

Solutions for Innovation

Bio

note

形態観察・元素分析

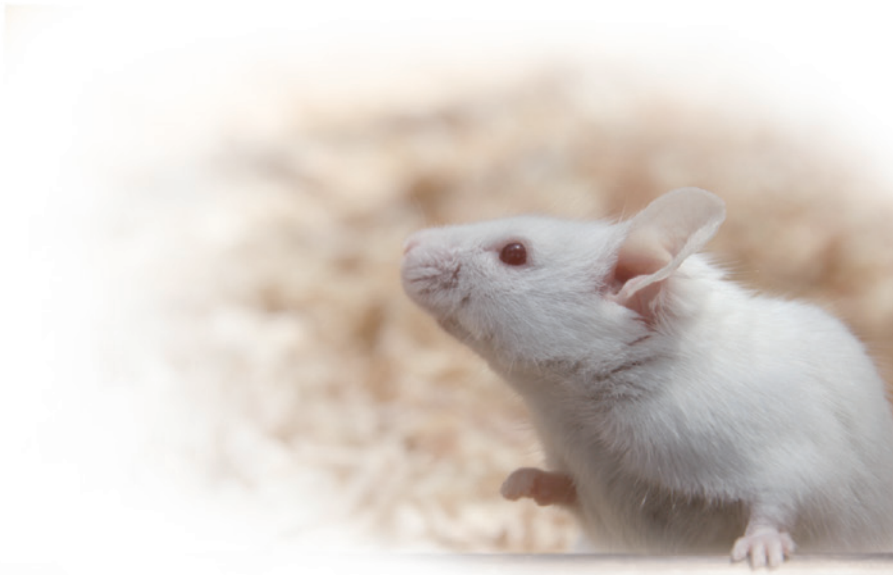
TEM / SEM / FIB / EPMA / XRF / Micro CT

化合物構造解析

ESR / MALDI-TOFMS / NMR

生化学分析

Clinical Chemistry Analyzer



Bionote

はじめに

機器分析は、形態観察や化合物構造解析、アミノ酸配列の解析等により生物学の進展に貢献してきました。分析手法の発展により多様化し、生理学、生化学、遺伝学等の基礎的な研究だけでなく、医学、農業、食品、バイオテクノロジー等、様々な分野で使われています。

本 Bio note は、各分析装置の基礎と特長を示し、さらに様々なアタッチメントを活用した応用例による技術紹介を行っています。生物学分野において新たな解析を試みたいとお考えの研究者・技術者の方々に解析方法の指針としてお役立て頂ければ幸いです。

INDEX

はじめに P01

1. 形態観察・元素分析

1-1 透過電子顕微鏡 P03
Transmission Electron Microscope : TEM

1-2 走査電子顕微鏡 P07
Scanning Electron Microscope : SEM

1-3 集束イオンビーム加工観察装置 P11
Focused Ion Beam System : FIB

1-4 電子プローブマイクロアナライザー P13
Electron Probe Microanalyzer : EPMA

1-5 蛍光X線分析装置 P14
X-Ray Fluorescence Spectrometer: XRF

1-6 X線CT 微細構造解析システム P15
Micro Focus X-Ray Computer Tomography





2. 化合物構造解析

2-1 電子スピン共鳴装置 P16

 Electron Spin Resonance : ESR

2-2 マトリックス支援レーザー脱離
 イオン化飛行時間質量分析計 P17

 Matrix assisted laser desorption/ionization
 - Time-of-Flight Mass Spectrometer : MALDI-TOFMS

2-3 核磁気共鳴装置 P19

 Nuclear Magnetic Resonance System : NMR

3. 生化学分析

3-1 生化学自動分析装置 P21

 Clinical Chemistry Analyzer



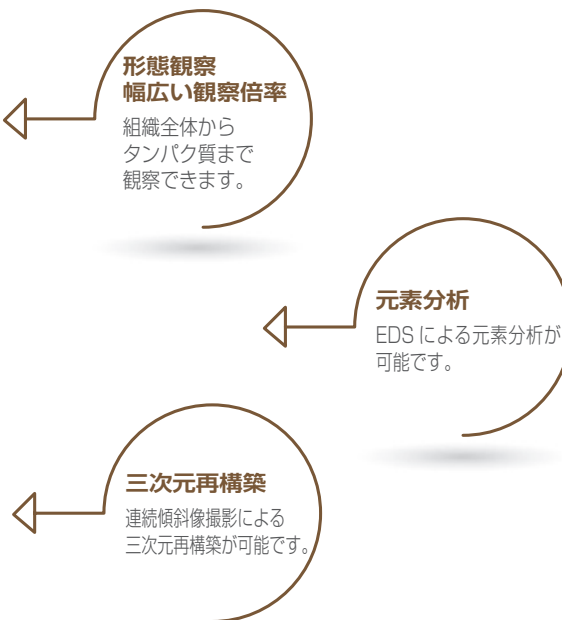
1-1 透過電子顕微鏡 Transmission Electron Microscope : TEM

TEM は試料を透過した電子を観察する装置です。細胞内部の微細構造はもちろん、タンパク質やウイルスの観察にも TEM が有効です。

様々な試料作製法を用いることで、二次元の形態観察だけでなくオルガネラやタンパク質の三次元再構築や、組織に含まれる元素の分析など多様な応用が可能です。

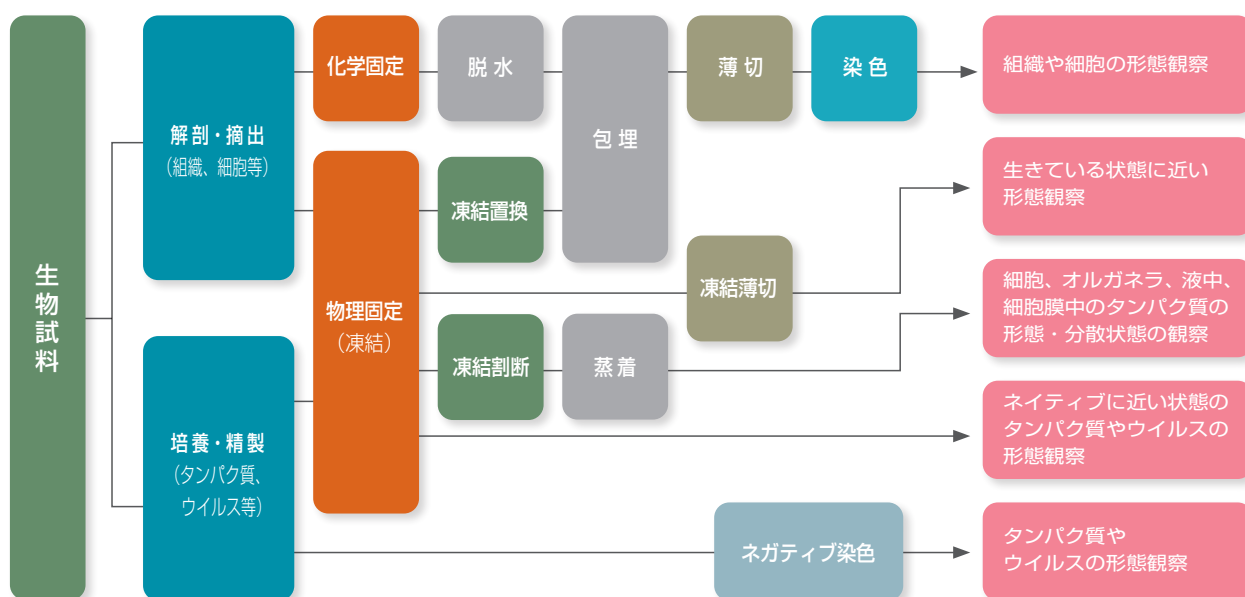


透過電子顕微鏡 : TEM



試料作製

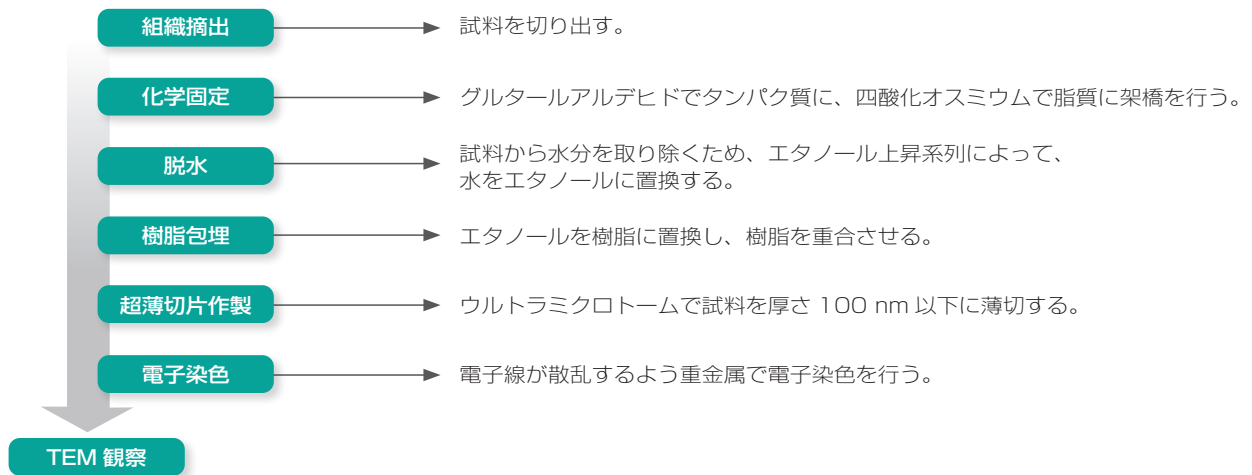
生物組織は生命活動の停止と共に分解や変形が始まるため、生きていたままの構造を保持する処理が必要になります。また、電子線は透過力が小さいため、TEM で観察が行える試料は 100 nm 以下の非常に薄い試料にしなければなりません。そのため、観察したい組織や構造に合わせた試料作製が非常に重要になります。



化学固定

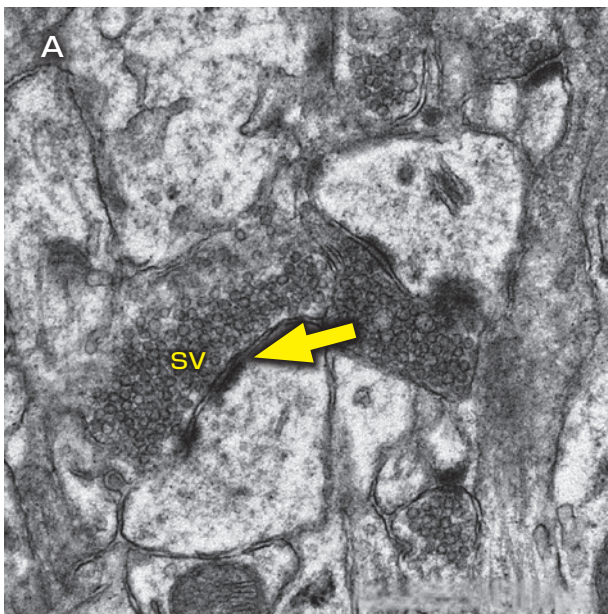
化学固定法は TEM で生物組織を観察するにあたって、もっともスタンダードな方法です。TEM で生物試料を観察するためには、鏡筒内の真空中でも試料を保持できるように水分を除き、電子線を透過できるよう十分に薄く切る必要があります。そのために、脱水や樹脂包埋、薄片化が行われますが、これらの操作は微細構造の変形の原因となります。化学固定法は、薬品処理によって生体物質であるタンパク質や脂質に架橋を行い、分解や変形を防いでいます。

手順



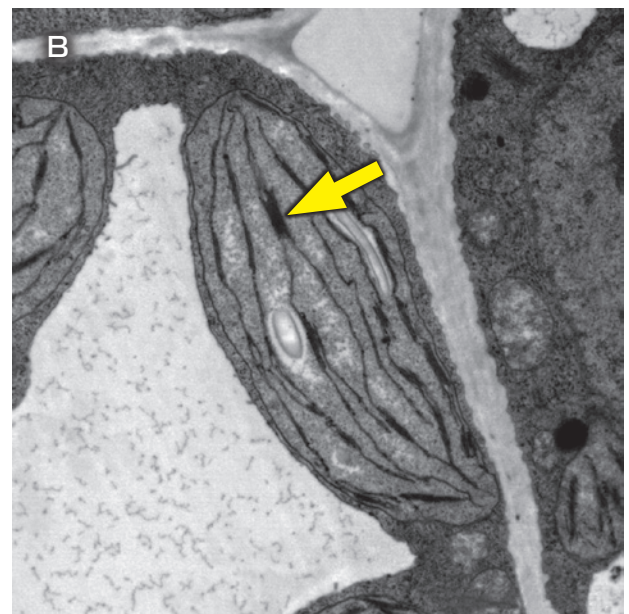
応用例

化学固定法によって試料作製をした動物組織 (A: ラットの海馬) と植物組織 (B: ホウレンソウの葉) を示します。化学固定は生物種に関わらず、応用が可能です。ラットの海馬ではシナプス (矢印) とシナプス小胞 (SV) が、ホウレンソウの葉では、葉緑体とその内部構造であるチラコイド膜が積層している様子 (矢印) を観察できます。



