

生物学における走査電子顕微鏡の役割	3
発ガン物質のけい光分析法による微量分析	9
ゼーマン効果を用いた水銀の原子吸光分析	15
生体成分の高速液体クロマトグラフィ	21
代謝物質の新しい同定法	27
最近の医療における計測技術の動向	33

なお、一般論文中の本特集に関連するものとして次の3編があります。御参照ください。

1.最近の固体試料表面解析技術オージェ電子マイクロアナリシス法	59
2.公害計測における粒子状物質の測定	65
3.濃縮法による悪臭成分のガスクロマトグラフィ	71

生物学における走査電子顕微鏡の役割

最近、生物学分野における走査電子顕微鏡に対する関心は極めて大きい。その支えになっているものは、機器面の進歩として、フィールド エミッション電子銃を採用した走査電子顕微鏡の実用化である。一方、生物試料技術の急速な進歩は試料表面だけでなく、細胞内組織の立体的な観察までも可能にした。本稿は、走査電子顕微鏡の原理、構成などの概略を紹介してその特徴を明らかにするとともに、特に現在までに開発された種々の生物試料作成技術、すなわち乾燥法、試料剖出法、エッチング法及び蒸着法などについて述べた。また併せて、現在得られている 30\AA 程度の高分解能走査電子顕微鏡像の問題点を明らかにし、生物分野における走査電子顕微鏡の立場について述べた。

発ガン物質のけい光分析法による微量分析

大気浮遊粉塵中の多環芳香族炭化水素をハイボリューム サンプラで捕集し、真空昇華法で抽出し、二層一次元薄層クロマトグラフィで分離し、けい光分光光度計と薄層クロマト装置を用いて分析する方法について述べ、その結果を記した。またピーナツのカビ毒アフラトキシンは抽出後、同じく二層一次元薄層クロマトグラフィで分離し、けい光法による分析を行なった。いずれの場合も、試料量が少なく済み、操作が簡単で分析時間が短くなった。

ゼーマン効果を用いた水銀の原子吸光分析

我々の生活環境を取り巻く土壌、植物、食品及び生体などに含まれる微量の水銀を、極めて迅速に精度良く分析する501形日立ゼーマン水銀分析計を開発した。実試料を直接導入し試料に含有される水銀を効率良く原子化する高温酸素ふんい気電気炉と、磁場と垂直な方向から観測するゼーマン効果を用いた原子吸光法とにより、前処理をいっさい行わずに分析できる。磁場走査法を用いて原子吸収線波長付近の種々の高分解スペクトルを実測し、ゼーマン効果を用いた原子吸光法の利点を原理的に明らかにするとともに、本装置によって実試料を前処理なしに分析する際、共存物質による影響をほとんど受けないことを確認した。National Bureau of Standard(NBS)の標準試料を本装置で前処理せずに分析した結果、他の分析法と良い一致をみた。本装置は一検体を1~2分で分析でき、分析の作業能率は約20倍改善された。水銀の検出限界は 0.28ng 、精度は変動係数(C.V.値)1.2%であった。

生体成分の高速液体クロマトグラフィ

液体クロマトグラフィを高速化するために必要なカラム充填剤、高圧送液ポンプ、波長可変流動光度計、グラディエント装置などを開発し、それらを組み合わせた装置を用いて、生体成分のうちステロイドホルモン、PTHアミノ酸、核酸関連物質の分離を試みた。メタノール-水混合溶媒を移動相とし、日立ゲル#3010を用いるステロイドホルモンの分離挙動は、逆相分配クロマトグラフィと考えられるが、吸着作用もまた大きく寄与しているものと思われる。

代謝物質の新しい同定法

代謝物質の新しい同定法として、ガラス キャピラリー カラムを適用したガスクロマトグラフィ-質量分析法(GC-MS法)を検討した。

ガラス キャピラリー カラムは従来使用されている充填カラム、ステンレス鋼製ゴーレイ カラムに比べ分離効率が良く、試料が変質しにくいという特長をもっている。これをGC-MS装置に応用し複雑な試料の分析を試みたところ、ステロイド、脂肪酸及び植物精油などの分析に良好な結果が得られた。

また、スプリットレス注入法により、低濃度試料の分析が可能であることを確認した。

最近の医療における計測技術の動向

医療では、複雑な制御能力をもつ生体を計測対象とするため、生体への侵襲の少ない体外計測が多く用いられる。体外計測としては、各細胞の活動電位や、心臓の弁の開閉音の振動など、体内で発生するエネルギーを体外で計測するものと、超音波、放射性同位元素などを体外より与えて、その反応を体外で計測するものがある。両測定法ともに、測定部位と、測定対象間に他の組織が介在するため、対象外信号や雑音の混入があり、その除去が重要課題となる。

また、現在多用されている生体電気計測装置、超音波応用測定装置及び核医学測定装置について、問題点と対策を中心に、最近の動向を報告した。

生物学における 走査電子顕微鏡の役割

Contributions to Biology of Scanning Electron Microscope

A sizable contribution to biology has been made in recent years by the scanning electron microscope as a result of two factors: the successful adaptation of a field emission electron gun to scanning microscope; and the rapid progress made in specimen preparation techniques for biological samples permitting stereoscopic observation of cell structures. This article is an outline of the principle, construction and features of scanning electron microscopes and various current specimen preparation techniques including the newly-developed drying method, and the sampling, etching and evaporation methods. Problems with high resolution scanning electron microscopes of the 30Å class are also discussed.

