

XFEL—CXDI法で生体試料を高効率に観察

理化学研究所放射光科学総合研究センター米倉生体機構研究室の高山裕貴・基礎科学特別研究員、米倉功治・准主任研究者らの研究チームは、X線回折イメージング（XFEL-CXDI）法での生体試料観察に、光・電子相関顕微鏡法を相互補完的に利用することで、観察の効率化と信頼度の向上を実現。さらに、2015年に提案したイメージング法により、高分解能かつ高信頼度の像の取得が可能であることを実証した。

X線自由電子レーザーを用いたXFEL-CXDI法では、細胞等の内部を高解像度で観察することが可能で、試料を急速凍結することで機能中の構造を保つことができる。一方、生体試料のシグナルは非常に弱く観察には試料周囲の氷を極力薄くするなど、多くの条件を検討する必要があった。米倉准主任研究者によると「低温光学顕微鏡や低温電子顕微鏡観察から試料の直接評価を実現し、良質な試料を効率良く作製することに成功しました。さらに、両顕微鏡での観察結果を構造解析に利用し、測定上の制約から困難だった、従来法より1.5倍大きい試料、葉緑体の構造を解析することができました」という。

凍結後の試料の散布密度や氷の厚さを低温光学顕

理研光・電子相関顕微鏡法を相補利用

微鏡で評価しながら試料作製条件を検討することで、葉緑体が2～5個／（10×10平方ナノメートル）の高い数密度で非常に薄い氷に覆われた試料を作製できる条件を決定した。この条件で作製した試料で低温XFEL-CXDI測定を行うことで、XFELが試料粒子に照射される確率を65%以上高めることができた。

そこで、凍結試料の同一視野を低温光・電子相関顕微鏡法で葉緑体の形状を確認、損傷の無い葉緑体が直径1.7ナノメートル程度の真円に近い形状であることが分かった。この形状情報を回折パターンからの試料像再生に利用することで、従来法では再生できなかった回折パターンから、葉緑体投影像を分解能192ナノメートルで再生することにも成功した。また、以前に提案したシグナル増幅による信頼性の高い高分解像度観察が可能であることを実証した。

米倉准主任研究者は「今後、光学顕微鏡や電子顕微鏡との相互利用を進め、内部観察が難しかった様々な試料丸ごとの高分解像度観察を実現したいと考えています。その一つが生きた細胞そのままの観察であり、細胞機能や病理メカニズムの詳細な解明を目指していきます」としている。