

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 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22300131

研究課題名（和文） 新規的な蛍光タンパク質とレーザー光技術を用いた神経伝達・開口放出機能の可視化解析

研究課題名（英文） Visualization analysis of neurotransmission and exocytosis by using novel fluorescent protein and laser optics technology

研究代表者

根本 知己 (NEMOTO TOMOMI)

北海道大学・電子科学研究所・教授

研究者番号：50291084

研究成果の概要（和文）：神経分泌、開口放出の可視化解析法を発展させ、*in vivo* 光イメージング法の構築を行い、分子基盤の解明を進めた。新規蛍光タンパク質シリウスを用い SNARE タンパク質 VAMP の蛍光タグ化、破骨細胞モデルにおける酸性小胞のダイナミクスの可視化に成功した。FRETを用いた新規の高感度 Ca^{2+} センサー、カメレオンナノを用いて、膵臓外分泌腺カルシウム依存性開口放出や小脳神経細胞の Ca^{2+} 動態の可視化を行った。さらに新規近赤外レーザー光を用いてマウス脳深部の海馬神経細胞の観察にも成功した。

研究成果の概要（英文）：We have developed novel visualization analysis techniques for neurotransmission and exocytosis, and constructed “*in vivo*” optical imaging methods to advance for elucidation of the molecular basis. We generated fluorescently tagged SNARE proteins, VAMP-Sirius by using a novel fluorescent protein Sirius in order to visualize dynamics of acid vesicles in an osteoclast model. A novel FRET Ca^{2+} sensor, Cameleon-nano protein, visualized Ca^{2+} -dependent exocytosis in pancreatic acinar cells, as well as Ca^{2+} dynamics in neurons in cerebellum. Furthermore, we successfully observed hippocampal neurons in deeper layers in live mouse brains.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2011年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2012年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
年度			
年度			
総計	13,800,000	4,140,000	17,940,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・融合基盤脳科学

キーワード：2光子顕微鏡、分泌、蛍光タンパク質、SNARE、光脳科学、非線形光学

1. 研究開始当初の背景

多光子顕微鏡は、近赤外域のフェムト秒レーザーを励起光源として用いることで生じる非線形光学過程を利用し、他の顕微鏡法では観察不可能な、インタクトな組織深部の分子細胞機構の観察を可能とする。現在、生物個体中で非侵襲的に細胞や生体分子の形

態・機能の解析が可能な方法論として最も期待される。申請者は、この方法論の黎明期より、その確立と生命科学への応用を先導し、神経細胞や分泌腺細胞において、開口放出、神経可塑性やイオンチャネル機能の可視化により、生理的条件下での機能解析の重要性を明らかにしてきた (*Nature Cell Biol.*,

2001; *Nature Neurosci.*, 2001; *Science*, 2002; *JBC*, 2004; *J. Physiol.*, 2005; *EMBO J*, 2006; *J. Physiol.*, 2007; *Am. J. Physiol.*, 2008; *J. Neurosci.*, 2009a., *Nature Methods*, 2009)。特に、細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の上昇がトリガーする開口放出現象は、シナプス前終末の神経化学伝達物質の分泌の例を待つことなく、様々な内・外分泌腺や免疫、骨代謝などの多様な生命現象の基盤にあり、しかも組織を越えて共通の分子機械が用いられていると推定されている。しかし、その分子機構自体は、観察技術の不足のため、その解明が遅れている。また最近、多光子顕微鏡の生体組織への透過性、低侵襲性を最大限に利用し、麻酔下のマウス個体の大脳新皮質の“*in vivo*”イメージングに成功し、世界でトップの約 1.0mm という深部到達性を実現していた(*Mol Cells*, 2008, *Brain Res.*, 2009, *J Neurosci.*, 2009b)。加えて、多光子顕微鏡法は細胞内部のサブミクロンの生理的構造を光で活性化・刺激できることを利用し単一スパインを刺激する方法論を確立していた。

