

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：82648

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24370062

研究課題名(和文)リニアモータータンパク質糖質加水分解酵素の1ナノメートルステップの1分子計測

研究課題名(英文)Single-molecule analysis of 1-nm stepping motion of linear motor carbohydrate hydrolase

研究代表者

飯野 亮太 (IINO, RYOTA)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構(岡崎共通研究施設)・岡崎統合バイオサイエンスセンター・教授

研究者番号：70403003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、糖質加水分解酵素であるTrCel7Aの1分子蛍光観察と高速AFMによる1分子観察を駆使してTrCel7AによるセルロースIとセルロースIIIIの加水分解反応のすべての反応素過程の速度パラメーター(結合速度定数、並進運動速度、解離速度定数)を求めて比較した。その結果、セルロースIとセルロースIIIIで大きな違いはないことが明らかとなった。この結果から、分解性の違いはセルロース結晶面上でTrCel7Aが結合できる表面積の違い、およびTrCel7Aの“渋滞”の度合いの違いによるものであるというモデルを提案した。

研究成果の概要(英文)：In this study, using single-molecule fluorescence microscopy and high speed atomic force microscopy, we determined kinetic constants of the elementary reaction steps for carbohydrate hydrolase TrCel7A against cellulose I and IIII. TrCel7A displayed similar binding and dissociation rate constants for cellulose I and IIII and similar fractions of productive binding on cellulose I and IIII. Furthermore, once productively bound, TrCel7A processively hydrolyzes and moves along cellulose I and IIII with similar translational rates. With structural models of cellulose I and IIII, we propose that different susceptibilities at high TrCel7A concentration arise from surface properties of substrate, including ratio of hydrophobic surface and number of available lanes.

研究分野：生物物理学

キーワード：分子モーター 1分子計測

1. 研究開始当初の背景

セルロースは植物細胞壁成分中の約半分を占める多糖である。地球上では年間 10^{10} - 10^{11} トンが光合成によって生産されると言われているが、利用されているのはごく一部である。また、キチンは無脊椎動物(甲殻類等)の体表を覆うムコ多糖でセルロースに次いで賦存量が多い有機物であると言われており、セルロースと同様にバイオマスとしての利用に期待が高まっている。セルロースおよびキチンは β -グリコシド結合からなる主鎖を持つ多糖で、水に不溶な結晶性を有することから構造多糖として力学的強度を発揮する。セルロースやキチンの持つこれらの性質はより小さな構成単位(二糖や単糖)への分解処理を困難にし、バイオマスとしての利用には大きなデメリットであった。

糖質加水分解酵素であるセルラーゼやキチナーゼは、温和な条件で結晶性多糖を効率的に分解することができる。本課題の研究分担者である五十嵐と内橋は高速原子間力顕微鏡(高速 AFM)を用いた1分子観察で、子囊菌 *Trichoderma reesei* 由来のセルラーゼが結晶性セルロース中のセルロース単分子鎖を加水分解しながらプロセスに動くリニアモータータンパク質であることを実証していた (Igarashi ら *J Biol Chem* 2009; Igarashi and Uchihashi ら *Science* 2011)。

2. 研究の目的

高速 AFM が明らかにしたセルラーゼの重要な特徴は、セルラーゼの移動速度は 5-10 nm/s 程度で、生化学的に見積もられた値 (1 nm/s) よりもずっと速い点、数マイクロメートルの距離をセルロースから解離することなくプロセスに移動できる点、の2つである。セルラーゼやキチナーゼは結晶性多糖を二糖単位で加水分解するので、ステップサイズは 1 nm 程度と予想される。しかし、これまでの高速 AFM 観察では直進運動の素過程(ポーズとステップ)は可視化されていない。その原因としては、高速 AFM では時間分解能が 0.1 秒程度であるため、ステップの可視化に十分でない、像のコントラストに揺らぎがあり十分な位置決定精度得られない等の原因が考えられる。本研究では金ナノ粒子やマイクロビーズを可視化プローブとして1マイクロ秒の時間分解能および 1 nm 以下の位置決定精度が得られる光学顕微鏡システムを開発し、セルラーゼやキチナーゼのステップ運動を可視化する。

