

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23370072

研究課題名(和文) 超顕微鏡技術を用いた分化多能性細胞から終分化細胞へのアクチン繊維分化系統図の作成

研究課題名(英文) Creation of an actin fiber differentiation system diagram towards the final differentiated cells using ultra-microscopic techniques

研究代表者

岩根 敦子 (IWANE, Atsuko)

大阪大学・生命機能研究科・招へい教授

研究者番号：30252638

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円

研究成果の概要(和文)：分化誘導観察系の構築としては筋管細胞を骨格筋細胞に分化させ、非常に効率よく自動拍動を観察出来る系を立ち上げた。骨格筋細胞内のアクチン繊維の状態変化は定量性逆転写-PCR法を用い、分化マーカーをモニタリングしながらライブイメージングする系を得、ほぼ観察系は確立できた。一方、クライオ電子顕微鏡を用いた細胞内の超微細構造解析は2軸でのSTEM-トモグラフィー観察で対応した。細胞内の比較的厚い試料での観察を可能とし、アクチン繊維と微小管、中間径フィラメントの区別をより明確に行える。さらに、無染色での超微細構造の可視化に加え、明確な同定が期待されるクライオ環境下での光顕を用いた同視野観察にも成功した。

研究成果の概要(英文)：We have developed a system that can observe the beating of myotubes differentiated to skeletal muscle cells. We have also established a system for live imaging while monitoring differentiation markers by qRT-PCR to identify the state of actin fibers. Additionally, we have combined suitable vitrification and dual-axial observation in order to obtain a clearer image of the cell. Using this EM system, we could observe relatively thick specimens and distinguish actin fibers from microtubules and intermediate filaments more clearly. In addition to the visualization of the superfine structure without staining, we successfully observed in the same field of the cell under liquid N2 using light microscopy to identify target molecules.

研究分野：細胞生物学・生物物理学

キーワード：アクチン繊維 クライオ電子顕微鏡 構造解析 分化

1. 研究開始当初の背景

アクチンは微小管や中間系フィラメントと共に細胞骨格の一員としてほとんど全ての細胞に存在する。重合と脱重合を繰り返す、その動的平衡により細胞の多岐にわたる生命機能に關与する極めて重要な能力(分裂、分化、アポトーシス)に深く、密接に關与している。具体的には筋細胞においてはミオシンと共に筋収縮を担い、また、神経細胞ではフィロポディア、ラメルポディアなどの形成により細胞の形を巧みに変形させることで、神経活動に深く關与している。

細胞の形に注目してみると、終分化細胞である上皮細胞や筋細胞はシャーレ上、扁平で単層構造をしているものが多いが、ES細胞や体細胞を多能性誘導因子(転写因子)で万能化させた人工多能性幹細胞(iPS細胞)は球状の形に変化することが示された。体細胞からiPS細胞への形状変化はアクチンの脱重合によることが予想されるが未だ明らかな結論は得られていない。

近年のX線結晶構造解析技術の向上に伴い、多くの重要な蛋白質の構造が高分解能(3Å以上)で明らかにされてきたが、クライオ電顕を用いて、結晶化させなくても、また結晶化が困難な蛋白質分子も溶液中のイメージ像からトモグラフィによる再構成がうまくいけば立体構造解析は可能になってきた。In vitroで開発された極低温電子顕微鏡によるアクチンフィラメントの構造解析技術を基に細胞分化の各ステージにおける細胞内のアクチンネットワークの可視化をクライオエレクトロントモグラフィの技術を用いておこない、分化過程における細胞内アクチン繊維の構造を示す。

2. 研究の目的

終分化細胞である上皮細胞や筋細胞はシャーレ上、扁平で単層構造をしているものが多いが、ES細胞や体細胞を多能性誘導因子(転写因子)で万能化させた人工多能性幹細胞(iPS細胞)は球状で凝集しやすい形状に変化することが示された。扁平の上皮細胞は低温下での培養、アクチン脱重合剤処理に伴い、丸くなる事が良く知られている。これらのことから、細胞の形状変化はアクチンの重合-脱重合を伴う、ダイナミックな骨格構造の再編成がおこなわれていると考えられる。多能性幹細胞が最終的に特化した構造・機能を獲得する分化過程の系統図を従来の生化学、細胞生物学的分類方法とは全く異なるアクチン繊維の形態変化を指標に作成する事を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 研究体制と全体像の役割分担：