2. 研究の目的

従って、本研究課題では、培ってきた開口放出現象の解析法を発展させ、神経、分泌細胞の開口放出機構の解明を進めると共に、新たな技術の導入により、神経活動と神経分泌の *in vivo* 光イメージング法を、神経回路機能の動作原理を解明するための方法論の確立と、それによる新たな「光・脳科学」を切り開くことを目指した。

3. 研究の方法

現有多光子顕微鏡に新たに、非線形レーザー光学、新規蛍光タンパク質、光活性化を導入し、開口放出関連分子や細胞膜電位の定量的な機能アッセイを開発する。これにより動物個体の脳において神経回路機能を可視化すると共に、神経伝達の神経回路機能への関与を能動的に調べる方途を拓くこととした。

4. 研究成果

(1) 新規蛍光タンパク質シリウスによる SNARE タンパク質 VAMP の蛍光タグ化及び、分泌・輸送小胞動態の可視化

神経分泌・開口放出機構の関連分子の同時可視化のための蛍光タグ化の方法論を確立することで、生体脳中において、開口放出を引き起こす分子機械として有力な候補分子 (SNARE 分子群) の動態、複合体形成などを多重可視化する方法論の確立を目指した。まず、1 波長励起同時 4 波長蛍光計測系の高精度化及び、蛍光タンパク質シリウス、酸性小胞蛍光指示薬や水溶性蛍光色素等の使用による、SNARE 複合体を構成する SNARE 分子の動態

と融合細孔の開口とを同時に可視化・定量するための観察システム系の確立を実施した。特に、モデル細胞として RAW 細胞から破骨細胞への分化誘導のための条件を検討した。その結果、適切な巻日数を開けての経時的な RANK 処理が重要であることが新たに判った。また、RAW 細胞にたいしてシリウスで蛍光タグ化した v-SNARE タンパク質 VAMP の発現プラスミドの導入を試みたところ、酸性小胞特異的な発現に成功した (図 1)。さらに 2 光子顕微鏡の生体組織や細胞に対する低侵襲性を活用することで、酸性小胞の生細胞中でのダイナミクスを 4 次元 (xyzt) で可視化、長期観察することが可能となった。骨代謝異常によって発症する様々な疾患の分子機構を検討するための系として有望である。

また脂肪細胞モデル系において小胞の形質膜との融合細孔形成過程における分子動態を可視化する目的で、蛍光タンパク質をタグ化した糖輸送体 (GLUT4) の発現系を構築した。血糖調節における輸送小胞を介した糖取り込み能の制御機構について分子、細胞レベルでの新たな知見が得られることが期待される。

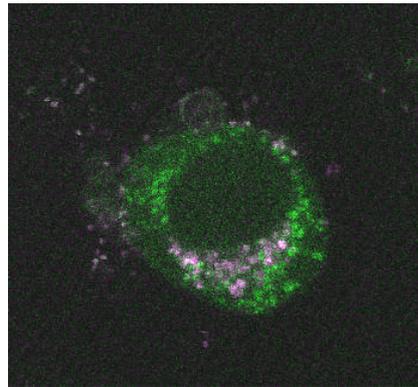


図 1. 2光子励起蛍光観察したシリウス融合 vSNARE 分子 (紫色) を発現する株化細胞。酸性小胞は顆粒状に染まっている (緑色)。

(2) 新規高感度 Ca^{2+} センサー「カメレオンナノ」を用いた、 Ca^{2+} 動態や Ca^{2+} 依存性開口放出の解析

蛍光タンパク質間の FRET (フォレストアーエネルギー共鳴移動現象) を用いた新規の高感度遊離カルシウムイオンインジケターである「カメレオンナノ」をユビキタスに発現するトランスジェニックマウスを用いて、カルシウム依存性開口放出の可視化解析法を開発した。カメレオンナノ 4GS-トランスジェニックマウスから摘出した膵臓外分泌腺を急性単離した。 Ca^{2+} 濃度変化は、カメ

