序

共焦点レーザー顕微鏡，全反射蛍光顕微鏡などの光学顕微鏡の飛躍的発展により，生細胞イメージング（live-cell imaging）という新しい分野が出現した．標的タンパク質を蛍光標識することで1分子の動きを捕らえ，機能変化や，ときには分子間化学反応までもイメージすることができるようになった．また，シンクロ・サイクロトロン放射光から取り出したX線による結晶回折により，多くのタンパク質の立体構造が原子レベルの分解能で明らかとなった．今後の課題は，標的タンパク質が細胞内のいかなる環境でどのような構造（複合体を含む）を形成し機能しているかを計測し，解明することである．このためには，光学顕微鏡，X線回折，電子顕微鏡によるシームレスな構造解析と，その結果の統合が必要である．電子顕微鏡は高分解能で結像し，細胞の微細構造を一覧できる唯一の道具であるため，光学顕微鏡観察やX線回折により得られた結果の狭間を補完し，構造と機能を結びつけることが期待されている．生細胞イメージングの急速な発展の陰に隠れているが，電子顕微鏡技術にもトモグラフィーやクライオ技術を中心に新たな進展があった．とくに電子顕微鏡用トモグラフィーの開発は，これまで電子顕微鏡がもっとも苦手としていた3次元観察を容易にしただけではなく，それと組み合わせることにより古典的方法も息を吹き返し，オルガネラなどの空間構造という新たな形態学が作られようとしている．一方，クライオ顕微鏡技術では，これまでの*in vitro*系での結晶性タンパク質や精製タンパク質の構造解析や単粒子解析ではなく，いっさいの前処理なしで細胞の微細構造を観察できるようになった．

一方，旧来の試料作製法も，改良および他の方法との融合により，革新的な観察を可能とするように進化した．たとえば，フリーズ（エッチング）レプリカ法は細胞膜剥離法（unroofing）の開発と免疫標識法の融合により，構成分子を同定しながら膜細胞骨格を3次元的に解析できる強力な方法へと変貌した．

このような構造生物学，イメージング生物学の変動期に臨み，本書では新旧の電子顕微鏡技術を整理し，本当に必要とする基礎的な方法と今後の研究に欠かせない新しい方法を，ノウハウを中心にわかりやすく解説することをめざした．そのため，めったに使用しない特殊な固定液や方法の紹介は省き，汎用性の高い方法のみに絞り，実験上のノウハウを優先して実践的に解説した．また，その技法により何が観察でき，何が明らかになるかも説明した．その他，詳細ではあるが，知って得することは［NOTE］という

欄にまとめた．また，技術に関する［Topics］も随所に記述してあるので，骨休めに読んでいただければ幸いである．この本は電子顕微鏡を使用して，誰もが細胞，組織の形態を観察できるようになることをめざしている．したがって，研究遂行上必ずしも必要としない顕微鏡の結像理論については最終章で述べた．一方，細胞培養のように電子顕微鏡技術と直接関係ない方法でも，形態学研究上必修科目と考えられるものは概説を試みた．

これらの技術を習得することにより，形態（構造）を基盤とした細胞生物学の研究が進展すれば，筆者の目的にかなうものである．また，これを足がかりに次世代の新しい電子顕微鏡法が生まれることを期待している．

2008年6月

臼倉 治郎