

氏 名 Danev, Radostin Stoyanov

学位（専攻分野） 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第562号

学位授与の日付 平成13年9月28日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻

学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 Application of Zernike Phase Plate to Transmission  
Electron Microscopy

論文審査委員 主査教授 川口 泰雄  
教授 重本 隆一  
教授 永山 國昭  
助教授 有井 達夫  
教授 田中 信夫 (名古屋大学)

In his thesis Danev investigates, both theoretically and experimentally, the possibility of implementing a Zernike phase plate in a transmission electron microscope. The phase-retarding plate in the form of thin film with a hole in the center is positioned in the back-focal plane of the objective lens. Experimental results presented there prove that the phase plate functions as predicted, producing a cosine-type phase contrast transfer function. Images of negatively stained horse spleen ferritin are highly improved in the contrast and the image-modulation, compared to those acquired without the phase plate. Electrostatic charging and related difficulties have been encountered during the phase plate experiments.

The radial distribution of the beam-induced charge in thin films is investigated using the contrast transfer properties of the transmission electron microscope. The phase shift due to charging is measured as the phase difference between the contrast transfer functions of two photos taken with and without film at the back focal plane. The charge density of the measured film is recovered through the solution of the inverse Laplace problem. The influence of electron beam pre-irradiation on the charging behavior is investigated. The surface charge density is observed to reach quasi-equilibrium state after the first 30 min of pre-irradiation. An explanation of the qualitative behavior of the charge density, based on the contamination diffusion theory, is proposed.

The first experimental realization of the complex reconstruction scheme is presented. Two images taken with and without Zernike phase plate are used for the extraction of both the phase and the amplitude of the object wave. New "off-plane" application scheme for the phase plate has been developed, to overcome various practical problems. Aberration-corrected phase images of negatively stained horse spleen ferritin and tobacco mosaic virus samples are free from image distortion and have shown extraordinary high contrast compared to that obtained with conventional TEM.

## 論文の審査結果の要旨

本博士論文は電子顕微鏡の開発、特に Zernike 位相板の開発とその性能および応用に関する研究報告である。論文は 3 章からなり、第 1 章では従来の電子顕微鏡におけるコントラスト生成メカニズムが検討され、特に低周波の空間周波数が再生されにくくコントラスト低下の原因となっていることが示された。そしてコントラスト問題の解決は電子線損傷を受けやすい生物試料において特に重要な問題であると指摘され、その解決法として Zernike 位相板を用いた位相差顕微鏡が提示され、その開発と実験結果が報告された。

第 2 章は古くて新しい問題であり、30 年間解決されなかった位相板の荷電問題についての詳しい報告である。特に荷電問題解決の具体的方法が電荷量の新しい計測法とともに提示された。

第 3 章は永山により提案されている通常法と位相差法の組み合わせによる複素観測法の実験報告で、位相差法の完成によりはじめて複素電子顕微鏡像が報告されている。

この論文の新現部分は最新のハイテクを駆使した精度の高い Zernike 位相板の作成と荷電問題解決による位相差顕微鏡の実用的な実現にある。高精度 Zernike 位相板の作製に関しては材料の検討、薄膜作製法の検討、 $\mu\text{m}$  以下のナノ加工法の検討が行われ、実用に耐える位相板が始めて作製された。その性能のチェック(位相差の計測)についてもコントラスト伝達関数を用いて高精度の検証が行われている。また荷電問題については電荷量を正確に見積もる新しい計測法(差分電子干渉法)により、従来試みられなかった定量的評価を可能とした。これにより、特に炭素膜のような伝導性薄膜において電荷が生じるメカニズムを明らかにすることができた。30 年来の宿題であった位相差法もこのような荷電問題の定量的解析によっではじめて実用的になったと言える。

複素観測法についてその実現が本論文ではじめて報告されているが、これは位相差法における荷電問題の解決とその過程における問題の深い洞察なしには困難であったと考えられる。

以上、本論文は博士論文として充分の新規内容を含んでおり、また論文の体裁も整っており、合格に値すると考える。

学位論文の内容の説明に対して、研究の背景、実験方法、この手法の有用性・発展性などについて英語で質疑応答が行われ、いずれに対する応答も満足すべきものであった。学位論文は明快な英語で書かれており、その一部については申請者を筆頭著者とする英文論文が既に刊行されていることなどから、申請者は学位を取得する水準に達しているものと審査委員会は判定した。