

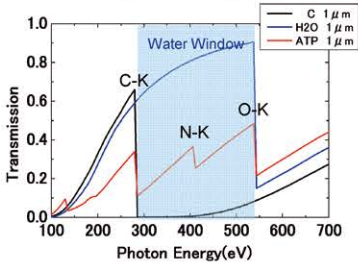
その場観察可能な密着型軟X線顕微鏡用密閉試料セルの開発

根市侑太郎¹⁾, 江島丈雄¹⁾, 柳原美廣¹⁾, 加道雅孝²⁾, 石野雅彦²⁾

1)東北大学 多元物質科学研究所, 2)日本原子力研究開発機構

背景① 軟X線顕微鏡の特徴

軟X線...光エネルギーがおよそ40~4000eVのX線。C,N,O等の生物構成元素のK殻吸収端を含み、生物試料の観察に向く。



背景② 密着型軟X線顕微鏡

当研究室では、以前からその場で観察することが可能な密着型軟X線顕微鏡の開発を進めてきた。

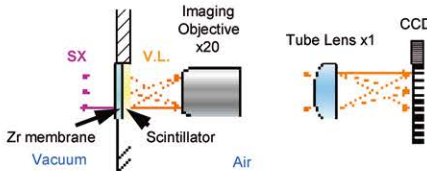


図 その場観察可能な密着型軟X線顕微鏡

Ref).T.Ejima, et al., CP 1234, AIP(2010) p805

背景③ 試料セルの必要性

真空中で水を含む試料を扱う為に試料を密閉する仕組みが必要。

求められる条件

- ①試料を真空中から隔離し、かつ圧力差に耐える構造。
- ②一定以上の透過率。

密着型軟X線顕微鏡で、水の窓波長域において水を含む「生きた」生物細胞試料を観察するために、上記の条件を満たす「試料セル」を開発する。

試料セルの構造

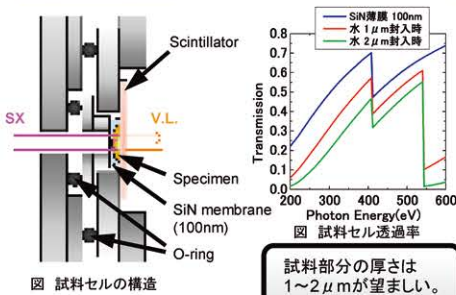


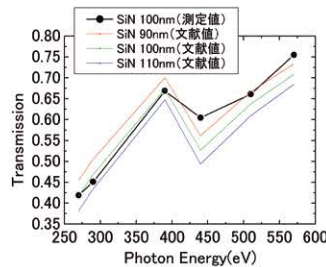
図 試料セルの構造

試料部分の厚さは1~2 μmが望ましい。

設計・製作協力: 多元物質科学研究所 技術室 機械工場, 光器械工場

実験 SiN膜厚の測定

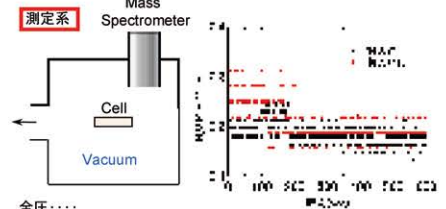
SiN薄膜の透過率を測定した。



→文献値に近い透過率が得られた。膜厚にそれほど大きな誤差はない。

実験 真空耐性の評価

真空排気装置にセルを入れ、装置内のH₂O分圧を四重極質量分析計で測定。測定は排気開始から約30分後に開始。



全圧... 封入なし 2.3 × 10⁻⁶(Pa) 水封入時 4.4 × 10⁻⁶(Pa)

→試料セル内の密閉に成功。

実験 透過率及び像の評価

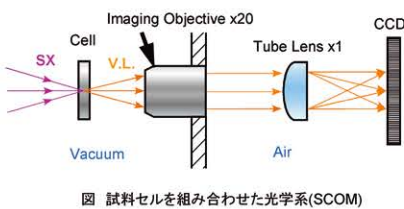


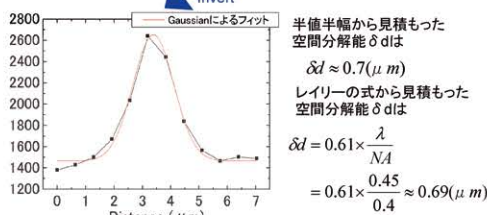
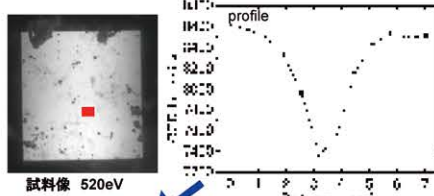
図 試料セルを組み合わせた光学系(SCOM)

標準試料を試料セルに封入し、透過率と像の評価を行った。

試料 平均径0.52 μmポリスチレン球を含んだ水
Photon energy 280~580 eV
露光時間 240~300 sec
使用Beam Line: Photon Factory BL-11D
(エネルギー分解能 E/ΔE ≈ 500)

結果 空間分解能

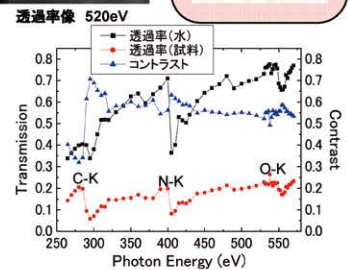
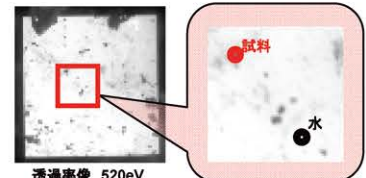
ビーズ球を無限小とみなし、ビーズ1粒のプロファイルから空間分解能を評価する。



→理論値に近い空間分解能が得られた。

結果 透過率

水と試料の透過率のphoton energy依存性を示す。



水の透過率のOのK殻吸収端の落ち幅から見積もった水の厚さは70~80nm。

実験 生物試料の観察

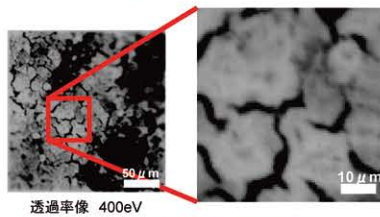
開発した試料セルを使って実際に生物細胞試料の観察を行った。光学系は評価に用いた系と同様。条件は下記の通り。

試料 マウス精巣 ライディッヒ細胞
SiNメンブレン上で培養しホルマリン溶液で固定
Photon energy 280~580 eV
露光時間 240~600 sec
空間分解能 0.7 μm
使用Beam Line: Photon Factory BL-11D
(エネルギー分解能 E/ΔE ≈ 500)

試料提供: 奈良女子大, 保先生, 安田先生

観察結果

得られた像の一例を示す。



→実際に水を含む生物試料の像が得られた。

まとめ

水の窓領域での観察を可能にする試料セルの開発に成功した。

- ・真空中で水を含む試料をリークすることなく保持することに成功した。
- ・開発した試料セルを使って水の窓領域の軟X線で標準試料の像を撮影し、実用的な透過率が得られることを示した。
- ・開発した試料セルを使い、実際に生物細胞試料の像を撮影した。

今後の課題

- ・水や試料の厚さの制御