3. 研究の方法

(1) 光学顕微鏡の時間分解能・位置決定精度の向上:

研究代表者らが開発した全反射型レーザー暗視野顕微鏡 (Ueno ら *Biophys J* 2010) をベースにさらに発展させる。これまでのシステムでは、粒径 40 nm の金コロイドを可視化プローブに用いて 10 マイクロ秒の時間分解能

で 1.5 nm の位置決定精度が達成されている。本研究ではこれをさらに改善し、1 マイクロ秒の時間分解能で 1 nm 以下の位置決定精度を達成する光学顕微鏡システムを構築する。

(2) 1分子計測用キチナーゼ、セルラーゼ変異体調製、結晶性多糖の調製、生化学的評価:

大腸菌での遺伝子組み換えおよび発現が確立している *Bacillus circulans* 由来のキチナーゼを主に用いる。可視化プローブを結合させるピオチンタグを導入するためのシステイン残基を導入した変異体を多種類作製する。子囊菌 *Trichoderma reesei* 由来のセルラーゼの変異体の作製は子囊菌でのホモロガスリコンビネーションを行う必要があるため、フィンランド技術研究センターの Anu Koivula 主任研究員に協力を仰ぐ。作製したシステイン導入変異体を発現・精製し、蛍光色素やピオチン導入効率が高い、可視化プローブとの結合効率が高い、結晶性多糖への吸着活性や分解活性等が野生型と同程度である、といった基準でスクリーニングを行う。活性を変化させた変異体についても同様に生化学的な評価を詳細に行う。

(3) 高速 AFM によるキチナーゼおよびセルラーゼ変異体、キチン、セルロース試料の評価:

キチナーゼ、セルラーゼの各種変異体を高速 AFM で観察し、移動速度が野生型に比べどのように変化するかを調べる。特にピオチンタグ導入による移動速度の低下がないことを確認する。また、加水分解の遅い変異体や触媒部位への多糖単分子鎖の取り込みが遅い変異体の移動速度を調べ、生化学的な分解活性の結果と比較する。また、アンモニア処理により結晶形を変化させた多糖を用いて高速 AFM 観察を行い、移動速度の変化を評価する。

(4) キチナーゼ、セルラーゼのステップ運動の可視化と1分子計測:

キチナーゼやセルラーゼのステップ運動の可視化を行う。酵素が結晶性多糖上で直進運動を開始するには、結合ドメインが多糖単分子鎖の末端近くに結合して加水分解ドメインが末端を捉える必要がある。末端近傍への結合頻度は溶液中の酵素濃度を増加させることで改善できるが、末端以外に結合して運動を開始しない酵素は、動いている酵素と立体障害を起こし直進運動を阻害するという問題がある。そこで、効率よくステップ運動を観察するため、酵素を結合させた可視化プローブを光ピンセットで捕捉して、ガラス基板上に固定した結晶性多糖の末端に近づけ結合を促す、というアプローチを用いる。

4. 研究成果

(1) 光学顕微鏡の時間分解能・位置決定精度の向上:

レーザー強度の増強、穴あきミラーの開口径の増大、より感度の高い CMOS 素子を持つ高速度カメラの導入、粒径 80nm の金コロイド

をプローブに用いることにより、数 nm の位置決定精度を保持したまま時間分解能を 1 マイクロ秒まで向上させることに成功した。

(2) 1分子計測用キチナーゼ、セルラーゼ変異体調製、結晶性多糖の調製、生化学的評価：子囊菌 *Trichoderma reesei* 由来のセルラーゼ TrCel7A の変異体を複数種作製して試し、ピオチンや蛍光色素 Cy3 による修飾効率が高く修飾後も活性が野生型とほぼ同程度である TrCel7A(S128C)変異体を同定した。また、*Bacillus circulans* 由来のキチナーゼ ChiA と ChiB についても同様に、ChiA(D415C)および ChiB(A425C)を同定した

