

“Taking electron microscope images of biological objects in their natural state.”

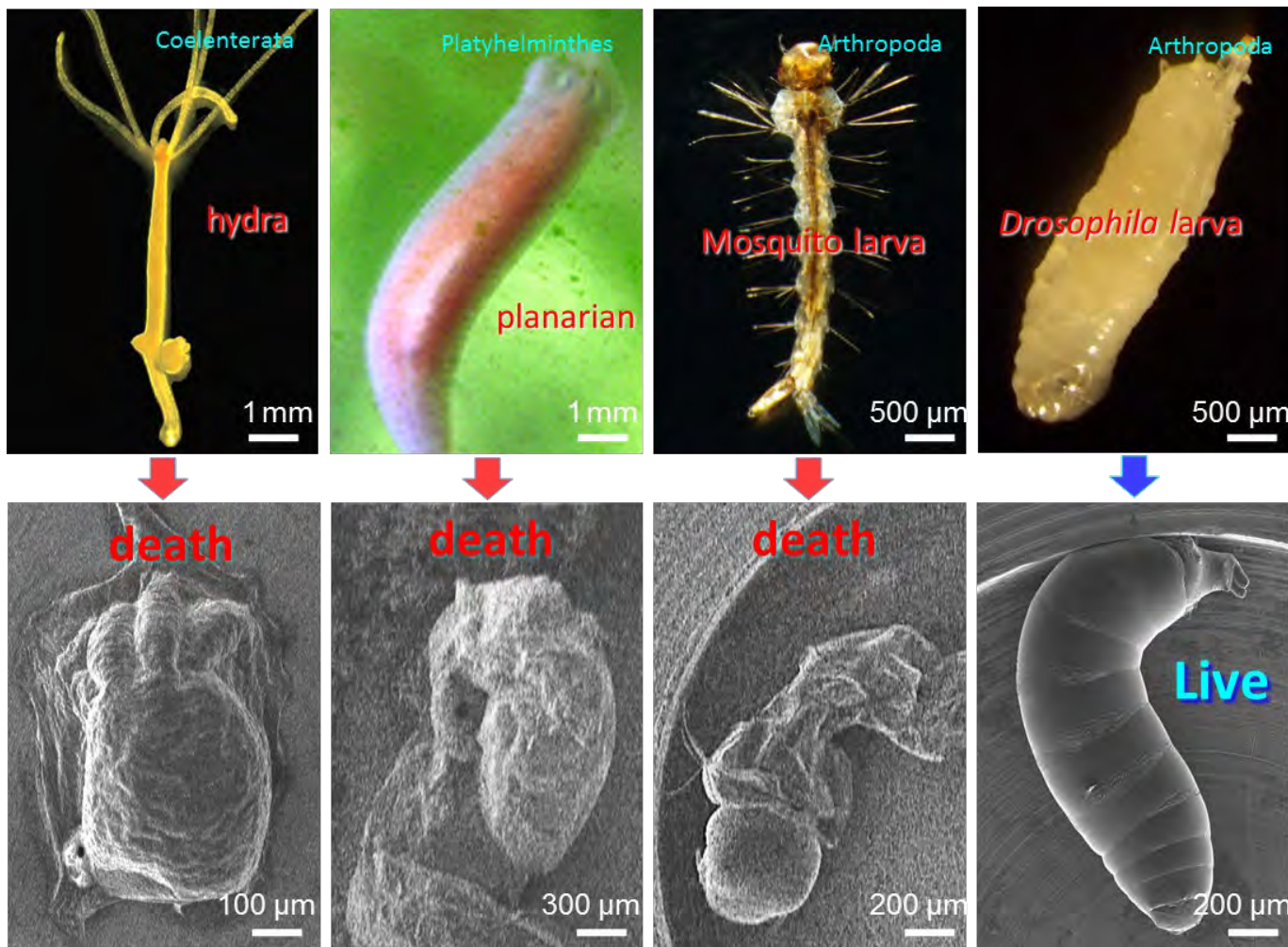
“NanoSuit”

NanoSuit株式会社

NanoSuit® とは

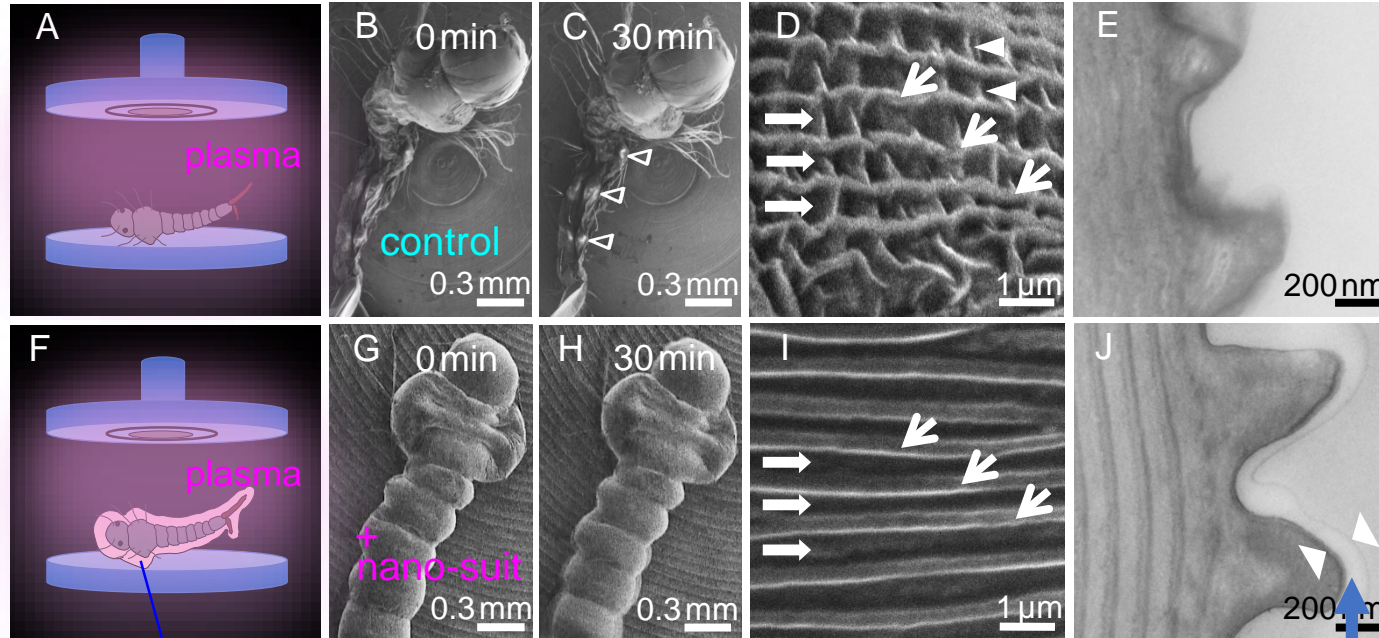
- ◆ 細胞や微生物などの試料を“生きている状態のまま”走査型電子顕微鏡（SEM）で観察できるようにする新しい技術です。
- ◆ “NanoSuit” は試料の表面にごく薄い被膜を形成し電子顕微鏡観察における真空条件下においても試料に含まれる水分を保持して試料の形状を維持します。また被膜は電気伝導性を有します。
- ◆ 使い方は簡単です。“NanoSuit溶液”を試料に1滴加えるだけですぐに電子顕微鏡観察に供することができます。（従来のような煩雑な化学固定を要しません）

開発の経緯



- バイオミメティクスの研究者でもある発明者の針山（浜松医科大）らは、様々な微小な生物を走査型電子顕微鏡で観察しようとしてきました。できる限り生の状態に近い形態観察をするために電顕に生物そのまま入れると、高真空条件により乾燥し死んでしまいました。
- しかし、ある種のハエの幼虫は真空条件下でも形態を保ち生きたまま観察できました。
- 研究グループがこの現象を調べ、ハエの幼虫の表面に分泌された成分が電子顕微鏡の電子線によって重合して被膜を形成し、それが体内の水分を維持していたことがわかりました。
- 研究グループはこの現象をヒントに、NanoSuit技術を開発しました。

技術内容



ECS mimetic substance

NanoSuit

“NanoSuit®”

- 生体適合性高分子の水溶液試料に1滴加えるだけです。
- 電子顕微鏡での電子線照射または事前のプラズマ照射（大気圧プラズマ）で重合して試料表面に被膜を形成します。
- 被膜は電気伝導性を有するので試料表面の電顕観察を阻害せず、試料内部の水分の蒸散を抑えて自然な形状の観察を可能にします。

