

## 2019 年度中央大学共同プロジェクト 研究実績報告書

### 1. 概要

研究代表者	所属機関	理工学部	2019 年度助成額
	氏名	西田 治文	
	NAME	Harufumi Nishida	
研究 課題名	和 文	超高精細度新世代 3D イメージング顕微鏡の開発と応用-あらゆるものの内部構造に迫る	研究 期間
	英 文	Invention of a new 3D imaging microscope for high resolution internal structure observations	2019~ 2020 年度

### 2. 研究組織

※所属機関・部局・職名は 2020 年 3 月 31 日時点のものです。

	研究代表者及び研究分担者		役割分担	備考
	氏名	所属機関/部局/職		
1	西田 治文	中央大学・理工学部・教授	研究代表者, 研究全般, 植物	研究代表者
2	福井 彰雅	中央大学・理工学部・教授	軟組織観察手法の開発主導	研究分担者
3	森山 侑輝	中央大学・理工学部・助教	軟組織観察手法の開発	研究分担者
4	久保田 彩	中央大学・理工学部・助教	手法開発, 古植物研究	研究分担者
5	伊庭 靖弘	北海道大学大学院・理学研究院地球惑星科学部門・准教授	装置・手法開発, 特許登録	研究分担者
6	中村 晃輔	北海道大学・理学研究院・技術部・技術専門職員	樹脂置換・包埋法, 研削・研磨法の開発	研究分担者
合計		6 名		

### 3. 2019年度の研究活動報告 ※行が不足する場合は、適宜、行を追加してご記入ください。

(和文)

本研究は、世界最高峰の解像度をもつ3D イメージング顕微鏡を開発し、古植物学および生物学への応用を目指すものである。今年度の研究は当初の予定通りのペースで遂行できており、順調に成果を得ている。研究活動の各項目について以下に報告する。

#### <3D 顕微鏡の開発：伊庭（北海道大学）・久保田（中央大学2019年4月新任）>

撮影機材の選定実験と3D 顕微鏡の製作：開発の第一段階として、除去加工機に搭載する各種レンズの選定と撮影セッティングの最適化を行った。実験装置を制作し、高精度なテストターゲットと画像センサーを設置した。テストターゲットの撮影を通して各種レンズの分解能とディストーションを計測した。同時に各種設定（倍率など）ごとのフリッジの状態を観察した。これらの結果から、レンズを選定し、これらの倍率ごとのF値を最適化した。光源については、顕微鏡撮影に最適なものを連続撮影実験を行って明らかにし、安定性、明度、色温度、分解能の観点から選定した。カメラは、顕微鏡に合わせてミラー・シャッターショックが無く、かつ高解像のものを選定した。これらの撮影機材を除去加工機に搭載するための技術開発を行い、3D イメージング顕微鏡の大枠を完成させることができた。

岩石への応用と画像解析およびその結果：次に、植物化石の含まれる各種岩石（チャート、泥岩、砂岩、炭酸塩コンクリーション）で加工・撮影実験を行い、最適な加工条件を明らかにした。この結果、全ての岩石でフルカラーの超高解像連続断層像を取得することに成功した。従来のX線を用いるトモグラフィー装置では不可能であった岩石内部のフルカラーかつ超高精細可視化に世界で初めて成功した。本3D 顕微鏡は、約 $0.08\mu\text{m}/\text{voxel}$ の解像度を持ち、フルカラー機能も含めて世界でこれに匹敵するものは存在しない。最後に、既存のワークステーションのRAMを増強し、画像解析を行った。解析によって復元された3Dモデルは、8Kディスプレイで詳細に観察可能とし、かつ高精度に3Dプリント可能とした。これは、破壊型トモグラフィーのデメリットを補うものでもある。

課題として、顕微鏡の視野が狭いために、研究対象とするターゲットを撮影することが困難な場合が多くみられた（後述）。今後は高精度ステージを導入して顕微鏡のスムーズな座標移動と遠隔大学間で分析中に画像データ上で議論できる仕組みをつくることで、分析の成功率を向上させる予定である。

#### <古植物学への応用：西田・久保田>

3D 顕微鏡の大枠が完成した9月以降に、まず北海道産後期白亜紀の含化石石灰質ノジュール1個の断層像データ取得を行い、これらの画像解析を行った。画像観察・解析には備品として購入した8K大型ディスプレイを用いた。密集した動植物化石が確認されたが、計画に従い植物の同定を行った。特筆すべき成果は、約50個の種子を含んだ長さ1cmほどの果実状器官の発見である。従来の岩石を切断する方法では、岩石中の特定器官を発見するのは、偶然切断面に化石が出現した場合のみで、今回のような小型の器官に遭遇する確率は非常に低い。新たに発見した器官は、画像解析により全体が復元され、裸子植物の果実状器官であることが明らかになった。被子植物の果実のように種子を包み込む進化は、中生代の絶滅裸子植物でも並行進

化しており、発見した化石はその一つである。また、種子の保護様式は未知のもので、この化石植物は裸子植物の新たな綱（イチョウ綱や球果綱などに相当する分類単位）を代表することが明らかになった。本化石は、2019年度の生命科学科卒業研究のテーマとなり、学生の教育にも直結する成果となった。得られた画像をもとに、久保田と卒研小谷百香が北大に出張し、画像解析を行った。植物化石研究では世界初の成果であり、学界への公表が待たれる。

問題点として、取得画像の解像度が不足していたため、化石組織の細胞レベルの観察が不十分となったことが挙げられる。新たな綱の提唱に必要な情報は得られたが、今後この手法を用いる際に解像度と情報量の設定が重要であることが再認識された。

#### <生物学への応用：福井・森山>

特定の遺伝子による形態形成異常の原因を探るために遺伝子破壊実験およびGFP挿入胚の作製を進めた。形態形成に関与する *cxcl12* や *cxcr7* といった遺伝子を破壊することにより、原腸形成における細胞運動に異常がみられることを見出した。また、CRISPR/Cas9法を用いて目的遺伝子上流へGFPを挿入することにより、特定の細胞をマークする実験を進めた。今後はこれら技術と3D顕微鏡技術を組み合わせることで、発生・再生における動物の形態形成について研究を進めていく。

(英文)

Construction and test use of the new 3D imaging microscope system was successfully performed. The imaging system implies high ability for wide use in science that demands high resolution visual observation of internal structures. The newly adjusted system provided innovational results both in fossil studies and in zoological developmental studies. For example, a new fruit-like organ of extinct gymnosperms of Cretaceous period was found from sequential high-resolution images of a calcite nodule from Hokkaido. The organ probably represents a new Order of gymnosperms.

#### 4. 主な発表論文等（予定を含む）※行が不足する場合は、適宜、行を追加してご記入ください。

【学術論文】《著者名、論文題目、誌名、査読の有無（査読がある場合は必ず査読有りと明記してください）、巻号、頁、発行年月》

知財保護の観点から学術論文発表を特許と同時に行う予定である。

**【学会発表】**（発表者名、発表題目、学会名、開催地、開催年月）

伊庭靖弘，次世代トモグラフィ装置の開発-病理学への革新的技術提供を目指して-，日本病理学会，第16回日本病理学会カンファレンス，テクノロジーの進歩とともに発展する病理学，札幌，2019年8月。

**【図 書】**（著者名、出版社名、書名、刊行年）

**【その他】**（知的財産権、ニュースリリース等）