

# 医学生物学電子顕微鏡技術学会 第32回 学術講演会および総会

“医学生物学電顕技術の原点 —基礎を再考する—”

会期：2016年5月20日(金)～22日(日)

会場：日本大学医学部「臨床第2講堂・リサーチセンター4階」



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/>

# 目 次

|                        |    |
|------------------------|----|
| I. ご挨拶                 | 2  |
| II. 講演会および総会日程表        | 3  |
| III. 会場のご案内            | 4  |
| IV. 参加者の皆様へ            | 6  |
| V. 発表者ならびに座長の皆様へ       | 7  |
| VI. 学術講演会プログラム         | 8  |
| VII. 講演要旨              |    |
| 特別講演I                  | 16 |
| 特別講演II                 | 19 |
| 教育講演                   | 21 |
| シンポジウムI                | 24 |
| シンポジウムII               | 30 |
| 一般演題(口演発表)             | 36 |
| 市民公開企画—こども電顕写真展        | 39 |
| わが家の電顕レシピ—あんな工夫、こんな工夫— | 40 |
| 一般演題(ポスター発表)           | 41 |
| 実行委員会事務局案内             | 50 |
| 実行委員一覧                 | 50 |
| 平成28年度の本学会主催事業のご案内     | 51 |
| 協力企業一覧                 | 52 |

表紙写真:桜の花

# I. 会長挨拶

## 第 32 回学術講演会開催にあたって

本学会は、今年で創立 33 周年を迎えることができました。これも学会員各位および関係者のご活躍の賜物と深く感謝しております。おかげさまで本年も、学術講演会を日本大学医学部で開催させていただきます。

電子顕微鏡技術は、これまでも科学の進歩に大きく貢献し日進月歩の発展を遂げています。しかし何事にも言えることですが、時には基礎に立ち返って見直してみることが更なる飛躍に繋がるのではないのでしょうか。そこで今年のテーマは「**医学生物学電子顕微鏡技術の原点 -基礎を再考する-**」とし、これから電子顕微鏡技術を学ぼうとする若手技術者や研究者にとって役に立つ内容を盛り込むこととしました。これはまた、一定の技術を身につけた方にとっても更なるステップアップに役立つものと確信しております。

また同時に「**こども電子顕微鏡写真展**」を併せて行います。本学会は、活動理念の一つである「社会貢献活動」の一環として、未来の科学者育成のため小・中学生を対象とし電子顕微鏡を用いたミクロの体験観察会を各地で開催しています。そんな子供達が撮影した電子顕微鏡写真を展示し、子供の目から見た生物のミクロの世界を楽しんでいただければと考えています。

今回は特別講演を一般公開とし、学会に参加された先生方だけでなく、一般の方々にも、無料で楽しんでいただけるようにしました。講演Iでは、探検家の関野吉晴先生（医師、武蔵野美術大学教授）による「グレートジャーニー -地球を歩いて感じたこと、考えたこと-」、講演IIでは佐々木正己先生（玉川大学名誉教授）による「顕微鏡でみる昆虫の世界 -その構造とはたらきの見事なリンク-」をご講演いただきます。人力によって人類の足跡をたどる大いなる旅と、昆虫の構造を詳細に観察しその驚くべき能力に迫る、二つの壮大なドラマをお楽しみ下さい。

シンポジウムではIが「電子顕微鏡の基礎：上手く使うためのポイント、条件設定から撮影のコツまで」、IIは「電子顕微鏡試料作製の基礎と工夫、勘所」と、いずれも基礎的なテーマを取り上げ、Iの透過電子・走査電子・集束イオンビーム加工装置等の取り扱いから、IIではTEM・SEMの試料作製、免疫電子・急速凍結、生体適合性材料と組織の観察方法など、若手技術者や研究者に役立つ内容としました。

教育講演は大野伸一先生（山梨大学名誉教授・帝京科学大学医療科学部教授）にお願いしました。「若手電子顕微鏡技術者と研究者へのメッセージ：形態学の夢は永遠！！」のタイトルで、生体内凍結技法といった急速凍結技術を駆使し“生きた動物の細胞や組織の病態解析”など先生の50年間にわたるご研究のお話を伺い、知識だけではなく今後の研究や電子顕微鏡業務に役立つ勇気とパワーをもらおう、といった企画を組みました。

会員、非会員を問わず、これから電子顕微鏡技術を学ぼうとしている初心者からベテランまでできるだけ多くの皆様にとって、本学術講演会が今後のご研究、また電子顕微鏡技術のさらなる発展の一助になることを実行委員会一同、切に願っております。

医学生物学電子顕微鏡技術学会 第 32 回学術講演会実行委員会

|       |       |
|-------|-------|
| 会長    | 逸見 明博 |
| 副会長   | 洲崎 敏伸 |
| 実行委員長 | 本間 琢  |
| 実行委員  | 一同    |

## Ⅱ. 第32回学術講演会および総会 日程表

テーマ：医学生物学電顕技術の原点 -基礎を再考する-  
 会期：2016年5月20日（金）～22日（日）

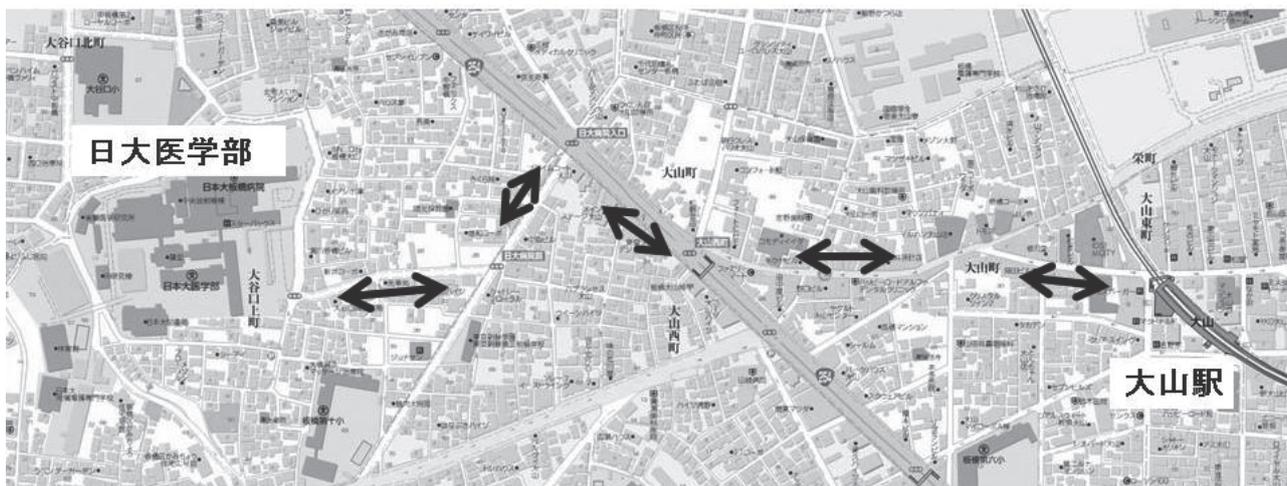
|       | 5月20日 | 2日目 5月21日（土）  |   | 3日目 5月22日（日）   |  |
|-------|-------|---|---|--|--|
|       | 同窓会室  | 臨床第2講堂  | リサーチセンター4F  | 臨床第2講堂   | リサーチセンター4F   |
| 8:00  |       | 8:20受付開始  |   | 8:20受付開始   |  |
| 8:10  |       |   |   | 企業協賛セミナー<br>昼食券配布。<br>先着50名                                |  |
| 8:20  |       |   |   |  |  |
| 8:30  |       |   |   |  |  |
| 8:40  |       |   |   |  |  |
| 8:50  |       | 8:50 開会式  |   |  |  |
| 9:00  |       | 9:00  |   |  | 9:00   |
| 9:10  |       |   |   |  | 9:10   |
| 9:20  |       |   |   |  |  |
| 9:30  |       | 一般演題<br>O-1～O-7   |   |  |  |
| 9:40  |       |   |   |  |  |
| 9:50  |       |   |   |  |  |
| 10:00 |       |   |   |  |  |
| 10:10 |       | 10:10 休憩  |   |  |  |
| 10:20 |       | 10:20   |   |  |  |
| 10:30 |       |   |   |  |  |
| 10:40 |       | シンポジウムI<br>電子顕微鏡の基礎：上手く<br>使うためのポイント 条件設<br>定から撮影のコツまで          |   |  |  |
| 10:50 |       |   |   |  |  |
| 11:00 |       |   |   |  |  |
| 11:10 |       |   |   |  |  |
| 11:20 |       |   |   |  |  |
| 11:30 |       |   |   |  |  |
| 11:40 |       |   |   |  |  |
| 11:50 | 11:50 | 11:50   |   |  |  |
| 12:00 |       |   |   |  |  |
| 12:10 |       | 社員総会（評議員会）<br>会員報告会   |   |  |  |
| 12:20 |       |   |   |  |  |
| 12:30 | 常務理事会 | 12:50 休憩  | ポスター展示<br>（新企画）<br>子ども電顕写真展<br>わが家の電顕レシピ<br>～あんな工夫、こんな<br>工夫～ | 12:00<br>企業協賛セミナー<br>超微形態学研究の最前線<br>-研究機器の進歩と情報提<br>供-     | ポスター発表<br>P-1～P-21<br>（企画紹介）<br>わが家の電顕レシピ<br>～あんな工夫、こんな<br>工夫～<br>子ども電顕写真展 |
| 12:40 |       | 13:00 特別講演 I  |   | 13:00 特別講演 II  |  |
| 12:50 |       |   |   |  |  |
| 13:00 |       | グレートジャーニー、地球を歩<br>いて、感じたこと、考えたこ<br>と 関野吉晴（探検家、医<br>師、武蔵野美術大学教授） |   | 顕微鏡でみる昆虫の世界 -<br>その構造とはたらきの見事<br>なリンク- 佐々木正己（玉<br>川大学名誉教授） | ポスター展示<br>（新企画）<br>子ども電顕写真展<br>わが家の電顕レシピ<br>～あんな工夫、こんな<br>工夫～              |
| 13:10 |       |   |   |  |  |
| 13:20 |       |   |   |  |  |
| 13:30 | 13:30 |   |   |  |  |
| 13:40 |       |   |   |  |  |
| 13:50 |       |   |   |  |  |
| 14:00 |       | 14:00<br>子ども電顕観察会報告   |   | 14:00  |  |
| 14:10 |       | 14:20 休憩  |   |  |  |
| 14:20 |       | 14:30 教育講演  |   |  |  |
| 14:30 | 各種委員会 | 若手電顕技術者と研究者<br>へのメッセージ；形態学の<br>夢は永遠！ 大野伸一（山<br>梨大学名誉教授）         |   | シンポジウム II<br>電顕試料作製の基礎と工<br>夫、勤所                           |  |
| 14:40 |       |   |   |  |  |
| 14:50 |       |   |   |  |  |
| 15:00 |       |   |   |  |  |
| 15:10 |       |   |   |  |  |
| 15:20 |       |   |   |  |  |
| 15:30 |       | 15:30 休憩  |   | 15:30 閉会式  |  |
| 15:40 |       | 15:40   |   |  |  |
| 15:50 |       |   |   |  |  |
| 16:00 | 16:00 | 学会賞受賞講演   |   |  |  |
| 16:10 |       |   |   |  |  |
| 16:20 |       |   |   |  |  |
| 16:30 |       |   |   |  |  |
| 16:40 |       | 学会賞授与式・記念撮影   |   |  |  |
| 16:50 |       |   |   |  |  |
| 17:00 | 理事会   |   | 17:00   |  |  |
| 17:10 |       |   |   |  |  |
| 17:20 |       |   |   |  |  |
| 17:30 |       |   |   |  |  |
| 17:40 |       |   |   |  |  |
| 17:50 |       |   |   |  |  |
| 18:00 |       |   |   |  |  |
| 18:10 |       |   | 懇親会   |  |  |
| 18:20 |       |   |   |  |  |
| 18:30 |       |   |   |  |  |
| 18:40 |       |   |   |  |  |
| 18:50 |       |   |   |  |  |
| 19:00 |       |   |   |  |  |
| 19:10 |       |   |   |  |  |
| 19:20 |       |   |   |  |  |
| 19:30 |       |   |   |  |  |



会場へのアクセス <http://www.med.nihon-u.ac.jp/access.html>  
〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町30-1 日本大学医学部

1. 東武東上線

池袋駅より各駅停車（3・4番線）にて大山駅（5分位で到着）下車、大山駅より日大医学部まで徒歩15分位（下記略図参照）



2. バス

池袋駅西口より国際興業バス4番線の日大病院行きにて終点下車（25分位）  
通勤時間帯には5～7分間隔で運行。  
時刻表は国際興業バスHPで検索下さい。  
（右図参照）

3. タクシー

池袋駅西口より日大医学部（又は日大板橋病院）まで20分位。

4. 営団地下鉄

有楽町線にて千川駅下車、徒歩20分位。



## IV. 参加者の皆様へ

### 1. 学術講演会および懇親会参加受付

- 1) 事前登録済み  
事前登録受付で、名札、領収書、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（大学院生を含）でお手続き下さい。
- 3) 懇親会出席  
懇親会は当日申し込みも可能です。参加登録の際、お申し出下さい。
- 4) クローク  
参加登録の隣で受け付けます。お荷物の預かり時間は21日（土）8：30～16：50、22日（土）8：30～15：30分です。貴重品は各自で保管をお願い致します。
- 5) “特別講演”および“こども電顕写真展”のみの参加  
両イベントともに無料で参加できます。受付にて参加登録をして下さい。
- 6) 企業協賛セミナー  
企業協賛セミナーではお弁当を準備しました。昼食券を22日（日）9時からポスター会場で先着50名様に配布します。

### 2. 商業展示と製品紹介

商業展示は臨床第2講堂（講演会場）エントランスで行います。各企業の新製品の展示や最新情報がございます。是非ともご見学下さい。

### 3. 記念撮影

5月21日（土）16：40 参加者全員の記念撮影を医学部本館前で行います。

### 4. 昼食について

板橋病院内や近隣に食堂やコンビニがあります。受付にてこれらの場所の簡単な地図を準備致します。

## V. 発表者ならびに座長の皆様へ

### 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を使用し投影します。
- スライドはMicrosoft Office PowerPointなどで作製し、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下さい。
- 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

口演発表の次座長は、セッションの開始前に「次座長席」にご着席下さい。ポスター発表座長は、時間に余裕をもって会場内でご準備下さい。

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、座著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まで事務局へご通知下さい。

### 3. 一般演題 ポスター発表

- 5月21日（土）12：00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。貼付に必要な画鋏などは会場に準備してあります。
- パネルは、横98cm×縦183cmとなります。上部30cm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。
- 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。
- ポスターの撤去は、5月22日（日）14：00以降です。それ前にポスターの撤去を希望する場合や、何らかの理由で撤去できない場合は、受付にご連絡下さい。実行委員会にて取り外させていただきます。

**※今回、1分間スピーチは行いません。ポスター発表時間は討論を含め5～6分ほどです。**

—MEMO—

## VI. 学術講演会プログラム

特別講演 I (一般公開) 5月21日(土) 13:00~14:00

座長 桑畑 進 (大阪大学大学院工学研究科応用化学)

「グレートジャーニー、地球を歩いて、感じたこと、考えたこと」

関野吉晴 (探検家、医師、武蔵野美術大学教授)

特別講演 II (一般公開) 5月22日(日) 13:00~14:00

座長 池田健一 (神戸大学大学院農学研究科細胞機能構造学)

「顕微鏡でみる昆虫の世界 -その構造とはたらきの見事なリンク-」

佐々木正己 (玉川大学名誉教授)

教育講演 5月21日(土) 14:30~15:30

座長 石垣靖人 (金沢医科大学分子腫瘍学)

「若手電顕技術者と研究者へのメッセージ; 形態学の夢は永遠!!」

大野伸一 (山梨大学名誉教授[医学部])

### シンポジウム I

「電子顕微鏡の基礎: 上手く使うためのポイント、条件設定から撮影のコツまで」

5月21日(土) 10:20~11:50

座長 堀田康明 (朝日大学歯学部口腔科学共同研究所)

座長 地家豊治 (日本大学医学部総合医学研究所医学研究支援部門)

SI-1 「透過電子顕微鏡を上手く使いこなすために」

濱元千絵子 (日本電子株式会社 EM 事業ユニット EM アプリケーション部)

SI-2 「走査電顕の基礎」

渡邊俊哉、坂上万里、檀紫、揚村寿英、安島雅彦 (㈱日立ハイテクノロジーズ)

SI-3 「集束イオンビーム装置による電子顕微鏡用試料作製」

中谷郁子 (株式会社日立ハイテクサイエンス BT 技術部 BT 応用技術課)

### シンポジウム II

「電顕試料作製の基礎と工夫、勘所」

5月22日(日) 14:00~15:30

座長 和泉伸一 (名桜大学人間健康学部)

座長 鈴木正則 (虎の門病院病理部電子顕微鏡室)

SII-1 「SEM・TEM の試料作製の基礎 -目的に応じた試料作製-」

根本典子 (北里大学医学部バイオイメージング研究センター画像部門)

