

中学生を対象にした最先端科学技術の授業実践

— イオン液体を用いた前処理法による生物試料の SEM 観察 —

山下 泰史¹⁾, 宮本 賢治²⁾

(キーワード: 科学技術教育, 走査型電子顕微鏡, イオン液体, 前処理, 生物試料)

1 はじめに

平成 28 年版科学技術白書 (文部科学省) によるとノーベル賞を受賞した研究者の多くが, 学校生活や先達の日本人受賞者からの影響により, 小さいころから科学に興味を持っていたことが挙げられている¹⁾。そのため, 創造性を育む教育や理数学習の機会等を通じて次代を担う人材の能力・才能の伸長を促すとともに, 理数好きの児童生徒の拡大を図ることが重要であるとしている。さらに, 平成 28 年度からの第 5 期科学技術基本計画でも, 科学技術イノベーションの基盤的な力の強化において, 人材力の強化, 知の基盤の強化が謳われている。

一方, 技術・情報教育における学びの構成の一つとして, 技術に関する科学的な理解が挙げられる。そのため理科と技術の教科横断的な学習が望ましいことが報告されている^{2), 3), 4)}。中学校の理科や技術では, ナノテクノロジーやバイオテクノロジーの基礎となる原理や法則を学ぶ。しかし学校現場で, 最先端科学技術を扱う際に, 民間企業や国立研究所による出前授業を行う事例がほとんどである^{5), 6)}。ナノテクノロジーやバイオテクノロジー分野で用いられる機器の一つに走査電子顕微鏡 (SEM) がある。現在 SEM は, ナノテクノロジー技術開発や医学・生物学分野の研究に不可欠な機器として広く普及している。

以上を背景に, 本研究では中学生を対象にした最先端科学技術教育の一環として, SEM を用いた授業実践を行った。授業では, 予め授業者が用意したプランクトンの試料を用いて SEM 画像を生徒に見せるのではなく, 生きたプランクトンを用いて生徒自らが前処理を行い, SEM を操作して観察を行った。研究機関や企業等, 実際の最先端の研究開発の現場で行われている機器の操作や試料の前処理を, 生徒自らが体験することにより, 最先端科学技術の面白さや難しさを実感できると考えられる。

2 SEM 観察のための前処理法

生物の軟組織のような表面構造が柔らかく水分を多量に含んでいる試料を SEM で観察する際, 次の問題が生じる。

- (1) 電子線の生成・照射や二次電子の検出の観点から SEM 内は, 高真空に保つ必要がある。しかし, プラントンなどの水分を含んでいる試料を SEM 内に入れると真空劣化が生じ, SEM が破損するおそれがある。
- (2) 生物体は一般的に絶縁物 (電気を通さない物質) なので, SEM 観察の際に帯電 (チャージアップ) 現象が起これ, 観察や撮像の障害となる。
- (3) 生物の軟組織は真空中で収縮し形状が変化するので, 正確な形態観察や体長等の計測ができない。

これらの問題を解決するために SEM 観察の際に前処理を行う必要がある。近年, イオン液体を用いた前処理法は, 比較的簡単に行える^{7), 8), 9)}。イオン液体とは, 常温下で液体状態の塩であり, 溶媒が存在せずイオンだけで構成されている液体である。イオン液体の特徴は, 揮発性が極めて低いこと, 難燃性であること, イオン伝導性を有していることである^{10), 11), 12), 13), 14)}。

本研究では, プラントンを SEM 観察対象とした¹⁵⁾。一連の手順を図 1 に示す。海に生息するプランクトンを扱う場合, 表面に付着した塩水は, 真空中では結晶化し,

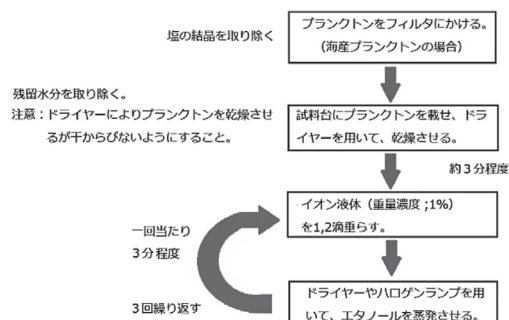


図 1 イオン液体を用いた前処理の手順

¹⁾ 大阪府立東淀工業高等学校

²⁾ 鳴門教育大学 高度学校教育実践専攻 (教科系)

