

「材料・細胞試料の階層構造可視化に向けた広視野・高分解能 X 線顕微鏡の開発」

兵庫県立大学大学院物質理学研究科

高山 裕貴

1 研究の背景と目的

観察対象の内部を非破壊かつ空間分解能十数 nm～数 nm で観察するニーズは、材料・生命科学から産業応用に至るまで広く存在する。例えば、機能性繊維や触媒微粒子の微細構造、DNA の細胞核内分布や染色体への折り畳みメカニズム、構造の微細化・三次元化が進む半導体デバイス等である。その実現には、短波長かつ透過性の高い硬 X 線での観察が有効である。本研究では、100 μm 程度の視野と 10 nm 前後の空間分解能を実現する X 線顕微鏡の開発を目指し、その要素技術開発を行った。

現在の X 線光学素子の加工技術では、空間分解能 10 nm での結像は難しく、高空間分解能観察には干渉性 X 線回折と計算科学を組み合わせたコヒーレント X 線回折イメージング(Coherent X-ray diffraction imaging, CXDI)法を用いるものとした。CXDI 法は、ミクロンサイズの孤立試料或いは局所領域に空間干渉性の高い X 線を照射し、観測される回折強度パターンから計算機アルゴリズムにより試料像を再生する手法である[1]。回折パターンを空間的に十分細かくサンプリング(オーバーサンプリング)して観測することで、位相回復計算による試料像の再生が可能となる。像形成に X 線光学素子を用いないため、十数 nm～数 nm の空間分解能が期待できる。一方で、関心領域の探索には、比較的分解能であっても、広視野の実像が直ちに得られる X 線結像顕微鏡が便利である。本研究では、試料の局所領域を高空間分解能観察するための微小集光 CXDI 測定系と、広域を比較的分解能で観察するための X 線結像光学系ユニットを構築し、テスト試料を用いた性能評価を行った。

2 研究方法・研究内容

Spring-8 兵庫県 ID ビームライン BL24XU に微小集光 CXDI 測定系及び X 線結像光学系ユニットを構築し、性能評価を行った。

構築した微小集光 CXDI 測定系の模式図及び装置写真を図 1 に示す。アンジュレーター放射 X 線を、Si(111)二結晶分光器及び SiO₂ 全反射平面ミラーを用いて光子エネルギー 8 keV (1.550 Å) に単色化した。試料上への X 線集光にはゾーンプレート(ZP; NTT-AT, Japan)を用いた。放射光の空間コヒーレンスは完全ではないため、ZP 直上流にピンホールを設置し、空間コヒーレンスの高い X 線を切り出した。本光学系ではピンホールにより ZP 開口が制限されるため、回折限界集光径は 500 nm 程度となる。集光に寄与する 1 次回折光(回折効率 19.0%)以外の不要な回折光は、ZP を軸外し条件で用い、ガードスリットを集光点直上流に設置することで遮蔽した。試料走査は、集光点位置に設置した CT (Computed Tomography)ステージ(KOHZU Precision Co., Ltd., Japan)で行った。試料上の X 線照射点からのコヒーレント X 線回折パターンは、試料下流約 4.0 m に設置した光子計数型検出器 PILATUS 300K (DECTRIS Ltd., Switzerland)で取得した。検出器端での回折角は 0.6°であり、空間分解能 14.8 nm (7.4 nm line and space)に対応する。回折角の極小さい範囲は回折強度が極めて強いため、ダイレクトアテネーターで減衰させた。

X 線結像光学系ユニットは、上記微小集光 CXDI 測定系において、試料-検出器間(4 m)に挿入できるよう設計を行った。結像光学素子には最外輪帯幅 86 nm、直径 416 μm 、8 keV での焦点距離 232.6 mm の ZP を軸外し条件で用い、1 次回折光のみを取り出して倍率 15.1 倍で拡大結像を行った。X 線拡大像は CsI シンチレーターで可視光に変換後、リレーオプティクスで更に 3.6 倍に拡大して CMOS 検出器(Hamamatsu photonics, Japan)で観測した。実行ピクセルサイズは 132 nm である。

