

走査型プローブ顕微鏡 SCANNING PROBE MICROSCOPE

SPMによる断面観察 SPM Observation of a section

試料の断面を観察することは、その表面の特性を更に理解する為や、内部構造を調べることに日常よく使われていますが、走査型プローブ顕微鏡（以下SPM）を用いて、生体の組織について断面観察を試みましたので、ご紹介致します。試料として、最近注目されているカツオ（回遊魚）の耳石^{しせき}を取り上げました。

一般に、断面を顕微鏡で観察する場合には、試料の前処理が必要となります。試料をカットしたり、試料を包埋して断面を切り出した後、そのまま観察する場合や、研磨あるいはエッチングを行って観察するなど、その目的に合わせて処理を行います。SPMの場合も、同じように前処理が必要ですので、その手法や注意点などについても述べます。

■カツオ耳石の断面観察

Observation of a section of otolith increments of skipjack tuna.

カツオやマグロなどの回遊魚は、赤道近くから日本近海まで大回遊するものが多く、高度回遊性魚類と呼ばれています。これらの魚類の生態系を調べることは、資源動向の把握と管理という意味で、近年重要な役割を果そうとしています。中でも、回遊動向とその成長については不明な点が多くあり、最近の水産分野では、耳石の日周輪を解析することで新たな知見を得ようとしています。

耳石に生ずる輪紋は、SEMや光学顕微鏡により日輪であることが推定されており、その輪紋間隔や輪紋数などを調べることで、その生態にアプローチします。

今回、カツオの輪紋についてSPMを使って観察することを試み、輪紋観察に有用であることが確認されました。Fig.1に、30cm級のカツオから得た耳石の、中心部断面の輪紋像を示します。年輪に似たリング状と放射状に伸びる直線が、成長の痕跡を示しています。

Fig.2に、断面のプロファイル表示を示しています。従来の顕微鏡では、二次元的な画像であるために、その輪紋間隔や数の観測だけに留まっていますが、SPMでは三次元の情報をもっていることから、プロファイル表示で更に詳細な形状が見え、一日の中での成長の変化も観察されています。

Fig.3に輪紋の周辺部のパノラマ観察例を示します。三枚のデータを合成して広いエリアを得ています。

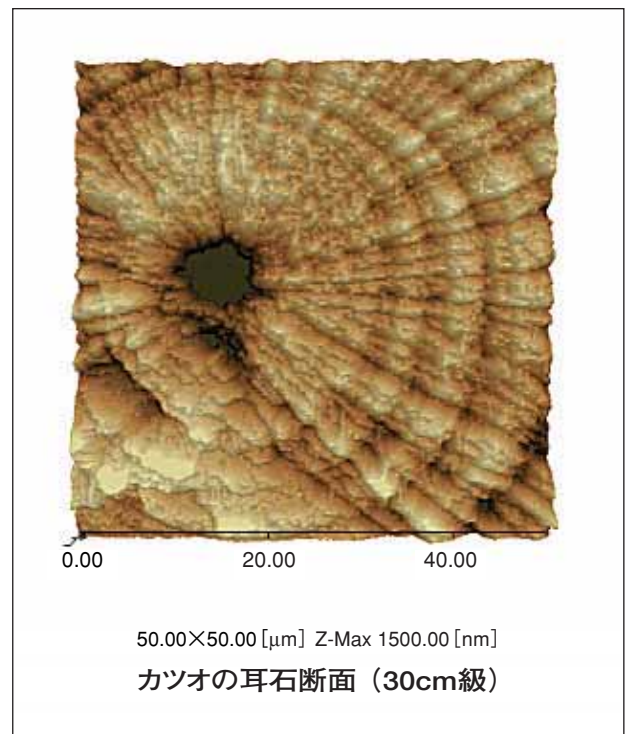


Fig.1 輪紋像
An Image of daily lings.

■前処理について

SPMの垂直分解能（0.1nm）が良いことは、この顕微鏡にとって大きな特徴となっていますが、断面を観察する場合には、特別に配慮しなければなりません。つまり、他の顕微鏡と比較して空間分解能、特に垂直分解能が良く、前処理の切断キズや研磨キズを見ることになりかねません。従って、観察する組織に影響を及ぼさないように、観察断面を研磨して平面度を上げねばなりません。今回は、その最終仕上げにラッピングテープ#6000を使用いたしました。

一方、研磨が完璧で平面に仕上がっていれば、断面に組織の凹凸差が付かないために、結果として見たい組織が見えないことになります。つまり、平面すぎても組織が見えない訳で、ここではケミカルエッチングを用いて、試料の研磨後に組織の凹凸を出し、そのエッチング面をAFM観察しています。エッチング液には、燐酸水溶液（10%）を用い、エッチングの量は、他の顕微鏡で観察するのと比べて少しく（1秒以下）過度のエッチングによる組織のダメージを最小限にしています。水洗後に乾燥させて前処理は完了です。SEMに必要な金属のコーティングは不要です。

