

# コヒーレント X 線回折を用いたヒト染色体の三次元可視化

西野吉則<sup>1</sup>, 高橋幸生<sup>2</sup>, 今本尚子<sup>3</sup>, 石川哲也<sup>1</sup>, 前島一博<sup>4</sup>

<sup>1</sup>理化学研究所放射光科学総合研究センター 〒679-5148 兵庫県佐用郡佐用町光都 1-1-1

<sup>2</sup>大阪大学大学院工学研究科 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1

<sup>3</sup>理化学研究所基幹研究所 〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1

<sup>4</sup>国立遺伝学研究所 〒411-8540 静岡県三島市谷田1111

**要旨** X 線回折顕微法による、ヒト染色体の 2 次元および 3 次元での観察に成功した。X 線回折顕微法は、コヒーレント X 線回折を利用したレンズを必要としないイメージング法で、従来のレンズを用いた X 線顕微鏡の限界を超える様々な優れた特徴を有している。この手法の生物学応用は、これまで 2 次元観察に限られており、我々の研究が初の 3 次元観察となる。再構成されたヒト染色体には、中心軸付近に密度の高い構造が観測された。染色体の軸状構造の観察は、染色や標識など、像のコントラストを高める試料処理をしない状態では初めてであり、X 線回折顕微法が、無染色の生体試料の内部構造をコントラスト良く観察できる有力な手法であることが示された。

## 1. はじめに

細胞や細胞小器官の内部構造を丸ごと高いコントラストで観察することは、細胞の機能と深い関わりを持つ生体高分子の高次構造の解明に重要である。しかし、これまでの顕微鏡技術では、マイクロメートルを越す厚みをもつ試料を丸ごと観察することは困難であった。透過電子顕微鏡は、分子レベルの高い分解能を持ち、生体試料の観察においても威力を発揮する。しかし、弾性散乱電子を透過させるためには、試料は通常数百 nm 以下の薄い切片でなければならず、厚い試料を丸ごと観察することは困難である。また、蛍光顕微鏡では、蛍光標識された構造はコントラストが強調されて観察できるが、それ以外の構造を見ることは困難である。

X 線は、透過性に優れ、厚みのある試料を 3 次元的に観察することに適している。しかし、従来の X 線顕微鏡の多くは、X 線の吸収コントラストを可視化するレントゲン写真の延長に過ぎなかった。このため、X 線をほとんどすべて透過する無染色の細胞や細胞小器官などの試料に対しては、像のコントラストが極めて悪く、内部構造を明瞭に観察することは困難であった。X 線を使い、無染色の細胞や細胞小器官を高いコントラストで観察するには、透明な試料を可視化できる位相コントラストイメージングの技術が求められる。我々は、レンズを必要としない斬新な X 線位相コントラストイメージング手法である X 線回折顕微法を用いて、無染色のヒト染色体を 3 次元的に観察することに成功した<sup>1)</sup>。これは、硬 X 線を用いた世

界初の細胞小器官の 3 次元観察であり、X 線回折顕微法が無染色の生体試料を高いコントラストで観察できることが示された。本稿では、X 線回折顕微法によるヒト染色体の観察について報告する。

## 2. 位相コントラストイメージング

透明な試料の可視化は、光学顕微鏡においては良く知られた問題である。生きた細胞は、可視光をほとんどすべて透過する透明な物体であるため、光の吸収コントラストを可視化する通常の明視野顕微鏡では、像のコントラストが極めて悪く、内部構造の観察が困難である。Fritz Zernike は、位相コントラスト顕微鏡という透明な物体(位相物体)を観察することができる顕微鏡を開発して、1953年にノーベル物理学賞を受賞した。位相コントラスト(位相差)顕微鏡は今日、無染色の生体試料の観察に広く用いられている。

吸収コントラストイメージングでは試料内部の吸収率の分布が可視化され、位相コントラストイメージングでは複素屈折率の分布が可視化される。複素屈折率の実部は光の波の位相シフトに対応し、虚部は光の吸収に対応する。Fig. 1 に、位相シフトの概念図を示す。光を完全に透過する位相物体に対しても試料内部に非一様な屈折率の分布があれば、試料背後で光の波面がゆがむ。この波面のゆがみを各種の方法で検出することにより、位相コントラストイメージングが実現する。

