

北海道大学との技術人材交流プログラムによる光学顕微鏡観察技術研修

依藤絵里

医学系技術支援室 生物・生体技術系

1 はじめに

1.1 背景

医学系研究科分析機器部門では、2016年に採択された先端基盤共用促進事業の一環として北海道大学との人材育成交流が行なわれている。本交流プログラムでは、相手先大学での研修を希望する職員が個別に研修内容の希望を出し、受入先と相談・調整を行なって内容・日程を決定するため、各人のニーズに合わせた研修が可能である。

今回は以下のような目的があり、北海道大学に顕微鏡施設があることを知っていたため本交流プログラムへの参加を希望した。なお、著者の普段の業務は光学顕微鏡の保守管理、操作指導である。

- 自分で練習をしてもなかなか使いこなせない機器について、それらの観察のコツを学ぶ
- 顕微鏡観察前のサンプル作製に関する知識を得る
- 同じ顕微鏡施設の職員の方に、ユーザーへの指導や運営について伺う

1.2 研修の計画・実施

まず研修の目的や希望する内容をまとめた企画書を作成し、さらに北海道大学を訪問して施設見学やディスカッションを行ない、研修内容について様々な提案をしていただいた。それらを踏まえて改めてメール等でやり取りし、研修内容を固めていった。初回訪問の際の関係各所との連絡・調整については北海道大学グローバルファシリティセンターの江端 副センター長 (URA ステーション 主任 URA) が、その後の研修内容取りまとめ、受入先各施設との連絡・調整に関してはグローバルファシリティセンター オープンファシリティ部門の中村 副部門長をはじめとする方々が多くのお力を割いてくださり、平成 29 年 12 月 11 日～20 日の、土日を除いて 8 日間という長期間の研修を実施できることとなった。研修を受け入れてくださった施設の一覧を以下に示す。

表 1 研修受入先施設と研修内容

創成研究機構		
グローバルファシリティセンター	オープンファシリティ部門	(実習)
	受託分析部門	(施設見学)
	試作ソリューション部門	(施設見学)
電子科学研究所	ニコイメーjingセンター	(実習)
	光細胞生理学分野 (根本研究室)	(実験見学)
触媒科学研究所	研究支援技術部	(施設見学)
同位体顕微鏡システム		(施設見学)
フード&メディカルイノベーション国際拠点		(施設見学)

2 研修内容

2.1 ニコイメーシングセンターにおける顕微鏡観察・画像解析実習

北海道大学ニコイメーシングセンターは、学内外を問わず研究者が利用できる光学顕微鏡の共用施設である。共焦点顕微鏡、全反射顕微鏡をはじめとする 5 機の顕微鏡と画像解析ソフトウェア、サンプル前処理のための簡易的な細胞培養室を備え、技術職員 1 名、特任助教 1 名の体制で保守管理および操作指導等の運営を行なっている。また、2016 年度より先端バイオイメーシング支援プラットフォーム (ABiS) に参画し、プラットフォームを通じた支援も行なっている。

ニコイメーシングセンターでは小林技術職員に指導いただき、スピニングディスク共焦点顕微鏡・全反射顕微鏡の操作実習、画像解析ソフトウェアによるデコンボリューションおよび細胞カウントの実習を行なった。また、施設の運営や操作指導に関しても話を伺い、様々な工夫を教えていただいた。



図 1 ニコイメーシングセンター顕微鏡室と、取得した共焦点画像 (培養細胞、スケールバー50 μm)

● スピニングディスク共焦点顕微鏡操作実習

スピニングディスク共焦点顕微鏡は、最も一般的なガルバノミラー式共焦点顕微鏡と比べて高速 (最速 200 fps)、低退色で画像を取得できることが特徴である。分析機器部門にも 1 台存在するがあまり使いこなせておらず、利用者も少ない状況であった。実習では、高速・低退色という顕微鏡の強みを生かすための条件設定のポイント (カメラのダイナミックレンジをすべて使うのではなく、十分な S/N 比が得られる範囲で画面上の明るさ調整を行ない露光時間・励起光強度を上げすぎない) を伺うことができた。また、ビンギ (取得画像の解像度を落とし、明るさと撮影速度を稼ぐ操作) を適切に使用することも有効だと学んだ。

● 全反射蛍光顕微鏡 (TIRF) 操作実習

全反射蛍光顕微鏡は、サンプルに斜めに照射された励起光がカバーガラスとサンプルの界面で全反射を起こすとき、サンプル側にわずかに染み出すエバネッセント光を用いてカバーガラス付近のごく薄い領域の蛍光のみを検出する手法である。全反射状態になる励起光の照射角度は自分で見つけなければならないが、今まではどの状態が全反射なのか判別ができず、一人での練習では限界を感じていた。実習では、励起光の照射角度を変えていくにつれ画像がどう変わるかを実感し、見るべきポイントを覚えることができた。

