

領域略称名：レゾナンスバイオ  
領域番号：3704

平成29年度科学研究費補助金「新学術領域研究  
(研究領域提案型)」に係る中間評価報告書

「共鳴誘導で革新するバイオイメージング」

(領域設定期間)

平成27年度～平成31年度

平成29年6月

領域代表者 (国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・チ  
ームリーダー・宮脇敦史)

# 目 次

## 研究領域全体に係る事項

1. 研究領域の目的及び概要	5
2. 研究の進展状況	7
3. 審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況	10
4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	11
5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	14
6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	19
7. 若手研究者の育成に関する取組状況	21
8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	22
9. 総括班評価者による評価	23
10. 今後の研究領域の推進方策	24

**研究組織** (総括：総括班，支援：国際活動支援班，計画：総括班及び国際活動支援班以外の計画研究，公募：公募研究)

研究項目	課題番号 研究課題名	研究期間	代表者氏名	所属機関 部局 職	構成員数
X00 総括	15H05947 共鳴誘導で革新するバイオイメージング	平成27年度 ～ 平成31年度	宮脇 敦史	国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー	7
Y00 支援	15K21746 レゾナンスバイオ国際活動支援	平成27年度 ～ 平成31年度	宮脇 敦史	国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー	7
A01 計	15H05948 大規模生体バイオイメージングのための要素技術開発	平成27年度 ～ 平成31年度	宮脇 敦史	国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー	7
A01 計	15H05949 細胞間コミュニケーションのライブイメージング	平成27年度 ～ 平成31年度	松田 道行	京都大学・生命科学研究科・教授	8
A01 計	15H05950 SBWにおける生体深部精細蛍光イメージングシステムの開拓	平成27年度 ～ 平成31年度	曾我 公平	東京理科大学・基礎工学部材料工学科・教授	2
A01 計	15H05951 新しいスイッチング機構に基づく高精度蛍光イメージングプローブの開発	平成27年度 ～ 平成31年度	神谷 真子	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・講師	1
A02 計	15H05952 革新的イメージング技術とがんモデルメダカを駆使したがん転移研究	平成27年度 ～ 平成31年度	今村 健志	愛媛大学・医学系研究科・教授	2
A02 計	15H05953 ベクトルレーザー光を用いた高速 in vivo イメージング技術の高度化と応用	平成27年度 ～ 平成31年度	根本 知己	北海道大学・電子科学研究所・教授	2
A02 計	15H05954 バイオイメージングプロセス	平成27年度 ～ 平成31年度	横田 秀夫	国立研究開発法人理化学研究所・光子量子工学研究領域・チームリーダー	3
総括・支援・計画研究 計9件					

A01 公	16H01416 実用的リアルタイムナ ノスコーピーを実現する 機能性色素・タグドメ インシステムの開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	浅沼 大祐	東京大学・大学院医学系研究科（医 学部）・助教	1
A01 公	16H01420 タンパク質新生の超解 像・迅速追跡を志向し た高輝度タグ-プローブ システムの構築	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	野村 渉	東京医科歯科大学・生体材料工学研 究所・准教授	1
A01 公	16H01422 高精細な発光トモグラ フィを実現する生物発 光源の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	口丸 高弘	東京工業大学・生命理研・助教	1
A01 公	16H01425 遺伝子にコードされた PhyB-PIF 系を用いた 細胞機能の光制御技術 の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	青木 一洋	大学共同利用機関法人自然科学研究 機構・岡崎統合バイオサイエンスセ ンター・教授	1
A01 公	16H01428 蛍光制御分子の化学デ ザインと生体イメージ ング	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	堀 雄一郎	大阪大学・工学研究科・准教授	1
A01 公	16H01429 弱い過渡的相互作用を トリガーとしたRNA の1分子イメージング	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	川井 清彦	大阪大学・産業科学研究所・准教授	1
A01 公	16H01431 組織透明化で加速する 安全かつ効率的な遺伝 子導入法の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	麓 伸太郎	長崎大学・医歯薬学総合研究科（薬 学系）・准教授	1
A01 公	16H01432 超解像からin vivo イメ ージングまで使える酸 化ストレス分子マッピ ング法の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	平山 祐	岐阜薬科大学・薬学部・助教	1
A01 公	16H01433 競合的蛍光リガンドア ッセイによるFRET プ ローブ設計と超高感度 IP3 センサー開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	谷村 明彦	北海道医療大学・歯学部・教授	5

A01 公	16H01437 “無蛍光”蛍光タンパク質で実現する組織深部分子活性化イメージング	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	村越 秀治	生理学研究所・准教授	1
A01 公	16H01438 NMDA 受容体依存性 LTP の制御のための光プローブの作成	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	林 康紀	京都大学大学院医学研究科・教授	1
A02 公	16H01418 4D イメージングデータ内の密集した細胞核を正確に 検出・追跡・定量する画像解析手法	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	豊島 有	東京大学・理学系・助教	1
A02 公	16H01419 生体深部の超解像リアルタイム分子イメージング技術の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	船津 高志	東京大学・薬学研・教授	1
A02 公	16H01423 多次元輝度情報に基づいた形状認識・物体追跡技術の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	玉田 篤史	新潟大学・大学院医歯学総合研究科・客員研究員	1
A02 公	16H01426 マクロからマイクロに至る多階層構造情報を束ねる観察・解析技術の基盤創成	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	日置 寛之	京都大学・医学研究科・助教	1
A02 公	16H01430 生物画像の領域識別・領域分割のための機械学習手法の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	栗田 多喜夫	広島大学・工学研究科・教授	2
A02 公	16H01434 SHG 専用色素を用いたマルチモダル 2 光子顕微鏡の開発と応用	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	塗谷 睦生	慶應義塾大学・医学部・准教授	1
A02 公	16H01435 周辺情報に着目した細胞内画像中の粒子計数と追跡	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	堀田 一弘	名城大学・理工学部・准教授	1
A02 公	16H01436 多重線形スパースコー	平成 28 年度 ～	陳 延偉	立命館大学・情報理工学部・教授	1

	ディング法を用いた4次元生物画像のモデリングと解析	平成29年度			
A02 公	16H01439 分子ポラリティを可視化する干渉非線形散乱イメージング法の開発	平成28年度 ～ 平成29年度	市村 垂生	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・上級研究員	1
A02 公	16H01440 深部と超解像イメージングに向けた次世代色収差補正	平成28年度 ～ 平成29年度	松田 厚志	情報通信研究機構・研究員	1
公募研究 計 21 件					

# 研究領域全体に係る事項

## 1. 研究領域の目的及び概要（2ページ以内）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、応募時までの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

分子と光の間の相互作用を介して、特徴的な振る舞いが観察対象に現われる。こうした現象を活用してバイオイメージング技術を開発する試みを狭義の「レゾナンスバイオ」と呼ぶ。本領域は、分子をデザインする研究者と光をコントロールする研究者の集いを基本に、分子と光の間の相互作用を究めて革新的なバイオイメージング技術を開発することを目的とする。さらに、バイオイメージングを中心に据えた学際的な共同研究を推進して、様々な生物学分野におけるパラダイムを揺り動かす試みを広義の「レゾナンスバイオ」の名のもとに行う。

バイオイメージングの開発対象として、一般的に、色素（プローブ）、ハードウェア（光学機器）、ソフトウェアの3つがある。色素とハードウェアについては我が国独自の開発要素技術があり、学術的にも産業的にも世界をリードしてきた実績がある。一方、ソフトウェアについては世界に後れをとっている。昨今は、4Dイメージングが流行りで、しかも、より細かく、広く、深く、速く、長く観察する必要が叫ばれ、画像データの量がますます膨大する傾向にある。巨大データ（ギガバイト、テラバイト）に振り回されないように技術体系を整備する必要がある。バイオイメージングが健全に発展するためには、「色素」、「ハードウェア」、「ソフトウェア」を三位一体として開発していくことが重要である。さらに本領域では、生物学の著しい多様性を鑑み「サンプル調製」を開発研究対象に加えたい。サンプルを顕微鏡の対物レンズの先に固定するだけでも多大な創意工夫の余地がある。固定サンプルの透明化技術を含め、観察するために行うサンプル調製を大きく取り上げる。「色素」、「ハードウェア」、「ソフトウェア」、「サンプル調製」の4つを頂点とする三角錐を想定し、本領域で開発する技術のそれぞれをその四面に投影していきたい。

本領域が対象とする基礎研究分野は生物学であるが、バイオイメージングはそれ自身が著しく境界領域的な性質を帯びており、以下のような多種の専門領域を巻き込んでいる。

- ・ 蛍光・発光タンパク質技術のための遺伝子工学や分子生物学、
- ・ 蛍光色素開発のための有機・無機化学、
- ・ 光学顕微鏡開発・改良のための光学、
- ・ 画像データの解析・編集のための情報科学、

これら学問の知識や技術を総動員して、バイオイメージング技術を実践的に開発する。実践の対象として、がん生物学、発生学、再生医学、細胞生物学、神経科学、診断医学などがあり、これらを横断するような研究領域の創成・発展が期待される。本領域の目指す革新的バイオイメージング技術の開発とその応用展開が生物学全般の発展に大きく寄与することは疑いなく、まさしく「既存の学問分野の枠に収まらない新興・融合領域の創成を目指す」ものに該当する。

A01（分子を扱うグループ）とA02（光を扱うグループ）の担当分類はあくまでも便宜的である。領域代表者・計画研究代表者ともに、自らバイオイメージング技術を創出しその概念実証を行うことができる。開発と実践を明確に区別しない方針である。本領域の計画研究は、異なる技術や知識が結集するべき最小サイズのコアである。より大きなサイズの異質コアとして本領域全体を分担・公募研究者とともに作っていく。こうしたコアの中でいろいろなニーズとシーズが双方向的に相互作用して新しいバイオイメージング技術が生まれることを期待する。ただしすべてをボトムアップに任せるのではなく、本領域全体で頭を捻る重要テーマをいくつか掲げて取り組んでいく（以下

