

分子映像によって開拓する動的分子科学の新しい世界

Dynamic Molecular Science Explored with Cinematographic Molecular Imaging

原野 幸治^a, 中室 貴幸^b, 中村 栄一^{b*}

Koji Harano, Takayuki Nakamuro and Eiichi Nakamura

^a物質・材料研究機構 先端材料解析研究拠点^b東京大学 大学院理学系研究科化学専攻

要旨 単分子原子分解能時間分解電子顕微鏡法 (SMART-EM 法) により, 有機, 無機分子の動的な振る舞いを実時間の映像を通して研究できる「映像分子科学」の時代が到来した. 単分子の動的挙動の SMART-EM 観察では, 動画の 1 フレームあたりの電子線量の不足が問題となる. 我々は Chambolle Total Variation ノイズ除去法を適用することで SMART-EM に最適化された画質向上手法を確立し, サブミリ秒の時間分解能, サブオングストロームの位置決定精度で分子運動や化学反応の追跡を実現した. 本稿では分子のシャトル運動におけるナノメカニカル挙動や原子レベルの結晶化過程の解明など, SMART-EM 法を駆使した動的分子科学の展開について述べるとともに, 分子科学分野への電顕の普及を目指して開発した原子番号相関分子模型 (ZC 模型) についても解説する.

キーワード: 映像分子科学, 透過電子顕微鏡, ノイズ除去, その場観察, 高速撮影

1. はじめに

高空間・高時間分解透過電子顕微鏡 (電顕) を用いて, 分子や分子集合体など構造周期性を持たない物質の挙動の時間展開をその場撮影する「映像分子科学」という新しい科学研究の分野が開けつつある¹⁾. 単分子原子分解能時間分解電子顕微鏡法 (Single-molecule atomic-resolution time-resolved electron microscopy, SMART-EM) と名付けられたこの研究は, それまで縁遠かった分子科学と電顕科学の距離を縮める試みである²⁾. 化学結合の組み換えを伴う (化学反応) あるいは伴わない構造変化 (立体配座変換や分子集合) など, 分子の引きおこす動的な現象を原子分解能のレベルでその場観察する研究である. 我々 (中村) はいくつかの状況証拠に基づき, 「電顕観察下において有機分子や無機分子はすぐさま分解する」という当時の常識に疑問を持ち, 2004 年に「有機分子を電顕で観る」JST・ERATO プロジェクトを開始した. その結果, カーボンナノチューブ (CNT) の中や外にゆるく固定した分子の構造変化をその場観察できることを発見した (図 1)³⁾. 時間および空間解像度は低いながらも, 有機分子の立体配座変化をその場撮影できることを初めて立証した映像であり, それまで固体や金属が主たる研究対象だった電顕

を, 有機および無機分子の動的挙動の研究に活用する道を拓いた. 収差補正電子顕微鏡, 直接電子検出 (DED) カメラ, ノイズ除去アルゴリズムが開発された今は, ミリ秒かつ 1 Å という高い時空間分解能でルーチンに原子や分子の映像が撮影できる. 電子線を用いた高速のダイナミクス解析の手法としては時間分解電子回折法が知られており, 固体の励起状態からの過渡的な構造変化を最速でフェムト秒の時間分解能で観測できる⁴⁾. これに対し, SMART-EM 法では多くの化学反応や分子構造変化, 分子運動のように, いつ起こるか予測できない (確率論的に起こる) 分子のダイナミクスを, 多く

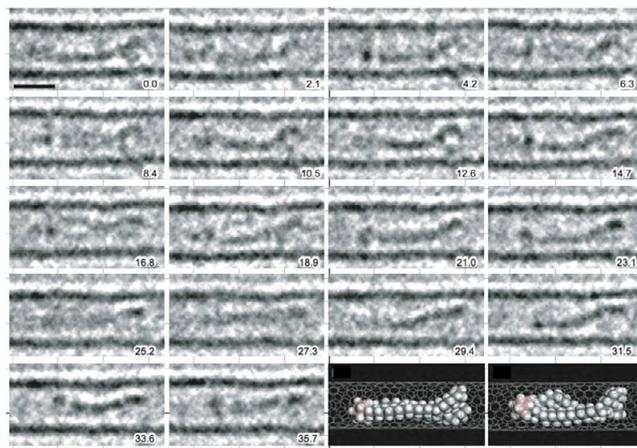


図 1 時々刻々と構造を変える炭化水素分子の電顕映像. 文献 3 より許可を得て転載.