(3) 高速 AFM によるキチナーゼおよびセルラーゼ変異体、キチン、セルロース試料の評価：

高速 AFM 観察により、ChiA、ChiB がキチン上をプロセスに動くリニアモーターであることを実証した。さらに結晶中のキチンの単分子鎖に対する ChiA、ChiB の運動方向が逆であることを実証した (Igarashi and Uchihashi *Nature Commun* 2014)。また、同定したセルラーゼ、キチナーゼの変異体 TrCel7A(S128C)、ChiA(D415C)、ChiB(A425C) の運動速度は野生型と変わらないことを明らかにした。また、結晶形の異なるセルロース I とセルロース III₁ 上の TrCel7A の運動速度は共に 5 nm/s でほとんど変わらないことを明らかにした。

(4) キチナーゼ、セルラーゼのステップ運動の可視化と1分子計測：

まずは可視化プローブとして表面をストレプトアビジンで修飾した粒径 80nm の金コロイド粒子を用い、ChiA(D415C)の運動の観察を試みた。しかしながら、金コロイドがキチンに非特異的に吸着することが明らかとなった。そこで、非特異的吸着を改善するため、pH を振る、ストレプトアビジンの代わりにニュートラアビジンを用いる、金コロイド表面のアビジンに Biotin-PEG-NH₂ を結合させてブロッキングする、金コロイドを BSA コートしブロッキングする、金コロイドの粒径を 60nm、40nm と小さくする、といった、非特異吸着を改善する様々な試みを行った。これらの試みのうち、a) ストレプトアビジン、BSA コートあり、pH7、および b) ニュートラアビジン、BSA コートなし、pH8 の 2 条件でキチナーゼ非依存的な非特異的吸着が抑えられることが明らかとなった。しかしながら、一度キチンに結合した金コロイド粒子は解離せず、運動の観察には成功しなかった。セルラーゼ TrCel7A とセルロースの系についても同様であった。

そこで方針を変更し、1分子蛍光観察による TrCel7A のダイナミクス計測を行った。上述のように結晶性セルロースにはいくつかの結晶形が存在する。自然界に存在するセルロース I を超臨界アンモニアで処理するとセルロース III₁ に変化する。興味深いことに、TrCel7 によるセルロース III₁ の分解速度はセ

ルロース I のそれに比べ 5 倍程度大きいことが報告されていた。しかし、何故セルロース III₁ がセルロース I よりも分解されやすいかは明らかではなかった。そこで TrCel7A の 1 分子蛍光観察と高速 AFM による 1 分子観察を駆使して TrCel7A によるセルロース I とセルロース III₁ の加水分解反応のすべての反応素過程の速度パラメーター (結合速度定数、並進運動速度、解離速度定数) を求めて比較した。その結果、セルロース I とセルロース III₁ で大きな違いはないことが明らかとなった。この結果から、分解性の違いはセルロース結晶面上で TrCel7A が結合できる表面積の違い、および TrCel7A の “渋滞” の度合いの違いによるものであるというモデルを提案した (Shibafuji *JBC* 2014、図 1)。

