

<第22回 九州電子顕微鏡技術研究会>

【日 時】平成21年9月12日(土曜日) 9:30~17:00

【場 所】九州大学 伊都キャンパス 西講義棟3階第4講義室

【参加費】500円 飲物付き

【プログラム】

(敬称略)

- 10:00-10:02 開会のあいさつ
- 10:02-10:50 特別講演「材料力学場設計による細胞機能制御：メカノバイオマテリアルの創製」
九州大学大学院先導物質化学研究所 木戸秋悟
- 10:50-11:30 特別講演「水素エネルギー技術の現状と電顕研究への期待」
九州大学水素利用技術研究センター 佐々木一成
- 11:30-11:50 一般演題1「血小板形態の経時的変化」 熊本保健科学大学 菊池亮 他
- 11:50-12:10 一般演題2「電子顕微鏡にふれて」 久留米大学医学部 都合亜紀暢
- 12:10-12:50 昼食 (食堂 MDL などをご利用ください)
- 12:50-13:20 超高压電子顕微鏡見学ツアー (希望者のみ)
- 13:20-13:30 移動・講演準備
- 13:30-13:50 一般演題3「レーザースペックル顕微鏡」 久留米工業高等専門学校 平川靖之
- 13:50-14:15 メーカー講演1「低加速で見た材料表面のSEM像観察」 イマテック・土谷康夫
- 14:15-14:40 メーカー講演2「凍結技法を用いた含水試料のSEM観察」 日立ハイテク・許斐麻美
- 14:40-15:05 メーカー講演3「ライカEM TIC020 トリプルイオンミリング装置のご紹介」 ライカマイクロシステムズ 阿倍義充
- 15:05-15:20 コーヒーブレイク
- 15:20-15:45 メーカー講演4「共焦点レーザー走査型顕微鏡 FLUOVIEW のご紹介」 オリパス・露木啓
- 15:45-16:10 メーカー講演5「ニコンの高速共焦点レーザー顕微鏡 A1 のご紹介」 ニコン・田村哲
- 16:10-16:35 メーカー講演6「ClairScope：大気圧走査電子顕微鏡のご紹介」 日本電子・西山英利
- 16:35-16:55 会計報告・世話人の退職に伴う功労賞授与式
- 16:55-17:00 閉会の挨拶 (高出明美)

<17:10> バスにて懇親会会場へ

第22回 九州電子顕微鏡技術研究会抄録

受付開始 (09:30) 開演挨拶 (10:00) 開会 (10:02) 閉会 (17:00)

<http://www.med.kyushu-u.ac.jp/nano/>

(10:00-10:02) 司会：佐々木正文

開会の挨拶

* 講演時間には質疑も含めます。

(10:02-10:50) 座長：金丸孝昭

特別講演1)：「材料力学場設計による細胞機能制御：メカノバイオマテリアルの創製」

演者：木戸秋 悟

所属：九州大学大学院 先導物質化学研究所 分子集積化学部門・生命分子化学分野 教授

要旨：細胞の形態・運動性・機能は、種々の静的ないし動的な細胞外力学環境（生体力学場）により重要な調節を受ける。骨格基材や人工細胞外マトリックスにおける材料力学場の微視的設計と、その結果誘導される細胞行動の間の関係を系統的に把握することは人工基材設計の重要な基礎の一つである。このような力学的要因による細胞機能応答の理解と制御は、細胞メカノバイオロジー研究として注目されている。我々は、細胞のメカノバイオロジー挙動をベクトル的に制御し得る材料-メカノバイオマテリアル-の開発を目指し、その第一の取り組みとして材料表面の弾性率分布の微細精密設計による、細胞挙動の系統的制御を試みている。本講演では、最近我々が明らかにしている、細胞の機械的走行性（メカノタクシス）の誘導材料の条件、および、そのいくつかの応用例について紹介する。