*〒 113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1
TEL: 03-5841-4356; FAX: 04-5841-4356
E-mail: nakamura@chem.s.u-tokyo.ac.jp
2022 年 3 月 25 日受付, 2022 年 4 月 25 日受理
doi: 10.11410/kenbikyō.57.2_59

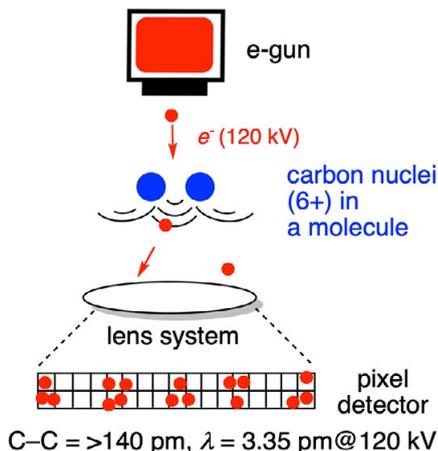


図2 高速の電子線と原子との干渉による像形成の原理。真空中に置かれた少数の分子と電子線の相互作用の衝突断面積は極めて小さく、また二次電子線が発生したとしても、それが近隣の分子と相互作用する確率も極めて小さい。

の分子の平均像ではなく1分子ごとに個々に追跡できるところに特徴があり、分子の複雑な動的挙動を解明するための強力な研究手法になる。

ここでは、CNTやグラフェンを担体としてある程度自由に動ける状態に置いた孤立分子や原子・分子の集合体に対し、60–120 keV程度の電子線を nm^2 あたり毎秒 10^5 – 10^7 個照射して、原子の配列をその干渉像として観察する。炭素–炭素結合の長さは150 pm程度であり、数pm程度のド・ブローイ波長をもつ120 keV程度の電子線を用いると一つ一つの炭素原子を区別してその座標の時間変化をその場で映像として記録できる(図2)。この程度のエネルギーを持った電子の速度は光速の60%程度であり、一分子をアト秒で通り過ぎる。つまり、一つ一つの電子にはアト秒レベルの構造情報が含まれている。すなわち、100万個程度の電子が個々に分子を通過するピコ秒レベルの露光時間を与えればかなり複雑な分子の動的挙動が観察できるはずである。現状の電顕用カメラの最高速度はサブミリ秒程度であるため、今後の検出器の改良と画像処理ソフトウェアの開発などによって数千倍以上高速なイメージングが原理的に可能であると期待できる。

真空中においた孤立分子を観察するこの研究手法に取り組むにあたっては、固体を取り扱う場合とは異なる物事の理解が必要である。その一つが照射線量(ドーズ)である。ドーズという言葉の語源は人体への医薬の投与量から始まり、X線照射の人体への影響の評価基準、そして電子顕微鏡の世界では「試料の単位面積当たりに照射される電子量」として使われている。この用法では電子銃から照射される電子の多くが「厚い」試料に吸収されることが前提となっている。一方で、SMART-EM観察では極めて「薄い」分子試料を対象としており、このような試料に含まれる原子の数は平方ナノメートルあたり数十から数百個であり、大半の電子は真空中を通り抜けるだけである。すなわち、単位時間あたりに試料分子中の原子核と相互作用する電子の数は限りなく少ないの

で、厚みのある固体試料を対象とした観察に比べて、面積当たりの照射電子量が同じだとすると、単分子の観察は実質的には究極の低ドーズ条件といえる。そのため、一分子が与える原子像は極めて微弱なものになり、しばしば検出器ノイズの中に分子像が埋もれて観測が困難になる。一方で、孤立した分子を観察することのメリットは、分子間の相互作用や、固体試料で常に問題になる低エネルギーの二次電子が近隣分子に与える悪影響が全く無視できることである。すなわち、SMART-EM観察条件での分子の挙動は、分子の熱的な挙動または電子線との一次的相互作用の枠組みだけで考えれば良いことになる。これは、同様に単分子を観察対象とするクライオ電顕による生体分子構造解析において、分子試料を包埋している非晶質氷が電子線によって溶解することによって分子が見えづらくなるため、二次的な相互作用を抑えるために電子線照射量を極めて低くしなくてはならないのとは大きく異なる点である。

