

ヘリウム/ネオンイオン顕微鏡技術によるヒト染色体の観察・加工

Observation and etching of human chromosome by helium/neon ion microscopy

大阪大学¹、鳥取大学染色体工学研究センター²、産業技術総合研究所³

笹倉颯馬¹、兼吉航平¹、高田英昭¹、内山進¹、福井希一^{1,2}、小川真一^{1,3}

Osaka Univ.¹, Tottori Univ. Chromosome Engineering Research Center², AIST³

Soma Sasakura, Kohei Kaneyoshi, Hideaki Takata, Susumu Uchiyama, Kiichi Fukui, Shinichi Ogawa

E-mail: ogawa.shinichi@aist.go.jp

【序論】

近年生物分野におけるナノテクノロジーの応用はますます盛んになっており、従来の SEM や TEM では不可能だった構造の観察が可能になりつつある。中でもガリウム FIB/SEM を用いた生体試料の連続切断・観察により内部構造の可視化と 3 次元再構築が盛んに行われている。しかし、ガリウムイオン照射により試料にダメージ層が形成され、特に細胞内では 10 μm 以下の正確な可視化できていない可能性がある。そこで我々は、生体試料の観察・加工にヘリウムイオン顕微鏡、ネオンイオン顕微鏡の適用を試みた。ヘリウムイオンは電子と比較して試料からの二次電子放出効率が優れており、低電流でも高い S/N が達成できることが知られる。またネオンイオンによる無機材料の微細加工もわずかながら報告されており、内部構造の観察にも応用が期待される。本発表では生体試料、細胞内小器官の代表として染色体を対象とし、細胞内生体試料観察へのヘリウム/ネオンイオン顕微鏡の最初的应用として報告する。

【材料・手法】

ヒト細胞より単離した染色体をアルミ基板上に化学固定し、その後白金による染色とイオン液体によるコーティングを行った。観察・加工には ORION Plus、ORION NanoFab (ZEISS Inc.) 顕微鏡を用いた。

【結果・考察】

染色体試料に対し、連続的なヘリウムイオン照射を行うと染色体表面の色が黒色から白色へと変化した (Figure 1)。これは SEM による観察では確認されなかった現象であるが、ヘリウムイオンの照射により染色体が正に帯電して二次電子が捕獲されて照射開始時には黒色に映り、またその後照射を継続することで、ある照射量以上では二次電子が放出されるようになったためと考えられる。またヘリウムイオンの照射に伴って、染色体の収縮が確認された。ヘリウムイオンが染色体深部まで注入され、最も注入密度の高い領域で染色体構造を破壊し、結果として染色体全体の容積が縮小したものと考えられる。

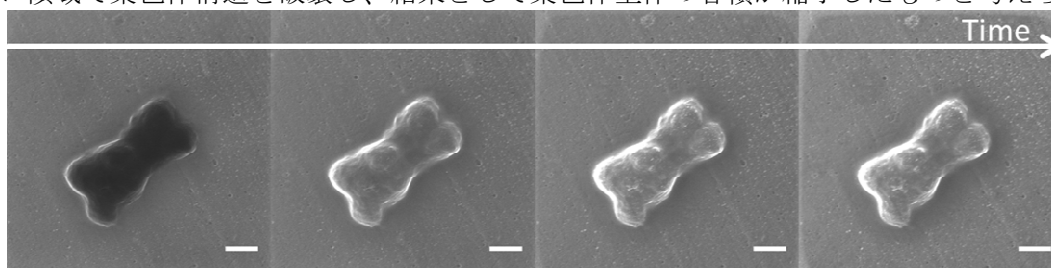


Figure 1. ヘリウムイオン照射による染色体表面コントラストの経時変化。画像は 1 分おきに撮影された。Bars = 1 μm

次に両イオンを染色体の一部分に高電流で照射し、染色体の加工が可能か検討した。ヘリウムイオンの照射を行った場合、染色体構造を破壊し、特に高さ方向の損傷が確認された。対してネオンイオンを照射した場合には染色体の形状を保持したまま切断され、少なくとも外見から判断してガリウムイオンと同様の加工が可能であることを確認した (Figure 2)。これはネオンイオンの質量がヘリウムよりも大きいことに起因していると考えられる。しかしながらネオンイオンによる加工はガリウムイオンと比較して倍以上の時間を要し、今後断面の最表面へのダメージについて詳細に解析する必要がある。

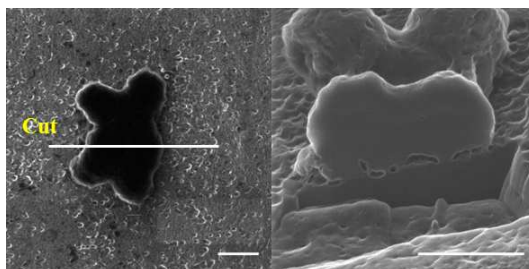


Figure 2. ネオンイオンによる染色体の加工。染色体は白線で示す位置にてネオンイオンにより切断され (左図)、試料台を傾斜させることによりその断面をヘリウムイオンの照射により観察した (右図)。Bars = 1 μm

【結論・展望】

ヘリウムイオンによる染色体の観察が可能であり、また加工についてはヘリウムイオン照射では不可能であるものの、ネオンイオン照射により染色体の切断が可能であることを明らかにした。今後はネオンイオンによる切断ダメージをガリウムイオンによる加工との比較から検討する必要がある。

【謝辞】

本成果は文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム (大阪大学ナノテクノロジー設備供用拠点) F-15-OS-0040 の支援を受けて実施された。また産総研ヘリウムイオン顕微鏡の利用に関し、産総研 SCR 運営室飯島智彦氏に感謝する。