

## 医学：シンクロトロン蛍光 X 線の生物医学応用

松山 智至, 志村 まり

筆者らは Sub-100 nm のシンクロトロン放射光 (Synchrotron Radiation: SR) プローブを用いた, 細胞内元素イメージング用走査型蛍光エックス線顕微鏡システム (Scanning X-ray Fluorescence Microscopy: SXFM) の開発を行い, 生物・医学応用を展開している。本稿では SXFM による生物医学応用を紹介し, 生物・医学領域でのさらなる可能性を議論したい。

### 1 医学と放射線の歴史：レントゲンから現在まで

1895 年のレントゲンの X 線発見以来, 透過能という X 線の特性を生かし, 医学分野では, CT やパントモグラフィなど多様な診断法に活用されている。一方, 細胞観察では, “microradiography”<sup>1)</sup> が X 線発見より数年内に開発され, X 線集光技術<sup>2)3)</sup>により急速にその分解能は改善された。1970 年代には, 透過 X 線顕微鏡 (Transmission X-ray microscopy: TXM) や走査型透過 X 線顕微鏡 (scanning TXM: STXM) の研究が, Göttingen 大学で集約的に行われた<sup>4)~7)</sup>。STXM は, 細胞骨格や構造 (細胞核, 核小体, 細胞膜, 染色体など) の観察を可能とし, 細胞内構造を明示するため銀染色や 2 次抗体にランタノイドを使用するなど様々な応用が実施されてきた<sup>7)~9)</sup>。2000 年代に至り, 第 3 世代シンクロトロン放射光 (SR) 施設の供給する高強度 X 線より,

X 線顕微鏡はブレイクスルーを遂げた<sup>10)~14)</sup>。第 3 世代 SR 施設の硬 X 線はマイクロプローブを可能とし<sup>15)~17)</sup>, KirkpatrickBaez (KB) ミラーやゾンプレートなどの集光技術よりナノプローブが可能となり<sup>18)</sup>, 現在, 細胞内小器官レベル (100 nm 以下) の高分解イメージングが可能となっている。様々なエネルギー線を解析することで, 分子構造, 元素, 元素の価数や酸化状態の検出が可能である (図 1)。回折による構造解析が創薬事業に貢献しているように, 放射光エネルギー線各種は, 細胞内小分子や元素をターゲットにしたヒト疾患細胞 (iPS 細胞を含む) の代謝, 診断, 薬剤評価など, 多様な医学応用が期待できる段階に至っている。

### 2 走査型蛍光 X 線顕微鏡 (Scanning X-ray Fluorescence Microscopy: SXFM)

SR によるプロトタイプの XRF 顕微鏡はこれまでも存在していたが, 筆者らは生物や医学領域での貢献を期待し, 哺乳類細胞観察に焦点を置いた走査型蛍光エックス線顕微鏡システム (以下 SXFM, 図 2) の開発に取り組んだ。SXFM の主たる構成は, X 線集光光学系 (KB ミラー集光光学系) と試料走査システム, 蛍光エックス線検出システム (エネルギー分散型 X 線検出器) である。光源である SPring-8 のアンジュレータ光は実験室の X 線 (回転陽極 X 線管) に比べ約 10 億倍明る