可視光領域での位相コントラストイメージングの分解能

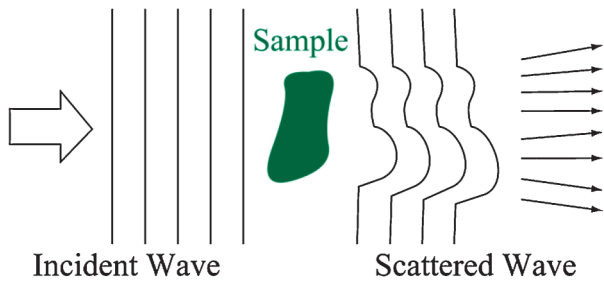


Fig. 1 Schematic of phase shift occurring in the scattering of coherent waves.

は、可視光の波長により数百 nm に制限される。さらに高い空間分解能は、波長の短い X 線を用いることにより実現可能となる。X 線領域においても、Zernike 型の位相コントラスト顕微鏡をはじめ、各種の位相コントラストイメージング技術が存在する。その中でも我々は、レンズを必要としない X 線回折顕微鏡によるイメージングを行った。

### 3. X 線回折顕微鏡

レンズを必要としない X 線回折顕微鏡は、レンズによるコントラストの低下がなく、理想的な X 線位相コントラストイメージング手法である<sup>2-6)</sup>。さらに、これまでレンズの性能によって制限されてきた空間分解能や試料の厚み（被写界深度）の問題も解消できる。これにより、厚い試料を高い空間分解能でコントラスト良く観察することができる。X 線回折顕微鏡の実験的研究は、比較的歴史が浅く、生体試料の観察はこれまで 2 次元投影像の観察に限られていた<sup>7-10)</sup>。我々は、X 線回折顕微鏡による世界初の生体試料の 3 次元観察として、ヒト染色体の 3 次元観察に成功した。

ここで、X 線回折顕微鏡について概観する。より詳しい解説は、以前に本誌に掲載された西野、石川による記事、参考文献<sup>2)</sup>、などを参考にして頂きたい。X 線回折顕微鏡の実験では、試料にコヒーレント X 線を照射して、散乱された X 線の分布（コヒーレント X 線回折パターン）を 2 次元検出器で測定する。コヒーレント X 線回折パターンは、スペックルと呼ばれる斑点状の分布をもつ。スペックルパターンは、試料中のさまざまな位置で散乱された X 線の波が重ね合わさり、強め合ったり弱め合ったりする干渉効果によるものである。コヒーレント X 線回折を用いることにより、試料に照射された X 線の波の位相シフトを高感度で検出し、透明な試料の内部構造を高コントラストで観察することができる。

実験では、スペックル状のコヒーレント X 線回折パターンを、オーバーサンプリング条件を満たすように、高い角度分解能で測定する。オーバーサンプリング条件とは、コヒーレント X 線回折データから試料像を再構成す

るための必要条件で、スペックルが検出器の 2 ピクセル以上の大きさであることが求められる。一つのスペックルの角度幅は、 $\lambda/a$  程度である。ここで、 $\lambda$  は波長、 $a$  は試料サイズを表わす。一方、測定系の角度分解能は、典型的に、2 次元検出器のピクセルサイズを数十  $\mu\text{m}$ 、カメラ長を数 m とすると、数十  $\mu\text{rad}$  である。このため、波長 1 Å 程の X 線を用いる場合、1  $\mu\text{m}$  程の孤立した試料粒子があれば、スペックルの角度幅は 100  $\mu\text{rad}$  程となり、オーバーサンプリング条件を満たすことができる。より大きな試料に対しては、ピンホールや集光光学系を用いて照射領域を制限することで、オーバーサンプリング条件を満たすことができる。

