

医学生物学電子顕微鏡技術学会

第31回 学術講演会および総会

バイオイメーキング連携

—蓄積した技術の継承と
機能解析への挑戦—

会期：2015年6月19日(金)～21日(日)

会場：名古屋市立大学桜山キャンパス「本部棟4階ホール」



主催 医学生物学電子顕微鏡技術学会

Japanese Society of Electron Microscopy Technology for Medicine and Biology

<http://emtech.jp/event/>

目 次

I. ご挨拶	1
II. 講演会および総会日程表	2
III. 会場のご案内	3
IV. 参加者の皆様へのご案内	5
V. 発表者ならびに座長の皆様へのご案内	7
VI. 学術講演会プログラム	8
VII. 講演要旨	
特別講演 I	15
特別講演 II	19
教育講演	21
市民公開講演	23
ワークショップ I	27
ワークショップ II	31
ワークショップ III	34
一般演題（口演発表）	42
一般演題（展示発表）	46
VIII. ポスター	
第 31 回学術講演会および総会	58
公開講演企画（公開講演・ミクロの写真展）	59
実行委員会事務局案内	60
実行委員一覧	60
平成 27, 28 年度の本学会主催事業のご案内	61
協力企業一覧	62

I. 第 31 回学術講演会開催にあたり

この度、第 31 回学術講演会を 2015 年 6 月 19 日（金）～21 日（日）の 3 日間、名古屋市の名古屋市立大学医学部桜山キャンパスにて開催させていただくこととなりました。

本学会は医学・生物学分野における電子顕微鏡技術研究を進め、その発展と普及を図り、これを以て広く社会に貢献することを目的としております。このような目的を達成するため、充実した学術講演会プログラムを企画すべく実行委員一同鋭意準備を進めております。

今回「バイオイメーシング連携」をメインテーマとしました。近年、医工連携が加速し、装置の開発、解析ソフトウェアなどの高度化は目覚ましく、電子顕微鏡を含めた多くの形態学的アプローチに革新的な展開が加わり、タンパク質の構造解析が進んでいます。今後はそれらの分布や動態を探ることで生体内での機能状態が明らかにされると考えます。それには分野を越えた連携や多様なイメージング技術の融合が不可欠であり、最適な試料作製技術が求められます。

このような着眼点のもと、バイオイメーシング技術の連携と機能解析に注目し、講演を企画しました。特別講演 I では、電子顕微鏡をはじめ様々なイメージング手法を活用し、ミトコンドリア分裂装置を発見され、今なおオルガネラ分裂の解明に挑んでいる黒岩常祥東京大学名誉教授（日本学士院会員）に「超微形態観察が細胞世界の真理を暴く—ミトコンドリア、ペルオキシソーム、そして葉緑体の 3 分裂マシンの発見から—」について、特別講演 II は、ノーベル賞技術である超解像顕微鏡を取り上げ、「超解像顕微鏡と電子顕微鏡が拓くバイオイメーシングの新時代」と題して岡田康志先生（理化学研究所生命システムセンター・チームリーダー）に講演頂きます。

教育講演では、マウス丸ごと透明化で話題になった組織透明化手法について、八田稔久金沢医科大学教授（解剖学 I）より「生物試料の透明化：古典から最新技術まで」と題して講演頂きます。ワークショップは、I「電子顕微鏡技術の臨床応用」、II「分子・細胞シームレス解析」、III「形態解析の温故知新」の 3 セクションを設け、従来の技術を発展させた解析手法を取り上げます。多岐に至る論議が尽くされ、幅広い分野に所属する方々に有益な講演会となることを願っております。

講演会最終日には、電子顕微鏡啓蒙活動として、一般市民の方々を対象に電子顕微鏡写真展と名古屋市立大学心臓・腎高血圧内科学大手信之教授による公開講演会を開催します。

会員の皆様の日頃の研究成果を是非とも一般演題として応募いただき、研鑽の場、意見交換の場として、この第 31 回学術講演会にご参加くださいますことを、実行委員ならびに学会関係者一同、心よりお待ちしております。

医学生物学電子顕微鏡技術学会 第 31 回学術講演会実行委員会
会 長 及川 理
実行委員長 永山 元彦
実行委員 一同

II. 第31回学術講演会および総会 日程表

バイオイメーjing連携 — 蓄積した技術の継承と機能解析への挑戦 —

開催日時 2015年6月19日(金)、20日(土)、21日(日)

1日目6月19日(金)	2日目 6月20日(土)	3日目 6月21日(日)
	8:20	
	受付開始	
8:50	開会式	8:50
9:00	一般演題	一般演題
	口演発表	学術ポスター発表 会場討論 II
		9:50 ワークショップ II
		「分子・細胞シームレス解析」
		1.「シームレスなハイブリット型SEM・2機種について」 金丸孝昭 (九州大学病院)
		2.「TEMと蛍光顕微鏡とのクロストーク -現状と課題」 葦原雅道 (日本FEI)
	10:10	休憩
	10:20	10:50
	ワークショップ I	休憩
	「電子顕微鏡技術の臨床応用」	11:00
	1.「連続ブロック表面走査型電子顕微鏡(SBF-SEM)を用いた甲状腺乳頭癌核の三次元構築」 井上朋大 (山梨大学)	特別講演 II
	2.「病理診断に有用な免疫電顕の手法」 矢野信次 (大分大学)	「超解像顕微鏡と電子顕微鏡が拓くバイオイメーjingの新時代」
	3.「病態解明へのバイオイメーjing技術の応用」 石田欣二 (岩手医大)	岡田康志 理化学研究所・生命システムセンター・チームリーダー
11:50	11:50	
	休憩	
各種会議予定	12:00	12:00
常務理事会	社員総会 (評議員会)	昼食
		12:30
		学会奨励賞受賞講演 (予定)
	13:00	13:00
	学術ポスター発表 一分間スピーチ	ワークショップ III
13:20	休憩	「形態解析の温故知新」
13:30	各種委員会	1.「遊離アミノ酸の免疫組織化学」 仙波禮治 (名古屋女子大学)
		2.「ガスクラスターイオンビームと飛行時間型二次イオン 質量分析を組み合わせた核内三次元構造解析」 正木紀隆 (浜松医科大学)
		3.「設備・機器共同施設の支援体制について」 板倉広治 (名古屋大学)
		14:30
14:00	各種委員会	閉会式(写真コンクール表彰)
14:30	各種委員会	ミクロの写真展
		会場:病院3階大ホールエントランス (12時~16時30分)
15:00	各種委員会	15:00
	特別講演 I	市民公開講演 (受付14時から)
	「超微形態観察が細胞世界の真理を暴く—ミトコン ドリア、ペルオキシソーム、そして葉緑体の3分裂マ シンの発見から」	会場:病院3階大ホール
	黒岩常祥 東京大学名誉教授 (日本学士院会員)	「心不全の病態に潜む超微構造異常」 大手信之 名古屋市立大学心臓・腎高血圧内科学教授
16:00	16:00	16:00
	学会賞受賞講演 (予定)	ミクロの写真展
		~16:30
	17:00	
	教育講演	
	「生物試料の透明化:古典から最新技術まで」	
	八田稔久 金沢医科大学解剖学 I 教授	
	18:00	
	休憩	
	18:10	
	学会賞授与式 ・会員報告	
	18:20	
	記念撮影	
	18:40	
	懇親会・写真コンクール受賞者発表 (会場:サクラサイドテラス)	

Ⅲ. 会場のご案内

1. 講演会場(本部棟)

- 受付 : 1階 エントランス (20日11時まで)
それ以降は4階ラウンジに変更
- 講演会・総会会場 : 4階ホール
ポスター会場 : 2階会議室
写真コンクール会場 : 4階ラウンジ
商業展示 : 2階会議室
喫茶コーナー : 4階エントランス
電顕技術相談コーナー : 4階ラウンジ
昼食 : 4階ホール・ラウンジをご利用下さい。
懇親会会場 : 西棟1階「サクラサイドテラス」

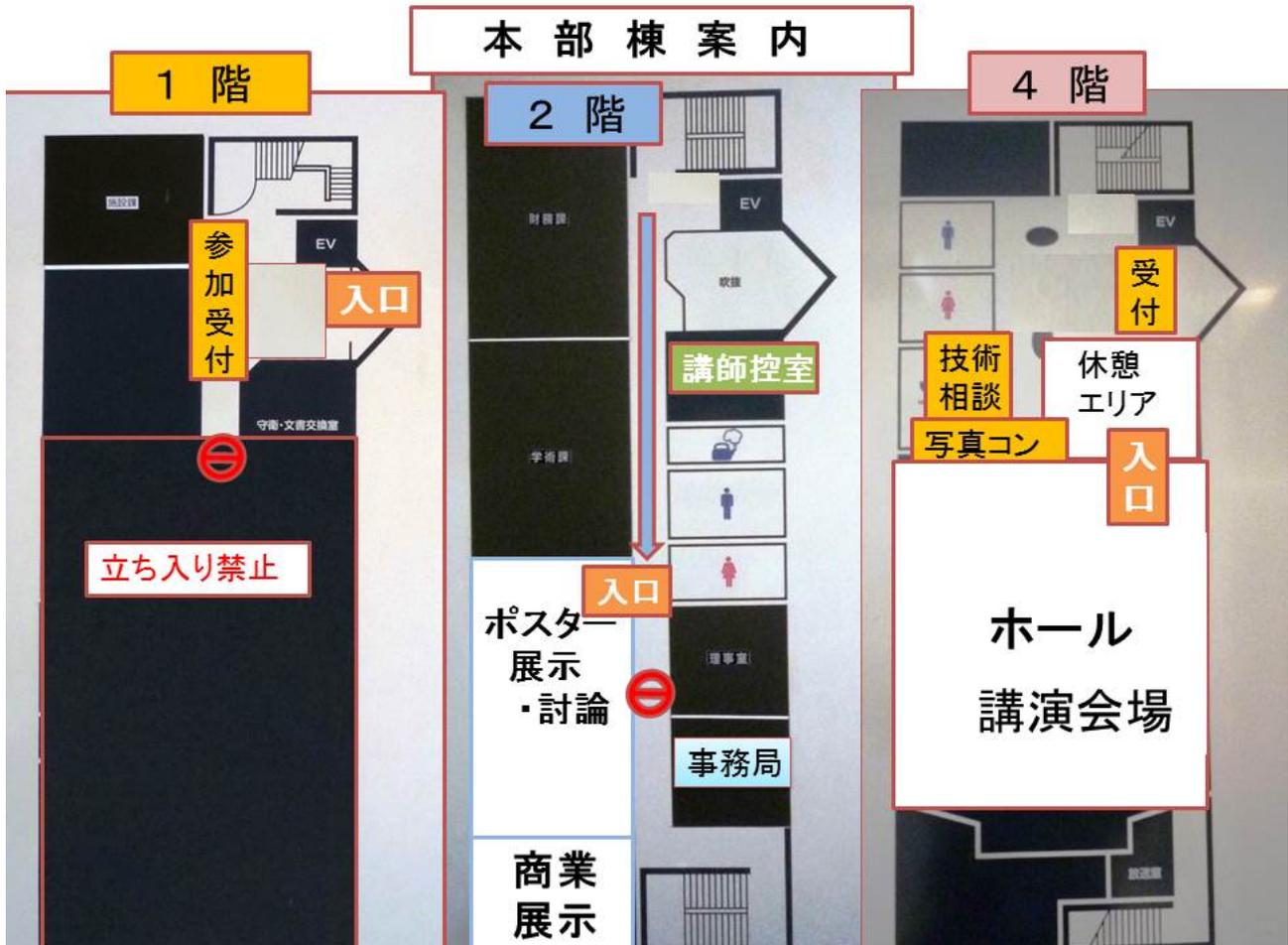
2. 実行委員会事務局 : 2階理事室(ポスター会場向かえ)

3. 会議会場

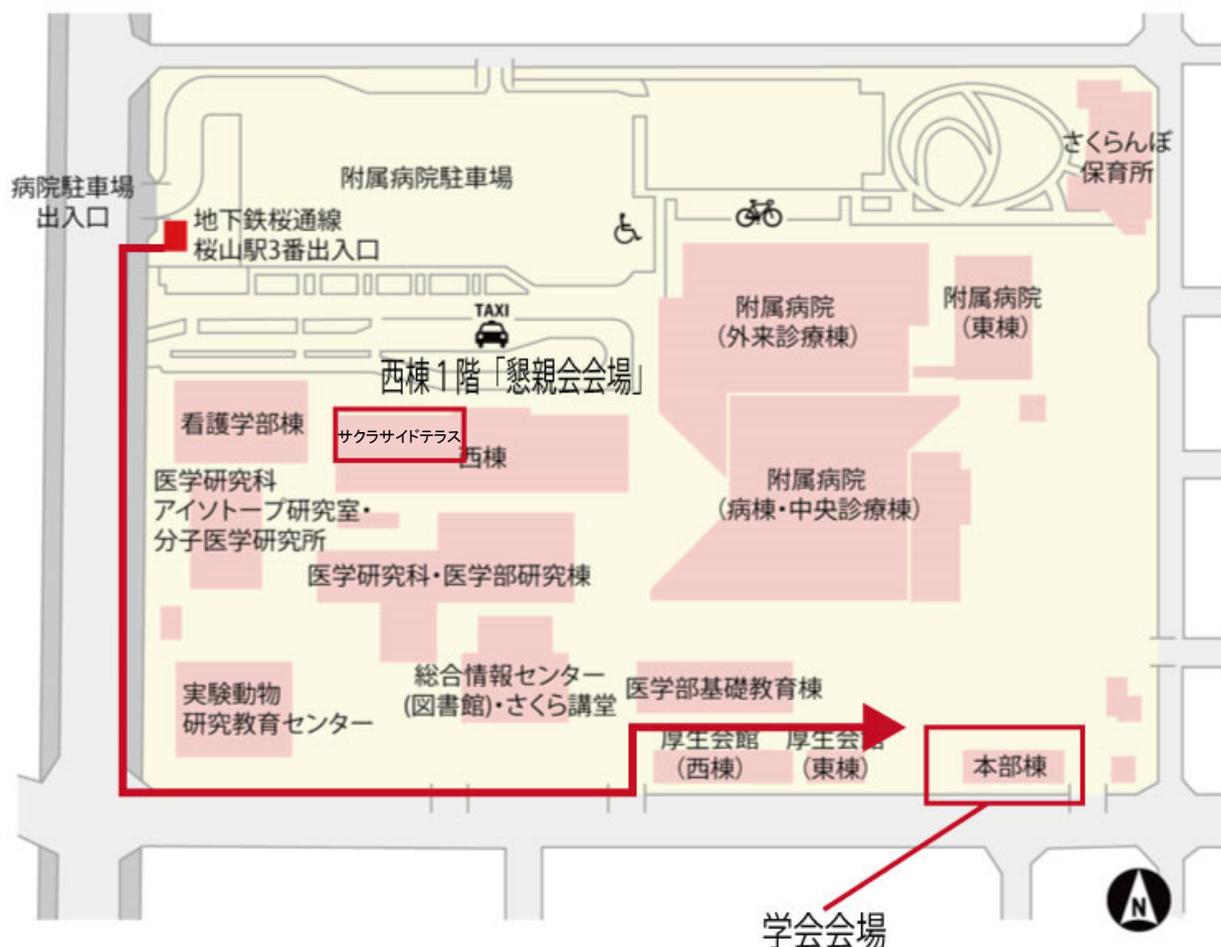
- 常務理事会、理事会 : 厚生会館東棟2階
各種委員会 : 厚生会館東棟2階
社員総会(評議委員会) : 本部棟4階ホール (後方を参加者の昼食に開放)

※開催時刻等の詳細は、学会本部からの各種会議案内をご覧ください。

※大学構内には喫煙場所はありません。



名古屋市立大学桜山キャンパスマップ (名古屋市立大学ホームページ引用)



会場へのアクセス

・地下鉄でのアクセス

名古屋駅より 桜通線 徳重行き → 桜山駅下車 (乗車時間：名古屋駅より約 16 分)
3 番出口よりすぐ

・市バスでのアクセス

【栄バスターミナル】 (オアシス 2 1 のりば)

[4 番のりば] 栄26 「博物館」 → 「市立大学病院」 下車 (乗車時間：約 25分)

【金山バスターミナル】

[7 番のりば] 金山11 「池下」 または金山16 「瑞穂運動場東」 行き → 「桜山」 下車 (約15分)

[7 番のりば] 金山12 「金山」 または「妙見町」 行き → 「市立大学病院」 下車 (約20分)

ご注意： 大学構内には駐車場はありませんので、公共交通機関をご利用ください。

IV. 参加者の皆様へのご案内

1. 学術講演会および懇親会参加受付、予約弁当代の支払

1) 事前登録済み

事前登録受付で、払込票を提示し、名札、領収証、写真コンクール投票用紙、予稿集、その他をお受け取り下さい。

2) 当日登録

受付は事前登録の隣りに設けます。

当日登録用紙に必要事項をご記入の上、会員、非会員、学生、協賛学術団体会員で手続きして下さい。

3) 予約弁当代金の支払いと受け取り

弁当代金を購入予約された方は、参加受付時に弁当代金をお支払い下さい。

弁当代金は11時30分より4階受付にてお渡しします。

飲食は4階ホール・ラウンジをご利用下さい。

20日(土)12時からの評議員会開催時もホール利用が可能です。

4) 懇親会出席

懇親会の当日申し込みも可能です。

参加登録の際、それぞれの受付で取り扱い致します。

*クロークはありません。

講演会場ならびに懇親会場内に荷物を置くスペースを確保しますが、各自の責任にて置いて下さい。

2. 商業展示と製品紹介

商業展示スペース（2階）において、各企業の製品の展示やデモがございます。

是非ともご見学下さい。

3. 写真コンクール

写真コンクール課題

1. 電頭が決め手となった1枚

2. よく撮った！自分のスペシャル画像

3. 分野別（動物、植物、昆虫、微生物、医動物、海洋生物、非生物、その他）

1) 応募写真受付

6月20日(土)9:00までに、受付へ提出して下さい。4階ラウンジに掲示します。遅れた場合、表彰対象外となりますのでご注意下さい。

2) 投票

優秀と思われる作品2点以内を選び、受付時にお渡しした投票用紙に応募番号を記載の上、写真コンクール会場にある投票箱に6月20日(土)18:00までにご投票下さい。

3) 表彰

6月20日(土)の懇親会会場で公表し、閉会式にて賞の授与を行います。

4. 昼食

弁当を予約申込された方は11時30分より4階受付にてお渡しします。
予約した弁当は4階ホール・ラウンジをご利用下さい。
評議員会開催時も利用できます（発言はできませんが、聞くのは構いません）

5. 電頭相談コーナー

受付にて「電頭相談用紙」を受取りお申込下さい。
ベテラン会員が会場内で適切なアドバイスを致します。

6. 記念撮影

6月20日（土）18：20 参加者全員の記念撮影を4階ホールにて行います。

7. 懇親会

6月20日（土）18：40～20：00、西棟1階「サクラサイドテラス」で行います。実行委員が会場まで引率いたします。

—MEMO —

V. 発表者ならびに座長の皆様へのご案内

1. 一般演題 口演発表

- 発表時間は、10分（口演7分、質疑応答3分）です。
- 発表は発表者が持参したPCを使用して投影します。スライドはMicrosoft Office PowerPointなどで作成し、動作確認したものをご使用下さい。発表にはMacintoshも使用できますが、接続アダプターはご持参ください
- 講演者は、セッションが始まる前に会場へ入り、前の講演が始まる際に、「次演者席」にご着席下さい。
- 学会会誌（後抄録）掲載用の原稿は参加登録受付へご提出下さい。