本研究は、研究代表者岩根を中心に研究分担者渡邊と藤井とで右表の様な役割分担にて研究計画を施行した。

	研究代表者	研究分担者	研究分担者	研究協力者
	岩根敦子	渡邊明信	藤井高志	大学院生 <sup>*1</sup> 並びに連携研究者 <sup>*2</sup>
細胞観察系の構築 <sup>*3</sup>	○	○		○
極低温電子顕微鏡構造解析	○		○	○
系統図作成	○	○		○

\*1 研究代表者並びに分担者の教育管理下にある大阪大学生命機能研究科の博士課程の学生も研究協力者として参加する。大学院生には本人の興味、適正を加味しながら細胞観察系の構築、極低温電子顕微鏡解析、統計図の作成の一部あるいは総合的に關与させる。  
 \*2 本研究に興味を有する大阪大学内の細胞凍結・切片作製並びに数値モデル化する研究者と連携して研究を進める。  
 \*3 生化学アッセイも含む。

ただし、極低温電子顕微鏡構造解析担当の研究分担者である藤井は“極低温電子顕微鏡を用いた高分解能立体構造解析”のエキスパートであり、細いアクチン繊維の立体構造を世界で初めて高分解能(約 7Å)で解析した実績を有すが、しかし、平成 23 年度一年間のみでの担当となり、極低温電子顕微鏡構造解析に関しては平成 24 年度以降は岩根 1 人で担当した。

(2) 方法

細胞観察系の構築：分化誘導観察系の構築として試験管内モデルとして広く利用され、未分化状態を維持し、分化を制御する事ができるマウス C2C12 細胞を骨格筋細胞に分化させる系を確立する。また、電子線が通り、生細胞の細胞骨格を細胞凍結切片作成する事無く、クライオ電子顕微鏡で観察可能な試料作製系の立ち上げを、先ず、一般的な哺乳類の終細胞の比較的厚みが薄い部位を利用して行うために以下の方法を進める事にした。ミオシン X がフィロポディア形成に深く關与していることを利用し、GFP-ミオシン X の発現確認-蛍光顕微鏡で場所の同定等によるイメージングを行いながら、生細胞先端の構造解析を計画した。具体的には、アフリカミドリサルの上皮細胞である COS7 細胞を一般的な単層培養系と同じような成育、分裂の振る舞いが期待出来るように電子顕微鏡観察グリッド：カーボンサポート EM グリッド上で直接安定に培養するための培養系の開発を行う。

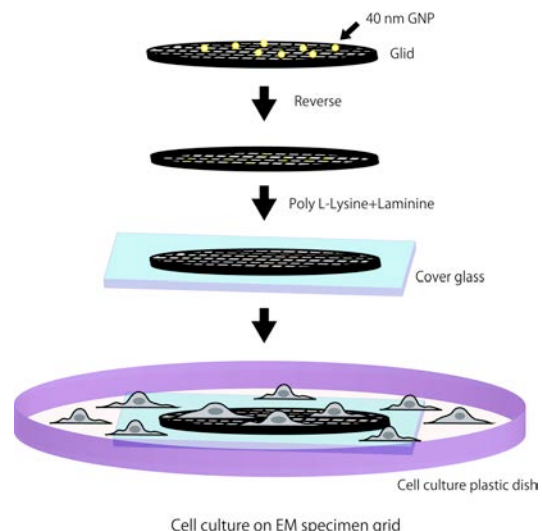
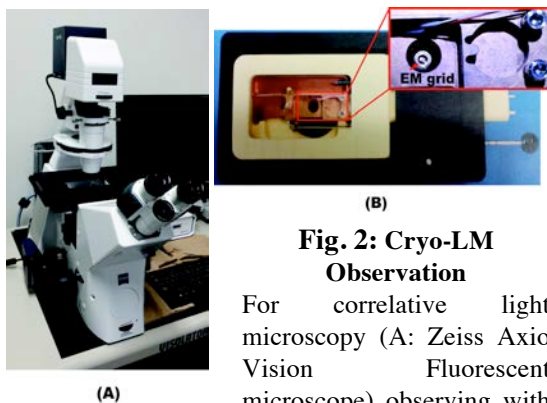


