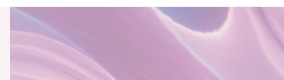


軟 X 光生醫斷層掃描顯微術實驗設施

Soft X-ray Tomography Beamline



科學研究方向：探討細胞生物結構，提供自然原生的三維細胞與組織等生物影像，以應用於細胞生物、疾病機制與生醫藥物研究。

主要實驗技術：全場穿透式軟 X 光斷層掃描顯微術、螢光結構照明顯微術。

概要介紹

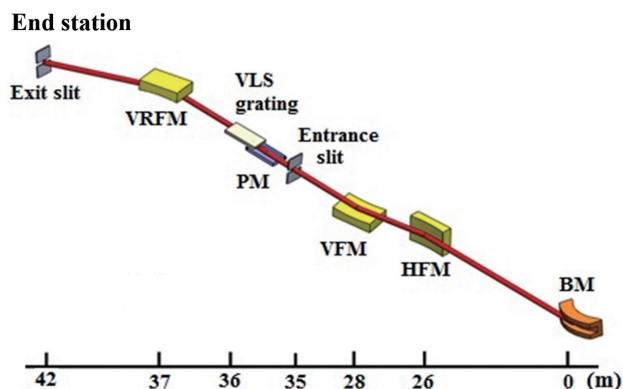
為了研究細胞與組織等生物體結構，生醫研究人員常將生物體以染料染色，並以螢光顯微鏡觀察其功能位置。目前螢光顯微鏡的解析度僅能達 200 nm，高解析的螢光顯微鏡其解析度可低於 100 nm，但因染料會有光漂白現象而無法長時間觀察，因此生物體僅能觀察有染色部位，其餘部位資訊則付之闕如。為能獲得生物體較佳的解析度，研究人員使用穿透式電子顯微鏡 (Transmission Electron Microscopy, TEM)，電子顯微鏡雖可量測到極佳的生物體解析度，但生物體在電顯量測所需的製備程序非常複雜，且電子的穿透厚度不深，因此量測三維生物體則需將此生物體切薄片才能進行電顯量測，非常耗時與耗人力。

軟 X 光生醫斷層掃描顯微術 (Soft X-ray Tomography, SXT) 是近幾年發展出來的新影像技術，本中心即規劃此為台灣光子源第二期周邊實驗設施的第一座光束線，其光束線能量範圍在 200 - 3,000 eV。一般生物體的化合物大多含碳、氫、氧等元素，由於生物體大多須在水溶液下才有活性，因此軟 X 光能量介於碳元素與氧元素之 K 層吸收 (284 - 543 eV，水窗能量) 下，對水溶液下的生物體有強烈的 X 光吸收對比，可穿透約 10 μm 的生物厚度。而較高能量 (~3000 eV) 的軟 X 光對水溶液下的生物體則有強烈的 X 光相位對比，可穿透約 50 μm 的生物厚度。因此，軟 X 光斷層掃描顯微術對較厚的生物細胞和組織可在無染色與切薄片的情況下，即可快速的量測細胞內部胞器與組織精細的三維原生結構影像。此影像技術於二維生物影像解析度可達 15 - 30 nm，三維生物影像解析度約 50 nm，此技術亦將結合螢光顯微術，觀察生物細胞內在同一位置的結構與功能關聯性。於科學研究上，可探討細胞內錯誤摺疊的蛋白質堆積所引起的神經退化性疾病、細胞胞器結構的變化

造成生理和病理的疾病、探討細胞與細胞之間的交互作用、以及研究微生物、病毒、細菌與宿主細胞的作用等，以開拓生物醫學新領域，並促進藥物研發、疾病機制探討、醫學研發等相關研究。

