50nmの解像度を超えた白色光顕微鏡法

ツェンポ・ワン、リン・リー

新しい白色光顕微鏡は、ミクロスフェアスーパーレンズを使って、その下にある近接場物体を通常の顕微鏡対物レンズへ投影する前に最高8倍にまで拡大することにより、ウイルスや生体分子の新たなイメージングの可能性を提供する。

ガリレオ・ガリレイは1609年に光学顕微鏡を発明した。彼は、凸レンズと凹レンズを備えた“occhiolino”（オチオリーノ；小さな目）すなわち複合顕微鏡を開発した。ガリレオはおそらく最初の顕微鏡発明者ではなかったであろうが、彼の発明は一般的に利用される強力な科学的ツールであり、疑う余地のない人類史上最も重要な科学的業績の1つになった。1873年に、エルンスト・アッベは光学顕微鏡の解像度限界を確立した。1つではなく2つの物体として結像される2つの構造要素間の最小距離dは、$d=\lambda/(2NA)$で与えられるとした。ここで、λは光の波長、NAは対物レンズの開口数である。この制限された解像度の物理的起源は回折だけでなく、物体の高空間周波数サブ波長情報を運び、距離が増すにつれ指数関数的に減衰する遠方場でのエバネセント波の損失も関係している。

約100年間、アッベの基準が光学顕微鏡解像度の基本的限界であるとみなされてきた。しかし、1928年に基本概念はE.H.シングによって提案されていたが、1970年代～80年代になって近接場走査型あるいは走査型近接場光学顕微鏡法（NSOMまたはSNOM）が実際に開発されたことが光学顕微鏡法の重要なステップになった[(1)]。

ここでは、画像の解像度は照明光の波長ではなく、検出器の開口サイズによって制限される。このNSOM/SNOMの解像度は数10ナノメートルになるが、実際には、小さな開口による低い透過係数や高解像度で結像するのに要する広い試料面積上の長い走査時間によって制限される。

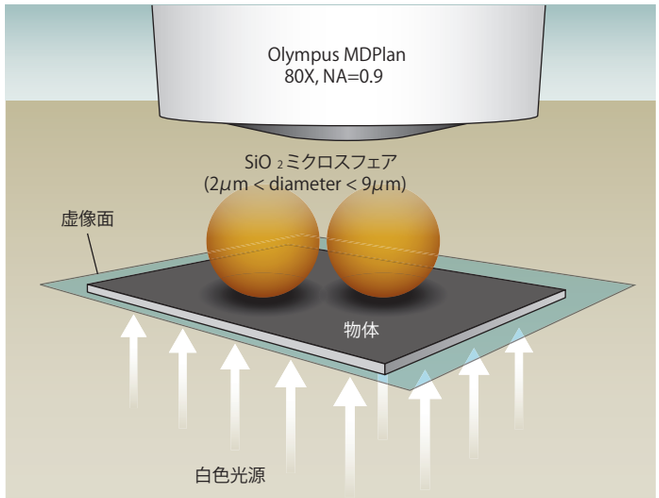

図1　図は$\lambda/8$から$\lambda/14$のイメージング解像度をもつ白色光ミクロスフェアナノ顕微鏡である（伝統的な光学顕微鏡と一体化したミクロスフェアスーパーレンズ）。このミクロスフェアは近接場物体の情報を収集し、その後古典的レンズによって捕らえられる虚像を形成する。

1990年代の後期に、ナノフォトニクス、プラズモニクス、メタマテリアルの躍進に刺激され、超解像度光学顕微鏡法、いわゆる光学ナノ顕微鏡の研究が急激に進展した。ペンドリー‐ヴェセラーゴ（Pendry-Veselago）のプラズモンメタマテリアルスーパーレンズ、ナノスケール固浸レンズ、非線形蛍光ナノ顕微鏡法などを使った光学ナノ顕微鏡が成功裏に開発された[(2)～(4)]。しかし、これらは技術的に精緻化されたが、今のところ、使用できる波長帯が狭いので、標準的な光学顕微鏡において白色光源を使って超解像機能を実現するのは至難の業だ。