観察事例（パンジーの花弁表面）

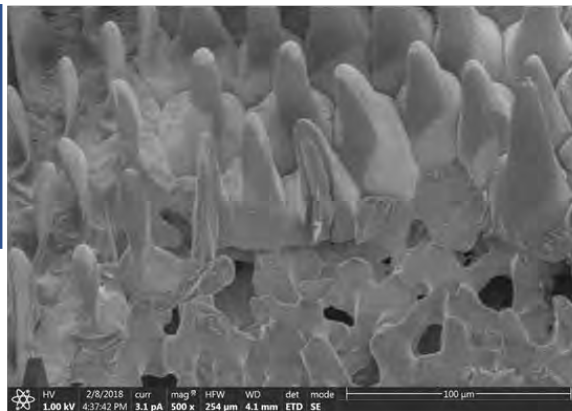
Control



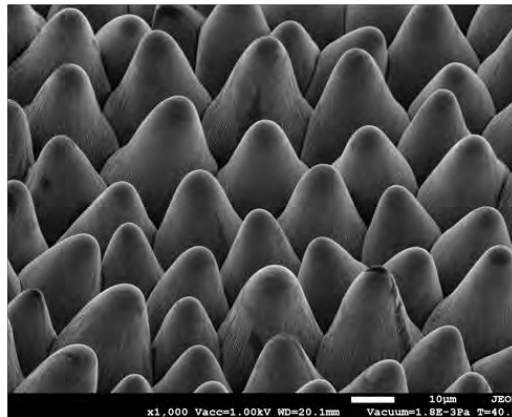
何も処理しないと、真空下で乾燥してしまう

Cryo-SEM

クライオ電顕では凍結による形状変化が避けられない



NanoSuit

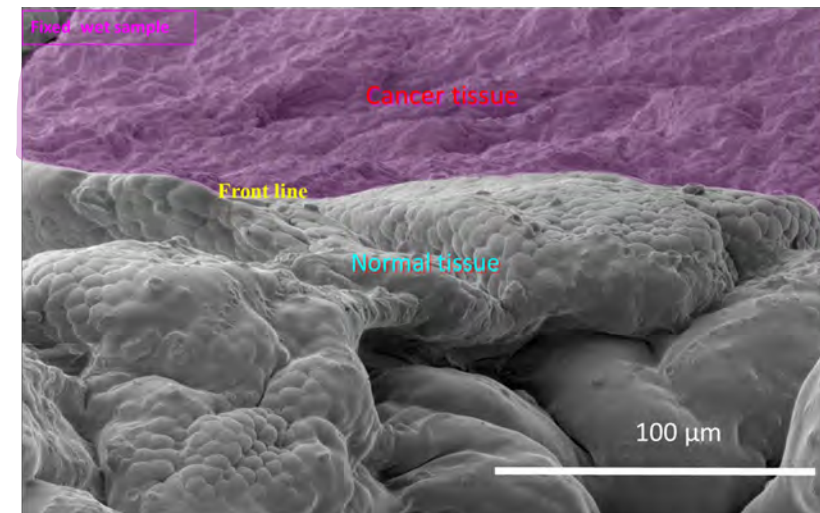
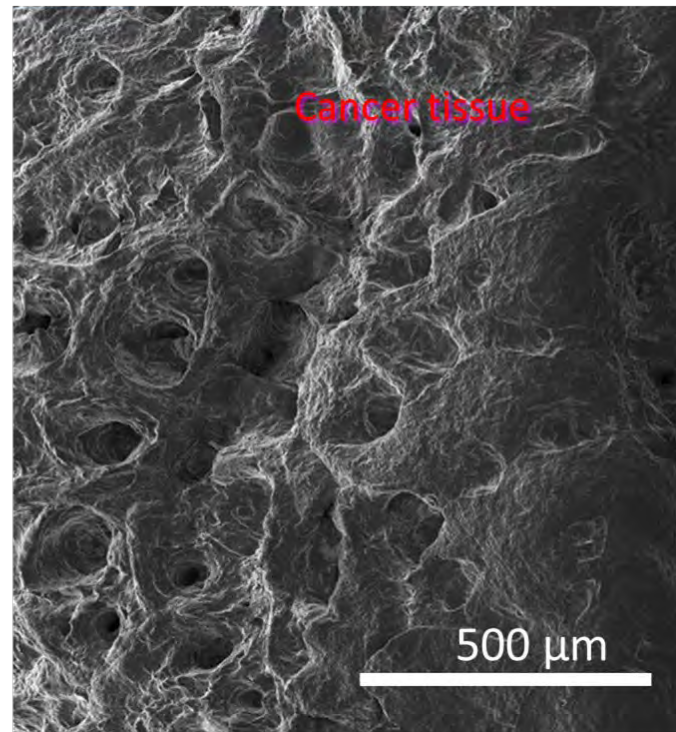
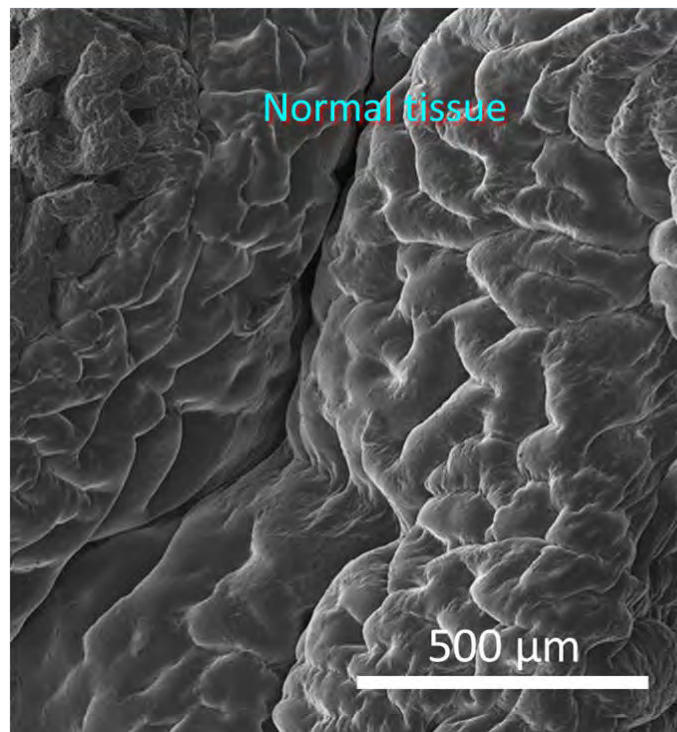


“NanoSuit”が花弁に含まれる水分を保持し形状を維持するので自然な微細凹凸構造を観察することができる

観察事例（生体組織；胃の正常部／胃がん）

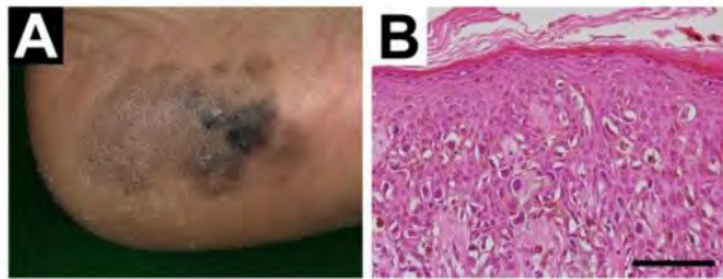
Human Stomach Cancer (normal and cancer tissue)

SSE / nanosuit method



“NanoSuit®” が生体組織のありのままの形状を維持するので、正常組織と胃がん部位の表面構造の違いを明瞭に識別することができる

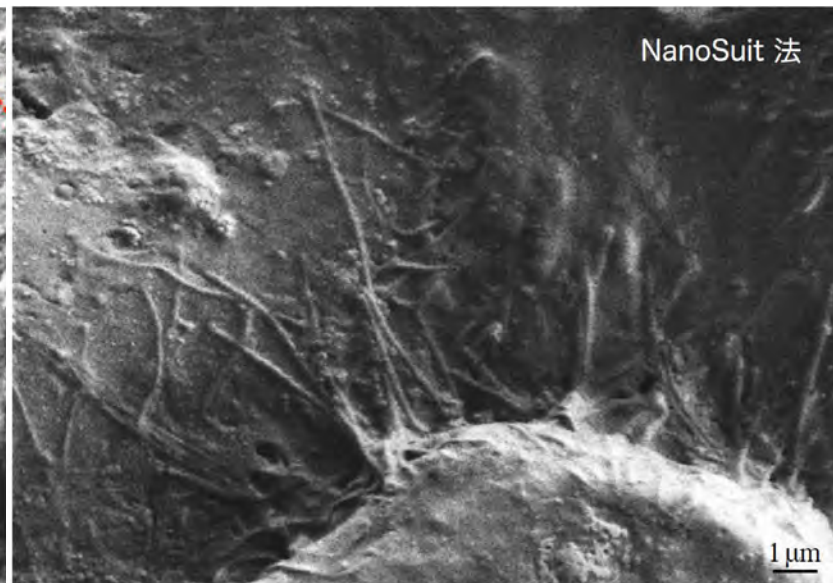
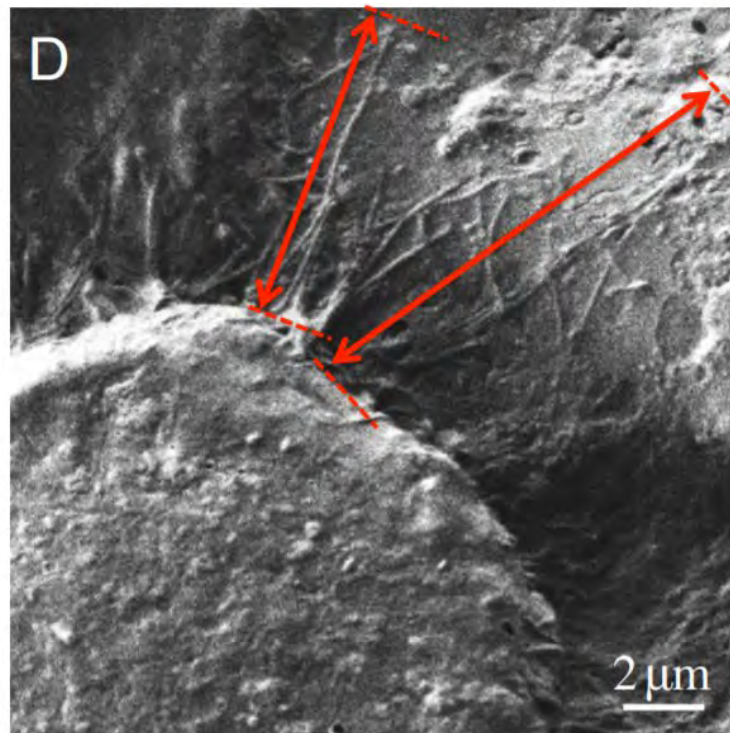
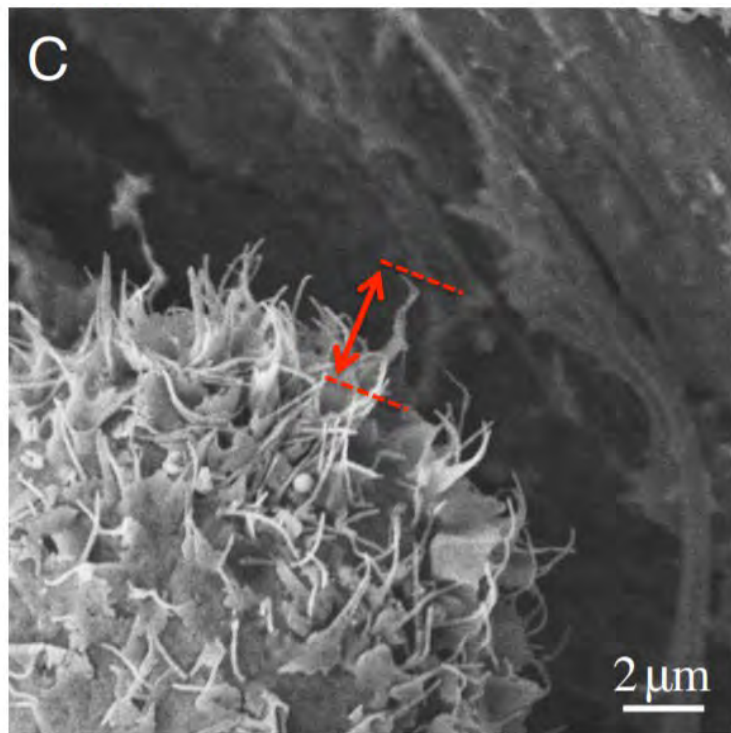
観察事例（がん細胞のフィラメント;メラノーマ細胞）