2. 座長の皆様へ

- 次座長は、セッションの開始前に「次座長席」ご着席下さい。
- 担当セッションの発表の中から、学会誌へ投稿できるとお考えの講演があれば、座長推薦の論文としてご推挙下さり、その旨、会長または編集委員会へご通知下さい。

3. 一般演題 ポスター発表

6月20日（土）13：00までに貼付パネルのポスター発表番号に従い、各自、指定の場所にポスターを貼付けて下さい。貼付に必要な画鋏等は会場に準備してあります。

- パネルは、横 83 cm×縦 164 cmとなります。上部30 cmに演題名、演者名、所属を記載し、代表者の顔写真をお貼り下さい。
- ポスター発表内容を理解し易くする目的から、1分間のスピーチ（発表者全員で約30分間）があります（場所：4階ホール）。スピーチ後は、2階ポスター発表会場へ速やかに移動し、質疑応答に対応して下さい。
- 学会誌（後抄録）掲載用の原稿は参加登録受付へご提出下さい。
- ポスターの撤去は、6月21日（日）14時30分以降です。その前に撤去を希望の場合は、受付にお申し出下さい。また、何らかの理由にて撤去出来ない場合についても、受付へご連絡下さい。実行委員会にて取り外させていただきます。

4. 写真コンクール応募の皆様へ

- 特参した写真を「参加登録受付」へ提出してください。応募写真に掲示番号を付け、説明文を添えて掲示いたします。

VI. 学術講演会プログラム

特別講演 I 6月20日(土) 14:50~15:50

座長 広瀬 治子 (帝人㈱ 構造解析センター)

「超微形態観察が細胞世界の真理を暴く—ミトコンドリア、ペルオキシソーム、
そして葉緑体の3分裂マシンの発見から」

黒岩 常祥

東京大学名誉教授 (日本学士院会員)

特別講演 II 6月21日(日) 11:00~12:00

座長 永山 元彦 (朝日大学歯学部口腔病理学)

「超解像顕微鏡と電子顕微鏡が拓くバイオイメージングの新時代」

岡田 康志

理化学研究所 (生命システムセンター・チームリーダー)

教育講演講演 6月20日(日) 17:00~18:00

座長: 石垣 靖人 (金沢医科大学総合医学研究所 生命科学研究領域)

「生物試料の透明化: 古典から最新技術まで」

八田 稔久

金沢医科大学教授 (解剖学 I)

市民公開講演 6月21日(日) 15:00~16:00

座長: 福田 道雄 (名古屋市立大学大学院医学研究科心臓・腎高血圧内科学)

「心不全の病態に潜む超微構造異常」

大手 信之

名古屋市立大学教授 (心臓・腎高血圧内科学)

市民公開企画—ミクロの写真展 6月21日(日) 12:00~16:30

「電子顕微鏡で見える不思議な世界 のぞいてみよう! 身近なミクロの世界」

ワークショップ I 『電子顕微鏡技術の臨床応用』

6月20日(土) 10:20~11:50

座長 逸見 明博 (日本大学医学部医学科人体病理学)

- WS I-1 「連続ブロック表面走査型電子顕微鏡(SBF-SEM)を用いた甲状腺乳頭癌核の三次元構築」
井上朋大 (山梨大学大学院医学工学総合研究部・人体病理学講座)
- WS I-2 「病理診断に有用な免疫電顕の手法」
矢野信次 (大分大学医学部 診断病理学講座)
- WS I-3 「病態解明へのバイオイメージング技術の応用」
石田欣二 (岩手医科大学医歯薬総合研究所バイオイメージングセンター)

ワークショップ II 『分子・細胞シームレス解析』

6月21日(日) 9:50~10:50

座長 高橋 知里 ((愛知学院大学薬学部製剤学講座)

- WS II-1 「シームレスなハイブリット型 SEM・2機種について」
金丸孝昭 (九州大学病院 中央形態分析室)
- WS II-2 「TEMと蛍光顕微鏡とのクロストーク -現状と課題-」
葦原雅道 (日本FEI株式会社 マテリアル&ライフサイエンス部門)

ワークショップ III 『形態解析の温故知新』

6月21日(日) 13:00~14:30

座長 武井 史郎 (浜松医科大学医学部 解剖学講座 細胞生物学分野)

- WS III-1 「遊離アミノ酸の免疫組織化学」
仙波禮治 (名古屋女子大学家政学部)
- WS III-2 「ガスクラスターイオンビームと飛行時間型二次イオン質量分析を組み合わせた核内三次元構造解析」
正木紀隆 (浜松医科大学解剖学講座 細胞生物学分野)
- WS III-3 「設備・機器共同施設の支援体制について」
板倉広治 (名古屋大学 医学教育研究支援センター 分析機器部門)

学会賞受賞講演

6月20日(土) 16:00~17:00

座長: 学術委員会委員長

逸見 明博 (日本大学 医学部病態病理学系人体病理学分野)

6月21日(日) 12:30~13:00

一般演題 学術口演発表

6月20日(土) 9:00~10:00

座長: 今安 正樹 (メニコン総合研究所)

板倉 広治 (名古屋大学医学教育研究支援センター)

0-1

弾性線維のいろいろ

○永井薫子¹⁾、永井沙和²⁾、猪股雅史¹⁾、藤原作平¹⁾、島田達生¹⁾、北野正剛¹⁾
大分大学¹⁾ 福岡大学²⁾

0-2

イオン液体処理法の検討(2)

○塩野正道¹⁾、坂上万里¹⁾、許斐麻美¹⁾、中澤英子¹⁾、波多野 治彦²⁾
(株)日立ハイテクノロジーズ 科学システム設計開発本部 アプリケーション開発部¹⁾
(株)日立ハイテクノロジーズ 科学システム設計開発本部 電子顕微鏡第一設計部²⁾

0-3

走査型電子顕微鏡を用いた代替電子染色剤の選抜法

○池田健一、嘉久大毅、井上加奈子、朴杓允
神戸大学大学院農学研究科

0-4

大型切片観察するための試料作製

○花坂智人、松浦絵里、小笠原勝利、石田欣二
岩手医科大学 医歯薬総合研究所 生命科学研究技術支援センター

0-5

反射電子像を用いた3次元解析処理の試み

○小笠原勝利、花坂智人、松浦絵里、野崎貴介、石田欣二
岩手医科大学 医歯薬総合研究所 バイオイメーキングセンター

0-6

FIB/SEMによる下垂体三次元再構築データの定量解析の試み

○太田啓介¹⁾・吉富宗健^{1),2)}・中村桂一郎¹⁾
久留米大学医学部解剖学講座¹⁾ 久留米大学医学部脳神経外科学講座²⁾

0-7

DAB反応生成物構成元素のEDS検出

○盛口敬一、本田雅規
愛知学院大学 歯学部 口腔解剖学講座

一般演題 学術ポスター発表

一分間スピーチ

5月20日(土) 13:00~13:30

座長: 永山 元彦 (朝日大学歯学部口腔病理学)

ポスター会場での質疑応答

6月20日(土) 13:30~14:40

6月21日(日) 8:50~ 9:40

P-1

導電性コーティング剤を使用した SEM 観察の検討

○佐々木千鶴子、夏木靖典、四戸 歩、高木正之
聖マリアンナ医科大学 大学院電子顕微鏡研究施設

P-2

連続スライス SEM と組織化学的手法を用いた三次元超微構造

観察技術によるペルオキシソーム分裂・増殖の解析

○森山陽介¹⁾、深澤元晶¹⁾、新美元²⁾、臼田信光¹⁾
藤田保健衛生大学 医学部 解剖学 II 講座¹⁾、共同利用実験施設²⁾

P-3

敗血症における血管内皮障害の走査型電子顕微鏡を用いた形態学的考察

○北川 雄一郎¹⁾、岡田 英志¹⁾、鈴木 浩大¹⁾、高田 ちひろ¹⁾、薄井 貴裕¹⁾、
玉置 祐斗¹⁾、堀田 康明²⁾、竹村 元三³⁾、小倉 真治¹⁾
岐阜大学大学院医学研究科 救急災害医学分野¹⁾、朝日大学歯学部 口腔科学共同研究所²⁾、
朝日大学歯学部 総合医科学講座内科学分野³⁾

P-4

ラットを用いた片側水腎症と対側代償腎の経時的尿細管変化について— 一生体内凍結技法による解析—

○逸見明博¹⁾、逸見聖一朗²⁾、松本なつき⁴⁾、廣谷ゆかり¹⁾、地家豊治³⁾、中西陽子¹⁾
日本大学医学部病態病理学系人体病理学分野¹⁾、日本大学医学部内科学系腎臓高血圧内分
泌内科学分野²⁾、日本大学医学部総合医学研究所電子顕微鏡室³⁾、クレハ分析センター⁴⁾

P-5

哺乳動物末梢赤血球細胞質分裂の電顕観察

○新美 元、井手 富彦、谷口 孝喜
藤田保健衛生大学共同利用研究施設

P-6

軟質培養容器を用いた培養細胞の透過型電子顕微鏡標本作製

○今安正樹¹⁾、高瀬弘嗣²⁾
(株)メニコン総合研究所¹⁾、名古屋市立大学大学院医学研究科共同研究教育センター²⁾

P-7

**黄色ブドウ球菌 α ヘモリジンがタイトジャンクションの構造と機能に与える影響
—その2—**

○関 啓子¹⁾ 佐々木博之²⁾

東京慈恵会医科大学基盤研究施設¹⁾、帝京平成大学大学院健康科学研究科²⁾

P-8

ヒト由来細胞外小胞の解析

○石垣靖人、中村有香、辰野貴則、島崎猛夫

金沢医科大学・総合医学研究所

P-9

歯肉表層上皮の剥離・脱落に関する組織化学的観察

○盛口敬一、本田雅規

愛知学院大学歯学部口腔解剖学講座

P-10. トリミング用ブロックチャックホルダーの試作

○尾関教生

愛知医科大学教学監

P-11

プランクトンのSEM観察に向けたイオン液体を用いた前処理方法

○富田法貴、宮本賢治

鳴門教育大学大学院学校教育研究科

P-12

Recent Application of Electron Tomography in Biology

○Chihong Song^{1,2)}, Hyun Suk Jung²⁾ and Toshinobu Suzaki¹⁾

Department of Biology, Graduate School of Science, Kobe University, Japan¹⁾

Division of electron microscopic research, Korea Basic Science Institute, Korea²⁾

P-13

神経分泌顆粒の証明にウラニフィン反応を行った臨床試料の実際

○海野 和俊¹⁾、山田 正人²⁾、川本 雅司²⁾

帝京大学医学部附属溝口病院電子顕微鏡室¹⁾、同 臨床病理部²⁾

P-14

TEMを用いた粒子の液中観察

和山 真里奈¹⁾、仲野 靖孝¹⁾、渡邊 俊哉¹⁾、小川 太郎¹⁾、許斐 麻美¹⁾Pin Chang²⁾、Lin-Ai Tai²⁾、
Yu-Ching Chen²⁾

株式会社 日立ハイテクノロジーズ¹⁾、

Bio Materials Analysis Technology, Inc. / 技術²⁾

P-15

イオン液体を用いた電子顕微鏡観察評価に基づく DDS 製剤設計

○高橋知里¹⁾、赤地志¹⁾、斉藤祥子¹⁾、須田麻美¹⁾、小川法子¹⁾、種村眞幸²⁾、武藤俊介³⁾、川嶋嘉明¹⁾、山本浩充¹⁾ 愛知学院大学 薬学部 製剤学講座¹⁾、名古屋工業大学 大学院 未来材料創成工学専攻²⁾、名古屋大学 エコトピア科学研究所³⁾

P-16

距離的に離れた共同研究者間での組織輸送について

○盛口敬一¹⁾、村山次哉²⁾、本田雅規¹⁾ 愛知学院大学 歯学部 口腔解剖学講座¹⁾ 北陸大学 薬学部 生命薬学講座 生態防御薬学部門²⁾

P-17

外生菌根菌シウロにおける担子胞子発芽過程の微細構造解析

○高 琪¹⁾、仲野翔太¹⁾、会見忠則²⁾、霜村典宏²⁾
鳥取大学連合農学研究科¹⁾、鳥取大学農学部²⁾

P-18

炭素源含有培地で培養した胃酸耐性及び胃酸感受性を具備する乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* の細胞学的比較

○平岡 吏佳子¹⁾、仲野 翔太²⁾、霜村 典宏³⁾、會見 忠則³⁾
鳥取大学大学院農学研究科¹⁾、鳥取大学大学院連合農学研究科²⁾、鳥取大学農学部³⁾

P-19

食用きのこマイタケの黒色野生株と白色アルビノ変異株の細胞学的比較

○林 未来¹⁾、仲野 翔太²⁾、霜村 典宏³⁾、會見 忠則³⁾
鳥取大学大学院農学研究科¹⁾、鳥取大学大学院連合農学研究科²⁾、鳥取大学農学部³⁾

P-20

レーザー切開を行った水晶体包断面の電顕的観察

○尾関教生¹⁾、市川慶²⁾
愛知医科大学教学監¹⁾、岐阜赤十字病院眼科²⁾

VII. 講演要旨

超微形態観察が細胞世界の真理を暴く —ミトコンドリア、ペルオキシソーム、そして葉緑体の3分裂マシンの 発見から—

黒岩常祥（東京大学名誉教授、日本学士院会員）

日本女子大学理学部物質生物科学科

背景：地球上のすべての生物は“形ある細胞”を生命の基本単位としている。原始単細胞生物から高等動植物に至るまで、生物を構築する真核細胞は、中心にある細胞核とその周辺の細胞質から成る。細胞質には細菌の子孫であるDNAを含む二重膜に包まれた複膜系細胞小器官のミトコンドリアがあり、植物であれば、更に葉緑体（色素体）がある。単膜に包まれた単膜系細胞小器官としては小胞体（ER）、ゴルジ体、リソソーム、ペルオキシソーム（マイクロボディ）の4種があり、これら7種の単複膜系がそれぞれの働きを果たす事により細胞機能が維持される。医学、農学、工学など応用研究分野においても細胞の基本構造の理解は重要である。細胞増殖の研究は、核（ゲノム）分裂（染色体の分配）と細胞質分裂の機構を研究対象とするのが一般であるが、演者は、分裂増殖・遺伝のしくみを真に理解するには、細胞核を含め、7種の細胞小器官の増殖・遺伝のしくみとその進化的意味の理解が必要と考えて研究を進めてきた。

その思考の原点は若い頃にある。生物に共通な細胞増殖のしくみを研究したいと、その研究で著名な団勝磨先生の教示を仰ぐことにした。先生はウッズホール、ペンシルベニア大等で長い研究生活をおくり、ウニを使って細胞質分裂の研究をされた。先生の教えは、独創的な研究をするには第一に「研究に適した材料の選択」、第二に「新しい研究技術の開発」が必須であるとのことであった。また遺伝学実習の見学に来られたT. ドブジャンスキー教授の、「全ての生物現象には進化的意味がある」との考えにも徐々に影響を受けた。当時は分子生物学の黎明期でもあり細胞質分裂を統御する細胞核遺伝子の動態に興味に移った。細胞核分裂のしくみの研究にはゲノムサイズがヒトなど動物の約10倍で、中期染色体が大きな高等植物の根端分裂組織の細胞が使われていた。そこで大学院ではほとんど研究がなされていなかった間期DNA/染色体の動態について、新たに開発した超高分解のオートラジオグラフィ電子顕微鏡法で観察した。しかし分裂組織では細胞分裂がランダムに起こり、分子・生化学的物質への展開が難しかった（JCB 1971; ECR 1971）。その頃湯浅明先生が授業で、真正粘菌には巨大なアメーバの時期があり、多核であるので細胞核分裂が100%同調しておくと教えて下さり、実際に粘菌を使って研究をされている太田次郎先生に紹介状を書いてくださった。

それから40余年、細胞小器官の増殖と遺伝の研究を続け、2013年にペルオキシソームの分裂装置の発見に至り大きな感動を覚えた。この過程での重要な知見は、1. 粘菌のミトコンドリア核の発見・一般性を証明するための高分解蛍光顕微鏡の開発・細胞三核説の提唱；2. ミトコンドリアと葉緑体の母性遺伝のしくみの発見；3. ミトコンドリアと葉緑体の分裂装置の発見・分裂機構の解明；4. 真核生物の細胞核、ミトコンドリア核、葉緑体核の100%ゲノムの完全解読；5. 単膜系の細胞小器官ペルオキシソームの分裂装置の発見；6. 細胞小器官の核（様体）の成立、分裂装置、母性遺伝の真核細胞誕生における進化的意義等である。

1. 粘菌のミトコンドリア核の発見・一般性を証明するための高分解蛍光顕微鏡の開発・細胞三核説の提唱

粘菌の細胞核の動態を観察しはじめて間もなく、細胞質にある全てのミトコンドリアが棒状の核(核様体:DNA、RNAとヒストン様タンパク質の複合体)を持つこと、核分裂後ミトコンドリアが分裂することが分かった(ECR1973; JCB1974, 1977; IRC1982)。その当時ミトコンドリアや原核生物の細菌のゲノムDNAは“裸”で存在するため、直接観察することが難しいと考えられていた。それに対して明確な構造を持つ粘菌のミトコンドリア核は、細胞核で言えば、ゲノムコピーの多い唾液腺染色体やランプブラッシュ染色体に相当するものであり、ミトコンドリアの分裂増殖の研究に最適であった。粘菌のミトコンドリア核で明らかになった現象を、DNA量の少ない高等動植物のミトコンドリア核や葉緑体核を観察する必要がある。このため超高分解能蛍光顕微鏡(後にオリンパス光学よりBHF-RFKとして市販)と、本邦発のDAPI染色法の開発が必要であった(CSF1980)。これにより、1分子のDNAだけでなく1遺伝子の観察も可能となり(EXP1981; PCP1981; 遺伝1982)、ほとんどの真核生物で個々のミトコンドリア核と色素体核の観察が容易となった。更にそれらの核(核様体)を単離し、その構成成分を同定した。その結果細胞は、細胞核、ミトコンドリア(mt)核、色素体(pt)核の三種の核からなるという「細胞三核説」を提唱し、有性生殖における細胞小器官の母性遺伝と、無性生殖における分裂増殖機構の解明に発展させた。

