

次世代電子顕微鏡と高分解能解析技法の研究開発の動向に関する調査研究

(NPO) 総合画像研究支援 臼倉 治郎

I. 研究代表者

臼倉治郎 (62 歳) 認定特定非営利活動 (NPO) 法人総合画像研究支援 正会員、名古屋大学エコトピア科学研究所 教授

II. 共同調査研究者・研究協力者

大隅正子、小澤一史、宮澤淳夫、諸根信弘、山口正視、山科正平、山田博之
研究協力者：青山一弘、光岡 薫

III. 研究期間

平成 23 年 10 月 1 日より平成 24 年 9 月 30 日まで

IV. 研究目的

従来の電子顕微鏡が持つデメリットを克服して、新しい生命科学の潮流を能動的に誘導して、生命科学の研究現場で活躍しうる高分解能解析装置として、①次世代の電顕に要求される機能と操作性を明らかにする、②それに関連する標本作製や解析技術を明瞭な形にする、あわせて③電子顕微鏡を中心とする微細形態科学研究を推進するために整備されるべき研究環境の改善策の 3 点を中心に論考した。あわせて開発されるべき装置についても考察を行う。

V. 研究計画

研究開始に当たって、共同調査研究者会議を開催して、①役割分担を確定、②国内の研究機関である、大阪大学ほか数件の訪問調査先の選定、③国外の研究機関の選定、④シンポジウムの開催要領を討議し、決定する。

調査研究の主な情報収集は、平成24年7月末をもって終了し、平成24年8月から成果を集約の上、可及的早期に成果の取り纏めと報告書を作成して、政府、関連する研究機関とメーカーに向けた、提言を発信する。

VI. 調査研究の実施法

A. 共同調査推進会議および共同調査会議の開催

平成 23 年 11 月 12 日に共同調査推進会議を開催し、この調査研究の活動計画を立て、12 月 28 日に共同調査研究者会議を開催して、研究協力者の承認と、調査研究として行うイベントの日程・講演者など、具体的な計画を決定する。また、すでに 12 月 18～24 日に行われた海外調査の実態報告を受ける。

B. 訪問調査：国内研究機関：次世代電子顕微鏡と高分解能解析技法、特にクライオ関係、CEMOVIS に関わる以下の研究機関を訪問調査する。

- 1) 産業技術総合研究所・バイオメディシナル情報研究センター
- 2) 京都大学・物質－細胞統合研究拠点 (iCeMS)
- 3) 大阪大学大学院・生命機能研究科・柳田研究室
- 4) 理化学研究所・放射光科学総合研究センター
- 5) 九州大学・生体防御医学研究所

- C. 訪問調査：国外研究機関：次世代電子顕微鏡と高分解能解析技法、特にクライオ関係、CEMOVIS
に関わる以下の研究機関を訪問調査する。
- 1) スイス：バーゼル大学
 - 2) オランダ：国立がん研究所
 - 3) オランダ：電子ナノスコーピーセンター
- D. 研究会の開催（2月17日）「次世代クライオ電顕法と超分子空間構造解析研究会」
『Direction of future in biological electron microscopy』
- E. 顕微鏡学会シンポジウムの開催（5月15日）『次世代生物電子顕微鏡』

VII. 研究結果

今回の調査研究の結果を以下に記す。

A. 共同調査研究者会議

日時：平成23年12月28日（水）14時50分～16時

場所：IIRS 事務所

出席者：臼倉治郎、宮澤淳夫、諸根信弘、山口正視、山科正平、大隅正子、森哲史（事務局長）
（小澤一史先生は、大学の公務のため欠席）

調査研究の研究協力者に、諸根信弘、青山一弘氏を決定した。

海外訪問調査の報告を受け、日本の現状との格差を痛感し、改善が急務であることを再確認した。

B. 国内訪問調査研究（調査担当者）

- 1) 産業技術総合研究所・バイオメディシナル情報研究センター（宮澤）
- 2) 京都大学・物質－細胞統合研究拠点（iCeMS）（宮澤）
- 3) 大阪大学大学院・生命機能研究科・柳田研究室（青山）
- 4) 理化学研究所・放射光科学総合研究センター（諸根）
- 5) 九州大学・生体防御医学研究所（光岡）

