

令和 6 年度 防衛装備庁
安全保障技術研究推進制度

研究成果報告書

AI 的画像解析によるオペランド 電子顕微鏡計測技術に関する研究

令和 7 年 5 月

一般財団法人ファインセラミックスセンター

本報告書は、防衛装備庁の安全保障技術研究推進制度による委託業務として、一般財団法人ファインセラミックスセンターが令和2年度から令和6年度にかけて実施した「AI的画像解析によるオペランド電子顕微鏡計測技術に関する研究」の成果を取りまとめたものです。

1. 委託業務の目的

1. 1 研究課題の最終目標

【最終目標（１）】超高速オペランド TEM 計測技術の実現と材料分野への応用

本究で高度化した AI(Artificial Intelligence)的画像解析技術（3Dテンソル分解法またはスパースコーディング）を用いて、電子直接検出型の超高速透過型電子顕微鏡(Transmission Electron Microscope)（以下「TEM」という。）用カメラで撮影／保存した 1 frame 毎の S/N 比を大幅に改善し、1500 fps (frames per second)の時間分解能：0.67 ms を持つ超高速オペランド TEM 計測技術の実現を目指す。具体的な計測のターゲットは蓄電池（全固体電池など）と触媒とする。蓄電池については、TEM 内で電池に電圧を印加し、充放電に伴う結晶構造やイオン分布、電位分布の高速な変化を、上記の時間分解能で捉えることを目指す。触媒については、ガスまたは高温環境下で触媒粒子が反応を促進している箇所を、特定できる空間分解能において、化学反応による材料の変化を、上記の時間分解能で捉えることを目指す。

【最終目標（２）】超高速リアルタイムオペランド TEM 計測システムの実現

最先端の TEM と高速並列演算が可能な GPU(Graphics Processing Unit)クラスタ計算機を、AI 的画像解析ソフトウェアを介して有機的に連動させることで、AI 的画像解析処理した高画質な像を、瞬時にリアルタイムで表示する機能を持つ超高速リアルタイムオペランド TEM 計測システムの実現を目指す。TEM とクラスタ計算機間の画像転送時間と AI 的画像解析に要する時間を考慮して、1000 fps の時間分解能：1 ms を目指す。蓄電池（全固体電池など）または触媒を計測のターゲットとして、本システムの性能を実証することを目指す。

【最終目標（３）】高速原子分解能リアルタイムオペランド STEM 計測システムの実現と応用計測

走査透過型電子顕微鏡(Scanning Transmission Electron Microscope)（以下「STEM」という。）の入射電子線プローブを高速スキャンさせ（STEM の機能）、原子構造像の動画を高速に AI 的画像解析処理し、テレビのフレームレートと同程度の約 30 fps の時間分解能：33 ms で、かつ、リアルタイムに表示できる計測システムの実現を目指す。具体的な計測のターゲットは蓄電池（全固体電池など）または触媒とする。

【最終目標（４）】超高感度オペランド STEM-EDS 元素分布計測技術の実現と応用計測

超高感度エネルギー分散型 X 線分光法(Energy Dispersive X-ray Spectroscopy)（以下「EDS」という。）を用いて、原子分解能で元素の移動を動画として捉えられるオペランド元素分布計測の実現を目指す。1 fps の時間分解能：1 s で、一旦撮影／保存された元素マッピング像の動画を AI 的画像解析処理し、上記の時間分解能で元素の移動を捉えることができる計測技術の確立を目指す。具体的な計測のターゲットは蓄電池（全固体電池など）または酸化物半導体または触媒とする。

【最終目標（５）】超高感度オペランド STEM-EELS 軽元素計測技術の実現と応用計測

超高感度電子エネルギー損失分光法(Electron Energy-Loss Spectroscopy)（以下「EELS」という。）を用いて、蓄電池（全固体電池など）の電極内部のイオン移動過程、たとえば、リチウムなどの軽元素の移動や電気化学反応に伴う遷移元素の価数変化などを動画として捉えられる計測を実現することを目指す。一旦撮影／保存されたスペクトルから得られた軽元素の分布や価数分布を、AI 的画像解析処理を施し、1 fps の時間分解能：1 s でオペランド STEM-EELS 計測ができる技術の確立を目指す。

【最終目標（６）】ライフサイエンスのための超低侵襲電子顕微鏡計測技術の実現

生体細胞または生体分子（タンパク質など）を、生体活性を持った状態でその場観察できる機能を持つ超低侵襲電子顕微鏡計測システムの実現を目指す。

1. 2 最終目標を実現するために克服又は解明すべき要素課題

（要素課題１）超高速オペランド TEM 計測のための AI 的画像解析ソフトウェアの開発

最終目標（１）である超高速の現象を観察するためには、高速にシャッターが切れ、かつ、その動画を撮影／保存できる超高速カメラが必須である。現在、世界最高速で動画を撮影できる電子顕微鏡用カメラ（Gatan 社、K3IS）は、1 秒間に 1500 frame の画像を取り込むことが可能であり、時間分解能は 0.67 ms に相当する。しかしながら、電子顕微鏡に搭載された電子源の輝度に制限があり、1 frame の画像を作る電子の数は極めて少なく、S/N 比の低い Noisy な画像になり、何が観察されているのかわからないのが現状である。

この課題を解決するためには、上記のカメラにより露光時間 0.67 ms で撮影／保存された Noisy な画像群（動画）から、AI 的画像解析手法（3D テンソル分解法またはスパースコーディング）を用いて S/N 比を大幅に向上させる「AI 的画像解析ソフトウェア」を開発（基本的なソフトウェアを導入し目標達成のために適宜改造）する必要がある。このソフトウェアによって、Noisy な画像から、いかに正確な情報（現象の定量的な情報）を引き出せるかが課題であり、基本的なソフトウェアのチューニングなどを複数回行いながら最適なソフトウェアに進化させる必要がある。

応用計測のターゲットとして蓄電池（全固体電池など）と触媒を考えているが、両材料の化学反応は固体／固体界面や気体／固体界面で起こっており、そのメカニズムは未だ不明な点が多く残されている。本システムで実現を目指す 0.67 ms の時間分解能で、両材料の化学反応をオペランドで可視化し、反応メカニズムを解明する。

（要素課題２）超高速リアルタイムオペランド TEM 計測のためのハードウェア（TEM、GPU クラスタ計算機）と AI 的画像解析ソフトウェアの連携および開発

最終目標（２）は、TEM の操作中に、S/N 比の低い Noisy な画像を AI 的画像解析処理によって、瞬時に、かつ、リアルタイムで表示するシステムを構築するのが目標である。（一旦撮影／保存した動画を後から画像処理する最終目標（１）とは異なる。）この目標を達成するためには、TEM と GPU クラスタ計算機の間で、いかに画像を高速に送受信させ、高速に AI 的画像解析処理を行うかが課題である。

この課題を解決するため、画像を高速に送受信可能なハードウェア（最新型 TEM と最高性能の GPU クラスタ計算機の導入とその通信技術）の開発、および、1 ms 以下の時間分解能で画像処理が可能な GPU クラスタ計算機上で動作する AI 的画像解析ソフトウェアの開発が必要である。

（要素課題３）高速原子分解能リアルタイムオペランド STEM 計測のためのハードウェア（STEM）と AI 的画像解析ソフトウェアの連携および開発

STEM は、TEM と原理が異なり、原子レベル以下にまで絞った電子線を高速スキャンさせ、画像を得る電子顕微鏡法であり、0.08 nm 以下の高い空間分解能で原子構造像や元素分布像などが得られる優れた手法である。しかしながら、電子線のスキャンスピードや電子線輝度の制限といった課題により、2～4 fps までの時間分解能が現状である。

上記の課題を解決し、最終目標（３）である約 30 fps の時間分解能：33 ms をもつ原子構造像の動画を得るためには、STEM 用の超高速スキャンスピードと十分な入射電子線密度が得られる照射レンズ条件の最適化、および、原子構造像の S/N 比を大幅に向上させるための AI 的画像解析ソフトウェアの開発が必要である。

(要素課題 4) 超高感度オペランド STEM-EDS 元素分布計測のためのハードウェア(EDS)と AI 的画像解析ソフトウェアの連携および開発

EDS は、電子線照射により試料から放出された特性 X 線を検出し、元素分布像を得る観察手法であり、現在では、STEM 機能や EDS 検出器の性能の向上により、原子分解能で元素マッピングができるまでになっている。しかしながら、時間分解能は極めて悪く、元素移動による動画を STEM-EDS で捉えるまでには至っていない。この原因は、特性 X 線の強度や EDS の検出感度の制限によるものである。

この制限による課題を克服し、最終目標 (4) である 1 fps の時間分解能 : 1 s をもつ原子分解能元素マッピングを実現するためには、最高感度の EDS 検出器と特性 X 線を効率良く取り込める STEM を導入し、得られた元素分布像の S/N 比を大幅に向上させる AI 的画像解析ソフトウェアの開発が必要である。

(要素課題 5) 超高感度オペランド STEM-EELS 軽元素計測のためのハードウェア(EELS)と AI 的画像解析ソフトウェアの連携および開発

EELS は、試料を透過した電子のエネルギーを分光し、その電子エネルギー損失スペクトルを検出することで、軽元素の分布像や遷移元素の価数分布像を得る手法である。現状では、電子線強度や EELS の検出感度の制限により、時間分解能は 30~60 s 程度が限界である。

この限界を突破し、最終目標 (5) である 1 fps の時間分解能 : 1 s をもつ軽元素マッピングや価数マッピングを実現するためには、最高感度の EELS 検出器を導入し、得られた画像の S/N 比を大幅に向上させることができる AI 的画像解析ソフトウェアの開発が必要である。

(要素課題 6 - 1) 生体試料観察用超低侵襲電子顕微鏡計測のための基盤技術の開発と観察条件の検討

電子顕微鏡内は一般に高真空であるため、生体試料を観察するためには、鏡筒内で試料をガス中または液中に封入するための技術開発、または、電子顕微鏡用の試料台上で細胞培養し急速凍結する技術開発、および、作製した試料が生体活性を維持するための観察条件の検討が必要である。具体的には、試料ホルダーのデザインや電子線照射条件の検討などが必要となる。

(要素課題 6 - 2) 生体試料観察用超低侵襲電子顕微鏡計測のための AI 的画像解析ソフトウェアの開発

生体細胞または生体分子は、一般に周期的では無い複雑なパターンをもつ。従って、低 S/N 比の複雑な画像に対して、真の情報を引き出す AI 的高度画像解析手法 (ディープラーニングもしくはスパースコーディング) の開発が必要である。

1. 3 要素課題に対する実施項目及び体制

(実施項目 1) 超高速オペランド TEM 計測技術の開発と応用計測 (要素課題 1 に対応)

【最終目標 (1)】を達成するために掲げた (要素課題 1) の開発を行うため、1500 fps (時間分解能 : 0.67 ms) の動画を撮影できる超高速カメラを搭載した電子顕微鏡 (原子分解能分析電子顕微鏡) を導入し、撮影・保存した画像群 (動画) の各画像 (各 frame) に対して AI 的画像解析を適用し、S/N 比を大幅に向上させる。画像解析手法として、「3D テンソル分解法」または「スパースコーディング」をメインに考えており、材料によっては「ディープラーニング」を採用することも視野に入れる。オペランド計測する対象や各画像のパターンによって、どの手法が適切かを定量的に見極める基礎研究を行う。応用計測として、充放電中の全固体電池やガス環境下における触媒反応のオペランド観察を行う。

3D テンソル分解法は、画像の座標軸 (x-、y-軸) に時間軸 (t-軸) を加えた 3 次元データの画像群から、画像に含まれる 3 軸方向の特徴をそれぞれ抽出し、ノイズのみの成分をカットすることで、各画像の S/N 比を向上させる手法である。教師画像は必要無い。

従って、各画像のパターンが類似している画像群に対して、より有効であると予想される。そこで本研究では、全固体電池のオペランド電子線ホログラフィーで撮影した画像群に対して、3Dテンソル分解法を適用する。電子線ホログラフィーは、材料中の電場や磁場を定量的に観察できるTEM手法の一つであり、TEMで撮影するのは電子波の干渉パターン（干渉縞）である。一般に、干渉縞の強度分布は正弦波で記述されるため、各画像のパターンは類似していることになる。本実施項目では、オペランド電子線ホログラフィー計測に適したAI的画像解析ソフトウェアの開発を行うと同時に、真の情報を取り出すことができる各パラメーターの最適化を行う。

一方、周期的もしくは類似的是ではあるがオペランド計測中に大きくパターンが変化する画像群や、非常に複雑なパターンの画像群に対しては、スパースコーディングもしくはディープラーニングを適用する。両手法とも、十分なS/N比を有した教師画像が必要で、その教師画像から画像の特徴を抽出し、辞書と呼ばれる画像を作成する。その辞書を用いて、各画像のノイズを除去した画像に再構築する。そのため、辞書の精度が、処理後の画像の精度に直結する。スパースコーディングは、1枚もしくは数枚の教師画像から辞書を作成できるが、ディープラーニングは数100枚～数1000枚の教師画像が必要である。辞書作成時間も大きく異なり、前者は数時間、後者は数日かかる。従って、本実施項目では、画像群のパターンによって、スパースコーディングとディープラーニングを使い分ける。具体的には、触媒による化学反応の画像群に対しては、変化する箇所が一部分であり、比較的類似した画像群となることが予想されるためスパースコーディングを適用し、広範囲で反応が起こっている複雑な画像パターンを有する画像群に対してはディープラーニングを用いる。各オペランド計測を行った画像群に対して最適なAI的画像解析ソフトウェアを開発し、真の情報を取り出すことができるパラメーターを探る。

中間評価時（令和4年10月頃）には、導入した最先端のTEMおよび超高速TEM用カメラで撮影した1500 fpsの動画の各画像に、AI的画像解析ソフトウェアを適用し、各画像においてS/N比を評価しその改善を確認する。

本実施項目を担当するのは、ファインセラミックスセンター（以下、JFCCと記す。）内の「オペランド機能解析チーム」と「AI的高度画像解析チーム」である。前者がオペランド計測を実施し、後者がAI的画像解析ソフトウェアの開発と画像解析を担当する研究体制をとる。

（実施項目2）超高速リアルタイムオペランドTEM計測システムの開発（要素課題2に対応）

【最終目標（2）】を達成するために掲げた（要素課題2）の開発を行うため、まず、TEMとGPUクラスタ計算機の間で、TEM画像を超高速に送受信可能なハードウェアの開発を行う。2021年に登場すると予想される最大40 GbpsのUSB-4の規格も候補になるが、スーパーコンピュータで使用されている技術の適用も検討する。適宜、電子顕微鏡メーカーとクラスタ計算機メーカー等に意見を聞きながら仕様内容を決め開発を進める。同時に、多数のGPUを用いた超高速並列演算が可能なAI的画像解析ソフトウェアを開発する。AI的画像解析手法としては、「3Dテンソル分解法」もしくは「スパースコーディング」を適用する。

本実施項目では、1000 fpsの時間分解能が達成し得る規模のGPUクラスタ計算機を順次導入し、超高速並列演算が可能なAI的画像解析ソフトウェア（「3Dテンソル分解法」もしくは「スパースコーディング」）をチューニングしながら、最適なソフトウェアを開発し、本計測システムの実現を目指す。

中間評価時（令和4年10月頃）には、リアルタイムオペランドTEM計測システムの実現に必要な上記のハードウェアとAI的画像解析ソフトウェアを連携させ、従来（テレビのフレームレートの時間分解能：33 ms）以上の高速な動画が観察できることを確認するとともに、達成した時間分解能を定量的に評価する。その結果を踏まえた上で、令和5年度に追加導入予定のGPUクラスタ計算機(II期)の規模を設定する。

本実施項目を担当する研究体制として、「オペランド機能解析チーム」と「AI的高度画像解析チーム」の協同体制をとる。

(実施項目 3) 高速原子分解能リアルタイムオペランド STEM 計測システムの開発と応用計測 (要素課題 3 に対応)

走査透過型電子顕微鏡 (STEM) は、画像を得るために入射電子線プローブを 2 次元スキャンする必要があるため、TEM のように 1000 fps を超える時間分解能を得ることは不可能である。しかしながら、TEM に比べて原子構造像の空間分解能が高く (~ 0.08 nm)、また、EDS や EELS を用いて、高い空間分解能を維持しながら精度の高い元素分布像や電子状態分布 (遷移元素の価数分布など) を得ることが可能である。これらの精度の高い情報は、「材料設計」や「物作り」に極めて有用である。本実施項目では、STEM による原子分解能リアルタイムオペランド計測の実現に向け、【最終目標 (3)】を達成するために掲げた (要素課題 3) の開発を行う。

現在、原子分解能 STEM の時間分解能は、 512×512 pixel の画像サイズで、2~4 fps である。そこで本実施項目では、テレビのフレームレートと同程度である 約 30 fps の時間分解能 : 33 ms を実現するハードウェアとソフトウェアの技術開発を行う。33 ms の時間分解能を実現するために、高速かつ安定なスキャン技術と十分な電子線密度を得るための STEM 照射レンズ系の技術開発を行う。さらに、33 ms で撮影した各画像の S/N 比を大幅に向上しうる「3D テンソル分解法」または「スパースコーディング」の AI 的画像解析ソフトウェアを開発する。このソフトウェアは GPU クラスタ計算機で高速演算できるように構築し、STEM においてもリアルタイムで原子構造像の変化を計測できるようにする。オペランド計測する対象としては、 LiCoO_2 や LiFePO_4 といったリチウムイオン電池 (蓄電池) の正極材料、もしくは、触媒材料を考慮しており、特殊試料ホルダーを駆使しながら STEM 内で試料に電圧や加熱などの外部刺激を与え、原子分解能で構造や形態の変化を捉える。

中間評価時 (令和 4 年 10 月頃) には、STEM 機能を用いて原子構造像を従来 (2~4 fps) 以上に高速撮影できることを確認し、AI 的画像解析ソフトウェアで各画像の S/N 比が改善していることを確認する。達成した時間分解能も評価する。

研究体制として、「オペランド構造解析チーム」と「AI 的高度画像解析チーム」の協同体制をとる。

(実施項目 4) 超高感度オペランド STEM-EDS 計測技術の開発と応用計測 (要素課題 4 に対応)

【最終目標 (4)】である原子分解能 STEM-EDS による世界初の元素分布オペランド計測を実現するため、本実施項目では、(要素課題 4) の開発を行う。超高感度 Dual-EDS システム (2 台の EDS 検出器を用いた同時検出) を用いて、原子分解能レベルの元素マッピング像の動画を、1 fps の時間分解能 : 1 s で一旦撮影/保存し、各元素分布像の S/N 比を大幅に向上させることが可能な AI 的画像解析ソフトウェアを開発する。解析手法としては、「3D テンソル分解法」もしくは「スパースコーディング」を用いる。観察する対象としては、原理的に EDS で検出可能な元素に限られるため、たとえば、ナトリウムイオン電池内部のナトリウムイオンの移動や、酸化物半導体等の材料内部の酸素イオンの移動、もしくは、触媒の形成過程 (合金規則化や表面形成過程) 等をオペランドで観察する。全固体ナトリウムイオン電池などの蓄電池は次世代の電池と言われており、また、酸化物半導体や触媒は、産業に直結する研究課題である。これらの分野は、今後、研究開発が急速に加速する可能性が高く、本オペランド STEM-EDS 計測技術が大きく貢献できる分野である。

中間評価時 (令和 4 年 10 月頃) には、超高感度 STEM-EDS で撮影した原子分解能の元素分布像に対して、AI 的画像解析ソフトウェアを適用し、各画像の S/N 比を定量的に評価することで、画質が改善していることを確認する。達成した時間分解能も評価する。

研究体制として、「オペランド構造解析チーム」と「AI 的高度画像解析チーム」の協同体制をとる。

(実施項目 5) 超高感度オペランド STEM-EELS 計測技術の開発と応用計測 (要素課題 5 に対応)

【最終目標 (5)】である軽元素の分布または遷移元素の価数分布の超高感度オペランド STEM-EELS 計測を実現するため、本実施項目では、(要素課題 5) の開発を行う。超高感度 EELS 分析器を導入し、リチウムイオン電池電極内部のリチウム分布変化過程を、1 fps の時間分解能：1 s で一旦撮影／保存し、各画像のリチウム分布像の S/N 比を大幅に向上させる「3D テンソル分解法」もしくは「スパースコーディング」の AI 的画像解析ソフトウェアを開発する。この計測法を用いて、世界最高速でリチウムイオンの移動を捉える。この超高感度オペランド STEM-EELS 計測によって、電極／固体電解質ヘテロ界面や電極粒子ホモ界面でのイオン移動やその抵抗分布を直接観察することができ、全固体リチウムイオン電池などの研究開発に大きく貢献できると考えている。

中間評価時 (令和 4 年 10 月頃) には、超高感度 STEM-EELS で撮影した軽元素分布像または遷移元素の価数分布像に対して、AI 的画像解析ソフトウェアを適用し、各画像の S/N 比を定量的に評価することで、画質が改善していることを確認する。達成した時間分解能も評価する。

JFCC の全チームが担当する研究体制をとる。

(実施項目 6-1) 生体材料のその場観察に向けた基盤技術の開発と条件検討 (要素課題 6-1 に対応)

【最終目標 (6)】として掲げた生体活性を持った状態における生体細胞あるいは生体分子をその場で観察する超低侵襲電子顕微鏡計測の実現を目指し、本実施項目では (要素課題 6-1) の技術開発を行う。たとえば、生体細胞もしくはフェリチンなどのタンパク質をガス中または液中セルに閉じ込める基盤技術の開発、または、電子顕微鏡用の試料台上で細胞培養した試料を急速凍結して観察する技術の開発を行う。生体試料を液体中に支持する手法としては、SiN 膜またはグラフェンなどを用いて試料をパッキングする。場合によっては、MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) 技術も併用する。また、生体活性を持った状態で TEM 観察可能な電子線照射条件の検討を行う。

中間評価時 (令和 4 年 10 月頃) には、液中またはガス中でその場観察する生体試料を決定するとともに、生体試料を試料ホルダー内で支持し、液中またはガス中で試料が観察できることを確認する。(この時点で、生体活性の有無は問わない)。

本実施項目は、「オペランド機能解析チーム」が担当する。

(実施項目 6-2) 生体材料のその場観察が可能な超低侵襲電子顕微鏡技術の開発 (要素課題 6-2 に対応)

【最終目標 (6)】を達成するため、(要素課題 6-2) の開発を行う。「実施項目 6-1」で開発した技術および検討した観察条件で一旦撮影／保存した生体試料の動画 (画像群) や生体試料の既存の画像を、「ディープラーニング」もしくは「スパースコーディング」を用いて高画質な動画や画像に再構築する。本実施項目により、生体活性を持った状態の生体試料の動画を高画質化することができ、世界で初めてその場観察可能な技術が確立し、それにより極めて先進的な成果が見込まれる。

中間評価時 (令和 4 年 10 月頃) には、撮影した生体試料の画像に、AI 的画像解析ソフトウェアを適用し、各画像の S/N 比を定量的に評価することで、画質が改善していることを確認する。(この時点で、生体活性の有無は問わない)。

担当する研究体制として、「オペランド機能解析チーム」と「AI 的高度画像解析チーム」の協同体制をとる。

(実施項目 7) プロジェクトの総合的推進

プロジェクト全体の連携を密としつつ円滑に運営していくため、プロジェクト全体の進捗状況を確認し、月に一回の割合で JFCC 全チームによる進捗報告会を実施する。また、必要に応じて材料や生物、AI を専門とする外部有識者を招聘して意見を聞くなどして研究を常に正しい方向に導き、プロジェクトの推進を図る。

なお、日本顕微鏡学会の研究部会の一つ「顕微鏡計測インフォマティックス研究部会」には、材料や生物、AIを専門としている研究者が所属しており、本プロジェクトの研究実施者の一部も所属しているため、研究会やシンポジウム、打ち合わせなどを通じて、研究結果の議論を行う。

2. 研究開始時に設定した研究目標の達成度

【最終目標（1）】超高速オペランド TEM 計測技術の実現と材料分野への応用 (off-line)

本研究で高度化した AI(Artificial Intelligence) 的画像解析技術（3Dテンソル分解法またはスパースコーディング）を用いて、電子直接検出型の超高速透過型電子顕微鏡(Transmission Electron Microscope)（以下「TEM」という。）用カメラで撮影／保存した 1 frame 毎の S/N 比を大幅に改善し、1500 fps (frames per second) の時間分解能：0.67 ms を持つ超高速オペランド TEM 計測技術の実現を目指すという最終目標に対し、最大 3858 fps の超高速動画観察を実現して**目標をはるかに超える成果を得た**。また、蓄電池材料や触媒を 1500 fps 以上の高速で観察し、表面原子の高速な動きやイオン拡散の状態など大変興味深い現象を捉えることができた。

【最終目標（2）】超高速リアルタイムオペランド TEM 計測システムの実現 (on-line)

最先端の TEM と高速並列演算が可能な GPU(Graphics Processing Unit) クラスタ計算機を、AI 的画像解析ソフトウェアを介して有機的に連動させることで、AI 的画像解析処理した高画質な像を、瞬時にリアルタイムで表示する機能を持つ超高速リアルタイムオペランド TEM 計測システムの実現を目指した。最終目標 1000 fps の時間分解能：1 ms を目指したのに対し結果は最大 759 fps に留まり**目標に未達であったが、1000 fps を達成するための具体的な課題を明らかにした**。また、この時間分解能で触媒材料のリアルタイム観察を行った。

