

領域略称名：レゾナンスバイオ
領域番号：3704

令和2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）」
に係る研究成果報告書（研究領域）兼
事後評価報告書

「共鳴誘導で革新するバイオイメージング」

領域設定期間

平成27年度～令和元年度

令和2年6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

目 次

研究組織

1 総括班・総括班以外の計画研究	2
2 公募研究	3-7

研究領域全体に係る事項

3 交付決定額	8
4 研究領域の目的及び概要	9-10
5 審査結果の所見及び中間評価結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況	11-12
6 研究目的の達成度及び主な成果	13-18
7 研究発表の状況	19-24
8 研究組織の連携体制	25-26
9 研究費の使用状況	27-28
10 当該学問分野及び関連学問分野への貢献の状況	29
11 若手研究者の育成に関する取組実績	30
12 総括班評価者による評価	31

研究組織

(令和2年3月末現在。ただし終了した研究課題は終了時現在、補助事業廃止の研究課題は廃止時現在。)

1 総括班・総括班以外の計画研究

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
総	15H05947 共鳴誘導で革新するバイオイメージング	平成27年度 ～ 令和元年度	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	7
国	15K21746 レゾナンスバイオ国際活動支援	平成27年度 ～ 令和元年度	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	3
A01 計	15H05948 大規模生体バイオイメージングのための要素技術開発	平成27年度 ～ 令和元年度	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	5
A01 計	15H05949 細胞間コミュニケーションのライブイメージング	平成27年度 ～ 令和元年度	松田 道行	京都大学大学院生命科学研究所・教授	4
A01 計	15H05950 SBWにおける生体深部精細蛍光イメージングシステムの開拓	平成27年度 ～ 令和元年度	曾我 公平	東京理科大学・基礎工学部材料工学科・教授	2
A01 計	15H05951 新しいスイッチング機構に基づく高精度蛍光イメージングプローブの開発	平成27年度 ～ 令和元年度	神谷真子	東京大学・大学院医学系研究科・准教授	1
A01 計	15H05952 革新的イメージング技術とがんモデルメダカを駆使したがん転移研究	平成27年度 ～ 令和元年度	今村健志	愛媛大学大学院医学系研究科分子病態医学講座・教授	2
A02 計	15H05953 ベクトルレーザー光を用いた高速in vivo イメージング技術の高度化と応用	平成27年度 ～ 令和元年度	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	4
A02 計	15H05954 バイオイメージングプロセッシング	平成27年度 ～ 令和元年度	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	5
総括班・総括班以外の計画研究 計 9 件 (廃止を含む)					

[1] 総：総括班、国：国際活動支援班、計：総括班以外の計画研究、公：公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

2 公募研究

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
A01 公	16H01416 実用的リアルタイムナノスコーピーを実現する機能性色素・タグドメインシステムの開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	浅沼大祐	東京大学・大学院医学系研究科・助教	1
A01 公	16H01420 タンパク質新生の超解像・迅速追跡を志向した高輝度タグ-プローブシステムの構築	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	野村渉	東京医科歯科大学・整体材料工学研究所・准教授	1
A01 公	16H01422 高精細な発光トモグラフィを実現する生物発光源の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	口丸高弘	東京工業大学・生命理工学院・助教	1
A01 公	16H01425 遺伝子にコードされた PhyB-PIF 系を用いた細胞機能の光制御技術の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	青木一洋	大学共同利用機関法人自然科学研究機構(岡崎共通研究施設)・岡崎統合バイオサイエンスセンター・教授	1
A01 公	16H01428 蛍光制御分子の化学デザインと生体イメージング	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	堀雄一郎	大阪大学・大学院工学研究科・准教授	1
A01 公	16H01429 弱い過渡的相互作用をトリガーとした RNA の 1 分子イメージング	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	川井清彦	大阪大学・産業科学研究所・准教授	1
A01 公	16H01431 組織透明化で加速する安全かつ効率的な遺伝子導入法の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	麓伸太郎	長崎大学・医歯薬学総合研究科(薬学系)・准教授	1
A01 公	16H01432 超解像から in vivo イメージングまで使える酸化ストレス分子マッピング法の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	平山祐	岐阜薬科大学・薬学部・准教授	1
A01 公	16H01433 競合的蛍光リガンドアッセイによる FRET プローブ設計と超高感度 IP3 センサー開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	谷村明彦	北海道医療大学・歯学部・教授	1
A01 公	16H01437 “無蛍光”蛍光タンパク質で実現する組織深部分子活性化イメージング	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	村越秀治	生理学研究所・准教授	1
A01 公	16H01438 NMDA 受容体依存性 LTP の制御のための光プローブの作成	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	林康紀	京都大学・医学研究科・教授	1

A02 公	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	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	豊島有	東京大学・大学院理学系研究科・助教	1
A02 公	16H01419 生体深部の超解像リアルタイム分子イメージング技術の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	船津高志	東京大学・大学院薬学系研究科・教授	1
A02 公	16H01423 多次元輝度情報に基づいた形状認識・物体追跡技術の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	玉田篤史	新潟大学・研究推進機構・准教授	1
A02 公	16H01426 マクロからミクロに至る多階層構造情報を束ねる観察・解析技術の基盤創成	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	日置寛之	順天堂大学・医学部・准教授	1
A02 公	16H01430 生物画像の領域識別・領域分割のための機械学習手法の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	栗田多喜夫	広島大学・工学研究科・教授	2
A02 公	16H01434 SHG 専用色素を用いたマルチモード 2 光子顕微鏡の開発と応用	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	塗谷睦生	慶應義塾大学・医学部・准教授	1
A02 公	16H01435 周辺情報に着目した細胞内画像中の粒子計数と追跡	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	堀田一弘	名城大学・理工学部・教授	1
A02 公	16H01436 多重線形スパ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	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	陳延偉	立命館大学・情報理工学部・教授	1
A02 公	16H01439 分子ポラリティを可視化する干渉非線形散乱イメージング法の開発	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	市村垂生	理化学研究所・生命機能科学研究センター・上級研究員	1
A02 公	16H01440 深部と超解像イメージングに向けた次世代色収差補正	平成 28 年度 ～ 平成 29 年度	松田厚志	情報通信研究機構・未来 ICT 研究所・主任研究員	1
A01 公	18H04723 自己会合型環境応答性光音響イメージング剤の開発	平成 30 年度 ～ 令和元年度	小川 美香子	北海道大学・薬学部・教授	2
A01 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	浅沼大祐	東京大学・大学院医学系研究科・助教	1
A01 公	18H04731 局所電場の可視化における新規対象と新規原理の開拓	平成 30 年度 ～ 令和元年度	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	1

A01 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	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	1
A01 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	平山 祐	岐阜薬科大学・薬学部・准教授	1
A01 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	谷村明彦	北海道医療大学・歯学部・教授	1
A02 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	舟橋啓	慶應義塾大学・理工学部・准教授	1
A01 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	日置寛之	順天堂大学・医学部・准教授	1
A01 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	村越秀治	生理学研究所・准教授	1
A01 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	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	1
A02 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	青木一洋	大学共同利用機関法人自然科学研究機構(新分野創成センター、アストロバイオロジーセンター、生命創成探究・生命創成探究センター)・教授	1
A02 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	岡部繁男	東京大学・大学院医学系研究科・教授	1
A02 公	18H04732 長波長波長可変超短パルスファイバレーザを用いた多機能深部イメージング	平成 30 年度 ～ 令和元年度	西澤典彦	名古屋大学・工学部・教授	1
A02 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	川又理樹	九州大学・生体防御医学研究所・助教	1
	次ページに続く				

A02 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	岡村陽介	東海大学・工学部・准教授	1
A02 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	市村垂生	大阪大学・先導的学際研究機構・特任准教授	1
A02 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	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	1
A03 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	浜田俊幸	国際医療福祉大学・薬学部・准教授	1
A02 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	豊島有	東京大学・大学院理学系研究科・助教	1
A03 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	長島優	東京大学・医学部附属病院・助教	1
A03 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	玉田篤史	関西医科大学・医学部・准教授	1
A01 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	堀 雄一郎	大阪大学・大学院工学研究科・准教授	1
A03 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	備瀬竜馬	九州大学・システム情報科学研究院・准教授	1
A03 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	日高章理	東京電機大学理工学部准教授	1
A02 公	18H04746 生成器の改良による細胞画像のセグメンテーション	平成 30 年度 ～ 令和元年度	堀田 一弘	名城大学・理工学部・教授	1
A03 公	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	平成 30 年度 ～ 令和元年度	陳 延偉	立命館大学・情報理工学部・教授	1

A03 公	18H04751 3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	平成30年度 ～ 令和元年度	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	1
A01 公	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	平成30年度 ～ 平成30年度	林 康紀	京都大学・医学研究科・教授	1
公募研究 計 49 件 (廃止を含む)					

[1] 総：総括班、国：国際活動支援班、計：総括班以外の計画研究、公：公募研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

研究領域全体に係る事項

3 交付決定額

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

4 研究領域の目的及び概要

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時の領域計画書を基に、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、どのような点が「革新的・創造的な学術研究の発展が期待される研究領域」であるか、研究の学術的背景や領域設定期間終了後に期待される成果等を明確にすること。

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。

バイオイメージングの開発対象として、一般的に、

- ・色素（プローブ）
- ・ハードウェア（光学機器）
- ・ソフトウェア

の3つの要素がある。色素とハードウェアについては我が国独自の開発要素技術があり、学術的にも産業的にも世界をリードしてきた実績がある。一方、ソフトウェアについては世界に後れをとっていた。昨今は、4Dイメージングが流行りで、しかも、より細かく、広く、深く、速く、長く観察する必要が叫ばれ、画像データの量がますます膨大する傾向にある。巨大データ（ギガバイト、テラバイト）に振り回されないように技術体系を整備する必要がある。そこでまず、バイオイメージングを健全に発展させるために、「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を計画した。「色素」、「ハードウェア」、「ソフトウェア」の開発は、著しく境界領域的な性質を帯びており、以下のような多種の専門領域を巻き込んでいる。

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

それぞれを専門とする研究者を公募して、バイオイメージング技術の実践的な開発を行った。その実践の対象は、がん生物学、発生学、再生医学、細胞生物学、神経科学、診断医学などありとあらゆる生物分野に及ぶ。実践の過程における「サンプル調製」の重要性を強調し、これを「色素」、「ハードウェア」、「ソフトウェア」に加え、これら4つの頂点とする三角錐（四面体）を概念図に採用した。本領域の目指す革新的バイオイメージング技術の開発とその応用展開が生物学全般の発展に寄与することは疑いない。まさしく「革新的・創造的な学術研究の発展が期待される研究領域」と言える。

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ズームインアウトの4テーマを共有するように活動を行ってきた。それぞれのテーマについて、領域設定期間中に研究は大いに進展し、今後もさらなる成果が期待される。得られた成果と今後期待される成果について以下に示す。

① 「超解像イメージング」:

当技術は2014年ノーベル化学賞の受賞対象となったが、実用的には未だ発展途上にあると言えよう。

課題の一つに「深部超解像」がある。たとえば basal 側の細胞表面だけでなく、カバーガラス表面から相当に離れて存在する構造（核内構造体、ゴルジ体、あるいは apical 側の細胞表面）の光学観察の空間分解能を上げる試みである。細胞内屈折率の不均一性によって収差が生じ、カバーガラス表面から離れるに従って PSF（点像分布関数）が歪むのが一因である。本テーマにおいては、以下の成果を得た。

- ・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）
- ・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）
（顕微鏡技術開発による）深さと（色素技術開発による）速さを目指したこれら2つの研究が融合することによって、細胞丸ごと(3D)のライブ超解像技術として結実することが期待される。

②「生体深部イメージング」:

生きた生体組織の深部イメージングを可能にするために、色素の長波長化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）

以上の無機蛍光色素、発光・蛍光タンパク質、レーザー技術の融合的発展による近赤外イメージングにより、動物丸ごとからの定量的バイオイメージングが達成されることが大いに期待される。

③「ストレスイメージング」:

本領域では、数ある生体ストレスの中でも、酸化ストレスに着目した。

- ・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）

現在の日本は高齢化社会であり、高齢者の健康を維持するためには、老化メカニズム研究の推進が必要である。老化には、生体内で起こる酸化の関与が強く示唆されている。本領域で開発された種々の酸化プローブは、老化研究において大きな貢献を果たすと期待される。

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。

データベースを更に（質的、量的に）拡大することによって、細胞内微細構造等の情報を持った、in silico 動物個体モデルの構築へと繋がるであろう。

5 審査結果の所見及び中間評価結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況

研究領域全体を通じ、審査結果の所見及び中間評価結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該指摘及びその対応状況等について、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

(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)

<コメント>

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

<回答>

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

(中間評価結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況)

<中間評価所見>

本研究領域は、ライフサイエンス全体に重要なイメージング技術の開発について、幅広い年齢層の研究者により構成された研究組織によるボトムアップ的研究が活発に進められている。

研究領域内の連携も多く、若手研究者への支援も勧められており、概ね研究計画に沿って研究が進められている上、論文に限らず特許出願もあり着実な成果が出ている点は評価に値する。

一方、ソフトウェアと色素、ハードウェアの三位一体で開発する重要性が謳われていたが、それを実現するためにどのような工夫がされ、どのような状況にあるのかが明確でない。課題の一つとして、イメージデータを取り扱うソフトウェア開発が具体的にどのような形で結実するのか不明瞭であるが、画像処理のグループを強化するために、これに対応した研究項目 A03 を増設したことは評価できる。

今後新学術領域ならではの革新的技術の開発や、その技術を利用した科学的探求の柱となる具体的な提案などの成果発信のために、国際的なネットワークづくり、プレゼンの向上に向けての国際支援活動の活発化が望まれる。

<対応状況>

本領域を、色素、ハードウェア、ソフトウェア、試料調製の4つを頂点とする三角錐（または四面体）をイメージしながらオーガナイズしてきた。実践的なソフトウェア開発の充実を図るため、後期では、研究項目 A03（予算規模は A01, A02 の半分で、参画数を増加）を新たに設けた。

国際支援活動の活発化を図るため、以下の活動を行った。

<国際若手研究者支援活動>

若手研究者の国際的ネットワークづくりとプレゼンの向上のため、国際若手の会を開催した。

1. 日体合同若手研究者のためのバイオイメージング会議 -ResonanceBio-Aademia Sinica-4D Cell-
期間：2017年11月1日-11月2日
場所：中央研究院（台湾）
参加者：ResonanceBio、中央研究院、4Dプロジェクトの若手研究員 約100名
2. 若手研究者のための国際バイオイメージング会議
期間：2018年10月29日-10月30日
場所：沖縄科学技術大学院大学（OIST）
参加者：ResonanceBio、OIST、Academia Sinicaの若手研究員
3. 若手研究者国際会議”Frontiers in Imaging Probes and Technologies”
期間：2020年5月29日-30日
場所：岡崎カンファレンスホール
参加者：ResonanceBio、新学術領域「植物新種誕生の原理」、EMBO Workshop参加の若手研究者

<国際シンポジウムの開催>

当領域の成果の集大成を発表。海外から9名の講演者を招待。

期間：2019年10月31日-11月1日

場所：東京理科大学、葛飾キャンパス

参加者：ResonanceBio、一般参加者、企業 約350名

<海外国際シンポジウムの企画、運営>

計画班の宮脇が、米国 Janelia Research Campus/HHMI で、Fluorescent protein & biological sensors をオーガナイズ。2016, 2018

計画班の宮脇が、ハイデルベルグ EMBL で、Seeing is believing をオーガナイズ、2015, 2017, 2019

6 研究目的の達成度及び主な成果

(1) 領域設定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、(2) 本研究領域により得られた成果について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。(1)は研究項目ごと、(2)は研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で記載すること。なお、本研究領域内の共同研究等による成果の場合はその旨を明確にすること。

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 (Akalmine)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. 2020)。

γ -Glutamyltranspeptidase により光増感能が回復する光増感剤の開発: γ -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）

活性酸素応答性の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：新規キノン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性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., BioRxiv 2020)。

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., J Neurosci. 2020)。

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ず正確に 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 70 nm 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 次元微分干涉顕微鏡画像に対して Shape Index を用いた胚と核の自動セグメンテーション法を確立した (IPJS

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確立した(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 μ 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：ファイバレーザーを用いた全ファイバ型の波長 1.7 μ 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 のファイバレーザー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、ねじり回数の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)。

7 研究発表の状況

研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で、本研究領域により得られた研究成果の発表の状況（主な雑誌論文、学会発表、書籍、産業財産権、ホームページ、主催シンポジウム、一般向けアウトリーチ活動等の状況。令和2年6月末までに掲載等が確定しているものに限る。）について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。なお、雑誌論文の記述に当たっては、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究代表者（発表当時、以下同様。）には二重下線、研究分担者には一重下線、corresponding author には左に*印を付すこと。

<雑誌論文>

※注：以下の要件に該当する雑誌論文については、記載の末尾に◎または▲を付記している。

◎…事後報告書(Excel版)13.参考データ【非公開】において、「異分野融合により得られた成果に係る雑誌論文」としてカウントしたもの。

▲…謝辞に、課題番号を含め、本研究課題により補助金の交付を受けて行ったことを表示したもの。

A01 (計画・宮脇) 計 15 件(査読有 13 件)

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. 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. Genetically encoded tools for optical dissection of the mammalian cell cycle. *Mol. Cell* **68**:626-640 (2017)

A01 (計画・松田) 計 18 件(査読有 18 件)

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 ARHGAP7-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)

A01 (計画・曽我) 計 10 件(査読有 10 件)

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 NaYF₄ Nanothermometer," *Scientific Reports* **8**: 16979 (2018)

A01 (計画・神谷) 計 17 件 (査読有 17 件)

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.* **142**: 9625-9633 (2020). ▲

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)▲

A01 (計画・今村) 計 15 件(査読有 15 件)

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)▲

A01 (公募・浅沼) 計 1 本 (査読有 1 本)

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)◎▲

A01 (公募・野村) 計 9 件 (査読有 9 件)

1. Matsumoto D, Tamamura H, and *Nomura W. “TALEN-Based Chemically Inducible, Dimerization-Dependent, Sequence-Specific Nucleases.” *Biochemistry* **57**: 197–204 (2020)▲

A01 (公募・青木) 計 5 本 (査読有 5 本)

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)

▲

A01 (公募・堀) 計 3 本 (査読有 3 本)

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) ▲

A01 (公募・川井) 計 3 件(査読有 3 件)

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) 計 2 件 (査読有 2 件)

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) 計 5 本 (査読有 5 本)

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) 計 8 本 (査読有 5 本)

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) 計 8 本 (査読有 8 本)

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) 計 5 本 (査読有 5 本)

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) 計 2 本 (査読有 2 本)

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) 計 4 本 (査読有 4 本)

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) 計 3 本 (査読有 2 本)

1. Shimajo 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) 計 49 本 (査読有 35 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) 計 52 件 (査読有 45 件)

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) ◎かつ▲.
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) ◎かつ▲.
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) ◎かつ▲.

A02 (公募・豊島) 計 8 本 (査読有 5 本)

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) 計 2 本 (査読有 2 本)

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

A02 (公募・日置) 計 16 本 (査読有 16 本)

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) 計 7 本 (査読有 7 本)

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) 計 5 本 (査読有 5 本)

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) 計 3 本 (査読有 3 本)

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) 計 8 本(査読有 8 本)

1. Titinunt Kitrungratsakul, 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) 計 4 件(査読有 3 件)

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) 計 12 本 (査読有 11 本)

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) 計 3 本 (査読有 3 本)

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) 計 16 件 (査読有 16 件)

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) 計 4 本 (査読有 4 本)

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) 計 3 本 (査読有 3 本)

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) 計 2 本 (査読有 2 本)

1. Ito R[#], Hamada K[#], 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) 計 6 本 (査読有 5 本)

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) 計 2 件 (査読有 2 件)

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) 計1件(査読有1件)

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) 計1本(査読有1本)

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・講演>

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).

<書籍>

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.

<受賞>

1. 大友康平, コニカミノルタ画像科学奨励賞「高速偏光分解二光子顕微鏡法による生体内小胞動態の高次可視化解析」2019/2/27
2. 吉澤 信, 電子情報通信学会 情報・システムソサイエティ活動功労賞, 2019.
3. Yu Nagashima, 2018年度国際神経筋学会(International Congress on Neuromuscular Diseases, ICNMD2018), Best Poster Award, (2018年7月8日).
4. 磯部圭佑, 文部科学大臣表彰若手科学者賞「光と分子の相互作用を時空間制御したイメージング技術の研究」2018年4月17日.
5. 宮脇敦史, 秋の紫綬褒章、2017年
6. 宮脇敦史, 上原賞、2017年
7. 宮脇敦史, 島津賞、2015年

<産業財産権>

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、出願日：2016/2/10、出願人：シチズンホールディングス(株)
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, 2018.

<ホームページや新聞等の各種メディア報道>

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>

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, “カブトムシのなかみ ～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)

<主催シンポジウム等の状況>

1. 第5回えひめメダカフォーラム、2019年8月7日(水)、愛媛大学南予水産研究センター シンポジウム3演題、参加者40名程度
2. 主催：レゾナンスバイオ公開シンポジウム"Swinging on the Chromophore", 2016年3月16日, KKR熱海, 参加人数96名, <http://www2.riken.jp/briect/RBio/RBioSymp15.html>
3. 第57回生物物理学会年会内シンポジウム, “量子科学で捉える生命現象” (宮崎シーガイア, 2017年9月21日). 参加人数：約120名

8 研究組織の連携体制

研究領域全体を通じ、本研究領域内の研究項目間、計画研究及び公募研究間の連携体制について、図表などを用いて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

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

(1) 画像の取得と処理（データの流れを>で示す）

宮脇（A01） > 堀田（A02）

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

宮脇（A01） > 陳（A02）

GEPRマウスの心臓の3次元再構築（領域抽出）に関する共同研究。

松田（A01） > 横田（A02）

三次元のタイムラプス画像から同一平面の画像を選択するプログラムの開発。

松田（A01） > 堀田（A02）

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

根本（A02） > 横田（A02）

H2BGFPヘアレスマウスの皮膚基底細胞分裂の *in vivo* イメージングの画像解析法開発。

日置（A02） > 堀田（A02）

ディープラーニングを用いた神経構造自動認識プログラムの開発。

(2) ハードウェア（光学系）の提供、指導

根本（A02） > 今村（A02）

光軸偏光の光ニードルを用いた光ライトシート顕微鏡の開発。

根本（A02） > 谷村（A01）

ラット頭頂骨の透明化と骨形成の *in vivo* イメージング解析、

外分泌腺と脳における Ca²⁺と IP₃ の *in vivo* イメージングに関する技術・情報交換。

根本（A02） > 林（A01）

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

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

日置（A02） > 宮脇（A01）

AAVで新規蛍光・発光プローブ発現系を構築。

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

高発現 AAV の精製に関する技術指導、情報交換。

宮脇（A01） > 口丸（A01）

蛍光・発光プローブのがん研究への応用研究。

青木（A01） > 口丸（A01）

レンチウイルスを使って発光レポーター高発現がん細胞株の樹立。

村越（A01） > 林（A01）

Rac1 FRET センサーの神経細胞でのイメージング。

船津（A02） > 川井（A01）

組織切片の調製および観察法の指導。

宮脇（A01） > 林（A01）

N-WASP FRET センサーの神経細胞でのイメージング。

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

野村（A01） <> 谷村（A01）

ZIP タグを利用した IP₃ センサーの開発。

平山（A01） <> 麓（A01）

鉄(II)イオン蛍光プローブを利用した Fe²⁺ イメージング

平山（A01） <> 浅沼（A01）

光増感分子を超解像タグ・プローブペアへ応用して新規 CALI の開発。

平山 (A01) <> 口丸 (A01)

腫瘍マウスモデルを使った有機合成プローブの性能評価。

曾我 (A01) <> 野村 (A01)

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

浅沼 (A01) <> 青木 (A01)

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

(5) 要素技術の共同開発 (双方向的な連携)

塗谷 (A02) <> 市村 (A02)

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

塗谷 (A02) <> 根本 (A02)

SHG による細胞膜電位の高速観察技術の開発。

豊島 (A02) <> 玉田 (A02)

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

日置 (A02) <> 堀田 (A02)

電子顕微鏡画像のセグメンテーションに関する共同研究。

神谷 (A01) <> 船津 (A02)

自発的に明滅する蛍光色素を用いた生細胞超解像蛍光イメージング技術の開発。

松田 (A01) <> 青木 (A01)

PhyB-PIF 系の開発研究。

松田 (A01) <> 宮脇 (A01)

FRET バイオセンサーの動物個体作製に関する技術開発。

宮脇 (A01) <> 横田 (A02)

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

宮脇 (A01) <> 神谷 (A01)

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

宮脇 (A01) <> 今村 (A02)

Fucci を使った intravital imaging。

根本 (A02) <> 曾我 (A01) <> 今村 (A02)

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

(6) ソフトウェアの開発による画像データ解析

豊島 (A02) <> 玉田 (A03)

オプティカルフロー法を用いた線虫神経細胞の自動追跡。

9 研究費の使用状況

研究領域全体を通じ、設備等（本研究領域内で共用する設備・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、研究費の使用状況や効果的使用の工夫について、総括班研究課題の活動状況と併せて具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。また、領域設定期間最終年度の繰越しが承認された計画研究（総括班・国際活動支援班を含む。）がある場合は、その内容を記述すること。

A01（計画・松田）

FRET バイオセンサーは領域内外のグループに提供している。研究費で購入した顕微鏡およびその周辺機器の大部分は、京都大学蛍光イメージングセンターの備品として運用し、領域内外のユーザーの使用に供している。これにより、多光子顕微鏡を使用する医学生命科学研究者が増加している。

A02（計画・横田）

本研究領域研究参加者すべてが利用できる画像処理システムとして、クラウドベースの画像処理システム RBICP(Resonance Bio Imagecommunication Platform)を構築し、領域研究者が所属する組織から理研に構築したシステムで画像解析をすることに成功した。このシステムを構築するために、ファイルサーバー、計算サーバー、Firewall 等の装置を購入した。このシステムは、2020 年度の成果展開費をいただき、アカデミア向けに全世界に公開を始めた。

A02（計画・今村）

購入した CMOS カメラやステージシステムで構築した光シート顕微鏡を横田班と共用利用し、大容量データの可視化に関する共同研究を進めた。購入した高精細 3D/4D 画像解析ソリューション Imaris を国際連携企画技術講習会等技術講習会に利用した。

A02（公募・栗田）

国際共同研究のための研究者の招聘費用として利用し、iPS 細胞画像の認識に関する共著の論文を執筆した。また、GPU 計算機を購入し、ディープラーニングの学習を高速化することで計算機実験を効率化した。その他、国際会議での論文発表のための旅費として利用した。

A02（公募・船津）

可変形鏡による補償光学系を組み込んだ顕微鏡システムを構築し、生体深部を観察する際のボケを除るようになった。

A02（公募・日置）

- ・宮脇班：新規蛍光・発光プローブ発現ウイルスベクターの開発、透明化技術 ScaleS に関わる要素技術開発、神経回路構造の解析技術などについて、共同研究を進めた。
- ・松田班：プラスミドと高発現ベクターに関する情報を提供し、また光学顕微鏡撮影について情報交換を進めた。
- ・青木班：アデノ随伴ウイルスベクターの精製に関する技術・情報提供、またレンチウイルスベクター作成に必要なプラスミドの提供を行った。
- ・村越班：アデノ随伴ウイルスベクターの精製に関する技術・情報交換を行った。

A01（公募・麓）

平山班より鉄(II)イオン蛍光プローブの提供を受けた。

A02 (公募・市村)

研究費によって、おもにレーザー光源、レーザースキャナ、単一光子検出器などを設備備品として、顕微鏡構築用の各種光学部品を消耗品として購入した。本研究に必要な顕微鏡の構築に使用した。

A02 (公募・磯部)

総括班の宮脇班から、プローブが標識された試料を提供していただいている。

A01 (公募・谷村)

1分子型の CFLA センサーにおいて分子内の非特異的結合による蛍光変化率が問題となった。この問題を解消するために、研究期間の延長を延長してタンパク質編集技術 (SpyCatcher と SpyTag) を使って、EGF 受容体とリガンドから成る FRET センサーを作成し、イメージング解析を実施する。

A03 (公募・日高)

各年度において最新鋭 GPU を搭載した深層学習向けワークステーションを購入し、計算実験に大いに活用した。また研究室内で 10GbE 対応 NAS による高速データ転送環境を構築し、実験データの管理や送受を効率的に行える環境を整備し、円滑な実験進捗を得た。

A01 (公募・日置)

- ・宮脇班：新規蛍光・発光プローブ発現ウイルスベクターの開発、電子顕微鏡観察に適した透明化技術の開発を行った。
- ・掘田班：電子顕微鏡画像のセグメンテーションに関する共同研究を行った。
- ・谷村班：アデノ随伴ウイルスベクターを提供した。
- ・岡村班：ナノ薄膜を用いたイメージング法の共同研究を行った。
- ・岡部班：遺伝子改変マウスの組織および各種抗体を提供し、形態学的解析に関する共同研究を行った。

A02 (公募・市村)

研究費によって、おもにレーザー光源、顕微鏡管体、分光用プリズムなどを設備備品として、顕微鏡構築用の各種光学部品を消耗品として購入した。本研究に必要な顕微鏡の構築に使用した。

10 当該学問分野及び関連学問分野への貢献の状況

研究領域全体を通じ、本研究領域の成果が当該学問分野や関連学問分野に与えたインパクトや波及効果などについて、「革新的・創造的な学術研究の発展」の観点から、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、応募時に「①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」、「②当該領域の各分野発展・飛躍的な展開を目指すもの」のどちらを選択したか、また、どの程度達成できたかを明確にすること。

バイオイメージングの新奥義を求めて、プローブ色素、光学顕微鏡、ソフトウェア、サンプル調製法などを協動的に開発することを目的に掲げ、新学術領域研究「共鳴誘導で革新するバイオイメージング」(略称: レゾナンスバイオ)を平成27年度に発足。当領域設定期間中は、生物学、生化学、光学、材料学、工学、情報学などの境界を越えて、様々な生命現象や方法論に興味のある研究者を参集し、①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してきた。異分野融合を助長するために、たとえば班会議で各々の発表においては、専門用語の叙説、微弱シグナル明視のための暗順応確保(スライド)を心掛けるよう指示をした。

関連分野には、「生命現象の理解は、多分に、研究者が採用した実験方法に依存すること」を伝えることができたと思う。すなわち、

The process of visualization should be viewed as a reaction toward the objects. The process to approach real understanding of total organisms involves subjectivity, such as the background, philosophy, and even humanity of the observers. It is therefore worthwhile to consider the ways in which the method of observation impacts on the result and the extent to which these effects can be minimized.

(Miyawaki. Developmental Cell 4, 295-305 2003)

というメッセージである。

常々、班員には、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ている。したがって、当領域の目標の達成は実は相当に時間がかかること、安易な研究成果は求めないこと、当領域設定期間内にはなるべく多くの種を作っておき今後の発展研究の中でレゾナンスバイオの創始的意義を顧みるのが重要であることを理解してもらっている。

11 若手研究者の育成に関する取組実績

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究遂行に携わった若手研究者（令和2年3月末現在で39歳以下。研究協力者やポスドク、途中で追加・削除した者を含む。）の育成に係る取組の実績について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

<昇進・就職に関して> (計・松田)大学院生であった研究参加者のうち3名が京都大学助教に、助教1名が北海道大学准教授に昇進した。(計・今村)プロジェクト参画者1名が富山大学准教授に栄転(2020年1月)。(計・根本)RAとして雇用していた大学院生が1名博士研究員、1名特任助教、1名製薬メーカー研究職(無期)として就職。(計・横田)1名が理化学研究所研究補助パートタイマーから、理化学研究所テクニカルスタッフとして採用(計・神谷)大学院生・博士研究員が、常勤の研究職(5名)、博士研究員(2名)に就職。(公募第1期および第2期・陳)若手研究者2名がそれぞれ山口大学の准教授と立命館大学の教授に採用。博士後期課程学生3名が中国華僑大学の准教授、中国山東師範大学の講師、中国 Zhejiang Lab のポスドク研究員に採用。(公募第1期・日置)研究代表者(日置)が2017年11月1日に京都大学大学院医学研究科 助教から順天堂大学医学部 准教授に昇進。(公募第1期・野村)研究代表者(野村)が平成31年4月、広島大学医系科学研究科に教授として着任(参画時、東京医科歯科大学准教授)(公募第1期・麓)大学院生2名が研究者として企業に就職。(公募第1期・市村)若手研究者一名(理化学研究所研究員)が、当該研究での参画後、同研究所において無期雇用技師に採用。(公募第2期・岡部)講師1名が群馬大学の教授に採用、ポスドク2名が東京大学の助教、防衛医科大学校の助教に採用された。(公募第2期・舟橋)博士課程学生1名が慶應義塾大学理工学部助教に採用された。博士課程学生1名が日本学術振興会特別研究員DC2に採用された。

<留学・進学に関して> (計・松田)2015年以降、大学院生7名が海外留学した。(計・横田)理化学研究所JRA1名がカザン大学から Boston University Arts & Sciences Department of Computer Science へ進学。

<受賞に関して> (計・横田)横田 秀夫, 竹本 智子, 坂井 良匡, 理化学研究所 理研栄峰賞, 2019。(計・根本)若手研究者、RA等が国内外の学会で、のべ30回、優秀ポスター賞等を受賞。小澤祐市准教授が、スーパーオシレーションを用いた超解像顕微鏡の論文に対して光学論文賞を受賞。(計・神谷)大学院生・博士研究員が国内学会の口頭発表・ポスターで、のべ6回、受賞。(公募第1期・浅沼)研究代表者の浅沼は、第10回バイオ関連化学シンポジウムで部会講演賞を受賞。研究協力者の岡本紘幸君(当時学部3年生)が本プロジェクトの研究成果の口頭発表を行い、第136回日本薬理学会関東部会優秀賞を受賞した。(公募第1期・船津)時貝妮(D2)が、第54回日本生物物理学会年会において、学生発表賞を受賞した。(公募第1期・野村)平成28年度日本薬学会関東支部奨励賞を受賞(39歳時)(公募第2期・磯部)博士後期課程学生の石川智啓氏は、2019年度東京理科大学イメージングフロンティアセンターシンポジウム優秀ポスター賞を受賞した。(公募第2期・岡部)本領域の研究成果であるスパインナノ形態解析の論文(Nature Communications 2019)の筆頭著者である柏木有太郎助教が2019年度の日本解剖学会奨励賞を受賞した。(公募第2期・日置)日置寛之 2019年11月 日本医師会医学研究奨励賞(公募第2期・備瀬)大学院生が学会発表にて、のべ3回、受賞。

<特記事項> (公募第1期・塗谷)2017年より修士課程の大学院生を研究チームに迎え、本研究を通じて修士課程の指導を行い、生体情報の可視化について筆頭著者として2報の論文を発表した。(公募第1期および第2期・豊島)本領域で得られた成果が研究代表者(豊島)の科研費取得ならびにさきがけ(多細胞)への採択につながった。(公募第1期・麓)麓が直接的に研究指導した大学院生(博士課程)の西村光洋が論文を執筆し、Drug Delivery 誌(2017年)に掲載された。西村は計3報発表した。また大学院生(博士後期課程)Wang Shuも、論文が International Journal of Pharmaceutics 誌(2018年)に掲載された。(公募第2期・岡村)研究協力者として本研究に遂行に携わった張 宏氏に関して、論文発表3件、知的財産権2件の成果を挙げた。

<新型コロナウイルス感染症の影響に関して> (計・松田)2020年春に留学予定のものも3名いたが、COVID-19のため遅れている。

12 総括班評価者による評価

研究領域全体を通じ、総括班評価者による評価体制（総括班評価者の氏名や所属等）や本研究領域に対する評価コメントについて、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

高松哲郎（京都府立医科大学）

「レゾナンスバイオ」の数年を振り返って、「分子と光の共鳴」に基づく可視化技術の学際的開発研究が十二分に展開されたと思われる。色素、ハードウェア、ソフトウェア、そして試料調製を頂点とする三角錐（四面体）を縦横無尽に切り開くように多様な共同研究が領域内に生まれた。こうした共同研究の発展は、領域長が言うように、ある程度気長に見守る必要があるであろう。

上野直人（自然科学研究機構、基礎生物学研究所）

「レゾナンスバイオ」領域は、世界中の生命科学に共鳴を与える研究成果を発表してきました。バイオイメージングにおける本質的な問題に、真正面から取り組んできた計画班、またそうした取り組みに共感し領域を盛り上げてくれた公募班の皆様に賛辞を贈りたいと思います。掲げる研究項目として、「A01 分子のデザイン」および「A02 光のコントロール」に加え、途中から「A03 画像処理ソフトウェア」を設置したのも高く評価されます。総括班が行う「実技講習会」「若手研究者育成」「画像処理ソフト作成コンテスト」、またバイオイメージング支援事業（ABiS）とシンポジウム共催など連携活動を通じて、確実にバイオイメージングを底上げすることに貢献できたと思われまます。

小林久隆（National Cancer Institute, USA）

レゾナンスバイオの最終年度の国際シンポジウムに参加し、領域内で多くの連携研究が進行していると印象を受けた。ボトムアップで発生したものもあればトップダウンで組まれたものもあつたということで、当領域計画班の創意工夫と鋭意努力が感じられる。