

20250915 (ver. 2.2)

岡山大学クライオ電子顕微鏡マニュアル

Titan Krios G4 and Falcon 4i

管理者編

謝辞

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

を参考に作成し、公開しました。

KEK テキスト作成者のみなさまに心より感謝申し上げます。

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

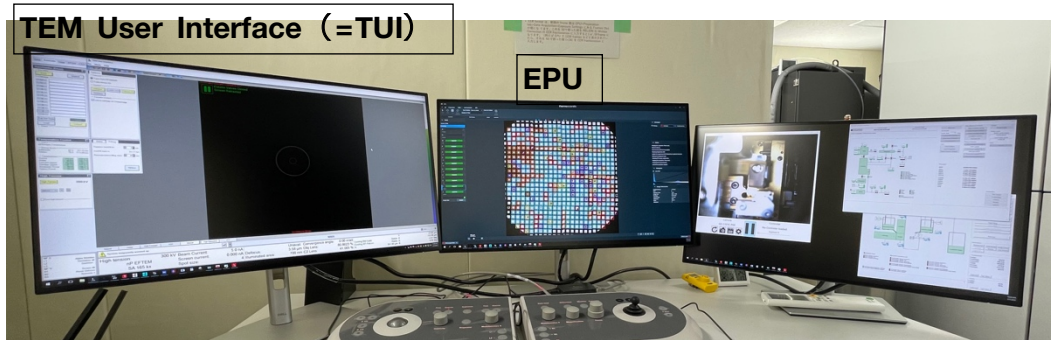
沼本修孝

目次

I.	試料交換.....	4
1.	Inventory.....	4
2.	EPU の再起動	6
3.	調整用 Atlas 取得.....	8
II.	ビームの調整（毎日）	10
1.	グリッドの穴の空いたところに移動.....	10
2.	ピボットポイントの調整.....	13
3.	C2 絞りの中心合わせ	16
4.	Auto Zero-Loss	18
5.	対物絞りの中心合わせ（UltrAufoil を使用しない場合は省略）	19
6.	EPU の倍率間の中心合わせ.....	23
7.	AutoCTF（非点収差・コマ収差の補正）	29
8.	Dose の設定	33
III.	必要に応じて行う調整、メンテナンス	36
1.	Conditioning	36
2.	Energy filter 関連（Sherpa を用いた調整）	39
3.	Gain reference の取得	43
4.	Sherpa を使用した AutoCTF	45
5.	ビームが大きくズレたときなど	49
6.	Rotation Center（電流軸を対物レンズの中心に通す）	50
IV.	その他の注意点	54
1.	EPU tab (Hole selection) で Auto eucentric が失敗するとき	54
2.	どうしても「ここ」で eucentric height を決めたい	56
3.	EER 形式でのデータ収集	58
4.	Dose rate と Spot size, Illuminated area	59
V.	Atlas の取得.....	60
VI.	データ測定	62
1.	グリッドのスクリーニング	62
2.	CryoFlow での確認.....	72
3.	データの連続測定.....	76
4.	Multi Grid Session によるデータ測定	86

I. 試料交換

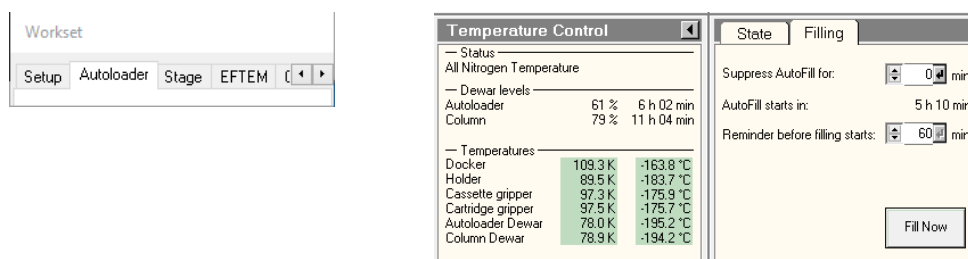
*TEM User Interface は version 3.22.1、EPU は version 3.11



1. Inventory

TEM User Interface (=TUI) を使います

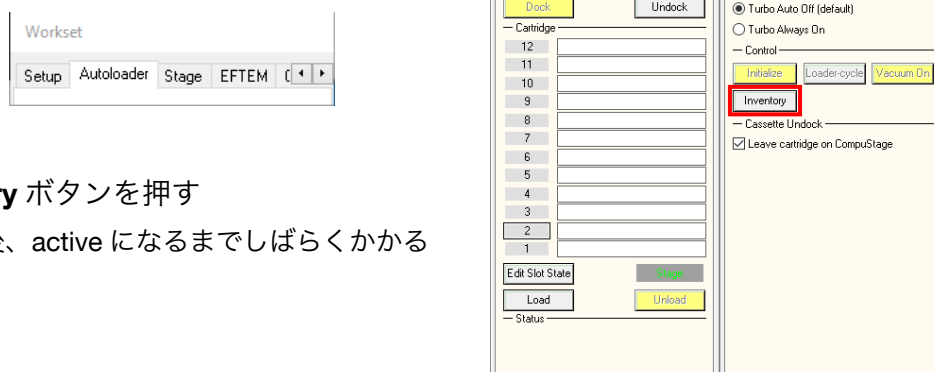
TUI > Autoloader tab > Temperature Control



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°C以下になるまで待つ（数分）

Optionウィンドウが開いていない場合はここをクリック

TUI > Autoloader tab > Autoloader > Option



Inventory ボタンを押す

*Dock 後、active になるまでしばらくかかる

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
3
2
1

Edit Slot State Stage

Load Unload

— Status

Mapping cassette slot
Moving cartridge arm to the cassette

Options

— Vacuum

☒ Turbo Auto Off (default)
☐ Turbo Always On

— Control

Initialize Loader-cycle Vacuum On

Stop Inv.

— Cassette Undock

☒ Leave cartridge on CompuStage

濃いグレー：グリッドがないと判定

青：グリッドありと判定

薄いグレー：まだ認識作業がなされていない

*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

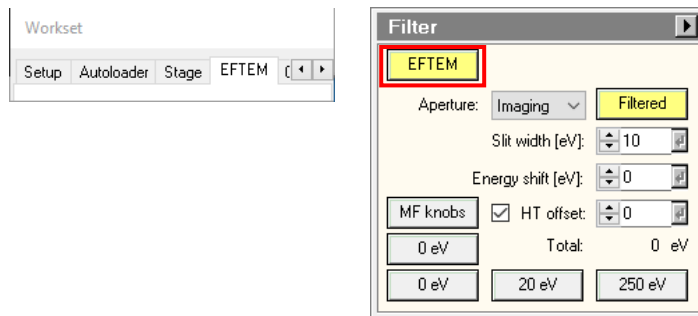
*この名前が結果のフォルダ名等に反映されることはない。メモを残しておく。

2. EPU の再起動

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

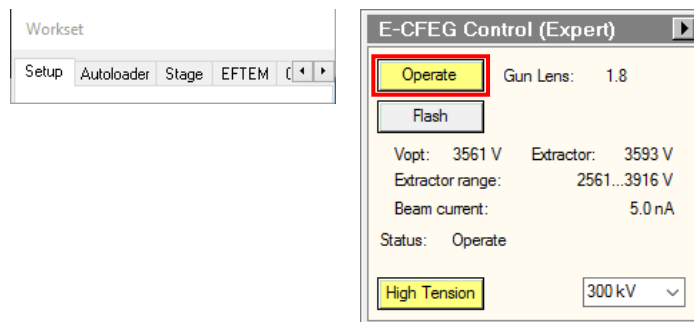
黄色くなっていなかったら **EFTEM** ボタンを押して黄色にする



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



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

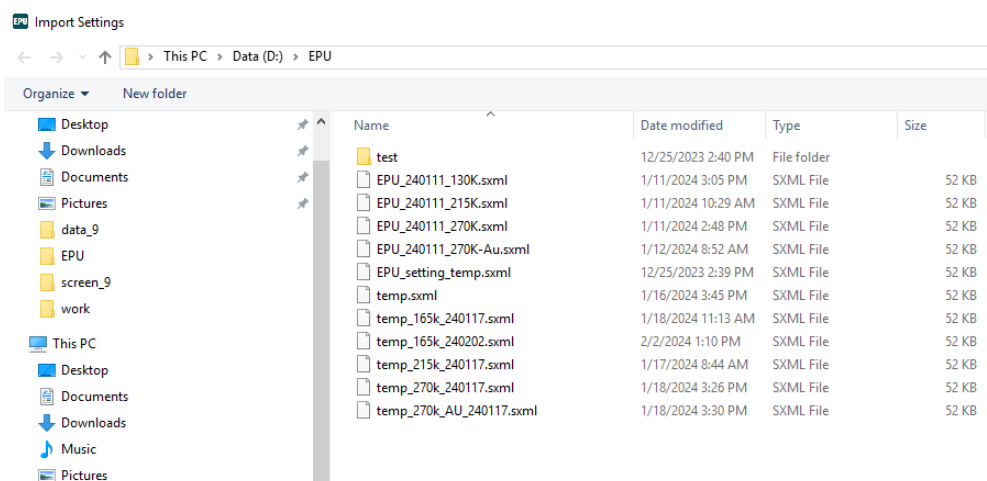
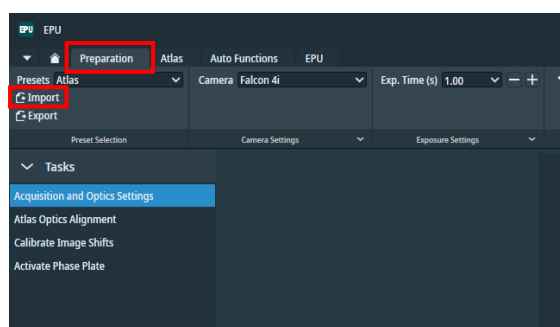


前回から倍率が変わる場合のみ *あるいは何らかの設定値を元に戻したいとき

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

D:/EPU/temp_xxxk_YYMMDD.xml

(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)

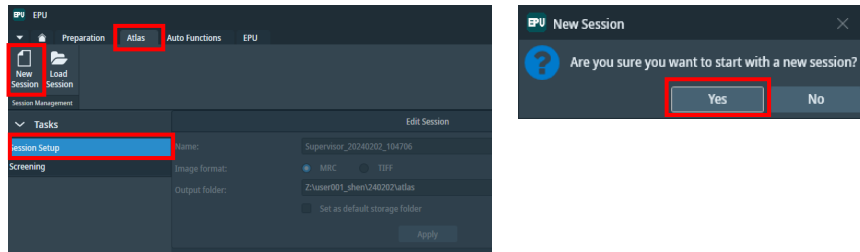


*前回から倍率や設定の変更がないなら、やらないほうがよい

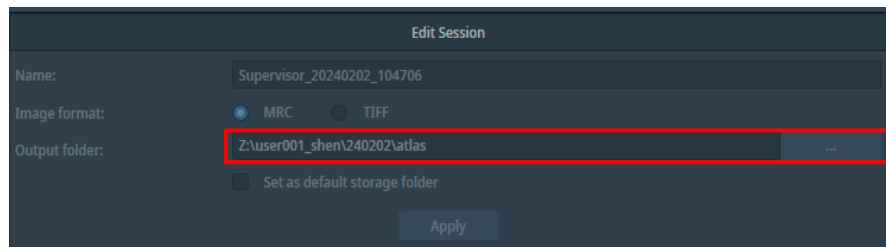
3. 調整用 Atlas 取得

EPU > Atlas tab

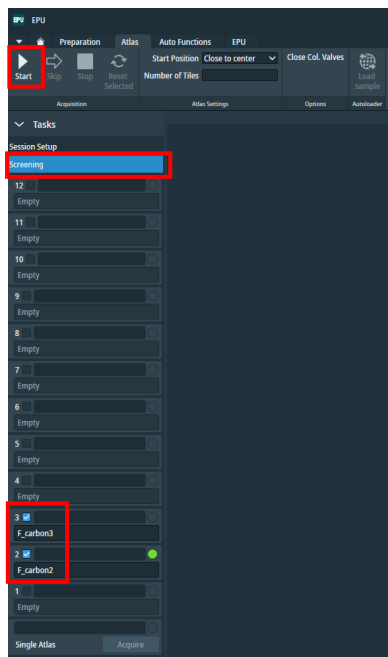
Session Setup > New Session > Yes



Output folder を指定（保存先：Z:/userxxx/yymmdd/atlas/）して **Apply**

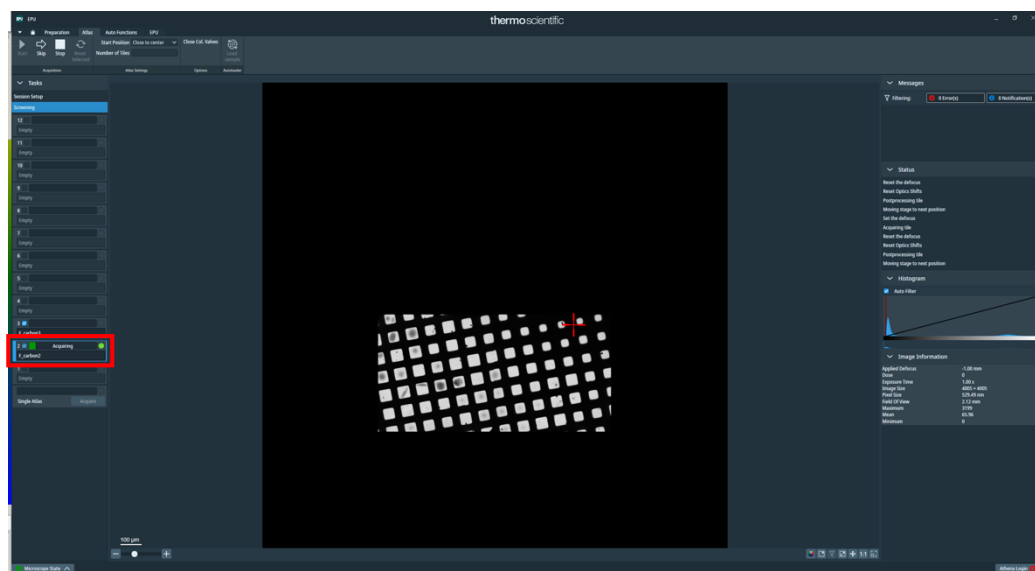


Screening を押して、撮りたい grid の番号にチェックを入れて（ひとつでよい）、**Start** ボタンを押すと Atlas 撮影開始



Acquiring をクリックすると画像が表示される

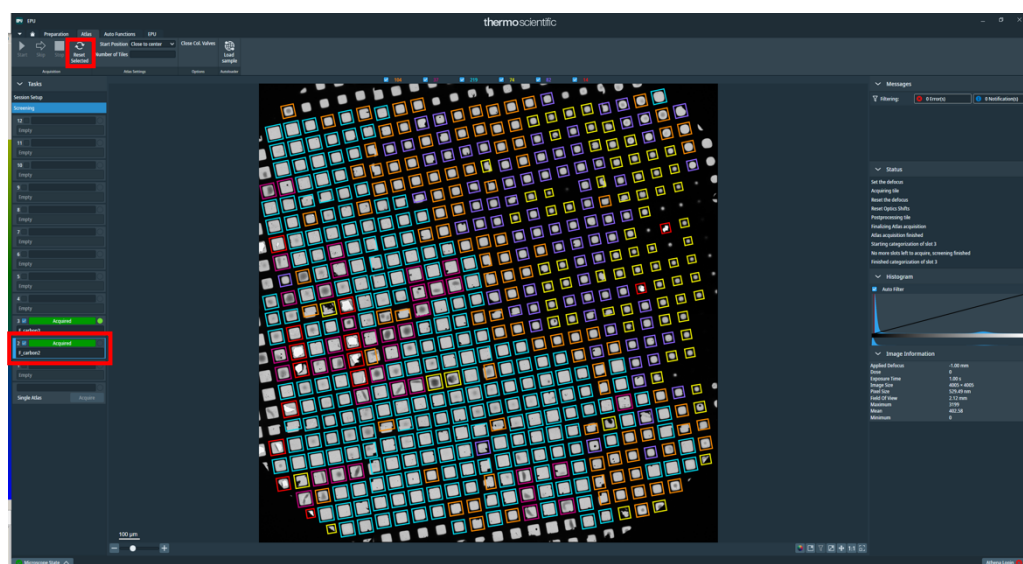
*4x4 で全体像を撮影するのではしばらく待つ。グリッドの入れ替えの時間も含めて、1 枚あたり、10 分弱？ 調整に十分なタイル画像が得られ次第 **Stop** してよい



*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

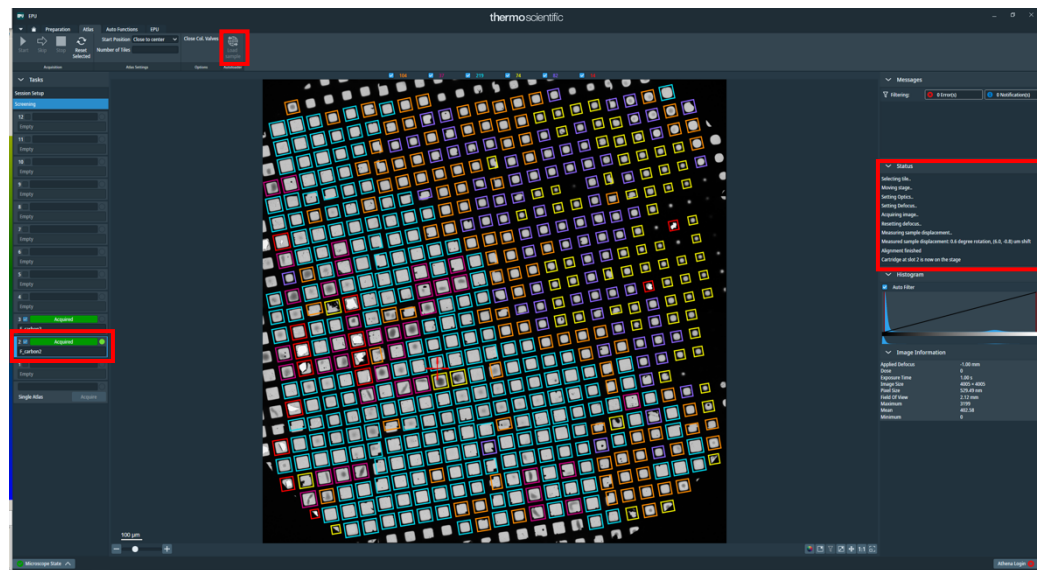


II. ビームの調整（毎日）

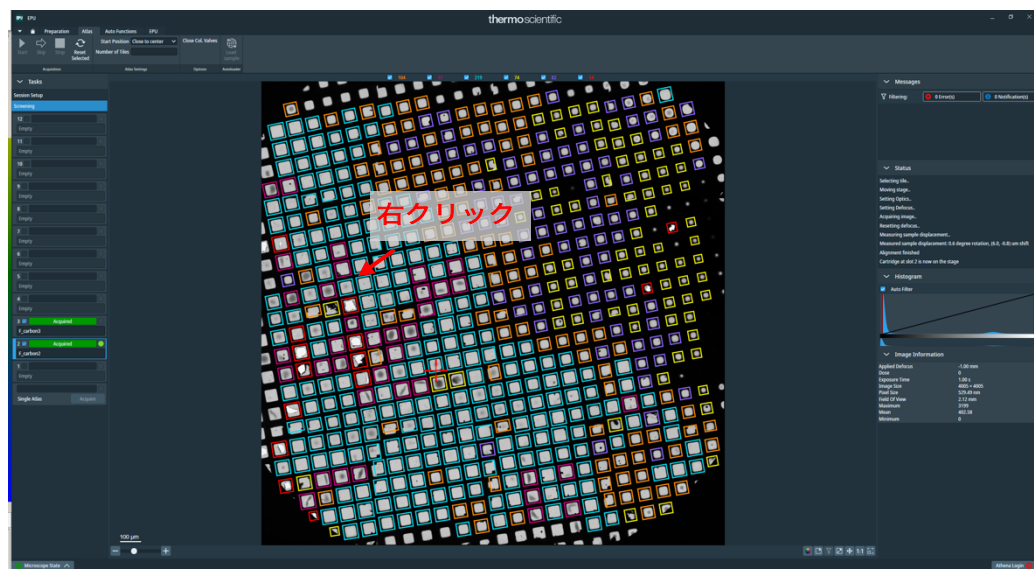
1. グリッドの穴の空いたところに移動

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



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



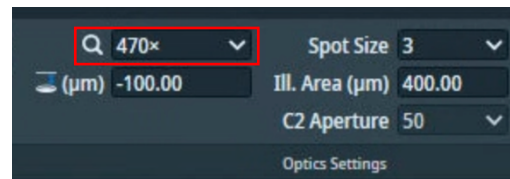
EPU > Preparation tab > Presets -> Grid Square

300 mesh のグリッドの場合、740x

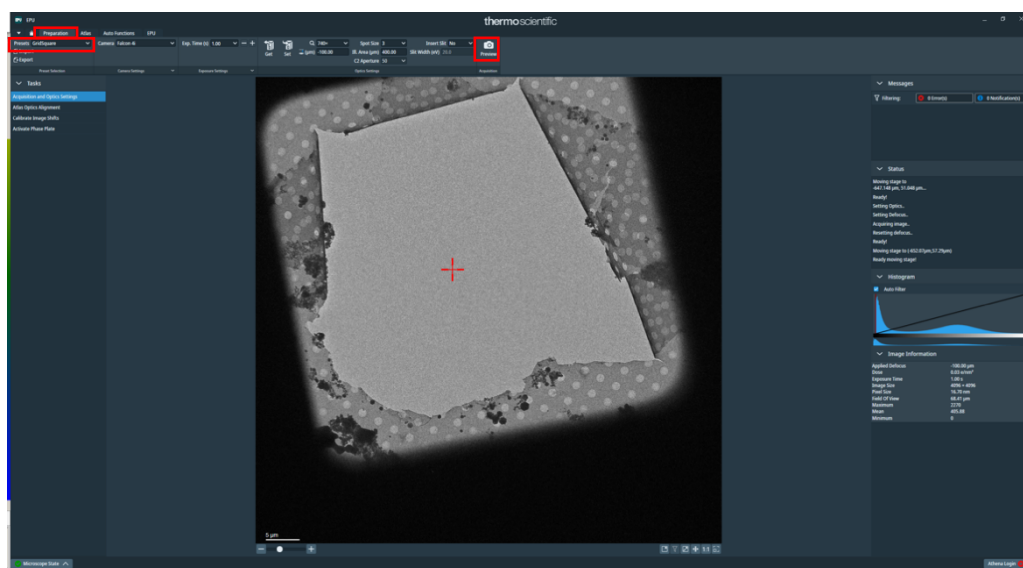
200 mesh のグリッドの場合、470x

を選択

*Spot Size, Ill. Area はそのままでよい



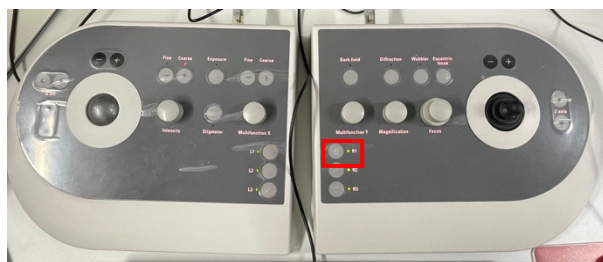
Preview を押す



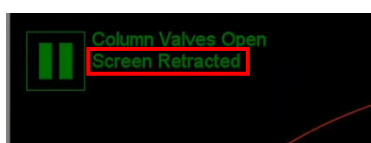
きちんと穴のあいたところにいることを確認する

*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**

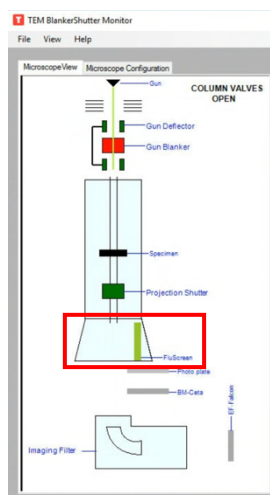
R1 を押して蛍光板を下ろす（入れる）



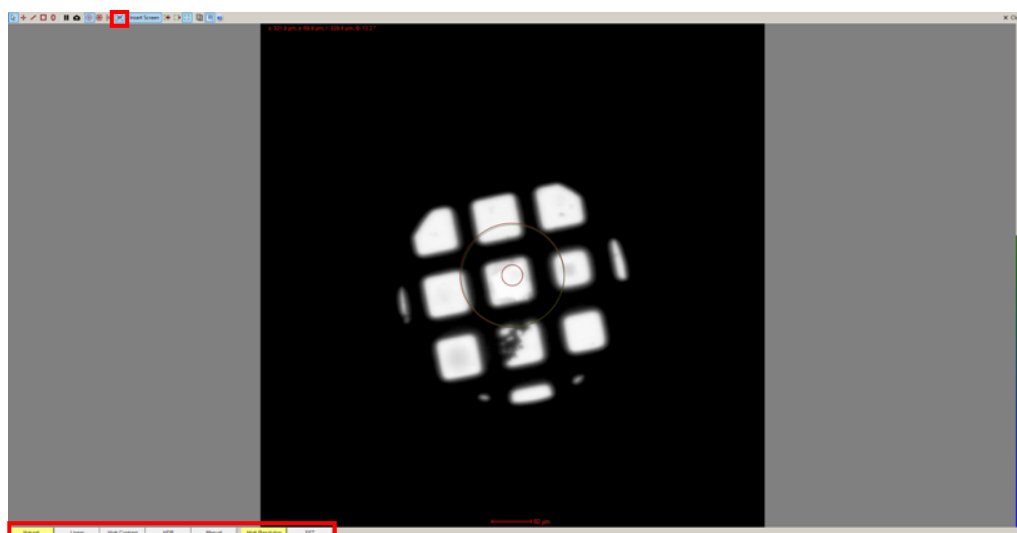
*蛍光板の状態は、TUI の Flucam Viewer の画面か、TEM BlankerShutter Monitor の画面で確認出来る



*これらは、蛍光板が上がっている（入っていない）状態



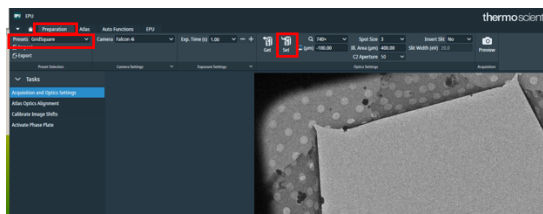
Flucam Viewer が **EF** (= Energy filter の中心を緑の円で表示)、**Natural, High Resolution** となっていることを確認



2. ピボットポイントの調整

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)

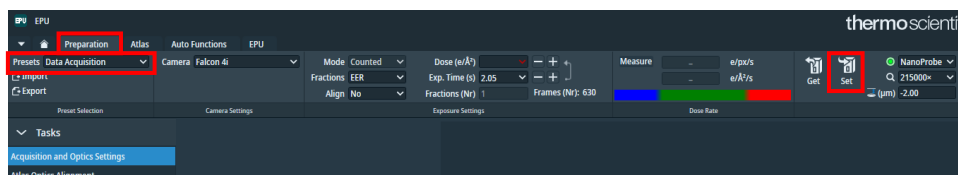


High tension:	300 kV	Beam Current:	5.8 nA	Dose rate:	0.00 e/Å²/s	C2 Lens:	52.478 %	Cooling BM-Ceta:	Stable X:	-108.57 μm	
		Screen current:	0.144 nA	Defocus:	0 nm	C3 Lens:	43.385 %	Cooling EF-Falcon:	Stable Y:	-127.39 μm	
EFTEM		Spot size:	3	Illuminated area:	400 μm	Obj Lens:	7.0473 %	A:	-0.01 deg	Z:	-10.22 μm
LM 740 x											

