

# Contents

## 第1部 入門編

<b>1-1 電子顕微鏡入門 —電顕を使ったことがない人のために</b> .....	<b>11</b>
藤本豊士・山本章嗣	
Ⅰ. 電顕で見ることの意味 .....	11
Ⅱ. 電顕でものが見える原理について .....	11
Ⅲ. 自分の実験試料を包埋する方法 .....	13
Ⅳ. 包埋試料を電顕観察するまで .....	15
Ⅴ. 電顕で何をどう見るか .....	16
<b>1-2 電顕に期待するもの①</b> .....	<b>17</b>
宮田真人	
Ⅰ. マイコプラズマ滑走運動 .....	17
Ⅱ. レアな研究手法, “電顕” .....	17
Ⅲ. 日常的な疑問 .....	18
<b>電顕に期待するもの② 電子顕微鏡画像に動きを与えるイメージング法</b> .....	<b>20</b>
原口徳子・平岡 泰	
Ⅰ. ライブイメージングとの融合 .....	20
Ⅱ. 生物システムの理解 .....	21
<b>電顕に期待するもの③</b> .....	<b>23</b>
斎藤通紀	
Ⅰ. 形態学的分子生物学との出会い .....	23
Ⅱ. 単一細胞レベルの解像度を目指した分子生物学へ .....	23
<b>電顕に期待するもの④</b> .....	<b>26</b>
永井健治	
Ⅰ. 今後の生物学においてますます必要な情報は? .....	26
Ⅱ. 電子顕微鏡像から分子の動的機能を理解するには? .....	26

## 第2部 実用編

<b>2-1 超微形態をみる① ノックアウトマウスの解析</b> .....	<b>31</b>
内山安男	
Ⅰ. 細胞内タンパク質分解とリソソーム .....	31
1. リソソームとは .....	31
2. リソソームのプロテアーゼ .....	32
Ⅱ. リソソーム蓄積症 .....	33
1. リソソーム蓄積症とは .....	33
2. リソソームプロテアーゼ欠損とその蓄積症 .....	34
3. オートファジーの破綻による封入体の形成 .....	36
<b>2-2 超微形態をみる② 急速凍結置換固定法による酵母の解析</b> .....	<b>38</b>
馬場美鈴	
Ⅰ. 酵母細胞と試料作製技術 .....	38
Ⅱ. 酵母細胞の急速凍結置換固定法 .....	39
Ⅲ. 急速凍結置換固定法により得られた酵母細胞の電子顕微鏡像 .....	39
Ⅳ. 液胞への選択的タンパク質輸送経路 .....	40
Ⅴ. cvt経路の特異性 .....	42
<b>2-3 分子局在を見る① 誰でもできる免疫電子顕微鏡法</b> .....	<b>44</b>
山本章嗣	
Ⅰ. 免疫電顕法のいろいろ .....	44
Ⅱ. さて、どの免疫電顕法を選ぶか? .....	45
1. 培養細胞を光顕と対応づけて観察したい→包埋前標識法 .....	45
2. すぐに結果を知りたい→2日でできる凍結超薄切片法 .....	47
3. まとまって時間がとれないが良い方法は?→樹脂包埋法 .....	48
4. 二重染色で同時に2つのタンパク質の局在を見たい →凍結超薄切片法か樹脂包埋法であれば容易である .....	48
5. 試験管内の反応を見てみたい→アガロース包埋法 .....	48
Ⅲ. 定量によって広がる世界 .....	48
1. ナノ空間のpHを測定する .....	48
2. 具体例：網膜色素上皮細胞のファゴソーム動態の解析 .....	49
<b>2-4 分子局在を見る② 凍結切断レプリカ標識法による膜タンパク質の定量的解析</b> ...	<b>51</b>
重本隆一	
Ⅰ. SDS-FRL法の原理 .....	52
Ⅱ. グルタミン酸受容体の定量的解析 .....	53