永谷 隆* *Takashi Nagatani*
田中敬一** *Keiichi Tanaka*

1 緒 言

電子顕微鏡の約40年に及ぶ歴史の中で、走査形電子顕微鏡(Scanning Electron Microscope:以下,SEMと略す)がその仲間入りするようになったのは、1965年からであるから、その間わずか9年しか経過していないことになる。しかし、その間に生物・非生物分野への普及は極めて著しいものがあった。特に医学・生物学分野への応用は顕著なものがある。例えば、最近5年間の日本電子顕微鏡学会の生物分野におけるSEM関係の研究発表の推移をみると、45年に4題、46年に10題、47年に12題、48年に18題、49年には39題に及んでいる。このうち、49年度分は生物関係全研究発表数の25%に達している。従来の透過形電子顕微鏡(Transmission Electron Microscope:以下,TEMと略す)が、どちらかといえば、いわゆる電子顕微鏡学として、アカデミックな立場からの貢献ないしリードが重要視されてきた立場に対しSEMは、むしろ一般的なマイクロ観察手段としての光学顕微鏡に近い立場をとるものである。このため、従来TEMに比較的縁の薄かった分野、すなわち基礎・臨床医学教室などにも光学顕微鏡との対比を基にしながら、いっそう活発にSEMによる研究が行なわれるようになることが予想される。

SEMがなぜこのように大幅な普及を期待されているかは概略次の三つの理由によるものと思われる。

- (1) 光学顕微鏡に比較して、分解能が格段に良いこと。むしろTEMに比べては分解能は良くないが、多くの研究室では今日でもマイクロ観察の主力は光学顕微鏡である。操作が簡単で、撮影に余り熟練を要さず、簡単に高分解能像が得られるSEMは魅力的であるに違いない。
- (2) 試料作製が簡単なこと。

TEMでは、とにかく試料を電子が通過できる程度に薄片を作らねばならない。この超薄切片法が実に厄介で、熟練を要する。それに反しSEMは、試料ブロックのまま見える。臨床の医者でも片手間に試料作りができるわけで、この点が大きな魅力となっている。

- (3) 像が立体的に見えること。

試料のある一断面を見ているTEM像の解読はかなりの修練を要し、素人には難しい。一方、SEM像は、焦点深度が深いことから、物があるがままに存在するかのよう立体的に観察されるから、解読に労苦を要しない。このこともSEMの大きな利点の一つである。

最近、SEMとして、高分解能をねらう新しい技術、すなわちフィールドエミッション電子銃の実用化を導入したことから、光学顕微鏡に対比できるような卓上簡易形まで、数多くの機種が製品化されている。ここでは、簡単にSEMの原理、構成を紹介し、最近開発された生物試料作製技術を中心に、SEMの応用の幾つかに触れる。最後に、SEMの将来動向を展望し、今後ますます高まると思われる生物学におけるSEMの役割について明らかにしたい。

2 SEMの特長

SEMは、よく従来の光学顕微鏡とTEMのギャップを埋めるものであるといわれる。表1は、以上三つの顕微鏡を大まかに比較して示したものである。これから分かるように、SEMの特長は著しく大きな焦点深度をもって、試料表面の凹凸を「そのまま観察できる点」にある。例として、ネコ蝸牛内毛細胞の聴毛のSEM像を図1に示した。音を感じる細胞の表面に規則的に配列した毛の束が、あたかも「パイプオルガン」のように見える。このようにSEM像は、従来からTEM切片像として頭の中で構成されていたものを、更に一目で直感的に生物学的な知見と理解を助ける意味において、重要な働きをするものである。

3 原理と構成⁽¹⁾

SEMの原理は、図2に示すように、電子線が極めて細く絞られることを利用して(これを電子プローブという)、真空中の試料上を二次元的に走査し、順次発生する二次電子を電

* 日立製作所那珂工場 理学博士

** 鳥取大学医学部(解剖)教授 医学博士

表 I 各種顕微鏡の特徴比較 光学顕微鏡・走査電子顕微鏡 (SEM), 透過電子顕微鏡 (TEM) の性能や特徴についての比較表である。

Table I Characteristics of Optical Microscope, Scanning Microscope and Transmission Microscope

性能・特徴		種 別	光 学 顕 微 鏡	走 査 電 子 顕 微 鏡 (SEM)	透 過 電 子 顕 微 鏡 (TEM)
分 解 能	簡 易 形		5 μm*	0.2 μm	◎ 100 Å
	普 及 形		0.2 μm*	100 Å (10nm)	◎ 10 Å (0.1nm)
	高 級 ・ 特 殊 形		0.1 μm*	30 Å (3 nm)	◎ 2 Å (0.2nm)
焦 点 深 度			浅 い*	◎ 深 い	中 位
観 察 モ ー ド	透 過		可 能	可 能	可 能
	反 射		"	"	不十分*
	回 折		"	"	可 能
	そ の 他		若 干	多 い	少 ない
試 料	作 製 技 術		容 易	◎ 容 易 (非生物) やや複雑(生物など)*	複雑, 熟練を要す*
	種 類		多 い (表面及び透過)	多 い (表面のみ)	薄膜 (又はレプリカ) のみ*
	透 過 可 能 厚 さ		◎ 厚 い	薄 い	極めて薄 い*
	大 き さ		大	◎ 大	小*
	状 態		◎ 気 中	真 空 下	真 空 下
視 野			大 き い	◎ 大 き い	小 き い*
映 像 信 号 処 理			不 可	◎ 可 能	不 可
色 彩			◎ あ り	な し	な し

注: ◎ 比較して優れている点
* 比較して劣っている点

気信号として増幅し、テレビ画面と同様な映像(拡大像)を得る顕微方式である。従って、その構成も従来のTEMとテレビのようなディスプレイ装置を組み合わせた形となっている。通常SEM像はブラウン管の像をカメラで撮影して得られる。SEMの倍率は、試料上の走査幅とブラウン管(CRT)画面幅(又は、最終印画幅)との比で決まる。通常10倍から10万倍程度まで連続可変となっている。原理的に、焦点及び画面の明るさは倍率によって変化しない。

