

最先端・次世代研究開発支援プログラム  
事後評価書

研究課題名	生体機能可視化のための超解像分子イメージング技術の開発
研究機関・部局・職名	大阪大学・工学研究科・准教授
氏名	藤田 克昌

## 【研究目的】

本研究では、生体機能の可視化のための超解像イメージング技術を開発することを目的とする。従来の光学顕微鏡は、光の波動性の制限から、光の波長の半分（250 nm程度）よりも小さな構造を観察することができず、細胞内の微小空間における生体機能を可視化することが出来なかった。近年、研究代表者を含む複数のグループがこの波長限界を超える手法を実証したが、限られた条件でしか、その解像力を発揮できず、生体内部の超解像観察、また動きのある試料の超解像観察は依然困難であった。さらに、これらの手法の利用は蛍光標識された試料にのみに限定されており、生体分子を直接、無標識にイメージングすることは不可能である。超解像イメージング技術における上記の課題を解決するため、本研究プロジェクトでは、1) 生体深部での超解像観察技術の構築、2) 生体内の分子動態の高速超解像観察技術の開発、3) 無標識超解像分子イメージング技術の開発、の3つを目標とした。これらの目標を達成するために、1) 非線形応答の飽和を利用した超解像顕微鏡の開発、2) 可視光多光子励起の利用による高解像度観察技術の開発、3) 超解像蛍光プローブの開発、4) 無標識超解像イメージング技術の開発、の4つのテーマを設定した。

## 【総合評価】

	特に優れた成果が得られている
○	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

## 【所見】

## ① 総合所見

生体機能可視化という有意義かつ意欲的な目的に対して、独創的なアイデアに基づく効果的なテーマが設定されており、適切なマネジメントの下、着実な研究成果が得られた。本研究課題は極めて順調に遂行され、設定された目的が十分に達成された。具体的には非線形応答の飽和を利用した細胞内部の超解像観察に成功し、多焦点励起による高速観察可能な顕微鏡システムを構築した。超解像蛍光プローブの開発として

新たに蛍光分子を合成し空間分解能が向上することも確認している。コヒーレントアンチストークスラマン散乱（CARS）の飽和現象を利用した無標識超解像イメージング技術を開発し、培養細胞、および脳切片の超解像無標識観察に成功した。

優れた超解像イメージング技術を実用化し応用範囲を拡大することにより、生命科学・医科学に大きなインパクトを与える成果をあげることが期待される。論文・知的財産など積極的な研究成果公表を行っている。

## ② 目的の達成状況

・所期の目的が

( 全て達成された ・  一部達成された ・  達成されなかった)

本研究課題では、生体機能可視化という目的に対して、三つの具体的目標が掲げられ、それらの達成のために、四つのテーマが並行して実施されている。いずれのテーマについても、当初計画における研究項目が以下に述べるようにほぼ達成された。具体的には、非線形応答の飽和を利用した細胞内部の超解像観察に成功している。また、多焦点励起による高速観察可能な顕微鏡システムを構築し、130 nm の空間分解能、0.6 秒の時間分解能での撮影にも成功している。超解像蛍光プローブの開発として新たに蛍光分子を合成し空間分解能が向上することを確認している。既に、高い空間分解能を有する高速イメージングに成功した。コヒーレントアンチストークスラマン散乱（CARS）の飽和現象を利用した無標識超解像イメージング技術の開発も行い、回折限界の約 2 倍の空間分解能を実現し、培養細胞、および脳切片の超解像無標識観察に成功した。

## ③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が  
( ある ・  ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が  
( 創出された ・  創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が ( ある ・  ない)

非線形光学応答の飽和に基づく超解像技術は、当該研究者独自のアイデアによるもの先進的なものである。簡便な手法でありながら、既存の顕微鏡システムやイメージング技術の性能を飛躍的に向上させる可能性を有している。具体的には、生体試料深部における超解像観察、可視光多光子励起による汎用性の高い高速超解像法、光誘起電子移動励起分子による 2 光子励起型蛍光プローブ、無標識超解像イメージング技術の可能性などにおいて、高い先進性が認められる。これらは、実装が容易な普遍的な技術であり、特別な装置が必要な既存方式に対する優位性をもつ。

これまでにさまざまな超解像イメージング技術が開発されているが、特別な装置が必要であったり、複雑な調整が求められたりしていた。本研究課題では、簡便な手法や一般的な装置を利用して、それらと同等以上の高解像度イメージングが実現されており、技術面において、有用なブレークスルーが創出されたと判断される。

本研究課題は、空間分解能の高解像化を目的に計画されたものであるが、本手法がスペクトル分解能の高解像化に対しても有効であるとの知見が得られた。その結果、分光分析技術を通して、分析化学分野への寄与が期待される。

#### ④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が

( 見込まれる ・ 見込まれない )

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が

( 見込まれる ・ 見込まれない )

本研究課題の成果は、比較的容易に実装できる技術に基づく普遍性の高い技術であり、顕微鏡光学、物理化学、材料光学などの進展に寄与することが見込まれる。本手法に基づくスペクトル分解能の高解像化は、分光技術に新しい展開をもたらすものと期待される。

また、現在、世界中で応用が進んでいる超解像顕微鏡の性能の限界を打ち破る高性能化を達成することにより、超解像イメージングを切望している生命科学分野や医学分野において、研究分野の進展に大いに寄与することが期待される。

本研究課題で開発された超解像イメージング技術は、細胞や組織の生きたままで、高精細、高精度の情報を取得することが可能になり、多くの未解明の疾患の機構解明や新たな医薬品開発に結実することで、社会的な課題である健康長寿社会の創出に大いに貢献するものと期待される。

#### ⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが ( 行われた ・ 行われなかった )

研究全体の工程・状況は、極めて順調に進展した。テーマ毎に割り当てられた3名のポスドクと外部の共同研究者による研究実施体制も理想的なものであり、進捗管理や情報共有など、そのマネジメントも適切に行われた。購入物品、助成金の執行内訳から助成金は有効に利活用されていると判断される。指摘事項への対応状況は適切であり、指摘事項を実施するために新たな共同研究者の協力を得て成果をあげた。

研究成果の発信については、論文、知的財産権出願・取得、一般雑誌等への研究成果など、積極的な公表が行われている。また、国際会議や国内学会においてシンポジウムの企画を多く主催するなどして、本研究成果の公表を極めて積極的に進めた。

国民との科学・技術対話においては、高校生、小学生向けの体験会を実施しており、顕微鏡イメージングの実験を体験する企画を実施した。顕微鏡イメージングを通じたミクロの世界の観察は、高校生、小学生の探求心を大きく刺激するため、今後の国内での科学技術の発達を担う人材育成にとっても極めて重要である。