総合解析センター 設立一周年記念セミナー

講演要旨集

2010年5月14日(金) 13:00~17:40 産業科学研究所 インキュベーションセンター 講義室







CAC 1st Year **Anniversary** Seminar







SkyScan2011



Thermo **Orbitrap XL**



Ultraflex III



microTOF II



Jeol AccuTOF-DART

総合解析センター 設立一周年記念セミナー

講演要旨集

会場:産業科学研究所 インキュベーションセンター 講義室

2010年5月14日(金) 13:00~17:40

大阪大学

産業科学研究所総合解析センター

プログラム

13:00	総合解析センター長挨拶	菅沼 克昭	産業科学研究所
13:10	所長挨拶	山口 明人	産業科学研究所
13:20	大学連携研究設備ネットワーク西近畿委員長挨拶	笹井 宏明	産業科学研究所
13:30	リノベーションセンター長挨拶	中嶋 英雄	産業科学研究所
13:40	700MHz機に超高感度検出器を装着した NMR スペクトル	佐藤 一	Bruker Biospin ·····1
14:00	Wide Bore 固体 NMR でみる物質構造	畑中 稔	Bruker Biospin ·····5
14:20	NMR による反応のリアルタイムモニタリング	櫻井 智司	日本電子 ·····9
14:40	休憩		
15:00	ハイスループットな質量分析 -DART イオン化について-	川上 宗一郎	日本電子13
15:20	MALDI-TOF/TOF MS:ultraflex皿及び、CSI-TOF MS:micrOTOF II システムのご紹介	韮澤 崇 瀬田 丈士	Bruker Daltonics ·····16
15:40	LTQ Orbitrap XL の装置と性能	坂本 茂	Thermo Fisher Scientific20
16:00	休憩		
16:20	高輝度X線と大口径検出器が可能にする極微小結晶構造解析	油家 一晃	リガク ・・・・・・27
16:40	In-Situ IR, Basic Theory and Application	HOMSI Fadi	Mettler Toledo ·····31
17:00	ナノフォーカス X 線 CT 装置 TOHKEN-SKYSCAN2011 の開発と応用	小島 一浩	東研32
17:20	電子線トモグラフィーによる細胞内小器官の 3D 解析	西野 美都子	産業科学研究所 ・・・・・・36
17:40	閉会、見学		
18:00	懇親会(第2研究棟共同プロジェクト室 S109)		

700MHz 機に超高感度検出器を装着した NMR スペクトル

ブルカーバイオスピン 佐藤 ー

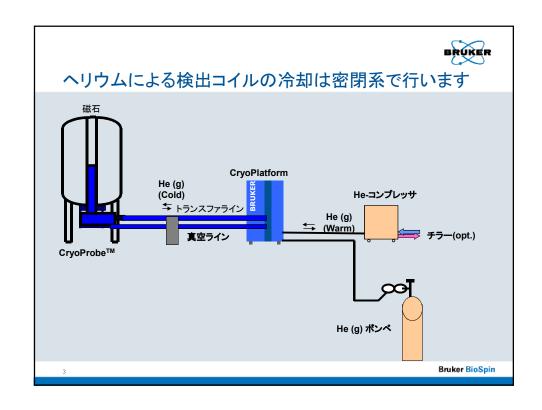
NMRの感度を向上させるために、静磁場の強度を上げるのが一つの方法である. 現在, 1Hの周 波数で、1000 MHzの超伝導磁石を伴ったNMR分光計が市販されているが、 当センターに納入さ れた 700 MHzの装置は高磁場の装置と言える. 感度を向上させるもう一つの方法は、検出系のエ 夫である. 感度を上げるには、試料濃度を上げるのが単純な方法である. また、試料量が潤沢にあ る場合には 10mm径の検出器を用いたり, あるいは, 微量の場合には 1mm径または 1.7mm径の 検出器を用いたりしている. すなわち、試料の濃度に最適な径の検出器を用いて感度の向上が図ら れている. さらなる感度を必要とする場合には, クライオプローブが必須となるであろう. クライオプロ 一ブは, 検出コイルを約 20Kに冷却し, 熱雑音を激減することができる. これにより, S/NのNが非常 に小さくなり、S/N比が向上することとなる。また、クライオプローブは、第一号機が納品されてからち ょうど 10 年目に突入した. 国内では, 100 本以上の納品実績がある. クライオプローブには, いろい ろな種類があるが、 当センターに納入されたクライオプローブは三重共鳴用TCI型である、 TCI型の クライオプローブは、1Hが超高感度、13Cおよび2Hが高感度、また、15Nは標準的な感度である。こ の検出器はこれらの核種に特化したものである。自動のチューニングとマッチングのアクセサリが内 蔵されているので、操作は簡単である、さらに、グラジェントコイルが装備されているので、TopShim による自動の分解能の調整を行うことができ、高次のシム軸まで短時間で求めることができる。また、 グラジェントパルスを含む多次元多重共鳴実験まで対応している.

さて、感度が向上するとどのような世界が待っているのであろうか。仮に従来のシステムと比べて、感度が4倍向上すると、積算時間にすると1/16に短縮される。16分間かかっていた測定が、1分間で、また、160分間かかっていた測定が10分間で得られるようになる。さらに、48時間かかっていた13C検出の実験が3時間で得られるようになる。不安定な化合物を用いた種々の測定が短時間で行うことができるようになる。天然存在比の試料を用いた1H-13C相関スペクトルの測定はルーチン化し、1H-15N相関スペクトルの測定が身近なものとなる。当セミナーでは、600 MHz機と感度の比較をしながら、700 MHz機を用いたスペクトルの実例を紹介する。天然存在比のペプチドと13Cと15Nで安定同位体標識された蛋白質の例を示す。







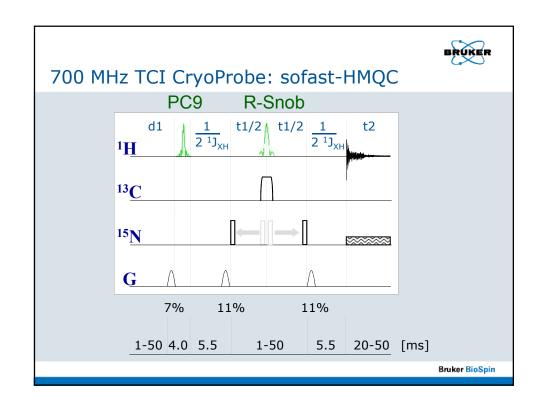


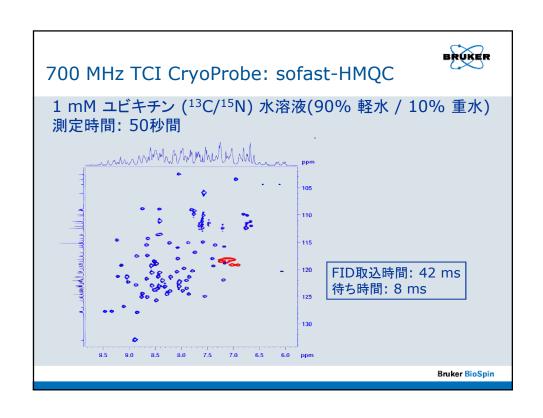


AVANCE III 700 MHz / 600 MHz 5mm TCI クライオプローブ

- 三重共鳴実験用クライオプローブ
 - ¹H: 超高感度
 - ¹³C: 高感度
 - ²H: 高感度 (重水素化溶媒は, 1%あればロックがかかる)
 - ¹⁵N: 通常の感度
 - ATM
 - グラジェントコイル (TopShim)
- 700 MHzと600MHz機との比較
 - ペプチド: 25 mM cyclosporin (重ベンゼン溶液)
 - 蛋白質: 1 mM Ubiquitin (13C/15N標識) 水溶液 (H₂O:D₂O 9:1)
 - 理論的なS/N比: (700 MHz / 600 MHz)(3/2) = 1.26
 - TROSY効果の期待