【最終目標（3）】高速原子分解能リアルタイムオペランド STEM 計測システムの実現と応用計測

走査透過型電子顕微鏡(Scanning Transmission Electron Microscope)（以下「STEM」という。）の入射電子線プローブを高速スキャンさせ（STEM の機能）、原子構造像の動画を高速に AI 的画像解析処理し、最終目標としてテレビのフレームレートと同程度の約 30 fps の時間分解能：33 ms で、かつ、リアルタイムに表示できる計測システムの実現を目指した。その結果、31 fps で触媒や電池の観察を実現し、**目標を十分に達成した**。

【最終目標（4）】超高感度オペランド STEM-EDS 元素分布計測技術の実現と応用計測

超高感度エネルギー分散型 X 線分光法 (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy)（以下「EDS」という。）を用いて、原子分解能で元素の移動を動画として捉えられるオペランド元素分布計測の実現を目指した。最終目標は、1 fps の時間分解能：1 s で、一旦撮影／保存された元素マッピング像の動画を AI 的画像解析処理し、上記の時間分解能で元素の移動を捉えることができる計測技術の確立を目指すこととした。その結果、触媒材料の原子の動き（結晶構造の崩壊）を 1.2 fps で観察することができ、**目標を十分に達成した**。

【最終目標（5）】超高感度オペランド STEM-EELS 軽元素計測技術の実現と応用計測

超高感度電子エネルギー損失分光法 (Electron Energy-Loss Spectroscopy)（以下「EELS」という。）を用いて、蓄電池（全固体電池など）の電極内部のイオン移動過程、たとえば、リチウムなどの軽元素の移動や電気化学反応に伴う遷移元素の価数変化などを動画として捉えられる計測を実現することを目指した。一旦撮影／保存されたスペクトルから得られた軽元素の分布や価数分布に、AI 的画像解析処理を施し、最終目標として 1 fps の時間分解能：1 s でオペランド STEM-EELS 計測ができる技術の確立を目指した。その結果、リチウムイオン電池材料内のリチウムイオンの動きや、遷移元素・酸素

などの電子状態の変化が 1.2 fps の時間分解能で非常に鮮明に動画として得られた。特に酸素の電子状態の変化を 1.2 fps の動画で観察できたことは当初想定していなかった結果であり、**最終目標を超える成果を得た。**

【最終目標（６）】ライフサイエンスのための超低侵襲電子顕微鏡計測技術の実現

生体細胞または生体分子（タンパク質など）を、生体活性を持った状態でその場観察できる機能を持つ超低侵襲電子顕微鏡計測システムの実現を目指した。急速凍結法により、生体活性を持つ状態で試料を観察することができ、またクマムシやコナダニなどの微小生物が動き回る様子を動画観察することができた。**目標を十分に達成した。**

3. 委託業務における研究の方法及び成果

本業務を確実かつ効率的に遂行するために、3つのチームを編成した。チーム名と役割を下記に示す。

@AI的高度画像解析チーム

- ・AI的高度画像解析手法とソフトの開発
- ・物質／生体材料の画像，動画へ適用と解析

@オペランド機能解析チーム

- ・超高速オペランドTEM計測技術の開発
- ・リアルタイムオペランドTEM技術の開発
- ・物質材料，生体材料への応用計測

@オペランド構造解析チーム

- ・原子分解能オペランドSTEM計測技術の開発
- ・超高感度オペランドSTEM-EELS技術の開発
- ・超高感度オペランドSTEM-EDS技術の開発
- ・物質材料への応用計測

表1に各チームの担当実施項目を示す。この表に示すとおり，各チーム互いに連携して協力しながら業務を遂行した。

	AI 的高度 画像解析チーム	オペランド 機能解析チーム	オペランド 構造解析チーム
実施項目 1	○	○	
実施項目 2	○	○	
実施項目 3	○		○
実施項目 4	○		○
実施項目 5	○	○	○
実施項目 6－1		○	
実施項目 6－2	○	○	

表 1. 本業務遂行のためのチームの担当実施項目

(実施項目1) 超高速オペランドTEM計測技術の開発と応用計測

近年、エネルギー・環境・情報通信分野を中心に、材料・デバイスの高度化が急速に進む中で、それらが動作する実環境下における構造変化や機能発現のオペランド計測技術の重要性が飛躍的に高まっている。特に、反応中の触媒材料や動作中の蓄電池材料など、ナノスケールでの構造・化学状態変化をリアルタイムで可視化・解析することは、材料開発やデバイス設計の根幹にかかわる知見を提供し得る重要な課題である。TEMは、原子スケールの高い空間分解能を持ち、結晶構造、電子状態、化学組成の詳細な情報を取得できる強力な観察手段として広く用いられてきた。しかしながら、オペランド計測の観点からは、TEMによる観察には「時間分解能」の制約という重大な課題がある。従来のCCDやCMOS型カメラでは撮影速度が数十～数百fpsにとどまり、ミリ秒(ms)オーダー以下で進行する反応・構造変化のダイナミクスの追跡には限界があった。また、高速撮影を行う場合、個々のTEM像を形成する電子線量が少なくなるため、信号対雑音比(S/N比)が大幅に低下し、解析精度が著しく損なわれるという問題も存在する。

本実施項目では、電子直接検出型カメラによる高速撮像とAI(Artificial Intelligence)技術に基づく画像解析手法を組み合わせることで、時間分解能1500fps(0.67ms/frame)以上の超高速オペランドTEM計測システムを構築した。さらに、蓄電池材料および触媒材料への応用計測を実施した。

本実施項目では、高性能TEM(日本電子社製GRAND ARM2)に電子直接検出型CMOSカメラ(Gatan社製K3ISカメラ)を搭載することで1500fps以上の高速撮像を実現した。また、取得した高速TEM像をAI的画像解析(テンソル分解法、スパースコーディング)によりノイズ低減することで、時間分解能1500fpsを保持したまま高精度の解析を可能とした。図1-1にこの電子顕微鏡システムの模式図を示す。

【実施項目1】 Off-line 透過電子顕微鏡 (TEM)

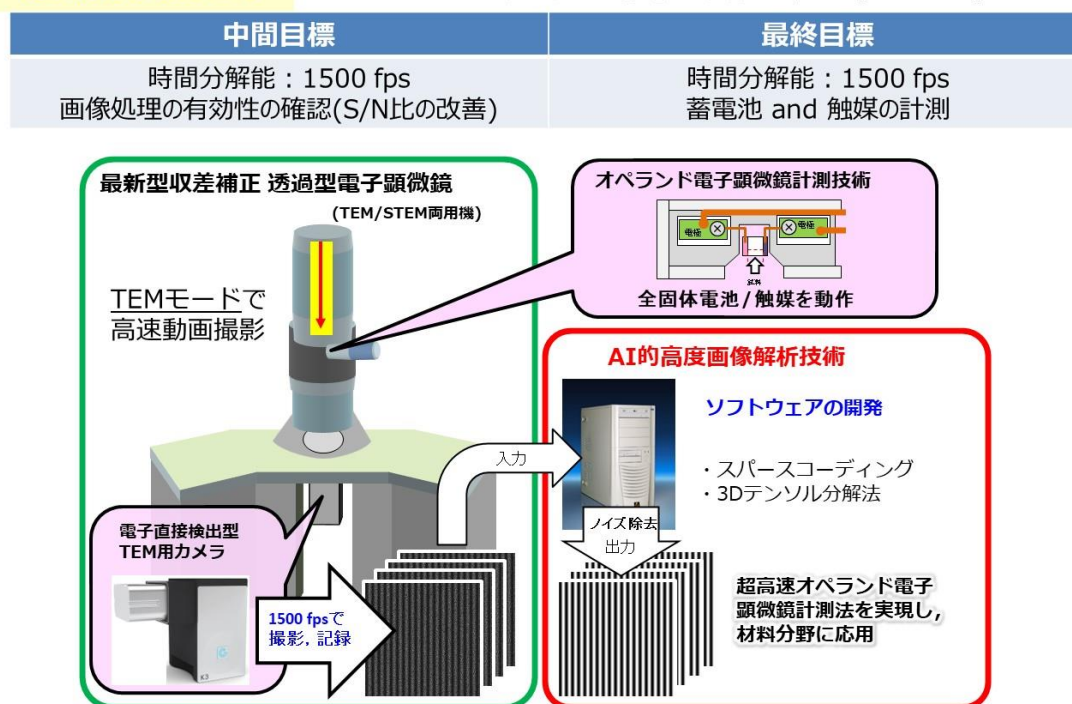


図1-1. 実施項目1で構築した電子顕微鏡システムの模式図

① 金(Au)ナノ粒子/チタン酸ストロンチウム (SrTiO_3) 基板の超高速撮影とノイズ低減 (常温)

図1-2に高速TEM観察例とノイズ低減の結果を示す。観察試料は金(Au)ナノ粒子/チタン酸ストロンチウム (SrTiO_3) 基板であり、撮影速度は3858 fps (> 1500 fps) であった。図1-2(a)は、時系列TEM像群(動画)中の1 frameを示している。図1-2(a)では信号雑音比が低いため、試料の所在すら視認できない。図1-2(b)、(c)はそれぞれ連続する10、100 frameを時系列方向に積算した画像(積算像)を示している。図1-2(b)、(c)では、画像積算により信号雑音比が高くなっており、Auナノ粒子/ SrTiO_3 基板の形状・構造が確認できる。3Dテンソル分解法によりノイズ除去した結果を図1-2(d)に示す。図1-2(d)は、テンソル分解法により再構築された動画中の1 frame (図1-2(a)に対応するノイズ除去結果)を示している。ノイズ除去後の画像は非常に鮮明であり、積算像と良く一致する試料構造が再現されていることがわかる。ノイズ除去前後(図1-2(a)、(d))のピーク信号対雑音比 (Peak signal-to-noise ratio: PSNR)はそれぞれ2、22 dBであり、効果的にノイズが除去され、埋もれている信号を抽出できていることが確認できた。

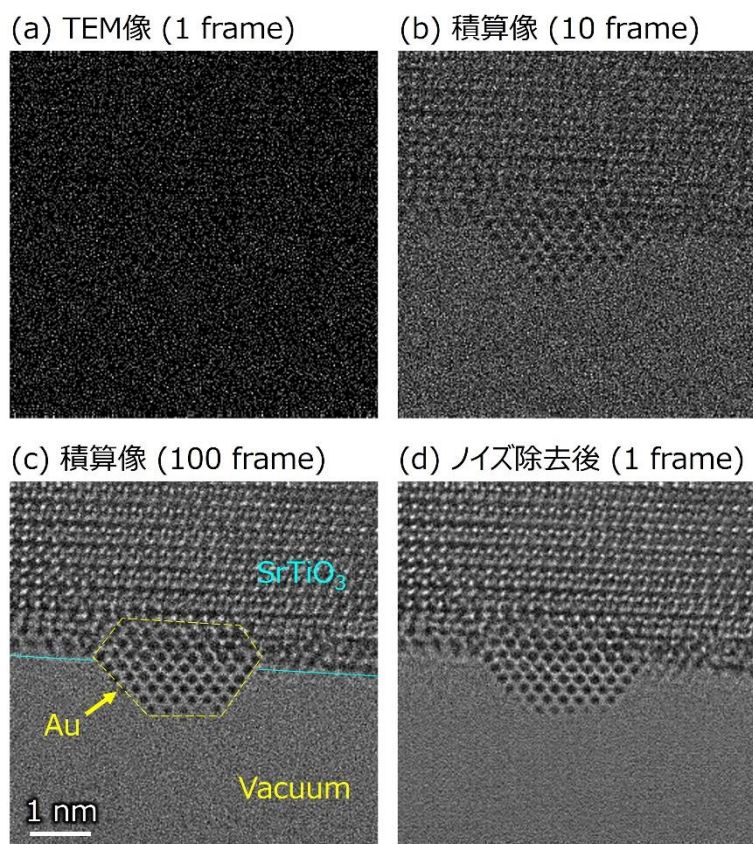
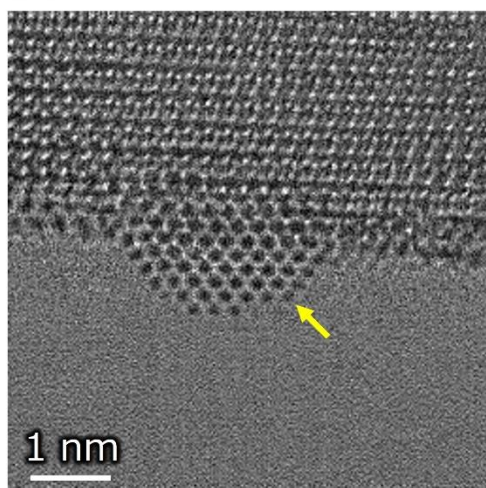


図1-2. 新規導入電子直接検出型TEM用カメラを用いて3858 fpsで撮影したTEM観察例とノイズ除去結果. (a) 1 frame像. (b) 10 frame積算像. (c) 100 frame積算像. (d) テンソル分解法により再構築された1 frame像.

図1-3(a)、(b)は、テンソル分解法により再構築された動画中で連続する2 frameを示している。矢印で示す位置に着目すると、動画では、表面1原子層だけ高速で動いていることが確認できた。また、図1-3(a)ではAuナノ粒子表面原子を反映した暗い丸のコントラストが確認できるが、図1-3(b)では消失していることがわかる。これは、Auナノ粒子表面原子が0.2592 ms (3858 fps)間に高速移動したことを示唆する結果である。このように1ミリ秒以下で起こる原子の動きを明瞭に捉えることに成功した。今後、このような表面原子の動きに対する物理的な意味や触媒性能との関係を詳細に研究することが必要である。

(a) 変化前



(b) 変化後 (0.2592 ms後)

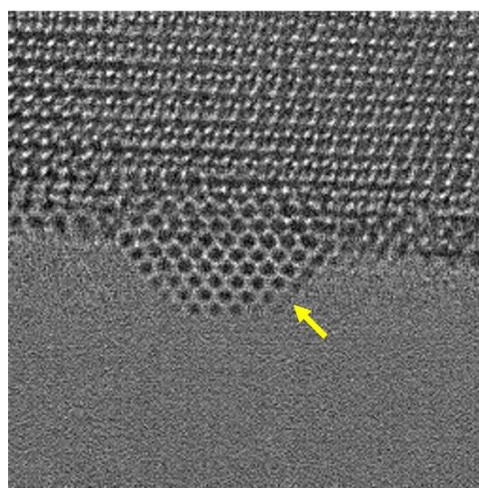


図1-3. Au/SrTiO₃触媒材料の高速変化. (a) 変化前のノイズ除去TEM像. (b) 変化後 (0.2592 ms後)のノイズ除去TEM像. 画像中の矢印の位置に着目するとAuナノ粒子表面の原子に起因するコントラストが消失していることがわかる.

② 金(Au)ナノ粒子/チタン酸ストロンチウム (SrTiO₃)基板の超高速撮影とノイズ低減(200℃)

①で開発した超高速 TEM オペランド計測技術を用いて、加熱(200℃)に伴う SrTiO₃ 基板上的 Au ナノ粒子の原子構造変化を 3215 fps (0.3110 ms) で観察した結果を図 1-4 に示す。Au ナノ粒子/SrTiO₃ は一酸化炭素(CO)の低温酸化反応に用いられる触媒材料であり、その触媒反応や劣化のメカニズムの詳細を明らかにするためには、原子レベルの空間分解能とミリ秒以下の時間分解能で材料表面の原子構造ダイナミクスを捉えることが重要である。図 1-4(a) は、3215 fps 時系列 TEM データ中の観察開始(0 秒)から 30 秒後までの 10 秒毎の TEM 像(ノイズ低減後)を抜き出したものである。ここで、金ナノ粒子中で規則的に並んだ黒丸が金原子カラム由来のコントラストである。時間経過に伴い Au ナノ粒子の形状が変化し、界面の面積が増大(界面周縁部が伸長)していることがわかる。ここで、担持 Au ナノ粒子は、ナノ粒子-担体界面の周縁部が反応の活性サイトであるため、界面周縁部が伸長することで触媒活性が向上することが期待できる。図 1-4(b) は、金ナノ粒子表面を含む領域(図 1-4(a) 右上図中の破線四角枠領域)の 1 フレーム毎 (0.0003 秒毎)、0.0009 秒間(13.5614 秒~13.5623 秒)の TEM 像を示している。丸で示すレジ位置の原子カラムの強度が 0.0003 秒の時間スケールで変化していく様子が観測されている。取得した時系列 TEM データから金ナノ粒子の自己表面拡散係数は $10^{-13} \text{ cm}^2/\text{s}$ と見積もられた。この値は、これまで報告されてきた金バルクの表面拡散係数よりも数桁大きい。この差は、主にサイズ効果と Au-SrTiO₃ 相互作用に起因しており、触媒活性に密接に関係するものと考えられる。

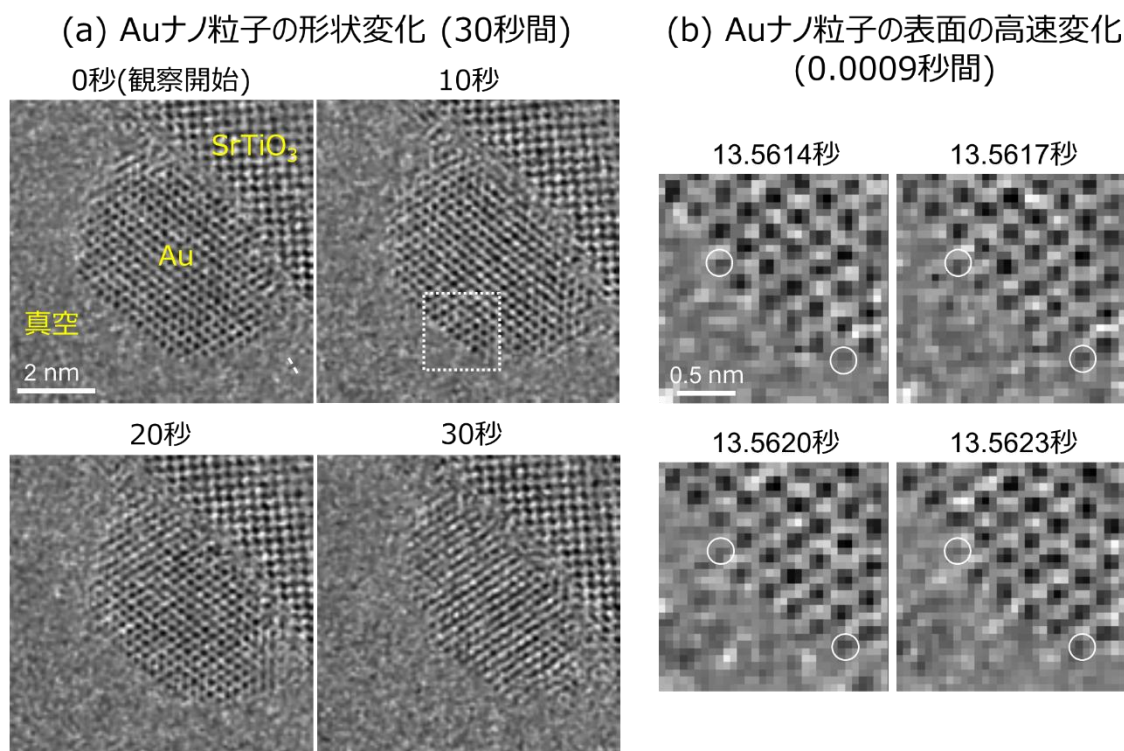


図 1-4. 加熱 (200°C) に伴う Au/SrTiO₃ (触媒材料) の原子構造変化の 3215 fps 時間分解 TEM 像. (a) 金ナノ粒子の長時間スケール (30 秒間) の形状変化. (b) 金ナノ粒子表面 (図 (a) 右上図中の破線四角枠領域) の短時間スケール (0.0009 秒間) の変化. 丸で示す位置の原子カラムのコントラストが特に大きく変化.

③ 電池材料の超高速 TEM 動画撮影とノイズ低減

車載用途や再生可能エネルギーの貯蔵用途のため、Liイオン電池の更なる性能向上が求められているが、電池開発においてはLi挿入・脱離反応ダイナミクスの解析が重要となる。そこで、電池活物質の一つであるMoS₂へのLi挿入現象について1607 fpsの画像取得速度で明視野 (Bright Field (BF)) TEM動画を撮影し、AI技術に基づく画像解析手法 (3Dテンソル分解法) によるノイズ低減効果を検証した。図1-5にTEM内のサンプルと試料ホルダーの配置を示す。タングステン針の先に取り付けたLi金属 (表面は大気暴露時にLi₂CO₃、Li₂O等に変化していると思われる) をMoS₂電極に接触させ、5 V印可した。

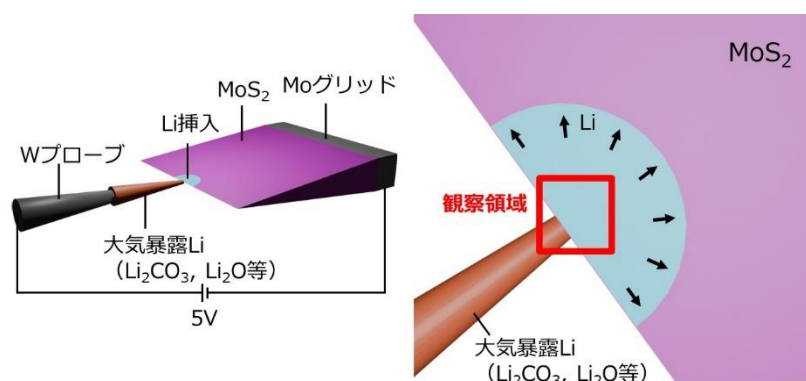


図1-5. 電池反応 (MoS₂へのLi挿入) をTEMで高速観察するためのサンプルと試料ホルダー

図1-6(a)に3Dテンソル分解法適用前の像を示しているが、露光時間が短いためにノイズが多く、像解析の信頼性を十分に担保できない。一方、図1-6(b)に示した3Dテンソル分解法適用後の像では、明暗のコントラストを明瞭に視認することができ、Li挿入に起因するコントラスト変化（Li挿入領域は電子回折条件の変化により明るくなる）を議論することができる。その結果、例えば、0.5943秒と3.3715秒の間ではLiMoS₂/MoS₂界面が約11.2 nm s⁻¹で移動する様子が観察された。この結果は、高速撮像とAI技術に基づく画像解析手法を組み合わせる手法が、Li挿入反応ダイナミクスを可視化する有効な手法であることを示すものである。

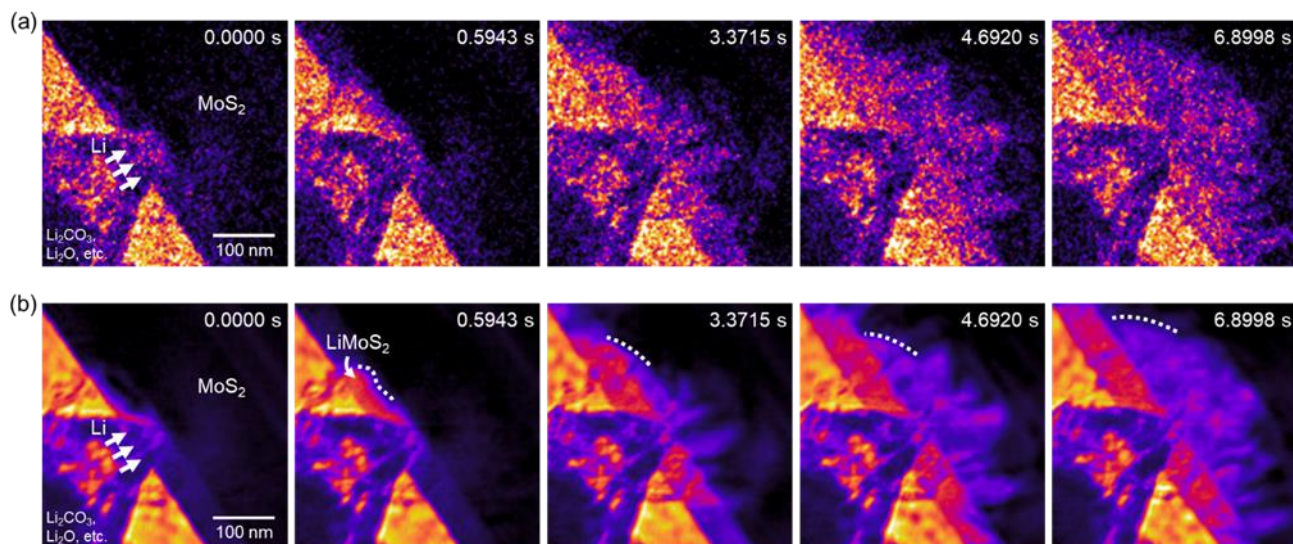


図1-6. (a) LiMoS₂へのLi脱離現象に対して取得したBF-TEM像. (b) 3Dテンソル分解法によりノイズ除去を行ったBF-TEM像. 白い点線はLi挿入領域と未挿入領域の境界を示す.