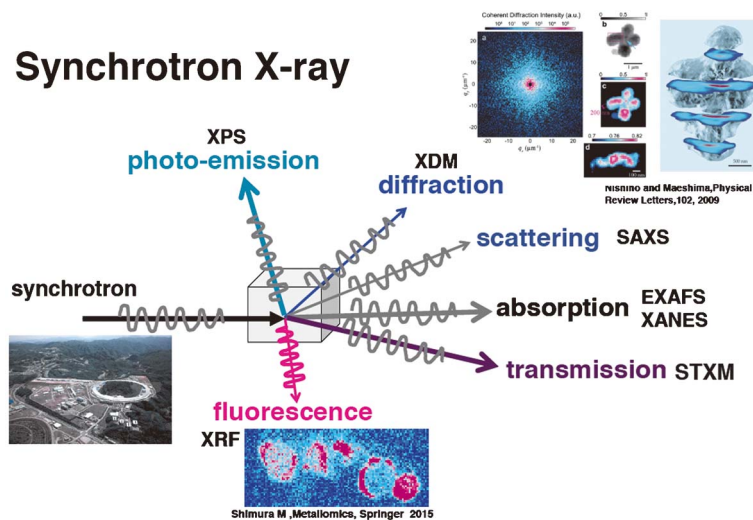


図 1 シンクロトロン放射光 (SR) の多様な利用。Matsuyama *et al.*, JAAS. 2020 より許可を得て引用

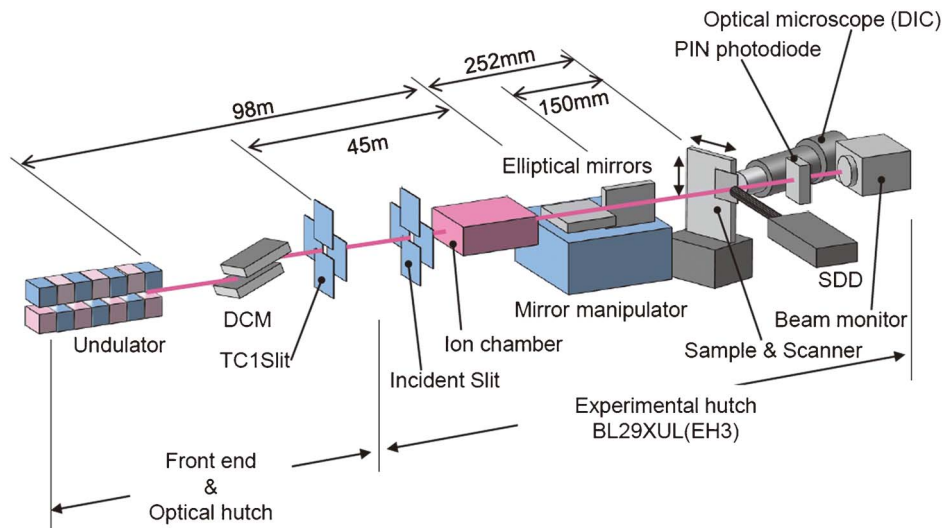


図2 走査型蛍光エックス線顕微鏡装置 (SXFM) 概要図

いため、哺乳類細胞内の極微量な元素の高感度検出が期待できる。光源は平行度が高く細いので、集光光学系と相性も良い。

しかし、X線の集光は可視光と比べてはるかに難しい。X線は波長が短いため、わずかな集光ミラーの凹凸や作製誤差でも容易に散乱される。数ナノメートルレベルの精度で、光学素子を作製しなくてはならない。大阪大学では2000年ごろから、X線集光ミラーの開発を進め、約2nmの形状誤差(設計形状と実際の形状の差)の全反射集光ミラー(楕円鏡)の開発に成功している<sup>19)20)</sup>。

SXFM用に開発した高精度集光ミラーを用いることで、回折限界の約40nm~1000nmまでサイズ可変の集光が可能となり、細胞内の100nm以下の構造体も検出可能な、世界最高レベルの分解能を有している(図3)<sup>21)</sup>。

### 3 SXFMのユーザーフレンドリー化

筆者らは、SXFMによる細胞観察におけるハード面、ソフト面のユーザーフレンドリー化を進めて来た。

① 検出器(Silicon drift detector(SDD)) : SDDとMulti-channel analyzer(MCA)を組み合わせ、すべてのX線スペクトラムをピクセルごとに保存可能とした。後に画像解析に必要な元素について、保存データから元素マッピングが可能となり、結果的にノイズ除去も容易となった。

② 走査ステージ : リニアエンコーダー搭載のXZ stage(最小step : 1nm ; 移動範囲 : 25mm)を採用することで、テストパターンイメージングで30~50nmの分解能を得ている<sup>21)</sup>。

③ 温調システム : 大型フィルムヒーターと白金測温体によって構成された温調システムの開発(JASRI光源光学部門)により、無振動且つ室温を0.1℃以下に安定したことで、X線集光制御系の熱膨張による歪みが抑制され、頻用な500nmの集光

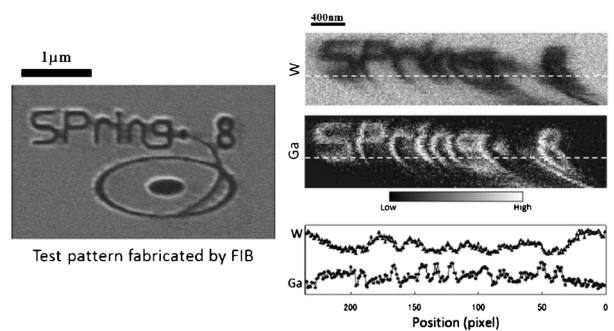


図3 WとGa高分解テストパターン

左、focused ion beam(FIB)によるGaテストパターン。右、SXFMによるWとGa高分解テストパターン。露光時間=1秒/pixel、スキャンニングステップ=15nm/pixel、X線エネルギー=15keV。Matsuyama et al., Rev. Sci. Instrum. 2006より許可を得て引用。

ビームを1週間程度維持することが可能となった。

④ 細胞試料の座標化 : 微分干渉顕微鏡(differential interference contrast(DIC) : reflection type, numerical aperture=0.25, magnification '10)をSXFMに設置することで、細胞組織の位置決めや座標化が可能となった(図4a)。

⑤ アルゴンの排除 : 細胞観察に有用な元素(Ca, Pなど)のバックグラウンドとなる空气中アルゴンを極力排除するために、真空後ヘリウム置換を取り入れた。

⑥ 回転ステージ : アルゴンの排除操作に1回30分程度を有するために、ハッチの開閉をできるだけ少なく、多くの試料を設置する必要がある。そこで、回転ステージを設置し、一度に12試料の取り付けを可能とした。測定中の温度変化も最小となり、より安定な測定が可能となった。