X 線回折顕微鏡では、コヒーレント X 線回折データに対して、計算機を用いた反復的位相回復法を適用して、試料像を再構成する。通常の結像型の顕微鏡におけるレンズの役割を、計算機が担っている。反復的位相回復法では、ランダムな電子密度分布（または回折波のランダムな位相）から出発し、Fourier 変換と逆 Fourier 変換を繰り返す。そして各反復において実空間および逆空間で既知の情報を補う。まず、逆空間ではコヒーレント X 線回折強度の実験データを補う。この際、位相は各反復における計算値をそのまま用いる。実空間では、電子密度がサポートの外ではゼロであること、また物理的に電子密度が負でない値を持つことなどを拘束条件として課すことができる。ここでサポートとは、電子密度がゼロでない試料が存在する領域をあらわす。実空間の拘束条件の課し方には、具体的には様々な方法があるが、HIO (Hybrid Input-Output) アルゴリズムが広く用いられる<sup>11)</sup>。

1 つの入射角度で測定したコヒーレント X 線回折データからは、試料の 2 次元投影像が得られる（空間分解能が波長に比べて悪く、投影近似が成り立つ場合）。また、さまざまな入射角度で測定した多数のコヒーレント X 線回折データを用いることにより、試料の 3 次元像が得られる。X 線は透過性が高いため、観察した 3 次元像からは、試料の表面のみならず、内部構造に関する詳細な情報を得ることができる。

### 4. 染色体

染色体は、細胞が分裂する際に、複製されたゲノムの遺伝情報を 2 つの娘細胞に正確に分配するために必須な構造である<sup>12,13)</sup>。長さが合計 2 m にもおよぶヒトゲノム DNA は、細胞周期の分裂期に入ると 2 倍に複製され、短時間のうちに 23 対の数  $\mu\text{m}$  の大きさを持つ染色体に束ねられる。染色体の構造（高次構造）やその束ねられるメカニズムはいまだよく分かっておらず、これらを解明することは生物学上の重要なテーマの 1 つとなっている。

染色体は、生物学的に重要であることに加え、X 線回折顕微鏡測定に適した生体試料でもある。まず、染色体は

数  $\mu\text{m}$  の大きさを持ち、我々が開発をした X 線回折顕微鏡装置で、容易に上述のオーバーサンプリング条件を満たすことができる。また、染色体は細胞内元素としては比較的重いリンを豊富に含んでおり、さらに分裂期の染色体はコンパクトに凝縮し密度が高いため、同サイズ他の細胞小器官と比べ、強度の大きなコヒーレント X 線回折が期待される。

我々は、ヒト染色体を HeLa 細胞から単離精製し、グルタルアルデヒドで化学固定した。その後、染色体を、X 線の散乱がほぼ無視できる  $100\text{ nm}$  厚の窒化シリコン薄膜上に、弱い遠心力で接着させ、蒸留水で洗い、空気乾燥した。この際、X 線ビームが単一の染色体に照射されるように、窒化シリコン膜上の染色体密度は  $100\ \mu\text{m}$  四方に 1 個程度になるように調節した。なお、我々の実験において、試料位置における照射 X 線のビームサイズは  $33\ \mu\text{m}$  程であるが、3 次元測定用に試料を回転させた場合、広角に行くにつれ窒化シリコン膜上での照射 X 線ビームのフットプリントが大きくなる。最大の入射角  $70^\circ$  において、照射 X 線ビームのフットプリントは  $96\ \mu\text{m}$  程になる。このように調製した試料を、光学顕微鏡で事前観察して、コヒーレント X 線回折実験に適した、単一の孤立した、比較的小さな  $2\ \mu\text{m}$  程度の大きさを持つ染色体を試料として選んだ。

