

事後評価報告書

機関名：大学共同利用機関法人自然科学研究機構

大学等研究者名：岡崎統合バイオサイエンスセンター 教授 永山 國昭

課題名：厚みをもった生物試料を透過型位相差電子顕微鏡観察するための試料調製法の確立

1．目的

透過型電子顕微鏡観察は試料厚が増大すると、バックグラウンドの増加による分解能の低下が避けられない。本課題では、約1 μ m厚までの切片観察を行い、試料厚に対する見え方の違いを明らかにして、詳細な微細構造観察を可能にする試料調製法確立を目的とする。また、トモグラフィ - 技術を応用することで、これまで切片化などにより人為的な構造変化の導入が避けられなかった、細胞内微細構造の3次元像取得を目指す。

2．成果の概要

生物試料のTEM観察では、重金属マーカーとして金コロイドを使用するケースが多い。本課題により、1 μ m厚で10nm金コロイドが識別できることがわかった。

より軽元素のカーボンからなるポリスチレン蛍光ビーズでは、位相差観察において500nm厚切片上で直径15nm、1 μ m厚で21nmの蛍光ビーズが識別できたのに対して、通常像では100nm厚の切片上で直径約13nmの蛍光ビーズが識別できた程度であった。また、インフルエンザウイルスのトモグラフィィーを行い、生データでは識別困難であったウイルス表面タンパク質のスパイク構造が明瞭に識別できた。これらの結果から、位相差TEM観察を行うことにより、1 μ m厚という分厚い試料でも、20nm程度の軽元素からなる粒子状の物質が識別でき、トモグラフィィーや高加速電圧のTEM観察により、さらに詳細なバクテリアー細胞丸ごと高分解能観察できる道が開かれた。

3．総合所見

企業研究者の活用により概ね想定通りの成果が得られた。

緊密な連携研究により、生物試料での厚い試料の内部構造の識別、トモグラフィィー等による高分解能観察で成果を挙げた。特許出願・権利化をはかると共に、技術の高度化と応用展開研究が期待される。