(実施項目2) 超高速リアルタイムオペランドTEM計測システムの開発 (on-line)

本実施項目では、TEMとGPUクラスタ計算機をドッキングさせ、超高速に撮影した動画に瞬時にAI的画像解析処理を行うシステムを構築した。本開発では、ハードウェアの構築と、on-lineリアルタイム処理を行うソフトウェアの構築を行った。図2-1にこのシステムの模式図を示す。以下、詳細を述べる。

【実施項目2】 On-line TEM (リアルタイム)

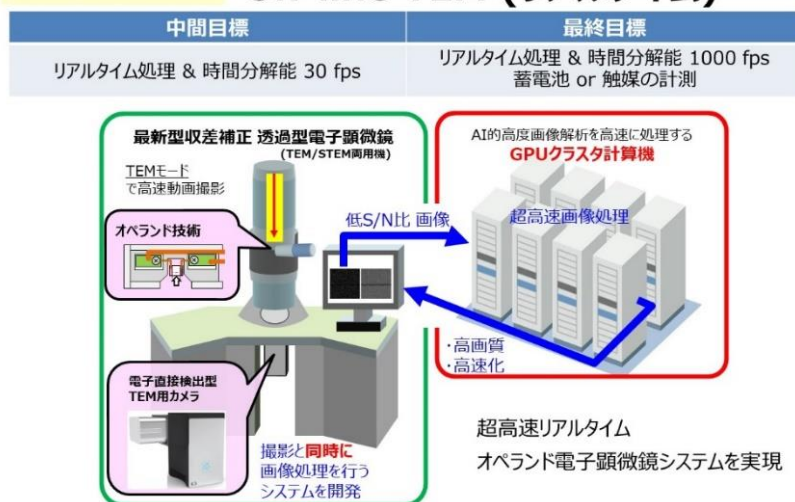


図2-1. 実施項目2で構築した電子顕微鏡システムの模式図

① TEM 動画を on-line リアルタイムでデノイズ処理をするハードウェアとソフトウェアの開発

図 2-2(a)、(b)に、令和 2 年度(2020 年度)～令和 5 年度(2023 年度)に構築した超高速リアルタイムオペラント TEM 計測システムのハードウェアの構成を示す。図 2-2(a)の電子顕微鏡(TEM)システム(本体)および同(検出器)は、それぞれ令和 3 年度(2021 年度)、令和 4 年度(2022 年度)に導入したものである。図 2-2(b)の GPU クラスタ計算機内では、令和 2 年度(2020 年度)に導入した高度画像解析ソフト検討用 GPU 計算機を可視化サーバ(処理した動画をモニターに表示させるためのサーバ)として機能させた。また、高速ストレージ、GPU サーバ(A)およびネットワーク機器は、令和 4 年度(2022 年度)に導入したクラスタ計算機(I 期)である。そして、令和 5 年度(2023 年度)に導入した GPU サーバ(B)、(C)、(D)および管理サーバは、クラスタ計算機(II 期)である。すべての機器を連動させるようにローカルネットワークに載せ、1 つの GPU クラスタ計算機として機能させた。AI 的画像解析を行う GPU カード(NVIDIA 製 A100、メモリ 80 GB)の総数は 32 本である。ここで、可視化サーバに搭載されている GPU カード(令和 2 年度導入)はメモリが 40 GB であり、計算処理のボトルネックになる可能性があるため、最終的に構築したシステムの計算処理からは除外した。

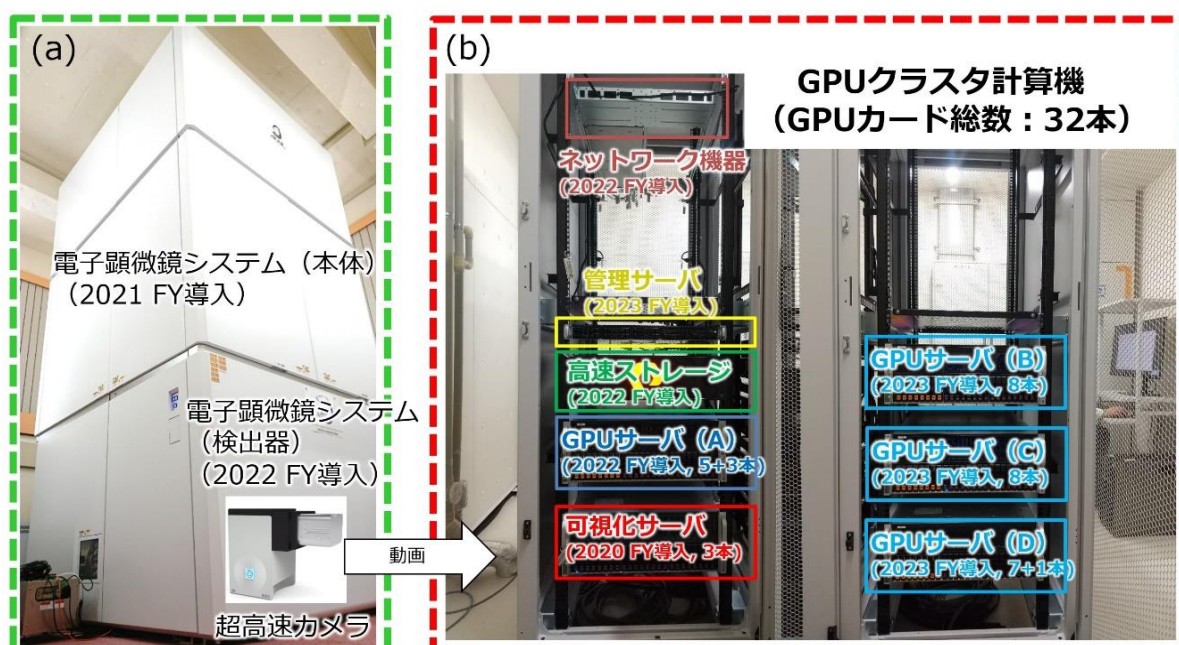


図 2-2. 超高速リアルタイムオペラント TEM 計測システムのハードウェア構成.

(a) 電子顕微鏡と超高速カメラ (TEM 動画撮影部) .

(b) GPU クラスタ計算機 I 期と II 期 (TEM 動画解析部) .

本システム内における画像送受信と解析プロセスを示した模式図を図 2-3(a)、(b)に示す。図 2-3(a)の超高速カメラで撮影した TEM 動画の各フレームは、カメラ制御用 PC を介して、図 2-3(b)のクラスタ計算機に逐次的に送信される。各フレームは、瞬時にクラスタ計算機内の高速ストレージに保存され、管理サーバの制御により GPU サーバ(A)～(D)の各 GPU カード(A-1～D-8)にデノイズ処理をさせる。管理サーバは、どの GPU カードに処理をさせるかを常に監視しているため、効率よく処理を行うことが可能である。ここで、デノイズ処理はスパースコーディング法を用いた。デノイズ後の画像を高速ストレージに保存し、可視化サーバを通じてモニターに表示させる。ここまでの処理をリアルタイムで行うシステムを構築し、本システムの基本特許を令和 5 年 6 月 21 日に出願した(「電子顕微鏡システム」、特願 2023-101762)。

最終目標の 1000 fps を達成するために、令和 5 年度（2023 年度）は、「Relativity」機能を用いた TEM 動画にも対応できるように AI 的画像解析ソフトウェアを改造した。図 2-4 は、導入した TEM 本体の鏡筒下部の模式図を示す。「Relativity」機能とは、TEM 像を高速に偏向できる装置が鏡筒下部に搭載されており、これにより図 2-4 に示すように、カメラの 1 フレームにたくさんのサブフレーム（図では、 $8 \times 8 = 64$ 枚）を高速に記録できる機能である。この機能を用いることにより、超高速カメラの時間分解能を大幅に超える時間分解能を達成することが可能となる。

改造した AI 的画像解析ソフトウェアの解析プロセスを図 2-5 に示す。たくさんのサブフレームを記録した画像がクラスタ計算機の高速ストレージに保存されると、図 2-5(a) に示すように、GPU サーバが各サブフレームを分割し、GPU カードに転送してデノイズ処理を行う。各 GPU カードでデノイズ処理した画像は、図 2-5(b) に示すようにサブフレームの連続画像として出力、または、Relativity 機能と同様な表示形式にして出力することができる。

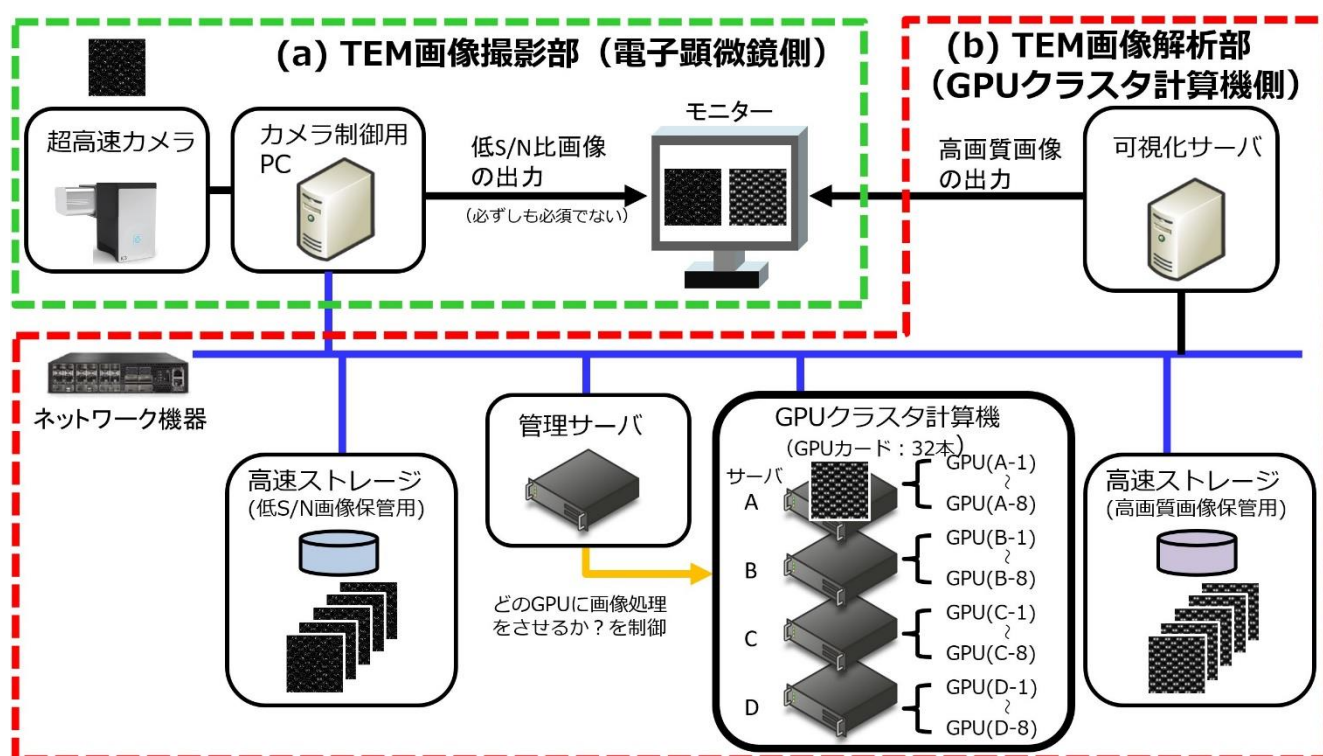
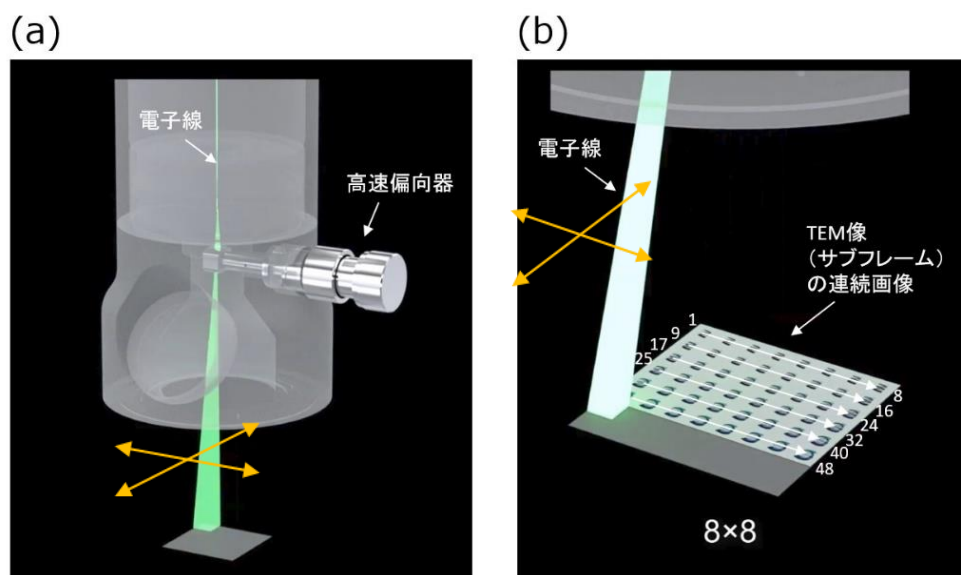


図 2-3. 超高速リアルタイムオペランド TEM 計測システム内における画像送受信と解析プロセス。(a) TEM 画像撮影部（電子顕微鏡側）。(b) TEM 画像解析部（GPU クラスタ計算機側）。



日本電子 HPより, <https://www.youtube.com/watch?v=hkkbbsEkxX8>

図 2-4. Relativity 機能による超高速撮影.

(a) 電子顕微鏡の鏡筒下部の模式図. 電子線の高速偏向が可能.

(b) 1 フレームに, 8 x 8 枚のサブフレーム画像を記録している様子の模式図.

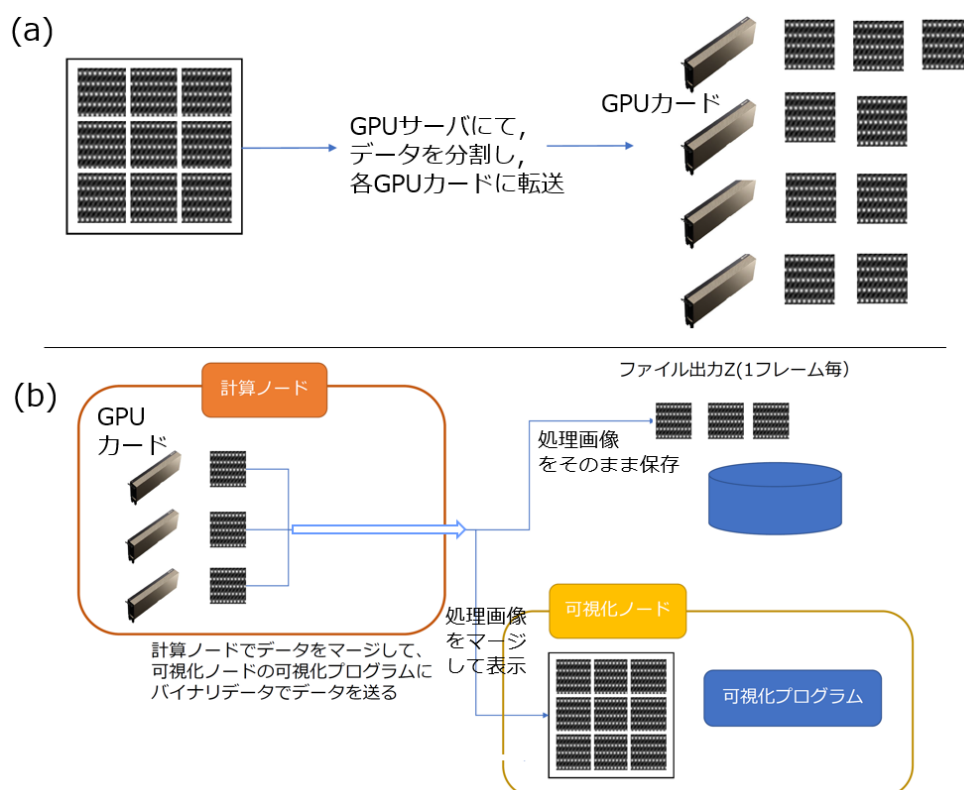


図 2-5. GPU クラスタ計算機内での画像解析プロセス.

(a) Relativity 機能で撮影された画像を GPU クラスタ計算機に送信し, 各 GPU カードにて処理.

(b) 各 GPU でデノイズされたサブフレームを保存または Relativity 表示して保存.

図 2-6 に, 触媒として使用される Au ナノ粒子 on Si 粒子を観察した結果を示す. 図 2-6(a)は, 超高速カメラで撮影した 1 フレームのオリジナル画像 (画像処理前) であり, $7 \times 6 = 42$ 枚のサブフレームが記録されている (網目状の白いコントラストは, サブフレームが一部重なっている. そのため, 重なっていない画像の領域をデノイズすることになる).

この時点で1フレームを撮影するスピードは166 fpsであるため、サブフレームの時間分解能はさらに42倍であり、6,972 fpsで画像が記録されている（時間分解能は、0.143 msに相当する）。構築したシステムを用いて on-line リアルタイムでデノイズ処理をした画像（Relativity 表示）を図 2-6(b)に示す。各サブフレームにおいて、原子構造像が観察されていることがわかる。リアルタイム処理の時間分解能を評価した結果、サブフレームの画像サイズが256 x 256 pixel の時、最大で 344 fps でデノイズ処理できることがわかった。また、サブフレームの画像サイズが128 x 128 pixel の時は、最大で 686 fps で処理できることがわかった。

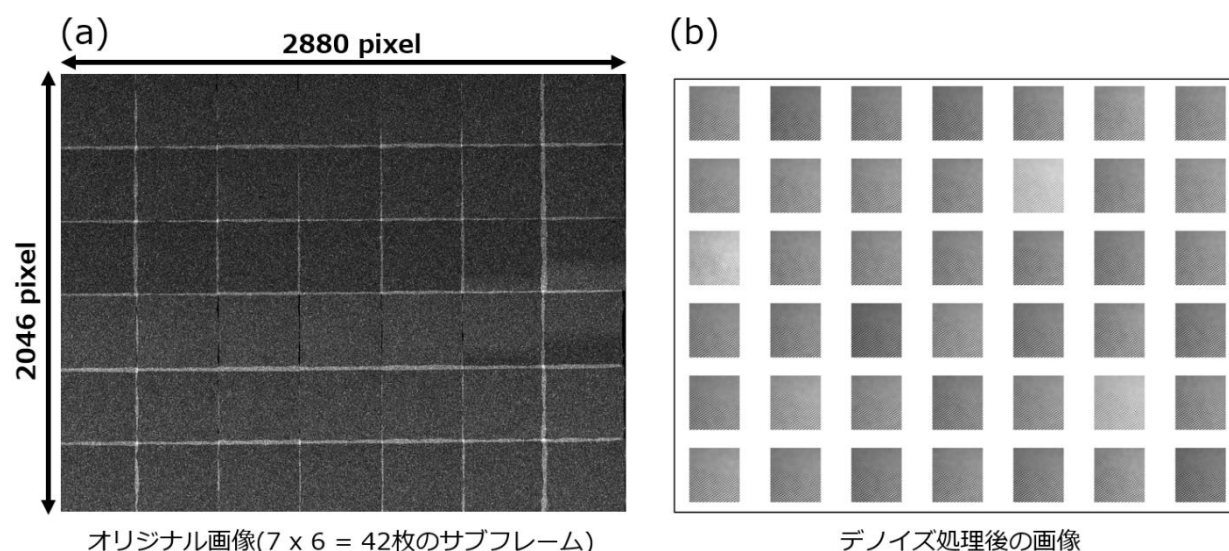


図 2-6. リアルタイムスパースコーディングによるオリジナル画像とデノイズ処理後の画像.
 (a) 1 フレームに 42 枚のサブフレームを記録したオリジナル画像（画像処理前）.
 (b) スパースコーディングを用いてリアルタイムでデノイズ処理をした画像.

最終目標である 1000 fps を達成するために、令和 6 年度（2024 年度）は、AI 的画像解析ソフトウェアを再度改造した。改造した内容を下記に示す。

1. プログラミングに使用している Python を最新版にバージョンアップ
2. プログラムに使用しているライブラリ（CuPy）のバージョンアップ
3. 並列処理プログラムのスレッド化

本プログラムは、Python 言語を使用しているが、そのバージョンを Ver. 3.8 から、Ver. 3.12 へアップさせ高速化を図った。また、プログラムに使用している多くのライブラリ（CuPy）もそれに合わせてバージョンアップさせた。さらに、プログラム内で並列処理をしている箇所のスレッド化を行い、高速化を図った。スレッド化に関する改造については、詳細を以下に述べる。

令和 5 年度（2023 年度）までに構築したソフトウェアは、図 2-7(a)に示したプログラム構成になっている。多数のサブフレームを記録した TEM 画像(Relative 形式データ)が、逐次 GPU クラスタ計算機に転送されることになるが、各 GPU サーバ内のプログラムには、「代表プロセス」と「一般プロセス」に分けられており、それぞれ役割を持たせたプログラム構成になっている。たとえば、「代表プロセス」はデータの読み込み、サブフレームの分割、処理画像のマージ、可視化モニタへのデータ転送などである。また、「一般プロセス」はデータのデノイズ処理に特化させ、処理後のデータ保存を担う。このように役割を分割させることで、シンプルかつ高速に並列処理を行っていたが、更なる高速化のためには、各プロセス間の時間も短縮させる必要がある。そこで、図 7 (b)に示すように、「代表プロセス」内にスレッド領域を設け、各スレッド内に「一般プロセス」の機能を持たせるようにプログラムの改造を行った。

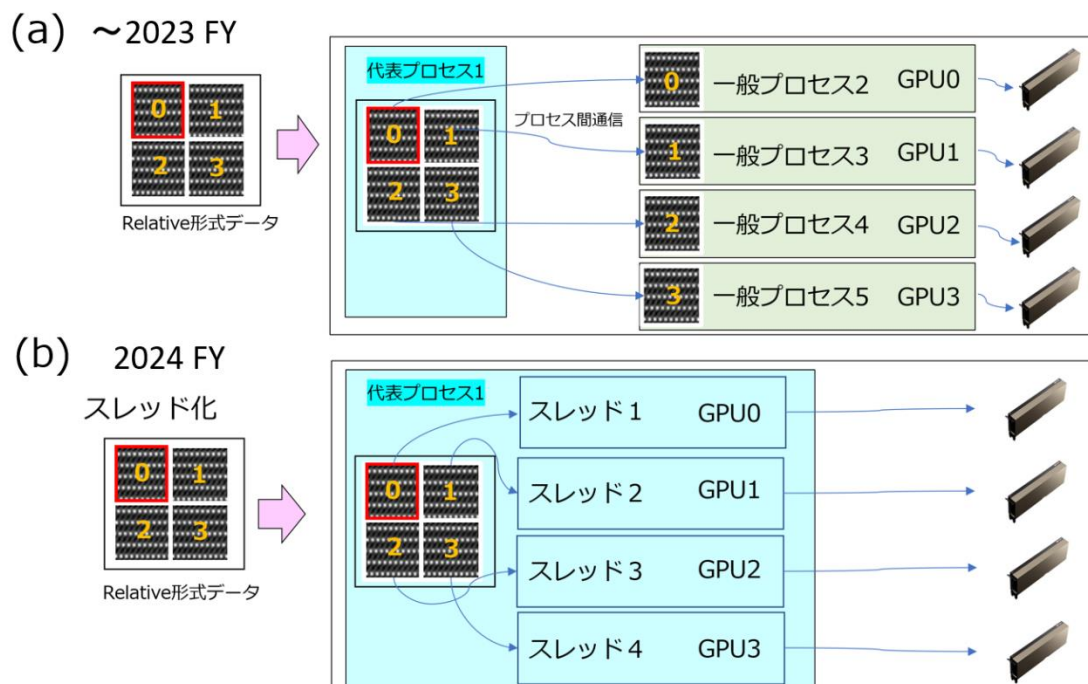


図 2-7. リアルタイムスパースコーディング処理の更なる高速化

(a) 令和 5 年度（2023 年度）までに構築した処理プログラムの構成。

代表プロセスと一般プロセスに役割を分担させたプログラム構成。

(b) 更なる高速化を目指して令和 6 年度（2024 年度）に改良した処理プログラムの構成。

代表プロセス内にスレッドを設け、一般プロセスで行っていた処理をスレッド内で行う構成

令和 6 年度（2024 年度）に行った AI 的画像処理ソフトウェアの改造により、プログラムのスレッド化は構築できたが、処理の結果は、極端に低速になることがわかった。256 x 256 pixel の画像で最大 15 fps、128 x 128 pixel の画像で最大 27 fps で処理されることがわかった。これは、前年度に比較して 1/25 倍に低速となった。この原因を調査した結果、Python にあることがわかった。Python でスレッドによる並列処理を行う際、メモリ管理などの操作を安全に行うための安全保護機能（Global Interpreter Lock: GIL）が働くことがわかった。GIL は、現在、Python でスレッド並列処理をする大きな問題となっており、それを回避するバージョン（ver. 3.13.0）が 2024 年 10 月にリリースされたが、まだ実験試行版であり、完全な高速化には至っていない（様々なネット情報より）。また、本プログラムに使用しているライブラリ（CuPy）も Python ver. 3.13.0 に対応していないことから、スレッド化による高速処理は、新しい Python と CuPy を待つ他無いと判断した。（Python 3.14 完全版のリリースは、2025 年 10 月に予定されている。Python HP より）

② 本実施項目で開発した電子顕微鏡システムを用いた触媒材料観察

そこで、ソフトウェアを図 2-7(a)に示した「代表プロセス」+「一般プロセス」に戻し、パラメータの最適化（辞書のサイズやプロセス画像数の変更など）を行うことによって高速化を図った。その結果、最大 759 fps で on-line リアルタイム処理ができることがわかった。この時のオリジナル画像とデノイズ処理画像をそれぞれ図 2-8(a)、(b)に示す。試料は、触媒の Au ナノ粒子 on Si 粒子であり、Si のアモルファス領域がデノイズ処理により観察できている。