試料：ラットの海馬

500 nm



試料：ホウレンソウの葉

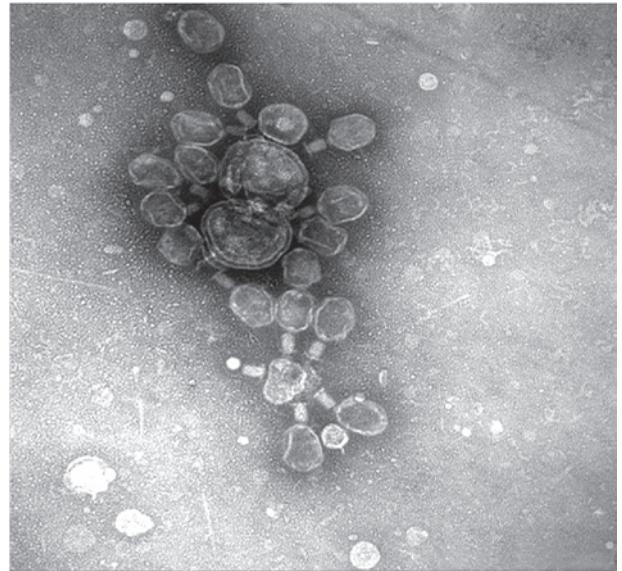
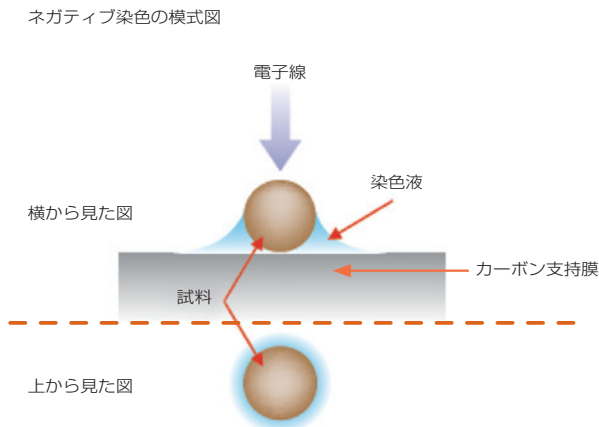
1 μm

ネガティブ染色

精製したタンパク質やウイルスの形態を簡便に観察する方法です。試料を含む溶液を支持膜上に滴下し、余分な溶液を吸い取ります。すぐに酢酸ウラニルやリンタングステン酸などの重金属溶液を滴下し、再び重金属溶液を吸い取ることで試料表面に重金属が付着し、試料の外形を観察することができます。

応用例

酢酸ウラニル水溶液でネガティブ染色した T4 ファージ



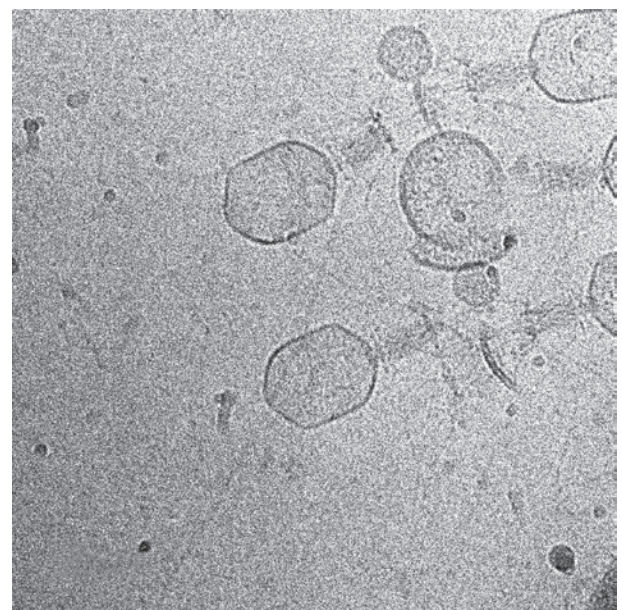
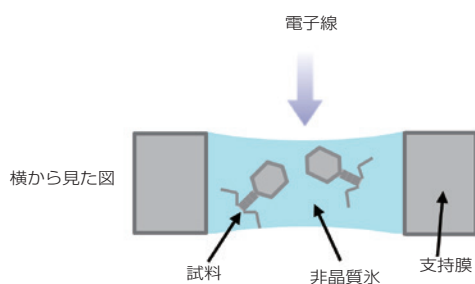
200 nm

CRYO 観察

各種凍結技法により作製した凍結試料を、凍結状態のまま電子顕微鏡内に挿入し、観察する手法です。試料の溶液中における分子形態をそのまま観察することができ、アーティファクトの少ない像を得ることができます。

応用例

浸漬凍結法により非晶質氷に包埋した T4 ファージ



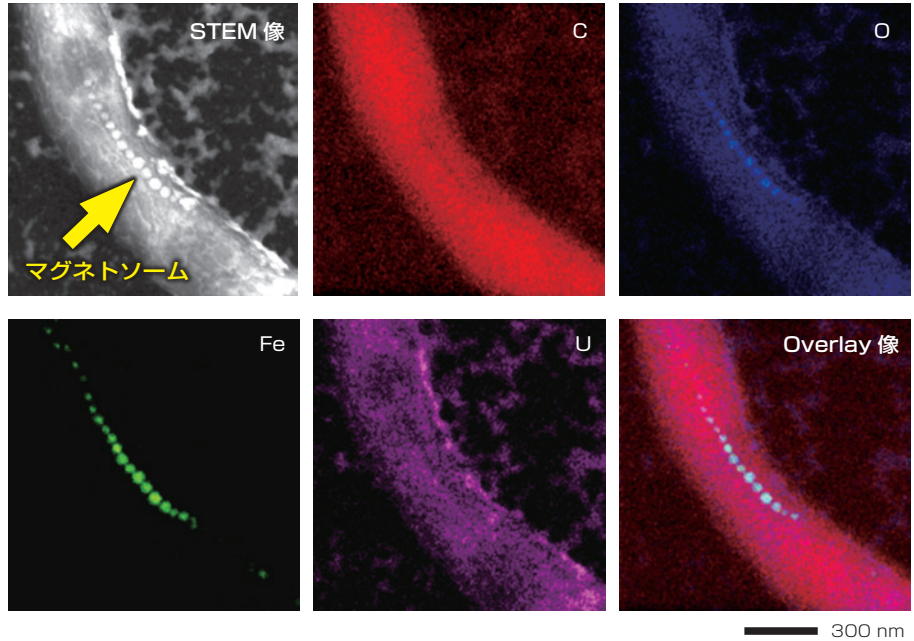
100 nm

● 元素分析

エネルギー分散型 X 線分光法 (EDS) は、Be から U までの元素の分析が可能です。STEM(scanning transmission electron microscope) と組み合わせることで、スポット分析から元素マッピングなどへ応用範囲を広げることが出来ます。

応用例

試料：磁性細菌
細胞内にマグネタイトからなるマグネトソームとよばれる構造物をもつ磁性細菌の EDS マップです。



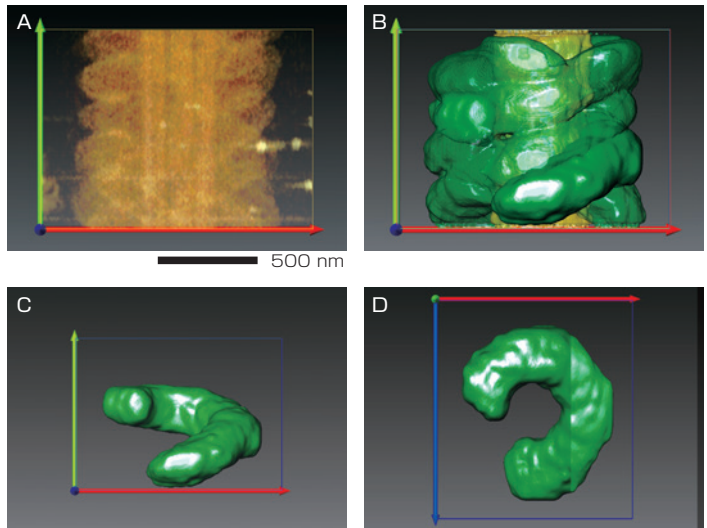
● 三次元再構築

TEM で観察する試料の厚さは 100 nm 以下と十分に薄いものですが、TEM の空間分解能は、1 nm 以下であり、これと比べると厚い試料といえます。TEM トモグラフィーによる三次元再構築では、試料を連続的に傾斜して撮影した投影像を計算処理することによって、試料内部の三次元構造をナノオーダーの分解能で再構築することができます。



応用例

試料：マウス精子
TEM トモグラフィーによって三次元再構築したポリウムレンダリング像(A)とミトコンドリア(緑)と鞭毛(黄)のセグメンテーション像(B)。一つのミトコンドリアだけ切り取って表示すると、ミトコンドリアが鞭毛に巻きついている様子が観察できます(C,D)。

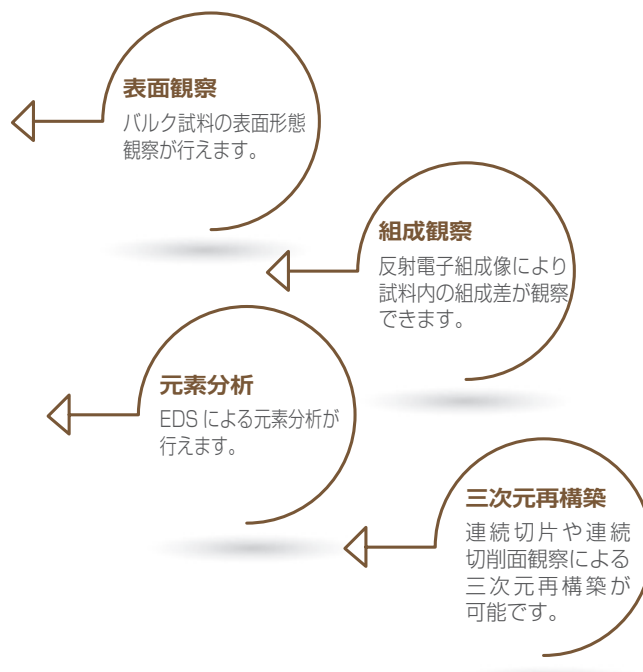


1-2 走査電子顕微鏡 Scanning Electron Microscope : SEM

SEM は試料の表面形態を観察する装置です。電子線を物質表面に照射すると、試料と電子線の相互作用から種々の信号が放出されます。細く絞った電子線を試料表面で走査させ、発生した信号を様々な検出器で検出し、試料表面の形態観察や元素分析を行います。