SII-2 「凍結超薄切・免疫電顕法の実際」

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

### SII-3 「生体適合性材料と組織の観察方法」

広瀬治子、荻山明日香（帝人（株）構造解析センター）

### 学会賞受賞講演 5月21日（土）15：40～16：40

座長 高橋常男（前神奈川歯科大学大学院教授）

座長 逸見明博（日本大学病院病理診断科・日本大学医学部人体病理学分野）

### 企業協賛セミナー 「超微形態学研究の最前線 -研究機器の進歩と情報提供-」

5月22日（日）12：00～13：00

座長 石毛 俊幸（日本大学医学部・人体病理学分野）

株式会社日立ハイテクノロジーズ

日本エフイー・アイ株式会社

株式会社アド・サイエンス

日本電子株式会社

### 一般演題 学術口演発表

5月21日（土）9：00～10：10

座長 及川理（名古屋市立大学大学院医学研究科心臓・高血圧内科）

0-1

#### ヒト食道粘膜での弾性線維について

○田北薫子、柴田智隆、猪股雅史、島田達生、内田雄三、北野正剛  
大分大学

0-2

#### 線維芽細胞の活性化における超微形態学的解析

○佐野 誠<sup>1)</sup>、地家豊治<sup>2)</sup>、本間 琢<sup>1)</sup>、石毛俊幸<sup>1)</sup>、廣谷ゆかり<sup>1)</sup>、  
勝沼真由美<sup>1)</sup>、根本則道<sup>3)</sup>、逸見明博<sup>1)</sup>、羽尾裕之<sup>1)</sup>  
日本大学医学部人体病理学分野 1)、  
同医学研究支援部門電子顕微鏡室 2)、同医学総合研究所 3)

0-3

#### P. gingivalis の培養上清は可溶成分を介し trophoblast の浸潤に影響を与える

○廣畑 直子<sup>1), 2)</sup>、相澤(小峯) 志保子<sup>1)</sup>、早川 智<sup>1)</sup>

日本大学医学部病態病理学系 微生物学分野 1) 日本大学医学部耳鼻咽喉・頭頸部外科学系  
歯科口腔外科学分野 2)

座長 鍛冶光司（東北大学加齢医学研究所）

0-4

分析電子顕微鏡によるペルオキシゾームのカタラーゼ-DAB 反応産物関連窒素観察によるヒト肺胞上皮細胞の分化

○盛口敬一、本田雅規

愛知学院大学 歯学部 口腔解剖学講座

0-5

麹による水中硫化水素の削減の試み

○安藤正史，伊藤尚弥，伊藤智広，塚正泰之

近畿大学農学部水産学科

0-6

ガラスボトムディッシュ培養細胞の電顕資料作製法～RCR-sandwich Itoh method～

○伊東 良子<sup>1)</sup>、伊東 丈夫<sup>2)</sup>、中村 直哉<sup>2)</sup>

東海大学伊勢原研究推進部生命科学統合支援センター1)、東海大学医学部基盤診療系病態診断学<sup>2)</sup>

0-7

TEM では見えにくいだが、FE-SEM で良く見える構造物 —サツマイモネコブセンチュウによって誘導された巨大細胞内に形成される構造物—

宮下奈緒<sup>1)</sup>・栗原孝行<sup>2)</sup>・藪 哲男<sup>3)</sup>・○古賀博則<sup>2)</sup>

中能登農林総合事務所<sup>1)</sup>・石川県立大学<sup>2)</sup>・石川県庁<sup>3)</sup>

新企画（ポスター会場）5月21日（土）～22日（日）

市民公開企画 -こども電顕写真展「こども達の中からみたミクロの不思議な世界」

こども達が撮影した電子顕微鏡写真を多数展示しました。こども達の中からみた生物のミクロの世界をお楽しみ下さい。

わが家の電顕レシピ ～あんな工夫・こんな工夫～

実行委員会では、今回“わが家の電顕レシピ”と称し、各施設の試料作製法など展示しました。各施設の特徴や工夫が示されています。研究や電顕業務の参考にして下さい。

一般演題 学術ポスター発表 5月22日(日) 9:10~11:20

座長 洲崎敏伸(神戸大学大学院自然科学研究科)

P-1

イオン液体を用いた前処理方法によるプランクトンのSEM観察

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-2

イオン液体を用いたリポソームのTEM観察

○和山 真里奈<sup>1)</sup>、仲野 靖孝<sup>1)</sup>、許斐 麻美<sup>1)</sup>、河合 功治<sup>2)</sup>、中澤 英子<sup>1)</sup>

株式会社 日立ハイテクノロジーズ<sup>1)</sup>、ミヨシ油脂株式会社<sup>2)</sup>

P-3

イオン液体を用いた光誘起相転移を示す分子性磁性体の電子顕微鏡観測

○糸井充穂<sup>1)</sup>、地家豊治<sup>1)</sup>、浜根大輔<sup>2)</sup>、宇田川誠一<sup>1)</sup>、津田哲哉<sup>3)</sup>、桑畑進<sup>3)</sup>、Kamel Boukheddaden<sup>4)</sup>、Matthew J. Andrus<sup>5)</sup> and Daniel R Talham<sup>5)</sup>

日本大学<sup>1)</sup>、東京大学物性研究所<sup>2)</sup>、大阪大学<sup>3)</sup>、ベルサイユ大学<sup>4)</sup>、フロリダ大学<sup>5)</sup>

P-4

イオン液体処理が固定培養細胞の内部構造に与える影響

○石垣靖人、中村有香、辰野貴則、竹原照明

金沢医科大学総合医学研究所

座長 安田愛子(大分大学全学研究推進機構実験実習機器部門)

P-5

ガラスナイフ検査用照明装置の試作

○尾関教生

愛知医科大学教学監

P-6

汎用デジタルカメラの顕微鏡アダプターの試作

○海野和俊

帝京大学医学部附属溝口病院電子顕微鏡室

P-7

ルテニウムレッドによる植物病原糸状菌の細胞外物質の染色効果

○池田健一、上野神悟、朴杓允

神戸大学大学院農学研究科細胞機能構造学研究室

P-8

EOSIN 蛍光3D血管造影からの電子顕微鏡組織観察の試み

○首藤 政親

愛媛大学 学術支援センター 病態機能解析部門

座長 本間 琢（日本大学医学部病態病理学系人体病理学分野）

P-9

### 過熟白内障前囊の電顕的観察

○尾関教生<sup>1)</sup>、市川 慶<sup>2)</sup>

愛知医科大学教学監 1), 岐阜日赤病院眼科 2)

P-10

### 関節軟骨の膠原線維の簡便なSEM観察法

○尾関教生<sup>1)</sup>、尾関 創<sup>2)</sup>、土屋淳弘<sup>2)</sup>、横山隆<sup>2)</sup>

愛知医科大学教学監 1), 愛知学院大学歯学部冠・橋義歯学講座 2)

P-11

### 大腿骨頭靭帯の走査電子顕微鏡観察

○加来信広<sup>1)</sup>、川里浩明<sup>2)</sup>、安部香織<sup>3)</sup>、安田愛子<sup>2)</sup>、津村 弘<sup>1)</sup>、島田達生<sup>3)</sup>

大分大学医学部整形外科 1), 大分大学研究推進機構 2), 大分医学技術専門学校 3)

P-12

### もどし電顕法を用いた肺生検検体におけるサイトケラチンの局在と肺癌の悪性度

○中西陽子<sup>1)</sup>、地家豊治<sup>2)</sup>、楠美嘉晃<sup>1)</sup>、唐 小燕<sup>1)</sup>、清水哲男<sup>3)</sup>、辻野一郎<sup>3)</sup>、高橋典明<sup>3)</sup>、橋本 修<sup>3)</sup>、増田しのぶ<sup>1)</sup>

日本大学医学部病態病理学系腫瘍病理学分野 1), 日本大学医学部総合医学研究所医学研究支援部門 2), 日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野 3)

座長 海野和俊（帝京大学医学部附属溝口病院電子顕微鏡室）

P-13

### マウス皮下コラーゲン繊維の透過型電子顕微鏡観察におけるOolong Tea Extract (OTE) 染色の有用性

○石川友美<sup>1)3)</sup>、地家豊治<sup>2)</sup>、北野尚孝<sup>1)3)</sup>、真宮淳<sup>3)</sup>、藤原祐輔<sup>1)3)</sup>、山本恵理<sup>1)3)</sup>、日臺智明<sup>1)</sup>、國分眞一朗<sup>1)</sup>

日本大学医学部生理学分野 1), 日本大学医学部電子顕微鏡室 2), 日本大学医学部附属板橋病院歯科口腔外科 3)

P-14

### 導電性コーティング剤 BEL-1 を使用した免疫 SEM への応用

○佐々木千鶴子<sup>1)</sup>、夏木靖典<sup>1)</sup>、四戸 歩<sup>1)</sup>、高木正之<sup>1)</sup>、大沼繁子<sup>2)</sup>、鈴木英紀<sup>3)</sup>

聖マリアンナ医科大学 大学院電子顕微鏡研究施設 1), 同・病理学教室 2), 日本医科大学 研究部 共同研究施設 形態解析研究室 3)

P-15

### 質量顕微鏡法を用いた超微形態レベルでの脂質解析における酢酸ウランの有用性

○武井史郎、中嶋裕子、山崎文義、正木紀隆、杉山栄二、松下祥子、瀬藤光利  
浜松医科大学細胞分子解剖学講座

P-16

高分子ナノ粒子製剤を投与した表皮ブドウ球菌形成バイオフィルムの電顕形態観察における包埋樹脂の影響

○盛口敬一<sup>1)</sup>、高橋知里<sup>2)</sup>、山本浩充<sup>2)</sup>、本田雅規<sup>1)</sup>

愛知学院大学歯学部口腔解剖学講座 1)、薬学部 製剤学講座 2)

P-17

バイオフィルム感染症治療に効果的な高分子ナノ粒子ドラッグデリバリーシステム製剤設計のための新規電子顕微鏡評価法の確立

○高橋知里<sup>1)</sup>、小川法子<sup>1)</sup>、盛口敬一<sup>2)</sup>、浅香透<sup>3)</sup>、種村眞幸<sup>4)</sup>、武藤俊介<sup>5)</sup>、川嶋嘉明<sup>1)</sup>、山本浩充<sup>1)</sup>

愛知学院大学 薬学部 製剤学講座 1)、愛知学院大学 歯学部 口腔解剖学講座 2)、名古屋工業大学 環境材料工学科 3)、名古屋工業大学 機械工学科 4)、名古屋大学 エコトピア科学研究所 グリーンマテリアル部門 5)

座長 太田 勲 (浜松医科大学 先進機器共用推進部)

P-18

TEM で広域の微細形態情報を網羅する-シダ植物大葉類の根端分裂組織の原形質連絡ネットワーク-

○盛一伸子<sup>1)</sup>、永田典子<sup>2)</sup>、今市涼子<sup>2)</sup>

日本女子大学電子顕微鏡施設 1)、日本女子大学理学部物質生物科学科 2)

P-19

街上毒(野生株)狂犬病ウイルスと固定毒(実験室株)狂犬病ウイルスの細胞内局在

○嶋田一美<sup>1)</sup>、宇野鉄也<sup>1)</sup>、佐藤由子<sup>2)</sup>、片岡紀代<sup>2)</sup>、鈴木良夫<sup>1)</sup>、飛梅実<sup>2)</sup>

地方独立行政法人総合病院国保旭中央病院臨床病理科 1) 感染症研究所感染病理 2)

P-20

水凍結乾燥法によるシアノバクテリアのSEM 試料作製

○桑田正彦<sup>1)</sup>、田中和明<sup>1)</sup>、鈴木武雄<sup>1)</sup>、戸田龍樹<sup>2)</sup>、名取則明<sup>2)</sup>

サン・テクノロジーズ 1)、創価大 2)

P-21

両生類における歯胚発生の電顕的観察

○三輪容子、佐藤 巖

日本歯科大学 生命歯学部 解剖学第1講座

## Ⅶ. 講演要旨

グレートジャーニー、地球を歩いて、感じたこと、考えたこと

関野吉晴

(武蔵野美術大学)

1971年から私はアマゾン、アンデス、ギアナ高地、パタゴニアなど南米ばかり20年間歩いてきた。1993年からアフリカで生まれた人類が世界中に移動、拡散していく中で最も遠くまで行った先人たちは、シベリア、アラスカ経由で南米最南端まで達した。私はそのルートを逆ルートで、自分の腕力と脚力で移動した。足かけ10年を要した。

世界中の辺境と呼ばれる地域を歩いてきた。旅の日数は5000日を超える。しかし外国ばかり歩いていて、自分の足元を見てこなかったことに気づいた。そこで私は国内を歩き始めた。同時に、日本列島にたどり着いた私たち日本人の祖先の足跡をたどる計画を立てた。

4万年前以降、日本列島にはさまざまな地域から人類が入って来た。その中で、主要なコースを3つに決め、2004年から辿り始めた。シベリアからサハリンを経由し、北海道に至る「北方ルート」。中国から直接、あるいは台湾、朝鮮半島経由の「中央ルート」。この2つのルートは以前と同じように自分の腕力と脚力だけで踏破し、2008年に終えた。

自然から素材をとり、自分で作る

最後のコースが東南アジアから日本列島に至る「海上ルート」だ。海上ルートは自分の腕力と脚力で進むだけでなく、さらなる縛りを設けることにした。ひとつはコンパスやGPS(全地球測位システム)、海図も使わずに航海するという。そしてもうひとつは、航海に使うカヌーを自分たちで手作りするという。日本列島にやってきた先人たちに思いを馳せる上で、その方が面白いと思った。加えて、ものづくりから始めることで、これまでにない新しい気づきがあると思ったのだ。

私は舟の時代性を追求するのではなく、作り方を追求することにした。そこで、太古の人たちがそうであったように「自然から素材をとってきて自分で作る」ことを基本にカヌー作りをすることにした。

砂鉄集め

まず砂鉄を集めることから始めた。「たたら製鉄」で鉄を作ることにしたのだ。たたら製鉄は太古から行われてきた製鉄法だ。今なお日本刀は、たたら製鉄から生まれた粗鋼から作る。そのため、唯一日本にだけたたら製鉄の伝統が残っていた。

カヌー造りのための道具を作る

「たたら製鉄で砂鉄から工具を作るのをお手伝いします。しかし、工具の重量が5kgなら、120kgの砂鉄を集めて下さい。」と、NPO「モノづくり教育たたら」を主宰している東工大教授(当時)の永田和宏さんから告げられた。

永田さんからは120kgの砂鉄と同時に「300kgの炭も準備して下さい」と言われた。

私は、今回の旅を企画するにあたって、学生や卒業生に参加を呼びかけた。今回の全てを手作りで行う旅は、若い人達が様々な気づきを得るいい機会になるだろうと思った。

ものづくりの大学である美術大学でも、「自然の中から自分たちで素材を取ってきて作る」ということをしていない。武蔵野美術大学には11の学科があるが、自然から素材を取ってくることをしていない。

九十九里海岸で砂鉄を集め、岩手の葛巻で炭を焼き、鞆(ふいご)を作り、窯を作る素材を集めて、たたら製鉄の準備が整った。

300kgの炭作りを通して、鉄作りが如何に森林を破壊してきたかも学んだ。たった5kgの工具を作るために3トンもの松材が必要だった。

たたら製鉄は武蔵野美術大学の金属工芸研の工房で1日ばかりで行った。最終的に約25

kgの鋳物のような姆(けら)ができた。これを東吉野の刀匠河内國平さんが焼いて、鍛えてくれて鋼ができた。刀匠の河内國平氏も手動の鞆を使っていた。炭を燃え上がらせて鋼を熱して、鍛えた。ところが刀鍛冶は日本刀は作るがオノやナタは作らない。そこで和歌山の新宮で野鍛冶の大川治さんに私たちが必要なナタ、オノ、ノミ、チョウナを完成してくれた。

#### インドネシアへ

2008年7月、真新しい工具を持ってインドネシアに向かった。スラウェシ島のマンダール人に協力してもらって、カヌーを造ろうと思った。彼らは今も木造帆船を造っているからだ。

カヌー造りは難航した。チェーンソーもノコギリもドリルも使わずにカヌーを造りたいと言うと、船大工たちはそろって首を横に振った。板を継いだ構造船造りにはノコギリとドリルは不可欠だと言う。

それでも日本で作って持参した工具を用いた昔の方法でのカヌー造りをあきらめきれなかった。板を継がない丸木舟ならできそうだ。そのためには直径1.5以上もの大木が必要だったが、そんな大木は容易には見つからない。私たちはマンダール人の伝統船パクール造りを進めながらも、わずかなチャンスを求めて、大木探しを進めた。

歩き回った末に、鬱蒼とした森でひとときわ高く、太い木があった。着生植物に覆われ、大きな板根で支えられていた。

巻き尺を使って周囲を計ってみると6.3mあった。伐採してみると、3mの高さで直径1.8m、高さは5.4mあった。翌日からカヌー造りを始めた。設計図はない。私の注文を聞いて、棟梁が頭の中で描いたイメージを基にして、大木にカヌーの形を投影する。それを掘り出すように、穿ち、削り、カヌーの形を整えていった。短いが太く、丸木舟としては破格に高さのある船体が姿を現してきた。ここまでが森の船大工の仕事だ。この荒削りの船体を海岸部の村に運んで、今度は海の船大工の協力で遠洋航海の出来るカヌーに仕上げる。

#### 帆の材料を探す

カヌーの帆には天然素材で織ったものを使いたいと探していると、マンダール人がかつて使っていたいい素材があった。ラヌというヤシの若葉から作る素材だ。若葉を乾燥させ、細く裂いて糸を作って織る。

#### ロープを作る

ロープはイジュックというヤシの幹に絡まっている繊維を撚って作る。日本でも武蔵野美術大学の学生や卒業生がシュロから丈夫なロープを作った。このロープは舵や帆を引っ張るという重要なところで使われた。

#### 塗装

塗装はココナツヤシの油と隆起サンゴを焼いて、水を掛けるとできる消石灰とを混ぜたものを使う。日本やマヤでも消石灰に油を加えた漆喰を利用した。レパは塗装だけでなく、ひび割れや補修した穴の隙間の充填にも使った。

