

見えないものを観る！ 光波動場三次元顕微鏡 MINUKの概要とアプリケーションのご紹介

大塚電子株式会社
計測分析機器営業部

光波動場三次元顕微鏡とは？

CONFIDENTIAL

「この技術を実用化して世に役立ててもらいたい」

新製品の開発チームは、数多の障壁を乗り越えながら、
5年以上の歳月をかけその答えを探し出しました。

そして、大塚電子の長年培った光計測の技術と社員の情熱が合わさり、新たな装置が生まれました。

光の波の情報全て（光波動場）正しく計測できる装置、

光波動場三次元顕微鏡 MINUK(ミヌック) です。

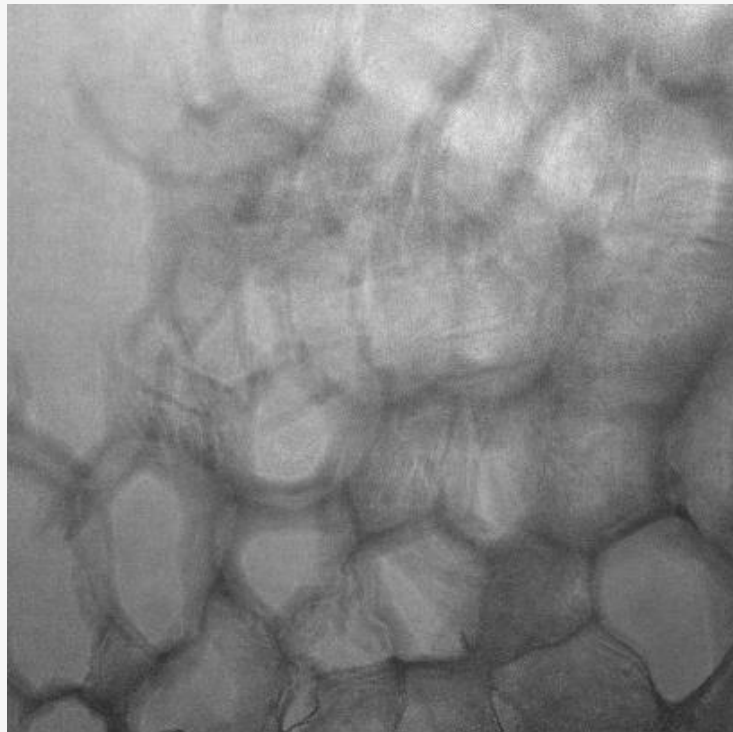


光波動場三次元顕微鏡とは？

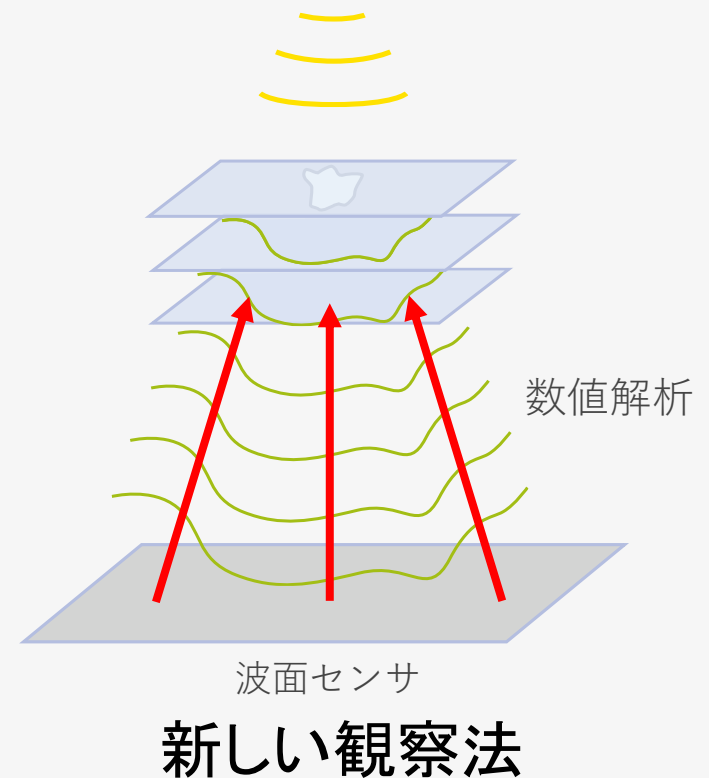
CONFIDENTIAL

機械的にスキャンすることなく1400 μm のフォーカス情報を一斉に取得可能

データ取得後、後から**任意の位置にソフトウェア上で再フォーカスすることが可能**
⇒デジタルリフォーカシング



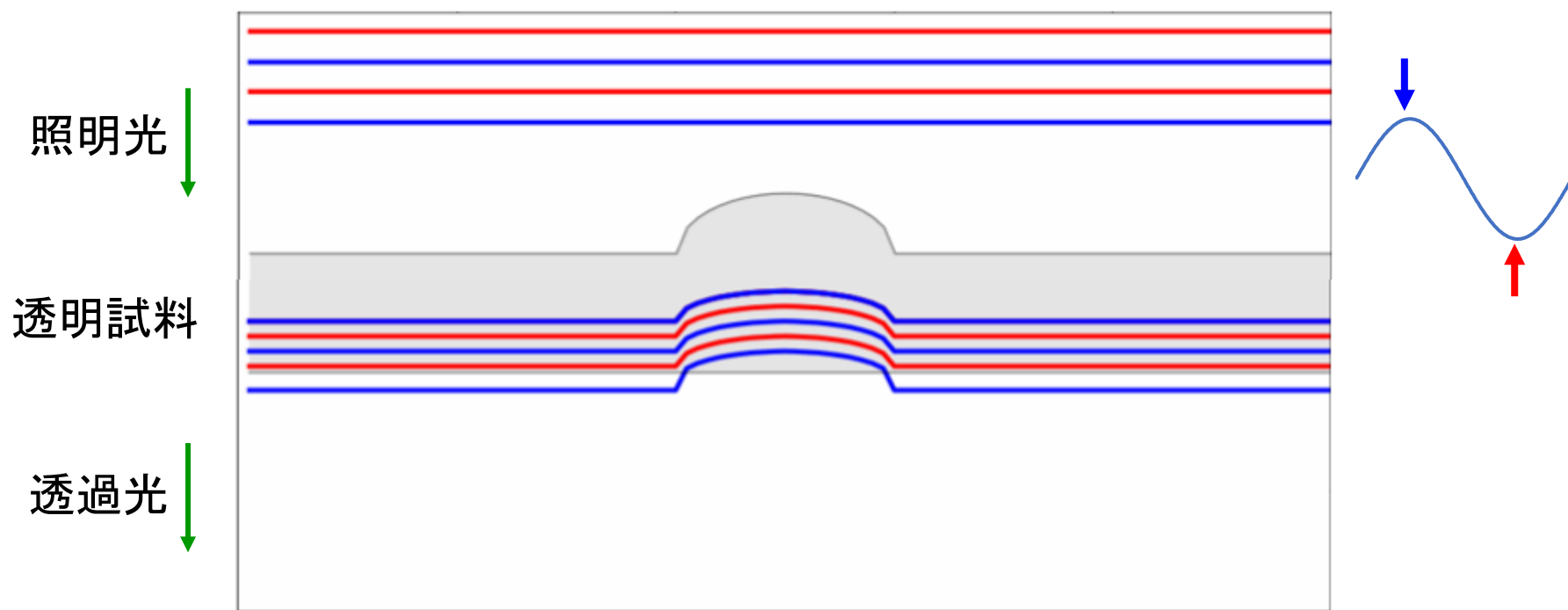
発泡ポリスチレン切片の再フォーカス像



光波動場三次元顕微鏡とは？

OPD (Optical Path Difference; 光路差)

OPDは表面形状や厚さ×屈折率差に比例する物理量で、光の回折限界に制限されません。これを用いると、浅い傷や段差等に対して**ナノメートル分解能の厚さ・高さ情報が得られます**。