● その他

上記の他には画像解析の実習と、二光子顕微鏡に共焦点のスピニングディスクを組み合わせ、生体深部の高速観察を可能にした二光子スピニングディスク顕微鏡のシステム構築作業の見学をさせていただいた。

さらに、運営についても話を伺った。中でも特徴的であり印象的だったのは、蛍光試薬やカメラ、フィルター等のメーカー各社の協賛を得ることで設備やテスト用試薬を充実させていることである。これは施設側とユーザーにとって大きなメリットになることはもちろん、メーカーにとってもニーズの吸い上げや製品についてのフィードバックが得られ、限られた資金でサービスを充実させるために効果的な方策であ

ると感じた。

また、顕微鏡の原理、対物レンズの知識、注意点などについて解説する掲示が豊富にあったり、イメージング関連の書籍をユーザーが自由に手に取れるよう取り揃えて置いていたり、顕微鏡の仕組みやより良い画像の取得に必要な情報をユーザーが得やすいような工夫が随所に凝らされていた。ユーザーへの操作指導をより効果的なものにするため、配布するマニュアルには文章の説明は載せずユーザーに書き込みをしてもらうといったアイデアも有用であると感じた。

2.2 光細胞生理研究分野（根元研究室）での二光子顕微鏡を用いた実験

電子科学研究所 光細胞生理研究分野（根本研究室）では、脳科学・生理学研究とともに、生体深部の微細観察のためのイメージング技術の開発などが行なわれている。ここでは、マウスの脳を生きたまま二光子顕微鏡で観察するため頭蓋骨の一部をカバーガラスで置き換える手法である Open-skull 法の手術と、二光子顕微鏡での観察を見学させていただいた。



図2 Open-skull 法手術の様子

マウスの頭を器具で固定し、頭蓋骨の一部を取り除いてカバーガラスに置き換えることで、できる限り非侵襲的に脳の深部を観察できる

2.3 オープンファシリティ部門の機器操作実習・セミナー聴講

オープンファシリティ部門は各研究者が供出した装置を学内外の研究者が利用できるように、全学的な機器共用システムを運用し、それらの機器の管理運営・操作指導を行なっている。ここでは、分析機器部門にない機器に触れその特徴を理解することを目的として、技術職員の吉沢部門長にご指導いただき、実習を行なった。また、Oxford Instruments 社による原子間力顕微鏡のセミナーとデモを見学し、原子間力顕微鏡についても学んだ。実習では以下の5つの機器を用い、古い機種を使用して共焦点顕微鏡の仕組みを実感したり、材料系で使用されることの多い顕微鏡について学ぶことができた。

- ・ 共焦点レーザー顕微鏡
- ・ カラー3D レーザー顕微鏡
- ・ FT-IR
- ・ 顕微ラマンマイクロスコープシステム
- ・ X線回折装置

2.4 施設見学

上記の施設のほか、以下のように様々な施設を見学させていただいた。施設によって、装置の新たなアプリケーション開拓やプラットフォーム事業への参画など利用者を増やす取り組みを行なっていたのが印象的だった。

- ・ グローバルファシリティセンター 機器分析受託部門（質量分析、元素分析等の受託）

- ・ グローバルファシリティセンター 試作ソリューション部門（装置開発、薄片試料作製）
- ・ 触媒科学研究所 研究支援技術部（電子顕微鏡共用設備）
- ・ 同位体顕微鏡システム（同位体質量顕微鏡の共用設備）
- ・ フード&メディカルイノベーション国際拠点（主に民間企業向けのオープンラボ、共用設備）

2.5 ディスカッション グローバルファシリティセンターの政策について

創成研究機構に属するグローバルファシリティセンターは学内設備の有効活用と学内外への研究教育支援の充実を通じた研究力強化を目指し、オープンファシリティシステムの整備や新たな仕組みづくりを進める組織である。実習や見学をさせていただいたオープンファシリティ部門、機器分析受託部門、試作ソリューション部門もグローバルファシリティセンター内の組織である。今回、江畑副センター長（URA ステーション 主任 URA）からグローバルファシリティセンターの政策について説明していただき、グローバルファシリティセンター各部門長・副部門長（技術職員）の方々と意見交換する時間を設けていただいた。

