

良いネガティブ染色像を得るために

1. 試料

- ・十分に精製した高濃度の試料を用います。試料が薄いとモノが見つかりません。精製していない試料を観察しても何を見ているかわかりません。

2. 支持膜の選択

- ・良い支持膜を使っているか？

膜表面が平滑で、電子線に強い支持膜が要求されます。スーパー支持膜またはカーボン支持膜をおすすめします。マイクログリッドも有効です。

3. 試料や染色液を支持膜上にうまく広げるポイント

- ・支持膜は親水化処理しているか？

支持膜を親水化処理していないと、試料の付着と染色液の適度な広がりには困難となります。イオンスパッタ装置で10秒間処理すると支持膜は親水性になります。

- ・試料液はろ紙で十分に吸い取れているか？

三角形にしたろ紙の先端を支持膜面の端に接着させ、完全に試料液を除きます。

- ・染色液の濃度は適切か？

染色液の濃度の目安

試料の大きさ	φ 50nm 前後	EMステイナー	3~5 倍希釈
試料の大きさ	φ 100nm 前後	EMステイナー	5 倍希釈
一般的細菌(500nm~2000nm)		EMステイナー	15~40 倍希釈

4. 懸濁液の成分とEMステイナーの反応によるコンタミ

懸濁液の成分とEMステイナーが反応して沈殿物を生じることがあります。試料を支持膜に載せた後、グリッドを蒸留水に浮かべて2,3回洗浄してからネガティブ染色することをおすすめします。

※ 最大のポイントは、染色手技の工程途中および支持膜上の余分な試料液をろ紙で十分に吸い取った後は乾燥しないようにすぐに染色液に移すことです。

5. 電子顕微鏡撮影時の注意

- ・ネガティブ染色では、しばしば高倍率で撮影することが要求されますので、電子顕微鏡の軸あわせをしっかりと行うことが大切です。特に非点補正は丁寧に行ってください。
- ・また、電子線損傷を受けやすいので、手早くフォーカスを合わせて撮影することも大切です。試料ドリフトにも注意してください（支持膜の選択が重要です）。