ミクロスフェアナノ顕微鏡

ミクロスフェアナノ顕微鏡は、その名が示す通り、二酸化ケイ素（SiO_2）やポリスチレンなどのありふれた材料でできたミクロスフェアを利用する。良く知られているように、透明なミクロスフェアは超解像集光によって「フォトニックナノジェット」を発生させることができ、この機能は過去10年間にいくつかのグループによってレーザ表面ナノメータ加工（パターン形成、改質）に使用されてきた。われわれは、基板上に堆積した1.0μm直径のSiO_2ミクロスフェアアレイと角度走査レー

ザビームとを組み合わせて、80nm解像度の任意形状パターンの近接場レーザ並列ナノファブリケーションを実証した[5]。これをきっかけに、われわれはシンガポール大学（National University of Singapore）のミンクイ・ホン氏（Minghui Hong）や同大学データストーレージ研究所のボリス・ルクヤンシュク（Boris Luk'yanchuk）教授と共同で、ミクロスフェアを使った光ナノイメージングの研究を開始した。

具体的な白色光ミクロスフェアナノ顕微鏡設備で、ミクロスフェアを物体の表面上に自己集合的に配置した。入手したままのSiO_2ミクロスフェア懸濁液（バングズ・ラボラトリーズ社、Bangs Laboratories）を希釈し、滴下または浸せき塗装によってイメージング試料に適用し、そして、この試料を空気中に取り出して乾燥させた[6]。ピーク波長600nmのハロゲンランプを白色光照明源として使用した（図1）。ミクロスフェアは、その下にある近接場物体の情報を収集し、オリンパス顕微鏡（モデルMX-850）の80Xの同社製対物レンズに投影される前に、それを拡大して元の物体と同じ方向の虚像を遠視野に形成するスーパーレンズ、すなわちミクロスフェアスーパーレンズとして機能する。ミクロスフェアスーパーレンズと対物レンズの組み合わせは複合結像レンズ系を構成する。反射モードでは、白色光源はトップから入射され、透過モードにおけるボトム光源とは逆になる[7]。

イメージング機構

ミクロスフェアの解像度と倍率は、基本的にそれらの集光特性と通常と異なる光曲げ機能に関連している（図2）。超解像集光はミクロスフェアナノ顕微鏡の主要な要件であるが、イメージング解像度を決定する唯一の因子ではない。光曲げ強度が倍率に影響を及ぼすもう1つの重要な因子である。虚像、すなわち粒子面に接触する点源からの光線は、粒子に向かって強く曲げられ、対物レンズに投影される。ミクロスフェアの焦点サイズと光曲げ強度は（n, q）パラメータの狭いウィンドウの関数である。ここで、nはミクロスフェアの屈折率であり、qはミー理論に従って$q=2\pi a/\lambda$で定義されるサイズパラメータである。

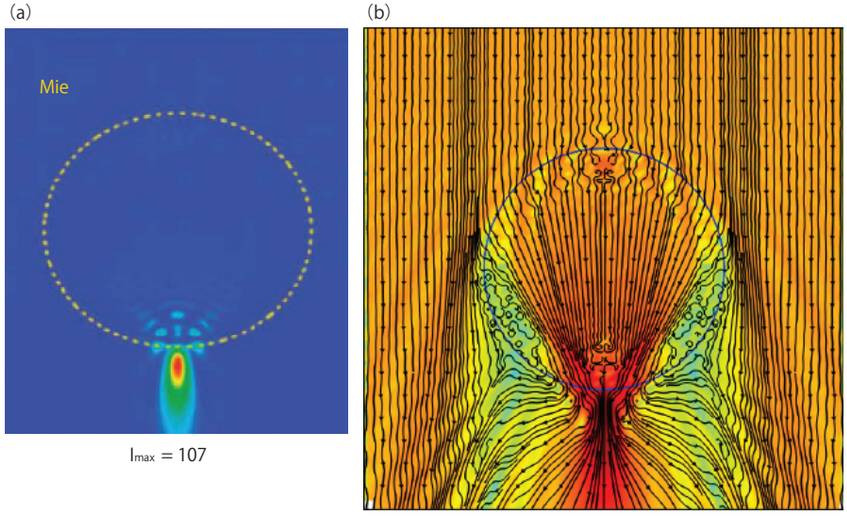

図2　ミクロスフェア（直径＝4.74 μm）の超解像焦点が600nmの波長（a）で示されている。透明なミクロスフェアは異常な光曲げ効果（b）を引き起こす。光はトップから入射されている。

