

## 医学系電子顕微鏡室の技術支援

### — 現況とこれから —

坂本順子

筑波大学医学系技術室 (医学系電子顕微鏡室)

〒305-8575 茨城県つくば市天王台 1-1-1

#### 概要

医学系電子顕微鏡(電顕)室では、おもに医学医療系の教員や大学院生に登録制で技術支援を行っている。その現況の紹介とアンケートから利用者の声を受けて、今後の技術支援の在り方について考察する。

キーワード：電子顕微鏡、技術支援

#### 1. はじめに

医学系電顕室には、毎年、医学医療系の教員や大学院生など 50 人程が利用登録をしている。機器を使用する人はすべて登録することになっており、その利用内容はそれぞれ違う。電顕観察は試料を真空中に配置して観察するため、事前に試料作製を施さなければならない。検体を持参して試料作製から写真撮影まですべてを技術職員に依頼する人や、自分で電顕を操作して観察する人などさまざまである。また、半期に一度電顕室運営費として利用内容に応じて研究費から料金を徴収することになっている。

本稿では、はじめに実際の技術支援の内容を述べ、次に利用者アンケート結果から今後の医学系電顕室における技術支援の方向性を見出したい。

#### 2. 技術支援の現況

##### 2.1 TEM (透過電子顕微鏡)試料作製

医学系電顕室は医学系棟にあることから、持ち込まれる検体はヒトや実験動物の生体組織や培養細胞などの生物試料が主である。TEM では、真空中に配置された試料を電子線が透過してできる像を拡大して観察している。ここでは、日常、一般的に行っている TEM 生物試料作製法について紹介する。

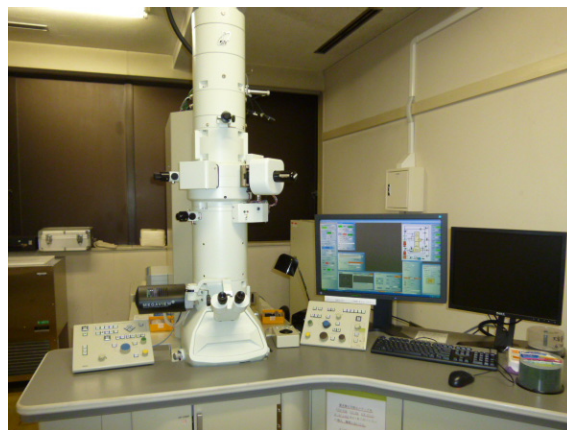
まず、試料は、約 1 mm 角に細切され、前固定液(グルタルアルデヒド液)に入れて受付に持ち込まれる。酸化オスミウムによる後固定後、脱水のためエタノール系列を通し、プロピレンオキシドに置換され、エポキシ樹脂の浸透を経て熱重合される。



エポキシ樹脂ブロック

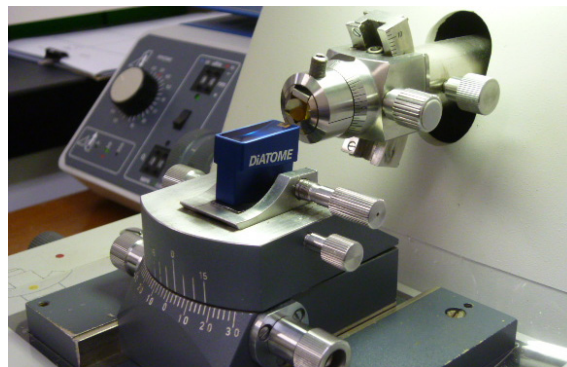


ダイヤモンドナイフ



透過型電子顕微鏡 JEM-1400

後固定からブロック作製まで約一週間を要する。こうしてできたエポキシ樹脂ブロックからウルトラミクロトームを使用して、電子線が透るくらいの超薄切片(約 90 nm)を採取する。直径 3 mm のグリッドに貼りつけられた切片は、重金属による電子染色を施すことにより観察に適したコントラストを得て観察可能となる。また、超薄切の技術修得には個人差があり、年単位の時間を必要とすることもある。そのため、試料作製から写真撮影までを技術職員に委託する利用者が多い。



ウルトラミクロトーム ULTRACUT E



走査型電子顕微鏡 JSM-6320F

## 2.2 SEM (走査電子顕微鏡)試料作製

SEM は、真空中に配置された試料の表面に電子線を当て、そこから放出する二次電子や反射電子を検出して得られた画像を観察する電子顕微鏡のことである。ここでも、生物試料を用いた一般的な SEM 試料作製を紹介する。

TEM 試料作製と同様に、前固定液に入った試料は、酸化オスミウムで後固定され、洗浄後、脱水系列を通して、ブタノールに置換される。そのあと、約 1 日かけて凍結乾燥を施し、試料台に載せる。それから、試料に導電性をもたせ帯電を防ぎ、二次電子の発生を多くするためにイオンスパッタコーティング装置で金属の被膜を施し、観察可能となる。



