

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6073288号  
(P6073288)

(45) 発行日 平成29年2月1日(2017.2.1)

(24) 登録日 平成29年1月13日(2017.1.13)

(51) Int. Cl.		F I	
GO 1 N	1/28 (2006.01)	GO 1 N	1/28 F
HO 1 J	37/20 (2006.01)	GO 1 N	1/28 K
GO 1 N	23/225 (2006.01)	HO 1 J	37/20 F
GO 1 N	23/04 (2006.01)	HO 1 J	37/20 E
		GO 1 N	23/225

請求項の数 25 (全 12 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2014-503945 (P2014-503945)	(73) 特許権者	506158968
(86) (22) 出願日	平成24年4月4日(2012.4.4)		オムニプローブ、インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2014-522478 (P2014-522478A)		アメリカ合衆国、テキサス州 75238
(43) 公表日	平成26年9月4日(2014.9.4)		、ダラス、ミラー・ロード 10410
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/032141	(74) 代理人	100108855
(87) 国際公開番号	W02012/138738		弁理士 蔵田 昌俊
(87) 国際公開日	平成24年10月11日(2012.10.11)	(74) 代理人	100109830
審査請求日	平成27年4月1日(2015.4.1)		弁理士 福原 淑弘
(31) 優先権主張番号	61/471, 425	(74) 代理人	100103034
(32) 優先日	平成23年4月4日(2011.4.4)		弁理士 野河 信久
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100075672
			弁理士 峰 隆司
		(74) 代理人	100140176
			弁理士 砂川 克

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 冷凍標本を抽出する方法および標本アッセンプリーの製造

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

冷凍標本をプローブチップに取り付ける方法であり、  
前記プローブチップを前記冷凍標本の温度以下の温度に冷却することを有し、ここで前記冷凍標本の温度は 0 以下であり、  
前記プローブチップを前記冷凍標本と接触させることと、  
蒸気が凝縮して凍結するように前記プローブチップと前記冷凍標本との間の接触領域に前記蒸気を流し、それにより前記冷凍標本を前記プローブチップに接合させることによって前記プローブチップを前記冷凍標本に結合させることを有している、方法。

【請求項 2】

前記方法は真空中でおこなわれ、前記蒸気は水蒸気である、請求項 1 の方法。

【請求項 3】

冷凍標本をプローブチップに取り付けるための方法であり、  
前記プローブチップを前記冷凍標本の温度以下の温度に冷却することを有し、ここで前記冷凍標本の温度は 0 以下であり、  
前記プローブチップを前記冷凍標本に近づけ、前記プローブチップと前記冷凍標本の間に第一のすきまをそのままにすることと、  
蒸気が凝縮して凍結するように前記プローブチップと前記冷凍標本との間の前記第一のすきまに前記蒸気を流し、それにより前記冷凍標本を前記プローブチップに接合させることによって前記プローブチップを前記冷凍標本に結合させることを有している、方法。