Bruker BioSpin





Wide Bore 固体 NMR でみる物質構造 ブルカー・バイオスピン株式会社 畑中 稔

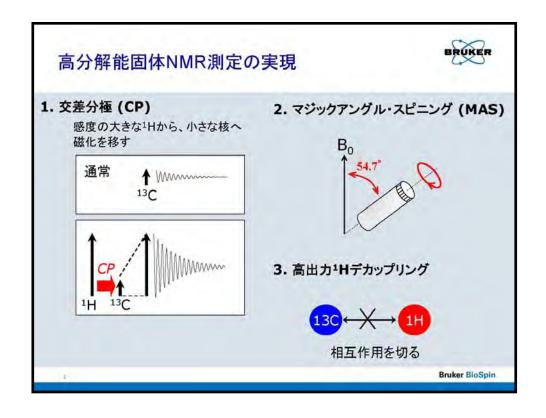
NMR は物質の原子レベルの情報を詳細に調べることが出来る分光法として、幅広い分野の研究に用いられている。NMR は溶液 NMR と固体 NMR に大別され、試料の状態により使い分けられている。固体 NMR はその名前から推察できるように固体試料用の NMR であり、NMR の黎明期より物質の研究に用いられてきたが、静止試料内ではスピン間相互作用等が大きいためスペクトルが非常にブロードであり、得られる情報は溶液 NMR に比べ極端に少なかった。しかし後述するCPMAS 測定の出現と、近年のハードウェア(マグネット、分光計、プローブ等)や測定パルス技術の進歩により、溶液 NMR に近い測定方法が可能になり、合成高分子、無機材料、生体分子と幅広い分野で用いられるようになってきている。

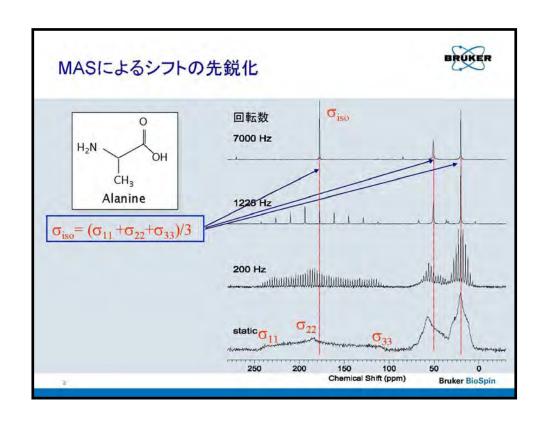
固体サンプルは一般的に個々のピークが識別できないほどにブロードなスペクトルを示し、固体 NMR 測定では高分解能スペクトルを得るために、主に CPMAS 測定が行なわれる。その測定では 以下の3つの要素から成り立っている。①サンプル試料管を外部磁場に対してマジックアングル (54.7°)で回転させ(MAS: Magic Angle Spinning)、ケミカルシフト異方性や回転周波数に応じた双極子相互作用を消去。②交差分極(CP: Cross Polarization)により 1 H から観測核 X(例えば 13 C)に 磁化を移すことで 7 H $/^{7}$ x $(^{13}$ C の場合 7 H $/^{7}$ c=4)倍の感度向上。③高出力 1 H デカップリングを行なうことで 1 H との異種核間の双極子相互作用を消去。CPMAS は今や固体 NMR 測定で不可欠なものであり、それを応用した測定方法が数多く開発されている。

Bruker 社製の最新固体 NMR である Avance 600 wide bore 装置は wide bore ならでは利点と、 超高速 1.3mm MAS プローブも組み合わせることで以下のような特徴を持つ。

- ① 高分解能 MQMAS & CRAMPS
- ② 幅広い測定温度範囲: -140~150℃
- ③ 幅広い測定可能核種:無機材料の対象核種をカバー(109Ag~31P)
- ④ 超高速 MAS 測定: ~67kHz (1.3mm DVT MAS probe)
- (5) 高磁場マグネット(600MHz): 高分解能四極子核スペクトル

セミナーでは、これらの利点を生かした実験と、実際に行なわれている測定例をいくつか紹介する。





産業科学研究所・Wide Bore 固体NMRの特徴



Avance 600 wide bore

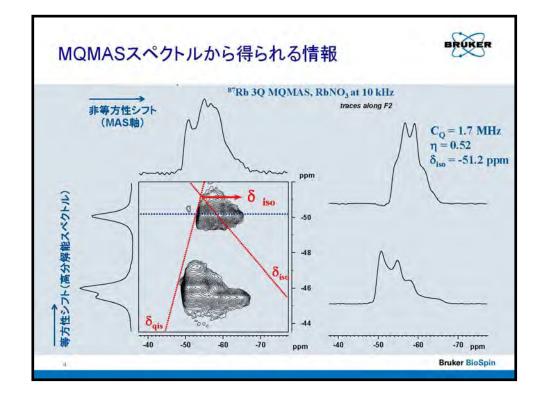
Magnet: 600MHz (1H)

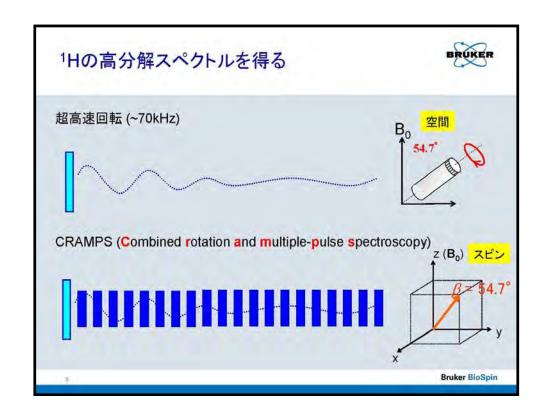
Console: Double resonance仕様 Transmitter: (¹H)300W, (X)500W Probe: 1.3mm DVT probe (¹H,¹9F/BB)