⑦ ズーム機能 : 光学顕微鏡では対物レンズ変更により拡大可変であるが、X線顕微鏡では同様の機能は報告されていなかった。

⑧ ソフトウェアの開発 : X線集光、X線検出システム、走査ステージ、試料交換やDIC操作などが、操作パネル上で可能とな

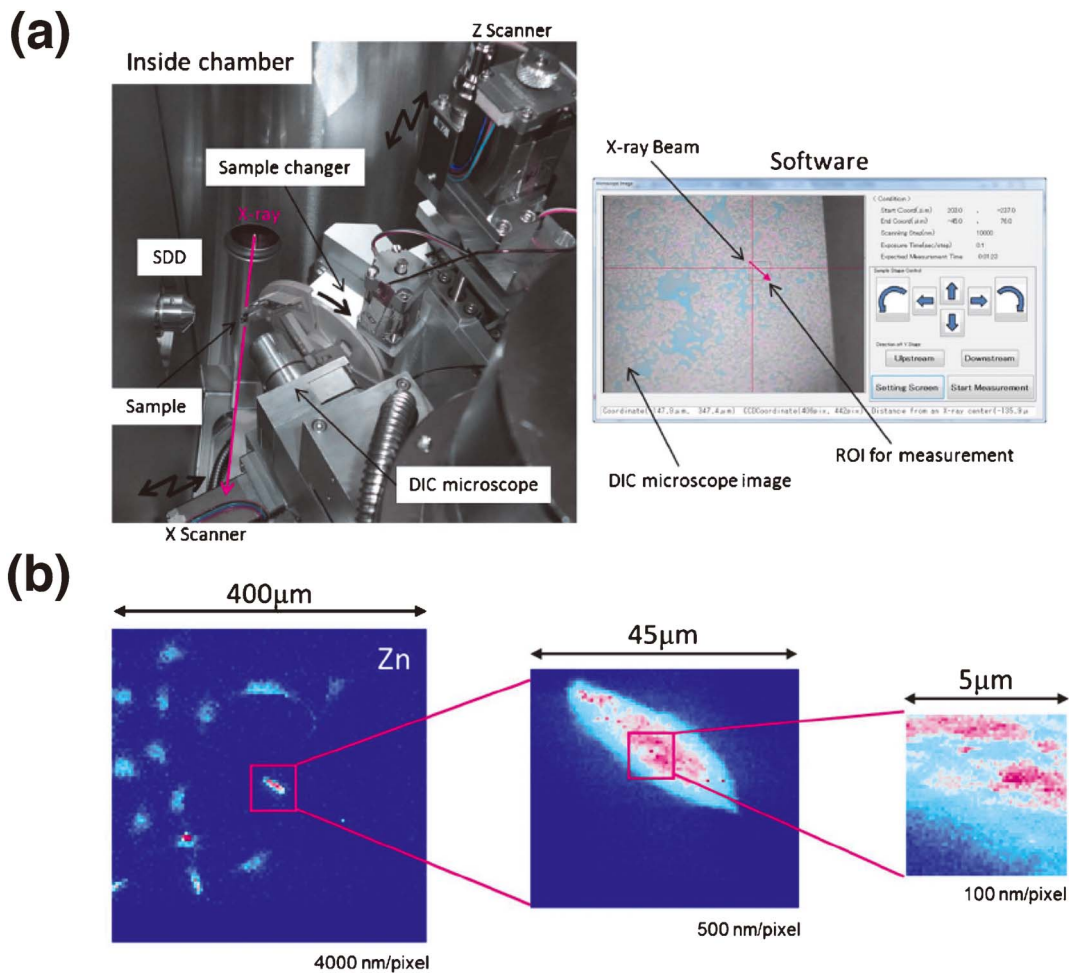


図4 SXFMのユーザーフレンドリー化。  
 (a)左、ユーザーフレンドリー化したSXFMハッチ内部の写真、右、開発したソフトウェアモニター上の試料DIC像。(b)SXFMのズーム機能。Matsuyama et al., JAAS. 2020<sup>31</sup>より許可を得て引用。

り、迅速な測定を実現している。モニター上で測定したい箇所を選択するなど、自在な操作が可能となった。そこで、仮想光源位置（ミラーから45 m上流）にコントロールスリットを加えることで、X線ビーム幅は回折限界の40 nmから1000 nmまで可変となり、ズーム機能が可能となった（図4b）<sup>22)23)</sup>。

#### 4 SR 蛍光 X線イメージングのための細胞準備

自然に近い状態での細胞観察は、様々な顕微システムにおいて目標とされているが、実は難しい<sup>24)</sup>。1990年よりX線顕微鏡においても、生きた状態での細胞観察は試みられたが、水分子がフリーラジカルを発生し放射線障害を誘導するため、特に細胞の微細形態は著しく破壊された<sup>25)</sup>。細胞に2%ホルムアルデヒドの化学固定を施すことで、放射線障害は減弱することが見いだされた<sup>26)~29)</sup>。1995年にKirzらが議論していたように<sup>26)</sup>、自然に近い状態で細胞を観察することは、今日に於いても大きな課題である。

SRにおいてもフリーラジカルは発生するため、生きた細胞の観察は通常行われていない。化学固定を行った溶液中での観察でも同様である。一方、化学固定後、乾燥処置を行った場合は、1990年代に見られたような著しい放射線障害は認められない。しかし、細胞内カリウム、カルシウムのようなフリーイオンは、化学固定洗浄後ほぼ消失してしまう<sup>30)</sup>。一方、亜鉛や銅はおおむね温存される。たんぱく質など細胞内分子と結合する元素は、ホルムアルデヒド架橋より温存される傾向があるようである。私たちは、瞬間凍結細胞をクライオ顕微鏡システムで観察する方法を推奨している<sup>30)31)</sup>（図5）。瞬間凍結法は生きた細胞の状態を極力温存するため、電子顕微鏡やLaser Aberration Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS)でも利用されている<sup>32)33)</sup>。また、瞬間凍結はラジカルの発生を抑制する点でも望ましい。さらに私たちは、瞬間凍結+凍結乾燥法(FFFD)を行うことで、ホルムアルデヒド固定で喪失する元素や微細な構造形態も保持できることを見いだしている。FFFDは長期保存、容易な運搬、室温でのX線顕微鏡測定が可能で利便性が高い。一方、ホルム