10

20

## 【請求項 4】

前記方法は真空中でおこなわれ、前記蒸気は水蒸気である、請求項 3 の方法。

## 【請求項 5】

冷凍標本をプローブチップに取り付ける方法であり、

前記プローブチップを前記冷凍標本の温度以下の温度に冷却することを有し、ここで前記冷凍標本の温度は水のガラス化温度以下であり、

前記プローブチップを前記冷凍標本と接触させることと、

前記プローブチップと前記冷凍標本の間の接触領域に水蒸気を流すことによって前記プローブチップを前記冷凍標本に結合させることを有している、方法。

## 【請求項 6】

前記方法は真空中でおこなわれる、請求項 5 の方法。

## 【請求項 7】

冷凍標本をプローブチップに取り付ける方法であり、

前記プローブチップを前記冷凍標本の温度以下の温度に冷却することを有し、ここで前記冷凍標本の温度は水のガラス化温度以下であり、

前記プローブチップを前記冷凍標本に近づけ、前記プローブチップと前記冷凍標本の間の第一のすきまをそのままにすることと、

前記プローブチップと前記冷凍標本の間の前記第一のすきまに水蒸気を流すことによって前記プローブチップを前記冷凍標本に結合させることを有している、方法。

## 【請求項 8】

前記方法は真空中でおこなわれる、請求項 7 の方法。

## 【請求項 9】

そこから前記冷凍標本が抽出される前記冷凍標本とバルクサンプルの間の第二のすきまがあり、

前記第一のすきまに水蒸気を流すあいだ、前記第一のすきまを前記第二のすきまよりも小さく維持することを有している、請求項 7 の方法。

## 【請求項 10】

冷凍標本アッセンプリーを作るための方法であり、

物体を冷凍標本の温度以下の温度に冷却することを有し、ここで前記冷凍標本の温度は水のガラス化温度以下であり、

前記物体を前記冷凍標本と接触させることと、

前記物体と前記冷凍標本の間の接触領域に水蒸気を流すことによって前記物体を前記冷凍標本に結合されることと、

前記物体とそれに結合された前記冷凍標本を支持構造体に移動させることと、

前記支持構造体と前記冷凍標本の間の一つ以上の接触領域に水蒸気を流すことによって前記冷凍標本を前記支持構造体に結合させることと、

前記物体を前記冷凍標本から解放することを有している、方法。

## 【請求項 11】

前記方法は真空中でおこなわれる、請求項 10 の方法。

## 【請求項 12】

前記物体はナノマニピュレータープローブチップである、請求項 10 の方法。

## 【請求項 13】

前記支持構造体は TEM グリッドである、請求項 10 の方法。

## 【請求項 14】

前記冷凍標本からの前記物体の解放は、前記物体を加熱することによって実施される、請求項 10 の方法。

## 【請求項 15】

前記冷凍標本からの前記物体の解放は、荷電粒子ビームの供給によって実施される、請求項 10 の方法。

## 【請求項 16】

10

20

30

40

50

冷凍標本アッセンブリーを作る方法であり、  
 物体を冷凍標本の温度以下の温度に冷却することを有し、ここで前記冷凍標本の温度は  
 0 以下であり、  
 前記物体を前記冷凍標本と接触させることと、  
 前記物体と前記冷凍標本との間の接触領域に水蒸気を流すことによって前記物体を前記冷  
 凍標本に結合させることと、  
 前記物体とそれに結合された前記冷凍標本を支持構造体に移動させることと、  
 前記支持構造体と前記冷凍標本との一つ以上の接触領域に水蒸気を流すことによって  
 前記冷凍標本を前記支持構造体に結合させることと、  
 前記物体を前記冷凍標本から解放することを有している、方法。

10

## 【請求項 17】

前記方法は真空中でおこなわれる、請求項 16 の方法。

## 【請求項 18】

前記物体はナノマニピュレータープローブチップである、請求項 16 の方法。

## 【請求項 19】

前記支持構造体は TEM グリッドである、請求項 16 の方法。

## 【請求項 20】

前記冷凍標本からの前記物体の解放は、前記物体を加熱することによって実施される、  
 請求項 16 の方法。

## 【請求項 21】

前記冷凍標本からの前記物体の解放は、荷電粒子ビームの供給によって実施される、請  
 求項 16 の方法。

20

## 【請求項 22】

冷凍サンプルから標本アッセンブリーを形成するための装置であり、  
 サンプルを保持するためのステージを備え、前記ステージは前記サンプルの関心領域を  
 位置決めするように装備され、少なくとも前記サンプルと接触するステージの部品は極低  
 温に冷却されることができ、  
 マニピュレーターを備え、前記マニピュレーターはプローブチップを有し、前記プロ  
 ーブチップは極低温に保持されるように装備されており、  
 前記サンプルの関心領域に実質的に配給されることができ、水蒸気源を備え、  
 前記プローブチップが、前記関心領域を備えている標本と接触するとき、かつ、水蒸気  
 が凝縮して凍結するように、前記水蒸気が、前記プローブチップと前記標本の少なくとも  
 一部に流され、それにより前記標本を前記プローブチップに接合させるとき、前記プロ  
 ーブチップは極低温に保持されることができ、装置。

30

## 【請求項 23】

前記プローブチップの温度を極低温より上に十分に上げて、前記プローブチップを前記  
 関心領域から選択的に解放する熱源をさらに備えている、請求項 22 の装置。

## 【請求項 24】

前記熱源は荷電粒子ビームである、請求項 23 の装置。

## 【請求項 25】

ガスの流れを前記プローブチップと前記標本の間の接触領域にほぼ方向付けることがで  
 きるガス圧入システムをさらに備えている請求項 23 の装置。

40

## 【発明の詳細な説明】

## 【特許出願】

## 【0001】

シェリル・ハートフィールド (Cheryl Hartfield)

## 【優先権の主張】

## 【0002】

この出願は、2011年4月4日に提出された「冷凍標本を抽出する方法および標本ア  
 ッセンブリーの製造」と題する米国仮特許出願、出願番号 61 / 471, 425 の優先権

50

を主張し、それは参照によってそのまま本出願に組み込まれる。

【技術分野】

【0003】

この開示は、分析のために極低温にあるサンプル基板から標本を抽出する方法および装置、特に、収束イオンビーム顕微鏡顕微鏡 ( F I B ) や走査電子顕微鏡 ( S E M ) などの荷電粒子機器の内側におけるそのような抽出のための方法および装置に関する。

