

課題番号 : F-20-OS-0063
利用形態 : 技術代行
利用課題名(日本語) : ウイルス試料観察
Program Title (English) : Virus sample observation
利用者名(日本語) : 武居弘泰
Username (English) : H. Takei
所属名(日本語) : アイポア株式会社
Affiliation (English) : Aipore Inc.
キーワード/Keyword : 形状・形態観察、ウイルス、ヘリウムイオン顕微鏡

1. 概要(Summary)

新興感染症が世界的に猛威を振るう昨今、安価で迅速、かつ簡便な臨床検査技術の開発が求められている。ウイルスはサブミクロンオーダーの生体粒子と捉えられ、定量する方法はいくつか存在する。しかし、培養ウイルス試料、及びヒト由来の実検体中にはウイルスの他、どのような粒子が含まれるのか、そしてその種類、形状、存在比率は現在まで未知であった。本研究ではヘリウムイオン顕微鏡を用いて、培養インフルエンザ試料及びヒトの唾液試料を観察し、ウイルス及びその他粒子の存在量比の調査を行った。

2. 実験(Experimental)

【利用した主な装置】

高精細集束イオンビーム装置(He/Ne イオン)

【実験方法】

以下 2 種類の試料の観察を行った。

- 培養 Influenza A (2009/07/California)
- ヒト由来唾液検体

以下の手順で試料の前処理を行った。

- 固定液を以下の割合で混合して調整
 - 1xPBS 500 μ L
 - DW 400 μ L
 - グルタルアルデヒド 100 μ L
- 30 mm 角、0.12~0.17 mm のカバーガラスに、各試料を 3 μ L 垂らし、さらに 3 μ L の固定液をカバーガラス上でよく混合し、塗り広げた。
- カバーガラスを培養ディッシュに入れ蓋をし、冷蔵庫に入れ 3 時間以上乾燥させた。
- 乾燥させた試料上にタングステンコートし、最終膜厚 5 nm とした。

3. 結果と考察(Results and Discussion)

唾液原液の観察画像を Fig. 1 に示す。Fig. 1(a)の矢印で示すように、100 nm 程度の粒子の存在が確認された。そのうち、赤い矢印で示した粒子をより拡大して観察した画像を Fig. 1(b)に示す。ウイルス特有のスパイクタンパクは観察されず、100 nm 程度の大きさから、これらはエクソソームの可能性があると考えられる。Fig. 2 に培養インフルエンザウイルスの観察結果を示す。100 ~ 200 nm 程度の球形の粒子が確認された。ウイルスが、その他の粒子かを識別するには、前処理方法の最適化が必要と考えられる。

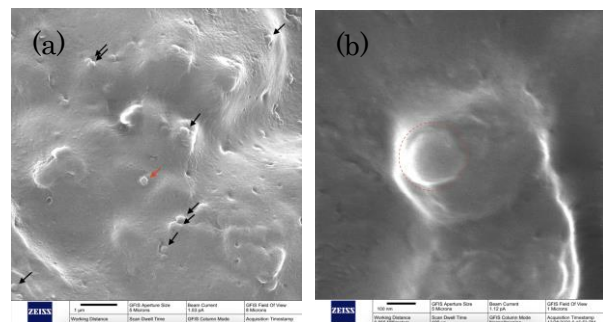


Fig. 1 Human saliva

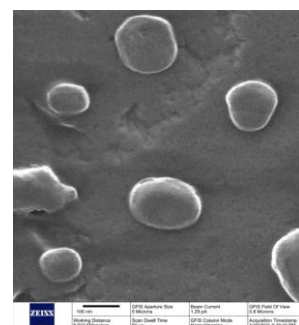


Fig. 2 Cultured influenza virus

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。