

TEM-CLEM におけるクライオワークフローの最新動向 Latest application of Cryo-workflow for TEM-CLEM

石原あゆみ¹

¹ライカマイクロシステムズ(株)

Ayumi Ishihara¹

¹Leica Microsystems K.K., 1-29-9 Takadanobaba, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan

TEM における CLEM 法は様々な装置、手法の組み合わせで提唱されてきた。化学固定による樹脂包埋法を用いるのがもっとも導入しやすい手法だが、目的分子の抗原性、標識した蛍光の維持や化学固定による微細構造アーティファクトが問題になるケースがある。より native な状態に近い像を得るためには構造保存性の高い凍結固定を用いる必要がある。

試料の固定に凍結技法を用いた CLEM にも様々な手法があり、semi-cryo CLEM と cryo CLEM に大きく 2 分類できる。Semi-cryo CLEM には凍結置換-樹脂包埋法や徳安法があり、常温の光学顕微鏡と TEM で観察できる。しかし、試料の処理過程で微細構造変化は発生するため、細胞内にあるタンパク質の分子構造を解析したい場合 Cryo CLEM が必要になる。本発表では、近年めざましい発達で注目されている Cryo TEM、CryoFIB を用いた CLEM ワークフローに対応した最新のクライオ蛍光顕微鏡システム[1]を中心に紹介する。



Fig 1. Cryo fluorescent microscope system, Leica EM CryoCLEM

[1] Martin Schorb et al., J. Structural Biology, **197.**, 83-93. (2019).