

令和 5 年 5 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02650

研究課題名(和文) 超多色蛍光・ラマンイメージングによる細胞機能解析法の確立

研究課題名(英文) Cellular functional analysis with super-multiplexed fluorescence/Raman imaging

研究代表者

小関 泰之(Ozeki, Yasuyuki)

東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・教授

研究者番号：60437374

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,290,000円

研究成果の概要(和文)：申請者が研究を進めてきた高速ラマンイメージング法であるSRS顕微鏡法に対して、蛍光顕微鏡法との同時観察を実現するために、蛍光・誘導ラマン散乱(SRS)統合顕微鏡を開発した。本システムを用いて、ラマン4色・蛍光4色、計8色のイメージングをわずか133 msで行えることを実証した。さらに、ラマンプローブ染色した様々な生体試料の観察実験を行い、多種の細胞小器官の相互作用や代謝のダイナミクスや、小器官の共局在に関するイメージング解析を行った。以上を通じて、超多色蛍光・ラマンイメージングによる細胞機能解析法を確立することに成功したと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では細胞内を構成する様々な要素を同時に観察する技術を実現するために、蛍光顕微鏡と高速ラマン顕微鏡を統合する新しい生体観察システムを開発するとともに、本システムを用いて、細胞内の8種の構成要素を30秒程度で観察し、細胞内の様々な構成要素の動きや相互作用を詳細に調べました。本研究成果は、生命の仕組みを明らかにするための新しい生体観察手法を提供するものであり、将来的に生命科学や医学に新しい知見をもたらすことが期待されます。

研究成果の概要(英文)：We have developed a fluorescence and stimulated Raman scattering (SRS) integrated microscope to enable simultaneous observation of high-speed Raman image with SRS and fluorescence. Using this system, it was demonstrated that imaging in four Raman colors and four fluorescence colors, a total of eight colors, could be performed in just 133 ms. Furthermore, various biological samples stained with Raman probes were observed, and imaging analysis related to the interaction and dynamics of various cellular organelles, and their co-localization was conducted. Through these efforts, we have established a cellular functional analysis method using ultra-multicolor fluorescence and Raman imaging.

研究分野：バイオイメージング

キーワード：超多重イメージング 誘導ラマン散乱 ラマンプローブ

1. 研究開始当初の背景

生物学・医学において、細胞の分化機構や薬剤応答などを細胞レベルで解明することが求められている。細胞内では様々な細胞小器官が複雑に相互作用し、細胞の機能を発現すると考えられているが、実際の細胞の振る舞いは極めて多様であり、細胞の機能を理解し活用するためには、複数種類の細胞小器官がどのように空間的な配置を変えながら相互作用するかを解析することが重要である。近年の蛍光イメージング法の発達に伴い、特定の小器官をイメージング計測したり、イオンや生体分子の計測を行うことが可能になり、新しい生物学的知見を与えている。しかし、蛍光イメージングには「色数の壁」があり、同時観察可能な色数は4-5色程度に限られる。これは可視光のスペクトル幅(~250 nm)と蛍光スペクトル幅(~50 nm)で決まる原理的な制限である。また、脂肪酸や糖類などの代謝物は標識すると生化学的性質が変化するため、代謝の可視化は困難である。

近年、これら蛍光イメージングの制限を打破する技術として、ラマンプローブが開発された。ラマンプローブとは、炭素-炭素三重結合(アルキン基)、炭素-窒素三重結合(ニトリル基)、ポリリンなどの官能基を有する分子である。これらのラマンスペクトル幅(~10 cm^{-1})は蛍光よりも圧倒的に狭く、また、分子振動周波数を同位体チューニングできる。本技術によって、6-10色以上の多色イメージングの道が開かれた。また、重水素標識した脂肪酸や糖類などは、生化学的性質が標識後も変化しないため、細胞の代謝系に取り込ませることが容易である。この重水素由来のラマン信号をイメージング計測することで代謝機能計測が可能になり、大きな注目を集めている。

しかしながら、従来のラマンイメージング実験はシステムの計測速度に制限されて数十分程度のイメージング時間を要し、ある時点でのスナップショットは得られるが、細胞のダイナミクスを計測するには時間分解能が不十分であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、申請者らが開発を進めてきた世界最高性能の蛍光・ラマンイメージングシステムを用いた細胞機能解析に適用し、そのプロトコルを確立することである。そのために、蛍光およびラマンプローブを用いた小器官や代謝物の超多色イメージング実験を行い、様々な小器官の相互作用とそのダイナミクスを調べた。

3. 研究の方法

申請者が研究を進めてきた高速ラマンイメージング法である SRS 顕微鏡法に対して、蛍光顕微鏡法との同時観察を実現するために、蛍光・誘導ラマン散乱(SRS)統合顕微鏡を開発した。さらに、ラマンプローブ染色した様々な生体試料の観察実験を行い、細胞小器官の相互作用や代謝のダイナミクスのイメージング解析を行った[1]。

4. 研究成果

以下に示すように、蛍光・SRS 統合顕微鏡を開発し、生体試料の超多重イメージング実験、生細胞の超多重タイムラプスイメージング実験、生細胞の超多重イメージングサイトメトリー実験を通じて、細胞内の小器官のダイナミクスや相互作用を詳細に調べた。各研究項目で得られた知見は以下のとおりである。

4.1 蛍光・SRS 統合顕微鏡システム

蛍光・SRS 統合顕微鏡システムを開発した。SRS を生じさせるためのポンプパルスとストークスパルスは、チタンサファイアレーザーと Yb 添加ファイバーレーザーシステムによって発生した。これらの光源からのピコ秒パルスは、2色パルスの波数差が特定の分子振動モードの波数と一致するときに、分子振動を効率的に励起する。同時に、4色の連続波(CW)光を発生し、一光子蛍光励起に用いる。すべてのレーザービームは空間的に結合され、レーザー走査顕微鏡に導かれる。試料面における SRS 過程のポンプとストークス光のレーザーパワーはそれぞれ約 33 mW および約 46 mW、蛍光励起のための CW レーザーのパワーは約 2-240 μW である。蛍光励起波長の選択のために、CW 光を独立して on/off する。SRS 波数調整には、ガルバノスキャナーの角度を変更することで、ストークス波長を 1014 nm から 1046 nm に調整する。これは 300 cm^{-1} の波数範囲に対応する。蛍光検出波長は、もうひとつのガルバノスキャナーの角度を調整することで制御できる。本システムを用いると、SRS と蛍光チャンネルのそれぞれについて、毎秒 30 回、波長を <1 ms 以内に調整し、500 × 500 ピクセルのフレームを取得できる。その結果、特定波数の SRS 画像と特定の励起/検出波長の蛍光画像を、1 秒あたり 30 フレームペアで同時に取得することができる。

本システムを用いて、テスト試料の高速超多重イメージングを行った。異なる波数での SRS 画像は、分子の振動モードに対応するコントラストを示し、線形分離によりそれぞれ 4 種類のポリマーの画像に分解された。また、異なる励起および検出波長での蛍光像から、アンミキシング

なしに直接 4 種類の蛍光ビーズ画像を得ることができた。このように、SRS と蛍光顕微鏡をシームレスに統合することで、8 色の顕微鏡画像を 133 ms という極めて短い時間に取得することに成功した。

4.2 生体試料の超多重イメージング

蛍光・SRS 統合顕微鏡の汎用性を示すために、生細胞や動物組織中の生体分子、小さな分子の代謝物、特定の細胞小器官の超多重イメージングを行った。

まず、細胞小器官を標的とするラマンプローブおよび蛍光プローブを利用して、HeLa 細胞のミトコンドリア(Mito)、リソソーム(Lyso)、脂質滴(LD)、小胞体(ER)、核(Nucleus)、細胞膜(PM)、チューブリン(Tubulin)、アクチン(Actin)を可視化した。取得時間は 30 秒である。異なる色間での信号対雑音比の差を補償するため、フレーム平均化の最適化を行った。また、蛍光と SRS イメージング間のクロストークは無視できる程度であることがわかった。

また、炭素-水素(C-H)伸縮振動を利用した、HeLa 細胞の 8 色イメージングを行ったところ、画像取得時間はわずか 2 秒であった。脂質由来の CH_2 伸縮振動の信号から、LD の位置が明確に確認できる。核の内部では、タンパク質由来の CH_3 伸縮振動が核小体、Hoechst 染色像が核の分布を示す。6 つの蛍光画像と合わせて、合計 8 種類のオルガネラ (LD、核小体、核、Mito、PM、ゴルジ体、チューブリン、アクチン) を同時に観察することに成功した。

さらに、固定されたマウス脳組織スライスの 7 色イメージングを行った。SRS イメージングにより、タンパク質、繊維、血管の分布を視覚化し、組織全体からの CAG-EGFP 像、核、アクチン、アストロサイトマーカーのグリア線維酸性タンパク質(GFAP)の蛍光像を得て脳組織内の構造を詳細に調べることに成功した。

さらに、重水素化パルミチン酸(PA-d31)とアラキドン酸(AA-d8)を使用して飽和脂肪酸および不飽和脂肪酸の代謝ターンオーバーを観察するための生きた HeLa 細胞の 7 色パルスチェイスイメージングを行った。信号取得時間は 2 秒である。AA/PA 比を計算することで、異なる種類のオルガネラの同時イメージングとともに、細胞内代謝の細胞ごとのばらつきを詳細に調べることができた。特に、細胞培養媒体から AA-d8 を除去した後、異なる細胞が異なる AA / PA 比を示す結果が得られ、これは脂肪酸代謝における細胞のヘテロ性を反映している。

4.3 生細胞の超多重タイムラプスイメージング

複数の小器官の細胞内ダイナミクス計測における蛍光・SRS 統合顕微鏡システムの有用性を示すため、生きた HeLa 細胞における 8 色タイムラプスイメージングを行った。時間分解能は 20 秒であり、これは従来の超多重イメージングの報告より 24 倍以上高速である。PM の速い動き、チューブリンの形状変化、リソソームおよび LD の分布の時間変化が見られた。特定の領域では、LD がチューブリンとアクチンと接触する様子が見られた。ミトコンドリアはアクチンの周りに分布する様子が見られ、これはアクチンが融合と分裂のバランスを調整している可能性を示唆する。さらに興味深いことに、リソソームの形状が ER の近くで時間とともに変化する様子が観察された。この形状変化は、ER-リソソーム接触中のチューブリンによって媒介されている可能性がある。このように細胞全体にわたってダイナミックなオルガネラ接触が発生することを示唆している。

我々のシステムでは、特定の小器官 (リソソームおよび LD) の動きをより高速で追跡することも可能である。この点を実証するため、生きた HeLa 細胞の 6 色タイムラプスイメージングを行った。時間分解能は 4 秒である。リソソームと LD の速い動きを観察したが、他の 4 つのオルガネラはこのような短時間ではほとんど変化を示さなかった。タイムラプス画像から静的および動的情報を抽出するために、各小器官の平均画像と差分画像およびその最大強度を計算した。また、PM までの相対距離に沿った平均強度と差のヒストグラムを作成した。リソソームの信号差は、平均信号と比較して PM までの相対距離が短く、これは細胞の周辺領域においてリソソームが活発に動くことを示唆する結果である。脂質滴については、チューブリンとアクチンのイメージングと組み合わせることで、一部の脂肪滴がチューブリンに沿った連続的な輸送を示すことが観察された。一方、他の脂肪滴は、チューブリンの方向と 0~45 度の角度シフトを持つ方向に動くことがわかった。これらの結果は、チューブリンが LD 輸送の機能を有し、LD が細胞骨格フィラメントに沿って輸送されることを示している。

次に、小さな生体分子の代謝解析への応用として、生きた HeLa 細胞の 7 色タイムラプスイメージングを行ったところ、時間分解能 2 秒で計測することに成功した。重水素化脂肪酸を取り込んだリソソームと LD は、他のリソソームと LD よりも明らかに大きな動きを示した。この静的・動的情報を抽出することで、移動する LD が核近傍に頻繁に現れること、LD とリソソームとの相関がミトコンドリアとアクチンとの相関よりも高いことを見出した。これは、加水分解反応が活発に行われていることを示唆している。核膜近くの特定の領域では、ミトコンドリアが短縮する様子や、ミトコンドリアがアクチンに沿ってリソソームや LD と接触する様子が観察された。これは、複雑な小器官同士の相互作用を示すものである。核近くではリソソーム-LD の共同存在が弱くなることに加えて、細胞質はリソソームが速い動きを示し、LD と強く相互作用する様子が観察された。さらに、我々は AA/PA 比率と種々の小器官との関係を調べ、より高い AA/PA 比率を持つ LD は、核に近い位置に存在することが示された。これは、膜流動性勾配の調節にお

ける脂質輸送に関連している可能性を示唆する結果である。他のオルガネラと比較して、ミトコンドリアはより高い AA/PA 比率の領域とより相関があり、傾斜した分布を示している。これは、二重結合の存在によって不飽和脂肪酸と飽和脂肪酸のベータ酸化の異なる代謝率を反映している可能性がある。このように、我々の統合 SRS/蛍光顕微鏡により得られる超多重タイムラプス画像により、小器官同士の様々な相互作用を解析できることが実証された。

4.4 生細胞の超多重イメージングサイトメトリー

ヘテロな細胞集団を詳細に分析するためには、多数の細胞を 1 細胞の分解能で計測することが重要である。従来の画像ベースの細胞計測は 1 細胞レベルでの形態情報は得られるものの、分解可能な色の数が限られているという問題があった。ここでは、毎分 2 視野 (FOV) で 8 チャンネルの画像ベースの生細胞計測を行い、ハイコンテンツイメージングへの応用を実証した。具体的には、3 つの異なる培養条件下での HeLa 細胞の細胞間のヘテロ性を調べた。用いた培地は、コントロール培地(control, n = 75)、ウシ血清(FBS)不含有培地(FBS-free, n = 36)、高オレイン酸(OA)培地(high-OA, n = 86)である。細胞小器官の共同在を定量化するために、各単一細胞内の細胞器官の相関係数行列を計算し、次元削減を用いてひとつの t-SNE プロットに表示した。その結果、同じ培養条件であっても細胞ごとの大きなばらつきが見られるものの、異なる培養条件ごとの差異を統計的に認めることができた。コントロールグループは FBS-free グループ及び high-OA グループよりも強い細胞器官の相関を示した。本結果は、high-OA 環境下での細胞内の細胞器官の協調と代謝がコントロール培地環境下と比較して変化したことを反映している可能性がある。一方、FBS 不含有培地では、細胞成長を助ける多くの成長因子が欠如しているため、細胞は休止状態に入り、無活動状態になる傾向がある。これは生物学的プロセスの停止を引き起こし、細胞器官の共同在が抑えられている可能性がある。

参考文献

- [1] J. Shou, R. Oda, F. Hu, K. Karasawa, M. Nuriya, M. Yasui, B. Shiramizu, W. Min and Y. Ozeki, “Super-multiplex imaging of cellular dynamics and heterogeneity by integrated stimulated Raman and fluorescence microscopy,” *iScience*, vol. 24, issue 8, p. 102832, 2021.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Spratt Spencer J., Mizuguchi Takaha, Akaboshi Hikaru, Kosakamoto Hina, Okada Rina, Obata Fumiaki, Ozeki Yasuyuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Imaging the uptake of deuterated methionine in Drosophila with stimulated Raman scattering	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Chemistry	6. 最初と最後の頁 1141920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fchem.2023.1141920	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shou Jingwen, Ozeki Yasuyuki	4. 巻 46
2. 論文標題 Photoswitchable stimulated Raman scattering spectroscopy and microscopy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Optics Letters	6. 最初と最後の頁 2176 ~ 2176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1364/OL.418240	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shou Jingwen, Oda Robert, Hu Fanghao, Karasawa Keiko, Nuriya Mutsuo, Yasui Masato, Shiramizu Bruce, Min Wei, Ozeki Yasuyuki	4. 巻 24
2. 論文標題 Super-multiplex imaging of cellular dynamics and heterogeneity by integrated stimulated Raman and fluorescence microscopy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 102832 ~ 102832
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.102832	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Yonamine Yusuke, Asai Takuya, Suzuki Yuta, Ito Takuro, Ozeki Yasuyuki, Hoshino Yu	4. 巻 93
2. 論文標題 Probing the Biogenesis of Polysaccharide Granules in Algal Cells at Sub-Organellar Resolution via Raman Microscopy with Stable Isotope Labeling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 16796 ~ 16803
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.1c03216	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Foong Choon Pin, Higuchi-Takeuchi Mieko, Ohtawa Kenji, Asai Takuya, Liu Hanqin, Ozeki Yasuyuki, Numata Keiji	4. 巻 11
2. 論文標題 Engineered Mutants of a Marine Photosynthetic Purple Nonsulfur Bacterium with Increased Volumetric Productivity of Polyhydroxyalkanoate Bioplastics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Synthetic Biology	6. 最初と最後の頁 909 ~ 920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssynbio.1c00537	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Spratt Spencer J., Oguchi Kenichi, Miura Keisuke, Asanuma Masato, Kosakamoto Hina, Obata Fumiaki, Ozeki Yasuyuki	4. 巻 126
2. 論文標題 Probing Methionine Uptake in Live Cells by Deuterium Labeling and Stimulated Raman Scattering	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 1633 ~ 1639
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.1c08343	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 T. Iino, K. Hashimoto, T. Asai, K. Kuchitsu, and Y. Ozeki	4. 巻 146
2. 論文標題 Multicolour chemical imaging of plant tissues with hyperspectral stimulated Raman scattering microscopy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analyst	6. 最初と最後の頁 1234-1238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0AN02181D	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 H. Fujioka, J. Shou, R. Kojima, Y. Urano, Y. Ozeki, and M. Kamiya	4. 巻 142
2. 論文標題 Multicolor activatable Raman probes for simultaneous detection of plural enzyme activities	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Am. Chem. Soc.	6. 最初と最後の頁 20701-20707
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.0c09200	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Y. Ozeki	4. 巻 18
2. 論文標題 Molecular vibrational imaging by stimulated Raman scattering microscopy: principles and applications	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chin. Opt. Lett.	6. 最初と最後の頁 12170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3788/COL202018.121702	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 P. Fimpel, A. J.X. Choorakuttil, A. Pruccoli, L. Ebner, S. Tanaka, Y. Ozeki, M. J. Winterhalder and A. Zumbusch	4. 巻 22
2. 論文標題 Double modulation SRS and SREF microscopy: Signal contributions under pre-resonance conditions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Phys. Chem. Chem. Phys.	6. 最初と最後の頁 21421-21427
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0CP03221B	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 K. Midorikawa, K. Tsuchiya, S. S. Y. Law, Y. Miyagi, T. Asai, T. Iino, Y. Ozeki, Y. Kodama, and K. Numata	4. 巻 1
2. 論文標題 Cellular internalization mechanism of novel Raman probes designed for plant cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 RSC Chem. Biol.	6. 最初と最後の頁 204-208
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0CB00128G	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 小関泰之、スペンサージョンズプラット、小幡史明
2. 発表標題 重水素化アミノ酸によるラマン代謝イメージング
3. 学会等名 第143回日本薬学会年次大会、S59-03、北海道大学、2023年3月28日。(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takaha Mizuguchi, Christopher T. Knight, Makiko Goto, Masato Ninomiya, Mariko Egawa, Yasuyuki Ozeki
2. 発表標題 Three-dimensional analysis of water dynamics in human skin by stimulated Raman scattering imaging
3. 学会等名 Photonics West 2023, San Francisco, Jan. 30, 2023. (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小関泰之
2. 発表標題 誘導ラマン散乱顕微法のための低雑音/高機能パルスファイバーレーザーの開発
3. 学会等名 レーザー学会学術講演会第43回年次大会、S06-18p-V-07、2023年1月18日。(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小関泰之
2. 発表標題 誘導ラマン散乱顕微法による超多重イメージングおよび代謝イメージング
3. 学会等名 日本分子生物学会、3AW-11-3、幕張メッセ、2022年12月2日。(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小関泰之
2. 発表標題 誘導ラマン散乱顕微法のためのパルスファイバレーザ
3. 学会等名 レーザー学会第570回研究会「次世代ファイバレーザ技術」、名古屋大学、2022年11月18日。(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 水口 高翔、ナイト クリストファ鷹也、後藤 真紀子、二宮 真人、江川 麻里子、小関 泰之
2. 発表標題 誘導ラマン散乱によるヒト皮膚の水動態3Dイメージング
3. 学会等名 第83回応用物理学会秋季学術講演会、 20p-C301-10、2022年9月20日。
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Spencer John Spratt, Kenichi Oguchi, Hina Kosakamoto, Fumiaki Obata, Yasuyuki Ozeki
2. 発表標題 Probing Methionine Uptake in Live Cells and Tissue by Deuterium Labelling and Stimulated Raman Scattering
3. 学会等名 The 83rd JSAP Autumn Meeting, 20p-C301-11, September 20, 2022.
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Y. Ozeki
2. 発表標題 High-speed multicolor stimulated Raman microscopy
3. 学会等名 International Conference on Raman Spectroscopy (ICORS2022), NEWT-1-1, Long Beach, Aug. 15, 2022. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Y. Ozeki
2. 発表標題 Multicolor stimulated Raman scattering microscopy -Technologies and applications-
3. 学会等名 Sixteenth Annual Chautauqua on Nonlinear Optics, Purdue University, June 30, 2021. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Y. Ozeki
2. 発表標題 Multicolor imaging with stimulated Raman scattering
3. 学会等名 International Conference on Advanced Vibrational Spectroscopy (ICAVS11), Session 1.2.2 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小関泰之
2. 発表標題 「誘導ラマン散乱顕微法の発展とその応用」
3. 学会等名 光エレクトロニクス産学連携研究専門委員会研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Y. Ozeki
2. 発表標題 High-speed multicolor stimulated Raman imaging
3. 学会等名 Photonics West on demand, Advanced Chemical Microscopy for Life Science and Translational Medicine, paper 1197305 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Y. Ozeki
2. 発表標題 Multicolor stimulated Raman scattering microscopy and its applications
3. 学会等名 Photonics West on demand, Biomedical Vibrational Spectroscopy 2022: Advances in Research and Industry, paper 1195709 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 J. Shou and Y. Ozeki
2. 発表標題 Photoswitchable stimulated Raman scattering spectroscopy and microscopy
3. 学会等名 Photonics West on demand, Biomedical Vibrational Spectroscopy 2022: Advances in Research and Industry, paper 119570A (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 浅沼将人、水口高翔、二宮真人、江川麻里子、小関泰之
2. 発表標題 誘導ラマン散乱によるヒト皮膚のCH伸縮・OH伸縮振動イメージング
3. 学会等名 第69回応用物理学会春季学術講演会、26a-E204-5
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Ji-Xin Cheng, Wei Min, Yasuyuki Ozeki, Dario Polli	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 610
3. 書名 Stimulated Raman Scattering Microscopy -Techniques and Applications-	

1. 著者名 Yasuyuki Ozeki, Hideaki Kano, and Naoki Fukutake	4. 発行年 2020年
2. 出版社 CRC Press	5. 総ページ数 38
3. 書名 'Molecular Vibrational Imaging with Coherent Raman Scattering' in 'Bioimaging'	

〔産業財産権〕

〔その他〕

Ozeki Group
<https://sites.google.com/site/ozekibp/>
Ozeki Group
<https://sites.google.com/site/ozekibp/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------