レオナノ 4GS のドナー (CFP) を波長 780 nm により 2 光子励起させ、アクセプター (YFP) の蛍光画像との除算により FRET シグナルを取得した。同時に、開口放出の単一現象の可視化は細胞外の赤色蛍光色素 SRB による逆行性の染色による Ω 構造の可視化 (TEP 法) を採用した。その結果、FRET と開口放出における単一イベントを同時に可視化することができ、WT と同様の挙動が確認された。しかし、強制的に $[Ca^{2+}]_i$ を *in vivo* でキレートさせる実験を行ったところ、いままで予想された Ca^{2+} 動員のモデルとは異なる FRET シグナルの挙動が観察された。これが超高感度の Ca^{2+} インジケータであるカメレオンノによって初めて観察することができた新しい生理現象であるか、今後、慎重に検討する必要がある。

(3) 新規高感度 Ca^{2+} センサー「カメレオンノ」 と多光子顕微鏡を用いた小脳神経細胞 の *in vivo* イメージング

同様に、「カメレオンノ」をユビキタスに発現するトランスジェニックマウスを用いて、中枢神経系において、その FRET シグナルを用いた多光子励起 *in vivo* イメージングが可能かどうか検討した。麻酔下のトランスジェニックマウスをオープンスカル法で処理をし、麻酔下で保定・観察したところを、小脳において同時に多数個の神経細胞の Ca^{2+} 変動を可視化することに成功した。さらに LTP を惹起すると考えられている眼球への空気の吹きつけ刺激により神経発火の同期が起きている可能性が示唆された。

(4) 新規近赤外レーザー光をによるマウス 脳深部の海馬 CA1 神経細胞の観察 東北大学との共同研究により、新規近赤外超

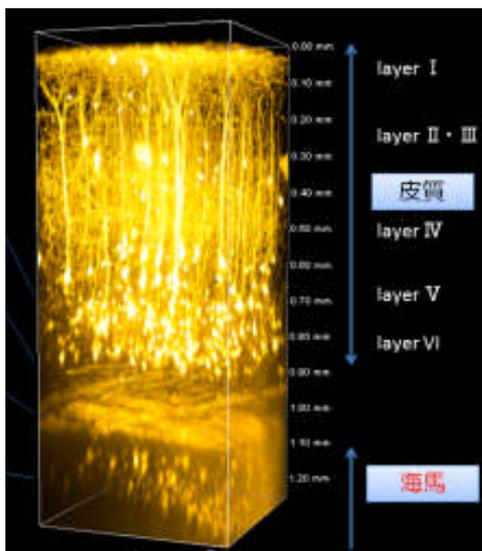


図 2 : H-line マウス生体脳の *in vivo* イメージング

短光パルスレーザーを用いた多光子励起レーザー顕微鏡システムを開発し、世界で初めて、生きた状態のマウスの海馬 CA1 領域及び大脳新皮質全層を同時に観察することに成功した (図 2)。これにより海馬という記憶にとって欠くことのできない重要な脳部位を、大脳新皮質などの他の部分を全く破壊することなく動物が生きている「そのまま」の状態、観察できる方法が確立することができた。このことは記憶のメカニズムの研究のみならず、深部のがんの観察・検査などといった医学応用の展開も期待されている。

本研究成果は、*Nature* 姉妹誌 *Scientific Reports* 誌に掲載された上、読売新聞等マスコミ 5 社に報道され、*Nature Asia* 出版によって「注目の論文」としても選ばれるなど、社会的にも非常に大きな注目を集めている。

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 27 件)