## 5. 実験

ヒト染色体の観察は、我々が開発をした X 線回折顕微鏡<sup>14)</sup>を用いて、SPring-8 の BL29XUL において行った。

Fig. 2 に実験配置を模式的に示す。アンジュレーターからの部分的にコヒーレントな準単色の X 線を、Si 111 分光器を用いて単色化し、エネルギー  $5\text{ keV}$  の X 線を選んだ。高次光は全反射ダブルミラーによって取り除いた。試料の  $1\text{ m}$  程上流には、直径  $20\ \mu\text{m}$  のピンホールを設置し、一つの染色体のみを照明した。ピンホール後の X 線のフラックスは、 $1 \times 10^{10}\text{ photons/s}$  程であった。ピンホールからの寄生散乱を抑えるために、Fig. 2 に示すように、2 組のガードスリットを用いた。なお、試料に照射する X 線は部分的にコヒーレントであるが、コヒーレンス領域は試料サイズより大きいため、試料はコヒーレント照明されている。コヒーレント X 線回折パターンは、試料の下流約  $1.32\text{ m}$  の位置に置かれた X 線 CCD 検出器で測定した。X 線 CCD 検出器には、この種の実験で広く用いられている、Princeton Instruments 社製の直接検出型 X 線 CCD、PI-LCX1300 を用いた。検出器前には、大強度の直接光が検出器に入射するのを防ぐために、ビームストップを置いた。

コヒーレント X 線回折測定は、3 次元像を得るために、試料を回転させ、 $-70^\circ$  から  $60^\circ$  までの範囲の、最小  $2.5^\circ$  間隔、合計 38 点の入射角で行った。Fig. 3 に、入射角

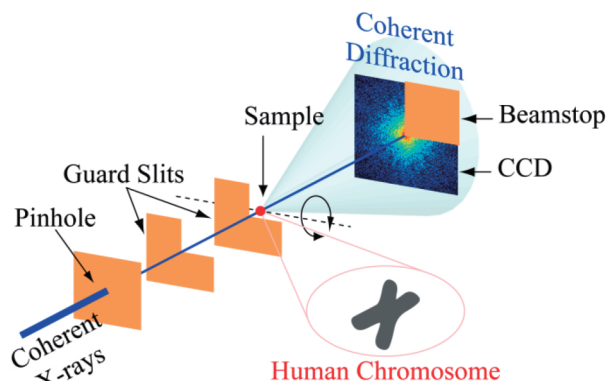


Fig. 2 Schematic of our x-ray diffraction microscope.

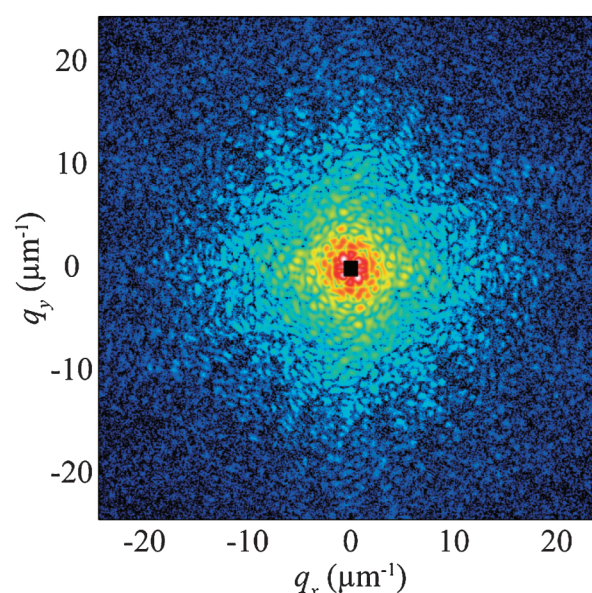


Fig. 3 Coherent diffraction pattern of an unstained human chromosome.

$0^\circ$  (窒化シリコン膜に X 線が直入射)におけるコヒーレント X 線回折パターンを示す。測定したコヒーレント X 線回折パターンの強度コントラストの高さは、照射 X 線の空間コヒーレンスが優れていることを示す。コヒーレント X 線回折パターン中のスペckルの大きさは、一方向に 8 ピクセル程 ( $2\ \mu\text{m}$  程の試料サイズに対応)であり、オーバーサンプリング条件を十分に満たしている。

無染色のヒト染色体試料の様に X 線の吸収が無視できる試料の場合、コヒーレント X 線回折パターンは中心対称となる。我々はこの性質を利用して、測定したコヒーレント X 線回折データを中心対称化した。この操作により、ビームストップの陰となる欠如データの一部を、中心対称な点でのデータで補った。中心対称化後のコヒーレント X 線回折パターンの、中心部のデータ欠如領域は小さく、一辺 23 ピクセル程 ( $|\mathbf{q}| < (1.4\ \mu\text{m})^{-1}$ ) であった。ここで、 $|\mathbf{q}| = 2 \sin(\Theta/2)/\lambda$  であり、 $\Theta$  は散乱角、 $\lambda$  は波長