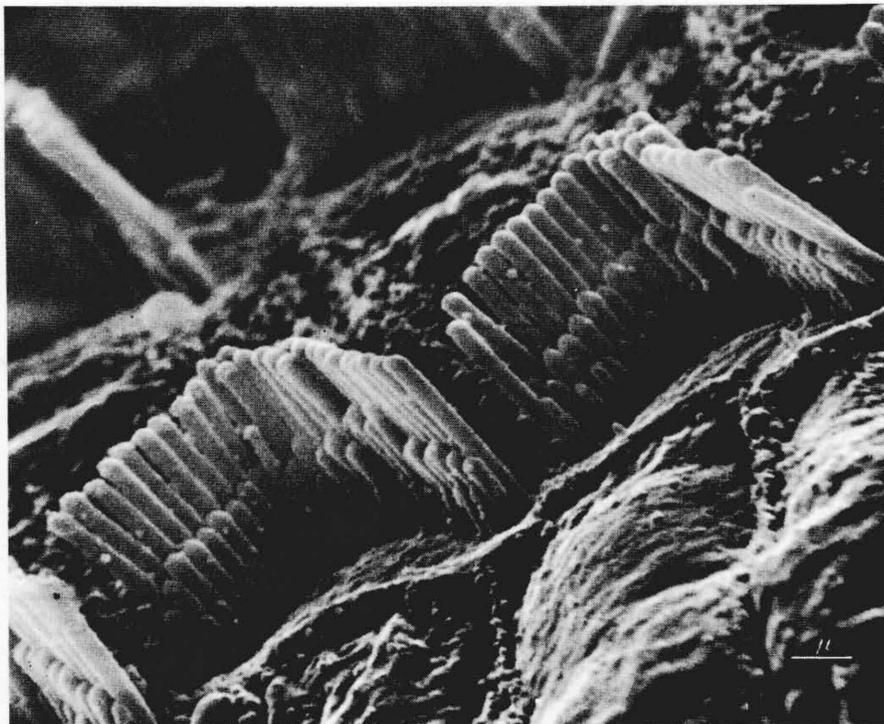


図1 ネコ蝸牛内毛細胞の聴毛(帝京大学医学部 星野知之氏提供による) パイプオルガンのように見えるのが聴毛の一部である。

Fig. 1 Sensory Hair Bundles of Outer Hair Cells of the Organ of Corti (in the Cat)

試料上を走査する電子プローブは二次電子を発生する。この二次電子量は、試料面の凹凸に応じて変化しているので、これが映像信号として利用される。

一般に、100Å程度、あるいはそれ以下の高分解能像を得ようとするときは、プローブ電流は $10^{-11} \sim 10^{-12} \text{A}$ にしなければならず、従って良い像質(コントラストとS/N比)を求めようとするれば、1枚のSEM像を得るのに50~100秒を必要とする。

現在、一口にSEMといっても多種多様であって、光学顕微鏡と並ぶ卓上形から、価格上から高級なTEMをはるかに上回るものまである。図3は、その大まかな分類と特長をまとめたものである。図4は、生物学者に最も人気のあるフィールドエミッション電子銃を用いた、日立走査電子顕微鏡HFS-2S形の外観を示すものである⁽²⁾⁽³⁾。フィールドエミッションを利用した電子銃はシカゴ大学のCrewe⁽⁴⁾⁽⁵⁾教授によって開発されたものであるが、従来の熱電子銃に比べて輝度が極めて高く、また加熱を要しないので、電子源として理想的に近く、SEMの分解能を飛躍的に向上させた。また、この分解能向上は、医学・生物学的な微細構造の観察に大きな刺激を与えることになった。

4 SEMのための生物試料作製技術

前述したように、試料作りが簡単なことはSEMの特長の一つである。しかし、いかに簡単といっても、それなりの問題点も存在する。その主な点は次の3点である。

- (1) 微細構造をいかにうまく保存しながら試料を乾燥させるか。
- (2) 観察しようとする個所を、いかにして剖出するか。
- (3) 非導電性の生物試料のチャージ(帯電)をいかにして防ぐか。

