

令和 6 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H02881

研究課題名（和文）アルキンタギングによる脳の病態生理学解明の新たなツールの開発と応用

研究課題名（英文）Development and application of novel tools for pathophysiological investigation of the brain by an alkyne-tagging approach

研究代表者

塗谷 睦生（Nuriya, Mutsuo）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・准教授

研究者番号：60453544

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：脳の中の細胞間の情報伝達は、私たちの脳、そして精神機能を支えています。そしてその不調は様々な脳・精神に関する疾患の原因となると考えられます。しかし、これらの情報伝達は、技術的な制約から、見ることも、そしてそれにより解析することが困難でした。本研究では、化学と生物学の融合であるケミカルバイオロジーの新たな標識法を用い、このような情報伝達を担う物質を可視化する新たな手法の開発に成功しました。そしてこれを用いることで、脳内においてこれらの分子が作用する場所などについて新たな知見を得ることに成功しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の意義は、手法の開発とその応用の両面にある。まず、手法の面では、これまで重要性が理解されながら可視化解析ができなかったサイズの小さな生理活性物質の可視化を実現するアルキンタグという新たな簡便な手法を提供した。これにより、今後の生理活性物質の研究の発展に貢献することができると期待される。次に、開発に成功したドーパミンとオキシトシンの可視化ツールについては、それを利用して脳内での作用に関しての新たな生物学的知見をもたらすのみならず、今後、薬剤の開発などに広く応用できるツールを提供することとなった。

研究成果の概要（英文）：The intercellular communication within the brain underlies our cognitive and mental functions, and its dysfunction is considered to cause various neurological and psychiatric disorders. However, due to technical constraints, observing and analyzing such communications has been challenging. In this study, we successfully developed a novel labeling method based on the fusion of chemistry and biology, known as chemical biology, to visualize the substances responsible for chemical communications. By using this method, we gained new insights into the detailed properties of intercellular communications including their sites of actions.

