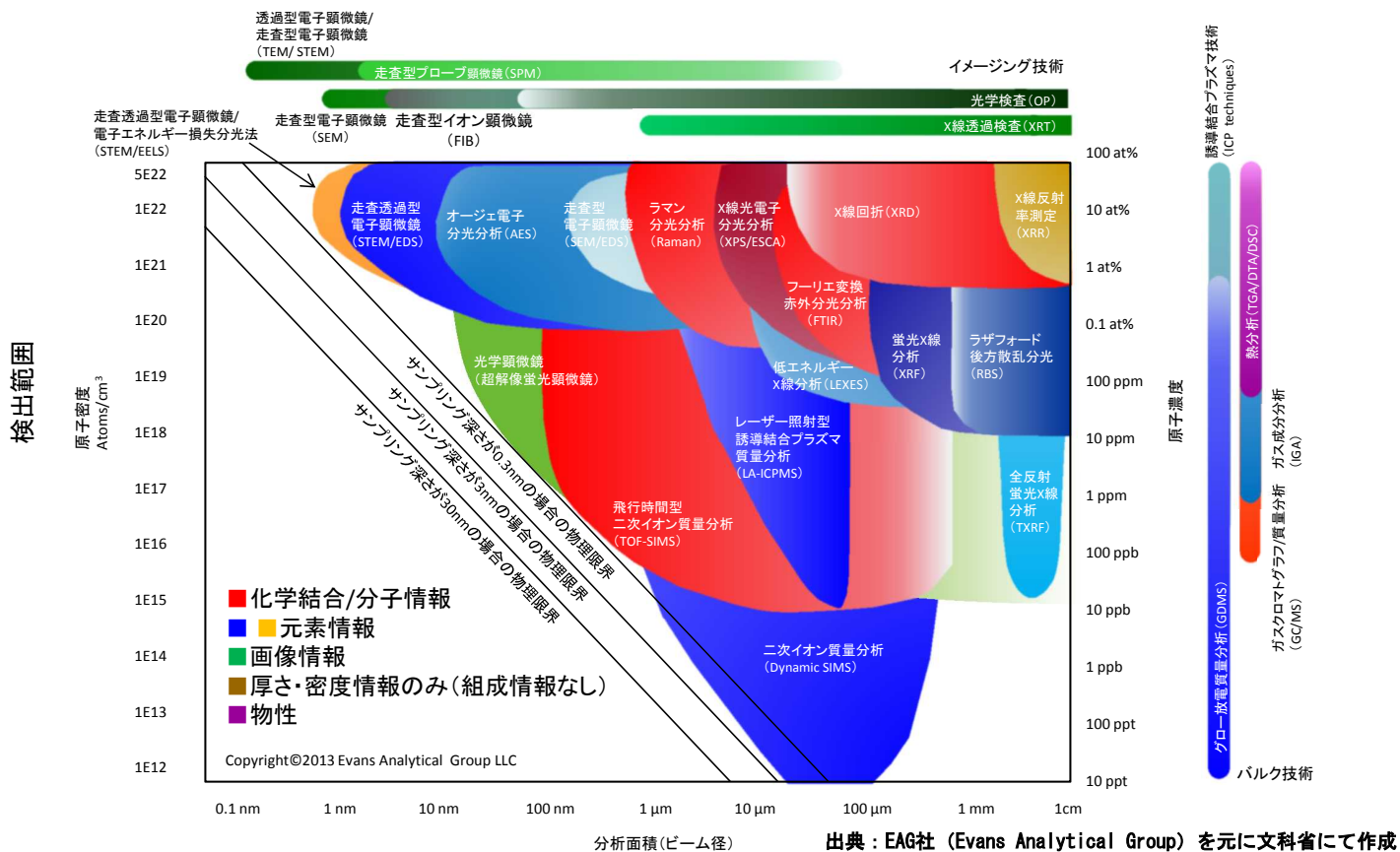
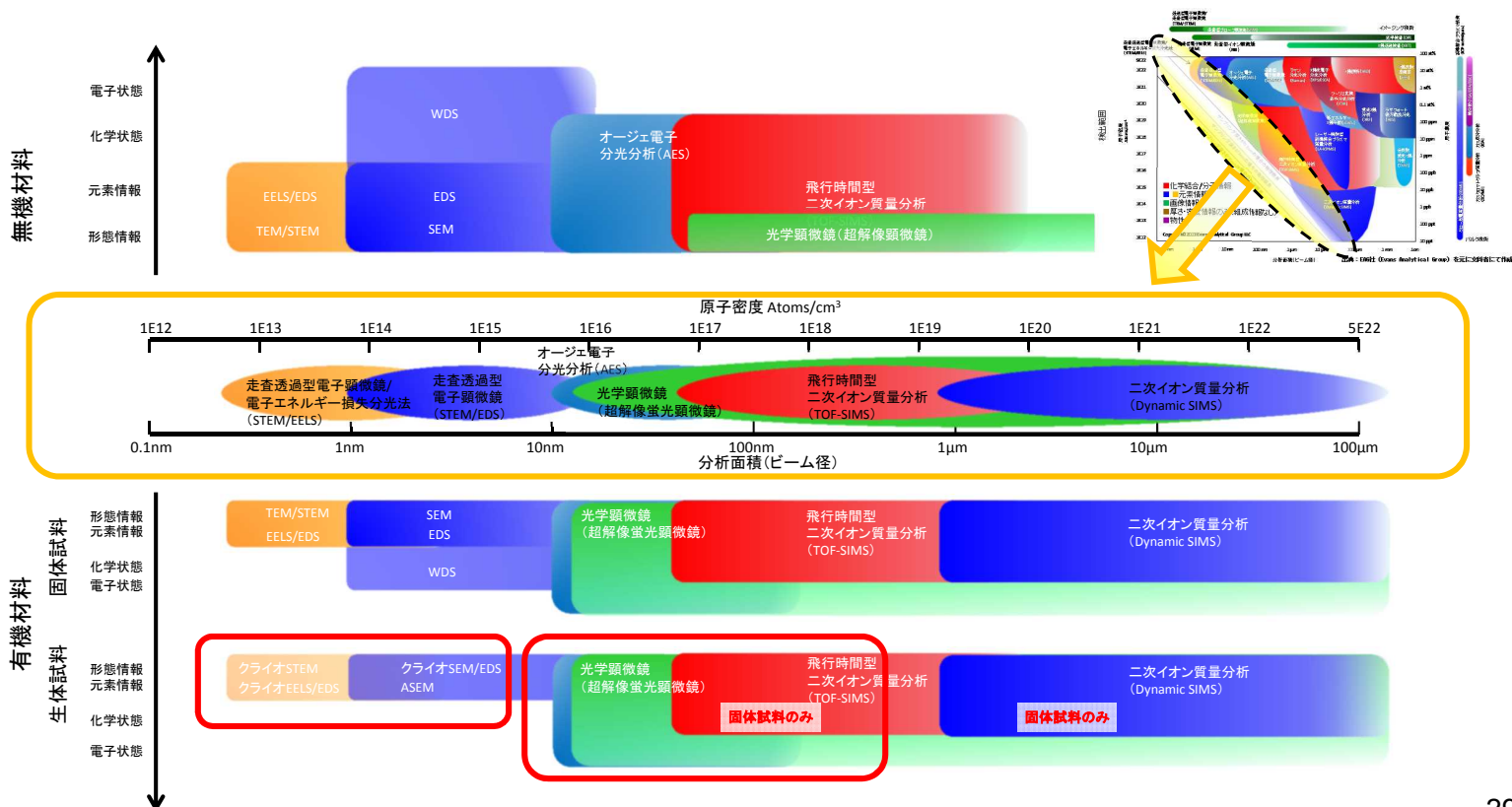


