科学研究費助成事業

研究成果報告書



研究成果の概要(和文):細胞や組織内の微細構造解析は化学固定-染色により作製した超薄切片をTEM観察する 事で進められてきたが、近年、金属やセラミックの表面加工に寄与しているFIB-SEMを生物試料で汎用性ある超 微細構造解析に応用するための新たな技術開発を行う。代表的な細胞小器官が一つずつ存在し、真核生物として 最小限度のシンプルな構造を有する"シゾン"をモデル生物として選び、細胞分裂過程にリンクした細胞小器官 や標的分子とそれを取り囲む環境の超微細構造変化を細胞丸ごとレベルで解明した。光学顕微鏡によるダイナミ クスを参照し、細胞分裂の時系列にあわせた3D構造モデルを作成し、オルガネラ間の相互作用や形の変化を明

研究成果の概要(英文): Microstructural analysis in cells and tissues has been pursued by TEM observation of ultrathin sections prepared by chemical fixation-staining. In recent years As FIB-SEM contributing to the surface processing of metals and ceramics has been used in recent years, we have developed new technologies for application for a 3D-structural analysis of biological sample using its system. We chose "Cyanidioschyzon merolae " which has a minimal simple structure as a eukaryote as a model organism, representative exists cell organelle one by one, and according to the organelles and target molecules linked to the cell division process. We clarified the ultrastructural changes of during the cell mitosis at a whole cell level. By referring to the dynamics by optical microscope, we created a 3D structural model adapted to the time series of cell division and clarified the interaction and shape change among organelles.

研究分野:生物物理学、分子生物学

らかにした。

キーワード: FIB-SEM 超微細構造 細胞分裂 シゾン 三次元再構築 ダイナミクス

1. 研究開始当初の背景

細胞や組織内の微細構造解析は主に化学固 定→脱水→染色→樹脂包埋後、ダイアモンド ナイフを用いて作製した超薄切片をTEM観察 することで進められてきた。つまり、100 nm 程度の厚さの染色済み細胞や組織切片を電子 顕微鏡で観察する。しかし、この方法ではあ くまでも一部の断片の情報にとどまる。近 年、金属やセラミックの表面加工、観察に寄 与してきたFIB-SEM (Focus ion beam-SEM:集 **束イオンビーム-走査イオン顕微鏡**)を用い て細胞丸ごとレベルの超微細構造解析を行 う。ガリウムイオンビーム照射で数 nm毎、 試料表面を微細加工(削る)しながら、その 表面をSEM観察し、得られた連続2次元画像 から3次元再構築することで細胞まるごとの 構造モデルを作成する。また、分子の同定は 一昨年、Shuら (PLoS Biology, 9, e1001041, 2011)により開発されたminiSOGの改良組換え 体をタグとして利用する。生物試料としては シゾン(C. marolae)を考えている。ナポリ近 郊の温泉から単離された直径 2-3μm程の大 きさの単細胞性の紅藻である。ゲノム解析の 結果、ミトコンドリアを得、ゲノムが核膜で 覆われた"核"をもつ、最古の真核生物であ ると考えられている。真核生物特有の複膜系

Cyanidioscyzon merolae (C. merolae) is considered to be the oldest eukaryotic organisms with mitochondria



と単膜系の細胞小器官等が一つずつシンプル に存在し、真核生物として最小限度の細胞小 器官を有する。光明暗調節で細胞分裂を同調 化出来、ミトコンドリアや葉緑体の分裂も同 調できる。細胞分裂は生命の基本でありシゾ ンの細胞分裂過程の構造を調べることで真核 生物全体の基本的な仕組みを知ることができ る。既に黒岩らによりゲノム全塩基配列が解 明されており、遺伝子組換えの導入が可能で ある。地球上には動物細胞に代表されるよう なきわめて複雑な構造を有する真核生物から シゾンのように非常に構造が単純ものまで存 在する。真核生物の起源に近くに生まれたシ ゾンは分裂過程の構造を調べるための真核生 物のモデルとして相応しいと考える。

