

第 24 回 九州電子顕微鏡技術研究会 ワークショップ要旨

電子顕微鏡画像への第一歩 ～光学顕微鏡画像との関連～

福岡大学 医学部 医学科 細胞生物学

上原 清子 先生

レーザー顕微鏡を含む、光学顕微鏡の装置の開発革新は目覚しく、分子レベルの研究を行うのに欠かせないツールとなっている。種々の細胞構造のマーカーとの二重標識で細胞内での局在を示すこともできる。しかし、より詳細な局在を解析するために電子顕微鏡で観察する必要性を感じている研究者は少なくないと推測される。にもかかわらず、電子顕微鏡を使用する研究者は少ない。電子顕微鏡の試料作製が手技的に困難だと思っているかもしれない。しかし、新たに始める手技はそれなりに困難である。これに加えて、いかにしたら求める像を得ることができるのか、あるいは、手元にある光学顕微鏡画像との関連を示し、さらなる詳細な実証を示す像はどのようなものか、などを明解にできず、第一歩が踏み出せないでいると思われる。演者は脾臓の毛細血管をいくつかの異なる方法で作製し、微細構造を走査型電子顕微鏡、透過型電子顕微鏡下で観察してきた。電子顕微鏡試料作製法の一部にすぎないが、それらが顕す微細構造と光学顕微鏡像との関連を解説する。走査型電子顕微鏡の例として、通常の断面の観察像、組織を構築するコラーゲン線維を観察した像、細胞内構造剖出法で小器官の膜系を観察した像などを示す。透過型電子顕微鏡の例として、通常の超薄切片像、細胞内液を抽出した細胞骨格観察像のほか、ミオシンを反応させたアクチン線維観察法、凍結レプリカ法、イムノゴールド法で得られた像などを示す。これらと通常のパラフィン切片のヘマトキシリン・エオシン染色像、銀染色像、凍結準超薄切片の免疫蛍光抗体染色像との関連を解説する。電子顕微鏡を前に足踏みしている研究者が、興味に溢れた第一歩を踏み出すことを期待している。

神経回路解析における細胞標識の重要性

川崎医科大学 解剖学

樋田 一徳 先生

多様な脳機能の発現は神経回路が基礎となっている。脳神経回路は多彩な細胞による組織構築であり、限定された領域内での局所回路から、複数の脳領域が関わる広範な回路まで、実に多様性に富む。細胞～神経回路～脳の関係は、人間～社会～地球の関係と比較して考えることができるかもしれない。人間の場合、性別、住所、言語などの個性がある一方、もちろん、共通の普遍性を併せ持つことも事実である。神経回路も同じで、それを構成する細胞の形態学的特徴、化学的性質、遺伝学的背景、生理学的特性等は、個性と普遍性が混在している。脳を深く理解する為には脳神経回路を知ることは重要であるが、その脳神経回路をより正確に理解する為には、構成する細胞をできるだけ正確に分類することが第一歩となる。19世紀末から20世紀初めに、ラモニ・カハールは、ニューロンとグリアをゴルジ染色によって形態学的に同定した。それ以降の脳研究は、彼のレガシーが後世に示した多くの課題を検証してきた感がある。そして20世紀末から今世紀・現在に至る中で、我々が経験した急速な技術革新により、脳内における細胞を標識する様々な手法が開発され、多くの研究室でルーチンに用いる事が可能となっている。生体において、内分泌系では血流を用いてホルモンを遠隔組織に作用したり、免疫系では細胞自身が動いたり増殖したりしてサイトカインを作用させるが、神経系は細胞自身が突起を伸ばし、直接のコンタクトであるシナプスを中心とした情報伝達を行なう。このため、神経系の細胞の多様性の中で、その形態を正しく同定する、そして形態学的な分類が、更に化学的性質、遺伝学的背景、生理学的特性によってどのような側面を持つかが、現時点での脳研究の課題である。今回の講演では、我々が行なっている嗅球（嗅覚の脳内一次中枢）を例に挙げ、カハール以来の古典的染色、顕微鏡描画、免疫細胞化学、遺伝子改変・導入、生理学手法、レーザー顕微鏡、電子顕微鏡そしてデジタルトレース（ニューロルシダ他）と、我々が経験した技術発展の経緯を紹介し、その中で脳神経回路解析における細胞標識の重要性を論じ、共に考えてゆきたい。