SEM 試料台



イオンスパッタコーティング装置

## 2.3 機器の保守管理・取り扱い補助

TEM については、一昨年、専任の技術職員が定年退職で欠員になったのを契機に機械メーカーと保守契約を結んだ。保守契約は安定した電顕の稼働を得るためには、専任者不在においては必要不可欠である。電顕は予約制で使用するようになっているが、特に TEM の稼働率は高くほぼ毎週、使用予約表が埋まっている状況である。

登録が完了した利用者には、電顕および周辺機器等を初めて使用する際、技術職員が取り扱い説明を行っている。電顕の場合、一回の説明では操作が難しく、初めの数回は技術職員が同席することになる場合が多い。高額な機械のため、小さな故障でも修理代は大きな出費となる。利用者には、細心の注意を払って慎重な操作をするよう呼び掛けている。また、SEM は機械の経年に伴い年々、整備費の額が増える傾向にある。運営費のほとんどが、おもに電顕の維持費に充てられている。



凍結乾燥装置

## 2.4 教育支援

現在、フロンティア医科学専攻および医療科学類の学生実習支援を行っている。小グループの数組が順次訪れては電顕の仕組みや構造、そして簡単な試料作製法の説明を受けた後、実際に組織や細胞、細菌等を観察する。普段あまり接する機会がない大掛かりな電顕を前に、ズームアップした画像を目のあたりにしたとき、教科書の写真を見るのとは違って実感を得た学生の様子がうかがえる。

## 3. 利用者の声

現状の医学系電顕室の技術支援について、利用者アンケートを実施した。アンケートの質問は、利用回数と受けた技術支援、それが研究や教育にどのように役立ったか。また、研究成果の投稿先、そのほか、今後の電顕技術支援の必要性にも触れた。そして、最後に医学系電顕室への要望や提案について回答を求めた。



### 3.1 電顕技術支援の有用性

「医学系電顕室の技術支援のどのようなところが教育や研究に役立ちましたか」という質問に対して具体的に回答してもらった。その中から主な回答を箇条書きで紹介する。

- 電顕の技術は非常に専門性が高く、容易に修得できず全ての面で技術支援が必須だった。
- 初めて電顕を扱う新しい院生・学生に対して、毎年試料作製法、装置操作法などを丁寧に教えてもらっている。
- 試料作製法等、個別の相談にのってもらえる。
- 学位論文作成のすべての面で役に立った。
- 電顕は専門性が高く、超薄切、染色などの技術をマスターしなければならないが、それを委託することで実験時間が短縮でき、別の実験業務に着手することができる。
- 常駐技術職員がいるので使い始めで不慣れでも操作上不安なことをすぐに確認することができ、次第に操作に習熟できた。
- 技術職員が常駐しているためか操作に不具合が起こることなく必要な時に遅延なく観察が行えた。
- アドバイスをもらって論文投稿用の写真を撮ることができた。
- 微細構造の観察ができて臨床診断に役立っている。
- 学生実習で電顕による観察を支援してもらっている。
- 大学、研究機関の代表として、電顕写真を用いて学会で発表講演を行った。
- 大学院生のこれからの研究やキャリアに大変貴重な素養を得ることができた。
- 多くの研究成果の発信に大変役に立っている。
- 電顕は特殊技術を要するので、電顕室の技術支援は重要で研究の発展に大きく貢献している。

以上のように、教育・研究の両面において大変役に立っているという回答が多く寄せられた。

### 3.2 研究成果の発信

医学系電顕室で撮影された画像写真はどのような研究論文や専門雑誌に投稿されたか、具体的に挙げてもらった。また、修士論文、博士論文をはじめ投稿準備中のものもほかにいくつかあった。

Kidney International  
Lab Investigation  
Am J Pathology  
Pathology International  
Am J Kidney Disease  
Histochemistry & Cell Biology  
Human Pathology  
Am J Transplantation  
Nephron Exp Nephrology  
Virchow Archives  
Anat. & Embryology  
Artificial Organs  
ASAIO Journal  
J. Biomater Sci. Polymer Edn  
Tissue Eng.  
J.Cell.Physiol.

