

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H03168

研究課題名(和文) 軟X線用ポリキャピラリレンズを用いた3次元顕微イメージング

研究課題名(英文) 3D Design of Microscope for Soft X-Ray Imaging using Polycapillary Focusing Optics

研究代表者

中野 元博 (NAKANO, MOTOHIRO)

大阪大学・工学研究科・准教授

研究者番号：40164256

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：フォーカシング・ポリキャピラリ・オプティクスを用いて軟X線を数十 μm に集束した際、微小試料への入射位置と角度が僅かに異なる多光束の軟X線として照射される特性を評価してイメージングする技術を開発することにより、生体細胞内を可視化できるテーブルトップ軟X線顕微鏡の実現を目指した。プロトタイプを3D設計・製作し、レーザー生成プラズマから放射される軟X線のポリキャピラリ出射強度を計測すると、1パルスで約800万光子が得られた。しかし、大気圧下の顕微試料を透過した軟X線をCCDで像取得するには強度が不十分であり、本課題を解決するため回転放物面Niミラーを前置する等、顕微鏡システムの改良を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体細胞内を顕微観察する方法として、水の窓領域の軟X線を用いた種々の顕微鏡の開発研究が進められている。現在、水の窓軟X線顕微鏡用光源として、SPring8などの放射光施設を利用した研究例はあるが、大型設備のマシントイム取得条件が厳しく、多くの研究者が自由に利用できる環境にはない。本研究で設計・製作したような卓上型水の窓軟X線顕微鏡を実用化できれば、細胞内の動的観察が可能になって新たな知見が得られ、広く国民の利益に供することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Using a polycapillary optics, we carried out a 3D design of a table-top soft X-ray microscope system for observation of living cells by focusing illumination in the "water window" wavelength area, and then we manufactured this prototype device. In our device, we use the soft X-rays emitted from the pulsed laser-produced plasma as a light source. Using a calibrated photodiode, we have measured the soft X-ray output transmitted through the polycapillary, and this result shows the intensity over 8,000,000 photons per shot from our pulsed laser-produced plasma. However, this intensity of the soft X-rays transmitted through a microscopic sample under atmospheric pressure is not sufficient to obtain an image with our CCD camera in this device. So, we use an additional paraboloid Ni mirror placed between the light source and polycapillary. We will develop imaging technology to realize the visualization of living cells with our tabletop soft X-ray device.

研究分野：物理計測

キーワード：生物・生体工学 軟X線顕微鏡 プラズマ キャピラリ

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

酸素(O)と炭素(C)の K 吸収端間(543~284 eV)の波長域 2.28~4.36 nm の軟 X 線は「水の窓」と呼ばれ、水による軟 X 線の吸収率が生体の構成要素である炭素や窒素などの吸収率に比べて十分小さいため、生きて細胞内の観察が可能である。そこで、生体細胞内小器官の顕微鏡観察法として、水の窓領域の軟 X 線を用いた種々の顕微鏡開発が進められている。その際、放射線損傷の影響を少なくするため、被爆時間を短くする「パルス化」も要求されている。水の窓軟 X 線顕微鏡用光源として SPring8 などの放射光施設を利用した研究例はあるが、大型設備のマシントイム取得条件が厳しく、多くの研究者が自由に利用できる環境にはない。