Fig. 1: Cell and cell culture

続いて対数増殖期 COS7 細胞に標的外来遺伝子導入し、約 30 時間後に回収し、電顕グリッド上にまき直す。さらに約 8-10 時間後、トランジェントに発現しているミオシン X を GFP による蛍光顕微鏡で位置を確認し、直ちにグリッドに固定された COS7 細胞 (Fig. 1) をアモルファスの環境下で凍らせた。直径約 40 ナノメートルの金コロイドはトモグラフィー撮影時の焦点あわせと三次元再構築時の補正マーカーとして用いた。

生細胞を液体エタンに急速ドロップする急速凍結固定法によりアモルファス化させるためには余分な培養液を濾紙で除去する必要があるが、自動制御可能な FEI 社製 Vitrabot TM や Leica 社製 EM GP に頼らず人の手による手動調整をも導入して適正なアモルファス化への条件検討も行った。まずは、当該生細胞の比較的厚さが薄いフィロポディアやラメルポディア部位の生細胞内構造解析をクライオエレクトロントモグラフィーの技術を用いて行った。続いて、生細胞の細胞膜直下のみならず、より厚みがある内部構造の解析を細胞を削ることなく行う必要性を感じ、オルガネラの特異的標的蛍光色素でラベルした COS7 細胞を用いてクライオ環境下での電子顕微鏡と蛍光顕微鏡 (Fig. 2) との同視野観察を行う系の開発も行った。



**Fig. 2: Cryo-LM Observation**

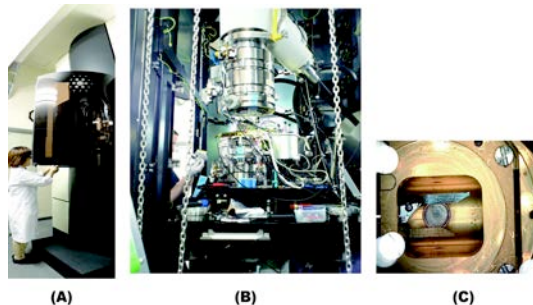
For correlative light microscopy (A: Zeiss Axio Vision Fluorescent microscope) observing with

the EM image at same field in cell, mitochondria in cell were stained by MitoView Green, specific fluorescent dyes. After observing the EM image in cell the grid was transferred into cryo-stage chamber (B) on the LM keeping to liquid N<sub>2</sub> environment and observed.

一方、骨格筋細胞は Z 軸方向の厚みがある事からそのままでは TEM 観察時の電子線通過に困難が予想され、クライオ環境下での組織切片作製が必要であると考えられる。まずは常温での染色組織切片から、その後クライオ組織切片作製の系を立ち上げる。日本国内では未だクライオ組織切片作製の技術が確立している研究室も少ないことから技術習得のために本課題の予算でオランダユトリヒト大学での Leica 主催の “Cryomethods Ultramicrotomy and Immunolabeling” ワークショップに平成 23 年度参加、技術習得した。

極低温電子顕微鏡構造解析の開発 :

生細胞内のクライオ電子顕微鏡超高分解能観察として研究代表者並びに分担者の研究施設である大阪大学大学院生命機能研究科に 300 kV の電子カラムと高角度散乱暗視野検出器を搭載した FEI 社製 Titan Krios™ (Fig. 3) が導入され、丁度、試運転を行っていた。この装置は当該研究施設の装置に比べ、それ以上の分解能が期待され、さらに細胞内の観察には非常に有益なクライオエレクトロントモグラフィーが自動で行える。従来 of TEM 観察以外に LowMag Scanning TEM (STEM) 法を用いることで哺乳類生細胞の比較的薄い細胞膜に近い部位のみならず、細胞小器官の断層写真を撮れると期待されるため、まずは生細胞内をクライオ環境下で切片作成をせずに構造解析を行うための系の構築も合わせて進めた。具体的な撮影方法の一例として、細胞は -70 から +70 度まで 2 度 x cos θ の角度間隔で自動的に断層撮影した。

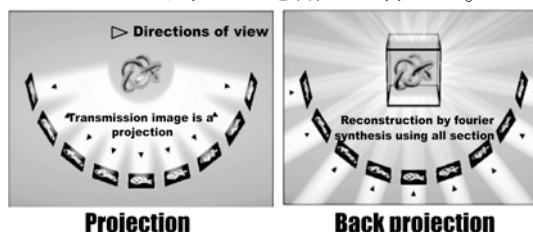


**Fig. 3: Cryo-EM Observation**

For observing the EM image (STEM) in cell, we used the FEI Titan Krios™, transmission electron microscope, photos of outside (A) and inside (B). The Titan Krios™ allows to well visualize the intricate mechanisms of individual proteins and/or molecular machines, and to localize that activity within the three dimensional architecture of the cell, Grid Tilt pocket (C).