J.Biomed.Mater.Res.  
J.Biosci.Bioeng.  
J.Biotechnol.  
J.Tissue Eng.Regen.Med.  
BBRC  
JAC(Journal of Anti microbial chemotherapy)  
JASN(Journal of the American Society of Nephrology)  
Blood  
Biology of Reproduction  
Journal of Virology  
Bull.Chem.Soc.Jpn.  
Journal Structural Geology  
日本地質学会誌  
鉱物学会誌

特に腎病理関連の投稿が目につく。研究には、電顕は欠かせないことが反映されている。組織学、発生学、ウイルス学、生理学等の基礎医学から臨床医学にいたる研究まで広く電顕の技法が使われていることが分かる。また、医学医療系以外の生物、化学、工学分野等からも毎年数グループが利用登録をしている。

### 3.3 研究者からの要望

電顕技術は、特殊で高度である。最近の分子生物学研究に用いる技術は素人の大学院生でもすぐに出るようになるが、最近の major Journal で遺伝子変異マウス等を用いても形態学的(電顕も含めて)解析が必要であり、電顕室はどうしても必要である。そこには、専門の技術職員の存在が不可欠であり、大学という組織こそこのような施設をきちんと守っていくべきだと思われる。電顕を用いる人が減少していても、電顕は優れた技法として科学研究を支えている。技術職員の削減は研究者、大学院生の実験や研究の質を落とす可能性がある。以上のような意見が述べられており、電顕技術職員の削減をしないで、むしろ研究の高度化に対応するためにも電顕室設備やスタッフの拡充を望む声があった。

## 4. 考察：今後の技術支援の在り方

技術職員数が削減され補充が無いまま、現状の技術支援を維持することは不可能である。しかし、今回のアンケートからも分かるように、利用者は電顕技術支援の継続を望む声が多かった。アンケート回答者全員が今後も電顕室を利用したい、常駐技術職員が必要と答えた。「3.1 電顕技術支援の有用性」に記したこれらの技術支援がなくなることは、研究者にとって憂慮すべき事態ではある。経験を積んだ技術職員が減少するなかで、今、こういう状況が大学内研究施設のあちこちで起こりつつあるのではないだろうか。

ところで、筑波大学においては平成 24 年度よりオープンファシリティーを推進している。医学系電顕室は、小規模ではあるがオープンファシリティーをすでに実践しているといえる。電顕 2 台に対して利用登録者 50 人程の現在の使用頻度は適度である。利用者があまり多過ぎると、予約が取りにくくなる。また、試料作製の仕上がりまでの時間がかかり過ぎることになる。使いたいとき使えない状況になるのは

利用者にとって不便で不満が募る。現在、利用者は登録料を支払うが、機器使用料は徴収されていない。電顕の維持管理費は今のところ登録料と試料作製料で賄われている。順調に機能している現在の態勢を今後も維持したいものである。

では、技術職員を配置せずに電顕の管理はメーカーに任せ、試料作製は外注で受託サービスを利用した場合どうであろうか。観察中に小さなトラブルが発生しても利用者は立ち往生するに違いない。対処方法が分からないまま、触れる必要のないつまみまで手を伸ばし、本来の設定から大きくはずれて最後には手に負えなくなる。困ったとき近くに常駐してサポートをしてくれる技術職員の存在が必要ではないだろうか。管理者の目が届かない機器はすぐに故障してしまう。高額な機械は、修理費もそれなりに大きな出費となる。また、電顕が使える環境を提供してもそれだけでは利用者にとって十分とはいえない。試料作製も行える環境が揃って、より利便性を増すことになる。TEM の場合、試料作製には特殊技術と多くの時間を要する。それを技術職員に委託できることは、研究者にとって合理的といえる。試料作製を外注した場合、受託サービスは非常に高額となる。設備投資にかかる費用が含まれているためか、樹脂包埋超薄切法による TEM 観察を行う場合、1 検体の基本料金が 15 万円前後と提示している会社

もある。この料金を支払って、サービスを受けたいと思う研究者がどれくらいいるのだろうか。やはり、専任の技術職員を配置してもらいたいと利用者は望むに違いない。

時代とともに研究技法も変わっていくだろうが「百聞は一見に如かず」視覚に訴える電顕写真の効果は大きい。今後も医学医療系の利用者にとって利用しやすい電顕室で在り続けてほしいと願っている。以上述べたことから分かるように医学系電顕室は研究者から真に囑望されている残すべき施設であるといえる。

## あとがき

平素より医学系電顕室運営にご理解ご協力頂いております研究者はじめ、この度アンケートにご協力をいただいた電顕利用者の方々にお礼申し上げます。支障なく電顕室運営ができましたことは、電顕室世話人である高橋智教授のご指導と利用者の皆様のご協力の賜物です。この紙面をお借りしまして厚く感謝申し上げます。

ひきつづき、これからも医学系電顕室から多くの研究発信がされることをご期待申し上げます。

有難うございました。

## Technical Support of the Medical Sciences Electron Microscope Room, Present and Future

Junko Sakamoto

Technical Service Office for Medical Sciences, Medical Sciences Electron Microscope Room,  
University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki, 305-8575 Japan

**Keywords:** Electron Microscope, Technical Support