20241209 (ver. 1.4)

岡山大学クライオ電子顕微鏡マニュアル

Titan Krios G4 and Falcon 4i

このマニュアルは、KEK クライオ電子顕微鏡・外部ユーザー向け初期トレー ニングテキスト (ver.3) https://www2.kek.jp/imss/sbrc/230203_KEKTitan_TrainingText_v3.pdf をもとに、毎日の調整と routine のデータ測定に関する箇所のみ抜粋したうえ

で、画面のキャプチャを追加し、内容にも若干の改変を加えて作成したもので す。

> 岡山大学異分野基礎科学研究所国際構造生物学研究センター 沼本修孝

I. <u>試料交換から Atlas</u> 取得まで

*TEM User Interface は version 3.16.1、EPU は version 3.4.0.5704REL



1. Inventory

TEM User Interface (=TUI) を使います

• TUI > Autoloader tab > Temperature Control

| Setup Autoloader Stage EFTEM (All Nitrogen Temperature — Dewar levels Autoloader 19.3 K 1638*0 Autoloader 97.3 K 175.9*0 Cassette gipper 97.3 K 175.9*0 Cassette gipper 97.3 K 175.7*0 Autoloader Dewar 78.0 K 195.2*0 Fill Now | Workset | Temperature Control | • | State Filling |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Liolumn Dewar 78.9 K -194.2 °C | Setup Autoloader Stage EFTEM (• • | Status Status All Nitrogen Temperature Autoloader Temperature Column 79 % Column 79 % Temperatures Docker 109.3 K Holder 89.5 K Cassette gripper 97.3 K Castridge gripper 97.5 K Autoloaden Devar 78.9 K Column Devar 78.9 K | 6 h 02 min 11 h 04 min -163.8 °C -183.7 °C -175.9 °C -175.7 °C -195.2 °C -194.2 °C | Suppress AutoFill for: |

□ NanoCab の Dock が終了したら (NanoCab の取り出しを忘れずに!)、温度表示が 全て緑になるまで待ち、さらに、全てが-160℃以下になるまで待つ(数分)

| TUI > Auto | ploader tab > Autoloader > Option | Autoloader (User) | Options Vacuum Turbo Auto Off (default) |
|------------|------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| | Workset | - Cartridge | O Turbo Always On |
| | Setup Autoloader Stage EFTEM (• • | 12 11 10 9 8 7 | Control Initialize Loader-cycle Vacuum On Inventory Cassette Undock |
| | ntory ボタンを押す | 6 5 4 3 3 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 5 | Leave carriage on Lompustage |
| (Dock | 後、active になるまでしばらくかかる) | 1 Svage Load Unload - Status | |

Optionウインドウが開いていない 場合はここをクリック

□ 入れたグリッドが全て正しく認識されたら OK

| Autoloader (User) Cassette Dock Undock - Cartridge 12 11 10 9 8 7 6 5 4 5 4 10 11 10 9 8 7 6 5 4 1 Edit Slot State Stage Load Unload - Status Mapping cassette slot Moving catridge arm to the cassette | Options - Vacuum Turbo Auto Off (default) Control Initialize Loader-cycle Vacuum On Stop Inv. - Cassette Undock - Cassette Undock Leave cartridge on CompuStage |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 濃いグレー:グリッドがないと 青:グリッドありと判定 薄いグレー:まだ認識作業がな | ≤判定 なされていない |

(正しく認識されなければ、もう一度 Inventory それでも齟齬があれば一度 Cassette を取り出して確認する。グリッドが落ちていないか? それでもおかしければ FEI に問い合わせ)

- 入れたグリッドの数 +2 までチェックが終わったら Stop Inventory ボタン を押して停止
- グリッドの名前は、Inventory が終わって(もしステージにグリッドが残っていたら Unload して)から入力する

*空の slot に名前があるとよくない *この名前が結果のフォルダ名等に反映されることはない。メモを残しておく。

- 2. およそのアライメント(毎日でなくてもよい?)
 - □ EPU 再起動

(右上の×を押して落とす。30秒くらい待つ。ピン留めアイコンから起動)

A 🗆 😹 🗽 🦂 🙀 🖬 📲 👺 💁 🚺 💷 🔍 🧠 📰 🚍 🤴 其

- I TUI > EFTEM tab > Filter を見る
- EFTEM ボタンが黄色くなっていることを確認
 (黄色くなっていなかったら EFTEM ボタンを押して黄色にする)

| Workset | Filter D |
|----------------------------------|---------------------------------------|
| Setup Autoloader Stage EFTEM (+ | EFTEM Aperture: Imaging X Filtered |
| | Slit width [eV]: |
| | Energy shift [eV]: 🔶 0 🖉 |
| | 0 eV Total: 0 eV |
| | 0 eV 20 eV 250 eV |

- \Box TUI > Setup > E-CFEG
- Operate ボタンが黄色くなっていることを確認
 (黄色くなっていなかったら Operate ボタンを押して黄色にする)



- \Box TUI > Setup tab > Vacuum
- Col. Valves Closed ボタンを押して Column valve を開ける

| Vacuum (Sup | ervisor) 🗾 |
|----------------|----------------|
| Status: All Va | acuum (Closed) |
| Gun | 1 Log |
| Liner | 7 Log |
| Octagon | 1 Log |
| Autoloader | 19 Log |
| Projection | 18 Log |
| Buffer tank | 50 Log |
| Col. Valves | Empty |
| Closed | Buffer |

Column valve の開/閉の状態は、TUI の画面上や、右側モニターの「TEM BlankerShutter Monitor」で確認出来る



□ EPU > Preparation tab の Import を押して、以下の.sxml file を open

D:/EPU/temp_xxxk_YYMMDD.sxml

(xxx=倍率。自分の使用したい倍率で日付の最新のものを選択)

| EPU EPU | | | | | |
|---------------------------------------|-------|--------------------|---|--------------------|-----------|
| 👻 🕋 Preparation | Atlas | Auto Functions EPU | | | |
| Presets Atlas C Import C Export | ~ | Camera Falcon 4i | * | Exp. Time (s) 1.00 | ⊻ — + • |
| Preset Selection | | Camera Settings | | Exposure Settings | |
| ✓ Tasks | | | | | |
| Acquisition and Optics Setting | js | | | | |
| Atlas Optics Alignment | | | | | |
| Calibrate Image Shifts | | | | | |
| Activate Phase Plate | | | | | |