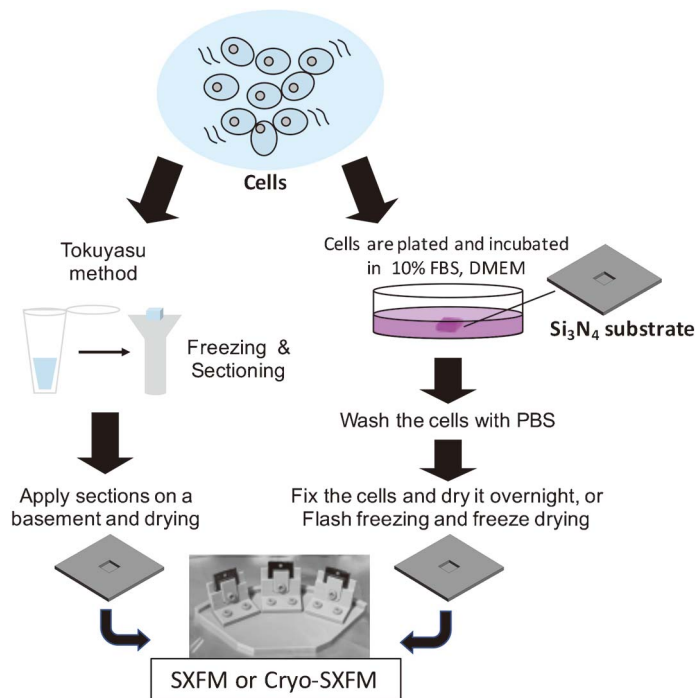


図5 SXFMの試料準備法。写真は回転ステージ用試料ホルダー (SXFMのユーザーフレンドリー化参照) Matsuyama *et al.*, JAAS. 2020 より許可を得て引用

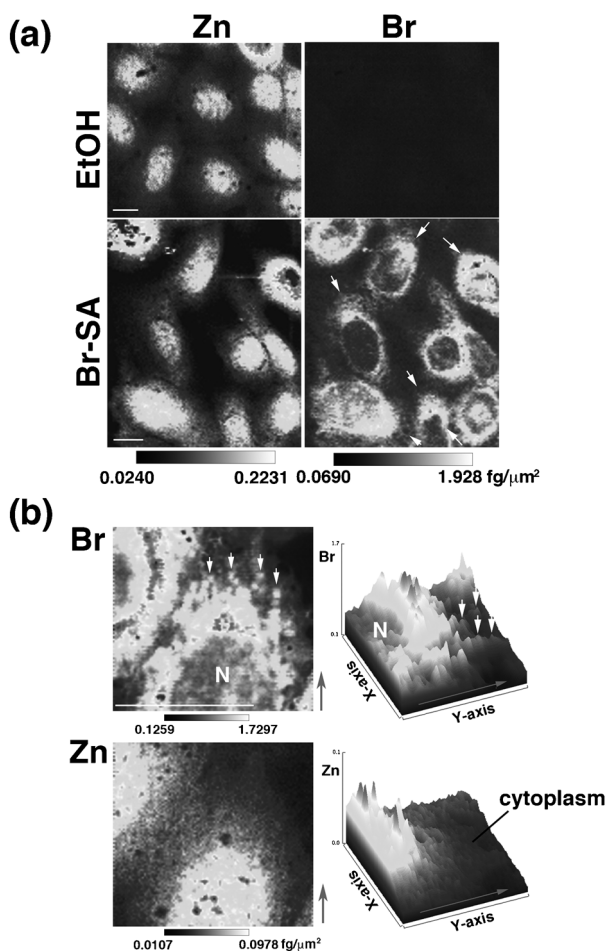
アルデヒド固定後の試料においても、適切なコントロールや再現性が得られるのであれば、重要な細胞情報を得ることができる。臨床検体はホルマリン固定試料が多く、そのために貴重な臨床検体を測定しない選択は考えられない。常に細胞がどのような状況にあるかを理解した上で、観察を展開することが肝要である。近年、X-ray free-electron lasers (XFELs) による、生きた細胞の回折像による観察が可能となった<sup>34)</sup>。XFELsのX線回折データでは、細胞が放射線障害を起こす前(原子のcoulomb爆発前7フェムト秒内)に情報を得ることが可能である。現在のXRFは7フェムト秒内にデータを取得することは難しい。しかし、近年開発されたfull-field X-ray fluorescence microscopy (FXFM)<sup>35)</sup>は走査を必要としない顕微鏡であるため、原理的にはワンショットで蛍光X線を可視化することが可能である。このような技術を使えば将来この問題を解決するかもしれない。

## 5 SR 蛍光 X 線の医学応用

2000年代の第3世代SR施設の開発以降、結晶構造解析は創薬分野で貢献し、元素イメージングによる生物医学応用も展開しつつある。しかし、医学研究者のSR蛍光X線顕微鏡に対する認識は、産業医学における金属汚染の評価、蛋白質結合金属や白金製剤研究のような一部の研究に留まっている。その理由は、研究手法の中心である蛋白質、ゲノムやメタボローム解析との隔りがあるからではないだろうか。後述するように、SR蛍光X線顕微鏡にはさらなる潜在能があると考えられる。

