X線顕微鏡*

青木貞雄**

X-ray Microscope / Sadao AOKI

Key words: X-ray microscope, soft X-rays, zone plate, synchrotron radiation, laser plasma, grazing incidence mirror, pulse X-rays

1. はじめに

X線の特徴は、短波長で透過力が比較的大きい点にあるが、さらに、X線を励起源とした場合、試料から蛍光X線や光電子が放出されるので、成分元素の分析や電子状態分析などが可能になる。

X線顕微鏡の研究対象は、生物や有機物のみならず工業材料・電子デバイス・岩石など、あらゆる分野の物質に及ぶ。現在、世界的にもっとも活発な研究が進められているのは、生体試料の観察である。X線顕微鏡は、電子顕微鏡に比べて分解能は低いが、生体試料の動的な観察が可能で、大きな魅力を有している。さらに、分析手段としての能力も持っており、非破壊的な高感度元素分析法として開発が進められている。

ここでは、比較的开发の進んでいる生体試料観察用の軟X線顕微鏡の現状を概観する。

2. X線吸収コントラスト

生体試料の主要構成元素である酸素、窒素、炭素などの吸収端波長は軟X線領域に存在する。生体の観察には、おもにこれらの吸収端のある軟X線（波長20～50 Å）が利用される。

吸収は、元素の種類、密度、試料の厚さおよび波長が与えられれば一意に決まる。試料の厚さを x (cm)とすると、X線の吸収は

$$I = I_0 \exp(-\mu x) \quad (1)$$

で表される。ここで、 I および I_0 は、それぞれ透過

および入射強度、 μ (cm^{-1}) は線吸収係数である。 μ は注目する元素の質量吸収係数 μ_m (cm^2/g) と試料の密度 ρ (g/cm^3) を用いて

$$\mu = \mu_m \rho \quad (2)$$

と表される。 μ_m は元素と入射波長が与えられれば一意に決まる。計算によってまとめられた値が数表として出版されている¹⁾。生物観察には、酸素の吸収端と炭素吸収端近傍の水の吸収が比較的少ない軟X線が使われることが多い。図1に、その波長域における水とたんぱく質、核酸の線吸収係数を示す²⁾。この波長域では、空気吸収係数もさらに2けた以上小さい。このように、この波長域は、生体試料の自然の状態での観察に適していることがわかる。

3. X線顕微鏡の種類

X線顕微鏡は、大別すると、拡大像を直接得る結

図1 たんぱく質、核酸、水の線吸収係数

* 原稿受付 平成3年5月16日

** 筑波大学物理工学系（つくば市天王台1-1-1）

表1 おもなX線顕微鏡

光学素子の有無	光学系	画像化モード
無	投影拡大法 密着法	幾何学的拡大 等倍
有	ゾーンプレート 斜入射ミラー 多層膜ミラー	結像・走査 結像・走査 結像・走査

図2 ゾーンプレート

像型とマイクロビームを走査し、画素ごとの信号を画像化する走査型に分けられる。さらにそれぞれの方法が結像あるいは収束用の光学素子を使う場合と使わない場合に分類できる。おもなX線顕微鏡を表1に示す。投影拡大法や密着法は簡便ではあるが、試料の固定や多量のX線を照射するなど、生きた細胞などの観察には不向きである。これに比べ、X線レンズの機能をもつ結像光学素子を用いる方法は、試料の取扱いに自由度が増し、動的な観察も容易である。X線領域では、すべての物質の屈折率が1に近く、可視域のような屈折型レンズの製作が困難である。しかしながら、X線の波動光学的な性質を巧みに利用した結像素子が開発され、比較的分解能の高いX線顕微鏡が可能になってきた。ここでは、ゾーンプレートと斜入射ミラーを使ったX線顕微鏡について述べる。

3.1 ゾーンプレートX線顕微鏡

ゾーンプレートは、図2に示すようなX線に対して透明・不透明の同心円状の輪帯を繰り返した板である。 n 番目の境界の半径 r_n が、

$$r_n = (nf\lambda)^{1/2} \quad n=1, 2, \dots, N \quad (3)$$

の条件を満たすとき、この板は一種のレンズ作用を示す。ここで、 f は焦点距離で、

$$f = r_1^2 / \lambda \quad (4)$$

で与えられる。ゾーンプレートの解像力は、 N が100を越えれば、通常のレンズの解像力と同程度と定義できる。解像力 Δ を開口数(N. A.)で表すと

$$\Delta = 0.6\lambda / N. A. \quad (5)$$

図3 ゾーンプレートX線顕微鏡光学系

表2 ゾーンプレート数値例

項目	コンデンサZ. P.	対物Z. P.
第1ゾーン半径(μm)	15.8	5.0
最大径(μm)	1000.0	100.0
ゾーン数	1000	100
最外帯幅(μm)	0.25	0.25

