

### マイクロトーム

#### 1 はじめに

マイクロトームは、特殊なナイフを用いて生物、ポリマー、金属、無機材料および複合材など様々な材料に対して、平滑な切削断面や非常に薄い切片を作製する前処理装置である。マイクロトームにより作製した断面試料および薄片試料は、光学顕微鏡や電子顕微鏡などの顕微鏡観察および赤外分光やラマン分光分析などに用いられている。マイクロトームの種類には大別すると滑走式と回転式があるが、前者は比較的大きな面積の断面や切片を、後者は連続的な切片を作製することに適している。マイクロトームの一般的な特徴については、表1にまとめて表記する。

また、回転式マイクロトームの中でより精密で超薄切片 (<100 nm) が作製できるものを特にウルトラマイクロトームと呼び、主に電子顕微鏡用の試料作製装置として広く利用されている。

本稿では、マイクロトームの原理、構造、操作方法について解説を行い、取り扱い上の注意点およびメンテナンス方法などについて紹介する。

#### 2 ミクロトームの原理

マイクロトームでは、特殊な刃により試料を切削することで平滑な断面や薄い切片を得る。例えば、材木をカンナがけするイメージである。カンナがけによって得られる滑らかな表面の木材がマイクロトームの切削断面、薄い切り屑が切片に相当する。マイクロトームの切削モデルを図1に示す。図に示すように、試料表面にナイフを押し込むことで、ナイフのすくい面によって切り取られる領域に圧縮およびせん断による変形が発生し、すくい

面上にめくり上がり切り屑が切り離され排出される。この工程が繰り返されることで、平滑な切削断面や薄い切片が作製される。

#### 3 ミクロトームの構造

マイクロトームの構造に関して、超薄切片の作製が可能なウルトラマイクロトームを例にして説明する。図2にウルトラマイクロトーム装置の全体像および切削機構部分の拡大図を示す。ウルトラマイクロトームでは、取り扱う試料サイズが数 mm 程度と小さいため、通常は双眼の実体顕微鏡下で各種操作を行う。切削機構部は、ナイフホルダーにナイフが固定されており、試料が取り付けられた試料アームが上下方向に駆動し、下降する際に切削するようになっている。また、試料アームは上下方向のストロークと連動して、ナイフ方向に微動で近づけることができ、この送り量が得られる切片の厚みに反映される。切削に使用するナイフの材質は、ガラス、サファイア (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)、ダイヤモンドがあるが、仕上げの切削ではダイヤモンドナイフを使用するが多い。その他の付属設備にクライオユニットがあり、凍結切削が行える。常温では軟らかすぎて切削できない試料に対して、温度をガラス転移点以下に下げ、硬化した状態にすることで切削が可能となる。クライオユニットは、試料、ナイフおよびクライオチャンバー内を液体窒素により -180℃ くらいまで冷却することが可能であり、設定した任意の温度に保持できる機能を備えている。

#### 4 操作方法

ここでは、高分子材料の電子顕微鏡観察用超薄切片の作製を例にして説明する。①試料を数 mm 幅程度に切り出す。②試料の表面保護や保持しやすくするため、樹脂により試料全体を包埋する。③切削する領域が 1 mm

表1 滑走式および回転式マイクロトームの特徴

種類	滑走式	回転式
駆動方式	手動	モーター駆動/手動
切削機構	試料固定 ナイフが前後にスライドする	ナイフ固定 ハンドルの回転に連動し試料が上下する
主な用途	病理標本、生体および工業系材料の断面出し、切片作製	
特徴	切削ストロークが長い、加工領域が広い、大型試料に対応、樹脂系試料は苦手	切削ストロークが短い、連続切片の作製、豊富な拡張性、高価格

