

# パルス状コヒーレントX線溶液散乱法のための 溶液試料ホルダの開発

Development of solution sample holder for Pulsed Coherent X-ray Solution Scattering

ユーザー氏名: 木村隆志(Takashi Kimura)<sup>a</sup>, 城地保昌(Joti Yasumasa)<sup>b</sup>, 別所義隆(Yoshitaka Bessho)<sup>c</sup>, 西野吉則(Yoshinori Nishino)<sup>a</sup>  
(<sup>a</sup>北海道大学(Hokkaido University), <sup>b</sup>高輝度光科学研究センター(JASRI/SPring-8), <sup>c</sup>台湾中央研究院(Academia Sinica))

実施機関担当者: 松尾保孝、大西広 (北海道大学)

▶ Key words

X-ray microscopy, environmental cell, biological imaging

## 概要 / Overview

新世代のX線光源であるX線自由電子レーザー(X-ray Free Electron Laser: XFEL)による観察では、高ピーク輝度・超短パルスという特徴から、放射線損傷の影響を回避した、生物試料などの自然な状態の構造を捉えることができる。ナノテクノロジープラットフォームの支援の下開発した微量な溶液試料を封じ込めるマイクロ液体封入アレイと、XFELによる計測を組み合わせ、生きた細菌の高分解能イメージング法の開発について紹介する。

In biological imaging, it is essential to keep the sample close to its natural state. By freezing the sample in time using a femtosecond pulse duration, an X-ray Free Electron Laser (XFEL) can overcome the radiation damage problem, which limits the achievable resolution. In this poster, we present a method for capturing snapshots of live cells kept in a micro-liquid enclosure array by a single-shot XFEL diffraction.

## X線自由電子レーザーによる溶液中試料イメージング



### X線自由電子レーザー

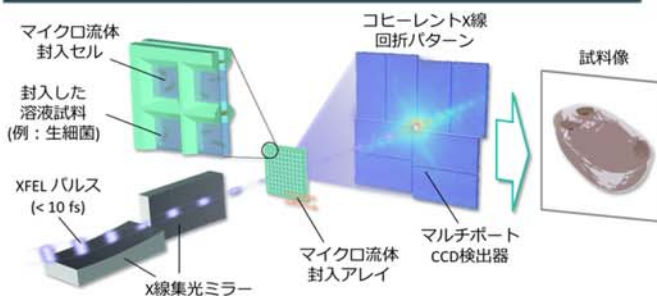
- ・高ピーク輝度  
...パルス当たりの光子数 $10^{11}$
- ・超短パルス  
...パルス幅 $10^{-14}$  秒以下
- ・空間完全コヒーレント

X線自由電子レーザー施設 SACL A  
(SPring-8 Angstrom Compact free-electron LASER)

- 生細菌などの溶液中試料の高空間分解能イメージングの実現を目指し、XFELを利用したパルス状コヒーレントX線溶液散乱法の開発を行った。従来、電子顕微鏡やX線顕微鏡で生物試料を高分解能観察する際、放射線損傷による試料構造の破壊が問題となっていた。XFELによる計測では、フェムト秒のパルス幅により、試料構造が破壊される前の自然な状態を観察することが可能である。

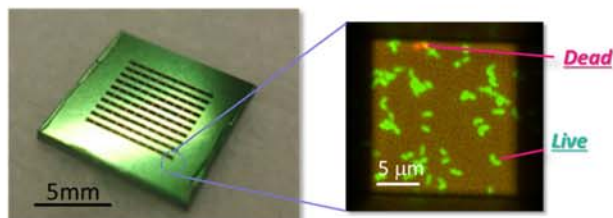
## パルス状コヒーレントX線溶液散乱法

Pulsed Coherent X-ray Solution Scattering

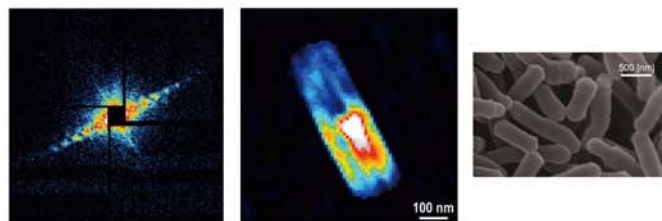


- 計測では、微量な溶液試料を真空中に保持可能なマイクロ液体封入セルを利用する。XFELのパルス照射後に試料が破壊されてしまうため、多数の封入セルをチップ上に集積したマイクロ液体封入アレイを使用する。

## マイクロ液体封入アレイの開発と生細菌の観察



開発したマイクロ液体封入アレイ(左)と封入セル内部の細菌の蛍光顕微鏡像(右)



生細菌(*Microbacterium lacticum*)のコヒーレントX線回折パターン(左)と再構成した試料像(中)、*M. lacticum*の走査型顕微鏡像(右)

- マイクロ液体封入アレイの作製には、北大クリーンルーム施設の半導体プロセス装置を利用した。マイクロ液体封入アレイ上の各封入セルは、二枚の窒化ケイ素薄膜の間に、数 $\mu\text{m}$ 厚以下の溶液試料をパッキングする構造になっている。封入セル内部の細菌を蛍光顕微鏡で観察した結果、99%以上の細菌が1時間以上内部で生存可能であることを確認している。

- X線自由電子レーザー施設SACL Aを利用して実験を行い、封入セル内部の生細菌のコヒーレントX線回折パターン取得に成功した。反復的な位相回復計算により試料像を再構成し、570 nmサイズの生細菌の内部構造を数十nm以下の分解能でイメージングすることに成功した。

Reference: T. Kimura *et al.*, Nature Communications 5 (2014) 3052.

▶ Contact

氏名: 西野吉則、木村隆志(北海道大学)  
実施機関: 北海道大学ナノテク連携研究推進室