🖭 Import Settings

🔶 🕂 📙 > This PC > Data (D:) > EPU

| Organize 🔻 New folder | | | | | |
|-----------------------|-----|--------------------------|--------------------|-------------|-------|
| E Desktop | * * | Name | Date modified | Туре | Size |
| 🕹 Downloads | * | test | 12/25/2023 2:40 PM | File folder | |
| 🛗 Documents | * | EPU_240111_130K.sxml | 1/11/2024 3:05 PM | SXML File | 52 KB |
| E Pictures | | EPU_240111_215K.sxml | 1/11/2024 10:29 AM | SXML File | 52 KB |
| data_9 | | EPU_240111_270K.sxml | 1/11/2024 2:48 PM | SXML File | 52 KB |
| EPU | | EPU_240111_270K-Au.sxml | 1/12/2024 8:52 AM | SXML File | 52 KB |
| screen 0 | | EPU_setting_temp.sxml | 12/25/2023 2:39 PM | SXML File | 52 KB |
| scients | | temp.sxml | 1/16/2024 3:45 PM | SXML File | 52 KB |
| work | | temp_165k_240117.sxml | 1/18/2024 11:13 AM | SXML File | 52 KB |
| This PC | | temp_165k_240202.sxml | 2/2/2024 1:10 PM | SXML File | 52 KB |
| Desktop | | dtemp_215k_240117.sxml | 1/17/2024 8:44 AM | SXML File | 52 KB |
| | | temp_270k_240117.sxml | 1/18/2024 3:26 PM | SXML File | 52 KB |
| Downloads | | temp_270k_AU_240117.sxml | 1/18/2024 3:30 PM | SXML File | 52 KB |
| J Music | | | | | |
| E Pictures | | | | | |

□ TUI > Alignment tab > Alignments > Option > File tab bb 300kV (11/27/2024

Available にあるもの全てを Selected に移動して、Apply を押す

| Workset | Alignments Deflector File |
|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Camera Phase plate Alignment Mag(• • | Gun Current file: @300kV Align EFTEM File Date & time @ @Align PhasePlate File Date & time @ @300kV 12/21/2023 18:06 factory04280H 12/18/2023 18:06 factory04280H 8/1/2023 16:02 factory04280H 8/7/2023 16:02 |
| | User slignment 12/22/2023 10.31 × Save Delete Selected Available Beam HM-TEtr A Beam MM-TEtr A Beam ManoPro |
| | Courting Courting HM EFTEM EFTEM HM EFT |

□ TUI > Setup tab > FEG registers $b\dot{b}$ Nanoprobe EFTEM 300kV (11/29/2024 c

更新された最新のもの)を選び Set

に作成された最新のもの)を選び、

(ビームロストの時も有効。ただしこれを行ったら、調整をいちからやり直し)

| Workset | | | FEG Registers | | | | | | |
|------------------|-------------|-------|---------------|----------------------------|------------|---------|--|--|--|
| Setup Autoloader | Stage EFTEM | (• • | | Set Update Delete | | | | | |
| | | | | LЫ | | Date | | | |
| | | | | Nanoprobe 1 | FEM 300kV | 12/18/2 | | | |
| | | | | Nanoprobe EFTEM 300kV 12/1 | | | | | |
| | | | | Microprobe 1 | 12/18/2 | | | | |
| | | | | PP | | 12/19/2 | | | |
| | | | | < | | > | | | |
| | | | | Nanoprobe E | FTEM 300kV | Add | | | |

3. <u>グリッドの load と preview、Atlas 取得</u>

- TUI > Autoloader tab > Autoloader
 - 見たいグリッドの数字をクリック(黒い線でハイライトされる)して
 Load ボタンを押す

| Workset | Autoloader (User) | • | Options | | |
|------------------------------------|--------------------|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------|
| Setup Autoloader Stage EFTEM (• • | Dock | Undock | Vacuum Turbo Auto Off (defa | ult) | |
| | — Cartridge — | | O Turbo Always On | | |
| | 11 | | Initialize Loader- | cycle Vacuum On | |
| | 9 | | Inventory | | |
| | 8 | | - Cassette Undock - | | |
| | 6 | | Leave cartridge on U | CompuStage | |
| | 4 | | | | |
| | F_carbon3 | | | | |
| | | | | | |
| | Edit Slot State | Stage | | | |
| | Load | Unload | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | Camera and Light controller | | | - D X |
| | | 1 | AN DECK | | |
| 石側モニターの「Camera | and Light | | | 0 | |
| controller」の再生ボタン | 'を押すと | | | a state | |
| Autoloader のライブビュー | が見れる。 | | and the second second | | |
| この画面は15分で自動停止 | する。再度 | | and the second s | | |
| | | | | | |
| 見たいとさは再生ホッノを | / Т 9 о | | | | E. |
| | | 2.1 | | | 2 |
| | | | e 3 | | |
| | | | | 0 | |
| | | | Camera GO-5101C-PGE | Controler No Controler load | ed |
| | | C | | Brightness % | |
| | | Autoloader | (liser) | Ontions | |
| | | - Cassette | | - Vacuum | |
| | | - Cartridge | | O Turbo Always On | an j |
| | | 11 | | | ycle Vacuum On |
| | | 9 | | Inventory | |
| | | 7 | | Leave cartridge on Cr | ompuStage |
| 正しくloadされた | :グリッドは | | | | |
| 黄色の表示に変わ | る | | arbon3 arbon2 | | |
| | | | | | |
| | | Edit Slot State | Unioad | | |
| | | - Status | | | |
| | | | | | |

<このページは丸ごと省略可>

- TUI > Setup tab > Vacuum
 - □ Col. Valves Closed ボタンを押して Column valve を開ける

| Vacuum (Sup Status: All Va | ervisor) 🔹 🕨 |
|-------------------------------|--------------|
| Gun | 1 Log |
| Liner | 7 Log |
| Octagon | 1 Log |
| Autoloader | 19 Log |
| Projection | 18 Log |
| Buffer tank | 50 Log |
| Col. Valves | Empty |
| Closed | Buffer |

- EPU > Preparation tab
 - □ 左上の Presets のプルダウンメニューから Atlas を選ぶ



□ EPU > Preparation tab で上部右端の Preview を押して Preview 撮影

*この段階で完全に真っ暗な場合は、カラムバルブが開いていること、E-CFEGがOperate になっていることをもう一度確認。

*氷が厚すぎる場合はほぼ真っ暗ですが、うっすら Grid square が見えるはず

• EPU > Atlas tab

| Session Set | up | New Session | Yes | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------|----------|----------------------|--------------------------|--------------------|
| UTV EPU | | | | EPU New Session | | × |
| Very Ession Sesion | Auto Functions EPU | | | Are you sure you wan | t to start with a Yes | new session? No |
| ∽ Tasks | | Edit Session | | | | 0.00 |
| lession Setup | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | in an insuch bezage form. | | | | |
| Output folder | を指定 | (保存先:Z:/use | erxxx/yy | mmdd/atlas/) | して | Apply |
| | | Edit Sessio | n | | | |
| and the second se | | | | | | |