3D-モデル化への開発 :

2D 画像から 3D 画像への変換解析 (Fig. 4) やモデル化はそれぞれ Inspect 3D と Amira ソフトウェアを用いて行った。



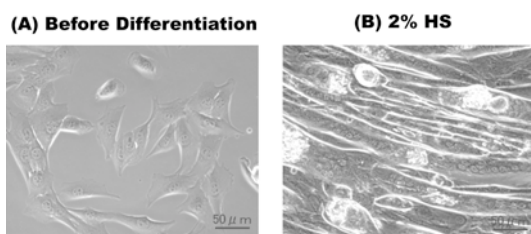
**Fig. 4: Illustration of Tomography**

Principle of 3D reconstruction is as follows. Projections of different sections of an object give a set of Fourier transforms. If the number of

projections is sufficient, then the complete Fourier transform can be regenerated by interpolation and the original object can be retrieved from the inverse Fourier transformation. We analyzed the sequential images with Inspect 3D and Amira software to provide 3D images.

#### 4. 研究成果

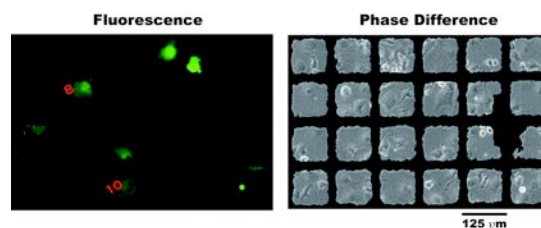
分化誘導観察系の構築としてマウス C2C12 細胞を馬血清での誘導により骨格筋細胞に分化させ (Fig. 5)、非常に効率よく自動拍動を観察出来る系を、さらに骨格筋細胞内のアクチン繊維の状態変化は qRT-PCR 解析を用い、分化マーカーをモニタリングしながらライブイメージングする観察系の確立は出来た。当初、自動拍動は 1 時間以上にも及び、まるで心筋細胞の様な振る舞いを見せていたが、qRT-PCR を用いた mRNA 解析から骨格筋特有の分化マーカーの発現が確認され、さらに分化ステージの分類分けを明らかにした。



**Fig. 5: C2C12 cell Differentiation**

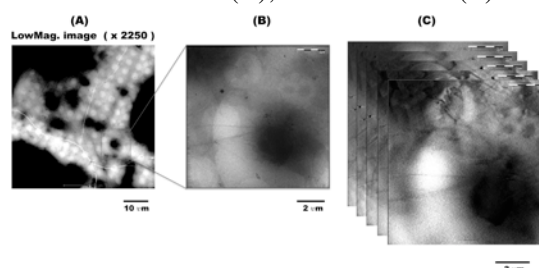
C2C12 cell (Subclone from myoblast cell line established from normal adult C3H mouse leg muscle) were kept semi-confluent cultures in Low Glucose (1 mM) DMEM with 10% FCS (A). C2C12 cell were cultured in Low Glucose 2% Horse Serum (B). For the induction of muscle differentiation these medium were exchanged at a fixed time every days. B is phase different images on day 8 after induction start.

また、電子線が通り、生細胞の細胞骨格を細胞凍結切片を作成する事無く、観察可能な系の立ち上げはミオシン X がフィロポディア形成に深く関与していることを利用し、まずは室温下で、ミオシン X を GFP による蛍光顕微鏡で位置を確認しながら (Fig. 6)、直ちにアモルファスの環境下で凍らせ、当該生細胞の比較的厚さが薄い細胞膜周辺の生細胞内構造解析をクライオエレクトロントモグラフィーの技術を用いて行った。ミオシン X を発現している COS7 細胞膜直下にフィラメントが結合した蹴鞠状の構造体を確認した (Fig. 7)。3 次元再構築後、この球状の構造体は細胞膜に接合している事も確認された。クライオ電顕を用いて、結晶化させなくても、また結晶化が困難な蛋白質分子も溶液中のイメージ像からトモグラフィーによる再構成がうまくいけば立体構造解析は可能になった。



**Fig. 6: Myosin X transient expression in COS 7 cell**

Myosin X expressed COS 7 cell on EM grid. GFP-Fluorecence (A), Phase Difference (B)