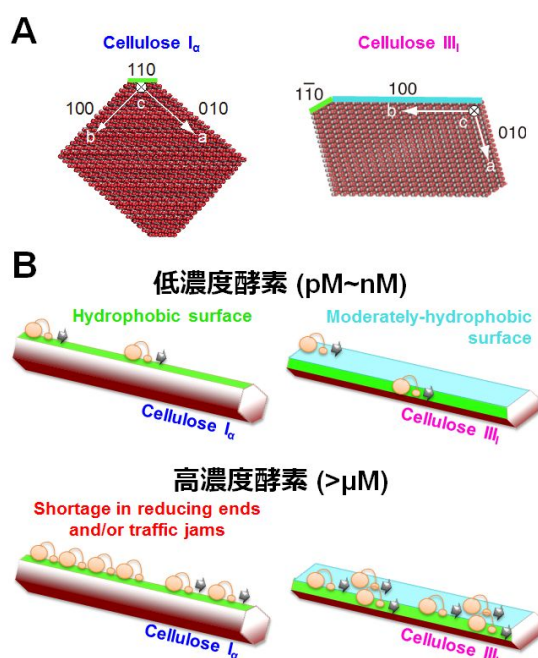


図 1 . A) セルロース I と III₁ の構造モデル。 B) セルロース I と III₁ の分解性の違いを説明するモデル。

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. R. Iino, H. Ueno, Y. Minagawa, K. Suzuki, T. Murata, “Rotational mechanism of *Enterococcus hirae* V₁-ATPase by crystal-structure and single-molecule analyses”, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **31**, 49-56 (2015) (査読有) DOI: 10.1016/j.sbi.2015.02.013
2. S. Enoki, R. Iino, Y. Niitani, Y. Minagawa, M. Tomishige and H. Noji, “High-speed angle-resolved imaging of single gold nanorod with microsecond temporal resolution and one-degree angle precision”,