Screening を押して、撮りたい Grid (緑点灯)の番号にチェックを入れて、
 Start ボタンを押すと Atlas 撮影開始

| PV EPU | | | | |
|---------------------|--------------------------------------------|-------------|-----------------|---|
| · Preparation Atlas | Auto Functions | EPU | | |
| surt | Start Position Close to Number of Tiles | center y Ci | ose Col. Valves | - |
| Acquisition | Atlas Satings | | Options | |
| ✓ Tasks | | | | |
| Session Setup | | | | |
| Screening | | | | |
| 12 | | | | |
| Inety | | | | |
| 11 | | | | |
| Induk | | | | |
| 10 Emury | | | | |
| • | | | | |
| Empty | | | | |
| 1.1 | | | | |
| Engly | | | | |
| 7 | | | | |
| Imphy | | | | |
| 5 | | | | |
| 1.4441 | | | | |
| s Enuty | | | | |
| 4 | | | | |
| Lingsy | | | | |
| 32 | | | | |
| F_carbon3 | | | | |
| 2 | | | | |
| F_carbon2 | | | | |
| a Lenety | | | | |
| | | | | |
| Single Atlas | | | | |
| | | | | |

□ Acquiring をクリックすると画像が表示される

(* 4 x 4 で全体像を撮影するのでしばらく待つ。グリッドの入れ替えの時間も含めて、 1 枚あたり、10 分弱? 2024/11/29 より、Atlas の倍率は 155x を推奨)



*何らかの理由で、特定のグリッドだけ Atlas を撮り直したいとき Atlas tab でそのグリッドを選択して、左上 Reset Selected のボタンを押す データが消えるので、そのグリッドにチェックを入れて Start



Ⅱ. ビームの調整(毎日)

(UltrAufoil を使うときでも、6. は carbon film のグリッドでないとできない)

1. グリッドの穴の空いたところに移動

□ EPU > Atlas tab で目的のグリッドを選択し、 Load Sample

EPU > Status で「Cartridge at slot x is now on the stage」と表示されたことを確認する



Column valve が閉じていたら Col. Valves Closed
 ボタンを押して Column valve を開ける

| Vacuum (Sup | ervisor) | Þ |
|--------------------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------------------|
| Status: All Va | acuum (Close | ed) |
| Gun Liner Octagon Autoloader Projection Buffer tank | 1 7 19 18 50 | Log Log Log Log Log Log |
| Col. Valves Closed | En Bu | npty iffer |

 ・ 蛍光板が上がった状態(=Screen Retracted)でなければ操作板の R1 を押して
 Retract



- EPU > Atlas tab で Grid に穴のあいたところで右クリック Move stage here

EPU > Preparation tab > Presets から Grid Square を選んで Preview



さちんと穴のあいたところにいることを確認する
 *位置がずれていたらスクエアの画像でもう一度右クリック Move stage here

□ R1 を押して蛍光板を下ろす

Natural



□ Flucam Viewer が EF (=EF mode の中心を緑の円で表示)、

High Resolution となっていることを確認

- 2. <u>ピボットポイントの調整(KEK マニュアル 3.)</u>
 - □ グリッドの穴にいて、蛍光板が下りていることを確認
 - EPU > Preparation tab > Presets から Autofocus (Data Acquisition)を選んで Set



□ 操作板の Eucentric Focus を押す



- □ TUI > Stage tab > Apertures を見て C2=50, Obj=none であることを確認
 - (*C1=2000, C3=1000 は今後一切触らなくて OK)

| Apertures | | Þ |
|---------------|---------------|--------|
| Condenser 1 | 2000 🗸 | Adjust |
| Condenser 2 | 50 ~ | Adjust |
| Condenser 3 | 1000 ~ | Adjust |
| Objective | [none] \sim | Adjust |
| Selected Area | [none] ~ | Adjust |

| TUI 右下 > | Direct Alignment | から | nP E | Beamtilt pp | o X | を選ぶ |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|--------|-------------|-----|-----|
| None Adjourners Adjourn | The second seco | IS TEM | * • | | | |

□ 操作板の Multifunction-Xのみで、点滅する2つの光が重なるように調整する



- □ TUI 右下 > Direct Alignment から nP Beamtilt pp Y を選ぶ
- □ 操作板の Multifunction-Xのみで、点滅する2つの光が重なるように調整する
- Done を押す



3. <u>C2 絞りの中心合わせ(KEK マニュアル 2.)</u>

- □ グリッドの穴にいて、蛍光板が下りていることを確認
- □ EPU > Preparation tab > Presets から Grid Square を選んで Set





□ 操作板の Eucentric Focus ボタンを押す(*x740 で Obj lens=7%前後)

- High tension:
 300 kV Beam Current:
 58 nA Dose rate:
 0 00 eVAs C2 Lens:
 52.478 % Cooling BM-Ceta::
 Stable X:
 -108.57 µm

 M 740 x
 Spet size:
 0.144 nA Defocus:
 0 nm (C3 Lens:
 43.385 % Cooling BM-Ceta::
 Stable X:
 -108.57 µm

 M 740 x
 Spet size:
 0 nm (C3 Lens:
 7.0473 % A:
 7.0473 % A:
 -0.01 deg Z:
 -102.2 µm

 TUIの下の方
 x740 で、Obj lens=7% 前後であることを確認。
 Defocusが0 でなければ操作板R2 (Reset Defocus)) で0にする。
 -0.01 ceg る。
- EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで Set

| THE COL | | | | | | | | | | | 46 | and a store | |
|---------------------------------|--------------------|---|---------------|---|--------------------|------------------|---------|-----------|--------|-----|-----|---------------|---|
| and the | | | | | | | | | | | τη | ermoscient | Ш |
| 💌 🚔 Preparation Atlas | Auto Functions IPU | | | | | | | | | | | | |
| Presets Data Acquisition 🛛 👻 | Camera Fakon di | ¥ | Mode Counted | | Dose (e/Å*) | - + - | Measure | | e/pu/s | 1ñ | 18 | ◎ NanoProbe ¥ | |
| C+ mbour | | | Fractions FER | | Exp. Time (s) 2.05 | v = + J | | | 6/17/5 | Get | Sel | Q, 215000+ V | 1 |
| C Expert | | | Align No | ~ | Fractions (Nr) | Frames (Nr): 630 | | | | | | - (µm) -2.00 | |
| Preset Selection | Cinnera Sectings. | | | | Exposure Settings | | | Done Rate | | | | | |
| ✓ Tasks | | | | | | | | | | | | | |
| Acquisition and Optics Settings | | | | | | | | | | | | | |
| Atlas Optics Alignment | | | | | | | | | | | | | |
| Calibrate Image Shifts | | | | | | | | | | | | | |
| Activate Phase Plate | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |

□ 操作板の Eucentric Focus ボタンを押す(*設定した倍率で Obj lens=80%前後)



(*Defocus が 0 でなければ操作板 R2 で 0 にする。)

□ TUI > Stage tab > Apertures を見て C2=50, Obj=none であることを確認 (p. 9)

