

Title	低真空走査電子顕微鏡イメージングに最適化された新規試料作製法の開発
Sub Title	Development of a new sample preparation method for low-vacuum scanning electron microscopy imaging
Author	盛一, 伸子(Moritoki, Nobuko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究室が所有する高性能の低真空走査電子顕微鏡(低真空SEM)を、医学生物試料にて最大限有効活用するための手法の開発を目的として研究を行った。生物試料のSEM解析を行うためには、通常は試料を固定・脱水など化学的処理後に特殊な装置にて乾燥させ、導電性を付与するため重金属の薄膜を被せるなど複数の工程を要する。そのため、試料によっては前処理の過程とSEMの真空環境下で本来の形態から変化する可能性が生じる。また、解析結果が出るまで時間も費用もかかることが難点である。本研究では、解析の精度を損なわない迅速な処理法、すなわち無固定で脱水、乾燥処理も行わない生の状態での観察を可能とする方法を検討した。試料として用いたスギ花粉は花粉症のアレルゲンとして知られており、その表面形態の構造解析はアレルギー性疾患の研究にも大いに役立つ。 本研究では、界面活性剤を含み導電化剤の性質のあるNano Suit溶液(Nano Suit社)を用い、花粉表面の微細構造のSEM観察を試みた。スギ花粉を希釈したNano Suit溶液に浸漬させ、ポリ-L-リジン処理したスライドガラスに滴下した。数分間静置し花粉をスライドガラス上に接着させた後、遠心機にかけて溶液を薄く均一に広げると共に余分の溶液を除去した。このスライドガラスをSEM試料台に装着、速やかにSEMに挿入し電子線を照射し表面解析を行った。その結果、スギ花粉表面の特徴的な彫刻構造が観察され、前処理を行う従来法と比較して遜色のないSEM画像を得ることが可能となった。本研究で確立した方法論を他の生物試料にも応用することで、SEMデータ収集の迅速化が図られ、研究が効率的に進められることによる費用対効果が期待される。また、特殊な前処理の必要がない同方法は、SEM観察の障壁を低くするものであり、基礎・臨床医学研究におけるSEM活用の更なる拡大を見込むものである。 The aim of this study was to develop a new sample preparation method for low-vacuum scanning electron microscopy (low-vacuum SEM) imaging of medical biological samples. SEM analysis of biological specimens usually requires several processes, such as fixation and dehydration of the specimens, dry up in a special apparatus, and coating with ultra-thin heavy metals to obtain appropriate conductivity. Therefore, some samples may change from their original morphology during the pre-treatment processes and in the vacuum environment of the SEM. Another drawback is that it takes long time and higher cost to obtain the results. In this study, we investigated a rapid processing method that ensures the accuracy of the analysis; a method that enables observation in a raw state without fixation, dehydration, or drying. Cedar pollen used as a sample is known as an allergen for hay fever, and the structural analysis of its surface morphology is very useful for the study of allergic diseases. In this study, we tried to carry out SEM observation of the detailed structure of the pollen surface using NanoSuit solution (NanoSuit, Inc.), which contains a surfactant and has the properties of a conductive agent. Cedar pollen was immersed in diluted NanoSuit solution and put onto the poly-L-lysine treated glass slides. After allowing the pollen to adhere to the glass slide for several minutes, the solution was evenly distributed with thin layer by centrifugation, and the excessive solution was removed. The glass slides were mounted on a SEM specimen stand and inserted immediately into the SEM for surface analysis with electron beam. As a result, the characteristic carved pattern structure of the cedar pollen surface was observed, and it was possible to obtain SEM images that were comparable to those obtained by the conventional pretreatment method. Application of the methodology established in this study to other biological samples is expected to be cost-effective by speeding up SEM data collection and making research more efficient. In addition, the method, which does not require special pretreatment, facilitates SEM observation and is expected to expand more active use of SEM in basic and clinical medical research.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230283

2023年度 学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	医学部附属電子顕微鏡研究室	職名	技術員（主務）	補助額	300千円 （A）
	氏名	盛一 伸子	氏名（英語）	Nobuko Moritoki		