2. ミトコンドリアと葉緑体の母性遺伝のしくみを発見

ミトコンドリアと葉緑体の遺伝子DNAは、有性生殖の受精においては多くの生物で母性遺伝(母方の遺伝子のみ子に伝達)をすることが知られていた。そのしくみとして、従来は配偶子である卵と精子の細胞質の大きさの違いが原因と考えられていた。そこで1963年R. セガーにより母性遺伝が遺伝学的に示されていた単細胞の同形配偶緑藻のクラミドモナス(*Chlamydomonas reinhardtii*)を用いて、1個の葉緑体とその中の数個の葉緑体(pt)核の挙動を観察した。その結果雌雄の配偶子が接合(受精)すると、僅か40分で雄由来のpt核が選択的に分解されることが分かった(NAT1982)。詳細に解析した結果、雌配偶子内に生じたCa²⁺要求性のヌクレアーゼと、受精直後に発現される4遺伝子産物等の一連の生化学的反応により、雄由来pt核が選択的に分解され、雌由来のpt核のみが遺伝していくという、母性遺伝の仕組みが明らかになった(能動的消化機構)。高等植物では、その重複受精の精細胞形成過程でpt核とともにmt核の能動的消化が起きた。一方脊椎動物のメダカの受精過程においても受精後1時間すると、精子のmt核のみが選択的に分解され、卵のmt核は残った。詳しい解析から高等動植物でも能動的消化機構が起きていることが分かった(PNAS2006)。現在では、能動的消化機構は単細胞生物から高等動植物に至るまで、広く生物界における母性遺伝の原理をなすものと認知されている。次に無性生殖におけるミトコンドリアと色素体の分裂増殖について述べる。

3. ミトコンドリアと葉緑体の分裂装置の発見・分裂機構の解明

有性生殖において、子に伝達されたミトコンドリアと葉緑体は細胞分裂に併って分裂増殖し続ける。粘菌をはじめ多くの生物において、ミトコンドリアや葉緑体はその核分裂直後に分裂が起きた。粘菌でもその括れの部分にリング様の構造を観察したが、説得力のある明瞭な分裂装置構造を発見することができなかった(JCB1977; IRC1982)。一般に粘菌や高等動植物などほとんどの真核生物では、ミトコンドリアと葉緑体は、①細胞当たり数十から数千が含まれている、②形が不定形、③その分裂がランダムに起こる等、細胞小器官の分裂・増殖及び遺伝のしくみを詳

細に解明することは困難であった。そこで、単細胞生物であれば、細胞小器官の数は少ないと考え、原生生物のアメーバやモデル生物の酵母を検討したが(INT1982; NAT1991)、これらにおいてもミトコンドリアの数は多く、また不定形であった。更に単純な細胞構造をもつ生物を求めた。原始真核生物は極限環境の高温酸性環境で誕生したとの情報と、1953年田宮らによる細胞分裂の同調化に際し葉緑体がセンサーとして働くとの知見等から、草津温泉に棲息する原始紅藻類 [*Cyanidium caldarium* (シアニジウム)] とナポリ近郊産の [*Cyanidioschyzon merolae* (シズン)] を採取及び供与してもらった。特にシズンは真核生物の基本となる7種の細胞小器官を全て含み、それらの、数がほとんど1個で、形態も単純であり、分裂の同調を光の明暗で誘導することができた。この系を用いて、先ずシアニジウムで、続いてシズンで、葉緑体とミトコンドリアの分裂装置を発見し、それぞれPDリング、MDリングと命名した(PROT1986, 2003)。これらは細い直径約5-7nmの繊維の束であり、複数のタンパク質と共に装置を構成していた。電子顕微鏡で観察すると、この装置がほとんどの真核生物の葉緑体とミトコンドリアに存在すること、進化とともに小さくなっていることが明らかとなった。次に分裂装置の収縮機構を解明するために、葉緑体とミトコンドリアの分裂装置を単離し、構成成分を同定することにした。しかし構造が小さいこと、単離された装置が少ないことから物質の同定は困難を極めた。

4. 真核生物の細胞核、ミトコンドリア核、葉緑体核の100%ゲノムの完全解読

細胞小器官の分裂装置の全構成全タンパク質を同定するため、シズンの細胞核ゲノムの解読を目指し、2004-2007年に、我が国独自のグループを組織し、真核生物として世界初となる細胞核の100%ゲノムの完全解読を完了した(NAT2004)。既にシズンのミトコンドリアゲノムと葉緑体ゲノムの全塩基配列解読を終了しており、完全な3ゲノム情報が得られた(100%ゲノム解読は、牧場の柵を全部閉じ中のどの生き物をも逃がさないとの当初の計画でもあった)。このゲノム情報、マイクロアレイ、質量分析装置を駆使したプロテオーム解析、遺伝子破壊技術の開発により、各分裂装置を構成する30余りの新規なタンパク質を発見するとともに、それらの構成繊維の滑り・収縮での役割を明らかにした(PNAS2003, 2005; SCI2006, 2010;)。この機能解析には単離した1個の分裂装置を牽引し、収縮力とタンパク質関係を解析するレーザー光ピンセット法の開発が重要であった。

5. 単膜系の細胞小器官ペルオキシソームの分裂装置の発見

4種の単膜系細胞小器官については、1998年以来(PROT1998)、分裂装置の解析を進めてきた。ペルオキシソーム(マイクロボディ)の分裂面を連続切片による電子顕微鏡法を使って丹念に調べたが分裂装置を見いだすことが出来なかった。2012年高度に同調化した細胞からのペルオキシソーム画分のプロテオーム解析でみると、ミトコンドリアと葉緑体の分裂装置に使われているダイナミンDnm1とDnm2のうち、ミトコンドリア分裂装置に働くのと同じDnm1があるのに気付いた。ウェスタンブロットで確かめるとDnm1はカタラーゼと同じように挙動をした。これをきっかけに、ネガティブ全載電子顕微鏡法で分裂期ペルオキシソームの分裂面を調べた結果、微細な繊維から成る分裂装置(リング)が現れた。こうして細胞小器官における第三の分裂装置(リング)の発見となった(PNAS2013)。これはこれまでと異なる戦略“逆形態学”とも言うべきオミクスによる発見であった。

6. 細胞小器官の核（様体）の成立、分裂装置、母性遺伝の真核細胞誕生における進化的意義

約20億年前に起きたとされる真核細胞誕生において、演者らが発見した細胞小器官に関わる三現象 [細胞小器官の核（核様体）、分裂装置、母性遺伝の機構]がどのような意義をもつのか、宿主真核細胞と共生細菌との関係の視点から考察する。宿主細胞核は共生細菌のゲノムDNAの90%を収奪し、共生細菌（細胞小器官）の自律性を奪った。次に宿主細胞は分裂装置を使って共生細菌（細胞小器官）の分裂増殖を制御し、更に母性遺伝により共生細菌（細胞小器官）の進化を止めた。こうして今日の真核細胞が誕生した。最近の大きな知見であるペルオキシソームの分裂装置の発見から、ミトコンドリアの分裂装置につかわれたと同じダイナミン(Dnm1)が、ペルオキシソームの分裂装置に使われる事が明らかとなった。さらに詳しい構成成分の解析が必要ではあるが、この発見は、これら二種の細胞小器官が同一の起源の“姉妹”であることの決定的な証拠となった。

研究の時間的経過が分かるように一部に文献を入れた。研究成果の中で幾つかは、国際的な分子生物学の教科書 (MBG, MBC)、英国で出版された生物学辞典 (PBD) に引用された他、Nature誌の表紙(3)及びScience誌の表紙 (2)、そしてNature誌のNews & Viewなどに、ハイライトもしくはトピックスとして紹介された(7)。更にNatCellBiol誌をはじめ米国の細胞生物学会の機関誌などの表紙にも掲載された。

超解像顕微鏡と電子顕微鏡が拓くバイオイメージングの新時代

岡田 康志

理研・生命システム研究センター・細胞極性統御研究チーム

光は波である。そのため、無限に小さく集光することはできない。波動現象の特徴の一つである回折によって、波長程度の大きさに滲んでしまう。このため、光学顕微鏡の分解能には限界が存在する。この限界は、対物レンズの開口数NAと観察波長 λ の比で定まり、NA=1.4の油浸対物レンズを用いて波長500nmの緑色光で観察した場合、約200nmとなり、ほとんどの細胞内微細構造より大きい。従って、現在我々が知っている細胞内微細構造のほとんどは20世紀中盤の透過型電子顕微鏡による細胞内の微細構造の観察に負うところが大きい。

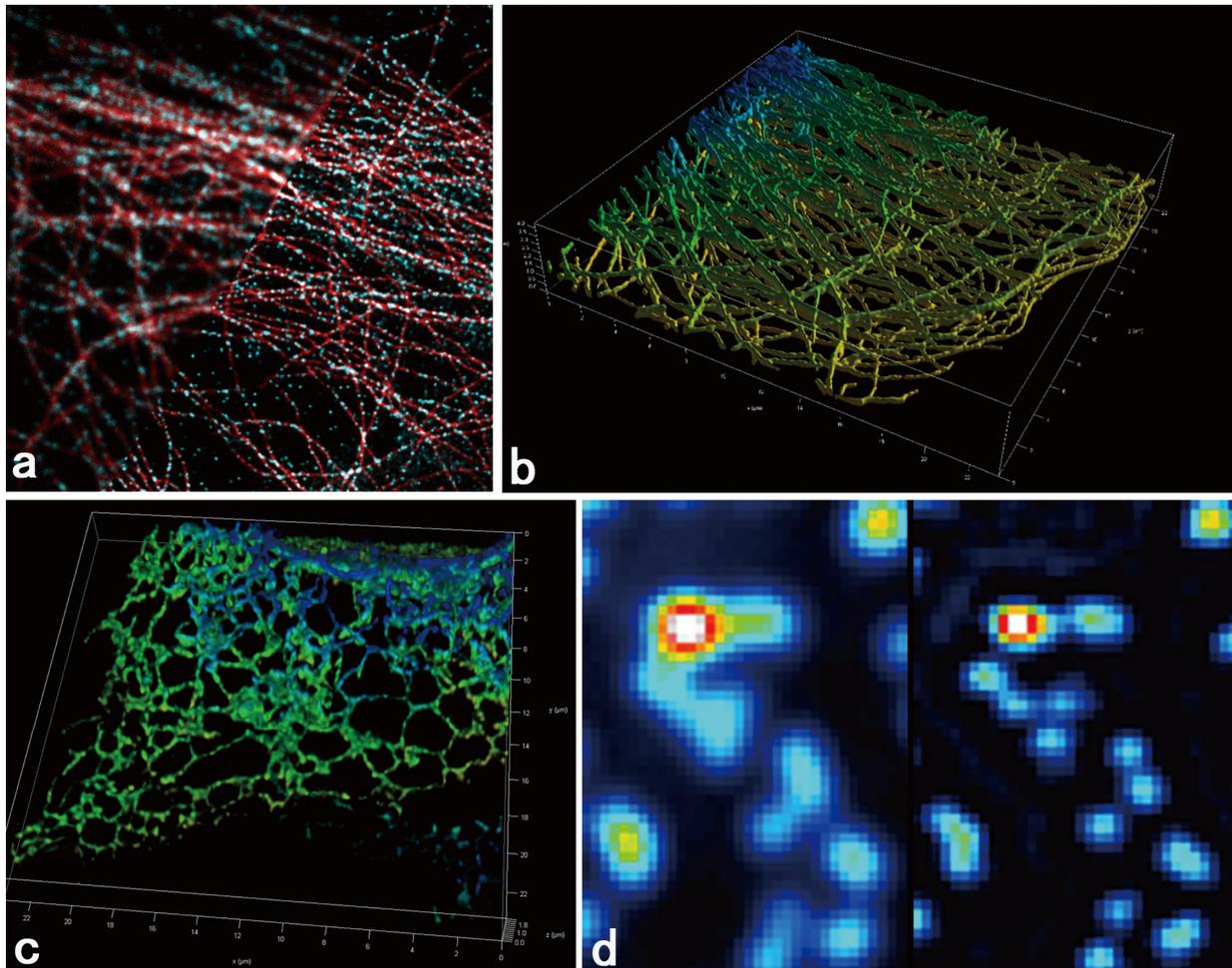
一方、光学顕微鏡は迅速・手軽な観察手段として、あるいは細胞を生きたまま観察する手段として発展してきた。特に、蛍光抗体法や緑色蛍光タンパク質(GFP)の登場により蛍光顕微鏡を用いた観察が広く普及した。蛍光観察では、真っ黒な背景に対して目的の構造物だけが特異的に光るために、分解能以下の対象であっても観察することが可能となる。そして、顕微鏡光学系の改良、光学フィルタの性能向上、カメラの高感度化などによって、試料中の蛍光分子1分子でも検出・観察することが可能となった。しかし、いくら光学顕微鏡およびその周辺機器の性能が上がっても回折の影響は避けられず、分解能以下の大きさの構造の像は、波長程度の大きさに滲んでしまい構造の詳細を観察することは出来ない。

これに対し、2000年前後から蛍光分子の性質を巧みに利用することで回折による限界を超えた高い分解能を達成する顕微鏡、すなわち超解像蛍光顕微鏡法の開発が加速化し、蛍光分子局在化法や誘導放出制御法など複数の原理が提唱され、2010年頃には顕微鏡メーカーからの市販化が開始され、2014年には超解像蛍光顕微鏡法の発明に対してノーベル化学賞が授与された。今後、医学・生物分野において、超解像蛍光顕微鏡法の利用は急速に進むと期待される。

では、これで電子顕微鏡は不要になるのだろうか？

私はむしろ、超解像蛍光顕微鏡法の普及により、電子顕微鏡観察の重要性があらためて認識されるだろうと考えている。蛍光顕微鏡法では、目的の分子・構造だけを特異的に光らせることが出来る。逆に言えば、それしか見えない。周囲の構造という文脈無しに見たい物だけを見て正しい解釈が出来るだろうか。蛍光顕微鏡が電子顕微鏡に比肩しうる分解能を得たからこそ、トモグラフィ法や連続断面観察法などの電子顕微鏡を用いた3次元高解像度イメージの上に3次元超解像蛍光像を精度良くマップすることが可能となる。したがって、3次元超解像蛍光顕微鏡法と3次元電子顕微鏡法を組合せた「3次元超解像光-電子相関顕微鏡法」が21世紀のバイオイメージングの基盤技術となると期待している。

本講演では、さまざまな超解像蛍光顕微鏡法について、その原理の簡単な解説からスタートし、主に我々自身による作例を通じてその特徴を解説する。また、我々が開発した超解像蛍光顕微鏡法を紹介し、超解像蛍光顕微鏡法の現在の課題について議論する。また、電子顕微鏡との組合せにおいて克服されるべき障害についても議論したい。



図の説明

- a, 微小管(赤)とMAP4(シアン)：左側が従来のコンフォーカル像、右側が超解像(STED)像
- b, 微小管の超解像3次元像：頂側の青から基底側が黄色まで深さに応じてカラーコーディングしてある。
- c, ERの超解像3次元ライブイメージングの1コマ
- d, 蛍光ビーズを用いた分解能評価：左側が従来の蛍光顕微鏡像、右側が超解像(SDSRM)像

生物試料の透明化：古典から最新技術まで

八田稔久

金沢医科大学医学部解剖学 I

緑色蛍光タンパク質green fluorescent protein (GFP)やその派生物を標的細胞に遺伝子導入することで、深部構造物の可視化が容易になった。この技術を活用するために、共焦点レーザー顕微鏡、二光子励起顕微鏡、光シート顕微鏡などに深部観察用レンズを組み合わせたイメージングシステムが盛んに開発されている。これらを用いることで、ホールマウント標本から、物理的な組織切片を作ることなく、単一細胞レベルの解像度を有する光学的スライスを連続的に取得することが可能である。このような背景のもとに、生物試料の透明化技術は重要な意義を持つようになった。

生物試料の組織透明化技術は、組織切片の顕微鏡観察のために古くから用いられてきた。染色を施した組織切片をエンテランやカナダバルサムなどを用いて封入する際に、前処理として行う脱水と透徹がその例である。組織中の水分と脂質が除かれ、透徹に用いられるキシレン等の有機溶媒に置換されることで、組織の屈折率が一樣になり組織全体の光透過性が亢進する。その結果、一般的な光学顕微鏡でも深部まで明視野観察を行うことができる。染色の関係で、キシレン等の溶媒を用いることができない場合、水溶性の透徹剤として、グリセリンやサリチル酸メチルが古くから用いられてきた。特に、グリセリンによる組織透明化は、簡便かつ低コストであることから、骨染色標本に常用されてきた。骨染色標本の透明度が高いのは、強アルカリまたはプロテアーゼによる消化とアセトン等による脱脂処理を施し、長期間かけて組織をグリセリンに置換することで達成される。特に十分な脱脂がなされなければ、グリセリンでは十分な透明度は得られない。これが、脂質含有量が高い成熟脳や脊髄の透明化が困難な理由である。しかし、妊娠中期までのマウス胎児やメダカ、ゼブラフィッシュなど脂質が少ない標本では観察に足る透明度が得られるため、ホールマウント免疫染色やin situ hybridizationなどに利用される。グリセリンの低揮発性は、標本の顕微鏡観察において大変優れた性質である。

グリセリンでは透明化しにくい脳に対して、ベンジルアルコール・安息香酸ベンジル混合液(BABB)による透明化が有効である。BABBでは、数時間から一日程度の短時間の処理で高い透明度が得られる。しかし、BABB処理により、脂溶性カルボシアニン色素(DiI)などの蛍光色素が溶出することや、標的細胞に発現させたGFPの蛍光が失われることなどから、蛍光シグナルの検出を前提とする最新のイメージングシステムにおいては、その応用に制限があった。このような問題をクリアするための新しい透明化技術が次々に発表された。代表的なプロトコルとしてScaIeA2, ClearT/T2, SeeDB, CUBIC, Clarity, 3DISCO, DBE, iDISCOがある。

尿素をベースとするScaIeA2は、GFPを発現した脳のホールマウント解析に有用な方法として発表された。成獣の脳、肺や肝臓などの内臓では透明度が十分に得られにくい傾向があるものの、胎児および新生児マウス脳などでは十分な透明度が得られる。GFPの蛍光シグナルはScaIeA2により減弱することは無い。しかし、ScaIeA2では透明化に必要な時間が長い、透明化された標本

(特に脳)は膨張しやすいという特徴がある。また界面活性剤を含むため、DiI標識標本には不向きである。この問題を解決するプロトコルとしてClearTが発表された。ClearTはフォルムアミドが主成分であり、蛍光免疫染色やDiIに対して有効である。しかし、GFPの蛍光は減弱してしまう。これを克服するために開発されたClearT2では、ポリエチレングリコールのタンパク保護作用を応用することでGFP活性を保つことに成功した。主に胎児標本や厚切りの組織切片に対して有効である。果糖をベースとする非常にマイルドな透明化プロトコルとして、SeeDBが報告された。SeeDBでは組織の膨化がほとんど起きない。また、非常に短時間で透明化が達成され、DiIなどの脂溶性色素や蛍光タンパク質を含むほとんどの蛍光色素に対しても応用可能である。このようにSeeDBは蛍光ラベリングに対する応用の幅が広く、胎児や新生児では十分な深部観察が可能である。しかし、成熟脳や脂質を多く含有する組織では、胎児と同等の透明化は得られない。

