

電子線透過防止蛍光膜を利用した EXA 顕微鏡による細胞の低ダメージ高分解能観察

The low damage and high resolution imaging of cell by EXA microscope with non-electron beam transmission fluorescent film

静岡大工¹, 静岡大電研², JST-CREST³○福田 真大¹, 名和 靖矩¹, 居波 渉^{2,3}, 小野 篤史^{2,3}, 川田 善正^{2,3}Shizuoka Univ.¹, Research Institute of Electronics, Shizuoka Univ.², JST-CREST³○Masahiro Fukuta¹, Yasunori Nawa¹, Wataru Inami^{2,3}, Atsushi Ono^{2,3}, Yoshimasa Kawata^{2,3}

E-mail: kawata@eng.shizuoka.ac.jp

本研究では、電子線励起アシスト光学顕微鏡(Electron beam excitation assisted optical microscope: EXA 顕微鏡)に、電子線透過防止膜を付加した蛍光薄膜を導入した。そして、電子線透過防止膜付き蛍光薄膜を用いて、細胞の低ダメージ観察を行った。EXA 顕微鏡は蛍光薄膜に電子線を照射し、蛍光薄膜で発生するカソードルミネッセンス(CL)で試料を照明する[1]。このとき、蛍光薄膜を透過した電子線が試料にダメージを与える。そこで、蛍光薄膜に電子線透過防止膜を付加し、電子線照射によるダメージのない観察を可能にした。

図 1 に電子線透過防止膜を付加した蛍光薄膜の構造を示す。電子線透過防止膜は金薄膜とした。金薄膜は小さい膜厚で、電子線透過率を大きく減少する。加速電圧が 3 kV の場合、膜厚 15 nm の金薄膜を付加することで、電子線透過率は 10 % 以下となる。金薄膜の膜厚を小さくすることで、金薄膜を透過する CL の強度と空間分解能の低下を小さくすることができる。

図 2(a)には MC3T3-E1 細胞を金薄膜上に固定乾燥し、EXA 顕微鏡により観察した結果を示す。加速電圧は 3 kV である。EXA 顕微鏡を使用し、固定乾燥した MC3T3-E1 細胞内の顆粒を観察することに成功した。図 2(b)には図 2(a)中の AB 間のラインプロファイルを示す。図 2(b)より細胞内顆粒の大きさは 137 nm であった。したがって、蛍光膜に金薄膜を成膜した場合でも、回折限界以下の空間分解能で細胞の観察を行うことができた。

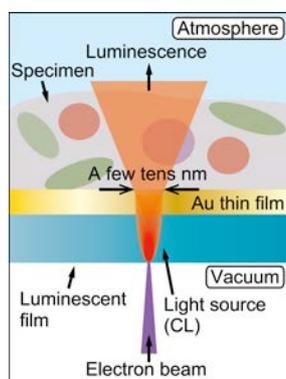


図 1 電子線透過防止層を付加した蛍光薄膜の構造

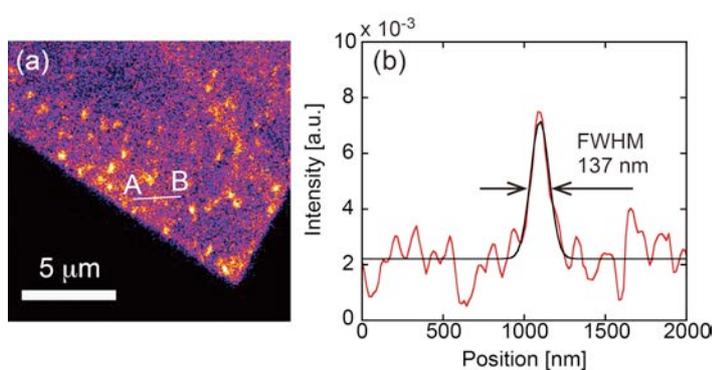


図 2 (a) EXA 顕微鏡での MC3T3-E1 細胞内顆粒の観察結果。
(b) AB 間のラインプロファイル。加速電圧は 3 kV

[1] W. Inami et al, *Optics Express*, **18**, 12897 (2010)