【背景技術】

【0004】

1990年代以来、FIB処理は半導体および物質科学で使用されているが、最近では、それらは生物群集によって使用されている。生体サンプルは一般に、顕微鏡画像化のための断面化の前に、Eponなどのポリマー材料に埋め込まれるか、冷凍される。ポリマー埋め込み標本は、伝統的な現場の持ち上げステップおよび材料を使用して容易に準備されることができ一方、持ち上げプロセスは、冷凍標本に関する要件を満たすように修正されなければならない。

10

【0005】

メタロ有機先駆体はそれらの天然の先駆体フォームで標本上に制御不能に凝縮する傾向があり、そのことは、FIBミリングのあいだに標本トップ表面の保護のための次善マスキング層をもたらすので、伝統的ガス支援イオンおよび電子堆積プロセスは、超低温において標本を他の物体たとえばプローブチップやサンプルホルダ - に結合させるための実行可能な解決策でないことが知られている。しかしながら、ガス支援堆積を使用せずに結合を達成するために温度操作が使用され得る。これらの冷凍標本の操作、画像化および分析のあいだに、電子顕微鏡内の冷凍生物標本の温度を修正または維持することは一般的である。しかしながら、クライオFIBおよびクライオハンドリング方法のあいだ、冷凍生物標本の形態構造完全性を保存するため、関心領域内の標本温度は、好ましくは、水のガラス化温度、ほぼ - 140 よりも上がるべきではない。そうでないと、氷晶が標本内に生じて、その構造を損傷させる。氷晶霜も、標本の高品質な画像化および処理のために避けられなければならない。

20

【0006】

既存のナノマニピュレーターは一般に、微細なプローブチップを携行している可動プローブを有している。米国特許第7845245号(それは、この背景部分の介在によって従来技術に認められない)は、相変化の局所的誘導に基づいて、標本に対するチップの結合を達成するため、暖かいプローブチップをガラス化生物標本に接触させることを説明している。

30

【0007】

この相変化は、結果の結合を生じさせるだけでなく、サンプルが取り付け個所のそのガラス化温度よりも暖められたときに、氷晶の形成を誘導することがある。必要なものは、標本の内側におけるガラス化および氷晶の形成または標本の外側における霜の形成の危険なく、プローブチップまたは他のエンドエフェクターに対する標本の確実な結合を作り出す方法である。

【先行技術文献】

40

【特許文献】

【0008】

【特許文献1】米国特許第7845245号

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】図1は、FIB機器の内側においてより大きい冷凍サンプルから完全または部分的に切除された標本の制御蒸気取り付けのための私の方法の代表的な実施形態を示しており、プローブチップは最初に標本に接触して置かれている。

【図2】図2は、制御蒸気取り付けのための私の方法の別の実施形態を示しており、プローブチップと標本の間ですきまが最初に存在している。

50

【図3】図3は、請求される方法によって、冷凍サンプルから持ち上げられ、TEMグリッドに結合されるように配置されたプローブチップに取り付けられた代表的標本を示している。

【発明を実施するための形態】

【0010】

この出願は、真空中の標本の化学蒸気堆積処置、エッチング、持ち上げを支援するために一つ以上の放射ビームを使用する任意の種類 of 機器について用語「FIB」または「荷電粒子機器」を一般的に使用する。したがって、ここに使用されるこれらの用語は、イオンビーム、電子ビーム、他の荷電粒子ビーム、または光エネルギーたとえばレーザー光のビーム、またはこれらのビームの任意の組み合わせを使用する機器を含んでいる。ここに使用される用語「極低温」は、サンプルの冷凍や、これに限定されないが水蒸気を含んでいる化学蒸気の凝縮をもたらす、一般に0 Kを下回る低温を指す。特に断りがない限り、「プローブチップ」や「先端」という用語は、持ち上げおよび操作のために標本に結合されるように意図されたマニピュレーター装置の任意の部分の指す。好適なナノマニピュレーター・システムは、テキサス州ダラスのオムニプローブ (Omniprobe) 社によって製造されたAutoProbeモデル300である。オムニプローブ装置では、プローブチップは、通常、細いタンゲステン針である。

10

【0011】

図1は、電子ビームカラム(100)とイオンビームカラム(110)を有しているFIB機器とガス圧入システム(120)の概略図である。バルクサンプル(130)は、コールドステージ(140)の上に配置されて示されている。図1はさらに、たとえばイオンビーム(110)でミリングすることによって、バルクサンプル(130)から切除された標本(150)を示している。標本(150)は、凝縮層を形成するガス圧入システム(120)からの水蒸気(180)の堆積によってナノマニピュレーター(170)のプローブチップ(160)に取り付けられるプロセス中にあるものが示されている。

