

## アレイトモグラフィ法による生物試料の三次元観察

関連製品：走査電子顕微鏡(SEM)、ウルトラミクロトーム、透過電子顕微鏡(TEM)

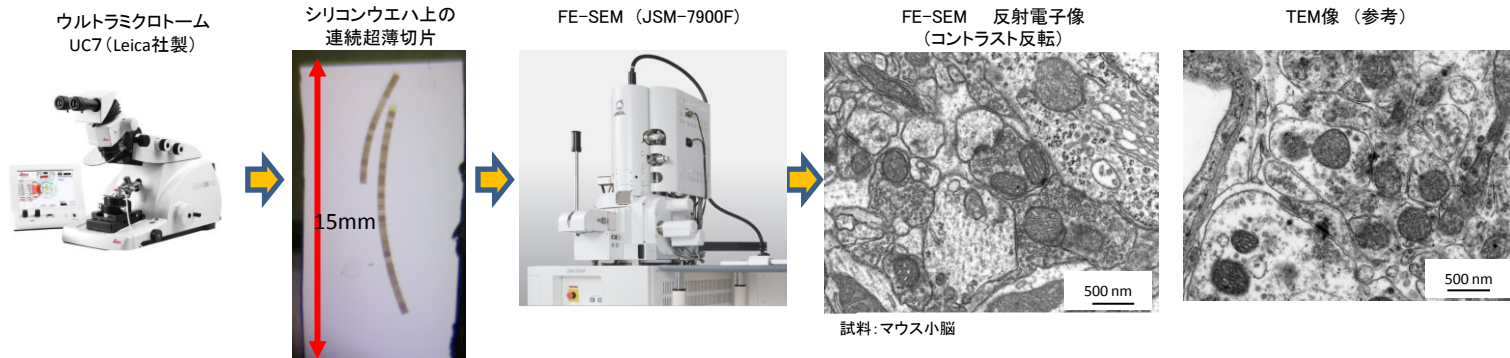
### はじめに

アレイトモグラフィ法とは、固定し樹脂包埋した生物試料などから、連続超薄切片を作製後、各切片の同一場所を透過電子顕微鏡(TEM)または走査電子顕微鏡(SEM)で観察し、その連続断層画像を積み重ねることにより、三次元再構成を行う手法です。