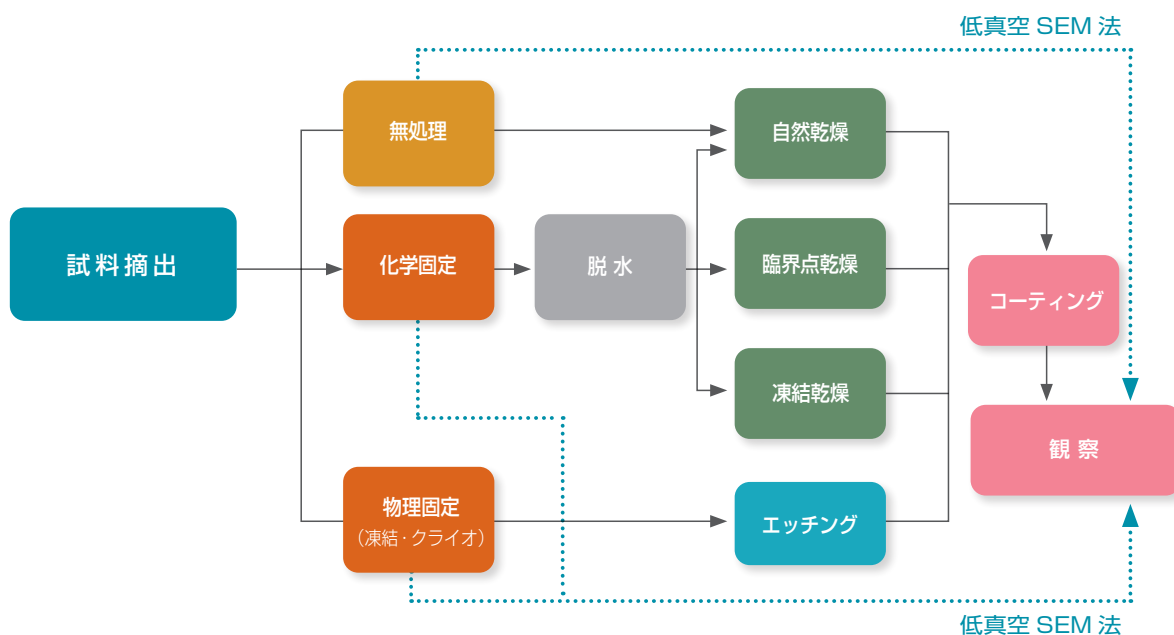


ショットキー電界放出形 SEM : FE-SEM



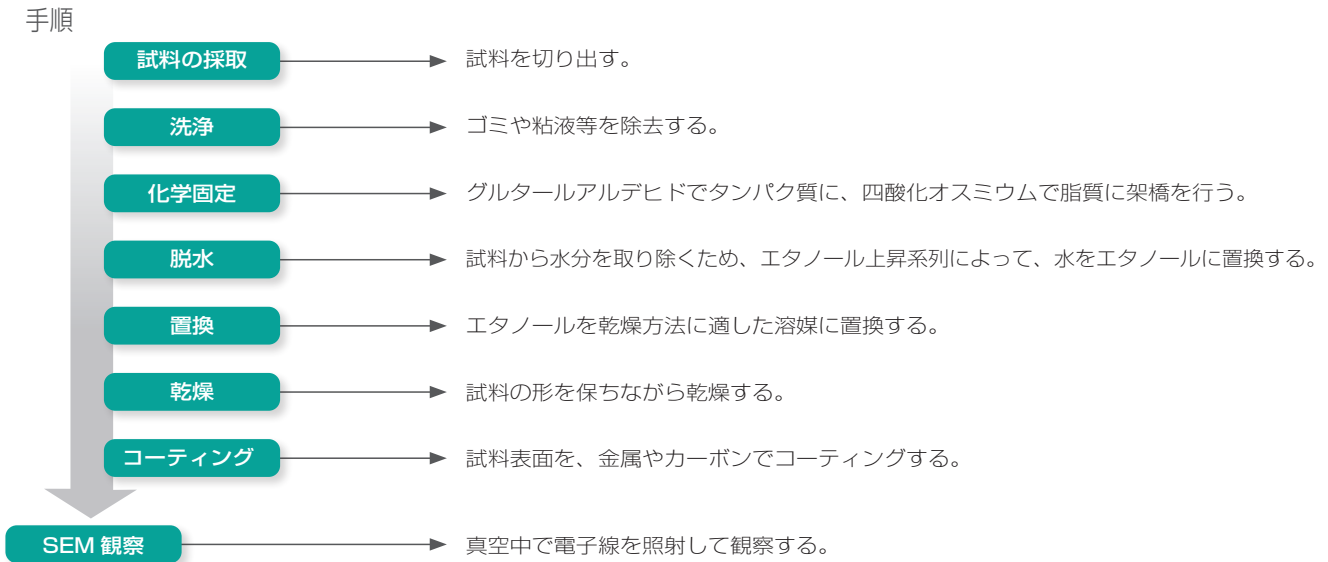
試料作製

生物等の含水試料を SEM で観察する場合、SEM 鏡筒および試料室内は真空中に保たれているため、適切な試料作製を行う必要があります。真空中で含水試料の変形を防止するためには、一般的に化学固定法、物理固定法あるいはその両方の試料作製法を行います。また、最近では SEM の試料室圧力を上げた低真空 SEM 法も発達しています。目的に合わせて、試料に適した手法を選択する必要があります。



化学固定

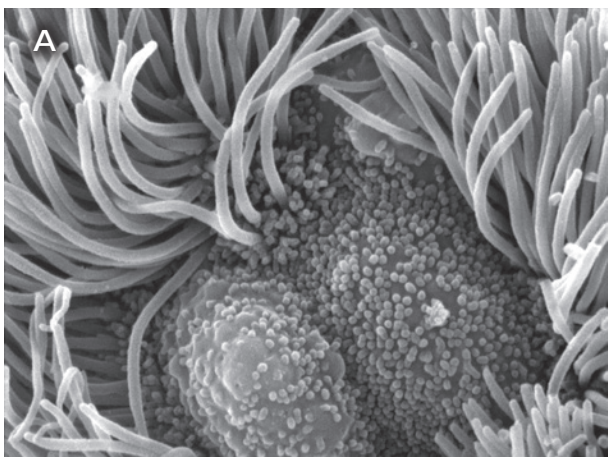
化学固定法は、生物等の含水試料中のタンパク質、脂質等を薬品で化学的に固定し、できるだけ生の状態に近い構造を保持する方法です。試料洗浄後、アルデヒドで主にタンパク質を、四酸化オスミウムで主に脂質を固定します。その後、凍結乾燥装置や臨界点乾燥装置を用いて試料を乾燥し、必要に応じて試料表面に金属を薄くコーティングして導電性処理をした上で観察します。



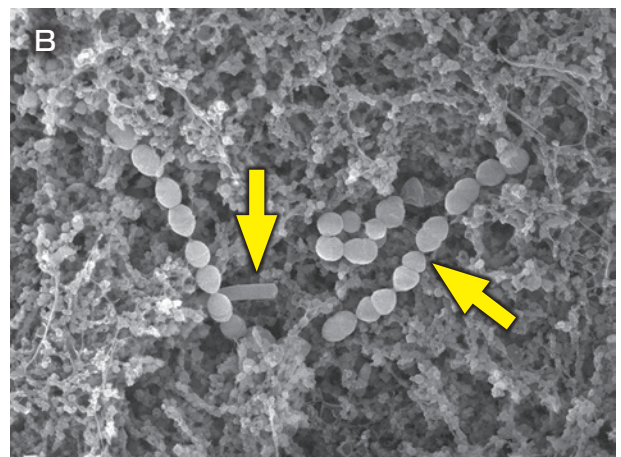
応用例

A：一般的な化学固定を行ってマウスの気管を観察しました。異物を排出するための絨毛が観察できました。

B：グルタルアルデヒドのみで固定を行い、凍結乾燥したヨーグルトの観察例です。二種類の菌が観察できました。四酸化オスミウム固定を行っていないため、菌の周囲にある粒子は主にタンパク質と考えられます。



試料：マウス気管 Pt コーティング
加速電圧：15 kV 撮影倍率：x10,000 二次電子像



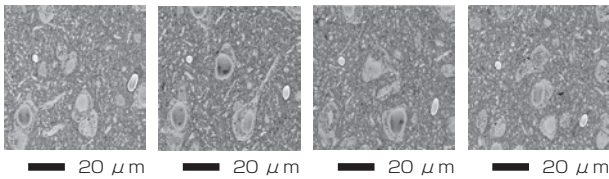
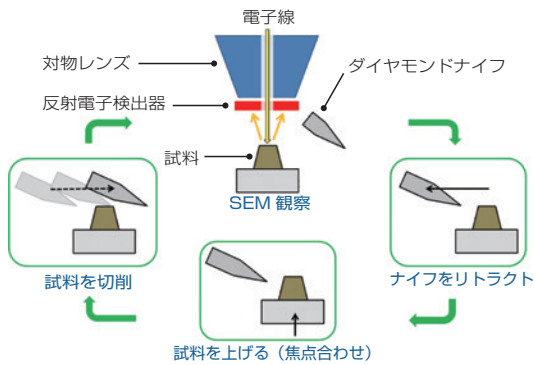
試料：ヨーグルト Pt コーティング
加速電圧：15 kV 撮影倍率：x5,000 二次電子像

三次元再構築

樹脂包埋した生物試料ブロックの表面をウルトラマイクロトームで切削し SEM 観察します。この切削 - 観察を繰り返すことにより、厚み方向に連続した SEM 像が得られます。この連続 SEM 像を積み重ねることで三次元像を再構築します。さらに、目的物を抽出（セグメンテーション）することで、数百 μm の範囲の三次元構造を明らかにすることができます。

試料は、TEM 試料作製法を応用した NCMIR 法[#]で作製します。切削 - 観察は、SEM の試料室にマイクロトームを組み込んだ専用装置により全自動で行うことができます。

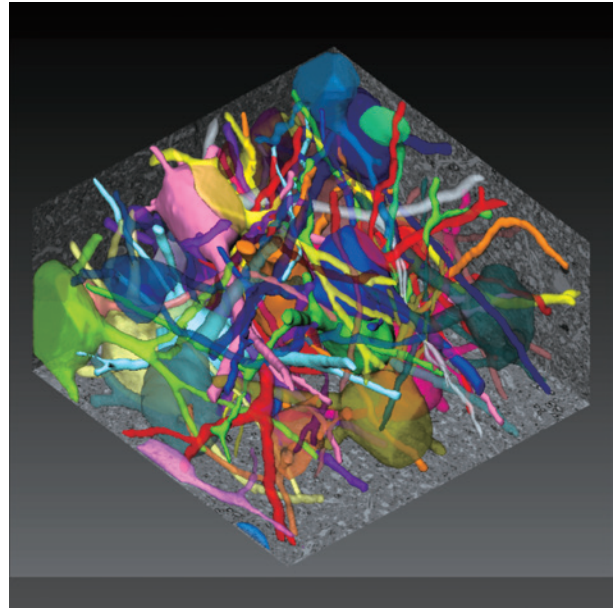
Deerinck, T. J., Bushong, E., Thor, A. & Ellisman, M.H. NCMIR methods for 3D EM: A new protocol for preparation of biological specimens for serial block-face SEM. *Microscopy (Oxf)*, 6-8. (2010)



切削・観察のワークフローと連続二次元像

応用例

海馬の神経細胞毎にセグメンテーションを行い色分けしました。



海馬の神経細胞

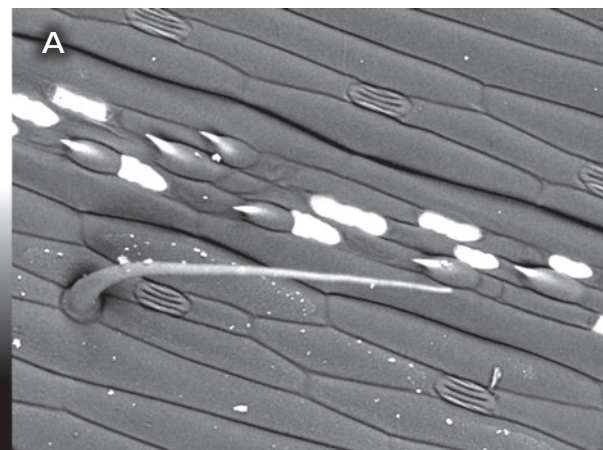
試料ご提供：溝口 明 先生（三重大学大学院医学研究科神経再生学・細胞情報学講座）

元素分析

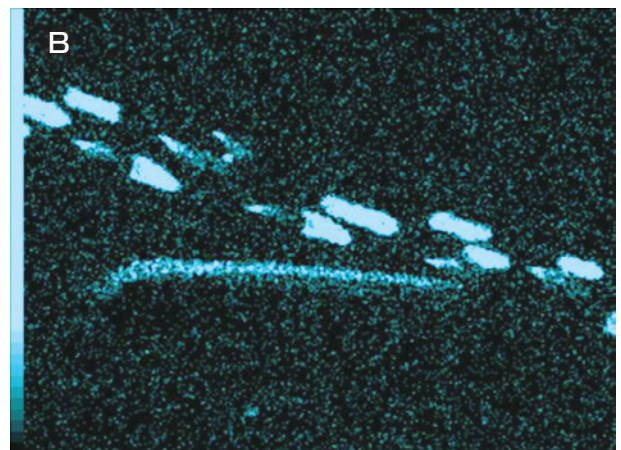
エネルギー分散型 X 線分光法 (EDS) では、電子線を照射した際に発生する特性 X 線を検出し、元素分析を行うことが可能です。反射電子像で確認されたコントラストの違う領域を点分析して元素を特定したり、指定した元素の二次元分布 (元素マッピング結果) を確認したりすることができます。低真空 SEM と組み合わせることで、植物に含まれるミネラルの分布等を容易に確認することができます。