20

【0012】

水蒸気は、その低価格と、広い入手しやすさと、ガラス化生物標本の構造を保存する要件と互換性のある温度において約10<sup>-6</sup> mbarの高真空状況下で非晶質層として凝縮する能力のため、好ましい凝縮液である。気相から固相への変換が、サンプルに悪影響を与えない温度で起こり、容認可能なトポグラフィと安定性をもつ凝縮液をもたらす限り、水以外の他の凝縮液種が使用されてもよい。圧力と温度の組み合わせは、他の凝縮液種について決定され得る。好適な凝縮液を形成し得る他の種の例は、アルゴンやキセノンなどの不活性ガス、アルコールおよびメタンを含んでいる。これらは、単独で使用されても、希望の温度範囲内で非晶質層を形成する凝縮液種を可能にする好適な比で水と混合されてもよい。たとえば、(体積による)50%メタノール/水溶液は、約-40 Kで凍結し、100%メタノールは、約-100 Kで凍結する。水蒸気を使用する用途については、約-93 K以下、より好ましくは-140 K未満の温度を使用することが好ましく、より暖かい温度で生じ得る昇華を低減する。

30

【0013】

水蒸気(180)は、たとえば、液体の水、加熱エプソム塩または硫酸塩、または蒸発し得る他の高い蒸気圧固体から標本(150)に供給されることができ。チャンパーへのインジェクター(120)は、ここでは、単純なリークバルブ、マスフローコントローラまたは他の好適なインジェクターであってよい。インジェクターが、方向性蒸気注入を作り出すチューブノズルを有しているならば、高度に制御可能なバルブまたは他のコントローラーが、チャンパーへの蒸気(180)注入の拡散を可能にするためのデフューザーまたは他のデバイスと一緒に好まれる。蒸気流の正確な制御に好適なガス圧入システム(120)は、Omniprobe社によって製造されたOmniGISである。

40

【0014】

標本(150)とそれから切られたトレンチ(190)の相対的なサイズは、明りょうのために、図では非常に誇張されている。TEM検査のために準備されるべき代表的標本

50

は、たとえば、横が約10~20 $\mu\text{m}$ 、深さが5~10 $\mu\text{m}$ である。

【0015】

先端と標本の両方を同じ冷温度に実質的に維持することによって、プローブチップ(160)が標本(150)に接触またはほとんど接触する露出結合領域(210)に蒸気(180)を方向づけることによって結合が達成され得る。最適化された注入距離とフラックスでは、蒸気(180)は、凝縮して整合薄層に凍結し、蒸気の継続的な供給で成長し、したがって、標本(150)の関心領域に、でこぼこしたか、ざらざらしたか、厚い不鮮明層を堆積することなく、標本(150)をマニピュレーターチップ(160)に接合する。

【0016】

最初に、標本(150)は、ガラス化温度未満に冷却され、FIBの内側に装着される。一般に、この装着は、従来の低温ステージ(140)を含むであろう。

【0017】

(非生物標本はガラス化温度を必要としないので)標本温度は、選択された固体凝縮液種と標本のタイプに基づいて調整されてよい。たとえば、水蒸気では、標本温度は、水蒸気が凝縮して固体氷凝縮層を形成する温度より低く保持される。多くの応用に対して、均一で滑らかで非晶質で整合した固体氷凝縮層の形成を可能にするために、標本温度を約90以下に維持することが、より好ましくは標本温度を約140以下に維持することが好ましい。この種の層は、カーテン人工品を誘導することなく、サンプルの次のFIBミリングを可能にする。固体氷凝縮層の形態構造が容認可能であるとき、-140より上の温度が使用されてよく、損傷または人工品がサンプルに導入されない。

【0018】

プローブチップ(160)は、標本(150)の温度に実質的に等しいが、非ガラス化温度より低い温度に冷却される。(非ガラス化温度より低く冷却することは、いくつかの非生物標本にとって必要ではないことに注意されたい。)プローブチップ(160)は、たとえば、窒素などの、冷却された非反応性ガスの流れをそれに方向づけることによって、または、液体窒素または同様物によって冷たく保たれた冷却ブロックへの高い熱伝導度経路を形成する冷却ワイヤーを使用することによって、能動的に冷却されることができ。あるいは、プローブチップ(160)は、プローブチップ(160)をクライオステージ(140)に接触させて、チップ(160)の温度を標本(150)の温度にするに十分な時間のあいだ保持することによって、受動的に冷却されることができ。

【0019】

プローブチップ(160)の最適温度は、プローブチップ(160)をサンプル基板(130)に、または標本(150)上のある犠牲領域に接触させることに続けて、いろいろな冷置き時間を試すことによって実験的に見つけられることができる。両者が実質的に同じ温度であれば、結合はおこらず、いったん確立されれば、置き時間は、同じ材料のいろいろな標本(150)の間で適度に一貫しているに違いない。