SEM 観察の際に障害となるので除去する必要がある。

その方法としてプランクトンの存在する塩水をスポイトによってフィルタへ流し込み、ろ過する。塩の結晶よりプランクトンの方が大きいため、フィルタにはプランクトンだけが残る。さらに、そのフィルタに蒸留水を注ぎ、プランクトンに付着している塩の結晶を取り除く。スポイトを用いてプランクトン試料を一辺が約 1 cm の方形試料台の上に載せる。不要な水分を乾燥させるためにドライヤーを用いて 3 分間程度、乾燥させた後、イオン液体を一滴程度滴下する (図 2)。ただし、ドライヤーを用いることにより乾燥時間を短縮できるが、完全に乾燥させてしまうとプランクトンの形状が変形してしまうので、注意する必要がある。

イオン液体滴下後、もう一度ドライヤーを用いて 3 分間程度乾燥させる。この作業を 3 回行う必要がある。この作業によって、プランクトン体内の水分をイオン液体に置換し、SEM 装置内でのプランクトンの収縮による形状変化やチャージアップを抑制する。イオン液体はエタノールを溶媒として、重量比で 1% に希釈した。今回の実験では 2 mL 容量の駒込ピペットを用いて、イオン液体を 1 滴ほど (1 滴分の容量は約 0.027 mL) 滴下した。

今回の授業実践では、イオン液体として 1-エチル-3-メチルイミダゾリウム メチルホスホネート (関東化学 (株) 製) を用いた。また、SEM は JCM-5000 (日本電子 (株) 製) を用いて、アルテミア (*Artemia salina*) のプランクトンの像観察を行った。

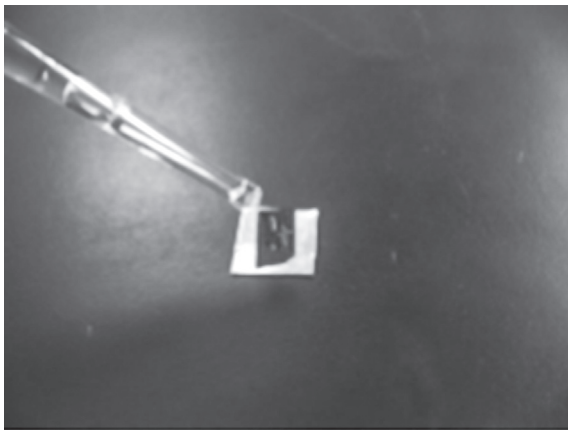


図 2 イオン液体の滴下の様子

3 中学校における授業実践

3.1 本時の目標

電子顕微鏡の構造や活用に興味を持ち、光学顕微鏡との構造の類似点・相違点を理解できることを本時の目標とした。

3.2 授業展開

平成 28 年 12 月 14 日徳島市内 F 中学校 1, 2, 3 年生技術部 23 名を対象に SEM を題材とした 100 分間の授業実践を行った (座学 40 分間, 実習 60 分間)。座学では、SEM の原理、構造 (図 3) や特性・応用例について授業を行った。具体的には、①分解能、②レンズ、③真空の説明を行った。

①分解能とは、2 つの点を 2 つの点と認識できる最短の距離である (図 4)。

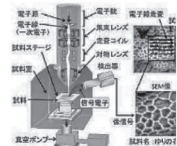
②レンズでは、図 5 に示すように対物レンズと電子レンズを例に挙げた。対物レンズにより平行に入射した光は、一点 (焦点) に収束した後、発散することで像が拡大される。光学顕微鏡では、この対物レンズの機能を使って像を拡大する。一方、光に代えて電子で像を拡大する電子顕微鏡は、電子レンズを使う。電子レンズは、コイルに電流を流して発生させる磁場で電子を収束させる。

③真空ポンプの必要性とは、大気中には目に見えない様々なガス分子が存在しており、このような状態では電子線は分子と衝突してしまいまっすぐ飛ぶことができない。そのため、電子線の発生源である電子銃から安定に

SEM の原理

SEM は、凸レンズで光を一点に収束する光学顕微鏡のように、電子レンズを使って電子銃微小径に収束し、試料上に照射する。

この電子ビームを試料上に照射させ、試料から跳ね返ってくる二次電子像 (主に試料表面の微細な凹凸像) や、反射電子像 (試料の構成する原子や結晶方位) を見ることで画像を得る方式の顕微鏡である。



