

領域略称名：蛍光生体イメージ
領域番号：3204

平成27年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る事後評価報告書

「(研究領域名) 細胞機能と分子活性の多次元蛍光生体
イメージング」

(領域設定期間)

平成22年度～平成26年度

平成27年10月

領域代表者 (京都大学・大学院生命科学研究科・教授・松田 道行)

目 次

1. 研究領域の目的及び概要	9
2. 研究領域の設定目的の達成度	11
3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	14
4. 審査結果の所見及び中間評価で指摘を受けた事項への対応状況	15
5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	17
6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	20
7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	25
8. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	27
9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	31
10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	32
11. 総括班評価者による評価	33

研究組織

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	22113001 細胞機能と分子活性の 多次元蛍光生体イメージ ング	平成22年度～ 平成26年度	松田 道行	京都大学・生命科学研究科・教授	8
A01 計	22113002 細胞内情報伝達系の多 次元FRETイメージ ング	平成22年度～ 平成26年度	松田 道行	京都大学・生命科学研究科・教授	6
A01 計	22113003 ズームイン（高精細）と ズームアウト（広視野 ・深部）観察を可能にする 革新技术の開発	平成22年度～ 平成26年度	宮脇 敦史	独立行政法人理化学研究所・細胞機 能探索技術開発チーム・チームリー ダー	9
A01 計	22113004 新規 intravital 蛍光イ メージングシステムの 開発とがん微小環境の 解析	平成22年度～ 平成26年度	今村 健志	愛媛大学・医学（系）研究科（研究 院）・教授	1
A01 計	22113005 生体深部の可視化と操 作が同時に可能な個体 用 in vivo2 光子顕微鏡 の開発と応用	平成22年度～ 平成26年度	根本 知己	北海道大学・電子科学研究所・教授	4
A02 計	22113006 癌免疫応答と免疫病態の 機能的二光子イメージ ング	平成22年度～ 平成26年度	岡田 峰陽	独立行政法人理化学研究所・統合生 命医科学研究センター・チームリー ダー	1
A02 計	22113007 骨の生体イメージング による骨髄細胞・骨転移 癌の遊走・分化やニッチ 環境の可視化	平成22年度～ 平成26年度	石井 優	大阪大学・生命機能研究科・教授	1
A02 計	22113009 生体イメージングによ る血管新生シグナルの 時空間制御機構の解明	平成22年度～ 平成26年度	福原 茂朋	独立行政法人国立循環器病研究セン ター・室長	3

計画研究 計 8 件

A01 公	23113502 近赤外 T e t デグラト ンプローブによる新規 時空間分解イメージ ング手法の開発	平成 23 年度～ 平成 24 年度	三輪 佳宏	筑波大学・人間総合研究科・講師	1
A01 公	23113503 神経情報書込の分子機 構解明を目指した C a M キナーゼ活性プロー ブ開発と多重可視化	平成 23 年度～ 平成 24 年度	尾藤 晴彦	東京大学・医学系研究科・准教授	1
A01 公	23113504 超解像イメージングに 資する新規多色・多機能 蛍光色素群の開発	平成 23 年度～ 平成 24 年度	神谷 真子	東京大学・医学系研究科・助教	1
A01 公	23113505 分割蛍光タンパク質再 構成法を用いた生理機 能イメージング技術の 開発	平成 23 年度～ 平成 24 年度	小澤 岳昌	東京大学・理学系研究科・教授	2
A01 公	23113508 病的細胞の選択的可視 化を指向した低酸素応 答性蛍光プローブの開 発	平成 23 年度～ 平成 24 年度	田邊 一仁	京都大学・工学系研究科・准教授	1
A01 公	23113515 ランダムスキャン 2 光 子励起顕微鏡による神 経細胞機能の可視化	平成 23 年度～ 平成 24 年度	井上 貴文	早稲田大学・理工学術院・教授	1
A02 公	23113501 分割 R l u c e r V e n u s を用いたシナプス 形成・消失のリアルタイム イメージング	平成 23 年度～ 平成 24 年度	齊藤 健太	北海道大学・電子科学研究所・助教	2
A02 公	23113506 樹状細胞による末梢組 織由来抗原の C D 8 T 細胞に対する提示経路 の可視化による解明	平成 23 年度～ 平成 24 年度	戸村 道夫	東京大学・医学系研究科・助教	3

A02 公	23113507 三次元脳組織内イメージングによるニューロン極性化メカニズムの解明	平成23年度～ 平成24年度	榊原 明	名古屋大学・医学系研究科・助教	1
A02 公	23113509 がんの生命現象解明のためのナノキャリア型近赤外蛍光アクチベータブルプローブの開発	平成23年度～ 平成24年度	天満 敬	京都大学・薬学研・助教	1
A02 公	23113510 受精・着床の生体内蛍光イメージングと不妊・不育の病態解明	平成23年度～ 平成24年度	伊川 正人	大阪大学・微生物病研究所・准教授	1
A02 公	23113511 聴・平衡覚器官のイメージング解析～1分子から個体レベルまで～	平成23年度～ 平成24年度	齋藤 尚亮	神戸大学・医学系研究科・教授	2
A02 公	23113512 HB-EGF前駆体切断機構を利用したSHEDDING活性可視化と腫瘍転移予測	平成23年度～ 平成24年度	井上 博文	愛媛大学・医学系研究科・講師	1
A02 公	23113513 線虫におけるRasの活性化をモデルとしたタンパク質の活性の立体ライブイメージング	平成23年度～ 平成24年度	広津 崇亮	九州大学・理学系研究科・助教	1
A02 公	23113514 多光子顕微鏡によるマラリア肝細胞期免疫防御の生体イメージング	平成23年度～ 平成24年度	由井 克之	長崎大学・医歯薬研究科・教授	3
A02 公	23113517 T細胞のリンパ節間質高速遊走における細胞内動態と組織微小環境	平成23年度～ 平成24年度	片貝 智哉	関西医科大学・医学部・講師	2
A02 公	23113518 多次元蛍光イメージングを応用した下垂体後葉ホルモンの新たな脳内生理機能の探索	平成23年度～ 平成24年度	上田 陽一	産業医科大学・医学部・教授	1

A02 公	23113519 蛍光色素を利用したイ オンチャネルの開閉機 構の可視化	平成23年度～ 平成24年度	平野 美奈子	独立行政法人理化学研究所・研究員	1
A02 公	23113520 多角的蛍光イメージン グによる嗅覚神経回路 の機能構築原理の解明	平成23年度～ 平成24年度	宮坂 信彦	独立行政法人理化学研究所・研究員	3
A02 公	23113521 ユビキチン化と抑制性 マイクロクラスターの 分子イメージング解析	平成23年度～ 平成24年度	横須賀 忠	独立行政法人理化学研究所・研究員	1
A02 公	23113522 光活性化蛋白質を用い た二光子機能イメージ ング法の開発とシナプ ス構造可塑性の解析	平成23年度～ 平成24年度	実吉 岳郎	独立行政法人理化学研究所・研究員	1
A02 公	23113523 3次元蛍光イメージン グによる骨の形態と機 能のヘテロジェナイエ ティの網羅的可視化	平成23年度～ 平成24年度	飯村 忠浩	東京医科歯科大学・特任准教授	4
公募研究（平成23-24年度） 計 22 件					
A01 公	25113702 2つの新技術を応用し たイメージング手法の 確立	平成25年度～ 平成26年度	三輪 佳宏	筑波大学・医学医療系研究科・講師	1
A01 公	25113704 分割蛍光タンパク質再 構成法を用いた生理機 能イメージングの実践 応用研究	平成25年度～ 平成26年度	小澤 岳昌	東京大学・理学系研究科・教授	2
A01 公	25113706 細胞膜でのシグナル伝 達を探索する遺伝子コ ード型分子プローブ	平成25年度～ 平成26年度	佐藤 守俊	東京大学・総合文化研究科・准教授	2
A01 公	25113707 超解像イメージングに 資する新規多色・多機能 蛍光色素群の開発	平成25年度～ 平成26年度	神谷 真子	東京大学・医学系研究科・助教	1

A01 公	25113705 生体内で単一シナプス活動を可視化する技術の開発と最適化	平成25年度～ 平成26年度	喜多村和郎	東京大学・医学系研究科・准教授	1
A01 公	25113712 生体内蛋白質翻訳後修飾イメージング	平成25年度～ 平成26年度	木村 宏	大阪大学・生命機能研究科・准教授	1
A01 公	25113723 多重局在化法とワンショット構造化照明法による超解像蛍光生体イメージング手法の開発	平成25年度～ 平成26年度	岡田 康志	独立行政法人理化学研究所・研究員	1
A02 公	25113701 生物時計の多機能イメージング解析	平成25年度～ 平成26年度	榎木 亮介	北海道大学・医学系研究科・助教	2
A02 公	25113703 細胞内分子動態の可視化を利用した細胞間情報共有システムの解明	平成25年度～ 平成26年度	溝口 貴正	千葉大学・薬学研・助教	1
A02 公	25113708 免疫担当細胞の活性化の可視化とそれを用いた免疫反応の解析	平成25年度～ 平成26年度	安達 貴弘	東京医科歯科大学・難治研・准教授	1
A02 公	25113710 シェディング調節因子による血管収縮と透過性制御機構の解明	平成25年度～ 平成26年度	大野 美紀子	京都大学・医学系研究科・助教	2
A02 公	25113711 腫瘍細胞死誘導時における腫瘍貪食樹状細胞のCD8+T細胞活性化機構の可視化解明	平成25年度～ 平成26年度	戸村 道夫	京都大学・医学系研究科・准教授	2
A02 公	25113713 蛍光キネティクスによる、転写因子複合体の細胞分化・がん化に 관련된核内過程の研究	平成25年度～ 平成26年度	近藤 寿人	大阪大学・生命機能研究科・教授	1
A02 公	25113714 受精と妊娠の蛍光生体イメージング	平成25年度～ 平成26年度	佐藤 裕公	大阪大学・微生物病研究所・助教	3

A02 公	25113715 聴・平衡覚器官のイメージング解析～1分子から個体レベルまで～	平成25年度～ 平成26年度	齋藤 尚亮	神戸大学・医学研究科・教授	2
A02 公	25113716 マクロファージの異常な活性化に起因する慢性炎症発症機序の解明	平成25年度～ 平成26年度	堀川 一樹	徳島大学・ヘルス研・教授	1
A02 公	25113717 記憶T細胞によるマリア肝細胞期感染防御全貌の蛍光生体イメージング	平成25年度～ 平成26年度	由井 克之	長崎大学・医歯薬・教授	3
A02 公	25113718 蛍光シグナルを用いた膜タンパク質シェディングのイメージング	平成25年度～ 平成26年度	白壁 恭子	慶應義塾大学・医学部・講師	2
A02 公	25113720 自己反応性T細胞の胸腺組織内3次元機能的動態イメージング	平成25年度～ 平成26年度	植田 祥啓	関西医科大学・医学部・講師	1
A02 公	25113721 多次元蛍光イメージングによる下垂体後葉ホルモン分泌・局所神経回路の可視化と光制御	平成25年度～ 平成26年度	上田 陽一	産業医科大学・医学部・教授	1
A02 公	25113722 可視化基底膜をもちいた3次元構築による基底膜ダイナミクスの解析	平成25年度～ 平成26年度	伊原 伸治	国立遺伝学研究所・助教	1
A02 公	25113724 蛍光イメージングによる嗅覚系の機能的神経配線図の解読と再構築	平成25年度～ 平成26年度	宮坂 信彦	独立行政法人理化学研究所・研究員	3
A02 公	25113725 E3ユビキチンリガーゼの機能ドメイン形成によるT細胞活性化制御機構の解明	平成25年度～ 平成26年度	横須賀 忠	独立行政法人理化学研究所・研究員	1

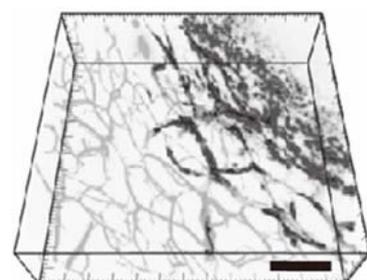
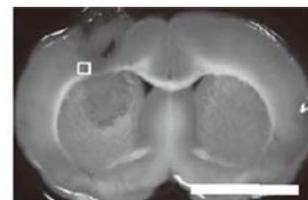
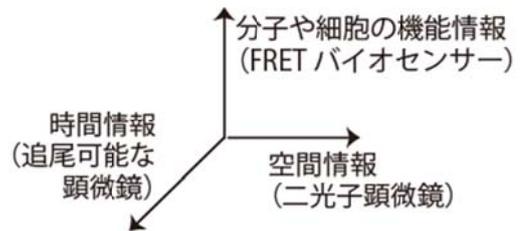
A02 公	25113726 二光子顕微鏡による光 刺激と二重FRET観 察技術の開発とシナプ ス構造可塑性の解析	平成25年度～ 平成26年度	実吉 岳郎	独立行政法人理化学研究所・研究員	1
公募研究（平成25-26年度） 計 24 件					

1. 研究領域の目的及び概要（2ページ程度）

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。

研究の学術的背景：

2008 および 2014 年度のノーベル賞に象徴されるように、蛍光生体イメージング技術の進歩には括目すべきものがある。様々な光学的特性をもつ蛍光蛋白が出現し、新しい動作原理の蛍光分子プローブが開発され、細胞周期や情報伝達分子の活性状態など、これまで生化学的にしか知ることのできなかった分子や細胞の**機能情報が可視化**できるようになった。松田（研究領域代表者）らの G タンパク質バイオセンサー Raichu、宮脇（計画研究担当者）らの細胞周期センサー Fucci の開発など、本邦はこの方面で世界に誇る実績を有している。また、蛍光生体イメージング技術の急速な発展は単に蛍光プローブの進歩のみならず顕微鏡の進歩に負うところも非常に大きい。本邦は四大光学顕微鏡メーカーのうち二社を有し、光学顕微鏡を用いた研究はお家芸の一つである。宮脇、今村（計画研究担当者）らは、Olympus および Nikon との共同研究を通じて、蛍光イメージング技術の高度化を図ってきた。また、二光子励起顕微鏡の開発により、組織を**三次元的に観察**することが可能となっている（右図）。根本（計画研究担当者）らは脳組織において 1 mm を超える深部までのイメージングに成功しており、これはおそらく世界最深である。一方、岡田（計画研究担当者）や石井（計画研究担当者）は、それぞれ免疫系や骨組織における二光子励起顕微鏡イメージングのエキスパートとして、生体内での細胞社会をリアルタイムに可視化し、大きなインパクトを与えた。さらに、自動焦点補正や追尾装置を備えた顕微鏡の開発は数日間に渡る観察を可能とし、**時間情報**が飛躍的に増大した。このように、時間、空間、機能と多次元的に観察することが可能になった**蛍光イメージングは、革命期を迎えている**といってもよい。



二光子顕微鏡を用いた脳腫瘍の血管周囲への浸潤過程の生体蛍光イメージング

どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる新たな研究領域」であるか：

では、上述のような個々の研究者の赫々たる業績が本邦の生物学全体のレベルアップに効率よく寄与しているかと言えば大いに疑問が残る。例えば、松田らが開発した Raichu バイオセンサーの数百件のリクエストの大半は欧米の研究者からであり、本邦の研究者からのリクエストの増加は、Raichu を使った欧米からの論文が出始めた最近になってからという状況である。本研究は、**蛍光バイオセンサーの開発および高度な顕微鏡イメージング**に実績のある研究者と、様々な研究分野において生体イメージングを駆使している新進気鋭の研究者とが**分野横断的に合力し**、多次元蛍光生体イメージングを基礎にする**ヴィヴィッドライフサイエンスの創成**を図るものである。



研究期間内に何をどこまで明らかにしようとするのか：

「百聞は一見に如かず」すなわち蛍光生体イメージングを用いた生命科学の発展が本研究領域の目的である。

項目 A01 では、多次元蛍光生体イメージング**技術の高度化**を計る。細胞周期、細胞死、幹細胞性などを可視化するバイオセンサーの新規開発、二光子励起顕微鏡で使用可能な高感度 FRET バイオセンサーの開発、分子機能を可視化する FRET バイオセンサーの網羅的开发、少ない侵襲で生体組織深部を観察する新しいモダリティによる二光子励起顕微鏡法の開発等を行う。

項目 A02 の研究では、多次元蛍光生体イメージングを駆使して**生命現象の理解**を進める。計画班の対象は次のものである。①リンパ組織における免疫細胞の相互作用、骨における血液系幹細胞、間葉系細胞、転移癌細胞の動態を、二光子励起顕微鏡を使って可視化する。②慢性炎症が生活習慣病を引き起こす機構を、蛍光生体イメージングを使って解明する。③血管新生における情報伝達分子の意義を、FRET バイオセンサーを用いて明らかにする。さらに公募研究において、様々な分野の新進の研究者を習合し、蛍光生体イメージング技術によるブレークスルーを目指した。

どのような取り組み（共同研究や研究人材の育成等）を通じて当該領域をどのように発展させるか

本邦においてはがん、神経、免疫、発生などの学問分野はあるものの、これらを横糸のように繋ぐ蛍光イメージングという領域は存在しなかった。ここに、『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』としての「蛍光生体イメージング領域」設立の意義がある。本研究領域は、『異なる学問分野の研究者が連携して行う共同研究等の推進により、当該研究領域の発展を目指している』。この目的のため、次の事業を行う。

1. **若手ワークショップ**： 生き生きとした若手による色鮮やかなイメージング研究会の意を込めて、**ヴィヴィッドワークショップ**と命名し、開催する。
2. **国内・国際シンポジウム**： 細胞生物学会等の学会と連携した研究報告会を開催することにより、より多くの研究者に本領域の研究内容を伝える工夫をする。また、国際シンポジウムも開催し、海外の研究者との交流も盛んにする。
3. **イメージング講習会**： 顕微鏡メーカーの協力を得て、細胞機能や分子活性を可視化する技術の講習会を開催する。
4. **バーチャル蛍光生体イメージングセンター**： 本邦の研究者の蛍光生体イメージング技術の向上に貢献し、ひいては生物学全般のレベルアップを行うことを目的とし、**バーチャル蛍光生体イメージングセンター**を立ち上げる。このセンターは、様々な疑問質問に答える Web 上でのサポートセンターおよびディスカッショングループを形成する。

2. 研究領域の設定目的の達成度（3ページ程度）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、どの程度達成できたか、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の達成度合いについて、具体的に記載してください。必要に応じ、公募研究を含めた研究項目ごとの状況も記述してください。

項目 X00 細胞機能と分子活性の多次元蛍光生体イメージング

● 研究会・内部評価会

キックオフとクロージングの二度の国際シンポジウムと毎年の内部評価会において、共同研究の推進と研究活動の広報が期待以上に進んだ。特に、最終年度の国際シンポジウムは特別講演の演者である Erik Betzig 博士が 2014 年度のノーベル賞を受賞したこともあり大変な活気となった。

● 若手ワークショップ

4 回のリトリートを行い、蛍光生体イメージを行う若手研究者のネットワークの構築が進んだ。若手研究の中には、計画班員の研究室に助教として採用されるものもあり、技術・人材交流に十分機能した。ほぼ期待通りの達成度である。

● イメージング講習会

数日間にわたるものから半日のものまで目的に応じた講習会を実施し技術の敷衍化を進めた。班員のいない東大医科研でも希望に応じる形で講習を行い、多くの研究者に技術を広めることができた。期待を超える達成度と言える。

● バーチャル蛍光生体イメージングセンター

雑誌紹介や技術相談などを実施した。領域内の情報交換に非常に役立った。

項目 A01 蛍光バイオセンサーと生体イメージング技術の高度化

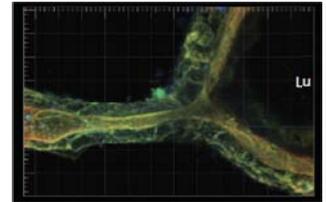
● 細胞内情報伝達系の多次元 FRET イメージング

目的： 生体に近い三次元環境での細胞内情報伝達のメカニズムを FRET バイオセンサーを使って明らかにすること、さらには FRET バイオセンサーを発現するトランスジェニックマウスの作成法を開発し、in vivo での分子活性イメージングを可能とすること、を目的とした。

達成度合い： 以下に記載の通り、予想を超えた成果を展開することができた。

① FRET バイオセンサーの安定発現系の開発： 三次元培養にて FRET バイオセンサーを用いるためには、これまで困難であった FRET バイオセンサーの安定発現を可能とする必要があった。この問題を piggyBac あるいは Tol2 トランスポゾンを用いることで解決した。

② 三次元培養系における上皮細胞がん化モデルの構築： 腎上皮細胞 MDCK の三次元培養系においてがん化モデルを構築し、Ras を活性化すると、細胞が重層化した腺腫様形態を誘導できることを見出した。この過程で、低分子量 GTP 結合タンパク質である Rac1 や Cdc42 が部位特異的に活性化されることを見出した。右図は Cdc42 が腺管の内腔で活性化されている様子を示している。



③ FRET バイオセンサー発現トランスジェニックマウスを用いた生体内での情報伝達分子活性の可視化： FRET バイオセンサーを発現するトランスジェニックマウスをもちいて好中球が血管外に遊走する際に ERK 活性が上昇すること、およびそれが好中球の血管外遊出および間質における遊走に必要なことを示した。

● ズームイン（高精細）とズームアウト（広視野・深部）観察を可能にする革新技术の開発

目的： 蛍光タンパク質技術と光学顕微鏡技術を新規に開発し、癌に関連する生物学的現象の時空間パターンを制御するメカニズムを調べる。Google Map のように、異なる空間スケール（動物個体、器官、組織、細胞、細胞内小器官、細胞内微小領域）を自由自在に往来しながら、複数の現象をイメージングすることによって癌バイオロジーの多角的な理解を目指す。

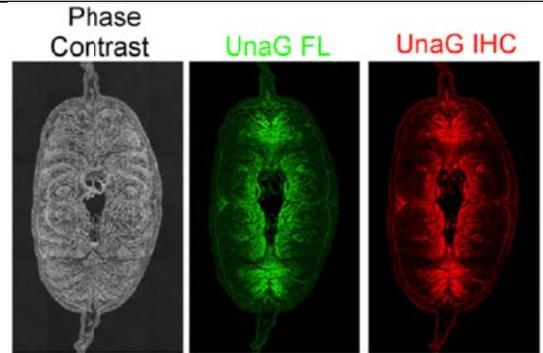
達成度合い： 以下に記載の通り、予想を大きく超えた成果を展開することができた。

① 細胞周期プローブ Fucci の開発： 細胞周期プローブ Fucci を恒常的に発現するトランスジェニックマウスおよびゼブラフィッシュを開発し、細胞周期が個体内でどのように制御されているかを網羅的に解析する系を確立した。

② レチノイン酸センサー GEPR1 の開発： ゼブラフィッシュ胚におけるレチノイン酸濃度の濃度勾配を初めて直接的に可視化した。

③ 生体固定試料を透明化する水溶液 Scale 試薬を開発： マウス脳の固定サンプルに適用し、神経回路や血管などの構造について大規模・高精細の 3 次元再構成が容易にできるようになった。

④ ニホンウナギの緑色蛍光タンパク質の UnaG 発見：
UnaG は、クラゲやサンゴ由来の蛍光タンパク質とはまったく異なり、ビリルビンが特異的に結合し蛍光性発色団として働くことを示した（右図）。

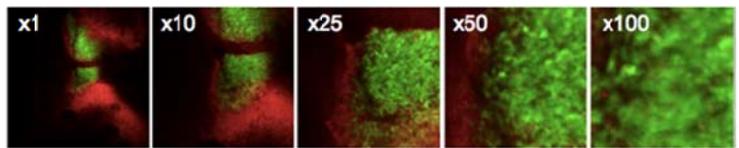


● 新規 intravital 蛍光イメージングシステムの開発とがん微小環境の解析

目的： がん幹細胞がニッチにおいて冬眠状態を保つことに着目し、生きているマウスのがん組織中でがん細胞の細胞周期を可視化し、G0/G1 期を指標にがん幹細胞様細胞を同定すること、およびその目的達成に必要な蛍光観察システムの開発が目的である。

達成度合い： 以下に記載の通り、期待した成果を展開することができた。

① 新規 intravital (生体) 蛍光観察システムの開発： 蛍光観察システムの開発に関しては、まず、蛍光ズーム顕微鏡 AZ100 をベースに、光源から検出系までを改良し、広い倍率を高空間分解能で可能な長波長対応の新規生体蛍光観察システムを構築し、実際に生体サンプルを使った画像取得をおこなった。また、同じ対象領域を、共焦点レーザー顕微鏡を用いて生体サンプルの画像を取得し、両者で得られた同一部位の画像を比較検討した。その基礎データをもとに、光学系を最適化し、蛍光ズーム顕微鏡 AZ100 に直接共焦点レーザー顕微鏡 A1 のヘッドを装着し、マウスに移植したがん細胞が形成する腫瘍塊の全体から 1 細胞レベルまでズームアップで観察できる新規生体蛍光観察システムを実際に構築することに成功した。



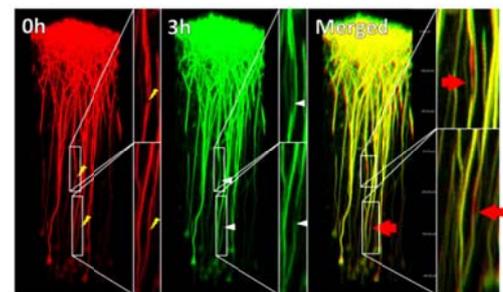
② In vivo 観察によるがんの増殖・悪性化における TGF- β /BMP シグナルの役割の解析： ヒト線維肉腫 HT1080 細胞を皮下移植したヌードマウスに TGF- β I 型レセプターキナーゼ阻害剤を投与し、その抗腫瘍効果をイメージングシステムで観察・評価した。イメージングによって薬剤投与初期の細胞変化を観察することに成功した。

● 生体深部の可視化と操作が同時に可能な個体用 in vivo 2 光子顕微鏡の開発と応用

目的： 新規レーザーや補償光学系、試料作製法の改善により、光による観察と操作を真の生体組織深部で実現する in vivo 2 光子顕微鏡の完成を目指した。さらに、新規蛍光タンパク質や光機能性分子の導入より、生体脳の神経伝達、分泌現象をモデルとして、生体内の分子機構を理解する新規イメージング手法を確立することも目標とした。

達成度合い： 以下に記載の通り、期待した成果を展開することができた。

① 生体脳深部イメージングにおける深部到達性の向上： 高度化を実施した 2 光子顕微鏡システムを用いて、麻酔下の H-line マウスの 2 光子 in vivo イメージングを実施したところ、最深部の生体脳断層イメージングに成功し、前半期では世界で初めて海馬 CA1 ニューロンの、さらに後半期では海馬歯状回のニューロンの世界で初めての in vivo イメージングに成功した。（右図）。また、今村班と in vivo 2 光子顕微鏡に関する研究情報の交換や議論を実施し、がんや破骨細胞の観察を実施した。



マウス生体脳における頂上樹状突起の光操作と経時時間

② マウス生体脳中での光刺激・光操作： 光刺激・光操作に関しても同様の光学的な解析を実施し、“in vivo” 光操作の可能性を開拓した。ここではマウス生体脳中の皮質深層でのレーザー光による神経線維破断をターゲットとし、その実現可能性を検討した。具体的には、同一のマウス個体において in vivo 2 光子イメージングをし、かつ生体脳中の神経細胞の局所に近赤外超短光パルスレーザー光を集中させることにより in vivo でレーザー破断を試みた。照射時間や浸液の屈折率等を最適化することにより、知る限り世界で初めて、脳表から 500 μ m 以上の深部で神経線維の in vivo 光操作・光破断に成功した（右図）。

項目 A02 多次元蛍光生体イメージングによる生命現象の解明

● 癌免疫応答と免疫病態の機能的 2 光子イメージング

目的： 胚中心反応のための細胞分化の場所と細胞移動経路の特定、T リンパ球が胚中心に留まるための分子メカニズム、CTL 形成におけるリンパ性組織中の樹状細胞のサブタイプの貢献度、さらに腫瘍組織中における CTL の増殖・分化におよぼす樹状細胞の役割を解明する。