【0020】

より暖かいチップ(160)が生物標本(150)を昇華させるので、クライオステージ(140)または別のクライオ物体に触れることは、標本(150)に触れることより好まれる。それから、標本(150)とチップ(160)が熱平衡に達すると、標本(150)がチップ(160)に凍りつく。ここにおいて請求される方法は、より暖かいプローブチップ(160)で標本(150)への接触で起こり得る相変化と氷晶のありそうな形成を回避する。標本(150)の内側の氷晶は細胞標本を途絶させ、標本(150)の外側の霜は、標本(150)の内部に破損を与えないが、撮像に障害を与える。どちらのケースも回避されるべきである。標本(150)の外側の霜は、FIBチャンバーの内側の従来のコールドフィンガー(図示せず)によって制御されてよい。

【0021】

それから我々は、温度調整されたプローブチップ(160)を標本(150)の表面接近に移動させる。それは、標本の上にならずかに浮いていてもよく、または、標本(150)

10

20

30

40

50

)に直に、または標本(150)上にあらかじめ置かれたオプションの保護層(200)に接触してもよい。保護層(200)は、保護層材料(200)によっては、昇華してもよく、昇華しなくてもよい。生体サンプルのためのそのような保護層(200)の典型的な材料は、上述したように、氷を形成する水蒸気(180)または他の凝縮物質である。

#### 【0022】

図1は、プローブチップが標本(150)に接触しているケースを示している。それから、図に示されるように、チップ(160)が接近するあいだ、または標本(150)との接触がなされたのちに、蒸気(180)が、結合領域(210)を含む、標本(150)の上に流される。望むならば、インジェクター(120)針は、点源シャドウイングまたは非整合コーティングを避けるため、標本(150)から約5mm以上に配置されてよい。

10

#### 【0023】

これらの結合プロセスのあいだ、プローブチップ(160)と標本(150)を同じ温度に維持し、霜形成を避けるのを支援するため、窒素などの非凝縮冷却ガスも結合領域(210)に流されてよい。好ましくは、水蒸気(180)によって影響される標本(150)の領域は、プローブチップ(160)のすぐそばの領域に限られるべきであり、その結果、一般には氷は標本(150)を覆って形づくらないが、水蒸気(180)をあてるために使用される方法または装置によっては、図1に示されるように、標本(150)の広い面積が氷層で被覆される。好ましくは、水蒸気(180)は、パルス的に、または制御されたフローレートで配給され、その結果、幾層かの結合氷領域(210)が、毎秒約25nmを超えない速度で作られる。

20

#### 【0024】

標本(150)が接合され持ち上がる状態にあり、プローブチップ(160)が持ち上げられ得ることが確認されるとき、結合プロセスは完了する。

#### 【0025】

図2に示された別の実施形態では、プローブチップ(160)は標本(150)の近くに移動されるが、上に論じられたように、水蒸気(180)による標本(150)へのチップ(160)の結合を可能にするのに十分に小さい第一のすきま(220)だけ標本から離されたままにある。いずれの実施形態においても、プローブチップ(160)と標本(150)の間の第一のすきま(220)を、標本(150)とそれが切除された任意の基板またはバルクサンプル(130)の間の第二のすきま(230)よりも小さく維持することが望ましく、その結果、結合氷膜(210)は、標本(150)と基板(130)の間の第二のすきま(230)に同時に作り出されない。この考慮は、ガス圧入装置にとって適切でないことがあり、水蒸気またはガスインパクトの領域が正確に制御され得るが、そのような正確な制御は、今日入手可能なすべてのガス圧入装置で可能でない。

30

#### 【0026】

別の実施形態では、ある標本は、水のガラス化温度より上の冷温度で操作される。インジウム窒化物などの水を包含していない材料はそのような操作に対する候補である。たとえばインジウム窒化物は極低温での操作を必要とし、なぜなら、イオンビームからのガリウムイオンがそれと反応し、準備が極低温でおこなわれない限り、その構造体が保存されないからである。Gaイオンが注入されるので、ミリング後に標本が暖められれば、反応がまた起こる。そのため、ミリングと持ち上げの両方が低温でなされるべきである。しかしながら、興味のある構造体を維持し、かつ容認可能なトポグラフィと安定性をもつ凝縮液をもたらすのに温度が十分に低い限り、水のガラス化点より低い温度は必要ではない。いくつかの材料については、0をわずかに下回る温度が保護であってよい。いくつかの材料は、FIBプロセスのあいだ、それらの構造を保存するどんな冷却も必ずしも必要としない。この場合、極低温は、上に説明されたように、結合プロセスを可能にするためだけに必要とされる。