研究の目的

生物系試料全般への汎用性と応用が期待さ れる FIB-SEM を用い、シゾンの細胞分裂にリ ンクした標的分子の配置のみならず、取り囲 む環境を踏まえながら超微細構造を可視化す る新たな系を開発し、生存のために均一に確 実に娘細胞に分裂する細胞小器官の振る舞い を解明することを目的とする。電子顕微鏡観 察において多少、苦手とされる分子の同定を も可能とし、従来より行われてきた細胞の超 薄切片の TEM 観察から得られる一部の断片情 報では無く、シゾン細胞丸ごとレベルで生命 の重要事項である細胞分裂過程とリンクした 細胞内構造変化を可視化することで真核生物 の基本的な振る舞いが解明出来る。

この研究の新規性・チャレンジ性としては以 下の特徴がある。 近年、細胞内の重要なイベ ントを可視化出来る様々な顕微鏡が開発され ているが、その中で高分解能の光学顕微鏡で は観察が困難な電子顕微鏡観察の重要な利点 は標的分子並びに細胞小器官だけでは無く、 それを取り囲む環境を含めた超微細構造とし て可視化出来る点である。3 次元の解析にお いて FIB-SEM は電子線トモグラフィーと X 線

Three-dimensional analysis



10⁻⁹m

トモグラフィーの間の 2-50 nm³、丁度、細胞 内、並びに細胞間の相互作用を観察するのに 相応しい分解能である。この技術は近年、金 属やセラミックの表面加工、観察に寄与して いる。しかし、分解能や観察視野範囲から考 え、相応しいと思われる生物試料については 神経細胞を用いた (Blazquez-Llorca L. et al., J. Alz-heimersDis, 34, 955-1013, 2013) があるものの例は少ない。樹脂ブロック表面 の電荷の帯電が正確な SEM 像取得に影響を与 えているようである。試料作製を工夫し <u>の問題を是非解決</u>したい。続いて、電子顕微 鏡観察において苦手とされている分子の同定





は近年発表された組換え体のタグ(miniSOG) 並びに反応系に改良を加え、検出の S/N を高 <u>めたい</u>。分子の同定に関しては長い間、免疫 電顕が用いられてきた。しかし、化学固定後 の試料に対する抗原抗体反応は特異性に乏し

く、得られる像のバックが高いことも良くあ り、多くの研究者を悩ませているのが現実で ある。一方、免疫電顕に代わる新たな同定方 法としてメタロチオネイン蛋白質のタグを用 いた細胞内標識の例が報告されているが、カ ドミウムや金等の重金属存在下での培養を求 められることから(Nishino Y. et. al, J. Electron Microsc., 56, 93-101, 2007)、大腸 菌などの一部の生物試料にとどまる。細胞の 重要な役割とリンクした細胞丸ごと構造解析 を進めるためには是非、解決・開発が望まれ る要点である。

新しい原理の発展、斬新な着想や方法論の提 案については近年のコンピューターの性能向 上に伴い、X 線トモグラフィーや Scanning-TEM トモグラフィーが三次元再構築のための 観察手段として開発されてきた。非破壊で試 料の三次元構造が得られるという利点がある ものの、基本的に試料の透過画像を元に行う ため、再構築像の空間分解能は試料の厚さに 大きく依存する。一方、FIB-SEM 観察は理論的 には試料の厚さを問わない。しかし、電子の 試料への進入の深さや SEM 観察時の加速電圧 にも注意が必要であり、電子線の相互作用ボ リュームを考慮し再構築の結果に奥行きの情 報が入らぬように工夫する必要もある。さら に、生物試料は堅さなどにおいても均一では 無く、FIB ビームの焦点ぼけによる電流密度 の低下に起因する凹凸のない平滑断面を得る ための試料作製の開発も望まれる。導伝性の ない樹脂で包埋した生物試料の超微細構造解 析への応用はより繊細な条件検討と多くの新 たな開発が必須であるが、本申請課題の FIB-SEM を用いた生物試料の超微細構造解析の開 発が細胞レベルの基礎研究に留まらず、臨床 応用研究等への幅広い課題解明が期待され、 少しでも早くそれに応えたい。