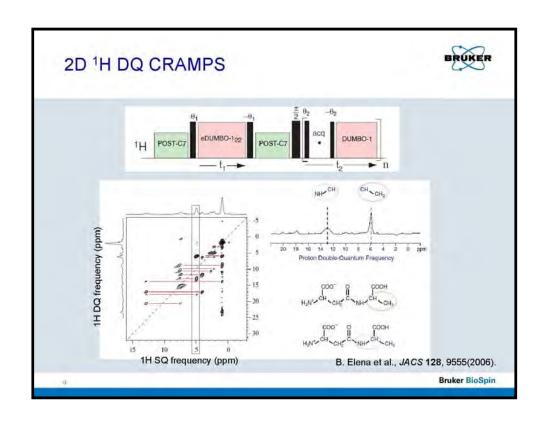
4mm DVT probe (15N-31P/1H) 4mm DVT probe (109Ag-17O)

- ·高分解能MQMAS & CRAMPS
- ・幅広い測定温度範囲:-140~150℃
- ・幅広い測定可能核種 → 無機材料の対象核種をカバー
- ·超高速MAS測定: ~ 67kHz (1.3mm DVT probe)
- ・高磁場マグネット(600MHz): 高分解能四極子核スペクトル

Bruker BioSpin







NMR による反応のリアルタイムモニタリング

日本電子(株) NM アプリケーショングループ 櫻井 智司

合成化学における反応の過程を考える上で、反応中間体の解析は非常に重要であり、その解析において NMR は有力なツールであるが、実際には難しいことが多い。なぜなら反応中間体は、多くの場合不安定であったり、寿命が短かったりするためである。MICCS (MIcro Channeled Cell for Synthesis monitoring)は、 NMR による反応のリアルタイムモニタリングを可能にした、新しいマイクロチップデバイスである(Fig.1)。シリンジポンプを用い、外部より MICCS の別々の導入口から反応液を導入し、セル内で反応を起こさせることで、MICCS-NMR を行うことができる。MICCS は、標準 $5 \text{mm} \phi \text{NMR}$ 試料管に挿入して使用できる形状となっているため、セルと試料管のギャップに重水素化溶媒を加え、外部 Lock 溶媒の方式を用いるため、試料を重水素化溶媒に溶解する必要がない (Fig.2)。

MICCS-NMR はマイクロ技術を用いることによって、従来のフローNMR で問題となっていた、混合効率の低下や乱流による分解能の低下などを解決した手法である。これにより、反応機構や中間体の解析が可能になった。更には、フローNMR の利点でもある、見かけ上定常状態を作るということが可能なため、多くの積算が必要な多核 NMR や多次元 NMR の測定も可能である。

今回は、MICCS-NMR の測定例として、ラジカル付加反応や Grignard 反応中間体の解析結果も合わせて紹介する。



Fig. 1 The photo of MICCS

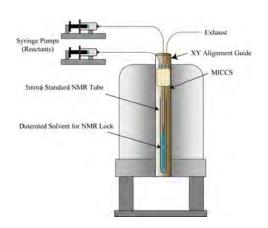
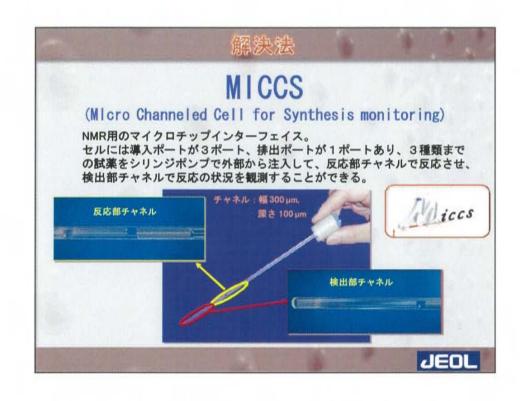
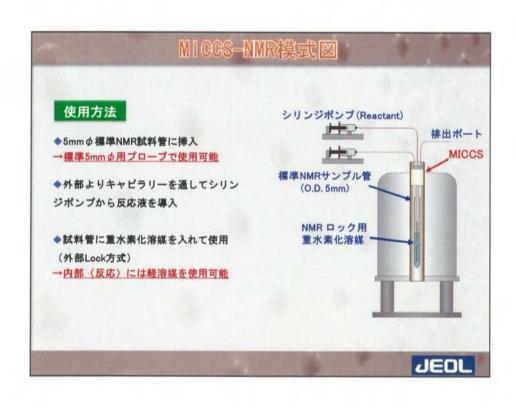


Fig. 2 MICCS-NMR schematic

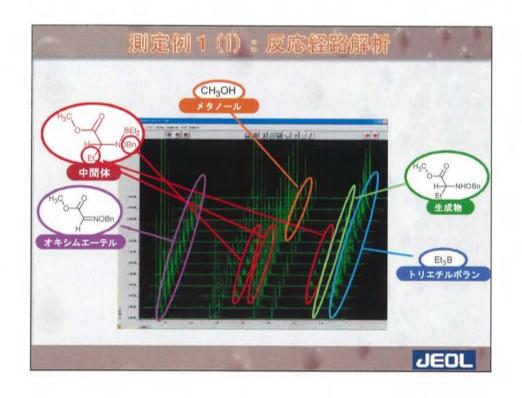








測定例目次 測定例目:アミン誘導体の合成経路解析 (1) 反応経路解析 (2) 反応経路解析/"B-NMR 測定例2: Grignard反応の中間体構造解析 (3-phenylpropional dehyde) (1) 反応経路解析 (2) 2次元NMR(COSY)測定 測定例3: Grignard反応の中間体構造解析 (trans-cinnamal dehyde) (1) 反応経路解析 (2) 2次元NMR(GOSY)測定 測定例4: Grignard反応の中間体構造解析 (acetophenone) (1) 反応経路解析 (2) 2次元NMR(HMBC)測定



ハイスループットな質量分析 - DART イオン化について -

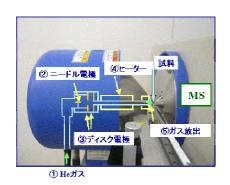
日本電子株式会社 川上宗一郎

DART イオン源は、2005 年にまず USA で製品発表されて 5 年が経過するが、日本にも多くの大学で使用されることになった。特にその高いスループットが評価され、大学では有機合成物の迅速な確認などで広く活躍している。DART は固体、液体、気体試料を前処理なくそのままサンプリングが可能で、リアルタイムなマススペクトルが得られる。取り込まれたデータはすべて精密質量であるために(AccuTOF の場合)、必要に応じて組成推定も行える。また TLC 上に展開された試料からもマススペクトルを瞬時に得る事もできる。逆相系 LC-MS では補えない研究、単離条件の検討、反応チェックなどに最適である。今回は DART イオン化の原理と様々な試料の測定例を紹介する。



