

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25282132

研究課題名(和文) 放電生成プラズマ放射軟X線のキャピラリ集束を用いた生体細胞内小器官の顕微観察法

研究課題名(英文) Developments of Plasma Soft X-ray Source for Microscopic Observation of Organelles in Living Cells with Focusing Capillary

研究代表者

中野 元博 (NAKANO, Motohiro)

大阪大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40164256

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,800,000円

研究成果の概要(和文)：生きている細胞内の小器官で起きている変化を観察可能にする顕微法を開発するため、水の窓軟X線顕微鏡の小型プロトタイプ光源システムを製作した。その特長は、パルス放電生成プラズマから放射される軟X線を、波長域2.28～4.36nmで反射率が高いガラスのキャピラリで集束する点にある。この光源システムとシングルキャピラリを用いた実験を行った結果、放電電圧が6kVの場合、放電電流は約6A、パルス放電時間は約10 μ sとなり、放電エネルギーが約360mJと評価できた。しかし、軟X線顕微鏡の光源としては出力不足であり、今後、ポリキャピラリを導入するなどの改良を行って小型軟X線顕微鏡用光源システムの開発を進める。

研究成果の概要(英文)：To create a future system of a table top "water window" soft X-ray microscope to observe organelles in living cells, we developed a small prototype light source system using focusing glass capillary, because glass has advantage of high reflectivity for wavelength region from 2.28 to 4.36 nm. The light intensity emitted from the discharge produced plasma assisted by pulsed laser, is measured with our small calibrated detector. In typical case of the discharge voltage 6kV with the single capillary, the electric discharge current is estimated approximately 6A with 0.01ms pulse, and the electric discharge energy is evaluated about 360mJ. However, the light intensity is not enough to observe organelles in living cells. We will reconstruct the "water window" soft X-ray source system using focusing polycapillary optics.

研究分野：物理計測

キーワード：放射線技術工学 水の窓軟X線顕微鏡 プラズマ キャピラリ

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、生きた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。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。

我々は、5 年前から卓上サイズの水の窓軟 X 線顕微鏡の実現を目標として、短パルスのレーザー生成プラズマによる超小型軟 X 線源開発の研究を推進してきた。この研究に着手する以前は、プラズマ極端紫外(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]。この先行プラズマ研究の中で実施したプラズマ分光計測結果から、現有のプラズマ装置で EUV より短波長の水の窓軟 X 線が放射されていることが推測でき、走査型軟 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・キャピラリーで水の窓軟 X 線を集束可能であることが分かった。SiO₂ を主成分とするキャピラリーは中空ガラス管の加熱引張法で先端径を数十 nm にまで細く加工できるので、水分を含む環境下で生きている細胞内の小器官に軟 X 線を集束照射して走査し、透過光強度のマッピングで光学顕微鏡より高い分解能の像が取得可能になる。このように、SiO₂ キャピラリーを利用した超小型の軟 X 線顕微鏡システムの着想に至り、水の窓軟 X 線プラズマ光源の開発を目指した基礎実験を開始した。しかし、その実用化に必要な 1kHz 以上の高繰り返し速度で使用できる高強度 (~1J) で数 ns と短パルスのレーザーは、現状、開発段階にあることから、パルス放電生成プラズマによる走査型軟 X 線顕微鏡システムの実現について検討した。なお、炭素(C)を励起したプラズマから放射されるスペクトルが水の窓領域にあることを、パルスレーザー生成プラズマ分光実験で本研究を開始する直前に確認した。

参考文献

- [1] 中野元博 他, 精密工学会誌, Vol.75, No.8, 967-972 (2009)
- [2] B. Li, et al., *Appl. Phys. Lett.* **102**, 041117 (2013)

2. 研究の目的

SiO₂ は「水の窓(Water-Window)」領域(炭素と酸素の K 吸収端間 284 ~ 543 eV)の軟 X 線反射率が高い。本研究では、SiO₂ キャピラリーで軟 X 線を数十 nm に集束可能であることを利用して、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 線走査型顕微鏡の開発を目指している。すなわち、放電生成プラズマから放射される水の窓軟 X 線を利用する小型顕微鏡用光源システムを開発し、軟 X 線をキャピラリーで集束して、生きている細胞内小器官で起きている動的な変化を観察可能にする顕微法の実現に資することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

