

第 28 回電顕サマースクール 2017 講演要旨

2 番 秋元 義弘 (あきもと よしひろ)

講義名：細胞の機能と構造

生物は、様々な機能と形を持った細胞によって構成されている。電子顕微鏡や原子間力顕微鏡などを駆使して細胞内小器官の超微細構造を観察することが可能である。さらに最近では超解像顕微鏡の発達により電顕に匹敵する解像度でかつ生きたまま観察することも可能になってきている。本講義では、主に電子顕微鏡を用いて解明された細胞の機能と形態について解説する。

3 番 箕田 弘喜 (みのだ ひろき)

講義名：電子顕微鏡の物理的基礎

光学顕微鏡ではいくら倍率を上げて、nm スケールの構造を見ることはできない。これは、波である光の回折限界から得られる結論である。高速の電子は可視光よりはるかに短い波長を持つので、電子顕微鏡では $0.1\text{nm}=100\text{pm}$ の分解能も実現されており、ナノ構造の構造解析にはなくてはならない分析装置として幅広く利用されている。ここでは、電子顕微鏡の物理的基礎を解説する。

4 番 福嶋球琳男 (ふくしま くりお) 廣畑 泰久 (ひろはた やすひさ)

講義名：電子顕微鏡の物理的基礎(2)：真空、試料汚染

物質との高い相互作用を持つ電子を利用して拡大像を形成する電子顕微鏡は、鏡体内環境を高真空に維持することで高分解能観察を実現している。本講義では、真空に関する基礎的な物理、ならびに電子顕微鏡で利用されている真空技術などについて解説する。また、真空環境の良否は電顕観察中の試料の汚染(コンタミネーション)とも密接に関係している。試料汚染の原因や対策についても解説する。

5 番 濱元 千絵子 (はまもと ちえこ)

講義名：透過電顕の構造と基本操作

生物試料の微細構造観察だけでなく各種材料評価のための分析装置としても透過電子顕微鏡

(Transmission Electron Microscope: TEM) は多用されている。以前は TEM の操作は敷居が高かったが、最近の装置はコンピュータ化が進み初心者でも簡単に扱えるようになったため、容易にデータを取得することができるようになった。しかし、より良いデータを取得するためには観察目的に応じた調整が必要であり、TEM 本体の仕組みを理解することが大切である。本講義では、最新の TEM の構造や基本操作について丁寧に解説する。

6 番 廣畑 泰久 (ひろはた やすひさ)

講義名：フィルム及びデジタルカメラによる像記録法

フィルムによる画像記録の原理、記録された画像の写真特性曲線、画質を決定する因子(感度、粒状性、解像度等)についてデジタルカメラによる画像と比較して説明する。またデジタル画像の処理と保存に関する留意点について説明する。

7番 多持 隆一郎 (たもち りゅういちろう)

講義名：走査電顕の構造と基本操作 (構造と機能、基本操作、保守)

走査電子顕微鏡 (SEM) は、比較的容易な試料前処理で低倍率から高倍率までを立体的に観察できることから、生物分野でも広く利用されている。最近では、さらに試料前処理を簡素化するために、低真空 SEM や大気圧 SEM など商品化されている。サマースクールでは、SEM の構造、基本操作に加え、性能を維持するための保守についても講義する。

8番 豊岡 公德 (とよおか きみのり)

講義名：走査電顕試料調製法

走査電顕観察する場合、試料の種類や状態、観察目的、使用する走査電顕の機能や性能によって、多種多様な走査電顕試料法の中から選択する必要がある。例えば、表面構造観察か細胞内構造観察かなど、目的により固定法から乾燥法、蒸着法まで大きく異なる。本講義では、代表的な走査電顕試料調製法を紹介するとともに、目的に応じた調製法について解説する。

9番 太田 啓介 (おおた けいすけ)

講義名：SEM 連続断面観察を用いた 3次元再構築の基礎と応用

SEM でブロックフェイスイメージング法を用いると、試料ブロックの表面から TEM 像のような画像を得ることができる。この原理を用いて、試料の連続断面を観察すると 3次元再構築をすることができる。連続断面の作成法によりアレイトモグラフィ、FIB-SEM、SBFSEM などの方法があるが、TEM の連続切片法に比べ組織レベルの 3次元再構築が容易になった。ここでは、その原理とそれぞれの手法の適用について解説する。