卓上サイズの水の窓軟 X 線顕微鏡の実現を目標として、短パルスレーザ生成プラズマ(LPP)による超小型軟 X 線源開発の研究を 9 年前から推進してきた。それ以前には、LPP 極端紫外(EUV)光源の開発を目的として貫通孔を用いるパルス光源システムを考案し、基礎研究を実施してきた[1]。この先行研究の中で実施したプラズマ分光計測結果から、本 LPP 装置で EUV より短波長の水の窓軟 X 線が放射されていることを確認し、軟 X 線顕微鏡用光源の開発に着手した。最初に波長域 2.28~4.36 nm で利用可能な斜入射ミラーの全反射コーティング材料について調査した結果、数 deg の入射角に対しては、EUV から可視光の領域で多用される金(Au)コーティングより SiO₂の方が高い反射率を示し、ガラスキャピラリで水の窓軟 X 線を集束可能であることが分かった。この SiO₂を主成分とするキャピラリを多数重畳した中空ガラス管束の熱間加工法で軟 X 線を直径 30μm 以下の微小領域まで集光照射できるフォーカシング・ポリキャピラリ・オプティクスを用いれば、水分を含む環境下で生きている細胞内の小器官に軟 X 線を±8 度(±1.4rad)の広角で照射でき、さらに試料透過光を拡大投影するために対向してポリキャピラリ・オプティクスを配置し、検出した透過光強度の CT (Computed Tomography)マッピングでイメージングできれば光学顕微鏡より高い分解能が期待できる。そのためには、SiO₂ポリキャピラリレンズ[2]の直径 30μm 以下の領域への±8 度の広角照射と拡大投影の微小な試料設置領域における多光束空間伝搬特性を精密に評価する必要がある。超小型の軟 X 線顕微イメージングシステムを開発するための基礎実験を開始した。なお、図 1 に示すとおり、モリブデン(Mo)をパルスレーザで励起したプラズマから放射される軟 X 線スペクトルが水の窓領域にあることを本研究を開始する前に分光実験で確認している。

参考文献

[1] 中野元博 他, 精密工学会誌, Vol.75, No.8, pp.967-972 (2009)

[2] M. Leoni et al., J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol., Vol.109, No.1, pp.27-48 (2004)

2. 研究の目的

フォーカシング・ポリキャピラリ・オプティクスを用いて軟 X 線を数十 μm に集束した際、微小試料への入射位置と入射角度が僅かに異なる多光束の軟 X 線として照射される特性を精密に評価してイメージングする技術を開発することにより、光学顕微鏡の分解能では見えない「水分を含んだ生体細胞内の小器官」の炭素分布を可視化できる超小型軟 X 線顕微鏡の実現を目指している。そのためにポリキャピラリで集光される水の窓軟 X 線を利用する小型顕微鏡システムを設計・試作し、生きている細胞内を観察可能にする顕微鏡の開発に資する基礎データを取得することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

ポリキャピラリを用いたパルスレーザ生成プラズマ放射軟 X 線による小型顕微鏡のプロトタイプを 3D 設計・製作した。Nd:YAG レーザを Mo ターゲットに集光し、パルスレーザ励起により発生させたプラズマから放射される軟 X 線は、図 1 に示すとおり、水の窓領域が含まれる。図 2 に概略を表したように軟 X 線をポリキャピラリによって集光し、微小試料に集光照射する。図 2 右の試料照射部の拡大図に示すようにポリキャピラリによる集光・投影には偏差が生じる