- Anal. Chem.* **87**, 2079-2086 (2015) (査読有) DOI: 10.1021/ac502408c
3. A. Yukawa, R. Iino, R. Watanabe, S. Hayashi and H. Noji, "Key chemical factors of arginine finger catalysis of F₁-ATPase clarified by an unnatural amino acid mutation", *Biochemistry* **54**, 472-480 (2015) (査読有) DOI: 10.1021/bi501138b
 4. T. Ikeda, T. Tsukahara, R. Iino, M. Takeuchi, H. Noji, "Motion capture and manipulation of single synthetic molecular rotors by optical microscopy" *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 10082-10085 (2014) (査読有) DOI: 10.1002/anie.201403091
 5. T. Ikeda, R. Iino, H. Noji, "Real-time fluorescence visualization of slow tautomerization of single free-base phthalocyanines under ambient conditions" *Chem. Commun.* **50**, 9443-9446 (2014) (査読有) DOI: 10.1039/C4CC02574A
 6. Y. Shibafuji, A. Nakamura, T. Uchihashi, N. Sugimoto, S. Fukuda, H. Watanabe, M. Samejima, T. Ando, H. Noji, A. Koivula, K. Igarashi, and R. Iino, Single-molecule imaging analysis of elementary reaction steps of *Trichoderma Reesei* cellobiohydrolase I (Cel7A) hydrolyzing crystalline cellulose. *J. Biol. Chem.* **289**, 14056-14065 (2014) (査読有) DOI: 10.1074/jbc.M113.546085
 7. H. Ueno, Y. Minagawa, M. Hara M, S. Rahman, I. Yamato, E. Muneyuki, H. Noji, T. Murata and R. Iino, "Torque generation of *Enterococcus hirae* V-ATPase", *J. Biol. Chem.* **289**, 31212-31223 (2014) (査読有) DOI: 10.1074/jbc.M114.598177
 8. R. Iino, Y. Minagawa, H. Ueno, M. Hara, T. Murata, "Molecular structure and rotary dynamics of *Enterococcus hirae* V₁-ATPase" *IUBMB Life* **66**, 624-630 (2014) (査読有) DOI: 10.1002/iub.1311
 9. A. Nakamura, H. Watanabe, T. Ishida, T. Uchihashi, M. Wada, T. Ando, K. Igarashi, and M. Samejima, "Trade-off between processivity and hydrolytic velocity of cellobiohydrolases at the surface of crystalline cellulose", *J. Am. Chem. Soc.* **136**, 4584-4592 (2014) (査読有) DOI: 10.1021/ja4119994
 10. K. Igarashi, T. Uchihashi, T. Uchiyama, H. Sugimoto, M. Wada, K. Suzuki, S. Sakuda, T. Ando, T. Watanabe, and M. Samejima, "Two-way traffic of glycoside hydrolase family 18 processive chitinases on crystalline chitin", *Nature Commun.* **5**, 3975 (2014) (査読有) DOI: 10.1038/ncomms4975
 11. T. Ando, T. Uchihashi, and S. Scheuring, "Filming biomolecular processes by high-speed atomic force microscopy", *Chem. Rev.* **114**(6), 3120-3188 (2014) (査読有) DOI: 10.1021/cr4003837
 12. 飯野亮太, 中村彰彦, 五十嵐圭日子, 鮫島正浩「1分子計測からわかるエクソ型セルラーゼの分子機構」*生物物理* **54**: 318-320 (2014) (査読有) DOI: 10.2142/biophys.54.318
 13. R. Iino and H. Noji, "Intersubunit coordination and cooperativity in ring-shaped NTPases", *Curr. Opin. Struct. Biol.* **23**, 229-234 (2013) (査読有) DOI: 10.1016/j.sbi.2013.01.004
 14. S. Fukuda, T. Uchihashi, R. Iino, Y. Okazaki, M. Yoshida, K. Igarashi, and T. Ando, "High-speed atomic force microscope combined with single-molecule fluorescence microscope", *Rev. Sci. Instrum.* **84**, 073706 (2013) (査読有) DOI: 10.1063/1.4813280
 15. Y. Minagawa, H. Ueno, M. Hara, Y. Ishizuka-Katsura, N. Ohsawa, T. Terada, M. Shirouzu, S. Yokoyama, I. Yamato, E. Muneyuki, H. Noji, T. Murata and R. Iino "Basic properties of rotary dynamics of the molecular motor *Enterococcus hirae* V₁-ATPase", *J. Biol. Chem.* **288**, 32700-32707 (2013) (査読有) DOI: 10.1074/jbc.M113.506329
 16. T. Ando, T. Uchihashi, and N. Kodera, "High-speed AFM and applications to biomolecular systems", *Annu. Rev. Biophys.* **42**, 393-414 (2013) (査読有) DOI: 10.1146/annurev-biophys-083012-130324
 17. K. Igarashi, T. Uchihashi, A. Koivula, M. Wada, S. Kimura, M. Penttilä, T. Ando, and M. Samejima, "Visualization of cellobiohydrolase I from *Trichoderma reesei* moving on crystalline cellulose using high-speed atomic force microscopy", *Methods Enzymol.* **510**, 169-182 (2012) (査読有) DOI: 10.1016/B978-0-12-415931-0.00009-4
 18. T. Uchihashi, N. Kodera, and T. Ando, "Guide to video recording of structure dynamics and dynamic processes of proteins by high-speed atomic force microscopy", *Nat. Protoc.* **7**(6), 1193-1206 (2012) (査読有) DOI: 10.1038/nprot.2012.047
 19. S. Hayashi, H. Ueno, A. R. Shaikh, M. Umemura, M. Kamiya, Y. Ito, M. Ikeguchi, Y. Komoriya, R. Iino and H. Noji, Molecular mechanism of ATP hydrolysis in "F₁-ATPase revealed by molecular simulations and single molecule observations", *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 8447-8454 (2012) (査読有) DOI: 10.1021/ja211027m

〔学会発表〕(計 28 件)

(国際会議 招待講演)

