

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 4日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21540422

研究課題名（和文）炭素の窓を利用した軟X線顕微鏡での生きた細胞観察の試み

研究課題名（英文）A study on new approaches in soft x-ray microscopy of living cells in the spectral region of "carbon window"

研究代表者

楠本 邦子（竹本 邦子）（KUSUMOTO KUNIKO (TAKEMOTO KUNIKO)）

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号：80281509

研究成果の概要（和文）：生きた細胞を軟X線顕微鏡で観察する方法として、炭素のK吸収端より低いエネルギーである「炭素の窓」を用いる観察法を提案し観察を試みた。この観察に不可欠な新低温装置を作製し、熱や低温ガスによる試料振動の軽減に成功し、生体試料観察や低温化による放射線損傷の軽減を確認した。生きた細胞観察に適した放射線耐性菌について、炭素の透過率が高い「炭素の窓」観察に必要な染色剤としてテルルの効果を確認した。

研究成果の概要（英文）：Soft X-ray microscopy in the spectral region of "carbon window" was suggested as a way to observe a living cell. A newly-developed cryogenic sample system with the use of liquid nitrogen and oxygen gas was installed in the soft X-ray microscope capable of performing a "carbon window" observation. Using the microscope, alleviation of radiation damage in polystyrene latex spheres at cryogenic temperatures was verified. We have also successfully made an experimental observation of biospecimens at cryogenic temperature. Furthermore, tellurium produced an effect on an image contrast enhancement for *Deinococcus radiodurans* which is a major candidate for a living cell observation in "carbon window".

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：生物物理・化学物理

キーワード：生物物理

1. 研究開始当初の背景

軟X線顕微鏡は、光学顕微鏡より高い分解能(50 nm)で細胞を観察できる。特に、生

体試料においては、「水の窓(water window)」と呼ばれる波長領域では、生きた細胞の高分解能観察が最終目的となっている。なぜなら、

酸素と炭素の K 吸収端の間 (2.3~4.4nm) の波長領域を指す「水の窓」では、生体を構成するタンパク質の線吸収係数が水の線吸収係数よりも 1 桁程度大きいため、水中の細胞組織を、水の存在を意識することなく、高いコントラストで観察することができる可能性があるからである。

しかし、軟 X 線顕微鏡観察において、生きている培養繊維芽細胞は $10^4 - 10^5$ Gy のドーズ量を与えられると、放射線の速攻作用により細胞内の微細構造が破壊される[1]。さらに、うさぎの筋収縮も、 10^4 Gy で停止する[2]。Sayer 等の計算によると、軟 X 線による高分解能観察には 10^5 Gy のドーズが必要であると見積もられている[3, 4]。このことから、「水の窓」で含水状態の細胞を高分解能で観察すると細胞は死に、その微細構造の保持もできていないということになる。

軟 X 線顕微鏡観察による放射線損傷を避けるため試料を凍結して観測する方法が有効性である。しかし、この方法では細胞の動きを観察することはできない。

そこで、申請者は、生きたままの細胞を軟 X 線顕微鏡で高分解能観察する方法として、「炭素の K 吸収端よりわずかにエネルギーの低い X 線をプローブとして用い、低温下で radical scavenger を用いることにより、生きた細胞の動きを直接観測する」という方法を考えた。

凍害保護物質である DMSO (dimethyl sulfoxide) やエチレングリコールを用いることで、細胞を低温にする時に生じる氷晶形成を防止し、細胞を生きた状態で低温状態に保持することが可能となる。また、これらは radical scavenger でもあり放射線損傷の軽減効果が期待される。

細胞内の微細構造を高分解能で観察するには、生の細胞をそのまま観察するのではなく、観察したい細胞内小器官だけを見ることができるとは非常に有効である。

特定の細胞内小器官だけを特異的に観察するため、重金属染色の適応を検討する。染め分けには染色には、免疫染色法を適応したい。免疫染色法は、抗体の特異性を利用して組織を「染め分け」、抗原の存在および局在を顕微鏡下で観察する手法で、これを X 線顕微鏡法に用いたい。軟 X 線吸収抗原抗体反応の可視化には、金などの重金属を用いる。

