

PM-23LB

帯電したセルロースナノファイバー周囲の二次電子挙動の制御と観察

赤瀬 善太郎^{1,2}, 本郷 将嗣¹, 佐藤 隆文¹, 進藤 大輔², 古賀 大尚³, 能木 雅也³

¹東北大学 多元物質科学研究所, 仙台, 日本, ²理化学研究所 創発物性科学研究センター, 和光, 日本, ³大阪大学 産業科学研究所, 茨木, 日本

当グループでは電子線ホログラフィーを試料帯電の解析へ応用し、電子線照射下での試料周囲の電位分布の定量化を行うとともに、干渉縞のヴィジビリティの低下を利用した 2 次電子挙動の可視化に取り組んでいる[1,2]。今回、高い絶縁性を持つ針葉樹サルファイトパルプ由来のセルロースナノファイバー (CNF) を試料として、導電性プローブを用いて電位勾配を付与させながら電子線ホログラムを撮影し、2 次電子挙動の制御と可視化を試みた。図 1 は導電性プローブと CNF の明視野像および振幅再生像である。真空領域の振幅再生像強度は干渉縞のヴィジビリティと対応があり、ヴィジビリティの低い部分は電位が時間的に揺らいでいる。印加電圧を下げていったとき、電位が時間的に変動している部分が CNF の根元から先端へと移動し、やがて観察されなくなる様子が見られた。印加電圧の低下に伴い 2 次電子が集積した場所が移動したものと考えられる。

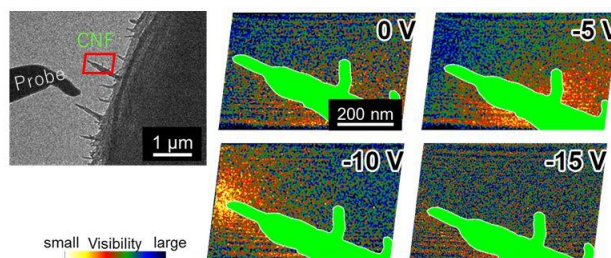


Fig. 1 Bright-field image and reconstructed amplitude images of conductive probe and Cellulose Nano Fiber (CNF). The electric potentials of probe are indicated at upper right in amplitude images. Color bar corresponds to visibility of fringe contrast of electron hologram.

1. D. Shindo, J. J. Kim, et al., J. Phys. Soc. Jpn, 78 (2009) 104802(1)- 104802(8).
2. T. Sato, N. Tsukida et al., Mater. Trans. 60 (2019) 2114-2119.

PM-24LB

ニッケル触媒の高温メタン雰囲気における構造変化その場 TEM 観察

松田 潤子¹, 山本 知一², 高橋 真司³, 松村 晶²

¹九州大学 水素エネルギー国際研究センター, 福岡, 日本, ²九州大学 大学院工学研究院 エネルギー量子専攻, 福岡, 日本, ³戸田工業株式会社, 広島, 日本

都市ガスを燃料とする固体酸化物形燃料電池 (SOFC) システム等で用いられるニッケル (Ni) ナノ触媒粒子について、高温ガス雰囲気における酸化・還元反応と、メタン雰囲気におけるメタン熱分解反応に伴う微構造変化を環境制御型透過電子顕微鏡 (ETEM) によりその場観察した。メタン雰囲気 0.3–0.4 mbar で加熱すると、250 °C から 300 °C の間で Ni 粒子の一部が六方晶に変化し始め、350 °C では粒子全体が六方晶に変化することが明らかになった。この六方晶の最密面の間隔は面心立方 Ni の最密面の間隔より、5% 以上広がっており、メタン熱分解で生成したカーボンが Ni 粒子内に固溶したことが Ni の結晶構造変化の要因となったことが推測される。さらに、Ni 粒子が六方晶に変化した後、Ni 表面にグラファイト層が形成される様子も観察された。Fe や Co ではカーボンナノチューブ成長時にカーバイド (Fe₃Co, Co₃C) が生成することが報告されている[1, 2]。Ni については ETEM でメタンと水素の混合ガス中で加熱した時に、面心立方構造の金属 Ni からカーボンナノチューブが成長するという報告があるのみであるが、第一原理計算の結果から、メタン改質反応時にグラファイトが析出する前にカーボンが Ni に固溶すると示唆されている[3, 4]。

1. H Yoshida et al., Nano Letters 8(7) (2008) 2082-2086.
2. Y Kohigashi et al., Appl. Phys. Lett. 105 (2014) 073108.
3. S Helveg et al., Nature 427 (2004) 426-429.
4. J Xu et al., J. Nanosci. C 6 (2007) 131-135.

PB-17LB

Ultrastructural and Chemical Stability of Human Salivary Extracellular Vesicles under Gastrointestinal Tract Conditions.

Yuko Ogawa¹, Mamoru Ikemoto¹, Yoshihiro Akimoto², Hayato Kawakami², Ryohei Yanoshita¹

¹Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo Heisei University, ²Department of Anatomy, Kyorin University School of Medicine

We have isolated extracellular vesicles (EVs) with dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) from human whole saliva, whereas little is currently known about the fate of secreted salivary EVs. In the present study, we investigated morphological stability of salivary EVs and chemical stability of proteins associated with the EVs under gastrointestinal (GI) tract conditions.