(10:50-11:30) 座長：渡辺美登里

特別講演2)：「水素エネルギー技術の現状と電顕研究への期待」

演者：佐々木 一成

所属：九州大学水素エネルギー国際研究センター長・教授

要旨：高効率で環境への負荷も少ない次世代のエネルギー技術として、燃料電池を中核とした水素エネルギー技術が期待されている。現在、自動車用、家庭用、携帯機器用をはじめ、実用化に向けた研究や多様な用途開発が進められている。家庭用燃料電池システムについては市販が始まり、燃料電池自動車の開発も2015年ごろの商用生産に向けた取り組みが進んでいる。本講演では、固体高分子形や固体酸化物形などの燃料電池の基本原理や開発の現状を述べた後、電池セルの電極触媒など、微細構造制御が材料設計上重要な役割を果たす材料群について、候補材料や代替材料、技術課題および将来展望などについて述べる。その議論の中で、電子顕微鏡研究に対する期待や今後説明・解決が望まれる材料研究課題について触れる。

(11 : 30-11:50) 座長 : 佐々木正文

一般演題 1) : 「血小板形態の経時的変化」

演 者 : ○菊池 亮¹⁾ , 横山 満²⁾

所 属 : 1) 熊本保健科学大学 , 2) 産業医科大学

要 旨 : <始めに> ヒト血小板の寿命は 10~14 日と短いため、細胞形態は時間の経過とともに大きく変化することが考えられる。そこで、血小板を輸血用血小板と同じ条件で保存 (室温) したものを、経時的に SEM および TEM で観察した。<方法> 正常ヒト静脈血液 9mL に Acid-Citrate-Dextrose Solution (ACD-sol.) 1mL を加えて混和した。次いで、800rpm, 10min. 遠心分離して上清を回収した。この多血小板血漿を PRP を輸血用バッグに入れて室温 (25℃) で保存した。保存してから 15 日間、血小板形態を SEM と TEM で観察した。<結果> 採血当日の血小板形態は、SEM では大部分は円盤状であったが、突起を有する血小板も観察された。TEM では細胞膜、ミトコンドリア、グリコーゲン顆粒、濃染顆粒、血小板特殊顆粒が明瞭に観察された。採取 4 日後では一部の細胞に破壊が見られ、膜構造のみ残った細胞も見られた。また、一見すると正常と思える細胞も、ミトコンドリアなどの変性が認められた。その後、日を追うごとに膜構造のみ残された壊れた細胞の数が多くなり、15 日経過したものでは全ての細胞において破壊が生じていた。<考察> 室温保存した血小板は、時間の経過に伴って変性が起こるが、保存条件を工夫すれば 5 日間程度まで細胞形態を良好に保つことが出来ると考える。今回、以前に行った 4℃保存の結果と合わせて報告する。

(11 : 50-12:10) 座長 : 平田和穂

一般演題 2) : 「電子顕微鏡にふれて」

演 者 : 都合亜記暢

所 属 : 久留米大学 医学部 電顕室顕微教室

要 旨 : 今年の 4 月 1 日より、久留米大学電子顕微鏡室に職を得て、日々新鮮な発見や、不慣れさゆえの困難と格闘しています。工学部出身者である私が、何故医学部の電子顕微鏡室で働いているのかと言うと、元々私が大学生時に所属していた研究室では、蛍光試薬の有機合成に取り組んでおり、その関係で九州大学と共同実験を行うため、派遣研究員として配属された事がきっかけでした。私が所属していた磯部研究室が作製していた蛍光試薬は Fluolid と言う、元来有機 EL の開発に使われていた物を応用した次世代の蛍光物質で、この蛍光試薬は退色する事が無い上、私達の行った追加実験によって、アルコールの脱水作用により、更に蛍光がシャープに検出される事が分かりました。この蛍光試薬の特性が、九州大学中央形態分析室の、蛍光顕微鏡と SEM の性質を組み合わせた次世代型 SEM「FL-SEM」開発者である金丸氏の目にとまり、共同実験を行うに至ったものです。