観察には、炭素の K 吸収端よりわずかにエネルギーの低い X 線をプローブとして用いる。この波長域は、生体試料の主成分である炭素が透明となる炭素 K 吸収端より低エネルギー領域は「炭素の窓 (carbon window)」と呼ばれ、厚い生体試料の観察などに提案されている[5]。この「炭素の窓」を利用すると、炭素を多く含む細胞や DMSO やエチレングリコールに比べ高い X 線吸収

を示す重金属を利用することで、染色部位を特異的に観察することができる。また、少ない線量でも高いコントラストが期待できることから、放射線損傷の軽減にも繋がる。

【参考文献】

- [1] J. Kirz, C. Jacobsen, and M. Howells, Q. Rev. Biophys. 28, 33-130 (1995)
- [2] P. M. Bennett, G F. Foster, C. J. Buckley and R. E. Burge, Journal of Microscopy 172, 109-119, (1993)
- [3] D. Sayre, J. Kirz, R. Feder, D. M. Kim, and E. Spiller, Science, 196, 1339-1340, (1977)
- [4] D. Sayre, J. Kirz, R. Feder, D. M. Kim, and E. Spiller, Ultramicroscopy, 2, 337-341, (1977)
- [5] I.A. Artyukov, A. V. Vinogradov, Yu. S. Kas'yanov and S.V. Savel'ev, Quantum Electronics, 34, 691-692 (2004)

2. 研究の目的

X 線をプローブとして用い、低温下で radical scavenger を用いることにより、生きた細胞の動きを直接観測する方法の確立を目指す。

3. 研究の方法

目的達成のため

- (1) 「炭素の窓」利用に向けた軟 X 線顕微鏡の改良
- (2) 生体試料の放射線損傷と低温損傷 (氷晶形成や) の検証と防止法の検討
- (3) 「炭素の窓」でのコントラスト増強観察手法の検討
を行う。手法が確立した後、「炭素の窓」での X 線観察にチャレンジする。

(1) 「炭素の窓」利用に向けた軟 X 線顕微鏡ビームラインの改造

立命館大学 SR センター軟 X 線顕微鏡ビームライン(BL12)を、従来の主要観察波長領域 1.7nm~3.4nm から「炭素の窓」に対応できるように改造および改良を行う。

①対物側真空チャンバーの改造：「炭素の窓」に適合した結像用光学素子 (結像ゾンプレート) が利用できるように、真空チャンバーを改良する。

②焦点距離の調整機構の改造：焦点距離の微調整が容易にできるように、これまで結像ゾンプレートチャンバーに持たせていた焦点距離調整機構を、試料ステージに持たせるように改造する。

③制御用システムの開発：「炭素の窓」の波長範囲で、光学素子と試料ステージ制御を一括して行える制御システムの開発を行う。開発は、LabViewで行う。

④クライオ装置の改良：試料の位置安定性の向上を目指し、クライオ装置の改良を行

う。従来の液体窒素で直接試料を冷却する方法（直接冷却法）から、液体窒素で冷却したクライオガスを用いる方法（間接冷却法）で、試料の温度安定性と、試料の位置安定性を目指す。

(2) 生体試料の放射線損傷と低温化による放射線損傷の軽減の検証

新クライオ装置による放射線損傷軽減の効果を生体試料を用いて検討する。

生体試料の放射線損傷と低温損傷の防止法を検討する。試料として、放射線耐性が通常の細胞に比べて 1000 倍以上大きい放射線耐性菌 *Deinococcus radiodurans* を試料としても用いるため、「水の窓」と「炭素の窓」での放射線耐性を調べる。*D. radiodurans* を放射線損傷防止剤として可能性があり、さらに低温損傷（氷晶形成）防止剤としても利用可能な radical scavenger の存在下で、「炭素の窓」のエネルギーの X 線を照射後、培養し菌の生存状態を調べる。

(3) 「炭素の窓」でのコントラスト増強観察手法の検討

これまで「水の窓」で使用してきた金や銀のコントラスト増強の効果を「炭素の窓」についても検討する。また、他の元素についても検討する。*D. radiodurans* についてはテルルについて検討を行う。テルルは生物の生存に必須ではなく、細胞毒性があるが、多様な生物がテルル蓄積に関わる遺伝子を持ち、*D. radiodurans* も細胞内にテルルを蓄積しつつ生育できる。テルルをラベリング剤として利用するため、細胞内におけるテルルの蓄積状態を、テルルの L 吸収端（2.1 nm）を利用した軟 X 線顕微鏡法で調べる。

