広島大学電子顕微鏡拠点でできる微細構造科学

～ 生命科学 組織・細胞編 『真菌と共生している植物の根を例に』 ～

化学固定 → **脱水** → **樹脂包埋** → **凍結置換** → **高圧凍結 Leica EM ICE**

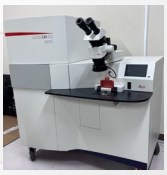
アルデヒドやオスミウム酸で固定します。

エタノール系列で脱水します。

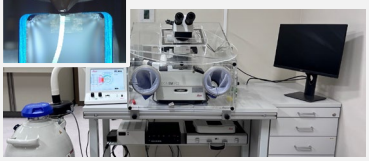
エポキシ樹脂や親水性樹脂で置換します。

-80℃のアセトン中で氷のまま脱水します。

水が膨張しない高圧条件で瞬時に凍結します。



樹脂包埋生物試料の常温での超薄切片を作成できます。また，凍結生体試料やゴム・プラスチックなど，低温（-150℃～）での薄切・断面作成を行うことができます。



Leica EM UC7/FC7

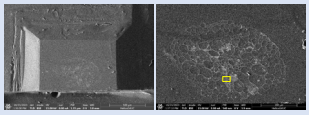
クライオウルトラミクロトーム

Si-waferに載せた準超薄切片(0.5～1μm厚)

グリッドに載せた超薄切片(70 nm厚)

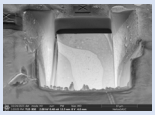
ブロック

Dual Beam



① 樹脂ブロック面で切削面を決めます。

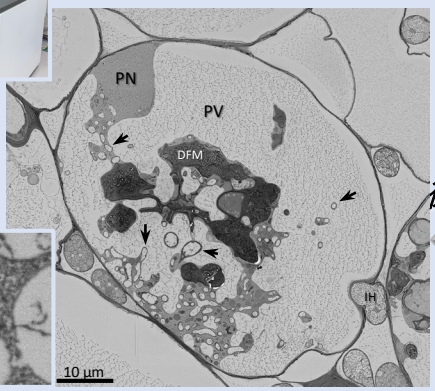
② Gaイオンビームで観察断面を作ります。

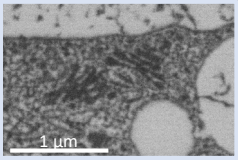


③ FIBで切削しながら断面を撮影することにより，**連続画像を取得**します。

FIB (Ga)

Focused Ion Beam（Ga）：試料を52度傾け，ガリウムイオンビームによりnmスケールの加工ができます。



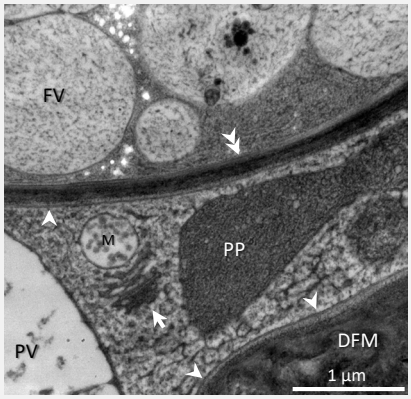


DFM, dead fungal mass; IH, intercellular hypha; PN, plant nucleus; PV, plant vacuole; arrow, intracellular hypha

低加速・反射電子像・ステージバイアスなどで組成像としてブロック断面の微細構造が観察できます。

SEM Helios G4

微細構造



画面共有システム導入
遠隔から観察に参加できます。

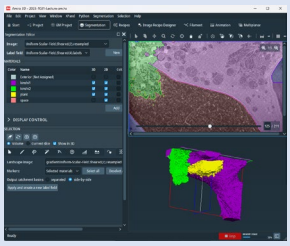
DFM, dead fungal mass; FV, fungal vacuole; M, multivesicular body; PP, proplastid; arrow, Golgi body; arrow head, plant plasma membrane; double arrow head, fungal plasma membrane

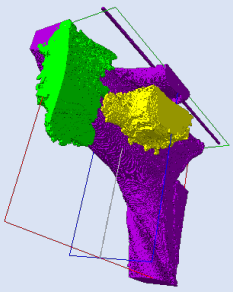
高圧凍結法は水を非晶質に凍結させるため，化学固定より細胞構造特に細胞膜の保存に優れます。

TEM JEM-1400Plus

3D化・画像解析

相関解析





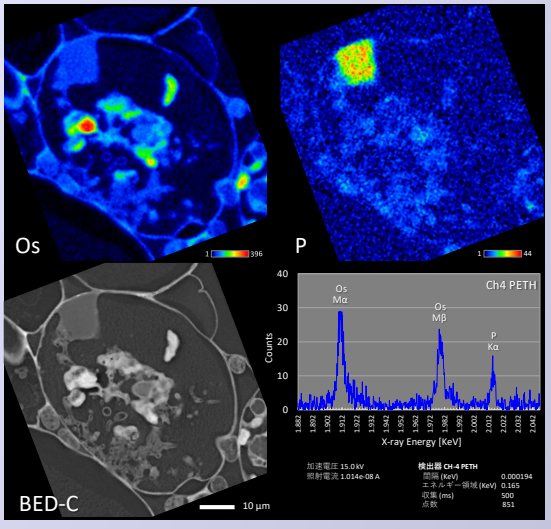
あらゆる画像データ解析に

- ✓ FIB-SEM
- ✓ TEM
- ✓ 共焦点レーザー顕微鏡
- ✓ マイクロCT

×

- ✓ 2D～5D生体イメージング
- ✓ 構造の明確化
- ✓ 統計情報
- ✓ アニメーション

画像解析ソフトウエア Amira



EPMA JXA-iSP100

EPMAのWDSによる元素分析は，EDSと比較してエネルギー分解能が高い。生物試料作製の固定剤で用いられるOsが共存していても，Pの検出が可能です。

Material: mycorrhiza: symbiotic organ of a plant root and a soil fungus
Method: High pressure freezing → Freeze substitution (Os & acetone)
→ Resin embedded section (1 μm thickness)

〒739-8526 広島県東広島市鏡山1-3-1（機器分析J棟）
TEL/FAX 082-424-7486（事務室）

お問合せ

N-BARD（自然科学研究支援開発センター）機器共用・分析部門 電子顕微鏡ユニット（東広島）

小池 香苗 koikeka@hiroshima-u.ac.jp
前田 誠 mmaeda@hiroshima-u.ac.jp
柴田 恭宏 yasshibata@hiroshima-u.ac.jp

久我 ゆかり ykuga@hiroshima-u.ac.jp
統合生命科学研究科 教授

松木 一弘 matsugi@hiroshima-u.ac.jp
先進理工系科学研究科 教授