

非標識超解像顕微鏡法による 抗体付着ポリマー粒子の動的液中観察

新原理に基づくレーザー走査型顕微鏡は、非染色・非標識で、液中のポリマー粒子を高解像・高コントラストで観察することができる。抗原(抗体)検出法の一つ、ラテックス凝集法に用いられる抗体付着ポリマー粒子に着目し、抗原タンパクとの相互作用による粒子の凝集を観察した。

1. 液中観察に必要な要素

液中の微小な有機系粒子を観察するには？

- ・高分解能
- ・高コントラスト(染色不要)
- ・動的な観察



アストロデザイン社
とアプリケーションを
共同開発

写真提供: アストロデザイン株式会社

2. 顕微鏡の特長

①超解像

非結像検出系で100 nmの分解能
蛍光標識不要

②位相/強度分離

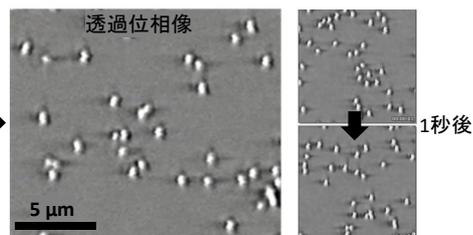
位相情報を抽出することで、
高コントラスト像が得られる
(Takesue, T. *J Microsc* 2021; 283: 178-191.)

③複数条件の同時観察

反射・透過位相・透過強度・透過
偏光の動的観察が可能(15 fps)

3. ポリマー粒子の動的観察

液中のラテックス粒子(粒子径約300 nm)

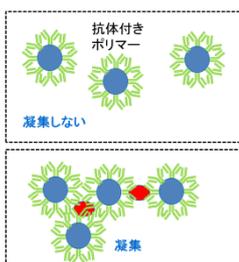


液中の微小なポリマー粒子の
動きを非染色で観察可能

試料提供: JSR株式会社・株式会社医学生物学研究所

4. 抗体付着ポリマーの動的観察

凝集模式図(抗原存在下で凝集)



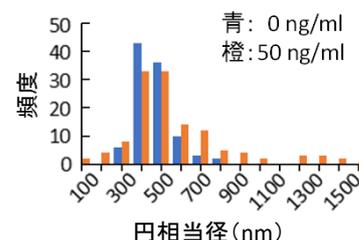
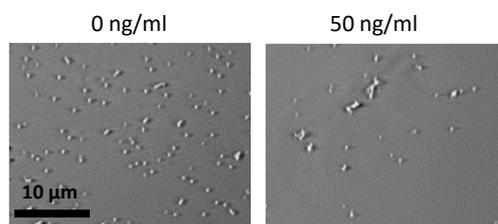
粒子表面に抗体(抗原)を付着させ、抗原(抗体)の存在により凝集を起こす(ラテックス凝集法)。今回、粒子に付着させる抗体は、ポリクローナル(抗原の複数箇所に結合)とモノクローナル(抗原の特定箇所に結合)をそれぞれ用意した。

● ポリマー ● 抗体 ● 抗原

試料提供: JSR株式会社・株式会社医学生物学研究所

①抗原存在下での抗体付着ポリマーの凝集(ポリクローナル抗体)

抗原濃度



液中のポリマー粒子・抗体複合体の動きや凝集過程を撮影し、画像解析。抗原(タンパク)が存在する試料では凝集の粗大化を確認

②抗原濃度による抗体付着ポリマー凝集体の変化(モノクローナル抗体)

抗原濃度 0 ng/ml

400 ng/ml

1600 ng/ml

約10000 ng/ml

約25000 ng/ml



抗原濃度が高くなるに従い、凝集体が大きくなる。一方、ある濃度を超えると、凝集しない(フック効果)

微小な抗体付着ポリマー粒子の挙動について、非染色・非標識で動的液中観察が可能となった

東レリサーチセンターでは、前処理や各種顕微鏡法(光学顕微鏡、電子顕微鏡、原子間力顕微鏡)、画像解析を組み合わせ、液中粒子の詳細な解析に展開可能です。