#### アウトリガー

2009年1月下旬に船体が完成した。船大工はアウトリガーには関わらない。クルーが取り付けるのだ。クルーが協力して組み立てることによって、協力し合う意識を高める意味があるという。

アウトリガーの取り付けには籐(とう)が必須品だった。水にぬれると締まるという性質もいい。最近は籐を使わずナイロン糸のテグスを使っているのですが、その技術を知っているのは老人たちだけだ。このことは塗装のレパ、植物樹脂のダマル、ラヌの帆などすべてに言えることだ。老人たちは生き生きとした顔をして、技術を披露し、指導してくれた。若者たちも過去のものとして知らなかったことを学び喜んでいた。

ずいぶん長い時間と労力を使った。もっと効率よく作ればよかったのと言う人は多い。しかし道具作りから始めたカヌー造りで気づいたことは計り知れないほど大きく、後悔どころか十分満ち足りていた。

#### 航海（日本への旅）

2009年4月、スラウェシ島を出航し日本に向かった。コンパスやGPS、海図を航海に使わず、島影と星を頼りに、かつてこの海を渡った先人たちに思いを馳せて航海した。

日本人クルー4名、インドネシアのマンダール人クルー6名が協力してカヌーを進めた。年齢も宗教も異なるメンバーが、狭いカヌーの上で生活をともにした。台風はもちろん、風も波も潮も、私たちは自然を何ひとつコントロールできなかった。無風のときは櫂（かい）を絶えず漕がなければならず、逆風での停滞も多かった。だから自然の許す合間を縫うようにして、自然の意のままに進んで行くしかなかった。

異文化共生の実験場のような航海だった。人的トラブルも多発した。しかし3年間も同じメンバーで航海できた。最後は家族のような仲になった。勿論カヌーの故障は頻発した。しかし自分たちで作ったカヌーなので、自分たちで補修できた。

#### 最後の難関

台湾までやって来た。これから最後の難関に望もうとしていた。成功という幸先のいい名前の港にいた。沖縄の南端西表島経由で石垣島まで航海する。出航すると島影はない。背後から台風3号が近づいていた。

空は南に南十字星が北に北極星が同時に、それぞれ水平線に見えた。出発すると、快晴で強い南風が吹いていた。黒潮の力もあって今までにないスピードで、2日間で西表島西部に着いてしまった。それから石垣までは島伝いにいけばよかった。

最初の計画では1年目にゴールの石垣島に着く予定だった。しかし、スピードは予想の半分以下だった。3分の1は風を利用できたが、3分の1は漕ぎ、3分の1は待機した。結局足かけ3年間をかけ、2011年6月13日、無事航海を終えた。

クルーとして参加した教え子2人はたくましく成長した。航海1年の予定が3年になってしまったが、彼らは参加したことに後悔していない。しかし、2人とも一時燃え尽き症候群に陥った。しかし今はそれぞれの道を見つけた。

最近是人を育てるのにいい環境ではなくなった。人を短期間で評価するからだ。私はドキュメンタリー番組やドキュメンタリー映画の企画、制作にかかわってきた。2、30年前には、「こいつは今は実績もないし、頼りないけれど、将来なにか成し遂げそうだな」と判断すると、ポーンと取材費を出すプロデューサーがいた。今はそんな人はめったにいない。人を育てなければいけないプロデューサー及びその上司が半年、1年で評価されるからだ。

短期間で成果を上げなければならず、失敗が許されない。そのため失敗しないように卒なくこなすようになる。チャレンジとか、冒険はしなくなる。時間さえあれば、じっくりと案を練り、知識、情報を集め、技術を獲得して体力も作れる。全力を尽くして失敗したなら仕方がない。時間は皆に平等にある。反省し、失敗の原因を検討して、再挑戦すればいい。

短期間で人を評価すると、社会が澱んできてしまう。人も育たない。一日一日を大切にすると同時に、20年、30年後を見据えて生きていきたい。

## 顕微鏡でみる昆虫の世界 - その構造とはたらきの見事なリンク -

佐々木 正己  
玉川大学 名誉教授

昆虫は名前がついているものだけでも100万種以上、全動物の70%以上を占め、サイズこそ小さいものの、水、陸、空のあらゆる環境に適応し、この地球上でもっとも繁栄している生き物とも言われます。今回は、この昆虫たちの体の構造に焦点をあて、それぞれの生息環境に合わせた変化の実態を、顕微鏡の映像により見ていただきたいと思います。

### 1 基本的な体制と機能分担

昆虫の体は 頭部、胸部、腹部の3つに別れており、頭部には口があるほか、周囲の状況をキャッチする感覚器が集中的に分布しています。胸部は、発達した脚と翅を動かすための筋肉の塊のようなもの、腹部にはあらゆる内臓類が詰まっています。

### 2 視覚・嗅覚・聴覚

物を見るのは、数十～数万個の個眼からなる複眼で、色や形、動きを捉えます(図1)。匂いに対する感覚も鋭敏で、とくに性フェロモンに対しては、人間が創り出したどんな分析機械にも勝る感度をもっています(図2、3)。聴覚も鳴く虫を中心に発達していますが、振動の形で情報を得ている昆虫も多くいます。

### 3 食べる行動

「食」が生きていくための基本であることは昆虫も同じ。雑食性のヒトとは違い、カイコだったら桑というように、食べるものが決まっている場合が多いようです。食べるものを見分けるには味覚が発達していて、たとえばアゲハチョウの幼虫の味覚器官は図4のように、口の中にある左右2本ずつの突起の先にあります。

### 4 歩行と飛翔

昆虫が「6本足」というのは有名ですが、それは成虫の話。幼虫の時はもっとたくさんだったり、逆にまったく無かったりもします。生活スタイルに合わせ、たとえばバッタなら跳ぶことに、水棲昆虫なら泳ぐのに、ケラなら穴を掘るのに適するように、形を変えています。

### 5 呼吸と循環

昆虫には「肺」はなく、酸素はまるで血管のような「気管」により直接筋肉や神経、各臓器などに運ばれます(図5)。酸素を運ぶヘモグロビンが必要ないので、血液は赤くありません。体が小さいために血管はなく、原始的な心臓から送り出された血液は、組織・細胞の間をじわじわと流れています。

### 6 神経と筋肉

神経と筋肉は、基本的にヒトと同じです(図6)。ただヒトは100億個もの神経細胞からなる大きな脳をもっているのに対し、昆虫の脳神経細胞は、頭の良いミツバチでも100万個程度です。神経内の情報の伝送速度は秒速数メートル程度と遅めなのですが、体が小さいため、それでも大丈夫なのです。昆虫は骨からなる内骨格がないので、筋肉はふつう硬い皮膚に直接付いています。

## 7 発育と変態

「外骨格の宿命」で、昆虫は脱皮をしないと大きくなれません。まったく変態しない原始的なものもありますが、多くはトンボやセミのような不完全変態か、チョウやハチのように蛹の時期がある完全変態です。飛べる翅をもつのは成虫だけですが、その元になるものは幼虫の時からちゃんと準備されています。

## 8 生殖

雄と雌が交尾をして卵を産むのが基本型ですが、中には春から夏にかけてのアブラムシのように、雄なしで、雌がどんどん子供を産んでいくものもいます。ミツバチなどのハチ類では、「受精しない卵が発生を開始して雄になる」といった変わった形もあります。

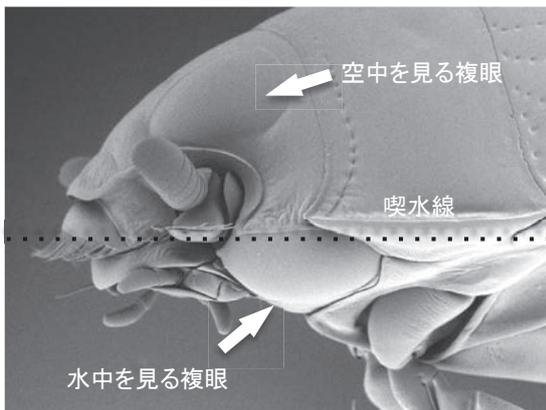


図1 ミズスマシの頭部・胸部を横からみたところ



図2 性フェロモンを感じる  
カイコ蛾の触角

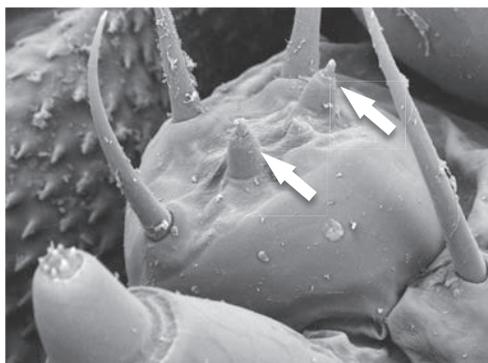


図4 アゲハチョウ幼虫の味覚感覚子

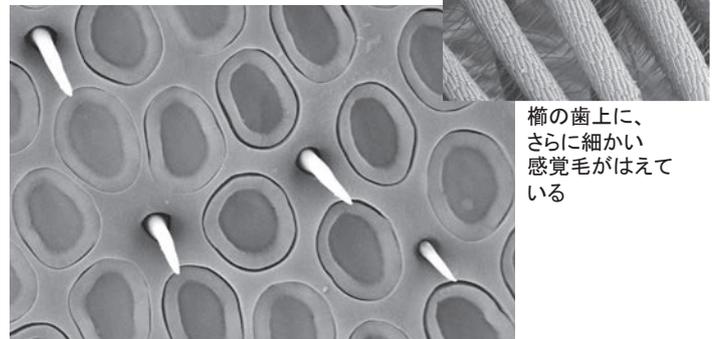


図3 ミツバチの触角上の匂いの感覚子(クレーター状)

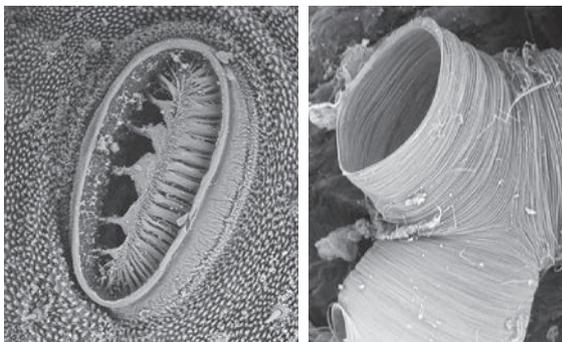


図5 アゲハチョウ幼虫の気門(左)。右は気管とその断面

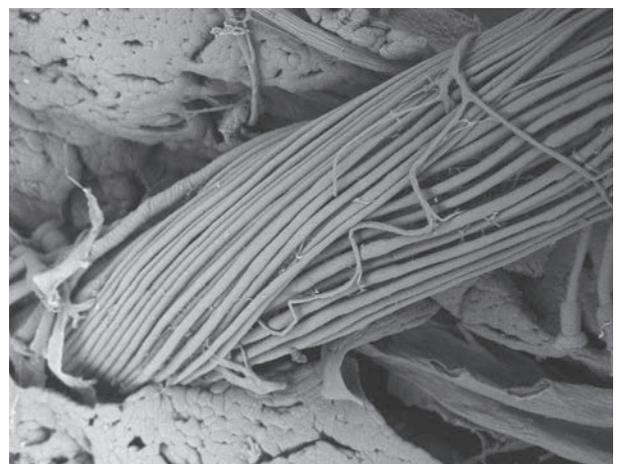


図6 スズメバチの筋肉と、それに電気信号を伝える神経

若手電顕技術者と研究者へのメッセージ：  
「形態学の夢は永遠に!!」

大野伸一  
山梨大学名誉教授(医学部)

このたびの教育講演にあたり、私の幼少期からの町医者への夢、そして基礎医学の勉学中にあっては、生きた動物の機能形態学に目覚めた「わが研究人生」について述べます。

今から約 60 年前、小学校に通いはじめて数か月後、突然に熱を出してしまい、数日もすると倦怠感も出てきたので、近くの町医者の診察を受けたところ、結核性肋膜炎でした。その後、数年にわたり、胸部レントゲンで異常陰影があり、結核専門病院を訪れました。このような事があり、小学生時代より私の夢は「お医者さんになる」ことになりました。その後、医学部を目指して一生懸命に勉強をしました。さらに、信州大学医学部では知的好奇心がわいて、解剖組織学教室で電子顕微鏡 (HS-8) を使い、医学生でありながら、医学的研究をはじめました。卒業後は、基礎医学教育・研究を約 40 年間も続け、その間にいろいろと経験しましたが、私のオリジナリティについてはじめに御紹介いたします。

(1) 観る形態学の魅力に目覚めて

1980 年当時、私の学位論文「高圧電顕形態計測法」の発表内容は、電顕形態学者にとっては常識外でした。電顕超薄切片の厚さが  $0.1 \mu\text{m}$  とさらに厚く  $0.5 \mu\text{m}$  とします。薄い切片だと、球状細胞小器官の小さな円サイズの出現頻度は高くなります。実際に各サイズの出現頻度を同じブロックの連続切片で算出すると、切片が厚いと正規分布に近くなります。つまり細胞内の球状ペルオキシゾーム断面が、超薄切片にすると、小さな円サイズとして、見かけ上は多く出現してきました。そこで、裏付けとなる数式を考案してみると、この各サイズの出現頻度は、切片の厚さと計測対象である球状細胞小器官サイズとの相対比に依存することが分かりました。第 11 回国際解剖学会 (1980 年開催、メキシコ市) で、そのことを発表した際に、当時の有名な形態計測学者の Hans Elias 先生から賛辞をいただき、「A guide to practical stereology」に、私の論文が引用されました。

さらに米国 NIH 留学直前の 1981 年には、三重大学薬理学教室と「カルシウム結合蛋白カルモジュリン拮抗物質 W7 の細胞増殖抑制」の研究成果を PNAS に発表しました。これは、トリチウム W7 の細胞内局在を凍結技法—凍結乾燥法で明らかにしたものです。また、アミノ基が 1 個ある W7 の化学構造を考えて、後にグルタルアルデヒドの架橋反応を利用して、その細胞内局在をより明瞭に証明しました。これはラジオオートグラフィーの新展開となりました。

さて、本題に入りますが、近年の医学生物学分野では、遺伝子解析や遺伝子操作による解析法が隆盛を極めて、生命の根幹に関わる事実が、明らかにされました。現在では、再生医療分野での iPS 細胞の臨床応用のように、すでに新たな生命科学が展開されています。しかし一方では、ヒト生命体を構成する細胞組織の機能が生体内臓器に依存する限り、形態学的解析法は今でも必要とされています。また、最近の分子形態学的解析法の進歩は顕著であり、遺伝子工学的手法を使用した蛍光バイオイメージング法により、特異的蛋白等が生きた動物生体内臓器で可視化されています。このような機能形態学的研究は、新しい研究手段の開発と表裏一体の関係があります。次に、私がすでに開発した「生体内凍結技法」も有用であることを御紹介いたします。

(2) 「顕微鏡での形態像は真実なのか？」という疑問

約 45 年前に、私は医学部の解剖組織学授業で、光顕標本の観察実習をしました。その実

習中には、スケッチ用紙に色エンピツで、種々の臓器組織の特徴を書き込みました。その時に、「顕微鏡で見えている構造は、真実なのだろうか？」という素朴な疑問を持ちました。当時から、細胞組織を顕微鏡観察するには、ヒトおよび動物臓器を切り出し、固定、脱水、包埋して、4~5 $\mu$ mの切片にしなければなりません。しかも切片をHE染色することが必要です。こうなると生体内組織とは異なり、人工産物の塊のように思えました。本来は、病気の解明のために人体内で機能する細胞組織を勉強したいのに、これは死んだ動物やヒト臓器の組織像を検索していました。これでは、真の人体組織や病気の姿はわからないと思いました。その時より、顕微鏡の観察像をさまざまな視点から考えることが大切であると思っていました。さらに教員として解剖組織学授業内容の「死んだ組織学」には、内心では大きな疑問を持っていました。

### (3) 凍結した細胞組織観察法の意義

前述のように、顕微鏡で細胞組織を観察するためには、一世紀以上前から、動物やヒト臓器組織の切除摘出、固定、脱水、包埋、薄切、染色をしなければなりません。その理由の一つとしては、生物組織試料中には、70~80%の水分が、存在するからです。しかし一方、その水を瞬時に凍らせれば、すべての細胞組織内の成分を半永久的に凍結状態で保存できます。さらに、その凍結試料を分子架橋の固定剤を含む有機溶媒に置き換える（凍結置換固定法）ことで、凍結時の細胞組織の形態像を顕微鏡で観察できるようになります。また凍結試料を低温高真空内で凍結乾燥（ディープエッチング）して、レプリカ膜作成をして電顕形態観察も可能です。この水の物理学的特性を利用したアイデアは、私が次の“生体内凍結技法”を開発した原点であると言えます。

### (4) 生体内凍結技法の開発

私は、1981年~1983年まで米国NIH (Fogarty International Fellow, NINCDS) で、急速凍結ディープエッチング (QF-DE) 法を習得し、1984年~1992年まで信州大学医学部で「ヒトおよび実験動物の種々細胞組織の超微形態学的研究」をしました。その間にQF-DE法により、通常の電顕超薄切片上では解析が困難であった超微形態学的変化を検討し、多くの国際誌に報告しました。さらに山梨医科大学（山梨大学医学部）着任の1992年頃より、急速凍結技法に使用する新鮮無固定試料の切除に伴う虚血と酸欠の影響をおさえるために、独自のアイデアに基づき、循環血流を遮断せずに、生きた動物生体内臓器をミリ秒単位で凍結し、その超微形態像をナノレベルで電顕解析する「生体内凍結技法」を開発しました (Virchows Arch., 1996)。また、この動物臓器を、半自動的に凍結する生体内凍結装置も開発しました。この生体内凍結装置は、種々の病的血行動態下における動物臓器の形態学的変化を保持したまま、電子顕微鏡や光学顕微鏡で観察可能な試料を作製できるようになりました。その後、この生体内凍結技法と凍結置換固定法、エッチングレプリカ法、凍結乾燥法等による電顕および光顕試料作製法を併用し、形態学的解析のみならず、バイオイメージングに対応した機能分子蛋白のダイナミックな局在を解析してきました。この「生体内凍結技法」は、すでに基礎医学分野に応用されて、過去20年間の医学生物学的研究の発展に、大いに貢献してきております。現在では「クライオ生検法」という内視鏡装置に凍結技法を組み入れて、ヒト臨床応用が可能な生体内凍結器具の開発もしております。

