

(2) 光学顕微鏡

(概観)

光学顕微鏡は対象試料に照射した光の透過・反射・吸収・散乱・屈折・回折などの現象を観察することで、対象試料の形態観察や顕微分析などを行う装置である。可視光による観察では、アッペの回折限界⁷である光の半波長程度より小さいものは物理的に観測が不可能と考えられていたが、蛍光技術やレーザー光源の発達により回折限界を超えた解像度が実現（超解像蛍光顕微鏡）しており、昨年度のノーベル化学賞の受賞となったのは記憶の新しいところである。⁸また、近年ではコヒーレントレーザー技術が進歩することにより、非線形光学効果の観察が可能になり、主にライフサイエンス分野において不可欠な計測装置となっている。光学顕微鏡市場は、長らく光学レンズ技術を持つメーカー4社の寡占市場（うち下位2社が日本メーカー）となっているが、新興企業による新しい分析技術と組み合わせた機器開発が盛んとなり、日本メーカーも対応が求められている。

(研究分野と技術の俯瞰)

光学顕微鏡には明視野顕微鏡、位相差顕微鏡、微分干渉顕微鏡などの試料形態を観察する顕微鏡、蛍光顕微鏡などの化学的、生物学的に標識された物質の分布を可視化する顕微鏡、⁹赤外吸収やラマン散乱などの分子振動を可視化する顕微鏡などがあり、それぞれ、マテリアルサイエンス分野、ライフサイエンス分野、有機材料分野などで主に用いられている。近年ではレーザー光源に関する技術が進歩することにより、非線形光学効果の観察が可能になり、二光子顕微鏡、CARS/SRS 顕微鏡、光音響顕微鏡のように生体組織の観察を得意とする顕微鏡¹⁰が多く登場している。さらに、近接場顕微鏡、超解像蛍光顕微鏡のように、従来の光学顕微鏡の回折限界を超えた解像度で試料を観察できる顕微鏡も登場し、ライフサイエンス分野などで用いられている。特にレーザー光源と蛍光プローブ分子の発光との相関を利用した超解像蛍光顕微鏡はライフサイエンス分野において応用研究が活発であり、新たな光学効果（モダリティ）が日々開発されている。また、顕微ラマン分光や顕微赤外分光等、分子

⁷ ドイツの物理学者であるアッペにより 1873 に報告された光による形態観察の分解能の限界

⁸ 2014 年のノーベル化学賞は、超解像蛍光顕微鏡の開発が評価されエリック・ベッチグ氏、ステファン・ヘル氏、ウィリアム・モーナー氏の3氏が受賞している。

⁹ 光学顕微鏡には、光の検出方法により多くの光学顕微鏡に分類される。最も古典的な透過光の強度により観察を行う明視野顕微鏡、透過した光と対象試料を透過しなかった光との位相の差を像のコントラストとして観察する位相差顕微鏡、透過した光の偏光干渉により干渉色のコントラストを像につけて観察する微分干渉顕微鏡、透過した際に発光する対象試料の蛍光を観察する蛍光顕微鏡、対象試料を透過する赤外線吸収により像のコントラストを観察する赤外顕微鏡、対象試料を透過する光のラマン散乱により像のコントラストを観察するラマン顕微鏡などがある。

¹⁰ 対象試料の観察部位に同時に 2 個の光子を吸収させることで半分の波長の光で観察するのに相当する分解能を得る二光子顕微鏡、二つの光源によるコヒーレント反ストークス散乱を像として観察する CARS、対象試料のラマン散乱光と同じエネルギーの光を照射することで起こる誘導放出を観察する SRS 顕微鏡、対象試料が吸収した光エネルギーが熱エネルギーとして放出される際に発生する音波を観察する光音響顕微鏡などがある。

