

提出 2007年 11月 30日

## 会合議事録

研究会名：マイクロ・ナノイメージングと生体機能

日時：2007年10月29日 19:45-23:10

場所：SPring-8 中央管理棟特別会議室

出席者：(議事録記載者に下線)

会員：伊藤 敦 (東海大)、百生 敦 (東大)、井上敬文 (カネボウ化粧品)、金城康人 (都産業技研)、椎名達雄 (千葉大)、武田佳彦 (筑波大)、水谷治央 (東大)、峰雪芳宣 (兵庫県立大)、矢田慶治 (東北大、東研)

オブザーバー：大東琢治 (JASRI)、西野吉則 (JASRI)、香村芳樹 (理研)、鈴木芳生 (JASRI)、竹内晃久 (JASRI)

計 14 名

議題：

- 1) SPring-8 のイメージングビームライン・顕微鏡の現状
- 2) メンバーの研究紹介
- 3) 今後の活動について

議事内容：

- 1) SPring-8 のイメージングビームライン・顕微鏡の現状

JASRI の方々に X 線顕微鏡で現在試みている光学系について、またレンズレス光学系として注目されている回折顕微鏡の現状と応用について話していただいた。まず、鈴木芳生氏より BL-20XU 及び 47XU で試みている結像型 CT について、原理、分解能について解説がなされた。CT において結像特性を視野内で一様とするため、インコヒーレントな照明が必要であることが述べられた。そのためにコンデンサーゾーンプレートと 8 角形のセクターゾーンプレートとし、さらに diffuser を入れてインコヒーレント照明を実現した。現在 8keV で 80nm のラインアンドスペースが見えており、CT ではおそらく 150nm 程度の分解能で、理論的には 50-100nm の分解能が達成できる見込みとのことである。また視野は 100 $\mu$ m 程度であること、さらにゼルニケ型位相コントラスト CT も可能であることが述べられた。生物試料への応用研究では毛髪のイメージングがすでに行われた。

ついで西野吉則氏は理研 BL-29XUL において行われている回折顕微鏡について現状と画像例を示された。Al 合金中の金属イメージングでは、 $1\mu\text{m}$  サイズの中の析出物が観察できているとのことで、この画像は 3D で示された。また理研前島氏と共同研究の染色体イメージングでは、 $-70^\circ$  から  $70^\circ$  まで  $2.5^\circ$  毎に画像を取得し 3D 画像とし、表面形状の特徴として 4 本のアーム構造が観察された。断面の画像も可能である。ただし、3D 画像には時間がかかり、1 投影が 1 時間として 1-2 日要するとのことである。分解能は 2 次元画像として  $50\text{nm}$  程度である。目標は  $30\text{nm}$  のクロマチンの観察にある。なお、回折顕微鏡は、XFEL にも適用が考えられており、 $1/60$  秒のシングルパルスで観察可能であることが期待されている。現在のエネルギーが  $5\text{keV}$  であるが、生体試料にはもっと低いエネルギーの方が適していることも付け加えられた。ただし、 $1-5\text{keV}$  は SPring-8 で利用できるビームラインがなく空白地帯とのことであった。

## 2) メンバーの研究紹介

百生敦氏（東大）より、位相コントラストを利用したイメージング法について特に視野サイズの比較と医学応用例が報告された。位相コントラストを利用した方式として、結晶干渉計による位相トモグラフィ、タルボ干渉計による位相トモグラフィ、タルボ型 X 線結像顕微鏡の 3 つが紹介された。タルボ干渉計は大視野に適応し、BL20B2 において  $6\text{cm}\times 2\text{cm}$  の視野が得られている（利用エネルギーは  $10-35\text{keV}$ ）。一方、タルボ型顕微鏡は BL20XU で行われており、視野は  $300\mu\text{m}\times 100\mu\text{m}$  である（利用エネルギー  $9\text{keV}$ ）。結晶干渉計は BL20XU にて視野  $3\text{mm}\times 3\text{mm}$  で、水中の試料のみに利用される（エネルギーは  $15-20\text{keV}$ ）。応用として、約  $10\mu\text{m}$  の分解能でラット腎系球体硬化症病変が観察された（筑波大武田先生）。マウス動脈硬化病変における安定型プラークと不安定型プラークの違いについてはタルボ干渉計によって明らかとなった（神戸大篠原先生）。また、マウス小耳骨の形成における骨細胞間ネットワークに関する知見はタルボ位相 CT 及びデフォーカス X 線顕微鏡像による CT を用いて得られた（慶応大松尾先生）。なお、大視野タルボについては神戸大篠原先生が 1 週齢マウスの whole body のイメージングを試みたが、まだ感度が低く、内臓まで分解することはできていないとのことであった。

水谷氏（東大）は「脳神経配線図の 3 次元構築」というテーマで 2007A での位相 CT の結果とアメリカで開催された「Neural Circuit Reconstruction」という神経回路の可視化に関する国際会議の報告がなされた。nano-resolution and large-scale without destruction という目標は、X 線イメージングにふさわしく、また脳神経回路網の画像化はそれにふさわしいチャレンジングなテー

マと思われる。現状での問題点として、1) Hg を使うゴルジ染色の場合、すべてのニューロンを染色することができないこと、2) 活動している神経細胞を染色する目的で、Ca チャネルを通過しかつ可視光でも見える Co を用いたが、タルボ干渉計では観察できなかつたこと、があげられた。このように、試料作成にさらに工夫が求められるとのことであった。ついでアメリカでの国際会議の報告では、ほとんどの参加者が電子顕微鏡による膨大な切片観察によるアプローチをとっており、もし X 線顕微鏡で優れた知見を示すことができれば、脳神経分野での大きな成果となるばかりでなく、X 線イメージングの手法が非常に注目されることになる重要なテーマと考えられる。

ついで金城氏（都産業技研）から、生物研究者としてのユーザーの立場から、多くの研究者が共通に感じていることとして忌憚のない提案がなされた。一つは常設ラインであること、試料を持参すればいつでも観察可能というのが多くの生物・医学研究者の理想であろう。第 2 に、試料に合わせて試料槽を簡便かつ自在に交換できるようなユニットシステムであること、例えば乾燥試料や含水凍結試料などにも適用可能なシステムが述べられた。

これらの要望は、実現は容易ではないが、X 線イメージングの応用を発展させる上で非常に重要であることが再認識された。またテーマ設定については、水谷先生の脳神経、松尾先生の骨形成、金城先生の染色体構造など、すぐに結果は難しいが、将来大きな成果が期待できるテーマをサポートすることがこの分野の発展に必要なとの議論がなされた。

### 3) 今後の活動について

以下の項目について議論がなされた。

研究会からの要望及びビームライン高度化についての提案：

- 1) 結晶干渉計の大視野化 (3mmx3mm 以上)
- 2) BL47XU の採択率の改善
- 3) 課題不採択の理由の通知
- 4) CT 測定に関して、CT 測定中に取得済みデータをバックアップする体制、標準的なソフトウェアのユーザーへの配布について要望がなされた。これに関して電子顕微鏡 CT ではフリーの imod というソフトウェアが一般的であるという意見が出された。

ビームライン高度化について、BL20XU の上流の使い方について、上流では下流より光強度が一桁高いので顕微鏡の常設などの提案がなされた。

今後の活動として、年度内にもう一度会合を開催することとなった。また、他の研究会との合同の研究会を積極的に行うべきとの議論がなされた。

以上