### (5) 動物臓器組織の急速凍結とバイオイメージングの問題点

以前より、生きた動物臓器組織の切除から急速凍結するまでの秒単位の時間が、短ければ短いほど良い、と考えられてきました。しかし、その細胞組織の機能的時間単位は、非常に速くてm（ミリ）秒、あるいは $\mu$ （マイクロ）秒であることは良く知られています。しかも、臓器切除による瞬時の虚血、酸欠状態にある細胞組織を検索することと、ヒトや動物生体内の生きている機能形態像を見ることとは、まったく異なります。また一方、生理学的なイメージング法では、御存知のように生体内の動的な分子の局在を経時的に捉えることができるようになっております。それは標的分子に蛍光標識などをして、ダイナミ

ックな姿を顕微鏡で観察する方法です。しかし、それは特定の分子（役者）だけにスポットライトを当てるようなことであり、細胞組織の全体像（舞台）を見てはいません。以前より、私は細胞組織の構造全体を見るのが、解剖組織学の使命だと思っていました。そこで思いついたのが、上記の「生体内凍結技法」でした。これは、生きた麻酔下動物の動的細胞組織を液性寒剤（約 $-193^{\circ}\text{C}$ ）を使用して、生体内で瞬時に凍結させるというものです。これにより、生きた動物の循環血流を遮断することなく、生体内臓器を $\text{m}$ （ミリ）秒単位で凍結でき、さらに通常では凍結置換固定後に切片標本を作製して、光学および電子顕微鏡で観察できるようになりました。

#### （6）生体内凍結技法の医学生物学的応用例

次には、この「生体内凍結技法」と開発途上にある「クライオ生検法」による生体内機能分子形態像について供覧いたします。最初は（I）生体内凍結技法による解析：i）生きたマウス心筋組織における血清蛋白の局在変化、ii）呼吸時肺胞中隔壁の機能的形態変化と血行動態の可視化、iii）Q-dot 注入マウス各臓器内微小血管の血行動態解析、iv）メラノーマ癌細胞の実験的肺転移巣の可視化。次いで（II）臨床用クライオ生検法の開発について紹介します。

以上に述べたように、この「生体内凍結技法」により、生きた動物臓器内細胞組織の機能形態学的特徴や種々蛋白分子の免疫組織化学的局在を明らかにできました。また、最近の蛋白分子遺伝子発現や標識プローブを用いた「ダイナミックな光イメージング法」との融合により、生きた動物臓器の機能的形態像の直接的解析が可能です。さらに、新たなクライオ生検法の開発により、同一動物臓器レベルやヒト臓器でも機能形態学的解析が、経時的に可能になります。最後に「形態学の夢は永遠である」ことを付け加えて終わりにいたします。

## シンポジウム I

### 「電子顕微鏡の基礎：上手く使うためのポイント条件設定から撮影のコツまで」

#### SI-1

透過電子顕微鏡を上手く使いこなすために

濱元 千絵子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本電子株式会社 EM 事業ユニット EM アプリケーション部

#### 1. はじめに

肉眼では見えない物を見るために作られた光学顕微鏡は、光を使って試料を観察するため、光の波長より小さな物は観察できない。そこで、光の波長よりはるかに短い波長をもつ電子を使った透過電子顕微鏡 (Transmission Electron Microscope : TEM) が発明された。現在では、医学、生物学の分野や材料の分野で幅広く使用され、生物試料の観察だけではなく、材料評価といった分析装置としての利用も多い。

特に現在の TEM は TEM 自体の操作が非常に簡単になり、初心者でも気軽にデータを取得することができるようになった。しかし、よりよ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。

本講演では、TEM の構造や基本操作について説明しながら、よりよいデータを取得するためのポイントを紹介する。

#### 2. TEM の構造

鏡筒最上部には電子銃が搭載され、その下に電子レンズ (集束・対物・中間・投影レンズ)、最下部に TEM 像を観察するための蛍光スクリーンや撮像のためのフィルムカメラ、デジタルカメラが配置される (図 1)。TEM の鏡筒内部は高真空に保たれており、試料に照射された電子は透過または散乱し、電子レンズによって収束・発散して蛍光スクリーン上に結像する。

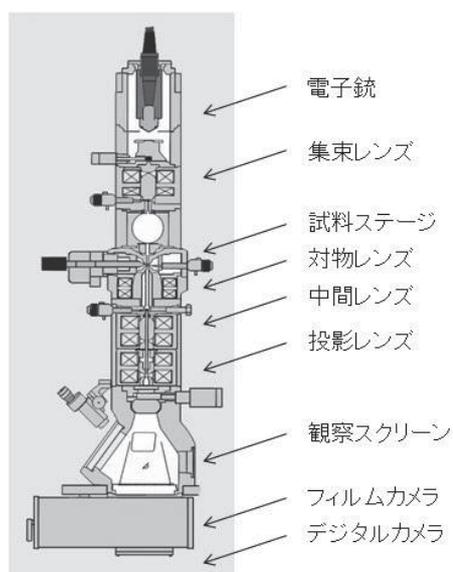


図 1. TEM の断面図

#### 3. TEM の操作

・加速電圧の選択：加速電圧が高くなるほど散乱コントラストが低くなる。そのため、コントラストが低い生物試料を観察する際には 80 kV

や 100 kV に設定することが多い。また、デジタルカメラを使用することにより電氣的にコントラストを上げられるので加速電圧が高くても高コントラストで観察できる場合がある。従って、記録媒体に応じて適切な加速電圧を設定する

ことが大切である。

・絞りの選択と調整：

- a. 集束絞り：通常観察では一番大きな絞りを使用する。ただし、電子線照射によるダメージが大きい試料を観察するときは小さい絞りを選択する。
- b. 対物絞り：試料のコントラスト増強、チャージアップ防止に使用する。絞りの孔径を小さくするとコントラストが上がるが、分解能は低下してしまうので、観察目的に応じて適切な孔径の絞りを使用する必要がある。
- c. 制限視野絞り：電子回折法で特定の視野から結晶構造情報を際を使用する。LowMag モードでは、コントラストを上げるために使用される。

・対物レンズの非点収差補正：非点収差補正は観察および撮影をする倍率よりも高い倍率補正する。中低倍率の観察では、一度調整すれば大きくずれることがないので再調整する必要はない。しかし、高倍率観察の際は細部まで観察し、補正する必要がある。フーリエ変換機能が付いたカメラを使用すれば、初心者でも簡単に非点収差補正ができるようになる。

・フォーカス合わせ：生物試料の TEM 像はわずかにアンダーフォーカスにすることで適切なコントラストが得られるが、試料の厚さ、倍率、記録媒体によって最適なアンダーフォーカス量が異なる。しかし、Optimum Under Focus:OUF 機能を使うとイメージワブラー機能と連動して自動的に適切なアンダーフォーカスになるように設定することが可能である。

・試料汚染の防止：主な汚染源は、試料付近の炭化水素ガスや試料自体に付着した固体の炭化水素である。鏡体内の真空度を高め、清浄な真空状態を保つことで防止できる。また、試料や試料ホルダーに付着した汚染源を鏡筒に持ち込まないように、試料作製時の器具類はもちろん試料ホルダーの先端などを清浄に保つことも大事である。

#### 4. 最後に

TEM の操作が簡単になり、さらにデジタルカメラの使用により暗室作業も不要になった。今まで以上に試料作製への比重が大きくなったのは言うまでもない。その分、よい試料さえできてしまえば、データ取得は容易に行うことができる。本体の構造を理解した上で TEM を使い続ければ、上手く使いこなせるようになるであろう。

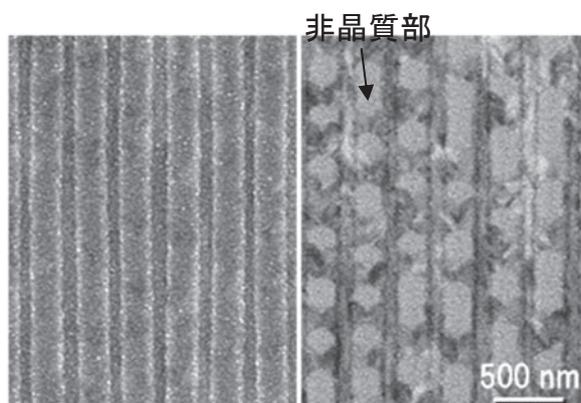
## 走査電子顕微鏡

渡邊俊哉、坂上万里、檀紫、揚村寿英、安島雅彦  
 (株)日立ハイテクノロジーズ

走査電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope) は、分解能および実用性の向上を目指し、さまざまな改良がなされ、近年では科学技術研究や工業生産現場において幅広く活用されている。これは、サブナノメートルに迫る分解能が実現されたことに加え、測定ニーズの多様化に対応し、さまざまな信号を利用した観察手法が確立されたことによる。一般的に、SEM は、電子銃および対物レンズの組み合わせにより、装置の得意分野や到達分解能が異なってくる。また、表面形状情報を取得する二次電子(SE)や組成情報を反映する反射電子(BSE)を信号として使用するが、低真空検出器[1]や低加速 BSE 像観察手法[2]など、新たな観察手法の開発も進められている。図 1 に Blue-ray ディスク記録部の SE 像と BSE 像の観察例を示す。SE では記録層の金属膜部の縦縞状の凹凸が観察され、BSE ではレーザー照射により非晶質化した部位がグレーのコントラストで確認できている。このように各種信号の使い分けによりさまざまな情報の取得が可能となっている。図 2 はラット小脳切片の低加速 BSE 像である。染色および低加速 BSE 観察により高コントラストで、核(N)、ミトコンドリア(M)、リボゾーム(→)などが明瞭に確認できる。今回は、SEM の基本および条件設定や信号選択など上手に活用するための方法を紹介する。

[1] 西村 他 : S.I.NEWS 2013 Vol.56 No.1 pp.37-41

[2] 澤島 他 : LIS テスティングシンポジウム/2000 資料, pp.157-162



(a)SE 像

(b)BSE 像

図 1 Blue-ray ディスク(記録部)観察例  
 加速電圧 : 1 kV, 観察倍率 : 1 万倍

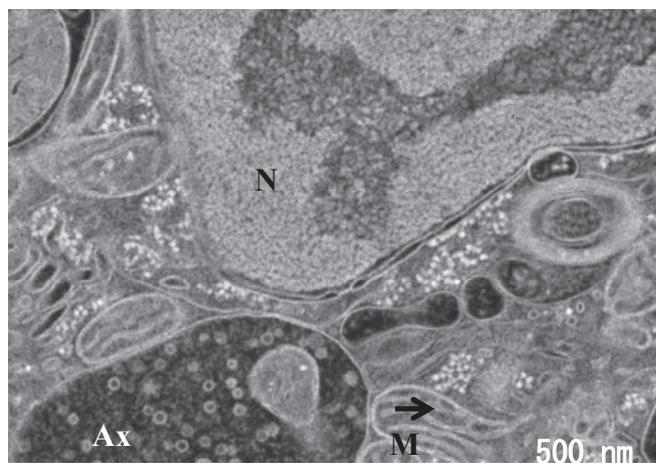


図 2 ラット小脳観察例(BSE 像)

加速電圧 : 1.5 kV, 観察倍率 : 5 万倍

試料作製 : 液体ヘリウム急速凍結・凍結置換  
 (酢酸ウラン-鉛二重染色)

N:核, M:ミトコンドリア, Ax:軸索

試料ご提供 : 岩手医科大学

前教授 遠山稿二郎先生, 石田欣二先生

集束イオンビーム装置による電子顕微鏡用試料作製  
Sample Preparation for Electron Microscopes by Focused Ion Beam System

中谷 郁子

株式会社日立ハイテクサイエンス BT 技術部 BT 応用技術課

キーワード：FIB SEM TEM 試料作製 SSSEM

### 1) 緒言

TEM 試料作製技術は、生体試料に代表される軟質試料にはマイクロトーム、金属試料では電解研磨、水分を嫌う試料ではイオンミリング等、試料に応じて様々な手法がある。その中で、半導体デバイスの不良個所解析など、 $\mu\text{m}$  以下の位置精度で特定領域の TEM 試料を作製する技術として FIB 装置(Focused Ion Beam : FIB) が用いられている。FIB 装置は TEM (Transmission Electron Microscope) 試料作製のみならず SEM(Scanning Electron Microscope)用の断面作製にも利用されている。FIB 装置は、集束させたイオンビームを試料に照射することでビーム照射部をスパッタリングによって除去することができる。スパッタリング現象を利用しているため、柔らかい樹脂や、ダイヤモンドのような硬い材質、変形しやすい紙など比較的对象試料を選ばず加工できる。本稿では、FIB 装置における電子顕微鏡用試料作製に関して紹介する。

### 2) FIB 装置の機能と特長

FIB 装置は、細く集束させたイオンビームを試料に照射して「加工と観察を行う装置」である。イオンビームのイオン源には Ga が一般的に用いられる。Ga イオンビームは正電荷を帯びているため、帯電を防止するため試料は導電物である必要がある。絶縁物の場合は帯電を防ぐため導電膜を付与するか、FIB 照射中に帯電中和のため、電子線を照射する必要がある。

イオンビームを試料に照射すると、二次電子が発生し、これを検出することで、二次電子像を得ることができる。これが FIB 装置の「観察機能」である。

また、イオンビームのビーム電流を上昇させると、電流の大きさに応じて、試料表面の原子がスパッタリングされる。これが FIB 装置の「加工機能」である。加工機能はもう一つあり、原料ガスを流しながらビームを照射することでガス成分が分解し、試料表面に堆積する。すなわちビーム照射した場所のみデポジション膜を成膜することができる。

このように、二次電子像で加工対象を直接観察しながら加工が可能である点が、FIB 装置の特長である。

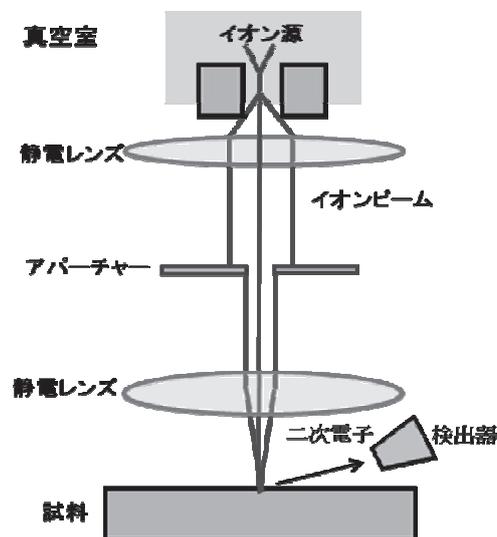


図 1. FIB 装置模式図

### 3) FIB による試料作製

FIB 装置は、加工サイズに応じてビーム電流値を選択する。ビーム電流は各社装置によって異なるが、1pA~100nA 程度である。TEM 試料は、幅 10 $\mu$ m、深さ 5 $\mu$ m、厚さ 100nm 程度の大きさが一般的である。TEM 試料作製方法は、試料に応じて様々な手順があるが、標準的な手順を以下に示す。[1]

- ①二次電子像にて加工場所を特定
- ②加工場所にデポジション膜を付けて試料表面を保護する
- ③デポジション膜周囲を FIB でミリングする
- ④精密に制御できる先端径 1 $\mu$ m 以下の細いプローブを試料に近づける
- ⑤デポジション膜によってプローブと試料を接着する
- ⑥試料を元のバルクから切り離す
- ⑦FIB 加工用の半切りメッシュに試料片を設置する
- ⑧試料片を FIB で薄片加工する

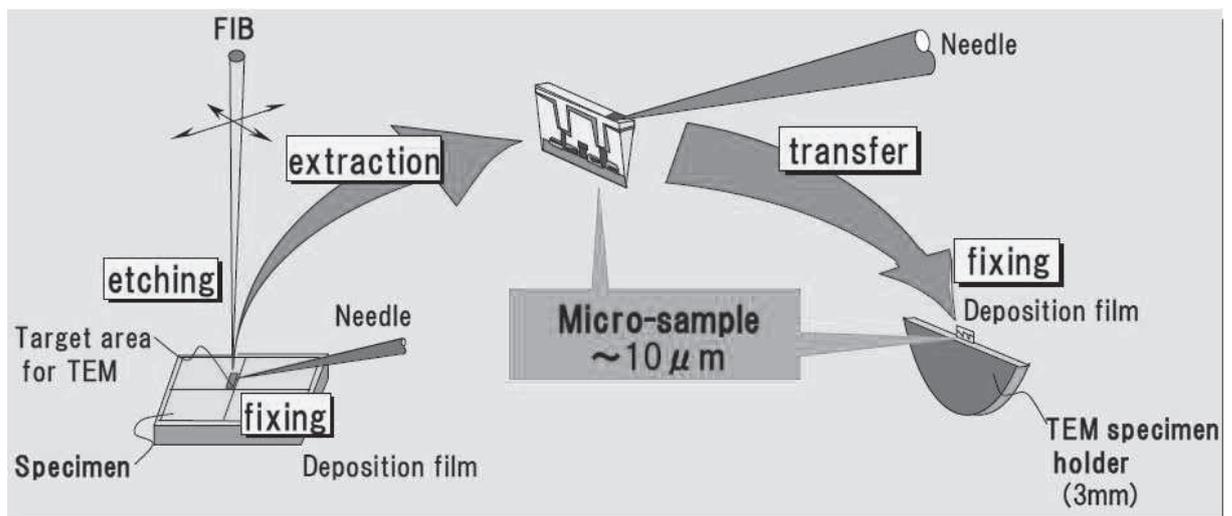


図 2. TEM 試料片作製手順

通常、TEM 試料は 100nm 以下に薄片化される。観察対象物はその薄膜中に含まれている必要がある。観察対象物が微細な場合、それを確実に 100nm 以下の厚さに含めるために、FIB による位置決めだけでは不十分な場合がある。薄片化の途中で、試料を傾斜して FIB で観察することも従来は行われていたが、FIB の照射ダメージが大きく、観察のための分解能も十分でないという問題があった。そこで、FIB 装置に SEM を組み合わせ、加工断面をその場で SEM 観察できる複合機が開発され、現在ではそれが主流となっている。

