



2026年 1月 13日

化学固定剤を使わない「水凍結乾燥法」による生物試料の SEM 観察に成功 ～従来の常識を覆す、シンプルかつ高精度な電子顕微鏡試料調製法を開発～

2025年12月、島根大学大学院自然科学研究科の石田秀樹准教授らの国際共同研究グループは、走査電子顕微鏡 (SEM) 観察において、化学固定剤を一切使用せず、水のみを用いた凍結乾燥法によって微細構造を良好に保存した生物試料を観察可能にする新手法を開発し、国際学術誌『Scientific Reports』に論文が掲載されました。

1. 研究の背景: 従来の試料作製が抱える課題

走査型電子顕微鏡 (SEM) は、生物の外部形態を高解像度で観察するための不可欠なツールです。しかし、ゾウリムシ (原生動物) などのデリケートで軟らかい細胞を観察する場合、試料作製に大きな問題がありました。

従来の作製法、特に化学固定やアルコール脱水は、細胞を萎縮させたり、微細な構造 (繊毛など) を破壊したりする人工的な構造変化 (アーティファクト) を引き起こします。また、水をそのまま凍結乾燥する手法は、氷晶による細胞構造損傷の可能性があるため、一般的に不適切とされてきました。

2. 研究成果: 低コスト・高精度を実現した新プロトコル

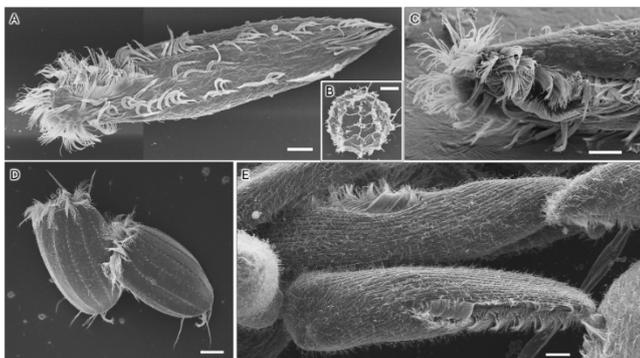
本研究では、従来の常識を覆し、「水凍結乾燥」の凍結プロセスを大幅に最適化しました。

- **急速凍結の標準化:** 生きた細胞の懸濁液を、 -80°C に冷却した銅ブロックに PVC ガイドチューブを介して正確に接触させ、急速凍結する手順を標準化しました。

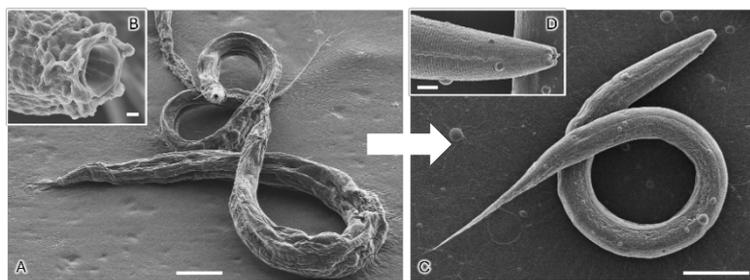
- **成功率と時間効率の飛躍的向上:** アーティファクトのない試料を得る成功率は、従来の約 10% から大幅に向上しました。

さらに、凍結から乾燥完了までの所要時間がわずか 2~3 時間に短縮されました。

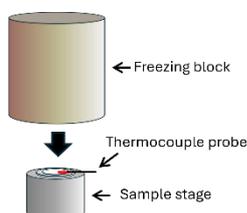
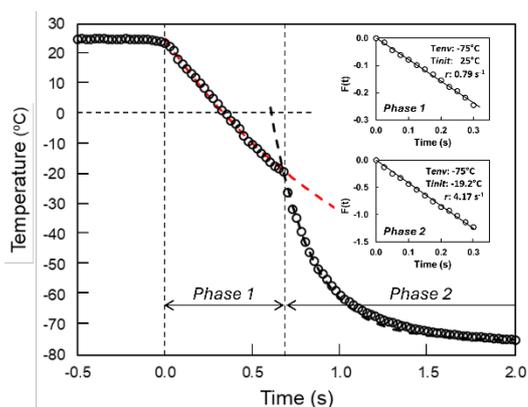
これにより、特殊なクライオ設備がなくても、ドライアイスと汎用真空ポンプを使うことで低コストかつ迅速に、極めて正確な外部形態の観察が可能となりました。



【図 1: アーティファクトのない高解像度 SEM 画像】
化学固定なしで作製された淡水性繊毛虫の画像。繊毛の同期的な動き(メタクロナル波)も良好に保存されています。



