

軟X光生醫斷層掃描顯微術試車概要

科學研究：提供細胞與組織自然原生的三維結構，應用於細胞生物學、病理機制與藥物研究。

實驗技術：全場穿透式軟X光斷層掃描顯微術、螢光結構照明顯微術。

林子敬、蘇益志、謝嘉濬、賴麗珍
國家同步輻射研究中心 實驗設施組

核心技術

軟X光生醫斷層掃描顯微術(Soft X-ray Tomography, SXT)是近年發展成功的影像技術。原因是生物體內含大量的水且主要的組成元素為碳、氫、氮、氧等，硬X光無法分辨這些元素，軟X光可以但是穿透性不佳，要研究生物樣品需要巧思。科學家找到一個軟X光能量區，稱為水窗，可以避開水的影響。此技術利用能量介於碳元素與氧元素的K層吸收之軟X光，也就是284 - 543 eV水窗能量，對含水的生物樣品產生強烈的吸收對比，不須染色，即可取得近乎原生狀態的內部三維構造影像。

光束線光學元件配置

TPS 24A 軟X光生醫斷層掃描顯微術光束線是台灣光子源第二期光束線，其光學元件配置如圖一。光源為偏轉磁鐵，光學元件依序為水平聚焦鏡(HFM)、垂直聚焦鏡(VFM)、非等線距之平面光柵分光儀(PGM)及垂直再聚焦鏡(VRFM)。軟X光由偏轉磁鐵引出後，聚焦至出口狹縫，稱為二次光源作為顯微鏡的光源。表一為光束線的基本參數。

表一 TPS 24A光束線基本參數

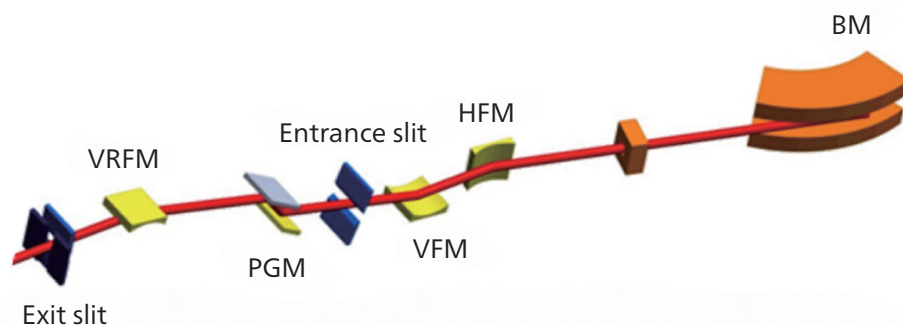
能量範圍	200 - 1,200 eV (運轉中) 1,200 - 2,600 eV (建造中)
光斑大小	50 × 60 μm^2 (H × V)
光通量	3×10^{10} photons/s @ 520 eV
能量解析力	2,000 (E/ ΔE)

實驗站設備

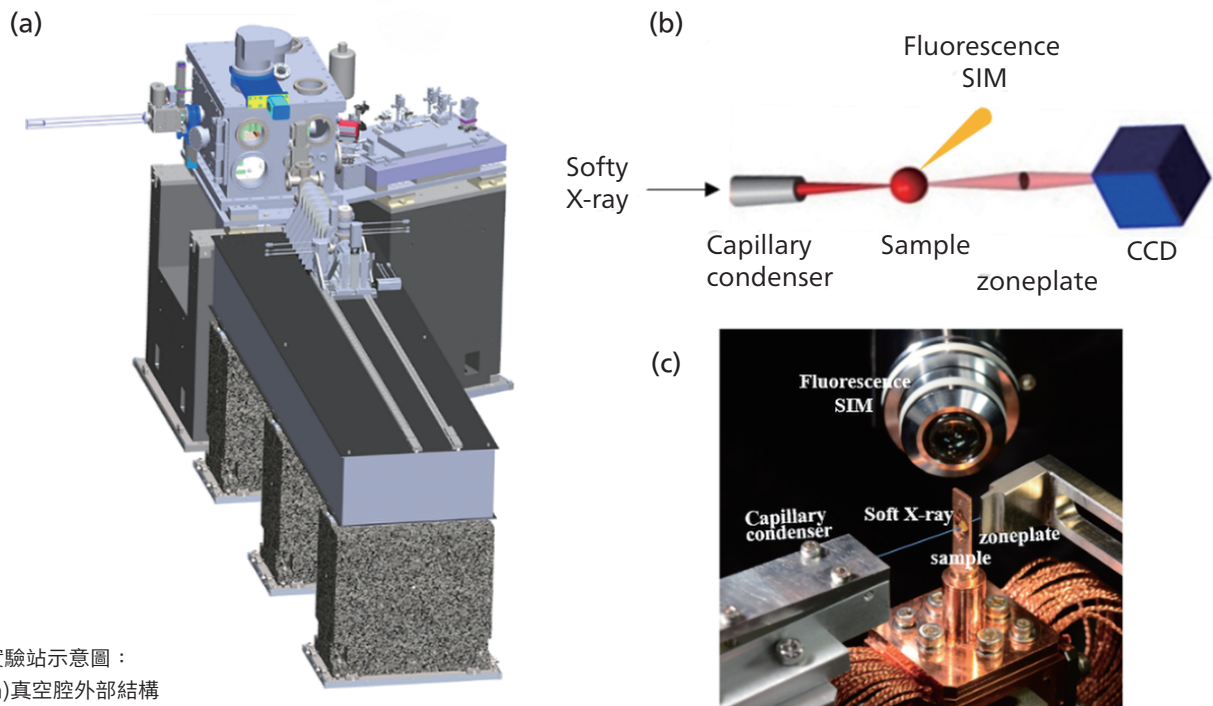
本實驗站提供兩種顯微術，分別是全場穿透式軟X光顯微鏡和高解析度螢光結構照明顯微鏡(Fluorescence Structured Illumination Microscopy, Fluorescence SIM)。來自光束線的二次光源軟X光，先用毛細管聚焦到生物樣品，穿過樣品會散焦，再經波帶片聚焦，成像在電荷耦合偵檢器(CCD)上。實驗站提供兩種不同空間鑑別力的波帶片，各有優劣，用戶根據實驗需求做選擇。實驗時，可以旋轉冷凍生物樣品，收取不同角度的二維投影，再進行影像重建得到三維結構。實驗站上也建置了螢光結構照明顯微鏡，用戶可以用不同的技術觀察細胞內同一位置之結構與功能性胞器的影像，交叉比對。實驗站整體設計如圖二所示。TPS 24A另建置了低濕度生物樣品準備室，提供用戶製備冷凍生物樣品和冷凍樣品螢光篩選。