For simulated gastric fluids or intestinal fluids treatment, indicated concentration of pepsin (pH3.0) or pancreatin (pH7.4) was added to salivary EV samples, respectively. For bile acid treatment, sodium cholate (pH7.4) was added. After the incubation, the treated samples were observed by a transmission electron microscope and subjected to SDS-PAGE, western blot analysis, DPP IV activity measurement, dynamic light scattering study.

Salivary EVs were morphologically stable under simulated gastric fluids with pepsin and simulated intestinal environment using pancreatin. DPP IV retained its enzymatic activity. Thus membrane integrity was intact and internal components were retained in digestive enzymes. Morphological changes and solubilization of proteins in the EVs scarcely occurred after treatment with physiological concentration of sodium cholate. These results suggest that salivary EVs are stable and functional in GI tract. This study would help to elucidate their potential pathophysiological roles in GI tract.

1. Goto Y, Ogawa Y, Tsumoto H, et al. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res. 2018, 1865:874-888.
2. Kumeda N, Ogawa Y, Akimoto Y, et al. Biol Pharm Bull. 2017, 40:1183-1191.
3. Ogawa Y, Miura Y, Harazono A, et al. Biol Pharm Bull. 2011, 34:13-23.

PB-18LB

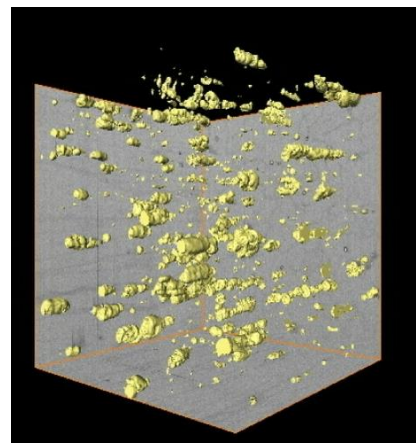
直交配置型 FIB-SEM を用いた毛髪内部空洞化の 3 次元構造解析

田中 二郎¹, 中尾 知代², 荒井 重勇²

¹株式会社アリミノ 研究開発部 総合研究所, ²名古屋大学 未来材料・システム研究所 超高压電子顕微鏡施設

毛髪はヘアカラーやパーマなどによる損傷や加齢などにより、毛髪内に空洞化することが報告されている [1]。しかし、その空洞の位置や大きさに関して 3 次元で捉える試みは行われているものの、高精度で空洞を捉えられてはいない。

本研究では、損傷毛の毛髪内の空洞を正確に捉えるために、毛髪を直交型 FIB-SEM により連続切削・撮影し、300 枚の毛髪 SEM 断面像を基に毛髪内部の微細構造の 3 次元再構築を行った。その結果、毛髪内部の空洞は毛髪メラニン部分やマクロフィブリル間マトリックス部分で数 10nm～数 100nm の大きさの空洞があることを高精度で確認することが出来た。また、損傷した毛髪に特定の毛髪補修成分を作用させると、毛髪内部の空洞が補修されていることを 3 次元で確認し、空洞の補修率を求めることも出来た。さらに消費者により分かりやすく研究結果を伝えるため 3D 静止画を 3D 動画にする試みも行った。



1. Kouji Takehara, J.Soc. Cosmet. Chem. Jpn., 49(2015), 197-203.

PB-19LB

CLEM による登上線維の追跡

須賀 三雄^{1,2}, 西岡 秀夫^{1,2}, 小西 功記^{2,3}, 武部 明², 三浦 会里子⁴, 松田 恵子⁴, 柚崎 通介⁴

¹ 日本電子株式会社, ² JEOL-Nikon CLEM ソリューションセンター, ³ 株式会社ニコン, ⁴ 慶應大学 医学部

CLEM (Correlative light & electron microscopy)の利用により、光学顕微鏡(OM)で生体の特定領域を観察した上で、同部位の微細構造を電子顕微鏡(EM)で調べることができる。このため CLEM は近年多用されているが、実際には様々なノウハウが必要である。本発表では、CLEM の具体的なワークフローを示すと同時に、マウス小脳の登上線維を追跡した結果を報告する。

登上線維に遺伝的な蛍光ラベルを導入したマウスを灌流・浸漬固定後、厚さ 100 μ m の光顕切片を作製し、共焦点レーザー顕微鏡で観察し Z スタックを作製した。その後、OsO₄ による後固定、脱水、エポキシ樹脂包埋した。

OM 観察した同一場所をトリミングし、厚さ 60nm の連続切片を作製し、走査電子顕微鏡(SEM)で連続自動撮影した (Array tomography [1-3]法)。細胞核をマーカーとして OM 像と SEM 像を大まかに 3 次元的に位置合わせした後、さらに細かく OM 像と SEM 像で登上線維の同一部位を同定した。この同定部位をスタート点として、EM 像から深層学習[4]を用いて推定した細胞膜の情報をベースに、手動修正をしながら登上線維やプルキンエ細胞をセグメンテーションした。

これらにより、プルキンエ細胞とシナプス結合している一本の登上線維を追跡できた。登上線維の bouton は OM 像と SEM 像で良く一致し、両者の相関が良いことも示された。

1. Micheva and Smith, Neuron 55, (2007), 25.
2. Koga et al, Biomed. Res., 38, (2017), 285.
3. Koike et al, J. Soc. Hist. Cyto., 50, (2017), 135.
4. Konishi et al., Microscopy, 68, (2019), 338.