https://www.jaima.or.jp/jip/analytica/basic/sem/principle/images/sem_02.jpg

図 3 SEM の原理・構造を説明する資料



図 4 分解能の模式図

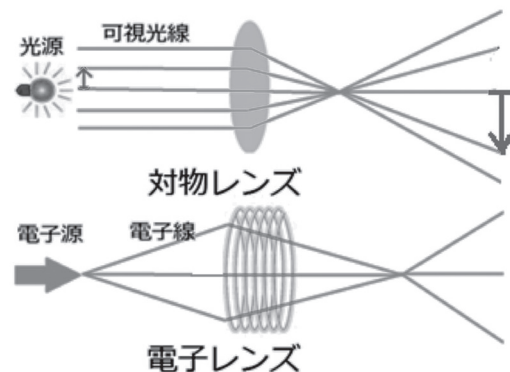


図 5 対物レンズと電子レンズの比較

真空ポンプの必要性について

- ・大気中には目に見えない様々なガス分子が存在しています。
- ・このような状態では電子線は分子と衝突してまっすぐ飛ぶことができません。
- ・そのため、放出された電子の直進性を良くするために真空状態が必要。

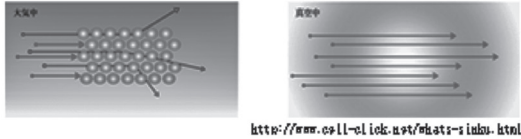


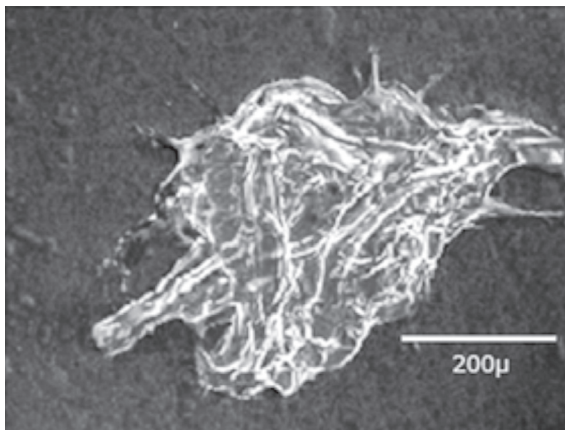
図6 真空の必要性を説明する資料

電子線を放出させ、放出された電子の直進性を良くするためには、真空状態が必要になる（図6）。

さらに、チャージアップ現象についての説明を行った。生物などは一般的に絶縁物であり、SEMで観察する際にチャージアップ現象が起こる。また、生物の軟組織は真空中で収縮し形状が変化するので、正確な形態観察や体長計測ができない、それゆえに前処理を行う必要がある。プランクトンの一種であるアルテミアのSEM像に



(a) イオン液体による前処理有り



(b) イオン液体による前処理無し

図7 アルテミアのSEM画像

ついて、前処理の有／無での比較をそれぞれ図7(a), (b)に示す。

実習では、プランクトン試料の前処理（図8）とSEMを操作してプランクトンを観察した。その際に、まず前処理をしていないプランクトンの観察をした。次に、生徒自ら前処理したプランクトンの観察を行った（図9）。授業展開を表1にまとめる。



図8 前処理の様子



図9 SEM観察の様子

表1 授業展開

時間(分)	学習活動	指導と留意点	評価
10	○事前アンケート		
15	○前処理（イオン液体） ・試料を乾燥	・ドライヤーを用いて、プランクトンを乾燥させる際に形状が変形しないように注意する必要がある	・電子顕微鏡の用途について関心を持っているか
30	○電子顕微（SEM）の原理について ・構造 ・真空 ・レンズ ・応用例	・電子顕微鏡について理解しているか	・構造原理について理解できているか
30	○電子顕微鏡での観察 ・チャージアップ画像 ・蒸留の必要性	・SEMを操作して画像観察ができること ・前処理の必要性を学ぶ	・SEMを操作して画像が撮れているか ・前処理について理解できているか
5	・事後アンケート		

4 授業実践の結果と考察

学習者がどれだけ本授業について理解したかを確かめるために事前・事後アンケートの比較を行い、学習効果を検証した。

4. 1 事前アンケート調査

授業実施前に生徒達の電子顕微鏡に関する知識の事前アンケート調査を行った。アンケートでは、問1から問5までの質問を行った。問1から問4までの質問は、選択式で、問5については、記述式とした。事前アンケートの質問項目を以下に示す。

1) 事前知識に関する項目

Q1：次のうち電子顕微鏡について自分に当てはまるものを○で選んで下さい。

- ①電子顕微鏡を実際に操作したことがある
- ②電子顕微鏡で撮影した画像を見たことがある
- ③電子顕微鏡という言葉聞いたことがある
- ④知らない

2) 電子顕微鏡, 光学顕微鏡の分解能に関する項目

Q2：次のうち電子顕微鏡, 光学顕微鏡それぞれで見えると思うものを全て選びなさい。

- ①ウイルス ②DNA ③乳酸菌 ④髪の毛
- ⑤ミジンコ

3) 真空に関する項目

Q3：電子顕微鏡で試料を真空状態で観察する理由を知っていますか？

- ①知らない
- ②知っている (理由：)