振動の分析能力を有する顕微鏡は、形態観察に加えて物質情報も取得可能であり、有機材料開発の分野で用いられている。このように光学顕微鏡は幅広い分野で活用されている。

これらの光学顕微鏡は数万円の学生実験で使われるものから数千万円の一分子計測を可能にするものまで多くのバリエーションがあり、これまで市場はほぼ4社（上位2社は海外メーカー、3位と4位は国内メーカー）で占められていたが、超解像蛍光顕微鏡などによるライフサイエンス分野での研究開発が活発化することに伴い、ライフサイエンスで使われる他の分析技術を保有していた海外メーカーが市場へ参入している。また、上位2社の海外メーカーも知財戦略やM&Aによりライフサイエンス市場での競争力を向上させており、新しい手法による光学顕微鏡の技術開発を先行させている。

光学顕微鏡は、超解像蛍光顕微鏡の登場で、空間分解能の理論限界は取り払われたことにより更なる発展が期待されている。一方で、試料や蛍光標識がもたらす制約があるため、今後も装置だけではなく、標識技術、画像処理技術の改善が求められる。

光学顕微鏡は分光技術との融合が容易であり、振動分光学や非線形分光学を取り入れ、物質分析を行いつつ画像計測が可能であるという利点がある。この分析能力をさらに高める方向性、たとえば超解像化（従来の超解像蛍光顕微鏡は蛍光観察のみ）による分析能力の向上がその発展として考えられる。このような分析顕微鏡は特に、有機材料やデバイス開発への活用が多く見込まれる。

また、光学顕微鏡は、試料への侵襲性が低く、生きた試料の時間変化を観察できるという、他の手法に無い利点を持っており、この利点を伸ばす方向で開発を進める必要がある。そのためには、侵襲性のさらなる低下（非侵襲標識技術の開発、無標識観察技術の開発）、および生体の立体構造を観察するための3次元観察技術（内部観察技術）が必要である。非侵襲、3次元、経時観察はそれぞれ実現されているが、これらを同時に可能とする技術は開発されていない。今後、iPS/ES細胞等を活用した再生医療工学では、細胞が材料として工学的に活用され、その材料の評価には、生きたままかつ非侵襲に観察・分析する必要があるが、それが可能な計測技術はまだ確立されておらず、今後の課題である。

光学顕微鏡

基本原理

- ・試料に光を照射した際に生じる光吸収、光散乱、発光、音波発生といった光学効果を利用して試料の形態情報を得る。
(空間分解能や観察深さなどの特徴、物質分析能力などの機能は使用する光学効果により大きく異なる。)
- ・観察対象の生体分子を蛍光プローブなどのプローブ分子で標識し、そのプローブ分子の発光を捉えることで生体観察する。
(生体観察を繰り返すことで、タンパク質等の3次元的な空間分布の経時変化を捉える。)
- ・照射する光や検出する光学効果に変調を加える、あるいは、分子のエネルギー遷移状態をコントロールすることで空間分解能を超解像化する。
- ・ラマン散乱や高調波発生などの光散乱効果から、材料中の分子の振動分光解析および界面構造／状態の情報を取得する。

効果が期待できる研究分野

・生物学、基礎医学 ・医学（診断、治療、再生医療） ・薬学 ・半導体工学 ・材料工学 ・畜産 ・植物学

産業応用が期待される分野

・医療、創薬、各種材料、デバイスの分析（太陽電池、二次電池、カーボン材料等）

必要となる要素技術

- ・高ダイナミックレンジ、より高速、低雑音な光検出器 ・高出力光源や多波長（短波長、長波長、可変波長など）光源
- ・マルチスケール観察技術、マルチモーダル観察に適した光学素子（レンズ、フィルター、高スループット分光素子等）
- ・生体試料の自動調整、撮像／画像処理技術 ・他の観察技術との協調／連携制御技術
- ・標識技術：強度の高い信号光を生じるプローブ分子開発。超解像や長波長発光、環境センシング、機能発現、生体刺激などの機能性をもつプローブ分子開発。

今後開発が期待される技術・システム

- ・超解像蛍光顕微鏡の発展：さらなる空間分解能の向上、蛍光プローブなどのプローブ分子を必要としない超解像技術、および、非侵襲性が向上した超解像技術。
- ・外部環境変化や薬剤等の各種刺激に対する細胞応答のスクリーニング等に適用可能な高スループット観察技術
- ・分析顕微鏡：生体分子や材料、デバイス等を対象とした形態情報取得と分析を同時に行う計測システム、
より観察深さを深くした内部観察技術（可変波長光源や透明化技術など）
- ・マクロ（生体機能やデバイス特性等）の情報とマイクロ（生体分子／細胞や材料品質／特性等）の情報をシームレスに観察／取得可能なマルチスケール技術
- ・材料の経年劣化、病変等の長いタイムスパンで発生する現象を追跡しつつ発生頻度の少ない重要な現象を捉えるマルチタイムスケール観察技術