応用例

A：低真空モードを使用し、反射電子像で観察することにより無処理でも葉の裏に Si を溜めている様子が分かります。
B：Si の元素マッピング結果です。反射電子像で白い部分および毛の部分に Si が多く含まれていることが分かります。



試料：葉
加速電圧：15 kV 撮影倍率：x300 反射電子立体像

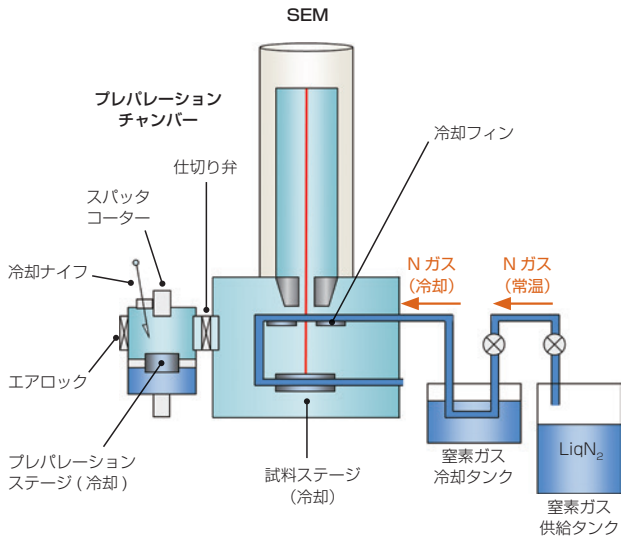


Si K 100 μm

物理固定 CRYO 観察

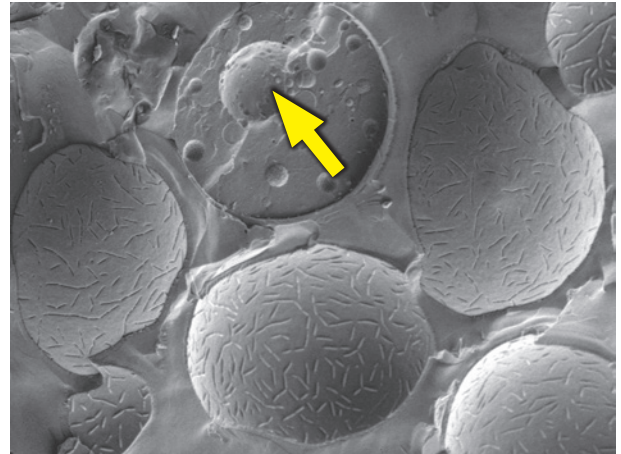
試料を凍結することで含水試料等の形態を保ったまま観察する手法です。試料凍結後、必要に応じて切断やエッチング（氷の昇華）を行って目的の部位を露出させ、クライオホルダーやクライオステージを使用して試料を凍結したまま観察します。

クライオステージ概略図



応用例

パン酵母を観察しました。試料を凍結切断することにより表面構造や断面構造が観察できます。断面中央付近に見えているものが核(矢印部)です。

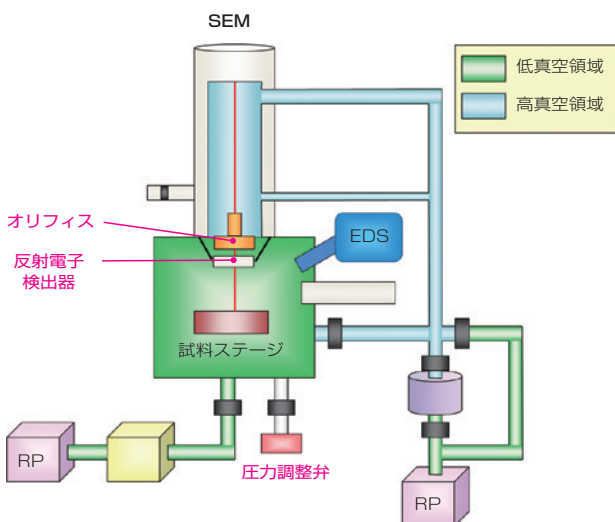


試料：パン酵母 Pt コーティング
加速電圧：1.5 kV 倍率：x10,000 二次電子像

低真空 SEM 法

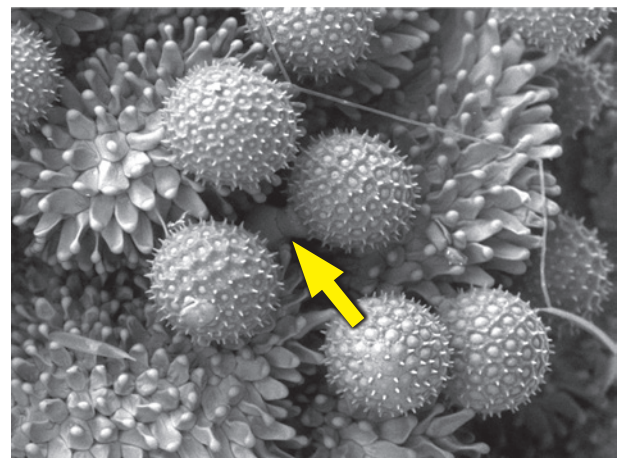
低真空 SEM 法は、差動排気により SEM の試料室のみの圧力を上昇させ、電子銃や鏡筒を高真空に保ちながら試料の観察・分析を行う手法です。試料室が低真空（1～数百 Pa 程度の範囲）に保たれているため、通常の SEM と比較して、試料に含まれる少量の水や油等の蒸発を抑えることができます。また、入射電子により残留ガスがイオン化されることで試料の帯電が中和され、導電性処理が不要になります。クライオステージとの組み合わせも可能です。

低真空 SEM 概略図



応用例

アサガオのめしべの観察例です。無処理で受粉管(矢印部)が観察できました。



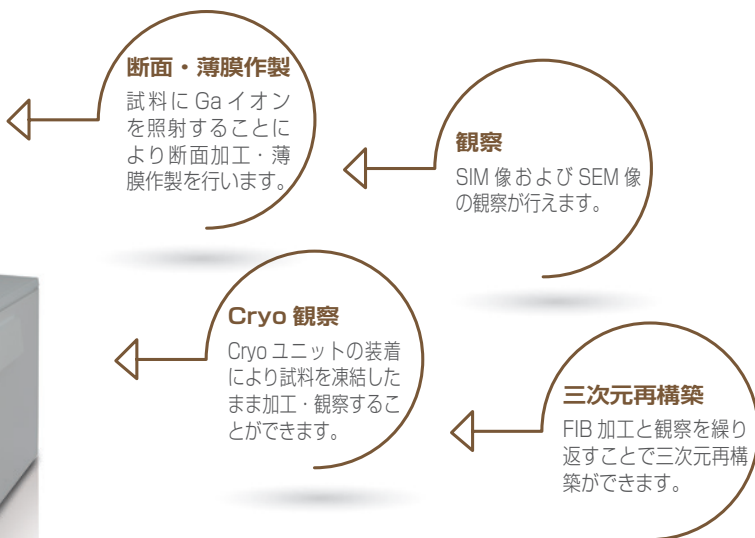
試料：アサガオのめしべと花粉
加圧電圧：15 kV 真空度：27 Pa

1-3 集束イオンビーム加工観察装置 Focused Ion Beam System : FIB

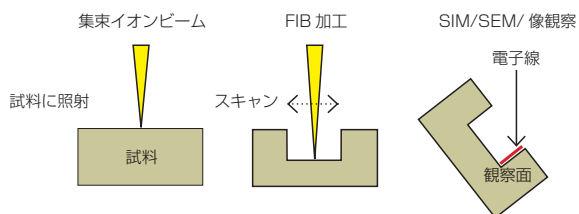
FIB は、細くしぼった Ga イオンを試料に照射し、XY 方向にスキャンすることにより、試料の加工・観察を行う装置です。Ga イオンのスパッタリング効果によって、試料の微細加工、断面加工、薄膜作製等を行うことができます。さらに、Ga 照射によって発生した二次電子による画像 (SIM 像 : Scanning Ion Microscope 像) 観察や、有機金属ガス照射によるカーボン、タングステン、白金などの成膜機能を有しています。また、同一試料室に FIB 鏡筒と SEM 鏡筒を備えたマルチビーム装置も開発されています。マルチビーム装置は、FIB で加工した断面等をそのまま SEM で観察することができます。



集束イオンビーム
加工観察装置 : FIB



原理 FIB 加工・観察の基本手順

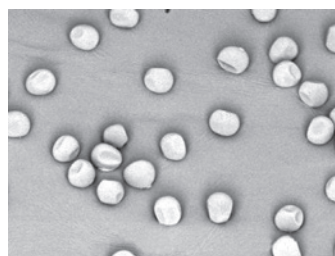
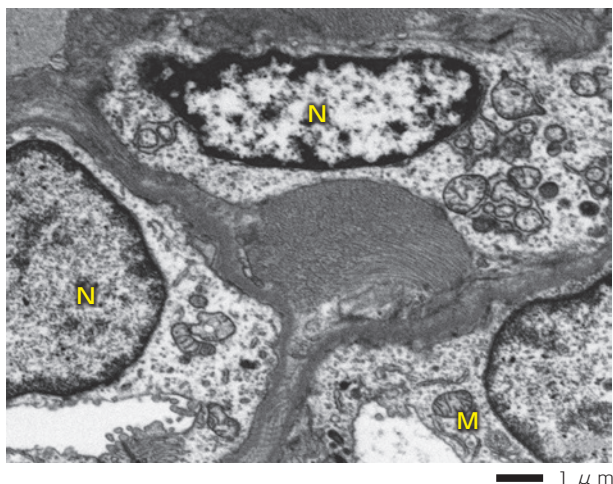


応用例

生のトウモロコシの花粉を加工・観察しました。

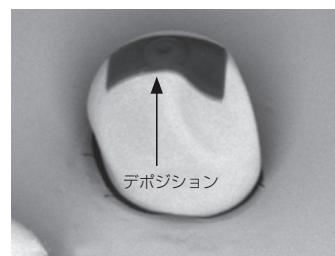
応用例

TEM 用に固定・エポキシ樹脂包埋したラットの小脳試料を FIB で加工し、得られた断面を SEM 観察しました。核 (N)、ミトコンドリア (M)



低倍像

100 μm



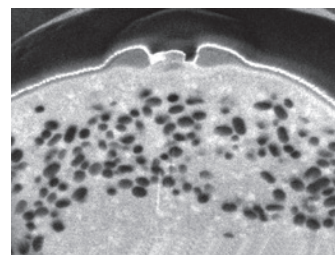
加工準備

10 μm



FIB 加工

10 μm



SEM 観察

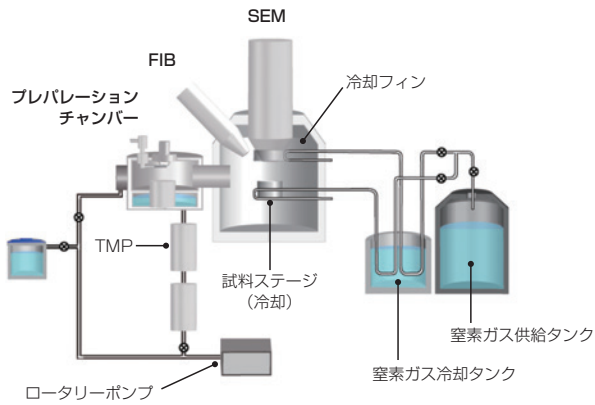
5 μm

SEM 像(反射電子像)

CRYO 観察

CRYO-FIB/SEM 法は、凍結した含水試料等を形態を保ったまま加工 / 観察する手法です。試料を化学処理なしで急速凍結し、細胞組織や食品、化粧品などの特定部位を断面加工することにより内部構造観察や分析を行うことができます。

CRYO ユニットの装着した FIB のブロック図

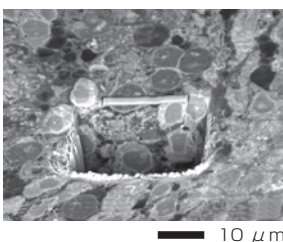
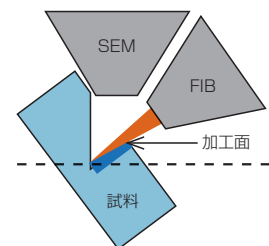