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。

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



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。

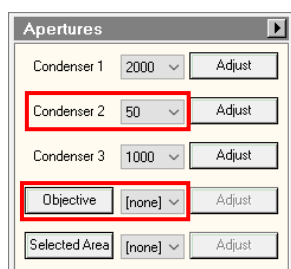


High tension:	300 kV	Beam Current:	5.0 nA	Dose rate:	15.8 e/Å²/s	C2 Lens:	41.005 %	Cooling BM-Ceta:	Stable X:	-520.90 μm	
EFTEM		Screen current:	0.066 nA	Defocus:	0 nm	C3 Lens:	49.561 %	Cooling EF-Falcon:	Stable Y:	-623.28 μm	
SA 165 kx		Spot size:	4	Illuminated area:	700 nm	Obj Lens:	80.7993 %	A:	-0.01 deg	Z:	-0.01 μm

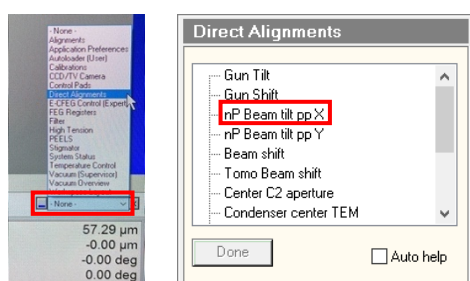
*以上の操作で、LM と SA の defocus をリセットしている。

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

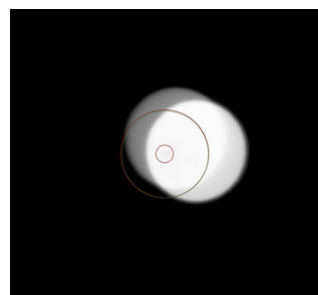
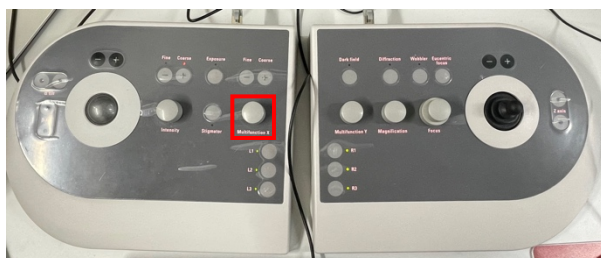
*C1=2000, C3=1000 は今後一切触らなくて OK



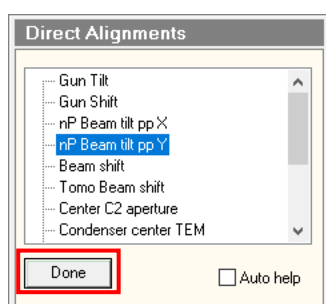
TUI 右下 > **Direct Alignment** から **nP Beamtilt pp X** を選ぶ



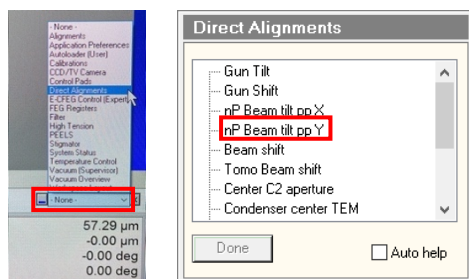
操作板の **Multifunction-X** のみで、点滅する 2 つの光が重なるように調整する



Done を押す

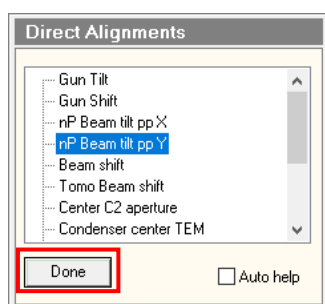


TUI 右下 > **Direct Alignment** から **nP Beamtilt pp Y** を選ぶ



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

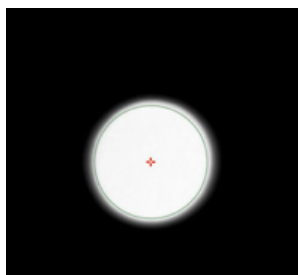


3. C2 絞りの中心合わせ

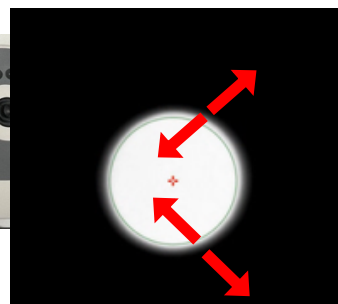
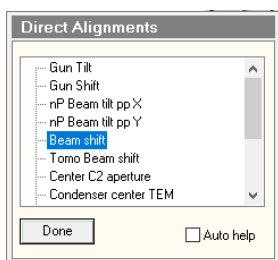
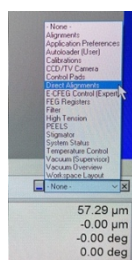
グリッドの穴にいて、蛍光板が下りていることを確認

1 回目

Intensity ダイアルを左に回して光を絞って、Flucam Viewer の内側の緑の円くらいの大きさにする



TUI 右下 > **Direct Alignment** > **Beam shift** を選び **Multifunction** ダイアルで光を中央へ合わせ

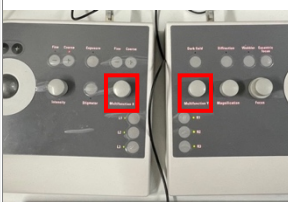
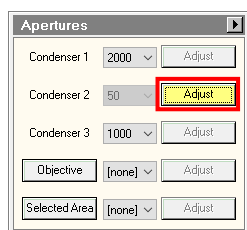


Intensity ダイアルを右に回して、光が外側の赤い円の大きさにするまで広げる



光のコントラストは、マウスのホイールで調整できる

C2 の右横の **Adjust** を押して、**Multifunction** ダイアルで、光の円が赤い円に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

2 回目

再度光を緑の円くらいに絞って、**Multifunction** ダイアルで光を中央に移動

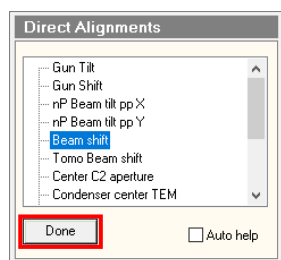
Intensity ダイアルを右に回して、光が外側の赤い円の大きさになるまで広げる

C2 の右横の **Adjust** を押して、**Multifunction** ダイアルで、光の円が赤い円に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

再度光を内側の緑の円くらいに絞る。この際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 で **Done** を押す



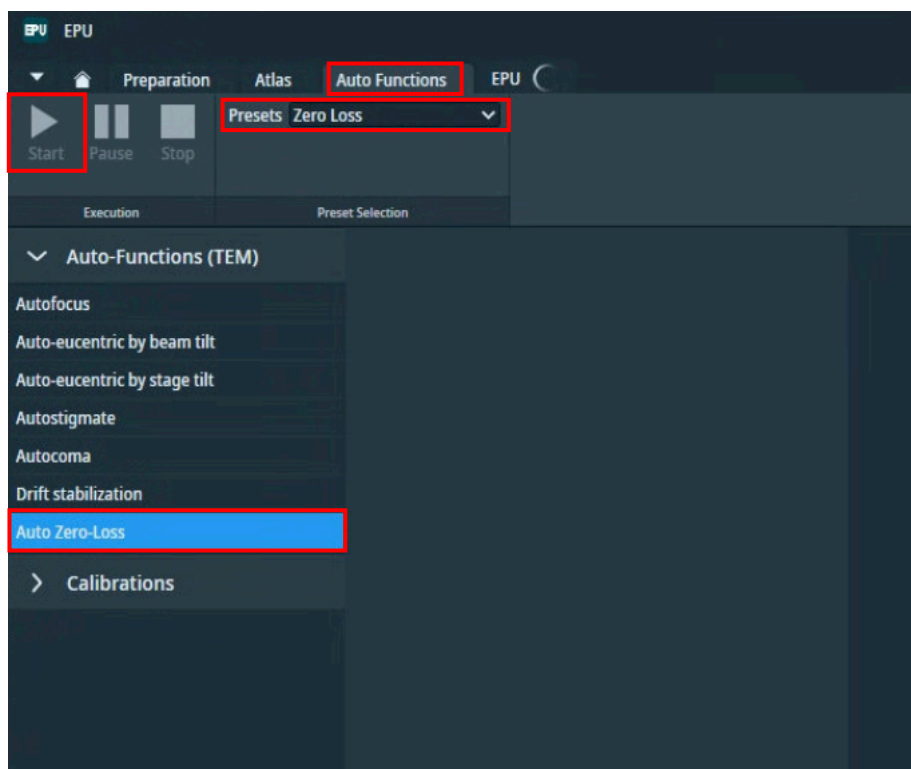
*Atlas のときは C2=150 を使うので、atlas で不具合を感じたときなどは C2=150 でも同様の調整を行うとよいかも。

4. Auto Zero-Loss

*前項の続きである（グリッドの穴にいて、ビームが中心にいる）ことが前提

EPU > Auto Functions tab > Auto Zero-Loss

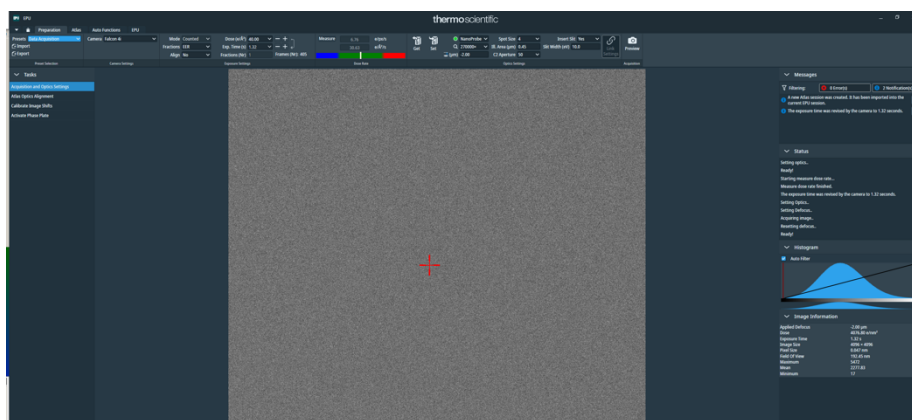
Presets が Zero Loss であることを確認して **Start**



*Energy filter の芯出しを行っている

EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで **Preview**

画像が flat であることを確認



*もし flat でなかったら、このページ冒頭からやり直し

5. 対物絞りの中心合わせ (UltrAufoil を使用しない場合は省略)

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

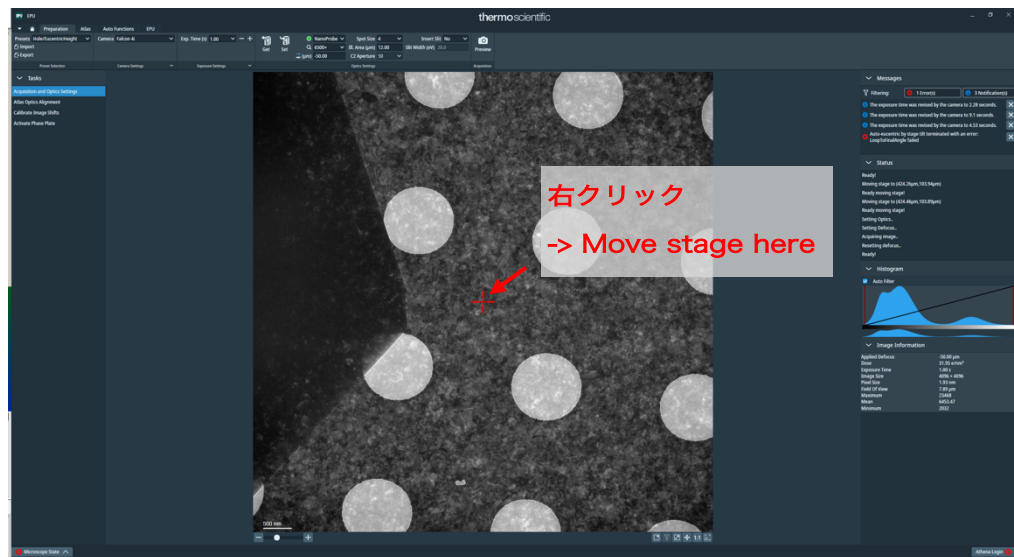
EPU > Atlas tab できれいなスクエアを選んで **Move stage here**

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

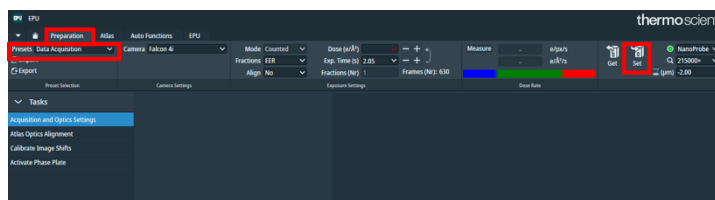
Presets を Hole/Eucentric にして **Start**

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**



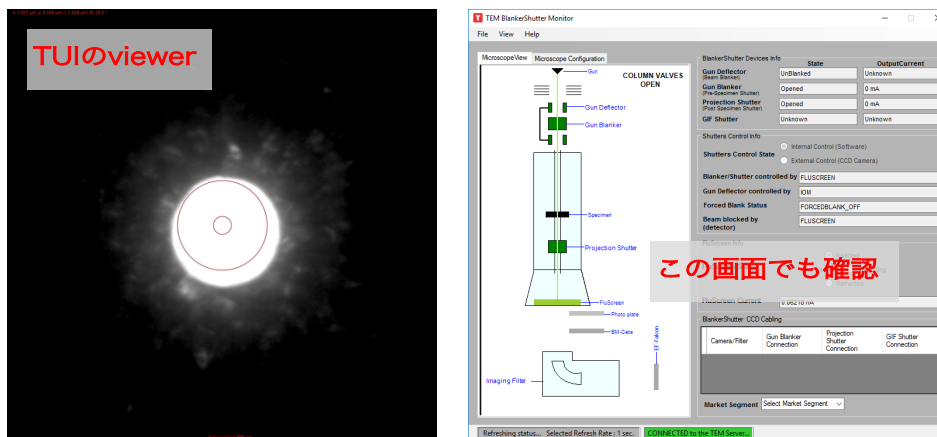
EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで **Set**



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



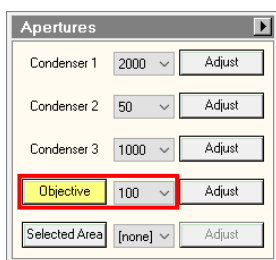
操作板の **Diffraction** ボタンを押す



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

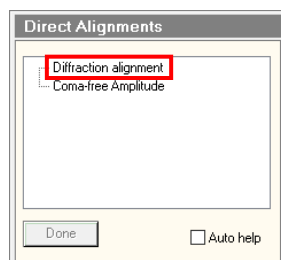


TUI は HDR モードにする

*対物絞りの影が見つらい場合はマウスホイールで調整

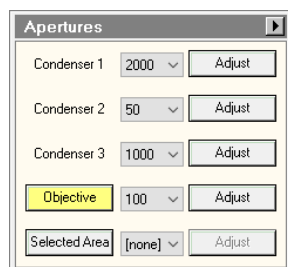


ビームが中央になければ **Direct Alignment** > **Diffraction Alignment** で、**Multifunction** ダイアルで中央にもってくる

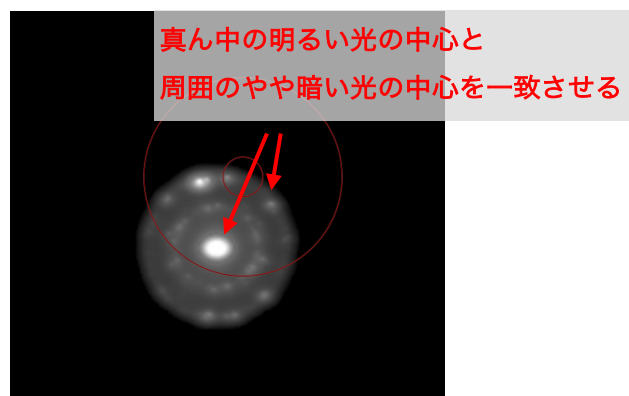


(以下の枠内の 3 点は、よほどズれていない限りやらないほうが無難?)

Objective の横の **Adjust** ボタンを押す



Multifunction ダイアルで、明るい光の中心と、周囲のぼやっとした光の中心が合うようにする



Objective の横の **Adjust** ボタンを再度押す

操作板の **Diffraction** ボタンを再度押して **diffraction mode** を終了

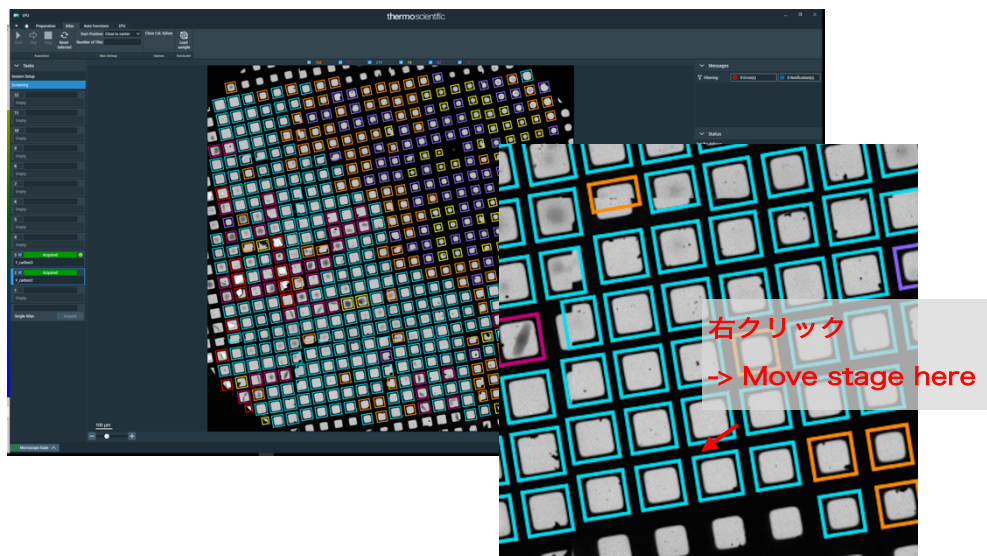
*FluCam Viewer の表示は自動で Natural に戻るはず

UltrAufoil での観察は、**Obj = 100** としたまま行えばよい

6. EPU の倍率間の中心合わせ

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

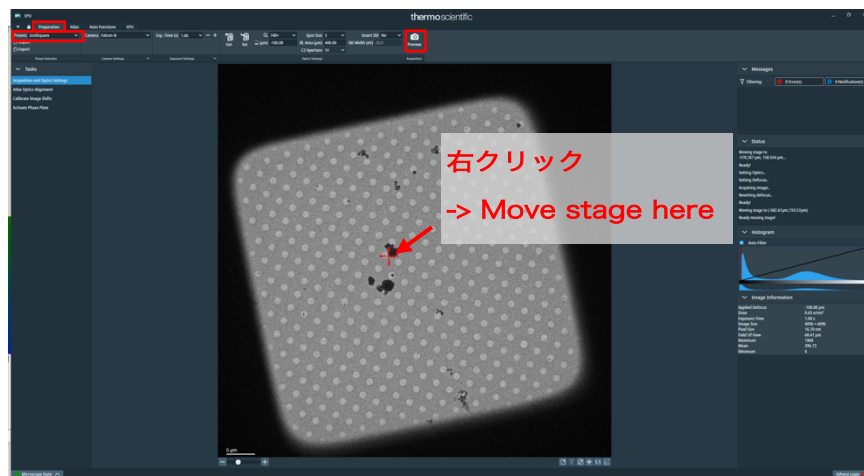
EPU > Atlas tab を見て目立つゴミのあるところに **Move stage here**



*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 **Preview**

目立つゴミのあるところに右クリック > **Move stage here** で移動



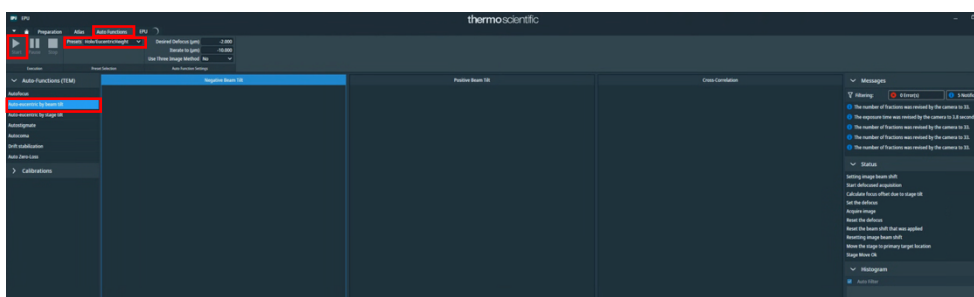
EPU > Preparation tab > Presets から Hole/Eucentric を選び Preview

目立つゴミのあるところに右クリック > **Move stage here** で移動

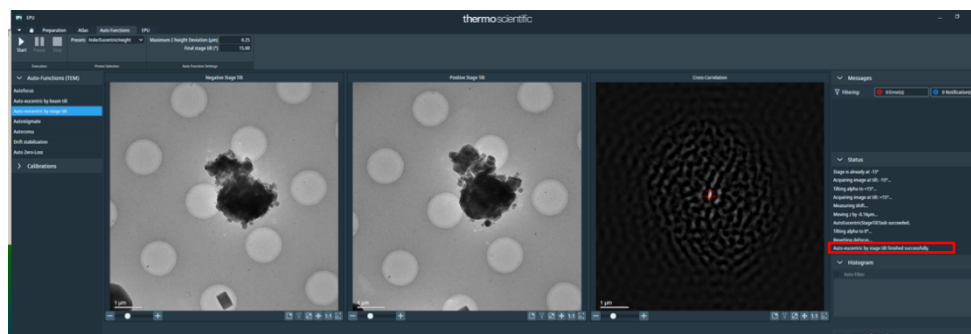


EPU > Auto Functions tab で **Auto-eucentric by beam tilt** を選択

Presets を Hole/Eucentric にして **Start**



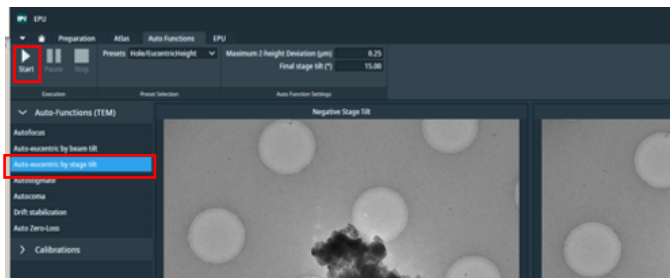
Status で「Auto-eucentric by stage tilt finished successfully」の表示を確認



*Auto-eucentric が失敗したら、

Acquiring negative tilt image (1)...
Acquiring positive tilt image (1)...
Succeeded=True, Measured defocus=-0.021µm
Measured defocus = -0.021µm.
Automatic grid square preparation stopped due to failure.

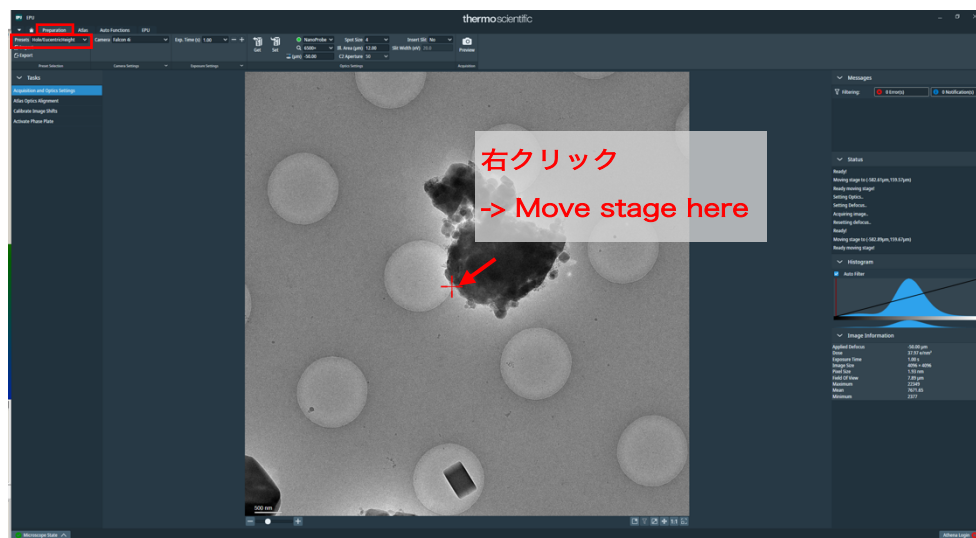
Auto-eucentric by stage tilt を選択してもう一度 **Start**



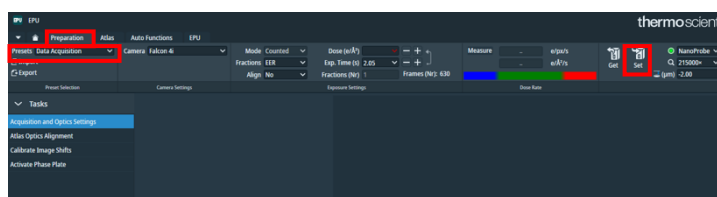
*どちらかで成功すればよい

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

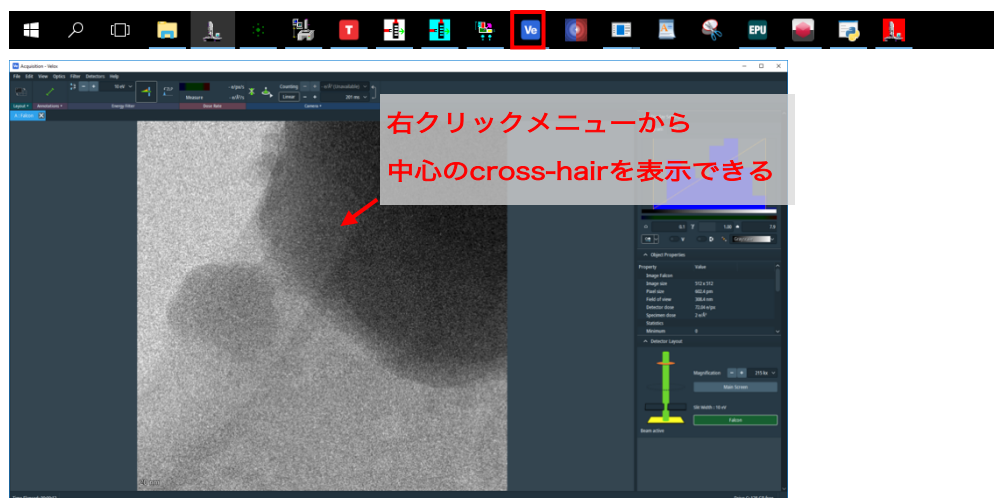
ゴミの角もしくはゴミと Hole の交点などに **Move stage here**



