

クライオトランスファーホルダーを利用したクライオTEM試料作製

関連製品:集東イオンビーム加工観察装置(FIB)

はじめに

クライオ電子顕微鏡法は分子生物学分野や生命科学分野において非常に注目されている。特にTEMを用いた観察はクライオ電子顕微鏡の代表的 な手法であり、それに伴い試料作製方法としてクライオFIBが使用される機会も多くなっている。

クライオFIBによって作製した薄片試料は、凍結状態を保ったままTEMに搬送する必要がある。そこでクライオ機能を搭載したTEM試料ホルダー(ク ライオトランスファーホルダー)を使用し、FIBによる試料加工とTEMへの簡易的なトランスファーを行うことを試みた。本測定ではサンプルとして酵母を 使用し、クライオトランスファーの実例を示す。(Fig. 1)



Fig.1 酵母の光学顕微鏡像



Fig. 2 シングルビーム加工観察装置 JIB-4000PLUS

Cryo-FIBによるTEM試料作製

日本電子社製シングルビーム加工観察装置JIB-4000PLUS(Fig. 2)を使用 して凍結試料のTEM試料作製を行った。JIB-4000PLUSは通常のバルク試 料用モーターステージに加え、サイドエントリーゴニオメーターステージ (SEG)を装着することができる。SEGはTEM用ホルダーを直接挿入できるた め、クライオトランスファーホルダーを使用することで、冷却しながらFIB加 エが可能になる。クライオトランスファーホルダーにはGatan社製のElsaホ ルダー(Fig.3)を使用した。本ホルダーはデュワーに入れた液体窒素により ホルダー先端の試料部を冷却する機構になっており、付属のワークステー ションに挿入することで試料を大気に晒さずに搬送することができる。また FIB加工後の試料搬送時にホルダーからTEM試料メッシュを外す必要がな いため、FIB 加工とTEM 観察を繰り返すことも可能である。



Fig. 3 クライオトランスファーホルダー

以下に試料作製方法を示す。(Fig. 4)

(1) 水中に分散した酵母をTEMグリッド上にマウントし、液体エタン中に浸漬させ急速凍結を行った。(Fig. 4-a)

(2) TEMグリッドをクライオトランスファーホルダーに固定し、液体窒素雰囲気のワークステーションに挿入してFIBに搬送した。

(3) FIBによって膜厚150 nm程度の薄片試料を作製した。(Fig. 4-b) 試料作製プロセスのSIM観察像をFig. 5に示す。

(4) 加工後の試料をワークステーションにて搬送し、TEM観察を行った。(Fig. 4-c)



日本雷子株式会社

本誌の記載内容は予告なしに変更することがあります。本誌掲載の商品は外国為替及び外国貿易法の規制品に該当する場合がありますので、輸出す Copyright © 2021 JEOL Ltd. るとき、または日本国外に持ち出すときは弊社までお問い合わせ下さい。



Fig.5 薄片加エプロセスのSIM像

Cryo-TEMによる観察

作製した薄片試料をJEM-F200によって観察した。Fig. 6に結果を示す。核、液胞、ミトコンドリアといった細胞小器官に加え、液胞中のオートファジックボディや、ミトコンドリア内膜構造であるクリステを観察することができた。



Fig.6 酵母のTEM観察像

- (a)全体像
- (b) 液胞中のオートファジックボディ
- (c) ミトコンドリア内のクリステ

Copyright © 2021 JEOL Ltd.

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。

JEOL JEA電子株式会社

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
 業務結在シター
 TEL: 03-6262-3564
 FAX: 03-6262-3569
 デマンド推進本部
 TEL: 03-6262-3560
 FAX: 03-6262-3567

 SI営業本部
 SI販促室
 TEL: 03-6262-3567
 FAX: 03-6262-3567
 VJユーショングクタ・ソリューションセールス部
 TEL: 03-6262-3567
 ソリューション指進室
 TEL: 03-6262-3566

 産業機器営業部
 TEL: 03-6262-3570
 MEソリューション振促室
 TEL: 03-6262-3571
 SE営業グループ
 TEL: 042-542-2383 (本社・ 昭鳥製作所)

