

「ハイブリッド SEM への挑戦」

九大病院 中央形態分析室 金丸孝昭

ここ十数年来開発・研究を行ってきた、走査型電子顕微鏡 (SEM : Scanning electron microscope) のハイブリッド化に向けた私の挑戦を紹介する。

蛍光光学顕微鏡 (FOM: Fluorescence optical microscope) による観察法には、GFP (Green Fluorescent Protein) による蛍光標識方法や免疫組織化学的観察手法 (主に蛍光抗体法) などがあり、これらは組織や細胞、あるいは分子観察における一般的な可視化技法である。FOM観察により同定される蛍光標識領域を電子顕微鏡にて高倍率で詳細に観察する場合、同一部位を特定するには困難を伴う。これらの問題を克服するために、光顕観察から電顕観察まで、標識位置を確認し即座に拡大観察し、形態的特徴から関心領域の同定が短時間で可能になる装置、つまり電子線と同じ光軸上に組み込まれた蛍光顕微鏡システムにより光が捕捉され、試料上の同一点をSEMによりズーム観察可能なハイブリッド型の顕微装置開発を目指し、SEMとFOM、2つの機能を融合させた多波長で同軸・同時観察を可能にした顕微装置の解が「FL-SEM」(Fig.1) である。

最近、FIB-SEMやBFI-SEMなど超微構造の3D立体構築手法が発展してきたが、試料作製法への更なる要望などが求められるようになってきた。そこで、「LANTome」(Light Ablation Nano Tome) (Fig.2)と名付けたexcimer laser ablationを用いた試料切削技術を開発した。SEMと組み合わせることで、電顕用樹脂包埋試料を連続切削しSEM撮影を可能にした装置であり3D再構築を試行している。本法は、有機材料に限定しているが、A) 大面積・高速な切削が可能 B) 熱変性が少ない切削法 C) 帯電の中和が期待される。また、本法で用いた染色法が腎症の診断に十分な条件になるよう今後とも研究を継続中である。

これまで開発して来た「FL-SEM」や「LANTome」などのハイブリッドSEM作製に挑戦した開発経緯を紹介し、今後の展望を述べたい。

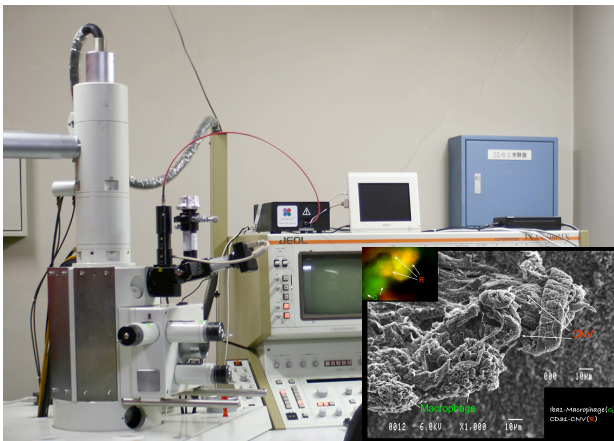


Fig.1 「FL-SEM」 外観と新生血管像

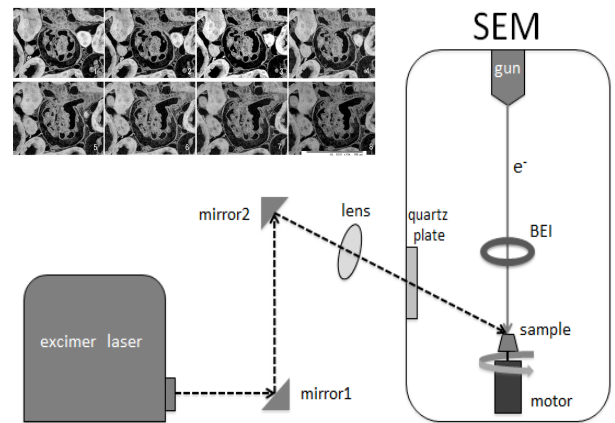


Fig.2 「LANTome」 イラストと連続切削画像