グローバルファシリティセンターにおいて特徴的なのは、URA や教員が配置され、客観的な立場からマネジメントを行なえる体制となっていることである。学内施設の各種プロジェクトへの応募取りまとめや、試作ソリューション部門の設立に際しての民間企業との協力体制構築、設備リユースの仕組みづくりなど、大学執行部、事務、他施設とも連携しながら新しい取り組みを着実に実行し、成果を上げていた。このようなシステムはマネジメント側と現場の技術職員の意思疎通が十分図れていればより自立的な運営が可能となり、スピード、現場からの要求と大学執行部の方針との調整、全学的な（技術職員のいない共用施設も含めた）仕組みづくりといった面で大きな利点があると感じた。

一方、北海道大学側は名古屋大学の技術職員組織に興味を持っていたため、こちらからは 2017 年 10 月の全学技術センター改組について説明し、技術職員の組織化についても活発な質疑応答が交わされた。

3 研修後の取り組み

研修終了後、まずはスピニングディスク共焦点顕微鏡および全反射顕微鏡について分析機器部門の機器を使って画像を取得し、研修内容を復習した。スピニングディスク共焦点顕微鏡では、画面上の輝度調整を用いることで露光時間を短くし、十分な速さで画像取得ができた。

全反射顕微鏡では、研修時よりはわかりにくいもののレーザー入射角を変えていった時の全反射状態への遷移を確認することができた。サンプルにより全反射状態の分かりやすさ、見え方は様々であろうが、今後他のサンプルでも観察の練習を行ない、全反射顕微鏡の講習でも自信を持って対応できるようになりたい。

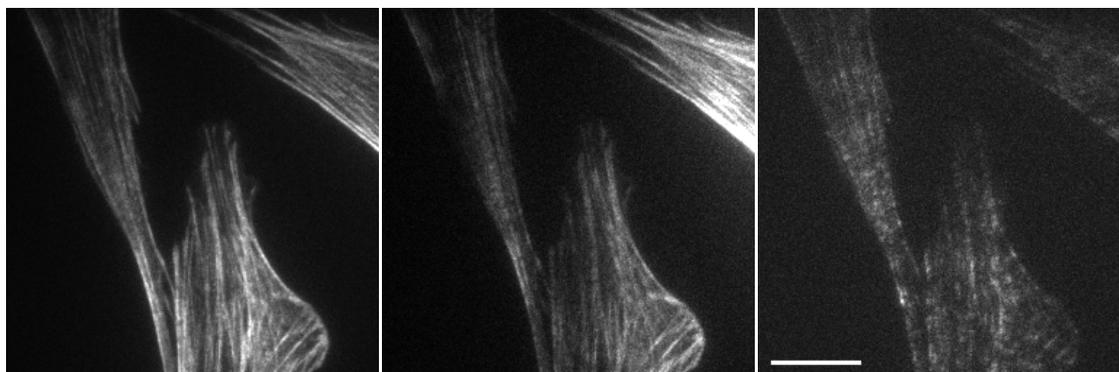


図3 分析機器部門の全反射顕微鏡 Nikon A1-TIRF で撮影した培養細胞画像（スケールバー20 μm ）
通常の蛍光顕微鏡と同じ状態（左）、一部に滲みが見られる状態（中央）、全反射状態（右）

運営やユーザーサポート面ではまず、共焦点顕微鏡マニュアルの一部改訂を試した。顕微鏡の一部の操作についてマニュアルに画像のみを掲載し、ユーザー自身で書き込んでもらう形式にしたところ、ユーザーが操作を習得しやすくなったように感じた。

4 まとめ

今回の研修によって光学顕微鏡技術を向上させるための実践的な知識を得たり疑問を解決したりすることができ、より高度なユーザーサポートを目指すうえでの基盤となったと考えている。同じ分野の仕事をされている技術職員の方に、運営面の工夫をたくさん教えていただいたこともとてもありがたく、普段の業務に取り入れてユーザーにとってもより深くイメージングについて学べるような施設にしていきたいと感じた。

また、普段の業務で触れる機器以外にも知識の幅を広げ、機器共用の仕組みづくりについても多くを知ることができる貴重な機会をいただいた。

5 謝辞

本研修は、先端基盤共用促進事業による支援を受けて実施されました。また、研修実施にあたり大変お世話になりました北海道大学グローバルファシリティセンターの中村様、吉沢様、岡様、江畑先生、ニコンイメージングセンターの小林様、根本研究室の根本先生、大友先生、山口様をはじめ本研修にかかわってくださった全ての方に感謝申し上げます。

参考文献

- [1] 北海道大学 ニコンイメージングセンター <http://nic.es.hokudai.ac.jp/index.html>
- [2] 北海道大学 光細胞生理研究分野（根元研究室） <https://www.es.hokudai.ac.jp/labo/mcb/>
- [3] 北海道大学創成研究機構グローバルファシリティセンター パンフレット（2016）