### 4) FIB 装置の新たな応用

TEM 試料作製の終点確認が主な用途であった FIB-SEM 複合装置は、FIB の加工安定性、SEM 分解能などが向上していく中、新たな分野への応用が広がっている。そのひとつが、SSSEM (Serial Slice SEM) である。等間隔で作製した試料断面を逐次 SEM 観察し、得られた連続断面像から試料の三次元的な構造を明らかにしようという試みである。FIB 装置以外にはマイクロームと SEM を組み合わせた

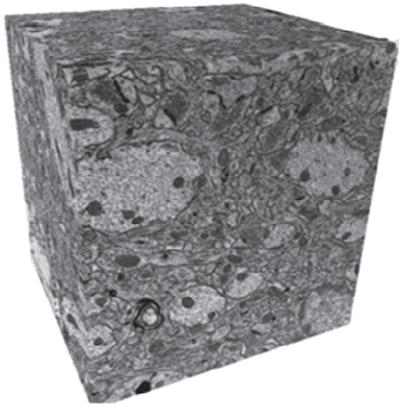


図 3. SSSEM による三次元再構築例

試料:マウスの脳組織

三次元再構築体積:  $10 \times 10 \times 10 \mu\text{m}$

断面加工ステップ:  $10\text{nm}$

試料提供:生理学研究所 窪田芳之様

装置がある。しかしマイクロトームの断面作製能力では、 $30\text{nm}$ 程度が限界である。FIBでは $2\text{nm}$ の加工が可能であり、より詳細な情報を得ることができる。

#### 5) まとめ

1975年に英国のClampittによって、FIBの光源である液体金属イオン源が提案されてから速くも40年が過ぎている。1980年代には各社からFIB装置が発売されたが、当初は半導体マスクやLSI配線を修正する専用機であった。90年代に入ると、局所の断面加工、TEM試料作製ができる装置としてその地位を確立し、2000年代ではより高品位なTEM試料作製

装置として、低ダメージ加工の技術が進んでいった。そしてここ数年で、FIB装置の新たな応用としてSSSEMが注目を集めている。SEM像による形状の三次元再構築だけでなく、EDSによる元素マップやEBSDによる結晶方位マップからも三次元再構築を行うことができる。

SSSEMは、得られた画像のセグメンテーション等、データ処理が最大の課題となっている。よりセグメンテーションが容易になるよう、SEM分解能向上はもちろん、コントラストが付きやすい染色などの前処理方法の確立が重要である。これらの課題を克服し、新たな微細加工領域の三次元構造解析手法としてFIB装置の応用が広がることを期待している。

以上

#### 参考文献

- [1] T. Ohnishi, H. Koike, T. Ishitani, S. Tomimatsu, K. Umemura and T. Kamino, "A New Focused-Ion-Beam Microsampling Technique for TEM Observation of Site-specific Areas," Proc. 25th. Int. Symp. Testing and Failure Analysis, (1999), p. 449

## シンポジウムⅡ

### 「電顕試料作製の基礎と工夫、勘所」

#### SⅡ-1

### SEM・TEMの試料作製の基礎 - 目的に応じた試料作製 -

根本 典子

北里大学医学部バイオイメージング研究センター画像部門

1980年代迄は電子顕微鏡の繁栄時代であり生命科学研究は何らかの形で殆どの分野が電顕と関わってましたが、分子遺伝学の発達により研究の主眼が移行してきた事実は否めません。DNAからRNAへタンパク質の遺伝子発現を、細胞、組織、器官、個体のあらゆるレベルの現象をDNAレベルから解析する方法へ進み、プロテオーム解析やメタボローム解析によって様々な分子が同定され、これらが細胞や組織、臓器のどこの場に存在し、生体にどのように作用するかを知ることが重要視され、自然科学研究は様々なイメージング解析法を駆使することが普通な時代となっています。言うなれば、電子顕微鏡解析は、特殊な観察法の枠ではなく解析法の一手段として立ち位置が変わってきたことも事実です。しかしながら、分子生物学、生化学、生理学の解析が如何に優れていても生命現象の起こっている場を見ることはできず、結果からの合理的な論理の帰着であり、「現象の可視化」は形態学以外では表現できず、特に光学顕微鏡では見れない解像度の高さを発揮する電子顕微鏡解析法は途絶えることはありません。生体のある機能を遂行するための構造が、器官、組織、細胞のどこに存在するか、その機能と構造の関係はどのようなことであるかは、電子顕微鏡解析の誇れる技です。ただし、電子顕微鏡解析法は様々な方法があり、ベテランの電顕技術を有する方でも全てに精通する技術を持つ方はなかなかいないことも事実です。また、初心者では、どんなことが解析できるかを知らないことも多く、活用の幅を狭める事も多々あります。基本的な技法をとっても、方法の選択、技術の修得など、初心者には悩むことが多く、現実的には、この解析法を断念することもある現状です。そのためには、古典的な手法から最先端の解析法があるなかで、どんな手法やどんな顕微鏡を使えば、どのような観察像が得られるかを知っておく必要があり、また、組織の特性や観察目的に応じた処理を選択する必要があることを知らないで、想定した結果が得られないことが多いことが多いことも知るべきです。

イメージング解析法は①形態（微細形態、超微細形態）の観察、②分子の局在観察、③生体分子の動態や相互作用を探る、などに大まかに分けられ、観察する顕微鏡も試料作製法もそれぞれ目的により異なります。①では、光学顕微鏡や電子顕微鏡（透過や走査）、②や③は免疫組織化学や *in situ hybridization* などの手法を用いて蛍光顕微鏡や電子顕微鏡を活用、さらには新たな顕微鏡や観察システムも日々開発されており、どの装置をどのように（設定条件や装置の種類によっても得られる情報が異なることも）使って解析するかなど、選択技は盛り沢山です。

今回は、最も基本となる古典的な電顕技術である純粋形態観察①の基礎について紹介したいと考えます。「電子顕微鏡の試料作製の基礎」という言葉で思いつくことは、第1に「固定剤の性質を知る事」、第2に「細胞や組織の正常な構造を理解しておくこと」、第3に「様々な顕微鏡の種類と特徴を知る事」、第4に「像の読み」ではないかと考えます。第2を解決するには、正常組織像は組織学の成書を、第3は、装置の種類や観察できる像については各種メーカーのカタログやHPなどを参考にすると良く、第4の像の読みは熟達者に教えを請うことが良いでしょう。そうなれば、第1番目の、固定剤の特性、作用機序を知ることが残りますが、これを知ることにより、観察目的に応じた組織細胞の構造を保持することができ、応用も広がり、技術書を読めば理解でき応用できることとなります。試料作製の流れだけを知っていても作用機序を知らなければ、思わぬ落とし穴も潜んでいるのが電顕技術です。透過電顕では基本の操作と組織に応じた、特に固定と樹脂重合の留意点を紹介し、走査電顕法では、目的に応じた各種技法を用いた観察像の違いなどを紹介したいと考えます。我々が日常接する形態学の観察装置や解析法をあげてみました。自身の欲する結果や像は、どの解析装置、どの技法を選択し、どの固定液を使用すれば良いのか、今ひとつ考えてみましょう。

## どの顕微鏡を選ぶか？ どの手法を選ぶか？ (図1)

光学顕微鏡か電子顕微鏡か？ 凍結か未凍結か？

透過電子顕微鏡 (TEM) と観察法

超薄切片法、ネガティブ染色法、凍結置換法、急速凍結エッチング法、氷法埋法、免疫電顕など。

走査電子顕微鏡 (SEM) と観察法

自由表面観察法、凍結割断法、細胞内微細構造観察法、結合組織観察法、結合組織除去法、細胞骨格観察法、遊離細胞観察法、血管・リンパ管鋳型法、分析電顕法、イオン液体法など。

(その他、装置や加速電圧、金属被覆など条件により像が変化する。)

### 目的組織別の TEM 試料作製上の主な留意点

○**脊椎動物の軟組織**：肝臓，腎臓，心臓や筋肉，皮膚，軟骨など。

通常の TEM 観察では、標準的な試料作製方法。

留意点：動物種や組織の部位により組織浸透圧に差がある。

組織内のライソゾームにより自己融解による人工産物を生じ易い。

○**脊椎動物の硬組織**：骨や歯。脱灰，非脱灰，研磨標本の何れかの処理を行う。

脱灰はアルデヒド固定 (PFA, GA 混合) を充分行い 10~2.5%EDTA で処理することが多い。

組織化学を目的の場合は賦活化しても酵素活性の検出が制限されるため脱灰は避ける。

○**脊椎動物以外の動物**：昆虫や節足動物など脊椎動物とは組織体系が異なる組織である。

クチクラなどの硬く厚い層に覆われ、固定液や樹脂の浸透性に欠ける。界面活性剤の添加やクチナーゼなどの酵素処理を行い浸透性を促進する方法がある。固定、脱水、樹脂浸透が不十分となり易い。包埋樹脂は浸透性に優れる低粘性または水溶性樹脂が良い。

○**植物細胞**：細胞壁が厚くガス成分を含み、茎や葉の表面にはワックスがあるため薬液の浸透性に欠ける。減圧して固定液中に沈めるか界面活性剤を微量添加した固定液を用いる。我々は、加圧/マイクロ波を併用している。動物組織に用いない  $\text{KMnO}_4$  固定液や K を含むリン酸緩衝液も使用される。包埋樹脂は、低粘性または水溶性樹脂が良い。

○**遊離細胞**：血球，培養細胞，腹水細胞，卵子，精子などの個々に存在する細胞。

SEM 観察と TEM 観察では前処理が異なる。SEM では細胞を個々に処理するのが適する。TEM では試料作製過程で流出し易いため、塊状で処理する。遠心してペレットとして前固定液で固めるか、あるいは寒天やゼラチン・キトサンなどに埋めて固め、組織片と同様に細切する。ポリカチオン化ガラスなどに吸着させて処理し、倒立包埋することもある。低温で微小管が壊れ易いため固定温度に留意する。個々の細胞が細胞膜を境に外界と接するため浸透圧の影響を受け易い。固定液、洗浄液の浸透圧の調整は必須である。

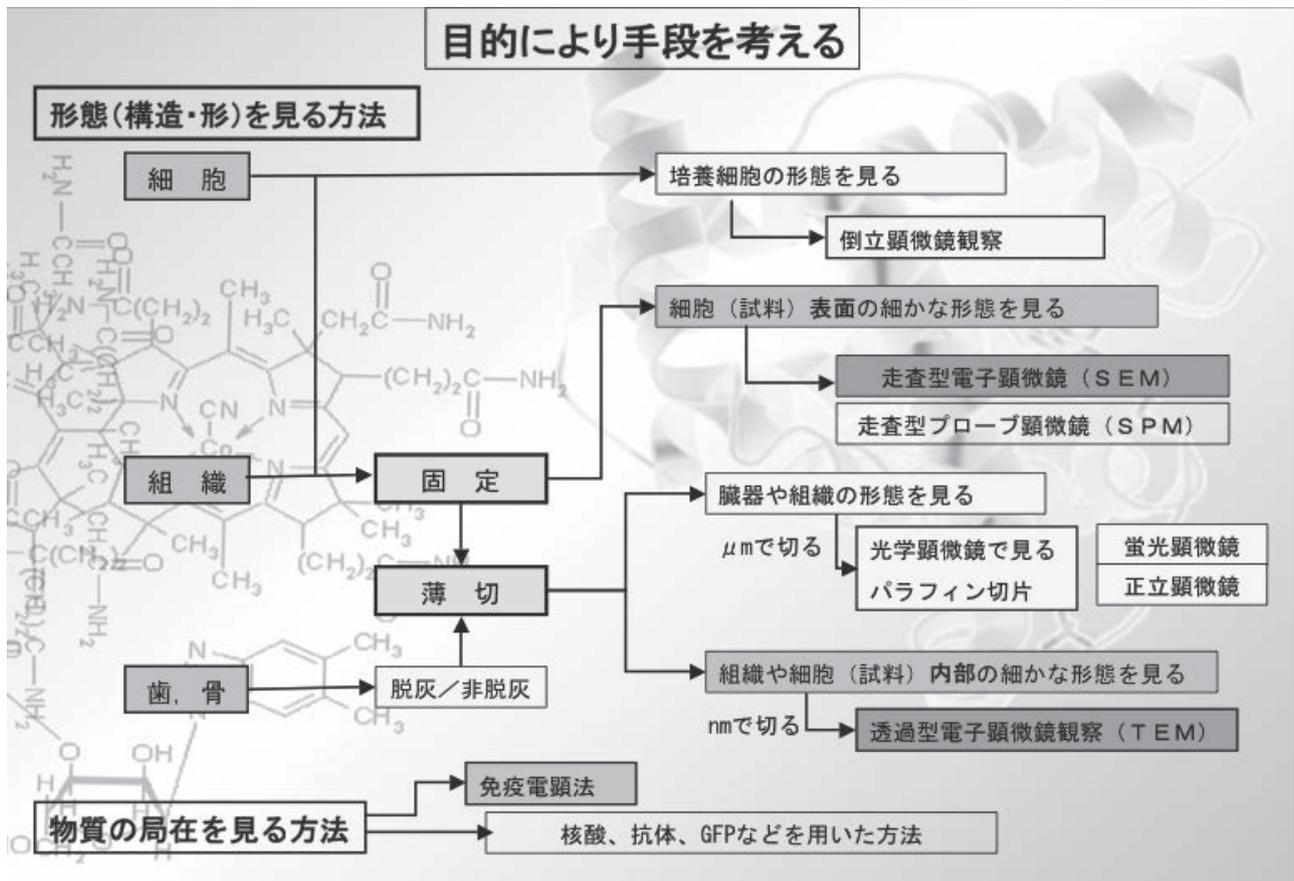
○**平板培養細胞**：プラスチックプレートやスライドガラスに培養した細胞。

遊離細胞と同様に浸透圧の影響を受け易い。単層の場合は固定、脱水時間は組織の場合よりも短時間でよい。培養温度と薬液の温度差により剥離や細胞内の亀裂が生じ易く、固定は室温程度で処理する。薄切容易な耐溶剤性の電顕培養シートも市販されている。ガラスに培養した細胞は倒立包埋を行い、重合後に熱を加えてガラス面から剥離する。観察目的が培養面に垂直な面か、平行な面かにより包埋方向を考える。

○**真菌、細菌，ウイルスなど**：真菌は比較的大きいため処理し易いが、細菌、ウイルスは微小なため包埋までに消失し易い。ウイルスは包埋せずにネガティブ染色で観察することが多い。細胞壁で覆われているため固定液の浸透性に欠ける。化学固定では表面の構造を保持し難く、凍結置換固定が優れる。鞭毛を有する細菌などは遠沈により断裂することがあるため外的刺激による形態の保持にも留意する。

○生体高分子：DNA，タンパク質など。DNAなどはチトクロームCによる蛋白単分子展開法とシャドーイングによる観察法が利用される。

図1.形態観察の手段を考える。



## 凍結超薄切・免疫電顕法の実際

石田 欣二、石山 絵里、花坂 智人、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

免疫電顕法は電子顕微鏡を用いて抗原の局在部位を解析する方法で、化学固定された組織・細胞の分子局在を高解像度でイメージングすることが出来る。

試料の形、目的（定量的解析、高感度な検出）、環境（装置の有無）などにより最適な方法を選ぶ必要がある。その一つに凍結超薄切法がある。

本法は1960年代にBernhardとLeducらに開発され、その後、1970年代に入り徳安が考案した氷晶防止剤（PVP：Polyvinyl pyrrolidone）、吸着染色（PVA：Polyvinyl alcohol - 酢酸ウラン）を応用した徳安法<sup>1)</sup>がより実践的な方法となった。

凍結超薄切法の最大の特徴は、脱水・重合操作を行わない未包埋標本を使用するため、抗原性を保持（露出）した状態の切片が得られる事が想定されており、そのため、電子顕微鏡レベルでの免疫組織化学への応用という点では、極めて高い有用性を有している。

