22) 出願日 令和2年4月21日(2020. 4. 21)  
(31) 優先権主張番号 特願2019-81281 (P2019-81281)  
(32) 優先日 平成31年4月22日(2019. 4. 22)  
(33) 優先権主張国・地域又は機関  
日本国(JP)

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

(71) 出願人 504133110  
国立大学法人電気通信大学  
東京都調布市調布ケ丘一丁目5番地1  
(74) 代理人 100107766  
弁理士 伊東 忠重  
(74) 代理人 100070150  
弁理士 伊東 忠彦  
(72) 発明者 サンドウー アダルシュ  
東京都調布市調布ケ丘一丁目5番地1 国立大学法人電気通信大学内  
(72) 発明者 雪野 瞭治  
東京都調布市調布ケ丘一丁目5番地1 国立大学法人電気通信大学内

最終頁に続く

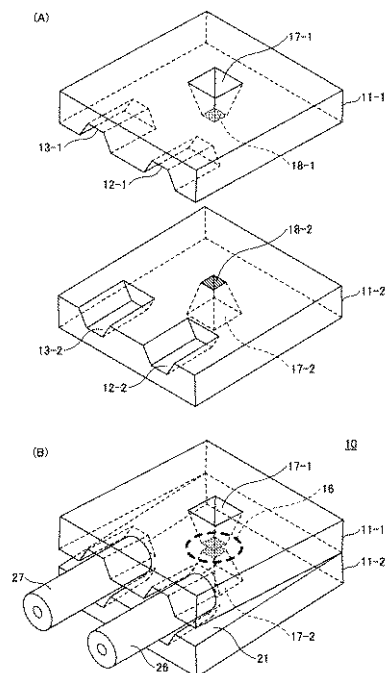
(54) 【発明の名称】 顕微観察セル、及び顕微観察セルの作製方法

(57) 【要約】

【課題】一つのセルでサイズの異なる複数の試料の顕微観察を可能にする顕微観察セルを提供する。

【解決手段】顕微観察セルは、観察ビームを通過させる第1の窓と試料供給チューブを受け取る第1溝とが形成された第1基板と、試料透過後の前記観察ビームを通過させる第2の窓と前記試料供給チューブを受け取る第2溝が形成された第2基板と、を有し、前記第1基板と前記第2基板は、前記第1溝と前記第2溝が互いに向かい合うように配置され、かつ前記第1基板と前記第2基板の間に所定の角度で拡がる空間が形成されるように組み合わされている。

【選択図】 図2



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

観察ビームを通過させる第 1 の窓と、試料供給チューブを受け取る第 1 溝とが形成された第 1 基板と、

試料透過後の前記観察ビームを通過させる第 2 の窓と、前記試料供給チューブを受け取る第 2 溝が形成された第 2 基板と、

を有し、

前記第 1 基板と前記第 2 基板は、前記第 1 溝と前記第 2 溝が互いに向かい合うように配置され、かつ前記第 1 基板と前記第 2 基板の間に所定の角度で広がる空間が形成されるように組み合わせられている、

ことを特徴とする顕微観察セル。

10

**【請求項 2】**

前記第 1 溝と前記第 2 溝は、前記第 1 基板と前記第 2 基板の第 1 エッジから基板面内の所定の位置まで延びており、

前記第 1 基板と前記第 2 基板の間の距離は、前記第 1 エッジに向かって大きくなっていることを特徴とする請求項 1 に記載の顕微観察セル。

**【請求項 3】**

前記空間はセル内の流路を形成し、前記第 1 溝と前記第 2 溝は、前記空間と連通していることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の顕微観察セル。

**【請求項 4】**

前記第 1 基板と前記第 2 基板の角度を前記所定の角度に保ったまま、前記第 1 基板と前記第 2 基板の外周を覆う封止層、

をさらに有することを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の顕微観察セル。

20

**【請求項 5】**

前記第 1 の窓は前記第 1 基板の厚さ方向に形成されており、

前記第 2 の窓は前記第 2 基板の厚さ方向に形成されており、

前記第 1 の窓の中心軸は、前記の第 2 の窓の中心軸に対して前記所定の角度で傾いていることを特徴とする請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の顕微観察セル。

**【請求項 6】**

前記第 1 基板に、複数の前記第 1 の窓が形成されており、

前記第 2 基板に、複数の前記第 2 の窓が形成されている、

請求項 5 に記載の顕微観察セル。

30

**【請求項 7】**

前記第 1 の窓と前記空間の間に配置され、使用波長に対して透明な第 1 の薄膜と、

前記第 2 の窓と前記空間の間に配置され、前記使用波長に対して透明な第 2 の薄膜と、

をさらに有することを特徴とする請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の顕微観察セル。

**【請求項 8】**

請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載の顕微観察セルと、

前記試料供給チューブによって前記空間内に注入された試料と、

を有し、前記第 1 基板と前記第 2 基板は、前記空間内に前記試料が収容された状態で封止されていることを特徴とするサンプルチップ。

40

**【請求項 9】**

第 1 基板に、観察ビームを通過させる第 1 の窓と、試料供給チューブを受け取る第 1 溝を形成し、

第 2 基板に、試料透過後の前記観察ビームを通過させる第 2 の窓と、前記試料供給チューブを受け取る第 2 溝を形成し、

前記第 1 溝と前記第 2 溝を向かい合わせにして前記試料供給チューブを挿入し、前記第 1 基板と前記第 2 基板の間に所定の角度で広がる空間が形成された状態で前記第 1 基板と前記第 2 基板を固定する、

ことを特徴とする顕微観察セルの作製方法。

50

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は、粒子線または光線の照射下での顕微観察に使用されるセルと、その作製方法に関する。

**【背景技術】****【0002】**

電子線顕微鏡、レーザー顕微鏡などで、粒子線または光線を対象物に照射して顕微観察する際に、試料をセルまたはカプセル内に封入して顕微観察システムの試料室に導入する。顕微観察用のセルまたはカプセル（以下、単に「セル」と呼ぶ）は、一般に、観察ビームを透過させる窓を持っており、試料を収容するセル内の空間は、一定の高さに形成されている（たとえば、特許文献1、及び特許文献2参照）。

10

**【先行技術文献】****【特許文献】****【0003】**

**【特許文献1】**特開2017-224510号公報

**【特許文献2】**特開2013-187096号公報

**【発明の概要】****【発明が解決しようとする課題】****【0004】**

従来のセル構造は、単一の大きさの試料を測定する場合には適しているが、血液等のように、ナノスケールからマイクロスケールまでの様々な大きさの試料が流体中に存在する場合は、目的と用途に応じて用いるセルの流路の高さを変える必要がある。しかし、従来型のセルはセル構造が固定的であるため、あらかじめ流路の高さが異なる複数種類のセルを準備する必要がある。