実際に、過去15年間のこの分野での研究報告を総合すると、導電性のCNTやグラフェンの上の一つから数百個の分子、またごく薄い固体試料を観察するときに見られる化学現象は、ごく普通の熱励起や電子励起状態イオン化状態經由の反応であり、knock-onと呼ばれる原子のはじき出しのような特段の高エネルギー過程の関与を考慮する必要はないこともわかってきた⁵⁾。また、SMART-EM条件下での有機分子の安定性の一因は、伝導性の高いCNTやグラフェンが「アース」として働き電子線による分子のイオン化を防いでいるためであることも最近報告されている⁶⁾。走査電顕観察において試料に蒸着する金属コーティングと似た役割を果たすと考えれば良い。

単一分子レベルでの力学的運動や化学反応は、量子的な制御下にあり、環境のゆらぎと強く結合している。しかし、ナノレベルでの分子の姿の動的挙動を高速で観察する方法がなかったためにこれまでの研究例は乏しい。本稿ではSMART-EM法を駆使した動的分子科学の研究例として、高速電顕と画像ノイズ除去プログラムを併用した分子配座変換やシャトル運動の映像撮影、食塩の結晶の生成過程の観察について解説する。またこれらの画像を解釈するために我々が新たに提案した分子模型(ZC模型)についても紹介する。

2. ノイズ除去による高速 SMART-EM イメージング

分子運動のタイムスケールは、ピコ秒レベル以下の化学反応から秒単位のタンパクの構造変化まで多岐にわたる。現時点で入手可能なDEDカメラを使えばサブミリ秒の高速撮影ができ、ブレのないピシッとした映像が撮れるはずである。しかし同じ電子線量で撮影速度だけを1000倍に上げると、1フレームあたりの電子線量は1/1000になってしまう。図3aに示した、DEDカメラ(Gatan K2-IS)を用いて1600フレーム毎秒(fps)で撮影した4分子のフラーレン(C_{60})を内包するCNTの像では、電子量が不足し信号対雑音比(SNR)も0.05と低い。ピクセル平均法で連続する50フレームを重

ね合わせると分子像は鮮明になるが (図 3b ; SNR = 0.20), 時間分解能も低下するため, 高価な高速カメラの利点が失われる. そこで我々は, ウェブ動画の圧縮技術によく用いられる Total Variation ノイズ除去法に着目した. この手法は, 一連の動画像の中で時系列で隣接するフレーム同士の差異を比較し, 変化の大きい部分がノイズであり, 変化の小さい部分に観察対象物 (分子) がある, という原理に基づいて, 信号の全変動を最小化するようにフィルタリングするものである. 我々は Total Variation アルゴリズムの中でも Chambolle が開発したアルゴリズム (Chambolle Total Variation (CTV) ノイズ除去法)⁷⁾ が我々の用途に最も適していることを明らかにした⁸⁾. 一般的なフィルタリング技術ではノイズの軽減に伴って分子のエッジ形状が滑らかになり微細な構造情報が失われるが, CTV ノイズ除去法を用いると, 元の動画の SNR が低くても, エッジを保持しながら背景領域のノイズを除去することができる. 図 3c に示した CTV ノイズ除去を施した画像 (SNR = 0.15) では 1600 fps (= 0.625 ミリ秒/フレーム, ms/frame) 撮影の 1 フレームでも分子の形状が視認でき, 3 フレームの重ね合わせと CTV ノイズ除去を同時に行うと (1.875 ms/フレーム, 図 3d), SNR = 0.30 で球状の C₆₀ 分子が明確に観察できる. なお CTV ノイズ除去法は動画像の中でノイズに埋もれたシグナルを強調するために有効な手法であり, DED カメラによる撮像においては電子カウンティング処理を施さない (=ノイズの多い) 未処理動画に対して特に大きな効果を発揮する.

電顕観察下の分子の挙動は照射電子と熱振動・機械的振動という二つの要因の影響を受ける. 前述の通り, SMART-EM 条件下では電子と分子の衝突頻度が極めて小さく, 次の相互作用までにマイクロ秒以上の間隔があくので, 1 電子に