4. 研究成果

(1) 本研究の主な成果

①「炭素の窓」用に、改良した軟 X 線顕微鏡チャンバーをビームラインに導入し、「炭素の窓」の波長範囲で光学素子と試料ステージ制御を一括して行える制御システムの開発をした。「炭素の窓」で、結像に十分な X 線の透過率を確認することができた。

②冷却法を冷媒（液体窒素）を直接試料に曝露する冷却する方式（直接冷却方式）から、冷媒で冷却したチャンバーを介し試料を冷却する方式（間接冷却方式）に変更し新しいクライオステージを導入した。このステージは、霜の形成と冷媒ガスによる X 線吸収を改善するため、冷却乾燥酸素ガスで試料槽内を満たす構造とした。このステージを用い、試料セル内で対流するポリスチレンラテックス球懸濁液が凍結により、停止する現象を X 線顕微鏡で動的に観察することができた。また、冷却による放射線損

傷の軽減効果も、ポリスチレンラテックス球の軟 X 線像を詳細に解析することにより確認することができた。シアノバクテリアの低温観察にも成功した。現在、この装置は、様々な試料観察に用いられている。

③テルルのコントラスト増強剤としての効果を調べるため、テルルの入った培地で培養した *D. radiodurans* についてテルルの凝集体を、軟 X 線顕微鏡で観察した。テルルの L 吸収端（2.1 nm）を利用して調べた結果、L 吸収端より短い 2.0 nm では、細胞中に大きさの異なる複数の顆粒状の濃密構造体が認められた。一方、L 吸収端より長い 2.4 nm では、2.0 nm で見られた顆粒状構造体と同位置に、一部コントラストが著しく不鮮明な顆粒体が認められた。この顆粒体は、透過型電子顕微鏡観察で見られるポリリン酸の存在形状に酷似していた。ポリリン酸は、細胞中で負の電荷を持ち、正の電荷を持つ有害金属元素を捕捉し、細胞毒性の少ない形で蓄積することから、*D. radiodurans* の菌体に取り込まれたテルルは、細胞質中で特異的な凝集構造体あるいはポリリン酸に捕捉された状態で存在していると考えている。

④微細シアノバクテリアを、軟 X 線顕微鏡で、「水の窓」と「炭素の窓」を含む 1.9nm～4.5nm 様々な波長を用い観察を行った。2.0nm の波長でサブミクロンの細胞内顆粒が確認できた。同定のため、染色・固定・薄片化したシアノバクテリアの透過型電子顕微鏡観察とルビスコ抗体を用いた蛍光抗体法を適応し、顆粒はカルボキシソームである可能性を示した。カルボキシソームは炭酸固定を担う細胞内構造物であり、酸素元素の局在も示唆される。軟 X 線顕微鏡で酸素の K 吸収端(2.28nm)をより長波長で観察したところ顆粒は確認できなかったため酸素元素が顆粒の主要な構成要素であることが確認できた。

顆粒の「炭素の窓」での観察を行ったところ、理論上、顆粒は細胞より約 20% 透過率が高くなるので、2.0nm 観察像の反転像が期待されたが、明瞭な反転像を得るには至らなかった。しかし、試料による適度な X 線吸収および透過は確認することができた。

これらの成果は、2012 年 8 月に上海で開催される第 11 回 X 線顕微鏡国際会議で方向する予定である。

(2) 得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

軟 X 線顕微鏡観察による生体試料観察において、これまで含水状態の試料観察の可能性を示唆し摘要されてきた「水の窓」に加え、新たに「炭素の窓」というエネルギー領域の可能性について提案し、国内唯一の観察可能

な透過型軟 X 線顕微鏡ビームラインとして整備できた。また、国内の X 線顕微鏡ビームラインにおいて、クライオ試料観察が出来るようになった。

(3) 今後の展望

今回、2012 年度に予定していた *D. radiodurans* の放射線耐性について行うことができなかったため、エネルギー分解能が高く、十分な線量が得られる放射光科学研究施設で調べ、「炭素の窓」で生きていることが確認できた試料についての観察を行いたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 19 件)