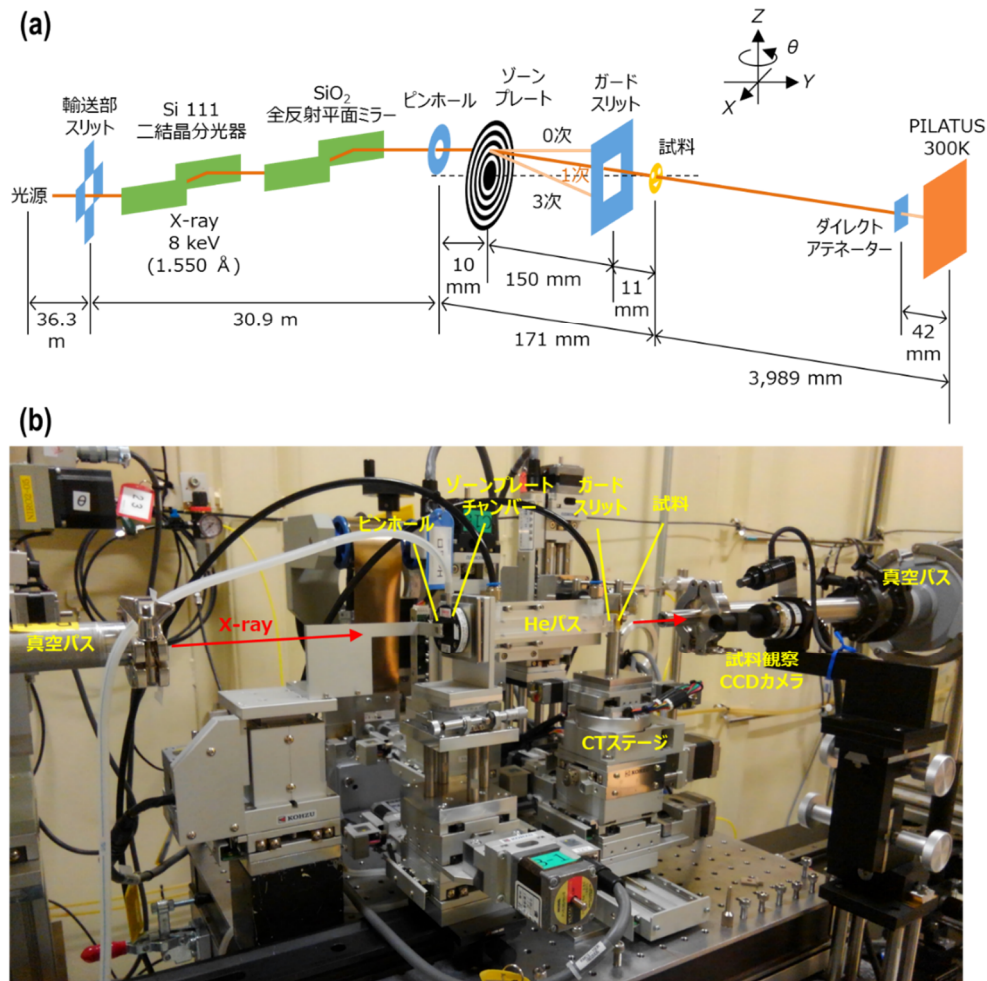


図1 微小集光 CXDI 測定系の模式図(a)及び装置写真(b)。

3 研究成果

開発した X 線結像光学系ユニットで観察した Ta 製 X 線テストチャート(図2; 厚さ 500 nm; NTT-AT, Japan)像を図2に示す。115(V)×160(H) μm 程度の視野を確保することができた。露光時間 2 秒で 300 nm 程度の線幅が解像されている。

微小集光 CXDI 測定系については、まず金ワイヤー端をナイフエッジとした明視野ナイフエッジ法により、試料位置での集光ビームプロファイルを測定した(図3)。集光径は強度半値全幅で約 500(V)×700(H) nm であり、縦方向では回折限界に近い集光性能が達成された。放射光の特性上、横方向の空間コヒーレンスは縦方向に比べて低いため、横方向のビーム径は回折限界よりやや広がった。試料位置での光子フラックスは $\sim 1 \times 10^9$ photons/s であった。

形成した集光 X 線ビームでの CXDI の可否を評価するため、X 線テストチャート(図4)の観察を行った。大きさ 500 nm 程度のアラビア数字「2」のパターン上に集光 X 線ビームを照射し、露光時間 1 秒で鮮明度の良好なコヒーレント X 線回折パターンの取得に成功した(図4b)。図4bのコヒーレント X 線回折パターンに、孤立試料の CXDI で用いられる Hybrid Input-Output 位相回復アルゴリズム[2]及び Shrink-wrap 形状推定アルゴリズム[3]を適用し、文献[4]の条件で試料像の再