研究分野：薬理学

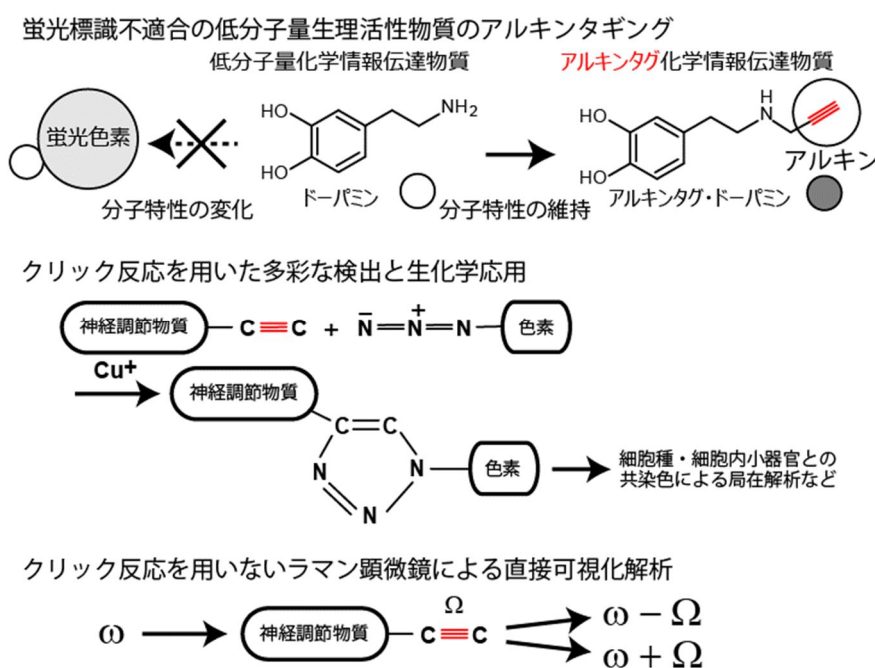
キーワード：アルキンタグ 脳 プローブ 生理活性物質

1. 研究開始当初の背景

社会的重要性が増し続ける種々の精神疾患などに関する脳の病態生理の理解のためには、関与が示唆される脳内生理活性物質の脳組織内での分布や排出、病態における変化などに関する知見が必須となる。ここで、精神疾患と関係の深いドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンなどの神経調節物質群は分子量が 200 程度、社会的行動や自閉スペクトラム症との関連が強く示唆されるオキシトシンなどのペプチドホルモンも分子量が 1000 程度と非常に小さい分子である。このような低分子量生理活性物質は分子量の大きな蛍光色素等によるラベリング法が適用できず、脳内における挙動やその変化などに関する知見は非常に限られており、その解明が渴望されていた。本研究はこのような現状と脳神経系の疾患に関する増し続ける社会的な重要性を踏まえ、脳神経系に強力な作用を持つことが知られつつ、これまでサイズの小ささが故にプローブが合成できず解析が困難であった生理活性物質群のイメージング・生化学解析に革新的な技術の創成を探索し、脳の病態生理学の謎に迫ることを目指したものである(図1)。

小さな分子の標識法として、近年、アルキン(炭素三重結合化合物)の導入によるアルキンタギングが注目されるようになった。アルキンを導入した分子は生体において安定に存在し、固定化の後にアジド基を導入した色素などとのクリック反応により安全・特異的・かつ高感度で検出することができる(図1)。アルキンの小ささからこれらは放射性同位体を導入した分子によるラベリングに匹敵する有効性を持ちかつ安全な

図1: アルキンタグ生理活性物質の開発と応用による脳機能の解析



手法と考えられ、更に、蛍光検出が可能なことから感度と自由度が非常に高い。実際、アルキン含有メチオニンアナログである HPG (homopropargyl glycine) を用いることにより、神経細胞における局所的タンパク質合成などが明らかにされ、その有用性が示されたが、この手法の認知度は非常に低く、展開が乏しいどころかほとんど利用されていなかった。これは、このようなアプローチが生物学・化学などの複数の分野にまたがるものであり、脳科学に真に有用なツールの効率的な開発と応用がなされてこなかったことが主たる原因であった。しかし、HPG の例を考えると、このアルキンタギングによるアプローチが生命科学を駆動する非常に有用かつ強力なものとなることが期待された。

アルキンタグには上述のクリック反応による検出に加え、ラマン散乱顕微鏡による検出という更なる検出可能性がある。ラマン散乱は光が分子と相互作用する際、その分子に含まれる官能基の振動数に応じたエネルギーの変化を起こし、異なるエネルギー、つまり波長の光として散乱される現象である。このエネルギーの変化が分子内に存在する官能基の固有の振動数に対応することから、散乱光の波長を解析することにより分子内の官能基の情報を抽出することができる。アルキンは生体試料には存在せず、独自の振動を持つことから、この振動を検出するラマン散乱顕微鏡においては、アルキンがラマン散乱で特異的に検出可能な「ラマンタグ」として働き、標識された分子の特異的な可視化が可能となると期待された(図1)。上記のクリック反応における検出は、感度が高いものの、分子量の大きな蛍光色素を付加しなければならないこと、そしてその反応には銅イオンが必要であることから、試料を固定した後の検出となる。一方、ラマン散乱の場合には、小さなタグを直接検出できることから、固定せず、生きた細胞・組織での検出も可能と期待された。ラマン散乱は蛍光に比べて感度が低いことが知られているが、近赤外光の多光子現象を用い、ラマン散乱を誘導し増強する非線形ラマン散乱顕微鏡であれば、感度の向上も期待された。

2. 研究の目的

上記の背景を踏まえ、本研究では、脳内生理活性物質をアルキンでタグすることで、高い自由度と感度を備え、標的となる生理活性物質の性質に限りなく近い革新的な新規のツールを創成し、パーキンソン病やアルツハイマー病など社会的に重要性の増し続ける脳の病態生理学の解析に応用することを目指した。これにより、脳の病態生理学に新たな光を当てると共に、アルキンタグという非常に強力な手法の可能性を探求し、実証と共に脳科学のツールとして確立し、新たな領域の開拓を図ることを目的とした。このため、本研究では、種々のアルキンタグ生理活性物質を開発し、その解析法を開発し、それらを合わせて低分子量生理活性物質の脳内での挙動を明らかにすることを試みた。

3. 研究の方法

(1) アルキンタグ・ドーパミンの開発と応用

最初に、アルキンタグ脳内生理活性物質の開発を行った。研究開始時に、既にドーパミンに関して複数のアルキンタグ・ドーパミンの合成に成功していた。そこで本研究では、これらのアルキンタグ・ドーパミンのプロープとしての評価を行った。