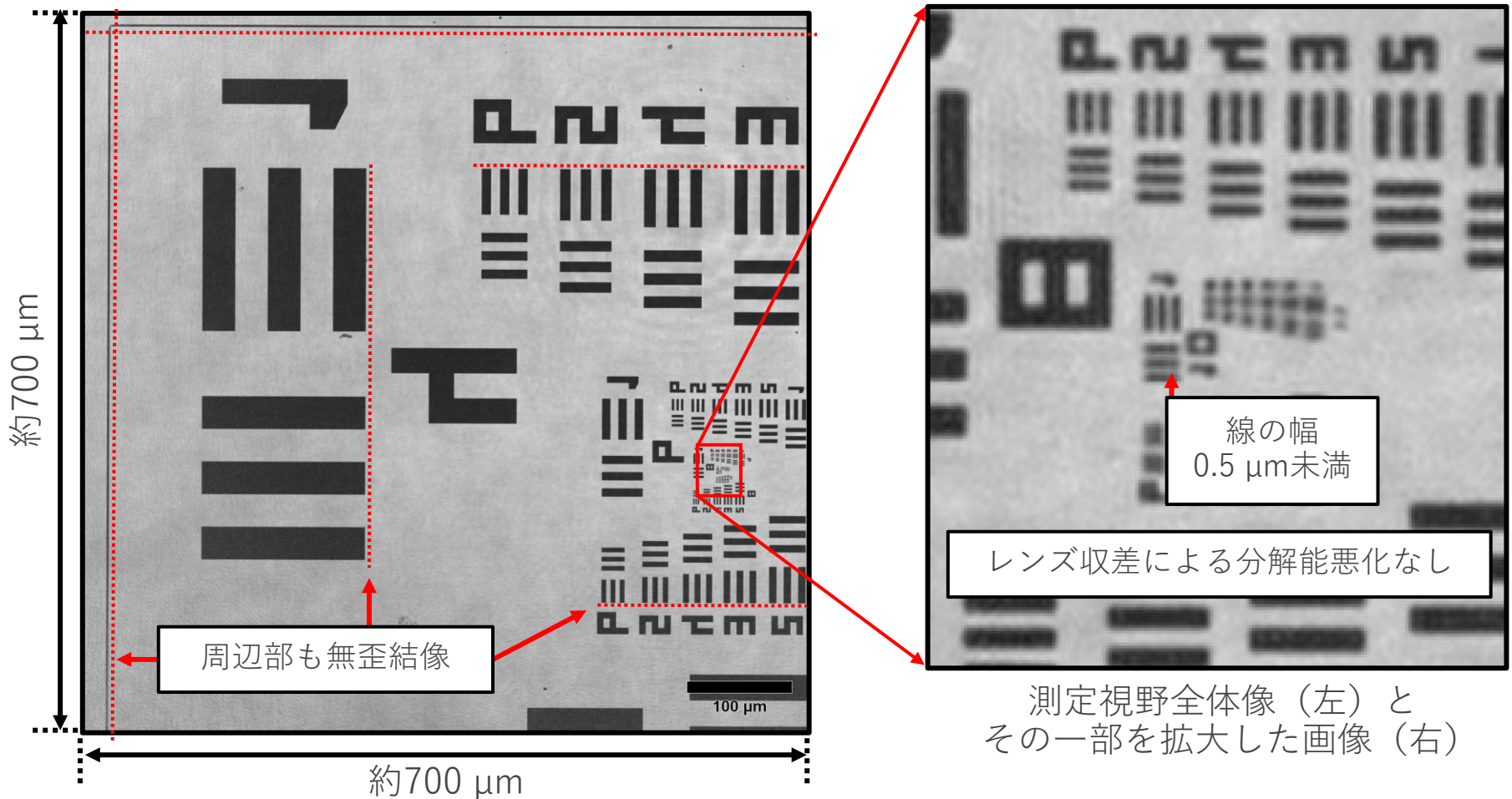


透明体であっても、表面形状や屈折率の違いで光の「波の形」が変化します。
MINUKはこの「波の形」を正確に捉え、高速に解析することができます。

光波動場三次元顕微鏡とは？

CONFIDENTIAL

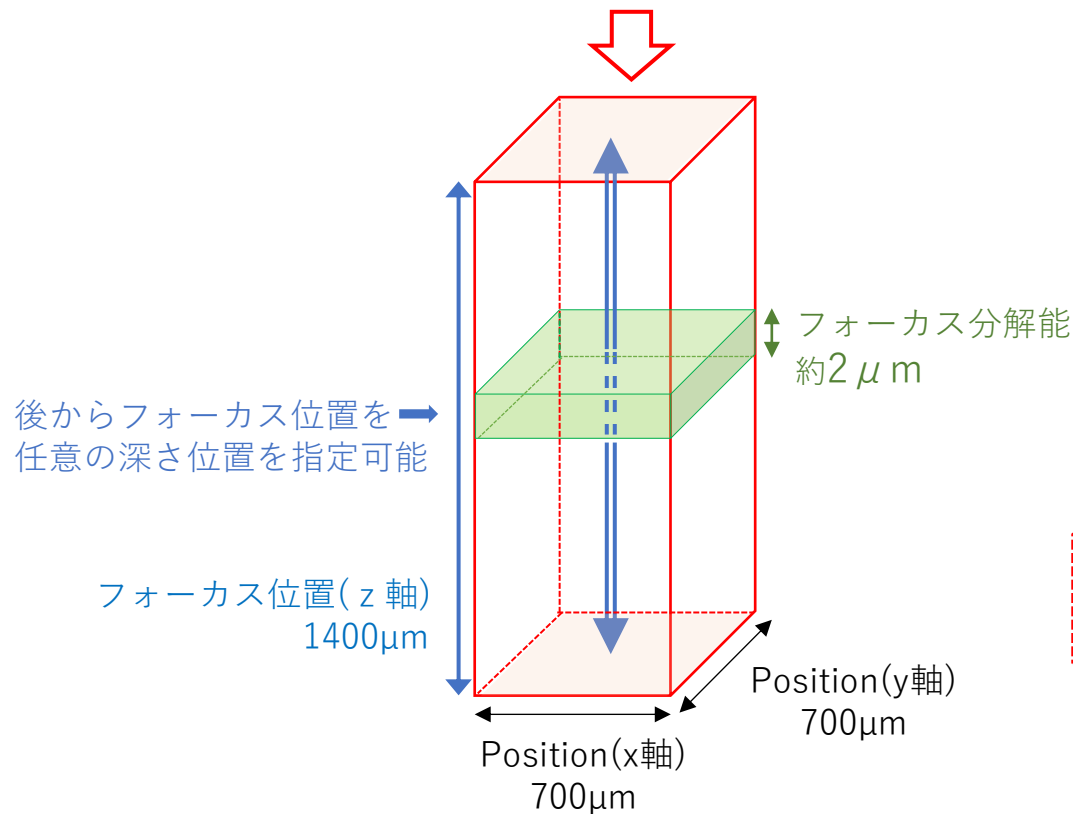
広視野かつ無歪/無収差イメージングを実現



光波動場三次元顕微鏡とは？

CONFIDENTIAL

取得データ（イメージ）



<取得データ>

視野(700×700 μ m)
×
深さ1400 μ m

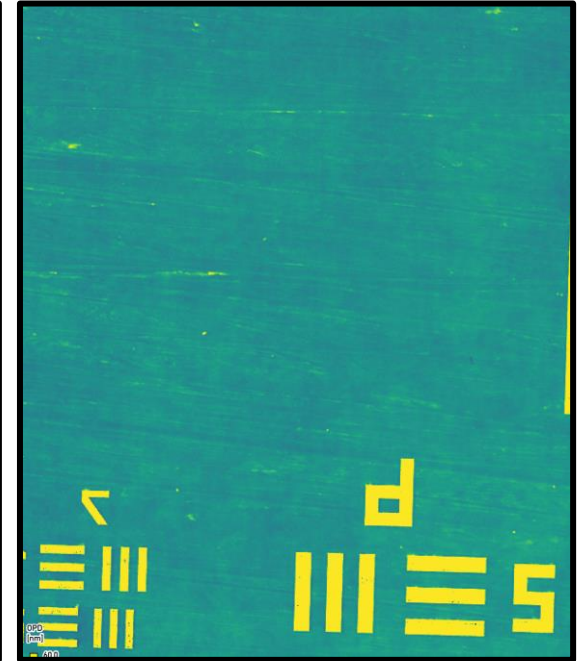
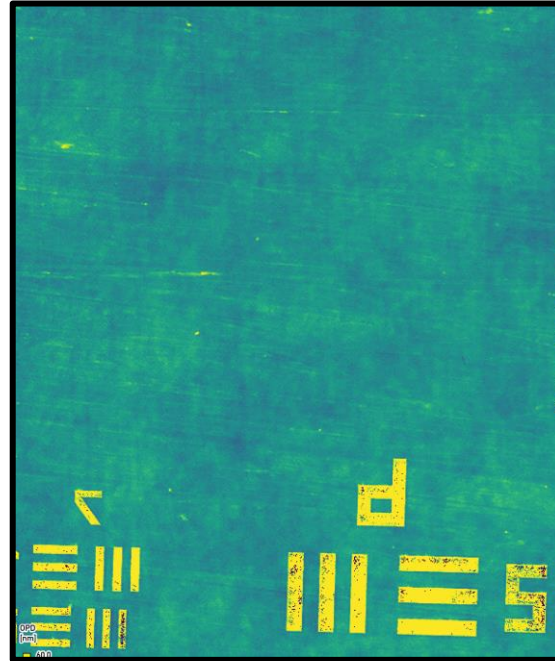
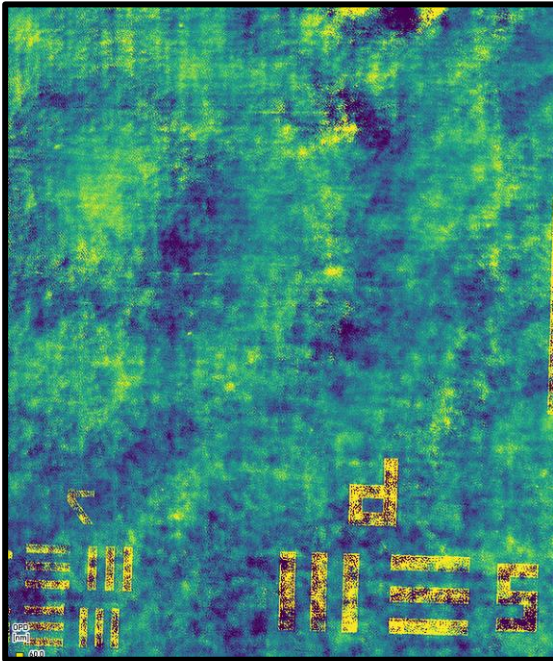
<再解析>

デジタルリフォーカシングにより
三次元構造追加検証可能

光波動場三次元顕微鏡とは？

CONFIDENTIAL

求める観察内容に応じて、ワンショットイメージングから高品質イメージングまで対応可能



記録速度

記録品質

積算モード

ワンショットリアルタイム

記録時間:1msec未満

標準

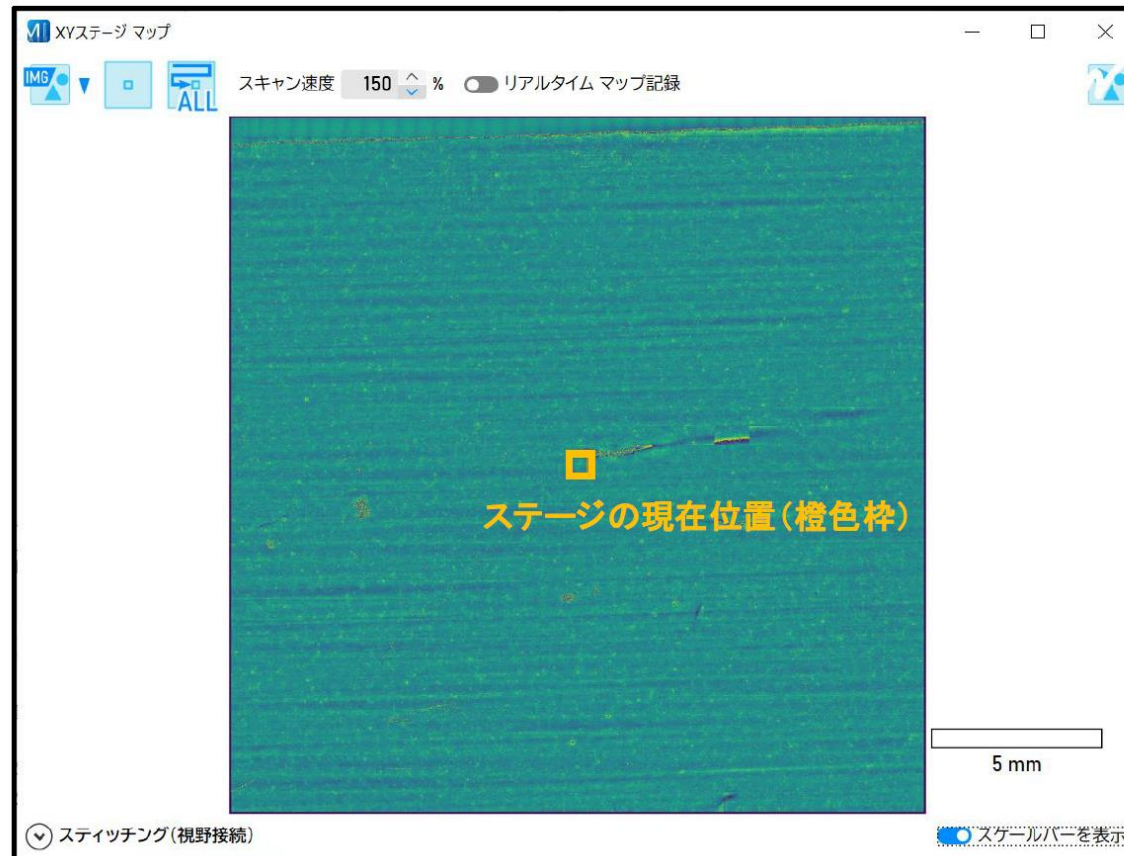
記録時間:約2秒

高精度

記録時間:約8秒

光波動場三次元顕微鏡とは？

自動マッピング測定



20mm×20mmのエリア(任意単一面)を
プレビュー及びステッチング

光波動場三次元顕微鏡とは？

CONFIDENTIAL

取得パラメーターについて

●OPD値

：注目部分（異物、キズ等）と
周辺各屈折率 n_2 、 n_1 、
注目部分の厚さ d の関係式
$$OPD = (n_2 - n_1) \times d$$

●フォーカス位置 f ：屈折率 n および厚さ d の関係式。
$$f = d/n$$

●Position

：再生像（モニター画面）xy軸の読み値。

光波動場三次元顕微鏡とは？

大塚電子の光波動場三次元顕微鏡 MINUKは・・・

- ・ **大深度形状、ナノメートル深さの傷、内部透明粒子、屈折率異常・ムラ**を迅速に測定・可視化
- ・ 観察像をOPD (Optical Path Difference; 光路差) 値として定量化
- ・ 広範囲 (**深さ1400 μ m**) のフォーカス情報を約2秒で取得し、後から無段階でフォーカス変更が可能 (**デジタル リフォーカシング**)

■ いままで見ていなかったもの

■ 明確にわからなかったもの

を迅速に観察・測定できる



瞬間
測定

非接触
非破壊
非侵襲



共存
共栄

詳細
解析

非接触

SEM

TEM

AFM

スクリーニング



詳細解析

瞬間
測定

デジタル
リフォーカ
シング



共存
共栄

スキャン

フォーカス

既存顕微鏡

共焦点、白色干渉、微分干渉、明視野

MINUKから得られる
新たな情報

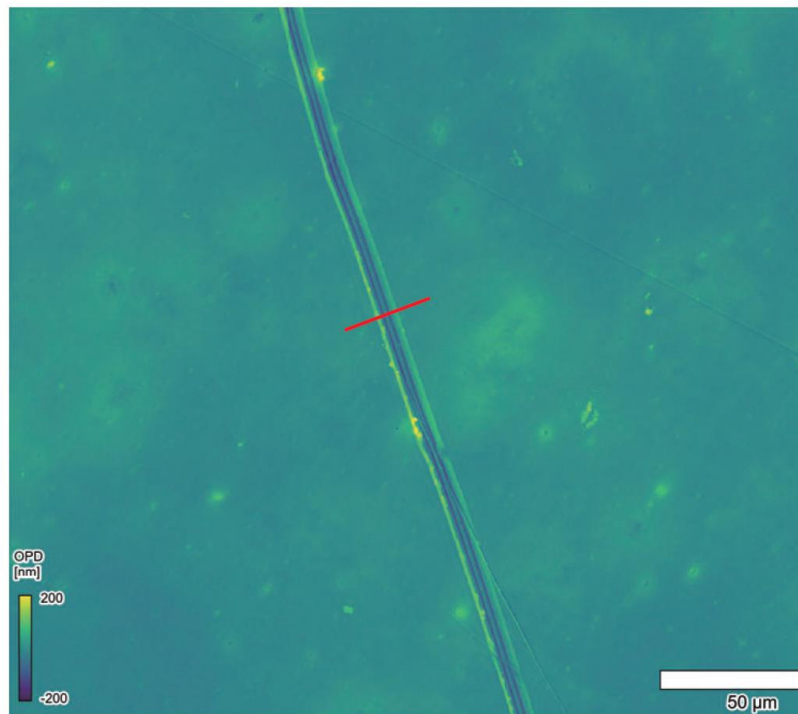
既存の情報

アプリケーション

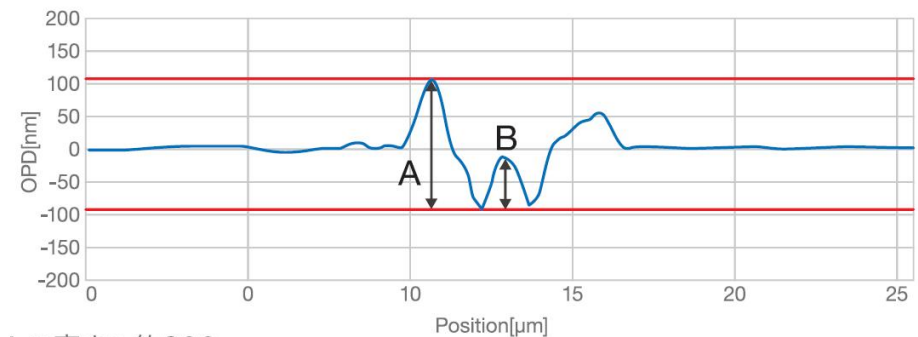
CONFIDENTIAL

より高品質な製品管理のために判別しにくい傷を定量化
→OK/NG判定が可能

OPD像

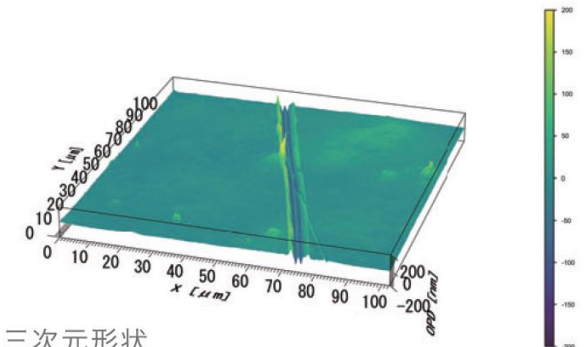


単一面解析



Aの高さ：約200nm

Bの高さ：約100nm



三次元形状

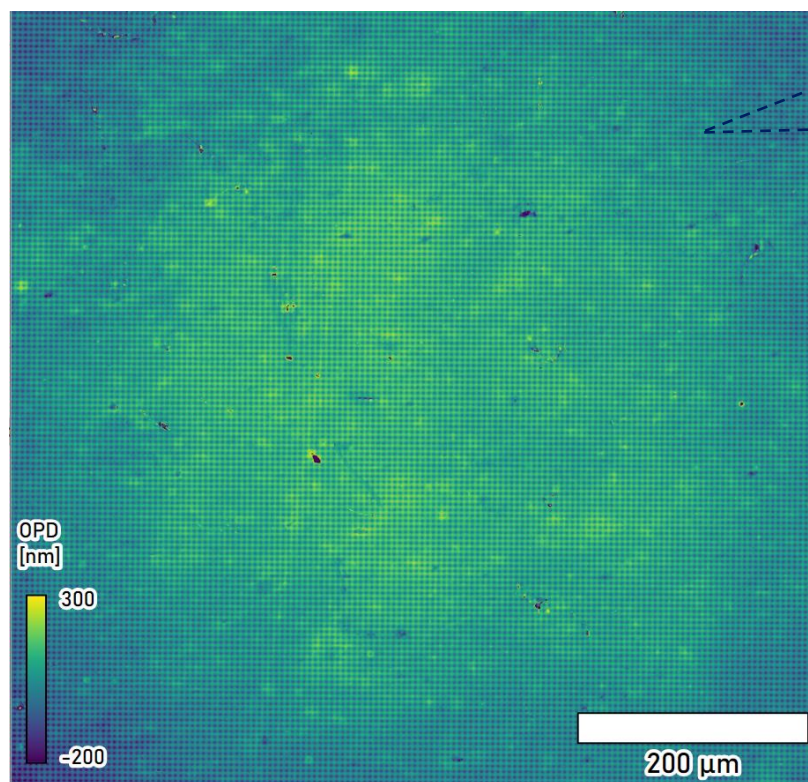
- 既存の方法では定量化しにくいフィルム表面の傷を定量化。
- ナノメートルオーダーの高さの傷を明確に観察。

アプリケーション

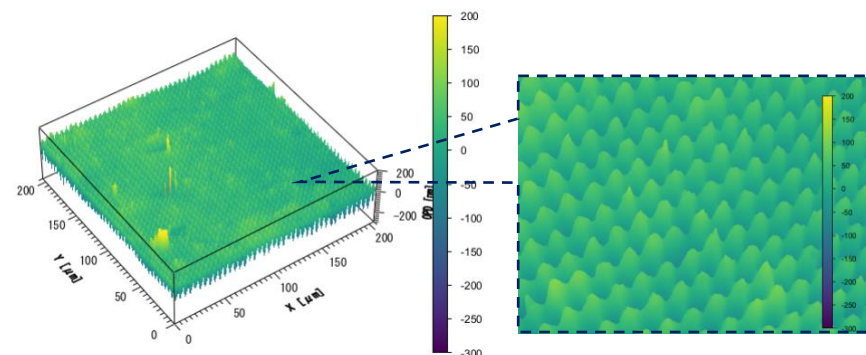
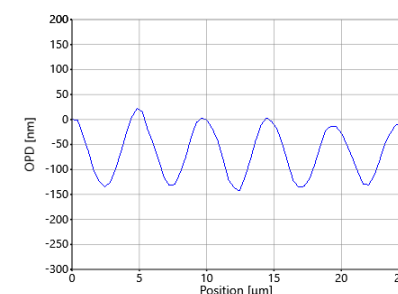
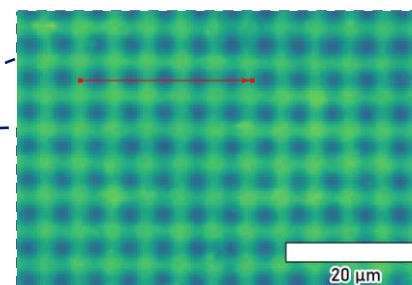
CONFIDENTIAL