CRYO ユニットはプレパレーションチャンバーと冷却ステージからなります。プレパレーションチャンバーは、冷却ナイフ、スパッタコーターなどを内蔵しており、凍結試料の切断や導電性コーティングを行います。冷却ステージは、液体窒素によって冷却された窒素ガスで冷却されています。CRYO ユニットにより試料を凍結したまま、FIBによる加工・観察とSEM観察が可能です。

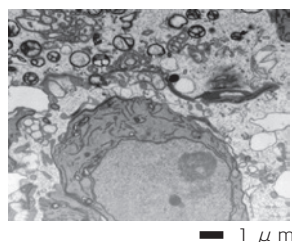
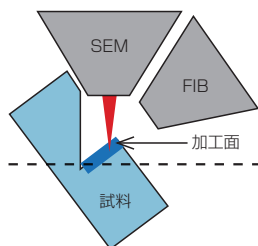
三次元再構築

FIBによる断面加工とSEM像取得を連続して行います。得られた連続断面SEM像を積み重ねることによって、試料の三次元再構築を行います。TEM観察用に固定・樹脂包埋した生物試料の三次元構造解析等に用いられます。位置精度が高いことと、加工による歪が小さいことが特長です。

FIB加工

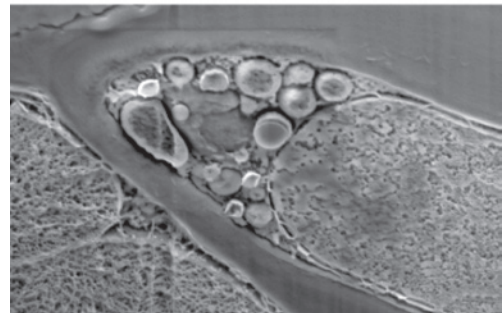
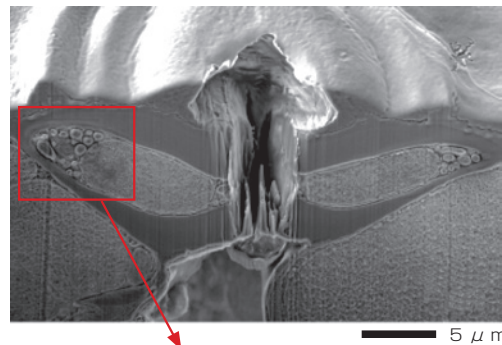


SEM観察



応用例

サザンカの葉の気孔部分を断面加工 / 観察しました。凍結切断法では、気孔のような微小部の断面を出すことは困難ですが、CRYO-FIB/SEM法により特定部位の断面加工が簡単に行えます。



試料：サザンカの葉の気孔の断面

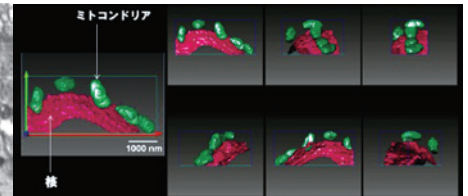
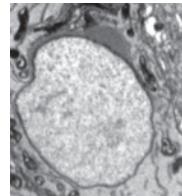
応用例

樹脂包埋したラットの精細胞を三次元再構築しました。前期精細胞と後期精細胞で、ミトコンドリアの分布と形状が変化していることがわかります。

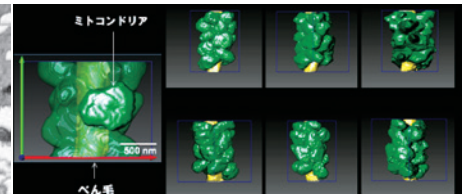
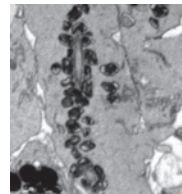
反射電子像

三次元再構築像

前期精細胞



後期精細胞



セグメンテーションによる色分け

緑：ミトコンドリア、紫：核、黄：鞭毛

1-4 電子プローブマイクロアナライザー Electron Probe Microanalyzer : EPMA

電子線を試料に照射すると、電子と試料との相互作用により種々の信号が放出されます。電子プローブマイクロアナライザー (EPMA) は、それらの信号のうち、主に特性X線と呼ばれる試料構成元素に固有の波長 (エネルギー) を有するX線を、主に波長分散分光器 (Wavelength Dispersive Spectrometer : WDS) で分光し、試料のミクロン領域の元素分析を行う装置です。



電子プローブマイクロアナライザー : EPMA

表面観察

バルク試料の表面形態観察が行えます。

微量元素分析

数 10 ~ 数 100 ppm の濃度の元素分析が行えます。

定性・定量分析

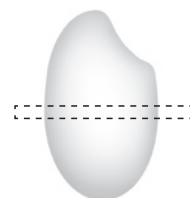
主成分を相対誤差 ± 1% の精度で分析が行えます。

元素マップ

サブミクロンの空間分解能で元素分布を測定できます。

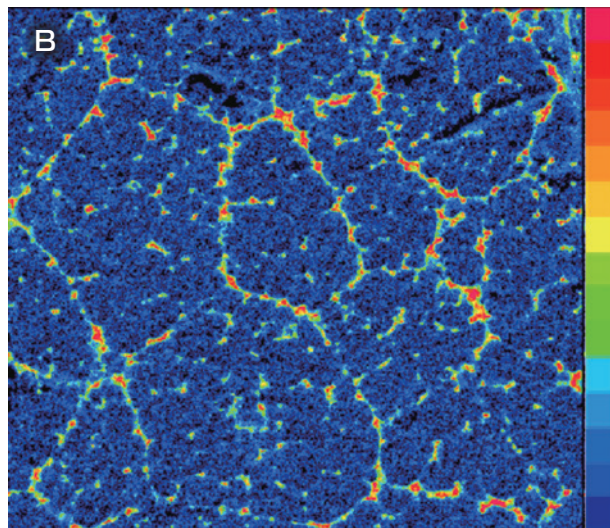
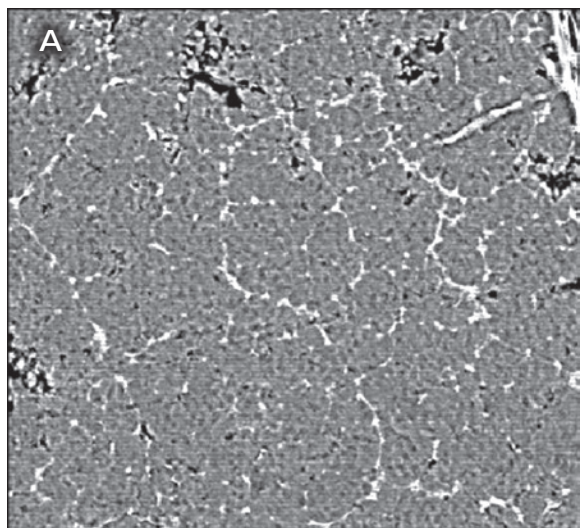
試料薄片化

一般的に SEM + EDS 分析よりも大電流で分析を行う EPMA においては、有機物材料の電子線照射による試料ダメージが懸念されます。右図のような米粒断面の分析の場合、試料をマイクロームなどで数百 nm 程度に断面作製を行い、試料分析時の加速電圧を、入射電子が透過するような加速電圧に設定することで、EPMA 分析中の試料の熱ダメージを抑えることが可能です。



応用例

A : 白米断面周辺部の、200 μ m 角領域の反射電子組成像です。網の目状にアミノ酸の濃集に対応すると思われる白色部が見られます。
B : A 図と同時取得した窒素の元素マップです。X線強度の高低を右側のようなカラーレベルで表示しています。左図の白色部に対応して、窒素リッチ部の分布が判ります。



1-5 蛍光X線分析装置

X-Ray Fluorescence Spectrometer : XRF

蛍光X線分析装置は、X線を試料に照射し試料から放出される蛍光X線を検出し、元素の種類と組成を分析することができる元素分析装置です。

固体・粉体・液体など試料状態に関係なくそのまま測定でき、微量元素から主要元素までの定量分析を理論計算（ファンダメンタルパラメータ法：FP法）で行うことができます。



エネルギー分散形蛍光X線分析装置：XRF

- 非破壊分析**
固体だけでなく液体（オイル、エマルジョン含む）も測定できます。
- 元素分析**
C～Uまでの元素分析が可能です。
- スタンダードレス定量分析**
標準試料なしで、微量元素から主要元素までの定量分析が可能です。
- 付着量・厚み分析**
試料表面に付着した元素の厚みや付着量の分析が可能です。

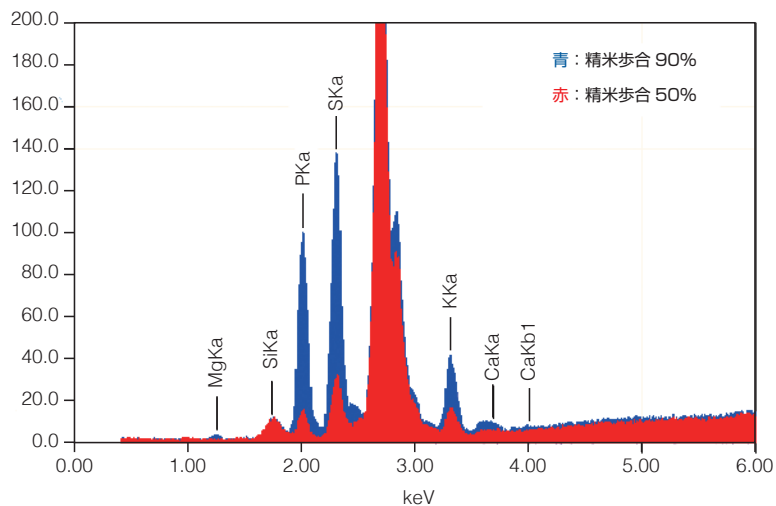
● 非破壊測定

応用例

精米歩合とミネラル成分

日本人の主食でもあり日本酒の原料となる米の精米歩合とミネラル成分の関係を調べました。

普段、私たちが食べている精米歩合 90% 程度の白米と、日本酒の原料となる精米歩合 50% の白米に含まれるミネラルを比較しました。精米歩合 90% の白米からは Mg、P、S、K、Ca の含有が確認できますが、精米歩合 50% の白米では P、S、K が僅かに確認できる程度となり、精米歩合によってミネラル含有量に差があることが分かりました。

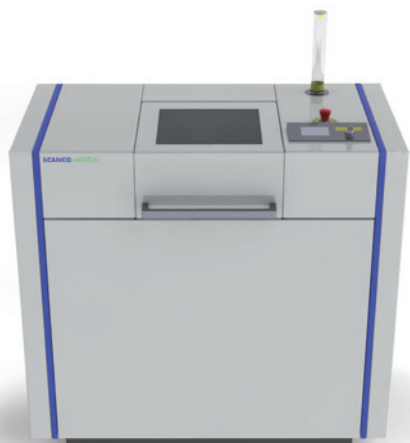


精米歩合 90% の白米

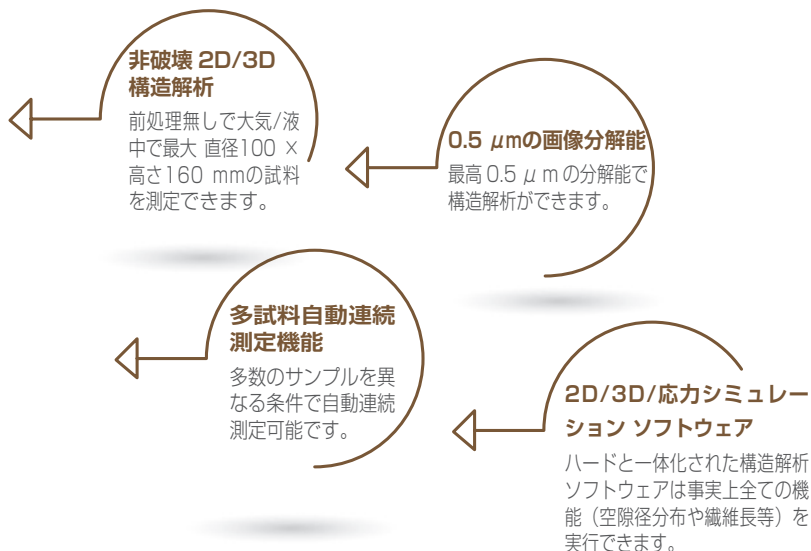
1-6 X線CT 微細構造解析システム

Micro Focus X-Ray Computer Tomography : Micro CT

X線CT 微細構造解析システムは、非破壊で生体を含むバイオ系試料から産業用材料の3D 微細構造解析に幅広く対応します。ソースから設計開発されたハードとソフト(測定・2D/3D 構築解析・有限要素解析 (FEA))は最適に融合し、シームレスな一つのアプリケーションで統合されています。