光束線設計

軟 X 光生醫斷層掃描顯微術光束線乃依實驗需求而設計，其光學元件配置圖如圖一所示。同步加速器光源由偏轉磁鐵的切線方向，分別取 1.2 mrad 水平張角和 0.86 mrad 垂直張角引出，此光束線第一個光學元件為水冷式水平聚焦鏡 (Horizontal Focusing Mirror, HFM)，距離光源 26 m 處，其縮像比為 13:8，將水平方向之光束線成像於 42 m 出口狹縫處。第二個光學元件為水冷式垂直聚焦鏡 (Vertical Focusing Mirror, VFM)，鏡子表面鍍金 (Au) 及銠 (Rh)，置於距離光源 28 m 處，其縮像比為 2:1，將垂直方向之光束線成像於 35 m 入口狹縫處。第三個光學元件為非等線距之平面光柵分光儀 (Varied-Line-Spacing Plane Grating Monochromator, VLS PGM)，含水冷式平面鏡及水冷式非等線距之平面光柵，置於距離光源 36 m 處，其能量涵蓋範圍由 200 - 3,000 eV。第四個光學元件為垂直再聚焦鏡 (Vertical Re-Focusing Mirror, VRFM)，置於距離光源 37 m 處，其縮像比為 6:5，將垂直方向之光束線成像於 42 m 出口狹縫處，藉由鏡面反射將光束線偏折至與光源平行，以方便實驗站使用光源。該光束線為了得到較高的光通量，第一、第二與第四個光學元件鏡面分兩區域個別鍍上金膜及銠膜，以分別使用於低能量和高能量光源區。光束線之光學參數如表一。因鏡面反射的偏折效應，當光束線到達 42 m 時，其水平方向將偏折 672 mm，在光束線未偏折方向 32.2 m 處放置鉛塊，以避免直視光源時受到輻射直接照射的傷害。此外，由於水平聚焦鏡為第一面光學元件，因此可濾除部份光源的高次諧波與熱負載等對光束線品質不良的影響。該光束線非等線距之平面光柵分光儀的設計為藉由平面光柵之不均勻線距密度來消除散焦像差及慧星像差，以提高系統之能量解析力，同時配合轉動平面鏡及平面光柵，可將聚焦光點固定在出口狹縫位置，不隨能量變化而移動。此光束線在能量 520 eV 且能量解析力 ($E/\Delta E$) 為 2,000 的條件下，其出口狹縫上之光點大小約 50 μm $\times$ 60 μm (FWHM)，光束張角大小約為 1.73 mrad $\times$ 1.57 mrad (FWHM)，此時的光通量約為 2.84 $\times 10^{11}$ photons/s。



圖一 光束線光學元件配置圖

表一 軟 X 光生醫斷層掃描顯微術光束線光學參數

Energy mode	Optics	Geometry	Coating	Ruling density (l/mm)	Mirror size (W × L mm ²)
	HFM	Plane ellipse	Au and Rh		110 × 1,210
	VFM	Plane ellipse	Au and Rh		110 × 1,210
	VRFM	Plane ellipse	Au and Rh		70 × 550
	PM	Plane	Au and Rh		70 × 400
LE mode (200 ~ 1,500 eV)	VLSC	plane	Au	600	40 × 220
	VLSC	Plane	Rh	1,200	40 × 220
HE mode (1,200 ~ 3,000 eV)	VLSC	Plane	Multilayer	2,400	40 × 220