研究の方法

本研究は研究代表者、岩根を中心に研究協 力者である当該研究室の大学院生やスタッフ と共に下表の様な役割分担にて研究計画を執 行する。岩根は約20年間、分子モーターの運 動メカニズム解明のため、In vitro計測系で の研究を行ううちに標的分子が実際に働いて いる現場の振る舞いを見る必要性を痛感した。

	研究代表者 岩根敦子	研究協力者 大学院生 * ¹	研究協力者 (連携研究者) 太田啓介(久留米大)* ²
分子同定系 の構築 * ³	0	0	1 1 1 1
生物試料作製 の開発	0	0	
FIB−SEM 顕微鏡 構造解析・評価 * ⁴	0	0	0

*1 研究代表者の教育管理下にある大阪大学生命機能研究科の学生も研究協力者として がたいな者の次時1号を生ったの人気がステエーが成形的たけのテエンの方面が増加しても 参加する。大学院生には本人の興味、道正を加味しながら分子同定系の構築、生物 試料作製の開発、FIB-SEM 顕微鏡構造解析・評価の一部あるいは総合的に関与させる。 * 2 FIB-SEM を用いて既に組織の構造解析を行っている。

*3 発現ペクターの構築のみならず、生化学的な確認も含む。 *4 オルガネラ分裂時の標的分子の同定並びに取り巻く環境変化の解析も含む。

細胞内の重要なイベントを観察するための 様々な光学顕微鏡が開発されているが、標的

蛋白質のみならず、それを取り囲む環境も観 察出来る電子顕微鏡観察に多大な期待を寄せ、 細胞内骨格や細胞内小器官をクライオトモグ ラフィーの技術を用いて解析している。クラ イオ電子顕微鏡観察は化学固定すること無く、 無染色での真の構造が観察出来る期待が持た れるが、TEM 観察故、その分解能は試料の厚さ に制限がある。そこで本申請では電子顕微鏡 のなかでも空間分解能が試料の厚さに影響与 えない FIB-SEM を用いて真核生物全体の基本 的な仕組みを知るために、細胞分裂過程を適 切なモデル生物としてシゾンを選び、細胞丸 ごとの超微細構造解析の開発を提案、この課 題遂行には並々ならぬ熱意を有している。研 究代表者は21世紀の国際社会の発展を担う 人材育成を行う大学院の教官であり、大学院 生を一流の研究者に育て上げる使命が課され ている。そこで本研究課題を管理下におかれ ている研究協力者と共に進める。大学院生に は本人の興味、適正を加味しながら、それぞ れ、標的分子同定の系の構築、FIB-SEM 観察に 相応しい生物試料作製の開発、細胞丸ごとレ ベルでの構造解析等を一部、あるいは総合的 に関与させる。また久留米大学医学部解剖学 教室の太田啓介博士に研究協力者として加わ っていただき、FIB-SEM 装置の共同利用と研究 遂行の有益なご助言を頂ける環境下にある。 一方、培養系並びに組換え体の発現系につい