DARTの概要

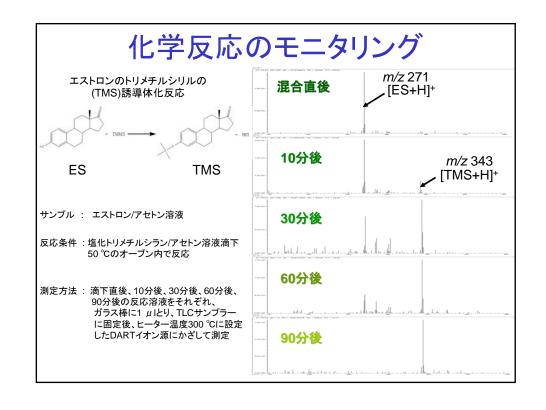
- ① HeガスをDARTに導入
- ② 放電によりプラズマを 発生
- ③ 励起されたガス分子以外の荷電粒子を除去
- ④ 試料表面から熱脱着 を促進させるためにガ スを加熱
- ⑤ グリッドによって、出口でのイオン間の再結合を防ぐ



※ 試料に高電圧は印加されず、 サンプリングは大気圧下で行 なわれる







MALDI-TOF/TOF MS:ultraflex 正及び、CSI-TOF MS:micrOTOF II システムのご紹介 ブルカー・ダルトニクス株式会社 韮澤 崇、 瀬田 丈士

■ MALDI-TOF/TOF MS : ultraflex III

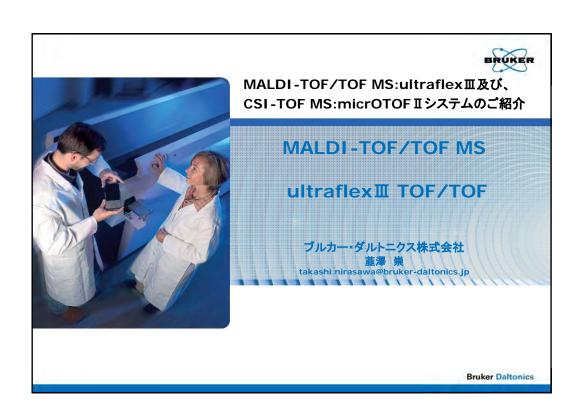
プロテオミクス分野において質量分析は今や不可欠なツールの一つです。中でもMALDI-TOF /TOF型装置による質量分析は様々なサンプルを様々な手法で測定できるという点で、最も適用範囲の広い分析法の一つです。本セミナーではBruker Daltonics MALDI-TOF/TOF型質量分析装置ultraflex IIIの持つ応用性について、その測定原理ならびに最新アプリケーションをご紹介します。 特許smartbeamTMレーザーテクノロジやPANTM (Panoramic) mass range focusingといった最先端技術を搭載したultraflex IIIは、広範囲のわたり高分解能、高精度を誇ります。2Dゲルベースによるクラシカルプロテオーム解析のみならず、MALDI-TDS(Top Down Sequencing)によるトップダウンプロテオミクスにより、巨大な未消化タンパク質のN端およびC端付近のアミノ酸配列情報を容易に得ることが可能となりました。さらに、従来MALDIでは測定が困難であった低分子化合物の分析には、マトリックスフリーターゲット(NALDI)を使用することにより、マトリックスの阻害を受けず明瞭なデータを得ることが可能です。また、TLCにより展開した試料をダイレクトに測定し、詳細な解析を実現するTLC-MALDI等により、幅の広い解析が可能となります。

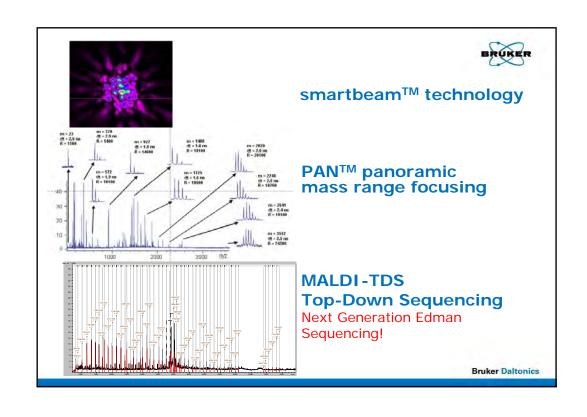
● CSI-TOF MS:micrOTOF II

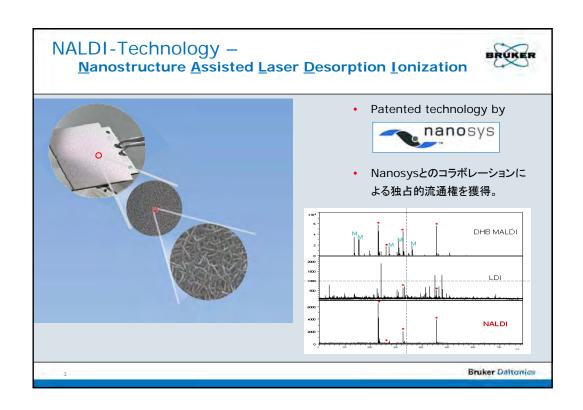
micrOTOF II は、安定した精密質量と良好な同位体パターン再現性を特徴に持つ、ESI-TOF 型質量分析装置です。本セミナーでは、弊社 micrOTOFII の測定例を中心に様々なアプリケーションへの応用例をご紹介いたします。

micrOTOFIIは、最高 20Hzのデータ取り込みを実現しており、複雑なサンプル中に含まれる目的成分を取りこぼし無く検出する事が出来ます。さらに、高速のADC(A/Dコンバータ)を搭載しており、TIPTM(True Isotope Pattern)機能を駆使した高分解能・高精度マススペクトルとして検出されます。元素組成解析においては、良好なアイソトープピークの強度パターン再現性(TIP)と弊社独自のSigmaFitTMアルゴリズムを利用して、精密質量だけでは困難な組成候補の絞り込みを効果的に実行します。

また、CSI(CryoSpray)を接続する事により、熱不安定な化合物や非常に壊れ易い(非共有結合性)化合物の検出が可能になります。CSI は、イオン源に使用される窒素ガスを極低温条件にすることで、本来 ESI ではフラグメンテーションしてしまい、検出が困難であった化合物を非常にソフトにイオン化することが出来ます。

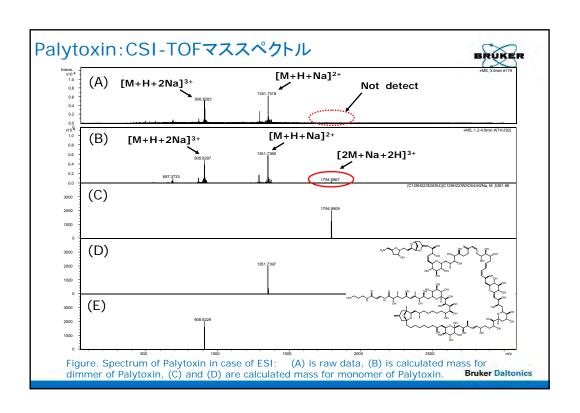








CryoSpray Ionization synonym: CSI; cold-spray ionization - イオン源を冷却しながらイオン化する、ESIの変法 - 熱に不安定な結合を保ったまま、イオン化可能 WC man fine cortoine (A) (Cryogen pas (A)



