
第 321 回松本歯科大学大学院セミナー

日 時: 2015 年 7 月 3 日(金) 18 時 00 分～19 時 30 分

場 所: 実習館 2 階 総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者: 大野 伸彦 氏

(山梨大学大学院総合研究部医学域基礎医学系 解剖分子組織学教室・准教授)

タイトル: TEM 連続切片法に代わる新しい組織の 3 次元再構築法

—SEM 連続断面観察法を中心に—

近年、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いた生物組織の 3 次元超微形態解析法が大きく発展してきている。これらの手法では樹脂に包埋された生物試料の断面を SEM で観察することにより、透過型電子顕微鏡による連続切片観察に類似した画像を取得する過程を自動化・迅速化することで、3 次元再構築を比較的容易にしている。その中で serial block-face SEM (SBF-SEM) は組み込み式マイクロームによる表層切削と SEM による試料の断面観察とを交互に反復することで、切削面積 (約 1x1mm) 以下の任意の領域から、比較的迅速に連続断面画像を取得する方法である。SBF-SEM では、化学固定された生物試料を樹脂に包埋し、ダイヤモンドナイフを用いた切削によりブロック表面に露出させて直接観察するため、通常の透過型電子顕微鏡観察とは異なり、試料の導電性を高め、また画像のコントラストを高めるために、強い電子染色を施す試料作製法が必要である。一方で扱う試料や目的の構造、必要な解像度に応じて、包埋・染色・トリミングの方法や観察条件を最適化することで、従来から観察されてきた多くの細胞組織に対して応用されてきている。SBF-SEM により得られる連続切片画像は、ダイヤモンドナイフによる切削のため深さ方向の解像度は >20nm 程度であるが、ミトコンドリアや小胞体などの膜性オルガネラや細胞の形態を観察するには有用である。こうしたアプローチはそのスループットを高めることで様々なトランスジェニックマウスや疾患モデルの解析に有効であり、また包埋前免疫染色と組み合わせることで、異なる蛍光蛋白や特定のマーカーを発現する細胞の形態学的解析も行うことができる。本発表では SBF-SEM を中心に走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いた生物組織の 3 次元超微形態解析法の特徴と最新の応用例を紹介するとともに、その試料作製を簡便にする最近の試みについても紹介したい。

Matsumoto Dental University
Graduate School of Oral Medicine

1780 Gobara, Hirooka, Shiojiri,
Nagano 399-0781, Japan

演者学歴・職歴

- 平成13年 3月 東京大学医学部医学科 卒
- 平成13年 6月 東京大学医学部付属病院 内科初期研修医
- 平成14年 6月 公立昭和病院 内科初期研修医
- 平成18年 9月 山梨大学大学院 博士課程修了 医学博士
- 平成18年10月 山梨大学大学院 助手（解剖学講座第一教室）
- 平成19年 4月 山梨大学大学院 助教（解剖学講座分子組織学教室）
- 平成19年10月 山梨大学大学院 講師（解剖学講座分子組織学教室）
- 平成20年 4月 米国クリーブランドクリニック 博士研究員
- 平成21年 7月 全米多発性硬化症協会 ポストドクトラルフェローシップ
- 平成24年 8月 山梨大学大学院 准教授（解剖学講座分子組織学教室）

所属学会

日本解剖学会 日本組織細胞化学会 日本顕微鏡学会 日本臨床分子形態学会
米国細胞生物学会 米国神経科学会 米国神経化学会

担当：顎口腔機能制御学講座 田所 治