

## SEM で TEM 像？樹脂包埋生物標本の SEM 組成観察による 2D・3D 構造解析

○太田啓介（久留米大学 医学部 解剖学講座）

我々は SEM で TEM と同様の 2 次元構造情報を取得する Block Face Image (BFI) とよばれる観察法に取り組んでいる。この方法は超薄切片を作ることなく組織像を得られるだけでなく、FIB と組み合わせることでトモグラフィーのような 3 次元解析へも応用できる有効性の高い観察法である。

医学・生物学分野で SEM 観察と言えば、二次電子による凹凸像観察が一般的であるが、近年の低加速電圧 SEM 観察技術の進歩により、このような新しい観察が可能になった。この BFI は平滑な試料断面から得られる SEM の反射電子組成コントラスト像である。重金属で *en bloc* 染色した樹脂包埋生物試料の表面に電子線を照射すると、細胞の膜やタンパク質複合体などの構造に一致して高いシグナルが得られる。分解能の高い BFI を汎用 SEM で取得することは従来難しかったが、我々は「減速法」を用いることで、汎用 FE-SEM で 5nm 程度の分解能を持つ BFI が得られることを示してきた（加速電圧：<2kv, プローブ電流:10pA）。このような BFI 観察は SEM と TEM の利点を兼ね備えており、従来よりも確実性の高い組織観察を可能にすると考えている。

例えば、SEM の特徴を持つ BFI 観察は容易に且つ極めて広範囲な領域を詳細に観察することができる。組織構造を俯瞰的に観察することでその特徴を大局的につかみ、且つ、統計的に解析することも可能になる。TEM の局所観察では、像解釈の確実性を高めることが重要であるが、そのためには、多数の断面観察、また Correlative Microscope のような光学顕微鏡から電子顕微鏡への連続観察が必要であった。BFI による広範囲観察はこのような問題に対して有効な手段となり得る。

さらに FIB/SEM トモグラフィーへの応用により得られる組織の大規模な 3D 構造は、TEM の一断面からだけでは予想しにくい組織内部の構造を正確に理解することを可能にし、従来の観察で予想されてきた組織構造の真偽を高い確度で検証することができる。

このような BFI を用いた 2D, 3D の解析の実例を紹介し、その原理と現状について解説する。