まず、官能基情報を基にした化学的性質を評価するケモメトリクス解析により、元となるドーパミンとの類似性に着目して新規合成化合物の化学的性質の評価を行った。次に、Gタンパク質共役型受容体の活性化によるカルシウム応答、cAMP 応答を解析する評価系を用い、ドーパミン・プロープが内在性のドーパミンと同じ生理活性を持つことを確認した。

化合物のプロープとしての評価を終えたところで、開発したアルキンタグ脳内生理活性物質の活性の評価をした。アルキンタグがクリック反応によりアジド基が付加された任意の化合物と特異的に反応・検出することができることを利用し、その局在などを評価した。マウスから調製する初代培養脳細胞、急性脳スライスを用い、これにアルキンタグ脳内生理活性物質を添加して細胞・組織の中で結合・取込みを行い、その後固定し蛍光色素とクリック反応させ、それを種々の形態・細胞マーカーの免疫染色と合わせて検出した。これにより、合成したアルキンタグ脳内生理活性物質が、内在性の脳内生理活性物質を模した挙動を示し、プロープとして機能することを検証した。

(2) アルキンタグ・生理活性ペプチドの開発と応用

(1)の研究を更に展開し、ペプチド性の生理活性物質のアルキンタグ・プロープの開発を進めた。市販の Alkyne, Succinimidyl Ester (Thermo Fisher 社)を用い、これまで研究代表者が生化学研究で汎用してきた反応を利用し、アルキンをアミノ酸 N 末端および側鎖の一級アミンに共有結合させることでペプチドのアルキン化を行った。これにより、オキシトシンなどペプチド性脳内生理活性物質のアルキンタグプロープの開発を試みた。合成したアルキンタグ・ペプチドについては、(1)と同様に解析を行い、プロープの評価の後にそれを利用したペプチドの脳組織内での動態の解析を行った。

(3) 非線形ラマン散乱顕微鏡によるラマンタグ生理活性物質の可視化

本研究ではアルキンタグ生理活性物質を非線形ラマン散乱顕微鏡により、固定することなく、生細胞、組織において、高い時空間分解能で検出することを試みた。組織透過性や時空間的自由度が高い多光子顕微鏡技術は脳科学に大きなブレークスルーをもたらして来たが、今をもってしてもなおその応用は蛍光分子の2光子励起が主であり、大きな可能性を持った他の多光子現象の応用は非常に限られている。本研究では、アルキンタグの特異的なラマン散乱現象を利用し、かつてない組織透過性と感度を備えた非線形ラマン散乱顕微鏡を用いて組織内でライブイメージング解析することを試みた。更に、ラマンタグ分子の非線形ラマン散乱顕微鏡による可視化という戦略を展開し、他の低分子量生理活性物質、そして神経調節物質の脳内動態の制御因子である脳組織内水のラマン散乱による直接的可視化研究を試みた。

4. 研究成果

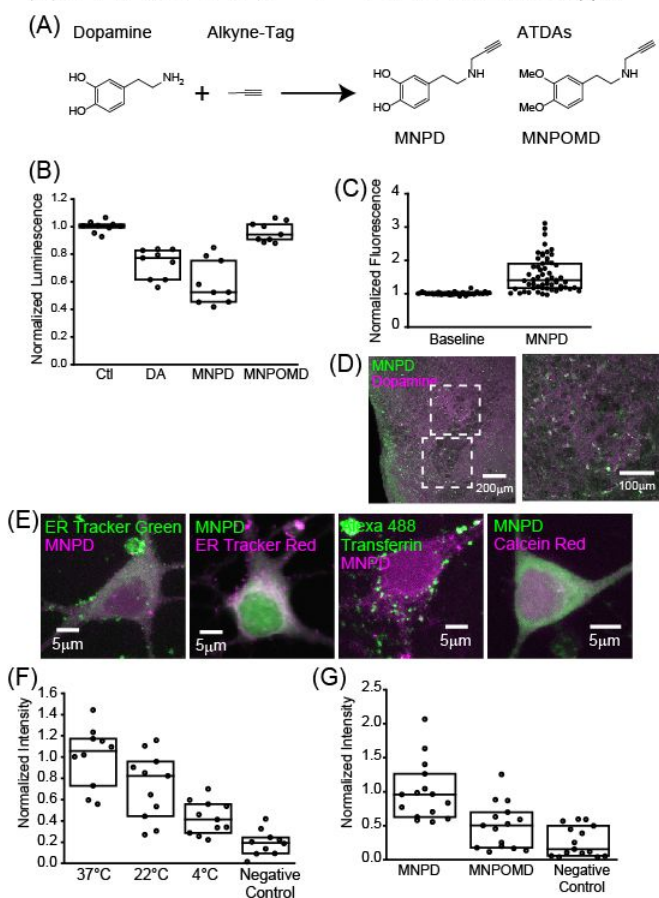
(1) アルキンタグ・ドーパミンの開発と応用

有機合成の手法により、ドーパミンにアルキンが付加された複数のアルキンタグ・ドーパミン分子を合成した(図2A)。これら新規合成分子のドーパミンへの類似性をケモメトリック解析により解析したところ、化合物間の化学的類似性を示す Tanimoto Index (1.0 が元の構造そのもので、値が高い程類似しており、0.8 を超えると非常に類似していると言える)が高いことが分かった。特に、mono-N-propargylated dopamine (MNPД) においては汎用されるアゴニストよりも高い値を示し、ドーパミンに化学的に非常に近い性質を持つことが明らかとなった。脳内ではドーパミンはカテコール基がメチル化されて不活性化することから、本研究では、MNPД のカテコ

ール基をメチル化した mono-*N*-propargylated *O*-methyl dopamine (MNPOMD) も合成し、アルキンタグ・ドーパミンの生理活性などを評価して行った (図 2A)。

まず、受容体への結合と活性化を評価したところ、ドーパミン受容体を発現させた培養細胞 (図 2B) および初代培養神経細胞 (図 2C) のどちらにおいても、MNPDP が受容体活性化能を持つことが明らかとなった。一方、MNPOMD は狙い通り、受容体活性能を持たないことが明らかとなった。次に MNPDP を脳組織に投与し、自由に挙動させ、固定の後にクリック反応により局在を検証したところ、ドーパミン含有細胞が取り込んでいることが明らかとなった (図 2D)。以上の結果は、アルキンタグ・ドーパミンが、ドーパミンの脳細胞・組織内での挙動の検証を可能にするドーパミン模倣プローブであることを示すものとなった。最後に、アルキンタグ分子の可視化検出が容易であることを利用し、細胞への取込みの詳細の解析を行った。ここから、取り込まれたドーパミンが細胞質および小胞体に輸送されていること (図 2E)、その取込みが温度 (図 2F) および生理活性 (図 2G) 依存的なものであることなどが明らかとなった。これらの結果は、今後、取込み阻害薬など種々の薬剤のスクリーニングなどに、この新たなプローブが力を発揮することを期待させるものとなった。

図 2：アルキンタグ・ドーパミンの合成と評価

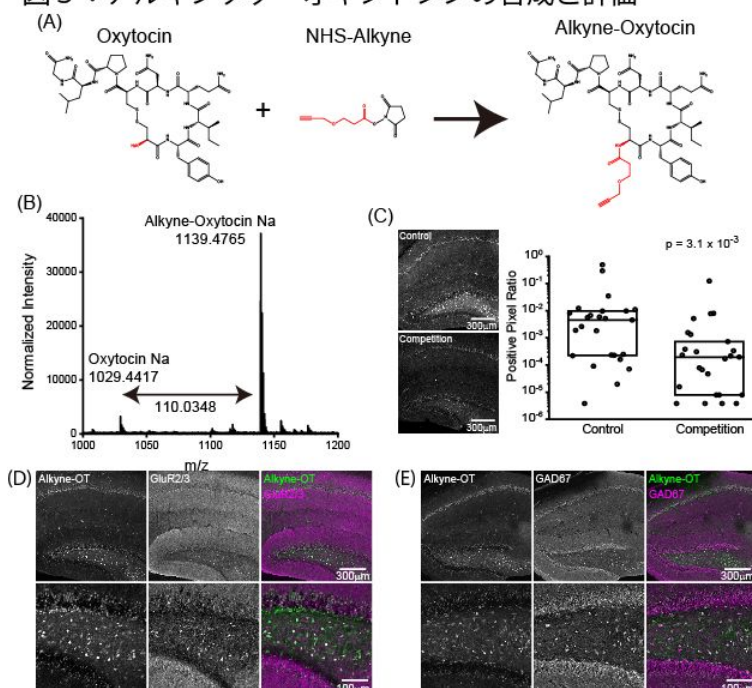


(2) アルキンタグ・生理活性ペプチドの開発と応用

次に、低分子量生理活性物質の解析のための基盤技術としてアルキンタギング法を展開するべく、更なる応用を進めた。このため、ペプチド性生理活性物質に着目し、ペプチドへのアルキンタグの導入法を検討した。本研究では特に、母子、或いは社会一般における社会的結びつきという高次の精神機能とそれに関与する疾患において非常に重要な役割を果たすオキシトシンに着目した。オキシトシンは古くから知られていた末梢組織における生理機能調節に加え、近年、脳内で働き、母子、或いは社会一般における社会的結びつきという高次の精神機能の発現に重要な役割を果たすことが知られるようになった。しかし、分子量が 1000 程度と非常に小さいため、蛍光標識などができず、よって脳内で放出された後の作用部位や動態などに関して多くが謎に包まれたままであった。そこで、本研究のアルキンタギング法を応用することにより、オキシトシンの脳内動態の解析を試みた。

生化学研究で多用される第一級アミノ基修飾試薬を用いたところ、オキシトシンに分

図 3：アルキンタグ・オキシトシンの合成と評価



子量比 1 : 1 でアルキンを付加することに成功し、アルキンタグ・オキシトシンの開発に成功した(図 3A, B)。(1)と同様の手法により、これを脳組織に反応させ、固定後クリック反応により蛍光色素で検出すると、脳組織に特徴的な結合を示すことが明らかになった。更にこれは内在性のオキシトシンにより競合阻害されたことから、アルキンタグ・オキシトシンは、オキシトシンの生物学的性質を模した模倣プローブとなることが明らかになった(図 3C)。そしてその結合様式の解析により、細胞外に放出されたオキシトシンは、細胞内に取り込まれることは無く、細胞表面の結合部位に結合し、その後比較的早く乖離する、一時的な反応を示すことが分かった。更に、免疫組織染色との融合解析により、海馬における特徴的な結合は、これまで知られていなかった一部の標的細胞に特異的なことも分かり、オキシトシンの脳内での作用に新たな知見がもたらされた(図 3D, E)。

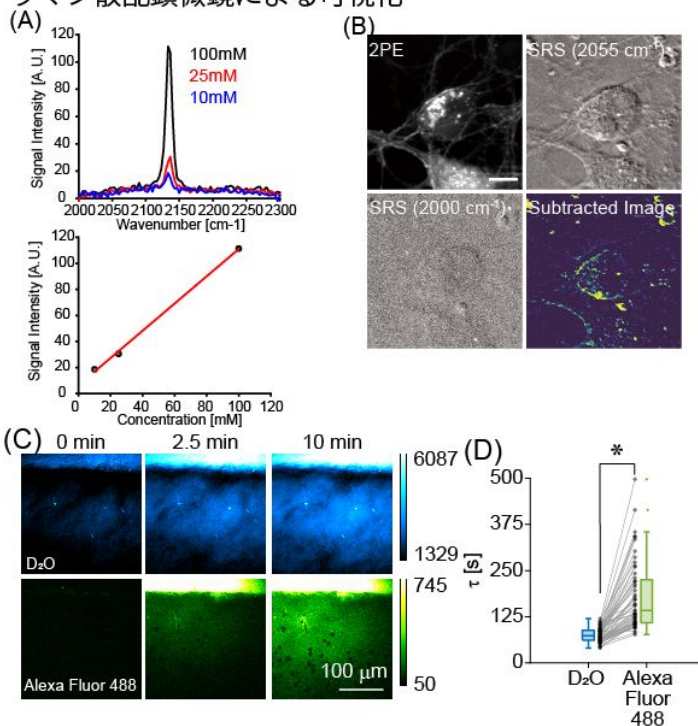
更に、この戦略を他の生理活性ペプチドへと展開し、オキシトシンと同様に分子量の小さなバソプレッシン、ブラジキニン、ダイノルフィンなどのアルキンタグ化を試みた。質量分析の結果から、これらのペプチドにアルキンが導入された、アルキンタグプローブ作成の成功が確認された。これらのアルキンタグプローブをマウスより調製した急性脳スライスに投与し、自由に挙動させた後、固定・クリック反応によりその部位の解析をした。ここから、これらの生理活性物質が、海馬において、それぞれ異なる分布を示すことが明らかとなった。今後の更なる解析により、これらの生理活性ペプチドの脳内での結合部位、ひいては作用部位の詳細の解明へとつながるものと期待される。

(3) 非線形ラマン散乱顕微鏡によるラマンタグ生理活性物質の可視化

上記のクリック反応による検出に加え、アルキンタグされた生理活性物質を生きた細胞・組織において直接可視化しその挙動を解析するため、非線形ラマン散乱顕微鏡による解析を試みた。東京大学小関泰之教授との共同研究により、誘導ラマン散乱(stimulated Raman scattering: SRS)顕微鏡にてアルキンタグ・ドーパミン溶液の解析を行った。すると、狙い通り、細胞由来のシグナルが少ないサイレント領域において、濃度依存的な特異的なシグナルを検出することができることが分かった(図 4A)。一方、現時点では検出感度の限界から、細胞内での局在の検証は難しく、今後の更なるシステムの改良などを試みることにした。

SRS 顕微鏡システムは、アルキンタグ・ドーパミンに止まらず、ラマンタグされた分子の検出を実現すると期待された。そこで、分子量が小さいためこれまで蛍光による標識と可視化が困難であった麻醉薬プロポフォール(Propofol)の可視化を試みた。重水素置換プロポフォールを分散培養神経細胞に投与し、その可視化を試みたところ、実際に細胞膜表面におけるプロポフォールの可視化ができることが明らかとなった(図 4B)。更に、重水素置換プロポフォールを細胞外液から洗い流すことにより、その脱離の様子を捉えることにも成功した。これに加え、このシステムを組織のイメージングへと応用し、脳組織内への重水の流入の可視化に成功した(図 4C)。その速度が色素よりも速いことなどを明らかにすることに成功した(図 4D)。これらの結果は、ラマンタグと非線形ラマン散乱顕微鏡を用いることで、今後、これまで可視化できなかった低分子量生理活性物質の可視化が推進されることを期待させるものとなった。

図 4：ラマンタグ生理活性物質の非線形ラマン散乱顕微鏡による可視化



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Nakamura K, Karasawa K, Yasui M, Nuriya M | 4. 巻 94(35) |
| 2. 論文標題 Probing the spatiotemporal dynamics of oxytocin in brain tissue using a simple peptide alkyne-tagging approach | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Analytical Chemistry | 6. 最初と最後の頁 11990-11998 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.2c00452 | 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 Zhong W, Oda R, Ozeki Y, Yasui M & Nuriya M | 4. 巻 4(2) |
| 2. 論文標題 Protocol to image deuterated propofol in living rat neurons using multimodal stimulated Raman scattering microscopy | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 STAR Protocols | 6. 最初と最後の頁 102221 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2023.102221 | 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 塗谷睦生 | 4. 巻 157 |
| 2. 論文標題 見たいものを見る化する非線形ラマン散乱顕微鏡の薬理学研究への応用 | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 日本薬理学雑誌 | 6. 最初と最後の頁 371-375 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1254/fpj.22060 | 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 塗谷睦生 | 4. 巻 54(13) |
| 2. 論文標題 ラマン散乱を用いた細胞水イメージング | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 月刊「細胞」 | 6. 最初と最後の頁 8-11 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 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 塗谷睦生 | 4. 巻 63(1) |
| 2. 論文標題 非線形光学顕微鏡による生細胞イメージング | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 生物物理 | 6. 最初と最後の頁 33-37 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.63.33 | 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 塗谷睦生 | 4. 巻 8(3) |
| 2. 論文標題 非線形光学顕微鏡の脳科学研究への応用 | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 フォトニクスニュース | 6. 最初と最後の頁 131-135 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 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 Nuriya M, Ashikari Y, Iino T, Asai T, Shou J, Karasawa K, Nakamura K, Ozeki Y, Fujimoto Y, Yasui M | 4. 巻 93(27) |
| 2. 論文標題 Alkyne-Tagged Dopamines as Versatile Analogue Probes for Dopaminergic System Analysis | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Analytical Chemistry | 6. 最初と最後の頁 9345-9355 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.0c05403 | 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 Ramadhanti J, Yamada T, Yasui M, Nuriya M | 4. 巻 146(1) |
| 2. 論文標題 Differentially regulated pools of aquaporin-4 (AQP4) proteins in the cerebral cortex revealed by biochemical fractionation analyses | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences | 6. 最初と最後の頁 58-64 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2021.03.003 | 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 Oda R, Shou J, Zhong W, Ozeki Y, Yasui M, Nuriya M | 4. 巻 25(3) |
| 2. 論文標題 Direct visualization of general anesthetic propofol on neurons by stimulated Raman scattering microscopy | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 iScience | 6. 最初と最後の頁 103936 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.103936 | 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 中村花穂、塗谷睦生 | 4. 巻 626 |
| 2. 論文標題 愛情の可視化へ：オキシトシンの脳内分布や動きを明かす | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 現代化学 | 6. 最初と最後の頁 42-46 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| 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 塗谷 睦生 | 4. 巻 75 |
| 2. 論文標題 総説 オキシトシン可視化手法の開発と動態解析-オキシトシンの「見える化」とそこから見えてきたこと | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 BRAIN and NERVE | 6. 最初と最後の頁 957 ~ 963 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1416202450 | 査読の有無 無 |
| 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 Shinotsuka T, Miyazawa T, Karasawa K, Ozeki Y, Yasui M, Nuriya M | 4. 巻 3 |
| 2. 論文標題 Stimulated Raman scattering microscopy reveals a unique and steady nature of brain water dynamics | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Cell Reports Methods | 6. 最初と最後の頁 100519 ~ 100519 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.crmeth.2023.100519 | 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 - |