ここでは、SEMを用いた手法とデータを紹介します。

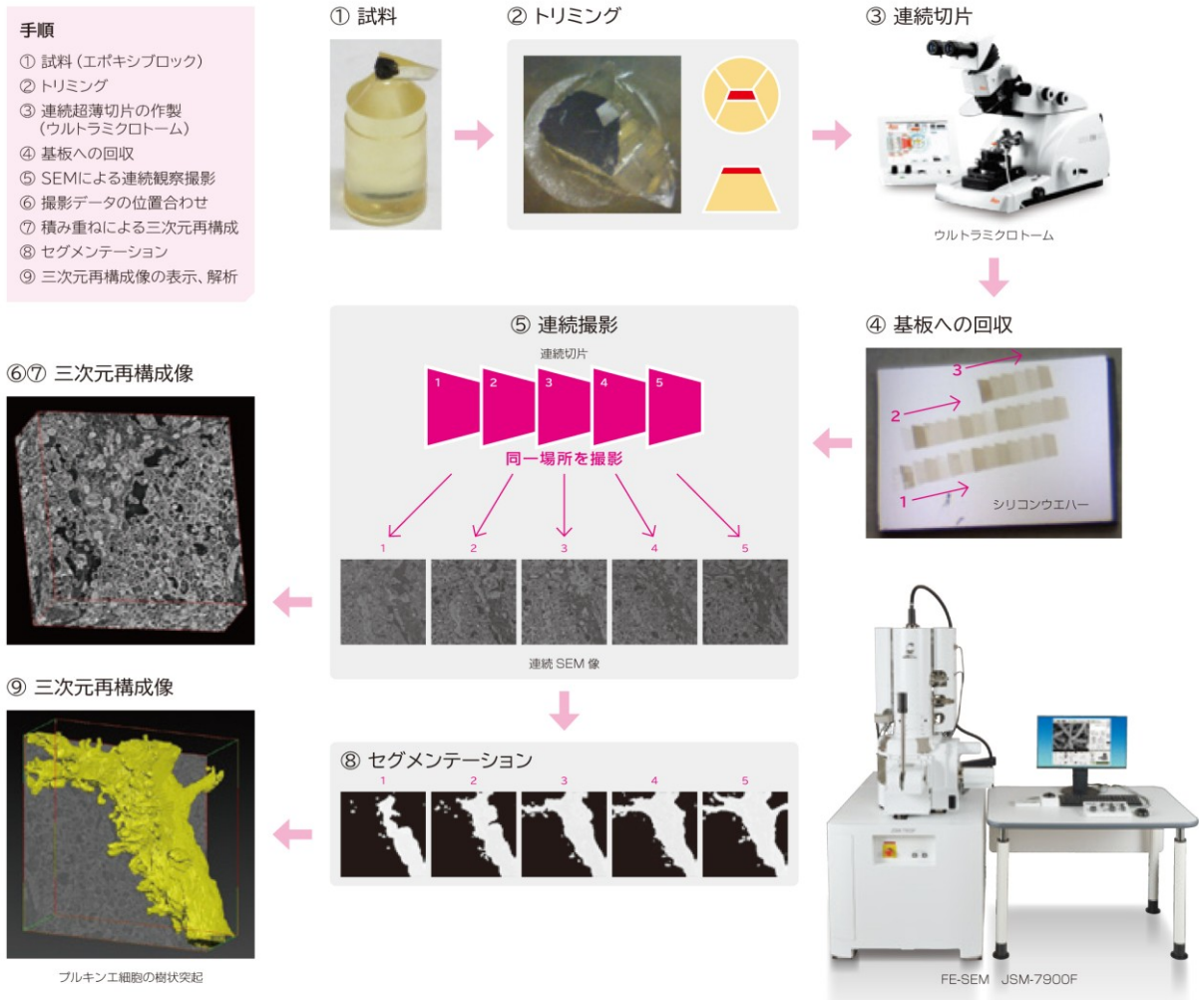
### SEMによるアレイトモグラフィ法の特徴

- SEMと反射電子検出器の性能向上により、TEM像に迫る画質が得られる。
- ソフトウェアにより、自動観察が可能。
- 大きな試料を装填・観察できる。
- SEM用の連続切片は、シリコンウエハやスライドガラスのような固い基板に載せることができるので、TEM用の連続切片作製に比べ比較的簡単。
- 切片大きさや枚数に制限がないので、XYZ方向に広範囲で三次元観察ができる。
- 必要な装置は、ウルトラミクロトームとSEMのみで、特別な装置を必要としない。
- 連続切片は、酢酸ウラニルやクエン酸鉛で後染色を施すことによりコントラストを上げることができるので、NCMIR法のような特別な試料固定法は必要なく、通常のエポキシブロックを試料に用いることができる。
- 観察後に試料がそのまま残るので、再観察等ができる。



## アレイトモグラフィ法による三次元再構成の流れ

通常のTEM観察用に固定したエポキシ包埋試料から、連続切片を観察、位置合わせし積み重ねることにより、組織や細胞の三次元再構成を行うことができる。大略の手順を図示した。



## 小脳分子層の三次元再構成

試料 : マウスの小脳

固定法 : グルタルアルデヒドと四酸化オスmiumによる二重固定

後染色 : 酢酸ウラン、クエン酸鉛による二重染色

撮影画像サイズ : 5,120 × 3,840 pixels

Pixel Size : 6 nm

切片の厚さ: 45 nm

撮影枚数 : 97枚

三次元再構成範囲 : 12.3 × 12.3 × 4.5 μm (2k × 2k × 97 pixels)