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）



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

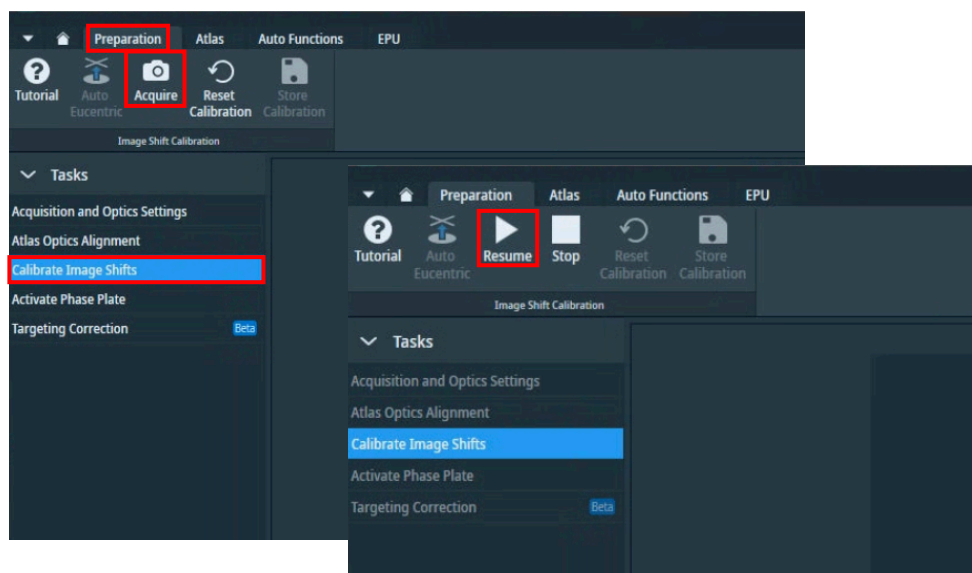
ゴミの角もしくはゴミと Hole の交点などを中心にもってくる

*何度かダブルクリックを繰り返さないと中心に行かない？

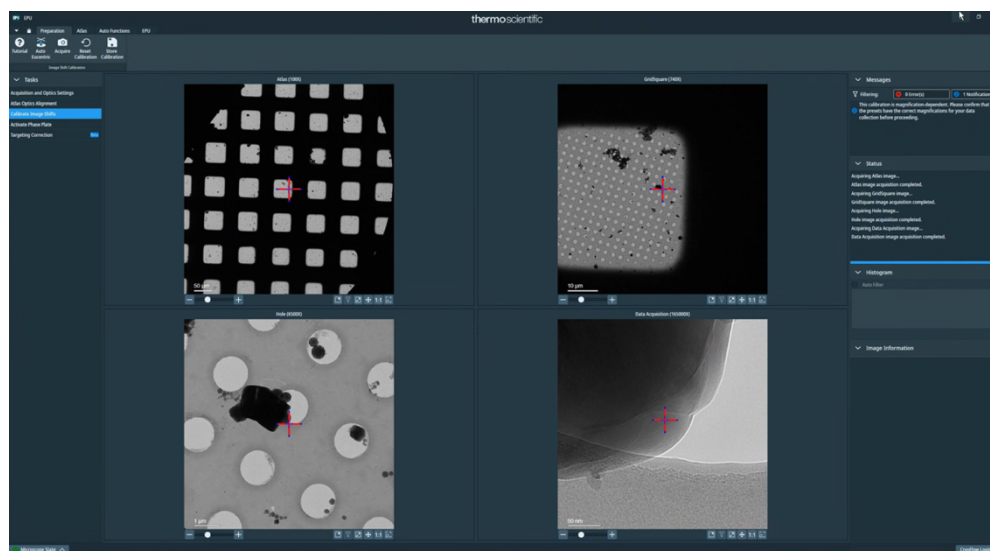


もう一度  アイコンをクリックしてビーム照射終了

EPU > Preparation tab から **Calibrate Image Shift** を選んで
Acquire > Resume

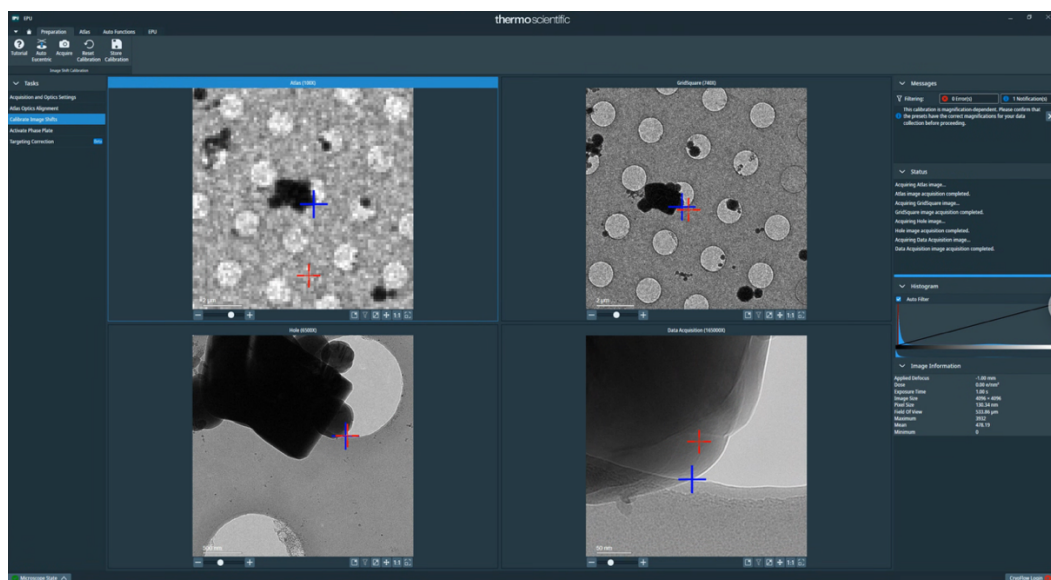


Atlas, Grid square, Hole/eucentric, Data acquisition で設定された倍率で順次撮影される

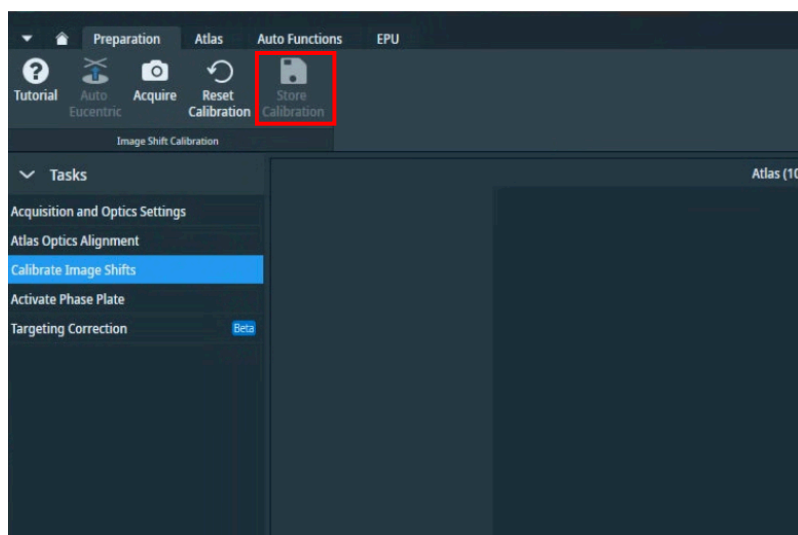


それぞれの倍率での画像で、対応する点をダブルクリックで指定する。

*高倍率の画像から順に行う。なるべく両者の画像のスケールを合わせて、対応する点をダブルクリックするとよい。



よければ、**Store Calibration**



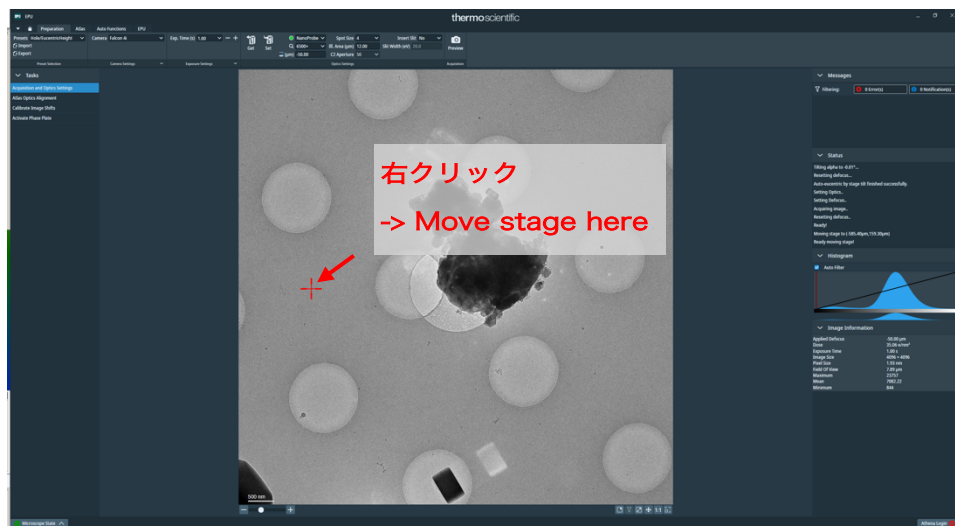
*倍率を変更した場合はその都度やり直す

7. AutoCTF（非点収差・コマ収差の補正）

*この補正は carbon film のグリッドでないとできない

*Sherpa を使用した調整法は、III. 4.を参照

EPU > Preparation tab > Presets の Hole/Eucentric にゴミ画像が残っているはず。
付近のなるべくきれいなカーボン面を右クリックして **Move stage here**



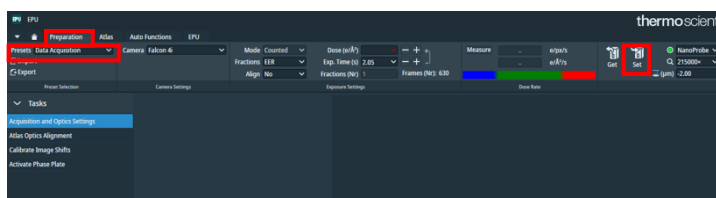
観察試料が繊維状のポリマーなどの場合は要注意！

カーボン面にもびっしり試料が乗っている場合が多く、試料由来の規則性により **Thon ring** が著しく歪められる恐れがある

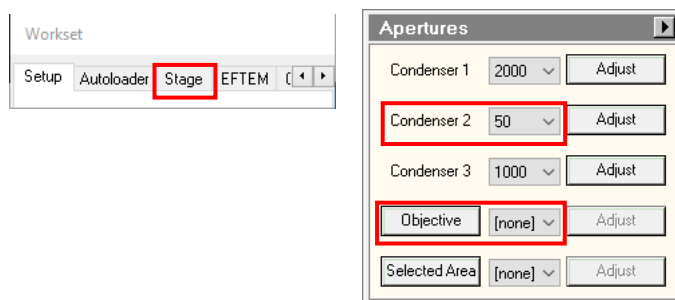
そのまま調整を進めてしまうと、大変おかしいことになる

Sherpa を使った調整（III. 4.）では、最初に Snap を撮るのでやや安全

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

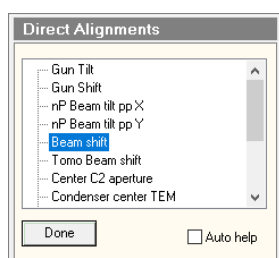


TUI > Autoloader tab > Apertures を見て **C2=50, Obj=none** であることを確認

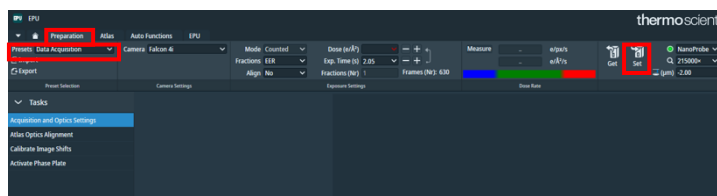


R1 を押して蛍光板を下げる

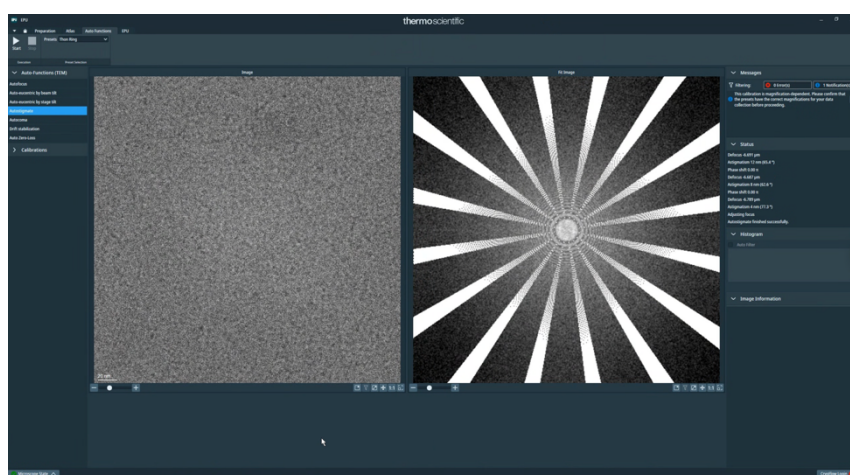
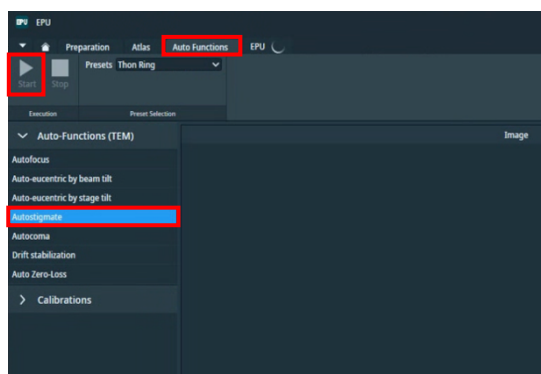
ビームが中央になれば **Direct Alignment** > **Beam Shift** で中央にして **Done**



もう一度、Data Acquisition で **Set** して、**R1** を押して蛍光板を上げる



EPU > Auto Functions tab で **Autostigmatize** を選択して **Start**

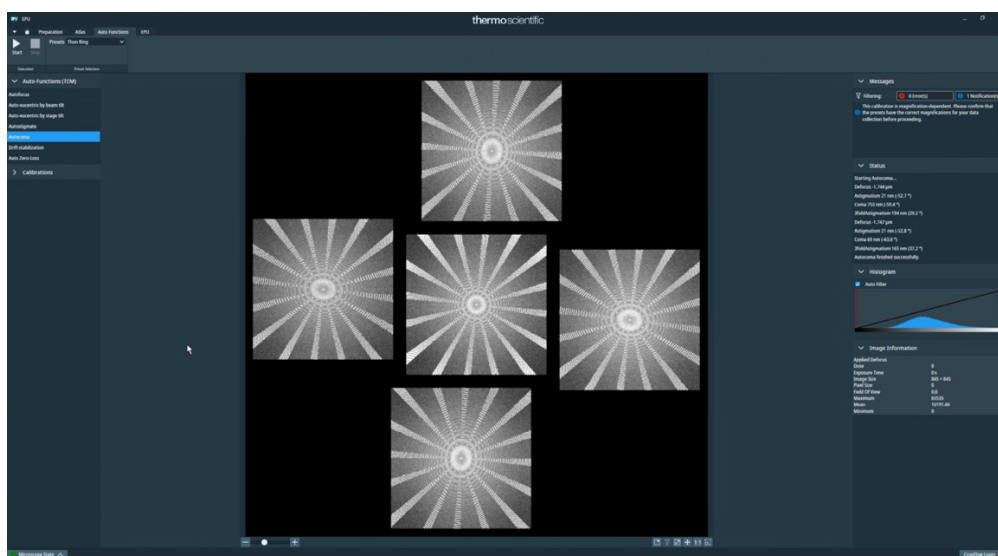
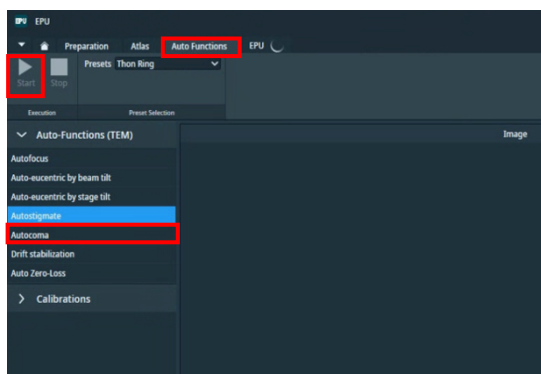


*非点収差の調整が行われる

*Thon ring が真円であるべきなので、そうなるよう調整されるはず

*「Autostigmatize finished successfully」の表示を確認

EPU > Auto Functions tab で **Autocoma** を選択して **Start**

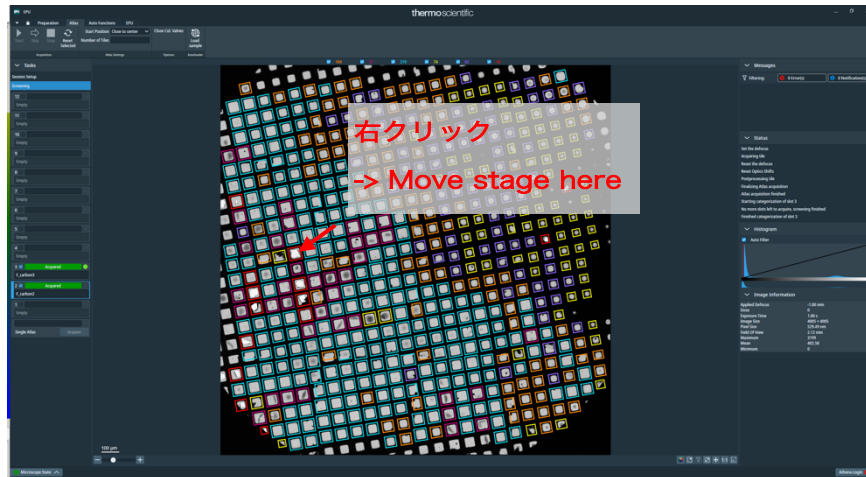


- *コマ収差の調整が行われる
- *上下（左右）の Thon ring の楕円が同様であるべきなので、そうなるよう調整されるはず
- *「Autocoma finished successfully」 の表示を確認

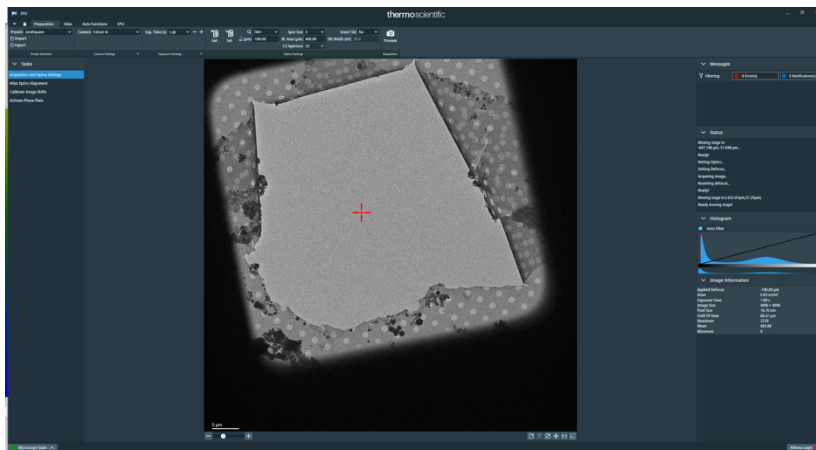
もう一度 **Autostigmata** を選択して **Start**

8. Dose の設定

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



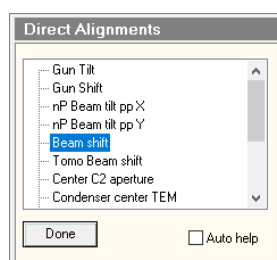
EPU > Preparation tab > Presets から Grid Square を選び **Preview**
(穴にいるのを確認)



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

ビームが中央になれば **Direct Alignment** > **Beam Shift** で中央にして **Done**



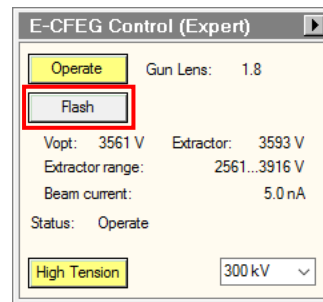
TUI で Beam Current を確認

High tension:	300 kV	Beam Current:	3.7 nA
nP EFTEM		Screen current:	0.000 nA
SA 6500 x		Spot size:	4

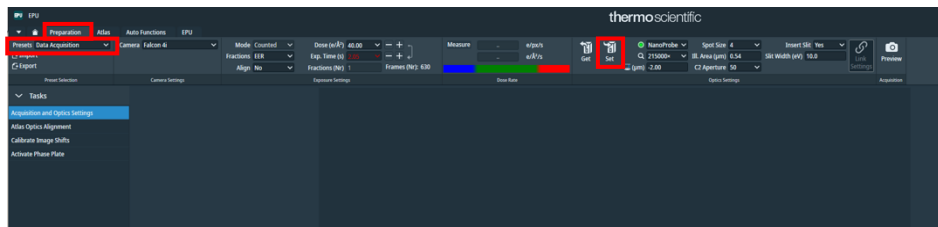
5 を下回っているようなら Flash する

(TUI -> Set up tab -> E-CFEG Control)

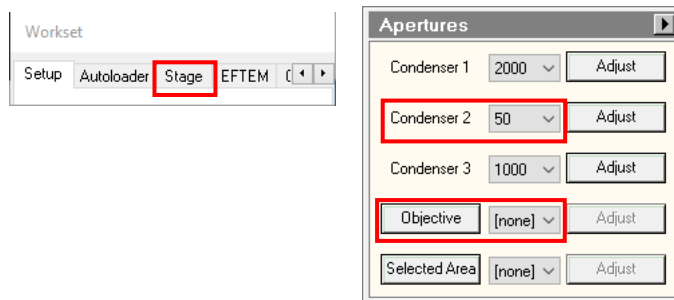
*Flash するときはカラムバルブを閉じる



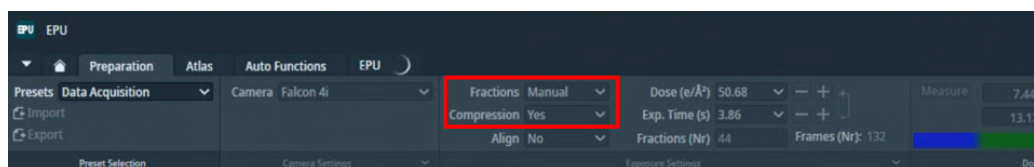
EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで Set



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



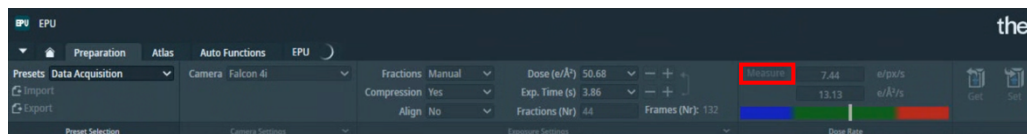
Fractions = **Manual**, Compression = **Yes** となっていることを確認



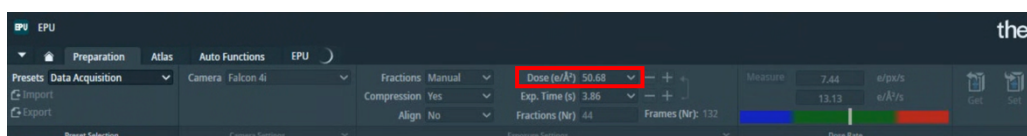
*TIFF 形式での設定

*EER 形式で撮影したい場合は別途記述

Measure を押す

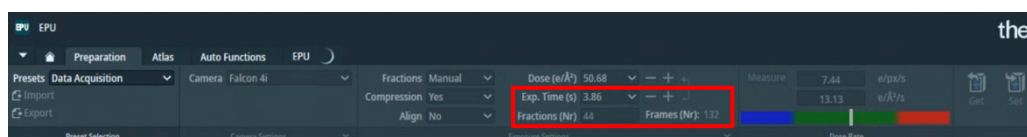


Dose のプルダウンから 50（多くの場合この値がよい）を選ぶ



Fractions の値 (40-50 が望ましい) × (整数) = Frames の値

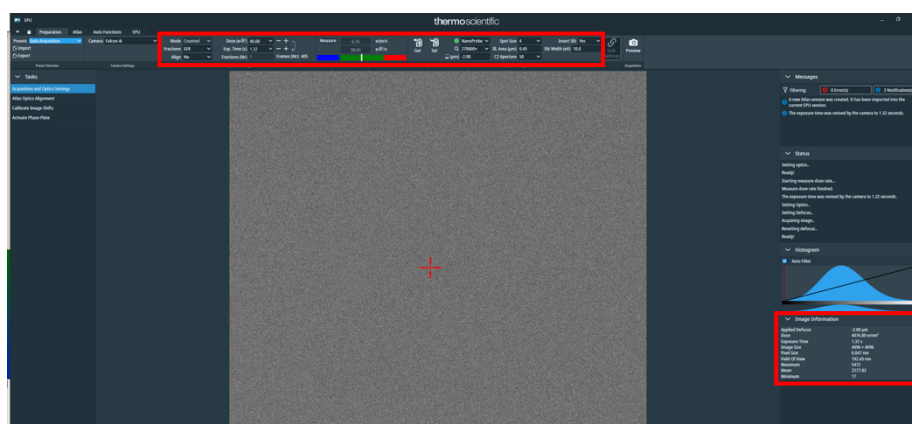
となるよう、Exp. Time を微調整する。Dose の値も連動して変わる。



*Frames の値が Fractions の値で割りきれないと、Motion correction 時に不具合が起こる

最後に **Preview** してからスクリーンショットを取得

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



画面全体をスクショアプリでとる



*当日のユーザーのディレクトリに保存しておく

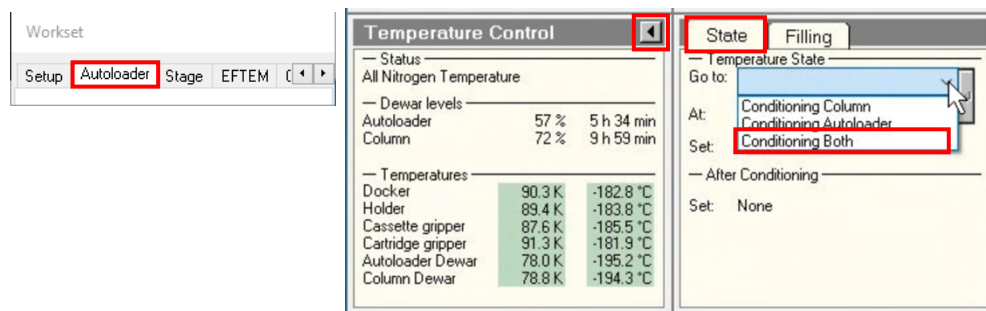
調整は以上で完了

III. 必要に応じて行う調整、メンテナンス

1. Conditioning

基本的に、2 週間ごとに行う

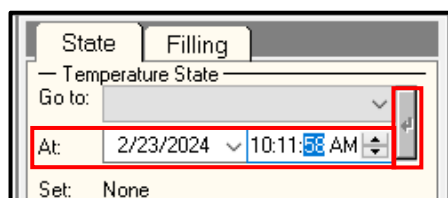
TUI > Autoloader tab > Temperature Control



三角の印をクリックして、State tab を表示

Go to: のプルダウンメニューから、**Conditioning Both** を選択

At: のところで、現在の日時 + 2 分くらいを入力して、enter ボタンを押す



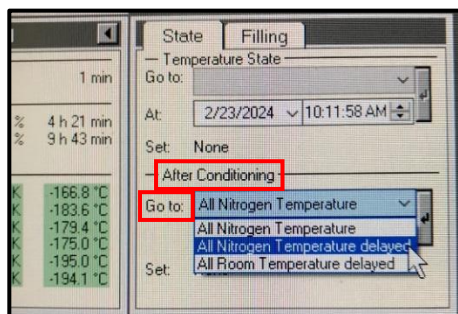
*AM, PM の間違いに注意

*開始時に Dewar に残存していた液体窒素の量にもよるが、室温に戻るのに最大で 12 時間程度を要する

*完全に室温に戻ってから、最低でも数時間は室温が継続するようにしたい

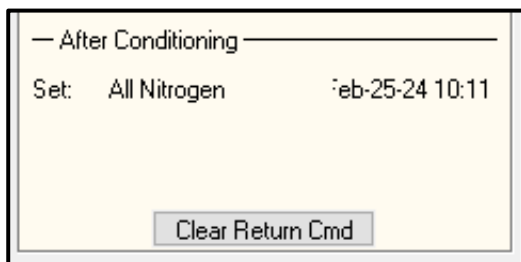
上記の設定完了後に After Conditioning 項目が設定可能になるので、

Go to: のプルダウンメニューから、**All Nitrogen Temperature delayed** を選択



Set: のところで、冷却を開始したい日時を入力して、enter ボタンを押す

設定した時間が表示される



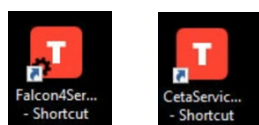
***Clear Return Cmd** で設定のやり直しができる。

*再冷却開始から 2 時間ほどで十分に冷却がなされる

Autoloader と column が室温の状態が長い（12 時間以上）場合は、検出器の冷却も停止する

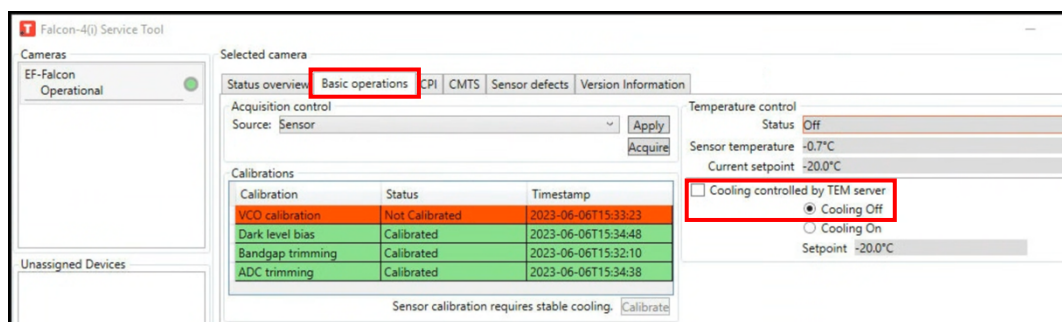
*column が室温の場合、真空が少し悪くなる。その状態で検出器が冷却されていた場合、ゴミが付着しやすくなる