$$N. A. = \sin(r_N/f) \approx r_N/f \quad (6)$$

と近似できるので、

$$\Delta = 0.6\lambda f / r_N = 0.6r_N / N \quad (7)$$

となる。さらに、最小線幅(最外輪帯)

$$\delta r_N = r_N - r_{N-1} \approx r_N / 2N \quad (8)$$

を用いると、

$$\Delta = 1.2\delta r_N \quad (9)$$

となる。すなわち、ゾーンプレートの解像力は、最小線幅程度になる。最近の微細加工技術では、500 Å 前後の帯幅が得られるようになっている³⁾。

ゾーンプレートは、回折効率が低いので放射光のような強力な光源が必要である。さらに、原理的に色収差を伴うので、単色性の必要がある。放射光の分光には、通常凹面回折格子を用いることが多いが、ゾーンプレートX線顕微鏡では、分光と集光が同時に行えるコンデンサゾーンプレート照明光学系を用いる。光学系の概念図を図3に示す⁴⁾。照明用と対物用ゾーンプレートの中心部の数ゾーンは、0次の直接光が像面中心部にかぶらないように、不透明にする必要がある。さらに、物体面は、試料用のピンホールを除いて不透明にし、0次および高次の迷光を防ぐ必要がある。表2に、集光および対物ゾーンプレートの数値例を示す。使用波長は25 Å 前後を想定している。照明効率を最大にするため、両者の開口数を一致させてある。アンジュレータ放射光を用いて得られた赤血球のゾーンプレートX線顕微鏡写真を図4に示す⁵⁾。用いた波長は、26.6 Å で、試料は真空中である。

3.2 斜入射ミラーX線顕微鏡

ゾーンプレートは強力な単色光を必要とするため、現在実用的な装置は、すべて放射光を光源としてい

図4 ゾーンプレート X 線顕微鏡像。赤血球拡大像

図5 バイレックスガラス反射面による各種 X 線反射率計算例

る。一方、X線の全反射を利用する方法は、単色光の必要はなく、広い範囲のX線が使えるため明るい光学系が得られる。

X線領域では屈折率が1よりわずかに小さいので、鏡面にすれすれに入射する斜入射角では全反射を起こす。全反射が起り始める斜入射角を臨界斜入射角 θ_c と呼び

$$\theta_c = 1.6 \times 10^{-3} \lambda \sqrt{\rho} \quad (10)$$

で表される⁶⁾。ここで、 ρ は密度、 λ はÅ単位、 θ_c はradで表してある。実際の反射率は、ミラーによる吸収を受けるので、臨界角よりも小さな斜入射角から反射率が低下し始める。図5にバイレックスガラス面($\rho = 2.3 \text{ g/cm}^3$)によるTi K α 線($\lambda = 2.7 \text{ Å}$)、Al K α 線($\lambda = 8.3 \text{ Å}$)およびC K α 線($\lambda = 44.8 \text{ Å}$)の反射率計算例を示す。図から明らかなように、軟X線領域では比較的大きな斜入射角でも実用的な反射率(数十%以上)は得られる。

斜入射光学系では、球面反射ミラーは非点収差が大きく、結像光学素子としては用いられない。そのためミラーの形状は非球面になる。非球面ミラーの代表的なものとしては、トロイダル面あるいは楕円体面があるが、光軸上の点を除き収差が大きく、顕微鏡のような比較的大きな視野を必要とする光学系には不向きである。X線顕微鏡の対物ミラーとしては、通常図6

図6 ウォルター型ミラー光学系

図7 レーザプラズマ X 線源利用の斜入射 X 線顕微鏡光学系

に示すような、2個の非球面ミラーを連結させたウォルター型ミラーが使われる⁷⁾。ミラーは1つの焦点 F_1 を共有する回転双曲面と回転楕円面から成る。焦点 F_2 を物点とし、ここを通る光線は、反射面のどこを通っても光路が一定になる。2つの面を組み合わせるとコマ収差を除去し、視野を大きくする。開口部が輪帯になるので解像力 Δ は、通常の円形開口よりやや改善される。光軸(ここでは F_2 と F_3 を結ぶ線)と鏡面を見込む角を θ_1 とすると、ミラーの解像力は近似的に

$$\Delta = 0.4 \lambda / \sin \theta_1 \quad (11)$$

で与えられる⁸⁾。 $\sin \theta_1 \approx \theta_1 \approx 4 \theta_c$ と近似すると

$$\begin{aligned} \Delta &= 0.1 \lambda / \theta_c \\ &= 60 / \sqrt{\rho} \end{aligned} \quad (12)$$