設計通りに形状がつけられているのかを定量化
→ 数字で信頼できるデータを提供

OPD像



単一面解析



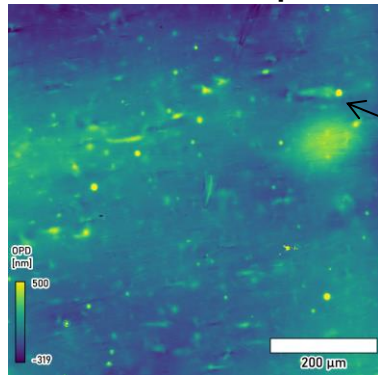
分光フィルム(回折格子)の観察

➤ フィルム表面の形状の定量化が可能。

アプリケーション

より高品質な製品開発のために対象物を特定
→不具合の原因解明に繋がる可能性

OPD像 (f=0 μ m)

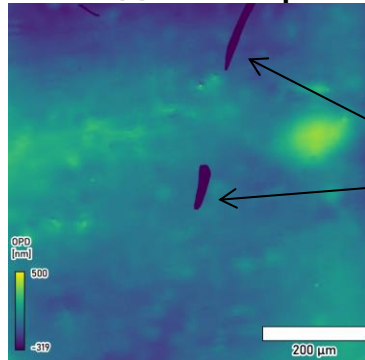


薄膜表面の粒子

f=0 μ m

f=52 μ m

OPD像 (f=52 μ m)

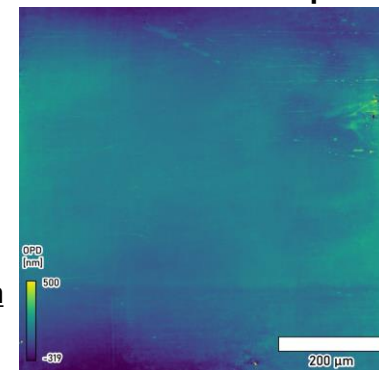


薄膜と基材の界面のボイド

薄膜上面

基材下面

OPD像 (f=922 μ m)

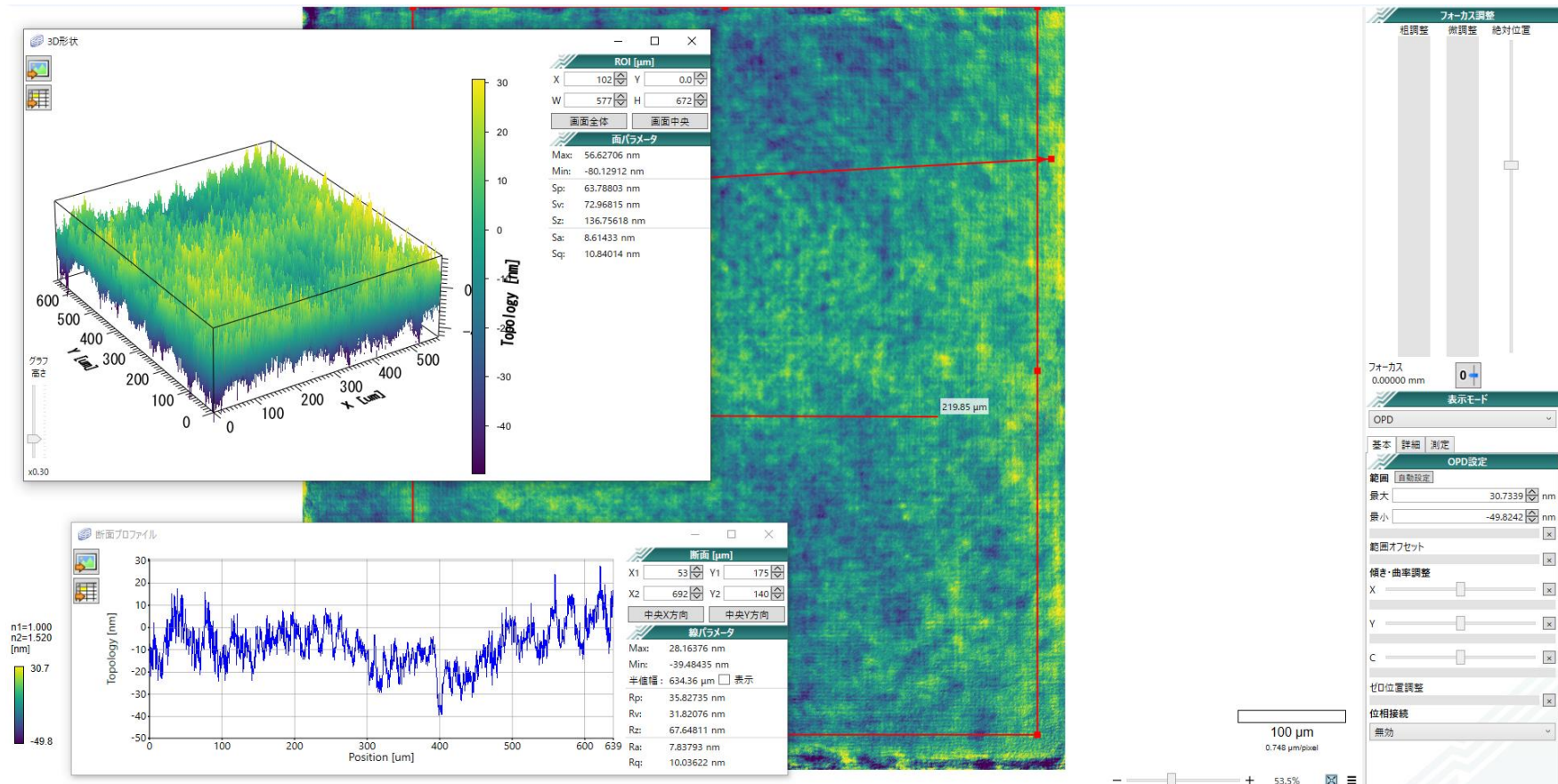


- 薄膜表面の粒子と、薄膜と基材界面のボイドの深さ位置を特定。
- OPDの大小により粒子かボイドかを区別可能。

アプリケーション

CONFIDENTIAL

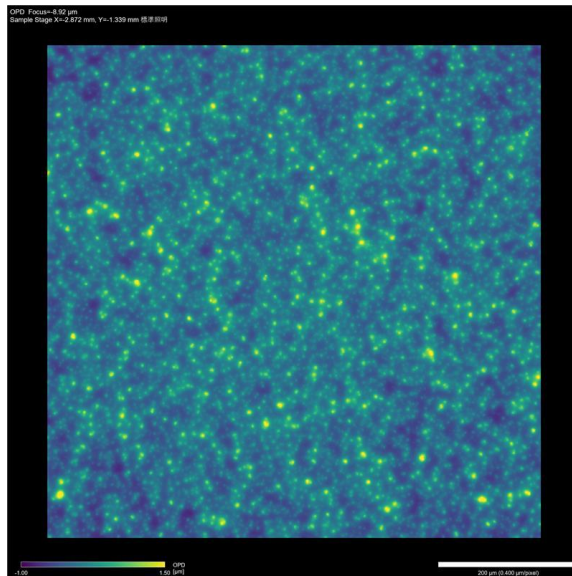
これまでレーザー顕微鏡や白色干渉顕微鏡では検出できなかった
目視で観察できる淡いムラの数値化



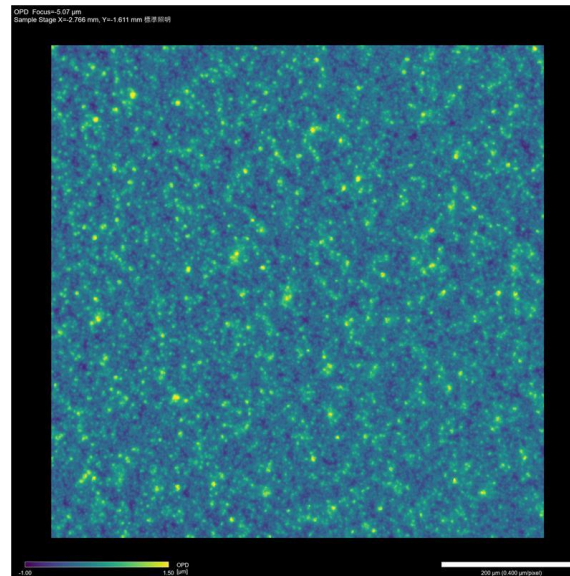
- 大きさ数百nm、深さ数十nmの淡いムラを瞬時に検出。
- OPDにより定量化が可能。

フィルム表面の粗さ測定

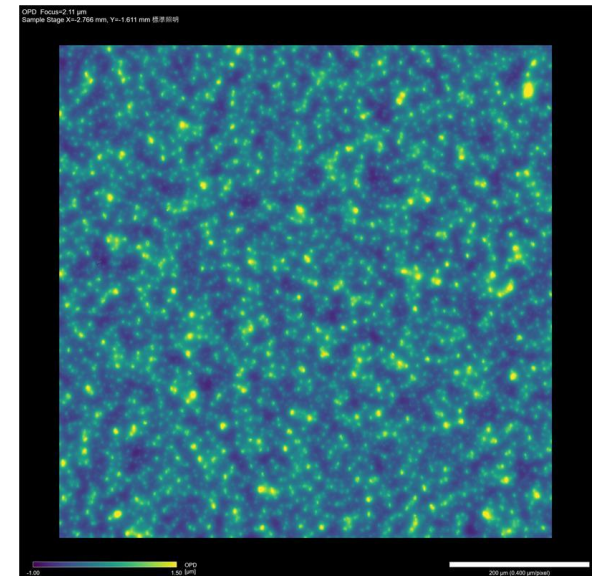
$Sa = 0.176 \pm 0.004 \mu\text{m}$



$Sa = 0.187 \pm 0.005 \mu\text{m}$

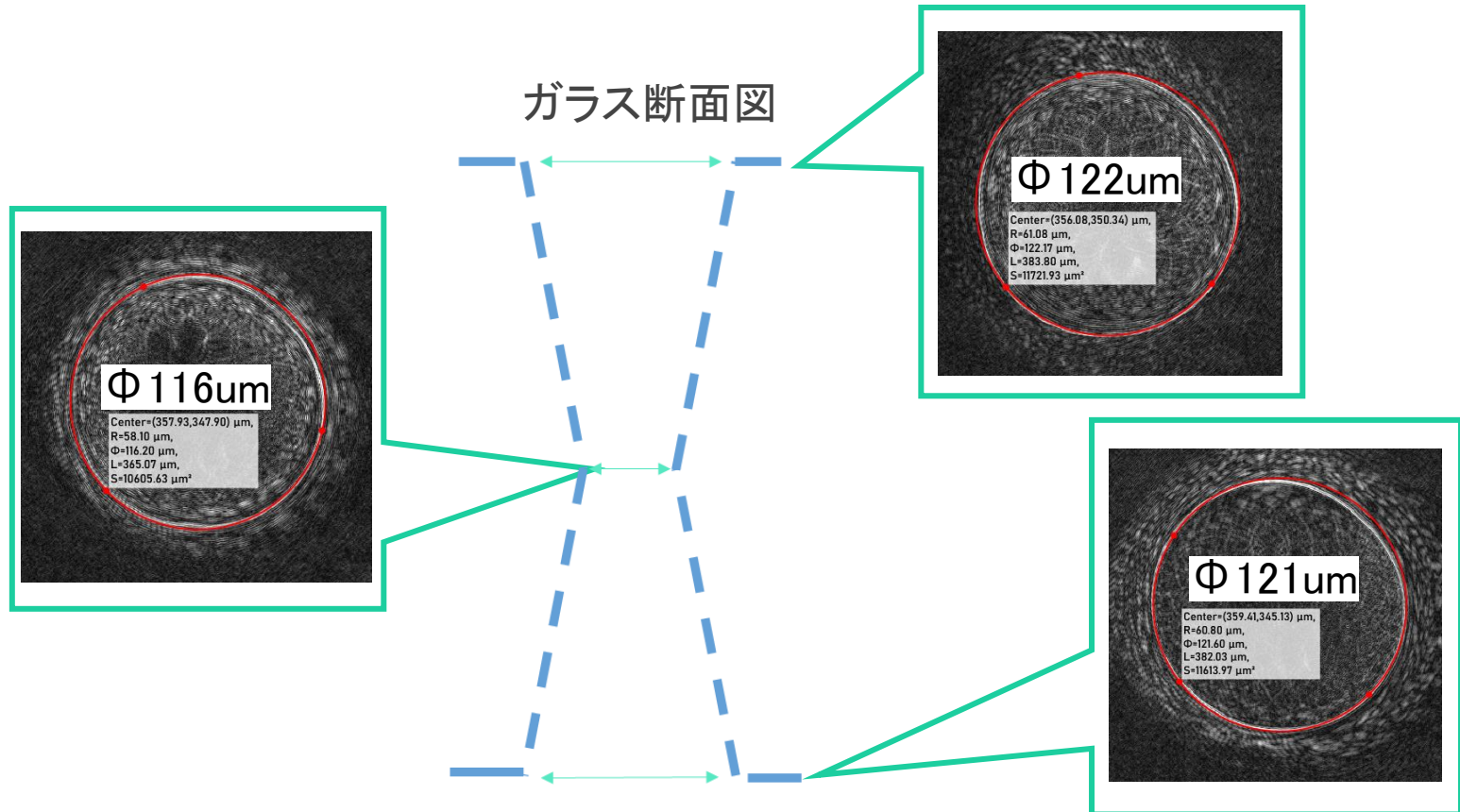


$Sa = 0.230 \pm 0.006 \mu\text{m}$



- 表面粗さパラメータにより定量化が可能
- 反射しにくいフィルムなどにも有効

ガラスインターポーザのTGV(Through Glass Vias)形状評価



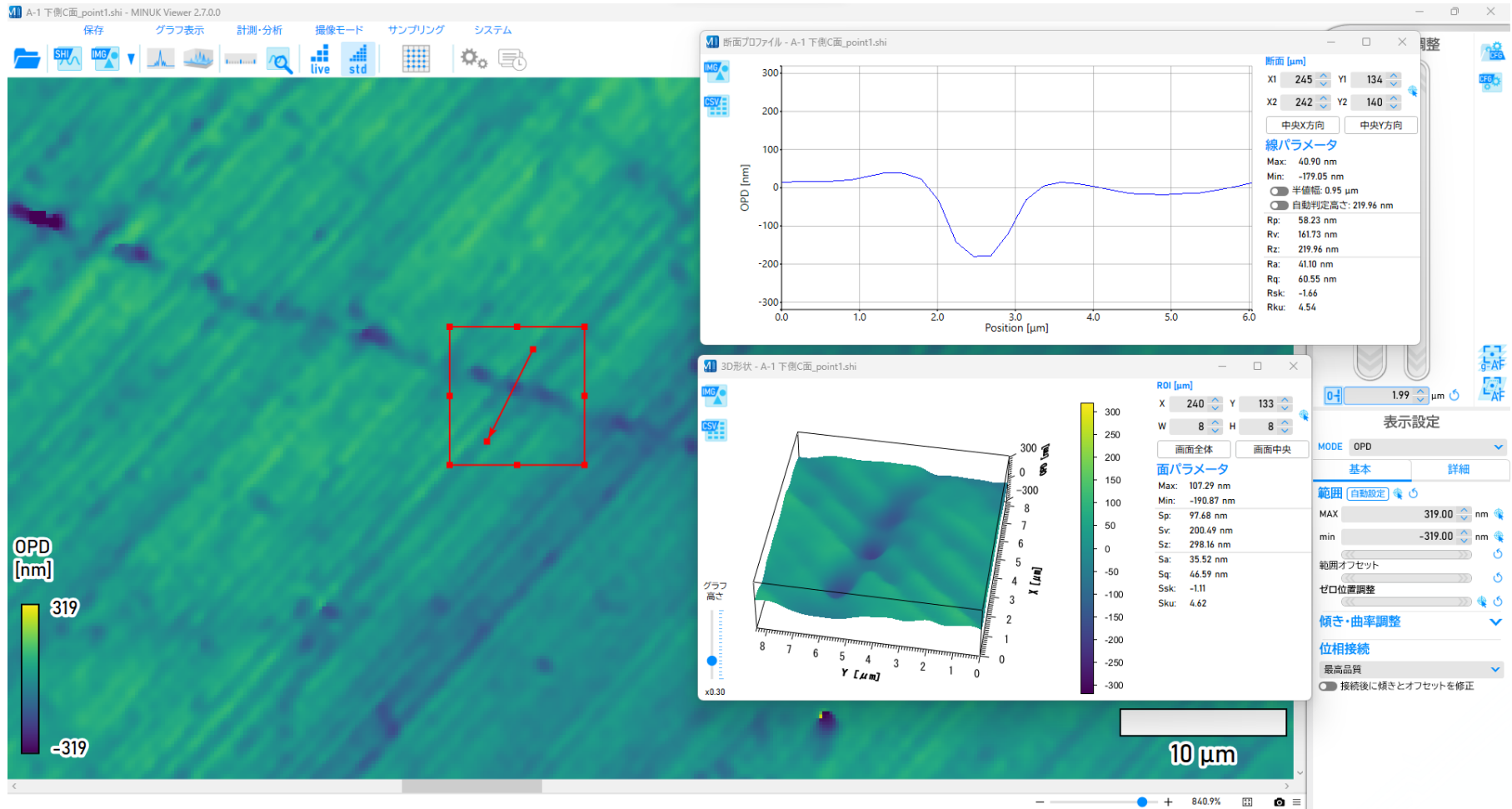
ビアのくびれ形状を非破壊で検査可能

(株)マイクロ技術研究所様ご提供

アプリケーション

CONFIDENTIAL

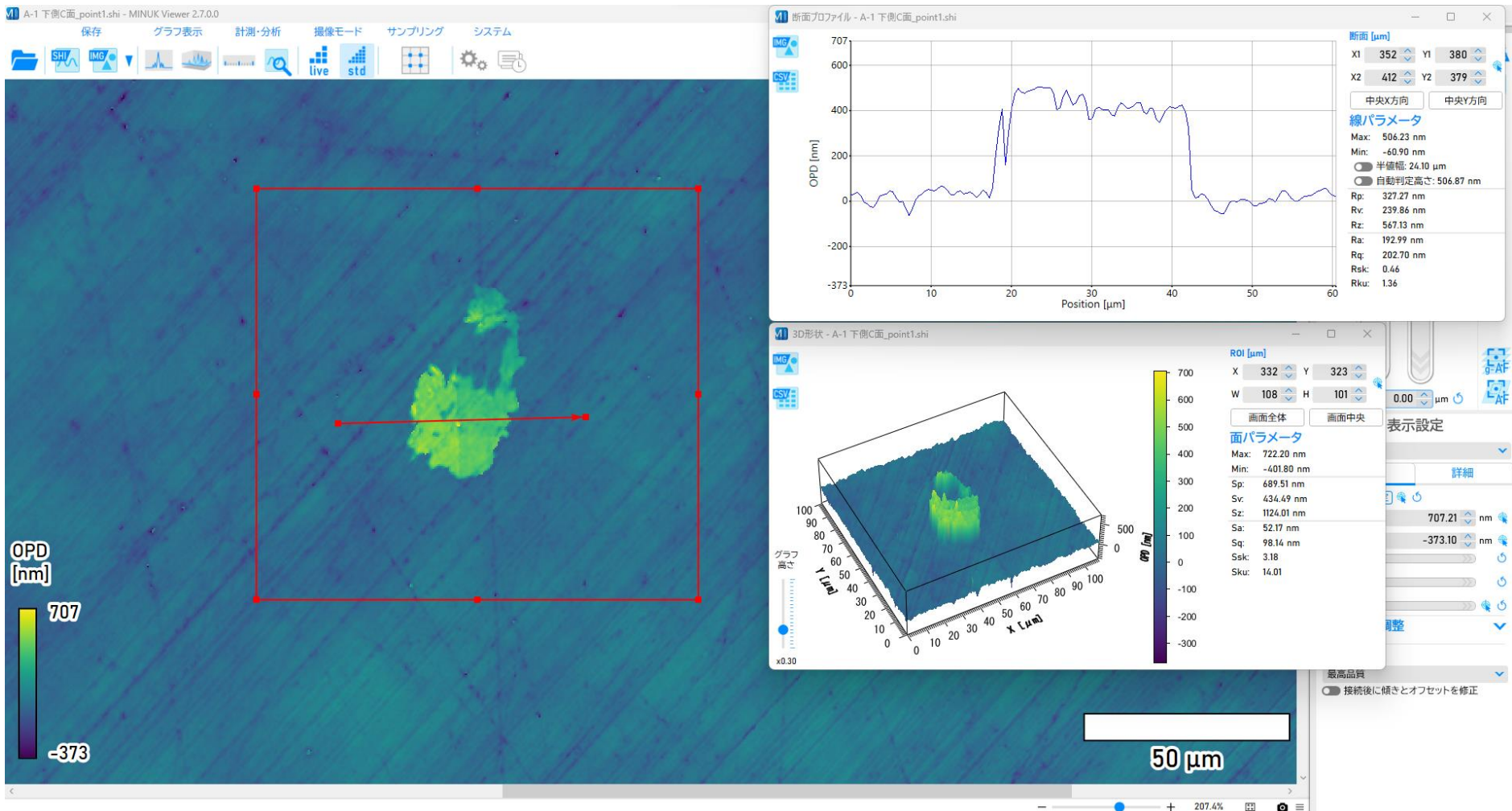
SiCウェーハ表面グランド後のスクラッチ深さ評価



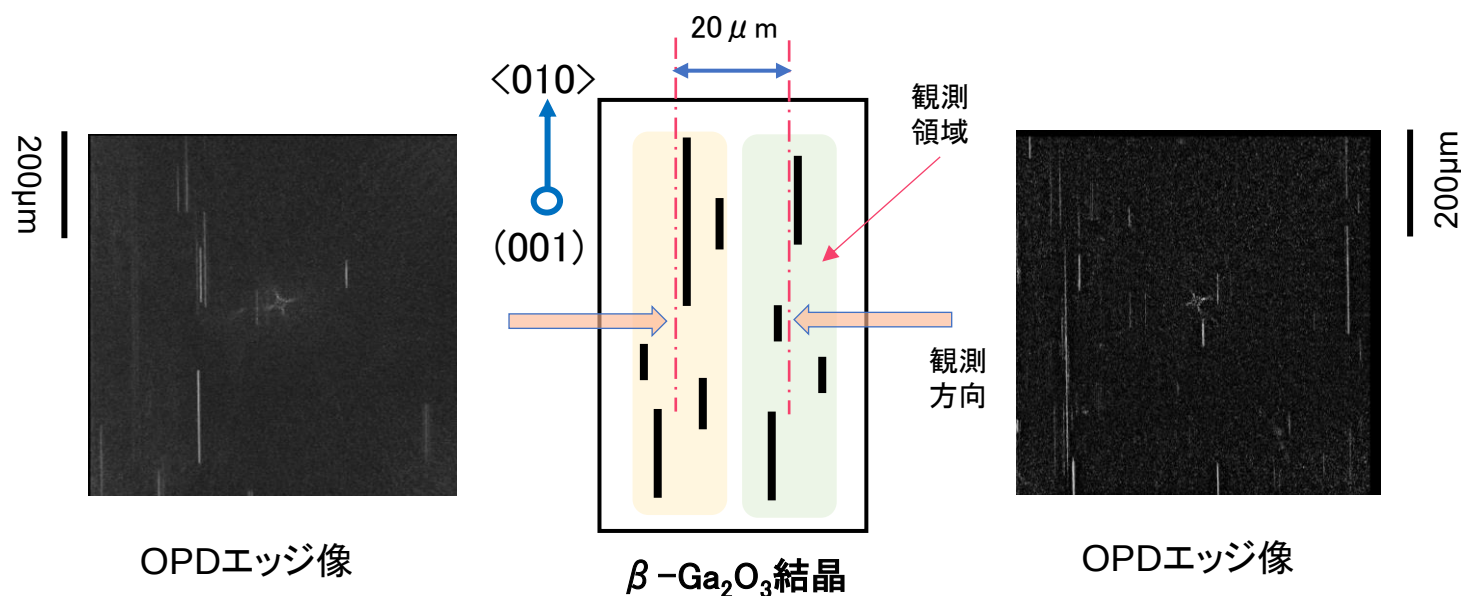
アプリケーション

CONFIDENTIAL

SiCウェーハ表面グランド後の異物形状評価



酸化ガリウムの線状マイクロボイド検出



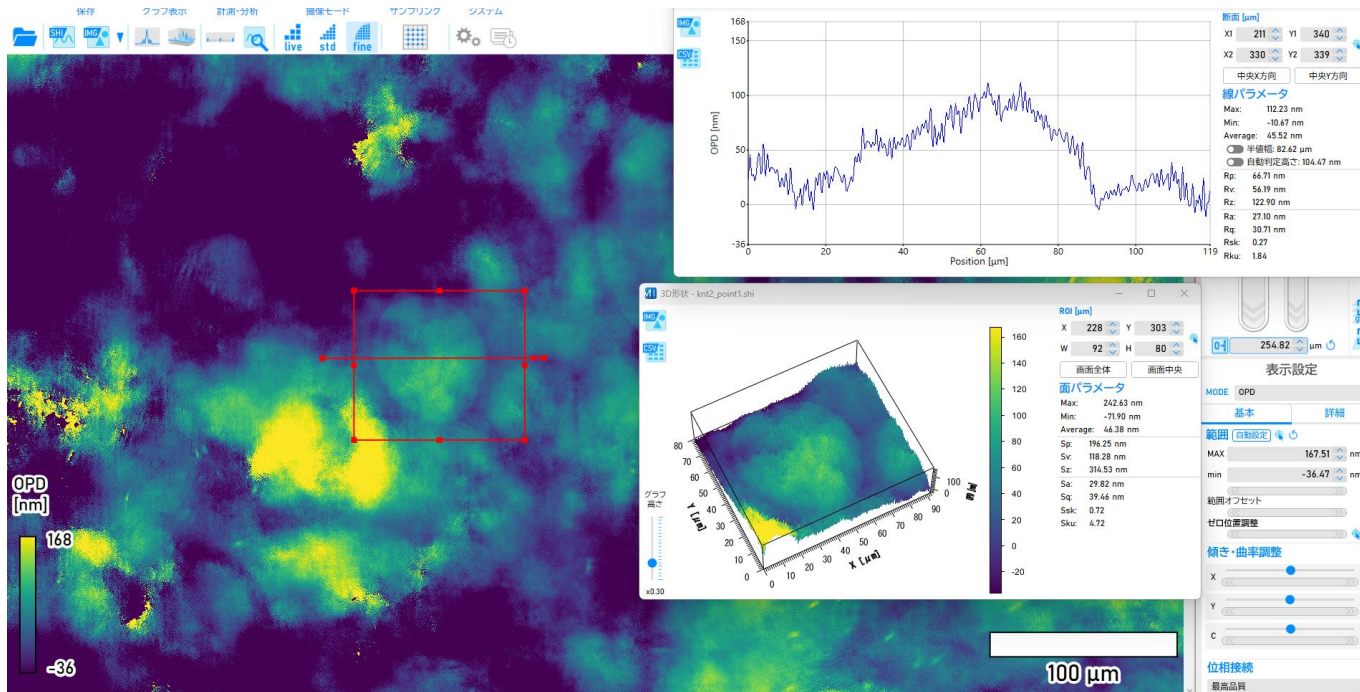
ウェーハ内部の線状マイクロボイドを非接触・非破壊・非侵襲で検出

試料提供: 信州大学工学部 太子研究室

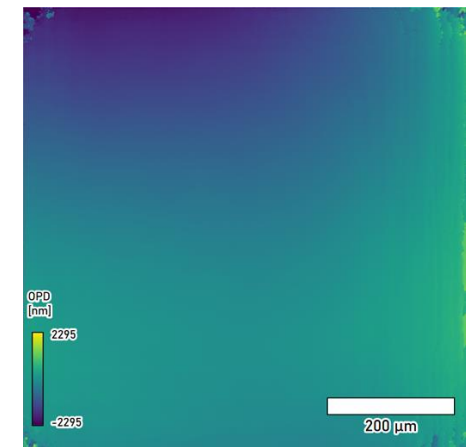