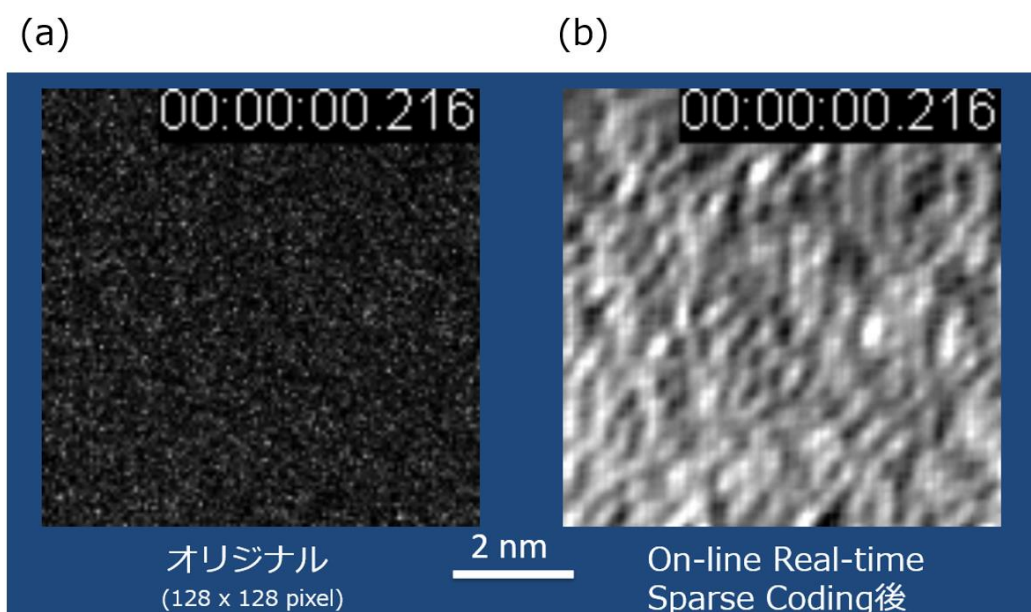


図 2-8. リアルタイムスパースコーディング処理の結果（処理速度 759 fps を達成した部分）
試料は、触媒 Au 粒子 on Si 粒子のアモルファス領域
(a) スパースコーディング処理前の動画の一部, (b) 処理後の動画の一部

③ 最終目標の 1000 fps を達成する方法

最後に、最終目標である 1000 fps の on-line リアルタイム処理を達成するための課題について述べる。今回、スレッド並列処理を用いた AI 的画像処理ソフトウェアは構築できたが、その能力を 100 % 発揮するためには、GIL を回避し並列処理に適した Python と使用ライブラリ (CuPy) を使う必要がある。しかし、Python や CuPy の改造は我々には不可能であるため、それに対応した Python と CuPy のリリースを待つ必要がある (2026 年度以降の見込み)。また、「代表プロセス」+「一般プロセス」のプログラム構成をもつソフトウェアでは、最大 759 fps の処理速度を達成しているため、GPU サーバと GPU カードをさらに増設すれば、1000 fps を達成できると考えられる。たとえば、GPU サーバ 1 台を追加し、GPU カードを 11 本増設すれば、 $1019 \text{ fps} (= 759 \text{ fps} \times 43 \text{ 本}/32 \text{ 本})$ までの処理速度を達成できると考えられる。

(実施項目 3) 高速原子分解能リアルタイムオペランド STEM 計測システムの開発と応用計測

先端材料、触媒、蓄電池や半導体分野において、試料の微細構造や局所的な元素分布を高い空間分解能で把握する技術への重要性が増してきている。走査型透過電子顕微鏡法 (Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM)) は、収束した電子線を試料上に走査し、その透過した散乱電子を検出して画像を得る手法である。従来の透過型電子顕微鏡法 (TEM) では、広い領域を一度に照射して撮像を行うが、STEM では電子線を走査して画像を構築する。これにより試料の特定箇所からの信号を容易に抽出できるため、同時にエネルギー分散型 X 線分光法 (EDS) や電子エネルギー損失分光法 (EELS) といった手法を組み合わせ、局所領域での分析が可能となる。また環状暗視野走査透過電子顕微鏡法 (ADF-STEM) では、大きな散乱角 (数十～百数十 mrad) の電子を結像することで、重元素ほど明るく軽元素ほど暗く映る「Z コントラスト」を得られる。この特性により像解釈が容易であり、材料科学分野で特に重要な手法となっている。

STEM では電子線を試料上で 1 画素ずつ走査して信号を集めるため、高速な画像取得には走査速度を高める必要があり、広範囲を一括して撮影する TEM と比較して、従来システムでは高フレームレート化が困難であった。近年の STEM 検出器およびスキャン制御技術の進歩により、数十 fps での画像取得が可能になった一方、高フレームレート化では 1 画

素あたりの電子線量が少なく、像質が劣化する課題がある。本項目ではこの課題を解決すべく、30 fps 以上の時間分解能を持つ高速 STEM 撮影法と、AI 的画像解析処理を融合させた高速 STEM 計測システムを開発し、蓄電池材料および触媒材料への応用計測を実施した。

①リアルタイム AI 的画像解析処理 STEM 計測システム開発

本研究では最終目標 (3) として、「約 30 fps (時間分解能 33 ms) で原子分解能 STEM 像を取得し、リアルタイムに表示・解析可能な計測システムの構築」を設定し、これを達成した。この成果は、以下に示すハードウェアとソフトウェアの両面からのアプローチによって達成されたものである。図 3-1 に、本研究で構築したリアルタイム画像解析処理 STEM 計測システムの模式図を示す。ハードウェア面では、STEM 照射レンズ系を最適化し、十分な電子線密度と安定した高速スキャンの両立を可能とした。ソフトウェア面では、各フレームの SN 比を飛躍的に向上させるため、スパースコーディングを基盤とした機械学習による AI 的画像解析処理ソフトウェアを開発した。これを tiff 形式の連続画像(動画)に対してリアルタイム処理可能なアルゴリズムとして、GPU クラスタ計算機上で並列処理が行えるよう最適化実装した。さらにこれらのハードウェア・ソフトウェアを高速データ転送ネットワークで連携させ、取得した画像の解析・表示までリアルタイムでの実行を実現した(ソフトウェアの詳細は実施項目 (2) を参照)。

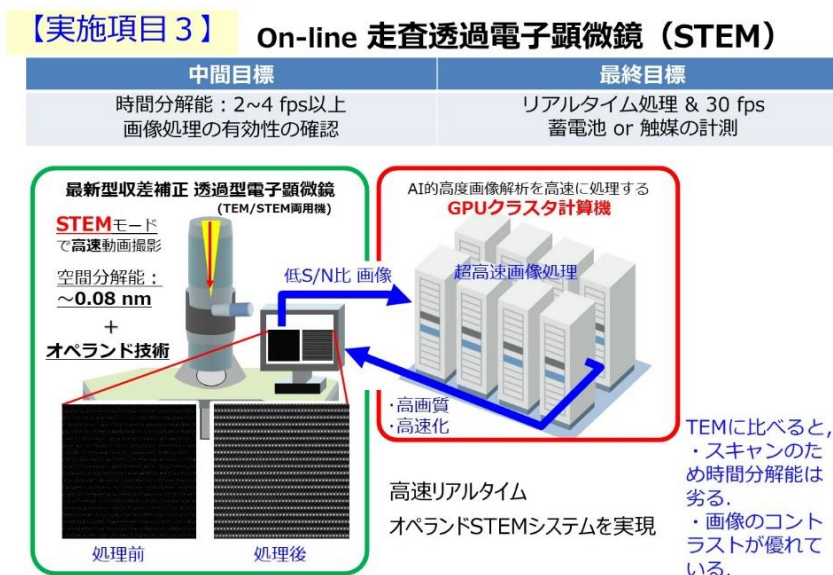


図 3-1. 実施項目 3 で構築したリアルタイム画像解析処理 STEM 計測システムの模式図. 電子顕微鏡で取得された STEM 画像を制御用 PC を介して GPU クラスタ計算機へ高速転送し、リアルタイムノイズ除去処理を実施. ノイズ除去された STEM 画像のリアルタイム表示と保存を同時に実現.

本システムを用いて、触媒材料として利用される SrTiO_3 薄片試料の観察を行った結果を図 3-2 に示す。電子顕微鏡の操作画面である図 3-2 (a) には、30 fps で取得したノイズ除去前のデータが表示される。このデータが GPU クラスタ計算機でノイズ除去された後、リアルタイムで図 3-2 (b) に表示される。スパースコーディングを用いたリアルタイムノイズ除去を行ったこの結果において、最も明るい輝点である Sr 原子の信号については、対応する構造をノイズ除去後の画像に再現することができた。同時に、ノイズ除去後の画像はストレージにも保存されるため、必要に応じてより詳細なオフラインでの解析も可能である。現在利用可能なコンピュータの性能において、ノイズ除去処理で用いる辞書 (正解画像の参照データ) の大きさや精度に制約があることも確認した。将来的にコンピュータの処理性能の向上に伴い、オフラインによるノイズ除去と同等のより精細な処理が可能となるはずである。一方で、本研究のコンピュータの処理能力においてもリアルタイムによる機械学習に基づくノイズ除去処理が実行可能であったことは、その有効性と将来性を示

す重要な成果である。今後の計算環境の整備や手法の改良により、さらなるノイズ除去性能および汎用性の向上が期待できる。

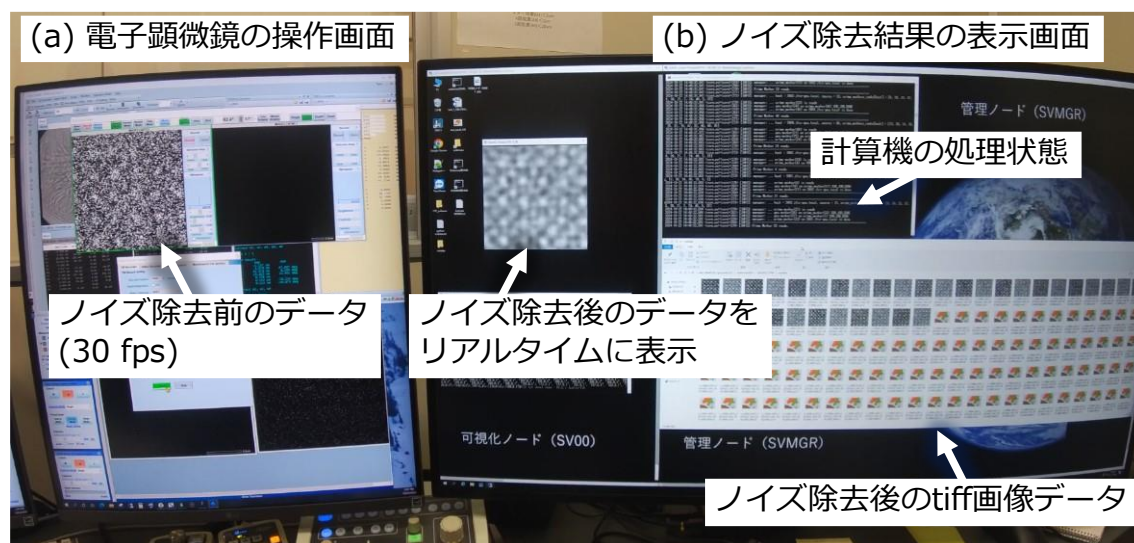
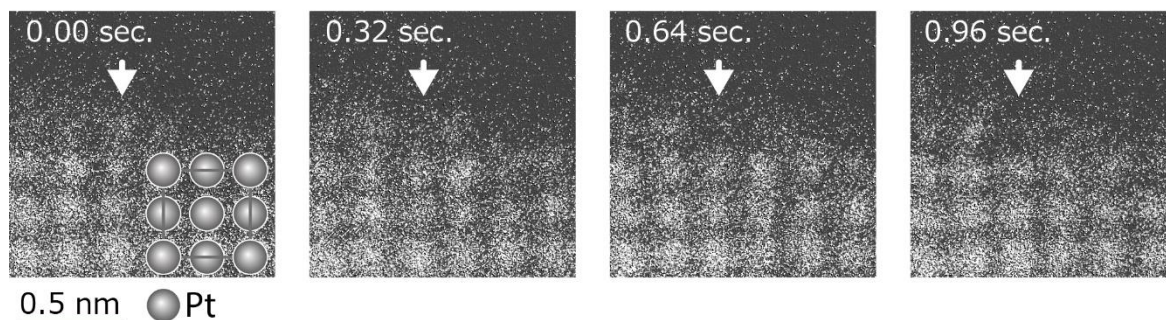


図 3-2. リアルタイム画像処理システムの運用画面. (a) 電子顕微鏡の操作画面. 30 fps で撮影したノイズ除去前のデータが表示されている. (b) ノイズ除去結果の表示画面. ノイズ除去後のデータや処理状況を表示. 保存された tiff 画像の確認も可能.

②触媒 Pt 表面の Pt 拡散挙動

車載用固体高分子型燃料電池の本格的な普及に向けては、触媒性能の向上が求められており、触媒性能を支配する白金 (Pt) 表面の構造および形成過程の詳細な解析が重要である。そこで、Pt表面の構造変化を31 fpsの画像取得速度でADF-STEM動画として撮影し、3Dテンソル分解法を用いたノイズ除去処理の有効性を検証した。図3-3(a)は、31 fpsで撮影したPt表面の原子構造ADF-STEM像である。高速撮影に伴う短い露光時間により電子検出数が不足し、像質は低下し不鮮明である。この画像に3Dテンソル分解法を適用したノイズ除去処理後の結果を図3-3(b)に示す。矢印で示したPt原子は電子線照射により移動し、わずか0.96秒後には元の位置から完全に移動・消失していることが明瞭に確認できる。ノイズ除去処理によって、無処理データでは視認が困難なPt原子の動きを鮮明に捉えることに成功した。今後、この計測を用いてPt原子の拡散過程および表面形成メカニズムをさらに詳細に解析することで、優れた触媒材料の開発に貢献することが期待できる。

(a) 31fpsで取得したPt表面のADF STEM像



(b) ノイズ除去後の31fpsで取得したPt表面のADF STEM像

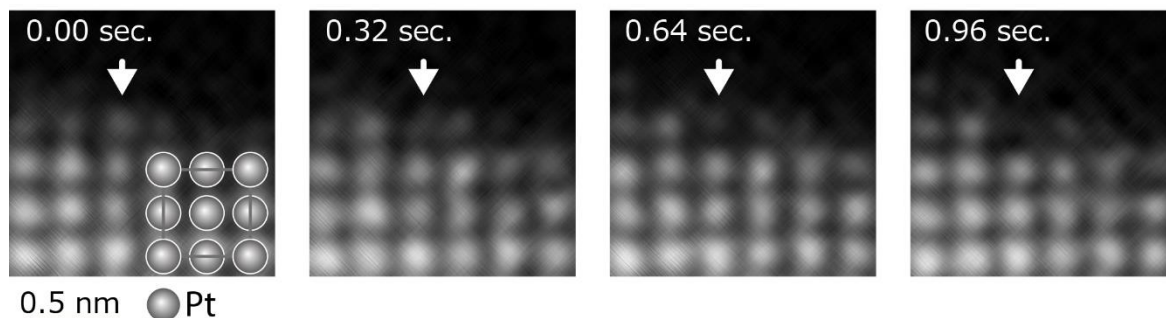
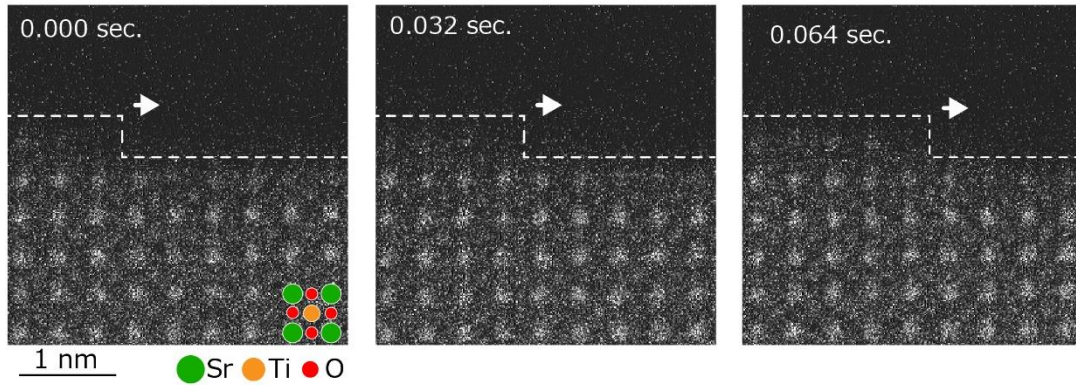


図3-3. (a) 触媒材料Pt表面を31 fpsで取得した原子分解能ADF-STEM像. (b) 3Dテンソル分解法によりノイズ除去を施したADF-STEM像. (a), (b)中の矢印は、表面のPt原子が移動した箇所を示す. 右下にはPt表面構造の模式図を示す.

③1300° C加熱下でのSrTiO₃表面形成挙動

図3-4に触媒材料SrTiO₃を1300° C加熱環境下において取得した表面のADF-STEM像を示す。本観察ではFIBにより作製した薄片試料を電圧印加型の加熱ホルダーに搭載し、電子顕微鏡内においてその場で加熱しながら観察を実施した。加熱条件は1300° Cで、観察には31fpsの速度で動画取得を行った。図3-3(a)は、この動画データから抽出した単一フレームの像である。高速動画撮影のため、露光時間が短く電子検出数が少ないため像質が低下し、表面の原子構造や段差構造の視認性が低下している。このような単一フレームからの直接的な構造評価は困難であり、ノイズ除去および時間積分処理が不可欠である。そこで図3-3(b)には、3Dテンソル分解法によるノイズ除去を実施した結果を示す。このノイズ処理により、原子移動に伴う配列の再構成といった微細構造を高い空間分解能で明瞭に可視化し、僅か0.032秒の時間スケールで1ユニットの結晶が表面に形成されていく過程を明瞭化することに成功した。この結果は、触媒材料となる酸化物表面の高温下における安定性および再構成挙動を可視化し拡散挙動の理解に対して重要な知見を提供するものである。また、31 fpsという高フレームレートで取得したSTEM動画と画像処理を組み合わせることにより、高温環境下での原子スケール現象の動的観察が実現可能であることを示している。

(a) 1300℃加熱下でのSrTiO₃表面の31fpsで取得したADF STEM像



(b) ノイズ除去後の1300℃加熱下でのSrTiO₃表面の31fpsで取得したADF STEM像

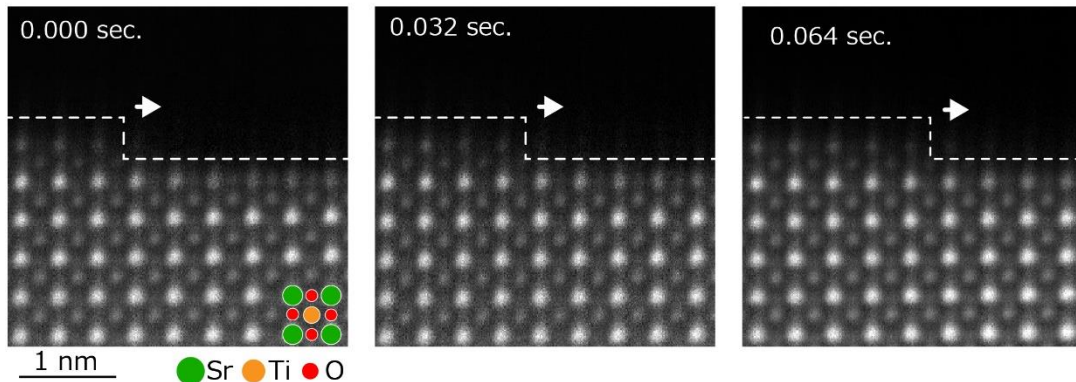


図 3-4. (a) 1300° C で加熱中の SrTiO₃ 表面を 31 fps の時間分解能で取得した ADF-STEM 観察結果. (b) 3D テンソル分解法によりノイズ除去を行った ADF-STEM 像. (a) と (b) の矢印は表面 Pt 原子が移動していく方向を示す. コントラストは原子番号に依存しており, 重元素である Sr が明るく, Ti がやや暗く観察される. 右下には構成元素 (Sr: 緑, Ti: 橙, O: 赤) を示した構造模式図を示す.

④ 電池の電極活物質 LiMoS₂ からのリチウム脱離挙動観察

電気自動車の走行距離向上や再生エネルギーの安定供給の観点からリチウム (Li) イオン二次電池の更なる性能向上が求められている。この性能向上に向け、電池材料を構成する各活物質への Li 脱離・挿入反応ダイナミクスの解析が重要となる。そこで、LiMoS₂ からの Li 脱離現象について 31 fps の画像取得速度で STEM 動画を撮影し、3D テンソル分解法によるノイズ除去の検証を実施した。図 3-5(a) に 3D テンソル分解法適用前の STEM 像を示しているが、露光時間が短く電子検出数が少ないため、ほとんど有意な情報を得ることはできない。一方、図 3-5(b) に示した 3D テンソル分解法適用後の STEM 像では、原子配列に対応したコントラストの変化が認められる。具体的には、0 秒時点では Li 挿入構造 (LiMoS₂) が視野内で一様に認められるのに対し、17.78 秒後では円で示された領域に Li 脱離構造 (MoS₂) が出現し、50.91 秒後では Li 脱離領域が大きくなっていることが分かる。これらの結果から、Li 挿入構造と Li 脱離構造では結晶構造が異なるにもかかわらず、両者の界面では一定の整合性を保ったまま Li 脱離が進行することが明らかになった。このような現象の理解は、3D テンソル分解法による解析が無ければ得られない知見であり、高速撮影には 3D テンソル分解法のような AI 的画像解析技術が非常に有効であることが実証できた。

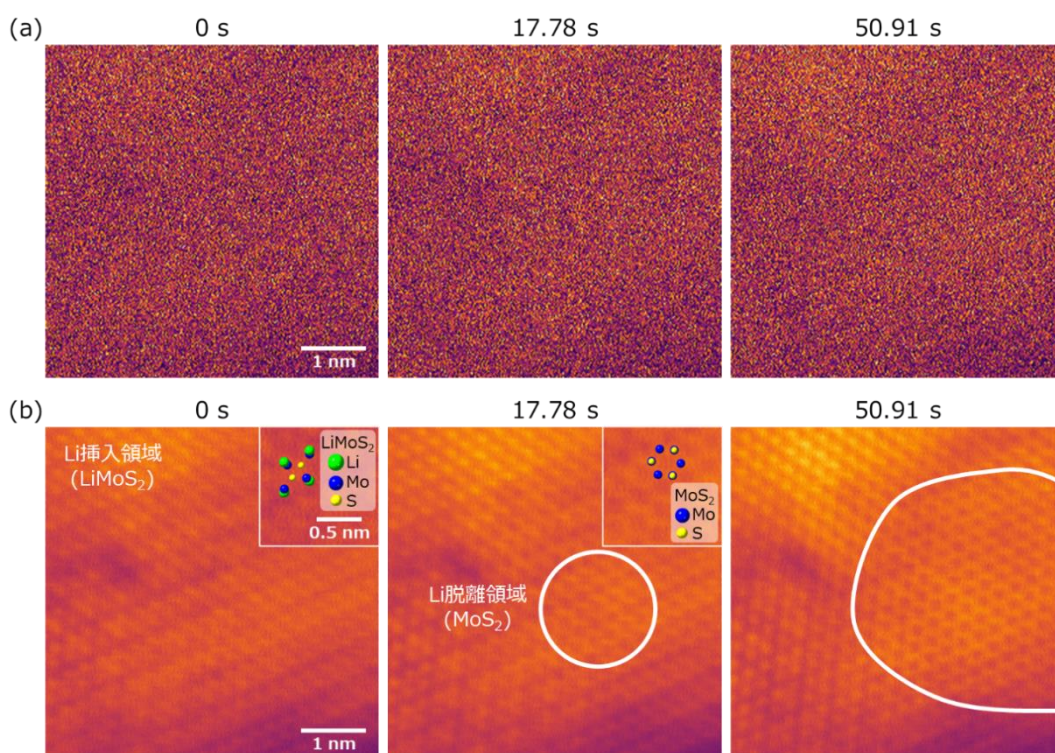
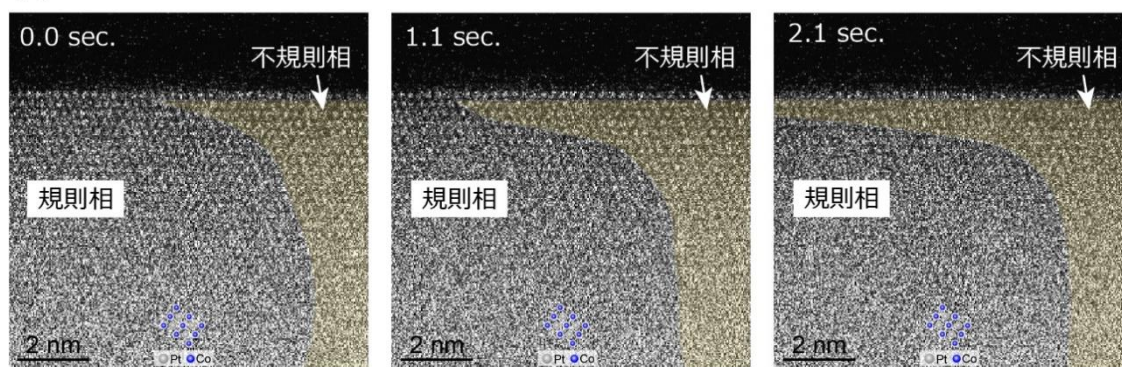


図3-5. (a) LiMoS_2 からのLi脱離現象に対して取得したADF-STEM像. (b) 3Dテンソル分解法によりノイズ除去を行ったADF-STEM像. (b)における白線はLi脱離構造が存在する領域を示す.