試車結果

圖三為實驗站試車的初步結果。試車初期以對X光強烈吸收的鎢針進行影像二維的量測，將鎢針旋轉進行不同角度的投影取像後再做影像重建而得三維的鎢針影像，如圖三(a)。實驗站的光學解析度以測量Nested L's 標準品的線寬，量測結果解析度已達半高寬為40nm，如圖三(b)。近期量測冷凍固定(cryo-fixation)的U-2 OS人類骨肉瘤細胞株之冷凍螢光與軟X光斷層掃描影像。實驗首先將粒腺體以綠色螢光染色，以確認細胞內粒腺體的位置，再針對紅框區域進行軟X光斷層掃描，從三維影像重建後的切面圖，可清楚的觀察到細胞內各胞器結構，如細胞核、核仁、粒腺體、脂滴……等，如圖三(c)。



圖一 TPS 24A光束線光學配置設計圖

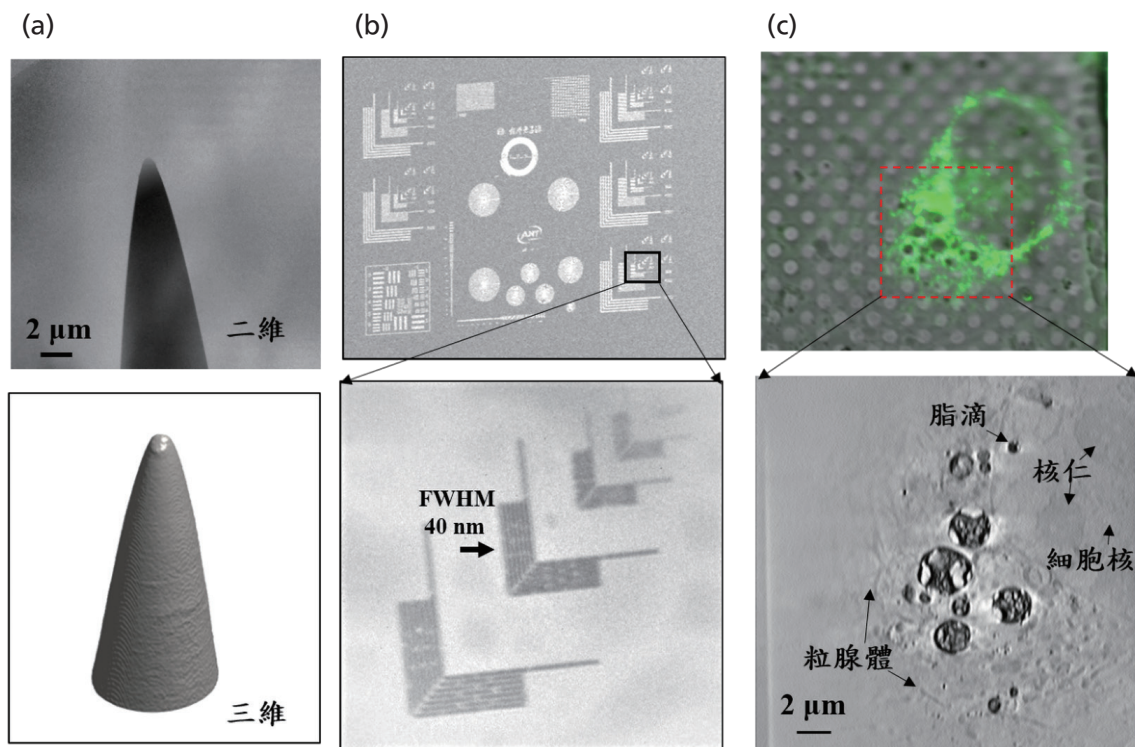


圖二 實驗站示意圖：
(a)真空腔外部結構
(b)真空腔內的軟X光與螢光光學系統
(c)實驗站內部主要光學元件

結論

TPS 24A 軟X光生醫斷層掃描術實驗設施解析度已達到40nm，適合研究原生細胞或生物組織等內部結構。此技術擁有高解析度、不須對樣品染色、直接量測生物體原生

狀態、並可快速取得生物體內部三維構造影像等優點，期能成為研究人員從事病理機制、藥物開發的研究利器。



圖三 實驗站試車結果：(a) 鎢針二維(上)及三維重建影像(下)。(b) Nested L's 校正用標準品影像(上)，局部放大影像(下)顯示解析度已達到半高寬為40 nm。(c) U-2 OS細胞螢光影像(上)、虛線範圍的軟X光斷層掃描三維影像重建後之切面圖(下)。