1P241

投影型X線顕微鏡における光源サイズと分解能

○前田 洋¹、菊原 一²、本田 捷夫²、吉村 英恭¹ (¹明大・理工・物理、²千葉大・工・画像工学)

投影型X線顕微鏡は微小なX線光源から放射状に広がるX線を利用して拡大された投影像を得るものであり、生物試料を観察する際に有利な特性を持っている。今回の実験で使用した投影型X線顕微鏡は市販の走査型電子顕微鏡を改造したものであり、その分解能はターゲット内部でのX線光源の大きさと、試料のエッジ部分でのフレネル回折の回折幅に依存する。今回は光源の大きさおよびX線のスペクトルを考慮した数値計算の結果と実際のX線顕微鏡写真を比較することにより光源の大きさを推察し、光源サイズを小さくすることによる分解能の向上を試みた。実験は $0.3\ \mu\text{m}$ の金薄膜をターゲットに用い、20keVの電子線を照射することにより得られるX線を光源として、 $3\ \mu\text{m}$ の厚さを持つアルミニウム箔のナイフエッジを光源-試料間の距離を変えながら撮影し、エッジでのフレネル回折幅を測定した。また、同条件でX線スペクトルを考慮に入れてキルヒホフ回折積分を行うことにより回折光強度を計算し、光源の大きさによる影響を実験と比較した。その結果、光源の大きさは100nm以下であることが推定できた。この状態で分解能測定のためのテストパターンを撮影すると500nmのパターンまでは分解される。光源のサイズをより小さくするために薄いターゲット薄膜(Au- $0.1\ \mu\text{m}$)を使用した。ターゲット薄膜は電子線照射部分の真空隔壁としても使っているため、薄くすると強度が不足する。このため $0.1\ \mu\text{m}$ のAuを $0.1\ \mu\text{m}$ 厚のSiN膜上に蒸着してターゲットとした。このターゲット膜を薄くしていったときにどこまで分解能が向上するかを実際のX線写真を紹介しながら考察する。

H.Maeda, H.Kikuhara, S.Honda, H.Yoshimura : Dependency of Resolution on X-ray Source Size in Projection X-ray Microscopy

1P243

1 分子観察法による脂質膜の流動性の観察

○小林 舞、伊藤 瞳、日比野 政裕 (室蘭工大・応化)

生体膜において局所的に存在するであろう流動性の不均一性は膜上で起こる生化学反応にとって重要であると考えられている。近年の一分子計測の技術の進歩によって、脂肪酸の親水性頭部に蛍光色素を標識したオクタデシルローダミン B (R18) を脂質膜中に微量加えると、膜中の分子の運動を数十ナノメートルの空間分解能で且つリアルタイムで直接観察することができるようになった。このことは、個々の蛍光分子のブラウン運動を直接観察することによって脂質膜における局所的な流動性の違いを計測することができることを意味する。そこで、脂肪酸としてアラキジン酸、飽和のリン脂質としてジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC)、不飽和のリン脂質としてパルミトイルオレオイルホスファチジルコリン POPC を選び、これらを用いて脂質膜を作成し、膜の局所的な流動性を検討することを試みた。

脂質膜の作成はオクタデシルトリクロロシラン (OTS) を用いて疎水化したカバーガラスに蛍光色素 R18 を含む脂質単層膜を水平法で積層して作った。すなわち、この二重層膜の一層目の分子はカバーガラス表面に共有結合で固定されており、蛍光色素分子は水に面した二層目に入ると予想される。

結果として、アラキジン酸から成る膜では蛍光分子の運動は非常に小さい範囲に限られていたが、POPCから成る膜では蛍光分子の拡散係数は1秒間当たり数平方マイクロメートル程度かそれよりも大きかった。DPPCから成る膜ではほとんどの蛍光分子は動かないように見えた。しかしながら、顕微鏡の同一視野内でも、一部の蛍光分子はPOPCの膜で見られたような運動をしていた。これらの結果の相違は、組成の違いによって起こる膜中の分子の集合状態の違いにから説明できると考えている。年会では、リン脂質とコレステロールから成る2成分系の膜の流動性も含めて議論したい。

M.Kobayashi, H.Itoh, M.Hibino : Fluidity of lipid membranes observed by single molecules microscopy

1P242

SPMによる機械刺激に対する細胞の力学応答観察

○佐戸 康洋、芳賀 永、川端 和重 (北大・院理・物理)

細胞運動は、細胞内外の生体高分子が協調して起こるマクロなスケールでの生命現象である。そのため、細胞運動のメカニズムを解明するには分子レベルのミクロな解析と現象に対するマクロなアプローチが必要である。このような考えに基づき、我々は培養環境下における細胞形態の動的変化とカタク分布との関係を力学測定用走査型プローブ顕微鏡 (SPM) を用いて調べている。

細胞は基質との間に接着点を形成し、その接着点を通して細胞内の細胞骨格ネットワークを固定することで形態を安定化させている。細胞に外力を加えると、接着点や細胞骨格にはたらく張力が変化して細胞は新たな形態へと変形する。その際、細胞骨格分布と張力の時間変化を観察することで接着点や細胞骨格の動的な性質を明らかにできる。本研究では、変形可能な弾性シリコンラバー基盤に繊維芽細胞 (NIH-3T3) を培養し、基盤を変形させることにより細胞に外力を加えた。また、基盤を変形させてカタク分布を測定することができる装置系を構築し、外部張力を加えた時の細胞形態の変化とそれにとり力学応答を観察した。

Y.Sado, H.Haga and K.Kawabata : Dynamic responses to external stress of living cells using SPM

1P244

近赤外光イメージング法によるfMRI信号の帰属

○精山 明敏^{1,2}、関 淳二³、佐瀬 一郎²、江田 英雄²、田邊 宏樹²、高槻 玲^{1,2}、柳田 敏雄^{1,2} (¹阪大院・医学系・情報生理、²通信総研・関西先端研・柳田 G、³循環器病センター・生体工学部)

現在、ヒト生体機能の非侵襲計測には、生体の電気的活動を計測する方法 (MEG, EEG) と循環・代謝活動を反映した血行動態を計測する方法 (fMRI, NIRS) がある。特に後者の fMRI は高い空間分解能を有するため、脳機能計測においては活動部位の同定の常用手段として使用されている。しかしながら、fMRI で計測されるパラメータ ($\Delta S/S_{\text{rest}}$) は、循環血液中のヘモグロビンの磁気の変化によって生ずる生体中の自由水の可動プロトンの緩和時間 ($T2^*$) の変化を反映しており、本来要求される生理情報 (血流または血液量または血液の酸素化状態: $T2^*$ はこれらのパラメータが相互に関係し合っており、ため分離は不可能) を与えてはいない。このため、fMRI の解釈は複雑になり、しばしば議論を引き起こしてきた。今回我々は、fMRI の信号変化 ($\Delta S/S_{\text{rest}}$) を近赤外分光法により得られる酸素化ヘモグロビン濃度、脱酸素化ヘモグロビン濃度および総ヘモグロビン濃度などの生理情報を用いて表す方法を考案した。本方法を用い、1.5T MRI システムでは、fMRI の信号変化は主に細静脈の信号を反映していることが示された他、血流または血液量または血液の酸素化状態の変化として帰属することが可能となった。

A.Seiyama, J.Seki, I.Sase, H.Eda, H.Tanabe, A.Takatsuki and T.Yanagida : Assessment of functional MRI signal using near-infrared optical imaging technique