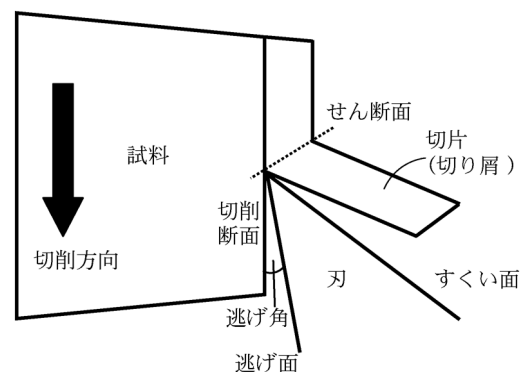


図1 ミクロトームの切削メカニズム

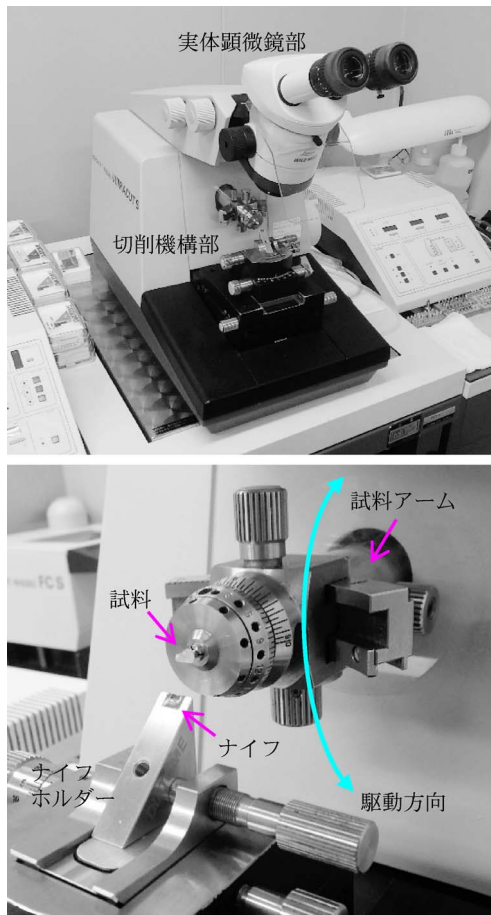


図2 ウルトラマイクロトームの外観  
(上：全体像、下：切削機構部の拡大像)

角以下となるように、片刃カミソリやガラスナイフを使ってトリミングを行う。④切削面とナイフの刃が平行になるように試料の設置位置や角度を合わせ、切削面全体が出るまで面出しを行う。⑤切削面がさらに小さくなるように0.3 mm 角もしくはそれ以下になるように精密なトリミングを行う。⑥切削速度、ナイフの逃げ角、ナイフの刃角、厚さ設定などを調整し、最適な条件にて切削を行う。⑦試料アームが上下に1ストロークするごとに1枚づつ連続的に超薄切片が切り出されるので、複数の超薄切片を回収し、電子顕微鏡観察用グリッドに載せる。

## 5 取り扱い上の注意点、メンテナンス方法など

### 5.1 ミクロトームの使用環境

良好な試料をコンスタントに作製するためには、ミクロトーム周辺の温度、湿度および振動などによる環境変化を管理しなくてはならない。温度変化は切片の厚み、湿度は切片の帯電状態、振動は切片の厚さムラに大きく

影響する。また、空調から吹き出す風が、装置に直接当たらないように考慮する。

### 5.2 ナイフ

ナイフ類はいずれも非常に鋭利な刃がついており、接触すると切創事故につながる。特に、ガラスナイフは全体が刃で覆われているようなものなので特に取り扱いに注意が必要である。ダイヤモンドナイフの価格は数十万円と非常に高価なため、十分なメンテナンスを行い繰り返し使用する。ダイヤモンドナイフの良好な切削性を保つために、刃先の汚れや不要な切片の残りなどがあれば、使用後すぐに除去、洗浄、乾燥を行って刃先を清浄にする。また、切れ味の衰えたダイヤモンドナイフの刃は、専門業者に依頼して研磨することで再利用が可能である。

### 5.3 凍結切削

凍結切削は、常温で切削できないような軟らかい試料の切削に有効な手法であるが、ナイフの角度調整、トリミング、切片の回収、霜の付着、切片の帯電など常温時よりも操作に制限が生じる。そのため、クライオ環境下での特有の操作を習得する必要がある。また、液体窒素を用いた冷却であるため、取り扱い時の凍傷事故および操作時の酸欠事故にも注意する。

## 6 まとめ

ミクロトームは、元々は生物材料の断面を観察する前処理装置として開発された。現在では生物、高分子など有機系材料のみならず無機系材料やこれらの複合材料など幅広い材料を対象とした前処理装置となっている。装置の基本構造は完成の域に達し、耐久性のある優秀な装置が多い。その反面、ミクロトームを使用する技術者の経験、ノウハウや知識などの技量が試料作製の良否を決定する点は否めないが、浅い経験でもそのスキル差を埋めアシストする装備も開発され、実用化している。今後も、材料開発や研究を推進させる前処理装置として、改良を重ねながらさらに進化していくものと考えられる。

## 文 献

- 1) 朝倉健太郎, 広畑泰久: “電子顕微鏡研究者のためのウルトラマイクロトーム技法 Q&A”, (1999), (アグネ承風社).
- 2) ライカマイクロシステムズ, 日本電子: “電子顕微鏡試料作製セミナーミクロトームワークショップ配布テキスト”, (2018).

〔㈱UBE 科学分析センター 小田靖博〕