最初に、ガラス・キャピラリーを用いて大気圧下に取り出した軟 X 線の出力を計測する AXUV シリコンフォトダイオード検出器の校正を大阪大学レーザーエネルギー学研究センターの EUV Database 装置付属のフラットフィールド型斜入射分光器(日立製回折格子 2400 本/mm)と裏面照射 X 線 CCD カメラを用い、プラズマから放射される軟 X 線を分光計測することによって行った。プラズマ生成材料として選んだ炭素(C)、ジルコニウム(Zr)、モリブデン(Mo) に対して放射スペクトルを測定し、Al と Mylar の薄膜フィルタを透過する波長域 (7nm) と波長域 2.28 ~ 4.36 nm の水の窓領域の軟 X 線スペクトル分布から校正データを取得した。

その結果を図 1 に示す。炭素(C)ターゲットを用いたプラズマからは、波長 2.6 ~ 4.1 nm の間にシャープなラインスペクトルが観察されるが強度は低く、Li らの報告[2]のとおり、ジルコニウム(Zr)とモリブデン(Mo)のプラズマからの軟 X 線放射強度が高く、中間電離の幅広いイオン種の外殻遷移によるスペクトルの複数ピークが水の窓領域で観られ、さらに波長 4.36 nm より長い軟 X 線強度も計測されている。

図 2 は、ジルコニウム(Zr)、モリブデン(Mo)と炭素(C)ターゲットの 0.13mm 集光径にエネルギー 0.4 ~ 1.0J、パルス幅 8 ~ 11ns のレーザーを垂直入射して生成したプラズマから 45° 方向に放射される軟 X 線を、ガラスキャピラリーを通過させ、さらに Al / Mylar フィルタを透過させて、逆電圧を印加した AXUV フォトダイオードにより計測した出力の時間積分値と励起レーザーパワー密度との関係である。

Al と Mylar を透過した軟 X 線は、約 100 の量子効率(@3nm 波長)でフォトダイオード中に光電子を発生するので、図 1 の発光スペクトル分布を用いて光子数に換算できる。そして、図 2 の測定結果から、軟 X 線光源用のターゲット材料として、炭素(C)より ジルコニウム(Zr)、さらにモリブデン(Mo)の方が大きな出力を示すことが期待された。