成熟脳に対して有効な透明化プロトコルとしてQUBICとClarityが開発された。いずれも、GFP活性には影響を与えずに、成熟脳に大量に含まれる脂質を除去する方法を確立した点が画期的である。QUBICでは、GFP活性を保持するアミノアルコールを用いて、脳から脂質を除去することに成功した。短時間でマウス成獣脳の透明化が可能である。また、これまでに報告されている透明化プロトコルでは、成獣の内臓、特に肝臓、心臓、脾臓、胎盤、骨格筋などでは十分な透明度が得られなかった。その主たる要因が血色素である。アミノアルコールには血色素を溶出させる作用があるため、QUBICは全身の透明化にも応用可能であることが示された。一方、Clarityでは、脳をSDS含有バッファーで満たした電気泳動槽に入れ、SDSと結合した脂質を電気泳動により強制的に取り除く方法が確立された。アクリルアミドに包埋することで、脳の膨化・変形を防ぐことができる。成獣の脳でも非常に高い透明度が得られており、GFP活性も保たれる。また、脳のホールマウント蛍光免疫染色にも対応する。Clarityでは高い透明度が得られるが、完成までに一か月以上の長期間が必要である。また、専用の電気泳動槽が必要となるため、大型標本には不向きである。内臓に対する効果は不明である。

BABBの系譜に属する最新のプロトコルとしてiDISCOがある。iDISCOの出発点となる3DISCOでは、BABBの前処理としてtetrahydrofuran (THF)による脱水を導入することでGFPの活性が保たれることを示した。さらに、THFによる脱水後、BABBよりもGFP活性の保持に優れるdibenzyl ether (DBE)を用いて透明化する方法が報告された。これらを改良したプロトコルがiDISCOである。iDISCOではTHFおよびdichloromethane (DCM)による前処理の後に、DBEにて透明化を行うプロトコルである。成熟脳及び各臓器において高い透明度が短時間で得られ、GFP活性は良く保たれる。また、iDISCOはAlexaFluoro色素で標識された蛍光免疫染色に最適化されたプロトコルである。

これまで紹介した代表的な組織透明化のプロトコルでは、いずれも組織深部から単一細胞レベルの解像度を有する画像を取得することができる。標本の種類と蛍光ラベル、イメージング装置の組み合わせによって最適な透明化プロトコルは異なるため、各プロトコルの特性と限界を把握しておくことが重要である。

心不全の病態に潜む超微構造異常

大手信之

名古屋市立大学 心臓・腎高血圧内科学

本日は心不全のお話をその原因を中心にお話させていただきます。心不全とは？ちょっと難しいのですが、心臓（特に左心室）に問題があって全身が必要とする血液を十分に送り出せない状態と定義することができます。もっと身近には、肺に水が溜まって息苦しくなったり、脚に水が溜まって浮腫んだりする状況と思ってもよいでしょう。ずばり、心不全の原因は何かと聞かれたら、それは左室肥大と心筋梗塞と答えることができます。さらに左室肥大の原因は何かと聞かれたならばそれは高血圧でしょう。心筋梗塞の原因は何かと聞かれたら、年齢、男性、高LDL（悪玉）コレステロール血症、糖尿病、高血圧、喫煙、それとこれらのリスクと一部中身が重複するのですがメタボリックシンドロームなど多岐に渡ります。左室肥大の原因にも心筋梗塞の原因にも高血圧が出てきました。高血圧はほんとに悪者です。さて、左室肥大と心筋梗塞を詳しく述べる前に、心臓に明らかな構造的異常があったり、何か特殊な物質が溜まっても心不全が起こります。まずはそれらから説明します。本日の講演のメインテーマである「心不全の病態に潜む超微構造異常」に触れた後に、一般的な心不全やそのリスクのお話をさせていただきます。

1) 心臓の構造的異常に基づく心不全

心房中隔や心室中隔に孔が開いていたり、心房・心室・大血管のつながり具合がおかしい（先天性心疾患）と心不全の原因になります。心臓弁膜症（多いのは大動脈狭窄と僧帽弁閉鎖不全）も難治性心不全の原因になります。これらは手術やカテーテル治療で孔を塞いだり、弁を形成したり取り替えたり（弁置換）しないと心不全はなかなか改善されません。

2) 心筋症

遺伝やウイルス感染等によって心臓の筋肉に異常をきたす病態です。肥大型心筋症と拡張型心筋症があります。肥大型心筋症は運動中などに突然死しやすい病気、拡張型心筋症は重症な心不全を発症し心臓移植が必要な予後不良（寿命が限られている）な病気と考えられてきましたが、最近の良いお薬が開発されて寿命が延びています。

拡張型心筋症の中に原因がはっきりした比較的珍しい1病型があります。細胞内にあるミトコンドリアの異常が原因で拡張型心筋症の状態となりやがて心不全を発症します。ミトコンドリア心筋症と呼ばれます。確定診断には電子顕微鏡による病理組織検査が役に立ちます（写真をお見せします）。

3) 心臓溜まり病

心臓の筋肉にある物質が溜まる病気です。形態的には肥大型心筋症に類似しますがやがて心不全を発症します。アミロイドーシスやファブリ病などが代表疾患です。特徴的な電子顕微鏡写真像を呈しますのでこれもお見せしましょう。

4) さて、次に直接皆様のお役に立つような心筋梗塞や高血圧が関係する心不全のお話に移りましょう。良くない生活習慣がこれらの病気に密接に関係します。

近年日本においても、動脈硬化に関係した心筋梗塞、脳卒中（心血管病）による死亡が増加し、全死亡の約3分の1を占めるようになりました。残りの約3分の1が悪性新生物（癌）で、さらにその残りが肺炎等その他です。癌の予防や治療に関する医学もかなり進歩いたしましたが、それでも未だ生死を左右する病気であることはご承知の通りです。一方、動脈硬化を原因とする心血管病は癌と同様に生死を左右する怖い病気ですが、日常生活に気を配ることで予防することができます。動脈硬化の進行には良くない生活習慣が大きく関係しています。これが動脈硬化に関係した病気が生活習慣病と呼ばれる所以でもあります。生活習慣の改善には「言うに易く行うに難たし」という面があります。かなりの強い意志が必要ですが、本日今から自分自身で実践可能なことであり、それによって心血管病による死亡を回避できたり、少なくとも発症を遅らせることが可能となります。

高LDL（悪玉）コレステロール血症は、心筋梗塞の原因としてよく知られていますが、コレステロールは食事で摂取される以外に、肝臓で摂取量と同等以上の量が合成されるために、食事療法をしてもなかなか改善が得られません。また、運動療法はLDLコレステロール値をさげるのにあまり効果がありません。では、どのように治療すればよいのでしょうか？あるいはどこまでLDLコレステロールを下げればよいのでしょうか？LDLコレステロールとは独立した心血管病のリスクファクターとしてメタボリックシンドロームが知られています。内臓肥満（過大な腹囲として認識されます）を原因として、耐糖能異常（糖尿病）、高血圧、高トリグリセライド（中性脂肪）血症あるいは低HDL（善玉）コレステロール血症等が合併する症候群として定義されています。心筋梗塞は冠動脈（心臓を栄養する血管）にLDLコレステロールが沈着することが直接の原

因ですが、たとえその直接的な原因となる血液中の LDL コレステロールが低くても、メタボリックシンドロームを持った人では、容易にその血液中 LDL コレステロールが血管壁に沈着し、冠動脈の狭窄や閉塞の原因となることがわかっています。従って、血液中 LDL コレステロール値の高い人については当然のこととして、LDL コレステロール値の比較的低い人においても、さらに LDL コレステロールを下げる努力が必要となる場合があります。事実、急性心筋梗塞は血液中 LDL コレステロール値の低い人からも多く発症しています。心筋梗塞を防ぐために以下のことが重要です。

- 1) 血液中 LDL コレステロールが高い方 ($\geq 140\text{mg/dl}$ が目安)は、積極的にコレステロールを下げる薬物療法を受けましょう。食事療法 (卵の黄身を食べない) や運動療法の LDL コレステロールを下げる効果はあまり期待できません。このことに関する研究結果を見直してみましょう。
- 2) メタボすなわち耐糖能異常、高血圧前症、高中性脂肪血症あるいは低 HDL (善玉) コレステロール血症のある方は、カロリー制限と運動を心がけましょう。中性脂肪が下がれば HDL コレステロールは上昇します。LDL コレステロールの値にかかわらず全員がカロリー制限と運動療法の対象となります。みなさんがしばしば耳にされる炭水化物ダイエットについても少しお話しします。
- 3) 脂肪酸という言葉になじみが少ないかもしれませんが、バターやマーガリンの主成分です。脂肪酸には飽和脂肪酸 (飽和脂肪酸が多いと常温で固まるラードやヘッドなど: すなわち脂) と不飽和脂肪酸 (不飽和脂肪酸が多く含まれると常温で液体: 菜種油やゴマ油など: すなわち油) がありますが、飽和脂肪酸をとり過ぎると動脈硬化が進行することが分かっています。食事で飽和脂肪酸を摂り過ぎず、不飽和脂肪酸を多くとりにはどうしたら良いでしょう。
- 4) 高血圧・糖尿病には食事療法や運動療法が有効です。とくに高血圧の食事療法について考えてみたいと思います。
- 5) 喫煙がなぜ心臓や血管に悪いのか? 喫煙が論外であることの証拠をお見せしましょう。

高血圧を治療し、心筋梗塞を予防すると心不全発症が防げます。いったん急性心不全を発症してしまうと、たとえ治療で症状が改善し日常生活が取り戻せても慢性心不全という状態で固定します (1 回目の急性心不全発作時に病院さえ受診いただければ普通は助かります)。心不全が比較的高齢者に多い病気であることもあり、これら慢性心不全の診断のついた方の予後 (寿命) は、米国人の 5 年生存率で 30 ~ 50 %、日本人の 5 年生存率で 50 ~ 70 % とあまり芳

しくない状況です。これは進行した胃がんの5年生存率とほぼ同様です。1回でも心不全発作を起こせば治っても慢性心不全です。心不全にならないように生活習慣に注意を払いましょう。

連続ブロック表面走査型電子顕微鏡(SBF-SEM)を用いた

甲状腺乳頭癌核の三次元構築

井上朋大¹⁾、大野伸彦²⁾³⁾、加藤良平¹⁾

- 1) 山梨大学大学院医学工学総合研究部・人体病理学講座、
- 2) 山梨大学大学院医学工学総合研究部・解剖分子組織学教室、
- 3) 自然科学研究機構生理学研究所・脳機能計測・支援センター形態情報解析室

目的：乳頭癌は甲状腺から発生する悪性腫瘍の中では最も頻度が高く、女性に多い、リンパ節転移が多い、予後が良好などの臨床的特徴が知られている。現在、乳頭癌の組織細胞診断は、組織構造よりも腫瘍細胞の核所見によって規定されている。すなわち1)核の溝 nuclear groove、2)核内細胞質封入体 intranuclear cytoplasmic inclusion、3)スリガラス状核 ground glass nuclei である。しかしながら、特徴とされるこれらの核所見は、主として切片上における2次元の局面（剖面）での観察によるもので、実際の核形態の特徴を知るには3次元観察が必須である。そこで、今回我々は、連続ブロック表面走査型電顕（SBF-SEM）を用いて乳頭癌細胞核の断面を連続的に撮影し、その画像をモニター上に再構築して3次元的に観察することにした。

材料・方法：山梨大学医学部附属病院で手術された甲状腺乳頭癌組織を4%PFAと0.5%Glutaraldehydeの混合液で固定後エポン包埋した。観察には自然科学研究機構生理学研究所の連続ブロック表面走査型電顕を使用し、厚さ60nmで500~700枚程度の連続切片画像を撮影した。撮影した画像の解析には画像解析ソフト（Fiji/Image JとAmira5.0）を用いた。

結果：SBF-SEMにて撮像した画像では、3次元構築が可能である核が、甲状腺乳頭癌で20~40個、正常甲状腺で10~20個程度得られた。正常甲状腺の濾胞上皮細胞に比較して、SBF-SEMによる3次元イメージは核表面の不整や陥入などがより明瞭に観察できた。さらに、これまで通常の透過型電顕では証明することが困難であった「核内細胞質封入体と外部との交通」、すなわち外部との交通を伴う偽封入体と外部との交通を伴わない真の封入体を識別できることが可能になった。

まとめ：SBF-SEMを用いて、乳頭癌細胞の核の特徴である「核の溝」や「核内細胞質封入体」を観察し、それらの形成過程における変化を3次元的にとらえることに成功した。今後、これらの3次元画像を数値的に解析し、乳頭癌核の成り立ちを客観的に計測したいと考えています。

病理診断に有用な免疫電顕の手法

矢野 信次¹, 西田 陽登¹, 加島 健司², 染矢 誠一郎³, 蒲池 綾子³,

吉松 知子¹, 荒金 茂樹¹, 駄阿 勉¹, 横山 繁生¹

¹大分大学医学部 診断病理学講座, ²大分県立病院臨床検査科検査研究部,

³大分医師会立アルメイダ病院 病理部

日常の病理診断では、ホルマリン固定・パラフィン包埋切片から作製されたヘマトキシリン・エオジン色や免疫染色が用いられている。近年、抗原賦活法の開発や市販されている抗体の増加に伴い、診断に必要な情報が容易に得られるようになった。免疫染色の出現により、特殊な分野を除き、病理診断における電子顕微鏡の必要性はほとんどなくなり、最近では電顕用試料が確保されていないのが現状である。しかし、陽性所見の細胞内局在にまで言及する必要がある研究や学会発表は少なくない。このような場合には免疫電顕が必須になるが、電顕用試料が確保されている場合でも、エポキシ樹脂標本の抗原賦活は困難な状況であった。

そこで我々は試行錯誤を重ね、光顕用の高 pH 抗原賦活液 Target Retrieval Solution (TRS) がエポキシ包埋超薄切片の抗原賦活にも有用であることを見出した。本法による抗原賦活はペプチドホルモン、消化酵素 (アミラーゼなど)、病原微生物 (ヘルペス、HPV、H. pylori、トレポネーマなど)、アミロイド線維などに適用できた。しかし、この方法でも陽性反応が得られない抗原 (脂肪細胞、平滑筋アクチン、基底膜、メラノゾーム、ミトコンドリア、ライソゾーム、など) もあり、新しい方法として pre- and post-embedding 法を考案した。本法では光顕用パラフィン切片を用い、ビオチンの抗原性がエポキシ樹脂内でも比較的保たれることを利用している。具体的には、脱パラフィン後の切片上で一次抗体およびビオチン標識二次抗体を反応させ、抗原をビオチンに置き換えた状態にする (pre-embedding 法)。次いで、エポキシ樹脂を入れたカプセルで倒立包埋し、エポキシ樹脂ブロックを作製する。ブロックから超薄切片を作製後、前述の TRS による抗原賦活を行い、抗ビオチン抗体、抗マウス IgG-gold を反応させる (post-embedding 法)。この方法により前述の抗原でも陽性反応を得ることができた。

最近、pre- and post-embedding 法を婦人科細胞診検体に応用し、細胞診スライドガラス上の数個の感染細胞からクラミジアと淋菌の同定を行ったので併せて報告する。

今回報告する抗原賦活法や pre- and post-embedding 法は様々な抗原に応用可能であり、染色に用いる材料・手技も簡便であることから、有用かつ実用的な手法であると考えている。現在は主に研究目的で行っているが、今後はホルモン産生腫瘍などの病理診断分野にも応用して利用の幅を広げていきたい。

病態解明へのバイオイメージング技術の応用

石田 欣二、花坂 智人、松浦 絵里、小笠原 勝利
岩手医科大学 医歯薬総合研究所 生命科学研究技術支援センター

電子顕微鏡の歴史を紐解くと、最初の電子顕微鏡はドイツの Ernst Ruska と Max Knoll に
より 1932 年に試作され、1939 年に光学顕微鏡では見えなかったウイルスの観察に成功した
1) 5)。

電子顕微鏡は細胞内小器官、生体膜などの超微細構造やウイルス粒子の構造を明らかに
し、生命科学の発展に大きく貢献してきた。しかしながら、組織・細胞の正確な三次元構造
を詳細に把握する事は非常に困難であった。

近年、集束イオンビーム (FIB : Focused Ion Beam) 加工装置と走査電子顕微鏡 (SEM :
Scanning Electron Microscope) の複合装置を用いた連続断面観察法^{3) 4)} や SEM 試料室にウ
ルトラミクロトームを装着し、ダイヤモンドナイフにより切削・観察を行う Gatan 3View
法、水溶性樹脂包埋組織を、ウルトラミクロトームにより連続切片を作製し、スライドガラ
スなどの基板に、きちんと配列した状態で回収し、複数の様式 (例えば、蛍光観察と電子顕
微鏡観察) を使って組織構造と分子局在の三次元的解析ができる Array Tomography 法⁴⁾ が
現実的な方法として急速な発展を見せている。

電子顕微鏡が病理学、解剖学など形態学を学ぶ学者のツールとなっているのは当然である
が、臨床医学の分野でも貢献している。今後、得られた電顕像から超微形態の機能的意義を正
しく読み取るには、三次元的な構造解析は必要不可欠になることはいうまでもない。

今回はヒト RA 滑膜組織とアルコール性肝硬変組織を標本とし、本センターで行っている三
次元的解析法と組織の広領域観察を目的としたマルチスケール・バーチャル電顕法²⁾ を用い
た観察例を示す、ご批判頂きたい。

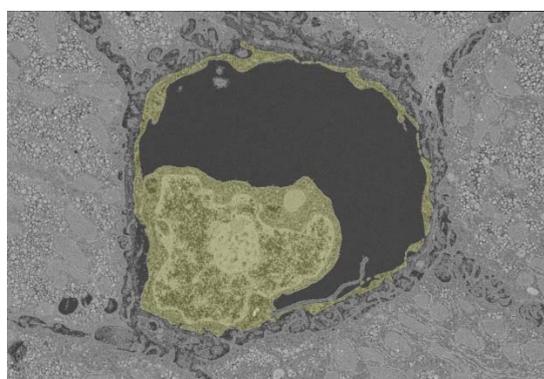


図1：毛細血管のSEM-BSE像。

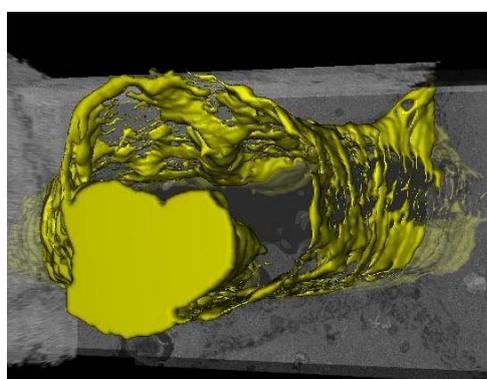


図2：毛細血管内皮の三次元再構築像。

参考文献

- 1) 小島建治 (2008). 透過型電子顕微鏡技術発展の系統化調査. 国立科学博物館 技術の系統化調査報告 第11集.
- 2) 宇月美和ら (2014). 関節リウマチ (RA) の滑膜組織にみられる Nursing 現象の超微形態学的特徴について - ヒト疾患の病態解明に対する電顕利用の新しい展開 -. 医歯電顕技術誌 28 (1) : 25 - 30.
- 3) 遠山稿二郎ら : 病理学における電顕技術のブレークスルー : 3D トモグラフィー法と反射電子像の活用. 病理と臨床 2014 vol. 32 no. 3. 313 - 320
- 4) Takashi Sawai, Akihisa Kamataki, Miwa Uzuki, Kinji Ishida, Tomohito Hanasaka, Kensuke Ochi, Takahito Hashimoto, Takashi Kudo, Akinari Morikawa, Takahiro Ochi, and Koujiro Tohyama : Serial block-face scanning electron microscopy combined with double-axis electron beam tomography provides new insight into cellular relationships. Microscopy (Oxf) 62(2):317-320 (2013)
- 5) Micheva, KD and Smith, SJ : Array Tomography: A New Tool for Imaging the Molecular Architecture and Ultrastructure of Neural Circuits. Neuron 55,25-36, July 5, (2007)
- 5) Knott, G. ; Marchman, H. ; Wall, D. ; Lich, B. Serial section scanning electron microscopy of adult brain tissue using focused ion beam milling J. Neurosci. 28, 2959-2964 (2008)