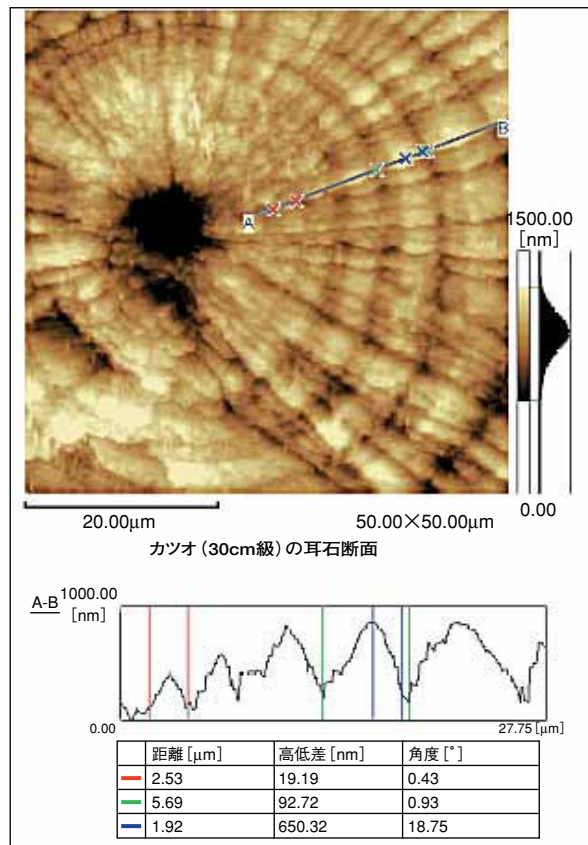


Fig. 2 輪紋のプロファイル表示
Profile Analysis of dailylings

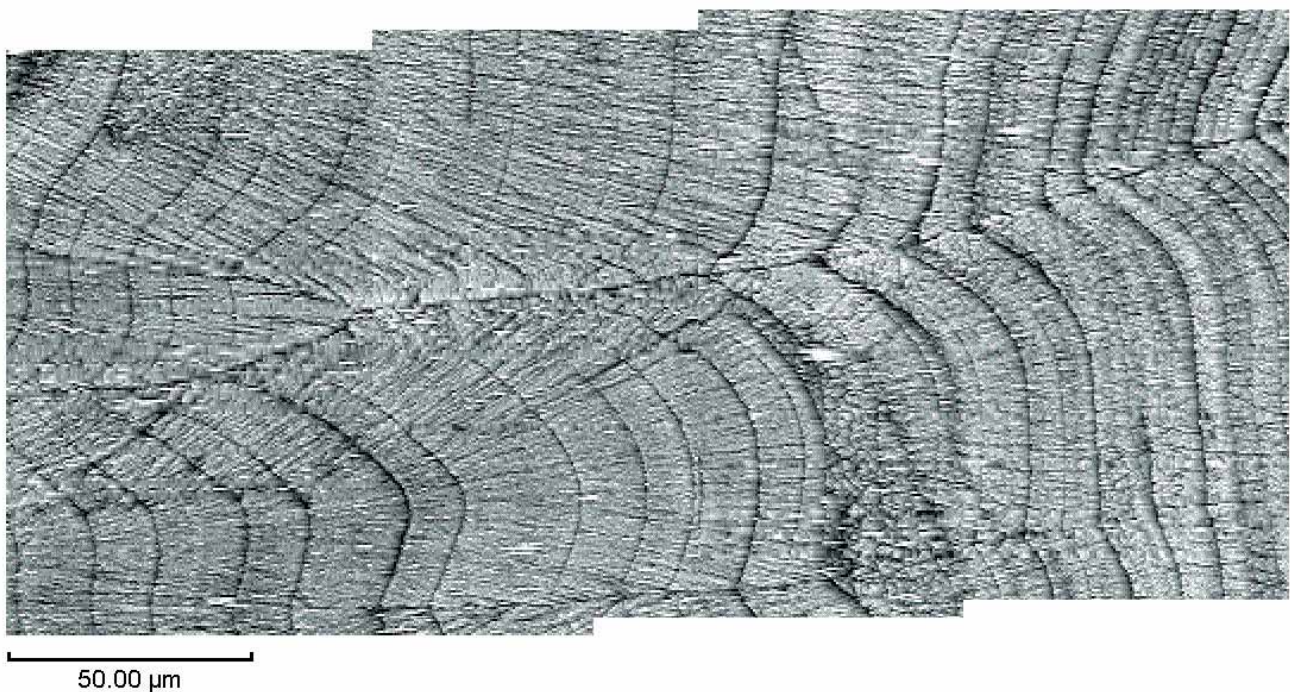


Fig. 3 輪紋のパノラマ像
An Panorama image of daily lings.

●本稿を作成するにあたり、水産庁東北区水産研究所の田邊智唯様のご指導をいただきました。

島津製作所

表面・半導体機器部

●カスタマーサポートセンター 259-13 神奈川県秦野市堀山下380-1 ☎(0463) 88-8680

SHIMADZU CORPORATION
INTERNATIONAL MARKETING DIVISION

3, Kanda-Nishikicho 1-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 1018448, Japan
Phone : (03) 3219-5641 FAX : (03) 3219-5710
Cable Add. : SHIMADZU TOKYO