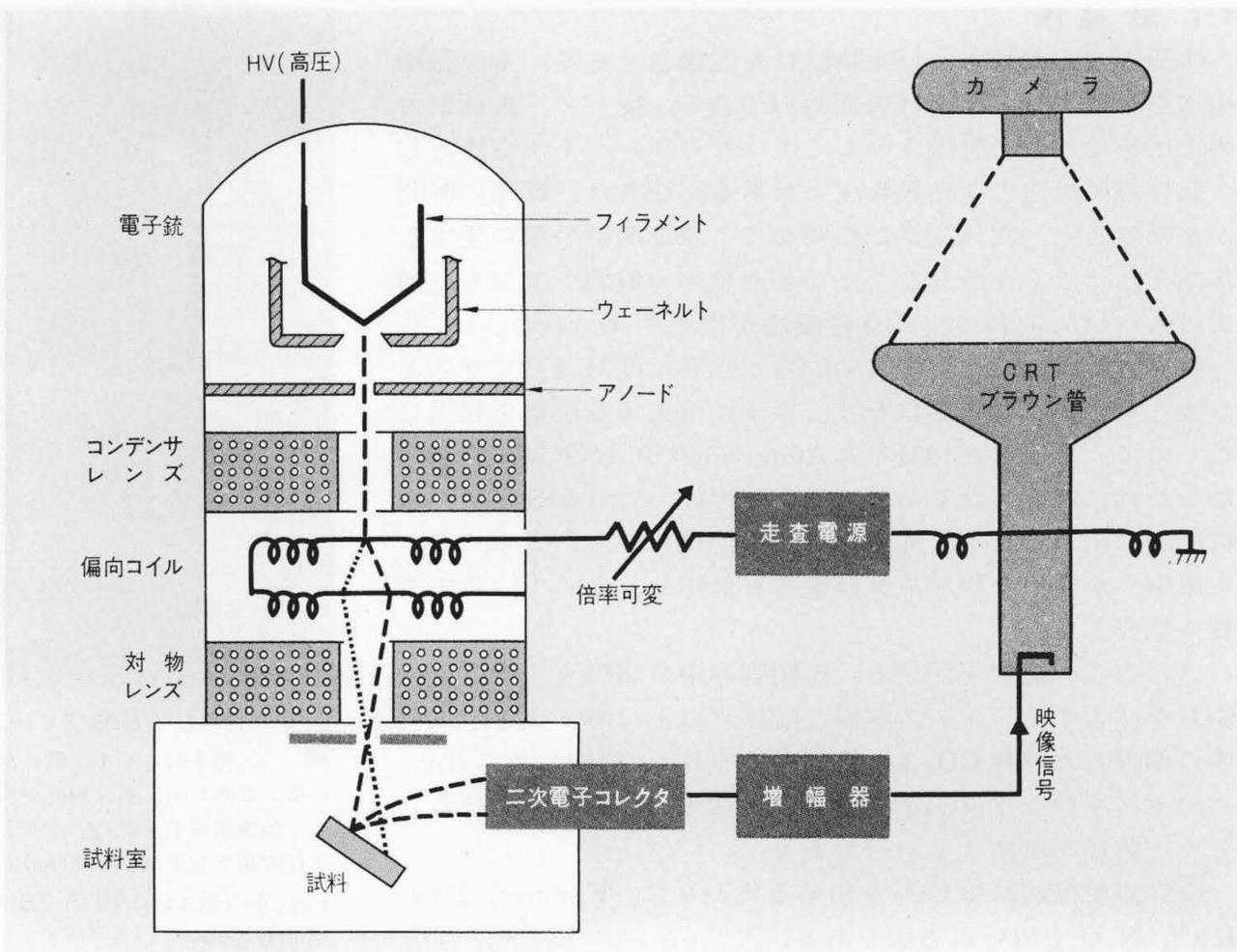


図2 SEMの原理 SEMの一般的なシステムを示す。

Fig. 2 Principle of Scanning Electron Microscope

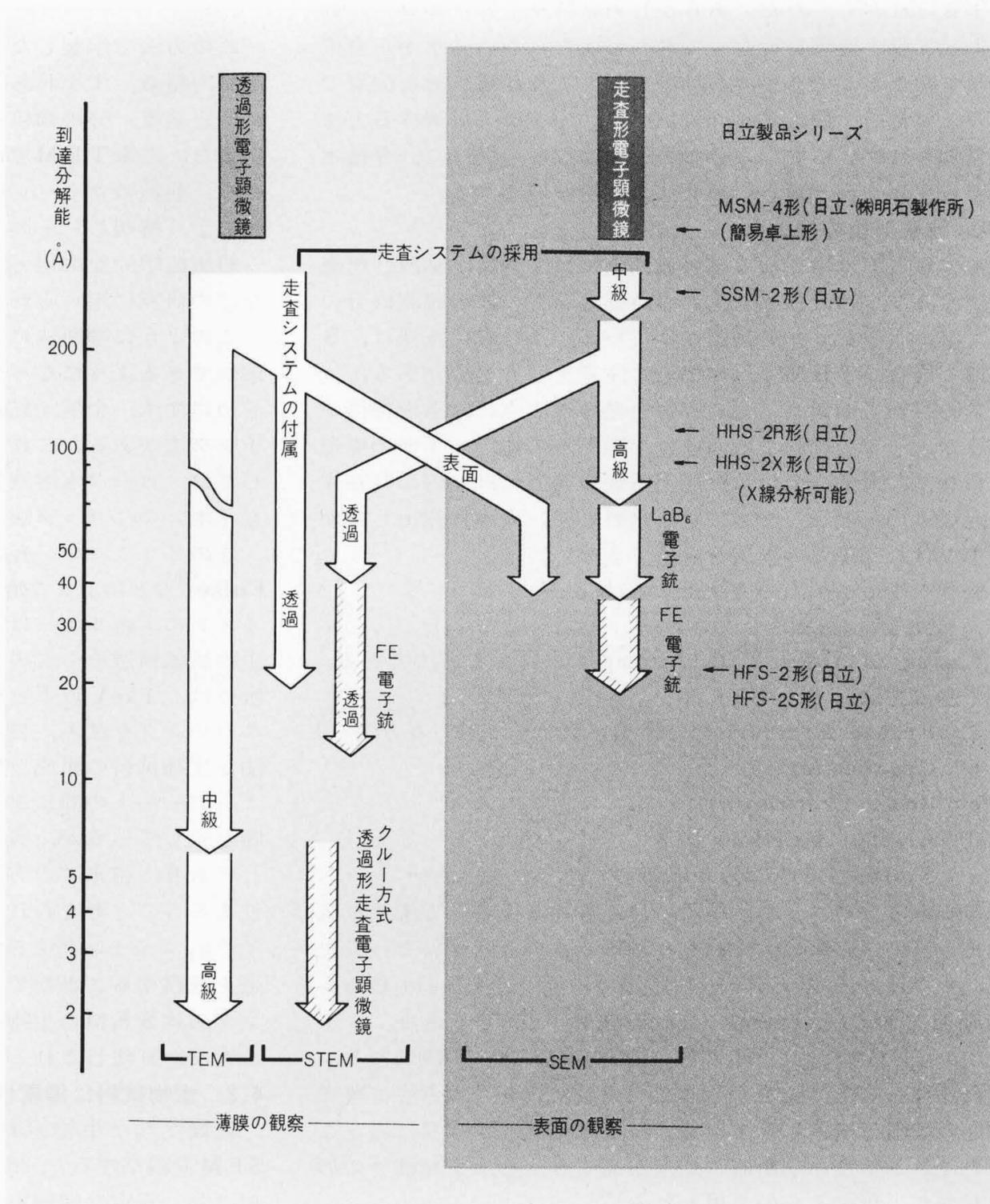


図3 電子顕微鏡の分類 TEMとSEMとの分解能の関係を示す。

Fig. 3 Electron Microscopes and Their Resolutions

4.1 乾燥法

水分を含んだ軟らかい生物試料を乾燥させる際、その微細構造をひずませる原因は表面張力である。従って、表面張力の作用をなくして乾燥させなくてはならない。その方法として臨界点乾燥法と凍結乾燥法とがある。後者は、乾燥に時間がかかること、液体窒素が必要なこと及び凍結の際に生ずる氷晶を防ぐことが厄介なことなどのため一般的ではなく、通常はもっぱら前者の臨界点乾燥法が使用されている。

臨界点乾燥法は、炭酸ガスCO₂が臨界温度31.4°Cでガスとも液ともつかない状態になり、界面が消失する現象を利用したもので、もともと1951年にAnderson⁽⁶⁾が、SEM試料の乾燥のために考案したものである。その後、これがSEMの試料作製に用いられて、非常な好結果が得られた⁽⁷⁾⁽⁸⁾。我が国でも田中⁽⁹⁾が簡単な臨界点乾燥装置を製作し、その方法の優秀性を紹介した。

この方法の概要を記すと、密閉容器中に試料を入れ、液状CO₂を注入する。次いで容器を臨界点以上に熱すると、試料中に滲透した液体CO₂も、容器中のそれも、同時にガス化し、このガスを徐々に噴出させると、界面張力の影響を受けることなく乾燥を終結するわけである。

臨界点乾燥法にはCO₂を用いる代わりに、Freon⁽¹⁰⁾, Dry Ice⁽¹¹⁾, N₂O⁽¹²⁾を用いる方法もある。

この臨界点乾燥法は、SEMの試料作りに大きな威力を発揮するけれども、ただ、あらかじめ試料を上昇アルコール列によって脱水処理を行っておかねばならない。水から直接乾燥することができないわけである。これが残された欠点であるといえる。最近Freon 22を用いてそれから乾燥する方法も発表されているが、十分な方法ではない。従って、今後水とよく混じり合う新しい媒介液の開発が望まれる。

4.2 観察部位の剖出