シームレスなハイブリッド型 SEM・2機種について

金丸孝昭¹⁾、興 雄司²⁾、磯部信一郎³⁾、高洲信一⁴⁾、近藤照義⁵⁾、中村桂一郎⁶⁾
九州大学病院 中央形態分析室¹⁾、九州大学 システム情報科学院²⁾、九州産業大学 工学部³⁾、
福岡大学 半導体実装研究所⁴⁾、九州保健福祉大学 臨床工学科⁵⁾、久留米大学 医学部解剖学⁶⁾

【はじめに】

2004 年より、細胞の機能と超微形態観察をシームレスに観察する目的で、蛍光光学顕微鏡 (fluorescence optical microscope : FOM) と走査型電子顕微鏡 (scanning electron microscopy : SEM) の電子線と励起光線を同軸上に配置した「蛍光-SEM」の開発を行ってきた (写真1)。このハイブリッドシステムへ“FL-SEM”と命名し試験運用を行ってきた。

2012 年から、広範囲な切削が可能な事により低倍から高倍までシームレスに試料の連続断面観察を行う事を目的に、深紫外線光 (エキシマレーザー:193nm) による切削 (ablation) デバイスを開発した。本デバイスには、“LANTome” (Light Ablation Nano Tome) と名付けた。今回、卓上型 SEM にこのデバイスを内蔵し 3D 再構築システムの実験機として製作した。本 3D-SEM システムには、“LANTome-SEM” と名付けた (写真2)。

【FL-SEM の作製】

“FL-SEM” の装置開発に関しては、光軸の安定性の確保に始まり多波長の観察を実現させ、またシステム操作の検討等を行った。さらに、電顕レベルの形態観察には、一般の蛍光光学顕微鏡用の試料作製方法では不相当であり、“FL-SEM” 用試料作製法の確立を同時進行しながら開発研究を行い一定の成果を得た。

【LANTome-SEM の作製】

“LANTome-SEM” の装置開発に関しては、試料切削の可能性を得る基本技術の確認に始まり、SEM とのハイブリッド化を実現する実験機までの研究と製作を行った。また、本デバイスは広範囲な切削だけではなく熱変性はほとんど無いという優位性もある。

試料作製に関しては、既存の 3D-SEM と呼ばれる、FIB-SEM*や 3View System**などと同じく反射電子線像にて組織形態の検出が可能なブロック染色技法を採用している。

【ハイブリッド SEM の意義】

ハイブリッド型 SEM が出現するまでは、試料は観察装置に合わせて調整され作成され、それぞれの観察は個別の装置で行われてきた。その為、同一の細胞なり組織での知見を連関させ観察する実験系では、evidence の確信には不安が残った。“FL-SEM” では、同一細胞・同一組織でのシームレス観察が可能になったことにより実験における不安を払拭できるという意義がある。また、低倍から高倍に至る領域でのシームレスな連続断面観察が可能な 3D-SEM は、今後の形態学研究には必須な tool であると確信している。

今回、“FL-SEM”と“LANTome-SEM”に関するこれまでの開発過程で観察できた知見を紹介する。現在、これまでの研究成果を活かした新型の“FL-SEM”と“LANTome-SEM”がハイブリッド化された実証機の作製に努力している。

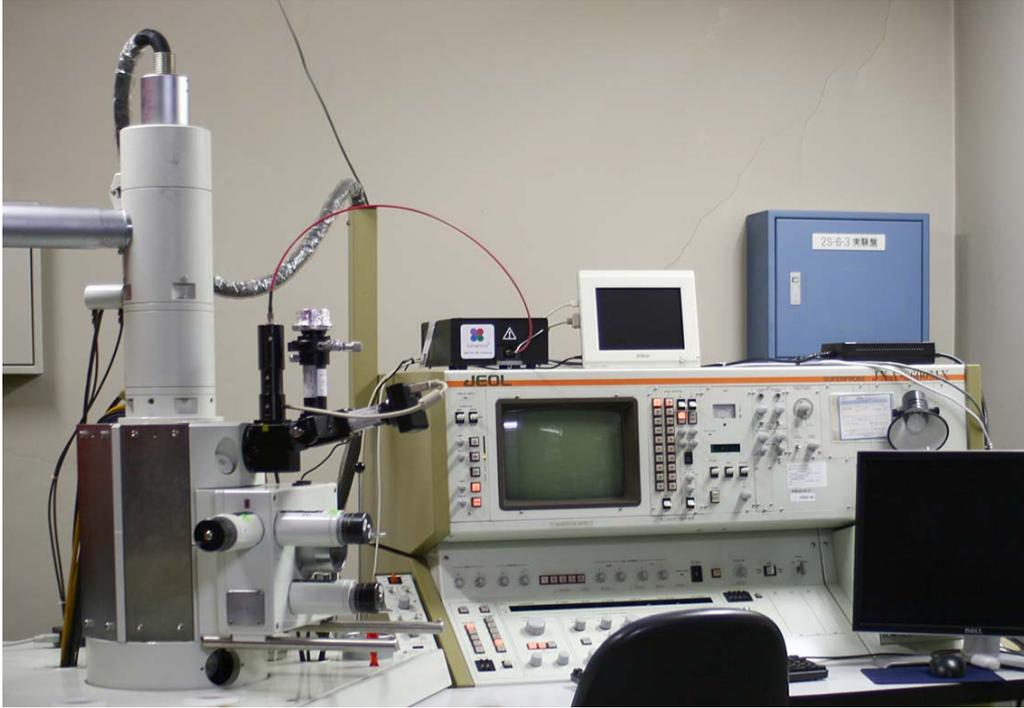


写真1 “FL-SEM” プロトタイプ外観



写真2 “LANTome-SEM” 実験機の外観

* : SEM に集束イオンビーム (FIB : Focused Ion Beam) をハイブリッドした 3D-SEM システム

** : GATAN 社製のウルトラマイクロームで SEM 内蔵可能なデバイスシステム

TEM と蛍光顕微鏡とのクロストーク -現状と課題-

葦原 雅道¹⁾

日本エフイー・アイ株式会社¹⁾

近年、電子顕微鏡と光学顕微鏡を相補的に用いる Correlative Light and Electron Microscopy (CLEM) の利用例が急速に増加してきています。ナノメートルレベルの分解能で試料の超微細構造の観察や生体内分子の構造観察を行える電子顕微鏡の特長と、生体内での標識分子の局在性を詳細に確認できる光学顕微鏡の特長を併せ持つことが本イメージング手法の大きな利点です。

これまで様々な CLEM の手法が報告されてきました。番地付きの試料グリッドを駆使し、光学顕微鏡と電子顕微鏡の位置合わせをマニュアルで行う方法、Q-dot など標識となるマーカーを用いて位置合わせを行ったもの、光学顕微鏡と走査型電子顕微鏡を一体化させたものなど方法は様々です。

しかし、従来の方法ではいくつかの問題点があります。第一に、蛍光顕微鏡と電子顕微鏡の位置合わせをマニュアルで行うため、観察位置を同定するのに時間がかかることです。第二に、蛍光像と電顕像では像の回転や向きを判断することが難しいことです。さらに第三に、蛍光顕微鏡から電子顕微鏡への試料搬送の際に試料汚染がおこるリスクがあります。

そこで、FEI 社は世界に先駆けて蛍光顕微鏡と透過型電子顕微鏡を一体化させた顕微鏡である Tecnai with iCorrTM を発売しました。試料ステージを 90° 垂直に回転することにより蛍光顕微鏡モードに切り替えます。あらかじめ蛍光染色を施した試料切片を直接電子顕微鏡内に搬送し、蛍光観察と電子顕微鏡観察を一台の顕微鏡で行います。蛍光像の観察位置と電顕像の観察位置を専用のソフトウェアで制御しているため、蛍光像と電顕像の位置合わせだけでなく、両者の重ね合わせも可能にします。

Tecnai with iCorr の使用により、CLEM 実験を容易に行うことができ、超微細構造内の標識タンパク質の局在というこれまでの電顕イメージングでは困難であったイメージングを可能にします。本講演では、Tecnai iCorr の原理、試料調整方法、観察例を交えて報告します。特に CLEM を行う上でもっとも重要なファクターである試料調整方法、さらには今後の展開可能性について議論します。



図1 Tecnai iCorr

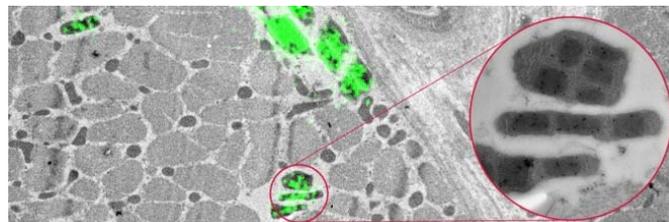


図2 筋ジストロフィの症状を示す筋組織でのクレアチンキナーゼの局在 (Matthia Karreman, Utrecht University)

遊離アミノ酸の免疫組織化学

仙波禮治

名古屋女子大学家政学部 (名古屋市)

遊離アミノ酸の所在を免疫組織化学の手法で可視化することは、1983年のStorm-Mathisenらの発表(Nature 301(5900): 517)から始まった。我々は、その手法に改良を加えながら、種々のアミノ酸やアミン(以下AA)の抗体を作成し、それらの所在を調べてきたので、通常の免疫電顕との違いに重点を置きながら、その手法を紹介する。

1) アミノ酸の組織への固定

組織中に遊離しているアミノ酸を、その場所に固定するには、グルタルアルデヒド(以下GA)が適している。即ち、GAの一端のアルデヒド基をAAのアミノ基と反応させ、GAの他端のアルデヒド基を組織中の蛋白表面に出ているアミノ基と反応させればよい。アミノ基とアルデヒド基が脱水縮合してSchiff baseが形成されるこの反応は、可逆反応であることから、長時間の染色操作の間に、固定化されたAAが逆反応によって遊離し、結果として免疫染色の強度が低下することがある。これを防ぐには、Schiff baseを還元剤で還元しておけばよい。還元剤としては、蛋白質に与えるダメージがほとんどないと考えられているdimethylamine borane、あるいはtrimethylamine boraneを使用し、これの0.5%液中に、固定した組織のスライスを一時間程度置くことで還元を行っている。この処理により、蛋白質-GA-AAができていると考えられる。

Storm-Mathisenの原法では、4%のGAで固定しており、彼らが行ったGABAとglutamic acidの免疫組織化学では、問題なく固定できている。しかし、1分子内に、2個以上のアミノ基を持つアミノ酸やポリアミンを固定しようとする時、これらの分子とGAが交互につながって重合がおけると予想され、実際にこの両者を試験管内で混ぜると沈殿物ができてしまう。そこで、我々はアルデヒド基を1つしか持たないフォルムアルデヒド(以下FA)をGAに加えた混合液で固定している。これにより、蛋白質-GA-AA-FAを作製し、AAを組織に固定することを狙っている。

2) アミノ酸抗体の作製

免疫注射に用いるアミノ酸結合物の作製には、原法では、アミノ酸と牛血清アルブミン(BSA)の溶液にGAを加え、BSA-GA-AAを作成している。我々はウサギに対して抗原性を持たないウサギ血清アルブミン(RSA)を使って、RSA-GA-AAを作成し、ウサギに皮内投与している。具体的には、1mlの生理的食塩水に1~10mgのアミノ酸を溶かす。もし、溶けにくければ、dimethyl formamideなどを加えて溶かしても良い。これに10mgのRSAを加えて溶かす。これにアミノ酸と等モルのGAを加える。アミノ基を2個以上持つアミノ酸やアミンの抗原を作製するには、上記のように、GAにFAを加えた液を使えば良い。FAの量は、GAと等モルになる量を中心に、多少比率を変えながら試行し、沈殿を生じない量としている。この反応もSchiff baseを形成する反応であり、可逆性があるため、還元しておくことが望ましい。また、この還元処理には、免疫注射に使う抗原と、組織中の抗原とを、化学的に同じ構造にしておく意味もある。1晩Schiff baseを形成させ、翌日、還元剤の水溶液を加えて還元処置を行い、その後透析、あるいは、ゲル濾過により生食水に溶解したRSA-GA-AAないしRSA-GA-AA-FAを得る。これを適度に希釈し、1mg/1ml程度のRSAを含む

生理的食塩水溶液として、免疫注射に用いる。

3) 抗体の精製と保存

Schiff base を還元してできる GA と AA の化学結合の構造は、epoxy 基とアミノ基を反応させてできる構造と全く同じであることから、目的のアミノ酸を epoxy activated Sepharose にくっつけたゲルを用いて、affinity chromatography を行えば、目的の抗体を選択的に取り出すことができる。この方法は、同時にできている GA や FA、ないし、その還元物に対する抗体などの様々な抗体を一掃することができ、極めて有効である。通常の方法でグリシン-塩酸緩衝液等で溶出すれば、280nm での吸光度から精製抗体の量を知ることができる。

精製された抗体の保存方法としては、多量のアルブミン例えば BSA を、15mg/ml となるように加えて、小分けし、-80°C で凍結しておくことを勧めたい。グリシン抗体を精製する際に、グリシン-塩酸緩衝液で溶出すると抗体がそのグリシンに結合してしまうのではないかと心配になるが、グリシン抗体は、正確には上述したようにグルタルアルデヒドにくっついたグリシンに対する抗体であり、溶出液中の遊離したグリシン分子に対して反応することはない。

抗体の純度の検定には、抗体の作製で述べた方法により、各種のアミノ酸を用いて RSA-GA-AA を作り、それらの希釈液 (RSA にして 20 μg/ml 程度) をニトロセルロース膜等にスポットしたものを免疫染色し、目的のアミノ酸に対してだけ反応する抗体が得られているかどうかを検討する dot immunobinding assay が有効である。

4) 免疫組織化学

原法では、4%GA により組織固定が行われていることから分かるように、高濃度の GA によって抗原性が失われることはなく、抗原と抗体との反応には GA 濃度の高いことがむしろ望ましく、先に述べた還元処理を加えると、共有結合により GA を介してたんぱく質に固定された AA の抗原性は、種々の操作、処理に対して抵抗性が高く、沸騰、凍結をはじめ、脱灰処理、ペプシン処理などにも影響されない。

5) 電顕観察

上記の方法で組織蛋白に GA を介して結合しているアミノ酸は、化学的に安定であり、電顕に持って行く途中にも、特別な配慮は必要ないと考えられ、実際に免疫電顕は、pre-embedding 法でも、post-embedding 法でも可能である。樹脂には、LR White を常用している。

以下に、pre-embedding 法と post-embedding 法での染色例を 1 つずつ記しておく。

pre-embedding 法 (D-serine を持つ神経終末を光顕で観察後電顕観察)

ラットを 2.5% GA, 2% FA を含む固定液で還流固定後、脳をスライスとする。

0.5% dimethylamine borane 液で還元処理 1 時間

microslicer で厚さ 50 μm の free floating section とする。

凍結融解 (sucrose 10% 10min, 20% 10min, 30% 2~3hr, 30%+glycerine 10% overnight 後、液体窒素に約 1 分つけて凍結。PBS に戻す。)

D-serine 抗体 (0.2 μg/ml) overnight

Fab' -HRP (1:500) 1hr

(抗ウサギ IgG 山羊抗体の Fab' に HRP を結合したもの)

tyramide signal amplification 20min

streptavidine gold (1:10) 2 hr

銀増感	20min
定着、水洗	
この状態で光顕観察。	
LR White に包埋し、薄切	
0.5% osmium	30min
4% uranyl acetate 染色	12min
lead citrate 染色	90sec
EM で観察	

post embedding 法 (ラット顎下腺の GABA 陽性細胞の観察)

固定 : Schmechel 液 (4% formaldehyde, 1% glutaraldehyde, 0.2% picric acid, 2% sucrose in 0.2M sodium acetate pH 6.0) で還流固定

LR White 包埋、薄切

抗 GABA 抗体 (1.1 μ g/ml)	overnight
----------------------------	-----------

protein A-gold (15nm 1:40)	1h
----------------------------	----

4% uranyl acetate	15min
-------------------	-------

4% lead citrate	2min
-----------------	------

EM で観察

6) 謝辞

電顕の仕事は三重大学医学部解剖学教室においてなされたものであり、当時の教室員 (現 鈴鹿医療科学大学 馬寧教授、長浜真人教授)、大学院生 (現 academic medical center, Netherlands 安田映津子氏) によるところが大きい。

ガスクラスターイオンビームと飛行時間型二次イオン質量分析を組み合わせた核内三次元構造解析

正木紀隆¹⁾、石崎逸子²⁾、早坂孝宏¹⁾、Gregory L. Fisher³⁾、眞田則明²⁾、横田秀夫⁴⁾、瀬藤光利¹⁾

浜松医科大学解剖学講座細胞生物学分野¹⁾、アルバック・ファイ²⁾、
Physical Electronics³⁾、理化学研究所画像処理研究チーム⁴⁾

【背景】質量分析イメージング法は試料上の各位置でイオン化を行う事で、空間構造を保持したまま質量分析を行う手法であり、イオン化法や質量分析計の種類によって様々な装置が利用されている。二次イオン質量分析法(Secondary Ion Mass Spectrometry, SIMS)は収束させた一次イオンを試料に照射し、放出される二次イオンを質量電荷比 (m/z) 毎に検出する手法である。イオン化に収束イオン銃を用いることから、光学限界を超えた空間分解能で測定することが可能である。質量分析計として飛行時間型 (Time-of-Flight, TOF) を用いた装置は TOF-SIMS と呼ばれ、一度に数百にも及ぶ分子種の量と分布を調べることができる。TOF-SIMS は主に表面分析の手法として知られているが、三次元解析においても高い威力を発揮する。しかし、イオン化に適した一次イオン銃では、測定と同時に試料を掘りすすめるという用途には時間がかかりすぎるという問題があった。それを解消するためにスパッタ用として異なるイオン銃を組み合わせたことが考案された。ガスクラスターイオン銃(Gas Cluster Ion Beam, GCIB)もそのような目的で開発された技術の一つであり、比較的やわらかい試料についても平らな測定表面を効率的に掘り進めることが可能であることから、生体試料の解析に適した手法であると考えた。

本研究では、GCIB を TOF-SIMS と組み合わせた手法 (GCIB-TOF-SIMS) を生体試料の解析に初めて応用した。これを用いることで細胞における核内小体を反映したイオンの三次元分布を初めて明らかにすることができた。

【材料及び方法】ドライアイスを用いて凍結した C57BL/6J マウスの脳からクライオスタット (CM1850, Leica) にて 10・m 厚の矢状面切片を作成し、導電性スライドガラスに貼りつけた後、室温で乾燥させた。測定領域は海馬の CA2 付近に $50 \times 50 \cdot \text{m}^2$ と設定し、100nm に収束した Au_3^{2+} イオン銃 (60keV) を用いて 195nm の空間分解能で TOF-SIMS 解析を行った。測定はネガティブイオンモードで行い、 m/z 0 ~ 1,850 のシグナルを得た。TOF-SIMS での測定後、GCIB (Ar_{2500}^+ , 10keV) を用いて試料表面をスパッタし、再度 TOF-SIMS で解析を行うという操作を繰り返し、三次元データを取得した。GCIB-TOF-SIMS 解析終了後、Stylus Profiler (DEKTAK 6M, Veeco Instruments) を用いて測定領域と計測による浸潤を受けていない領域のプロファイル解析を行い、試料の厚さを計測した。また、得られたイオンの分布を細胞核と比較するため、GCIB-TOF-SIMS 解析を途中まで行った試料を DAPI 染色し、蛍光を観察した。

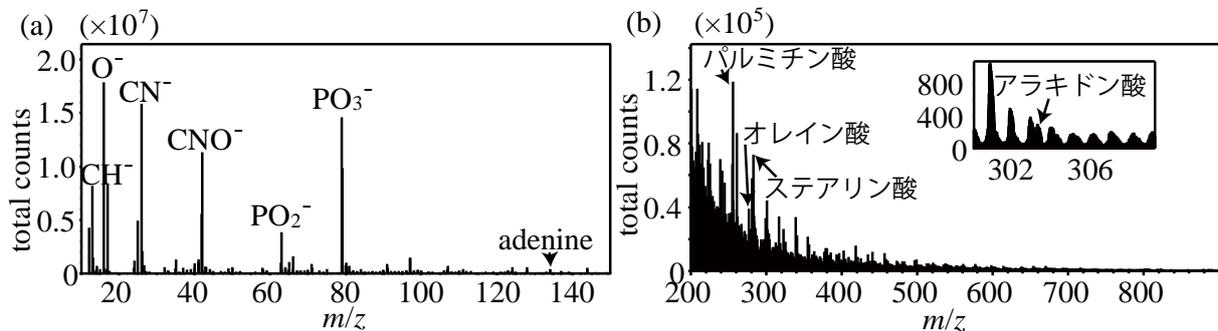


図1 測定領域において得られた質量分析スペクトル¹⁾ (a) m/z 10 ~ 150 における質量分析スペクトルとピークとして検出された代表的な分子種
(b) m/z 200 ~ 900 における質量分析スペクトルと検出された代表的な脂肪酸

【結果】測定領域全体から得られた質量分析スペクトルにおいて、生体分子由来のシグナルが多数見出された (図1)。 m/z 10 ~ 150 に見られる多くのシグナルに加え、 m/z 200 ~ 900 においても脂質や脂肪酸に相当する多くのシグナルが検出された。これらのシグナルの中でも、特に豊富に検出された CN は細胞内の大きな領域を占めており、その内部で PO_3^- が小さな塊状の分布を示すという明確な構造が三次元空間における分布の可視化によって明らかになった (図2)。CN が占める領域は各細胞に一つであったのに対し、 PO_3^- のシグナルが示す塊状の分布は細胞毎に 3~4 個ずつ見られた。CN が示した構造の直径が約 $5 \cdot \mu\text{m}$ と見積もられたため、DAPI 染色を行い比較したところ、その分布が細胞核と一致していることが明らかになった (図3)。

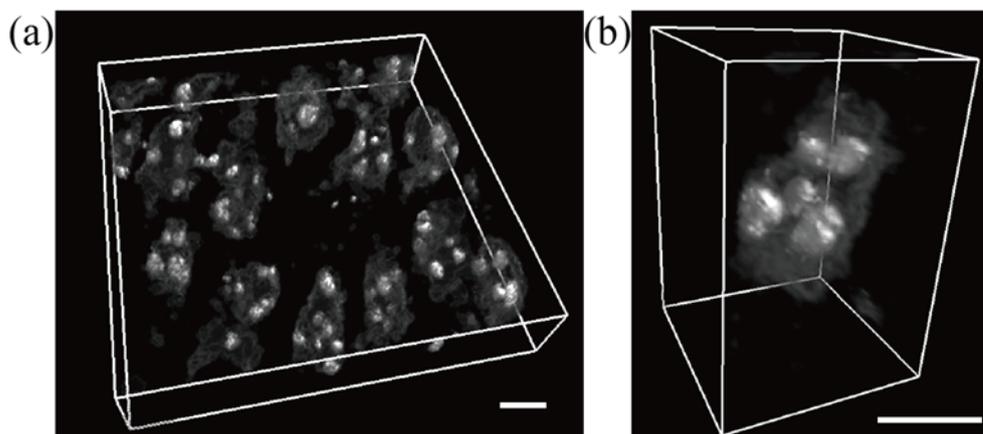


図2 可視化された三次元イオン分布のスナップショット¹⁾

(a) 測定領域全体における三次元イオン分布。CN をグレーで、 PO_3^- を白でそれぞれ示した。(b) 一部を拡大した図。(scale bar: $5 \mu\text{m}$)

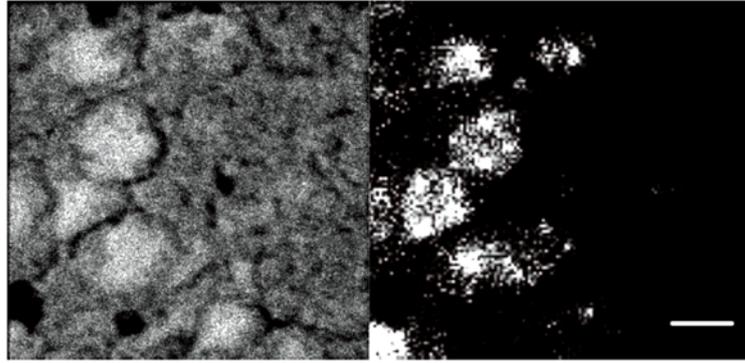


図3 イオンイメージとDAPI染色像の比較。GCIB-TOP-SIMSによって検出されたCNのイオンイメージ(左)と対応する領域におけるDAPI蛍光像(右)。(scale bar: 5 μ m)

【考察】CNが反映する細胞核内に、 PO_3^- のシグナルが塊状に分布していたことから、何らかの核内構造を反映していると考え、文献値と比較するためにその大きさを推定した。その結果、直径が約1 \cdot m程度であり、その60%においてアデニンイオンが同様の分布を示していたことから、細胞核内でmRNAのポリアデニル化をつかさどるcleavage bodyを反映するシグナルが検出されたと考えられる²⁾。

1) Masaki, N. Ishizaki, I. et al. (2015) Sci. Rep. 5: 10000

2) Zimber, A. Nguyen, Q. D. et al. (2004) Cell. Signal. 16: 1085

設備・機器共同施設の支援体制について

板倉広治

名古屋大学 医学教育研究支援センター分析機器部門

私の勤務しております名古屋大学大学院医学系研究科の設備・機器共同施設である医学教育研究支援センター分析機器部門の沿革と講習会の取り組みや機器予約システムさらに運営状況のご報告をさせていただきます。

当部門は 1982 年医学部電子顕微鏡室と大学院電子顕微鏡室を統合して中央電子顕微鏡室として始まり、細胞自動分離解析装置や生体分子構造解析装置さらに遺伝子実験システムが設置されて教育研究機器センターとなり、現在の医学教育研究支援センター分析機器部門と拡充して来ました。現在はバイオイメージング研究室(旧超微形態研究室)・分子構造解析研究室・細胞機能解析研究室・遺伝情報解析研究室・医工連携室の 5 室から構成されて電子顕微鏡関連の機器はバイオイメージング研究室と医工連携室の 2 室に設置しています。

研究室運営には各研究室をよく利用する基礎講座と臨床講座の利用者代表で構成された利用委員会と各研究室の研究室長を担当している教員で構成された運営委員会で方針や問題点の確認を行い改善しています。利用者はこの委員会で決めた利用規則に則って利用しています。このような学内の体系ができ上がり施設運営も進み 2006 年から学外者の利用も開始されました。

機器の利用は原則として利用者自身で行ってもらうようにしていますが、利用者は各研究室で半年毎に日程が告知される講習会シリーズの入門編・応用編や操作が難しい機器の個別講習、分析結果の検討また前処理方法の指導など研究支援サービスを受けることができ、これらを活用して機器の利用を行っています。全体向けの講習会では 2 週間前に学部内のメーリングリストで広報を行い機器や活動の周知を図っています。各研究室の担当技術職員が機器の維持管理と講習会や講演会の開催をしており、困ったときにすぐ相談できる環境になっています。

機器の予約については 2001 年に医学部経由の回線で当部門独自のサーバーを立上げ、ホームページの機器予約システムからアクセスして利用者自身で空いている日程と時間帯(学部内は 24 時間利用可)を選んで予約することができ利便性が充実しています。例えば予約については 28 日前から予約可能で他の利用者の予約状況を確認しながら利用することができるので実験の予定が立てやすくなっています。機器管理者の技術職員も研究室別一覧の表示画面で管理している機器全ての稼働状況を一画面で確認することができるので利用状況の把握と機器対応に役立っています。

機器利用料については紙媒体の利用簿に実際の使用時間を記入してもらい 3 ヶ月毎に集計を行い徴収しています。ここでの集計を講座・利用者・機器ごとで解るように入力して利用者の状況を確認しています。現在の利用者状況ですが分析機器部門全体で利用講座数が基礎講座 21、臨床講座 45、他学部 10、学外 8 で利用時間数および件数は 31,378 時間、11,747 件となってい

ます。(2014 年度実績)バイオイメージング研究室に限って集計すると利用時間数および件数が 11,822 時間、4,495 件となりさらに電子顕微鏡関連だけで 2,585 時間、940 件利用稼働しています。(2014 年度実績)。

最近の傾向として電子顕微鏡関連の機器利用者が限られてきているように思います。これは初めて電子顕微鏡を利用する人は何から準備したら良いかや技術相談のできる場所も解らず困ってしまう状況になり、手がかりがなく敬遠していることが多いように思います。また多少経験してもサンプルが変わったりすると試料作製の流れが解らなくなったり装置があっても操作方法が解らなく利用できない状態になることもあります。このような状況を少しでもなくしていき電子顕微鏡を利用する人を大切にして電子顕微鏡を始めやすい支援体制にしたいと思っています。

設備・機器共同施設の他大学におけるシステムや取り組みを知る機会は少ないですが、よいシステムや取り組みをさらに取り入れて、これからも利用者が望む使いやすい設備・機器共同施設を目指して行きたいと思っております。各大学で電子顕微鏡の利用を広め利用者を増やすための話し合いの場になれば幸いです。



分析機器部門TOP

分析機器部門は、名古屋大学大学院医学系研究科における、各種分析・計測機器の共同利用施設です。他学部や学外の方など、医学系研究科以外の方もご利用いただけます。

Information

- 技術室** 2015年4月1日から一部の利用料金が改定されます。新料金は**利用料金のページ**でご確認ください。
- 技術室** 機器予約のページアドレスが<https://ars.med.nagoya-u.ac.jp/>に変更になりました。
- 技術室** 医工連携室および光顕試料作製室(臨床研究中核病院支援研究室)をご利用の方は別途申請を必要です。申請方法は、「各種申請手続きのご案内」ページの「入室登録」をご覧ください。
- 技術室** 新しい**利用案内**が出来ました。
- 技術室** 今年度も新規・更新機器の要望を募集します。(学内専用)

Update

- 技術室** 人事異動に伴い、**問い合わせ先**を更新しました。(2015/4/1)
- 技術室** **新・料金表(2015/4/1〜)**を掲載しました。(2015/3/13)
- 技術室** 設置機器一覧に**新規導入機器(医工連携室設置)**を追加しました。(2015/3/13)
- 技術室** 各種申請手続、入室方法(学内限定)、利用規則、問い合わせ先、**部門概要**、**地図**と**交通アクセス**を更新しました。(2015/3/12)
- 技術室** **料金表**に、消耗品代金を追加記載しました。(2014/12/25)
- 技術室** **利用の手順**、**各種申請手続**、**部門概要**のページを更新しました。(2014/12/25)
- 技術室** **設置機器一覧**のページを更新しました。(2014/11/19)

基礎医学研究のコアファシリティー
 分析機器部門は、医学系研究科の各研究室に必要となる分析・計測機器を共同利用施設として、2014年4月に、これまで数回にわたって行ってきた機器共同利用施設(旧)の再編を行いました。より多くの研究室が利用できるよう、設備の増強や研究支援体制の強化を図ります。現在、名古屋大学医学系研究科(旧)の各研究室(旧)に、最新の分析・計測機器、最新の試料作製装置(旧)の導入を進めています。

細胞
 細胞の観察、培養、操作は、細胞観察・培養・操作の自動化・高精度化が求められています。最新の細胞観察・培養・操作装置を導入し、細胞観察・培養・操作の自動化・高精度化を図ります。最新の細胞観察・培養・操作装置を導入し、細胞観察・培養・操作の自動化・高精度化を図ります。

分子
 分子構造解析は、分子構造解析の自動化・高精度化が求められています。最新の分子構造解析装置を導入し、分子構造解析の自動化・高精度化を図ります。最新の分子構造解析装置を導入し、分子構造解析の自動化・高精度化を図ります。

組織
 組織の観察、培養、操作は、組織観察・培養・操作の自動化・高精度化が求められています。最新の組織観察・培養・操作装置を導入し、組織観察・培養・操作の自動化・高精度化を図ります。最新の組織観察・培養・操作装置を導入し、組織観察・培養・操作の自動化・高精度化を図ります。

バイオイメージング
 分子レベルの細胞内での局在や動態の可視化・高精度化が求められています。最新のバイオイメージング装置を導入し、バイオイメージングの自動化・高精度化を図ります。最新のバイオイメージング装置を導入し、バイオイメージングの自動化・高精度化を図ります。

遺伝子情報解析
 遺伝子情報の解析・解析の自動化・高精度化が求められています。最新の遺伝子情報解析装置を導入し、遺伝子情報解析の自動化・高精度化を図ります。最新の遺伝子情報解析装置を導入し、遺伝子情報解析の自動化・高精度化を図ります。

O-1

弾性線維のいろいろ

永井薫子¹⁾、永井沙和²⁾、猪股雅史¹⁾、藤原作平¹⁾、島田達生¹⁾、北野正剛¹⁾
大分大学¹⁾ 福岡大学²⁾

我々はこれまでにヒトの皮膚で真皮の弾性線維の分布様式、場所、年齢による違いなどについて形態学的にしらべてきた。皮膚の中の弾性線維はその弾力性を保つための働きをしていることが想像される。実際、光学顕微鏡や電子顕微鏡で観察してみると露光部の皮膚が年齢とはあまり関係なく真皮の弾性線維が変性をおこしていることがわかった。今回、量的には少ないと考えられるが、腱、骨膜などの骨の周囲の結合組織のようなあまり伸縮機能にたけていても不都合と考えられる組織のなかでの弾性線維の分布を調べたので若干の考察を加えて報告する。

O-2

イオン液体処理法の検討(2)

塩野正道¹⁾、坂上万里¹⁾、許斐麻美¹⁾、中澤英子¹⁾、波多野 治彦²⁾
(株)日立ハイテクノロジーズ 科学システム設計開発本部 アプリケーション開発部¹⁾
(株)日立ハイテクノロジーズ 科学システム設計開発本部 電子顕微鏡第一設計部²⁾

イオン液体は希釈濃度・処理方法などを最適化することによって、前処理ステップを簡便化して迅速に生物試料を電顕観察することが可能である¹⁾。我々は高親水性で安全性を配慮した日立電子顕微鏡用イオン液体 IL1000 を湿潤試料に適用し、試料表面から内部を剖出して SEM 観察することで、イオン液体処理によって試料の柔軟性が保持されることを示した²⁾。今回は、通常、固定・脱水の過程で流出する水生生物(藻類)の粘液分泌器官に着目し、その微細構造を生きた状態に近い姿で観察するためのイオン液体処理法を検討した。多糖類の基材上に試料を置き、5% IL1000 水溶を滴下したことで、過剰な IL1000 を基材で吸収させ、細胞から分泌される粘液の SEM 観察を可能とした。その結果、分泌器官の形状と粘液の放出に違いがあり、粘液中に結晶を有するものなど、多様の構造が認められた。粘液は藻類の細胞を多細胞化するための接着剤として機能するため、これらの構造を観察することは水生生物の生活環を理解する上でも重要であり、イオン液体処理による SEM 観察がその手段として有用であることが示された。

<参考文献> 1) : 根本他、(2011). 医学生物学電子顕微鏡技術学会誌. 25 : 36.

2) : 塩野他、(2013). 医学生物学電子顕微鏡技術学会誌. 27 : 41.

O-3

走査型電子顕微鏡を用いた代替電子染色剤の選抜法

池田健一、嘉久大毅、井上加奈子、朴杓允
神戸大学大学院農学研究科

透過型電子顕微鏡観察 (TEM) において電子染色工程で用いられる酢酸ウランは、核燃料物質として扱われ、取扱い制限が厳しく代替電子染色剤の開発が求められている。これまでに多くの化学物質が供試されて来たが、それを評価する方法は、得られた画像についてコントラストを数値化あるいは達観によるものであった。しかし、画像に至る過程において、薄切・撮影・現像という煩雑なステップを経ることより、同一条件の切片での比較が行われていないのが現状である。この問題点を克服するために、電子染色剤のコントラスト性を走査型電子顕微鏡の反射電子観察モード (BSEI) を用いて評価する実験系の開発を試みた。アミノ基と結合性の高いアフィニティービーズを用いてタンパク質標品を結合させ、そのビーズに電子染色剤処理・洗浄を行い BSEI 観察したところ、TEM 観察と同様のコントラスト性が観察された。この手法を用いることにより、多様な試薬に対して同一条件での染色効果を評価することが可能となる。

O-4

大型切片観察するための試料作製

花坂智人、松浦絵里、小笠原勝利、石田欣二
岩手医科大学 医歯薬総合研究所 生命科学研究技術支援センター

私たちは、樹脂包埋ブロックより作製した超薄切片をスライドガラス上に回収し、走査電子顕微鏡を用いて低加速電圧で反射電子像を観察し、組織や細胞の超微形態解析を行っている。この方法は、グリッドサイズの制約を受ける透過電子顕微鏡に比べて広範囲の観察が可能であるため、連続切片観察や大型切片観察が比較的容易である。しかしながら、試料を過度に大きくすると試料作製時の固定液や樹脂の浸透不良が発生するのも事実である。そこで今回、浸透性を妨げない厚みの標本をビブラトームで作製し、包埋時には平面性を保つ工夫も行ったので併せてご報告する。

O-5

反射電子像を用いた3次元解析処理の試み

小笠原勝利、花坂智人、松浦絵里、野崎貴介、石田欣二
岩手医科大学 医歯薬総合研究所 バイオイメージングセンター

私達は、樹脂包埋した試料を、TEMに加えSEMによる観察（反射電子）をし、超微形態解析を行っている。この方法は、スライドガラスに連続超薄切片を回収し観察することができるので、効率の良い連続切片画像の取得が可能である。今回は、得られた反射電子像の画像データを、より正確に解析する方法を確立するため、連続切片画像の3次元解析処理法について、画像解析ソフトウェアを用いて検討した。具体的には、毛細血管の3つの型（連続型、有窓型、不連続型）を3D化するために、ラット視神経、腎臓、肝臓組織の連続超薄切片をスライドガラスに回収し、電界放出形走査電子顕微鏡（FE-SEM SU-8010）を用いて、加速電圧1.5kV、WD2.5mmの条件で連続切片画像の取得を行った。その後、Fiji（Fiji Is Just ImageJ）のソフトを用いて、撮影画像のアライメントとセグメンテーション（色づけ）、3D化をすることにより、毛細血管の立体的な構造を得ることができた。

O-6

FIB/SEMによる下垂体三次元再構築データの定量解析の試み

太田啓介¹⁾・吉富宗健^{1),2)}・中村桂一郎¹⁾
久留米大学医学部解剖学講座¹⁾ 久留米大学医学部脳神経外科学講座²⁾

下垂体の細胞が分泌するホルモンは最終的に血管に取り込まれることで内分泌器官として機能するが、分泌顆粒の極性と血管との関係性については明確ではない。そこで、収束イオンビーム搭載走査型電子顕微鏡（FIB/SEM）を用いた連続断面観察三次元再構築法を用いて下垂体組織の正確な三次元データを取得し、分泌顆粒の分布について定量解析を試みた。FIB/SEMで得られるデータはブロックの表面から透過型電子顕微鏡像に類似した組織像を直接取得することができるため、正確な三次元再構築が可能だけでなく、定量的な特徴を保持していることが特徴であり、連続切片法では難しい定量解析が可能であると考えられている。観察にはWistarラット下垂体を用いた。動物をハーフKarnovsky固定液で経心像灌流固定した後、下垂体を摘出、試料をrOTO法で後固定の後、さらに4%酢酸ウラン水溶液、Walton鉛溶液で*en bloc*染色したものをエポキシ系樹脂に包埋し試料とした。面出しを行った後、カーボン蒸着を行い、FIB/SEMにて100 μ m x 100 μ m x 50 μ mの領域をボクセルサイズ50nm x 50nm x 50nmで三次元再構築を行った。再構築データ中には数百の細胞が含まれたが、その中で細胞の突起を含む全てがデータ中に内包されたものを用いて解析した。細胞の形態はマニュアルで、分泌顆粒は閾値で切り出した。このデータから細胞全体の重心と分泌顆粒の重心を求め、そのベクトル量について検討を行った。

DAB 反応生成物構成元素の EDS 検出

盛口敬一、本田雅規

愛知学院大学 歯学部 口腔解剖学講座

DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride) はよく知られているように、免疫組織化学で抗体標識した西洋わさび由来 peroxidase の検出に用いられているが、これを利用することにより内因性 peroxidase が検出でき、この活性を保有する細胞として多形核白血球や唾液腺腺房細胞などが知られている。そのため、こうした細胞の機能、消長を調べるときに非常に良い標識となる。しかしその特異性については阻害実験等で証明するもので、直接その存在を証明する試みはされていなかった。そこで我々は DAB 反応産物構成元素について分析電顕 (EDS) を使い元素マッピング、定性、定量分析を行い、指標となる元素の存在を模索した。その結果、他の元素に比べ窒素元素の有用性が明らかとなった。

P-1

導電性コーティング剤を使用した SEM 観察の検討

佐々木千鶴子、夏木靖典、四戸 歩、高木正之
聖マリアンナ医科大学 大学院電子顕微鏡研究施設

近年イオン液体を走査電子顕微鏡に応用する手法がさまざまな分野で検討されている。今回我々はイオン液体と同様に従来の試料作製と比較して極めて短時間で、かつ簡略化した方法で SEM 観察が可能な導電性コーティング剤を使用する経験を得た。本研究では電界放出形走査電子顕微鏡を用いて、遊離細胞として血液、実質臓器として灌流固定したラットの肝臓・腎臓、高分子化合物として高含水であるカラーコンタクトレンズを試料とし SEM 観察の検討を試みたので紹介したい。

P-2

連続スライス SEM と組織化学的手法を用いた三次元超微構造 観察技術によるペルオキシソーム分裂・増殖の解析

森山陽介¹⁾、深澤元晶¹⁾、新美元²⁾、臼田信光¹⁾
藤田保健衛生大学 医学部 解剖学 II 講座¹⁾、共同利用実験施設²⁾

連続スライス SEM (SBF-SEM、FIB-SEM) は電子顕微鏡の解像度で細胞構造の立体再構築を可能にする新規観察法である。本研究では連続スライス SEM 観察に組織化学的手法を応用し、直径 0.6 μm 程の単膜オルガネラであるペルオキシゾームをマーカー酵素カタラーゼによる DAB 反応で特異的に染色して増殖過程を観察した。染色によりラットの肝臓においては微小な(直径 0.15 μm) の球状のペルオキシゾームも多数存在することが示された。原始紅藻においては既存のペルオキシゾームが二分裂することが示されているが、ラットにおいては出芽様の形態が複数観察されたことから、このマイクロペルオキシゾームは既存のペルオキシゾームから出芽・分裂して形成されることが示唆された。

敗血症における血管内皮障害の走査型

電子顕微鏡を用いた形態学的考察

北川 雄一郎¹⁾、岡田 英志¹⁾、鈴木 浩大¹⁾、高田 ちひろ¹⁾、薄井 貴裕¹⁾、
玉置 祐斗¹⁾、堀田 康明²⁾、竹村 元三³⁾、小倉 真治¹⁾
岐阜大学大学院医学研究科 救急災害医学分野¹⁾、朝日大学歯学部 口腔科学共同研究所²⁾、朝
日大学歯学部 総合医科学講座内科学分野³⁾

背景：敗血症とは、細菌感染症が全身に波及する非常に重篤な状態であり、無治療ではショック、播種性血管内凝固症候群、多臓器不全などから早晩死に至る。この過程において血管内皮細胞の障害が深くかかわっていると考えられている。本研究では敗血症モデルマウスを用いて血管内皮障害を経時的に観察し、形態学的な考察を行った。

方法：グラム陰性菌細胞壁外膜の構成成分であるリポ多糖（以下LPS）を25mg/kgの濃度で10週齢のオスのマウスに腹腔内注射し、敗血症を作製。これらのマウスをLPS注射後0、3、6、12、24、48時間後に屠殺し、2.5%グルタルアルデヒドで還流固定を行った。これらマウスから肺、肝臓、腎臓を取り出し、凍結切断法により試料を作製、走査型電子顕微鏡を用いて観察した。

結果：LPS注射後のマウスの48時間後の生存率は50%であった。腎臓において、LPS注射後6時間では血管内皮細胞の形態は保たれていたが、12時間以降になると血管内皮の浮腫が顕著になり、血管の閉塞などの障害が顕著に認められた。一方で肺、肝臓においてはより早期に血管内皮障害が出現していた。

考察：敗血症における臓器障害は肺、肝臓、腎臓の順に出現することが知られており、本研究で確認できた血管内皮障害の程度とよく相関していると考えられた。

ラットを用いた片側水腎症と対側代償腎の経時的尿細管変化について—生体内凍結技法による解析—

逸見明博¹⁾、逸見聖一朗²⁾、松本なつき⁴⁾、廣谷ゆかり¹⁾、地家豊治³⁾、中西陽子¹⁾
日本大学医学部病態病理学系人体病理学分野¹⁾、日本大学医学部内科学系腎臓高血圧内分泌内科学分野²⁾、日本大学医学部総合医学研究所電子顕微鏡室³⁾、クレハ分析センター⁴⁾

【はじめに】近年、生体内凍結技法が行われるようになった。この方法を用いることにより、生体内機能状態下の細胞組織形態が保持され、真の機能形態学的解析が可能である。我々は、ラットの一側の尿管を結紮し急性の水腎症を作製し、対側の代償腎の両者の近位尿細管の変化について生体内凍結技法で解析した。

【方法】成獣ラット腎をもちい、一側の尿管を結紮し10分および1時間後の急性水腎症と対側代償腎、さらにコントロール腎の近位尿細管について生体内凍結技法で解析した。生体内凍結はイソペンタン・プロパン混合寒剤を用い凍結腎臓は摘出後、2%パラホルムアルデヒド含有アセトン中で凍結置換固定、パラフィン包埋した。薄切切片はHE染色、IgG1とアルブミンの免疫染色で顕微鏡観察した。また、通常電顕標本も作製し透過電顕で観察した。

【結果】コントロール群では、近位尿細管は立方上皮からなり内腔は開いていた。急性水腎症および対側代償腎の近位尿細管はコントロール群に比べ内腔の拡張がみられ、尿細管細胞の微絨毛直下に尿蛋白吸収像に伴うアルブミン陽性の小腔包構造の出現を認めた。

【考察】ラットを用いた一側の尿管結紮に伴う急性水腎症モデルでは、水腎症と対側代償腎ともに近位尿細管は拡張がおり、両者とも蛋白吸収像が亢進すると考えられた。

P-5

哺乳動物末梢赤血球細胞質分裂の電顕観察

新美 元、井手 富彦、谷口 孝喜
藤田保健衛生大学共同利用研究施設

背景：2003年、哺乳動物赤血球細胞膜にエリスロポエチン受容体が、2006年、細胞質に分散性の核酸物質の再発見の報告がなされた¹。2009年、我々もエリスロポエチンの遅延添加による人赤血球の懸滴培養法で、細胞質分裂を観察し、報告した²。しかし電顕による研究は皆無である。今回、エポン包埋電顕法で末梢赤血球分裂の観察を試みた。方法：通常の電顕固定、エポン包埋、光顕および電顕観察。結果と考察：トルイジン青染色標本を倍率400で注意して観察すると血管内にfigure 8像²が見られた。超薄切片標本では、倍率10,000から20,000でfigure 8像の細胞質チューブあるいはブリッジが明瞭に観察された。細胞質分裂終期の像と考察された。

1. Niimi G. Commentary. *Human Genet Embryol.* 2013, 3:1e. Google, free.

2. Niimi G. et al. *Okajimas Folia Anat Jpn.* 2009, 86:73-77. PubMed, free.

P-6

軟質培養容器を用いた培養細胞の透過型電子顕微鏡標本作製

今安正樹¹⁾、高瀬弘嗣²⁾

(株)メニコン総合研究所¹⁾、名古屋市立大学大学院医学研究科共同研究教育センター²⁾

一般にポリスチレンなどの硬質培養容器で培養した細胞の透過型電子顕微鏡標本作製では、エポン樹脂と培養容器の界面で細胞が変形するなど技術的な問題点が多い。我々は付加型シリコーン(PDMS)またはスチレン系熱可塑性ブロックコポリマー(SEBS)製の軟質培養容器を用いた標本作製方法を考案した。ヒト角膜上皮細胞(hTCEpi細胞)を硬質培養容器で培養すると単層に留まるが、軟質培養容器では2~3層に重層化する。この重層化細胞シートを常法で固定・脱水し、エポン包埋した。軟質培養容器をたわませてエポン樹脂を脱離し、超薄切片を作製して透過型電子顕微鏡で観察した。その結果、アーティファクトによる細胞変形は認められず、基底部から表層部に移行するにつれて扁平化するなど、生体角膜上皮と類似した形態が観察された。軟質培養容器による透過型電子顕微鏡標本の作製方法は、細胞分化の研究において役立つ技術と考えられる。

P-7

黄色ブドウ球菌 α ヘモリジンがタイトジャンクション の構造と機能に与える影響 —その2—

関 啓子¹⁾ 佐々木博之²⁾

東京慈恵会医科大学基盤研究施設¹⁾、帝京平成大学大学院健康科学研究科²⁾

タイトジャンクション(TJ)は上皮細胞や内皮細胞の頂上領域近くでリボン様の分子ネットワークを形成し、隣接細胞間との溶質や水の透過を制御している。TJは膜貫通タンパク質のクローディング分子群やオクルーディング分子で構成され、その細胞内ドメインはZOタンパク質複合体と結合している。

我々は、細菌が産生する毒素がTJのバリア機能にどのような影響を与えるかを明らかにする目的で、細胞膜孔形成毒素である黄色ブドウ球菌 α ヘモリジン(HIa)がヒト腸管系培養細胞(Caco2細胞)の、バリア機能、TJ構成分子の局在、TJストランド、TJを中心とした微細構造に与える影響を検討している。

細胞シートの頂上側からHIaを作用させた場合、細胞のバリア機能が破綻し、クローディング-1分子はTJ領域から細胞質内に分散すること、また、毒素を除去して20時間後にバリア機能もクローディング-1もほぼ正常の状態に戻ることをこれまでに確認している。これらの知見に加えてオクルーディングやZO-1タンパク質の変動について検討したので報告する。

P-8

ヒト由来細胞外小胞の解析

石垣靖人、中村有香、辰野貴則、島崎猛夫
金沢医科大学・総合医学研究所

エクソソームに代表される細胞外小胞は、直径100ナノメートル前後でRNAやタンパク質を運ぶ微小胞とされている。その生物学的な意義は完全に明らかにされていないが、さまざまな細胞から分泌されており、血液、尿、唾液、母乳など様々な体液中に認められる。近年、細胞外小胞が体内で細胞間コミュニケーションの伝達物質として働くことや、さまざまな疾患のバイオマーカーとして有用であることが示されており、注目を集めてきた。とりわけ、内部に含まれる低分子RNAが、細胞外小胞の機能をなう中心分子と考えられており、解析が進められている。本学会では、このような細胞外小胞の精製、解析、観察に関する知見について報告する予定である。

P-9

歯肉表層上皮の剥離・脱落に関する組織化学的観察

盛口敬一、本田雅規
愛知学院大学歯学部口腔解剖学講座

歯肉上皮は細胞の分化段階を基に基底層、有棘層、顆粒細胞層、角化細胞層（正角化、類角化、非角化）に分けられる。この角化細胞層の角質細胞は表層から順に剥離・脱落してゆく。一方皮膚の上皮細胞では細胞の断片化を起こさない特殊な形の細胞死（アポトーシス）を示すことが知られている。しかし歯肉の場合においても同様であるのかは不明である。そこで我々は細胞変性やアポトーシスに伴って細胞外に移動するリン脂質をセリウム塩法にて、リンーセリウムの反応として捕らえ、分析電顕によりリンあるいはセリウム両元素を細胞膜上で同時に確認することでの立証を試みた。その結果、マッピングあるいは定性、定量分析により細胞膜に一致して両元素の存在が証明され、歯肉においても変性、アポトーシスに伴う剥離・脱落である可能性が示唆された。

P-10

トリミング用ブロックチャックホルダーの試作

尾関教生
愛知医科大学教学監

電顕ブロックの面出しおよびトリミングに際しては、超マイクロームの試料ステージを使って作業を行うことも可能であるが、マイクローム本体に粉塵を侵入させる原因ともなるので、避けた方が良い。したがって別の実体顕微鏡下で作業を行うことになるが、使いやすい市販のトリミングチャックの入手が困難である。このためマイクロームに付属するブロックチャックを使用して、実体顕微鏡下で作業できるようチャックの台を試作したところ好評であった。手近な材料で製作可能であるので報告、実物を供覧する。

プランクトンのSEM観察に向けた イオン液体を用いた前処理方法

富田法貴、宮本賢治
鳴門教育大学大学院学校教育研究科

本研究ではプランクトンのSEM観察する際に、従来の凍結乾燥法に比べて簡単に行える前処理法としてイオン液体を用いた方法に着目し、最適条件について検討した。実験では、イオン液体として1-メチル-3-メチルイミダゾリウム メチルホスホネートを用いて、アルテミア・サリーナとミジンコのプランクトンの像観察を行った。今回の実験では置換時間と置換回数の最適化を行った結果、以下の知見が得られた。

- 1) 置換時間は約2~3分でも試料の顕著な収縮・変形は見られなかった。
- 2) 置換回数を1回にすると顕著な変形が観測され、3回は必要であることが分かった。
これは置換回数が少ないとイオン液体が十分に置換されていないと考えられる。
- 3) 濃度×置換回数を一定にしてイオン液体の液滴量を等しくしたが、体内の水分と置換するイオン液体量は等しくないことが明らかになった。

Recent Application of Electron Tomography in Biology

Chihong Song^{1,2)}, Hyun Suk Jung²⁾ and Toshinobu Suzuki¹⁾

Department of Biology, Graduate School of Science, Kobe University, Japan¹⁾

Division of electron microscopic research, Korea Basic Science Institute, Korea²⁾

Electron tomography (ET) uses a series of transmission electron micrographs in order to provide three-dimensional information of complex biological systems with nano-scale resolution. Recent developments in information processing technology and the advancement of specimen preparation technique pivoted rapid progress in ET. The latest technique involves a series of automated procedures such as automatic acquisition of tilt series images aided by auto-focusing and auto-tracking, automated image alignment without the use of fiducial marker, segmentation of structural features by automatic contrast distinguishing. For specimen preparation, rapid freezing/freeze-substitution preparation has become applicable to whole cells and tissues, and it has become the method of choice for 3-dimensional investigation of cellular ultrastructure without artifacts that originate from chemical fixation. Also, cryo-electron tomography with the frozen-hydrated preparation allows the imaging of cell or macromolecule in their native state. In this presentation, we introduce the basic principles of ET and the examples its application, and also discuss electron tomography techniques in medical and biological fields.