の5機関を訪問して、研究機関の目指す方向、設備、将来展望の3項目について調査した結果、次の事項が浮き彫りになった。

(1) 次世代の電顕法として要求される装置と技術

生きた細胞について、その三次元構造をナノメートルレベルの分解能で簡易に得られる顕微鏡技術が求められている。また、見ている構造が何に由来するかを知るための標識法の開発も重要な課題となる。そのため、電子顕微鏡と超解像顕微鏡の像を対応づける技術が要求される。また新しい電子顕微鏡法の普及のためには、鏡体に精通していなくても、良い像が容易に、効率的に撮影できるよう、機器のさらに一層の自動化が必要である。

(2) CEMOVIS への期待

CEMOVIS は、上記で述べたように、極めて有力な解析技法である。しかし、現状は、少なくとも、凍結試料の作製については、簡易に行えるわけではない。また、SBF-SEM (serial block face SEM) や FIB-SEM などの新技術も開発・改良されており、CEMOVIS が広く利用されるようになるには、一層の技術改良が期待される。

C. 国外研究機関の訪問調査（臼倉・宮澤担当）

- 1) スイスバーゼル大学
- 2) オランダ国立がん研究所
- 3) オランダ電子ナノスコーピーセンター

の3機関を訪問して、共通して下記のことが判明し、学ぶべきことが多かった。

- ①大学・研究所は、地元の企業と良い関係を構築し、多額の資金提供を受けている。
- ②資金提供を受けている大学・研究室は、すばらしい成果を挙げている。
- ③国からの研究費に頼っていない。
- ④ラボマネージャー、設備・装置を担当するテクニシャン、がいる。
- ⑤設備、装置は、最新のものと、旧型でも実績ある装置は、問題なく、最善の状態でも運用できている。
- ⑥研究者、PI 等と、テクニシャン、ラボマネージャーと役割分担がはっきりしており、両者が協調的に責任を果たしている。
- ⑦外部研究者の利用が、制度的に定められており、可能である。

この調査の結果、電子顕微鏡分野は、世界的に装置の近代化・高度化が進み、高機能および多機能となり、その結果、電子顕微鏡および周辺関連機器は非常に高額となり、もはや大学の1研究室で購入し、管理・維持、運用するのは困難な時代となっており、共同利用を有効に推進する方策が求められる。

D. 研究会：次世代クライオ電顕法と超分子空間構造解析研究会

テーマ: Direction of future in biological electron microscopy

日時: 平成24年2月17日(金) 13時30分～18時

会場: 東大武田ホール

講師: Jiro Usukura, Peter J. Perters, Carmen Lopez-Iglesias, Akihiro Narita,
John E. Heuser

生きている細胞内の膜タンパク質やリボソームのその場構造解析ができる時代となり、その方法の1つが cryo-tomography である。無氷晶凍結切片 (CEMOVIS) を用いた cryo-tomography の専門家の講演を通して、多くのノウハウを知ることができ、有意義な国際フォーラムであった。

E. 顕微鏡学会シンポジウム

テーマ: 次世代生物電子顕微鏡

日時: 平成24年5月15日(火) 9時30分～12時

会場: つくば国際会議場 F

講師: Jason Pierson, 岩崎憲治, 成田哲博, 深沢有吾, 澤口朗

加圧急速凍結法や無氷晶凍結切片 (CEMOVIS) の技術開発、クライオ電子顕微鏡の高性能化および数理的解析法の進展により、細胞内の分子およびその複合体を、その場構造解析できる時代となった。また、免疫組織化学法との併合により、新たな局面に適合した免疫フリーズエッチング法など、これまでの電顕法との組み合わせにより、新しい視点から「構造と機能」の解析を可能とし得る、次世代生物電顕技術について有意義な討論が行われた。