てはシゾンゲノム全塩基配列解明や組換え体 発現に寄与されたシゾン研究の第一人者であ る立教大学黒岩常祥博士並びに大沼みわ博士 より既に有益なご助言を頂いている。

研究計画としては

FIB-SEMを用いて、細胞丸ごとレベルでの各細 胞小器官や標的蛋白質を取り囲む環境含めた 超微細構造変化を観察する系を確立する。さ らに、黒岩らによりミトコンドリアと葉緑体 そして細胞核ゲノム全塩基配列が既に解明さ れており、標的分子の同定を組換え体タグを 用いる系で行う。本課題は分子生物学、生化 学、解剖学並びに構造生物学的技術等を駆使 して行う必要があるが、モデル生物として 様々な条件がそろったシゾンを用いることで 多くの研究者に有益な情報提供が出来ると期 待する。平成 26 年度は Moriyama T. らの報告 (FEBS J., 275, 2899-18, 200 8)を参考に、高 効率で細胞分裂を同調化出来る培養系を立ち 上げる。予備実験ではあるが、70-80%まで同 調出来そうである。また、シゾンの組換え体 発現系を確立する。シゾンゲノムはイントロ ンが殆どないため細胞から DNA を抽出し、標 的遺伝子は適切な DNA オリゴを用いて PCR 増 幅して得る。塩基配列の確認は DNA BANK の登 録情報と照らし合せる。一過性組換え体発現 にはプロモーター、ターミネーター配列を含 む標的遺伝子を大腸菌用発現ベクターに挿入 し、それを使用予定であるが、コピー数を調 節するために UMP 合成酵素遺伝子をマーカー とする相同性組換えの発現系(Fujiwara T. et al., PLoS ONE, 8, e73608, 2013) も併せて立ち 上げる。MiniSOG 遺伝子は既に Tsien から供 与され、組換え体タグ開発の準備は整ってい る。導電性樹脂や染色法を含むシゾン試料作 製の開発は光顕像、超薄切片-TEM 像、クライ オ TEM 像と FIB-SEM から得られる連続二次元 像とを常に比較しフィードバックかけながら 研究を進める。

平成 27 年度以降は前年度の組換え体発現系、 生物試料作製の開発に続き、FIB-SEMを用いて シゾンの各細胞分裂過程とリンクした超微細 構造解析を行い、細胞小器官のモデル化につ なげる。さらに<u>1細胞丸ごと構造解析のモデ</u> ル系の開発を確立し、生物試料の新たな構造 解析技法を提案したい。

4. 研究成果

近年、金属やセラミックの表面加工に寄与 している FIB-SEM を生物試料において汎用性 ある超微細構造解析に応用するための新たな 技術開発を行った。代表的な細胞小器官が一 つずつ存在し、真核生物として最小限度のシ ンプルな構造を有する"シゾン"をモデル生 物として選び、細胞分裂過程にリンクした細 胞小器官や標的分子とそれを取り囲む環境の 超微細構造変化を細胞丸ごとレベルで解明し、 構造モデルを作成した。

先ず、シゾンの細胞分裂の母集団を保てるよ うに光の明暗並びに二酸化炭素の培養液への 添加の有無を調整する事で同調培養系の確立 に挑戦し、8割以上の細胞の同調化に成功し た。さらに、光の明暗周期をアレンジし、特殊 な基盤存在下、今まで困難であった分裂周期 に伴う、細胞やオルガネラの形の変化をダイ ナミクスに観察できる系も立ち上がった。次 にシゾンの組換え体発現系は細胞からゲノム DNA を抽出し、ミトコンドリア、色素体、ペル オキシソームを中心としたオルガネラや微小 管、アクチンなどの細胞骨格を中心にとする 標的分子の遺伝子を用い、先ず、立教大学の 黒岩先生より譲与頂いた一過性発現系並びに ウラシル要求性遺伝子を選択マーカーとする 相同性発現のためのゲノムターゲットベクタ ーに標的遺伝子を導入し、発現を試みた。組 換体は得られたものの M4 株を用いた相同性 組換え系ではリバータントが出現するため、 より安定な相同性組換え体を得るために、東 京工業大学の田中先生より譲与頂いた URA5.3 欠損シゾン宿主株(T1株)を用いてウラシル要 求性遺伝子を選択マーカーとする相同性発現 のためのゲノム標的ベクターに導入し、コピ ー数を調節し得る新たな stable 組換え体発 現系も立ち上がった。この発現系の確立によ りリバータントの出現も劇的に減じることに 成功したことは有意義な結果である。一方、 電子顕微鏡のための試料作製も導電性樹脂の 開発を含め、概ね確立し、FIB-SEMと3次元再 構築法から SBF イメージ(後図)も作成、そ こから一細胞丸ごとの構造情報を抽出し、シ ゾン3D構造モデルも80個以上得られた。光 学顕微鏡を用いたダイナミックス観察の結果