Model: μ CT50
スイス SCANCO MEDICAL 社製

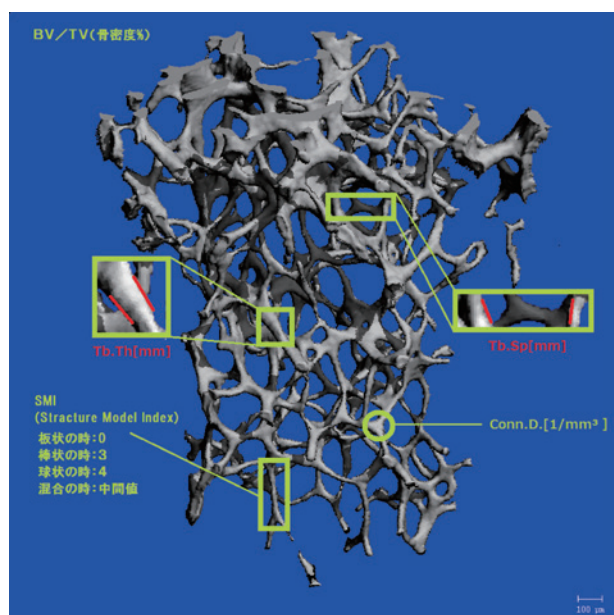


骨構造解析

X線CT 微細構造解析システムは骨粗鬆症疾患モデルを初め、多様な骨疾患における微細な構造変化を μ m オーダーで定量解析が行えます。狭角コーンビームにより、X線CT 装置特有のアーティファクトや電氣的ノイズを解消し、再現性の高い高品質な画像解析が行えます。測定・解析後、全ての骨解析結果パラメータは自動的に定量化データベースへ保存されます。

骨パラメータ : TA, BV, BS, Tb.N, BV/TV, Tb.Th, BS/TV, Tb.Sp, TSL, Conn.Dens, TBPf, MIL, DA, SMI, Nd, TM, 等 + 応力シミュレーション全パラメータ

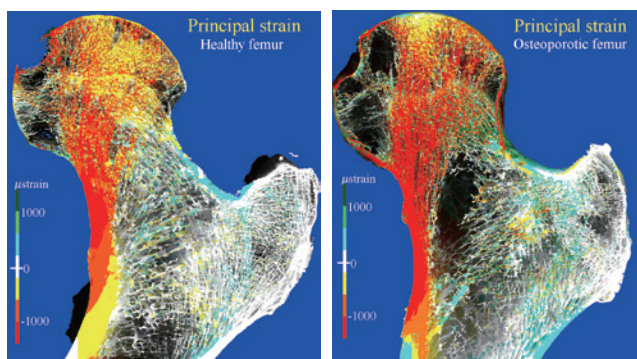
応用例



マウス大腿骨の海綿骨3D構造

左: 健康人大腿骨をモデルにした応力シミュレーション 3D
右: 骨粗鬆症人大腿骨をモデルにした応力シミュレーション 3D

* 赤色が高ストレス部分



2-1 電子スピン共鳴装置 Electron Spin Resonance : ESR

生体内で、さまざまな反応にラジカルが関与していると考えられています。ESRは、試料中のラジカルのみを選択的に観測する手法です。NMRと類似の原理で、マイクロ波を照射しながら磁場掃引して測定を行います。スペクトルは一次微分波形で与えられます。NMRよりはるかに高感度な測定が可能です。常磁性金属の測定も可能で構造や環境を反映したスペクトルが得られます。



電子スピン共鳴装置 : ESR

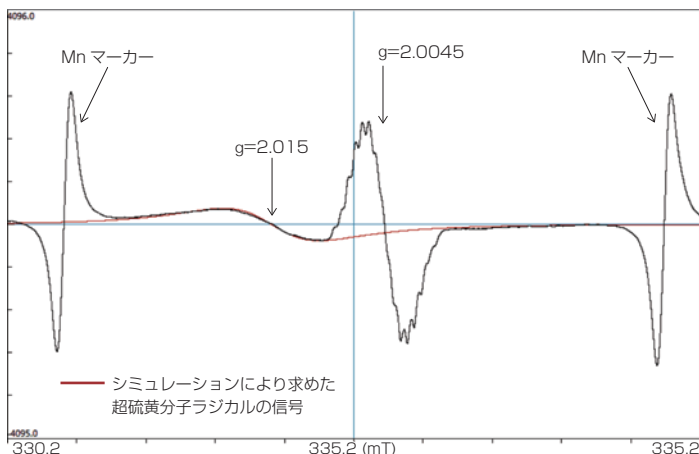
- 様々な状態の試料に対応**
液体、ゲル状、固体、気体など見たい状態での測定が可能です。
- ラジカルの定性と定量が可能**
活性酸素、活性窒素、超硫黄分子の生成や消去を評価できます。
- 前処理不要**
ラジカルのみを検出するため前処理が不要です。
- 専用マーカーによる正確な補正**
ラジカルの同定に重要なパラメーターの算出が可能です。
- 金属成分も観測**
金属酵素の活性中心の構造なども評価できます。

● 超硫黄分子の測定

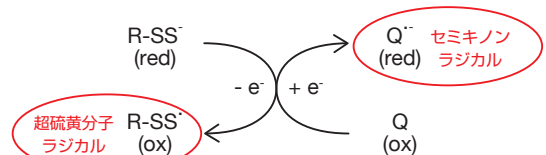
近年、生体内で超硫黄分子が特殊な機能を持つことが報告されています。システインパースルフィド (Cys-SSH) や、パースルフィド (R-SSH) およびポリスルフィド (R-SSSH, R-SSSSH) 等です。これらは強い還元性を持ち、超硫黄分子と呼ばれます。以下に、超硫黄分子研究に使用されるモデル化合物を用いて、生体内に存在するキノン化合物との反応を ESR により測定した例を示します。*)

応用例

パースルフィドのモデル化合物 : Na_2S_2 とキノン化合物の一つである Coenzyme Q10 を、アセトン-50% / DMSO-10% / 水溶液中に混合し、3 分後に得られたスペクトルを左図に示しました。低磁場側に分裂の無いブロードな信号が、中央に細かい分裂を示すシャープな信号が得られました。両端に出現している一対の逆位相の信号は、装置に付属する Mn マーカー由来の信号です。ESR 独自の同定パラメーターである g 値は、それぞれ $g=2.015$ 、 $g=2.0045$ でした。この値から前者は超硫黄分子ラジカル、後者は Coenzyme Q10 由来のセミキノンラジカルであることが示されました。



この結果から、以下の反応が生じていると推測されました。



超硫黄分子 (R-SS⁻) とキノン化合物 (Q) の推定反応図
○ がラジカルとして検出される

超硫黄分子は生体内のキノン化合物と反応し、機能調整に関わっていると推測されます。

*) Abiko Y. et al. Chem. Res. Toxicol. 32(4):551-556, 2019

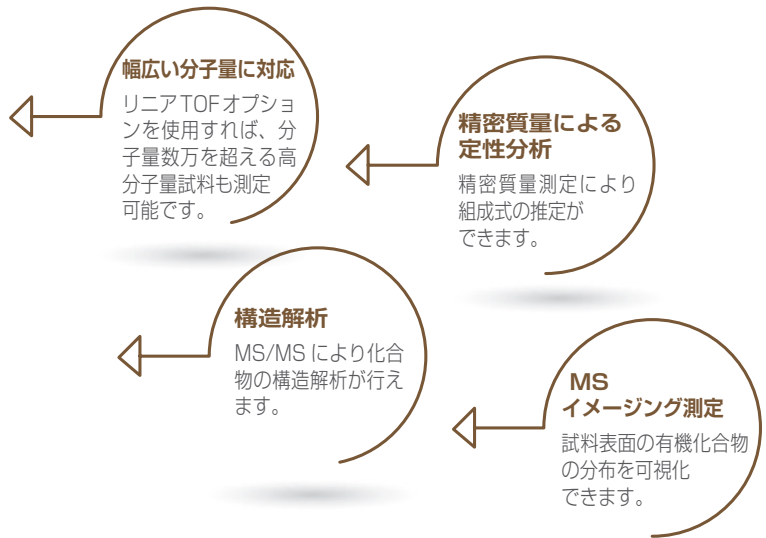
2-2 マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間質量分析計

Matrix assisted laser desorption/ionization
- Time-of-Flight Mass Spectrometer : MALDI-TOFMS

MALDI-TOFMS は、アミノ酸などの低分子化合物から、タンパク質などの高分子化合物まで測定が可能な質量分析計です。酵素消化ペプチドからのタンパク質同定などのプロテオーム解析に活用されています。JMS-S3000 SpiralTOF™ -plus2.0 は、JEOL の特許技術であるらせん軌道のイオン光学系 (SpiralTOF 型イオン光学系) を有しており、イオンの透過率 (= 感度) を損なうことなく、超質量高分解能を達成しました。



JMS-S3000 SpiralTOF™ -plus2.0

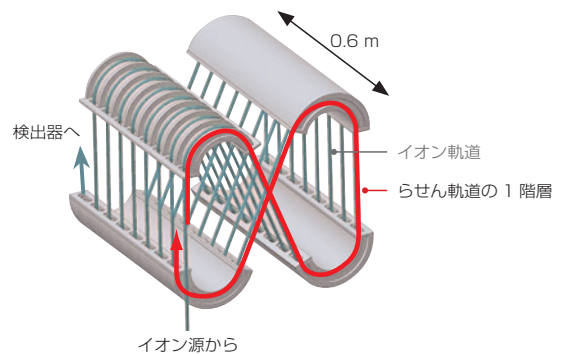


Spiral モード

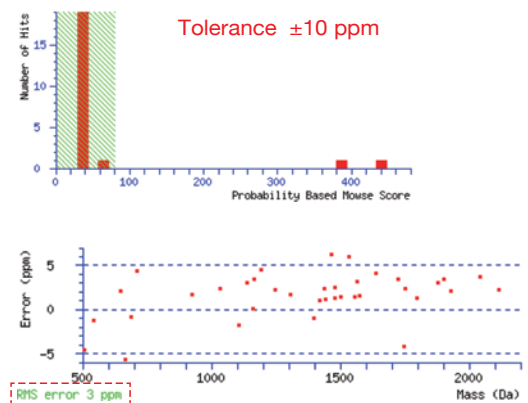
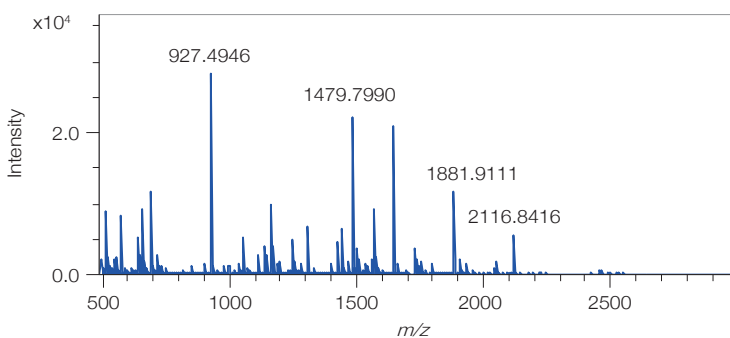
17 m のらせん状のイオン軌道により、飛行距離が従来のリフレクトロン型 TOFMS に比べて、一桁程度長いこと、高い質量分解能と質量精度での分析が可能です。

応用例

ウシ血清アルブミン (BSA) のトリプシン消化物を SpiralTOF モードで測定し、ペプチドマスフィンガープリント (PMF) 法により解析した結果です。SpiralTOF™ -plus2.0 の高い質量測定精度によって、PMF 解析における許容質量誤差範囲を狭めることが可能となり、偽陽性の可能性が低く信頼性の高いタンパク質同定が可能となりました。