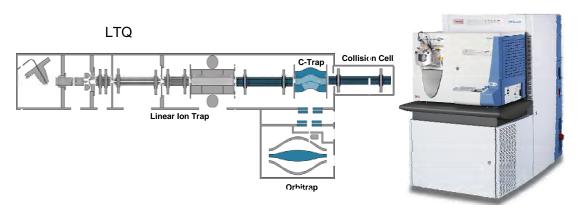
LTQ Orbitrap XL の装置と性能

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社 坂本 茂

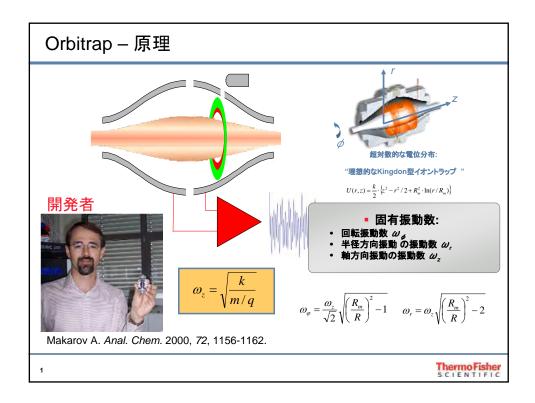
リニアイオントラップとオービトラップのハイブリッド電場型フーリエ変換質量分析計(FTMS)である LTQ OrbitrapXL は、従来型の超伝導マグネットを用いる FTICR(フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴)MS に比べ非常にコンパクトであり、かつ液体クロマトグラフィー(HPLC)とオンラインで測定が可能な質量分析計である。

HPLC またはシリンジポンプから送液した試料溶液を、エレクトロスプレーなどの大気圧イオン化法でイオン化させる。前段のリニアイオントラップでは、試料イオンの MS 測定および多段階 MS/MS 測定をおこなうことができ、詳細な構造情報を高速スキャンで取得することが可能である。後段のオービトラップでは、外部標準法で3 ppm 以下という質量誤差で、その分子関連イオンやプロダクトイオンの精密質量測定を行うことができ、未知の化合物であっても組成を決定することが可能である。また分解能10万(最大)により、硫黄など特徴的な同位体イオンを持つ元素を特定することができる。さらに C-Trap の後部にコリジョンセルが接続されており、リニアイオントラップとは異なる MS/MS スペクトルも取得可能である。

このように、2つの MS/MS 法があり、また検出器も2つある LTQ Orbitrap XL は、現在低分子から高分子までのさまざまな化合物の構造解析、組成解析に用いられている。たとえば、低分子では、従来 FAB sector MS で行っていた有機合成品の迅速精密質量測定、機能性材料の組成解析、天然物、薬物代謝物や不純物分析などに用いられている。また高分子では、ポリマーの分析や、そのポリマーの配列の解析、さらにたんぱく質・ペプチドなどの分子量・構造情報の取得に用いられており、質量分析計を用いた研究に革命を起こした高分解能・高精度質量分析計の1つである。



LTQ Orbitrap XLの写真と装置図



LTQ Orbitrap XLのスペック

主な特徴

LCのタイムスケールに対応

分解能:60,000 @m/z 400 (1 sec/scan)

最大分解能: 100,000@m/z 400 質量精度:3 ppm以内(外部標準法) 2 ppm以内(内部標準法)

質量範囲: m/z 50-2000と200-4000の

切り替え

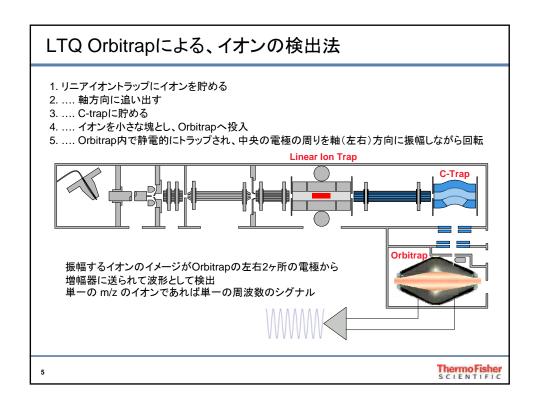
MS/MS:リニアイオントラップによるCID MS/MSr(最大10回) コリジョンセルによるMS/MS

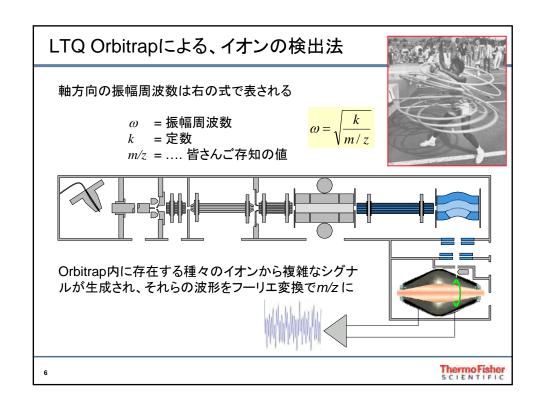
電場型FT-MSなので、超伝導マグネットが不要

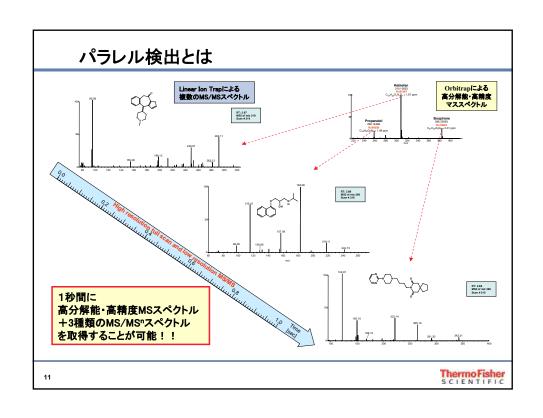
LTQ Orbitrap リニアイオントラップ&電場型FT-MS ハイブリッドFT-MS

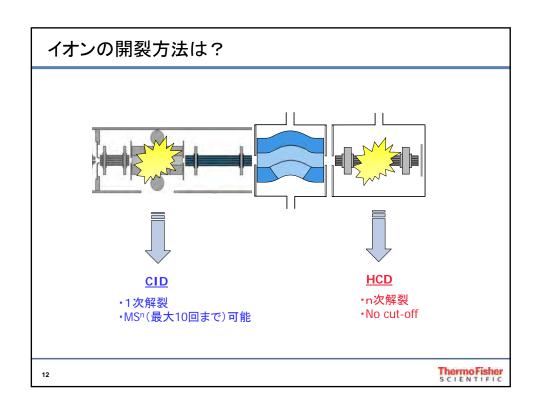
Thermo Fisher

2









高輝度X線と大口径検出器が可能にする極微小結晶構造解析

株式会社リガク 油家一晃

本装置は超高輝度型回転対陰極式X線発生装置 FR-E⁺⁺ SuperBright 、人工多層膜ミラー Varimax HF、大口径イメージングプレートを組み合わせた、極微小結晶の構造解析を可能としたX 線回折装置である。