10番 繁野 雅次 (しげの まさつぐ)

講義名：走査型プローブ顕微鏡の生物試料への応用

走査型プローブ顕微鏡 (SPM) の概要と基本原理、生物試料への応用について、基礎的な内容から今後の可能性について概論する。

12番 立花利公 (たちばな としあき)

講義名：固定・脱水・包埋の基礎

一般的な動物試料の固定・脱水・包埋

一般的な動物組織は 70%の水分を含み、そのままでは柔らかく、軽元素で構成されており、自己融解を起こして時間とともに構造が変化していく。このようなものを超薄切片法による電顕の試料にするために、固定・脱水・包埋が必要となるが、それについてビデオを用いてわかりやすく話す予定である。

13番 勝又 修 (かつまた おさむ)

講義名：様々な固定法 灌流固定法

灌流固定法は、主に左心室から固定液を注入して血管を介して素早く全身を固定する手法である。

特に心肺停止後に迅速な切り出しや固定が必要とされる脳組織や脊髄、精巣、肺などの固定に多用される。今回は、ラット、マウス、マウス胎仔の灌流固定の手技について実際の作業動画を交えて講義する。

14番 西川 純雄（にしかわ すみお）

講義名：硬組織の固定と脱灰法

硬組織を含む生物試料の透過型電子顕微鏡観察のための固定や脱灰について、特にげっ歯類の歯を材料に用いて解説する。とりわけ免疫電子顕微鏡を駆使して研究を行ってきたので、その経験を述べたい。また、蛍光標識を電子顕微鏡的に検出する photoconversion 法を紹介する。また、核のリボヌクレオプロテインを染色する EDTA-regressive staining を説明する。

15番 川崎 通夫（かわさき みちお）

講義名：植物組織の固定法

植物の体は動物などの他の生物とは異なる形態・構造的特徴を有することから、植物の化学固定を行う際には特有の注意点がある。特に高等植物では多様な器官、組織および細胞が認められるため、化学固定の際には試料に応じた工夫も求められる。ここでは草本植物における化学固定法の注意点や工夫すべき点について主に説明する。

16番 山田 博之（やまだ ひろゆき）

講義名：微生物の固定法

透過電子顕微鏡観察のための細菌の固定法について、急速凍結法を中心に紹介させていただきます。

17番 大野 伸一（おおの しんいち）、大野 伸彦（おおの のぶひこ）、寺田 信生（てらだ のぶお）

講義名：凍結技法の基礎と新展開 動物臓器の機能形態像を探る

ヒトや実験動物等の細胞組織は、通常では70~80%の水分を含んでおり、そこでの生理的機能は、常に液状の微小環境下で行われている。したがって、生きた動物生体内臓器での生理的機能を解析するためには、その微小環境にある試料標本を作製する必要がある。そのために切除した臓器試料を速やかに急速凍結し、凍結置換固定法や凍結切断エッチング法で検討してきた。本講義では、凍結による試料作製法の基礎的事項について概説し、さらに革新的なクライオ生検法と生体内凍結技法についても紹介する。

18番 諸根 信弘（もろね のぶひろ）

講義名：Rapid-freeze, freeze-replica electron microscopy

細胞構造を比較的高い分化能で観察するための、急速凍結法とフリーズレプリカ調製法をご紹介します。

20番 幸喜 富（こうき とむ）

講義名：超薄切片法

超薄切片法は、試料を透過電顕観察に適した厚さとなるよう薄く切る方法です。金属片、樹脂ブロック、凍結ブロック等、様々なものを薄切できますが、ここでは樹脂包埋生物試料の超薄切片法について述べます。トリミング、面出し、準超薄切、精密トリミング、超薄切、といった作業工程を実際の手順に沿って案内していきます。超薄切には主にダイヤモンドナイフを使いますが、安価なガラスナイフの作製法も併せて紹介します。

