# 極微小空間の反応・温度・力学特性を測定する高度イメージング技術開発拠点の形成

## 平成27年度~令和元年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 研究成果報告書

令和2年5月

東京理科大学研究推進機構総合研究院

イメージングフロンティアセンター

### 目 次

1.	まえがき	1
2.	研究グループとメンバー	3
3.	平成 27 年度~令和元年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」 研究成果報告書概要	5
4.	研究成果と業績	96
4-	1 観察障害排除グループ	97
4-2	2 多次元情報可視化グループ	118
4-3	3 応用展開グループ	148
5.	シンポジウム・セミナー等の開催	233
6.	International Symposium on Imaging Frontier 2017 抄録集	242

#### 1. まえがき

イメージングフロンティアセンターは、文部科学省の平成27年度私立大学戦略的研究基盤形 成支援事業のプロジェクト「極微小空間の反応・温度・力学特性を測定する高度イメージング技 術開発拠点の形成」に採択されたことを機に、東京理科大学研究推進機構総合研究院のもとに 2015年4月に発足しました。イメージングはあらゆる分野において共通な方法論です。自然科学 の疑問の中には「目で見て理解する」ことで解決するものが多く、また、「見る」ことで得られ た成果はさらに多くの疑問を生み出し、後に続く研究を刺激することになります。とくに、生命 系の複雑な振る舞いや生命現象の普遍的なメカニズムの理解を進めるにはイメージング技術の 開発が必須です。今日では形態や動態の観察と同時に分子の局在や濃度・活性などその機能まで 可視化することが求められ、さらに、力や温度などの物理的特性をも取得し、細胞機能や疾患と の関連性を明らかにすることに大きな期待が寄せられています。多様な専門領域をカバーする本 学の特長を生かし、物理、化学、生物・生命科学、薬学、材料科学、情報科学などの分野を融合 することで、革新的なイメージング技術を開拓し、最先端の生命科学を創出することが可能とな ります。このような背景のもとに本センターを、「観察障害排除グループ」、「多次元情報可視 化グループ」、「応用展開グループ」の3つの研究グループで組織しました。「観察障害排除グ ループ」では、顕微鏡観察で障害となる生態組織や細胞による光の散乱や自家蛍光などを排除す る技術の開発に取り組みました。「多次元情報可視化グループ」では、極微小空間での多次元情 報を測定する技術開発を行ってきました。「応用展開グループ」では、個々に開発された基盤技 術を応用した新たなイメージング技術や装置の創出を進めてきました。以上の体制により5年間 のプロジェクトに取り組んできました。また、このような異分野融合による新しい研究を推進す るには、長期的な視点では、さまざまな分野背景を持ち、分野の壁を乗り越える意欲を持った若 手研究者や学生を支援し、この分野の裾野を広げることも肝心です。グループ内外で組織された 共同研究や定期的に開催されたセミナー・シンポジウムなどの活動を通して、人材育成にも努め てきました。優秀な若手研究者が栄転となり本プロジェクトを離れることは一時的には戦力低下 となりましたが、やがて客員教員として外部より支援してくださったことは大きな喜びでもあり ました。

本プロジェクトは本年3月末をもって終了となりました。この間、皆様から暖かいご指導・ご 鞭撻をいただき、おかげさまで順調に研究成果を上げ、当初の目的を達成することができました。 そこで、これまでの成果を取りまとめ、研究成果報告書を作成いたしました、本報告書の構成は 以下の通りです。第2章において研究グループとメンバーを紹介し、第3章では文部科学省に提 出した「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」研究成果報告書概要を掲載しました。第4章で は、各メンバーの研究成果を学術論文、学会発表などの業績リストとともに紹介しました。第5 章では本センターで開催したセミナーやシンポジウムのリストをポスターとともに記しました。 第6章に、国際シンポジウム International Symposium on Imaging Frontier 2017の抄録集を 含めました。このシンポジウムは、文部科学省科学研究費新学術領域研究「レゾナンスバイオ」、

「環境記憶統合」、「リポクオリティ」の3グループとの共催で開催したものです。折しも、平成 27 年度から開始された 4 つのプロジェクトの関係者が一堂に会するたいへん貴重な機会となり ました。

最後に、本センターの活動を支援してくださった東京理科大学の関係各位に感謝したします。 特に、藤代博記研究機構長、高柳英明総合研究院長をはじめとした研究推進課の皆様には厚く御 礼申し上げます。本プロジェクトを開始するにあたりご尽力いただいた福山秀敏元院長、浅島誠 前院長に深謝いたします。また、日頃より本センターの活動を支えてくださった秘書の小林都氏 に感謝いたします。終わりに本センターを代表して、本事業を助成していただいた文部科学省に 感謝いたします。

> 東京理科大学研究推進機構総合研究院 イメージングフロンティアセンター長 須田 亮

#### 2. 研究グループとメンバー

#### 【観察障害排除グループ】

- 松永幸大 理工学部 応用生物科学科・教授(観察障害排除グループリーダー)
- 石黒 孝 基礎工学部 材料工学科・教授
- 須田 亮 理工学部 物理学科·教授
- 坂本卓也 理工学部 応用生物科学科・助教
- 横田秀夫 理化学研究所 光量子工学研究領域・チームリーダー(客員教授)
- 磯部圭佑 理化学研究所 光量子工学研究領域·研究員(客員研究員)

#### 【多次元情報可視化グループ】

- 中村岳史 生命医科学研究所・教授(多次元情報可視化グループリーダー)
- 青木 伸 薬学部 生命創薬科学科・教授
- 由井宏治 理学部 第一部化学科・教授
- 政池知子 理工学部 応用生物科学科・准教授
- 伴野元洋 理学部第一部 化学科・講師
- 森作俊紀 総合研究院・助教
- 七尾友久 生命医科学研究所・助教
- 田中信清 理工学部 応用生物科学科・助教

#### 【応用展開グループ】

- 曽我公平 基礎工学部 材料工学科・教授(応用展開グループリーダー)
- 古市貞一 理工学部 応用生物科学科・教授
- 後飯塚僚 生命医科学研究所·教授
- 朽津和幸 理工学部 応用生物科学科・教授
- 上村真生 基礎工学部 材料工学科・講師
- 佐野良威 理工学部 応用生物科学科・助教
- 橋本研志 理工学部 応用生物科学科・助教
- 大久保香平 基礎工学部 材料工学科・助教
- 梅澤雅和 総合研究院・講師(現・総合研究院・プロジェクト研究員)
- 篠田 陽 理工学部 応用生物科学科・助教(現・東京薬科大学 薬学部・准教授)
- 北畑信隆 理工学部 応用生物科学科・助教(現・東京大学大学院 農学生命科学研究 科・特任研究員)

- 大谷直子 大阪市立大学大学院 医学研究科・教授(客員教授)
- 座古 保 愛媛大学大学院 理工学研究科・教授(客員教授)
- 小関泰之 東京大学大学院 工学系研究科・准教授(客員准教授)
- 桧垣 匠 熊本大学 国際先端科学技術研究機構・准教授(客員准教授)
- 来須孝光 諏訪東京理科大学 機械電気工学科・准教授(客員准教授)
- 花俣 繁 新潟大学大学院 自然科学系(農学部)・特任助教(客員研究員)
- 石川雅也 東京大学大学院 農学生命科学研究科(農学部)・特任研究員(客員研究員)

3. 平成 27 年度~令和元年度「私立大学戦略的研究基盤形成 支援事業」研究成果報告書概要

#### 平成 27 年度~令和元年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」 研究成果報告書概要

- 1 学校法人名 東京理科大学 2 大学名 東京理科大学
- 3 研究組織名 イメージングフロンティアセンター

4 プロジェクト所在地 千葉県野田市山崎2641

- 5 研究プロジェクト名 <u>極微小空間の反応・温度・力学特性を測定する</u> 高度イメージング技術開発拠点の形成
- 6 研究観点 研究拠点を形成する研究
- 7 研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
須田 亮	理工学部 物理学科	教授

- 8 プロジェクト参加研究者数 14 名
- 9 該当審査区分 (理工·情報) 生物·医歯 人文·社会
- 10 研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属·職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
須田 亮	理工学部・ 物理学科・ 教授	ニ光子励起を用いた観察障害 除去技術の開発	観察障害を除去する基幹 技術の創出
曽我 公平	基 礎 エ 学 部 • 材料エ 学科•教授	近赤外イメージングを用いた観 察障害除去技術の開発と温度 イメージング	観察障害を除去する基幹 技術の創出と温度イメー ジング技術の高度化
石黒 孝	基 礎 工 学 部 • 材料工 学科•教授	反応・力学物性イメージングの 技術開発	反応・力学特性を多次元 情報として可視化する技 術の開発
中村 岳史	生命医科学 研究所・教 授	分子活性イメージングをベース にした反応計測技術の開発	反応イメージングとなる基 幹技術の創出
後飯塚 僚	生命医科学 研究所・教 授	免疫応答における免疫細胞・ 分子の四次元イメージングシス テムの開発	免疫系イメージング技術 の高度化と応用
青木 伸	<ul><li>薬学部生命</li><li>創 薬 科 学</li><li>科·教授</li></ul>	二光子励起によって活性化または発光する分子の設計と合成	イメージング技術の高度 化やシステム開発の要素 技術の創出
朽津 和幸	理工学部応 用生物科学	近赤外イメージングを用いた農 作物イメージングシステムの開	農作物を対象としたイメー ジング技術の高度化と応

	科·教授	発	用
松永 幸大	理工学部応 用生物科学 科·教授	光散乱と自家蛍光を除去した 植物イメージング技術の開発	植物を対象としたイメージ ング技術の高度化と応用
政池 知子	理工学部応 用生物科学 科•准教授	蛋白質1分子の構造変化・化 学反応イメージング技術の開 発	反応イメージング技術の 高度化と応用
古市 貞一	理工学部応 用生物科学 科·教授	脳内の四次元イメージング技 術の開発	神経系イメージング技術 の高度化と応用
森作 俊紀	総合研究院 助教	かたさ・やわらかさを測定する イメージング技術の開発	カ学物性計測システムの 開発
(共同研究機関等) 横田 秀夫	理化学研究 所光量子工 学研究領	イメージングデータ制御	イメージングデータの多次
	域・チームリ <i>ー</i> ダー		元短空に用りる建筑明九
	域・チームリ ーダー 熊本大学国 際先端科学 技術研究機 構・准教授	バイオイメージインフォマティク ス	細胞内構造動態の定量解析

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

旧

プ・ジェ外での研究課題	所属·職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割	
農作物イメージング 技術の開発	東京工科大学 応用生物学部・ 助教	来須 孝光	農作物を対象とした イメージング技術の 高度化と応用	
変更の時期 平成 29 年 4 日 1 日)				

(変更の時期:平成 29 年 4 月 1 日)



新

変更前の所属・職 名	変更(就任)後の所属・職 名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
辞退			

旧

プロジェクトでの研究課題	所属·職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
癌発症と慢性炎症の	東京理科大学	十公 声了	動物個体イメージン
四次元イメージング	理工学部応用	大谷 直子	グ技術の高度化と応

システムの閉発	生物科学科 教		Ξ		
ノハノムの開光			л		
	塪				
	12				
(変更の時期:平成 29 年 4 月 1 日)					

_	_	-	•	
1	7	г.		
_	-	н	-	
-	-			
л	•			
- 1				

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職	研究者氏名	プロジェクトでの役割
東京理科大学理	_ <sup></sup>	大谷 直子	動物個体イメージ
工学部応用生物	大阪市立大学大学院医		ング技術の高度化
科学科·教授	学研究科•教授		と応用

旧

プロジェクトでの研究課題	所属·職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
かたさ・やわらかさを 測定するイメージン グ技術の開発	理学部第一部 化学科·教授	由井 宏治	カ学物性計測システ ムの開発

(変更の時期:平成29年4月1日)



新

変更前の所属・職 名	変更(就任)後の所属・職 名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
-	理学部第一部化学科• 講師	伴野 元洋	カ学物性計測シス テムの開発

旧

プロジェクトでの研究課題	所属·職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
バイオイメージインフ ォマティクス	東京大学大学 院新領域創成 科学研究科·助 教	桧垣 匠	細胞内構造動態の定 量分析

(変更の時期:平成 29 年 8 月 1 日)

新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職 名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
東京大学大学院 新領域創成科学 研究科·助教	熊本大学国際先端科学 技術研究機構·准教授	桧垣 匠	細胞内構造動態の 定量分析

旧

	プロジェクトでの研究課題	所属·職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
	かたさ・やわらかさを 測定するイメージン グ技術の開発	理学部第一部 化 学科·講師	伴野 元洋	カ学物性計測システ ムの開発
1				

(変更の時期:平成31年4月1日)



亲	斤		-	
	変更前の所属・職	変更(就任)後の所属・職	研究者氏名	プロジェクトでの役割
	名	名		
	-	総合研究院 助教	森作 俊紀	力学物性計測シス テムの開発

11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

#### (1)研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

生命機能メカニズムの解明にはイメージング技術の開発が不可欠である。今日では、形態・動 態観察と同時に分子の局在や濃度・活性などその機能まで可視化することが求められ、さらに、 カや温度などの物理的特性をも取得し、細胞機能や疾患との関連性を明らかにすることに大き な期待が寄せられている。本プロジェクトでは、多彩な専門領域をカバーする本学の特長を生か し、生物・生命科学、薬学、物理学、化学、情報科学などさまざまな分野の研究者が結集して、ラ イフ・イノベーションとグリーン・イノベーションの促進ならびに国内農業の高度化に貢献するイメ ージング技術を開発し、その応用研究を展開する。ユーザーである生物・生命系研究者と開発側 の工学系研究者が共存するグループ編成により、最先端の生命科学研究を進める上で技術的 に解決すべき課題を抽出し、これらをもとに革新的なイメージング技術を創出することを目的とす る。

(2)研究組織

本プロジェクトは須田亮を研究代表者(東京理科大学研究推進機構総合研究院イメージングフ ロンティアセンター長)として3つの研究グループで組織する。顕微鏡観察において障害となる光 の散乱や自家蛍光などを排除する方法を開発する「観察障害排除グループ(松永、石黒、須田、 坂本)」、反応・温度・硬さなどの多次元情報を可視化する技術を開発する「多次元情報可視化グ ループ(中村、青木、由井、政池、伴野、森作、七尾、田中)」、開発された基盤技術を応用した新 たなイメージング技術や装置を創出する「応用展開グループ(曽我、古市、後飯塚、朽津、大谷、 篠田、佐野、梅澤、北畑、上村、大久保)」から成る。また、プロジェクトのメンバーが主宰する研 究室から延べ約200名の大学院生、延べ9名のポスドク(PD)、学外から客員研究員10名が参 加している。

(3)研究施設·設備等

研究施設:① 野田キャンパス総合研究棟(10 号館)3 階実験室 4 (使用総面積 117 m,使用者 数 55 名)

② 野田キャンパス総合研究棟(10 号館)4 階実験室 9 (使用総面積 73 m,使用者数 12 名)

③ 野田キャンパス6号館1階 電顕室(使用総面積44 m,使用者数15名)

④ 葛飾キャンパス研究棟9階 理事会管理室(使用総面積 67 ㎡,使用者数 25 名)

研究設備:① Insight DeepSee 搭載二光子可視化システム(整備年度・平成 27 年度):年間約

1250 時間使用

② 可視高感度カメラ(整備年度・平成27年度):年間約450時間使用

③ 近赤外高解像度カメラ(整備年度・平成27年度):年間約540時間使用

(4)研究成果の概要 ※下記、13及び14に対応する成果には下線及び\*を付すこと。

く優れた成果が上がった点>

【観察障害排除グループ(松永、石黒、須田、坂本)】

◎光散乱と自家蛍光を除去した植物イメージング技術の開発

植物の組織・器官は観察障害物質として、クロロフィル、カルテノイド、アントシアニンなどの多くの色素を 含んでいるため、光を透過させず、顕微鏡で植物の深部構造を直接観察できなかった。深部構造を解 析するためには、組織内部を固定剤に置換してブロック化して、そのブロックをミクロトーム装置によって切 片化して、顕微鏡観察する必要があった。また、植物細胞を生きたまま動態解析する場合、光散乱す るため組織内部細胞を解析できず、培養細胞や表皮細胞が主に用いられていた。

植物の内部構造を観察するには、固定・置換・包埋・切片化・脱包埋など多数のステップがあり、高 額な切片作成装置や数日の実験期間を要していた。また、切片中の組織が崩れていた場合、トラブル シューティングは困難を要した。そこで、イネやシロイヌナズナなどをわずか数時間のうちに透明化する手法 TOMEI (Transparent plant Organ Method for Imaging)を開発した(\*3 松永論文, \*79 松永特許)。 TOMEIは植物組織の細胞質を高屈折溶媒 2,2'ーチオジエタノール (TDE)に置換することで、植物組織 内の屈折率をカバーガラスや油浸用オイルと同じ 1.52 にする。その結果、観察光が組織内部で散乱や 吸収されなくなり、100 μm までの組織であれば表から裏まで全細胞を顕微鏡解析できる。さらに、ほとん どの高屈折溶媒中では蛍光タンパク質は消光し観察できなくなるが、TDE 中の蛍光タンパク質はほとん ど消光しない。既に東京化成工業が製造・販売しており、TOMEIは「早い、安い、簡単」の利点を持った |試薬キットである。同時期に開発された植物透明化技術は透明化するまでに要する時間が 4 日から 1 か月かかるが、TOMEIはわずか数時間から最大半日で植物を透明化できるために、ほとんどの植物研究 者が TOMEIを使用するようになった。また、販売価格も 100 mL で 9,000 円と安価であり、特殊な装置も 必要としない利点が普及した理由である。TOMEI を利用することで既に重要な研究成果が報告され た。今まで解析が困難であった葉肉細胞の細胞体積とクロマチンを構成する DNA 量の関係性が明らか になった (\*4 松永論文)。また、農業被害をもたらす線虫が感染した根に生じる根瘤内の細胞構造を <u>解析し、線虫防除対策に有効な情報を得ることができた(\*3 松永論文)。このように TOMEI は、表現</u> 型解析、バイオマス分析、病害虫感染判定などに多大な貢献をしている。この点、TOMEIによる透明化 植物は、切片を作成せずに短時間で内部構造を観察できる。従来法では深度 20 um までの細胞しか 蛍光イメージングできなかったが、TOMEIにより100 μm 以上の深部細胞をイメージング可能になった(\* 2松永論文)。透明化植物は励起光・蛍光共に減衰しないため、深部細胞中の蛍光タンパク質局在解 析も可能である。また、動物組織を透明化する手法として開発された尿素による Scale 法、フルクトース による SeeDB 法、血液中のヘムを脱色できる CUBIC、電気泳動による CLARITY などの従来の透明化 法を、植物組織の透明化に適応を試みたが、有色物質が残存する、組織が膨張するなど問題点が多 数生じて、植物の形態を維持したまま透明化することはできなかった。そこで、各手法の植物版が開発さ れたが、透明化までの時間が長時間になった。Scale 法の植物版である ClearSee は透明化することに 4 日から7日かかり、CLARITY 法の植物版である PEA-CLARITY は1ヶ月もの時間を要する。競合技術 に比較して、TOMEI は透明化するまでの時間がわずか数時間、長くても半日で可能であり、研究の時 間短縮の面でも革新的な植物透明化手法であることがわかる。

従来の顕微鏡による励起では、光散乱や焦点面以外の蛍光ハローが生じるため、植物組織の深部 細胞を生きたまま解析することは困難であった。長波長光により焦点面の深部細胞を励起できる二光 子顕微鏡を用いることで、植物組織中の深度 60 µm 以上にある細胞群を生きたまま観察可能になっ た。これにより、カルス内部や茎頂分裂組織内の細胞動態がわかり、組織内部から植物再生を制御す るタンパク質の同定に成功した(\*1 松永論文, \*10 坂本論文)。

◎生命関連物質の水溶液中・透過赤外顕微分光観察

水は主たる化学反応場であるが赤外線吸収率が大きく透過赤外分光は困難とされてきた。これを薄 い行路長のセルを作製することで回避し、細胞の代謝、光合成反応における反応物・生成物の同定の 予備実験を行い、解決すべき課題について検討した。例えば<u>温度制御可能な透過赤外分光セルを作</u> 製し、DPPC-水系の透過赤外分光スペクトルを測定しコレステロール添加に伴う相転移の消失を確認 し、透過赤外分光による水を含んだ反応における定量測定が可能であることを実証した(\*6 石黒論 文)。

これを踏まえて細胞の透明化における反応の分光計測へ展開した。透明化に用いる溶液の主成分は 尿素、及びアミノアルコールであることから、一つは DPPC 膜と尿素の反応、加えてヘモグロビンとアミノアル コールの反応について、紫外可視近赤外領域及び、赤外線領域における透過分光計測を行った。

生命の細胞膜はリン脂質二重層により構成されている。上記の透過赤外分光結果に基づきバンガム 法によりリポソームを合成した。この時に水溶液を選択し透過型電子顕微鏡にて観察しナノ結晶析出の 動画撮影を行った。生理的食塩水を内包したリポソームの 200kV 電子線照射に伴い、溶液はゆらぎを 生じ、水分子の放出に伴い食塩単結晶が析出し、析出した食塩の昇華と周囲への再析出という一連 の現象をその場観察することに成功した(\*7 石黒論文)。本観察は真空中でもコレステロールにより強 化されたリポソームは水を内包して存在可能であり水溶液中反応もしくは瑞々しい細胞の実空間観察 の可能性を示唆したものである。

2017 年度から3 年間の科学研究費を取得し、水中で刻々と変化する化学反応をリアルタイムで定量評価可能な新しい赤外顕微鏡システムの作製を行った。水による強い赤外線吸収並びに、光源、 行路、検出器等の測定系のゆらぎや時間的ドリフトにより、微量化学種の吸光度の時間変化を高精度で定量的評価することは通常困難である。そこで、マイクロリアクタに反応流路と入射光計測用流路 をフォトリソグラフィー技術により形成し、リニアアレー検出器を搭載した赤外顕微鏡に導入し、二か所を 同時測光・逐次規格化することにより、装置ドリフトを回避できる逐次赤外分光顕微鏡を作製した。そ の安定性評価を行い、課題である生命・材料科学に係る基本反応の実験を実施した(\*5 石黒論 文)。

#### ◎光褪色を制御した二光子蛍光イメージングシステムの開発

蛍光分子の光褪色現象は長時間のタイムラプス観察の障害でありその改善が切望されている。特に FRET イメージングのレシオ測定においては、ドナーおよびアクセプター分子が異なる速度で褪色することか ら深刻な問題である。<u>光褪色機構に関する分光学的研究により、二光子励起過程において光褪色が</u> 著しく、励起状態吸収(ESA)がその一因であることを明らかにした(\*8,9 須田論文)。また、三重項励 起状態のような蛍光を発しない暗状態からの ESA も光褪色につながる経路であると考えられている。そこ で、<u>蛍光タンパク質 eGFP が褪色する様子を多分子系および1分子レベルで観察したところ、ESA に続く</u> 電荷移動が暗状態への遷移を促し、可逆的な光明滅(ブリンキング)を引き起こしていること、不可逆的 な光褪色はそれに連動して生じる副次的な現象であることが示唆された(\*65-67 須田発表)。

二光子励起顕微鏡の励起光源に超短パルスを使用すると、生体組織による散乱のため生じる背景 蛍光が減少し、深部観察性能が向上する。そこで、パルス幅が 10 fs 以下の、いわゆる "数サイクルパル ス"を光源とした二光子励起顕微鏡を開発するとともに、励起光のパルス幅と観察深度限界との関係 を調べた。マウスの脳を模擬した試料を観察した結果、数サイクルパルスを励起光としたときは深さ 1.3 mmまで蛍光観察が可能であり、これは従来のパルス幅 120 fs の励起光源を用いたときの観察深度限 界の 1.3 倍であった。散乱による光パルスの時間的、空間的広がりを考慮したモデルから、パルス幅が短 いほど散乱光が二光子励起に寄与せず、背景光が抑えられることが明らかとなった。数サイクルパルスを 用いると、120 fs の場合と比べて励起光強度を約 10 分の 1 に抑えたまま深部が観察できるので、光褪 色や熱的損傷を軽減できることからも有利である。

時空間集光法を用いた二光子蛍光顕微鏡では、励起光を面状に照射し、集光面の蛍光像を二次元センサー上に結像する。広視野で深部の蛍光画像が取得できることや、比較的繰り返しが遅い (~1 kHz)励起光源を用いるため光褪色が起きにくいことを特徴とする。<u>本研究では、視野0.7 mm x 0.7</u> mm、倍率 10 倍の画像取得を見込んで、口径の大きなマクロレンズ、CMOS カメラなどを用いて広視野 <u>二光子励起顕微鏡を構築した。模擬生体試料を用いて深部観察性能を評価したところ、試料表面から0.3 mmの深さまで観察可能であった(\*64 須田発表)。</u>

【多次元情報可視化グループ(中村、青木、由井、伴野、政池、森作、七尾、田中)】

◎生きた個体で使用可能な FRET センサーの開発

二光子励起による生きた個体での FRET イメージングを汎用的に実現する大きな障害として交叉励 起が挙げられる。蛍光タンパク質の二光子励起スペクトルは一光子励起スペクトルと一部で大きく異なる ことがあり、一光子励起の際に用いていた蛍光分子のペアをそのまま二光子観察に用いると、ドナーのみ ならずアクセプターまで強く励起されることがある。この交叉励起は CFP と Venus のペアでよく知られてい る。交叉励起の回避と生体深部の観察能力の向上を目指して、CFP-YFPペアに代えてGreen-Red 蛍 光タンパク質ペアへの置き換えを試みた。mNeonGreenとmRuby2を用いたリン酸化酵素 JNK の活性を 可視化するセンサーを作製した。その FRET センサーを HeLa 細胞に発現させ、二光子顕微鏡でタイムラ プス観察を行い、蛍光強度の経時変化を測定した。JNK応答を見る場合はアニソマイシン刺激を用い、 励起には 850 nm から 1050 nm までの7つの波長を用いた。 JNK-RN を使った二光子励起 FRET イメー ジングに最適な励起波長は、赤色蛍光タンパク質の交差励起をほとんど起こさず、かつ励起状態吸収 (excited state absorption)による褪色の影響を避けられる 880 nm-910 nm 付近だった。また、蛍光強度 と FRET レシオの減衰の関係を見ると「短波長側で高い光強度で励起する」よりも「長波長側で低い光 強度で励起する」方が、レシオの減衰は避けられることがわかった。蛍光強度の積算を必要とする暗い試 料については、刺激による FRET レシオの増大分と蛍光強度の低下に伴うレシオの減衰のトレードオフが 許す限り長波長側にすることで条件を最適化できる。今回得られた条件は、Green-Red 化 FRET センサ ーを使った組織や個体での生体分子活性の可視化を試みる際のガイドラインとして用いることが期待さ れる。(\*68-70中村発表)。

以前に作製した Rab5 センサーと同じデザインを基にリンカー部の性状を改良するなどの検討を重ね て、Rab7の局所的な活性をリアルタイムで定量できる Rab7 センサーを開発した。このセンサーを細胞に導 入することにより、生きた細胞の中で小胞レベルでの解像度で Rab7 の分子活性を可視化した。この Rab7 センサーを利用することで、分解系の細胞内器官である後期エンドソームとリソソームで Rab7 活性 が異なることや、リソソームの Rab7 活性は既報の Mon1-Ccz1 ではなく未知の分子であることなどを見出 し、Rab 分子を対象とした FRET センサーの有用性を示すことができた(\*11,12 中村論文)。

◎がんと金属イオン検出を目的とする発光及び<sup>11</sup>B NMR/MRI プローブの開発

シクロメタレート型イリジウム錯体は、高い安定性と優れた発光特性を持つことから、がん細胞治療薬 および検出薬への応用を期待して、塩基性ペプチドを導入したイリジウム錯体の設計、合成を行った。 次に、その錯体のがん細胞に対する細胞毒性を評価し、炭素数 6~8 のリンカーを介して KKGG ペプチ ドを連結したイリジウム錯体が、Jurkat 細胞などに対して強い細胞毒性を示し、死細胞で緑色に強く発 光することを確認した。細胞死誘導メカニズム解析の結果、この錯体がカルモジュリンの Ca<sup>2+</sup>錯体と結合 し、細胞内カルシウム濃度の上昇を誘起した結果、ネクローシス型の細胞死を誘導していることがわかっ た。さらに、Jurkat 細胞の検出と細胞死誘導を行う化合物の開発に成功した。その他、Dual emission を持ち、白色発光をもつ Ir 錯体の合成にも成功した(\*14-18, 20, 22, 23 青木論文)。

有機ホウ素化合物の代表例である *closo-o*-carborane 誘導体は、2 個の炭素と10 個のホウ素原子 からなるクラスターであり、非常に高い熱および化学的安定性を有しているため、生理活性物質のファー マコフォアやホウ素中性子線捕捉療法(BNCT)用の薬剤などに応用されている。そこで、<u>closo-o</u>carborane 誘導体が水溶液中で銅イオンによって分解され、10 当量の B(OH)<sub>3</sub>を放出することを示した。 <u>N/N/'-trimethylethylene-diamineを導入した closo-o-carborane は、中性水溶液中37°C において Cu<sup>2+</sup></u> <u>の存在下で迅速に分解し、水溶液中の Cu<sup>2+</sup>選択的 <sup>11</sup>B NMR/MRI 検出(NMR:Nuclear Magnetic</u> Resonance, MRI:Magnetic Resonance Imaging)が可能であった(\*13, 19, 21 青木論文)。

◎レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発と細胞膜の粘弾性計測への応用

細胞膜の粘弾性は、がんの転移などに関わる細胞移動や組織の自発形成などに重要な役割を果 たす。従来、細胞膜の粘弾性計測には AFM やマイクロピペット吸引法などの接触法が主に用いられてき た。しかしながら、これらの方法では接触による膜損傷が避けられないだけでなく、生体組織に埋もれた 細胞の粘弾性計測は原理的に不可能である。また接触法では特定の周波数に対する粘弾性情報し か得られないという問題点もある。一方、試料に対して、外力を周期的に印加しその応答を計測する動 的粘弾性計測が適用可能になれば、応答の周波数依存性から物体の粘弾性特性についてより深い 議論が可能になる。そこで、細胞1個における細胞膜の動的粘弾性を非接触かつマイクロメートルオーダ ーの空間分解能で計測可能な手法として、レーザー誘起表面変位(LISD)顕微鏡を開発した(\*27由 井・伴野論文)。次に、USD 顕微鏡の性能評価と応用範囲の拡大を目的として、以下の4つの検討を 行った。① LISD 顕微鏡を使って薬剤処理により特定の細胞骨格を壊した繊維芽細胞における膜粘 弾性の計測を行い、裏打ちアクチン膜骨格は、細胞内アクチン繊維が脱重合した状態でさえ、脱重合 していないレベルに細胞膜の弾性を保持する働きをもつこと、細胞内アクチン繊維または微小管の脱重 合は、細胞膜の粘性的性質を高めることを明らかにした(\*26由井・伴野・森作論文)。②レーザー光に よる細胞ダメージの軽減と、組織中に埋もれた細胞の深部計測を目指して、励起光の波長を従来の可 視光から近赤外光に切り替えた近赤外 LISD 顕微鏡を開発し、表皮細胞 1 個からのパワースペクトルの 検出によって、仮根の先端部と側方部の粘弾性の識別を可能にした(\*24,25 由井・伴野・森作論 文)。③近赤外光を用いたLISD 計測により、植物細胞内の ROS の生成量が減少すると、ゼニゴケの仮 根の先端の細胞壁は高弾性になり、粘性は弱まることを明らかにし、ROS が細胞壁の架橋構造の解離 に寄与する事を支持する結果を得た。④細胞表界面の粘弾性イメージングへの展開を見据えて1点の パワースペクトルを秒オーダーで取得することを目的として、タイムドメイン型 LISD 顕微鏡を開発し、ヒト表 皮細胞の粘弾性計測に応用した。従来の周波数ドメイン型 LISD 顕微鏡と比較して、1 点の計測時間 を 20 分から 20 秒に短縮することができた(\* 71 由井・森作発表)。 加えて、周波数ドメイン型 USD 顕 微鏡において懸念される細胞へのレーザー照射によるダメージを軽減し、低侵襲での計測を実現した。

#### ◎極微小空間の高濃度条件下における1分子酵素反応の可視化

本研究ではこの1分子観察の手法を拡張し、極微小空間における1分子酵素反応の全容を明らか にすることを目標とした。これまで1分子研究において対象とされてきた分子全体としての運動だけでなく、 その内部に着目し、局所構造変化観察を行うことを目標とした。生体内のエネルギー通貨と称されるア デノシン三リン酸(ATP)の合成と加水分解反応を触媒する FoF1-ATP 合成酵素に着目し、その一部分 である回転分子モーターF1-ATPase1分子の中心軸の回転運動を観察しながら、同時にシリンダー部 分の局所構造変化の検出を試みた。その結果、シリンダーを構成する触媒サブユニットのヌクレオチド結 合部位の近傍に、中心軸の回転を駆動する大きなドメイン運動の起点となる局所的な構造変化が起 きる部位があることが明らかになった(\*28-30 政池論文)。

マイクロリットルからミリリットル体積の多分子の酵素反応速度測定においては、測定対象の試料が均 ーかつ反応開始のタイミングも統一されていることが要求される。しかし、実際の試料ではそれらの要件を 満たすのは難しい。また in vitro の希薄溶液の反応では、細胞内での高濃度環境を評価することは困難 である。これらの問題を克服することをめざし、酵素と基質を極微小空間に閉じ込め、高濃度条件で個 別の酵素反応を測定する方法の確立を目標とした。実際にはマイクロチャンバーアレイデバイスを用いて 数十 fL の溶液をガラス基板上に多数並べることでこれを実現した。まず、モデルケースのひとつとして、リン 酸結合蛋白による1分子酵素アッセイを行った。蛍光標識リン酸結合蛋白(PBP)を M 桁の濃度で数 + fL の水滴チャンバーのアレイに封入して油で隔離し、各チャンバーには確率的に平均 1 個以下が封 入される濃度条件で ATP 加水分解蛋白質 F1-ATPase を閉じ込めた。その結果、<u>1分子の F1-ATPase が触媒する ATP 加水分解蛋白質 F1-ATPase を閉じ込めた。その結果、1分子の F1-ATPase が触媒する ATP 加水分解反応に伴って生成したリン酸の濃度増加を PBP の蛍光強度増加 として画像化することができた。さらに、リン酸親和性を低下させた変異体バイオセンサーを作成し、高濃 度域についてもリン酸の検出を可能にした。F1-ATPase1分子から解離するリン酸の検出を広範囲のリン 酸濃度域で行うことが可能となり、極小空間における1分子酵素反応の可視化技術の開発に貢献す ることができた。(\*73-75 政池発表)。また、PDMS 樹脂製の円筒形チャンバーアレイに微小管のシード と遊離チューブリンを封入し、極微小体積内での微小管の重合・脱重合の動的不安定性を調べる系を</u> 確立した。制限のない空間で直線状に伸長する微小管が極微小空間で湾曲して重合するようになるこ とがわかった(\*72,76 政池発表)。

【応用展開グループ(曽我、古市、後飯塚、朽津、大谷、梅澤、篠田、佐野、上村、北畑、大久保)】

見えないものを見せる技術の開拓を課題とするイメージング技術の開発において、生命系の分野で 「見たいのに見えないもの」を明らかにすることから始まり、いくつかの新規イメージング技術を開拓した。 ◎カのイメージング

「見たいのに見えないもの」の筆頭に数えることができる力のイメージングに取り組むために、2 年度目の 2 月に「カとレオロジーのイメージング」ワークショップを開催し、メカノバイオロジーを専門とする研究者とイメ ージング技術開発者が議論を交わし、そのニーズと重要性を明確化した。これに基づき、「蛍光によりカ を可視化するポリマーの開発」、「歯科矯正において働く力の可視化」に取り組むこととした。

「蛍光により力を可視化するポリマーの開発」においては FRET で用いられる二種の色素分子の距離の 変化により、ひずみに応じて蛍光色が変化する柔軟高分子材料を、科研費・挑戦的研究(萌芽) "生 体深部の見えない力を可視化する蛍光ポリマー素材の開拓"を開拓しつつ進めた。目的の蛍光ポリマー 材料の作製を達成するとともにそのイメージングの結果を材料力学の専門チームとともに現在も解析を行 った(\*35 曽我論文)。

「<u>歯科矯正において働く力の可視化」においては、現在行われている歯科矯正治療では歯や歯茎に</u> 働く力は計測されておらず、施術者の感に頼っていることに着目し、歯科矯正医のトレーニング、矯正材 料の開発、治療において実際に働く力を可視化することを目的として、6 軸センサーを用いてモデル歯に 働く力を計測するシステムを開発した(\*36-40 曽我論文)。

#### ◎脂質の濃度分布

プロジェクト開始当初のメンバーであり現在は大阪市立大学医学部に所属する大谷直子教授から、 肝臓がんの発症における脂質の分布がその発症機序に重要な役割を持つことから、脂質濃度分布を 可視化したいというニーズ提供を受け、近赤外ハイパースペクトルイメージングによる脂質の濃度分布の 可視化に取り組んだ。近赤外ハイパースペクトルイメージング装置と機械学習の一つである SVR 解析を 組み合わせてマウス肝臓における脂質量推定と濃度分布の可視化に取り組んだ結果、Folch 法により 脂質量を定量した結果を教師データとして与えることにより、通常食を与えたマウス(ND)では 50-70 mg/g、高脂肪食を与えたマウス(HFD)では 170-260 mg/g の既往の研究と同程度脂肪量を真値とした 解析を行うことができた。これらの値を教師データとして用いて、ND・HFD をそれぞれ与えたマウスの肝臓の 脂質量を推定したところ、Folch 法で定量した脂質量を反映した脂質濃度分布を可視化することができ た。さらに、実際に肝がんを誘発したマウスの肝臓における脂質量を SVR により推定した。特に腫瘍部に おいて、脂質量が多く、推定した脂質量は Folch 法を用いた測定値と同等であった。肝臓の腫瘍部位 に、脂質が偏在していたため、肝臓がんとの脂質の蓄積との相関が示唆された(\*77 大久保発表)。

◎OTN-NIR 蛍光温度イメージング

生体深部のイメージングが可能な OTN-NIR 蛍光を用いたレシオメトリック温度イメージングに取り組ん だ。希土類イオンの 2 バンドの蛍光、希土類イオン 1 バンド、蛍光色素 1 バンドなど、複数の蛍光バンド の蛍光強度比から蛍光プローブの温度を推定するための蛍光プローブを成功裏に作成するとともに、これ らの限界についても明らかにした。in vitro では、この原理により 0.5°C程度の精度で絶対温度を推定する ことができた。一方、生体組織を経てのイメージングでは、相対値の精度は担保されるものの、経由する 組織と波長の組み合わせにより透過率が異なることから、絶対値推定には補正が必要であることが明ら かになった(\*34 曽我論文)。また、蛍光寿命の温度依存性を応用したタイムゲートイメージングを用い ることによりこの問題が解決可能であることを明らかにした(\*32 曽我論文)。

◎認知課題遂行中における神経活動にリアルタイム記録

学習や記憶想起に伴う神経活動により細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度が上昇する。GCaMP は Ca2+の濃度変化 を蛍光強度の変化として検出することができるタンパク質プローブである。GCaMP を脳の任意の領域に発 現させ、認知課題遂行中の神経活動をリアルタイムで記録するために、マウス頭部に設置可能な小型 蛍光顕微鏡を作製した。また、記憶形成と記憶の取り込みを制御する転写因子 CREB の発現と Ca<sup>2+</sup> イメージングを同時に行う実験系を確立した。

#### ◎新規透明化試薬の開発

イメージングにおける透明化は、波長選択のほかに試薬による透明化の方法が近年次々に提案され ているが、透明化のメカニズムは不明であった。本研究では生体膜がもたらす1.43 程度の屈折率にもとも と1.33 程度の水の屈折率を、試薬を加えることにより散乱抑制できる、というメカニズムを明らかにした。ま た既往の透明化試薬は、生体内部における光散乱を抑制するための高屈折率水溶液が多い。しか し、どの透明化試薬も分子サイズが大きく、組織へ浸潤しにくいことで組織の透明化に時間を要する。そ の中でも、代表的な透明化試薬である Scale 溶液は、尿素を主成分とする水溶性試薬であり、生体 組織に浸潤することで生体組織を透明化することができる。本研究では、<u>擬似細胞膜であるリポソームと</u> 透明化試薬との相互作用を検証し、尿素がリン脂質膜を透明化するメカニズムを解明することを出発 <u>点とし、新しい生体組織の透明化は薬を開発することを目的とした。この結果リン酸水溶液(14.2 M)を</u> <u>用いた 60 分以内での高速な生体組織の透明化に成功した。リン酸化合物の中でもリン酸水素ニアン</u> モニウムが GFP の蛍光を保持するため、新たな透明化試薬としての応用が期待される(\*33 曽我論文, \*78 曽我特許)。

◎OTN-NIR 蛍光プローブの開発

1000 nm を超える近赤外(OTN-NIR)光は、cm オーダーの生体深部の蛍光イメージングを可能にするこ とで知られ、その蛍光プローブの開発が期待を集めている。本研究では、OTN-NIR 蛍光を発する様々な 蛍光プローブを開発し、in vivo イメージングへの応用に取り組んだ。OTN-NIR 蛍光を示す量子ドットや希 土類含有セラミックスナノ粒子、レーザー色素などは、そのままでは生理条件下において安定な蛍光プロ ーブとして利用することは困難であるが、生体機能性高分子と複合体を形成することで、高い安定性を 付与することができる。実際に本研究では、この生体機能性高分子複合化傾向プローブを用いて、生き たマウスの血流や臓器、腫瘍、転移がん、脳などの様々なイメージングに成功した。またこれらの OTN-NIR 蛍光プローブを、SPECT などの核医学イメージング法とのマルチモーダルイメージングや、腫瘍部位の 観察と治療を同時に行うセラノスティックスに応用することにも成功した。これまで合成してきたプローブ はほとんどが無機・金属系材料を用いていたが、より実際に医療応用も視野に入れることが可能な材料 を作製することができた(\*31 曽我論文)。

◎免疫反応および脳神経系におけるイメージングの応用

<u>免疫反応ならびに造血の場となる脾臓の微小環境を構成する間葉系細胞の分化、機能なら構造</u> <u>維持における役割について、脾臓器官形成に必須の転写因子である Tk1 に焦点をあて、Tk1 遺伝子</u> <u>座に CreER-Venus 遺伝子をノックインしたマウスを用いて、Tk1 発現間葉系細胞の細胞運命追跡、</u> <u>Tk1 発現細胞特異的な Tk1 遺伝子の過剰発現ならびに欠損による解析を行い、造血および白血病</u> <u>発症への脾臓間葉系細胞の関与について重要な知見を得た(\*49-53 後飯塚論文</u>)。

脳神経系の情報伝達には、多種多様な分子機構が関与している。本研究では、ここではたらく神経 機能分子について, 脳内発現分布、微細形態、神経生理活性のイメージング解析を行った。神経伝 達物質や神経ペプチドの分泌小胞制御タンパク質 CAPS1 と CAPS2 (\*43, 44, 46-48 古市論文)、 脳特異的なグアニンヌクレオチド交換因子 very-KIND (\*42 古市論文)、哺乳類中枢神経系に特異 的なミエリンループ膜 Opalin (\*45 古市論文)、および抑制性ニューロンの小胞型トランスポーター輸送 関連分子 LAMP5(\*41 古市論文)の 5 つの神経機能分子をターゲットとして解析を行った結果、それ ぞれの分子の機能を明らかにすることができた。

また、認知行動を担うセルアセンブリの可視化に取り組み、セルアッセンブリが学習過程にどのように活動 し記憶を安定的に形成するのか、そして脳領域間でセルアッセンブリがどのように相互作用するのかを明ら かにするうえで重要な知見として、学習強度の違いにより記憶痕跡細胞のサイズは変わらないが、味覚 皮質-扁桃体間の機能的相互作用がより強い学習において強化されることを明らかとした。また、記憶 痕跡細胞が学習時の細胞の活動のしやすさにより可能性に着目し、学習時に一部の神経細胞群の活 動性を操作する手法を用いて学習を行い、それらの細胞群に記憶がより選択的に取り込まれたか解析 した。その結果、味覚皮質では扁桃体との相互作用により記憶を取り細胞が選択されることを c-fos イメ ージングにより明らかとした。

◎農作物を対象とした新規イメージング技術の開発

朽津は、客員准教授の桧垣、客員研究員の来須、花俣らと共同して、農作物を含む植物における 新規イメージング技術の開発に取り組んだ。植物は、動物と比べて、1)動物細胞にはない厚い細胞壁 を持つため、イメージングプローブを細胞内に導入することが困難;2)動物細胞と大きく異なり、細胞体積 の大部分を液胞が占めているため、細胞内の液胞以外の細胞質、核等のイメージングが困難であると 同時に、細胞内に導入したイメージングプローブが液胞の中に入ってしまうと、さらにイメージングが困難;3) 葉緑体、細胞壁、液胞等に強い自家蛍光を持つ物質が蓄積されているため、蛍光イメージングが困難 難、等、数々のイメージング研究を困難にしている要因がある。それを克服するために、近赤外光を用い た新規イメージング技術、新規発光イメージング技術等の開発を進めた。また、植物細胞内のオートファ ジー(細胞内自食作用)や活性酸素種等のイメージング解析、植物組織中の水晶形成のイメージング 解析(客員研究員の石川と共同研究)等を進め、植物分子細胞生物学研究の新展開に導いた(\* 54-61 朽津論文)。多次元情報可視化研究グループの由井・伴野らと共同で、レーザー誘起表面変 位顕微鏡を用いて植物細胞表層のレオロジーを計測する手法を世界に先駆けて開発しつつある。客員 研究員の小関らと共同で、誘導ラマン散乱顕微鏡を用いた植物細胞の新規イメージング技術を用いた新規 ケミカルスクリーニング手法を開発した(\*62,63 北畑論文)。

く課題となった点>

【観察障害排除グループ(松永、石黒、須田、坂本)】

蛍光タンパク質の光明滅の周期や光褪色速度が試料の状態によって大きく異なり、溶液中の浮遊状態とガラス表面に固定された状態で比較が困難であった。また、水による強い赤外線吸収並びに、光源、行路、検出器等の測定系のゆらぎや時間的ドリフトにより、微量化学種の吸光度の時間変化を高精度で定量的評価することが困難であった。そこで、マイクロリアクタに反応流路と入射光計測用流路をフォトリソグラフィー技術により形成し、リニアアレー検出器を搭載した赤外顕微鏡に導入し、二か所を同時測光・逐次規格化することにより、装置ドリフトを回避できる逐次赤外分光顕微鏡を作製して解決しようとしている。TOMEIは植物組織の細胞質を高屈折溶媒 TDE に置換する、TDE 自体は蛍光タンパク質をほとんど消光しないが、TOMEI 処理の最初の工程である組織の固定段階で、蛍光タンパク質が消光することが判明した。そこで、固定液の組成や固定液の浸透剤である界面活性剤の検討を行った。

【多次元情報可視化グループ(中村、青木、由井、伴野、政池、森作、七尾、田中)】

生きた個体で使用可能なFRET センサーの開発について、Green-Red 蛍光蛋白質ペアの開発と細胞 レベルでの条件検討を行ってきた。また、センサーを CFP-YFP ペアから Green-Red 蛍光蛋白質ペアへ置 き換えたことにより生体深部の観察能力がどの程度向上するかについて情報を得ることが今後の課題で ある。Rab 分子を対象とした FRET センサーの作製については、どの Rab 分子についてもある程度の能力 (ダイナミックレンジ)を得られるノウハウを蓄積することができた。しかしながら、小胞という対象の制約から、 実際にイメージングに使ってみると、能力をさらに 1.5-2 倍程度上げられればより信頼性の高い画像が得 られると感じることが多い。その点でのハウハウの積み上げが課題である。がん検出と治療に用いるシクロ メタレート型イリジウム錯体について、さらに実用性を高めるには、より高い抗がん活性を有する誘導体の 設計と合成が必要であると考えられる。11B NMR/MRI プローブについては、より細胞選択性と導入率の 高いプローブの設計と合成が必要であろう。レーザー誘起表面変位(LISD)顕微鏡が動的粘弾性計測 について十分なポテンシャルを持っていること、近赤外光での計測や秒単位の計測の開発により、広範 囲なアプリケーションに対応できるだけの拡張性を持っていることを示すことができた。他の物性の計測法と の同時測定を可能にすることで、より実用性を高めることが課題になると考えている。マイクロリットルからミ リリットル体積の多分子の酵素反応速度測定において測定範囲を広げて独自性の高い可視化技術を 開発することができた。可視化の対象となる反応をさらに広げることが今後の課題である。

【応用展開グループ(曽我、古市、後飯塚、朽津、大谷、梅澤、篠田、佐野、上村、北畑、大久保)】 応用展開グループは、生命科学における現象解明のための可視化技術創出と新たなイメージング装 置創出を目指してプロジェクトをスタートした。これまで提案されてこなかった脂質の濃度分布の可視化、 カの可視化、脳神経の活性の可視化において、これまでにない新たな原理提案とその実証は実現でき たが、一方で装置とその技術移転は、技術を用いる使い手が研究者であり、その母集団数が少ないこと から事業化が困難であり、アカデミックな技術提案にとどまりがちであるという問題点がある。大学における アカデミック研究は新規性が命であり、一方事業化においては市場性が求められる。市場の発達は技術 が創出されてから一定の時間を要するので、研究期間中に技術移転に至ることは極めて困難である。こ れはアカデミックシーズ創出と新規市場創出における本質的な課題であり、アカデミアで創出された新規 技術をインキュベートして市場に繋いでゆくメカニズムの構築と確立は依然重要かつ大きな課題である。 この意味で、本プロジェクトで生命科学を専門とする研究者の生の声に基づくニーズ探索と理工学系研 究者による技術開発は一定の連携を得て、新たな技術提案に至ることができたことは特筆に値するが、 これを新たな産業創出に繋ぐことの困難さは依然課題として残されている。顕微鏡をはじめとするイメージ ング装置については大手の企業が確立されたロードマップのもとに独自に開発をすすめており、一方、イン キュベーション段階にある新技術の民間の担い手は中小企業やベンチャー企業である。このため、新技 術市場化に至るまでの継続的かつ十分な投資を得ることが難しい。今後の解決が望まれる。

<自己評価の実施結果と対応状況>

【観察障害排除グループ(松永、石黒、須田、坂本)】

観察障害排除グループは運営委員会において定期的に、研究実施状況を報告し、自己評価を行った。その自己評価をフィードバックして、研究開発を推進してきた。二次元の反射型空間光変調器を用いて励起光のスペクトル位相とスペクトル振幅をそれぞれ独立に変調できる装置を構築し、各種蛍光タンパク質の蛍光強度と光褪色に対して適応制御を行うことで最適化を図ることができた。その結果、これまでに把握されている ESA と整合性のあるスペクトル比を得るとともに、二光子励起蛍光観察に効果的であることを示すことができたため、イメージング技術開発にインパクトのある研究成果を示すことができた。さらに、広視野二光子蛍光顕微鏡を構築することができ、本グループの新規イメージング手法の開発という目標を達成できた。また、水中で刻々と変化する化学反応をリアルタイムで定量評価可能な新しい赤外顕微鏡システムを作成した。装置ドリフトを回避できる逐次赤外分光顕微鏡を作製することに成功し、本グループの新規イメージング手法の開発という目標を達成できた。むらして、二光子顕微鏡を用いても植物のディープイメージングに成功し、植物再生に重要な役割を果たす制御因子を同定することができた。以上のように、観察障害排除グループは、イメージング機器の開発、観察障害排除方法の開発、その手法を用いたバイオ研究における重要な発見の3つの目標を達成することができた。優れた研究成果を挙げることができた。

【多次元情報可視化グループ(中村、青木、由井、伴野、政池、森作、七尾、田中)】

年1回のペースで開催される当センターのシンポジウムにおいて、研究の進捗状況を発表するとともに、 学外のセンターメンバーを含めた形で討議して、自己評価を行ってきた。1分子酵素反応や小胞で働く スイッチ分子である Rab7 活性の可視化、発光及び <sup>11</sup>B NMR/MRI プローブの開発、LISD 顕微鏡の開発 とそれによる細胞膜の粘弾性計測など、極微小空間での多様な反応や物性を測定・可視化する技術 が複数開発され、それぞれについて応用例が展開できているという点について、当初の目的に沿った成果 が得られていると自己評価している。またいろいろな経緯から、共同研究については、異なるグループに属 するメンバー間の共同研究の成果が先行して得られていたため、グループの個々のメンバーの研究成果 がある程度形をとってきたプロジェクト開始3年目にグループメンバーが集まり、研究の進捗状況をさらに深 く相互理解することで、より実効的な共同研究の可能性を議論した。またその議論により個別メンバーの 研究へのフィードバックが行われたことも収穫であった。シンポジウムでの情報交換を通じて、他のグループ との共同研究が複数立ち上がり、当初の想定よりも広い範囲の研究成果が得られた。

【応用展開グループ(曽我、古市、後飯塚、朽津、大谷、梅澤、篠田、佐野、上村、北畑、大久保)】 イメージング技術のユーザーである生命科学を専門とする研究者と、技術を提供する理工学者の密な コミュニケーションにより、「見たいのに見えないもの」を明確化し、ニーズ開拓、シーズ提供、共同開発によ り様々な新たなイメージング技術を生み出すことができた。これまで描出が不可能であった力や物質濃 度、温度の定量的な描出が可能になったことは高く評価できる。その一方、装置、試薬ともに民間技術 移転は難しく、イメージング技術を創出したのちに、広くユーザーの手に届けるためのメカニズムの確立は 十分にできているとは言えない。米国においてイノベーション創出をビジネスにつなげる現場では、常に起 業を前提として経済や法律の専門家がチームに加わってビジネスモデルを確立し、投資を得たのちに普 及するメカニズムが自然に存在している。日本のアカデミアでは特に生命系・理工系と文系の専門家の 壁が厚く、現実的にビジネスの成立と産業創出が依然難しい。今後、このセンターの活動で培われたコミ ュニティーを維持しつつ、民間技術移転と産業創出につながる活動を継続してゆくことが期待される。

<外部(第三者)評価の実施結果と対応状況>

平成28年8月30日に第1回目のアドバイザリー委員会(委員長:須田亮、学外委員:川西徹(国 立医薬品食品衛生研究所・所長)、河野重行(東京大学大学院新領域創成科学研究科・教授)、 宮脇敦史(理化学研究所脳科学総合研究センター・副センター長)、学内委員:古川昭雄(理工学 部・教授)、オブザーバー:浅島誠(副学長、総合研究院院長)、牛窪孝(研究戦略・産学連携センタ ー)、西村健(研究戦略・産学連携センター))が開催された。その際、(1)センターとしての連携研究のあ り方、(2)学内の研究支援体制、(3)個々の具体的な研究テーマに関して貴重なご意見やコメントをいた だいた。特に、(1)に関して、「プロジェクト研究は方向性が整っていることが重要であるが、そのような中でも 常に研究の多様性を心がける必要がある」とのご意見をいただいた。それに対して、それぞれの研究者が 培ってきた技術や情報をもとにさらなる連携体制を構築し、イメージングの基盤技術の開発や普及に取 り組んできた。また、(2)に関して、「共通利用機器のメンテナンス費用の確保、テクニカルスタッフの雇用な どで学内の支援があるとよい」とのご意見をいただき、他機関の例を参考にして学内で議論を深めるよう に努めてきた。

平成30年9月7日に第2回目のアドバイザリー委員会(委員長:須田亮、学外委員:加藤薫(産 業技術総合研究所脳遺伝子研究グループ・主任研究員)、佐甲靖志(理化学研究所佐甲細胞情 報研究室・主任研究員)、徳永万喜洋(東京工業大学生命理工学院・教授)、学内委員:樋上賀 ー(薬学部・教授)、由井宏治(理学部・教授)、オブザーバー:高柳英明(副学長、総合研究院院 長)、青木伸(総合研究院副院長))が開催された。(1)イメージングは新技術の参入により移り変わりが 速いことから、次の展開を見据えた取り組みが重要である、(2)センターの役割として学生や若手人材の 育成にも期待したい、などのご意見をいただいた。(1)に関して、シンポジウムやセミナーを通して相互の連 携を図り、新たな研究の芽を見出すように取り組んできた。また、(2)に対しては、シンポジウムにおけるポス ター発表やセミナー、ワークショップなどを通して若手や学生に対する教育に努めてきた。

#### <研究期間終了後の展望>

5年間の活動を経て多数の共同研究のシーズが誕生した。イメージングの研究は、基礎と応用、技術の開発と実践など、さまざまな対立または相補する要素を含んでいる。プロジェクトに参画するメンバーが目標を共有して進む中で、さまざまなレベルの連携が動的に形成されてきた。このような連携の成果を活用して、本学のイメージング研究をさらに発展させるために、野田イメージングアライアンスとして活動を再開する。また、現有の共通利用機器をセンターの設置期間後も有効に活用するために、維持管理・運用に対する支援体制を整える。

<研究成果の副次的効果>

開発された技術は東京理科大学研究戦略・産学連携センターを通じて、民間企業とのライセンシン グ交渉を実施している。透明化試薬として開発した TOMEI は東京化成工業より販売されて市場投入 された。また、TOMEI は植物用透明化試薬として開発されたが、マウスの脳の深部イメージングにも適用 できることがわかった。

## 12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してく ださい。)

(1)	極微小空間	(2)	反応の可視化	(3)	膜弾性の可視化
(4)	力の可視化	(5)	温度の可視化	(6)	濃度の可視化
(7)	透明化技術	(8)	自家蛍光		

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。) 上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには\*を付すこと。

<雑誌論文>

#### 【観察障害排除グループ】

#### 松永 幸大

- K. Kurita, Y. Sakamoto, S. Naruse, T. Matsunaga, H. Arata, T. Higashiyama, Y. Habu, Y. Utsumi, C. Utsumi, M. Tanaka, S. Takahashi, J. M. Kim, M. Seki, T. Sakamoto, and <u>S. Matsunaga</u>, "Intracellular localization of histone deacetylase HDA6 in plants," J. Plant Res., vol. 132, pp. 629–640, 2019.
- M. Díaz, P. Pecinkova, A. Nowicka, C. Baroux, T. Sakamoto, P. Y. Gandha, H. Jeřábková, <u>S. Matsunaga</u>, U. Grossniklaus, and A. Pecinka, "The SMC5/6 complex subunit NSE4A is involved in DNA damage repair and seed development," Plant Cell, vol. 31, pp. 1579–1597, 2019.
- N. Sotta, T. Sakamoto, <u>S. Matsunaga</u>, and T. Fujiwara, "Abnormal leaf development of rpt5a mutant under zinc deficiency reveals important role of DNA damage alleviation for normal leaf development," Sci. Rep., vol. 9, 9369, 2019.
- T. Sakamoto, N. Sotta, T. Suzuki, T. Fujiwara, and <u>S. Matsunaga</u>, "The 26S proteasome is required for the maintenance of root apical meristem by modulating auxin and cytokinin responses under high-boron stress," Front. Plant Sci., vol. 10, 590, 2019.
- T. Sakamoto, T. Sugiyama, T. Yamashita, and <u>S. Matsunaga</u>, "Plant condensin II is required for the correct spatial relationship between centromeres and rDNA arrays," Nucleus, vol. 10, pp. 116–125. 2019.
- K. Hayashi and <u>S. Matsunaga</u>, "Heat and chilling stress induce nucleolus morphological changes," J. Plant Res., vol. 132, pp. 395–403, 2019.
- Y. Utsumi, C. Utsumi, M. Tanaka, C. V. Ha, S. Takahashi, A. Matsui, T. M. Matsunaga, <u>S. Matsunaga</u>, Y. Kanno, M. Seo, Y. Okamoto, E. Moriya, and M. Seki, "Acetic acid treatment enhances drought avoidance in cassava (*Manihot esculenta Crantz*)," Front. Plant Sci., vol. 10, 521, 2019.
- (\*1) H. Ishihara, K. Sugimoto, P. T. Tarr, H. Temman, S. Kadokura, Y. Inui, T. Sakamoto, T. Sasaki, M. Aida, T. Suzuki, S. Inagaki, K. Morohashi, M. Seki, T. Kakutani, E. M. Meyerowitz, and <u>S. Matsunaga</u>, <u>"Primed histone demethylation regulates shoot regenerative competency,"</u> Nature Commun., vol. 10, 1786, 2019.
- 9. W. Kobayashi, E. Liu, H. Ishii, <u>S. Matsunaga</u>, P. Schlögelhofer, and H. Kurumizaka, "Homologous pairing activities of *Arabidopsis thaliana* RAD51 and DMC1," J. Biochem., vol. 165, pp. 289–295. 2019.
- 10. M. K. Shibuta and <u>S. Matsunaga</u>, "Seasonal and diurnal regulation of flowering via an epigenetic

mechanism in Arabidopsis thaliana," Cytologia, vol. 84, pp. 3-8. 2019.

- 11. K. Sugimoto, H. Temman, S. Kadokura, and <u>S. Matsunaga</u>, "To regenerate or not to regenerate: factors that drive plant regeneration," Curr. Opin. Plant. Biol., vol. 47, pp. 138–150, 2019.
- T. Sakamoto, Y. Tsujimoto–Inui, N. Sotta, T. Hirakawa, T. M. Matsunaga, Y. Fukao, <u>S. Matsunaga</u>, and T. Fujiwara, "Proteasomal degradation of BRAHMA promotes Boron tolerance in *Arabidopsis*," Nature Commun., vol. 9, 5285, 2018.
- J. Hasegawa, T. Sakamoto, T. Fujimoto, T. Yamashita, T. Suzuki, and <u>S. Matsunaga</u>, "Auxin decreases chromatin accessibility through the TIR1/AFBs auxin signaling pathway in proliferative cells," Sci. Rep., vo. 8, 7773, 2018.
- 14. S. Kadokura, K. Sugimoto, P. Tarr, T. Suzuki, and <u>S. Matsunaga</u>, "Characterization of somatic embryogenesis initiated from the Arabidopsis shoot apex," Dev. Biol., vol. 442, pp. 13–27, 2018.
- 15. K. Hayashi, S. Kato, and <u>S. Matsunaga</u>, "Convolutional neural network-based automatic classification for algal morphogenesis," Cytologia, vol. 83, pp. 301–305, 2018.
- H. Nishida, S. Tanaka, Y. Handa, M. Ito, Y. Sakamoto, <u>S. Matsunaga</u>, S. Betsuyaku, K. Miura, T. Soyano, M. Kawaguchi, and T. Suzaki, "A NIN–LIKE PROTEIN mediates nitrate–induced control of root nodule symbiosis in *Lotus japonicus*," Nature Commun., vol. 9, 499, 2018.
- 17. M. Watanabe, Y. Sakamoto, and <u>S. Matsunaga</u>, "Imaging with split fluorescent proteins based on the reconstruction of separated asymmetric protein fragments," Cytologia, vol. 83, pp. 347–350, 2018.
- Y. Kazama, T. Hirano, T. Abe, and <u>S. Matsunaga</u>, "Chromosomal rearrangement: from induction by heavy-ion irradiation to *in vivo* engineering by genome editing," Cytologia, vol. 83, pp. 125–128, 2018.
- <u>S. Matsunaga</u> and T. M. Matsunaga, "FISH with padlock probes can efficiently reveal the genomic position of low or single-copy DNA sequences," Cytologia, vol. 82, pp. 337–339, 2017.
- 20. (\* 2) Y. Sakamoto and <u>S. Matsunaga</u>, <u>"Deep imaging of plant roots by a rapid transparency</u> <u>technique TOMEL</u>," Cytologia, vol. 82, pp. 221–222, 2017.
- A. Hoshino, T. M. Matsunaga, T. Sakamoto, and <u>S. Matsunaga</u>, "Hi–C revolution: from a snapshot of DNA–DNA interaction in a single cell to chromosome–scale de novo genome assembly," Cytologia, vol. 82, pp. 223–226, 2017.
- 22. H. Tsukaya and <u>S. Matsuanga</u>, "Tissue-dependency of the impact of endoreduplication on cell size," Plant Morphology, vol. 29, pp. 87–90, 2017.
- 23. S. Fujimoto and <u>S. Matsunaga</u>, "Visualization of chromatin loci with transiently expressed CRISPR/Cas9 in plants," Cytologia, vol. 82, pp. 559–562, 2017.
- J. M. Kim, T. To, A. Matsui, K. Tanoi, N. Kobayashi, F. Matsuda, Y. Habu, D. Ogawa, T. Sakamoto, <u>S. Matsunaga</u>, K. Bashir, S. Rasheed, M. Ando, H. Takeda, K. Kawaura, M. Kusano, A. Fukushima, T. Endo, T. Kuromori, J. Ishida, T. Morosawa, M. Tanaka, C. Torii, Y. Takebayashi, H. Sakakibara, Y. Ogihara, K. Saito, K. Shinozaki, A. Devoto, and M. Seki, "Acetate-mediated novel survival strategy against drought in plants," Nature Plants, vol. 3, 17097, 2017.
- 25. N. Yagi, <u>S. Matsunaga</u>, and T. Hashimoto, "Insights into cortical microtubule nucleation and dynamics in *Arabidopsis* leaf cells," J. Cell Sci., vol. 131, 203778, 2018.
- N. A. Sakamoto, V. H. Thuong Lan, S. Fujimoto, <u>S. Matsunaga</u>, and A. Tanaka, "An ion beam-induced *Arabidopsis* mutant with marked chromosomal rearrangement," J. Rad. Res., vol. 58, pp. 772–781, 2017.
- K. Kurita, T. Sakamoto, N. Yagi, Y. Sakamoto, A. Ito, N. Nishino, K. Sako, M. Yoshida, H. Kimura, M. Seki, and <u>S. Matsunaga</u>, "Live imaging of H3K9 acetylation in plant cells," Sci. Rep., vol. 7, 45894. 2017.
- T. Spallek, C. W. Melnyk, T. Wakatake, J. Zhang, Y. Sakamoto, T. Kiba, S. Yoshida, <u>S. Matsunaga</u>, H. Sakakibara, and K. Shirasu, "Interspecies hormonal control of host root morphology by parasitic

plants," Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 114, pp. 5283-5288, 2017.

- T. M. Matsunaga, D. Ogawa, F. Taguchi-Shiobara, M. Ishimoto, <u>S. Matsunaga</u>, and Y. Habu, "Direct quantitative evaluation of disease symptoms on living plant leaves growing under natural light," Breed. Sci., vol. 67, pp. 316–319, 2017.
- E. Okamura, T. Sakamoto, T. Sasaki, and <u>S. Matsunaga</u>, "A plant ancestral polo-like kinase sheds light on the mystery of the evolutionary disappearance of polo-like kinases in the plant kingdom," Cytologia, vol. 82, pp. 261–266, 2017.
- 31. T. Hirakawa, J. Hasegawa, C. I. White, and <u>S. Matsunaga</u>, "RAD54 forms DNA repair foci in response to DNA damage in living plant cells," Plant J., vol. 90, pp. 372–382, 2017.
- 32. S. Fujimoto and <u>S. Matsunaga</u>, "Chromatin live imaging with genome editing techniques: switching from scissors to a lamp," Cytologia, vol. 81, pp. 359–362, 2016.
- 33. S. Fujimoto and <u>S. Matsunaga</u>, "Which is a reliable approach in the generation of artificial minichromosomes, bottom-up or top-down?," Cytologia, vol. 81, pp. 251–256, 2016.
- T. Hirakawa and <u>S. Matsunaga</u>, "Chromatin tagging systems contribute to live imaging analyses for chromatin dynamics," Cytologia, vol. 81, pp. 121–123, 2016.
- 35. <u>S. Matsunaga</u>, "FISH is in the limelight again as more than a cytogenetical technique for metaphase chromosomes," Cytologia, vol. 81, pp. 3–6, 2016.
- S. Fujimoto, S. S. Sugano, K. Kuwata, K. Osakabe, and <u>S. Matsunaga</u>, "Visualization of specific repetitive genomic sequences with fluorescent TALEs in *Arabidopsis thaliana*," J. Exp. Bot., vol. 67, pp. 6101–6110, 2016.
- M. Takagi, T. Sakamoto, R. Suzuki, K. Nemoto, T. Obayashi, T. M. Matsunaga, T. Hirakawa, D. Kurihara, Y. Nariai, T. Urano, T. Sawasaki, and <u>S. Matsunaga</u>, "Plant Aurora kinases interact with and phosphorylate transcription factors," J. Plant Res., vol. 129, pp. 1165–1178, 2016.
- R. Yokoyama, T. Hirakawa, S. Hayashi, T. Sakamoto, and <u>S. Matsunaga</u>, "Dynamics of plant DNA replication based on PCNA visualization," Sci. Rep., vol. 6, 29657, 2016.
- N. Sotta, L. Shantikumar, T. Sakamoto, <u>S. Matsunaga</u>, and T. Fujiwara, "TPR5 is involved in directional cell division and is essential for the maintenance of meristem cell organization in *Arabidopsis thaliana*," J. Exp. Bot., vol. 67, pp. 2401–2411, 2016.
- (\*3) J. Hasegawa, Y. Sakamoto, S. Nakagami, M. Aida, S. Sawa, and <u>S. Matsunaga</u>, <u>"Three-dimensional imaging of plant organs using a simple and rapid transparency technique,"</u> Plant Cell Physiol., vol. 57, pp. 462–472, 2016.
- 41. (\* 4) Y. Katagiri, J. Hasegawa, U. Fujikura, R. Hoshino, <u>S. Matsunaga</u>, and H. Tsukaya, <u>"The coordination of ploidy and cell size differs between cell layers in leaves,"</u> Development, vol. 143, pp. 1120–1125, 2016.
- J. Izaguirre-Carbonell, H. Kawakubo, H. Murata, A. Tanabe, T. Takeuchi, T. Kusayanagi, S. Tsukuda, T. Hirakawa, K. Iwabata, Y. Kanai, K. Ohta, M. Miura, K. Sakaguchi, <u>S. Matsunaga</u>, H. Sahara, S. Kamisuki, and F. Sugawara, "Novel anticancer agent, SQAP, binds to focal adhesion kinase and modulates its activity," Sci. Rep., vol. 5, 15136, 2015.
- 43. T. Oroguchi, Y. Sekiguchi, A, Kobayashi, Y. Masaki, A. Fukuda, S. Hashimoto, M. Nakasako, I. Ichikawa, H. Kurumizaka, M. Shimizu, Y. Inui, <u>S. Matsunaga</u>, T. Kato, K. Namba, K. Yamaguchi, K. Kuwata, H. Kameda, N. Fukui, Y. Kawata, T. Kameshima, Y. Takayama, K. Yonekura, and M. Yamamoto, "Cryogenic coherent X-ray diffraction imaging for biological non-crystalline particles using the KOTOBUKI-1 diffraction apparatus at SACLA," J. Phys. B, vol. 48, 184003, 2015.
- 44. T. Hirakawa, Y. Katagiri, T. Ando, and <u>S. Matsunaga</u>, "DNA double-strand breaks alter the spatial arrangement of homologous loci in plant cells," Sci. Rep., vol. 5, 11058, 2015.
- 45. Y. Takayama, Y. Inui, Y. Sekiguchi, A. Kobayashi, T. Oroguchi, M. Yamamoto, <u>S. Matsunaga</u>, and M.

Nakasako, "Coherent X-ray diffraction imaging of chloroplasts from *Cyanidioschyzon merolae* by using X-ray free electron laser," Plant Cell Physiol., vol. 56, pp. 1272–1286, 2015.

#### 石黒 孝

- T. Nishi, S. Hasegawa, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "Reaction Acceleration of Nanoporous High-Purity Pd Film Formation by Dealloying of Al-Pd-N Film in pH-Controlled EDTA Solution," MRS Advances, vol. 5, pp. 531–538, 2020.
- T. Ube, A. Kawamoto, and <u>T. Ishiguro</u>, "Scanning Transmission Electron Microscopy Characterization of Nanostructured Palladium Film Formed by Dealloying with Citric Acid from Al– N–Pd Mother Alloy Film," MATERIALS TRANSACTIONS, vol. 60, pp. 525–530, 2019.
- T. Ube, J. Koyanagi, T. Kosaki, K. Fujimoto, T. Yokozeki, <u>T. Ishiguro</u> and K. Nishio, "Fabrication of well-isolated graphene and evaluation of thermoelectric performance of polyaniline-graphene composite film," Journal of Matereals Science, vol. 54, pp. 3904–3913, 2019.
- T. Ube, A. Kawamoto, T. Nishi and <u>T. Ishiguro</u>, "Fabrication and Morphological Control of a Palladium Film with a Three–Dimensional Nano–Network Structure as a Hydrogen Gas Sensing Material using Organic Acid Chelation," MRS Advances, vol. 4, pp. 319–324, 2019.
- 5. (\*5) T. Ube, K. Yamamoto, <u>T. Ishiguro</u>, <u>"Transmission infrared micro-spectroscopic study of lactic acid production in cultured cells,"</u> Vibrational Spectroscopy, vol. 98, pp. 8–14, 2018.
- 6. Y. Maekawa, K. Sasaoka, T. Ube, <u>T. Ishiguro</u> and T. Yamamoto, "Hybrid classical/quantum simulation for infrared spectroscopy of water," Jpn. J. Appl. Phys., vol. 57, pp. 058005/1–3, 2018.
- (\* 6) T. Ube, Y. Yoneyama, and <u>T. Ishiguro</u>, <u>"In situ Measurement of the pH-dependent</u> <u>Transmission Infrared Spectra of Aqueous Lactic Acid Solutions,"</u> <u>Analytical Sciences</u>, vol. 33, pp. 1395–1400, 2017.
- T. Harumoto, Y. Ohnishi, K. Nishio, <u>T. Ishiguro</u>, J. Shi, and Y. Nakamura, "In-situ X-ray diffraction study of hydrogen absorption and desorption processes in Pd thin films: Hydrogen composition dependent anisotropic expansion and its quantitative description," AIP Advances, vol. 7, pp. 065108/1-9, 2017.
- (\*7) H. Ai, N. Moriya, T. Ube, T. Harumoto, Y. Arai, K. Murata and <u>T. Ishiguro</u>, <u>"In-situ TEM observation of rock salt crystal precipitation in liposome,"</u> MRS Advances, vol. 1, pp. 1871–1876, 2016.
- K. Sugawa, D. Sugimoto, H. Tahara, T. Eguchi, M. Katoh, K. Uchida, S. Jin, T. Ube, <u>T. Ishiguro</u>, and J. Otsuki, "Refractive index susceptibility of palladium nanoplates with plasmonic resonance in the visible region," Optical Materials Express, vol. 6, pp. 859–867, 2016.
- 11. T. Harumoto, K. Satou, T. Ube and <u>T. Ishiguro</u>, "Controlled surface morphology and enhanced optical properties of hot water-treated ZnO film by Mg layer insertion," Journal of Ceramic Processing Reseaarch, vol. 16, pp. 541–543, 2015.

#### 須田 亮

- N. Kamiyama, Y. Sunairi, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Dark state dynamics of eGFP investigated by temporally-modulated excitation," JAPS and OSA Joint Symposium, vol. Part F132–JSAP 2019, 141578, 2017.
- S. Honda, S. Maesako, N. Kamiyama, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Adaptive control for two-photon excited fluorescence and photobleaching with a two-dimensional SLM," Tech. Dig. of CLEO-PR 2017, s1615, 2017.
- N. Sakata, S. Maesako, N. Kamiyama, N. Iwata, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Analysis of triplet/dark state dynamics of fluorescent molecules in the photobleaching process," Tech. Dig. of CLEO–PR 2017, s1697, 2017.

- 4. 磯部圭佑, <u>須田亮</u>, 緑川克美, "広帯域パルスを用いた2光子蛍光顕微鏡,"表面・界面技術ハン ドブック(エヌ・ティー・エス, 東京, 2016) pp. 262-268, 2016.
- N. Kamiyama, Y. Sunairi, K. Toda, H. Takahashi, and <u>A. Suda</u>, "Dark state dynamics of fluorescent proteins investigated by fluorescence transients," 2015 11th Conf. CLEO-PR, T11\_1013, 2016.
- (\*8) <u>A. Suda</u>, H. Takahashi and K. Toda, <u>"Nonlinear Fourier-transform spectroscopy using</u> <u>ultrabroadband femtosecond pulses for the measurement of photobleaching of fluorescent</u> proteins," Ultrafast Phenomena XIX, pp. 542–546, 2015.
- 7. (\*9) <u>須田亮</u>, 高橋弘史, 戸田圭亮, <u>"フーリエ変換非線形分光法を用いた蛍光タンパク質の光</u> <u>褪色スペクトルの計測</u>,"レーザー研究, vol.43, pp.213-216, 2015.

#### 坂本 卓也

- K. Kurita, Y. Sakamoto, S. Naruse, T. Matsunaga, H. Arata, T. Higashiyama, Y. Habu, Y. Utsumi, C. Utsumi, M. Tanaka, S. Takahashi, J. M. Kim, M. Seki, <u>T. Sakamoto</u>, and S. Matsunaga, "Intracellular localization of histone deacetylase HDA6 in plants," J. Plant Res., vol. 132, pp. 629–640, 2019.
- M. Díaz, P. Pecinkova, A. Nowicka, C. Baroux, <u>T. Sakamoto</u>, P. Y. Gandha, H. Jeřábková, S. Matsunaga, U. Grossniklaus, and A. Pecinka, "The SMC5/6 complex subunit NSE4A is involved in DNA damage repair and seed development," Plant Cell, vol. 31, pp. 1579–1597, 2019.
- N. Sotta, <u>T. Sakamoto</u>, S. Matsunaga, and T. Fujiwara, "Abnormal leaf development of rpt5a mutant under zinc deficiency reveals important role of DNA damage alleviation for normal leaf development," Sci. Rep., vol. 9, 9369, 2019.
- <u>T. Sakamoto</u>, N. Sotta, T. Suzuki, T. Fujiwara, and S. Matsunaga, "The 26S proteasome is required for the maintenance of root apical meristem by modulating auxin and cytokinin responses under high-boron stress," Front. Plant Sci., vol. 10, 590, 2019.
- <u>T. Sakamoto</u>, T. Sugiyama, T. Yamashita, and S. Matsunaga, "Plant condensin II is required for the correct spatial relationship between centromeres and rDNA arrays," Nucleus, vol. 10, pp. 116–125. 2019.
- (\*10) H. Ishihara, K. Sugimoto, P. T. Tarr, H. Temman, S. Kadokura, Y. Inui, <u>T. Sakamoto</u>, T. Sasaki, M. Aida, T. Suzuki, S. Inagaki, K. Morohashi, M. Seki, T. Kakutani, E. M. Meyerowitz, and S. Matsunaga, <u>"Primed histone demethylation regulates shoot regenerative competency,"</u> Nature Commun., vol. 10, 1786, 2019.