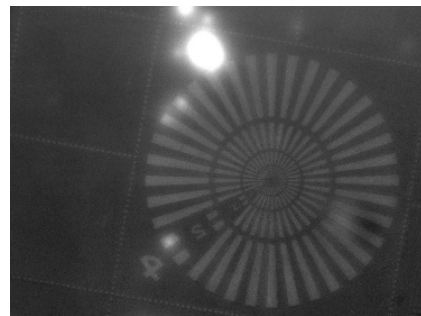


図2 開発した X 線結像光学ユニットの視野範囲。

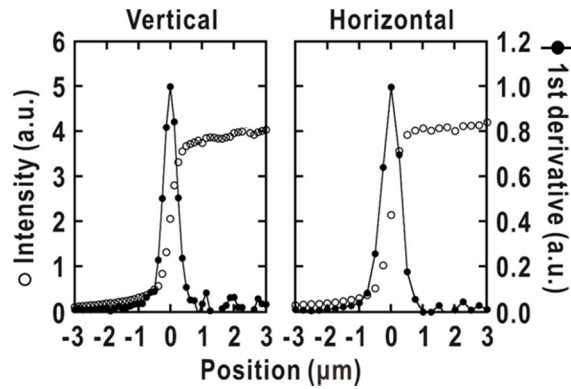


図3 試料位置での集光 X 線ビームプロファイル。

生を行った。集光 X 線波面の曲率を考慮するために複素波動場として再生を行った。複素振幅像を図 4c に示す。試料パターンが、照射ビームの振幅プロファイルを反映したコントラストで再生できており、形成した集光 X 線ビームで CXDI 観察が可能なが確認できた。

広視野・高空間分解能イメージングに向けて、本測定系を用いて X 線テストチャートの走査型 CXDI 測定(タイコグラフィー測定)を行った。タイコグラフィー法では、試料上を照射野の一部が重なるようにコヒーレント X 線ビームで走査し、各位置でコヒーレント X 線回折パターンを取得する。照射野の重なりが試料像再生アルゴリズムの拘束条件となるため、X 線照射位置ドリフトを極力抑制する必要がある。X 線照射位置ドリフト量を評価するため、テストチャート上の定位置において、コヒーレント X 線回折パターンの経時変化を時間ステップ 1 秒で確認した。その結果、照射位置探索時に行った試料走査によって試料ステージのステップングモーターが発熱し、その熱緩和に伴って最大~ 1 μm/1000 s 程度の照射位置ドリフトが生じること、平衡に達するのに 1 時間程度の静置が必要であることが明らかとなった。今後、変位センサ付きピエゾステージの導入を検討している。

十分に温度平衡に達した後、図 5a の各点において、露光時間 1 秒、照射位置ステップ 500 nm で取得したコヒーレント X 線回折パターンセットを図 5b に示す。空間分解能 46 nm (23 nm line and space)を超える回折パターンが取得できた。取得したデータセットからの試料像再生に向けて、タイコグラフィー法で広く用いられる試料像再生アルゴリズム extended Ptychographic Iterative Engine (ePIE) [5]を組み込んだソフトウェアを開発中である。

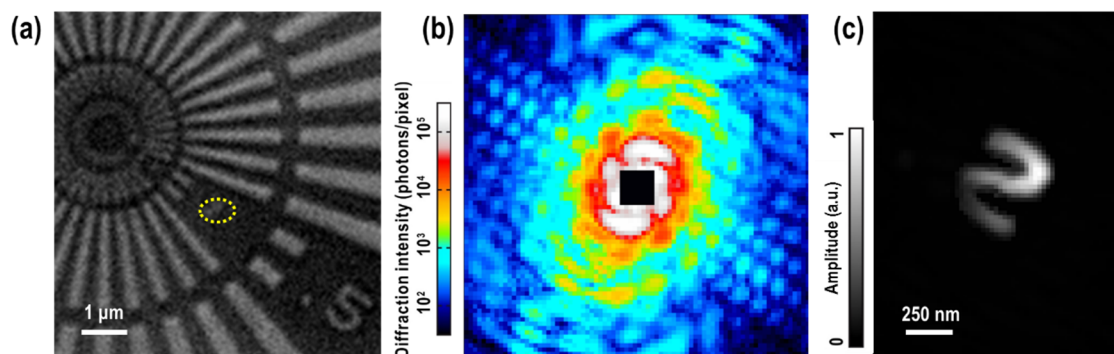


図4 孤立テストパターンの CXDI 観察。

(a) X 線テストチャートの結像 X 線顕微鏡像。吸収コントラスト像であり、Ta の領域を黒で表示。破線は集光 X 線照射位置。(b) コヒーレント X 線回折パターン。縦横 2 画素をビンニング。ダイレクトアテネーター領域(中央の正方形)は除外。端での空間分解能は 46.1 nm (23 nm 線幅)に対応。(c) 再生された複素振幅像。23 nm/pixel。