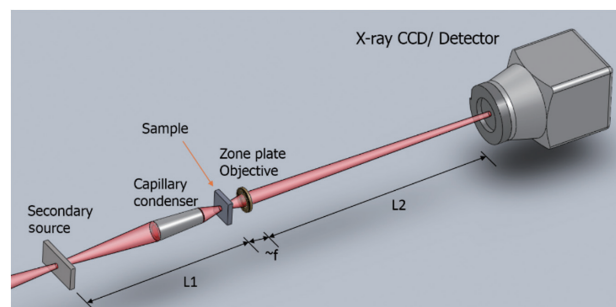
※ VLSC : varied-line-spacing grating

實驗站設計

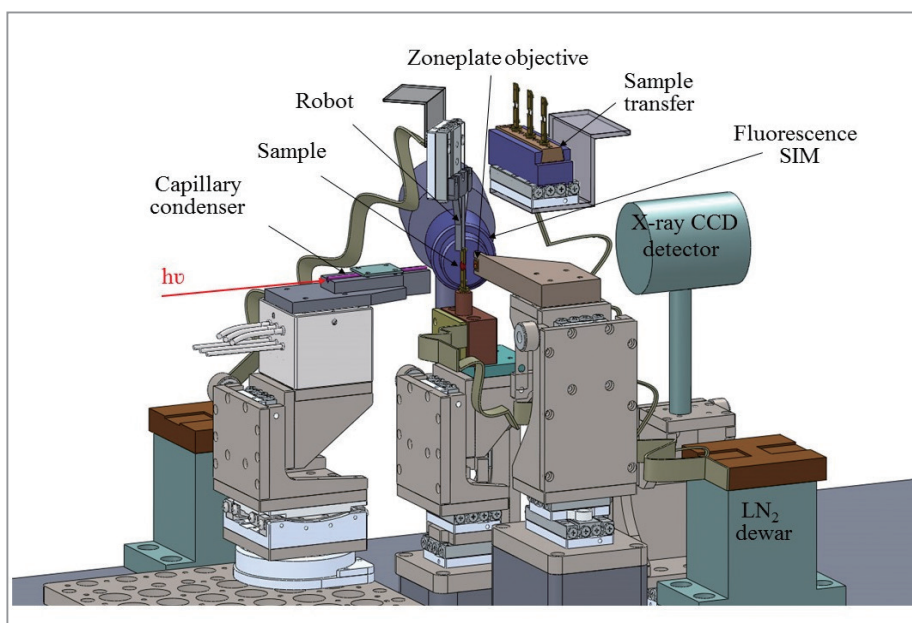
該實驗站之軟 X 光光學設計，主要以光束線出口狹縫上的光點作為實驗站內軟 X 光的二次光源，接著以最先進的單反射式毛細管 (single bounced capillary) 做為聚焦元件，將二次光源聚焦在生物樣品上，穿透生物樣品的光源經波帶片聚焦在軟 X 光的 CCD 偵測器上，實驗站軟 X 光光學系統概念設計圖如圖二所示。該實驗站設計以單反射式毛細管做為聚焦元件，可有高效率、高數值孔径和長工作距離等優點，而波帶片有多種不同規格，可根據不同的成像倍率、不同樣品厚度和不同能量而選擇。生物樣品的載台則採標準的 TEM

gold Grid，以簡化樣品製備程序。波帶片因使用目的不同將提供兩種解析度 25 nm 和 40 nm 給用戶使用，於 520 eV 左右的低能量工作區觀察薄生物樣品，在 3 維斷層掃描旋轉下其工作距離至少為 2 mm 以上，而於高能量工作區則可量測較厚的組織結構，因此軟 X 光顯微鏡在設計上將預留相位環的位置，以提供相位對比的功能。

由於影像的數據量非常大，因此資料處理方面將使用含 GPU 的電腦，進行大量資料平行運算，並且能夠進行即時的斷層掃描之偏擺修正，以達到數分鐘內可處理 2000 × 2000 × 2000 voxels 以上的斷層掃描數據之目標。該實驗站建造團隊同時也開發自動對準的程式，並與螢光顯微鏡的資料進行合併，未來將可全自動的處理大數據資料。



圖二 實驗站軟 X 光光學系統概念設計圖



圖三 軟 X 光生醫斷層掃描顯微術實驗站概念設計圖

實驗站是為了觀察生物體結構的目的而設計製造，為了避免輻射對生物體的傷害，生物樣品厚度除了必須能被軟 X 光穿透之外，樣品亦皆以接近液氮低溫的冷凍狀態下傳送與量測。為了減少人為操作的誤差，自動的樣品傳輸 (sample transfer) 將以機械手臂操作，這也是該實驗站的設計重點。該實驗站最主要的特色是軟 X 光生醫斷層掃描顯微鏡結合高解析螢光技術的結構照明顯微鏡 (Fluorescence Structure Illumination Microscopy, Fluorescence SIM)，以提供用戶觀察生物體於相同位置下的結構與功能，軟 X 光生醫斷層掃描顯微術實驗站概念設計圖如圖三所示。另外，本中心未來將建造冷凍生物樣品準備室，以提供用戶製備冷凍生物樣品的作業環境。

| 結語 |

台灣光子源軟 X 光生醫斷層掃描顯微術是近幾年發展出來的新影像技術，可提供原生的三維細胞與組織等生物影像，未來將可應用於研究細胞內胞器形態或組織因藥物或病變引起的變化等。目前全世界有此顯微術的國家不多，僅美國 ALS、德國 BESSY II 和西班牙 ALBA 等光源設施已完成建造運轉，此顯微術在英國的 Diamond 光源則還在建造中，本中心軟 X 光生醫斷層掃描顯微術實驗站建造完成後將是亞洲區的第一座，此