例であるが、私たちはSXFMによる小分子(脂肪酸)の細胞内高分解イメージングに挑戦してきた。脂肪酸の質量分析は発展している一方で、その細胞内分布については不明な点が多いからである。

脂肪酸など小分子を観察するために、多くの工夫と努力が展開されてきた。蛍光分子ラベルはその大きさ故に小分子の本来機能を損なう。また、放射線アイソトープラベルや、ラベルなしのDESI-MSやMALDI-MSイメージングの分解能には限界があり、小分子のミトコンドリアレベルでの高分解像取得は困難であった。私たちは、脂肪酸の一原子ラベルとSXFMを組み合わせることにより、細胞内脂肪酸イメージングに成功している(図6)。本来細胞に僅かに存在する臭素(Br)をラベルした脂肪酸は細胞内に取り込まれ、少なくとも細胞分裂後3世代まで継代され、細胞内で多様な飽和や不飽和脂肪酸からなるリン脂質や中性脂質に代謝されることが、LC-MSにより確認された<sup>36)</sup>。SXFMの分解能を250nm/pixelに増大すると、細胞質内にBr脂肪酸代謝産物を伴う長径100nm以下の点状構造が明らかとなった(図6b)。さらに、脂肪酸の合成酵素が多数存在するといわれているER/Golgiと共局在する傾向が明らかとなった(図7a-b)。細胞基板にグリッドをレーザー加工し基準とすることで、上述の明視野や蛍光像などの他の顕微鏡像と重ね合わせが容易となった(図7c)。この研究の中で、小分子に対する元素ラベル位置は要である。言い換えると、細胞が1原子ラベルを許容し、本来の機能を維持できるかを見極める必要がある。1原子ラベ



**図 6 Br ラベル脂肪酸の SXFM 像**  
 (a) Br ラベルステアリン酸 (Br-SA), 及び Br-SA で使用した溶媒のエタノール処置した CHO-K1 コントロール細胞での亜鉛, 臭素シグナル分布 (600 nm/pixel)。矢印, 特徴的な集積を示す Br シグナル。(b) Br ラベルパルミチン酸 (Br-PA) の高分解像。左, Br-PA を 24 h 処置した CHO-K1 細胞の臭素, 亜鉛像 (250 nm/pixel)。右, 左図のサーフィスプロット。赤矢印, サーフィスプロット方向。白矢印, スポット状の Br 分布。Br, BrK $\alpha$  シグナル; カラーバー, fg/μm<sup>2</sup>; スケールバー, 10 μm. Shimura, FASEB J., 2016<sup>36)</sup> より許可を得て改定。

ルでも, ラベル位置によって小分子の本来機能を損なう場合があり, 小分子の機能を知る上でも興味深い。1 原子ラベルと SXFM を組み合わせた方法は, 他の細胞内小分子についても応用できる。これら小分子像と既存の手法による蛋白質像などを組み合わせることで, 多角的な視点から細胞内機能を明らかにできると期待している。医学応用では, 疾患モデル細胞での細胞内小分子の増減や局在の変動, 薬剤による代謝変動など多くの解析が期待できる。

## 6 今後の展望

光源や光学系の性能向上によって, SXFM による医学応用にはどのような未来が待っているのか, 個人的な

思いも含めて俯瞰したい。

まず, 近い将来の SPring-8 アップグレードにより, 光源サイズの微小化と輝度の向上が達成されると考える。X 線集光光学系はこの恩恵を受けて, 高強度ナノビーム生成が可能となる。試算では, アンジュレータ光源からの X 線放射をそのままロスなく集光ミラーで受け集光することで, 今現在の 1000 倍の強度を持つ 100 nm ビームの生成が可能となる<sup>37)</sup>。一方, 現状の光源サイズは大きいので, ピンホールの挿入により必要サイズへの成形が不可欠であるが, これが大きな強度ロスとなっている。また, ビームライン上流に設置されるモノクロメータにおいても, 結晶から多層膜ミラーに変更することで大幅な性能向上を期待することができる。既存の結晶モノクロメータの単色度 ( $\Delta E/E$ ) は  $10^{-4}$  程度であり, 明らかにオーバースペックである。これは, 第 3 世代放射光施設のアンジュレータ放射においては光軸上に発生する低エネルギー X 線の存在が無視できなかったため, 結晶を使う以外に選択肢がなかったからである。一方で, 今後アップグレードされる SPring-8 では光軸上に低エネルギー X 線はなくなり, 最適化された多層膜モノクロメータによって蛍光 X 線分析に最適な単色度 1% の X 線を得ることができるようになる。これは, 非常に効率的に既存の 100 倍の強度向上に寄与する。以上の光学系の性能向上を考えると, 100 nm X 線ビームにおいておおよそ  $10^5$  倍の強度向上を達成できそうである。一方, これらの代償として, 試料損傷や検出器飽和, 試料の高速走査問題 (高速試料走査で発生するデッドタイムによる測定効率の悪化) が懸念される。試料損傷は, 瞬間凍結や FFFD の導入により軽減されると考える (第 4 項: SR 蛍光 X 線の細胞準備参照)。検出器飽和に対しては, CUBE というプリアンプ技術を用いた最新の検出<sup>38)</sup>の利用や, 検出器の並列化 (多数を並べることで 1 台あたりが検出・処理を担当する X 線の量を減らす) が有効となる。走査問題については, フライスキャン<sup>39)</sup>という試料を止めずに走査し続ける技術が有効である。もしくは, これまでは試料を走査していたが, ビームを高速走査するという技術も開発中である。