もら時せながの時せながのわ確ル徴

(下図)を得る

シゾンの Serial Block Face イメージ

ことも可能となった。立体的なオルガネラの 形の変化や相互作用も明確になってきた上に、 構造情報から共生過程を明確に評価できうる



事が期待される結果も得た。さらに化学固定 無し、無染色化でのシゾン丸ごとレベルでク ライオトモグラフィー観察の系も立ち上がり、 FIB-SEMと3次元再構築法から得られた3D構 造モデルとも比較・考察しているところであ る。現在、これら得られた結果を原著論文と してまとめる準備をしている。

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5件)

- T. Ichinose, K. Ohta and <u>A. H. Iwane</u>. "3D-Visualization of the Precise Location of Symbiotic Organelle Crosstalk Throughout Mitosis in the Primitive Unicellular Eukaryotic Cell, C. Merolae. "*Biophysical J.*, 112, p576, (2017). Doi: http://dx.doi.org/ 10.1016/j.bpj.2016.11.3103. (査読無し)
- <u>A. H. Iwane</u> and K. Ohta. "3D Microstructural Visualization of the Simplest of Eukaryotic Cell (Cyanidioschyzon Merolae) during Mitosis Process using Several New Microscopic Techniques." *Biophysical J.*, 110, p155, (2016). Doi: http://dx.doi.org/10.1016 /j.bpj.2015.11.870. (査読無し)
- 3. T.Q. Noguchi, M. Morimatsu, <u>A. H. Iwane</u>, T. Yanagida and T. Q. Uyeda. "The Role of Structural Dynamics of Actin in Class-Specific Myosin Motility. " *PLOS ONE*, e0126262, (2015). doi: 10.1371/ journal. pone. 0126262. (査読あり)
- <u>A. H. Iwane</u> and K. Ohta. "Three-Dimensional Microstructural Visualization of Mitosis using Focused Ion Beam -Scanning Electron Microscope (FIB-SEM) and 3Mv Ultra-High Voltage Electron Microscope (UHVEM) Tomography with Nanoscale Resolution at Whole Cell Level." *Biophysical J.*, 108, p618, (2015). Doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.bpj. 2014.11.3363. (査読無し)

5. M. Iwaki, <u>A. H. Iwane</u>, K. Ikezaki and T. Yanagida. "Local heat activation of single myosins based on optical trapping of gold nanoparticles." *Nano Letter*, **15**, 2456-61, (2015). (査読あり)

〔学会発表〕(計 23 件)