【図 2: 応用範囲を拡大する「二重凍結法」】
線虫 (*C. elegans*) のような多細胞生物では、通常の水凍結乾燥を行うと体表にシワが発生します。これに対し、急速凍結した後、化学固定液で構造を安定化させ、再度凍結乾燥を行う「二重凍結法」を開発。これにより、体表の収縮を最小限に抑え、滑らかな形態の観察に成功しました。



【図 3: 試料凍結時の温度変化】
水の凍結過程における温度変化を精密に測定した結果、 -80°C に冷却された銅ブロックに接触した水は 0°C に達してもすぐには凍結せず、過冷却状態を維持することが確認されました。その後、急速な凍結が起こり、温度は 0°C に戻ることなく急激に低下しました。この現象は、水凍結乾燥法において氷晶形成を抑制するメカニズムの鍵を握っている可能性が示唆されました。

3. 今後の展望

本手法は、特別なクライオ設備を持たない研究室でも利用可能であり、形態学研究における試料作製時間を短縮し、観察の精度を飛躍的に向上させ、細胞生物学や分類学などの幅広い生命科学分野に貢献すると期待されます。

【論文情報】

雑誌名: Scientific Reports

論文タイトル: Artifact-free preparation of biological samples for SEM by optimized water freeze-drying

著者: Hideki Ishida¹, Naoya Fukuda¹, Maho Shimada¹, Kousei Yamamoto¹, Liudmyla Gaponova^{2,3}, Rina Higuchi⁴, Andrii Kolosiuk^{2,5}, Ryo Hoshina⁶, Mikihiro Arikawa⁷, Yasuhiro Fukuda⁸, MD Shafiq Islam⁹, Terue Harumoto¹⁰, Yumeng Wan^{11,12}, Toshiki Itoh^{12,13}, Yoko Inai¹⁴, Asuka Takeishi², Hitoshi Aonuma², Takuto Kikuchi², Shijo Nishigori¹⁵, Tadashi Maruyama¹⁶, Kenichi Ikeda¹⁷, Hideyuki Iriko¹⁸, Toshinobu Suzuki²

¹ 島根大学大学院自然科学研究科 ² 神戸大学大学院理学研究科 ³ Laboratory of Preservation and Renewal of Biodiversity, Institute for Evolutionary Ecology of the National Academy of Sciences of Ukraine ⁴ 甲南大学理工学部 ⁵ Laboratory of Radiation Technology, Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Ukraine, ⁶ 長浜バイオ大学, ⁷ 高知大学理工学部, ⁸ 東北大学大学院農学研究科, ⁹ Ansar/VDP Training Center, Dhaka, Bangladesh, ¹⁰ 奈良女子大学, ¹¹ 神戸大学大学院医学研究科, ¹² Xiangya School of Basic Medical Sciences, Central South University, China, ¹³ 神戸大学バイオシグナル総合研究センター, ¹⁴ 和歌山県立医科大学, ¹⁵ 島根大学総合科学研究支援センター, ¹⁶ 北里大学海洋生命科学部, ¹⁷ 神戸大学大学院農学研究科, ¹⁸ 神戸大学大学院保健学研究科

掲載日: 2025年12月10日 (Published: 10 December 2025)

論文 URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-30335-4>

【研究に関するお問い合わせ先】

島根大学大学院 自然科学研究科 石田 秀樹 (Hideki Ishida) 准教授

E-mail : h-ishida@life.shimane-u.ac.jp

【報道に関するお問い合わせ先】

島根大学 企画部 企画広報課 広報グループ

TEL : 0852-32-6603 E-mail : gad-koho@office.shimane-u.ac.jp

神戸大学 総務部 広報課

TEL : 078-803-5106 E-mail : ppr-kouhoushitsu@office.kobe-u.ac.jp

甲南学園 広報部

TEL : 078-435-2314 E-mail : kouhou@adm.konan-u.ac.jp

長浜バイオ大学 アドミッション・オフィス 広報担当

TEL : 0749-64-8100 E-mail : kouhou@nagahama-i-bio.ac.jp

高知大学 広報・校友課 広報係

TEL : 088-844-8643 E-mail : kh13@kochi-u.ac.jp

東北大学 大学院農学研究科 総務係

TEL : 022-757-4003 E-mail : agr-syom@grp.tohoku.ac.jp

奈良女子大学 総務課 広報・基金係

TEL : 0742-20-3220 E-mail : somu02@jimmu.nara-wu.ac.jp

北里大学 海洋生命科学部事務室

TEL : 042-778-7905 E-mail : kaiyo@kitasato-u.ac.jp