⑤ Pt_3Co の規則不規則過程の熱処理における動的挙動観察

Pt_3Co 合金は高性能燃料電池触媒として注目されており、触媒活性および耐久性は、その結晶構造、特に規則-不規則相状態に強く依存する。本研究では、 Pt_3Co 合金を 900 から 950°C への昇温加熱中における構造変化を原子分解能 ADF-STEM 法により観察した。図 3-6(a)は、加熱中に 31 fps のフレームレートで取得した ADF-STEM 像である。高速撮影のために露光時間が短く、電子検出数が限られることで像質が低下しており、原子配列の詳細を視認するのは困難である。この問題を解決するため、図 3-6(b)では 3D テンソル分解法を用いてノイズ除去処理を実施した。その結果、コントラストが大幅に改善され、Pt と Co の配列状態が明瞭に観察可能となった。 Pt_3Co の規則相は、Pt と Co 原子が周期的に配列する。そのため、Pt と Co が特定のサイトを占有するため、周期的なコントラストが観察される。一方、不規則相では、Pt と Co の原子がランダムに配置されるため、一様なコントラストとして観察される。規則相を示していた領域において、高温加熱に伴って不規則相へと変化していく様子を原子スケールで可視化することに成功した。このような規則相から不規則相への相転移は、合金表面の電子状態や吸着特性に影響を及ぼし、触媒としての性能にも直結する重要な現象である。本研究の結果は、 Pt_3Co 合金の高温安定性や相制御戦略に関する新たな知見を提供するとともに、将来的な高耐久・高性能触媒設計に向けた指針を与えるものである。

(a) 900℃から950℃への昇温加熱中のPt₃Co規則相と不規則相の変化



(b) ノイズ除去後の900℃から950℃への昇温加熱中のPt₃Co規則相と不規則相の変化

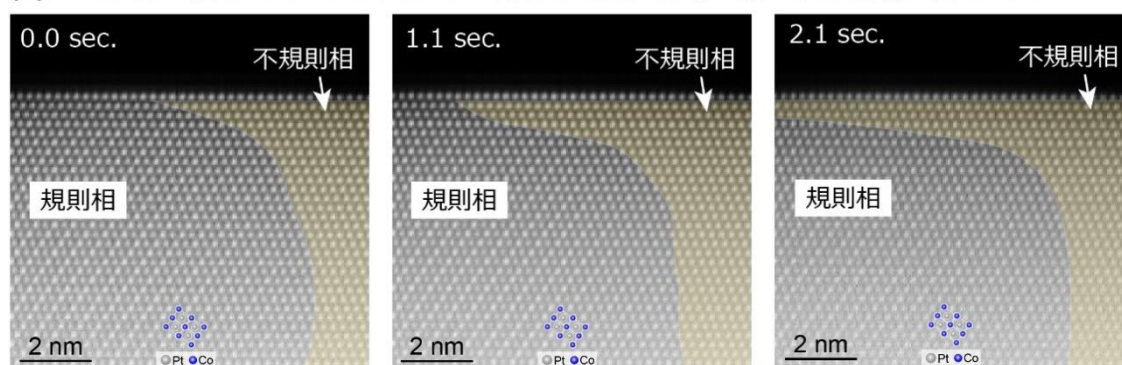


図3-6. (a) 900° Cから950° Cへ昇温加熱中におけるPt₃Co合金における規則-不規則相変化を31 fpsの時間分解能で取得したADF-STEM観察結果. (b) 3Dテンソル分解法によりノイズ除去を行ったADF-STEM像. 規則相はCoとPtが周期的に配列しており, Ptサイトは明るい輝点, PtとCoが存在する箇所は暗い輝点として観察される. (a)と(b)の黄色で示した領域は不規則相であり, PtとCoがランダムに存在しているため, 周期的な配列は観察されない.

(実施項目 4) 超高感度オペランドSTEM-EDS計測技術の開発と応用計測

走査透過電子顕微鏡法 (Scanning Transmission Electron Microscopy: STEM) では、収束した電子線を試料に照射し、透過した電子を検出器で捉えることで、原子レベルの高分解能像を取得できる。エネルギー分散型 X 線分光法 (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy: EDS) は、試料内で発生する特性 X 線を検出・解析し、各元素の存在を定性もしくは定量的に明らかにする手法である。これら二つの技術を組み合わせた STEM-EDS 法の最大の特長は、構造情報に加えて原子分解能スケールでの元素分布を可視化できる点にある。ADF (Annular Dark Field)-STEM 像のコントラストは原子番号 (Z コントラスト) に依存するため、重元素ほど明るくなるため像解釈が容易となる。一方で、輝点強度のみでは元素種を正確に識別することは難しい。このため、EDS による補完的な元素分析が有効な手法となる。図4-1に本実施項目で用いた電子顕微鏡システムの模式図を示す。

【実施項目 4】

Off-line STEM-EDS

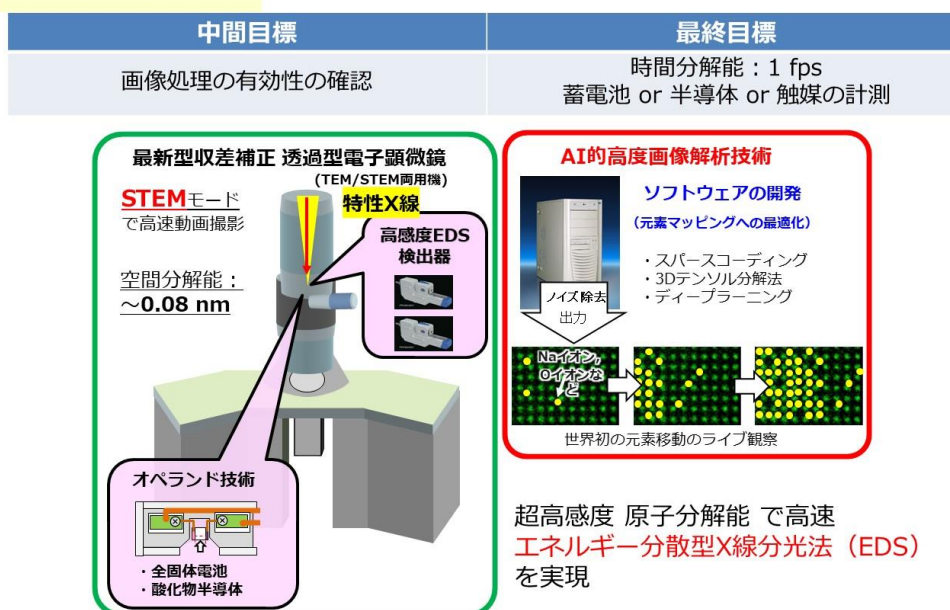
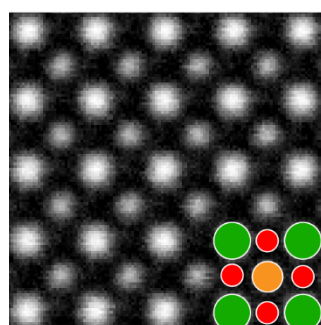


図 4-1. 実施項目 4 で構築した電子顕微鏡システムの模式図.

① SrTiO₃ 結晶の破壊過程の STEM-EDS 観察

図 4-2 に触媒材料としても用いられる SrTiO₃ から取得した原子分解能 STEM-EDS 測定例を示す。図 4-2(a) の ADF-STEM 像では、重元素である Sr が Ti よりも明るい輝点として観察される。しかし、輝点強度だけでは構成元素を同定できない。そこで、図 4-2(b) に示す EDS 元素マッピングを併用することにより、Sr および Ti 原子の分布を明瞭に識別できる。しかし、この実験においては図 4-2(b) の元素分布像を得るために、196 秒という長い露光時間を要した。これでは、秒単位で動く元素分布を動画として観察することは不可能である。

(a) ADF STEM像



(b) EDS元素マップ

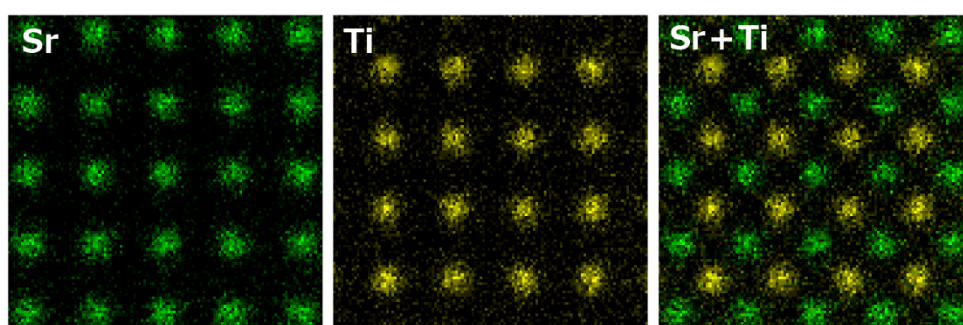


図 4-2. SrTiO₃ に対する原子分解能 STEM-EDS 分析結果 (a) ADF-STEM 像. コントラストは原子番号に依存しており、重元素である Sr が明るく、Ti がやや暗く観察される. 右下には構成元素 (Sr: 緑, Ti: 橙, O: 赤) を示した構造模式図を示す. (b) ADF-STEM 像に対応する EDS 元素マッピング像. 左から Sr, Ti, Sr+Ti の重ね合わせマップを示しており、Sr および Ti 原子の空間分布が明瞭に可視化されている. これにより、ADF 像のみでは区別が困難な各元素の同定が可能であるが、必要な露光時間が長い (196 秒) ため、秒単位で動く元素の動画観察はできない.

本項目ではこの STEM-EDS 法を用いて「原子分解能で元素移動を動画として捉える元素分布計測技術」の確立を目標にした。具体的には高分解能 STEM-EDS 法を用いて 1 fps 以上の時間分解能で EDS 元素マッピング像を連続取得し、AI 的画像解析と組み合わせて元素移動の動的な観察を実施した。

SrTiO₃ 試料に対して 1 fps の時間分解能により STEM-EDS 測定を行った。1.2 fps という高い時間分解能において EDS 検出器への信号量を最適化するため、倍率や電子線量などの実験条件を網羅的に検討した。最適化を行った条件で取得した ADF-STEM 像および EDS 元素マッピング像を図 4-3 に示す。図 4-3(a) の ADF-STEM 像では、撮影時間の経過とともに中央部において、空隙が形成されていく様子が確認できる。図 4-3(b)、(c) にノイズ除去前の Sr および Ti の EDS マップを示す。EDS 検出器への信号量を最適化しても、EDS マップ像（露光時間は 0.8 秒）からでは元素移動を明瞭に識別することは困難である。そこで、3D テンソル分解法によるノイズ除去処理を行った。結果を図 4-3(d)、(e) に示す。ノイズ除去処理を実施することで 1.2 fps という時間分解能においても、SrTiO₃ における空隙の形成過程を原子分解能で識別することができる。初期フレームでは原子カラムの配列が明瞭に観察され試料の結晶構造を反映している。撮影時間の進行とともに中央部を起点として信号が減衰し、元素分布が不均一化していく様子が捉えられている。この変化は ADF-STEM 像において観察された空隙の進行と対応しており、1.2 fps で取得した EDS 元素マップからも構造変化の実態を捉えることに成功した。

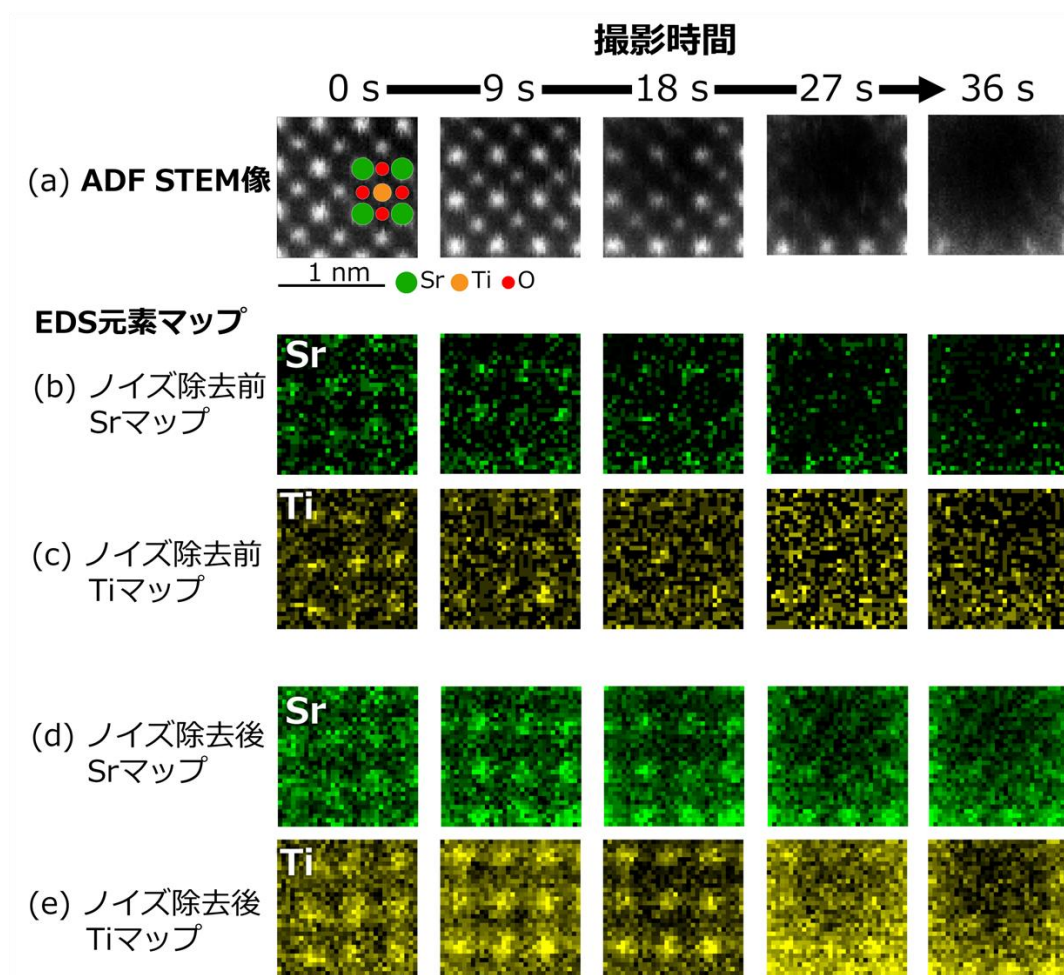


図 4-3. 1.2 fps で取得した SrTiO₃ に対する原子分解能 STEM-EDS 分析結果. (a) ADF-STEM 像. 撮影時間の経過とともに中央部の空隙が進行していく様子を捉えている. 0 s の像には構成元素 (Sr: 緑, Ti: 橙, O: 赤) を示した構造模式図を示す. (b) - (e) ADF STEM 像に対応する Sr および Ti の EDS 元素マッピング像. (b), (c) はノイズ除去前, (d), (e) は 3D テンソル分解法によるノイズ除去後の元素マップを示す. (d), (e) のマップでは, ADF-STEM 像で見られた空隙の進行を元素ごとに明瞭に観察することができる.

(実施項目 5) 超高感度オペランドSTEM-EELS軽元素計測技術の実現と応用計測

電子エネルギー損失分光法 (Electron Energy-Loss Spectroscopy: EELS) は、試料を透過した電子が非弾性散乱によって失うエネルギーを計測することによって各元素の存在量や化学結合状態を定性・定量的に明らかにする手法である。STEM と組み合わせた STEM-EELS の最大の特長は、Li などの軽元素の元素分布・化学状態分布を可視化できる点にある。環状暗視野 (Annular Dark-Field (ADF)) STEM 像のコントラストは原子番号 (Z コントラスト) に依存し、重元素ほど明るく描写されるため像解釈が容易であるが、輝度のみでは元素種や酸化状態を一意に判別することはできない。そこで、コアロス領域や微細構造 (ELNES/EXELFS) を解析できる EELS が補完的かつ強力な手段となり、軽元素を含む複雑な試料の組成・電子構造評価に不可欠である。本項目ではこの STEM-EELS 法を用いて「Li などの軽元素の移動や電気化学反応にともなう遷移元素の価数変化などを動画として捉えられる計測技術」の確立を目標にした。具体的には STEM-EELS 法を用いて 1 fps 以上の時間分解能で像を連続取得し、AI 的画像解析と組み合わせ元素の移動を動的に可視化した。図 5-1 に本実施項目で構築した電子顕微鏡システムの模式図を示す。

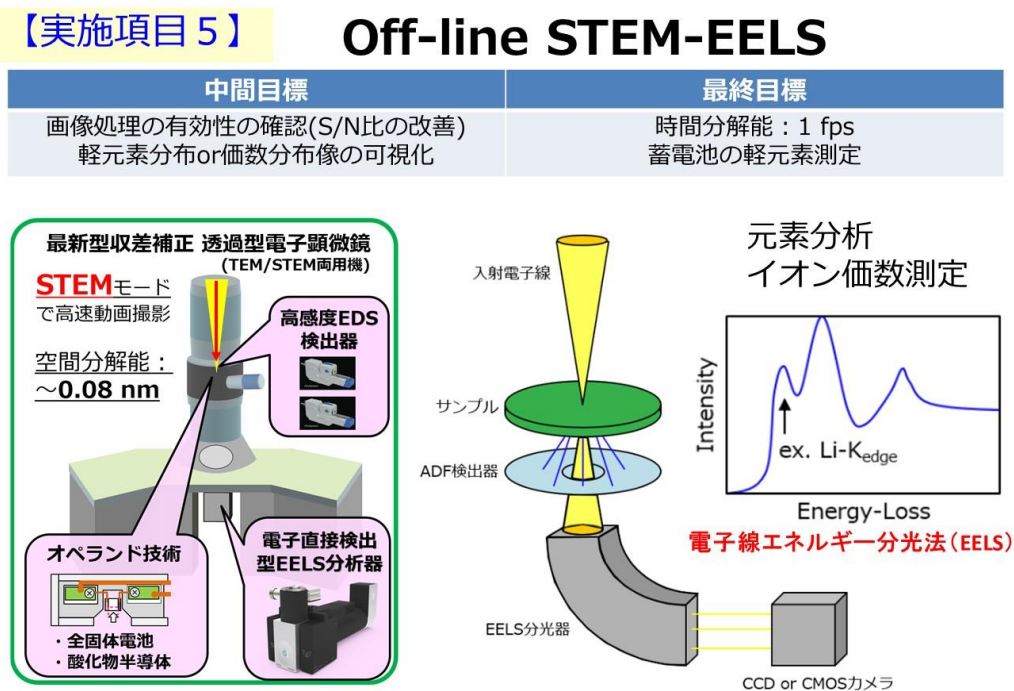


図 5-1. 実施項目 5 で構築した電子顕微鏡システムの模式図

① チタン酸リチウム負極 ($\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$) 中のリチウム移動と他元素の電子状態の STEM-EELS 観察

チタン酸リチウム負極 ($\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$) を用いて作製した全固体 Li イオン電池を透過電子顕微鏡内部で充放電しながら 1.2 fps で撮影した Li 脱離時の STEM-EELS 測定結果を図 5-2 に示す。Li が軽元素なため、ADF-STEM 像 (図 5-2a) からは Li 分布が変化する様子は観測できないが Li-K 端の積分強度から抽出した Li 分布像 (図 5-2b) では、チタン酸リチウム/固体電解質界面から Li が脱離する様子が明瞭に観察された。また、Li-rich 相 ($\text{Li}_7\text{Ti}_5\text{O}_{12}$) と Li-poor 相 ($\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$) の Ti-L 端と O-K 端のスペクトル形状差から (図 5-2c-i)、それらの電子状態差とその分布の可視化を試みた。図 5-2c-f の上段がデノイズ前のスペクトルから抽出した Li-rich 相 ($\text{Li}_7\text{Ti}_5\text{O}_{12}$) と Li-poor 相 ($\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$) の Ti と O の電子状態分布

であり、下段がテンソル分解によってデノイズしたスペクトルから抽出した結果である。テンソル分解によって、デノイズ前にはノイズに埋もれていた信号の強度を回復し、Li 分布と相関する変化を可視化することができた。この解析結果は、電気化学反応式から推定される電子状態変化と整合しており、Li の移動と電気化学反応にともなう遷移元素の価数変化を、1.2 fps という高い時間分解能で動画として捉えることに成功した。

Li イオンや Ti の価数変化を観察することは、研究申請当初より予想していたが、より信号が弱い酸素 (O) イオンの電子状態変化まで可視化できたことは、目標をはるかに超える成果であった。これらの結果は、電池材料内で起こる電気化学現象を高い空間分解能と時間分解能で明らかにできたことを意味しており、本プロジェクトで開発した電子顕微鏡システムが今後の電気化学分野（特に、蓄電池分野）に大きな貢献をもたらすと考えられる。

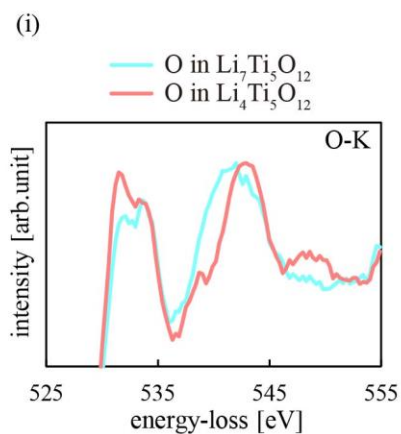
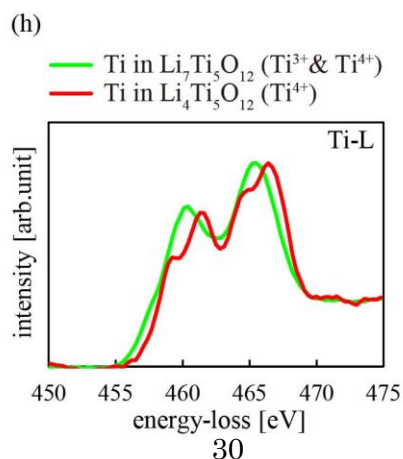
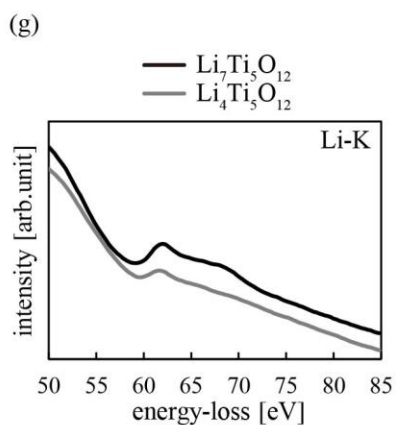
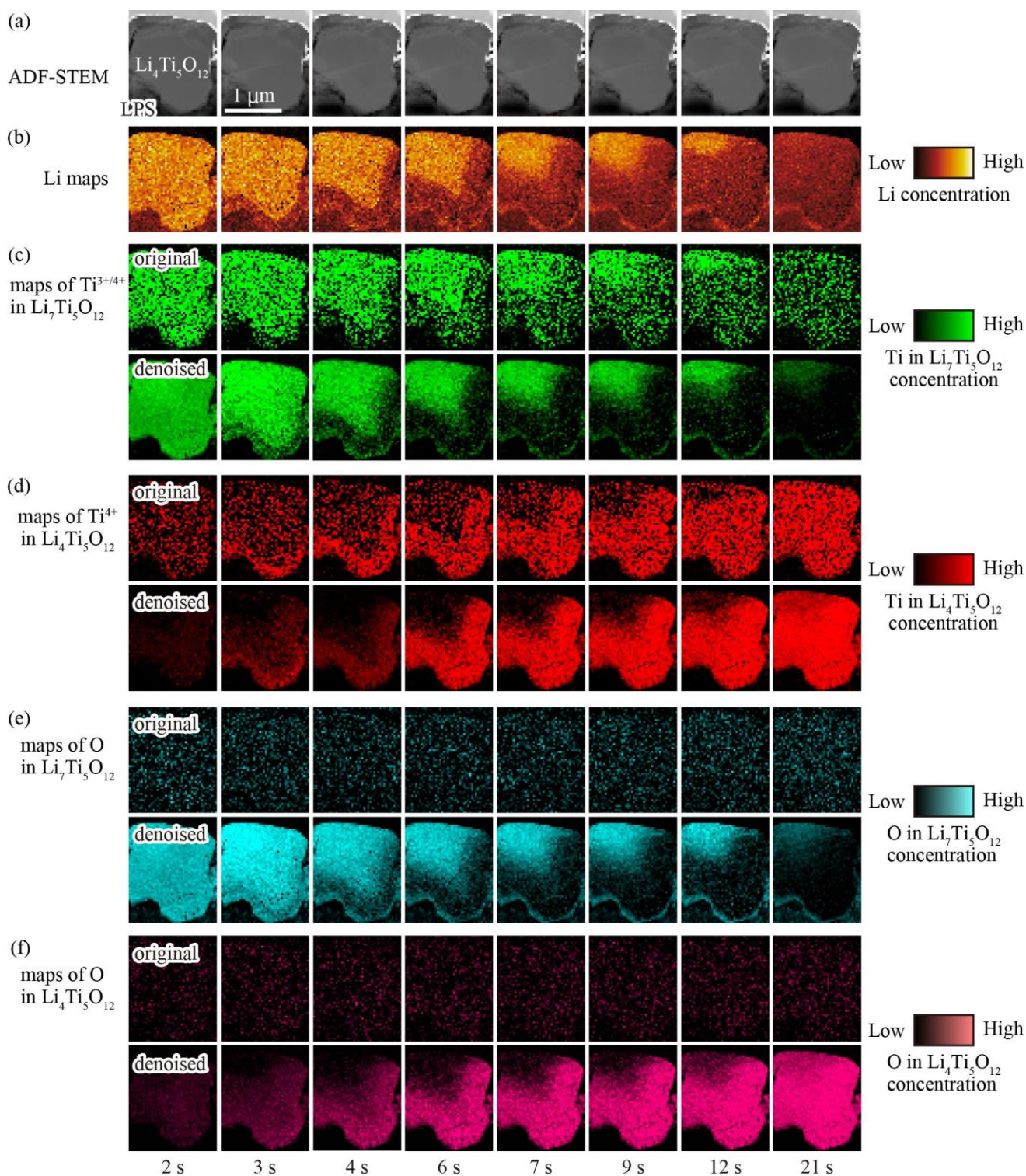


図5-2. チタン酸リチウム負極に対するSTEM-EELS観察結果 (a) ADF-STEM像. 図中のLPSは固体電解質 ($\text{Li}_2\text{S}-\text{P}_2\text{S}_5$) を表す. (b) Li分布. (c) $\text{Li}_7\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ 内の $\text{Ti}^{3+/4+}$ の分布. (d) $\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ 内の Ti^{4+} の分布. (e) $\text{Li}_7\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ 内のOの分布. (f) $\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ 内のOの分布. (g) Li脱離前後のLi-Kスペクトル. (h) Li脱離前後のTi-Lスペクトル. 緑は $\text{Li}_7\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ 内の $\text{Ti}^{3+/4+}$ のスペクトルであり, 赤は $\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ 内の Ti^{4+} のスペクトルである. (i) Li脱離前後のO-Kスペクトル. マゼンダは $\text{Li}_7\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ 内のOのスペクトルであり, ピンクは $\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ 内のOのスペクトルである. (c-f) 上段はデノイズ前, 下段はテンソル分解によるデノイズ後のスペクトルから抽出した分布である.

(実施項目 6)

細胞や微小生物といった生体試料は、そのほとんどが水分とタンパク質で構成されているため、電子顕微鏡での観察においては乾燥による変形や電子線ダメージによる構造破壊を防ぐために化学固定などの事前処理を施すのが一般的である。しかし近年では、事前処理を行わない、生体試料の「本来の構造」をその場観察するための手法や技術の開発が検討されている。

本実施項目では生体試料を、生体活性を持った状態でその場観察する超低侵襲電子顕微鏡計測システムの実現を目指すことを最終目標とし、実施項目 6-1「生体材料のその場観察に向けた基盤技術の開発と条件検討」と実施項目 6-2「生体材料のその場観察が可能な超低侵襲電子顕微鏡技術の開発」について実験を行った。

(実施項目 6-1) 生体材料のその場観察に向けた基盤技術の開発と条件検討

生体試料を電子顕微鏡で観察する方法として、ナノスーツ法、液中観察、クライオ観察の3つの手法を選択し、実験的に検討した。

① ナノスーツ法を用いた生体試料の観察

ナノスーツ溶液^(参考文献 1)とは、生体試料に滴下して、試料表面に保護膜を形成させることで、真空中および電子線照射下でも水分蒸発や試料へのダメージを抑え、構造を破壊することなく電子顕微鏡観察を可能にする特殊な溶液である。生体試料は高真空・電子線ダメージの影響を受けやすいため、試料構造を保護する目的でナノスーツ溶液を使用した。

予備実験として、TEM グリッド上に化学固定された大腸菌とナノスーツ溶液 Type3 (日新 EM 株式会社) を滴下し乾燥させて TEM 観察を行った。TEM 観察には加速電圧 300 kV の透過型電子顕微鏡 (JEM-3000F/日本電子株式会社) を用いた。図 6-1(a) は低倍率で撮影した大腸菌の TEM 像、図 6-1(b)、(c) は電子線の照射密度と露光時間を変化させたときの TEM 像を示す。十分な電子線照射と露光時間で撮影しても大腸菌の構造や形状に変化は無く、ナノスーツ溶液の効果とも思われるが、すでに化学固定された大腸菌試料のため、別の試料でも同様に検討する必要がある。

そこで、次のターゲットとして COS7 (アフリカミドリザル腎臓由来) 細胞を用いた。しかし COS7 細胞と希釈したナノスーツ溶液を混和すると浸透圧で死滅してしまう問題が見つかった。ナノスーツ溶液は、試料によって親和性が変化するようである。ナノスーツ法を用いる場合には、ナノスーツと親和性の高い試料の選択および試料ごとの条件検討が重要であることが分かった。

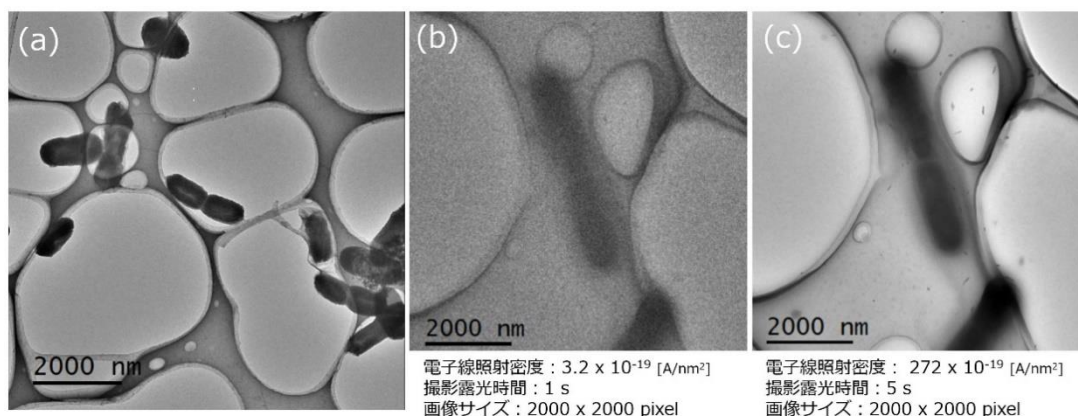


図 6-1. ナノスーツ溶液で保護された大腸菌の TEM 像.

(a) 低倍率の TEM 像.

(b) 低い電子線照射密度と短い露光時間で撮影した TEM 像.

(c) 十分な電子線照射密度と露光時間で撮影した TEM 像.

② COS7 細胞の液中走査型電子顕微鏡 (Scanning Electron microscope (SEM)) 観察

液中観察用環境チャンバー「Liquid cell(アライアンスバイオシステムズ社)」の構造、および SiN メンブレン上の試料の模式図を図 6-2 示す。図 6-2(a) の断面図に示すとおり、SiN メンブレンチップをチャンバーに組み込むことでメンブレンが隔壁となり、チャンバー内部は大気、チャンバー外部は真空の状態を保つ構造となっている。SiN メンブレンチップには $500 \times 500 \mu\text{m}$ の観察窓があり、試料を観察するにはメンブレン上に細胞を接着させる必要がある。SiN メンブレンにプラズマを数秒照射することで親水化処理を行い、メンブレン上に COS7 細胞を培養・接着させ、乾燥防止およびコントラスト向上の目的で金ナノ粒子懸濁液を滴下した (図 6-2(b))。金(Au)は細胞毒性が低く、二次電子放出効率が高いことから、生体試料に対して金ナノ粒子を用いた電子顕微鏡観察が行われることも多い。この特性を利用して、チャンバー内に閉じ込めた細胞の液中 SEM 観察を行った。その結果を図 6-3 に示す。

図 6-3(a) は 1 フレームあたりのドーズ量が約 $1.16 \times 10^{-3} \text{ e/nm}^2$ という極めて低いドーズ量の条件下で撮影されたため、ノイズが強く、ほとんど情報が得られていない。(a) に対して AI 的画像解析法の「3D テンソル分解法」を用いてノイズ除去・再構築を行った結果が図 6-3(b) であり、細胞と金ナノ粒子懸濁液と思われるコントラスト差が確認された。図 6-3(c) は、(b) をカラー表示したものである。観察時は反射電子検出器を用いており、金などの原子番号の大きい元素は反射電子放出量が多いため SEM 画像中では明るく見え、逆に炭素などの軽元素は SEM 画像中では暗く見える。したがって試料の構成上、(c) で見られる一番明るいオレンジの領域は凝集した金ナノ粒子群、グリーンが金ナノ粒子懸濁液、暗いブルーが細胞によるコントラストと思われる。観察後の COS7 細胞は多くの死滅や肥大化が見られ、低ドーズ観察ではあったが電子線照射によって刺激やストレスを受けていることが分かった。生体細胞を用いた液中観察においては、最適な電子線照射量を見つける事が必須課題である。

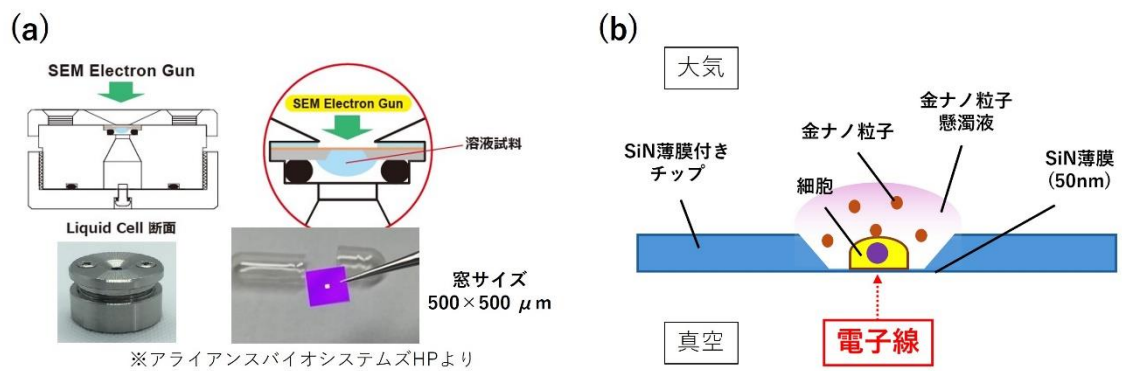


図 6-2. COS7 細胞の液中 SEM 観察に向けた試料作製手法 .

(a) 液中観察環境チャンバー Liquid cell の構造.

(b) SiN メンブレンチップ上の細胞試料の模式図.

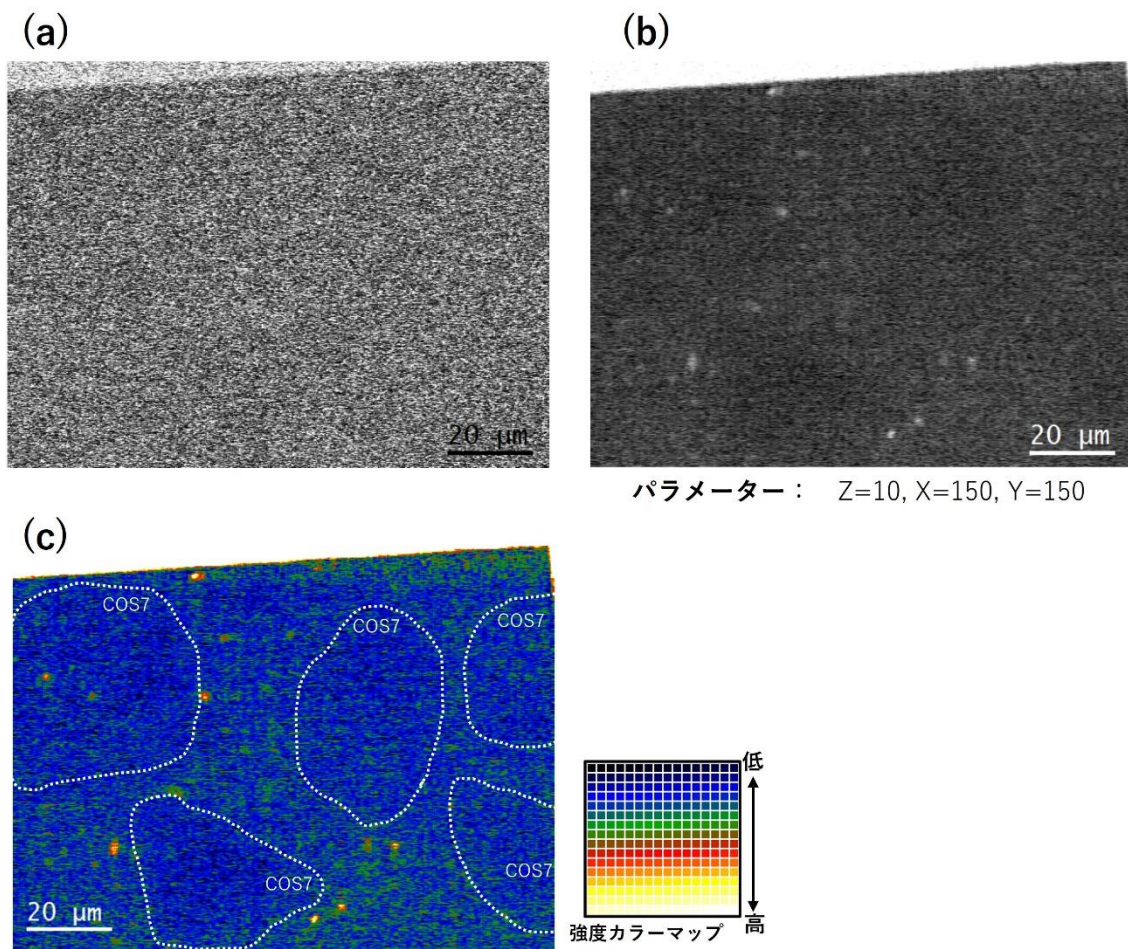


図 6-3. 液中 SEM 観察法による COS7 細胞（反射電子像）.

(a) 低ドーズで撮影された SEM 像.

(b) 3D テンソル分解法で (a) からノイズ除去・再構築した画像.

(c) (b) をカラー表示した画像.

③ COS7 細胞のクライオ TEM 観察

近年、生体試料の構造解析方法の一つとしてクライオ電子顕微鏡法がよく用いられている。これは生体試料を無染色・無固定のまま液体窒素温度（77 K）または液体ヘリウム温度（4 K）まで急速凍結して電子顕微鏡観察する手法であり、生体活性をもった状態を静的に解析する事が可能な技術である。例えば、シナプスは相互接続したニューロン間で迅速な情報伝達が行われる主要な部位であり、マウス海馬のシナプスを光刺激で活性化させてから数ミリ秒で起こる反応を急速凍結することで「超高速エンドサイトーシス」と呼ばれる神経伝達機構が発見されている^(参考文献 2)。急速凍結は生体試料観察において非常に有効であると考え、COS7 細胞のクライオ TEM 観察を行った。

クライオ TEM 観察するための凍結試料を作製する手順を図 6-4 に示す。(a)の(1. 細胞培養)に示すように、穴あきカーボン膜付の TEM グリッド(材質: Au, Quantifoil)をプラズマで親水化処理し、膜上への細胞接着を補助する目的でフィブロネクチンを塗布した。その後 COS7 細胞を播種して TEM グリッド上での細胞培養を行った。(b)の(2. 急速凍結)に示すように、サンドイッチ急速凍結装置を液体窒素で冷却しておき、細胞培養したグリッドを専用のピンセットで挟み込んで余分な水分を除去後、装置の発射台にピンセットを固定した。液体窒素で冷却した液化エタンにピンセット先端および試料を高速で浸漬させることで急速凍結し、生体活性を維持した状態の細胞の凍結試料を作製した。凍結試料をクライオトランスファー用試料ホルダーに固定し、 -170°C を維持した状態で TEM 観察(300 kV)を行った。その結果を図 6-5 と図 6-6 に示す。図 6-5 の画像中央に見られるもの(白点線の領域)が COS7 細胞で、周囲の黒い粒(*部分)はクライオトランスファー用試料ホルダーへ凍結試料を固定している際にコンタミした霜(氷晶)である。図 6-6(a)では細胞が細長く伸びている部分(赤点線の枠内)があり、倍率を上げて観察すると、(b)で示したように白点線の領域で細胞骨格と思われる構造を観察する事ができた。細胞骨格とは、細胞質内に張りめぐらされたタンパク質性の繊維構造であり、細胞の形態を形成・維持し、さらに細胞の運動や分裂において中心的役割を果たすものである。伸びた細胞骨格の途中の膜が割れてしまっているが、急速凍結により培養されている瞬間の状態(生体活性をもった状態)の細胞を観察する事ができた。

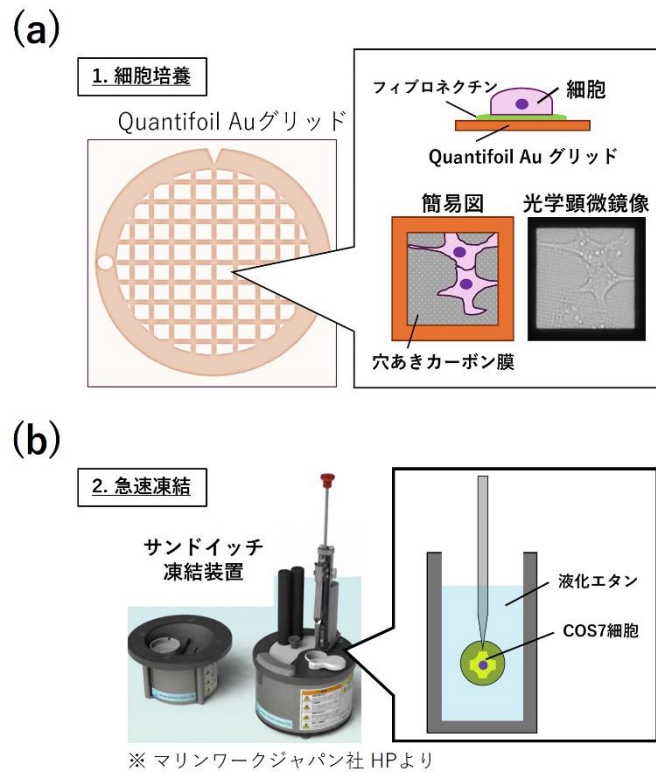


図 6-4. クライオ TEM 観察用の試料作製手法.

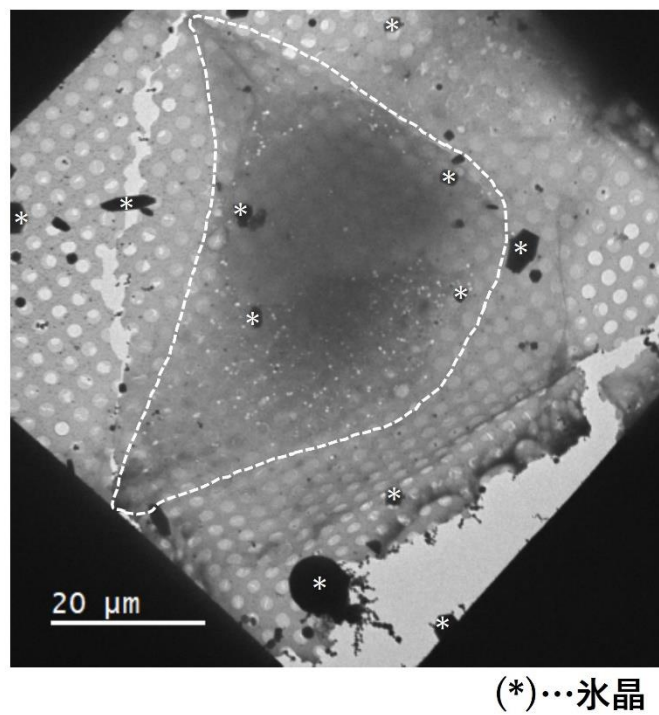


図 6-5. COS7 細胞のクライオ TEM 観察像.

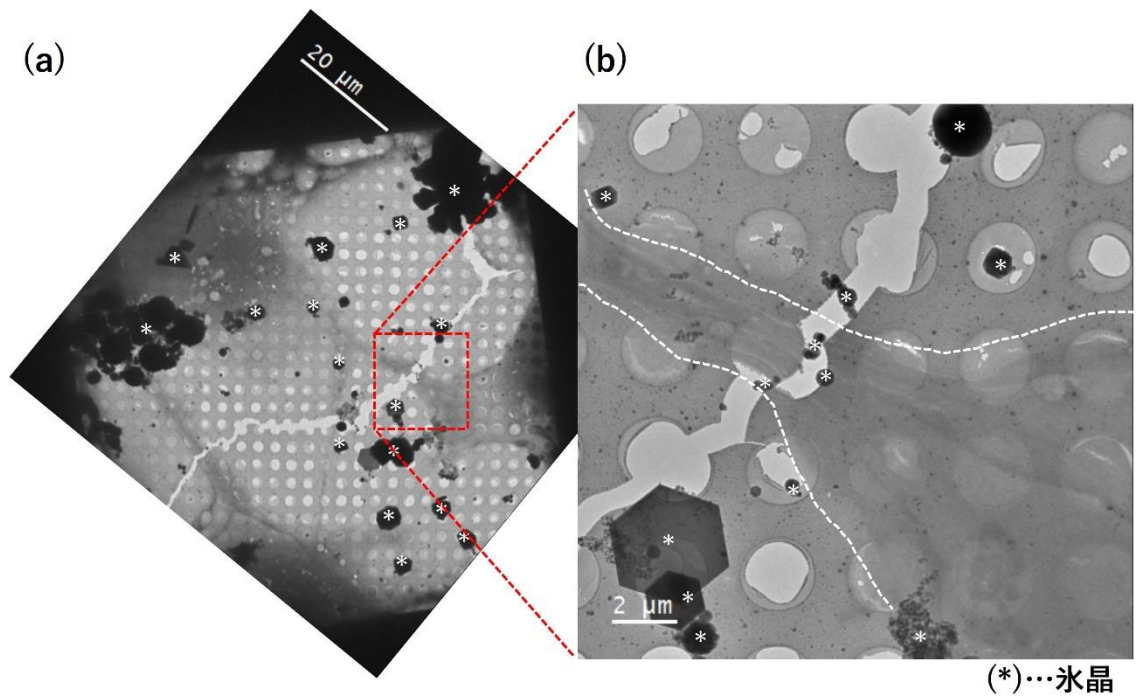


図 6-6. COS7 細胞のクライオ TEM 観察像. 細胞骨格と思われる構造を確認.

(a) 600 倍で撮影した TEM 像.

(b) (a) の赤点線の領域を 3000 倍に拡大して撮影した TEM 像.

④ 微小生物の液中 SEM 観察

続いてターゲットを微小生物であるクマムシに変更し、液中 SEM 観察を試みた。クマムシは体長が約 0.5～1.5 mm 程度で、高温や低温、真空などの極限環境下でも耐えうる微小生物であり、主に湿度の高い環境(コケ類)に生息するとされている。JFCC 敷地内の苔よりクマムシを採取し、観察試料とした(図 6-7)。上記②と同様の液中観察用環境チャンバー「Liquid cell」(図 6-8(a))を用いたが、液中のクマムシが観察領域の SiN メンブレンから離れないよう、図 6-8(b)に示すように苔や砂利を加え、SiN メンブレンに密着させてチャンバー内に閉じ込めた。低ドーズ量での条件下で 30fps の動画を約 10 分間撮影した。総ドーズ量は約 $2.17 \times 10^{-3} \text{ C/cm}^2$ である。その結果を図 6-9 に示す。

画像中央右側で変化を見せる白い影(白点線の領域)が生きたクマムシの体の一部であり、動画では液中で白い影が激しく動く様子が確認された。観察後のクマムシは、大気中で半日程度(3～4 時間)生きていることを確認し、生体活性をもった生体試料を液中 SEM 観察することに成功したことを確認した。

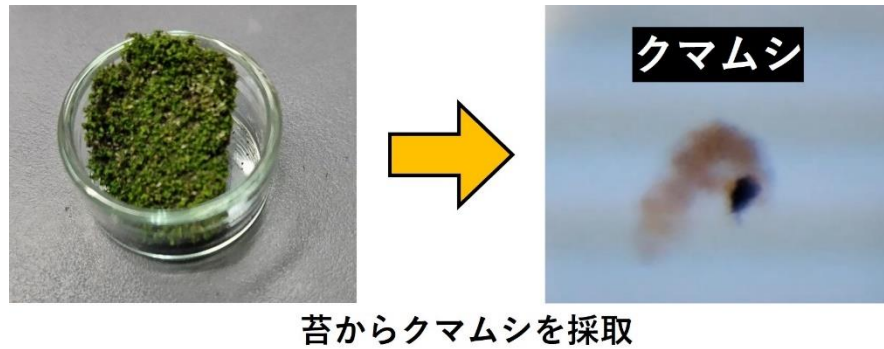


図 6-7. クマムシの採取方法および採取されたクマムシ(光学顕微鏡写真. 黒い粒は苔の一部).

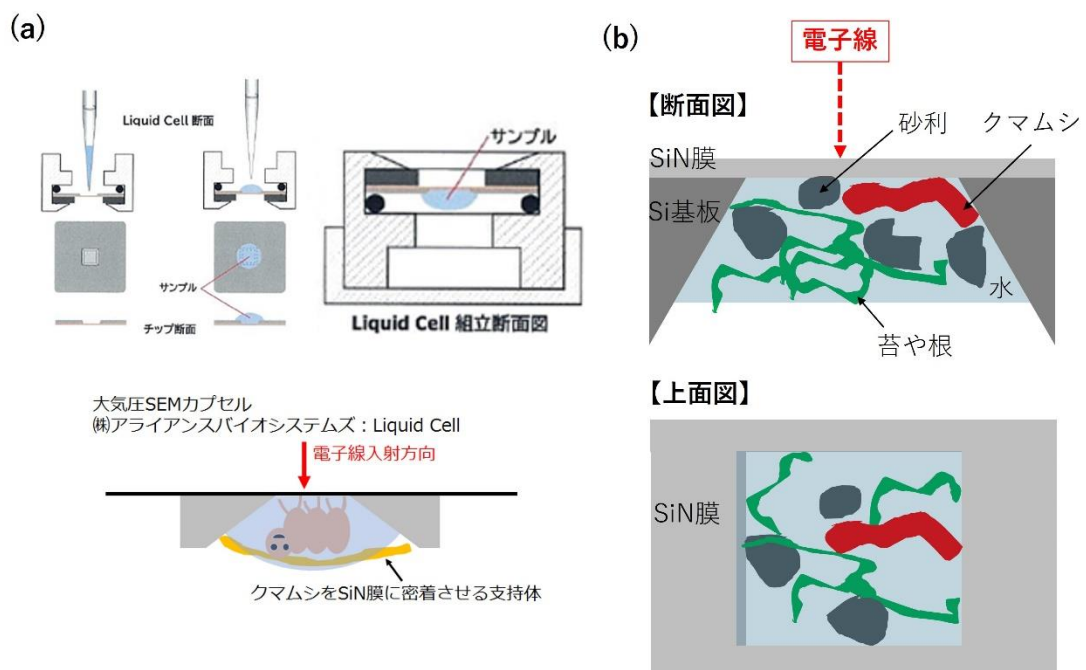


図 6-8. クマムシの液中 SEM 観察に向けた試料作製.

(a) 液中観察用環境チャンバー「Liquid cell」の構造.

(b) クマムシを SiN 膜に密着させる支持体(苔や砂利)の模式図.

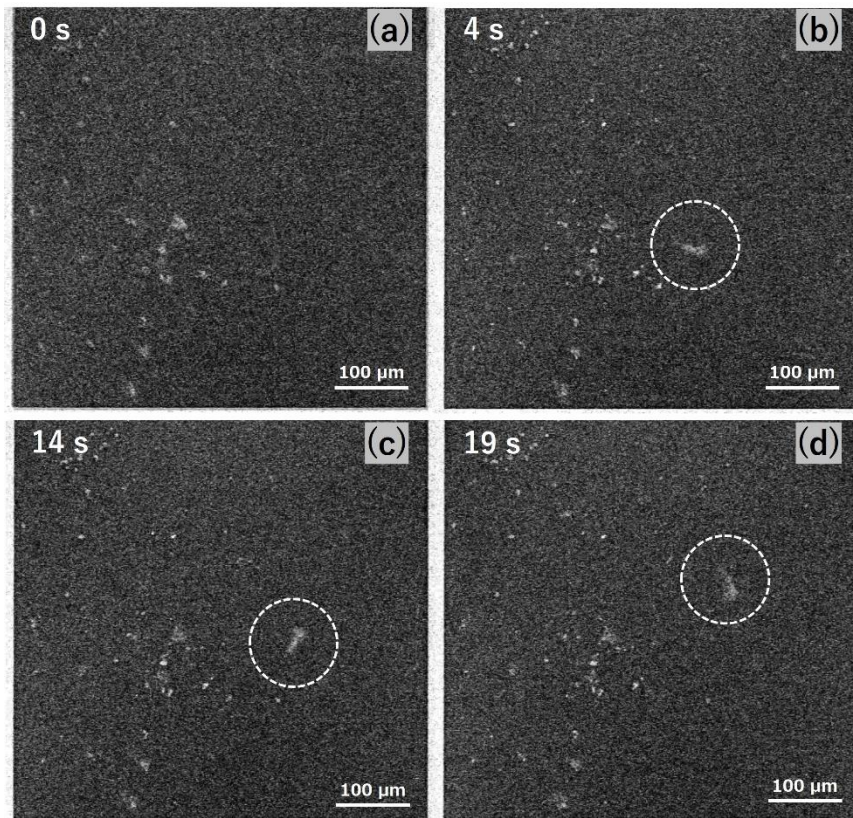


図 6-9. クマムシの液中 SEM 観察像（主に反射電子による像. 10 分間の動画から部分的に切り抜いた像）.

- (a) 撮影開始時. 画像左側の粒子は砂利などの像.
- (b) 約 4 秒経過. 画面中央の右側にクマムシの体の一部の像が確認された.
- (c) 約 14 秒経過.
- (d) 約 19 秒経過. クマムシが激しく動く様子が確認された.

⑤ ナノスーツ溶液を用いた微小生物の SEM 観察

続いてターゲットを微小生物であるコナダニに変更し、ナノスーツ溶液を用いて SEM 観察を試みた。コナダニは体長 0.3～0.5 mm 程度で、湿度の高い環境に生息するとされている。JFCC 敷地内の苔よりコナダニを採取し、ナノスーツ溶液 Type1 を滴下した。その後、余分な液を除去し、SEM 観察を行った。低ドーズ量の条件下で 30fps の動画を約 18 分間撮影した。総ドーズ量は約 8.64×10^{-5} C/cm² である。低ドーズ撮影された動画から切り抜いた 1 フレームを図 6-10(a) に示す。(a) と同様の条件で撮影した動画から 901 フレームを用いて 3D テンソル分解処理を行い、それにより再構築された結果を図 6-10(b) に示す。(a) と (b) でノイズ除去効果を比較すると、コナダニの体表（白点線の領域）において、層のような構造が (b) で確認された。倍率を上げて観察したときのコナダニの TEM 像 (図 6-10(c)) が示すように、コナダニは体に層のような構造をもっており、3D テンソル分解法ではこのような複雑な構造も再構築が可能である事がわかった。また、観察後のダニは、大気中で半日程度 (3～4 時間) 生きていることを確認しており、ナノスーツ法は微小生物の電子顕微鏡観察において、非常に有効である事が分かった。

以上より、ナノスーツ溶液を用いた生体試料を、生体活性をもったまま SEM 観察する事ができ、3D テンソル分解法により、より複雑な構造も動画で撮影する事に成功した。

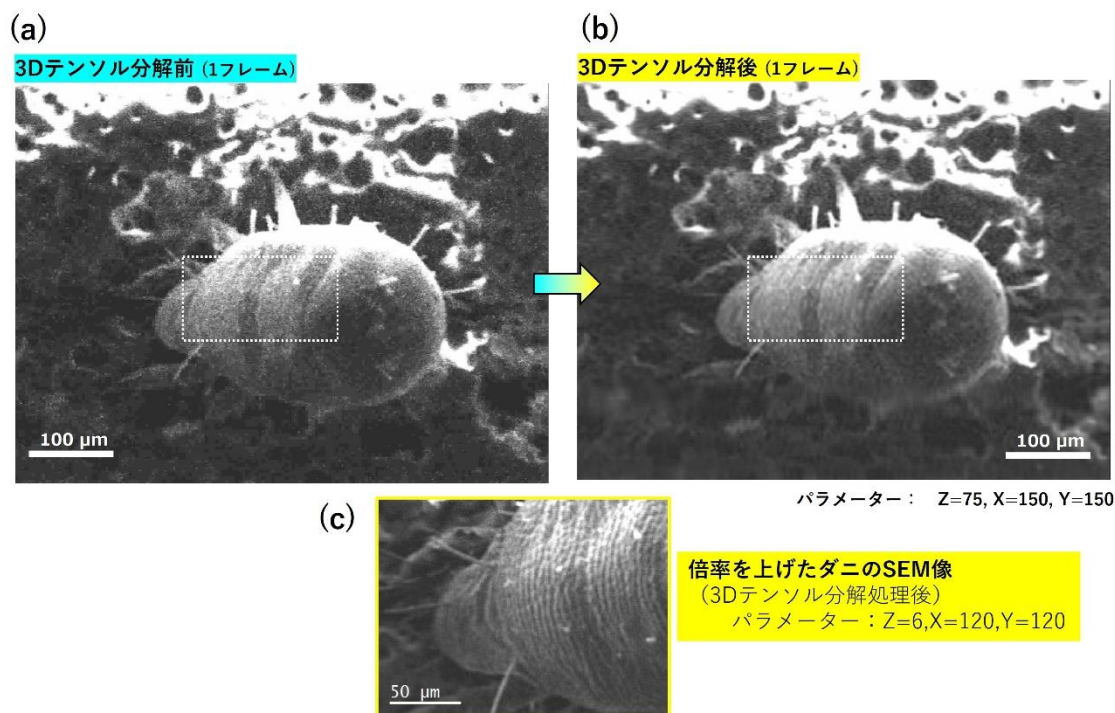


図 6-10. ナノスーツ溶液を用いたコナダニの SEM 観察.

(a) 低ドーズで撮影されたコナダニの SEM 像.

(b) 3D テンソル分解法で(a)をノイズ除去・再構築した像.

(c) (a)と同様の撮影条件で倍率を上げて撮影したコナダニの SEM 像.

(実施項目 6-2) 生体材料のその場観察が可能な超低侵襲電子顕微鏡技術の開発

生体試料は熱に弱く、電子線照射によるダメージで構造が破壊されやすい材料であるため、電子顕微鏡観察を行う際は、可能な限り低ドーズでの観察が求められる。しかし照射される電子の量が少ないことで得られる信号も少なくなり、画像にはノイズが多くなってしまうため、試料本来の構造がノイズに埋もれてしまうという問題がある。そういった低 S/N 比の画像に対して AI 的画像解析手法である「スパースコーディング法」または「3D テンソル分解法」を使用し、真の情報を引き出すための検討を行った。

① スパースコーディング法による画像鮮明化のシミュレーション

予備実験として、極めて低い電子線照射量で撮影した画像をスパースコーディング処理するときの画像鮮明化をシミュレーションで検証した。図 6-11(a)は 1 画像を 1 ミリ秒程度で撮影する高速撮影 (平均電子数を 0.1 個 pixel^{-1}) を想定してシミュレートした電子波干渉パターンである。ここでは、半導体 p-n 接合部を電子線ホログラフィーで観察するときに撮影するホログラム (干渉縞) を想定している。

ホログラフィー電子顕微鏡 (Hitachi HF3300EH) を用いて半導体 p-n 接合を観察する典型的なレンズ条件では 1 pixel は 0.17 nm であるため、この照射量 (0.1 e/pixel) は $0.1 \text{ e}/(0.17 \times 0.17) \text{ nm}^2 = 3.5 \text{ e/nm}^2$ に相当する。図 6-11(b)はスパースコーディング法を用いて(a)を画像解析することで得られた鮮明化画像、図 6-11(c)は正解画像(本シミュレーションのオリジナル画像)を示す。(b)ではノイズが除去された明瞭な干渉縞が得られており、コントラストは(c)と良く一致しており、高い類似度でデータが再現できている事がわかる。画面上半分と下半分では干渉縞がずれており、これは p 型部分と n 型部分に電位差があることを示している。このシミュレーション結果は、「時間分解能が 1 ミリ秒程度の超高速撮影画像を機械学習で鮮明化することができる」ことを直接示すものである。

これが生体試料観察にどのような意味を持つかを考察する。生体試料の大半を占める物質の代表としてタンパク質が挙げられる。タンパク質はアミノ酸で形成されているため、アミノ酸の観察に許容される電子線照射量で観察すればタンパク質を観察できると仮定した。過去の文献を調査すると、例えば末永ら^(参考文献 3)によれば、アミノ酸が耐える電子線照射量は $10^{-3} \text{ C cm}^{-2}$ 程度とされており、これを (e/nm^2) に換算すると 60e/nm^2 となる。すなわち、上記のシミュレーションで仮定した照射量 3.5e/nm^2 はアミノ酸の許容照射量より 1 桁以上小さな値である。この結果は電子線照射に弱く観察のために照射量を低く制限しなければならない生体試料の観察にもスパースコーディングが有効であることを示している。この検討により、生体材料を電子顕微鏡で観察するときに許容される電子線照射量で撮影した画像をスパースコーディングで処理すれば、代表的な生体物質であるアミノ酸やタンパク質の画像の鮮明化が期待できる。

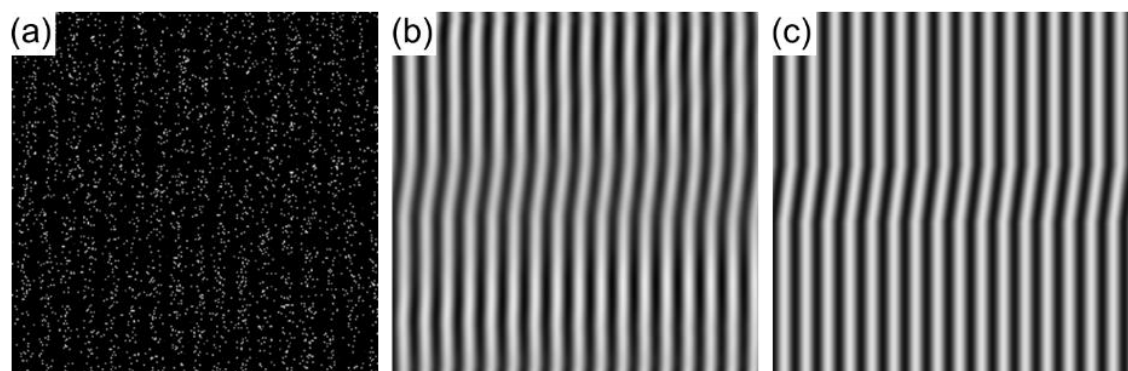
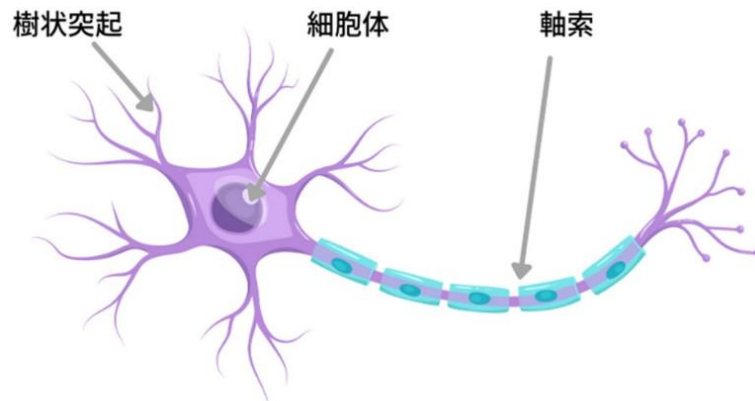


図 6-11. 機械学習（スパースコーディング）による画像鮮明化のシミュレーション。

- (a) 高速度撮影を想定した検出電子数の極端に少ない干渉縞画像。
- (b) (a)を機械学習（スパースコーディング）することで得られた鮮明化画像。
- (c) 正解画像。

② スパースコーディング法を用いた軸索の TEM 像に対する画像鮮明化のシミュレーション

AI 的画像解析処理を行う生体試料の画像として、マウスの軸索の TEM 像を使用した。軸索とは神経細胞（ニューロン）に含まれる神経繊維（図 6-12）であり、この繊維に電気が伝わり動物の筋肉などが動作している。その断面の TEM 像を図 6-13(a)、(b)に示す。様々な形状を持つリング状の部分が軸索の断面である。この 2 枚の画像 ($512 \times 512 \text{ pixel}$) から特徴量を抽出し作成した辞書を図 6-13(c)に示す。辞書を作成するためのハイパーパラメータを探索するため 320 通りの計算を行い、最適なパラメータとして、パッチサイズ： $32 \times 8 \text{ pixel}$ 、基底の数：256、スパース性の強さ：1 を得た。この辞書を用いて、 $1024 \times 1024 \text{ pixel}$ で撮影した軸索の画像（図 6-14）にスパースコーディングを適用し画像鮮明化の評価を行った。図 6-14 の画像にポワソンノイズを適用し、Signal/Noise 比を低下させた画像（S/N 比：2.4）を作成した（図 6-15(a)）。このノイズを含む画像に対してスパースコーディングを適用した結果を図 6-15(b)に示す。ここで処理前後の定量的な評価をするため、一般的に用いられている PSNR(peak signal to noise ratio)と呼ばれる指標を用いた（図 6-16）。この指標は、オリジナルの画像（図 6-14）と比較し、処理前後の画像がどのくらい類似しているかを定量的に示す無次元の数値であり、大きい値ほど類似性が高いことを示す。処理前の大きなノイズを含む画像（図 6-15(a)）の PSNR は 10.28 であったのに対し、処理後の画像（図 6-15(b)）の PSNR は 20.42 であった。スパースコーディングによりランダムなノイズを効果的に低減でき、PSNR の値を 2 倍程度向上させることに成功した。この PSNR 値は、上記のハイパーパラメータの値で大きく異なることもわかり、最適な値をいかに正確に探索するかがキーポイントである。



<https://www.macnica.co.jp/business/ai/manufacturers/innereye/135664/>

図 6-12. 神経細胞（ニューロン）の模式図.

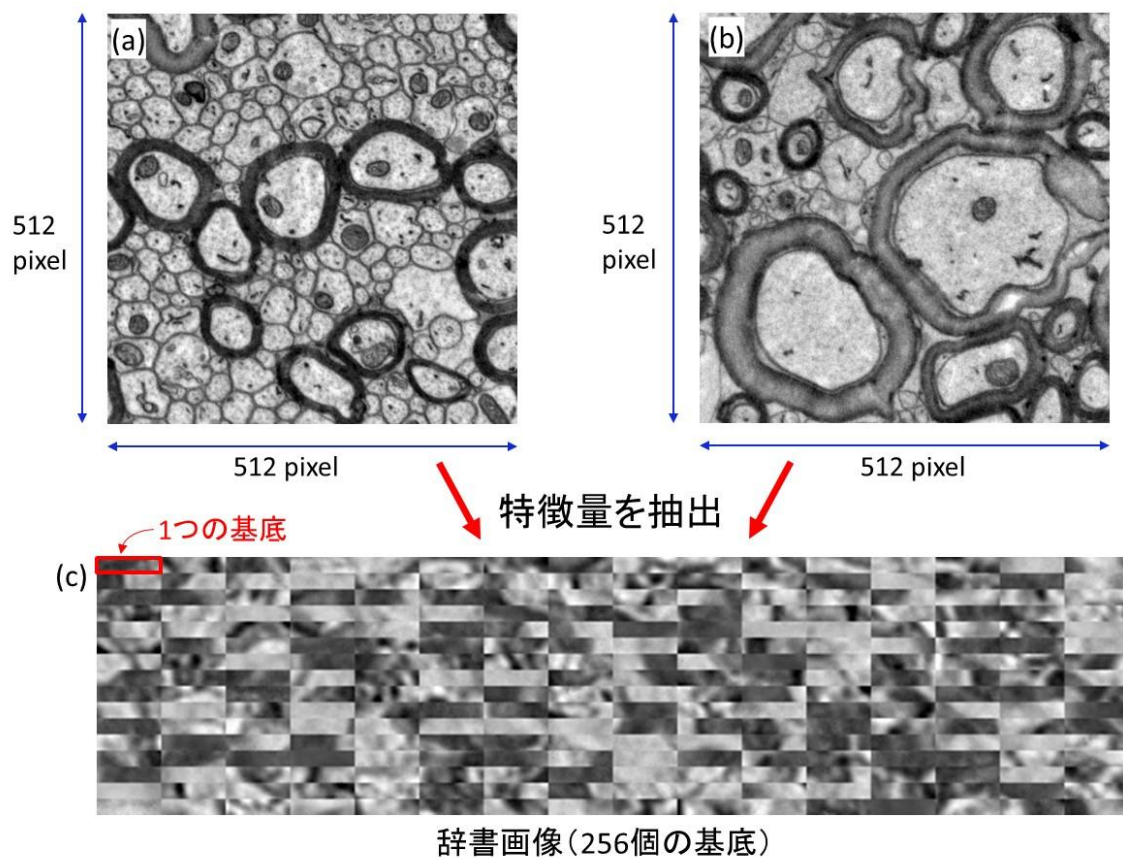


図 6-13. 軸索の TEM 画像（80 kV TEM 使用）と辞書画像.

(a) 512 x 512 pixel の TEM 画像.

(b) 512 x 512 pixel の TEM 画像.

(c) 2 枚の画像から特徴量を抽出した辞書画像 (256 枚の基底からなる).

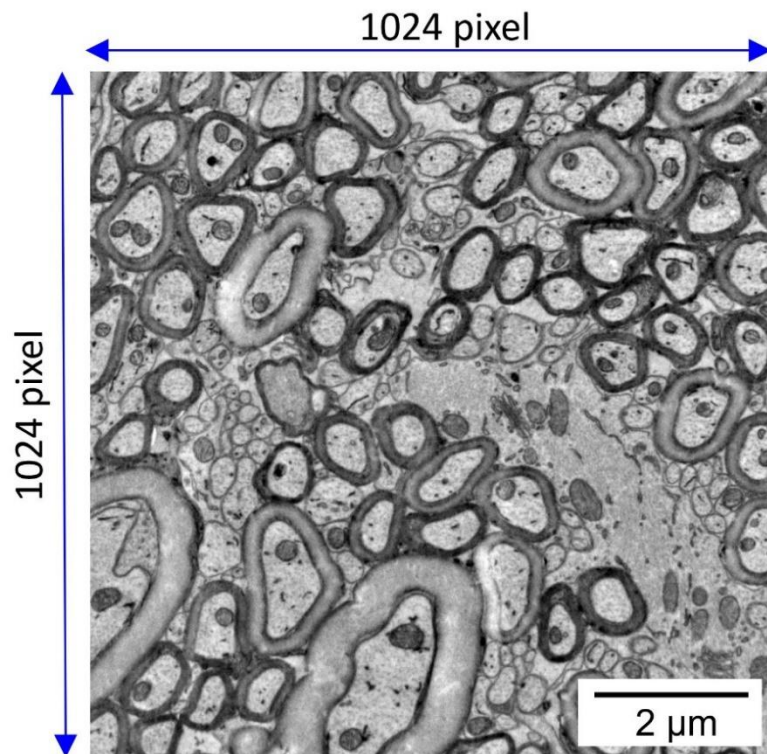


図 6-14. 軸索の TEM 画像 (80 kV TEM 使用) , 1024 x 1024 pixel の領域.

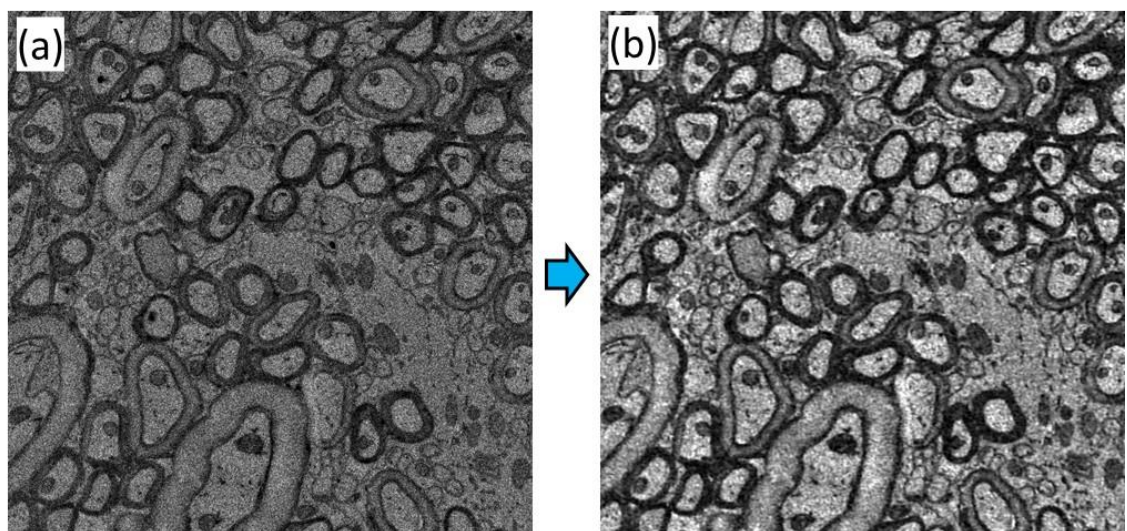


図 6-15. スパースコーディング処理前後の画像.

- (a) ポワソンノイズを付加した軸索の画像 (S/N 比 = 2.4) , PSNR = 10.28 .
- (b) スパースコーディング処理を行った後の軸索の画像, PSNR = 20.42 .

Peak signal-to-noise ratio (PSNR)

$$\text{PSNR} = 10 \log_{10} \left[\frac{\text{MAX}^2}{\frac{1}{W \times H} \sum_{q=0}^{W-1} \sum_{r=0}^{H-1} [O(q, r) - P(q, r)]^2} \right]$$

$P(q, r)$: Standard image (noise-free image)
 $O(q, r)$: Target image (denoised image)
 W, H : Width, Height of the images
 MAX : Maximum pixel-value of the standard image

図 6-16. PSNR(peak signal to noise ratio)の算出式.

PSNR 値が大きいほど、正確な画像が得られることを意味する.

③ 大腸菌の TEM 観察像に対する 3D テンソル分解およびラインプロファイル解析

実施項目 6-1-①で撮影した大腸菌の TEM 画像（図 6-17(a)、(b)）に対して AI 的画像解析法のひとつである 3D テンソル分解法を用いてノイズ除去効果を検証した。(a)と(b)は同じ領域で、それぞれ異なる電子線照射密度と露光時間で撮影を行った。(a)は、電子線照射密度 $272 \times 10^{-19} \text{ A/nm}^2$ 、露光時間 5 秒で撮影し、鮮明な大腸菌の TEM 像が得られているが、(b)は、 $3.2 \times 10^{-19} \text{ A/nm}^2$ 、露光時間 1 秒でノイズが多い TEM 像となっている。電子線のトータルドーズは、(a)に比べて、(b)は 1/425 の低ドーズで撮影していることになる。(b)と同様の条件で撮影した TEM 像 200 枚を 3 次元データとし、ソフトウェア上で 3 方向(X, Y, Z)の特徴を抽出し 3 次元再構築することでノイズを含まないデータが得られるのが 3D テンソル分解法の特徴である。設定パラメータを $X = 130$, $Y = 130$, $Z = 3$ とし再構築したところ図 6-17(c)に示すような結果が得られた。図 6-17(a)、(b)、(c)の TEM 画像内で矢印が示す部分は細胞分裂によるくびれである。露光時間 5 s の(a)では、はっきりとくびれ部分が観察できる。露光時間 1 s の(b)では、このくびれ部分は、ノイズで埋もれてしまっているが、3D テンソル分解法で(b)からノイズを除去した画像(c)では、くびれ部分が確認できている。処理前後の定量的な評価のため、PSNR を用いた（詳細な式は[図 6-16]に記載）。その結果、(b)の PSNR 値は 17.8、(c)の PSNR 値は 32.5 であった。(b)に比べて(c)の PSNR 値は明らかに向上しており、より(a)に近い画像として(c)が再構築されている事がわかった。

また、画像処理前後の比較として、画像の一部にラインプロファイルを取り（図 6-18(a)、(b)の A-B 間）、画像強度を比較した。そのラインプロファイルの結果を図 6-18(c)に示す。処理前(a)のプロファイルは、凹凸の激しい粗い分布であり、処理後(b)のプロファイルは、なめらかな分布であることがわかる。以上より、複雑なパターンの画像でも、3D テンソル分解法を用いればノイズを効果的に除去でき、1/425 の低い電子線照射量でも、大幅に画像を鮮明化できる事がわかった。

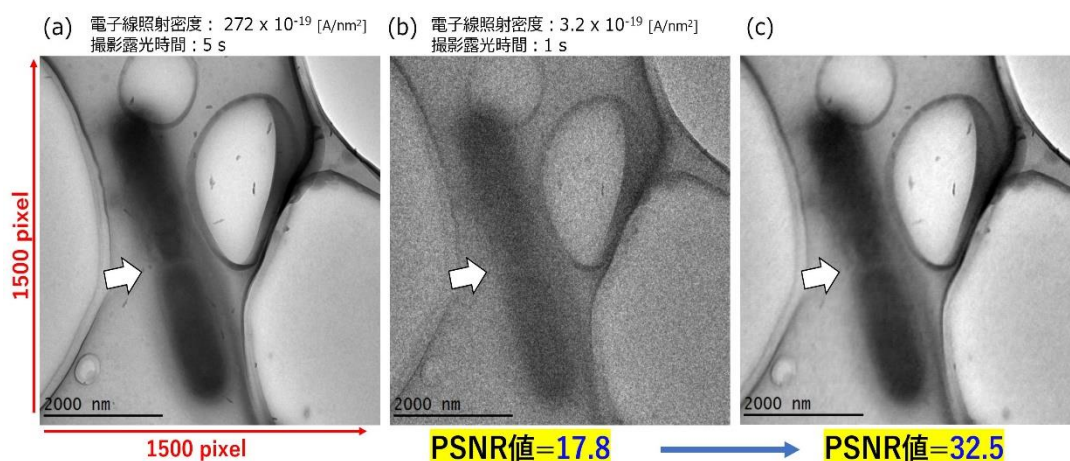


図 6-17. ナノスーツ溶液で保護した大腸菌の TEM 像 (AI 的画像解析用のデータ) .

(a) 十分な電子線照射と露光時間で撮影した TEM 像 (正解画像として使用) .

(b) 低い電子線照射密度と短い露光時間で撮影した TEM 像 (ノイズのあるテスト画像として使用) .

(c) 3D テンソル分解法を用いてノイズを除去した後の画像.

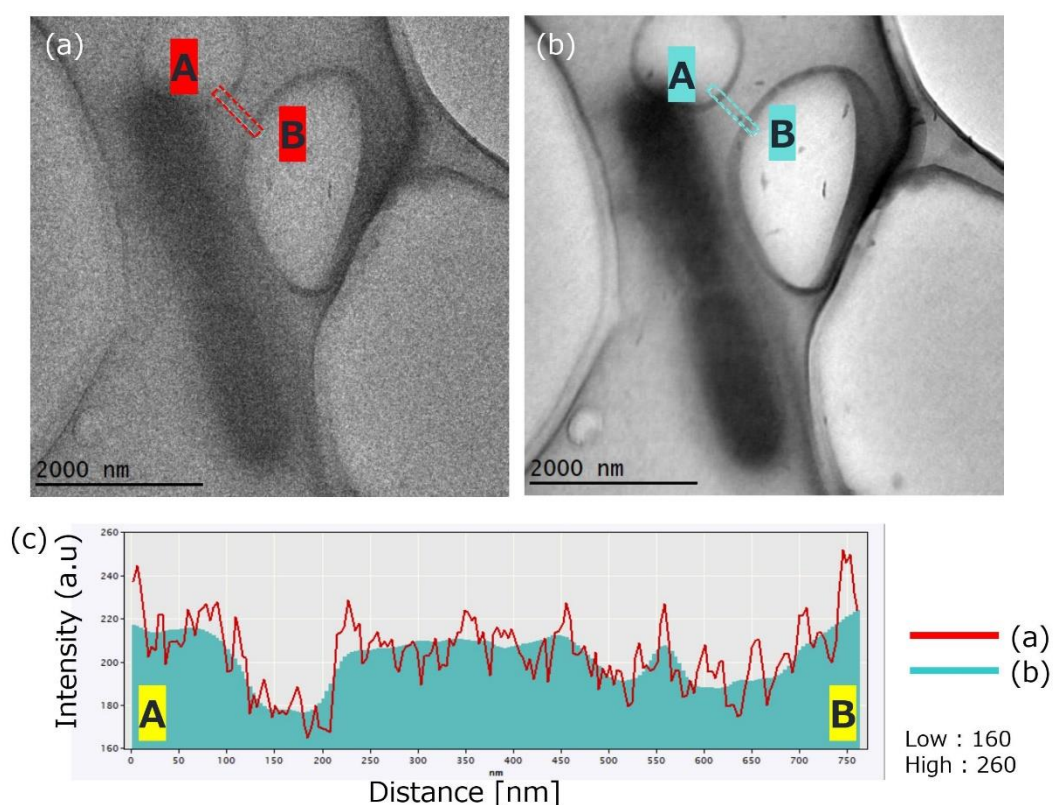


図 6-18. 3D テンソル分解法によるノイズ除去前後の評価.

(a) ノイズ除去前の大腸菌の画像.

(b) ノイズ除去後の大腸菌の画像.

(c) ノイズ除去前後のラインプロファイル.

④クマムシの液中 SEM 観察像（動画）に対する 3D テンソル分解

前述の実施項目 6-1-④で実施した、クマムシの液中 SEM 観察像に対して 3D テンソル分解法を用いてノイズ除去効果を評価した。その結果を図 6-19 に示す。動画は 10 分間撮影されているが、クマムシが特に激しく活動していた部分（約 20 秒間：608 フレーム）を抜粋して画像解析を行った。図 6-19(a)は低ドーズで撮影された SEM 像であり、図 6-19(b)は(a)に対して 3D テンソル分解法を用いてノイズ除去・再構築された像である。(a)と比較すると、(b)ではノイズに埋もれていた画像左側の砂利などの細かい粒子も区別が容易になっている。処理前後の定量的な評価のため、砂利などの動きが少ない領域の画像を切り出し、PSNR 値を求め、比較した。その結果を図 6-20 に示す。図 6-20(b)の PSNR 値は 17.7、図 6-20(c)の PSNR 値は 30.1 であった。(b)に比べて(c)の PSNR 値は大幅に向上しており、正解画像(608 フレームを積算した像)である図 6-20(a)に近い画像として再構築されている事が分かる。つまり、低ドーズ撮影された動画の各フレームに対して 3D テンソル分解法を適用すれば、積算像に近いクオリティで動画を再構築することが可能である事がわかった。

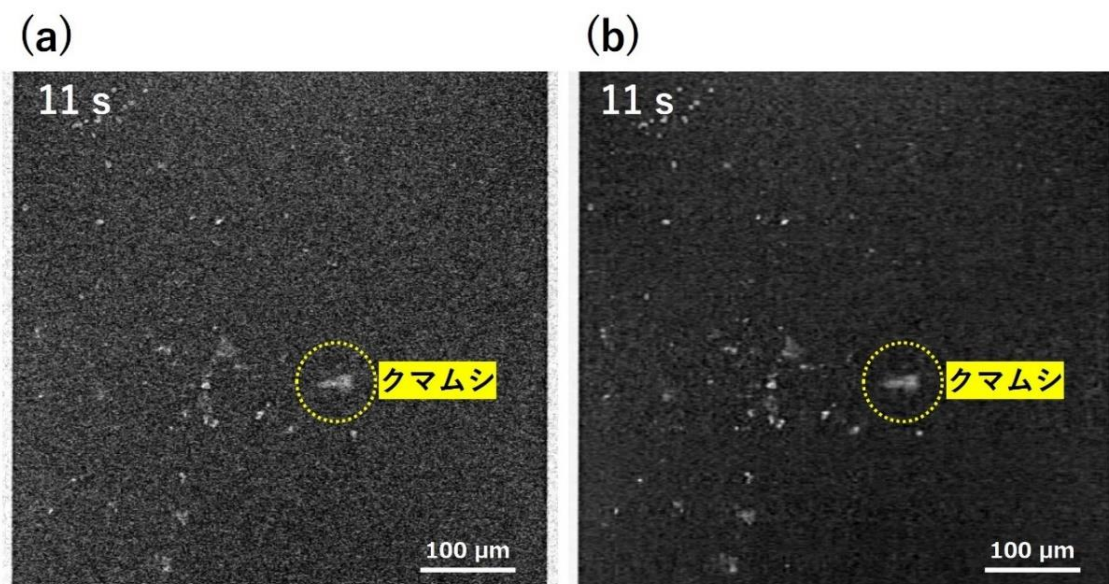


図 6-19. クマムシの液中 SEM 観察像に対する 3D テンソル分解の効果.

(a) 低ドーズ撮影したクマムシの液中 SEM 観察像.

(b) (a)に対して 3D テンソル分解法を用いてノイズ除去・再構築した画像.

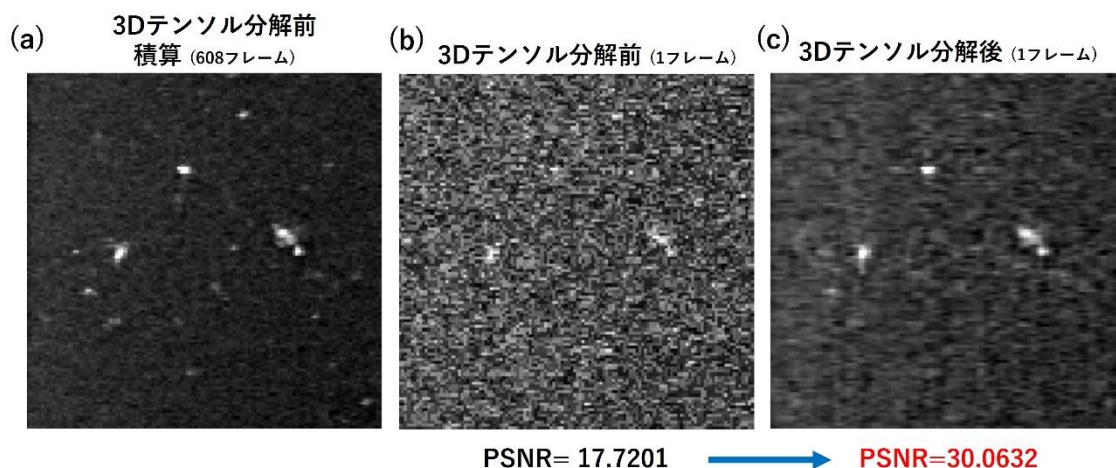


図 6-20. 液中 SEM 観察像に対する 3D テンソル分解法の効果.

- (a) 低ドーズ撮影した元画像 608 枚を積算し、正解画像とした画像.
- (b) 低ドーズ撮影した液中 SEM 観察像.
- (c) (b)に対して 3D テンソル分解法を用いてノイズ除去・再構築した画像.

⑤ COS7 細胞のクライオ TEM 観察像に対する 3D テンソル分解

前述の実施項目 6-1-③で実施した、COS7 細胞のクライオ TEM 観察像に対して 3D テンソル分解法を用いてノイズ除去効果を評価した。その結果を図 6-21 に示す。TEM グリッドのカーボン膜の穴を跨ぐようにして伸びた COS7 細胞の細胞骨格と思われる繊維構造の領域をターゲットとし、まずは露光時間 0.001 秒、75 fps、の条件で約 1 分間撮影し、動画を取得した。図 6-21(b)は、その動画の 1 フレームの画像である (電子線照射密度: 1.1 e/nm^2 に相当)。次に露光時間 1 秒、1 fps、の条件で約 34 秒間撮影し、それを積算した像が図 6-21(a)である。低ドーズ撮影された(b)の動画から 1000 フレームを用いて 3D テンソル分解を行った。図 6-21(c)にノイズ除去・再構築した画像(1 フレーム)を示す。(b)ではほとんど見えなかったカーボン膜穴の輪郭や細胞由来の繊維構造が、(c)では明瞭に確認できた。PSNR を用いて(a)との画像類似度を比較したところ、(b)は PSNR 値が-0.45(ほぼ 0 とみなす)、(c)は PSNR 値が 22.3 と大幅な向上が見られた。つまり、3D テンソル分解法を用いれば、1/3400 の低い電子線照射量でも、大幅に画質を改善でき、生体活性をもった瞬間の細胞を明瞭に観察できた。

クライオ観察においても電子線照射による試料の損傷は避けるべき問題の一つとされているが、低ドーズで撮影し、3D テンソル分解法を用いて正解に近いクオリティの画像を得られるこの観察手法は、生体試料観察において非常に有用な方法であると考えられる。

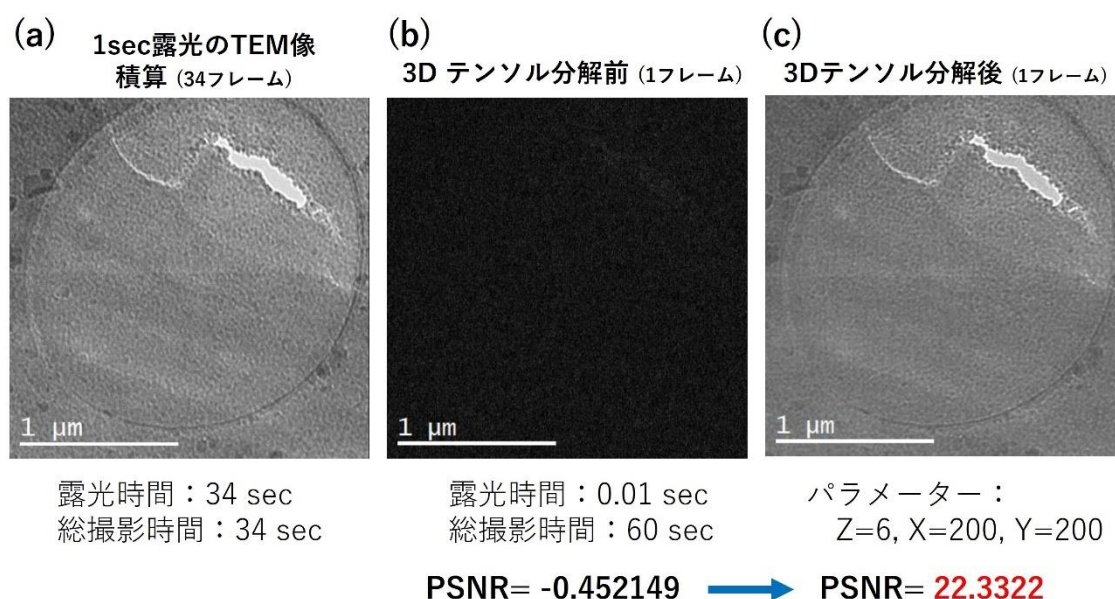


図 6-21. クライオ TEM 観察像に対する 3D テンソル分解法の効果を比較・評価.

- (a) 1 秒露光で撮影した TEM 像 34 枚を積算し, 正解画像とした画像.
 (b) 低ドーズ撮影した TEM 観察像. 電子線照射密度: 1.1 e/nm^2 .
 (c) (b) に対して 3D テンソル分解法を用いてノイズ除去・再構築した画像.

【参考文献】

- [1] <https://nanosuit.jp/>
 [2] [Ultrafast endocytosis at mouse hippocampal synapses | Nature](#)
 [3] 末永和知ら、「有機単分子の高分解能電子顕微鏡観察」、顕微鏡、45、(1)、31-36 (2010)

(実施項目 7) プロジェクトの総合的推進

プロジェクト実施中に合計 55 回（ほぼ月に 1 回の割合）、プロジェクト参加メンバーが集合して、必要な装置の仕様、実験計画、研究の進捗状況について話し合った。AI 的画像解析や生物試料の取り扱い・観察法などについては、専門家（本プロジェクトの研究協力者や他の大学の教授・准教授）に意見を聞きながら研究を進めた。また、得られた成果は、論文や学会発表などで積極的に公表した。成果公表の場合には、公表の前に防衛装備庁に通知した。

4. 委託業務全体の成果

4. 1 計画時に想定していなかった成果（副次的成果）や、目標を超える成果

（実施項目1）において、研究申請当初は1500 fps以上の高速動画観察を最終目標にした。これは、導入予定の高速カメラの公称スペックであった。上述したように、このカメラを導入しても、1画像あたりに検出される電子数が少なく（いわゆる量子ノイズ）、直ちに1500 fpsの高速観察は困難な状況であった。この問題をAI的画像解析によって克服するのが本プロジェクトの中心課題であった。本研究の遂行中、高速カメラの使用条件を最適化することによって、公称スペック以上の超高速観察が可能であることを見出した。その結果、観察条件とカメラの使用条件などを調整し、最大3858 fpsを達成した。これは、研究申請当初に最終目標とした動画観察スピードの2倍以上の超高速動画観察である。

（実施項目5）においては、STEM-EELSを用いて、Liイオン分布や遷移元素であるTiの価数分布の変化を秒単位で明瞭に可視化することに成功した。LiイオンやTiの価数変化を観察することは、研究申請当初より予想していたが、より信号が弱い酸素(0)イオンの電子状態変化まで可視化できたことは、目標をはるかに超える成果であった。これらの結果は、電池材料内で起こる電気化学現象を高い空間分解能と時間分解能で明らかにできたことを意味しており、本プロジェクトで開発した電子顕微鏡システムが今後の電気化学分野（特に、蓄電池分野）に大きな貢献をもたらすと考えられる。

4. 2 研究課題の発展性（間接的成果を含む）

本研究は、AI的画像解析技術と電子顕微鏡技術を融合し、より高速、あるいは、より低電子線照射でオペランド観察できる技術／手法を開発するものである。本研究課題で開発したAI的画像解析技術は、電子顕微鏡によるデータに限らず、あらゆるデータに応用展開することが可能である。例えば、放射光や中性子を用いた先端計測や、AFMなどのプローブを用いた顕微鏡、検出する信号が極めて弱い宇宙や惑星（小惑星を含む）を研究する計測技術などにも発展する可能性が高い。また、本研究で開発された低電子線照射による生体試料の観察は、今後の技術開発により、バイオの分野だけでなく、創薬の分野にも発展する可能性を秘めている。本研究で開発された技術やノウハウは、今後、あらゆる分野の計測インフォマティクスに貢献できると考えている。

4. 3 研究成果の発表・発信に関する活動

研究成果は、国内外における学会発表（招待講演や一般口頭発表などを含む）や、学術雑誌への論文投稿、JFCCが開催する研究成果発表会での発表、プレス発表など、様々な場で積極的に発表した。

本プロジェクトの成果を含む成果に関して、本プロジェクト参加者が下記の通り6件の受賞をした。受賞一覧を表2に示す。

受賞者 授与団体 / 賞の名称および内容
穴田智史 （愛知県）第18回わかしゃち奨励賞基礎研究部門 優秀賞 「原子分解能電子顕微鏡法による蓄電池電極材料内部の局所構造変化の解明」
仲山啓 （公社）日本顕微鏡学会／奨励賞 「原子分解能電子顕微鏡法による蓄電池電極材料内部の局所構造変化の解明」
山本和生 （公社）日本顕微鏡学会／学会賞（瀬藤賞） 「In situ透過電子顕微鏡技術の高度化と高機能材料分野への応用に関する研究」
仲山啓 （公社）日本セラミックス協会 第37回秋季シンポジウム 特定セッション 23.先進的な構造科学と 分析技術／特定セッション最優秀講演賞 「走査透過型電子顕微鏡法による M_0S_2 へのLi挿入反応のその場観察」
仲山啓 （公財）風戸研究奨励会／風戸研究奨励賞 「蓄電池充放電反応ダイナミクスの原子レベル解析」
野村優貴 （公社）電気化学会／進歩賞（佐野賞） 「全固体Liイオン電池のオペランド透過電子顕微鏡法の開発」

表2. 本プロジェクトの成果を含む受賞一覧

5. プロジェクトの総合的推進

5. 1 研究実施体制とマネジメント

AI的画像解析に長けており、すでに実績のある研究者をJFCCのパーマネント職として雇用した。また、研究申請当初には、当センターの職員に経験がなかった生体試料の観察を行うために、この分野の有力な研究者に研究協力者になって頂くとともに、生体試料の扱いに多くの経験を持つ人材を人材派遣会社から派遣してもらい、本研究を遂行した。

5. 2 経費の効率的執行

研究経費の節約と効率的な業務執行のために、本プロジェクト開始前からJFCCで保有していた電子顕微鏡やTEM試料作製装置などを積極的に活用した。

6. まとめ、今後の予定

最新鋭の高性能電子顕微鏡（TEM/STEM）に高速カメラ、EDS、EELSなどを装備し、これとAI的画像解析技術を駆使し、3000 fpsを超える超高速TEM動画観察、30 fpsレベルの高速STEM観察、1 fpsレベルのEDS分析、EELS分析が可能な総合的高速／低ドーズ電子顕微鏡システムを構築した。このシステムを用いて、触媒や電池、生体試料の先進的な観察・解析をすることに成功した。しかし、電子顕微鏡システムの構築に時間を要し、触媒や電池などの応用計測はいくつか成功したものの、まだこれから実施すべき計測・観察は様々なところに存在するように感じている。本プロジェクトの正式な実施期間は終了したが、今後この高速電子顕微鏡システムを用いて、さらに様々な観察・解析を行い、先進的な材料やデバイスの開発に一層役立てていきたい。

7. 研究発表、知的財産権等の状況

(1) 研究発表等の状況

種別	件数
学術論文	11件
学会発表	38件
展示・講演	該当なし
雑誌・図書	該当なし
プレス	3件
その他(JFCC研究成果発表会)	5件

(2) 知的財産権等の状況

発明の名称	発明者	出願登録区分	出願番号(出願日)	出願区分	出願国	登録番号(登録日)
電子顕微鏡システム	山本和生 穴田智史 平山 司	出願	特願2023-101762 (2023/6/21)	国内	日本	未登録

(3) その他特記事項

「該当なし」

付録「用語解説」

- ※1 GPU (Graphics Processing Unit) : 一般のパソコンなどに使われている汎用性は高いが計算速度が遅い（並列計算が不得意）Central Processing Unit (CPU) に対し、並列計算が得意で、計算速度が速く画像解析に向いている半導体チップを Graphics Processing Unit (GPU) と呼ぶ。高い並列演算性能を活用して、3D グラフィックス以外の計算処理も可能であり、クラスタ化させることによって、スーパーコンピュータに勝るとも劣らない性能を持たせることが可能である。AI (Artificial Intelligence) や機械学習、ディープラーニング（深層学習）などの大規模な処理を得意としている。
- ※2 クラスタ計算機 : 多数のコンピュータを結合し、クラスタ（葡萄の房）のように、ひとまとまりにシステム化した計算機である。1 台のコンピュータでは得られないような強力かつ大規模な計算性能を得ることができる。
- ※3 透過型電子顕微鏡 (Transmission Electron Microscope: TEM) : 数 100 nm 以下に薄片化した試料に、加速電圧 200~300 kV の電子線を平行に照射し、多段の電子レンズを用いて数十万~百万倍程度に拡大できる顕微鏡である。原子分解能を持ち、高速な観察を得意としている顕微鏡である。
- ※4 走査透過型電子顕微鏡 (Scanning Transmission Electron Microscope: STEM) : 加速電圧 200~300 kV の電子線を、電子レンズを用いて原子レベル以下にまで細く絞り（電子線プローブ）、試料面上を 2 次元スキャンする。試料を透過した電子線をドーナツ型の検出器を用いて検出することで、画像を得る顕微鏡である。現在、空間分解能は 0.08 nm 以下にまで達しており、周期律表にあるすべての元素を、原子分解能で捉えられる顕微鏡である。
- ※5 エネルギー分散型 X 線分光法 (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy: EDS) : 一般に、試料に電子が照射されると蛍光 X 線が発生する。その中には、元素固有の情報を持った特性 X 線が含まれており、それをエネルギー分散型検出器で検出、分光することによって、元素分布を定量的に画像化することができる電子顕微鏡手法である。
- ※6 電子エネルギー損失分光法 (Electron Energy-Loss Spectroscopy: EELS) : 入射電子が試料を透過する際、元素の種類や原子周辺の電子の状態によって、入射電子が失うエネルギーが異なる。そのエネルギー損失の分布（電子エネルギー損失スペクトル）を用いて、元素の種類や電子状態（価数など）を計測する分析電子顕微鏡法である。リチウムのような軽元素を検出するのに有効な観察技術である。
- ※7 ナノスーツ溶液 : 生体適合性高分子の水溶液であり、生物の個体や組織、細胞などの表面に塗布することで、ごく薄い被膜を形成し、対象物からの水分の蒸発を抑制する。すでに市販されており、これを用いて真空中かつ電子線照射下でも生体試料を電子顕微鏡観察できる。これまで走査型電子顕微鏡 (SEM) での観察が行われている。