#### 【多次元情報可視化グループ】

#### 中村 岳史·七尾 友久

- S. Hoshino, M.i Kobayashi, R. Tagawa, R. Konno, T. Abe, K. Furuya, K. Miura, H. Wakasawa, N. Okita, Y. Sudo, Y. Mizunoe, Y. Nakagawa, <u>T. Nakamura</u>, H. Kawabe, and Y. Higami. "WWP1 knockout in mice exacerbates obesity-related phenotypes in white adipose tissue but improves whole-body glucose metabolism" FEBS Open Bio. vol. 10, pp. 306–315, 2020.
- (\*11) S. Morishita, N. Wada, M. Fukuda, and <u>T. Nakamura</u>, "Rab5 activation on macropinosomes requires ALS2, and its subsequent inactivation through ALS2 detachment requires active Rab7," FEBS Lett., vol. 593, pp. 230–241, 2019.
- J. Yamaguchi, C. Suzuki, <u>T. Nanao</u>, S. Kakuta, K. Ozawa, I. Tanida, T. Saitoh, T. Sunabori, M. Komatsu, K. Tanaka, S. Aoki, K. Sakimura and Y. Uchiyama, "Atg9a deficiency causes axon-specific lesions including neuronal circuit dysgenesis," Autophagy, vol. 14, pp. 764–777, 2018.
- A. Kanamitsu-Fujita, S. Morishita, S. Kjaer, M. Fukuda, G. Schiavo, and <u>T. Nakamura, "</u>Comparable affinity of RabGDI α for GTP- and GDP-bound forms of Rab7 supports a four-state transition model for Rab7 subcellular localization," bioRxiv, doi: doi.org/10.1101/287516, 2018.

- S. Koinuma, K. Takeuchi, N. Wada, and <u>T. Nakamura</u>, "cAMP-induced activation of protein kinase A and p190B RhoGAP mediates down-regulation of plasmalemmal TC10 GTPase activity and neurite outgrowth," Genes to Cells, vol. 22, pp. 953–967, 2017.
- (\*12) S. Yasuda, S. Morishita, A. Fujita, T. Nanao, N. Wada, S. Waguri, G. Schiavo, M. Fukuda, <u>T. Nakamura</u>, <u>"Mon1–Ccz1 activates Rab7 only on late endosome and dissociates from lysosome in mammalian cells,"</u> Journal of Cell Science, vol. 129, pp. 329–340, 2016.
- 7. <u>中村岳史</u>,七尾友久,"エクソサイトーシス,"生体の科学「細胞シグナル操作法」(医学書院,東京, 2015) vol. 66, pp. 484-485, 2015.

#### 青木 伸

- M. Muralisankar, R. Dheepika, J. Haribabu, C. Balachandran, <u>S. Aoki</u>, N. Bhuvanesh, and S. Nagarajan, "Design, Synthesis, DNA/HSA Binding and Cytotoxic Activity of Half-Sandwich Ru (II)-Arene Complexes Containing Tiarylamines-Thiosemicarbazone Hybrids," ACS Omega, vol. 4, pp. 11712– 11723, 2019.
- K. Jeyalakshmi, J. Haribabu, C. Balachandran, E. Narmatha, N. S. P. Bhuvanesh, <u>S. Aoki</u>, and R. Karvembu, "Highly Active Copper (I) Complexes of Aroylthiourea Ligands Against Cancer Cells Synthetic and Biological Studies," New Journal of Chemistry, vol. 7, pp. 3188–3198, 2019
- A. B. Rahman, H. Imafuku, Y. Miyazawa, A. Kafle, H. Sakai, Y. Saga and <u>S. Aoki</u>, "Catalytic Hydrolysis of Phosphate Monoester by a Supramolecular Phosphatase formed from a Monoalkylated Dizinc (II) Complex, Cyclic Diimide Units & Copper (II) in Two–Phase Solvent System," Inorganic Chemistry, vol. 58, pp. 5603–5616, 2019.
- M. Yasuda, Y. Saga, T. Tokunaga, S. Itoh, and <u>S. Aoki</u>, "Stereoselective Aldol Reactions of Dihydroxyacetone Derivatives Catalyzed by Chiral Zn<sup>2+</sup> Complexes," Tetrahedron, vol. 75, pp. 757– 777, 2019.
- B. Shashni, H. Matsuura, R. Saito, T. Hirata, S. Ariyasu, K. Nomura, H. Takemura, K. Akimoto, A. Yasumori and <u>S. Aoki</u>, "Simple and Convenient Method for the Isolation, Culture, and Re-collection of Cancer Cells from Blood by Using Glass–Bead Filters," ACS Biomaterials Science & Engineering, vol. 5, pp. 438–452, 2019.
- (\*13) T. Itoh, K. Tamura, H. Ueda, T. Tanaka, K. Satoh, R. Kuroda, and <u>S. Aoki</u>, "<u>Design and</u> Synthesis of Boron Containing Monosaccharides by the Hydroboration of D–Glucal for Use in Boron <u>Neutron Capture Therapy (BNCT)</u>," Bioorganic & Medicinal Chemistry, vol. 26, pp. 5922–5933, 2018.
- (\* 14) A.–A. Masum, K. Yokoi, Y. Hisamatsu, K. Naito, B. Shashni, and <u>S. Aoki, "Design and Synthesis</u> of a Luminescent Iridium Complex–Peptide (IPH) that Detects Cancer Cells and Induces Their <u>Apoptosis,"</u> Bioorganic & Medicinal Chemistry, vol. 26, pp. 4804–4816, 2018.
- (\*15) A.-A. Masum, Y. Hisamatsu, K. Yokoi, and <u>S. Aoki, "Luminescent Iridium Complex-Peptide</u> <u>Hybrids (IPHs) for Therapeutics of Cancer: Design and Synthesis of IPHs for Detection of Cancer</u> <u>Cells and Induction of Their Necrosis-type Cell Death,"</u> Bioinorganic Chemistry and Applications, 7578965, 2018.
- H. Someya, T. Itoh, M. Kato, and <u>S. Aoki</u>, "Regioselective *O*-Glycosylation of Nucleosides via the Temporary 2',3'-Diol Protection by a Boronic Ester for the Synthesis of Disaccharide Nucleosides," Journal of Visualized Experiments, e57897, 2018.
- (\* 16) Y. Tamura, Y. Hisamatsu, A. Kazama, K. Yoza, K. Sato, R. Kuroda and <u>S. Aoki, "Stereospecific Synthesis of Tris-Heteroleptic Tris-Cyclometalated Iridium (III) Complexes via Different Heteroleptic Halogen-Bridged Iridium Dimers and Their Photophysical Properties," Inorganic Chemistry, vol. 57, pp. 4571–4589, 2018.
  </u>
- 11. B. Shashni, S. Ariyasu, R. Takeda, T. Suzuki, S. Shiina, K. Akimoto, T. Maeda, N. Aikawa, R. Abe, T. Osaki, N. Itoh, and <u>S. Aoki</u>, "Size-based Differentiation of Cancer and Normal Cells by a Particle

Size Analyzer Assisted by a Cell-recognition PC Software," Biological and Pharmaceutical Bulletin, vol. 41, pp. 487–503, 2018.

- H. Someya, T. Itoh, and <u>S. Aoki</u>, "Synthesis of Disaccharide Nucleosides Utilizing the Temporary Protection of the 2',3' - *cis*-Diol of Ribonucleosides by a Boronic Ester," *Molecules* (the special issue "Nucleoside and Nucleotide Analogues") vol. 22, 1650, 2017.
- A. Morita, I. Takahashi, M. Sasatani, <u>S. Aoki</u>, B. Wang, S. Ariyasu, K. Tanaka, T. Yamaguchi, A. Sawa, Y. Nishi, T. Teraoka, S. Ujita, Y. Kawate, C. Yanagawa, K. Tanimoto, A. Enomoto, M. Nenoi, K. Kamiya, Y. Nagata, Y. Hosoi, and T. Inaba, "A Chemical Modulator of p53 Transactivation that Acts as a Radioprotective Agonist," Molecular Cancer Therapeutics, vol. 17, pp. 432–442, 2017.
- T. Tanaka, Y. Sawamoto, and <u>S. Aoki</u>, "Concise and Versatile Synthesis of Sulfoquinovosyl Acyl Glycerol Derivatives for Biological Applications," Chemical and Pharmaceutical Bulletin, vol. 65, pp. 566–572, 2017.
- (\* 17) Y. Hisamatsu, S. Kumar, and <u>S. Aoki</u>, <u>"Design and Synthesis of Tris-Heteroleptic</u> <u>Cyclometalated Iridium (III) Complexes Consisting of Three Different Nonsymmetric Ligands Based</u> <u>on Ligand- Selective Electrophilic Reactions via Interligand HOMO Hopping Phenomena,"</u> Inorganic Chemistry, vol. 56, pp. 886–899, 2017.
- 16. (\* 18) Y. Tamura, Y. Hisamatsu, S. Kumar, T. Itoh, K. Sato, R. Kuroda, and <u>S. Aoki</u>, <u>"Efficient Synthesis of Tris-Heteroleptic Iridium (III) Complexes Based on the Zn<sup>2+</sup>-Promoted Degradation of Tris- Cyclometalated Iridium (III) Complexes and Their Photophysical Properties," Inorganic Chemistry, vol. 56, pp. 812–833, 2017.</u>
- Y. Hisamatsu, N. Suzuki, A.–A. Masum, A. Suzuki, R. Abe, A. Sato, S. Tanuma, and <u>S. Aoki</u>, "Cationic Amphiphilic Tris–Cyclometalated Iridium (III) Complexes Induce Cancer Cell Death via Interaction with Ca<sup>2+</sup>–Calmodulin Complex," Bioconjugate Chemistry, vol. 28, pp. 507–523, 2017.
- (\* 19) T. Tanaka, R. Araki, T. Saido, R. Abe, and <u>S. Aoki</u>, "<u>11B NMR/MRI Sensing of Copper (II) Ions</u> <u>In Vitro by the Decomposition of a Hybrid Compound of a *nido-o*-Carborane and a Metal Chelator," European Journal of Inorganic Chemistry, vol. 20, pp. 3330–3337, 2016.
  </u>
- A. Matsumoto, <u>S. Aoki</u>, and H. Ohwada, "Comparison of Random forest and SVM for Raw Data in Drug Discovery: Prediction of Radiation Protection and Toxicity Case Study," International Journal of Machine Learning and Computing, vol. 6, pp. 145–148, 2016.
- (\* 20) S. Kumar, Y. Hisamatsu, Y. Tamaki, O. Ishitani, and <u>S. Aoki</u>, <u>"Design and Synthesis of Heteroleptic Cyclometalated Iridium (III) Complexes Containing Quinoline-type Ligands that Exhibit Dual Phosphorescence,"</u> Inorganic Chemistry, vol. 55, pp. 3829–3843, 2016.
- Y. Hisamatsu, Y. Miyazawa, T. Yoneda, M. Miyauchi, M. Zulkefeli, and <u>S. Aoki</u>, "Supramolecular Complexes Formed by the Self-Assembly of Hydrophobic Bis (Zn<sup>2+</sup>-cyclen) Complexes, Copper, and Di-or Trimide Units for Specific Hydrolysis of Phosphate Mono- and Diesters in Two-Phase Solvent Systems (Cyclen=1,4,7,10-Tetraazacyclododecane)," Chemical and Pharmaceutical Bulletin, vol. 64, pp. 451–464, 2016.
- (\* 21) T. Tanaka, Y. Nishiura, R. Araki, T. Saido, R. Abe and <u>S. Aoki</u>, "<u>11B NMR Probes of Copper</u> (<u>II</u>): Finding and Implications of the Cu<sup>2+</sup>-Promoted Decomposition of *ortho*-Carborane Deriviatives," European Journal of Inorganic Chemistry, vol. 12, pp. 1819–1834, 2016.
- K. Hanaya, S. Yoshioka, S. Ariyasu, <u>S. Aoki</u>, M. Shoji, and T. Sugai, "Development of a Novel Sulfonate Ester-based Prodrug Strategy," Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, vol. 26, pp. 545–560, 2016.
- T. Ito, M. Okada, H. Ohwada, and <u>S. Aoki</u>, "Docking Score Calculation Using Machine Learning with an Enhanced Inhibitor Database," Journal of Medical Imaging and Health Informatics, vol. 5, pp. 1–4, 2015.

- H. Okano, K. Suyama, T. Suzuki, T. Suzuki, S. Ariyasu, <u>S. Aoki</u>, R. Abe, and M. Hayase, "Enrichment of Circulating Tumor Cells in Tumor-bearing Mouse Blood by a Deterministic Lateral Displacement Microfluidic Device," Biomedical Microdevices, vol. 17, p.59, 2015.
- A. Kando, Y. Hisamatsu, H. Ohwada, S. Moromizato, T. Itoh, M. Kohno, and <u>S. Aoki</u>, "Photochemical Properties of Red-Emitting Tris (cyclometalated) Iridium (III) Complexes Having Basic and Nitro Groups and Application to pH Sensing and Photoinduced Cell Death," Inorganic Chemistry, vol. 54, pp. 5342–5357, 2015.
- (\* 22) Y. Hisamatsu, A. Shibuya, N. Suzuki, T. Suzuki, R. Abe, and <u>S. Aoki</u>, "<u>Design and Synthesis of</u> <u>Amphiphilic and Luminescent Tris-Cyclometalated Iridium (III) Complexes Containing Cationic</u> <u>Peptides as Inducers and Detectors of Cell Death via a Calcium-Dependent Pathway,</u>" Bioconjugate Chemistry, vol. 26, pp. 857–879, 2015.
- (\* 23) <u>S. Aoki</u>, T. Fukumoto, T. Itoh, M. Kurihara, S. Saito, and S. Komabiki, "<u>Synthesis of</u> <u>Disaccharide Nucleosides by Direct *O*-Glycosylation of Natural Nucleosides with Thioglycoside <u>Donors,</u>" Chemistry- An Asian Journal, vol. 10, pp. 740–751, 2015.
  </u>

#### 由井 宏冶・伴野 元洋・森作 俊紀

- (\*24) <u>T. Morisaku</u>, H. Onuki, K. Hashimoto, K. Kuchitsu, and <u>H. Yui</u>, <u>"Development of a near-infrared laser-induced surface deformation microscope and its application to the dynamic viscoelastic measurements of single living plant cell surfaces,"</u> Anal. Sci., vol. 35, pp.1203–1207, 2019.
- (\* 25) <u>T. Morisaku</u>, Y. Kido, K. Asai, and <u>H. Yui</u>, <u>"Mechanical properties of the coat protein layer</u> and cortex in single Bacillus subtilis spores studied with an atomic force microscope and laserinduced surface deformation microscope," Anal. Sci., vol. 35, pp. 45–48, 2019.
- (\* 26) <u>T. Morisaku</u>, M. Ishihara, and <u>H. Yui</u>, "<u>Discrimination between normal and cancerous cells</u> from dynamic viscoelastic properties with a laser-induced surface deformation microscope," Anal. Sci., vol. 34, pp. 979–982, 2018.
- (\* 27) <u>T. Morisaku</u> and <u>H. Yui</u>, <u>"Laser-induced surface deformation microscope for the study of the dynamic viscoelasticity of plasma membrane in a living cell,"</u> Analyst, vol. 143, pp. 2397–2404, 2018.
- 5. <u>M. Banno</u>, T. Kondo, and <u>H. Yui</u>, "Development of molecular–selective differential interference contrast microscopy utilizing stimulated Raman scattering," Opt. Lett., vol. 43, pp. 1175–1178, 2018.
- <u>M. Banno</u> and <u>H. Yui</u>, "Stimulated Raman scattering interferometer for molecular-selective tomographic imaging," Appl. Spectrosc., vol. 71, pp. 1677–1683, 2017.
- <u>M. Banno</u>, A. Nagashima, and <u>H. Yui</u>, "Stimulated Raman photoacoustic spectroscopy for molecular-selective imaging of sample deeply buried in scattering media," Analyst, vol. 141, pp. 5747–5752, 2016.

#### 政池 知子·田中 信清

- (\*28) T. M. Naito, <u>T. Masaike</u>, D. Nakane, M. Sugawa, K. A. Okada, and T. Nishizaka, <u>"Single-molecule pull-out manipulation of the shaft of the rotary motor F1-ATPase,"</u> Sci. Rep., vol. 9, 7451, 2019.
- 2. (\* 29) T. Nishizaka, <u>T. Masaike</u>, D. Nakane. <u>"Insights into the mechanism of ATP-driven rotary</u> motors from direct torque measurement," Biophys. Rev., vol.11, pp 653–657, 2019.
- M. Sugawa, <u>T. Masaike</u>, N. Mikami, S. Yamaguchi, K. Shibata, K. Saito, F. Fujii, Y. Y. Toyoshima, T. Nishizaka, and J. Yajima, "Circular orientation fluorescence emitter imaging (COFEI) of rotational motion of motor proteins," Biochem. Biophys. Res. Commun., vol. 504, pp. 709–714, 2018.
- 4. T. A. Katoh, K. Ikegami, N. Uchida, T. Iwase, D. Nakane, <u>T. Masaike</u>, M. Setou, and T. Nishizaka, "Three-dimensional tracking of microbeads attached to the tip of single isolated tracheal cilia

beating under external load," Sci. Rep., vol. 8, 15562, 2018.

- 5. 政池知子, "対物型全反射顕微鏡の原理,"科学フォーラム, vol. 34, pp. 30-35, 2017.
- 6. <u>政池知子</u>, "1分子生理学による生体機動分子 FoF1-ATP 合成酵素の回転駆動機構の解明," 化学工業, vol. 67, pp. 27-32, 2016.
- (\*30) M. Sugawa, K. Okazaki, M. Kobayashi, M. Matsui, G. Hummer, <u>T. Masaike</u>, and T. Nishizaka, <u>"F1-ATPase conformational cycle from simultaneous single-molecule FRET and rotation</u> <u>measurements</u>," Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 100, pp. 14731–14736, 2016.

#### 【応用展開グループ】

#### 曽我 公平

- (\* 31) <u>K. Soga</u>, M. Kamimura, K. Okubo, M. Umezawa, D. T. K. Dung, K. Nigoghossian, <u>"Near Infrared Biomedical Imaging for Transparency,"</u> Journal of the Imaging Society of Japan, vol. 58, pp. 602–616, 2019.
- (\* 32) T. Chihara, M. Umezawa, K. Miyata, S. Sekiyama, N. Hosokawa, K. Okubo, M. Kamimura, and <u>K. Soga, "Biological Deep Temperature Imaging with Fluorescence Lifetime of Rare-Earth-Doped</u> <u>Ceramics Particles in the Second NIR Biological Window,"</u> Sci. Rep., vol. 9, 12806, 2019.
- M. Kamimura, Y. Ueya, E. Takamoto, K. Iso, M. Yoshida, M. Umezawa, and <u>K. Soga</u>, "Fluorescent Polystyrene Latex Nanoparticles for NIR-II in vivo Imaging," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 31, pp. 93–96, 2019.
- G. Yeroslavsky, M. Umezawa, K. Okubo, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Photostabilization of Indocyanine Green Dye by Energy Transfer in Phospholipid–PEG Micelles," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 32, pp. 115–121, 2019.
- (\*33) M. Umezawa, S. Haruguchi, R. Fukushima, S. Sekiyama, M. Kamimura, and <u>K. Soga, "Rapid increase in transparency of biological organs by matching refractive index of media to cell membrane using phosphoric acid," RSC Advances, vol. 9, pp. 15269–15276, 2019.
  </u>
- 6. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "近赤外蛍光プローブによる生体内イメージング法の開発," ぶんせき, vol. 3, pp. 114–117, 2019.
- S. Sekiyama, M. Umezawa, Y. Iizumi, T. Ube, T. Okazaki, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Delayed Increase in Near–Infrared Fluorescence in Cultured Murine Cancer Cells Labelled with Oxygen– Doped Single–Walled Carbon Nanotubes," Langmuir, vol. 35, pp. 831–837, 2019.
- 8. <u>曽我公平</u>, 上村真生, "近赤外蛍光イメージングプローブ,"実験医学, vol. 36, 3526-3527, 2018.
- (\* 34) S. Sekiyama, M. Umezawa, S. Kuraoka, T. Ube, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, <u>"Temperature Sensing of Deep Abdominal Region in Mice by Using Over-1000 nm Near-Infrared Luminescence of Rare-Earth-Doped NaYF<sub>4</sub> Nanothermometer," Sci. Rep., vol. 8, 16979, 2018.
  </u>
- 10. 上村真生, 曽我公平, "希土類含有セラミックスナノ粒子のがん診断・医療への応用," FC Report, vol. 36 pp. 157-160, 2018.
- 11. 曽我公平, 上村真生, "近赤外励起バイオフォトニクスのセラノスティックスへの展開," Drug Delivery System, vol. 33, pp. 223-231, 2018.
- (\* 35) G. Yeroslavsky, M. Kamimura, R. Inoue, Y. Kogo, and <u>K. Soga</u>, <u>"Visual Mapping of Strain in Elastic Silicone Polymers Using Fluorescence</u>," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 31 pp. 533–540, 2018.
- Y.-C. Tsai, P. Vijayaraghavan, W.-H. Chiang, H.-H. Chen, T.-I. Liu, M.-Y. Shen, A. Omoto, M. Kamimura, <u>K. Soga</u>, and H.-C. Chiu, "Targeted Delivery of Functionalized Upconversion Nanoparticles for Externally Triggered Photothermal/Photodynamic Therapies of Brain Glioblastoma," Theranostics, vol. 8, 1435–1448, 2018.

- L. Wortmann, S. Suyari, T. Ube, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Tuning the thermal sensitivity of β NaYF4: Yb3+, Ho3+, Er3+ nanothermometers for optimal temperature sensing in OTN–NIR (NIR II/III) biological window," Journal of Luminescence, vol. 198, pp. 236–242, 2018.
- 15. (\* 36) W. J. Lai, Y. Midorikawa, Z. Kanno, H. Takemura, K. Suga, K. Soga, T. On, and M. Uo, <u>"A new orthodontic force system for moment control utilizing the flexibility of common wires: Evaluation of the effect of contractile force and hook length,"</u> Journal of the Formosan Medical Association, vol. 117, pp. 71–79, 2018.
- M. Kamimura, S. Takahiro, M. Yoshida, Y. Hashimoto, R. Fukushima, and <u>K. Soga</u>, "Over–1000 nm Near–Infrared Fluorescent Biodegradable Polymer Nanoparticles for Deep Tissue in vivo Imaging in the Second Biological Window," Polymer Journal, vol. 49, pp. 799–803, 2017.
- 17. <u>曽我公平</u>, 上村真生, "近赤外光イメージング,"生体の科学, vol. 68, pp. 398-399, 2017.
- T. Chihara, S. Fujii, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Green Color Purity Control of Dual-Excitation Upconversion Display by Using Polymer/NaYF4:Er3+ Crystal Transparent Composite," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 30, pp. 437–443, 2017.
- M. Kamimura, Y. Yano, S. Kuraoka, S. Suyari, T. Ube, L. Wortmann, and <u>K. Soga</u>, "Near–Infrared to Visible Upconversion Emission Induced Photopolymerization: Polystyrene Shell Coated NaYF4 Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging and Nanothermometry," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 30, pp. 265–270, 2017.
- M. Kamimura, A. Omoto, H.–C. Chiu, and <u>K. Soga</u>, "Enhanced Red Upconversion Emission of NaYF4: Yb3+, Er3+, Mn2+ Nanoparticles for Near–Infrared Induced Photodynamic Therapy and Fluorescence Imaging," Chemistry Letters, vol. 46, pp. 1076–1078, 2017.
- M. Kamimura, T. Matsumoto, S. Suyari, M. Umezawa, and <u>K. Soga</u>, "Ratiometric Near-Infrared Fluorescence Nanothermometry in the OTN-NIR (NIR II/III) Biological Window Based on Rare-Earth Doped β-NaYF4 Nanoparticles," Journal of Materials Chemistry B, vol. 5, pp. 1917–1925, 2017.
- 22. <u>曽我公平</u>, 上村真生, "OTN 近赤外蛍光バイオイメージングシステムの開発," 生物物理, vol. 57, pp. 81-84, 2017
- 23. 上村真生、<u>曽我公平</u>, "「第 2 の生体の窓」の波長域を利用する近赤外蛍光バイオイメージング," 月刊バイオインダストリー, vol. 34, pp. 1-7, 2017.
- 24. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Application of Ceramic Nanoparticles for Near Infrared Bioimaging," Proceedings of the IV Advanced Ceramics and Applications Conference, pp. 77–86, 2017.
- 25. W. Lai, Y. Midorikawa, Z. Kanno, H. Takemura, K. Suga, <u>K. Soga</u>, T. Ono, and M. Uo, "Development and modification of a device for three–dimensional measurement of orthodontic force system: The V–bend system re–visited," DENTAL MATERIALS JOURNAL, vol. 35, pp. 908–917, 2016.
- 26. 緑川善之, 竹村裕, 溝口博, <u>曽我公平</u>, 上村真生, 須賀一博, 賴威任, 簡野瑞誠, 宇尾基 弘, "下顎模擬歯列の6軸矯正力評価に関する研究," LIFE 2016 講演要旨集(第 32 回ライフ サポート学会大会, 第 16 回日本生活支援工学会大会, 日本機械学会 福祉工学シンポジウム 2016), 2016.
- Y. Midoriakawa, H. Takemura, H. Mizoguchi, K. Soga, M. Kamimura, K. Suga, W.-J. Lai, Z. Kanno, and M. Uo, "Six-Axis Orthodontic Force and Moment Sensing System for Dentists Technique Training," Proceedings of the 38th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Sciety, pp 2206–2209, 2016.
- Y. Midorikawa, H. Takemura, H. Mizoguchi, K. Soga, M. Kamimura, K. Suga, W.-J. Lai, Zu. Kanno, and M. Uo, "Development of Orthodontic Force and Moment Sensing System for Dentist Training," Proceedings of XIV International Symposium on 3D Analysis of Human Movement (3D–AHM2016), pp. 253–254, 2016.

- S. Watanabe, Y. Ishii, <u>K. Soga</u>, and M. Matsumoto, "Calcination-free micropatterning of upconversion luminescent layers consisting of rare-earth-doped ceramic nanoparticles on wettability-patterned flexible plastic sheets by soft-liquid phase adsorption," COLLOIDS AND SURFACES A-PHYSICOCHEMICAL AND ENGINEERING ASPECTS, vol. 506, pp. 210–219, 2016.
- 30. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "波長 1000 nm を超える近赤外蛍光イメージング," バイオマテリアルー生体 材料-, vol. 34, pp. 184-189, 2016.
- 31. 梅澤雅和, 新海雄介, 小野田淳人, 武田健, 上村真生, <u>曽我公平</u>, "動物体内におけるナノ粒 子の未知なる動態メカニズムと検出技術改善のニーズ," バイオイメージング, vol. 25, pp. 22-27, 2016.
- 緑川善之, 竹村裕, 溝口博, <u>曽我公平</u>, 上村真生, 須賀一博, 頼威任, 簡野瑞誠, 宇尾基 弘, "口腔内環境の温度変化が矯正力に及ぼす影響,"日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス 講演会 2016(ROBOMECH2016) 講演論文集, 1A2-03a6, 2016.
- 33. 岸本英博、福田啓介、竹下寛之、<u>曽我公平</u>, "希土類ナノ粒子 OTN 近赤外蛍光プローブによるマウス in vivo イメージングの応用," バイオイメージング, vol. 25, pp. 16–18, 2016.
- M. Kamimura, R. Saito, H. Hyodo, K. Tsuji, I. O. Umeda, H. Fujii, and <u>K. Soga</u>, "Over-1000 nm Nearinfrared Fluorescence and SPECT/CT Dual-modal in vivo Imaging Based on Rare-earth Doped Ceramic Nanophosphors," JOURNAL OF PHOTOPOLYMER SCIENCE AND TECHNOLOGY, vol. 29, pp. 525–532, 2016.
- 35. <u>曽我公平</u>, "SBW イメージングの現状と課題," バイオイメージング, vol. 25, pp. 9-10, 2016.
- 36. 河西真依,安田裕哉,竹村裕,溝口博,<u>曽我公平</u>,金子和弘,"近赤外光を用いた診断支援 システムに向けた波長選定手法," LIFE 2016 講演要旨集(第 32 回ライフサポート学会大会, 第 16 回日本生活支援工学会大会,日本機械学会 福祉工学シンポジウム 2016), 2016.
- 37. <u>曽我公平</u>, 上村真生, "第 2 の生体の窓における OTN(over 1000 nm) 蛍光バイオイメージング," JSMI Report, vol. 9, pp. 12–17, 2016.
- D. Jaque, C. Richard, B. Viana, <u>K. Soga</u>, X. Liu, and J. G. Sole, "Inorganic nanoparticles for optical bioimaging," Advances in Optics and Photonics, vol. 8, pp. 1–103, 2016.
- 39. 高際良樹, 黒田訓英, 今井恵利華, 金沢育三, 兵藤宏, <u>曽我公平</u>, 木村薫, "金属ドープ β ー菱面体晶ボロンにおける熱電特性向上と p-n 特性制御,"日本金属学会誌, vol. 79, pp. 581-585, 2015.
- M. Kasai, Y. Yasuda, H. Takemura, H. Mizoguchi, <u>K. Soga</u>, and K. Kaneko, "Spatial Classification based on Wavelength Channels Reduction with Near-infrared Hyperspectral Imaging," Proceedings of The 18th Meeting on Image Recognition and Understanding, 2015.
- M. Kasai, T. Isjikawa, Y. Yasuda, H. Mizoguchi, H. Takemura, <u>K. Soga</u>, and K. Kaneko, "Classification of Splanchnic tissue using Near-infrared Hyperspectral Imaging Camera," Proceedings of The 8th Asian–Pacific Conference on Biomechanics (APBiomech2015), 2015.
- Y. Midorikawa, H. Takemura, H. Mizoguchi, <u>K. Soga</u>, M. Kamimura, K. Suga, W.–J. Lai, Z. Kanno, and M. Uo, "Development of a Multipoint Orthodontic Six Axis Forces Measuring Device for Dentist's Training," Proceedings of The 8th Asian–Pacific Conference on Biomechanics (APBiomech2015), 2015.
- 43. 河西真依, 安田裕哉, 竹村裕, 溝口博, <u>曽我公平</u>, 金子和弘, "近赤外ハイパースペクトルデー タを用いた空間削減による特徴量抽出と領域識別,"生体医工学シンポジウム 2015 講演予稿 集, 2015.
- S. Watanabe, T. Asanuma, T. Sasahara, H. Hyodo, M. Matsumoto, and <u>K. Soga</u>, "3D Micromolding of Arryed Waveguide Gratings on Upconversion Luminescent Layers for Flexible Transparent Displays without Mirrors, Electrodes, and Electric Circuits," ADVANCED FUNCTIONAL MATERIALS, vol. 25, pp. 4390–4396, 2015.

- M. Kamimura, S. Suyari, T. Matsumoto, and <u>K. Soga</u>, "Surface modification on rare-earth doped ceramic nanophosphors via ligand exchange method," JOURNAL OF PHOTOPOLYMER SCIENCE AND TECHNOLOGY, vol. 28, pp. 711–713, 2015.
- 46. (\*37) 緑川善之, 竹村裕, 溝口博, <u>曽我公平</u>, 上村真生, 須賀一博, 頼威任, 簡野瑞誠, 宇尾基弘, <u>"歯列矯正力の定量的評価を目的とした6 軸力多点同時計測装置の開発,"</u>日本 機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2015(ROBOMECH2015) 講演論文集, 2A1-B10, 2015.
- 47. (\*38) 河西真依, 安田裕哉, 竹村裕, 溝口博, <u>曽我公平</u>, 金子和弘, <u>"近赤外ハイパースペク</u> トルカメラを用いた領域分割に関する研究," 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2015(ROBOMECH2015) 講演論文集, 1P1-D01, 2015.
- 48. (\*39) 河西真依, 石川拓海, 竹村裕, 溝口博, <u>曽我公平</u>, 金子和弘, <u>"近赤外ハイパースペク</u> トルカメラを用いた悪性腫瘍の特徴量抽出に関する研究,"</u>日本機械学会関東学生会第 54 回 学生員卒業研究発表講演会講演論文集, 2015.
- 49. (\*40)緑川善之,竹村裕,溝口博,<u>曽我公平</u>,上村真生,須賀一博,頼威任,簡野瑞誠, 宇尾基弘,"<u>歯科医のトレーニングを目的とした6軸歯列矯正力多点同時計測装置の開発,"</u>日 本機械学会関東学生会第54回学生員卒業研究発表講演会講演論文集,2015.

#### 古市 貞一

- Y. Sato, A. Sato, S. Mizuno, J. Hirota, S. Fujima, C. Ishii, Y. Sano, and <u>T. Furuichi</u>, "Comparative gene expression analysis of the engulfment and cell motility (ELMO) protein family in the mouse brain," Gene Expression Patterns, vol. 34, 119070, 2019.
- N. Hosoi, K. Shibasaki, M. Hosono, A. Konno, Y. Shinoda, H. Kiyonari, K. Inoue, S.-I. Muramatsu, Y. Ishizaki, H. Hirai, <u>T. Furuichi</u>, and T. Sadakata, "Deletion of class II ADP-ribosylation factors in mice causes tremor by the Nav1.6 loss in cerebellar Purkinje cell axon initial segments," J. Neurosci., vol. 39, pp. 6339–6353, 2019.
- M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, Y. Sano, Y. Shinoda, <u>T. Furuichi</u>, and K. Kansaku, "Rubber tail illusion is weakened in Ca<sup>2+</sup>-dependent activator protein for secretion 2 (Caps2)-knockout mice," Sci. Rep., vol. 9, 7552, 2019.
- 4. (\* 41) M. Koebis, S. Urata, Y. Shinoda, S. Okabe, T. Yamasoba, K. Nakao, A. Aiba, and <u>T. Furuichi,</u> <u>"LAMP5 in presynaptic inhibitory terminals in the hindbrain and spinal cord: a role in startle response and auditory processing,"</u> Molecular Brain, vol. 12, 20, 2019.
- Y. Shinoda, T. Sadakata, K. Yagishita, E. Kinameri, R. Katoh–Semba, Y. Sano, and <u>T. Furuichi</u>, "Aspects of excitatory/inhibitory synapses in multiple brain regions are correlated with levels of brain–derived neurotrophic factor/neurotrophin–3," Biochem. Biophys. Res. Commun., vol. 509, pp. 429–434, 2019.
- M. Morita, K. Shimokawa, M. Nishimura, S. Nakamura, Y. Tsujimura, S. Takemoto, T. Tawara, H. Yokota, S. Wemler, D. Miyamoto, H. Ikeno, A. Sato, <u>T. Furuichi</u>, N. Kobayashi, Y. Okumura, Y. Yamaguchi, and Y. Okamura–Oho, "ViBrism DB: an interactive search and viewer platform for 2D/3D anatomical images of gene expression and co-expression networks," Nucleic Acid Research., vol. 47, D. 859–866, 2019.
- Y. Shinoda, T. Sadakata, T. Akagi, Y. Sakamaki, T. Hashikawa, Y. Sano, and <u>T. Furuichi</u>, "Calciumdependent activator protein for secretion 2 (CADPS2) deficiency causes abnormal synapse development in hippocampal mossy fiber terminals development in hippocampal mossy fiber terminals," Neuroscience Letters, vol. 677, pp. 65–71, 2018.
- (\* 42) K. Nakayama, R. Ohashi, Y. Shinoda, M. Yamazaki, M. Abe, A. Fujikawa, S. Shigenobu, A. Futatsugi, M. Noda, K. Mikoshiba, <u>T. Furuichi</u>, K. Sakimura, and N. Shiina, <u>"RNG105/caprin1, an RNA granule protein for dendritic mRNA localization, is essential for long-term memory formation," eLife,
  </u>

vol. 6, e29677, 2017.

- (\* 43) K. Yagishita, R. Suzuki, S. Mizuno, R. Katoh-Semba, T. Sadakata, Y. Sano, <u>T. Furuichi</u>, and Y. Shinoda, <u>"CAPS2 deficiency affects environmental enrichment-induced adult neurogenesis and differentiation/survival of newborn neurons in the hippocampal dentate gyrus," Neuroscience Letters, vol. 661, pp. 121–125, 2017.
  </u>
- D. Ihara, M. Fukuchi, M. Katakai, Y. Shinoda, R. Katoh-Semba, <u>T. Furuichi</u>, M. Ishikawa, A. Tabuchi, and M. Tsuda, "Deltamethrin increases neurite outgrowth in cortical neurons through endogenous BDNF/TrkB pathways," Cell Structure and Function, vol. 42, pp. 141–148, 2017.
- K. Hayashi, A. Furuya, Y. Sakamaki, T. Akagi, Y. Shinoda, T. Sadakata, T. Hashikawa, K. Shimizu, H. Minami, Y. Sano, M. Nakayama, and <u>T. Furuichi</u>, "The brain–specific RasGEF very–KIND is required for normal dendritic growth in cerebellar granule cells and proper motor coordination," PLoS ONE, vol. 12, e0173175, 2017.
- (\*44) T. Sadakata, Y. Shinoda, Y. Ishizaki, and <u>T. Furuichi</u>, <u>"Analysis of gene expression in Ca<sup>2+</sup>-</u> dependent activator protein for secretion 2 (Cadps2) knockout cerebellum using GeneChip and <u>KEGG pathways</u>," Neuroscience Letters, vol. 639, pp. 88–93, 2017.
- (\* 45) F. Yoshikawa, Y. Sato, K. Tohyama, T. Akagi, T. Furuse, T. Sadakata, M. Tanaka, Y. Shinoda, T. Hashikawa, S. Itohara, Y. Sano, S. M. Ghandour, S. Wakana, and <u>T. Furuichi, "Mammalian-specific central myelin protein Opalin is redundant for normal myelination: structural and behavioral assessments,"</u> PLoS ONE, vol. 11, e0166732, 2016.
- Y. Shinoda, Y. Nakajima, H. Iguchi, S. Tatsumi, M. Kitaoka, M. Nakajima, T. Takahashi, M. Fujiwara, and <u>T. Furuichi</u>, "Galacto-N-biose is neuroprotective against glutamate-induced excitotoxicity in vitro," European Journal of Pharmacology, vol. 791, pp. 711–717, 2016.
- (\*46) Y. Shinoda, C. Ishii, Y. Fukazawa, T. Sadakata, Y. Ishii, Y. Sano, T. Iwasato, S. Itohara, and <u>T. Furuichi</u>, "<u>CAPS1 stabilizes the state of readily releasable synaptic vesicles to fusion competence at CA3–CA1 synapses in adult hippocampus,</u>" Sci. Rep., vol. 6, 31540, 2016.
- Y. Nakajima, H. Iguchi, S. Kamisuki, F. Sugawara, <u>T. Furuichi</u>, and Y. Shinoda, "Low doses of the mycotoxin citrinin protect cortical neurons against glutamate-induced excitotoxicity," Journal of Toxicological Sciences, vol. 41, pp. 311–319, 2016.
- (\*47) M. Hosono, Y. Shinoda, T. Hirano, Y. Ishizaki, <u>T. Furuichi</u>, and T. Sadakata, <u>"Interaction of Ca<sup>2+</sup>-dependent activator protein for secretion 1 (CAPS1) with septin family proteins in mouse brain," Neuroscience Letters, vol. 617, pp. 232–235, 2016.
  </u>
- (\*48) Y. Mishima, Y. Shinoda, T. Sadakata, M. Kojima, S. Wakana, and <u>T. Furuichi</u>, <u>"Lack of stress</u> responses to long-term effects of corticosterone in Caps2 knockout mice," Sci. Rep., vol. 5, 8932, 2015.

#### 後飯塚 僚

- Y. Ueno, K. Fujisaki, S. Hosoda, Y. Amemiya, S. Okazaki, C. Notsu, C. Nishiyama, Y. Mabuchi, Y. Matsuzaki, A. Oda, and <u>R. Goitsuka</u>, "Transcription factor Tlx1 marks a subset of lymphoid tissue organizer–like mesenchymal progenitor cells in the neonatal spleen," Sci. Rep., vol. 9, 20418, 2019.
- M. Namekata, M. Yamamoto, and R. <u>Goitsuka</u>, "Nuclear localization of Meis1 in dermal papilla promotes hair matrix proliferation in the anagen phase of hair cycle," Biochem. Biophys. Res. Commun., vol. 519, pp. 727–733, 2019.
- A. Oda, Y. Ueno, S. Hosoda, Y. Amemiya, C. Notsu, T. Tezuka, T. Kasahara, N. Nishiyama, and <u>R. Goitsuka</u>, "Niche-induced extramedullary hematopoiesis in the spleen is regulated by the transcription factor Tlx1," Sci. Rep., vol. 8, 8308, 2018.
- 4. Y. Tashiro, A. Murakami, Y. Hara, T. Shimizu, M. Kubo, <u>R. Goitsuka</u>, K. Kishimoto, and T. Azuma, "Highaffinity IgM<sup>+</sup> memory B cells are defective in differentiation into IgM antibody-secreting cells by re-

stimulation with a T cell-dependent antigen," Sci. Rep., vol. 8, 14559, 2018.

- (\* 49) Y. Kawai, A. Oda, Y. Kanai, and <u>R. Goitsuka</u>, <u>"Germ cell-intrinsic requirement for the homeodomain transcription factor PKnox1/Prep1 in adult spermatogenesis,"</u> PLos One, vol. 13, e0190702, 2018.
- (\* 50) T. Owa, S. Taya, S, Miyashita, M. Yamashita, T. Adachi, K. Yamada, M. Yokoyama, S. Aida, T. Nishioka, Y. Inoue, <u>R. Goitsuka</u>, T. Nakamura, T. Inoue, K. Kaibuchi, and M. Hoshino, "<u>Meis1</u> coordinates cerebellar granule cell development by regulating Pax6 transcription, BMP signaling and Atoh1 degradation," J. Neurosci., vol. 38, pp.1277–1294, 2018.
- (\*51) T. Yokoyama, M. Nakatake, T. Kuwata, <u>R. Goitsuka</u>, S. Tsutsumi, H. Aburatani, P. J. M. Valk, R. Delwel, and T. Nakamura, "<u>Tranactivation of Styl1/Slp1 by Meis1 promotes CXCL12/CXCR4</u> signaling and myeloid leukemogenesis in vivo," J. Clin. Invest., vol.126, pp.1664–1678, 2016.
- (\* 52) K. Yoshioka, Y. Kawai, A. Oda, C. Notsu, Y. Mabuchi, S. Suzuki, Y. Matsuzaki, and <u>R. Goitsuka</u>, <u>"Loss of Homeodomain Transcription Factor Prep1 Perturbs Adult Hematopoiesis in The Bone</u> <u>Marrow,"</u> Plos One, vol.10, e0136107, 2015.
- (\* 53) Y. Tashiro, A. Murakami, <u>R. Goitsuka</u>, T. Shimizu, H. Kishimoto, and T. Azuma, "<u>An asymmetric antibody repertoire is shaped between plasmablasts and plasma cells after secodary immunization with (4-hydroxy-3-nitrophenyl) acetyl chicken gamma- globulin,</u>" Int. Immunol., vol. 27, pp. 609–620, 2015.
- Y. Seki, Y. Kikuchi, R. Yoshimoto, K. Aburai, Y. Kanai, T. Ruike, K. Iwabata, <u>R. Goitsuka</u>, F. Sugawara, M. Abe, and K. Sakaguchi, "Promotion of crystalline cellulose degradation by expansins from Orysa sativa," Planta, vol. 241, pp. 83–93, 2015.

#### 朽津 和幸

- S. Hanamata, J. Sawada, B. Toh, S. Ono, K. Ogawa, T. Fukunaga, K–I Nonomura, T. Kurusu, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Monitoring autophagy in rice tapetal cells during pollen maturation," Plant Biotechnology, vol. 36, pp. 90–105, 2019.
- J.–P. Han, P. Köster, M. M. Drerup, M. Scholz, S. Li, K. H. Edel, K. Hashimoto, <u>K. Kuchitsu</u>, M. Hippler, and J. Kudla, "Fine-tuning of RBOHF activity is achieved by differential phosphorylation and Ca<sup>2+</sup> binding," New Phytologist, vol. 221, pp. 1935–1949, 2019.
- J. S. Jiménez, K. Hashimoto, P. Vinuesa, O. Santana, A. Jesús, <u>K. Kuchitsu</u>, and L. Cárdenas, "Emerging roles of tetraspanins in plant inter-cellular and inter-kingdom communication," Plant Signaling & Behavior, vol. 14, e1581559, 2019.
- H. Kaya, S. Takeda, M. J. Kobayashi, S. Kimura, A. Iizuka, A. Imai, H. Hishinuma, T. Kawarazaki, K. Mori, Y. Yamamoto, Y. Murakami, A. Nakauchi, M. Abe, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Comparative analyses of ROS-producing enzymatic activity of Arabidopsis NADPH oxidases," The Plant Journal, vol. 98. pp. 291–300, 2019.
- T. Kurusu, D. Mitsuka, C. Yagi, N. Kitahata, T. Tsutsui, T. Ueda, Y. Yamamoto, J. Negi, K. Iba, S. Betsuyaku, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Involvement of S-type anion channels in disease resistance against an oomycete pathogen in Arabidopsis seedlings," Communicative & Integrative Biology, vol. 11, pp. 1–6, 2018.
- X. Zhang, P. Köster, K. Schlücking, D. Balcerowicz, K. Hashimoto, <u>K. Kuchitsu</u>, K. Vissenberg, and J. Kudla, "CBL1-CIPK26-mediated phosphorylation enhances activity of the NADPH oxidase RBOHC, but is dispensable for root hair growth," FEBS Letters, vol. 592, pp. 2582–2593, 2018.
- Y. Seo, K. Ide, N. Kitahata, <u>K. Kuchitsu</u>, and K. Dowaki, "Environmental impact and nutritional improvement of elevated CO<sub>2</sub> treatment: A case study of spinach production," Sustainability, vol. 9, e1854, 2017.

- (\* 54) T. Kurusu, T. Koyano, N. Kitahata, M. Kojima, S. Hanamata, H. Sakakibara, and <u>K. Kuchitsu</u>, <u>"Autophagy-mediated regulation of phytohormone metabolism during rice anther development,"</u> Plant Signaling & Behavior, e1365211, 2017.
- E.J. Jeon, K. Tadamura, T. Murakami, J–I. Inaba, BM Kim, M. Sato, G. Atsumi, <u>K. Kuchitsu</u>, C. Masuta, and K. S. Nakahara, "rgs–CaM Detects and Counteracts Viral RNA Silencing Suppressors in Plant Immune Priming," J. Virol, vol. 91, e00761–17, 2017.
- G. Gayatri, S. Agurla, <u>K. Kuchitsu</u>, K. Anil, A.R. Podile, and A. S. Raghavendra, "Stomatal Closure and Rise in ROS/NO of Arabidopsis Guard Cells by Tobacco Microbial Elicitors: Cryptogein and Harpin," Front Plant Sci., vol. 8, e1096, 2017.
- 11. A. Webb, <u>K. Kuchitsu</u>, J. M. Kwak, Z. M. Pei, and H. Iida, "Sensors and Sensing in Plants. Sensors make sense of signaling," Plant Cell Physiol, vol. 58, pp. 1121–1125, 2017.
- 12. K. T. Yamato and <u>K. Kuchitsu</u>, ""Fusion" in Fertilization: Interdisciplinary Collaboration among Plant and Animal Scientists," J. Plant Res, vol. 130, pp. 419–421, 2017.
- 13. (\* 55) T. Kurusu and <u>K. Kuchitsu</u>, "<u>Autophagy, programmed cell death and reactive oxygen species</u> in sexual reproduction in plants," J. Plant Res., vol. 130, pp. 491–499, 2017.
- K. Hyodo, K. Hashimoto, <u>K. Kuchitsu</u>, N. Suzuki, and T. Okuno, "Harnessing host ROS-generating machinery for the robust genome replication of a plant RNA virus," Proc. Natl Acad. Sci. USA, vol. 114, pp. 1282–1290, 2017.
- 15. (\* 56) T. Kurusu, S. Hanamata, and <u>K. Kuchitsu</u>, <u>"Quantitative live cell imaging of autophagic flux</u> and roles of autophagy in reproductive development in plants," Bioimages, vol. 24, pp. 1–11, 2016.
- (\* 57) M. Ishikawa, H. Ide, H. Yamazaki, H. Murakawa, <u>K. Kuchitsu</u>, W. S. Price, and Y. Arata, "<u>Freezing</u> behaviours in wintering Cornus florida flower bud tissues revisited using <u>MRI</u>," Plant Cell and Environment, vol. 39, pp. 2663–2675, 2016.
- M. R. Puli, P. Rajsheel, V. Aswani, S. Agurla, <u>K. Kuchitsu</u>, and A. S. Raghavendra, "Stomatal closure induced by phytosphingosine-1-phosphate and sphingosine-1-phosphate depends on nitric oxide and pH of guard cells in *Pisum sativum*," Planta, vol. 244, pp. 831–841, 2016.
- Y. Yanagawa, H. Yoda, K. Osaki, Y. Amano, M. Aono, S. Seo, <u>K. Kuchitsu</u>, and I. Mitsuhara, "Mitogen– activated protein kinase 4–like carrying an MEY motif instead of a TXY motif is involved in ozone tolerance and regulation of stomatal closure," J. Exp. Bot., vol. 67, pp. 3471–3479, 2016.
- 19. (\* 58) <u>朽津和幸</u>, <u>"オートファジー (細胞内自食作用)のメカニズム</u>," 科学フォーラム, vol. 394, pp. 44-45, 2017.
- 20. D. Klionsky, ..., <u>K. Kuchitsu</u>, ...中略..., and S. M. Zughaier, "Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy, 3rd edition," Autophagy, vol. 12, pp. 1–222, 2016.
- 21. T. Kurusu, <u>K. Kuchitsu</u>, and Y. Tada, "Plant signaling networks involving Ca<sup>2+</sup> and Rboh/Noxmediated ROS production under salinity stress," Frontiers in Plant Science, vol. 6, e427, 2015.
- (\* 59) S. Wada, Y. Hayashida, M. Izumi, T. Kurusu, S. Hanamata, K. Kanno, S. Kojima, T. Yamaya, <u>K. Kuchitsu</u>, A. Makino, and H. Ishida, <u>"Autophagy supports biomass production and nitrogen use efficiency at the vegetative stage in rice,"</u> Plant Physiology, vol. 16, pp. 60–73, 2015.
- 23. (\* 60) M. Izumi, J. Hidema, S. Wada, E. Kondo, T. Kurusu, <u>K. Kuchitsu</u>, A. Makino, and H. Ishida, <u>"Establishment of monitoring methods for autophagy in rice reveals autophagic recycling of chloroplasts and root plastids during energy limitation</u>," Plant Physiology, vol. 167, pp. 1307–1320, 2015.
- 24. (\*61) 来須孝光, 小谷野智子, 花俣繁, <u>朽津和幸</u>, "<u>イネの生殖器官発達におけるオートファジ</u> <u>一の新たな役割</u>," バイオイメージング, vol. 24, pp. 7–11, 2015.
- 25. M. Nara, H. Morii, T. Shimizu, <u>K. Kuchitsu</u>, T. Miyakawa, and M. Tanokura, "INFRARED STUDIES ON THE Ca<sup>2+</sup>–BOUND COORDINATION STRUCTURE OF SYNTHETIC PEPTIDE ANALOGUES OF

THE Ca<sup>2+</sup>-BINDING SITE," Proceedings of 19th International Symposium on Calcium Binding Proteins and Calcium Function In Health and Disease, vol. 59, 2015.

- 26. A. Matsumoto, K. Kanamori, <u>K. Kuchitsu</u>, and H. Ohwada, "Automated Discovery of Compounds Related to the Plant Immunity Activation by a Logic–based machine learning," Proceedings of the 6th International Conference on Computational Systems–Biology and Bioinformatics, 2015.
- A. Matsumoto, K. Kanamori, <u>K. Kuchitsu</u>, and H. Ohwada, "Extracting the Common Structure of Compounds to Induce Plant Immunity Activation using ILP," 5th International Conference On Inductive Logic Programming, 2015.
- 28. <u>朽津和幸</u>, "人と人を結ぶバイオイメージング," 日経バイオテク,pp. 36-37, 2015.

#### 大谷 直子

- M. Wakita, A. Takahashi, O. Sano, T. M. Loo, Y. Imai, M. Narukawa, H. Iwata, T. Matsudaira, S. Kawamoto, <u>N. Ohtani</u>, and E. Hara, "A BET family protein degrader provokes senolysis by targeting NHEJ and autophagy in senescent cells," Nature Commun., 2020 (in press).
- <u>N. Ohtani</u>, "Deciphering the mechanism for induction of senescence-associated secretory phenotype (SASP) and its role in ageing and cancer development," J. Biochem. vol. 166, pp. 289– 295, 2019.
- M. Iwamoto, W. Saso, R. Sugiyama, K. Ishii, M. Ohki, S. Nagamori, R. Suzuki, H. Aizaki, A. Ryo, J. H. Yun, S. Y. Park, <u>N. Ohtani</u>, M. Muramatsu, S. Iwami, Y. Tanaka, C. Sureau, T. Wakita, and K. Watashi, "Epidermal growth factor receptor is a host-entry cofactor triggering hepatitis B virus internalization," Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 116, pp. 8487–8492. 2019.
- <u>N. Ohtani</u> and N. Kawada, "Role of the Gut-Liver Axis in Liver Inflammation, Fibrosis, and Cancer: A Special Focus on the Gut Microbiota Relationship," Hepatol Commun., vopl. 3, pp. 456–470, 2019.
- H. Ohashi, K. Nishioka, S. Nakajima, S. Kim, R. Suzuki, H. Aizaki, M. Fukasawa, S. Kamisuki, F. Sugawara, <u>N. Ohtani</u>, M. Muramatsu, T. Wakita, and K. Watashi, "The aryl hydrocarbon receptorcytochrome P450 1A1 pathway controls lipid accumulation and enhances the permissiveness for hepatitis C virus assembly,"J. Biol. Chem., vol. 293, pp. 19559–19571, 2018.
- A. Takahashi, T. M. Loo, R. Okada, F. Kamachi, K. Miyata, Y. Watanabe, M. Wakita, S. Watanabe, S. Kawamoto, G. Barber, <u>N. Ohtani</u>, and E. Hara, "Downregulation of cytoplasmic DNases is implicated in cytoplasmic DNA accumulation and SASP in senescent cells," Nature Commun., vol. 9, 1249, 2018.
- M. Kaneko, Y. Futamura, S. Tsukuda, Y. Kondoh, T. Sekine, H. Hirano, K. Fukano, <u>H. Ohashi</u>, W. Saso, R. Morishita, S. Matsunaga, F. Kawai, A. Ryo, S. Y. Park, R. Suzuki, H. Aizaki, N. Ohtani, C. Sureau, T. Wakita, H. Osada, and K. Watashi, "Chemical array system, a platform to identify novel hepatitis B virus entry inhibitors targeting sodium taurocholate cotransporting polypeptide," Sci. Rep., vol. 9, e2769, 2018.
- M. Iwamoto, D. Cai, M. Sugiyama, R. Suzuki, H. Aizaki, A. Ryo, <u>N. Ohtani</u>, Y. Tanaka, M. Mizokami, T. Wakita, H. Guo, and K. Watashi, "Functional association of cellular microtubules with viral capsid assembly supports efficient hepatitis B virus replication," Sci. Rep., vol. 6, e10620, 2017.
- T. M. Loo, F. Kamachi, Y. Watanabe, S. Yoshimoto, H. Kanda, Y. Arai, Y. Nakajima–Takagi, A. Iwama, T. Koga, Y. Sugimoto, T. Ozawa, M. Nakamura, M. Kumagai, K. Watashi, W. W. Taketo, T. Aoki, S. Narumiya, M. Oshima, M. Arita, E. Hara, and <u>N. Ohtani</u>, "Gut microbiota promotes obesity–associated liver cancer through PGE2–mediated suppression of antitumor immunity," Cancer Discovery, vol. 7, pp. 522–538, 2017.
- S. Watanabe, S. Kawamoto, N. <u>Ohtani</u>, and E. Hara, "Impact of senescence-associated secretory phenotype and its potential as a therapeutic target for senescence-associated diseases," Cancer Sci., vol. 108, pp. 563–569, 2017.
- S. Sato, Y. Kawamata, A. Takahashi, Y. Imai, A. Hanyu, A. Okuma, M. Takasugi, K. Yamakoshi, H. Sorimachi, H. Kanda, Y. Ishikawa, S. Sone, Y. Nishioka, <u>N. Ohtani</u>, and E. Hara, "Ablation of the p16INK4a tumour suppressor reverses ageing phenotypes of klotho mice," Nature Commun, vol. 6, e7035, 2015.
- 12. N. Ohtani, "Microbiome and cancer," Semin Immunopathol, vol. 37, pp. 65–72, 2015.
- K. Yamakoshi, S. Katano, M. Iida, H. Kimura, A. Okuma, M. Ikemoto–Uezumi, <u>N. Ohtani</u>, E. Hara, and M. Maruyama, "Dysregulation of the Bmi–1/p16<sup>hk4a</sup> pathway provokes an aging–associated decrease in submandibular gland function," Aging Cell, vol. 14, pp. 616–624 ,2015.
- 14. <u>大谷直子</u>, "肥満誘導性肝癌の微小環境における脂質代謝物を標的とした治療戦略," 医学の あゆみ, vol. 271, pp. 803-807, 2019.
- 15. <u>大谷直子</u>, "肝癌微小環境における肝星細胞の細胞老化随伴分泌現象と癌促進機構," 肝・ 胆・膵, vol. 79, pp. 831-836, 2019.
- 16. <u>大谷直子</u>, "腸肝循環を介した胆汁酸による肝癌の進展機構," 肝・胆・膵, vol. 77. pp. 41-46, 2018.
- 17. <u>大谷直子</u>, "抗腫瘍免疫抑制による肥満関連肝がんの促進機構と分子標的," がん分子標的治療, vol. 16, pp. 154–157, 2018.
- 18. <u>大谷直子</u>, "細胞老化随伴分泌現象とがん微小環境,"細胞(特集 がん微小環境), vol. 50, pp. 247-250, 2018.
- 19. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌と肥満関連がん,"臨床と研究, vol. 95, pp. 187-192, 2017.
- 20. <u>大谷直子</u>, "細胞老化随伴分泌現象(SASP)の分子メカニズム,"内分泌・糖尿病・代謝内科, vol. 46, pp. 26-31, 2018.
- 21. <u>大谷直子</u>, "腸肝軸を介する腸内細菌関連物質の肝癌促進作用 癌微小環境における肝星細胞の細胞老化," 肝・胆・膵, vol. 76, pp. 713-718, 2018.
- 22. 河本新平, <u>大谷直子</u>, <u>原英二</u>, "腸内細菌と細胞老化による発がん促進機構,"実験医学, vol. 35, pp. 3363-3368, 2017.
- 23. <u>大谷直子</u>, "細胞老化と SASP の生体における役割," アンチエイジング医学, vol. 13, pp. 479-485, 2017.
- 24. 大谷直子, "肥満とがん: 腸内細菌の関与について," 生体の科学, vol. 68, pp. 118-122, 2017.
- 25. <u>大谷直子</u>, "がん微小環境における SASP の役割," CLINICAL CALCIUM, vol. 27, pp. 835–843, 2017.
- 26. <u>大谷直子</u>, "腸内フローラとがん,"ファルマシア, vol. 53, pp. 1069-1072, 2017.
- 27. 羅智文, <u>大谷直子</u>, "腸内細菌由来の代謝物と発がん—TLR2 シグナルを介した COX-2 経路の 活性化による肥満誘導性肝がんの進展,"実験医学, vol. 35, pp. 142-147, 2017.
- 28. <u>大谷直子</u>, "がん微小環境における SASP の役割," Clinical Calcium, vol. 27, pp. 835-843, 2017.
- 29. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌と消化器がん," Medical Science Digest, vo. 43, pp. 187-190, 2017.
- 30. 大谷直子, "発癌とマイクロバイオーム," The Lung perspective, vol. 25, pp. 148-152, 2017.
- 31. 大谷直子, "腸内細菌と肝発がん,"最新医学, vol. 71, pp. 1822-1828, 2016.
- 32. <u>大谷直子</u>, 原英二, "腸内細菌による栄養成分の代謝物と宿主病態 発がん・がん予防との関連に着目して –,"実験医学, vol. 34, 2016.
- 33. 大谷直子, "肥満による肝がん促進機構と腸内細菌," Modern Media, vol. 62, pp. 208-212, 2016.
- 34. 佐藤正大, <u>大谷直子</u>, <u>原英二</u>, 西岡安彦, "がん抑制遺伝子による細胞と個体老化の制御," が ん分子標的治療, vol. 14, pp. 76-81, 2016.
- 35. <u>大谷直子</u>, "細胞老化と SASP に伴う慢性炎症と発がん," 別冊 Bio Clinica: 慢性炎症と疾患, vol. 5, pp. 37-42, 2016.
- 36. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌叢による肥満・肥満関連肝疾患・肝癌への作用," 臨床と微生物, vol. 42, pp. 69-73, 2015.

- 37. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌代謝物による細胞老化・SASPとがん化," 血管医学, vol. 16, pp. 25-31, 2015.
- 38. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌と発癌," Pharma Medica, vol. 33, pp. 49-53, 2015.
- 39. <u>大谷直子</u>, "SASPの生体内における役割~組織損傷修復とがん進展における微小環境に着目して~,"細胞工学, vol. 34, pp. 1130–1133, 2015.
- 40. <u>大谷直子</u>, "細胞老化の二面性~SASP による炎症と発がん促進~," 医学のあゆみ, vol. 253, pp. 753-759, 2015.
- 41. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌叢と肝臓がん,"細胞, vol. 47, pp. 21-24, 2015.
- 42. 高杉征樹, <u>大谷直子</u>, 原英二, "細胞老化シグナルとがん間質反応,"実験医学, vol. 33, pp. 765-769, 2015.

#### 梅澤 雅和

- S. Mitsunaga, <u>M. Umezawa</u>, K. Takeda, and S. Nakamura, "Maternal administration of nanomaterials elicits hemoglobin upregulation in the neonatal brain of non-human primates," Journal of Toxicological Sciences, vol. 41, pp. 265–271, 2016.
- S. Yokota, A. Sato, <u>M. Umezawa</u>, S. Oshio, and K. Takeda, "In utero exposure of mice to diesel exhaust particles affects spatial learning and memory with reduced N-methyl-D-aspartate receptor expression in the hippocampus of male offspring," Neurotoxicology, vol. 50, pp. 108–115, 2015.

#### 篠田 陽

- Y. Nakajima, H. Iguchi, S. Kamisuki, F. Sugawara, T. Furuichi, and <u>Y. Shinoda</u>, "Low doses of the mycotoxin citrinin protect cortical neurons against glutamate-induced excitotoxicity," J. Toxicol. Sci., vol. 41, pp. 311–319, 2016.
- W. Hosono, <u>Y. Shinoda</u>, T. Hirano, Y. Ishizaki, T. Furuichi, and T. Sadakata, "Interaction of Ca2+dependent activator protein for secretion 1 (CAPS1) with septin family proteins in mouse brain," Neurosci. Lett., vol. 617, pp. 232–235, 2016.
- Y. Mishima, <u>Y. Shinoda</u>, T. Sadakata, M. Kojima, S. Wakana and T. Furuichi, "Lack of stress responses to long-term effects of corticosterone in Caps2 knockout mice," Scientific Reports, vol. 5, 8932, 2015.

## 佐野 良威

- M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, <u>Y. Sano</u>, Y. Shinoda, T. Furuichi, and K. Kansaku, "Rubber tail illusion is weakened in Ca<sup>2+</sup>-dependent activator protein for secretion 2 (Caps2)-knockout mice," Sci. Rep., vol. 9, 7552, 2019.
- N. Oishi, M. Nomoto, N. Ohkawa, Y. Saitoh, <u>Y. Sano</u>, S. Tsujimura, H. Nishizono, M. Matsuo, S. Muramatsu and K. Inokuchi, "Artificial association of memory events by optogenetic stimulation of hippocampal CA3 cell ensembles," Molecular Brain, vol. 12, 2, 2019.
- 3. Y. Shinoda, T. Sadakata, K. Yagishita, E. Kinameri, R. Katoh Semba, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Aspects of excitatory/inhibitory synapses in multiple brain regions are correlated with levels of brain–derived neurotrophic factor/neurotrophin–3," Biochem Biophys Res Commun., vol. 509, pp. 429–434, 2019.
- 4. <u>佐野良威</u>, 阿部こなみ, 柴野奈津美, "Recruiting cell assembly into a given memory trace," The Cell, vol. 51, pp. 47–51, 2019.
- 5. <u>佐野良威</u>, 阿部こなみ, 柴野奈津美, "Recruiting cell assembly into a trace of taste-emotion memory," Agricultural Biotechnology, vol. 3(, pp. 60-64, 2019.
- L. Caracciolo, M. Marosi, J. Mazzitelli, S. Latifi, <u>Y. Sano</u>, L. Galvan, R. Kawaguchi, S. Holley, M. S. Levine, G. Coppola, C. Portera–Cailliau, A. J. Silva and S. T. Carmichael, "CREB controls cortical circuit plasticity and functional recovery after stroke," Nature Commun., vol. 9, 2250, 2018.
- 7. Y. Shinoda, T. Sadakata, T. Akagi, Y. Sakamaki, T. Hashikawa, Y. Sano, and T. Furuichi, "Calcium-

dependent activator protein for secretion 2 (CADPS2) deficiency causes abnormal synapse development in hippocampal mossy fiber terminals," Neuroscience Letters. vol. 677, pp. 65–71. 2018.

- K. Yagishita, R. Suzuki, S. Mizuno, R. Katoh-Semba, T. Sadakata, <u>Y. Sano</u>, T. Furuichi, and Y. Shinoda, "CAPS2 deficiency affects environmental enrichment-induced adult neurogenesis and differentiation/survival of newborn neurons in the hippocampal dentate gyrus," Neuroscience Letters, vol. 661, pp. 121–125, 2017.
- K. Hayashi, A. Furuya, Y. Sakamaki, T. Akagi, Y. Shinoda, T. Sadakata, T. Hashikawa, K. Shimizu, H. Minami, <u>Y. Sano</u>, M. Nakayama, and T. Furuichi, "The brain-specific RasGEF very-KIND is required for normal dendritic growth in cerebellar granule cells and proper motor coordination," PLoS One, vol. 12, e0173175, 2017.
- M. Zhou, S. Greenhill, S. Huang, T. K Silva, <u>Y. Sano</u>, S. Wu, Y. Cai, Y. Nagaoka, M. Sehgal, D. J Cai, Y– S. Lee, K. Fox, and A. J. Silva, "CCR5 is a suppressor for cortical plasticity and hippocampal learning and memory," eLIFE, vol. 5, e20985, 2016.
- F. Yoshikawa, Y. Sato, K. Tohyama, T. Akagi, T. Furuse, T. Sadakata, M. Tanaka, Y. Shinoda, T. Hashikawa, S. Itohara, <u>Y. Sano</u>, M. Said Ghandour, S. Wakana, and T. Furuichi, "Mammalian–Specific Central Myelin Protein Opalin Is Redundant for Normal Myelination: Structural and Behavioral Assessments," PLoS One, vol. 11, e0166732, 2016.
- T. Rogerson, B. Jayaprakash, D. J Cai, <u>Y. Sano</u>, Y–S Lee, Y. Zhou, P. Bekal, K. Deisseroth, and A. J Silva, "Molecular and Cellular Mechanisms for Trapping and Activating Emotional Memories," PLoS ONE, vol. 11, e0161655, 2016.
- Y. Shinoda, C. Ishii, Y. Fukazawa, T. Sadakata, Y. Ishii, <u>Y. Sano</u>, T. Iwasato, S. Itohara, and T. Furuichi, "CAPS1 stabilizes the state of readily releasable synaptic vesicles to fusion competence at CA3– CA1 synapses in adult hippocampus," Scientific Reports, vol. 6, 31540, 2016.
- D. J. Cai, D. Aharoni, T. Shuman, J. Shobe, J. Biane, W. Song, B. Wei, M. Veshkini, M. La-Vu, J. Lou, S. Flores, I. Kim, <u>Y. Sano</u>, M. Zhou, K. Baumgaerte, A. Lavi, M. Kamata, M. Tuszynski, M. Mayford, P. Golshani, and A. J. Silva, "A shared neural ensemble links distinct contextual memories encoded close in time," Nature, vol. 534, pp. 115–118, 2016.
- 15. <u>佐野良威</u>, 大川宜昭, 鈴木章円, 井ノ口馨, "記憶痕跡とメモリーアロケーション," 生体の科学, vol. 67, pp. 22-26, 2016.

## 上村 真生

- G. Yeroslavsky, K. Okubo, M. Umezawa, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, K. Miyata, K. Nomura, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Energy Transfer Between Rare Earth-doped Ceramic Nanoparticles for Gauging Strain and Temperature in Elastic Polymers," Journal of Photopolymer Science and Technology, 2020 (in press).
- D. T. K. Dung, M. Umezawa, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, K. Okubo, <u>M. Kamimura</u>, M. Yamaguchi, H. Fujii, and K. Soga, "Development of molecular imaging probe for dual NIR/MR imaging," Journal of Photopolymer Science and Technology, 2020 (in press).
- G. Yeroslavsky, M. Umezawa, K. Okubo, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, K. Miyata, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Stabilization of Indocyanine Green Dye in Polymeric Micelles for NIR–II Fluorescence Imaging and Cancer Treatment," Biomaterials Science, 2020 (in press).
- T. Chihara, M. Umezawa, K. Miyata, S. Sekiyama, N. Hosokawa, K. Okubo, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Biological Deep Temperature Imaging with Fluorescence Lifetime of Rare–Earth–Doped Ceramics Particles in the Second NIR Biological Window," Sci. Rep., vol. 9, 12806, 2019.
- K. Soga, <u>M. Kamimura</u>, K. Okubo, M. Umezawa, D. T. K. Dung, K. Nigoghossian, "Near Infrared Biomedical Imaging for Transparency," Journal of the Imaging Society of Japan, vol. 58, pp. 602– 616, 2019.

- S. Sekiyama, M. Umezawa, Y. Iizumi, T. Ube, T. Okazaki, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Delayed Increase in Near–Infrared Fluorescence in Cultured Murine Cancer Cells Labelled with Oxygen– Doped Single–Walled Carbon Nanotubes," Langmuir, vol. 35, pp. 831–837, 2019.
- M. Umezawa, S. Haruguchi, R. Fukushima, S. Sekiyama, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Rapid increase in transparency of biological organs by matching refractive index of media to cell membrane using phosphoric acid," RSC Advances, vol. 9, pp. 15269–15276, 2019.
- M. Kamimura, Y. Ueya, E. Takamoto, K. Iso, M. Yoshida, M. Umezawa, and K. Soga, "Fluorescent Polystyrene Latex Nanoparticles for NIR–II in vivo Imaging," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 31, pp. 93–96, 2019.
- G. Yeroslavsky, M. Umezawa, K. Okubo, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Photostabilization of Indocyanine Green Dye by Energy Transfer in Phospholipid-PEG Micelles," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 32, pp. 115–121, 2019.
- S. Sekiyama, M. Umezawa, S. Kuraoka, T. Ube, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Temperature Sensing of Deep Abdominal Region in Mice by Using Over–1000 nm Near–Infrared Luminescence of Rare– Earth–Doped NaYF4 Nanothermometer," Sci. Rep., vol. 8, 16979, 2018.
- Y.-C. Tsai, P. Vijayaraghavan, W.-H. Chiang, H.-H. Chen, T.-I. Liu, M.-Y. Shen, A. Omoto, <u>M. Kamimura</u>, K. Soga, and H.-C. Chiu, "Targeted Delivery of Functionalized Upconversion Nanoparticles for Externally Triggered Photothermal/Photodynamic Therapies of Brain Glioblastoma," Theranostics, vol. 8, 1435–1448, 2018.
- L. Wortmann, S. Suyari, T. Ube, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Tuning the thermal sensitivity of β NaYF4: Yb3+, Ho3+, Er3+ nanothermometers for optimal temperature sensing in OTN–NIR (NIR II/II) biological window," Journal of Luminescence, vol. 198, pp. 236–242, 2018.
- G. Yeroslavsky, <u>M. Kamimura</u>, R. Inoue, Y. Kogo, and K. Soga, "Visual Mapping of Strain in Elastic Silicone Polymers Using Fluorescence," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 31 pp. 533–540, 2018.
- 14. <u>上村真生</u>, "高分子複合化近赤外蛍光プローブによる in vivo イメージング,"高分子論文集, vol. 75, p. 468, 2018.
- 15. 曽我公平, 上村真生, "OTN 近赤外蛍光バイオイメージングシステムの開発," 生物物理, vol. 57, pp. 81-84, 2017.
- <u>M. Kamimura</u>, S. Takahiro, M. Yoshida, Y. Hashimoto, R. Fukushima, and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Biodegradable Polymer Nanoparticles for Deep Tissue in vivo Imaging in the Second Biological Window," Polymer Journal, vol. 49, pp. 799–803, 2017.
- M. Kamimura, Y. Yano, S. Kuraoka, S. Suyari, T. Ube, L. Wortmann, and K. Soga, "Near–Infrared to Visible Upconversion Emission Induced Photopolymerization: Polystyrene Shell Coated NaYF4 Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging and Nanothermometry," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 30, pp. 265–270, 2017.
- T. Chihara, S. Fujii, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Green Color Purity Control of Dual-Excitation Upconversion Display by Using Polymer/NaYF4:Er3+ Crystal Transparent Composite," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 30, pp. 437–443, 2017.
- <u>M. Kamimura</u>, A. Omoto, H.-C. Chiu, and K. Soga, "Enhanced Red Upconversion Emission of NaYF4: Yb3+, Er3+, Mn2+ Nanoparticles for Near–Infrared Induced Photodynamic Therapy and Fluorescence Imaging," Chemistry Letters, vol. 46, pp. 1076–1078, 2017.
- <u>M. Kamimura</u>, T. Matsumoto, S. Suyari, M. Umezawa, and K. Soga, "Ratiometric Near–Infrared Fluorescence Nanothermometry in the OTN–NIR (NIR II/III) Biological Window Based on Rare–Earth Doped β–NaYF4 Nanoparticles," Journal of Materials Chemistry B, vol. 5, pp. 1917–1925, 2017.

- M. Kamimura, R. Saito, H. Hyodo, K. Tsuji, I. O. Umeda, H. Fujii, and K. Soga, "Over-1000 nm Nearinfrared Fluorescence and SPECT/CT Dual-modal in vivo Imaging Based on Rare-earth Doped Ceramic Nanophosphors, Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 29, pp. 525–532, 2016.
- 22. 梅澤雅和, 新海雄介, 小野田淳人, 武田健, <u>上村真生</u>, 曽我公平, "動物体内におけるナノ粒子の未知なる動態メカニズムと検出技術改善のニーズ,"バイオイメージング, vol. 25, pp. 22–27, 2016.
- 23. 竹内司, 大谷敬亨, <u>上村真生</u>, "NIR-II波長域を用いたマウス in vivo 蛍光イメージングの可能性," バイオイメージング, vol. 25, pp. 11–15, 2016.
- 24. 曽我公平, <u>上村真生</u>,"第 2 の生体の窓における OTN (over 1000 nm) 蛍光バイオイメージング," JSMI Report, vol. 9, pp. 12-17, 2016.

## 北畑 信隆

- T. Kurusu, D. Mitsuka, C. Yagi, <u>N. Kitahata</u>, T. Tsutsui, T. Ueda, Y. Yamamoto, J. Negi, K. Iba, S. Betsuyaku, and K. Kuchitsu, "Involvement of S-type anion channels in disease resistance against an oomycete pathogen in Arabidopsis seedlings," Commun Integr Biol., vol. 11, pp. 1–6, 2018.
- (\* 62) T. Kurusu, T. Koyano, <u>N. Kitahata</u>, M. Kojima, S. Hanamata, H. Sakakibara, and K. Kuchitsu, <u>"Autophagy-mediated regulation of phytohormone metabolism during rice anther development,"</u> Plant Signal Behav., vol. 12, e1365211, 2017.
- (\* 63) K. Jiang, H. Shimotakahara, M. Luo, M. Otani, H. Nakamura, S. S. Moselhy, K. Abualnaja, Al-Malki AL, T. Kumosani, <u>N. Kitahata</u>, T. Nakano, M. Nakajima, and T. Asami, <u>"Chemical screening and</u> <u>development of novel gibberellin mimics,"</u> Bioorg. Med. Chem. Lett., vol. 27, pp. 3678–3682, 2017.

#### 大久保喬平

- G. Yeroslavsky, <u>K. Okubo</u>, M. Umezawa, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, K. Miyata, K. Nomura, M. Kamimura, and K. Soga, "Energy Transfer Between Rare Earth-doped Ceramic Nanoparticles for Gauging Strain and Temperature in Elastic Polymers," Journal of Photopolymer Science and Technology, 2020 (in press).
- D. T. K. Dung, M. Umezawa, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, M. Yamaguchi, H. Fujii, and K. Soga, "Development of molecular imaging probe for dual NIR/MR imaging," Journal of Photopolymer Science and Technology, 2020 (in press).
- G. Yeroslavsky, M. Umezawa, <u>K. Okubo</u>, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, K. Miyata, M. Kamimura, and K. Soga, "Stabilization of Indocyanine Green Dye in Polymeric Micelles for NIR–II Fluorescence Imaging and Cancer Treatment," Biomaterials Science, 2020 (in press).
- K. Soga, M. Kamimura, <u>K. Okubo</u>, M. Umezawa, D. T. K. Dung, K. Nigoghossian, "Near Infrared Biomedical Imaging for Transparency," Journal of the Imaging Society of Japan, vol. 58, pp. 602– 616, 2019.
- S. Yokota, H. Kuramochi, <u>K. Okubo</u>, A. Iwaya, S. Tsuchiya, and T. Ichiki, "Exosome nanoarray technology: Immobilization of individual exosomes on nanopatterned polyethylene glycol-lipid conjugate brushes," PLOS ONE, vol.14, e0224091, 2019.
- T. Chihara, M. Umezawa, K. Miyata, S. Sekiyama, N. Hosokawa, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, and K. Soga, "Biological Deep Temperature Imaging with Fluorescence Lifetime of Rare–Earth–Doped Ceramics Particles in the Second NIR Biological Window," Sci. Rep., vol. 9, 12806, 2019.
- G. Yeroslavsky, M. Umezawa, <u>K. Okubo</u>, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, M. Kamimura, and K. Soga, "Photostabilization of Indocyanine Green Dye by Energy Transfer in Phospholipid-PEG Micelles," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 32, pp. 115–121, 2019.
- 8. K. Ebihara, K. Uchiyamada, K. Asakawa, <u>K. Okubo</u>, and H. Suzuki, "Trimodal polymer waveguide interferometer for chemical sensing," Japanese Journal of Applied Physics, vol. 58, 062005, 2019.
- 9. K. Uchiyamada, K. Okubo, K. Asakawa, Y. Kamon, Y. Kitayama, T. Takeuchi, and H. Suzuki,

"Perforated bimodal interferometric biosensor for affinity sensing," Advanced Materials Technologies, vol. 4, 1800533, 2019.

- Y. Niimura, N. Oonishi, <u>K. Okubo</u>, Loan Le Thi Ngoc, and E. T. Carlen, "High-precision nanofabrication technology for metal nanoparticle ensembles using nanotemplate-guided thermal dewetting," Nanoscale, vol. 10, pp 14390–14394. 2018.
- K. Uchiyamada, <u>K. Okubo</u>, K. Asakawa, Y. Kamon, Y. Kitayama, T. Takeuchi, H. Suzuki, "Directional coupler biosensor with molecularly imprinted polymer," Sensors and Materials, vol. 30, pp 1009– 1017, 2018.

#### く図書>

## 【観察障害排除グループ】

#### 松永 幸大

- Y. Yoshida, Y. Sakamoto, K. Iwasaki, S. Maruyama, and S. <u>Matsunaga</u>, Chapter 14 "Double– Membrane–Bounded Organelles: Recent Findings Regarding Division, Inheritance, Structure, and Evolution of the Nucleus, Mitochondria, and Chloroplasts," in "*Cyanidioschyzon merolae*. A New Model Eukaryote for Cell and Organelle Biology," edited by T. Kuroiwa, S. Miyagishima, <u>S. Matsunaga</u>, N. Sato, H. Nozaki, K. Tanaka, and O. Misumi, Springer, pp. 205–233, 2018.
- Y. Sekiguchi, A. Kobayashi, Y. Takayama, M. Oide, A. Fukuda, T. Yamamoto, K. Okajima, T. Oroguchi, T. Hirakawa, Y. Inui, <u>S. Matsunaga</u>, M. Yamamoto, and M. Nakasako, Chapter 10 "Coherent X-ray Diffraction Imaging of *Cyanidioschyzon merolae*," in "*Cyanidioschyzon merolae*. A New Model Eukaryote for Cell and Organelle Biology," edited by T. Kuroiwa, S. Miyagishima, <u>S. Matsunaga</u>, N. Sato, H. Nozaki, K. Tanaka, and O. Misumi, Springer, pp.153–173, 2018.
- T. Sakamoto, Y. Sakamoto, and S. <u>Matsunaga</u>, "Cell division and cell growth" in "Molecular Cell Biology of the Growth and Differentiation of Plant Cells,"edited by Ray Rose. CRC press (Florida, USA), pp. 86–98, 2016.

# 【多次元情報可視化グループ】

## 青木 伸

- E. Kimura, T. Koike, and <u>S. Aoki</u>, "Evolution of ZnII–Macrocyclic Polyamines to Biological Probes and Supramolecular Assembly Elements," in Macrocyclic and Supramolecular Chemistry: How Izatt– Christensen Award Winners Shaped the Field, (Reed M. Izatt, Ed., John Wiley & Sons, 2016) pp 417– 445, 2016.
- 2. <u>青木伸</u>(共訳), "生物無機化学"R. R. Crichton 著, 塩谷光彦監訳, 東京化学同人, 2016, pp 175-188 (2016 年 3 月 29 日), ISBN: 978-4-8079-0887-5.
- 3. <u>青木伸</u>, スタンダード薬学シリーズ II 3"化学系薬学 II. 生体分子・医薬品の化学による理解"日本薬学会編, 東京化学同人, 2016, pp 26-50 (2016 年 3 月 26 日), ISBN: 978-4-8079-1706-8,
- 4. <u>青木伸</u>,"フロンティア生物無機化学"(錯体化学会フロンティア選書) 錯体化学会編, 三共出版, 2016, pp/364-397 (2016 年 12 月 1 日). ISBN: 978-4-7827-0756-2 C3043.
- 5. <u>青木伸</u>,"知っておきたい有機反応 100 第 2 版"日本薬学会編, 東京化学同人, 2019, pp 190-199 (2019 年 3 月 26 日). ISBN: 978-4-8079-0960-5.

## 由井宏冶·伴野元洋

1. <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "高分子赤外・ラマン分光法," 講談社, pp. 118-145, 2015.

## 【応用展開グループ】

## 曾我公平、上村真生

1. <u>曽我公平</u>, <u>上村真生</u>, "近赤外蛍光イメージングプローブ," 実験医学 増刊 生きてるものは全

部観る! イメージングの選び方・使い方 100+(原田慶恵, 永井健治編), vol. 36, pp. 178-179, 2018.

## 後飯塚 僚

- 1. 小田朗永, <u>後飯塚僚</u>, "成体脾臓における髄外造血ニッチとその構成要素," 医学のあゆみ, vol. 264, pp. 258-259, 2018.
- 2. 後飯塚僚, "間葉系ストローマ細胞による造血制御とその応用,"家畜感染症学会誌, vol.5, 2016.
- 3. <u>後飯塚僚</u> (共著分担),"獣医臨床のための免疫学,"学窓社, 2016 年 7 月 27 日.

## 朽津 和幸

- M. Ishikawa, H. Yamazaki, T. Kishimoto, H. Murakawa, T. Stait-Gardner, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Survival Strategies in Extreme Cold and Desiccation, Ice Nucleation Activity in Plants: The Distribution, Characterization, and Their Roles in Cold Hardiness Mechanisms," William S. Price, pp 99–115, 2018,
- L. テイツ, E. ザイガー, I. M. モーラー, A. マーフィー編 西谷和彦/島崎研一郎監訳, <u>朽津和幸</u>他 訳, "テイツ/ザイガー植物生理学・発生学 原著第6版,"講談社, 全832ページ, 2017.
- 3. 浅見忠男, 柿本辰男編著, <u>朽津和幸</u>他著,"植物ホルモンの科学第3版,"講談社, 全192ページ, 2016.
- 4. <u>朽津和幸</u>他著,"植物学の百科事典,"日本植物学会編 日本育種学会編集協力 丸善出版, 全 802 ページ, 2016.
- T. Kurusu, T. Higaki, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Programmed cell death in plant immunity: Cellular reorganization, signaling and cell cycle dependence in cultured cells as a model system," in Plant Programmed Cell Death, Springer, pp. 77–96, 2015.

## 大谷 直子

 <u>N. Ohtani</u>, "Cellular Senescence as a Novel Mechanism of Chronic Inflammation and Cancer Progression,"in Chronic Inflammation, edited by Msayuki Miyasaka and Kiyoshi Takatsu, Springer, 2016.

## 佐野 良威

- 1. <u>佐野良威</u>, "リアルタイムイメージングと活動操作からひもとく認知の神経基盤,"理大科学フォーラム, vol. 34, pp. 8–11, 2017.
- 2. <u>佐野良威</u>, 大川宜昭, 鈴木章円, 井ノロ馨, "記憶痕跡とメモリーアロケーション," 生体の科学, vol. 67, pp. 22-26, 2016.

<学会発表>

# 【観察障害排除グループ】

# 松永幸大

招待講演

- 1. <u>松永幸大</u>, "蛍光ライブイメージングと超解像顕微鏡による生命動態学研究の最先端,"第 29 回 日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 千葉, 2016 年 1 月.
- 2. <u>S. Matsunaga</u>, "Studies of dynamic chromatin in plants," 第 53 回日本生物物理学会年会, 金 沢, 2015 年 9 月.
- 3. <u>S. Matsunaga</u>, "Centromere distribution by the two-step regulation through a sub-nuclear complex," EMBO Workshop "Plant Genome Stability and Change", Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany, June 4, 2018.
- 4. <u>S. Matsunaga</u>, "Live cell imaging of histone modification in plant cells," SEB Florence 2018, Firenze Fiera Congress and Exhibition Centre, Florence, Italy, July 5, 2018.
- 5. <u>S. Matsunaga</u>, "Recent advances in the research on plant nuclear dynamics," 2<sup>nd</sup> International Symposium on Nuclear Dynamics in Plants (supported by JSPS and MEXT), Noda, Chiba, Japan,

Sep. 18, 2018.

# 石黒 孝

## 招待講演

 <u>石黒孝</u>, "水中反応 その場観察," 平成 29 年度第一回過熱水蒸気新技術研究会, 大阪, 2017 年 6 月 13 日.

国際会議

- T. Nishi, S. Hasegawa, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "Reaction Acceleration of Nanoporous High Purity Pd Film Formation by Dealloying of Al–Pd–N Film in pH–Controlled EDTA Solution," 2019 MRS Fall Meetings & Exhibit, Boston, Massachusetts, USA, Dec. 1–6, 2019.
- T. Nishi, A. Kawamoto, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "Formation of high purity nanoporous Pd film by dealloying using pH controlled organic acid chelate solution," 6th Nano Today Conference, Altis Grand Hotel (Lisbon, Portugal), Jun. 16–20, 2019.
- T. Ube, A. Kawamoto, T. Nishi, and <u>T. Ishiguro</u>, "Fabrication and Morphological Control of Palladium Film with Three-dimensional Nano-network Structure as a Hydrogen Gas Sensing Material by Organic Acid Chelation," 2018 MRS Fall Meetings & Exhibit, Boston, Massachusetts, USA, Nov.25– 30, 2018.
- T. Nishi, A. Kawamoto, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "Formation of nano-porous Palladium film for hydrogen sensing device by dealloying process using organic acid," 16th International Symposium on Metal-Hydrogen Systems (MH2018), Guangzhou, China, Crowne Plaza Guangzhou Science City, Oot. 28–Nov. 2, 2018.
- T. Ishiguro, T. Ube, and Y. Kurokawa, "Development of Sequential Transmission Infrared Spectroscopic Microscope Incorporating Microreactor," 19th Internataional Microscopy Conference 2018, Internataional Convention Center, Sydney, Australia, Sep.9–14, 2018.
- T. Ube, A. Kawamoto, T. Harumoto, and <u>T. Ishiguro</u>, "Acceleration of dealloying reaction of Pd–Al– N films using pH controlled citric acid chelate solution and formation of nanoporous Pd–Al films," 5th Nano Today Conference, the Waikoloa Beach Marriot Resort in Kona, Kana, Hawaii, U.S.A., Dec. 6–10, 2017.
- A. Ohwada, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "pH Dependence of Transmission Infrared Spectrum of ATP Aqueous Solution," Europian Conference on the Spectroscopy of Biological Molecules 2017, Amsterdam, Netherlands, Sep.11–14, 2017.
- <u>T. Ishiguro</u>, T. Ube, and Y. Yoneyama, "Development of in situ transmission infrared microscopy system and its application to observation of living cell," Microscopy Conference 2017, Lausanne, Switzerland, Aug. 21–25, 2017.
- T. Ube and <u>T. Ishiguro</u>, "Application of transmission infrared spectroscopy to living cells and biomaterials evaluation in aqueous solution," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika, Tokyo, July 8–9, 2017.
- K. Masukawa, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "Transmission FT-IR spectroscopy of DPPC membrane modified by using ScaleA2," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika, Tokyo, July 8–9, 2017.
- H. Ai, N. Moriya, T. Ube, T. Harumoto, Y. Arai, K. Murata and <u>T. Ishiguro</u>, "In-situ TEM observation of rock salt crystal precipitation in liposome," 2015 MRS Fall Meetings & Exhibit, Boston, USA. Nov. 29–Dec. 4, 2015.
- T. Harumoto, Y. Tamura, and <u>T. Ishiguro</u>, "HAADF-STEM Observation of Nanoporous Palladiumaluminium Film Fabricated by Hot-water Treatment, "Microscopy Conference 2015, Goettingen, Germany, Sep. 6–11, 2015.

- 14. 黒川雄太, 石黒孝, 宇部卓司, 谷口潤, 鐘愷楽, "入射光・試料透過光の同時計測・透過赤 外分光顕微鏡システムの開発," 2019 年日本金属学会春期大会, 東京電機大学(東京千住キ ャンパス), 2019 年 3 月 20-22 日.
- 西智也,河本明純,宇部卓司,<u>石黒孝</u>,"有機酸を用いた脱合金法によるナノ多孔質 Pd 膜形成," 2019 年第 66 回応用物理学会春季学術講演会,東京工業大学,大岡山キャンパス, 2019 年 3 月 9-12 日.
- 宇部卓司,西智也,河本明純,<u>石黒孝</u>,"有機酸を用いた Pd-Al 合金薄膜の脱合金プロセスによる多孔質 Pd 膜形成と評価,"2018 年日本金属学会秋期大会,東北大学,2018 年 9 月 19-21 日.
- 宇部卓司,河本明純, 石黒孝, "有機酸を用いた脱合金反応による3D ナノポーラスパラジウム膜の形態制御と特性評価," 2018 年日本金属学会春期大会, 千葉工業大学(新習志野キャンパス), 2018 年 3 月 19-21 日.
- 片山映, 栗原佐知子, 鈴木英紀, 小黒辰夫, 宇部卓司, 石黒孝, 折茂英生, "Analysis of protein composition of matrix vesicles, isolated from human osteoblast like SaOS-2 cells, and in vitro mineralization, 骨芽細胞様細胞株 SaOS-2 より抽出した基質小胞の構成タンパク質と石灰 化機構の解析," 2017 年度生命科学系合同年次大会(第 40 回 MBSJ 日本分子生物学会年 会, 第 90 回日本生化学大会), 神戸, 2017 年 12 月 6-9 日.
- 19. <u>石黒孝</u>, "水中反応 その場観察", 平成 29 年度 第一回過熱水蒸気新技術研究会, 大阪科 学技術センター, 2017 年 6 月 13 日
- 20. 宇部卓司, 米山靖子, 石黒孝, "透過赤外分光顕微鏡による細胞代謝その場観察,"日本顕微鏡学会 第73回学術講演会, 札幌・札幌コンベンションセンター, 2017年5月30日-6月1日.
- 石寺瑛彦,河本明純,宇部卓司,<u>石黒孝</u>, "Pd-AI-N スパッタ膜のクエン酸水熱反応による膜改 質制御," 2017年日本金属学会春期大会,首都大学東京(南大沢キャンパス),2017年3月15-17日.
- 22. 堀田裕平, 宇部卓司, <u>石黒孝</u>, "Cu 膜の水熱反応中の溶存酸素濃度制御による膜酸化促進,"
  2016年日本金属学会秋期(第159回)大会, 東京理科大学(葛飾キャンパス), 2016年9月21-23日.
- 23. <u>石黒孝</u>, 宇部卓司, "水中での赤外分光その場観察," イノベーション・ジャパン 2016, 東京, 2016 年 8 月 25-26 日.
- 24. 村田佳那恵, 石黒孝, 春本高志, "Cu 薄膜の水熱反応改質プロセスにおける溶存酸素の影響," 2016年日本金属学会春期大会, 東京理科大学(葛飾キャンパス), 2016年3月23-25日.

## 須田 亮

#### 国際会議

- N. Sakata, S. Maesako, N. Kamiyama, K. Iwata, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Dynamics of Triplet/Dark States of Fluorescent Molecules in the Photobleaching Process," ALPS 2017, Yokohama, Japan, Apr. 18 – Apr. 21, 2017.
- S. Honda, S. Maesako, N. Kamiyama, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Adaptive Control for Reducing Photobleaching in Two-photon Excited Fluorescence," ALPS 2017, Yokohama, Japan, Apr. 18 – Apr. 21, 2017.
- S. Honda, S. Maesako, N. Kamiyama and <u>A. Suda</u>, "Adaptive control of two-photon excited fluorescence and photobleaching," ISIF 2017, Katsushika, Tokyo, July 8–9, 2017.
- 4. N. Sakata, S. Maesako and <u>A. Suda</u>, "Analysis of triplet/dark state dynamics of fluorescent molecules in photobleaching process," ISIF 2017, Katsushika, Tokyo, July 8–9, 2017.
- 5. (\* 64) R. Kumar and <u>A. Suda</u>, <u>"Bespoke microscope using macrolens for wide-field nonlinear</u> imaging," ISIF 2017, Katsushika, Tokyo, July 8–9, 2017.

- 6. <u>A. Suda</u>, "Photobleaching properties of fluorescent proteins.," ISIF 2017, Katsushika, Tokyo, July 8–9, 2017.
- K. Takeuchi, M. Sugizawa, K. Tanaka, <u>A. Suda</u>, and T. Nakamura, "Optimization of biosensor and condition for FRET time-lapse imaging under two-photon excitation systems.," ISIF 2017, Katsushika, Tokyo, July 8–9, 2017.
- N. Sakata, S. Maesako, N. Kamiyama, N. Iwata, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Analysis of triplet/dark state dynamics of fluorescent molecules in the photobleaching process," CLEO–PR 2017, Singapore, July 31–Aug. 4, 2017.
- S. Honda, S. Maesako, N. Kamiyama, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Adaptive control for two-photon excited fluorescence and photobleaching with a two-dimensional SLM," CLEO-PR 2017, Singapore, July 31-Aug. 4, 2017.
- N. Kamiyama, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Control of Two-photon Excited Fluorescence and Photobleaching with Two-dimensional LCOS-SLM," ALPS 2016, Yokohama, Japan, May 17-20, 2016.
- 11. N. Kamiyama, Y. Sunairi, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Dark state dynamics of eGFP investigated by temporally-modulated excitation," The 76th fall meeting of JAPS and OSA joint symposium, Nagoya, Sep. 2015.
- N. Kamiyama, Y. Sunairi, K. Toda, H. Takahashi, and <u>A. Suda</u>, "Observing triplet state dynamics of fluorescent proteins by modulated excitation," ALPS 2015, Yokohama, April 22–25, 2015.
- N. Kamiyama, Y. Sunairi, K. Toda, H. Takahashi, and <u>A. Suda</u>, "Dark state dynamics of fluorescent proteins investigated by fluorescence transients," CLEO-PR 2015, Busan, Korea, Aug. 24-28, 2015.

- 14. 池谷有貴, 安藤宏樹, 古関竣之介, <u>須田亮</u>, "数サイクルパルスを用いた二光子励起顕微鏡による生体組織の深部観察," イメージングフロンティアセンターシンポジウム 2019, 野田, 2019 年 12 月 14 日.
- 15. 野尻摩依, 池谷有貴, <u>須田亮</u>, "蛍光タンパク質の電荷移動 ESA と再結合過程の過渡応答 解析," イメージングフロンティアセンターシンポジウム 2019, 野田, 2019 年 12 月 14 日.
- 16. <u>須田亮</u>, "超短光パルスの時空間位相を制御した二光子深部イメージング," イメージングフロン ティアセンターシンポジウム2019, 野田, 2019年12月14日
- 小林拓登, 矢野全一郎, <u>須田亮</u>, "時空間集光法を用いた二光子蛍光顕微鏡の構築と観察 深度の評価," イメージングフロンティアセンターシンポジウム 2019, 野田, 2019 年 12 月 14 日.
- 18. 矢野全一郎,山村健斗,<u>須田亮</u>, "光活性型蛍光タンパク質の二光子変換特性に関する研究," イメージングフロンティアセンターシンポジウム 2019,野田, 2019 年 12 月 14 日.
- 19. 杉澤元徳, 竹内公平, 田中響, 中村岳史, <u>須田亮</u>, "Green-Red蛍光タンパク質を用いた二光 子FRETイメージング条件の最適化,"レーザー学会学術講演会第39回年次大会, 高輪, 2019年 1月.
- 20. 本田成, 矢野全一郎, 池谷有貴, <u>須田亮</u>,"適応制御による蛍光タンパク質の光褪色の抑制," レーザー学会学術講演会第39回年次大会, 東海大学高輪校舎, 2019年1月12日-14日.
- 21. <u>須田亮</u>, "光パルスの時間・空間位相を操作した二光子蛍光イメージング," 2018イメージングフロン ティアセンターシンポジウム, 東京理科大学 野田キャンパス, 2018年12月15日.

- 22. 池谷有貴, 安藤宏樹, <u>須田亮</u>, "位相制御パルスを用いた二光子励起による深部イメージング,"
  2018イメージングフロンティアセンターシンポジウム, 東京理科大学 野田キャンパス, 2018年12月15日.
- 23. 本田成, 矢野全一郎, 池谷有貴, <u>須田亮</u>, "適応制御による蛍光タンパク質の光褪色抑制,"
  2018イメージングフロンティアセンターシンポジウム, 東京理科大学 野田キャンパス, 2018年12月15日.
- 24. 高橋達也, 甲斐田幸希, <u>須田亮</u>, "マクロレンズを用いた時空間集光による広視野二光子蛍光 イメージング," 2018イメージングフロンティアセンターシンポジウム, 東京理科大学 野田キャンパス, 2018年12月15日.
- 25. (\*65) 坂田のどか, 秋澤一史, 詫間恵, 神山直人, <u>須田亮</u>, "<u>蛍光タンパク質の光褪色過程に</u> <u>おける暗状態ダイナミクス</u>" 2018イメージングフロンティアセンターシンポジウム, 東京理科大学 野田 キャンパス, 2018年12月15日.
- 26. (\*66)坂田のどか,秋澤一史,詫間恵,神山直人,<u>須田亮</u>,"<u>蛍光タンパク質の光褪色過程に</u> <u>おける暗状態ダイナミクス</u>"第79回応用物理学会秋季学術講演会,名古屋国際会議場,2018 年9月19日-21日.
- 27. 杉澤元徳, 竹内公平, 田中響, <u>須田亮</u>, 中村岳史, "Green-Red蛍光タンパク質を用いた二光 子FRETイメージング条件の最適化,"第27回日本バイオイメージング学会学術集会, 産総研, つ くば, 2018年9月3日-4日.
- 28. 本田成, 池谷有貴, 下村俊太郎, 前迫啓志, <u>須田亮</u>,"反射型SLMを用いたフェムト秒レーザーの振幅・位相変調,"レーザー学会学術講演会第38回年次大会, 京都, 2018年1月.
- 29. (\*67) 坂田のどか, 詫間恵, 堀内柊冴, <u>須田亮</u>, "<u>1分子蛍光顕微鏡による蛍光タンパク質の光</u> 褪色過程の観察と制御,"レーザー学会学術講演会第38回年次大会, 京都, 2018年1月.
- 30. 前迫啓志, 杉澤元徳, <u>須田亮</u>, "波形整形された励起パルスを用いた二光子FRET観察," 第2 回イメージングフロンティアセンターシンポジウム, 野田, 2016年12月.
- 31. 坂田のどか,前迫啓志,神山直人,岩田興典,<u>須田亮</u>, "EGFPの光褪色過程における三重項/ 暗状態の過渡応答解析,"第2回イメージングフロンティアセンターシンポジウム,野田,2016年12 月.
- 32. 本田成, 前迫啓志, 神山直人, 戸田圭亮, <u>須田亮</u>, "二次元空間変調器を用いた二光子励起 蛍光及び光褪色の適応制御," 第2回イメージングフロンティアセンターシンポジウム, 野田, 2016年 12月.
- 33. 坂田のどか,前迫啓志,神山直人,岩田興典,<u>須田亮</u>,"蛍光分子の光褪色過程における三重 項/暗状態の過渡応答解析,"第64回応用物理学会春季学術講演会,横浜,2017年3月.
- 34. 本田成,前迫啓志,神山直人,戸田圭亮,<u>須田亮</u>, "2次元SLMを用いた2光子励起蛍光および光褪色の適応制御,"第64回応用物理学会春季学術講演会,横浜, 2017年3月.
- 35. 神山直人, 砂入允哉, 戸田圭亮, <u>須田亮</u>, "二光子励起に伴うeGFPの光褪色の定量的評価," 第24回日本バイオイメージング学会学術集会, 東京, 2015年9月.
- 36. 田中響, 安田さや香, <u>須田亮</u>, 中村岳史, "Green-Red FRETセンサー構築の試み," 第24回日 本バイオイメージング学会学術集会, 東京, 2015年9月.

## 坂本卓也

## 国際会議

1. <u>T. Sakamoto</u>, Y. Oko, N. Ito, Y. Sakamoto, S. Matsunaga, "Involvements of nuclear pore complex proteins in the regulation of spatial arrangement of chromatin domains in Arabidopsis," SEB conference on Imapct of chromatin domains on plant phenotypes, Madrid, Spain, Dec. 10, 2019.

# 【多次元情報可視化グループ】

# 中村岳史·七尾友久

#### 招待講演

- 1. <u>中村岳史</u>, "「神経軸索の再生」における基本問題,"東京理科大学医学研究シンポジウム,千葉,2016年5月.
- 2. <u>中村岳史</u>, "リソソーム分解経路を制御するマシナリーの働きを可視化する," Center for Development of Advanced Medicine for Dementia Seminer, 愛知, 2016 年 7 月.
- <u>T. Nakamura</u>, S. Morishita, S. Yasuda, N. Wada, and M. Fukuda, "Visually dissecting Rab switch in micropinocytosis," International Symposium for Imaging Frontier 2017, Katsushika, Tokyo, July 8– 9, 2017.

#### 国際会議

- S. Koinuma, T. Nanao, N. Wada, <u>T. Nakamura</u>, "cAMP-induced activation of PKA and p190B mediates down-regulation of plasmalemmal TC10 activity and neurite outgrowth," Society for Neuroscience 2016, San Diego, USA, Nov. 12–16, 2016.
- R. Negishi, S. Koinuma, N. Wada, and <u>T. Nakamura</u>, "Growth cones in 3D culture have different structural dynamics from those in 2D culture," International Symposium for Imaging Frontier 2017, Katsushika, Tokyo, July 8–9, 2017.
- S. Koinuma, K. Takeuchi, N. Wada, and <u>T. Nakamura</u>, "Visualization of a pathway from cAMP to TC10 inactivation during neurite outgrowth," International Symposium for Imaging Frontier 2017, Katsushika, Tokyo, July 8–9, 2017.
- S. Morishita, N. Wada, M. Fukuda, and <u>T. Nakamura</u>, "Mechanism of Rab5 activation/inactivation on EGF-induced macropinosome," International Symposium for Imaging Frontier 2017, Katsushika, Tokyo, July 8–9, 2017.
- K. Takeuchi, M. Sugizawa, K. Tanaka, A. Suda, and <u>T. Nakamura</u>, "Optimization of biosensor and condition for FRET timelapse imaging under two-photon excitation systems," International Symposium for Imaging Frontier 2017, Katsushika, Tokyo, July 8–9, 2017.

- 照井翔,石田彪馬,鯉沼真吾,和田直之,福田光則,<u>中村岳史</u>, "FRET センサーを用いた Rab11 のリサイクリング経路制御機構の検討,"第 24 回日本バイオイメージング学会学術集会,東 京,2016 年 9 月 26-28 日.
- 10. 森下宗,和田直之,<u>中村岳史</u>, "マクロピノソームでの Rab5 活性化 不活性化を制御するメカ ニズムの解析,"第 39 回日本分子生物学会年会,神戸,2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日.
- 11. S. Koinuma, T. Nanao, N. Wada, <u>T. Nakamura</u>, "cAMP-induced activation of PKA and p190B mediates down-regulation of plasmalemmal TC10 activity and neurite outgrowth," 第 39 回日本 神経科学大会,横浜, 2016 年 7 月 20-22 日.
- 12. 照井翔,石田彪馬, 鯉沼真吾,和田直之,福田光則,中村岳史, "FRET センサーを用いた Rab11 のリサイクリング経路制御機構の検討,"第 24 回日本バイオイメージング学会学術集会,東 京, 2016 年 9 月 26-28 日.
- 13. 森下宗,和田直之,<u>中村岳史</u>, "マクロピノソームでの Rab5 活性化 不活性化を制御するメカ ニズムの解析,"第 39 回日本分子生物学会年会,神戸, 2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日.
- 14. R. Negishi, S. Koinuma, N. Wada, and <u>T. Nakamura</u>, "Growth cones in 3D culture have different structural dynamics from those in 2D culture," 第 60 回日本神経化学大会, 仙台, 2017 年 9 月 7–9 日.
- 15. (\*68) 竹内公平, 杉澤元徳, 田中響, 須田亮, <u>中村岳史</u>, <u>"Optimization of biosensor and condition for FRET timelapse imaging under two-photon excitation systems,</u>" 日本バイオイメージ ング学会第 25 回学術集会, 東京, 2017 年 9 月 16-17 日.
- 16. 森下宗,和田直之,福田光則,<u>中村岳史</u>, "活性イメージングによるマクロピノサイトーシスでの Rab5の活性制御の解析,"第40回日本分子生物学会年会・第90回日本生化学会大会,神

- 戸,2017年12月6-9日.
- 17. 鯉沼真吾,野村理子,小島拓哉,根岸亮太,竹内公平,瀬木(西田)恵里,後飯塚僚,古市 貞一,岩倉洋一郎,和田直之,高橋直樹,郡山恵樹,木山博資,<u>中村岳史</u>,"膜輸送を介し て突起伸展を促進する Rho ファミリーG タンパク質 TC10 は末梢神経の軸索再生に働く、"第40回 日本分子生物学会年会・第90回日本生化学会大会,神戸,2017年12月6-9日.
- S. Koinuma, R. Negishi, R. Nomura, K. Takeuchi, T. Kojima, E. Nishida-Segi, R. Goitsuka, Y. Iwakura, N. Wada, S. Kiryu-Seo, N. Takahashi, Y. Koriyama, H. Kiyama, and <u>T. Nakamura</u>, "Ablation of TC10, a Rho-family member which promotes in vitro neurite out growth through membrane transport, shows a clear decrease in axon regeneration," 第 41 回日本神経科学大会, 神戸, 2018 年 7 月 26–29 日.
- 19. (\*69) 杉澤元徳, 竹内公平, 田中響, 須田亮, <u>中村岳史</u>, <u>"Green-Red 蛍光タンパウ質を用いた二光子 FRET イメージング条件の最適化</u>," 第 27 回日本バイオイメージング学会学術集会, 筑波, 2018 年 9 月 2-4 日.
- 松井真優,照井翔,金光(藤田)明音,中村岳史,"円順列変異体の組合せにより Rab11 センサーのダイナミックレンジの拡大を図る,"第 27 回日本バイオイメージング学会学術集会,筑波, 2018年9月2-4日.
- 21. 根岸亮太, 鯉沼真吾, 和田直之, 作村諭一, <u>中村岳史</u>, "三次元環境下での成長円錐の形 態変化は二次元環境下での成長円錐とは異なる,"第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜, 2018 年 11 月 28-30 日.
- 22. 野村理子, 鯉沼真吾, 根岸亮太, 竹内公平, 小島拓哉, 竹村裕, 瀬木(西田)恵里, 後飯塚 僚, 岩倉洋一郎, 和田直之, 高橋直樹, 郡山恵樹, 桐生(瀬尾)寿美子, 木山博資, <u>中村岳</u> 史, "膜輸送を介して突起伸展を促進する Rho ファミリーG タンパワ質 TC10 は末梢神経と中枢神 経の軸索再生に働く,"第 41 回日本分子生物学会年会, 横浜, 2018 年 11 月 28-30 日.
- 23. (\*70) 杉澤元徳, 竹内公平, 田中響, 須田亮, <u>中村岳史</u>, <u>"Green-Red 蛍光タンパク質を用い</u> <u>た二光子 FRET イメージング</u>"レーザー学会学術講演会第 39 回年次大会, 東京, 2019 年 1 月 12-14 日.

#### 青木 伸

## 招待講演

- <u>S. Aoki</u>, S. Itoh, M. Yasuda, S. Sonoike, and T. Tokunaga, "Design and Synthesis of Chiral Zn<sup>2+</sup> Complexes Inspired by Natural Aldolases for Catalytic Asymmetric Aldol Reactions," 4th International Symposium on Energy Challenges and Mechanics-working on small scales- (ECM4), Aberdeen, Scotland, Aug. 11–13, 2015.
- <u>S. Aoki</u>, "Design and Synthesis of Luminescent Cyclometalated Iridium (III) Complexes for Material and Biomedical Science," 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACICHEM2015), Honolulu, Hawaii, USA, Dec. 15–20, 2015.
- <u>S. Aoki</u>, "Development of Biological Tools Based on Finding of the Decomposition Reactions Decomposition Reaction is not Useless–" 4th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2016 (iPoPS2016), Noda, Japan, Feb. 27–28, 2016.
- Y. Hisamatsu, A. Shibuya, N. Suzuki, H. Tanaka, A.–A. Masum, and <u>S. Aoki, "Design and Synthesis</u> of *C*<sub>3</sub>–symmetric and Luminescent Tris–cyclometalated Iridium (III) Complexes Having Biologically Active Peptides," 4th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2016 (iPoPS2016), Noda, Japan, Feb. 27–28, 2016.
- T. Tanaka, Y. Nishiura, R. Araki, T. Saido, R. Abe, and <u>S. Aoki</u>, "Finding of deboronation reaction of ortho-carborane derivatives catalyzed by metal ions and its application to <sup>11</sup>B NMR probes," 4th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2016 (iPoPS2016), Noda, Japan, Feb. 27–28, 2016.

- S. Kumar, Y. Hisamatsu, and <u>S. Aoki</u>, "Design and synthesis of heteroleptic cyclometalated iridium(III) complexes that exhibit unusual dual color phosphorescenc," 4th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2016 (iPoPS2016), Noda, Japan, Feb. 27–28, 2016.
- 7. <u>青木 伸</u>, "がん早期発見と再発リスク低減のための理科大異分野連携研究の挑戦," TUS フォー ラム 2016, 東京, 2016 年 10 月 31 日.
- 8. <u>S. Aoki</u>, "Drug Development for Radiation Therapy of Cancer," 2016 International Biomedical Interface Symposium (2016IBMI), Taipei, Taiwan, Mar. 4–5, 2016.
- <u>S. Aoki</u>, "Development of Convenient and Efficient Methods for Detection and Collection of Anomalous Cells from Blood," 2017 International Biomedical Interface Symposium (2017ISBM), Taipei, Taiwan, Mar. 4–5, 2017.
- <u>S. Aoki</u>, "Findings of Selective Reactions and Assembly of Metal Complexes and Their Application to Biological and Material Sciences," Joint Seminar of Academia Sinica and the Institute of Chemistry, Taipei, Taiwan, Mar. 6, 2017.
- S. Aoki, "Development of New Methods for Diagnosis and Treatment of Cancer in Chemistry, Biochemistry and Material Sciences – Multidisciplinary Approach in Tokyo University of Science –," 5th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2017 (iPoPS2017), Puncak Alam, Malaysia, May 17–18, 2017.
- 12. <u>S. Aoki</u>, "Development of Functionalized Iridium Complexes for Biological and Material Sciences," 6th Asian Conference on Coordination Chemistry (ACCC6), Melbourne, Australia, July 23–28, 2017.
- S. Aoki, B. Shashni, H. Matsuura, K. Nomura, T. Maeda, S. Shiina, K. Akimoto, H. Takemura, A. Yasumori, N. Aikawa, T. Ohsaki, and N. Itoh, "Convenient Methods for Detection and Capture of Circulating Tumor Cells," 9th AFMC International Medicinal and Chemical Symposium (AIMEC2017), Melbourne, Australia, July 23–28, 2017.
- <u>S. Aoki</u>, "Design and Synthesis of Diverse Supramolecular Hosts and Catalysts by Assembly of Metal Complex Modules, Organic Building Blocks and Metals," Pure and Applied Chemistry International Conference 2018 (PACCON2018), Hat-Yai, Songkhla, Thailand, Feb. 7–9, 2018.
- 15. <u>青木 伸</u>, "異分野連携研究による血液中のがん細胞の検出・捕捉・培養・細胞死誘導法の開発,"昭和薬科大学私立大学戦略的研究基盤形成支援事業公開シンポジウム,昭和薬科大学,東京, 2018 年 2 月 25 日.
- S. Aoki, B. Shashni, H. Matsuura, K. Nomura, T. Maeda, S. Shiina, K. Akimoto, H. Takemura, A. Yasumori, N. Aikawa, T. Ohsaki, and N. Itoh, "Molecular and Material Approach to Cancer Theranostics," 2018International Biomedical Interface Symposium (2018IBMI), Naha, Okinawa, Mar. 10–11, 2018.
- 17. <u>S. Aoki</u>, "Development of Functionalized Iridium Complexes for Biological and Material Sciences," 6th Asian Conference on Coordination Chemistry (ICCC2018), Sendai, Japan, July 31–Aug. 4, 2018.
- <u>S. Aoki</u>, "Recent Development of Zinc Chemistry –Zinc Supramolecular Chemistry and Znpromoted Reactions–," 6th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2018 (iPoPS2018), Kuala Lumpur, Malaysia, Aug. 15–16, 2018.
- <u>S. Aoki</u>, B. Shashni, K. Akimoto, M. Hayase, H. Takemura, A. Yasumori, N. Aikawa, M. Kubo, and M. Motosuke, "Development of New Methods for Cancer Theranostics in Interdisciplinary Collaboration of Tokyo University of Science," International Symposium of Tokyo University of Science, Translational Research (TR) Center –Frontiers in Developmental Strategy for Cancdr Therapeutics–, Tokyo, Oct. 20, 2018.
- 20. <u>S. Aoki</u>, A. B. Rahman, H. Imafuku, Y. Miyazawa, Y. Kobayashi, and Y. Saga, "Development of Supramolecular Complexes by Combinatorial Assembly of Functionalized Zinc (II) Complexes, Building Blocks and Metals," International Congress on Pure & Applied Chemistry Langkawi (ICPAC

Langkawi 2018), Langkawi, Malaysia, Oct. 30-Nov. 2, 2018.

- S. Aoki, K. Yokoi, K. Naito, A.-A. Masum, A. Kazama, Y. Imai, and J. Yuasa, "Photophysical and Biological Activity of Cyclometalated Iridium (III) Complex-Peptide Conjugates Synthesized by Post-Complexation Functionalization," 9th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC9), Singapore, Dec. 9–14, 2018.
- S. Aoki, "Development of New Boron Compounds for Biomedical Sciences by Means of Traditional Reactions of Sugar Derivatives," 2019 International Biomedical Interface Symposium (2019IBMI), Hsinchu, Taiwan, Mar. 9–10, 2019.
- 23. <u>S. Aoki</u>, "Design and Synthesis of Cyclometalated Iridium (III) Complexes Based on Post-Complexation Functionalization for Photochemistry and Chemical Biology," Invited Lecture at National Tsing Hua University, Hsinchu, Taiwan, Mar. 11, 2019.
- 24. <u>S. Aoki</u>, B. Shashni, S. Ariyasu, H. Takemura, K. Akimoto, N. Aikawa, K. Iwasaki, T. Nakanishi, A. Yasumori, T. Osaki, and N. Itoh, "Development of New Methods for the Detection, Isolation, Growth, and Re–collection of Cancer Cells in Blood Based on Size–discrimination of Cancer Cells and Normal Cells," International e–Conference on Cancer Research 2019 (e–ICCR 2019), London, May 9–10, 2019.
- 25. <u>S. Aoki</u>, "Design and Synthesis of Cyclometalated Iridium (III) Complex–Hybrids for the Induction of Cancer Cell Death," The 9th World Congress on Chemistry and Medicinal Chemistry, Praque, Czech Republic, May 13–14, 2019.
- S. Aoki, Y. Tamura, H. Ohwada, K. Yokoi, K. Naito, A. Kazama, S. Shimizu, and C. Balachandran, "Photophysical and Biological Activity of New Cyclometalated Iridium (III) Complexes Synthesized by Post-Complexation Functionalization," The 23rd International Symposium on the Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds (ISPPCC2019), Hong Kong, July 14–19, 2019.

# 由井 宏冶 伴野 元洋 森作 俊紀

## 招待講演

- <u>H. Yui, T. Morisaku</u>, and A. Suzuki, "Vibrational Spectroscopic Study on the Phase Transition of Water in Nanospaces and at Interfaces," 11<sup>th</sup> International Symposium on Atomic Level Characterizations for New Materials and Devices' 17 (ALC' 17), Aqua Kauai Beach Resort, Dec. 3– 8, 2017.
- 2. <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>,"時間分解分光による水溶液中放電プラズマ診断,"第 77 回応用物理学 会講演会ープラズマ診断の最前線シンポジウムー, 朱鷺メッセ, 2017 年 9 月 13-16 日.
- <u>M. Banno</u> and <u>H. Yui</u>, "Time-resolved Optical Diagnosis of Discharge Plasma Formed in Aqueous Solution," 26<sup>th</sup> Annual Meeting of the Materials Research Society of Japan (MRS-J), Yokohama Port Opening Memorial Hall, Dec. 19–22, 2016.
- <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡に開発と細胞膜の粘弾性の非接触計測 への応用,"新学術領域「植物細胞壁の情報処理システム」,東京大学柏キャンパス, 2016 年 11 月 29 日.
- <u>M. Banno</u> and <u>H. Yui</u>, "Time-resolved optical diagnosis of solution plasma formed with graphite electrodes in aqueous solution," The 4<sup>th</sup> International Workshop on Solution Plasma and Molecular Technologies (SPM-4), University of West Bohemia, June 7–12, 2016.
- <u>H. Yui</u>, K. Akaike, T. Ohshima, T. Chiyoda, and <u>M. Banno</u>, "Spectroscopic Analyses of Solution Plasma in Aqueous Environments for Carbon Nanomaterials Synthesis And Their Chemical Modifications," The 3<sup>th</sup> International Workshop on Solution Plasma and Molecular Technologies (SPM-3), Chulalongkon University, May 6–9, 2015.

#### 国際会議

- <u>T. Morisaku</u> and <u>H. Yui</u>, "Development of the laser-induced surface deformation microscope for the study of dynamic viscoelastic properties of soft interfaces," Water on Materials Surface 2018 (WMS 2018), Katsushika, Japan, July 25–27, 2018.
- R. Bando, <u>T. Morisaku</u>, and <u>H. Yui</u>, "High-speed Dynamic Viscoelastic Measurements by the Application of Time-domain Method to the Laser-induced Surface Deformation Microscope," RSC Tokyo International Conference 2015 ~ Analytical Technology Towards Life Innovation ~, Makuhari Messe, Sep. 7–8, 2017.
- <u>T. Morisaku</u> and <u>H. Yui</u>, "Development of the Near-infrared Laser-induced Surface Deformation (NIR-LISD) Microscope," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Tokyo University of Science, July 8–9, 2017.
- R. Bando, <u>T. Morisaku</u>, and <u>H. Yui</u>, "Development of the Time-domain Laser-induced Surface Deformation (TD-LISD) Microscope," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Tokyo University of Science, July 8–9, 2017.
- M. Banno, S. Yui, S. Kashii, and <u>H. Yui</u>, "Development of Laser Induced Fluorescence Spectrometer and Detection of Intermediates in Solution Plasma for Carbon Material Synthesis," The 5th International Workshop on Solution Plasma and Molecular Technologies (SPM-5), Greifswald, June 25–29, 2017.
- <u>H. Yui</u>, K. Kanno, D. Inoshita, S. Nakagami, and <u>M. Banno</u>, "Development of Arbitary–Gas–Injectable System for Solution Plasma Toward Novel Molecules Synthesis Technology," The 5th International Workshop on Solution Plasma and Molecular Technologies (SPM–5), Greifswald, June 25–29, 2017.
- T. Chiyoda, <u>M. Banno</u>, and <u>H. Yui</u>, "Synthesis of Au–Pt composite nanoparticles with controlled composition ratio by solution plasma processing," 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Honolulu, Dec. 15–20, 2015.
- M. Banno and H. Yui, "Development of stimulated Raman scattering interferometer and its application to the chemical contrasted imaging of buried layers and interfaces," 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Honolulu, Dec. 15–20, 2015.
- <u>H. Yui</u>, K. Kanno, and Y. Hagiwara, "Solution plasma synthesis of ammonium ions from water-CO<sub>2</sub>-N<sub>2</sub> system and its time-resolved spectroscopic study," 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Honolulu, Dec. 15–20, 2015.
- E. Omori, S. Takahashi, <u>M. Banno</u>, and <u>H. Yui</u>, "Development of stimulated Raman scattering interferometer and measurement of chemical contrast image from buried interface," International Symposium on Leading–Edge Holography Technologies, Tokyo University of Science, Oct. 30, 2015.
- S. Takahashi, E. Omori, T. Kondo, <u>M. Banno</u>, and <u>H. Yui</u>, "Chemical-contrast imaging of microstructures fabricated on substrates with stimulated Raman scattering interferometer," International Symposium on Leading-Edge Holography Technologies, Tokyo University of Science, Oct. 30, 2015.
- T. Morisaku and <u>H. Yui</u>, "Development of the Near-infrared Laser-induced Surface Deformation Microscope (NIR-LISD)," RSC Tokyo International Conference 2015 ~ Analytical Technology Towards Life Innovation~, Makuhari Messe, Sep. 3–4, 2015.
- Y. Wada, <u>T. Morisaku</u>, and <u>H. Yui</u>, "Contribution of Cytoskeletal Network in a Fibroblast Cell to its Viscoelastic Properties Studied by Laser–Induced Surface Deformation Microscope," RSC Tokyo International Conference 2015 ~ Analytical Technology Towards Life Innovation ~, Makuhari Messe, Sep. 3–4, 2015.
- M. Ishihara, <u>T. Morisaku</u>, and <u>H. Yui</u>, "Discriminating between normal and cancer cells by viscoelastic properties with the AFM and laser-induced surface deformation microscope," RSC Tokyo International Conference 2015 ~ Analytical Technology Towards Life Innovation ~, Makuhari

Messe, Sep. 3-4, 2015.

- S. Takahashi, <u>M. Banno</u>, and <u>H. Yui</u>, "Chemical-contrast imaging of microstructures on water/substrate interface with stimulated Raman scattering interferometer," RSC Tokyo International Conference 2015 ~ Analytical Technology Towards Life Innovation ~, Makuhari Messe, Sep. 3–4, 2015.
- E. Omori, <u>M. Banno</u>, and <u>H. Yui</u>, "Development of stimulated Raman scattering interferometer and application to analysis of thin film materials," RSC Tokyo International Conference 2015 ~ Analytical Technology Towards Life Innovation~, Makuhari Messe, Sep. 3–4, 2015.
- M. Banno, H. Takakuwa, K. Kanno, and <u>H. Yui</u>, "Nanosecond Optical Diagnostics of Separate Mode Discharge Plasma Formed in Aqueous Solution," The 3<sup>th</sup> International Workshop on Solution Plasma and Molecular Technologies (SPM-3), Chulalongkon University, May 6–9, 2015.
- 国内学会
- 24. (\*71) <u>森作俊紀, 由井宏治</u>, <u>"タイムドメイン型レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発</u>,"東京理 科大学イメージングフロンティアセンター2019 年度シンポジウム, 野田, 千葉, 2019 年 12 月.
- 25. <u>森作俊紀</u>,橋本研志,朽津和幸,<u>由井宏治</u>,"近赤外レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発と 植物細胞壁の動的粘弾性計測への応用,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2019 年度シンポジウム,野田,千葉,2019年12月.
- 26. 中彩香,木村真衣子,<u>森作俊紀</u>,浦島周平,<u>由井宏治</u>, "レーザー光音響分光法を用いた埋も れた模擬生体組織の弾性計測,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2019 年度シンポ ジウム,野田,千葉,2019 年 12 月.
- 木村真衣子, 中彩香, <u>森作俊紀</u>, 浦島周平, <u>由井宏治</u>, "レーザー光音響分光法を用した毛細 血管ファントムの弾性計測,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2019 年度シンポジウム, 野田, 千葉, 2019 年 12 月.
- 28. 木村真衣子, 中彩香, <u>森作俊紀</u>, 浦島周平, <u>由井宏治</u>, "レーザー光音響分光法を用した毛細 血管模擬試料の弾性計測," 第 41 回日本バイオマテリアル学会大会, 筑波, 茨城, 2019 年 11 月.
- 29. 中彩香,木村真衣子,<u>森作俊紀</u>,浦島周平,<u>由井宏治</u>,"レーザー光音響分光法を用いた生体 組織深部レオロジー計測,"第41回日本バイオマテリアル学会大会,筑波,茨城,2019年11月.
- 30. <u>森作俊紀</u>, 大貫仁碧, 橋本研志, 朽津和幸, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用 いた細胞壁の力学的特性の制御による植物細胞の先端成長機構の理解,"東京理科大学イメ ージングフロンティアセンター2018 年度シンポジウム, 野田, 千葉, 2018 年 12 月.
- 31. 坂東龍, <u>森作俊紀</u>, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "細胞膜のレオロジーイメージングのための時間ドメイン 型レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2018 年 度シンポジウム, 野田, 千葉, 2018 年 12 月.
- 32. 上麻佑子, <u>森作俊紀, 伴野元洋, 由井宏治</u>, "AFM とレーザー誘起表面変位顕微鏡を用いたと ト表皮細胞コロニーの分化と膜レオロジー特性との相関の解明,"東京理科大学イメージングフロン ティアセンター2018 年度シンポジウム, 野田, 千葉, 2018 年 12 月.
- 33. 長南達也, <u>森作俊紀, 伴野元洋, 由井宏治</u>, "レーザー光音響分光法を用いた深部レオロジー 計測と乳腺組織病理診断イメージングへの展開,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター 2018 年度シンポジウム, 野田, 千葉, 2018 年 12 月.
- 34. 中彩香, 森作俊紀, 伴野元洋, 由井宏治, "レーザー光音響分光法による生体組織深部の弾性情報計測の試み,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2018 年度シンポジウム, 野田, 千葉, 2018 年 12 月.
- 35. <u>伴野元洋,森作俊紀,由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡と光音響分光法による生体 粘弾性イメージングの試み,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2018 年度シンポジウム, 野田, 千葉, 2018 年 12 月.

- 36. 坂東龍, <u>森作俊紀, 伴野元洋, 由井宏治</u>, "細胞膜の動的粘弾性計測の高速化のためのフーリ 工変換型レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発,"日本分析化学会第 67 年会, 仙台, 宮城, 2018 年 9 月.
- 37. <u>森作俊紀</u>, 大貫仁碧, 橋本研志, 朽津和幸, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用 いた植物細胞表層の粘弾性特性の解析: 活性酸素種を介した植物細胞の先端成長と細胞壁 の力学的特性の制御機構,"第 27 回日本バイオイメージング学会学術集会, 筑波, 茨城, 2018 年 9 月.
- 38. <u>森作俊紀</u>, 大貫仁碧, 橋本研志, 朽津和幸, <u>由井宏治</u>, "近赤外レーザー誘起表面変位顕微 鏡を用いた化学刺激に対する植物組織の成長と細胞壁の粘弾性の相関の解明," 第 78 回分析 化学討論会, 宇部, 山口, 2018 年 5 月.
- 39. 中上翔太, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "地球の化学進化反応場を模した液中放電プラズマによる核酸塩基前駆体の合成と反応場の発光分光計測,"第 64 回日本地球化学会, 東京工業大学大岡山キャンパス, 2017 年 9 月 13-15 日.
- 40. 井下大輔, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "原始地球の化学進化反応場を模した液中放電プラズマを用 いたアンモニア合成の追跡,"第 64 回日本地球化学会, 東京工業大学大岡山キャンパス, 2017 年 9 月 13-15 日.
- 41. 坂東龍, 森作俊紀, 由井宏治, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた動的粘弾性計測にお けるタイムドメイン方式の導入による計測時間の高速化,"日本分析化学会第66年会, 東京理 科大学大葛飾キャンパス, 2017年9月9-12日.
- 42. 香椎翔太, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "水溶液中放電プラズマ還元によるマンガン酸化物ナノ材料の 合成とその酸化数制御," 第 68 回コロイド及び界面化学討論会, 神戸大学, 2017 年 9 月 6-8 日.
- 43. 中里直人,千代田拓也,<u>伴野元洋</u>,<u>由井宏治</u>,"水溶液中放電プラズマによる固溶体型金パラ ジウム合金ナノ粒子の合成と組成比制御,"第67回コロイド及び界面化学討論会,北海道教育 大学旭川校,2016年9月22-24日.
- 44. 津野雅幸, <u>伴野元洋</u>, 山本貴博, <u>由井宏治</u>, "分子動力学シミュレーションを用いた SiO₂ 表面水 和構造の表面 OH 基被覆率依存性の解析,"第 67 回コロイド及び界面化学討論会, 北海道 教育大学旭川校, 2016 年 9 月 22-24 日.
- 45. 大貫仁碧, <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いたとト表皮細胞の分化 と粘弾性の相関の解明,"第 67 回コロイド及び界面化学討論会, 北海道教育大学旭川校, 2016 年 9 月 22-24 日.
- 46. <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "細胞のレオロジーイメージングーレーザー誘起表面変位顕微鏡に開発と単 ー生細胞における膜の粘弾性計測への応用,"カとレオロジーのイメージングワークショップ, 東京理 科大学葛飾キャンパス, 2016 年 7 月 23 日.
- 47. 恩田康之介, <u>(半野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "空間位相制御による近赤外非線形分光顕微鏡の高空間分解能化," 平成 28 年度日本材料学会, 産業技術総合研究所 臨海副都心センター別館, 2016 年 6 月 29 日.
- 48. <u>森作俊紀</u>, 大貫仁碧, 小山恵莉香, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いたヒト表 皮細胞の分化と粘弾性との相関の解明,"第76回分析化学討論会, 岐阜薬科・岐阜大学, 2016年5月28-29日.
- 49. <u>伴野元洋</u>, 大森絵梨, <u>由井宏治</u>, "誘導ラマン散乱光干渉計による埋もれたサブミクロン厚多層 薄膜の化学種識別計測," 第 76 回分析化学討論会, 岐阜薬科・岐阜大学, 2016 年 5 月 28-29 日.
- 50. 高橋すみれ, 大森絵梨, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "水に埋れた Si 基盤表面微細構造の分子識別 計測," 第3回表面・界面のメゾスコピックサイエンスとプロセッシング研究会, 千葉工業大学東京ス カイツリータウンキャンパス, 2015 年 11 月 25 日.

- 51. 大森絵梨, <u>(半野元洋, 由井宏治</u>, "誘導ラマン散乱光干渉計の開発と多層薄膜材料分析への 応用," 第3回表面・界面のメゾスコピックサイエンスとプロセッシング研究会, 千葉工業大学東京ス カイツリータウンキャンパス, 2015 年 11 月 25 日.
- 52. 石原雅史, <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "AFMとレーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた正常細胞とが ん細胞の粘弾性による識別," 第 66 回コロイド及び界面化学討論会, 鹿児島大学, 2015 年 9 月 10-12 日.
- 53. 千代田拓也, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "水溶液中放電プラズマを用いた親水性マンガン酸化物ナノ 材料の合成,"第 66 回コロイド及び界面化学討論会, 鹿児島大学, 2015 年 9 月 10-12 日.
- 54. <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "近赤外レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発と細胞膜の粘弾性計測への応用,"日本分析化学会第 64 年会, 九州大学伊都キャンパス, 2015 年 9 月 10-11 日.
- 55. <u>伴野元洋</u>, 高橋すみれ, <u>由井宏治</u>, "誘導ラマン散乱光干渉計による水に埋れた基板表面微細 構造の分子種識別的画像計測," 日本分析化学会第 64 年会, 九州大学伊都キャンパス, 2015 年 9 月 10-11 日.
- 56. 高橋すみれ, 大森絵梨, 近藤隆之, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "誘導ラマン散乱光干渉計による撥 水機能性材料の表面化学計測,"日本材料科学会学術講演大会, 工学院大学, 2015年6月 25日.
- 57. 石原雅史, <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた正常細胞とがん細胞 の粘弾性による識別," 第 75 回分析化学討論会, 山梨大学, 2015 年 5 月 23-24 日.
- 58. <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "近赤外レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発,"第75回分析化学討論 会,山梨大学, 2015 年 5 月 23-24 日.
- 59. <u>伴野元洋</u>, 長島亜美, <u>由井宏治</u>, "誘導ラマン光音響トモグラフィーの開発と散乱体に埋れた試料の化学種識別的計測," 第 75 回分析化学討論会, 山梨大学, 2015 年 5 月 23-24 日.
- 60. <u>伴野元洋</u>, 近藤隆之, 長島亜美, 大森絵梨, 高橋すみれ, <u>由井宏治</u>, "誘導ラマン光干渉計に よる高空間分解ケミカルコントラスト計測," サーモサイエンティフィック FT-IR・ラマンユーザーズフォーラ ム 2015, 東京コンファレンスセンター, 2015 年 5 月 21 日.

## 政池 知子·田中 信清

#### 招待講演

- 1. <u>T. Masaike</u>, "Insights into rotary catalysis of F1-ATPase through detection of conformational changes," 2nd Tokyo ATPase Workshop, 東京大学・本郷キャンパス, 東京, 2019 年 9 月 30 日
- <u>T. Masaike</u>, "Imaging movements and reactions of biomolecules," 5th International Symposium on Bioimaging/Joint Symposium on Bioimaging between Singapore and Japan, Mechanobiology Institute, National University of Singapore, May 20, 2017.
- 3. <u>政池知子</u>, "生体機動分子における化学反応と動きの可視化,"日本化学会第 96 春季年会シンポジウム, 同志社大学田辺キャンパス, 2016 年 3 月 27 日.
- <u>政池知子</u>, "<u>膜輸送蛋白等の計測における1分子顕微鏡観察とマイクロデバイスの活用</u>,"第 53 回日本生物物理学会年会シンポジウム, 金沢大学角間キャンパス, 2015 年 9 月 15 日.
   国内学会
- 5. 高尾耕樹, 今泉現, 岩田誠史, 河野桂樹, 瀬藤光利, <u>田中信清</u>, 池上浩司, <u>政池知子</u>, "マウス気管繊毛の形状と集合形態が液流形成に与える影響," 2019 年度 東京理科大学・イメージングフロンティアセンター・シンポジウム, 東京理科大学・野田キャンパス, 千葉, 2019 年 12 月.
- 6. (\*72) 中里真唯, 弥富有希子, 島知弘, <u>田中信清</u>, <u>政池知子</u>, "<u>物理的な制約のある極小空</u> <u>間における微小管の動的不安定性</u>," 2019 年度 東京理科大学・イメージングフロンティアセンタ ー・シンポジウム, 東京理科大学・野田キャンパス, 千葉, 2019 年 12 月.
- 7. (\*73) 佐野暁子, 熊山あかね, 中井萌乃, 服部絢子, <u>田中信清</u>, <u>政池知子</u>, "<u>無機リン酸に低</u> <u>親和性を示す蛍光標識リン酸結合タンパクの1分子観察</u>," 2019 年度 東京理科大学・イメージ ングフロンティアセンター・シンポジウム, 東京理科大学・野田キャンパス, 千葉, 2019 年 12 月.

- 岩田誠史,河野桂樹,椎名真之,岩瀬寿仁,<u>田中信清</u>,池上浩司,<u>政池知子</u>, "ADP により調節されるマウス気管繊毛の運動活性,"繊毛研究会,東京農工大学・小金井キャンパス,東京, 2019 年 11 月.
- 河野桂樹, 末柄祐明, 椎名真之, 岩瀬寿仁, <u>田中信清</u>, 池上浩司, <u>政池知子</u>, "非対称なマウス気管繊毛運動への ATP の寄与," 繊毛研究会, 東京農工大学・小金井キャンパス, 東京, 2019 年 11 月.
- 10. 今泉現, 河野桂樹, <u>田中信清</u>, 中江進, 池上浩司, <u>政池知子</u>, "生細胞で協同的にはたらく気 管繊毛の三次元運動と異物輸送機能,"繊毛研究会, 東京農工大学・小金井キャンパス, 東 京, 2019 年 11 月.
- 11. <u>T. Masaike</u>, "Insights into rotary catalysis of F1-ATPase through detection of conformational changes," 2nd Tokyo ATPase Workshop, 東京大学・本郷キャンパス, 東京, 2019 年 9 月.
- 12. H. Sugiura, R. Yokota, <u>N. Tanaka</u>, and <u>T. Masaike</u>, "Conformational mapping of the catalytic subunit of F1-ATPase," 2nd Tokyo ATPase Workshop, 東京大学・本郷キャンパス, 東京, 2019 年 9 月.
- 13. R. Yokota, H. Sugiura, M. Sugawa, J. Yajima, <u>N. Tanaka</u>, and <u>T. Masaike</u>, "Single-molecule polarised FRET analysis of conformational dynamics in *α β* subunits of F1-ATPase," 2nd Tokyo ATPase Workshop, 東京大学・本郷キャンパス, 2019 年 9 月.
- 14. T. Sato, H. Ueno, K. Hayashi, R. Koga, <u>N. Tanaka</u>, N. Koga, H. Noji, and <u>T. Masaike</u>, "Kinetics and stepping torque of F1-ATPase containing the catalytic subunit with a non-catalytic hinge," 2nd Tokyo ATPase Workshop, 東京大学・本郷キャンパス, 東京, 2019 年 9 月.
- 15. T. Naito, <u>T. Masaike</u>, D. Nakane, M. Sugawa, and T. Nishizaka, "F1-ATPase の軸とシリンダーの結合 寿命の測定,"第 57 回 日本生物物理学会年会, シーガイヤコンベンションセンター, 宮崎, 2019 年 9 月.
- 16. 加藤孝信,池上浩司,内田就也,岩瀬寿仁,中根大介,<u>政池知子</u>,瀬藤光利,西坂崇之, "外カ下での単離マウス気管繊毛先端の動きの3次元トラッキング,"生体運動研究合同班会 議 2019,福岡大学七隈キャンパス,福岡,2019年1月.
- 17. 横田龍一, 須河光弘, 杉浦広基, 矢島潤一郎, <u>政池知子</u>, "1 分子偏光 FRET 法により検出した F1-ATPase のシリンダー部分の遂次的な構造変化," 2018 年度東京理科大学イメージングフロンティアセンターシンポジウム、東京理科大学・野田キャンパス, 2018 年 12 月 15 日.
- 18. 杉浦広基,横田龍一,柳田亮太,<u>政池知子</u>,"1分子蛍光観察による F1-ATPase 触媒サブユニットβの角度変化検出,"2018 年度東京理科大学イメージングフロンティアセンターシンポジウム, 東京理科大学・野田キャンパス2018 年 12 月 15 日.
- 19. 河野桂樹, 椎名真之, 末柄祐明, 岩瀬寿仁, 瀬藤光利, 西坂崇之, 池上浩司, <u>政池知子</u>, "低濃度 ATP 存在下の気管粘液流形成における繊毛先端の速度と高さの重要性," 2018 年度 東京理科大学イメージングフロンティアセンターシンポジウム,東京理科大学・野田キャンパス, 2018 年 12 月 15 日.
- 20. 稲毛太亮, 熊山あかね, 樋口真之, 上野博史, 田端和仁, 野地博行, <u>政池知子</u>, "極微小体 積チャンバーに封入した蛍光標識リン酸結合タンパクによる実時間リン酸検出," 2018 年度東京 理科大学イメージングフロンティアセンターシンポジウム, 東京理科大学・野田キャンパス,2018 年 12 月 15 日.
- 21. 竹村勁哉, 小島知樹, 山崎和生, 大保貴嗣, Stefania Danko, 鈴木裕, <u>政池知子</u>, "ナノディスク 中の筋小胞体 Ca2+-ATPase に標識された単一蛍光分子の角度と明滅による中間体構造の評 価,"日本生体エネルギー研究会第 44 回討論会,千葉大学西千葉キャンパス工学系総合研究 棟 2, 2018 年 12 月 7 日.
- 22. 横田龍一, 須河光弘, 矢島潤一郎, <u>政池知子</u>, "1分子偏光 FRET 法により検出した F1-ATPase α-β間の逐次的な構造変化," 第 56 回日本生物物理学会年会, 岡山大学津島キ ャンパス, 2018 年 9 月 16 日.

- 23. 佐藤友保, 上野博史, 林久美子, 古賀理恵, 古賀信康, 野地博行, <u>政池知子</u>, "ヒンジ領域を 非触媒型に置換した触媒サブユニットをもつ F1-ATPase の回転トルクと反応速度,"第56回日 本生物物理学会年会, 岡山大学津島キャンパス, 2018年9月15日.
- 24. (\*74) 熊山あかね,稲毛太亮, 樋口真之, 上野博史, 田端和仁, 野地博行, <u>政池知子</u>, "<u>リン</u> <u>酸結合蛋白を封入した水滴チャンバーアレイによるリン酸検出系の高度化,"</u> 第 56 回日本生物 物理学会年会, 岡山大学津島キャンパス, 2018 年 9月 15 日.
- 25. R. Yokota, M. Sugawa, J. Yajima, and <u>T. Masaike</u>, "A novel single-molecule polarized FRET method for the detection of sequential conformational changes in  $\alpha$  and  $\beta$  subunits of F1- ATPase," the 2018 meeting on Single Biomolecules, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, USA, Aug. 30, 2018.
- 26. 椎名真之, 末柄祐明, 岩瀬寿仁, 菅野悠, 加藤孝信, 瀬藤光利, 西坂崇之, 池上浩司, <u>政</u> <u>池知子</u>, "Loss of asymmetric features in ciliary beating of trachea revealed by polyglutamylationdeficient mice," Dynein 2017, the fourth international workshop on dynein, 淡路夢舞台国際会議 場, 2017 年 10 月 29–31 日.
- (4) 横田龍一, 須河光弘, 野村勇太, 矢島潤一郎, <u>政池知子</u>, "ATPase F1-ATPase のシリンダー 部分の1 分子立体構造変化観察,"第55回日本生物物理学会年会, 熊本大学黒髪北地 区, 2017年9月19-21日.
- 28. 上野博史, 古賀理恵, <u>政池知子</u>, 古賀信康, 野地博行, "Rotation of the engineered F1-ATPase with alpha-type P-loop on catalytic beta subunit," 第 55 回日本生物物理学会年会, 熊本大学黒髪北地区, 2017 年 9 月 19-21 日.
- 29. (\*75) <u>政池知子</u>, 稲毛太亮, 熊山あかね, 樋口真之, <u>"リン酸結合蛋白を用いた、リン酸放出</u> <u>活性の1分子測定,"</u> 第7回分子モーター討論会, 東京大学本郷キャンパス理学部, 2017 年 7 月 20 日.
- 30. 熊山あかね, 稲毛太亮, 樋口真之, 田端和仁, 野地博行, <u>政池知子</u>, "ドロップレットアレイに封 入したリン酸結合タンパクによる1分子からの無機リン酸の実時間検出," International Symposium on Imaging Frontier 2017, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2017 年 7 月 8–9 日.
- 31. 樋口真之, 田端和仁, 野地博行, <u>政池知子</u>, "ドロップレットチャンバーアレイを用いてリン酸結合 蛋白で検出する、1分子 F1-ATPase からのリン酸解離," イメージングフロンティアセンターシンポジ ウム, 東京理科大学・野田キャンパス, 2016 年 12 月 10 日.
- 32. 樋口真之,田端和仁,野地博行,<u>政池知子</u>, "リン酸結合蛋白を封入したフェムトリットル体積の ドロップレットアレイによる無機リン酸検出,"第54回日本生物物理学会年会,つくば国際会議場, 2016年11月27日.
- 33. 小野寺優, 横田龍一, 岩瀬寿仁, 小島知樹, 島知弘, 岡田康志, <u>政池知子</u>, "ヌクレオチド依 存タンパク質の構造変化・機能観察,"東京理科大学総合研究院・イメージングフロンティアセンタ ー第1回シンポジウム, 東京理科大学・野田キャンパス, 2015 年 12 月 25 日
- 34. 小野寺優,中山莉奈子,島知弘,岡田康志,<u>政池知子</u>, "長円形マイクロチャンバー内における 微小管の動的不安定性,"第24回日本バイオイメージング学会学術集会,東京理科大学葛飾 キャンパス,2015年9月27日.
- 35. (\*76)小野寺優,島知弘,岡田康志,<u>政池知子</u>,"<u>長円形 PDMS チャンバー内における微小管</u> <u>の動的不安定性</u>,"第53回日本生物物理学会年会,金沢大学角間キャンパス,2015年9月 14日.

## 【応用展開動物グループ】

# 曽我 公平

# 招待講演

1. <u>K. Soga</u>, M. Kamimura, K. Okubo, M. Umezawa, D. T. K. Dung, K. Nigoghossian, and G. Yeroslavsky,

"Materials Design and Processing for Near Infrared Biomedical Photonics with Transparency," 107th Indian Science Congress, Materials Science Section, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India, Jan. 3–7, 2020.

- <u>K. Soga</u>, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, T. K. D. Doan, K. Okubo, M. Umezawa, and M. Kamimura, "Nanostructure for Near Infrared Luminescence for Biomedical Application," 2nd Ingternational Conference on Semiconductor, Optoelectronics and Nanostructures (ICSON 2019), Barcelona, Spain, Aug. 19–20, 2019.
- K. Okubo, Y. Kitagawa, N. Hosokawa, M. Umezawa, M. Kamimura, N. Ohtani, and <u>K. Soga</u>, "Quantitative Visualization of Lipid Distribution in Mouse Livers by Using Near-Infrared Hyperspectral Imaging," 107th Indian Science Congress, Materials Science Section, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India, Jan. 3–7, 2020.
- M. Umezawa, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, D. T. K. Dung, K. Okubo, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Functional Bioimaging for Deep Tissues Using Over–1000–nm Near–Infrared Fluorescent Materials," 107th Indian Science Congress, Materials Science Section, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India, Jan. 3–7, 2020.
- 5. <u>曽我公平</u>, "蛍光で絶対温度を見る," Biothermology Workshop 2019, 京都龍谷大学深草キャン パス, 京都, 2019 年 12 月 26-27 日.
- 6. <u>曽我公平</u>, "生体イメージング," 第 41 回日本バイオマテリアル学会大会, 筑波大学, つくば, 茨 城, 2019 年 11 月 24 日-26 日.
- K. Soga, "Materials and Device Development of Near Infrared Photonics for Biomedical Applications," INTERNATIONAL CONFERENCE ON PHOTONICS RESEARCH (INTER-PHOTONICS 2019, Antalya, Turkey, Nov. 4–9, 2019.
- K. Soga, K. Nigoghossaian, G. Yeroslabsky, T. K. D. Doan, M. Umezawa, K. Okubo, M. Kamimura, and N, Ohtani, "Near Infrared Biomedical Imaging for Visualizing Subcutaneous and Submucosal Information," The 6th International Symposium on Bioimaging & The 28th Annual Meeting of the Bioimaging Society, Teikyo University, Itabashi Campus, Tokyo, Japan, Sep. 21–23, 2019.
- M. Umezawa, M. Kamimura, K. Okubo, and <u>K. Soga</u>, "Control and real-time imaging of in vivo distribution and excretion of near-infrared fluorescent nanoparticles," ICPST-36 The 36th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 24-27, 2019.
- M. Kamimura, Y. Ueya, E. Takamoto, K. Iso, M. Yoshida, M. Umezawa, and <u>K. Soga</u>, "Fluorescent Polystyrene Latex Nanoparticles for NIR–II in vivo Imaging," ICPST–36 The 36th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 24–27, 2019.
- K. Okubo, T. Chihara, M. Umezawa, K. Miyata, S. Sekiyama, N. Hosokawa, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Biological deep temperature imaging with fluorescence lifetime of rare-earth doped ceramics particles in the second NIR biological window," ICPST-36 The 36th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 24–27, 2019.
- <u>K. Soga</u>, M. Umezawa, K. Okubo, and M. Kamimura, "Decomposable Nanostructure Design for Medical Use of Rare-Earth Doped Ceramic Nanoparticles," ICMAT 2019; 10th International Conference on Materials for Advanced Technologies, Marina Bay Sands, Singapore, June 23–28, 2019.
- K. Soga, M. Umezawa, K. Okubo, and M. Kamimura, "Design and Processing for Nanoparticle-Based Probes for OTN-NIR Biophotonics," ICMAT 2019; 10th International Conference on Materials for Advanced Technologies (Marina Bay Sands, Singapore, Singapore, June 23–28, 2019.
- 14. <u>K. Soga</u>, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, T. K. D. Doan, M. Umezawa, K. Okubo and M. Kamimura, "Biophotonics with cm Level Transparency by the Use of Near Infrared Light," CCMR 2019

Collaborative Conference on Materials Research, Kintex, Goyang Gyeonggi, South Korea, June 3–7, 2019.

- 15. <u>K. Soga</u>, "Materials and System Development for Near Infrared Biophotonics with Transparency," ADVANCED CERAMICS AND APPLICATION VII, Belgrade, Serbia, Sep. 17–19, 2018.
- S. Sekiyama, M. Umezawa, S. Kuraoka, T. Ube, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Temperature Sensing of Deep Abdominal Region in Mice by Using Over–1000 nm Near–Infrared Luminescence of Rare– Earth–Doped NaYF4 Nanothermometer," QBI 2019 –Quantitative Bioimaging Conference, Rennes, France, Jan. 9–11, 2019.
- <u>K. Soga</u>, G. Yeroslavsky, K. Nigoghossian, M. Umezawa, K. Okubo and M. Kamimura, "OTN (over-1000-nm) NIR PHOSPHORS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS," Phosphor safari 2018 International Symposium for Phosphor Materials, Koreana Hotel, Seoul, Republic of Korea, Nov. 4– 7, 2018.
- K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, M. Umezawa, K. Okubo, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Rare-earth doped ceramic nanophosphors for applications in nanomedicine," ICOOPMA2018 – 8th International Conference on Optical, Optoelectronic and Photonic Materials and Applications, Maresias-SP, Brazil, Aug. 26–31, 2018.
- <u>K. Soga</u>, "Application of Rare–Earth Doped Ceramic Nanomaterials for OTN–NIR Biomedical Photonics," International Conference on Semiconductors, Optoelectronics and Nanostructures (ICSON 2018), Paris, France, Aug. 20–21, 2018.
- K. Soga, M. Kamimura, and M. Umezawa, "Nanomatter Fluorescence Imaging in Animal Bodies," 12th International Conference on Ceramic Materials and Components for Energy and Environmental Applications (CMCEE 2018), Singapore, Singapore, July 22–27, 2018.
- 21. <u>曽我公平</u>, "OTN 近赤外光のメディカルフォトニクス応用,"第 27 回日本がん転移学会学術集会, メルパルク横浜,神奈川, 2018 年 7 月 19-20 日.
- K. Soga, M. Kamimura, and M. Umezawa, "Polymer Nanocomplex for Near Infrared Biophotonics," The 35th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 25–28, 2018.
- 23. <u>曽我公平</u>, "希土類とバイオメディカルイメージング," 第 34 回希土類討論会, タワーホール船堀, 東京都, 2018 年 5 月 15-16 日.
- <u>K. Soga</u>, G. Yeroslavsky, M. Umezawa, M. Kamimura, and L. Wortmann, "Materials for Biophotonics in OTN–NIR Wavelength Region (Second Biological Window)," 2017 MRS Fall Meeting & Exhibit, Boston, MA, USA, Nov. 26–Dec. 1, 2017.
- M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Development of Polymer Conjugated Nanoparticles for Near–Infrared Triggered Theranostics in the Second Biological Window," International Conference on Advances in Polymer Science & Technology 2017, Radisson Blu Hotel, Dwarka, New Delhi, India, Nov. 23–25, 2017.
- <u>K. Soga</u>, "Biophotonics in Infrared Therapeutic Windows [Keynote]," Spectral Shaping for Biomedical and Energy Applications (SHIFT 2017), Tenerife, Canary Islands, Spain, Nov. 13–17, 2017.
- M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Over–1000 nm Near–Infrared (OTN–NIR) (NIR–II/III) Fluorescence in vivo Imaging," 18th International Union of Materials Research Societies International Conference in Asia (IUMRS–ICA), Taipei Nangang Exhibition Hall, Taipei, Taiwan, Nov. 5–9, 2017.
- <u>K. Soga</u>, "Over–1000 nm Near–Infrared (OTN–NIR) (NIR–II/III) Fluorescence in vivo Imaging," Fluorescent Nanomaterials Design for Over 1000 nm Near Infrared (OTN–NIR) Biophotonics, Taipei Nangang Exhibition Hall, Taipei, Taiwan, Nov. 5–9, 2017.
- 29. <u>曽我公平</u>, "近赤外バイオメディカルイメージングの最近の動向," 臨床麻酔学会第 37 回大会,

ザ・プリンス パークタワー東京, Tokyo, 2017 年 11 月 3-5 日.

- 30. <u>曽我公平</u>, 上村真生, "第2の生体の窓 (SBW) から見るバイオイメージングの未来形,"第26回 日本バイオイメージング学会学術集会, 東京薬科大学, 東京, 2017年9月 16-17日.
- 31. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "波長 1000 nm を超える近赤外 (OTN-NIR) 蛍光 in vivo イメージング," 第 26 回日本バイオイメージング学会学術集会, 東京薬科大学, 東京, 2017 年 9 月 16-17 日.
- 32. <u>K. Soga</u>, "Materials Design for the Biomedical Imaging in OTN Near Infrared Transparent Optical Window," The 15th International Conference on Advanced Materials (IUMRS–ICAM 2017), Kyoto University, Kyoto, Japan, 2017 年 8 月 27 日–9 月 1 日.
- 33. 梅澤雅和, 上村真生, <u>曽我公平</u>, "SBW (Second Biological Window) におけるバイオフォトニクスの 現状と展開,"第 30 回日本動物細胞工学会 2017 年度大会 (JAACT2017), 松山市総合コミ ュニティーセンター, 愛媛県松山市, 2017 年 7 月 20-21 日.
- 34. <u>K. Soga</u>, M. Kamimura, and M. Umezawa, "Materials Design and Advanced Features of Fluorescence Bioimaging in OTN-NIR (NIR II) Window," Frontiers in Materials Processing Application, Research and Technology (FIMPART<sup>"</sup>17), Bordeaux, France, 2017 年 7 月 9–12 日.
- K. Soga and M. Kamimura, "Novel Materials Processing for Bioimaging Probes in OTN-NIR (NIR II/III) Region," The International Conference on Materials for Advanced Technologies 2017 (ICMAT 2017), Suntec Singapore, Singapore, June 18–23, 2017.
- 36. <u>曽我公平</u>, "OTN-NIR (NIR II/III) におけるバイオメディカル光イメージング,"第 12 回日本分子イメ ージング学会学術集会, 横浜港大さん橋ホール, 横浜, 2017 年 5 月 25-26 日.
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Fluorescent Ceramic Nanoparticles for Biophotonics in the Second Biological Window," 12th Pacific Rim Conference on Ceramic and Glass Technology (PACRIM 12), including Glass & Optical Materials Division Meeting (GOMD 2017), Hilton Waikoloa Village, Waikaloa, Hawaii, May 21–26, 2017.
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Luminescent Probe Design for Biophotonics in the OTN-NIR (NIR II/III) Biological Window," International Symposium on Luminescence, Spectroscopy and Applications (Phosphor Safari 2016), Hong Kong Baptist University, Hong Kong, Nov. 28-Dec. 1, 2016.
- 39. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Bioimaging in NIR II/III (OTN-NIR) Seeking for Transparency,"日本 生物物理学会第 54 回年会, つくば国際会議場, つくば市, 茨城, 2016 年 11 月 25-27 日.
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Design and Application of Ceramics Nanoparticles for Near Infrared Biophotonics," CerSJ–GOMD Joint Symposium on Glass Science and Technologies, Kyoto University, Kyoto, Japan, Nov. 13–15, 2016.
- M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Nanoprobes for in vivo Bioimaging," 8th International Workshop on Advanced Materials Science and Nanotechnology (IWAMSN 2016), Ha Long City, Vietnam, Nov. 8–12, 2016.
- 42. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Luminescent Materials for Biophotonics in OTN-NIR Biological Window," MS&T (Materials Science and Technology) 2016, Salt Lake City, Utah, USA, Oct. 23-27, 2016.
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Fluorescent Materials Design at Nanoscale for Biomedical Photonics in Near Infrared Window," 8th International Conference on Physical and Numerical Simulation of Materials Processing (ICPNS 2016), Seattle, Washington, USA, Oct. 14–17, 2016.
- K. Soga and M. Kamimura, "Hybrid Nanoconstructs for Biomedical Photonics in the Second Biological Window," 2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society– Asia Pacific Meeting (TERMIS–AP 2016), Tamsui, Taiwan R. O. C., Sep. 3–6, 2016.
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Material and System Development for Biophotonics in the OTN–NIR (NIR II/III)," International Conference on Micro/Nano Optical Engineering (ICOME–T2016), NCKU, Tainan, Taiwan R. O. C., Aug. 15–19, 2016.

- 46. <u>曽我公平</u>, 上村真生, "OTN-NIR(第2の生体の窓)におけるバイオメディカルフォトニクス,"第35回 医用画像工学会大会,千葉大学けやき会館,千葉,2016年7月21日-23日.
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Nanostructure for Nanothermometry by Using Ceramic Nanophosphors," The 8th International Conference on Technological Advances of Thin Films & Surface Coatings (ThinFilms2016), Holiday Inn Atrium, Singapore, July 12–15, 2016.
- 48. M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Biocompatible Polymer-conjugated Inorganic Nanophosphors for Nearinfrared in vivo Imaging in the Second Biological Window," 9th International Conference on High Temperature Ceramic Matrix Composites (HTCMC9) and Global Forum on Advanced Materials and Technologies for Sustainable Development (GFMAT2016), Toronto Marriott Downtown Eaton Center Hotel, Toronto, Canada, June 26–July 1, 2016.
- 49. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "「第 2 の生体の窓」における近赤外蛍光 in vivo イメージング," バイオイメ ージ・インフォマニクスワークショップ 2016, 大阪大学吹田キャンパス, 2016 年 6 月 22-23 日.
- 50. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Application of Rare–Earth Doped Ceramics for Transparent Imaging Devices," CC3DMR 2016, Incheon, South Korea, June 20–24, 2016.
- 51. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Inorganic Fluorescent Materials for Biophotonics in the Second Biological Window," CIMTEC 2016, Perugia, Italy, June 5–9, 2016.
- 52. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Materials Processing for Fluorescent Probes in the Second Biological Window," THERMEC' 2016, Graz, Austria, May 29–June 3, 2016.
- 53. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Design and Processing of Nanoparticles for Fluorescence Bioimging in the Second Biological Window," EMN Meeting on Nanoparticles, Singapore, May 9–13, 2016.
- 54. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "近赤外蛍光ナノ粒子を利用するナノ温度イメージング,"日本化学会 第 96 春季年会(同志社大学 京田辺キャンパス, 2016 年 3 月 24-27 日.
- 55. <u>曽我公平</u>, "SBW におけるバイオフォトニクスの現状と展開," レゾナンスバイオ公開シンポジウム 「Swinging on the Chromophore」, KKR 熱海, 静岡県熱海市, 2016 年 3 月 16 日.
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Processing for Forming Biofunctional Surfaces on Ceramic Nanoparticles for Biophotnics," 40th International Conference and Exposition on Advanced Ceramics and Composites (Hilton Daytona Beach Resort and Ocean Center, Daytona Beach, Florida, USA, Jan. 24–29, 2016.
- K. Soga and M. Kamimura, "Functional Nanomaterials with Rare-Earth Doped Ceramics for Biomedical Applications," 40th International Conference and Exposition on Advanced Ceramics and Composites (Hilton Daytona Beach Resort and Ocean Center, Daytona Beach, Florida, USA, Jan. 24–29, 2016.
- K. Soga and M. Kamimura, "Probe Design and Processing for Biophotonics in the Second Biological Window," The 5th International Solvothermal and Hydrothermal Association Conference (ISHA 2016), NCKU, Tainan, Taiwan, R. O. C., Jan. 17–20, 2016.
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Materials and system developments for OTN-NIR fluorescence bioimaging," The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, Dec. 15–20, 2015.
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Application of near infrared luminescent materials for biophotonics," The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, Dec. 15–20, 2015.
- 61. <u>曽我公平</u>. 竹内司, 横田秀夫, 岸本英博, "SBW イメージングの現状と課題," 第 24 回日本バイオイメージング学会学術集会, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2015 年 9 月 26-28 日.
- 62. <u>K. Soga</u>, "Application of Rare–Earth Doped Ceramic Nanophosphors for Near Infrared Biophotonics," The Fourth Serbian Ceramic Society Conference Advanced Ceramics and Application IV, Belgrade, Serbia, Sep. 21–23, 2015.

- 63. M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Surface Modified Rare-earth Doped Ceramic Nanophosphors for Fluorescence Bioimaging and Nanothermometry in the Second Biological Window," 2015 International Symposium on Chemical and Polyscale Technologies for Biomedical Application and Environmental Sustainability (ISCPT), Chientan Youth Activity Center, Taipei, Taiwan, Sep. 6–9, 2015.
- K. Soga and M. Kamimura, "Near Infrared Biophotonics for the Second Biological Window," Light Conference: International Conference on Micro/Nano Optical Engineering – Taiwan (Light Conference: ICOME–T2015), National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan, Aug. 10–14, 2015.
- 65. <u>曽我公平</u>, 上村真生, 青木伊知男, "第2の生体の窓(Second Biological Window)における生体 イメージングと DDS の融合,"第 31 回日本 DDS 学会学術集会「DDS がもたらした新しい臨床の 風景」, Shinjuku, Tokyo, 2015 年 7 月 2-3 日.
- 66. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Nanostructure Development for OTN-NIR Biophotonics in Second Biological Window," 8th International Conference on Materials for Advanced Technologies of the Materials Research Society of Singapore & 16th IUMRS-International Conference in Asia (ICMAT2015&IUMRS-ICA2015), Suntec Singapore, Singapore, June 28–July 3, 2015.
- 67. <u>K. Soga</u>, "Application of Ceramic Nanophosphors for Various Imaging Devices," The 1st International Conference on Advanced Imaging (1st ICAI 2015), National Center of Science, Tokyo, JAPAN, 2015 年 6 月 17–19 日.
- K. Soga and M. Kamimura, "OTN-NIR Fluorescent Nanoparticles for Biomedical Imagaing and Thermal Sensing," International Conference on Frontiers in Materials Processing, Applications Research and Technology (FIMPART 2015), Hyderabad, India, 2015 年 6 月 12–15 日.

#### 国際会議

- G. Yeroslavsky, M. Umezawa, K. Okubo, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Stabilization of Indocyanine Green Dye in Micellar Systems for Various Bio–applications," OKINAWA COLLOIDS 2019, Bankoku Shinryokan, Nago, Okinawa, Japan, Nov. 3–8, 2019.
- M. Umezawa, Shinsuke Haruguchi, Kazushi Yamaguchi, M. Kamimura, K. Otomo, Tomomi Nemoto, and <u>K. Soga</u>, "Phosphate-Based Rapid Optical Clearing for Three-Dimensional Fluorescence Imaging of Mouse Brains," Resonance Bio International Symposium (RBIS 2019), Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, Oct. 30–Nov. 1 2019.
- T. Hliroto, <u>K. Soga</u>, and K. Kimura, "X–Ray Diffraction Study on Structural Change around 550 K in Photoexcitation Behavior of Microsized β–Rhombohedral Boron," 20th International Symposium on Boron, Boride and Related Materials (ISBB2019), Niigata, Niigata, Japan, Sep. 22–27, 2019.
- 72. G. Yeroslavsky, K. Okubo, and <u>K. Soga</u>, "Photostabilization of indocyanine green dye by energy transfer in phospholipid-PEG micelles," ICPST-36 The 36th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 24–27, 2019.
- 73. T. Chihara, M. Umezawa, K. Miyata, S. Sekiyama, N. Hosokawa, K. Okubo, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Biological Deep Thermal Imaging with Fluorescence Lifetime of Rare–Earth–Based Ceramics Particles that Emit Near–Infrared Light in the Second Biological Window," QBI 2019 – Quantitative Bioimaging Conference, Rennes, France, Jan. 9–11, 2019.
- H.-C. Chiu, Y.-C. Tsai, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Site-Specific Delivery of Hybrid Upconversion Nanoparticles for Photo-Activated Multimodal Therapies of Glioblastoma," 1st Controlled Release Asia (CRA) Meeting, Biopolis, Singapore, Sep. 24–25, 2018.
- M. Umezawa, M. Kamimura, A. Honda, and <u>K. Soga</u>, "Reduced Toxicity of Near–Infrared Fluorescent Nanoparticle by Covalent Modification of Poly (Ethylene Glycol) for Deep Bioimaging," NanoTox 2018 – 9th International Conference on Nanotoxicology, Dorint–Hotel Neuss, Germany, Sep. 18– 22, 2018.

- M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Near–Infrared Light Triggered Theranostics Based on Polymer Modified Nanophosphors," The 35th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 25–28, 2018.
- G. Yeroslavsky, M. Kamimura, R. Inoue, Y. Kogo, and <u>K. Soga</u>, "Visual Mapping of Strain in Elastic Silicone Polymers Using Fluorescence Energy Transfer," The 35th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 25–28, 2018.
- K. Soga, M. Kamimura, and M. Umezawa, "Nanomaterials for OTN-NIR Biophotonics," The American Ceramic Society, 2018 Glass & Optical Materials Division Annual Meeting (GOMD 2018), Sanantonio, TX, USA, May 20–24, 2018.
- Y.-C. Tsai, M. Kamimura, <u>K. Soga</u>, and H.-C. Chiu, "Site-Specific Delivery of Hybrid Upconversion Nanoparticles for Photo-Activated Multimodal Therapies of Glioblastoma," 20th International Conference on Biomolecular Engineering and Drug Development (ICBEDD 2018), New York, USA, Apr. 19–20, 2018.
- T. Hongo, <u>K. Soga</u> and K. Kimura, "Study of Photo-Excited Electron Behavior of β-Rhombohedral Boron by Optical Absorption and Reflection Spectra from Gap States," 19th International Symposium on Boron, Borides and Related Materials (ISBB 2017), University of Freiburg, Freiburg, Germany, Sep. 4–7, 2017.
- G. Yeroslavsky, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Visual Mapping of Strain in Elastic Polymers Based on Förster Resonance Energy Transfer (FRET) Phenomena," International Symposium on Imaging Frontier 2017 (ISIF 2017), Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8–9, 2017.
- K. Soga, G. Yeroslabsky, L. Wortmann, M. Umezawa, and M. Kamimura, "Potential of OTN–NIR (NIR II/III) for Various Scenes of Bioimaging," International Symposium on Imaging Frontier 2017 (ISIF 2017), Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8–9, 2017.
- <u>K. Soga</u>, G. Yeroslabsky, L. Wortmann, M. Umezawa, and M. Kamimura, "Second Biological Window: The Key for the Next Generation Bioimaging," International Symposium on Imaging Frontier 2017 (ISIF 2017), Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8–9, 2017.
- T. Chihara, S. Fujii, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Green Color Purity Control of Dual-Excitation Upconversion Display by Using Polymer/NaYF4:Er3+ Crystal Transparent Composite," The 34th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, Japan, June 26–29, 2017.
- M. Kamimura, Y. Yano, S. Kuraoka, S. Suyari, T. Ube, L. Wortmann, and <u>K. Soga</u>, "Near–Infrared to Visible Upconversion Emission Induced Photopolymerization: Polystyrene Shell Coated NaYF4 Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging and Nanothermometry," The 34th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, Japan, June 26– 29, 2017.
- M. Umezawa, M. Kamimura, M. Yoshida, and <u>K. Soga</u>, "Real-Time and Non-Invasive Imaging of Biodistribution of Nanoparticles by Using OTN-NIR Fluorophore in Mice," 8th International Symposium on Nanotechnology, Occupational and Environmental Health, Konventum Congress Center, Elsinore, Denmark, May 29-June 1, 2017.
- K. Tsuji, I. O. Umeda, H. Fujii, and <u>K. Soga</u>, "Over–1000 nm Near–infrared Fluorescence and SPECT Dual–modal in vivo Imaging Based on Rare–earth Doped Ceramic Nanophosphors," The 33rd International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 22–24, 2016.
- 88. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Ceramic Near Infrared Phosphors for Nanothemometry in the Second Biological Window," 40th International Conference and Exposition on Advanced Ceramics and Composites, Hilton Daytona Beach Resort and Ocean Center, Daytona Beach, Florida, USA, Jan.

24-29, 2016.

- E. Hemmer, M. Kamimura, F. Legare, <u>K. Soga</u>, and F. Vetrone, "Lanthanide-doped nanostructures for near-infrared nanothermometry," The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, Dec. 15–20, 2015.
- M. Kamimura, T Matsumoto, S Suyari, and <u>K. Soga</u>, "Nanothermometry in the second biological window based on temperature dependent near-infrared fluorescence of rare-earth doped ceramic nanophosphors," The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, Dec. 15–20, 2015.
- S. Watanabe, T. Asanuma, H. Hyodo, <u>K. Soga</u>, and M. Matsumoto, "Fabrication of polymer-based arrayed waveguide gratings for up conversion transparent displays," The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Honolulu, Hawaii, U.S.A, Dec. 15– 20, 2015.
- M. Kamimura, S. Suyari, T. Matsumoto, and <u>K. Soga</u>, "Surface modification on rare-earth doped ceramic nanophosphors via ligand exchange method for near-infrared biophotonics," The 32nd International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 24–26, 2015.
- M. Kamimura, T. Matsumoto, and <u>K. Soga</u>, "Temperature dependent near-infrared emission of rareearth doped ceramic nanophosphors in the second biological window for sensitive nanothermal imaging," The 5th Asian Biomaterials Congress, Taipei, Taiwan, May 6–9, 2015.

- 94. 上村真生、吉田萌、梅澤雅和、<u>曽我公平</u>, "NIR-II 蛍光ポリマーミセルによる in vivo イメージング," 第 68 回高分子討論会,福井大学, 2019 年 9 月 25-27 日.
- 95. S. Haruguchi, M. Umezawa, S. Sekiyama, K. Okubo, M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Rapid Clearing of Biological Tissues by Matching Refractive Index between Cell Membrane and Media Using Phosphoric Acid," 第 28 回日本 MRS 年次大会, 北九州国際会議場•西日本総合展示場, 2018 年 12 月 18-20 日.
- 96. H. Kobayashi, M. Umezawa, S. Sekiyama, K. Okubo, M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Synthesis of Bright NIR-II Fluorescent Polymer Nanoparticle with IR-1061 Dye via Mild Heating-Cooling Process for Deep Bioimaging in the Second Biological Window," 第 28 回日本 MRS 年次大会,北九州国際 会議場•西日本総合展示場, 2018 年 12 月 18-20 日.
- 97. 梅澤雅和, 上村真生, <u>曽我公平</u>, "ナノ粒子の体内分布及び排泄の制御とライブイメージング," 第 13 回ナノ・バイオメディカル学会, 東京理科大学神楽坂キャンパス, 東京, 2018 年 11 月 27 日.
- 98. 佐藤大幹, 池松弘朗, 桑田健, 矢野友規, 高松利寛, 細川直輝, 前田耕輔, 梅澤雅和, 大 久保喬平, 上村真生, 竹村裕, 横田秀夫, <u>曽我公平</u>, "Development of Near-Infrared Hyperspectral Imaging Endoscopy," 第 26 回日本消化器関連学会週間, 神戸コンベンションセン ター, 2018 年 11 月 1-4 日.
- 99. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "体内深部を可視化する波長 1000nm を超える近赤外蛍光高分子ナノ 粒子,"第 67 回高分子討論会, 北海道大学, 札幌, 2018 年 9 月 12-14 日.
- 100. 上村真生, 吉田萌, 梅澤雅和, <u>曽我公平</u>, "近赤外蛍光高分子ナノ粒子による波長 1000nm を 超える in vivo イメージング,"第47回医用高分子シンポジウム, 産業技術総合研究所 臨海副 都心センター, 2018 年 7 月 19-20 日.
- 101. 梅澤雅和, 上村真生, 本田彬, <u>曽我公平</u>, "生体深部イメージングのための近赤外蛍光ナノ粒子の生体適合ポリマー修飾による低毒性化,"第45回日本毒性学会学術集会, 大阪国際会議場, 大阪, 2018年7月18-20日.
- 102. 梅澤雅和, 上ノ町友紀, 千原拓未, 上村真生, <u>曽我公平</u>, "蛍光波長の異なる希土類ドープ NaYF4 粒子の OTN 近赤外蛍光の生体透過性,"日本薬学会 138 年会, 金沢県立音楽堂,

金沢, 2018 年 3 月 25-28 日.

- 103. 関山翔太, 倉岡修平, 梅澤雅和, 上村真生, <u>曽我公平</u>, "体内深部の局所温度を計測するた めの波長 1000 nm を超える近赤外(OTN-NIR)蛍光温度イメージング,"日本医科大学・東京理 科大学 第4回合同シンポジウム, 東京理科大学神楽坂キャンパス, 2017 年 12 月 9 日.
- 104. 上村真生, 大本歩, 関山翔太, 梅澤雅和, 邱信程, <u>曽我公平</u>, "がんイメージングと治療のため の近赤外光励起型ナノセラノスティクス粒子,"第 39 回日本バイオマテリアル学会大会, タワーホー ル船堀, 東京, 2017 年 11 月 20-21 日.
- 105. 上村真生, 大本歩, 関翔太, 梅澤雅和, 邱信程, <u>曽我公平</u>, "生体深部のがん診断・治療のた めの近赤外光刺激応答型セラノスティックナノ粒子," 第 66 回高分子討論会, 愛媛大学, 愛媛, 2017 年 9 月 20-22 日.
- 106. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "波長 1000nm を超える近赤外(OTN-NIR)蛍光ナノ粒子による生体内深 部の観察,"日本分析化学会第66年会, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2017年9月9-12日
- 107. 渡邉智, P. T. Theint, 上村真生, 鬼束優香, <u>曽我公平</u>, 國武雅司, "ポリメタクリル酸メチルグラフト希土類元素含有セラミックスナノ粒子によるアップコンバージョン発光セルフサポートフィルムの創 出," 第 66 回高分子学会年次大会, 幕張メッセ, 千葉, 2017 年 5 月 29-31 日.
- 108. <u>K. Soga</u>, "Application of OTN-NIR (NIR II/III) for Transparent Biomedical Photonics," Emerging Technologies 2017 Conference, Hotel Sofitel Warsaw Victoria, Warsaw, Poland, May 29-30, 2017.
- 109. 本郷智之, <u>曽我公平</u>, 木村薫, "β-菱面体晶ボロンの光励起挙動のギャップ内準位吸収スペクトルによる解明,"日本物理学会第72回年次大会(2017年), 大阪大学豊中キャンパス, 大阪, 2017年3月17-20日.
- 110. 関谷健太, 上村真生, <u>曽我公平</u>, 北野勝久, "大気圧プラズマ CVD 法を用いた有機物層形成 による蛍光イットリアナノ粒子の高機能化,"第 64 回応用物理学会春季学術講演会, パシフィコ 横浜, 2017 年 3 月 14-17 日.
- 111. 藤井総一郎, 千原拓未, 上村真生, 太田最実, 前橋亮太, 佐藤文紀, 甲斐康朗, <u>曽我公平</u>, "Er3+ドープフッ化物結晶における 2 波長励起アップコンバージョン発光の励起状態励起スペクト ル," 第 55 回セラミックス基礎科学討論会, 岡山コンベンションセンター, 2017 年 1 月 12-13 日.
- 112. 須鎗聡, 上村真生, <u>曽我公平</u>, "外部環境に応答した近赤外蛍光を示す希土類含有 NaYF4 ナノ粒子のナノセンシングへの応用," 第 55 回セラミックス基礎科学討論会, 岡山コンベンションセン ター, 2017年1月 12-13日.
- 113. 関谷健太, 上村真生, 北野勝久, <u>曽我公平</u>, "大気圧プラズマ CVD 法を用いた有機物層形 成による蛍光 Y2O3 ナノ粒子の高機能化," 第 55 回セラミックス基礎科学討論会, 岡山コンベン ションセンター, 2017 年 1 月 12–13 日.
- 114. M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Over~1000 nm Near-Infrared Fluorescent Probes for Deep Tissue in vivo Imaging," 第 26 回日本 MRS 年次大会, 横浜開港記念館, 2016 年 12 月 19–22 日.
- 115. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Materials Design for Photonic Applications of Zirconia Based Material," MS&T (Materials Science and Technology) 2016, Salt Lake City, Utah, USA, Oct. 23–27, 2016.
- 116. 上村真生, 高廣祥子, 吉田萌, <u>曽我公平</u>, "近赤外蛍光高分子ミセルによる波長 1000 nm を超 える in vivo イメージング," 第 65 回高分子討論会, 神奈川大学横浜キャンパス, 2016 年 9 月 14-16 日.
- 117. 緑川善之, 竹村裕, 溝口博, 曽我公平, 上村真生, 須賀一博, 賴威任, 簡野瑞誠, 宇尾基 弘, "下顎模擬歯列の6軸矯正カ評価に関する研究,"第32回ライフサポート学会大会, 第16 回日本生活支援工学会大会, 日本機械学会 福祉工学シンポジウム2016(LIFE2016), 東北大 学青葉山キャンパス,宮城県仙台市, 2016 年9月4-6日.
- 118. 河西真依, 安田裕哉, 竹村裕, 溝口博, <u>曽我公平</u>, 金子和弘, "近赤外光を用いた診断支援 システムに向けた波長選定手法," 第 32 回ライフサポート学会大会, 第 16 回日本生活支援工 学会大会, 日本機械学会 福祉工学シンポジウム 2016(LIFE2016), 東北大学青葉山キャンパス,

宮城県仙台市, 2016 年 9 月 4-6 日.

- 119. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "1000 nm を超える近赤外光バイオイメージングに向けた蛍光プローブの開発," 第 76 回分析化学討論会, 岐阜薬科大学, 2016 年 5 月 28-29 日.
- 120. 上村真生, 松本泰来, 須鎗聡, <u>曽我公平</u>, "第2の生体の窓を利用する近赤外蛍光ナノ温度イ メージング,"第37回日本バイオマテリアル学会大会, 京都テルサ, 2015年11月9-10日 May 29-30, 2017.
- 121. 渡邉智、石井良典、兵藤宏、曽我公平、松本睦良, "ソフト液相吸着法を利用した濡れ性パタ ーン化プラスチック基板上へのセラミックスアップコンバージョン発光層の作製,"第64回高分子討論 会, 東北大学川内キャンパス, 2015 年 9 月 15-17 日.
- 122. 上村真生, 松本泰来, 須鎗聡, <u>曽我公平</u>, "PEG 化セラミックスナノ粒子を用いた近赤外蛍光ナ ノ温度計,"第 64 回高分子討論会, 東北大学川内キャンパス, 2015 年 9 月 15-17 日.
- 123. 上村真生, 松本泰来, 須鎗聡, <u>曽我公平</u>, "希土類含有セラミックスナノ粒子の近赤外発光を 用いたナノ温度イメージング,"日本分析化学会第 64 年会, 九州大学伊都キャンパス, 2015 年 9 月 8-11 日.
- 124. 渡邉智, 浅沼武夫, 笹原貴文, 兵藤宏, 國武雅司, 松本睦良, <u>曽我公平</u>, "アレイ導波路格 子デバイスを利用したアップコンバージョン透明ディスプレイの創製," 第 64 回高分子学会年次大 会, 札幌コンベンションセンター, 2015 年 5 月 27-29 日.

#### 古市 貞一

招待講演

- <u>T. Furuichi</u>, "Brain development and its disorder," 4th Japan–Lithuania Joint Science Symposium on Natural and Life Sciences, Tokyo University of Science, Kagurazaka–Campus, Tokyo, Japan, Oct. 10, 2017.
- <u>T. Furuichi</u>, "Databasing brain gene expression information," 4th INCF Japan Node International Workshop Advances in Neuroinformatics 2016 and 14th INCF Nodes Workshop, RIKEN, Wako, Japan, 2016 年 5 月 28-29 日.
- 3. <u>T. Furuichi</u>, "Enhancing Brain Transcriptome Database by Neural Gene Ontology," 第 39 回日本 神経科学大会, 神奈川県横浜市・パシフィコ横浜, 2016 年 7 月 20-22 日.
- <u>T. Furuichi</u>, "Brain development transcriptome database and developmental disorder," 15th China– Japan–Korea Joint Workshop on Neurobiology and Neuroinformatics (NBNI 2015), Busan, Korea, Dec. 21–22, 2015.
- <u>T. Furuichi</u>, Y. Shinoda, T. and Sadakata, "The molecular mechanisms of brain development and disorders," International Neuroinformatics Coordinatinf Facility (INCF) Congress Neuroinformatics 2015, Cairns, Australia. Aug. 20–22, 2015.
- <u>T. Furuichi</u>, Y. Shinoda, and T. Sadakata, "Animal models of autism spectrum disorders: CAPS2 is critical for proper brain development and social behavior," International Symposium of the Center for Animal Disease Models. Gakushikaikan, Kanda, Chiyoda–ku, Tokyo, Japan. July 21, 2015.

#### 国際学会

- K. Abe, M. Kuroda, Y. Narumi, Y. Kobayashi, S. Itohara, <u>T. Furuichi</u> and Y. Sano, "The role of coordinated activation between insular cortex and basolateral amygdala during taste-aversion association learning to recruit a memory trace," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct., 2019.
- N. Shibano, M. Yamazaki, M. Kuroda, K. Abe, T. Arima, Y. Kobayashi, S. Itohara, <u>T. Furuichi</u> and Y. Sano, "Excitation of medial prefrontal cortex during conditioning enhances fear memory formation," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct., 2019.
- 9. S. Fujima, R. Maniwa, R. Yamaga, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "A possible involvement of Ca2+dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2) in regulating release of the hypothalamic

neuropeptide oxytocin that has a pivotal role in social behavior," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct., 2019.

- S. Mizuno, J. Hirota, H. Iwasaki, S. Okabe, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "Comprehensive profiling and localization of gene expression in the cerebral cortex and striatum of BTBR mice, a mouse model of autism spectrum disorder by comparing with those of C57BL6/J, a highly social mouse strain," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct., 2019.
- S. Fujima, R. Maniwa, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "Oxytocin secretion and social behavior in mice lacking Ca2+-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2)," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA, Nov. 3–7, 2018.
- Y. Shinoda, M. Oka, N. Tanika, Y. Fujiwara, Y. Sano, T. Sadakata, and <u>T. Furuichi</u>, "Social isolationmediated hyperactivity and reduction of anxiety are not affected by Caps2 deficiency," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA, Nov. 3–7, 2018.
- R. Ohashi, Y. Shinoda, S. Shigenobu, Y. Kimori, <u>T. Furuichi</u>, and N. Shiina, "Reduced dendritic mRNA localization and AMPAR surface expression by RNG105/caprin1 deficiency," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA, Nov. 3–7, 2018.
- Y. Okamura–Oho, D. Miyamoto, H. Ikeno, M. Morita, H. Yokota, S. Wemler, A. Sato, <u>T. Furuichi</u>, Y. Okumura, and Y. Yamaguchi, "2D/3D image integration on the BAH viewer," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA, Nov. 3–7, 2018.
- C. Ishii Y. Sshinoda, T. Sadakata, Y. Ishii N. Shibano, Y. Kato, M. Yamazaki A. Yamato, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "CAPS1 finely regulates the exocytosis of synaptic vesicles in calcium- and/or synapse type-dependent manners, affecting on learning and memory," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA, Nov. 3–7, 2018.
- C. Ishii, Y. Shinoda, Y. Fukazawa, T. Sadakata, Y. Ishii, T. Iwasato, S. Itohara, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "CAPS1 stabilizes synaptic vesicles on active zones and ensures basal synaptic transmission at hippocampal CA3–CA1 synapses," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, Washington, DC, Nov., 2017.
- T. Atsumi, M. Ide, Y. Sano, Y. Shinoda, T. <u>Furuichi</u>, and M. Wada, "Study of time-dependent response trait to tactile stimulation in a ASD model mice," The 2nd International Symposium on the Science of Mental Time, Nara, Japan, Sep. 12–13, 2017.
- Y. Ishii, C. Ishii, Y. Shinoda, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "A deficiency of Ca2+ –dependent activator protein for secretion 1 affects hippocampal long-term potentiation," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, San Diego, CA, USA, Nov. 12–16, 2016.
- M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, K. Yagishita, M. Katakai, Y. Shinoda, T. <u>Furuichi</u>, and K. Kansaku, "A rubber tail task in Ca-dependent activator protein for secretion (CAPS) 2 knockout mice," Neuroscience 2016, San Diego, CA, USA, Nov. 12–16, 2016.

- 20. 加藤優奈, 水野翔太, 石井千晶, 山中琴未, 栄田浩伸, 村上祐香, 斉藤貴志, 西道隆臣, <u>古市貞一</u>, 佐野良威, "アミロイド β の蓄積による軽度認知機能低下と炎症性免疫反応の亢 進," 第 42 回 日本分子生物学学会, 福岡, 2019 年 12 月.
- 21. 定方哲史, 延武, 柴崎貢志, 今野歩, 平井宏和, 石崎泰樹, <u>古市貞一</u>, "クラス II ARFタンパク 質は, 小脳プルキンエ細胞の軸索起始部へのNaV1.6チャネルの輸送に関与する,"第92回日本生 化学会大会, 横浜市・パシフィコ横浜, 2019年9月18-20日.
- 22. 佐藤陽太郎, 露崎美穂, 志村拓哉, 小林りか, 定方哲史, 佐野良威, <u>古市貞一</u>, "分泌関連タンパク質 CAPS2 の欠損は自然発症慢性膵炎を引き起こす,"第 92 回日本生化学学会, 横浜, 2019 年 9 月.

- 3. 弘田淳奈,水野翔太,岩崎広英,岡部繁男,佐野良威,<u>古市貞一</u>,"自閉症モデルマウス BTBR 系統で特異的に発現変動する遺伝子の脳内局在および機能解析,"第92回日本生化 学学会,横浜、2019年9月.
- 24. T. Sadakata, N. Hosoi, K. Shibasaki, S. Konno, H. Hirai, Y. Ishizaki, and <u>T. Furuichi</u>, "Deletion of class II ARFs in mice causes tremor by inhibiting Na1.6 trafficking to cerebellar Purkinje cell axon initial segments," 第 42 回日本神経科学大会•第 62 回日本神経化学会大会, 新潟, 2019 年 7 月 25–28 日.
- 25. S. Mizuno, J. Hirota, H. Iwasaki, S. Okabe, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "Comprehensive gene expression profiling between BTBR mice, a mouse model of autism spectrum disorder, and C57BL6/J mice showing high levels of sociality," NEURO2019(第 42 回日本神経科学大会、第 62 回日本神経 化学会大会, 新潟, 2019 年 7 月 25-28 日.
- 26. K. Abe, M. Kuroda, Y. Narumi, Y. Kobayashi, S. Itoahra, <u>T. Furuichi</u> and Y. Sano, "The role of coordinated activation between insular cortex and basolateral amygdala during taste-aversion association learning to recruit a memory trace," NEURO2019(第 42 回日本神経科学大会, 第 62 回日本神経化学会大会), 新潟, 2019 年 7 月 25-28 日.
- 27. S. Fujima, R. Yamaga, H. Minami, R. Maniwa, Y. Shinoda, M. Abe, K. Sakimura, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "Mice lacking Ca2+-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2) show a decrease in oxytocin release and impaired social behavior," NEURO2019(第 42 回日本神経科学大会, 第 62 回日本神経化学会大会), 新潟, 2019 年 7 月 25-28 日.
- 28. K. Yamanaka, S. Mizuno, <u>T. Furuichi</u> and Y. Sano, "Decreased social interaction and motivated approach behavior in the X11L-deficient mice," NEURO2019(第 42 回日本神経科学大会、第 62 回日本神経化学会大会), 新潟, 2019 年 7 月 25-28 日.
- 29. T. Arima, C. Ishii, Y. Ishii, N. Shibano, M. Yamazaki, Y. Kato, A. Yamato, Y. Shinoda, T. Sadakata, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "Significant role of CAPS1, a regulator of synaptic exocytosis, in trisynaptic circuit and hippocampal learning," NEURO2019(第 42 回日本神経科学大会、第 62 回日本神経 化学会大会), 新潟, 2019 年 7 月 25–28 日.
- 30. M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, K. Takano, Y. Sano, Y. Shinoda, <u>T. Fruichi</u>, and K. Kansaku, "Lower c-Fos expressions in the posterior parietal cortex during rubber tail task in Caps2 KO mice," 9th FAOPS(第 9 回アジア・オセアニア生理学会連合大会)&第 96 回日本生理学会合同大会, 神 戸, 2019 年 3 月.
- 31. K. Shimizu, K. Kawamoto, T. Sadakata, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "The molecular mechanism regulating axonal localization of the secretion-related protein CAPS2," 第 61 回日本神経化学会大会•第 40 回日本生物学的精神医学会,神戸市, 2018 年.
- 32. K. Abe, Y. Narumi, S. Fujima, Y. Kobayashi, S. Itohara, <u>T. Furuichi</u> and Y. Sano, "Interaction between insular cortex and amygdala during a taste aversion association," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- S. Fujima, R. Yamaga, H. Minami, R. Maniwa, Y. Shinoda, M. Abe, K. Sakimura, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "Oxytocin secretion and social behavior in mice lacking Ca2+-dependent activator protein for secretion 2," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- 34. C. Ishii, Y. Ishii, N. Shibano, Y. Kato, M. Yamazaki, A. Yamato, Y. Shinoda, T. Sadakata, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "CAPS1 regulates efficient and/or synchronous exocytosis of releasable synaptic vesicles, which effects on hippocampal synaptic plasticity, learning and memory," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- S. Mizuno, C. Ishii, H. Iwasaki, S. Okabe, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "Comparative gene expression profiling between BTBR mice, a mouse model of autism spectrum disorder," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.

- 36. M. Oka, T. Sadakata, Y. Sano, <u>T. Furuichi</u>, Y. Fujiwara, and Y. Shinoda, "CAPS2 deficiency does not affect social isolation–induced behavioral abnormalities," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- 37. M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, K. Takano, Y. Sano, Y. Shinoda, <u>T. Fruichi</u>, and K. Kansaku, "Lower c-Fos expressions in the posterior parietal cortex during rubber tail task in Caps2 KO mice," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- 38. T. Atsumi, M. Ide, Y. Sano, Y. Shinoda, <u>T. Furuichi</u>, and M. Wada, "Aberrant responses to the biological motion of CAPS2 knockout mice by conspecificse," 行動 2017 日本動物行動関連学会•研究 会合同大会, 東京, 2017 年.
- 39. 和田真, 渥美剛史, 井手正和, 佐野良威, 篠田陽, <u>古市貞一</u>, 神作憲司, "ラバーテイル応答に おける CAPS2 遺伝子変異型マウスへのオキシトシン投与関する予備検討," 行動 2017 日本動 物行動関連学会・研究会合同大会, 東京, 2017 年.
- 40. 渥美剛史, 井手正和, 佐野良威, 篠田陽, <u>古市貞一</u>, 和田真, "CAPS2遺伝子変異型マウス における同種個体バイオロジカル・モーションへの応答の変容,"第40回日本神経科学大会, 千葉, 2017年.
- 41. 石井千晶, 篠田陽, 深澤有吾, 定方哲史, 石井佑季, 佐野良威, 岩里琢治, 糸原重美, <u>古</u> <u>市貞一</u>, "CAPS1はシナプス小胞を活性帯上で安定化させることで海馬CA3-CA1シナプスに おいて開口放出を調節する," 第 40 回日本神経科学大会、千葉、2017 年.
- 42. 柴野奈津美, 石井佑季, 佐野良威, <u>古市貞一</u>, "エピソード記憶の形成における分泌関連タンパ ク質CAPS1の役割," 第 40 回日本神経科学大会、千葉、2017 年.
- 43. 鯉沼真吾, 野村理子, 小島拓哉, 根岸亮太, 竹内公平, 瀬木(西田)恵里, 後飯塚僚, <u>古市</u> <u>貞一</u>, 岩倉洋一郎, 和田直之, 高橋直樹, 郡山恵樹, 木山博資, 中村岳史, "膜輸送を介して 突起伸展を促進する Rho ファミリーG タンパク質 TC10 は末梢神経の軸索再生に働く,"第40回 日本分子生物学会年会・第90回日本生化学会大会, 神戸ポートアイランド・神戸, 2017年12 月 6-9日.
- 44. 渥美剛史, 井手正和, 佐野良威, 篠田陽, <u>古市貞一</u>, 和田真, "Caps2 KO自閉症モデルマウス における触覚刺激の時間分解能の検討,"次世代脳プロジェクト 冬のシンポジウム. 一橋大学 一橋講堂, 2017年12月20-22日.
- 45. M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, K. Yagishita, M. Katakai, Y. Shinoda, T. <u>Furuichi</u>, and K. Kansaku, "A rubber tail task in CAPS2 KO mice: second report," 日本動物心理学会第76回大会, 北海道大学, 2016年11月23-25日.
- 46. M. Wada, M. Ide, K. Yagishita, M. Katakai, Y. Shinoda, T. <u>Furuichi</u>, and K. Kansaku, "A rubber tail task in CAPS2 KO mice: an initial study," 第75回日本動物心理学会大会,日本女子大学,2015年9月10–12日.

## 後飯塚 僚

招待講演

- 1. <u>後飯塚僚</u>, "脂肪組織とリンパ球," The Imaging Frontier Center Symposium 2019, 東京理科大学 野田キャンパス7号館6階ホール,千葉, 2019年12月14日.
- 2. 後飯塚僚, "2019 年度ラスカー賞「B 細胞とT 細胞の発見」に寄せて,"日本大学大学院獣医学研究科大学院生主催セミナー,日本大学生物資源科学部湘南キャンパス, 2019 年 11 月 21 日.
- 3. <u>R. Goitsuka</u>, "A perinatal niche that regulates differentiation and function of fetal-type B-lineage cells," The 30<sup>th</sup> Anniversary International Symposium of Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science, 秋葉原コンベンションセンター,東京, 2019 年 10 月 26 日.
- 4. <u>R. Goitsuka</u>, "Wasteland or Wonderland? : the last unmapped organ in the homeostatic maintenance of the body," 2<sup>nd</sup> International Innovation Dialogue on Genome Engineering Animal Models and Biomedical Research Symposium, Dalian Medical University, China, 2018年9月10–12日.

- 5. <u>R. Goitsuka</u>, "Myeloproliferative diseases triggered by the leukemogenic niche in the spleen," Third International BioMedical Interface Symposium, Okinawa Prefectural Museum & Art Museum, Naha, 2018年3月10–11日.
- 6. <u>R. Goitsuka</u>, "The role of transcription factor Tlx1 in converting cell fate of dorsal pancreatic to spleen mesenchymal progenitors," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika Campus, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, 2017年7月8-9日.
- 7. <u>後飯塚僚</u>, "脾臓間葉系細胞による髄外造血の制御,"京都大学ウイルス研究所セミナー・共同 利用・共同研究拠点セミナー, 京都大学ウイルス研究所, 京都, 2016年9月28日.
- 8. <u>R. Goitsuka</u>, "Extramedullary hematopoietic niche in the spleen," International Symposium of the Center for Animal Disease Models 2016, "Metabolic Diseases and Aging" Tokyo Garden Place, Tokyo, 2016年7月16日.
- 後飯塚僚, "間葉系ストローマ細胞による造血制御とその応用,"第6回家畜感染症学会シンポジウム「基礎と臨床を結ぶ」~基礎研究の最前線で活躍する獣医師から学ぶ~,国立科学博物館,東京,2016年6月3日.
- 10. 後飯塚僚, "髄外造血ニッチとしての脾臓微小環境の形成機構," 福岡大学医学部再生医学研究所セミナー, 福岡, 2016年2月24日.

国際会議

- 11. <u>R. Goitsuka</u>, "The role of transcription factor Tlx1 in converting cell fate of dorsal pancreatic to spleen mesenchymal progenitors," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika Campus, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8–9, 2017.
- 12. A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "The mesenchymal cells expressing Tlx1 retain a potential to give rise to various types of mature stromal cells in the adult spleen," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika Campus, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8–9, 2017.
- Y. Ueno, A. Oda, T. Tezuka, C. Nishiyama, and <u>R. Goitsuka</u>, "Transcription factor Tlx1 marks hematopoietic stem/progenitor cell niche in the spleen," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika Campus, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8–9, 2017.
- A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "The cell components of perifollicular hematopoietic niche in the spleen," 7th International Workshop of Kyoto T Cell Conference, Kyoto Univ., Kyoto, Japan, Mar. 13–17, 2017.
- 15. A. Oda, T. Kasahara, and <u>R. Goitsuka</u>, "Mesenchymal cells expressing Tlx1 serve as an extramedullary niche in the spleen," International Congress of Immunology 2016, Melbourne Convention and Exhibition Centre, Melbourne, Australia, Aug. 21–26, 2016.
- A. Oda, R. Nakahara, C. Notsu, T. Kasahara, and <u>R. Goitsuka</u>, "Contribution of Tlx1-expressing mesenchymal cells to splenic microenvironment formation during organogenesis and regeneration," Venice Thymus Meeting 2015, Venice International University, Italy, Apr. 9–13, 2015.

- 17. Y. Amemiya, S. Okazaki, C. Nishiyama, T. Nakamura and <u>R. Goitsuka</u>, "Accumulation of leukemic cells to the spleen is regulated by a transcription factor Tlx1 expressed in perifollicular mesenchymal cells," 第48回日本免疫学会学術集会, アクトシティー浜松, 浜松, 2019年12月 11-13日.
- 18. K. Fujisaki, S. Okazaki, C. Nishiyama, Y. Harada, and <u>R. Goitsuka</u>, "Genetic labeling of neonatal CXCR5-expressing cells for tracking long-lived B-1 cells in the adultsm" 第48回日本免疫学会 学術集会, アクトシティー浜松, 浜松, 2019年12月11-13日.
- 19. S. Hosoda, S. Okazaki, C. Nishiyama and <u>R. Goitsuka</u>, "Recruitment of peritoneal B-1a cells to the spleen is regulated by the perifollicular mesenchymal niche," 第48回日本免疫学会学術集会, ア クトシティー浜松, 浜松, 2019年12月11-13日.

- 20. 行方昌人,山本昌邦,<u>後飯塚僚</u>, "毛包器官におけるMeis1の局在変化と機能,"第42回日本 分子生物学会年会,福岡国際会議場,福岡,2019年12月3-6日.
- 21. <u>後飯塚僚</u>, "2019年度ラスカー賞「B細胞とT細胞の発見」に寄せて、"日本大学大学院獣医学研 究科大学院生主催セミナー,日本大学生物資源科学部湘南キャンパス, 2019年11月21日.
- 22. Y. Amemiya, S. Okazaki, T. Nakamura and <u>R. Goitsuka</u>, "Extramedullary leukemogenic niche in the spleen exacerbates the progression of acute myeloid leukemia," 第78回日本癌学会学術総会, 国立京都国際会館, 京都, 2019年9月26-28日.
- 23. 藤崎桂子, 西山千春, 岡崎章悟, 後飯塚僚, "脾臓微小環境による骨髄自然制御性プラズマブ ラストの分化・移行制御," 第29回学術集会Kyoto T cell conference (KTCC), 京都大学芝蘭会 館, 京都, 2019年6月7-8日.
- 24. 細田祥子, 藤崎桂子, 西山千春, 原田陽介, 岡崎章悟, <u>後飯塚僚</u>, "転写因子Tlx1を発現す る成体脾臓微小環境による腹腔B-1a細胞の脾臓への移行制御,"第29回学術集会Kyoto T cell conference (KTCC), 京都大学芝蘭会館, 京都, 2019年6月7-8日.
- 25. Y. Amemiya, C. Nishiyama, A. Oda, T. Nakamura and <u>R. Goitsuka</u>, "Abnormality in the splenic microenvironment is involved in the malignant transformation of acute myeloid leukemia," 第47回 日本免疫学会学術集会, 福岡国際会議場, 福岡, 2018年12月10-12日.
- 26. Y. Ueno, C. Nishiyama, A. Oda, and <u>R. Goitsuka</u>, "Transcription factor Tlx1 is involved in the postnatal splenic architectural maintenance in a non-cell autonomous manner," 第47回日本免疫学会学術集会, 福岡国際会議場, 福岡, 2018年12月10-12日.
- 27. S. Hosoda, K. Fujisaki, Y. Ueno, C. Nishiyama, K. Haniuda, A. Oda, D. Kitamura, and <u>R. Goitsuka</u>, "Transcription factor Tlx1 regulates a niche for innate-like B cells in the spleen," 第47回日本免 疫学会学術集会, 福岡国際会議場, 福岡, 2018年12月10-12日.
- 28. A. Oda, K. Fujisaki, Y. Ueno, C. Nishiyama, and <u>R. Goitsuka</u>, "The spleen serves as a specific microenvironment that support development of B-1a cells and LAG-3<sup>+</sup> CD138<sup>+</sup> natural regulatory plasma cells," 第47回日本免疫学会学術集会, 福岡国際会議場, 福岡, 2018年12月10-12日.
- 小田朗永,雨宮祐輔,<u>後飯塚僚</u>, "骨髄増殖性疾患発症における脾臓微小環境の役割,"第 28回学術集会Kyoto T cell conference (KTCC),京都大学芝蘭会館,京都,2018年6月15-16 日.
- 30. A. Oda, Y. Amemiya, S. Hosoda, and <u>R. Goitsuka</u>, "Niche-induced myeloproliferative-like disease caused by overexpression of Tlx1 in situ in splenic stromal cells," 第46回日本免疫学会学術集会, 仙台国際センター, 仙台, 2017年12月12-14日.
- 31. Y. Ueno, S. Hosoda, C. Nishiyama, A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "Two mesenchymal progenitor cell populations in the spleen defined by a novel three-dimensional culture system," 第46回日本免 疫学会学術集会, 仙台国際センター, 仙台, 2017年12月12-14日.
- 32. T. Tezuka, M. Nishimoto, A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "Defects in splenic architectural organization by postnatal deletion of the gene encoding a transcription factor Tlx1," 第46回日本免疫学会学術 集会, 仙台国際センター, 仙台, 2017年12月12–14日.
- 33. A. Oda, Y. Amemiya, S. Hosoda, C. Nishiyama and <u>R. Goitsuka</u>, "The spleen is a potential leukemogenic niche accelerating myeloproliferative neoplasms," 第40回日本分子生物学会年 会, 神戸ポートアイランド, 神戸, 2017年12月6-9日.
- 34. T. Tezuka, A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "Postnatal deletion of a gene encoding a transcription factor Tlx1 in mesenchymal cells causes defects in the formation of white pulp and marginal sinus structures in the spleen," 第40回日本分子生物学会年会,神戸ポートアイランド,神戸,2017年 12月6-9日.

- 35. Y. Ueno, S. Hosoda, C. Nishiyama, A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "A novel three-dimensional spheroid culture system that maintains mesenchymal progenitor cell populations of the spleen," 第40回日 本分子生物学会年会,神戸ポートアイランド,神戸,2017年12月6-9日.
- 36. T. Owa, S. Taya, S. Miyashita, T. Nishioka, <u>R. Goitsuka</u>, T. Nakamura, K. Kaibuchi and M. Hoshino, "Role of Meis1 in the cerebellar development," 第40回日本分子生物学会年会,神戸ポートアイ ランド,神戸, 2017年12月6-9日.
- 37. S. Koinuma, R. Nomura, T. Kojima, R. Negishi, K. Takeuchi, E. Segi-Nishida, <u>R. Goitsuka</u>, T. Fruichi, Y. Iwakura, N. Wada, N. Takahashi, Y. Koriyama, H. Kiyama and T. Nakamura, "Rho GTPase TC10, implicated in neuritegenesis through vesicle transport, promotes axon regeneration after PNS injury," 第40回日本分子生物学会年会,神戸ポートアイランド,神戸,2017年12月6-9日.
- 38. <u>後飯塚僚</u>, "骨髄増殖性疾患発症における脾臓微小環境の役割," 第160回日本獣医学会学 術集会, 鹿児島大学郡元キャンパス, 鹿児島, 2017年9月13-15日.
- 39. 大輪智雄,田谷真一郎,宮下聡,西岡朋生,中村卓郎,<u>後飯塚僚</u>,貝淵弘三,星野幹雄, "Meis1の小脳顆粒細胞における多段階発生制御,"第39回日本分子生物学会年会,パシフィ コ横浜,神奈川,2016年11月30日-12月2日.
- 40. A. Oda, T. Tezuka, T. Kasahara, Y. Ueno, C. Nishiyama, and <u>R. Goitsuka</u>, "Interdependent roles of Tlx1-expressing mesenchymals cells and macrophages in extramedullary hematopoiesis in the spleen," 第45回日本免疫学会学術集会, 沖縄コンベンションセンター, 沖縄, 2016年12月5-7日.
- 41. T. Kasahara, A. Oda, T. Tezuka and <u>R. Goitsuka</u>, "The splenic marginal sinus consists of two distinct cell populations expressing MAdCAM-1," 第45回日本免疫学会学術集会,沖縄コンベンションセンター,沖縄, 2016年12月5-7日.
- 42. T. Tezuka, T. Kasahara, Y. Ueno, C. Nishiyama, A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "Transcription factor Tlx1 regulates the ability of spleen mesenchymal stromal cells to support the survival of hematopoietic progenitor cells *in vitro*," 第45回日本免疫学会学術集会, 沖縄コンベンションセンター, 沖縄, 2016年12月5-7日.
- 43. 小田朗永、野津智尋、<u>後飯塚僚</u>, "脾臓における髄外造血の間葉系ストローマ細胞とマクロファー ジによる制御," 第26回学術集会Kyoto T cell conference (KTCC), 延暦寺会館, 滋賀, 2016年5 月20-21日.
- 44. 笠原透, 中原亮, 野津智尋, 小田朗永, <u>後飯塚僚</u>, "ホメオドメイン転写因子TIx1は脾臓原基 間葉系細胞の分化運命を規定する,"第25回学術集会Kyoto T cell conference (KTCC), 京都 大学芝蘭会館, 京都, 2015年5月15-16日.
- 45. 小田朗永, 笠原透, 野津智尋, <u>後飯塚僚</u>, "ホメオドメイン転写因子TIx1は赤脾髄における赤芽 球・マクロファージの維持に関与する,"第25回学術集会Kyoto T cell conference (KTCC), 京都大 学芝蘭会館, 京都, 2015年5月15–16日.
- 46. T. Kasahara, A. Oda, and <u>R. Goitsuka</u>, "Cell fate mapping of embryonic spleen primordium cells expressing the transcription factor Tlx1," 第24回日本バイオイメージング学会学術集会, 東京理科大学葛飾キャンパス, 東京, 2015年9月26-28日.
- 47. T. Katsumoto, K. Yamagata, Y. Ogawara, T. Nakamura, <u>R. Goitsuka</u>, and I. Kitabayashi, "Endogenous MOZ was essential for MOZ-TIF2-induced Meis1 upregulation and AML development," 第77回 日本血液学会学術集会, 金沢, 2015年10月16-18日.
- 48. A. Oda, C. Notsu, and <u>R. Goitsuka</u>, "Overexpression of Tlx1 *in situ* causes extramedullary hematopoiesis in the adult spleen," 第44回日本免疫学会学術集会, 札幌コンベンションセンター, 札幌, 2015年11月18-20日.
- 49. T. Kasahara, A. Oda, and <u>R. Goitsuka</u>, "Transcription factor Tlx1 regulates cell migration of the spleno-pancreatic mesenchyme in spleen organogénesis," 第44回日本免疫学会学術集会, 札幌コンベンションセンター, 札幌, 2015年11月18-20日.
- 50. C. Notsu, A. Oda, and <u>R. Goitsuka</u>, "Maintenance of the white pulp architecture in the postnatal spleen requires Meis1 expression in mesenchymal progenitor cells," 第44回日本免疫学会学術 集会, 札幌コンベンションセンター, 札幌, 2015年11月18-20日.
- 51. Y. Tashiro, A. Murakami, <u>R. Goitsuka</u>, T. Shimizu, H. Kishimoto and T. Azuma, "An asymmetric antibody repertoire is shaped between plasmablasts and plasma cells after secondary immunization with (4-hydroxy-3-nitrophenyl acetyl; NP) hapten,"第44回日本免疫学会学術集会, 札幌コン ベンションセンター, 札幌, 2015年11月18-20日.

## 朽津和幸

## 招待講演

- 1. <u>K. Kuchitsu</u>, "Reactive oxygen species, autophagy and programmed cell death in plant reproduction,"日本植物生理学会国際シンポジウム New Trends of Plant Reproduction Emerging from Cell Biological Approaches, 札幌, 2018 年 3 月 28 日.
- 2. <u>K. Kuchitsu</u>, "Stories of Oxygen and Active Molecular Species in Photosynthetic Organisms,"日本植物生理学会国際シンポジウム, 札幌, 2018 年 3 月 29 日.
- 3. K. Hashimoto, <u>K. Kuchitsu</u>, "Multiple roles of ROS-generating enzymes, MpRbohA and MpRbohB, in growth, development and stress responses in *Marchantia polymorpha*,"日本植物生理学会国際シンポジウム、札幌, 2018 年 3 月 29 日.
- 4. <u>K. Kuchitsu</u>, "ROS-Mediated Regulation Development and Stress Responses in Plant; towards the Control of Growth and Quality of Crops by Plasma Technology,"2nd International Workshop On Plasma Agriculture, 岐阜, 2018 年 3 月 10 日.
- 5. <u>朽津和幸</u>, "活性酸素--Ca<sup>2+</sup>シグナルネットワーク・オートファジーによる植物の発生・プログラム細胞 死・ストレス応答の制御,"細胞生物学セミナー 富山 2018 年 3 月 8 日
- 6. <u>朽津和幸</u>, "活性酸素を介した植物の成長・生殖・ストレス応答の制御,"システム情報科学研究院セミナー, 福岡, 2018 年 3 月 2 日.
- 7. <u>朽津和幸</u>, "宇宙における人間と植物: 人間のパートナー「植物」を理解し、共に生きる,"宇宙教 育セミナー 東京 2018 年 2 月 12 日
- 8. <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of Development and Stress Responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> Signaling Network in plants,"International Marchantia Workshop 2017-Renaissance of *Marchantia polymorpha*-the genome and beyond-, 愛知, 2018 年 12 月 17 日.
- 9. <u>朽津和幸</u>, "植物オートファジー研究の第二の夜明け,"日本植物学会シンポジウム, 千葉 2018 年9月9日
- 10. 来須孝光, <u>朽津和幸</u>, "イネの生存戦略におけるオートファジーの重要性,"日本植物学会シンポ ジウム, 千葉, 2018 年 9 月 9 日.
- 11. <u>K. Kuchitsu, "</u>Regulation of plant development and stress responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy,"3rd International Symposium on Plant Environmental Sensing, 中国山 西師範大学, 2017 年 8 月 14 日.
- <u>K. Kuchitsu</u>, "Visualizing the regulation of plant development and stress responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy,"International Symposium on Imaging Frontier, 千葉, 2017 年 7 月 8 日.
- 13. <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of plant development and stress responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy,"Plant Signaling & Behavior 2017, 島根, 2017 年 6 月 29 日.
- 14. <u>朽津和幸</u>,"活性酸素-Ca<sup>2+</sup>シグナルネットワーク・オートファジーによる植物の免疫・発生・生殖の制御,"生物生産フロンティアセミナー,秋田,2017年4月25日.
- 15. <u>朽津和幸</u>, "植物と活性酸素: 明らかになりつつある活性酸素生成酵素の多彩な機能," 医理工 学際セミナー, 千葉, 2016.
- 16. <u>朽津和幸</u>, "イネの生殖・免疫・代謝制御におけるオートファジーの役割," 第 10 回オートファジー研究会, 新潟, 2016.

- 17. <u>朽津和幸</u>, "宇宙における人間と植物:人間のパートナー「植物」を理解し, 共に生きる," 宇宙教 育プログラム, 千葉, 2016.
- 18. <u>朽津和幸</u>, "Regulation of plant development and defense responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," Comparative Aging Research Center Seminar, 大邱広域市, 韓国, 2016.
- 19. <u>朽津和幸</u>, "Reactive Oxygen Species, Programmed Cell Death and Autophagy as Double-Edged Swords in Plant Life: Roles in Morphogenesis and Adaptation,"QBIC Workshop, 千葉, 2016.
- 20. <u>朽津和幸</u>, "Regulation of plant development and defense responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," Viikki Plant Science Seminar, Helsinki, Finland, 2016.
- 21. <u>朽津和幸</u>, "Regulation of plant development and defense responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," Centre of Excellence in Integrative Photosynthesis and Bioactive Compound Research at Systems Biology Level Seminar, Turku, Finland, 2016.
- <u>K. Kuchitsu, "Regulation of plant development and defense responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network," Finnish-Japanese symposium 2016 "Integration of photosynthesis with cellular metabolism: towards sustainable bioeconomy", Saariselkä, Finland, 2016.
  </u>
- 23. <u>朽津和幸</u>, "植物の生き方を学び, 活かす~環境・食糧・エネルギー問題の基礎として~,"東京都生物教育研究会, 東京, 2016.
- 24. <u>朽津和幸</u>, "Regulation of Plant Development and Stress Responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> Signaling Network and Autophagy," The 2nd Symposium on Plant Environmental Sensing, 杭州市, 中国, 2016.
- 25. <u>朽津和幸</u>,橋本研志,賀屋秀隆,北畑信隆, "ROS-Ca<sup>2+</sup>シグナルネットワークによる植物の発生と ストレス応答の制御,"第 57 回日本植物生理学会年会,盛岡, 2016.
- 26. <u>朽津和幸</u>, "生物研究のおもしろさ, 大切さをどう伝えるか?~植物の生き方の理解とバイオイメージング~," 日本生物教育学会第 100 回大会公開シンポジウム「専門家育成のための高校生物教育の幹とは~大学・高校双方の視点を材料に~」,"東京, 2016.
- 27. <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of plant stress responses and development by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network," International Plant Physiology Congress 2015, India, 2015.
- 28. <u>朽津和幸</u>, "NADPH oxidase による活性酸素種の積極的生成と動物・植物・菌類の高次生命機能,第 38 回日本分子生物学会・第 88 回日本生化学会大会合同大会(BMB2015), 神戸, 2015.
- 29. <u>朽津和幸</u>, 橋本研志, 船木洋一, 木村貴史, 杉浦誠, 籔田渉二, "植物 NADPH oxidase/Rboh の Ca<sup>2+</sup>・リン酸化を介した活性制御機構と発生・生殖・ストレス応答における生理的役割," 第 38 回日本分子生物学会・第 88 回日本生化学会大会合同大会(BMB2015), 神戸, 2015.
- 30. 橋本研志,山田融,船木洋一,賀屋秀隆,北畑信隆,石崎公庸,西浜竜一,河内孝之,<u>朽</u> <u>津和幸</u>,"植物 NADPH oxidase の分子進化と基部陸上植物ゼニゴケに探る活性制御の基本機 構,"第 38 回日本分子生物学会・第 88 回日本生化学会大会合同大会(BMB2015),神戸, 2015.
- 31. <u>朽津和幸</u>, "生物の歴史性と多様性: 植物の生き方と情報処理," 自然科学研究機構・大学共 同利用機関法人コロキウム(NINS/IURIC Colloquium) 2015「学術研究の未来」, 静岡県掛川市, 2015.
- 32. <u>朽津和幸</u>, "植物はオートファジーをどのように活用しているか?:イネの生殖・種子形成, 代謝制御 におけるオートファジーの役割," 第9回オートファジー研究会, 淡路, 2015.
- 33. <u>朽津和幸</u>, "植物の生き様~動物とは違うもう一つの生き方:環境・食糧・エネルギー問題解決に 向けて~," グローバルサイエンスキャンパス基礎コース応用編生物, 野田, 2015.
- 34. <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of stress responses and development by the ROS–Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy in plants," International Symposium on Dynamics and Regulation of Photosynthesis, 奈良, 2015.
- 35. <u>K. Kuchitsu</u>, "Signaling Network in Plants," International QBIC Workshop 2015, 野田, 2015.

- 36. <u>朽津和幸</u>, 大滝幹, 羽山大介, 北畑信隆, 花俣繁, 来須孝光, 上田貴志, "植物の感染防御 応答の制御と細胞内の膜動態,"第 24 回日本バイオイメージング学会学術集会シンポジウム, 葛飾, 2015.
- 37. 来須孝光, 陶文紀, 花俣繁, 岡咲洋三, 二平耕太朗, 小嶋美紀子, 徳永京也, 北畑信隆, 榊原均, 斉藤和季, 多田雄一, 小関泰之, <u>朽津和幸</u>, "イネの花粉・種子形成および代謝制御 におけるオートファジーの役割,"第 24 回日本バイオイメージング学会学術集会, 葛飾, 2015.
- 38. <u>K. Kuchitsu</u>, H. Kaya, and K. Hashimoto, "Enzymatic production of reactive oxygen species in sexual reproduction," 日本植物学会第 79 回大会シンポジウム, 新潟, 2015.
- 39. T. Kurusu, B. Toh, S. Hanamata, T. Kubo, Y. Okazaki, T. Ohnishi, N. Nagata, K. Saito, T. Kinoshita, N. Kurata, Y. Tada, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Roles of autophagy during male reproductive development and sexual reproduction in rice," 日本植物学会第 79 回大会シンポジウム, 新潟, 2015.
- 40. A. Matsumoto, K. Kanamori, <u>K. Kuchitsu</u>, and H. Ohwada, "Extracting the Common Structure of Compounds to Induce Plant Immunity Activation using ILP," 25th International Conference On Inductive Logic Programming, 京都, 2015.
- 41. <u>K. Kuchitsu</u>, "Comparative comprehensive analyses of calcium-mediated regulation, localization and functions of ROS-producing NADPH oxidases," 12th International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants: from model systems to field, Verona, Italy, 2015.
- 42. <u>朽津和幸</u>, "活性酸素--Ca<sup>2+</sup>シグナルネットワーク, オートファジーによる植物の免疫・発生・生殖の制御," バイオフォーラム 2015, 京都, 2015.
- 43. M. Nara, H. Morii, T. Shimizu, <u>K. Kuchitsu</u>, T. Miyakawa, and M. Tanokura, "Infrared studies on the Ca<sup>2+</sup>-bound coordination structuure of synthetic pepride analoues of the Ca<sup>2+</sup>-binding site," 19th International Symposium on Calcium Binding Proteins and Calcium Function In Health and Disease, USA, 2015.
- 44. <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of plant immunity, development and reproduction by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," 中国科学院上海生命科学研究院現代生物学系列講座, 中国, 2015.
- 45. <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of Plant Immunity, Development and Reproduction by ROS–Ca<sup>2+</sup> Signaling Network and Autophagy," International Symposium on Plant Environmental Sensing, 中国, 2015.
- <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of plant immunity, stress responses, development and reproduction by ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling networks and autophagy," Helsinki Plant Seminar, Finland, 2015.
- 47. <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of plant immunity, development and reproduction by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," Bioproduction Research Institute Seminar, つくば, 2015.

## 大谷直子

招待講演

- 1. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌関連物質による肝がんの進展メカニズム," 第 33 回肝類洞壁細胞研究会 学術集会 特別講演, 2019 年 12 月 1 日.
- 2. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌叢と疾患," 第 39 回日本マグネシウム学会学術集会 特別講演, 2019 年 11 月 30 日.
- 3. <u>大谷直子</u>, "臓器横断的に考える肥満症の健康障害:領域横断的肥満症 WG 連携企画(2) 肥満と肝がん 腸内細菌関連物質が関わるがん進展機構,"第40回日本肥満学会・第37回日本肥満症治療学会学術集会, 2019 年11月2日.
- <u>N. Ohtani</u>, "The Mechanism of Obesity-associated Liver Cancer Progression," The 50th International Symposium of The Princess Takamatsu Cancer Research Fund, New Horizons for Cancer Research and Precision Medicine, Nov. 13, 2019.
- 5. <u>N. Ohtani</u>, "The Role of Gut Microbiota in Anti-tumor Immunity in Liver Tumor Microenvironment," JSH International Liver Conference 2019, "Liver Cirrhosis and Portal Hypertension: Modern

Pathophysiology and Emerging Therapies" Session V: Gut-Liver Axis in Cirrhosis and Portal Hypertension, Oct. 1, 2019.

- 6. <u>N. Ohtani</u>, "The role of cellular senescence and SASP in tumor microenvironment of obesityassociated liver cancer," The 19th Scientific meeting of the Japanese Society of Anti-Aging Medicine International Joint Symposium, 2019 年 6 月 14 日.
- <u>N. Ohtani, "</u>The suppression mechanism of antitumor immunity in the tumor microenvironmentof obesity–associated liver cancer," Nature conference Grand Challenges in Immunology: Immunotherapy for Cancer and Beyond Session 2: The microbiota and immunotherapy, Qingdao, China, June 12, 2019.
- <u>N. Ohtani</u>, "Obesity-induced gut microbiome and liver cancer," U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim (EID), Hanoi, Vietnam, Feb. 27, 2019.
- 9. <u>大谷直子</u>, "細胞老化とSASP その誘導機構と生体における役割," 第 29 回フォーラム・イン・ド ージン 細胞と個体の老化生物学 ~科学は不老長寿に迫れるか~, 2018 年 11 月 22 日.
- 10. <u>大谷直子</u>, "腸肝軸と肝疾患:腸内細菌関連因子による肝がんの進展機構,"第25回日本門 脈圧亢進症学会総会第20回肝不全治療研究会合同シンポジウム分子病態解明に基づ く肝不全の治療:脳腸肝などの臓器相関を中心に、2018年9月20日.
- 11. <u>N. Ohtani</u>, "The Role of SASP and Anti-tumor Immunity in Tumor-microenvironment of Obesityassociated liver cancer," Australia Japan Medical Research Symposium, Osaka, Japan, Sep. 11, 2018.
- 12. <u>N. Ohtani</u>, "The role and the mechanism of SASP in tumor micro-environment of obesityassociated liver cancer," The 37th Sapporo International Cancer Symposium -Deciphering the complexity of cancer microenvironment-, Sapporo, Japan, July 19, 2018.
- 13. <u>大谷直子</u>, "肥満関連腸内細菌代謝物による肝がんの促進," 第 39 回日本炎症・再生医学会 シンポジウム7 腸内微生物を用いた治療戦略の新展開, 2018 年 7 月 12 日.
- 14. <u>N. Ohtani</u>, "The Role of SASP and Anti-tumor Immunity in Tumor-microenvironment of Obesityassociated liver cancer," The 45th Naito Conference Immunological and Molecular Bases for Cancer Immunotherapy, Sapporo, Japan, June 27, 2018.
- 15. <u>大谷直子</u>, "肥満関連腸内細菌による肝がんの進展機構~がん微小環境の変化に着目して ~," 千葉大学リーディング研究育成プログラム 第 3 回免疫希少・難治性疾患に対する革新的 治療創生研究シンポジウム, 2018 年 3 月 10 日.
- 16. <u>大谷直子</u>, "腸肝軸と肝がん~腸内細菌代謝物デオキシコール酸による肝がんの進展機構~," 第 39 回胆汁酸研究会 シンポジウム 胆汁酸代謝と腸内細菌, 2017 年 11 月 11 日.
- 17. <u>N. Ohtani</u>, "The Role of SASP in Tumor Microenvironment of Obesity–associated Liver Cancer," The 48th International Symposium of The Princess Takamatsu Cancer Research Fund, Tokyo, Japan, Nov. 9, 2017.
- <u>N. Ohtani</u>, "Gut Microbiota Promotes Obesity-associated Liver Cancer through PGE<sub>2</sub> mediated Suppression of Antitumor Immunity," International Symposium on Imaging Frontier (ISIF2017), Tokyo, Japan, July 9, 2017.
- 19. <u>N. Ohtani</u>, "Gut Microbiota Promotes Obesity–associated Liver Cancer Development: a collaborative role of lipoteichoic acid and deoxycholic acid," The 4th JSGE International Topic Conference, Tokyo, Japan, Apr. 21, 2017.
- 20. <u>大谷直子</u>, "がん微小環境の細胞老化随伴分泌現象による肥満誘導性肝がんの促進機構," 第 38 回日本炎症・再生医学会 シンポジウム3 炎症と老化, 2017 年 7 月 18 日.
- 21. <u>N. Ohtani</u>, "The role of gut microbiota for obesity-associated liver cancer progression," International Symposium of the Center for Animal Disease Models 2016 –Metabolic disease and

Aging-, Tokyo, Japan, July 16, 2016.

- <u>N. Ohtani</u>, "The role of gut microbiota for obesity-induced liver cancer development," RIKEN IMS-JSI International Symposium on Immunology 2016 Immune homeostasis and diseases, Yokohama, Japan, June 16, 2016.
- 23. 大谷直子, "細胞老化・SASP:その誘導機構と生体における役割," 第 44 回日本毒性学会学 術年会 シンポジウム7 ストレスバイオロジーから分子毒性学への展開, 2017 年 7 月 10 日.
- 24. 大谷直子, "腸内細菌メタボライトによる細胞老化・SASP の誘導と病態," 第17回抗加齢学会 シンポジウム 老化の多様性とその代謝特性, 2017 年 6 月 2 日.
- 25. <u>大谷直子</u>, "細胞老化・SASP とその生体における役割,"日本放射線影響学会 第 59 回大会 シンポジウム 低線量(率)放射線生物影響の課題への分子生物学的アプローチ, 2016 年 10 月 28 日.
- 26. <u>大谷直子</u>, "肥満により増加する腸内細菌による肝がん進展メカニズム," 第 16 回日本抗加齢医 学会総会シンポジウム 腸内フローラの臨床への展開, 2016 年 6 月 12 日.
- 27. <u>N. Ohtani</u>, "The mechanism of obesity-induced liver cancer development through gut microbial components and metabolites," Bridging Biomedical Worlds meeting, Frontiers in Human Microbiota Symbiotic Interactions, Hong Kong, China, May 24, 2016.
- 28. <u>大谷直子</u>, "細胞老化の誘導メカニズムとその生体内における役割,"日本生化学会東北支部 第 82 回例会・シンポジウム, 弘前, 2016 年 5 月 21 日.
- 29. <u>大谷直子</u>, "肥満による肝がん促進機構 ~腸内細菌代謝物の関与~," 第 11 回日本実験動物学会総会, シンポジウム 腸内細菌による生体恒常性維持 ~腸内細菌が引き起こす疾患~, 川崎, 2016 年 5 月 18 日.
- <u>N. Ohtani</u>, "The Mechanism of Obesity–associated Liver Carcinogenesis: a co–operation between gut microbial metabolites and lipid," The International Liver Congress, EASL, Barcelona Spain, Apr. 14, 2016.
- 31. <u>N. Ohtani</u>, "Cellular Senescence and Tissue regeneration," 3rd ICRS Summit-Kyoto, Kyoto, Japan, 2016 年 4 月 10 日.
- 32. 大谷直子, "肥満による肝がん促進作用 ~腸内細菌代謝物の関与~," AMED-CREST「炎症 の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」研究領域 若手研究者報告会特別講 演, 逗子, 2015 年 11 月 10 日.
- 33. <u>N. Ohtani</u>, "Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senencnceassociated secretome," 24th Symposium on Intestinal Flora, Dynamism of Intestinal microbiotapathophysiology of microbial metabolites-, Tokyo Japan, 2015 年 10 月 30 日.
- 34. <u>大谷直子</u>,羅 智文, "肥満により増加する腸内細菌による肝がん促進機構,"第 36 回日本肥満学会 シンポジウム「肥満と臓器障害」,名古屋,2015 年 10 月 2 日.
- 35. <u>大谷直子</u>, "肥満による肝がん促進機構 ~腸内細菌代謝物の関与~," 第 18 回日本臨床腸 内微生物学会総会・学術集会 教育講演 Ⅲ 病態と治療法を探る, 東京, 2015 年 8 月 29 日.
- 36. <u>大谷直子</u>, "細胞老化による炎症とその生体における役割," 第 15 回日本抗加齢医学会総会 シンポジウム6 炎症を標的とした疾患発症メカニズムの解明, 福岡, 2015 年 5 月 29 日.
- <u>N. Ohtani</u>, "Obesity-induced Gut Microbial Metabolite Promotes Liver Cancer through Senescence Secretome," The 3rd JSGE International Topic Conference, Sendai, Japan, Apr. 24, 2015.

国際学会

- F. Kamachi, R. Yamagishi, M. Nakamura, S. Yamazaki, Y. Nonaka, W.-Y. Chen, Y. Yukawa, N. Kawada, S. Nakae, E. Hara and <u>N. Ohtani</u>, "Gut-Liver axis-mediated mechanism of obesity-associated hepatocellular carcinoma development," 2019 Cold Spring Harbor Asia Conference LIVER, BIOLOGY, DISEASES & CANCER, Dec. 10, 2019.
- 39. N. Takada, M. Kumagai, T. Ando, F. Kamachi, and <u>N. Ohtani</u>, "Regular exercise suppresses obesity-

associated HCC development," The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019), Mar. 30, 2019.

#### 国内学会

- 40. <u>大谷直子</u>, "肥満と肝がん~腸内細菌関連物質によるがん進展機構とその予防~," 第 42 回分 子生物学会年会 ワークショップ:代謝が連携・駆動する細胞・組織ネットワーク, 2019 年 12 月 3 日.
- 41. <u>大谷直子</u>, "マウスモデルを用いた発がん研究を再考する 肥満関連がんの発症メカニズム (Carcinogenesis experiments revisited The mechanism of obesity-associated liver cancer development)," The 78th Annual meeting of JCA Symposium 7 Carcinogenesis experiment revisited, 2019 年 9 月 26 日.
- 42. K. Soga, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, T. K. D. Doan, M. Umezawa, K. Okubo, M. Kamimura, and N. Ohtani, "Near Infrared Biomedical Imaging for Visualizing Subcutaneous and Submucosal Information," 第 28 回日本バイオイメージング学会学術集会, 2019 年 9 月.
- 43. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌叢による生体恒常性維持機構,"第19回日本蛋白質科学会年会第71回日本細胞生物学会大会合同年次大会高次生命体の恒常性維持と破綻, 2019年6月26日.
- 44. <u>大谷直子</u>, "老化シグナルとがん 細胞老化と SASP その誘導機構と生体における役割," 第 42 回日本基礎老化学会大会, 2019 年 6 月 7 日.
- 45. <u>N. Ohtani</u>, T. M. Loo, and F. Kamachi, "The role of gut microbial metabolites in obesity-associated liver cancer development via gut liver axis," 第 41 回日本分子生物学会 シンポジウム がん悪 性化におけるステムネスと代謝, 横浜, 2018 年 11 月 29 日.
- 46. <u>大谷直子</u>, "腸肝軸を介した腸内細菌由来デオキシコール酸による肝がん進展機構,"第 12 回メ タボロームシンポジウム Session 2 エピメタボライツ・オンコメタボライツ, 2018 年 10 月 17 日
- 47. <u>大谷直子</u>, "The yin and yang role of cellular senescence in cancer development)," 第 77 回日 本癌学会総会 Women scientists in cancer research (WSCR symposia), 2018 年 9 月 28 日.
- 48. <u>大谷直子</u>, 蒲池史卓, "Senescence-associated secretory phenotype (SASP) in tumor micro environment promotes liver cancer," 第 77 回日本癌学会総会 Symposium Cancer and cellular senescence signaling, 2018 年 9 月 28 日.
- 49. <u>大谷直子</u>, "肥満による肝がん促進機構~腸内細菌代謝物によるがん微小環境の変化~," 平成 30 年度 文部科学省 科学研究費 新学術領域研究「学術研究支援基盤形成」 生命科 学4プラットフォーム 成果シンポジウム, 2018 年 6 月 5 日.
- 50. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌由来リガンドと TLR シグナルによる PGE2 の生成と肝癌の進展,"第 11 回 メタボロームシンポジウム セッション: 医薬分野, 2017 年 11 月 14 日.
- <u>N. Ohtani</u>, T. M. Loo, and F. Kamachi, "Obesity-associated gut microbiota and cancer development," The 76th Annual meeting of JCA (Japanese Cancer Association) Symposium 8 Environmental carcinogenesis and cancer risk assessment, 2017 年 9 月 28 日.
- 52. <u>大谷直子</u>, "Gut-Liver axis~腸内細菌代謝物による肝癌の進展機構~ 第 27 回日本病態生 理学会大会 シンポジウム, 2017 年 8 月 19 日.
- 53. <u>大谷直子</u>, "TLR シグナルによる脂質代謝物の生成と肝がんの促進,"第5回がんと代謝研究会 in 札幌 2017年7月13日.
- 54. T. M. Loo and <u>N. Ohtani</u>, "Cooperative role of gut microbial components and metabolites in obesityassociated liver cancer development," The 75th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (日本癌学会総会) Symposium 10 Therapeutic vulnerability in infection/ inflammation- associated cancer, 2016 年 10 月 7 日.
- 55. 羅智文, 蒲池史卓, 渡辺喜洋, 大谷直子, "肥満誘導性の腸内細菌代謝物による肝星細胞の 細胞老化・SASPと肝がんの促進,"第39回日本分子生物学会年会 シンポジウム 臓器老化

による臓器間ネットワークの破綻を探る,2016年12月2日.

- 56. 大谷直子, "腸内細菌代謝産物による細胞老化の誘導と肝がん," 第 11 回日本食品免疫学会 学術大会, シンポジウム3老化と腸内環境, 腸管機能, 東京, 2015 年 10 月 16 日.
- 57. <u>N. Ohtani</u>, "Gut microbiota and obesity-associated hepatocarcinogenesis," The 74th Annual meeting of The JCA(日本癌学会)Symposium: "Microbiome and cancer", Nagoya, Japan, 2015 年 10 月 10 日.
- 58. 大谷直子, "肥満と腸内細菌 一腸内細菌代謝物による肝がんの促進一,"未病社会の診断技術研究会 2015 年度第1回講演会, 2015 年 5 月 19 日.

## 梅澤雅和

招待講演

- 1. <u>梅澤雅和</u>, "ナノ粒子環境問題とSBW(第2の生体の窓)イメージングへの期待,"第24回日本バイオイメージング学会学術集会,東京理科大学葛飾キャンパス,東京,2015年9月27日.
- <u>M. Umezawa</u>, "The nasal route as a potential pathway for both environmental particles and drug delivery,"2nd International Joint Seminar on "Environmental Toxicity & Mental Health", Damanhour University, Damanhour, Behera, Egypt, Jan. 13, 2016.
- <u>M. Umezawa</u>, A. Onoda, F. Suyama, K. Tachibana, and K. Takeda, "Nasal-to-brain route as a potential pathway for drug delivery and environmental exposure to nanoparticles,"4th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences (iPoPS) 2016, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan, Feb. 27, 2016.

#### 国際学会

- M. Umezawa, F. Suyama, K. Tachibana, A. Onoda, N. Kubota, S. Yanagita, and K. Takeda, "Detection of inorganic nanoparticles and their potential targets in the brain of mice," 9th World Congress of International Brain Research Organization (IBRO 2015), SulAmerica Convention Center, Rio de Janeiro, Brazil, July 2015.
- F. Suyama, K. Tachibana, A. Onoda, K. Takeda, and <u>M. Umezawa</u>, "RT-PCR analysis of the distribution of exosomes with exogenous miRNA to the brain," FENS Featured Regional Meeting 2015, "Ioannis Vellidis" Congress Center, Thessaloniki, Greece, Oct. 2015.
- F. Suyama, K. Tachibana, A. Onoda, K. Takeda, and <u>M. Umezawa</u>, "MicroRNA delivery to the brain by encapsulating with exosomes," 4th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences (iPoPS) 2016, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan, Feb. 2016.
- T. Matsuzawa, A. Onoda, T. Kawasaki, K. Tsukiyama, K. Takeda, and <u>M. Umezawa</u>, "Conformation change of albumin incubated with silica nanoparticles determined by infrared spectroscopy," 4th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences (iPoPS) 2016, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan, Feb. 2016.

国内学会

- 8. <u>M. Umezawa</u>, M. Kamimura, N. Kitahata, B. Tou, R. Fukushima, A. Omoto, Y. Yasuda, T. Harada, K. Takeda, K. Kuchitsu, and K. Soga, "Nanoparticle distribution in mouse airways and plant leaves detected by near-infrared fluorescence analysis," 第 24 回日本バイオイメージング学会学術集会, 東京, 2015 年 9 月 26-28 日.
- 9. <u>梅澤雅和</u>,須山史也,武田健,"高脂肪食摂取マウスの血清中ナノコロイドならびにプロテオミクス 解析,"第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回生化学会大会合同大会,神戸,2015 年 12 月 1-4 日.
- 10. 松澤智美,小野田淳人,川崎平康,武田健,<u>梅澤雅和</u>, "シリカナノ粒子によるアルブミン分子構造変化の赤外分光スペクトル解析,"第38回日本分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会,神戸,2015年12月1-4日.

- 11. <u>梅澤雅和</u>,須山史也,武田健,"高脂肪食摂取後の血清中コロイドの脂質・タンパク質複合体解析,第19回日本病態栄養学会年次学術集会,横浜,2016年1月9-10日.
- 12. 須山史也, 立花研, 小野田淳人, 武田健, <u>梅澤雅和</u>, "エクソソーム内包 microRNA の脳への輸送,"日本薬学会第 136 年会, 横浜, 2016 年 3 月 27-29 日.

#### 佐野 良威

招待講演

- 1. <u>佐野良威</u>, "CAPS1 is critical for hippocampal synaptic transmission and learning," 13th International Conference of Neurons and Brain Diseases, 2018 年 10 月 5 日.
- 2. <u>佐野良威</u>, "記憶保存細胞の選択における転写調節因子 CREB の役割,"日本薬学会第 138 年会, 脳・神経科学基礎研究の最前線」, 2018 年 3 月 28 日.
- 3. <u>佐野良威</u>, "Selection of Memory Cells," International Symposium of the Center for Animal Disease Models 2017, 2017 年 10 月 28 日.
- 4. <u>佐野良威</u>, "記憶を保存する細胞群を決める機構の解明," 第1回 東京理科大学脳学際研究 部門公開シンポジウム, 2017 年 10 月 21 日.
- 5. <u>佐野良威</u>, "メモリーアロケーションの神経基盤 ~これから起きる出来事はどの神経細胞に保存されるのか? ~," 第 159 回日本獣医学会学術集会【獣医解剖分科会シンポジウム】「脳の形態 形成と統合機能研究のカッティング・エッジ」, 2016 年 9 月 7 日.
- 6. <u>佐野良威</u>, "Neuronal memory allocation ~記憶を保存する神経細胞群は学習前に決められて いるのか?~,"東京理科大学特別講演, 2016 年 3 月 14 日.
- 佐野良威, "記憶を保持するセルアセンブリの選択機構 ~メモリーアロケーションの分子細胞基盤 ~,"福井大学 社会行動研究会, 2015 年 5 月 26 日.
- <u>佐野良威</u>, "メモリーアロケーションの分子, 細胞機構 ~記憶を保持する神経細胞はどのように選択されるのか?~,"北海道大学特別講演会(主催:北海道大学大学院薬学研究院 日本薬学会北海道支部 共催:日本生化学会北海道支部、北海道分子生物学研究会), 2015 年 5月 14 日.

国際学会

- K. Abe, M. Kuroda, Y. Narumi, Y. Kobayashi, S. Itohara, T. Furuichi and <u>Y. Sano</u>, "The role of coordinated activation between insular cortex and basolateral amygdala during taste-aversion association learning to recruit a memory trace," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct., 2019.
- N. Shibano, M. Yamazaki, M. Kuroda, K. Abe, T. Arima, Y. Kobayashi, S. Itohara, T. Furuichi and <u>Y.</u> <u>Sano</u>, "Excitation of medial prefrontal cortex during conditioning enhances fear memory formation," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct., 2019.
- S. Fujima, R. Maniwa, R. Yamaga, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "A possible involvement of Ca2+dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2) in regulating release of the hypothalamic neuropeptide oxytocin that has a pivotal role in social behavior," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct., 2019.
- S. Mizuno, J. Hirota, H. Iwasaki, S. Okabe, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Comprehensive profiling and localization of gene expression in the cerebral cortex and striatum of BTBR mice, a mouse model of autism spectrum disorder by comparing with those of C57BL6/J, a highly social mouse strain," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct., 2019.
- S. Fujima, R. Maniwa, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Oxytocin secretion and social behavior in mice lacking Ca2+-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2)," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, Nov., 2018.
- 14. Y. Shinoda, M. Oka, N. Tanika, Y. Fujiwara, <u>Y. Sano</u>, T. Sadakata, and T. Furuichi, "Social isolationmediated hyperactivity and reduction of anxiety are not affected by Caps2 deficiency,"

Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, Nov. 2018.

- C. Ishii Y. Sshinoda, T. Sadakata, Y. Ishii N. Shibano, Y. Kato, M. Yamazaki A. Yamato, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "CAPS1 finely regulates the exocytosis of synaptic vesicles in calcium- and/or synapse type-dependent manners, affecting on learning and memory," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, Nov., 2018.
- 16. Y. Sano, "CAPS1 is critical for hippocampal synaptic transmission and learning," 13th International Conference of Neurons and Brain Diseases, Taipei, Taiwan, 2018.
- C. Ishii, Y. Shinoda, Y. Fukazawa, T. Sadakata, Y. Ishii, T. Iwasato, S. Itohara, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "CAPS1 stabilizes synaptic vesicles on active zones and ensures basal synaptic transmission at hippocampal CA3–CA1 synapses," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, Washington, DC, Nov., 2017.
- 18. Y. Sano, "Selection of Memory Cells," International Symposium of the Center for Animal Disease Models 2017 INNER COSMOS OF THE BODY, Tokyo, Oct., 2017.
- Y. Ishii, C. Ishii, Y. Shinoda, Y. Sano and T. Furuichi, "A deficiency of Ca2+ -dependent activator protein for secretion 1 affects hippocampal long-term potentiation," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, San Diego, Nov., 2016.
- T. Sato, R. Motodate, <u>Y. Sano</u>, S. Kamada, S. Uchida, T. Suzuki, T. Sato, R. Motodate, <u>Y. Sano</u>, S. Kamada, S. Uchida, and T. Suzuki, "Adaptor protein, X11 and X11L have distinct roles in exploratory activity," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, San Diego, Nov., 2016.
- D. J. Cai, D. Aharoni, T. Shuman, J. Shobe, J. Biane, W. Song, B. Wei, M. Veshkini, M. La-Vu, J. Lou, S. Flores, I. Kim, <u>Y. Sona</u>, M. Zhou, K. Baumgaertel, A. Lavi, M. Kawata, M. Tuszynski, M. Mayford, P. Golshani and A. J. Silva, "Linking memories across time," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, San Diego, Nov., 2016.
- M. Zhou, S. Greenhill, S. Huang, T. Silva, <u>Y. Sano</u>, S. Wu, Y. Cai, Y. Nagaoka, M. Sehgal, D. Cai, Y.–S. Lee, K. Fox and A. J. Silva, "Role of CCR5 in learning and memory and in HIV V3 peptide induced cognitive deficits," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, San Diego, Nov., 2016.
- D. J. Cai, D. Aharoni, T. Shuman, J. Shobe, J. Biane, W. Song, B. Wei, M. Veshkini, M. La-Vu, J. Lou, S. Flores, I. Kim, <u>Y. Sona</u>, M. Zhou, K. Baumgaertel, A. Lavi, M. Kawata, M. Tuszynski, M. Mayford, P. Golshani and A. J. Silva, "Linking memories across time," Molecular and Cellular Cognition Society, San Diego, Nov., 2016.
- M. Zhou, S. Greenhill, S. Huang, T. Silva, <u>Y. Sano</u>, S. Wu, Y. Cai, Y. Nagaoka, M. Sehgal, D. Cai, Y.–S. Lee, K. Fox and A. J. Silva, "Role of CCR5 in learning and memory and in HIV V3 peptide induced cognitive deficits," Molecular and Cellular Cognition Society, San Diego, Nov., 2016.
- M. Zhou, S. Greenhill, S. Huang, T. Silva, <u>Y. Sano</u>, S. Wu, Y. Cai, Y. Nagaoka, M. Sehgal, D. Cai, Y.–S. Lee, M. Chu, K. Wong, K. Yamamoto, K. Fox, and A. J. Silva, "CCR5 is a suppressor for learning and memory," Society for Neuroscience, Neuroscience 2015, Chicago, Oct., 2015.
- L. Caracciolo, A. Hamade, T. Bulfone, A. Guzner, Y. Sano, A. J. Silva, and S. T. Carmichael, "CREB/DREADD system: switching on/off recovery of motor function after stroke," Society for Neuroscience, Neuroscience 2015, Chicago, Oct., 2015.
- M. Zhou, S. Greenhill, S. Huang, T. Silva, <u>Y. Sano</u>, S. Wu, Y. Cai, Y. Nagaoka, M. Sehgal, D. Cai, Y.-S. Lee, M. Chu, K. Wong, K. Yamamoto, K. Fox, and A. J. Silva, "CCR5 is a suppressor for learning and memory," Society for Neuroscience, Neuroscience 2015, Chicago, Oct., 2015.

#### 国内学会

28. 加藤優奈,水野翔太,石井千晶,山中琴未,栄田浩伸,村上祐香,斉藤貴志,西道隆臣, 古市貞一,<u>佐野良威</u>, "アミロイド β の蓄積による軽度認知機能低下と炎症性免疫反応の亢 進,"第42回日本分子生物学学会,福岡,2019年12月.

- 佐藤陽太郎, 露崎美穂, 志村拓哉, 小林りか, 定方哲史, <u>佐野良威</u>, 古市貞一, "分泌関連タンパク質 CAPS2 の欠損は自然発症慢性膵炎を引き起こす,"第 92 回日本生化学学会, 横浜, 2019 年 9 月.
- 30. 弘田淳奈, 水野翔太, 岩崎広英, 岡部繁男, 佐野良威, 古市貞一, "自閉症モデルマウス BTBR 系統で特異的に発現変動する遺伝子の脳内局在および機能解析," 第 92 回日本生化 学学会, 横浜、2019 年 9 月.
- 31. 阿部こなみ,黒田真鈴,鳴海陽介,小林祐樹,糸原重美,古市貞一,<u>佐野良威</u>,"味覚記憶の形成における階層的領域間相互作用,"第92回日本生化学学会,横浜,2019年9月.
- 32. S. Mizuno, J. Hirota, H. Iwasaki, S. Okabe, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Comprehensive gene expression profiling between BTBR mice, a mouse model of autism spectrum disorder, and C57BL6/J mice showing high levels of sociality," NEURO2019(第 42 回日本神経科学大会、第 62 回日本神経 化学会大会, 新潟, 2019 年 7 月.
- K. Abe, M. Kuroda, Y. Narumi, Y. Kobayashi, S. Itoahra, T. Furuichi and <u>Y. Sano</u>, "The role of coordinated activation between insular cortex and basolateral amygdala during taste-aversion association learning to recruit a memory trace," NEURO2019(第 42 回日本神経科学大会, 第 62 回日本神経化学会大会), 新潟, 2019 年 7 月.
- S. Fujima, R. Yamaga, H. Minami, R. Maniwa, Y. Shinoda, M. Abe, K. Sakimura, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Mice lacking Ca2+-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2) show a decrease in oxytocin release and impaired social behavior," NEURO2019(第 42 回日本神経科学大会, 第 62 回日本神経化学会大会),新潟, 2019 年 7 月.
- 35. K. Yamanaka, S. Mizuno, T. Furuichi and Y. Sano, "Decreased social interaction and motivated approach behavior in the X11L-deficient mice," NEURO2019(第 42 回日本神経科学大会、第 62 回日本神経化学会大会), 新潟, 2019 年 7 月.
- T. Arima, C. Ishii, Y. Ishii, N. Shibano, M. Yamazaki, Y. Kato, A. Yamato, Y. Shinoda, T. Sadakata, Y. <u>Sano</u> and T. Furuichi, "Significant role of CAPS1, a regulator of synaptic exocytosis, in trisynaptic circuit and hippocampal learning," NEURO2019(第 42 回日本神経科学大会、第 62 回日本神経化学会大会),新潟, 2019 年 7 月.
- 37. M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, K. Takano, <u>Y. Sano</u>, Y. Shinoda, T. Fruichi, and K. Kansaku, "Lower c-Fos expressions in the posterior parietal cortex during rubber tail task in Caps2 KO mice," 9th FAOPS(第 9 回アジア・オセアニア生理学会連合大会)&第 96 回日本生理学会合同大会, 神 戸, 2019 年 3 月.
- 38. K. Abe, Y. Narumi, S. Fujima, Y. Kobayashi, S. Itohara, T. Furuichi and <u>Y. Sano</u>, "味覚嫌悪学習にお ける脳領域間相互作用," 2018 年度生理研研究会『記憶・学習の基盤機構と回路研究の新 展開へのアプローチ』, 岡崎, 2018 年.
- 39. C. Ishii, Y. Ishii, N. Shibano, Y. Kato, M. Yamazaki, A. Yamato, Y. Shinoda, T. Sadakata, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "海馬における分泌関連因子 CAPS1 の機能解析と記憶・学習への寄与," 2018 年 度生理研研究会『記憶・学習の基盤機構と回路研究の新展開へのアプローチ』,岡崎, 2018 年.
- 40. N. Oishi, K. Koga, M. Nomoto, N. Ohkawa, S. Tsujimura, <u>Y. Sano</u>, Y. Saitoh, H. Nishizono, M. Matsuo, S. Muramatsu and K. Inokuchi, "Synchronous activation of distinct memory ensembles in CA3 integrate two memories," 2018 年度生理研研究会『記憶・学習の基盤機構と回路研究の新展開へのアプローチ』, 岡崎, 2018 年.
- 41. K. Shimizu, K. Kawamoto, T. Sadakata, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "The molecular mechanism regulating axonal localization of the secretion-related protein CAPS2," 第 61 回日本神経化学 会大会 · 第 40 回日本生物学的精神医学会,神戸市, 2018 年.
- 42. K. Abe, Y. Narumi, S. Fujima, Y. Kobayashi, S. Itohara, T. Furuichi and <u>Y. Sano, "</u>Interaction between insular cortex and amygdala during a taste aversion association," Neuroscience 2018, 神戸, 2018

#### 年.

- S. Fujima, R. Yamaga, H. Minami, R. Maniwa, Y. Shinoda, M. Abe, K. Sakimura, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Oxytocin secretion and social behavior in mice lacking Ca2+-dependent activator protein for secretion 2," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- N. Oishi, K. Koga, M. Nomoto, N. Ohkawa, S. Tsujimura, <u>Y. Sano</u>, Y. Saitoh, H. Nishizono, M. Matsuo, S. Muramatsu and K. Inokuchi, "Establishment of in vivo field excitatory post synaptic potential (fEPSP) recording system at hippocampal CA3–CA3 synapses," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- C. Ishii, Y. Ishii, N. Shibano, Y. Kato, M. Yamazaki, A. Yamato, Y. Shinoda, T. Sadakata, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "CAPS1 regulates efficient and/or synchronous exocytosis of releasable synaptic vesicles, which effects on hippocampal synaptic plasticity, learning and memory," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- 46. S. Mizuno, C. Ishii, H. Iwasaki, S. Okabe, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Comparative gene expression profiling between BTBR mice, a mouse model of autism spectrum disorder," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- 47. M. Oka, T. Sadakata, <u>Y. Sano</u>, T. Furuichi, Y. Fujiwara, and Y. Shinoda, "CAPS2 deficiency does not affect social isolation-induced behavioral abnormalities," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- 48. M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, K. Takano, Y. Sano, Y. Shinoda, T. Fruichi, and K. Kansaku, "Lower c-Fos expressions in the posterior parietal cortex during rubber tail task in Caps2 KO mice," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- 49. <u>佐野良威</u>, "シンポジウム: 神経・精神疾患の病態解明・治療戦略のブレイクスルーを目指した脳・ 神経科学基礎研究の最前線,"第138回日本薬学会, 金沢, 2018年3月28日.
- 50. <u>佐野良威</u>, "記憶を保存する細胞群を決める機構の解明," 第 1 回東京理科大学脳学際研究 部門公開シンポジウム 「脳の理科(サイエンス) ~脳の謎に挑む」, 東京, 2017 年 10 月 21 日.
- 51. T. Atsumi, M. Ide, <u>Y. Sano</u>, Y. Shinoda, T. Furuichi, and M. Wada, "Aberrant responses to the biological motion of CAPS2 knockout mice by conspecificse," 行動 2017 日本動物行動関連学会•研究会合同大会, 東京, 2017 年.
- 52. 和田真, 渥美剛史, 井手正和, <u>佐野良威</u>, 篠田陽, 古市貞一, 神作憲司, "ラバーテイル応答 における CAPS2 遺伝子変異型マウスへのオキシトシン投与関する予備検討," 行動 2017 日本 動物行動関連学会・研究会合同大会, 東京, 2017 年.
- 53. 渥美剛史, 井手正和, <u>佐野良威</u>, 篠田陽, 古市貞一, 和田真, "CAPS2遺伝子変異型マウスにおける同種個体バイオロジカル・モーションへの応答の変容," 第 40 回日本神経科学大会, 千葉, 2017 年.
- 54. 石井千晶, 篠田陽, 深澤有吾, 定方哲史, 石井佑季, <u>佐野良威</u>, 岩里琢治, 糸原重美, 古 市貞一, "CAPS1はシナプス小胞を活性帯上で安定化させることで海馬CA3-CA1シナプスに おいて開口放出を調節する," 第 40 回日本神経科学大会、千葉、2017 年.
- 55. 柴野奈津美, 石井佑季, <u>佐野良威</u>, 古市貞一, "エピソード記憶の形成における分泌関連タンパ ク質CAPS1の役割," 第 40 回日本神経科学大会、千葉、2017 年.
- 56. Y. Sano, J. L. Shobe, M. Zhou, S. Huang, T. Shuman, D. J. Cai, P. Golshani, M. Kamata and A. J. Silva, "メモリーアロケーションの神経基盤," 第 159 回日本獣医学会学術集会, 千葉, 2017 年.

## 北畑信隆

国際学会

- <u>N. Kitahata</u>, H. Hayase, H. Shimizu-Yumoto, M. Suzuki, M. Nakayama, K. Kuchitsu, and T. Asami, "New lead compounds for regulating ethylene signaling," IPGSA, Toronto, Canada, June 2016.
   国内学会
- 2. 北畑信隆, 斉藤優歩, 中野正貴, 石賀康博, 佐藤静香, 諸橋賢吾, 来須孝光, 平塚和之,

浅見忠男, 朽津和幸, "病原体に対する植物の抵抗性を向上させる新規化合物の作用機構の 解析,"植物病理学会, 神戸, 2017 年 3 月.

- 3. <u>北畑信隆</u>, 斉藤優歩, 中野正貴, 諸橋賢吾, 来須孝光, 浅見忠男, 朽津和幸, "植物免疫活 性化剤候補化合物の選抜と作用機構の解析,"日本農芸化学会, 名古屋, 2017 年 3 月.
- 4. <u>北畑信隆</u>, 渡辺健志郎, 鈴木優志, 浅見忠男, 朽津和幸, "植物ホルモンエチレン代替化合物 の探索と作用機構の解析," Conbio2017, 神戸, 2017 年 12 月.
- 5. <u>北畑信隆</u>, 渡辺健志郎, 鈴木優志, 浅見忠男, 朽津和幸, "新規エチレン様活性化合物の作 用機構の解析,"植物化学調節学会, 鹿児島, 2017 年 10 月.
- <u>北畑信隆</u>,吉田亜祐美,中野正貴,石賀康博,来須孝光,平塚和之,浅見忠男,朽津和幸, "病原体に対する植物の抵抗性を向上させる化合物の作用機構の解析,"植物病理学会関東部 会,横浜,2017年9月.
- 7. <u>北畑信隆</u>, 渡辺健志郎, 鈴木優志, 浅見忠男, 朽津和幸, "新規エチレン様活性物質の作用 機構の解析,"日本植物学会, 野田, 2017 年 9 月.
- 8. <u>北畑信隆</u>, 渡辺健志郎, 鈴木優志, 浅見忠男, 朽津和幸, "エチレン様の植物ホルモン活性を 持つ化合物の探索と作用機構の解析, ケミカルバイオロジー学会, 北海道, 2017 年 6 月.
- <u>北畑信隆</u>,吉田亜祐美,吉川岳史,石賀康博,来須孝光,平塚和之,浅見忠男,朽津和幸, "病原体に対する植物の抵抗性を向上させる化合物の作用機構の解析,"日本植物病理学会, 岩手,2017年4月.
- 10. <u>北畑信隆</u>, 渡辺健志郎, 鈴木優志, 浅見忠男, 朽津和幸, "新規エチレン様活性物質の耐性 変異体の選抜,"日本農芸化学会, 京都, 2017 年 3 月.
- 北畑信隆,吉田亜祐美,羽山大介,筒井友和,石賀康博,上田貴志,来須孝光,浅見忠男, 朽津和幸,"新規植物免疫活性化剤候補化合物の選抜と作用機構解析,"植物病理学会,松山,2017年3月.
- 北畑信隆,吉田亜祐実,羽山大介,佐藤静香,斉藤優歩,中野正貴,吉川岳史,来須孝光, 上田貴志,浅見忠男,朽津和幸,"新規植物免疫活性化剤候補化合物の探索と作用機構の 解析,"植物化学調節学会,高知,2016年10月.
- 北畑信隆,羽山大介,筒井友和,花俣繁,海老根一生,来須孝光,上田貴志,朽津和幸, "病原体に対する植物の抵抗性を向上させる化合物のハイスループットスクリーニングと作用機構の 解析."植物病理学会関東部会,横浜,2016年9月.
- 14. 北畑信隆, 吉田亜祐美, 羽山大介, 末次真悠, 来須孝光, 上田貴志, 浅見忠男, 朽津和幸, "新規植物免疫活性化剤の選抜と作用機構の解析,"ケミカルバイオロジー学会, 京都, 2016 年 6 月.
- 15. <u>北畑信隆</u>, 渡辺健志郎, 鈴木優志, 浅見忠男, 朽津和幸, "エチレン様活性化合物の作用機 構の解析,"日本農芸化学会, 札幌, 2016 年3月.
- 北畑信隆,吉川岳史,羽山大介,吉田亜祐美,末次真悠,大滝幹,来須孝光,上田貴志, 浅見忠男,朽津和幸,"新規植物免疫活性化剤の作用機構の解析,"日本農薬学会,松江, 2016年3月.

## 上村真生

招待講演

- <u>M. Kamimura</u>, "Near-Infrared Fluorescence Imaging Technology in Over-1000 nm Biological Window," 7th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences (iPoPS2020), Tokyo University of Science Noda Campus, Feb. 28–29, 2020.
- <u>上村真生</u>, "Over-1000 nm (OTN) 近赤外光を用いた in vivo イメージング," 第23回酸素ダイナ ミクス研究会・第26回医用近赤外線分光法研究会 合同研究会, 持田製薬株式会社本社, 東京, 2019年9月6日.
- 3. <u>上村真生</u>, "波長1000 nmを超える近赤外蛍光を用いるin vivoイメージング," 第44回レーザ顕微 鏡研究会&シンポジウム, 大阪大学銀杏会館, 2019年7月4-5日.

- M. Kamimura, Y. Ueya, E. Takamoto, K. Iso, M. Yoshida, M. Umezawa, and K. Soga, "Fluorescent Polystyrene Latex Nanoparticles for NIR–II in vivo Imaging," The 36th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, Japan, June 24–27, 2019.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared Phosphors for Nanotheranostics," 4th International Bio/Medical Interface Symposium 2019, National Chiao Tung University, Hsinchu, Taiwan, Mar. 9–10, 2019.
- 6. <u>上村真生</u>, "体内深部を可視化する近赤外光バイオイメージング," 第69回医用高分子研究会, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2019年3月1日.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Polymer Conjugated Nanophosphors for Over-1000 nm Fluorescence in vivo Imaging," 1st G'L'owing Polymer Symposium in KANTO (GPS-K2018), Waseda University, Nishiwaseda Campus, Dec. 15, 2018.
- 8. <u>上村真生</u>, "光応答性マテリアルによるバイオ分析法の開発,"日本分析化学会第67年会, 東北 大学, 仙台, 2018年9月12-14日.
- 9. <u>M. Kamimura</u>, "Polymer Conjugated Fluorescent Nanoparticles for Over-1000 nm Near-Infrared Bioimaging," 日韓高分子学会シンポジウム, 第67回高分子討論会, 北海道大学, 北海道, 2018年9月12-14日.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Near–Infrared Light Triggered Theranostics Based on Polymer Modified Nanophosphors," The 35th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, Japan, June 25–28, 2018.
- 11. <u>上村真生</u>, "生体内深部を観察する近赤外光バイオイメージング法の開発,"日本分析化学会 関東支部 新世紀新人賞受賞講演, 秋葉原ダイビル, 2018年1月9日.
- M. Kamimura and K. Soga, "Development of Polymer Conjugated Nanoparticles for Near–Infrared Triggered Theranostics in the Second Biological Window," International Conference on Advances in Polymer Science & Technology 2017, Radisson Blu Hotel, Dwarka, New Delhi, India, Nov. 23–25, 2017.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over–1000 nm Near–Infrared (OTN–NIR) (NIR–II/III) Fluorescence in vivo Imaging," 18th International Union of Materials Research Societies International Conference in Asia (IUMRS–ICA), Taipei Nangang Exhibition Hall, Taipei, Taiwan, Nov. 5–9, 2017.
- 14. <u>上村真生</u>, 曽我公平, "波長1000 nmを超える近赤外(OTN-NIR)蛍光in vivoイメージング," 第26 回日本バイオイメージング学会学術集会, 東京薬科大学, 東京, 2017年9月16-17日.
- K. Soga and <u>M. Kamimura</u>, "Fluorescent Ceramic Nanoparticles for Biophotonics in the Second Biological Window," 12th Pacific Rim Conference on Ceramic and Glass Technology (PACRIM 12), including Glass & Optical Materials Division Meeting (GOMD 2017), Hilton Waikoloa Village, Waikaloa, Hawaii, May 21–26, 2017.
- <u>M. Kamimura</u>, "Development of Fluorescence Nanoprobes for Over-1000 nm Near-infrared Bioimaging," Symposium of the Japanese Society for Biomaterials, Fukuoka International Congress Center, Nov. 21–22. 2016.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Nanoprobes for in vivo Bioimaging," 8th International Workshop on Advanced Materials Science and Nanotechnology, IWAMSN 2016, Ha Long City, Vietnam, Nov. 8-12, 2016.
- <u>M. Kamimura</u>, "Development of Fluorescence Nanoprobes for Over-1000 nm Near-infrared Bioimaging," 20th Anniversary International Symposium of the Korean Society for Biomaterials 2016, KIST, Seoul, Korea, Sep. 29–30, 2016.
- 19. <u>上村真生</u>, "近赤外蛍光in vivoイメージングのためのナノ粒子プローブの設計,"東京理科大学研究推進機構総合研究院 界面科学研究部門2016夏季シンポジウム,東京理科大学森戸記 念館, 2016年8月5日.

- 20. <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Biocompatible Polymer-conjugated Inorganic Nanophosphors for Nearinfrared in vivo Imaging in the Second Biological Window," 9th International Conference on High Temperature Ceramic Matrix Composites (HTCMC9) and Global Forum on Advanced Materials and Technologies for Sustainable Development (GFMAT2016), Toronto Marriott Downtown Eaton Center Hotel, Toronto, Canada, June 26–July 1, 2016.
- 21. <u>上村真生</u>, 曽我公平, "「第2の生体の窓」における近赤外蛍光in vivoイメージング," バイオイメージ・インフォマティクスワークショップ 2016, 大阪大学吹田キャンパス 銀杏会館, 2016年6月22-23 日.
- 22. <u>上村真生</u>, 曽我公平, "近赤外蛍光ナノ粒子を利用するナノ温度イメージング,"日本化学会 第96春季年会, 特別企画:機能性材料・デバイスで新時代の生命分析化学を切り拓く, 同志 社大学京田辺キャンパス, 京都, 2016年3月24-27日.

#### 国際会議

- M. Kamimura, A. Omoto, H.-C. Chiu, and K. Soga, "Near-Infrared Light Triggered Cancer Theranostics Based on Rear-Earth Doped Ceramics Nanoparticles," Resonance Bio International Symposium (RBIS 2019), Oct. 30 – Nov. 1, 2019.
- M. Kamimura, Y. Yano, S. Kuraoka, S. Suyari, T. Ube, L. Wortmann, and K. Soga, "Near–Infrared to Visible Upconversion Emission Induced Photopolymerization: Polystyrene Shell Coated NaYF4 Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging and Nanothermometry," The 34th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, Japan, June 26– 29, 2017.
- M. Kamimura and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared (OTN-NIR) Fluorescence in vivo Imaging," Taiwan-Japan Joint Meeting on Bioimaging for Young Researchers - Academia Sinica -4D Cell - ResonanceBio -, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, Nov. 1–2, 2017.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Development of OTN Near–Infrared Fluorescent Probes for Deep Tissue in vivo Imaging in the Second and Third Biological Windows," 12th European Molecular Imaging Meeting (EMIM 2017), University of Cologne, Germany, Apr. 5–7, 2017.
- M. Kamimura, R. Saito, H. Hyodo, K. Tsuji, I. O. Umeda, H. Fujii, and K. Soga, "Over-1000 nm Nearinfrared Fluorescence and SPECT Dual-modal in vivo Imaging Based on Rare-earth Doped Ceramic Nanophosphors," The 33rd International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, Japan, June 24–26, 2016.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over–1000 nm Near–Infrared Luminescent Polymeric Micelles for in vivo Imaging," The 11th SPSJ International Polymer Conference (IPC2016), Fukuoka International Congress Center, Dec. 13–16, 2016.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Probes for Non-Invasive Deep Tissue Bioimaging," 3rd International Conference on Biomaterials Science in Tokyo (ICBS2016), The University of Tokyo, Tokyo, Japan, Nov. 28–30, 2016.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Near–Infrared Dye–Loaded Polymer Micelles for Over–1000 nm Fluorescence in vivo Imaging," Biointerfaces International 2016, University of Zurich, City Campus, Zurich, Switzerland, Aug. 23–25, 2016.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over–1000 nm NIR Luminescence Thermometry at the Nanoscale: An Analytical Technique for Mechanobiology," 2nd International Symposium on Nanoarchitectonics for Mechanobiology, National Institute for Materials Science, Tsukuba, Japan, July 27–28, 2016.
- M. Kamimura and K. Soga, "Polymer/inorganic phosphor nanocomplex for near-infrared biophotonics in the second biological window," 10th World Biomaterials Congress, Palais des congrès de Montréal, Montreal, Canada, May 17–22, 2016.

国内学会

- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Poly (ethylene glycol) Modified Near–Infrared Nanophosphors for Deep Tissue in vivo Bioimaging," OKINAWA COLLOIDS 2019, Bankoku Shinryokan, Nago, Okinawa, Japan, Nov. 3–8, 2019.
- 34. <u>上村真生</u>, 吉田萌, 梅澤雅和, 曽我公平, "NIR-II蛍光ポリマーミセルによるin vivoイメージング," 第68回高分子討論会, 福井大学文京キャンパス, 2019年9月25-27日.
- 35. <u>上村真生</u>, 曽我公平, "体内深部を可視化する波長1000nmを超える近赤外蛍光高分子ナノ粒子," 第67回高分子討論会, 北海道大学, 北海道, 2018年9月12-14日.
- 36. <u>上村真生</u>, "波長1000nmを超える近赤外光バイオイメージング," 第7回 Chem-Bio Joint Seminar 2018, 東京大学駒場キャンパス, 東京, 2018年8月4日.
- 37. <u>上村真生</u>, 吉田萌, 梅澤雅和, 曽我公平, "近赤外蛍光高分子ナノ粒子による波長1000nmを 超えるin vivoイメージング," 第47回医用高分子シンポジウム, 産業技術総合研究所 臨海副都 心センター, 東京, 2018年7月19-20日.
- 38. <u>上村真生</u>, 大本歩, 関山翔太, 梅澤雅和, 邱信程, 曽我公平, "がんイメージングと治療のため の近赤外光励起型ナノセラノスティクス粒子,"第39回日本バイオマテリアル学会大会, タワーホー ル船堀, 東京, 2017年11月20-21日.
- 39. <u>上村真生</u>, 大本歩, 関山翔太, 梅澤雅和, 邱信程, 曽我公平, "生体深部のがん診断・治療 のための近赤外光刺激応答型セラノスティックナノ粒子," 第66回高分子討論会, 愛媛大学, 愛 媛, 2017年9月20-22日.
- 40. 上村真生, 曽我公平, "波長1000nmを超える近赤外(OTN-NIR)蛍光ナノ粒子による生体内深 部の観察,"日本分析化学会第66年会, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2017年9月9-12日.
- 41. <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Probes for Deep Tissue in vivo Imaging," 第26回日本MRS年次大会, 横浜開港記念館, 2016年12月19-22日.
- 42. <u>上村真生</u>, 高廣祥子, 吉田萌, 曽我公平, "近赤外蛍光高分子ミセルによる波長1000nmを超 えるin vivoイメージング," 第65回高分子討論会, 神奈川大学横浜キャンパス, 2016年9月14-16 日.
- 43. <u>上村真生</u>, 曽我公平, "1000 nmを超える近赤外光バイオイメージングに向けた蛍光プローブの開発," 第76回分析化学討論会, 岐阜薬科大学, 2016年5月28-29日.
- 44. 上村真生, 曽我公平, "1000 nmを超える近赤外蛍光イメージングプローブの開発," 第18回次世 代医工学研究会, 東京女子医科大学先端生命医科学研究所 (TWIns), 2016年1月29日.

## 大久保喬平

招待講演

- <u>K. Okubo</u>, M. Umezawa, and K. Soga, "Quantitative visualization of lipid distribution in mouse livers by using near-infrared hyperspectral imaging," 107th Indian Science Congress (ISC2020) Materials Science Section, Bangalore, India, Jan. 3-7, 2020.
- <u>K. Okubo</u>, T. Chihara, M. Umezawa, K. Miyata, S. Sekiyama, N. Hosokawa, K. Okubo, M. Kamimura, and K. Soga, "Biological deep thermal imaging with fluorescence lifetime of rare-earth doped ceramics particles in the second NIR biological window," The 36th International Conference of Photopolymer Science and Technology (ICPST36), Chiba, Japan, July 24-27, 2019.

## 国際会議

- H. Kobayashi, A. Oshima, K. Ikeda, T. K. D. Doan, M. Umezawa, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, and K. Soga, "Effect of physiological saline and albumin on OTN-NIR fluorescent DSPE-PEG micelles for in vivo deep imaging," 7th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences (iPoPS2020), Chiba, Japan, Feb. 27-28, 2020.
- (\*77) K. Soga, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, T. K. D. Doan, M. Umezawa, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, and N. Ohtani, <u>"Materials design and processing for near-infrared</u>"

<u>biomedical photonics with transparency,</u> 107th Indian Science Congress - Materials Science Section, Bangalore, India, Jan. 3-7, 2020.

- D. Satou, N. Hosokawa, K. Maeda, T. Takamatsu, T. Kadota, <u>K. Okubo</u>, M. Umezawa, M. Kamimura, H. Takemura, H. Yokota, T. Kuwata, H. Ikematsu, T. Yano, and K. Soga, "Development of near-infrared hyperspectral imaging endoscopy," United European Gastroenterology (UEG) Week 2019, Barcelona, Spain, Oct. 19–23, 2019.
- S. Haraguchi, M. Umezawa, S. Sekiyama, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, and K. Soga, "Rapid clearing of biological tissues by matching refractive index between cell membrane and media using phophoric acid," The 28th Annual Meeting of Material Research Society of Japan (MRS-J 2018), Kitakyushu, Japan, Dec. 18-20, 2018.
- H. Kobayashi, M. Umezawa, S. Sekiyama, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, and K. Soga, "Synthesis of bright NIR-II fluorescenct polymer nanoparticles with IR-1061 dye via mild heating-cooling process for deep bioimaging in the second biological window," The 28th Annual Meeting of Material Research Society of Japan (MRS-J 2018), Kitakyushu, Japan, Dec. 18-20, 2018.
- <u>K. Okubo</u>, Y. Niimura, N. Oonishi, L. L. T. Ngoc, and E. T. Carlen, "Nanofabrication technology for single-crystalline metal nanoparticle ensembles using nanotemplateguided thermal dewetting," Japan Society of Applied Physics (JSAP)-OSA Joint Symposia-The 79th JSAP Autumn Meeting, Nagoya, Japan, Sep. 18-20, 2018.
- <u>K. Okubo</u>, H. Kuramochi, A. Iwaya, and T. Ichiki, "Sub-100 nm scale nanoarray platform for single exosome analysis," The 35th International Conference of Photopolymer Science and Technology (ICPST35), Chiba, Japan, July 24-27, 2018.

#### 国内学会

10. K. Miyata, M. Umezawa, T. Chihara, S. Sekiyama, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, and K. Soga, "Contactless temperature sensing for deep biological tissues by time-gated imaging with near-infrared fluorescence of rare earth-doped ceramic particles," 第 29 回日本 MRS 年次大会, 横浜情報文化センター, 2019 年 11 月 27-29 日.

<研究成果の公開状況>(上記以外)

## シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等

## <既に実施しているもの>

シンポジウム等の開催

- 2019 年度イメージングフロンティアセンターシンポジウム,東京理科大学野田キャンパス新7号館
   6F 講堂, 2019 年 12 月 14 日.
- 平成 30 年度イメージングフロンティアセンターシンポジウム,東京理科大学野田キャンパス講義棟 K103,2018 年 12 月 15 日.
- 3. イメージングフロンティアセンター講演会,講師:桧垣 匠(東京大学新領域創成科学研究科)「葉っぱと頭蓋骨の意外な関係:葉表皮細胞によるジグゾーパズル型パターン形成の理論モデル」,東京理科大学野田キャンパス講義棟 K309,2017 年 7 月 12 日.
- 4. International Symposium on Imaging Frontier (ISIF2017), 東京理科大学葛飾キャンパス図書館ホ ール, 2017 年 7 月 8-9 日.
- 5. イメージングフロンティアセンター講演会, Dr. Luis Cárdenas (メキシコ国立自治大学) "Reactive oxygen species as key regulators of polar growth and symbiosis,"東京理科大学野田キャンパス講 義棟 K701, 2017 年 7 月 7 日.

- 6. イメージングフロンティアセンター特別セミナー,講師:小関泰之(東京大学工学系研究科)「誘導ラマン顕微鏡による生体の無標識観察」,東京理科大学野田キャンパス計算科学研究センター4F大会議室,2017年1月18日.
- 7. 平成 28 年度イメージングフロンティアセンターシンポジウム,東京理科大学野田キャンパス講義棟 K103, 2016 年 12 月 10 日.
- 8. イメージングフロンティアセンター「カとレオロジーのイメージング」ワークショップ,東京理科大学葛飾キャンパス講義棟 101,2016 年 7 月 23 日.
- 9. イメージングフロンティアセンター講演会, 講師: 桧垣 匠(東京大学新領域創成科学研究科)「気 孔開閉を調節する膜交通因子のイメージング解析」, 2016 年 6 月 29 日.
- 10. イメージングフロンティアセンター講演会, 講師:石川雅也(東京電機大)「植物の凍結挙動のイメージング解析と凍結を制御するメカニズム」, 2016 年 6 月 22 日.
- 11. イメージングフロンティアセンター William S. Price 教授特別講義「核磁気共鳴イメージング(magnetic resonance imaging; MRI)の生物学への応用」,東京理科大学野田キャンパス講義棟 K205, 2016 年 4 月 11 日.
- 12. TUS International Symposium Ca<sup>2+</sup> & ROS in Plant Information Processing towards the New Era of Agri-Engineering, 東京理科大学野田キャンパス計算科学研究センター4F 大会議室, 2016 年 3月 16-17 日.
- 13. 平成 27 年度イメージングフロンティアセンターシンポジウム,東京理科大学野田キャンパス講義棟 K102,2015 年 12 月 25 日.
- 14. イメージングフロンティアセンターオープニングセレモニー,東京理科大学葛飾キャンパス図書館ホール, 2015年9月26日.

インターネットでの公開状況

イメージングフロンティアセンターのホームページを以下のサイトに公開している。

https://www.rs.tus.ac.jp/ifc/index.html

## 14 その他の研究成果等

#### 特許

- 1. 山本昌邦, 行方昌人<u>,後飯塚僚</u>,「観察方法, 測定方法, 解析方法, 定量方法, およびキット」, 特願 2019-168469.
- 2. <u>石黒孝</u>, 宇部卓司, 黒川雄太, 「分光測定装置, 及び分光測定法」, 特願号 2019-117747.
- 3. <u>朽津和幸</u>,北畑信隆,斉藤優歩,「ジャスモン酸内生促進剤及びジャスモン酸内生促進方法」, 特願 2018-241785.
- 4. (\*78) <u>曽我公平</u>, 梅澤雅和, 春口真祐, <u>「生体試料の透明化方法及び生体試料透明化剤」</u>, 特願 2018-158579.
- 5. (\*79) <u>松永幸大</u>, 坂本勇貴, 「<u>生体試料の透明化方法及び生体試料脱色剤」</u>, 特願 2018-150513.
- 6. 伊藤雅昭, 後藤田直人, 西澤祐吏, 横田秀夫, 竹村裕, <u>曽我公平</u>, 「アプローチ装置」, 特願 2017-508444.
- 7. <u>松永幸大</u>, 杉本薫, 勝山雄喜, 「植物体の生産方法」, 特願 2017-146147.
- 8. 松永幸大, 杉本薫, 勝山雄喜, 「植物体の生産方法及び植物体」, 特願 2017-146146.
- 9. 松永幸大, 杉本薫, 石原弘也,「植物物体の生産方法及び植物体」, 特願 2017-146145.
- 10. <u>曽我公平</u>,「光イメージング装置」, 特願 2017-076414.
- 11. 梅村和夫, <u>政池知子</u>, 佐藤玄実, 横田龍一,「蛍光検出方法及び蛍光検出装置」, 特願 2017-044186.
- 12. <u>N. Ohtani</u>, F. Kamachi, T. M. Loo, S. Koizumi, T. Okumura, "Use of EP4 receptor antagonists for the

treatment of NASH-associated liver cancer," New U.S. Patent Application No. 15/343,999, 出願日:2016年11月4日.

- 13. 青木伸,安盛敦雄,「細胞分離方法及び細胞分離装置」,特願 2016-165889、
- 14. <u>青木伸</u>, サーベンドラ・クマール, 久松洋介, 田村裕一, 「イリジウム錯体化合物及びイリジウム錯体化合物の製造方法」, 特願 2015-247777.

受賞

- 15. 木村真衣子, 中彩香, 森作俊紀, 浦島周平, 由井宏治, 第 41 回日本バイオマテリアル学会大会 ハイライト発表, "レーザー光音響分光法を用した毛細血管模擬試料の弾性計測," 2019 年 11 月.
- 16. 中彩香,木村真衣子,森作俊紀,浦島周平,由井宏治,第41回日本バイオマテリアル学会大会優秀研究ポスター賞,"レーザー光音響分光法を用いた生体組織深部レオロジー計測," 2019年11月.
- <u>松永幸大</u>, 平瀬賞, "Primed histone demethylation regulates shoot regenerative competency," 日本植物形態学会, 2019 年 9 月.
- 18. <u>上村真生</u>, 奨励賞, "光応答性マテリアルによるバイオ分析法の開発,"日本分析化学会, 2018 年 9月13日.
- 19. <u>上村真生</u>, 高分子論文集 高分子科学・工学のニューウェーブ-2018-, "高分子複合化近赤外 蛍光プローブによる in vivo イメージング,"高分子学会, 2018 年 7 月 11 日.
- 20. 上村真生,高分子研究奨励賞, "機能性高分子複合化ナノ粒子の設計と近赤外蛍光バイオイ メージングへの応用,"高分子学会, 2018 年 5 月 24 日.
- 21. 上村真生,新世紀新人賞,"生体内深部を観察する近赤外光バイオイメージング法の開発,"日本分析化学会関東支部,2018年1月9日.
- 22. <u>M. Kamimura</u>, APA Young Researcher Award 2017, Asian Polymer Association, Radisson Blu Hotel, Dwarka, New Delhi, India, Nov 23–25, 2017.
- 23. 上村真生, 大本歩, 関山翔太, 梅澤雅和, 邱信程, <u>曽我公平</u>, ハイライト講演, "がんイメージン びと治療のための近赤外光励起型ナノセラノスティクス粒子,"第 39 回日本バイオマテリアル学会 大会, タワーホール船堀, 東京, 2017 年 11 月 20-21 日.
- 24. <u>M. Kamimura, K. Soga</u>, 奨励賞, "Over~1000 nm Near~Infrared Fluorescent Probes for Deep Tissue in vivo Imaging," 第 26 回日本 MRS 年次大会, 横浜開港記念館, 2016 年 12 月 19–22 日.
- 25. <u>M. Kamimura</u>, 日韓バイオマテリアル学会若手研究者交流 AWARD (Japanese and Korean Biomaterials Societies Young Scientist Exchange Program Award 2016), "1000nm を超える近赤 外光バイオイメージングのための蛍光ナノプローブの開発," Development of Fluorescence Nanoprobes for Over-1000 nm Near-infrared Bioimaging, Korea Institute of Science and Technology (KIST), 2016 年 9 月 29 日, 福岡国際会議場, 2016 年 11 月 21-22 日.
- 26. 大谷直子, 第1回日本癌学会女性科学者賞 受賞, 2017年9月.
- 27. 来須孝光, 花俣繁, 瀬良ゆり, 澤田隼平, <u>朽津和幸</u>, ベストイメージング賞, 日本バイオイメージ ング学会, 2016 年.
- 28. <u>松永幸大</u>, 平瀬賞, "The coordination of ploidy and cell size differs between cell layers in leaves," 日本植物形態学会, 2016 年 9 月 15 日.
- 29. <u>T. Morisaku</u> and <u>H. Yui</u>, RSC Tokyo International Conference 2015, Best poster award, "Development of the Near–infrared Laser–induced Surface Deformation Microscope (NIR–LISD)," 2015 年 9 月 4 日.

広報

30. <u>松永幸大</u>, 2019 年 12 月 20 日掲載, EurekAlert, "A step closer to understanding evolution -

mitochondrial division conserved across species," (https://eurekalert.org/pub\_releases/ 2019-12/tuos-asc121919.php).

- <u>松永幸大</u>, 2019 年 8 月 5 日掲載, Technology Networks, "Novel Epigenetic Regulation Mechanism Underlies Improved Stress Response in Plants," (<u>https://www.technologynetworks.com/</u> appliedsciences/news/novel-epigenetic-regulation-mechanism-underlies-improved-stress-responsein-plants-322492).
- 32. 松永幸大, 2019 年 5 月 12 日掲載, 日本経済新聞(朝刊 30 面), 「草木再生 カギ握る酵素 東京理科大など発見 栽培に応用も」
- 33. <u>松永幸大</u>, 2019 年 4 月 29 日掲載, 東京新聞(朝刊 4 面),「びつくり! 新技術 植物の再生能力 酵素の働きに秘密あり」
- 34. <u>松永幸大</u>, 2019 年 4 月 26 日掲載, 日経バイオテク ONLINE, 「東京理科大、植物の再生能力を 支えるエビジェネ酵素を同定 再生の新機構解明を Nature 姉妹誌にて発表」
- 35. <u>松永幸大</u>, 2019 年 4 月 24 日掲載, Crop Biotech Update,「SCIENTISTS DISCOVER WAYS TO REGENERATE PLANT TISSUES」
- 36. <u>松永幸大</u>, 2019 年 4 月 22 日掲載, Editage Insights, 「植物の強力な再生能力の秘密を解明 ー 「備えあれば憂いなし」,再生準備を整える新しいメカニズムを発見一」
- 37. <u>松永幸大</u>, 2019 年 4 月 21 日掲載, Innovation Tronto,「Cracking the code to regenerate plant tissues」
- 38. <u>松永幸大</u>, 2019 年 4 月 20 日掲載, Global Plant Council,「SCIENTISTS CRACK THE CODE TO REGENERATE PLANT TISSUES」
- 39. <u>松永幸大</u>, 2019 年 4 月 16 日掲載, EurekAlert,「Scientists crack the code to regenerate plant tissues」
- 40. <u>松永幸大</u>, 2019 年 4 月 16 日掲載, ScienceDaily,「Scientists crack the code to regenerate plant tissues」
- 41. <u>松永幸大</u>, 2019 年 4 月 16 日掲載, SCIENMAG, 「Scientists Crack The Code To Regenerate Plant Tissues」
- 42. <u>朽津和幸</u>, 2019 年 2 月 28 日, フジサンケイビジネスアイ,「東京理科大学「活性酸素」上手に 使う植物の仕組みを解明」
- 43. <u>松永幸大</u>, 2017 年 5 月 12 日掲載, 科学新聞(4 面), 「植物のエピジェネティクス変化 リアルタイ ムにキャッチ成功 - マウス抗体の一部、植物細胞内で抗原結合 - 理科大、理研、東エ大」
- 44. <u>松永幸大</u>, 2017 年 4 月 24 日掲載, 東京新聞(朝刊 4 面),「びつくり! 新技術 植物を透明化 葉の裏側まで丸見え」
- 45. <u>松永幸大</u>, 2017 年 4 月 27 日掲載, 中日新聞(夕刊 2 面),「びつり! 新技術 植物を透明化 葉の裏側まで丸見え」
- 46. <u>松永幸大</u>, 2017 年 4 月 20 日掲載, 日経バイオテク ONLINE アカデミック版,「東京理科大学、植物のエピジェネティクス変化をリアルタイムに捉えることに成功 マウスの抗体の一部が生きた植物細胞内でも抗原を認識した –」
- 47. <u>松永幸大</u>, 2017 年 4 月 20 日掲載, 日経産業新聞,「遺伝子活性化で光 東京理科大 生き た植物で観察」
- 48. <u>松永幸大</u>, 2017 年 4 月 19 日掲載, 化学工業日報(朝刊 5 面), 「植物 DNA 修飾変化 リアル タイムに解析 東京理科大など – 生きた単一細胞で初」
- 49. <u>松永幸大</u>, 2017 年 2 月 23 日掲載, フジサンケイビジネスアイ,「植物のストレス度合いを診断 放 射線や化学物質で形成する植物の核内構造体発見 東京理科大学」
- 50. <u>松永幸大</u>, 2016 年 10 月 27 日掲載, 日経バイオテク ONLINE アカデミック版, 「理科大と京大、名大、徳島大, 生きた植物の核内 DNA を解析できる TALE FP 法 ゲノム編集ツールで植物のエ ピゲノム育種にも貢献」
- 51. <u>松永幸大</u>, 2016 年 10 月 26 日掲載, フジサンケイビジネスアイ,「植物の DNA を生きたまま観察で きる手法を開発 東京理科大学」

- 52. <u>松永幸大</u>, 2016 年 10 月 20 日掲載, 化学工業日報,「報東京理科大など 蛍光たんぱく ゲノム 編集で配置 ー 植物 DNA を生きたまま観察 作物育種技術に応用期待」
- 53. <u>松永幸大</u>, 2016 年 10 月 20 日掲載, 日経産業新聞,「生きた植物 DNA 観察 東京理科大 ゲ ノム編集で発光」
- 54. <u>松永幸大</u>, 2016 年 7 月 29 日掲載, 科学新聞, 「植物の DNA 合成 リアルタイム観察 ~理科 大が「PCNA 法」開発~」
- 55. <u>松永幸大</u>, 2016 年 7 月 20 日掲載, 化学工業日報, 「植物の DNA 合成 生きた細胞から解析 東京理科大・JST」
- 56. <u>松永幸大</u>, 2016 年 4 月 6 日掲載, 日刊工業新聞, 「植物の細胞核と細胞のサイズ比例, 葉表 皮の限定現象-東大など発見」
- 57. <u>朽津和幸</u>, 2016年4月4日, 日刊工業新聞,「植物組織の凍結制御活性の検索」日刊工業 新聞」
- 58. 後飯塚僚, 2016年4月4日,日刊工業新聞,「白血病細胞の骨髄定着:マウスで仕組み解明」
- 59. <u>松永幸大</u>, 2016 年 3 月 25 日掲載, 科学新聞, 「透明作物を短時間で作製 理科大, 熊本大 など新たな手法開発」
- 60. 松永幸大, 2016年3月15日放送, 文化放送「オトナカレッジ」,「植物の透明化に新たな発見」
- 61. <u>松永幸大</u>,2016年3月31日掲載,フジサンケイビジネスアイ,「大学発 ここにあり!日本を支える 研究活動と技術開発: 植物を透明にして内部構造を観察する手法の開発」
- 62. 松永幸大, 2016年3月7日掲載, 読売新聞, 「植物、数時間で透明に」
- 63. <u>松永幸大</u>, 2016 年 3 月 7 日掲載, 化学工業日報,「作物を 2 時間で透明化 内部構造研究や 害虫検査が 容易に 東京理科大など」
- 64. 松永幸大, 2016年3月1日掲載, 朝日新聞, 「植物まるごと透明化」
- 65. <u>松永幸大</u>,2016年3月1日掲載,熊本日日新聞,「短時間で植物透明化 品種改良、害虫検 出に」
- 66. <u>松永幸大</u>,2016年3月1日掲載,日刊工業新聞,「短時間で植物透明化 傷付けず内部構造 観察 東京理科大など」
- 67. <u>朽津和幸</u>, 2015年6月29日, 日経バイオテク, 「人と人を結ぶバイオイメージング」
- 68. <u>松永幸大</u>, 2015 年 6 月 22 日掲載, 化学工業日報,「東京理科大 植物細胞の染色体 動態 変化を可視化 放射線に強い品種作出へ前進」
- 69. 松永幸大, 2015年6月19日掲載, 科学新聞, 「植物の放射線傷害応答反応を可視化」
- 70. <u>松永幸大</u>,2015年6月9日掲載,原子力産業新聞,「東京理科大,植物の放射線障害に対す る応答反応を可視化」
- 71. <u>松永幸大</u>, 2015 年 6 月 8 日掲載, 日刊工業新聞,「放射線傷害を受けた植物の細胞で染色体 接近, DNA 修復の可能性 — 東京理科大が発見」
- 72. 朽津和幸, 2015年4月10日, 日本農業新聞,「稲の葉緑体再利用を可視化」
- 73. <u>朽津和幸</u>, 2015 年 4 月 14 日, 日経バイオテク on line, 「イネもオートファジーで葉緑体を再利用, ライブセルイメージングで観察」
- 74. 朽津和幸, 2015年4月16日, 日経産業新聞, 「イネの葉緑体分解 追跡 自食作用が関与」
- 75. <u>朽津和幸</u>, 2015年4月16日, 化学工業日報,「葉緑体の再利用過程を解明」
- 76. <u>朽津和幸</u>, 2015 年 4 月 24 日, 科学新聞, 「オートファジーを可視化: イネ葉緑体の分解過程解 明」
- 77. <u>大谷直子</u>, 腸内フローラと疾患 -腸内細菌による発がん促進メカニズムとその予防- 文化交流センター市民公開講座 2018.12.11.
- 78. <u>大谷直子</u>, 大学卒業後のキャリアパス ~子育てと研究の両立~第 13 回大阪市女性医師ネット ワーク シンポジウム「今、思う事 そして一歩前へ」 2018.3.17.
- 79. <u>大谷直子</u>, 男女の働き方改革 ~研究者夫婦の一例(妻編)~ 四国 5 大学連携男女共同参 画推進シンポジウム 2017, 2017.12.18.

- 80. <u>大谷直子</u>,理工学部・応用生物科学科・大谷研究室理大祭・秋のマドンナプロジェクト「細胞の運命を目で見てみよう~アポトーシスの観察~」女子高校生向け実験体験2015.11.22
- 81. 大谷直子,発がんのしくみを探り予防法の開発を目指す ~老化とがん、肥満とがんに着目して~ 東京理科大学・こうよう会広島支部 講演会、2015.10.30. 広島
- 82. <u>大谷直子</u>, 老化の分子機構 -細胞老化の生体における役割- 第31回東京理科大学·薬学 講座 2015.10.17. 東京
- 83. <u>大谷直子</u>,細胞の老化と炎症 ~老化とがんの仕組みについて~ とやま市民公開講座, 2015.10.3. 富山
- 84. <u>大谷直子</u>,細胞老化と慢性炎症 -細胞老化の生体における役割- 日本抗加齢医学会,専門医・指導士研修用 応用・実践編講習会講師,2015.04.12. 東京

15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項及び対応

<「選定時」に付された留意事項> なし
<「選定時」に付された留意事項への対応> なし
<「中間評価時」に付された留意事項> なし
<「中間評価時」に付された留意事項への対応> なし

法人番号	131065
プロジェクト番号	S1511012

131065

施設	と装置・認	设備・研究	費の支出	状況(実績	<b>責概要</b> )				(千円)
						内		訳	
年	度・区分	支出額	法 人 負 担	私 学 助 成	共同研 究機関 負担	受託 研究等	寄付金	その他( )	備考
平	施設	0							
成 2	装置	62,716	31,358	31,358					
7 年	設備	16,845	6,029	10,816					
度	研究費	25,586	15,765	9,821					
平	施設	0							
成 2	装置	0							
8 年	設備	0							
度	研究費	32,235	21,578	10,657					
平	施設	0							
成 2	装置	0							
9 年	設備	0							
度	研究費	18,503	11,223	7,280					
平	施設	0							
成 3	装置	0							
0 在	設備	0							
度	研究費	22,562	15,162	7,400					
숚	施設	0							
和	装置	0							
九年	設備	0							
度	研究費	26,608	18,777	7,831					
	施設	0	0	0	0	0	0	0	
総	装置	62,716	31,358	31,358	0	0	0	0	
額	設備	16,845	6,029	10,816	0	0	0	0	
	研究費	125,494	82,505	42,989	0	0	0	0	
糸	※ 計	205,055	119,892	85,163	0	0	0	0	

#### 16

17 施設・装置・設備の整備状況(私学助成を受けたものはすべて記載してください。)

《施	設》	) (3	私学	≥助成	を受けてい	ないものも含め、使	同している施設	設をすべて記	載してください	。)	(千円)
施	設	Ø	名	称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体

※ 私学助成による補助事業として行った新増築により、整備前と比較して増加した面積

m

\_

法人番号	131065
プロジェクト番号	S1511012

《装置·設備》(私学助	成を受け	ていないものは、主	なもののみを言	己載してくださ	い。)		(千円)
装置・設備の名称	整備年度	型 番	台 数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置)							
In Sight DeepSee搭載二光子可視化システム	27	FVMPE-RS	1	6260 h	62,716	31,358	
				h			
				h			
				h			
(东京)				h			
(研究設備) 可加克成在4/5	07			0050	0.070	5.040	
可視局感度カメフ	27		1	2250 h	8,972	5,643	
近赤外高解像度カメラ	27	Xenics社 XEVA-CL-FPA-	1	2700 h	7,873	5,173	1
				h			
				h			
				h			1
(情報処埋関係設備)							1
				h			
				h			
				h			
				h			
				h			

#### 18<u>研究</u>費の支出状況

研究費の支出状況	2			(=	千円)
年 度	平成 2	27 年度			
·····································	土山姑		積	算内訳	
小科日	又口祖	主な使途	金額	主な内容	
	教	育研究	経	費 支 出	
消耗品費	15,316	実験材料(試薬、実験機器、実験動物)	15,316	実験材料(試薬、実験機器、実験動物)	
光熱水費	0		0		
通信運搬費	3	サンプル送付料	3	サンプル送付料	
印刷製本費	5	シンポジウムポスター	5	シンポジウムポスター	
旅費交通費	438	学会出張費、シンボジウム招聘渡航費 他	438	学会出張費、シンポジウム招聘渡航費 他	
報酬·委託料	223	講演謝金、DNAシーケンス委託料 他	223	講演謝金、DNAシーケンス委託料 他	
(その他)	2,832	学会参加費、プログラム作成費	2,832	学会参加費、プログラム作成費	
計	18,817		18,817		
	-	アルバイ	ト関	係支出	
人件費支出	16	時給 950円,年間時間数 17時間	16	時給 950円,年間時間数 17時間	
(兼務職員)		実人数 4人		実人数 4人	
教育研究経費支出					
計	16		16		
	設	備関係支出(1個又は	1組の価格が5	00万円未満のもの)	
教育研究用機器備品	248	中古超低温槽マイバイオキューブ	248	中古超低温槽マイバイオキューブ	
	498	卓上型クリーンベンチ	498	卓上型クリーンベンチ	
	2,084	顕微鏡用培養システム	2,084	顕微鏡用培養システム	
	203	光ファイバーライトガイド用光源装置	203	光ファイバーライトガイド用光源装置	
	583	手術用顕微鏡	583		
	1,982	浸対物レンズ	1,982		
	548	CO2インキュベーター	548	C02インキュベーター	
	607	制御用PC	607	制御用PC	
計	6,753		6,753		
	研	究 ス タ ッ	・ フ 関	係支出	
リサーチ・アシスタント					
ポスト・ドクター	6,061		6,061	学内3人	
研究支援推進経費					
計	6,061		6,061	学内3人	

法人番号

年 度	平成 2	28 年度		
	ᆂᆈᅘ		積	算内訳
小科日	文出額	主な使途	金額	主な内容
	教	育研究	経	費 支 出
消耗品費	21,972	実験材料(試薬、実験機器、実験動物)	21,972	実験材料(試薬、実験機器、実験動物)
光熱水費	0		0	
通信運搬費	2	ポスター発送費 他	2	ポスター発送費 他
印刷製本費	8	報告書作成費 他	8	報告書作成費 他
旅費交通費	1,306	学会出張費、シンボジウム招聘渡航費 他	1,306	学会出張費、シンポジウム招聘渡航費 他
報酬·委託料	796	講演謝金 他	796	講演謝金 他
(その他)	1,156	学会参加費 他	1,156	学会参加費 他
計	25,240		25,240	
	-	アルバイ	ト関	係支出
人件費支出	1,265		1,265	時給 950円,年間時間数 60時間
(兼務職員)				実人数 8人
教育研究経費支出				時給 1000円, 年間時間数 1,208時間
計	1,265		1,265	実人数 1人
	設	備関係支出(1個又は1	1組の価格が5	00万円未満のもの)
教育研究用機器備品	457	AO変調器	457	AO変調器
	756	小型分光器セット	756	小型分光器セット
	832	NF型 波長可変光源 NIJI-2NFS	832	NF型 波長可変光源 NIJI-2NFS
	680	近赤外用レンズ OLES	680	近赤外用レンズ OLES
	569	IX71 倒立型蛍光顕微鏡	569	IX71 倒立型蛍光顕微鏡
	435	NF回路 マルチファンクションジェネレータ	435	NF回路 マルチファンクションジェネレータ
	237	FJW IRビュワー	237	FJW IRビュワー
	408	顕微鏡デジタルカメラAxioCamMRo制御用コンパクト	408	顕微鏡デジタルカメラAxioCamMRc制御用コンパクト
	1,356	顕微鏡モノクロデジタルカメラセット	1,356	顕微鏡モノクロデジタルカメラセット
計	5,730		5,730	
	研	究 ス タ ッ	, フ 関	係支出
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター	14,789	学内5人	14,789	学内5人
研究支援推進経費				
計	14,789	学内5人	14,789	学内5人

年度	平成 2	19 年度	Ę								
네 주네 모	+ 11 55			積	算	内言	沢				
小科日	文出額	主:	な使途	金額			主	な	内	容	
	教	育	研究	こ 経	費	支	出				
消耗品費	14,662	実験材料(試薬、	、実験機器、実験動物)	14,662	実験材	料(試薬	、実験	機器	、実験	動物)	
光熱水費	0			0							
通信運搬費	2	ポスター	発送費 他	2	ポスタ-	一発送費	他				
印刷製本費	44	報告書作	成費 他	44	報告書	作成費	他				
旅費交通費	1,460	学会出張費、シンボ	ジウム招聘渡航費 他	1,460	学会出	張費、シ	ノンポシ	ジウム	招聘》	度航費	他
報酬·委託料	473	講演謝金	他	473	講演謝	金他					
(その他)	239	学会参加	費他	239	学会参	加費 化	<u>b</u>				
計	16,880			16,880							
	-	アル	バイ	ト関	係	支	出				
人件費支出	0			0							
(兼務職員)											
教育研究経費支出											
計	0			0							
	設	備関係3	支出(1個又は	1組の価格が5	00万円	未満の	もの)				
教育研究用機器備品	235	対物レンズ月	用アクチュエータ	235	対物レ	ンズ用フ	アクチュ	LT-:	<u>۶</u>		
	241	2軸ステー	・ジコントローラ	241	2軸ステ	ージコ	ントロー	-ラ			
	327	Buehler IsoMet10	000 自動精密切断機	327	Buehler	IsoMet	1000 🛛	自動精	密切	断機	
	820	5Lフィード	デュワー	820	5Lフィー	ードデュ'	ワー				
計	1,623			1,623							
	研	究	スタ	ッ フ 関	係	支	出				
リサーチ・アシスタント											
ポスト・ドクター	20,491	学内5人		20,491	学内5人						
研究支援推進経費											
計	20,491	学内5人		20,491	学内5人						

在	平成 3	0 年間	在		•											
<u>+ k</u>	17% 0	- <u>-</u>	×			秸	窅	内	訳							
小科目	支出額	主	な使	途	金額		7		ш/ С	主	な	内		容		
	教	育	研	究	経	1	費	支		出						
消耗品費	16,586	実験材料(試薬	、実験機器、	実験動物)	16,58	36 3	実験材料	料(試	薬、	実験	機器	、実	験	助物	)	
光熱水費	0					0										 
通信運搬費	1	ポスター	発送費	他		1 7	ポスター	- 発送	費	他						 
印刷製本費	0					0										 
旅費交通費	1,289	学会出張費、シンオ	ドジウム招聘渡	航費 他	1,28	39 🖆	学会出	張費、	シン	パシ	ジウム	招聘	渡	航費	2 他	 
報酬·委託料	203	講演謝金	≥他		20	)3 🖥	講演謝	金他	1							 
(その他)	1,847	学会参加	]費他		1,84	17 🖻	学会参	加費	他							 
計	19,926				19,92	26										
		アル	バ	イ	ト関		係	支	出	ŀ						
人件費支出	0					0										
(兼務職員)																 
教育研究経費支出						I										 
計	0					0										
	設	備関係	支出(1	個又は	1組の価格が	50	0万円:	未満の	のもの	D)						
教育研究用機器備品	206	分析天科	F AUW12	20	20	6 🖇	分析天	秤 AU	JW12	0						 
	2,430	多光子励起	専用対物	ルンズ	2,43	0	多光子	励起耳	専用	対物	レンス	(				 
計	2,636				2,63	6										
	研	究	ス	タッ	, フ	関	係	3	٤	出						
リサーチ・アシスタント																
ポスト・ドクター	16,435	学内4人			16,43	35 ≜	学内4人									 
研究支援推進経費																
計	16,435	学内4人			16,43	35 ≜	学内4人									
	A															
年度	令和 5	元 年月	ŧ			<b>*</b> +	Art-	-								
年 度 小科目	<u>令和 う</u> 支出額			· <b>A</b>	; م م	積	算	内	訳	+	+>	-		<del></del>		
年 度 小科目	<u>令和</u> 方 支出額		度な使	途		積	算	内	訳	主 山	な	内		容		
年 度 小科目	令和 5 支出額 教		<u>また</u> また また また また また また	途 <u>字</u> 論動物)	会額 <u> 後</u> 21.20	積	算 費 書除#1	内支	訳	主出	な	内	臣言	容物	)	
年度 小科目 <u>消耗品費</u>	令和 5 支出額 <u>教</u> 21,208	元 年月 主 育 <sup>実験材料(試薬</sup>	<u>ま</u> な <u>使</u> 研 <sup>(、実験機器、</sup>	<u>途</u> 究 <sub>実験動物)</sub>	金額 経 21,20	積 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	算 費 実験材	内 支 料(試	訳薬、	主 出 実験	な :機器	内、実	験	容動物	)	
年 度 小科目 消耗品費 光熱水費	令和 方 支出額 数 21,208 0 (5) (5) (5) (5) (5) (5) (5) (5) (5) (5)	元 年 <u>月</u> 主 <sup>実験材料(試薬</sup> 海洋費	度 な使 研 <sup>(、実験機器、</sup>	途 究 <sub>実験動物</sub> )	会額 経 21,20	積 )8 0	算 費 実験材 選挙	内 支 料(試	訳	<u>主</u> 出 実験	<u>な</u> 機器	内、実	験	容	)	
年 度 小科目 消耗品費 光熱水費 通信運搬費	令和 方 支出額 数 21,208 0 45 7	元 年 月 主 育 実験材料(は薬 運送費 シンポジウ	<u>ま</u> な使研 研 (、実験機器、 他 ムポスター	途 究 <sup>実験動物)</sup>	金 額 経 21,2(	積 08 15 15	算 費 実験材 運送費	内 支 試 (試	家、	主 出 実験	な機器	内実調	験	容	)	
年         度           小         科         目           消耗品費         費         治信運搬費           近偏運搬費         印刷製本費         距離費	令和 方 支出額 21,208 0 45 7 1824	元 年 1 主 育 実験材料(試薬 運送費 シンポジウ. 学会出現表, シック	<u> ま な 使 研 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、</u>	<b>途</b> 実験動物) 一印刷費 航費 他	金額 経 21.20 1.80	積 08 0 15 7 24	算 費 実験材 ジンペ 出	内 支 試 () 支 () 支 () () 支 () () () () () () () () () () () () ()	家、ポン	主出験	な 機器 印刷 ン ウ	内実調	験	容動物調	) } (th	
年         度           小         科         目           消         耗         品         費           光         熟         水         費           通信運搬費         印刷製本費         旅費交通費         報酬・季託料	令和 方 支出額 21,208 0 45 7 1,824 875	元 年 1 主 育 実験材料(試薬 運送費)シンポジウ. 学会出張費、シンポ 第 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二	<u> </u>	途 <u> 究</u> 実験動物) 一印刷費 航費 他	金額 経 21.20 1.85 8	積 08 0 15 7 24 4	算 費 験 材 ジン会 演 講	内支試 他 ひ 最金	家、ポシリ	<u>主</u> 出 実験 マージ	な 機器 ・ 印刷 ンウム	内実習	験	容動物	)	
年度           小科目           消耗品費           洗熱水費           通信運搬費           印刷製本費           旅費交通費           報酬・委託料           (その他)	令和         万           支出額         数           21,208         0           45         7           1,824         875           739         739	元 年 主 育 実験材料料(編集 選 ジンデ衆訓選長、シゴ 本 調 学 学 の 第 第 一 二 主 育 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二	<u> ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま </u>	途 究 実験動物) 印刷費 航費 他	金額 経 21.20 1.82 1.82 8 7 7	積 	算 費 費 業 験材 業 、 送 ンン 学 講 一 学 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	内 支 試 他 少 費 他 一	訳薬ポシュ他	主 出 実験 マー マー	な 機器 ・印刷	内実習	験	容動物	) 注他	
年度           小科目           消耗品費           洗熱水費           通信運搬費           印刷製本費           旅費交通費           報酬・委託料           (その他)           計	令和     万       支出額     教       21,208     0       45     7       7     1.824       875     739       24 698	元 年 月 実験材料(編集 運送費 ジンポジウ・ 学会参加 学会参加	ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま ま	<b>途</b> 究 実験動物) 一印刷費 <sup>紙費 他</sup>	金額 経 21.20 1.82 1.82 8 77 24 65	積 08 0 15 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	算費実運ジ学講学会	内支試化ウ費化	家菜ポシュ他	主出験	な 機器 印刷 ンウム	内実習	験調	容動物	) 注他	
年度           小科目           消耗品費           光熱水費           通信運搬費           印刷製本費           旅費交通費           報酬・委託料           (その他)           計	令和         万           支出額         教           21,208         0           45         7           1,824         875           739         24,698	元 年 月 実験材料 (編集 費 シンポジウ・ **#講義、シバ 金加 第 会 の 加 ア ル	<u> ままで、 ままで、 ままで、 ままで、 また、 また、 また、 また、 また、 また、 また、 また</u>	途 究 実験動物) 印刷費 <sup>紙更 他</sup>	金額 経 21.20 1.82 8. 73 24.65 ト 関	積 08 15 7 24 4 1 1 39 1 1 1 39 1 1 1 39	算 費 験 送 ン 会 演 参 / 係	内支試 他 ク 費 支 試 一支 利 一支	歌楽ポシュ他	主 出 実	な 機器 印刷 ンウム	内実置	験調	容物物	)	
年度       小科目       消耗品費       光熱水費       通信運搬費       印刷製本費       旅費交通費       報酬・委託料       (その他)       計	令和         万           支出額         教           21,208         0           45         7           1,824         875           739         24,698           0         0	元 年 月 実験材料 運送ボジウ・ 学業 調会 が ア ル	また また また また また また また また また また	<u>途</u> 究実験動物) 一印刷費 航泉 他 イ	金額 経 21,20 1,82 8 1,82 8 7 7 24,66 ト関	積 08 15 7 224 15 13 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15 15	算 費 費 費 業 験 、 費 、 、 、 会 満 学 係 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	内支試した遺金加支	家ポシュ他出	主 出 験 パー・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	な 機器 の 刷 の ム	内実調費期	験	容 物 航	)	
年度           小科目           消耗品費           光熱水費           通信運搬費           印刷製本費           旅費交通費           報酬・委託料           (その他)           計           人件費支出           (美務職員)	令和         万           支出額         教           21,208         0           45         7           1,824         875           739         24,698           0         0	元 年 月 実験材料 運送ボジウ・ 学業 調会 ア ル	度 な 使 研 素 実験機器 他 ムポスター 他 」費 他 パ	<u>途</u> 究実験動物) 一印刷費 <sup>紙表 他</sup>	金額 経 21,20 1,82 8 1,82 8 7 7 24,66 ト関	積 08 9 0 145 1 24 f 39 f 39 8 0 0	算 費 験 が 費 ジ 会 演 多 、 、 学 溝 学 係	内支は一次張金加支	家、ポシュ他	主 出 実 ター・シー コー・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	な 機器 ジウム	内実調	験調	容動物	)	
年度           小科目           消耗品費           光熱水費           通信運搬費           印刷製本費           旅費交通費           報酬・委託料           (その他)           計           人件費支出           (兼務職員)           教育研究経費支出	令和         万           支出額         教           21,208         0           45         7           1,824         875           739         24,698           0         0	元 年 月 実験材料 (銀 業 費 ジンボジウ・ 学 業 調 学 学 、 金 参 加 ア ル	度 な 使 研 低 ムポスター 他 山 ポ ン の し 、 実験機器 、 一他 し ムポスター し 、 、 実験 し 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	<u>途</u> 突 実験動物) 一印刷費 航泉 他 イ	金額 経 21,20 1,82 8 1,82 8 7 7 24,66 ト関	積 08 15 7 24 15 1 39 1 98	算 費 費 実 運 ジン会演 演会 参 ) 係	内支試した。「大学会」の支付した。「大学会」である。	家ポシュ他出	主 出 験 パー・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	な 機器 ジウム	内実習	験	容 動物 統	)	
年度           小科目           消耗品費           光熱水費           通信運搬費           印刷製本費           旅費交通費           報酬・委託料           (その他)           計           人件費支出           (兼務職員)           教育研究経費支出           計	令和         万           支出額         教           21,208         0           45         7           1,824         875           739         24,698           0         0           0         0           0         0	元 年	度 な 使 研 低 生 数 数 数 数 数 数 数 数 数 数 数 数 数	<u>途</u> 究実験動物) 一印刷費 紙表 他	金 額 経 21.20 1.82 83 75 24.65 ト 関	積 08 9 0 15 11 7 5 11 75 11 13 39 4 1 0 0	算 費 費 実 運 シン会演 講 学 係 係	内 支 試 他 ウ 費 低 支 動 支 し 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	家 ポシュ 他 出	主 出 実 クロード	な 一 税 器 一 の ウム	内実	験渡	容	)	
年度           小科目           消耗品費           光熱水費           通信運搬費           印刷製本費           旅費交通費           報酬・委託料           (その他)           計           人件費支出           (兼務職員)           教育研究経費支出           計	令和         万           支出額         教           21,208         0           45         7           1,824         875           739         24,698           24,698         7           0         2           0         0           24,698         7           0         0           200         0           0         2           0         3	元 年 月	度 を 使 研 課 読 他 ム ポ スター 他 1 費 他 1 費 し し 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	<u>途</u> 究 実験動物) 一印刷費 航景 他 イ	金 額 経 21.20 1.82 83 73 24.65 ト 関	積 08 15 7 24 4 15 24 4 15 15 15 15 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	算 費 験 送 ポ 出 謝 学 係 の 万 円	内支は一般でで、大学校会の加大なな、大学校会の一支により、そのためで、ため、ため、ため、ため、ため、ため、ため、ため、ため、ため、ため、ため、ため、		主出実 ターショー (クープ)	な 機器 印刷	内実習習	<u></u> 験 調	容 動物 航費	) } 他	
年         度           小         科         目           消         耗         品         費           光         熱         水         費           通信運搬費         印刷製本費         旅費交通費         報酬・委託料           (その他)         計         1           人件費支出         (未務職員)         教育研究経費支出         計           教育研究用機器備品         1         1	令和         万           支出額         教           21,208         0           45         7           1,824         875           739         24,698           2         0           24,698         7           0         2           0         0           2         0           1,574         8,75	元 年 月 東 秋 村 料 (課 業 売 業)シン ウ ** # 講 学 ア ル 備 液 係 ク ロ 備 液 係 の の の の の の の の の の の の の の の の の の	度 を 使 研 課 で 他 ポ スター し 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	<u>途</u> 究実験動物) 一印刷費 <sup>紙現 他</sup> イ イ フ	金 額 経 21,20 1,82 1,82 87 75 24,65 ト 関 1 組の価格が 1,57	積 08 0 7 7 3 9 8 0 7 5 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	算 費 験 送 ズ 、 会 演 会 参 ) の 夜 体 ク ワ で 夜 体 ク	内 支 試 他 ウ 費 世 支 満 、 大 、 満 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	訳 菜 ポシュ他 出 しびラ	主 上 実 、 ター ジ 、 の フ フ	な 機器	内実調	験渡	容	)	
年         度           小         科         目           消         耗         品         費           光         熱         水         費           通信運搬費         印刷製本費         旅費交通費           報酬・委託料         (その他)         計           人件費支出         (素務職員)         教育研究経費支出           計         教育研究用機器備品	令和         万           支出額         教           21,208         0           45         7           1,824         875           739         24,698           24,698         7           0         2           0         0           1,824         7           1,824         875           739         24,698           0         0           0         0           1,574         336	元 年 月 実験 村料 (課 業 遭 シンウ 学 学 ア ル 備 液 体 ク フ ル	度     位     研究       度     一     一       使     研媒器     一       一     一     二       1費     バ     1       1     ブ     1	<u>途</u> 究実験動物) 一印刷費 <sup>紙現 他</sup> イ	金 額 経 21.20 1.82 87 75 24.65 ト 関 1.組の価格が 1.57 33	積 08 0 145 7 1 75 言 1 39 1 0 0 15 0 0 1 5 0 1 2 4 1 2 6 2	算 費 費	内 支 試 し ジ 張 金 加 支 満 、 満 、 大 マ 、 ボ の 、 大 マ 、 の 、 の 、 の 、 の 、 の 、 の 、 の 、 の 、 の 、	訳 薬 ポシュ他 出 のグき		な 機器 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	 内 実 一 費 聘 明 ー プ	<u></u> 験 渡	容 动物 燕	) 2 他	
年         度           小         科         目           消         耗         品         費           光         熱         水         費           通信運搬費         印刷製本費         旅費交通費         報酬・委託料           (その他)         計         1           人件費支出         (未務職員)         教育研究経費支出         計           教育研究用機器備品	令和         万           支出額         教           21,208         0           45         7           1,824         875           739         24,698           24,698         7           0         2           0         2           0         2           1,574         336	元 年 月 実験材料 (編集 選費) ジンボジウ. 学 学 ア ル 備 液 体 ク フ ノル (編集 ア ル し 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	度     位       使     研       一     小ポスター       1費     パ       1     リ費       バ     1	途 究 実験動物) 一印刷費 <sup>載度 他</sup> イ イ フ 	金額 経 21.20 1.82 83 75 24.65 ト関 1組の価格が 1.57 33	積 0 145 7 24 15 7 39 15 0 0 15 0 0 5 5 0	算 費 () 費 () () () () () () () () () ()	内 支 試 他 ウ 費 で 派 金 加 支 満 に ト ゴ ル 付	訳 薬 ポシュ他 出 のグき	<u>主出</u> 実 (タージ) フノンジ	な 一 印 刷 刷 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	内 実 一 プ	<b>験</b>	容 動物 航費	)	
年度           小科目           消耗品費           光熱水費           通信運搬費           印刷製本費           旅費交通費           報酬・委託料           (その他)           計           人件費支出           (兼務職員)           教育研究経費支出           計	令和         万           支出額         教           21,208         0           45         7           1,824         875           739         24,698           21,208         7           1,824         875           739         24,698           0         2           0         2           1,574         336	元 年 月 実験材料 (編集 選業) ジンボジウ、 プキ 業費 ジンボジウ、 プキ 業費 デ 単 満 業 学 、 ジン ポ 二 二 一 二 一 二 一 二 一 二 一 二 一 二 一 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二	度     位     研究       使     研究     研究       近     一     一       支マーロ     マーロ     パ	途 究 実験動物) 一印刷費 航東 他 イ イ 日 日 日 又 ジ ポンプ	金 額 経 21.20 1.82 75 24.65 ト 関 11組の価格が 1.57 33	積 08 9 0 15 1 7 5 1 24 1 75 1 39 1 24 1 39 1 39 1 39 1 39 1 39 1 39 1 39 1 39	算 費 費 実 運 ジ 学 講 学 係 の 万 体 架 フ 2 本 架 フ 2 2 2 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3	内 支 試 他 ウ 費 満 ト 付 、 満 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	訳 薬 ポシュ 他 出 のグき	<u>主</u> 出 実 (タージ) フリンジ	な 一 印 刷 一 ジ ポン	内 実 招 開	<b>験</b>	容 動物 航費	)	
年         度           小         科         目           消         耗         品         費           光         熟         水         費           通信運搬費         印刷製本費         旅費交通費           報酬・委託料         (その他)         計           人件費支出         (未務職員)         教育研究経費支出           計         計         計	令和         万           支出額         教           21,208         0           21,208         0           1,824         875           739         24,698           24,698         7           1,574         336           1,574         336           1,910         1,910	元 年 月 実験材料(編集 選携 ジン・ボ 学 選 デ デ 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	支     使     一       使     研     一       小     二     二       支     マト     イ       レ     パ     1       ノブ     バ     1	途 究実験動物) 一印刷費 	☆ 額 経 21.20 1.82 75 24.65 ト 関 1組の価格が 1.57 33 	積 08 9 0 1 7 5 1 24 1 7 5 24 1 1 39 1 39 0 0 0 5 5 0 0 1 5 0 0 1 5 0 0 1 5 0 1 5 0 1 5 0 1 5 0 1 5 0 1 5 0 1 5 0 1 5 0 1 5 1 5	算 費 験 送ン会演会 万体架 の 万体架	内 支 (試 他 立 費 満 ト 付 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	訳 薬 ポシュ 他 出 のグき		な 一 印刷 ジポン	内 実 費 潤 明 プ プ プ プ プ プ プ プ プ プ プ プ プ プ プ プ プ プ	<b>験</b>	容 動物 競	)	
年度           小科目           消耗品費           光熱水費           通信運搬費           印刷製本費           旅費交通費           報酬・委託料           (その他)           計           人件費支出           (兼務職員)           教育研究組織器備品           計	今和 万 支出額 次出額 21,208 0 45 7 1,824 875 739 24,698 24,698 0 0 1,574 1,910 1,910	元 年 月 実験材料 (編集 満学 ア ル 備 液体 空 ブ 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	度     位       使     研       他     ムポスター       近     丁       よ     エ       レ     ボ       レ     エ       レ     ボ       レ     エ       レ     ボ       レ     エ <t< td=""><td>途 究実験動物) 一印刷費 机度 他 イ イ フ ンジポンプ</td><td>金 額 経 21.2( 1.8: 8: 7: 24.65 ト 関 1.1組の価格が 1.57 33 </td><td>積</td><td>算 費 、 (第二) ( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (</td><td>内 支 試 他 少 費 満 ト 付 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3</td><td>訳 薬 ポシュ他 出 のグき を</td><td>主 出 実 い (タージ フ リン 二 出</td><td>な 一 印刷 ジポン</td><td>内 実 費 招 プ プ</td><td><b>験</b> 渡</td><td>容 航</td><td>)</td><td></td></t<>	途 究実験動物) 一印刷費 机度 他 イ イ フ ンジポンプ	金 額 経 21.2( 1.8: 8: 7: 24.65 ト 関 1.1組の価格が 1.57 33 	積	算 費 、 (第二) ( ) ( ) ( ) ( ) ( ) (	内 支 試 他 少 費 満 ト 付 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3 3	訳 薬 ポシュ他 出 のグき を	主 出 実 い (タージ フ リン 二 出	な 一 印刷 ジポン	内 実 費 招 プ プ	<b>験</b> 渡	容 航	)	
年度           小科目           消耗品費           光熱水費           通信運搬費           印刷製本費           旅費交通費           報酬・委託料           (その他)           計           人件費支出           (未務職員)           教育研究組織器備品           計           1           1	今和 万 支出額 次出額 21,208 0 45 7 1,824 875 739 24,698 0 0 1,574 1,910 1,910	元 年 月 実験材料 (編集 満学 ア ル 備 液体 クロ 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	度     位       使     研       他     ムポスター       小     丁       大     大       し     パ       い     1       ノブ     ノブ	途 究実験動物) 一印刷費 机度 他 イ イ フ ジボンブ タ 、	金 額 経 21.2( 1.82 8 7 24.65 ト 関 11組の価格が 1.57 33 	積 08 1 1 2 4 5 7 5 7 5 7 5 7 5 7 5 7 5 7 5 7 5 7 5	算 費 、	内 支 試 他 少 費 満 ト 付 3	訳 菜 ポシュ 他 出 のグき を	主 出 実 ジ プ フ リンジ 出	な 一 印刷 ジポン	内 実 費 期 プ ・ ・ ・ ・ ・ ・ ・ ・ ・ ・ ・ ・ プ ・ ・ ・ ・ ・	<b>康</b>	容 航物 费	)	
年         度           小         科         目           消         耗         品         費           洗         熟         水         費           通信運搬費         印刷製本費         旅費交通費           報酬・委託料         (その他)         計           人件費支出         (未務職員)         教育研究経費支出           計         計         1           教育研究用機器備品	令和         万           支出額         教           21,208         0           21,208         0           1,824         875           739         24,698           24,698         7           1,574         336           1,910         研           1,2,263         12,263	元 年 月 実験材料 (編集 満学 ア ル	度     位       使     研       他     ムポスター       近     丁       よ     ス	途 究実験動物) 一印刷費 礼 戒 て イ イ ク ッジポンプ タ 、	☆ 額 経 21.20 1.82 75 24.65 ト 関 1組の価格が 1.57 33 	積 08 1 7 2 4 5 3 9 8 0 0 2 5 0 0 2 5 0 0 2 5 0 0 2 5 0 0 2 5 0 0 2 5 0 0 2 3 9 8 0 0 2 3 9 8 0 0 2 4 5 0 2 4 5 0 0 2 4 5 7 5 9 8 8 8 8 9 8 9 8 8 9 8 9 8 8 8 9 8	算   費実   運ごご学講学   係     うない   うない   うない     うない   うない     うちん   うたん     マーク   (株)     (株)   (ホ)     (ホ)      (ホ)	内 支 (試 他 少 費 て 満 の ト イ の 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、	訳 菜 ポシュ 他 出 のグき と	主 出 実 ジ ポ ー の フ フ ー ン 、 出	な 一 印刷 ン ポン	内 実 費 聘 プ	<b>験</b>	容 航	) 2 (tb)	
年         度           小         科         目           消         耗         品         費           通信運搬費         印刷製本費         旅費交通費           報酬・委託料         (その他)         計           人件費支出         (未務職員)         教育研究経費支出           計         計         1           教育研究用機器備品	令和         万           支出額         教           21,208         0           45         7           1,824         875           739         24,698           24,698         7           1,574         336           1,910         研           12,263         12,263	元 年 月 実験材料 (編集 選業) ジンボボンフ 大 ボ 学 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二 二	度     他       な     使       使     研       近     支       し     ボ       し     ボ       し     ボ       し     ブ       こ     ス	途 究実験動物) 一印刷費 	☆ 額 経 21.2( 1.8: 8: 7: 24.65 ト 関 1.1組の価格が 1.57 33 	積 08 m 0 45 115 115 115 115 115 115 115 115 115	算   費実   運ジジデ講学   係     う方体:   第     万体:   第     第   6     第   7     第   6     第   7     第   6     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7     1   7	内 支 (試 他 つ 費 て 満 ト イ 村 の 支 、 満 金 加 支 、 満 の 、 支	家 ポシュ他 出 のグき を	主 出 実 ジ ポ ー の) フ ー ン ・ 出	な 一 印 刷 ジ ポン	内 、 実 一 プ	<b>験</b>	容	) 2 (tb)	

# 4. 研究成果と業績

# 4-1 観察障害排除グループ

このグループでは、兼任を含む5名のメンバーにより、顕微鏡観察時における障害を排除する 方法を開発することに取り組んできた。組織や器官内部の細胞や構造を解析するために、光の散 乱防止、透過率向上、自家蛍光の排除が必要となる。松永、坂本らは、植物の自家蛍光を排除し た農作物イメージングシステム開発の一環として、短時間で植物の組織や器官をまるごと透明化 する試薬TOMEI (Transparent plant Organ MEthod for Imaging)の開発・改良を進め、特許出 願した。この TOMEI の特許を東京化成工業にライセンスし、製品化した。また、ライブイメージ ングを活用しながら、エピジェネティクス変化を解析する技術を開発した。石黒らは、生体化学 反応のその場赤外分光観察手法の開発を行った。極めて強い吸収を示す水及び水溶液の透過赤外 分光を行うためにマイクロリアクターを搭載した逐次赤外分光顕微鏡を作製し、特許申請を行う とともに、従来法では測定困難であった水及び水溶液の長時間安定した吸光度計測を実現した。 須田らは、多光子励起蛍光イメージングにおいて、励起パルスに振幅・位相制御を施すことによ り、プローブ分子の蛍光発光と光褪色を制御し、高解像な深部観察を可能にする手法の開発を進 めた。特に、多次元情報可視化グループの中村と共同で、二光子顕微鏡で使うセンサーの改良を 進めている。また、二光子蛍光顕微鏡の励起光に10 fs以下の超短パルスを用いたところ、散乱 により生じる背景蛍光が減少し、深部観察性能が向上した。従来法に比べて1桁近く低いパワー で観察が可能となり、光褪色や熱的損傷を軽減できることも併せて、超短パルスが三次元ライブ イメージングに適していることを示した。客員教授の横田は応用展開グループの曽我らと、イメ ージング情報を2次元から3次元、さらに時間変化を捉えた4次元情報に処理する方法の開発を 行った。特に、多次元の情報の画像処理・情報処理の技術開発を進めた。

# 光散乱と自家蛍光を除去した植物イメージング技術の開発 理工学部 応用生物科学科 松永幸大、坂本卓也

短時間で植物の組織や器官をまるごと透明化する方法 TOMEI (Transparent plant Organ MEthod for Imaging)を開発した。これまでに開発された植物を透明化する手法では、例えば、透明シロイヌナズナの作製には、短くても 2-3 日かかるのに対して、TOMEI ならばわずか 2 時間 で透明植物を作製でた。TOMEI は処理開始後、1 日以内に解析を終了できるだけでなく、長時間処 理による形態変化や含有物質の劣化・消失を防ぐことができる。TOMEI は、無毒性のチオジエタ ノール溶液を主に使用するため、煩雑な作用を省いて透明化することができる。透明イネの葉は、切片を作製することなく無傷のまま表面から内部まですべての細胞を解析できる。これにより、内部構造である維管束 (水や栄養の通り道)や光合成を行う葉肉組織の構造も、容易に観察でき るようになった。開発技術は東京理科大学 URA を通じて順次特許出願を実施しており、民間企業 とのライセンシング交渉を実施している。開発した TOMEI は東京化成工業より販売されて市場投入された。

## 業績

#### 【学術論文】

- K. Kurita, Y. Sakamoto, S. Naruse, T. Matsunaga, H. Arata, T. Higashiyama, Y. Habu, Y. Utsumi, C. Utsumi, M. Tanaka, S. Takahashi, J. M. Kim, M. Seki, T. Sakamoto, and <u>S. Matsunaga</u>, "Intracellular localization of histone deacetylase HDA6 in plants," J. Plant Res., vol. 132, pp. 629-640, 2019.
- M. Díaz, P. Pecinkova, A. Nowicka, C. Baroux, T. Sakamoto, P. Y. Gandha, H. Jeřábková, <u>S. Matsunaga</u>, U. Grossniklaus, and A. Pecinka, "The SMC5/6 complex subunit NSE4A is involved in DNA damage repair and seed development," Plant Cell, vol. 31, pp. 1579-1597, 2019.
- 3. N. Sotta, T. Sakamoto, <u>S. Matsunaga</u>, and T. Fujiwara, "Abnormal leaf development of rpt5a mutant under zinc deficiency reveals important role of DNA damage alleviation for normal leaf development," Sci. Rep., vol. 9, 9369, 2019.
- T. Sakamoto, N. Sotta, T. Suzuki, T. Fujiwara, and <u>S. Matsunaga</u>, "The 26S proteasome is required for the maintenance of root apical meristem by modulating auxin and cytokinin responses under high-boron stress," Front. Plant Sci., vol. 10, 590, 2019.
- T. Sakamoto, T. Sugiyama, T. Yamashita, and <u>S. Matsunaga</u>, "Plant condensin II is required for the correct spatial relationship between centromeres and rDNA arrays," Nucleus, vol. 10, pp. 116-125. 2019.
- K. Hayashi and <u>S. Matsunaga</u>, "Heat and chilling stress induce nucleolus morphological changes," J. Plant Res., vol. 132, pp. 395-403, 2019.
- Y. Utsumi, C. Utsumi, M. Tanaka, C. V. Ha, S. Takahashi, A. Matsui, T. M. Matsunaga, <u>S. Matsunaga</u>, Y. Kanno, M. Seo, Y. Okamoto, E. Moriya, and M. Seki, "Acetic acid treatment enhances drought avoidance in cassava (*Manihot esculenta Crantz*)," Front. Plant Sci., vol. 10, 521, 2019.
- H. Ishihara, K. Sugimoto, P. T. Tarr, H. Temman, S. Kadokura, Y. Inui, T. Sakamoto, T. Sasaki, M. Aida, T. Suzuki, S. Inagaki, K. Morohashi, M. Seki, T. Kakutani, E. M. Meyerowitz, and <u>S. Matsunaga</u>, "Primed histone demethylation regulates shoot regenerative competency," Nature Commun., vol. 10, 1786, 2019.
- W. Kobayashi, E. Liu, H. Ishii, <u>S. Matsunaga</u>, P. Schlögelhofer, and H. Kurumizaka, "Homologous pairing activities of *Arabidopsis thaliana* RAD51 and DMC1," J. Biochem., vol. 165, pp. 289-295. 2019.
- M. K. Shibuta and <u>S. Matsunaga</u>, "Seasonal and diurnal regulation of flowering via an epigenetic mechanism in *Arabidopsis thaliana*," Cytologia, vol. 84, pp. 3-8. 2019.
- 11. K. Sugimoto, H. Temman, S. Kadokura, and <u>S. Matsunaga</u>, "To regenerate or not to

regenerate: factors that drive plant regeneration," Curr. Opin. Plant. Biol., vol. 47, pp. 138-150, 2019.

- T. Sakamoto, Y. Tsujimoto-Inui, N. Sotta, T. Hirakawa, T. M. Matsunaga, Y. Fukao, <u>S. Matsunaga</u>, and T. Fujiwara, "Proteasomal degradation of BRAHMA promotes Boron tolerance in *Arabidopsis*," Nature Commun., vol. 9, 5285, 2018.
- J. Hasegawa, T. Sakamoto, T. Fujimoto, T. Yamashita, T. Suzuki, and <u>S. Matsunaga</u>, "Auxin decreases chromatin accessibility through the TIR1/AFBs auxin signaling pathway in proliferative cells," Sci. Rep., vo. 8, 7773, 2018.
- S. Kadokura, K. Sugimoto, P. Tarr, T. Suzuki, and <u>S. Matsunaga</u>, "Characterization of somatic embryogenesis initiated from the Arabidopsis shoot apex," Dev. Biol., vol. 442, pp. 13-27, 2018.
- K. Hayashi, S. Kato, and <u>S. Matsunaga</u>, "Convolutional neural network-based automatic classification for algal morphogenesis," Cytologia, vol. 83, pp. 301-305, 2018.
- H. Nishida, S. Tanaka, Y. Handa, M. Ito, Y. Sakamoto, <u>S. Matsunaga</u>, S. Betsuyaku,
   K. Miura, T. Soyano, M. Kawaguchi, and T. Suzaki, "A NIN-LIKE PROTEIN mediates nitrate-induced control of root nodule symbiosis in *Lotus japonicus*," Nature Commun., vol. 9, 499, 2018.
- M. Watanabe, Y. Sakamoto, and <u>S. Matsunaga</u>, "Imaging with split fluorescent proteins based on the reconstruction of separated asymmetric protein fragments," Cytologia, vol. 83, pp. 347-350, 2018.
- Y. Kazama, T. Hirano, T. Abe, and <u>S. Matsunaga</u>, "Chromosomal rearrangement: from induction by heavy-ion irradiation to *in vivo* engineering by genome editing," Cytologia, vol. 83, pp. 125-128, 2018.
- <u>S. Matsunaga</u> and T. M. Matsunaga, "FISH with padlock probes can efficiently reveal the genomic position of low or single-copy DNA sequences," Cytologia, vol. 82, pp. 337-339, 2017.
- Y. Sakamoto and <u>S. Matsunaga</u>, "Deep imaging of plant roots by a rapid transparency technique TOMEI," Cytologia, vol. 82, pp. 221-222, 2017.
- A. Hoshino, T. M. Matsunaga, T. Sakamoto, and <u>S. Matsunaga</u>, "Hi-C revolution: from a snapshot of DNA-DNA interaction in a single cell to chromosome-scale de novo genome assembly," Cytologia, vol. 82, pp. 223-226, 2017.
- H. Tsukaya and <u>S. Matsuanga</u>, "Tissue-dependency of the impact of endoreduplication on cell size," Plant Morphology, vol. 29, pp. 87-90, 2017.
- 23. S. Fujimoto and <u>S. Matsunaga</u>, "Visualization of chromatin loci with transiently expressed CRISPR/Cas9 in plants," Cytologia, vol. 82, pp. 559-562, 2017.

- J. M. Kim, T. To, A. Matsui, K. Tanoi, N. Kobayashi, F. Matsuda, Y. Habu, D. Ogawa, T. Sakamoto, <u>S. Matsunaga</u>, K. Bashir, S. Rasheed, M. Ando, H. Takeda, K. Kawaura, M. Kusano, A. Fukushima, T. Endo, T. Kuromori, J. Ishida, T. Morosawa, M. Tanaka, C. Torii, Y. Takebayashi, H. Sakakibara, Y. Ogihara, K. Saito, K. Shinozaki, A. Devoto, and M. Seki, "Acetate-mediated novel survival strategy against drought in plants," Nature Plants, vol. 3, 17097, 2017.
- N. Yagi, <u>S. Matsunaga</u>, and T. Hashimoto, "Insights into cortical microtubule nucleation and dynamics in *Arabidopsis* leaf cells," J. Cell Sci., vol. 131, 203778, 2018.
- N. A. Sakamoto, V. H. Thuong Lan, S. Fujimoto, <u>S. Matsunaga</u>, and A. Tanaka, "An ion beam-induced *Arabidopsis* mutant with marked chromosomal rearrangement," J. Rad. Res., vol. 58, pp. 772-781, 2017.
- K. Kurita, T. Sakamoto, N. Yagi, Y. Sakamoto, A. Ito, N. Nishino, K. Sako, M. Yoshida, H. Kimura, M. Seki, and <u>S. Matsunaga</u>, "Live imaging of H3K9 acetylation in plant cells," Sci. Rep., vol. 7, 45894. 2017.
- T. Spallek, C. W. Melnyk, T. Wakatake, J. Zhang, Y. Sakamoto, T. Kiba, S. Yoshida, <u>S. Matsunaga</u>, H. Sakakibara, and K. Shirasu, "Interspecies hormonal control of host root morphology by parasitic plants," Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 114, pp. 5283-5288, 2017.
- T. M. Matsunaga, D. Ogawa, F. Taguchi-Shiobara, M. Ishimoto, <u>S. Matsunaga</u>, and Y. Habu, "Direct quantitative evaluation of disease symptoms on living plant leaves growing under natural light," Breed. Sci., vol. 67, pp. 316-319, 2017.
- 30. E. Okamura, T. Sakamoto, T. Sasaki, and <u>S. Matsunaga</u>, "A plant ancestral polo-like kinase sheds light on the mystery of the evolutionary disappearance of polo-like kinases in the plant kingdom," Cytologia, vol. 82, pp. 261-266, 2017.
- T. Hirakawa, J. Hasegawa, C. I. White, and <u>S. Matsunaga</u>, "RAD54 forms DNA repair foci in response to DNA damage in living plant cells," Plant J., vol. 90, pp. 372-382, 2017.
- S. Fujimoto and <u>S. Matsunaga</u>, "Chromatin live imaging with genome editing techniques: switching from scissors to a lamp," Cytologia, vol. 81, pp. 359-362, 2016.
- S. Fujimoto and <u>S. Matsunaga</u>, "Which is a reliable approach in the generation of artificial minichromosomes, bottom-up or top-down?," Cytologia, vol. 81, pp. 251-256, 2016.
- T. Hirakawa and <u>S. Matsunaga</u>, "Chromatin tagging systems contribute to live imaging analyses for chromatin dynamics," Cytologia, vol. 81, pp. 121-123, 2016.

- 35. <u>S. Matsunaga</u>, "FISH is in the limelight again as more than a cytogenetical technique for metaphase chromosomes," Cytologia, vol. 81, pp. 3-6, 2016.
- 36. S. Fujimoto, S. S. Sugano, K. Kuwata, K. Osakabe, and <u>S. Matsunaga</u>, "Visualization of specific repetitive genomic sequences with fluorescent TALEs in *Arabidopsis thaliana*," J. Exp. Bot., vol. 67, pp. 6101-6110, 2016.
- 37. M. Takagi, T. Sakamoto, R. Suzuki, K. Nemoto, T. Obayashi, T. M. Matsunaga, T. Hirakawa, D. Kurihara, Y. Nariai, T. Urano, T. Sawasaki, and <u>S. Matsunaga</u>, "Plant Aurora kinases interact with and phosphorylate transcription factors," J. Plant Res., vol. 129, pp. 1165–1178, 2016.
- R. Yokoyama, T. Hirakawa, S. Hayashi, T. Sakamoto, and <u>S. Matsunaga</u>, "Dynamics of plant DNA replication based on PCNA visualization, Sci. Rep., vol. 6, 29657, 2016.
- 39. N. Sotta, L. Shantikumar, T. Sakamoto, <u>S. Matsunaga</u>, and T. Fujiwara, "TPR5 is involved in directional cell division and is essential for the maintenance of meristem cell organization in *Arabidopsis thaliana*," J. Exp. Bot., vol. 67, pp. 2401-2411, 2016.
- J. Hasegawa, Y. Sakamoto, S. Nakagami, M. Aida, S. Sawa, and <u>S. Matsunaga</u>, "Threedimensional imaging of plant organs using a simple and rapid transparency technique," Plant Cell Physiol., vol. 57, pp. 462-472, 2016.
- Y. Katagiri, J. Hasegawa, U. Fujikura, R. Hoshino, <u>S. Matsunaga</u>, and H. Tsukaya, "The coordination of ploidy and cell size differs between cell layers in leaves," Development, vol. 143, pp. 1120-1125, 2016.
- 42. J. Izaguirre-Carbonell, H. Kawakubo, H. Murata, A. Tanabe, T. Takeuchi, T. Kusayanagi, S. Tsukuda, T. Hirakawa, K. Iwabata, Y. Kanai, K. Ohta, M. Miura, K. Sakaguchi, <u>S. Matsunaga</u>, H. Sahara, S. Kamisuki, and F. Sugawara, "Novel anticancer agent, SQAP, binds to focal adhesion kinase and modulates its activity," Sci. Rep., vol. 5, 15136, 2015.
- T. Oroguchi, Y. Sekiguchi, A, Kobayashi, Y. Masaki, A. Fukuda, S. Hashimoto, M. Nakasako, I. Ichikawa, H. Kurumizaka, M. Shimizu, Y. Inui, <u>S. Matsunaga</u>, T. Kato, K. Namba, K. Yamaguchi, K. Kuwata, H. Kameda, N. Fukui, Y. Kawata, T. Kameshima, Y. Takayama, K. Yonekura, and M. Yamamoto, "Cryogenic coherent X-ray diffraction imaging for biological non-crystalline particles using the KOTOBUKI-1 diffraction apparatus at SACLA," J. Phys. B, vol. 48, 184003, 2015.
- T. Hirakawa, Y. Katagiri, T. Ando, and <u>S. Matsunaga</u>, "DNA double-strand breaks alter the spatial arrangement of homologous loci in plant cells," Sci. Rep., vol. 5, 11058, 2015.
- 45. Y. Takayama, Y. Inui, Y. Sekiguchi, A. Kobayashi, T. Oroguchi, M. Yamamoto, <u>S.</u>

<u>Matsunaga</u>, and M. Nakasako, "Coherent X-ray diffraction imaging of chloroplasts from *Cyanidioschyzon merolae* by using X-ray free electron laser," Plant Cell Physiol., vol. 56, pp. 1272-1286, 2015.

## 【著書】

- <u>S. Matsunaga</u>, Biology, "Chronological Scientific Tables 2018 No. 91" edited by National Astronomical Observation of Japan, Maruzen, pp. 66-67, pp. 83-84, pp. 88-92, 2018.
- Y. Yoshida, Y. Sakamoto, K. Iwasaki, S. Maruyama, and <u>S. Matsunaga</u>, Chapter 14 Double-Membrane-Bounded Organelles: Recent Findings Regarding Division, Inheritance, Structure, and Evolution of the Nucleus, Mitochondria, and Chloroplasts. "*Cyanidioschyzon merolae*: A New Model Eukaryote for Cell and Organelle Biology" edited by T. Kuroiwa, S. Miyagishima, <u>S. Matsunaga</u>, N. Sato, H. Nozaki, K. Tanaka and O. Misumi, Springer, pp. 205-233, 2018.

## 【学会発表】

- <u>T. Sakamoto,</u> Y. Oko, N. Ito, Y. Sakamoto and <u>S. Matsunaga</u>, "Involvements of nuclear pore complex proteins in the regulation of spatial arrangement of chromatin doma," SEB conference on "Imapct of chromatin domains on plant phenotypes," Madrid, Spain, Dec. 10, 2019.
- 2. <u>坂本卓也</u>,坂本勇貴,御子侑香,伊藤ななみ,<u>松永幸大</u>,"シロイヌナズナの新規染色体構 造構築制御因子の解析,"日本植物学会第83回大会,仙台,宮城,2019年9月16日.
- <u>松永幸大</u>,松岡慈, 澁田未央,石原弘也,天満春花,角倉慧,稲垣宗一,乾弥生,鈴木孝征, 諸橋賢吾,角谷徹仁,杉本薫,<u>坂本卓也</u>,"遺伝子プライミングによる再生メカニズム,"日 本植物学会第83回大会,仙台,宮城,2019年9月15日.
- <u>松永幸大</u>, "Primed histone demethylation regulates shoot regenerative competency," 日本植物形態学会第 31 回大会, 仙台, 宮城, 2019 年 9 月 14 日.
- <u>S. Matsunaga</u>, H. Ishihara, H. Tenman, S. Kadokura, S. Inagaki, Y. Inui, <u>T. Sakamoto</u>, T. Suzuki, K. Morohashi, T. Kakutani and K. Sugimoto, "Histone demethylation is involved in gene priming for plant regeneration," 第60回日本植物生理学会年会,名 古屋, 愛知, 2019年3月13日.
- <u>松永幸大</u>,石原弘也,天満春花,角倉慧,乾弥生,<u>坂本卓也</u>,鈴木孝征,稲垣宗一, 関原明,角谷徹仁,杉本 薫, "Gene priming を担うヒストン脱メチル化酵素による植物 リプログラミング制御,"第41回日本分子生物学会年会,横浜,神奈川,2018年11月29 日.
- 7. S. Matsunaga, "Recent advances in the research on plant nuclear dynamics," 2nd

International Symposium on Nuclear Dynamics in Plants (supported by JSPS and MEXT), Noda, Chiba, Japan, Sep. 18, 2018. (招待講演)

- 8. <u>松永幸大</u>, 八木慎宜, 村田隆, 栗田和貴, 長谷部光泰, <u>坂本卓也</u>, "生きた細胞の中で ヒストン修飾を観る," 日本植物学会第 82 回大会, 広島市, 広島, 2018 年 9 月 14 日.
- <u>S. Matsunaga</u>, "Live cell imaging of histone modification in plant cells," SEB Florence 2018, Firenze Fiera Congress and Exhibition Centre, Florence, Italy, July 5, 2018. (Invited)
- <u>S. Matsunaga</u>, "Centromere distribution by the two-step regulation through a subnuclear complex," EMBO Workshop "Plant Genome Stability and Change" (Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany, June 4, 2018. (Invited)
- 11. <u>松永幸大</u>, "植物クロマチン動態解析への挑戦," 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017), 神戸, 兵庫, 2017 年 12 月 7 日.
- 12. <u>S. Matsunaga</u>, "Live cell imaging of histone modification and chromatin dynamics in plants," Taiwan-Japan 2017 Plant Biology Conference, Taipei, Taiwan, 2017年11月5日.
- 13. 松永幸大, "蛍光ライブイメージングと超解像顕微鏡による生命動態学研究の最先端,"第
  29 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム,千葉,2016 年 1 月.(招待講)
- 14. S. Matsunaga, "Studies of dynamic chromatin in plants," 第 53 回日本生物物理学会年 会, 金沢, 2015 年 9 月. (招待講演)

【特許】

- 1. 松永幸大,坂本勇貴,「生体試料の透明化方法及び生体試料脱色剤」,特願2018-150513.
- 2. 松永幸大,杉本薫,勝山雄喜,「植物体の生産方法」,特願 2017-146147.
- 3. 松永幸大, 杉本薫, 勝山雄喜, 「植物体の生産方法及び植物体」, 特願 2017-146146.
- 4. 松永幸大,杉本薫,石原弘也,「植物物体の生産方法及び植物体」,特願 2017-146145.

【広報】

- EurekAlert (2019 年 12 月 20 日) A step closer to understanding evolution mitochondrial division conserved across species (https://eurekalert.org/ pub\_releases/2019-12/tuos-asc121919.php
- Technology Networks (2019年8月5日)Novel Epigenetic Regulation Mechanism Underlies Improved Stress Response in Plants (https://www.technologynetworks.com/appliedsciences/news/novel-epigenetic-regulation-mechanism-underlies improved-stressresponse-in-plants-322492)

- SeedQuest (2019年8月1日) Scientists crack the code to improve stress tolerance in plants - Novel epigenetic regulation mechanism underlies improved stress response in plants, which can be exploited for global food security (https://www.seedquest.com/news.php?type=news&id\_article=109085)
- 日本経済新聞(2019年5月12日)朝刊 30 面 草木再生 カギ握る酵素 東京理科大など 発見 栽培に応用も(https://www.nikkei.com/article/DGKKZ044622050Q9A510C1MY1000/)
- 5. 東京新聞 (2019 年 4 月 29 日) 朝刊 4 面 びっくり! 新技術 植物の再生能力 酵素の働き に秘密あり
- 6. 日経バイオテク ONLINE (2019 年 4 月 26 日) 東京理科大、植物の再生能力を支えるエピジェ ネ酵素を同定 再生の新機構解明を Nature 姉妹誌にて発表 (https://bio.nikkeibp. co.jp/atcl/news/p1/19/04/24/05544/)
- 7. Crop Biotech Update (2019年4月24日) Scientists Discover Ways to Regenerate Plant Tissues (http://www.isaaa.org/kc/cropbiotechupdate/article/default.asp?ID=17407)
- Editage Insights (2019年4月22日) 植物の強力な再生能力の秘密を解明 「備えあれ ば憂いなし」、受傷の前に再生準備を整える新しいメカニズムを発見- (https://www. editage.jp/insights/scientists-crack-the-code-to-regenerate-plant- tissues)
- 9. Innovation Tronto (2019年4月21日) Cracking the code to regenerate plant tissues (https://www.innovationtoronto.com/2019/04/cracking-the-code-to-regenerate-plant-tissues/)

【受賞】

- 1. <u>松永幸大</u>, 平瀬賞, "Primed histone demethylation regulates shoot regenerative competency," 日本植物形態学会, 2019 年 9 月.
- 2. <u>松永幸大</u>, 平瀬賞, "The coordination of ploidy and cell size differs between cell layers in leaves," 日本植物形態学会, 2016年9月.

# 水中化学反応評価のための透過赤外分光顕微鏡及び TEM 観察用溶液セル創製 基礎工学部 材料工学科 石黒 孝

#### 1. 水溶液中化学反応の透過赤外分光観察

水は主たる化学反応場であるが赤外線吸収率が大きく透過赤外分光は困難とされてきた。これを薄い 行路長のセルを作製することで回避し、細胞の代謝、光合成反応における反応物・生成物の同定実験行 った。例えば温度制御可能な透過赤外分光セルを作製し、DPPC-水系の透過赤外分光スペクトルを測定 し(図1)コレステロール添加に伴う相転移の消失を確認し(図2)、透過赤外分光による水を含んだ反応 における定量測定が可能であることを実証した。これを踏まえて細胞の透明化における反応の分光計測 へ展開した。透明化に用いる溶液の主成分は尿素、及びアミノアルコールであることから、一つはDPPC 膜と尿素の反応、さらに赤色へモグロビンとアミノアルコールの反応について紫外可視近赤外領域及び、 赤外線領域における透過分光計測を実現した。





#### 2. 人工細胞セルを用いた溶液中反応 TEM その場観察

上記の透過赤外分光結果に基づき生理的食塩水をリン脂質二重膜に内包した人工細胞(リポソーム) を合成し、TEMに直接導入しその場動画観察を行った。(図3)200kV電子線照射に伴い、溶液はゆらぎ を生じ(a)、水分子の放出に伴い食塩単結晶が析出し(b)、析出した食塩の昇華と周囲への再析出(c)と

いう一連の現象を観察すること に成功した。コレステロールに より強化された水内包リポソー ムは真空中でも存在可能であ り、水溶液中反応や瑞々しい細 胞の実空間観察容器としての可 能性を示唆している。



- 106 -
#### 3. マイクロリアクターを組込んだ逐次赤外分光顕微鏡の創製

水中で刻々と変化する化学反応を長時間安定して評価可能な新しい赤外顕微鏡の作製を行った。水 自体による強い赤外光吸収の困難は§1のµm程度の行路長実現により回避されたが、細胞周期に亘る ような長時間安定した吸光度測定を行う場合、光源、行路、検出器等の測定系の時間的ドリフトが問 題となる。例えば検出器冷却用の液体窒素を補充しただけで感度は変化するため化学種吸光度の変化 を長時間安定して評価することは通常困難である。そこで、試料(反応)流路と入射光計測用流路を形 成したマイクロリアクターを16素子のリニアアレー検出器を搭載した赤外分光顕微鏡に導入し、試料 透過光と参照光(入射光)の強度IとI。を二流路の二か所を同時測光することにより、原理的に装置 の時間的ドリフトに関係なく吸光度を求める方法を考案し、具現化し、特許出願した。(図4)

装置全体はアクリルチャンバー内に設置され(a)、セルはヒータにて温度制御し、注射針により 溶液等を注入・排出する(b)。流路はPDMS 樹脂により形成し流路の仕切り(幅100 µm)をまたいでリニ アアレーにより同時計測する(c)。得られた I と Lo(d)を規格化して吸光度を算出すると、行路途中の 水蒸気、CO2等のノイズも相殺され、平坦なバックグラウンドの吸光度スペクトルが算出できた(e)。 今後、本顕微鏡システムは水溶液中化学種同定と反応機序解明に有効な手段を提供するものと期待さ れる。



#### 【学術論文】

- T. Harumoto, K. Satou, T. Ube and <u>T. Ishiguro</u>, "Controlled surface morphology and enhanced optical properties of hot water-treated ZnO film by Mg layer insertion," J. Ceram. Process. Res., vol. 16, pp. 541-543, 2015.
- K. Sugawa, D. Sugimoto, H. Tahara, T. Eguchi, M. Katoh, K. Uchida, S. Jin, T. Ube, <u>T. Ishiguro</u>, and J. Otsuki, "Refractive index susceptibility of palladium nanoplates with plasmonic resonance in the visible region," Opt. Mater. Express, vol. 6, pp. 859-867, 2016.
- H. Ai, N. Moriya, T. Ube, T. Harumoto, Y. Arai, K. Murata and <u>T. Ishiguro</u>, "In-situ TEM observation of rock salt crystal precipitation in liposome," MRS Advances, vol. 1, pp. 1871-1876, 2016.
- T. Harumoto, Y. Ohnishi, K. Nishio, <u>T. Ishiguro</u>, J. Shi, and Y. Nakamura, "In-situ X-ray diffraction study of hydrogen absorption and desorption processes in Pd thin films: Hydrogen composition dependent anisotropic expansion and its quantitative description," AIP Advances, vol. 7, pp. 065108/1-9, 2017.
- T. Ube, Y. Yoneyama, and <u>T. Ishiguro</u>, "In situ Measurement of the pH-dependent Transmission Infrared Spectra of Aqueous Lactic Acid Solutions," Anal. Sci., vol. 33, pp. 1395-1400, 2017.
- Y. Maekawa, K. Sasaoka, T. Ube, <u>T. Ishiguro</u> and T. Yamamoto, "Hybrid classical/ quantum simulation for infrared spectroscopy of water," Jpn. J. Appl. Phys., vol. 57, pp.058005/1-3, 2018.
- T. Ube, K. Yamamoto, and <u>T. Ishiguro</u>, "Transmission infrared micro-spectroscopic study of lactic acid production in cultured cells," Vibrational Spectroscopy, vol. 98, pp. 8-14, 2018.
- T. Ube, A. Kawamoto, T. Nishi, and <u>T. Ishiguro</u>, "Fabrication and Morphological Control of a Palladium Film with a Three-Dimensional Nano-Network Structure as a Hydrogen Gas Sensing Material using Organic Acid Chelation," MRS Advances, vol. 4, pp. 319-324, 2019.
- T. Ube, J. Koyanagi, T. Kosaki, K. Fujimoto, T. Yokozeki, <u>T. Ishiguro</u>, and K. Nishio, "Fabrication of well-isolated graphene and evaluation of thermoelectric performance of polyaniline-graphene composite film," J. Mater. Sci., vol. 54, pp. 3904-3913, 2019.
- 10. T. Ube, A. Kawamoto, and <u>T. Ishiguro</u>, "Scanning Transmission Electron Microscopy Characterization of Nanostructured Palladium Film Formed by Dealloying with Citric

#### 業績

Acid from Al-N-Pd Mother Alloy Film," Mater. Trans., vol. 60, pp. 525-530, 2019.

 T. Nishi, S. Hasegawa, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "Reaction Acceleration of Nanoporous High-Purity Pd Film Formation by Dealloying of Al-Pd-N Film in pH-Controlled EDTA Solution," MRS Advances, vol. 5, pp. 531-538, 2020.

#### 【学会発表】

- T. Harumoto, Y. Tamura, and <u>T. Ishiguro</u>, "HAADF-STEM Observation of Nanoporous Palladium-aluminium Film Fabricated by Hot-water Treatment," Microscopy Conference 2015, Georg-August University, Germany, Goettingen, Sep. 6-11, 2015.
- H. Ai, N. Moriya, T. Ube, T. Harumoto, Y. Arai, K. Murata, and <u>T. Ishiguro</u>, "Insitu TEM observation of rock salt crystal precipitation in liposome," 2015 MRS Fall Meetings & Exhibit, Boston, Massachusetts, USA, Nov. 29-Dec. 4, 2015.
- 村田佳那恵, 石黒孝, 春本高志, "Cu薄膜の水熱反応改質プロセスにおける溶存酸素の影響,"2016年日本金属学会春期大会,東京理科大学 葛飾キャンパス,東京,2016年3月23-25日.
- <u>石黒孝</u>,宇部卓司, "水中での赤外分光その場観察,"イノベーション・ジャパン2016,東 京ビックサイト,東京, 2016年8月25-26日.
- 5. 堀田裕平, 宇部卓司, 石黒孝, "Cu膜の水熱反応中の溶存酸素濃度制御による膜酸化促進," 2016年日本金属学会秋期(第159回)大会, 東京理科大学 葛飾キャンパス, 東京, 2016年9 月21-23日.
- S. Yamazaki, J. Koyanagi, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "Highly dispersed graphene epoxy composite materials," The 10th Asian-Australian Conference on Composite Materials, Busan, BEXCO, Oct. 16-19, 2016.
- H. Shindo, J. Koyanagi, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "Fabrication of laminated functionalized-graphene nanocomposite," The 10th Asian-Australian Conference on Composite Materials, Busan, BEXCO, Oct. 16-19, 2016.
- 8. <u>石黒孝</u>, "水中反応 その場観察,"平成29年度第一回過熱水蒸気新技術研究会,大阪科学技術センター,大阪,2017. (招待講演)
- 9. 石寺瑛彦,河本明純,宇部卓司,<u>石黒孝</u>, "Pd-Al-Nスパッタ膜のクエン酸水熱反応による 膜改質制御,"2017年日本金属学会春期大会,首都大学東京南大沢キャンパス,東京, 2017年3月15-17日.
- 10. 宇部卓司,米山靖子,<u>石黒孝</u>, "透過赤外分光顕微鏡による細胞代謝その場観察,"日本顕 微鏡学会第73回学術講演会,札幌コンベンションセンター,札幌,2017年5月30日-6月1日.
- 11. <u>石黒孝</u>, "水中反応 その場観察,"平成29年度 第一回過熱水蒸気新技術研究会,大阪科学 技術センター,大阪, 2017年6月13日.

- K. Masukawa, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "Transmission FT-IR spectroscopy of DPPC membrane modified by using ScaleA2," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika Campus, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8-9, 2017.
- T. Ube and <u>T. Ishiguro</u>, "Application of transmission infrared sp ectroscopy to living cells and biomaterials evaluation in aqueous solution," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika Campus, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8-9, 2017.
- <u>T. Ishiguro</u>, T. Ube, and Y. Yoneyama, "Development of in situ transmission infrared microscopy system and its application to observation of living cell," Microscopy Conference 2017, SwissTech Convention Center, Lausanne, Switzerland, Aug. 21-25, 2017.
- A. Ohwada, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "pH Dependence of Transmission I nfrared Spectrum of ATP Aqueous Solution," Europian Conference on the Spectroscopy of Biological Molecules 2017, the Rode Hoed, Amsterdam, The Netherlands, Sep. 11-14, 2017.
- 16. T. Ube, A. Kawamoto, T. Harumoto, and T. Ishiguro, "Acceleration of dealloying reaction of Pd-Al-N films using pH controlled citric acid chelate solution and formation of nanoporous Pd-Al films," 5th Nano Today Conference, the Waikoloa Beach Marriot Resort in Kona, Hawaii, USA, Dec. 6-10, 2017.
- 片山映,栗原佐知子,鈴木英紀,小黒辰夫,宇部卓司,<u>石黒孝</u>,折茂英生, "Analysis of protein composition of matrix vesicles, isolated from human osteoblast like SaOS-2 cells, and in vitro mineralization. 骨芽細胞様細胞株 SaOS-2より抽出した基質小 胞の、構成タンパク質と石灰化機構の解析,"2017年度生命科学系合同年次大会(第40回 MBSJ 日本分子生物学会年会、第90回 日本生化学大会),神戸ポートアイランド 神戸国際 会議場,神戸,2017年12月6-9日.
- 18. 宇部卓司,河本明純,<u>石黒孝</u>,"有機酸を用いた脱合金反応による3Dナノポーラスパラジウム膜の形態制御と特性評価,"2018年日本金属学会春期大会,千葉工業大学新習志野キャンパス,千葉,2018年3月19-21日.
- <u>T. Ishiguro</u>, T. Ube, and Y. Kurokawa, "Development of Sequential Transmission Infrared Spectroscopic Microscope Incorporating Microreactor," 19th Internataional Microscopy Conference 2018, Internataional Convention Center, Sydney, Australia, Sep. 9-14, 2018.
- 20. 宇部卓司,西智也,河本明純,<u>石黒孝</u>,"有機酸を用いたPd-Al合金薄膜の脱合金プロセス による多孔質Pd膜形成と評価,"2018年日本金属学会秋期大会,東北大学,2018年9月19-21日.

- 21. T. Nishi, A. Kawamoto, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "Formation of nano-porous Palladium film for hydrogen sensing device by dealloying process using organic acid," 16th International Symposium on Metal-Hydrogen Systems (MH2018), Crowne Plaza Guangzhou Science City, Guangzhou, China, Oot. 28-Nov. 2, 2018.
- 22. T. Ube, A. Kawamoto, T. Nishi, and <u>T. Ishiguro</u>, "Fabrication a nd Morphological Control of Palladium Film with Three-dimensional Nano-network Structure as a Hydrogen Gas Sensing Material by Organic Acid Chelation," 2018 MRS Fall Meetings & Exhibit, Boston, Massachusetts, USA, Nov. 25-30, 2018.
- 23. 西智也, 河本明純, 宇部卓司, <u>石黒孝</u>, "有機酸を用いた脱合金法によるナノ多孔質Pd膜 形成,"2019年 第66回応用物理学会春季学術講演会, 東京工業大学 大岡山キャンパス, 東京, 2019年3月9-12日.
- 24. 黒川雄太, 石黒孝, 宇部卓司, 谷口潤, 鐘愷楽, "入射光・試料透過光の同時計測・透過赤 外分光顕微鏡システムの開発," 2019年日本金属学会春期大会, 東京電機大学 東京千住キ ャンパス, 東京, 2019年3月20-22日.
- 25. T. Nishi, A. Kawamoto, T. Ube, <u>T. Ishiguro</u>, "Formation of high purity nanoporous Pd film by dealloying using pH controlled organic acid chelate solution," 6th Nano Today Conference, Altis Grand Hotel, Lisbon, Portugal, June 16-20, 2019.
- 26. T. Nishi, S. Hasegawa, T. Ube, and <u>T. Ishiguro</u>, "Reaction Acceleration of Nanoporous High Purity Pd Film Formation by Dealloying of Al-Pd-N Film in pH-Controlled EDTA Solution," 2019 MRS Fall Meetings & Exhibit, Boston, Massachusetts, USA, Dec. 1-6, 2019.

### 【特許】

 <u>石黒孝</u>, 宇部卓司, 黒川雄太, 「分光測定装置、及び分光測定法」, 特許出願 2019-117747, 2019 年 6 月 25 日.

## 光褪色を制御した二光子蛍光イメージング 理工学部 物理学科 須田 亮

#### 1. 蛍光分子の光褪色過程の解明

20

20

40

40

蛍光分子の光褪色現象は長時間のタイムラプス観察の障害でありその改善が切望されている。 特に FRET イメージングのレシオ測定においては、ドナーおよびアクセプター分子が異なる速度 で褪色することから深刻な問題である。光褪色機構に関する分光学的研究により、二光子励起過 程において光褪色が著しく、励起状態吸収 (ESA) がその一因であることを明らかにした (図1)。 また、三重項励起状態 T<sub>1</sub> のような蛍光を発しない暗状態からの ESA も光褪色につながる経路で あると考えられている。そこで、緑色蛍光タンパク質 eGFP が褪色する様子を多分子系 (図 2)、 ちよび 分子レベルで観察したところ、ESA に続く電荷移動 (CT) が暗状態への遷移を促し、可 逆的な光明滅 (ブリンキング) を引き起こしていること、不可逆的な光褪色はそれに連動して生

きこれより FRET センサイヤは、アクセプター分子における ESA が褪色を速めていると考えられた。多次元情報可視・パリーガスの内はと共同で、JNK-RN センサーのアクセプター (mRuby2)の褪色速度の波長依存住を調べたところ<sub>20</sub>850 nm 付近で ESA による褪色の増加が認められた。。 Delay time [fs]







2. 数サイクルパルスを励起光源に用いた二光子深部イメージング

二光子励起顕微鏡の励起光源に超短パルスを使用すると、生体組織による散乱のため生じる背 景蛍光が減少し、深部観察性能が向上する。そこで、10 fs 以下の数サイクルパルスを光源とし た二光子励起顕微鏡を開発するとともに、励起光のパルス幅と観察深度限界との関係を調べた。 マウスの脳を模擬した試料を観察した結果、数サイクルパルスを励起光としたときは深さ1.3 mm まで蛍光観察が可能であり、これは従来のパルス幅 120 fs の励起光源を用いたときの観察深度 限界の1.3 倍であった 。散乱による光パルスの時間的、空間的広がりを考慮したモデルから、パ ルス幅が短いほど散乱光が二光子励起に寄与せず、背景光が抑えられることが明らかとなった。 また、数サイクルパルスを用いると、120 fs の場合と比 べて励起光強度を約10分の1に抑えたまま(~20 mW) 深部が観察できるので(図3)、光褪色や熱的損傷を軽減 できることからも有利である。

#### 3. 時空間集光法を用いた二光子励起顕微鏡

時空間集光法では、励起光を面状に照射し集光面の蛍 光像を二次元センサー上に結像する。広視野で深部の蛍 光画像が取得できることや、比較的繰り返しが遅い(~1 kHz)励起光源を用いるため光褪色が起きにくいことを 特徴とする。本研究では、視野0.7 mm x 0.7 mm、倍率 10 倍の画像取得を見込み、口径の大きなマクロレンズ

(01ympus MVPLAPO 2 XC)、CMOS カメラ(浜松ホトニクス
 ORCA-Flash 2.8)などを用いて広視野二光子励起顕微鏡
 を構築した。模擬生体試料を用いて深部観察性能を評価
 したところ、試料表面から 0.3 mm の深さまで観察可能
 であった。



図3 マウス脳の二光子深部観察像。励 起光のパルス幅は8 fs。

#### 業績

【学術論文】

- 1. <u>A. Suda</u>, H. Takahashi and K. Toda, "Nonlinear Fourier-transform spectroscopy using ultrabroadband femtosecond pulses for the measurement of photobleaching of fluorescent proteins," Ultrafast Phenomena, vol. 19, pp. 542-546, 2015.
- 須田亮,高橋弘史,戸田圭亮,"フーリエ変換非線形分光法を用いた蛍光タンパク質の光褪 色スペクトルの計測,"レーザー研究, vol. 43, pp. 213-216, 2015.
- N. Kamiyama, Y. Sunairi, K. Toda, H. Takahashi, and <u>A. Suda</u>, "Dark state dynamics of fluorescent proteins investigated by fluorescence transients," 2015 11th Conf. CLEO-PR, T11\_1013, 2016
- N. Kamiyama, Y. Sunairi, K. Toda, H. Takahashi, and <u>A. Suda</u>, "Dark state dynamics of fluorescent proteins investigated by fluorescence transients," 2015 11th Conf. CLEO-PR, T11\_1013, 2016.
- 5. 磯部圭佑, <u>須田亮</u>, 緑川克美, "広帯域パシレスを用いた2光子蛍光顕微鏡,"表面・界面技術ハンドブック (エヌ・ティー・エス, 東京, 2016) pp. 262-268, 2016.
- N. Sakata, S. Maesako, N. Kamiyama, N. Iwata, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Analysis of triplet/dark state dynamics of fluorescent molecules in the photobleaching process," Tech. Dig. of CLEO-PR 2017, s1697, 2017.
- S. Honda, S. Maesako, N. Kamiyama, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Adaptive control for twophoton excited fluorescence and photobleaching with a two-dimensional SLM," Tech. Dig. of CLEO-PR 2017, s1615, 2017.
- N. Kamiyama, Y. Sunairi, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Dark state dynamics of eGFP investigated by temporally-modulated excitation," JAPS and OSA Joint Symposium, vol. Part F132-JSAP 2019, 141578, 2017.

#### 【学会発表】

- N. Kamiyama, Y. Sunairi, K. Toda, H. Takahashi, and <u>A. Suda</u>, "Dark state dynamics of fluorescent proteins investigated by fluorescence transients," CLEO-PR 2015, Busan, Korea, Aug. 24-28, 2015.
- N. Kamiyama, Y. Sunairi, K. Toda, H. Takahashi, and <u>A. Suda</u>, "Observing triplet state dynamics of fluorescent proteins by modulated excitation," ALPS 2015, Yokohama, Apr. 22-25, 2015.
- 田中響,安田さや香,<u>須田亮</u>,中村岳史, "Green-Red FRETセンサー構築の試み,"第24回 日本バイオイメージング学会学術集会,東京,2015年9月.

- 4. 神山直人,砂入允哉,戸田圭亮,<u>須田亮</u>, "二光子励起に伴うeGFPの光褪色の定量的評価," 第24回日本バイオイメージング学会学術集会,東京,2015年9月.
- N. Kamiyama, Y. Sunairi, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Dark state dynamics of eGFP investigated by temporally-modulated excitation," The 76th fall meeting of JAPS and OSA joint symposium, Nagoya, Sep. 2015.
- N. Kamiyama, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Control of Two-photon Excited Fluorescence and Photobleaching with Two-dimensional LCOS-SLM," ALPS 2016, Yokohama, Japan, May 17-20, 2016.
- 本田成,前迫啓志,神山直人,戸田圭亮,<u>須田亮</u>,"2次元SLMを用いた2光子励起蛍光および光褪色の適応制御,"第64回応用物理学会春季学術講演会,横浜,2017年3月.
- 坂田のどか,前迫啓志,神山直人,岩田興典,<u>須田亮</u>,"蛍光分子の光褪色過程における三 重項/暗状態の過渡応答解析,"第64回応用物理学会春季学術講演会,横浜,2017年3月.
- 本田成,前迫啓志,神山直人,戸田圭亮,<u>須田亮</u>,"二次元空間変調器を用いた二光子励起 蛍光及び光褪色の適応制御,"第2回イメージングフロンティアセンターシンポジウム,野 田,2016年12月.
- 10. 坂田のどか,前迫啓志,神山直人,岩田興典,<u>須田亮</u>, "EGFPの光褪色過程における三重項 /暗状態の過渡応答解析,"第2回イメージングフロンティアセンターシンポジウム,野田, 2016年12月.
- 11. 前迫啓志, 杉澤元徳, <u>須田亮</u>, "波形整形された励起パルスを用いた二光子FRET観察,"第2 回イメージングフロンティアセンターシンポジウム,野田, 2016年12月.
- S. Honda, S. Maesako, N. Kamiyama, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Adaptive control for twophoton excited fluorescence and photobleaching with a two-dimensional SLM," CLEO-PR 2017, Singapore, July 31-Aug. 4, 2017.
- N. Sakata, S. Maesako, N. Kamiyama, N. Iwata, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Analysis of triplet/dark state dynamics of fluorescent molecules in the photobleaching process," CLEO-PR 2017, Singapore, July 31-Aug. 4, 2017.
- <u>A. Suda</u>, "Photobleaching properties of fluorescent proteins," ISIF 2017, Katsushika, Tokyo, July 8-9, 2017. (Invited)
- K. Takeuchi, M. Sugizawa, K. Tanaka, <u>A. Suda</u>, and T. Nakamura, "Optimization of biosensor and condition for FRET time-lapse imaging under two-photon excitation systems," ISIF 2017, Katsushika, Tokyo, July 8-9, 2017.
- R. Kumar and <u>A. Suda</u>, "Bespoke microscope using macrolens for wide-field nonlinear imaging," ISIF 2017, Katsushika, Tokyo, July 8-9, 2017.
- N. Sakata, S. Maesako and <u>A. Suda</u>, "Analysis of triplet/dark state dynamics of fluorescent molecules in photobleaching process," ISIF 2017, Katsushika, Tokyo, July 8-9, 2017.

- S. Honda, S. Maesako, N. Kamiyama and <u>A. Suda</u>, "Adaptive control of two-photon excited fluorescence and photobleaching," ISIF 2017, Katsushika, Tokyo, July 8-9, 2017.
- S. Honda, S. Maesako, N. Kamiyama, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Adaptive Control for Reducing Photobleaching in Two-photon Excited Fluorescence," ALPS 2017, Yokohama, Japan, Apr. 18-21, 2017.
- N. Sakata, S. Maesako, N. Kamiyama, K. Iwata, K. Toda, and <u>A. Suda</u>, "Dynamics of Triplet/Dark States of Fluorescent Molecules in the Photobleaching Process," ALPS 2017, Yokohama, Japan, Apr. 18-21, 2017.
- 21. 坂田のどか, 詫間恵, 堀内柊冴, <u>須田亮</u>, "1分子蛍光顕微鏡による蛍光タンパク質の光褪色 過程の観察と制御,"レーザー学会学術講演会第38回年次大会, 京都, 2018年1月.
- 22. 本田成,池谷有貴,下村俊太郎,前迫啓志,<u>須田亮</u>, "反射型SLMを用いたフェムト秒レーザ 一の振幅・位相変調,"レーザー学会学術講演会第38回年次大会,京都, 2018年1月.
- 23. 杉澤元徳, 竹内公平, 田中響, <u>須田亮</u>, 中村岳史, "Green-Red蛍光タンパク質を用いた二光 子FRETイメージング条件の最適化,"第27回日本バイオイメージング学会学術集会, 産総研, つくば, 2018年9月3日-4日.
- 24. 坂田のどか,秋澤一史,詫間 恵,神山直人,<u>須田亮</u>,"蛍光タンパク質の光褪色過程における暗状態ダイナミクス,"第79回応用物理学会秋季学術講演会,名古屋国際会議場,2018年9月19日-21日.
- 25. 須田亮, "光パルスの時間・空間位相を操作した二光子蛍光イメージング,"イメージングフロンティアセンターシンポジウム 2018, 野田, 2018 年 12 月 15 日.
- 26. 杉澤元徳、竹内公平、須田亮、中村岳史、"Green-Red蛍光タンパク質を用いた二光子FRETイメージングの最適化、"イメージングフロンティアセンターシンポジウム2018、野田、2018年12月15日.
- 27. 坂田のどか,秋澤一史,詫間恵,神山直人,<u>須田亮</u>, "蛍光タンパク質の光褪色過程における暗状態ダイナミクス," 2018イメージングフロンティアセンターシンポジウム,東京理科大学野田キャンパス,2018年12月15日.
- 28. 高橋達也,甲斐田幸希,<u>須田亮</u>, "マクロレンズを用いた時空間集光による広視野二光子蛍 光イメージング,"2018イメージングフロンティアセンターシンポジウム,東京理科大学 野田キャンパス,2018年12月15日.
- 29. 本田成, 矢野全一郎, 池谷有貴, <u>須田亮</u>, "適応制御による蛍光タンパク質の光褪色抑制,"
  2018イメージングフロンティアセンターシンポジウム, 東京理科大学 野田キャンパス,
  2018年12月15日.
- 池谷有貴,安藤宏樹,<u>須田亮</u>, "位相制御パルスを用いた二光子励起による深部イメージング," 2018イメージングフロンティアセンターシンポジウム,東京理科大学 野田キャンパス,2018年12月15日.

- 31. 本田成, 矢野全一郎, 池谷有貴, <u>須田亮</u>, "適応制御による蛍光タンパク質の光褪色の抑制,"レーザー学会学術講演会第39回年次大会, 東海大学高輪校舎, 2019年1月12-14日.
- 32. 杉澤元徳, 竹内公平, 田中響, 中村岳史, <u>須田亮</u>, "Green-Red蛍光タンパク質を用いた二光 子FRETイメージング条件の最適化,"レーザー学会学術講演会第39回年次大会, 高輪, 2019 年1月.
- 33. 野尻摩依,池谷有貴,須田亮,"蛍光タンパク質の電荷移動 ESA と再結合過程の過渡応答解 析,"イメージングフロンティアセンターシンポジウム 2019,野田,2019 年 12 月 14 日.
- 34. 小林拓登, 矢野全一郎, 須田亮, "時空間集光法を用いた二光子蛍光顕微鏡の構築と観察深度の評価,"イメージングフロンティアセンターシンポジウム 2019, 野田, 2019 年 12 月 14
  日.
- 35. 矢野全一郎、山村健斗、須田亮、"光活性型蛍光タンパク質の二光子変換特性に関する研究、" イメージングフロンティアセンターシンポジウム 2019、野田、2019 年 12 月 14 日.
- 36. 池谷有貴,安藤宏樹,古関竣之介,須田亮,"数サイクルパルスを用いた二光子励起顕微鏡 による生体組織の深部観察,"イメージングフロンティアセンターシンポジウム 2019,野田, 2019 年 12 月 14 日.
- 37. 須田亮, "超短光パルスの時空間位相を制御した二光子深部イメージング,"イメージングフ ロンティアセンターシンポジウム 2019, 野田, 2019 年 12 月 14 日.

# 4-2 多次元情報可視化グループ

このグループでは、延べ8名のメンバーにより極微小空間での多次元情報を測定する技術開発 を行った。プロジェクトの前半に構築した各要素技術をもとに、より実際的なものに作り上げる ための基盤技術をグループ間で共有し、応用研究を共同で進めてきた。中村、七尾らは、観察障 害排除グループの須田との共同研究により、FRET センサーで一般的に使用されている CFP-YFP ペ アから緑色蛍光蛋白質-赤色蛍光蛋白質 (Green-Red) ペアへの置き換えを試みることで、交叉励 起を回避して汎用性が高い二光子励起を使った FRET イメージングシステムの構築を試みている。 FRET センサーの新たなデザインを考案して、それにより Green-Red 化した INK 活性センサーの プロトタイプ数種を作製して評価した。二光子顕微鏡を用いた実験で、広視野顕微鏡や共焦点顕 微鏡とほぼ同レベルのダイナミックレンジが得られた。交叉励起がほとんどないため、実際の使 用状況を考慮してレーザー出力を上げても、褪色は起きるのもののレシオメトリー自体は可能で あることを確認できた。由井、伴野、森作らは、生体組織深部に埋もれた細胞の粘弾性計測を目 指し、励起光源を近赤外光へ切り替えた近赤外 LISD 顕微鏡の開発を行った。ポンプ光としては 近赤外域で水の吸収が最も小さい 800 nm の波長の光を用いた。ポンプ光を対物レンズで絞って 試料に照射することで、水平方向に 4-5 μmの空間分解能を達成した。さらに、タイムドメイン 型 LISD 顕微鏡を開発し、ヒト表皮細胞の粘弾性計測に応用した。従来の周波数ドメイン型 LISD 顕微鏡と比較して、1 点の計測時間を 20 分から 20 秒に短縮することに成功した。また、応用展 開グループの朽津らと共同で、植物細胞表層のレオロジーを計測する手法を世界に先駆けて開発 した。青木らは、発光及び<sup>11</sup>B NMR/MRI プローブの開発を行った。特に、塩基性ペプチドを導入し たシクロメタレート型イリジウム錯体を合成してがん細胞に対する細胞毒性を評価し、炭素数6 ~8のリンカーを介してKKGG ペプチドを連結したイリジウム錯体が、Jurkat 細胞などのがん細 胞に対して強い細胞毒性を示し、死細胞で緑色に強く発光することを見出した。こうした新たな 機能性発光金属錯体の開発は、さまざまな要素技術との組み合わせの可能性の広い技術であり、 今後の共同研究の対象になると考えられる。政池、田中らは、リン酸を結合すると蛍光強度が増 加する性質をもつ蛍光標識リン酸結合蛋白を調製し、水溶液の液滴をガラス基板上にアレイ状に 並べるデバイスを用いて極低濃度に希釈した ATP 加水分解蛋白質 F,-ATPase とともに基質 ATP を 閉じ込めた。この閉空間でのリン酸濃度増加に伴いリン酸結合蛋白がリン酸を捉え、蛍光強度が 増加する様子を顕微鏡で撮影することで、個々の目的タンパク質から解離するリン酸の蓄積を画 像化することに成功した。

# 新規 FRET センサーを使ったマルチモード計測技術の開発 生命医科学研究所 中村岳史、七尾友久

シグナル分子である G 蛋白質の反応を可視化する新規 FRET センサーの開発、及び FRET イ メージング技術の高度化に向けて従来の蛍光蛋白質と組み合わせを変えたセンサーを用いた二 光子励起による FRET イメージングの開発を行った。

細胞の生存や機能の維持に不可欠な膜輸送経路のうち、分解経路は G 蛋白質のひとつである Rab7 が中心となって制御されている。しかしながら Rab7 の局所的な活性を可視化するツール がないことが分解経路のメカニズム解析の大きな隘路となっている。以前に作製した Rab5

(Rab7の類似分子) センサーと同じデザインを基にして、リンカー部の性状を改良するなどの 工夫により、Rab7 の局所的な活性を計測できる Rab7 センサーを開発した。このセンサーを細 胞に導入することにより、生きた細胞の中で小胞レベルでの解像度で Rab7 活性を可視化できる。 このセンサーを使った上皮細胞での分解経路での Rab7 の活性動態の解析により、「後期エンド ソームでは Rab7 は Mon1-Ccz1 により活性化され、活性型 Rab7 は後期エンドソームとリソソ ームの融合、およびリソソーム形成に働く。これに対し、リソソームで見られる Rab7 活性化は Mon1-Ccz1 を介さずに起こり、RILP を介したリソソームの核周辺への集積に働く」ことを見出 した。これは新規モードでの分子計測により細胞内の制御機構について新知見が得られる一例で ある。

須田センター長との共同研究により、広帯域レーザーの位相制御を二光子励起顕微鏡による FRET イメージングに適用するプロジェクトを行っている。FRET センサーは、生細胞で Ca<sup>2+</sup> 濃度やタンパク質活性の時空間変化を可視化できるツールであるが、その発展形として注目され ているのが、二光子励起顕微鏡を使った FRET イメージングである。二光子励起では、生体透過 性の高い 1000 nm 付近の波長の光を励起に使うため、一光子励起よりも深部の生体組織を観察 できる。また、励起領域が小さいため光毒性の低減や三次元分解能の向上が見込める。一方で、 二光子励起顕微鏡を使った FRET イメージングを汎用的に行うには問題点が二つある。一つは 焦点位置での蛍光タンパク質の褪色が激しいことである。これについては上記の位相制御が褪色 制御に効果的に使用できる可能性が示されている。もう一つは、一般的に FRET センサーに使用 される CFP-YFP ペアの場合、YFP の2光子励起スペクトルに大きなサイドピークがあるため に、ドナー分子である CFP を励起する際にアクセプター分子 YFP も強く励起されること (交叉 励起)である。そこで、この交叉励起を回避するために、一般的に使用されている CFP-YFP ペ アから緑色蛍光蛋白質・赤色蛍光蛋白質 (Green-Red) ペアへの置き換えを考えた。予備検討の結 果、Green-Red 化した JNK 活性センサーのひとつ (JNK-RN) が元の CFP-YFP 激による FRET レシオの変化に与える影響を確認した。アクセプターの交差励起が起きると、レシオの変化分が 過小評価されてしまい FRET 観察の定量性が損なわれると予想される。実際、励起波長が長波長 になるにつれ、レシオの増大分が小さくなった。(2) 次に、刺激を入れない状態でタイムラプス を行い、蛍光強度とFRET ratioの変化の励起波長依存性につい討の結果、Green-Red 化した

JNK 活性センサーのひとつ (JNK-RN) が元の CFP-YFP ペアのセンサーの 66%に当たる高い 性能を示し、それを実証実験に用いた。

実証実験として、dish レベルでJNK-RN センサーによる二光子 FRET イメージングの観察系 を構築して、そこでの最適なイメージング条件を求めることを試みた。内在性のJNK は細胞質、 核、小胞に存在するが、今回はセンサーに核外移行シグナルを付加して、細胞質でのシグナルを 可視化した。JNK-RN センサーを発現させた HeLa 細胞をフェムト秒レーザーで励起して、3分 間隔で45分のタイムラプス撮影を行った。1コマ目と2コマ目の間にアニソマイシンを入れて、 JNK を活性化した。(1) まず励起波長を 880 nm から 1000 nm まで変化させて二光子 FRET イ メージングを行い、アクセプターの交差励起がアニソマイシン刺激による FRET レシオの変化 に与える影響を確認した。アクセプターの交差励起が起きると、レシオの変化分が過小評価され てしまい FRET 観察の定量性が損なわれると予想される。実際、励起波長が長波長になるにつ れ、レシオの増大分が小さくなった。(2)次に、刺激を入れない状態でタイムラプスを行い、蛍光 強度と FRET ratio の変化の励起波長依存性について検討を行った。励起波長は 850 nm から 1050 nm まで変化させた。刺激を与えずにイメージングを行った場合には、ドナーとアクセプタ ーの蛍光強度の経時変化が無いか同じ速度で起きれば、レシオは一定の値をとるはずである。し かし実際はアクセプターである mRuby2 の蛍光強度の低下がより激しく起こり、励起光強度を 高くするとレシオが経時的に減衰した。そこで、レシオが減衰する速度を示す定数(減衰定数k) と励起波長の関係を調べたところ、mRuby2の二光子吸収断面積が大きくなる長波長側に行くに つれ、減衰定数 k は増大した。また、励起スペクトルから考えて mRuby2 がほとんど励起され ないはずの波長850nmにおいて、減衰定数kが特異的に高い値を取るという結果を得た。この 蛍光強度の低下は、mRuby2 が励起状態吸収 (ESA) を起こして褪色に至る過程を見ているので はないかと考えられる。

結論として、JNK-RN を使った細胞レベルのイメージングの最適条件について以下のように まとめられる。一般的には、イメージングにおける最適な励起波長は、mRuby2の交差励起をほ とんど起こさない 850 nm-930 nm 付近であり、かつ ESA による褪色の影響を避けられる 880 nm-910 nm 付近だと推定できる。また、蛍光強度とレシオの減衰の関係から、「短波長側で高い 光強度で励起する」よりも「長波長側で低に光強度で励起する」方が、レシオの減衰は避けられ る。そこで、個々の場合について確保するべき蛍光強度を考えた上で、それほど蛍光強度を必要 としない場合は短波長側で励起し、高い蛍光強度を必要とする場合は刺激によるレシオの増大分 と蛍光強度の低下に伴うレシオの減衰のトレードオフを考え、できる限り長波長側にするという 調整を行うことでイメージング条件を最適化できるであろう。 業績

【学術論文】

- 1. <u>中村岳史、七尾友久</u>, "エクソサイトーシス," 生体の科学「細胞シグナル操作法」, vol. 66, pp. 484-485, 2015.
- S. Yasuda, S. Morishita, A. Fujita, <u>T. Nanao</u>, N. Wada, S. Waguri, G. Schiavo, M. Fukuda, and <u>T. Nakamura</u>, "Mon1-Ccz1 activates Rab7 only on late endosome and dissociates from lysosome in mammalian cells," J. Cell Sci., vol. 129, pp. 329-340, 2016.
- S. Koinuma, K. Takeuchi, N. Wada, and <u>T. Nakamura</u>, "cAMP-induced activation of protein kinase A and p190B RhoGAP mediates down-regulation of plasmalemmal TC10 GTPase activity and neurite outgrowth," Genes Cells, vol. 22, pp. 953-967, 2017.
- A. Kanamitsu-Fujita, S. Morishita, S. Kjaer, M. Fukuda, G. Schiavo, and <u>T. Nakamura</u>, "Comparable affinity of RabGDI α for GTP- and GDP-bound forms of Rab7 supports a four-state transition model for Rab7 subcellular localization," bioRxiv. doi: doi.org/10.1101/287516, 2018.
- J. Yamagiuchi, C. Suzuki, <u>T. Nanao</u>, S. kakuta, K. Ozawa, I. Tanida, T. Saitouh, T. Sunabori, M. Kamatsu, K. Tanaka, S. Aoki, K. Sakimura, and Y. Uniyama, "Atg9 deficiency causes axon-specific lesions including neuronal circuit dysgenesis," Autophagy, vol. 14, pp. 764-777, 2018.
- S. Morishita, N. Wada, M. Fukuda, and <u>T. Nakamura</u>, "Rab5 activation on macropinosomes requires ALS2, and its subsequent inactivation through ALS2 detachment requires active Rab7," FEBS Lett., vol. 593, pp. 230-241, 2019.
- 7. S. Hoshino, M. Kobayashi, R. Tagawa, R. Konno, T. Abe, K. Furuya, K. Miura, H. Wakasawa, N. Okita, Y. Sudo, Y. Mizunoe, Y. Nakagawa, <u>T. Nakamura</u>, H. Kawabe, and Yoshikazu Higami, "WWP1 knockout in mice exacerbates obesity-related phenotypes in white adipose tissue but improves whole-body glucose metabolism," FEBS Open Bio., vol. 10, pp. 306-315, 2020.

【学会発表】

- 1. <u>中村岳史</u>, "「神経軸索の再生」における基本問題,"東京理科大学医学研究シンポジウム, 千葉、2016 年 5 月. (招待講演)
- S. Koinuma, T. Nanao, N. Wada, T. Nakamura, "cAMP-induced activation of PKA and p190B mediates down-regulation of plasmalemmal TC10 activity and neurite outgrowth," 第 39 回日本神経科学大会, 横浜, 2016 年 7 月 20-22 日.
- 3. <u>中村岳史</u>, "リソソーム分解経路を制御するマシナリーの働きを可視化する," Center for

Development of Advanced Medicine for Dementia Seminer, 愛知, 2016年7月. (招待講演)

- 照井翔,石田彪馬,鯉沼真吾,和田直之,福田光則,中村岳史, "FRET センサーを用いた Rab11 のリサイクリング経路制御機構の検討,"第24回日本バイオイメージング学会学術集 会,東京,2016年9月26-28日.
- 5. 森下宗,和田直之,中村岳史,"マクロピノソームでの Rab5 活性化 不活性化を制御する メカニズムの解析,"第 39 回日本分子生物学会年会,神戸,2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日.
- 6. S. Koinuma, T. Nanao, N. Wada, and T. Nakamura, "cAMP-induced activation of PKA and p190B mediates down-regulation of plasmalemmal TC10 activity and neurite outgrowth," 第 39 回日本神経科学大会, 横浜, 2016 年 7 月 20-22 日.
- 7. 照井翔,石田彪馬,鯉沼真吾,和田直之,福田光則,中村岳史, "FRET センサーを用いた Rab11 のリサイクリング経路制御機構の検討,"第24回日本バイオイメージング学会学術集 会,東京,2016年9月26-28日.
- S. Koinuma, T. Nanao, N. Wada, T. Nakamura, "cAMP-induced activation of PKA and p190B mediates down-regulation of plasmalemmal TC10 activity and neurite outgrowth," Society for Neuroscience 2016, San Diego, USA, Nov. 12-16, 2016.
- 9. 森下宗,和田直之,中村岳史,"マクロピノソームでの Rab5 活性化 不活性化を制御する メカニズムの解析,"第39回日本分子生物学会年会,神戸,2016年11月30-12月2日.
- <u>T. Nakamura</u>, S. Morishita, S. Yasuda, N. Wada, and M. Fukuda, "Visually dissecting Rab switch in macropinocytosis," International Symposium for Imaging Frontier 2017, Tokyo, July 8-9, 2017. (Invited)
- R. Negishi, S. Koinuma, N. Wada, and <u>T. Nakamura</u>, "Growth cones in 3D culture have different structural dynamics from those in 2D culture," International Symposium for Imaging Frontier 2017, Tokyo, July 8-9, 2017.
- S. Koinuma, K. Takeuchi, N. Wada, and <u>T. Nakamura</u>, "Visualization of a pathway from cAMP to TC10 inactivation during neurite outgrowth," International Symposium for Imaging Frontier 2017, Tokyo, July 8-9, 2017.
- S. Morishita, N. Wada, M. Fukuda, and <u>T. Nakamura</u>, "Mechanism of Rab5 activation/inactivation on EGF-induced macropinosome," International Symposium for Imaging Frontier 2017, Tokyo, July 8-9, 2017.
- K. Takeuchi, M. Sugizawa, K. Tanaka, A. Suda, and <u>T. Nakamura</u>, "Optimization of biosensor and condition for FRET timelapse imaging under two-photon excitation systems." International Symposium for Imaging Frontier 2017, Tokyo, July 8-9, 2017.
- R. Negishi, S. Koinuma, N. Wada, and <u>T. Nakamura</u>, "Growth cones in 3D culture have different structural dynamics from those in 2D culture," 第60回日本神経化学大会, 仙台, 2017年9月7-9日.

- 16. 竹内公平, 杉澤元徳, 田中響, 須田亮, <u>中村岳史</u>, "Optimization of biosensor and condition for FRET timelapse imaging under two-photon excitation systems,"日本バ イオイメージング学会第25回学術集会,東京, 2017年9月16-17日.
- 森下宗,和田直之,福田光則,<u>中村岳史</u>, "活性イメージングによるマクロピノサイトーシスでの Rab5 の活性制御の解析,"第40回日本分子生物学会年会・第90回日本生化学会大会,神戸,2017年12月6-9日.
- 18. 鯉沼真吾,野村理子,小島拓哉,根岸亮太,竹内公平,瀬木(西田)恵里,後飯塚僚,古市 貞一,岩倉洋一郎,和田直之,高橋直樹,郡山恵樹,木山博資,<u>中村岳史</u>,"膜輸送を介し て突起伸展を促進する RhoファミリーG タンパク質 TC10 は末梢神経の軸索再生に働く,"第 40 回日本分子生物学会年会・第90 回日本生化学会大会,神戸,2017 年 12 月 6-9 日.
- 杉澤元徳、竹内公平、田中響、須田亮、<u>中村岳史</u>, "Green-Red 蛍光タンパク質を用いた二 光子 FRET イメージング、"レーザー学会学術講演会第 39 回年次大会、東京、2019 年 1 月 12-14 日.

## がんと金属イオン検出を目的とする発光及び<sup>11</sup>B NMR/MRI プローブの開発 薬学部 生命創薬科学科 青木 伸

Ir(tpy)<sub>3</sub>(tpy:2-(4'-tolyl)pyridine))1のようなシクロメタレート型イリジウム錯体は、高い安定性 と優れた発光特性を持つことから、有機 EL の材料やバイオイメージングのプローブとして利 用される。我々は、がん細胞治療薬および検出薬への応用を期待し、塩基性ペプチドを導入し たイリジウム錯体2の設計、合成を行った(図1)<sup>1)</sup>。2のがん細胞に対する細胞毒性を評価 し、炭素数6~8のリンカーを介してKKGG ペプチドを連結したイリジウム錯体が、Jurkat 細胞 などに対して強い細胞毒性を示し、死細胞で緑色に強く発光することを報告した<sup>1a)</sup>。細胞死誘 導メカニズム解析の結果、2がカルモジュリンのCa<sup>2+</sup>錯体と結合し、細胞内カルシウム濃度の上 昇を誘起した結果、ネクローシス型の細胞死を誘導していることがわかった<sup>1bc9</sup>。さらに、Jurkat 細胞の細胞膜上に発現している death receptor 5 (DR5) に結合するペプチドを導入することによ り、Jurkat 細胞の検出と細胞死誘導を行う化合物の開発に成功した<sup>2)</sup>。現在、異なる誘導体の合 成と細胞死誘導活性の測定を行っている。その他、Dual emission と持ち、白色発光をもつ Ir 錯 体の合成にも成功した<sup>3</sup>。



図1

有機ホウ素化合物の代表例である *closo-o*-carborane (3) は、2 個の炭素と 10 個のホウ素原子からなるクラスターであり、非常に高い熱および化学的安定性を有しているため、生理活性物質のファーマコフォアやホウ素中性子線捕捉療法(BNCT)用の薬剤などに応用されている。我々は、 *closo-o*-carborane 誘導体(4)が、水溶液中で銅(Cu<sup>2+</sup>)によって分解され、10 当量の B(OH)<sub>3</sub> を放出 することを報告した(図 2)<sup>40</sup>。*N,N,N'*-trimethylethylenediamine を導入した 5 は、中性水溶液中 37°C において Cu<sup>2+</sup>の存在下で迅速に分解し、水溶液中の Cu<sup>2+</sup>選択的 <sup>11</sup>B NMR/MRI 検出が可能である <sup>40</sup>。上記のようなホウ素の化学を利用して、D-glucal 誘導体(5)の二重結合に対してヒドロホウ素 化反応(hydroboration)を行い、D-glucose の 2 位にホウ素が導入された化合物 7 を合成した。一 般的な教科書中では、ヒドロホウ素化反応の成績体の C-B 結合を過酸化水素によって酸化して水 酸基へ変換し、アルコール体誘導するのが一般的である。しかし我々は、5 のヒドロホウ素化反 応の成績体7に導入されたホウ素をアルコール体8へ変換せず、 $B(OR)_2$ 基を有する8へ変換して BNCT 用薬剤を合成することに成功した<sup>9</sup>。そして、8が glucose transporter を介してがん細胞(HeLa 細胞など)へ取り込まれることを明らかにした。また、これらの化合物では、ホウ素の同位体( $^{10}B$ と $^{11}B$ )を天然比のまま用いているため、薬剤を $^{11}B$  NMR で検出することも報告した<sup>4</sup>。



図 2 銅(II)イオン検出およびホウ素中性子捕捉療法(BNCT)を目的とする新規ホウ素化合物の 設計と合成

- (a) Hisamatsu, Y., *et al. Bioconjugate Chem.* 2015, *26*, 857. (b) Hisamatsu, Y., *et al. Bioconjugate Chem.* 2017, *28*, 507. (c) Yokoi, K., *et al. Eur. J. Inorg. Chem.* 2018, xxx.
- (a) Masum, A.-A., et al. Bioinorg. Chem. Appl. 2018, 2018, Article ID: 7578965. (b) Masum, A.-A., et al. Bioorg. Med. Chem. 2018, 26, 4804.
- (a) Kumar, S., *et al. Inorg. Chem.* 2016, *55*, 3829. (b) Tamura, Y., *et al. Inorg. Chem.* 2017, *56*, 812. (c) Hisamatsu, Y., *et al., Inorg. Chem.* 2017, *56*, 886. (d) Tamura, Y., *et al.* 2018, *57*, 4571.
- 4) (a) Tanaka, T., et al. Eur. J. Inorg. Chem. 2016, 1819. (b) Tanaka, T., et al., Eur. J. Inorg. Chem. 2016, 3330.
- 5) Itoh, T., et al. Bioorg. Med. Chem. 2018, 26, 5922.

# 業績

【学術論文】

- M. Muralisankar, R. Dheepika, J. Haribabu, C. Balachandran, <u>S. Aoki</u>, N. Bhuvanesh, and S. Nagarajan, "Design, Synthesis, DNA/HSA Binding and Cytotoxic Activity of Half-Sandwich Ru (II)-Arene Complexes Containing Tiarylamines-Thiosemicarbazone Hybrids," ACS Omega, vol. 4, pp. 11712-11723, 2019.
- K. Jeyalakshmi, J. Haribabu, C. Balachandran, E. Narmatha, N. S. P. Bhuvanesh, <u>S. Aoki</u>, and R. Karvembu, "Highly Active Copper (I) Complexes of Aroylthiourea Ligands Against Cancer Cells Synthetic and Biological Studies," New Journal of Chemistry, vol. 7, pp. 3188-3198, 2019
- A. B. Rahman, H. Imafuku, Y. Miyazawa, A. Kafle, H. Sakai, Y. Saga and <u>S. Aoki</u>, "Catalytic Hydrolysis of Phosphate Monoester by a Supramolecular Phosphatase formed from a Monoalkylated Dizinc (II) Complex, Cyclic Diimide Units & Copper (II) in Two-Phase Solvent System," Inorganic Chemistry, vol. 58, pp. 5603-5616, 2019.
- M. Yasuda, Y. Saga, T. Tokunaga, S. Itoh, and <u>S. Aoki</u>, "Stereoselective Aldol Reactions of Dihydroxyacetone Derivatives Catalyzed by Chiral Zn<sup>2+</sup> Complexes," Tetrahedron, vol. 75, pp. 757-777, 2019.
- B. Shashni, H. Matsuura, R. Saito, T. Hirata, S. Ariyasu, K. Nomura, H. Takemura, K. Akimoto, A. Yasumori and <u>S. Aoki</u>, "Simple and Convenient Method for the Isolation, Culture, and Re-collection of Cancer Cells from Blood by Using Glass-Bead Filters," ACS Biomaterials Science & Engineering, vol. 5, pp. 438-452, 2019.
- T. Itoh, K. Tamura, H. Ueda, T. Tanaka, K. Satoh, R. Kuroda, and <u>S. Aoki</u>, "Design and Synthesis of Boron Containing Monosaccharides by the Hydroboration of D-Glucal for Use in Boron Neutron Capture Therapy (BNCT)," Bioorganic & Medicinal Chemistry, vol. 26, pp. 5922-5933, 2018.
- A.-A. Masum, K. Yokoi, Y. Hisamatsu, K. Naito, B. Shashni, and <u>S. Aoki</u>, "Design and Synthesis of a Luminescent Iridium Complex-Peptide (IPH) that Detects Cancer Cells and Induces Their Apoptosis," Bioorganic & Medicinal Chemistry, vol. 26, pp. 4804-4816, 2018.
- A.-A. Masum, Y. Hisamatsu, K. Yokoi, and <u>S. Aoki</u>, "Luminescent Iridium Complex-Peptide Hybrids (IPHs) for Therapeutics of Cancer: Design and Synthesis of IPHs for Detection of Cancer Cells and Induction of Their Necrosis-type Cell Death," Bioinorganic Chemistry and Applications, 7578965, 2018.
- 9. H. Someya, T. Itoh, M. Kato, and <u>S. Aoki</u>, "Regioselective *O*-Glycosylation of Nucleosides via the Temporary 2', 3'-Diol Protection by a Boronic Ester for the

Synthesis of Disaccharide Nucleosides," Journal of Visualized Experiments, e57897, 2018.

- Y. Tamura, Y. Hisamatsu, A. Kazama, K. Yoza, K. Sato, R. Kuroda and <u>S. Aoki</u>, "Stereospecific Synthesis of Tris-Heteroleptic Tris-Cyclometalated Iridium (III) Complexes via Different Heteroleptic Halogen-Bridged Iridium Dimers and Their Photophysical Properties," Inorganic Chemistry, vol. 57, pp. 4571-4589, 2018.
- B. Shashni, S. Ariyasu, R. Takeda, T. Suzuki, S. Shiina, K. Akimoto, T. Maeda, N. Aikawa, R. Abe, T. Osaki, N. Itoh, and <u>S. Aoki</u>, "Size-based Differentiation of Cancer and Normal Cells by a Particle Size Analyzer Assisted by a Cell-recognition PC Software," Biological and Pharmaceutical Bulletin, vol. 41, pp. 487-503, 2018.
- H. Someya, T. Itoh, and <u>S. Aoki</u>, "Synthesis of Disaccharide Nucleosides Utilizing the Temporary Protection of the 2', 3' -*cis*-Diol of Ribonucleosides by a Boronic Ester," *Molecules* (the special issue "Nucleoside and Nucleotide Analogues") vol. 22, p. 1650, 2017.
- A. Morita, I. Takahashi, M. Sasatani, <u>S. Aoki</u>, B. Wang, S. Ariyasu, K. Tanaka, T. Yamaguchi, A. Sawa, Y. Nishi, T. Teraoka, S. Ujita, Y. Kawate, C. Yanagawa, K. Tanimoto, A. Enomoto, M. Nenoi, K. Kamiya, Y. Nagata, Y. Hosoi, and T. Inaba, "A Chemical Modulator of p53 Transactivation that Acts as a Radioprotective Agonist," Molecular Cancer Therapeutics, vol. 17, pp. 432-442, 2017.
- T. Tanaka, Y. Sawamoto, and <u>S. Aoki</u>, "Concise and Versatile Synthesis of Sulfoquinovosyl Acyl Glycerol Derivatives for Biological Applications," Chemical and Pharmaceutical Bulletin, vol. 65, pp. 566-572, 2017.
- Y. Hisamatsu, S. Kumar, and <u>S. Aoki</u>, "Design and Synthesis of Tris-Heteroleptic Cyclometalated Iridium (III) Complexes Consisting of Three Different Nonsymmetric Ligands Based on Ligand- Selective Electrophilic Reactions via Interligand HOMO Hopping Phenomena," Inorganic Chemistry, vol. 56, pp. 886-899, 2017.
- 16. Y. Tamura, Y. Hisamatsu, S. Kumar, T. Itoh, K. Sato, R. Kuroda, and <u>S. Aoki</u>, "Efficient Synthesis of Tris-Heteroleptic Iridium (III) Complexes Based on the Zn<sup>2+</sup>-Promoted Degradation of Tris- Cyclometalated Iridium (III) Complexes and Their Photophysical Properties," Inorganic Chemistry, vol. 56, pp. 812-833, 2017.
- Y. Hisamatsu, N. Suzuki, A.-A. Masum, A. Suzuki, R. Abe, A. Sato, S. Tanuma, and <u>S. Aoki</u>, "Cationic Amphiphilic Tris-Cyclometalated Iridium (III) Complexes Induce Cancer Cell Death via Interaction with Ca<sup>2+</sup>-Calmodulin Complex," Bioconjugate Chemistry, vol. 28, pp. 507-523, 2017.
- T. Tanaka, R. Araki, T. Saido, R. Abe, and <u>S. Aoki</u>, "<sup>11</sup>B NMR/MRI Sensing of Copper (II) Ions In Vitro by the Decomposition of a Hybrid Compound of a *nido-o-*Carborane

and a Metal Chelator," European Journal of Inorganic Chemistry, vol. 20, pp. 3330-3337, 2016.

- A. Matsumoto, <u>S. Aoki</u>, and H. Ohwada, "Comparison of Random forest and SVM for Raw Data in Drug Discovery: Prediction of Radiation Protection and Toxicity Case Study," International Journal of Machine Learning and Computing, vol. 6, pp. 145-148, 2016.
- S. Kumar, Y. Hisamatsu, Y. Tamaki, O. Ishitani, and <u>S. Aoki</u>, "Design and Synthesis of Heteroleptic Cyclometalated Iridium (III) Complexes Containing Quinoline-type Ligands that Exhibit Dual Phosphorescence," Inorganic Chemistry, vol. 55, pp. 3829-3843, 2016.
- 21. Y. Hisamatsu, Y. Miyazawa, T. Yoneda, M. Miyauchi, M. Zulkefeli, and <u>S. Aoki</u>, "Supramolecular Complexes Formed by the Self-Assembly of Hydrophobic Bis (Zn<sup>2+</sup>cyclen) Complexes, Copper, and Di-or Trimide Units for Specific Hydrolysis of Phosphate Mono- and Diesters in Two-Phase Solvent Systems (Cyclen=1, 4, 7, 10-Tetraazacyclododecane)," Chemical and Pharmaceutical Bulletin, vol. 64, pp. 451-464, 2016.
- T. Tanaka, Y. Nishiura, R. Araki, T. Saido, R. Abe and <u>S. Aoki</u>, "<sup>11</sup>B NMR Probes of Copper (II): Finding and Implications of the Cu<sup>2+</sup>-Promoted Decomposition of *ortho*-Carborane Deriviatives," European Journal of Inorganic Chemistry, vol. 12, pp. 1819–1834, 2016.
- K. Hanaya, S. Yoshioka, S. Ariyasu, <u>S. Aoki</u>, M. Shoji, and T. Sugai, "Development of a Novel Sulfonate Ester-based Prodrug Strategy," Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, vol. 26, pp. 545-560, 2016.
- 青木伸,有安真也,花屋賢悟,久松洋介,須貝威, "8-quinolinol 誘導体の化学反応とバイ オケミカルツール・酵素阻害剤への応用,"有機合成化学協会誌,vol. 74 (5), pp. 482-493, 2016.
- T. Ito, M. Okada, H. Ohwada, and <u>S. Aoki,</u> "Docking Score Calculation Using Machine Learning with an Enhanced Inhibitor Database," Journal of Medical Imaging and Health Informatics, vol. 5, pp. 1-4, 2015.
- 26. H. Okano, K. Suyama, T. Suzuki, T. Suzuki, S. Ariyasu, <u>S. Aoki</u>, R. Abe, and M. Hayase, "Enrichment of Circulating Tumor Cells in Tumor-bearing Mouse Blood by a Deterministic Lateral Displacement Microfluidic Device," Biomedical Microdevices, vol. 17, p. 59, 2015.
- 27. A. Kando, Y. Hisamatsu, H. Ohwada, S. Moromizato, T. Itoh, M. Kohno, and <u>S. Aoki</u>, "Photochemical Properties of Red-Emitting Tris (cyclometalated) Iridium (III) Complexes Having Basic and Nitro Groups and Application to pH Sensing and Photoinduced Cell Death," Inorganic Chemistry, vol. 54, pp. 5342-5357, 2015.

- Y. Hisamatsu, A. Shibuya, N. Suzuki, T. Suzuki, R. Abe, and <u>S. Aoki</u>, "Design and Synthesis of Amphiphilic and Luminescent Tris-Cyclometalated Iridium (III) Complexes Containing Cationic Peptides as Inducers and Detectors of Cell Death via a Calcium-Dependent Pathway," Bioconjugate Chemistry, vol. 26, pp. 857-879, 2015.
- S. Aoki, T. Fukumoto, T. Itoh, M. Kurihara, S. Saito, and S. Komabiki, "Synthesis of Disaccharide Nucleosides by Direct *O*-Glycosylation of Natural Nucleosides with Thioglycoside Donors," Chemistry-An Asian Journal, vol. 10, pp. 740-751, 2015.

### 【著書】

- E. Kimura, T. Koike, and <u>S. Aoki</u>, "Evolution of ZnII-Macrocyclic Polyamines to Biological Probes and Supramolecular Assembly Elements," in Macrocyclic and Supramolecular Chemistry: How Izatt-Christensen Award Winners Shaped the Field, (Reed M. Izatt, Ed., John Wiley & Sons, 2016) pp 417-445, 2016.
- 2. <u>青木伸</u>(共訳), "生物無機化学" R. R. Crichton 著, 塩谷光彦監訳, 東京化学同人, 2016, pp 175-188 (2016 年 3 月 29 日), ISBN: 978-4-8079-0887-5.
- <u>青木伸</u>, スタンダード薬学シリーズII 3 "化学系薬学 II. 生体分子・医薬品の化学による理解"日本薬学会編,東京化学同人,2016, pp 26-50 (2016 年 3 月 26 日), ISBN: 978-4-8079-1706-8.
- <u>青木伸</u>,"フロンティア生物無機化学"(錯体化学会フロンティア選書) 錯体化学会編, 三 共出版, 2016, pp/364-397 (2016 年 12 月 1 日). ISBN: 978-4-7827-0756-2 C3043.
- 5. <u>青木伸</u>,"知っておきたい有機反応100 第2版" 日本薬学会編,東京化学同人,2019, pp 190-199 (2019 年 3 月 26 日). ISBN: 978-4-8079-0960-5.

【学会発表】

- <u>S. Aoki</u>, S. Itoh, M. Yasuda, S. Sonoike, and T. Tokunaga, "Design and Synthesis of Chiral Zn<sup>2+</sup> Complexes Inspired by Natural Aldolases for Catalytic Asymmetric Aldol Reactions," 4th International Symposium on Energy Challenges and Mechanics-working on small scales- (ECM4), Aberdeen, Scotland, Aug. 11-13, 2015. (Invited)
- S. Aoki, "Design and Synthesis of Luminescent Cyclometalated Iridium (III) Complexes for Material and Biomedical Science," 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACICHEM2015), Honolulu, Hawaii, USA, Dec. 15-20, 2015. (Invited)
- S. Aoki, "Development of Biological Tools Based on Finding of the Decomposition Reactions -Decomposition Reaction is not Useless-" 4th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2016 (iPoPS2016), Noda, Japan, Feb. 27-28, 2016. (Invited)

- Y. Hisamatsu, A. Shibuya, N. Suzuki, H. Tanaka, A.-A. Masum, and <u>S. Aoki</u>, "Design and Synthesis of C<sub>3</sub>-symmetric and Luminescent Tris-cyclometalated Iridium (III) Complexes Having Biologically Active Peptides," 4th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2016 (iPoPS2016), Noda, Japan, Feb. 27-28, 2016. (Invited)
- 5. T. Tanaka, Y. Nishiura, R. Araki, T. Saido, R. Abe, and <u>S. Aoki</u>, "Finding of deboronation reaction of ortho-carborane derivatives catalyzed by metal ions and its application to <sup>11</sup>B NMR probes," 4th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2016 (iPoPS2016), Noda, Japan, Feb. 27-28, 2016. (Invited)
- S. Kumar, Y. Hisamatsu, and <u>S. Aoki</u>, "Design and synthesis of heteroleptic cyclometalated iridium(III) complexes that exhibit unusual dual color phosphorescenc," 4th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2016 (iPoPS2016), Noda, Japan, Feb. 27-28, 2016. (Invited)
- 7. <u>青木 伸</u>, "がん早期発見と再発リスク低減のための理科大異分野連携研究の挑戦," TUS フ ォーラム 2016, 東京, 2016 年 10 月 31 日. (招待講演)
- S. Aoki, "Drug Development for Radiation Therapy of Cancer," 2016 International Biomedical Interface Symposium (2016IBMI), Taipei, Taiwan, Mar. 4-5, 2016. (Invited)
- S. Aoki, "Development of Convenient and Efficient Methods for Detection and Collection of Anomalous Cells from Blood," 2017 International Biomedical Interface Symposium (2017ISBM), Taipei, Taiwan, Mar. 4-5, 2017. (Invited)
- 10. <u>S. Aoki</u>, "Findings of Selective Reactions and Assembly of Metal Complexes and Their Application to Biological and Material Sciences," Joint Seminar of Academia Sinica and the Institute of Chemistry, Taipei, Taiwan, Mar. 6, 2017. (Invited)
- S. Aoki, "Development of New Methods for Diagnosis and Treatment of Cancer in Chemistry, Biochemistry and Material Sciences - Multidisciplinary Approach in Tokyo University of Science-," 5th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2017 (iPoPS2017), Puncak Alam, Malaysia, May 17-18, 2017. (Invited)
- S. Aoki, "Development of Functionalized Iridium Complexes for Biological and Material Sciences," 6th Asian Conference on Coordination Chemistry (ACCC6), Melbourne, Australia, July 23-28, 2017. (Invited)
- S. Aoki, B. Shashni, H. Matsuura, K. Nomura, T. Maeda, S. Shiina, K. Akimoto, H. Takemura, A. Yasumori, N. Aikawa, T. Ohsaki, and N. Itoh, "Convenient Methods for Detection and Capture of Circulating Tumor Cells," 9th AFMC International Medicinal and Chemical Symposium (AIMEC2017), Melbourne, Australia, July 23-28, 2017.

(Invited)

- <u>S. Aoki</u>, "Design and Synthesis of Diverse Supramolecular Hosts and Catalysts by Assembly of Metal Complex Modules, Organic Building Blocks and Metals," Pure and Applied Chemistry International Conference 2018 (PACCON2018), Hat-Yai, Songkhla, Thailand, Feb. 7-9, 2018. (Invited)
- 15. <u>青木 伸</u>, "異分野連携研究による血液中のがん細胞の検出・捕捉・培養・細胞死誘導法の開発,"昭和薬科大学私立大学戦略的研究基盤形成支援事業公開シンポジウム,昭和薬科大学, 東京,2018年2月25日.(招待講演)
- S. Aoki, B. Shashni, H. Matsuura, K. Nomura, T. Maeda, S. Shiina, K. Akimoto, H. Takemura, A. Yasumori, N. Aikawa, T. Ohsaki, and N. Itoh, "Molecular and Material Approach to Cancer Theranostics," 2018International Biomedical Interface Symposium (2018IBMI), Naha, Okinawa, Mar. 10-11, 2018. (Invited)
- <u>S. Aoki</u>, "Development of Functionalized Iridium Complexes for Biological and Material Sciences," 6th Asian Conference on Coordination Chemistry (ICCC2018), Sendai, Japan, July 31-Aug. 4, 2018. (Invited)
- <u>S. Aoki</u>, "Recent Development of Zinc Chemistry -Zinc Supramolecular Chemistry and Zn-promoted Reactions-," 6th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences 2018 (iPoPS2018), Kuala Lumpur, Malaysia, Aug. 15-16, 2018. (Invited)
- <u>S. Aoki</u>, B. Shashni, K. Akimoto, M. Hayase, H. Takemura, A. Yasumori, N. Aikawa, M. Kubo, and M. Motosuke, "Development of New Methods for Cancer Theranostics in Interdisciplinary Collaboration of Tokyo University of Science," International Symposium of Tokyo University of Science, Translational Research (TR) Center -Frontiers in Developmental Strategy for Cancdr Therapeutics-, Tokyo, Oct. 20, 2018. (Invited)
- S. Aoki, A. B. Rahman, H. Imafuku, Y. Miyazawa, Y. Kobayashi, and Y. Saga, "Development of Supramolecular Complexes by Combinatorial Assembly of Functionalized Zinc (II) Complexes, Building Blocks and Metals," International Congress on Pure & Applied Chemistry Langkawi (ICPAC Langkawi 2018), Langkawi, Malaysia, Oct. 30-Nov. 2, 2018. (Invited)
- 21. <u>S. Aoki</u>, K. Yokoi, K. Naito, A.-A. Masum, A. Kazama, Y. Imai, and J. Yuasa, "Photophysical and Biological Activity of Cyclometalated Iridium (III) Complex-Peptide Conjugates Synthesized by Post-Complexation Functionalization," 9th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC9), Singapore, Dec. 9-14, 2018. (Invited)
- 22. <u>S. Aoki</u>, "Development of New Boron Compounds for Biomedical Sciences by Means of

Traditional Reactions of Sugar Derivatives," 2019 International Biomedical Interface Symposium (2019IBMI), Hsinchu, Taiwan, Mar. 9-10, 2019. (Invited)

- 23. <u>S. Aoki</u>, "Design and Synthesis of Cyclometalated Iridium (III) Complexes Based on Post-Complexation Functionalization for Photochemistry and Chemical Biology," Invited Lecture at National Tsing Hua University, Hsinchu, Taiwan, Mar. 11, 2019. (Invited)
- 24. <u>S. Aoki</u>, B. Shashni, S. Ariyasu, H. Takemura, K. Akimoto, N. Aikawa, K. Iwasaki, T. Nakanishi, A. Yasumori, T. Osaki, and N. Itoh, "Development of New Methods for the Detection, Isolation, Growth, and Re-collection of Cancer Cells in Blood Based on Size-discrimination of Cancer Cells and Normal Cells," International e-Conference on Cancer Research 2019 (e-ICCR 2019), London, May 9-10, 2019. (Invited)
- S. Aoki, "Design and Synthesis of Cyclometalated Iridium (III) Complex-Hybrids for the Induction of Cancer Cell Death," The 9th World Congress on Chemistry and Medicinal Chemistry, Praque, Czech Republic, May 13-14, 2019. (Invited)
- 26. <u>S. Aoki</u>, Y. Tamura, H. Ohwada, K. Yokoi, K. Naito, A. Kazama, S. Shimizu, and C. Balachandran, "Photophysical and Biological Activity of New Cyclometalated Iridium (III) Complexes Synthesized by Post-Complexation Functionalization," The 23rd International Symposium on the Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds (ISPPCC2019), Hong Kong, July 14-19, 2019. (Invited)

【特許】

- 1. 青木伸、安盛敦雄、「細胞分離方法及び細胞分離装置」、特願 2016-165889.
- 2. <u>青木伸</u>,サーベンドラ・クマール,久松洋介,田村裕一,「イリジウム錯体化合物及びイリ ジウム錯体化合物の製造方法」,特願 2015-247777.

# レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発と細胞膜の粘弾性計測への応用 理学部第一部 化学科 由井宏治、伴野元洋、森作俊紀

細胞膜の粘弾性は、がんの転移などに関わる細胞移動や組織の自発形成などに重要な役割を 果たしている。従来、細胞膜の粘弾性計測には、原子間力顕微鏡(AFM)やマイクロピペット吸引 法などの接触法が主に用いられてきた。しかし、接触による膜損傷だけでなく、生体組織に埋も れた細胞の粘弾性計測は、原理上不可能である。また、それらの方法は特定の周波数に対する粘 弾性応答情報しか得ることができない。一方、物体に対して、周波数を掃引しながら周期的外力 を印加し、その応答を計測する動的粘弾性計測が適用できると、応答の周波数依存性から物体の 粘弾性特性についてより深い議論が可能になる。そこで我々は、細胞1個における細胞膜の動的 粘弾性を非接触かつマイクロメートルオーダーの空間分解能で計測可能な手法として、新たにレ ーザー誘起表面変位(LISD)顕微鏡を開発した(図1)(T. Morisaku and H. Yui, *Analyst*, 143, 2397 (2018))。その特徴として、

・細胞への外力印加にレーザー光の輻射圧を利用する光学駆動・非接触型(図2)。

・光学駆動により従来 kHz 程度だった動的粘弾性計測の周波数を MHz まで拡張。

・上記2つの特徴を光学顕微鏡に組込み、1-2 µmの空間分解能で任意場所の計測可能。 が挙げられる。当該顕微鏡を用いて、以下の5つの項目を遂行した。

(1) がんと正常細胞の粘弾性による識別

3T3 繊維芽細胞(正常)と同系統の Cle-H3 細胞(がん)との比較から、Cle-H3 細胞の細胞膜の弾性は、3T3 繊維芽細胞よりも低く、変位応答量の周波数依存性が大きいことを明らかにした。 本結果から、がんと正常細胞の粘弾性の比較において、与える外力の周波数に基づく新しい方法 論を提示した。(T. Morisaku et al., *Anal. Sci.*, 34, 979 (2018))。

(2) 芽胞(胞子)の堅牢性の起源の探求

枯草菌から単離した単一芽胞において、最表層であるコート蛋白質層とその下層にある皮質 との比較から、芽胞の堅牢性はコート蛋白質層より皮質に寄与していることを実験的に明らかに した。さらに皮質はより高粘性であることも見出した。本結果から、芽胞を構成する層状構造が、 芽胞の堅牢性に対して持つ寄与を初めて示した。(T. Morisaku et al., *Anal. Sci.*, 35, 45 (2019))。



図 1. 開発した LISD 顕微鏡の外観



図 2. LISD 顕微鏡の計測原理。(a) 表面変形の誘起。(b) ピンホールを通る反射プローブ光の光子密度変化から変位 量の計測。(c) 表面変位の緩和に伴う反射プローブ光の広がりの収束。

(3) 近赤外 LISD 顕微鏡の開発と植物表面の粘弾性計測への応用(同センター所属理工学部応用 生物科学科 朽津和幸教授との共同研究)

レーザー光による細胞ダメージの軽減と、組織中に埋もれた細胞の深部計測を目指して、励起 光の波長を従来の可視光から近赤外光に切り替えた近赤外 LISD 顕微鏡を開発し、植物細胞に適 用した。近赤外光を用いることで、光損傷を受けすに、単一細胞からなるゼニゴケの仮根の先端 部と側方部の粘弾性の識別を可能にした(図3)。(T. Morisaku et al., *Anal. Sci.*, 35, 1203 (2019)、表紙および注目論文として選定)。

(4) 細胞骨格の膜粘弾性に対する役割の解明(同センター所属生命医科学研究所中村岳史教授 との共同研究)

アクチン繊維、微小管の細胞膜の粘弾性に対する寄与として、以下2点を明らかにした。 (i)アクチン繊維は、繊維が十分に脱重合した状態でさえ、脱重合していないレベルまで細胞膜 の弾性を保持し、細胞の形状を維持する働きを有している。(ii)アクチン繊維または微小管の 脱重合は、細胞膜の粘性的性質を高める(論文投稿中)。

(5) タイムドメイン型LISD 顕微鏡の開発

細胞表面の粘弾性イメージングへの展開を見据えて、1 点のパワースペクトルを秒オーダー で取得することを目的として、タイムドメイン型LISD 顕微鏡を開発し、ヒト表皮細胞の粘弾性 計測に応用した。従来の周波数ドメイン型LISD 顕微鏡と比較して、1 点の計測時間を従来の周 波数ドメイン型LISD 顕微鏡と比較して、1 点の計測時間を 20 分から 20 秒に短縮した(図 4、 論文投稿準備中)。



図3. 近赤外光LISD顕微鏡の植物への適用実績。 (上) 稲の葉に対して532 nmまたは800 nmのポンプ 光の照射前後の光学顕微鏡像。(下) ゼニゴケ仮根 の先端部と側方部の近赤外LISDパワースペクトル。



図4. タイムドメインLISD顕微鏡の開発。(上)表 皮細胞から得られた時間波形信号。1点の計測時 間は20秒。(下)各細胞表面部位での時間波形信 号をフーリエ変換して得られたパワースペクトル。

#### 業績

【学術論文】

- <u>M. Banno</u>, A. Nagashima, and <u>H. Yui</u>, "Stimulated Raman photoacoustic spectroscopy for molecular-selective imaging of sample deeply buried in scattering media," Analyst, vol. 141, pp. 5747-5752, 2016.
- <u>M. Banno</u> and <u>H. Yui</u>, "Stimulated Raman scattering interferometer for molecularselective tomographic imaging," Appl. Spectrosc., vol. 71, pp. 1677-1683, 2017.
- <u>M. Banno</u>, T. Kondo, and <u>H. Yui</u>, "Development of molecular-selective differential interference contrast microscopy utilizing stimulated Raman scattering," Opt. Lett., vol. 43, pp. 1175-1178, 2018.
- <u>T. Morisaku</u>, and <u>H. Yui</u>, "Laser-induced surface deformation microscope for the study of the dynamic viscoelasticity of plasma membrane in a living cell," Analyst, vol. 143, pp. 2397-2404, 2018.
- <u>T. Morisaku</u>, M. Ishihara, and <u>H. Yui</u>, "Discrimination between normal and cancerous cells from dynamic viscoelastic properties with the laser-induced surface deformation microscope," Analytical Sciences, vol. 34, pp. 979-982, 2018.
- <u>T. Morisaku</u>, Y. Kido, K. Asai, and <u>H. Yui</u>, "Mechanical properties of the coat protein layer and cortex in single Bacillus subtilis spores studied with the atomic force microscope and laser-induced surface deformation microscope," Analytical Sciences, vol. 35, pp. 45-48, 2019.
- <u>T. Morisaku</u>, H. Onuki, K. Hashimoto, K. Kuchitsu, and <u>H. Yui</u>, "Development of a near-infrared laser-induced surface deformation microscope and its application to the dynamic viscoelastic measurements of single living plant cell surfaces," Analytical Sciences, vol. 35, pp. 1203-1207, 2019.

### 【学会発表】

- <u>M. Banno</u>, H. Takakuwa, K. Kanno, and <u>H. Yui</u>, "Nanosecond Optical Diagnostics of Separate Mode Discharge Plasma Formed in Aqueous Solution," The 3<sup>th</sup> International Workshop on Solution Plasma and Molecular Technologies (SPM-3), Chulalongkon University, May 6-9, 2015.
- <u>H. Yui</u>, K. Akaike, T. Ohshima, T. Chiyoda, and <u>M. Banno</u>, "Spectroscopic Analyses of Solution Plasma in Aqueous Environments for Carbon Nanomaterials Synthesis And Their Chemical Modifications," The 3<sup>th</sup> International Workshop on Solution Plasma and Molecular Technologies (SPM-3), Chulalongkon University, May 6-9, 2015. (Invited)

- 3. <u>伴野元洋</u>,長島亜美,<u>由井宏治</u>, "誘導ラマン光音響トモグラフィーの開発と散乱体に埋れ た試料の化学種識別的計測,"第75回分析化学討論会,山梨大学,2015年5月23-24日.
- <u>伴野元洋</u>,近藤隆之,長島亜美,大森絵梨,高橋すみれ,<u>由井宏治</u>, "誘導ラマン光干渉計 による高空間分解ケミカルコントラスト計測,"サーモサイエンティフィックFT-IR・ラマン ユーザーズフォーラム2015,東京コンファレンスセンター,2015年5月21日.
- 5. <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "近赤外レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発,"第75回分析化学討論 会, 甲府, 山梨, 2015年5月.
- 6. 石原雅史,<u>森作俊紀</u>,由井宏治,"レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた正常細胞とがん細胞の粘弾性による識別,"第75回分析化学討論会,甲府,山梨,2015年5月.
- 高橋すみれ、大森絵梨、近藤隆之、<u>伴野元洋、由井宏治</u>、"誘導ラマン散乱光干渉計による 撥水機能性材料の表面化学計測、"日本材料科学会学術講演大会、工学院大学、2015年6月 25日.
- S. Takahashi, <u>M. Banno</u>, and <u>H. Yui</u>, "Chemical-contrast imaging of microstructures on water/substrate interface with stimulated Raman scattering interferometer," RSC Tokyo International Conference 2015 ~Analytical Technology Towards Life Innovation ~, Makuhari Messe, Sep. 3-4, 2015.
- E. Omori, <u>M. Banno</u>, and <u>H. Yui</u>, "Development of stimulated Raman scattering interferometer and application to analysis of thin film materials," RSC Tokyo International Conference 2015 ~Analytical Technology Towards Life Innovation~, Makuhari Messe, Sep. 3-4, 2015.
- <u>T. Morisaku</u> and <u>H. Yui</u>, "Development of the Near-infrared Laser-induced Surface Deformation Microscope (NIR-LISD)," RSC Tokyo International Conference 2015 ~ Analytical Technology Towards Life Innovation~, Makuhari, Japan, Sep. 3-4, 2015.
- Y. Wada, <u>T. Morisaku</u>, and <u>H. Yui</u>, "Contribution of Cytoskeletal Network in a Fibroblast Cell to its Viscoelastic Properties Studied by Laser-Induced Surface Deformation Microscope," RSC Tokyo International Conference 2015 ~ Analytical Technology Towards Life Innovation~, Makuhari, Japan, Sep. 3-4, 2015.
- M. Ishihara, <u>T. Morisaku</u>, and <u>H. Yui</u>, "Discriminating between normal and cancer cells by viscoelastic properties with the AFM and laser-induced surface deformation microscope," RSC Tokyo International Conference 2015 ~ Analytical Technology Towards Life Innovation~, Makuhari, Japan, Sep. 3-4, 2015.
- <u>森作俊紀</u>,和田悠平,<u>由井宏治</u>, "Study on the Role of Cytoskeletal Networks in Single Cells to Their Viscoelastic Properties with the Laser-induced Surface Deformation Microscopy," 第24回バイオイメージング学会, 葛飾, 東京, 2015年9月.

- 14. 石原雅史, <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "AFMとレーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた正常細胞と がん細胞の粘弾性による識別,"第66回コロイド及び界面化学討論会, 鹿児島大学, 2015年 9月10-12日.
- 15. 千代田拓也,<u>伴野元洋</u>,<u>由井宏治</u>,"水溶液中放電プラズマを用いた親水性マンガン酸化物 ナノ材料の合成,"第66回コロイド及び界面化学討論会,鹿児島大学,2015年9月10-12日.
- 16. <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "近赤外レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発と細胞膜の粘弾性計測への応用,"日本分析化学会第64年会,九州大学伊都キャンパス, 2015年9月10-11日.
- 17. <u>伴野元洋</u>,高橋すみれ,<u>由井宏治</u>, "誘導ラマン散乱光干渉計による水に埋れた基板表面微 細構造の分子種識別的画像計測,"日本分析化学会第64年会,九州大学伊都キャンパス, 2015年9月10-11日.
- E. Omori, S. Takahashi, <u>M. Banno</u>, and <u>H. Yui</u>, "Development of stimulated Raman scattering interferometer and measurement of chemical contrast image from buried interface," International Symposium on Leading-Edge Holography Technologies, Tokyo University of Science, Oct. 30, 2015.
- S. Takahashi, E. Omori, T. Kondo, <u>M. Banno</u>, and <u>H. Yui</u>, "Chemical-contrast imaging of microstructures fabricated on substrates with stimulated Raman scattering interferometer," International Symposium on Leading-Edge Holography Technologies, Tokyo University of Science, Oct. 30, 2015.
- 20. 大森絵梨,<u>伴野元洋</u>,<u>由井宏治</u>, "誘導ラマン散乱光干渉計の開発と多層薄膜材料分析への応用,"第3回表面・界面のメゾスコピックサイエンスとプロセッシング研究会,千葉工業大学東京スカイツリータウンキャンパス,2015年11月25日.
- 21. 高橋すみれ、大森絵梨、<u>伴野元洋、由井宏治</u>、"水に埋れた Si 基盤表面微細構造の分子識別計測、"第3回表面・界面のメゾスコピックサイエンスとプロセッシング研究会、千葉工業大学東京スカイツリータウンキャンパス、2015年11月25日.
- T. Chiyoda, <u>M. Banno</u>, and <u>H. Yui</u>, "Synthesis of Au-Pt composite nanoparticles with controlled composition ratio by solution plasma processing," 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Honolulu, Dec. 15-20, 2015.
- M. Banno and H. Yui, "Development of stimulated Raman scattering interferometer and its application to the chemical contrasted imaging of buried layers and interfaces," 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Honolulu, Dec. 15-20, 2015.
- <u>H. Yui</u>, K. Kanno, and Y. Hagiwara, "Solution plasma synthesis of ammonium ions from water-CO<sub>2</sub>-N<sub>2</sub> system and its time-resolved spectroscopic study," 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Honolulu, Dec. 15-20, 2015.

- 25. <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発と単一生細胞における膜の粘弾 性特性の非接触計測への応用,"第25回日本MRS年次大会,横浜,神奈川, 2015年12月.(招 待講演)
- 26. 大貫仁碧, <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いたヒト表皮細胞の分化と粘弾性の相関に関する研究,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2015年度シンポジウム,野田,千葉, 2015年12月.
- 27. 石原雅史, <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "AFMとレーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた正常細胞と がん細胞の粘弾性による識別,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2015年度 シンポジウム, 野田, 千葉, 2015年12月.
- 28. 和田悠平, <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた繊維芽細胞における膜の粘弾性に対する細胞骨格の寄与に関する研究,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2015年度シンポジウム,野田,千葉, 2015年12月.
- 29. <u>森作俊紀</u>,<u>由井宏治</u>,"近赤外レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発と単一生細胞における膜の粘弾性計測への応用,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2015年度シンポジウム,野田,千葉,2015年12月.
- 30. <u>伴野元洋</u>,大森絵梨,<u>由井宏治</u>, "誘導ラマン散乱光干渉計による埋もれたサブミクロン厚 多層薄膜の化学種識別計測,"第76回分析化学討論会,岐阜薬科・岐阜大学,2016年5月 28-29日.
- 31. <u>森作俊紀</u>,大貫仁碧,小山恵莉加,<u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いたヒト 表皮細胞の分化と粘弾性との相関の解明,"第76回分析化学討論会,岐阜,岐阜,2016年5 月.
- 32. <u>M. Banno</u> and <u>H. Yui</u>, "Time-resolved optical diagnosis of solution plasma formed with graphite electrodes in aqueous solution," The 4<sup>th</sup> International Workshop on Solution Plasma and Molecular Technologies (SPM-4), University of West Bohemia, June 7-12, 2016. (Inviterd)
- 33. 恩田康之介,<u>伴野元洋</u>,<u>由井宏治</u>,"空間位相制御による近赤外非線形分光顕微鏡の高空間 分解能化,"平成28年度日本材料学会,産業技術総合研究所臨海副都心センター別館, 2016年6月29日.
- 34. <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "細胞のレオロジーイメージング-レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発と単一生細胞における膜の動的粘弾性計測への応用-,"「カとレオロジーのイメージング」 ワークショップ, 葛飾, 東京, 2016年7月.(招待講演)
- 35. 大貫仁碧, <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いたヒト表皮細胞の分化と粘弾性の相関の解明,"第67回 コロイドおよび界面化学討論会, 旭川, 北海道, 2016年9月22-24日.
- 36. 中里直人,千代田拓也,<u>伴野元洋</u>,<u>由井宏治</u>,"水溶液中放電プラズマによる固溶体型金パ ラジウム合金ナノ粒子の合成と組成比制御,"第 67 回コロイドおよび界面化学討論会,旭

川, 北海道, 2016年9月22-24日.

- 37. 津野雅幸,<u>伴野元洋</u>,山本貴博,<u>由井宏治</u>, "分子動力学シミュレーションを用いた SiO<sub>2</sub>表面水和構造の表面 OH 基被覆率依存性の解析,"第 67 回コロイドおよび界面化学討論会,旭川,北海道,2016 年 9 月 22-24 日.
- 38. <u>森作俊紀</u>,<u>由井宏治</u>,"レーザー誘起表面変位顕微鏡に開発と細胞膜の粘弾性の非接触計測 への応用,"新学術領域「植物細胞壁の情報処理システム」,東京大学柏キャンパス,2016 年11月29日.(招待講演)
- <u>M. Banno</u> and <u>H. Yui</u>, "Time-resolved Optical Diagnosis of Discharge Plasma Formed in Aqueous Solution," 26<sup>th</sup> Annual Meeting of the Materials Research Society of Japan (MRS-J), Yokohama Port Opening Memorial Hall, Dec. 19-22, 2016. (Invited)
- 40. 大貫仁碧, <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いたヒト表皮細胞の分化と膜粘弾性の相関の解明,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2016年度シンポジウム,野田,千葉, 2016年12月.
- 石原雅史, <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "AFMとレーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた正常細胞と がん細胞の膜粘弾性の差異による識別,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター 2016年度シンポジウム, 野田, 千葉, 2016年12月.
- 42. <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "近赤外レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2016年度シンポジウム,野田,千葉, 2016年12月.
- M. Banno, S. Yui, S. Kashii, and <u>H. Yui</u>, "Development of Laser Induced Fluorescence Spectrometer and Detection of Intermediates in Solution Plasma for Carbon Material Synthesis," The 5th International Workshop on Solution Plasma and Molecular Technologies (SPM-5), Greifswald, June 25-29, 2017.
- <u>H. Yui</u>, K. Kanno, D. Inoshita, S. Nakagami, and <u>M. Banno</u>, "Development of Arbitary-Gas-Injectable System for Solution Plasma Toward Novel Molecules Synthesis Technology," The 5th International Workshop on Solution Plasma and Molecular Technologies (SPM-5), Greifswald, June 25-29, 2017.
- <u>T. Morisaku</u> and <u>H. Yui</u>, "Development of the Near-infrared Laser-induced Surface Deformation (NIR-LISD) Microscope," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika, Japan, July 8-9, 2017.
- R. Bando, <u>T. Morisaku</u>, and <u>H. Yui</u>, "Development of the Time-domain Laser-induced Surface Deformation (TD-LISD) Microscope, International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika, Japan, July 8-9, 2017.
- 47. R. Bando, <u>T. Morisaku</u>, and <u>H. Yui</u>, "High-speed Dynamic Viscoelastic Measurements by the Application of Time-domain Method to the Laser-induced Surface Deformation Microscope," RSC Tokyo International Conference 2017 ~Analytical Science and Technology for Global Sustainability~, Makuhari, Japan, Sep. 7-8, 2017.

- 48. 中上翔太, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "地球の化学進化反応場を模した液中放電プラズマによる 核酸塩基前駆体の合成と反応場の発光分光計測,"第 64 回日本地球化学会, 東京工業大学 大岡山キャンパス, 2017 年 9 月 13-15 日.
- 49. 井下大輔, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "原始地球の化学進化反応場を模した液中放電プラズマを 用いたアンモニア合成の追跡,"第64回日本地球化学会, 東京工業大学大岡山キャンパス, 2017年9月13-15日.
- 50. 坂東龍, <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた動的粘弾性計測にお けるタイムドメイン方式の導入による計測時間の高速化,"日本分析化学会第66年会, 葛飾, 東京, 2017年9月.
- 51. 香椎翔太,<u>伴野元洋</u>,<u>由井宏治</u>,"水溶液中放電プラズマ還元によるマンガン酸化物ナノ材料の合成とその酸化数制御,"第68回コロイド及び界面化学討論会,神戸大学,2017年9月6-8日.
- 52. <u>伴野元洋,由井宏治</u>, "時間分解分光による水溶液中放電プラズマ診断,"第77回応用物理 学会講演会-プラズマ診断の最前線シンポジウム-,朱鷺メッセ,2017年9月13-16日.(招 待講演)
- 53. <u>H. Yui, T. Morisaku</u>, and A. Suzuki, "Vibrational Spectroscopic Study on the Phase Transition of Water in Nanospaces and at Interfaces," 11<sup>th</sup> International Symposium on Atomic Level Characterizations for New Materials and Devices' 17 (ALC' 17), Aqua Kauai Beach Resort, Dec. 3-8, 2017. (Invited)
- 54. <u>森作俊紀</u>,大貫仁碧,橋本研志,朽津和幸,<u>由井宏治</u>, "近赤外レーザー誘起表面変位顕微 鏡を用いた化学刺激に対する植物組織の成長と細胞壁の粘弾性の相関の解明,"第78回分析 化学討論会,宇部,山口,2018年5月.
- 55. <u>T. Morisaku</u> and <u>H. Yui</u>, "Development of the laser-induced surface deformation microscope for the study of dynamic viscoelastic properties of soft interfaces," Water on Materials Surface 2018 (WMS 2018), Katsushika, Japan, July 25-27, 2018.
- 56. <u>森作俊紀</u>,大貫仁碧,橋本研志,朽津和幸,<u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた植物細胞表層の粘弾性特性の解析:活性酸素種を介した植物細胞の先端成長と細胞壁の力学的特性の制御機構,"第27回日本バイオイメージング学会学術集会,筑波,茨城,2018年9月.
- 57. 坂東龍, <u>森作俊紀</u>, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "細胞膜の動的粘弾性計測の高速化のためのフー リエ変換型レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発,"日本分析化学会第67年会, 仙台, 宮城, 2018年9月.
- 58. <u>伴野元洋</u>, <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "レーザー誘起表面変位顕微鏡と光音響分光法による生体 粘弾性イメージングの試み,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2018年度 シンポジウム, 野田, 千葉, 2018年12月.

- 59. 中彩香, 森作俊紀, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "レーザー光音響分光法による生体組織深部の弾 性情報計測の試み,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2018年度シンポジ ウム, 野田, 千葉, 2018年12月.
- 60. 長南達也, 森作俊紀, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "レーザー光音響分光法を用いた深部レオロジー計測と乳腺組織病理診断イメージングへの展開,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2018年度シンポジウム, 野田, 千葉, 2018年12月.
- 61. 上麻佑子, <u>森作俊紀</u>, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "AFMとレーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた ヒト表皮細胞コロニーの分化と膜レオロジー特性との相関の解明,"東京理科大学イメー ジングフロンティアセンター2018年度シンポジウム,野田, 千葉, 2018年12月.
- 62. 坂東龍, 森作俊紀, <u>伴野元洋</u>, <u>由井宏治</u>, "細胞膜のレオロジーイメージングのための時間 ドメイン型レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発,"東京理科大学イメージングフロンティ アセンター2018年度シンポジウム, 野田, 千葉, 2018年12月.
- 63. <u>森作俊紀</u>,大貫仁碧,橋本研志,朽津和幸,<u>由井宏治</u>,"レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いた細胞壁の力学的特性の制御による植物細胞の先端成長機構の理解,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2018年度シンポジウム,野田,千葉,2018年12月.
- 64. 中彩香,木村真衣子,<u>森作俊紀</u>,浦島周平,<u>由井宏治</u>, "レーザー光音響分光法を用いた生 体組織深部レオロジー計測,"第41回日本バイオマテリアル学会大会,筑波,茨城, 2019 年11月.
- 65. 木村真衣子,中彩香,<u>森作俊紀</u>,浦島周平,<u>由井宏治</u>, "レーザー光音響分光法を用いた毛細血管模擬試料の弾性計測,"第41回日本バイオマテリアル学会大会,筑波,茨城,2019年11月.
- 66. 木村真衣子,中彩香,<u>森作俊紀</u>,浦島周平,<u>由井宏治</u>,"レーザー光音響分光法を用いた毛細血管ファントムの弾性計測,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2019年度シンポジウム,野田,千葉,2019年12月.
- 67. 中彩香,木村真衣子,<u>森作俊紀</u>,浦島周平,<u>由井宏治</u>, "レーザー光音響分光法を用いた埋 もれた模擬生体組織の弾性計測,"東京理科大学イメージングフロンティアセンター2019年 度シンポジウム,野田,千葉,2019年12月.
- 68. <u>森作俊紀</u>,橋本研志,朽津和幸,<u>由井宏治</u>,"近赤外レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発と 植物細胞壁の動的粘弾性計測への応用,"東京理科大学イメージングフロンティアセンタ -2019年度シンポジウム,野田,千葉,2019年12月.
- 69. <u>森作俊紀</u>, <u>由井宏治</u>, "タイムドメイン型レーザー誘起表面変位顕微鏡の開発,"東京理科 大学イメージングフロンティアセンター2019年度シンポジウム, 野田, 千葉, 2019年12月.

【受賞】

1. <u>T. Morisaku</u>, and <u>H. Yui</u>, Best poster award, "Development of the Near-infrared Laser-induced Surface Deformation Microscope (NIR-LISD)," RSC Tokyo International

Conference 2015 ~Analytical Technology Towards Life Innovation~, Makuhari, Japan, Sep. 3-4, 2015.

- 木村真衣子、中彩香、<u>森作俊紀</u>、浦島周平、<u>由井宏治</u>、ハイライト発表、"レーザー光音響 分光法を用いた毛細血管模擬試料の弾性計測,"第41回日本バイオマテリアル学会大会、筑 波、茨城、2019年11月.
- 3. 中彩香、木村真衣子、<u>森作俊紀</u>,浦島周平,<u>由井宏治</u>,優秀研究ポスター賞,"レーザー 光音響分光法を用いた生体組織深部レオロジー計測,"第41回日本バイオマテリアル学会大 会,筑波,茨城, 2019年11月.
# 極微小空間の高濃度条件下における1分子酵素反応の可視化 理工学部 応用生物科学科 政池知子、田中信清

マイクロリットルからミリリットル体積の多分子の酵素反応速度測定においては、測定対象の 試料が均一かつ反応開始のタイミングも統一されていることが要求される。しかし、実際の試料 ではそれらの要件を満たすのは難しい。また *in vitro* の希薄溶液の反応では、細胞内での高濃 度環境を評価することは困難である。これらの問題を克服することをめざし、酵素と基質を極微 小空間に閉じ込め、高濃度条件で個別の酵素反応を測定する方法の確立を目標とした。本研究で は、マイクロチャンバーアレイデバイスを用いて数十 fL の溶液をガラス基板上に多数並べるこ とでこれを実現した。

本実験系のモデルケースとして、まずリン酸結合蛋白による1分子酵素アッセイを行った。蛍 光標識リン酸結合蛋白(PBP)をµM桁の濃度で数十fLの水滴チャンバーのアレイに封入して油で 隔離し、各チャンバーには確率的に平均1個以下が封入される濃度条件でATP加水分解蛋白質F<sub>1</sub>-ATPaseを閉じ込めた(図1)。その結果、1分子のF<sub>1</sub>-ATPaseが触媒するATP加水分解反応に伴っ て生成したリン酸の濃度増加をPBPの蛍光強度増加として画像化することが出来た(図2)。最近 はリン酸親和性を低下させた変異体PBPを作成し、高濃度域についてもリン酸の検出を可能にす る系の確立を目指している。このように、1分子の酵素から解離するリン酸の検出を広範囲のリ ン酸濃度域で行う試みが進んでいる。

次に、PDMS 樹脂製の円筒形チャンバーアレイに微小管のシードと遊離チューブリンを封入し、 極微小体積内での微小管の重合・脱重合の動的不安定性を調べた。対照実験として、µL桁の体積 をもつフローセルにおける動的不安定性も並行して調べたところ、同じ濃度のチューブリンを封 入した場合でも、PDMS チャンバーにおける重合の方がより速度が大きいことが示唆された。極微 小体積での反応においてはチューブリンの実効的な濃度が高くなった可能性が考えられる。

本研究の副次的成果としては、極小体積内での微小管重合が通常とは異なる形態で起こること が判明した事が挙げられる。直線状に伸長すべき微小管が湾曲して重合できるのは、空間的制約 のもとで微小管が重合様式を変え、欠損部位を抱えながら伸長することによって柔軟性を獲得す ることに起因すると推定される。

今後も極微小体積における反応を画像化し、研究を進めていく予定である。



**凶1** 油中の水滴チャンバーアレイによるリン酸検出





### 業績

### 【学術論文】

- T. M. Naito, <u>T. Masaike</u>, D. Nakane, M. Sugawa, K. A. Okada, and T. Nishizaka, "Single-molecule pull-out manipulation of the shaft of the rotary motor F1-ATPase," Sci. Rep., vol. 9, 7451, 2019.
- T. Nishizaka, <u>T. Masaike</u>, D. Nakane, "Insights into the mechanism of ATP-driven rotary motors from direct torque measurement," Biophys. Rev., vol. 11, pp 653-657, 2019.
- M. Sugawa, <u>T. Masaike</u>, N. Mikami, S. Yamaguchi, K. Shibata, K. Saito, F. Fujii, Y. Y. Toyoshima, T. Nishizaka, and J. Yajima, "Circular orientation fluorescence emitter imaging (COFEI) of rotational motion of motor proteins," Biochem. Biophys. Res. Commun., vol. 504, pp. 709-714, 2018.
- T. A. Katoh, K. Ikegami, N. Uchida, T. Iwase, D. Nakane, <u>T. Masaike</u>, M. Setou, and T. Nishizaka, "Three-dimensional tracking of microbeads attached to the tip of single isolated tracheal cilia beating under external load," Sci. Rep., vol. 8, 15562, 2018.
- 5. <u>政池知子</u>, "対物型全反射顕微鏡の原理,"科学フォーラム, vol. 34, pp. 30-35, 2017.
- <u>政池知子</u>, "1分子生理学による生体機動分子 FoF1-ATP 合成酵素の回転駆動機構の解明," 化学工業, vol. 67, pp. 27-32, 2016.
- M. Sugawa, K. Okazaki, M. Kobayashi, M. Matsui, G. Hummer, <u>T. Masaike</u>, and T. Nishizaka, "F1-ATPase conformational cycle from simultaneous single-molecule FRET and rotation measurements," Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 100, pp. 14731-14736, 2016.

【学会発表】

- 高尾耕樹、今泉現、岩田誠史、河野桂樹、瀬藤光利、<u>田中信清</u>、池上浩司、<u>政池知子</u>、 "マウス気管繊毛の形状と集合形態が液流形成に与える影響、" 2019 年度 東京理科大学・ イメージングフロンティアセンター・シンポジウム、東京理科大学・野田キャンパス、千葉、 2019 年 12 月.
- 中里真唯,弥富有希子,島知弘,<u>田中信清</u>,<u>政池知子</u>,"物理的な制約のある極小空間における微小管の動的不安定性,"2019 年度 東京理科大学・イメージングフロンティアセンター・シンポジウム,東京理科大学・野田キャンパス,千葉,2019 年 12 月.
- 佐野暁子,熊山あかね、中井萌乃,服部絢子,<u>田中信清</u>,<u>政池知子</u>, "無機リン酸に低親和 性を示す蛍光標識リン酸結合タンパクの1分子観察," 2019 年度 東京理科大学・イメージ ングフロンティアセンター・シンポジウム、東京理科大学・野田キャンパス、千葉, 2019 年

12月.

- 岩田誠史,河野桂樹,椎名真之,岩瀬寿仁,<u>田中信清</u>,池上浩司,<u>政池知子</u>, "ADP により 調節されるマウス気管繊毛の運動活性," 繊毛研究会,東京農工大学・小金井キャンパス, 東京,2019 年 11 月.
- 5. 河野桂樹,末柄祐明,椎名真之,岩瀬寿仁,<u>田中信清</u>,池上浩司,<u>政池知子</u>,"非対称なマウス気管繊毛運動へのATPの寄与," 繊毛研究会,東京農工大学・小金井キャンパス,東京,2019年11月.
- 6. 今泉現,河野桂樹,<u>田中信清</u>,中江進,池上浩司,<u>政池知子</u>,"生細胞で協同的にはたらく 気管繊毛の三次元運動と異物輸送機能," 繊毛研究会,東京農工大学・小金井キャンパス, 東京,2019年11月.
- 7. <u>T. Masaike</u>, "Insights into rotary catalysis of F1-ATPase through detection of conformational changes," 2nd Tokyo ATPase Workshop, 東京大学・本郷キャンパス, 東京, 2019 年 9 月 30 日. (招待講演)
- 8. H. Sugiura, R. Yokota, <u>N. Tanaka</u>, and <u>T. Masaike</u>, "Conformational mapping of the catalytic subunit of F1-ATPase," 2nd Tokyo ATPase Workshop, 東京大学・本郷キャンパス, 東京, 2019年9月.
- R. Yokota, H. Sugiura, M. Sugawa, J. Yajima, <u>N. Tanaka</u>, and <u>T. Masaike</u>, "Single-molecule polarised FRET analysis of conformational dynamics in αβ subunits of F1-ATPase," 2nd Tokyo ATPase Workshop, 東京大学・本郷キャンパス, 2019年9月.
- 10. T. Sato, H. Ueno, K. Hayashi, R. Koga, <u>N. Tanaka</u>, N. Koga, H. Noji, and <u>T. Masaike</u>, "Kinetics and stepping torque of F1-ATPase containing the catalytic subunit with a non-catalytic hinge," 2nd Tokyo ATPase Workshop, 東京大学・本郷キャンパス, 東 京, 2019 年 9 月.
- 11. T. Naito, <u>T. Masaike</u>, D. Nakane, M. Sugawa, and T. Nishizaka, "F1-ATPase の軸とシ リンダーの結合寿命の測定,"第57回日本生物物理学会年会,シーガイヤコンベンション センター, 宮崎, 2019年9月.
- 加藤孝信,池上浩司,内田就也,岩瀬寿仁,中根大介,<u>政池知子</u>,瀬藤光利,西坂崇之, "外力下での単離マウス気管繊毛先端の動きの3次元トラッキング,"生体運動研究合同班 会議2019,福岡大学七隈キャンパス,福岡,2019年1月.
- 13. 横田龍一,須河光弘,杉浦広基,矢島潤一郎,<u>政池知子</u>,"1 分子偏光 FRET 法により検出した F1-ATPase のシリンダー部分の遂次的な構造変化,"2018 年度東京理科大学イメージング フロンティアセンターシンポジウム,東京理科大学・野田キャンパス,2018 年12 月 15 日.
- 14. 杉浦広基、横田龍一、柳田亮太、<u>政池知子</u>、"1分子蛍光観察による F1-ATPase 触媒サブユ ニットβの角度変化検出、"2018 年度東京理科大学イメージングフロンティアセンターシン ポジウム、東京理科大学・野田キャンパス、2018 年 12 月 15 日.
- 15. 河野桂樹, 椎名真之, 末柄祐明, 岩瀬寿仁, 瀬藤光利, 西坂崇之, 池上浩司, <u>政池知子</u>,

"低濃度 ATP 存在下の気管粘液流形成における繊毛先端の速度と高さの重要性,"2018 年度 東京理科大学イメージングフロンティアセンターシンポジウム,東京理科大学・野田キャン パス,2018 年 12 月 15 日.

- 16. 稲毛太亮,熊山あかね,樋口真之,上野博史,田端和仁,野地博行,<u>政池知子</u>, "極微小体 積チャンバーに封入した蛍光標識リン酸結合タンパクによる実時間リン酸検出,"2018 年度 東京理科大学イメージングフロンティアセンターシンポジウム,東京理科大学・野田キャン パス,2018 年 12 月 15 日.
- 17. 竹村勁哉,小島知樹,山崎和生,大保貴嗣, Stefania Danko, 鈴木裕,<u>政池知子</u>,"ナノデ ィスク中の筋小胞体 Ca2+ATPase に標識された単一蛍光分子の角度と明滅による中間体構 造の評価,"日本生体エネルギー研究会第 44 回討論会,千葉大学西千葉キャンパス工学系総 合研究棟 2, 2018 年 12 月 7 日.
- 横田龍一,須河光弘,矢島潤一郎,<u>政池知子</u>,"1分子偏光 FRET 法により検出した FI-ATPase α-β間の逐次的な構造変化,"第 56 回日本生物物理学会年会,岡山大学津島キャンパス,2018年9月16日.
- 19. 佐藤友保,上野博史,林久美子,古賀理恵,古賀信康,野地博行,<u>政池知子</u>,"ヒンジ領域 を非触媒型に置換した触媒サブユニットをもつF1-ATPaseの回転トルクと反応速度,"第56
   回日本生物物理学会年会,岡山大学津島キャンパス,2018年9月15日.
- 20. 熊山あかね, 稲毛太亮, 樋口真之, 上野博史, 田端和仁, 野地博行, <u>政池知子</u>, "リン酸結 合蛋白を封入した水滴チャンバーアレイによるリン酸検出系の高度化,"第56回日本生物 物理学会年会, 岡山大学津島キャンパス, 2018年9月15日.
- 21. R. Yokota, M. Sugawa, J. Yajima, and <u>T. Masaike</u>, "A novel single-molecule polarized FRET method for the detection of sequential conformational changes in α and β subunits of F1- ATPase," the 2018 meeting on Single Biomolecules, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, USA, Aug. 30, 2018.
- 22. 椎名真之,末柄祐明,岩瀬寿仁,菅野悠,加藤孝信,瀬藤光利,西坂崇之,池上浩司,<u>政</u> <u>池知子</u>, "Loss of asymmetric features in ciliary beating of trachea revealed by polyglutamylation-deficient mice," Dynein 2017, the fourth international workshop on dynein, 淡路夢舞台国際会議場, 2017 年 10 月 29-31 日.
- 23. 横田龍一,須河光弘,野村勇太,矢島潤一郎,<u>政池知子</u>, "ATPase F1-ATPase のシリンダー 部分の1 分子立体構造変化観察,"第 55 回日本生物物理学会年会,熊本大学黒髪北地区, 2017 年 9 月 19-21 日.
- 上野博史,古賀理恵,<u>政池知子</u>,古賀信康,野地博行, "Rotation of the engineered F1-ATPase with alpha-type P-loop on catalytic beta subunit," 第55回日本生物物理学会 年会,熊本大学黒髪北地区,2017年9月19-21日.
- 25. <u>政池知子</u>, 稲毛太亮, 熊山あかね, 樋口真之, "リン酸結合蛋白を用いた、リン酸放出活性の1分子測定,"第7回分子モーター討論会, 東京大学本郷キャンパス理学部, 2017年7月

20日.

- 熊山あかね、稲毛太亮、樋口真之、田端和仁、野地博行、<u>政池知子</u>、"ドロップレットアレイに封入したリン酸結合タンパクによる1分子からの無機リン酸の実時間検出、"International Symposium on Imaging Frontier 2017、東京理科大学葛飾キャンパス、2017年7月8-9日.
- <u>T. Masaike</u>, "Imaging movements and reactions of biomolecules," 5th International Symposium on Bioimaging / Joint Symposium on Bioimaging between Singapore and Japan, Mechanobiology Institute, National University of Singapore, May 20, 2017. (招待講 演)
- 28. 樋口真之,田端和仁,野地博行,<u>政池知子</u>, "ドロップレットチャンバーアレイを用いてリン酸結合蛋白で検出する、1分子 F1-ATPase からのリン酸解離,"イメージングフロンティアセンターシンポジウム,東京理科大学・野田キャンパス,2016年12月10日.
- 29. 樋口真之,田端和仁,野地博行,<u>政池知子</u>,"リン酸結合蛋白を封入したフェムトリットル 体積のドロップレットアレイによる無機リン酸検出,"第 54 回日本生物物理学会年会,つくば国際会議場,2016年11月27日.
- 30. <u>政池知子</u>, "生体機動分子における化学反応と動きの可視化,"日本化学会第96春季年会シンポジウム, 同志社大学田辺キャンパス, 2016年3月27日. (招待講演)
- 31. 小野寺優,横田龍一,岩瀬寿仁,小島知樹,島知弘,岡田康志,<u>政池知子</u>, "ヌクレオチド 依存タンパク質の構造変化・機能観察,"東京理科大学総合研究院・イメージングフロンテ ィアセンター第1回シンポジウム,東京理科大学・野田キャンパス,2015年12月25日小 野寺優,中山莉奈子,島知弘,岡田康志,<u>政池知子</u>, "長円形マイクロチャンバー内におけ る微小管の動的不安定性,"第24回日本バイオイメージング学会学術集会,東京理科大学 葛飾キャンパス,2015年9月27日.
- 32. <u>政池知子</u>, "膜輸送蛋白等の計測における1分子顕微鏡観察とマイクロデバイスの活用,"
   第53回日本生物物理学会年会シンポジウム,金沢大学角間キャンパス,2015年9月15日.
   (招待講演)
- 33. 小野寺優, 島知弘, 岡田康志, <u>政池知子</u>, "長円形 PDMS チャンバー内における微小管の動 的不安定性,"第53回日本生物物理学会年会,金沢大学角間キャンパス, 2015 年 9月14日.

【特許】

1. 梅村和夫,<u>政池知子</u>,佐藤玄実,横田龍一,「蛍光検出方法及び蛍光検出装置」,特願2017-044186.

# 4-3 応用展開グループ

応用展開グループでは各メンバーが開発した基盤技術を統合して、新規イメージング技術の 開拓を進めてきた。曽我、上村、大久保らは、ひずみに応じて蛍光色が変化する柔軟高分子材料 や、歯科矯正治療において歯に働く力を計測するシステムを開発した。生体内部の温度分布を可 視化するレシオメトリック温度イメージングでは、希土類イオンを用いた蛍光プローブを作成し、 0.5℃程度の精度で絶対温度を推定することができた。 また、 生体深部の蛍光イメージングを可能 にする OTN-NIR 蛍光プローブや、新しい生体組織の透明化試薬を開発した。客員教授の大谷と共 同で、脂質とがん組織のハイパースペクトルイメージングによる鑑別において、マウスの肝臓に おける脂質分布の描出に成功した。後飯塚らは、脾臓器官形成に必須の転写因子である Tlx1 に 焦点をあて、Tlx1 発現細胞特異的な Tlx1 遺伝子の過剰発現ならびに欠損による解析を行い、造 血および白血病発症への脾臓間葉系細胞の関与について新たな知見を得た。古市らは、脳神経系 の情報伝達に関与するいくつかの神経機能分子について、脳内発現分布、微細形態、神経生理活 性のイメージング解析を行い、それぞれの分子の機能を明らかにした。また、認知行動を担うセ ルアセンブリの可視化に取り組み、学習強度の違いにより記憶痕跡細胞のサイズは変わらないが、 味覚皮質-扁桃体間の機能的相互作用がより強い学習において強化されることを明らかとした。 佐野らは、蛍光プローブ GCaMP を脳の任意の領域に発現させ、認知課題遂行中の神経活動をリア ルタイムで記録するために、マウス頭部に設置可能な小型蛍光顕微鏡を作製した。また、記憶形 成と記憶の取り込みを制御する転写因子 CREB の発現と Ca<sup>2+</sup>イメージングを同時に行う実験系を 確立した。植物試料のイメージングは、光合成色素等の自家蛍光物質を多く含む細胞壁があるた め色素導入や操作が困難であり、細胞体積の大部分を液胞が占めるため細胞質の可視化が困難で あるなど、植物特有の問題点が少なくない。朽津、北畑らは、客員准教授の檜垣、来須、客員研 究員の花俣らと共同して、農作物を含む植物における新規イメージング技術の開発を進めた。特 に、葯組織中の細胞内自食作用動態、コケ植物の長距離情報伝達、活性酸素種等のイメージング 解析、低温下での組織中の氷晶核の形成などの新規イメージング技術を開発した。また、多次元 情報可視化研究グループの由井、伴野、森作らと共同で、レーザー誘起表面変位顕微鏡を用いて 植物細胞表層のレオロジーを計測する手法を世界に先駆けて開発した。客員准教授の小関らと共 同で、誘導ラマン散乱顕微鏡を用いた植物細胞の新規イメージング手法を開発した。

## 「見えない情報を見せる」 イメージング技術の開拓 基礎工学部 材料工学科 曽我 公平

見たいのに見えない情報が生体内には多く存在する。本プロジェクトでは、「見えない理由」を 考察し、「見えるようにする」技術の開拓に取り組んだ。情報としては、従来生命科学者が「見て きた」情報である物質分布によるコントラストに加え、「温度」と「力」という代表的な不可視情 報であり、生命科学者が「見たことがない」生体内部のこれらの情報の可視化に取り組んだ。

1. 透明化

従来から見てきた物質分布によるコントラストについても、組織・生体の深部のコントラスト は見えない。そこで物質が不透明になる理由を物理の根本に立ち返って考察した。不透明になる 理由はたった二つであり、本来直進する光が「吸収される」か「曲がる」と見えなくなる。この うち「曲がる」現象は厄介であり、「吸収」による光の損失は照明の明るさや撮像系の感度の向上 で改善できるのに対し、「曲がる」現象はこれらの工夫はホワイトアウトを招くだけで、コントラ ストは損なわれてしまう。「曲がる」現象のうち、曲がった方向が規定される屈折と反射は場合に よっては補正可能であっても、方向がランダムで規定できない散乱は、最も厄介な光損失要因で ある。この「曲がる」現象はたった一つの屈折率、すなわち光の伝搬速度により決定される。そ して導電性がなく、多くは磁性体でもない生体組織において、屈折率は誘電率で決まる。その誘 電率自体は、物質中のイオンや分子によってもたらされる分極の、空間容積あたりのベクトル和 として考えることができる。生体におけるもっとも多い成分である水の屈折率は 1.33 であるの に対し、リン脂質からなる生体膜近傍ではおおむね 1.43 程度の高い屈折率になる。ミクロンレ ベルで生体膜がランダムな方向と様々な密度で存在している生体組織は散乱が強い。この散乱は 空間の屈折率が均一になれば回避できる。生体膜近傍の屈折率を水に合わせるのは難しい。しか し、水の屈折率は比較的簡単に上げることができる。効率よく屈折率を上げるには強い電荷をも ったイオンが最も効率が良い。この考察により、生体内にもともと多く存在する3価のイオンで ある PO4<sup>3</sup>を生体組織に添加したところ、組織の散乱を抑えて透明化することができた[M. Umezawa et al., RSC ADV, 9 (2019) 15269-15276.10.1039/C9RA01445D.]。しかもリン酸イオンは浸透性 が高いために、この透明化は約1時間で起こる。しかし残念なことに高濃度のリン酸溶液中では 細胞は死んでしまう。多くの透明化試薬が考案されているが、残念ながら生きたまま透明性を得 ることは難しい。そこでもう一歩踏み込んでマクスウェル方程式を弄り回してみると気が付くこ とは、電子による光吸収が起こる紫外域と、分子分極の振動により光吸収が起こる中赤外域では、 物質間の共鳴吸収の振動数が異なるために、大きな屈折率の差が生じることである。結果として その中間、すなわち近赤外波長域では、可視光域よりははるかに高い生体組織の透明性が得られ る。そこで、次に不可視情報である「温度」と「力」のイメージングに、近赤外蛍光を用いて取 り組むことにした。

2. 近赤外蛍光による温度のイメージング

蛍光スペクトルは、蛍光を発するイオン、分子の周囲の様々な情報によって変化する。筆者ら は異なる2波長で近赤外蛍光を発し、その蛍光強度比が室温付近の温度変化により変化する蛍光 プローブを作製し、生体深部の温度の検出を試みた[M. Kamimura et al., J. Mater. Chem. B, 5 (2017) 1917-1925.]。レシオメトリック法と呼ばれるこの方法では、波長選択フィルターを切り 替えた二波長の蛍光像の強度を叙するだけで温度を知ることができる簡便さが大きなメリット である。また、1000-1700 nmの長波長近赤外 (OTN-NIR: over-1000-nm near infrared)光は cm オーダーの生体透過性があるため、表面の温度をイメージングするサーモグラフでは検出できな い生体深部の情報検出に向いている。また、蛍光の強度比を用いるので、蛍光体の濃度、励起光 強度の変化などの様々な外乱要因の影響を受けない。ところが、実際に生体を用いて実験してみ ると、生体深部のイメージングでは温度推定に補正関数が必要となることがわかった[S. Sekiyama et al., Sci. Rep., 8 (2018) 16979-.10.1038/s41598-018-35354-y.]。これは、透明 性の高い近赤外領域においてももともとは禁制遷移である分子振動に伴う分極振動(中赤外の吸 収)の倍音や結合音の影響で、中赤外域の約 1/100 程度の微弱吸収が存在するためであることが わかった。実際この吸収は分子の情報を含んでおり、これを手掛かりに、もともと非染色では分 子濃度の可視化に取り組んだ結果は、筆者らのグループと、客員研究員である大谷直子氏との共 同研究の成果としてこの報告書に掲載している。いずれにしてもレシオメトリックな温度イメー ジングにおいてはこの波長による吸収の違いは邪魔になる。そこで、波長により異なる透過性の 影響を受けない蛍光の時間変化を手がかりに絶対温度を推定する TGI(time gated imaging)新た なイメージングに取り組んだ。パルス励起光を投入後にタイミングを変えた数枚の蛍光画像を撮 像し、その時間変化を解析することにより絶対温度を推定する方法である。希土類イオンを蛍光 体として用いた場合には、その長い蛍光寿命(サブミリ秒)を用いて、特殊な撮像系を用いなくて も TGI が可能であり、上皮や筋層など異なる生体組織を透過した光においても問題なく絶対温度 の推定が可能であった[T. Chihara et al., Sci. Rep., 9 (2019) 12806-. 10. 1038/s41598-019-49291-x.]。

3. 力の蛍光イメージング

温度と並んで不可視情報の一つである「力」は、メカノバイオロジーの発達とともに最も興味 が光れる「見えない」情報の一つである。実際に力そのものを見ることは難しいが、多くの場合 歪を力に変換して計測される。FRET イメージングに用いられているように2種の異なる蛍光体を 結合すると、その感覚により2種の蛍光体の蛍光強度比が変化することを利用すると、観察部位 の変形度合いのイメージングが可能になる。エネルギー移動原理では距離の色素間の距離の6乗、 蛍光再吸収原理では距離の2乗に反比例して蛍光強度比が変化する。外科で施されるようなマク ロスコピックなメカノセラピーでは実際に生じる応力の分布の可視化が求められている。筆者ら は、2種の異なる色素をドープした高分子に変形を与えて蛍光イメージングを行うことにより、 応力に伴うひずみの分布を描出することができた[G. Yeroslavsky, J. Photopolym. Sci. Tech., 31 (2018) 533-540. https://doi.org/10.2494/photopolymer. 31.533.]。

# 【学術論文】

- <u>K. Soga,</u> M. Kamimura, K. Okubo, M. Umezawa, D. T. K. Dung, K. Nigoghossian, "Near Infrared Biomedical Imaging for Transparency," Journal of the Imaging Society of Japan, vol. 58, pp. 602-616, 2019.
- T. Chihara, M. Umezawa, K. Miyata, S. Sekiyama, N. Hosokawa, K. Okubo, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Biological Deep Temperature Imaging with Fluorescence Lifetime of Rare-Earth-Doped Ceramics Particles in the Second NIR Biological Window," Sci. Rep., vol. 9, 12806, 2019.
- M. Kamimura, Y. Ueya, E. Takamoto, K. Iso, M. Yoshida, M. Umezawa, and <u>K. Soga</u>, "Fluorescent Polystyrene Latex Nanoparticles for NIR-II in vivo Imaging," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 31, pp. 93-96, 2019.
- G. Yeroslavsky, M. Umezawa, K. Okubo, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Photostabilization of Indocyanine Green Dye by Energy Transfer in Phospholipid-PEG Micelles," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 32, pp. 115-121, 2019.
- M. Umezawa, S. Haruguchi, R. Fukushima, S. Sekiyama, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Rapid increase in transparency of biological organs by matching refractive index of media to cell membrane using phosphoric acid," RSC Advances, vol. 9, pp. 15269-15276, 2019.
- 6. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "近赤外蛍光プローブによる生体内イメージング法の開発," ぶんせ き, vol. 3, pp. 114-117, 2019.
- S. Sekiyama, M. Umezawa, Y. Iizumi, T. Ube, T. Okazaki, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Delayed Increase in Near-Infrared Fluorescence in Cultured Murine Cancer Cells Labelled with Oxygen-Doped Single-Walled Carbon Nanotubes," Langmuir, vol. 35, pp. 831-837, 2019.
- 8. <u>曽我公平</u>, 上村真生, "近赤外蛍光イメージングプローブ," 実験医学, vol. 36, 3526-3527, 2018.
- S. Sekiyama, M. Umezawa, S. Kuraoka, T. Ube, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Temperature Sensing of Deep Abdominal Region in Mice by Using Over-1000 nm Near-Infrared Luminescence of Rare-Earth-Doped NaYF<sub>4</sub> Nanothermometer," Sci. Rep., vol. 8, 16979, 2018.
- 10. 上村真生, 曽我公平, "希土類含有セラミックスナノ粒子のがん診断・医療への応用," FC Report, vol. 36 pp. 157-160, 2018.
- 11. 曽我公平, 上村真生, "近赤外励起バイオフォトニクスのセラノスティックスへの展開,"

### 業績

Drug Delivery System, vol. 33, pp. 223-231, 2018.