生体から取り出される試料表面上には、通常、粘液、組織液、血液などの液体成分、あるいは血球その他の細胞成分のコンタミネーションで被覆されている。これらの洗浄は、SEMの場合、TEMに比べ相当に注意を払う必要がある。

SEMが表面観察にその威力を発揮する点に大きな特徴があるが、一方で細胞の表面には、繊毛その他、わずかの構造しかなく、大部分の生体機能上重要な装置は細胞内に存在する。従って、どうしても細胞を切断して、表面に露出してからでなければ多くの構造を観察できない。

細胞内構造の剖出の方法としては、

(1) 刃物で切る方法

Tissue Sectionner⁽¹⁴⁾, Bibratome⁽¹⁵⁾などによる方法である。

(2) 割る方法

(a) Freeze Fracture⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾した標本を乾燥して用いる方法

(b) Cryofracture⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽²¹⁾法

(c) Resin Cracking⁽²²⁾⁽²³⁾法

(d) Alcohol Cracking⁽²⁴⁾法

(e) Styren Resin Cracking⁽²⁵⁾法

などがある。このうち、結果の良いものは後の三方法である。これら三つの方法は、それぞれ割るときの温度が異なっている。すなわち、(e)のStyren樹脂法は常温、(c)のResin Crackingは-30°C、Alcohol Crackingは-160°Cである。

しかし、いずれにしても組織を媒体に包埋し、刃物で割り、後に媒体を溶出、除去する点で一致している。本方法は現在研究室段階で試みられており、将来はだれもが容易に扱うことのできる精密な切断器の要求が高まろうし、また種々の形のものが出現するものと思われる⁽²⁶⁾。

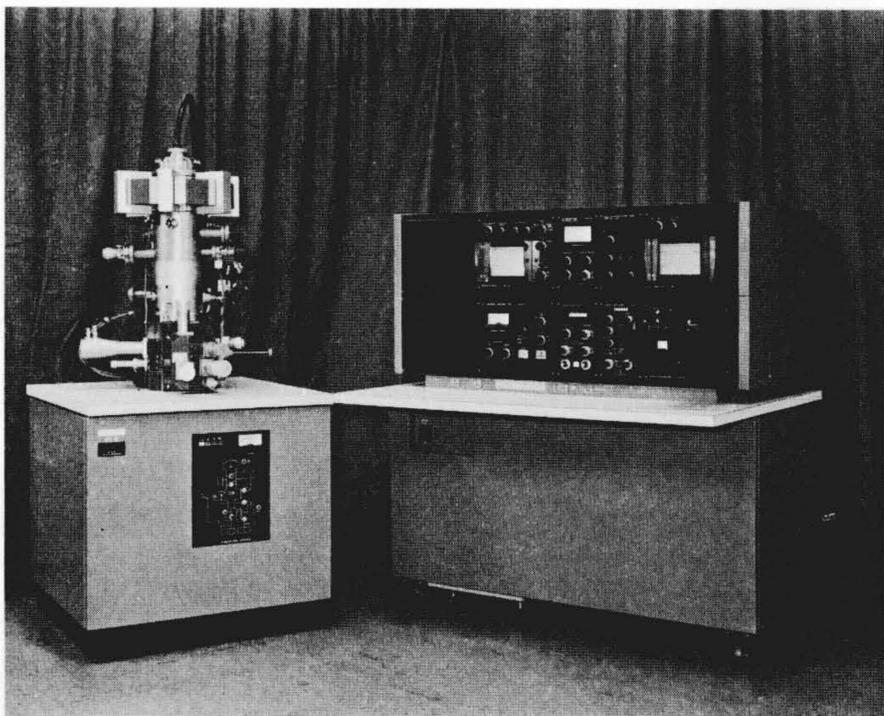


図4 HFS-2S形フィールドエミッション形高分解能走査電子顕微鏡 電子銃として、電界放射による冷陰極タングステンチップを使用している。このため、高分解能が得られると同時に、電子銃の寿命は半永久的である。加速電圧0-25kV、分解能30Å(鏡体部(左)高さ170cm、幅74cm ディスプレイ部(右)高さ120cm、幅120cm)