40

#### 【0027】

ここで開示され請求されるプロセスは、プローブチップ(160)と、冷凍標本(15

50

0)と、氷の少なくとも一つの結合領域(210)と、支持構造体(240)を備えている標本アッセンブリー(250)を構成するために使用されてよい。その技術は、図3に示されるような、プローブチップ(160)以外の物体、たとえば透過電子顕微鏡(TEM)グリッドまたはホルダー(240)に対する冷凍標本(150)の任意のタイプの結合のために使用され得る。水蒸気堆積によって残された氷被覆は比較的薄いので、氷堆積の領域(260)によってTEMグリッド(240)に結合されている標本(150)を、図3に示されたTEMグリッド(240)などの別の物体に結合されたままにしておいて、FIBまたは電子ビーム切断によってプローブチップ(160)から任意の標本(150)を分離することは簡単である。

【0028】

10

図3に示されるように、切除された標本(150)は、極低温冷却構造体(240)、このケースではTEMグリッドと接触またはほとんど接触して配置されており、一般に氷結合領域(210)の生成のために前に説明されたような、氷堆積の一つ以上の領域(210)を作り出す結合のために選択された領域に流される。

【0029】

この出願の説明は、どんな特定の要素、ステップまたは機能も請求の範囲に包含されなければならない必須要素であることを示唆していると解釈されるべきではまったくなく、請求される主題の範囲は、添付の請求の範囲によってのみ定められる。さらに、厳密な用語「ための手段」は、動名詞を後に続けて使用されない限り、これらの請求の範囲は、35 U.S.C. の段落6を招来するようにまったく意図されていない。提出された請求項は、可能な限り包括的であり、主題は意図的に断念され、献呈され、放棄されない。

20

以下に、本願出願の当初の特許請求の範囲に記載された発明を付記する。

[1] 冷凍標本をプローブチップに取り付ける方法であり、前記プローブチップを前記冷凍標本の温度以下の温度に冷却することを有し、ここで前記冷凍標本の温度は0 以下であり、

前記プローブチップを前記冷凍標本と接触させることと、前記プローブチップと前記冷凍標本との間の接触領域に蒸気を流すことによって前記プローブチップを前記冷凍標本に結合させることを有している、方法。

[2] 前記方法は真空中でおこなわれ、前記蒸気は水蒸気である、[1]の方法。

[3] 冷凍標本をプローブチップに取り付けるための方法であり、前記プローブチップを前記冷凍標本の温度以下の温度に冷却することを有し、ここで前記冷凍標本の温度は0 以下であり、

30

前記プローブチップを前記冷凍標本に近づけ、前記プローブチップと前記標本の間に第一のすきまをそのままにすることと、

前記プローブチップと前記冷凍標本との間の前記第一のすきまに蒸気を流すことによって前記プローブチップを前記冷凍標本に結合させることを有している、方法。

[4] 前記方法は真空中でおこなわれ、前記蒸気は水蒸気である、[3]の方法。

[5] 冷凍標本をプローブチップに取り付ける方法であり、前記プローブチップを前記冷凍標本の温度以下の温度に冷却することを有し、ここで前記冷凍標本の温度は水のガラス化温度以下であり、

40

前記プローブチップを前記冷凍標本と接触させることと、前記プローブチップと前記冷凍標本との間の接触領域に水蒸気を流すことによって前記プローブチップを前記冷凍標本に結合させることを有している、方法。

[6] 前記方法は真空中でおこなわれる、[5]の方法。

[7] 冷凍標本をプローブチップに取り付ける方法であり、前記プローブチップを前記冷凍標本の温度以下の温度に冷却することを有し、ここで前記冷凍標本の温度は水のガラス化温度以下であり、

