

## 走査電子顕微鏡観察における微生物試料へのイオン液体の活用

○龍田 典子

佐賀大学 総合分析実験センター

### 1. はじめに

現在、佐賀大学には走査電子顕微鏡（SEM）が2台あり、工学系から生物系まで、様々な試料の観察に利用されている。金属などの工学試料と比べ、水分を含む生物試料をSEMで観察するには、固定、脱水、置換、脱水、コーティングといった手間のかかる前処理が必要である。このような従来の煩雑な前処理に比べて、イオン液体による処理は、試料にイオン液体を滴下し、余剰の液体を適宜除去するだけで完了する。イオン液体は、常温で液体の塩で、蒸気圧が著しく低いため、真空中でも蒸発しない。また、難燃性で高イオン導電性を有する。つまり、生物系試料中の水分をイオン液体で置換することで、真空中での水分蒸発による試料の形態の収縮や変形を防ぎ、かつ試料表面に導電性を付与することができる。

近年、生物系試料の観察相談を受けた際、イオン液体による前処理を利用者に提案している。本報告では、イオン液体処理を微生物試料の観察に適用した事例について報告する。

### 2. 材料および方法

コウジカビ、糸状菌菌糸、藻類および細菌のSEM観察に、イオン液体処理を適用した。本学では、HEILEM IL 1000（日立ハイテク）を活用している。濾紙等の上に試料を置き、試料全面を覆うように5~10%に調整したイオン液体を滴下し、数時間から一晩、常温で静置した。余剰のイオン液体が認められる場合には、キムワイプ等で拭き取り、試料を導電性テープ上にのせ、高真空下で二次電子により観察した。

### 3. 結果

図1は、イオン液体処理した細菌のSEM画像である。細胞が変形（ひび割れや凹み）・破壊されることなく観察することができた。金属蒸着はしていないが、帯電現象も認められず、良好な観察画像を取得することができた。

### 4. 今後の課題

イオン液体による生物試料の前処理は、従来法（化学固定法）と比較すると、簡便かつ短時間の作業で完了する。多くの微生物の場合、良好な結果が得られているが、ごく稀に、凹みが若干生じる場合も認められた。また、顕微鏡メーカー等で販売されているイオン液体は大変高価であり、費用負担が大きいことは課題の一つである。



図1 イオン液体処理をした細菌のSEM観察画像