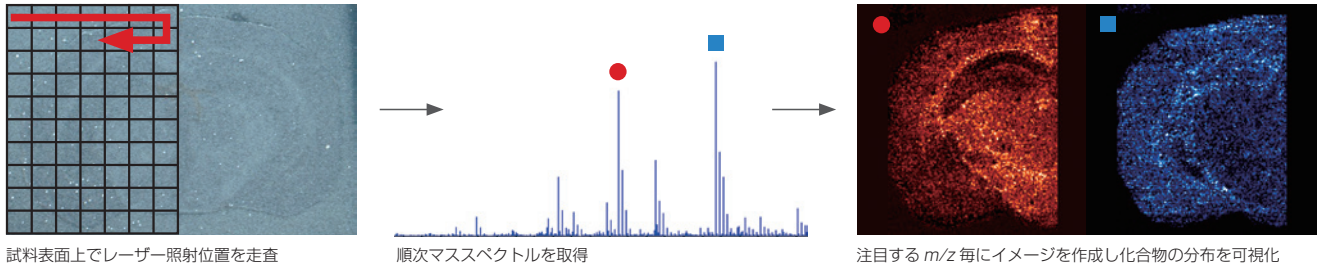


サンプル : BSA トリプシン消化物



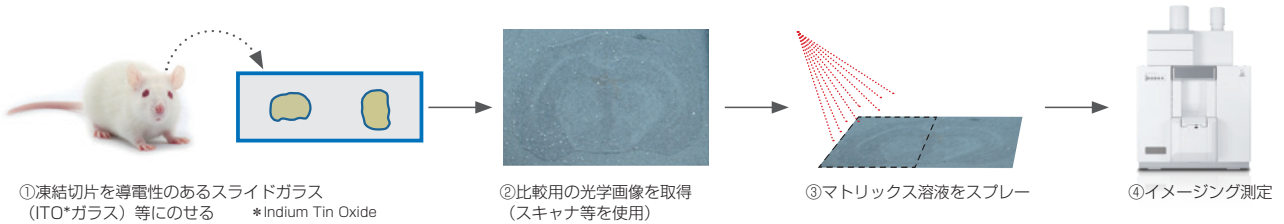
マスイメージング

マスイメージング測定では、試料表面上でレーザー照射位置を走査し、マススペクトルを順次取得します。このデータを解析することで、特定化合物の試料表面上の分布を可視化できます。

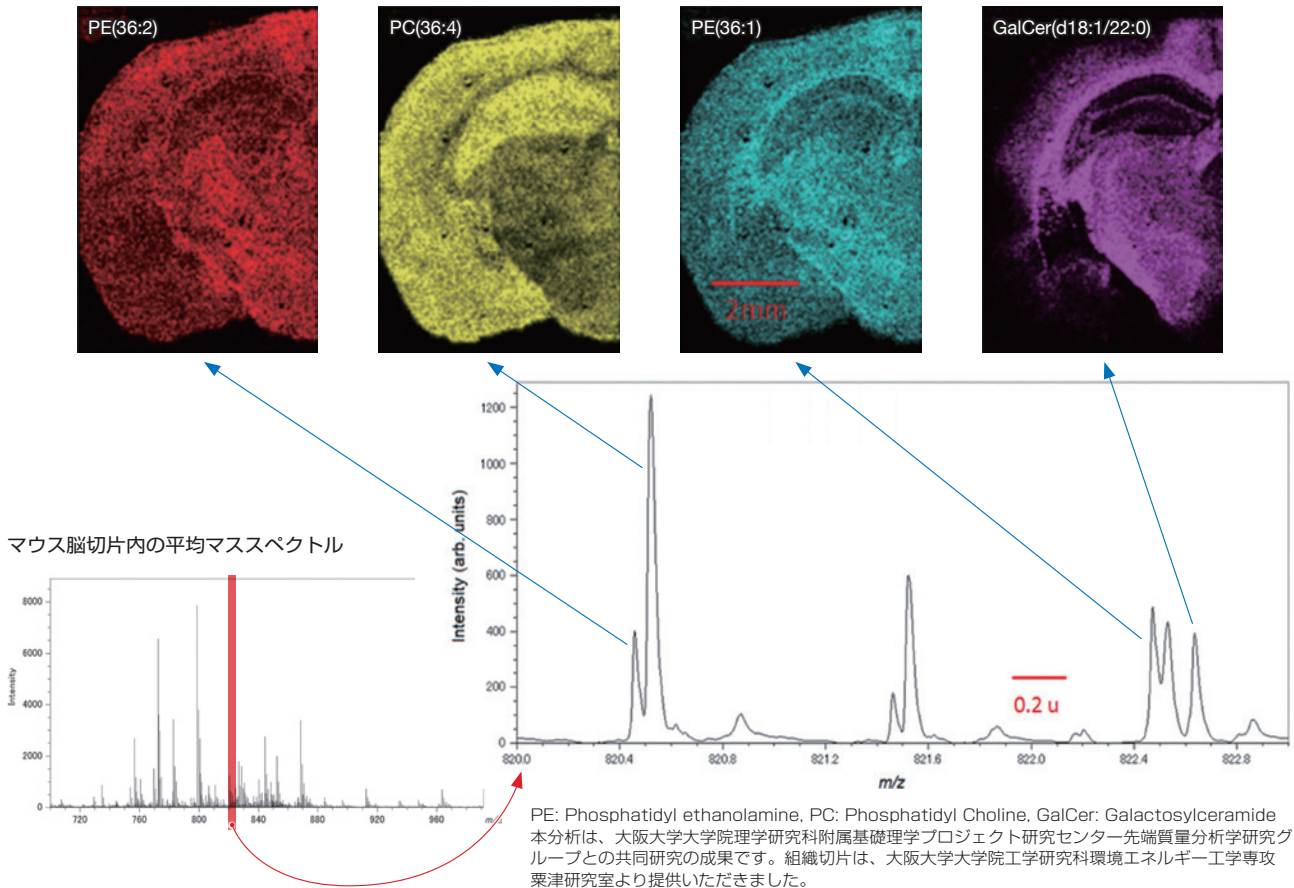


応用例

マウスの脳切片にマトリックス溶液を噴霧し、左半分についてマスイメージング測定を行いました。平均マススペクトルでは、様々な種類の脂質が観測されました。観測されたいくつかの脂質についてマスイメージを作成しました。JMS-S3000 SpiralTOF™-plus2.0 は、独自術を採用した高い質量分解能により 0.1 u (0.1 Da) の違いも分離可能です。これにより、化合物の正確な分布情報を得る事が出来ます。



m/z 値の差が小さなピークの分離とマスイメージ



2-3 核磁気共鳴装置 Nuclear Magnetic Resonance System : NMR

NMRは、物質中の特定の元素に注目し、その周りの構造や環境を調べることができる手法です。非破壊測定のため、試料保護のための特別な前処理は不要で、測定後に貴重な試料を回収することができます。試料については、液体や固体など、見たい状態で測定できます。原子核からの信号を測定・解析するため、原子分解能で詳細な立体構造解析や、分子間の相互作用解析が可能です。



核磁気共鳴装置：NMR

様々な試料状態に対応

液体、ゲル状、固体など、見たい状態で測定できます。固体測定では、結晶化せずに測定することが可能*です。

非破壊測定

試料を繰り返し利用できます。

相互作用解析

分子間の結合状態や、解離定数などを解析することができます。

原子分解能

原子分解能で高次構造・ダイナミクス解析ができます。

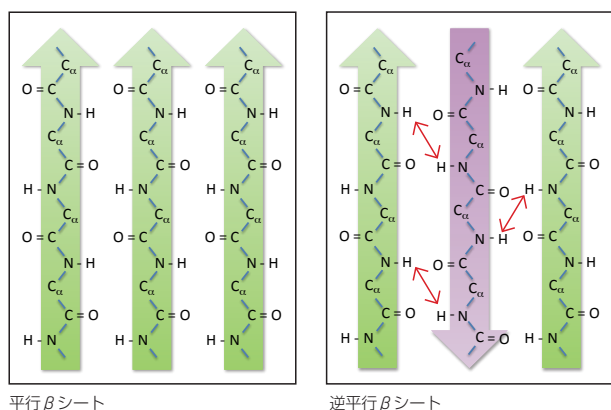
* 測定方法によって、結晶化が必要な場合があります。

二次構造解析

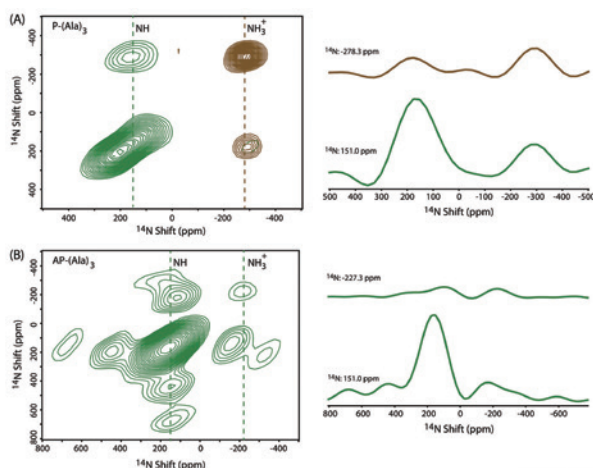
応用例

固体 NMR によるオリゴペプチドの二次構造解析

タンパク質やオリゴペプチドでは特徴的な二次構造をとることが知られています。代表的な二次構造であるβシートは、アミノ酸が直鎖状に連なったβストランドが並ぶことで形成されます。このβストランドの並び方の違いから、平行βシートと逆平行βシートに分類されます。超高速 MAS 固体 NMR による、高感度な¹H観測の3D¹⁴N/¹⁴N/¹H相関スペクトルを解析することで、βシート構造の判別をすることができます。



逆平行βシートでは、隣り合うβストランド間でアミド¹Hが空間的に近接していることや、βストランドの配向の違いにより、効率よく¹⁴N-¹⁴N相関信号が観測されます。右図(A)、(B)は平行βシート構造を持つオリゴペプチドP-(Ala)₃と、逆平行βシート構造を持つAP-(Ala)₃の¹⁴N/¹⁴N/¹H相関スペクトルです。(B)の二次元スライスには、βストランド間の¹⁴N/¹⁴N相関ピーク(水平軸450 ppm付近)が観測されています。



Reproduced from [1] with permission of The Royal Society of Chemistry and the PCCP Owner Societies. <http://dx.doi.org/10.1039/C6CP03848D>



(A)P-(Ala)₃ペプチド(平行βシート)の¹⁴N/¹⁴N/¹H相関スペクトル
(B)AP-(Ala)₃ペプチド(逆平行βシート)の¹⁴N/¹⁴N/¹H相関スペクトル

[1]Pandey MK, Amoureux JP, Asakura T, Nishiyama Y. *Phys. Chem. Chem. phys.* 2016, 18, 22583-22589

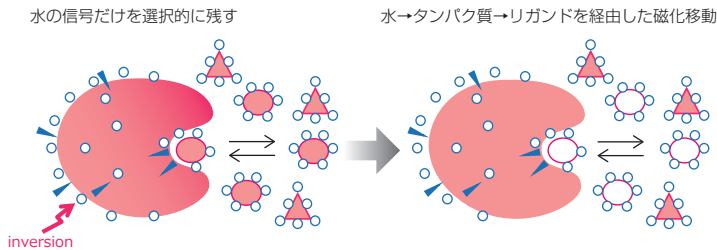
使用装置：JNM-ECZ600R(600 MHz)

相互作用解析

応用例

Water LOGSY によるタンパク質 - 低分子相互作用の解析

溶液 NMR では、試料溶液が結合 - 解離の平衡状態にあるまま、分子間の相互作用を解析することができます。Water LOGSY は、タンパク質と低分子（薬剤、アミノ酸等）の相互作用を解析する手法です。種類の異なる分子が混ざった混合溶液でも、相互作用する分子と、相互作用しない分子を分類することができるため、医薬品のスクリーニング手法としても注目されています。



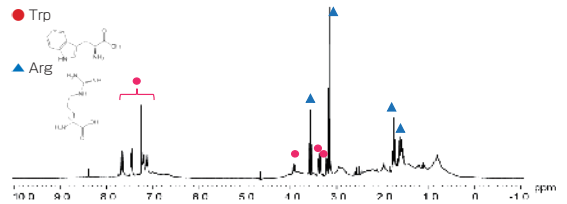
- H₂O
- ▶ 交換性プロトン(OH, NH, NH₂など)