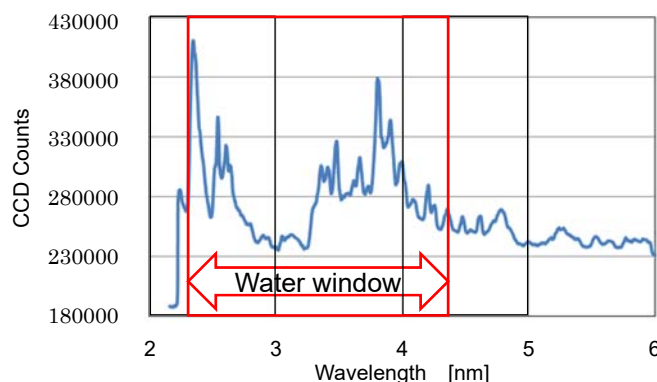


図 1 Mo ターゲットへのパルスレーザ照射により生成したプラズマから放射された軟 X 線の分光結果

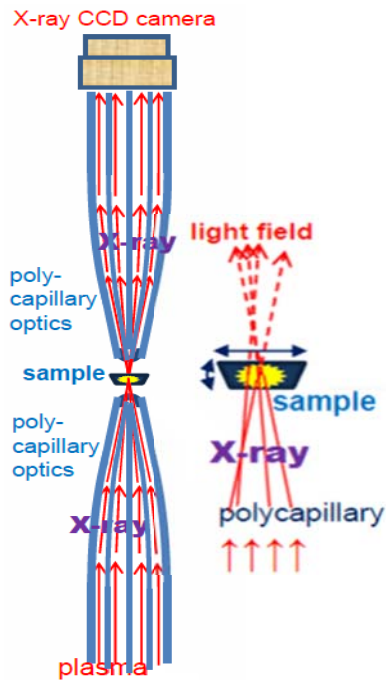


図2 ポリキャピラリ対による集光照射・拡大投影(左)と試料照射部の拡大図(右)

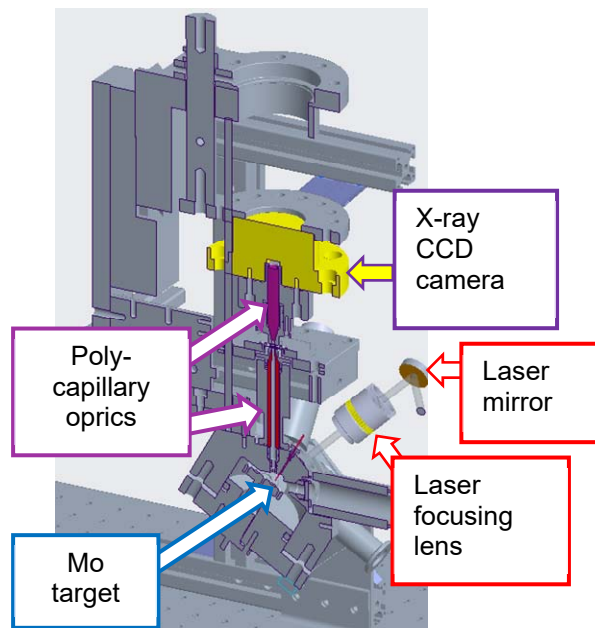


図3 3D 設計・製作した顕微鏡システムの概略 (中央断面図)

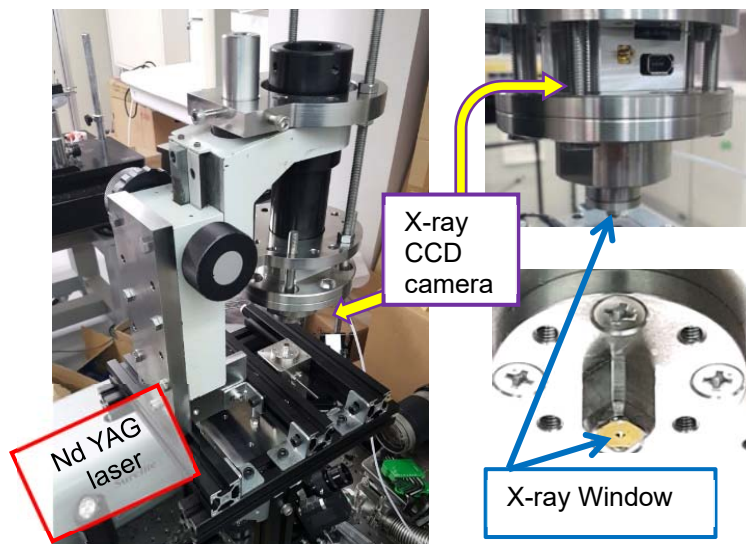


図4 製作した顕微鏡(左)、軟 X 線 CCD カメラ(右上)と大気圧下の試料観察用軟 X 線透過窓(右下)

