

20th Symp. & 34th WS

第20回医学生物学電子顕微鏡シンポジウム

合同企画

第34回医学生物学電子顕微鏡技術研修会および総会

講演要旨

◆会期：2022年9月24日（土）

11：45～16：40

11：45～12：45 第18回社員総会（第35回評議員会）

◆会場：ZOOMによるオンライン形式

参加登録締め切りを延期しました。

9月19日（月）参加費振込まで登録可能です。

講演要旨をご覧の上、是非、ご出席をお待ちしております。



- ◆参加費 正会員2000円、非会員2500円、大学院生1500円
- ◆参加登録専用アドレス：<https://forms.gle/Ktu7FE6h5AraXMpd5>
- ◆お問合せ先アドレス：20sympo@emtech.jp



第20回医学生物学電子顕微鏡シンポジウム

【教育講演】

デスクトップ型低真空走査電顕の特性を活かしたパラフィン切片
立体構造解析と新たな金ナノ粒子免疫標識法開発と未知なる可能性
Informative three-dimensional survey of cell/tissue architectures and novel in situ nanogold
labeling strategy in thick paraffin sections by low-vacuum scanning electron microscopy.

澤口 朗

宮崎大学医学部解剖学講座 超微形態科学分野

本講演では、第一部としてスライドガラスに載せた光顕用切片を帯電防止処理なく観察できる低真空走査電子顕微鏡の特性を活かし、生体組織の微細構造を立体的に捉える「厚切り切片観察法」をご紹介します。続く第二部では、厚切り切片観察法をもとに生体物質の局在を高精細に可視化する「新たな金ナノ粒子標識法」の開発経緯と研究成果について解説し、医学生物学の幅広い研究領域で応用が期待される<デスクトップ型低真空走査電子顕微鏡>を用いた生体構造解析に秘められた無限の可能性を共有します。

第34回医学生物学電子顕微鏡技術研修会

【WS-1】 淡水産の微小生物（原生生物・藻類・小型動物）の SEM 観察のための試料作製法について

Sample preparation methods for SEM observation of freshwater microorganisms (protists, algae, small animals)

石田 秀樹

島根大学学術研究院農生命科学系

水中の微小生物を SEM で観察するための試料作成手順は、一般的な試料作製法と大きく変わることは無い。しかし、微小生物の場合、個々の個体が水中に分散しているため、どのようにしてそれらを集めて観察試料にするかなどの特有の問題が存在する。また、微生物を特定の方向で試料台に保持したり、一部を切断するなどの操作も困難な場合が多い。そのため、水中の微小生物を観察するには多細胞生物の組織を観察するのとはまた違ったテクニックが必要である。

今回は、当研究室で行っている水凍結乾燥法を中心に、微小生物特に原生生物の SEM 観察の手法について紹介する。

【WS-2】 キノコの電子顕微鏡観察のための試料作製法

Specimen preparation methods for electron microscopy of mushrooms

尾崎 佑磨、霜村 典宏

鳥取大学農学部

キノコは古来より食材として広く利用されており、近年では血中コレステロールの低下作用、便秘解消作用、抗がん作用などキノコに含まれる機能性物質にも高い関心が寄せられている。普段我々が目にしたり食べたりするキノコとは菌類の内、特定の分類群が有性胞子を形成し散布するための大型の生殖器官、すなわち子実体である。シイタケなど、ヒダ（子実層托）を有する子実体ではヒダ表面に有性胞子を形成する細胞（担子器）が柵状に並ぶ層が存在する（子実層）。

キノコの子実層は形態学的解析や分類学的解析などの対象となることから、本ワークショップではキノコの子実層を対象として特殊装置を用いることなく観察するための試料作製法、特にSEM観察のための前処理法について紹介する。

【WS-3】 酵母細胞の試料前処理と TEM/SEM 観察法

TEM/SEM observation methods and their sample preparation techniques for Yeast Cells