- (1) Kimura M, Takemoto K, Ohashi Y, Ohigashi T, Nakanishi K, Namba H, Kihara H, bservation of biospecimens at cryotemperatures with soft x-ray microscope, Japanese Journal of Applied Physics, 査読有, 50(2):Article No.026601-1, 5, 2011. (<http://jjap.jsap.jp/link?JJAP/50/026601/>)
- (2) Kishin Usui, Takuji Ohigashi, Hidetoshi Namba, Kuniko Takemoto, Hiroshi Kihara, Development of the New Sample Cooling System for the Full-field Imaging Soft X-ray Microscope, Memoirs of the SR Center, Ritsumeikan University, 査読無, 13:207-209, 2011.
- (3) K. Takemoto, S. Ichise, T. Ohigashi, H. Namba, H. Kihara, Soft x-ray imaging of *Leptolyngbya tennis (Phormidium tenue)* in Lake Biwa Memoirs of the SR Center, Ritsumeikan University, 査読無, 13:205-206, 2011.
- (4) Takuji Ohigashi, Hidetoshi Namba, Kuniko Takemoto, Hiroshi Kihara, Improvement of Illumination Optics of the Full-field Imaging Soft X-ray Microscope, Memoirs of the SR Center, Ritsumeikan University, 査読無, 13:201-204, 2011.
- (5) Hiroki Fujii, Takuji Ohigashi, Hidetoshi Namba, Kuniko Takemoto, Hiroshi Kihara, Study of quantitative analytical method for soft X-ray nanotomography at BL-12, Memoirs of the SR Center, Ritsumeikan University, 査読無, 13:197-200, 2011.
- (6) 竹本邦子, 一瀬諭, 大東琢治, 池谷仁里, 難波秀利, 木原裕, 軟 X 線顕微鏡を用いた微小植物プランクトンの観察, 日本水処理生物学会誌, 査読有, 47(3):131-135, 2011.
- (7) K. Takemoto, M. Kimura, K. Usui, T. Ohigashi, H. Fujii, K. Nakanishi, H. Namba and H. Kihara, AIP Conference Proceedings, bserervations of biological specimens at cryo-temperatures with soft X-ray microscope at the SR center of Ritsumeikan University, AIP Conference Proceedings, 査読有, 1365:419-422,

2011. (http://proceedings.aip.org/resource/2/apcpcs/1365/1/419_1?bypassSSO=1)

- (8) K. Takemoto, I. Narumi, K. Satoh, T. Ohigashi, H. Namba and H. Kihara, New approach for x-ray micro-imaging of live cells in carbon window region at subzero temperatures with the use of antifreeze, AIP Conference Proceedings, 査読有, 1365:415-418, 2011. (http://proceedings.aip.org/resource/2/apcpcs/1365/1/415_1?bypassSSO=1)
- (9) Kuniko Takemoto, Satoshi Ichise, Takuji Ohigashi, Hidetoshi Namba and Hiroshi Kihara, X-ray Imaging of Mucilaginous Sheath of Phytoplankton in Lake Biwa by Soft X-ray Microscope, AIP Conference Proceedings, 査読有, 1365:373-376, 2011. (http://proceedings.aip.org/resource/2/apcpcs/1365/1/373_1?bypassSSO=1)
- (10) T. Ohigashi, H. Fujii, K. Usui, H. Namba, H. Mizutani, K. Takemoto, and H. Kihara, Development of Computer Tomography System for the Soft X-ray Microscope at Ritsumeikan University, AIP Conference Proceedings, 査読有, 1365:124-127, 2011. (http://proceedings.aip.org/resource/2/apcpcs/1365/1/124_1?bypassSSO=1)
- (11) Mitsuhiro Kimura, Kuniko Takemoto, Hiroshi Kihara, Soft X-ray Microscope at Cryo Temperature, The Journal of the Department of Liberal Arts of Kansai Medical University, 査読有, 30:25-54, 2010.
- (12) Takuji Ohigashi, Hiroki Fujii, Kishin Usui, Hidetoshi Namba, Kuniko Takemoto and Hiroshi Kihara, Development of 3-dimensional imaging system for the full-field imaging soft X-ray microscope at BL-12, Memoirs of the SR Center, Ritsumeikan University, 査読無, 12:67-73, 2010. (<http://www.ritsumei.ac.jp/acd/re/src/kankobutsu/vol.12/p67.pdf>)
- (13) K. Takemoto, S. Ichise, T. Ohigashi, H. Namba and H. Kihara, X-ray imaging of mucilaginous sheath of phytoplankton in Lake Biwa by soft X-ray microscope, Memoirs of the SR center, Ritsumeikan University, 査読無, 12:169-170, 2010. (<http://www.ritsumei.ac.jp/acd/re/src/kankobutsu/vol.12/p169.pdf>)
- (14) M. Kimura, K. Takemoto, Y. Ohashi, T. Ohigashi, K. Nakanishi, H. Namba, and H. Kihara, Soft X-ray microscopic image at cryo temperature, Memoirs of the SR center Ritsumeikan University, 査読無, 12:171-172, 2010. (<http://www.ritsumei.ac.jp/acd/re/src/kankobutsu/vol.12/p171.pdf>.)
- (15) Yamamoto A, Takemoto K, Fukui T, Yoshimura Y, Okuno K, Namba H, Kihara H,