20

**【0005】**

本発明は、一つのセルでサイズの異なる複数の試料の顕微観察を可能にする顕微観察セルを提供することを目的とする。

**【課題を解決するための手段】****【0006】**

本発明の一態様では、顕微観察セルは、観察ビームを通過させる第1の窓と、試料供給チューブを受け取る第1溝とが形成された第1基板と、

30

試料透過後の前記観察ビームを通過させる第2の窓と、前記試料供給チューブを受け取る第2溝が形成された第2基板と、を有し、

前記第1基板と前記第2基板は、前記第1溝と前記第2溝が互いに向かい合うように配置され、かつ前記第1基板と前記第2基板の間に所定の角度で広がる空間が形成されるように組み合わせられている。

**【発明の効果】**

40

**【0007】**

一つのセルでサイズの異なる複数の試料の顕微観察が可能になる。

**【図面の簡単な説明】****【0008】**

**【図1】**従来型の顕微観察セルへの試料の導入を示す模式図である。

**【図2】**実施形態の顕微観察セルの構成を示す模式図である。

**【図3】**図2の顕微観察セルの断面模式図である。

**【図4】**顕微観察セルの斜め流路に試料が充填された状態の拡大模式図である。

**【図5】**顕微観察セルの作製を説明する図である。

**【図6】**顕微観察セル内に試料を封入したサンプルチップの模式図である。

50

- 【図 7】外周を真空シール剤で封止したサンプルチップのSEM像である。
- 【図 8】複数の観察窓を有するサンプルチップの模式図である。
- 【図 9】図 8 で用いる顕微観察セルの断面模式図である。
- 【図 10】実施形態の顕微観察セルが適用される顕微システムの一例を示す図である。
- 【図 11】図 10 のシステムでの観察方法のフローチャートである。
- 【図 12】顕微観察セル内への試料の導入を説明する図である。
- 【図 13】顕微観察セル内に流体の試料が導入される様子を示す画像である。
- 【図 14】TEM内部での顕微観察セルの真空テストの評価結果を示す図である。
- 【図 15】TEM内部での顕微観察セルの真空テストの評価結果を示す図である。
- 【図 16】電子線の試料透過を示す図である。
- 【図 17】電子線による試料の照射後のセル内部の状態を示すSEM像である。
- 【図 18】顕微観察セル内を移動する磁性粒子のTEM像である。

10

【発明を実施するための形態】

【0009】

実施形態では、簡単な構成の単一のセルで、異なるスケール（たとえば、ナノスケールからマイクロスケールまで）の大きさの試料の顕微観察を実現する。この明細書と特許請求の範囲で「顕微観察」というときは、光学顕微観察のみならず、電子顕微観察、その他の粒子線顕微観察も含むものとする。顕微観察セルを構成する2枚の基板またはチップを、所望の角度で傾斜を持たせて組み合わせることで、基板の間に傾きを持つ流路を形成する。2枚の基板に形成された溝内に試料供給用のチューブを挟むことで、一方の基板は他方の基板に対して斜めに傾き、かつ、溝内にチューブを挿入することで、2枚の基板は面内方向で自己整合的に位置合わせされる。

20

【0010】

実施形態の構成の詳細を説明する前に、従来型の顕微観察セル内に試料を導入するときの課題を、もう少し詳しく説明する。

【0011】

図1は、従来型の顕微観察セルへの試料の導入を示す模式図である。第1基板101-1と第2基板101-2の互いに向かい合う面に、流路を構成する空間と、試料供給チューブを受け取る溝が形成され、基板の厚さ方向に、ビームを通過させる窓が形成されている。

30

【0012】

具体的には、第1基板101-1の第1の面から、流路側の第2の面に向かって窓107-1が形成され、窓107-1の底面に薄膜108-1が設けられている。第2基板101-2の第1の面から、流路側の第2の面に向かって窓107-2が形成され、窓107-2の底面に薄膜108-2が設けられている。ここで、「底面」というときは、窓を作製するプロセスでのエッチング進行方向での底面を差す。

【0013】

第1基板101-1の第2の面に形成されている溝102-1と溝103-1は、流路104-1と流路105-1に、それぞれつながっている。流路104-1と流路105-1は、窓107-1の底面で互いに連結して、一つの空間が形成される。

40

【0014】

第2基板101-2の第2の面に形成されている溝102-2と溝103-2は、流路104-2と流路105-2に、それぞれつながっている。流路104-2と流路105-2は、窓107-2の底面で互いに連結して、一つの空間が形成される。

【0015】

溝102-1と溝102-2を向かい合わせにし、溝103-1と溝103-2を向かい合わせにして、第1基板101-1と第2基板101-2を貼り合わせると、挿入孔102及び103が形成される。また、窓107-1の底面の薄膜と、窓107-2の底面の薄膜の間に、ほぼ平行な空間が形成される。この平行な空間は、観察用のビームが透過する観察チャンバ106となる。

50

## 【 0 0 1 6 】

挿入孔 1 0 2 及び 1 0 3 に試料供給チューブ 2 0 6 及び 2 0 7 が挿入され、試料を含む流体が注入されると、流路 1 0 4 と流路 1 0 5 は徐々に試料で満たされ、最終的に、観察チャンバー 1 0 6 も試料で満たされる。

## 【 0 0 1 7 】

この構成では、観察チャンバー 1 0 6 の高さが一定であり、観察チャンバー 1 0 6 の空間サイズよりも小さい試料しか観察できない。観察チャンバー 1 0 6 は流路 1 0 4 及び 1 0 5 と比較して非常に狭い空間なので、注入される試料のサイズ、粘度等によっては、試料は観察チャンバー 1 0 6 に入ることができず、観察ビームを照射しても、何も観察されない。さらに、流路 1 0 4 - 1 と 1 0 5 - 1 が窓 1 0 7 - 1 の底面位置で連結され、流路 1 0 4 - 2 と 1 0 5 - 2 が窓 1 0 7 - 2 の底面位置で連結された複雑な形状は、高い加工精度を要する。

10

## 【 0 0 1 8 】

以下で述べる実施形態の構成は、従来型のセルにおけるこれらの課題の少なくとも一部を解決する。

## 【 0 0 1 9 】

< 実施形態の構成 >

図 2 は、実施形態の顕微観察セル 1 0 の構成を示す模式図である。従来型のセルと異なり、実施形態では、2 枚の基板の間に、試料導入方向に沿って体積または高さに勾配を持つ空間を形成するように、一方の基板を他方の基板に対して斜めに傾けて組み合わせる。