“NanoSuit®” を用いた観察では、がん細胞から伸びるフィラメントが長く伸びている様子が観察できる。がん細胞をはじめ多様な細胞種の表面の微細構造の維持と観察に有効と考えられる。

Conventional method

NanoSuit method



観察事例（線維芽細胞）

マウス繊維芽細胞のNanoSuit法／従来化学固定法の比較

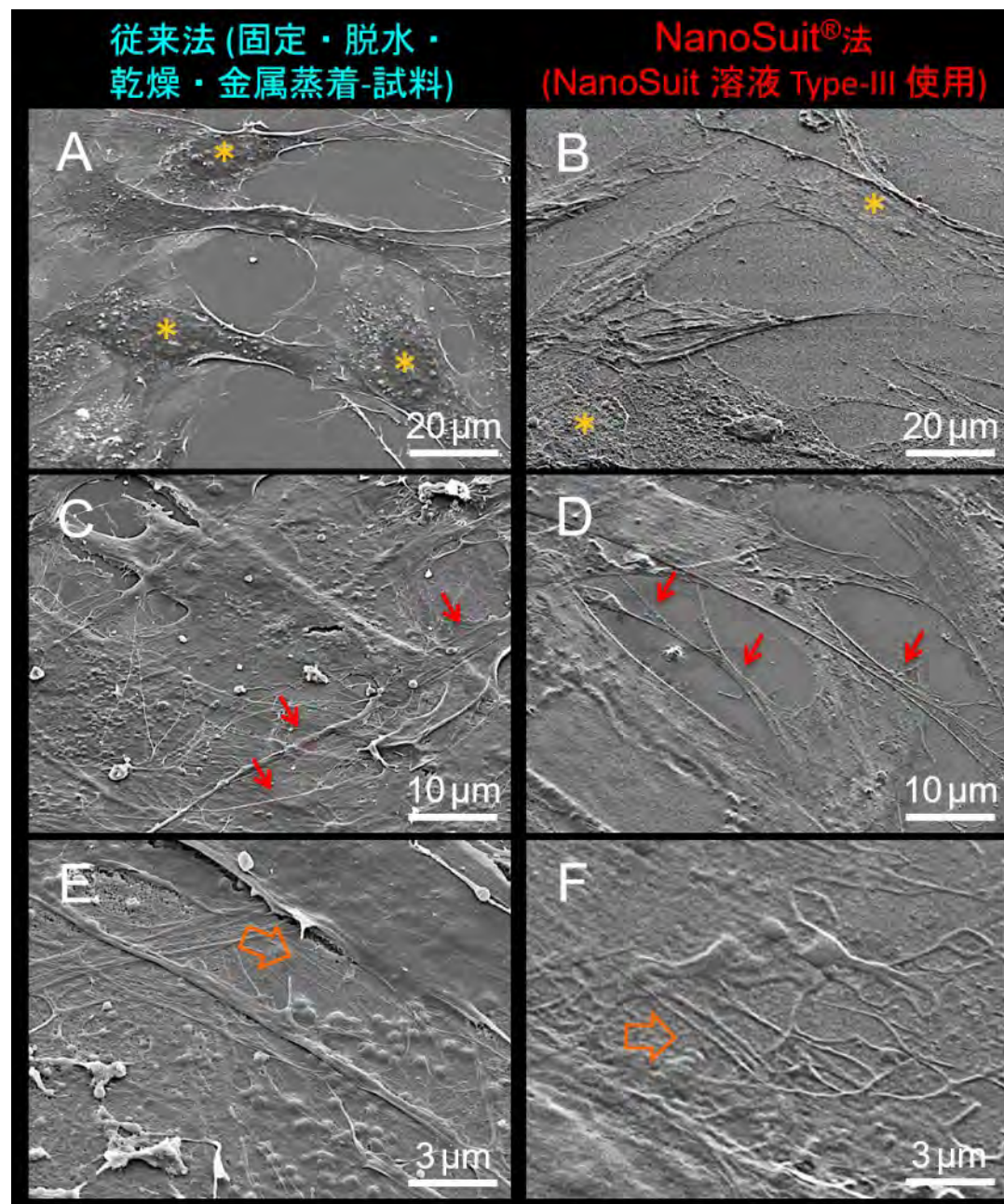
従来法：化学固定/脱水/乾燥/金属蒸着) (A, C, E)

NanoSuit法 (NanoSuit溶液Type-III) (B, D, F)

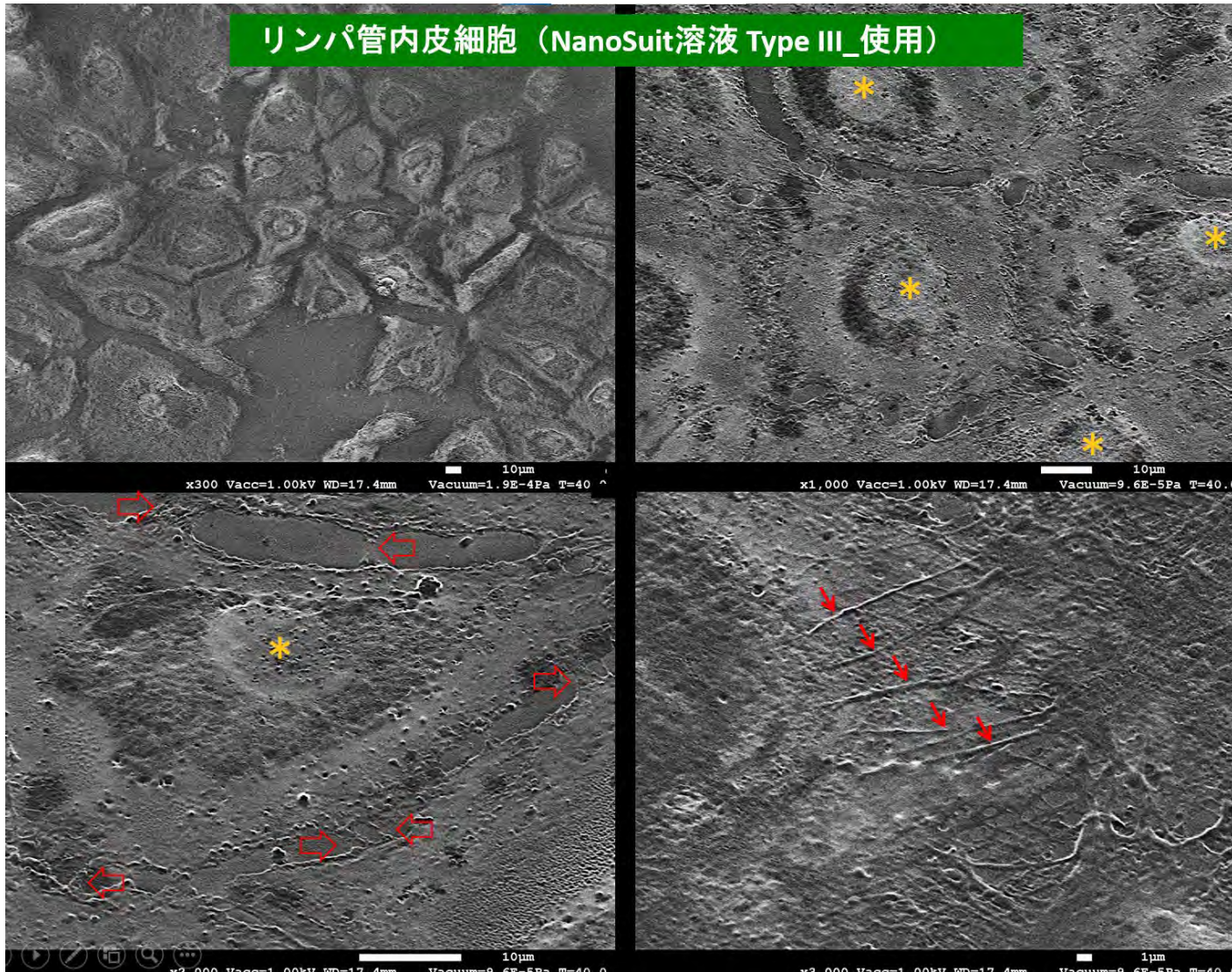
核 (*)が確認される (A, B)。

加えて強拡大すると細胞間にフィラメント状の微細構造が観察される (赤矢印) (C, D)。

これらのフィラメントは従来法では乾燥によりダメージを受けているがNanoSuit法では維持されており互いに結合していることが分かる (E, F) (オレンジ矢印)。



観察事例 (リンパ管内皮細胞)