また、他の手法（プレエンベディング法、ポストエンベディング法）と比較しても、より短時間（3～4日）で免疫染色の結果が得られる。

このように理論上は良い方法と考えられていたが、現状はこのような利便性にも拘わらず広く普及していない。

その主な理由は、手技の煩雑さに加え、切片が上手く切れない、切片が回収できない、切片が壊れるなど、技術的な問題も幾つか挙げられる。

私たちは、本手技の各ステップについて検討した結果、いくつかの重要なポイントを明らかにする事ができた。

これにより、これまで難しいとされてきた神経組織においても比較的安定した結果（凍結超薄切片作成）を得ることができるようになった<sup>2)</sup>。

### 参考文献

1) Tokuyasu, K. T. : J. Ultrastruct. Res, : 287-307, 1978

2) Akagi, T. et al. : J. Neurosci. Methods, 153 : 276-282, 2006

## 生体適合性材料と組織の観察方法

広瀬治子、荻山明日香

帝人(株)構造解析センター

## 1. はじめに

生体用材料と生体間の相互作用を生体適合性といい、組織・細胞との局所的反応及び全身的反応を引き起こさない材料を、生体適合性材料(Biocompatible material)という。我々は、その使用目的・部位・期間などによって材料や形状を選択・設計し、生体適合性材料として使用する高分子材料の研究を行っている。インプラントした材料が組織のどこに存在し、細胞にどんな影響をおよぼすかを可視化して評価する必要がある、顕微鏡やTEM、SEMを用いて観察・評価している。しかし、組織・細胞のTEM観察方法をそのまま用いると、組織や細胞は観察できるものの、生体適合性材料が溶解・溶出したり、変形したりして、両者の関係を可視化・評価できない場合が生じる。このため、生体適合性材料によって、サンプリング方法を変える必要が生じる。今回、いくつかの例を紹介し、サンプリングのためのポイントを紹介する。

## 2. 緑内障モデルウサギのテノン囊に導入したポリ乳酸(PLA)フィルム

PLAは、その結晶性によってはエポキシ樹脂(EP)で溶解する場合があります、注意が必要である(図1)。このフィルムは組織に付着せず、体液中に浮遊している可能性があったため寒天を使って、サンプリング時に流れ出すのを防いだ。サンプルは、2.5%グルタルアルデヒドで2日間固定後、0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4)で洗浄、フィルム断面が出るように細切し、2%寒天ゲルに入れ、冷蔵庫で硬化。余分な寒天ゲルを切り落とし、1%四酸化オスミウムで2時間固定後、エタノール系列で脱水、QY-1で置換し、Quetol812で包埋した。ウルトラミクロトームで50nm厚の切片を作製し、4%酢酸ウラニルと0.5%クエン酸鉛で電子染色した後、透過電子顕微鏡LEM-2000(加速電圧100kV, TOPCON製)とTECNAI G2(加速電圧

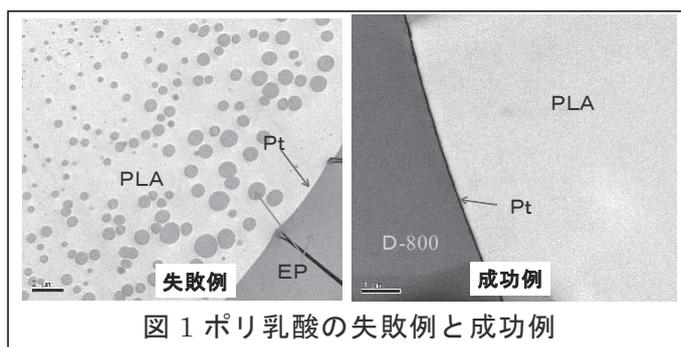


図1 ポリ乳酸の失敗例と成功例

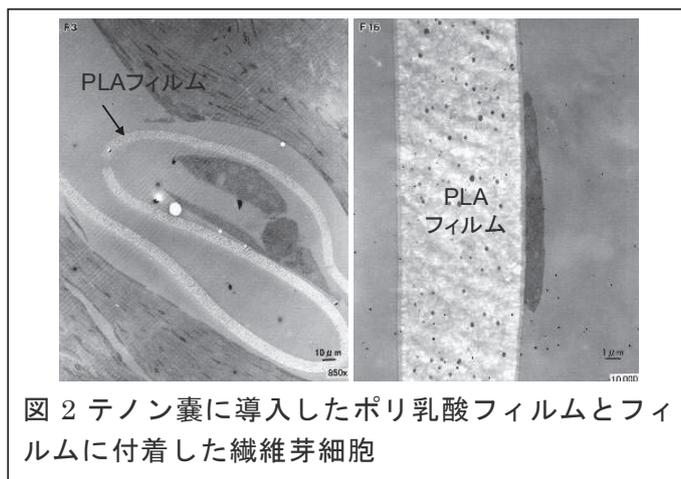


図2 テノン囊に導入したポリ乳酸フィルムとフィルムに付着した繊維芽細胞

120kV, FEI 製) で観察した。PLA フィルムはテノン囊の壁に付着していないことがわかった。またフィルムに繊維芽細胞の付着が認められた (図 2)。

### 3. ウサギ腹膜に塗布した癒着防止カルボキシメチルセルロース誘導体 (CMC-PE) ゲル

1%四酸化オスミウム (エタノール溶液) 固定、100%エタノール洗浄、QY-1 置換、Queto1812 で包埋した。ウルトラマイクロトームで 50nm の切片を作製し、銅グリッドに載台、4%酢酸ウラニルと 0.5%クエン酸鉛で電子染色し、TECNAI G2 (加速電圧 120kV, FEI 製) でエネルギーフィルター像の TEM 観察を行った。CMC-PE ゲルは網状構造を呈しており、腹膜塗布 1 週間後でもその存在が確認され、部分的に分解が始まっていることがわかった。腹壁においては、細胞浸潤などの病理所見は認められなかった。

### 4. サンプリングのポイント

生物サンプルの場合、TEM 用包埋には、エポキシ樹脂が一般に用いられるが、ポリカーボネート (PC) やポリ乳酸 (PLA) など、エポキシ樹脂で包埋すると、溶解する場合がある。また、ポリエチレン (PE) はエポキシ樹脂で包埋すると、切削時に界面で剥離する場合がある。このため、包埋樹脂の選択には、生体適合性材料との接着性が重要であり、両者の表面張力を考え、溶解度因子 (SP 値: Solubility parameter) を考慮して、包埋樹脂を決めるとよい (表 1)。生体適合性材料と包埋樹脂の SP 値の差が大きいと、超薄切時に界面が剥離し、また逆に近すぎると両者はよく濡れ、強い接着力が生じて表面形状が保持できない場合がある。経験的には 'SP 値の差が 1' くらいが良好と思われる。また材料を取り扱う温度も重要で、約 60°C で高分子材料が溶けてしまう場合、常温で分子運動が凍結していない場合があり、高分子の熱変形温度やガラス転移点 (Tg) に注意する必要がある。またゲルにはエタノール固定、体液中での浮遊材料には寒天の前固定が有効である。その他、染色方法、観察方法 (エネルギーフィルター法、カソードルミネッセンス etc.) の選択など、各種高分子の性質にあわせて観察方法の戦略を立てることが必要である。

表 1 ポリマーの SP 値

| 代表的ポリマー             |      | SP値       | Tg        | 熱変形<br>熱分解温度 |
|---------------------|------|-----------|-----------|--------------|
| ポリテトラフロロエチレン(テフロン)  | PTFE | 6.2       | -110~20   | 300~320      |
| ポリジメチルシロキサン(シリコーン)  | SI   | 7.3~7.6   | -125~-112 | 250~300      |
| ブチルゴム               |      | 7.7       | -71       | 140          |
| ポリエチレン              | PE   | 7.7~8.4   | -125      | 95~141       |
| ポリプロピレン             | PP   | 7.8~8.2   | -110~-10  | 165~180      |
| ポリブタジエン(ブタジエンゴム)    |      | 8.4~8.6   | -102~-75  | 120          |
| ポリスチレン              | PS   | 8.6~9.7   | 90~100    | 230          |
| ポリフッ化ビニリデン          | PVdF | 9.1       | 35        | 134-169      |
| ポリメチルメタクリレート        | PMMA | 9.0~10.7  | 70~105    | 90~140       |
| ポリ酢酸ビニル(ポリビニルアセテート) | PVAC | 9.4       | 30~34     | 200          |
| ポリ塩化ビニル(ポリビニルクロライド) | PVC  | 9.4~10.8  | 80~87     | 85~210       |
| ポリカーボネート            | PC   | 9.5       | 42~231    | 120-150      |
| ポリ乳酸                | PLA  | 9.6~11.3  | 55~60     | 175~178      |
| エポキシ樹脂              | EP   | 9.7~11    | 116~266   | 150~200      |
| ポリウレタン              | PU   | 10        | -55~109   | 90~130       |
| ポリカプロラクトン           | PCL  | 10.1      | -60       | 60           |
| ポリエチレンテレフタレート       | PET  | 10.1~10.7 | 67~81     | 255~267      |
| 酢酸セルロース             | CA   | 10.7~11.5 | 160-180   | 230-300      |
| ヒドロキエチルメタクリレート      | HEMA | 11~12     | 55        | 314          |
| ポリビニルアルコール          | PVA  | 12.6      | 20~85     | 132~200      |
| ナイロン6               | Ny6  | 12.7      | 47~100    | 225          |
| ナイロン66              | Ny66 | 13.6      | 49~57     | 267          |
| ポリアクリロニトリル          | PAN  | 15.4      | 80~145    | 104          |
| ヒドロキシプロピルセルロース      | HPC  | 18        | 150       | 204          |
| ポリスルホン              | PSU  | 23.5~27   | 190       | 200          |
| カルボキシメチルセルロース       | CMC  | 28        | 120~135   | 290          |

「プラスチック加工技術ハンドブック」高分子学会編、その他資料より

## 一般演題（口演発表）

0-1

### ヒト食道粘膜での弾性線維について

田北薫子、柴田智隆、猪股雅史、島田達生、内田雄三、北野正剛  
大分大学

ヒト食道は食物をのみこむ際に大きくふくらむ。それは粘膜筋板と言って粘膜固有層と粘膜下層の境をしている平滑筋の束の働きであると考えられている。また この粘膜筋板には弾性線維がたくさん存在しているから伸縮が自在であるとも考えられている。我々は以前ヒト食道 とくに頸部においては粘膜筋板の平滑筋が比較的まばらであることを報告した。この部は 食物が口から食道へ入ってきた部位であり特に大きく膨らむため 弾性線維がたくさん存在することも想像された。この部における弾性線維の存在について光顕、電顕を用いて観察したので報告する。

0-2

### 線維芽細胞の活性化における超微形態学的解析

佐野 誠<sup>1)</sup>、地家豊治<sup>2)</sup>、本間 琢<sup>1)</sup>、石毛俊幸<sup>1)</sup>、廣谷ゆかり<sup>1)</sup>、  
勝沼真由美<sup>1)</sup>、根本則道<sup>3)</sup>、逸見明博<sup>1)</sup>、羽尾裕之<sup>1)</sup>  
日本大学医学部人体病理学分野<sup>1)</sup>、  
同医学研究支援部門電子顕微鏡室<sup>2)</sup>、同医学総合研究所<sup>3)</sup>

癌細胞の増殖や進展に、癌を取り巻く間質、なかでも線維芽細胞の活性化が深く関わっている。近年、その活性化のメカニズムの一つとして、線維芽細胞のネモーシス（細胞死）に引き続く増殖因子等の放出が提唱され、3次元凝集（スフェロイド形成）のモデルが支持されている。そこで、今回われわれは、線維芽細胞のネモーシス現象をより詳細に解析するため、3次元培養下において線維芽細胞（NIH/3T3細胞）のスフェロイドを作製し、透過電子顕微鏡により超微形態学的な解析を行った。また、パラフィン包埋切片を用いた免疫染色やTUNEL染色等の結果を含めて、線維芽細胞のネモーシス現象を考察する。

0-3

### *P. gingivalis*の培養上清は可溶成分を介し trophoblast の浸潤に影響を与える

廣畑 直子<sup>1), 2)</sup>、相澤(小峯) 志保子<sup>1)</sup>、早川 智<sup>1)</sup>  
日本大学医学部病態病理学系 微生物学分野<sup>1)</sup>  
日本大学医学部耳鼻咽喉・頭頸部外科学系 歯科口腔外科学分野<sup>2)</sup>

歯周病は各種の全身疾患に影響を与え、妊娠合併症のリスク因子としても重要である。疫学的に歯周病に罹患している妊婦では、健常妊婦に比べ早産・低体重児出産や妊娠高血圧症候群のリスクが高いとの報告がある。妊娠高血圧症候群の要因の一つに trophoblast の不十分な浸潤による胎盤の血流不足が考えられる。我々は nicotine の存在下で歯周病原菌 *Porphyromonas gingivalis* (P.g) の LPS が妊娠の初期におこる trophoblast の浸潤を抑制することを報告した。(Placenta 2015) しかし、非喫煙者でも歯周病は妊娠合併症の

リスク因子となるため、今回我々は P. g の培養上清が trophoblast の浸潤能に与える影響を調べた。

HTR-8/SVneo (H8) の生存率に影響しない濃度で P. g 培養上清を加え invasion assay を行った。その結果、濃度依存性に H8 細胞の浸潤率の低下を認めた。また、懸垂培養した H8 の細胞形態を顕微鏡・電顕で検討した。その結果、同濃度において細胞の形態変化を認めた。P. g の培養上清によって、trophoblast の浸潤が低下することが示唆された。妊娠初期において歯周病菌は胎盤形成に影響をあたえ妊娠予後に関わることから、妊娠前から口腔衛生管理を行っておくことが重要であると考えられた。

0-4

### 分析電子顕微鏡によるペルオキシゾームのカタラーゼ-DAB 反応産物 関連窒素観察によるヒト肺胞上皮細胞の分化

盛口敬一、本田雅規  
愛知学院大学 歯学部 口腔解剖学講座

ヒト肺胞上皮 II 型細胞 (II 型) の肺胞上皮 I 型細胞 (I 型) への分化に関する組織化学的な証明は我々がすでに (Moriguchi et al., Exp. Mol. Pathol, 140, 262-270, 1984) にて報告している。すなわち II 型は特徴的な細胞小器官としてペルオキシゾーム (PZ) を有しており、PZ の標識酵素としてカタラーゼが証明されている。一方正常 I 型では PZ は存在しない。肺胞蛋白症では I 型が障害を受け脱落するが、II 型は障害を受けずに残り、正常な I 型を再生する。この際移行中の中間型の細胞では、PZ が指標となる。DAB 法における 1% $H_2O_2$  (pH7.4) にてカタラーゼ活性検出を行なった。今回、DAB 反応に伴う窒素に着目し、EDS を備えた分析電子顕微鏡にてマッピングと定性、定量を行なった。PZ は直径約  $0.2\mu m$  ほどの小器官であるが、今回の方法では観察も容易で II 型細胞から I 型細胞への分化を証明できる有効な方法であると思われる。

0-5

### 麹による水中硫化水素の削減の試み

安藤正史、伊藤尚弥、伊藤 智広、塚正泰之  
近畿大学農学部水産学科

【目的】養殖場の海底には食べ残しの餌や糞などが堆積し、貧酸素状態が作り出されている。この環境下では硫酸還元菌の作用により有害な硫化水素が発生し、さらに生物環境が悪化するという悪循環に落ち込んでいる。ところで、麹菌はタンパク系のゴミを味噌や醤油にかえるほどの代謝能力をもつ。そこで今回は、元素分析装置付き SEM (TM-3030, 日立) により硫化水素由来の S 元素量の変動をモニタリングしながら、麹による水中硫化水素の削減の可能性を検討した。

【方法】人為的に発生させた硫化水素を蒸留水へ導入し、硫化水素水を作成した。硫化水素水をバイアル瓶に入れ、さらに麹を投入し、密栓して室温・遮光の状態以最長 4 週間培養した。毎週固形物を除いた液体部分を取り出し、1%硝酸鉛を添加して  $S^{2+}$  を PbS として沈殿させた。沈殿に蒸留水を添加し混合後、遠心分離して過剰な硝酸鉛を除去後、PbS に一定量の蒸留水を加えて PbS の懸濁液を調製した。そこから  $2.5\mu L$  をとり、試料台に貼り

付けたカーボンシール上で乾固後、SEMの元素分析装置によりS元素の割合を面分析モードで測定した。

【結果】過剰な硝酸鉛が残ったままではS濃度を測定できなかったが、蒸留水により洗浄することで測定が可能となった。米麴を共存させると1週間で硫化水素が消失したが、米や炊飯米ではそのような効果が見られないことから、今回の硫化水素の除去は麴菌によるS元素の取り込み、あるいは吸着によって生じた現象であると思われる。

0-6

### ガラスボトムディッシュ培養細胞の電顕試料作製法 ～RCR sandwich Itoh method～

伊東 良子<sup>1)</sup>、伊東 丈夫<sup>2)</sup>、中村 直哉<sup>2)</sup>

東海大学伊勢原研究推進部生命科学統合支援センター<sup>1)</sup>、東海大学医学部基盤診療系病態診断学<sup>2)</sup>

近年、共焦点顕微鏡の装置および技術の発展に伴い、ガラスボトムディッシュを用いた観察が行われている。蛍光観察された細胞をそのまま固定、電顕試料作製をするにはガラスボトムディッシュのカバーガラスを樹脂から上手く剥がすことが困難であった。そこで、我々は簡便に電顕試料作製が可能である resin-cover glass-resin sandwich method (RCR sandwich method) (Itoh 法) を考案したので報告する。

免疫電顕試料作製等ではスライドガラスに樹脂を倒立包埋して重合後、アルコールランプやバーナー等の炎でガラスを炙って剥がすが、カバーガラスではテンションが弱いため温めても冷やしてもディッシュ底のカバーガラスが丸ごとプラスチックから外れるか、樹脂にガラスが付いたまま底が抜けるかであった。RCR sandwich method (Itoh 法) は樹脂でカバーガラスを挟んでテンションを上げ、加温重合、低温剥離で瞬間的に樹脂ブロックを作ることが出来るのでガラスボトムディッシュ培養細胞観察後の電顕観察が可能になるものとして推奨したい。

