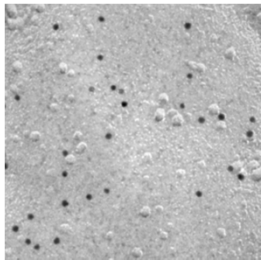
電子顕微鏡技術支援

凍結割断レプリカ標識実験支援

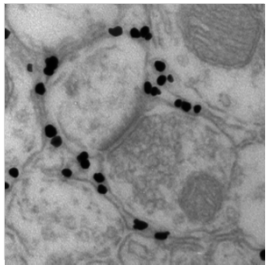
研究支援担当者：深澤 有吾
（福井大学　医学部）

凍結割断レプリカ免疫標識法（SDS-digested Freeze-fracture Replica Labeling: SDS-FRL）を用いた膜分子の局在解析を中心に、生体分子の分子発現分布と超微細形態解析の実験支援を行ないます。
SDS-FRLは、標的分子の細胞膜上分布を裏打ちタンパク質の影響を受けずに可視化できる点で、既存の免疫電子顕微鏡法（プレエンベディング法やポストエンベディング法）より優れており、膜分子の2次元的な配置情報を高感度且つ定量的に取得できることが特色です。対象分子は、膜貫通ドメインを持つ分子の他、膜脂質修飾を受ける分子や膜脂質分子自体も解析可能です。この他、高圧急速凍結法による試料作製や超微形態と免疫標識分布の3次元観察とその解析法についても支援します。



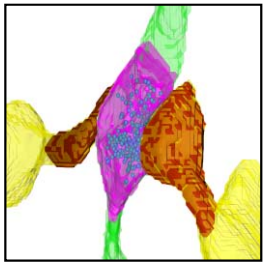
凍結割断レプリカ標識法による膜分子の局在解析。細胞膜上の2次元的な分布様式や発現密度、他の分子との共局在をナノレベルで定量的に解析できる。

高圧凍結装置（HPM010）
未固定・固定のどちらの試料も微細構造を保持したまま凍結することができる。



包埋前(preembedding)免疫電子顕微鏡法による分子局在解析。膜分子に限らず可溶性分子の分布も可視化でき、細胞内微細構造との関係も検討可能。

凍結割断レプリカ作製装置（BAF060） 凍結試料を高真空下で割断し、露出部に炭素とプラチナを蒸着することで、レプリカ膜を作製する。



微細構造の3次元解析
連続超薄切片画像より、オルガネラや細胞の微細構造、分子標識の分布を3次元的に可視化、解析できる。

透過型電子顕微鏡（H-7650）
100kVの加速電圧で超薄切片やレプリカ膜の超微形態を観察でき、CCD画像を撮影できる。