

連続スライス SEM による医学・生物学研究の最前線

Frontiers of Serial Slice SEM in Biomedical Research

村田 和 義

Kazuyoshi Murata

自然科学研究機構生理学研究所

キーワード：走査型電子顕微鏡，集束イオンビーム，ウルトラマイクローム，立体再構築，連続切片

本特集では、最近利用が急増している連続スライス SEM について、その医学・生物学への応用の現状を紹介する。

医学・生物学分野における電子顕微鏡の応用、いわゆる“生物電顕”では、光学顕微鏡よりも高いナノスケールの分解能で、細胞や組織、生体分子の構造を可視化することが求められる。しかし、通常（加速電圧 100 kV 程度）の透過型電子顕微鏡（TEM）では、試料の厚さが 100 nm よりも薄くないと電子線が十分に透過しないこと、また、従来の走査型電子顕微鏡（SEM）では、表面の凹凸構造しか観察できないことなどが大きな制約であった。

本特集で紹介する連続スライス SEM は、このような開発当初から存在する生物電顕への根源的な要求に答える画期的な技術であり、数年前から市販の装置が利用できるようになったのを切っ掛けに注目を集めるようになった。これらの主な特徴は、SEM を使って樹脂包埋試料の連続断面を観察するところであり、これまで主に行われてきた TEM による連続超薄切片の観察に比べて、作業が格段に優しいところにある。

本特集では、まず連続スライス SEM を代表する 3 つの手法 FIB/SEM、SBF/SEM、Array tomography について紹介し、最後に Array tomography を自動化する革新的な技術である ATUM について解説する。

はじめに紹介する FIB/SEM は、集束イオンビーム FIB（Focused Ion Beam）と SEM を組み合わせた装置である。それ自体は以前から存在した技術であるが、精密なコンピュータ制御により、試料の目的の場所を薄く削り取りながら連続的に表面構造を記録し、これを立体再構築することができるようになった。この FIB/SEM について、国内でいち早く導入し、医学・生物学への多くの応用を手がけている久留米大の太田啓介先生に装置の特徴と実施の応用例について解説をお願いした。

次に紹介する SBF/SEM は、連続ブロック表面（Serial block-face）SEM の略称で、試料の切削にダイヤモンドナイフを用いる点が FIB/SEM と異なる。SBF/SEM では、試料ブロックの全面を削り取って記録するため、脳の神経回路の解析や多くの試料を統計的に調べる場合などに有効である。これを装

置の開発初期より海外で利用され、現在も国内で精力的に研究を進めている山梨大学の 大野伸彦先生に解説して頂く。

続いて紹介する Array tomography は、前述の二つの手法とは異なり、試料連続スライスをそのまま保存することができる。そのため、一度撮影した場所を再度別の条件で撮り直したり、蛍光顕微鏡などと組み合わせることで多角的に解析を進めることができる。これについては、独自に Array tomography 法を立ち上げ、この分野を開拓して来られた新潟大学の 甲賀大輔先生に紹介して頂く。

そして、最後に、前述の Array tomography を自動化する試みとして、超薄連続切片自動回収装置 ATUM（Automated Tape-collecting Ultra-Microtome）を紹介する。超薄連続切片の取得は現在でも熟練を要する作業である。これをできるだけ自動化することで、より多くの連続切片を回収し、細胞とその周辺、さらには組織全体の三次元構造をナノメートルスケールで明らかにしようとするものである。これを開発者の Lichtman 博士のもとで学ばれ、現在国内でシステムを立ち上げている東京大学の 岩崎広英先生に解説して頂く。

連続スライス SEM は生物電顕の研究者に取って、大きなブレイクスルーである。連続スライス SEM とその応用技術は現在も急速に進化し続けており、最近では、光学顕微鏡との組み合わせ（CLEM：光顕・電顕関連観察法）¹⁾ や、凍結生物試料ブロックの連続スライス観察²⁾、マルチビームを使用した広範囲の画像取得³⁾ など、次々と新しい周辺技術が登場している。このように連続スライス SEM による観察技術がさらに発展を続けるには、より多くの研究者のこの分野への参入が欠かせない。本特集により、多くの研究者にこの新しい技術に興味を持ってもらい、さらに次世代の生物電顕として発展していくことを期待する。

文 献

- 1) Lucas, M.S. *et al.*: *Methods Cell Biol.*, 111, 325–356 (2012)
- 2) Schertel, A. *et al.*: *J. Struct. Biol.*, 184, 355–360 (2013)
- 3) Marx, V.: *Nature*, 503, 147–152 (2013)