

5) 大気圧走査電子顕微鏡(ASEM)による水中免疫電顕法とマイコプラズマの観察

¹ 独立行政法人 産業技術総合研究所、² (株) 日本電子

○佐藤主税¹、丸山雄介¹、西山英利²、須賀三雄²、三尾和弘¹、海老原達彦¹

ASEM は、解放環境の水溶液中で細胞を直接観察できる顕微鏡である。電子線を透過する薄膜窓を底に備えた 3.5cm 径のサンプル dish を特徴とし、この容器中で様々な細胞を CO2 培養槽内の安定環境で培養し、電顕ステージにのせることにより観察できる。分解能は 8 nm である。ASEM では、水環境のままで抗体ラベルと観察が行えるため、抗原の保護に優れる。これまでの我々の実験では、免疫光顕法で使用可能だった全ての抗体をほぼそのままのラベリング条件で使用でき、作業時間も大差なかった。細胞内外の抗原を極めて迅速かつ高分解能に観察できる。シナプスの形成・再構成においては、チャネル・細胞骨格などの蛋白質がダイナミックに局在を変化させて機能を果たす。しかし、シナプスや Spine 等の構造は光の波長よりも小さいものも多い。本 ASEM dish を用いて神経細胞を長期間初代培養することで、ASEM によりシナプスにおける抗原分布を観察した。また、glyoma 細胞株を用いて、癌の転移や発生に重要な CD44 の分布の変化を免疫電顕法により決定した。さらに、高スループット・高分解能な ASEM は、微生物の観察・診断や、癌の術中迅速診断への応用が期待される。マイコプラズマは肺炎やリウマチなど様々な病気の原因である。マイコプラズマ肺炎は、特に早期診断法が求められている。しかし、原因となるマイコプラズマは、早期診断が難しい。それは、この菌が大腸菌の 1/25 の体積しかないため、内部の細胞構造は光の波長よりも小さいことが一因である。水環境中での *Mycoplasma mobile* の迅速な観察と免疫電顕を行なった 1)。また、組織観察にも応用できる。切り出した組織ブロックを TI-Blue 液で染色して、薄膜面上に組織の切り口を密着するだけで、切断面の核が観察される。この観察法は凍結薄切を必要としないため、癌の術中迅速診断への応用も期待される。

1) Sato et al., *BBRC* 417, 1213-1218 (2012).