許斐 麻美

(株)日立ハイテク コアテクノロジー&ソリューション事業統括本部

酵母細胞は、真核細胞のモデル細胞として様々な研究に用いられている。単細胞である酵母細胞は、分子細胞生物学的あるいは生化学的な各種手法の活用における取り扱いが容易な材料の一つと言われているが、電子顕微鏡解析においては、酵母細胞の持つ強固な細胞壁の存在により、動物組織などを対象に開発されてきた固定方法をそのまま利用することができず、独自の試料作製方法の開発が求められてきた¹⁾。

そこで本講演では、酵母細胞のために改良された TEM/SEM 観察のための試料作製方法の中で、化学固定法を中心に紹介する。

【WS-4】 免疫組織化学による交感神経および副腎細胞の染色と同定 ：マウス胚とサンショウウオを用いて

Immunohistochemical analyses for identification of sympathoadrenal tissue
—applications for mouse embryos and urodeles—

村嶋 亜紀 岩手医科大学

下大静脈は体幹と下肢の血液を集め、腹大動脈の右側を上行し、左右腎静脈を受けて肝臓領域を通り心臓へと還る。下大静脈の発生は古くより解析が行われ、左右対称に発達する3対の原始静脈の吻合、偏位および消退によって説明されてきた。すなわち、はじめにできる① Posterior cardinal vein (PCV) が胚の体壁の還流血を心臓へと還し、やがて発達してくる中腎の腹内側に発達する② Subcardinal vein (SubCV) と吻合する。体壁の血流を返していた PCV は③ Supracardinal vein (SupCV) に取って代われ、SubCV は左右で吻合して下大静脈の腎部を形成する (McClure & Butler 1925)。これは多くの発生学の教科書において支持されているモデルである。しかし、当時の解析は主に組織切片からの考察によってなされており、静脈の吻合部を構成するような未分化血管叢構造の正確な特定は困難であったと考えられる。私はマウス胚を用いて連続切片を作成し、免疫組織化学によって血管内皮細胞を標識し、未熟な静脈叢の描出を行い、下大静脈の発生について再考察を行った。原始静脈系の吻合部に発達する組織を中心に免疫組織化学による同定を行なった結果、下大静脈腎部は中腎領域に発生する SubCV の吻合ではなく、副腎および椎前神経節付近に発生してくる交感神経性クロム親和性組織に形成される静脈叢によって形成されることが確認された。マウスを含む哺乳類では SubCV を形成する中腎は胎児期のみに見られる一過性の器官である。中腎を永久腎として発達させる無羊膜類では SubCV の左右吻合が観察されるが、この時の副腎および交感神経細胞の同定を目標としてトウホクサンショウウオを用いて免疫組織化学の適用を試みた。また、同時にこれらの領域を電子顕微鏡にて観察を行なった。本発表では胎児の未分化組織の同定における免疫組織化学の使用例と有用性を示すとともに、非モデル生物への免疫組織化学の適用の現状と問題点を示したい。

【WS-5】 ラット骨格筋における神経筋接合部と運動終板の電顕観察

Electron Microscope Observation of Neuromuscular Junction and Motor Endplate of the Rat Skeletal Muscle

佐々木 千鶴子¹⁾、夏木 靖典¹⁾、四戸 歩¹⁾、小池 淳樹¹⁾、新見 佐知²⁾、井上 莊一郎²⁾
聖マリアンナ医科大学 大学院電子顕微鏡研究施設¹⁾ 同 大学 麻醉科学教室²⁾

筋肉の組織は運動神経を通して伝えられた神経の興奮（活動電位）が神経筋接合部を介して受け取り収縮する。今回、目的に応じた電子顕微鏡試料作製プロトコルの紹介 —特殊装置を用いないこの方法でわかること— をテーマにいただき、ラット骨格筋を試料とし、最初に骨格筋の収縮という観点から TEM により①筋肉の採取方法による筋原線維の微細構造の変化（弛緩像、収縮像）を確認し、そのうえで②運動神経終末と筋線維が接合している部分で、シナプスが形成され神経伝達が行われる神経筋接合部の微細構造の観察と、③筋線維表面において神経終末と筋線維の接合部のくぼみに作られるシナプス構造を有する運動終板を SEM による結合組織除去法を用いて立体的に観察したので紹介したい。