- T. M. Ichinose, K. Ohta and <u>A. H. Iwane</u>, (国際会議、ポスター発表) "3D visualization of the precise location of symbiotic organelle crosstalk throughout mitosis in the primitive unicellular eukaryotic cell, *C. merolae.*", Biophysical Society 61st Annual Meeting, New Orleans Memorial Convention Center (New Orleans, USA)、15th, Feb., 2017.
- T. M. Ichinose and <u>A. H. Iwane</u>, (国際会議、ポスター発表) "Construction of the imaging system to elucidate the process by which cytoskeletal proteins acquire function using primitive eukaryotic cell.", Biophysical Society 61st Annual Meeting, New Orleans Memorial Convention Center (New Orleans, USA)、14th, Feb., 2017.
- 一ノ瀬孝子、<u>岩根敦子</u>,(国内会議、口答 発表) "先端電子顕微鏡/光学顕微鏡そ れぞれの特性を生かして細胞分裂過程を 三次元微細構造解析する",生体運動班 会議2017、神戸国際会議場(兵庫県神戸 市)、平成29年1月7日.
- ーノ瀬孝子、<u>岩根敦子</u>,(国内会議、ポス ター発表) "宿主細胞内における内部共 生した細胞小器官が主導する機能を明ら かにする試み",第39回日本分子生物学 会年会、パシフィコ横浜展示ホール(神 奈川県横浜市)、平成28年12月2日.
- 5. <u>岩根敦子</u>,(国内会議、招待口答発表) "先端電子顕微鏡/光学顕微鏡それぞれ の特性を活かして細胞丸ごとレベルでの 三次元微細構造解析をおこなうことで明 らかになったこと",第39回日本分子生 物学会年会、パシフィコ横浜会議場(神 奈川県横浜市)、平成28年11月30日.
- A.H.Iwane, R. Nagai, H. Mori and T. M. Ichinose, (国内会議、ポスター発表) "New obvious information obtained from cell organelle 3D-structural models of primitive eukaryote.", 第54 回日本生物物理学会大会、つくば国際会 議場(茨城県つくば市)、平成28年11月 25日.
- A. H. Iwane, (国内国際会議、招待口答発表) "3D-microstructural visualization of the simplest eukaryotic cell during mitosis process using several cutting-edge microscopic techniques.", 1st C. merolae mini-symposium, 東京大学(東京都文京区)、平成28年7月4日.
- 8. <u>岩根敦子</u>, (国内会議、招待口答発表) "3D microstructural visualization of the oldest

eukaryotic cell (*C. merolae*) during mitosis process using several cutting-edge microscopic techniques.",日本顕微鏡学 会大72回学術講演会、仙台国際センター (宮城県仙台市)、平成28年6月14日.

- A. H. Iwane (国際会議、ポスター発表)
 "3D Microstructual visualization of the simplest of eukaryotic cell(Cyanidioschyzon merolae)during mitosis process using several new microscopic techniques."、
 Biophysical Society 60th annual meeting (Los Angeles, USA)、28th, Feb., 2016.
- <u>岩根敦子</u>(国内会議、ポスター発表)"新 顕微鏡技術の特性を活かし単細胞紅藻シ ゾンの有糸分裂過程を三次元微細構造解 析する"、第38回日本分子生物学会年 会、神戸国際展示場(兵庫県神戸市)、平 成27年12月2日
- <u>岩根敦子</u>(国内会議、招待口頭発表)
 "新顕微鏡技術の特性を活かし単細胞紅 藻シゾンの有糸分裂過程を三次元微細構 造解析する"、第38回日本分子生物学 会年会神戸国際会議場(兵庫県神戸市)、 平成27年12月2日
- 12. <u>岩根敦子</u>(国内会議、ポスター発表) "単細胞紅藻の有糸分裂過程を新顕微鏡 技術を活かし三次元微細構造解析す る"、自然科学研究機構岡崎コンファレ ンスセンター(愛知県岡崎市)、平成27年 11月18日
- Rina Nagai, Keisuke Ohta, Takako M. Ichinose, Hikari Mori, <u>Atsuko H. Iwane</u>, (国 内会議、ポスター発表) "New obvious information obtained from the cell size and shape during mitosis cycle.",日本生物物理 学会第53回年会(BSJ2015)、金沢大学角 間キャンパス自然科学本館(石川県金沢 市)、平成27年9月14日.
- A.H.Iwane, (国内会議、招待口頭発表)
 "3D microstructural visualization of mitosis with nanoscale resolution at whole cell level", 日本顕微鏡学会 第71回学術講演 会、 京都国際会議場(京都府京都市)、 平成27年5月15日.
- <u>A. H. Iwane</u> and K. Ohta, (国際会議、ポス ター発表), "Three-dimensional microstructural visualization of mitosis using Focused Ion Beam-Scanning Electron Microscope (FIB-SEM) and 3MV Ultra -High Voltage Electron Microscope (UHVEM) Tomography with nanoscale resolution at whole cell level", Biophysical Society 59th Annual Meeting, Baltimore Convention Center, (Baltimore, USA), 11th February, 2015.
- 16. T. M. Ichinose, R. Ogawa, R. Nagai and <u>A.</u> <u>H. Iwane</u>, (国内会議、ポスター発表) "The challenge to intact cell 3D-imaging by dualaxis Cryo-electron tomography and correlative light imaging", 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. 番号:

- R. Nagai, K. Ohta, T. M. Ichinose, A. Togo and <u>A. H. Iwane</u>, (国内会議、ポスター発 表) "Three-dimensional microstructural visualization of mitosis using Focused Ion Beam-Scanning Electron Microscope (FIB-SEM) with nanoscale resolution at whole cell level", 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.
- 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.
- R. Nagai, K. Ohta, T. M. Ichinose, A. Togo and <u>A. H. Iwane</u>, (国内会議、ポスター発 表) "Visualization of cell cycle by three dimensional FIB-SEM with nanoscale resolution at whole cell level", 日本生物物 理学会 第52回年会 (BSJ2014)、札幌コ ンベンションセンター (北海道札幌 市)、平成26年9月25日.
- R. Ogawa, T. M. Ichinose, R. Nagai, K. Aoyama and <u>A. H. Iwane</u>, (国内会議、ポス ター発表) "The challenge to intact cell 3Dimaging by dual-axis Cryo-electron tomography and correlative light imaging of live cell organelles by Cryo-electron tomography and STEM", 日本生物物理学 会第52回年会(BSJ2014)、札幌コンベ ンションセンター(北海道札幌市)、平 成26年9月25日.
- <u>A. H. Iwane</u> and K. Ohta, (国内国際会議、 ポスター発表) "Visualization of cell cycle by three-dimensional FIB-SEM with nanoscale resolution at whole cell level", 第 37回内藤コンファレンス バイオイメー ジングがめざすもの、 ヒルトンニセコ ビレッジ (北海道ニセコ町)、16-17th July, 2014.
- 22. <u>岩根敦子</u>、(国内セミナー、招待口頭発表) "今まで見えなかった細胞の超微細構造のラビリンスを探検できたらおもろい"、大阪大学超高圧センターセミナー、大阪大学超高圧センター(大阪府吹田市)、平成26年4月2日.

〔図書〕(計1件)

1. Takako M. Ichinose and <u>Atsuko H. Iwane</u> *Cyanidioschyzon merolae*: Anew Model Eukaryote for Cell and Organelle Biology, Springer, 2017 (印刷中)

〔産業財産権〕
 ○出願状況(計0件)
 名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:

出願年月日: 国内外の別: ○取得状況(計0件) 名称: 発明者: 権利者: 種類: 番号: 取得年月日: 国内外の別: [その他] ホームページ等 http://www.qbic.riken.jp/japanese/resear ch/outline/lab-23.html http://www.qbic.riken.jp/english/researc h/outline/lab-23.html 6. 研究組織 (1)研究代表者 岩根 敦子 (IWANE, Atsuko) 国立研究開発法人理化学研究所・生命シス テム研究センター・ユニットリーダー 研究者番号: 30252638 (平成27年度まで大阪大学大学院生命機能 研究科・招へい教授として所属) (2)研究分担者 () 研究者番号: (3) 連携研究者) (研究者番号: (4)研究協力者 ーノ瀬 孝子 (ICHINOSE, Takako) 大阪大学・生命機能研究科・招へい研究員 研究者番号:40776902 永井 里奈 (NAGAI, Rina) 国立研究開発法人理化学研究所・生命シス テム研究センター・テクニカルスタッフ 研究者番号:60392049 太田 啓介(OHTA, Keisuke) 国立研究開発法人理化学研究所・生命シス テム研究センター・客員主管研究員 研究者番号:00258401