

平成27年度

## 微細構造解析プラットフォームにおける利用成果

## 利用課題名 微細気泡の気泡径および気泡数の解析

<sup>a</sup>株式会社P. D. C. A, <sup>b</sup>シグマテクノロジー株式会社永田 正己<sup>a</sup>, 橘 良昭<sup>b</sup>

## 【目 的】

ナノバブル水中のバブルサイズを評価するために、アモルファス氷中にバブルを凍結し、クライオ電子顕微鏡により観察し、サイズ、濃度を計測する。

## 【成 果】

ナノバブル水作製装置ΣPM-5(シグマテクノロジー株式会社製)により、酸素ナノバブル水を作製した。それらをいずれも100倍に希釈して用いた。試料急速凍結装置Vitrobot Mark IV(FEI社製)によりナノバブル水を急速凍結してナノバブルをアモルファス氷中に包埋した試料を作製し、観察用試料とした。試料厚さは約200 nmである。クライオ透過型電子顕微鏡Titan Krios(FEI社製)を用いて、試料温度約80Kにおいてアモルファス氷中に包埋されたナノバブルを直接観察した。図1は、ナノバブルを含む純水を凍結したアモルファス氷とナノバブルを含まない純水を凍結したアモルファス氷の電子顕微鏡像を示す。(a)は観察された酸素ナノバブルである。写真中に赤い円で囲った領域には平均粒径は3nmの暗いコントラストが認められる。また、青い円で囲った領域には暗いコントラストが連続的につながって配列し、線のように観察される部分が存在する。この結果から、粒径約3nmの酸素ナノバブルは、孤立して存在するのではなく、一部は凝集した配列をとることが明らかになった。このナノバブル水の酸素ナノバブルの濃度は、 $2 \times 10^{18}$ 個/ccであると評価される。(b)はアモルファス氷であり、特徴的なコントラストの変化はない。

ナノバブル水中の酸素ナノバブルをアモルファス氷中に凍結することにより可視化して濃度を測定することに成功した。

(1) H.Yasuda, M.Nagata, Y.Tachibana “液体に含まれる超微細バブルの測定方法及びその測定装置”, 特願2014-230407, 平成26年11月23日

(2) M.Nagata, K.Yoshiura, T.Imanishi, Y.Tachibana, R.Kitagaki “熱交換器および空気調和装置”, 特願2015-122493, 平成27年6月18日

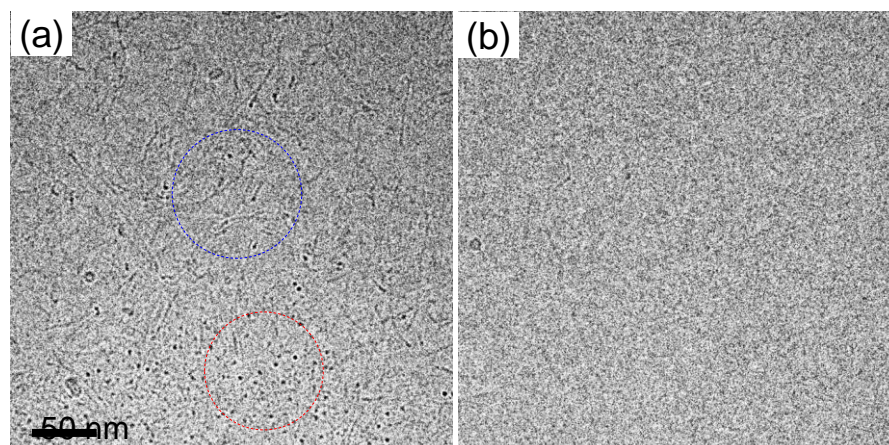


図1 酸素および窒素ナノバブルを含む純水を凍結したアモルファス氷、ならびに、ナノバブルを含まない純水を凍結したアモルファス氷の電子顕微鏡像、(a) 酸素ナノバブル、(b) アモルファス氷

