

STEMと電子線トモグラフィーの出会い The Marriage of STEM to Electron Tomography

青山一弘^a, 宮澤淳夫^{b, c}

Kazuhiro Aoyama and Atsuo Miyazawa

^a日本エフイー・アイ株式会社, ^b兵庫県立大学大学院生命理学研究科

^c独立行政法人理化学研究所放射光科学総合研究センター

キーワード: STEM: 走査透過型電子顕微鏡, ET: 電子線トモグラフィー, クライオ電子顕微鏡法, CEMOVIS: Cryo-Electron Microscopy Of Vitreous Sections, TOVIS: Tomography Of Vitreous Sections

顕微鏡法から得られる情報は、通常、試料の投影像または反射像などの二次元画像である。それを試料本来の姿である三次元構造に拡張しようという試みは以前より行われてきた。これは、観察者にとってごく自然な思いであり、一度でも検鏡した経験を持つ者なら誰もが強く望むに違いない。その結果、電子顕微鏡法ではステレオ撮影を経て、電子線トモグラフィー (ET) 計測技術の開発につながり、試料の三次元観察に関して、歴史的にも正常な進化を遂げてきた。

今日、透過型電子顕微鏡 (TEM) において、ET による三次元構造解析が注目され、材料系、生物系などの各分野で広く応用され始めている。特に生物試料の観察については、急速凍結した試料を低温ホルダーや低温ステージを搭載した TEM で観察する CEMOVIS が発展し、これに ET 技術を導入した TOVIS に至って、以前の化学固定・脱水処理した試料の微細構造を塗り替え、生きていた時に近い状態にある姿をもたらした。

本特集は、取束した電子線によるスキャン機能を搭載した走査透過型電子顕微鏡 (STEM) を用いた ET 計測 (STEM-ET) の、生物試料への応用にフォーカスした。STEM-ET は、既に結晶材料などの観察に用いられている。しかし、生物分野への応用はほとんど試みられていないことから、本特集は生物分野への新しい手法の紹介という意味を持つ。

この新しい手法は、実に様々な可能性を持った観察法であると期待している。実際に、そのいくつかの可能性は既にデータとして実証された科学的な事実となり、本特集で紹介されている。以下に STEM-ET の 5 つの現実的な可能性/科学的な事実について列挙する。(1) 厚い試料を観察できる。(2) 電子線損傷が軽減できる。(3) 分解能が上がる。(4) 被写界深さが深い。(5) クライオ技法と融合できる。

(1) から (4) について、本特集の各稿で詳しく議論されているが、特に (1) に関しては、今まで超高压電子顕微鏡でしか扱えなかった極めて厚い試料の観察が、操作性に優れた汎用電子顕微鏡程度の装置で取得可能である (コストが安く、through put も格段に上がる)。さらに電子線による試料損傷が軽減でき、分解能も上がるなど、まさに良いこと尽くめである。おそらく多くの読者にとっては、にわかに信じがたいであろうと思われるほどの優位性を持っている。(5) のクライオ STEM-ET については残念ながら今回の特集に含むことが許されなかったが、試料の厚さに対する絶対的な強み

を生かして、無染色の細胞レベルの ET が可能であるというデータがあり、さらにクライオ高分解能三次元構造解析についても、もしかすると非常に強力なツールになる可能性を秘めている。なぜならば、STEM は試料損傷の軽減に関して、TEM に対して決定的に有利な点を持つと思われるからである。TEM と ADF (環状暗視野)-STEM では、試料損傷、コントラストのメカニズムなどの原理が根本的に異なるので、これについては今後、注意深く検討していく必要がある。

それでは、これほどすばらしい手法が、なぜ今まで注目されなかったのであろうか。それは STEM の結像法が生物学者にとって全く馴染みのない理論だったからに他ならない。実は STEM が出始めた 1970 年代の一時期、生物試料への応用が検討された時期もあった。しかし、残念ながらこの時代の STEM 像は、TEM 像と比較しうるほどの像質を持っていなかった。その上、結像原理のまったく異なる TEM と STEM では、当然のように装置のアライメントをする方法も全く異なり、当時の電子顕微鏡では TEM-STEM 間の切り替えに多大な労力と時間を要した。そのため、像と共にそれに付随する分析などの利便性を生かせる材料系の研究にはまだしも、生物系の研究への応用は進まないままになっていたのではなかろうか? しかし、電子顕微鏡の装置としての発達と共に、STEM の像質は大きく改善され、今や TEM 像に全く遜色ない像を撮れるようになった。そこには装置的に大きな飛躍が 2 つある。1 つは電界放射型電子銃の開発、もう 1 つは最近の取差補正装置の実現である。これらは当然 TEM 像の像質も向上させるが、STEM 像に対する恩恵はさらに大きいものがある。さらに STEM 装置の操作性も大きく改善され、近年のデジタル制御化された電子顕微鏡では瞬時に TEM-STEM を切り替えることが可能となった。ET 自体も装置のデジタル制御化の恩恵を大きく受けているが、STEM-ET となればなおさらで、これこそ高度なデジタル制御技術の支援によって始めて実用可能となった。つまり、ここに挙げた STEM-ET の多くの利点は、数々の装置の発達によってもたらされた甘美なフルーツであり、伝統的な技術に対して大きな優位性を持つこと自体、決して驚くべきことではない。

装置の発展によってもたらされた新技術であるならば、これを生かさず手はない。また、新しい手法であるなら今まで全く考えられていなかった新しい使い方も開拓されるであろう。今後、大きく展開していくことが十分に期待できる。