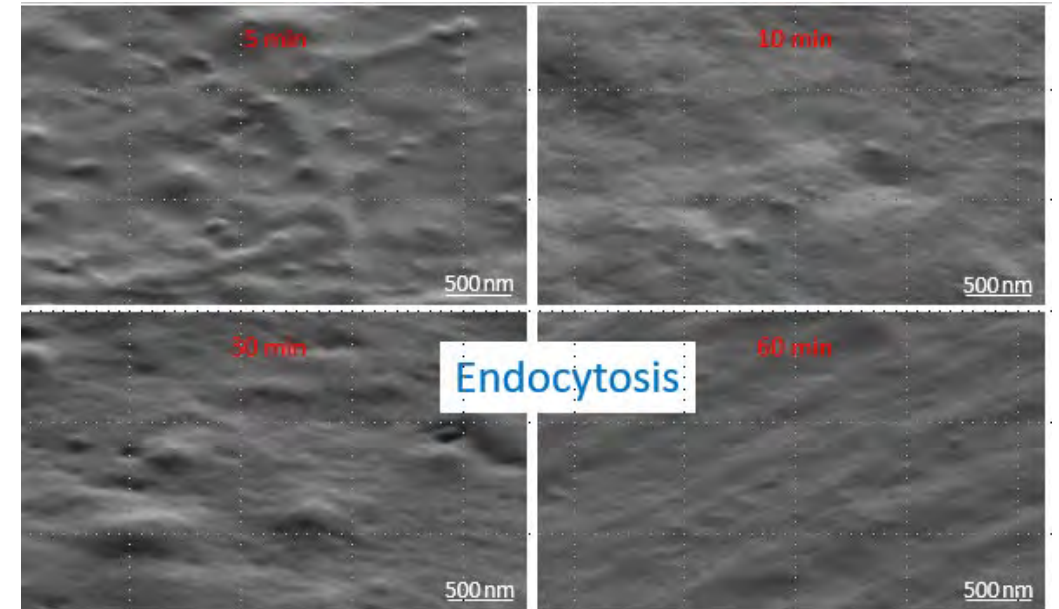
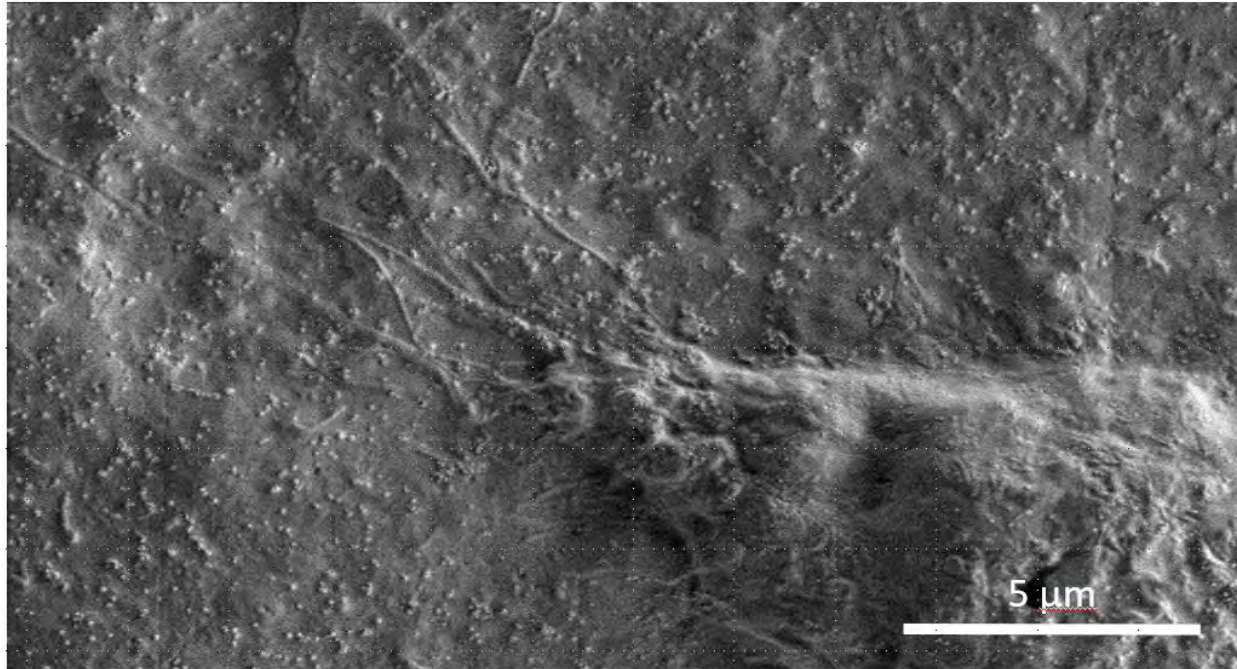


マウスのリンパ管内皮細胞の観察画像

核(*)が確認できる。

強拡大すると細胞間のフィラメント状の微細構造が観察できる (赤矢印)。

観察事例（細胞へのウイルスの侵入（マウス繊維芽細胞））



NanoSuitを用いてマウス繊維芽細胞へのウイルス侵入を観察した。（左写真の小さい粒がウイルス）
右写真；ウイルス播種後5分では細胞表面にウイルスが存在し凹凸がある状態が観察できるが、10分、30分、60分と経過するとウイルスは細胞内に取り込まれ細胞表面が平滑になっていく様子が観察された。

観察事例（食品；魚の筋組織—冷凍の影響）

アマゴ (*Oncorhynchus masou ishikawae*)

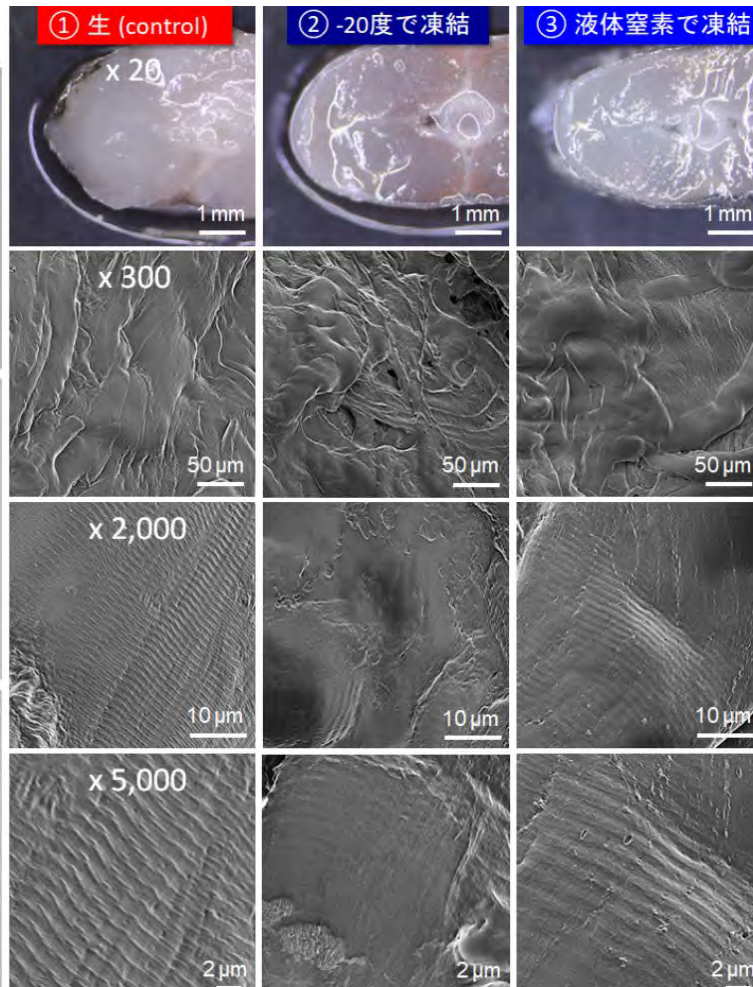
① 生 (control)



② 家庭用フリーザー(-20度)で凍結



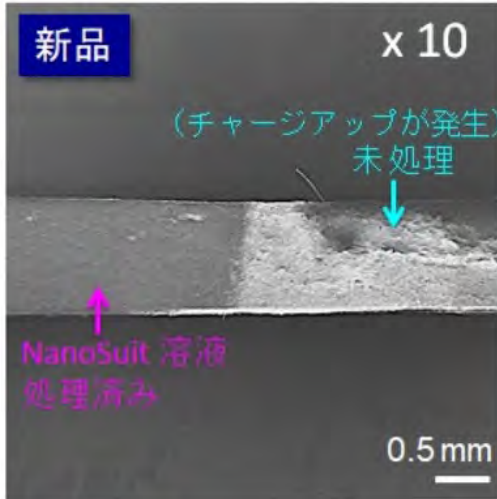
③ 液体窒素で急速凍結



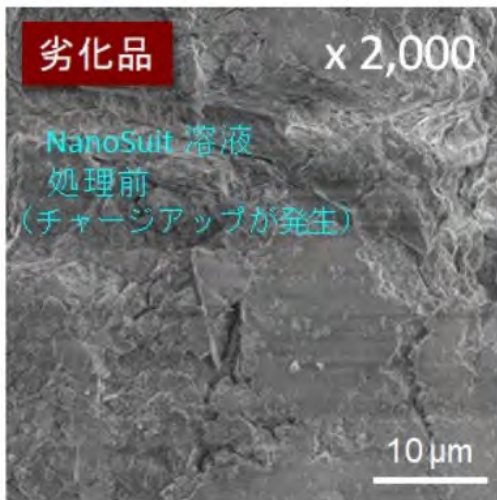
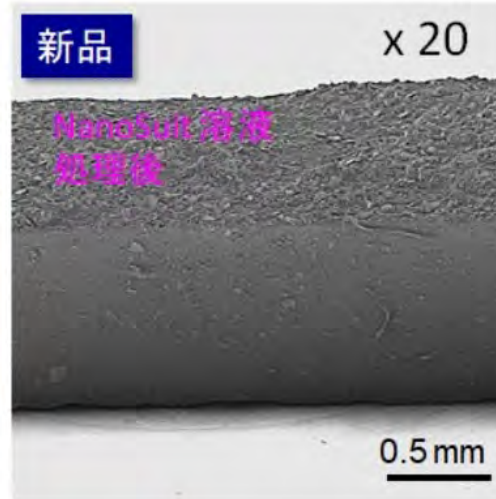
生／通常冷凍—解凍／急速冷凍—解凍、の比較観察

通常冷凍では魚の筋組織構造が失われているが、急速冷凍したものは筋組織構造が維持されていることが分かる。

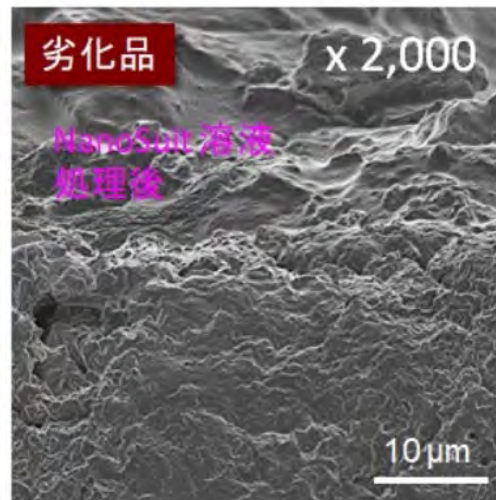
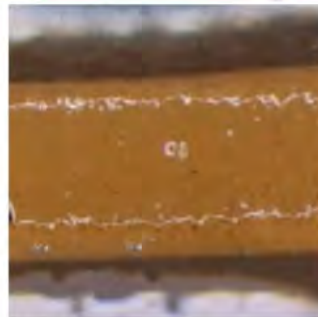
観察事例（材料；輪ゴム）