0-7

### TEMでは見えにくいですが、FE-SEMで良く見える構造物 —サツマイモネコブセンチュウによって誘導された巨大細胞内に形成される構造物—

宮下奈緒<sup>1)</sup>・栗原孝行<sup>2)</sup>・藪 哲男<sup>3)</sup>・古賀博則<sup>2)</sup>

中能登農林総合事務所<sup>1)</sup>・石川県立大学<sup>2)</sup>・石川県庁<sup>3)</sup>

サツマイモネコブセンチュウはサツマイモをはじめ多くの植物の根の内部に侵入し、根細胞の一部をネコブセンチュウに栄養を供給するための特殊な細胞へと改造する。この細胞は巨大細胞と呼ばれ、ネコブセンチュウにとって唯一の養分供給源である。この巨大細胞は多核で、ゴルジ体、液胞、プラスチド、小胞体、ミトコンドリアなどの多量のオルガネラを含む。これまでの知見はTEM観察で得られたものであるが、筆者らはさらに細胞内構造剖出法(オスミウム浸軟法)を用いたFE-SEM観察により、TEMでは見えにくい構造物を、FE-SEMで明瞭に見ることができたので報告する。

## 新企画（ポスター会場）

### 「子ども電子顕微鏡観察会」報告

宮澤 七郎、中村 澄夫、島田 達生、関 啓子

本年3月31日から4月2日までの3日間にわたり文京区教育センターにて開催した「春休み子ども電子顕微鏡観察会」について報告する。この観察会は本学会と文京区教育センターとの共催で行われた。

教育センターから区内の小・中学校に案内のチラシを配布したところ、数日のうちに応募者は100名超となった。各日の午前・午後20名ずつを振り分けたが、欠席や飛び入りもあり、実際の参加者は小1から中1までの101人であった。試料を持たずに来る子どもがいることを想定した用意もしておいたが、ほぼ全員が試料を持参した。

子どもたちが実際にSEMに触れて撮影した写真の一部をポスター会場に「こども電顕写真展」と銘打って展示する。

日本電子（株）および（株）日立ハイテクノロジーズから卓上SEMとイオンコーター、（株）ハイロックスからデジタルマイクロスコープのご協力を頂いた。

## 観察会の様子



我が家の電顕レシピ -あんな工夫、こんな工夫-  
第 32 回学術講演会実行委員会一同

電子顕微鏡分野において最終的な写真を見る機会があってもそこに到達するまでのプロセスを見る機会は少ないように感じます。これから電子顕微鏡を始めたいと考えている方の中には大変そうと思っている方もいるかもしれません。すでに電子顕微鏡を使われている方にとっても他の施設の方法を見る機会はそう多くはないと思います。

そこで今回、第 32 回学術講演会実行委員会では試料作製の現場で実際に行われているナマの方法を紹介したいと考えました。その中で各施設における様々な工夫点、また自施設の方法との相違点が出てくるかもしれません。試料作製法は成書を読めば学べるかもしれませんが実際行われている方法を知ることが大変有意義だと思います。これから始める方にとっては垣根が少し下がるかもしれません。

百聞は一見に如かずとまではいきませんが「我が家の電顕レシピ-あんな工夫、こんな工夫-」という気さくなタイトルが示すように、コーヒーブレイクの合間等に気軽に見て頂き、情報交換の場、学会後の業務・研究の一助になれば幸いです。

P-1

### イオン液体を用いた前処理方法によるプランクトンの SEM 観察

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を進めた。今回は、最適化のパラメータとして、イオン液体の種類や溶媒、基材を検討した。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と乳酸コリンを用いて、アルテミア・サリーナのプランクトン像観察を行った。また、溶媒についてはエタノールと純粋を、基材については導電性カーボンテープ、メンブレンフィルター、アルミ板を用いて実験を行い、以下の知見が得られた。

- 1) イオン液体の種類が違っていても SEM 像に大きな違いはみられないことが分かった。
- 2) 溶媒にエタノールを用いた場合、導電性カーボンテープとメンブレンフィルターの基材に対して、残留イオン液体を除去する必要性がほとんどないことが分かった。
- 3) 純水を用いた場合、基材にかかわらず、鮮明な SEM 像を得るためには残留イオン液体を除去する必要があることを確認した。

P-2

### イオン液体を用いたリポソームの TEM 観察

和山 真里奈<sup>1)</sup>、仲野 靖孝<sup>1)</sup>、許斐 麻美<sup>1)</sup>、河合 功治<sup>2)</sup>、中澤 英子<sup>1)</sup>  
株式会社 日立ハイテクノロジーズ<sup>1)</sup>、ミヨシ油脂株式会社<sup>2)</sup>

リポソームの TEM 観察には、ネガティブ染色法やクライオトランスファー法が用いられている。これらの手法に加えて、我々は、イオン液体を用いた試料支持法によるリポソームの TEM 観察を検討してきた[1]。今回は、この試料支持法を用いた 3D トモグラフィー解析への応用を試みた。中空リポソーム粉末(COATSOME EL SERIES, 日油株式会社製)に 5%イオン液体(日立電子顕微鏡用イオン液体 HILEM IL1000)を添加し攪拌した後、溶液をマイクログリッドに滴下し、日立 HT7700 形 TEM を用いて加速電圧 120 kV で連続傾斜像を取得した。傾斜像取得中、IL1000 および試料は安定しており、問題なく撮影できた。三次元再構成の結果、試料がほぼ球形を保持しており、試料の乾燥による形態変化を低減できていることが確認できた。以上より、イオン液体試料支持法は、リポソームの三次元構造解析に応用可能であることが示唆された。

[1] 中澤 他：日本顕微鏡学会第 64 回学術講演会要旨集，p136，2008

P-3

### イオン液体を用いた光誘起相転移を示す分子性磁性体の電子顕微鏡観測

糸井充穂<sup>1)</sup>, 地家豊治<sup>1)</sup>, 浜根大輔<sup>2)</sup>, 宇田川誠一<sup>1)</sup>, 津田哲哉<sup>3)</sup>, 桑畑進<sup>3)</sup>, Kamel Boukheddaden<sup>4)</sup>, Matthew J. Andrus<sup>5)</sup> and Daniel R Talham<sup>5)</sup>  
日本大学<sup>1)</sup>, 東京大学物性研究所<sup>2)</sup>, 大阪大学<sup>3)</sup>, ベルサイユ大学<sup>4)</sup>, フロリダ大学<sup>5)</sup>

Co と Fe 原子がシアノ基 (CN) を介して交互に配列し NaCl 構造をとる CoFe プルシアンプル一類似体 (CoFe-PBA) は、光照射により Co-Fe 間の電荷移動を伴った磁気転移を起こす。この物質は光誘起磁気転移を起こすスイッチング磁石である他に蓄電池の正極活性物質、放射性 Cs の吸着など、単純な構造にもかかわらず多様な物性を示す為に、工業・産業分野においてポテンシャルの高い素材として注目を浴びている。我々はイオン液体を用いた低温透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察により、CoFe-PBA の相転移中の原子配置を安定に直接観測し、画像解析によって結晶内の高スピンドメインの分布や構造に伴う歪みを可視化することに成功した。この成果は、酸化物や金属化合物に比べて柔らかく、電子線に弱い金属錯体においてもイオン液体を用いる事で TEM 観測が出来き、また画像解析により「相転移」を原子配列の観測から直接的に理解出来る可能性を開いたと言える。当日は本研究の詳細を発表する。

P-4

### イオン液体処理が固定培養細胞の内部構造に与える影響

石垣靖人、中村有香、辰野貴則、竹原照明  
金沢医科大学・総合医学研究所

SEM のコーティング剤として有効なイオン液体は、様々なサンプルでの有用性が認められてきた。われわれの研究グループでも培養細胞の微細な表面構造の観察に有効であることを報告してきたが、イオン液体処理が固定した細胞の内部の構造等に影響するかどうかは未だに明らかにされていない。この点を明らかにするために、細胞の蛍光免疫染色や蛍光タンパク質を発現させた培養細胞で像を観察することにより内部への影響を検討してみた。純水で希釈したイオン液体を、SEM サンプル作製時と同様に処理していくと、蛍光像の変化が観察された。この変化は用いたイオン液体によって異なり、蛍光の種類によっても結果は異なっていた。また TEM 像についても膜構造が不明瞭になり変化が認められた。以上の結果から、イオン液体処理は、細胞表面だけでなく内部に浸透し、構造に影響を与えることが示された。

P-5

### ガラスナイフ検査用照明装置の試作

尾関教生  
元愛知医科大学教学監

電顕用超薄切片の作製にはダイヤモンドナイフが適しているが、ガラスナイフを使用している施設も少なくない。このガラスナイフは製作時の条件の差によって性能が左右され

るが、ナイフのチェックを行うことは容易ではない。

以前に使用されていたLKB-4800型ウルトラマイクロトームには、ナイフチェック用の照明系が装備されていたが、現在のウルトラマイクロトームはダイヤモンドナイフ用に製造されているため、ガラスナイフのチェックは考慮されていない。

このためにLKB-4800型の照明系を再現してみたところナイフ先端の凹凸を容易に検査することができたので実物を供覧して報告する。

P-6

### 汎用デジタルカメラの顕微鏡アダプターの試作

海野 和俊

帝京大学医学部附属溝口病院電子顕微鏡室

近年、スマートフォンの進歩とともに、汎用のデジタルカメラもその精度が上がり、デジタル写真がとても身近な存在になっている。電子顕微鏡写真もデジタル化が進み、部屋全体がデジタル化していく傾向にある。その中で、電子顕微鏡室としてなかなか更新困難な光学顕微鏡や実体顕微鏡のデジタル写真を撮る目的で、汎用のデジタルカメラの顕微鏡アダプターをホームセンターで購入可能な物で試作してみたので、その作製方法も含めて報告する。

P-7

### ルテニウムレッドによる植物病原糸状菌の細胞外物質の染色効果

池田健一、上野紳悟、朴杓允

神戸大学大学院農学研究科細胞機能構造学研究室

植物病原菌が宿主へ感染するためには、宿主への接着を維持することが重要である。宿主接着に関わる物質を細胞外物質 (Extracellular matrix: ECM) と呼び、その分泌・局在様式に興味を持たれる。今回、ECM 領域を特異的に染色可能な試薬の選抜を試みた。ECM は糖タンパク質で構成されていることが知られていることより、多糖染色に用いられている試薬を供試した。光学顕微鏡レベルで染色効果があり、金属元素を含むであるルテニウムレッドは透過型電子顕微鏡観察においても ECM の領域特異的にコントラストを高める効果があることが明らかとなった。この方法により、病原菌は ECM を分泌し、植物表面のワックス層における凹凸を充填させるようにして体制を維持し、接着をより強固なものにして宿主侵入を成功させていることが明らかとなった。

P-8

### EOSIN 蛍光 3D 血管造影からの電子顕微鏡組織観察の試み

首藤 政親

愛媛大学 学術支援センター 病態機能解析部門

血管内腔蛍光 3D からマウスの脳の形態を取得することにより、観察すべき血管損傷部

位を特定し、該当部位の微細形態変化を透過型電子顕微鏡で捉える試みである。具体的には、まず PFA+GA in PB で還流固定し、EOSIN 蛍光+蛍光ビーズ in ゼラチン溶液を血管還流させ、マイクロスライサーにて当該組織の 50 $\mu$ m 厚切片を作成し、レーザー顕微鏡にて海馬の 3D 画像を取得後、トリミング部位を特定、電子顕微鏡試料作製という流れになる。EOSIN 蛍光+蛍光ビーズは微小血管まで行き渡り、おおむね良好な結果が得られている。なお、報告は、一部組織損傷等、今後の課題も含めたものとなる。

P-9

### 過熟白内障前囊の電顕的観察

尾関教生<sup>1)</sup>、市川慶<sup>2)</sup>

1) 元愛知医科大学教学監 2) 岐阜赤十字病院眼科

演者らは 2015 年度の本会において、白内障手術に際してフェムト秒レーザー切開した場合に水晶体包上皮の脱落および切開線にミシン目状の凹凸が残るといった報告を行った。

今回、我々は過熟白内障の水晶体包前囊の手術材料を得たので、過熟白内障の水晶体包の脆弱化の原因を追究する目的で本研究を行った。

今回の過熟白内障の前囊の SEM 観察ではレーザー照射による水晶体上皮細胞の脱落部位に畝状の構造を認め、同一部位を TEM 観察することでコラーゲンが疎となっていることを確認した。

過熟白内障は水晶体包が脆弱化しており破裂の危険が存在するが、この原因がコラーゲンの不規則化によることが示唆された。

P-10

### 関節軟骨の膠原線維の簡便な観察法

尾関教生<sup>1)</sup>、尾関創<sup>2)</sup>、土屋淳弘<sup>2)</sup>、横山隆<sup>2)</sup>

1) 元愛知医科大学教学監 2) 愛知学院大学歯学部冠・橋補綴学講座

我々は老化促進モデルマウス P8 (SAMP8) を用いて飼料性状による咀嚼刺激の違いが老化に与える影響を検討している。その際に咀嚼刺激の制限で顎関節の成長が抑制されることを報告してきた。そこで顎関節の形態を変化させる要因の一つである顎関節関節頭の膠原線維の構築について検討した。従来はプロテアーゼを長時間作用させて軟骨基質を除去してきたが、今回は長期間ホルマリンに保存されていた試料に超音波洗浄による線維露出を試みて良好な結果を得たので報告する。

P-11

### 大腿骨頭靭帯の走査電子顕微鏡観察

加来信広<sup>1)</sup>、川里浩明<sup>2)</sup>、安部香織<sup>3)</sup>、安田愛子<sup>2)</sup>、津村 弘<sup>1)</sup>、島田達生<sup>3)</sup>

大分大学医学部整形外科<sup>1)</sup>、大分大学研究推進機構<sup>2)</sup>、大分医学技術専門学校<sup>3)</sup>

ヒトの大腿骨頭靭帯は、股関節において大腿骨頭と寛骨臼を結ぶ関節内靭帯であり、股

関節における重要な補助装置です。股関節は、球関節に属し、可動域が大であるが、二足歩行を取るヒトでは股関節にかなり強い重力がかかる。よって、股関節には、臨床的に加齢に伴う変形性股関節症、循環障害からくる大腿骨頭壊死、スポーツ障害による痛みなどがある。

大腿骨頭靭帯は、組織学的に膠原線維が平行配列をとる平行蜜結合組織に属するが、走査電子顕微鏡を使った詳細な形態・配列はいまだ不明である。さらに、靭帯が大腿骨頭に付着する領域の形態は全く未知である。このことは、試料の採取と試料作製が難しいことによる。

本研究は、材料として本人および家族の許可を得た変形性股関節症や大腿骨頭壊死で人工股関節置換術手術した大腿骨頭を使用した。出来るだけ早く karnovsky の固定液に入れた。大腿骨頭靭帯が付着して状態で、ダイヤモンドモンドバンドソーを使って靭帯を縦断する状態で切断した。一つを光学顕微鏡用に、他を走査電子顕微鏡用とした。両者とも EDTA 溶液に浸漬し、脱灰をおこなった。

P-12

### もどし電顕法を用いた肺生検検体におけるサイトケラチンの局在と肺癌の悪性度

中西陽子<sup>1)</sup>、地家豊治<sup>2)</sup>、楠美嘉晃<sup>1)</sup>、唐小燕<sup>1)</sup>、清水哲男<sup>3)</sup>、辻野一郎<sup>3)</sup>、高橋典明<sup>3)</sup>、橋本修<sup>3)</sup>、増田しのぶ<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本大学医学部病態病理学系腫瘍病理学分野、<sup>2)</sup> 日本大学医学部総合医学研究所医学研究支援部門、<sup>3)</sup> 日本大学医学部内科学系呼吸器内科学分野

細胞骨格の中間径フィラメント蛋白質として知られるサイトケラチン(CK)にはサブタイプがあり、これまで、CK サブタイプの蛋白発現ならびに mRNA 発現は非小細胞肺癌の組織型に特異的であり、患者予後に関与する可能性を報告してきた。今回、CK18 発現と肺腺癌の悪性度の関係について形態学的に検討する目的で、免疫染色を施行した肺癌患者の生検組織切片を用いて、もどし電顕法により CK18 蛋白質の局在を調査した。この結果、CK18 高発現の予後不良例では癌細胞の全周性に CK18 が局在していたが、CK18 低発現例では基底部分での局在が示された。以上より、CK18 は癌細胞の基底細胞との接着に関与しているが、高悪性例では細胞極性の異常があり、癌細胞間の接着に CK18 が関与している可能性が示唆された。

P-13

### マウス皮下コラーゲン線維の透過型電子顕微鏡観察における Oolong Tea Extract (OTE) 染色の有用性

石川友美<sup>1)3)</sup>、地家豊治<sup>2)</sup>、北野尚孝<sup>1)3)</sup>、真宮淳<sup>3)</sup>、藤原祐輔<sup>1)3)</sup>、山本恵理<sup>1)3)</sup>、日臺智明<sup>1)</sup>、國分眞一朗<sup>1)</sup>

1) 日本大学医学部生理学分野

2) 日本大学医学部電子顕微鏡室

3) 日本大学医学部付属板橋病院歯科口腔外科分野

我々は凝固第Ⅸ因子の EGF ドメイン (EGF-F9) による生体への影響について研究をすすめている。創傷を与えたマウス皮下に EGF-F9 を投与するとコラーゲン線維が減少することを