1. Ryota Iino “Watching dynamic motions of individual molecular motors with gold nanoprobe”, PACCON2015. (Bangkok, Thailand, January 22, 2015).
2. Ryota Iino “Single-molecule imaging analysis of molecular motors” The 7th Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences. November 26-28, 2014. Seoul, Korea
3. Ryota Iino “Motions of individual biomolecular motors probed by gold nanoparticle and nanorod” International Symposium on Small Particles and Inorganic Clusters (ISSPIC XVII). September 7-12, 2014. Fukuoka, Japan
4. Ryota Iino “Watching and manipulating biomolecules one at a time” PITTCON 2014. PAI-NET Session: Ultrasensitive Analytical Technologies for Biology and Chemistry. March 3rd, 2014. Chicago, USA
5. Ryota Iino “Molecular mechanism of biological nanomachines probed by single-molecule techniques” 12th International Conference on Atomically Controlled Surfaces, Interfaces and Nanostructures (ACSIN-12). November 7th, 2013. Tsukuba, Ibaragi, Japan
6. Ryota Iino “You can observe a lot just by watching motions of individual molecules” Japanese-German Frontiers of Science Symposium. November 1st, 2013. Kyoto, Kyoto, Japan
7. Ryota Iino “Operation mechanism of rotary molecular motor F_1 probed by single-molecule techniques” American Physical Society March Meeting 2013. Session G43: Focus Session: Motor dynamics - from Single Molecules to Cells II. March 19th, 2013. Baltimore, USA.
8. Ryota Iino “Rotary catalysis of the stator ring of F_1 -ATPase, a nanomotor made by protein” 1st International Conference on Emerging Advanced Nanomaterials (ICEAN). October 22th-25th, 2012. Brisbane, Australia.
9. Ryota Iino “Rotary catalysis of the stator ring of F_1 -ATPase” The 17th European Bioenergetics Conference (EBEC 2012). September 16th, 2012. Freiburg, Germany.

(国内会議 招待講演)

10. 飯野亮太 「回転型ATPaseによるイオンの輸送を考える」分子研研究会「膜タンパク質内部のプロトン透過を考える」. 2015年4月21日. 岡崎コンファレンスセンター (愛知・岡崎)

11. 飯野亮太 「生体回転超分子モーターの作動メカニズム」日本化学会 第95春季年会 特別企画 シンポジウム. 2015年3月26日. 日本大学 (千葉・船橋)
12. 飯野亮太 「金ナノプローブで探る生体分子モーターのダイナミクス」日本化学会 第95春季年会 中長期企画 シンポジウム. 2015年3月26日. 日本大学 (千葉・船橋)
13. 飯野亮太 「生体分子モーターを測る、壊す、創る」シンポジウム「細胞のメゾスケール構造機能」. 2014年12月13日. 京都大学 (京都・京都)
14. 飯野亮太 「金ナノ粒子、金ナノロッドを用いた生体分子モーターのマイクロ秒1分子計測」新学術領域「柔らかな分子系」第7回ワークショップ. 2014年12月12日. 岡崎コンファレンスセンター (愛知・岡崎)
15. 飯野亮太 「目に見えないとても小さなタンパク質機械の動きを見る」日本化学会東海支部「夢・化学-21 高校生のための化学講座：見えないのを見る化学」. 2014年12月7日. 静岡大学 (静岡・浜松)
16. 飯野亮太 「回るたんぱく質、歩くたんぱく質の仕組みを探る」分子科学研究所 市民公開講座 第103回分子科学フォーラム. 2014年11月21日. 岡崎コンファレンスセンター (愛知・岡崎)
17. 飯野亮太 「生体分子モーターダイナミクスの1分子計測：構造解析と理論予測との協奏を目指して」TCCI第5回研究会. 2014年10月17-18日. 岡崎コンファレンスセンター (愛知・岡崎)
18. 飯野亮太 「Importance of membrane pumps and channels: an introduction」第52回生物物理学会年会シンポジウム “Which is important for biophysicists, pump or channel?” 2014年9月25-27日. 札幌コンベンションセンター (北海道・札幌)
19. 飯野亮太 「1分子計測技術で生体分子マシン、人工分子マシンの“動き”を調べる・考える」第63回高分子討論会 S14. “動き”のある自己組織化材料：動的応答・変化を示す材料の設計・機能・応用の最前線 . 2014年9月24日. 長崎大学 (長崎・長崎)
20. Ryota Iino 「Single-molecule high-speed imaging of rotary and linear molecular motors」Andor Academy Kyoto . 2014年8月1日. 京都大学 (京都・京都)
21. 飯野亮太 「細菌多剤排出ポンプ計測マイクロデバイス」第9回トランスポーター研究会年会シンポジウム「チャネル・トランスポーター研究の最前線2 (機能評価系・創薬)」. 2014年6月14日. 名古屋市立大学 (愛知・名古屋)