4) 前処理に関する項目

Q4：電子顕微鏡で生物を観察する場合、鮮明に観察できると思えますか？

- ①できる
- ②できない (理由：)

5) レンズに関する項目

Q5：自分の知っているレンズを使っているものをすべて挙げて下さい。

4. 2 事後アンケート調査

100分間の授業実施後に事後アンケート調査を実施した。事後アンケートでは、事前アンケートと同様に問1から問5までの質問を用意した。問1と問2は、選択式で、問3から問5は記述式である。事後アンケート項目を以下に示す。

1) 興味・関心に関する項目

Q1：電子顕微鏡について関心や興味を持ってましたか？

- ①非常に興味・関心を持った
- ②興味・関心を持った

③興味・関心をあまり持てなかった

④興味・関心を持てなかった

2) 電子顕微鏡, 光学顕微鏡の分解能に関する項目

Q2：次のうち電子顕微鏡, 光学顕微鏡それぞれで見えると思うものを全て選びなさい。

- ①ウイルス ②DNA ③乳酸菌 ④髪の毛
- ⑤ミジンコ

3) 真空に関する項目

Q3：電子顕微鏡で試料を真空状態で観察する理由を知っていますか？

(理由：)

4) 前処理に関する項目

Q4：電子顕微鏡で生物を観察する場合、鮮明に観察できると思えますか？

(理由：)

5) レンズに関する項目

Q5：自分の知っているレンズを使っているものをすべて挙げて下さい。

4. 3 調査結果

事前・事後アンケート調査結果を表2, 表3にそれぞれ示す。

事前アンケートの結果では、ほとんどの生徒は問1の回答で②, ③と答えており, “SEM画像を見たことがある”や“SEMを聞いたことがある”の回答が95.7%を占めていた。実際にSEMを使用したことがある生徒は1人だけだった。ほとんどの生徒が電子顕微鏡を使うのが初めてだということが分かった。そのため事前アンケートの問2の“電子顕微鏡, 光学顕微鏡それぞれで見えると思うものを全て選びなさい”という問いに対しての全体の正解率が22.6%であり, 電子顕微鏡と光学顕微鏡の分解能の違いについて理解できていないことが分かる。それに対して, 事後アンケートの結果では, 正解率は, 60.9%まで増加し, 過半数の生徒が分解能の違いについて理解した。

事前アンケートの問3の電子顕微鏡で試料を真空状態で観察する理由を知っていますか?の問いに対して答えた生徒は8.7%しかいなかった。しかし, 事後アンケートの問3の質問に対して, “真空でない電子が分子に邪魔されて真っすぐ進まない”など, 全員が真空である理由について正確に回答しており, 理解している様子が分かる。

問4の電子顕微鏡で生物を観察できますか?という問いに対しては, “観察できる”と全員の生徒が答えたが, その観察できる理由については, 30.4%の生徒しか述べておらず, その回答は, “なんとなく”や“何でも見られそうだから”と漠然としていた。

しかし事後アンケートでは, 全員の生徒がその理由に

表2 事前アンケート調査結果

問1	① 4.4% (1人)	② 43.5% (10人)
	③ 52.2% (12人)	④ 0% (0人)
問2	正答率: 22.6% (5人)	
問3	正答率: 8.7% (2人)	
問4	正答率: 0% (0人)	

表3 事後アンケート調査結果

問1	① 60.9% (14人)	② 39.1% (9人)
	③ 0% (0人)	④ 0% (0人)
問2	正答率: 60.9% (14人)	
問3	正答率: 100% (23人)	
問4	正答率: 95.6% (22人)	

ついて回答していた。65.2%の生徒が生物は、“電気を通しにくいから”と答えており、SEMでの絶縁体試料の観察が難しいことに気がついていて、また30.4%の生徒は、“水がなくなるから”や“蒸発するから”などという回答をしていた。これは、真空中では気圧が下がるため、沸点が下がることを理解していることが分かる。

問5の自分の知っているレンズを使っているものをすべて挙げてください、という問いに対して事前アンケートでは、わずかに4.35%の生徒が電子顕微鏡と回答した。対して事後アンケートでは、電子顕微鏡に用いられる電子レンズや磁界レンズという専門用語が挙げられており、電子顕微鏡にもレンズが使われていることを理解していると言える。