Fig. 4 Hitachi HFS-2S Field-emission Type Scanning Electron Microscope

この方法で作製した試料によって、TEMで見られている細胞内組織、すなわち細胞核、ミトコンドリア、小胞体、ゴルジ装置⁽²⁷⁾、分泌顆粒なども観察することができる。

また、従来TEMでは明らかにし得なかった休止核内染色糸を、前述のフィールドエミッション形SEMで観察することにより⁽²⁸⁾解明し、その二重らせん構造を明らかにした。また、一般組織学的な応用としては、内耳⁽²⁹⁾、甲状腺⁽³⁰⁾、軟骨及び背髄⁽³¹⁾などの研究に用いられて成果を上げている。

このように切断法によって、細胞内構造のSEMによる観察ができるようになったが、別の手段として注目されているものに従来、金属や鉱物の分野で用いられていたイオンエッチング法がある。これまで生物試料に対するエッチング法としては、ヨード水溶液による方法が行なわれたが、これよりもイオンエッチング法のほうがよい結果を与えるようである。

このイオンエッチング法の生物学的な応用は、Lewis⁽³⁴⁾、Fulker⁽³⁵⁾などによって始められた。しかし、これらのエッチングイオンのエネルギーは高く、エッチング固有のパターンと、生物組織構造そのものとの判別が難しかったが、最近、藤田⁽³⁶⁾、永谷は、1 keV以下という極く低いエネルギーによるイオンエッチングを試み、良い結果を得ている。イオンエッチング法が生物試料の組成、構造密度、——膜構造や原形質などによる差——との間にどのような関係があるか、まだ多くの問題を残しているが、実験例は、幾つかの興味あるデータを示しており、将来この方法の生物学応用の成功は、極めて可能性あるものと考えられる。事実、前述の切断した試料表面にイオンエッチング法を応用してみたところ、容易に細胞内構造を観察することができた(図5)。今後、このイオンエッチング法はSEMの生物試料作製法の一つとして、多くの研究が行なわれ注目されることであろう。

4.3 生物試料に導電性を付与

乾燥された生物試料は一般に非導電性であり、そのままSEMで観察すると、試料表面に帯電現象(チャージアップ)が起こり、安定な像観察ができない。従って、検鏡する前に真

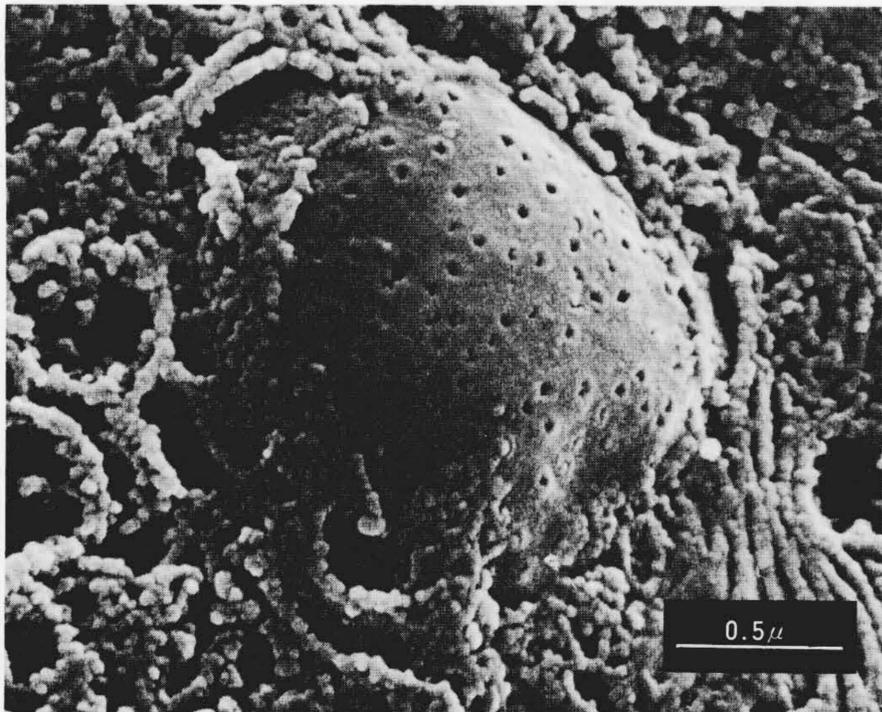


図5 膵臓外分泌細胞の核 表面に多くの核孔が見られる。樹脂割断後、イオン エッチングしたものを示す。

Fig. 5 Nucleus of a Pancreatic Acinar Cell from a Dog (Ion Etched After Frozen Resin Cracking)



図6 導電染色法によるラットの気管 (試料は岡山大学医学部助教授村上宅郎氏提供による) 適当な導電材を試料自身にしみ込ませたものである(20kV)。

Fig. 6 Inner Surface of Trachea(rat)—“Conductive Staining” Taken at 20kV

空蒸着装置によって、金、白金、金-パラジウムなどの重金属を薄く蒸着する。この金属蒸着は、単に帯電防止に役立つのみならず、二次電子放出を高めて像を明るくし、また電子線によるダメージを防ぐ役目も果たしている。

しかし、凍結した試料をどうしても直接観察したい要求があるときは、前述の金属蒸着を行わず、帯電が安定している数キロボルトの低加速電圧でSEM観察を行なうことも可能である。しかし、この方法では通常のSEMでは高分解能が得られない。

一方、100Å以上の高分解能SEM像を得ようとするとき先の金属蒸着法による場合でも、蒸着膜自身の微細構造が観察の邪魔をすることも十分注意しておく必要がある。

生物試料に導電性を与える他の巧妙な方法は、生物試料の乾燥前に、適当な導電剤を試料自身に滲透させる方法である。⁽³⁸⁾この「導電染色法」ともいふべき方法は、最近我が国においても村上、渡部らのタンニン酸オスミウムを用いた例が報告され注目された⁽³⁹⁾ (図6)。

また、細菌やバクテリアなどの微生物は、走査電子ビームが透過できる大きさである場合、試料保持台にアルミニウムや炭素などの導体転元素材を用いることによれば、帯電現象が起こらず、10万倍程度の高倍率像が金属蒸着や特別な導電処理を行なわないでも得られることが、永谷、斉藤らによって報告されている⁽⁴⁰⁾ (図7)。

以上のように、SEM出現時余り大きく期待されていなかった、高分解能SEM像に対するアプローチも活発に行なわれるようになってきている。

5 走査電顕の生物学的な応用及びその展望

4の中でも若干触れているが、SEMの生物学的な応用は既に数多く、筆者らが関心を持つ幾つかの方向について考えてみたい。

まず第一には、SEMの焦点深度が大きく、ステレオ像として立体的な構造が把握しやすいことを利用して、顕微解剖的な方面への応用である。例えば、膵臓の血管壁の構造とか、

その経過など⁽⁴¹⁾、又はリンパ腺内部の構造などを立体的に観察し、従来、TEMでは想像的にしか表わされなかったものをありのままに見せようとする行き方がある。また、技術的にまだ困難な問題は多いが、ステレオ像を観察しつつマイクロ マニプレータを操作して、思いどおりの顕微解剖を行なうことも将来の大きな課題であろう。

また、血管に樹脂を注入して、組織内の微細な血管のつながりを知ろうという方法もある。⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾

このような研究は比較的倍率でよいから、SEMの長焦点の特徴を利用することができ、将来大いに利用され得る領

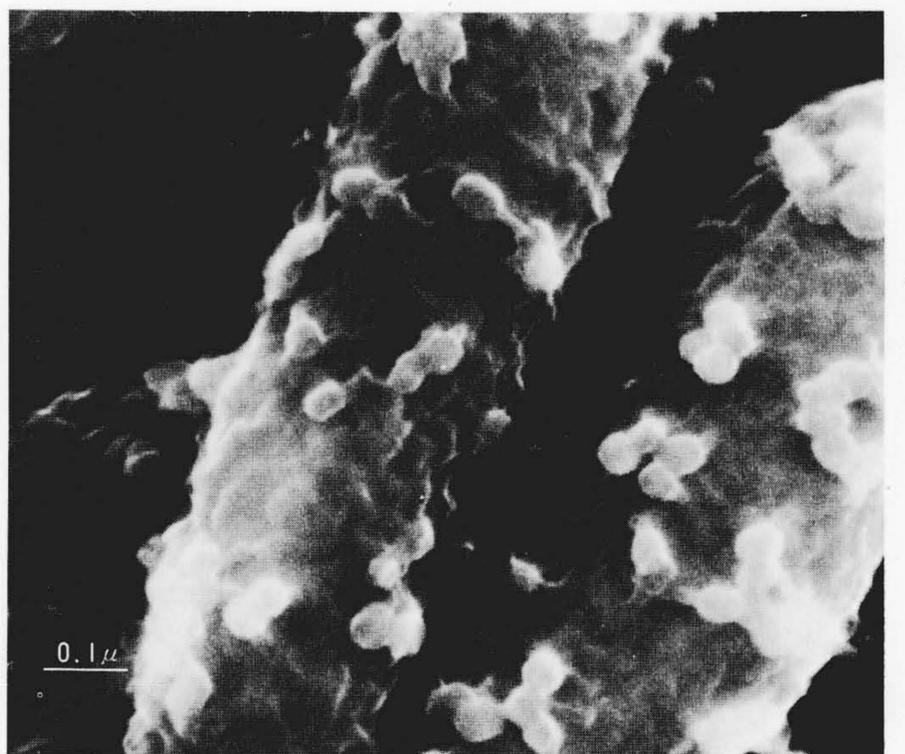


図7 無蒸着法によって撮影したバクテリオ ファージ 大腸菌に吸着したT4ファージ、臨界点乾燥法、加速電圧25kV、試料保持Al板を使用したもので特別な導電法は行なわない(試料は福岡大学医学部教授天見和暢氏提供による)。

Fig. 7 T4 Phages Adsorbed on E. Coli Cell (Taken by Hitachi HFS-I SEM at 25kV, Non-coated Preparation)

域である。

一方、生の試料を見ようという試みも行なわれており、この生のものを見るという点ではTEMよりSEMのほうが可能性が大である。例えば、カビ類胞子を冷凍状態で観察し、その後培養環境において発芽させ、再び観察することに成功している⁽⁴⁵⁾。これは孢子という特殊な状態の生物に過ぎないが、今後はいろいろな生物において試みられるであろう。

もう一つの方向は、できるだけ高い分解能で、しかも立体的に生物試料を見ようとするものである。すなわち、細胞内構造など、従来はTEM像の再構築によって得られた像を直接観察し、細胞組織内各器官の各要素の構造や、機能的つながりを見ようとするものである。

