

課題番号 : F-14-BA-02
利用形態 : 技術代行
利用課題名(日本語) : デンプン顆粒の構造解析
Program Title (English) : The internal structure of the starch granules
利用者名(日本語) : 針山 孝彦, 山濱 由美
Username (English) : T. Hariyama, Y. Yamahama
所属名(日本語) : 浜松医科大学医学部総合人間科学講座生物学
Affiliation (English) : Department of Biology, Hamamatsu University School of Medicine

1. 概要(Summary)

本研究は昨年度末からの継続課題として、デンプン顆粒の構造を観察するために、市販のデンプン顆粒およびデンプン顆粒を含む植物の組織を FIB-SEM により切削加工し、その断面構造の観察を行った。乾燥したデンプン顆粒の内部構造の観察は、樹脂の浸透が悪く超薄切片作製が困難であるため、透過電子顕微鏡(TEM)での観察は難しい。またその立体的な構造の理解をすることも困難である。本検討により、FIB-SEM による微細加工は、超薄切片法でも観察困難な生物試料の内部構造観察において有用な方法であることが示された。

2. 実験(Experimental)

市販のデンプン顆粒(片栗粉等)を SEM 試料台上に貼り付けてオスミウム蒸着を行った。また、ウマノアシガタ(*Ranunculus japonicas*)の花弁をカルノフスキー氏固定液で固定した後、通常法により試料作製し、SEM 試料台上に貼り付けてオスミウム蒸着を行った。これらの試料を筑波大学ナノテクプラットホームに送付し、FIB-SEM (FEI 社製 Helios600i)により、デンプン顆粒および花弁に含まれるデンプン顆粒断面の切削加工および断面構造の画像取得を行った。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

FIB で切削し、バイオ系試料への電子線照射を考慮しつつ断面を SEM モードで観察したところ、Figure 1 に示すように内部に空気層を含んでいることがわかった。これまでデンプン顆粒自身が空気層を形成していることは観察されておらず、本研究支援によってはじめて発見されたものである。植物細胞内で産生されるデンプン顆粒は、粒子径が数 μm 程度の微粒子であり、生物学的な構造および機能解析のためには、TEM によるナノレベルでの内部構造観察が必要となってくる。しかし、植物から抽

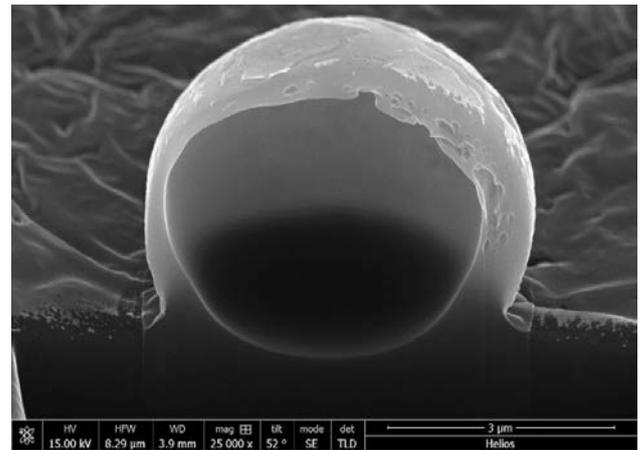


Figure 1. The cut-off image of the starch by FIB-SEM. This internal cave is found for the first time.

出・精製された市販のデンプン顆粒は、非常に硬質で結晶化しているため、従来法による TEM 試料作製が非常に難しい材料であることが古くから知られており、その微細構造観察はあまり研究が進んでいなかった。昨年度末に行った検討により、FIB-SEM を用いた切削加工は、デンプン顆粒の内部構造および全体像の観察に有効であることがわかり、市販の食用デンプン(馬鈴薯デンプン、コーンスターチ、小麦粉)に加え、比較のために食塩の内部構造の観察を行った。さらに、デンプン顆粒を多く含む植物の花弁についても検討を行った。これらの構造は、我々がすでに検討を続けている植物細胞内の機能の起源となることと矛盾しないことがわかり、今後の研究展開の大きな支えとなるものであった。

今後、市販の顆粒だけでなく、生体そのものもつ顆粒の立体観察を展開できることが確認できた。

4. その他・特記事項(Others) なし。

5. 論文・学会発表(Publication/Presentation) なし。

6. 関連特許(Patent) なし。