医学生物応用では, 将来どのような試料を見ることができるようになるだろうか? 例えば, サブ ppm 濃度の薬剤が細胞へ与える影響を調べる実験では, 現状では濃度が低すぎるために, 詳細な分布を調べるには至っておらず (有るか無いかくらいはわかる), そのような濃度の細胞内元素の挙動を調べることも難しい。今後は極少濃度の元素を苦も無く調べることができるようになり, これまで不明だった細胞内動態の解明が期待される。また, ビーム強度向上を感度ではなく測定面積に振り分けるなら, 現行よりも短時間で, 1 mm<sup>2</sup> 程度の領域を測定することも夢ではない。これにより, 生物統計

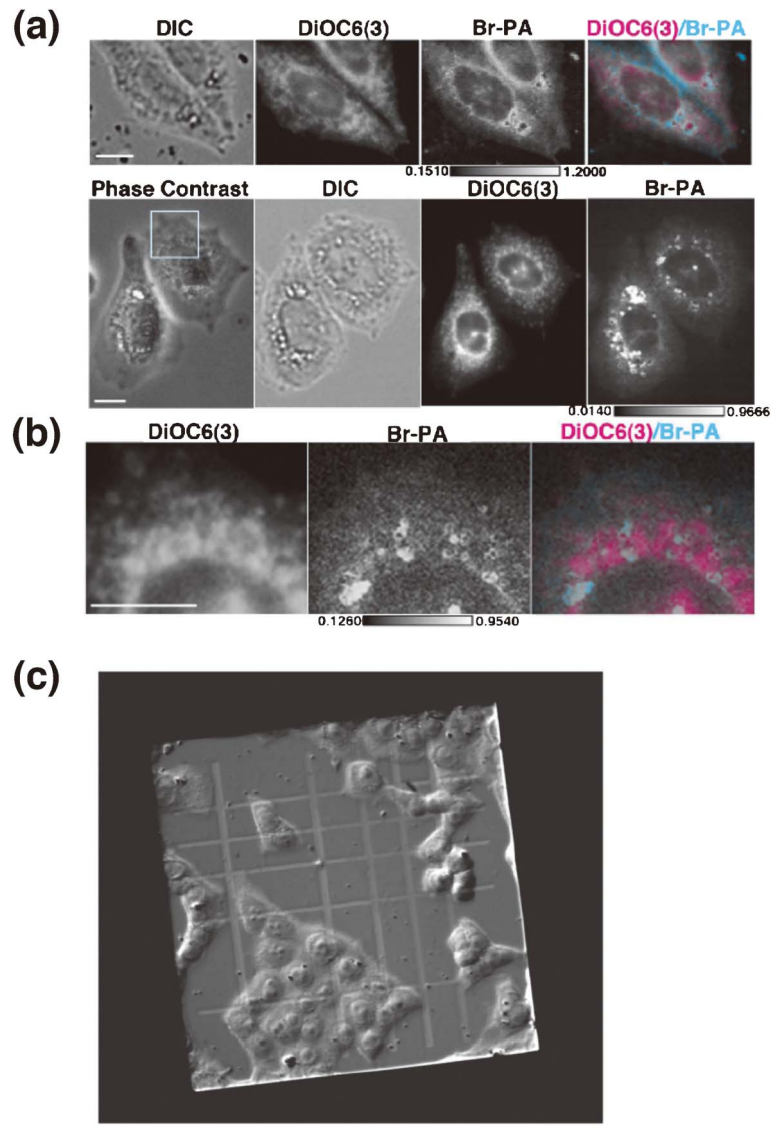


図7 CHO-K1細胞のSXM像と蛍光顕微鏡像

(a) ER(endoplasmic reticulum) マーカー (DiOC6(3)) 蛍光像とSXMによるBrシグナル像 (500 nm/pixel) (b) (a)の黄色フレーム領域の高分解像 (250 nm/pixel)。DIC, 微分干渉像; DiOC6(3), ER 蛍光色素シグナル; Br-PA, BrK $\alpha$ シグナル; Phase Contrast, 位相差像。カラー像, 赤, DiOC6(3); 緑, Br-PA; スケールバー, 10  $\mu$ m; カラーバー, fg/ $\mu$ m<sup>2</sup> (c) 200 nm グリッドを加工したSiN基板に培養したHeLa細胞の微分干渉像。スケールバー, 20  $\mu$ m. Matsuyama *et al.*, JAAS. 2020<sup>34)</sup> より許可を得て引用。

に適した100個程度の細胞に対する高分解像の取得は、一度の測定で可能となりそうである。

このように汎用な元素分布イメージングができるなら、他手法を相補的に利用し、複合的に生命現象の理解を進める研究に弾みがつくのではないだろうか。例えば電子顕微鏡との連携は有意義で、中でも電頭のSTEM-EDSは原子レベルの空間分解能で元素識別が可能な技術である(ただし、試料厚みや元素検出感度に制約がある)。加えて、軽元素や高分子も同定できる質量顕微鏡や、軽元素検出が得意な軟X線顕微鏡との連携も興味深く、SXMと組み合わせることで、各々の利点を生