6 結 言

以上、SEMは原理的にもTEMより分解能が劣り、細胞内微細構造の探究には不利な面が多いが、前述のようにフィールド エミッションSEMの開発と、そのソフト技術の進歩によりかなり微細な領域まで研究できる見込みが立っている。例えば、デオキシリボ核酸(DNA)から成る染色体の二重らせん構造⁽²⁸⁾、バクテリオファージの立体構造⁽⁴⁶⁾、ウィールス⁽⁴⁷⁾などの観察も可能になっている。

より微細なものを見たいと思うのは、形態学者の本能であるから、高分解能SEMの領域はやはりSEMとして主流を行くものと考えられる。

なお、マイクロ観察した部分について、よりいっそうの情報を得るために、発生したX線を利用するマイクロ分析⁽⁴⁸⁾、また走査ビーム形像というSEMの手法を、切片に応用した透過形走査電子顕微鏡(以下、TSEMと略す)も、SEMとは切り離せない主要なテーマであるが、本稿では割愛した(図3参照)。

以上、SEMの現在までの活躍領域について触れたが、今後もSEM人口が、簡便高分解能SEMの出現とともにますます拡大するにつれて、これら各方面の研究は飛躍的に増大するものと思われる。

参考文献

- (1) 永谷, 「走査電子顕微鏡——その原理と当面する問題」, 色材協会誌, 45, 260 (1972)
- (2) 木村, 「フィールド・エミッション形走査電子顕微鏡の現状と将来」, The Hitachi Scientific Instr News 15, No. 5, 2 (1973)
- (3) 齊藤ほか: 「日立HFS-2形電界放射形超高分解能走査顕微鏡」, 日立評論 56, No. 3, 55 (1974)
- (4) A. V. Crewe, J. Wall: J. Appl Phys, 39, 13, 5861 (1968)
- (5) A. V. Crewe et al: Rev. Sci Instr, 41, 20 (1970)
- (6) T. F. Anderson: Trans. N.Y. Acad. Sci., Ser. II, 13, 130 (1951)
- (7) G. A. Horrige and S. L. Tamm: Science, 163, 817 (1969)
- (8) A. Boyde and C. Wood: J. Microscopy 90, 221 (1969)
- (9) K. Tanaka: J. Electron Microscopy 21, 153 (1972)
- (10) A. L. Cohen et al: J. Microscopie 7, 331 (1968)
- (11) K. Tanaka and A. Iino: Stain Technol. (1974) in press
- (12) T. Koller and W. J. Bernard: J. Microscopie 3, 589 (1964)
- (13) R. H. Turner and C. D. Green: J. Microscopy 97, 357 (1973)
- (14) T. Makita and E. B. Sandborn: Exptl. Cell. Res. 67, 211 (1971)
- (15) T. Makita: Acta histochem. cytochem, 6, 11 (1973)
- (16) A. Boyde and C. Wood: J. Microscopy 90, 221 (1969)
- (17) L. T. Germinaro and J. H. McAlear: Stain Technol., 46 249 (1971)
- (18) W. J. Humphreys and T. J. Wodzicki: Proc. 30th Ann. Meet. EMSA 238 (1972)
- (19) C. H. Haggis: Proc IITRI/SEM, Chicago 99 (1970)
- (20) D. J. Lim: Proc. IITRI/SEM, Chicago 297 (1971)
- (21) M. K. Nemanic: Proc. IITRI/SEM, Chicago 297 (1972)
- (22) K. Tanaka: Naturwiss. 59, 77 (1972)
- (23) W. J. Humphreys et al: J. Cell. Biol., 56 876 (1973)
- (24) 浜野他, 第29回日本電子顕微鏡学会講演予稿集 91, (1973)
- (25) J. Electron Microscopyに投稿中
- (26) 田中; 日本電顕学会会報 57 (1973)
- (27) K. Tanaka and A. Iino: Proc 30th Ann. Meet. EMSA, 408 (1973)
- (28) K. Tanaka and A. Iino: Exptl. Cell. Res. 81, 40 (1973)
- (29) T. Tanaka et al: Proc. IITRI/SEM, Chicago, 428 (1973)
- (30) S. Kobayashi: Arch. histol. jap. 36, 107 (1973)
- (31) K. Tanaka: Arch. histol. jap. 36 281 (1973)
- (32) K. Ohtsuki: Arch. histol. jap. 34 405 (1972)
- (33) B. J. Panessa and J. F. Gennaro Jr.: Proc 30th Ann. Meet. EMSA 208 (1972)
- (34) S. M. Lewis et al: Nature, 220, 614 (1968)
- (35) M. J. Fulker et al: Proc. IITRI/SEM, Chicago, 379 (1973)
- (36) T. Fujita and T. Nagatani et al: Arch. histol. jap. 36, 195 (1974)
- (37) T. Nagatani and M. Saito: Proc. IITRI/SEM, Chicago 51 (1974)
- (38) M. A. Goldman: Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A, 70, I, 3599 (1973)
- (39) 渡部・村上: 日本電顕学会第30回学術講演会予稿集 190 (1974)
- (40) 永谷ら: 日本電顕学会第30回学術講演会予稿集 191 (1974)
- (41) M. Miyoshi and T. Fujita: Arch. histol. jap. 33, 225 (1971)
- (42) T. Fujita and M. Miyoshi et al: Z. Zellforsch, 133, 147 (1972)
- (43) T. Murakami et al: Arch. histol. jap. 33 179 (1971)
- (44) H. Fujita and T. Murakami: Arch. histol. jap. 36 181 (1974)
- (45) 徳永ほか: 日本電顕学会第29回学術講演会予稿集, 111 (1973)
- (46) K. Amako et al: J. Electron Microscopy, in press
- (47) 俵ほか: 日本電顕学会第30回学術講演会予稿集, 103 (1974)
- (48) 渡部・永谷: 生物学におけるエネルギー分散形X線分光法について, 細胞 6(2), 53; 同6(3), 75 (1974)