表面・微小部分析手法の比較

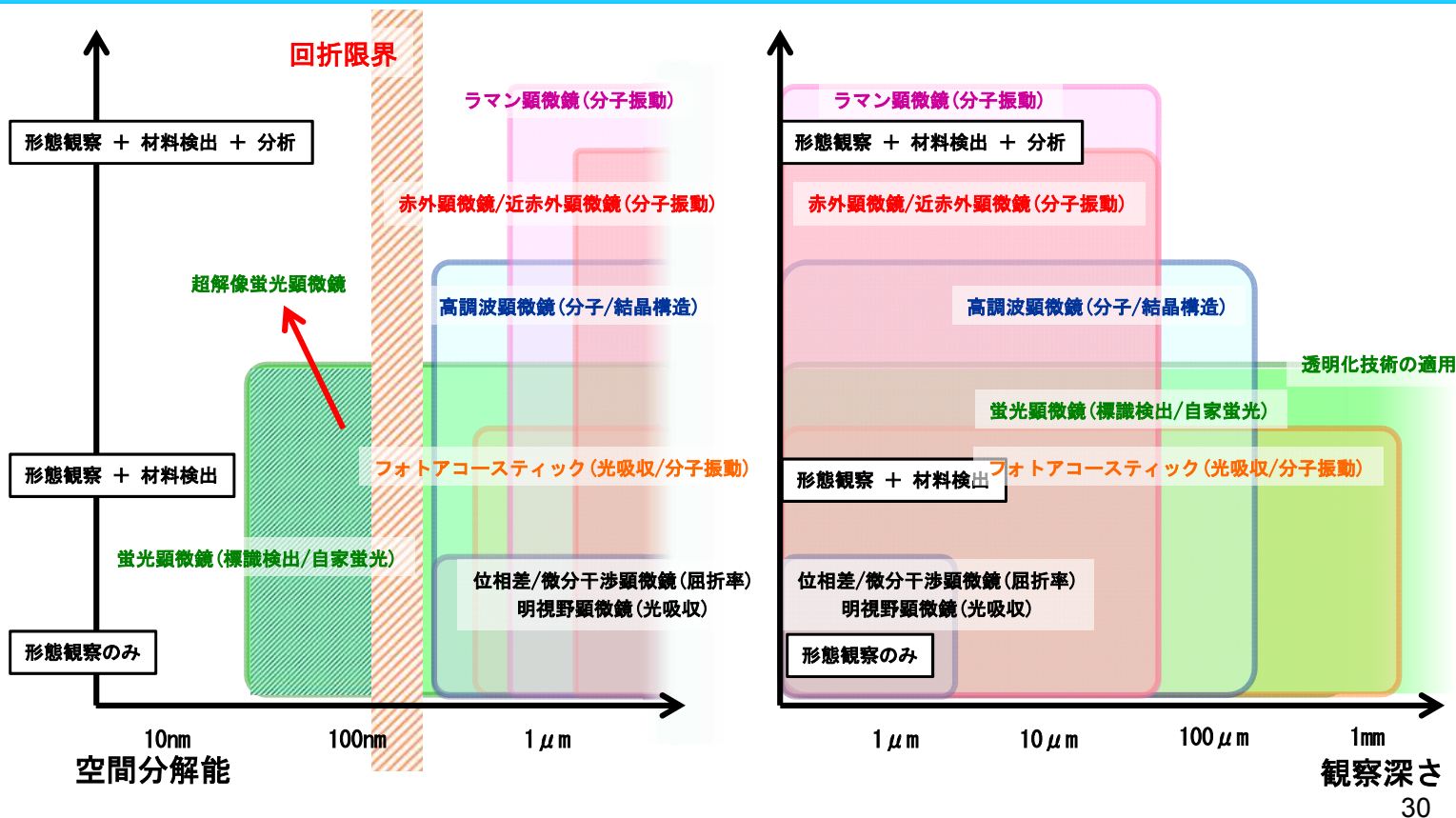


出典: EAG社 (Evans Analytical Group) を元に文科省にて作成

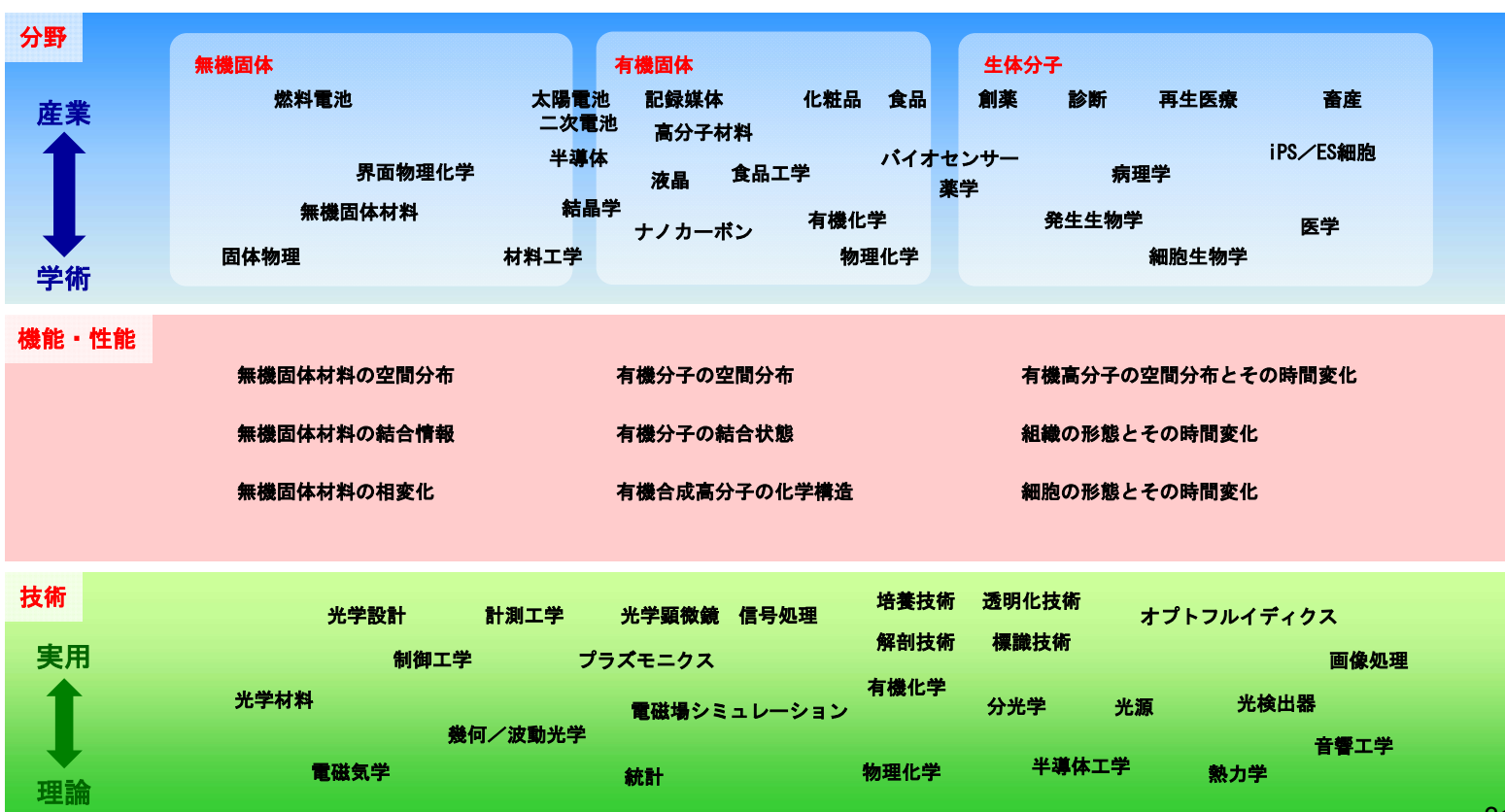
表面・微小部分析手法の比較



光学顕微鏡の種類と機能



光学顕微鏡分野技術俯瞰図



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。

必要となる要素技術(結像特性の向上、分析力の向上)

○ 空間/時間分解能の向上

1. 検出器、レンズの開発

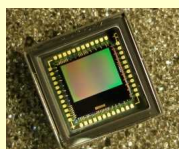
超解像蛍光顕微鏡の空間分解能は光検出の信号対雑音比、ダイナミックレンジにより決定される。光検出器の量子効率の向上、読み出し/増幅ノイズの低下、ウェルサイズの向上、読み出し速度の向上は、どれもが空間分解能の向上に寄与する。

各種収差がよく補正され、かつ高スループットの対物レンズを歩留まり良く製造する技術や"Adaptive Optics"のようなレンズの機能を補正・補完する装置も顕微鏡全体の質の向上に大きく資する。

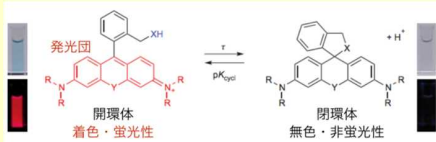
2. 蛍光プローブの開発

超解像蛍光顕微鏡の空間分解能は試料を標識する蛍光プローブの明るさ、耐褪色性、光スイッチングのon/offコントラストおよび応答速度に依存する。これらを改善した蛍光プローブが開発されれば空間分解能、および時間分解能をさらに向上できる。

光音響用のプローブについては、音響波を効率的に発するため、近赤外波長でのモル吸光係数が大きく、かつ蛍光量子収率が小さい(光音響量子効率が大い)プローブの開発が望まれる。