デスクトップのショートカットアイコンから **Falcon 4i Service Tool** と **Ceta Service Tool** をダブルクリックして開く



Falcon 4i Service Tool > Basic Operations tab > **Cooling controlled by TEM server** のチェックを外す

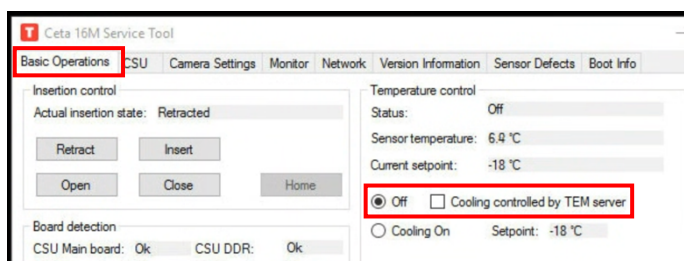
Cooling を **ON** から **OFF** に変更



Ceta Service Tool > Basic Operations tab > **Cooling controlled by TEM server** のチェックを外す

Cooling を **ON** から **OFF** に変更

*こちらは自動で OFF になる



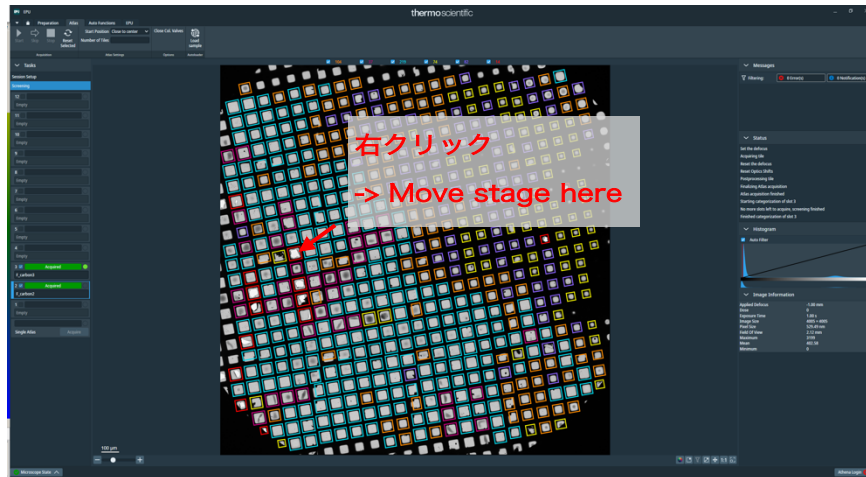
Falcon 4i Service Tool と **Ceta Service Tool** の**ウィンドウは閉じない**

*閉じると冷却の制御が TUI に渡ってしまって、再度冷却が始まってしまう

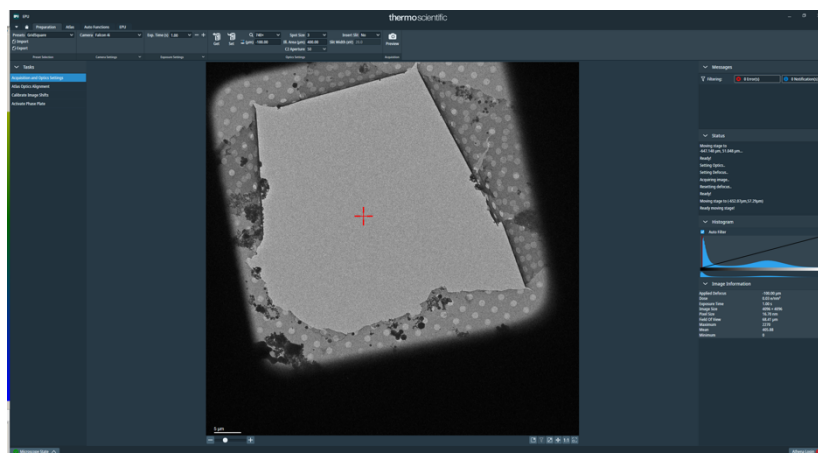
2. Energy filter 関連 (Sherpa を用いた調整)

Conditioning (2 週間ごと) の後、初回測定時はこの調整を行う

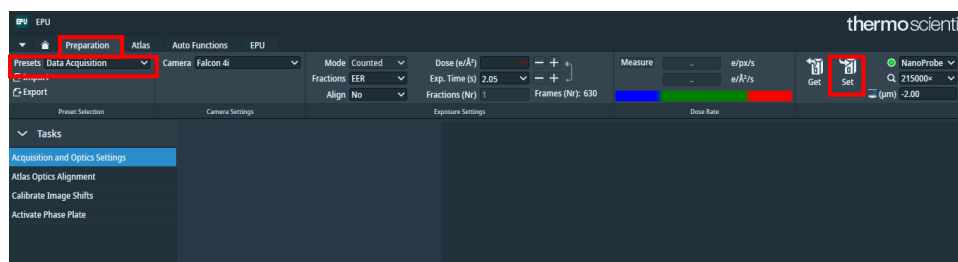
EPU > Atlas tab で Grid に穴のあいたところに右クリック > **Move stage here**



EPU > Preparation tab > Presets か Grid Square を選び **Preview**
(穴にいるのを確認)

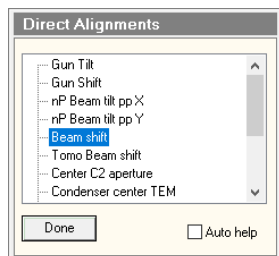


EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで **Set**



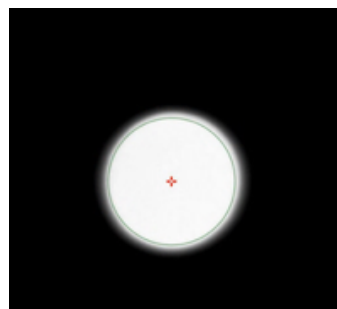
R1 を押して蛍光板を下げる

ビームが中央になれば **Direct Alignment** > **Beam Shift** で中央にして **Done**

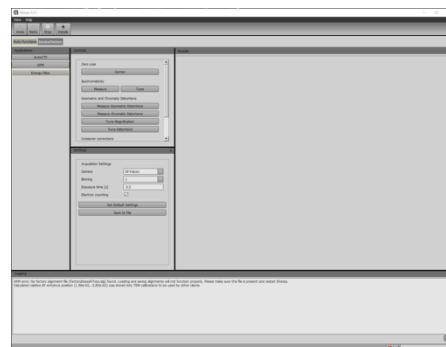
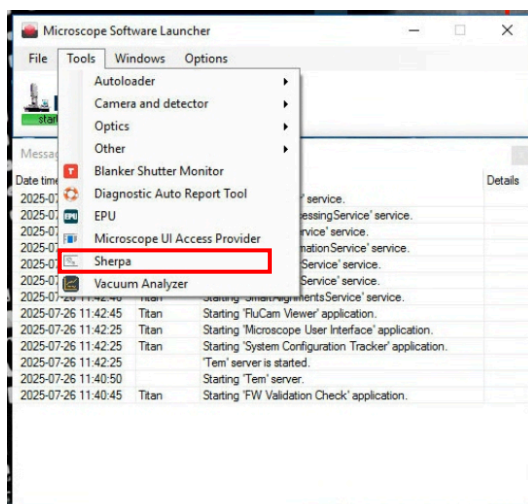


ビームが緑の円の全体に当たっていることを確認

R1 を押して蛍光板を上げる



Microscope Software Launcher > Tools > Sherpa



Sherpa Window の左側にある **Energy Filter** のボタンを押す

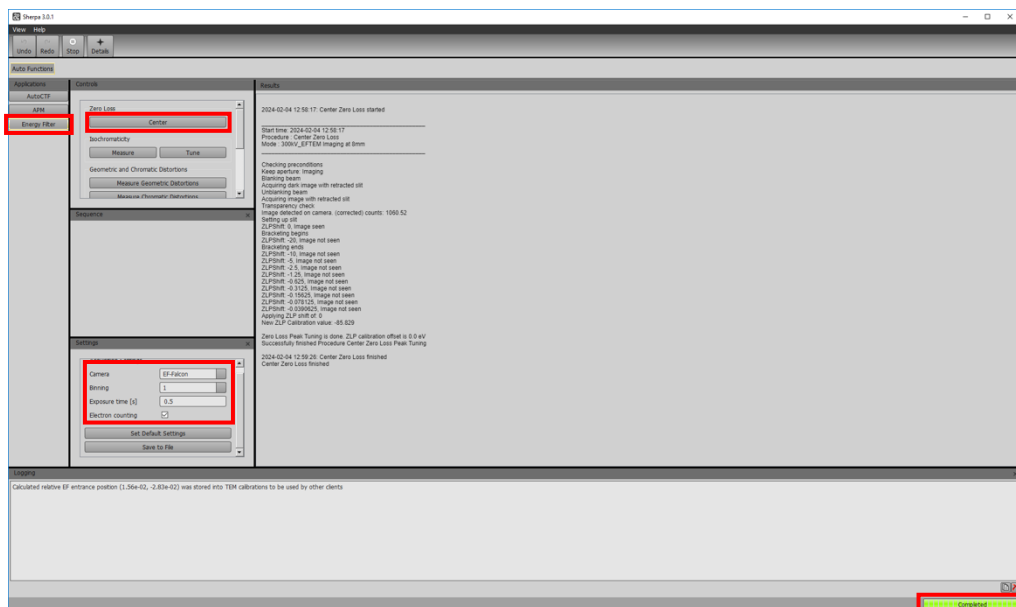
Sherpa Window の左下にある Settings の四角を見る

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

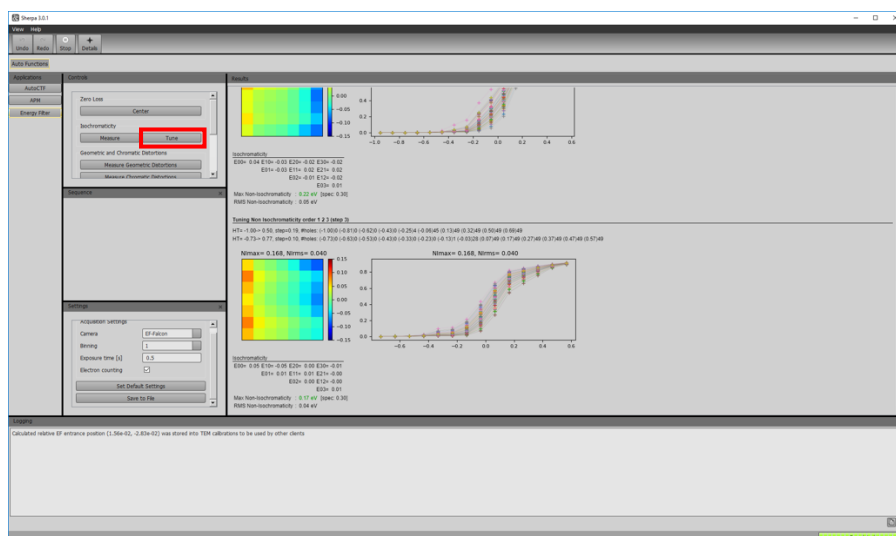
Zero loss: スリットの中央にビームを通すため **Center** ボタンを押す

画面右下で completed と表示されるのを確認（以下同じ）

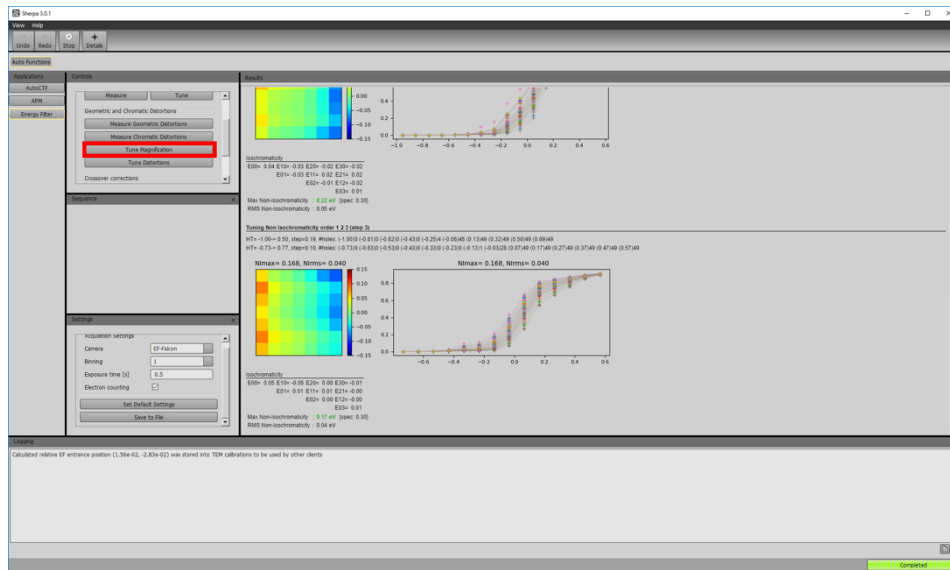


Isochromaticity: カメラにあたるエネルギーを均一にするため、**Tune** を押す

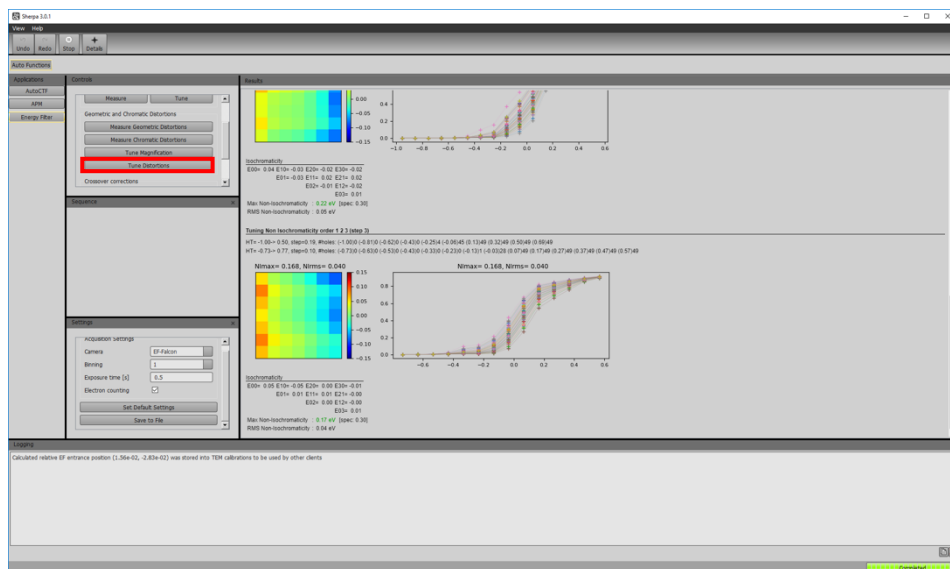
*しばらくすると赤緑青の画像が出てくる。この画面の色が一様に緑になるまで数分待つ



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



Geometric and Chromatic Distortions > **Tune Distortions** のボタンを押す

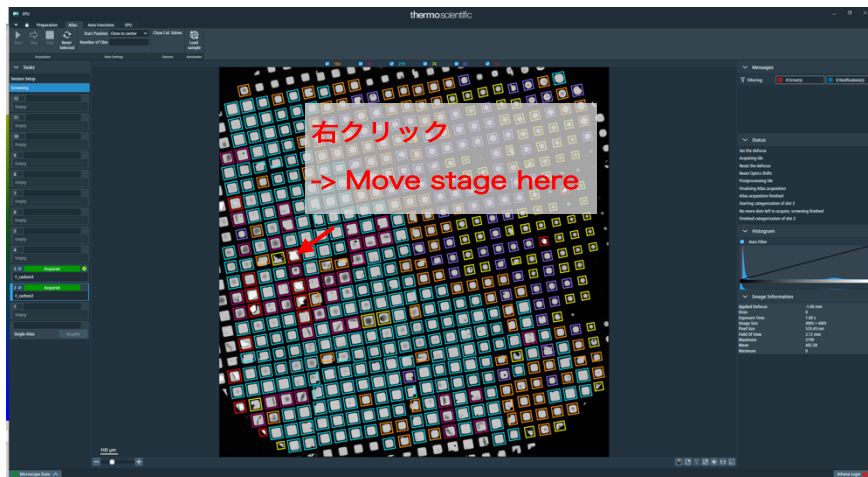


Zero loss: 曲がり角の調整をするため、再度 **Center** ボタンを押す

3. Gain reference の取得

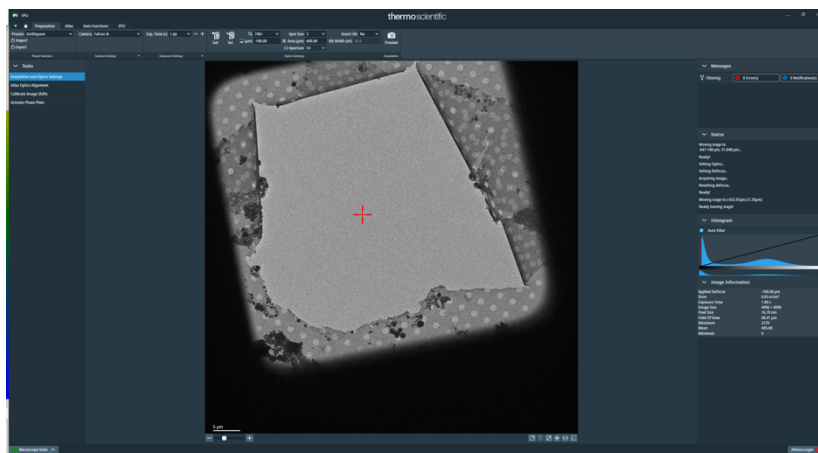
Conditioning (2 週間ごと) の後、毎回取得する

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



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

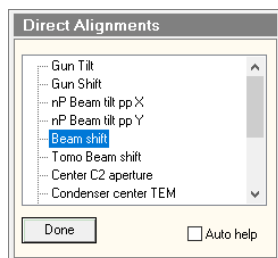
*穴にいるのを確認



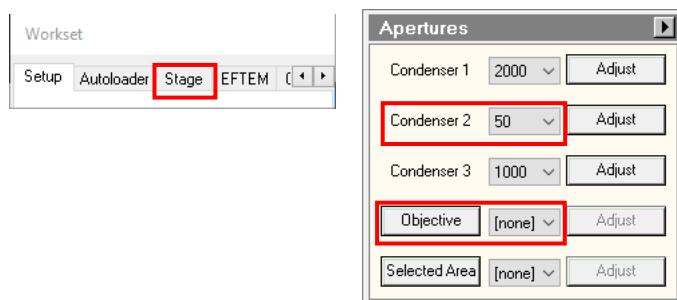
EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで **Set**

R1 を押して蛍光板を下げる

ビームが中央になれば **Direct Alignment** > **Beam Shift** で中央にして **Done**

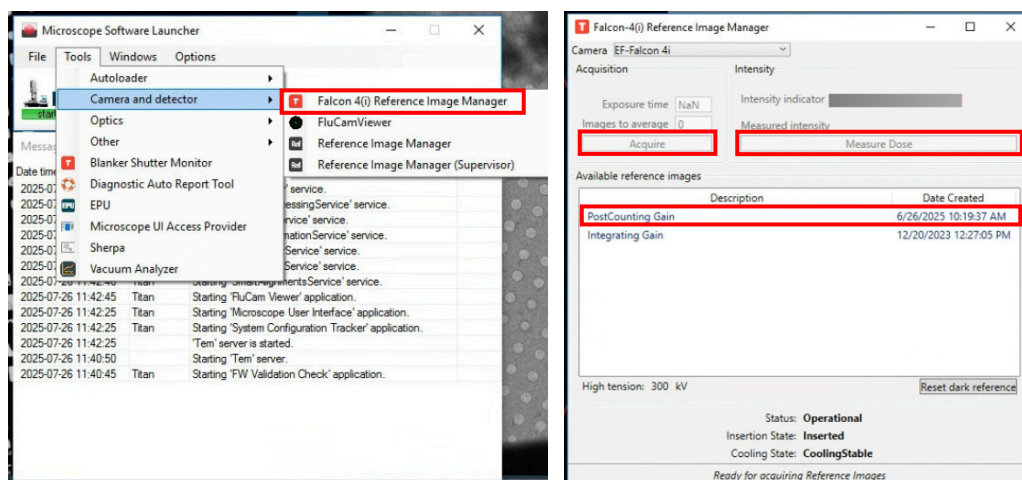


TUI > Autoloader tab > Apertures を見て **C2=50, Obj=none** であることを確認



Microscope Software Launcher > Tools > Camera and detector

> Falcon 4i Reference Image Manager



Counting mode なので、**PostCounting Gain** を選ぶ

R1 を押して蛍光板を上げ、**Measure Dose** を押す

バーが緑の領域に入っていることを確認

*Falcon 4i は 1 – 12.5 e/px/s が適切。外れていたら、Data Acquisition の設定値を確認

Acquire を押す (20 分程度かかる)

PostCounting Gain の日付が update されたことを確認

EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで **Preview**

得られた像が flat なことを確認する

*.gain ファイルは EPU で測定を開始すると

OffloadData/ImagesForProcDssing/EF-Falcon/300kV/ の中にコピーされる

4. Sherpa を使用した AutoCTF

*この補正は carbon film のグリッドでないとできない

*直前までの操作で、eucentric height がとれていることが前提

EPU > Preparation tab > Presets の Hole/Eucentric にゴミ画像が残っているはず。
付近のなるべくきれいなカーボン面を右クリックして **Move stage here**

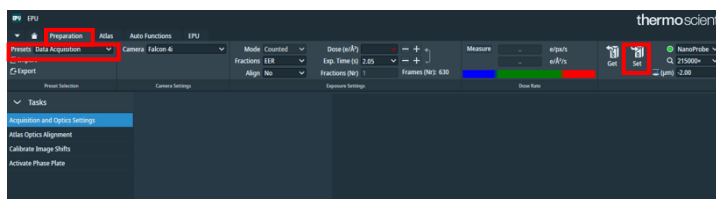


観察試料が繊維状のポリマーなどの場合は要注意！

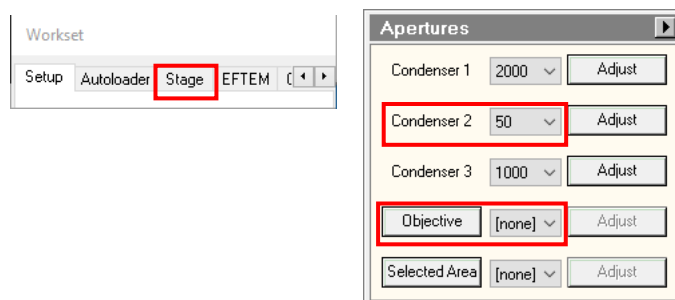
カーボン面にもびっしり試料が乗っている場合が多く、試料由来の規則性により **Thon ring** が著しく歪められる恐れがある

そのまま調整を進めてしまうと、大変おかしいことになる

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

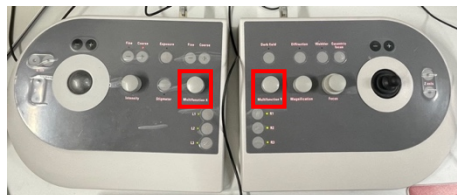
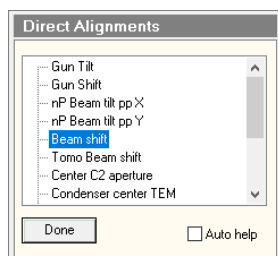


TUI > Autoloader tab > Apertures を見て **C2=50, Obj=none** であることを確認

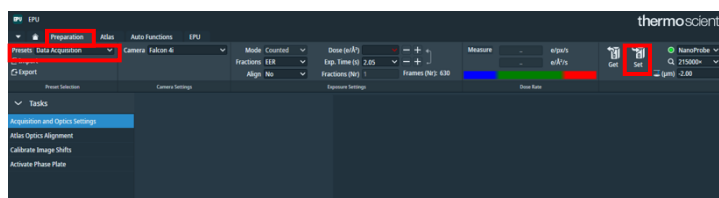


R1 を押して蛍光板を下げる

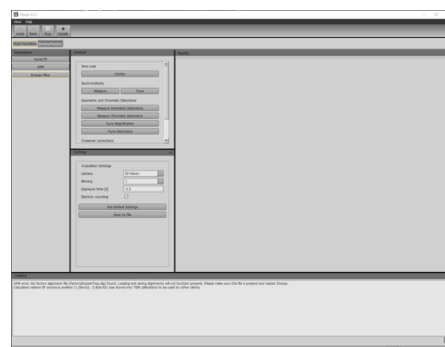
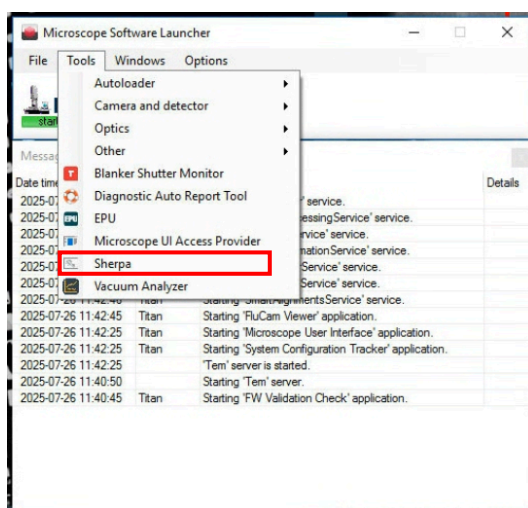
ビームが中央になれば **Direct Alignment** > **Beam Shift** で中央にして **Done**



もう一度、Data Acquisition で **Set** して、**R1** を押して蛍光板を上げる



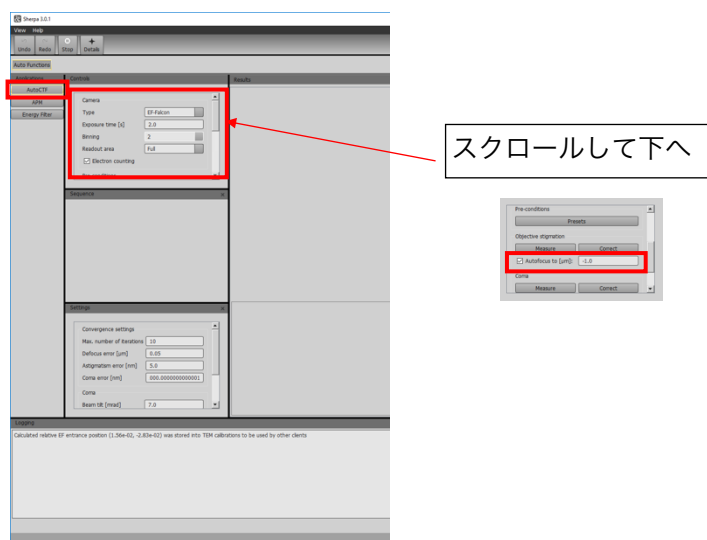
Microscope Software Launcher > Tools > Sherpa



