

[Home Search](#)

3P-0376 12月 5日 17:00 -

大気圧走査電子顕微鏡による水中での細胞の観察：乳酸菌と細胞外構造

杉本 真也,¹ 奥田 賢一,¹ 並木 健,² 東山 堅一,² 佐藤 真理,³ 西山 英利,⁴ 須賀 三雄,⁴ 海老原 達彦,³ 松本 俊介,⁵ 園元 謙二,⁶ 水之江 義充,¹ ○佐藤 主税³

¹慈恵医大

²サントリーグローバルイノベーションセンター

³産総研

⁴日本電子株式会社

⁵九大生医研

⁶九大農

@ ti-sato@aist.go.jp

SUMMARY

大気圧電子顕微鏡ASEMIは、水溶液中を電頭と光頭で観察できる全く新しい電子顕微鏡である(1)。この我々の開発したASEMを用いて、迅速な免疫電頭法を開発した(2)。原子にして数百個厚のSiN薄膜によりサンプルと電頭カラムの真空とを隔離することで、膜越しに水中のサンプルを高分解能観察する。分解能は8 nmである。サンプルを開放型dish内の水環境で観察できるため、抗原性が良く保たれ免疫電頭に優れている。サンプル調製には、疎水処理を伴う複雑な過程が不要であり、dish内の細胞培養液を固定液や抗体溶液と交換するだけで迅速に標識できる。上からは光学顕微鏡が、同じ視野をカバーしてSEM観察ガイドとして働くと共に、correlative microscopeとして蛍光との相関観察ができ、分子の共局在から複合体形成を検出できる。ASEM dish上で培養できる細胞は極めて幅広い。それは、電子線透過薄膜は、poly-L-lysineなどで様々にコーティングできるためである。さらに取り外し可能なdishは、3 mlの培地による培養槽での安定な培養環境を実現し、神経細胞初代培養など多様な培養を実現した。倒立SEMは、加速電圧が30 kVではdish底の膜越しに、膜から2-3 μmの厚さを観察でき、複雑に立体分布する構造の観察に有利である。真核生物の細胞(2)以外にも、バクテリアの観察にも極めて適した系である(3)。

乳酸菌Lactobacillus pentosusとLactococcus lactisを用いて、細胞内外の様々な構造を染色によって観察した。特に、シャペロンタンパク質に着目して、それらの金・蛍光による免疫ラベルによって高分解能観察を行った。また、L. lactis dnaJ欠損株を観察したところ、細胞分裂後に細胞どうしが分離し難くなり、相互に連結している構造が詳細に観察できた。

1) Nishiyama et al., J. Struct. Biol. 169, 438-449, 2010.2) Maruyama et al., J. Struct. Biol. 180, 259-270, 2012.3) Sato et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 417, 1213-1218, 2012.

like

(To add to your schedule, please "like" it first.)

[8 people](#) liked this.