前記プローブチップを前記冷凍標本に近づけ、前記プローブチップと前記標本の間の第一のすきまをそのままにすることと、

前記プローブチップと前記冷凍標本との間の前記第一のすきまに水蒸気を流すことによ

50

て前記プローブチップを前記冷凍標本に結合させることを有している、方法。

[ 8 ] 前記方法は真空中でおこなわれる、[ 7 ]の方法。

[ 9 ] そこから前記標本が抽出される前記冷凍標本とバルクサンプルの間の第二のすきまがあり、

前記第一のすきまに水蒸気を流すあいだ、前記第一のすきまを前記第二のすきまよりも小さく維持することを有している、[ 7 ]の方法。

[ 10 ] 冷凍標本アッセンブリーを作るための方法であり、

物体を冷凍標本の温度以下の温度に冷却することを有し、ここで前記冷凍標本の温度は水のガラス化温度以下であり、

前記物体を前記冷凍標本と接触させることと、

前記物体と前記冷凍標本の間の接触領域に水蒸気を流すことによって前記物体を前記冷凍標本に結合されることと、

前記物体とそれに結合された前記冷凍標本を支持構造体に移動させることと、

前記支持構造体と前記冷凍標本の間の一つ以上の接触領域に水蒸気を流すことによって前記冷凍標本を前記支持構造体に結合させることと、

前記物体を前記冷凍標本から解放することを有している、方法。

[ 11 ] 前記方法は真空中でおこなわれる、[ 10 ]の方法。

[ 12 ] 前記物体はナノマニピュレータープローブチップである、[ 10 ]の方法。

[ 13 ] 前記物体はTEMグリッドである、[ 10 ]の方法。

[ 14 ] 前記冷凍標本からの前記物体の解放は、前記物体を加熱することによって実施される、[ 10 ]の方法。

[ 15 ] 前記冷凍標本からの前記物体の解放は、荷電粒子ビームの供給によって実施される、[ 10 ]の方法。

[ 16 ] 冷凍標本アッセンブリーを作る方法であり、

物体を冷凍標本の温度以下の温度に冷却することを有し、ここで前記冷凍標本の温度は0以下であり、

前記物体を前記冷凍標本と接触させることと、

前記物体と前記冷凍標本の間の接触領域に水蒸気を流すことによって前記物体を前記冷凍標本に結合させることと、

前記物体とそれに結合された前記冷凍標本を支持構造体に移動させることと、

前記支持構造体と前記冷凍標本の間の一つ以上の接触領域に水蒸気を流すことによって前記冷凍標本を前記支持構造体に結合させることと、

前記物体を前記冷凍標本から解放することを有している、方法。

[ 17 ] 前記方法は真空中でおこなわれる、[ 16 ]の方法。

[ 18 ] 前記物体はナノマニピュレータープローブチップである、[ 16 ]の方法。

[ 19 ] 前記物体はTEMグリッドである、[ 16 ]の方法。

[ 20 ] 前記冷凍標本からの前記物体の解放は、前記物体を加熱することによって実施される、[ 16 ]の方法。

[ 21 ] 前記冷凍標本からの前記物体の解放は、荷電粒子ビームの供給によって実施される、[ 16 ]の方法。

[ 22 ] 冷凍標本アッセンブリーであり、[ 10 ]の方法によって構成された冷凍標本アッセンブリー。

[ 23 ] 冷凍標本アッセンブリーであり、[ 11 ]の方法によって構成された冷凍標本アッセンブリー。

[ 24 ] 冷凍標本アッセンブリーであり、[ 12 ]の方法によって構成された冷凍標本アッセンブリー。

[ 25 ] 冷凍標本アッセンブリーであり、[ 13 ]の方法によって構成された冷凍標本アッセンブリー。

[ 26 ] 冷凍標本アッセンブリーであり、[ 14 ]の方法によって構成された冷凍標本アッセンブリー。

10

20

30

40

50

[ 2 7 ] 冷凍標本アッセンブリーであり、[ 1 5 ]の方法によって構成された冷凍標本アッセンブリー。

[ 2 8 ] 冷凍標本アッセンブリーであり、[ 1 6 ]の方法によって構成された冷凍標本アッセンブリー。

[ 2 9 ] 冷凍標本アッセンブリーであり、[ 1 7 ]の方法によって構成された冷凍標本アッセンブリー。

[ 3 0 ] 冷凍標本アッセンブリーであり、[ 1 8 ]の方法によって構成された冷凍標本アッセンブリー。

[ 3 1 ] 冷凍標本アッセンブリーであり、[ 1 9 ]の方法によって構成された冷凍標本アッセンブリー。

[ 3 2 ] 冷凍標本アッセンブリーであり、[ 2 0 ]の方法によって構成された冷凍標本アッセンブリー。

[ 3 3 ] 冷凍標本アッセンブリーであり、[ 2 1 ]の方法によって構成された冷凍標本アッセンブリー。

[ 3 4 ] 冷凍サンプルから標本アッセンブリーを形成するための装置であり、サンプルを保持するためのステージを備え、前記ステージは前記サンプルの関心領域を位置決めするように装備され、少なくとも前記サンプルと接触するステージの部品は極低温に冷却されることができ、

マニピュレーターを備え、前記マニピュレーターはプローブチップを有し、前記プローブチップは極低温に保持されるように装備されており、

前記サンプルの関心領域に実質的に配給されることができると水蒸気源を備え、前記プローブチップが、前記関心領域を備えている標本と接触するとき、また、水蒸気が、前記プローブチップと前記標本の少なくとも一部に流されるとき、前記プローブチップは極低温に保持されることができ、装置。