20

## 【 0 0 2 0 】

図 2 の ( A ) に示すように、顕微観察セル 1 0 は、第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 の組み合わせによって形成されている。第 1 基板 1 1 - 1 の、第 2 基板 1 1 - 2 との対向面に、溝 1 2 - 1 と溝 1 3 - 1 が形成され、反対側の面に、観察ビームを通過させる窓 1 7 - 1 が形成されている。窓 1 7 - 1 の底面に、薄膜 1 8 - 1 が設けられている。

## 【 0 0 2 1 】

第 2 基板 1 1 - 2 の、第 1 基板 1 1 - 1 との対向面に、溝 1 2 - 2 と溝 1 3 - 2 が形成され、反対側の面に、試料を透過後の観察ビームを通過させる窓 1 7 - 2 が形成されている。窓 1 7 - 2 の底面に、薄膜 1 8 - 2 が設けられている。薄膜 1 8 - 1 と薄膜 1 8 - 2 の間に形成される空間が、観察チャンバー 1 6 となる。

30

## 【 0 0 2 2 】

図 2 の ( B ) に示すように、組み立て時に、第 1 基板 1 1 - 1 の溝 1 2 - 1 及び溝 1 3 - 1 を、第 2 基板 1 1 - 2 の溝 1 2 - 2 及び溝 1 3 - 2 と向かい合わせにする。溝 1 2 - 1 と溝 1 2 - 2 で形成される空間に、試料供給チューブ 2 6 が挿入される。また、溝 1 3 - 1 と溝 1 3 - 2 で形成される空間に、試料供給チューブ 2 7 が挿入される。

## 【 0 0 2 3 】

試料供給チューブ 2 6、及び 2 7 は、溝 1 2 - 1 と 1 2 - 2、及び溝 1 3 - 1 と 1 3 - 2 の奥の壁に当接し、第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 の面内方向の位置を規定する。

## 【 0 0 2 4 】

第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 の間に形成される空間の傾斜は、試料供給チューブ 2 6 及び 2 7 の外径と、溝 1 2 - 1、1 2 - 2、1 3 - 1、1 3 - 2 の深さの少なくとも一方によって決まる。チューブの径が大きいほど、あるいは溝が浅いほど、第 1 基板 1 1 - 1 の第 2 基板 1 1 - 2 に対する傾斜角度が大きくなり、基板間に形成される空間の傾きは大きくなる。

40

## 【 0 0 2 5 】

溝 1 2 - 1、1 2 - 2、1 3 - 1、及び 1 3 - 2 の深さと形状は、図 1 の従来型セルの複雑な流路のエッチングと比較して、容易に制御できる。

## 【 0 0 2 6 】

試料供給チューブ 2 6 及び 2 7 の挿入により、第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 の

50

間に形成される傾斜空間の全体が、流路 2 1 となる。流路 2 1 は、第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 の対向面の面積に相当する広さをもつ。試料が供給される側で流路 2 1 の高さが高くなっているため、試料は観察チャンバー 1 6 に円滑に導入される。

【 0 0 2 7 】

試料供給チューブの数は 2 本に限定されず、1 本でもよい。その場合は、第 1 基板 1 1 - 1 の溝 1 2 - 1 と、第 2 基板 1 1 - 2 の溝 1 2 - 2 を、エッジのほぼ中央部から窓 1 7 の近傍まで延びるように形成する。試料供給チューブが 1 本の場合も、第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 の間に相対的な傾きをつけることができる。また、第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 を、面内方向で自己整合的に位置合わせすることができる。

【 0 0 2 8 】

図 3 は、図 2 の顕微観察セル 1 0 の断面模式図である。第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 が組み立てられた状態で、窓 1 7 - 1 と窓 1 7 - 2 は、照射方向（Z 方向）に位置がそろっている。ただし、いずれか一方の基板が、他方の基板に対して傾斜していることで、窓 1 7 - 1 の Z 軸方向の中心軸 C 1 と、窓 1 7 - 2 の Z 軸方向の中心軸 C 2 は、第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 の相対的な傾きに相当する角度でずれている。窓 1 7 - 1 と窓 1 7 - 2 の中心軸のずれは、窓 1 7 の内部の空間に吸収される程度のずれなので、観察ビーム、たとえば電子線 E B の透過に支障はない。

【 0 0 2 9 】

第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 の間に、くさび型またはプリズム型の流路 2 1 が形成されている。使用時に、流路 2 1 は試料供給チューブ 2 6 から注入された流体の試料 S で満たされている。流路 2 1 のうち、窓 1 7 - 1 の底面の薄膜 1 8 - 1 と、窓 1 7 - 2 の底面の薄膜 1 8 - 1 の間の空間が観察チャンバー 1 6 となる。

【 0 0 3 0 】

電子線顕微鏡に、顕微観察セル 1 0 が図 3 の向きで設置された場合、電子線 E B は、第 1 基板 1 1 - 1 の窓 1 7 - 1 から入射して、薄膜 1 8 - 1 を透過して、試料 S と相互反応する。試料 S を透過した電子線 E M は、薄膜 1 8 - 2 を透過して、窓 1 7 - 2 から出射する。顕微観察セル 1 0 の置き方によっては、電子線は逆に第 2 基板 1 1 - 2 の窓 1 7 - 2 から入射して、第 1 基板の窓 1 7 - 1 から出射する。

【 0 0 3 1 】

図 4 は、顕微観察セル 1 0 に試料 S が充填された状態の拡大模式図である。第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 の間の距離は、試料 S が供給される方向に沿って徐々に小さくなり、高さが傾斜した流路 2 1 が形成されている。流路 2 1 のうち、窓 1 7 - 1 と窓 1 7 - 2 によって観察ビームが透過する領域が、観察チャンバー 1 6 である。

【 0 0 3 2 】

観察チャンバー 1 6 でも、Z 方向の高さが傾斜している。したがって、観察チャンバー 1 6 内には、異なるサイズの試料 S が共存し得る。観察チャンバー 1 6 で、観察ビームによる観察位置を変えることで、異なるサイズの複数の試料を観察できる。従来構成のセルでは困難であった同一セル内での混合溶液の観察が可能になる。

【 0 0 3 3 】

図 5 は、実施形態の顕微観察セル 1 0 の作製を説明する図である。図 5 の ( A ) は、顕微観察セル 1 0 を観察ビームの入射側からみた上面図である。基板 1 1 - 1 の表面に、窓 1 7 - 1 が形成されている。窓 1 7 - 1 は、所定の角度で徐々に狭くなるテーパ形状を有し、窓 1 7 - 1 の底面に薄膜 1 8 - 1 が形成されている。

【 0 0 3 4 】

基板 1 1 - 1 の裏面に、一つのエッジから窓 1 7 - 1 の近傍に向かって、溝 1 2 - 1 と溝 1 3 - 1 が形成されている。

【 0 0 3 5 】

図 5 の ( B ) は、図 5 の ( A ) の I - I' ラインで見たときの組み立て前の第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 の断面図である。第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 は同じ方法で形成されるので、第 1 基板 1 1 - 1 に着目して説明する。

10

20

30

40

50

## 【0036】

第1基板11-1は、たとえばシリコン基板であり、両面にシリコン窒化膜、シリコン酸化膜、シリコン酸窒膜などの薄膜を形成する。一例として、シリコン窒化膜の薄膜を形成する。

## 【0037】

シリコン基板の一方の面で、フォトリソグラフィ法等により、窓17-1に相当する領域のシリコン窒化膜を部分的にエッチング除去して、シリコン基板の第1面を一部露出する。シリコン基板に残るシリコン窒化膜をマスクとして用い、たとえばKOH等のアルカリ溶液による異方性エッチングを行って、シリコン基板に窓17-1を形成する。他方の面のシリコン窒化膜はエッチングストッパとして機能する。KOH溶液を用いてシリコン基板の(111)面からエッチングすると、54.7°の角度で傾斜するエッチング面が得られる。

10

## 【0038】

次に、窓17-1が形成された面を、再度シリコン窒化膜で覆い、反対側の面で、溝12-1と13-1に相当する領域のシリコン窒化膜を部分的にエッチング除去して、シリコン基板の第2面を一部露出する。露出面からKOH等のアルカリ溶液による異方性エッチングを行うことで、断面形状が台形の溝12-1と溝13-1が形成される。溝12-1と溝13-1の深さは、エッチング時間、エッチング量等を制御することで調整可能である。

## 【0039】

残存するシリコン窒化膜を除去し、少なくとも窓17-1の底面を覆う薄膜18-1を形成する。第2基板11-2も同じ手順で作製される。

20

## 【0040】

図5の(C)で、第1基板11-1と第2基板11-2を組み合わせる。溝12-1と溝12-2を対向させ、試料供給チューブ26を差し込んで、第1基板11-1と第2基板11-2を面内方向で位置合わせする。これと同時に、第1基板11-1と第2基板11-2の間に、斜めの空間が形成される。この斜めの空間は、流路21となる。

## 【0041】

第1基板11-1と第2基板11-2の間の角度は、溝12-1、13-1の深さと、試料供給チューブ26の径の少なくとも一方で決まる。上述のように、溝12-1と溝13-1の加工制御は比較的容易なので、観察対象、目的、使用されるチューブ等に応じて適切に加工することができる。

30

## 【0042】

試料供給チューブ26、27を挿入した後に、顕微観察セル10の外周を樹脂等で封止してもよい。

## 【0043】

図6は、顕微観察セル10に試料が注入されたサンプルチップ20の模式図である。シリンジ等を用いて、チューブ26または27から試料を含む流体を顕微観察セル10の流路21(図5(C)参照)内に注入し、注入後にシール材22で顕微観察セル10の周囲を封止してサンプルチップ20とする。封止される試料が生体試料の場合は、バイオチップとして用いることができる。試料の注入後に、チューブ26と27を適切な長さにカットして、チューブ端部を封止してもよい。サンプルチップ20内で、試料を空気に触れさせずに保存することができ、所望のタイミングで試料を顕微観察することができる。斜めに傾斜する流路21内に、大きさの異なる複数種類の試料を保存することができ、ひとつのサンプルチップ20で複数の試料を観察することができる。

40

## 【0044】

図7は、実際に作製したサンプルチップ20の走査電子顕微鏡(SEM: Scanning Electron Microscope)像である。顕微観察セルの表面に観察窓(図6の「窓17」に対応する)が形成されており、外周が真空シール剤で覆われて密封されている。サンプルチップ20を透過型電子顕微鏡(TEM: Transmission Electron Microscope)の内部で使用する

50

る場合等は特に、リークを防止する必要がある。その場合は、真空シール剤を二重に塗布する等して、高真空を維持できる構成にしてもよい。

【0045】

図8は、マルチウィンドウ型のサンプルチップ20Aの模式図である。サンプルチップ20Aは、試料が封止される顕微観察セル10Aと、顕微観察セル10Aに接続される試料供給チューブ26、及び27を有する。顕微観察セル10Aには、複数の窓17a~17dが設けられている。各窓17a~17dの底部に薄膜18が位置する。

【0046】

顕微観察セル10Aは、上述したように、高さ方向に勾配がつけられた内部空間を有する。顕微観察セル10Aは循環型のセルであり、試料に含まれる分子あるいは粒子は、セルの内部を流動することができる。複数の窓17a~17dを設けることで、観察可能な範囲が広がる。窓17の位置によって粒子の流れが異なるため、複数の窓17a~17dを通して観察することで、効率のよい顕微観察が実現される。

10

【0047】

図9は、図8の顕微観察セル10Aの断面模式図である。第1基板11-1に、観察ビームを通過させる窓17-1a、及び17-1cが形成されている窓17-1aと窓17-1cの底面に、薄膜18-1が設けられている。第2基板11-2に、試料Sを含む流体を透過した観察ビームを通過させる窓17-2a、及び17-2cが形成されている。窓17-2aと窓17-2cの底面に、薄膜18-2が設けられている。薄膜18-1と薄膜18-2の間に流路21、または観察チャンバーが形成される。

20

【0048】

異なる位置に設けられた窓17によって、流路21の異なる位置で試料Sを観察することができる。試料Sが異なる大きさや形状を持ち、異なる動きをする場合でも、複数粒子の動きを一度に観察することができる。

【0049】

図10は、顕微観察セル10の顕微システムへの適用例として、TEMへの適用を示す図である。顕微観察セル10はホルダ33に保持されて、TEM本体30に挿入される。この例では、サンプルチップ20を用いて、顕微観察セル10内に試料を供給しながらリアルタイムで試料を観察する。

【0050】

TEM本体30の内部に電子銃31が配置され、電子銃31から電子線が出力される。顕微観察セル10は、電子線が窓17-1及び17-2を透過するように、ホルダ33で保持されている。シリンジ35から試料供給チューブ26または27を介して、顕微観察セル10の流路21内に試料を含む流体が注入される。窓17-1から入射して、流路21の観察チャンバー16内の試料を透過した電子線は、窓17-2を通過して、検出器としての蛍光板32に入射する。蛍光板32上でTEM像が観察される。顕微観察後に、試料を含む流体は、廃液37としてチューブ34から排出されてもよい。

30

【0051】

図10では、図示の都合上、TEM本体30で用いられているコンデンサレンズ、中間レンズ、投射レンズ等の光学系は省略されている。顕微観察セル10は、TEMだけではなく、SEM、レーザ顕微鏡、顕微ラマン分光装置等でも使用可能である。

40

【0052】

図11は、顕微観察方法のフローチャートである。TEMホルダ等のチップホルダに顕微観察セル10（またはカプセルチップ）を装着する（S11）。顕微観察装置にチップホルダを挿入し（S12）、シリンジ等を用いて、外部から顕微観察セル10内に試料を含む流体（たとえば液体試料）を注入する（S13）。顕微観察セル10を用いることで、試料を含む流体は、斜めの流路21の一部である観察チャンバー16内に、確実に流れ込む。電子線、レーザ光線等の観察ビームを照射し（S14）、試料を透過、反射、あるいは散乱したビームから、観察像を得る（S15）。

【0053】

50



## &lt; 評価実験 &gt;

図 1 2 は、実施形態の顕微観察セル 1 0 内に確実に試料が注入されることを確認する実験装置の模式図である。窓 1 7 が形成された顕微観察セル 1 0 に、試料供給チューブ 2 6 と排出チューブが挿入された状態で、セルの外周が樹脂封止されている。試料供給チューブ 2 6 をアダプタ 3 6 でシリンジ 3 5 に接続し、シリンジ 3 5 から液体試料を注入する。

## 【 0 0 5 4 】

図 1 3 は、流路 2 1 内に、確実に液体試料が注入される様子を示す画像である。図 1 0 の ( A )、( B )、( C )、( D ) はそれぞれ、注入開始の 0 秒後、5 秒後、1 3 秒後、2 0 秒後の様子を窓 1 7 から観察したものである。注入開始直後 ( T = 0 秒 ) に、液体試料は矢印の方向に流れ込む。注入開始から、5 秒、1 3 秒と時間が経過するにつれて、液体試料は窓 1 7 を通過し、2 枚の基板の間の流路 2 1 は徐々に液体で満たされていく。2 0 秒後には気泡も消えて、流路 2 1 の全体が液体で満たされている。

10

## 【 0 0 5 5 】

図 1 の従来構成では、薄膜 1 0 8 - 1 と 1 0 8 - 2 の間の空間の高さは一定であり、空間の高さ未満の粒子しか観察できない。平行で狭い観察チャンパー内では、粒子が循環しにくく、ファンデルワールス力等によって、試料粒子が薄膜 1 0 8 - 1 または薄膜 1 0 8 - 2 に付着するおそれがある。さらには、観察チャンパー内への試料の導入自体が困難になる。

## 【 0 0 5 6 】

これに対し、実施形態の顕微観察セル 1 0 では、高さが傾斜する広い流路 2 1 内に試料が流れ込みやすい。観察チャンパー 1 6 を含む流路全体を、容易に試料で満たすることができる。

20

## 【 0 0 5 7 】

図 1 4 は、TEM 内部での顕微観察セル 1 0 の真空テストの評価結果である。横軸は時間、縦軸は TEM 内の圧力である。顕微観察セル 1 0 の外周をツールシールで封止し、さらに瞬間接着剤で封止したものを、TEM 本体内に配置して、観察期間中の TEM 内の圧力をモニタする。ターボ分子ポンプを用いて、 $10^{-4}$  Pa のオーダーまで真空引きを行う。その後、シリンジ 3 5 を用いてホルダ 3 3 の外部から空気を流し、顕微観察セル 1 0 及び試料供給チューブ 2 6 からのリークがないことを確認する。次に、ホルダ 3 3 に顕微観察セル 1 0 をセットしたまま、TEM 本体 3 0 に挿入して真空テストを行う。

30

## 【 0 0 5 8 】

顕微観察セル 1 0 は、2 枚の基板間にくさび型の広い流路を有するが、外周を真空シールすることで試料の漏れがなく、TEM 本体 3 0 内を電子線照射が可能な真空度 ( $1 \times 10^{-4}$  Pa 以下) に維持することができる。

## 【 0 0 5 9 】

図 1 5 は、図 1 4 の測定結果の縦軸のスケールを変え、TEM 使用基準値と比較して示す図である。顕微観察セル 1 0 内に液体試料を封止した状態で、3 0 分間観察を行った場合でも、TEM 観察に必要な真空度が保たれ、長時間の観察が可能である。

## 【 0 0 6 0 】

図 1 6 は、電子線の試料透過を示す図である。図 1 6 の ( A ) は、流路 2 1 内が空気だけの場合の観察画像である。電子線が空気だけの流路 2 1 をそのまま透過して、蛍光板に当たると、蛍光板は緑色に光る。その蛍光をパーソナルコンピュータに取り込んだイメージが図 1 3 の ( A ) である。

40

## 【 0 0 6 1 】

図 1 6 の ( B ) は、液体試料の導入直後の PC 上での取得イメージである。TEM の加速電圧を 2 0 0 k V に設定し、超純水に流刑が 4 0 n m の金粒子を拡散させた液体試料 ( 5 % の金粒子とともに、界面活性剤である Tween 2 0 を 1 % 含む ) を注入する。液体試料は流路 2 1 内に入り込み、電子線が金粒子で散乱されて、取得イメージのコントラストが変化する。図 1 6 の ( C ) は、液体試料の導入から 9 秒後の取得イメージである。電子線の照射によって、流路 2 1 内で金粒子が熔融し、電子線がほとんど透過していない。

50

## 【 0 0 6 2 】

図 1 7 は、図 1 6 の ( C ) の時点での流路 2 1 の S E M 画像である。金ナノ粒子の試料を T E M で観察した後、顕微観察セルを分解して S E M で画像をとったものである。電子線によって、流路 2 1 内の金粒子が溶融した結果、窓 1 7 - 1 の底部の薄膜 1 8 - 1、及び窓 1 7 - 2 の底部の薄膜 1 8 - 2 に、溶融した金が付着し、電子線の透過を妨げている。窓 1 7 - 1 と 1 7 - 2 で形成される観察用の窓 1 7 は、図 1 7 の S E M 画像の中央部の四角形の領域に対応する。流路 2 1 内の試料が、電子線によって確実に照射されていることが示されている。

## 【 0 0 6 3 】

図 1 8 は、顕微観察セル 1 0 内を移動する磁性粒子の T E M 像である。T E M 観察に先立って、顕微観察セル 1 0 の窓 1 7 の底面に、ピント合わせ用のパターンを形成する。一例として、窓 1 7 を覆う薄膜 2 1 の流路 2 1 側の面に、金膜の蒸着により  $5 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$  のパターンを、 $5 \mu\text{m}$  間隔で形成する。

## 【 0 0 6 4 】

液体試料として、界面活性剤である Tween 2 0 を 1 %、粒径が  $250 \text{nm}$  の磁性粒子 (密度が  $10 \text{mg/ml}$ ) を 0.5 % 含む溶液を調整する。磁性粒子は、ナノサイズの酸化鉄粒子をポリマーで覆ったものである。T E M の加速電圧を  $200 \text{kV}$  に設定し、シリンジ 3 5 (図 1 0 参照) を用いて、T E M 本体 3 0 内にセットされた顕微観察セル 1 0 に、液体試料を注入する。倍率 4 5, 0 0 0 倍で磁性粒子を観察する。

## 【 0 0 6 5 】

図 1 8 で大きな円形の像は、窓 1 7 の底面に形成されたピント合わせ用の金マークである。「ビーズ ( 1 )」及び「ビーズ ( 2 )」で示す小さな黒丸が、粒径  $250 \text{nm}$  の磁性粒子である。観察 0 秒後の状態を基準にすると、観察 3 秒後で、磁性粒子が画像の右上から左下の方向に向かって流れていく様子が観察される。このときの流速は、およそ  $1 \mu\text{m/s}$  である。

## 【 0 0 6 6 】

以上述べたように、実施形態の顕微観察セル 1 0 によると、2 枚の基板の間に、勾配を有する広い流路が形成される。流路の勾配は、試料供給チューブの径、またはチューブを受け取る溝 1 2 及び 1 3 の深さの少なくとも一方を調整することで、制御可能である。試料供給側の流路 2 1 の高さを、たとえば数十  $\mu\text{m}$  から数百  $\mu\text{m}$  に設定し、試料供給側と反対側の端部での流路 2 1 の高さを  $1 \mu\text{m}$  以下に設定することができる。

## 【 0 0 6 7 】

2 枚の基板の間に形成されるくさび型の広い空間内に、サイズの異なる複数種類の試料を導入することができる。導入された試料は、流路内で循環可能であり、一度の顕微観察で複数種類の試料を観察することができる。

## 【 0 0 6 8 】

さらに、第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 の組み立て時に、溝 1 2 及び溝 1 3 内に試料供給チューブを挿入することで、面内で第 1 基板 1 1 - 1 と第 2 基板 1 1 - 2 が自己整合的にアライメントされる。また、基板の厚さ方向で、窓 1 7 - 1 と窓 1 7 - 2 の位置がそろふ。

## 【 0 0 6 9 】

試料の採取後に、採取した試料を顕微観察セル 1 0 内に注入して封止することで、試料を空気に晒さずに保存するサンプルチップが得られる。顕微観察セル 1 0 は、試料の顕微観察だけでなく、試料の保存にも有効である。

## 【 符号の説明 】

## 【 0 0 7 0 】

1 0、1 0 A 顕微観察セル

1 1 - 1 第 1 基板

1 1 - 2 第 2 基板

1 2、1 2 - 1、1 2 - 2、1 3、1 3 - 1、1 3 - 2 溝

10

20

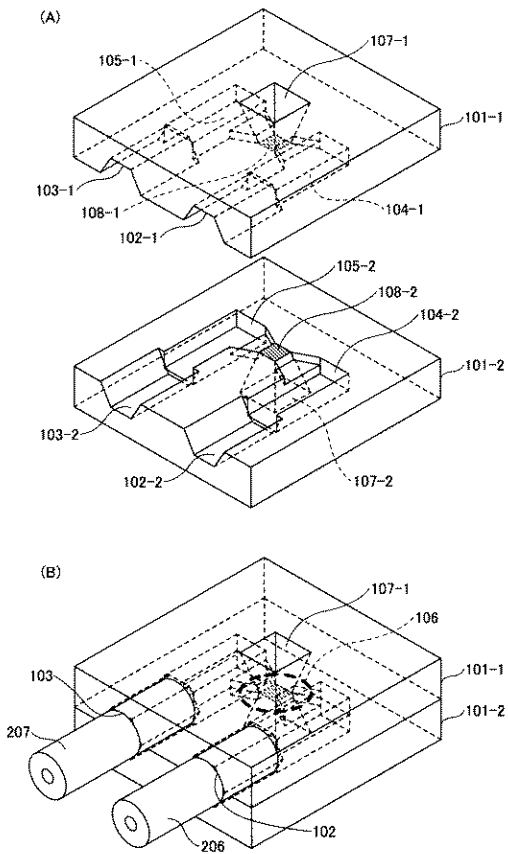
30

40

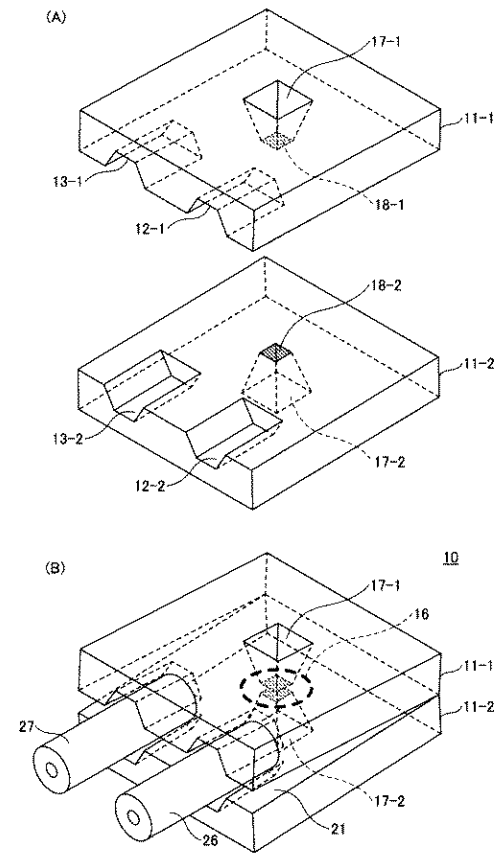
50

- 16 観察チャンバー
- 17、17a~17d、17-1、17-2 窓
- 18-1、18-2 薄膜
- 20、20A サンプルチップ
- 21 流路
- 26、27 試料供給チューブ
- C1、C2 中心軸
- E B 観察ビーム
- S 試料

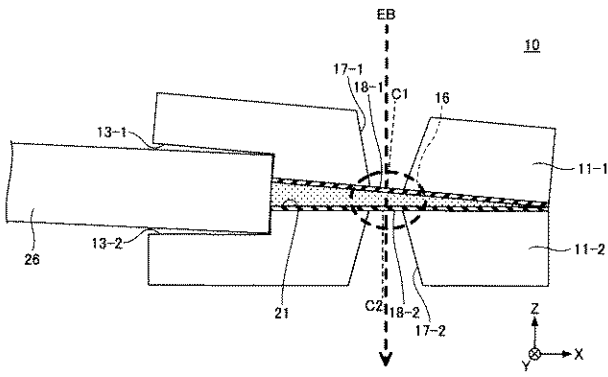
【図1】



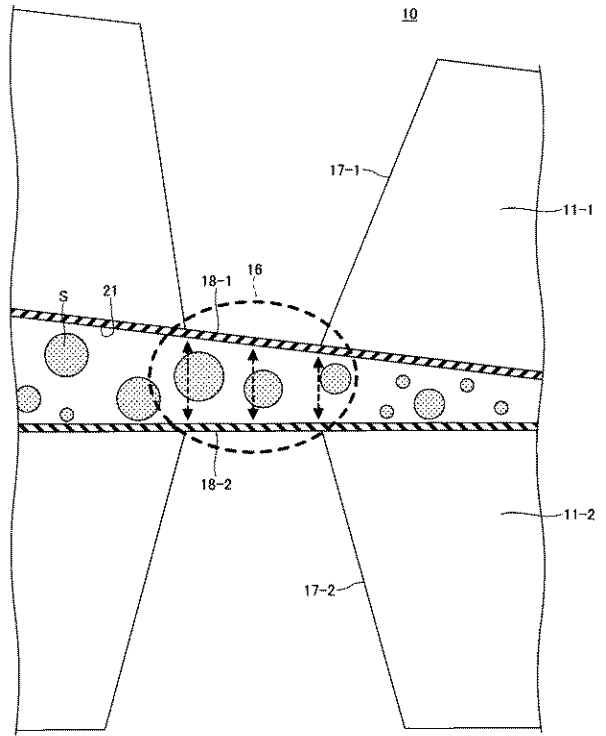
【図2】



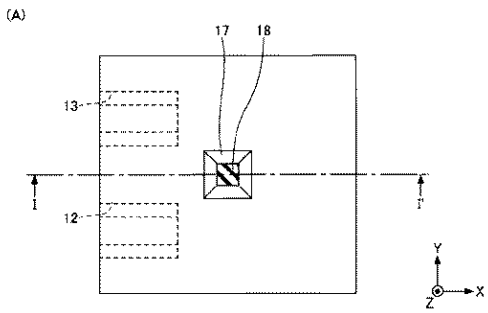
【図3】



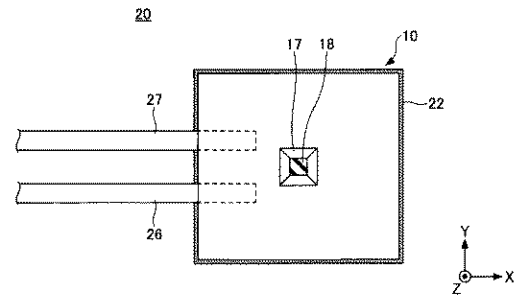
【図4】



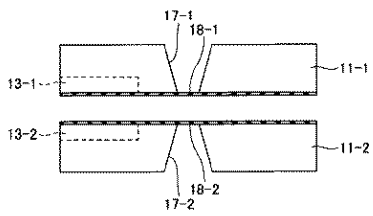
【図5】



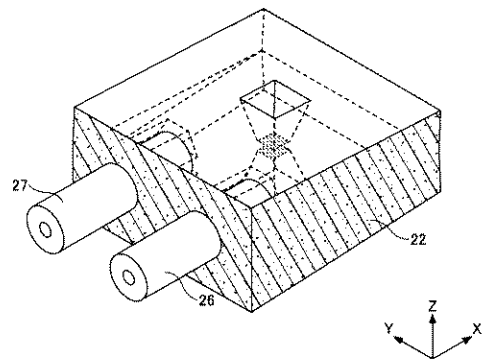
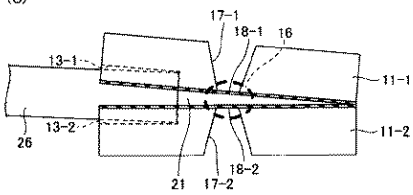
【図6】



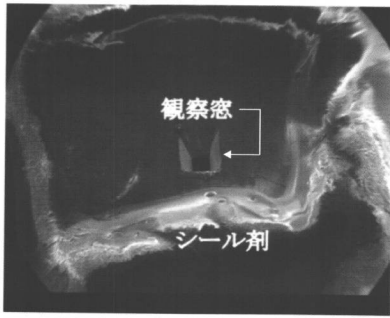
(B)



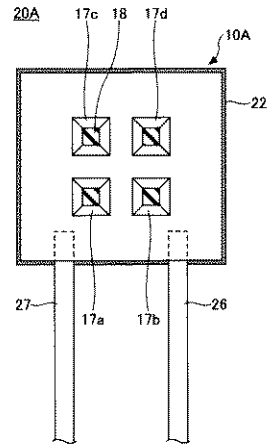
(C)