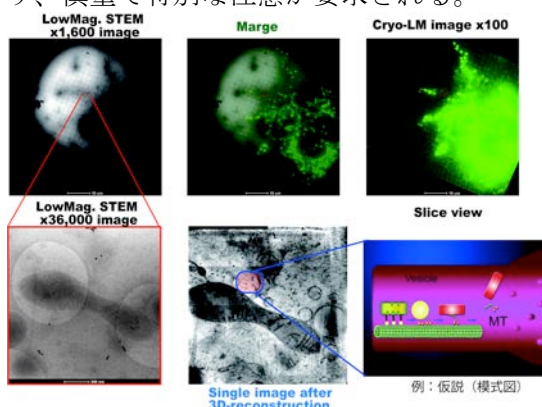
**Fig. 7: Image of a part of Plasma membrane in Myosin X expressed COS 7 cell**

(Fig. 6 position #8). LowMag. image (x2250) (A), the extension of the red square in left (x13k) (B) and the slice view (100 nm) of the fluff ball and filaments after reconstruction (C).

続いて、細胞内の比較的厚い細胞小器官やアクチン繊維と微小管、中間径フィラメントの区別をより明確に構造解析を行うためにダイレクトデテクターでの超高感度の TEM 観察ではないが、Scanning TEM (STEM) 撮影法を用いてトモグラフィー解析を進めた。電子線照射での氷のダメージを加味しながら 90 度回転させた 2 軸観察からの 2 次元の連続画像を取得する事でトモグラフィー 3 次元画像解析時にデータが存在しないミッシングエッジ (逆空間領域の一例) を劇的に軽減出来、通常の一軸断層撮影に加え、一段と明確なイメージング像を得ることに成功した。ミトコンドリアや ER というオルガネラに加え、微小管やその上に結合している小胞を確認し、細胞内の状況や振る舞いを化学固定無し、無染色下で観察、3 次元モデル化に成功した (Fig. 8)。さらに、標的分子の同定をクライオ環境下で蛍光顕微鏡での同視野観察する系の開発に進み、先のオルガネラや微小管、小胞の振る舞いを極低温電子顕微鏡で観察した後、あらかじめ蛍光標識しておいたミトコンドリアを標的構造物としてクライオ環境下で蛍光観察し、電子顕微鏡-光学顕微鏡を用いた同視野観察にも成功した (Fig. 8)。

細胞内の環境を安定に保ち、分化能の良い超微細構造観察のためには細胞の適正なアモルファス化の検討から得られた結果も重要な情報である。急速凍結固定法では厚さが 10 から 20  $\mu\text{m}$  程度が安定にアモルファス化可能な範囲である。電子線の透過並び計

測可能な試料の厚さは STEM のトモグラフィ計測を $-60^{\circ}$  から  $60^{\circ}$  まで行うと Titan Krios™ での計測も  $2\mu\text{m}$  程度厚さが現時点の限界だと感じる。一般的な細胞全体の大きさは数  $10\mu\text{m}$  程度だが、細胞内の構造体は細胞核を除けば  $2\mu\text{m}$  程度あればかなり観察領域は広がったと言えよう。それ以上の厚さは超高圧電子顕微鏡にゆだねるしかなさそうである。一方、精製蛋白質や複合体のアモルファス化では水の影響は受けにくいと思われるが、急速凍結固定法を用いた 1 細胞丸ごとのアモルファス化では細胞内の水の圧力変化に起因すると考えられる構造体の形が細胞外溶液の影響を受けた。濾紙で余剰な培養液を除き過ぎると細胞内の構造にダメージを与えることも解り、慎重で特別な注意が要求される。



**Fig. 8: Correlated Mitochondria images of with the images of STEM tomography**

Single x-y slice (Low Mag. image x1600) image was correlated with the fluorescent image (Cryo-LM image x100) of MitoView Green pre-stained COS 7 cell at cryo environment according to the consideration the position of the GNP or hole of the Holey Carbon Support Film. We observed the fluorescent image and bright field image after STEM tomography (Low Mag. x36k). Over-fluorescent image instead of the original fluorescent intensity image was used for merge image preparation. Parameters: Tilt angle:  $-69^{\circ} \sim +69^{\circ}$ , Tilt step: 3 degrees  $\times \cos\theta$ , Exposure Time: 29 sec/image, Image size:  $1024 \times 1024$  pixel, Image pixel size: 3.59 nm, Binning: 2 ( $\alpha$ -axis), Tilt angle:  $-69^{\circ} \sim +69^{\circ}$ , Tilt step: 3 degrees  $\times \cos\theta$ , Exposure Time: 29 sec/image, Image size:  $1024 \times 1024$  pixel, Image pixel size: 3.59 nm, Binning: 2 ( $\beta$ -axis).