[ 3 5 ] 前記プローブチップの温度を極低温より上に十分に上げて、前記プローブチップを前記関心領域から選択的に解放する熱源をさらに備えている、[ 3 4 ]の装置

[ 3 6 ] 前記熱源は荷電粒子ビームである、[ 3 4 ]の装置。

[ 3 7 ] ガスの流れを前記プローブチップと前記標本の間の前記接触領域にほぼ方向付けることができるガス圧入システムをさらに備えている [ 3 5 ]の装置。

10

20

【 図 1 】

図 1

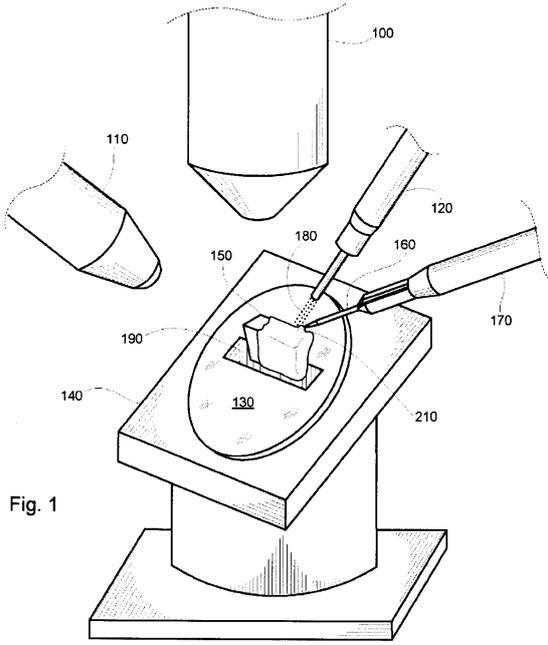


Fig. 1

【 図 2 】

図 2

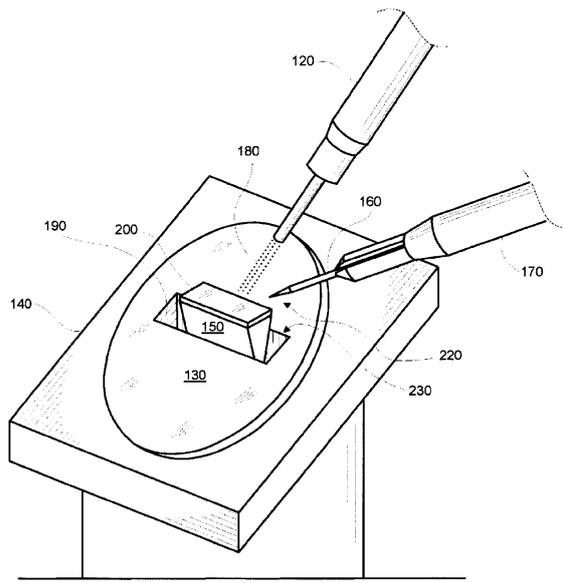


Fig. 2

【 図 3 】

図 3

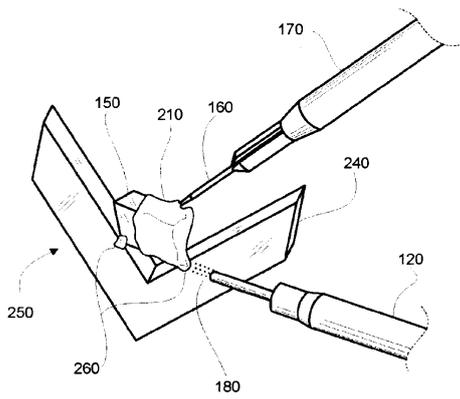


Fig. 3

---

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
G 0 1 N 23/04

(72)発明者 ハートフィールド、シェリル  
アメリカ合衆国、テキサス州 7 5 2 3 8、ダラス、ミラー・ロード 1 0 4 1 0

審査官 土岐 和雅

(56)参考文献 特開2004-227842(JP,A)  
特開2009-168560(JP,A)  
特開2006-155983(JP,A)  
特開2007-294328(JP,A)  
特開2009-014719(JP,A)  
特開2010-055988(JP,A)  
特開2002-195922(JP,A)  
特開2001-305028(JP,A)  
特開2003-123682(JP,A)  
特開2002-341099(JP,A)  
米国特許出願公開第2009/0179005(US,A1)  
特開平06-020639(JP,A)  
特開2010-038921(JP,A)  
特開2010-281629(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
G 0 1 N 1 / 0 0 ~ 1 / 4 4、2 3 / 0 0 ~ 2 3 / 2 2、H 0 1 J 3 7 / 0 0 ~ 3 7 / 2 9  
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )