

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2019

課題番号：15H03679

研究課題名(和文)3パルス超解像度顕微鏡の開発とそれを用いた光合成初期過程の可視化

研究課題名(英文)Development of 3-pulse super-resolution microscope and its applications for the visualization of the early events of photosynthesis.

研究代表者

杉崎 満 (Sugisaki, Mitsuru)

大阪市立大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：20360042

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：回折限界を超えた空間分解能で光合成試料の顕微鏡観測を行う手法の開発を行った。緑藻の葉緑体においては、ポイントスキャンとGSD法を組み合わせることにより、100nmの空間分解能で自家蛍光による超解像度顕微鏡画像の取得に成功した。一方、STED法を用いた際には、励起状態からの誘導放出過程を介した緩和よりも、蛍光過程を介した緩和のほうが顕著に表れるという異常が見られた。これは低周波の振動モードが関与するアンチストークス蛍光によると考えられる。さらに、チャープした励起光を用いたカロテノイドの3パルス四光波混合法により、振動モードの選択励起や色素を取り囲む溶媒との結合定数を変化させ得ることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、試料の構造に加え、その機能を、高い空間分解能で同時観測する手法の獲得を目指した。これまで広く一般的に行われてきた方法とは異なり、天然の状態のままの緑藻を測定試料とし、試料を染色せずに、超解像度顕微鏡画像の取得に成功したことに意義がある。また、空間分解能に制限がないとされてきた超解像度顕微鏡法において、これまでの常識を覆す真逆の結果が得られ、その機構を解明した点も重要である。

研究成果の概要(英文)：The super-resolution microscopic methodology has been investigated to observe photosynthetic specimens with a spatial resolution beyond the so-called diffraction limit. By means of the laser scanning GSD microscopy, microscopic images of auto-fluorescence from chloroplasts in green algae have been successfully obtained with a spatial resolution of 100nm. On the other hands, unusual increase in fluorescence efficiency of chlorophyll a was observed when the STED microscopy has been employed, while the non-radiative depopulation of the excited state is expected mainly via the stimulated emission process. This anomaly comes from the anti-Stokes fluorescence, probably due to an efficient involvement of low-frequency vibrational modes. Further, 3-pulse four-wave mixing signals pumped with chirped pulses have been examined, where selective excitations of phonon modes and the control of the coupling strength between a photosynthetic pigment and solvent have been attained.

研究分野：生体物性物理学

キーワード：光合成 顕微鏡法

## 1. 研究開始当初の背景

光学顕微鏡の可視光領域における最小空間分解能は約 250 nm である。光学顕微鏡が開発されてから 400 年の間、『絶対を超えることのできない壁』と信じられてきた。この理論的枠組みは、E.K. Abbe を中心に完成された光の回折理論により理解することができる。しかし、この常識を覆す新たな手法として、1994 年に STED (stimulated emission depletion) 法が考案され、回折限界を超えた顕微画像の取得が可能となった<sup>1-3</sup>。近年なされた報告では(非常に限られた条件ではあるが)最高分解能が 2.4nm にも達している<sup>4</sup>。このような功績が認められ STED 法の発明者である Hell 博士に 2014 年度のノーベル化学賞が授与された。非常に優れた手法であるが、しかしまだ、その歴史は始まったばかりと言わざるを得ない。例えば STED 法の用いた研究の多くが、試料を染色してその構造(分子や蛋白質の配置)を観測したというものである。それに対し、無染色の試料の励起状態や原子核のダイナミクスを直接観測するという報告は殆どなされていない。今後、試料そのものの光学応答を観測し、その機能性を明らかにするといった試みがなされることが望まれるが、先ずその方法論の開発が必要となる。

## 2. 研究の目的

従来の光学顕微鏡よりも 10 倍以上も高い空間分解能にて、顕微画像(超解像度顕微画像)を得ることが可能な、STED 法を改良した新しい顕微鏡法を開発する。これを用いて、光合成初期過程における超高速・高効率な励起エネルギー伝達経路の可視化を行い、光合成の本質的なメカニズムを解明する。光合成生物における色素蛋白複合体は、光合成膜中で複数の複合体が配列することにより初めて機能を発揮するため、単離することなく「生きたまま」の状態での機能性を調べる方法を、本研究において確立する。更に、波形成型した励起光を用いることにより、光合成反応の経路や反応効率の人為制御を行う。「自然が創製した光電変換・エネルギー伝達機能は如何にして高効率を達成しているか?」という問いに答えることが、本研究の究極的な目的となる。

## 3. 研究の方法

本研究では、超解像度顕微鏡の開発を行い、これを用いて、光合成生物を中心とする生体試料の顕微鏡画像を取得し、その機能を明らかにする。そのために、生体試料の染色を行うことなく、それらの有する色素の光学応答を、回折限界を超えた空間分解能で観測する必要がある。超解像度顕微鏡法としては、前述の STED 法<sup>1</sup>や GSD (ground state depletion) 法<sup>5-8</sup>、さらには構造化照明顕微鏡法(structured illumination microscopy)<sup>3</sup>など多数が知られるようになった。本研究を進展させ、将来的には超高速の光学応答を、回折限界を超えた空間分解能で取得することを目指せるように、本研究では、いわゆるローカリゼーション法や構造化照明顕微鏡法などではなく、ポイントキャン型で画像を取得する STED 法やそれを応用した超解像度顕微鏡法を適応した。このような方法を採用することにより、マクロ配置において技術の蓄積がなされている超高速分光法と超解像度顕微鏡法を直接的に融合することが期待できるためである。

研究開始当初は、紅色光合成細菌の光合成膜、および高等植物の有する葉緑体を用いた観測を行うことを計画していた。蛍光する光合成色素として、前者については主にバクテリオクロロフィル a やバクテリオクロロフィル b などを有し、後者についてはクロロフィル a (Chl a) およびクロロフィル b (Chl b) などを有することが知られている<sup>9,10</sup>。これらの分子構造は非常に類似しているが、共焦点顕微鏡を用いて天然のままの状態にある無調製試料について蛍光画像の観測を行った結果、後者のほうが、圧倒的に蛍光効率が高いことが分かった。本研究では、超解像度顕微鏡法の開発が重要となるため、研究機関中は、良質の画像取得が期待できる高等植物を観測試料として用いる割合が多くなった。そのため以下では、主にその結果について、研究を行った時系列に沿って述べる。

## 4. 研究成果

### (1) Chl a におけるアンチストークス蛍光

高等植物の光合成系においてクロロフィルは、光捕集、励起エネルギー伝達、電荷分離、電荷移動といった光合成初期の諸過程において中心的な役割を果たす。そのため光合成の機構を理解し、更には人為的操作をするためにはクロロフィル分子の電子状態やそのダイナミクスについての理解が不可欠となる。クロロフィル分子には、異なる構造を持ついくつかの誘導体が存在することが知られているが、高等植物の多くは主に Chl a 分子を有する。そのため、研究開始当初は、STED 法により Chl a の超解像度顕微画像を取得することを計画していた。それまでの予備実験において、標準試料や、クロロフィルと光学特性が似ている色素分子の超解像度顕微鏡画像の取得に成功していたためである。しかしながら、Chl a の超解像度顕微鏡画像を STED 法により測定を試みたところ、誘導放出過程を介した励起状態の失活よりも、長寿命の蛍光過程のほうが顕著に現れることが明らかとなった。超解像度顕微鏡法の観点からは、Chl a の観

測法として STED 法が適さないという結果となったが、測定条件を最適化していくために、蛍光過程の起源について詳細に調べた。

顕微鏡下で観測された輻射過程についてマクロ配置で詳しく調べたところ、アンチストークス蛍光が現れていることが分かった(図1参照)。クロロフィルの吸収帯は主に 500~700nm 近傍に現れるため、従来はこの波長領域を中心とした研究がおこなわれてきた。本研究では、従来あまり注目がされてこなかった波長領域に出現する、新たな物性探索を行ったということになる。類似の研究を調査したところ、高等植物から単離した葉緑体においてアンチストークス蛍光が観測されていることが分かった<sup>11,12</sup>。しかしその原因については明らかとなっていなかったが、タンパク質との何らかの相互作用に原因があると考えられていた。

今回の我々の研究において、有機溶媒中に分散させたクロロフィル分子においてもアンチストークス蛍光が現れることから、この現象にはタンパク質との相互作用は必ずしも必要でないことが分かった。また、 $Q_y$  帯よりも  $1000\sim 2000\text{cm}^{-1}$  程度低エネルギー側を励起した時にアンチストークス蛍光が顕著に現れることから、振動状態が関与しているものと考えに至った。

吸収スペクトルを Brownian 振動子モデルを用いて解析を行った。ラマン散乱スペクトル<sup>13,14</sup>をもとに見積もったスペクトル密度は線形吸収スペクトルをよく再現するため、スペクトル密度の同定は正しく行えたものと考えられる。そこから得られたフォノンモードの内の一つがアンチストークス蛍光で現れるピークのエネルギーにほぼ等しいことや、アンチストークス蛍光の波長依存性を調べた際に現れた蛍光の共鳴増大現象の様子などから、アンチストークス蛍光は、低エネルギーの振動モードが関与しているものと考えられる。

今後再び STED 法を用いて Chl *a* の超解像度顕微鏡画像の取得を目指す場合  $Q_y$  帯よりも  $2000\text{cm}^{-1}$  以上の低エネルギー側で誘導放出を引き起こす必要があると考えられる。ただしこの場合、効率の急激な低下が起こるために、高強度の光源が必要となる。しかしその際に、試料の昇温を避ける工夫をしなければ、再びアンチストークス蛍光が顕著となるとともに、試料の劣化も早まることが予想される。そのため、STED 法により超解像度顕微鏡画像の取得を行うためには、観測時の温度管理が重要になってくると考えられる。

## (2) 緑藻中の葉緑体における GSD 超解像度顕微鏡法による観測

Optical shelving を取り入れた GSD 法を用いて、国内で採取された淡水性緑藻の超解像度顕微鏡画像の取得を試みた(図2参照)。顕微鏡観測を行うと、幅  $50\mu\text{m}$  ほどの細胞中に、多数の葉緑体を確認することができた。また、蛍光スペクトル、および HPLC 測定の結果、この緑藻は主として Chl *a*、および Chl *b* を含むことが分かった。 $Q_x$  帯への励起直後にパルスレーザーを用いた高強度の励起を行うと、基底状態の枯渇に伴う蛍光の失活を確認することができた。画像観測を行ったところ、通常の共焦点型光学顕微鏡配置では、空間分解能が  $300\text{nm}$  程度であったが、GSD 超解像度顕微鏡配置においては  $100\text{nm}$  ほどとなり、到達目標の一つとしていた光合成試料の超解像度顕微鏡画像の取得に成功した。

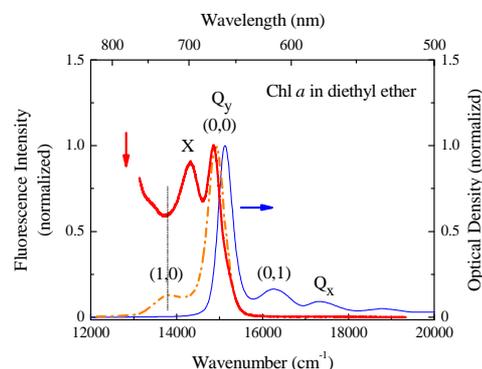


図1 エーテル中に分散させたクロロフィルの吸収スペクトル(細実線)、 $Q_x$  励起下における蛍光スペクトル(一点鎖線)、およびアンチストークス蛍光スペクトル(太実線)。 $Q_x$  励起下における蛍光スペクトルは吸収スペクトルとミラーイメージの関係にあるのに対し、アンチストークス蛍光スペクトルには新たなピーク X が出現している。

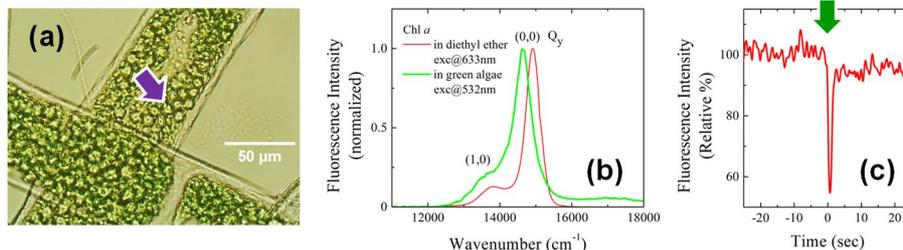


図2 (a) 国内で採取された天然の淡水性緑藻の光学顕微鏡写真。数マイクロメートルサイズの葉緑体が多数観測される。(b) 単一の葉緑体の顕微鏡蛍光スペクトル(太線)。有機溶媒中に分散させた Chl *a* 分子の蛍光スペクトル(細線)との比較から、葉緑体の主たる色素が Chl *a* であることが分かる。(c) 顕微鏡下の葉緑体に短パルスレーザー光を照射(図の矢印の時刻から1秒間)すると、GSD 型超解像度顕微鏡観測に必要な蛍光強度の減少と回復が高効率( $\sim 50\%$ )で起こる。

既報の Chl *a* における励起状態の寿命<sup>15,16</sup>を用いて、蛍光の失活効率を計算してみると 10% 以下に達するはずであるが、今回の観測では 50%程度にとどまっていた。このような不一致は、既報の観測が有機溶媒中で行われたことに対して、本研究では生体試料が用いられたため、後者では実効的な寿命が短くなったことが原因と考えることができる。この考察を支持する結果が、空間分解能の見積もりにおいても得られた。今回の蛍光顕微鏡画像観測では、主に Chl *a* の Q<sub>y</sub> 帯からの蛍光を観測しているため、通常の共焦点型光学顕微鏡の空間分解能は最高で 230nm ほどとなる。生体試料中における速い励起状態の緩和経路を考慮に入れると、蛍光の失活効率が 50%、空間分解能が約 100nm となり、観測結果を完全に再現することができた。

また本研究において、GSD 光の強度の増加に伴い空間分解能が低下するという現象が現れることを見出した。これは、GSD の原理を説明するために用いられるモデルから予測される現象とは全く逆の観測結果となる。検討を行った結果、STED 法や GSD 法では主に 3 つの電子状態に着目をする、いわゆる三準位系を仮定するため、このような矛盾が生じるということが明らかとなった。すなわち、励起状態間の非線形光学過程を考慮することにより、実験結果を正しく再現することができた。本研究で得られた知見は、超解像度顕微鏡法では空間分解能の制限が存在しないというこれまでの常識を覆す結果であることを意味する。

### (3) 位相制御をした可視超短パルス光を用いた光合成物質の超高速光応答

当初の研究計画では、光合成色素における定常状態の顕微鏡画像だけではなく、非線形光学応答を顕微鏡下で観測することを計画していた。研究期間中には、マクロ配置において以下のような興味深い結果を得ることができた。試料の劣化やノイズの除去といった課題の克服に時間がかかっているため、超解像度顕微鏡観察に移行するにあたっては、まずは細胞レベルで同様の信号検出を行うことが今後の課題となっている。

2000 年代初頭から、光を用いて、光受容性蛋白質の光学応答を制御するという試みが盛んになされているようになってきた<sup>17,18</sup>。たとえば光合成色素蛋白複合体においては、反応効率を観測しながらその値が上昇、もしくは減少するように、超短パルス光を構成する位相と振幅を周波数ごとに少しずつ変化させながら、所望の結果が得られるように最適化を図るという方法がとられる。その結果として得られるパルス波形は非常に複雑なものとなり、反応効率に変化した物理的な背景を説明することが難しくなるという問題がある。そのため、まずは周波数に対し位相や振幅にシンプルな変化を与えた場合に、光合成色素の応答がどのように変化していくかを調べた上で、段階的にその要素を組み合わせていくことにより、前述の問題に対する答えを得る必要がある。光源には光パラメトリック増幅器を用い、自己相関法により求めたパルス幅は約 30fs であった。

電子の励起状態やコヒーレントな分子振動を生成し、その時間発展を追跡するためには超短パルスが必要となるため、そのスペクトルは周波数的に広がりを持つ。試料に照射するスペクトルの位相を周波数に対し（すなわちチャープ量）連続的に変化させたところ、電子の励起状態の寿命やコヒーレントな分子振動の生成割合をコントロールできることが分かった（図 3 参照）。現在のところ、励起状態の寿命は、励起状態における振動緩和と誘導放出過程の競合によって決まるものと考えている。また、コヒーレントな分子振動の生成割合は振動モードによって異なることも分かった。チャープ量を変化させた際の、振動モードの生成割合の変化は特に、振動の結合モードにおいて顕著に表れた。特に、溶媒とカロテノイドの結合モードを長寿命で発生可能ということが見いだされたことは特筆にあたる。ここで強調したい点は、測定は有機溶媒中に分散させたカロテノイドを用いて行われたという点である。モデル計算としては、適当なスペクトル密度を仮定することにより、実験を再現するような結合モードを出現させることは可能である。現実を踏まえた考察を行うと、カロテノイドと溶媒の間に結合が存在しないため、拡散によりコヒーレンスがすぐに失われるはずである。しかし、今回の観測結果はこ

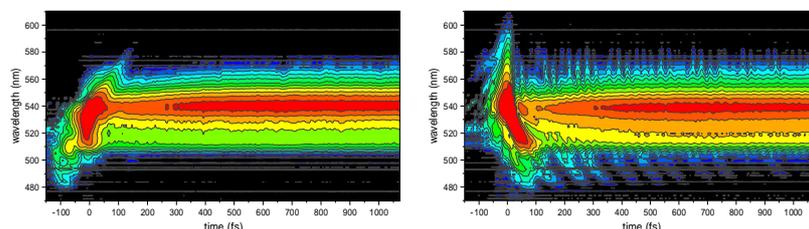


図 3 光合成色素であるβ-カロテンの過渡回折信号の時間発展。励起光のチャープ量を変化させると、3 次非線形光学応答が大きく変化する。右図において数 10 フェムト秒周期に現れる構造は、コヒーレント分子振動を表す。高エネルギー側に現れるコヒーレント分子振動の周期は、低エネルギー側のそれに比べほぼ 2 倍となっている。

のような予想に反していた。このことは、チャープ量を変化させることにより、光合成色素と周辺環境との相互作用の大きさを変化させることができることを意味している。今後は、より詳細な物理的描像を明らかにしていく必要がある。

なお、現在のところカロテノイドのダイナミクスの観測のみにとどまっているが、今後クロロフィルへのエネルギー伝達の効率をデザインすることを試みるとともに、最終的にはその可視化を実現するために、継続して研究を行っていく予定である。

<引用文献>

- [1] S. W. Hell and J. Wichmann, *Opt. Lett.* **19**, 780 (1994).
- [2] S. W. Hell, *Nat. Biotechnol.* **21**, 1347 (2003).
- [3] J. Vangindertael, R. Camacho, W. Sempels, H. Mizuno, P. Dedecker, and K. P. F. Janssen, *Methods Appl. Fluoresc.* **6**, (2018).
- [4] D. Wildanger, B. R. Patton, H. Schill, L. Marseglia, J. P. Hadden, S. Knauer, A. Schönle, J. G. Rarity, J. L. O'Brien, S. W. Hell, and J. M. Smith, *Adv. Mater.* **24**, 309 (2012).
- [5] S. W. Hell and M. Kroug, *Appl. Phys. B* **60**, 495 (1995).
- [6] S. Bretschneider, C. Eggeling, and S. W. Hell, *Phys. Rev. Lett.* **98**, 218103 (2007).
- [7] J. Fölling, M. Bossi, H. Bock, R. Medda, C. A. Wurm, B. Hein, S. Jakobs, C. Eggeling, and S. W. Hell, *Nat. Methods* **5**, 943 (2008).
- [8] J. Bierwagen, I. Testa, J. Fölling, D. Wenzel, S. Jakobs, C. Eggeling, and S. W. Hell, *Nano Lett.* **10**, 4249 (2010).
- [9] R. E. Blankenship, *Molecular Mechanisms of Photosynthesis* (Blackwell Science Inc, Oxford, 2002).
- [10] R. Croce and H. van Amerongen, *Nat. Chem. Biol.* **10**, 492 (2014).
- [11] M. Hasegawa, T. Shiina, M. Terazima, and S. Kumazaki, *Plant Cell Physiol.* **51**, 225 (2010).
- [12] M. Hasegawa, T. Yoshida, M. Yabuta, M. Terazima, and S. Kumazaki, *J. Phys. Chem. B* **115**, 4184 (2011).
- [13] Y. Koyama, Y. Umemoto, A. Akamatsu, K. Uehara, and M. Tanaka, *J. Mol. Struct.* **146**, 273 (1986).
- [14] J. Du, K. Nakata, Y. Jiang, E. Tokunaga, and T. Kobayashi, *Opt. Express* **19**, 22480 (2011).
- [15] D. Kosumi, T. Horibe, M. Sugisaki, R. J. Cogdell, and H. Hashimoto, *J. Phys. Chem. B* **120**, (2016).
- [16] D. Kosumi, T. Nishiguchi, Y. Amao, R. J. Cogdell, and H. Hashimoto, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **358**, 374 (2018).
- [17] J. L. Herek, W. Wohlleben, R. J. Cogdell, D. Zeidler, and M. Motzkus, *Nature* **417**, 533 (2002).
- [18] J. Savolainen, R. Fanciulli, N. Dijkhuizen, A. L. Moore, J. Hauer, T. Buckup, M. Motzkus, and J. L. Herek, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 7641 (2008).

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 S. Ooi, S. Mitoma, M. Nango, Y. Amai, and M. Sugisaki	4. 巻 1220
2. 論文標題 Transient grating spectroscopy of $\beta$ -carotene pumped with spectrally chirped pulses	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Physics: Conference Series	6. 最初と最後の頁 012045/1-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1088/1742-6596/1220/1/012045	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. Emura, T. Noji, M. Kondo, Y. Amai, and M. Sugisaki	4. 巻 1220
2. 論文標題 Anti-Stokes fluorescence from chlorophyll a	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Physics: Conference Series	6. 最初と最後の頁 012043/1-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1088/1742-6596/1220/1/012043	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 江村 秀俊, 杉崎 満	4. 巻 28
2. 論文標題 クロロフィルaにおけるアンチストークス蛍光	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 第28回光物性研究会論文集	6. 最初と最後の頁 179-182
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 D. Kosumi, T. Horibe, M. Sugisaki, R. J. Cogde, H. Hashimoto	4. 巻 120
2. 論文標題 Photoprotection Mechanism of Light-Harvesting Antenna Complex from Purple Bacteria	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J. Phys. Chem. B	6. 最初と最後の頁 951-956
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jpcc.6b00121	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 D. Kosumi, T. Nishiguchi, M. Sugisaki, H. Hashimoto	4. 巻 313
2. 論文標題 Ultrafast coherent spectroscopic investigation on photosynthetic pigment chlorophyll a utilizing 20 fs pulses	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 J. Photochem. Photobiol. A	6. 最初と最後の頁 72-78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphotochem.2015.06.025	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 緑藻の超解像度顕微蛍光観測	4. 巻 30
2. 論文標題 橋本 健人, 関 莊一郎, 川上 恵典, 藤井 律子, 南後 守, 天尾 豊, 杉崎 満	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 第30回光物性研究会論文集	6. 最初と最後の頁 165-168
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 三苫 重仁, 南後 守, 天尾 豊, 杉崎 満	4. 巻 30
2. 論文標題 チャープパルスを用いた $\beta$ -カロテンの四光波混合信号	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 第30回光物性研究会論文集	6. 最初と最後の頁 261-264
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 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 杉崎満, 南後 守, 天尾 豊
2. 発表標題 フタロシアニンおよびクロロフィルの顕微蛍光観測
3. 学会等名 日本物理学会2018年秋季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三苫重仁, 南後 守, 天尾 豊, 杉崎満
2. 発表標題 波形成型した励起光を用いた $\beta$ -カロテンの四光波混合信号
3. 学会等名 日本物理学会 第74回年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉崎満, 南後 守, 天尾 豊
2. 発表標題 クロロフィルaの顕微蛍光観測
3. 学会等名 日本物理学会 第74回年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Mitoma, S. Ooi, M. Nango, Y. Amao, and M. Sugisaki
2. 発表標題 Transient grating spectroscopy of beta-carotene pumped with spectrally chirped pulses
3. 学会等名 The 12th International Conference on Excitonic and Photonic Processes in Condensed Matter and Nano Materials (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 H. Emura, T. Noji, M. Kondo, Y. Amao, and M. Sugisaki
2. 発表標題 Anti-Stokes fluorescence from chlorophyll a
3. 学会等名 The 12th International Conference on Excitonic and Photonic Processes in Condensed Matter and Nano Materials (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉崎 満, 西口 智也, 南後 守, 天尾 豊
2. 発表標題 スペクトル分解した $\beta$ -カロテンの四光波混合信号
3. 学会等名 日本物理学会2016年秋季大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 杉崎 満, 南後 守, 天尾 豊
2. 発表標題 スペクトル分解した $\beta$ -カロテンの四光波混合信号 II
3. 学会等名 日本物理学会72回年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 江村 秀俊, 南後 守, 天尾 豊, 杉崎満
2. 発表標題 クロロフィルaにおけるアンチストークス蛍光
3. 学会等名 日本物理学会2017年秋季大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 江村 秀俊, 南後 守, 天尾 豊, 杉崎満
2. 発表標題 クロロフィルaにおけるアンチストークス蛍光
3. 学会等名 第28回光物性研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 緑藻の超解像度顕微蛍光観測
2. 発表標題 橋本 健人, 関 莊一郎, 川上 恵典, 藤井 律子, 南後 守, 天尾 豊, 杉崎 満
3. 学会等名 日本物理学会 第75回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 波形成型した励起光を用いた -カロテンの四光波混合信号 II
2. 発表標題 三苫 重仁, 南後 守, 天尾 豊, 杉崎 満
3. 学会等名 日本物理学会 第75回年次大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究 分担者	近藤 政晴  (Kondo Masaharu)  (20571219)	名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・助教   (13903)	
研究 分担者	出羽 毅久  (Takehisa Dewa)  (70335082)	名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授   (13903)	
研究 協力者	江村 秀俊  (Hidetoshi Emura)	大阪市立大学・大学院理学研究科・大学院生   (24402)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	三苫 重仁  (Mitoma Sigehito)	大阪市立大学・大学院理学研究科・大学院生  (24402)	
研究協力者	橋本 健人  (Hashimoto Kento)	大阪市立大学・大学院理学研究科・大学院生  (24402)	