

多細胞間での時空間的相互作用の理解を目指した定量的解析基盤の創出  
2019年度採択研究代表者

2021年度 年次報告書
-----------------

藤田 克昌

大阪大学 大学院工学研究科  
教授

多細胞の包括的分子イメージング技術基盤の構築

## § 1. 研究成果の概要

本研究では、多細胞システムや生体組織内の分子間および細胞間の相互作用を包括的、かつ定量的に観察する技術基盤の構築を目指している。本目標の実現には、多種の光学効果を同時に利用し、複数の細胞内分子および化学環境情報を取得できるマルチモーダル光学顕微鏡の開発、観察試料を理想的な状態に保つ試料チャンバーの開発、および各種生体分子や薬剤などの顕微鏡観察を可能とする分子標識プローブの開発が必要となる(図1)。今年度は、昨年度までの課題、状況を踏まえ、研究グループ間で密に連携を取りつつ、要素技術・計測技術の開発、および基礎データの取得を進めた。

マルチモーダル光学顕微鏡の開発では、昨年度までに開発してきた光学顕微鏡システムを改良し、複数色の蛍光を取得できるシステムに発展させた。さらに、昨年度明らかにしたラマンプローブの実験条件をもとに、ラマンプローブを用いた細胞のラマン散乱観察が行えることも明らかにした。

生体試料用の試料チャンバーの開発では、細胞、組織試料の観察を進める中で明らかとなった課題を解決するため、試料チャンバーの改良・改造に注力した。試作した倒立顕微鏡用の試料チャンバー内に蛍光性試料を導入し、蛍光顕微鏡で観察した結果、本研究で目標としていた機能を部分的に実現できていることが確認できた。正立顕微鏡用の試料チャンバーによる組織試料観察の評価も進めた結果、機能面が大幅に改善できていることが確認できた。これらの評価実験をもとに、次年度の開発目標を明確化した。

分子標識プローブの開発では、これまでに開発してきたラマンプローブの知見をもとに、新しいラマンプローブを見出し、その開発に成功している。さらに、様々な小分子の多重観察に利用できる可能性も見出している。また、昨年度開発に着手した生体内化学反応を追跡できるラマンプローブの評価も進め、今後の生体試料観察に向けた見通しがたった。

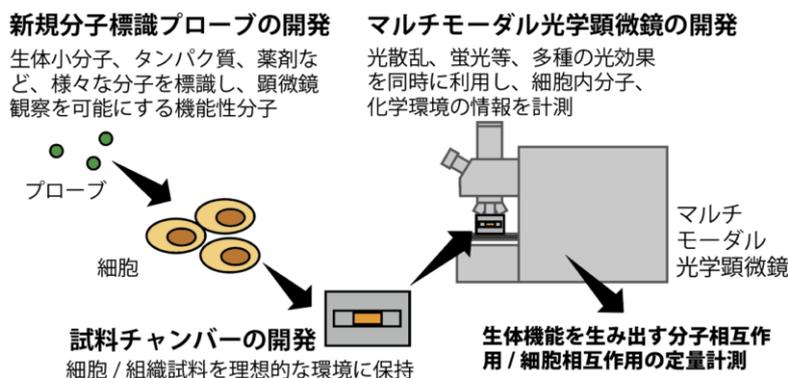


図1 多細胞および生体組織内における分子間/細胞間相互作用を定量的観察する技術の開発

## § 2. 研究実施体制

### (1) 藤田グループ

① 研究代表者: 藤田 克昌 (大阪大学 大学院工学研究科 教授)

#### ② 研究項目

- ・定量的光学観察用試料チャンバーの開発
- ・マルチモーダル顕微鏡の開発
- ・光学プローブの評価
- ・ラマンタグの評価
- ・多細胞機能の分子イメージング

### (2) 袖岡グループ

① 主たる共同研究者: 袖岡 幹子 (理化学研究所 開拓研究本部 主任研究員)

#### ② 研究項目

- ・ラマンタグの開発と評価
- ・組織イメージングのための分子プローブの開発

### (3) 田中グループ

① 主たる共同研究者: 田中 秀央 (京都府立医科大学 大学院医学研究科 教授)

#### ② 研究項目

- ・凍結試料の評価
- ・正立型顕微凍結装置の開発
- ・組織イメージングのための分子プローブの開発と評価

### 【代表的な原著論文情報】

- (1) K. Dodo, A. Sato, Y. Tamaru, S. Egoshi, K. Fujiwara, K. Oonuma, S. Nkano, N. Terayama, and M. Sodeoka, “Synthesis of deuterated  $\gamma$ -linolenic acid and application for biological studies: metabolic tuning and Raman imaging”, Chem. Commun. 57, 2180–2183, 2021
- (2) E. Egoshi, K. Dodo, K. Ohgane, and M. Sodeoka, “1,2-Bis-perfluoroalkylations of alkenes and alkynes with perfluorocarboxylic anhydrides via the formation of perfluoroalkylcopper intermediates”, Org. Biomol. Chem. 19, 8232–8236, 2021