

シーズ名 急速凍

急速凍結レプリカ電子顕微鏡法を用いた可視化技術

氏名 · 所属 · 役職

宮田真人,理学研究科生物地球系専攻,教授

<概要>

急速凍結レプリカ電子顕微鏡法は、生体材料やソフトマターなど水を含む試料を急速に凍結し、割断と昇華の

過程により対象物を露出させたのちに金属蒸着を行い、形成されたレプリカ像を透過型電子顕微鏡で可視化する技術である。得られる像は走査型電子顕微鏡法(SEM)と似た印象を与えるが、以下に述べる大きな特長がある。(1) 観察は透過型電子顕微鏡で行うため、その解像度はサブナノメートルであり SEM の約 10 倍優れている。(2) 化学固定を行う必要がないため、元に近い構造を観察できる。(3) 瞬間的に凍結するため、サブミリ秒の時間分解能をもって観察できる。(4) クライオ電子顕微鏡など、他の高解像度の電子顕微鏡技術とは異なりきわめてコントラストの高い像が得らえるため、画像の平均化を行うことなく解析が



可能である. 右図は, 抗生物質, ペニシリンによりダメージを受けた枯草菌, 菌体の中央より細胞質(黄色)がとび出しつつある(菌体長は約5ミクロン).

<アピールポイント>

この技術は 1980-2000 年頃に主に動物細胞の生理学分野に応用され、多大な貢献を残したが、習得に職人的な勘と数か月の期間を要することなどから次第に敬遠され、2011 年には、この技術を使える現役研究者は世界中に数名を数えるのみとなった。しかし、同技術の、数 10 マイクロメートル平方という広い範囲の生物試料を、高い空間および時間分解能で、高コントラストに可視化するパフォーマンスは他の技術では決して達成できないものである。そこで、H24-28(2012-2016)年度、文部科学省科研費、新学術領域研究「運動超分子マシナリーが織りなす調和と多様性(略称:運動マシナリー)」の総括班(2 億 839 万円;間接経費および、他研究機関で執行された経費を含む)活動として、技術の再興と開発が行われた。また、同プロジェクトは2017-2018年度には大阪市立大学の重点研究へと引き継がれた。現在、私たちと学内外の13の研究グループとの共同研究が進行中で、すでに以下の論文が発表、あるいは発表に近い段階にある。また、これまでに企業との受託研究と共同研究1件ずつを実施した。

- 1. Tulum I, Tahara YO, and Miyata M (2019) Peptidoglycan layer and disruption processes in Bacillus subtilis cells visualized using quick-freeze, deep-etch electron microscopy. bioRxiv. doi: 10.1101/600171.
- 2. Trussart M, Yus E, Martinez S, Baù D, Tahara YO, Pengo T, Widjaja M, Kretschmer S, Swoger J, Miyata M, Marti-Renom MA, *Lluch-Senar M, and *Serrano L (2017) Defined chromosome structure in a genome-reduced Mycoplasma pneumonia. Nature Communications. 508(4):1050-1055. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.11.132.

<利用・用途・応用分野>

(1) 抗菌物質や抗菌素材による微生物へのダメージの可視化による、メカニズム解明と販売促進、(2) 細菌やウイルスの宿主細胞への感染過程の可視化による、メカニズム解明と販売促進、(3) 有用微生物表面構造の可視化による、メカニズム解明と販売促進、(4) エマルジョンなど水を含んだ素材の高解像度での可視化、(5) 水を含まない素材の高解像度での可視化。

<関連する知的財産権>

く関連するURL>

http://www.sci.osaka-cu.ac.jp/~miyata/index.html

<他分野に求めるニーズ>

キーワード

電子顕微鏡,表面構造,ソフトマター,抗菌物質,抗菌素材,病原細菌,病原ウイルス