VIII. 考察と提言

次世代の電子顕微鏡関連の研究設備と技法、研究実施・支援体制として以下の考察と提言を行う。

1) 次世代の電顕法として要求される装置と技術

生きた細胞について nm 程度の分解能の3次元構造を、簡便に得られる顕微鏡技術が要求される。また、観察している構造と機能を対応させるため、生体機能分子の標識技法の開発も重要な問題となる。そのため、電子顕微鏡に超解像顕微鏡を組み込んだ新装置の開発と、それによる生体のままでの像と機能発現を対応づける技術の発展が一義的に有効な技術となるであろう。

う。超解像顕微鏡法は現在まだ発展途上にある技術である故、他に先駆けてこうした装置の組み合わせに成功することが重要である。また、自動化の推進は装置の普及にとって必須である。

生体に近い超高分解能像の確保のために、CEMOVISに代表される凍結電顕法の重要性が極めて現実的な問題として浮かび上がっている。さらに3次元画像復構法は従来にも増して重要な技法であり、自動化されたトモグラフィ装置の発展が待望される。それを補完する標本作製法として、SBF-SEM (serial block face SEM) や FTB-SEM などの新技術に大きな期待が寄せられている。連続切片薄切断面の観察は SEM と同様、原子間力顕微鏡の導入なども将来に期待される技術である。

高解像力下に物質の局在を追跡するためには、超薄凍結切片による免疫電顕法は極めて重要な技法であるが、実施のためには高度な技術が要求されるという難点がある。こうした標本作製上の問題も解決されることにより、CEMOVIS 法も大きく発展して世界中の研究室で活用される大きな成果を生み出す装置になるものと期待される。

2) 装置開発に向けてメーカーへの提言

近未来的には生きた細胞の超微細構造あるいは物質局在を3次元構造の上で確保するための電子顕微鏡、ならびにその周辺技術である凍結関連技法を用いた研究装置が登場するであろう。そのため高精度な装置に簡便性、自動化もあわせた新装置の開発が望まれる。我が国の顕微鏡メーカーには特にこの点の対応が要求される。我が国の顕微鏡産業が、新しい研究の動向を率先できる装置の開発にいち早く成功するか否かが、今後の日本発の研究装置の命運を握っている。

3) 次世代電子顕微鏡の開発、活用に関連した研究体制の整備に向けた提言

電子顕微鏡分野は非常に高額となり、もはや大学の1研究室で、購入、管理・維持、運用するのは困難になっている。その一方で定員削減、予算削減、教育の負担増、研究以外の業務拡大などにより、研究機関の人材も次第に疲弊してきている。かかる極めて深刻な問題への対処として、以下の提言をおこなった。

○共用の推進、拠点形成に向けて

日本各地に散らばる中・大型研究装置について、中核的な研究拠点を形成して、共用する体制の整備が火急の課題である。そのためにも、人材の育成と確保が是非とも必要で、拠点研究機関では装置の確保は当然ながら、ラボマネージャー、設備・装置を担当するテクニシヤンの確保は言うまでもないが、特に初心者教育、技術指導、研究相談などに対応が可能な人材の育成が重要である。

○NPO とシニアリサーチャーの活用

大学や研究者の利害関係に踏み込まず、様々な研究を支援、サポートできる NPO の介入をエンカレッジすることは有効な解決策として期待できる。またシニア世代の研究者のパワーを活用することも有力な方策である。日本国内の有力な電子顕微鏡関連研究室と NPO、シニアリサーチャーが連携して研究活動を推進していくための土壌を構築する必要がある。

○メーカーと研究機関との連携・協力

ヨーロッパの国ではメーカーと研究機関との有機的な連携による新装置の開発が鋭意進捗しているところに大きな特徴がある。メーカーとユーザーである研究機関との連携は、従来にも増して重要な方途となるであろう。