超高輝度型回転対陰極式X線発生装置 FR-E++ SuperBrightは、56kW/mm²という極めて高い輝度を有し、X線写真の露光時間の短縮および従来検出できなかったような極微弱な回折線の検出のために開発されたX線発生装置である。人工多層膜ミラーVarimax HFはFR-E++から取り出されたX線を直径約0.2mmに集光することができる。高輝度のX線を結晶に照射することにより、これまで不可能であった数十ミクロンの単結晶からの回折線を得ることができるようになった。

イメージングプレート検出器は、高感度でありながら暗電流が発生しない低ノイズの検出器であり、そのため長時間露光が可能で、極微小結晶からの極微弱な回折線も精度良く測定することができる。また、検出面積が 750mm x 382mm と大口径であり、広い側角範囲と長いカメラ長を持つため、一度に多くの回折線を検出することができ、極微小結晶でも短時間で測定を行える。

本装置は、低分子単結晶のみならず蛋白質結晶、粉末、繊維測定なども可能であり、講演の中でアプリケーション例を示しながら説明していく。





高輝度X線と大口径検出器が可能にする 極微小結晶構造解析

株式会社 リガク SBU単結晶構造解析グループ 油家 一晃



KAR BIR BIR BERKER

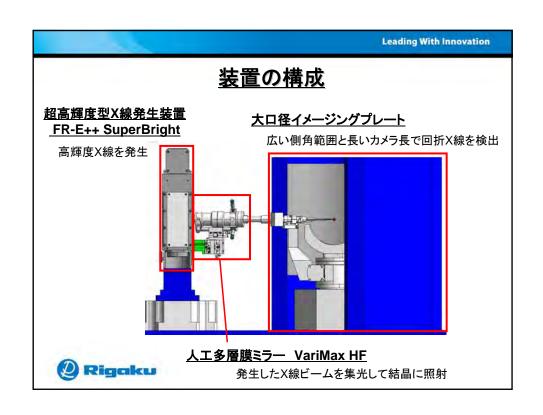
Leading With Innovation

装置の概要



本装置は超高輝度型回転対陰極式X線発生装置 FR-E++ SuperBright、人工多層膜ミラーVarimax HF、大口径イメージングプレートを組み合わせた、極微小結晶の構造解析を可能としたX線回折装置である。低分子単結晶のみならず蛋白質結晶、粉末、繊維測定など、さまざまなアプリケーション測定が期待できる。





Leading With Innovation

超高輝度型回転対陰極式X線発生装置 FR-E++ SuperBright



FR-E++

- 56 kW/ mm²という極めて高い輝度を実現
- 従来のMicroMax-007HFの1.8倍の輝度

X線発生装置	X線出力	輝度
FR-E++	3.0 kW	56kW/mm ²
MicroMax-007HF	1.2 kW	31kW/mm ²
RU-H3R	5.4 kW	10 kW/mm ²





Point source

Focusing multilayer mirror

Focal spot

Leading With Innovation

- 結晶位置でのビームサイズを約200 µ mに集光
- 集光輝度を高めるため最も適した設計値を使用

(最適な設計値は、リガクが特許取得済)

サンプル位置での強度比

Optics	Power	0.3 mm pinhole	0.1 mm pinhole
FR-E++ + VariMax	45kV-55mA	35	69
MM007 HFM + VariMax	40kV-30mA	12	24
Ultrax + GM	50kV-100mA	1	1

Rigaku

ReactIRTM

Reaction Optimization and Characterization for the Chemist and Chemical Engineer

Mettler Toledo K.K., Fadi Homsi Ph.D.

ReactIRTM 45m is a full featured reaction analysis system for the most demanding applications. Designed to be flexible to use with the full range of CompTM probe and conduit technologies. The ReactIRTM 45m is the ideal platform for the chemist or chemical engineer faced with the challenge of monitoring reactions across a wide range of temperature and pressure conditions, and is ideal for kinetics and quantitative analysis. Following a brief introduction on the system, several examples from recent publications will be highlighted where ReactIR played an important role in the research.







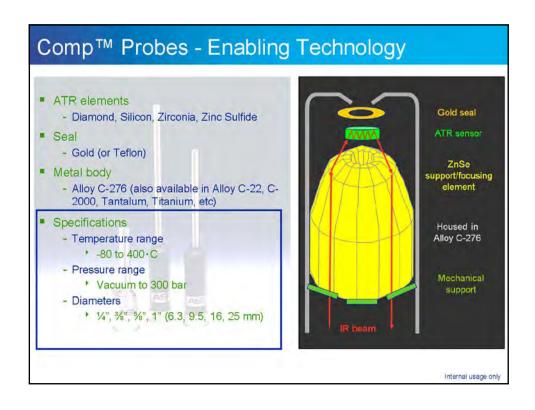
CAC Anniversary Seminar Fadi Homsi, Ph.D. Osaka University, May 2010

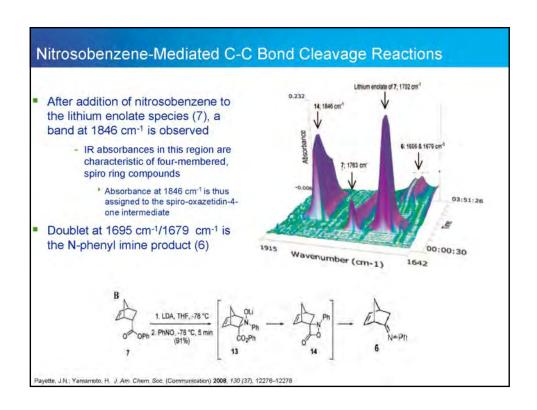
METTLER TOLEDO

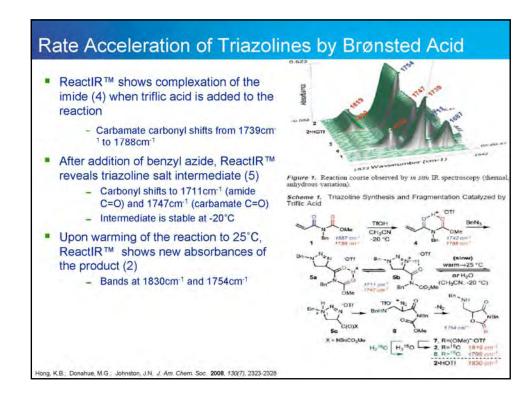
Value of Real-time In Situ FTIR

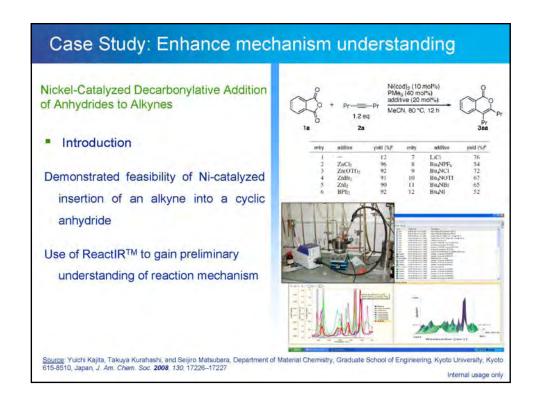
- Monitor Chemistry In Situ, under Actual Reaction Conditions
 - Monitor chemistry that is sensitive to oxygen, water vapor or temperature
 - Monitor reactive and transient intermediate species
 - Eliminate or reduce the need for offline analysis
- Comprehensive Reaction Information in Real-time
 - Follow instantaneous changes in reactants, intermediates and products providing a molecular video of the reaction chemistry
 - Track concentration changes, providing reaction trends, end-point, % conversion
 - Eliminate time delay associated with offline analytical methods
- Elucidate Reaction Kinetics, Mechanism and Pathway
 - Real-time reaction kinetics information
 - Monitoring changes in functional groups provides in-depth understanding of reaction mechanism and pathway