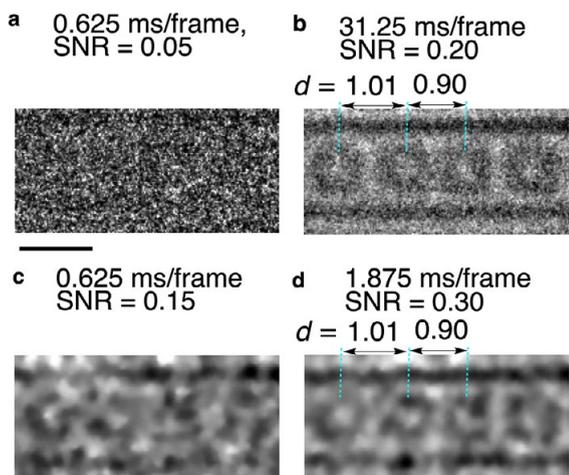


図 3 SMART-EM による高速電顕映像と CTV ノイズ除去効果. (a) DED カメラで撮影した C₆₀ 分子の 0.625 ms/frame の原画像 (EDR = $2.1 \times 10^7 \text{ e}^- \text{ nm}^{-2} \text{ s}^{-1}$). (b) 50 フレームを重ね合わせた画像. C₆₀ 間の距離 d を nm で示す. (c) (a) に CTV ノイズ除去を施した 1 フレーム画像. (d) CTV ノイズ除去を施し 3 フレームを重ね合わせた画像. スケールバーは 1 nm. 文献 8 から許可を得て転載.

よって引き起こされる化学的事象はそれぞれ独立した事象となる. 結果, 電子によって引き起こされる化学反応などのダイナミクスは単位時間あたり電子線量 (electron dose rate, EDR) とは無関係である. 一方で, 冒頭に示した分子の配座変換や後述するシャトル運動などの熱振動や機械的振動は電子線量とは関係なく起こる. すなわち, EDR を上げて動画の 1 フレームあたりの電子線量を増やすと SNR を向上させるが, 分子のダイナミクスには影響を与えない.

3. CTV ノイズ除去法の分子運動撮影への応用

3.1 シンチレータ付き電荷結合素子での撮像への応用

図 4 は, ビオチン分子 (ビタミン B₇) と円錐状の CNT であるカーボンナノホーン (CNH) 先端を柔軟な鎖状部位で連結した分子の構造変化のイメージングへの応用例である. ビオチン分子 (図 4a) は CNH 上で連続的に構造変化し, 映像の各フレームで異なる画像を与えた (図 4b)⁹⁾. シンチレー

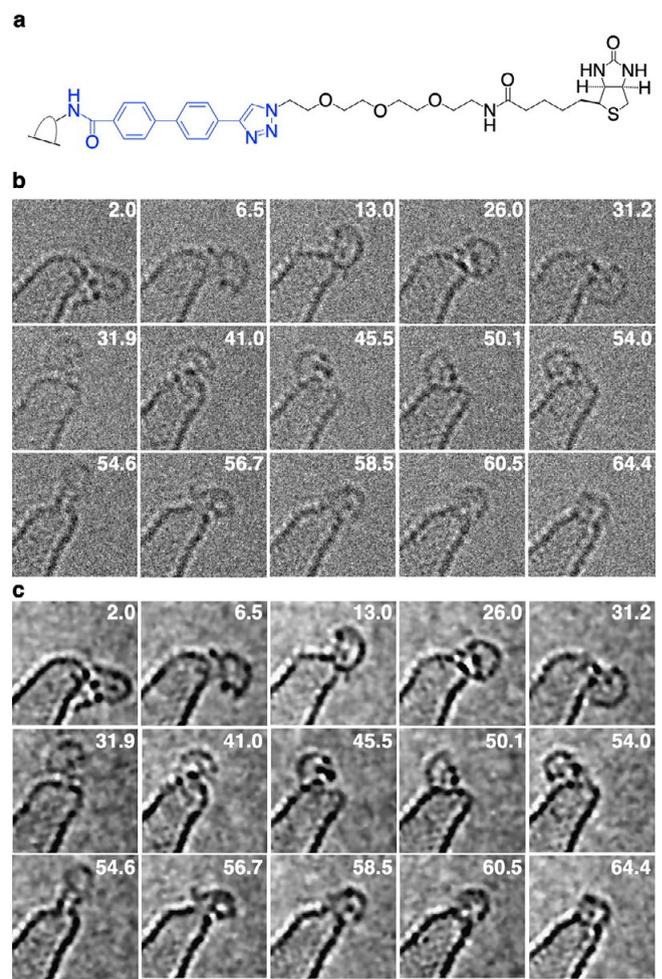


図 4 CNH に結合したビオチン分子の映像のノイズ除去. (a) 観察したビオチン分子の構造. (b) ビオチン分子の動画フレームの生画像 (加速電圧 80 kV, フレーム当たり露光時間 0.4 秒, EDR = $2.5 \times 10^6 \text{ e}^- \text{ nm}^{-2} \text{ s}^{-1}$). 数字は動画撮影開始後の時間 (秒) を表す. 文献 8 から許可を得て転載. (c) b) に CTV ノイズ除去を施した画像. スケールバーは 1 nm.