その他の波及効果

- ・開発に伴い得られる微細な空間での光と物質の相互作用に関する知見は、微細加工や記録、材料の特性制御の技術開発へも波及効果があり、新しい機能や特性を持つ新規デバイスの開発に繋がる。
- ・顕微鏡技術がマイクロフルイディクス等の化学デバイスの研究開発へ利用されることで、バイオセンサー、環境センサー、診断を行う微小なデバイスの開発、高度化が促進される。

34

2. 3. 2 バルク¹¹分析手法

表面や微小部だけではなく、計測対象の試料全体の物理特性を得るために使われる手法がバルク分析手法である。

バルク分析手法には、物理刺激として透過性の高い電磁波や光（試料の光透過性が高い場合）、X線（試料の密度が小さい場合）を印加する手法と、質量分析や燃焼分析などのように試料全体を均等に計測できる状態にする手法がある。また、透過性の高い物理刺激を用いる場合には非破壊の計測手法であることが多い。バルク分析手法についても、実際に観測する応答がどのようなものかによって得られる情報が違うため、計測対象の試料と取得したい情報によって使われる計測機器が異なる。

（1）核磁気共鳴

（概観）

核磁気共鳴法とは、対象試料に含まれる原子核の核磁化を検出する手法である。原子核の核磁化と周辺の原子核の核磁化や周辺の電子の磁化は互いに相互作用するため、核磁気共鳴法により得られる情報には分子の化学情報が反映され、分子の原子核や電子の状態を分析する手法として普及した。現在では周辺技術との組み合わせにより試料の形態情報や物理的特性などの情報まで得ることができる、非常に適用分野が広い計測手法となっている。先端的な研究に利用される高分解能核磁気共鳴装置の市場は寡占が進んでおり、システム化された核磁気共鳴装置を扱うメーカーは世界で2社のみであるが、市場シェアの高い海外メーカーに対して、一方の国産メーカーは、国内の化学工業等の合成低分子を対象とした研究分野では競争力が高いものの、市場の大きいライフサイエンスを始めとするその他の分野では後塵を拝している。

（研究分野と技術の俯瞰）

核磁気共鳴法は従来から石油化学やファインケミカル、香料、化粧品、低分子医薬品などの化学工業分野で化学構造を含む分子構造を解析する必須の手段とされてきた。日本の化学企業は多くの分析装置を利用した研究開発により国際的な競争力を獲得し、高度経済成長期の石油化学を中心とする化学工業分野の発展には、核磁気共鳴装置の国産メーカーが貢献した。また、学術研究分野でも、多数の日本人の有機合成化学者がノーベル賞を受賞しているが、それらの受賞者のほとんどは国産の核磁気共鳴装置を研究に利用してきた。

現在では、周辺技術の開発により、核磁気共鳴法により計測できる対象試料の多様化が進み、特にタンパク質や核酸などのバイオ系と四極子核¹²を多く含む無機材料系の分野など、

¹¹バルクとは、試料全体を指し示す意味で使われる用語であり、試料の表面などの微小部に対する用語として使われる。バルク分析手法とは、計測対象の試料の表面ではなく、試料全体に対する物理量などを計測することで分析を行う手法である。

¹²核スピンの1/2より大きい値を持つ核種。核磁気共鳴現象のエネルギー遷移過程が複数の過程があるた

より広範な分野へ適用が広がっている。しかしながら、ライフサイエンスを始めとする新しい適用分野では新規参入した海外メーカーが市場を占有し、さらに、その分野の研究コミュニティの囲い込みが進んだ結果、国産メーカーは化学工業分野以外での競争力で大きく遅れをとっており、研究分野においても、海外メーカーと提携した海外ユーザーが先端的な成果をより早く達成するという状況が世界的に続いている。特に、欧州においては、EUの科学技術に関する中長期計画であるフレームワークプログラムに基づき核磁気共鳴施設のネットワーク構築が進められており、調達政策と連携した先端装置開発がメーカーの技術開発力の源泉となっている。

今後の技術動向として重要なのは、計測時間を短縮するための高感度化技術であるが、高感度化の達成には、いくつかの異なるアプローチがある。そのうち最も多くのユーザーに恩恵が期待出来るのは高温超電導材による超高磁場超電導磁石の実現で、有機・無機、および、溶液・固体のいずれの計測にも効果があるが、超伝導接合などの要素技術の確立が不十分で、装置コストも非常に高額になると予想される。その他の高感度化技術として注目を集めているのは超偏極した電子スピンを利用して核スピンの超偏極化を行う動的核偏極（DNP）技術で、既に通常の装置の500倍程度（理論的には10,000倍から40,000倍）の感度を達成したという報告もされており、試料ごとの複雑な操作が体系化されれば普及の可能性がある。また、検出部を極低温下におくことで熱雑音を低減する技術は、検出対象（周波数）ごとに異なる検出回路を用意する必要があるが、技術としては実用化の最終段階で、計測時間を短縮するための高感度技術として、より広範な計測対象への適用が望まれる。

また、高分解能の核磁気共鳴装置は試料を導入する超電導磁石内の空間が限られるが、一般的な超電導磁石と異なる磁石を用いることによる、より多様な計測対象試料のユーザビリティを向上させたシステムについても研究発表が増えている。

例えば、高磁場の磁石生産技術を応用した磁石内の空間が広いワイドボアタイプマグネット／スーパーワイドボアマグネットを使うことで、より大きな形状の試料を計測対象にしたり、広い空間を利用して試料周辺に光照射や応力印加、電場印加、勾配磁場印加などの機構を組み込むことで、より広い範囲の試料と物理刺激に対する応答を計測対象とするようなことも増えている。

その他にも、従来の冷媒を使った超電導磁石とは異なる小型の磁石を利用することで、可搬型システムや周辺スペースを必要としないモニター型システムなどの開発が活発に行われている。

核磁気共鳴法では、新規の対象試料を計測するためのソフトウェア技術も重要であり、ハードウェアとあわせて適切なソフトウェア技術を実用化することが求められる。核磁気共鳴法のソフトウェア技術としては、従来から高周波や勾配磁場の制御をシーケンスとして処理するための技術開発が行われてきたが、近年では非等間隔でのサンプリング制御（圧縮センシング）や非等間隔離散データの解析技術、計測信号を同じ状態へ保つための装置制御や装置最適化、補正計算技術など、開発対象になる範囲がより広範になっており、非等間隔での

め、検出される信号が複雑になる。

サンプリング制御は計測時間が限られた in vivo¹³計測 (in cell 細胞内タンパク質計測や in situ 植物代謝計測) やMRI などへの展開も進んでいる。

核磁気共鳴

基本原理

- ・ 静磁場中に対象試料を置くことでゼーマン分裂現象を起こし、その分裂に相当する高周波エネルギーを照射する。
- ・ ゼーマン分裂に相当するエネルギーが吸収され、そのエネルギーが高周波として放出される。
- ・ 放出された高周波を検出し、周波数変換することで対象の信号周波数を解析する。
- ・ 高周波吸収から検出までの過程で高周波や磁場へ変調を付与することで、化学状態や形態情報などを付加情報として取得する。

効果が期待できる研究分野

- ・ 有機化学 (合成化学、天然物化学、錯体化学)、生化学 (構造生物学、分子生物学、植物科学、食品化学、脂質工学、糖鎖工学)
- ・ 無機化学 (材料化学、結晶学)、形態解析 (建築、材料)、量子コンピューター
- ・ 医科学 (抗体医薬、代謝、組織形態研究)

産業応用が期待される分野

- ・ 化学工業 (ファインケミカル、化粧品、香料、洗剤、高分子、接着剤)
- ・ 各種機械 (無機材料開発、高分子材料開発、電池開発、電子デバイス開発)
- ・ バイオ/低分子医薬品開発 (医薬品生理活性発現の機構解析、バイオ医薬品副作用の活性部位解析、バイオ/低分子医薬品の修飾部位検討)
- ・ 医科学 (代謝、組織形態研究)

必要となる要素技術

- ・ 高速化に関する要素技術 (高温超伝導材料開発、高温超伝導材料生産技術、超伝導接合、高電圧制御、磁場補正技術、テラヘルツ照射/制御技術、自動試料搬送、微小試料高速回転技術、極低温検出技術、高周波高速制御技術、離散データ解析技術、自動調整/最適化)
- ・ ユーザビリティに関する要素技術 (定量、自動試料搬送、自動調整/最適化、高安定性、ワイドボア超電導磁石、小型化、可搬性)
- ・ 高分解能化に関する要素技術 (高温超伝導材料開発、高温超伝導材料生産技術、超伝導接合、高電圧制御、磁場補正技術、微小試料高速回転技術、高周波高速制御技術、離散データ解析技術)

今後開発が期待される技術・システム

- ・ 超高磁場による高感度化 ・ 高均一磁場補正技術による高感度化 ・ DNP技術による高感度化 ・ 高速回転技術による高感度化 ・ 極低温検出による高感度化
- ・ 高周波高速制御による磁化遷移高効率化 ・ 圧縮センシングおよび非線形解析による高効率サンプリング技術 ・ 自動計測/自動解析システム
- ・ 広範囲試料を対象としたワイドボアシステム ・ 可搬型システム

その他の波及効果

- ・ 質量分析計等の他の分子スペクトル計測機器との連携システム

43

¹³ in vivo : 生体内での状態、in cell : 細胞内の状態、in situ : 計測対象のものが本来の機能を発現している状態

(2) 質量分析

(概観)

質量分析は、対象試料に含まれる化合物、または開裂したフラグメント¹⁴をイオン化して、その分子量（質量）を計測する手法である。無機物および有機物をイオン化する技術は多様にあるため、広い対象の化合物の分子量や開裂したフラグメントの質量を計測することが可能で、化合物の分析には必須の技術である。質量分析計は従来から広い分野で使われていたが、特に近年では、メタボロミクスやプロテオミクスなどの生体の網羅的機能解析やリキッドバイオプシーの臨床検査などへの応用が行われており、データベースと連携した新しいビッグデータ解析技術についても頻繁に成果が発表されるようになった。学術研究分野での手法開発は国内でも盛んに行われており、形態情報を維持したまま質量分析を行う質量顕微鏡や一細胞での計測技術などの新しい国産技術が登場している。一方で、製品システム化については海外メーカーが先行している状況であり、日本発のソフトイオン化¹⁵などの技術があるにもかかわらず国産メーカーの国際競争力は高いと言えない状況である。

(研究分野と技術の俯瞰)

質量分析計は主に試料前処理技術、イオン化技術、分析技術、検出技術などの組み合わせの違いにより多くの異なる質量分析計に分類されるが、その中でも特に試料前処理に液体クロマトグラフィ（LC）¹⁶を用いた LC-質量分析計（MS）は頻繁に利用されており、質量分析計の市場のうち最も大きい市場である。また、分析部については、LC-MS の分析部としてトリプル四重極型¹⁷のものが多く利用されているが、高分子量の定性分析などについては、より質量精度が高いオービトラップ型¹⁸や TOF 型¹⁹などが使われている。

この分野での国産メーカーの国際競争力は海外メーカーに遅れをとっている状況で、日本発のソフトイオン化法を製品に実装している MALDI-TOF の市場でもシェアが4分の1程度である。特に近年のライフサイエンスに関するニーズは大きくなっているが、質量分析計をライフサイエンスに適用する際には微量試料などの計測を可能にする高感度化が重要である。高感度化には多くのアプローチがあるが、その中でも複数の化合物が含まれる試料の中からターゲットの化合物だけを抽出する試料前処理分離技術やターゲット化合物を高効率でイオン化する技術、さらに検出器自体の感度と分解能をあげることが望まれている。高感度化が達成されると、バイオマーカー探索や微量代謝物の検出など質量分析計を適用できる分野

¹⁴分子が開裂し断片化したもの

¹⁵対象化合物のイオン化時に、分子の開裂をおさえてイオン化する方法。代表的なソフトイオン化法として、イオン化を補助するマトリックス材を対象試料と混合し、レーザー照射により印加した光エネルギーで試料をイオン化する MALDI 法などがある。

¹⁶充填剤を詰めた筒状の容器に溶液試料を流し、流れ出す時間が化合物と充填剤との親和性の違いにより異なる現象を利用して試料を精製する方法

¹⁷二つの四重極（イオンを4本の電極間を飛行させる方法）とその間のイオンを衝突させる部分とで構成される質量分析計のイオン分析部

¹⁸二つの異なる電位を持つ電極間でイオンを電子軌道のような軌道で運動した状態で捕獲する機構

¹⁹電場や磁場の中を飛行するイオンの飛行時間が質量に依存することを利用したイオン分析機構

が大きく拡がることが期待できる。また、ライフサイエンス分野への質量分析計の適用が進むと、質量分析計で処理しなければならない試料が膨大になる傾向が大きく、試料前処理やイオン分析技術、検出だけではなく、試料の準備から自動解析、結果判定までを含めたトータルスループット（一つの試料の準備から結果を得るまでの時間）を向上させる高速化技術が必要になる。その他に、技術開発が遅れているオービトラップを含む静電共鳴型やFT-MS（フーリエ変換（Fourier transform）質量分析計）などの静磁場共鳴型の質量分析計については、最高質量精度が必要な学術研究では海外メーカーの装置を使うしかない状況である。今後は、高速読みだしが可能な高感度センサーを実装した高質量精度の計測技術が求められる。一方で、形態情報を維持したまま計測を行う質量顕微鏡や一細胞から細胞質を抽出して計測する技術など、国内の研究成果として新しい要素技術が発表されている。特に質量顕微鏡はMALDI型のものがすでに製品化されており、生体組織を対象とした学術研究でも利用されているが、イオン化のビーム径の最適化などが必要である。

質量分析

基本原理

- ・計測対象分子をイオン化する。
- ・イオン化した粒子を電場または磁場により質量で分離する。
- ・分離したイオンを検出する。

効果が期待できる研究分野

- ・有機化学（合成化学、天然物化学、錯体化学）、生化学（構造生物学、分子生物学、植物科学、食品化学、脂質工学、糖鎖工学）
- ・無機化学（無機元素定量、同位体解析）、形態解析（合成高分子、生体試料）
- ・医科学（抗体医薬、代謝、組織形態研究）

産業応用が期待される分野

- ・環境（水、土壌、大気） ・食品（農薬、動物薬、アレルゲン ダイオキシン 機能性食品 産地偽装捜査） ・法医学（乱用薬物）
- ・化学工業（高分子、ナノ材料、ファインケミカル、高機能性材料、半導体、化粧品、香料、洗剤、接着剤、触媒）
- ・バイオ/低分子医薬品開発（医薬品生理活性発現の機構解析/速度論解析） ・医科学（代謝、組織形態研究、生体メカニズム）

必要となる要素技術

- MSとしての技術
 - ・試料イオン化に関する要素技術（イオン源、高電圧制御技術、ネブライザー）
 - ・イオン分離技術（電磁場制御、高周波技術、精密加工、イオン検出器）
 - ・データ解析技術（データベースサーチ、フラグメント解析、同位体解析、統計解析）
- 分析する上で必要な技術
 - ・試料誘導体化に関する要素技術（有機合成）
 - ・試料分離に関する要素技術（GC, CE, LC, SFC）

今後開発が期待される技術・システム

- ・より広範囲の対象試料を扱うことができるイオン化技術
- ・より広範囲の質量範囲を高精度で、高速に分析するイオン分離分析技術
- ・ユーザビリティ（簡便な試料および装置の操作、画一的な操作、計測自動化、解析自動化、データマイニング、ポータビリティ、保守性など）

その他の波及効果

- ・対象試料が広範になり操作が自動化することによる他の分析機器との連携
- ・より高度なイオン化の制御によりイメージングの高精細化

57