第 18 回医用分光学研究会

要旨集

2020年11月26日(木)~11月27日(金)

オンライン開催

第18回医用分光学研究会

2020/11/26 (Thr)					2020/11/27 (Fri)			
時	分	発表	座長	時	分	発表	座長	
9				9				
					00 10	実行委員長挨拶		
10				10	10	基調講演 尾崎幸洋	山本	
					00	休憩		
						奈良 雅之		
11				11	20	江川 麻里子	石垣	
					40	山本 達之		
12				12				
	00 10	開会の辞 実行委員長			00	総会		
13	10	基調講演 濵口宏夫	山本	13		休憩		
	00	休憩				147.思		
	20	鈴木 榮一郎			10	加納 英明		
14	40	川内 聡子	塚田	14	30	佐藤 英俊		
	40	石垣 美歌			50	 橋本 守	吉清	
	10				10	三宅 星良	•	
15	30	 長谷 栄治	石垣	15	30	M. S. Hossain		
	50	塚田 真也	, , <u> </u>			休憩		
				-	00	横山 渚	山本	
16	20	岡 祐貴		16	20	川本 竜嗣		
	40	Fangfang Tai	塚田		40	宮崎 慎一		
17	00	岩崎 啓太			00	H. M. Imrul		
				17		閉会の辞 実行委員長		

基調講演(40分) 一般発表(20分) 学生発表(20分) 13:00 開会の辞 実行委員長

基調講演1

13:10 濵口宏夫・株式会社分光科学研究所

「生命」へのラマン分光学的アプローチの試み

Trial of Raman Spectroscopic Approach to "Life"

13:50 休憩

一般,学生発表

14:00 鈴木 榮一郎・公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団

医食における衛生及び嗜好視点での樹木成分に関する研究 -古典調味料としての楡皮の NMR メタボロミクス

Study on wood ingredient as a health benefit and the taste factor -NMR-based metabolomics of elm skins as classical seasonings

14:20 川内 聡子・防衛医科大学校 防衛医学研究センター 生体情報・治療システム研 究部門

衝撃波に曝露したラット脳における一酸化窒素の可視化

Visualization of nitric oxide in the rat brain exposed to a shock wave

14:40 石垣美歌・島根大学 医・生物ラマンセンター, 島根大学生物資源科学部

共鳴ラマン分光法を用いたマウス卵子の呼吸活性,及び脂質代謝の非侵 襲評価 による成熟度判別

Discrimination of the degree of oocyte maturation based on respiratory activity and lipid metabolism of mouse oocyte using Raman spectroscopy

15:00 休憩

15:10 山口秀幸・味の素株式会社バイオ・ファイン研究所

食品の研究開発における NMR の活用

Magnetic resonance in food science

15:30 長谷栄治・徳島大学ポスト LED フォトニクス研究所

光コムシンセサイザーを用いたカスケードリンク型 マルチ合成波長デジタルホログラフィ

Multiple-synthesized-wavelength digital holography by use of optical synthesizer based on frequency comb

15:50 塚田真也・島根大学学術研究院教育学系

強誘電体結晶における角度分解偏光ラマンマッピング

Angle-resolved polarized Raman mapping on ferroelectric crystals

16:10 休憩

16:20 岡祐貴・筑波大院数理物質

白色レーザーを用いた硫黄を代謝する藻類 Cyanidium caldarium のラベルフリー 非線形光学イメージング

Label-free Visualization of sulfur metabolism of microalgae Cyanidium caldarium by multi-modal nonlinear optical microscopy

16:40 Fangfang Tai • Department of Applied Physics, Osaka University

Imaging of small molecule by infrared absorption of nitrile

17:00 岩崎啓太・島根大学生物資源科学部

顕微ラマン分光法を用いた培養ヒト乳腺癌細胞(MCF-7)とヒト乳腺上皮細胞(HMEpC)の比較解析

The comparative analyses between human breast cancer cell line (MCF-7) and Human Mammary Epithelial Cells (HMEpC) by Raman micro-spectroscopy

2020年11月27日 金曜日

10:00 実行委員長挨拶

基調講演2

10:10 尾崎幸洋・関西学院大学理工学部/豊田理研

赤外、ラマン、近赤外、低波数分光、遠紫外分光による水の研究 Studies of Water by Infrared, Raman, Near-infrared, Low-frequency Vibrational, and Farultraviolet Spectroscopy

10:50 休憩

一般 • 学生発表

11:00 奈良 雅之・医科歯科大・教養

赤外分光によるトロポニン C の Ca2+配位構造解析—アミノ酸置換による 12 位のグルタミン酸への影響

Infrared study of the Ca2+-coordination structure of troponin C: Effect on Glu at the 12th position by an amino-acid replacement

11:20 江川 麻里子・資生堂グローバルイノベーションセンター

分光法による皮膚の水関連成分の評価

Evaluation of water-related components in the skin using spectroscopy

11:40 山本達之・島根大学生物資源科学部

イネいもち病菌の生きた胞子の顕微ラマン分光法による研究

A microscope Raman spectroscopic study on the living cells of Blast disease

- 13:00 研究会総会
- 13:30 休憩

14:10 加納英明・九州大学 大学院理学研究院

非線形光学顕微鏡による in-vivo ラベルフリーイメージング

In-vivo label-free imaging by nonlinear optical microscopy

14:30 佐藤英俊・関西学院大学理工学部 生命医化学科

ウイルス感染のラマン分光分析

Raman analysis of virus infection in cell

14:50 橋本 守・北海道大学大学院情報科学研究院

光ファイバーバンドルを用いた非線形ラマン散乱顕微内視鏡

Coherent Raman scattering micro-endoscopy using optical fiber bundle

15:10 三宅 星良・関西学院大学

ラマン分光法を用いた三次元培養細胞の光学測定技術の開発 Development of optical measurement technology in 3D cultured cells using Raman spectroscopy

15:30 M. S. Hossain • Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University

Space- and time-resolved study on the effect of antifungal drug Clotrimazole at the single cell level by Raman microspectroscopy

15:50 休憩

16:00 横山渚・関西学院大学

ライトシートダイレクトラマンイメージング(LSDRI)システムの開発 Development of Light sheet direct Raman imaging system

16:20 川本竜嗣・関西学院大学

ハイパースペクトラルイメージ自動校正用プログラムユニットの開発

Development of a program unit for automatic calibration of hyperspectral image analysis

16:40 宮崎慎一・筑波大学ヒューマニクス学位プログラム、筑波大学国際統合睡眠医科 学研究機構 (WPI-IIIS)

線虫の非線形光学イメージングによる生体分子の可視化

Visualization of biomolecules in C. elegans by nonlinear optical imaging

17:00 H.M. Imrul • Faculty of Life and Environmental Sciences, Shimane University

Imaging cell wall dynamics during yeast sporulation by Raman micro- spectroscopy and multivariate curve resolution analysis

17:20 閉会の辞 実行委員長

基調講演

「生命」へのラマン分光学的アプローチの試み Trial of Raman Spectroscopic Approach to "Life"

<u>濵口宏夫</u>

株式会社分光科学研究所

Hiro-o Hamaguchi

Spectroscopic Science Laboratory hamaguchi@apsclab.com

「生命は究極的には物理学と化学によって解明されるべきものである」というシュレディンガーの指摘にしたがって、筆者は 2000 年代初頭、生命の最小単位である細胞のラマン分光学的研究に着手した。細胞そのものを対象とした分光学は、当初奇異の目で見られたが、現在では一つの分野として定着している。生命へのラマン分光学的アプローチが、生死の判定、健康状態の解析等、医用分光学の基本的課題に向けた基礎研究において、大きな役割を果す可能性があると筆者は考えている。

生細胞のラマン分光学的研究に着手して間もなく、分裂する酵母生細胞の時空間分解ラマンスペクトルを測定することに成功し、生命のダイナミズムをラマンスペクトルの変化として目の当りにすることができた[1]。その際、細胞核の分裂とともに細胞中央部に突如出現し、分裂終了とともに消失する未知の強いラマンバンド(波数 1602cm⁻¹)を見出した(図 1)。このラマンバンドは、酵母に栄養を添加すると強度を増し、KCN を投与すると消失した。また飢餓条件下の酵母では、このバンドが消失すると同時に、液胞中にポリリン酸の結晶粒子が出現し、

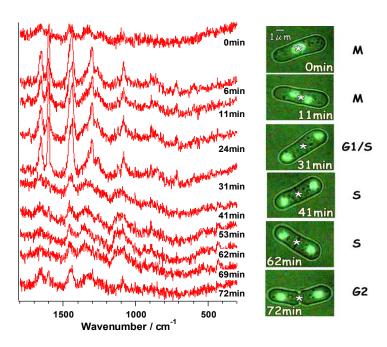


図1. 分裂中の分裂酵母細胞のラマンスペクトル

そのまま細胞死に至る。これらの発見から、この波数 1602cm⁻¹のバンドを、酵母の「生命のラマン分光指標」と呼んだ[2,3]。酵母の生の指標としてこのバンドを用いることにより、生と死を分子レベルで識別し、その境界、可逆性、不可逆性を議論することができるかも知れないと考えた。しかしその後の研究により、1) このバンドは、ステロイドの一種であるエルゴステロールによるものであり[4]、2) 酵母の個体によっては、死んだ後もこのバンドが観測される場合があること、がわかった。どのような場合にエルゴステロールが酵母の生の指標となり得るのか、また顕著に見られる個体差はや時間変化が何故生じるのかなど、解明すべき点が数多く残されていた。

最近、台湾国立交通大学、島根大学と共同で、ラマン散乱と GFP 蛍光強度を同時観測する新しい実験手法を開発した[5]。その手法を分裂酵母に応用し、1602cm⁻¹ のバンドが、活性度の高いミトコンドリアに由来する可能性が高いことを示唆する結果を得た。活性度の高いミトコンドリアが、何らかの形でエルゴステロールを含む脂質と強く関わっていることが推察される。この新しい結果を含め、1602cm⁻¹ のバンドを通して生命を観るラマン分光学の現状と展望を議論する。

謝辞

本講演は、これまで約20年にわたって、数多くの共同研究者と行ってきた研究をまとめて報告するものである。すべての共同研究者に感謝する。

- 1. Yu-san Huang, Takeshi Karashima, Masayuki Yamamoto and Hiro-o Hamaguchi,
- J. Raman Spectrosc., **34** (2003).
- 2. Yu-San Huang, Takeshi Karashima, Masayuki Yamamoto, Takashi Ogura and Hiro-o Hamaguchi, *J. Raman Spectrosc.*, **35**, 525-526 (2004).
- 3. Yu-San Huang, Takeshi Karashima, Masayuki Yamamoto and Hiro-o Hamaguchi, *Biochemistry*, **44**, 10009-10019 (2005).
- 4. Liang-da Chiu, Francoise Hullin-Matsuda, Toshihide Kobayashi and Hiro-o Hamaguchi, Journal of Biophtonics, **5**, 724-728 (2012).
- 5. Nungnit Wattanavichean, Ikuhisa Nishida, Masahiro Ando, Makoto Kawamukai, Tatsuyuki Yamamoto and Hiro-o Hamaguchi,

Journal of Biophotonics, e201960163 (2020).

赤外、ラマン、近赤外、低波数分光、遠紫外分光による水の研究 Studies of Water by Infrared, Raman, Near-infrared, Low-frequency Vibrational, and Far-ultraviolet Spectroscopy

<u>尾崎幸洋¹</u>、那須達郎²、佐藤春実²、上野那美³、井廻睦美³、森澤勇介³、 石垣美歌⁴、石川大太郎⁵、池羽田晶文⁶

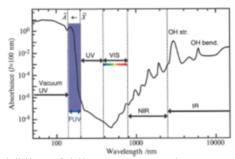
¹関西学院大学理工学部/豊田理研、²神戸大学人間発達環境学研究科、³近畿大学理工学部、⁴島根大学戦略的研究推進センター、⁵福島大学食農学類、⁶農研機構食総研Yukihiro Ozaki¹, Tatsuro Nasu², Harumi Sato², Nami Ueno³, Mutsumi Imawari³, Yusuke Morisawa³, Mika Ishigaki⁴, Daitaro Ishikawa⁵, Akifumi Ikehata⁶ ¹Kwansei Gakuin University/Toyota Physical and Chemical Research Institute, ²Kobe University, ³Kindai University, ⁴Shimane University, ⁵Fukushima University, ⁶National Institute of Food Science. ozaki@kwansei.ac.jp

1. はじめに

分光学的方法を用いて水の構造を調べようとする研究はおそらく 60 年以上も前から行われていたと考えられる。1963 年 Buijs と Choppin は水の近赤外スペクトルの温度変化を測定し、その結果を水の混合モデルに基づいて解析した。尾崎らは 1981 年水晶体のラマンスペクトルを測定し、あるがままの状態で水晶体中の水の量が老化あるいは白内障形成に伴って変化することをとらえた[1]。 さらに尾崎らは約 25 年前から近赤外分光法による水の研究を始め[2,3]、いろいろなスペクトル解析法(主成分分析、二次元相関分光法、MCR-ALS)を用いて、水が主に 2 成分 (強い水素結合を持つ分子種と弱い水素結合を分子種) からなること、第 3 の成分が温度の低いところでは存在することを示した [3]。赤外、ラマン分光を用いた水の研究は古くからあるが、近年、低波数分光や ATR-遠紫外 分光 [4] を用いた水の研究も活発である。演者らはそれぞれが独立して、しかし時には協力して水の研究を進めている。

2. 水の電子・振動スペクトル

図1は真空紫外域から遠赤外域までの水の電子・振動スペクトルを示す。このスペクトルで紫 外域に観測されるのは水の電子スペクトル、近赤外域から遠赤外域にかけて観測されるのは水 の振動スペクトルである。



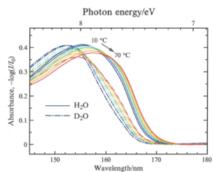


図1真空紫外から遠赤外にかけての水の吸収スペクトル (池羽田) 図2 軽水と重水の ATR-遠紫外スペクトルの温度変化 [4]

3. 水の ATR-遠紫外スペクトル (電子スペクトル)

図 2 は軽水と重水の ATR-遠紫外スペクトルの温度変化である[4]。温度上昇に伴い水の吸収が長波数シフトしてかつ強度が弱くなるのが観測された。 $150\,\mathrm{nm}$ 付近の吸収帯は、n 軌道から σ * 軌道または 3s-Rydberg \sim の遷移に帰属される[4]。前者は最外殻の価電子(酸素原子の不対電子)についての遷移であり、水素結合状態を反映する。一方、後者は Rydberg 系列への遷移である。第一遷移吸収帯は分子密度や水素結合状態の影響を受けて変化しやすい。

4. 水の赤外、ラマンスペクトルとそれを用いた水の高吸収性樹脂への吸着の研究

図 3,4 はそれぞれ水のラマン、赤外スペクトルの温度変化である(3400 cm⁻¹のバンドで規格化した)。二次微分も併せて示した [5]。Sceats ら [6] は 3200 cm⁻¹のバンドは強く偏光しており、水素結合によりカップリングした集団的な OH 伸縮振動 (collective band) であることを示した。 $3600 \, \text{cm}^{-1}$ 付近のバンドは dangling band と呼ばれている [7]。ここでは、便宜上 3200, 3400, 3600 cm⁻¹のバンドをそれぞれ、SHB(強い水素結合した水の分子種)、WHB(強い水素結合した水の分子種)、Dang バンドと呼ぶことにする。SHB は温度上昇とともに強度が弱くなり、高波数シフトする。WHB は強度が強くなり、低波数シフトする。

図 5 は水分含量が 60%の高吸水性樹脂のラマンスペクトルの温度変化である [5]。水のスペクトルと比べると 3200 cm⁻¹ のバンドが相対的に弱くなっていることがわかる。このバンドの強度減少は水の含量が 60,50,40%と減少するにつれて大きくなった。また 60,50%の場合は温度上昇とともに高波数シフトした。40%の場合は温度によってあまり変化を受けなかった。

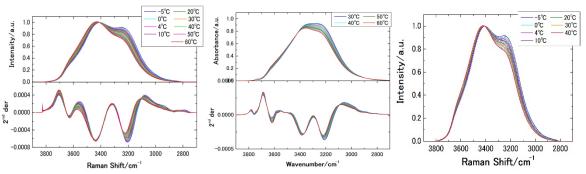


図 3 水のラマンの温度変化[5] 図 4 水の赤外の温度変化[5] 図 5 水分含量 60%の高吸水性樹脂のラマンスペクトルの温度変化[5] **5. 近赤外分光法による生体中の水の研究**

近赤外分光法の利点は水の構造変化と生体中に含まれるタンパク質の構造変化を同時に追跡できる点にある[8]。図 6 は SHB と WHB による 5172 と 5250 cm⁻¹のバンドの強度比で作成したメダカの正常、異常胚の近赤外イメージングを示している[8]。正常胚では WHB (青色の部分)の割合が高いことがわかる。

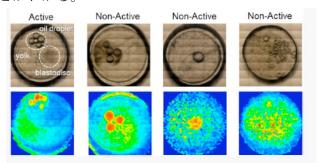


図6 メダカ胚の近赤外イメージング[8]

1.Y. Ozaki, Appl. Spectrosc. Rev. 24,259(1988). 2 (a) Y. Ozaki, Bull. Chem. Soc. Jpn, 92,629(2019). (b)尾崎幸洋、分光研究、68,81(2019). 3 (a)V. H. Segtnan, S. Šašić, T. Isaksson, Y. Ozaki, Anal. Chem. 73,3153(2001). (b) S. Šašić, V. H. Segtnan, Y. Ozaki, J. Phys. Chem. A,106,760(2002). 4. A.Ikehata, Y.Ozaki, N.Higashi, J. Chem. Phys.,129,234510(2008). 5.T. Nasu, Y. Ozaki, H. Sato, Submitted. 6. J.L. Green, A.R. Lacey, M.G. Screats, J. Phys. Chem. 90,3958(1986). 7. N.Perera, K.R. Fega, C. Lawrence, E. J. Sundstrom, J. Tomlison-Phillips, D. Ben-Amotz, J. Chem. Phys. 106,12230(2009). 8. M. Ishigaki, Y. Yasui, M. Kajita, Y. Ozaki, Anal. Chem. 92,8133(2020).

一般講演

(一般発表、学生発表)

医食における衛生及び嗜好視点での樹木成分に関する研究 一古典調味料としての楡皮の NMR メタボロミクス

Study on wood ingredient as a health benefit and the taste factor —NMR-based metabolomics of elm skins as classical seasonings

鈴木 榮一郎

公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団

Ei-ichiro Suzuki

Kihara Memorial Yokohama Foundation E-mail: e suzuki@kihara.or.jp

古今東西、人類の生活で樹木利用は広く認められ、例えば、イタリアのバルサミコ酢(トラディツィオナーレ)¹⁾ は、自然発酵後、定期的に木樽の木材の種類をオーク・クリ・サクラ・トルネコ・クワなどと替えて約 **12** 年間熟成させる他、医薬の歴史においては、古代、柳の樹皮からサリチル酸が抽出・利用され、近代のアスピリンの発明に至っている他、キナの樹皮からマラリアの特効薬キニーネを得ている。

このような背景の中でわが国最古の樹木の生活利用としては、万葉集事典(中西進編)にうま味調味料として鰹イロリと並んで楡(ニレ)の樹皮(楡皮;内樹皮(甘皮―あまかわ))が掲載されている。そこで、まずアキニレの成分研究を行い、²⁾次にハルニレ及びオヒョウとの比較研究を行った³⁾。

これら3種の楡皮類と上述のバルサミコ酢とのNMR分光による比較結果をもとに考究した項目は多岐にわたるが、これまでに、

- 1. 全てに共通しているのは、糖類が多いことであり、次いで有機酸類が多く見出されるが、 楡類には、酒石酸とコハク酸は見出されない。
- 2. 楡の甘皮には、グルタミン酸などのアミノ酸類が多種・豊富に含まれ、脈々とした生命活動を反映している。これに対して、バルサミコ酢では、アミノ酸類は糖類や有機酸に比し相対的に少なく、NMRスペクトルで容易に検出出来るのはアラニンと分岐鎖アミノ酸のみである。3. 楡類の中では、アキニレが最大のグルタミン酸含有量を示す。

などが明らかになっている。

文献

- 1) Roberto Consonni and Alberto Gatti, "¹H NMR Studies on Italian Balsamic and Traditional Balsamic Vinegars", *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52, 11, 3446–3450
- 2) 鈴木榮一郎ら,「奈良朝における『うま味調味料: 楡皮』の NMR 研究」, *第 52 回 NMR 討論会*, 要旨集 p160-161 (P16), 石川県立音楽堂(2013 年 11 月)
- 3) Hong P A, Suzuki E, Kodani Y, Miyakawa T, and Tanokura M, "NMR-based metabolomics of elm skins as classical seasonings." *The 54th Annual Meeting of the NMR Society of Japan, Abstractp94-95 (L3-7)*, Chiba Institute of Technology, Tsudanuma Campus (Nov., 2015).

衝撃波に曝露したラット脳における一酸化窒素の可視化 Visualization of nitric oxide in the rat brain exposed to a shock wave

<u>川内 聡子</u>¹, 稲葉将来², 村松 佑里子¹, 幸野 明美¹, 小牟田 縁¹, 西舘 泉², 足立 健³, 佐藤 俊一¹

¹防衛医科大学校 防衛医学研究センター 生体情報・治療システム研究部門
²東京農工大学大学院 生物システム応用科学府, ³防衛医科大学校 内科学講座 循環器内科 Satoko Kawauchi¹, Masaki Inaba², Yuriko Muramatsu¹, Akemi Kono¹, Yukari Komuta¹, Izumi Nishidate², Takeshi Adachi³, Shunichi Sato¹

¹Division of Bioinformation and Therapeutic Systems, National Defense Medical College (NDMC) Research Institute, ²Graduate School of Bio-application and Systems Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology, ³Division of Cardiovascular, Department of Internal. Medicine, NDMC satok-bits@ndmc.ac.jp

【背景・目的】国際的に即製爆発装置(IED)を用いたテロの脅威が続いており、衝撃波に起因する頭部外傷(bTBI)受傷者の増大が大きな問題となっている。通常の画像診断により異常が認められないため軽症と診断されながら、慢性期に様々な高次脳機能障害を呈する確率が高く、その病態とメカニズムの解明が急務となっている。我々はこれまでにレーザー誘起衝撃波(LISW)を適用したラット脳のリアルタイム光診断を行い、大脳皮質に拡延性脱分極(SD、イオンの恒常性破綻と大量のエネルギー消費を伴う現象)が発生し、その後、低酸素血症が長

時間続くことを報告した (PLoS ONE 9, e82891)。この血行動態異常に一酸化窒素 (NO) が関与しているとの仮説 (図 1) を立てた。本研究は衝撃波による脳における NO の産生を可視化し、その影響について調べることを目的とした。

【方法】麻酔下にラット左頭頂部に観察用窓を作製し(図 2),露出した脳表軟膜上に NO 検出用蛍光プローブ DAF-2DA を滴下した。開窓部前方(ブレグマの前 2.0 mm,左 3.0 mm)に、LISW(直径 4 mm,力積 25 Pa・s)を経頭蓋骨的に適用し、実体蛍光顕微鏡下で NO 由来の蛍光を観察した。

【結果・考察】LISW適用によるSDの発生後、脳実質と動脈血管沿い(図 2, 矢印)に蛍光強度の増加が観察されるとともに、細胞と同等サイズの点状蛍光像が多数出現した(図 2, 矢頭)。これらは、神経細胞や血管内皮細胞等におけるNOの産生を表している可能性がある。また蛍光強度の増加は、血行動態異常が発生する時間帯に見られ、上記仮説を支持するものと考えられた。

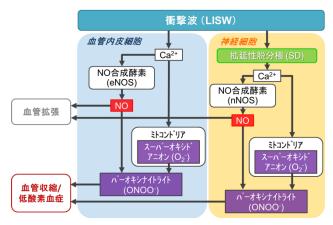


図1 NOの産生により低酸素血症が持続するメカニズム(仮説)。衝撃波とそれに続く SD は、それぞれ血管内皮細胞、神経細胞の Ca²⁺濃度を上昇させ、NO 合成酵素を活性化し NO を産生する。Ca²⁺濃度上昇は、同時にミトコンドリアの活性酸素生成を促進し、これが NO と反応して毒性の強いパーオキシナイトライトを生成し、血管障害を来す。

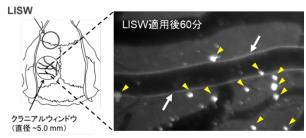


図 2 NO 検出用蛍光プローブを用いた観察結果。

共鳴ラマン分光法を用いたマウス卵子の呼吸活性,及び脂質代謝の非侵 襲評価による成熟度判別

Discrimination of the degree of oocyte maturation based on respiratory activity and lipid metabolism of mouse oocyte using Raman spectroscopy

石垣美歌 1,2, 柏木伸介 3, 若林慧 3, 星野由美 4

¹島根大学 医・生物ラマンセンター, ²島根大学生物資源科学部, ³株式会社堀場製作所営業本部バイオ/ライフサイエンスプロジェクト, ⁴広島大学大学院総合生命科学研究科

Mika Ishigaki^{1, 2}, Shinsuke Kashiwagi³, Satoru Wakabayashi^{1, 2}, Yumi Hoshino^{1, 2}

¹Raman Project Center for Medical and Biological Applications, Shimane University, ²Faculty of Life and Environmental Sciences, Shimane University, ³Bio/Life Science Project, Sales Division, HORIBA, Ltd., ⁴Laboratory of Animal Reproduction, Graduate School of Integrated Science for Life, Hiroshima University

E-mail: ishigaki@life.shimane-u.ac.jp

卵質を決める要因の1つに、卵子の成熟度が挙げられる。本研究では、共鳴ラマン 分光法を用いて、卵子の呼吸活性及び脂質代謝の非侵襲的評価を行い、成熟度を判別 する手法の開発を目的とする。

本研究では、第二減数分裂中期(M-II 期)において卵子成熟が進む過程で、排卵誘起を促すヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)投与後4段階(13,15,18,24時間)で卵子を採取し、共鳴ラマンスペクトル(励起波長:532 nm)からシトクロムcの酸化還元状態を分析し、卵子のミトコンドリア活性(呼吸活性)を評価した。

マウス卵子から取得された共鳴ラマンスペクトルには、還元型シトクロム c 由来のピーク(1584、1310、1123、748 cm^{-1})が強く観測された。成熟に伴う卵内物質の変化を MCR 解析により分析した。その結果、過熟に伴って還元型シトクロム c のスペクト

ル強度が減少し、脂質の濃度が相対的に上昇する結果が得られた。呼吸活性、及び脂質代謝のバランスを表す指標として I₇₄₈/ I₁₄₄₅ 及び I₁₁₂₃/ I₁₄₄₅ を定義し、2次元にプロットした(図 1)。その結果、受精・発生能の高い卵子(13,15 時間)は、多くが対角線の右上に分布し、過熟卵子は対角線から外れて分布する様子が確認された。また、両強度比を掛け合わせた値(I₇₄₈/ I₁₄₄₅・ I₁₁₂₃/ I₁₄₄₅)の閾値を 1.0 に設定すると、受精能・発生能の高い卵子を判別できることが分かった。

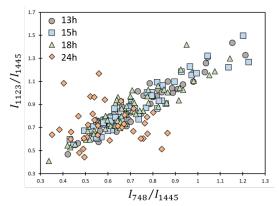


図1: I_{748}/I_{1445} vs I_{1123}/I_{1445} .

レーザー照射後の卵子に体外受精を施し、5 日間培養した。その結果、レーザー未 照射区と比較してほぼ同確率で桑実胚・胚盤胞まで卵割が進んだことから、レーザー による影響が検出されないことが分かった。本研究で得られた結果から、卵細胞の呼 吸活性及び脂質の代謝バランスから成熟度を非侵襲的に評価でき、生殖医療分野に対 して、卵質の新たな評価手法を提示できる可能性が示された。

食品の研究開発における NMR の活用 Magnetic resonance in food science

山口秀幸

味の素株式会社バイオ・ファイン研究所

Hideyuki Yamaguchi
AJINOMOTO CO., INC.
hideyuki_yamaguchi@ajinomoto.com

企業において分析研究は商品の品質や安全を守り、様々な研究や商品開発をリードする重要な活動である。分析部門は研究開発において主に二つの役割を担っている。一つは品質保証であり、安心と安全を守るため、製品が定められた基準を満たしているかを判断すること、あるいはそのための分析法を開発することである。もう一つは分析技術を用いた研究であり、開発現場において解決不可能な課題を機器分析によって原因を突き止め次のステップに進む為の具体的指針を示すことである。NMR は固体から液体まで、どのような性状の試料も測定対象である点がユニークであり、当社R&Dにおいて不可欠な機能となっている。

食品は液体から固体まで様々な性状として存在する"複雑系"試料であり、目的に 応じて適切な分析法を準備する必要がある。他の試料、例えば、血液や尿など同じ対 象を継続的に分析する場合に比べその都度の工夫が必要となり状況の多様さに苦慮す るところであるが、食品の分析対象としての複雑さを成分と構造の二つの視点から考 えると整理し易い。例として"鶏だし"を味わった時に感じる特徴について、機器分 析を用いて説明する場合を考えてみる。鶏だしを味わうと、特有の風味と、とろみの ような食感を感じる。我々が鶏だしとして認識できるのは、鶏だしに特徴的な、味・ 香り・食感に寄与する成分が適切な比率で溶解しているからである。すなわち、低分 子から高分子まで何がどれくらい入っているか、という成分的視点から鶏だしの特徴 を説明することが可能なはずである。鶏だしは液体であり目的は成分分析であるから、 液体クロマトグラフィーや質量分析、溶液 NMR が主たる分析の手段となる。次に、 米飯の場合を考えてみる。米飯は澱粉と水が主成分であり、これに若干の蛋白質や風 味に寄与する低分子成分が含まれている。米飯を食した時に感じる特徴を説明するに は米飯粒の集まり方や澱粉の糊化の程度など、風味だけでなく形や状態についても理 解する必要がある。このように、成分的視点のみでは説明が困難な固体試料ならでは の特徴をここでは総じて"構造"と呼ぶことにする。成分分析の場合とは異なり、固 体から半固体、これらが混ざり合った状態など試料性状が複雑であることから、何か 一つの分析法だけではその特徴を理解することが難しい。発表では、食品開発の現場 で用いられる分析法あるいは構造解析法について概説し、特に分析対象を選ばない NMR の有用性について論ずる。

光コムシンセサイザーを用いたカスケードリンク型 マルチ合成波長デジタルホログラフィ

Multiple-synthesized-wavelength digital holography by use of optical synthesizer based on frequency comb

長谷栄治, 時実悠, 南川丈夫, 安井武史 徳島大学ポスト LED フォトニクス研究所 (pLED) <u>Eiji Hase</u>, Yu Tokizane, Takeo Minamikawa, and Takeshi Yasui Institute of Post-LED Photonics, Tokushima University hase@tokushima-u.ac.jp

デジタルホログラフィー (DH) は、物体からの光と参照光の干渉縞をデジタルカメラで記録し、その干渉縞データを用いてコンピューター内で波面伝搬計算を行うことで、物体の振幅と位相を再生する技術である。 DH を用いると位相イメージに基づいた 3 次元形状計測が可能になることから、生きた細胞の計測をはじめとしたバイオイメージングや、電子基板の高精度表面形状測定など幅広く利用されている。しかしながら、位相の値は 2π 周期で折り返すため、従来の単一波長 DH では波長以上の段差を計測出来ないという問題があった。このような問題を解消するため、これまでに複数レーザー光による合成波長を用いた DH が提案されているが、利用可能な CW レーザー波長の制限により、測定可能な最大段差は数 $10~\mu m$ に留まっていた[1].

そこで本研究では、高確度・高安定な光コムシンセサイザー[2]を用いて任意波長の CW レーザー光を生成(単一コムモード抜き出し)することにより、桁数の異なる合成波長を複数生成した. 更に、これらと単一波長レーザー光で取得した位相イメージ群を、カスケード状にコヒーレントリンクすることにより、最大合成波長 (mm オーダー)以下の段差を数十 nm オーダーの精度で計測する手法を提案した. 発表では、多波長で取得した位相イメージのカスケードリンクに関する原理説明や、構築した装置の概要、階段状構造を持った試料の 3 次元構造の可視化を行った例などについて説明する.

- [1] J. Gass et al., Opt. Lett. 28, 1141 (2003).
- [2] H. Takahashi et al., CLEO 2009, CTuK4 (2003).

強誘電体結晶における角度分解偏光ラマンマッピング Angle-resolved polarized Raman mapping on ferroelectric crystals

塚田真也 ^{1,2}, 金川茜里 ²
¹島根大学学術研究院教育学系, ²島根大学自然科学研究科
Shinya Tsukada ¹ and Akari Kanagawa ²
¹Shimane University
tsukada@edu.shimane-u.ac.jp

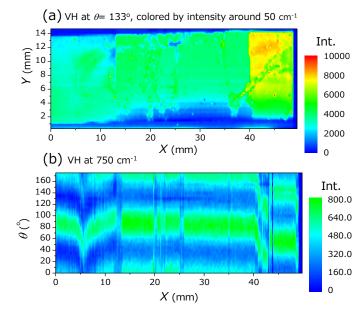
強誘電性相転移は長波長の変化であるため、相転移に関係する双極子の緩和や横波光学モードを観測するためにブリルアンーラマン分光測定が盛んに行われている。ここで単結晶からのラマン散乱は、モードの振動数や寿命だけでなくラマンテンソルの対称性や各テンソル成分の大きさを反映している。そこで、光の偏光方向を2分の1波長板で回転させて様々な偏光角度でラマンスペクトルを取得する「角度分解偏光ラマン分光」を行い、ラマンテンソルの情報を取得している[1]。今までは1つのデータしか得られなかったところで散乱配置の異なるたくさんのデータが得られるため、これまでのラマン分光より得られるデータ量が増え、ピーク分離やモードの同定が容易になった。我々は強誘電体結晶において様々な温度・電場下で本手法を用いてラマンスペクトルを取得して、相転移現象を解明している。本講演では、位置を変化させながら角度分解偏光ラマン分光を行うマッピング測定において、強誘電分域境界や濃度勾配がある結晶の相境界を明らかにし、相転移に関わる巨大誘電応答について考察する。

濃度傾斜(1-x)Pb $(Mg_{1/3}Nb_{2/3})O_3$ -xPbTiO $_3$ (PMN-xPT)のラマンイメージ(X-Y像)を FIG. 1 (a)に示す. X= 13 [mm]・X= 40 [mm]近傍に濃度 x により単斜晶系 Cm-単斜晶系 Pm-正方晶系 P4mm と結晶構造が変化する境界が存在することが分かる. それぞれの場所 Xにおいて,スペクトルは結晶構造を反映して偏光角度 θ [o]に依存する. ここで 750 [cm $^{-1}$]のピークに着目し,Y=7.5 [mm]でマッピングを行った X- θ 像を FIG. 1 (b)に示す. X< 13 [mm]の中でピークが最大強度を取る角度が連続的に変化している. 一方,単斜晶系 Pm や正方晶系 P4mm ではこのような連続的な変化は観られなかった. これらは,分極の回転を屈折率楕円体の回転を通して観ており、

構造の不安定性と誘電応答の相関を 捉えることができたと考えている.

FIG. 1 (a) 濃度傾斜結晶 PMN-xPT における X-Y 像. 50 cm $^{-1}$ 近傍の積分強度で描画した. (b) X- θ 像. 750 cm $^{-1}$ 近傍の積分強度で描画した.

- [1] S. Tsukada, *et al.*, Phys. Rev. B **97**, 024116 (2018).
- [2] S. Tsukada and Y. Fujii, Jpn. J. Appl. Phys. **59**, SKKA03 (2020).



白色レーザーを用いた硫黄を代謝する藻類 Cyanidium caldarium のラベルフリー非線形光学イメージング Label-free Visualization of sulfur metabolism of microalgae Cyanidium caldarium by multi-modal nonlinear optical microscopy

<u>岡祐貴 ¹</u>, 吉田昌樹 ², 渡邉信 ², 加納英明 ^{1,3} ¹ 筑波大院数理物質

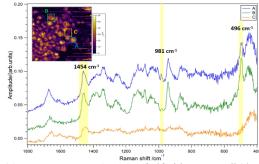
²藻類バイオマス・エネルギーシステム開発研究センター, ³九大院理 <u>Yuki Oka¹</u>, Masaki Yoshida², Makoto M Watanabe², Hideaki Kano^{1,3} ¹Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba ²Algae Biomass and Energy System R&D Center, ³Faculty of Science, Kyushu University yukioka0406@gmail.com

藻類は様々な物質を代謝・蓄積する.これまでの研究で、我々は海洋性藻類の一種であるオーランチオキトリウムが、スクアレンを液胞内に蓄積することを明らかにした [1]. そこで本研究では、新規代謝物の藻類蓄積の可視化を目指して、温泉近くに生息する藻類に着目して研究を行った. 細胞内代謝物をラベルフリーで可視化するために、coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS)、second harmonic generation (SHG)、third harmonic generation (THG)等の各種非線形光学効果を同時に検出できるマルチモーダル非線形光学顕微鏡を用いた.

サンプルには紅藻の一種である Cyanidium caldarium(C. caldarium)を用いた. C. caldarium はシアニジウム属に分類される単細胞生物である. 紅藻であるが赤色の色素であるフィコエリスリンを欠いているため、細胞は青緑色を呈する. C. caldarium は高温強酸性の温泉の岩盤面に生息し、硫酸酸性の低 pHを好むことが知られているため、本研究では pH 2.0の M-Allen 培地(硫酸を含む)で培養した細胞を用いた. 測定には、二色(1064 nm 単色及びスーパーコンティニューム光)がファイバー出力された、CARSに最適化されたレーザー光源(SM-1000, Leukos, Limoges, France)[2]を用いた.

実験結果を図 1 に示す. 図 1 の $Im[\chi^{(3)}]$ スペクトルより、S-S 結合(496 cm^{-1})および硫酸イオン由来のバンド($SO_4^{2^-}$, 981 cm^{-1})が細胞内で検出できていることが分かる. これらのバンドを用いて細胞を可視化した結果を図 2 に示す. 特に図 2(f)より、S-S 結合を含む代謝物が細胞内で明瞭に可視化されている.

以上の結果より、C. caldarium は培地中の硫酸イオンをソースとして硫黄代謝物を細胞内に蓄積す



Raman shift.cm⁻¹ 図 1 CARS(1454 cm⁻¹)イメージ (左上) A,B,C の位置に おける四角枠内平均 Im[χ⁽³⁾]スペクトル

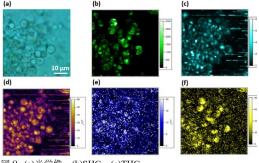


図 2 (a)光学像, (b)SHG, (c)THG, CARS イメージ@1454 cm⁻¹(d), 981 cm⁻¹(e), 496 cm⁻¹(f)

ることを明らかにした. CARS の特徴である高速測定のメリットを活かすことで、硫黄代謝物の蓄積過程を時間分解して追跡する手がかりが得られた.

【参考文献】

- [1] K. Ishitsuka, M. Koide, M. Yoshida, H. Segawa, P. Leproux, V. Couderc, M. M. Watanabe, and H. Kano, *Journal of Raman Spectroscopy* **48(1)**, 8–15 (2017).
- [2] S. Miyazaki, P. Leproux, V. Couderc, Y. Hayashi, and H. Kano, *Applied Physics Express* 13, 072002(2020).

Imaging of small molecule by infrared absorption of nitrile

<u>Fangfang Tai</u>^{1,2}, Hiroyuki Kawagoe¹, Kota Koike^{1,2}, Jun Ando¹, Yasuaki Kumamoto¹, Katsumasa Fujita^{1,2,3}

tai@ap.eng.osaka-u.ac.jp

Infrared spectroscopy as a non-destructive method plays an important role in identifying an unknown substance, due to the absorption cross-section is 8 orders of magnitude larger than that of Raman scattering. It takes advantage of the effects of energy absorption due to the interaction of infrared light and a molecule. Each chemical compound has unique absorption energy, which provides spectral fingerprint used to characterize and identify compounds in molecules. Poor spatial resolution induced by the long wavelength of illumination light can be solved by taking advantage of thermal lensing effect, which is to illuminate the sample with two laser beams that is IR as pump to heat the sample and the visible as probe to detect the refractive index change produced by heating. In this case, spatial resolution can be significantly improved for it is decided by the shorter wavelength. To overcome the issue of water background that can burry Photothermal (PT) signal from target molecules, we chose Nitrile whose absorption peak is in silent region of water. We imaged FCCP (Carbonyl cyanide-p-trifluoromethoxyphenylhydrazone) crystals that has absorption peak at about 2230cm⁻¹ and confirmed that our system could obtain PT signals from target absorbers.

Two laser beams were used as light source in our system, IR beam whose center wavelength is 4.5 µm is pump to heat the sample, visible beam whose wavelength is 532 nm is used as probe to detect the thermal lens generated by IR heating. The detected signal was filtered and amplified by a lock-in amplifier (LIA) due to the pump beam was pulsed. Figure a is bright field image illuminated by only 532 nm laser beam, b and c are photothermal images of resonance and off-resonance under condition of two beam illumination. From the images the PT signal were strong when sample was excited at resonant wavelength, while weaker at off-resonant wavelength. Water absorption was nearly constant at variable heating wavelength, which indicates that the signals were produced by IR absorption of crystal and lower background signal from water.

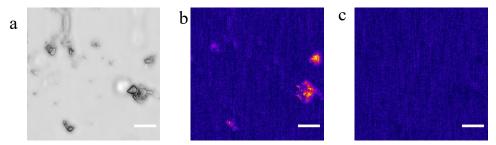


Fig. 1 images of FCCP crystal. a) bright field, b) resonance, c) off-resonance. pixel dwell time 500 μ s, pixel number 200x200, scan area 60x60 μ m, time constant of LIA 10 μ s, IR power 10.5mW at 2229 cm-1.

References

- [1] Zhang, Delong, et al. Science advances 2.9 (2016): e1600521.
- [2] Lim J M, Park C, Park J S, et al. The journal of physical chemistry letters, 2019, 10(11): 2857-286.

¹Department of Applied Physics, Osaka University,

²Advanced Photonics and Biosensing Open Innovation Laboratory, AIST-Osaka University,

³ OTRI, Osaka University

赤外分光によるトロポニン C の Ca^{2+} 配位構造解析—アミノ酸置換による 12 位のグルタミン酸への影響

Infrared study of the Ca²⁺-coordination structure of troponin C: Effect on Glu at the 12th position by an amino-acid replacement

<u>奈良 雅之</u>¹、森井 尚之 ¹、坂本 章 ²、宮川 拓也 ³、田之倉 優 ³ 「医科歯科大・教養、²青学大・理工、³東大院・農生

Masayuki Nara, ¹ Hisayuki Morii, ¹ Akira Sakamoto, ² Takuya Miyakawa, ³ Masaru Tanokura ³ ¹College of Liberal Arts and Sciences, Tokyo Medical and Dental University, ²College of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University, ³Graduate School of Agriculture and Life Sciences, University of Tokyo nara.las@tmd.ac.jp

EF ハンドモチーフ(helix-loop-helix)はカルモジュリン、トロポニンC (TnC) などに共通する Ca^{2+} 結合ドメインである。 Ca^{2+} 結合部位はアミノ酸 12 残基からなり、酸性アミノ酸残基の側鎖の酸素原子などが Ca^{2+} の配位子に関わっている。12 位のグルタミン酸側鎖の COO^- 基は Ca^{2+} と二座配位型で配位し、その COO^- 逆対称伸縮モードは 1555-1550 cm^{-1} にバンドを示す $^{1)}$ 。一方、アカザラガイトロポニン C (Aka-TnC)では、12 位のグルタミン酸(Glu142)が Ca^{2+} と結合すると 1543 cm^{-1} 付近にバンドを示した $^{2)}$ が、1550 cm^{-1} よりも低波数側にバンドが現れる理由についてははっきりしていない。そこで合成ペプチドアナログを用いて、12 位グルタミン酸由来の COO^- 基のバンドのピーク値がずれる要因について調べた。

まず、Aka-TnCのサイト IV のカルシウム結合部位に相当する 17 残基の合成ペプチドアナログ(Ac-DTDGSGTVDYEEFKBLM- NH_2)の赤外スペクトルを測定した。二次微分演算を施してバンドのピーク値を調べると、12 位のグルタミン酸側鎖 COO 基の逆対称伸縮振動バンドは 1546 cm^{-1} だった。したがって、17 残基のペプチドの場合は、全長のタンパク質に比べて $2\sim3$ cm^{-1} 高波数側にバンドを示すことが確認された。次に、5 位のセリンをアスパラギン酸に置換した合成ペプチドアナログを調べると、12 位グルタミン酸のバンドは 1550 cm^{-1} に現れた。

ウサギ骨格筋 TnC のサイト III のカルシウム結合部位のモデルとして、17 残基の合成ペプチドアナログ Ac-DRDADGYIDAEE LAEIF-NH2 の赤外スペクトルを測定した。12 位のグルタミン酸は 1555 cm⁻¹ にバンドを示した。5 位のアスパラギン酸をセリンに置き換えると、12 位のグルタミン酸は 1546 cm⁻¹ にバンドを示すことが分かった。また、5 位のアスパラギン酸をアスパラギンに置き換えると、12 位のグルタミン酸は 1552 cm⁻¹ にバンドを示した。さらに、3 位のアスパラギン酸をセリンに置き換えると、12 位のグルタミン酸は 1558 cm⁻¹ にバンドが現れた。したがって、5 位のアミノ酸をセリンに置き換えると、12 位グルタミン酸のバンドが低波数側にずれる可能性が高い。

Ca²⁺配位構造が正八面体形をとると考えたとき、5 位と 12 位の配位子は互いに 180°の位置関係にあるので、Aka-TnC の場合は 5 位のセリンに負の形式電荷がないので、12 位グルタミン酸の COO⁻基と Ca²⁺との相互作用が少し強くなっていると考えられる。Ca²⁺配位構造を解明する上で合成ペプチドアナログのアミノ酸置換によるアプローチの意義について議論する。

- 1) Nara, M., Morii, H., and Tanokura, M. (2013) Biochim. Biophys. Acta 1828, 2319-2327.
- 2) Yumoto, F., Nara, M., Kagi, H., Iwasaki, W., Ojima, T., Nishita, K., Nagata, K., and Tanokura, M. (2001) Eur. J. Biochem. 268, 6284-6290.

分光法による皮膚の水関連成分の評価 Evaluation of water-related components in the skin using spectroscopy

江川 麻里子

資生堂グローバルイノベーションセンター

Mariko Egawa

Shiseido Global Innovation Center mariko.egawa@shiseido.com

皮膚の構造は、皮膚表面に対して水平な層状に配列しており、最外層の「表皮」、その下層の「真皮」、「皮下組織」に分類される. 「表皮」は、外側から角層・顆粒層・有棘層・基底層に分類され、内側の基底層から外側の角層に向かって、分化により細胞の形態や構成成分が大きく変化する. 表皮の状態は、皮膚のバリア機能や外観の美しさなどに大きく関係するため、皮膚科学や香粧品科学領域における重要な研究ターゲットである.

表皮性状の解明には、外観からでは判断できない内部の状態評価が重要である。そのため、皮膚科学領域では、主に切除した皮膚を用いて、組織化学的観察や含有成分の侵襲的分析が行われてきた。しかし、組織学的手法は、薄切・固定・ラベリングなど、皮膚の形態や機能に変化を及ぼす化学的前処理が必要なため、皮膚を生きたままの状態で観察することはできない。また、皮膚の切除は倫理的な制約があり、多くの症例を集めることができなかった。香粧品科学領域で重要なターゲット成分である水の評価については、一旦皮膚を切除すると、水の量や分布が外部環境により刻々と変化するため、分光法などの非侵襲計測法の活用が有用である。

我々は、分光法を用いて、皮膚の水及び水の存在状態に関係するタンパク・脂質を非侵襲計測することで、表皮性状を評価してきた。本発表では、最近の知見から、近赤外イメージングによる環境温湿度変化に伴う顔の水分量分布の評価¹⁾、誘導ラマン散乱顕微鏡によるヒト表皮や人工皮膚モデルの細胞内モルフォルジーの可視化²⁻⁴⁾、コヒーレントアンチストークスラマン散乱顕微鏡によるヒト毛髪のモルフォルジーの可視化^{5,6)}を紹介する。さらに、テラヘルツ分光法によるヒト真皮の水の運動性評価^{7,8)}についても紹介したい。

本発表は、東京大学大学院工学系研究科小関泰之准教授、九州大学大学院理学研究院化学部門加納英明教授、筑波大学大学院数理物質系服部利明教授との共同研究成果を含みます.ここに感謝の意を表します.

- (1) M. Egawa, K. Koizumi, and T. Hirao, Skin Res. Technol., 2020. doi.org/10.1111/srt.12898.
- (2) M. Egawa, K. Tokunaga, J. Hosoi, and Y. Ozeki, J. Biomed. Opt., 2016, 21(8), 086017.
- (3) M. Egawa, S. Iwanaga, J. Hosoi, M. Goto, H. Yamanishi, M. Miyai, C. Katagiri, K. Tokunaga, T. Asai, and Y. Ozeki, *Sci. Rep.*, 2019, **9**, 12601.
- (4) M. Miyai, J. Hiruma, A. Motoyama, M. Egawa, M. Yamamoto, Y. Ozeki, R. Tsuboi, T. Hibino, *The 48th European Society for Dermatological Research (ESDR) Annual Meeting*, 2019.
- (5) 金田大輝・後藤真紀子・江川麻里子・加納英明, 第17 回医用分光学研究会, 2019.
- (6) D. Kaneta, G. Makiko, M. Hagihara, P. Leproux, V. Couderc, M. Egawa, and H. Kano, *Analyst*, submitted.
- (7) 鈴木祐大・中村竜也・江川麻里子・鈴木牧人・服部利明, 第17 回医用分光学研究会, 2019.
- (8) 鈴木祐大・中村竜也・江川麻里子・鈴木牧人・服部利明, テラヘルツ科学の最先端VI, 2019.

イネいもち病菌の生きた胞子の顕微ラマン分光法による研究 A microscope Raman spectroscopic study on the living cells of Blast disease

三塚 陽菜¹, ○<u>山本達之</u>^{1,2}, 石垣美歌², 吉清恵介¹, 岩崎敬太¹, ヘマンス ヌータラパティ³, 上野誠^{1,2}

¹島根大学生物資源科学部, ²島根大学 医・生物ラマンプロジェクトセンター, ³島根大学 研究支援室

Haruna Mitsutsuka¹, Tatsuyuki Yamamoto^{1,2}, Mika Ishigaki², Keisuke Yoshikiyo¹, Keita Iwasaki¹, Hemanth Noothalapati^{2,3}, Makoto Ueno^{1,2}

¹Faculty of Life and Environmental Sciences, Shimane University, ²Raman Project Center for Medical and Biological Applications, ³Research Administration Office, Shimane University tyamamot@life.shimane-u.ac.jp

イネいもち病とは、イネいもち病菌(Magnaporthe oryzae)がイネに感染することで発病する病気である。発病すると病斑が現れ、イネは枯死してしまう [1]。イネいもち病菌がイネに感染すると、様々な毒素を代謝産物として産生することが確認されている。毒素は複数の種類が知られており、毒素の種類により放出するタイミングも異なっている。しかし、毒素はイネいもち病菌のどの器官で生産されるのかは明らかになっていない。そこで、顕微ラマン分光法を用いて、4種類のイネいもち病菌の胞子を比較して、感染力の違いとラマンスペクトルの関係を探った。また、胞子が発芽した際に放出する毒素(ジヒドロピリキュロール)が、細胞内で産生され、移動する様子の可視化を試みた。

【実験】

イネいもち病菌の胞子;長 69-150, MAFF101515, C4, O181 の 4 種類 ラマンスペクトル測定:自作の顕微ラマン分光装置により,励起波長 632.8nm,レーザ強度 2.4mW で行った[2]。

最初に、4種類のイネいもち病菌の胞子のポイント測定を行い、その後、4種類の胞子の発芽管の出る先端部位を15分経過時点から10分毎にポイント測定、さらに、長69-150の発芽管の長さの違う胞子のポイント測定を露光時間180秒で行った。

いもち病毒素として知られる,ジヒドロピリキュロールのエタノール溶液 (0.3%) のラマンスペクトルを測定し、いもち病菌のラマンスペクトルと比較した。

【結果と考察】

MAFF101515 の胞子だけに、発芽管の出る先端部位に他の3種類とは異なるラマンスペクトルが測定された。MAFF101515 は異常形態胞子であり、この株がイネへの感染能力が低いことに関連している可能性がある。ラマンスペクトルの時間依存性は、発芽管の出る先端部位に油などの内容物の蓄積を示していた。また、胞子内の内容物が発芽管の先端に移動していることが分かった。MAFF101515 の胞子では他の3種類の胞子とは異なる移動パターンであった。この結果は、時間が経過し発芽管が伸びていくと、胞子内の内容物が発芽管の先に送り込まれ、イネに作用し、イネを弱らせることに関与している可能性を示している。

残念ながら、ジヒドロピリキュロールに特徴的、ラマンバンドをいもち病菌の細胞内に見出すことはできなかった。この結果は、イネいもち病菌の胞子内でジヒドロピリキュロールが蓄積されていないか、低濃度のため検出ができなかった可能性がある。

- 1. 芦澤武人ら,中央農業総合研究センター研究報告第 24 号, pp.15-29, 2015
- 2. Hemanth et al, Scientific report, 6:27789. 2016

非線形光学顕微鏡による in-vivo ラベルフリーイメージング *In-vivo* label-free imaging by nonlinear optical microscopy

加納英明

九州大学 大学院理学研究院

Hideaki Kano

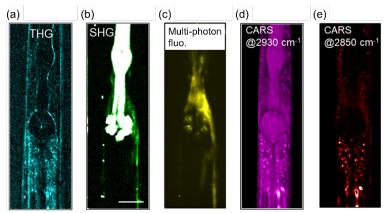
Faculty of science, Kyushu university hkano@chem.kyushu-univ.jp

コヒーレント・ラマン散乱、第二高調波発生(second harmonic generation; SHG), 第三高調波発生 (third harmonic generation; THG) 等のコヒーレント非線形光学過程は, 蛍光色素や蛍光標識を必要とせず、それぞれの光学過程に基づいたコントラストを与 えることができるユニークなラベルフリーイメージング手法である.特にコヒーレン ト・アンチストークス・ラマン散乱 (coherent anti-Stokes Raman scattering; CARS) につ いては、マルチプレックス法を用いることで振動モードの基音すべてを同時に励振・ 検出できる、超広帯域 CARS (Ultra-multiplex CARS) 分光イメージングが実現してい る ¹⁾. 本講演では、我々が開発した非線形光学顕微分光イメージング装置とそれを用 いた線虫の in vivo 可視化の結果を報告する.

光源には、1064 nm 単色及びスーパーコンティニューム光の二つが共にファイバー 出力された、CARS に最適化されたレーザー光源(SM-1000, Leukos, Limoges, France)を 用いた. 線虫は野生型の N2 (Bristol) 株の全神経細胞に蛍光タンパク質 Venus を導入し た遺伝子改変体を用いた. 線虫の秒オーダーの動きを止めるために、Biocosm 社の Worm Sheet にバッファーとともに線虫をマウントして測定を行った.

図に非線形光学イメージングの結果を示す 2). 今回用いた線虫からは、コヒーレン ト非線形光学過程の信号に加え、Venus による多光子励起蛍光(multi-photon excitation fluorescence; MPEF)の信号も検出できた. THGイメージ(a)では体壁や咽頭の境界, 腸

管の脂肪滴と考えられる粒状の構 造物が可視化されている. 一方 SHGイメージ(b)は咽頭で高いコン トラストを与え、咽頭筋のミオシ ン由来であると同定した. これに 加えて、筋ミオシンと比較して 1 桁程度弱い信号を咽頭の側方に認 めた.解剖学的な位置関係から, この信号は腹神経索であると考え られる. Venus による MPEF イメー SHG 信号は神経軸索のチューブリ 2930 cm⁻¹(d) and 2850 cm⁻¹(e). ン由来であると同定した. 以上の



ジ(c)との対応から、咽頭側方の Figure(a)THG, (b)SHG, (c)MPEF, and CARS images at

結果により、線虫の軸索をラベルフリーで可視化できることが示された²⁾.

参考文献

- 1) H. Kano, T. Maruyama, J. Kano, Y. Oka, D. Kaneta, T. Guerenne, P. Leproux, V. Couderc, and M. Noguchi: OSA Continuum 2 (2019) 1693.
- 2) S. Miyazaki, P. Leproux, V. Couderc, Y. Hayashi, and H. Kano: Appl. Phys. Express 13 (2020) 072002.

ウイルス感染のラマン分光分析 Raman analysis of virus infection in cell

<u>佐藤英俊</u>¹, 一木俊哉 ¹, 高見一斗 ¹, 橋本剛佑, ビビン B. アンドリアナ ¹関西学院大学理工学部 生命医化学科

Hidetoshi Sato, Toshiya Ichiki, Kazuto Takami, Kosuke Hashimoto, Bibin B. Andriana ¹Department of Biomedical Chemistry, School of Science and Technology, Kwansei Gakuin University hidesato@kwansei.ac.jp

Covid-19 のパンデミックはヒトの健康だけで無く社会や経済を毀損している。国際 的に人が頻繁に行き交う現代では、新型インフルエンザ、デング熱、エボラ出血熱な ど、病原性ウイルスの広範囲なパンデミックに対する不安が非常に大きくなっている。 パンデミックを阻止できるほど迅速にヒト感染性ウイルスを検出することは可能であ ろうか。一般的にウイルスは種特異性が高く、ヒト感染性ウイルスを、動物を用いて 検出することは難しい。ヒトが感染した場合でも、発病して様々な症状、すなわち発 熱,発疹,腹痛等が出て初めて,医師が病因としてのウイルス感染を発見できる。し かし、ウイルス感染症の発症には早くても48時間以上かかるため、症状が出てからの 検出では感染拡大を阻止することは困難である。細胞はウイルスが感染してもその形 態には何ら変化を示さないが、細胞内部では様々な分子変化が生じている。ラマン分 光分析を用いると、生きた細胞内のウイルス感染による分子変化を、ウイルス侵入後 約3時間で検出することができる。ウイルス感染後3時間での解析では、一部の感染 細胞が非感染の正常細胞に分類されており、細胞によってウイルス発現にある程度時 間差があることを示唆している。ヒト細胞株である HEK293 細胞に対し、感染機序の 異なる遺伝子組換えアデノウイルスとレンチウイルスを感染させた場合、どちらも3 時間でスペクトル変化を示したが、両者のスペクトル変化のパターンは大きく異なっ ていた。HEK293 細胞で完全なウイルス複製が可能なアデノウイルスは、最初に DNA、 RNA の変化を、後にタンパク質組成変化を示した。同細胞内で外殻タンパク質を複製 できないレンチウイルスでは、長時間にわたって DNA、RNA の組成変化と、脂質に 帰属されるバンドの変化が観察された。ラマンスペクトルはウイルスの細胞内での挙 動をある程度反映していることが示唆された。一方、ウイルスがコードするタンパク 質の発現には、ラマン分光法で検出される変化に比較して、長い時間がかかる. アデ ノウイルスでは、免疫染色を用いて初期タンパク質 E2 の検出に 12 時間、レンチウイ ルスでは、組換え遺伝子として導入した EGFP (緑色蛍光タンパク質) の発現に 24 時 間かかった。また、感染3時間後のラマン検出では約70%が感染を示したにもかかわ らず,24時間後にEGFPを発現した細胞は全細胞のうち約30%にとどまった。スペク トル変化として現れる分子組成変化は、ウイルス侵入に対する細胞の、初期の反応を 反映しており, ウイルス侵入に対して細胞は, 従来知られているよりもダイナミック に応戦している可能性がある。

光ファイバーバンドルを用いた非線形ラマン散乱顕微内視鏡 Coherent Raman scattering micro-endoscopy using optical fiber bundle

橋本守1,小川拓希2

¹北海道大学大学院情報科学研究院,²北海道大学大学院情報科学院 <u>Mamoru Hashimoto</u>¹, Hiroki Ogawa² ¹Faculty/²Graduate School of Information Science, Hokkaido University hashimoto@ist.hokudai.ac.jp

上部消化管用内視鏡(胃カメラ)の鉗子孔に挿入可能なプローブ型 CARS (coherent anti-Stokes Raman scattering) 顕微内視鏡の実現を目指している. 近年,胃カメラの鉗子孔に挿入可能なプローブ型共焦点レーザー顕微内視鏡が開発され,検体標本の病理像と同等レベルの空間分解能での細胞・細胞核形状の観察ができるようになってきた.これによって,内視鏡検査とともに確定診断を行うことも可能で,検査に引き続いての手術も実現できる. 一方,この方法では蛍光色素(フルオレセイン)等を静脈投与する必要があり,現時点では保険収載されていない.このため,CARSを用いた小型・細径のプローブ型顕微内視鏡による無染色な細胞・細胞核形状観察が有望な手法となる.

内視鏡プローブへッドの小型化を実現可能にするために、光ファイバーバンドルから発生する四光波混合の低減法を提案し、その実証を行った。CARS 内視鏡には、2色の超短パルスレーザー光を光ファイバーで伝送する必要があるが、この際に発生する四光波混合が妨害となり、プローブへッドの小型化が実現されていない[1,2]。そこで、CARS の 2 色の励起光を、光ファイバーバンドルの別個のコアで伝送し、プローブへッドで合波・集光する光学系を提案する。図 1a に、提案手法の概念図を示す。2波長の励起光を偏光が直交した状態で別個のコアで伝送させ、偏光プリズムにより励起光を重ね合わせる。また、励起光の偏光方向が一致したときに CARS 光強度が大きくなるため、2波長波長板を用いて両偏光の方向を揃えている。(b)にコアの形状を示すが、規則的な構造を持っているために、ビームを走査しても同時に2波長励起光を伝送できる。提案手法の検証用の光学系を用いて CARS 像の取得を行った(小型化はできていない)。(c)は試料である PS (polystyrene) ビーズが存在している時の CARS 像、(d)は試料がない時の CARS 像であり、これらの差分をおこなうと、ビーズが存在することがわかる(e)。

1) A. Lukic, S. Dochow, H. Bae, G. Matz, I. Latka, B. Besserschmidt, M. Schmitt and J. Popp Optica 4(5), 496-501(2017) 2) A. Lombardini et al. Light: Science & Applications, 7,10 (2018)

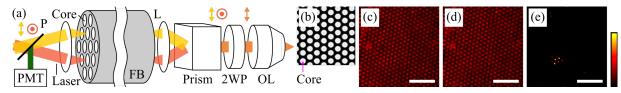


図 1 四光波混合の削減法の概念図(a)と,光ファイバーバンドルの構造(b),観測された PS ビーズ(c, d, e).

ラマン分光法を用いた三次元培養細胞の光学測定技術の開発 Development of optical measurement technology in 3D cultured cells using Raman spectroscopy

三宅 星良,橋本 剛佑,佐藤 英俊(関西学院大学) Seira Miyake, Kousuke Hashimoto, Hidetoshi Sato (Kwansei Gakuin University) fqd13829@kwansei.ac.jp

【研究目的】本研究の最終目的は, in situでの三次元培養細胞の活性評価技術の開発である. 再生医療分野には, 細胞の周辺環境を整えることで, 細胞の増殖能や分化能を向上させ, 治療を試みる方法がある. 京都大学の田畑等は, 凝集体内部の細胞へ酸素および栄養素を供給することが可能なゼラチンミクロスフェア (GMS) という足場材料の作製に成功した[1]. この技術を臨床応用するために, GMS を足場とした三次元培養細胞に対して, 分化の様子及び細胞の活性を評価する技術の開発が求められる. ラマン分光法は生体組織に対して低侵襲・無標識・無染色・リアルタイムで分子構造や分子組成を測定することが可能であるため, 細胞の活性評価を行う技術としてラマン分光法を用いた. 先行研究では, 骨芽細胞に特異的なヒドロキシアパタイトを活性指標としてラマン分光法で測定したところ, 凝集体内部の細胞の活性を評価することに成功した[2]. 今回は, マウス ES 細胞の三次元培養細胞を用いて活性指標の検討を試みる.

【方法】ポリビニルアルコールをコートした96ウェルプレートにGMSと胚様体へ分化誘導を行ったマウスES細胞を添加し、凝集体作製の条件検討を行った.作製した凝集体は、0.5%アガロースゲルでコートしたアルミニウム板の上に置き、Renishaw InVia 共焦点顕微ラマンを用いてラマン測定を行った.神経分化はITS Media Supplement、レチノイン酸、SFEBg法のいくつかの方法を用いて条件検討を行った.

【結果】GMS とマウス ES 細胞を 1:5 の割合で作製した凝集体が、細胞にとって最適な内部環境であることが示された.また、SFEBq 法によって最も良好な神経分化が得られた.

【参考文献】[1] Tabata, Yasuhiko, and Yoshito Ikada. "Synthesis of gelatin microspheres containing interferon." Pharmaceutical Research 6.5 (1989): 422-427.

[2] Arunngam, Pakajiraporn, et al. "Study of the cell activity in three-dimensional cell culture by using Raman spectroscopy." *Imaging, Manipulation, and Analysis of Biomolecules, Cells, and Tissues XVI*. Vol. 10497. International Society for Optics and Photonics, 2018.

Space- and time-resolved study on the effect of antifungal drug Clotrimazole at the single cell level by Raman microspectroscopy

M. S. Hossain¹, K. Iwasaki¹, T. Kaino^{1,2}, M. Kawamukai^{1,2}, H. Noothalapati ^{2,3}, and T. Yamamoto^{1,2,*}

¹Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, Matsue, Japan
²Raman project center for medical and biological applications, Shimane University, Matsue, Japan
³Research Administration office, Shimane University, Matsue, Japan
* E-mail address: tyamamot@life.shimane-u.ac.jp

Cellular pharmacokinetics and pharmacodynamics (PK/PD) are emerging fields in pharmacology research and has recently attracted much attention owing to its potential in evaluating drug efficacy. By studying the dynamic profiles of drug uptake, distribution, metabolism, and efflux into the extracellular environment, we can derive detailed information about PK/PD and construct models that can help in drug discovery and development. Such an approach integrates cellular physiology and pharmacology, which needs an effective way to study single cells without involving fractionation methods. To demonstrate the application of Raman spectroscopy to study single-cell pharmacology, we used Clotrimazole, an antifungal drug that inhibits ergosterol biosynthesis by inhibiting lanosterol 14α-demethylase, an enzyme that is an integral part of fungal cell membrane biosynthetic pathway. Fission yeast (*Schizosaccharomyces pombe*) was used as a cellular model. A homemade Raman microspectrometer equipped with a He-Ne laser (632.8 nm) was used. Employing the confocal Raman microspectroscopy coupled with MCR-ALS analysis found penurity of significant Raman band at 1602 cm⁻¹ (specific for ergosterol [1]) with 716 cm⁻¹ (choline head group) (Fig-1) and also found unknown Raman spectra by using Clotrimazole in cultured cells.

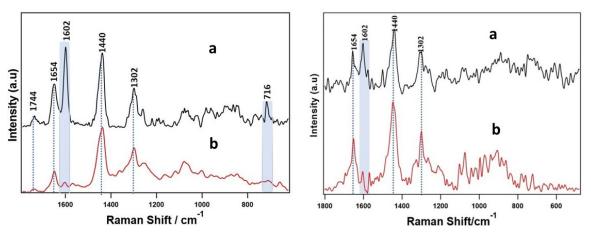


Figure-1 and Figure-2: comparison between (without & with 15 μ g/ml Clotrimazole) MCR extracted lipids spectra respectively using 632.8 nm and 532 nm. (a=without Clotrimazole and b= with 15 μ g/ml Clotrimazole)

What is the origin of unknown spectra? Is it an interaction of the protein with drugs? Resonance Raman spectroscopy gives deep information about the protein. Nanofinder Raman (TOKYO INSTRUMENTS) with a 532 nm laser was used with a laser power of 2.25 mW at the sample point. The MCR-ALS analysis result shows the depletion of significant Raman band at 1602 cm⁻¹ (specific for ergosterol [1]) by using drugs in cultured cells (Fig-2). It is a clear indication of depletion in ergosterol due to the action of Clotrimazole in fission yeast cells. Usual fission yeast Raman spectra (Protein, Polysaccharide, and Cytochrome c) were found in cultured cells. We will further compare Raman spectra with and without Clotrimazole on fission yeast cells and the progress will be reported at the conference.

References:

[1] L. Chiu, F. Hullin-Matsuda, T. Kobayashi, H. Torii, and H. Hamaguchi, "On the origin of the 1602 cm⁻¹ Raman band of yeasts; contribution of ergosterol", Journal of Biophotonics, pp.1-5, Jan.2012.

ライトシートダイレクトラマンイメージング(LSDRI)システムの開発 Development of Light sheet direct Raman imaging system 横山渚,平居尚,佐藤英俊(関西学院大学)

Nagisa Yokoyama, Nao Hirai, Hidetoshi Sato(Kwansei Gakuin University) drd11923@kwansei.ac.jp

【研究目的】本研究は、振動分光法を基にした病理診断技術の開発を目的とし,短時間で高画質のラマンメージを得る技術の開発を進めている.ラマンイメージ計測手法として,CARS イメージが広く開発されている.しかし,二つのレーザーを測定に用いるため,装置が大きく制御が難しい.また,非線型であるため定量的に測定を行うことが難しい.ライン照明によるスキャンでは比較的速く,全スペクトル領域の測定が可能だが,画質を上げるためには横方向のスキャン数を増やす必要がある.そこで,LSDRI による迅速な分子イメージング法を提案した[1].LSDRI では無背景放射電子制御波長可変レーザー(BF-ETL)を励起光源に使用し,音響光学素子(AOTF)により励起波長を高速かつ正確に制御する.ラマンスペクトルのバンドは,バントパス(BP)フィルターで選択する.ガルバノミラーで形成したシートビームを試料に照射し,フィルターを通して側方散乱光をイメージとしてCCD に画像転送する.得られるイメージの画素数は,CCD のピクセル数で決まり,特定のラマンバンドに対する高画質のラマンイメージを短時間に得られる.本研究では,組織構造を明瞭に観察できるよう,光学系の再設計を行った.

【結果及び考察】850 nm の BP フィルターを用いる場合,全指紋領域をカバーする励起レーザー波長は 740~810 nm である.従来の LSDRI では,ラットの胎児の脊椎を観察し,蛋白質やハイドロキシアパタイトの分布を画像化することができた.しかし,シートビーム入射側からビームの進行方向に進むにつれ,高密度部位の影により像が不鮮明になった.全面が明瞭なイメージを得るためにはサンプルの両側からレーザー光を照射できるようにすることで改善が予想される.サンプルに対してレーザーの入射方向と逆側に凹面鏡を設置することで,サンプルの凹面鏡側でラマンシグナルが約 1.7 倍に増強したことが確認できた.従来装置では直径 18 mmのビームを NA0.12,焦点距離 100 mmのレンズで集光し,この時の Z 軸方向の空間分解能は 8.0 μ m, X 軸方向の分解能は 0.78 μ m であった.新しい照射光学系では, さらに深さ方向の分解能を高め,光子密度をあげる光学系の改良を行った.,直径 7 mmのビームを NA0.15,焦点距離 30 mmのレンズで集光し, Z 軸方向の空間分解能が6.7 μ m になるように光路の再設計を行った.

【参考文献】[1] H. Sato, et al. Appl. Spectrosc., 56, 1303-1307 (2002) [2] Y. Oshima, et al., Appl. Spectrosc., 63, 1115 (2009)

ハイパースペクトラルイメージ自動校正用プログラムユニットの開発

Development of a program unit for automatic calibration of hyperspectral image analysis 〇川本竜嗣 1,谷岡剛吏 1,松吉ひろ子 2,松末友美子 3,佐藤英俊 1(1.関西学院大学,2. 岐阜 医療科学大学, 3.奈良県立医科大学)

Ryuji KAWAMOTO1, Tsuyoshi Tanioka, Hiroko Matsuyoshi2, Yumiko Matsusue3, Hidetoshi Sato1 (1.Kwansei Gakuin University, 2.Gifu University of Medical Science, 3.Nara Medical University)

ejd14725@kwansei.ac.jp

【研究目的】

本研究の目的は、欠損を含む不均一な試料から得られるハイパースペクトラルイメージ (HSI)に対して、自動でスペクトル校正可能なプログラムユニットを開発することである。ラマンイメージ法はスペクトル情報を元に、目的とする分子組成の分布を画像化する技術である。分子レベルでの組織の特性評価はがん診断に非常に有効であり、がん診断等の医療応用を目指した研究開発が進められている。HIS 情報を病理診断の結果と比較するためにはパラフィン固定試料での検証研究が必要であるが、実際の医療現場で使用されている試料は、組織の凹凸や欠損、包埋材(パラフィン)の残留を含んでおり HS I 解析の妨げとなっている。従って、我々は様々なノイズを含むデータにも対応するため、適切な前処理条件の探索が容易な HIS 分析自動校正用プログラムユニットの開発を目指す。

【実験方法】

解析結果に強く影響を及ぼす基盤成分であるパラフィンを除去するプログラムを作成した。このプログラムは、データの読み込み用引数、リファレンス読み込み用引数、パラフィン成分係数決定用領域引数をユーザー側が入力することで、パラフィン除去されたデータが csv ファイルとして保存されるプログラムである。

【結果及び考察】

クラスター解析により残存しているパラフィンには多数の異なる組成のものがあることがわかった。スペクトルのクラスター解析をもとにパラフィン成分を2種として除去した結果、1成分での除去と比較して格段にパラフィン由来のバンドを減らすことに成功した。クラスター解析をもとに、試料に残存したパラフィン種を自動的に割り出し、リファレンス数を増やすことでより高精度にパラフィン成分を除去するアルゴリズムを開発中である。

線虫の非線形光学イメージングによる生体分子の可視化 Visualization of biomolecules in *C. elegans* by nonlinear optical imaging

宮崎慎一1,2、林悠1,2,3、加納英明4,5

¹ 筑波大学ヒューマニクス学位プログラム、² 筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIIS)、 ³ 京都大学医学研究科、⁴ 筑波大学大学院数理物質研究科、⁵ 九州大学大学院化学科

Shinichi Miyazaki^{1, 2}, Yu Hayashi^{1, 2, 3}, Hideaki Kano^{4, 5}

¹ Ph. D Program in Humanics, University of Tsukuba, Japan

² International Institute for Integrative Sleep Medicine (WPI-IIIS), University of Tsukuba, Japan

³ Graduate School of Medicine, Kyoto University, Japan

⁴ Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba, Japan

⁵ Faculty of Science, Kyushu University, Japan

s1930557@s.tsukuba.ac.jp

Caenorhabditis elegans (以下線虫)は生物学分野の研究で頻用される優れたモデル生物である.これまでに我々は、線虫と哺乳類の間で睡眠の制御メカニズムが共通していることを示した [1]. 現在、さまざまな状態の線虫を非線形光学顕微鏡によって観察することで、線虫の睡眠メカニズムの解明に取り組んでいる.

本研究では、非線形光学顕微鏡による線虫体内の分子イメージングの第一歩として、 覚醒している線虫を対象とし、どのようなスペクトルやシグナルが得られるのかを明らかにした. 次いで野生型線虫と、遺伝学的な操作で眠らなくなった線虫(不眠線虫)に対して同手法を適用した.

Figure I に (a) 2850 cm⁻¹, (b) 1650 cm⁻¹, (c) 705 cm⁻¹のバンドを用いたマルチプレックス CARS 分光イメージングの結果を示す。これらの信号はそれぞれ, CH_2 対称伸縮,アミド I/cis C=C 伸縮,Si-C 非対称性伸縮振動モードに帰属でき,それぞれ脂質,タンパク質と脂質,チャンバーのポリマーに由来すると考えられる。Figure 1 (a) に示されるように,線虫の体内では咽頭よりも尾側に脂肪滴が分布しており,これは先行研究[2]と一致する.1650 cm⁻¹ のバンドは主にタンパク質と脂質の局在を示しており,特に咽頭部でコントラストが高い [3].

次に野生型線虫と不眠線虫の比較の結果を示す。ここでは線虫を睡眠状態にするために、熱ストレスを加えてから非線形光学イメージングを行った。Figure 2 の左は熱ストレス前(3 例)、右は熱ストレスから 24 時間後(2 例)を示す。同一条件下でのイメージの違いは個体によるばらつきをあらわしている。上段の野生型線虫では咽頭の筋ミオシン由来の第二高調波発生(second harmonic generation; SHG)信号強度(CARSで強度補正済)が大幅に減少したのに対して、下段の不眠線虫ではほぼ変化がなかった。これらの結果は、睡眠開始から 24 時間後時点で、通常の線虫と不眠線虫で筋ミオシンに何らかの差異があることを示している。

以上のように、非線形光学イメージングが睡眠研究に有用であることを示唆する結果が得られた.

[1] Funato, H et al., Nature **539**, (2016). [2] Hellerer, T et al., PNAS **104**, (2007). [3] Miyazaki, S et al., APEX **13**, (2020).

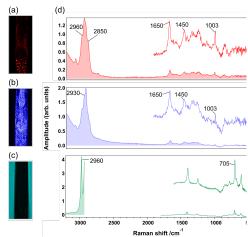


Fig. 1. CARS images and spectral profiles; CARS images at (a) 2850, (b) 1650, and (c) 705cm⁻¹. (d) CARS spectral profiles at representative spatial points.

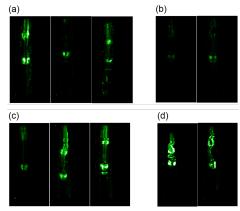


Fig. 2. SHG images before and after heat shock. Wild type worm before (a) and after (b) heat shock, Sleepless mutant before (c) and after (d) heat shock images were shown.

Imaging cell wall dynamics during yeast sporulation by Raman microspectroscopy and multivariate curve resolution analysis

H.M. Imrul¹, K. Iwasaki¹, T. Kaino^{1,2}, M. Kawamukai^{1,2}, Ysuhiro Matsuo¹ H. Noothalapati^{2,3}, and T. Yamamoto^{1,2}

¹ Faculty of Life and Environmental Sciences, Shimane University, Matsue, Japan ² Raman project center for medical and biological applications, Shimane University, Matsue, Japan ³ Research Administration office, Shimane University, Matsue, Japan

Fission yeast (*Schizosaccharomyces pombe*) sporulation is a dynamics process in which a vegetative cell produces spores under nitrogen starvation condition. Plasma membrane of S. pombe spore is assembled in the cytoplasm of their mother cells. S. pombe has been extensively studied as a model organism for various basic and applied fields of life science and biotechnology. To study fission yeast life cycle and formation of cell wall components is a fundamental way for discovery of anti-fungal drug. However the formation of fission yeast cell wall during sporulation is incompletely understood due primarily to the lack of method to observe the dynamics process of sporulation in living state, where a complete resolution of several saccharides that differs only in the configuration of anomeric carbon and glyosidic linkage of saccharides is required. It's well known that fission yeast cell wall primarily consist of β -glucan with minor α -glucan content. It's also known that vegetative cell walls and spore

walls are quite different in their chemical makeup. While vegetative cell wall consist of α - and β -glucan, surprisingly spore wall is exclusively made up of α -glucan [1]. Therefore in this study we employed to visualize the formation of cell wall components during sporulation. However traditional biochemical methods involving fractionation do not differentiate spore wall from the mother wall, hence spore wall is poorly understood. Therefore we set out to develop a molecular imaging method based on Raman spectroscopy to identify and visualize various cell wall components of fission yeast cells during sporulation. By using this method, simultaneous visualizations of cell wall and intracellular components during sporulation is expected to be achieved. A wild type S. pombe strain was used in this study which is cultivated under nitrogen starvation condition to induce meiotic cell cycle. This time cost experiment I picking up some special cells during sporulation that is seems partial accumulation inside of cell. We have obtained three different kinds of polysaccharide that are distributed in cell wall and surprisingly in accumulation region. So the current studies could be important for discovery of the new anti-fungal drug target site.

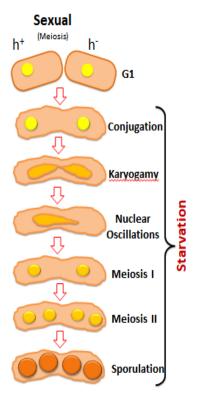
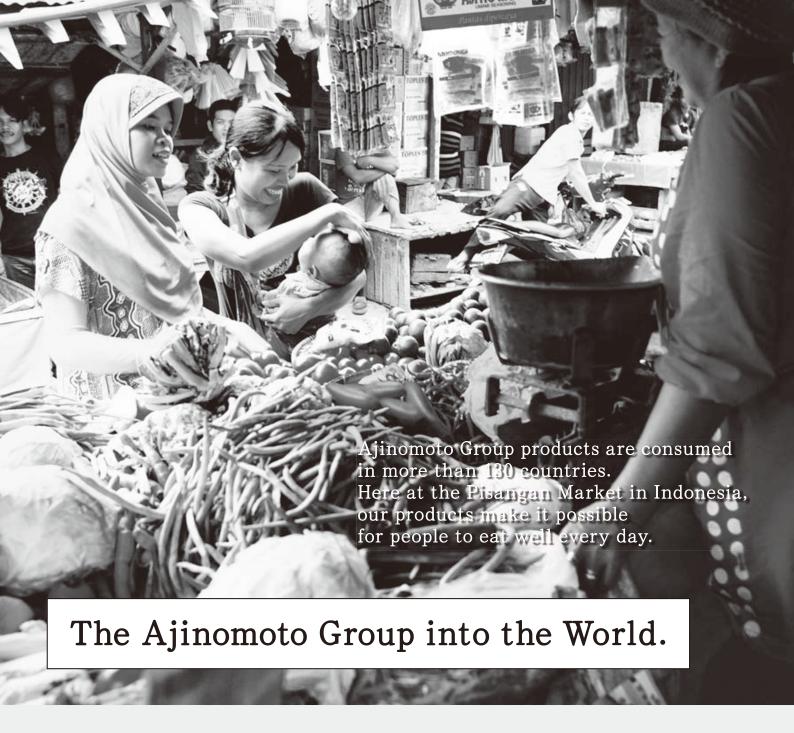


Figure: fission yeast sexual cell cycle (sporulation process).

Reference: [1] Hemanth et al. Label-free Chemical Imaging of Fungal Spore Walls by Raman Microscopy and Multivariate Curve Resolution Analysis. scientific report. 6:27789. 2016.



We all know that food is essential for life. But at the Ajinomoto Group we believe that eating well leads to a healthier life—it is the belief we were founded on, and one that continues to be proven true daily. Every day in more than 130 countries around the globe people use our seasonings, beverages, amino acids and other products to bring out

the essential taste inherent in the food they eat. And every day we work hard to bring out the enjoyment of eating for people everywhere. It is precisely because we know that good food is basic to human life that the entire Ajinomoto Group is committed to constantly striving for the food, health, and life of this planet. This is a pledge we make now and for the future.



In the Hoc Mon market in Vietnam, foods featuring our products draw people closer together.

Eat Well, Live Well.





ヘルスケア領域に貢献する

味の素グループの先端バイオ・ファイン技術



味の素株式会社

〒104-8315 東京都中央区京橋一丁目15番1号 https://www.ajinomoto.com/ 「味の素グループの 先端バイオ・ファイン技術」 詳細ページはこちら

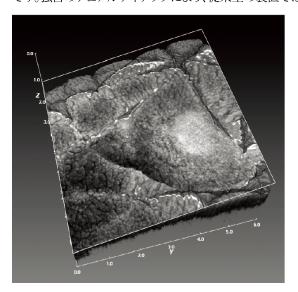


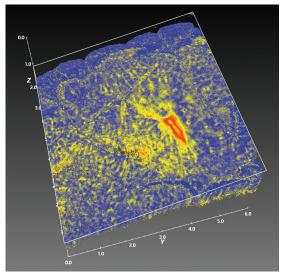


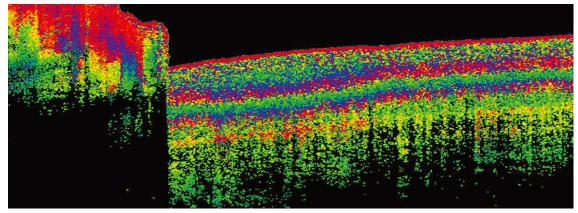
偏光感受型PS-OCT Telestoシリーズ

Polarization-Sensitive SD-OCT Telesto PS-OCT

偏光感受型PS-OCT Telestoシリーズは、偏光情報を検出できる新しいタイプのOCT(光コヒーレンストモグラフィ)です。独自のデュアルディテクタにより、従来型の装置では明らかにできなかった特徴を可視化します。







上図:皮膚組織の従来型(左)と偏光感受型(右)OCT画像。偏光情報により、従来では見えない傷跡部の構造(赤色部)を可視化。

下図:偏光感受型OCTで可視化した爪床部の断面像。皮膚組織 (画像左部)と異なり、爪では光軸方向の規則的な変化により層状 構造が観察される。



www.thorlabs.co.jp

E-mail: sales@thorlabs.jp



ソーラボジャパン株式会社

〒179-0081 東京都練馬区北町3-6-3 TEL: 03-6915-7701 FAX: 03-6915-7716



無収差型CCD分光器

IsoPlane®81

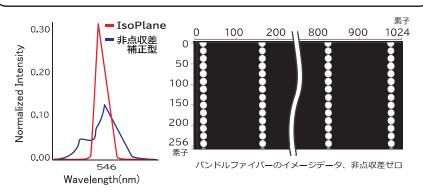
CCD分光器一体型のコンパクトサイズ 設置調整不要 1024 x 256素子(13x13μmピクセルサイズ) 背面照射型、電子冷却

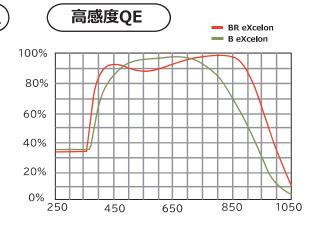
無収差型分光器

低価格 定価¥3,900,000(税抜)



無収差光学系によりシグナル強度と分解能(FWHM)が向上





コンパクトなサイズ

21.0 cm 26.8 cm 18.0 cm

アプリケーション

ラマン・蛍光分光・吸収分光・顕微分光イメージング



顕微分光イメージングに最適

www.pi-j.co.jp

テレダイン・ジャパン株式会社 プリンストンインスツルメンツ

IsoPlane®81

■仕様

CCD Camera							
Model	BRX	ВХ					
センサータイプ	TPI proprietary, back-illuminated, deepdepletion, frame-transfer CCD with eXcelon™ technology and UV coating	TPI proprietary, back-illuminated, frametransfer CCD with eXcelon™ technology and UV coating					
Sensor benefit	Enhanced NIR response with >97% peak QE	Ultralow dark current for long-exposure experiments					
センサーフォーマット	1024 x 256 (1024 x 512 including frame-transfer storage area)						
冷却温度	-55°C guaranteed; -60°C typical						
読み出しノイズ	4 e- rms @ 200 kHz; 7 e- rms @ 1 MHz; 20 e- rms @ 4.55 MHz						
Dark current*	3 e-/pixel/sec	0.03 e-/pixel/sec					
Stray light **	<10 ⁻⁴						
シフトスピード	5.6 µsec/row to 35 µsec/row (programmable)	15.2 µsec/row to 95 µsec/row (programmable)					
スペクトルレート (cotinuous)	292 spectra/sec (full vertical bin)	124 spectra/sec (full vertical bin)					
スペクトルレート (burst mode)	>10,000 spectra/sec (spectral kinetics mode with 10 rows binned)	>5,000 spectra/sec (spectral kinetics mode with 10 rows binned)					
ノンリニアリティ	<1% @ all ADC rates						
ゲイン	1.5 e-/ADU (high gain); 3 e-/ADU (low gain); available at all ADC rates						
Spectrograph							
焦点距離	80.8 mm						
明るさ	f/4						
分解能†	0.13 nm						
波長範囲	Protected silver coating, 400 – 1100 nm	Aluminum coating, 200 – 1100 nm					
空間分解能	38.5 lp/mm @ 50% contrast over entire fo	ocal plane (Nyquist limited)					
グレーティング	150 g/mm up to 4320 g/mm; user-changeable, rotatable, single-grating turret						
非点収差/コマ収差	Zero 全ての波長、グレーティング角度						
スリット	Slit width: 10 µm up to 500 µm; 3.3 mm tall; interchangeable, laser-cut slits						
波長精度	0.13 nm						
波長再現性	0.015 nm						
Operation							
ソフトウェア	LightField® scientific imaging and spectro	scopy software					
オペレーティングシステム	Microsoft® Windows® 8 or 10						
インターフェース	USB 3.0 (3 m interface cable provided)						
1/0 シグナル	Three MCX coaxial connectors: two trigger out, one trigger in; built-in programmable pulse generator						
動作温度	+5°C to +30°C non-condensing						
Certification	CE						
サイズ	26.8 cm x 18.0 cm x 21.0 cm (11" x 7" x 8")						
重量	8.84 kg (19.5 lbs)						

すべての仕様は標準的なパフォーマンスであり、予告なく変更される場合がございます。最新の情報につきましてはお問い合わせください。

^{**} measured with 532 nm single-mode laser 10 nm away from the laser center wavelength



[†] with a 2400 g/mm grating measured at 500 nm; その他の仕様についてはお問い合わせください。

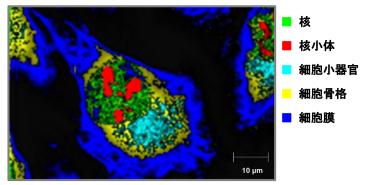
^{*} measured at -55°C

レニショー社製 高速・高感度 共焦点ラマンシステム inViaQontor

~生体試料にダメージを与えず、その成分の分布を詳細に可視化~



inViaQontor 共焦点ラマンシステム



ヒト骨肉腫細胞のラマンイメージング

共焦点ラマンイメージングの特徴

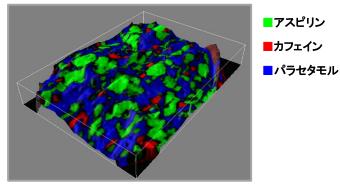
- ▶ 共焦点ラマン測定では、生体試料等測定において、非破壊、非接触、非染色でサンプルにダ メージを与えずに測定が可能です。
- ト ラマンイメージングを取得することで、広い範囲でも、1 μ m 以下の空間分解能で、2次元、3 次元のイメージを取得し、タンパク質、炭化水素、核酸や脂質等の成分の分布を可視化する ことができます。
- ▶ レーザー光を用いた散乱測定で、簡単な前処理で測定が可能です。
- ▶ ラマン散乱は水の影響を受けにくく、水溶液中での測定が可能です。

inViaQontor の特徴

- ▶ シグナルの弱いサンプルの測定も可能。独自の On-Axis 光学系により高い感度を実現。
- ▶ 凹凸のある試料でもそのまま測定可能。独自の LiveTrack テクノロジーを搭載。
- ▶ 独自のラインフォーカス測定 StreamLine で、高速にラマンイメージングを取得すること可能。
- ▶ インキュベーターや倒立型顕微鏡等、生体試料の測定に対応したオプションを豊富に用意。



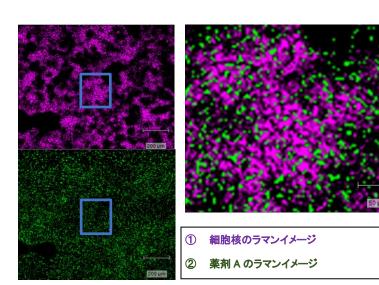
卓上型インキュベーター



LiveTrack を使用した錠剤表面の測定

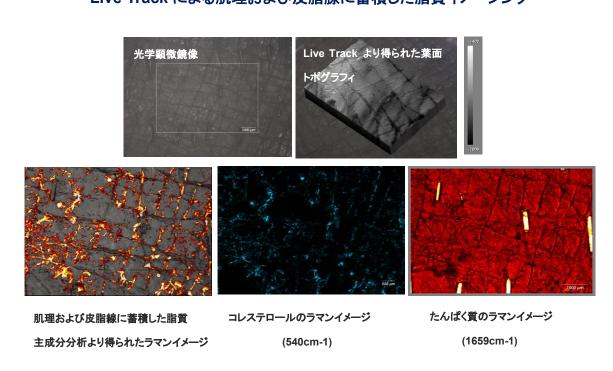
inVia 共焦点ラマン顕微鏡による生体サンプルアプリケーション

薬剤 A を静脈投与したマウス肝臓組織切片のラマンイメージ



薬剤 A を静脈投与したマウスの肝臓組織切片を作成し、ラマンイメージを取得した。①は細胞核(DNA リン酸骨格由来のラマンスペクトル)、②は薬剤 A のラマンイメージである。複合ラマンイメージより細胞核と薬剤 A のラマンイメージは共存しない事ことが分かる。この結果、投与薬剤 A は細胞核に取り込まれていない事が分かった。

Live Track による肌理および皮脂腺に蓄積した脂質イメージング



肌理や皮脂腺による凹凸を有する豚皮膚表面を Live Track を用いたリアルタイムフォーカス位置合わせマッピングを行った。得られた表面トポグラフィより肌理や皮脂腺の凹凸に対し、最適な焦点位置にてスペクトル測定を行えた事が分かる。また、ラマンイメージとポグラフィとの複合イメージよりコレステロール等の脂質が肌理・皮脂腺に蓄積している事が明らかとなった。

抗ウイルス対策で注目 V-殺菌の安全利用のために

注目波長

DUV: 200 - 250 nm

UVC: 250, 255, 260, 265, 275, 280 nm

DUV測定用小型分光器

GL SPECTIS 5.0 touch 場所を選ばず手軽に測定

ウイルス感染症が競

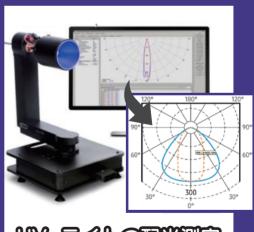
UV 殺菌ライトの検査 UV 照射器の評価

簡単で正確な計測

性能評価と安全性評価

光生物学的安全性 IEC62471(JIS7550:2014) リスクグループ全ての放射限界値測定に対応

W ST PRIME SWED のゆからのから



のかられるの間光測定

GL SPECTIS 5.0 touch 特長・仕様

- 200 1050 nm 分光スペクトル
- 気温によるダーク変動を自動補正
- ユニバーサルマウント付き
- 重量:1500g

- タッチパネルスクリーンで簡単操作
- 測定データは micro SD(4GB) に保存
- Li-ion バッテリー駆動時間:~6時間
- サイズ [H x W x D]: 111 x 210 x 58 mm



Systems **Engineering**

光測定を 25 年以上続けてきた当社が 計測のお手伝いをします



OCT断層画像撮影システム

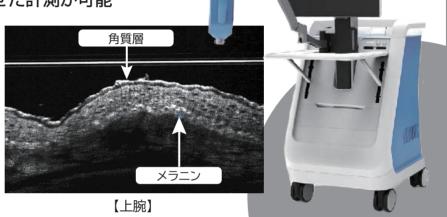
試料内部の3D画像・2D断層画像をin vivo 非破壊で撮影

FF-OCT 超高分解能 OCT システム

超高分解能ながら小型化・軽量化を実現 ターゲットの計測深さに合わせた計測が可能

アプリケーション

- 皮膚の非侵襲スキャン
- ・ 表皮の観測
- ・毛細血管の血流 3D 観測
- モース手術時における病理 検査

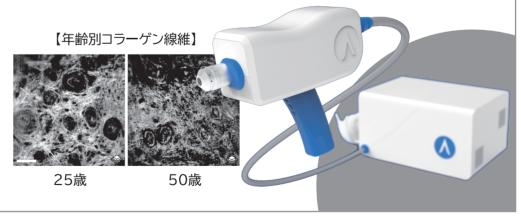


LC-OCT 皮膚用高分解能 OCT システム

独自技術の3Dイメージング撮像で、浸透性をもつ皮膚の内部構造(真皮の深さ)を観測 高速で部位を探しながら in-vivo 観察可能

アプリケーション

- ・皮膚科(皮膚ガン)
- ・コスメティック
- ・工業製品(樹脂)



お問い合わせはとちら トトト info@systems-eng.co.jp https://www.systems-eng.co.jp



株式会社 システムズエンジニアリング

本社 :東京都文京区小石川 1-4-12 TEL 03-3868-263





微弱光分光、ナノ秒時間分解分光を簡単測定!

自由度の高い分光システム構築、計測時間の短縮

高感度低ノイズ分光器 Kymera お問い合わせNo: AD10

特長

- ■対応波長200~2300 nm:グレーティングもソフトウェアで切り替え可能
- ■分光に特化した超高感度冷却検出器:微弱光スペクトルを素早く取得
- ■波長分解能: 0.02 nm~ 広範囲のスペクトルを高分解能で取得可能
- ■ナノ秒時間分解分光計測:最短2ナノ秒の瞬間現象の分光計測
- ■高い拡張性:入出射ポート各2箇所、グレーティング最大12枚まで拡張可能
- ■LabVIEW、Python、Visual Studio他:プログラミング言語に対応





ANDOR

用途

●ラマン、PL、CL、燃焼、プラズマ、LIBS、天体観測など

コンパクト・高性能な分光用標準モデル

低ノイズ・高感度 - NIR領域最高性能の高QE>95 %

高感度分光用冷却CCD検出器 iDus [お問い合わせNo: AD02]

ANDOR

特長

- ■量子効率 >95% : BVセンサー、@550 nm
- ■-100°C電子冷却(液体窒素不要)
- ■16 bit ダイナミックレンジ
- ■近赤外でのフリンジ低減センサーあり (BR-DD、BEX2-DD、LDC-DD)
- ■低暗電流、低読み出しノイズ
- ■外部トリガー入力/出力
- ■分光モード、イメージモード切替
- ■軽量、コンパクト設計
- ■USB2.0接続でノートPCからの制御可能

用涂

- ●ラマン、蛍光発光、天体等の 極微弱光の分光計測
- ●干渉縞測定
- ●センサー組込型の小型分光器では感度や ダイナミックレンジが不十分な分光計測など



☐ https://www.tokyoinst.co.jp ☐ sales@tokyoinst.co.jp

TGroup Company - グローバルにネットワークを広げ、最先端の科学をお客様に提供 -

株式会社ユニソク

日本/超高真空・極低温走査型プローブ顕微鏡、 高速分光測定装置、クライオスタット



LOTIS TII

ベラルーシ / レーザー、 レーザーマーキングシステム、光学部品製造

LOTIS TII

SPFCS-TII

中国、スイス、ロシア、アメリカ / Enviro ESCA (準大気圧 XPS)、ARPES など

SPECS"- TII

モジュラー型共焦点顕微レーザーラマン 各モジュールを活用した自作ラマンの構築可能

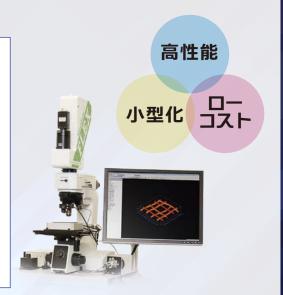
モジュラー型3D顕微レーザーラマン分光装置

株式会社 東京インスツルメンツ TOKYO INSTRUMENTS, INC.

Nanofinder FLEX お問い合わせNo: NF02

特長

- ■空間分解能 300 nm以下ラマン分光イメージ
- ■高感度 (Siの4次光を1分以内に検出) 低照射レーザー 4 mW
- ■共焦点レーザー顕微鏡の採用
- ■ラマン光学ユニットはA4サイズに縮小
- ■駆動部品なしで調整不要
- ■ピエゾステージ (X-Y-Z) 採用で送り精度は nmオーダー
- ■光ファイバーの採用でレーザー・分光器の設置場所は自由
- ■お手持ちのレーザー、分光器、冷却CCD (ANDOR社製) 使用可
- ■定評ある シリーズの2D・3Dソフトウェアを使用
- デコンボリューションソフトウェア付で空間分解能はさらに1.5倍向上



ポンプ光、ストークス光の発振可能でマルチプレックス CARS 分光測定用として最適なレーザー光源

マルチプレックCARS分光測定用 スーパーコンティニューム光源 OPERA

特長

- ■ポンプ光 (1064 nm) とストークス光 (420~2400 nm) の同時発振
- ■ポンプ光出力最大:1W
- ストークス光出力最大: 0.5 W
- ■スペクトル線幅:<0.1 cm⁻¹
- ■空間シングルモード
- ■ポンプ光とストークス光の遅延による同期制御が可能(オプション)
- ■ポンプ光二倍波 (532 nm) の発振可能 (オプション)







TIF Group Company - グローバルにネットワークを広げ、最先端の科学をお客様に提供 -

株式会社ユニソク

日本 / 超高真空 ・極低温走査型プローブ顕微鏡、 高速分光測定装置、クライオスタット



LOTIS TII

ベラルーシ / レーザー、 レーザーマーキングシステム、光学部品製造

LOTIS TII

SPFCS-TII

中国、スイス、ロシア、アメリカ / Enviro ESCA(準大気圧 XPS)、ARPES など

SPECS"- TII