である。ヒト染色体試料の大きさが  $2\ \mu\text{m}$  程であったことを思い返すと、中心部のデータ欠如によって失われる情報は、わずかである事がわかる。

コヒーレント X 線回折では、より広角までのデータを用いることにより、より高い空間分解能が得られる。我々のデータ解析では、X 線 CCD 検出器の  $800 \times 800$  ピクセルのデータを用いた。これにより得られる再構成像のピクセル（ボクセル）の一辺の長さは  $20.5\ \text{nm}$  である。

各入射角における照射時間は、試料データの測定に対しては  $2700$  秒（Fig. 3 のデータは  $3400$  秒照射）、試料のないバックグラウンド測定に対しては、その半分であった。照射 X 線のフラックス密度や照射時間から計算される吸収線量は、一つの入射角に対しては  $4 \times 10^8\ \text{Gy}$ 、3 次元データの測定には  $2 \times 10^{10}\ \text{Gy}$  程である。

## 6. 試料像再構成

測定したコヒーレント X 線回折データに、反復的位相回復法を適用することにより、ヒト染色体の 2 次元および 3 次元の像再構成を行った。より具体的には、HIO アルゴリズムをベースとし、我々が開発をした反復的に総電子数を規格化する方法（MHIO アルゴリズム）<sup>15)</sup>、および shrink wrap 法<sup>16)</sup> と呼ばれる反復的にサポートを改良する方法を採用した。反復プロセスは、 $99 \times 98$  ピクセル（一辺およそ  $2\ \mu\text{m}$ ）の大きさの長方形サポート内のランダムな電子密度分布を出発点とし、500 反復毎に、途中段階の再構成像を利用してサポートを改良した。このプロセスを  $2 \times 10^4$  反復まで行った。

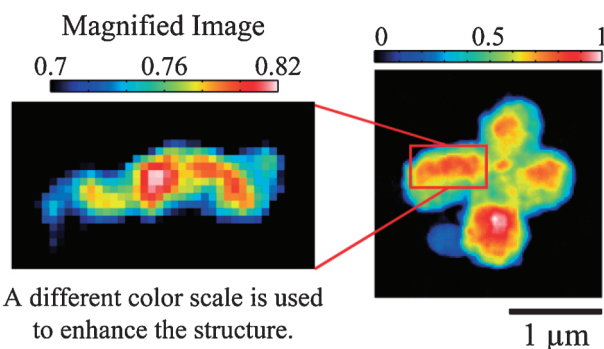
上記の方法で得られる再構成像は、初期に与えるランダムな電子密度分布への依存性が否定できない。このため、より信頼性の高い再構成像を得るために、複数の異なるランダムな電子密度分布を出発点に像再構成を行い、得られた像の平均をとることが一般的に行われている。我々の場合は、15 の異なるランダムな電子密度分布を出発点に像再構成を行った。得られた 15 の再構成像のうち、相関の高い（互いに似ている）10 個の像を平均することにより、最終的な再構成像を得た。試料像再構成では、並進および中心対称な像が現われる。これは、平面波照明の場合、並進および中心対称な像も数学的に同一のコヒーレント X 線回折パターンを与えるためである。このため、相関や平均の操作の前には、再構成像の位置合わせが重要となる。ちなみに、相関や位置合わせの操作は、再構成したデジタル画像を数値的処理することによって厳密に行った。

また、3 次元像再構成においては、様々な入射角で測定したコヒーレント X 線回折データを、3 次元逆空間にはめ込む必要がある。我々は、参考文献<sup>17)</sup> に記載された方法により、3 次元逆空間へのはめ込みを行った。3 次元逆空間へのはめ込みに先立ち、我々は全ての入射角での 2 次元像再構成を行い、総電子数（コヒーレント X 線回折