研究課題（日本語）						
低真空走査電子顕微鏡イメージングに最適化された新規試料作製法の開発						
研究課題（英訳）						
Development of a new sample preparation method for low-vacuum scanning electron microscopy imaging						
1. 研究成果実績の概要						
本研究室が所有する高性能の低真空走査電子顕微鏡(低真空SEM)を、医学生物試料にて最大限有効活用するための手法の開発を目的として研究を行った。生物試料のSEM解析を行うためには、通常は試料を固定・脱水など化学的処理後に特殊な装置にて乾燥させ、導電性を付与するため重金属の薄膜を被せるなど複数の工程を要する。そのため、試料によっては前処理の過程とSEMの真空環境下で本来の形態から変化する可能性が生じる。また、解析結果が出るまで時間も費用もかかることが難点である。本研究では、解析の精度を損なわない迅速な処理法、すなわち無固定で脱水、乾燥処理も行わない生の状態での観察を可能とする方法を検討した。試料として用いたスギ花粉は花粉症のアレルゲンとして知られており、その表面形態の構造解析はアレルギー性疾患の研究にも大いに役立つ。 本研究では、界面活性剤を含み導電化剤の性質のあるNano Suit溶液(Nano Suit社)を用い、花粉表面の微細構造のSEM観察を試みた。スギ花粉を希釈したNano Suit溶液に浸漬させ、ポリ-L-リジン処理したスライドガラスに滴下した。数分間静置し花粉をスライドガラス上に接着させた後、遠心機にかけて溶液を薄く均一に広げると共に余分の溶液を除去した。このスライドガラスをSEM試料台に装着、速やかにSEMに挿入し電子線を照射し表面解析を行った。その結果、スギ花粉表面の特徴的な彫紋構造が観察され、前処理を行う従来法と比較して遜色のないSEM画像を得ることが可能となった。本研究で確立した方法論を他の生物試料にも応用することで、SEMデータ収集の迅速化が図られ、研究が効率的に進められることによる費用対効果が期待される。また、特殊な前処理の必要がない同方法は、SEM観察の障壁を低くするものであり、基礎・臨床医学研究におけるSEM活用の更なる拡大を見込むものである。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
The aim of this study was to develop a new sample preparation method for low-vacuum scanning electron microscopy (low-vacuum SEM) imaging of medical biological samples. SEM analysis of biological specimens usually requires several processes, such as fixation and dehydration of the specimens, dry up in a special apparatus, and coating with ultra-thin heavy metals to obtain appropriate conductivity. Therefore, some samples may change from their original morphology during the pre-treatment processes and in the vacuum environment of the SEM. Another drawback is that it takes long time and higher cost to obtain the results. In this study, we investigated a rapid processing method that ensures the accuracy of the analysis; a method that enables observation in a raw state without fixation, dehydration, or drying. Cedar pollen used as a sample is known as an allergen for hay fever, and the structural analysis of its surface morphology is very useful for the study of allergic diseases. In this study, we tried to carry out SEM observation of the detailed structure of the pollen surface using NanoSuit solution (NanoSuit, Inc.), which contains a surfactant and has the properties of a conductive agent. Cedar pollen was immersed in diluted NanoSuit solution and put onto the poly-L-lysine treated glass slides. After allowing the pollen to adhere to the glass slide for several minutes, the solution was evenly distributed with thin layer by centrifugation, and the excessive solution was removed. The glass slides were mounted on a SEM specimen stand and inserted immediately into the SEM for surface analysis with electron beam. As a result, the characteristic carved pattern structure of the cedar pollen surface was observed, and it was possible to obtain SEM images that were comparable to those obtained by the conventional pretreatment method. Application of the methodology established in this study to other biological samples is expected to be cost-effective by speeding up SEM data collection and making research more efficient. In addition, the method, which does not require special pretreatment, facilitates SEM observation and is expected to expand more active use of SEM in basic and clinical medical research.						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）			
平塚理恵、盛一伸子	花粉の走査電子顕微鏡観察におけるナノスーツ法の応用	日本花粉学会誌	2022年3月			
平塚理恵、斉藤英希、盛一伸子	花粉のSEM観察におけるナノスーツ法の応用	日本花粉学会第63回大会	2022年10月			