COS7 細胞をモデル細胞として選び、終細胞内の比較的厚さの薄い細胞膜周辺や内部のオルガネラや細胞骨格繊維を化学固定する事なく、無染色で超微細構造解析が出来、さらに電子顕微鏡観察で多少苦手とされた同定を可能にすると期待が持たれた蛍光顕微鏡を用いたクライオ環境下での同視野観察にも成功し、細胞を切片作製することなく可視化出来る準備は十分整った。しかし、

研究課題の当初の予定では細胞分化に伴うアクチン繊維の状態変化をクライオ超微細構造解析を用いて可視化し、系統図を作成することが目標で有り、そこまで至らなかったことは大変残念なことである。一つの要因としては次の理由も考えられる。クライオトモグラフィ撮影は通常、連続撮影時間として 1 撮影 1 時間から 90 分程度必要である。平成 24 年度に数ヶ月間以上にわたり、クライオ電子顕微鏡装置が設置されている建物の隣の新たな建物の工事に伴うトラックの移動等に起因する振動により電子ビームが飛ぶという想像以上の振動により顕微鏡観察に影響を受けたことは早急な研究遂行に影響を与えた。現在、クライオ電子顕微鏡も比較的安定に計測可能な状態であり、既に立ち上がっている筋分化誘導観察系、細胞の適正なアモルファス化そして 2 軸でのクライオ断層撮影とモデル化を進め、論文にまとめる準備を開始した。

一方、細胞の重要な役割とリンクした構造解析を進めるための免疫電顕に代わる新たな同定方法の開発にも取り組み、クライオ環境下での光学顕微鏡との同視野観察に加え、樹脂包埋試料を作成し、立体構造を同視野 FIB-SEM を用いた同視野観察も行っている。将来、これらの計測-解析システムにより重要なイベント時の細胞や細胞小器官の真の姿を提示し、多くの新しい情報を提供してくれると考えています。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 21 件)

1. B.G. David, K. Okamoto, T. Kakizuka, T. Ichimura, T. M. Watanabe and H. Fujita, "Gene dynamics of core transcription factors for pluripotency in embryonic stem cells." *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **119**, 406-9, (2015). (査読あり)
2. E. A. Susaki, K. Tainaka, D. Perrin, F. Kishino, T. Tawara, T. M. Watanabe, C. Yokoyama, H. Onoe, M. Eguchi, S. Yamaguchi, T. Abe, H. Kiyonari, Y. Shimizu, A. Miyawaki, H. Yokota, H. R. Ueda. "Whole-brain imaging with single-cell resolution using chemical cocktails and computational analysis." *Cell*, **157**, 726-39. (2014). (査読あり)
3. T. M. Watanabe, F. Fujii, T. Jin, E. Umemoto, M. Miyasaka, H. Fujita and T. Yanagida. "Four-dimensional spatial nanometry of single particles in living cells using polarized quantum rods." *Biophysical Journal*, **10**, 555-64, (2013). (査読あり)
4. T. Fujii, M. Cheung, A. Blanco, T. Kato, A.J. Blocker and K. Namba. "Structure of a type III secretion needle at  $7\text{-\AA}$  resolution provides insights into its assembly and signaling mechanisms." *Proceedings of the*

*National Academy of Sciences of the United States of America*, **109**, 4461-6, (2012). (査読あり)

5. T. M. Watanabe, S. Higuchi, K. Kawauchi, Y. Tsukasaki, T. Ichimura and H. Fujita. "Chromatin plasticity as a differentiation index during muscle differentiation of C2C12 myoblasts." *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **418**, 742-7, (2012). (査読あり)
6. M. Morimatsu, Y. Togashi, S. Nishikawa, M. Sugawa, A. H. Iwane and T. Yanagida. "Spontaneous structural changes in actin regulate G-F transformation." *PLOS ONE*, **7**, e45864, (2012). doi:10.1371/journal.pone.0045864. (査読あり)
7. T. Q. Noguchi, T. Komori, N. Umeki, N. Demizu, K. Ito, A. H. Iwane, K. Tokuraku, T. Yanagida and T. Q. Uyeda. "G146V mutation at the hinge region of actin reveals a myosin class-specific requirement of actin conformations for motility." *Journal Biological Chemistry*, **287**, 24339-45, (2012). (査読あり)

