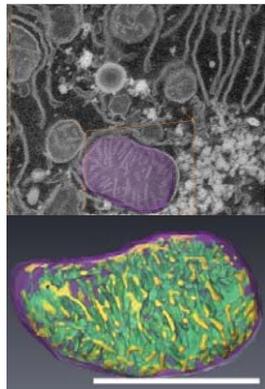


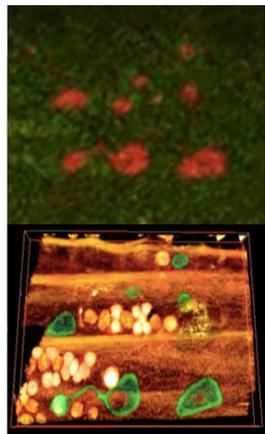


蛍光顕微鏡で観察したその場を電子顕微鏡で観察する手法は光-電子相関観察(Correlative light electron microscopy:CLEM)と呼ばれ、特定の時空間で生じる生命現象の構造的背景を電子顕微鏡レベルで明らかにする解析手法である。本支援では最新のFIB-SEM三次元構造解析法を応用したVolume-CLEM技術を用い、蛍光顕微鏡下にライブイメージングされた培養細胞のCLEM観察を支援する。現時点ではルーチンで可能な技術ではないため、試料作成からデータ取得に至る事前の十分な打合せが必要です。



高空間分解能

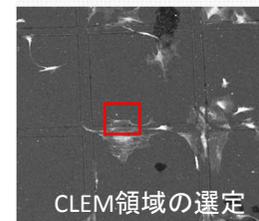
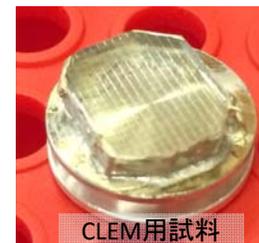
ここで提供するFIB-SEMトモグラフィでは、約 $10\mu\text{m}$ 角の領域を約 $5\text{nm}\times 5\text{nm}\times 10\sim 15\text{nm}$ のボクセルサイズで取得する。サンプル画像の分解能であればミトコンドリアのクリステの立体構造を解析できる。



Volume-CLEM

ミトコンドリア蛍光顕微鏡像(上)と同領域のFIB-SEMを用いた三次元再構築像

全く同じ場所をより高分解能で、周囲の情報も含めて、捉えられている。



基本的な流れ:

観察対象は培養細胞に限定します。光顕観察及び試料作成の途中までは各施設にて実施してください。

提供される試料作製のプロトコルに従い細胞は指定のディッシュ上で培養、各施設でライブイメージングと固定、もしくは固定後に蛍光顕微鏡で観察したものを、樹脂に包埋して下さい。得られたサンプルをCLEM観察に必要なデータとともに送っていただき、FIB-SEMで観察します。データはアライメントを行った状態のVolumeデータとして提供します。