NanoSuit 溶液で処理



NanoSuit 溶液で処理



絶縁性材料を電子顕微鏡観察するとチャージアップが生じ画像にノイズが乗ってしまう。

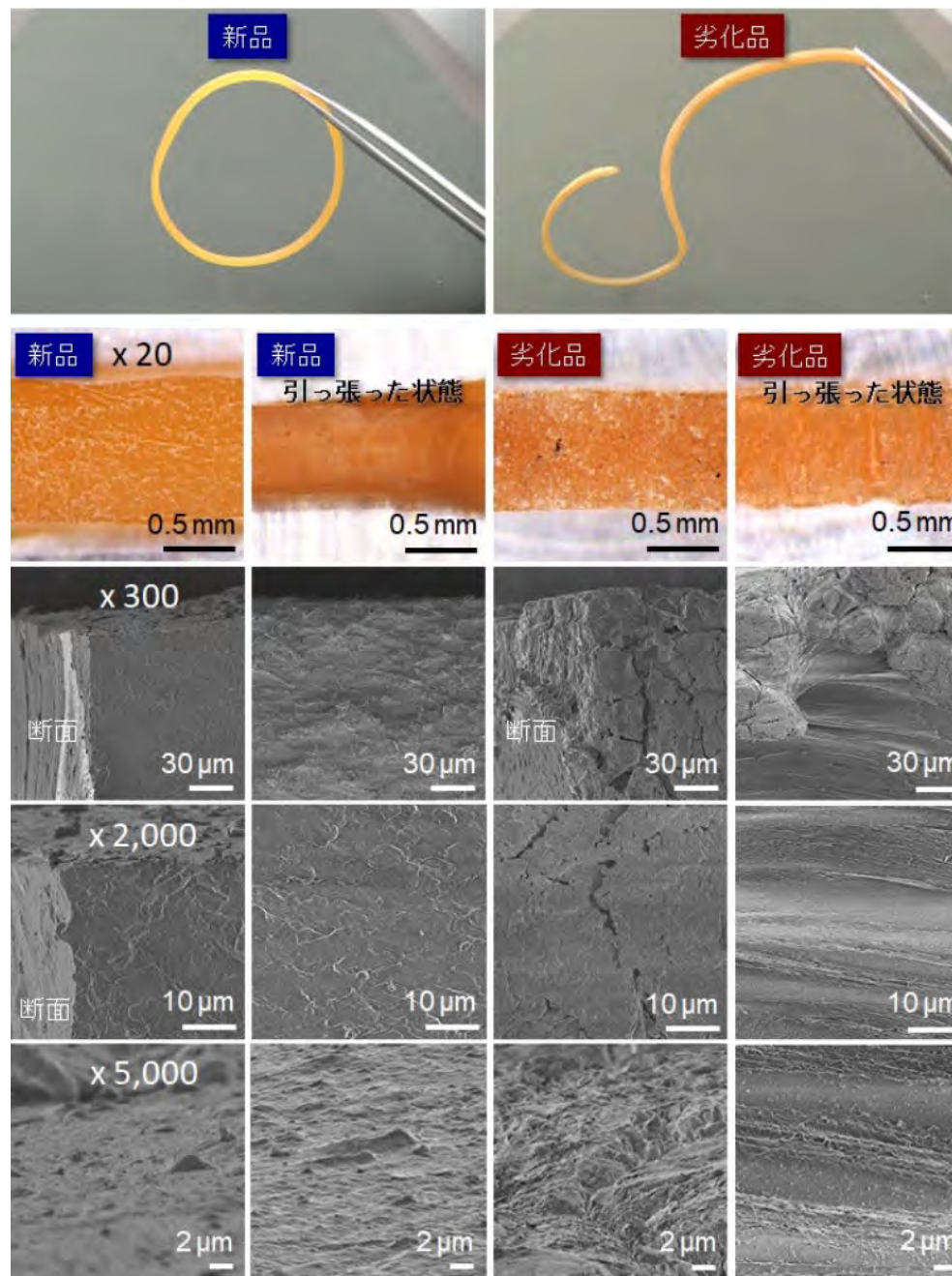
NanoSuit被膜は導電性を有するためチャージアップが低減された観察像を得ることができる。

観察事例（材料；輪ゴム）

NanoSuitによりチャージアップが低減されるため輪ゴムのような絶縁性材料についても簡易な操作*でSEM観察が可能。

* 従来法の金属蒸着に比べ簡易。

但しNanoSuitによって得られる導電性は金属蒸着には及ばないため観察試料および観察条件によって選択してください。



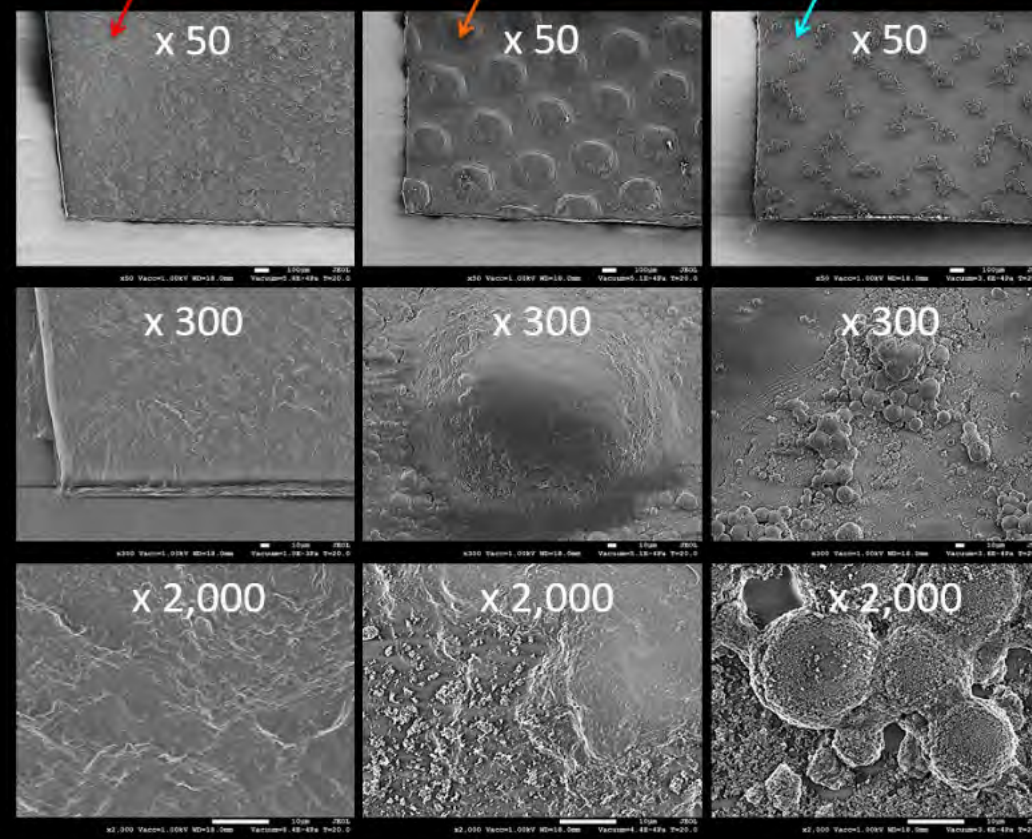
観察事例（材料；表面構造）

NanoSuit溶液 Type Iは表面張力を下げた設計がなされているため多様な素材に塗布しての使用が可能。

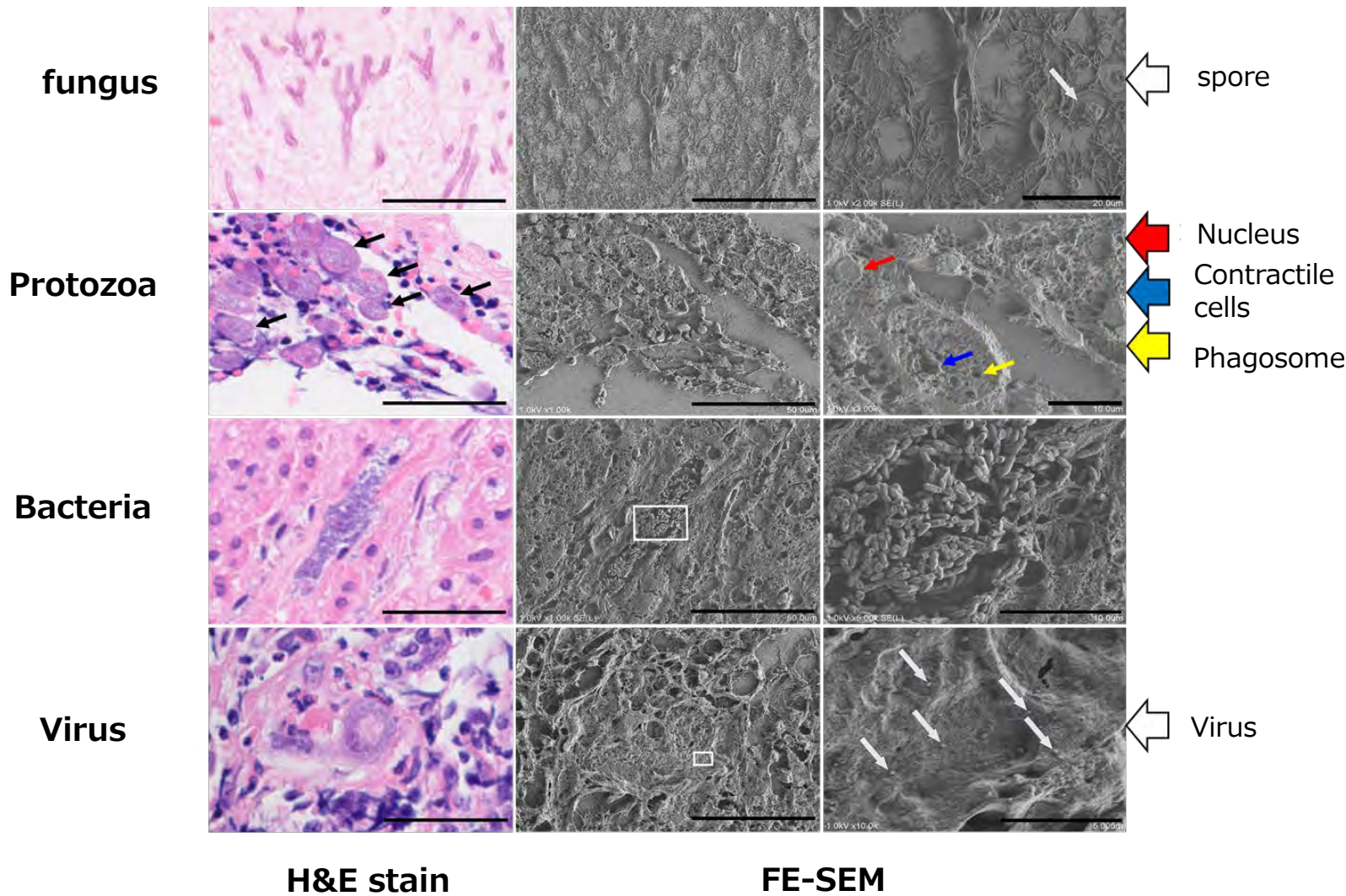
右の写真は微細な表面凹凸により内容物（ヨーグルト）の付着をおさえたフタ紙の裏面のSEM像。

それぞれ異なる微細構造であることがわかる。

ヨーグルトが付着しない蓋_3種 (NanoSuit溶液 Type I_使用)



観察事例 (CLEM; 光-電子相関顕微鏡法)



NanoSuitを用いると光-電子相関顕微鏡法 (CLEM)による観察も容易に行うことができる。

HE染色や免疫染色されたプレパラート標本にNanoSuit溶液を滴下するだけで走査型電子顕微鏡観察に供することができ、光学顕微鏡で得た情報に加えて電子顕微鏡で高倍率で観察した情報を得ることができる。

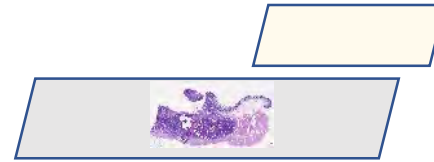
金属蒸着を必要としないので、大切なプレパラート標本を損なわずに電顕観察することができる。

“NanoSuit-CLEM”の観察手順

光学顕微鏡観察



HE染色標本、免疫染色標本 etc.