1回目

□ Intensity ダイヤルを左に回して光を絞って、Flucam Viewer の画面中心の大き い方の円くらいの大きさにする







> Beam shift を選び Multifunction ダイヤルで



□ Intensity ダイヤルを右に回して、光が黒い背景の大きさになるまで広げる



□ C2 の右横の Adjust を押して、Multifunction ダイヤルで、光の円が黒い背景 に外接するように絞りを移動する

| Apertures | 00 | |
|-------------------------------|----|----------|
| Condenser 2 50 Adjust | 6 | |
| Condenser 3 1000 - Adjust | | |
| Objective [none] ~ Adjust | | |
| Selected Area [none] V Adjust | |) |
| | | |
| | | • |
| | | |
| | | |

C2の右横の Adjust をもう一度押す

2 回目

- □ 再度光を中心の大きい方の円くらいに絞って、**Multifunction** ダイヤルで光を中 央に移動
- □ Intensity ダイヤルを右に回して、光が黒い背景の大きさになるまで広げる
- □ C2 の右横の Adjust を押して、Multifunction ダイヤルで、光の円が黒い背景 に外接するように絞りを移動する
- □ C2の右横の Adjust をもう一度押す
- □ 光の輪がほぼ同心円状に広がれば OK。 それまで以上の操作を繰り返す
- 問題無ければ、Direct Alignment の Beam shift を Done する

| ; Gun Tilt | ^ |
|------------------------|---|
| - Gun Shift | |
| – nP Beam tilt pp X | |
| - nP Beam tilt pp Y | |
| Beam shift | |
| - Tomo Beam shift | |
| - Center C2 aperture | |
| - Condenser center TEM | ~ |

*Atlas のときは C2=150 を使うので、atlas で不具合を感じたときなどは C2=150 でも同様の調整を行うとよいかも。

4. Rotation Center (電流軸を対物レンズの中心に通す) (KEK マニュアル 4.)

*この項目は、後で Sherpa を使った AutoCTF で coma 補正を行う場合は省略可

- □ (*前項の続きなら、グリッドの穴の空いたところにいて、蛍光板は下りている)
- □ 蛍光板を上げる(操作板 R1)
- □ EPU > Atlas tab を見て目立つゴミのあるところに Move stage here



*あまり大きすぎないゴミを選ぶ。マウスのホイールで画像の zoom in/out を操作可 比較的きれいなスクエアのほうが以下の調整をやりやすい ゴミと hole の境界上に中心をもってくるとよい

EPU > Preparation tab > Presets から Grid Square を選び
 目立つゴミのあるところに右クリック Move stage here で移動



- EPU > Auto Functions tab で Auto-eucentric by stage tilt を確認
- □ Presets を Hole/Eucentric にして Start
- □ Status で「Auto-eucentric by stage tilt finished successfully」の表示を確認



*傾斜軸は画面に対して横向きに走っている

うまく eucentric height が決まったら、p. 23 へ



□ R1 を押して蛍光板を下ろす(ゴミが緑の円の中心になかったら joystick で中心に移動)



この倍率では蛍光板ではわかりづらいで すが、マウスのホイールでコントラスト を調整して、うっすら黒い影が見えれば よい

□ EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで Set

| BA EN | All and a second | | | | | | thermoscientifi |
|---------------------------------|---------------------|---------------|---------------------|------------------|-----------|---------|-----------------|
| ★ | Auto Functions FPU | | in marcale | 10.40 | Margan . | | |
| Presets lata Acquisition | Camera Pakon di 🗸 🗸 | Fractions FER | V Exp. Time(s) 2.05 | × - +) | measure - | where E | Q 215000 V |
| C Export | | Align No | Fractions (Nr) | Frames (Nr): 630 | | | 344 (µm) -2.00 |
| Presit Selection | Conversionings | | Exposure Settings | | Dony Kate | | and the second |
| ✓ Tasks | | | | | | | |
| Acquisition and Optics Settings | | | | | | | |
| Atlas Optics Alignment | | | | | | | |
| Calibrate Image Shifts | | | | | | | |
| Activate Phase Plate | | | | | | | |
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |

- TUI > Stage tab > Apertures で C2=150(視野を広げる), Obj=none に
 *EPU と蛍光板で画像の向きが違うので、そのつもりで見ること(90°回転している?)
- □ Magnification ダイヤルを右に数クリック回して倍率を x350k まで上げる





□ Multifunction ダイヤルで、ゴミが上下左右に動かなくなるように微調整する



*この後、AutoCTF でコマ収差を除くので、ある程度あっていれば良いそうです

Done を押す



- 5. Energy filter 関連(KEK マニュアル 7.)
 - □ R1 を押して蛍光板を上げる
 - ITUI > Autoloader tab > Apertures を見て C2=50, Obj=none にする

| Workset | Apertures |
|------------------------------------|-------------------------------|
| Setup Autoloader Stage EFTEM (• • | Condenser 1 2000 🗸 Adjust |
| | Condenser 2 50 🗸 Adjust |
| | Condenser 3 1000 ~ Adjust |
| | Objective [none] ~ Adjust |
| | Selected Area [none] ~ Adjust |

EPU > Atlas tab で Grid に穴のあいたところに右クリック Move stage here

| in th | thermoscientific | ÷ 91 + |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Instance that between out Instantion (Sections) of the bit bits | | |
| kan kakard Ne. sal | | |
| | | - |
| | | Viting Direct Distance |
| | | |
| and the second se | | |
| 4 | | |
| A | | v Sila |
| £ | | tel Carlotter Activity 10 |
| | | And the Utings' Revel (page 2475) |
| | | Insprementing Dev Province Adde angeledent |
| | | Alian acquestants functed Starting competitioner of start 6 |
| #E | | Microsoft And An Annual Constant Constant English Comparison of Ann 1 |
| | | w allegan. |
| 4 | | 1 mm |
| | | |
| Annual Concession | | |
| Total Control of Contr | | No. Transf Differences |
| | | applied Chicken |
| and the second se | | Egener Des UNI |
| high file. | | Hadden Differen |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| (0) am | | |
| | | 2010000 |
| Terrandom I.F. | | ð |

EPU > Preparation tab > Presets か Grid Square を選び Preview



□ EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで Set



- □ R1 を押して蛍光板を下げる
- ビームが中央になければ Direct Alignment > Beam Shift で中央にして Done



- □ ビームが緑の円の全体に当たっていることを確認
- □ R1 を押して蛍光板を上げる



□ 通常、既に Sherpa が立上がっているはずなので、window を表に出す

| م 🖿 | | Je | | т | -8- | -Ê | - | Ve | ġ. | 8 | A. | EPU | | 1. | |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|-----------------|---|-----|----|-----|----|----|---|----|-----|--|----|--|
| | in a second seco | | | | | | | | | | | | | | |
| 200 | A providence of the second | nt futur puus huir at beste des | o vest Dool | | | | 228 | | | | | | | | |