タンパク質と相互作用するリガンドの信号のみに水の磁化が移動する。

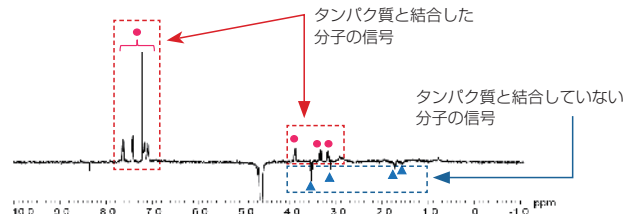
ヒト血清アルブミン (HSA), Trp, Arg の混合溶液を、Water LOGSY で相互作用解析しました。(右図)

Water LOGSY では、タンパク質と相互作用している分子の信号が正（上向き）、相互作用していない分子が負（下向き）の信号として観測されるため、タンパク質と相互作用している分子を区別することができます。

(A) 混合溶液の¹Hスペクトル



(B) 混合溶液のWater LOGSY スペクトル



使用装置：JNM-ECZ400S(400MHz)

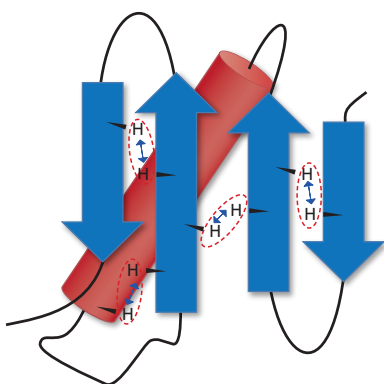
立体構造解析

応用例

3D ¹⁵N-edited NOESY によるタンパク質の立体構造解析

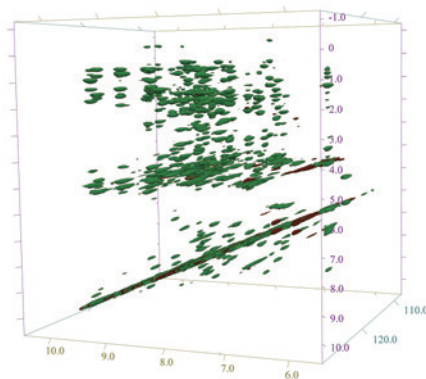
溶液 NMR では、NOE(Nuclear Overhauser Effect) と呼ばれる現象を利用して、原子核間の距離情報を得ることができます。

3D ¹⁵N-edited NOESY 測定では、安定同位体標識 (¹⁵N) された試料の ¹⁵N 核に結合した ¹H 核（アミド基の ¹H など）と、空間的に近接する ¹H 核の距離情報が得られます。

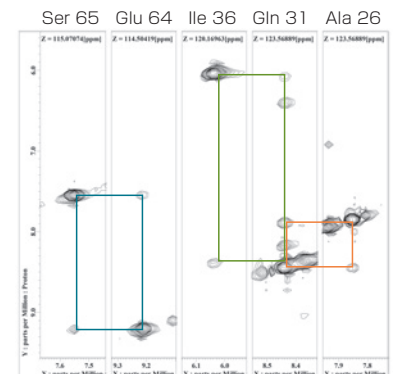


空間的に近接した¹H-¹H間の距離情報が得られます

(A)



(B)



¹⁵N 標識されたヒトコピキチン蛋白質の 3D ¹⁵N-edited NOESY スペクトルを測定しました。上図 (A) に、3D ¹⁵N-edited NOESY スペクトルを cubic 表示した例、上図 (B) に実際の解析例を示します。ヒトコピキチン蛋白質のアミノ酸残基、Ser65-Glu64, Ile36-Gln31, Gln31-Ala26 間の相関ピークが観測されていることから、これらのアミノ酸残基が空間的に近接していることがわかります。

使用装置：JNM-ECZ800R(800MHz)

3-1 生化学自動分析装置 Clinical Chemistry Analyzer

生化学自動分析装置は、血清や尿を検体とし、試薬と反応させ、糖やコレステロール、タンパク、酵素などの各種成分の測定を行う装置です。これらの検査は、健康診断や病院で行われ、結果は病気の早期発見や診断、治療の効果や予後の推定等を示す客観的なデータとして位置づけられています。



生化学自動分析装置

検体間の キャリーオーバー を回避

キャリーオーバー回避洗浄機構によりppb単位の洗浄力を有しています。

微量測定

μLオーダーの超微量測定が可能です。

試薬統合管理 システム

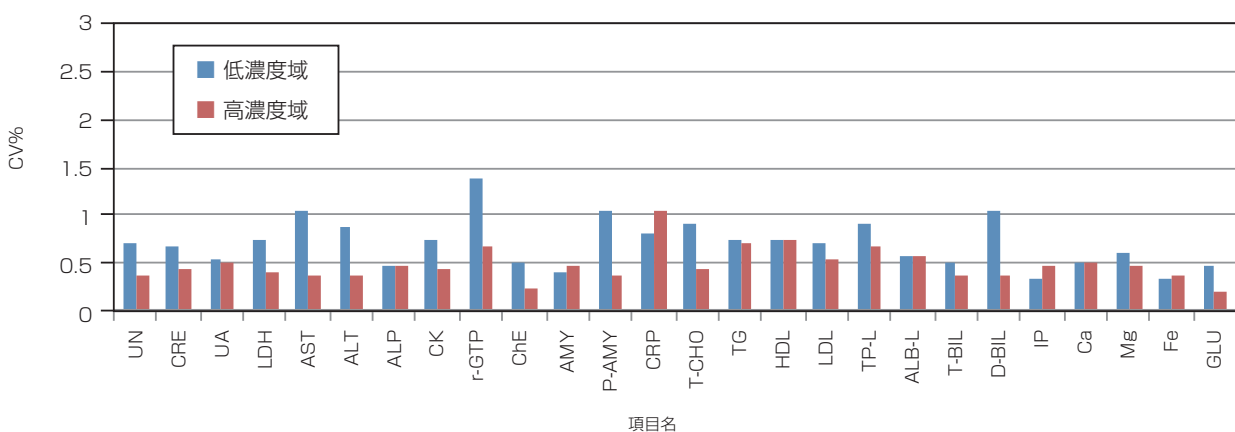
稼働中の試薬の交換や、自動試薬ブランク測定が可能です。

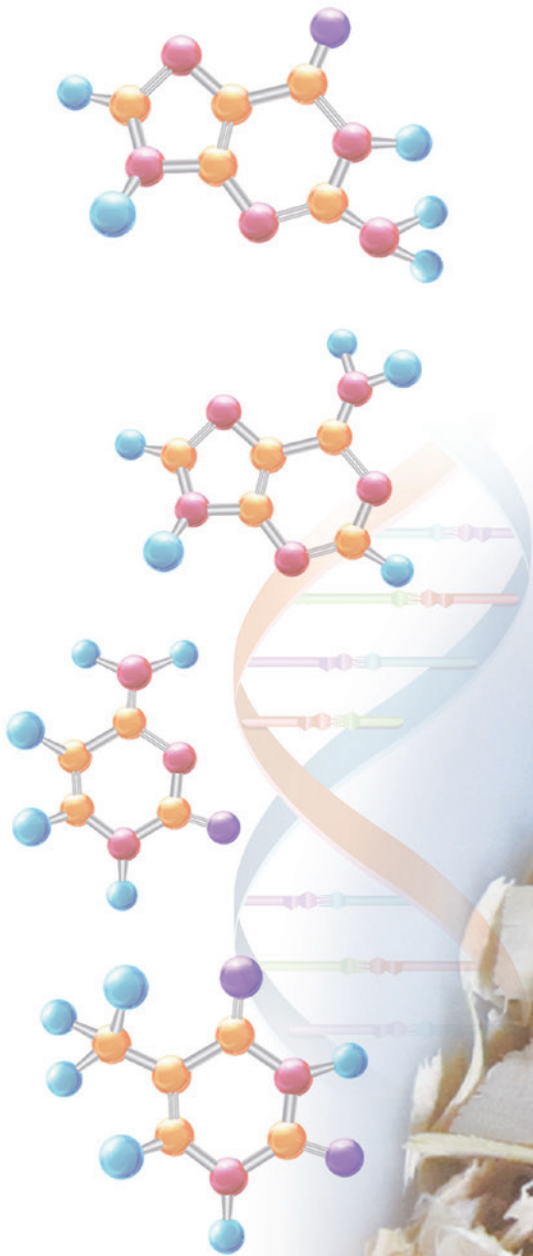
血液・尿の分析

生化学自動分析装置は、小・中規模病院および検査センターから、大学病院などの大規模病院まで、多くの機関で使用されています。反応液量の微量化と高速処理を特長としており、100種類以上のたくさんの検査項目の測定に使われています。また、超微量測定の機能を生かし、非臨床研究における動物（毒性）試験やペットの健康診断などの検査にも利用されています。

応用例

同時再現性 (n=20)





このカタログに掲載した商品は、外国為替及び外国貿易法の安全輸出管理の規制品に該当する場合がありますので、輸出するとき、または日本国外に持ち出すときは当社までお問い合わせください。

掲載製品の外観・仕様は改良のため予告なく変更する場合があります。

▼ お問い合わせ



本社・昭島製作所

〒196-8558 東京都昭島市武蔵野3-1-2 TEL : (042) 543-1111(大代表) FAX : (042) 546-3353

www.jeol.co.jp ISO 9001・ISO 14001 認証取得

東京事務所 〒100-0004 東京都千代田区大手町2丁目1番1号 大手町野村ビル

業務統括センター TEL : 03-6262-3564 FAX : 03-6262-3589

デマンド推進本部 TEL : 03-6262-3560 FAX : 03-6262-3577

SI営業本部 SI販売室 TEL : 03-6262-3567 FAX : 03-6262-3577

ハイオ・セールスプロモーション TEL : 03-6262-3567 セミコンダクタ・ソリューションセールス部 TEL : 03-6262-3567

NMR・ソリューションセールス部 TEL : 03-6262-3575

SIグローバル本部 欧米部 TEL : 03-6262-3561 中国部 TEL : 03-6262-3562 AP部 TEL : 03-6262-3563

産業機器営業部 TEL : 03-6262-3570 MEソリューション販売室 TEL : 03-6262-3571

SE事業戦略本部 SE営業グループ TEL : 042-542-2383 (本社・昭島製作所)

東京支店 〒100-0004 東京都千代田区大手町2丁目1番1号 大手町野村ビル TEL : 03-6262-3580(代表) FAX : 03-6262-3588

東京 SI1グループ TEL : 03-6262-3581 東京 SI2グループ TEL : 03-6262-5586

ME営業グループ TEL : 03-6262-3583

東京第二事務所 〒190-0012 東京都立川市曙町2丁目8番3号 新鈴巻ビル

ソリューション推進室 TEL : 042-595-6886 FAX : 042-595-9227

ソリューションビジネス部 (保守更新) TEL : 042-526-5098 FAX : 042-526-5099

横浜事務所 〒222-0033 神奈川県横浜市港北区新横浜3丁目6番4号 新横浜千歳観光ビル6階

TEL : 045-474-2181 FAX : 045-474-2180

札幌支店 〒060-0809 北海道札幌市北区北9条西3丁目19番地 ノルテプラザ5階

TEL : 011-726-9680 FAX : 011-717-7305

仙台支店 〒980-0021 宮城県仙台市青葉区中央2丁目2番1号 仙台三菱ビル6階

TEL : 022-222-3324 FAX : 022-265-0202

筑波支店 〒305-0033 茨城県つくば市東新井18番1号

TEL : 029-856-3220 FAX : 029-856-1639

名古屋支店 〒450-0001 愛知県名古屋市中村区那古野1丁目47番1号 名古屋国際センタービル14階

TEL : 052-581-1406 FAX : 052-581-2887

大阪支店 〒532-0011 大阪府大阪市淀川区西中島5丁目14番5号 ニッセイ新大阪南口ビル11階

TEL : 06-6304-3941 FAX : 06-6304-7377

西日本ソリューションセンター

〒532-0011 大阪府大阪市淀川区西中島5丁目14番5号 ニッセイ新大阪南口ビル1階

TEL : 06-6305-0121 FAX : 06-6305-0105

広島支店 〒730-0015 広島県広島市中区橋本町10番6号 広島NSビル5階

TEL : 082-221-2500 FAX : 082-221-3611

高松支店 〒760-0023 香川県高松市寿町1丁目1番12号 ハシフィックシティ高松5階

TEL : 087-821-0053 FAX : 087-822-0709

福岡支店 〒812-0011 福岡県福岡市博多区博多駅前2丁目1番1号 福岡朝日ビル5階

TEL : 092-411-2381 FAX : 092-473-1649