パターンの中心強度）を規格化した。また、3 次元逆空間へのはめ込みに際しては、偏光因子や Ewald 球の曲率なども考慮に入れた。

## 7. 考察

Fig. 4 に、コヒーレント X 線回折パターン（Fig. 3）から再構成された、ヒト染色体の 2 次元投影像を示す。再構成像では、2 つの姉妹染色分体が白矢印で示されたセントロメアで結合している様子が、明瞭に可視化されている。さらに、特筆すべき構造として、染色体の軸付近に幅  $200\ \text{nm}$  程のイメージ強度の高い領域が観察された。この領域は、染色体スキヤフォールドと呼ばれる構造が現れる領域とほぼ一致する。染色体スキヤフォールドは、コンデンシンとトポイソメラーゼ II という染色体の構築過程に必須なタンパク質で構成されていることが、これまでの研究で報



A different color scale is used to enhance the structure.

Fig. 4 Two-dimensional reconstruction of a human chromosome.

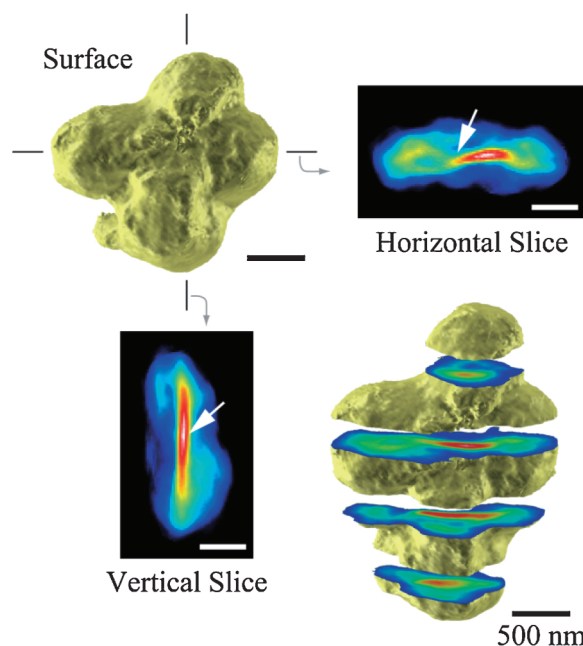


Fig. 5 Three-dimensional electron-density map of a human chromosome.

告されている<sup>12,13,18,19</sup>)。この軸状構造は、これまで免疫電子顕微鏡や蛍光顕微鏡を用いて、構成するタンパク質を染色または標識をして観察されてきた。我々の観察では、染色や標識などの特定の構造のイメージコントラストを高める試料処理をしていない点が注目に値する。さらに、我々が得たヒト染色体の2次元投影像では、軸状の構造がほぼ規則的に曲がりくねって波状になっていることが観察された。この構造は、蛍光顕微鏡を用いてこれまで観察されていた、らせん状の軸構造と類似している。ちなみに、得られた2次元再構成像の空間分解能は、38 nm と見積もられる。

Fig. 5 に、再構成されたヒト染色体の3次元電子密度マップを示す。興味深いことに、染色体中でもっとも電子密度が高い位置は、白矢印で示されたセントロメア付近であることがわかった。この観測結果は、セントロメア領域は、完全に構造ヘテロクロマチンにより構成されており、染色体内の他の領域に比べより凝集していることから理解することができる。また、3次元再構成像においても、軸付近に電子密度の高い構造が観察された。3次元再構成像においては、2次元再構成像に見られた波状構造に対応する構造は確認できなかった。これは、3次元再構成像の空間分解能が120 nm と、2次元像の場合に比べて劣っているためと考えられる。今回の測定における吸収線量から判断すると、3次元像における空間分解能の低下は、試料の放射線損傷に依るものと考えられる。X線回折顕微法に限らず、生体試料の顕微鏡観察では一般に、試料の放射線損傷をいかに小さく抑えるかが高空間分解能化への鍵を握る。

## 8. おわりに

我々の研究により、コヒーレント X 線回折を利用した可視化法が、X 線にとって透明な細胞や細胞小器官の内部構造を高いコントラストで観察するのに優れ、従来の顕微鏡では見ることができなかった構造を明らかにできることが実験的に示された。今後、この手法が、さまざまな細胞や細胞小器官の内部構造の解明に貢献することが期待される。我々の測定も含め、これまで報告のあった X 線回折顕微法の生物学応用では、試料は乾燥状態にあった。生物学的により意義の大きい、生きている状態に近い水和(凍結)状態での試料観察が今後求められる。