アプリケーション

ゲル内部のOPD観察

両親媒性ゲル



単一成分ゲル



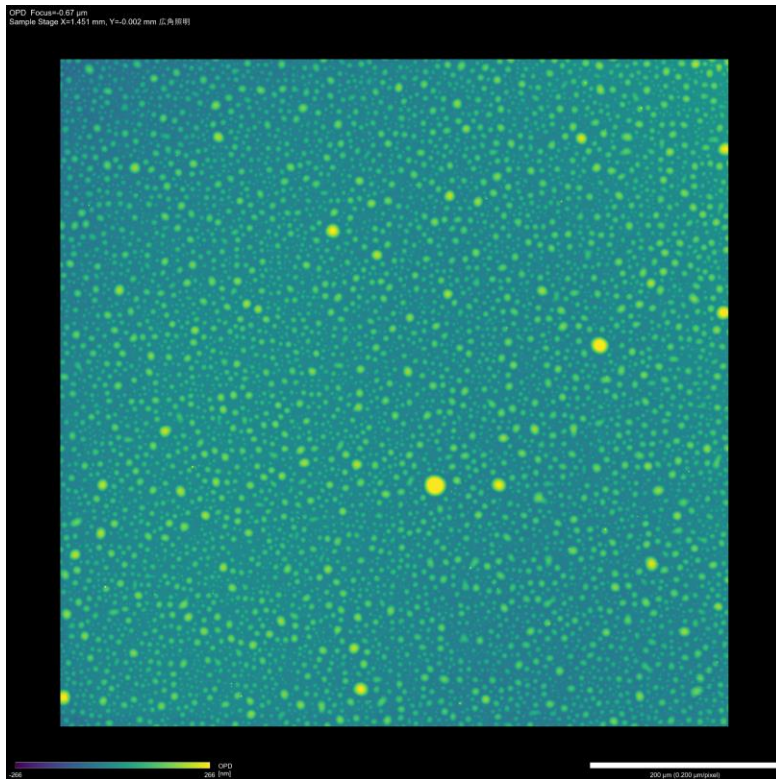
両親媒性ゲル内部の屈折率ムラを可視化

アプリケーション

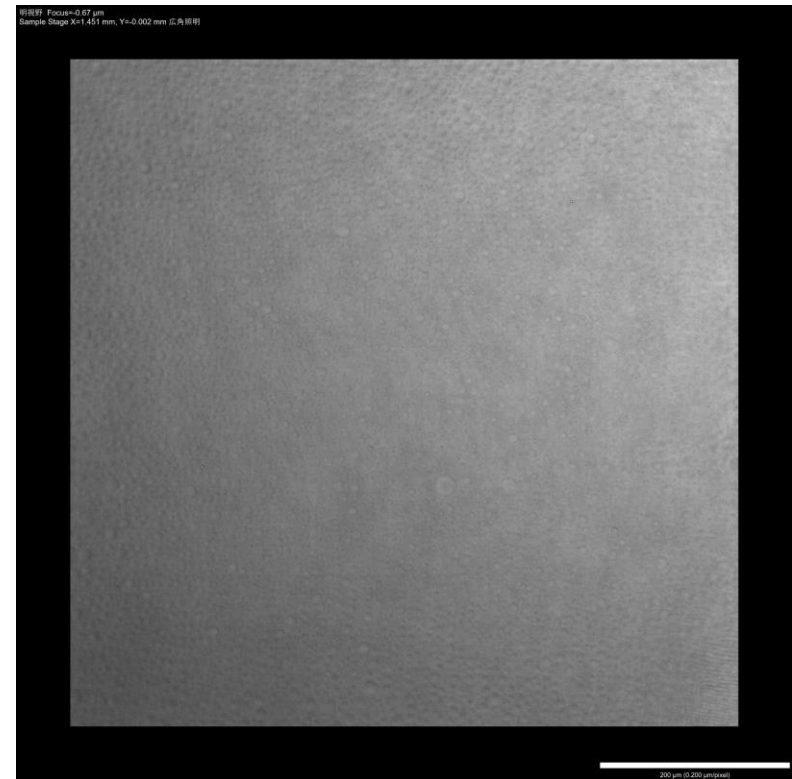
CONFIDENTIAL

タンパク質の液液相分離

OPD像



明視野像

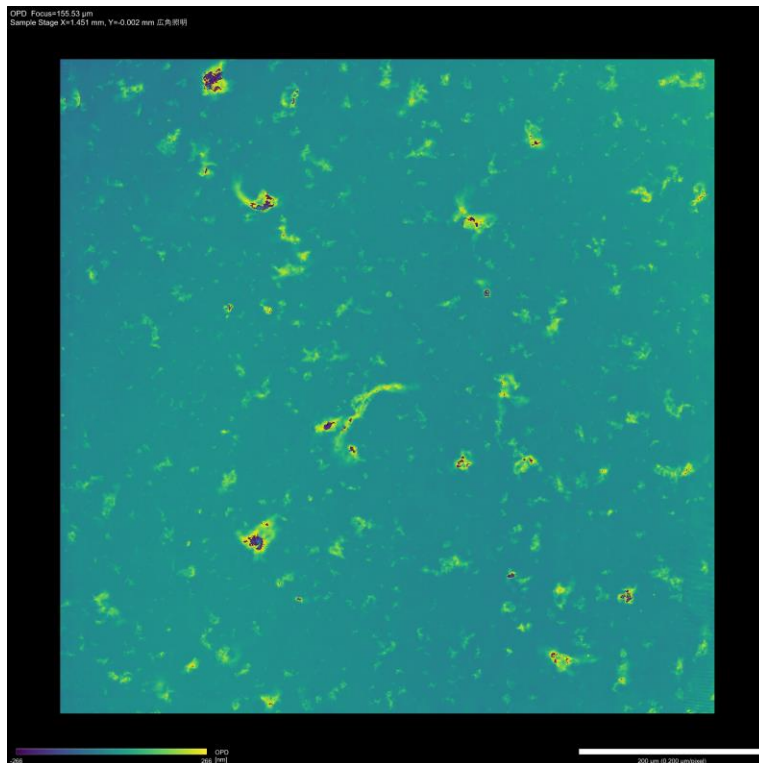


スケールバー: 200 μ m

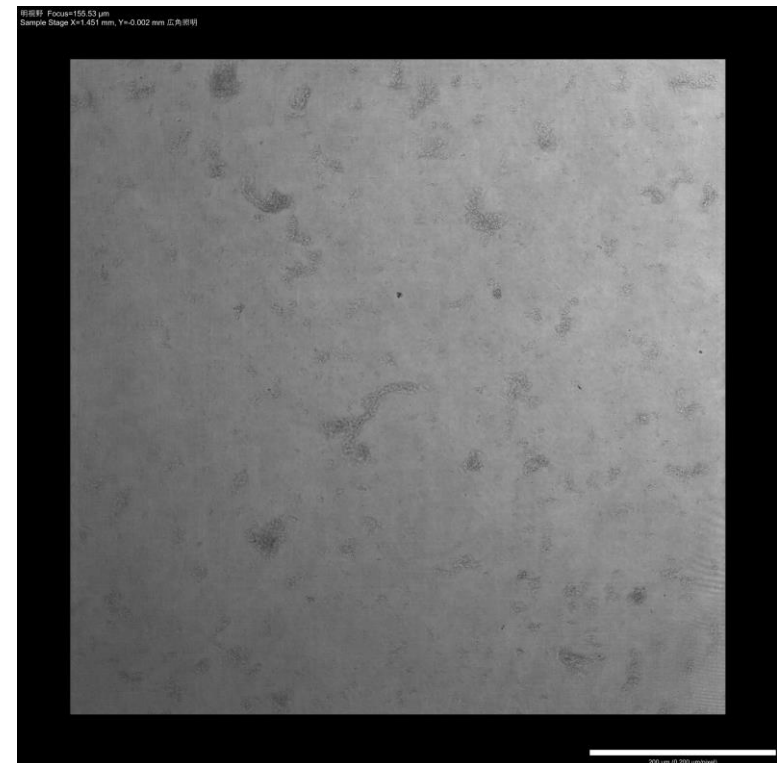
アプリケーション

タンパク質の凝集体

OPD像



明視野像



スケールバー: 200 μ m

アプリケーション

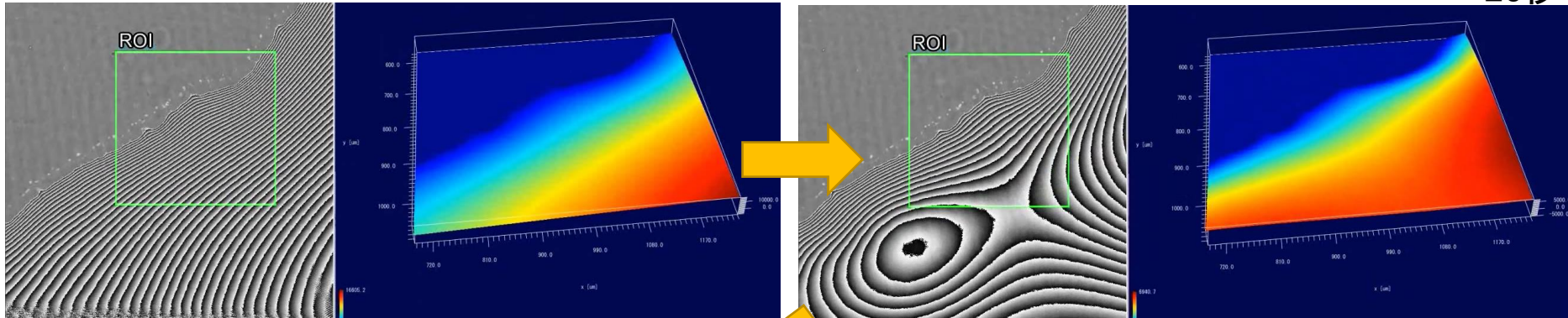
CONFIDENTIAL

変化していく透明形状

0秒

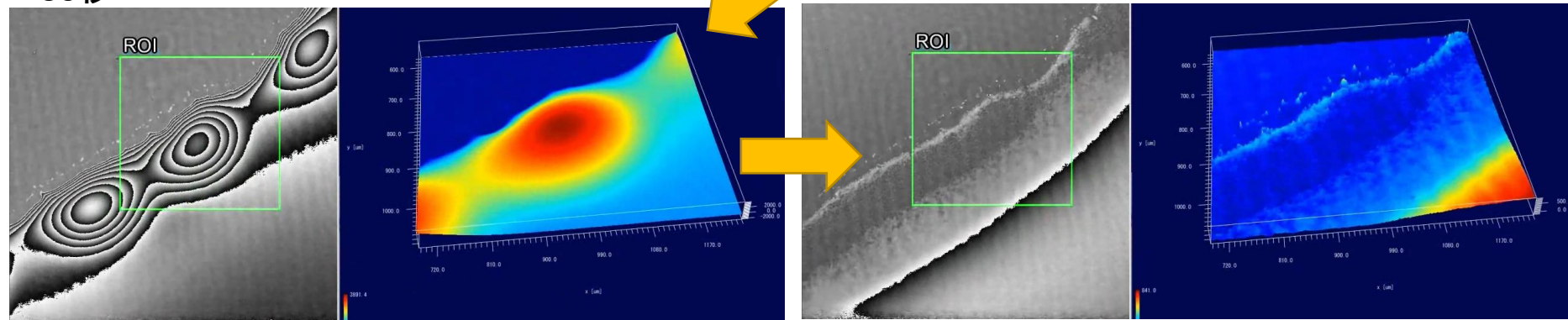
試料：スライドガラス上で蒸発していくエタノール

20秒



35秒

43秒



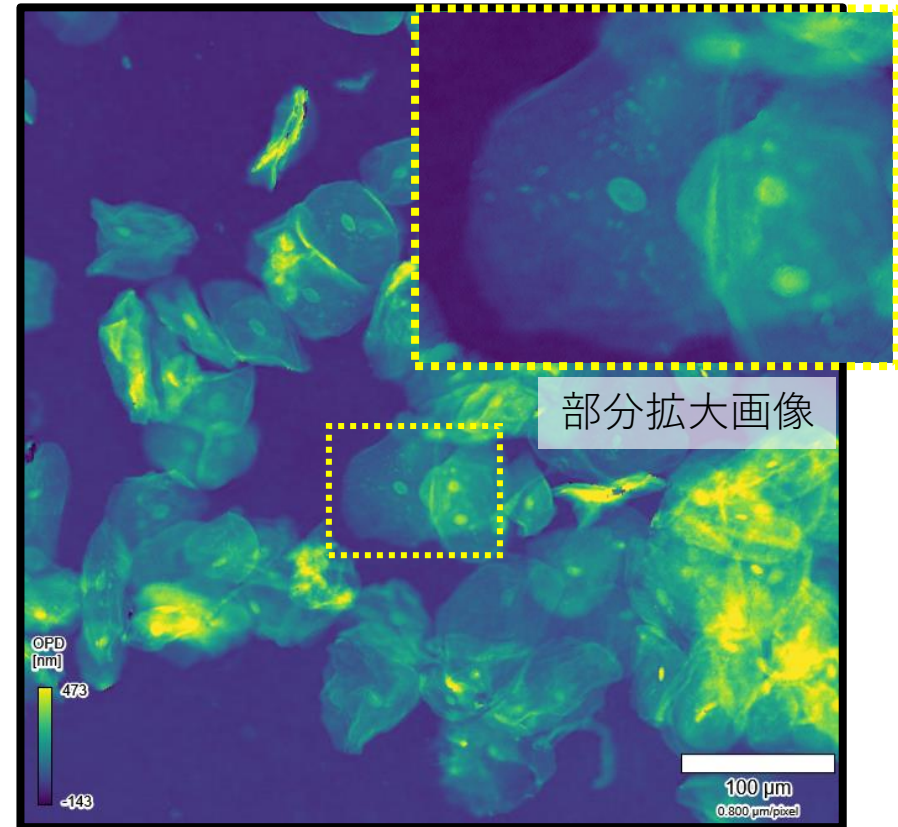
ワンショットリアルタイム測定では、液体など刻一刻と変化する形状を可視化・数値化可能

非染色口腔上皮細胞

口腔上皮細胞の明視野観察像(光学顕微鏡)

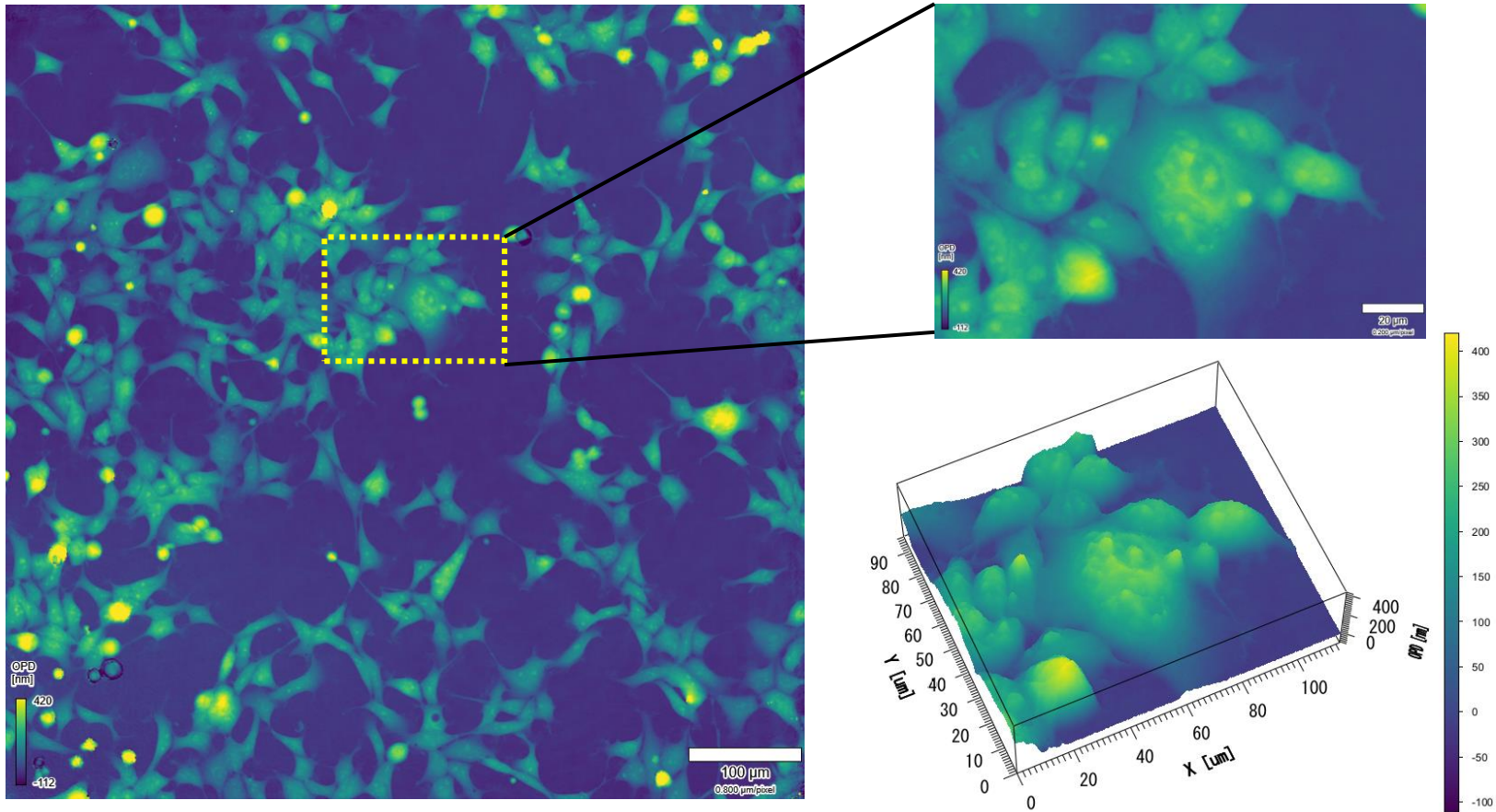


口腔上皮細胞のOPD像(光波動場三次元顕微鏡)



非染色でありながら、細胞内部も明瞭に可視化

非染色HEK293細胞



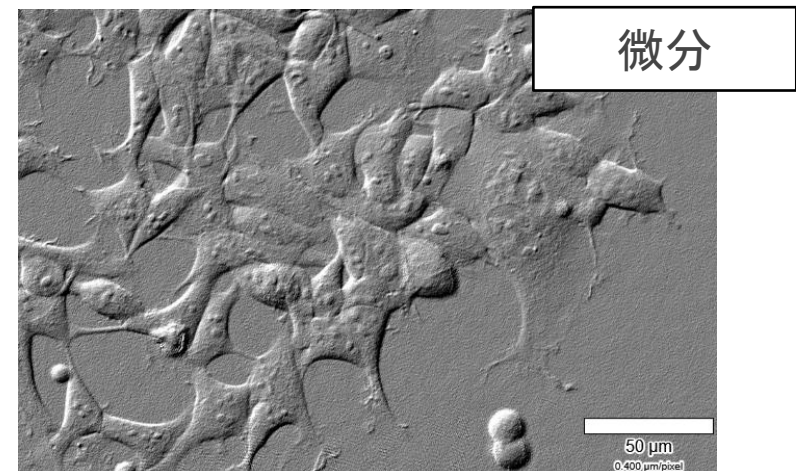
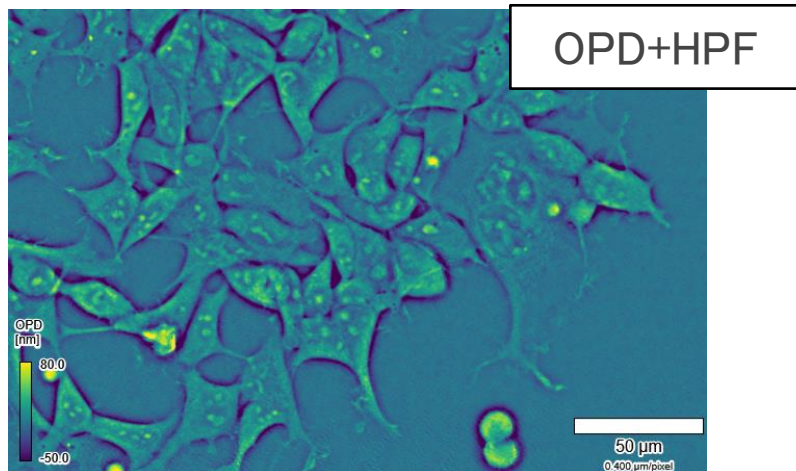
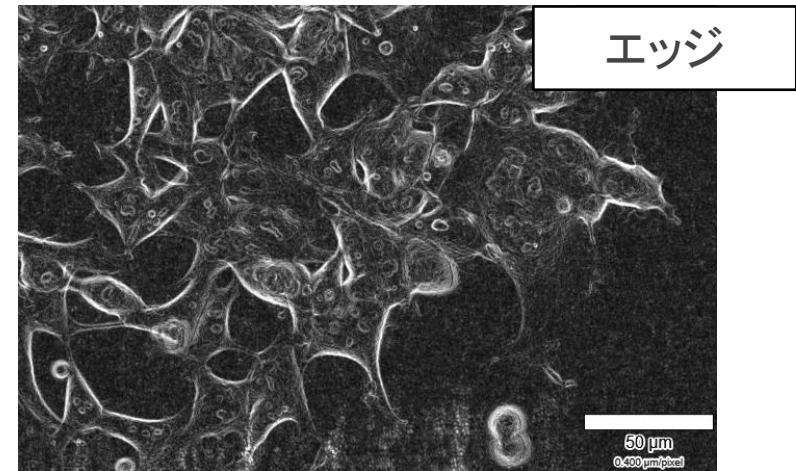
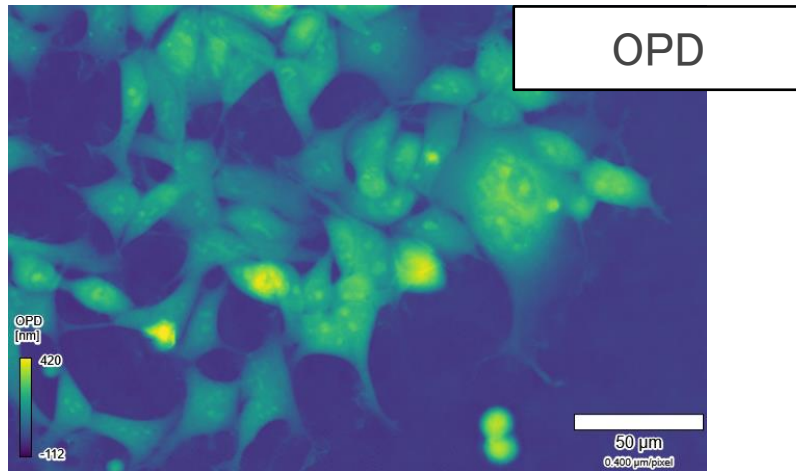
非染色HEK293細胞のOPD像(左)と部分拡大画像(右上)及び3D形状(右下)

試料提供:大阪大学 蛋白質研究所 鈴木 団研

アプリケーション

CONFIDENTIAL

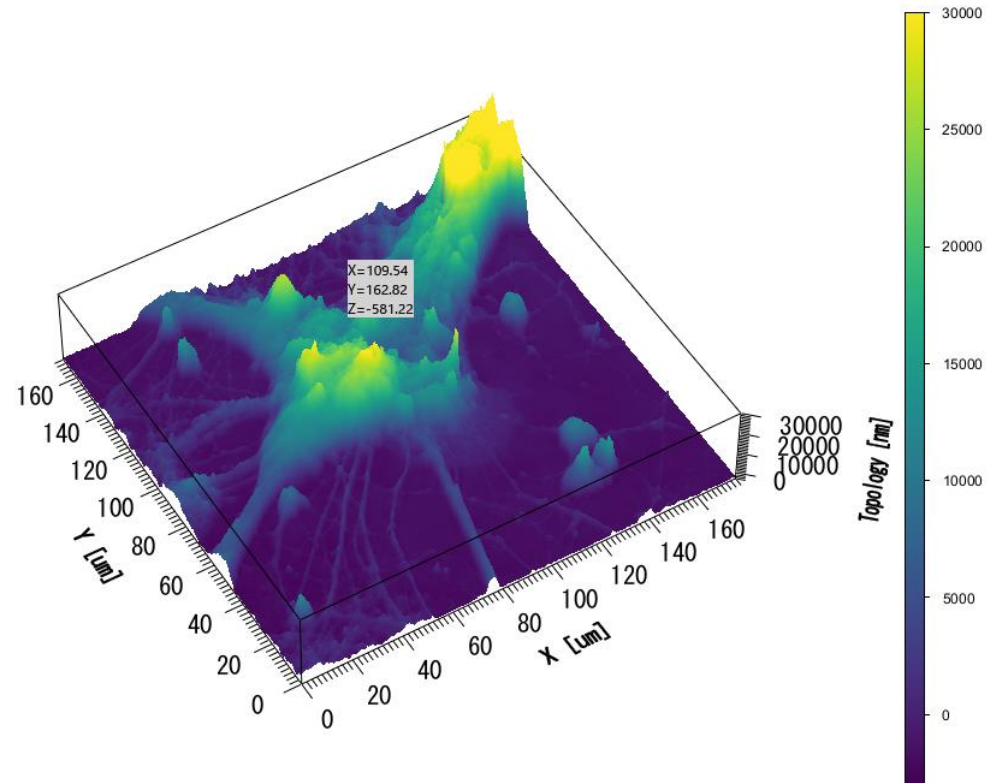
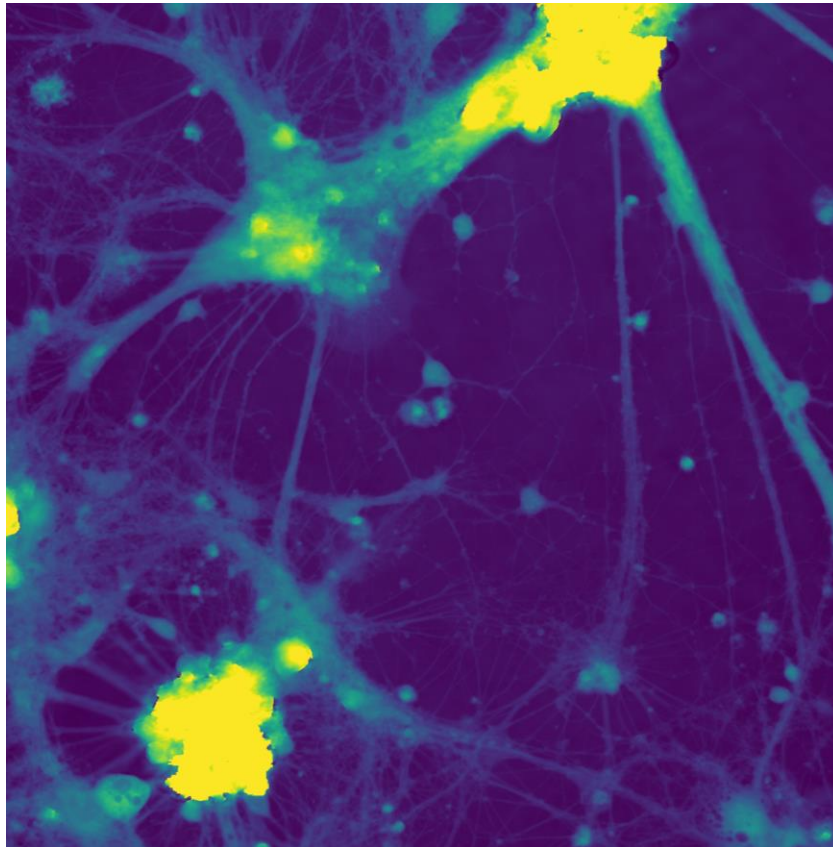
非染色HEK293細胞



試料提供: 大阪大学 蛋白質研究所 鈴木 団 研

非染色神経細胞のOPD観察

OPD観察は緩やかな形状を可視化したり、形状の値を定量化するのに役立ちます。

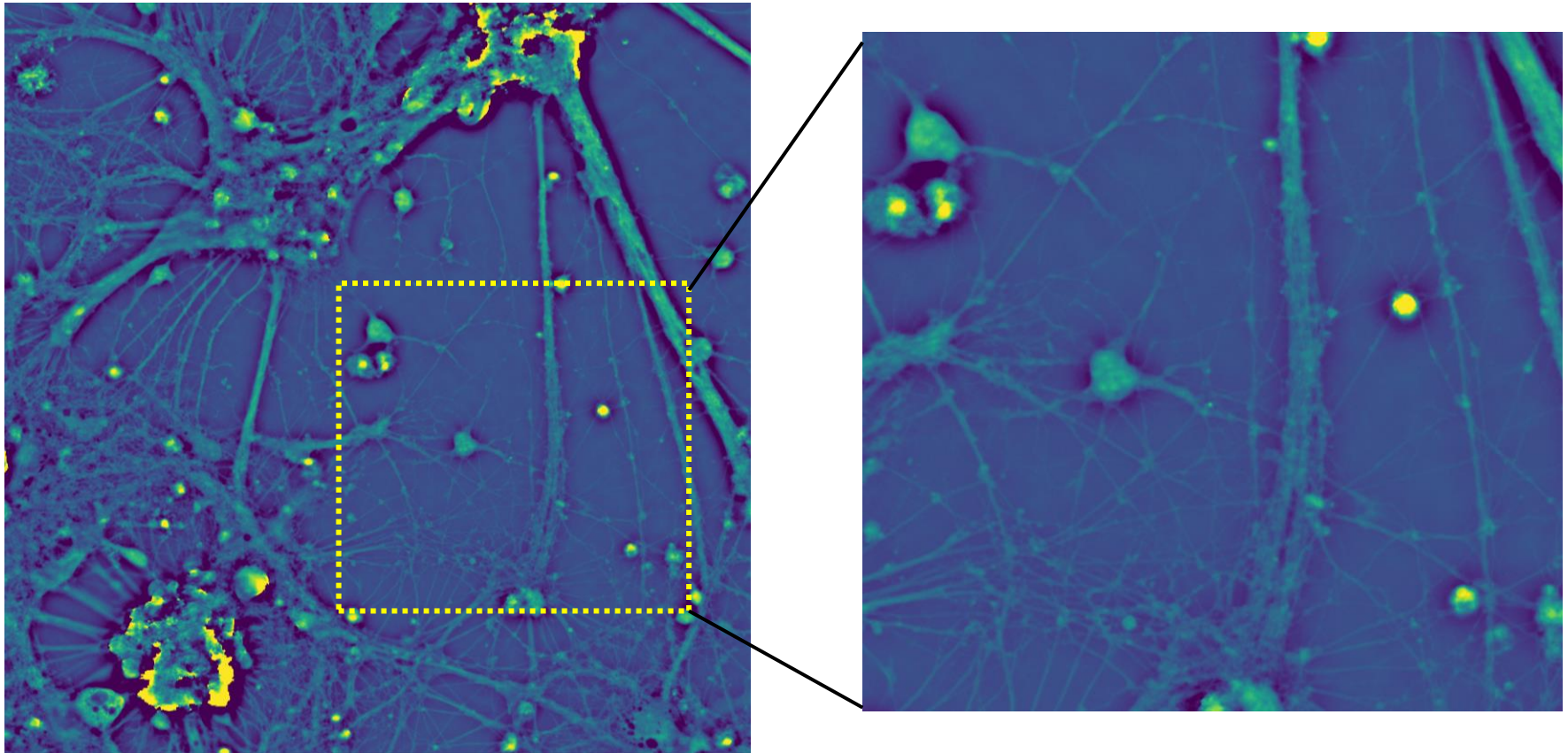


非染色神経細胞のOPD像(左)と3D形状(右)

試料提供: 大阪大学 蛋白質研究所 鈴木団研

非染色神経細胞のOPD+HPF観察

OPD+HPF(ハイクスフィルタ)は形状情報を部分的に残しながら細かい構造を可視化します。

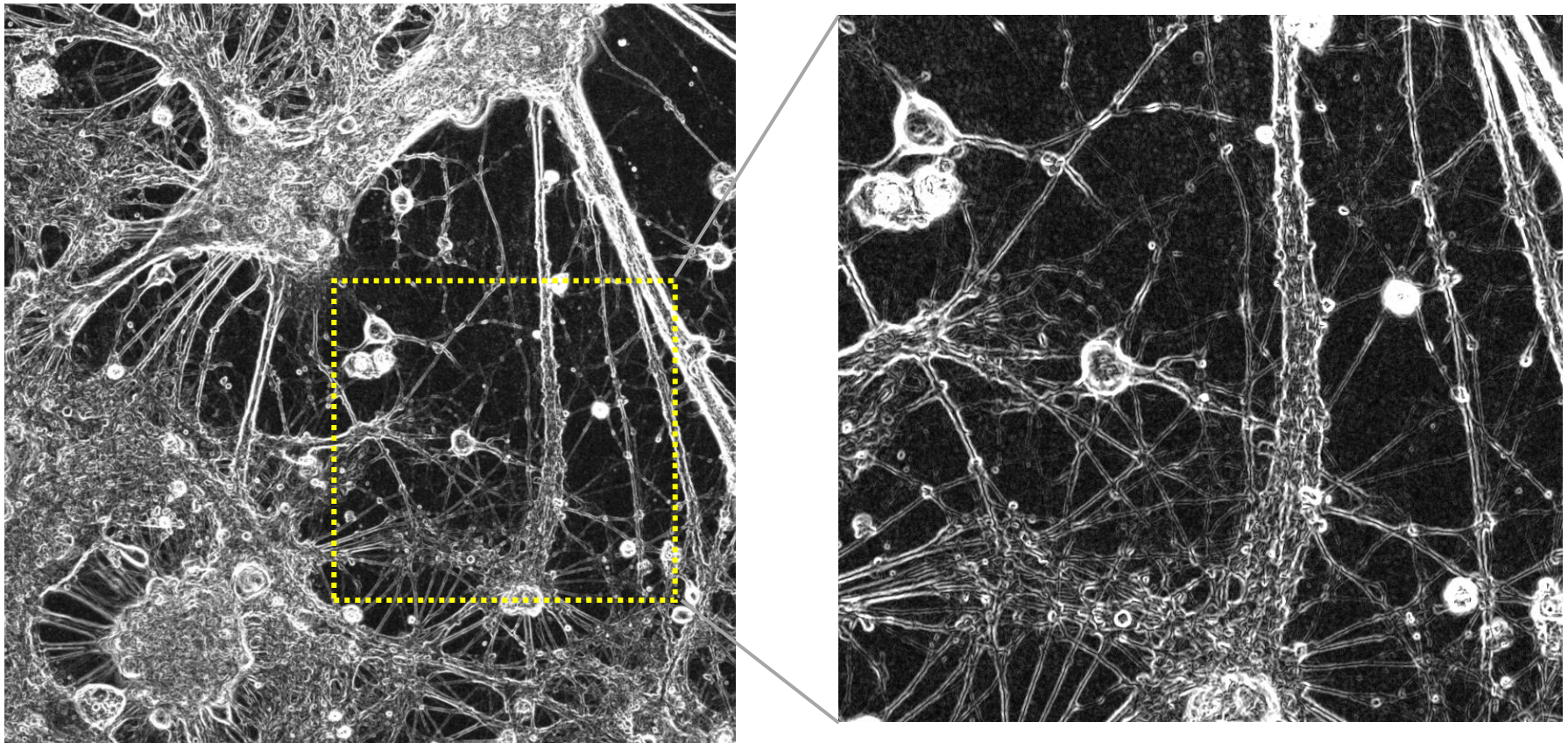


非染色神経細胞のOPD+HPF観察像(左)と部分拡大像(右)

試料提供: 大阪大学 蛋白質研究所 鈴木 団 研

非染色神経細胞のエッジ観察

エッジ観察は光波の変化量が大きい部分が強調され、細かい構造を見るのに適しています。

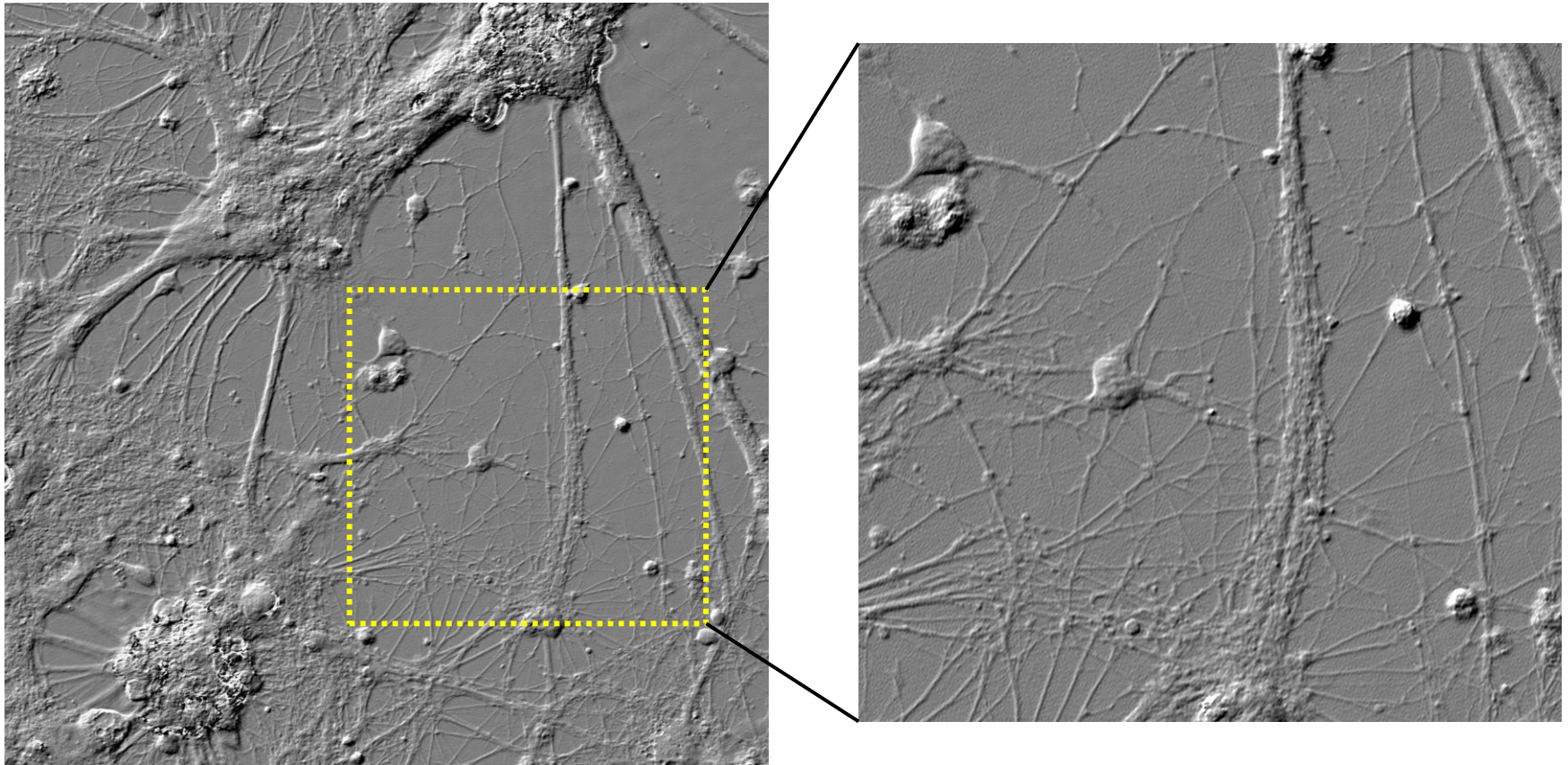


非染色神経細胞のエッジ観察像(左)と部分拡大像(右)

試料提供: 大阪大学 蛋白質研究所 鈴木 団 研

非染色神経細胞の微分観察

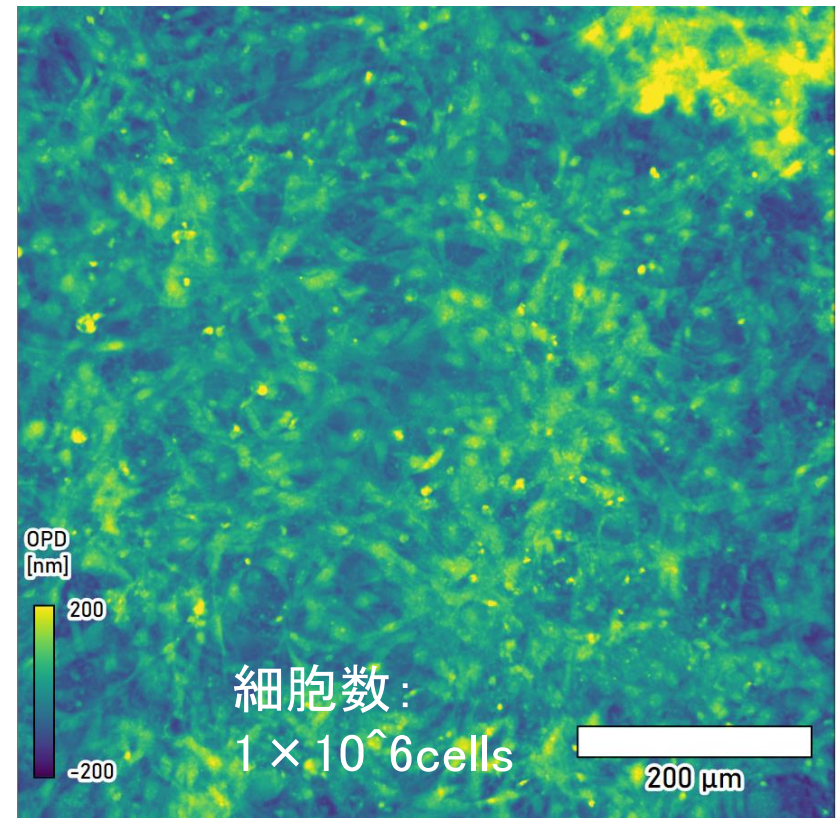
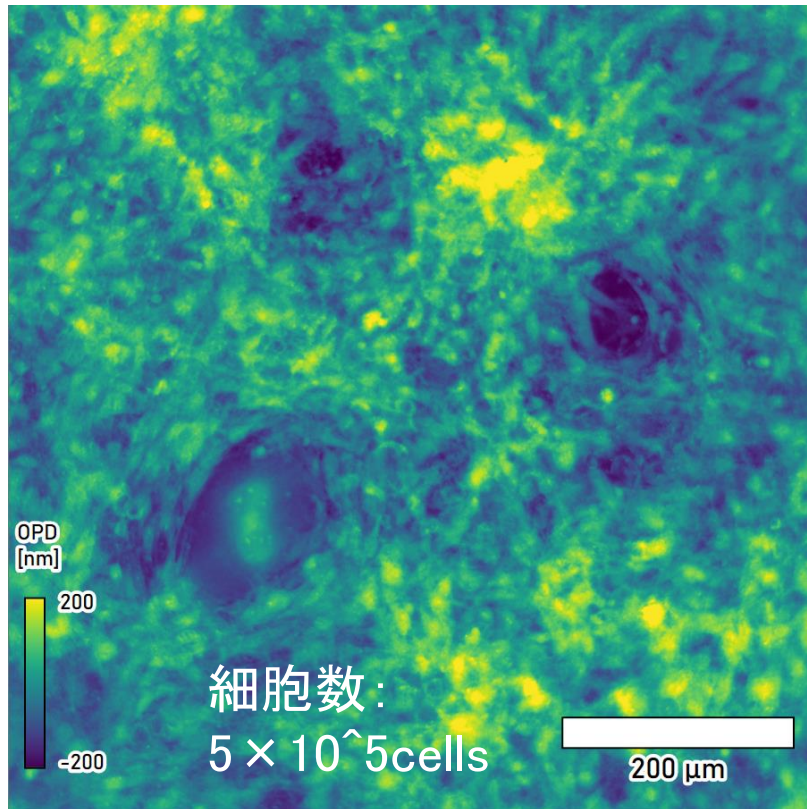
微分観察は微分干渉顕微鏡に近い観察像が得られ、立体感のある像が得られます。



非染色神経細胞の微分観察像(左)と部分拡大像(右)

試料提供: 大阪大学 蛋白質研究所 鈴木団研

細胞シートのOPD観察



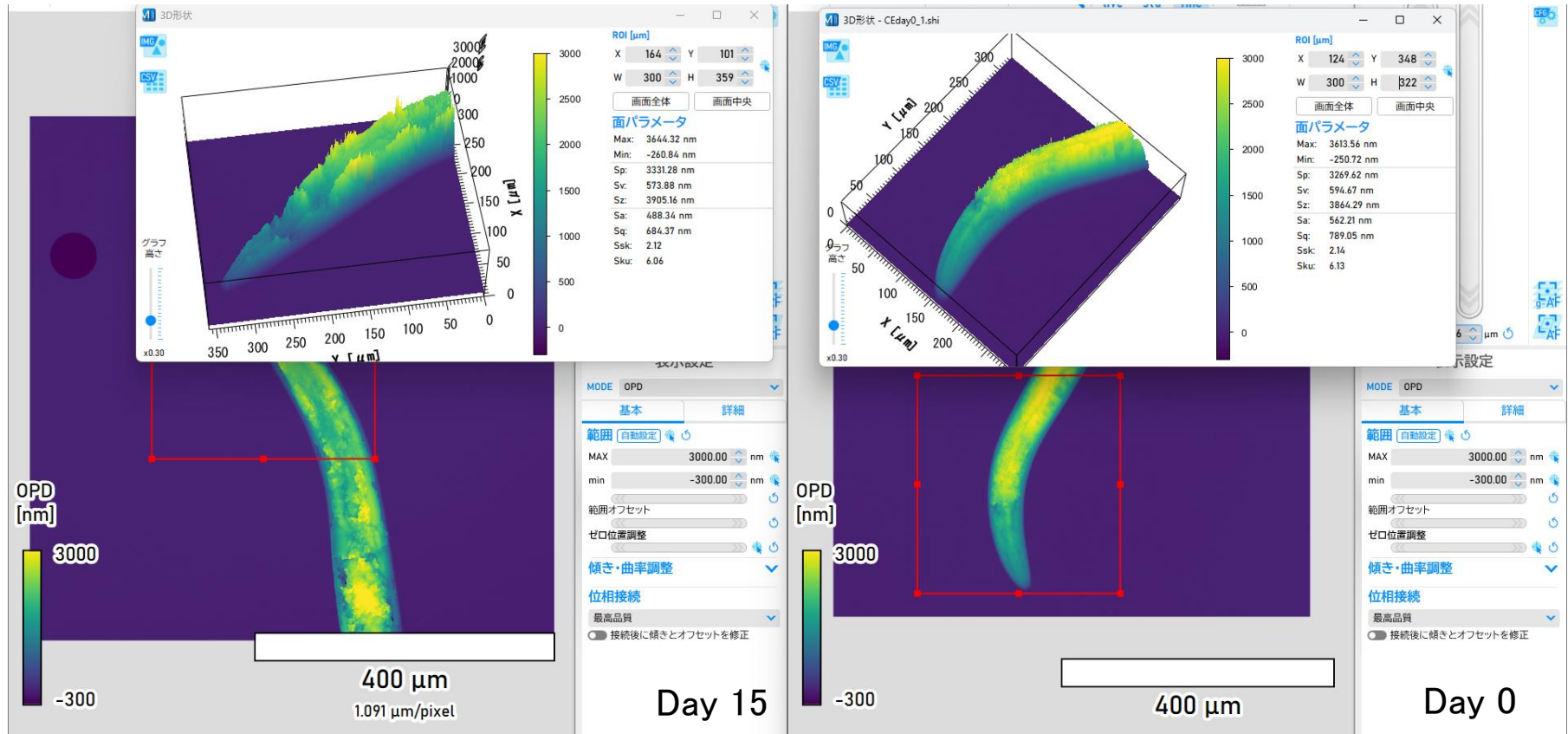
細胞シートの形成過程の観察や均一性評価

試料提供: 東京理科大学 草森研

アプリケーション

CONFIDENTIAL

線虫のOPD観察

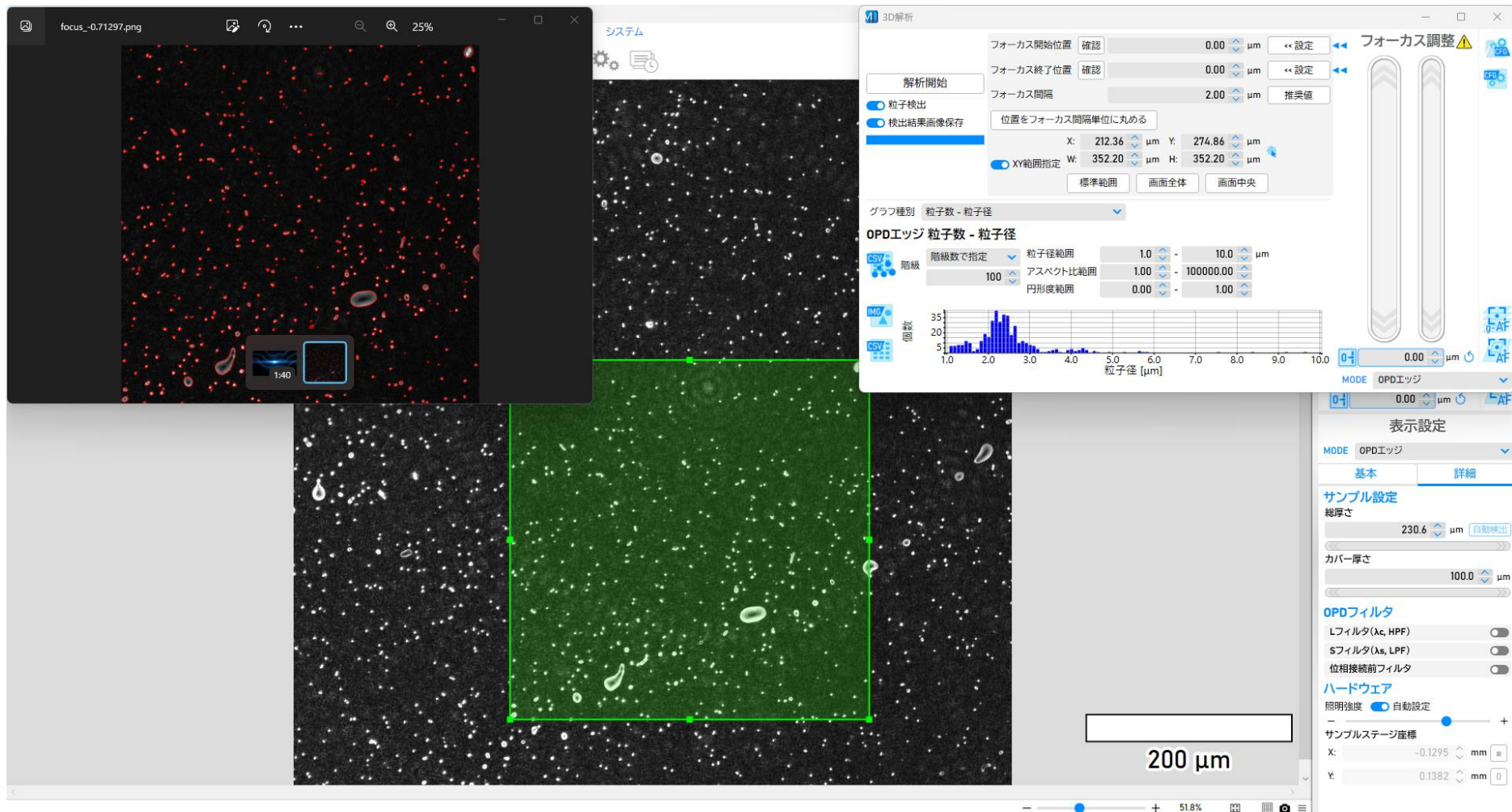


線虫の形態観察が可能

試料提供: 東京大学 菊池研

アプリケーション

大腸菌



光波動場三次元顕微鏡による抗体凝集体の吸着測定

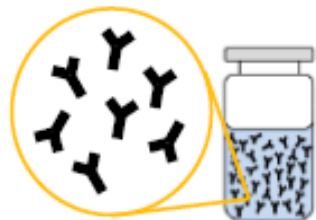
長門石暁¹, 下田健作², 津本浩平¹, 杉田一紘²

1. 東京大学大学院工学系研究科, 2. 大塚電子株式会社

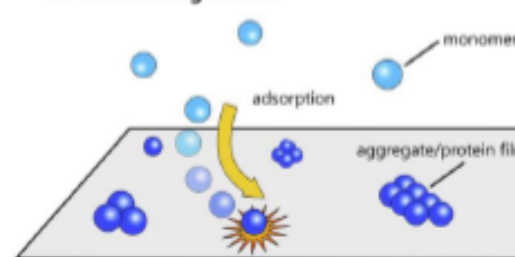


背景: バイオ医薬品の吸着リスク

バイオ医薬品の変性や凝集は、薬効の低下や毒性反応などの副作用を引き起こす可能性がある。したがって、凝集体形成を高感度かつ定量的に分析することは、医薬品の品質管理において極めて重要である。近年、バイアル表面への吸着による凝集体形成のリスクが指摘されている。しかしながら表面上での凝集体形成メカニズムには未解明な点が多く、その高精度な分析技術が求められている。

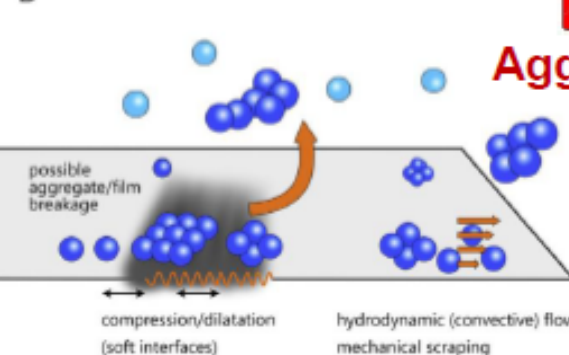


A Protein adsorption/nucleation/aggregation on destabilizing surface



J.Pharm. Sci. 112, 377–385 (2023)

B Aggregate release and surface renewal



Aggregation

第15回JBFシンポジウム, 京都, 2024年2月
東京大学大学院工学研究科 長門石ら

アプリケーション

CONFIDENTIAL

分析①：吸着した凝集体の粒子画像

ポリスチレン PS
(Greiner, 655201)



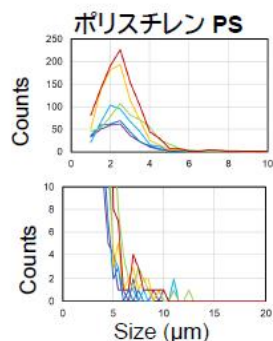
ポリプロピレン PP
(Corning, 3595)



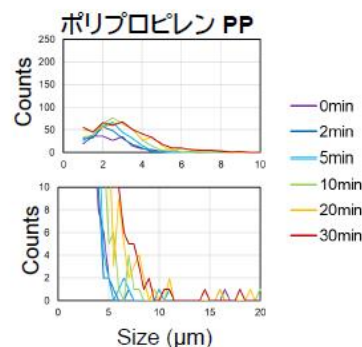
ガラス Glass



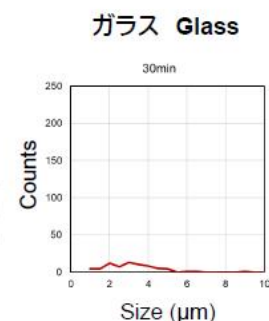
プラスチック及びガラスプレートに凝集サンプルを添加し、吸着状態を観察



◆ PSは粒子数が多い

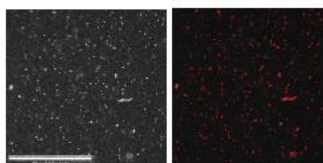


◆ PPは少ないが大サイズが散見

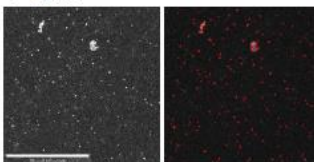


◆ Glassは吸着が非常に少ない

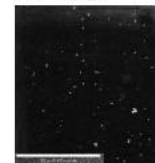
0 分後



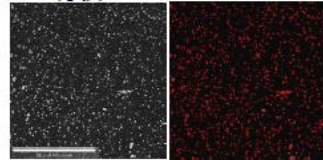
0 分後



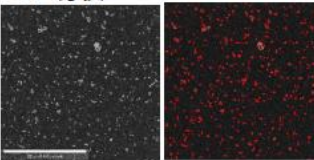
30 分後



30 分後



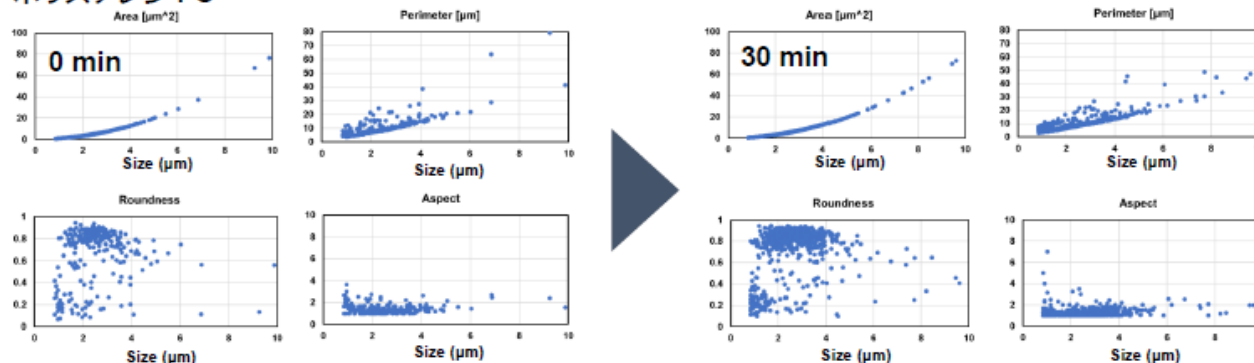
30 分後



第15回JBFシンポジウム, 京都, 2024年2月
東京大学大学院工学研究科 長門石ら

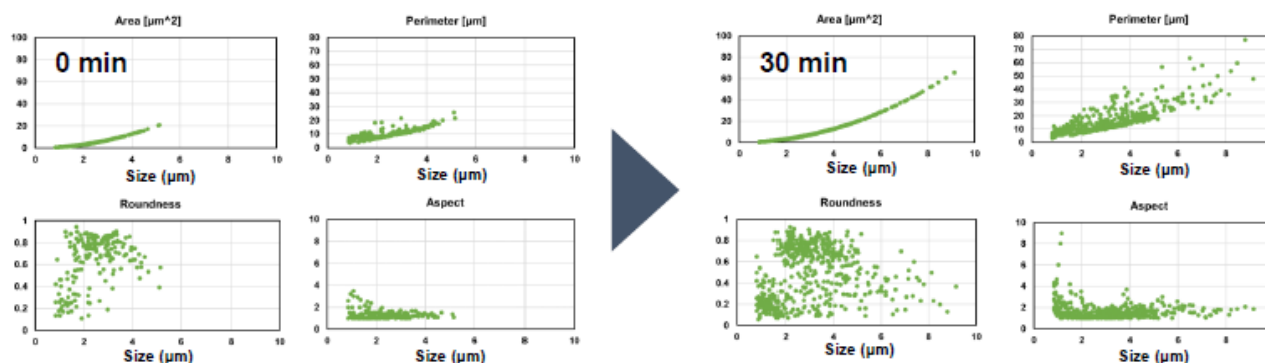
分析②：吸着した凝集体の時間変化

ポリスチレン PS



◆ PSでは、Roundness 0.8以上の粒子が多い（球形の凝集体に偏っている）

ポリプロピレン PP



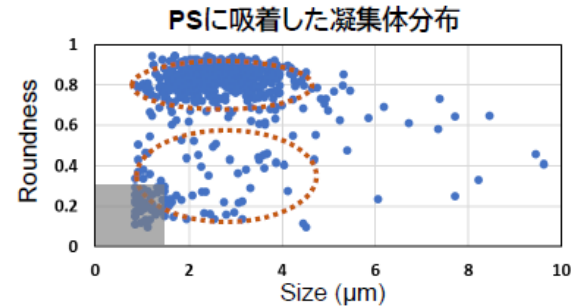
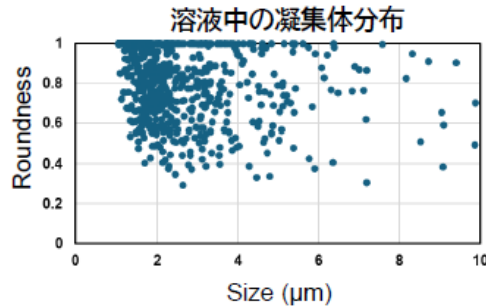
◆ PPでは、Roundness値に幅がある（歪な形状の凝集体が比較的多い）

第15回JBFシンポジウム, 京都, 2024年2月
東京大学大学院工学研究科 長門石ら

アプリケーション

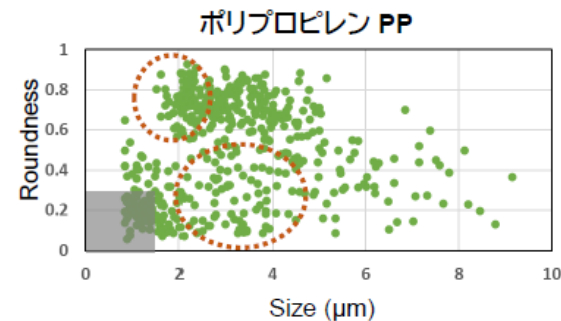
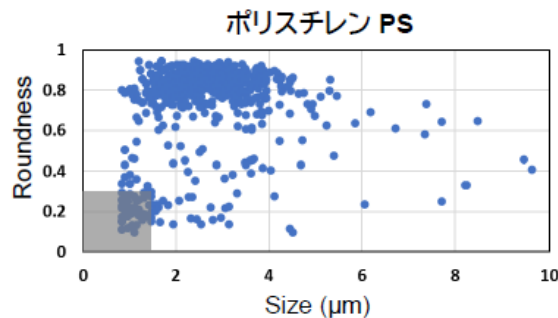
CONFIDENTIAL

溶液粒子 vs 吸着粒子



- ◆ 溶液粒子と吸着粒子では球形の分布が異なる
- ◆ PSの吸着粒子は、Roundness値の高い粒子が多い
- ◆ PSでは、溶液中では観察されなかった低いRoundness値の粒子が存在

PS吸着粒子 vs PP吸着粒子

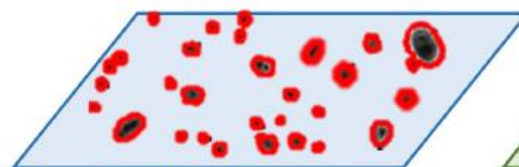
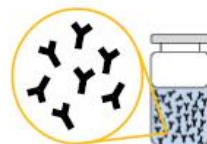


- ◆ PSとPP間でも、吸着粒子の形状分布に違いがある
- ◆ PPへの吸着では、比較的Roundness値が低い凝集体が形成されやすい
- ◆ PPでは、大きめサイズの凝集体が形成されやすい

第15回JBFシンポジウム, 京都, 2024年2月
東京大学大学院工学研究科 長門石ら

アプリケーション

光波動場三次元顕微鏡から明らかとなったこと



ポリスチレン PS



ポリプロピレン PP

- ◆ 容器に吸着した凝集体は、溶液中の凝集体とは異なる形状で形成されやすい
- ◆ 容器の物性によって、形成する吸着凝集体の形状も異なる

結論と今後

- ◆ 光波動場三次元顕微鏡の活用により、容器に吸着した凝集体をダイレクトに観察することに成功した。
- ◆ 容器に吸着した凝集体は、溶液中の凝集体とは異なる形状で形成されており、容器素材の違いによっても形状が変化した。
- ◆ 吸着した凝集体の立体形状の分析、各粒子の統計解析を行うことで、吸着凝集体のより高精度な理解が可能になる。

Acknowledgment

津本研究室(東京大学)



第15回JBFシンポジウム, 京都, 2024年2月
東京大学大学院工学研究科 長門石ら

今後の展開について

現状

今後の展開

透明材料



半導体
バイオメディカル
化学

卓上



インライン
スマート



ヒカリで明るい未来を切り拓く会社