CMOSイメージセンサー¹⁾

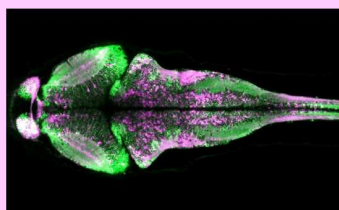


3. 無標識超解像原理の開発

光散乱、反射、および吸収を用いる顕微鏡も各種材料やデバイス観察に活用されており、これらの超解像化も望まれる。蛍光顕微鏡と同様、試料における光学効果を詳細に理解し活用することで超解像顕微鏡化は可能となる。そのためには上記の光検出器の性能向上、また後に示す分析能力の向上に資する光学デバイス、機器の開発が必要となる。

○ 機能化(生体機能の観察)

生体機能を超解像観察するためには、超解像観察に適し、かつ各種イオン濃度や電位・温度感受性のプローブ、定量性の高いプローブ、生体に非侵襲なプローブが必要となる。



神経活性の可視化プローブ³⁾
(紫: 活性部位)

1) Wikipedia, <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Matrixw.jpg>
2) 東京大学 浦野泰照、神谷真子
3) Looger Lab, HHMI/Janelia

必要となる要素技術（分析力の向上、マルチモーダル化）

○ 分析能力の追加・向上

分光分析が可能であることも光学効果を使う利点であるため、これをイメージングと組み合わせることにより、試料の形態情報と物質情報を同時に取得でき、豊富な情報を目的に応じて提供できる。たとえば、分子種や結晶の同定や、その特性の変化といったミクロな情報から、材料の力学特性、デバイスの特性、細胞や生体組織の識別や診断といったマクロな情報の取得まで、幅広い活用範囲が見込まれる。

そのためには、分光分析に適した、高スループット・高解像度の光回折素子およびデバイス、狭線幅レーザー、波長可変光源（可視から赤外）、広帯域光検出器（特に近赤外から赤外）とそれらの低ノイズ、高解像度化が望まれる。

また、非線形光学効果の活用は分光分析の幅をさらに広げる可能性があるが非線形光学効果の誘起に適した超短パルスレーザーは高価で扱いが難しく、このため、超短パルスレーザーの小型化、低コスト化は、技術開発と普及の両方を促進すると期待される。



小型超短パルスレーザー¹⁾
(ファイバーレーザー)



イメージング分光器²⁾

○ マルチモーダル化

赤外およびラマン分光をはじめとした分析要素を取り入れたイメージングの開発により、形態情報に加え、物質情報を同時に取得できるようになる。これにより生体や材料の機能とイメージ情報とを関連でき、目的に応じた詳細な試料分析が可能となる。そのためには、蛍光、光音響、ラマン散乱等の複数の効果を用いて試料の同一箇所を、可能な限り同時に観察するシステム構築が必要となる。

また、MRI装置や電子顕微鏡と光学顕微鏡観察を組み合わせた装置、およびそれを可能とするための標識技術（たとえば、蛍光およびMRI観察が可能なプローブ）の開発も期待される。



Correlative Microscope (蛍光顕微鏡+電子顕微鏡)の試料設置部³⁾

- 1) IMRA America, Inc.
- 2) 分光計器株式会社
- 3) Liv et al., PLoS ONE 8(2): e55707 (2003).

36



文部科学省

MINISTRY OF EDUCATION, CULTURE, SPORTS,
SCIENCE AND TECHNOLOGY-JAPAN

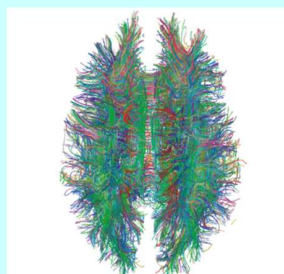
必要となる要素技術（ビッグデータ解析、ユーザビリティの向上）

○ ビッグデータ解析

光学顕微鏡の非侵襲性および分光分析能力により膨大なデータ（3次元形態、試料/物質特性、およびそれらの経時変化）の取得が可能となると予想される。取得されたデータの中から有意な情報を抽出し可視化する技術が必須となる。

材料の分光分析情報については、計測手法や記録方法を標準化し、データベースの構築、活用を容易にする必要がある。

また、得られた解析結果を評価するための基準も定める必要がある。



脳神経網のマッピング¹⁾

○ 画像処理技術の開発

光学顕微鏡の応用が広がるに伴い、低コントラストでの観察、特定条件での観察、リアルタイム観察などが重要になる。このような応用に適用するためには、ノイズ低減やデコンボリューション・高速解析などのあらたな解析技術の開発が必要である。

○ ユーザビリティの向上

超解像、分光分析等、多くの機能を光学顕微鏡に組み込むことが可能であるが、観察可能な試料形態が制限されたり、操作は複雑であったりすると活用されることはほぼ不可能である。また、生体試料の観察に関しては、試料の生理活性を保ったまま試料を設置可能であり、かつ様々な処置（投薬、電気/機械刺激等）が可能な装置が求められる。ハードウェア、ソフトウェアの両方について、応用を踏まえた上で設計を進めることが必要である。