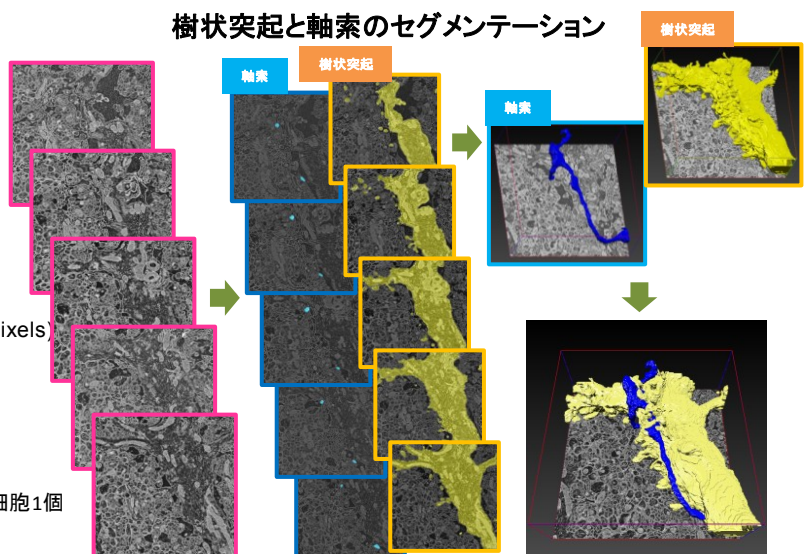
位置合わせソフト : Fiji (フリーソフト <https://fiji.sc>)

三次元再構成ソフト : Stacker (SIF社製)

セグメンテーションソフト : Colorist (SIF社製)