1. Ryosuke Kawakami, Kazuaki Sawada, Aya Sato, TTerumasa Hibi, Yuichi, Kozawa, Shunichi Sato, Hiroyuki Yokoyama, Tomomi Nemoto (2013) "Visualizing hippocampal neurons with *in vivo* two-photon microscopy using a 1030 nm picosecond pulse laser", *Scientific Rep.* vol. 3, Article #1014. (2013/01/24/online), 査読有 doi:10.1038/srep01014
2. Daisuke Takao, Tomomi Nemoto, Takaya Abe, Hiroshi Kiyonari, Hiroko Kajiura-Kobayashi, Hidetaka Shiratori, Shigenori Nonaka, "Asymmetric distribution of dynamic calcium signals in the node of mouse embryo during left-right axis formation", *Developmental Cell*, vol. 376, No.1, pp. 23-30, 査読有、doi: 10.1016/j.ydbio.2013.01.18. (2013)
3. 日比輝正、一本嶋佐理、根本知己「ベクトルビームによるレーザー顕微鏡の超解像化の試み」*光技術コンタクト*、Vol. 51, No.4, pp.20-26、査読無 (2013)
4. 根本知己、川上良介、日比輝正「超短光パルスレーザーによる非線形光学過程を用いた超解像イメージング」*光アライアンス*、Vol. 24, No.4, pp.10-14 査読無 (2013)
5. 根本知己「生命機能の創発を理解する光操作とイメージングの最前線」*レーザー研究*、vol. 41, pp. 84-85、査読有 (2013)
6. 根本知己、川上良介、日比輝正「多光子