平成27年度

## 微細構造解析プラットフォームにおける利用成果

電子顕微鏡生物組織の切片に対する酢酸ウランに代わる  
新規重金属<sup>a</sup>神戸大学Pyoyun Park<sup>a</sup>

## 【目 的】

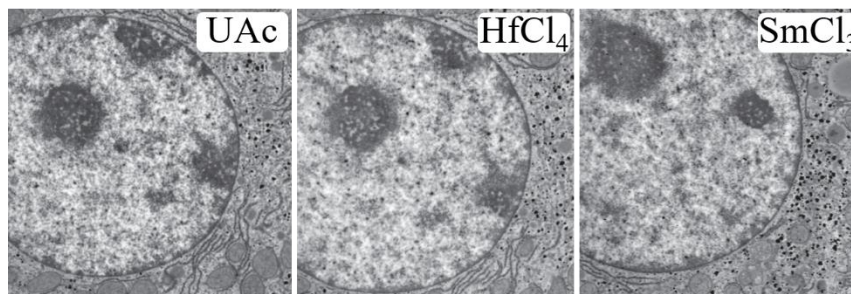
透過電子顕微鏡観察するには細胞切片を酢酸ウラン (UAc) で染色することが不可欠となる。観察に必要なウランは放射活性を有するため日本ではその管理と使用が制限され透過電子顕微鏡を使った研究環境が悪化している。このためUAc染色液に代わる非放射性重金属染色剤の開発が必要である。本課題では、生物組織の隣接超薄切片を用いて、4種類の非放射性重金属染色剤（塩化ハフニウム ( $\text{HfCl}_4$ )、塩化サマリウム ( $\text{SmCl}_3$ )、酢酸ガドリニウム ( $\text{GdAc}_3$ )、白金ブルー) の染色効果を評価することを目的とした。

## 【成 果】

ラット肝細胞の超薄切片に各種染色液をUAc染色液と同じ手順で処理にして透過型電子顕微鏡で観察した結果、 $\text{HfCl}_4$ 、 $\text{SmCl}_3$ 、 $\text{GdAc}_3$ の3種類で染色ムラ、コンタミネーション、細胞破壊が生じることなく好染色される結果を得た (図)。さらに、各種細胞小器官の染色性を相対的TEMコントラスト比法<sup>(1)</sup>により詳細に評価した結果、 $\text{HfCl}_4$ や $\text{SmCl}_3$ 処理区では、一部の細胞小器官で低染色性が認められたのに対し、 $\text{GdAc}_3$ 処理区においては、全ての細胞小器官の膜系や核のヘテロクロマチン、ミトコンドリア、アクチン繊維を含む細胞骨格系に対して好染色性を持つことが明らかとなった。さらに、 $\text{GdAc}_3$ の染色効果は、超高圧電子顕微鏡観察に用いる厚切り切片に対しても発揮された。これらの結果から、生物サンプルの超薄切片染色に用いるUAc代替染色液として、 $\text{GdAc}_3$ が最も有用であることが示唆された。

(1) Kaku, H., Inoue, K., Muranaka, Y., Park, P., Ikeda, K. (2015) Rapid contrast evaluation method based on affinity beads and backscattered electron imaging for the screening of electron stains. *Microscopy*, 64: 361-368. doi: 10.1093/jmicro/dfv041.

(2) Takagi, D., Ifuku, K., Ikeda, K., Inoue, K., Park, P., Tamoi, M., Inoue, H., Sakamoto, K., Saito, R., Miyake, C. (2016) Suppression of chloroplastic alkenal/one oxidoreductase represses the carbon catabolic pathway in *Arabidopsis thaliana* during. *Plant Physiol.*, doi:10.1104/pp.15.01572, 170: 2024-2039.