かしつつ、制約の突破が可能となるかもしれない。

## 7 おわりに

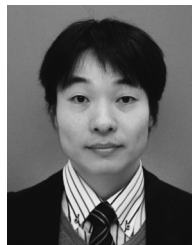
本稿では、SRによる生物医学応用を紹介し、生物・医学領域でのさらなる可能性を述べてきた。SR顕微鏡による新たな視点から、未知の生命機能や疾患解明に貢献できることを切に望んでいる。本分野の発展には、多分野の専門家の理解と協力は不可欠であり、今後も分野を超えた共同研究が重要と考える。

謝辞 本研究は、筆者ら及び東レリサーチ 飯田豊博士、白

瀧絢子氏, 故中山明弘博士, 大阪大学大学院工学研究科 齋藤彰博士, 山内和人博士, 東京大学工学部 木村隆博士, 三村秀和博士, 理化学研究所播磨研究所/SPring-8 Łukasz M. Szyrwiel 博士, 玉作賢治博士, 矢橋牧名博士, 石川哲也博士, 高輝度光科学研究センター光源・光学系部門光学系グループ 湯本博勝博士, 大橋治彦博士, 北海道大学電子工学 西野吉則博士, 国立国際医療研究センター 石坂幸人博士, 松永章弘博士, 進藤英雄博士, 清水孝雄博士, 国立遺伝学研究所生体高分子 前島一博博士よりなる研究グループで行った。本研究開発は, 厚生労働科学研究費補助金医療機器開発推進研究事業(ナノメディシン分野), 内藤記念科学奨励金, 文部科学省科学研究費補助金(特別推進研究)「硬 X 線 Sub-10 nm ビーム形成と顕微鏡システムの構築」(18002009), グローバル COE プログラム「高機能化原子制御製造プロセス教育研究拠点」, 独立行政法人科学技術振興機構, CREST 研究, 国立国際医療研究センター基金(29a1020), 文部科学省科学研究費補助金挑戦的萌芽研究(17K19417)により行われた。

#### 文 献

- 1) P. Goby : *Comptes rendus de l'Academie des Sciences Paris*, **156**, 686 (1913).
- 2) P. Kirkpatrick, A. V. Baez : *The Journal of the Optical Society of America*, **38**, 766 (1948).
- 3) H. Wolter : *Annalen der Physik*, **10**, 94 (1952).
- 4) B. Niemann, D. Rudolph, G. Schmahl : *Optics Communications*, **12**, 160 (1974).
- 5) B. Niemann, D. Rudolph, G. Schmahl : *Applied Optics*, **15**, 1883 (1976).
- 6) G. Schmahl : *Optik*, **29**, 577 (1969).
- 7) C. Jacobsen, J. Kirz, S. Williams : *Ultramicroscopy*, **47**, 55 (1992).
- 8) G. Schmahl, D. Rudolph, P. Guttmann, G. Schneider, J. Thieme, B. Niemann : *Review of Scientific Instruments*, **66**, 1282 (1995).
- 9) M. Moronne : *Ultramicroscopy*, **77**, 23 (1999).
- 10) W. Yun, P. Viccaro, B. Lai, J. Chrzas : *Review of Scientific Instruments*, **63**, 582 (1992).
- 11) B. Lai, W. Yun, D. Legnini, Y. Xiao, J. Chrzas, P. Viccaro, V. White, S. Bajikar, D. Denton, F. Cerrina : *Applied physics letters*, **61**, 1877 (1992).
- 12) A. Krasnoperova, J. Xiao, F. Cerrina, E. Di Fabrizio, L. Luciani, M. Figliomeni, M. Gentili, W. Yun, B. Lai, E. Gluskin : *Journal of Vacuum Science & Technology B*, **11**, 2588 (1993).
- 13) D. Bilderback, S. Hoffman, D. Thiel : *Science*, **263**, 201 (1994).
- 14) D. Bilderback, D. Thiel, R. Pahl, K. Brister : *Journal of synchrotron radiation*, **1**, 37 (1994).
- 15) C. Buckley, G. Foster, R. Burge, S. Ali, C. Scotchford, J. Kirz, M. Rivers : *Review of Scientific Instruments*, **63**, 588 (1992).
- 16) I. Nakai, Y. Terada, M. Itou, Y. Sakurai : *Journal of Synchrotron Radiation*, **8**, 1078 (2001).
- 17) J. Kawai, K. Takagawa, S. Fujisawa, A. Ektessabi, S. Hayakawa : *Journal of Trace and Microprobe Techniques*, **19**, 541 (2001).
- 18) P. Kirkpatrick, A. V. Baez : *Journal of the Optical Society of America*, **38**, 766 (1948).
- 19) K. Yamauchi, H. Mimura, K. Inagaki, Y. Mori : *Review of Scientific Instruments*, **73**, 4028 (2002).
- 20) S. Matsuyama, H. Mimura, H. Yumoto, H. Hara, K. Yamamura, Y. Sano, K. Endo, Y. Mori, M. Yabashi, Y. Nishino, K. Tamasaku, T. Ishikawa, K. Yamauchi : *Review of Scientific Instruments*, **77**, 093107 (2006).
- 21) S. Matsuyama, H. Mimura, H. Yumoto, Y. Sano, K. Yamamura, M. Yabashi, Y. Nishino, K. Tamasaku, T. Ishikawa, K. Yamauchi : *Review of Scientific Instruments*, **77**, 103102 (2006).
- 22) S. Matsuyama, H. Mimura, K. Katagishi, H. Yumoto, S. Handa, M. Fujii, Y. Sano, M. Shimura, M. Yabashi, Y. Nishino, K. Tamasaku, T. Ishikawa, K. Yamauchi : *Surface and Interface Analysis*, **40**, 1042 (2008).
- 23) S. Matsuyama, M. Shimura, H. Mirnura, M. Fujii, H. Yumoto, Y. Sano, M. Yabashi, Y. Nishino, K. Tamasaku, T. Ishikawa, K. Yamauchi : *X-Ray Spectrometry*, **38**, 89 (2009).
- 24) P. Walther, D. Studer, K. McDonald : *Microscopy and Microanalysis*, **13**, 440 (2007).
- 25) P. Bennett, G. Foster, C. Buckley, R. Burge : *Journal of Microscopy*, **172**, 109 (1993).
- 26) J. Kirz, C. Jacobsen, M. Howells : *Quarterly Reviews of Biophysics*, **28**, 33 (1995).
- 27) K. Sakai, S. Okada : *Radiation Research*, **98**, 479 (1984).
- 28) A. D. Stead, R. A. Cotton, A. M. Page, M. D. Dooley, T. W. Ford : *Proceeding of SPIE*, **1741**, 3518 (1993).
- 29) S. Williams, X. Zhang, C. Jacobsen, J. Kirz, S. Lindaas, J. Van't Hof, S. Lamm : *Journal of Microscopy*, **170**, 155 (1993).
- 30) S. Matsuyama, M. Shimura, M. Fujii, K. Maeshima, H. Yumoto, H. Mimura, Y. Sano, M. Yabashi, Y. Nishino, K. Tamasaku, Y. Ishizaka, T. Ishikawa, K. Yamauchi : *X-Ray Spectrometry*, **39**, 260 (2010).
- 31) S. Matsuyama, K. Maeshima, M. Shimura : *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **35**, 1279 (2020).
- 32) M. Debeljak, J. T. van Elteren, K. Vogel-Mikus : *Analitica Chimica Acta*, **787**, 155 (2013).
- 33) S. Matsuyama, A. Matsunaga, S. Sakamoto, Y. Iida, Y. Suzuki, Y. Ishizaka, K. Yamauchi, T. Ishikawa, M. Shimura : *Metallomics*, **5**, 492 (2013).
- 34) T. Kimura, Y. Joti, A. Shibuya, C. Song, S. Kim, K. Tono, M. Yabashi, M. Tamakoshi, T. Moriya, T. Oshima : *Nature*



