

3) 液中の細菌観察を可能にする大気圧走査電子顕微鏡

¹日本電子、²日本電子テクニクス、³産業技術総合研究所○西山英利¹、寺本華奈江¹、高木孝士¹、小泉充²、小川康司²、小入羽祐治¹、須賀三雄¹、佐藤主税³

電子顕微鏡は光学顕微鏡よりも分解能が高いが、試料を真空中に置く必要がある。その為、液中の試料を電子顕微鏡で観察することはできない。そのため、脱水・乾燥等の、時間がかかり熟練が必要な前処理を行った後に観察する必要がある。このような手間を省き、かつ光学顕微鏡並みの使い勝手を目指し、大気圧下において液中の試料を観察できるように大気圧走査電子顕微鏡 (Atmospheric Scanning Electron Microscope: ASEM) ClairScope を開発した [*J. Struct. Biol.* **169**, 438-449 (2010)]。本装置は通常の走査電子顕微鏡 SEM を倒立させ、その上端の試料設置部に窒化シリコン薄膜 (SiN) 窓を備えた薄膜ディッシュをセットできるようにしている。この薄膜は厚みが 100 nm であるが、SEM 内部を真空中に保つため一気圧の圧力差を支え、かつ電子線を透過する。薄膜上に載せた試料に、下方から薄膜を通して電子線を照射し、試料からの反射電子を検出する。従来必須であった脱水・乾燥等の前処理は不要で、乾燥にともなう試料の変形がなく、迅速な観察ができる。また、薄膜の上方には光学顕微鏡も配置され、同一視野を ASEM と交互に観察できる。さらに薄膜ディッシュは大気に開放されているため、外部からの試料操作は容易である。

ASEM を用いて、大腸菌とサルモネラ菌の線毛・鞭毛を観察した。ポリ L リジンコートした薄膜上に化学固定した細菌を滴下する。さらにコントラストを高くするため、細菌表面に金ナノ粒子を吸着させ、金増感を行った。洗浄後、水溶液中で ASEM 観察し、線毛とらせん形状の鞭毛を自然な状態で観察することができた。前処理は試薬を入れ替えるだけの簡単な操作で 1 時間ほどであり、光学顕微鏡の分解能限界を超え線毛・鞭毛まで観察できる技術として、細菌や関連する分野に広く貢献できるものと考えられる。