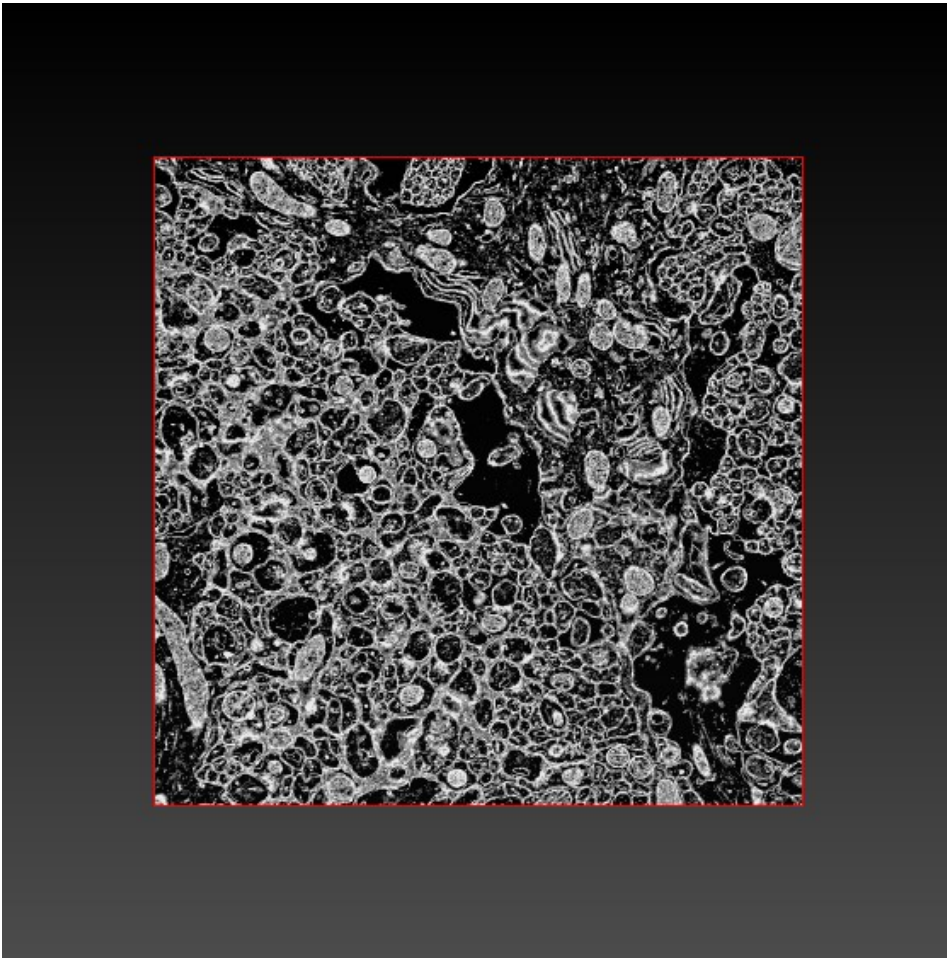
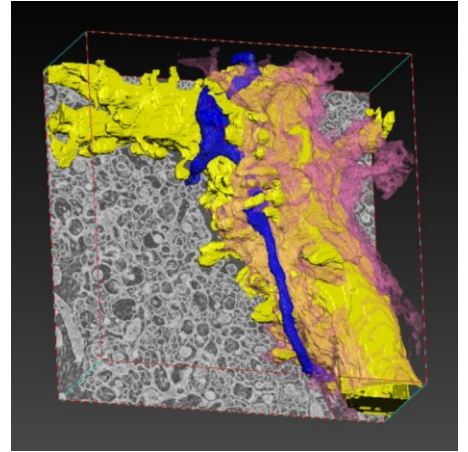
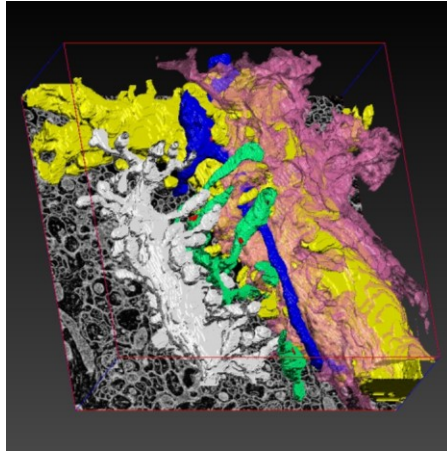
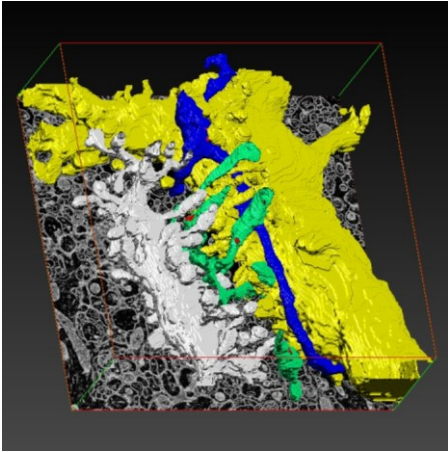
三次元再構成範囲から、樹状突起2本、軸索6本、シナプス、グリア細胞1個を選択し、セグメンテーションを行った。