となる。単位はÅ。バイレックスガラス面では約40Åである。実際の設計では、斜入射角を臨界角よりやや小さめにとるので、理論的な解像力は少し大きくなる。

ウォルターミラーは単色光の必要がなく、ゾーンプレートに比べ、X線の集光効率が高いので通常のX線管あるいはプラズマX線源でも実用的な装置が可能である。図7にレーザプラズマX線源を利用した斜入射ミラーX線顕微鏡光学系を示す。高出力・高速パルスレーザによって発生する軟X線は、従来のX線管に比べ、けた違いに輝度が大きく、実験室規模の光源としては極めて実用性の高い光源である。ター

図8 斜入射 X 線顕微鏡対物ミラーの幾何学的パラメータ

図9 斜入射 X 線顕微鏡像。微細透過回折格子拡大像

ゲット材に、アルミニウムや炭素のような軽元素を使うと、いくつかの強力な線スペクトルが発生する。ターゲット付近は、レーザによってプラズマ化された高速微粒子による汚れが著しいので、試料は照明用の集光ミラーの後方に配置する。対物ミラーのパラメータを図8に示す。倍率は20倍、反射面はバイレックスガラスで、真空レプリカ法⁹⁾によって製作した。用いたレーザは、パルス幅8 ns、出力1.4 JのNd-YAGで波長は1.06 μmである。アルミニウムのターゲットを用い45~80 Åの軟X線を使った。図9に微細透過回折格子のX線顕微鏡像を示す。回折格子は1周期1 μmで、0.5 μmの透明・不透明の線になっている。格子材料は金で、厚さは0.3 μmである。フィルム（フジミニコピー）の感度は、約1 μmのゼラチンコート膜の影響で長波長軟X線ではなくなる。露

光は1パルスで充分であり、高速の撮影が容易に行える。分解能は0.1 μm以上が得られており、実験室系の分解能としてはゾーンプレートの性能を凌駕している。現在、生体試料室を製作しそのテストを開始している。

4. 結 び

軟X線顕微鏡は、光学顕微鏡の分解能を越え、新しい開発段階に入ってきた。これまでは、光学素子の開発に重点が置かれ、X線顕微鏡システム全体のコンセプトがあいまいであった。素子の性能アップは、今後の最重要課題であることは間違いないが、その利用も並行して進めて行くべきである。関係各位の一層の努力を期待する。

文 献

- 1) B. L. Henke, P. Lee, T. J. Tanaka, R. L. Shimabukuro and B. K. Fujikawa : Low-energy X-ray Interaction Coefficients: Photoabsorption, Scattering, and Reflection, Atomic Data and Nuclear Data Tables, **27**, (1982) 1.
- 2) J. Kirz and D. Sayre : Synchrotron Radiation Research, Plenum Press, New York, N. Y., (1980) 277.
- 3) H. Rarback, D. Shu, S. C. Feng, H. Ade, J. Kirz, I. McNulty, D. P. Kern, T. H. P. Chang, Y. Vladimirovsky, N. Iskander, D. Attwood, K. McQuaid and S. Rothman : Scanning X-ray Microscope with 75 nm Resolution, Rev. Sci. Instrum., **59**, (1988) 52.
- 4) Y. Kagoshima, S. Aoki, N. Kakuchi, M. Sekimoto, H. Maezawa, K. Hyodo and M. Ando : A Zone Plate Soft X-ray Microscope Using Undulator Radiation at the Photon Factory, in *X-ray Microscopy II*, Springer-Verlag, Berlin, (1988) 296.
- 5) Y. Kagoshima, S. Aoki, M. Kakuchi, M. Sekimoto, H. Maezawa, K. Hyodo and M. Ando : Soft X-ray Microscope at the Undulator Beamline of the Photon Factory, Rev. Sci. Instrum., **60**, (1989) 2448.
- 6) E. F. Kaelble : Handbook of X-rays, McGraw-Hill, New York, N. Y., (1969) Chap. 48.
- 7) V. H. Wolter : Spiegelsysteme streitenden Einfalls als abbildende Optiken für Röntgenstrahlen, Ann. Phys., **10**, (1952) 94.
- 8) M. Born and E. Wolf : Principles of Optics, Pergamon Press, London, (1970) 416.
- 9) S. Aoki and Y. Sakayanagi : An X-ray Microscope Using Grazing Incidence Toroidal Mirrors, Ann. N. Y. Acad. Sci., **342**, (1978) 158.