マルチモーダル観察が可能な装置については、試料の移動やモード切替を速やかに自動でおこなうハードウェア開発が必須となる。



顕微鏡用インキュベーター²⁾

- 1) Gigandet et. al. PLoS ONE 3(12): e4006. (2008).
- 2) 株式会社 東海ヒット

37

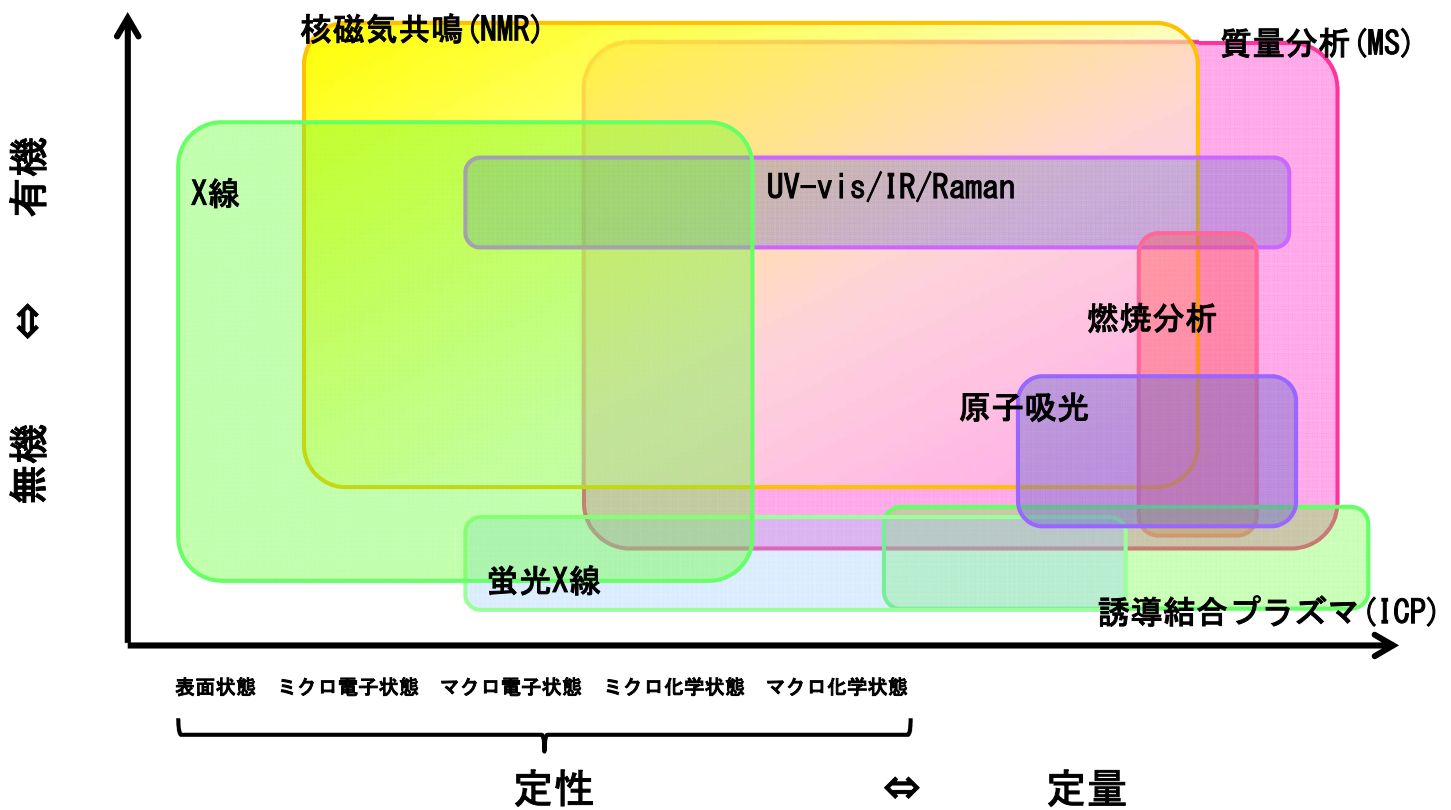


文部科学省

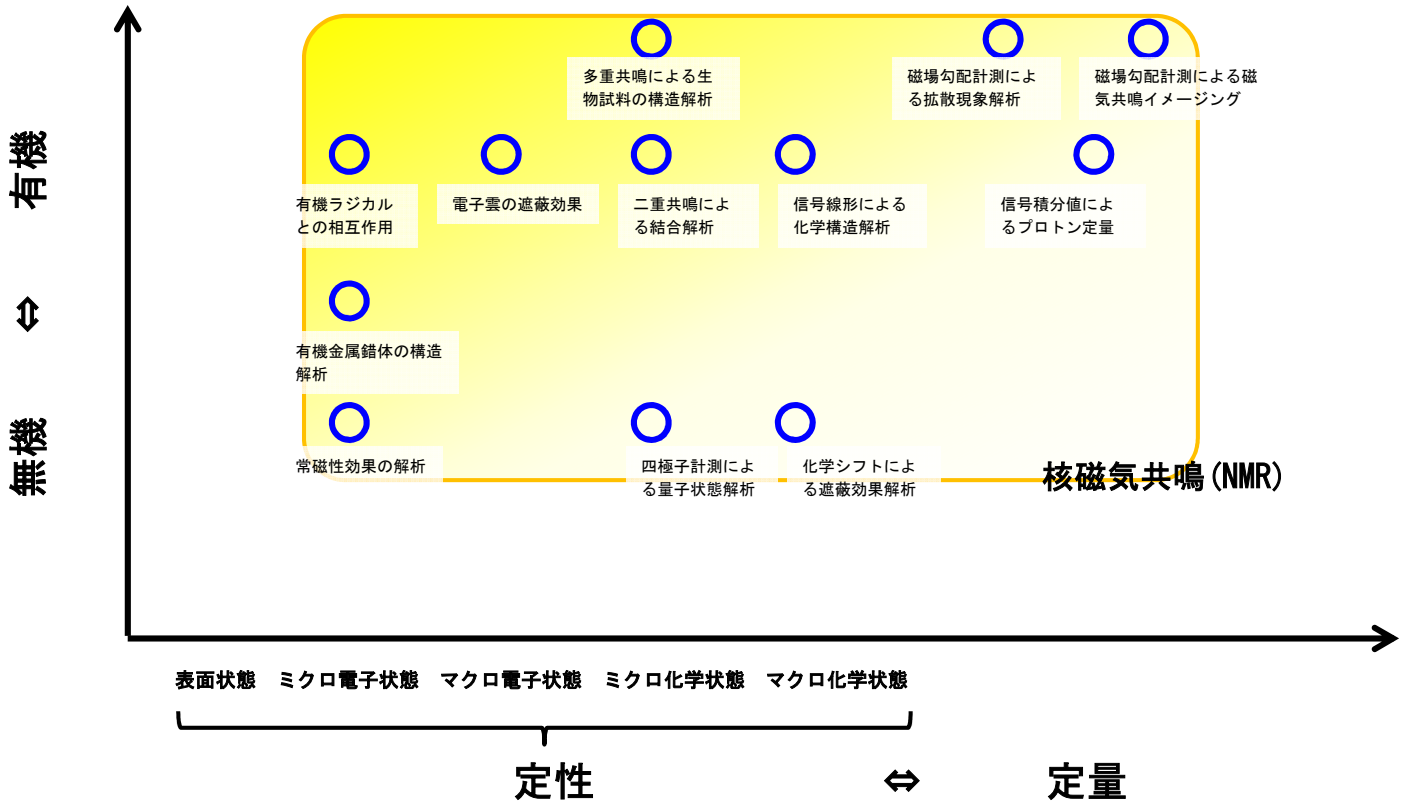
MINISTRY OF EDUCATION, CULTURE, SPORTS,
SCIENCE AND TECHNOLOGY-JAPAN