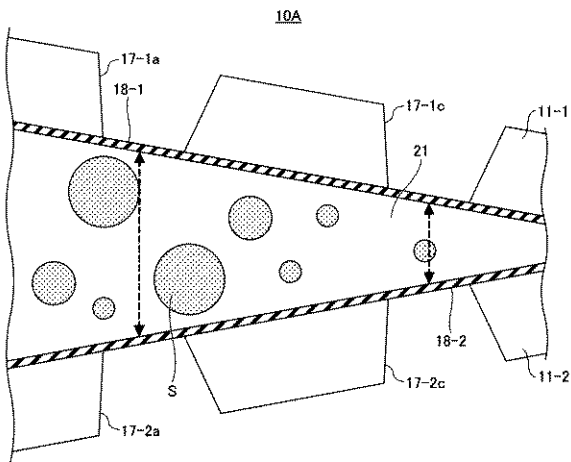
【図7】



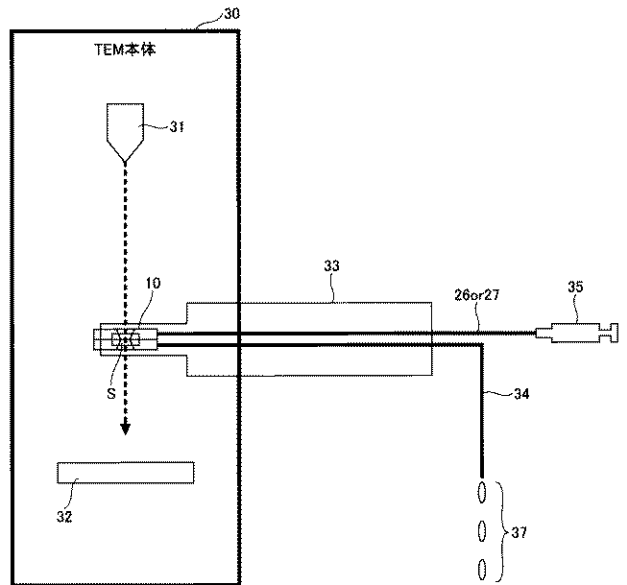
【図8】



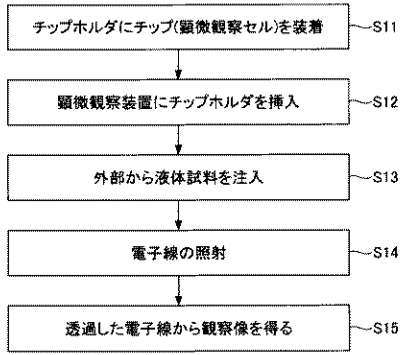
【図9】



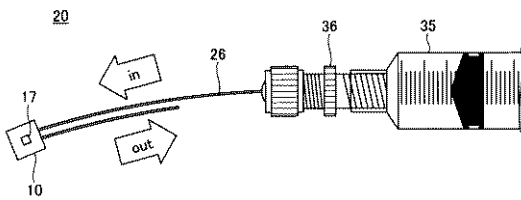
【図10】



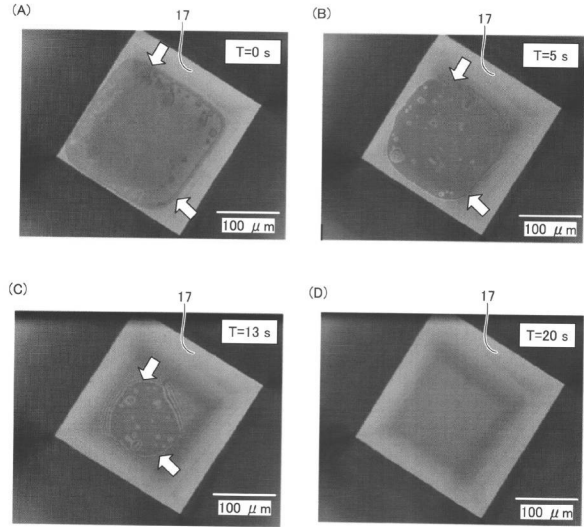
【図 1 1】



【図 1 2】

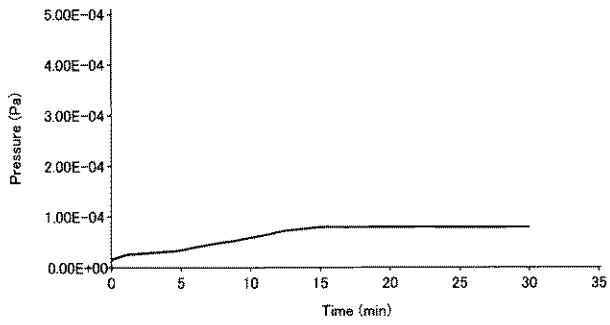


【図 1 3】



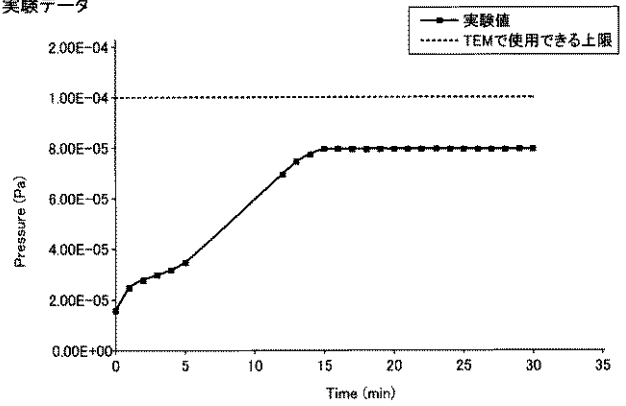
【図 1 4】

TEM内部での真空テスト

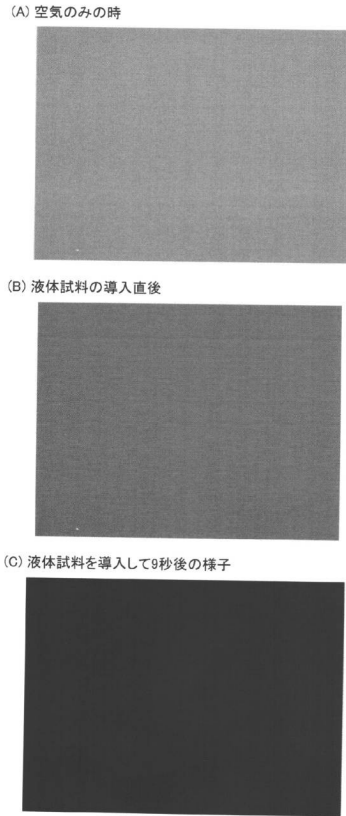


【図 1 5】

実験データ



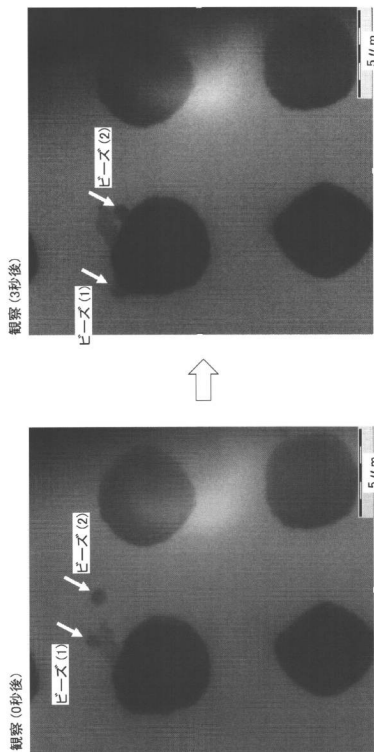
【 図 1 6 】



【 図 1 7 】



【 図 1 8 】



---

フロントページの続き

(72)発明者 小野寺 貴紀

東京都調布市調布ヶ丘一丁目5番地1 国立大学法人電気通信大学内

(72)発明者 リー シアム

東京都調布市調布ヶ丘一丁目5番地1 国立大学法人電気通信大学内

Fターム(参考) 5C001 AA01 CC03