22. 飯野亮太「DNAを巻き取る分子リール」第66回日本細胞生物学会大会シンポジウム「遺伝情報を司るDNAのふるまい」. 2014年6月12日. 奈良県新公会堂（奈良・奈良）
23. 飯野亮太「天然ナノモーターと人工ナノローターの1分子ダイナミクス」第三回 次世代の物質科学・ナノサイエンスを探る. 2014年1月10日. 北海道大学（北海道・札幌）
24. 飯野亮太「倒立型顕微鏡を用いたリアルタイム1分子イメージング：蛍光法と暗視野法」第51回生物物理学会年会オリンパスランチョンセミナー. 2013年10月28日. 京都国際会館（京都・京都）
25. 飯野亮太「生体分子モーターの揺らぎと機能」国際高等研究所「分子基盤に基づく生体機能への揺らぎとダイナミックネットワークの解明」第2回研究会. 2013年8月9日. 国際高等研究所（京都・木津川）
26. 飯野亮太「タンパク質分子機械の1分子計測のこれから：改造して理解するデザイン原理」自然科学研究機構分子科学研究所所長招へいセミナー. 2013年3月5日. 分子科学研究所（愛知・岡崎）
27. 飯野亮太「1分子計測とマイクロデバイスを用いた感染・疾病バイオマーカー分子の超高感度検出」精密工学会 超精密加工専門委員会 第65回研究会『ナノバイオエンジニアリングが拓く次世代基盤技術』. 2013年1月29日. メルパルク大阪（大阪・大阪）
28. 飯野亮太、榎佐和子、野地博行「ATP駆動モーターの揺らぎとメカニズム」新学術領域「揺らぎと生体機能」「水とATP」合同公開シンポジウム「ゆらぎと水-生命のエネルギーと機能の分子機構を探る」. 2012年9月14日. 大阪ガーデンパレス（大阪・大阪）

〔図書〕(計3件)

1. 飯野亮太「デジタル PCR とデジタル ELISA」化学フロンティア 23 1 分子ナノバイオ計測：分子から生命システムを探る革新的技術 p144 - 146 化学同人 (2014)
2. 飯野亮太「Part III 機能とダイナミクス 第15章1節 モータータンパク質」(pp. 233-242)、DOJIN BIOSCIENCE シリーズ「揺らぎ・ダイナミクスと生体機能 - 物理化学的視点からみた生体分子 - 」(化学同人) (2013)
3. 飯野亮太「全反射照明蛍光顕微鏡」先端バイオマテリアルハンドブック 秋吉一成、石原一彦、山岡哲二 監修. 第4編 第2章 14節. P132-137. NTS (2012)

〔その他〕

ホームページ等

http://groups.ims.ac.jp/organization/iino_g/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

飯野 亮太 (RYOTA, IINO)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構
(岡崎共通研究施設)・岡崎統合バイオサイエンスセンター・教授

研究者番号：70403003

(2) 研究分担者

内橋 貴之 (TAKAYUKI, UCHIHASHI)

金沢大学・数物科学系・准教授

研究者番号：30326300

五十嵐 圭日子 (KIYOHICO, IGARASHI)

東京大学・農学生命科学研究科・准教授

研究者番号：80345181

(3) 連携研究者

なし