系統建造完成後將可協助研究人員從事藥物研究、疾病機制探討、醫學相關研發等，以開拓生物醫學新領域。

※ 本文由實驗設施組蘇益志博士和殷廣鈴博士提供文稿，王端正博士和周玉清小姐提供圖示。

參考資料：

1. E. Pereiro, et al., J. Synchrotron Rad. **16**, 505 (2009).
2. G. Schneider, et al., Nature Methods **7**, 985 (2010).
3. M. Le Gros, et al., Curr. Opin. Struct. Biol. **15**, 593 (2005).
4. G.-C. Yin, United State Patent No. US 7885483B2 (2011).

計畫主持人：中央研究院 劉扶東院士
(ftliu@ibms.sinica.edu.tw)

建造主持人：國家同步輻射研究中心 賴麗珍博士
(jene@nsrrc.org.tw)



劉扶東院士



賴麗珍博士

近期會議訊息

| 第二十一屆用戶年會暨研討會 |

第二十一屆用戶年會暨研討會 (21st Users' Meeting & Workshops) 將於 9 月 9、10 日在本中心舉辦，第一天會議除了本中心現況與未來展望報告外，還安排「用戶大會」座談與舉行七個研究群討論會；第二天會議將舉辦快速掃描延伸 X 光吸收精細結構 (Quick-scanning EXAFS)、運用臨場軟 X 光能譜術來表徵分析能源材料 (In-situ Soft X-ray Spectroscopy Characterization in Energy Materials Research)、以及中子與凝態科學 (Neutrons for Condensed Matter Scientists)，邀請您踴躍報名用戶年度盛會，並參與壁報展示以發表用戶成果。年會相關內容及最新動態，請參閱該會議網站 <http://regis.nsrrc.org.tw/>。

| 第十九屆國際磁鐵量測會議 |

第十九屆國際磁鐵量測會議 (International Magnetic Measurement Workshop, IMM19) 將於 10 月 25 - 30 日在本中心舉辦，該會議目的在促進加速器磁鐵與插件磁鐵等之磁場量測方法、量測技術以及量測設備可靠性等國際資訊

交流，該研討會主題包括 (1) 磁鐵量測之概要、執行與量測結果、(2) 磁鐵量測技術與系統之發展、(3) 量測與磁場分析、(4) 插件磁鐵與加速器磁鐵之磁場量測、(5) 磁鐵量測相關軟體、(6) 磁鐵量測程序與診斷、(7) 測量、定位和可靠度等，此外於 10 月 25 日針對新進同仁與學生舉辦磁鐵量測技術的課程。會議相關內容及最新動態，請參閱該會議網站 <http://www.nsrrc.org.tw/immw19/>。

| 第九屆非彈性 X 光散射國際研討會 |

第九屆非彈性 X 光散射國際研討會 (The 9th International Conference on Inelastic X-ray Scattering, IXS 2015) 將於 11 月 22 - 26 日在本中心舉辦，該會議主題包括 HX - RIXS/NIXS、HX - meV & Compton、theory、SX、multi techniques、XFEL、new experiment frontier、energy materials 和 extreme conditions 等，邀請專家學者前來演講。目前該會議已開放報名 (早鳥報名截止日為 8 月 31 日) 與線上摘要投稿 (截稿日為 7 月 31 日)，同時亦受理 IUCr Young Scientist Awards 申請 (截止日為 7 月 31 日)。會議相關內容，請參閱會議網站 <http://www.nsrrc.org.tw/ixs-2015>。