- 励起レーザー顕微鏡の高深度化・超解像化」レーザー研究、vol. 41, pp.107-112, 査読有 (2013)
7. Ayano Tanabe, Yuka Saito, Makoto Kurihara, Nobuyuki Hashimoto, Yuichi Kozawa, Shunichi Sato, Terumasa Hibi, Tomomi Nemoto, "Observation of PDLCs by SHG laser scanning microscopy using a liquid crystal vector beam generator", Proc SPIE, pp. 8279-20 (2012) 査読有
 8. Sho Ogata, Takashi Miki, Susumu Seino, Seiichi Tamai, Haruo Kasai, Tomomi Nemoto. (2012) A Novel Function of Noc2 in Agonist-Induced Intracellular Ca²⁺ Increase during Zymogen-Granule Exocytosis in Pancreatic Acinar Cells. PLoS ONE 7(5): e37048. doi:10.1371/journal.pone.0037048 査読有
 9. 根本知己、川上良介、日比輝正「ニューロフォトニクスのための多光子顕微鏡技術の基礎と展開」レーザー研究、レーザー学会第 437 回研究報告, pp. 9-13、査読有 (2012)
 10. T. Nemoto, T. Hibi, S. Ipponjima, "Confocal and multi-photon laser microscopy using liquid crystal devices and vector beams", SPIE Newsroom, 10 December 2012, SPIE Newsroom. DOI: 10.1117/2.1201211.004549 査読有 (2012)
 11. 川上良介、日比輝正、根本知己「生体深部を可視化する in vivo 多光子励起顕微鏡法」、ドーজনニュース No. 144, pp. 6-9, 査読無 (2012)
 12. 根本知己、日比輝正、川上良介「"in vivo" 多光子顕微鏡による生体機能のイメージング」、未来材料、vol.12, No.7, pp.2-4 (2012) 査読無
 13. 根本知己、川上良介、日比輝正、青柳佑佳、澤田和明「脳の in vivo イメージング」、病理と臨床、vol.30, No.7, pp. 725-731 (2012) 査読無
 14. 日比輝正、川上良介、根本知己「生体深部の二光子イメージング-その深部化と高解像化の試み-」、血管医学、vol. 13, No.2, pp.123-128 (2012) 査読無
 15. 澤田雅人, 金子奈穂子, 稲田浩之, 和氣弘明, 加藤康子, 柳川右千夫, 小林和人, 根本知己, 鍋倉淳一, 澤本和延「感覚入力による成体嗅球新生ニューロンの位置決定」Nagoya Med J, vol. 52 (2), pp.163-163 (2012) 査読無
 16. "Sensory input regulates spatial and subtype-specific patterns of neuronal turnover in the adult olfactory bulb", Masato Sawada, Naoko Kaneko, Hiroyuki Inada, Hiroaki Wake, Yasuko Kato, Yuchio Yanagawa, Kazuto Kobayashi, Tomomi Nemoto, Junichi Nabekura, and Kazunobu Sawamoto, J. Neurosci., vol.31, pp. 11587-11596 (2011) 、査読有、 doi: 10.1523/JNEUROSCI.0614-11.2011
 17. "Lateral resolution enhancement of laser scanning microscopy by higher-order radially polarized mode beam", Yuichi Kozawa†, Terumasa Hibi†, Aya Sato, Hibiki Horanai, Makoto Kurihara, Nobuyuki Hashimoto, Hiroyuki Yokoyama, Tomomi Nemoto, and Shunichi Sato, Optics Express, Vol. 19, Issue 17, pp. 15947-15954 (2011) (†: equally contributed)、査読有、 <http://www.opticsinfobase.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-19-17-15947>
 18. "GABA regulates the multidirectional tangential migration of GABAergic interneurons in living neonatal mice", Hiroyuki Inada, Miho Watanabe, Taku Uchida, Hitoshi Ishibashi, Hiroaki Wake, Tomomi Nemoto, Yuchio Yanagawa, Atsuo Fukuda, Junichi Nabekura, PLoS ONE, Vol. 6, No. 12, e27048 (epub) (2011)、査読有、 doi : 10.1371/journal.pone.002704812.
 19. 根本知己、日比輝正、川上良介「多光子励起レーザー顕微鏡を用いた生体機能の非侵襲的生体深部イメージング」、ファルマシア、vol. 47, No.8, pp.724-728 (2011) 査読有
 20. 根本知己 「細胞生物学における超解像撮像技術」、パリテイ. Vol. 26, No.6, pp. 44-49 (2011) 査読有
 21. "Rap1 controls lymphocyte adhesion cascade and interstitial migration within lymph nodes in a RAPL-dependent and -independent manner", Yukihiko Ebisuno, Koko Katagiri, Tomoya Katakai, Yoshihiro Ueda, Tomomi Nemoto, Hiroyuki Inada, Junichi Nabekura, Takaharu Okada, Reiji Kannagi, Toshiyuki Tanaka, Masayuki Miyasaka, Nancy Hogg, Tatsuo Kinashi, Blood, 115(4):804-14 (2010) 査読有 doi:10.1182/blood-2009-03-2119797.
 22. Tomomi Nemoto, "Potential of "in vivo" Two-photon microscopy in visualization of 3D structure and functional information in living body" J. Pharmacolog. Sci., vol.112, p. 45P, (2010) 査読無

23. Tomomi Nemoto, "Two-photon microscopic analysis of sequential compound exocytosis", *J. Physiol. Sci.*, vol. 60, p. S45 (2010)、査読無
24. 根本知己、日比輝正、川上良介「多光子顕微鏡による生体機能の可視化解析技術」*オプトデザイン*、No.45, pp.33-39. (2010) 査読無
25. 根本知己 「光の回折限界を超える細胞機能イメージングの試み」、研究会報告「生物物理若手の会 第49回夏の学校」、物性研究 vol. 94, No.2, pp. 242-244, 2010. 査読無
26. 根本知己 「レーザーを用いた開口放出や細胞膜機能・形態の新規的な可視化手法」、*膜*. Vol. 35 pp. 57-62 (2010) 査読有
27. 根本知己 「超短光パルスレーザーによる細胞、生体分子の動態の可視化解析」、*レーザー医学会誌*. Vol. 30, pp. 435-440 (2010) 査読有

[学会発表] (計 77 件)