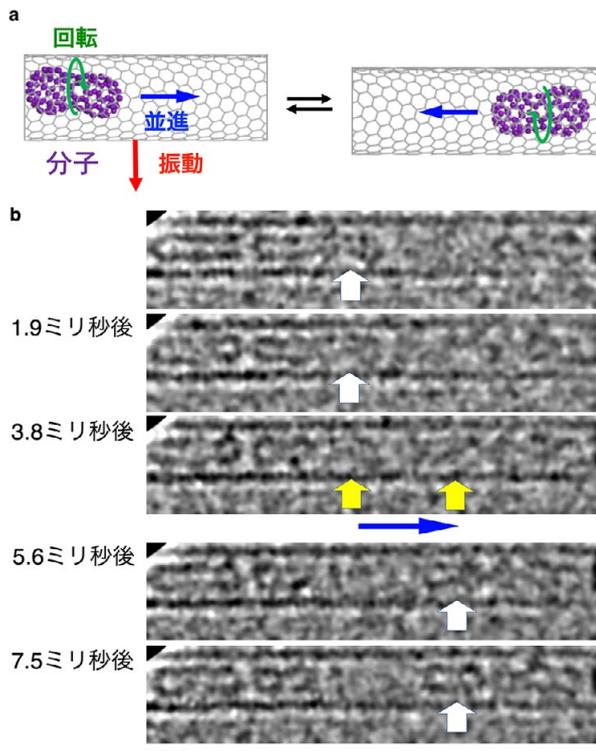


図5 533 fpsで記録されたフラーレン分子の運動。(a) 振動するCNT中でのC₆₀二量体(C₁₂₀)の運動の模式図。(b) CNT内のC₆₀二量体が動く瞬間の連続電顕画像(EDR = 1.4×10^7 e⁻ nm⁻² s⁻¹)。C₁₂₀分子の位置を矢印で示す。3.8ミリ秒後のフレームの露光中に分子が並進運動した(黄色矢印が移動前後の位置を示す)。スケールバーは1 nm。文献11から許可を得て転載。

タ付き電荷結合素子 (CCD) カメラ (Gatan Ultrascan 1000) で撮影した画像のSNRは極めて低く (SNR = 0.19), 一部のフレームでは分子の構造を識別することも困難である (例: 図4bの31.9秒の画像)。この映像にCTVノイズ除去を施すと、分子の形状が背景から浮き上がり (SNR = 17.3), 分子の構造変化が明確に視認できる (図4c)。

3.2 DED画像へのCTV応用と分子運動機構の解明

単分子レベルの分子はゆらぎのある周辺の環境と強く相互作用するため、その動的挙動は非線形かつ確率的になる。このような系は動力学解析の観点から興味を持たれてきたものの、ナノメカニカルな分子運動をその場観察する効率的な実験手法がほとんど存在しなかった。高速の実空間イメージング法としてはポンプ・プローブ顕微鏡法が知られているが¹⁰⁾、この手法が適用できるのはポンプ光などの刺激で誘起される「予測された」運動のみであり、確率論的な高速現象は観察できない。我々は、収差補正電顕、DEDカメラ、そして前述のCTVノイズ除去を組み合わせ、1秒間に数回ランダムに振動するCNTの中で起こる、フラーレン分子の確率論的な並進往復 (シャトル) 運動がCNTの振動と強く関連することを発見した (図5a)^{11) 註1)}。図5bに示す通り、動画開始から3.8ミリ秒から5.6ミリ秒後の間にC₆₀二量体(C₁₂₀)が2.79ナノメートル移動しており、その瞬間が克明

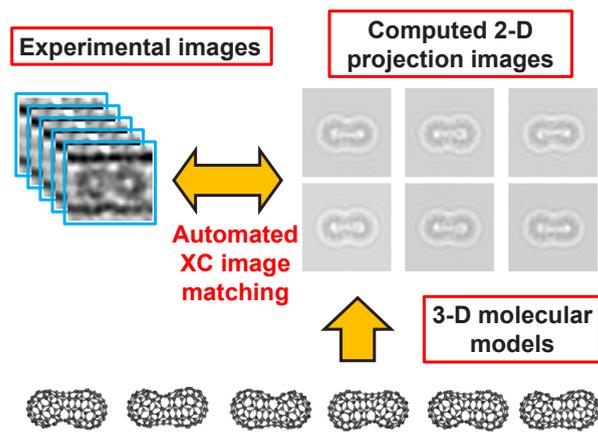


図6 中間体の構造候補から発生させたシミュレーション画像群と実験像を相互相関解析することでC₆₀二量体の構造を決定。文献13から転載。

に捉えられたが、この並進運動はナノチューブの振動の方向が変わる時、すなわち分子が受ける加速度が最大になる時、分子が力を受けて縦方向に回転しながら一方の端からもう一方の端まで並進移動することが明らかとなった。CNT中で観察されるC₆₀のシャトル運動については一部では熱的に誘起される現象だと考えられてきたが¹²⁾、我々の観察結果から、機械的に振動するCNTから分子に運動エネルギーが繰り返し供給されることで起きる分子運動であるという、時間平均測定や顕微鏡で検出できなかった分子レベルでの仕事とエネルギーの関係が明らかになった。今回の観察では0.9ミリ秒、0.01ナノメートルの標準誤差で一分子レベルの構造変化や反応を検知できており、SMART-EM条件下での連続映像撮影により精度の高い解析が可能であることを示している。

高速動画から化学的な情報を得るという観点でより重要なのは分子構造の決定である。図5で観察されたCNT内を並進運動する分子は電子線によって隣接するC₆₀分子が結合した二量体(C₁₂₀)である。このような二量体分子はこれまでも数多く観察されてきたが、電顕像からの構造決定は困難であった。我々は理論計算によってその生成が予測されていた24種類のC₆₀二量体の構造候補を様々な角度から投影した864個のシミュレーション画像のライブラリを生成し、このライブラリに対して高速動画とCTV処理により得られた分子像を自動的に相互相関(XC)解析することによって、観察されたC₁₂₀分子の構造を推測できた(図6)¹³⁾。本手法を用いれば数ミリ秒という短寿命の化学反応中間体を同定することも可能である。

4. 食塩結晶の核形成とエピタキシャル成長

我々は最近、ナノスケールの機械的振動をしているCNHの中で、食塩の結晶が自然と成長していく様子を報告した。円錐状のCNHの真空中に塩化ナトリウム(NaCl)の結晶核が忽然と生じ、それが段階的にエピタキシャル成長して直方体のナノサイズの結晶を与える様子を逐次記録した¹⁴⁾。ここ

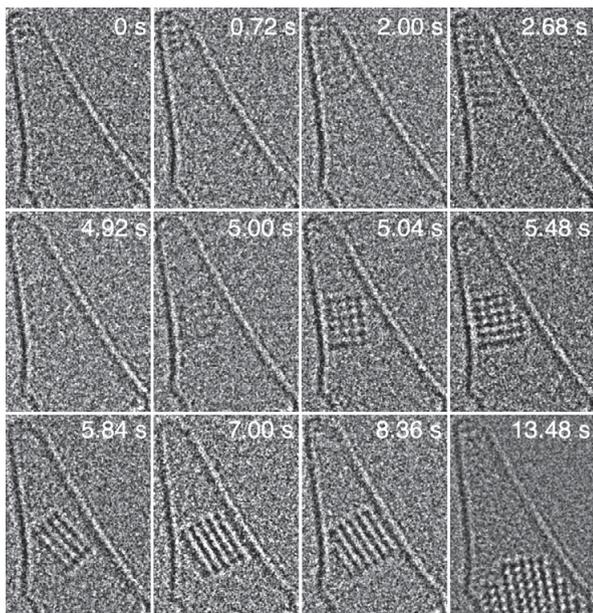


図7 CNH 中での NaCl 結晶核生成とエピタキシャル成長を捉えた映像 (EDR = $4.0 \times 10^5 \text{ e}^- \text{ nm}^{-2} \text{ s}^{-1}$). スケールバーは 1 nm. 文献 14 から許可を得て転載.

では NaCl 分子が集まって核形成する瞬間およびそれに引き続く結晶成長の過程を、1 回につき数秒から 10 秒にわたり、9 回繰り返し観察することができた (図 7)¹¹⁾. この観察では 9 回の結晶核形成現象が繰り返し観察された. ここでは毎回規則正しく、ナトリウムと塩素が 48 個ずつで整然と集合した結晶が出現した一方で、結晶核が出現するタイミング自体は毎回大きく異なり、その時間は正規分布に従う.

5. 分子科学者のための原子番号相関分子模型 (ZC 模型)

以上述べたように、SMART-EM 法によって原子や分子、さらにはその集合体の動きや反応をあたかも分子模型をみるがごとくに映像として記録できる. しかし、このような電顕像がどのような分子構造に由来するものなのかを決めるのはなかなか難しい. 図 8 に炭素、水素、亜鉛、ヨウ素などからなる金属有機構造体のクラスターの例を示す¹⁵⁾. 空間充填模型では水素や炭素などの軽い元素の半径が過大に強調され、電顕像とは似ても似つかないものとなる. これは、空間充填模型は原子の電子雲の広がりを反映した模型であるのに対し、電子顕微鏡像にあらわれる原子像の「濃さ」はその原子の原子番号 (Z) に依存した原子散乱因子を反映したものになるからである¹⁶⁾. この「電顕像と化学構造を結びつける」ことの難しさは電顕の発明以来の課題であり、分子科学における原子分解能電顕の普及を妨げる原因となってきた.

この問題に考察を加える中で、透過電顕における原子像の濃さは原子番号に依存するものの、その大きさは画像ノイズの無い理想的な条件においては原子番号とほとんど相関がなくほぼ同じである一方で、電子線量に応じた画像ノイズを考慮すると、電顕像において視認される原子サイズが原子番号

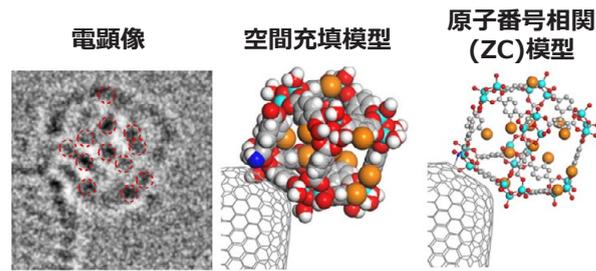


図 8 ヨウ素原子、亜鉛原子などを含む 1 ナノメートルサイズの有機無機複合体クラスターの電顕像と、構造に対応する空間充填模型および原子番号相関模型 (ZC 模型). ZC 模型により重いヨウ素原子 (電顕像の赤点線, 模型では橙色で表現) の位置, 大きさが正しく再現される. スケールバーは 1 nm.

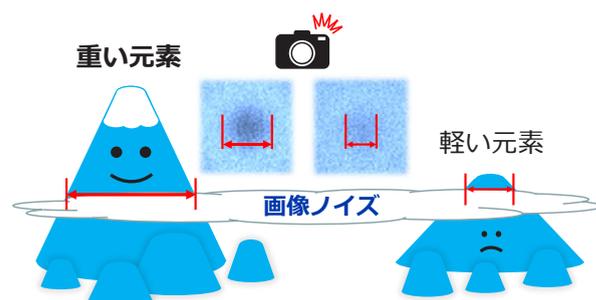


図 9 ZC 模型の原子サイズ決定原理. 「雲海から突き出た山の裾の広がり (赤矢印) を見て、山の大きさを比較する」が如くに「ノイズの海の上に見えるシグナルの半径の理論値」を元素ごとに定量評価することで ZC 模型の原子半径パラメータを決めた.

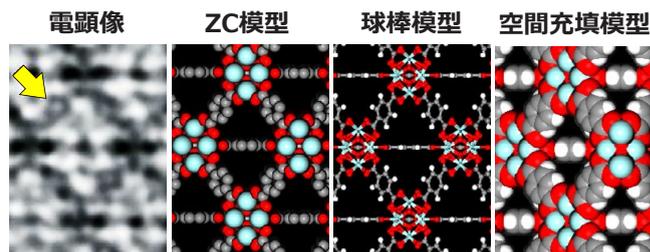


図 10 ジルコニウム錯体とテレフタル酸からなる金属有機構造体 UiO-66 の薄膜結晶の透過電顕像と、結晶構造に対応する ZC 模型, 球棒模型, 空間充填模型. 矢印で示したベンゼン環部分の像の比較からもわかるように, ZC 模型が電顕像に現れる各原子のサイズを最もよく再現する. 文献 18 から許可を得て転載.

に強い相関を示すことを発見した¹⁷⁾. 雲海 (ノイズ) の上に見える山 (シグナル) をみれば、高さの異なる山は異なった大きさに見える、という原理である (図 9). この方法によって、透過電顕像シミュレーションから各元素の半径を決定し、これを球棒模型における原子の表示サイズとした原子番号相関分子模型 (ZC 模型) を提案した¹¹⁾. 図 7 に示すように、ZC 模型を用いることで従来の空間充填模型を用いるよりもはるかに正確に分子構造を推定できる. 照射した電子量や試料の厚みに対応して、高ノイズ条件、低ノイズ条件での 2 種