コラーゲン・ステインキットによる染色法で発見した。さらに、コラーゲン線維の走行や太さなど形態的变化を確認するために透過型電子顕微鏡での観察を試みた。従来から透過型電子顕微鏡試料作製に用いられてきたウラン-鉛染色法でマウス皮下のコラーゲン線維を染色したところ、コラーゲン線維の縞模様を確認することはできたが、線維の境界が不鮮明であり、太さを測定することはできなかった。そこで、結合組織線維に対する媒染剤である OTE を持いた Oolong Tea Extract (OTE) 染色に注目した。OTE 染色を行い観察することで通常の電子染色では不明瞭であった標本の観察が可能となった。また OTE の染色時間として結合組織の染色は片面染色で 15~20 分、コントラストを高めたい時には 30~40 分とされているが染色効果を期待し両面染色(浸漬)で 60 分と染色時間を調整することでコラーゲン線維の染色性が向上した。しかし、コラーゲン線維の縞模様は OTE 染色では確認できなかった。この結果は OTE 染色時間を短くしても変わらなかった。これらの結果から、マウス皮下コラーゲン線維の直径を測定する場合には OTE 染色が有用であるが、縞模様の確認にはウラン-鉛染色が適していると考えられた。

P-14

### 導電性コーティング剤 BEL-1 を使用した免疫 SEM 法への応用

佐々木千鶴子<sup>1)</sup>、夏木靖典<sup>1)</sup>、四戸 歩<sup>1)</sup>、高木正之<sup>1)</sup>、大沼繁子<sup>2)</sup>、鈴木英紀<sup>3)</sup>  
聖マリアンナ医科大学 大学院電子顕微鏡研究施設<sup>1)</sup>、同・病理学教室<sup>2)</sup>、  
日本医科大学 研究部 共同研究施設 形態解析研究室<sup>3)</sup>

導電性コーティング剤 BEL-1 は、従来の走査電顕(SEM)試料作製と比較して脱水から蒸着までの作業が省略でき、極めて短時間の簡略化が可能で、高倍率観察にも適していることを昨年度の本学会で発表した。今回、ヒト血球を材料にして、赤血球の膜貫通蛋白 glycohorin A (gA) と好中球表面の糖鎖構造シアリル Lewis<sup>x</sup> (SL<sup>x</sup>) の分布を検出するために、それぞれに対する一次抗体、コロイド金(15 nm)標識二次抗体で免疫反応後、BEL-1 で試料を作製、電界放出形 SEM で観察した。比較的滑らかな赤血球表面では gA の存在を示すコロイド金粒子が、ほぼ均等に分布した。好中球表面では、SL<sup>x</sup> のコロイド金粒子が細胞本体および偽足上にも分布した。これらの結果は通常法による免疫 SEM 法のものと同色であった。

P-15

### 質量顕微鏡法を用いた超微形態レベルでの脂質解析における酢酸ウランの有用性

武井史郎、中嶋裕子、山崎文義、正木紀隆、杉山栄二、松下祥子、瀬藤光利  
浜松医科大学細胞分子解剖学講座

質量顕微鏡法は生体内の多様な分子種に対する網羅的なイメージングを可能とする。特に飛行時間型二次イオン質量分析(TOF-SIMS)法は100 nmという高解像度での質量顕微鏡解析が可能であり、我々はこれまでTOF-SIMS法を用いて、生体内脂質を構成する脂肪酸基の検出に成功している(Masaki N et al., 2015)。一方で、質量顕微鏡法において、超微形態を保持した上での脂質分子の可視化に成功した報告例はまだ無い。本研究は質量顕微鏡法による超微形態レベルでの脂質解析を目標とし、形態保持と検出感度を両立しうる固定法の検討を行った。

本研究はレーザー脱離イオン化法 (LDI) 解析による比較検討を行った。まずは固定液を選択するため、生体内に存在する代表的な脂質分子種 30 種類の標準試薬を用いた検討を行った。その結果、1%酢酸ウラン液 (UA 液) が飽和および不飽和脂肪酸を含めた脂肪酸基の検出に有用であり、特にリン脂質に対する固定と LDI による脂肪酸基の検出に最も有用であった。次に UA 液を用い、COS7 細胞を用いた固定と LDI 解析を行った。その結果、UA 液により固定された細胞から複数の脂肪酸基が検出されたほか、UA 液に 2.5%グルタルアルデヒドを添加した液においても検出感度が維持された。以上から、酢酸ウランを用いた固定は超微形態の保持、および質量顕微鏡法による脂肪酸基に検出に有効な脂質固定法であると考えられ、本固定法と TOF-SIMS 法の組み合わせは超微形態レベルでの脂質解析を可能とすることが推察された。

P-16

### 高分子ナノ粒子製剤を投与した表皮ブドウ球菌形成バイオフィルムの電顕形態観察における包埋樹脂の影響

盛口敬一<sup>1)</sup>、高橋知里<sup>2)</sup>、山本浩充<sup>2)</sup>、本田雅規<sup>1)</sup>  
愛知学院大学<sup>1)</sup>歯学部 口腔解剖学講座、<sup>2)</sup>薬学部 製剤学講座

表皮ブドウ球菌によるバイオフィルム (BF) に対する高分子ナノ粒子製剤の効果を形態観察する上で、包埋樹脂がどのような影響を及ぼすかを電顕的に明らかにすることを目的とした。表皮ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) を用いて、バイオフィルムを形成させた。高分子ナノ粒子は高分子基剤としてポリ乳酸・グリコール酸共重合体 (PLGA) を用い、エマルション溶媒拡散法により作製した。次に BF に高分子ナノ粒子を投与した。形態観察のため 2%GA (カコジル酸緩衝液, GB) にて 2 時間の前固定と 1% OsO<sub>4</sub> 後固定 (GB) を 1 時間行なった。包埋試料としては Quetol-653 (653) あるいは LR White 樹脂 (LRW) にそれぞれ包埋した。超薄切片は二重染色を施し、透過電顕で観察した。その結果、653 に比べ LRW 樹脂では抗菌作用に伴う菌体細胞構造変化や、ネガティブ染色での報告がある細胞表面の突起 (long fiber-like structures) も観察された。

P-17

### バイオフィルム感染症治療に効果的な高分子ナノ粒子ドラッグデリバリーシステム製剤設計のための新規電子顕微鏡評価法の確立

高橋知里<sup>1)</sup>、小川法子<sup>1)</sup>、盛口敬一<sup>1)</sup>、浅香透<sup>3)</sup>、種村眞幸<sup>4)</sup>、武藤俊介<sup>5)</sup>、川嶋嘉明<sup>1)</sup>、山本浩充<sup>1)</sup>

1 愛知学院大学 薬学部 製剤学講座、2 愛知学院大学 歯学部 口腔解剖学講座、3 名古屋工業大学 環境材料工学科、4 名古屋工業大学 機械工学科、5 名古屋大学 エコトピア科学研究所 グリーンマテリアル部門

医療現場では、バイオフィルム感染症に対する有効な治療法の確立が期待されている。これを受け、我々は高分子ナノ粒子キャリアを用いたドラッグデリバリーシステムを設計することで、効率の良い患部への薬物送達法の構築を試みている。より有効なナノ粒子製剤を設計するためには、患部でのナノ粒子製剤の挙動をナノスケールで把握することが必要である。そこで、本実験では、透過型電子顕微鏡とカソードルミネッセンス (CL) を組み合わせた新たな観察手法の確立を試みた。観察試料の前処理には、これまでに演者らが確

立したイオン液体を用いた手法により行った。高分子ナノ粒子由来の蛍光体の CL 像を捉えることで、作製したナノ粒子製剤のバイオフィilm除去能及び菌に対する局所的な抗菌作用を捉えることができた。当日は、他の電子顕微鏡観察結果と合わせて報告する。

P-18

### TEMで広域の微細形態情報を網羅する — シダ植物大葉類の根端分裂組織の原形質連絡ネットワーク —

盛一伸子<sup>1)</sup>、永田典子<sup>2)</sup>、今市涼子<sup>2)</sup>  
日本女子大学電子顕微鏡施設<sup>1)</sup>、日本女子大学理学部物質生物科学科<sup>2)</sup>

植物の茎や根の先端に存在する頂端分裂組織は、植物群によって異なる構造を示し、茎や根の進化を明らかにする上で鍵をにぎる形質である。頂端分裂組織の構造の違いは、構成細胞の細胞壁に形成される原形質連絡 (PD) ネットワークと関連している可能性が高い。PDは細胞間を連絡する通路で、イオンなどの小分子だけでなく mRNA やタンパク質などが拡散によって移動する。我々は各植物群から代表的な植物体を材料として、根端分裂組織の正中縦断面の全体を網羅する TEM データから PD 密度を算出し、PD ネットワークを明らかにした。TEM は、超微細構造を観察する上で最も優れた装置であるが、拡大率が非常に高いため観察領域が極めて狭い。広範囲で高倍率データが必要な場合は、その領域を含む枚数撮影した写真をパノラマ合成する必要がある。試料が大きい場合には TEM 写真の枚数は大量になるため、全領域の完全な TEM 像を得るのは技術的にも難しい。本研究では、TEM 撮影により 0.3×0.3mm 以上の大きさをもつイワヒメワラビ (シダ植物大葉類) の根端分裂組織の PD ネットワークを明らかにした。また、新たに開発した「広域 TEM 像自動取得システム」を用いてイワヒメワラビ根端の広域高解像度撮影を行った。本法は、広域にわたって TEM 撮影を自動的に行い、それら膨大な枚数の TEM 写真を高解像度で保持したまま自動で合成して一枚にするものである。

P-19

### 街上毒 (野生株) 狂犬病ウイルスと固定毒 (実験室株) 狂犬病ウイルスの細胞内局在

嶋田一美<sup>1)</sup>、宇野鉄也<sup>1)</sup>、佐藤由子<sup>2)</sup>、片岡紀代<sup>2)</sup>、鈴木良夫<sup>1)</sup>、飛梅実<sup>2)</sup>  
地方独立行政法人総合病院国保旭中央病院臨床病理科<sup>1)</sup> 感染症研究所感染病理<sup>2)</sup>

狂犬病は、55000 人以上の年間死亡者が報告される人獣共通感染症である。ワクチンは存在するが、発症後の死亡率はほぼ 100%に達する。街上毒狂犬病ウイルス感染の病態は他のウイルス感染と比べ特異な経過を有する。体内へのウイルス侵入後、ヒトでは数週から数ヶ月の潜伏期を有し、脳内でのウイルス増殖により狂犬病を発症する。街上毒狂犬病ウイルス感染の多くでは、潜伏期から発症に至るまでウイルスに対する生体反応である抗体の産生は認められない。一方、実験室株である固定毒狂犬病ウイルスの哺乳類への感染実験では早期から接種ウイルスに対する抗体産生が認められる。このように、街上毒と固定毒狂犬病ウイルスの感染病態には相違点が存在するが、両者のウイルスの比較検討は少ない。本実験では、街上毒、固定毒狂犬病ウイルスを用いて、感染細胞における両ウイルスの相違点について電子顕微鏡的検討を行った。

### 水凍結乾燥法によるシアノバクテリアの SEM 試料作製

桑田正彦<sup>1)</sup>, 田中和明<sup>1)</sup>, 鈴木武雄<sup>1)</sup>, 戸田龍樹<sup>2)</sup>, 名取則明<sup>2)</sup>

1) サン・テクノロジーズ, 2) 創価大

水凍結乾燥法は少量の水の中に試料を入れて水と共に試料を凍結後真空乾燥する。試料を含んだ水の表面に-100°Cの銅ブロックを接触すると、まず試料周囲の水が先に凍結して試料を氷で物理的に固定する。次いで試料中の水分が凍結するとき、水の相変化によって体積が増加しようとするが周囲を固定されているため圧力が上昇し、圧力上昇に伴う水の粘度上昇によって氷晶成長が抑制される。原理的には水のみを使用し薬品類を使用しないので、薬品によるダメージなく試料を真空乾燥することができる。オシラトリアは水洗して水凍結乾燥すると収縮なく試料作製が可能であるが、2.5%グルタルアルデヒド (pH 7.1) 1時間浸漬で顕著な損傷がみられた。津久井湖や多摩川中流域で採取したシアノバクテリア類を水凍結乾燥した結果について報告する。

### 両生類における歯胚発生の電顕的観察

三輪容子、佐藤 巖

日本歯科大学 生命歯学部 解剖学第1講座

両生類は甲状腺ホルモン/レセプター (TH/THR) の制御下で変態を経て成体へ成長する。イモリ、サンショウウオ、カエルなど両生類は幼生から成体への変態期にはオタマジャクシから陸生への変化が起こり、手足の発生、鰓の消失、肺の出現がみられる他、食性の変化に伴う腸や顎顔面の構造変化も観察される。歯牙の変化については、両生類は無尾両生類 (カエルなど) では幼生期は角質歯であり変態後は上皮性エナメル質と象牙質を持つ円錐または双頭歯となる。有尾両生類 (イモリとサンショウウオ) では幼生期から継続して上皮性エナメル質と象牙質を有している。本研究では両生類歯胚の発生過程を走査電子顕微鏡像で観察し、歯牙の形態が幼生と生体で変化している事を明らかにした。また両生類の歯は上皮と間葉由来である歯胚から形成され歯足骨を介して骨と固定される。爬虫類ではセメント質が歯根膜の介在下で骨と槽生性に結合しており、歯根により骨に釘植して存在する哺乳類の歯牙との違いを形態的に明らかにした。さらに歯胚の形成期における象牙芽細胞、エナメル芽細胞について TH R、V E G F、F G F などの歯胚形成に関連する因子についても免疫組織学的に発現を検討した。変態期や歯胚形成時の顎顔面や顎骨の形態変化と歯胚形成因子との関係を報告する。

## 第 32 回学術講演会 実行委員会事務局

〒173-8610 東京都板橋区大谷口上町 30-1  
日本大学医学部病態病理学系人体病理学分野  
Tel : 03-3972-8111 (ext. 2256 「医局」)  
FAX : 03-3972-8163  
電子メールアドレス [32gakujutu@emtech.jp](mailto:32gakujutu@emtech.jp)

## 学会事務局

〒113-0034 東京都文京区湯島 2-31-25 太陽ビル4F  
Tel: 03-3815-4584 Fax: 03-3815-4626  
電子メールアドレス [office@emtech.jp](mailto:office@emtech.jp)  
<http://emtech.jp/>

## 実行委員会

会長 : 逸見明博 (日本大学病院病理)  
(日本大学医学部病態病理学系人体病理学分野)  
副会長 : 洲崎敏伸 (神戸大学大学院自然科学研究科)  
実行委員長 : 本間 琢 (日本大学医学部病態病理学系人体病理学分野)  
事務担当 : 家守玉美 (日本大学医学部病理学分野)

以下あいうえお順

石毛俊幸 (日本大学医学部病態病理学系人体病理学分野)  
佐々木千鶴子 (聖マリアンナ医科大学大学院電子顕微鏡研究施設)  
佐野 誠 (日本大学医学部病態病理学系人体病理学分野)  
地家豊治 (日本大学医学部総合医学研究所医学研究支援部門)  
鈴木正則 (虎の門病院病理部電子顕微鏡室)  
関 啓子 (東京慈恵会医科大学基盤研究施設・分子細胞生物学)  
田村友樹 (東京医科歯科大学医学部附属病院病理部)  
中澤英子 ((株)日立ハイテクノロジーズ 科学・医用システム事業統括本部)  
広瀬治子 (帝人(株)構造解析センター)

主 催 : 医学生物学電子顕微鏡技術学会

助 成 : 日本大学医学部同窓会

第 32 回学術講演会を開催するにあたり、日本大学医学部同窓会より多大なるご支援と補助金を賜りました。ここに厚く御礼申し上げます。

# 第29回 電子顕微鏡技術研修会 夏の学校 in いわて

## 『電子顕微鏡技術の温故知新』

— 可視化技術のノウハウ、イメージングによる機能と形態観察法 —

会期：2016年7月21日（木）～7月23日（土）

会場：岩手医科大学 矢巾キャンパス

教育講演Ⅰ：「形態学者の後進育成；絶滅危惧種からの脱却」

岩手医科大学生命科学研究技術支援センター  
センター長 佐藤 洋一（医学教育学講座 教授）

教育講演Ⅱ：「電子顕微鏡を利用したノロウイルス研究」

国立感染症研究所 動物管理室 室長 花木 賢一

講習内容：透過電顕基礎コース（生物組織観察法）

透過電顕応用コース（1：蛍光抗体法、2：凍結超薄切・免疫電顕法）

走査電顕基礎コース（自由表面観察法）

走査電顕応用コース（反射電子による切片観察法）

参加費：会員 45,000円 非会員 55,000円 学生 40,000円

（テキスト代、懇親会費、宿泊代（2泊1夕食、2朝食）、昼食2食、保険料含む）

お問い合わせ [soc-29natu@iwate-med.ac.jp](mailto:soc-29natu@iwate-med.ac.jp)

学会ホームページ <http://www.emtech.jp/event/>

第29回 電子顕微鏡技術研修会 実行委員会事務局

岩手医科大学 矢巾キャンパス 生命科学研究技術支援センター

〒028-3694 岩手県紫波郡矢巾町西徳田2-1-1

TEL 019-651-5110（内線 5641） 実行委員長 石田 欣二



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

## 支援企業一覧（五十音順）

### 商業展示協力

エルミネット株式会社  
株式会社アド・サイエンス  
株式会社真空デバイス  
株式会社日立ハイテクノロジーズ  
日新 EM 株式会社  
日本電子株式会社

### 広告掲載協力

株式会社アド・サイエンス  
株式会社サンマグ  
株式会社真空デバイス  
株式会社日本ローパー ガタン事業本部  
株式会社日立ハイテクノロジーズ  
日本エフイー・アイ株式会社  
日新 EM 株式会社  
日本電子株式会社  
ロッシュ・ダイアグノスティックス株式会社

### 協賛協力

株式会社東屋医科機器  
株式会社シナノ製作所  
株式会社ピーシーエルジャパン  
日本電子株式会社  
有限会社ゼニス出版

第 32 回学術講演会を開催するにあたり、ご支援を賜りました。ここに厚く御礼申し上げますとともに、益々のご発展を心よりお祈り申し上げます。

第 32 回学術講演会 実行委員会一同