さらに事後アンケートの問1の“電子顕微鏡について興味を持ってましたか”という回答に対しては、“①非常に興味・関心を持った“が60.9%”②興味・関心を持った“が残りの39.1%を占めていた。事前・事後のアンケート調査結果から、実践授業により生徒は学習内容を十分に理解できただけでなく、高い興味・関心を持ったことが示された。

5 まとめと今後の課題

本授業実践により、学校ではなかなか触れることができない機器であるSEMを自らの手で操作し、自ら試料を作製し観察ができた。またSEMの原理や構造・観察方法など体験的に学習した。本授業実践で得られた知見を下記に示す。

- SEMに関しての高い興味・関心を得た。
- 分解能、真空、電子レンズといったSEMの構造や原理について生徒は十分に理解できた。
- イオン液体を用いた前処理やSEMの操作を中学生

が行えた。

以上のことから、SEMを題材とする最先端科学技術を用いた授業の実践が可能であることが示された。

今後の課題としてまず、SEMで観察する生物試料をプランクトン以外にも拡張することが挙げられる。次にSEMでの観察時には、SEM装置内を真空引きするのに時間を要するため、限られた時間内で観察実験を行うのは、少々困難である。そのため、授業の組み立ての際に、時間短縮の工夫が必要である。

参考文献

- 文部科学省：平成28年度科学技術白書，特集ノーベル賞受賞を生み出した背景～これからも我が国からノーベル賞受賞者を輩出するために～（2021年12月17日最終アクセス日）
- 新居治・武市朋彦・伊藤陽介：干渉SARを用いた地形計測を題材とする理科・技術科教材，産業技術教育学会誌，第57巻，第1号，pp.1-9（2015）
- 兵庫教育大学大学院連合学校教育学研究科共同研究プロジェクト（P）研究グループ：子どもが小さなエンジニアになる教室イノベーション力育成を図る中学校技術科の授業デザイン，ジーアス教育新社，pp.26（2016）
- 森山潤：技術教育における「学び」の構成から見た科学教育と連携可能性，日本科学教育学会誌，第34回年会論文集，pp.63-64（2010）
- 教育家庭新聞社，1万倍の世界をもっと身近に 公立小学校に電子顕微鏡（2009年9月24日）（2021年12月21日最終アクセス日）
- 学部「仙台・宮城」サイエンスコミュニティー，電子顕微鏡で見える世界，実感して／東栄科学産業と日本電子が仙台二華で出前授業（2021年12月17日最終アクセス日）
- 桑畑進・島本司：イオン液体を用いたin situ電子顕微鏡観察法の開発，表面技術，第59号，DOI: 10.4139/sfj.59.801，pp.801-805（2006）
- 桑畑進：イオン液体を真空中で上手く使う，生産と技術，第63巻，第4号，pp.63-65（2011）
- 桑畑進：イオン液体の電子顕微鏡可視化剤としての応用，機能材料，第27巻，pp.6-12（2007）
- Arimoto, S. et al., Development of new techniques for scanning electron microscope observation using ionic liquid. J. Electrochim. Acta. 53: pp. 6228-6234, DOI: 10.1016/j.electacta.2008.01.001（2008）
- Tsuda T. et al., SEM Observation of Wet Biological Specimens Pretreated with Room-Temperature Ionic Liquid. Chem. Bio. Chem. 12: pp. 2547-2550, DOI:

- 10.1002/cbic.201100476 (2011)
- 12) Tsuda, T. et al., SEM Observation of Hydrous Super absorbent Polymer Pretreated with Room-Temperature Ionic Liquids. PLoS ONE, 9: e911193/1-7, DOI: 10.1371/journal.pone.0091193 (2014)
 - 13) Ishigaki, Y. et al., Ionic Liquid Enables Simple and Rapid Sample Preparation of Human Culturing Cells for Scanning Electron Microscope Analysis. Microsc. Res. Tech. 74: pp. 415-420, <https://doi.org/10.1002/jemt.20924> (2011)
 - 14) Yamashita, T., Miyamoto, K., Yonenobu, H. Short-time pretreatment of wood with low-concentration and room-temperature ionic liquid for SEM observation, Microscopy, 67(5), pp. 259-265, DOI: 10.1093/jmicro/dfy029 (2018)
 - 15) 山下泰史・宮本賢治・尾崎士郎・米延仁志：医学生物学電子顕微鏡技術学会誌, 29, pp.20-24 (2015).