21 番 山口正視（やまぐち まさし）

講義名：電子染色法

電子染色法は、超薄切片を重金属溶液で処理することによって、生物試料のコントラストを高める方法である。通常、染色剤として、酢酸ウラニルと鉛塩が用いられる。講義では、染色チューブ法を紹介する。ネガティブ染色法も、電子染色法の1つであり、支持膜に載せた細菌やウイルスを観察するために有用である。また、試料支持と支持膜に関しては、透過電顕撮影で重要な項目なので、この時間に解説する。

22 番 福嶋 球琳男（ふくしま くりお）

講義名：電子顕微鏡の歴史

時代のニーズとこれを実現するための技術の発展とがうまくかみ合った時、既存の技術からの脱却が可能となり飛躍・革新が生ずる。電子顕微鏡の誕生もそうした流れの中にあった。本講義では電子顕微鏡が発明された背景とその後の発展を説明する。また、日本国内における電子顕微鏡の発展についても簡単に説明する。さらに、電子顕微鏡に関連する事柄について様々な切り口からの歴史についても簡単に紹介したい。

23 番 勝又 修（かつまた おさむ）

講義名：免疫組織細胞化学の基礎と応用（1）1)LSM を用いた蛍光観察法

LSM（共焦点レーザー顕微鏡）は、組織細胞を蛍光物質で染色してその断面をスライスして物質の局在を見るシステムである。近年は生物学全般の研究施設で多用されているが、今回は組織切片や培養細胞を用いた免疫蛍光染色を例に基礎的な標本作製法のポイントや注意点について講義する。

25 番 秋元 義弘（あきもと よしひろ）

講義名：免疫組織細胞化学の基礎と応用 1)包埋前染色法

免疫（抗原抗体）反応を用いた免疫組織細胞化学は物質の局在を調べるための有効な手法である。さらに、電子顕微鏡を用いて行う免疫電顕は、組織や細胞内での物質の局在を分子レベルで調べることが出来る。免疫電顕には、免疫反応を樹脂包埋する前に行うか後に行うかによって包埋前染色法と包埋後染色法とがある。本講義では、包埋前染色法について、基本的な手技と実際に行う際の注意点について解説し、その応用例について示す。

26 番 山下 修二（やました しゅうじ）

講義名：免疫電顕法 包埋後染色法と抗原賦活化

包埋後染色法は超薄切片上で免疫組織化学反応を行うため、包埋前染色法に比べ反応の再現性と信頼性に優れる。しかし試料作製のため脱水・樹脂包埋を行い、抗体は切片の表面に露出した抗原とのみ結合するため、反応の感度は低い。今回は包埋後染色法の手法、注意点を解説する。さらに加熱処理による抗原賦活化の包埋後染色法への応用と、その有効性について述べる。

27 番 佐藤 主税（さとう ちから）

講義名：環境型ハイブリッド SEM の基礎と応用

柔らかな細胞や組織を、水環境中で高分解能観察したいというのは自然な願望であろう。ここでは、生体組織をアルデヒド固定するだけで、水中で観察できる大気圧走査電子顕微鏡法について解説する。近年、培養細胞・組織・細菌や、物性現象の動的な観察などにも用いられてきている。ここでは、主に試料の前処理と電顕操作・観察のコツに関して、観察例と共に具体的に説明する。

28 番 金子 康子（かねこやすこ）

講義名：位相差電子顕微鏡の基礎と応用

光学顕微鏡では、生きている細胞の構造を無染色のままコントラストをつけて観察するために、位相差法や微分干渉法が古くから実用化されている。同様の原理で無染色の試料を電子顕微鏡観察することを目指して開発されたのが位相差電子顕微鏡法である。この方法を用いることにより、どのような構造を観察することが可能となるのか、実際の観察例を紹介しながら、位相差電子顕微鏡のしくみと意義、現状と将来の可能性について説明する。

29 番 植松 勝之（うえまつ かつゆき）

講義名：デジタル画像処理の基礎

現在の電子顕微鏡画像として主流になったデジタル画像ファイルは、比較的容易にレタッチが可能であるが、近年、画像の調整不足と思われる写真が散見する。そこで、本公演では、良質な画像を得るために、基本的なレタッチ法（明るさ・コントラスト調整、解像度変更等）やタイリング方法（画像をつなぎ合わせ一枚の合成写真を得る方法）について解説する。