研究が進むにつれ、様々な顕微鏡に触れる機会があり、特に電子顕微鏡の奥深さにひかれ、電子顕微鏡関係の仕事に就きたいと思っていた所に、タイミング良く久留米大学電子顕微鏡職員の募集があり、受験した結果、見事採用となりました。そんな私ですが、この半年で身に付けた技術の中で最も感動し、実用的であると感じた物は電子線トモグラフィーです。ご存知の方も多いとは思いますが、この技術は TEM 像の角度を変えて写真を大量に撮り、画像を立体再構築し、3D 画像を得る手法です。従来の TEM 像では二次元的なデータしか取れませんでした。ところが電子線トモグラフィーを用いると、二次元的高分解能像だけではなく、スライス像などにした Z 軸方向の情報をもとめる事が出来ます。しかし私た

ちが問題視しているのが、同じ部位の写真を撮る事によっておこる樹脂の収縮です。このため、三次元解析技術でありながらこの手法には定量性が無いと言われていています。我々はその解決の為に、新しい包埋樹脂の検討や電子線量と樹脂収縮率の関係について再検討を行い、この定量性について問題をクリアできるよう努力しています。しかし、このような技術をより一般的にするためにも、さらに産学官の交流を活性化する必要を感じるとともに、私自身、電子線トモグラフィーの操作、画像処理に習熟した技術者になるべく、学ぶ必要を感じています。それゆえ、この電技研の様な場は、情報交換の場も兼ね、私にとっても非常に有効であると思います。

まだまだ初心者で、とても口演など出来る身分ではございませんが、この様な発表の場を設けて頂いた主催者の皆様に感謝します。次世代形態研究の電子顕微鏡の担い手を目指して、この半年で得た技術や困難、感じた事をお話させていただきたいと思います。

(12 : 10-12 : 50)

昼 食

伊都キャンパス生協食堂やビッグオレンジをご利用下さい。

http://suisin.jimu.kyushu-u.ac.jp/ito_info/seikatsu.html

(12 : 50-13 : 20)

超高压電子顕微鏡見学ツアー (電顕室前で集合解散：希望者のみ)

<http://suisin.jimu.kyushu-u.ac.jp/showcase/photo/west/304.html>

(13 : 30-13 : 50) 座長：中村桂一郎

一般演題3)：「レーザースペックル顕微鏡」-新しい簡易レーザー顕微鏡-

演 者：○平川靖之¹⁾、福永幸裕²⁾、三好憲雄²⁾、太田啓介³⁾、中村桂一郎³⁾

所 属：1) 久留米工業高等専門学校電気電子工学科、 2) 福井大学医学部病因病態医学講座

3) 久留米大学医学部解剖学講座

要 旨：レーザースペックルは、ホログラフィーと同様な光の干渉の一つで、通常のレーザー顕微鏡では、ノイズと見なされる物理現象である。レーザースペックル顕微鏡は、このレーザースペックルをあえて信号と見なして、非侵襲的に試料を観察する目的で開発されたものである。これまで、細胞や生体組織などの観察に適用し、レーザースペックルの動きを評価することで、試料の活動モニタリングに利用できることが分かっている。講演では、これらの観察例や現状での課題について紹介を行う。

(13 : 50-14 : 15) 座長：渡辺美登里

メーカー講演1)：「低加速で見た材料表面のSEM像情報」

演 者：○土谷康夫¹⁾、立花繁明¹⁾・橋本 哲²⁾、櫻田委大²⁾

所 属：1) エスアイアイ・ナノテクノロジー(株)、 2) JFE テクノリサーチ(株)

要 旨：走査電子顕微鏡(SEM)は、物質表面の形態を観察する手法として広く用いられている。最近開発された20Vまで加速電圧を低くできるSEMは、従来のSEMと比較して、電子の侵入深さを小さくできるため、ナノレベルの材料極表面の観察ができること、加速条件を制御することで、帯電を防ぎ、絶縁物でも試料前処理をしないで観察できることなどの特