nternal usage only









ナノフォーカス X 線 CT 装置 TOHKEN-SKYSCAN2O11の開発と応用 株式会社東研 X 線営業部 小島 一浩

構造解析や非破壊検査の分野において、X線による CT 撮像は有効な手法である。産業界における製品や部材は精密化・軽量化が進んでおり、より細かいもの・より薄くて比重の軽いものが撮像できる X線 CT 装置の必要性が高まっている。

その様な背景の中、弊社はベルギーの SkyScan 社と共同で高分解能 X 線 CT 開発を行い、空間分解能 1 5 0 n mの TOHKEN-SKYSCAN 2 0 1 1 を商品化した。

弊社は X 線源とそれを用いた X 線顕微鏡の開発を行っており、既に完成していた分解能 0.4μ mの X 線源を CT 用に改造した。この線源は、従来の熱電子放出 (TE) 型電子銃の電子源に LaB6 (六ほう化ランタン) を採用し、ダブルレンズと非点補正コイルを採用することによって、コントラストと輝度を向上させ、 0.4μ mの分解能を得たものである。

CT 機構側は、振動対策と機械精度の向上を徹底的に行ない、空間分解能 $0.15\,\mu$ mを達成した。この装置を用いて今まで X 線 CT の撮像が難しいとされてきた高分子ポリマー材の構造や微小生物試料、細胞の状況などを観察することが出来る。

また、X線源の性能向上のために新しい電子銃を用いたX線源を開発済みである。

このX線源は、熱電界放出(TFE)型電子発生源を磁界重畳した中で用いることで高輝度なX線を発生させることに成功し、 $0.1\,\mu$ mの分解能を達成した。

将来的にはこの線源を用いることにより、CTの性能向上も望める。

現状、CT に適用するにはステージやカメラの分解能が不足しており、まだ、実用化にはいつかの課題があるが、X 線画像の分解能は X 線源の性能で決まるところが大なので、さらに分解能の高い X 線 CT 装置の実現が可能と思われる。



高分解能X線源とCTテクノジーが融合し、 サブミクロン単位の微細な断面構造を立体的に認識できる

ナノX線CT装置 TOHKEN-SkyScan2011

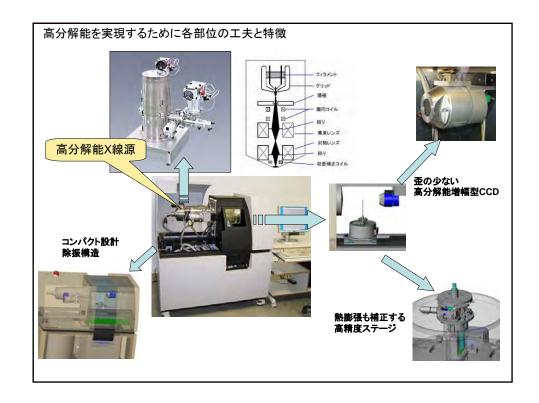


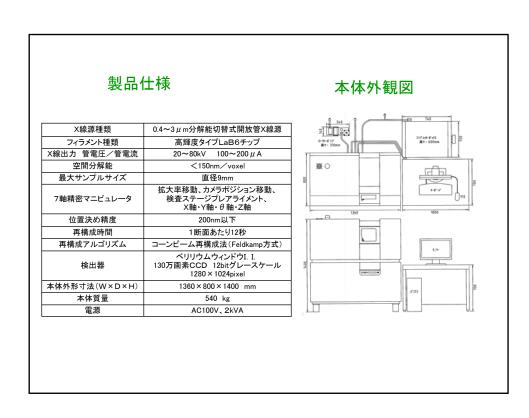
高分解能・高コントラストCT

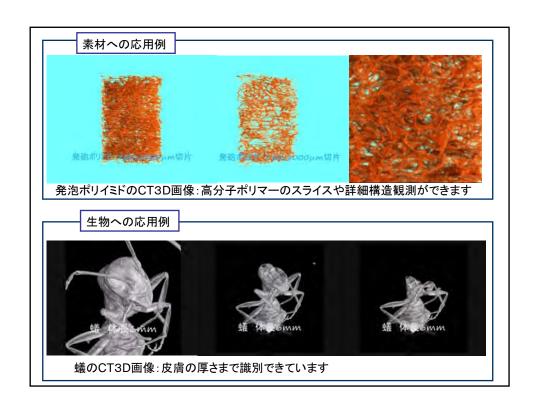
- 高分解能X線源を用いて開発したCT
- 空間分解能 0.15 μ m
- 長波長X線を有効に活用することにより、高コントラストとなり 従来判別できなかった構造が把握できる

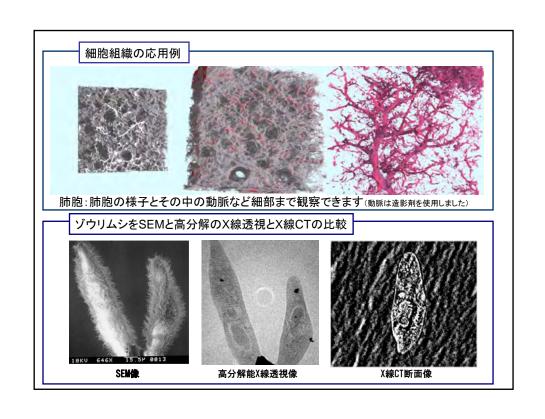
株式会社 東研 X線営業部 小島 一浩

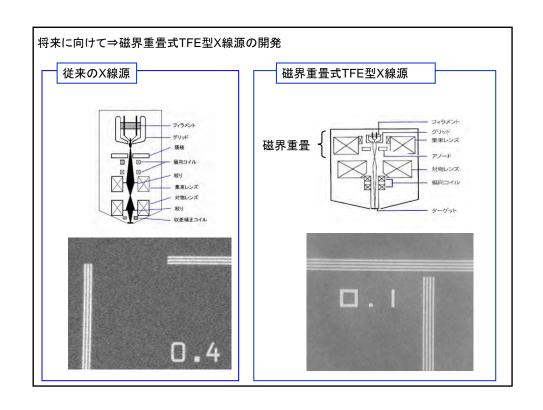
TOHKEN











電子線トモグラフィーによる細胞内小器官の 3D 解析

大阪大学産業科学研究所 西野 美都子

電子線トモグラフィーは透過型電子顕微鏡(TEM)を用いたコンピュータトモグラフィー(CT)である。様々な角度から撮影した試料の投影像(TEM像)をもとにコンピュータ上に3次元(3D)像を再構成し、ナノレベルの解像度で試料の3D構造を解析することができる。近年、この方法を用いて、様々な生物試料の3D解析が行われており^{1,2}、さらに、材料系の試料にも応用され始めるなど、そのニーズは拡大している。本講演では、解析センターに新たに導入された電子線トモグラフィシステム搭載型生物系TEM(JEM-2100,日本電子)の概要を紹介するとともに、我々が近年電子線トモグラフィーを用いて得た研究成果の概要を紹介する。

