

未来社会創造事業（探索加速型）

「共通基盤」領域

年次報告書（探索研究）

令和4年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：塗谷 睦生]

[慶應義塾大学 医学部・准教授]

[研究開発課題名：統合的可視化解析を実現する汎用型マルチモダル多光子顕
微鏡の開発]

実施期間：令和5年4月1日～令和6年3月31日

§1. 研究開発実施体制

(1)「生命現象の統合的可視化解析」グループ(慶應義塾大学)

① 研究開発代表者: 塗谷 睦生 (慶應義塾大学医学部、准教授)

② 研究項目

- ・低分子量生理活性物質のラマンタグ化とその評価
- ・生体試料の調製とマルチモダル多光子顕微鏡による可視化解析

(2)「無染色解析技術の開発と応用」グループ(九州大学)

① 主たる共同研究者: 加納 英明 (九州大学理学研究院、教授)

② 研究項目

- ・マルチモダル多光子顕微鏡を用いた無染色可視化解析技術の開発
- ・マルチモダル多光子顕微鏡の生体試料への応用

(3)「新規量子光源の開発と応用」グループ(京都大学)

① 主たる共同研究者: 衛藤 雄二郎 (京都大学大学院工学研究科、准教授)

② 研究項目

- ・新規量子光源の開発
- ・新規量子光源の非線形光学顕微鏡への応用

§2. 研究開発成果の概要

あらゆる分野の研究開発において、対象を正確に記述することは、最初の、そして最も重要な段階であり、それには直接見ることが最も有効である。しかし、特に生命科学領域においては今も見ることができないものが多く、それが基礎・応用におけるボトルネックとなっている。本研究開発はこの現状を打開しあらゆる分野の研究開発を推進するため、これまで生命科学領域でほとんど使われることのなかった様々な非線形光学現象を利用し、統合的な可視化解法を開発・応用し、新たな解析法として確立することを試みるものである。更に本研究開発では、新たな光源を搭載した汎用化可能な非線形光学顕微鏡システムの構築を試みる。

今年度は各研究開発項目の検証研究を進めた。まず、蛍光・発光以外の無染色解析技術を応用し、マウスの脳組織のマルチモダル多光子顕微鏡解析を行った。ここから、これまでに報告の無い光第二高調波 (SHG) シグナルを発見すると共に、ウルトラブロードバンド CARS のパターン解析により組織内構造の分類化ができることを実証した。更に、生命科学の解析技術によりこの SHG シグナルの分子起源の同定に成功し、蛍光・発光以外のマルチモダリティを用いた可視化応用の開拓を実現する統合的な解析の道筋を得た。また、これまで可視化できなかった低分子量生理活性物質の生体組織における可視化を実現する新たな戦略として、重水素置換体をラマンタグ分子として捉えそれを非線形ラマン散乱顕微鏡により可視化する方法を提案し、そのプロトコール、更にそれを利用した脳組織内での水分子の動態の

初めての可視化解析を実現し、報告した^{1), 2)}。最後に、CARSなどを用いることにより、汎用化に向けたマルチモダル多光子顕微鏡用新規光源の特性の詳細を解析すると共に、汎用化への足掛かりとなる、プロトタイプ機の2号機の作成・設置・稼働に成功した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Zhong W, Oda R, Ozeki Y, Yasui M & Nuriya M. (2023) Protocol to image deuterated propofol in living rat neurons using multimodal stimulated Raman scattering microscopy.
STAR Protoc.; 4(2): 102221. doi: 10.1016/j.xpro.2023.102221
- 2) Shinotsuka T, Miyazawa T, Karasawa K, Ozeki Y, Yasui M, Nuriya M. (2023) Stimulated Raman scattering microscopy reveals a unique and steady nature of brain water dynamics.
Cell Rep Methods. 2023 Jul 5;3(7):100519.