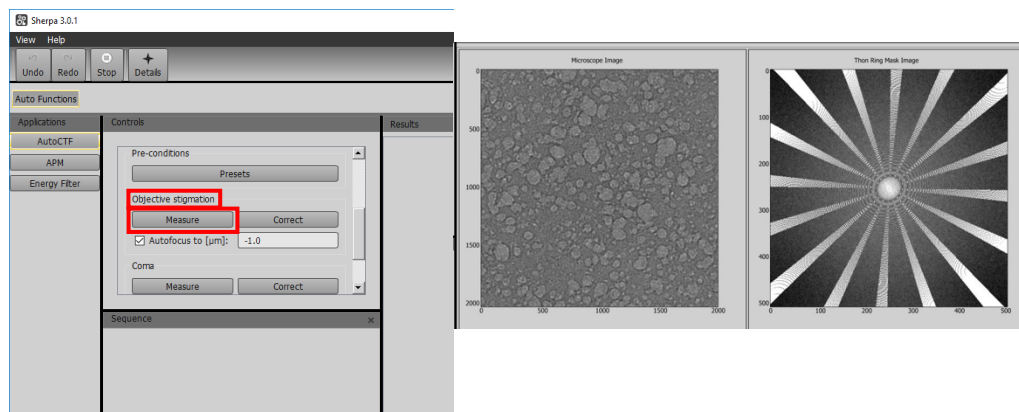
Sherpa Window の左側にある **AutoCTF** のボタンを押し
Camera > Type を EF-Falcon に

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



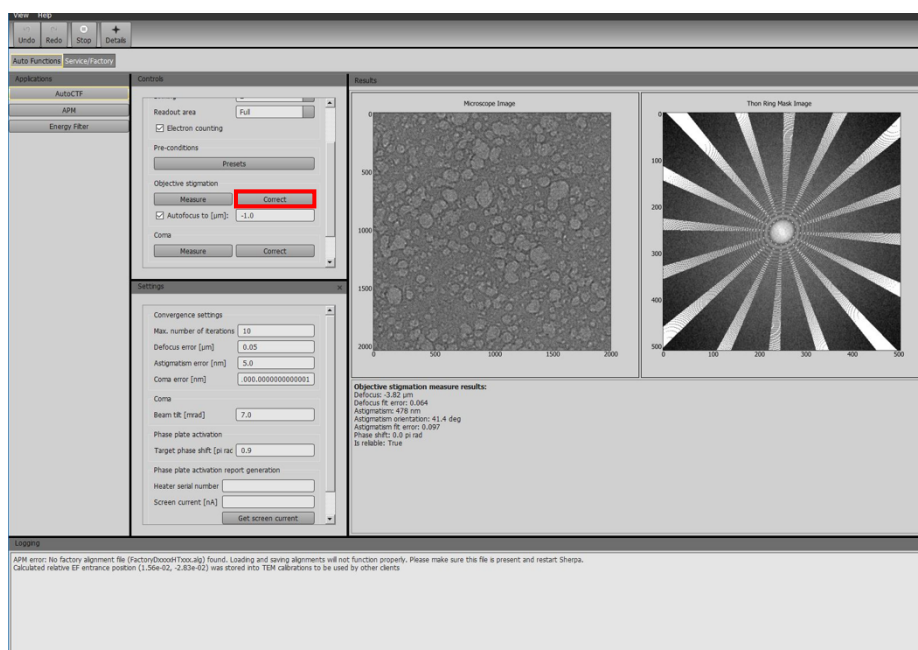
*カーボン面の画像に大きなゴミが写っていないか？

*Thon ring におかしな模様がないか？

*異常が認められたら、ステージを少し移動してやり直し

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

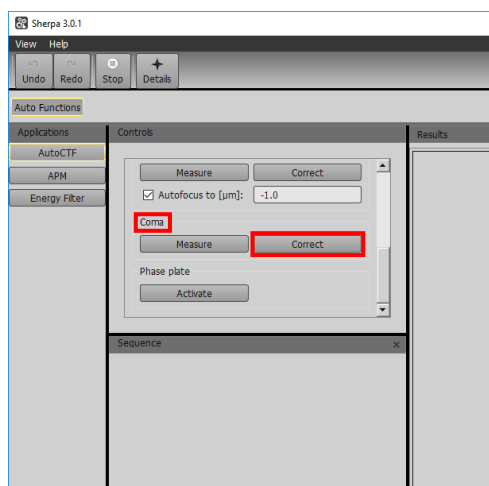
トーンリングが拾えていたら、**Correct** を押す



*対物レンズの非点収差をとってくれる。画像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）



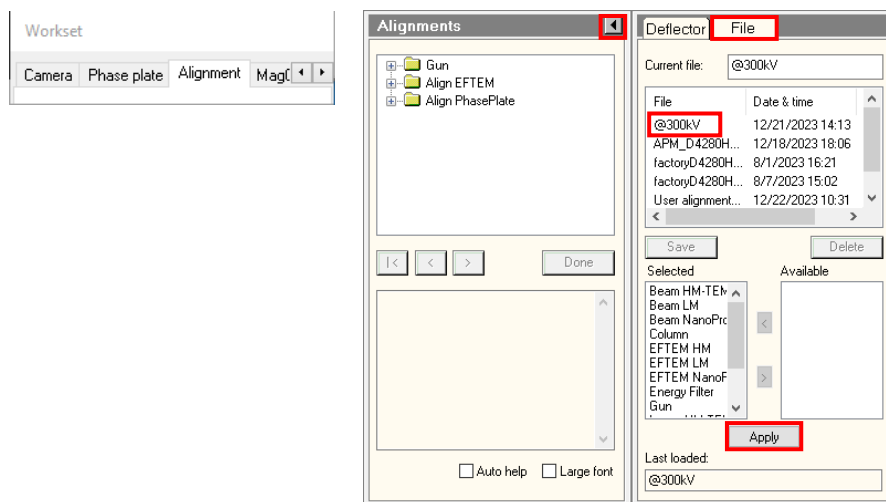
右下に Completed と出たら、再度 **Objective Stigmation** の **Correct** を押す

*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

5. ビームが大きくズレたときなど

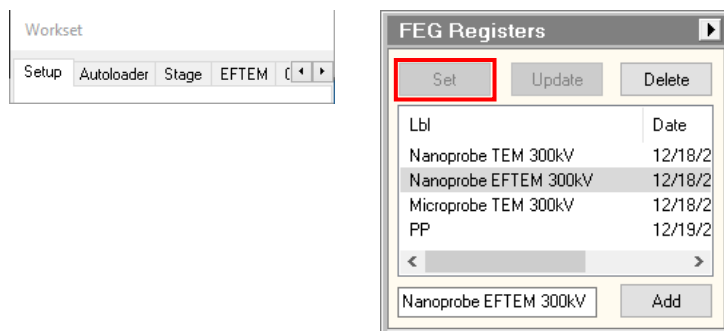
TUI > Alignment tab > Alignments > Option > File tab から **300kV** (11/27/2024 に作成された最新のものの) を選び、

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



TUI > Setup tab > FEG registers から Nanoprobe **EFTEM 300kV** (11/29/2024 に更新された最新のものの) を選び **Set**

*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



6. Rotation Center（電流軸を対物レンズの中心に通す）

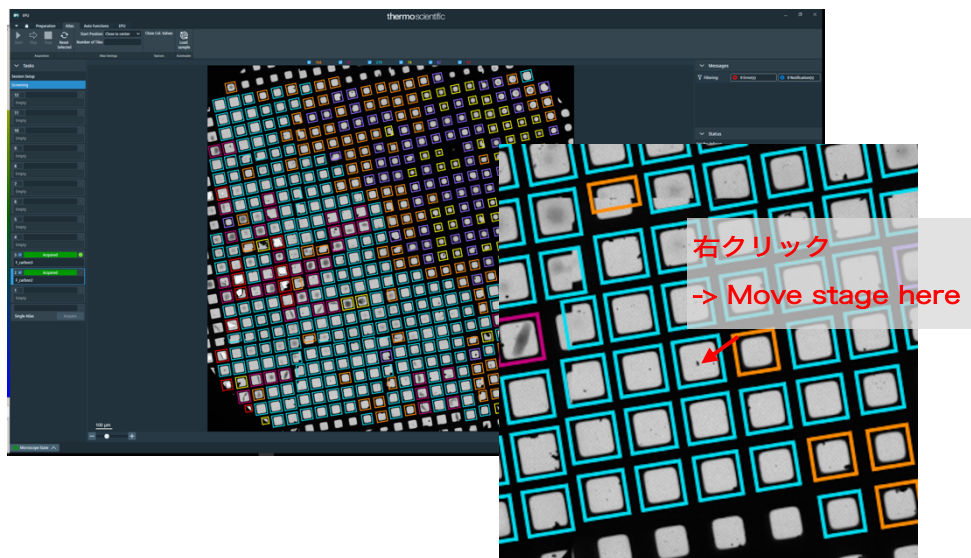
*この調整は、AutoCTF を行うときは必要ない

（AutoCTF の coma 補正のほうが精度が高い）

*何らかの理由で AutoCTF を行わないときにこの調整を行う？

EPU > Atlas tab

目立つゴミのあるところで右クリック -> **Move stage here**



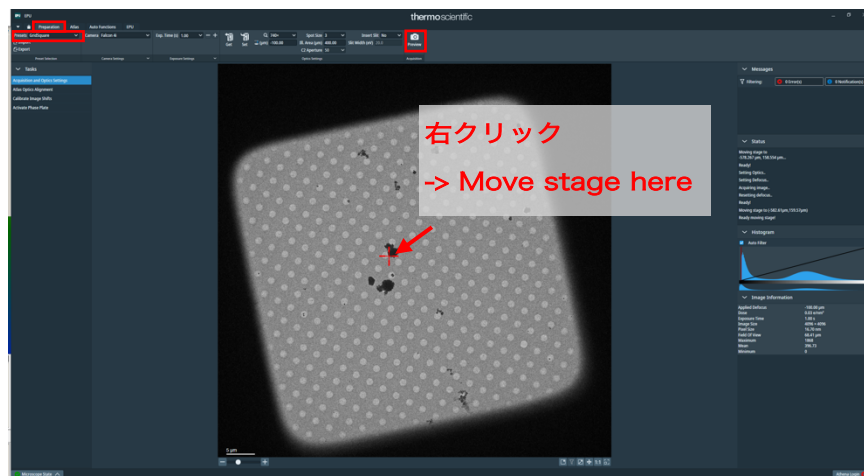
*あまり大きすぎないゴミを選ぶ。マウスのホイールで画像の zoom in/out を操作可

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

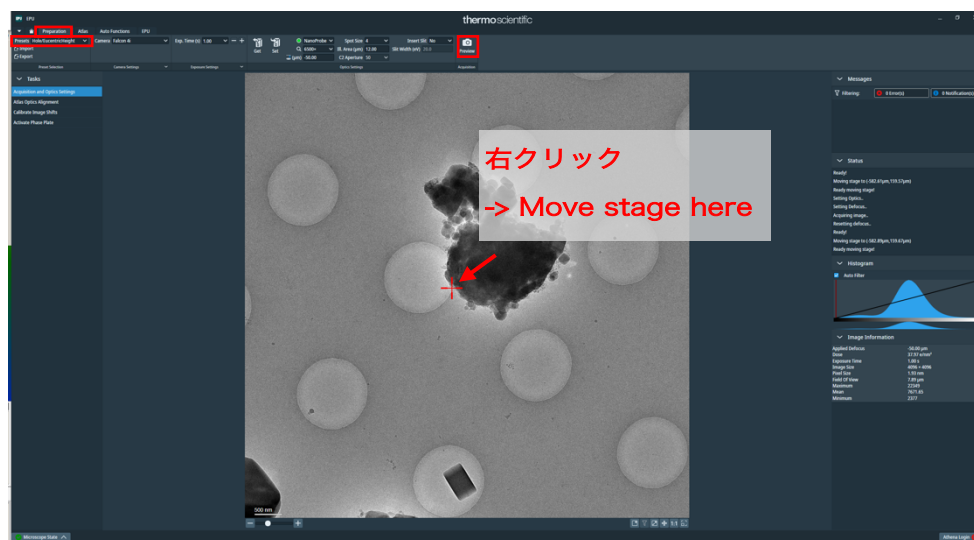
EPU > Preparation tab > Presets から Grid Square を選び **Preview**

目立つゴミのあるところで右クリック -> **Move stage here**



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

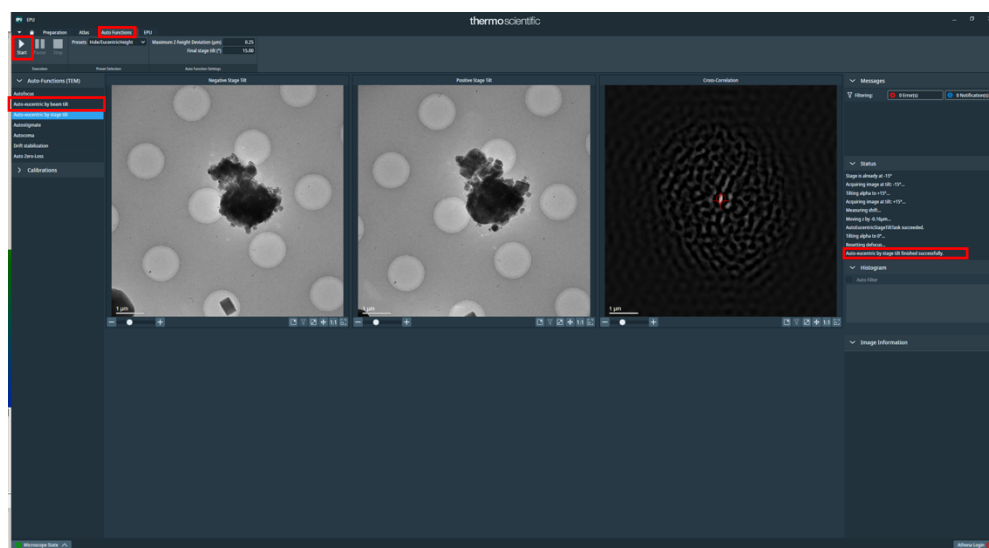
目立つゴミのあるところで右クリック -> **Move stage here**



EPU > Auto Functions tab で **Auto-eucentric by beam tilt** を選ぶ

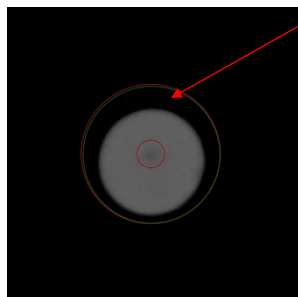
Presets を Hole/Eucentric にして **Start**

Status で「Auto-eucentric by stage tilt finished successfully」の表示を確認



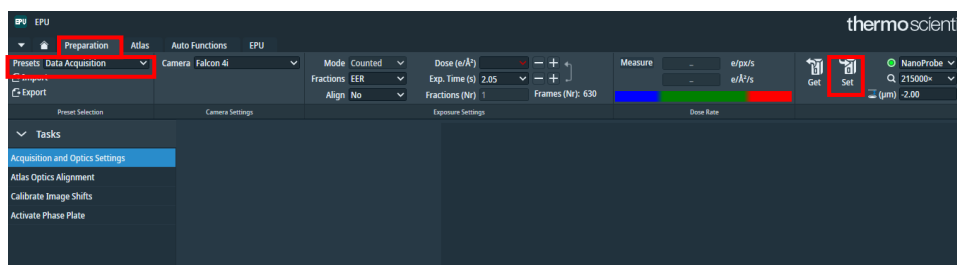
*傾斜軸は画面に対して横向きに走っている

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**

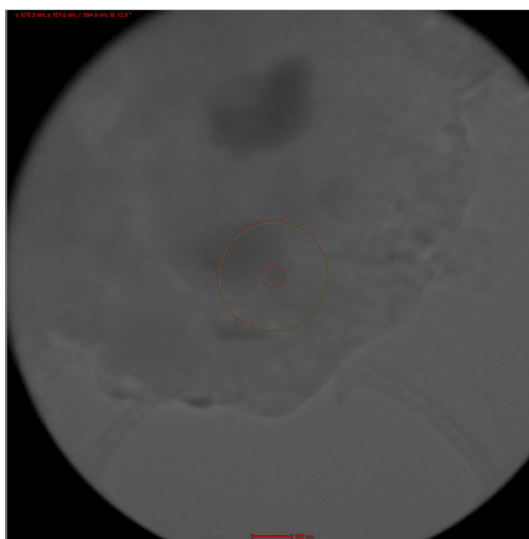


TUI > Stage tab > Apertures で **C2=150**（視野を広げる）, **Obj=none** に
*EPU と蛍光板で画像の向きが違うので、そのつもりで見る（90°回転している？）

Magnification ダイアルを右に数クリック回して倍率を x350k まで上げる

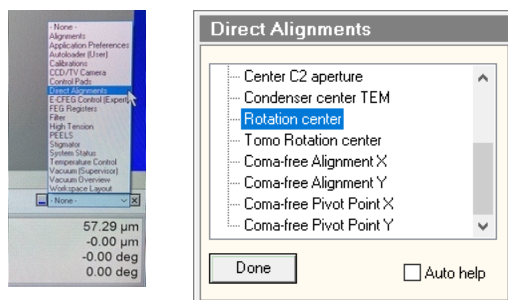
High tension:	300 kV	Beam Current:	5.0 nA	Unavail. Convergence angle:	0.00 nrad	Y:	23.85 μm		
nP EFTEM		Screen current:	0.000 nA	Defocus:	3.58 μm	Obj Lens:	80.8623 %	Stable Z:	132.95 μm
SA 165 kx		Spot size:	4	Illuminated area:	700 nm	C2 Lens:	41.005 %	Stable A:	-2.01 deg
								Stable B:	0.00 deg

350 kxになっ
ていることを確認



*ゴミが見にくかったら、
「Natural」 を押す

TUI 右下 > Direct Alignment > Rotation Center を選ぶ。

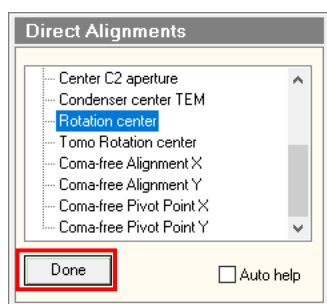


Multifunction ダイヤルで、ゴミが上下左右に動かなくなるように微調整する



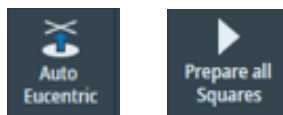
*この後、AutoCTF でコマ収差を除くので、ある程度あっていれば良いそうです

Done を押す



IV. その他の注意点

1. EPU tab (Hole selection) で Auto eucentric が失敗するとき



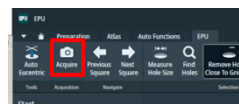
Auto Functions tab -> **Auto-eucentric by beam tilt** -> **Start**

それでも失敗したら、**Auto-eucentric by stage tilt** -> **Start**

どちらかで上手くいけばよい

Eucentric height が決まったら、**Hole selection** に戻って **Acquire**

*これをしないと、eucentric height が反映されない



*ただし、これでは失敗するたびに毎回手動でやらなくてはならない

*Multi grid のときは対応出来ない

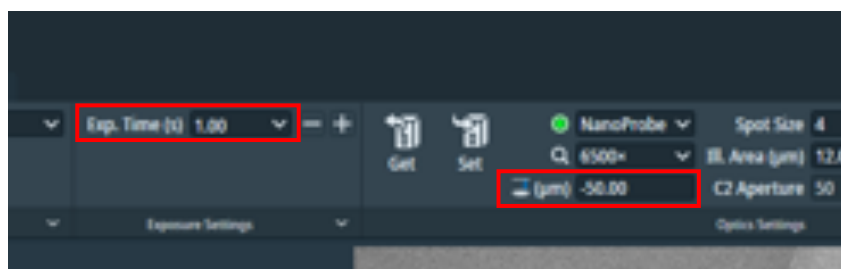
Eucentric が失敗するのは、基本的には画像が暗くて（コントラストが弱くて）うまく相関がとれていない

*氷が厚いと上手くいかなる場合が多い

-> **照射を長くする（ビームを強くする）、defocus を大きくすることで対応する**

EPU > Preparation tab > Presets -> Hole/Eucentric で Exp. Time や defocus 値を調整する

*照射を長くすれば、それだけダメージを受ける。Spot Size = 4 なら 4 秒くらいまで？



しかし、Preparation tab の Hole/Eucentric で設定した defocus 値は、EPU tab での Auto eucentric には反映されない。

*5 μm 固定みたい

なので、Exp. Time を長くすることで対応するしかない

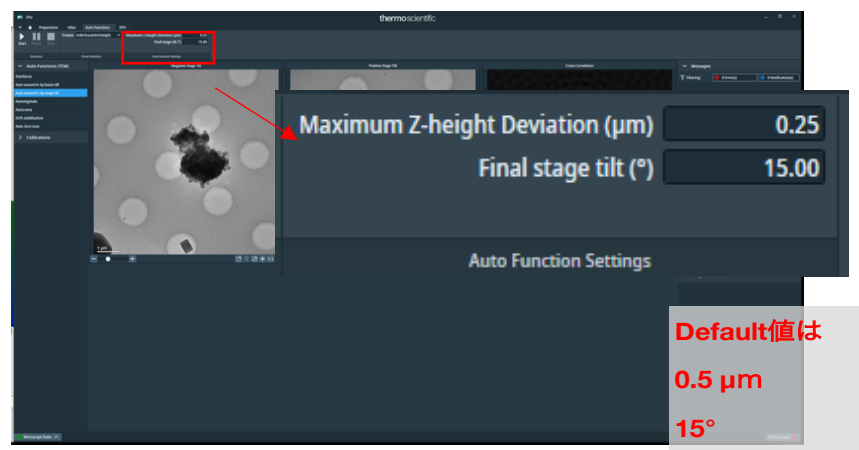
2. どうしても「ここ」で eucentric height を決めたい

EPU > Preparation tab > Presets -> Hole/Eucentric で Exp. Time や defocus 値を大きめに設定する

EPU > Auto Functions tab > **Auto-eucentric by beam tilt** -> **Start**

または

EPU > Auto Functions tab > **Auto-eucentric by stage tilt** で
Auto Function Settings の値を確認

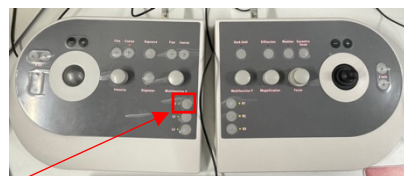
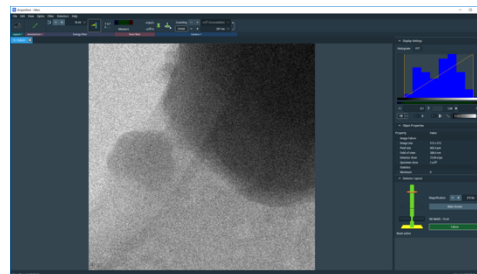
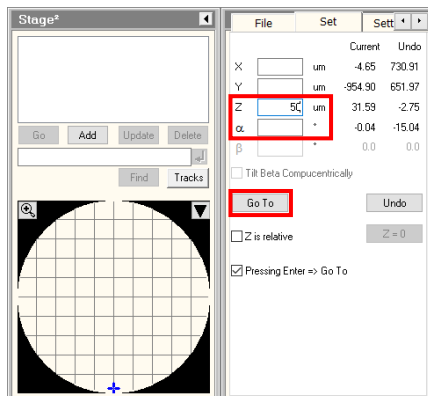


*Maximum Z-height Deviation の値を大きくすると、判定が甘くなって success となりやすい

*Final stage tilt を 30°とかにしてみるのもよいかも。

あるいは、Velox で確認しながら、Stage² で手動で tilt 角 (α) と Z 軸を動かして決める、という手もある。

*昔はこうやっていたそうです

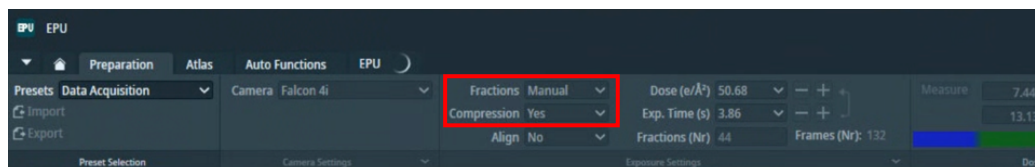


操作板 L1の α wobblerも有効

3. EER 形式でのデータ収集

EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition で

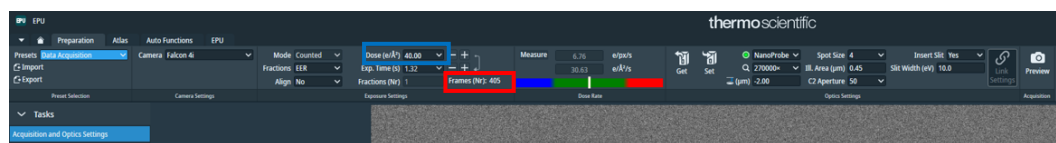
Fractions = **EER**, Compression = **No** とする



*EER format での動画の frame 数は

EPU > Preparation tab > Data Acquisition > Exposure Settings にある

Frames (Nr) の値になる



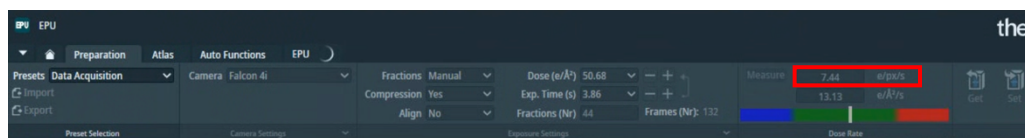
*これを **Dose ($\text{e}/\text{\AA}^2$)** で割った値を RELION の Motion Correction の EER fractionation に入力すると Dose per frame が $1 (\text{e}/\text{\AA}^2)$ になる。

(例えば EPU で $50 \text{ e}/\text{\AA}^2$, 1220 frames などと表示されていたら、それを 50 で割った値 (=24) を EER fractionation に入力する)

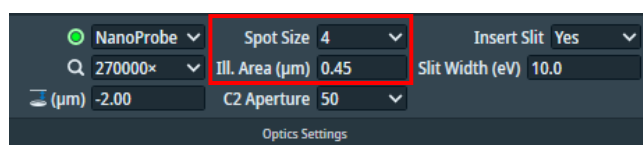
4. Dose rate と Spot size, Illuminated area

倍率を高くすると、dose rate も高くなる

-> Total Dose を一定にするなら、Exp. time は短くなる



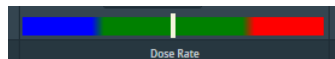
倍率のほか、spot size, illuminated area も dose rate に影響する



*Spot size の数値を下げる、あるいは Illuminated area を狭くすると、電子を狭い領域に集中させるため dose rate が高くなる (=明るくなる)

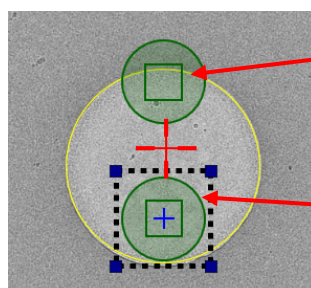
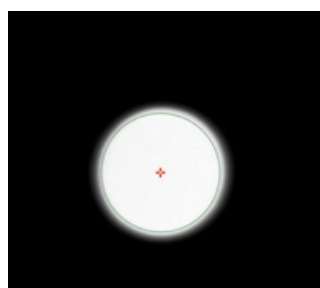
*Spot の数値をひとつ下げると、およそ倍の明るさになる

*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



*Illuminated area は、蛍光板の緑の縁よりビームが大きくなるように、また 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

あまり狭くすると、focus で少し大きめに動いたときや、AFIS の外側などでビームが外れやすくなる



四角が検出器の視野 (Field of View, FOV)

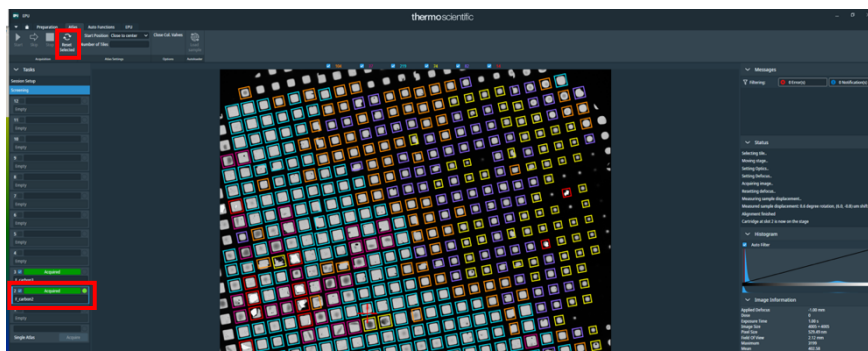
丸がilluminated area

視野に対して十分にひろくとるべき。

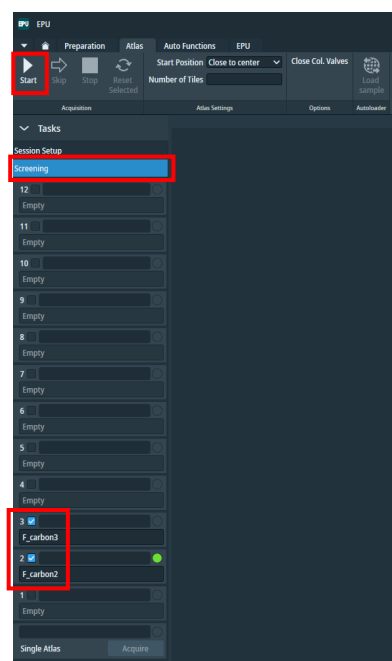
*倍率 165k のとき、Spot Size = 4, Ill. Area = 0.70 を標準としている。