1. 根本知己、招待講演「新しいレーザー、光学技術を用いた多光子顕微鏡」、第90回日本生理学会大会ランチョンセミナー、2013年3月28日、タワーホール船堀(東京都)
2. 根本知己、招待講演「脳をみる～特殊レーザーを用いた2光子顕微鏡システム～」、光材料・応用技術研究会 第四回研究会、東京理科大森戸記念館、東京都、2013年3月1日
3. T. Nemoto, Invited: "Development of "in vivo" Multi-Photon Laser Excitation Microscopy for Brain Research", The 4th Taiwan-Japan Symposium on Nanomedicine, academia sinica(Taipei), 2013年1月15日
4. 川上良介、日比輝正、根本知己、招待講演 "Recent development and problems of in vivo two-photon microscopy for deep imaging of mouse brain", BME2012, 2012年12月11日、福岡国際会議場(福岡市)
5. 根本知己、招待講演「ニューロフォトニクスのための多光子顕微鏡技術」、ニューロフォトニクス研究会、グランドヒル市ヶ谷、東京都、2012年12月7日
6. R. Kawakami, K. Sawada, A. Sato, T. Hibi, Y. Kozawa, S. Sato, H. Yokoyama, T. Nemoto, "In vivo two-photon microscopy with a 1030 nm (high-peak-power) picosecond-pulse laser to visualize the cortex and hippocampal pyramidal neurons in H-Line mice", Society for Neuroscience 2012, Oct. 13-17, Ernest N. Morial Convention Center, New Orleans, US, 2012
7. T. Nemoto, Invited: "Improvement of penetration depth and spatial resolution in "in vivo" two-photon microscopy", JSAP-OSA Joint Symposia, Ehime Univ., Matsuyama, Japan, Sep. 11, 2012
8. 根本知己、招待講演「多光子レーザー顕微鏡を用いた生体イメージングの基礎と応用」、感染研・学友会共催セミナー、国立感染症研究所(東京都)、2012年7月13日
9. S. Ipponjima, T. Terumasa, Y. Kozawa, H. Horanai, A. Sato, M. Kurihara, N. Hashimoto, H. Yokoyama, S. Sato, T. Nemoto, "Improvement of the Spatial Resolution in Two-Photon Microscopy with a Vector Beam Generated by Liquid Crystal Devices", Focus On Microscopy 2012, Suntec Singapore International Convention & Exhibition centre, Apr 1-4, 2012, Singapore, Republic of Singapore
10. 根本知己、招待講演「生理機能イメージングの深部化と超解像化を目指す新規多光子レーザー顕微鏡」日本薬学会、北海道大学(札幌市)、2012年3月30日
11. A. Tanabe, Y. Saito, M. Kurihara, N. Hashimoto, Y. Kozawa, S. Sato, T. Hibi, T. Nemoto, "Observation of PDLcs by SHG laser scanning microscopy using a liquid crystal vector beam generator", Photonics West, pp. 8279-20, Moscone Center, San Francisco, USA, 23 Jan 2012
12. T. Nemoto, Invited: "Development of "in vivo" multi-photon and super-resolution microscopy for elucidation of neural and secretory activities", 理研 ASI 細胞システムコロキウム, 理化学研究所(和光市), Jan. 13. (2012)
13. 日比輝正、根本知己、招待講演「新規超解像顕微鏡の開発と医学研究への応用」、第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日～16日、パシフィコ横浜、横浜市
14. R. Kawakami, T. Hibi, T. Nemoto, Invited: "Development of "in vivo" multi-photon and super-resolution microscopy for elucidation of neural activity", "The France-Japan workshop "Bio-inspired approaches : Micro- and Nano- Architectures, Materials & Imaging", the Institut Européen de Chimie et Biologie (IECB), Bordeaux, France, 2011年10月11-12日
15. 一本嶋佐理、日比輝正、小澤祐市、洞内響、佐藤綾耶、栗原誠、橋本信幸、横山弘之、佐藤俊一、根本知己「高次径偏光ビームによる超解像イメージング」第20回日本バイオイメーキング学会学術集会、2011年9月1-2日、千歳科学技術大学(ベストイメーキング賞受賞)
16. 根本知己、招待講演「2光子励起法による