達成度合い： 以下に記載の通り、期待した成果を展開することができた。

① 胚中心反応のための細胞分化の場所と細胞移動経路： B リンパ球の胚中心反応のための細胞分化は、濾胞外縁部の微小環境で起こり、その後 Bcl6 の働きで胚中心への移動が可能になることを見出した。

② 腫瘍組織中における CTL の増殖・分化におよぼす樹状細胞の役割： 抗原特異的な CD8 陽性 T リンパ球と最も効率的に安定接合するのは、皮膚からリンパ節に移動してきた CD103 陽性の樹状細胞であることが明らかにした。

● 骨の生体イメージングによる骨髄細胞・骨転移癌の遊走・分化やニッチ環境の可視化

目的： 骨髄内で分化・成熟する単球・マクロファージ、およびその特殊分化形である破骨細胞の遊走・分化・機能の in vivo での制御について、生体骨イメージング系を用いて解明すること、および高転移性がん細胞株や血液系悪性腫瘍の骨髄内ニッチ環境での動態について解析する。

達成度合い： 以下に記載の通り、期待した成果を展開することができた。

① 単球や破骨細胞などの骨髄細胞の機能・分化とそのニッチ環境： 骨髄内で分化・成熟する単球・マクロファージ、およびその特殊分化形である破骨細胞の遊走（ニッチへの位置決め）・その場での分化・機能の in vivo での制御、について、生体骨イメージング系を用いて解明を試みた。結果、破骨前駆細胞の遊走、そのメカニズムの一端を解明することが出来、破骨細胞の in vivo での活性制御機構をリアルタイムで解析することにも成功した。さらに破骨細胞分化とエピジェネティクスの関係も明らかにできた。

② 癌の骨転移メカニズム・癌細胞ニッチの各動態： 高転移性がん細胞株や血液系悪性腫瘍を蛍光標識し、これらの骨髄内ニッチ環境、およびその場での周囲環境とのクロストークについて実体的に解析を試み、白血病細胞を骨髄腔に生着させイメージングにより観察することに成功した。また白血病細胞の骨髄内動態の解析や、化学療法を施行時の細胞変化を解析することが出来た。さらに白血病細胞に対する抗腫瘍免疫の可視化系も樹立できた。免疫不全マウスへのがん細胞移植系では、Fucci を用い浸潤性の高い細胞のみを色分けして分取することに成功し、浸潤性のがん細胞に高く発現する分子を同定し、がんの進行を防ぐ新たな治療の可能性について明らかにした。

● 生体イメージングによる血管新生シグナルの時空間制御機構の解明

目的： 生きた個体における血管内皮細胞の“形態・運動”、“増殖”、“遺伝子発現”を観察し、さらにこれら細胞機能を制御するシグナル分子活性を可視化することで、血管ネットワーク形成のダイナミズムの解明を目指す。

達成度合い： 以下に記載の通り、期待した成果を展開することができた。

① 血管新生過程の内皮細胞の形態・運動を制御するシグナル伝達系： ゼブラフィッシュの尾側静脈叢形成における内皮細胞の糸状仮足形成、血管新生には Bmp シグナルが重要であることを示した。

② 血管形成における核転写調節因子 β -catenin の役割： Bmp による Aggf1 発現を介した β -catenin の活性化が重要であり、 β -catenin は Nr2f2 の発現を介して静脈内皮細胞の分化を誘導するとともに、静脈内皮細胞の生存を支えることで尾側静脈形成を制御していることを明らかにした。

③ 血管形成における内皮細胞増殖の役割とその制御機構： 内皮細胞増殖は、機能的な節間血管の形成には必要であるが、内皮細胞の遊走や節間血管の基本骨格の構築には必要ないことを明らかにした。

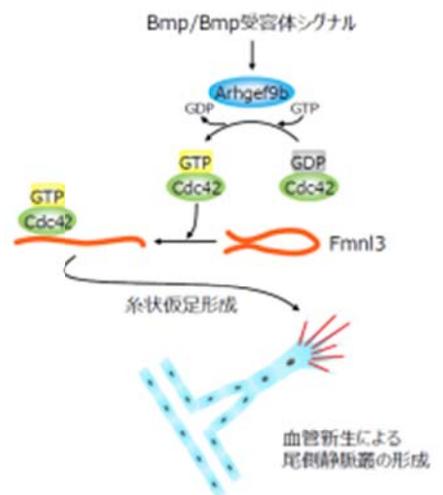


図1 尾側静脈叢の血管新生において内皮細胞の糸状仮足形成を制御するシグナル伝達系

3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況（1 ページ程度）

研究推進時に問題が生じた場合には、その問題点とそれを解決するために講じた対応策等について具体的に記述してください。また、組織変更を行った場合は、変更による効果についても記述してください。

組織運営に関する問題点

- **組織変更：** 研究費申請時に計画班員として予定していた西村智が最先端研究に採択されたため、班からの離脱を余儀なくされた。しかし、班友としてシンポジウムに参加するなど協力関係を維持することができたため、大きな問題とはならなかった。

研究推進に関する問題点

- **マウスイメージング：** 阪大では骨髄内ニッチでの細胞動態の追跡などはある程度の長期間に渡って、同一個体を観察する必要があった。ところが、多くの研究機関では生体イメージング用多光子励起顕微鏡は SPF 飼育施設外にあり、イメージングした個体を長期に維持することが極めて困難である。この問題点への対応は、通常は個別の研究室単位では難しく、研究機関や部局単位で対応を検討する必要がある。阪大においては、動物実験 WG にて上記の問題提起を行い、実験遂行中の動物については、准 SPF またはコンベンショナルレベルの飼育にて管理ができるような体制を整えた。京都大学においては、蛍光生体イメージング室という組織を創り、イメージング室に付属する SPF 飼育施設を構築した。愛媛大学ではもともとイメージング室が動物実験施設内にありそのような問題はないが、その分、アクセスに手間がかかるという問題もある。今後、各大学での経験を持ちより、どのように運営するのがいいか考える必要がある。
- **ゼブラフィッシュイメージング：** ある種の蛍光バイオセンサーを発現するトランスジェニックゼブラフィッシュでは、発現量が高いとセンサーの毒性により発生異常をきたすという問題が生じた。この問題を解決するため、感度が高く、発現量が低くても解析可能なバイオセンサーを用いて、トランスジェニックゼブラフィッシュを樹立した。
- **顕微鏡開発：** 刺激用レーザー光とイメージング用レーザー光を高効率でマージするための、近赤外の交替領域の狭い特殊な設計のダイクロイックミラーを、光学顕微鏡メーカーに製作を依頼したところ、納入に時間を要する可能性があった。そこで、研究者ができる範囲の開発をすすめることで期限内に研究を終了させることができた。

4. 審査結果の所見及び中間評価で指摘を受けた事項への対応状況（2 ページ程度）

審査結果の所見及び中間評価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。

<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>

- 特記すべきものはなかった。

<中間評価で指摘を受けた事項への対応状況>

- 進捗状況に関するコメント『新学術領域発足の効果及び学問として目指すところが明らかではないとの意見もあった』：
本研究領域は学問を横につなぐ技術の発展を目指す研究項目 1 と、様々な研究において蛍光生体イメージングを使う研究を項目 2 とし、その融合が新しい学問領域をつくり、予期せぬ研究成果を生み出すと主張してきた。そのため、班員間の共同研究を推進するほか、若手の合宿などで新分野を担う次世代の研究者の育成に努めた。明確な統計データを持っているわけではないが、免疫プロットティングの図がすべてという論文の数は減少し、多かれ少なかれ、蛍光イメージングの技術を使って研究を進めている研究者が増えているのは実感している。また、蛍光イメージングに強いという本邦の利点を多くの研究者に普及させるために、講習会を数多く実施しており、これもすぐに数字に結びついているわけではないが、研究分野のすそ野が広がっているのは実感できている。
- 研究組織に関するコメント『臨床への発展につながる研究に関して、積極的に公募研究により補填を希望する』：
公募班員の神谷らのプローブは外科手術での使用を目指して臨床医を巻き込んだ研究が開始されている。また、様々なプローブが臨床への応用を目指して開発されているほか、薬剤スクリーニングへの展開も進んでいる。
- 今後の研究領域の推進方策に関するコメント『バイオイメージング技術を研究に取り入れる際の注意点や工夫すべき点などについての情報発信も期待したい。』：
 - 書籍および総説の形で公開してきた。
in vivo イメージング 実験プロトコール 石井優（編） 羊土社 2013年1月
 - Web でマニュアルを公開した。
「多光子顕微鏡を用いたマウス生体イメージングマニュアル」
<http://www.imaging2.lif.kyoto-u.ac.jp/index.html> （総括班ホームページ）

● 研究成果に関するコメント『今後、共同研究成果の論文が期待される』:

特に計画班員と公募研究班員との公募研究を積極的に支援した。たとえば、若手ワークショップなどでの共同研究に関し、総括班から支援を行った。一方、技術をより広げていくためには、共同研究を要求しない研究資材の配布も積極的に実施してきた。発現プラスミドの配布を総括班で行っているほか、開発したマウスは基盤研などの公的機関からの配布を実施している。班員間での共同研究の成果もここ数年論文として発表されつつある。以下に代表的研究論文をリストアップしている（班員を下線で示す）。

Wakayama Y, Fukuhara S, Ando K, Matsuda M, Mochizuki N. Cdc42 mediates Bmp-induced sprouting angiogenesis through Fmnl3-driven assembly of endothelial filopodia in zebrafish. *Dev Cell*. 2015 Jan 12;32(1):109-22.

Uno SN, Kamiya M, Yoshihara T, Sugawara K, Okabe K, Tarhan MC, Fujita H, Funatsu T, Okada Y, Tobita S, Urano Y. A spontaneously blinking fluorophore based on intramolecular spirocyclization for live-cell super-resolution imaging. *Nat Chem*. 2014 Aug;6(8):681-9.

Ueyama T, Sakaguchi H, Nakamura T, Goto A, Morioka S, Shimizu A, Nakao K, Hishikawa Y, Ninoyu Y, Kassai H, Suetsugu S, Koji T, Fritsch B, Yonemura S, Hisa Y, Matsuda M, Aiba A, Saito N. Maintenance of stereocilia and apical junctional complexes by Cdc42 in cochlear hair cells. *J Cell Sci*. 2014 May 1;127(Pt 9):2040-52

Sugiyama M, Saitou T, Kurokawa H, Sakaue-Sawano A, Imamura T, Miyawaki A, Imura T. Live imaging-based model selection reveals periodic regulation of the stochastic G1/S phase transition in vertebrate axial development. *PLoS Comput Biol*. 2014 Dec 4;10(12):e1003957.

Kotani M, Kikuta J, Klauschen F, Chino T, Kobayashi Y, Yasuda H, Tamai K, Miyawaki A, Kanagawa O, Tomura M, Ishii M. Systemic circulation and bone recruitment of osteoclast precursors tracked by using fluorescent imaging techniques. *J Immunol*. 2013 Jan 15;190(2):605-12.

Kagawa Y, Matsumoto S, Kamioka Y, Mimori K, Naito Y, Ishii T, Okuzaki D, Nishida N, Maeda S, Naito A, Kikuta J, Nishikawa K, Nishimura J, Haraguchi N, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, Yamamoto H, Sekimoto M, Ishii H, Doki Y, Matsuda M, Kikuchi A, Mori M, Ishii M. Cell cycle-dependent Rho GTPase activity dynamically regulates cancer cell motility and invasion in vivo. *PLoS One*. 2013 Dec 30;8(12):e83629.

Hara-Miyauchi C, Tsuji O, Hanyu A, Okada S, Yasuda A, Fukano T, Akazawa C, Nakamura M, Imamura T, Matsuzaki Y, Okano HJ, Miyawaki A, Okano H. Bioluminescent system for dynamic imaging of cell and animal behavior. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Mar 9;419(2):188-93.

Dan S, Okamura M, Mukai Y, Yoshimi H, Inoue Y, Hanyu A, Sakaue-Sawano A, Imamura T, Miyawaki A, Yamori T. ZSTK474, a specific phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, induces G1 arrest of the cell cycle in vivo. *Eur J Cancer*. 2012 Apr;48(6):936-43.

Hirata E, Yukinaga H, Kamioka Y, Arakawa Y, Miyamoto S, Okada T, Sahai E, Matsuda M. In vivo fluorescence resonance energy transfer imaging reveals differential activation of Rho-family GTPases in glioblastoma cell invasion. *J Cell Sci*. 2012 Feb 15;125(Pt 4):858-68.