V. Atlas の取得

EPU > Atlas tab で調整用に取得した atlas を選択し、**Reset Selected**



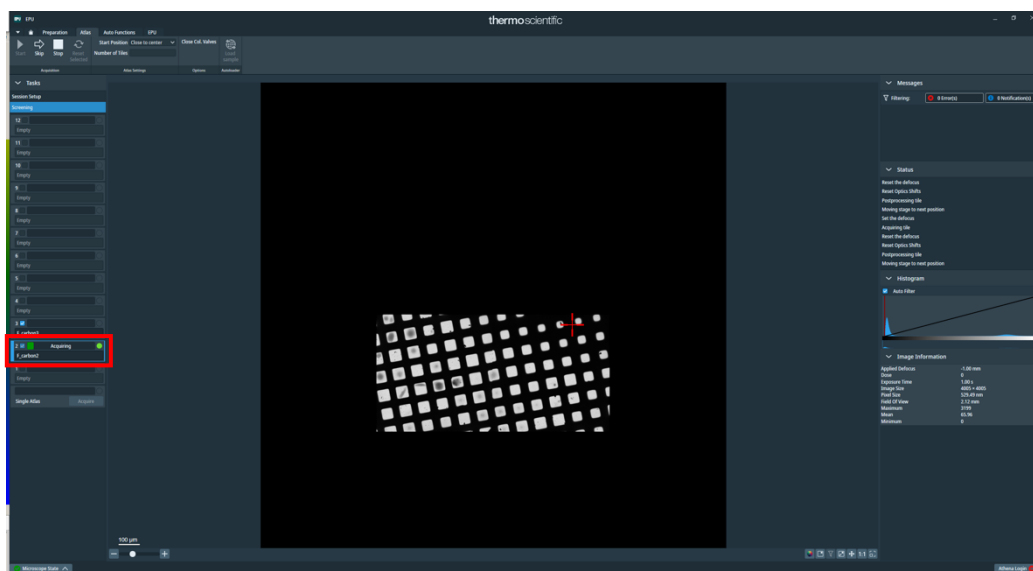
改めて全てのグリッドにチェックを入れて **Start**



*Calibrate Image Shift を実行した後で Atlas を書き直した方がよい

Acquiring をクリックすると画像が表示される

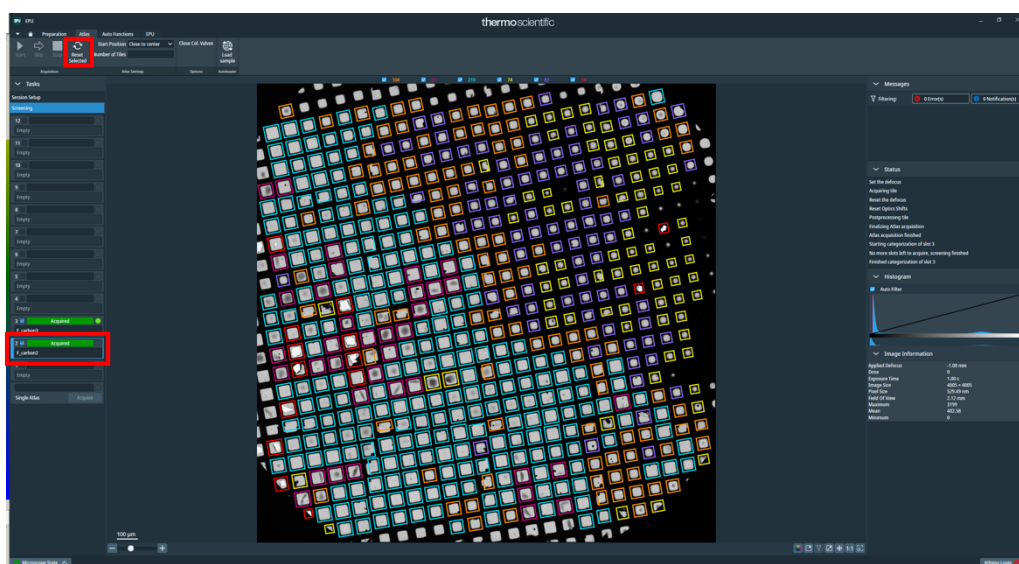
* 4 x 4 で全体像を撮影するのでしばらく待つ。グリッドの入れ替えの時間も含めて、1 枚あたり、8 分程度



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

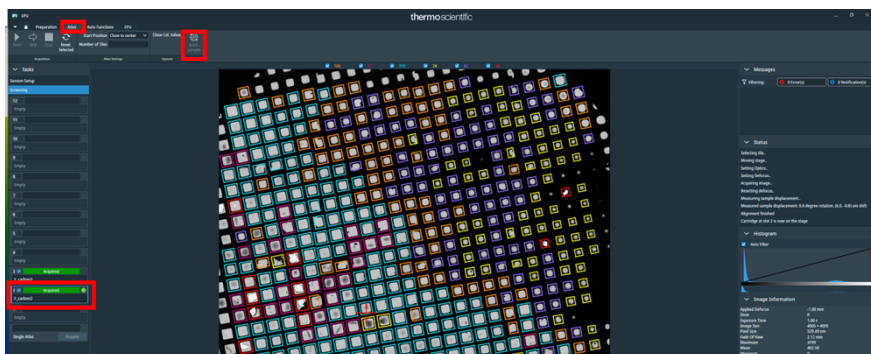
データが消えるので、そのグリッドにチェックを入れて **Start**



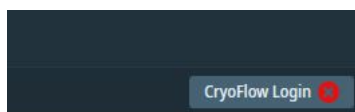
VI. データ測定

1. グリッドのスクリーニング

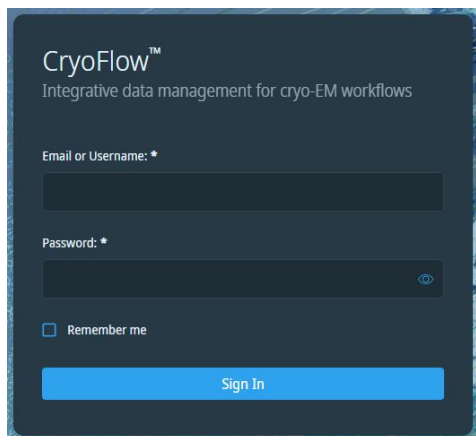
EPU > Atlas tab で目的のグリッドを選択し、**Load Sample**



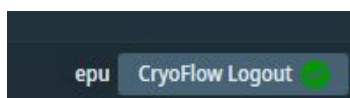
EPU 画面の右下 -> **CryoFlow Login** をクリック



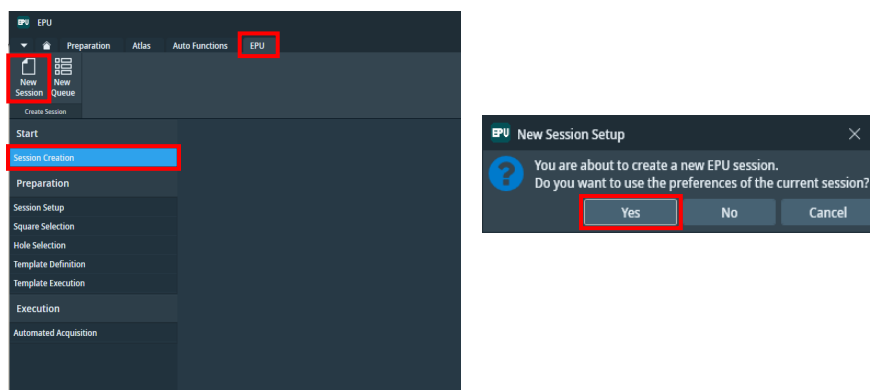
User ID (epu)、パスワードを入力して **Sign In**



CryoFlow にログインできたら、EPU 画面右下の表示が変わる



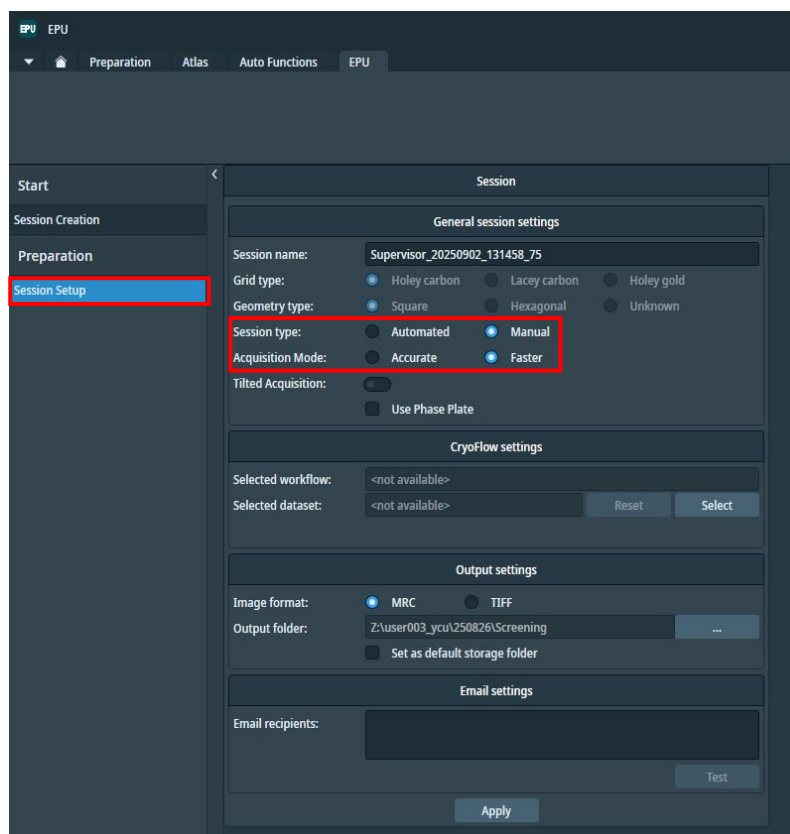
EPU > EPU tab から、**Session Creation -> New Session -> Yes**



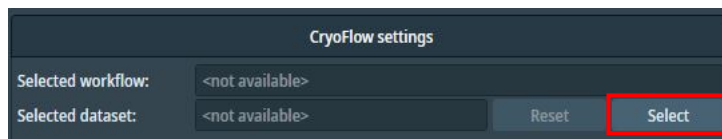
Session Setup を押す

Session name: **変更しない**

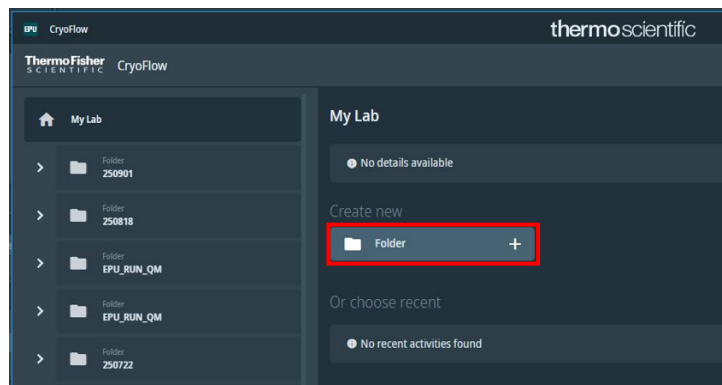
Session type: **Manual**, Acquisition mode: **Faster** を選択



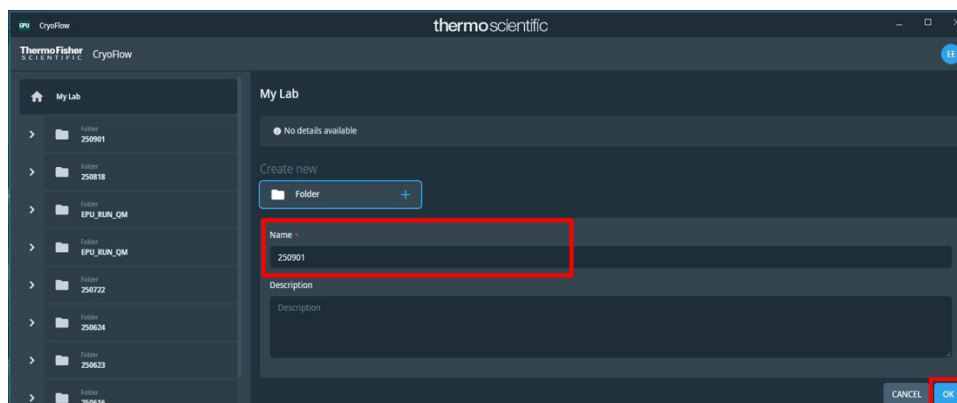
CryoFlow settings -> **Select**



Create new -> **Folder**



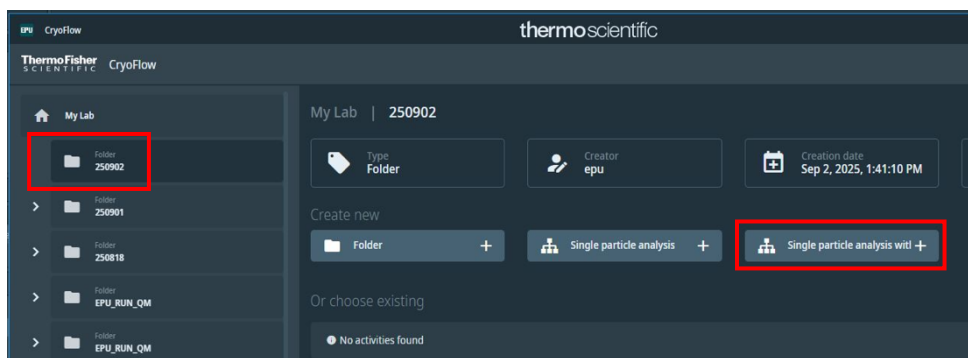
Name に当日の日付をつける (yymmdd) -> **OK**



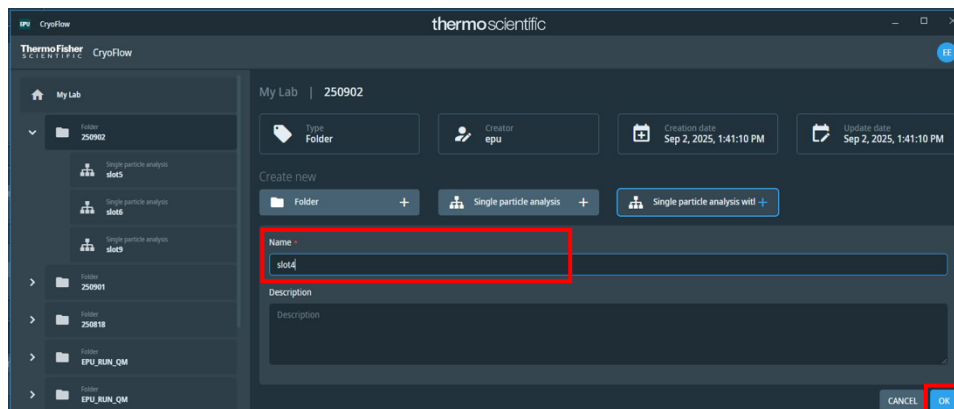
新しいフォルダができたことを確認

*以降、グリッドを変えて新しい Session を作るときは、このフォルダを選ぶ

Create new -> **Single particle analysis with...**

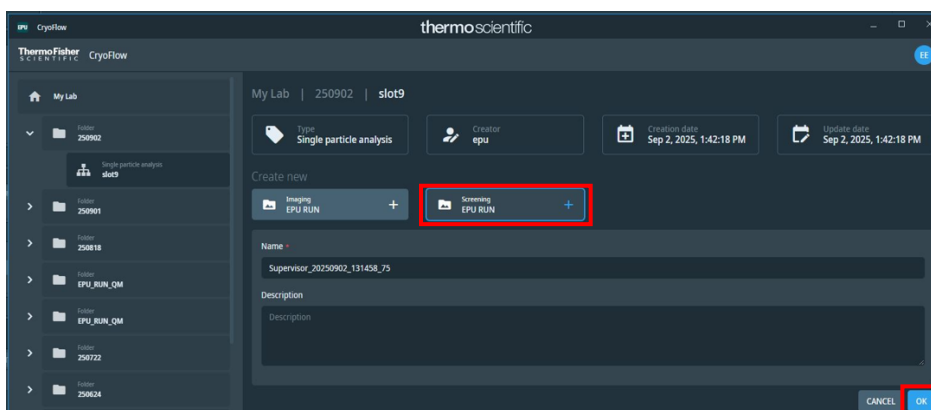


Name にグリッドの名前等を入力 (slot_x etc.) -> OK



Create new -> **Screening**

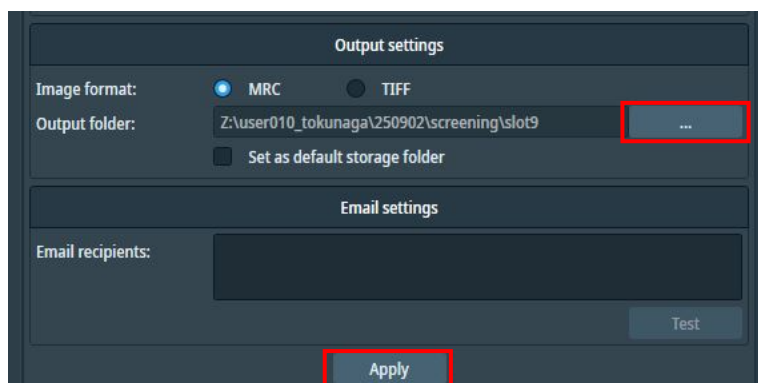
Name はそのまま -> OK



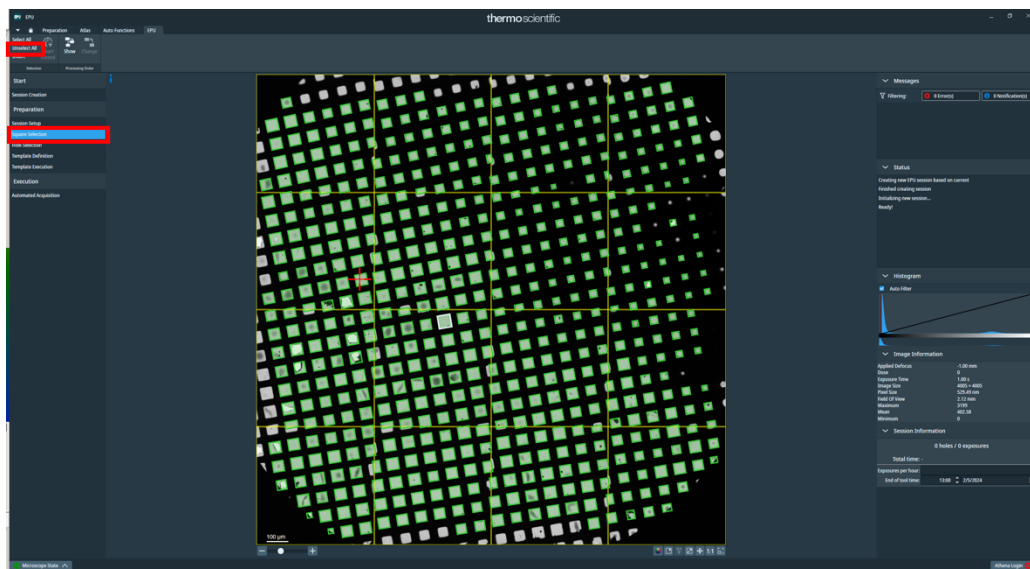
Output settings -> ... をクリックして、保存先を選択

保存先の例 : Z:/userxxx/yymmdd/screen/slotxx

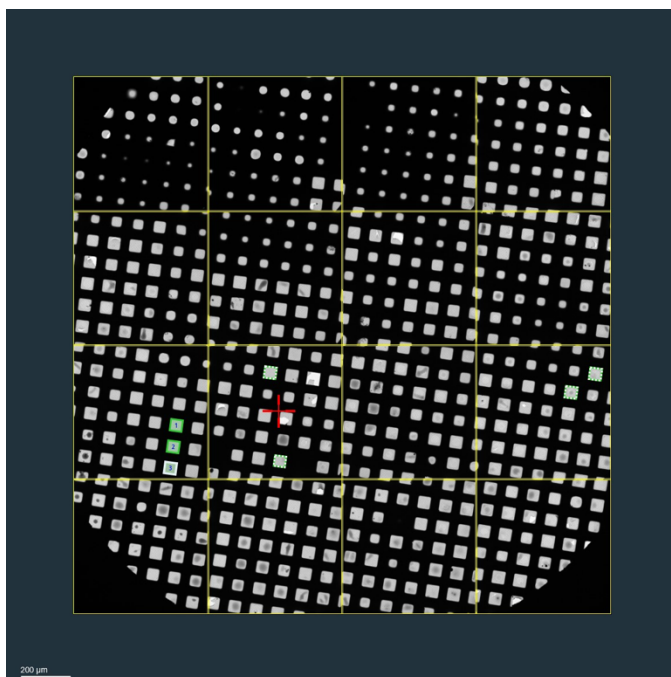
Apply を押す



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する (Ctl + 左クリック)



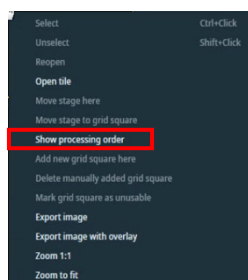
*氷の薄そうなの、少し厚い、厚い、などバラつかせるとよい

*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

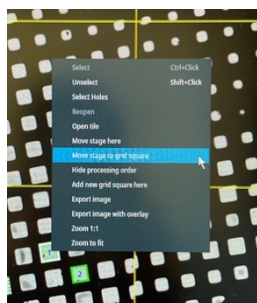
*スクリーンショットを撮っておく 右クリック -> Export image with overlay

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。

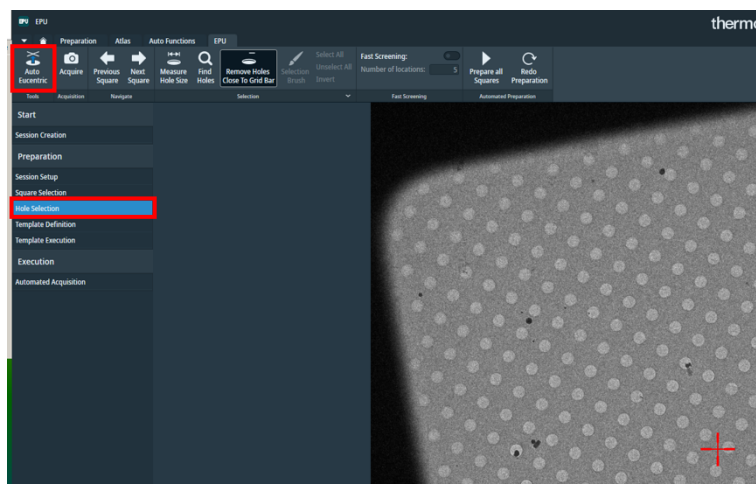
画面右クリック -> Show processing order



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

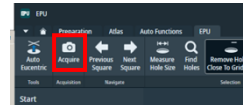


Hole selection > **Auto Eucentric** を押す

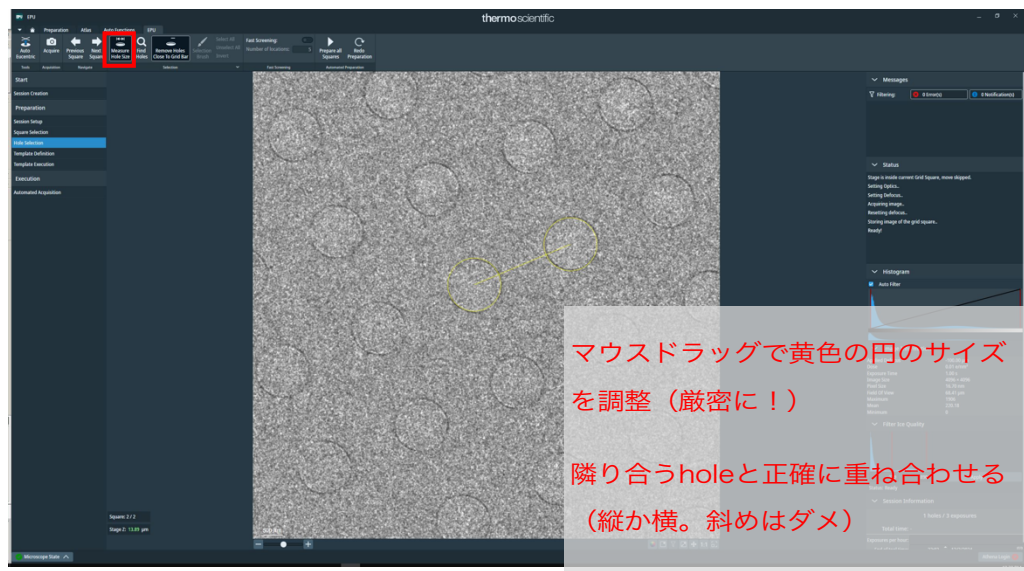


Eucentric height を自動で探索するのでしばらく待つ

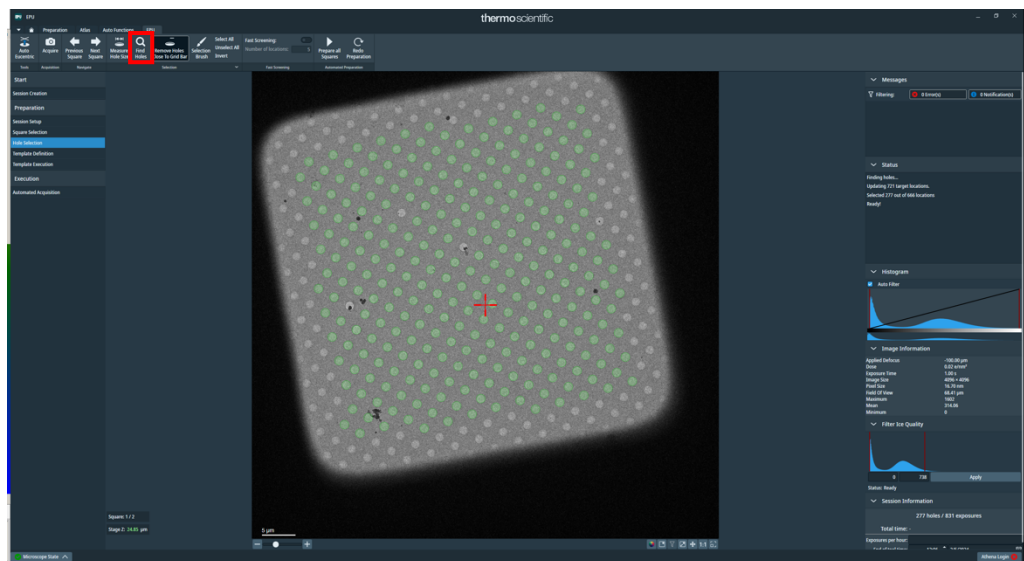
- *Auto Eucentric が失敗した場合、Auto Functions tab から **Auto-eucentric by beam tilt** になっていることを確認して **Start**
- *それでも失敗したら、**Auto-eucentric by stage tilt** で **Start**
どちらかで上手くいけばよい
- *Eucentric height が決まったら、**Hole selection** に戻って **Acquire**
(これをしないと、eucentric height が反映されない)