コヒーレント X 線回折による丸ごと観察で3次元可視化した情報は、電子密度マップである。これは、生物体を構成するタンパク質の原子レベルの構造決定に用いられる X 線結晶構造解析で得られる情報とまったく同じである。このため、究極的に、コヒーレント X 線回折と X 線結晶構造解析で得られる情報を継ぎ目なくつなぎ合わせることで、細胞を原子レベルから理解できるようになると期待する。これまでの研究から、試料を水和凍結し、

放射線損傷を抑えることにより、3次元像で10 nm の分解能が可能になると指摘されている<sup>20,21</sup>)。

さらに、次世代の X 線源である X 線自由電子レーザー<sup>22</sup>)を利用することにより、より高い空間分解能への可能性が拓かれる。X 線自由電子レーザーは、100フェムト秒以下という短いパルス幅を持っている。この超短パルス性能を利用すると、生物試料が壊れる前にコヒーレント X 線回折測定を行うことが原理的に可能となる<sup>23-25</sup>)。生物試料の顕微鏡観察では、試料の放射線損傷が分解能を制限する主要因となるので、試料が壊れる前の測定が可能になると、従来の限界を超える空間分解能が得られると期待される。

## 謝辞

この研究は、科研費および、X 線自由電子レーザー一利用推進研究課題の助成を受けたものである。

## 参考文献

- 1) Y. Nishino, Y. Takahashi, N. Imamoto, T. Ishikawa and K. Maeshima: *Phys. Rev. Lett.* **102**, 018101 (2009). また、この研究内容は、*Nature* **457**, 238 (2009) や *Physics Today* **62** (2), 20 (2009) 等で紹介された。
- 2) 西野吉則, 石川哲也: *放射光* **19**, 3 (2006).
- 3) 西野吉則: *顕微鏡* **44**, 24 (2009).
- 4) D. Sayre: *Acta Crystallogr.* **5**, 843 (1952).
- 5) J. Miao, P. Charalambous, J. Kirz and D. Sayre: *Nature* **400**, 342 (1999).
- 6) M. A. Pfeifer, G. J. Williams, I. A. Vartanyants, R. Harder and I. K. Robinson: *Nature* **442**, 63 (2006).
- 7) J. Miao, K. O. Hodgson, T. Ishikawa, C. A. Larabell, M. A. Le Gros and Y. Nishino: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **100**, 110 (2003).
- 8) D. Shapiro *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **102**, 15 343 (2005).
- 9) H. Jiang *et al.*: *Phys. Rev. Lett.* **100**, 038103 (2008).
- 10) C. Song *et al.*: *Phys. Rev. Lett.* **101**, 158101 (2008).
- 11) J. R. Fienup: *Appl. Opt.* **21**, 2758 (1982).
- 12) K. Maeshima and M. Eltsov: *J. Biochem. (Tokyo)* **143**, 145 (2008).
- 13) 前島一博: *蛋白質核酸酵素* **50**, 1620 (2005).
- 14) Y. Nishino *et al.*: *Journal of Physics: Conference Series* **186**, 012080 (2009).
- 15) Y. Nishino, J. Miao and T. Ishikawa: *Phys. Rev. B* **68**, 220101(R) (2003).
- 16) S. Marchesini *et al.*: *Phys. Rev. B* **68**, 140101(R) (2003).
- 17) J. Miao, T. Ishikawa, B. Johnson, E. H. Anderson, B. Lai and K. O. Hodgson: *Phys. Rev. Lett.* **89**, 088303 (2002).
- 18) J. R. Swedlow and T. Hirano: *Mol. Cell* **11**, 557 (2003).
- 19) K. Maeshima and U. K. Laemmli: *Dev. Cell* **4**, 467 (2003).
- 20) S. Marchesini *et al.*: *Opt. Express* **11**, 2344 (2003).
- 21) M. R. Howells *et al.*: *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.* **170**, 4 (2009).
- 22) 新竹 積, 石川哲也: *日本物理学会誌* **64**, 160 (2009).
- 23) R. Neutze *et al.*: *Nature* **406**, 752 (2000).
- 24) H. N. Chapman *et al.*: *Nature Phys.* **2**, 839 (2006).
- 25) D. Sayre: *Acta Crystallogr. A* **64**, 33 (2008).