[学会発表] (計 66 件)

1. A. H. Iwane, (国内会議、招待口答発表) "Single Cell 3D structural analysis", 日本分子生物学会第37回年会、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)、平成26年11月25日.
2. 渡邊朋信, (国内会議、招待口答発表) "分化・発生を理解する多次元定量計測技術の基盤開発"、 「iPS細胞」研究支援3制度 合同シンポジウム2014~iPS細胞研究の今~、日本科学未来館 (東京都江東区)、平成26年1月15日.
3. R. Ogawa, K. Aoyama, R. Nagai and A. H. Iwane, (国内会議、一般ポスター発表) "Imaging of live cell organelles by Cryo-electron tomography and STEM", 日本生物物理学会 第51回年会、京都国際会議場 (京都府京都市)、平成25年10月28日.
4. A. H. Iwane, R. Ogawa, R. Nagai, A. Kawamoto and K. Aoyama, (海外国際会議、一般ポスター発表) "Development for dynamic live cell imaging by cryo-electron tomography and STEM", Biophysical Society 57th Annual Meeting, Philadelphia Convention Center (Philadelphia, PE, USA), 4<sup>th</sup> February, 2013.
5. A. H. Iwane, R. Ogawa, R. Nagai, A. Kawamoto and K. Aoyama, (国内会議、一般ポスター発表) "Development for dynamic Live Cell imaging by Cryo-electron tomography and Scanning TEM", 日本分子生物学会第35回年会、マリンメッセ福岡 (福岡県福岡市)、平成24年12月13日.
6. A. H. Iwane, R. Ogawa, R. Nagai, Akihiro Kawamoto and Kazuhiro Aoyama, (国内会

議、一般ポスター発表) "Development for dynamic Live Cell imaging by cryo-electron tomography", 日本生物物理学会 第50回年会、名古屋大学 (愛知県名古屋市)、平成24年9月22日.

7. A. H. Iwane, M. Morimatsu K. Aoyama and T. Yanagida, (海外国際会議、一般ポスター発表) "Observation of sequential state in skeletal muscle actin filament depending on myosin using smFRET and STEM TOMOGRAPHY in living cell", Gordon Research Conferences: Single Molecule Approaches to Biology, Mount Snow Resort (West Dover, VT, USA), 16<sup>th</sup> July, 2012.
8. K. Aoyama, R. Ogawa and A. H. Iwane, (国内会議、招待口答発表) "Cryo STEM Tomography for Cell Biology", 生理研研究会「電子顕微鏡機能イメージングの医学・生物学への応用」、岡崎統合バイオサイエンスセンター (愛知県岡崎市)、平成23年12月1日.
9. A. H. Iwane and T. Yanagida, (国内会議、招待口答発表: 英語) "Myosin mechanical-sensing for directional motion", 日本生物物理学会第49回年会、兵庫県立大学 (兵庫県姫路市)、平成23年9月17日.
10. T. Fujii, A. H. Iwane, T. Yanagida and K. Namba (国内会議、招待口答発表: 英語) "High resolution structural analysis of the actin - myosin rigor complex by CryoEM", 日本生物物理学会第49回年会、兵庫県立大学 (兵庫県姫路市)、平成23年9月16日.

[図書] (計3件)

1. 渡邊朋信、市村垂生、 "1 分子生物学" 14 章 1 分子を見る光学顕微鏡、化学同人、179-192、2014/10/3
  2. 渡邊朋信、"超解像光学顕微鏡で観える HIV-1 の成熟過程"、実験医学、31(6)、889-890、(2013 年 4 月号)
6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
岩根 敦子 (IWANE, Atsuko)  
大阪大学・生命機能研究科・招へい教授  
研究者番号: 30252638
  - (2) 研究分担者  
渡邊 朋信 (WATANABE, Tomonobu)  
大阪大学・免疫学フロンティアセンター・招へい准教授  
研究者番号: 00375205
  - (3) 研究分担者 (平成 23 年 4 月より平成 24 年 3 月まで)  
藤井 高志 (FUJII, Takashi)  
大阪大学・生命機能研究科・特任研究員  
研究者番号: 10582611