(立上がってない場合は Microscope Software Launcher の Tools から Sherpa を起動)

- □ Sherpa Window の左側にある Energy Filter のボタンを押す
- □ Sherpa Window の左下にある Settings の四角を見る
- □ EF-Falcon, Bin=1, Exp time=0.5sec, Electron counting にチェックを入れる
- □ Sherpa Window の左上にある Controls の四角を見る
- □ Zero loss: スリットの中央にビームを通すため Center ボタンを押す
- □ 画面右下で completed と表示されるのを確認(以下同じ)

| 🛃 Shenpa 3.0.1 | | - 🗆 X |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Vew Heb | | |
| Undo Redo Ston Defail | | |
| Autoruptions | | |
| Apploton Critma | hat | |
| Martin Sector Mart | Detected 1981 T. Carrier date Loss while I The max and the State Date 1981 T The State Date 198 | |
| | | 59 |
| | | Compared 1111 |

Isochromaticity: カメラにあたるエネルギーを均一にするため、Tune を押すしばらくすると赤緑青の画像が出てくる。この画面の色が一様に緑になるまで数分待つ

| Signeys J.C.1 Verw Heb Gene Redo Street | | - 0 × |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Suite Functions | | |
| Annon Annon Anno Anno Anno Anno Anno Anno Anno Anno Anno Anno Anno Anno Anno Anno Anno Anno Anno | The second secon | |
| Second Se | 100 100 44 100 100 44 100 100 44 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 100 | |
| pomo Goulantor relevant di la remora pondito (1.58+12, 2.56+23 seu egena eres Tato cat | one of the set of the deep. | 08 |

Geometric and Chromatic Distortions: Tune Magnification のボタンを押す

| 5 Steps 1.0.1 | - <u> </u> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| | |
| 1970 Anto, 2007 Gran | |
| Auto Kunchona | |
| Add T Add T Mark Control Add Charles Bellows Descriptions Test Standard Descriptions Test Standard Test Standard Descriptions Test Standard Test Standard T | |
| Target See: Notice states Torget See: Notice states Torget See: Notice states Torget See: Notice states Notenersenance Torget See: Notice States | |
| Consideral waters of Samman waters (1.50x 62, -2.85x 62) was sensed into 100 optimized to (and by ether date) | |
| | |
| | Completed |

Geometric and Chromatic Distortions: Tune Distortions のボタンを押す

| 8 Seage 1.0.1 | - D X |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| | |
| | |
| Internet Dente Laure | |
| And The second particular of the second | |
| | |
| | DIN |

Zero loss: 曲がり角の調整をするため、再度 Center ボタンを押す

6. <u>AutoCTF(非点収差・コマ収差の補正)(KEK マニュアル 8.)</u>

*この補正は carbon film のグリッドでないとできない

ずなので右クリック Move stage here でその付近に移動

- □ EPU > Preparation tab > Presets の Hole/Eucentric にゴミ画像が残っているは
 - demonstration of the second of the sec

EPU > Auto Functions tab で
 Auto-eucentric by stage tilt
 を確認

Presets を Hole/Eucentric にして Start



*失敗したら、 Auto-eucentric by beam tilt でもう一度 (p. 22 も参照)。

□ Defocus が 0 um であることを確認



EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで Set



□ TUI > Autoloader tab > Apertures を見て C2=50, Obj=none であることを確認

| Workset | Apertures D |
|------------------------------------|-------------------------------|
| Setup Autoloader Stage EFTEM (• • | Condenser 1 2000 V Adjust |
| | Condenser 2 50 🗸 Adjust |
| | Condenser 3 1000 V Adjust |
| | Objective [none] V Adjust |
| | Selected Area [none] V Adjust |
| | |

□ **R1** を押して蛍光板を下げる

- ビームが中央になければ Direct Alignment > Beam Shift で中央にして Done

 Direct Alignments
 Gun Tik
 Gun Shit
 nP Beam tik pp X
 nP Beam tik pp X
 Partial Rep X
 Done
 Done
 Date of the present of the pr
- □ もう一度、Data Acquisition で Set して、R1 を押して蛍光板を上げる

| EV EFU | | | | | | | | | th | ermoscient | ffi |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------|------------------------------------------------|--------------------------|---------|-----------|-----------------|-------------------|------------------|-------------------------------------|-----|
| ♥ ■ Preparation Ada | Auto Functions EPU | | | | | | | | | | |
| Presets Data Acquisition | Camera Falcon 4 | Mode Counted Fractions EER | Dose (e/Å ²) Exp. Time (s) 2.05 | -+) [rames (Mr): 630 | Measure | | e/pu/s e/Å%s | الل Get | भी Set | Q 21500> → Q 21500> → Q 200 | |
| Preset Selectory | Canage Settings | | Laponere Settings | | | Date Rate | | | | | 1 |
| ✓ Tasks | | | | | | | | | | | |
| Acquisition and Optics Settings | | | | | | | | | | | 1 |
| Atlas Optics Alignment | | | | | | | | | | | |
| Calibrate Image Shifts | | | | | | | | | | | |
| Activate Phase Plate | | | | | | | | | | | |
| Atlas Optics Nignment Calibrate Image Shifts Activate Phase Plate | | | | | | | | | | | |

- □ Sherpa は立ち上がっているはずなので、Sherpa の画面を見る
- Sherpa Window の左側にある AutoCTF のボタンを押し

Camera > Type を EF-Falcon に

- EC mode なので Electron counting のボックスにチェックを入れる
- □ Exp. Time=2, Binning=2, Readout=Full, Auto-focus-to=チェックして-1.0



Objective Stigmation の Measure を押す



*グリッドに跡がついていたら少し移動

*トーンリングが拾えなければ Focus ダイヤルを回して Defocus を -800 nm かける

□ トーンリングが拾えたら、 Correct を押す

| DT | Controls | DAUDE |
|--------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Assor | Conversion | |
| sr: No factory algome ad relative EF entrance | Core Barrielle (mark) | Clock dynamic advance and the control of the second and percent short, and the second short of the second |

(対物レンズの非点収差をとってくれる。光があまり暗いと拾ってくれない) *途中で Stop しないこと。Stop すると途中の変な状態で止まってしまう □ 右下に Completed と出たら、**Coma** の Correct を押す (コマ収差をとる)



- □ 右下に Completed と出たら、再度 **Objective Stigmation** の Correct を押す *AutoCTF が全くうまくいかない場合は何かが変。最初からやり直しましょう
- 終わったら Sherpa の window は最小化しておく

7. EPU の倍率間の中心合わせ(KEK マニュアル 11.)

(*UltrAufoil を使うときは、この調整は UltrAufoil で行うほうがよい)

□ EPU > Preparation tab > Presets の Hole/Eucentric にゴミ画像が残っているは





EPU > Auto Functions tab で Auto-eucentric by stage tilt を確認

□ Presets を Hole/Eucentric にして Start



*失敗したら、 Auto-eucentric by beam tilt でもう一度 (p. 22 も参照)。

EPU > Preparation tab > Presets から Hole/Eucentric を選び Preview



ゴミの角もしくはゴミと Hole の交点などに Move stage here

EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで Set



Velox を立ち上げる(ふたつ window があるが、Acquisition のみ使用する)

-

يل 🦻



🗯 🔎 🗆 🛤 🔔 🐘 🚰 📲 📲 🐫 🙀 🚺 💷 🔍 🧠 👜

- アイコンをクリック。ビーム照射が始まり、画像が写る。
 *手動で stop するまで照射しっぱなし
- □ 画像の行きたいところをダブルクリックで移動
- ゴミの角もしくはゴミと Hole の交点などを中心にもってくる
 *何度かダブルクリックを繰り返さないと思った中心に行かない?

| 🔛 Acquisition - Velax | | | - 0 × |
|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|----------------------|
| File Edit View Optics Filter Detectors Help | | | |
| 📰 / 🔅 🔹 1947 🚽 raz -elpuls 🛪 🕹 Countri | g = + -r/A'(Unavalable) - + | | |
| Measure -e/A//s P Linea |] + + (21 m ≤ 21 m ≤ 2 | | |
| | | A Dimla Satism | |
| | | | |
| | | Howyean Pre- | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | ゲールトリックマ | | |
| | タフルクリック ぐ | | |
| | | | |
| | | | |
| | そこに移動 | 💓 🖉 🗸 🗸 🗸 | D % Gayate |
| | | A Diet Provenie | |
| | | Property | |
| | | Image Falcon | THE R |
| | | Emage size | 512 x 512 |
| | | Field of view | 300.4 pm |
| | | Detector dose | 72.04 e/px |
| | | Statistics | |
| | | Misimum | |
| | | ∧ Detector Layout | |
| | | | |
| | | + | |
| | | | Kughindoon 210 KK V |
| | State of the second | | Main Screen |
| | the second second second second second | | manine statu |
| | | | Sat mater in tr |
| | | hand | |
| | | Product de La P | |
| | a constant of the state of the state | | |
| | | | |
| | | | |
| 20/mm | | | |
| Time Elapsed: 0000:12 | | | Drive C: 128 GB free |

□ もう一度 → アイコンをクリックしてビーム照射終了

EPU > Preparation tab から Calibrate Image Shift を選んで
 Start Calibration

| EPU EPU | |
|------------------------------------------|--------------------------|
| 🔻 🕋 Preparation Atlas Auto Functions EPU | |
| Reset Start Stop Re-acquire Proceed | |
| Image Shift Calibration | |
| ✓ Tasks | High Magnification Image |
| Acquisition and Optics Settings | |
| Atlas Optics Alignment | |
| Calibrate Image Shifts | |
| Activate Phase Plate | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |

x215k(または撮りたい倍率)の画像(画面左側)を見る。Proceed
 *中心がズレていたらダブルクリックであわせてから Re-aquire
 よほどズレている場合以外はやらないほうがよい?



- □ x6500 の画像、x215k の中心と対応する場所をダブルクリックして Proceed
- □ x6500の画像が左側に変わる
- □ 以下同様に、
- □ x740の画像、X6500の中心と対応する場所をダブルクリックして Proceed
- □ x155 の画像、X740 の中心と対応する場所をダブルクリックして Proceed
- □ Status に finished successfully と出たら終了



*倍率を変更した場合はもう一度やり直す

(carbon film のグリッドの場合)毎日のビーム調整は以上

8. <u>対物絞りの中心合わせ(KEK マニュアル 6.)</u>

(*UltrAufoil を使うときは、この調整を UltrAufoil で行う)

- □ 蛍光板を確認。入っていたら R1 を押して蛍光板を上げる。
- □ EPU > Preparation tab > Presets の Hole/Eucentric にゴミ画像が残っているは
 - ずなので Move stage here でその付近に移動
- EPU > Auto Functions tab で Auto-eucentric by stage tilt を確認
- Presets を Hole/Eucentric にして Start
- EPU > Preparation tab > Presets から Hole/Eucentric を選び Preview
- □ Hole と hole の間で、ゴミのないところを右クリックして Move stage here



EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで Set





- □ TUI > Autoloader tab > Apertures を見て C2=50, Obj=none であることを確認
- □ ここで必ず **R1** を押して蛍光板を下ろす!

*蛍光板を下ろさずに Diffraction ボタンを押すとカメラが壊れる可能性あり



操作板の Diffraction ボタンを押す



□ TUIの下を見て、D = xx m などとなっていることを確認

| High tension: | 300 kV Beam Current: | 5.3 nA |
|---------------|----------------------|----------|
| nP EFTEM | Screen current: | 0.065 nA |
| D 2.5 m | Spot size: | 4 |

□ TUI > Autoloader tab > Apertures を見て Obj = 100 に変更

| Apertures | | Þ |
|---------------|---------------|--------|
| Condenser 1 | 2000 ~ | Adjust |
| Condenser 2 | 50 ~ | Adjust |
| Condenser 3 | 1000 ~ | Adjust |
| Objective | 100 ~ | Adjust |
| Selected Area | [none] \sim | Adjust |

□ TUI は HDR モードにする

(*対物絞りの影が見づらい場合はマウスホイールで調整)



ビームが中央になければ Direct Alignment > Diffraction Alignment
 で、Multifunction ダイヤルで中央にもってくる

| Direct Alignments | |
|----------------------------------------------|--|
| Diffraction alignment Coma-free Amplitude | |
| Done Auto help | |

- (以下の枠内の3点は、よほどズレていない限りやらないほうが無難?)
 Objective の横の Adjust ボタンを押す
 Implement I Implement I
- 操作板の Diffraction ボタンを再度押して diffraction mode を終了
 *FluCam Viewer の表示は自動で Natural に戻るはず

ビーム調整は以上

UltrAufoil での観察は、Obj = 100 としたまま行えばよい

III. <u>データ測定</u>

1. <u>グリッドのスクリーニング</u>

Apply

を押す

□ EPU > Atlas tab で目的のグリッドを選択し、 Load Sample \Box EPU > EPU tab から、Session Creation -> New Session -> Yes w Session Setup ou are about to create a new EPU session. o you want to use the preferences of the current s Cance No を押す Session Setup (Session type: Manual, Acquisition mode: Faster を選択) 5_125754_32 Grid tyr Manual Sess on type ۲ Faste Use Ph (保存先:Z:/user0xx/yymmdd/screen_xx)

42

□ Square Selection を押す -> スクエアが自動選択されているが Unselect All



□ 2-3の代表的なスクエアを選択(Ctl + 左クリック)する



*氷の薄そうなの、少し厚い、厚い、などバラつかせるとよい *選択したスクエアの番号を出す場合は、右クリックして Show processing order *スクショを撮っておく 右クリック -> Export image with overlay ズームしたまま上記を行うと、ズーム画像が保存されてしまうので注意。

最初のスクエアを右クリック -> Move stage to grid square



- Hole selection を押す
- □ Acquire で撮影して、良いスクエアか確認。良ければ以下へ

| | 0 | - | | 14-41 | a | | 1 | Fast Screening: | | C |
|-------------------|-----------|--------------------|----------------|--------------|------|-----------------------------------|-------|-----------------|------------------------|---------------------|
| Auto Fucentric | Acquire | Previous Square | Next Square | Martine Role | 1 pd | Remove Holes Close To Grid Bar | Trust | | Prepare all Squares | Redo Preparation |
| Tools | Acquismon | Nevis | 100 | | | Selection | | Fast Streening | Automated | Properation |
| Start | | | | | | | | | | |
| Session Cre | ation | | | | | | | | | |
| Preparat | ion | | | | | | | | | |
| Session Set | up | | | | | | | | | |
| Square Sele | stion | | | | | | | | | |
| Hole Select | | | | | | | | | | |
| Template D | efinition | | | | | | | | | |
| Template Ex | xecution | | | | | | | | | |
| rempiere es | | | | | | | | | | |
| Executio | n | | | | | | | | | |

」 左上の Auto Eucentric ボタンを押す



*Auto Eucentric がコケた場合、Auto Functions tab から Auto-eucentric by stage tilt になっていることを確認して Start でうまくいくこともある *それでも失敗したら、 Auto-eucentric by beam tilt で Start

*Eucentric height が決まったら、 Hole selection に戻って Acquire (新しい eucentric height が反映される)

どちらかで上手くいけばよい(p. 22 も参照)

うまく決まったら Measure Hole Size を押して、hole の大きさと隣接する
 hole との間隔を定義する



□ Find Holes で hole を自動認識させる



うまく hole が拾えたら Unselect All して、代表的な数 hole を選択 (Ctl + 左 クリック)



*スクエアの中心や周縁部など、見た目の氷の厚さも考慮して選ぶとよい

□ Prepare all Squares を押して、選択した全てのスクエアで同じ事をさせる



*途中でfailした場合は スクエアを選び直すか p. 52を参照

Next Square/Previous Square でスクエアを移動して hole の認識を確認
 各スクエアで認識された hole を Unselect All して、代表的な数 hole を選択



*各スクエアについて、選択した hole のスクショを撮っておく 右クリック -> Export image with overlay



- □ Add Acquisition Area で hole のどこを撮るのかを指定。 複数箇所可(中心と端など条件を変えるとよい)。
- Defocus 値を指定。スクリーニングのときは少し大きめに、-2.0 um 等でよい。
 撮影場所を複数箇所指定した場合、個別に設定できる。
- □ Add Autofocus Area で focus 合わせの照射位置を指定する。



スクショを撮っておく(defocus 値を含めた画面全体をとるため、アプリでとる)

🖷 A 🗆 🧮 🛓 🐘 📴 📲 📲 👺 💁 📑 🖳 🦉 📟 🚟 🤯 👢

Automated Acquisition から Start

 ひとつのグリッドのスクリーニングが終わったら、グリッドを入れ替えて同じ 事を繰り返す

2. <u>データの自動測定</u>

| EPU > Atlas tab | でデータ測定を行うグリッドを選択し、 | Load Sample |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Note: Note: | | I mange I m |

EPU > EPU tab から、Session Creation -> New Session -> Yes

 Image: Session Creation
 -> New Session
 -> Yes

□ Session Setup を押す

(Session type: Manual, Acquisition mode: Faster を選択)



□ Square Selection を押す -> スクエアが自動で選択されているが Unselect All

して 20-30 のスクエアを選択する



*スクエア間の移動距離が大きすぎるとそれだけ測定時間をロスする。 *なるべく近隣のスクエアを順次たどりながら測定するように選択する

□ 最初のスクエア(番号1)を右クリック ->



Move stage to grid square

Move stage here:

クリックした場所に移動

Move stage to grid square: クリックしたスクエアの中心に移動

□ Hole selection を押す

□ |Acquire | で撮影して、良いスクエアか確認。良ければ以下へ



*いきなりAuto Eucentricでもよい

| 左上の | Auto Eucentric | 7 | ボタンを押す | |
|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|--------------------------------------------|---|
| Pro EPU Preparation Auto Escentric Acquiston Start | Adar Ada Fuercions FU Terreron Toda Masar Field Segura Segura Masar Field Manage Segura Masar Field | *A | Auto Eucentric がコケた場合、Auto Functions tab か | 6 |
| Session Creation Preparation | | | Auto-eucentric by stage tilt または | |
| Session Setup Square Selection Hole Selection | | | Auto-eucentric by beam tilt で Start でうまく | い |
| Template Definition Template Execution | | | くこともある(p. 22 も参照) | |
| *Eucentr | ic height が決まった | 6. | 。、 Hole selection に戻って Acquire | |

うまく決まったら Measure Hole Size で hole の定義



Find Holes で hole を自動認識させる



 うまく hole が拾えたら Prepare all Squares を押す(選択したすべてのスクエ アで同じ事をしてくれる)



*すべてのスクエアが終わるまで、20-30分程度(スクエアひとつあたり1分程度?)



自動認識された hole を確認する。ゴミがあるもの、亀裂が入っている箇所などは、selection brush で手動で削除する。右下の「Filter Ice Quality」の2本のバーを調節してもよい



*亀裂の入っているスクエアは選択しない方が無難(電子が当たった際に揺れやすい)

 Next Square/Previous Square でスクエアを移動して、上記の hole 選択の 確認と修正を行う。



スクエアまるごと削除したい場合、Square Selection に戻って消したいスクエアを右クリック -> Unselect

大きな番号から消さないと、番号が合わなくなる!



最初のスクエアに移動(Square Selection -> Move stage to grid square)
 Template Definition を押す
 Acquire -> Find and Center Hole



- Add Acquisition Area
 で hole のどこを撮るのかを指定(緑)。
 複数箇所可(中心と端など)。
- □ Defocus 値を指定。

-0.6, -0.8, -1.0, -1.2, -1.4, -1.6, -1.8 um などが標準? 右横のボタンを押すと、すべての area に反映

□ Add Autofocus Area で focus 合わせの照射位置を指定(紫)する。



□ Dose の見積もりを行うため、グリッドに穴のあいたところに移動



EPU > Atlas tab で Grid に穴のあいたところに右クリック Move stage here

EPU > Preparation tab > Presets から Grid Square を選び Preview



- EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで Set
- □ R1 を押して蛍光板を下げる
- ビームが中央になければ Direct Alignment > Beam Shift で中央にして Done

 Direct Alignments
 Gun Tit
 Gun Tit
 Gun Tit
 Pean tit pp X
 Pro Beam tit pp X
 Pro Beam tit pp Y
 Condems rother TEM
 Done
 Auto help
 One
 Auto help
 One
 Condems rother TEM
 Done
 Auto help
 One
 One

□ TUI で Beam Current を確認。

| High tension: | 300 kV | Beam Current: | 3.7 nA |
|---------------|--------|-----------------|----------|
| nP EFTEM | | Screen current: | 0.000 nA |
| SA 0500 X | | Spot size. | 4 |

- □ 5を下回っているようなら Flash する E-CFEG Control (Expert) Operate 1.8 (TUI -> Set up tab -> E-CFEG Control) Flash *Flush するときはカラムバルブを閉じる 3561 V Extractor: 3593 V Vopt: Extractor range: 2561...3916 V Beam current: 5.0 nA Status: Operate High Tension 300 kV \sim
- EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで Set

| P) (P) | | thermoscientific |
|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Presetti Data Acquisition via Camera Falcon di Camera Falcon di Ci suport | Mode Counted Dess (e/J/) 40,00 → + Fractions [E8 Kap: Time (s) table T + ↓ Align No Fractions (b) Frames (b) | Monum siguh Gat Statute v Spotice v heat Siz me v Province v Spotice Siz Montali v Province v Province Siz Montali V Siz Montali |
| And beings (and temp | | Der fan |

□ TUI > Autoloader tab > Apertures を見て C2=50, Obj=none であることを確認

| Workset | Apertures D |
|------------------------------------|-------------------------------|
| Setup Autoloader Stage EFTEM (• • | Condenser 1 2000 🗸 Adjust |
| | Condenser 2 50 🗸 Adjust |
| | Condenser 3 1000 🗸 🛛 Adjust |
| | Objective [none] ~ Adjust |
| | Selected Area [none] V Adjust |

□ EER, No, Dose: ~50, 好みの倍率を選択(x165k/215k/270k あたりが一般的?)



□ Measure を押す



測定結果をもとに指定の dose となる照射時間が算出される *照射時間は、spot size, illuminated area と相関する。



*Spot size, illuminated area を狭くすれば照射時間は短くなる (=撮影枚数が増える)が、 電子を狭い領域に集中させるため dose rate が高くなる。

*あまり高い dose rate は低 DQE、試料へのダメージ等弊害が多くなるので、バーの赤に いかないように設定する。

Template Definition のところで検出器サイズと比べながら適切な値に調整する



□ 最後に Preview してからスクショ取得

*Preview すると、画面右下に pixel size 等の情報が出てくる



□ EPU > Auto Functions tab > Auto Zero-loss

| | Preparation Atla | s Auto Functions | EPU | |
|------------------|------------------|------------------|-----|--|
| Start | Presets | Zero Loss | × | |
| Execut | ion | Preset Selection | | |
| → Auto- | Functions (TEM) | | | |
| Autofocus | | | | |
| Auto-eucentri | : by beam bit | | | |
| Auto-eucentri | t by stage tilt | | | |
| Autostigmate | | | | |
| Autocoma | | | | |
| Drift stabilizat | ion | | | |
| Auto Zero-Los | | | | |
| > Calibr | ations | | | |
| | | | | |

EPU > EPU tab > Automated Acquisition

で測定開始

Start

| Auto Zero loss = Yes, Periodicity (hrs) = | 20 hrs | (測定が 20 h 以 | 以下ならいらない?) |
|-------------------------------------------|--------|-------------|------------|
| 測定後カラムバルブを閉じるように、 | Close | Col.Valves | を有効にする |

| ▼ | Atlas Auto Fu | inctions EPU | |
|------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------|---|
| Start Run | Skip Gridsquare Skip Foilhole | Auto Zero Loss Yes 💙 Periodicity (hrs) 20 | |
| urrent Session Options | Skip Options | Auto Zero Loss | |
| Start | | | |
| Session Creation | | | - |
| Preparation | | | 1 |
| Session Setup | | | 8 |
| Square Selection | | | |
| Hole Selection | | | 1 |
| Template Definition | | | - |
| Template Execution | | | |
| Execution | | | |
| Automated Acquisition | | BABBB | |
| | | · . · | 4 |





□ Apply を押す

□ 一つ目のグリッドが Queue に入り、Atlas が表示される



p. 50-51 に従い、スクエアの選択と hole の選択を行う。
 *Automated なので、hole の選択操作は最初のスクエアだけ。
 *Hole の取捨選択もできない(Ice filter の設定による選別はできる)。

| Template Definition & | 押す |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| Acquire -> Find and | I Center Hole |
| P EU Agent Actor | V DV Very Very Very Very Very Very Very Very |

□ p. 54 に従い、autofocus 位置、照射位置、defocus 値などを設定する。



□ 新しい Session ウインドウに保存先を入力して Apply

| | General session settings | |
|--------------------|-----------------------------------|--|
| Session name: | Supervisor_20240731_200417_69 | |
| Grid type: | | |
| Session type: | Automated | |
| Acquisition Mode: | 🐻 Accurate 🧕 Faster | |
| | | |
| | Athena settings | |
| Selected workflow: | <not available=""></not> | |
| Selected dataset: | <not available=""> Reset</not> | |
| | | |
| | Output settings | |
| Image format: | MRC TIFF | |
| Output folder: | Z:\user001_shen\240731\multi_grid | |
| | Set as default storage folder | |
| | Email settings | |
| Email recipients: | | |
| | | |
| | | |
| | | |

- 現在のグリッドが queue に追加される。最初のグリッド同様にスクエアの選択、
 hole の選択、Template Definition を行う。
- □ 目的のグリッド全てについて繰り返す。
- □ 必要に応じて、Max Exposures を設定



ここで設定した枚数に達したら次のグリッドに進む

p. 58 に従い、Auto Zero-loss の設定を行う



*Auto-create Sessions による一括設定

- Dose の見積もり(p. 55-57)を済ませておく。 □ 一つ目のグリッドの設定終了後、Session Queue でその queue を選択して Auto-create Sessions ŧπ Auto-create Sessions Auto-create Sessions imes□ どのグリッドを queue に入れるかを選ぶ。 ts to fill que OK | で選択したグリッドが Queue に入る。 Cance □ 新しくできた queue は保存先が Z ドライブ直下になっているので、右側の Session ウインドウに保存先を入力して Apply □ |Square Selection | から、スクエアの選択を行う。 *グリッドがステージにないので、hole の設定、Template Definition はできない(最初の グリッドと同じ設定となる?) □ 必要に応じて、Max Exposures を設定 Slot Session Nam Gridsguare Progress Completed Exposures ここで設定した枚数に達したら次のグリッドに進む
- p. 58 に従い、Auto Zero-loss の設定を行う



以上