徴がある。しかし、低加速観察により得られる SEM 像はこれまで経験が少なく、そのもたらす情報の意味 “何が見えているのか” の理解が重要となってきた。本発表では、(独)カールツァイス社製 SEM を用いて、複数の検出器で得られた低加速 SEM 像の観察事例を示し、その有用性を議論する。

(14 : 15-14 : 40) 座長 : 佐々木正文

メーカー講演 2) : 「凍結技法を用いた含水試料の SEM 観察例」

演 者 : ○許斐 麻美¹⁾、西村 雅子¹⁾、河野 昭仁²⁾

所 属 : 1)株式会社日立ハイテクノロジーズ 那珂アプリケーションセンター

2)オックスフォード・インストゥルメンツ株式会社

要 旨 : 水分を含む試料は無処理のまま電子顕微鏡で観察することは特殊な場合を除けば難しく、固定・脱水・乾燥という試料作製の過程を経なければならない。凍結固定法は、分子架橋によって試料を固定する化学固定と異なり、試料作製の過程に生じるダメージやアーティファクトを軽減し、生体に出来るだけ近い状態の構造や構成成分の保持を可能にする。また、変化の速い生体现象も瞬時に固定することができる。加えて、凍結固定試料は切削・切断も容易となることから、試料断面を剖出する様々な手法に応用することが可能となる。

クライオ走査電子顕微鏡 (SEM) 法は、医生物や食品、化粧品といった分野に利用され、凍結置換固定を施すことなしに凍結試料の内部構造を剖出してそのまま観察することが出来る。また SEM を利用するために広い観察視野が確保できる点は、試料構造を把握する上で大変有用となる。特にクライオシステムを SEM に装着して実施する場合は、フリーズレプリカ法や凍結置換固定法を利用した透過電子顕微鏡解析に匹敵する試料内部構造を短時間で観察できるようにした。最近では、Gatan 社製クライオシステムを低真空 SEM 日立 S-3400N へ装着した低真空クライオ SEM 法を試み、非導電性を示す含水試料の無蒸着観察および分析における有効性も見出された。

本発表では、凍結技法を利用した SEM 観察方法を紹介するとともに、最近の低真空クライオ SEM 法も紹介する。

(14 : 40-15 : 05) 座長 : 金丸孝昭

メーカー講演 3) : 「ライカ EM TIC020 トリプルイオンミリング装置のご紹介」

演 者 : 阿部義充

所 属 : ライカマイクロシステムズ株式会社 UM 事業部

要 旨 :

【商品名】EM TIC020 トリプルイオンミリング装置

【特 徴】アルゴンイオンビームによる断面加工は、硬/軟質、多孔質、脆質な素材で走査型電子顕微鏡による観察や微細構造分析 (EDS、WDS、EBSD など) 用の試料断面を得る為に使用される技術です。

3つのイオンビームを使用するライカ EM TIC020 では、

- 1) 3本のイオンビームで高速加工を実現 2) 広範囲の観察領域を作製 3) 最大試料サイズ : 50mm x 50mm x 10mm
- 4) 加工中の試料を直接実体顕微鏡で観察 5) 独自の試料ステージ方式で、試料加工位置のセットが簡単
- 6) タッチパネルにより、操作が簡単、といった特徴を有し、試料の高速かつ広く深い切断、滑らかな表面の切出しが可能で、ほぼあらゆる素材で迅速かつ簡単に高品質の断面が得られます。

【仕様・一部】 装置サイズ：500mm(W) *タッチパネル別途 300mm×800mm(D)×530mm(H)、重量：62kg
電源：90～260VAC、50/60Hz、200W アルゴンガス：純度 99.999% 使用圧力：0.05MPa
イオン源エネルギー：1 keV ～ 8 keV

