

# 共鳴誘導で革新するバイオイメージング

領域略称名: レゾナンスバイオ

領域番号: 3704

平成 27 年度～令和元年度 科学研究費助成事業

「新学術領域研究(研究領域提案型)」

研究成果報告書

令和4年9月

領域代表者

国立研究開発法人理化学研究所 脳神経科学研究センター

チームリーダー 宮脇 敦史

## はしがき

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く。

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した。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」の名のもとに行った。

## 研究組織

### 計画研究

領域代表者 宮脇 敦史

(国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー)

(総括班)

研究代表者 宮脇 敦史

(国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー)

研究分担者 横田 秀夫

(国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究センター・チームリーダー)

研究分担者 松田 道行(京都大学・生命科学研究科・教授)

研究分担者 曾我 公平(東京理科大学・基礎工学部材料工学科・教授)

研究分担者 根本 知己

(大学共同利用機関法人自然科学研究機構・生命創成探究センター・教授)

研究分担者 今村 健志(愛媛大学・医学系研究科・教授)

研究分担者 神谷 真子(東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・准教授)

(国際活動支援班)

研究代表者 宮脇 敦史

(国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー)

研究分担者 今村 健志(愛媛大学・医学系研究科・教授)

研究分担者 松田 道行(京都大学・生命科学研究科・教授)

(A01 計画班: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)

研究代表者 宮脇 敦史

(国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー)

研究分担者 牧 昌次郎(電気通信大学・大学院情報理工学研究科・准教授)

研究分担者 小松 直貴

(国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・基礎科学特別研究員)

研究分担者 下藪 哲

(国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・研究員)

研究分担者 阪上 朝子

(国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・研究員)

(A01 計画班:15H05949 細胞間コミュニケーションのライブイメージング)

研究代表者 松田 道行(京都大学・生命科学研究所・教授)

研究分担者 隅山 健太

(国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー)

研究分担者 平島 剛志(京都大学・医学研究科・講師)

研究分担者 築地 真也(名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授)

研究分担者 平塚 拓也(京都大学・医学研究科・特定講師)

(A01 計画班: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)

研究代表者 曾我 公平(東京理科大学・基礎工学部材料工学科・教授)

研究分担者 上村 真生(東京理科大学・基礎工学部材料工学科・講師)

研究分担者 大久保 喬平(東京理科大学・基礎工学部材料工学科・助教)

(A01 計画班: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)

研究代表者 神谷 真子(東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・准教授)

(A01 計画班: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)

研究代表者 今村 健志(愛媛大学・医学系研究科・教授)

研究分担者 出口 友則

(国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員)

研究分担者 川上 良介(愛媛大学・医学系研究科・准教授)

研究分担者 齋藤 卓(愛媛大学・医学部附属病院・助教(病院教員))

(A02 計画班: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)

研究代表者 根本 知己(大学共同利用機関法人自然科学研究機構・教授)

研究分担者 佐藤 俊一(東北大学・多元物質科学研究所・教授)

研究分担者 榎木 亮介(大学共同利用機関法人自然科学研究機構・准教授)

研究分担者 大友 康平(大学共同利用機関法人自然科学研究機構・助教)

研究分担者 川上 良介(愛媛大学・大学院医学系研究科・准教授)

(A02 計画班:15H05954 バイオイメージプロセッシング)

研究代表者 横田 秀夫

(国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究センター・チームリーダー)

研究分担者 吉澤 信

(国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究センター・上級研究員)

研究分担者 世良 俊博(九州大学・工学研究院・准教授)

研究分担者 森田 正彦

(国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究センター・研究員)

研究分担者 道川 隆士

(国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究センター・上級研究員)

研究分担者 竹本 智子

(国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究センター・研究員)

(A01 公募研究:16H01416 実用的リアルタイムナノスコープを実現する機能性色素・タグドメインシステムの開発)

研究代表者 浅沼大祐(東京大学・大学院医学系研究科・助教)

(A01 公募研究: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)

研究代表者 野村 渉(東京医科歯科大学・整体材料工学研究所・准教授)

(A01 公募研究: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)

研究代表者 口丸高弘(東京工業大学・生命理工学院・助教)

(A01 公募研究: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)

研究代表者 青木一洋(大学共同利用機関法人自然科学研究機構・教授)

(A01 公募研究:16H01428 蛍光制御分子の化学デザインと生体イメージング)

研究代表者 堀雄一郎(大阪大学・大学院工学研究科・准教授)

(A01 公募研究: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)

研究代表者 川井清彦(大阪大学・産業科学研究所・准教授)

(A01 公募研究: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)

研究代表者 麓伸太郎(長崎大学・医歯薬学総合研究科(薬学系)・准教授)

(A01 公募研究: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)

研究代表者 平山祐(岐阜薬科大学・薬学部・准教授)

(A01 公募研究: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)

研究代表者 谷村明彦(北海道医療大学・歯学部・教授)

(A01 公募研究: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)

研究代表者 村越秀治(生理学研究所・准教授)

(A01 公募研究:16H01438NMDA 受容体依存性 LTP の制御のための光プローブの作成)

研究代表者 林康紀(京都大学・医学研究科・教授)

(A02 公募研究:16H01418 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)

研究代表者 豊島有(東京大学・大学院理学系研究科・助教)

(A02 公募研究: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)

研究代表者 船津高志(東京大学・大学院薬学系研究科・教授)

(A02 公募研究: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)

研究代表者 玉田篤史(新潟大学・研究推進機構・准教授)

(A02 公募研究: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)

研究代表者 日置寛之(順天堂大学・医学部・准教授)

(A02 公募研究: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)

研究代表者 栗田多喜夫(広島大学・工学研究科・教授)

(A02 公募研究:16H01434SHG 専用色素を用いたマルチもダル 2 光子顕微鏡の開発と応用)

研究代表者 塗谷睦生(慶應義塾大学・医学部・准教授)

(A02 公募研究:16H01435 周辺情報に着目した細胞内画像中の粒子計数と追跡)

研究代表者 堀田一弘(名城大学・理工学部・教授)

(A02 公募研究:16H01436 多重線形スパースと低ランクテンソル分解法による4次元生物データの解析)

研究代表者 陳延偉(立命館大学・情報理工学部・教授)

(A02 公募研究: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)

研究代表者 市村垂生(理化学研究所・生命機能科学研究センター・上級研究員)

(A02 公募研究: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)

研究代表者 松田厚志(情報通信研究機構・未来 ICT 研究所・主任研究員)

(A01 公募研究:18H04723 自己会合型環境応答性光音響イメージング剤の開発)

研究代表者 小川 美香子(北海道大学・薬学部・教授)

(A01 公募研究:18H04726 近赤外蛍光によるマウス全身観察のためのケミカルタグ技術の開発)

研究代表者 浅沼大祐(東京大学・大学院医学系研究科・助教)

(A01 公募研究:18H04731 膜電位可視化における新規対象と新規原理の開拓)

研究代表者 筒井 秀和(北陸先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・准教授)

(A01 公募研究:18H04734 タンパク質発現動態の光制御と多重蛍光計測のための基盤技術の構築)

研究代表者 磯村彰宏(京都大学高等研究院・物質-細胞統合システム拠点(iCeMS)・特定助教)

(A01 公募研究:18H04740 細胞骨格を足場とする酸化ストレスナノイメージング法の開発)

研究代表者 平山 祐(岐阜薬科大学・薬学部・准教授)

(A01 公募研究:18H04741 蛍光リガンド・受容体一体型センサーによる細胞間コミュニケーションの解析)

研究代表者 谷村明彦(北海道医療大学・歯学部・教授)

(A02 公募研究:18H04742 教師なし特徴学習による高精度多細胞種セグメンテーションアルゴリズムの開発)

研究代表者 舟橋啓(慶應義塾大学・理工学部・准教授)

(A01公募研究:18H04743 多階層構造情報を統べるバイオイメージング技術の基盤構築)

研究代表者 日置寛之(順天堂大学・医学部・准教授)

(A01 公募研究:18H04748 個体動物における組織深部分子活性化イメージングのための新規蛍光タンパク質の開発)

代表者 村越秀治(生理学研究所・准教授)

(A01公募研究:18H04752 蛋白質と化合物の共進化により誘導される蛍光/PET 脳機能イメージング技術)

研究代表者 下條雅文(国立研究開発法人・量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所・研究員)

(A02 公募研究:18H04754 遺伝子にコードされた PhyB-PIF 系による細胞・個体機能の光制御と新展)

研究代表者 青木一洋(大学共同利用機関法人自然科学研究機構・教授)

(A02 公募研究:18H04727 シナプスの構造・分子動態を結合するイメージング技術の開発)

研究代表者 岡部繁男(東京大学・大学院医学系研究科・教授)

(A02 公募研究:18H04732 長波長帯波長可変超短パルスファイバレーザーを用いた多機能深部イメージング)

研究代表者 西澤典彦(名古屋大学・工学部・教授)

(A02 公募研究:18H04737 アレル特異的 mutation 蛍光可視化技術による超高精度ゲノム編集法の開発)

研究代表者 川又理樹(九州大学・生体防御医学研究所・助教)

(A02 公募研究:18H04744 撥水性ナノ薄膜の創製とカバーガラスフリー生体深部イメージングへの応用展開)

研究代表者 岡村陽介(東海大学・工学部・准教授)

(A02 公募研究:18H04749 細胞の「硬さ」を非接触計測するブリルアン散乱イメージング)

研究代表者 市村垂生(大阪大学・先導的学際研究機構・特任准教授)

(A02 公募研究:18H04750 光の時空間分布制御を用いた脳イメージングと光刺激技術の研究)

研究代表者 磯部圭佑(国立研究開発法人理化学研究所・光量子工学研究センター・上級研究員)

(A03 公募研究:18H04724 自由行動マウスの生体各組織の遺伝子発現を長期間追跡定量するプログラムの開発)

研究代表者 浜田俊幸(国際医療福祉大学・薬学部・准教授)

(A02 公募研究:18H04728 自由行動中の生物の機能的全脳計測に適した高精度な細胞追跡手法)

研究代表者 豊島有(東京大学・大学院理学系研究科・助教)

(A03 公募研究:18H04729 過完備独立基底の内因性特徴に基いた分光顕微鏡画像のデータマイニング)

研究代表者 長島優(東京大学・医学部附属病院・助教)

(A03 公募研究:18H04730 バイオイメージング画像から構造と運動を自動解析するソフトウェアの開発)

研究代表者 玉田篤史(関西医科大学・医学部・准教授)

(A03 公募研究:18H04738 超高密度環境でロバスト性と汎用性を実現した多物体追跡の研究開発と応用)

研究代表者 備瀬竜馬(九州大学・システム情報科学研究院・准教授)

(A03 公募研究:18H04745 緩和型教師付き学習によるディープバイオイメージング)

研究代表者 日高章理(東京電機大学・理工学部・准教授)

(A03 公募研究:18H047513次元1分子追跡のためのイメージングと画像解析技術の開発)

研究代表者 毛利一成(国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・研究員)

(A01 公募研究:18H04735 蛍光スイッチ分子の化学デザインと生体イメージング)

研究代表者 堀 雄一郎(大阪大学・大学院工学研究科・准教授)

(A02 公募研究:18H04746 生成器の改良による細胞画像のセグメンテーション)

研究代表者 堀田 一弘(名城大学・理工学部・教授)

(A03 公募研究:18H04747 多重線形スパースと低ランクテンソル分解法による4次元生物データの解析)

研究代表者 陳 延偉(立命館大学・情報理工学部・教授)

(A01 公募研究:18H04733 光による特定の神経細胞への記憶のエンコーディング)

研究代表者 林 康紀(京都大学・医学研究科・教授)

※公募研究は廃止を含む。

#### 交付決定額(配分額)

年度	合計	直接経費	間接経費
平成 27 年度	326,170,000 円	250,900,000 円	75,270,000 円
平成 28 年度	324,170,000 円	249,470,000 円	74,700,000 円
平成 29 年度	355,810,000 円	273,700,000 円	82,110,000 円
平成 30 年度	323,894,374 円	249,274,374 円	74,620,000 円
令和元年度	314,000,000 円	241,720,000 円	72,280,000 円
合計	1,644,044,374 円	1,265,064,374 円	378,980,000 円



## 研究発表

### 雑誌論文 (各班査読有りの論文を抜粋)

#### (01 計画・宮脇)

1. Katayama H., Hama H., Nagasawa K., Kurokawa H., Sugiyama M., Ando R., Funata M., Yoshida N., Homma M., Nishimura T., Takahashi M., Ishida Y., Hioki H., Tsujihata Y., \*Miyawaki A. (2020) Visualizing and modulating mitophagy for therapeutic studies of neurodegeneration. *Cell* **181(5)**: 1176-1187 (2020)
2. Iwano S., Sugiyama M., Hama H., Watakabe A., Hasegawa N., Kuchimaru T., Tanaka KZ, Takahashi M., Ishida Y., Hata J., Shimozono S., Namiki K., Fukano T., Kiyama M., Okano H., Kizaka-Kondoh S., McHugh TJ., Yamamori T., Hioki H., Maki S., \*Miyawaki A. Single-cell bioluminescence imaging of deep tissue in freely moving animals. *Science* **359**: 935-939 (2018)
3. Sakaue-Sawano, A., Yo M., Komatsu N., Hiratsuka T., Kogure T., Hoshida T., Goshima N., Matsuda, M., Miyoshi H., \*Miyawaki A. (2017) Genetically encoded tools for optical dissection of the mammalian cell cycle. *Mol. Cell* **68**:626-640 (2017)

#### (01 計画・松田)

1. Ito H, Tsunoda T, Riku M, Inaguma S, Inoko A, Murakami H, Ikeda H, Matsuda M, \*Kasai K. "Indispensable role of STIL in the regulation of cancer cell motility through the lamellipodial accumulation of ARHGEF7-PAK1 complex," *Oncogene* **39(9)**:1931-1943 (2020)
2. Kinjo T, Terai K, Horita S, Nomura N, Sumiyama K, Togashi K, Iwata S, \*Matsuda M. "FRET-assisted photoactivation of flavoproteins for in vivo two-photon optogenetics," *Nat Methods*. **16(10)**:1029-1036 (2019)
3. Komatsu N, Terai K, Imanishi A, Kamioka Y, Sumiyama K, Jin T, Okada Y, Nagai T, \*Matsuda M. "A platform of BRET-FRET hybrid biosensors for optogenetics, chemical screening, and in vivo imaging." *Sci Rep*. **12;8(1)**:8984 (2018)

#### (01 計画・曾我)

1. Takumi Chihara, Masakazu Umezawa, Keiji Miyata, Shota Sekiyama, Naoki Hosokawa, Kyohei Okubo, Masao KAMIMURA, Kohei Soga, "Biological Deep Temperature Imaging with Fluorescence Lifetime of Rare-Earth-Doped Ceramics Particles in the Second NIR Biological Window," *Scientific Reports*, **9**: 12806 (2019)
2. Shota Sekiyama, Masakazu Umezawa, Yoko Iizumi, Takuji Ube, Toshiya Okazaki, Masao KAMIMURA, Kohei Soga, "Delayed Increase in Near-Infrared Fluorescence in Cultured Murine Cancer Cells Labeled with Oxygen-Doped Single-Walled Carbon Nanotubes," *Langmuir*, **35(3)**: 831–837 (2019)
3. Shota Sekiyama, Masakazu Umezawa, Shuhei Kuraoka, Takuji Ube, Masao KAMIMURA, Kohei Soga, "Temperature Sensing of Deep Abdominal Region in Mice by Using Over-1000 nm Near-Infrared Luminescence of Rare-Earth-Doped NaYF<sub>4</sub> Nanothermometer," *Scientific Reports*, **8**: 16979 (2018)

#### (01 計画・神谷)

1. Morozumi A, \*Kamiya M, Uno S, Umezawa K, Kojima R, Yoshihara T, Tobita S, \*Urano Y. "Spontaneously blinking fluorophores based on nucleophilic addition/dissociation of intracellular glutathione for live-cell super-resolution imaging." *J. Am. Chem. Soc.* in press.
2. Umezawa K, \*Kamiya M, \*Urano Y. "A reversible fluorescent probe for real-time live-cell imaging and quantification of endogenous hydropolysulfides." *Angew. Chem. Int. Ed.* **57**:9346-9350 (2018).
3. Uno S, \*Kamiya M, Morozumi A, \*Urano Y. "A green-light-emitting, spontaneously blinking fluorophore based on intramolecular spirocyclization for dual-colour super-resolution imaging." *Chem. Comm.* **54**: 102-105 (2018)

#### (01 計画・今村)

1. Watanabe T, Ninomiya H, Saitou T, Takanezawa S, Yamamoto S, Imai Y, Yoshida O, Kawakami R, Hirooka M, Abe M, \*Imamura T, \*Hiasa Y. "Therapeutic effects of the PKR inhibitor C16 suppressing tumor

proliferation and angiogenesis in hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo.” *Scientific Reports* **10**: 5133 (2020)

2. Inoue M, Takeuchi A, Manita S, Horigane SI, Sakamoto M, Kawakami R, Yamaguchi K, Otomo K, Yokoyama H, Kim R, Yokoyama T, Takemoto-Kimura S, Abe M, Okamura M, Kondo Y, Quirin S, Ramakrishnan C, Imamura T, Sakimura K, Nemoto T, Kano M, Fujii H, Deisseroth K, Kitamura K, \*Bito H. “Rational Engineering of XCaMPs, a Multicolor GECI Suite for In Vivo Imaging of Complex Brain Circuit Dynamics.” *Cell* **177**: 1346-1360 (2019)
3. \*Saitou T, Kiyomatsu H, Imamura T. “Quantitative Morphometry for Osteochondral Tissues Using Second Harmonic Generation Microscopy and Image Texture Information.” *Scientific Reports* **8**: 2826 (2018)  
(01 公募・浅沼)
  1. Sakamoto H, Ariyoshi T, Kimpara N, Sugao K, Taiko I, Takikawa K, Asanuma D, Namiki S and \*Hirose K. Synaptic weight set by Munc13-1 supramolecular assemblies. *Nat. Neurosci.* **21**: 41-49 (2018)  
(01 公募・野村)
  1. Matsumoto D, Tamamura H, and \*Nomura W. “TALEN-Based Chemically Inducible, Dimerization-Dependent, Sequence-Specific Nucleases.” *Biochemistry* **57**: 197-204 (2020)  
(01 公募・青木)
  1. Komatsubara A, Goto Y, Kondo Y, Matsuda M, \*Aoki K “Single-cell quantification of the concentrations and dissociation constants of endogeneous proteins” *Journal of Biological Chemistry*, **294**: 6062-6072 (2019)  
(01 公募・堀)
  1. Hori Y, Otomura N, Nishida A, Nishiura M, Umeno M, Suetake I, \*Kikuchi K. “Synthetic-Molecule/Protein Hybrid Probe with Fluorogenic Switch for Live-Cell Imaging of DNA Methylation.” *J Am Chem Soc.* **140**: 1686–1690 (2018)  
(01 公募・川井)
  1. Miyata T, Shimada N, Maruyama A, \*Kawai K “Fluorescence redox blinking adaptable to structural analysis of nucleic Acids.” *Chemistry-A. European Journal*, **24**: 6755-6761 (2018)  
(A01 公募・麓)
  1. Wang S, \*Fumoto S, Miyamoto H, Tanaka M, Nishida K. Edaravone, a cytoprotective drug, enhances transgene expression mediated by lipoplexes in HepG2 cells and mice. *International Journal of Pharmaceutics* **548**: 173-181 (2018)  
(A01 公募・平山)
  1. Hirayama T, Miki A, and Nagasawa H. “Organelle-specific analysis of labile Fe(II) during ferroptosis by using a cocktail of various colour organelle-targeted fluorescent probes.” *Metallomics* **11**: 111–117 (2019)  
(A01 公募・谷村)
  1. Tanimura A. and Shuto S. Competitive Fluorescent Ligand Assay for Inositol 1,4,5-Trisphosphate. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* **2091**: 137-144 (2020)  
(A01 公募・村越)
  1. Murakoshi H\*, Horiuchi H, Kosugi T, Onda M, Sato A, Koga N, and Nabekura J. “ShadowR: a novel chromoprotein with reduced non-specific binding and improved expression in living cells.” *Scientific Reports* **9**: 12072 (2019)  
(A01 公募・林)
  1. \*Saneyoshi T., Matsuno H., Suzuki A., Murakoshi H., Hedrick N.G., Agnello E., O’Connell R., Stratton M.M., Yasuda R., \*Hayashi, Y. “Reciprocal Activation within a Kinase-Effector Complex Underlying Persistence of Structural LTP.” *Neuron* **102(6)**: 1199-1210 (2019)  
(A01 公募・筒井)
  1. Farha T. D., Hama K., Imayasu M., Hiratsuka Y., Miyawaki A., \*Tsutsui H., Electric-field control of fluorescence protein emissions at the metal-solution interface. *Appl. Phys. Express* **12**: 067001 (2019)

(A01 公募・磯村)

1. Kumiko Yoshioka-Kobayashi, Marina Matsumiya, Yusuke Niino, Akihiro Isomura, Hiroshi Kori, Atsushi Miyawaki, \*Ryoichiro Kageyama “Coupling delay controls synchronized oscillation in the segmentation clock”, *Nature* **580**: 119 (2020)

(A01 公募・下條)

1. Shimojo M, Takuwa H, Takado Y, Tokunaga M, Tsukamoto S, Minatohara K, Ono M, Seki C, Maeda J, Urushihata T, Minamihisamatsu T, Aoki I, Kawamura K, Zhang MR, Suhara T, Sahara N, \*Higuchi M. “Selective Disruption of Inhibitory Synapses Leading to Neuronal Hyperexcitability at an Early Stage of Tau Pathogenesis in a Mouse Model.” *J Neurosci.***22;40(17)**:3491-3501 (2020)

(A02 計画・根本)

1. \*Kozawa Y, Sato S, Light needle microscopy with spatially transposed detection for axially resolved volumetric imaging, *Scientific Reports* **9**: 11687 (2019)
2. Inoue M, Takeuchi A, Manita S, Horigane SI, Sakamoto M, Kawakami R, Yamaguchi K, Otomo K, Yokoyama H, Kim R, Yokoyama T, Takemoto-Kimura S, Abe M, Okamura M, Kondo Y, Quirin S, Ramakrishnan C, Imamura T, Sakimura K, Nemoto T, Kano M, Fujii H, Deisseroth K, Kitamura K, \*Bito H. Rational Engineering of XCaMPs, a Multicolor GECI Suite for In Vivo Imaging of Complex Brain Circuit Dynamics. *Cell* **177(5)**:1346-1360.e2 (2019)
3. Aoyagi Y, Hibi T, Kimori Y, Sawada M, Kawakami R, Sawamoto K, \*Nemoto T. Heterogeneous distribution of doublecortin-expressing cells surrounding the rostral migratory stream in the juvenile mouse. *J Comp Neurol.* **526(16)**:2631-2646 (2018)

(A02 計画・横田)

1. T. Kitrungrotsakul, X.-X Han, Y. Iwamoto, S. Takemoto, H. Yokota, S. Ipponjima, T. Nemoto, X. Wei, and \*Y.-W. Chen, "An end-to-end CNN and LSTM network with 3D anchors for mitotic cell detection in 4D microscopic images and its parallel implementation on multiple GPUs", *NEURAL COMPUT APPL*, **32**:5669–5679 (2020)
2. Y. Mimura, S. Takemoto et al., "A statistical image analysis framework for pore-free islands derived from heterogeneity distribution of nuclear pore complexes", *Scientific Reports*, **7**:16315:1-14 (2017)
3. A. Sakane, S. Yoshizawa et al., “Conformational plasticity of JRAB/MICAL-L2 provides “law and order” in collective cell migration”, *MBoC*, **27(20)**: 3095-3108 (2016)

(A02 公募・豊島)

1. Yu Toyoshima, Stephen Wu, Manami Kanamori, Hirofumi Sato, Moon Sun Jang, Suzu Oe, Yuko Murakami, Takayuki Teramoto, Chanhyun Park, Yuishi Iwasaki, Takeshi Ishihara, \*Ryo Yoshida & \*Yuichi Iino. "Neuron ID dataset facilitates neuronal annotation for whole-brain activity imaging of *C. elegans*". *BMC Biology* **18**: 30 (2020)

(A02 公募・玉田)

1. Tamada A “Chiral Neuronal Motility: The Missing Link between Molecular Chirality and Brain Asymmetry.” *Symmetry* **11**: 102 (2019)

(A02 公募・日置)

1. Okunomiya T, Hioki H, Nishimura C, Yawata S, Imayoshi I, Kageyama R, Takahashi R, \*Watanabe D. “Generation of a MOR-CreER knock-in mouse line to study cells and neural circuits involved in mu opioid receptor signaling.” *Genesis* **58**: e23341 (2019)

(A02 公募・栗田)

1. Ryusuke Yamada, Hidenori Ide, Novanto Yudistira, and Takio Kurita, “Texture Segmentation using Siamese Network and Hierarchical Region Merging,” Proc. of the 24th International Conference on Pattern Recognition in Beijing, China, August (ICPR2018) (2018)

(A02 公募・塗谷)

1. Mizuguchi T, Momotake A, Hishida M, Yasui M, Yamamoto Y, Saiki T and and \*Nuriya M. “Multiphoton imaging of the lipid bilayer by dye-based sum-frequency generation and coherent anti-Stokes Raman scattering.” *Analytical Chemistry*, **92(8)**: 5656-5660 (2020)  
(A02 公募・堀田)
1. K.Nishida and K.Hotta, “Robust cell particle detection to dense regions and subjective training samples based on prediction of particle center using convolutional neural network,” *PLoS ONE*, **13** (2018)  
(A02 公募・陳)
1. Titinunt Kitrungrotsakul, Xian-Hau Han, Yutaro Iwamoto, Satoko Takemoto, Hideo Yokota, Sari Ipponjima, Tomomi Nemoto, Wei Xiong, and \*Yen-Wei Chen, “An End-to-End CNN and LSTM Network with 3D Anchors for Mitotic Cell Detection in 4D Microscopic Images and Its Parallel Implementation on Multiple GPUs,” *Neural Computing and Applications*, **32**:5669-5679 (2020)  
(A02 公募・市村)
1. J.Kaneshiro, Y.Okada, T.Shima,M.Tsujii, K.Imada, \*T. Ichimura and \*T.M. Watanabe, "Second harmonic generation polarization microscopy as a tool for protein structure analysis", *Biophys.Physicobiol.***16**: 147–157 (2019)  
(A02 公募・松田厚志)
1. \*Matsuda A, Schermelleh L, Hirano Y, Haraguchi T, and \*Hiraoka Y “Accurate and fiducial-marker-free correction for three-dimensional chromatic shift in biological fluorescence microscopy.” *Sci Rep* **8**:7583 (2018)  
(A02 公募・青木)
1. Miura H, Kondo Y, Matsuda M, \*Aoki KCell-to-cell heterogeneity in p38-mediated cross-inhibition of JNK causes stochastic cell death. *Cell Reports* **24**: 2658-2668 (2018)  
(A02 公募・岡部)
1. Obashi K, Matsuda A, Inoue Y, and \*Okabe S. “Precise temporal regulation of molecular diffusion within dendritic spines by actin polymersduring structural plasticity.” *Cell Reports* **27**: 1503-1515 (2019)  
(A02 公募・西澤)
1. \*Masahito Yamanaka, Naoki Hayakawa, Norihiko Nishizawa, “Signal-to-background ratio and lateral resolution in deep tissue imaging by optical coherence microscopy in the 1700 nm spectral band,” *Sci. Rep.* **9**: 16041 (2019)  
(A02 公募・岡村)
1. Zhang H, Yarinome K, Kawakami R, Otomo K, Nemoto T, \*Okamura Y. “Nanosheet wrapping-assisted coverslip-free imaging for looking deeper into a tissue at high resolution.” *PLoS ONE* **15**: e0227650 (2020)  
(A03 公募・浜田)
1. Ito R<sup>#</sup>, Hamada K<sup>#</sup>, Kasahara S, Kikuchi Y, Nakajima K, Sutherland K, Shirato H, Ozaki M, Ishikawa M, \*Hamada T, “Mouse period1 gene expression recording from olfactory bulb under free moving conditions with a portable optic fiber device”, *The Journal of Biological and Chemical Luminescence* (In press)  
(A03 公募・長島)
1. Sinjab F, Hashimoto K, Zhao X, Nagashima Y, Ideguchi T, “Enhanced spectral resolution for broadband coherent anti-Stokes Raman spectroscopy.” *Opt Lett.***1;45(5)** (2020)  
(A03 公募・備瀬)
1. J. Hayashida, and \*R. Bise. “Cell Tracking with Deep Learning for Cell Detection and Motion Estimation in Low-Frame-Rate.” *MICCAI2019*, 1:397-405 (2019)

(A03 公募・日高)

1. \*Hiroyuki Fujioka, Jarupat Sawangphol, Shinya Anraku, Nobuyoshi Miyamoto, Hitoshi Kino, Akinori Hidaka, "Detecting Nanosheet Objects from Noisy CLSM Images Using Deep Learning Approach," *Key Engineering Materials*, **804**: 11-15(2019)

(A03 公募・毛利)

1. Y.Fujioka, J.Alam, D.Noshiro, K.Mouri, T.Ando, Y.Okada, A.May, R.Knorr, K.Suzuki, Y.Ohsumi, \*N.N.Noda, "Phase separation and dynamic phosphorylation organize the site of autophagosome formation", *Nature* 578–301 (2020)

#### 学会発表(抜粋)

1. Atsushi Miyawaki "Genetically encoded luminescent tools for life sciences", EMBO | EMBL Symposium: Seeing is Believing, Heidelberg, Germany, 2019.10.9-12. Invited.
2. Mako Kamiya, EMBL Symposium: Seeing is Believing - Imaging the Processes of Life (Invited), "Rapid cancer imaging by rationally designed fluorescence probes", Heidelberg, (Germany), Oct. 9-12, 2019.
3. S. Takemoto, "Performance evaluation of image segmentation methods for better objectivity of cell image analysis", NCCR Special Lecture series, Geneva University, 2017, (国際招待).
4. Takeshi Imamura 「In vivo cancer imaging by advanced multi-photon laser excitation microscopy」 TGF-beta meeting 2017, September 1, 2017, Uppsala, Sweden
5. S. Sato, Y. Kozawa, Resolution enhancement in confocal microscopy with vector beams, 第54回日本生物物理学会年会、2016年11月25日、筑波
6. Kohei SOGA, Masao Kamimura, "Materials and system developments for OTN-NIR fluorescence bioimaging," The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015) (Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, 2015年12月15日～12月20日).

#### 図書(抜粋)

1. 曾我 公平, 上村 真生, 近赤外蛍光イメージングプローブ、実験医学増刊 36 生きてるものは全部観る！イメージングの選び方・使い方 100+ (原田慶恵, 永井健治 編), 178-179 (羊土社、2018).
2. Takeshi Imamura et al. In vivo imaging of lymphatic vessels and lymph nodes. Springer 'Lymph Node Metastasis in Gastrointestinal Cancer. Natsugoe, Shoji (Ed.)' Chapter 7, 159-176 (2019)
3. R. Kawakami and T. Nemoto, 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, 2018, ISBN 978-981-10-9019-6, 2018/5/16
4. 青木一洋, 蛍光顕微鏡 iv. FRET 実験医学増刊「生きてるものは全部観る！イメージングの選び方・使い方 100+」第1章光学顕微鏡, 36, 2018.

#### その他

・主催シンポジウム等 (抜粋)

1. レゾナンスバイオ公開シンポジウム"Swinging on the Chromophore", 2016年
2. ABiS-GBI-OIST-RB Joint Symposium, 2018年
3. Meeting of Bioimaging for Young Researchers, 2018年
4. Resonance Bio International Symposium, 2019年
5. Joint Meeting for Young Researchers -Frontiers in Imaging Probes and Technologies-, 2019年

・受賞(抜粋)

1. 磯部圭佑, 文部科学大臣表彰若手科学者賞 2018 年
2. 宮脇敦史、秋の紫綬褒章、2017 年
3. 宮脇敦史、上原賞、2017 年
4. 宮脇敦史、島津賞、2015 年

・ホームページや新聞等の各種メディア報道(抜粋)

1. (宮脇班)日本経済新聞, 脳内部光らせ観察, 2018/2/26
2. (宮脇班)読売新聞, 脳深部光らせ外から観察, 2018/3/2
3. (宮脇班)テレビ朝日 グッド!モーニング, 2018/2/23

・一般向けアウトリーチ活動(抜粋)

1. (堀田班)堀田一弘 岐阜市土曜日の才能開花教育講演会、2019 年 9 月 9 日、ディープラーニングによる人工知能の進展 ～細胞画像の認識への応用～、中学生 40 名
2. 58th Science and technology week 出展: 中村 佐紀子, 田中 礼一, 森田 正彦, 横田 秀夫, “カプトムシのなかみ ～メタモルフォーゼ～”, 2017 年 4 月 14 日-23 日, 文部科学省情報広場.
3. (神谷班)神谷真子 サイエンスアゴラ 2015 “そうぞう! 2020 年の未来社会”:細胞のはたらきを明らかにする「光る」分子を見てみよう、日本科学未来館、2015 年 11 月 13-15 日(ブース展示)

**産業財産権**

出願(抜粋)

1. 曾我公平, 梅澤雅和, 春口真祐, 「生体試料の透明化方法及び生体試料透明化剤」, 特願2018-158579.
2. 今村健志・齋藤卓・高根沢聡太「ライトシート顕微鏡用長距離伝搬ビーム形成レンズユニット及び長距離伝搬ビーム形成方法」, 特願2019-222518、
3. 田辺綾乃、橋本信幸、根本知己、日比輝正、大友康平、小澤祐市「照明装置及び照明光生成方法」出願番号:特願 2016-023924
4. 横田 秀夫, 大屋 祐輔, 岩淵 成志, 「トレーニング装置、カテーテル、画像処理方法、プログラム、および情報記録媒体」, 特願: 2018-077822
5. 浦野泰照, 谷真子, 岩立竜「ペプチダーゼ検出用近赤外蛍光プローブ」特願 2017-37459
6. 今村健志, 齋藤卓, 高根沢聡太「ライトシート顕微鏡用長距離伝搬ビーム形成レンズユニット及び長距離伝搬ビーム形成方法」特願 2019-222518
7. 廣瀬謙造、浅沼大祐、並木繁行、田中理恵子「新規蛍光標識方法」、特願 2017-7952(国外でも出願中(出願番号:PCT/JP2018/001457))
8. 麓伸太郎、川上茂、西田孝洋「生体由来材料の透明化試薬」、特願 2017-30702(PCT/JP2018/6564)
9. 平山祐、永澤秀子、丹羽正人、「蛍光プローブ」、特願 2018-34775
10. 谷村明彦、小島理恵、佐々木皓平、川部雅章「FRET 法における被検物質蛍光センサーの固定用無機系繊維シート」、特願 2018-179893、特開 2020-051830
11. 小川美香子、高倉栄男、土屋光輝「光音響イメージング剤」、特願 2019-142540

12. 田辺綾乃、橋本信幸、根本知己、日比輝正、大友康平、小澤祐市「照明装置及び照明光生成方法」、特願 2016-023924 (PCT/JP2017/005002)
13. 横田秀夫、大屋祐輔、岩淵成志「トレーニング装置、カテーテル、画像処理方法、プログラム、および情報記録媒体」、特願 2018-077822、特開 2019-184930(P2019-184930A)
14. 日置寛之「顕微鏡への観察標本セット用具及び方法」、特願 2019-109509
15. 松田厚志、原口徳子「色収差補正方法」特開 2015-216495、特願 2014-097942、平成 30 年 9 月 7 日登録 (特許第 6396072 号)
16. 川又理樹、鈴木淳史「ゲノム編集された細胞の製造方法」、特願 2018-232946 (国外でも出願中 (出願番号:PCT/JP2019/048781))
17. 岡村陽介、張宏、喜多理王、木村啓志「観察試料用被覆具、被覆具包装体及び観察試料の被覆方法」、特願 2019-109896
18. 磯部圭佑、緑川克美、小坂田文隆「光切替器および観察装置」、特願 2018-157215

#### 取得(抜粋)

1. 松田厚志、原口徳子「色収差補正方法」特開 2015-216495、特願 2014-097942、平成 30 年 9 月 7 日登録 (特許第 6396072 号)

#### 研究成果

<研究成果の概要>

本研究領域では、①超解像イメージング、②生体深部イメージング、③ストレスイメージング、④ズーミングインアウトの 4 テーマを共有するように活動を行ってきた。以下に成果の概要を記述する。

##### ①「超解像イメージング」:

超解像イメージングにおいて2つの課題を設定した。ひとつは「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。もう一つはデータ取得速度である。「超解像イメージング」に関する技術開発において、当領域設定期間内に以下の成果を得た。

- ・[深部超解像]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(根本)
- ・[高速超解像]自発的明滅プローブを利用した超解像度画像の高速撮影(神谷)

##### ②「生体深部イメージング」:

生体組織の深部ライブイメージングを可能にするために、(蛍光・発光)色素の長波長化およびレーザー技術の開発を行った。具体的には以下の通りである。

- ・無機蛍光色素 (OTN-NIR) 開発(曾我)
- ・発光タンパク質の長波長化 (> 700 nm) (宮脇、牧)
- ・国産の赤色の蛍光タンパク質の開発(宮脇)
- ・FRET バイオセンサーの長波長化(宮脇、松田)

- ・新規レーザー光源による2光子励起イメージング(根本、今村)
- ・色素の長波長化の為の密度汎関数理論による色素分子特性の予測手法の構築(浅沼)

### ③「ストレスイメージング」:

数ある生体ストレスの中でも、酸化ストレスに着目し当領域設定期間内に以下の成果を得た。

- ・蛍光タンパク質を材料に様々な酸化ストレスプローブ開発(宮脇)
- ・GSH(還元型グルタチオン)定量プローブ開発(神谷)
- ・ビリルビン(非抱合型、抗酸化作用を示す)定量プローブ開発・改良(宮脇)
- ・組織透明化と二価鉄イオンプローブによる酸化ストレスの組織イメージング(平山、麓)

### ④「ズームインアウト」:

生物学の対象の空間スケールは、細胞内微細構造—細胞—組織—器官—個体と分類でき、それぞれのスケールを対象としたバイオイメージングがなされている。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提供するデータベースの構築に取り組んだ。

### <研究の方法>

公募班の研究者には、新学術領域研究が新トレンドを創る使命を帯びていることを承知してもらった。独自のサイエンスを拠点にしながら異分野の研究者と交わることでしなやかに発展する余白を感じさせる研究を支援した。バイオイメージングを巡る共鳴を領域内に創り出すため、連携共同研究のボトムアップ的発生を促した。さらに班会議で行われた班員発表をもとに以下のような連携をトップダウン的に提案した。

- ・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た。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た。
- ・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の進展に注目した。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研究を推進。

バイオイメージングを巡る共鳴を領域外に世界規模で広げるため、国際シンポジウム、国際技術講習会などを、若手研究者中心で開催した。

### <各研究項目の成果>

#### 研究項目 A01 分子のデザイン

(A01 計画・宮脇)

**マイトファジープローブの開発:**マイトファジープローブ、mito-SRAIを開発し、パーキンソン病モデルマウスにおいて、病態解明の手がかりとなるマイトファジー発生の細胞種特異性を発見した(Katayama et al., Cell 2020)

**人工生物発光システムの開発:**赤色の発光基質 (Akalumine)の発光反応を担う発光酵素を改変し、発光強度が大幅に改善された人工生物発光システム、AkaBLIを開発した (Iwano et al., Science 2018)。

**細胞周期、DNA損傷に対するハイブリッドプローブの開発:**細胞周期プローブ、Fucciのバリエーションを開発し、DNA損傷による細胞死は、細胞周期と相関することを示した(Sakaue-Sawano A. et al., Mol. Cell 2017)。

(A01 計画・松田)

**FRET バイオセンサーの高度化:**FRET バイオセンサーの高感度化、長波長化、多色化を進め、更に、発光を利



用した新規バイオセンサーの開発も行った。(Komatsu et al. Sci. Rep 2018; Watabe et al. ACS Sens 2020)

**摂動実験のための低分子化合物の作成と新規光遺伝学ツールの開発:**細胞内情報伝達分子を生きた組織で制御するためのケミカルバイオロジーツール SLIPT (Nakamura et al. ACS Chem Biol 2020、分担研究者の築地と共同) 及び多光子顕微鏡下で操作可能な光遺伝学ツール 2paCRY2 (Kinjo et al. Nat Method 2019)を開発した。

(A01計画・曾我)

**種々のイメージングシーンに対応する明るい蛍光プローブの開発:**cmオーダーの深部の可視化が可能な、色素内包ミセル構造プローブ、カーボンナノチューブプローブ、希土類含有セラミックスナノ粒子(RED-CNP)プローブを開発した。

**数cmの観察深度を生かしたCTおよび共焦点原理による三次元イメージングの実現:**SBW波長域、別名OTN-NIR波長域における蛍光の撮像と三次元画像再構築に成功した(横田計画班と共同)。

●特許出願・「生体試料の透明化方法及び生体試料透明化剤」発明者:曾我公平・梅澤雅和・春口真祐、権利者:東京理科大学、特願2018-158579、2018年8月27日出願、国内

(A01計画・神谷)

**新たな光明滅原理に基づく超解像蛍光イメージングプローブの開発:**細胞内求核分子と蛍光団との分子間求核付加反応を新たな光明滅原理として用いることで、自発的光明滅超解像イメージングプローブの多色化ならびに明滅特性の拡張に成功した(Morozumi et al. J. Am. Chem. Soc. in press)

**$\gamma$ -Glutamyltranspeptidase により光増感能が回復する光増感剤の開発:** $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase(GGT)との反応により初めて可視光領域の吸収が回復し、可視光照射により一重項酸素を産生する activatable 光増感剤 gGlu-HMSeRを開発した(Chiba et al. Angew. Chem. Int. Ed. 2017)。

●「ペプチダーゼ検出用近赤外蛍光プローブ」発明者:浦野泰照・神谷真子・岩立竜、権利者:国立大学法人東京大学、特願 2017-37459、2017年2月28日出願、国内

(A01計画・今村)

**新規2光子励起光シート蛍光顕微鏡の開発:**2光子励起光源からのビーム形状の工夫により高分解能でメダカの稚魚を丸ごとイメージングできる高視野の光シート蛍光顕微鏡を開発した。開発過程において、根本班の佐藤俊一先生と光源開発の共同研究を行い、成果の一部は特許出願し(特願 2019-222518)、論文を投稿中である。

**新規メダカがんモデルの開発:**蛍光標識したヒトがん細胞を移植可能ながんモデルメダカを樹立し、高視野・高分解能光シート蛍光顕微鏡を用いて、脳内で増殖する Fucci ヒトがん細胞を可視化した。

●特許出願・「ライトシート顕微鏡用長距離伝搬ビーム形成レンズユニット及び長距離伝搬ビーム形成方法」発明者:今村健志・齋藤卓・高根沢聡太、権利者:国立大学法人愛媛大学、特願 2019-222518、2019年12月9日出願、国内(外国出願無)

(A01公募・浅沼)

**超解像イメージング法の開発:**抗消光団一本鎖抗体を利用した新規のケミカルツールとして DeQODE タグ技術を開発した。

**生体イメージングを指向した長波長蛍光色素の開発研究:**長波長の蛍光イメージングを可能とするケミカルプローブの開発に向けて、密度汎関数理論を基にした計算化学を用いて色素分子特性の予測手法を構築した。

●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(国外でも出願中(出願番号:PCT/JP2018/001457))

(A01公募・野村)

**遺伝子組み込み型タグ-プローブシステムの開発:**遺伝子ベクター上にタグペプチド配列を組み込んだ tet-on システムを構築した。

(A01公募・口丸)

**活性酸素応答性新規タンパク質相互作用ドメインの開発:**活性酸素に鋭敏に応答するタンパク質相互作用ドメインの開発に成功した。タンパク質ドメインの最適化には、宮脇班の協力の元、Fluoppi システムを利用した。

(A01公募・青木)

**Phytochrome の発色団である Phycocyanobilin (PCB) の哺乳類細胞内合成系の開発と光遺伝学の応用:**赤色

光/遠赤色光に応答する光遺伝学ツールである Phytochrome B (PhyB)に必要な発色団である Phycocyanobilin (PCB)を哺乳類細胞内や分裂酵母内で効率よく合成することに成功した。さらにこの系を用いて細胞内シグナル伝達経路の光操作にも成功した (Uda et al. PNAS 2017)。

(A01 公募・堀)

**コンタクトクエンチングを利用したタンパク質発蛍光標識プローブの開発:**コンタクトクエンチングを利用した原理に基づき、タグタンパク質である PYP タグを標識すると蛍光強度を上昇する発蛍光プローブ(マルチカラー)を開発した。

(A01 公募・川井)

**核酸構造の変化を1分子で追跡する系の開発:**2状態の平衡で存在する、preQ1 RNA aptamer の構造変化を1分子で観測する手法開発に成功した。

(A01 公募・麓)

**新規組織透明化法の開発:**脂質成分を保持したまま、迅速かつ効率的に透明化することに成功した(特願 2017-30702)。

**遊離鉄の組織内空間分布可視化:**公募・平山班との共同研究で、遊離鉄プローブを用いて、麓班の組織透明化により遊離鉄の組織内空間分布の可視化に成功した。

●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(PCT/JP2018/6564、外国出願無)

(A01 公募・平山)

**化学種選択的に活性化される生体分子ラベル化剤の開発:**新規キノメチド型活性酸素種依存性タンパク質ラベル化剤の開発研究を実施し、スーパーオキシドアニオンに選択的なラベル化剤の設計指針を確立した。

**生体組織を用いた酸化ストレス分子のイメージング:**公募班である長崎大学薬学部・麓伸太郎准教授の開発した新規組織透明化法と、我々の開発した赤色光二価鉄蛍光プローブ SiRhoNox-1 (Chem. Sci. 2018, 8, 4858)を組み合わせた二価鉄イオンの組織イメージングを実施した。

●特許出願・「蛍光プローブ」発明者:平山祐、永澤秀子、丹羽正人、権利者:岐阜市、特願 2018-34775、2018年2月28日出願、国内(外国出願無)

(A01 公募・谷村)

**競合的蛍光リガンドアッセイ(CFLA)を使った FRET プローブの設計:**EGF 受容体と EGF を使った CFLA 型センサーの開発を試みた。特にタンパク質編集技術(SpyCatcher と SpyTag)を応用して、リガンド・受容体一体型センサーを開発した。また細胞外メッセンジャーの測定に使用する、タンパク質結合率を高めたシリカ製不織布を開発した。

●特許出願・「FRET 法における被検物質蛍光センサーの固定用無機系繊維シート」発明者:谷村明彦・小島理恵・佐々木皓平・川部雅章、権利者:谷村明彦・小島理恵・佐々木皓平・川部雅章、特願 2018-179893、特開 2020-051830、2018年9月26日出願、国内(外国出願無)

(A01 公募・村越)

**Rac1 活性化可視化プローブの開発:**脳組織深部で低分子量 G タンパク質である Rac1 の活性化をシナプスレベルの空間分解能で可視化するための FRET プローブの開発に成功した(Hedrick et al. Nature 2016)。

**光応答性 CaMKII の開発:**青色光、または 700-900 nm の 2 光子励起によって CaMKII を活性化させることが可能な光応答性 CaMKII の開発に成功した(Shibata et al. in revision)。

(A01 公募・林)

**光増感法による記憶消去の試み:**光増感タンパク質 Supernova を用いることにより、コフィリンを光不活化する実験系を確立した。それを神経細胞に発現すると、長期増強を誘導したシナプスの増強を解除する事が出来た。

(A01 公募・小川)

**自己会合によるスペクトル変化を利用した環境応答性光音響イメージング剤の開発:**酸性環境において自己会合により吸収スペクトル変化を起こす ICG 誘導体の開発に成功した。

●特許出願・「光音響イメージング剤」発明者:小川美香子・高倉栄男・土屋光輝、権利者:北海道大学、特願

2019-142540、2019年8月1日出願、国内(国外でも出願中)

(A01 公募・筒井)

**小胞体膜電位センサーの開発:**小胞体膜にターゲットする FRET 型の膜電位プローブを開発し、骨格筋における興奮収縮連関に関する筋小胞体膜電位計測に適用し、従来仮説の検証を行った(Sanchez et al., 2018)。

(A01 公募・磯村)

**マウス分節時計における遺伝子発現振動の 1 細胞イメージング技術の開発と同期メカニズムの解明:**計画研究の宮脇班による新規黄色蛍光タンパク質 Achilles によって、マウス分節時計における Hes7 遺伝子の 1 細胞レベルでの可視化に成功した。そして、Lfng 遺伝子が Motch シグナルの伝達速度を調節することで、分節時計における細胞集団の同期振動を実現していることが明らかになった。本研究結果は Nature 誌に掲載された。

(A01 公募・下條)

**蛍光/PET レポーターイメージング技術開発と共進化:**標的レポーター分子を蛍光と放射性核種でそれぞれ標識された化合物プローブにより検出可能な生体脳イメージング技術を確立し、脳組織深部にて神経細胞群や回路を可視化する事に成功した(Shimojo et al(2020)BioRxiv)。

**蛋白質相互作用の可視化:**蛋白質相互作用の検出を可能とする Split 型レポーター分子を開発し、細胞内における蛋白質の複合体や多量体形成を検出する事に成功、脳疾患病態の解析にも有用である事を明らかとした(Shimojo et al(2020)J Neurosci)。

研究項目 A02 光のコントロール

(A02 計画・根本)

**生体脳海馬神経活動のイメージング:**海馬全層の“in vivo”イメージングを可能とする基盤技術の開発し、海馬 CA1 ニューロンのビデオレートでの神経活動のイメージングに成功した(Cell, 2019)

**超解像顕微鏡の開発:**スーパーオシレーションと呼ばれる、光の回折限界を超える微小な光スポットを設計し、100nm に迫る空間分解能を実現した。(Optica, 2018)

●特許出願・「照明装置及び照明光生成方法」発明者田辺綾乃、橋本信幸、根本知己、日比輝正、大友康平、小澤祐市、出願人:シチズンホールディングス(株)、出願番号:特願 2016-023924、出願日:2016/2/10 国内(外国出願有)。PCT 出願も申請。出願番号:PCT/JP2017/005002

(A02 計画・横田)

**高速画像フィルタ高速かつ高精度にガウス関数を画像に畳み込む新しい計算法の提案:**提案計算法を画像合成(吉澤ら情報処理学会論文誌 2015)、ガイド付き画像フィルタ(吉澤ら精密春 2016 等)、及びスケール対応フィルタ(吉澤ら精密春 2020)へ応用した。

**VCAT5 及び RBICP の開発と生物学応用:**画像処理統合システム VCAT5 及びクラウドシステム RBICP を開発し、脳の遺伝子発現解析(M.Morita et al. Nucleic Acids Res.2019)、細胞集団の動態解析(A. Sakane et al. Front. Cell Dev. 2018; MBoC 2016)、遺伝子発現の 3 次元可視化(H. Saito et al. Nat. Commun. 2017)や細胞分裂時の微小管解析(N. Yamashita et al. J. Biomed. Opt.2015)などへ応用した。

●特許出願・「トレーニング装置、カテーテル、画像処理方法、プログラム、および情報記録媒体」発明者:横田秀夫・大屋祐輔・岩淵成志、権利者:横田秀夫・大屋祐輔・岩淵成志、特願 2018-077822、特開 2019-184930(P2019-184930A),2018年4月13日出願、国内。

A02(公募・豊島)

**3 次元画像データ中の密集した細胞核を正確に検出する画像解析手法:**線虫頭部の密集した細胞核を見落とさなく正確に 3 次元にて自動検出する手法を開発した(PLOS Comp.Biol.(2016))。線虫の低酸素環境下における神経活動と行動を計測することに成功した(PNAS (2017))。

**全脳機能的イメージングのための細胞同定手法の開発:**多数の線虫個体の神経細胞の配置を観察してデータベースを作成し、複数の細胞特異的プロモーターを組み合わせて、細胞同定に適した線虫株を作出した(BMC Biology(2020)など)。

(A02 公募・船津)

**超解像蛍光イメージング法の開発:**ストレス顆粒のナノ構造を解明自発的に明滅する蛍光色素(神谷班開発)を

用いた超解像蛍光イメージング法により、ストレス顆粒は mRNA が高密度に集積し運動を止めた直径 70nm からなるコア領域と、mRNA が拡散運動できるシェル領域から構成されていることを明らかにした。

(A02 公募・玉田)

**細胞の形と動きを自動解析する手法の開発:** 構造テンソル解析により画素の形状を数値化する技術、ならびに、オプティカルフロー解析により画素ごとの動きを数値化する技術を開発し、細胞の形と動きを自動解析する手法を確立した(Tamada and Igarashi, Nat Commun, 2017)。

(A02 公募・日置)

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

**神経回路構造解析:** 大脳新皮質の回路構造解析を進めた。コレシストキニン(CCK)を発現する GABA 細胞は、パルブアルブミンを発現する GABA 細胞の細胞体付近に強く入力し、部位入力指向性があることを明らかにした。(Hioki et al., 2018)。

(A02 公募・栗田)

**局所領域の識別手法の開発:** テクスチャ特徴として texton に基づいて局所領域を記述する手法およびランダムフォレストに基づく識別器を用いて識別する手法を開発し、iPS 細胞画像の識別課題に適用した。

● 特許出願・「顕微鏡への観察標本セット用具及び方法」発明者: 日置寛之、権利者: 同左、特願 2019-109509、2019 年 6 月 12 日出願、国内(外国出願無)・「標的タンパク質のイメージング方法」発明者: 日置寛之、山内健太、石田葉子、権利者: 同左、特願 2019-205623、2019 年 11 月 13 日出願、国内(外国出願無)

(A02 公募・塗谷)

**マルチモダル 2 光子顕微鏡観測系の確立と細胞生物学研究への応用:** 新規 SHG 専用色素である 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した。

(A02 公募・堀田)

**細胞内の粒子の検出:** 細胞内粒子の検出を、ある領域内から粒子中心を予測して投票する方法(Nishida et al. ISVC2016)や複数の CNN の適応統合(熊谷らバイオイメージインフォマティクス 2016)により精度を改善した。

**学習の効率化:** 画素毎の難易度に着目して難しい箇所を優先的に学習する枠組みを提案し、学習の効率化を実現した(Matuzuki et al. BIOSIGNAL2020)。

(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次元微分干渉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した(IPSJ Trans.(2016)等)

**多重線形スパースコーディング法の開発:** Multilinear Orthogonal Matching Pursuit (MOMP)法と K-CPD (CANDECOMP/PARAFAC Decomposition)法という2つの手法を開発し、多重線形スパースモデリング法を理論的に開発した。提案法を dynamic CT に適用し、高精度な肝臓腫瘍の鑑別ができるようになった(Pattern Recognition Letter (2020)等)。

(A02 公募・市村)

**偏光分解 SHG イメージング法による微小管構造変化の検出:** 顕微鏡下で SHG の偏光依存性を計測する技術を開発した(Kaneshiro, et al., Biophys. Physicobio. 2019, Shima, et al., J. Cell Biol. 2018)。

**ブリルアン散乱イメージングの高速化:** 細胞弾性を計測可能なレーザー走査型ブリルアン散乱顕微鏡を開発し、細胞内の弾性率マッピングを実現した。

(A02 公募・松田厚志)

**色収差補正法の開発:** 色収差を完全に補正する 4 つの条件を決定し、一部の成果を発表した。(Asakawa et al. Plos Genet 2019)

● 特許出願・「色収差補正方法」発明者: 松田厚志、原口徳子、権利者: 情報通信研究機構、特開 2015-216495、特願 2014-097942、平成 26 年 5 月 9 日出願、平成 30 年 9 月 7 日登録(特許第 6396072 号)(外国出願無)

(A02 公募・舟橋)

**深層学習による非染色新規スクリーニングアルゴリズムの構築:** 新規深層学習アルゴリズムを開発し、培養細胞

集団から個々の細胞を同定し、各細胞の状態を判別する学習器の構築を行った。

**線虫の3次元細胞セグメンテーション:**公募班である豊島班と線虫の3次元蛍光顕微鏡画像(カルシウムイメージング)のセグメンテーションを行う共同研究を開始した。

(A02 公募・青木)

**細胞間の不均一な分子活性によって細胞が死ぬか生きるかの運命が決まることを発見:** JNK と p38 の活性を同時に可視化する系を開発し、p38 の JNK の活性に対する負のフィードバック及び不均一なフィードバックによる細胞死が生じる割合の制御を発見した(Miura et al. Cell Rep 2018)。

(A02 公募・岡部)

**多数のスパイン形態データの定量的・客観的な解析手法の開発:**スパイン形態の特徴を多次元空間内で表現し、かつスパイン形態の時間的な変化をこれに加えて解析することにより、新しいスパイン分類を提案した。

(Kashiwagi et al. Nature Communications 2019)

(A02 公募・西澤)

**1.7 $\mu$ m 帯広帯域 SC 光源を用いた高侵達光コヒーレンス顕微鏡(OCM)の開発と深部イメージング:**ファイバレーザを用いた全ファイバ型の波長 1.7 $\mu$ m 帯広帯域 SC 光源, および長波長帯用フォトダイオードアレイと回折格子を用いた広帯域分光器を開発し、マウス脳において $\sim$ 1.8mm までの深部の高解像イメージングに成功した。

(A02 公募・川又)

**CRISPR-Cas9 活性調節法の開発:**gRNA に mismatch 配列を加える方法に加え、シトシンを gRNA の 5' 末端に孵化する C 付加法を開発した。

● 特許出願・「ゲノム編集された細胞の製造方法」発明者:川又理樹・鈴木淳史、権利者:国立大学法人九州大学、特願 2018-232946、2018 年 12 月 12 日出願、国内(国外でも出願中(出願番号:PCT/JP2019/048781))

(A02 公募・岡村)

**ナノ薄膜を用いたカバーガラスフリー生体深部イメージング法の開発:**フッ素系樹脂からなる撥水性ナノ薄膜を新規に創製した(H. Zhang et al. PLoS One 2020、計画班根本知己教授との共同研究)。

● 特許出願・「観察試料用被覆具、被覆具包装体及び観察試料の被覆方法」発明者:岡村陽介・張宏・喜多理王・木村啓志、権利者:東海大学、特願 2019-109896、国内(国外出願検討中)

(A02 公募・磯部)

**多焦点面同時 2 光子イメージング技術の開発:**50W, 100fs, 50MHz のファイバレーザを開発するとともに、11.8Hz で4つの焦点面を同時に2光子イメージングする技術を開発し、マウスの In-vivo カルシウムイメージングへ応用した(特許申請中)。

● 特許出願・「光切替器および観察装置」発明者:磯部圭佑, 緑川克美, 小坂田文隆特願 2018-157215, 2018 年 08 月 24 日出願、国内。

#### 研究項目 A03 ソフトウェア開発

(A03 公募・長島)

**ラマン分光画像の新規解析手法の開発:**過完備独立成分分析を用いたラマン分光画像の新規解析手法を開発し、ファブリー病や封入体筋炎患者の組織中の異常蓄積脂質の空間局在を明らかにした。

(A03 公募・玉田)

**生体の構造と運動を自動的に解析する技術の開発:**生体環境での細胞・細胞集団・生体組織・個体レベルの解析に使えるような画像解析技術の開発を行った。3D画像から神経細胞の分岐様式を数値化して細胞形態と走行経路を自動解析する技術、4D画像中の細胞や粒子をトラッキングする技術、神経活動の時空間伝搬特性の解析技術等を開発した。

(A03 公募・毛利)

**共焦点画像を用いた高速多点 FCS の実現:**これまで相分離液滴の流動性の検証に FRAP が用いられてきたが、細胞内では液滴が数百 nm と小さく適用が困難だった。我々は新規 FCS 法を開発することで、世界に先駆けて細胞内の生理的条件での液滴の FCS 計測を行うことに成功した(Y.Fujioka et al., Nature, 2020)。

(A03 公募・浜田)

**光ファイバーセンサーおよび携帯小型光検出器の作製:**光ファイバー断面、ねじり直径、ねじり回数 of 光量検出に対する影響を明らかにし脳内深部極小部位の遺伝子発現を計測する光ファイバーセンサーおよび携帯小型光検出器を作製した(The Journal of Biological and Chemical Luminescence, 2020)。

(A03 公募・日高)

**ノイズを含む CLSM 画像からのナノシート検出:**CLSM により、被写体の動態を細かく捉えているが高感度化によりノイズが多い高 FPS 画像系列{X}と、その逆(動きは荒いが比較的低ノイズ)である低 FPS 画像系列{Y}が得られたとき、{Y}に人工ノイズを加えたデータ{Y}から{Y}に映った液晶中ナノシートを検出する写像を U-net 法で構築し、高 FPS の不鮮明な動画系列{X}から安定的にナノシートを検出することが可能となった

(ICARCV2018, KEM.804.11-2019)。

(A03 公募・備瀬)

**低フレームレートでの多物体追跡技術の開発:**低フレームレートで高密度な環境下において、「細胞尤度マップの位置推定手法」及び「フレーム間細胞対応付けスコアの算出手法」を開発した。(MICCAI2019(採択率:30%)に採択)