ミー理論に基づくわれわれの理論計算によれば、SiO_2ミクロスフェア（n=1.46）で超高解像イメージングを達成するための最良の粒子サイズ（直径）は、実験とも一致し、2～9μmの範囲であった。

回折限界以下の物体のイメージング

われわれの研究チームは、透過または反射モードのミクロスフェアナノ顕微鏡を使ってナノスケール物体の回折限界以下特徴の明瞭な画像を取得した。例えば、石英ガラス基板上の130nm隔たった360nm幅のラインからなるクロム膜回折格子が、透過モードで結像された（図3）。この虚像面は基板表面の下2.5μmの位置にあり、それらのトップ上にミクロスフェア粒子を持つラインだけが解像された。粒子を持たないラインは共に混合し、回折限界のために光学顕微鏡では直接解像されえない明るいスポットを形成した。可視波長400nmでは、最良の回折限界解像度は、リチャーズとウルフのベクトル理論を使って、空気中で215nm、粒子の固浸効果を含む場合は152nmと見積もられた。600nmの白色光源の主ピークでは、回折限界はそれぞれ空気中で333nm、固浸効果を含めると228nmになった。ここで、表面に粒子が存在する場合と存在しない場合とで、ラインの焦点面が異なることにも注目すべきである。

もう1つの例では、40Vの定電圧下におけるシュウ酸（0.3 mol/l）中の二段階陽極酸化によって作製された魚網形20nm厚金被覆陽極酸化アルミニウム（AAO）膜を直径4.74μmのミクロスフェアを使って結像した。膜中の細孔は50nm直径で、50nm間隔で配置されている。ミクロスフェアナノ顕微鏡は、

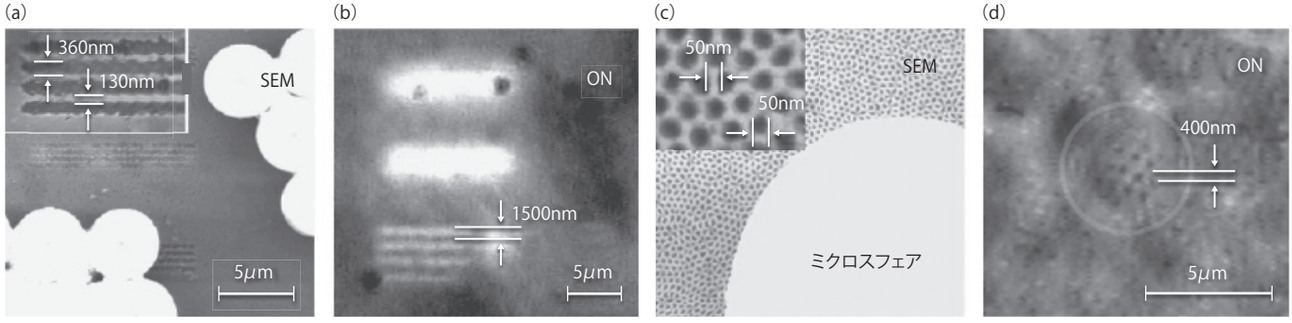

図3　2つの例は透過モードにおけるミクロスフェアスーパーレンズイメージングを示す。130nm間隔で360nm幅の線をもつ回折格子（a；走査電子顕微鏡で捉えられた左上画像）では、光ナノスコープ（ON）画像（b）は線が明確に解像されていることを示している。拡大画像は4.17X倍率に相当する。ミクロスフェア（半径＝2.37μm；二重球の境界は白線で示される）スーパーレンズによって撮像された金被覆フィッシュネット膜試料。ナノ顕微鏡は直径50nmで、間隔50nmの細孔（c；SEM像）を明瞭に解像している。像面内の細孔間の光学画像サイズは400nm（d；ON画像）であり、約8Xの倍率に相当する。