- 組織内イメージング」、第20回 浜松医科大学 メディカルホトニクス・コース シンポジウム「光はどこまで見えるか」、浜松医科大学、2011年8月22日
17. 根本知己、招待講演「非線形光学過程による生体深部イメージングとその超解像化への試み」、第15回 NMR マイクロイメージング研究会、自然科学研究機構岡崎コンファレンスセンター、2011年8月4日
 18. Nemoto T, Invited: “in vivo” functional imaging of cell physiology by using multi-photon excitation process”, ETH seminar, Die Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich, Switzerland, Apr. 21, 2011
 19. Nemoto T, Invited: “Development in laser scanning microscopy using two-photon excitation process and vector beam”, International Symposium on Photonic Bioimaging 2011, Hilton Niseko Village, Niseko, Japan, Feb. 8, 2011
 20. 根本知己、招待講演「新しい光技術を用いた2光子顕微鏡の原理と展開」第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会、神戸ポートアイランド、神戸市、2010年12月8日
 21. 根本知己、招待講演「in vivo 多光子顕微鏡による細胞生理機能の可視化と今後の展開」駒込病院総合カンファレンス、東京都立駒込病院、2010年12月3日
 22. Nemoto T, Invited: “in vivo two-photon microscopy and super-resolution imaging utilized by vector beam”, 4th International Sympojium of Nanomedicine, Okazaki conference center, Okazaki, Japan, Nov. 30, 2010
 23. 根本知己、招待講演「2光子顕微鏡を用いた脳機能解析の新たな展開」第31回日本レーザー医学会総会、ウインクあいち（愛知県産業労働センター）、名古屋市、2010年11月14日。座長を兼ねる
 24. 根本知己、日比輝正、招待講演「生体高分子複合体や細胞の機能解明を目指す非線形光学イメージング」第59回高分子討論会（高分子学会）2010年9月18日、サッポロピリカコタン、札幌市
 25. 根本知己、招待講演「最先端の生物用光学顕微鏡の原理と応用」Neuro2010 連携レクチャー： In vivo 細胞機能計測・操作技術、生理学研究所、2010年8月30日
 26. 根本知己、日比輝正、招待講演「近赤外超短光パルスレーザーによる細胞や生体分子のイメージング法の展開」、第5回日本分子イメージング学会学術集会、ピアザ

淡海、大津市、2010年5月22日

27. 根本知己、招待講演「多光子顕微鏡による開口放出現象の可視化解析」、第87回日本生理学会シンポジウム“Exocrine protein secretion and signal transduction”、いわて県民情報交流センター（アイーナ）、岩手県盛岡市、2010年5月19日-21日。（オーガナイザーを兼ねる。）
 28. 根本知己、招待講演「超短光パルスレーザーを用いた小胞膜動態、開口放出の可視化」日本膜学会第32年会、生体膜シンポジウム、産業技術総合研究所臨海副都心センター、2010年5月14日
- 他 49 件

〔図書〕（計2件）

1. 根本知己、日比輝正、川上良介「2光子蛍光イメージング」、「発光の事典」（木下、太田、永井、南（共編））第7. 3. 2節、朝倉書店（印刷中）
2. 根本知己、第4章 3-4「多光子励起生体イメージング」pp. 411-414、「トランポソームの世界」（金井他編）京都廣川書店（2011）

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

名称：観察用具及び観察装置
 発明者：大嶋祐介、根本知己、鈴木 智
 権利者：愛媛大学、(株)イントロテック
 種類：特許
 番号：2013-040111
 出願年月日：2013年2月28日
 国内外の別：国内

○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.es.hokudai.ac.jp/labo/mcb/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

根本 知己 (NEMOTO TOMOMI)

北海道大学・電子科学研究所・教授

研究者番号：50291084

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし