

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

2022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

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)

田中 秀央 (京都府立医科大学 大学院医学研究科 教授)

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す。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・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。これまでに中間時点目標を概ね達成し、今年度には、研究目標達成に向け、要素技術・計測技術のさらなる改良・改造を進めた。

マルチモーダル光学顕微鏡の開発では、これまでに開発してきた光学顕微鏡システムを発展させ、ラマン散乱・蛍光マルチモーダル観察に成功した。さらに、2色超解像蛍光観察、ラマン散乱観察を用いた薬物代謝酵素活性、細胞の薬物取込、細胞毒性、および細胞内の化学状態の可視化に成功した。

生体試料用の試料チャンバーの開発では、昨年度に明らかにした課題を踏まえ、試料チャンバーの改良・改造を進めた。倒立顕微鏡用の試料チャンバーでは、細胞のマルチモーダル観察に必要な機能を概ね実現できていることを確認した。正立顕微鏡用の試料チャンバーでは、摘出灌流下で機能しているラット心臓の収縮期と拡張期の状態を観察し、組織観察や組織内の細胞観察に必要な機能を概ね実現できていることを確認した。さらに、ラットの健常心・傷害心を観察し、心臓という多細胞からなる合胞体の機能をマルチモーダルに解析するための実験手法の確立に成功した。

分子標識プローブの開発では、生細胞内でも選択的に検出できるとされる新しいラマンタグを見出し、新たなラマンプローブの開発を進めている。昨年度までに、小分子の多重観察に利用できるラマンプローブの開発に成功し、生体内化学反応を追跡できるラマンプローブの開発および評価を進め、生体試料観察に向けた見通しがたった。

【代表的な原著論文情報】

- 1) M. Li, Y. Nawa, S. Ishida, Y. Kanda, S. Fujita, and K. Fujita, Label-free chemical imaging of cytochrome P450 activity by Raman microscopy, *Commun. Biol.* **5**, 778 (2022). DOI: 10.1038/s42003-022-03713-1
- 2) M. Li, H.-X. Liao, K. Bando, Y. Nawa, S. Fujita, and K. Fujita, Label-Free Monitoring of Drug-Induced Cytotoxicity and Its Molecular Fingerprint by Live-Cell Raman and Autofluorescence Imaging, *Anal. Chem.* **94**, 10019-10026 (2022). DOI: 10.1021/acs.analchem.2c00293
- 3) K. Bando, S. Yabuuchi, M. Li, T. Kubo, R. Oketani, N. I. Smith, and K. Fujita, Bessel-beam illumination Raman microscopy, *Biomed. Opt. Express.*, **13** (6) 3161-3170 (2022). DOI: 10.1364/BOE.456138
- 4) Y. Morishita, S. Tamura, K. Mochiduki, Y. Harada, T. Takamatsu, H. Hosoi, and H. Tanaka, Generation of myocyte agonal Ca^{2+} waves and contraction bands in perfused rat hearts following irreversible membrane permeabilization, *Sci. Rep.* **13**, 803 (2023). DOI: 10.1038/s41598-023-27807-w