【外 観】



(15 : 05-15 : 20)

コーヒーブレイク

(15 : 20-15 : 45) 座長：太田啓介

メーカー講演4)：「共焦点レーザ走査型顕微鏡 FLUOVIEW アプリケーションご紹介」

演 者：露木 啓

所 属：オリンパス株式会社 MIS LCI 事業推進部 販促1グループ

要 旨：

【製品名】共焦点レーザ走査型顕微鏡 FLUOVIEW

【特 徴】 レーザ走査型顕微鏡により、観察だけでなく自由な光刺激による生命現象の解明が可能になりました。蛍光観察による形態観察に止まらず電気信号の処理までも可能にしたため、生細胞の動態を詳細に知ることができます。また、これまでのノウハウを活かし、赤外のレーザを利用した多光子励起顕微鏡へのアップグレードにより in vitro での実験系が主体であった顕微鏡観察による生命現象の解明が、動物体内での in vivo 観察までも可能です。汎用性と光実験を極めた共焦点レーザ顕微鏡 FV1000、コンパクトなパーソナル共焦点顕微鏡 FV10i、動物体内の深部イメージングを可能にした FV1000MPE をご紹介いたします。

【外 観】



(15 : 45-16 : 10) 座長：金丸孝昭

メーカー講演5)：「ニコンの高速共焦点レーザ顕微鏡 A1 の技術紹介」

演 者：田村 哲

所 属：(株)ニコン 営業統括部営業戦略部バイオサイエンス課

要 旨： 光学顕微鏡を用いた蛍光観察は、観察対象を選択的にイメージングできるためバイオイメージングで一般的な技法となっている。一方 GFP に代表される蛍光タンパク質では、さまざまな新しい蛍光タンパク質や、バイオセンサーなどの開発が日々行なわれている。蛍光観察をさらに機能的にしたのが共焦点レーザ顕微鏡である。3 次元画像取得、タイムラプスなど、もはや日常的なツールとなっており、装置にはさらに高い性能が求められてきた。

ニコンは、これらの要望にこたえるために A1 を開発した。A1 は、毎秒 420 枚(512x32 画素)という、超高速の画像取得が可能であり高速な動態のイメージングに威力を発揮する。一方、1 回の画像取得で 32 色のデータを一括で取得できるスペクトルイメージングの機能も有しており、多重染色の蛍光分離、あるいは自家蛍光のスペクトルのみ抽出して自家蛍光にうもれがちな微弱蛍光でも自家蛍光を除去することにより明確なイメージングが可能である。また、PA-GFP など光刺激によって特性の変化する蛍光タンパク質への光刺激同時イメージングも可能にするなど、先端研究に幅広く対応できる性能となっている。本講演ではこの A1 について紹介する。

(16 : 10-16 : 35) 座長：中村桂一郎

メーカー講演 6) : 「ClairScope™: 溶液中における細胞の観察を可能にする大気圧走査電子顕微鏡」

演 者：西山 英利

所 属：日本電子 (株) 開発本部

要 旨： 完全な大気圧下に試料を保持したまま走査電子顕微鏡 (SEM) 観察可能な ClairScope™ を開発した (図1)。SEM は倒立させ、下端に電子源を有し、電子線が出てくる上端には真空と大気を隔離する SiN 薄膜を備える。この薄膜は厚さが僅か 100 nm であるが、1気圧の圧力差を支え同時に電子線を透過させる。また、この薄膜は細胞培養可能な薄膜ディッシュの底面に組み込んである。細胞は薄膜の下側から電子線を照射され、細胞から反射される電子を検出することにより、大気圧下の液中で高分解能 SEM 観察される。また、薄膜上部には光学顕微鏡も備えており蛍光染色法を用いた蛋白の特定、その領域の高分解能な SEM 撮像ができる。この成果は産業技術総合研究所、山形県工業技術センターとの共同研究の結果である。