キシレンなどの適切な溶媒で封入剤を溶かし
カバーガラスをはずす。
そののち親水化処理を行う。

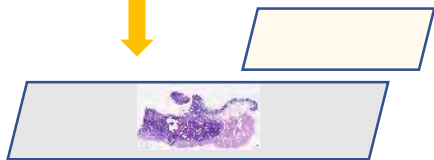


NanoSuit溶液Type IIを試料に加える

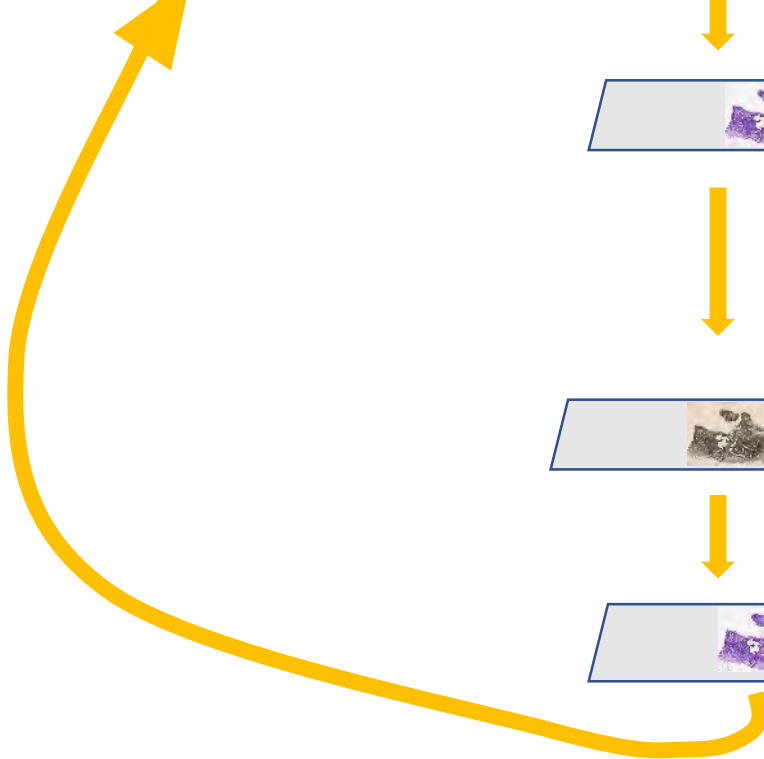
スピナー等を用いて、NanoSuit溶液をひろげる



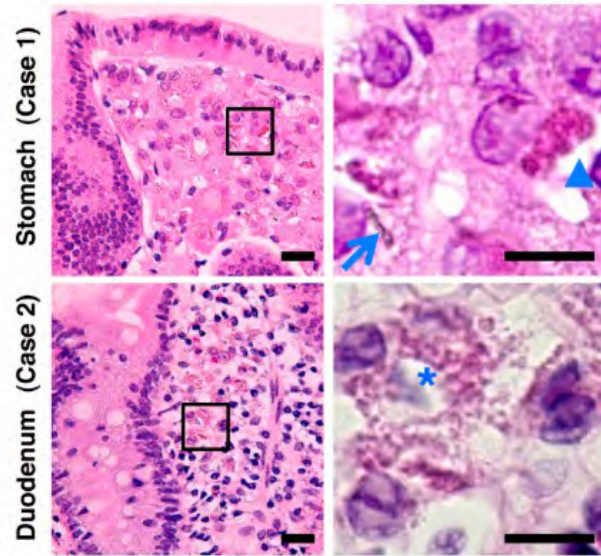
走査型電子顕微鏡観察



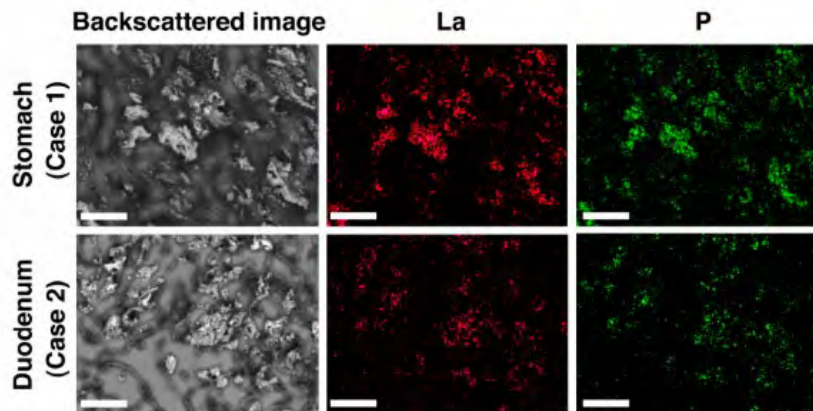
再染色可能
再び封入して試料の保管が可能



観察事例 (SEM-EDS 解析)



(a)



(b)



Article

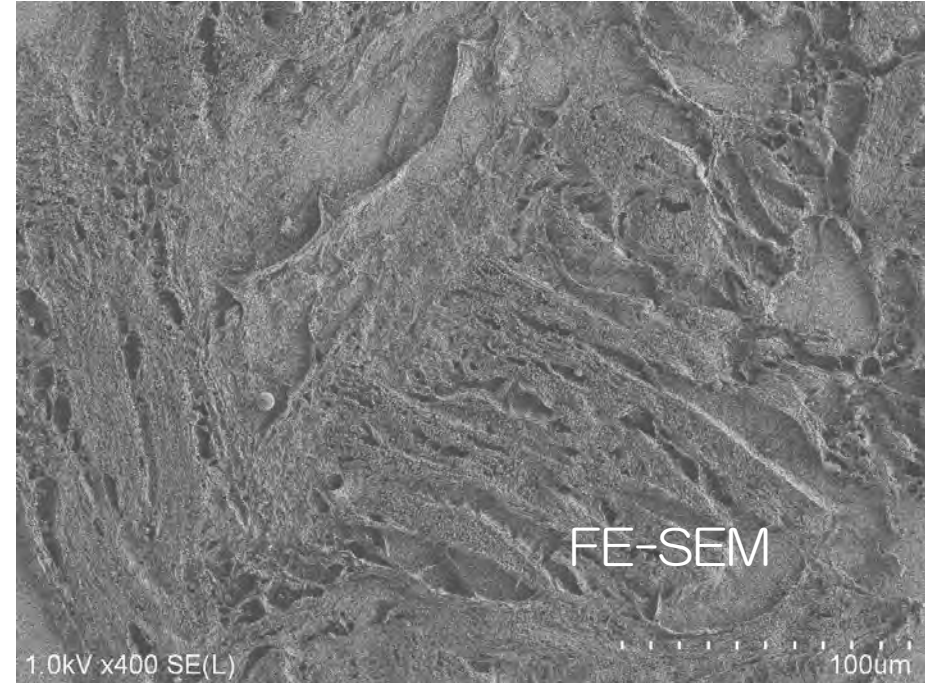
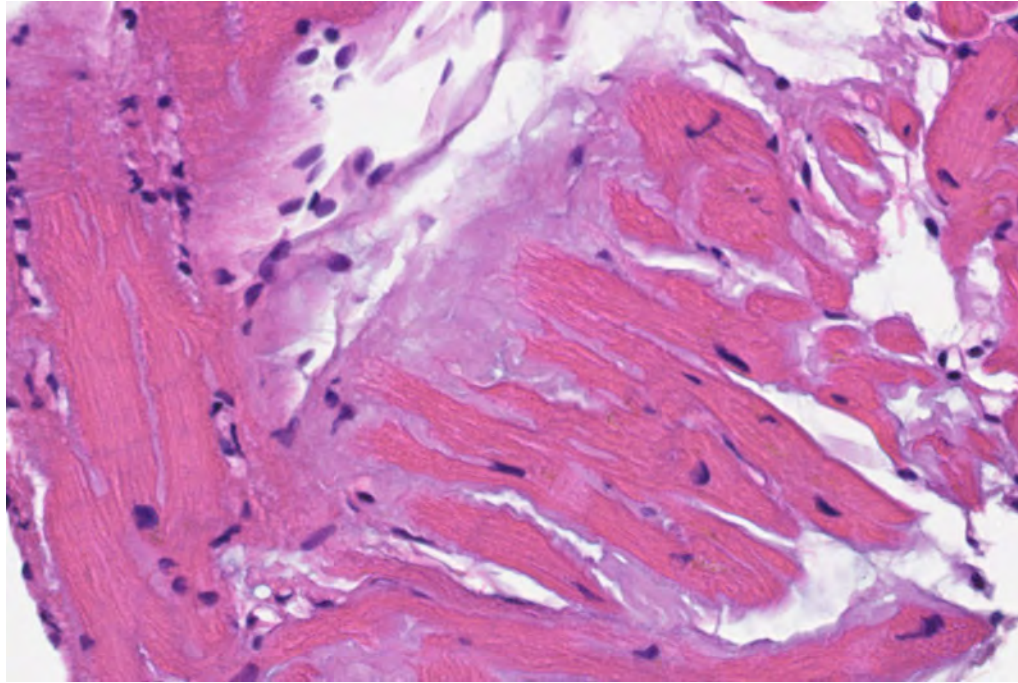
Utility of Scanning Electron Microscopy Elemental Analysis Using the 'NanoSuit' Correlative Light and Electron Microscopy Method in the Diagnosis of Lanthanum Phosphate Deposition in the Esophagogastroduodenal Mucosa

Kazuya Shinmura ^{1,*}, Hideya Kawasaki ^{2,*}, Satoshi Baba ³, Isao Ohta ⁴, Hisami Kato ¹, Hideo Yasuda ⁵, Satoshi Yamada ⁶, Kiyoshi Misawa ⁶, Ken Sugimoto ⁵, Satoshi Osawa ⁷, Masanori Sato ⁸, Takahiko Hariyama ² and Haruhiko Sugimura ¹

Figure 2. Lanthanum phosphate deposition in the stomach and duodenum. (a) Images by light microscopy of H&E-stained gastric and duodenal mucosa containing brown pigment deposition, which was suspected as lanthanum phosphate deposition. Images in the right column are a higher magnification of the boxed areas in the images in the left column. Depositions showing granular, needle-shaped, or amorphous structures are marked with an asterisk, arrow, or arrowhead, respectively. Scale bar = 20 μm (left); 10 μm (right). (b) Lanthanum phosphate deposition in the gastric and duodenal mucosa shown by SEM-EDS analysis using the NanoSuit-CLEM method. Images in the left column are backscattered SEM images showing a bright area in the mucosa. The middle- and right-column images are elemental mapping images using SEM-EDS analysis showing deposition of lanthanum (La) and phosphorus (P), respectively. Scale bar = 25 μm .