核磁気共鳴

機器分析手法の比較



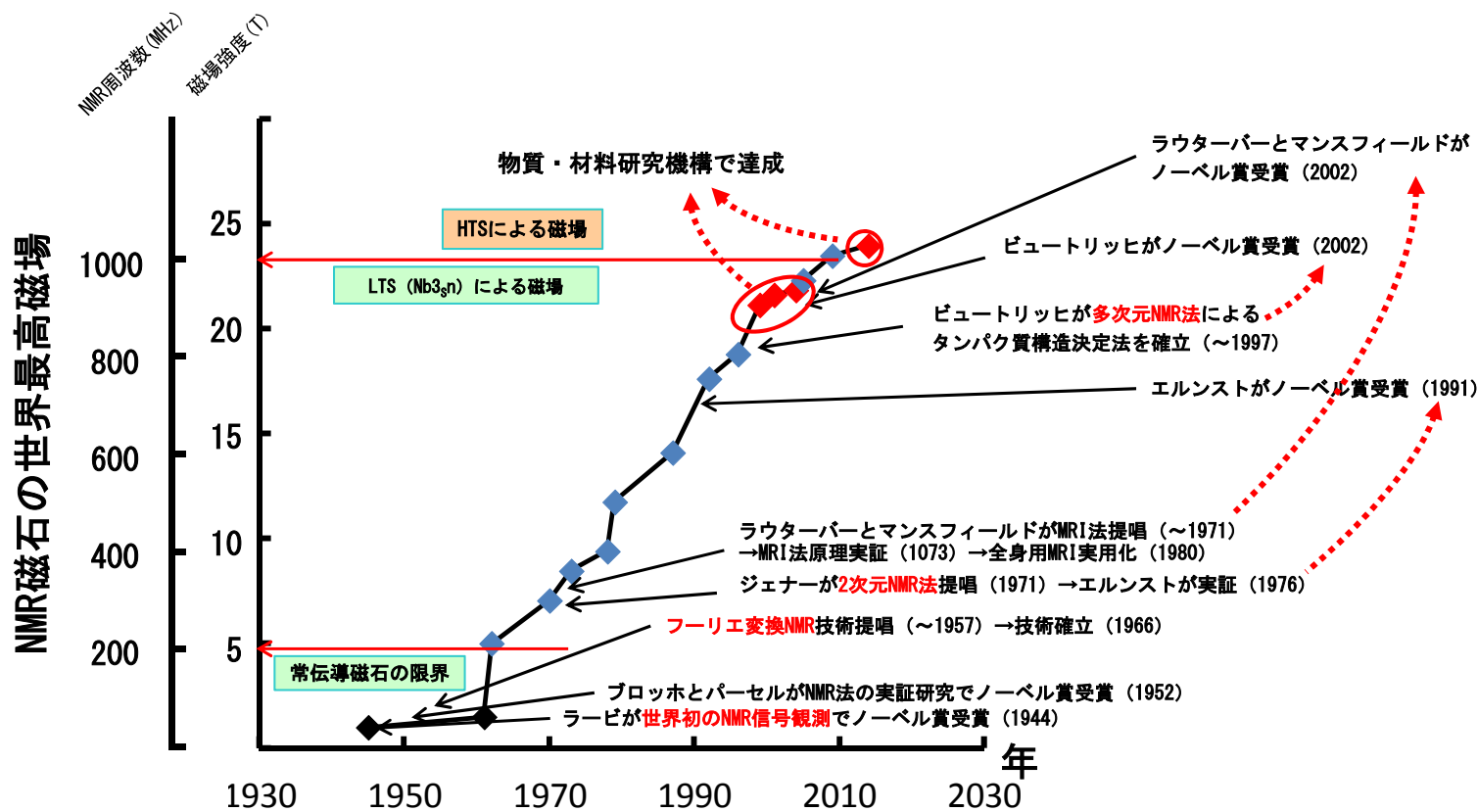
機器分析手法の比較



核磁気共鳴分野技術俯瞰図



核磁気共鳴と技術変遷



42

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

- ・ 高速化に関連する要素技術 (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連する要素技術 (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

