

図3 化学固定の効果

化学固定処理をしない赤血球(左)は膜のみを残して破壊されるが、グルタルアルデヒドで化学固定した赤血球は構造が保存されている。

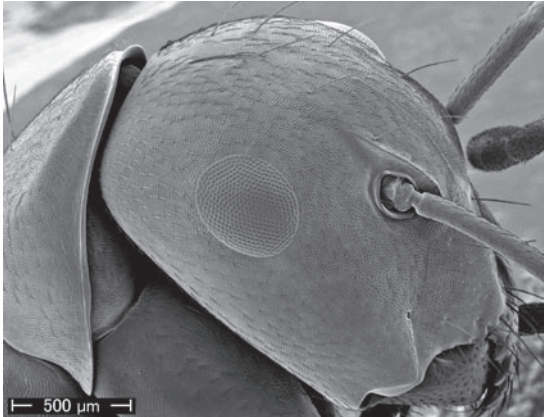


図4 無処理で自然乾燥したアリの走査電子顕微鏡写真

捕獲したアリの試料台に接着させ、オスミウム・コーティングするだけで観察できる(2次電子像)。

この処理を省略すると、生体試料は引き続き処理によって破壊されてしまう(図3)。固定後の試料は「脱水」という処理で、含まれている水分をアルコールに置き換える。水分を含まない非生物試料の場合はこの操作は必要ないことが多い。これらの処理は透過型電子顕微鏡試料の作製も共通である。「脱水」後は試料を乾燥させる。自然乾燥させると乾燥時に試料表面に表面張力が生じて試料が変形することがあるので、凍結乾燥や臨界点乾燥という特殊な方法によって乾燥させる。乾燥の終わった試料は専用の試料台に載せ(図2)、試料表面に導電性の金属被膜をコーティングして走査電子顕微鏡で観察する。外骨格を持つ昆虫の体表を観察する場合などには、無処理でそのまま試料台に載せて観察することもある(図4, 5)。この金属コーティングなしで、低真空で反射電子観察することもできる(図6)。生体試料に特殊なコーティングをすることや、特殊な試料ステージを装着した走査電子顕微鏡を用いて、生きたままの生物をある程度の時間観察できる方法が開発されている。これについては、『生物の科学 遺産』2014年3月号にも紹介されているので参照いただきたい。

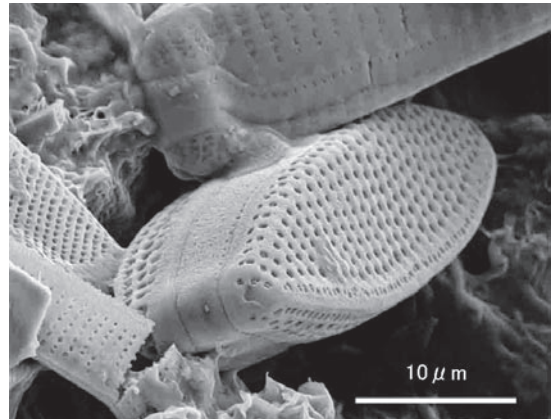


図5 瑞浪市の地層の中の珪藻の走査電子顕微鏡写真

採取した地層の土試料台に分散させ、無処理でオスミウム・コーティングして走査電子顕微鏡観察(2次電子像)。

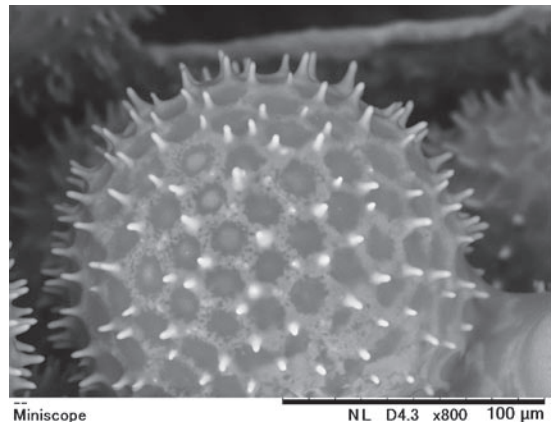


図6 無処理, 無コーティングで走査電子顕微鏡観察した花粉

低真空観察可能な走査電子顕微鏡で観察する場合は、完全に無処理で観察が可能である(反射電子像)。

3 透過型電子顕微鏡試料作製の一般的な方法

透過型電子顕微鏡で観察しようとする試料は、電子を透過できる厚さでなければならない。通常その厚さは、0.05 μm前後である。光学顕微鏡で観察しようとする切片は、パラフィン(蠟)の中に試料を埋め込んで(包埋)から4 μm前後の厚さに薄切して作製するが、電子顕微鏡用には、通常エポキシ樹脂が包埋材料として使われる(図8上)。固定、脱水処理は基本的には走査電子顕微鏡の場合と同じと考えてよい(注意:組織化学的手法などの特殊な目的のためには、特別な固定方法と包埋材料を選択する必要がある)。超薄切の作業には、超マイクロームとよばれる装置(図7)と熟練した技術が必要である。超薄切には、ガラスナ