## 樹状突起と軸索のセグメンテーション



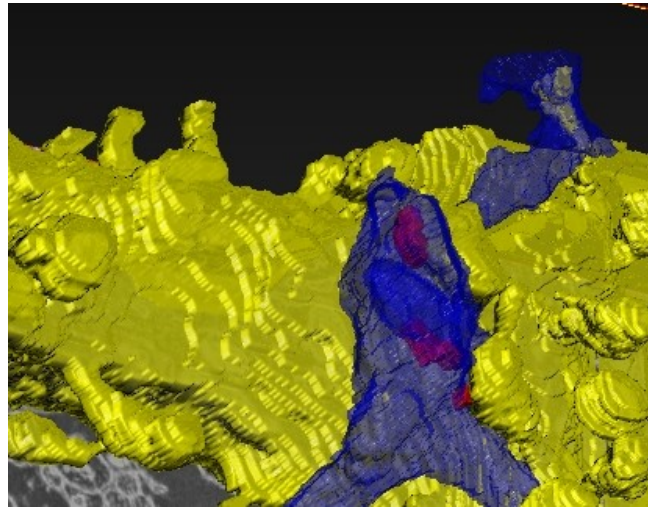
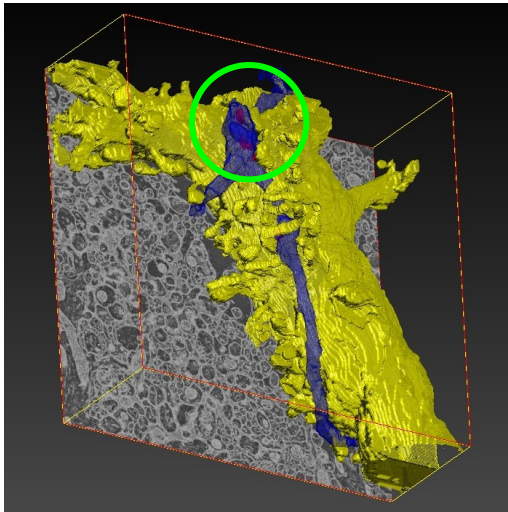
## 軸索と樹状突起とグリア

小脳 分子層  
 黄: 樹状突起1  
 灰: 樹状突起2  
 青: 軸索1  
 緑: 軸索2-6  
 赤: シナプス結合部  
 桃: グリア

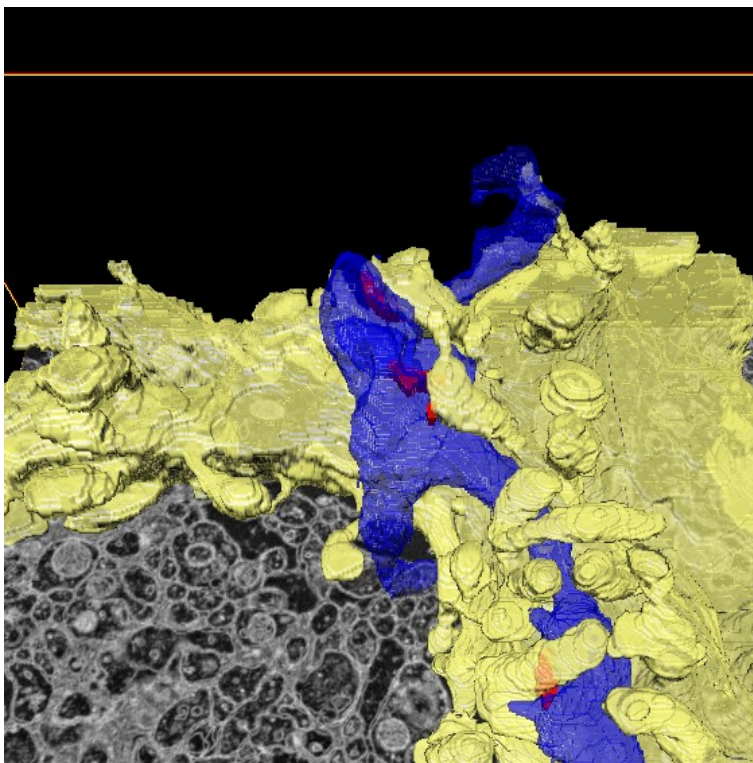


Copyright © 2018 JEOL Ltd.  
 このカタログに掲載した商品は、外国為替及び外国貿易法の安全輸出管理の規制品に該当する場合がありますので、輸出するとき、または日本国外に持ち出すときは当社までお問い合わせ下さい。

## 樹状突起と軸索のシナプス



小脳 分子層  
 黄: 樹状突起1  
 青: 軸索1  
 赤: シナプス結合部



Copyright © 2018 JEOL Ltd.  
 このカタログに掲載した商品は、外国為替及び外国貿易法の安全輸出管理の規制品に該当する場合がありますので、輸出するとき、または日本国外に持ち出すときは当社までお問い合わせ下さい。