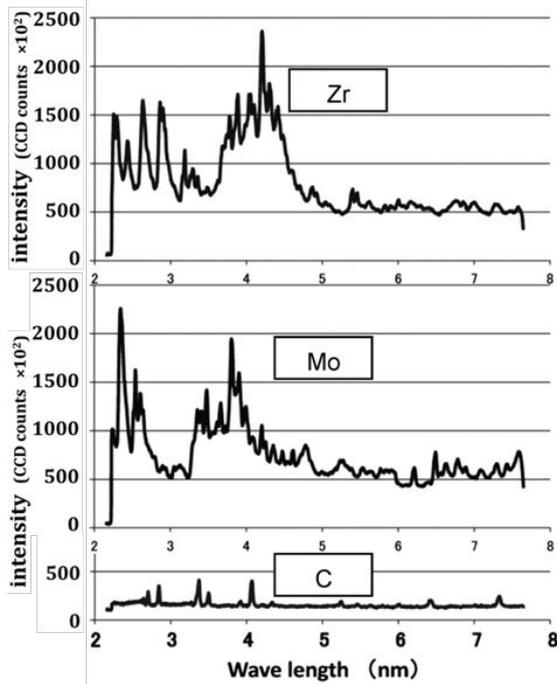


図1 炭素 C, モリブデン Mo, ジルコニウム Zr のレーザー生成プラズマ放射軟 X 線分光計測結果

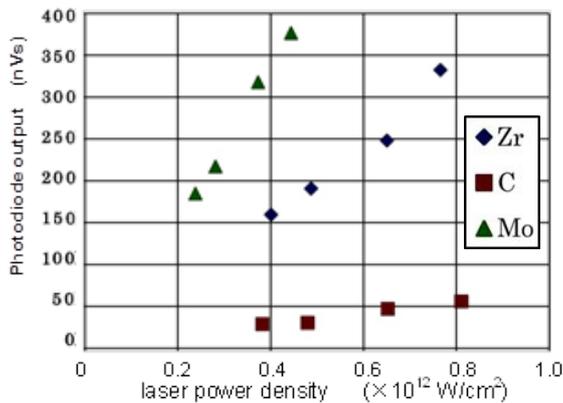


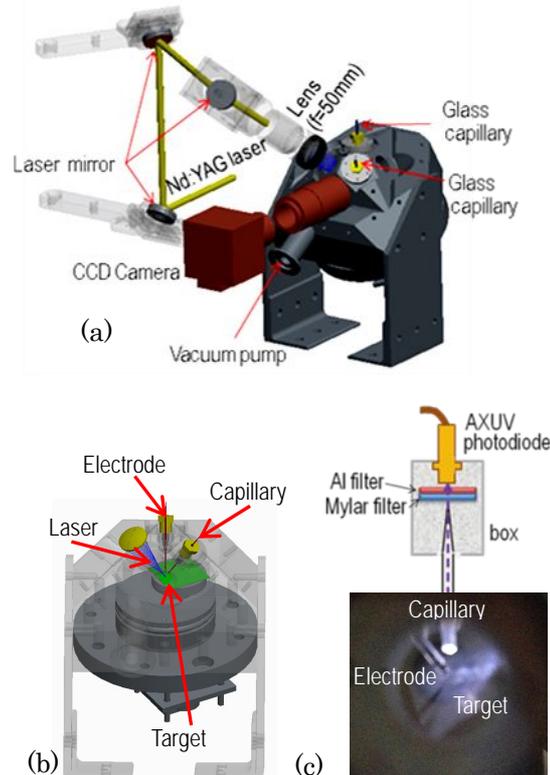
図2 C, Mo, Zr のプラズマから放射された軟 X 線のキャピラリー/フィルタ前置 AXUV フォトダイオード出力と励起レーザー強度の関係

次に、水の窓領域で反射率が高いガラスのキャピラリーでパルス放電生成プラズマから放射される軟 X 線を集束し、生きている細胞内小器官で起きている動的な変化を観察可能にする顕微鏡を開発するため、軟 X 線顕微鏡用小型プロトタイプ光源を製作した。

そして、パルス放電生成プラズマから放射される軟 X 線出力を校正済みの小型検出器で測定し、水の窓軟 X 線顕微鏡用光源としての課題を明らかにし、その解決を目指して、光源システムの改良を試みた。

4. 研究成果

図 3(a)に本研究で設計・制作した小型軟 X 線プラズマ光源装置の概要、図 3(b)にテーブルトップ型真空チャンバーの内部、図 3(c)上部に Al / Mylar 複合フィルタと AXUV フォトダイオードを迷光防止容器にセットアップした小型軟 X 線検出器の構造、図 3(c)下部にプラズマ発生用の放電電極とターゲット、および、ガラス・キャピラリーを撮影した CCD カメラの像を示す。



(a)レーザーシスト放電プラズマ光源装置
(b)テーブルトップ型真空チャンバー内部
(c)小型軟 X 線検出器とプラズマ発生部
図3 小型プラズマ光源装置と水の窓軟 X 線検出器の概要

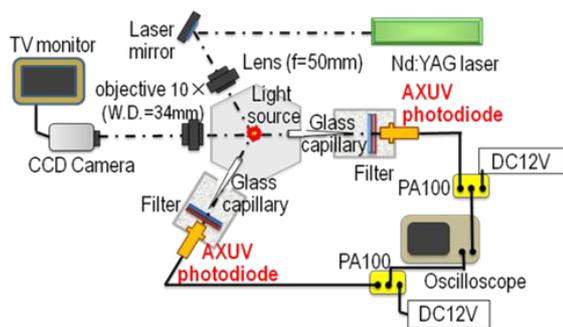


図4 小型軟 X 線顕微鏡用パルスレーザーアシスト放電プラズマ光源の計測システムの概要

図4に放電用電極直下のターゲットへパルスレーザーを集光照射して生成されるプラズマから放射される軟X線を対称な2方向のキャピラリーで大気圧下に取り出して、小型軟X線検出器を用いて計測する本システムの概要を示す。炭素(C)を励起したプラズマから放射される軟X線強度を小型軟X線検出器のIRD製AXUVシリコンフォトダイオードで検出した結果、ガラス・キャピラリー出口で1パルスあたり、 10^8 photons/mm²程度の光子数と評価できた。しかし、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強度不足であり、プラズマターゲット材料に関して、図2の測定結果から再検討し、炭素(C)からZr、Moターゲットに変更した。