<b>2-5 分子局在を見る③ 凍結レプリカ標識法による膜脂質の分布解析</b> .....	<b>57</b>
藤田秋一・藤本豊士	
I. 膜脂質解析におけるSDS-FRL法の利点と問題点 .....	57
II. 膜脂質分子の分布解析 .....	59
1. K関数 .....	59
2. 最近隣距離と分布密度 .....	61
3. クラスタの大きさ .....	62
<b>2-6 分子局在を見る④電子顕微鏡によるタンパク質複合体の観察法</b> .....	<b>64</b>
片山栄作	
I. 電子顕微鏡による分子観察法の特長 .....	64
II. 古典的な試料作製法 .....	64
III. 急速凍結による試料作製法 .....	65
IV. 急速凍結フリーズレプリカ法と新たな画像解析法 .....	66
V. 機能中の細胞内タンパク質の構造解析を目指して .....	68
<b>2-7 分子を見る 電子顕微鏡を用いて分子構造を見る</b> .....	<b>71</b>
光岡 薫・藤吉好則	
I. 低温電子顕微鏡法 .....	71
II. 電子線結晶構造解析 .....	72
III. らせん再構成による立体構造解析 .....	73
IV. 単粒子解析 .....	74
<b>2-8 三次元構造を見る① 電子線トモグラフィーとは何か</b> <b>—ナノスケールでの3Dバイオイメージング</b> .....	<b>77</b>
唐原一郎・須田甚将・峰雪芳宣	
I. トモグラフィーとは何か .....	77
II. 電子線トモグラフィーとは何か .....	78
III. 急速凍結・凍結置換固定した包埋試料の電子線トモグラフィー .....	79
1. 凍結技法, 試料作製 .....	80
2. 画像取得, トモグラム作製, 解析 .....	80
<b>2-9 三次元構造を見る② 急速凍結ディープエッチング法による細胞膜の</b> <b>ナノドメイン解析</b> .....	<b>83</b>
諸根信弘・臼倉治郎	
I. 急速凍結法 .....	83
1. ヘリウム冷却型メタルコンタクト法 .....	83
2. 浸漬法 .....	84
3. 加圧法 .....	84
II. ディープエッチング法 .....	84
III. 免疫レプリカ .....	86
IV. トモグラフィー .....	86

<b>2-10 三次元構造を見る③ 超高压電子顕微鏡を用いた細胞構造の立体観察</b> .....	<b>89</b>
鷹岡昭夫	
I. 超高压電子顕微鏡の特徴 .....	89
II. トモグラフィーの原理と観察試料の厚さ .....	91
III. トモグラフィーの手順とキーポイント .....	93
IV. 細胞組織の観察例 .....	93
<b>2-11 三次元構造を見る④ 見えなかったものを見る位相差電子顕微鏡</b> .....	<b>96</b>
永山國昭	
I. 光顕 vs 電顕 .....	96
II. 位相の画像化原理 .....	97
1. 位相差法の原理 .....	97
2. 顕微鏡の原理 .....	98
III. 位相差法のシミュレーション .....	99
IV. 無染色で“生”に迫るヒルベルト微分像 .....	100
V. 膜／タンパク質複合体構造を見るゼルニケ位相差法 .....	101

## 第3部 応用編

<b>3-1 シナプス終末の内膜系を3Dで見る</b> .....	<b>107</b>
西野-林 美都子・山口明人	
I. ダイナミン1KOマウスの特徴 .....	107
II. 電子線トモグラフィーによるダイナミン1KOシナプスの三次元構築 .....	109
1. 電子線トモグラフィー .....	109
2. クラスリン被覆ピット .....	109
3. スピニュール様構造体 .....	109
4. 小胞体, その他オルガネラの構造と局在 .....	109
III. シナプトジャニン1KOシナプスとの比較 .....	109
<b>3-2 光顕と電顕で同時に見る</b> .....	<b>114</b>
小林昇平・原口徳子	
I. Correlative light and electron microscopy (CLEM)の原理 .....	114
II. CLEMを実現するための様々な方法 .....	115
1. 蛍光標識抗体および金コロイド標識抗体を併用する方法 .....	115
2. 量子ドットを用いる方法 .....	116
3. 酸素ラジカルによるDABの重合を利用する方法 .....	117
4. <i>in vivo</i> immunogold labeling法 .....	118
5. 生細胞蛍光イメージングとCLEMとの融合 (live CLEM法) .....	118

<b>3-3 染色体の内部構造を見る</b> .....	<b>121</b>
前島一博	
Ⅰ. 染色体の基本構造を電子顕微鏡で見る—ヌクレオソームと30nmクロマチン繊維—	121
Ⅱ. 染色体を壊して、電子顕微鏡で構造を見る—非ヒストンタンパク質の役割—	122
Ⅲ. 染色体の七変化?	123
Ⅳ. 古典的な(?)電子顕微鏡観察の例	126
Ⅴ. 生きている状態の細胞の染色体を電子顕微鏡で見るためには?	126
Ⅵ. 新しいモデル	128
Ⅶ. クライオ電子顕微鏡観察の泣き所	128
<b>3-4 キネトコアの分子構築を見る</b> .....	<b>130</b>
鈴木應志・深川竜郎	
Ⅰ. キネトコアを構成するタンパク質群	130
Ⅱ. キネトコアの微細構造	132
Ⅲ. キネトコアの電子顕微鏡観察法	132
Ⅳ. キネトコアの分子構築理解のための電子顕微鏡観察の利用	133
<b>3-5 電子顕微鏡の紹介</b> .....	<b>136</b>
① 日立ハイテクノロジーズ 中澤英子	136
② 日本電子 原野祐輔	138
③ 日本エフイー・アイ 青山一弘	140
索引 .....	142