● 著者紹介 ●



**西野吉則**

理化学研究所 放射光科学総合研究センター 専任研究員。

E-mail: nishino@spring8.or.jp

専門：コヒーレント X 線光学

**【略歴】**

1996年大阪大学大学院理学研究科物理学専攻博士課程修了，博士（理学）。1996年-2001年高輝度光科学研究センター。1998年-2000年ドイツ電子シンクロトロン（DESY）客員研究員。2001年より理化学研究所，2008年より現職。



**高橋幸生**

大阪大学大学院 工学研究科 フロンティア研究センター 特任講師

E-mail: takahashi@wakate.frc.eng.osaka-u.ac.jp

専門：X 線光学，X 線構造解析

**【略歴】**

2004年9月東北大学大学院工学研究科材料物性学専攻修了，博士（工学）。日本学術振興会・特別研究員，理化学研究所・基礎科学特別研究員を経て，2007年4月より現職。理化学研究所客員研究員を兼任。



**今本尚子**

理化学研究所 基幹研究所 今本細胞核機能研究室 主任研究員

E-mail: nimamoto@riken.jp

専門：分子細胞生物学

**【略歴】**

大阪大学細胞工学センター・医学部助手，国立遺伝学研究所助教授を経て，2002年より現職。



**石川哲也**

理化学研究所 X 線自由電子レーザー計画推進本部 推進統括役

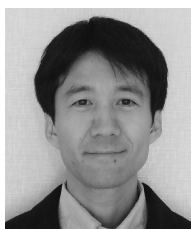
理化学研究所 播磨研究所 放射光科学総合研究センター センター長

E-mail: ishikawa@spring8.or.jp

専門：X 線干渉光学

**【略歴】**

1977年東京大学大学院工学系研究科物理工学専攻，1982年博士（工学），1983年高エネルギー物理学研究所助手，1989年東京大学工学部物理工学科助教授，1996年理化学研究所主任研究員を経て，2006年10月より現職。



**前島一博**

国立遺伝学研究所 構造遺伝学研究センター 教授

E-mail: kmaeshim@lab.nig.ac.jp

専門：細胞生物学，生物物理学

**【略歴】**

1999年大阪大学大学院医学研究科博士課程修了，1999年から2004年までスイス・ジュネーブ大学・研究員。理化学研究所・今本細胞核機能研究室を経て，2009年4月から現職。

# Three-dimensional visualization of a human chromosome using coherent X-ray diffraction

Yoshinori NISHINO<sup>1</sup>, Yukio TAKAHASHI<sup>2</sup>, Naoko IMAMOTO<sup>3</sup>,  
Tetsuya ISHIKAWA<sup>1</sup>, Kazuhiro MAESHIMA<sup>4</sup>

<sup>1</sup>RIKEN SPring-8 Center, 1-1-1 Kouto, Sayo-cho, Sayo-gun, Hyogo 679-5148, Japan

<sup>2</sup>Graduate School of Engineering, Osaka University, 2-1 Yamada-oka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

<sup>3</sup>RIKEN Advanced Science Institute, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198, Japan

<sup>4</sup>National Institute of Genetics, 1111 Tanida, Mishima, Shizuoka, 411-8540 Japan

**Abstract** We succeeded in observing a human chromosome in two- and three-dimensions using x-ray diffraction microscopy. X-ray diffraction microscopy is a lens-less imaging technique utilizing coherent x-ray diffraction, and can overcome various limitations in conventional lens-based x-ray microscopy. Biological applications of the method have been limited to 2D observation, and 3D observation has been long waited. We found that the reconstructed chromosome images contain high-density axial structure, which has not been observed under unstained or unlabeled conditions. The result experimentally demonstrates the effectiveness of x-ray diffraction microscopy in observing internal structures of unstained biological samples with high image contrast.

---