

超高圧電子顕微鏡を利用した毛髪の詳細構造観察

○樋口公孝、山本悠太
工学系技術支援室 分析物質技術系

はじめに

名古屋大学 エコトピア科学研究所 超高圧電子顕微鏡施設では、学内各学部への電子顕微鏡技術を用いた共同研究や研究支援および学生の指導を担っている他、文部科学省「ナノプラットフォーム 微細構造解析プラットフォーム事業」において他大学や企業等からの依頼に対しても研究の受託や支援を行っている。本報告では本事業において実施したヒトの毛髪の詳細構造観察の結果について紹介する。

観察技術

電子顕微鏡は加速電圧により電子線の試料内の透過能が大きく異なる。例えば、超高圧電子顕微鏡(1000 kV)は汎用の電子顕微鏡(200 kV)に比べ 10 倍以上厚い試料でも透過像を得ることができる。そのため、試料を傾斜させながら透過像を複数枚撮影し、それを元に 3 次元像を構築することで、厚い試料の立体構造を把握する試験に適している。本特徴は生物系試料においては、微生物の全体像や細胞内外器官の立体構造の把握に有用である。

電子顕微鏡の結像法は TEM(Transmission Electron Microscope)法と STEM(Scanning Transmission Electron Microscope)法の 2 つに大別できる。TEM は試料に平行電子線を照射しレンズ作用により拡大像を得る手法であり、STEM はプローブ状に細く絞った電子線で試料上を走査し、透過電子や後方散乱電子を用いて結像する方法である。生物試料の 3 次元像観察において特筆すべき STEM の特徴として、TEM に比べて電子線照射による試料損傷が少ないこと、試料傾斜時に視野全体での焦点合わせが可能であることが挙げられる。

超高圧電子顕微鏡施設の反応科学超高圧走査透過電子顕微鏡(JEM-1000K RS)は、加速電圧 1000 kV で STEM 機能を有しているため、上述の高い電子線透過力による厚い生物試料の 3 次元観察に適した装置であると言える。

観察結果

ホーユー株式会社によってヒトの毛髪を樹脂包埋後に鉛染色を行いマイクロトームで 0.5 μ m 厚に薄片化された試料を用い、反応科学超高圧電子顕微鏡 (JEM-1000k RS) の TEM/STEM 機能で観察を試みた。

図 1 に低倍率での毛髪断面の STEM 像を示す。毛髪表面から 5 μ m 程度の厚みで層状に見えるのが「キューティクル」、黒の斑点状に見えるのが毛髪の色素である「メラニン」である。また、メラニンの周りの空間をマトリックス状に埋めているのが「コルテックス」と呼ばれる部分である。0.5 μ m という比較的厚い試料であるが、電子線が試料内を充分透過していることがわかる。

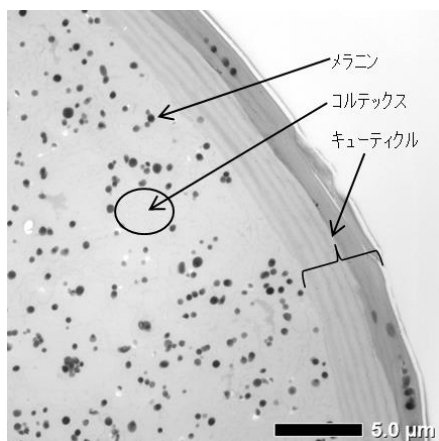


図 1 毛髪断面の低倍率像

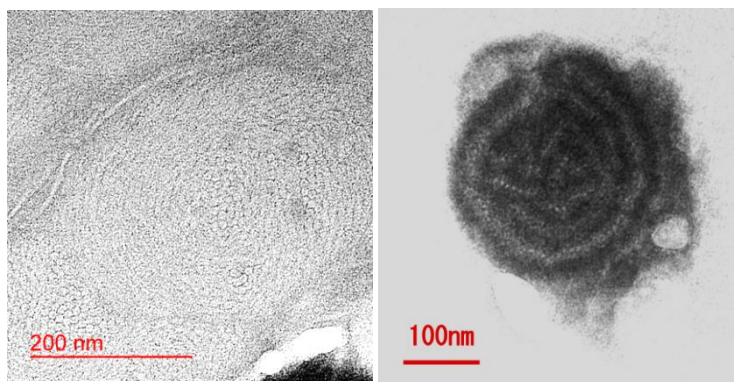


図 2 毛髪各組織の高倍率像
(左)コルテックス (右)メラニン

図 2 にコルテックスおよびメラニンの拡大像を示す。

コルテックスは一様な組織ではなく柱状の組織が束ねられてできていると言われているが、図 2 左よりその柱状組織が渦状に配置されていることがわかる。図 2 右ではメラニンの内部にはコントラストの薄い部分(=空洞)が存在し、それが渦状に配置されていることがわかる。

このメラニンについて、試料を±70度の範囲で2度ずつ傾斜して撮影した計70枚のSTEM像を元に構築した3次元像を図3に示す。

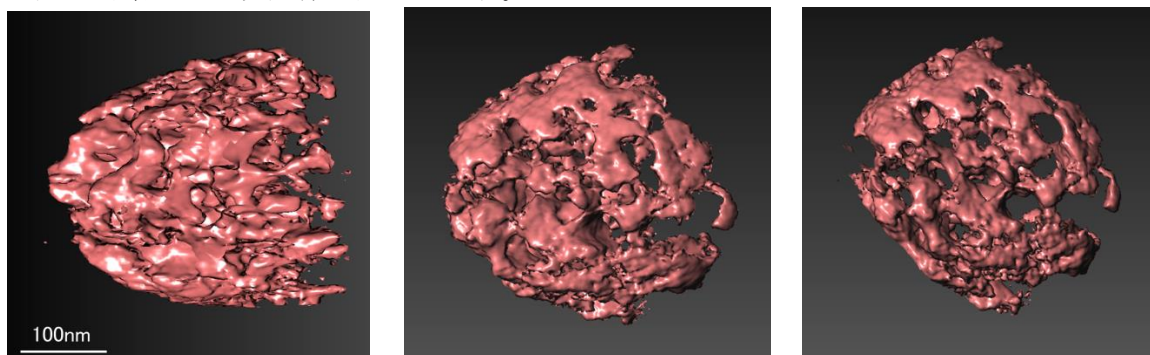


図 3 メラニンの3次元構築像(左から、鉛直方向より90度,45度,0度の構築像)

3次元像を構築することで、空隙はメラニンの内部に広く分布していること、空隙の形は真球ではなく鉛直方向にやや伸びた楕円体であることがわかった。

まとめ

加速電圧1000 kVでのSTEM観察を行うことで、メラニンの3次元像を構築することに成功した。本試料に限らず厚い生物系試料の立体構造把握には超高压電子顕微鏡によるSTEM観察が有効であると考えられる。

謝辞

本技術支援に当たり、ホーユー株式会社の今井健仁様、名古屋大学エコトピア科学研究所の田中信夫教授、丹司敬義教授、荒井重勇特任准教授には大変お世話になりました。心より御礼申し上げます。