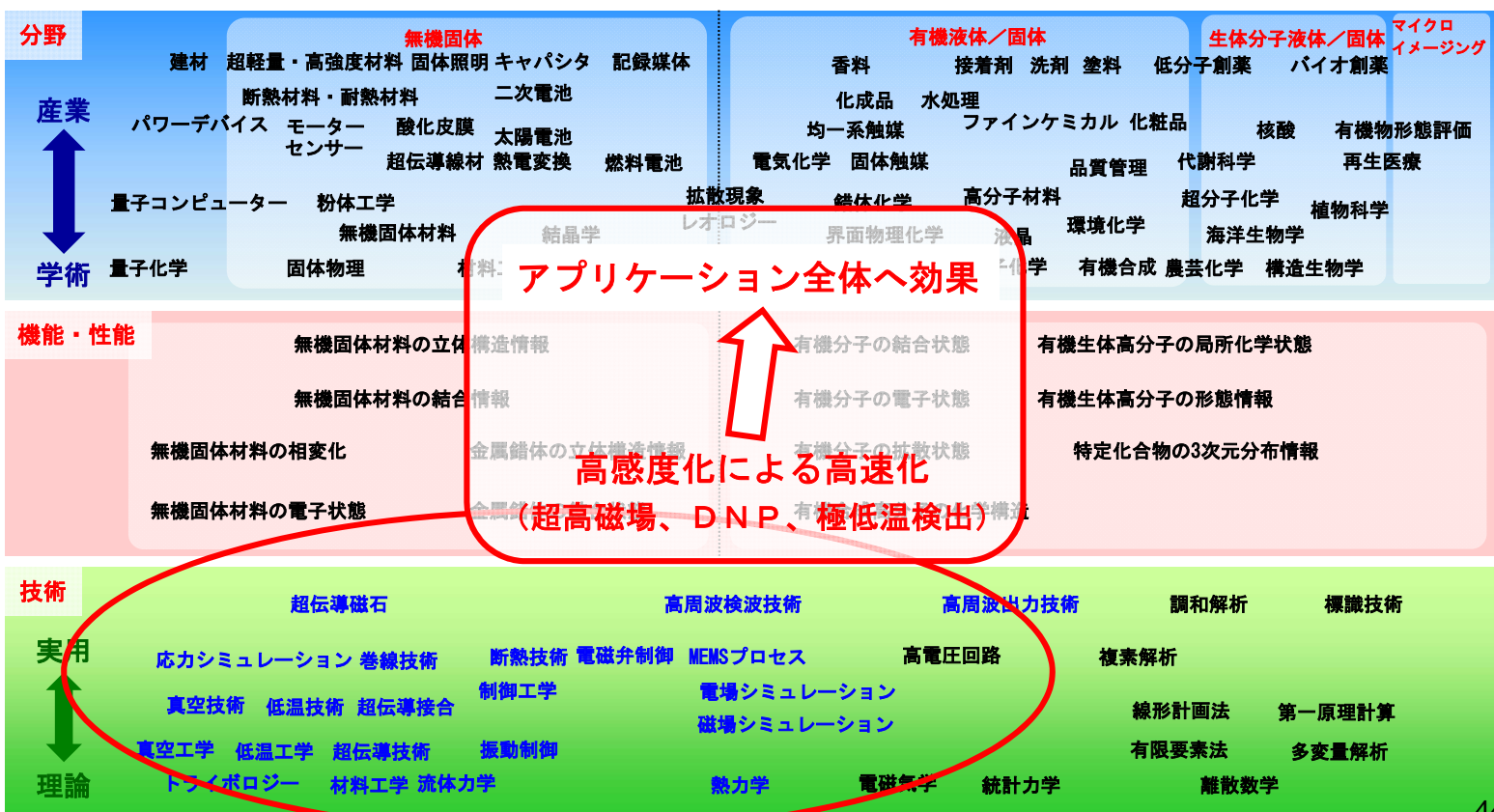
- ・ 超高磁場による高感度化 ・ 高均一磁場補正技術による高感度化 ・ 動的核偏極 (DNP) 技術による高感度化 ・ 高速回転技術による高感度化
- ・ 極低温検出による高感度化 ・ 高周波高速制御による磁化遷移高効率化 ・ 圧縮センシングおよび非線形解析による高効率サンプリング技術
- ・ 自動計測/自動解析システム ・ 広範囲試料を対象としたワイドボアシステム ・ 可搬型システム

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

高感度化による高速化



圧縮センシングによる高速化



必要となる要素技術(高速化1)

高感度化による高速化

超高磁場化による高感度化

NMR信号強度は静磁場の7/4乗に比例して向上し、他の向上技術とあわせた効果を期待することができる。(四極子については7/4乗以上の効果が期待できる。)

また、高温超伝導材料による高均一度超電導磁石の製造技術は日本のチームが世界を先導している。

※(株)JEOL RESONANCEアプリケーションノートより抜粋

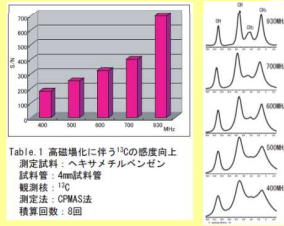
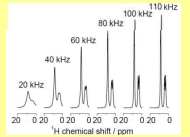


Table 1 高磁場化に伴う¹³Cの感度向上
測定試料: ヘキサメチルベンゼン
試料管: 4mm試料管
観測核: ¹³C
測定法: QPMAS法
積算回数: 8回

試料高速回転による高感度化

試料の高速回転により固体試料由来の異方性を消去することが可能で、信号を先鋭にすることで感度の高い信号として観測することができる。



※(株)JEOL RESONANCEアプリケーションノートより抜粋

熱雑音低減による高感度化

NMR信号は高周波コイルで検出されるが、高周波コイルを極低温下におくことで熱雑音を低減することができ、相対的にNMR信号の検出感度を向上させることができる。

ただし、対象試料近傍は室温におくことが望まれ、検出コイルから対象試料の間で200度以上の断熱を必要とする。

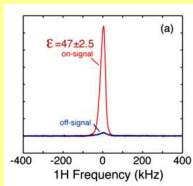


※JST戦略的イノベーション創出推進プログラム成果より

DNPIによる高感度化

NMRの基本感度はゼーマン分裂のエネルギー差に依存するが、極低温における電子スピンのゼーマン分裂のエネルギー差が原子の核スピンの数万倍であることを利用してNMRの感度を向上させることが原理的に可能である。