P-13

神経分泌顆粒の証明にウラニフィン反応 を行った臨床試料の実際

海野 和俊¹⁾、山田 正人²⁾、川本 雅司²⁾
帝京大学医学部附属溝口病院電子顕微鏡室¹⁾、同 臨床病理部²⁾

内分泌性腫瘍の生検材料において、電子顕微鏡的に神経分泌顆粒を見出すことは、病理学的に確定診断を得る重要な一要素である。しかし、これらの生検材料がすぐにグルタルアルデヒド固定されて提出されるとは限らず、ホルマリン固定されたものから切り出されることもある。そこで、当電顕室では、内分泌性腫瘍が疑われる症例に対して、一般的な二重固定試料とともに、その組織の一部に対してウラニフィン反応を行うようにしている。その結果、通常の電顕形態観察では、神経分泌顆粒の検索がとても困難な症例においても、ウラニフィン反応を施した切片においては、非常に容易に神経分泌顆粒を検索することが出来た。特に、CCD カメラ搭載の電子顕微鏡において、その検索が有用であることがわかった。

P-14

TEMを用いた粒子の液中観察

和山 真里奈¹⁾、仲野 靖孝¹⁾、渡邊 俊哉¹⁾、小川 太郎¹⁾、許斐 麻美¹⁾
Pin Chang²⁾、Lin-Ai Tai²⁾、Yu-Ching Chen²⁾
株式会社 日立ハイテクノロジーズ¹⁾、Bio Materials Analysis Technology, Inc. / 技術²⁾

電顕観察のニーズの一つに、加熱やガス導入など環境下でのその場観察があり、機能材料設計に用いられている[1]。今回我々はMEMS技術を適用した微細デバイス[2]を用いて、液中でのTEM観察を試みた。このデバイス(K-kit)は、シリコン製(サイズ:H:1.7mm×W:1.4mm×T:0.8mm)で、中央に窒化シリコン製の隔膜(厚さ約100nm)が設けられている。両端が開放の構造となっていて、毛細管現象で試料液が注入されるようになっている。両端を専用の接着剤で封止し、単孔グリッドに固着して観察に供する。今回はポリスチレンラテックス(ϕ 0.1 μ m)と金コロイド(ϕ 20nm)の混合溶液をK-kitに封入した。日立HT7700 TEMを用いて加速電圧120kVで観察した。乾燥試料と比較した結果、K-kit封入試料は粒子がより分散し、変形も認められなかった。K-kitを用いたTEM観察は、試料を乾燥させることなく液中での状態を確認できる新たな手法として有用であることが示された。

[1] H. Matsumoto et al : Microscopy and Analysis, 2013, 27(7), 13-18

[2] Lin-Ai Tai et al: Anal, Chem, 2012, 84, 6312-6316

P-15

イオン液体を用いた電子顕微鏡観察評価 に基づく DDS 製剤設計

高橋知里¹⁾、赤地志¹⁾、斉藤祥子¹⁾、須田麻美¹⁾、小川法子¹⁾、
種村眞幸²⁾、武藤俊介³⁾、川嶋嘉明¹⁾、山本浩充¹⁾

愛知学院大学 薬学部 製剤学講座¹⁾、名古屋工業大学 大学院 未来材料創成工学専攻²⁾、名
古屋大学 エコトピア科学研究所³⁾

近年、薬剤治療効果をより有効なものとし、治療や予防に利用するドラッグデリバリーシステム製剤の開発が求められている。我々は、この要求に対し、ナノメートルオーダーの微細粒子中に薬物を封入し、薬を患部に効率よく送達するキャリアの設計を行っている。本研究では、バイオフィーム感染症治療を目的とし、定量評価に加え微視的評価を行うことでナノ粒子製剤の最適化を試みる。具体的には、イオン液体を用いて病原体の形態、バイオフィームの形成機構を明らかにし、その構造的特徴に基づき、抗菌剤を効率よくバイオフィーム形成菌に送達し、抗菌活性を発揮させることのできるナノ粒子の設計事例について紹介する。

P-16

距離的に離れた共同研究者間での組織輸送について

盛口敬一¹⁾、村山次哉²⁾、本田雅規¹⁾

愛知学院大学 歯学部 口腔解剖学講座¹⁾

北陸大学 薬学部 生命薬学講座 生態防御薬学部門²⁾

共同研究の作業分担の関係で両者が距離的に離れている場合、組織の輸送が必要となる。我々は各種の酵素組織化学検出の電顕観察において、固定後翌日の反応検出まで、バッファーでの冷蔵保存を通常の工程としており、問題も生じていない。しかし実際距離的問題が生じた時、工程のどの部分で輸送すれば良いのか、迷うところである。また教科書的にも長時間固定による過固定の問題も知られている。そこで、今回我々は鹿児島でHCMV感染細胞を作製し、前固定以後の作業工程を名古屋で行うために、細胞をGA 固定液中とGA固定後のバッファー中での二つの条件下のもとに、宅配便を利用して配送し、形態の比較を電顕で行った。その結果、固定液中での運搬による細胞形態は見かけ上その構造に問題は認められなかったが、バッファー中での輸送の細胞はより良好な形態像を示すことが明らかとなった。

P-17

外生菌根菌シヨウロにおける 担子孢子発芽過程の微細構造解析

高 琪¹⁾, 仲野翔太¹⁾, 会見忠則^{2),} 霜村典宏²⁾
鳥取大学連合農学研究科¹⁾, 鳥取大学農学部²⁾

シヨウロ *Rhizopogon roseolus* (Coda) Th. M. Fr. (= *R. rubescens* Tul. & C. Tul.) は、海岸砂地という特殊な環境でマツ科の樹木の根に外生菌根を作り共生する典型的な外生菌根菌である。本菌の生活環について不明な点が多く残されている。また、本菌の担子孢子の発芽様式についてはこれまで解析例がない。そこで本研究では、本菌の担子孢子の発芽に伴う微細構造変化を透過型電子顕微鏡で解析した。未発芽の担子孢子は異なる電子密度の4層の孢子壁で構成され、細胞質は高電子密度を呈した。発芽初期段階の担子孢子の細胞質は、孢子壁から部分的に分離していた。発芽管が形成された部位の孢子壁は膨張し、細胞質の電子密度が減少した。

P-18

炭素源含有培地で培養した胃酸耐性及び胃酸感受性を具備 する乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* の細胞学的比較

平岡 吏佳子¹⁾, 仲野 翔太²⁾, 霜村 典宏³⁾, 会見 忠則³⁾
鳥取大学大学院農学研究科¹⁾, 鳥取大学大学院連合農学研究科²⁾, 鳥取大学農学部³⁾

プロバイオティクスとは、腸内フローラのバランスを改善し、人に有益な作用をもたらす乳酸菌などの微生物のことであり、胃酸耐性を有する乳酸菌を用いた機能性発酵食品の開発が進められている。本研究では炭素源含有液体培地で培養した胃酸耐性株 (FSCM2-12) 及び胃酸感受性株 (FSGT-2 株) の細胞学的特徴を観察した。炭素源含有液体培地で18時間培養した胃酸耐性株及び胃酸感受性株を2.5%グルタルアルデヒドと1%四酸化オスミウムで二重固定し、脱水後、Spurr 樹脂で包埋した。ブロックから超薄切片を作製し、電子染色後、透過型電子顕微鏡で観察した。無糖液体培地で培養した時、胃酸耐性株と胃酸感受性株において顕著な違いは確認できなかったが、炭素源含有液体培地で培養した時、胃酸感受性株よりも胃酸耐性株において莢膜が顕著に厚くなっていることが観察できた。

P-19

食用きのこマイタケの黒色野生株と 白色アルビノ変異株の細胞学的比較

林 未来¹⁾、仲野 翔太²⁾、霜村 典宏³⁾、會見 忠則³⁾
鳥取大学大学院農学研究科¹⁾、鳥取大学大学院連合農学研究科²⁾、鳥取大学農学部³⁾

マイタケ(*Grifola frondosa*)は一般的な食用きのこ(子実体)であり、その子実体は原基と呼ばれる菌糸の固まりから分化する。マイタケには着色(黒色)の野生株と白色のアルビノ変異株が知られている。本研究では黒色野生株と白色アルビノ変異株の子実体原基部の菌糸体の細胞学的特徴を比較した。子実体原基を二重固定し、脱水後、Spurr樹脂で包埋した。ブロックから超薄切片を作製し、電子染色後、透過型電子顕微鏡で観察した。また、4%パラホルムアルデヒドで固定し、脱水後、LR-White樹脂で包埋した。ブロックから超薄切片を作製し、着色に関わるタンパク質を標的とした抗原抗体反応後、透過型電子顕微鏡で観察した。子実体原基部の菌糸体において、野生株では黒色菌糸の割合が高く、変異株では白色菌糸の割合が高い傾向が確認された。免疫反応の結果、野生株では金コロイドが確認できたが、変異株ではほとんど金コロイドが確認できなかった。

P-20

レーザー切開を行った水晶体包断面の電顕的観察

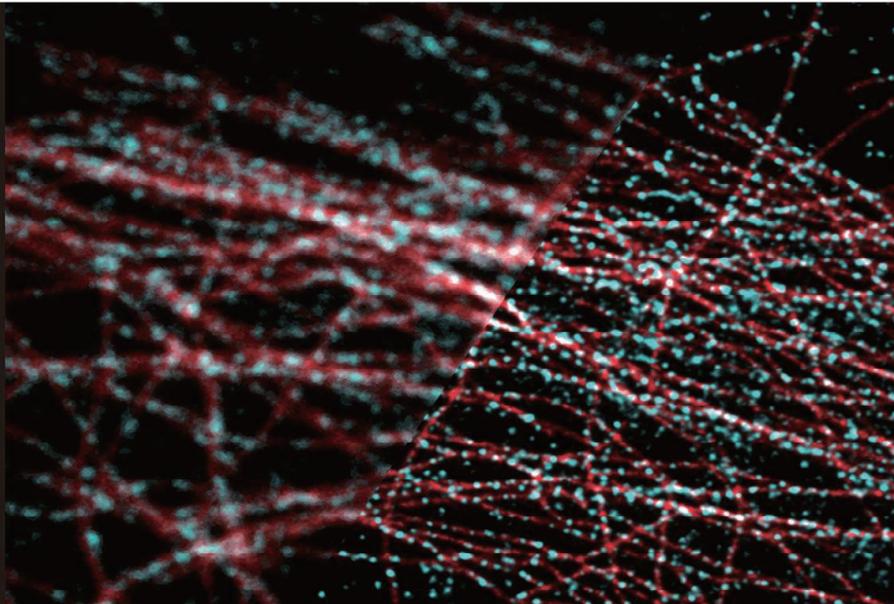
尾関教生¹⁾、市川慶²⁾
愛知医科大学教学監¹⁾、岐阜赤十字病院眼科²⁾

現在、白内障の水晶体手術にはフェムト秒(10^{-15} 秒)のパルス幅のレーザーによる水晶体包前嚢切開が開発されて普及し始めている。これは正円形に正確に切開できるため眼内レンズを使用した結果が良好であるため普及しつつある。

しかしその切開線が平滑でないこと、切開部位の水晶体包上皮が脱落するという報告があるため、SEMおよびTEMを使用してこれらを観察したところ、用手切開との差異を認めた。

水晶体包前嚢は厚みが $10\mu\text{m}$ 程度の膜性組織であるためTEMの試料作成とくに切断面の水平断は困難であるが、平板包埋板を使用して注意深く包埋することで切片を作成できた。

この方法を含めてレーザー切開した水晶体包の形態を報告する。



医学生物学電子顕微鏡技術学会

第 31 回学術講演会 および総会

バイオイメーシング連携

—蓄積した技術の継承と機能解析への挑戦—

2015年6月 **19日(金)** ~ **21日(日)**

名古屋市立大学 桜山キャンパス
本部棟 4階ホール

一般演題募集

締切 4月 **19日(日)** 必着

特別講演

超微形態観察が細胞世界の真理を暴く

黒岩常祥 東京大学名誉教授

超解像顕微鏡と電子顕微鏡が拓く
バイオイメーシングの新时代

岡田康志 理化学研究所チームリーダー

教育講演

生物試料の透明化

八田稔久 金沢医科大学解剖学教授

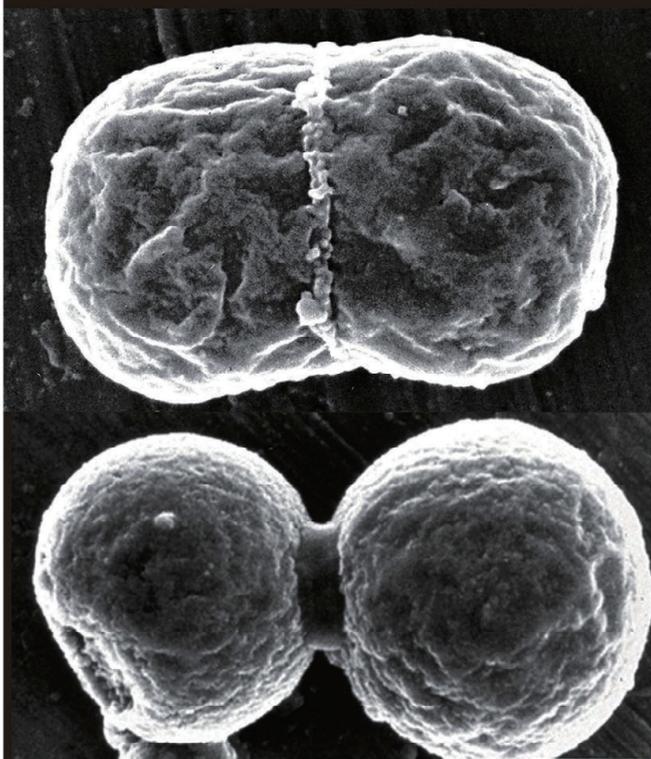
市民公開講演

心不全の病態に潜む超微構造異常

大手信之 名古屋市立大学教授

ワークショップ

- 電子顕微鏡技術の臨床応用
- 分子・細胞シームレス解析
- 形態解析の温故知新



開催事務局

第31回学術講演会 実行委員会事務局

〒467-8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1

名古屋市立大学大学院医学研究科 心臓・腎高血圧内科学

会長 及川理 Tel: 052-853-8221 mail: 31gakujutu@emtech.jp



主催 | 医学生物学電子顕微鏡技術学会 (<http://emtech.jp/>)

協賛 | 公益社団法人 日本顕微鏡学会

健康に役立つ

市民公開講演

主催 医学生物学電子顕微鏡技術学会 第31回学術講演会実行委員会

心不全の病態に潜む超微構造異常

名古屋市立大学心臓・腎高血圧内科学 大手信之教授

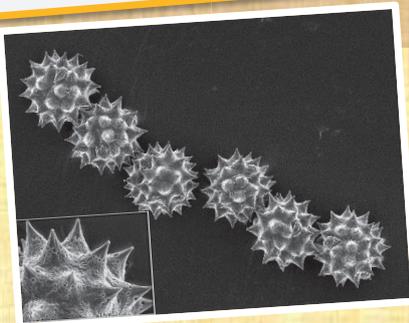
日時：2015年6月21日（日） 15:00～16:00（受付14時より）

会場：名古屋市立大学病院 病棟・中央診療棟3階大ホール

参加費 無料
事前登録 不要

同時開催

ミクロの写真展



電子顕微鏡で見える不思議な世界
のぞいてみよう！ 身近なミクロの世界

会場：3階大ホールエントランス
時間：12:00～16:30

お問合せ
第31回学術講演会 実行委員会事務局
Tel：052-853-8221
Mail：31gakujutu@emtech.jp

後援 名古屋市立大学医学会
名古屋市教育委員会

第31回学術講演会 実行委員会事務局

〒467-8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1
名古屋市立大学大学院医学研究科 心臓・腎高血圧内科学内
Tel : 052-853-8221
電子メールアドレス : 31gakujutu@emtech.jp
医学生物学電子顕微鏡技術学会 第31回学術講演会事務局

学会事務局

〒112-0002 東京都文京区小石川 3-37-2
Tel. 03-3815-4584 Fax. 03-3815-4626
E-mail : office@emtech.jp
<http://emtech.jp/>

実行委員会

会 長	及川 理 (名古屋市立大学大学院医学研究科心臓・腎高血圧内科学)
副 会 長	逸見 明博 (日本大学医学部医学科人体病理学)
実行委員長	永山 元彦 (朝日大学歯学部口腔病理学)
実行委員 (五十音順)	
	石垣 靖人 (金沢医科大学総合医学研究所 生命科学研究領域)
	板倉 広治 (名古屋大学医学教育研究支援センター)
	今安 正樹 (メニコン総合研究所)
	小川 覚 (三重大学医学部電子顕微鏡室) 会計責任者
	尾関 教生 (愛知医科大学教学監)
	高瀬 弘嗣 (名古屋市立大学医学研究科共同研究教育センター) 庶務
	高橋 知里 ((愛知学院大学薬学部製剤学講座)
	武井 史郎 (浜松医科大学医学部 解剖学講座 細胞生物学分野)
	新美 元 (藤田保健衛生大学 共同利用研究施設電子顕微鏡室)
	広瀬 治子 (帝人㈱ 構造解析センター)
	福田 道雄 (名古屋市立大学大学院医学研究科心臓・腎高血圧内科学)
	美浦 利幸 (名古屋市立大学大学院医学研究科心臓・腎高血圧内科学)

主 催 : 医学生物学電子顕微鏡技術学会
協 賛 : 公益社団法人 日本顕微鏡学会
助 成 : 公益財団法人 大幸財団

市民公開講演

後 援 : 公立大学法人 名古屋市立大学医学会
: 名古屋市教育委員会

学会主催事業開催のご案内

主催：医学生物学電子顕微鏡技術学会

◇第28回電子顕微鏡技術研修会「夏の学校」 in 横浜 開催のご案内

恒例の夏の学校を神奈川県横浜市金沢八景にて開催致します。本学会は、電子顕微鏡の技術を広く普及する目的で、学生から研究者、医療従事者、基礎研究に携わる方々を対象とした電子顕微鏡技術のコツとノウハウをマスターする研修会を夏季休暇期間に2泊3日で実施しております。

今回の募集コースは、『**観察目的に応じた試料作製技術-基礎編-**』と題したTEM基礎コース、SEM基礎コースを募集します。携わる分野（研究・臨床など）毎の班分け、対象とする組織別（動物軟組織、硬組織、植物、微生物など）の班分けなどを検討し、観察目的に応じた基礎技術の修得、および各分野での実践に対応する技術と知識の習得のための研修会を3日間実施します。

講義と実技のバランスを重視し、経験豊富な講師陣が柔軟に対応致します。

初心者の方々には電顕づくめの2.5日間をご提供し、試料作製から論文投稿までのポイントを可能な限りサポートしたいと考えております。夏季休暇を利用し電顕技術を修得して頂ければと考えております。奮ってご参加下さい。

開催日：平成27年8月7日（金）～9日（日）

会場：横浜市立大学医学部校舎 募集定員：60名

参加費：会員：45,000円、非会員：55,000円、学生：40,000円

参加費には期間中の宿泊費、懇親会費、食事代、および保険代等を含みます。

実行委員会事務局：実行委員長 高橋 常男

学会事務局 〒113-0034 文京区湯島2-31-25 太陽ビル4F

電話03-3815-4584 FAX. 03-3815-4626 学会E-mail office@emtech.jp

詳細は、<http://www.emtech.jp/event/index.html> をご覧下さい。

教育講演 「細胞の構造から機能を読む」 朝日大学名誉教授 明坂年隆 先生



◇第32回学術講演会および総会のご案内

会期：平成28年5月20日（金）～22日（日）

会場：日本大学医学部臨床講堂

特別講演：関野 吉晴 先生（武蔵野美術大学分化人類学教授）

会長：逸見 明博（日本大学医学部病態病理学系人体病理学分野）

詳細は、逐次学会ホームページ<http://www.emtech.jp/event/index.html>で更新致しますのでご覧下さい。多くのご参加、演題のご応募をお待ち致しております。

◇その他のお知らせ

技術普及委員会より：本学会では電顕相談「電顕110」に対応しております。学会HP経由でご相談下さい。また、毎年「研究プロジェクト」を募集しております。HPをご覧の上、ご応募下さい。

広報委員会より：本学会は、会員通信を年数回発行しております。皆様の原稿をお寄せ下さい。

編集委員会より：日頃の成果を是非、本学会誌へ投稿下さい。総説、原著、短報など分類も様々です。投稿件数の多い方は、学会賞の候補となります。是非、寄稿下さい。

事務局・庶務より：会員の皆様の登録情報（所属名称、住所、氏名、転職等）が変更となった場合は、速やかに会員登録調査専用アドレス touroku.johou@emtech.jp または、学会事務局専用アドレス office@emtech.jp へご連絡下さい。