類の原子像半径を各元素ごとに決定した。前者は特に単一の有機分子や分子集合体、超原子や金属酸化物クラスターなどの1〜数ナノメートル程度の観察対象の像をよく再現し、後者は前出のゼオライトや有機鉛ペロブスカイトや、有機物、無機物、有機無機複合体 (図 10)¹⁸⁾、イオン結晶など、様々な物質の薄膜試料の電顕像をよく再現する。

6. おわりに

SMART-EM 実験は分子試料を対象とした「低ドーズ条件のデータ収集」の例である。情報量の少ない一枚一枚の高速画像に対して CTV ノイズ除去プログラムを使って画質を大幅改善することで、高速カメラの最高性能に迫る撮影を実現した。さらに、高速カメラの利点を活かして、同一の観察対象を繰り返す測定・平均することで検出器のピクセル分解能を超えた位置決定精度で分子間距離が測定できることがわかった。

20 世紀は映像の世紀と言われてきたが、分子科学の世界では高時間・高空間分解分子映像の重要性が顧みられることは殆どなかった。21 世紀に入って久しい今日、SMART-EM 法により有機および無機の単一分子のダイナミックな動きを原子レベルの動画として研究できる新しい時代が到来した。また ZC 模型によって、分子の構造と電顕画像の相関をより良く理解することができるようになった。映像分子科学の手法によって、人々が頭で想像するだけだった分子の世界をより身近なものとして感じるようになった。初等中等教育への波及効果も期待される^{注2)}。

注

注 1) 動画は以下の QR コードのリンク先で閲覧可能である。



動く分子の世界最
高速での動画撮影



結晶ができる瞬間
を捉えた！



ZC 分子模型

注 2) ZC 模型による分子描画ソフトウェアは以下の QR コードのリンク先から無料でダウンロード可能である (株式会社システムインフロンティア提供)。



文 献

- 1) Keinan, E.: *AsiaChem.*, 2, 96–103 (2021)
- 2) Nakamura, E.: *Acc. Chem. Res.*, 50, 1281–1292 (2017)
- 3) Koshino, M., Tanaka, T., Solin, N., Suenaga, K., Isobe, H. and Nakamura, E.: *Science*, 316, 853 (2007)
- 4) Ischenko, A.A., Weber, P.M. and Miller, R.J.D.: *Chem. Rev.*, 117, 11066–11124 (2017)
- 5) Egerton, R.F.: *Micron*, 119, 72–87 (2019)
- 6) Liu, D., Kowashi, S., Nakamuro, T., Lungerich, D., Yamanouchi, K., Harano, K. and Nakamura, E.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 119, e2200290119 (2022)
- 7) Chambolle, A.: *J. Math. Imaging Vis.*, 20, 89–97 (2004)
- 8) Stuckner, J., Shimizu, T., Harano, K., Nakamura, E. and Murayama, M.: *Microsc. Microanal.*, 26, 667–675 (2020)
- 9) Gorgoll, R.M., Yücelen, E., Kumamoto, A., Shibata, N., Harano, K. and Nakamura, E.: *J. Am. Chem. Soc.*, 137, 3474–3477 (2015)
- 10) Zewail, A.H.: *Science*, 328, 187–193 (2010)
- 11) Shimizu, T., Lungerich, D., Stuckner, J., Murayama, M., Harano, K. and Nakamura, E.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 93, 1079–1085 (2020)
- 12) Warner, J.H., Ito, Y., Ruemmeli, M.H., Buechner, B., Shinohara, H. and Briggs, G.A.D.: *ACS Nano*, 3, 3037–3044 (2009)
- 13) Shimizu, T., Lungerich, D., Harano, K. and Nakamura, E.: *J. Am. Chem. Soc.*, 144, 9797–9805 (2022)
- 14) Nakamuro, T., Sakakibara, M., Nada, H., Harano, K. and Nakamura, E.: *J. Am. Chem. Soc.*, 143, 1763–1767 (2021)
- 15) Xing, J., Schweighauser, L., Okada, S., Harano, K. and Nakamura, E.: *Nat. Commun.*, 10, 3608 (2019)
- 16) Kirkland, E.J.: *Advanced Computing in Electron Microscopy 2nd ed.*, Springer, 84–85 (2010)
- 17) Xing, J., Takeuchi, K., Kamei, K., Nakamuro, T., Harano, K. and Nakamura, E.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 119, e2114432119 (2022)
- 18) Zhang, D., Zhu, Y., Liu, L., Ying, X., Hsiung, C.-E., Sougrat, R., Li, K. and Han Y.: *Science.*, 359, 675–679 (2018)