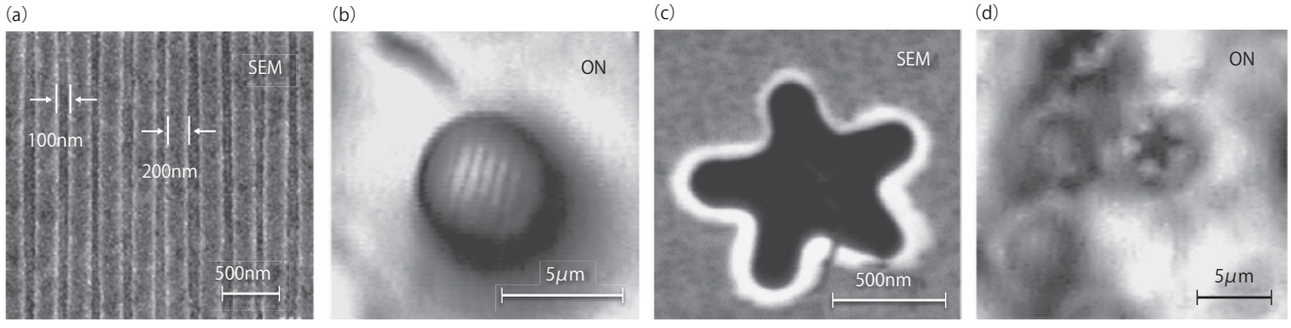

図4　反射モードにおけるミクロスフェアナノ顕微鏡は市販のブルーレイDVDディスクを撮像している。ディスクの100μm厚みの透明な保護層はミクロスフェア（半径＝2.37 μm）を使用する前に剥離された。回折限界以下の100nmライン（a；SEM像）がミクロスフェアスーパーレンズで解像された（b；ON画像）。第2の例では、DVDディスク薄膜上に作られたスター構造（c；SEM像）の反射モードイメージングは、スターの複雑な形状とその直径90nmの角を明瞭に識別している（d；ON画像）。

これらの小さい細孔を可視スペクトル領域で回折限界をはるかに超える$\lambda/8$（λ=400nm）から$\lambda/14$（λ=750nm）の解像度で明瞭に分解した。重要なことは、この場合の倍率は約8Xで、最初の格子例の約2倍に相当する。これはミクロスフェアスーパーレンズの性能がミクロスフェアと基板の近接場相互作用の影響を受けることを意味している。自己集合粒子はスーパーレンズとして機能する各粒子を含む広い表面積の全体を覆って容易に広がるので、各粒子によって生成された画像を繋ぎ合わせることによって大きな画像を形成できる。すなわち、粒子の六角形アレイは大面積をカバーするスーパーレンズアレイとして機能する。

ミクロスフェアスーパーレンズイメージングはハロゲン光照明を使って反射モードでも実行することができる。実際に、ブルーレイDVDディスクにおける回折限界以下のライン（100nm間隔で200nm幅のライン）が直径4.74μmのミクロスフェアを使って明瞭に結像された（図4）。ミクロスフェアスーパーレンズはテルル化アンチモン（SbTe）DVDディスク上に作られたスター構造の形状も識別した。その直径90nmの角を含むスターの複雑な形状が、反射モードにおいてミクロスフェアスーパーレンズによって明瞭に解像された。

参考文献
（1）E.H. Synge, Philosoph. Mag. Series, 7, 6, 35, 356-362（1928）.
（2）J.B. Pendry, Phys. Rev. Lett., 85, 3966-3969（2000）.
（3）J.Y. Lee et al., Nature, 460, 498-501（2009）.
（4）S.W. Hell, Science, 316, 1153-1158（2007）.
（5）W. Guo et al., Appl. Phys. Lett., 90, 243101（2007）.
（6）G.M. Whitesides et al., Science, 295, 2418-2421（2002）.
（7）Z. Wang et al., Nature Comm., 2, 218（2011）.

著者紹介
ツェンポ・ワン（Zengbo Wang）は英マンチェスター大学（University of Manchester）のレーザマイクロ／ナノ工学の講師であり、リン・リー（Lin Li）は同大学の機械・航空宇宙・土木工学（MACE）校のレーザ工学教授である。
e-mail: zengbo.wang@manchester.ac.uk URL: www.laser.manchester .ac.uk

LFWJ