5. 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 ページ程度)

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。

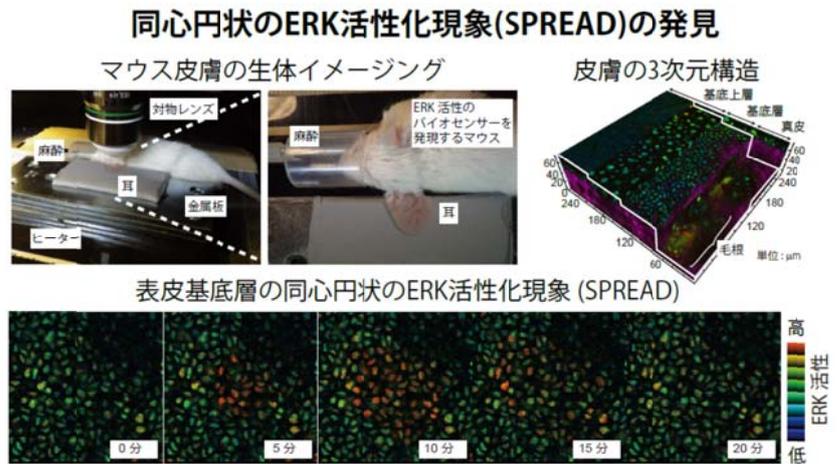
項目 A01 蛍光バイオセンサーと生体イメージング技術の高度化 計画班

皮膚における新規の増殖因子伝搬機構 SPREAD の発見：

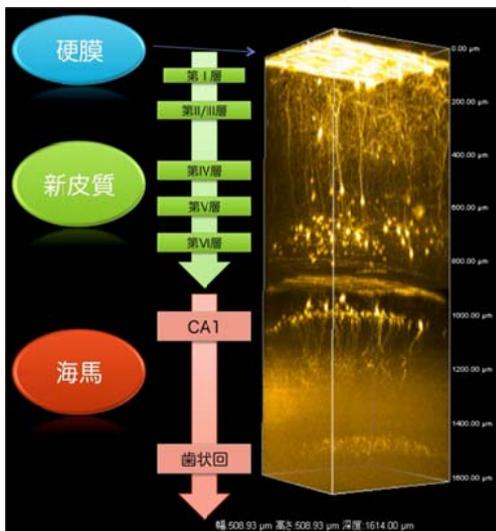
ERK 活性を検出する FRET バイオセンサーを発現するトランスジェニックマウスの耳介の皮膚を二光子顕微鏡で観察した。すると、細胞増殖が盛んな時期に、少数の細胞で ERK 活性が上昇しこれが周囲の細胞に伝搬する様子が観察された。この現象に SPREAD という名前を命名し、これが上皮細胞増殖因子による細胞活性化を反映していることを示した。

Hiratsuka, T., Fujita, Y., Naoki, H., Aoki, K., Kamioka, Y. & Matsuda,

M. Intercellular propagation of extracellular signal-regulated kinase activation revealed by in vivo imaging of mouse skin. *eLife* 4, e05178, (2015). doi:10.7554/eLife.05178



Cutting-Edge-Technology による世界最深部のマウス脳ライブイメージング：



新規ダイクロイックミラーを用いた同時レーザー光導入系を設計するなど、新規近赤外レーザー、補償光学系等を導入することで、生体深部で「光」による観察と操作を実施可能とする in vivo 2光子顕微鏡を構築した。これにより、最深部の生体脳断層イメージングに成功し、世界で初めて海馬 CA1 ニューロンの、さらに後半では海馬歯状回のニューロンの in vivo イメージングに成功した。

Kawakami R, Sawada K, Kusama Y, Fang YC, Kanazawa S, Kozawa Y, Sato S, Yokoyama H, *Nemoto T. In vivo two-photon imaging of mouse hippocampal neurons in dentate gyrus using a light source based on a high-peak power gain-switched laser diode. *Biomed Opt Express*. 2015 Feb 20;6(3):891-901. doi: 10.1364/BOE.6.000891.

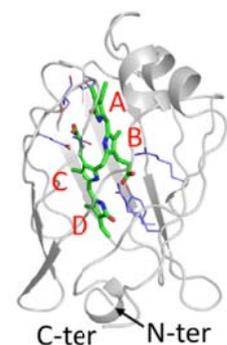
日本ウナギから単離した新規蛍光タンパク質 UnaG の発見：

新規半導体レーザー光源により、海馬歯状回・CA1、新皮質全層の同時 in vivo イメージングに世界で初めて成功 (*Biomed Opt.* 2015)

日本ウナギから新規蛍光タンパク質 UnaG を単離した。この分子はビリルビンと結合することで緑色蛍光を発するという特異的な性質を有している。ビリルビンの濃度依存性に蛍光を発する

ようになることからきわめて高感度のビリルビンセンサーの開発につながると期待される。

Kumagai, A., Ando, R., Miyatake, H., Greimel, P., Kobayashi, T., Hirabayashi, Y., Shimogori, T. & Miyawaki, A. A bilirubin-inducible fluorescent protein from eel muscle. *Cell* 153, 1602-1611, (2013). doi:10.1016/j.cell.2013.05.038



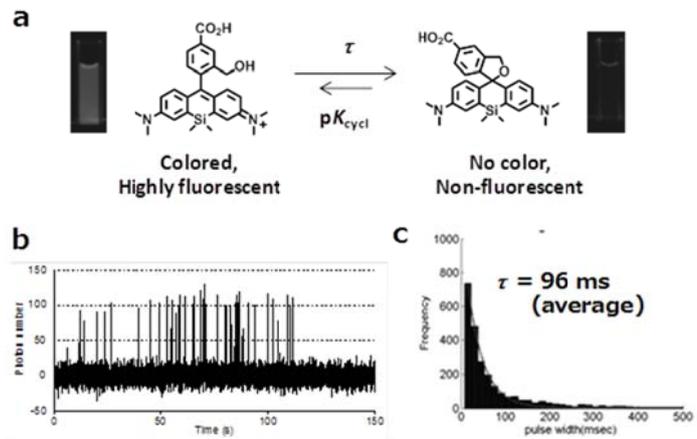
公募班

超解像イメージングプローブの開発：

強い光褪色耐性やマルチカラー性といった特徴を有するローダミンを基本骨格として、分子内スピロ環化平衡を動作原理とした独自の STORM プローブの開発に成功した。熱平衡により蛍光性・無蛍光性の二つの分子フォームをとり得る分子を活用し、分子内スピロ環化平衡定数 (pK_{cycl}) や分子内環化速度 (τ) を初めとする種々のパラメータを最適化することで、自発的にブリンキング (光明滅) するプローブ HMSiR を開発した。このプローブは、従来まではブリンキングを誘発する

のに必須とされてきたチオール (還元剤)・GLOX (酸素除去剤) などの添加物や強い励起光照射が不要であることから、自発的に光明滅するという新たな特性を示す STORM プローブとなった。本研究は公募班員の神谷真子と岡田康志の共同研究である。

Uno SN, *[Kamiya M](#), Yoshihara T, Sugawara K, Okabe K, Tarhan MC, Fujita H, Funatsu T, [Okada Y](#), Tobita S, *[Urano Y](#). A spontaneously blinking fluorophore based on intramolecular spirocyclization for live-cell super-resolution imaging. Nat Chem. 6, 681-689, (2014). doi: 10.1038/nchem.2002.

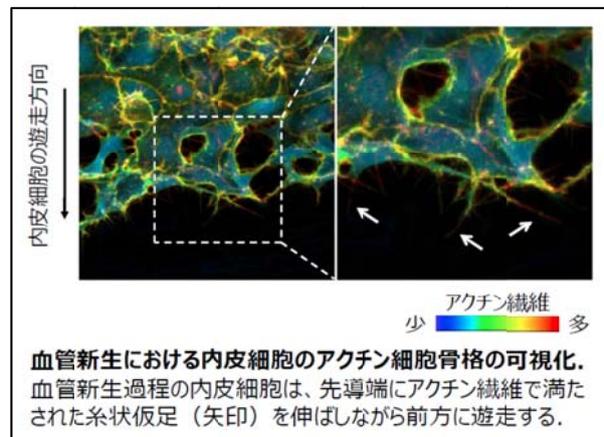


項目 A02 多次元蛍光生体イメージングによる生命現象の解明 計画班

Bmp シグナルによる血管新生機構の解明：

蛍光バイオセンサーを内皮細胞で発現するゼブラフィッシュを樹立し、血管新生において内皮細胞形態を制御するシグナル伝達系を解析した。これにより、血管新生によって尾側静脈が形成される際、Bone morphogenetic protein (Bmp) が内皮細胞の先端端で Cdc42 を活性化すること、さらに活性化した Cdc42 がアクチン調節タンパク質のひとつ Formin-like 3 を介して糸状仮足の形成を惹起することで内皮細胞の遊走および血管新生を誘導することを明らかにした。本研究は、計画班員の福原茂朋と松田道行の共同研究である。

Wakayama Y, *[Fukuhara S](#), Ando K, [Matsuda M](#), Mochizuki N. Cdc42 mediates Bmp-induced sprouting angiogenesis through Fmn3-driven assembly of endothelial filopodia in zebrafish. Dev Cell. 32, 109-122. (2015) doi: 10.1016/j.devcel.2014.11.024.



破骨細胞の分化における S-アデノシルメチオニンの意義：

破骨細胞の網羅的なメタボローム解析を行い、破骨細胞分化に伴ってメチオニンの代謝産物である S-アデノシルメチオニン (SAM) が上昇することを見出した。さらに破骨細胞の好氣的代謝を介して、SAM の産生が高まることが明らかとなった。続いて SAM の標的分子の同定を試み、Dnmt3a を同定した。Dnmt3a コンディショナルノックアウトマウスでは骨細胞の数と骨吸収が減少し、骨量が著しく増加することが分かった。詳細な解析を進めた結果、Dnmt3a は破骨細胞分化の抑制にかかわる転写因子 Irf8 の発現を抑制することで、破骨細胞の分化促進にかかわること、Irf8 の発現抑制にかかわる DNA メチル化制御には Dnmt3a と SAM による協調的作用が重要であることが明らかとなった。

Nishikawa K, Iwamoto Y, Kobayashi Y, Katsuoka F, Kawaguchi S, Tsujita T, Nakamura T, Kato S, Yamamoto M, Takayanagi H, *[Ishii M](#). DNA methyltransferase 3a regulates osteoclast differentiation by coupling to an S-adenosylmethionine-producing metabolic pathway. Nat Med. 21:281-287, (2015). doi: 10.1038/nm.3774.

Bリンパ球の胚中心反応のための細胞分化の時空間制御機構の解明：

免疫応答中のBリンパ球が、胚中心反応の開始前に、濾胞外縁部と呼ばれる別の場所でBcl6の発現を開始することを発見した。さらに、Bcl6の機能が欠損したBリンパ球では、濾胞外縁部から胚中心反応への細胞の移動が著しく損なわれていることがライブイメージングにより明らかとなった(右図)。これらの結果から、Bリンパ球の胚中心反応のための細胞分化は、濾胞外縁部の微小環境で起こり、その後Bcl6の働きで胚中心への移動が可能になると結論付けられた。また、生理活性因子「脂質メディエーター」の1つであるスフィンゴシン1リン酸(S1P)の受容体S1PR2が、胚中心反応に参加するTリンパ球では他のTリンパ球に比べて強く発現していることを見出した。S1PR2をTリンパ球で欠損させると、胚中心へ局在するTリンパ球の数が半減することが分かった。ライブイメージング解析の結果、S1PR2を発現するTリンパ球は胚中心内に留まろうとするのに対して、S1PR2を欠損したTリンパ球では、胚中心内に留まろうとする動きが全く観察されなかった。これらのことから、S1PR2は胚中心反応に参加するTリンパ球が胚中心内に留まるために必要な因子であることが明らかとなった。Kitano M, Moriyama S, Ando Y, Hikida M, Mori Y, Kurosaki T, *Okada T. Bcl6 protein expression shapes pre-germinal center B cell dynamics and follicular helper T cell heterogeneity. *Immunity*. 34, 961-972, (2011). doi: 10.1016/j.immuni.2011.03.025.

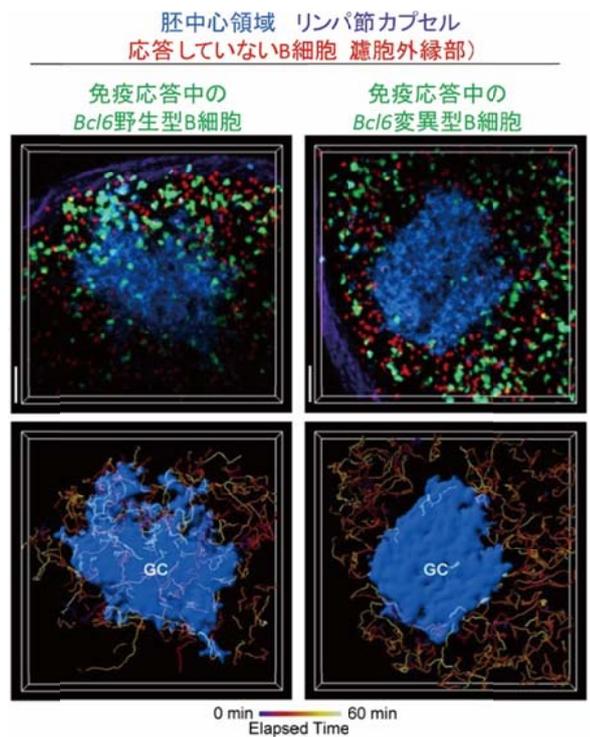


図1. Bリンパ球の胚中心への移入にBcl6が重要であることを示すライブイメージングデータ

公募班

内耳有毛細胞におけるCdc42の意義の解明：

内耳有毛細胞特異的Cdc42 KOマウスが、①「正常聴覚獲得後に多彩な聴毛の形態異常による緩徐進行性の75dB程度の高度難聴を呈する」、②「Cdc42は聴毛の形成過程よりむしろ維持期に機能する」、③「Cdc42は聴毛膜に局在する」、④「その活性化は聴毛の上半(先端)部の方が下半(基)部よりも強い(FRET法により証明)」等の4つの事実を世界に先駆けて明らかにした。本研究は公募班員の齋藤尚亮と計画班員の松田道行との共同研究である。

Ueyama T, Sakaguchi H, Nakamura T, Goto A, Morioka S, Shimizu A, Nakao K, Hishikawa Y, Ninoyu Y, Kassai H, Suetsugu S, Koji T, Fritzsche B, Yonemura S, Hisa Y, Matsuda M, Aiba A, *Saito N. Maintenance of stereocilia and apical junctional complexes by Cdc42 in cochlear hair cells. *J Cell Sci*. 127:2040-2052, (2014). doi: 10.1242/jcs.143602.

6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5ページ程度）

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。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。また、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。また、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。

項目 X00 蛍光バイオセンサーと生体イメージング技術の高度化

総括班

(1) 研究会・内部評価会：

- ① 国際シンポジウム「Casting Light on Life」
日 時：平成 22 年 12 月 1 日～2 日
場 所：東京都港区
参加者： 約 100 名
- ② 公開シンポジウム「生体の生理や病理の統合的解明を目指す「光」を用いた可視化・操作法の展開」および研究代表者会議
日 時：平成 23 年 6 月 29～30 日
場 所：札幌市
参加者： 約 200 名
- ③ 千里ライフサイエンスセミナー「細胞の“こころ”を生きた個体で観察する一蛍光生体イメージングの最前線」および研究代表者会議
日 時：平成 25 年 1 月 23～24 日
場 所：大阪府豊中市
参加者： 約 100 名
- ④ 公開シンポジウム「最新の光学イメージングと生体観察」および研究代表者会議
日 時：平成 25 年 5 月 20～21 日
場 所：大阪府豊中市
- ⑤ 国際シンポジウム「Bioimaging—a paradigm shift for the life sciences.」
日 時：平成 26 年 7 月 15 日～18 日
場 所：北海道ニセコ町
参加者：約 100 名
- ⑥ 「細胞機能と分子活性の多次元蛍光生体イメージング」国際シンポジウムおよび研究代表者会議
日 時：平成 27 年 1 月 26 日～28 日
場 所：京都市
参加者：310 名
展示企業：15 社

(2) 若手ワークショップ (Vivid Workshop)：

- ① 第 1 回。
日 時：平成 23 年 3 月 10 日～12 日
場 所：長野県茅野市
計画班 9 名、一般 15 名、班員ならびに事務局 6 名 合計 30 名。
- ② 第 2 回
日 時：平成 24 年 3 月 1 日～3 日
場 所：石川県加賀市
参加者：24 名、班員ならびに事務局 6 名 合計 30 名
- ③ 第 3 回
日時：平成 25 年 2 月 21 日～23 日
場所：石川県加賀市
参加者：28 名、班員ならびに事務局 7 名 合計 35 名
- ④ 第 4 回
日 時：平成 26 年 2 月 20 日～22 日
場 所：石川県加賀市
参加者：26 名、班員ならびに事務局 8 名 合計 34 名

(3) イメージング講習会：

- ① 平成 23 年度イメージング講習会
日 時：平成 23 年 7 月 19 日～21 日
場 所：愛媛大学医学部プロテオ医学研究センター

- ② 平成 24 年度画像解析講習会
日 時：平成 24 年 3 月 6 日～7 日
場 所：京都大学医学研究科
- ③ FRET バイオセンサー発現マウスを使った二光子顕微鏡技術講習会
日 時：平成 24 年 3 月 21 日～22 日
場 所：京都大学医学研究科
- ④ 平成 24 年度イメージング講習会
日 時：平成 24 年 7 月 24 日～27 日
場 所：愛媛大学医学部プロテオ医学研究センター
- ⑤ 平成 24 年度イメージング講習会
日 時：平成 24 年 12 月 18 日～19 日
場 所：東京大学医科学研究所
- ⑥ 平成 25 年度イメージング講習会
日 時：平成 25 年 7 月 23 日～26 日
場 所：愛媛大学医学部総合研究支援センター（INCS）
- ⑦ 多光子顕微鏡生体イメージング講習会
日 時：平成 25 年 9 月 17 日
場 所：京都大学医学研究科
- ⑧ 平成 25 年度イメージング講習会
日 時：平成 26 年 1 月 30 日～31 日
場 所：東京大学医科学研究所
- ⑨ 平成 26 年度蛍光生体イメージ講習会
京都大学に蛍光生体イメージング室が設置されたことに伴い、平成 26 年度からは毎月 1 回の講習会を定期的に開催した。

(4) 技術支援：

ホームページに資料提供ページを作成し、蛍光バイオセンサーの発現プラスミド等を供与した。

平成 22 年度： 80 件
平成 23 年度： 96 件
平成 24 年度： 101 件
平成 25 年度： 130 件
平成 26 年度： 107 件

(5) アウトリーチ活動

- ① 京都大学蛍光生体イメージング室オープンラボ
日 時：平成 25 年 9 月 17 日
場 所：京都大学医学研究科 A 棟
参加者：同志社中学校生徒他 35 名
- ② 公開シンポジウム「第 6 回形態科学シンポジウム『医学・生物学研究の魅力を語る：高校生のための集い』」
日本学術会議主催
日 時：平成 25 年 10 月 12 日
場 所：京都大学医学研究科
参加者：約 100 名 の関西圏の高校生
- ③ NHK（Eテレ）の高校講座 生物「体液と生体防御 ～体を守る細胞のネットワーク～」
日 時：平成 23 年 12 月 9 日
内 容：本研究課題の成果を紹介する免疫細胞イメージング動画の提供
- ④ 日本免疫学会のアウトリーチ活動イベント「免疫ふしぎ未来 2012」
日 時：平成 24 年 8 月 19 日
場 所：日本科学未来館
内 容：本研究課題の成果に関連するアトラクションを開催

以下の研究成果については査読のある欧文雑誌に発表した論文のうち代表的なものに限定した。

項目 A01 蛍光バイオセンサーと生体イメージング技術の高度化

計画班

- Hiratsuka T, Fujita Y, Naoki H, Aoki K, Kamioka Y, Matsuda M. Intercellular propagation of extracellular signal-regulated kinase activation revealed by in vivo imaging of mouse skin. *Elife*. 2015 Feb 10;4:e05178. doi:10.7554/eLife.05178.
- Hirata E, Girotti MR, Viros A, Hooper S, Spencer-Dene B, Matsuda M, Larkin J, Marais R, Sahai E. Intravital Imaging Reveals How BRAF Inhibition Generates Drug-Tolerant Microenvironments with High Integrin β 1/FAK Signaling. *Cancer Cell*. 2015 Apr 13;27(4):574-88. doi: 10.1016/j.ccell.2015.03.008.

3. Mizuno R, Kamioka Y, Kabashima K, Imajo M, Sumiyama K, Nakasho E, Ito T, Hamazaki Y, Okuchi Y, Sakai Y, Kiyokawa E, Matsuda M. In vivo imaging reveals PKA regulation of ERK activity during neutrophil recruitment to inflamed intestines. *J Exp Med*. 2014 Jun 2;211(6):1123-36. doi: 10.1084/jem.20132112.
4. Goto A, Sumiyama K, Kamioka Y, Nakasyo E, Ito K, Iwasaki M, Enomoto H, Matsuda M. GDNF and endothelin 3 regulate migration of enteric neural crest-derived cells via protein kinase A and Rac1. *J Neurosci*. 2013 Mar 13;33(11):4901-12. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4828-12.2013.
5. Hirata E, Yukinaga H, Kamioka Y, Arakawa Y, Miyamoto S, Okada T, Sahai E, Matsuda M. In vivo fluorescence resonance energy transfer imaging reveals differential activation of Rho-family GTPases in glioblastoma cell invasion. *J Cell Sci*. 2012 Feb 15;125(Pt 4):858-68. doi: 10.1242/jcs.089995.
6. Kamioka Y, Sumiyama K, Mizuno R, Sakai Y, Hirata E, Kiyokawa E, Matsuda M. Live imaging of protein kinase activities in transgenic mice expressing FRET biosensors. *Cell Struct Funct*. 2012;37(1):65-73.
7. Aoki K, Kumagai Y, Sakurai A, Komatsu N, Fujita Y, Shionyu C, Matsuda M. Stochastic ERK activation induced by noise and cell-to-cell propagation regulates cell density-dependent proliferation. *Mol Cell*. 2013 Nov 21;52(4):529-40.
8. Miyawaki A, Niino Y. Molecular Spies for Bioimaging-Fluorescent Protein-Based Probes. *Mol Cell*. 2015 May 21;58(4):632-643. doi: 10.1016/j.molcel.2015.03.002. Review.
9. Tsutsui H, Jinno Y, Shoda K, Tomita A, Matsuda M, Yamashita E, Katayama H, Nakagawa A, Miyawaki A. A diffraction-quality protein crystal processed as an autophagic cargo. *Mol Cell*. 2015 Apr 2;58(1):186-93. doi: 10.1016/j.molcel.2015.02.007. Epub 2015 Mar 12.
10. Madisen L, Garner AR, Shimaoka D, Chuong AS, Klapoetke NC, Li L, van der Bourg A, Niino Y, Egolf L, Monetti C, Gu H, Mills M, Cheng A, Tasic B, Nguyen TN, Sunkin SM, Benucci A, Nagy A, Miyawaki A, Helmchen F, Empson RM, Knöpfel T, Boyden ES, Reid RC, Carandini M, Zeng H. Transgenic mice for intersectional targeting of neural sensors and effectors with high specificity and performance. *Neuron*. 2015 Mar 4;85(5):942-58. doi: 10.1016/j.neuron.2015.02.022.
11. Kiyomatsu H, Oshima Y, Saitou T, Miyazaki T, Hikita A, Miura H, Iimura T, Imamura T. Quantitative SHG imaging in osteoarthritis model mice, implying a diagnostic application. *Biomed Opt Express*. 2015 Jan 8;6(2):405-20. doi: 10.1364/BOE.6.000405. eCollection 2015 Feb 1.
12. Koga S, Oshima Y, Honkura N, Iimura T, Kameda K, Sato K, Yoshida M, Yamamoto Y, Watanabe Y, Hikita A, Imamura T. In vivo subcellular imaging of tumors in mouse models using a fluorophore-conjugated anti-carcinoembryonic antigen antibody in two-photon excitation microscopy. *Cancer Sci*. 2014 Oct;105(10):1299-306. doi: 10.1111/cas.12500.
13. Inoue Y, Iemura S, Natsume T, Miyazawa K, Imamura T. Suppression of p53 activity through the cooperative action of Ski and histone deacetylase SIRT1. *J Biol Chem*. 2011 Feb 25;286(8):6311-20. doi: 10.1074/jbc.M110.177683. Epub 2010 Dec 13.
14. Kawakami R, Sawada K, Kusama Y, Fang YC, Kanazawa S, Kozawa Y, Sato S, Yokoyama H, Nemoto T. In vivo two-photon imaging of mouse hippocampal neurons in dentate gyrus using a light source based on a high-peak power gain-switched laser diode. *Biomed Opt Express*. 2015 Feb 20;6(3):891-901. doi: 10.1364/BOE.6.000891. eCollection 2015 Mar 1.
15. Ogata S, Miki T, Seino S, Tamai S, Kasai H, Nemoto T. A novel function of Noc2 in agonist-induced intracellular Ca²⁺ increase during zymogen-granule exocytosis in pancreatic acinar cells. *PLoS One*. 2012;7(5):e37048. doi: 10.1371/journal.pone.0037048. Epub 2012 May 17.
16. Aoyagi Y, Kawakami R, Osanai H, Hibi T, Nemoto T. A rapid optical clearing protocol using 2,2'-thiodiethanol for microscopic observation of fixed mouse brain. *PLoS One*. 2015 Jan 29;10(1):e0116280. doi: 10.1371/journal.pone.0116280. eCollection 2015.

公募班

1. Nihongaki Y, Kawano F, Nakajima T, Sato M. Photoactivatable CRISPR-Cas9 for optogenetic genome editing. *Nat Biotechnol*. 2015 Jun 15. doi: 10.1038/nbt.3245. [Epub ahead of print]
2. Komatsu H, Yoshihara K, Yamada H, Kimura Y, Son A, Nishimoto S, Tanabe K. Ruthenium complexes with hydrophobic ligands that are key factors for the optical imaging of physiological hypoxia. *Chemistry*. 2013 Feb 4;19(6):1971-7. doi: 10.1002/chem.201202809. Epub 2012 Dec 20.
3. Fujii H, Inoue M, Okuno H, Sano Y, Takemoto-Kimura S, Kitamura K, Kano M, Bitto H. Nonlinear decoding and asymmetric representation of neuronal input information by CaMKII α and calcineurin. *Cell Rep*. 2013 Apr 25;3(4):978-87. doi: 10.1016/j.celrep.2013.03.033. Epub 2013 Apr 18.
4. Sato Y, Mukai M, Ueda J, Muraki M, Stasevich TJ, Horikoshi N, Kujirai T, Kita H, Kimura T, Hira S, Okada Y, Hayashi-Takanaka Y, Obuse C, Kurumizaka H, Kawahara A, Yamagata K, Nozaki N, Kimura H. Genetically encoded system to track histone modification in vivo. *Sci Rep*. 2013;3:2436. doi: 10.1038/srep02436.
5. Takai A, Nakano M, Saito K, Haruno R, Watanabe TM, Ohyanagi T, Jin T, Okada Y, Nagai T. Expanded palette of Nano-lanterns for real-time multicolor luminescence imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Apr 7;112(14):4352-6. doi: 10.1073/pnas.1418468112. Epub 2015 Mar 23.
6. Kawano F, Suzuki H, Furuya A, Sato M. Engineered pairs of distinct photoswitches for optogenetic control of cellular proteins. *Nat Commun*. 2015 Feb 24;6:6256. doi: 10.1038/ncomms7256.

7. Tran MT, Tanaka J, Hamada M, Sugiyama Y, Sakaguchi S, Nakamura M, Takahashi S, Miwa Y. In vivo image analysis using iRFP transgenic mice. *Exp Anim*. 2014;63(3):311-9.
8. Sakabe M, Asanuma D, Kamiya M, Iwatate RJ, Hanaoka K, Terai T, Nagano T, Urano Y. Rational design of highly sensitive fluorescence probes for protease and glycosidase based on precisely controlled spirocyclization. *J Am Chem Soc*. 2013 Jan 9;135(1):409-14. doi: 10.1021/ja309688m. Epub 2012 Dec 26.

項目 A02 多次元蛍光生体イメージングによる生命現象の解明

計画班

1. Kikuta J, Wada Y, Kowada T, Wang Z, Sun-Wada GH, Nishiyama I, Mizukami S, Maiya N, Yasuda H, Kumanogoh A, Kikuchi K, Germain RN, Ishii M. Dynamic visualization of RANKL and Th17-mediated osteoclast function. *J Clin Invest*. 2013 Feb;123(2):866-73. doi: 10.1172/JCI65054. Epub 2013 Jan 16.
2. Kikuta J, Kawamura S, Okiji F, Shirazaki M, Sakai S, Saito H, Ishii M. Sphingosine-1-phosphate-mediated osteoclast precursor monocyte migration is a critical point of control in antitumor-resorptive action of active vitamin D. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Apr 23;110(17):7009-13. doi: 10.1073/pnas.1218799110. Epub 2013 Apr 8.
13. Nishikawa K, Iwamoto Y, Kobayashi Y, Katsuoka F, Kawaguchi S, Tsujita T, Nakamura T, Kato S, Yamamoto M, Takayanagi H, Ishii M. DNA methyltransferase 3a regulates osteoclast differentiation by coupling to an S-adenosylmethionine-producing metabolic pathway. *Nat Med*. 2015 Mar;21(3):281-7. doi: 10.1038/nm.3774. Epub 2015 Feb 23.
17. Kitano M, Okada T. Four-dimensional tracking of lymphocyte migration and interactions in lymph nodes by two-photon microscopy. *Methods Enzymol*. 2012;506:437-54. doi: 10.1016/B978-0-12-391856-7.00047-0.
18. Kitano M, Moriyama S, Ando Y, Hikida M, Mori Y, Kurosaki T, Okada T. Bcl6 protein expression shapes pre-germinal center B cell dynamics and follicular helper T cell heterogeneity. *Immunity*. 2011 Jun 24;34(6):961-72. doi: 10.1016/j.immuni.2011.03.025.
19. Moriyama S, Takahashi N, Green JA, Hori S, Kubo M, Cyster JG, Okada T. Sphingosine-1-phosphate receptor 2 is critical for follicular helper T cell retention in germinal centers. *J Exp Med*. 2014 Jun 30;211(7):1297-305. doi: 10.1084/jem.20131666. Epub 2014 Jun 9.
20. Fukuhara S, Zhang J, Yuge S, Ando K, Wakayama Y, Sakaue-Sawano A, Miyawaki A, Mochizuki N. Visualizing the cell-cycle progression of endothelial cells in zebrafish. *Dev Biol*. 2014 Sep 1;393(1):10-23. doi: 10.1016/j.ydbio.2014.06.015. Epub 2014 Jun 26.
21. Wakayama Y, Fukuhara S, Ando K, Matsuda M, Mochizuki N. Cdc42 mediates Bmp-induced sprouting angiogenesis through Fmn13-driven assembly of endothelial filopodia in zebrafish. *Dev Cell*. 2015 Jan 12;32(1):109-22. doi: 10.1016/j.devcel.2014.11.024.
22. Kashiwada T, Fukuhara S, Terai K, Tanaka T, Wakayama Y, Ando K, Nakajima H, Fukui H, Yuge S, Saito Y, Gemma A, Mochizuki N. β -Catenin-dependent transcription is central to Bmp-mediated formation of venous vessels. *Development*. 2015 Feb 1;142(3):497-509. doi: 10.1242/dev.115576. Epub 2015 Jan 6.

公募班

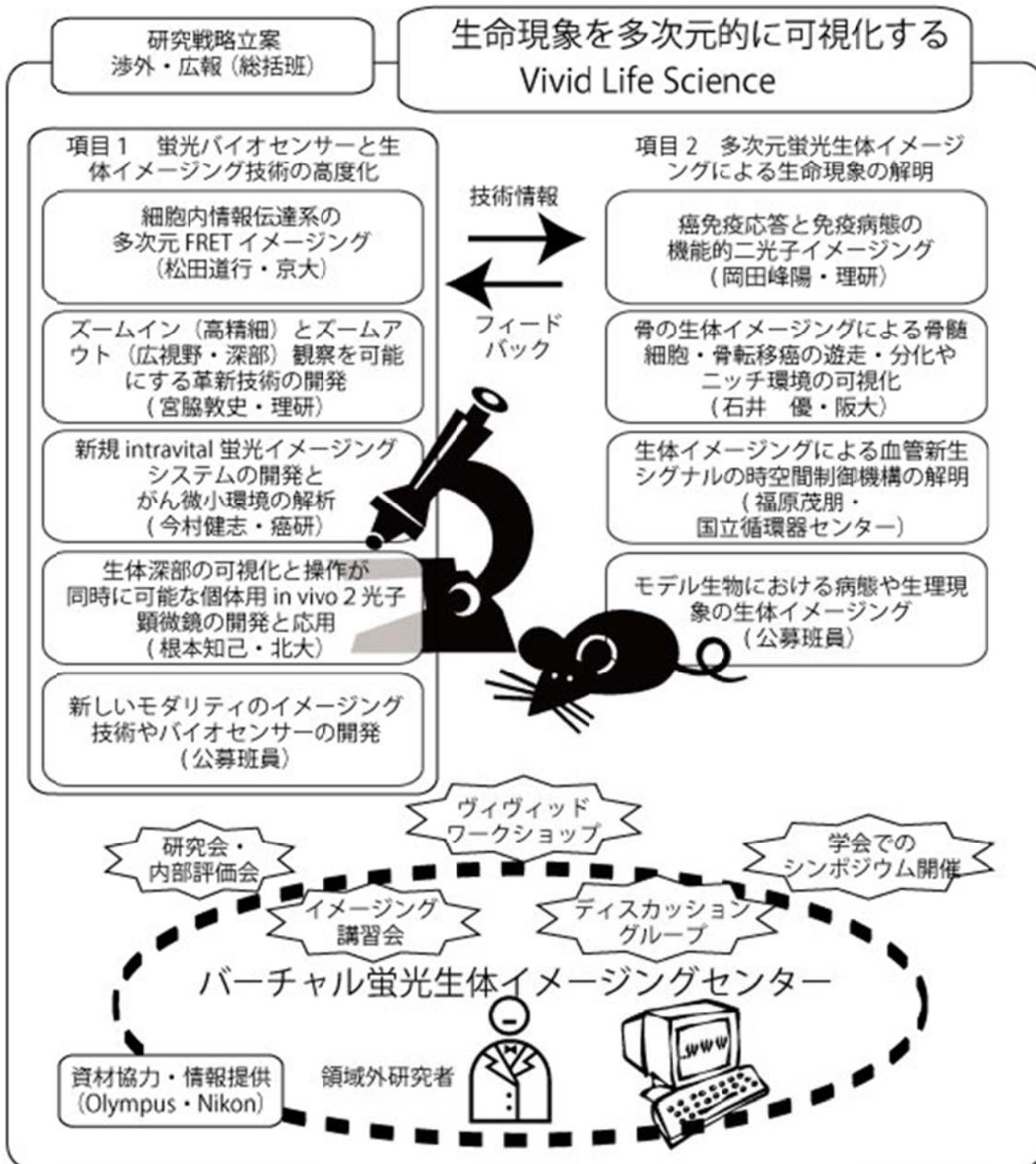
1. Tokuhiko K, Ikawa M, Benham AM, Okabe M. Protein disulfide isomerase homolog PDILT is required for quality control of sperm membrane protein ADAM3 and male fertility [corrected]. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Mar 6;109(10):3850-5. doi: 10.1073/pnas.1117963109. Epub 2012 Feb 22.
2. Inoue H, Sakaue T, Ozawa T, Higashiyama S. Spatiotemporal visualization of proHB-EGF ectodomain shedding in living cells. *J Biochem*. 2013 Jul;154(1):67-76. doi: 10.1093/jb/mvt030. Epub 2013 Apr 18.
3. Sakakibara A, Sato T, Ando R, Noguchi N, Masaoka M, Miyata T. Dynamics of centrosome translocation and microtubule organization in neocortical neurons during distinct modes of polarization. *Cereb Cortex*. 2014 May;24(5):1301-10. doi: 10.1093/cercor/bhs411. Epub 2013 Jan 10.
4. Shimizu Y, Temma T, Hara I, Makino A, Kondo N, Ozeki E, Ono M, Saji H. In vivo imaging of membrane type-1 matrix metalloproteinase with a novel activatable near-infrared fluorescence probe. *Cancer Sci*. 2014 Aug;105(8):1056-62. doi: 10.1111/cas.12457. Epub 2014 Jul 31.
5. Hirano M, Onishi Y, Yanagida T, Ide T. Role of the KcsA channel cytoplasmic domain in pH-dependent gating. *Biophys J*. 2011 Nov 2;101(9):2157-62. doi: 10.1016/j.bpj.2011.09.024. Epub 2011 Nov 1.
6. Katakai T, Habiro K, Kinashi T. Dendritic cells regulate high-speed interstitial T cell migration in the lymph node via LFA-1/ICAM-1. *J Immunol*. 2013 Aug 1;191(3):1188-99. doi: 10.4049/jimmunol.1300739. Epub 2013 Jul 1.
7. Saito K, Chang YF, Horikawa K, Hatsugai N, Higuchi Y, Hashida M, Yoshida Y, Matsuda T, Arai Y, Nagai T. Luminescent proteins for high-speed single-cell and whole-body imaging. *Nat Commun*. 2012;3:1262. doi: 10.1038/ncomms2248.
8. Harumiya S, Yoshino A, Hayashizaki K, Mizuno K, Yakura H, Adachi T. A system for reconstructing B cell antigen receptor signaling in the mouse myeloma J558L cell line. *Arch Biochem Biophys*. 2013 May;533(1-2):18-24. doi: 10.1016/j.abb.2013.02.008. Epub 2013 Feb 27.
9. Lacroix B, Bourdages KG, Dorn JF, Ihara S, Sherwood DR, Maddox PS, Maddox AS. In situ imaging in C.

- C. elegans* reveals developmental regulation of microtubule dynamics. *Dev Cell*. 2014 Apr 28;29(2):203-16. doi: 10.1016/j.devcel.2014.03.007.
10. Brancaccio M, Enoki R, Mazuski CN, Jones J, Evans JA, Azzi A. Network-mediated encoding of circadian time: the suprachiasmatic nucleus (SCN) from genes to neurons to circuits, and back. *J Neurosci*. 2014 Nov 12;34(46):15192-9. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3233-14.2014. Review.
 11. Yokosuka T, Takamatsu M, Kobayashi-Imanishi W, Hashimoto-Tane A, Azuma M, Saito T. Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J Exp Med*. 2012 Jun 4;209(6):1201-17. doi: 10.1084/jem.20112741. Epub 2012 May 28.
 12. Miyasaka N, Arganda-Carreras I, Wakisaka N, Masuda M, Sümbül U, Seung HS, Yoshihara Y. Olfactory projectome in the zebrafish forebrain revealed by genetic single-neuron labelling. *Nat Commun*. 2014 Apr 9;5:3639. doi: 10.1038/ncomms4639.
 13. Morimura H, Tanaka S, Ishitobi H, Mikami T, Kamachi Y, Kondoh H, Inouye Y. Nano-analysis of DNA conformation changes induced by transcription factor complex binding using plasmonic nanodimers. *ACS Nano*. 2013 Dec 23;7(12):10733-40. doi: 10.1021/nn403625s. Epub 2013 Nov 12.
 14. Okigawa S, Mizoguchi T, Okano M, Tanaka H, Isoda M, Jiang YJ, Suster M, Higashijima S, Kawakami K, Itoh M. Different combinations of Notch ligands and receptors regulate V2 interneuron progenitor proliferation and V2a/V2b cell fate determination. *Dev Biol*. 2014 Jul 15;391(2):196-206. doi: 10.1016/j.ydbio.2014.04.011. Epub 2014 Apr 24.
 15. Mashiko D, Fujihara Y, Satouh Y, Miyata H, Isotani A, Ikawa M. Generation of mutant mice by pronuclear injection of circular plasmid expressing Cas9 and single guided RNA. *Sci Rep*. 2013 Nov 27;3:3355. doi: 10.1038/srep03355.
 16. Bosch M, Castro J, Saneyoshi T, Matsuno H, Sur M, Hayashi Y. Structural and molecular remodeling of dendritic spine substructures during long-term potentiation. *Neuron*. 2014 Apr 16;82(2):444-59. doi: 10.1016/j.neuron.2014.03.021.
 17. Ohkubo J, Ohbuchi T, Yoshimura M, Maruyama T, Ishikura T, Matsuura T, Suzuki H, Ueta Y. Electrophysiological effects of kainic acid on vasopressin-enhanced green fluorescent protein and oxytocin-monomeric red fluorescent protein 1 neurones isolated from the supraoptic nucleus in transgenic rats. *J Neuroendocrinol*. 2014 Jan;26(1):43-51. doi: 10.1111/jne.12128.
 18. Tomiyama T, Ueda Y, Katakai T, Kondo N, Okazaki K, Kinashi T. Antigen-specific suppression and immunological synapse formation by regulatory T cells require the Mst1 kinase. *PLoS One*. 2013 Sep 9;8(9):e73874. doi: 10.1371/journal.pone.0073874. eCollection 2013.
 19. Hiraoka Y, Matsuoka T, Ohno M, Nakamura K, Saijo S, Matsumura S, Nishi K, Sakamoto J, Chen PM, Inoue K, Fushiki T, Kita T, Kimura T, Nishi E. Critical roles of nardilysin in the maintenance of body temperature homeostasis. *Nat Commun*. 2014;5:3224. doi: 10.1038/ncomms4224.
 20. Shirakabe K, Shibagaki Y, Yoshimura A, Koyasu S, Hattori S. A proteomic approach for the elucidation of the specificity of ectodomain shedding. *J Proteomics*. 2014 Feb 26;98:233-43. doi: 10.1016/j.jprot.2014.01.012. Epub 2014 Jan 20.
 21. Horikawa K. Recent progress in the development of genetically encoded Ca²⁺ indicators. *J Med Invest*. 2015;62(1-2):24-8. doi: 10.2152/jmi.62.24.
 22. Kimura K, Kimura D, Matsushima Y, Miyakoda M, Honma K, Yuda M, Yui K. CD8⁺ T cells specific for a malaria cytoplasmic antigen form clusters around infected hepatocytes and are protective at the liver stage of infection. *Infect Immun*. 2013 Oct;81(10):3825-34. doi: 10.1128/IAI.00570-13. Epub 2013 Jul 29.
 23. Takahashi H, Adachi N, Shirafuji T, Danno S, Ueyama T, Vendruscolo M, Shuvaev AN, Sugimoto T, Seki T, Hamada D, Irie K, Hirai H, Sakai N, Saito N. Identification and characterization of PKC γ , a kinase associated with SCA14, as an amyloidogenic protein. *Hum Mol Genet*. 2015 Jan 15;24(2):525-39. doi: 10.1093/hmg/ddu472. Epub 2014 Sep 12.

7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2ページ程度）

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、どのように研究組織間の連携や計画研究と公募研究の調和を図ってきたか、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。

「蛍光バイオセンサーと生体イメージング技術の高度化」を研究する項目 A01 と「多次元蛍光生体イメージングによる生命現象の解明」項目 A02 とを総括班の下に置いた。この二つの研究項目が有機的に協力することにより、多次元機能イメージングを目指す新規の蛍光生体イメージング技術の開発を進めながら、この先端技術を速やかに病態解明や生理機能の探索に使い、生命科学のブレークスルーを目指した研究を遂行した。



以下に具体的な共同研究の成果をいくつか例示する（公募班員を赤字で、計画班員を青字で示している）。

1. 癌の骨転移メカニズム・癌細胞ニッチの各動態解析（石井優・大阪大学、宮脇敦史・理研、松田道行・京都大学）： 宮脇や松田らの開発したバイオセンサーを用いて、石井らが癌細胞浸潤機構を解析した。
2. 新規 intravital(生体)蛍光観察システムの開発と In vivo 観察（今村健志・愛媛大学、宮脇敦史・理研）： 宮脇らの開発したバイオセンサーを in vivo への研究へと今村らが用途を広げる研究を行った。
3. 血管新生過程の内皮細胞の形態・運動を制御するシグナル伝達系の解析（福原茂朋・国立循環器病センター、松田道行・京都大学）： 松田らの開発したバイオセンサーを用いて、福原らが血管新生機構を解析した。
4. 内耳有毛細胞における Cdc42 の機能解析（齋藤尚亮・神戸大、松田道行・京都大学）： 松田らの開発した FRET バイオセンサー発現トランスジェニックマウスを用いて、齋藤らが Cdc42 の内耳における機能を解析した。
5. ナルディライジン(NRDc)欠損マウスの解析（大野美紀子・京都大学、松田道行・京都大学）： 松田らの開発した FRET バイオセンサー発現トランスジェニックマウスを用いて、大野らがナルディライジン(NRDc)欠損マウスにおける PKA の機能を解析した。
6. 超解像顕微鏡に用いる新規蛍光分子の開発（神谷真子・東京大学、岡田康志・理研）： 神谷らの開発した新規蛍光分子を岡田らが超解像顕微鏡観察へと応用を広げた。
7. インフルエンザ感染細胞のライブイメージング（安達貴弘・医科歯科大、由井克之・長崎大、石井優・大阪大学）： インフルエンザ研究を行っている安達を、多光子顕微鏡によるイメージング技術を有している由井、石井が観察をサポートした。

上記の共同研究以外にも、シンポジウム、内部評価会、若手ワークショップ、技術講習会などを通して、多くの情報が共有された。例えば、三輪佳宏・筑波大の開発した無蛍光試料は市販されるまえに多くの班員が用いることになったし、松田道行・京都大学の開発したマウス固定装置は多光子顕微鏡生体イメージングにおける有用なツールとして広まっている。バイオセンサーや蛍光タンパク質は、総括班を通して、あるいは宮脇を始めとする計画研究者から多くの公募班員に提供された。

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

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。

技術講習会： 研究費で購入した顕微鏡をより多くの研究者に使用してもらい、技術を敷衍するために、技術講習会を実施してきた。これらの講習会に遠方より参加する研究者には旅費を補助するなどの活動を行った。

京都大学： 初年度の予算にて購入した多光子顕微鏡を用いて、イメージング講習会を行った。その後、他の予算による顕微鏡の追加などもあり、蛍光生体イメージング室として関西圏のイメージング拠点へと発展しつつある。現在、月に二回の定期的なイメージング講習会の他、画像解析講習会や、最先端顕微鏡講習会などを頻繁に開催している。

愛媛大学： 毎年、3日間にわたる集中トレーニングコースの技術講習会を行っている。計画班員の今村健志が企画し、他の計画班員が毎年参加して講師を務めている。

東京大学医科学研究所： 東京大学医科学研究所イメージング室との共催で、今村健志が企画し、計画班員のサポートの元、毎年、出前講習会を行っている。

大阪大学： 石井優が企画し、年1回のイメージング講習会を行っている。またライフサイエンスセンタービルにおいて、より一般向けの講習会も開催している。

若手ワークショップ： 別に記載しているので詳細は省略する。旅費および宿泊費は総括班が負担することで、若手の参加を促した。

国際シンポジウム： キックオフとクロージングの二度のシンポジウムで、著名な外国の研究者を交えて班員の情報交換をすることができた。キックオフシンポジウムは武田財団のサポートによったが、クロージングシンポジウムは総括班の費用で開催した。若手の研究者に旅費をサポートした。若手の研究者にとってはノーベル賞受賞者と直接話をして研究の素晴らしさを知る良い機会となった。最終年度の総括班の費用の大半を使うことになったが、十二分の効果が得られたと言える。

研究資材配布： 総括班では蛍光タンパク質、蛍光 FRET バイオセンサーなどを発現する遺伝子を配布している。これらは比較的安価に研究の成果を多くの研究者に知ってもらう方法であった。

・研究費の使用状況

(1) 主要な物品明細 (計画研究において購入した主要な物品 (設備・備品等。実績報告書の「主要な物品明細書」欄に記載したもの。) について、金額の大きい順に、枠内に収まる範囲で記載してください。)

年度	品名	仕様・性能等	数量	単価 (円)	金額 (円)	設置(使用)研究機関
23	インキュベーター 一蛍光顕微鏡	オリンパス(株) LCV110 オリンパス(株)	1	14,997,150	14,997,150	京都大学
	ボックス型共焦点レーザー操作型顕微鏡 FV10i	FV10C-W3-SP1	1	4,952,745	4,952,745	京都大学
	顕微鏡コントローラーシステム	オリンパス(株) FV10C-W3-SP2	1	2,875,635	2,875,635	京都大学
	電動 XY ステージ外	オリンパス(株) MTP-AS01-FV	1	2,736,342	2,736,342	京都大学
	マルチアルゴンレーザー	オリンパス(株) FV5-LAMAR-2	1	1,701,000	1,701,000	京都大学
	コンピュータワークステーション	米国ベクトン・ディッキンソン BD FACS Aria 用	1	1,160,250	1,160,250	京都大学
24	バイオハザードセフティキャビネット	シンガポール共和国エスコ社 LA2-3N7	1	999,600	999,600	京都大学
25	倒立型電動リサーチ顕微鏡	オリンパス(株) IX83	1	7,892,850	7,892,850	京都大学
	ガス混合装置	オリンパス(株) GM-4000 CO2 流量・濃度可変タイプ	1	831,600	831,600	京都大学
26	研究用保冷庫	パナソニックヘルスケア(株) MPR-1411	1	772,800	772,800	京都大学
	Cool LED4 波長 LED 光源ユニット	オリンパス(株)	1	4,876,200	4,876,200	京都大学
	フルイディクスフルコンバージョンアップグレードキット	米国ベクトン・ディッキンソン社	1	8,262,000	8,262,000	京都大学

(2) 計画研究における支出のうち、旅費、人件費・謝金、その他の主要なものについて、年度ごと、費目別に、金額の大きい順に使途、金額、研究上必要な理由等を具体的に記述してください。

【平成22年度】

- ・旅費
該当なし
- ・人件費・謝金
研究遂行に係る人員の雇用経費：2,661,934円
(研究遂行上、実験、解析を行う人員雇用の為に必要)
- ・その他
光熱水量：910,200円
(実験設備の維持、管理に必要)

【平成23年度】

- ・旅費
招聘旅費：2,026,020円
(年数回行うイメージング講習会、セミナー開催に係る講師及び参加若手研究者の移動・宿泊費及び班会議へ参加の若手研究者の移動・宿泊費として必要)
旅費：713,650円
(研究の成果発表及び情報収集の為に移動、宿泊に必要)
- ・人件費・謝金
人件経費：4,766,573円
(研究遂行上、実験、解析を行う人員雇用の為に必要)
講演・研究指導謝金：434,700円
(年数回行うイメージング講習会の講師への謝金として必要)
- ・その他
冊子・ポスター印刷費：559,761円
(共催の学会、班会議等のポスター及び冊子の作成・印刷が必要)
Web維持管理費：280,875円
(当該研究、進捗等の広報活動として必要)

【平成24年度】

- ・旅費
招聘旅費：2,489,419円
(年数回行うイメージング講習会、セミナー開催に係る講師及び参加若手研究者の移動・宿泊費及び班会議へ参加の若手研究者の移動・宿泊費として必要)
旅費：1,535,160円
(研究成果の発表、情報収集、共同研究施設への移動、宿泊に必要)
- ・人件費・謝金
人件費：3,269,378円
(研究遂行上、実験、解析を行う人員雇用の為に必要)
講演謝金：243,091円
(当該研究に関連する講師を招いて、研究に関する講演を行い人材育成にも役立てる為に必要)
- ・その他
修理費：932,778円
(当該経費にて購入した実験に使用している機械の修理費として必要)
動物飼育管理委託費：902,836円
(実験に必要なマウスの飼育管理の委託に必要)
Web維持管理費：828,975円
(当該研究、進捗等の広報活動として必要)
冊子印刷費：666,750円
(当該研究経過報告書・班会議抄録・Vividワークショッププログラム冊子の作成・印刷が必要)
会議開催費(会場費・音響設備等含む)：501,165円
(班会議を行うにあたり会場設備の確保が必要)

【平成25年度】

- ・旅費
旅費：1,340,720円
(研究成果の発表、情報収集、共同研究施設への移動、宿泊に必要)
招聘旅費：1,223,410円
(年数回行うイメージング講習会、セミナー開催に係る講師及び参加若手研究者の移動・宿泊費及び班会議へ参加の若手研究者の移動・宿泊費として必要)
- ・人件費・謝金
人件費：3,749,117円
(研究遂行上、実験、解析を行う人員雇用の為に必要)
- ・その他
動物飼育管理委託費：1,238,168円
(実験に必要なマウスの飼育管理の委託に必要)
Web維持管理費：795,900円
(当該研究、進捗等の広報活動として必要)
マウス検査等の委託費：631,539円
(独自には行えないマウス検査等の外部委託が必要)
会議開催費(会場費・音響設備等含む)：493,605円
(班会議を行うにあたり会場設備の確保が必要)

【平成26年度】

- ・旅費
招聘旅費：8,727,171円
(研究国際シンポジウムへの招聘外国演者、国内演者、若手研究者の移動・宿泊費として必要)

旅費：953,640円
(当該研究国際シンポ、学会での研究成果の発表、情報収集の為に移動、宿泊に必要)
- ・人件費・謝金
人件費：4,016,490円
(研究遂行上、実験、解析を行う人員雇用の為に必要)
- ・その他
保守契約料：1,888,950円
(研究に利用している大型顕微鏡の故障の頻発により、保守契約料が必要)
会議開催委託費：1,409,516円
(国際会議開催にあたり、開催に係る設営、諸手続き手配を行う業者委託が必要)
Web維持管理費：1,145,520円
(当該研究、進捗等の広報活動ならびに国際シンポジウム開催の周知、遂行に必要)
会議開催費(会場費・音響設備費)：229,973円
(共催の大87回日本生化学会会場・音響費として必要)

(3) 最終年度(平成26年度)の研究費の繰越しを行った計画研究がある場合は、その内容を記述してください。

- **細胞内情報伝達系の多次元 FRET イメージング 松田道行(京都大学)**
FRETバイオセンサー発現トランスジェニックマウスを用いた研究を進めているが、耐震改修に伴うマウスのSPF化などの作業のため計画遂行に遅れが生じた。

9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度（1ページ程度）

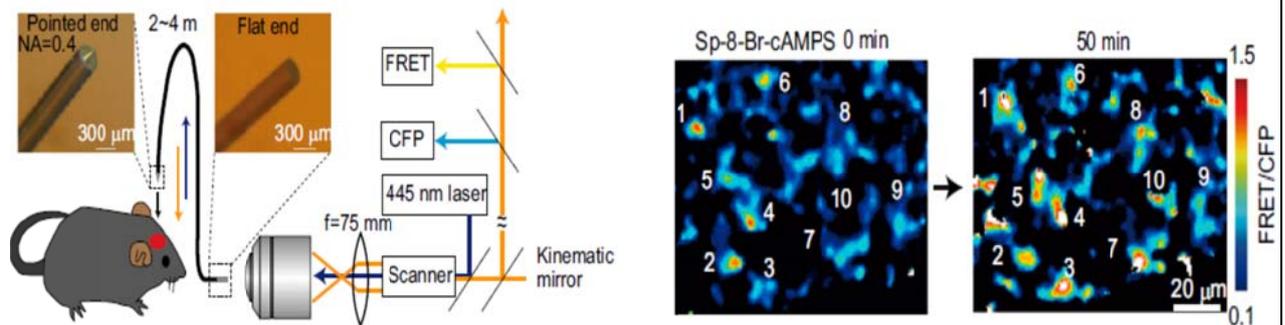
研究領域の研究成果が、当該学問分野や関連分野に与えたインパクトや波及効果などについて記述してください。

- **蛍光生体イメージング：** 多光子顕微鏡を使った *in vivo* imaging による研究がルーチンのものとなりつつある。松田道行（京大）、宮脇敦史（理研）、石井優（阪大）など計画班員は、国内外のシンポジウムや学会に招待講演を依頼されており、多くの研究者が興味を持っていることを実感している。例えば、多光子顕微鏡を用いた蛍光生体イメージングは、神経科学や免疫学等の研究分野で一定数が使われるのみであったが、最近では、がんや代謝などの研究分野でも論文が多く発表されるようになった。さらに、このような分野の発展を反映して、さまざまな大学の共通機器施設としてイメージング室が設置されるようになってきている。イメージング室担当者の会議が2年前より開催されるようになり、そのネットワークのホームページも立ち上がっている。

Bioimage. JP <http://www.bioimage.jp/home>

- **蛍光タンパク質・蛍光プローブ：** 宮脇敦史（理研）らはレチノイン酸の FRET バイオセンサーの開発や、ビリルビンに反応する蛍光タンパク質 UnaG の開発など、蛍光イメージングの未来を広げる研究を続けており、国内外の様々な分野の研究者にインパクトを与えている。松田道行（京大）らが開発した FRET バイオセンサー発現トランスジェニックマウスは医薬品基盤研究所より国内外の研究者に頒布されており、今後の成果が期待されている。すでに、大阪バイオサイエンス研究所の船曳和雄・中西重忠らは、このマウスを用いて、大脳基底核の ERK マップキナーゼとプロテインキナーゼ A (PKA) 活性を生きたマウスでリアルタイムに観察することに成功した。カルシウムや電位を測定するという研究はこれまでもあったが、タンパク質リン酸化酵素の活性をリアルタイムに観察できるようになったのは初めてであり、今後の神経科学の方向性を替えるものと期待される。Goto, A., Nakahara, I., Yamaguchi, T., Kamioka, Y., Sumiyama, K., Matsuda, M., Nakanishi, S. & Funabiki, K. Circuit-dependent striatal PKA and ERK signaling underlies rapid behavioral shift in mating reaction of male mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, (2015). doi:10.1073/pnas.1507121112

下図： 大脳基底核ドーパミンニューロンの PKA が cAMP により活性化されている様子。



- **ヒト臨床への応用：** 遺伝子にコードされる蛍光タンパク質や蛍光プローブをヒトへ応用するのはハードルが高いが、神谷真子（東京大学）らが開発している低分子有機蛍光プローブは応用可能であり、すでに手術検体等での予備実験が開始されており、国民の医療・健康により直接的にインパクトを与えるものとなっている。
- **顕微鏡開発：** 根本知己（北大）らが開発した補償光学系を用いた多光子顕微鏡の開発により、マウスでは海馬までをリアルタイムに観察できるようになり、神経科学の分野に大きなインパクトを与えた。また、岡田康志（理研）らはシャッター速度世界一の超解像蛍光顕微鏡を開発し、生きたウイルスの観察を可能とした。これもウイルス学分野の未来を変える可能性を秘めている。一方、培養細胞から生体へという研究の潮流の中で、マイクロからマクロまでをシームレスに観察する技術は重要であり、今村健志（愛媛大学）がニコンと共同開発した顕微鏡は、今後、病理学の分野で広く使われることが期待される。

10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況（1 ページ程度）

研究領域内での若手研究者育成の取組及び参画した若手研究者の研究終了後の動向等を記述してください。

別記の若手ワークショップにてネットワーク構築およびシニアの研究者との交流の場を設定した。
主な動向

石井 優（大阪大学特任准教授）⇒ 大阪大学大学院生命機能研究科（医学系研究科）・教授
片貝智哉（関西医科大学講師）⇒ 新潟大学医歯学系教授
飯村忠浩（東京医科歯科大学特任准教授）⇒ 愛媛大プロテオサイエンスセンター・教授
清川悦子（京都大学大学院生命科学研究科講師）⇒ 金沢医科大学・教授
竹本さやか（東京大学大学院医学系研究科助教）⇒ 名古屋大学環境医学研究所・教授
田邊一仁（京都大学工学研究科准教授）⇒ 青山学院大学理工学部・教授
横須賀忠（理化学研究所上級研究員）⇒ 東京医科大学免疫学教室・主任教授
喜多村和郎（東大院医学系研究科准教授）⇒ 山梨大院総合研究部・教授
戸村道夫（京都大学大学院医学研究科准教授）⇒ 大坂大谷大学・教授
青木一洋（京都大学大学院生命科学研究科講師）⇒ 京都大学大学院医学研究科・准教授
西川恵三（大阪大学免疫学フロンティア研究センター・特任助教）⇒同・特任准教授
疋田温彦（公財）がん研究会がん研究所・ポスドク ⇒ 愛媛大院医・准教授
榊原 明（名古屋大学大学院医学研究科助教）⇒ 中部大学生命健康科学部・准教授
井上直和（阪大微生物病研究所助教）⇒ 福島県立医大生体情報伝達研究所・准教授
坂口昌徳（理研研究員）⇒ 筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構・准教授
橋本弘史（産業医科大学医学部第1生理学講座講師）⇒同・准教授
奥野浩行（東京大学大学院医学系研究科助教）⇒ 京都大学医学研究科・特定准教授
蓮輪英毅（阪大微生物病研究所助教）⇒ 慶応大学医学部・講師
天満 敬（京都大学大学院薬学研究科助教）⇒ 国立循環器病研究センター研究所・室長
白壁恭子（慶應義塾大学医学部特任講師）⇒東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・講師
平野美奈子（理研・特別研究員）⇒ 光産業創成大学院大学・講師
平岡義範（京大医学研究科特定助教）⇒ 神戸学院大学薬学部・講師
古賀繁宏（愛媛大学大学院医学研究科博士課程）⇒ 愛媛大医学部消化器腫瘍外科・講師
平田英周（京都大学大学院生命科学研究科助教）⇒ UK Cancer Institute 研究員
水野 礼（京都大学大学院医学研究科博士課程）⇒ Univ. Pennsylvania 博士研究員
平塚 徹（京都大学大学院医学研究科博士課程）⇒ Kings College 博士研究員
徳弘圭造（阪大微研特任研究員）⇒ 米国 NIH 研究員
小松直貴（京都大学大学院生命科学研究科博士課程）⇒ 京都大学大学院生命科学研究科・助教
佐々木和樹：理化学研究所客員研究員 ⇒ 科学技術振興機構・さきがけ研究員
大嶋佑介（愛媛大医学部附属病院・助教）⇒ 愛媛大院医・助教
齋藤 卓（愛媛大学大学院医学研究科・ポスドク ⇒ 愛媛大医学部附属病院・助教
清松 悠（愛媛大学大学院医学研究科博士課程）⇒ 愛媛大医学部整形外科・助教
菊田順一（大阪大学大学院医学系研究科博士課程）⇒ 大阪大学大学院医学系研究科・助教
Szandor Simmons（大阪大学免疫学フロンティア研究センター・特任研究員）⇒ 同・特任助教
水野紘樹（大阪大学免疫学フロンティア研究センター）⇒ 同・生命機能研究科・助教
寺井健太（国立循環器病研究センター研究所研究員）⇒ 東京大学分子細胞物学研究所・助教
中嶋隆浩（東京大学大学院博士研究員）⇒ 東京大学大学院総合文化研究科・特任助教
宮田治彦（阪大微生物病研究所特任研究員）⇒ 同微生物病研究所・助教
藤原祥高（阪大微生物病研究所特任研究員）⇒ 同微生物病研究所・助教
大久保淳一（産業医科大学大学院医学博士課程）⇒同・耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座・助教
Akbari, Masoud（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程）⇒ 同・助教
中村高志（神戸大学医学研究科特別研究学生）⇒ 京都府立医科大学・助教
白藤俊彦（神戸大学バイオシグナル研究センター研究員）⇒ 広島大学医学研究科・助教
藤井哉（東京大学大学院医学系研究科特任研究員）⇒ 東京大学大学院医学系研究科・助教
井上昌俊（東京大学大学院博士課程）⇒ 東京大学大学院医学系研究科・特任助教
吉村充弘（産業医科大学大学院医学博士課程）⇒産業医学基礎研究医員

11. 総括班評価者による評価（2 ページ程度）

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。

評価者： 望月直樹（国立循環器病研究センター研究所副所長）

- 評価法： クロージングシンポジウム（平成 26 年 1 月）における全計画班員の口演、およびそれ以外の班員の口演あるいはポスター発表の内容、さらに、事後評価書を基に評価を行った。
- 概要： 「蛍光生体イメージ」領域は様々な光学的特性をもつ蛍光タンパク質や、新しい動作原理の蛍光分子プローブの開発を背景に、様々な領域を横断する新しい研究分野の創生を目指して設立された。研究項目 A 0 1 に蛍光タンパク質やプローブを開発する研究者が集まり、研究項目 A 0 2 に各専門分野で蛍光イメージングを駆使している研究者が集まっており、その目標の達成を目指してきた。特に評価に値するのは項目と A01 項目 A02 が feed forward/back することで領域の発展が得られたこと、さらに生体イメージングを日本全体だけでなく世界的にも広める牽引力となった。過去 5 年間には多くの科学的成果をあげているほか、若手の研究者の指導を念頭においたヴィヴィッドワークショップ・イメージング講習会により、イメージングを志す有望な若手が育っており、十分な成果をあげたと評価できる。以下、研究項目ごとにコメントする。
- 研究項目 X 0 0 （総括班）： 総括班は「蛍光イメージング技術」を基盤とする研究を広げようとさまざまな活動を行ってきた。
シンポジウム： ノーベル賞受賞者である Erik Betzig 博士を迎えたクロージングシンポジウムは大変な活気であり、この領域が 5 年間で大きく育ったことを実感させるものであった。武田科学振興財団や内藤記念財団とのタイアップで国際シンポジウムを開催し、世界トップレベルの研究者と本邦の研究者の交流の場を作ったことも、限られた予算の中で研究を振興し、成果を普及する手段として有効であった。下村修先生の緑色蛍光蛋白質の発見によるノーベル賞受賞から、Betzig 博士の受賞までは、まさに蛍光蛋白質の科学への貢献を示すものであり、本領域がまさにこの分野での日本の科学を具現化したものと実感できた。
技術講習会： この領域の総括班活動でユニークなのは頻繁に開催した技術講習会である。日本の研究の弱点として、技術員・テクニカルスタッフがいないことが挙げられる。蛍光イメージングのように汎用性のある技術の場合は、研究機関ごとに支援業務に携わるスタッフがいるのが欧米では普通である。この領域では、この弱点を補うべく、技術講習会や Web を通して相談を受け付けることにより、より多くの研究者が最先端の蛍光イメージング技術にアクセスできるようにしたことは高く評価できる。
若手ワークショップ： 若手研究育成のために、合宿形式のワークショップを行うことはいろいろな研究チームで行われている。当該領域においても参加者のアンケート結果から勘案して、有効に機能したと思われる。
- 研究項目 A 0 1 （ 蛍光バイオセンサーと生体イメージング技術の高度化）： 松田は FRET バイオセンサーの開発で世界をリードしてきたが、5 年間の研究期間中に高感度化と安定発現法の確立とを行った。FRET バイオセンサーを発現するトランスジェニックマウスの開発は今後多くの研究成果につながる事が期待できる。宮脇は新規蛍光タンパク質や新規バイオセンサーの開発など、多方面で活躍し、今や、蛍光タンパク質の開発においては世界のトップに立っているといてもいいだろう。この 2 研究者の開発した蛍光プローブは世界で汎用されており、様々な生命研究領域の発展に貢献している。根本の補償光学系を用いた多光子顕微鏡による深部観察も世界記録といえるほどである。今村は顕微鏡メーカーとタイアップしてユニークな幅広い拡大倍率を有する観察法を開発しており、将来に期待できる。公募班員には、三輪のように無蛍光飼料の開発という盲点というべきところを研究するものや、神谷や岡田らのように新規の超解像顕微鏡を開発する若い研究者たちなどがおり、人材発掘と若手研究者の育成にも成果を挙げているといえる。イメージングの技術的根幹であるプローブの開発と検出系の高解像度化・精細化・深部到達を目指し、かつ達成してきた点を高く評価する。
- 研究項目 A 0 2 （多次元蛍光生体イメージングによる生命現象の解明）： 石井、岡田、福原の 3 名の比較的若い研究者を計画班員とし、新しい発見を目指してきた。石井らは、医学・免疫学の幅広い分野で多くの論文を発表し、また、多くの研究者を育ててきたことが高く評価できる。岡田は、B リンパ球をライブイメージングで可視化することで、B リンパ球の成熟の分子機構の解明で顕著な業績

を上げた。福原は、ゼブラフィッシュのライブイメージング技術を確立し、血管新生の分子機構を明らかにするなど、いずれの研究者も研究項目A01の研究者との共同研究を質の高い論文としており、蛍光イメージング技術と生命科学との融合が期待通りに進んだといえるだろう。公募班員A02は、生命科学の広い領域（発生、免疫、がん、循環器、消化器など）から採択されており、イメージング技術により個々の課題を解き明かそうという意欲的な研究が展開された。しかし、研究項目A01と比較すると公募班員が一期目（H23-H24年度）と二期目（H25-H26年度）でかなり入れ替わっており、他の班員との共同研究の成果を論文までに至らせた研究者は少なかったようである。共同研究を推進させるためには、もう少し長い目で見ただけの方がよかったのかもしれない。ただ公募班員の採択は領域とは独立して行われるものであるし、公平性という観点からはすでに共同研究を開始しているか否かを考慮するのも問題があるように思われ、ここで論議すべきではないのかもしれない。

<文部科学省の評価項目に従った要約>

(a) 研究領域の設定目的の達成度

研究領域としての設定目的はほぼ達成された。また、超解像顕微鏡法やFRETバイオセンサーを発現するトランスジェニックマウスを用いた研究など予想を超える展開も見られている。計画班員が1名欠けたことなど、いくつか想定外の事態もあったが、適切に処理されている。審査結果の所見及び中間評価結果の所見に対する対応も適切であった。

(b) 研究成果

技術を中心とする研究項目1、生命科学を中心とする研究項目2のいずれともで十分な研究成果をあげたといえることができる。共同研究も活発であり、領域としてまとまって成果を出していることは評価される。成果は3度の国際シンポジウムなどを中心に発信しており十分と思われる。アウトリーチ活動に関してはもう少し積極的に行った方が良かったかもしれない。

(c) 研究組織

研究項目1に所属する研究者の成果を利用した研究項目2の研究者による成果が多くあり、効率よく組織されていると評価できる。公募班員も積極的に新技術と取り入れており、有機的な連携を班として推進したことがうかがえる。項目1の公募班員もユニークな技術を発表しており、計画時には想定しなかった進展があったといえるだろう。

(d) 研究費の使用

総括班の備品は技術講習会等に効率よく使用されていると評価できる。

(e) 当該学問分野、関連学問分野への貢献度

本邦における蛍光生体イメージングの主エンジンとして活動してきたことは疑いない。幅広いエリアの生命科学の研究者も取り込んでおり、関連分野への貢献も大きいといえる。

(f) 若手研究者育成への貢献度

若手のポジションが減少している中、テニユアの教員になるものも多く、十分な貢献が認められる。