放電生成プラズマ光源装置には、未松電子製作所製MPC3010S-25LP小型パルスパワー電源装置を用いた。放電用電極間電圧を6kVに設定して、キャピラリーを用いた実験で、炭素(C)とジルコニウム(Zr)のターゲットに対して放電生成プラズマからの軟X線を大気圧下で計測した結果、パルス放電のみでは出力が小さいので、パルスレーザーアシスト放電に変更して、生成したプラズマからの軟X線を計測すると、レーザーのみを用いた場合に比較して、放電との複合により出力が向上できた。しかし、未だ生体細胞内の小器官を観察するには不十分であった。そこで、放電電極をモリブデン(Mo)へ変更し、アシスト用レーザーとのパルス同期を制御するため、図5に示す装置構成に変えて光源出力の向上を図った。さらに、放電ノイズを低減するため、対向電極のシールド構造やキャピラリー等のオプティクスを変更し、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線光源実現を目指して、改良を続けている。

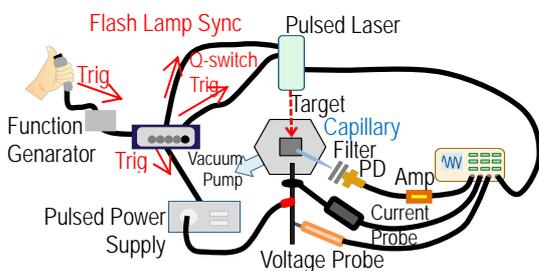


図5 放電アシスト用レーザーのパルス同期とプラズマ実験における計測装置の構成

以上、本研究では、ガラス・キャピラリーを用いた小型の軟X線生体顕微鏡システムを提案し、その実現に必要な「水の窓」領域軟X線プラズマ光源用ターゲット材料に関する調査を行った。AlとMylar薄膜で波長

7nm以下に制限した軟X線をAXUVフォトダイオードで計測した結果、炭素(C)よりジルコニウム(Zr)やモリブデン(Mo)の方が大きな出力を示した。従って、炭素(C)ターゲットに代えて、ZrとMoを用いて、製作した軟X線生体顕微鏡用プラズマ光源装置における最適条件の探索を実施した。

なお、研究期間の途中で耐震補強工事のために実験室の移転作業があり、図3の小型プロトタイプ光源装置の改良が遅れたので、シングルキャピラリーを用いた実験に止まった。すなわち、フォトダイオード出力への放電ノイズの重畳が問題となったので、その解決のために光源装置を再設計した改良装置を製作し、水の窓軟X線顕微鏡用光源装置の開発を進めてきた。さらに放電ノイズを低減するため、電極部の電磁シールドを改良し、小型プロトタイプ光源装置の放電回路と電極構造を変更した装置を用いて、その諸性能を再評価していく。また、より集光性の高いポリキャピラリーに変えることで軟X線信号出力を向上させ、水の窓軟X線顕微鏡用の光源装置としての性能を高めて、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線光源実現の可能性を示していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計2件)

- (1) 星野広海、本郷優子、押鐘 寧、村井健介、中野元博「水の窓領域軟X線顕微鏡用レーザー生成プラズマ光源開発 集光による高輝度化に向けた反射膜の検討」精密工学会 2015年度関西地方学術講演会(2015.6.23、京都工芸繊維大学)
- (2) 本郷優子、荻 佑介、押鐘 寧、中野元博「水の窓領域軟X線顕微鏡用レーザー生成プラズマ光源の開発」精密工学会 2014年度関西地方学術講演会(2014.7.4、近畿大学)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)
取得状況(計0件)

〔その他〕
ホームページ:

<http://www-qm.prec.eng.osaka-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中野 元博 (NAKANO, Motohiro)
大阪大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号: 40164256

(2)研究分担者

押鐘 寧 (OSHIKANE, Yasushi)
大阪大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号： 40263206

(3)連携研究者

なし