・図、ラット肝細胞超薄切片に対する $\text{HfCl}_4$ と $\text{SmCl}_3$ の染色性評価

平成27年度

## 微細構造解析プラットフォームにおける利用成果

## 電子顕微鏡による金属酸化物メソ結晶の構造解析

<sup>a</sup>神戸大学立川 貴士<sup>a</sup>

## 【目 的】

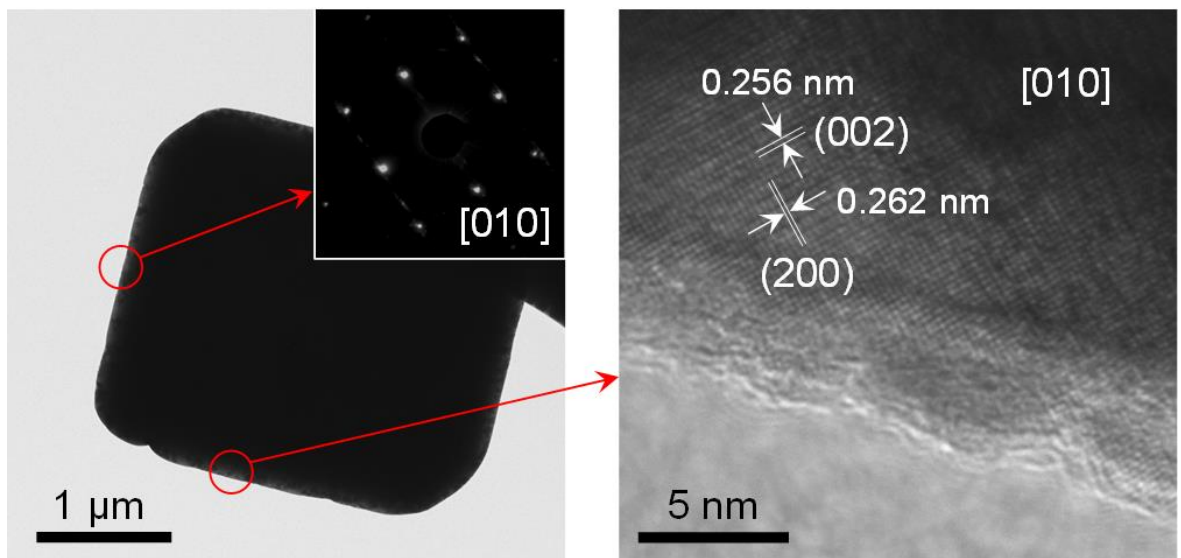
多孔性と構造規則性を備えたナノ粒子の集合体であるメソ結晶は、光触媒などの光エネルギー変換系への応用が期待されている。メソ結晶における光触媒反応は構成するナノ粒子の構造的特徴を強く反映するため、その構造解析は重要である。本研究では、透過型電子顕微鏡を用いて可視光応答型光触媒として知られる $\text{BiVO}_4$ 結晶の構造解析を行うことを目的とした。

## 【成 果】

合成した $\text{BiVO}_4$ 結晶は走査型電子顕微鏡観察により十面体構造、粉末X線回折測定により monoclinic-sheelite構造であることが確認された。

図1にTEM像を示す。制限視野電子回折像から、結晶の主面は $\{010\}$ 面と帰属された。また、高分解能TEM像および粉末XRDの解析結果から側面は $\{110\}$ 面と決定された。これまでの研究から、 $\{010\}$ 面が還元活性、 $\{110\}$ 面が酸化活性であると報告されている。各結晶面における光触媒反応性を調べるため、電気化学顕微分光イメージング測定を行った。405 nmのレーザー照射により、可視光領域から近赤外領域にわたる幅広い発光スペクトルが観測された。この発光は、伝導帯中の自由電子または浅くトラップされた電子と深くトラップされた正孔との再結合に由来するものである。また、電圧印可による電荷注入に伴う発光強度の変化が観測された。発光強度変化の空間分布解析から、結晶表面における正孔捕捉サイトは $\text{BiVO}_4$ 結晶側面の $\{110\}$ 面により多く分布しており、電子捕捉サイトは結晶表面に一様に分布していることが明らかとなった。

(1) Takashi Tachikawa, Tomoya Ochi, Yasuhiro Kobori, "Crystal-Face-Dependent Charge Dynamics on a  $\text{BiVO}_4$  Photocatalyst Revealed by Single-Particle Spectroelectrochemistry", ACS Catalysis, 6 (2016) 2250-2256.

図1  $\text{BiVO}_4$ 結晶のTEM像