この手法を実現するには電子スピンを励起するためのテラヘルツ照射・制御技術や試料の温度制御技術などが必要になる。

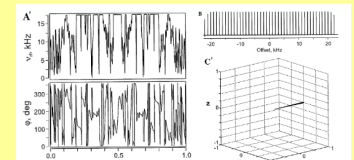


※文科省「先端研究施設共用促進事業」全国先端研究施設共用促進事業連携シンポジウム(2012年)より抜粋

広帯域対応に対応した高速制御による高効率磁化励起

NMR信号の高周波数化に伴い、高周波の観測・照射帯域の広帯域化を実現するパルス系列やハードウェアの高速制御が必要になる。

先進的なパルス系列の実行には高速変調、多重ループや再帰呼び出しなどの命令実行が必要で、さらにナノ秒程度の時間分解能で高周波パルス及び勾配磁場パルスを連続出力することが求められる。



※J. Magn. Reson. 176:170-186(2005)



文部科学省

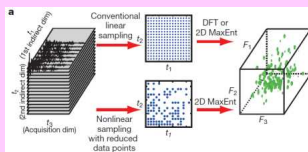
MINISTRY OF EDUCATION, CULTURE, SPORTS, SCIENCE AND TECHNOLOGY-JAPAN

必要となる要素技術(高速化2、高分解能化、ユーザビリティ)

圧縮センシングによるサンプリング高速化

より多くの情報を収集可能な多次元測定法を実行するには、間接観測軸のポイント数に応じた計測時間が必要であるが、近年では周波数情報の抽出に適した圧縮センシングを行うことでより短時間での

情報収集が可能となってきた。この圧縮センシングを実用化するには、効率的なサンプリングスケジュールのシミュレーションや、非等間隔の離散データに対する解析手法などの技術確立が求められている。

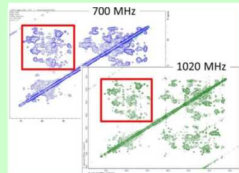


※Nature 458, 102-106 (2009)
DOI:10.1038/nature07814

超高磁場化による高分解能化

NMR信号の分布範囲は静磁場強度に比例するが、各信号の線幅は大きく変化しない。したがって、静磁場強度が大きくなると信号の分離度が高くなり、より小さな周波数シフトの違いを観測することが可能になる。

よって、より高磁場の装置で計測した方が高分解能の情報を得ることが可能である。



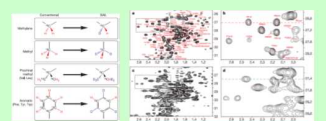
※物質・材料研究機構プレスリリース資料より抜粋

同位体標識技術による高分解能化

NMRは高分子量のものへ計測対象が広がっているが、特に分子量数十万の膜タンパク質の計測技術の重要性が増している。

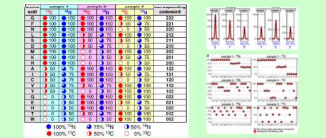
このような高分子量生体試料の計測を行う際は信号の重なりを減らす特殊な同位体標識技術が有効である。タンパク質の特殊な同位体標識には、有機合成/生成による特殊同位体標識リード化合物の合成や無細胞合成のような同位体標識リード化合物をタンパク質へ導入する技術が必要になる。

立体整列同位体標識(SAIL)法による観測信号の高集約化



※Nature 440(2), 52-57(2006)
DOI:10.1038/nature04525

符号化標識技術(SiCode)による信号帰属



※J. Biomol. NMR 63:213-221(2015)
DOI:10.1007/s10858-015-9978-8



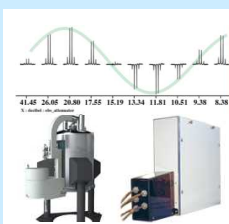
文部科学省

MINISTRY OF EDUCATION, CULTURE, SPORTS, SCIENCE AND TECHNOLOGY-JAPAN

必要となる要素技術(高分解能化、ユーザビリティ、標準化)

ユーザビリティ (試料自動搬送、自動調整、自動解析)

近年、有機合成や合成の手法が効率化されたことでNMRでも大量の試料の計測が求められる。大量の処理を効率的に行うには、試料搬送の高速化や自動化、同調回路や磁場均一度の自動調整、計測データの自動処理やデータベースとの連携動作などの技術開発が必要であり、装置により得られる結果が常に安定した質であることを保証・維持するための機能が求められる。



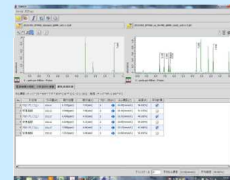
※(株)JEOL RESONANCEアプリケーションノートより抜粋

ユーザビリティ (低発熱)

シミュレーション技術が進歩したことにより、電圧と電流を適切に印加することが設計的に可能になっている。この技術により誘電損失を抑えた低発熱な高周波コイルを開発することができ、対象試料の範囲を広げることができる。

ユーザビリティ (定量)、標準化

近年、薬局方における公定法の一つとしてNMRによる定量法が収載された。このような日常的に必要な作業は自動化による省力化が求められており、ソフトウェアに対する要求が非常に増えている。



※(株)JEOL RESONANCEアプリケーションノートより抜粋

ユーザビリティ (ワイドボア磁石、可搬型磁石)

ワイドボア磁石を構成したNMRシステムでは、一般的なNMRシステムよりも大きな試料の計測が可能である。また、検出器周辺の空間が広いので、試料へ刺激をする機構などを組み込むことも可能になる。



※(株)エム・アール・テクノロジー製品紹介より抜粋

一方、永久磁石などのコンパクトな磁石を構成したNMRシステムは計測対象がある場所へシステムを移動することができ、オンサイトでの計測や短期間の計測などの使用形態にあわせた対応が可能になる。

標準化

近年のNMRハイスループット化に伴い、出力データが大量に得られるようになった。このような状況では効率よくデータ解析を行うためのデータベース連携や、解析プラットフォームの共通化などが求められる。



NMR/MRI事業者の変遷