Observation of Immuno-Labeled Cells at High Resolution Using Soft X-Ray Microscope at Ritsumeikan University SR Center, Journal of Physics: Conference Series, 査読有, 186:Article number 012099, 2009.

(http://iopscience.iop.org/1742-6596/186/1/012099/pdf/1742-6596_186_1_012099.pdf)

(16) Yamamoto A, Takemoto K, Komura I, Namba H, Kihara H, Imaging of Chromosomes at Nanometer-Scale Resolution Using Soft X-Ray Microscope at Ritsumeikan University SR Center, Journal of Physics: Conference Series, 査読有, 186:Article number 012098, 2009.

(http://iopscience.iop.org/1742-6596/186/1/012098/pdf/1742-6596_186_1_012098.pdf)

(17) Takemoto K, Ichise S, Ichikawa M, Namba H, Kihara H, X-ray imaging of Picoplankton in Lake Biwa by Soft X-ray Microscope at Ritsumeikan University SR Center, Journal of Physics: Conference Series, 査読有, 186:Article number 012097, 2009.

(http://iopscience.iop.org/1742-6596/186/1/012097/pdf/1742-6596_186_1_012097.pdf)

(18) Takemoto K, Narumi I, Satoh K, Namba H, Kihara H, X-Ray Imaging of Radioresistant *Deinococcus radiodurans*, Journal of Physics: Conference Series, 査読有, 186:Article number 012096, 2009.

(http://iopscience.iop.org/1742-6596/186/1/012096/pdf/jpconf9_186_012096.pdf)

(19) Takemoto K, Namba H, Mukai M, Okuno K, Ohta T, Kihara H, Development of an Auto-focusing Imaging System in the Soft X-Ray Microscope Beamline of the SR Center in Ritsumeikan University, Journal of Physics: Conference Series, 査読有, 186:Article number 012019, 2009.

(http://iopscience.iop.org/1742-6596/186/1/012019/pdf/1742-6596_186_1_012019.pdf)

[学会発表] (計 36 件)

(1) 臼井規真, 竹本邦子, 吉村真史, 大東琢治, 木原裕, 難波秀利, 結像型軟 X 線顕微鏡における低ドリフト試料冷却装置の改良と試料観察, 日本放射光学会, 鳥栖市, 2012 年 1 月 9 日.

(2) 竹本邦子, 山本章嗣, 大東琢治, 一瀬 諭, 難波秀利, 木原 裕, 軟 X 線顕微鏡による植物プランクトン *Leptolyngbya tenuis* の細胞内微細構造の観察と同定, 日本放射光学会, 鳥栖市, 2012 年 1 月 9 日.

(3) 竹本邦子, 山本章嗣, 大東琢治, 一瀬諭, 難波秀利, 木原裕, 軟 X 線顕微鏡による植物プランクトン *Phormidium tenue* の観察 日本水処理生物学会 草津市, 2011 年 11 月 17 日.

(4) 大東琢治, 臼井規真, 難波秀利, 竹本邦子, 木原裕, 立命館大学 SR センター結像型軟 X

線顕微鏡の高度化, X 線結像光学研究会, 仙台市, 2011 年 11 月 4 日.

(5) 竹本邦子, 山本章嗣, 大東琢治, 一瀬諭, 難波秀利, 木原裕, 軟 X 線顕微鏡による植物プランクトン *Leptolyngbya tenuis* (*Phormidium tenue*) の細胞内顆粒の観察, バイオイメージング学会, 千歳市, 2011 年 9 月 1 日.