観察事例（病理標本）

心筋組織へのアミロイド沈着

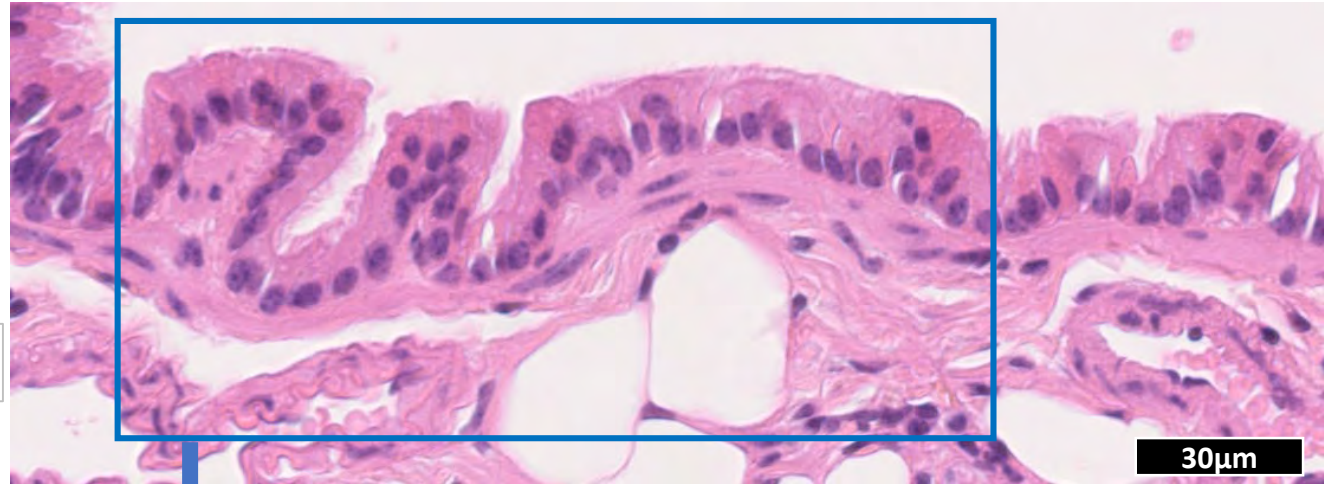


NanoSuit CLEM method

観察事例（組織標本）

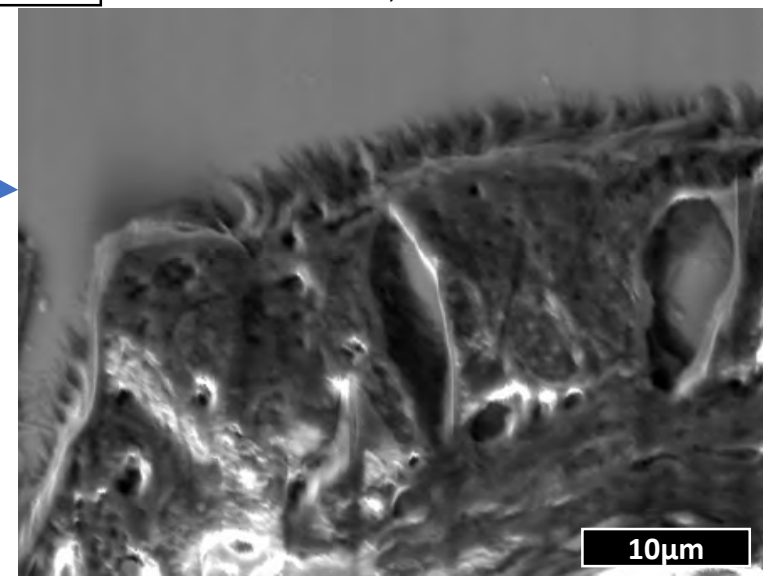
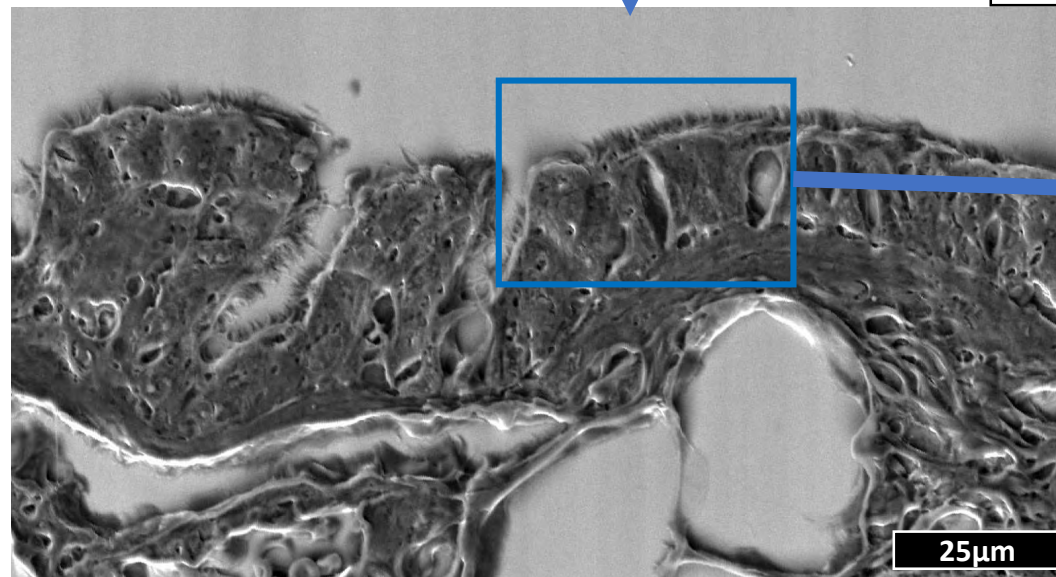
マウスの肺の細気管支支の線毛