JEM-2100 (HC)は、Lab6 電子銃搭載型 200kV 透過型電子顕微鏡であり、高分解能観察とハイコントラストを両立している。さらに、高傾斜ホルダを用いて試料を最大±80° 傾斜させることができ、TEM トモグラフィシステムにより CCD カメラで撮影した連続傾斜像を自動で取得することができる。そして、3D 再構築ソフトウェアを用いて連続傾斜像からの試料の 3D 再構成・3D 構造の可視化・解析ができる。我々は、電子線トモグラフィーを用い、これまでに神経シナプス終末の 3D 解析および、オートファジー(細胞の自食作用)の 3D 解析を行った。

神経細胞間の情報伝達は、シナプス終末に多数存在するシナプス小胞によって行われている。シナプス小胞が細胞膜と融合し伝達物質を放出した後、その膜成分がエンドサイトーシスにより回収されリサイクルされる。シナプス小胞のリサイクリング過程には、ダイナミンと呼ばれるGTPアーゼが重要であると考えられてきた。我々は、ダイナミン1ノックアウトマウスを用いた電子線トモグラフィー解析を行い、ダイナミン分子の役割を明らかにした^{3,4}。さらに、真核細胞に普遍的に存在するオートファジーは、近年、病原菌排除や心不全、糖尿病、癌、アルツハイマー病など、様々な病気の発症に関与していることが明らかにされている。しかしながら、オートファジーを担う膜の起源については半世紀もの間謎のままであった。我々は、電子線トモグラフィーを用いて、世界で初めてオートファジーを担う膜の起源を突き止めることに成功した⁵。

文献

- 1. McIntosh, R., Nicastro, D. & Mastronarde, D. (2005) Trends Cell Biol. 15, 43-51.
- 2. Lucic, V., Forster, F. & Baumeister, W. (2005) *Annu. Rev. Biochem.* **74**, 833–865.
- 3. Ferguson, S.M. et al. (2007) Science **316**, 570-574.
- 4. Hayashi, M. et al. (2008) Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 105, 2175-2180.
- 5. Hayashi-Nishino, M. et al. (2009) Nat. Cell Boil. 11, 1433-1437.

総合解析センター1周年記念セミナー

2010年5月14日

電子線トモグラフィーによる細胞内小器官の3D解析

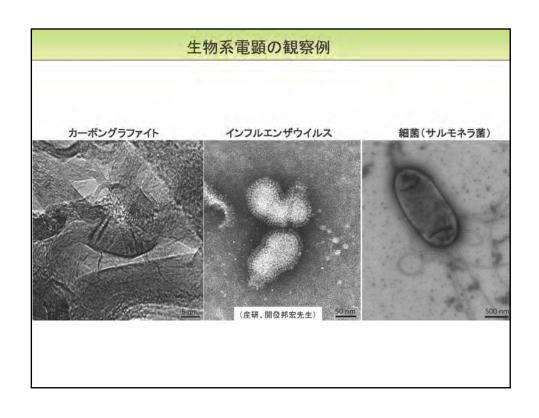
産業科学研究所 西野美都子

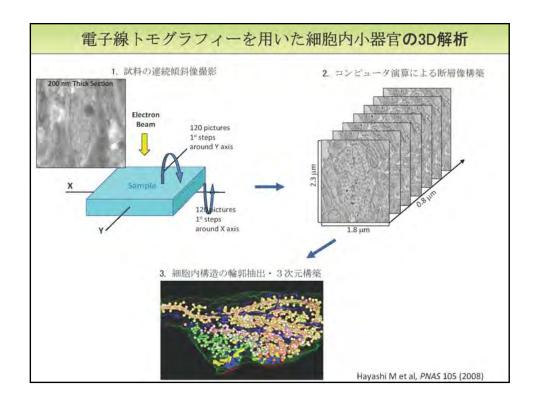
生物系透過型電子顕微鏡室の概要

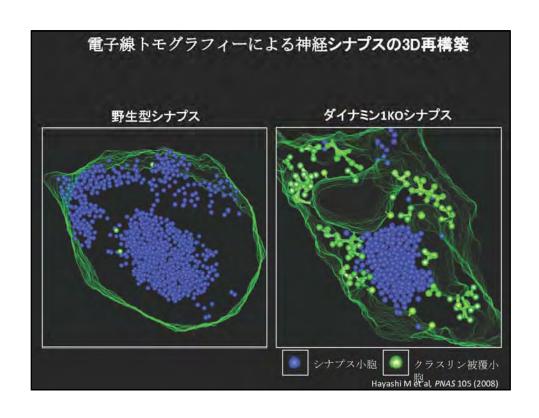
JEM-2100 (HC)

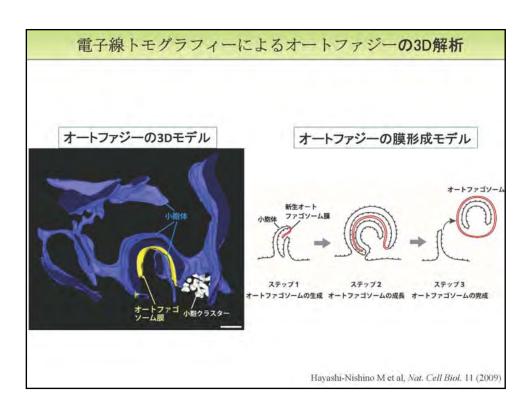


- ◆ Lab6電子銃搭載型200kV透過型電子顕微鏡(TEM)は、高分解能観察とハイコントラストを両立しており、生物系試料の観察に適している。
- ◆ TEMはデジタル制御で、画像はCCDカメラでデジタルデータとして撮り込める。
- ◆ 高傾斜ホルダを用いて試料を最大±80° 傾斜させ、自動で連続傾斜像を取得する ことができる。
- ◆ 連続傾斜像からの試料の3次元再構築、 3次元構造の可視化(電子線トモグラフィー)ができる。









CACComprehensive Analysis Center