が、試料位置にテストパターンを置いて軟 X 線像を取得し、光線追跡することでポリキャピラリによる偏差を解析し、精密にイメージングするための画像処理技術を開発する。図3の3Dモデルで示すように2本のポリキャピラリ間の大気圧下に設置した微小試料を透過した軟 X 線を、図4の軟 X 線が透過する窒化ケイ素のメンブレン窓を通過させ、拡大投影用のポリキャピラリにより軟 X 線用 CCD カメラに入射させて像を取得する。

4. 研究成果

図3の小型軟 X 線プラズマ光源から放射される軟 X 線を対向させたポリキャピラリで撮像する装置の試料位置に、テストパターンを設置して照射実験を行った結果、CCD カメラによる像が暗く、光軸調整と光源強度の不足の問題が明らかとなった。そこで、図5に示すように、拡大投影用のポリキャピラリを取り外して光軸を調整したが、軟 X 線 CCD カメラでテストパターンの軟 X 線像を検出できなかった。レーザー生成プラズマから放射された軟 X 線は発散光となり、試料に集光照射するポリキャピラリへ入射するため、平行光の集光用に設計された本装置のポリキャピラリでは設計性能が発揮できていないと考え、図6に示すとおり、レーザー生成プラズマから放射された軟 X 線を平行光に変換するための回転放物面 Ni ミラーを製作し、プラズマ光源とポリキャピラリ間に設置した。

レーザー生成プラズマ光源位置を放物面ミラーの焦点に一致させるため、光軸合わせ用の半導体レーザーをポリキャピラリ直下の光路直角切り替え用反射ミラーを用いて逆光させて放物面ミ

レーザー焦点をポインティングし、パルスレーザーの集光位置をポインティングした焦点位置に調整した。図6右上の写真はポリキャピラリ・オプティックスの外観、右下の写真は回転放物面Niミラーの外観である。図7の軟X線顕微鏡システムの概要に示すとおり、Moターゲットを設置したレーザー生成プラズマ光源部は低真空を維持し、Si₂N₃メンブレン窓を透過した軟X線が大気圧下の試料に集光照射される。試料を透過した軟X線は、可視光カット用のAlフィルターを蒸着したSi₂N₃メンブレン窓を透過し、He環境下でX線CCDカメラにより撮影される。レーザー生成プラズマ光源位置を赤外線 CCD カメラでモニタし、焦点距離 75mm の単レンズを用いてNd:YAG パルスレーザーを照射した際の焦点との一致を確認した。レーザーの集光スポット径を計測した結果、「水の窓」領域の軟X線を発生させるために必要な直径まで絞り込む調整ができなかったため、レーザー生成プラズマ光源部の真空窓を焦点距離 20mm の平凸レンズに変え、外部の焦点距離 30mm の平凹レンズと組み合わせて集光スポット径をモニタ可能な限界まで小さくなるように調整した。

パルスレーザー照射で生成されるプラズマからの軟X線放射とポリキャピラリ出射特性を評価して顕微イメージングに必要な基礎データを取得するため、小型軟X線検出器のIRD製AXUVシリコンフォトダイオードで計測した結果、ポリキャピラリ出口で1パルスあたり、 8.1×10^6 photonsの光子数を確認できた。ポリキャピラリを外して計測すると、 4.7×10^6 photons/pulseであり、約1.7倍の増大が認められただけで、ポリキャピラリのカタログに記載された集光性能である 10^3 倍には遠く及ばなかった。従って、軟X線CCDカメラによる像を取得することは、できなかった。軟X線像が得られなかった原因としては、レーザー生成プラズマから放射されている軟X線の光量がCCDカメラの検出感度に達していない可能性が高い。本装置の改良案としては、CCDカメラ、可視光カット用フィルター、試料設置部などを、全て真空チャンバ内に入れ、軟X線の光路中での減衰を最小にする装置系が考えられる。しかし、水を含む試料を真空チャンバ内に設置すると水分が蒸発し、生きた状態での観察ができないため、試料部の圧力を保持する耐圧容器の開発が必要であるが、軟X線透過用のメンブレン窓を用いて構成することが困難である。そのため、大気圧下に試料を設置し、光源部と撮像部を分離した構成で本装置を設計・製作したが、現状では、数十nmの分解能を持つ超小型の走査型軟X線顕微鏡システムとして実用化するには光源強度が不足している。そこで、現有の回転放物面Niミラーより口径の大きな同軸放物面ミラーに設計変更し、製作することで像検出可能な光量まで増大させることを考えたが、研究期間中には実現できなかった。他に、高感度の軟X線CCDカメラへの変更などが考えられ、今後も改良を続け、水分を含む環境下で生きている細胞内の小器官の観察が可能な小型軟X線光源実現を目指す。