HE染色（光学顕微鏡観察）



SEM観察

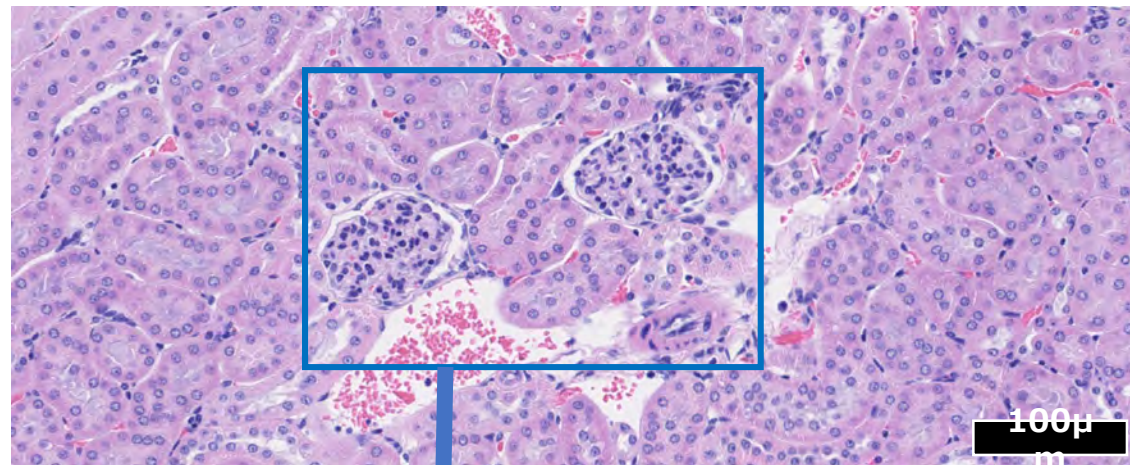
加速電圧10kV, 反射電子モードにて撮影



観察事例（組織標本）

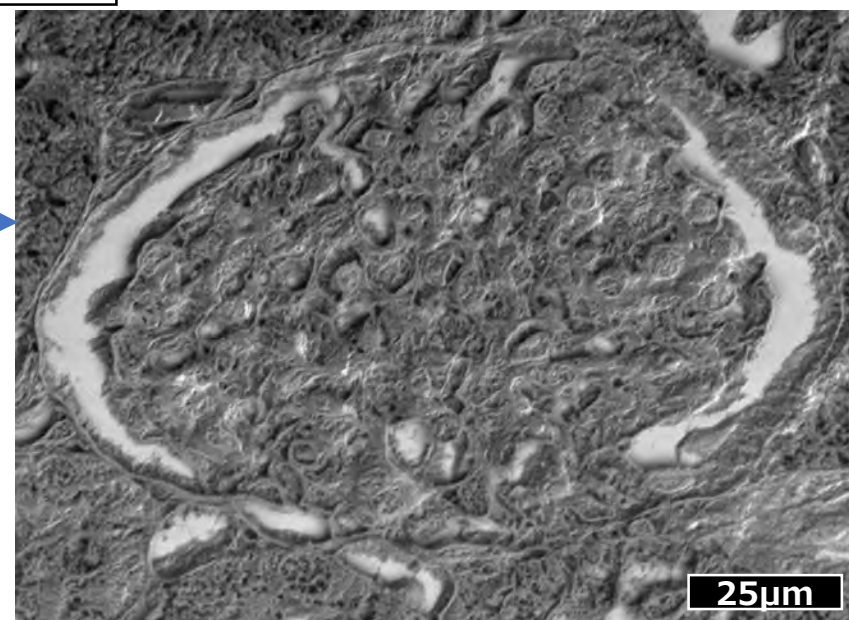
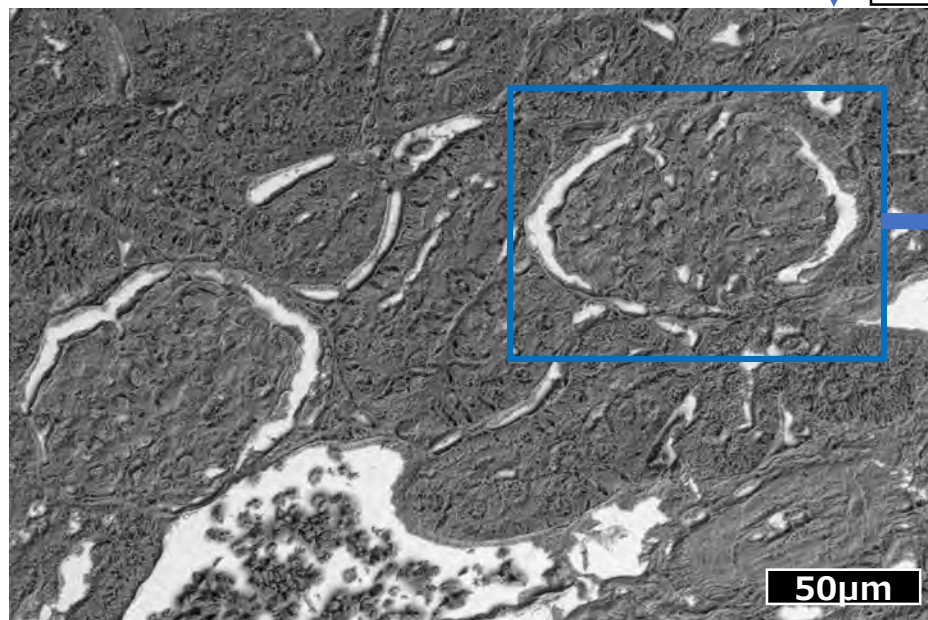
マウスの腎臓糸球体

HE染色（光学顕微鏡観察）

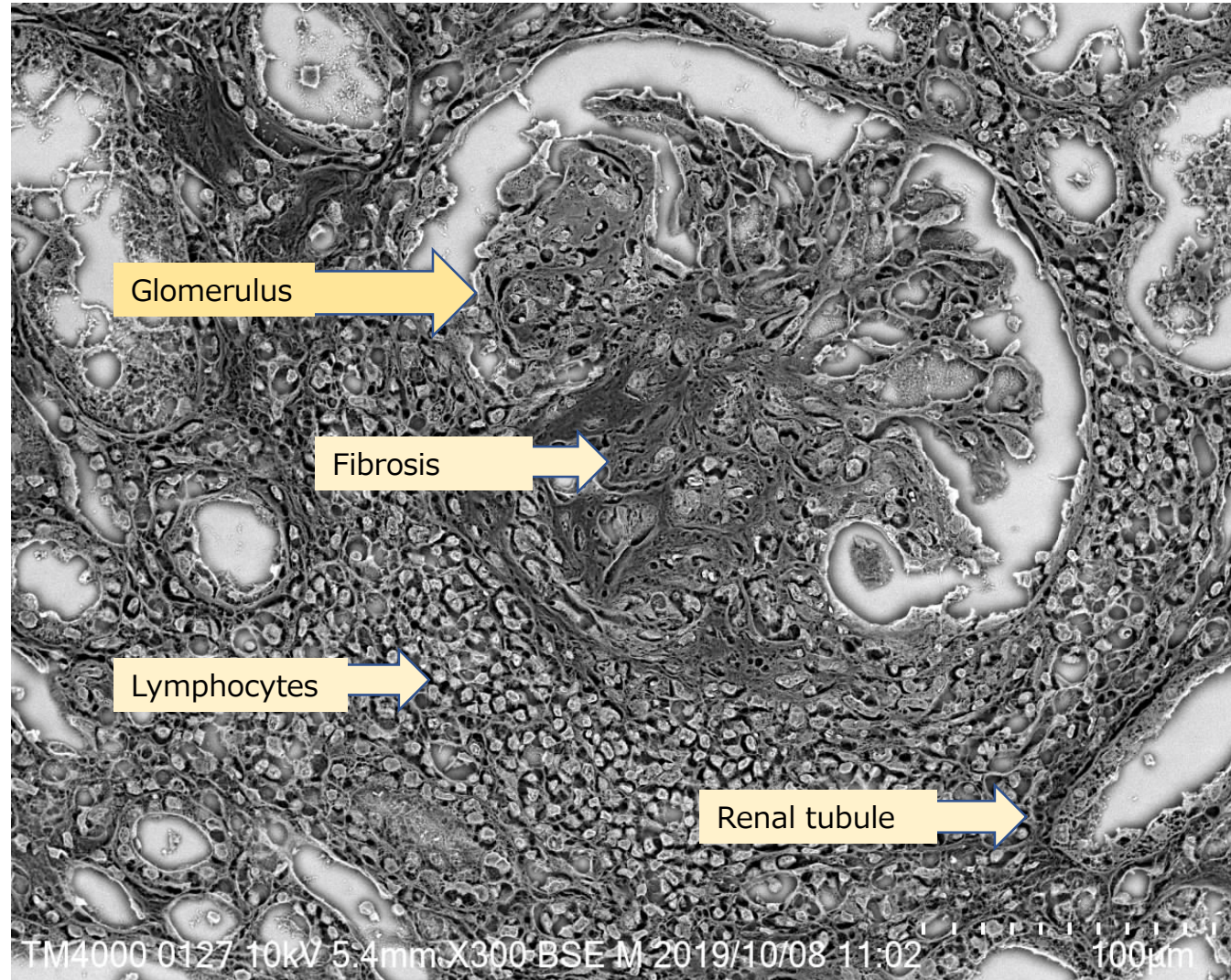


SEM観察

加速電圧5kV, 反射電子モードにて撮影



観察事例（病理標本 - 腎炎）



糸球体の病変や線維化、またリンパ球の浸潤が確認できる。

NanoSuit®溶液 使い方



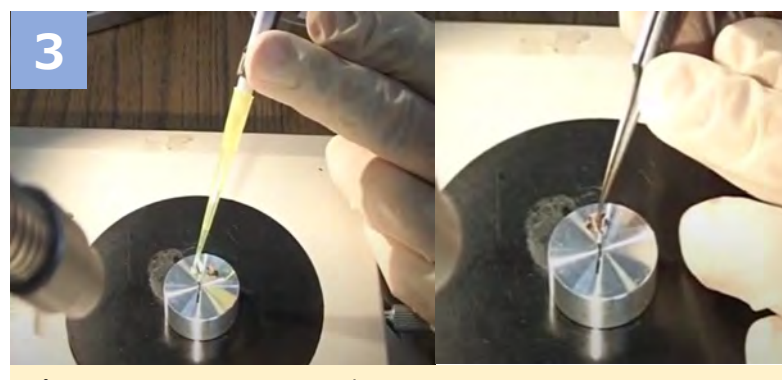
1

実態顕微鏡、ピペット、吸水紙（ろ紙など）、NanoSuit溶液、観察試料を用意



2

試料を試料台に置く



3

ピペットを用いてNanoSuit溶液を試料に滴下



4

余分なNanoSuit溶液を吸水紙で吸い取る（良い観察像を得るために必須）



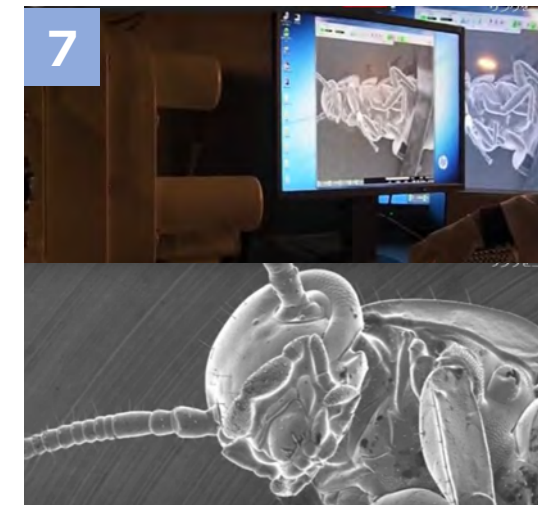
5

必要に応じ試料を導電性テープで固定



6

試料台を電子顕微鏡の試料室に入れて真空引き開始



7

真空引きが終わったらすぐに観察開始
（観察を開始して電子線が照射されたときにNanoSuit膜が形成されます）

Tips

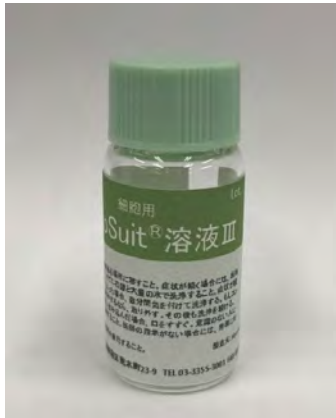
- クリアな画像を得るために試料には最小限のNanoSuit液が残るように余分なNanoSuit液はふき取ってください。
- 真空引きが終わったら速やかに電子線照射して観察を開始してください。



NanoSuit® 溶液 Type I
(微小生物/個体/生体組織用)



NanoSuit® 溶液 Type II
(病理標本・CLEM用)



NanoSuit® 溶液 Type III
(細胞用)

NanoSuit溶液(5ml入り)
お取引先の試薬販売代理店様から購入いただけます
(販売元：日新EM株式会社)

<http://nisshin-em.co.jp/nanosuit/index.html>

NanoSuit株式会社にて
受託解析もお引き受けします
Contact: info@nanosuit.jp

NanoSuit 溶液

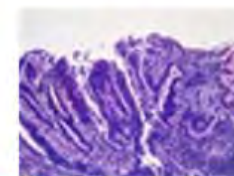
- 溶液タイプ選択のガイド -



微生物
植物
食品
化学材料 etc.

NanoSuit 溶液 I
(微小生物・個体・生体組織用)

(水で希釈すると良い結果が得られる場合があります)



NanoSuit 溶液 II
(病理検体・CLEM用)

パラフィン固定された病理検体標本専用です。

スフェロイド
オルガノイド



細胞
バクテリア



NanoSuit Solution III
(細胞用)

エクソソーム
ウイルス