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 8件 / うち国際学会 2件）

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 塗谷陸生 |
| 2. 発表標題 非線形光学顕微鏡を用いた細胞・組織内分子動態の解析 |
| 3. 学会等名 超高速光エレクトロニクス研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 塗谷陸生 |
| 2. 発表標題 非線形光学と非蛍光標識を用いた生理活性物質の可視化解析 |
| 3. 学会等名 東京大学IRC光学セミナー（招待講演） |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 塗谷陸生 |
| 2. 発表標題 マルチモダル多光子顕微鏡を用いた生理活性物質の可視化解析 |
| 3. 学会等名 2021年度日本分光学会生細胞分光部会研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名 塗谷陸生 |
| 2. 発表標題 微視的薬物動態の解析手段としての非線形光学顕微鏡 |
| 3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会（国際学会） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 塗谷睦生 |
| 2. 発表標題 非線形光学イメージングの生命科学研究への応用 |
| 3. 学会等名 第42回レーザー学会学術講演会（招待講演） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 中村花穂、塗谷睦生 |
| 2. 発表標題 脳組織内オキシトシンの動態解析を実現する新規プローブの開発と応用 |
| 3. 学会等名 第145回日本薬理学会関東部会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 塗谷睦生 |
| 2. 発表標題 新規プローブの開発と応用による低分子量生体分子の可視化解析 |
| 3. 学会等名 第30回日本バイオイメージング学会学術集会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 塗谷睦生 |
| 2. 発表標題 非線形光学顕微鏡 -SHG 顕微鏡- |
| 3. 学会等名 日本分光学会 第56 回 秋期セミナー（招待講演） |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名 塗谷睦生 |
| 2. 発表標題 多光子現象を駆使した脳内化学情報伝達の可視化解析 |
| 3. 学会等名 学術変革(B)革新ラマン領域会議(招待講演) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 塗谷睦生 |
| 2. 発表標題 アルキンタグを用いた低分子量生理活性物質の新たな可視化法の開発と応用 |
| 3. 学会等名 4 大学医工連携セミナー ~光×超音波×近赤外蛍光による医工連携イメージングと健康長寿への道~(招待講演) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Robert Oda, Jingwen Shou, Keiko Karasawa, Mutsuo Nuriya, Masato Yasui, Yasuyuki Ozeki |
| 2. 発表標題 High-speed super-multiplex imaging of brain tissue |
| 3. 学会等名 SPIE BiOS, 2021(国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

塗谷グループホームページ
<http://user.keio.ac.jp/~aa606547/homepage.html>

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 |
|---------|---------|