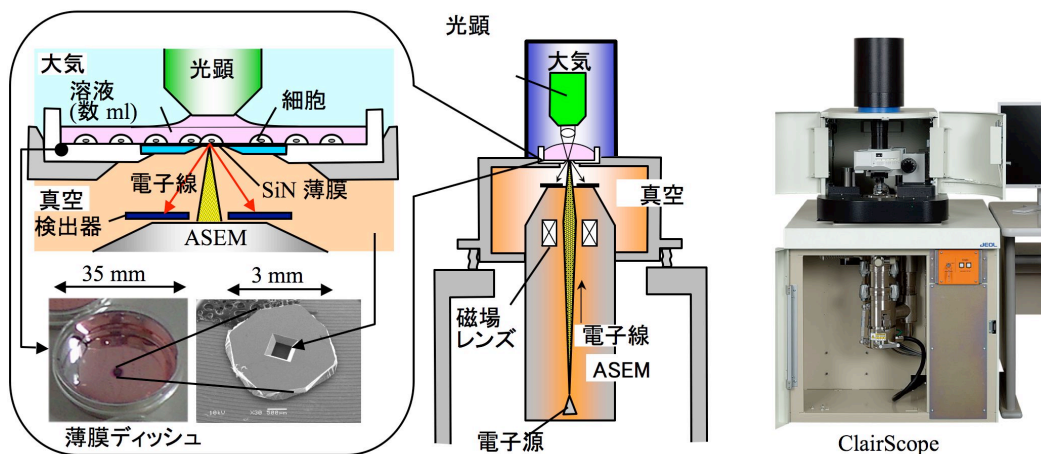


図1. ClairScopeの構造図。倒立型SEM(大気圧走査電子顕微鏡, ASEM)と対向して光学顕微鏡を配置し、間に薄膜ディッシュを備える。薄膜ディッシュは細胞の培養が可能で、SiN薄膜窓を底面に持つ。この薄膜は、電子線を透過するほど薄いが大気圧を保持できる。薄膜を介して細胞に電子線を照射させ、液中の細胞からの反射電子を検出することによりASEM像を高分解能で取得できる。また、光学顕微鏡による部位の特定を、蛍光ラベリングを用いて行うことができる。

その他のご案内

<注 意>会場では、携帯電話のスイッチはOFFかマナーモードに

【会場までの道順】*なるべく公共機関をご利用下さい。

1) 地下鉄利用の場合

天神方面からは、地下鉄に乗り JR 筑肥線「九大学園都市」で下車、伊都キャンパス行き

バスに乗り換える。昭和バス約13分200円 参考：http://suisin.jimu.kyushu-u.ac.jp/ito_info/index.html

2) 車の場合

天神方面からは、西区今宿付近から横浜へ、交差点で左折し一本道。

参考：http://suisin.jimu.kyushu-u.ac.jp/ito_info/index.html

*守衛室で「第22回九州電子顕微鏡技術研究会に出席」と告げて臨時入構証を受け取り、同様に記入し、一回パスを受け取る。ゲートでパスを入れるゲートが上がる。パスは戻りません。なお、出るときはいつでも自由に出ることができます。ゲートは自動的に開きます。

【地 図】

西講義棟3階 第4講義室

このURL地図の16番

<http://www.kyushu-u.ac.jp/access/map/ito/ito.html>

【連 絡 先】

<平日>事務局・電話 092-642-5740

(アドレス) kanemaru@mccore.med.kyushu-u.ac.jp

<当日>事務局・金丸 連絡先

(携帯番号)080-5252-6649

【懇 親 会】

<懇親会会費>5,000円

<懇親会会場>「石蔵酒造 博多百年蔵」

*17:10までに集合し、会場から**バスにて**懇親会会場へ向かう

(URL) <http://www.ishikura-shuzou.co.jp/enkai.shtml>

電話・092-651-1986