に記す)。なお、平成29年度6月の段階で、ソフトウェア開発に携わるグループをA03として据える(A02から独立)ような体制変更を考えている。

平成27年度より下記4テーマを共有するように活動を行っている。

①「超解像イメージング」: 当技術は2014年ノーベル化学賞の受賞対象となったが、実用的には未だ発展途上にある。課題の一つに「深部超解像」がある。たとえばbasal側の細胞表面だけでなく、カバーガラス表面から相当に離れて存在する構造(核内構造体、ゴルジ体、あるいはapical側の細胞表面)の光学観察の空間分解能を上げる試みである。細胞内屈折率の不均一性によって収差が生じ、カバーガラス表面から離れるに従ってPSF(点像分布関数)が歪むのが一因である。根本は、マルチビームスキャン方式(ベクトルビームおよび波面補正技術)などの開発を通してこの課題に真剣に取り組んできた。もう一つの課題が「ライブ超解像」である。神谷が開発する自発的明滅プローブを利用した全視野照明による「局在化法」は、超解像度画像の高速撮影を可能にし、ライブ超解像の技術の革新に貢献すると考えられた。

②「生体深部イメージング」: 生きた生体組織の深部イメージングを可能にするために、色素の長波長化を連携して行う。曾我による無機蛍光色素(OTN-NIR)開発は、生体イメージング実践者(宮脇ら)からのニーズを受けて表面修飾(色素のbiocompatibility, delivery, targeting)を検討してきた。宮脇は、研究分担者の牧と共に、発光タンパク質の長波長化(> 700 nm)を行ってきた。また宮脇は、国産の赤色の蛍光タンパク質の開発を鋭意行ってきた。世界的にみても赤色蛍光タンパク質のライセンスフリー化はまだ先のことであり、本領域の研究成果物を日本の産業界に普及させる意味で、これら一連の開発研究は重要な国家使命と言える。その応用として、宮脇は松田と連携してFRETバイオセンサーの長波長化、根本および今村と連携して新規レーザー光源による2光子励起イメージングを行っている。さらに、こうしたプローブを検出(励起)するための光学顕微鏡システムを根本が中心となり本領域全体で構築することを考えた。

③「ストレスイメージング」: 「ストレス」は曖昧な言葉である。ストレスに関連する現象を様々なプローブで可視化することで、ストレスの新生面を切り拓くことを本領域で目指す。カバーガラス上の培養細胞(多細胞生物由来)は相当のストレスを感じながら生きているのであり、in vitro と in vivo の両系をまたぐ本領域で扱う格好のテーマである。酸化ストレスを例に挙げると、宮脇は蛍光タンパク質を材料に様々な酸化ストレスプローブを作製している。一方で、細胞が持つ抗酸化作用を可視化することも必要である。神谷は、細胞質における抗酸化作用を示すGSH(還元型グルタチオン)を定量するプローブを開発している。宮脇は、膜における抗酸化作用を示すビリルビン(非抱合型)を定量するプローブを、ニホンウナギ由来のUnaGを材料に開発している。松田らはストレスキナーゼの活性を測定するFRETバイオセンサーを開発しており、今村は、これらのプローブを使って、癌におけるストレス現象について理解を深めるような研究を開始している。

④「ズーミングインアウト」: 上記3テーマは、主に4Dイメージングを狙うものであり、対象空間のスケールは様々である。応募時において、計画研究代表者の扱う空間スケールは、細胞内微細構造(神谷)ー細胞(神谷、松田)ー組織(根本、今村、松田)ー器官(根本、今村、曾我、松田)ー個体(曾我)とおおまかに整理された。異なる空間スケールの画像データを処理しながら、ある文脈で小空間スケールのデータを大空間スケールのデータに包含させることを試みたい。意味のあるズーミングインアウトを提供するデータベースの構築に本領域全体が連携して取り組む必要があり、横田と宮脇が連携を先導する。また固定サンプルの透明化技術を、宮脇および根本がそれぞれ独立に開発してきた。

## 2. 研究の進展状況【設定目的に照らし、研究項目又は計画研究ごとに整理する】（3ページ以内）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在までにどこまで研究が進展しているのか記述してください。また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らして、どのように発展したかについて研究項目又は計画研究ごとに記述してください。

「超解像イメージング」「生体深部イメージング」「ストレスイメージング」「ズームインアウト」の4テーマに加えて、「バイオイメージングにおける光操作技術」「Chemistry and Biology」「画像の取得・処理の連携」というテーマを設定し、それぞれについて進展状況を記述する。各研究グループ（各研究者）が複数のテーマに関連することで領域内で縦横の連携が生まれている（6. 参照）。

### 「超解像イメージング」（A01+A02）

- ・計画班の根本グループは、軸方向電場成分を用いた新しい顕微鏡法の開発を進めている。照明光の偏光分布を液晶素子によって放射状のベクトルビームに変換し、回折限界を超える PSF を実現した。
- ・計画班の神谷グループは、自然に明滅する蛍光色素「HMSiR」を開発し、微小管の動く様子を 50 ナノメートルの高い空間分解能で1時間以上にわたって観察することに成功している。
- ・公募班の市村は、SHG の観察（in vitro ではあるが）から微小管上のチューブリン 2 量体の分極を計算する手法を開発、キネシン結合によって起こるチューブリンの構造遷移を検出することに成功した。
- ・公募班の船津は、自発的明滅蛍光色素（HMSiR）を用いた超解像観察を行い、細胞内ストレス顆粒のナノ構造を mRNA の運動性を考慮しながら解明している。斜照明技術を活用して細胞深部における超解像イメージングを達成した成果と言える。

- ・公募班の浅沼は、ライブセル超解像蛍光イメージングを実現する De-QODE タグ・QODE プローブを開発している。

- ・公募班の川井は、RNA の構造転移に基づく蛍光点滅過程を解析し、in vitro における超超解像イメージングの可能性を示唆するデータを出している。

—当初の目標どおり、超解像イメージングの「ライブ化（高速化）」と「深部到達向上（3次元化）」のための技術開発が進んでいる—

### 「生体深部イメージング」（A01+A02）

- ・計画班の松田グループは、理研 QBiC の隅山と共同で、FRET バイオセンサーを安定発現するマウスを作製し、様々な組織において細胞内情報伝達現象がパルス上に発生して周囲に伝播する様子（一例が同心円状の ERK 活性化：SPREAD）を可視化している。

- ・計画班の今村グループは、2光子 Digital Scanned Light-sheet Microscopy (2P-DSLM)を開発し、深部到達能の向上、光毒性および褪色の防止、高解像度の実現を図っている。蛍光性のがん細胞の移植がんモデルマウスおよびメダカを用いて、個体レベルにおけるがん転移メカニズム解明と創薬スクリーニング系の構築を目指している。

- ・計画班の曾我グループは、SBW (Second Biological Window) 蛍光の in vivo 観察が可能な OTN (Over-1,000-nm) 近赤外 in vivo 蛍光イメージングシステムを整備し、併せて、OTN 近赤外バイオイメージングプローブを希土類含有セラミックナノ粒子、PbS 量子ドット、カーボンナノチューブ、有機色素などを蛍光体として作製した。

- ・計画班の宮脇グループは、電通大学の牧と共同で、新規生物発光システムを開発した。動物個体イメージングに適した特性をもつ発光基質を開発した上で発光酵素をその基質に合わせて分子進化させている。

- ・公募班の口丸は、生物発光システムの超音波（1 MHz）による変調技術の可能性を追求し、発光酵素の超音波感受性に関して知見を集めている。

- ・公募班の塗谷は、新規 SHG 試薬を開発し、SHG 観察と一般的蛍光観察との同時施行をはるかに容易にするシステムを創った。

- ・公募班の村越は、2pFLIM-FRET のプローブの長波長化を達成して、定量的 FRET 観察（すなわち FLIM）の組織深部到達向上を狙っている。

—生体深部へ向かう技術のシーズとニーズは極めて多様であり、色素、ハードウェア、ソフトウェア、サ

ンプル調製、すべての要素について進展がある—

#### 「ストレスイメージング」(A01)

- ・公募班の平山は、スーパーオキシド ( $O_2^{\cdot-}$ ) および鉄 (II) イオンを検出するプローブを開発、その多角的な性能評価を本領域内連携を活用して行おうとしている。
  - ・公募班の麓は、hydrodynamics 法、lipofection 法などの遺伝子導入技術で誘起される酸化ストレスを3次元マッピングしている。プローブ導入による生体 homeostasis 攪乱は、バイオイメージングで真剣に考えるべきテーマである。
  - ・公募班の船津は、亜ヒ酸などの添加によって細胞内に生成するストレス顆粒のナノ構造を解明した。
  - ・計画班の宮脇グループは、酸化ストレスプローブを蛍光タンパク質を材料に作製し、酸化ストレスと細胞周期、オートファジーなどとの関連を single cell imaging で解析している。
- ストレスを細分化し本領域の技術で可視化すべきストレスの詳細を少しずつ具体化する必要がある—

#### 「ズームインアウト」(A01+A02)

- ・公募班の麓は、界面活性剤フリーの新規透明化試薬 SeeBest を開発し、DDS 技術による遺伝子発現を個体レベルでマップすることに成功した。
  - ・公募班の日置は、計画班宮脇グループと共同で、光学顕微鏡観察から電子顕微鏡観察へ zoom in する技術 Successive LM/EM を実践的に開発している。
  - ・計画班の宮脇グループは、水溶性透明化試薬 Sca/eS の更なる改良・改善を行っている。
  - ・計画班の根本グループは、2,2-Thiodiethanol を用いた迅速透明化試薬を開発している。
  - ・計画班の宮脇グループと横田グループは、透明化した動物脳の microscale, mesoscale, macroscale の構造体を redundancy-free に zoom in and out するソフトウェアの開発を計画している。
- 透明化技術に関する誤解、曲解が世界中に蔓延している。領域内の3研究チーム(宮脇、根本、麓)が独自の透明化技術を開発しており、世界発信のやり方を考慮中である—

#### 「バイオイメージングにおける光操作技術」(A01+A02)

- ・公募班の林と青木は、遺伝子コード型プローブで光照射による分子操作技術を実践的に開発している。
  - ・公募班の林は、光増感タンパク質 SuperNova (一重項酸素発生による CALI 分子) とコフィリンの融合蛋白質を海馬神経細胞に発現させ、NMDA 受容体依存性の記憶消去システムを解析した。
  - ・公募班の青木は、フィコシアノビルリン PCB の培養細胞における細胞内合成系の再構成を確立し、高等植物由来の光受容タンパク質 (PCB が発色団) の構造変化を利用する操作技術を開発した。従来の光操作技術は青色光を使うので観察のための光励起と衝突する、off を積極的に操作できないという欠点がある。一方、青木の技術を用いると、赤色光と近赤色光照射による迅速な ERK や Rac1 の活性化/不活性化が可能となった。
- 光操作技術における光照射についても様々な光学技術が応用されるべきである。たとえば計画班の根本グループは、超短パルスレーザーを使ってマウス大脳皮質の深部の神経断裂を起こす実験を成功させている—

#### 「Chemistry and Biology」(A01)

- 公募班の堀、谷村、野村はいわゆる Chemistry & Biology のアプローチで可視化技術を開発している。
- ・堀は、PYP (Photoactive Yellow Protein) のリガンドの化学合成と PYP の点変異体作製を行い、発蛍光プローブのバリエーションを著しく豊かにしている。
  - ・谷村は、IP3 受容体のリガンド結合ドメイン (LBD) にチオール反応性蛍光色素 (DACM) や Bcl-2 由来ペプチドを組み入れることで、様々な IP3 センサーを開発した。
  - ・野村は、環境応答性蛍光団を持つプローブとタグから成るペプチド新生可視化システムを開発している。タグ部分は完全に遺伝子コード型にすることが望ましいと考えられる。

—化合物プローブとタンパク質性プローブの長所・短所を見極め、相補的なアプローチが領域内に生まれつつある—

「画像の取得・処理の連携」(A01+A02)

・計画班の横田グループは、画像処理アルゴリズムの開発と生物画像データへの適用を行いながら、情報処理基盤システムプラットフォームをオールジャパンで整備し、本領域内での実用化に向けて講習会を定期的に行っている。また、計画班の宮脇グループと根本グループと共同して、画像情報処理ソフトウェア作成コンテスト(精密工学会との共催)を実施している。横田グループは、常に領域内の画像の取得と処理の連携の効率化を図るように活動している。

公募班の玉田と豊島は、画像の取得と処理の両方を自ら行うスタイルで研究を進めている。両研究者ともに蛍光画像と微分干渉(DIC)画像を取得する機会が多く、情報交換を盛んに行っている。

・玉田は、多次元輝度情報に基づく計上認識、物体追跡技術を開発し、培養神経細胞の成長円錐から伸びる糸状仮足の運動を観察対象に4Dイメージングを進めている。

・豊島は、線虫全神経細胞の興奮の時空間パターンを可視化することを目的に、密集細胞核を正確に検出・追跡・定量する画像解析手法を開発している。

公募班の堀田、栗田、陳は、画像処理技術開発を専門としている。いずれも深層学習に関連する技術が多く、大量の教師データをどう供給するかが本領域における課題となると思われる。

・堀田は、深層学習を用いて、ターゲットの周辺情報に着目する独自の手法を開発し、細胞内粒子(脂肪滴など)、細胞膜、細胞核などの構造体を追跡する技術を開発している。領域内で多くの画像取得研究者との連携を進めている(項目6参照)。

・栗田は、CNN(Convoluted Neural Network)から抽出した画像特徴ベクトル(hypercolumn)を用いた画像領域分割手法を開発している。DIC画像を使ってiPS細胞のクオリティチェックを可能にする研究成果がある。

・陳は、多重線形Sparse coding法を用いた4D生物学画像のモデリングと解析を幅広く行っている。

—ニーズから考える画像の取得・処理のマッチングは効率よく進んでいると思われる。シーズからニーズを探索あるいは創出するアプローチも試していきたい—

### 3. 審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況（2ページ以内）

審査結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該コメント及びそれへの対応策等を記述してください。

<コメント>

「本研究領域は我が国の生命科学の牽引を期待される領域であるが、一方で、バイオイメージング技術の開発とその普及だけではなく、技術開発によりどのような生命現象の解明を目指すのかを明確化し、医療応用など応用面でのブレークスルーにつながる道筋も示すことが望まれる。」

<回答>

本領域は技術開発を研究の主眼とする。本領域の発足にあたって掲げた4つのテーマのうち「超解像イメージング」「生体深部イメージング」「ゾーミングインアウト」の3つはいずれも技術開発に関するものである。解明すべき生命現象を敢えて特定しないことで、技術開発の縦横な発展を促したいと考えている。しかしながらバイオイメージングで解明されるべき生命現象を具体的にイメージする重要性も感じている。カルシウム、リン酸化、低分子Gタンパク質、オートファジーなどの動態を、プローブで可視化する試みが世界中で盛んになってきたが、ほとんどの研究は縦割りに進展してきており、様々なプローブを組み合わせる横断的アプローチはまだ少ない。そこで、生命現象を多面的に観察するためのプローブ、ハードウェア、ソフトウェアの開発を進めながら、様々な現象間の相関関係のデータを元に、ある刺激に対して様々な応答が起こる必然を理解したいと思う。ほぼ相反すると思われる二つの現象、とくに「増殖」と「分化」、「生」と「死」の間に繰り広げられる様々な生命現象を「ストレス」という曖昧な言葉でくくり、1つのテーマに設定した次第である。個々の細胞がストレスに向き合う様子を調べることで、癌化や老化における生命現象の因果関係を解明できると考えている。そうした学術的研究アプローチを、プローブ、ハードウェア、ソフトウェアを組み込んだ実用的パッケージとして国内外の産業界に提案することで、医療応用での実質的ブレークスルーが達成されると期待したい。

#### 4. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する]

（3 ページ以内）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果（発明及び特許を含む）について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

##### 研究項目 A01 分子のデザイン

A01（計画・宮脇）

**新規分子間相互作用検出技術**：phase separation を利用し、生細胞内に生成される fluorescent puncta を観測することで任意の分子間相互作用を検出する技術 Fluoppi を開発。（Watanabe et al. Sci. Rep., 2017）

A01（計画・松田）

**血管細胞増殖因子受容体(VEGFR)による PKA 不活性化と血管透過性亢進**：PKA の FRET センサーを発現するトランスジェニックマウスに腫瘍を作製。腫瘍内血管内皮で PKA 活性の有意の低下が観察された。VEGFR が PKA を抑制し腫瘍血管の血管透過性を亢進することを発見。（Cancer Research. 2016）

A01（計画・曽我）

**SBW における生体深部精細蛍光イメージングシステムの開拓**：OTN 近赤外バイオイメージングプローブを希土類含有セラミックナノ粒子、PbS 量子ドット、カーボンナノチューブ、有機色素を蛍光体として作製し、それぞれにおいて *in vivo* イメージングを実施した。また、高性能カメラに種々のレンズを搭載することにより異なる画質の OTN 近赤外蛍光画像の評価を行った。さらに SBW 蛍光バイオイメージングにおいて初の CT による 3 次元画像を得ることができた。

A01（計画・神谷）

**細胞内グルタチオン濃度の定量的蛍光プローブの開発**：細胞内の抗酸化物質グルタチオンに可逆的に応答する蛍光プローブを開発し、細胞種によりグルタチオン濃度が異なることを示した。（Nature Chemistry, 2017）

A01（公募・浅沼）

**De-QODE タグ・QODE プローブの開発**：蛍光団と消光団をもつ QODE プローブ、消光団に結合する De-QODE タグを開発し、単一分子位置決定顕微鏡法の構築を経て、ライブセル超解像イメージングを実現化。

●特許出願：「新規蛍光標識方法」発明者：廣瀬謙造、浅沼大祐、並木繁行、田中理恵子、権利者：国立大学法人東京大学、特願 2017-7952、2017 年 1 月 19 日出願、国内（外国出願無）

A01（公募・口丸）

**超音波-発光相互作用解析装置の構築**：発光酵素に超音波(1 MHz)を照射しながら発光強度を読み出す解析装置を構築。超音波応答性に関与する可能性のあるアミノ酸を同定。

A01（公募・青木）

**フィコシアノビルリン PCB の細胞内合成系の再構成とその応用**：赤色光/近赤外色光による光誘導性二量体化システムである PhyB-PIF 系を培養細胞で実現。光合成細菌の PCB 合成経路における 4 遺伝子を導入することでフィコシアノビルリン PCB を培養細胞内で合成することに成功。この人工システムを用いて、ERK 経路と Rac1 経路を赤色光により活性化、近赤外色光により不活性化すること（いずれも迅速に）に成功。

A01（公募・堀）

**蛍光制御分子の化学デザインと生体イメージング**：タンパク質の蛍光標識技術において、生細胞のタンパク質を標識すると蛍光強度が上昇する長波長蛍光プローブを開発した。（Philos. Trans. R. Soc. Lond. A）

A01（公募・麓）

**新規組織透明化法の開発**：界面活性剤不含の新規組織透明化試薬を開発し、脂質成分（DiI, リポソームなど）を保持したまま、迅速かつ効率的に様々な組織を透明化することに成功（特願 2017-30702）。

**遺伝子導入法の開発**：超音波応答性バブルリポソームにより腹腔内組織への遺伝子導入に成功し、組織透明化により遺伝子発現陽性細胞の空間分布を可視化。（Nishimura, et al., Drug Delivery 2017）

●特許出願：「生体由来材料の透明化試薬」発明者：麓伸太郎・川上茂・西田孝洋、権利者：国立大学法人長崎大学、特願 2017-30702、2017 年 2 月 22 日出願、国内（外国出願無）

A01（公募・平山）

**活性酸素種活性化型反応性プローブの開発**：活性酸素種で活性化され、近傍の生体分子に対してランダムに共有結合する分子を開発。スーパーオキシド ( $O_2^{\cdot-}$ ) 特異的プローブ分子の設計・合成・評価を実施した。

A01（公募・谷村）

**競合的蛍光リガンドアッセイ法の開発と改良**：IP3 受容体のリガンド結合ドメイン (LBD) 内に、蛍光タンパク質 (CFP) の円順列変異体を挿入し約 500%の蛍光変化率を達成した。（Oure et al. ChemBioChem 2016）

さらにチオール反応性蛍光色素 (DACM) を CFP の代わりに用いて、約 800% の蛍光変化率を達成した。

**Tethered 型 IP3 蛍光センサーの作製**：アデノフォスチン A と Biotin をそれぞれ合成し縮合して Biotin-ADP を合成。Streptavidin や Bcl-2 由来ペプチドを分子内にもつ Tethered 型 IP3 蛍光センサー遺伝子を作製した。

A01 (公募・村越)

**Rac1 活性化可視化プローブの開発**：Rac1 の FRET プローブを開発。Rac1 が後シナプスの入力に対する閾値を下げることを明らかにした。(Hedrick et al. Nature 2016)

**新規赤色蛍光短波室の開発**：新規赤色タンパク質を利用し、アストロサイトの細胞内低分子量 G タンパク質 Cdc42, RhoA の活性化の時空間パターンを明らかにした。(Nakahata et al. Scientific reports 2016)

**光応答性分子の開発**：光応答性 CaMKII 阻害ペプチドの開発に成功した。(Murakoshi et al. Neuron 2017) 光応答性 CaMKII を開発し、単一シナプスで長期増強を光惹起することに成功。(Murakoshi et al. Neuron 2017)

A01 (公募・林)

**CALI を用いた NMDA 受容体依存性の記憶消去システム**：光増感分子 SuperNova とコフィリンの融合蛋白質を海馬神経細胞に遺伝子導入。LTP 後に拡大したスパインがコフィリン不活性化により持続的に縮小することを発見。学習前の光照射では学習には影響はなかったが、学習後の光照射では記憶消去が確認された。

研究項目 A02 光のコントロール

A02 (計画・根本)

**マルチビーム型共焦点多光子顕微鏡の開発**：ベクトルビームを活用したマルチビーム型共焦点多光子顕微鏡を実用的に開発。偏光分布の操作によりトップハット型のレーザー強度分布の成形が実現し画質の改善が図られた。920 nm パルスレーザーを搭載したシステムを H2BEGFP マウスの皮膚 *in vivo* 観察 (計画・横田との共同) に適用し、従来システムよりも深部到達性や SHG や蛍光のシグナルの向上を確認。

**開口放出などへの応用**：上記顕微鏡を用いて、アゴニスト刺激時の膵臓外分泌腺房の 3 次元 *in vivo* Ca<sup>2+</sup> イメージングに成功。Dr. Kang-NY, Singapore 開発のプローブを使い、高グルコース刺激時の膵島 β 細胞のインシュリン開口放出を惹起する Ca<sup>2+</sup> 振動の高速観察に成功。さらに、ストアからの IP3 依存性 Ca<sup>2+</sup> リリースとの同時観察 (公募・谷村) や細胞膜電位の SHG による同時可視化 (公募・塗谷) などの領域内連携に発展。マウス *in vivo* イメージングについて、骨細胞 (公募・谷村)、脳深部 (公募・林) などを開始。

**光軸方向偏光ビームによる光ニードル顕微鏡の検討と分子配向イメージング応用**：光軸方向にニードル状の長い強度分布を有する軸方向電場成分を用いた新しい顕微鏡法の開発を進め、分子配向イメージングの基盤技術を確立。光軸偏光の光ニードルを用いた光ライトシート顕微鏡の開発を開始 (計画・今村班)。

A02 (計画・横田)

**画像処理アルゴリズム**：大容量の画像データに対する客観的な自動定量解析を目指し、特徴空間生成、機械学習に基づく領域抽出、超解像画像フィルタ等の新しい計算法・プログラムを開発し、生物画像データへ適用。細胞集団運動に JRAB 1 分子の構造変化が関係していることを明らかにした (Sakane et al. Mol Biol Cell 2016)。また、国際共同研究により細胞追跡を行うプログラムを開発 (Chang et al. JMBE 2017)。

**情報処理基盤システム・データベースの開発**：画像処理プラットフォーム VCAT5 の処理履歴記述の設計と実装、そのネットワーク利用 (クラウドシステム) として RBICP (Resonance Bio Image Communication Platform) を開発。領域内での実用化に向けて、班会議等での講習会 (京大：松田班、班会議：北大 2017 年) を実施。

**画像情報処理ソフトウェア作成コンテスト** (宮脇・根本班共同)：精密工学会第 16 回外観検査アルゴリズムコンテストを共催。画像・課題 (宮脇班) を提供し、実行委員として正解データの作成・賞の審査を実施。応募者数は過去最高の 156 名。上位 3 件は生物画像とは無縁の画像処理技術者・研究者 (産業界) であった。主催者や画像情報処理研究者から高い評価を得て、2017 年度は根本班の画像がコンテスト対象に採択。

●特許出願：「METHOD AND APPLICATIONS FOR DETECTING CELL REPROGRAMING」発明者：Chang・Yokota・Abe・Tsai、権利者：中原大学、理化学研究所、特願 2017-026477、017 年 3 月 17 日出願、国外

A02 (公募・豊島)

**密集した多数の神経細胞の活動を同時に測定する自動画像解析技術の開発**：3 次元空間に密集する細胞核を高精度に検出する新画像解析手法を開発。線虫全神経細胞の活動の立体動画の自動的解析を可能に。GUI 付きソフトウェアと画像データを無償公開。(Toyoshima et al. PLOS Computational Biology 2016)

**Neuroglobin による感覚情報の処理制御**：カルシウムイメージングにより酸素刺激に対する感覚神経の応答を解析。応答から線虫の行動パターンの変化までを包括的に扱う数理モデルを作成し、Neuroglobin の一種 glb-5 が感覚情報処理を介して酸素走性行動を制御するしくみを解明。(Oda et al., PNAS, 2017)

A02 (公募・船津) 神谷班との共同研究

**ストレス顆粒のナノ構造解明**：神谷班開発の蛍光色素を用いて超解像観察を行い、ストレス顆粒は mRNA が高密度に集積するコア領域 (直径 70 nm) と、mRNA が拡散運動するシェル領域から成ることを発見。

●特許出願：特願 2017-018648 「ピラーアレイミキサー及びこれを使用した試料処理装置」出願人：国立大学法人東京大学、学校法人早稲田大学 発明者：角田誠、磯川宗生、金森貴宏、船津高志、中西完貴、関口哲志、庄子習一（平成 29 年 2 月 3 日）

**A02（公募・日置）**

**高発現型アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターの開発**：AAV に Tet-Off システムを利用し、非常に明るいレポーター遺伝子発現増幅システム（AAV SynTetOff）を開発。（Sohn et al. PLoS ONE, 2017）

**AAV ベクターを神経回路構造解析に応用**：「AAV SynTetOff」をマウス大脳新皮質の回路構造解析に応用。GABA 神経の部位によって入力神経細胞種が異なることを発見。（Sohn et al. Front Neuroanat, 2016）

**A01（公募・栗田）**

**局所領域の識別手法の開発**：texton に基づいて局所領域を記述する手法を開発し、それらをランダムフォレストに基づいて識別する手法を開発し、iPS 細胞のクオリティチェックに適用した。

**局所領域の識別結果を利用した領域分割手法の開発**：画像認識タスクを学習済みの CNN の中間層出力値を画素毎に統合した hypercolumn 特徴ベクトルを抽出し、領域分割する手法を開発。領域間の隣接関係を領域隣接グラフ(RAG)で表現し、領域間隣接関係の制約条件を満たしつつ領域を統合する手法を利用。

**A02（公募・塗谷）**

**マルチモダル 2 光子顕微鏡観測系**：新規 SHG 専用色素 Ap3 を用い、2 光子励起蛍光観測との同時・独立観測を可能とするマルチモダル 2 光子顕微鏡観測系を確立。ノルアドレナリンがアストロサイトの刺激応答性を調節することを発見。（Nuriya et al., BBRC, 2017）

**A02（公募・堀田）**

**細胞内画像中の粒子検出法の考案**：細胞内画像中の高精度な粒子検出のための方法を提案した。粒子密集領域では、粒子同士が重なるため、粒子のエッジが不明確になり検出の精度が低下する。密集領域の検出精度向上のために、粒子の中心までの距離を予測する Convolutional Neural Network(CNN)を提案。従来法と比較して精度が向上することを実験により示した。（K.Nishida and K.Hotta ISVC2016）

**細胞核と細胞膜の segmentation 法の考案**：松田班との共同研究としての細胞画像から細胞核と細胞膜を Deep Convolutional Generative Adversarial Network(DCGAN)を用いて自動 segmentation する方法を提案。局所領域を利用することにより、少ない教師付き画像から多数の教師付き画像を作成し精度を向上。

**A02（公募・陳）**

**胚と核の自動セグメンテーション法と位置合わせ（正規化）法の開発（前処理法）**：線虫の 4 次元微分干涉顕微鏡画像に対して Shape Index を用いた胚と核の自動セグメンテーション法を確立。3 次元微分干涉顕微鏡画像の両端のスライス画像の不鮮明に対応するため、中間スライス画像をセグメンテーションし、楕円球 Fitting により位置合わせを行なう手法を確立。（IPSJ Trans.(2016)、InMed2017）

**多重線形スパースコーディング法の開発**：多重線形代数の枠組で MOPM と K-CPD を開発し、4 次元生物データを一つのテンソルとして取り扱える多重線形スパースモデリング法を理論的に開発。（IFMIA2017）

**Hand-Craft 特徴を用いた線虫の 4 次元微分干涉顕微鏡画像解析**：核の形状や体積などの Hand-Craft 特徴を抽出し PCA で有効な成分を選択。正常な線虫でモデルを構築し RNAi による差異を検出した。Par-2, par-3, let-754 はスケールの違いに、一方 dcn-1, par-2, par-3 は核の形態に関連することを導き出した。（IJCB(2017)）

**A02（公募・松田（厚））**

**色収差補正技術**：領域毎に色収差を補正する計算方法を開発。3 次元補正能を 15 から 10 nm にまで向上。

**点像分布関数の波長に応じた補正**：波面センサーと可変形鏡からなる色収差補正用の補償光学系を開発。

**細胞内構造の可視化**：色収差補正技術を用いて、酵母クロマチン構造、ウイルス粒子構造、減数分裂期染色体におけるコヒーシンの位置などを明らかにした。（Matsuda et al., 2017, Hirai et al., 2016, Rong et al., 2016）

**超解像顕微鏡における色収差補正の実際をまとめた**。（Kraus et al., 2017, Demmerle et al., 2017）

## 5. 研究成果の公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5ページ以内）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果の公表の状況（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

- 論文の場合、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に\*印を付してください。
- 別添の「(2) 発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に◎を付してください。
- 補助条件に定められたとおり、本研究課題に係り交付を受けて行った研究の成果であることを表示したもの（論文等の場合は謝辞に課題番号を含め記載したもの）について記載したもののについては、冒頭に▲を付してください（前項と重複する場合は、「◎▲・・・」と記載してください。）。
- 一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

### <発表論文>

#### 研究項目 A01 分子のデザイン

A01（計画・宮脇）計4件（査読有3件、査読無1件）

- ▲Watanabe T., Seki T., Fukano T., Sakaue-Sawano A., Karasawa S., Kubota M., Kurokawa H., Inoue K., Akatsuka J., \*Miyawaki A. (2017) Genetic visualization of protein interactions harnessing liquid phase transitions. **Sci. Rep.**, 査読有, 7: 46380.

A01（計画・松田）計8件（査読有8件、査読無0件）

- ▲Yamauchi F., Kamioka Y., Yano T. \*Matsuda M. (2016) In vivo FRET imaging of tumor endothelial cells highlights a role of low PKA activity in vascular hyperpermeability. **Cancer Res.**, 査読有, 76, 5266-5276.

A01（計画・曾我）計4件（査読有3件、査読無1件）

- ▲Kamimura M., Matsumoto T., Suyari S., Umezawa M., \*Soga K. (2017) Ratiometric Near-Infrared Fluorescence Nanothermometry in the OTN-NIR (NIR II/III) Biological Window Based on Rare-Earth Doped  $\beta$ -NaYF<sub>4</sub> Nanoparticles, **J. Mater. Chem. B**, 査読有, 5, 1917-1925.

A01（計画・神谷）計5件（査読有5件、査読無0件）

- ▲“Rational design of reversible fluorescent probes for live-cell imaging and quantification of fast glutathione dynamics”, Umezawa K., Yoshida M., \*Kamiya M., Yamasoba T., \*Urano Y. **Nature Chemistry**, 査読有, 9(3):279-286 (2017).

A01（公募・堀）計1件（査読有1件、査読無0件）

- ▲Hori Y., Hirayama, S., \*Kikuchi, K. (2017) Development of Cyanine Probes with Dinitrobenzene Quencher for Rapid Fluorogenic Protein Labeling. **Philosophical Transactions of the Royal Society A**, 査読有, in press.

A01（公募・麓）計1件（査読有1件、査読無0件）

- ▲Nishimura K, \*Fumoto S., Fuchigami Y, Hagimori M, Maruyama K, Kawakami S. (2017) Effective Intraperitoneal Gene Transfection System Using Nanobubbles and Ultrasound Irradiation, **Drug Delivery**, 査読有, 24, 737-744.

A01（公募・谷村）計4件（査読有4件、査読無0件）

- ◎\*Han J.M., Tanimura A., Kirk V., Sneyd J. (2017) A mathematical model of calcium dynamics in HSY cells. **PLoS Comput. Biol.**, 査読有, 13, e1005275.
- ◎\*Sneyd J, Han JM, Wang L, Chen J, Yang X, Tanimura A., Sanderson MJ, Kirk V, Yule DI (2017) On the dynamical structure of calcium oscillations. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, 査読有, 114, 1456-1461.

A01（公募・村越）計3件（査読有3件、査読無0件）

- ▲Murakoshi H., Shin M., Parra-Bueno P., Szatmari E.M., Shibata A.C., \*Yasuda R. (2017) Kinetics of endogenous CaMKII required for synaptic plasticity revealed by optogenetic kinase inhibitor. **Neuron**, 査読有, 94, 37-47
- ▲Nakahata Y., Nabekura J., \*Murakoshi H. (2016) Dual observation of the ATP-evoked small GTPase activation

and Ca<sup>2+</sup> transient in astrocytes using a dark red fluorescent protein. **Sci. Rep.**, 査読有, 6, 39564.

研究項目 A02 光のコントロール

A02 (計画・根本) 計 11 件 (査読有 7 件、査読無 4 件)

1. ◎▲Ipponjima S., Hibi T., \*Nemoto T. (2016) Three-dimensional analysis of cell division orientation in epidermal basal layer using intravital two-photon microscopy, **PLoS One**, 査読有, 11 (9), e0163199.
2. ◎▲Tanabe A., Hibi T., Ipponjima S., Matsumoto K., Yokoyama M., Kurihara M., Hashimoto N., \*Nemoto T., (2016) Transmissive liquid-crystal device correcting primary coma aberration and astigmatism in laser scanning microscopy. **Proc. SPIE** 9717, Adaptive Optics and Wavefront Control for Biological Systems II, 査読有, 97171N.

A02 (計画・横田) 計 7 件 (査読有 6 件、査読無 1 件)

1. ▲Sakane A., Yoshizawa S., Nishimura M., Tsuchiya Y., Matsushita N., Miyake K., Horikawa K., Imoto I., Mizuguchi C., Saito H., Ueno T., Matsushita S., Haga H., Deguchi S., Mizuguchi K., Yokota H., \* Sasaki T., Conformational plasticity of JRAB/MICAL-L2 provides “law and order” in collective cell migration. **Mol. Biol. Cell.**, 査読有 27(20): 3095-3108, (2016)

A02 (公募・豊島) 計 4 件 (査読有 2 件、査読無 2 件)

1. ◎▲Oda S., Toyoshima Y., \*de Bono M. (2017) Modulation of sensory information processing by a neuroglobin in *Caenorhabditis elegans*. **Proc Natl Acad Sci U.S.A.**, 査読有, in press.
2. ◎▲Toyoshima Y., Tokunaga T., Hirose O., Kanamori M., Teramoto T., Jang, M-S., Kuge S., Ishihara T., Yoshida R., \*Iino Y. (2016) Accurate Automatic Detection of Densely Distributed Cell Nuclei in 3D Space. **PLoS Comput. Biol.**, 査読有, 12 (6): e1004970.

A02 (公募・日置) 計 6 件 (査読有 5 件、査読無 0 件)

1. ▲Sohn J., Takahashi M., Okamoto S., Ishida Y, Furuta T., \*Hioki H., (2017) A Single Vector Platform for High-Level Gene Transduction of Central Neurons: Adeno-Associated Virus Vector Equipped with the Tet-Off System. **PLoS ONE**, 査読有, 12, e0169611.
2. ▲Kuramoto E., Pan S.X., Furuta T., Tanaka Y.R., Iwai H., Yamanaka A., Ohno S., Kaneko T., Goto T., \*Hioki H., (2017) Individual Mediodorsal Thalamic Neurons Project to Multiple Areas of the Rat Prefrontal Cortex: A Single Neuron-Tracing Study Using Virus Vectors. **J. Comp. Neurol.**, 査読有, 525, 166-185
3. ▲Sohn J., Okamoto S., Kataoka N., Kaneko T., Nakamura K., \*Hioki H., (2016) Differential Inputs to the Perisomatic and Distal-Dendritic Compartments of VIP-Positive Neurons in Layer 2/3 of the Mouse Barrel Cortex. **Front. Neuroanat.**, 査読有, 10: 124.

A02 (公募・栗田) 計 1 件 (査読有 1 件、査読無 0 件)

1. ▲Fukushima Y., \*Kurita T. (2017) Hierarchical region merging with region adjacency graph constraints using hypercolumns extracted from the trained CNN. **Proc. of the International Workshop on Frontiers of Computer Vision (FCV2017)**, 査読有.

A02 (公募・塗谷) 計 1 件 (査読有 1 件、査読無 0 件)

1. ◎▲\*Nuriya M., Takeuchi M., Yasui M. (2017) Background norepinephrine primes astrocytic calcium responses to subsequent norepinephrine stimuli in the cerebral cortex. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 査読有, 483 (1): 732-738.

A02 (公募・堀田) 計 1 件 (査読有 1 件、査読無 0 件)

1. ▲\*Nishida K., Hotta K., Particle Detection in Crowd Regions Using Cumulative Score of CNN. **ISVC2016, Lecture Notes in Computer Science**, 査読有, 10072: 566-575, Las Vegas, USA, Dec.12-14 (2016).

A02 (公募・陳) 計 7 件 (査読有 7 件、査読無 0 件)

1. ◎▲Yang SH., Han SH., \*Chen YW., (2017) Automatic Segmentation of Cellular/ Nuclear Boundaries Based on

the Shape Index of Image Intensity Surfaces. **Innovation in Medicine and Healthcare 2017**, Eds. Yen-Wei Chen et al., Springer, 査読有, in press.

2. ◎▲ Yang S., Han X.H., Tohsato Y., Kyoda K., Onami S., Nishikawa I., \*Chen Y.W., (2017) Phenotype Analysis Method for Identification of Gene Functions Involved in Asymmetric Division of *Caenorhabditis elegans*.

**International Journal of Computational Biology**, 査読有, 24: 436-446.

A02 (公募・松田) 計 5 件 (査読有 5 件、査読無 0 件)

1. ▲ Kraus F., Miron E., Demmerle J., Chitiashvili T., Busco A., Alle Q., Matsuda A., Leonhardt H., \*Schermelleh L., \*Markaki Y. (2017) Quantitative 3D structured illumination microscopy of nuclear structures. **Nature Protocols**, 査読有, 12: 1011-1028.
2. ▲ Demmerle J., Innocent C., North A.J., Ball G., Müller M., Miron E., Matsuda A., Dobbie I.M., Markaki Y., \*Schermelleh L. (2017) Strategic and practical guidelines for successful structured illumination microscopy. **Nature Protocols**, 査読有, 12: 988-1010.
3. ▲ Matsuda A., Asakawa H., Haraguchi T., \*Hiraoka Y. (2017) Spatial organization of the *Schizosaccharomyces pombe* genome within the nucleus. **Yeast**, 査読有, 34: 55-66.

#### <書籍>

1. Kawakami R., Nemoto T. In vivo imaging of all cortical layers and hippocampal, CA1 pyramidal cells by two-photon excitation microscopy, *Advanced Optical Methods for Brain Imaging*, Nature Springer (in press)
2. 堀雄一郎, 菊地和也 (2017) GLUT4 の細胞内動態を可視化する, *化学と生物*, in press.
3. 堀雄一郎, 菊地和也 (2017) ケミカルバイオロジーと分子イメージング、*感染 免疫 炎症*, in press.
4. Chen Y.W., Tanaka S., Howlett I.R., Jain C.L. (Eds) (2017) *Innovation in Medicine and Healthcare 2017*, Springer.
5. Otomo K., Hibi T., Kozawa Y., Ipponjima S., Sato S., Nemoto T., (2016) Super-resolution two-photon excitation microscopy utilizing transmissive liquid crystal devices, *Super-resolution imaging in medicine and biology*, Taylor & Francis Books, inc., Chapter 10: 189-214.
6. Chen Y.W., Tanaka S., Howlett I.R., Jain C.L. (Eds) (2016) *Innovation in Medicine and Healthcare 2016*, Springer.
7. 横田 秀夫 (2016) 超解像イメージングデータのクラウド型画像処理—多次元大容量のデータ処理システム, *実験医学別冊「初めてでもできる!超解像イメージング」*, 羊土社,
8. 平野泰弘, 松田厚志, 平岡泰 (2016) 3D-SIM による細胞内構造の超解像イメージング---アーティファクトの少ない SIM 画像の取得, *実験医学別冊「初めてでもできる!超解像イメージング」*, 羊土社, 146-155.
9. 松田厚志, 平野泰弘, 平岡泰 (2016) 構造化照明顕微鏡法 SIM - 縞照明のつくるモアレが可能にする超解像観察, *実験医学別冊「初めてでもできる!超解像イメージング」*, 羊土社, 219-226 (2016)

#### <新聞等>

1. (村越班) 日経オンライン “理学研究所、神経細胞シナプスの機能を光でコントロールすることに成功” [http://www.nikkei.com/article/DGXLRS439801\\_X10C17A3000000/](http://www.nikkei.com/article/DGXLRS439801_X10C17A3000000/) 2017/3/17
2. (村越班) **Science Daily** “Scientists develop light-controllable tool to study CaMKII kinetics in learning and memory” <https://www.sciencedaily.com/releases/2017/03/170316120509.htm>, 2017.3.16.
3. (横田班) **薬事日報** “細胞集団運動の制御機構解明”, 2016/12/5.
4. (横田班) **科学新聞** “1 分子の構造変化による細胞集団運動制御機構”, 2016/11/18
5. (根本班) **Asian Scientist** “The Science Of Thick Skin”, 2016/11/3  
<http://www.asianscientist.com/2016/11/in-the-lab/3d-imaging-skin-thickness-body/>
9. (根本班) **Phys.org** “Why is skin thick on the soles of the feet?”, 2016/10/18  
<http://phys.org/news/2016-10-skin-thick-soles-feet.html>
10. (根本班) **e! Science News** “Why is skin thick on the soles of the feet?” 2016/10/18  
<http://esciencenews.com/sources/physorg/2016/10/18/why.skin.thick.soles.feet>
11. (根本班) **北海道医療新聞** “インスリン分泌の阻害機序解明-糖尿病治療、新薬開発に期待” 2016/10/21

12.(根本班) **AlphaGalileo** “Why is skin thick on the soles of the feet?” 2016/10/18

<http://www.alphagalileo.org/ViewItem.aspx?ItemId=169077&CultureCode=en>

14.(根本班) **日本経済新聞** “インスリン増やす物質特定 阪大チーム、マウス実験で” 2016/10/05

15.(根本班) **北海道新聞** “インスリン増加 物質特定 –阪大、北大 糖尿病治療に期待” 2016/10/4

16.(根本班) **東京新聞** “インスリン増やす物質特定 糖尿病治療に期待、大阪大” 2016/10/03

17.(根本班) **朝日新聞** “「仕事遅い分子」がインスリン分泌抑制 阪大など発見” 2016/10/03

18.(根本班) **長崎新聞** “インスリン増やす物質特定” 2016/10/03

19.(堀田班) **中部経済新聞** “研究現場発 急速に進展する画像認識技術” 2016/9/6

20.(船津班) **日経産業新聞** “微生物の酵素 培養せず発見 東大、水滴作る技術で 分解時光る物質活用”  
2016/8/26

21.(根本班) **日経テクノロジーオンライン** “非侵襲で海馬を観察、生体深部の高解像イメージング技術”  
2015/11/27

#### <ホームページ>

1.(横田班) “レゾナンスバイオの画像処理”: <http://www.riken.jp/briect/RBio/RBio.html>

2.(横田班) “外観検査アルゴリズムコンテスト 2016”: <http://www.riken.jp/briect/RBio/ViEWAlconResult16.html>

3.(横田班) “第 1 回班会議(含む国際講演)内容・様子”: <http://www.riken.jp/briect/RBio/RBioMeeting15.html>

#### <主催シンポジウム等の状況>

1.(統括班) ニコン顕微鏡講習会, 2017年5月15日, 参加者12名

2.(横田班) 画像処理講習会, 2017年5月13日, 参加者19名

1.(堀田班) 名城大学画像認識セミナー, 2017年3月18-19日, 画像認識, 参加者20人

2.(国際支援班) 理研 BSI Forum 「Dr. Jan Ellenberg 講演会」, 2017年2月22日, 参加者約80名

3.(国際支援班)国際連携企画技術講習会, 2017年2月21日, 参加者 講義20名, 実技8名

4.(国際支援班) The 1st ABiS Symposium towards the Future of Advanced Bioimaging for Life Sciences  
2017年2月19日, 参加者150名

5.(国際支援班) Resonance Bio Workshop 2017, 2017年2月18日 参加者30名

6.(統括班) 精密工学会外観検査アルゴリズムコンテスト 2016, 2016年12月8-9日 ViEW2016にて結果発表, 参加者156名.

7.(統括班)第54回生物物理学会シンポジウム「生体分子—電磁波間の共鳴を活用する最先端バイオイメージング」, 2016年11月25-27日, 参加者 約100名.

8.(統括班)第35回日本医用画像工学会大会, シンポジウム2 バイオイメージングの革新的技術開発「共鳴誘導で革新するバイオイメージング」, 2016年7月21-23日 参加者約50名.

9.(統括班) Bioimage Informatics Workshop 2016, オーガナイズドセッション 新学術領域研究「共鳴誘導で革新するバイオイメージング」, 2016年6月22-23日.

10.レゾナンスバイオ公開シンポジウム「Swinging on the Chromophore」, 2016年3月16日, 参加者97名.

#### <アウトリーチ活動>

1.(宮脇班) 代官山蔦屋書店で 脳科学をつながる「レンズを通した世界と私—写真家 石内都 × BSI 宮脇敦史」 2017年4月14日, 参加者40名

2.(曾我班) 上村真生「目に見えない光で体の中を観察する！-最新のイメージング技術-」サイエンスバー INCUBATOR 研究者 LIVE!, 2017年1月21日, 参加者18名

3.(宮脇班) 下藪哲「追跡！ビタミンA」サイエンスバーINCUBATOR 研究者 LIVE!, 2016年12月24日, 参加者18名

4.(口丸班) 口丸高弘「発光生物が照らすがんの姿」サイエンスバーINCUBATOR 研究者 LIVE!, 2016年12

月3日, 参加者18名

5. (根本班) 根本知己、出張授業「脳の不思議・心の謎」北海道立札幌南高校 2016年10月27日, 参加者90名
6. (宮脇班) 宮脇敦史「秋(とき)を掴む」写真展&トーク, 十文字高校の研究所訪問, 2016年10月18日, 参加者22名.
7. (松田班) 寺井健太 京大アカデミックデイ 2016 展示 ”ネズミと会話ってできるの?” 2016年9月18日, 参加者約500名
8. (船津班) 船津高志「蛍光がもたらした医学・生命科学の進歩」NPO 法人東久留米市文化協会主管、市民大学中期コース<公開講座>、2016年9月14日、参加者97名.
9. (根本班) 根本知己、出張授業「脳の不思議・心の謎」北海道立札幌北高校 2015年9月25日, 参加者30名
10. (公募・松田班) 松田厚志 情報通信研究機構未来 ICT 研究所の一般公開「新世代の高分解能顕微鏡—生命の謎を解き明かす先端技術」2016年7月23日, 参加者約70名

#### <受賞状況>

1. 第58回科学技術映像祭 特別奨励賞受賞: 中村 佐紀子, 田中 礼一, 森田 正彦, 横田 秀夫 “スケスケ大図鑑 メタモルフォーゼ カブトムシ”, 2017年4月21日.
2. Best Poster 賞受賞: 吉澤 信, 中村 佐紀子, 横田 秀夫, “3次元牛肉画像のノイズ除去”, 理研シンポジウム: 第4回光量子工学研究, 2016年11月1日.
3. 島津賞: 宮脇敦史, 2016年2月16日
3. 北海道大学研究総長賞奨励賞: 根本知己, 2016年2月3日
4. The Thirty-Seventh Annual W. Alden Spencer Award and Lecture: Atsushi Miyawaki, 2015年10月29日

#### <招待講演>

1. Yen-Wei Chen “Computational Anatomy: Towards Automatic Understating of Human Anatomy” **DevIC-2017**, March 23-24, 2017, Kolkata, India.
2. Akihiko Tanimura “Roles of muscarinic receptors on the functions of salivary glands” **The 4th International Symposium on Salivary Glands in Honor of Niels Stensen**, December 2, 2016, Okazaki, Japan
3. Kohei SOGA, Masao KAMIMURA, "Luminescent Probe Design for Biophotonics in the OTN-NIR (NIR II/III) Biological Window," **Phosphor Safari 2016**, 2016.11.28-12.1. Hong Kong.
4. Masao KAMIMURA, Kohei SOGA, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Nanoprobes for in vivo Bioimaging," **IWAMSN 2016**, 2016.11.8-11.12, Ha Long City, Vietnam.
5. Atsushi Matsuda, Tokuko Haraguchi, Yasushi Hiraoka “Super-resolution imaging and precise distance measurements in live fission yeast cells” **ICY14**, Sep. 14, 2016, Awaji, Japan
6. 宮脇敦史 “巡航分子スパイ” 第3回京都大学一稲盛財団合同京都賞シンポジウム, 京都, 2016.7.9.
7. Atsushi Miyawaki “Fluorescent Protein” **ISBC2016**, 2016.6.2, Tukuba, Japan.
8. Atsushi Matsuda, Yasuhiro Hirano, Tokuko Haraguchi, Yasushi Hiraoka “Super-Resolution and Chromatic Correction Above the Cover Slip” **BISC '16**, May 19, 2016, Yokohama, Japan.
9. Kohei SOGA, Masao KAMIMURA, "Materials and system developments for OTN-NIR fluorescence bioimaging," **Pacificchem 2015**, 2015.12.15-20. Honolulu, USA.
10. Atsushi Miyawaki “Genetically encoded tools for brain analysis”, **EMBL symposium on Seeing is Believing - Imaging the Processes of Life**, 2015.10.8, Heidelberg, Germany.

## 6. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2 ページ以内）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、研究組織間の連携状況について組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

現行の領域内連携をいくつかの観点でまとめた。公募班（太字）に関する連携の多くは、平成28年7月開催の班会議以降にボトムアップ的に発生したものである。

### （1）画像の取得と処理（データの流れを>で示す）

宮脇（A01）> 堀田（A02）

ディープラーニングを用いた細胞内蛍光輝点（Fluoppi シグナル）検出プログラムの開発。

宮脇（A01）> 陳（A02）

GEPRマウスの心臓の3次元再構築（領域抽出）に関する共同研究。

松田（A01）> 横田（A02）

三次元のタイムラプス画像から同一平面の画像を選択するプログラムの開発。

松田（A01）> 堀田（A02）

細胞膜と核を標識した肝臓と皮膚組織の三次元画像で細胞を同定するプログラムの開発。

根本（A02）> 横田（A02）

H2BEGFPヘアレスマウスの皮膚基底細胞分裂の *in vivo* イメージングの画像解析法開発。

日置（A02）> 堀田（A02）

ディープラーニングを用いた神経構造自動認識プログラムの開発。

### （2）ハードウェア（光学系）の提供、指導

根本（A02）> 今村（A02）

光軸偏光の光ニードルを用いた光ライトシート顕微鏡の開発。

根本（A02）> 谷村（A01）

ラット頭頂骨の透明化と骨形成の *in vivo* イメージング解析、

外分泌腺と脳における Ca<sup>2+</sup> と IP<sub>3</sub> の *in vivo* イメージングに関する技術・情報交換。

根本（A02）> 林（A01）

マウス生体脳深部の *in vivo* イメージングや *in vivo* 2光子光破断の高度化。

### （3）遺伝子コード型プローブおよび遺伝子発現技術の提供、応用、指導（一方向的な性質を帯びる）

日置（A02）> 宮脇（A01）

AAVで新規蛍光・発光プローブ発現系を構築。

日置（A02）> 松田（A01）、青木（A01）、村越（A01）、谷村（A01）、麓（A01）

高発現 AAV の精製に関する技術指導、情報交換。

宮脇（A01）> 口丸（A01）

蛍光・発光プローブのがん研究への応用研究。

青木（A01）> 口丸（A01）

レンチウイルスを使って発光レポーター高発現がん細胞株の樹立。

村越（A01）> 林（A01）

Rac1 FRET センサーの神経細胞でのイメージング。

船津（A02）> 川井（A01）

組織切片の調製および観察法の指導。

宮脇（A01）> 林（A01）

N-WASP FRET センサーの神経細胞でのイメージング。

### （4）合成化合物およびペプチド性のプローブに関する共同研究（双方向的な連携）

野村（A01）<> 谷村（A01）

ZIP タグを利用した IP<sub>3</sub> センサーの開発。

平山（A01）<> 麓（A01）

鉄(II)イオン蛍光プローブを利用した Fe<sup>2+</sup> イメージング

平山（A01）<> 浅沼（A01）

光増感分子を超解像タグ・プローブペアへ応用して新規 CALI の開発。

平山 (A01) <> 口丸 (A01)

腫瘍マウスモデルを使った有機合成プローブの性能評価。

曾我 (A01) <> 野村 (A01)

ナノ粒子取り込み型タグプローブ（ヘリックスバンドル内部の疎水コアを利用）の開発。

浅沼 (A01) <> 青木 (A01)

De-QODE タグ・QODE プローブを利用した相関分光法 (FCS) や蛍光相互相関分光法 (FCCS)。

(5) 要素技術の共同開発 (双方向的な連携)

塗谷 (A02) <> 市村 (A02)

偏光 SHG 顕微鏡を用いた脳組織内神経細胞の軸索走行性の非ラベルイメージングの開発。

塗谷 (A02) <> 根本 (A02)

SHG による細胞膜電位の高速観察技術の開発。

豊島 (A02) <> 玉田 (A02)

オプティカルフロー法に基づいた、4D 動画中の神経細胞核の自動追跡技術の開発。

日置 (A02) <> 堀田 (A02)

電子顕微鏡画像のセグメンテーションに関する共同研究。

神谷 (A01) <> 船津 (A02)

自発的に明滅する蛍光色素を用いた生細胞超解像蛍光イメージング技術の開発。

松田 (A01) <> 青木 (A01)

PhyB-PIF 系の開発研究。

松田 (A01) <> 宮脇 (A01)

FRET バイオセンサーの動物個体作製に関する技術開発。

宮脇 (A01) <> 横田 (A02)

Retinoic Acid 濃度の個体内マッピング。横田グループの 3 次元顕微鏡システムを改良しながら使用。

宮脇 (A01) <> 神谷 (A01)

遺伝子コード型プローブと化合物プローブによる細胞内酸化ストレスの comparative imaging。

宮脇 (A01) <> 今村 (A02)

Fucci を使った intravital imaging。

根本 (A02) <> 曾我 (A01) <> 今村 (A02)

SBW (Second Biological Window) 蛍光の in vivo 観察が可能な OTN (Over-1,000-nm) 近赤外 in vivo 蛍光イメージングシステムの開発。

平成 29 年 5 月の班会議@札幌で行われた班員発表をもとに、トップダウン的な連携を提案しつつある。とくに (1) 画像の取得と処理については、さらなるニーズとシーズのマッチングを検討している。計画班横田が進めている「情報処理基盤システム・データベースの開発」と歩調を合わせ、画像データの提供量が飛躍的に増えるような環境を領域内に整備しつつある。プローブ開発に関しては、遺伝子コード型と化学合成 (ペプチド) 型の両方を採用するアプローチ (公募の谷村、野村など) の進展が注目される。プローブ利用に関しても、遺伝子コード型と化学合成 (ペプチド) 型の両方を試すような実験が増えている。化学合成 (ペプチド) 型プローブの細胞 (個体) 内導入については、DDS (公募の麓) の技術が有益である可能性が高い。

## 7. 若手研究者の育成に係る取組状況（1ページ以内）

領域内の若手研究者の育成に係る取組状況について記述してください。

### <統括班・国際基金班による取り組み>

平成 28 年度に、東京理科大学で統括班の若手研究者が中心になり、若手の会を開催し、領域内の研究交流を図った。同年度 2 月には自然科学機構基礎生物学研究所で若手ワークショップを開催した。若手の英語発表の練習の機会を与えるとともに、領域のシニアの研究者と討論する機会を持った。また、懇親会等でキャリアアップ等について討論した。平成 29 年度は 5 月に北大で若手のための顕微鏡講習会を行った。11 月には台湾 Academia Sinica で若手の研究者主催の Young Researchers Meeting を開催する予定である。

### <若手研究者の受賞状況>

1. (青木班) 2017 年度日本細胞生物学会論文賞: 真流玄武, 確定
2. (根本班) ベストポスター賞: 山口和志、川上良介、根本知己 ”in vivo 2 光子顕微鏡法を用いたマウス生体脳深部における単一神経線維破断”, 第二回北大部局横断シンポジウム、2017 年 3 月 14 日.
3. (根本班) 北海道大学生体情報工学学生研究賞: 高橋泰伽, 2017 年 2 月 13 日
4. (根本班) 吉本賞: 一本嶋佐理、北海道大学大学院情報科学研究科, 2017 年 2 月 13 日
5. (陳班) SPIE Medical Imaging 2017 Best Student Paper Award: Kitrungrotsakul T., Han XH., Iwamoto Y., Foruzan A.H., Lin L., Chen YW, 2017 年 2 月 11-16 日
6. (根本班) 三上賞: 山口和志、北海道大学大学院情報科学研究科, 2017 年 2 月 10 日
7. (浅沼班) 第 10 回バイオ関連化学シンポジウム講演賞: 浅沼大祐, 2016 年 9 月 7 日～9 日
8. (野村班) 日本薬学会関東支部奨励賞: 野村涉, 2016 年 9 月 17 日
9. (堀班) RSC Molecular Biosystems ポスター賞: 森和真, 2016 年 6 月 15-17 日
10. (神谷班) 文部科学大臣表彰若手科学者賞: 神谷真子 2016 年 4 月 20 日
11. (横田班) 理化学研究所産業連携奨励賞: 森田正彦, 2016 年 3 月 23 日
12. (根本班) 支部例会発表賞: 山口和志、北村瞭次、川上良介、根本知己 “生体脳の光学特性に整合した集光条件の改良による生体脳 2 光子イメージングの劇的な改善”, 2015 年度日本生物物理学会北海道支部例会, 2016 年 3 月 14 日
13. (根本班) Abcam 賞: 青柳佑佳、日比輝正、根本知己 ”生後マウス脳における新生ニューロンの移動様式の解明に向けた観察法の確立”, 第 11 回成体脳のニューロン新生懇談会, 2015 年 11 月 14 日
14. (根本班) 優秀ポスター賞: Aoyagi Y., Hibi T., Nemoto T. “3D-visualization of SVZ-derived immature neurons in postnatal mouse brain for the elucidation of migratory behavior”, The 16 th RIES-Hokudai international symposium 2015, 2015 年 11 月 11 日

### <ステップアップ等>

1. (根本班) 若手ネットワークに参加した一本嶋佐理氏が 2017 年 3 月に大学院を修了し、北海道大学博士研究員としてステップアップした。
2. (陳班) 韓先花博士が 2017 年 4 月に山口大学の准教授に採用された。
3. (陳班) 博士後期課程 Mr. Sihai YANG が 9 月に学位を取得する予定。
4. (麓班) 博士後期課程 2 年西村光洋の論文が Drug Delivery 誌 (2017 年) に掲載された。

## 8. 研究費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1 ページ以内）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

現在のバイオイメージングの最重要課題のひとつに「pixel から voxel への移行」がある。2次元 (xy) から3次元 (xyz) へ、あるいは3次元 (xy-t) から4次元 (xyz-t) への次元拡張が起りつつある。本領域は発足時（平成27年度）に、領域内の共通テーマを4つ設定したが、その中で「超解像イメージング」、「生体深部イメージング」、「ズーミングインアウト」の3つはそうした次元拡張をはらんでいる。3次元、4次元の可視化ソフトウェア（画像処理ソフトウェアとは異なる）は、膨大なサイズの画像データを取り扱う宿命にある。とくに生体サンプルの透明化技術に関連し、領域内外の多くの研究者から3次元データの可視化処理を依頼されることが頻繁であるが、計算に膨大な時間がかかりその間他のタスクが実行不可能である、処理の最中にコンピュータが凍ってしまうなどの問題が生まれてきている。複数の最先端ソフトウェア（欧米で開発）を試験的に使用し購入を計画している。こうした状況を体験しながら、横田グループと共同で、効率のよい zooming in and out の可視化、解析ソフトウェアの開発を計画している。

本領域ではいわゆる万能顕微鏡を創り上げる意向は無い。各研究グループがそれぞれ個性的な顕微鏡システムを創る（改良する）のを基本としている。根本グループのマルチビーム型共焦点多光子顕微鏡や光ニードル顕微鏡、曾我グループの OTN 近赤外蛍光 in vivo 3D イメージングシステム、今村グループの Two-Photon Digital Scanned Light-sheet Microscopy などがある。このような先端的機器は、さらなる改良の妨害にならない程度に、共有性を帯びる場合もある。一方、detachable で transferable な装置デバイスを開発して、広い普及を目指す場合もある。

領域内外の画像処理研究者との連携を図るために、毎年「画像処理コンテスト」を開催している。コンテスト開催にあたっては対象画像に対する正解情報が必要であるが、これを作成するには、手動で1画素ずつ注目領域の内外を判定するという膨大な労力が必要である。たとえば10セット以上のデータの処理には通年作業が必要となり、2名分の人件費を計上している。

## 9. 総括班評価者による評価（2ページ以内）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

高松哲郎（京都府立医科大学）

「レゾナンスバイオ」の班会議（平成29年5月）に参加させていただき、当領域のコンセプトを十分に理解した。異分野の研究者が、或る程度興味が重なるように共鳴シクリティカルマスを創ることの意義を実感した。計画班、公募班の発表を見聞するに、色素（プローブ）を生体に導入して機能を可視化する研究アプローチが多く見受けられたが、細胞がもつ **intrinsic signal** を引き出す研究アプローチ、いわゆるラベルフリーの可視化技術についても、技術革新の将来性があると考えている。未開拓の波長領域における光源、検出器、各種光学素子の開発（A02に相当）によって、新しい「分子と光の共鳴」に基づく可視化技術の開発が可能になると期待される。

上野直人（自然科学研究機構、基礎生物学研究所）

私も自然科学研究機構はドイツ **European Molecular Biology Laboratory (EMBL)** との間で国際連携協定に基づく国際連携を10年以上にわたって継続し、バイオイメージングに関する情報交換および支援活動の世界的ネットワークの拡張に努めています。私のパートナーである **Jan Ellenberg** 博士（EMBL）はすでに **EuroBioimaging** ネットワークを整備し、現在はさらに **GLOBAL BIOIMAGING (GBI)** を鋭意準備しています。日本では自然科学研究機構の基礎生物学研究所及び生理学研究所が中心となって「先端バイオイメージング支援プラットフォーム」が走り出しています。このたびレゾナンスバイオ（共鳴誘導で革新するバイオイメージング）の中間評価にあたり、当研究領域の総括班が行う「実技講習会」「若手研究者育成」「画像処理ソフト作成コンテスト」そして「情報処理基盤システム・データベースの開発」（横田グループ）などの進展に注目したいと思います。領域長の宮脇博士もまた **Jan Ellenberg** 博士と長らく懇意の関係にあり、バイオイメージング関連活動の国内展開と国際連携とのバランスについて十二分の意見交換を行っているものと思います。「レゾナンスバイオ」の共鳴が決して領域内で閉じることなく日本そして世界に伝播することを願っています。

小林久隆（National Cancer Institute, USA）

私の住むアメリカでは様々な国家的プロジェクトが有る。過去のアポロ計画のように、明確な目標を全員で共有し技術開発を進めるタイプもあれば、現行のブレインイニシアティブのように、技術のシーズ開発をニーズ設定に先行させるタイプもある。レゾナンスバイオは、その両方の特徴を柔軟に備えた独特な研究領域だと思う。シーズとニーズのマッチングを領域内で探索的に進めるために計画班の創意工夫と鋭意努力が感じられる。何かしら想定外の新領域を創り出す可能性を大いに秘めている。

## 10. 今後の研究領域の推進方策（2ページ以内）

今後どのように領域研究を推進していく予定であるか、研究領域の推進方策について記述してください。また、領域研究を推進する上での問題点がある場合は、その問題点と今後の対応策についても記述してください。また、目標達成に向け、不足していると考えているスキルを有する研究者の公募研究での重点的な補充や国内外の研究者との連携による組織の強化についても記述してください。

### <研究領域の推進方策>

- ・異分野の研究者の集まりの中から新しい学問分野を創出するために領域内連携を仕掛けていく。冒険的な研究を促したい。本領域は平成31年度を最終年度とするが、この研究期間内に新学問分野誕生が興ればよしとする姿勢を保ちたい。研究期間内にアウトプットを求める意識が強すぎると、こじんまりした研究成果が並ぶだけになりがちである。
- ・異分野の研究者の集まりの中で、各自の考え方の framework をどんどん拡張することを促したい。それによって当初の目標と異なる新たな目標が生まれたら後者も尊重したい。目標達成も重要であるが目標をいかに変えるかも同等に重要だと思う。

### <公募研究での補充>

- ・分子と光（電磁波）との相互作用を強調しているが、光と音、光と電子のコラボレーションなども本領域で試してみたい。非ライフサイエンス領域の研究者をもう少し多く公募班の中に参画させたい。
- ・領域内の画像データの多様性を鑑みるに、それらを効率よくカバーするためになるべく多人数の画像処理技術開発研究者が必要であると考えている（critical mass は8チームくらい）。幸いなことに、ソフトウェアは実質的に少ない研究予算で開発を行うことができるので、ソフトウェア開発研究者の予算上限を下げながら採択数を増やしたいと考えている。

### <国内外の研究者との連携>

日本においては他の新学術研究領域との交わりを進める。共催のパートナー学会として、非ライフサイエンス領域のものも考慮する。欧米のバイオイメーシングハブとは今までどおり情報交換を行う：領域長宮脇はドイツ EMBL で” Seeing is believing” ,アメリカ Janelia で” Fluorescent proteins and Biological Sensors”（いずれも隔年）を主催している。若手研究者には、欧米における日進月歩のバイオイメーシングをいち早く吸収してもらおうとともに、翻って日本における” elaborate technological development” に目を配る機会を授けたい。