

# PINEMによって実現された4Dイメージング

透過型電子顕微鏡法(TEM)は、現在でもなお、ナノメートルないしそれ以下のスケールにおける強力な撮像手段である。しかし、2009年後期に米カリフォルニア工科大学(Caltech)で開発された革新的技術、いわゆる光子誘起近接場電子顕微鏡(PINEM)は、電子と光子の相互作用をナノスケールで合体し、微視的プロセスのフェムト秒(fs)時間スケールの画像を可能にした。これはまさに、ナノスケールイメージングに第4の次元、時間を追加したことになる<sup>(1)</sup>。その後、半年も経たないうちに、PINEM技術はライフサイエンスに適用され、生物構造内で起きている超高速過程の無標識の4D(4次元)イメージングに利用され始めた<sup>(2)</sup>。

## 電子コントラストを増強する光子

電子顕微鏡法において、撮像対象試料を通過する電子はその運動エネルギーを保存(弾性過程)または試料へ伝達する(非弾性過程)。これらの無損失弾性または低損失非弾性の電子散乱を使って画像が形成される。原子番号が大きい試料の場合、コントラストは静的画像(数秒にわたる時間平均)でさえ強くなる。しかし、生物試料や組織は原子番号が小さく、標準的なTEM画像では低いコントラストしか得られないため、研究者たちは超薄切片化と染色法または複雑なエネルギーフィルタリングに頼らざるを得ない。

レーザー支援表面光電効果とプラズモニクスなどの他の光子-電子相互作用の実証がCaltechのPINEM技術開発の基礎になった。フェムト秒レーザーパ

ルスと超短電子パケットを一つのナノ構造上に時空間的に*in situ*(その場で重ね合わせた時、電子が光子エネルギーを吸収するユニークなエネルギー利得領域が観測された。電子による光の吸収と放出が光子エネルギーの整数倍の位置にエネルギースペクトルのピークを生み出した。PINEMは、光子を吸収した電子をエネルギーフィルタリングによって選択し、それらの利得事象の時間変化を撮像する。試料近くを飛行する電子だけが光子を吸収するため、ナノスケールのコントラストは、原子番号に関係なく、どのような試料でも増強される。

## 時間を追ったイメージング

生物過程の時間分解画像形成の実現可能性を実証するために、大腸菌細胞がPINEM技術を使って撮像された(図1)。レーザーパルスと電子パケットの時間空間における重なりが最大となる0fsにおいて大腸菌構造が明瞭に観測された。このPINEMコントラストは、わずか200fs後でさえかなり弱まり、ちょうど1ps後にはほぼ完全に消滅することから、超短時間スケールでのイメージング法として有用であることが明らかになった。PINEM像は大腸菌細胞の外側(膜)と内側(リボソーム、DNA物質)のいずれに対してもTEMに比べて強いコントラストを示した。光子-電子相互作用が電子のみの相互作用に比べてコントラストを大いに改善することは間違いない。

時間分解画像に加えて、試料画像を異なる傾斜角で撮像すれば、トモグラ

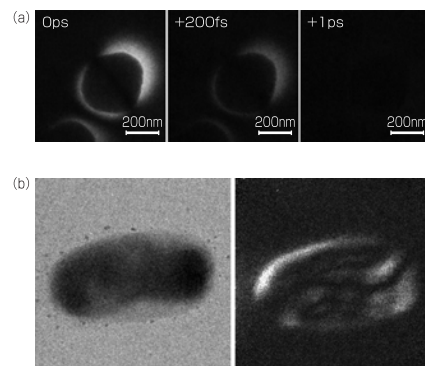


図1 PINEM画像は $t = 0$ fs、 $t = 200$ fs、 $t = 1$ ps後のタンパク質小泡を示している(a)。大腸菌細胞(b、左)の透過型電子顕微鏡(TEM)画像を同一細胞のPINEM(b、右)を使った無標識(造影剤不使用)の画像と19,000Xの倍率で比較した。(資料提供:カリフォルニア工科大学)

フィまたは3D画像もPINEMで実現できる。フェムト秒レーザーパルスの偏光を変えて、テスト下の試料のコントラストを強め、追加の空間情報を取得することも可能だ。レーザー波長などを変数として追加し、PINEM技術が研究され洗練されれば、いっそう多くの情報が得られるはずである。

Caltechの博士研究員、デイビッド・J・フラニガン氏は、「金属や半導体とはまったく異なる性質を持つ細胞やタンパク質などの系へPINEMを拡張したことによって、この技術の多用途性の実証された。これに、フェムト秒時間スケールの*in situ*動力学を解像する能力が加わり、われわれの想像力を超えた新しいアプリケーションが可能になるだろう」と語っている。

(Gail Overton)

## 参考文献

- (1) B. Barwick et al, Nature 462, 902-906 (Dec. 17, 2009).
- (2) D.J. Flannigan et al, Proc. Natl. Acad. Sci. (PNAS) 107, 22, 9933-9937 (Jun. 1, 2010)