松山智至 (Satoshi MATSUYAMA)  
名古屋大学大学院工学研究科物質科学専攻  
(〒464-8603 名古屋市千種区不老町)。大阪大学大学院工学研究科卒業。《現在の研究テーマ》X線顕微鏡の開発, X線集光・結像光学系の開発《趣味》MTB。  
E-mail : matsuyama @ mp.pse.nagoya-u.ac.jp



志村まり (Mari SHIMURA)  
国立国際医療研究センター・研究所・難治性疾患研究部難治性疾患研究室 (〒186-8655 東京都新宿区戸山1-21-1)。日本大学大学院歯学専攻卒業。《現在の研究テーマ》元素や小分子による細胞内機能の解明, HIV感染, ウイルス発癌。《趣味》変化朝顔。  
E-mail : mshimura@ri.ncgm.go.jp

- Communications*, **5**, 3052 (2014).
- 35) S. Matsuyama, J. Yamada, Y. Kohmura, M. Yabashi, T. Ishikawa, K. Yamauchi : *Optics Express*, **27**, 18318 (2019).
- 36) M. Shimura, H. Shindou, L. Szyrwiel, S. M. Tokuoka, F. Hamano, S. Matsuyama, M. Okamoto, A. Matsunaga, Y. Kita, Y. Ishizaka : *The FASEB Journal*, **30**, 4149 (2016).
- 37) M. Yabashi, K. Tono, H. Mimura, S. Matsuyama, K. Yamauchi, T. Tanaka, H. Tanaka, K. Tamasaku, H. Ohashi, S. Goto : *Journal of Synchrotron Radiation*, **21**, 976 (2014).
- 38) L. Bombelli, C. Fiorini, T. Frizzi : *Microscopy and Microanalysis*, **24** (Suppl 1), 710 (2018).
- 39) K. Medjoubi, N. Leclercq, F. Langlois, A. Buteau, S. Lé, S. Poirier, P. Mercère, M. C. Sforza, C. M. Kewish, A. Somogyi : *Journal of Synchrotron Radiation*, **20**(Pt 2), 293 (2013).

~~~~~

## 原稿募集

### 創案と開発欄の原稿を募集しています

内容：新しい分析方法・技術を創案したときの着想、新しい発見のきっかけ、新装置開発上の苦心と問題点解決の経緯などを述べたもの。但し、他誌に未発表のものに限ります。

執筆上の注意：1) 会員の研究活動、技術の展開に参考になるよう、体験をなるべく具体的に述べる。物語風でもよい。2) 従来の分析方法や装置の問題点に触れ、記事中の創案や開発の意義、すなわち主題の背景を分かりやすく説明する。3) 図や表、当時のスケッチなどを用いて理解しやす

くすることが望ましい。4) 原稿は図表を含めて4000~8000字(図・表は1枚500字に換算)とする。

◇採用の可否は編集委員会にご一任ください。原稿の送付および問い合わせは下記へお願いします。

〒141-0031 東京都品川区五反田1-26-2  
五反田サンハイツ304号  
(公社)日本分析化学会「ぶんせき」編集委員会  
[E-mail : bunseki@jsac.or.jp]