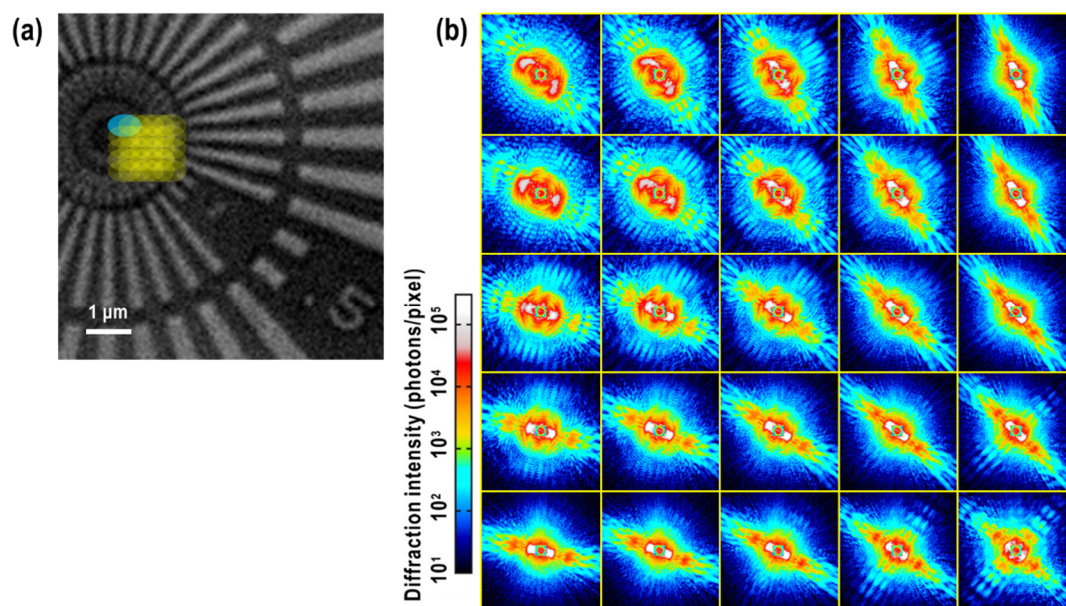


図5 テストパターンのタイコグラフィー測定。

(a) X線テストチャートの結像 X線顕微鏡像。図 4a と同様に表示。1 測定点あたりの照射野を水色及び黄色の楕円で表示。(b) 各照射点で取得したコヒーレント X線回折パターン。端での空間分解能は 46.1 nm (23 nm 線幅)に対応。

4 生活や産業への貢献および波及効果

本助成により、広視野・高分解能X線顕微鏡の要素技術を開発することができた。今後実用化に向けて更に開発を進め、SPring-8兵庫県ビームラインにおいて産業分野での研究開発に供する計画である。冒頭に挙げたように、基礎科学のみならず産業応用においても多くのニーズがあり、実際の開発製品評価への応用に向けた企業との共同研究も開始したところである。

謝辞

SPring-8兵庫県ビームラインBL24XUでの実験は専用ビームライン課題2017A320 1及び2017B3201として行った。また、本研究は兵庫県立大学大学院物質理学研究科エックス線光学分野の籠島靖教授、大学院生及び卒研生である福田敬三氏、赤田樹氏、宮川天将氏、青井雄幹氏、真鍋美穂氏と共同で行った。

参考文献

- [1] Miao, J. et al. (2015). Science 348, 530-535; Pfeiffer, F. (2018). Nat. Photon. 12, 9-17.
- [2] Fienup, J. R. (1982). Appl. Opt. 15, 2758-2769.
- [3] Marchesini, S. et al. (2003). Phys. Rev. B 68, 140101(R).
- [4] Takayama, Y. & Yonekura, K. (2016). Acta Crst. A72, 179-289.
- [5] Maiden, A. M. & Rodenburg, J. M. (2009). Ultramicroscopy 109, 1256-1262.