(6) 竹本邦子, 大東琢治, 難波秀利, 木原 裕, 結像型軟 X 線顕微鏡によるバイオイメージング, 先端計測シンポジウム「軟 X 線顕微鏡の生体観察への応用と展開」, 仙台市, 2011 年 3 月 3 日.

(7) T. Ohigashi, H. Fujii, K. Usui, H. Namba, H. Mizutani, K. Takemoto, H. Kihara, Development of computer tomography system for the soft x-ray microscope at Ritsumeikan University, JSR11 サテライトシンポジウム, つくば市, 2011 年 1 月 11 日.

(8) 臼井規真, 大東琢治, 藤井宏樹, 難波秀利, 竹本邦子, 木原裕, 結像型軟 X 線顕微鏡における低ドリフト試料冷却装置の開発, JSR11 サテライトシンポジウム, つくば市, つくば市, 2011 年 1 月 11 日.

(9) 大東琢治, 藤井宏樹, 臼井規真, 難波秀利, 竹本邦子, 木原裕, 結像型軟 X 線顕微鏡のバイオイメージングへの展開, JSR11 サテライトシンポジウム, つくば市, 2011 年 1 月 11 日.

(10) 竹本邦子, 大東琢治, 安本正人, 木原裕, 細胞の生きた動きを観察する X 線顕微鏡, JSR11 サテライトシンポジウム, つくば市, つくば市, 2011 年 1 月 11 日.

(11) 藤井宏樹, 大東琢治, 臼井規真, 難波秀利, 竹本邦子, 木原裕, 立命館大学の軟 X 線顕微鏡における 3 次元定量解析に向けた観察条件の検討, JSR11 サテライトシンポジウム, つくば市, 2011 年 1 月 11 日.

(12) 竹本邦子, 一瀬諭, 池谷仁里, 大東琢治, 難波秀利, 木原裕, 軟 X 線顕微鏡を用いたピコ植物プランクトンの粘質鞘含有炭素量の計測 JSR11 サテライトシンポジウム, つくば市, 2011 年 1 月 11 日.

(13) 臼井規真, 大東琢治, 藤井宏樹, 難波秀利, 竹本邦子, 木原裕, 結像型軟 X 線顕微鏡における低ドリフト試料冷却装置の開発, 日本放射光学会, つくば市, 2011 年 1 月 10 日.

(14) 竹本邦子, 一瀬諭, 池谷仁里, 大東琢治, 難波秀利, 木原裕, 軟 X 線顕微鏡を用いたピコ植物プランクトンの粘質鞘含有炭素量の計測, 日本放射光学会, 2011 年 1 月 10 日.

(15) 藤井宏樹, 大東琢治, 臼井規真, 難波秀利, 竹本邦子, 木原裕, 立命館大学の軟 X 線顕微鏡における 3 次元定量解析に向けた観察条件の検討, 日本放射光学会, つくば市, 2011 年 1 月 10 日.

(16) 竹本邦子, 一瀬諭, 大東琢治, 難波秀利, 木原 裕, 軟 X 線による粘質鞘の分析, 日本陸水学会, 弘前市, 2010 年 9 月 18 日.

(17) 大東琢治, 藤井宏樹, 臼井規真, 難波秀利, 水谷治央, 竹本邦子, 木原裕, 軟X線顕微トモグラフィシステムの開発, 第9回バイオイメージング学会, 東京, 2010年9月10日.

(18) 竹本邦子, 木原裕, 大東琢治, 鳴海一成, 佐藤勝也, 難波秀利, 軟X線顕微鏡による生きた生物のイメージングに向けた試み, 第9回バイオイメージング学会, 東京, 2010年9月10日.

(19) K. Takemoto, I. Narumi, K. Satho, T. Ohigashi, and H. Kihara, Feasibility study of X-ray imaging with near carbon K-shell edges on Deinococcus radiodurans, the 10th international conference on x-ray microscopy, Chicago, 2010年8月19日.

(20) K. Takemoto, S. Ichise, T. Ohigashi, H. Namba and H. Kihara, X-ray imaging of mucilaginous sheath of phytoplankton in Lake Biwa by soft X-ray microscope, the 10th international conference on x-ray microscopy, Chicago, 2010年8月19日.