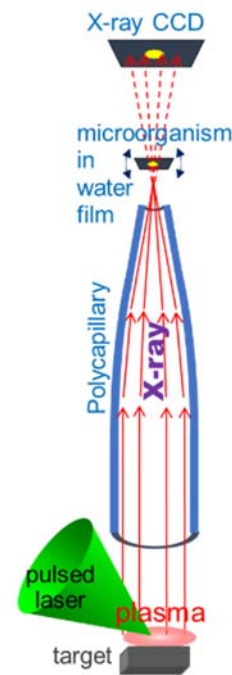


図5 ポリキャピラリの光軸調整

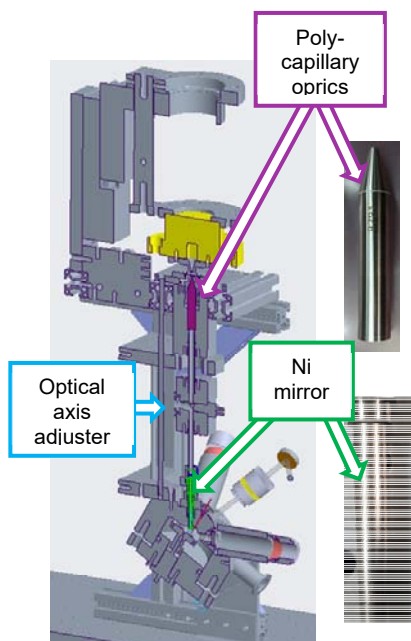


図6 光軸調整ミラーと回転放物面Niミラーによる軟X線顕微鏡の改良（中央断面図）

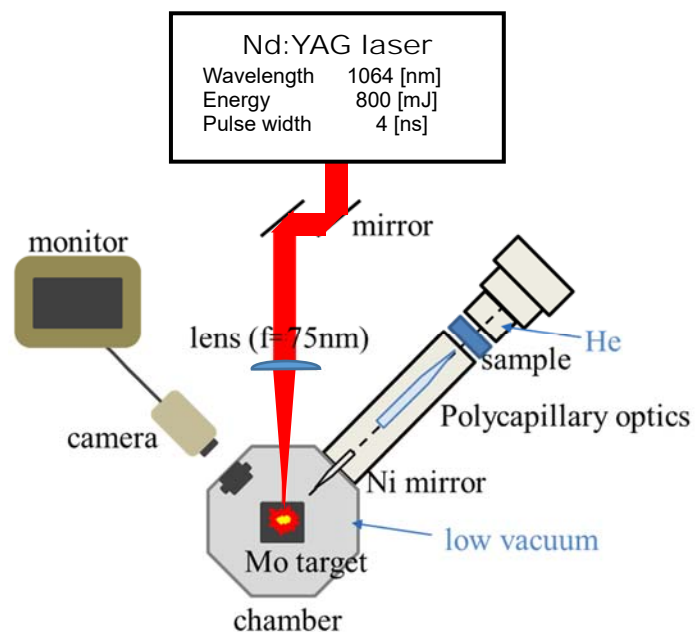


図7 製作した軟X線顕微鏡システムの概要

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----