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

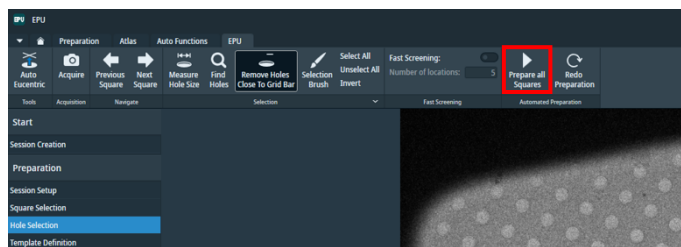


うまく hole が拾えたら **Unselect All** して、代表的な数 hole を選択 (Ctl + 左クリック)

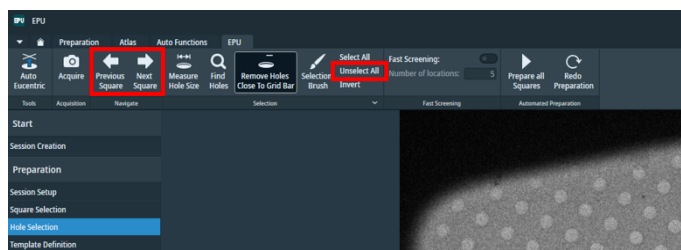


*スクエアの中心や周縁部など、見た目の氷の厚さも考慮して選ぶとよい

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

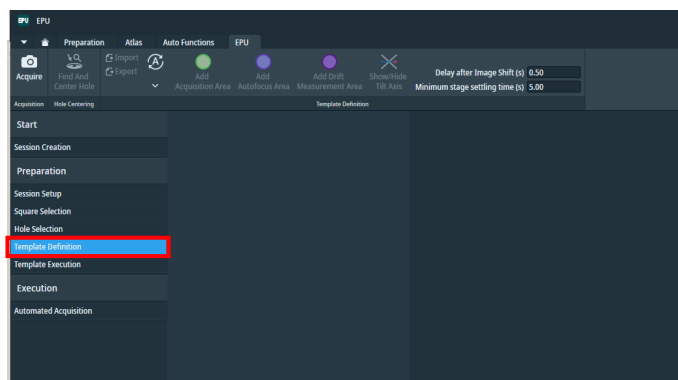


Next Square/Previous Square でスクエアを移動して hole の認識を確認
各スクエアで認識された hole を **Unselect All** して、代表的な数 hole を選択



*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

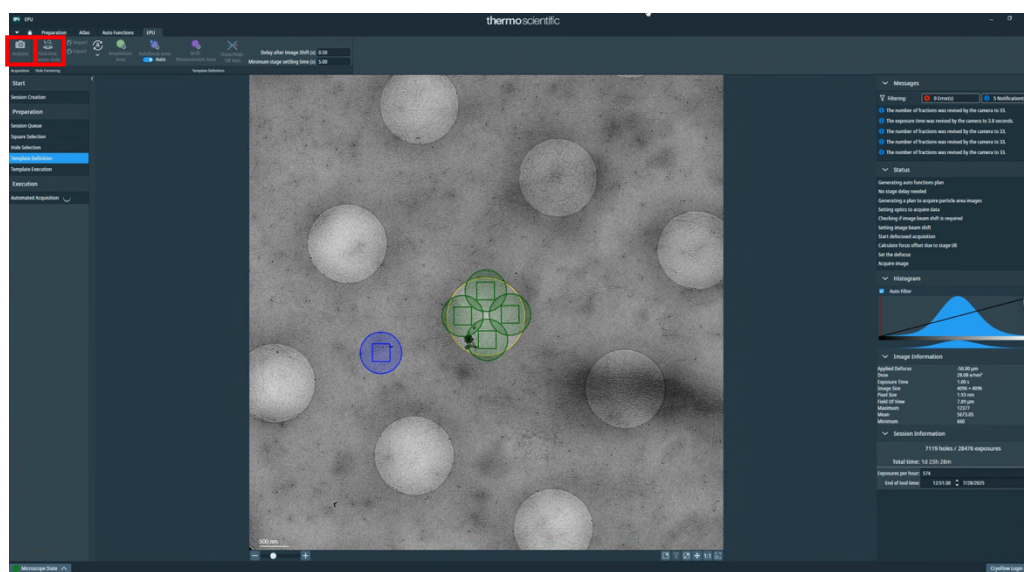
Template Definition を押す



Acquire -> **Find and Center Hole**

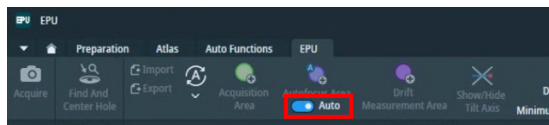
Hole が正しく認識され、画面のほぼ中央にあることを確認

*これが上手くいっていないと、以後の測定が全て失敗します

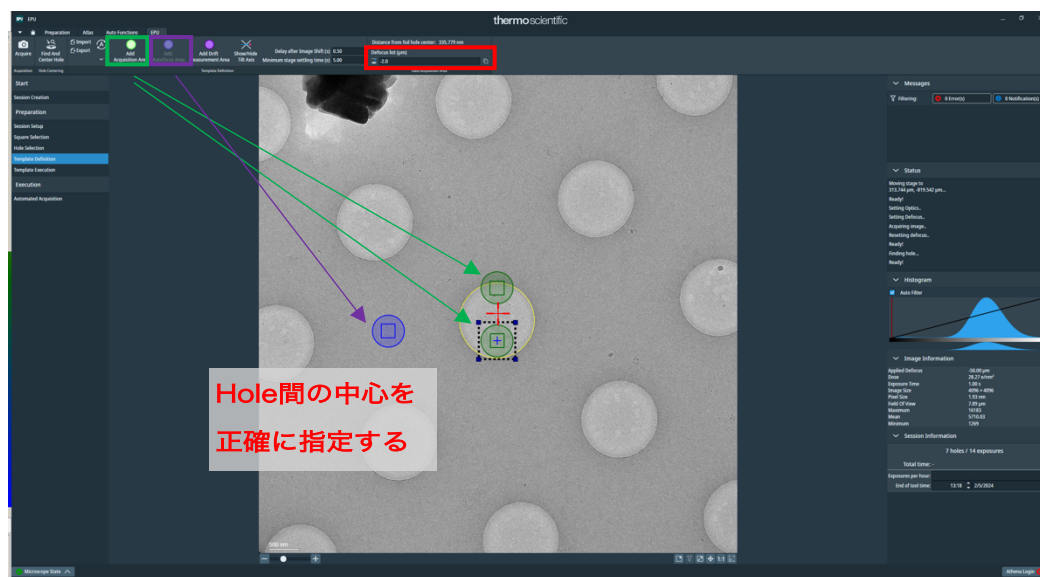


Add Acquisition Area で hole のどこを撮るのかを指定
複数箇所可（中心と端など条件を変えるとよい）

Add Autofocus Area の下、**Auto** を ON にする



または、Auto を OFF にして、focus 合わせの照射位置を自分で指定する。

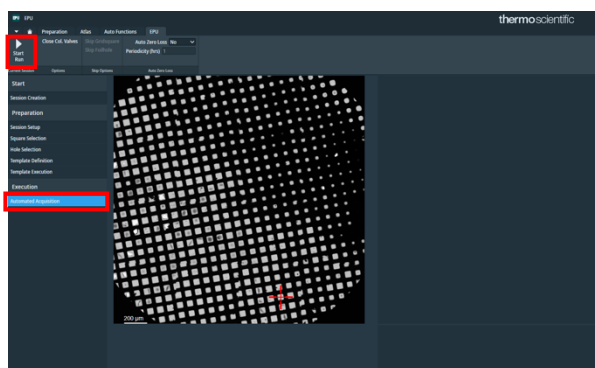


Defocus 値を指定。スクリーニングのときは少し大きめに、- 2.0 μm 等でよい。
撮影場所を複数箇所指定した場合、個別に設定できる。

*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）

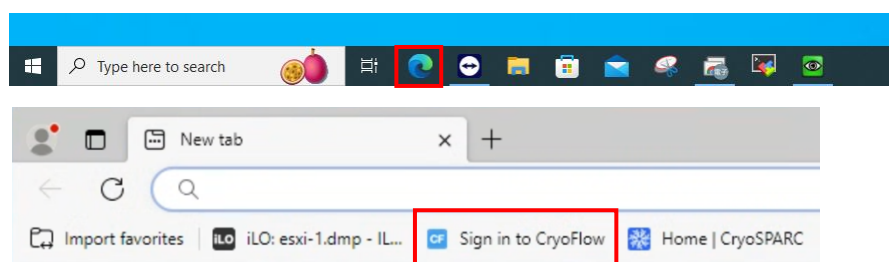
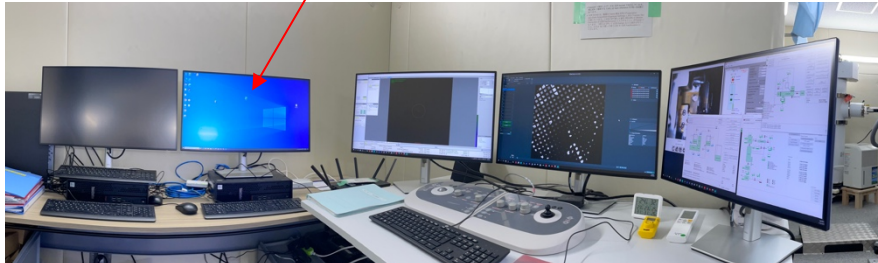


Automated Acquisition -> Start

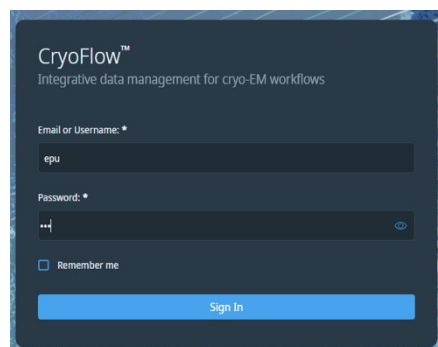


2. CryoFlow での確認

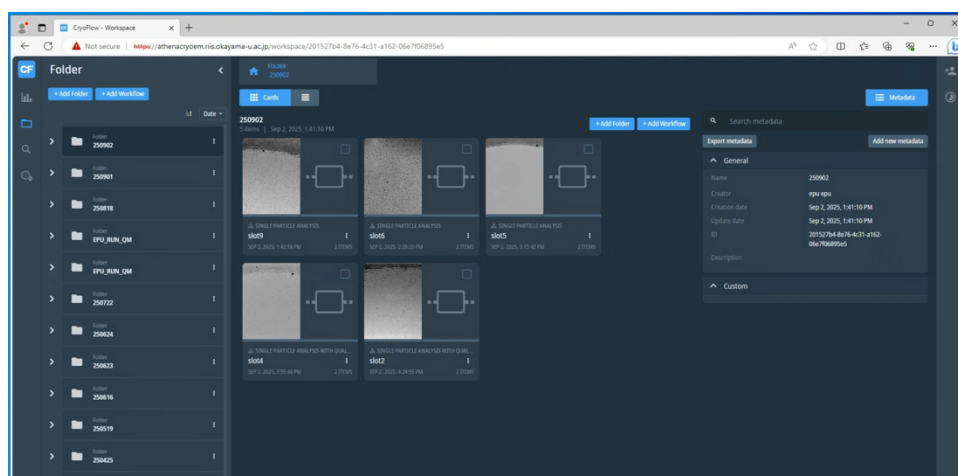
CryoFlow のモニター用 PC にて、Edge > Bookmark > Sign in to CryoFlow



ログイン画面で ID (epu) とパスワードを入力して **Sign In**

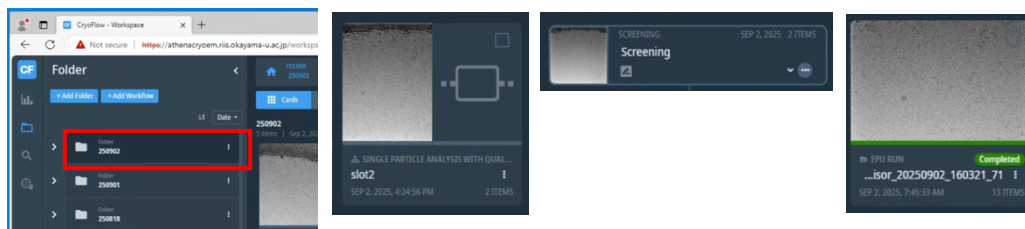


CryoFlow の Workspace が表示される

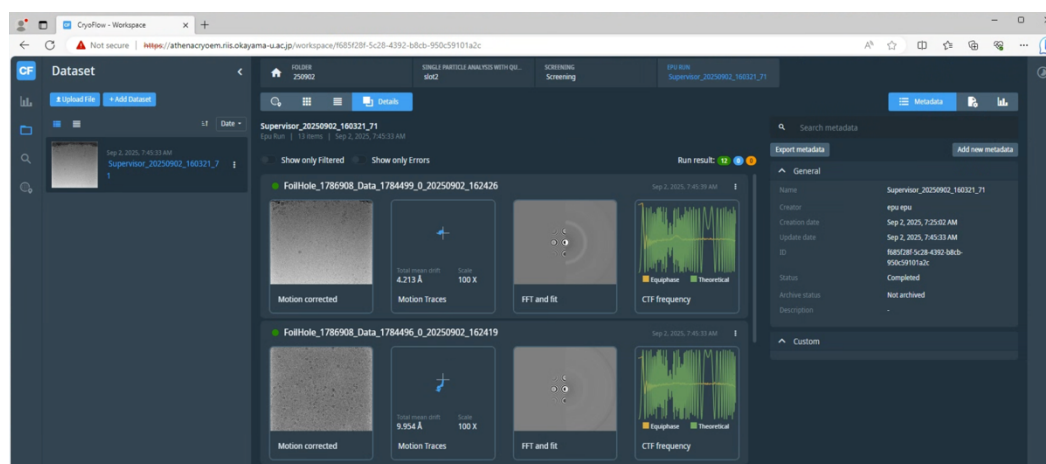


Folder (日付) -> slot_x -> Screening -> Supervisor_xxx

の順にクリックしていく



Motion correction や CTF estimation の結果が表示される

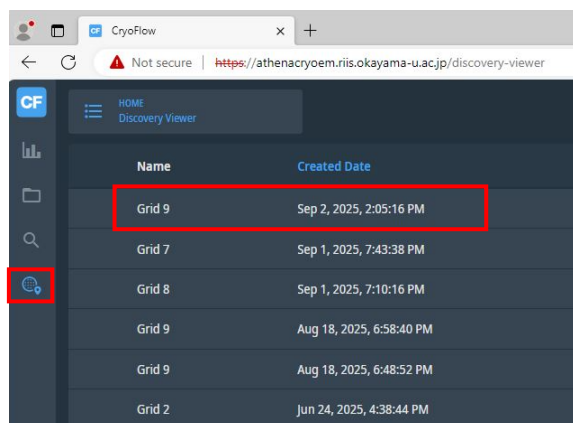


*CTF からは、分解能の評価ができる？

画面左上の Discovery viewer アイコンをクリック

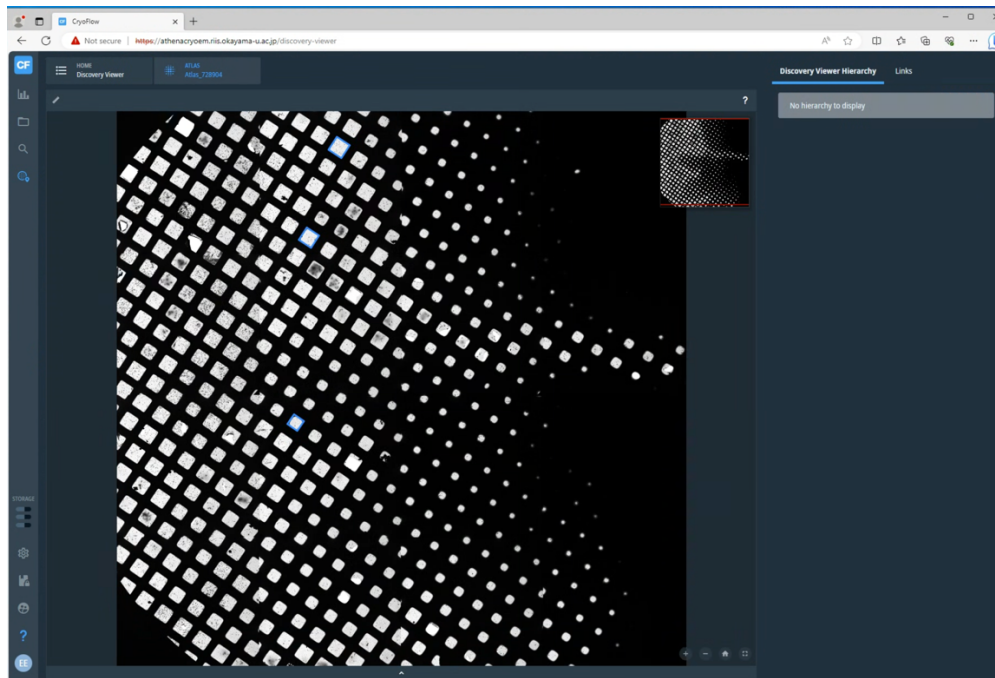


みたいグリッドを選択



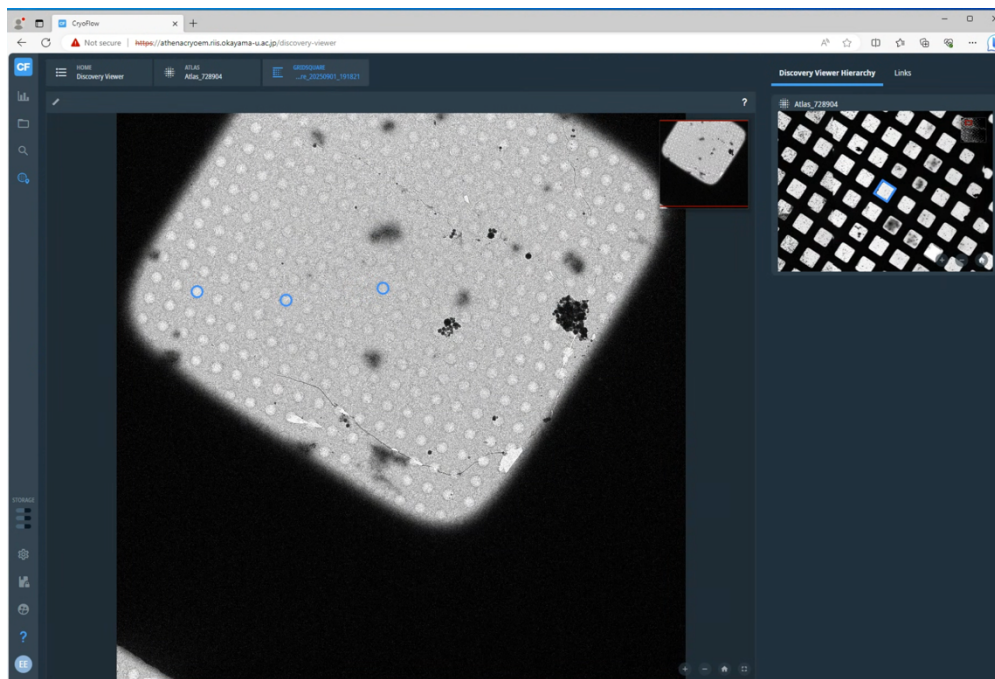
アトラスが表示され、データを撮ったスクエアがハイライトされている

確認したいスクエアをクリック

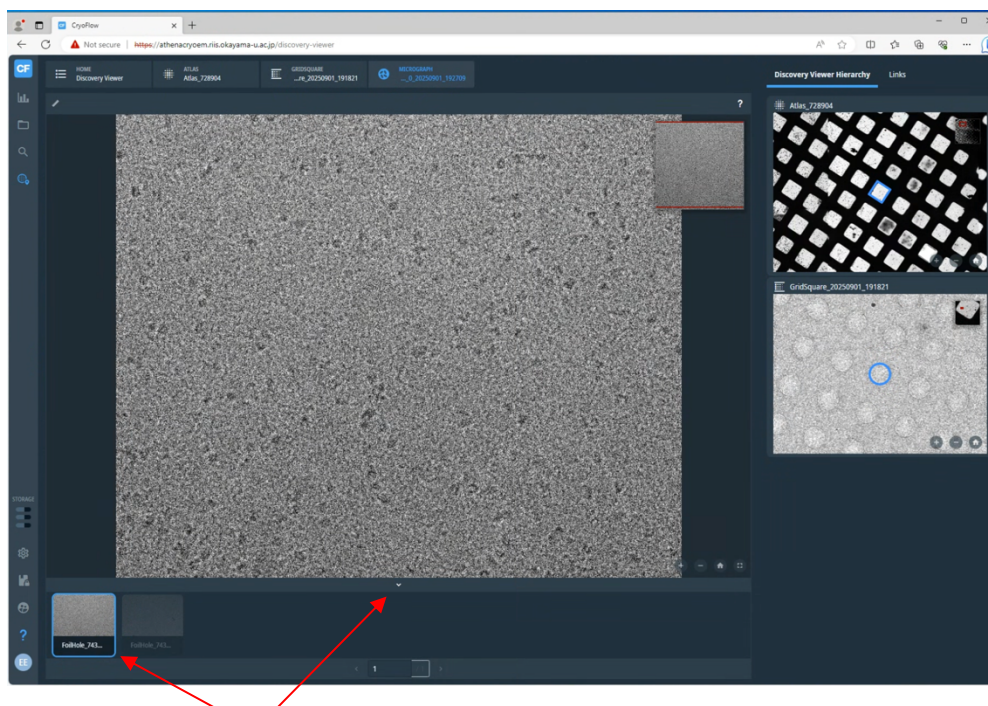


スクエアが表示され、データを撮った hole がハイライトされている

確認したい hole をクリック



その hole から撮った画像が表示される



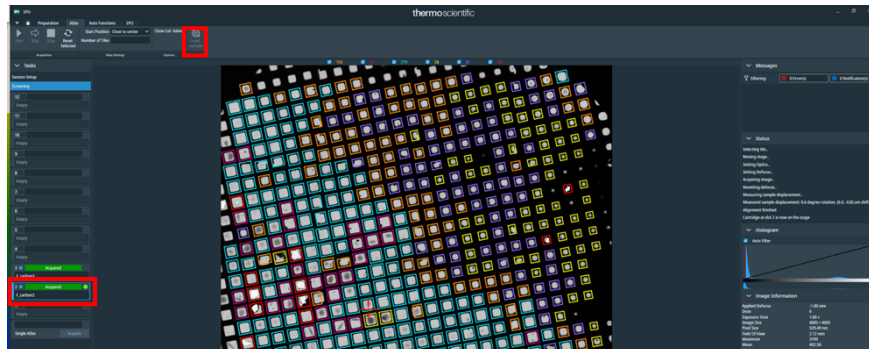
*バーをクリックすると、その hole で撮った画像のサムネイルが表示される

グリッドの各所での取得画像を比較し、よいスクエア、よい hole の特徴をつかむ

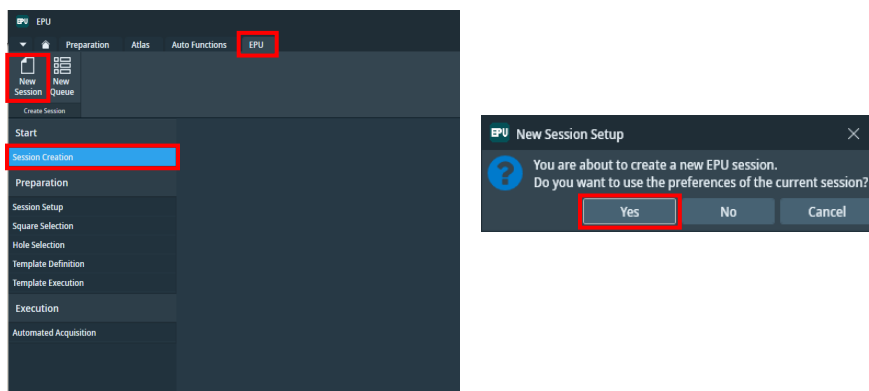
ひとつのグリッドのスクリーニングが終わったら、グリッドを入れ替えて同じ事を繰り返す

3. データの連続測定

EPU > Atlas tab でデータ測定を行うグリッドを選択し、**Load Sample**



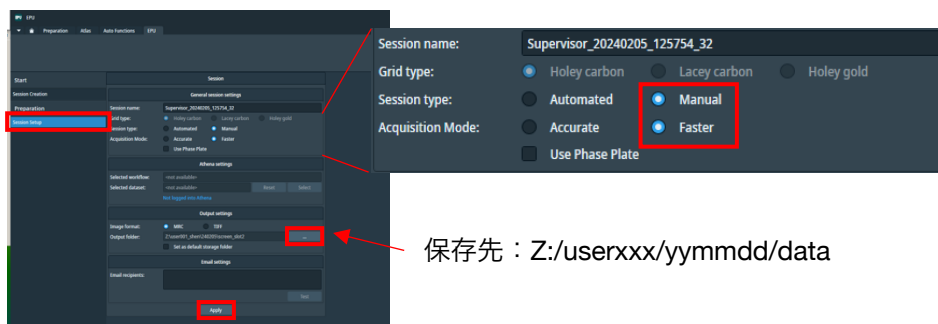
EPU > EPU tab から、**Session Creation -> New Session -> Yes**



Session Setup を押す

Session type: **Manual**, Acquisition mode: **Faster** を選択

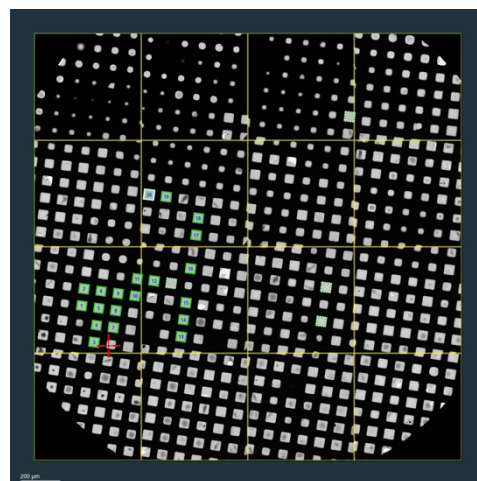
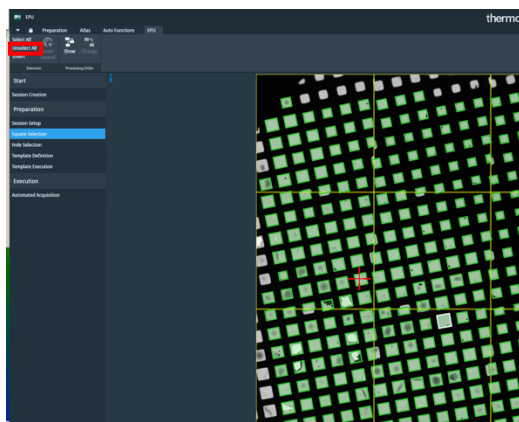
*CryoFlow は使わない



保存先: Z:/userxxx/yymmdd/data

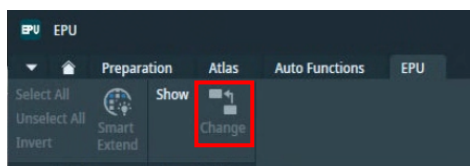
Apply を押す

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

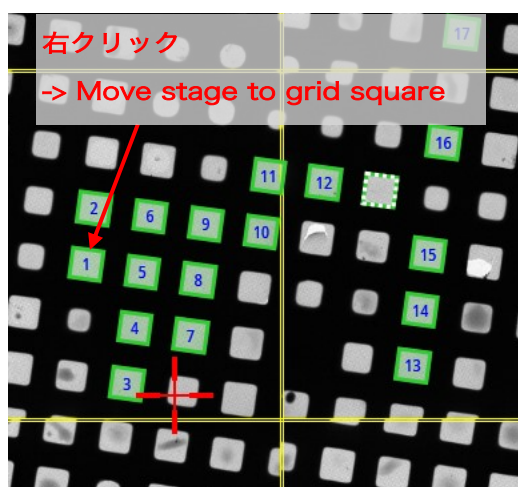


- *スクエア間の移動距離が大きすぎるとそれだけ測定時間をロスする。
- *なるべく近隣のスクエアを順次たどりながら測定するように選択するとよい

Change ボタンをクリックしてからスクエアを順にクリックしていくと、その順番に振り直される



最初のスクエア（番号 1）を右クリック -> **Move stage to grid square**



Move stage here:

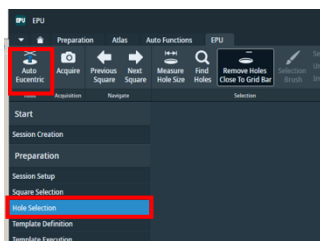
クリックした場所に移動

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

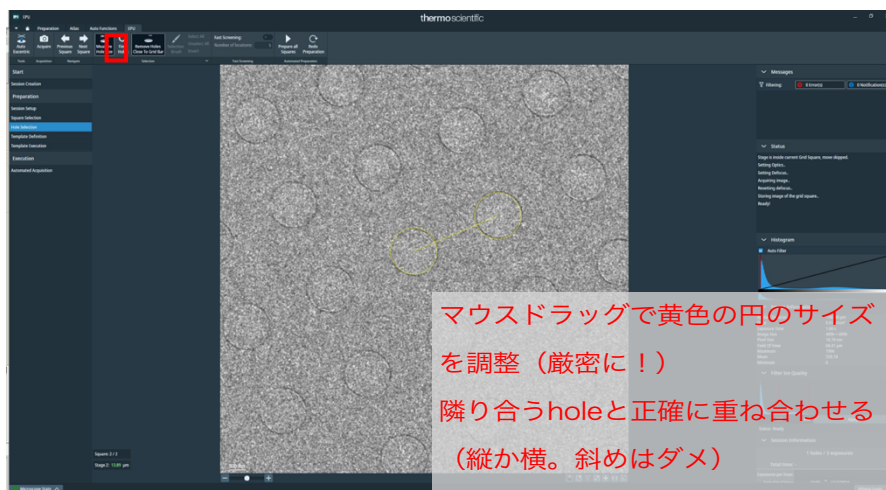
左上の **Auto Eucentric** ボタンを押す



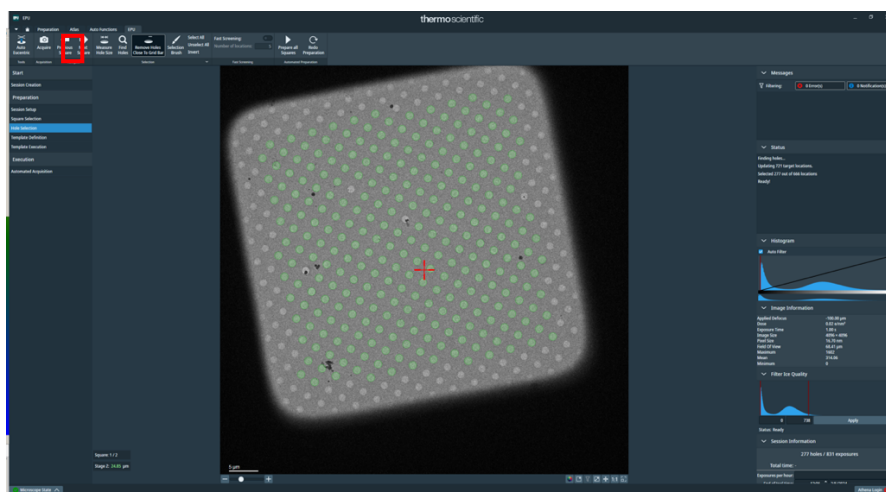
*Auto Eucentric が失敗したら、Auto Functions tab から
Auto-eucentric by beam tilt または
Auto-eucentric by stage tilt で **Start**

*Eucentric height が決まったら、Hole selection に
戻って **Acquire**

うまく決まったら **Measure Hole Size** で hole の定義

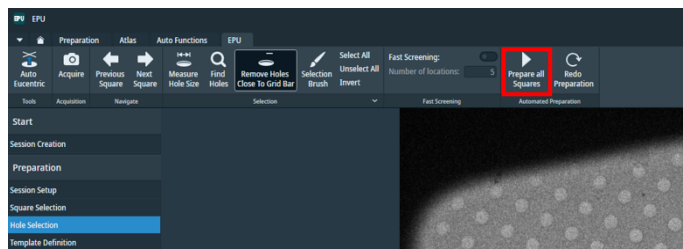


Find Holes で hole を自動認識させる



うまく hole が拾えたら **Prepare all Squares** を押す

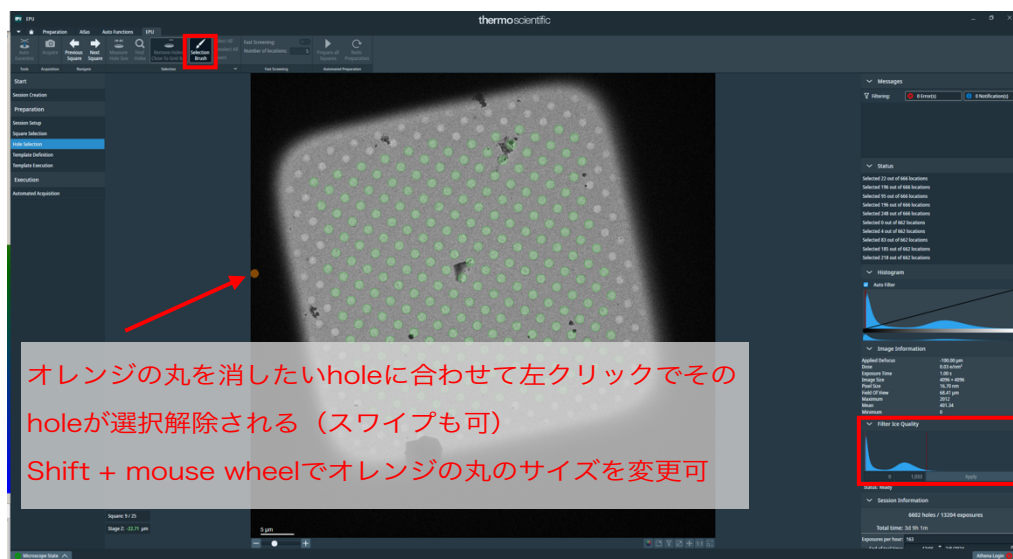
*選択したすべてのスクエアで同じ事をしてくれる



*スクエアひとつあたり 1 分程度かかる

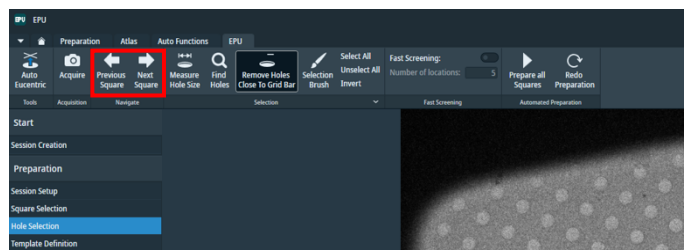
*Eucentric が失敗したら、そのスクエアは skip される。あまりに skip が多い場合、Hole/Eucentric の設定を調整する

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

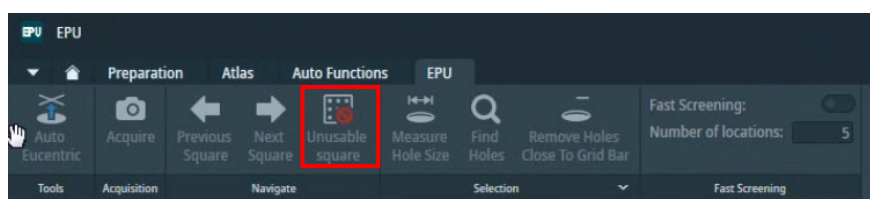


*亀裂の入っているスクエアは選択しない方が無難（電子が当たった際に揺れやすい）

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。



スクエアまると削除したい場合、そのスクエアを表示させて **Unusable square**

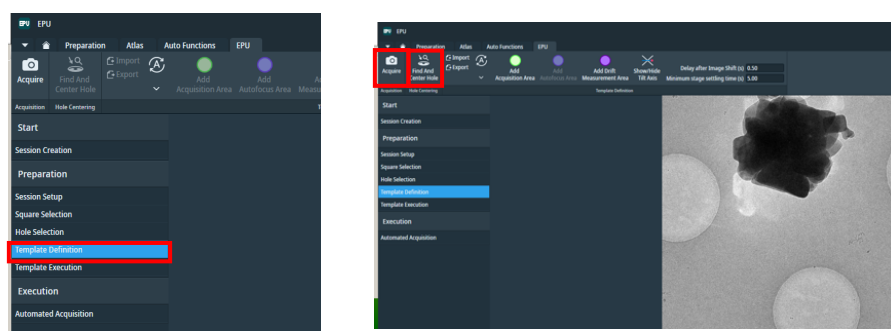


*Square selection のところで、赤で表示される

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



Hole が正しく認識され、画面のほぼ中央にあることを確認

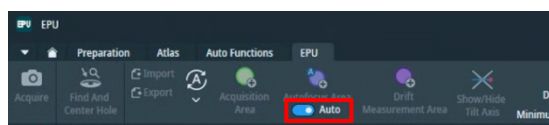
*これが上手くいっていないと、以後の測定が全て失敗します

*上手くいかないときは、Hole Selection の **Measure Hole Size** をやり直す

*複数箇所可（中心と端など）

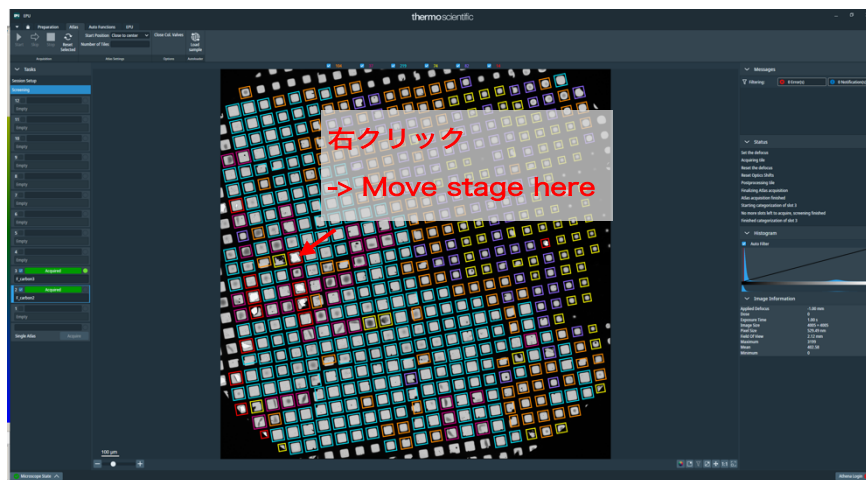
-0.6, -0.8, -1.0, -1.2, -1.4, -1.6, -1.8 μm など

Add Autofocus Area の下、**Auto** を ON にする

[illegible]

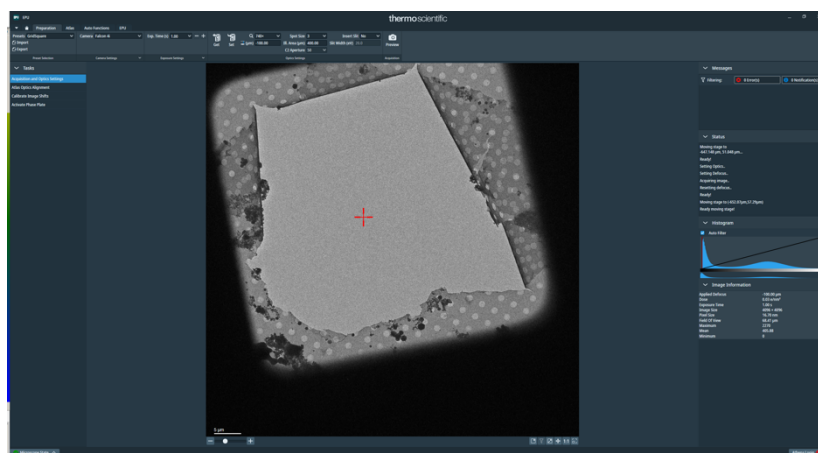
Dose の見積もりを行うため、グリッドの穴のあいたところに移動

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**

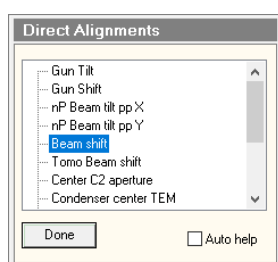
*穴にいるのを確認



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

ビームが中央になれば **Direct Alignment > Beam Shift** で中央にして **Done**



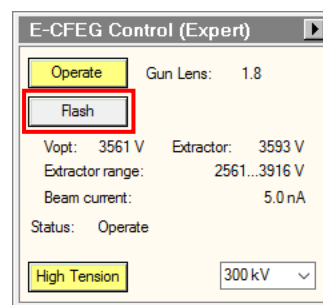
TUI で Beam Current を確認。

High tension:	300 kV	Beam Current:	3.7 nA
nP EFTEM		Screen current:	0.000 nA
SA 6500 x		Spot size:	4

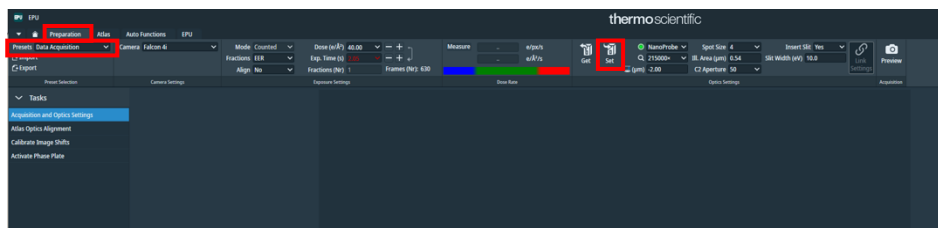
5 を下回っているようなら Flash する

*TUI -> Set up tab -> E-CFEG Control

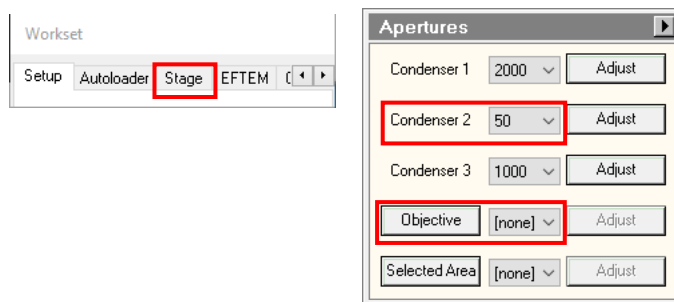
*Flash するときにはカラムバルブを閉じる



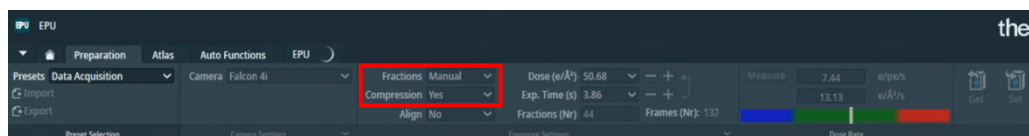
EPU > Preparation tab > Presets から Data Acquisition を選んで Set



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



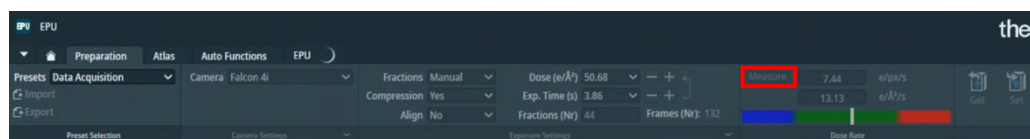
Fractions = **Manual**, Compression = **Yes** となっていることを確認



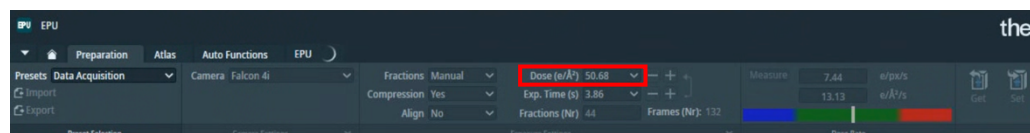
*TIFF 形式での設定

*EER 形式で撮影したい場合は別途記述

Measure を押す



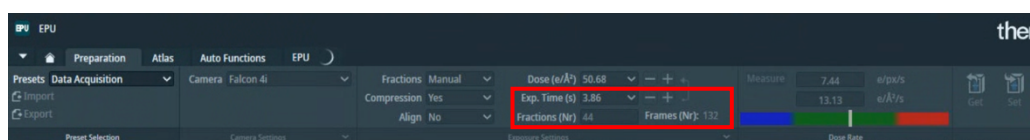
Dose のプルダウンから 50（多くの場合この値がよい）を選ぶ



Fractions の値 (40-50 が望ましい) × (整数) = Frames の値

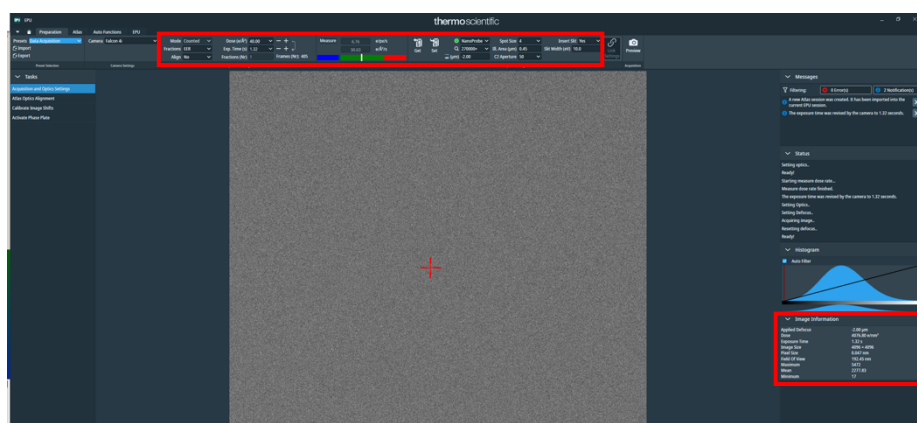
となるよう、Exp. Time と Fractions の値を微調整する

*Dose の値は Exp. Time と連動する



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

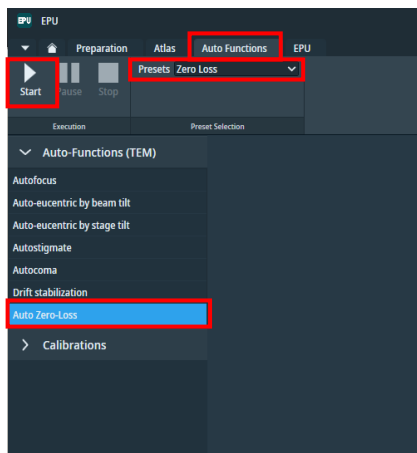


(画面全体をアプリでとる)



EPU > Auto Functions tab > Auto Zero-loss

Presets を Zero loss に変更して **Start**

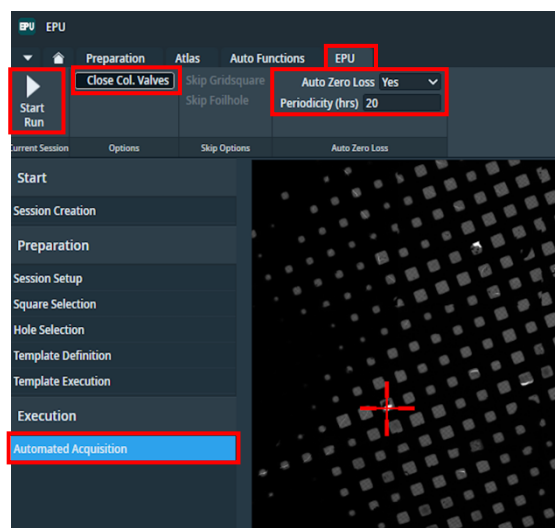


EPU > EPU tab > **Automated Acquisition**

Auto Zero loss = Yes、Periodicity (hrs) = 20 hrs （測定が 20 h 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

Start で測定開始



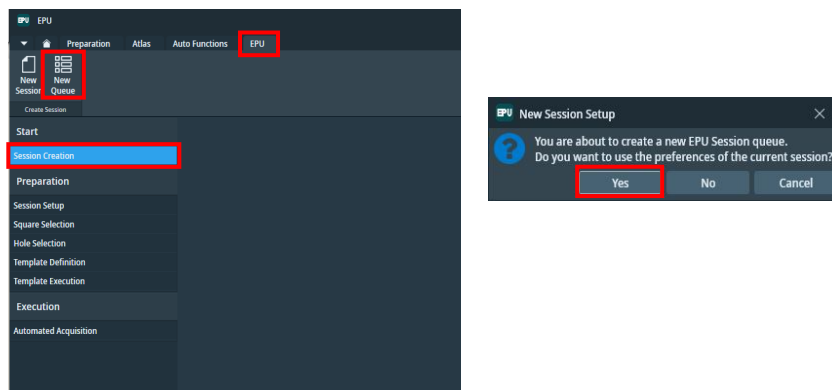
以上

4. Multi Grid Session によるデータ測定

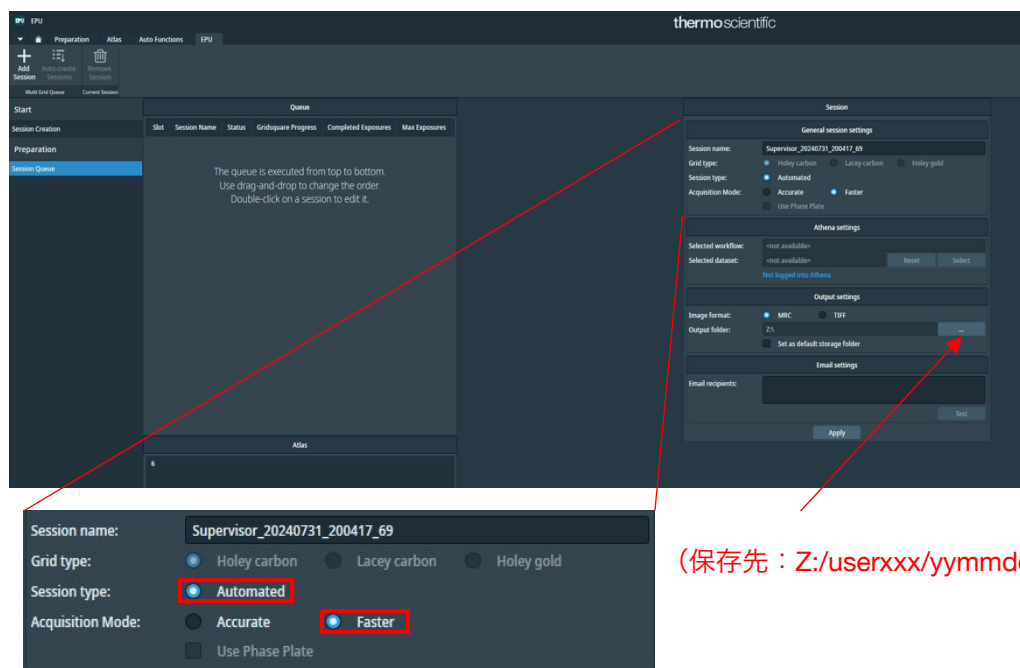
EPU > Atlas tab で一つ目のグリッドを選択し、Load Sample

p. 72-74 に従い、**dose** の見積もりを行う

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



Session Queue 右側の window に入力



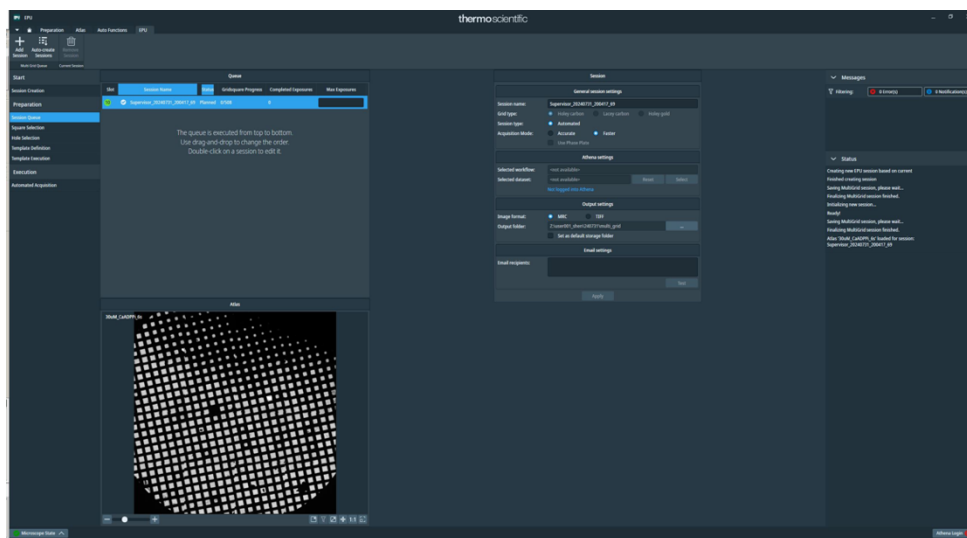
(保存先: Z:/userxxx/yyyydd/multi)

Session type: Automated (しか選べない)

Acquisition mode: **Faster** を選択

Apply を押す

一つ目のグリッドが Queue に入り、Atlas が表示される



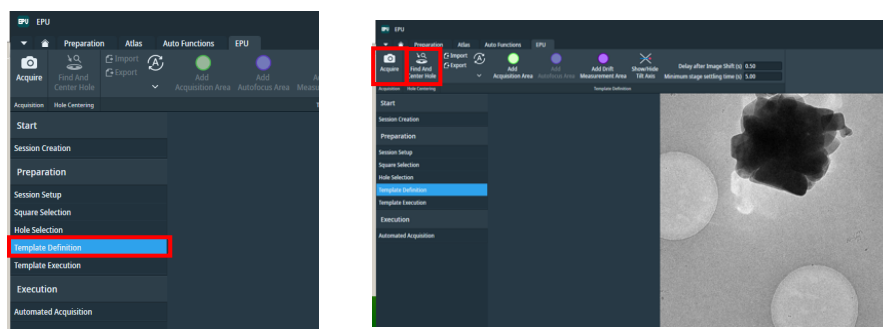
p. 56-57 に従い、スクエアの選択と hole の選択を行う。

*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 を押す

Acquire -> Find and Center Hole



Hole が正しく認識され、画面のほぼ中央にあることを確認

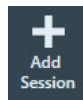
*これが上手くいっていないと、以後の測定が全て失敗します

*上手くいかないときは、Hole Selection の **Measure Hole Size** をやり直す

p. 59-60 に従い、autofocus 位置、照射位置、defocus 値などを設定する。
(これで 1 枚目の設定が完了)

グリッドを交換 (Atlas tab で **Load Sample**)

EPU tab > Session Queue で **Add Session**



-> **Yes**

新しい Session ウィンドウに保存先を入力して **Apply**

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

Queue					
Slot	Session Name	Status	Gridsquare Progress	Completed Exposures	Max Exposures
10	Supervisor_20240731_200417_69	Planned	0/508	0	

ここで設定した枚数に達したら次のグリッドに進む

p. 75 に従い、Auto Zero-loss の設定を行う

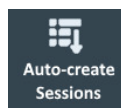
Automated Acquisition -> Start Queue



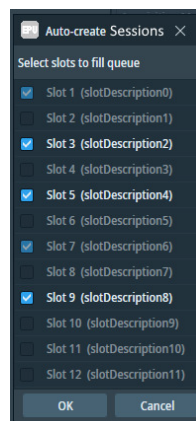
***Auto-create Sessions** による一括設定

Dose の見積もり (p. 72-74) 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



どのグリッドを queue に入れるかを選ぶ



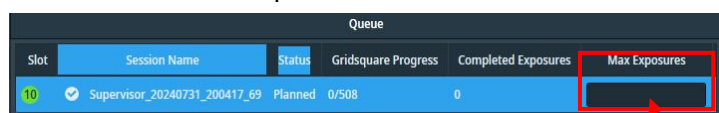
OK で選択したグリッドが Queue に入る

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 ウィ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



ここで設定した枚数に達したら次のグリッドに進む

p. 75 に従い、Auto Zero-loss の設定を行う

Automated Acquisition -> Start Queue



以上