(21) K. Takemoto, M. Kimura, K. Usui, T. Ohigashi, H. Namba and H. Kihara, Observations of biological specimens at cryo-temperatures with soft X-ray microscope at the SR center of Ritsumeikan University, the 10th international conference on x-ray microscopy, Chicago, 2010年8月19日.

(22) T. Ohigashi, H. Fujii, K. Usui, H. Namba, H. Mizutani, K. Takemoto, and H. Kihara, Development of computer tomography system of the soft x-ray microscope at Ritsumeikan University, the 10th international conference on x-ray microscopy, Chicago, 2010年8月17日.

(23) Kuniko Takemoto, Takuji Ohigashi, Hiroshi Kihara, Soft X-ray Microscopy for Bioimaging at the SR Center of Ritsumeikan University, 3rd International Symposium on Bioimaging Symposium, Okazaki, 2010年1月20日.

(24) Kuniko Takemoto, Satoshi Ichise, Takuji Ohigashi, Hidetoshi Namba and Hiroshi Kihara, X-ray imaging of mucilaginous sheath of phytoplankton in Lake Biwa by soft X-ray microscope, 3rd International Symposium on Bioimaging Symposium, Okazaki, 2010年1月20日.

(25) M Kimura, K. Takemoto, Y. Ohashi, T. Ohigashi, K. Nakanishi, H. Fujii, H. Aratame, H. Namba, and H. Kihara, X-ray microscopy at cryo-temperatures at the SR Center of Ritsumeikan University, 3rd International Symposium on Bioimaging Symposium, Okazaki, 2010年1月20日.

(26) T. Ohigashi, H. Fujii, H. Namba, K. Takemoto, H. Kihara, and K. Kubokawa, Anatomical observation of organs of

a lancelet by a full-field imaging soft x-ray microscopy, 3rd International Symposium on Bioimaging Symposium, Okazaki, 2010年1月20日.

(27) 大東 琢治, 藤井 宏樹, 難波 秀利, 竹本邦子, 木原 裕, 結像型軟X線顕微鏡 C T システムの開発, 日本放射光学会, 姫路, 2010年1月9日.

(28) 竹本邦子, 大東琢治, 木村光博, 大橋嘉雄, 中西康次, 藤井宏樹, 難波秀利, 木原裕, 立命館大学SRセンター, 軟X線顕微鏡による生体試料のクライオ観察, 日本放射光学会, 姫路, 2010年1月9日.

(29) 竹本邦子, 一瀬諭, 大東琢治, 難波秀利, 木原裕, 軟X線顕微鏡による琵琶湖に生息する植物プランクトンの粘質鞘の観察, 日本放射光学会, 姫路, 2010年1月8日.

(30) 大東 琢治, 藤井 宏樹, 臼井 規真, 宇野優衣, 難波 秀利, 竹本 邦子, 木原 裕, 立命館大学SRセンター結像型軟X線顕微鏡システムの現状報告, 第10回X線結像光学シンポジウム, つくば市, 2009年11月6日.

(31) 竹本邦子, 大東琢治, 藤井宏樹, 新田目啓敬, 水谷治央, 一瀬諭, 難波秀利, 木原裕, 立命館大学SRセンター軟X線顕微鏡による生物観察の最近の成果, 日本バイオイメージング学会, 岡山市, 2009年9月4日.

(32) 竹本邦子, 藤井宏樹, 新田目啓敬, 神村伊緒, 山本章嗣, 大東琢治, 難波秀利, 木原裕, 軟X線顕微鏡を用いた種々の方法で染色した染色体の観察, 日本バイオイメージング学会, 岡山市, 2009年9月4日.

(33) 竹本邦子, 木原裕, 軟X線顕微鏡による生きた生物のバイオイメージング, 日本バイオイメージング学会, 岡山市, 2009年9月3日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

楠本 邦子(竹本 邦子) (KUSUMOTO KUNIKO) (TAKEMOTO KUNIKO)

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号: 80281509

(2) 研究分担者

木原 裕 (HIROSHI KIHARA)

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号: 20049076

(3) 連携研究者

鳴海 一成 (NARUMI ISSAY)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・量子ビーム応用研究部門・量子生命フロンティア研究特定ユニット・研究主幹

研究者番号: 90343920

山本 章嗣 (YAMAMOTO AKITSUGU)

長浜バイオ大学・教授

研究者番号: 30174775