19a-A3-6

走査型電子顕微鏡による培養細胞の内部構造観察

Observation of Intracellular Structure by Scanning Electron Microscopy

○庄子 美南，久田 明子，大嶋 卓

株式会社日立製作所 中央研究所

Minami Shoji , Akiko Hisada and Oshima Takashi

Central Research Laboratory , Hitachi, Ltd.

E-mail: minami.shoji.os@hitachi.com

【はじめに】生体試料の細胞内構造観察には一般的に光学顕微鏡が使われており，更に詳細な形態情報を得たい場合は透過型電子顕微鏡（以下，TEM）を使用することが多い。しかし，通常の光学顕微鏡は波長限界により 200 nm 以下の構造物の観察は不可能であり，汎用 TEM では、試料を 100 nm 以下の超薄切片にしなければ観察出来ないという課題がある。そこで、細胞内構造を高分解能かつ切片化不要で観察可能な手法を検討した。

【方法】汎用走査型電子顕微鏡（以下，汎用 SEM）と電子を光に変換するシンチレータを組み合わせた新しい検出方法を開発した。具体的には，生体試料をシンチレータ上に載せ，電子線を照射，透過電子によるシンチレータからの光を検出することで細胞内構造の透過観察を試みた[1]。観察試料には、ヒト結腸癌由来株化細胞 Caco-2 を用い，シンチレータ上で細胞を培養，2.5%グルタールアルデヒドで前固定後，1%オスミウム酸で後固定，その後エタノールによる脱水，t-ブタノール凍結乾燥を実施した。観察装置は汎用 SEM (Hitachi S4200-特 SE)を使用した。

【結果】図 1 に本手法で取得した透過像を示す。核 (N)が観察され、核内部のクロマチンや核小体も観察出来た。核周辺には直径 800 nm 程度の電子密度の高い球状の構造体が多数認められた。図 2 に，同培養細胞の樹脂切片を酢酸ウランと鉛で染色し、TEM で観察した結果を示す。核周辺に、直径 600 ～ 800 nm 程度の粒状のミトコンドリア（M）を多数有していた。これにより、図 1 の核周辺にある球状の構造体はミトコンドリアであることが分かった。

本結果より，切片化せずに，光学顕微鏡では観察出来ない分解能で細胞内部構造が観察可能なことを確認した。本技術は，生体分野における光学顕微鏡と TEM の間に入る新たなる観察手法の一つになると考える。

[1]大南祐介，他，日本顕微鏡学会第 70 回記念学術講演会　要旨集，（2014）11amF_B-07

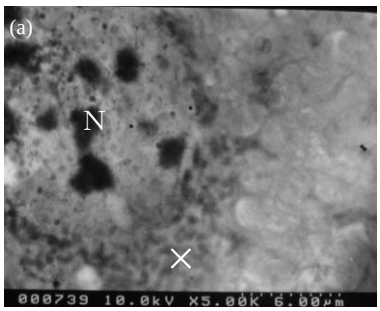
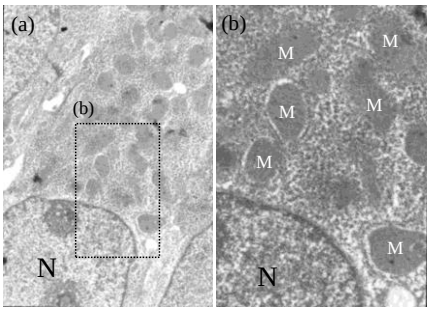


図 1　汎用 SEM による透過像（5000 倍）

N: 核、×:球状の構造体



（a）低倍　　（b）高倍

図 2　TEM 観察結果

N: 核、M: ミトコンドリア

© 2014 年　応用物理学会