- G. Yeroslavsky, M. Kamimura, R. Inoue, Y. Kogo, and <u>K. Soga</u>, "Visual Mapping of Strain in Elastic Silicone Polymers Using Fluorescence," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 31 pp. 533-540, 2018.
- Y.-C. Tsai, P. Vijayaraghavan, W.-H. Chiang, H.-H. Chen, T.-I. Liu, M.-Y. Shen, A. Omoto, M. Kamimura, <u>K. Soga</u>, and H.-C. Chiu, "Targeted Delivery of Functionalized Upconversion Nanoparticles for Externally Triggered Photothermal/Photodynamic Therapies of Brain Glioblastoma," Theranostics, vol. 8, 1435-1448, 2018.
- L. Wortmann, S. Suyari, T. Ube, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Tuning the thermal sensitivity of β-NaYF4: Yb3+, Ho3+, Er3+ nanothermometers for optimal temperature sensing in OTN-NIR (NIR II/III) biological window," Journal of Luminescence, vol. 198, pp. 236-242, 2018.
- 15. W. J. Lai, Y. Midorikawa, Z. Kanno, H. Takemura, K. Suga, K. Soga, T. On, and M. Uo, "A new orthodontic force system for moment control utilizing the flexibility of common wires: Evaluation of the effect of contractile force and hook length," Journal of the Formosan Medical Association, vol. 117, pp. 71-79, 2018.
- M. Kamimura, S. Takahiro, M. Yoshida, Y. Hashimoto, R. Fukushima, and <u>K. Soga</u>, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Biodegradable Polymer Nanoparticles for Deep Tissue in vivo Imaging in the Second Biological Window," Polymer Journal, vol. 49, pp. 799-803, 2017.
- 17. <u>曽我公平</u>, 上村真生, "近赤外光イメージング," 生体の科学, vol. 68, pp. 398-399, 2017.
- T. Chihara, S. Fujii, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Green Color Purity Control of Dual-Excitation Upconversion Display by Using Polymer/NaYF4:Er3+ Crystal Transparent Composite," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 30, pp. 437-443, 2017.
- M. Kamimura, Y. Yano, S. Kuraoka, S. Suyari, T. Ube, L. Wortmann, and <u>K. Soga</u>, "Near-Infrared to Visible Upconversion Emission Induced Photopolymerization: Polystyrene Shell Coated NaYF4 Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging and Nanothermometry," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 30, pp. 265-270, 2017.
- M. Kamimura, A. Omoto, H.-C. Chiu, and <u>K. Soga</u>, "Enhanced Red Upconversion Emission of NaYF4: Yb3+, Er3+, Mn2+ Nanoparticles for Near-Infrared Induced Photodynamic Therapy and Fluorescence Imaging," Chemistry Letters, vol. 46, pp. 1076-1078, 2017.
- M. Kamimura, T. Matsumoto, S. Suyari, M. Umezawa, and <u>K. Soga</u>, "Ratiometric Near-Infrared Fluorescence Nanothermometry in the OTN-NIR (NIR II/III) Biological Window

Based on Rare-Earth Doped  $\beta$ -NaYF4 Nanoparticles," Journal of Materials Chemistry B, vol. 5, pp. 1917-1925, 2017.

- 22. <u>曽我公平</u>, 上村真生, "OTN 近赤外蛍光バイオイメージングシステムの開発," 生物物理, vol. 57, pp. 81-84, 2017
- と村真生、<u>曽我公平</u>, "「第2の生体の窓」の波長域を利用する近赤外蛍光バイオイメージ ング,"月刊バイオインダストリー, vol. 34, pp. 1-7, 2017.
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Application of Ceramic Nanoparticles for Near Infrared Bioimaging," Proceedings of the IV Advanced Ceramics and Applications Conference, pp. 77-86, 2017.
- W. Lai, Y. Midorikawa, Z. Kanno, H. Takemura, K. Suga, <u>K. Soga</u>, T. Ono, and M. Uo, "Development and modification of a device for three-dimensional measurement of orthodontic force system: The V-bend system re-visited," DENTAL MATERIALS JOURNAL, vol. 35, pp. 908-917, 2016.
- 26. 緑川善之,竹村裕,溝口博,<u>曽我公平</u>,上村真生,須賀一博,賴威任,簡野瑞誠,宇尾基弘, "下顎模擬歯列の6軸矯正力評価に関する研究," LIFE 2016 講演要旨集(第32回ライ フサポート学会大会,第16回日本生活支援工学会大会,日本機械学会 福祉工学シンポジウ ム 2016),2016.
- 27. Y. Midoriakawa, H. Takemura, H. Mizoguchi, K. Soga, M. Kamimura, K. Suga, W.-J. Lai, Z. Kanno, and M. Uo, "Six-Axis Orthodontic Force and Moment Sensing System for Dentists Technique Training," Proceedings of the 38th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Sciety, pp 2206-2209, 2016.
- Y. Midorikawa, H. Takemura, H. Mizoguchi, K. Soga, M. Kamimura, K. Suga, W.-J. Lai, Zu. Kanno, and M. Uo, "Development of Orthodontic Force and Moment Sensing System for Dentist Training," Proceedings of XIV International Symposium on 3D Analysis of Human Movement (3D-AHM2016), pp. 253-254, 2016.
- S. Watanabe, Y. Ishii, <u>K. Soga</u>, and M. Matsumoto, "Calcination-free micropatterning of upconversion luminescent layers consisting of rare-earth-doped ceramic nanoparticles on wettability-patterned flexible plastic sheets by soft-liquid phase adsorption," COLLOIDS AND SURFACES A-PHYSICOCHEMICAL AND ENGINEERING ASPECTS, vol. 506, pp. 210-219, 2016.
- 30. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "波長 1000 nm を超える近赤外蛍光イメージング," バイオマテリア ルー生体材料-, vol. 34, pp. 184-189, 2016.
- 海澤雅和,新海雄介,小野田淳人,武田健,上村真生,<u>曽我公平</u>, "動物体内におけるナノ 粒子の未知なる動態メカニズムと検出技術改善のニーズ," バイオイメージング, vol. 25, pp. 22-27, 2016.

- 32. 緑川善之,竹村裕,溝口博,<u>曽我公平</u>,上村真生,須賀一博,頼威任,簡野瑞誠,宇尾基 弘,"口腔内環境の温度変化が矯正力に及ぼす影響,"日本機械学会ロボティクス・メカトロ ニクス講演会 2016 (ROBOMECH2016) 講演論文集, 1A2-03a6, 2016.
- 岸本英博、福田啓介、竹下寛之、<u>曽我公平</u>, "希土類ナノ粒子 OTN 近赤外蛍光プローブによるマウス in vivo イメージングの応用," バイオイメージング, vol. 25, pp. 16-18, 2016.
- M. Kamimura, R. Saito, H. Hyodo, K. Tsuji, I. O. Umeda, H. Fujii, and <u>K. Soga</u>, "Over-1000 nm Near-infrared Fluorescence and SPECT/CT Dual-modal in vivo Imaging Based on Rare-earth Doped Ceramic Nanophosphors," JOURNAL OF PHOTOPOLYMER SCIENCE AND TECHNOLOGY, vol. 29, pp. 525-532, 2016.
- 35. <u>曽我公平</u>, "SBW イメージングの現状と課題,"バイオイメージング, vol. 25, pp. 9-10, 2016.
- 36. 河西真依,安田裕哉,竹村裕,溝口博,<u>曽我公平</u>,金子和弘,"近赤外光を用いた診断支援 システムに向けた波長選定手法,"LIFE 2016 講演要旨集 (第 32 回ライフサポート学会 大会,第16 回日本生活支援工学会大会,日本機械学会 福祉工学シンポジウム 2016),2016.
- <u>曽我公平</u>, 上村真生, "第2の生体の窓における OTN (over 1000 nm) 蛍光バイオイメージ ング," JSMI Report, vol. 9, pp. 12–17, 2016.
- D. Jaque, C. Richard, B. Viana, <u>K. Soga</u>, X. Liu, and J. G. Sole, "Inorganic nanoparticles for optical bioimaging," Advances in Optics and Photonics, vol. 8, pp. 1-103, 2016.
- 高際良樹, 黒田訓英, 今井恵利華, 金沢育三, 兵藤宏, <u>曽我公平</u>, 木村薫, "金属ドープ β-菱面体晶ボロンにおける熱電特性向上と p-n 特性制御,"日本金属学会誌, vol. 79, pp. 581-585, 2015.
- 40. M. Kasai, Y. Yasuda, H. Takemura, H. Mizoguchi, <u>K. Soga</u>, and K. Kaneko, "Spatial Classification based on Wavelength Channels Reduction with Near-infrared Hyperspectral Imaging," Proceedings of The 18th Meeting on Image Recognition and Understanding, 2015.
- M. Kasai, T. Isjikawa, Y. Yasuda, H. Mizoguchi, H. Takemura, <u>K. Soga</u>, and K. Kaneko, "Classification of Splanchnic tissue using Near-infrared Hyperspectral Imaging Camera," Proceedings of The 8th Asian-Pacific Conference on Biomechanics (APBiomech2015), 2015.
- Y. Midorikawa, H. Takemura, H. Mizoguchi, <u>K. Soga</u>, M. Kamimura, K. Suga, W.-J. Lai,
   Z. Kanno, and M. Uo, "Development of a Multipoint Orthodontic Six Axis Forces Measuring Device for Dentist's Training," Proceedings of The 8th Asian-Pacific Conference on Biomechanics (APBiomech2015), 2015.
- 43. 河西真依,安田裕哉,竹村裕,溝口博, <u>曽我公平</u>,金子和弘, "近赤外ハイパースペクトル

データを用いた空間削減による特徴量抽出と領域識別,"生体医工学シンポジウム 2015 講 演予稿集, 2015.

- 44. S. Watanabe, T. Asanuma, T. Sasahara, H. Hyodo, M. Matsumoto, and <u>K. Soga</u>, "3D Micromolding of Arryed Waveguide Gratings on Upconversion Luminescent Layers for Flexible Transparent Displays without Mirrors, Electrodes, and Electric Circuits," ADVANCED FUNCTIONAL MATERIALS, vol. 25, pp. 4390-4396, 2015.
- 45. M. Kamimura, S. Suyari, T. Matsumoto, and <u>K. Soga</u>, "Surface modification on rareearth doped ceramic nanophosphors via ligand exchange method," JOURNAL OF PHOTOPOLYMER SCIENCE AND TECHNOLOGY, vol. 28, pp. 711-713, 2015.
- 46. 緑川善之,竹村裕,溝口博,<u>曽我公平</u>,上村真生,須賀一博,頼威任,簡野瑞誠,宇尾基 弘,"歯列矯正力の定量的評価を目的とした 6 軸力多点同時計測装置の開発,"日本機械学 会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2015 (ROBOMECH2015) 講演論文集, 2A1-B10, 2015.
- 47. 河西真依,安田裕哉,竹村裕,溝口博,<u>曽我公平</u>,金子和弘,"近赤外ハイパースペクトル カメラを用いた領域分割に関する研究,"日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演 会 2015(ROBOMECH2015)講演論文集, 1P1-D01, 2015.
- 48. 河西真依,石川拓海,竹村裕,溝口博,<u>曽我公平</u>,金子和弘,"近赤外ハイパースペクトル カメラを用いた悪性腫瘍の特徴量抽出に関する研究,"日本機械学会関東学生会第 54 回学 生員卒業研究発表講演会講演論文集, 2015.
- 49. 緑川善之,竹村裕,溝口博,<u>曽我公平</u>,上村真生,須賀一博,頼威任,簡野瑞誠,宇尾基 弘,"歯科医のトレーニングを目的とした 6 軸歯列矯正力多点同時計測装置の開発,"日本 機械学会関東学生会第 54 回学生員卒業研究発表講演会講演論文集,2015.

### 【学会発表】

- <u>K. Soga</u>, M. Kamimura, K. Okubo, M. Umezawa, D. T. K. Dung, K. Nigoghossian, and G. Yeroslavsky, "Materials Design and Processing for Near Infrared Biomedical Photonics with Transparency," 107th Indian Science Congress, Materials Science Section, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India, Jan. 3-7, 2020. (Invited)
- K. Okubo, Y. Kitagawa, N. Hosokawa, M. Umezawa, M. Kamimura, N. Ohtani, and <u>K. Soga</u>, "Quantitative Visualization of Lipid Distribution in Mouse Livers by Using Near-Infrared Hyperspectral Imaging," 107th Indian Science Congress, Materials Science Section, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India, Jan. 3-7, 2020. (Invited)
- M. Umezawa, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, D. T. K. Dung, K. Okubo, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Functional Bioimaging for Deep Tissues Using Over-1000-nm Near-Infrared Fluorescent Materials," 107th Indian Science Congress, Materials Science

Section, University of Agricultural Sciences, Bangalore, India, Jan. 3-7, 2020. (Invited)

- G. Yeroslavsky, M. Umezawa, K. Okubo, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Stabilization of Indocyanine Green Dye in Micellar Systems for Various Bio-applications," OKINAWA COLLOIDS 2019, Bankoku Shinryokan, Nago, Okinawa, Japan, Nov. 3-8, 2019.
- M. Umezawa, Shinsuke Haruguchi, Kazushi Yamaguchi, M. Kamimura, K. Otomo, Tomomi Nemoto, and <u>K. Soga</u>, "Phosphate-Based Rapid Optical Clearing for Three-Dimensional Fluorescence Imaging of Mouse Brains," Resonance Bio International Symposium (RBIS 2019), Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, Oct. 30-Nov. 1 2019.
- T. HIiroto, <u>K. Soga</u>, and K. Kimura, "X-Ray Diffraction Study on Structural Change around 550 K in Photoexcitation Behavior of Microsized β-Rhombohedral Boron," 20th International Symposium on Boron, Boride and Related Materials (ISBB2019), Niigata, Niigata, Japan, Sep. 22-27, 2019.
- G. Yeroslavsky, K. Okubo, and <u>K. Soga</u>, "Photostabilization of indocyanine green dye by energy transfer in phospholipid-PEG micelles," ICPST-36 The 36th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 24-27, 2019.
- T. Chihara, M. Umezawa, K. Miyata, S. Sekiyama, N. Hosokawa, K. Okubo, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Biological Deep Thermal Imaging with Fluorescence Lifetime of Rare-Earth-Based Ceramics Particles that Emit Near-Infrared Light in the Second Biological Window," QBI 2019 - Quantitative Bioimaging Conference, Rennes, France, Jan. 9-11, 2019.
- 9. 上村真生、吉田萌、梅澤雅和、<u>曽我公平</u>, "NIR-II 蛍光ポリマーミセルによる in vivo イメ ージング," 第68回高分子討論会,福井大学, 2019 年 9 月 25-27 日.
- <u>K. Soga</u>, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, T. K. D. Doan, K. Okubo, M. Umezawa, and M. Kamimura, "Nanostructure for Near Infrared Luminescence for Biomedical Application," 2nd Ingternational Conference on Semiconductor, Optoelectronics and Nanostructures (ICSON 2019), Barcelona, Spain, Aug. 19-20, 2019. (Invited)
- <u>曽我公平</u>, "蛍光で絶対温度を見る," Biothermology Workshop 2019, 京都龍谷大学深草キャンパス, 京都, 2019 年 12 月 26-27 日. (招待講演)
- <u>曽我公平</u>, "生体イメージング," 第41回日本バイオマテリアル学会大会, 筑波大学, つくば, 茨城, 2019年11月24日-26日. (招待講演)
- <u>K. Soga</u>, "Materials and Device Development of Near Infrared Photonics for Biomedical Applications," INTERNATIONAL CONFERENCE ON PHOTONICS RESEARCH (INTER-PHOTONICS 2019, Antalya, Turkey, Nov. 4-9, 2019. (Invited)

- 14. <u>K. Soga</u>, K. Nigoghossaian, G. Yeroslabsky, T. K. D. Doan, M. Umezawa, K. Okubo, M. Kamimura, and N, Ohtani, "Near Infrared Biomedical Imaging for Visualizing Subcutaneous and Submucosal Information," The 6th International Symposium on Bioimaging & The 28th Annual Meeting of the Bioimaging Society, Teikyo University, Itabashi Campus, Tokyo, Japan, Sep. 21-23, 2019. (Invited)
- M. Umezawa, M. Kamimura, K. Okubo, and <u>K. Soga</u>, "Control and real-time imaging of in vivo distribution and excretion of near-infrared fluorescent nanoparticles," ICPST-36 The 36th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 24-27, 2019. (Invited)
- M. Kamimura, Y. Ueya, E. Takamoto, K. Iso, M. Yoshida, M. Umezawa, and <u>K. Soga</u>, "Fluorescent Polystyrene Latex Nanoparticles for NIR-II in vivo Imaging," ICPST-36 The 36th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 24-27, 2019. (Invited)
- 17. K. Okubo, T. Chihara, M. Umezawa, K. Miyata, S. Sekiyama, N. Hosokawa, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Biological deep temperature imaging with fluorescence lifetime of rare-earth doped ceramics particles in the second NIR biological window," ICPST-36 The 36th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 24-27, 2019. (Invited)
- <u>K. Soga</u>, M. Umezawa, K. Okubo, and M. Kamimura, "Decomposable Nanostructure Design for Medical Use of Rare-Earth Doped Ceramic Nanoparticles," ICMAT 2019; 10th International Conference on Materials for Advanced Technologies, Marina Bay Sands, Singapore, June 23-28, 2019. (Invited)
- <u>K. Soga</u>, M. Umezawa, K. Okubo, and M. Kamimura, "Design and Processing for Nanoparticle-Based Probes for OTN-NIR Biophotonics," ICMAT 2019; 10th International Conference on Materials for Advanced Technologies (Marina Bay Sands, Singapore, Singapore, June 23-28, 2019. (Invited)
- <u>K. Soga</u>, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, T. K. D. Doan, M. Umezawa, K. Okubo and M. Kamimura, "Biophotonics with cm Level Transparency by the Use of Near Infrared Light," CCMR 2019 Collaborative Conference on Materials Research, Kintex, Goyang Gyeonggi, South Korea, June 3-7, 2019. (Invited)
- S. Sekiyama, M. Umezawa, S. Kuraoka, T. Ube, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Temperature Sensing of Deep Abdominal Region in Mice by Using Over-1000 nm Near-Infrared Luminescence of Rare-Earth-Doped NaYF4 Nanothermometer," QBI 2019 -Quantitative Bioimaging Conference, Rennes, France, Jan. 9-11, 2019. (Invited)
- 22. H.-C. Chiu, Y.-C. Tsai, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Site-Specific Delivery of Hybrid Upconversion Nanoparticles for Photo-Activated Multimodal Therapies of

Glioblastoma," 1st Controlled Release Asia (CRA) Meeting, Biopolis, Singapore, Sep. 24-25, 2018.

- M. Umezawa, M. Kamimura, A. Honda, and <u>K. Soga</u>, "Reduced Toxicity of Near-Infrared Fluorescent Nanoparticle by Covalent Modification of Poly (Ethylene Glycol) for Deep Bioimaging," NanoTox 2018 - 9th International Conference on Nanotoxicology, Dorint-Hotel Neuss, Germany, Sep. 18-22, 2018.
- M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Near-Infrared Light Triggered Theranostics Based on Polymer Modified Nanophosphors," The 35th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 25-28, 2018.
- 25. G. Yeroslavsky, M. Kamimura, R. Inoue, Y. Kogo, and <u>K. Soga</u>, "Visual Mapping of Strain in Elastic Silicone Polymers Using Fluorescence Energy Transfer," The 35th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 25-28, 2018.
- <u>K. Soga</u>, M. Kamimura, and M. Umezawa, "Nanomaterials for OTN-NIR Biophotonics," The American Ceramic Society, 2018 Glass & Optical Materials Division Annual Meeting (GOMD 2018), Sanantonio, TX, USA, May 20-24, 2018.
- Y.-C. Tsai, M. Kamimura, <u>K. Soga</u>, and H.-C. Chiu, "Site-Specific Delivery of Hybrid Upconversion Nanoparticles for Photo-Activated Multimodal Therapies of Glioblastoma," 20th International Conference on Biomolecular Engineering and Drug Development (ICBEDD 2018), New York, USA, Apr. 19-20, 2018.
- 28. S. Haruguchi, M. Umezawa, S. Sekiyama, K. Okubo, M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Rapid Clearing of Biological Tissues by Matching Refractive Index between Cell Membrane and Media Using Phosphoric Acid," 第28回日本MRS 年次大会,北九州国際会議場・西 日本総合展示場, 2018 年 12 月 18-20 日.
- 29. H. Kobayashi, M. Umezawa, S. Sekiyama, K. Okubo, M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Synthesis of Bright NIR-II Fluorescent Polymer Nanoparticle with IR-1061 Dye via Mild Heating-Cooling Process for Deep Bioimaging in the Second Biological Window," 第 28 回日本 MRS 年次大会,北九州国際会議場・西日本総合展示場, 2018 年 12 月 18-20 日.
- 30. 梅澤雅和, 上村真生, <u>曽我公平</u>, "ナノ粒子の体内分布及び排泄の制御とライブイメージン グ," 第13回ナノ・バイオメディカル学会, 東京理科大学神楽坂キャンパス, 東京, 2018 年11月27日.
- 31. 佐藤大幹,池松弘朗,桑田健,矢野友規,高松利寛,細川直輝,前田耕輔,梅澤雅和,大 久保喬平,上村真生,竹村裕,横田秀夫,<u>曽我公平</u>, "Development of Near-Infrared Hyperspectral Imaging Endoscopy,"第26回日本消化器関連学会週間,神戸コンベンショ ンセンター,2018年11月1-4日.
- 32. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "体内深部を可視化する波長 1000nm を超える近赤外蛍光高分子ナノ

粒子," 第67回高分子討論会,北海道大学,札幌,2018年9月12-14日.

- 33. 上村真生, 吉田萌, 梅澤雅和, <u>曽我公平</u>, "近赤外蛍光高分子ナノ粒子による波長 1000nm を超える in vivo イメージング,"第 47 回医用高分子シンポジウム, 産業技術総合研究所 臨海副都心センター, 2018 年 7 月 19-20 日.
- 34. 梅澤雅和, 上村真生, 本田彬, <u>曽我公平</u>, "生体深部イメージングのための近赤外蛍光ナノ 粒子の生体適合ポリマー修飾による低毒性化,"第45回日本毒性学会学術集会, 大阪国際 会議場, 大阪, 2018年7月18-20日.
- 35. 梅澤雅和,上ノ町友紀,千原拓未,上村真生,<u>曽我公平</u>,"蛍光波長の異なる希土類ドープ NaYF4 粒子の OTN 近赤外蛍光の生体透過性,"日本薬学会 138 年会,金沢県立音楽堂,金沢, 2018 年 3 月 25-28 日.
- <u>K. Soga</u>, "Materials and System Development for Near Infrared Biophotonics with Transparency," ADVANCED CERAMICS AND APPLICATION VII, Belgrade, Serbia, Sep. 17-19, 2018. (Invited)
- <u>K. Soga</u>, G. Yeroslavsky, K. Nigoghossian, M. Umezawa, K. Okubo and M. Kamimura, "OTN (over-1000-nm) NIR PHOSPHORS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS," Phosphor safari 2018 International Symposium for Phosphor Materials, Koreana Hotel, Seoul, Republic of Korea, Nov. 4-7, 2018. (Invited)
- K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, M. Umezawa, K. Okubo, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Rare-earth doped ceramic nanophosphors for applications in nanomedicine," ICOOPMA2018 - 8th International Conference on Optical, Optoelectronic and Photonic Materials and Applications, Maresias-SP, Brazil, Aug. 26-31, 2018. (Invited)
- <u>K. Soga</u>, "Application of Rare-Earth Doped Ceramic Nanomaterials for OTN-NIR Biomedical Photonics," International Conference on Semiconductors, Optoelectronics and Nanostructures (ICSON 2018), Paris, France, Aug. 20-21, 2018. (Invited)
- 40. K. Soga, M. Kamimura, and M. Umezawa, "Nanomatter Fluorescence Imaging in Animal Bodies," 12th International Conference on Ceramic Materials and Components for Energy and Environmental Applications (CMCEE 2018), Singapore, Singapore, July 22-27, 2018. (Invited)
- <u>曽我公平</u>, "OTN 近赤外光のメディカルフォトニクス応用," 第27回日本がん転移学会学術 集会,メルパルク横浜,神奈川,2018年7月19-20日.(招待講演)
- <u>K. Soga</u>, M. Kamimura, and M. Umezawa, "Polymer Nanocomplex for Near Infrared Biophotonics," The 35th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 25-28, 2018. (Invited)
- 43. <u>曽我公平</u>, "希土類とバイオメディカルイメージング,"第34回希土類討論会, タワーホー ル船堀, 東京都, 2018年5月15-16日. (招待講演)

- 44. T. Hongo, <u>K. Soga</u> and K. Kimura, "Study of Photo-Excited Electron Behavior of β-Rhombohedral Boron by Optical Absorption and Reflection Spectra from Gap States," 19th International Symposium on Boron, Borides and Related Materials (ISBB 2017), University of Freiburg, Freiburg, Germany, Sep. 4-7, 2017.
- 45. G. Yeroslavsky, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Visual Mapping of Strain in Elastic Polymers Based on Förster Resonance Energy Transfer (FRET) Phenomena," International Symposium on Imaging Frontier 2017 (ISIF 2017), Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8-9, 2017.
- <u>K. Soga</u>, G. Yeroslabsky, L. Wortmann, M. Umezawa, and M. Kamimura, "Potential of OTN-NIR (NIR II/III) for Various Scenes of Bioimaging," International Symposium on Imaging Frontier 2017 (ISIF 2017), Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8-9, 2017.
- 47. <u>K. Soga</u>, G. Yeroslabsky, L. Wortmann, M. Umezawa, and M. Kamimura, "Second Biological Window: The Key for the Next Generation Bioimaging," International Symposium on Imaging Frontier 2017 (ISIF 2017), Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8-9, 2017.
- 48. T. Chihara, S. Fujii, M. Kamimura, and <u>K. Soga</u>, "Green Color Purity Control of Dual-Excitation Upconversion Display by Using Polymer/NaYF4:Er3+ Crystal Transparent Composite," The 34th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, Japan, June 26-29, 2017.
- 49. M. Kamimura, Y. Yano, S. Kuraoka, S. Suyari, T. Ube, L. Wortmann, and <u>K. Soga</u>, "Near-Infrared to Visible Upconversion Emission Induced Photopolymerization: Polystyrene Shell Coated NaYF4 Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging and Nanothermometry," The 34th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, Japan, June 26-29, 2017.
- 50. M. Umezawa, M. Kamimura, M. Yoshida, and <u>K. Soga</u>, "Real-Time and Non-Invasive Imaging of Biodistribution of Nanoparticles by Using OTN-NIR Fluorophore in Mice," 8th International Symposium on Nanotechnology, Occupational and Environmental Health, Konventum Congress Center, Elsinore, Denmark, May 29-June 1, 2017.
- 51. 関山翔太,倉岡修平,梅澤雅和,上村真生,<u>曽我公平</u>,"体内深部の局所温度を計測するための波長 1000 nm を超える近赤外(OTN-NIR) 蛍光温度イメージング," 日本医科大学・東京 理科大学 第4回合同シンポジウム,東京理科大学神楽坂キャンパス,2017 年 12月9日.
- 52. 上村真生,大本歩,関山翔太,梅澤雅和,邱信程,<u>曽我公平</u>, "がんイメージングと治療の ための近赤外光励起型ナノセラノスティクス粒子," 第 39 回日本バイオマテリアル学会大 会,タワーホール船堀,東京,2017 年 11 月 20-21 日.
- 53. 上村真生、大本歩、関翔太、梅澤雅和、邱信程、<u>曽我公平</u>、"生体深部のがん診断・治療の

ための近赤外光刺激応答型セラノスティックナノ粒子," 第66回高分子討論会,愛媛大学, 愛媛,2017年9月20-22日.

- 54. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "波長 1000nm を超える近赤外 (OTN-NIR) 蛍光ナノ粒子による生体内深 部の観察,"日本分析化学会第66年会, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2017年9月9-12日
- 55. 渡邉智, P. T. Theint, 上村真生, 鬼束優香, <u>曽我公平</u>, 國武雅司, "ポリメタクリル酸メ チルグラフト希土類元素含有セラミックスナノ粒子によるアップコンバージョン発光セル フサポートフィルムの創出," 第66回高分子学会年次大会,幕張メッセ,千葉, 2017年5 月 29-31 日.
- <u>K. Soga</u>, "Application of OTN-NIR (NIR II/III) for Transparent Biomedical Photonics," Emerging Technologies 2017 Conference, Hotel Sofitel Warsaw Victoria, Warsaw, Poland, May 29-30, 2017.
- 57. 上村真生, 松本泰来, 須鎗聡, <u>曽我公平</u>, "第2の生体の窓を利用する近赤外蛍光ナノ温度 イメージング,"第37回日本バイオマテリアル学会大会, 京都テルサ, 2015年11月9-10 日 May 29-30, 2017.
- 58. 本郷智之, <u>曽我公平</u>, 木村薫, "β-菱面体晶ボロンの光励起挙動のギャップ内準位吸収スペクトルによる解明," 日本物理学会第72回年次大会(2017年), 大阪大学豊中キャンパス, 大阪, 2017年3月17-20日.
- 59. 関谷健太,上村真生,<u>曽我公平</u>,北野勝久,"大気圧プラズマ CVD 法を用いた有機物層形成 による蛍光イットリアナノ粒子の高機能化,"第 64 回応用物理学会春季学術講演会,パシ フィコ横浜,2017 年 3 月 14-17 日.
- 60. 藤井総一郎,千原拓未,上村真生,太田最実,前橋亮太,佐藤文紀,甲斐康朗,<u>曽我公平</u>, "Er3+ドープフッ化物結晶における 2 波長励起アップコンバージョン発光の励起状態励起 スペクトル," 第55回セラミックス基礎科学討論会,岡山コンベンションセンター,2017 年1月12-13日.
- 61. 須鎗聡, 上村真生, <u>曽我公平</u>, "外部環境に応答した近赤外蛍光を示す希土類含有 NaYF4 ナノ粒子のナノセンシングへの応用," 第55回セラミックス基礎科学討論会, 岡山コンベ ンションセンター, 2017年1月12-13日.
- 62. 関谷健太,上村真生,北野勝久,<u>曽我公平</u>,"大気圧プラズマ CVD 法を用いた有機物層形成による蛍光 Y203 ナノ粒子の高機能化," 第 55 回セラミックス基礎科学討論会,岡山コンベンションセンター,2017 年 1 月 12-13 日.
- <u>K. Soga</u>, G. Yeroslavsky, M. Umezawa, M. Kamimura, and L. Wortmann, "Materials for Biophotonics in OTN-NIR Wavelength Region (Second Biological Window)," 2017 MRS Fall Meeting & Exhibit, Boston, MA, USA, Nov. 26-Dec. 1, 2017. (Invited)
- 64. M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Development of Polymer Conjugated Nanoparticles for Near-Infrared Triggered Theranostics in the Second Biological Window," International Conference on Advances in Polymer Science & Technology 2017, Radisson Blu Hotel,

Dwarka, New Delhi, India, Nov. 23-25, 2017. (Invited)

- <u>K. Soga</u>, "Biophotonics in Infrared Therapeutic Windows [Keynote]," Spectral Shaping for Biomedical and Energy Applications (SHIFT 2017), Tenerife, Canary Islands, Spain, Nov. 13-17, 2017. (Invited)
- 66. M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Over-1000 nm Near-Infrared (OTN-NIR) (NIR-II/III) Fluorescence in vivo Imaging," 18th International Union of Materials Research Societies International Conference in Asia (IUMRS-ICA), Taipei Nangang Exhibition Hall, Taipei, Taiwan, Nov. 5-9, 2017. (Invited)
- <u>K. Soga</u>, "Over-1000 nm Near-Infrared (OTN-NIR) (NIR-II/III) Fluorescence in vivo Imaging," Fluorescent Nanomaterials Design for Over 1000 nm Near Infrared (OTN-NIR) Biophotonics, Taipei Nangang Exhibition Hall, Taipei, Taiwan, Nov. 5-9, 2017. (Invited)
- 68. <u>曽我公平</u>, "近赤外バイオメディカルイメージングの最近の動向," 臨床麻酔学会第 37 回 大会, ザ・プリンス パークタワー東京, Tokyo, 2017 年 11 月 3-5 日. (招待講演)
- 69. <u>曽我公平</u>, 上村真生, "第 2 の生体の窓 (SBW) から見るバイオイメージングの未来形,"
   第 26 回日本バイオイメージング学会学術集会, 東京薬科大学, 東京, 2017 年 9 月 16-17
   日. (招待講演)
- 70. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "波長 1000 nm を超える近赤外(OTN-NIR) 蛍光 in vivo イメージング," 第 26 回日本バイオイメージング学会学術集会, 東京薬科大学, 東京, 2017 年 9 月 16-17 日. (招待講演)
- 71. <u>K. Soga</u>, "Materials Design for the Biomedical Imaging in OTN Near Infrared Transparent Optical Window," The 15th International Conference on Advanced Materials (IUMRS-ICAM 2017), Kyoto University, Kyoto, Japan, 2017 年 8 月 27 日-9 月 1 日. (Invited)
- 72. 梅澤雅和, 上村真生, <u>曽我公平</u>, "SBW (Second Biological Window) におけるバイオフォ トニクスの現状と展開,"第30回日本動物細胞工学会2017年度大会(JAACT2017), 松山市 総合コミュニティーセンター, 愛媛県松山市, 2017年7月20-21日. (招待講演)
- 73. <u>K. Soga</u>, M. Kamimura, and M. Umezawa, "Materials Design and Advanced Features of Fluorescence Bioimaging in OTN-NIR (NIR II) Window," Frontiers in Materials Processing Application, Research and Technology (FIMPART"17), Bordeaux, France, 2017年7月9-12日. (Invited)
- 74. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Novel Materials Processing for Bioimaging Probes in OTN-NIR (NIR II/III) Region," The International Conference on Materials for Advanced Technologies 2017 (ICMAT 2017), Suntec Singapore, Singapore, June 18-23, 2017. (Invited)
- 75. <u>曽我公平</u>, "OTN-NIR (NIR II/III) におけるバイオメディカル光イメージング," 第12回

日本分子イメージング学会学術集会,横浜港大さん橋ホール,横浜,2017年5月25-26日. (招待講演)

- 76. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Fluorescent Ceramic Nanoparticles for Biophotonics in the Second Biological Window," 12th Pacific Rim Conference on Ceramic and Glass Technology (PACRIM 12), including Glass & Optical Materials Division Meeting (GOMD 2017), Hilton Waikoloa Village, Waikaloa, Hawaii, May 21-26, 2017. (Invited)
- 77. K. Tsuji, I. O. Umeda, H. Fujii, and <u>K. Soga</u>, "Over-1000 nm Near-infrared Fluorescence and SPECT Dual-modal in vivo Imaging Based on Rare-earth Doped Ceramic Nanophosphors," The 33rd International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 22-24, 2016.
- 78. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Ceramic Near Infrared Phosphors for Nanothemometry in the Second Biological Window," 40th International Conference and Exposition on Advanced Ceramics and Composites, Hilton Daytona Beach Resort and Ocean Center, Daytona Beach, Florida, USA, Jan. 24-29, 2016.
- 79. M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Probes for Deep Tissue in vivo Imaging," 第26回日本MRS 年次大会, 横浜開港記念館, 2016年12月19-22日.
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Materials Design for Photonic Applications of Zirconia Based Material," MS&T (Materials Science and Technology) 2016, Salt Lake City, Utah, USA, Oct. 23-27, 2016.
- 81. 上村真生,高廣祥子,吉田萌,<u>曽我公平</u>,"近赤外蛍光高分子ミセルによる波長 1000 nm を 超える in vivo イメージング," 第 65 回高分子討論会,神奈川大学横浜キャンパス, 2016 年 9 月 14-16 日.
- 82. 緑川善之,竹村裕,溝口博,曽我公平,上村真生,須賀一博,賴威任,簡野瑞誠,宇尾基弘, "下顎模擬歯列の6軸矯正力評価に関する研究," 第32回ライフサポート学会大会,第16回日本生活支援工学会大会,日本機械学会福祉工学シンポジウム2016(LIFE2016),東北大学青葉山キャンパス,宮城県仙台市,2016年9月4-6日.
- 83. 河西真依,安田裕哉,竹村裕,溝口博,<u>曽我公平</u>,金子和弘,"近赤外光を用いた診断支援 システムに向けた波長選定手法," 第 32 回ライフサポート学会大会,第 16 回日本生活支 援工学会大会,日本機械学会 福祉工学シンポジウム 2016(LIFE2016),東北大学青葉山キャ ンパス,宮城県仙台市,2016 年 9 月 4-6 日.
- 24. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "1000 nm を超える近赤外光バイオイメージングに向けた蛍光プローブの開発," 第76回分析化学討論会,岐阜薬科大学,2016年5月28-29日.
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Luminescent Probe Design for Biophotonics in the OTN-NIR (NIR II/III) Biological Window," International Symposium on Luminescence, Spectroscopy and Applications (Phosphor Safari 2016), Hong Kong Baptist University,

Hong Kong, Nov. 28-Dec. 1, 2016. (Invited)

- 86. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Bioimaging in NIR II/III (OTN-NIR) Seeking for Transparency,"日本生物物理学会第 54 回年会,つくば国際会議場,つくば市,茨城, 2016年11月25-27日. (招待講演)
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Design and Application of Ceramics Nanoparticles for Near Infrared Biophotonics," CerSJ-GOMD Joint Symposium on Glass Science and Technologies, Kyoto University, Kyoto, Japan, Nov. 13-15, 2016. (Invited)
- M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Nanoprobes for in vivo Bioimaging," 8th International Workshop on Advanced Materials Science and Nanotechnology (IWAMSN 2016), Ha Long City, Vietnam, Nov. 8-12, 2016. (Invited)
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Luminescent Materials for Biophotonics in OTN-NIR Biological Window," MS&T (Materials Science and Technology) 2016, Salt Lake City, Utah, USA, Oct. 23-27, 2016. (Invited)
- 90. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Fluorescent Materials Design at Nanoscale for Biomedical Photonics in Near Infrared Window," 8th International Conference on Physical and Numerical Simulation of Materials Processing (ICPNS 2016), Seattle, Washington, USA, Oct. 14-17, 2016. (Invited)
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Hybrid Nanoconstructs for Biomedical Photonics in the Second Biological Window," 2016 Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society- Asia Pacific Meeting (TERMIS-AP 2016), Tamsui, Taiwan R. O. C., Sep. 3-6, 2016. (Invited)
- 92. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Material and System Development for Biophotonics in the OTN-NIR (NIR II/III)," International Conference on Micro/Nano Optical Engineering (ICOME-T2016), NCKU, Tainan, Taiwan R. O. C., Aug. 15-19, 2016. (Invited)
- 93. <u>曽我公平</u>, 上村真生, "OTN-NIR(第2の生体の窓)におけるバイオメディカルフォトニクス,"
   第 35 回医用画像工学会大会, 千葉大学けやき会館, 千葉, 2016 年 7 月 21 日-23 日. (招待 講演)
- 94. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Nanostructure for Nanothermometry by Using Ceramic Nanophosphors," The 8th International Conference on Technological Advances of Thin Films & Surface Coatings (ThinFilms2016), Holiday Inn Atrium, Singapore, July 12-15, 2016. (Invited)
- 95. M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Biocompatible Polymer-conjugated Inorganic Nanophosphors for Near-infrared in vivo Imaging in the Second Biological Window," 9th International Conference on High Temperature Ceramic Matrix Composites (HTCMC9) and Global Forum on Advanced Materials and Technologies for Sustainable Development (GFMAT2016), Toronto Marriott Downtown Eaton Center Hotel, Toronto, Canada, June

26-July 1, 2016. (Invited)

- 96. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "「第2の生体の窓」における近赤外蛍光 in vivo イメージング," バイオイメージ・インフォマニクスワークショップ 2016, 大阪大学吹田キャンパス, 2016 年 6 月 22-23 日.(招待講演)
- 97. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Application of Rare-Earth Doped Ceramics for Transparent Imaging Devices," CC3DMR 2016, Incheon, South Korea, June 20-24, 2016. (Invited)
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Inorganic Fluorescent Materials for Biophotonics in the Second Biological Window," CIMTEC 2016, Perugia, Italy, June 5-9, 2016. (Invited)
- <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Materials Processing for Fluorescent Probes in the Second Biological Window," THERMEC' 2016, Graz, Austria, May 29-June 3, 2016. (Invited)
- 100. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Design and Processing of Nanoparticles for Fluorescence Bioimging in the Second Biological Window," EMN Meeting on Nanoparticles, Singapore, May 9-13, 2016. (Invited)
- 101. 上村真生, <u>曽我公平</u>, "近赤外蛍光ナノ粒子を利用するナノ温度イメージング," 日本化学
   会 第96春季年会(同志社大学 京田辺キャンパス, 2016年3月24-27日.(招待講演)
- 102. <u>曽我公平</u>, "SBW におけるバイオフォトニクスの現状と展開,"レゾナンスバイオ公開シン ポジウム「Swinging on the Chromophore」, KKR 熱海, 静岡県熱海市, 2016 年 3 月 16 日. (招待講演)
- 103. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Processing for Forming Biofunctional Surfaces on Ceramic Nanoparticles for Biophotnics," 40th International Conference and Exposition on Advanced Ceramics and Composites (Hilton Daytona Beach Resort and Ocean Center, Daytona Beach, Florida, USA, Jan. 24-29, 2016. (Invited)
- 104. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Functional Nanomaterials with Rare-Earth Doped Ceramics for Biomedical Applications," 40th International Conference and Exposition on Advanced Ceramics and Composites (Hilton Daytona Beach Resort and Ocean Center, Daytona Beach, Florida, USA, Jan. 24-29, 2016. (Invited)
- 105. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Probe Design and Processing for Biophotonics in the Second Biological Window," The 5th International Solvothermal and Hydrothermal Association Conference (ISHA 2016), NCKU, Tainan, Taiwan, R. O. C., Jan. 17-20, 2016. (Invited)
- 106. E. Hemmer, M. Kamimura, F. Legare, <u>K. Soga</u>, and F. Vetrone, "Lanthanide-doped nanostructures for near-infrared nanothermometry," The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, Dec. 15-20, 2015.
- 107. M. Kamimura, T Matsumoto, S Suyari, and <u>K. Soga</u>, "Nanothermometry in the second biological window based on temperature dependent near-infrared fluorescence of

rare-earth doped ceramic nanophosphors," The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, Dec. 15-20, 2015.

- 108. S. Watanabe, T. Asanuma, H. Hyodo, <u>K. Soga</u>, and M. Matsumoto, "Fabrication of polymer-based arrayed waveguide gratings for up conversion transparent displays," The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Honolulu, Hawaii, U.S.A, Dec. 15-20, 2015.
- 109. M. Kamimura, S. Suyari, T. Matsumoto, and <u>K. Soga</u>, "Surface modification on rareearth doped ceramic nanophosphors via ligand exchange method for near-infrared biophotonics," The 32nd International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, June 24-26, 2015.
- 110. M. Kamimura, T. Matsumoto, and <u>K. Soga</u>, "Temperature dependent near-infrared emission of rare-earth doped ceramic nanophosphors in the second biological window for sensitive nanothermal imaging," The 5th Asian Biomaterials Congress, Taipei, Taiwan, May 6-9, 2015.
- 111. 渡邉智、石井良典、兵藤宏、曽我公平、松本睦良,"ソフト液相吸着法を利用した濡れ性パターン化プラスチック基板上へのセラミックスアップコンバージョン発光層の作製,"第64回高分子討論会,東北大学川内キャンパス,2015年9月15-17日.
- 112. 上村真生, 松本泰来, 須鎗聡, <u>曽我公平</u>, "PEG 化セラミックスナノ粒子を用いた近赤外蛍 光ナノ温度計," 第64回高分子討論会, 東北大学川内キャンパス, 2015 年 9 月 15-17 日.
- 113. 上村真生,松本泰来,須錦聡,<u>曽我公平</u>, "希土類含有セラミックスナノ粒子の近赤外発光 を用いたナノ温度イメージング," 日本分析化学会第 64 年会,九州大学伊都キャンパス, 2015 年 9 月 8-11 日.
- 114. 渡邉智,浅沼武夫,笹原貴文,兵藤宏,國武雅司,松本睦良,<u>曽我公平</u>,"アレイ導波路格 子デバイスを利用したアップコンバージョン透明ディスプレイの創製," 第64回高分子学 会年次大会,札幌コンベンションセンター,2015年5月27-29日
- 115. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Materials and system developments for OTN-NIR fluorescence bioimaging," The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, Dec. 15-20, 2015. (Invited)
- 116. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Application of near infrared luminescent materials for biophotonics," The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, Dec. 15-20, 2015. (Invited)
- 117. <u>曽我公平</u>. 竹内司, 横田秀夫, 岸本英博, "SBW イメージングの現状と課題,"第24回日本 バイオイメージング学会学術集会, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2015 年 9 月 26-28 日.

(招待講演)

- 118. <u>K. Soga</u>, "Application of Rare-Earth Doped Ceramic Nanophosphors for Near Infrared Biophotonics," The Fourth Serbian Ceramic Society Conference Advanced Ceramics and Application IV, Belgrade, Serbia, Sep. 21-23, 2015. (Invited)
- 119. M. Kamimura and <u>K. Soga</u>, "Surface Modified Rare-earth Doped Ceramic Nanophosphors for Fluorescence Bioimaging and Nanothermometry in the Second Biological Window," 2015 International Symposium on Chemical and Polyscale Technologies for Biomedical Application and Environmental Sustainability (ISCPT), Chientan Youth Activity Center, Taipei, Taiwan, Sep. 6-9, 2015. (Invited)
- 120. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Near Infrared Biophotonics for the Second Biological Window," Light Conference: International Conference on Micro/Nano Optical Engineering - Taiwan (Light Conference: ICOME-T2015), National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan, Aug. 10-14, 2015. (Invited)
- 121. <u>曽我公平</u>, 上村真生, 青木伊知男, "第2の生体の窓(Second Biological Window)における 生体イメージングと DDS の融合,"第31回日本 DDS 学会学術集会「DDS がもたらした新しい 臨床の風景」, Shinjuku, Tokyo, 2015 年7月 2-3 日.(招待講演)
- 122. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "Nanostructure Development for OTN-NIR Biophotonics in Second Biological Window," 8th International Conference on Materials for Advanced Technologies of the Materials Research Society of Singapore & 16th IUMRS-International Conference in Asia (ICMAT2015&IUMRS-ICA2015), Suntec Singapore, Singapore, June 28-July 3, 2015. (Invited)
- 123. <u>K. Soga</u>, "Application of Ceramic Nanophosphors for Various Imaging Devices," The 1st International Conference on Advanced Imaging (1st ICAI 2015), National Center of Science, Tokyo, JAPAN, 2015年6月17-19日. (Invited)
- 124. <u>K. Soga</u> and M. Kamimura, "OTN-NIR Fluorescent Nanoparticles for Biomedical Imagaing and Thermal Sensing," International Conference on Frontiers in Materials Processing, Applications Research and Technology (FIMPART 2015), Hyderabad, India, 2015年6月 12-15 日. (Invited)

#### 【特許】

- 1. <u>曽我公平</u>, 梅澤雅和, 春口真祐, 「生体試料の透明化方法及び生体試料透明化剤」, 特願 2018-158579.
- 伊藤雅昭,後藤田直人,西澤祐吏,横田秀夫,竹村裕,<u>曽我公平</u>,「アプローチ装置」,特 願 2017-508444.
- 3. <u>曽我公平</u>,「光イメージング装置」,特願 2017-076414.

## 神経機能分子の脳内分布と活性のイメージングに関する研究 理工学部 応用生物科学科 古市貞一

脳神経系の情報伝達には、多種多様な分子機構が関与している。本研究では、ここではたらく 神経機能分子について、脳内発現分布、微細形態、神経生理活性のイメージング解析を行った。 次の5つの神経機能分子をターゲットとした。神経伝達物質や神経ペプチドの分泌小胞制御タン パク質 CAPS1 と CAPS2、脳特異的なグアニンヌクレオチド交換因子 very-KIND、哺乳類中枢神経 系に特異的なミエリンループ膜 Opalin,抑制性ニューロンの小胞型トランスポーター輸送関連分 子 LAMP5,低分子量 GTPase Rac のグアニンヌクレオチド交換因子の活性調節因子 ELMO などにつ いてイメージング解析を行った。

【CAPS1】 海馬における興奮性グルタミン酸シナプスの微細形態とシナプス伝達を解析した。 透過型電子顕微鏡で海馬の連続切片をイメージングしてシナプスの三次元構造をモデル化し、 前脳特異的な CPAS1 条件的欠損 (cK0) マウスのプレシナプスにおけるシナプス小胞数の活性帯 近傍での減少を示した。脂溶性蛍光色素 FM4-64 を取込ませてシナプス小胞の開口放出動態を蛍 光タイムラプスイメージング解析し、cK0 マウスにおける開口放出の時定数と放出量の減少を明 らかにし、CAPS1 は海馬シナプス小胞の開口放出に必須の役割を果たすことを解明した。

【CAPS2】 CAPS2 KO マウスは自閉スペクトラム症様の社会行動や不安行動の異常を示す。DNA への BrdU の取込みを利用した増殖細胞特異的な蛍光イメージング技術を用いて、KO マウスでは遊び道具を入れたエンリッチメント環境によって誘導されるニューロンの新生能が低いことがわかり、CAPS2 はおそらく脳神経栄養因子 BDNF の分泌制御によって環境に依存した成体神経新生に関与すると示唆した。

【very-KIND】 免疫組織化学と電子顕微鏡によるイメージング解析により、very-KIND KO マウスでは小脳顆粒細胞の樹状突起とシナプスの過形成と、ワイヤーぶら下がりの握力の有意の強化などから、very-KIND は小脳において顆粒細胞の樹状突起とシナプス形成に抑制的に働き、協調運動制御の微調整に寄与することが示唆された。

【Opalin】 Opalin KO マウスを作製し、免疫組織化学と電子顕微鏡によるイメージング解析により、Opalin はミエリンの各区画と構成タンパク質の発現には必須ではないが、探索行動などで軽微な過活動を示すことを明らかにした。

【LAMP5】 特異抗体を作製してマウス脳内分布のイメージング解析により、LAMP5 は嗅球、嗅 結節、腹側淡蒼球、黒質網様部、脳幹、脊髄などの一部のGABA 抑制性ニューロンで発現し、ゲ ノム編集により作出した KO マウスでは聴覚や触覚の刺激による驚愕反射が増強していることか ら、内側蝸牛遠心性神経などでの機能が示唆された。

【ELMO】 低分子量 GTPase Rac などの調節を介してアクチン骨格系の再構成などに関与する ELMO (engulfment and cell motility)の3 遺伝子(ELMO1/2/3)の脳内 mRNA 発現を in situ hybridization 法によるイメージング解析で明らかにした。



### 【学術論文】

- Y. Sato, A. Sato, S. Mizuno, J. Hirota, S. Fujima, C. Ishii, Y. Sano, and <u>T. Furuichi,</u> "Comparative gene expression analysis of the engulfment and cell motility (ELMO) protein family in the mouse brain," Gene Expression Patterns, vol. 34, 119070, 2019.
- N. Hosoi, K. Shibasaki, M. Hosono, A. Konno, Y. Shinoda, H. Kiyonari, K. Inoue, S.-I. Muramatsu, Y. Ishizaki, H. Hirai, <u>T. Furuichi</u>, and T. Sadakata, "Deletion of class II ADP-ribosylation factors in mice causes tremor by the Nav1.6 loss in cerebellar Purkinje cell axon initial segments," J. Neurosci., vol. 39, pp. 6339-6353, 2019.
- M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, Y. Sano, Y. Shinoda, <u>T. Furuichi</u>, and K. Kansaku, "Rubber tail illusion is weakened in Ca<sup>2+</sup>-dependent activator protein for secretion 2 (Caps2)-knockout mice, "Sci. Rep., vol. 9, 7552, 2019.
- M. Koebis, S. Urata, Y. Shinoda, S. Okabe, T. Yamasoba, K. Nakao, A. Aiba, and <u>T. Furuichi</u>, "LAMP5 in presynaptic inhibitory terminals in the hindbrain and spinal cord: a role in startle response and auditory processing," Molecular Brain, vol. 12, 20, 2019.
- Y. Shinoda, T. Sadakata, K. Yagishita, E. Kinameri, R. Katoh-Semba, Y. Sano, and <u>T. Furuichi</u>, "Aspects of excitatory/inhibitory synapses in multiple brain regions are correlated with levels of brain-derived neurotrophic factor/neurotrophin-3," Biochem. Biophys. Res. Commun., vol. 509, pp. 429-434, 2019.
- M. Morita, K. Shimokawa, M. Nishimura, S. Nakamura, Y. Tsujimura, S. Takemoto, T. Tawara, H. Yokota, S. Wemler, D. Miyamoto, H. Ikeno, A. Sato, <u>T. Furuichi</u>, N. Kobayashi, Y. Okumura, Y. Yamaguchi, and Y. Okamura-Oho, "ViBrism DB: an interactive search and viewer platform for 2D/3D anatomical images of gene expression and co-expression networks," Nucleic Acid Research., vol. 47, D. 859-866, 2019.
- Y. Shinoda, T. Sadakata, T. Akagi, Y. Sakamaki, T. Hashikawa, Y. Sano, and <u>T. Furuichi</u>, "Calcium-dependent activator protein for secretion 2 (CADPS2) deficiency causes abnormal synapse development in hippocampal mossy fiber terminals development in hippocampal mossy fiber terminals," Neuroscience Letters, vol. 677, pp. 65-71, 2018.
- K. Nakayama, R. Ohashi, Y. Shinoda, M. Yamazaki, M. Abe, A. Fujikawa, S. Shigenobu,
   A. Futatsugi, M. Noda, K. Mikoshiba, <u>T. Furuichi</u>, K. Sakimura, and N. Shiina,

### 業績

"RNG105/caprin1, an RNA granule protein for dendritic mRNA localization, is essential for long-term memory formation," eLife, vol. 6, e29677, 2017.

- K. Yagishita, R. Suzuki, S. Mizuno, R. Katoh-Semba, T. Sadakata, Y. Sano, <u>T. Furuichi</u>, and Y. Shinoda, "CAPS2 deficiency affects environmental enrichment-induced adult neurogenesis and differentiation/survival of newborn neurons in the hippocampal dentate gyrus," Neuroscience Letters, vol. 661, pp. 121-125, 2017.
- D. Ihara, M. Fukuchi, M. Katakai, Y. Shinoda, R. Katoh-Semba, <u>T. Furuichi</u>, M. Ishikawa, A. Tabuchi, and M. Tsuda, "Deltamethrin increases neurite outgrowth in cortical neurons through endogenous BDNF/TrkB pathways," Cell Structure and Function, vol. 42, pp. 141-148, 2017.
- K. Hayashi, A. Furuya, Y. Sakamaki, T. Akagi, Y. Shinoda, T. Sadakata, T. Hashikawa, K. Shimizu, H. Minami, Y. Sano, M. Nakayama, and <u>T. Furuichi</u>, "The brain-specific RasGEF very-KIND is required for normal dendritic growth in cerebellar granule cells and proper motor coordination," PLoS ONE, vol. 12, e0173175, 2017.
- T. Sadakata, Y. Shinoda, Y. Ishizaki, and <u>T. Furuichi</u>, "Analysis of gene expression in Ca<sup>2+</sup>-dependent activator protein for secretion 2 (Cadps2) knockout cerebellum using GeneChip and KEGG pathways," Neuroscience Letters, vol. 639, pp. 88-93, 2017.
- F. Yoshikawa, Y. Sato, K. Tohyama, T. Akagi, T. Furuse, T. Sadakata, M. Tanaka, Y. Shinoda, T. Hashikawa, S. Itohara, Y. Sano, S. M. Ghandour, S. Wakana, and <u>T. Furuichi</u>, "Mammalian-specific central myelin protein Opalin is redundant for normal myelination: structural and behavioral assessments," PLoS ONE, vol. 11, e0166732, 2016.
- 14. Y. Shinoda, Y. Nakajima, H. Iguchi, S. Tatsumi, M. Kitaoka, M. Nakajima, T. Takahashi, M. Fujiwara, and <u>T. Furuichi</u>, "Galacto-N-biose is neuroprotective against glutamate-induced excitotoxicity in vitro," European Journal of Pharmacology, vol. 791, pp. 711-717, 2016.
- 15. Y. Shinoda, C. Ishii, Y. Fukazawa, T. Sadakata, Y. Ishii, Y. Sano, T. Iwasato, S. Itohara, and <u>T. Furuichi</u>, "CAPS1 stabilizes the state of readily releasable synaptic vesicles to fusion competence at CA3-CA1 synapses in adult hippocampus," Sci. Rep., vol. 6, 31540, 2016.
- Y. Nakajima, H. Iguchi, S. Kamisuki, F. Sugawara, <u>T. Furuichi</u>, and Y. Shinoda, "Low doses of the mycotoxin citrinin protect cortical neurons against glutamateinduced excitotoxicity," Journal of Toxicological Sciences, vol. 41, pp. 311-319, 2016.
- 17. M. Hosono, Y. Shinoda, T. Hirano, Y. Ishizaki, <u>T. Furuichi</u>, and T. Sadakata,

"Interaction of Ca<sup>2+</sup>-dependent activator protein for secretion 1 (CAPS1) with septin family proteins in mouse brain," Neuroscience Letters, vol. 617, pp. 232-235, 2016.

 Y. Mishima, Y. Shinoda, T. Sadakata, M. Kojima, S. Wakana, and <u>T. Furuichi</u>, "Lack of stress responses to long-term effects of corticosterone in Caps2 knockout mice," Sci. Rep., vol. 5, 8932, 2015.

#### 【著書】

1. 古市貞一, "脳神経をキーとして異分野統合で切り拓く研究開発,"特集:脳学際研究の現状 と今後,理大科学フォーラム 8 月号 399 号(東京理科大学,東京, 2017) pp. 2-3.

#### 【学会発表】

- K. Abe, M. Kuroda, Y. Narumi, Y. Kobayashi, S. Itohara, <u>T. Furuichi</u> and Y. Sano, "The role of coordinated activation between insular cortex and basolateral amygdala during taste-aversion association learning to recruit a memory trace," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct. 2019.
- N. Shibano, M. Yamazaki, M. Kuroda, K. Abe, T. Arima, Y. Kobayashi, S. Itohara, <u>T. Furuichi</u> and Y. Sano, "Excitation of medial prefrontal cortex during conditioning enhances fear memory formation," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct. 2019.
- 3. S. Fujima, R. Maniwa, R. Yamaga, Y. Sano and <u>T. Furuichi,</u> "A possible involvement of Ca2+-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2) in regulating release of the hypothalamic neuropeptide oxytocin that has a pivotal role in social behavior," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct., 2019.
- 4. S. Mizuno, J. Hirota, H. Iwasaki, S. Okabe, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "Comprehensive profiling and localization of gene expression in the cerebral cortex and striatum of BTBR mice, a mouse model of autism spectrum disorder by comparing with those of C57BL6/J, a highly social mouse strain," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct., 2019.
- 5. 加藤優奈,水野翔太,石井千晶,山中琴未,栄田浩伸,村上祐香,斉藤貴志,西道隆臣, 古市貞一,佐野良威,"アミロイド β の蓄積による軽度認知機能低下と炎症性免疫反応の 亢進,"第42回日本分子生物学学会,福岡,2019年12月.
- 6. 定方哲史,延武,柴崎貢志,今野歩,平井宏和,石崎泰樹,古市貞一,"クラスIIARFタンパ ク質は、小脳プルキンエ細胞の軸索起始部へのNaV1.6チャネルの輸送に関与する、"第92回 日本生化学会大会、横浜市・パシフィコ横浜、2019年9月18-20日.
- 7. 佐藤陽太郎, 露崎美穂, 志村拓哉, 小林りか, 定方哲史, 佐野良威, <u>古市貞一</u>, "分泌関連

タンパク質 CAPS2 の欠損は自然発症慢性膵炎を引き起こす,"第 92 回日本生化学学会,横浜, 2019 年 9 月.

- 弘田淳奈,水野翔太,岩崎広英,岡部繁男,佐野良威,<u>古市貞一</u>,"自閉症モデルマウス BTBR 系統で特異的に発現変動する遺伝子の脳内局在および機能解析," 第 92 回日本生化学 学会,横浜、2019 年 9 月.
- 9. T. Sadakata, N. Hosoi, K. Shibasaki, S. Konno, H. Hirai, Y. Ishizaki, and <u>T. Furuichi</u>, "Deletion of class II ARFs in mice causes tremor by inhibiting Na1.6 trafficking to cerebellar Purkinje cell axon initial segments," 第42回日本神経科 学大会・第62回日本神経化学会大会,新潟, 2019年7月25-28日.
- 10. S. Mizuno, J. Hirota, H. Iwasaki, S. Okabe, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "Comprehensive gene expression profiling between BTBR mice, a mouse model of autism spectrum disorder, and C57BL6/J mice showing high levels of sociality," NEURO2019 (第42回日本神経科学大会、第62回日本神経化学会大会,新潟, 2019年7月25-28日.
- K. Abe, M. Kuroda, Y. Narumi, Y. Kobayashi, S. Itoahra, <u>T. Furuichi</u> and Y. Sano, "The role of coordinated activation between insular cortex and basolateral amygdala during taste-aversion association learning to recruit a memory trace," NEURO2019 (第42回日本神経科学大会, 第62回日本神経化学会大会),新潟, 2019年7月25-28日.
- S. Fujima, R. Yamaga, H. Minami, R. Maniwa, Y. Shinoda, M. Abe, K. Sakimura, Y. Sano and <u>T. Furuichi,</u> "Mice lacking Ca2+-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2) show a decrease in oxytocin release and impaired social behavior," NEURO2019 (第42回日本神経科学大会,第62回日本神経化学会大会),新潟, 2019年7月 25-28日.
- K. Yamanaka, S. Mizuno, <u>T. Furuichi</u> and Y. Sano, "Decreased social interaction and motivated approach behavior in the X11L-deficient mice," NEURO2019 (第42回日本神 経科学大会、第62回日本神経化学会大会),新潟, 2019年7月25-28日.
- 14. T. Arima, C. Ishii, Y. Ishii, N. Shibano, M. Yamazaki, Y. Kato, A. Yamato, Y. Shinoda, T. Sadakata, Y. Sano and <u>T. Furuichi,</u> "Significant role of CAPS1, a regulator of synaptic exocytosis, in trisynaptic circuit and hippocampal learning," NEURO2019 (第42回日本神経科学大会、第62回日本神経化学会大会),新潟, 2019年7月 25-28日.
- 15. M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, K. Takano, Y. Sano, Y. Shinoda, <u>T. Fruichi</u>, and K. Kansaku, "Lower c-Fos expressions in the posterior parietal cortex during rubber tail task in Caps2 KO mice," 9th FAOPS(第9回アジア・オセアニア生理学会連合大会) & 第96回日本生理学会合同大会,神戸, 2019年3月.
- 16. S. Fujima, R. Maniwa, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "Oxytocin secretion and social behavior in mice lacking Ca2+-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2),"

Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA, Nov. 3-7, 2018.

- Y. Shinoda, M. Oka, N. Tanika, Y. Fujiwara, Y. Sano, T. Sadakata, and <u>T. Furuichi,</u> "Social isolation-mediated hyperactivity and reduction of anxiety are not affected by Caps2 deficiency," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA, Nov. 3-7, 2018.
- R. Ohashi, Y. Shinoda, S. Shigenobu, Y. Kimori, <u>T. Furuichi</u>, and N. Shiina, "Reduced dendritic mRNA localization and AMPAR surface expression by RNG105/caprin1 deficiency," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA, Nov. 3-7, 2018.
- Y. Okamura-Oho, D. Miyamoto, H. Ikeno, M. Morita, H. Yokota, S. Wemler, A. Sato, <u>T. Furuichi</u>, Y. Okumura, and Y. Yamaguchi, "2D/3D image integration on the BAH viewer," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA, Nov. 3-7, 2018.
- 20. C. Ishii Y. Sshinoda, T. Sadakata, Y. Ishii N. Shibano, Y. Kato, M. Yamazaki A. Yamato, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "CAPS1 finely regulates the exocytosis of synaptic vesicles in calcium- and/or synapse type-dependent manners, affecting on learning and memory," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA, Nov. 3-7, 2018.
- 21. K. Shimizu, K. Kawamoto, T. Sadakata, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "The molecular mechanism regulating axonal localization of the secretion-related protein CAPS2," 第61回日本神経化学会大会・第40回日本生物学的精神医学会,神戸市, 2018年.
- 22. K. Abe, Y. Narumi, S. Fujima, Y. Kobayashi, S. Itohara, <u>T. Furuichi</u> and Y. Sano, "Interaction between insular cortex and amygdala during a taste aversion association," Neuroscience 2018, 神戸, 2018年.
- 23. S. Fujima, R. Yamaga, H. Minami, R. Maniwa, Y. Shinoda, M. Abe, K. Sakimura, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "Oxytocin secretion and social behavior in mice lacking Ca2+dependent activator protein for secretion 2," Neuroscience 2018, 神戸, 2018年.
- 24. C. Ishii, Y. Ishii, N. Shibano, Y. Kato, M. Yamazaki, A. Yamato, Y. Shinoda, T. Sadakata, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "CAPS1 regulates efficient and/or synchronous exocytosis of releasable synaptic vesicles, which effects on hippocampal synaptic plasticity, learning and memory," Neuroscience 2018, 神戸, 2018年.
- 25. S. Mizuno, C. Ishii, H. Iwasaki, S. Okabe, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "Comparative gene expression profiling between BTBR mice, a mouse model of autism spectrum disorder," Neuroscience 2018, 神戸, 2018年.
- 26. M. Oka, T. Sadakata, Y. Sano, <u>T. Furuichi</u>, Y. Fujiwara, and Y. Shinoda, "CAPS2

deficiency does not affect social isolation-induced behavioral abnormalities," Neuroscience 2018, 神戸, 2018年.

- 27. M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, K. Takano, Y. Sano, Y. Shinoda, <u>T. Fruichi</u>, and K. Kansaku, "Lower c-Fos expressions in the posterior parietal cortex during rubber tail task in Caps2 KO mice," Neuroscience 2018, 神戸, 2018年.
- C. Ishii, Y. Shinoda, Y. Fukazawa, T. Sadakata, Y. Ishii, T. Iwasato, S. Itohara, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "CAPS1 stabilizes synaptic vesicles on active zones and ensures basal synaptic transmission at hippocampal CA3-CA1 synapses," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, Washington, DC, Nov., 2017.
- T. Atsumi, M. Ide, Y. Sano, Y. Shinoda, T. <u>Furuichi</u>, and M. Wada, "Study of timedependent response trait to tactile stimulation in a ASD model mice," The 2nd International Symposium on the Science of Mental Time, Nara, Japan, Sep. 12-13, 2017.
- 30. T. Atsumi, M. Ide, Y. Sano, Y. Shinoda, <u>T. Furuichi</u>, and M. Wada, "Aberrant responses to the biological motion of CAPS2 knockout mice by conspecificse," 行動 2017 日本動物行動関連学会・研究会合同大会, 東京, 2017 年.
- 31. 和田真, 渥美剛史, 井手正和, 佐野良威, 篠田陽, <u>古市貞一</u>, 神作憲司, "ラバーテイル応答における CAPS2 遺伝子変異型マウスへのオキシトシン投与関する予備検討," 行動 2017 日本動物行動関連学会・研究会合同大会, 東京, 2017年.
- 32. 渥美剛史,井手正和,佐野良威,篠田陽,古市貞一,和田真,"CAPS2遺伝子変異型マウスにおける同種個体バイオロジカル・モーションへの応答の変容," 第40回日本神経科学大会,千葉,2017年.
- 33. 石井千晶, 篠田陽, 深澤有吾, 定方哲史, 石井佑季, 佐野良威, 岩里琢治, 糸原重美, 古 市貞一, "CAPS1はシナプス小胞を活性帯上で安定化させることで海馬CA3-CA1 シナプスにおいて開口放出を調節する," 第40回日本神経科学大会、千葉、2017年.
- 34. 柴野奈津美,石井佑季,佐野良威,<u>古市貞一</u>, "エピソード記憶の形成における分泌関連タンパク質CAPS1の役割," 第40回日本神経科学大会、千葉、2017年.
- 35. 鯉沼真吾,野村理子,小島拓哉,根岸亮太,竹内公平,瀬木(西田)恵里,後飯塚僚,古市 <u>貞一</u>,岩倉洋一郎,和田直之,高橋直樹,郡山恵樹,木山博資,中村岳史,"膜輸送を介し て突起伸展を促進する Rho ファミリーG タンパク質 TC10 は末梢神経の軸索再生に働く," 第 40 回日本分子生物学会年会・第 90 回日本生化学会大会,神戸ポートアイランド・神戸, 2017 年 12 月 6-9 日.
- 36. 渥美剛史,井手正和,佐野良威,篠田陽,古市貞一,和田真,"Caps2 K0自閉症モデルマウスにおける触覚刺激の時間分解能の検討,"次世代脳プロジェクト 冬のシンポジウム. 一橋大学 一橋講堂,2017年12月20-22日.

- <u>T. Furuichi</u>, "Brain development and its disorder," 4th Japan-Lithuania Joint Science Symposium on Natural and Life Sciences, Tokyo University of Science, Kagurazaka-Campus, Tokyo, Japan, Oct. 10, 2017. (Invited)
- 38. Y. Ishii, C. Ishii, Y. Shinoda, Y. Sano and <u>T. Furuichi</u>, "A deficiency of Ca2+ dependent activator protein for secretion 1 affects hippocampal long-term potentiation," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, San Diego, CA, USA, Nov. 12-16, 2016.
- M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, K. Yagishita, M. Katakai, Y. Shinoda, T. <u>Furuichi</u>, and K. Kansaku, "A rubber tail task in Ca-dependent activator protein for secretion (CAPS) 2 knockout mice," Neuroscience 2016, San Diego, CA, USA, Nov. 12-16, 2016.
- 40. M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, K. Yagishita, M. Katakai, Y. Shinoda, T. <u>Furuichi</u>, and K. Kansaku, "A rubber tail task in CAPS2 KO mice: second report," 日本動物心理学 会第76回大会, 北海道大学, 2016年11月23-25日.
- <u>T. Furuichi</u>, "Databasing brain gene expression information," 4th INCF Japan Node International Workshop Advances in Neuroinformatics 2016 and 14th INCF Nodes Workshop, RIKEN, Wako, Japan, 2016年5月28-29日. (Invited)
- 42. <u>T. Furuichi</u>, "Enhancing Brain Transcriptome Database by Neural Gene Ontology," 第 39回日本神経科学大会,神奈川県横浜市・パシフィコ横浜,2016年7月20-22日.(招待 講演)
- 43. M. Wada, M. Ide, K. Yagishita, M. Katakai, Y. Shinoda, T. <u>Furuichi</u>, and K. Kansaku,
  "A rubber tail task in CAPS2 KO mice: an initial study," 第75回日本動物心理学会
  大会, 日本女子大学, 2015年9月10-12日.
- <u>T. Furuichi</u>, "Brain development transcriptome database and developmental disorder," 15th China-Japan-Korea Joint Workshop on Neurobiology and Neuroinformatics (NBNI 2015), Busan, Korea, Dec. 21-22, 2015. (Invited)
- <u>T. Furuichi</u>, Y. Shinoda, T. and Sadakata, "The molecular mechanisms of brain development and disorders," International Neuroinformatics Coordinatinf Facility (INCF) Congress Neuroinformatics 2015, Cairns, Australia. Aug. 20-22, 2015. (Invited)
- 46. <u>T. Furuichi</u>, Y. Shinoda, and T. Sadakata, "Animal models of autism spectrum disorders: CAPS2 is critical for proper brain development and social behavior," International Symposium of the Center for Animal Disease Models. Gakushikaikan, Kanda, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan. July 21, 2015. (Invited)

# 免疫応答における免疫細胞・分子の四次元イメージングシステムの開発 生命医科学研究所発生及び老化研究部門後飯塚 僚

免疫反応ならびに造血の場となる脾臓の微小環境を構成する間葉系細胞の分化、機能なら構造維持における役割について、脾臓器官形成に必須の転写因子であるTlx1に焦点をあて、Tlx1 遺伝子座に CreER-Venus 遺伝子をノックインしたマウスを用いて、Tlx1発現間葉系細胞の細胞 運命追跡、Tlx1発現細胞特異的な Tlx1遺伝子の過剰発現ならびに欠損による解析を行い、以下 の主要な研究成果を得た。

#### 脾臓間葉系細胞による髄外造血の制御

成体においては骨髄に存在する造血幹細胞が様々な血球系細胞へと分化することで、造血系シ ステムの恒常性が維持されており、骨髄異形成症候群、貧血、重度の細菌感染症などで緊急造血 が必要な場合にのみ、肝臓や脾臓などの胎仔造血に関与する組織で髄外造血が起こる。骨髄にお いては造血幹細胞の維持や分化を支持する特殊な微小環境(ニッチ)が存在し、それは血管内皮 細胞、骨芽細胞ならびに間葉系ストローマ細胞などから構成されていることが近年明らかになっ てきている。一方、髄外造血の場となる脾臓や肝臓の造血ニッチに関する研究は少なく、髄外造 血に関与するニッチを構成する細胞の性状や骨髄造血ニッチとの機能的な差異については未解 明な点が多く残されている。そこで、脾臓の器官形成に必須の転写因子である Tlx1 に焦点をあ て、成体脾臓における Tlx1 発現細胞の表面抗原、間葉に由来する 3 種類の細胞系列(脂肪、骨お よび軟骨)への分化能、造血ニッチとしての機能について解析を行った。まず、Tlx1 遺伝子座に タモキシフェン誘導的組換え酵素である CreER および蛍光タンパクである Venus をコードする遺 伝子をノックインした TLx1<sup>creff-Venu</sup>マウス脾臓の Venus 陽性細胞の表面抗原の発現について解析し た結果、Platelet-derived growth factor receptor (PDGFR)、CD105<sup>+</sup>、Sca-1<sup>low</sup>の間葉系細胞で あり、骨髄間葉系ストローマ細胞と類似した表面マーカーを発現することが判明した。そこで、 本細胞の in vitro での間葉由来3系統の細胞への分化能を、骨髄 PDGFR<sup>+</sup> Sca-1<sup>+</sup>の間葉系ストロ ーマ細胞であるP S細胞を対照として検討したところ、P S細胞に比べると弱いながらも、脂 肪細胞、骨芽細胞ならびに軟骨芽細胞への分化能を示し、脾臓 Tlx1 発現細胞は間葉系ストロー マ細胞の性状ならびに機能を有する細胞であることが明らかになった。次に、造血ニッチとの関 連を明らかにするために、造血制御因子の遺伝子発現について解析した結果、Tlx1 発現細胞は造 血幹細胞の局在ならびに維持に関与する CXCL12 および Stem cell factor (SCF)を Tlx1 非発現 間葉系細胞の約 10 倍および5倍発現しており、骨髄造血ニッチを構成する間葉系細胞であるレ プチン受容体発現細胞やCXCL12-abundant reticular (CAR)細胞と類似した造血制御因子の発現 様式を示すことが明らかになった。そこで、Tlx1発現細胞が脾臓における造血ニッチとして機能 している可能性について、Tlx1 発現細胞にタモキシフェン誘導的に Tlx1 を過剰発現可能なマウ ス (T1x1<sup>CrefR-Venus</sup>; Rosa26-CAG-T1x1) を作製して生体レベルで検討した。タモキシフェン投与48 時間後の Tlx1 発現細胞におけるトランスジーンの発現は内在性 Tlx1 の約 15 倍であり、それと

同時に、CXCL12, SCF ならびに赤血球造血に関与する Bmp4 遺伝子の発現上昇が認められた。さら に、タモキシフェン投与8 週後の血球系細胞の変化について解析した結果、脾臓において造血幹・ 前駆細胞の有意な増加を伴う髄外造血が観察された。免疫組織学的解析から、Tlx1 の過剰発現に 伴い Tlx1 発現細胞は濾胞周囲の赤脾髄領域に集積し、そこに造血幹細胞も集積していることが 明らかになった。以上の結果から、Tlx1 発現細胞は骨髄造血ニッチを構成する間葉系ストローマ 細胞と類似した性状ならびに機能を有する脾臓間葉系ストローマ細胞であり、ストレス造血時の 脾臓における髄外造血ニッチとして機能することが明らかになった。(業績1参照)

#### LPS 誘導性脾臟髓外造血の転写因子による制御機構

グラム陰性細菌感染症では、その内毒素である lipopolysaccharide (LPS)によって脾臓にお いて髄外造血が起こることが知られており、その発症には造血系細胞ではなく、造血微小環境(ニ ッチ)に発現する Toll-like receptor 4 (TLR4)が関与することが明らかになっている。しかしな がら、LPS によって誘発される脾臓造血ニッチの変化や転写制御機構については明らかになって いない。そこで、脾臓造血ニッチを構成する間葉系細胞に特異的に発現し、その過剰発現で髄外 造血を誘導する転写因子 Tlx1 に着目し、LPS によって誘発される脾臓髄外造血の脾臓造血ニッチ による制御機構について解析を行った。まず、脾臓赤脾髄に局在する Tlx1 陽性細胞における TLR4 の発現を解析した結果、他の脾臓間葉系細胞に比較し、高発現していることが判明した。そこで、 LPS を投与することで髄外造血を誘発したところ、脾腫が認められ、Tlx1 陽性細胞における Tlx1 遺伝子の発現亢進ならびに Tlx1 陽性細胞数の増加が観察された。また、免疫組織学的解析によ り、Tlx1の過剰発現で誘導される髄外造血と同様、濾胞周囲へのTlx1陽性細胞の集積ならびに その近傍への造血幹・前駆局在が認められ、LPS 投与によって TLR4 を発現する Tlx1 陽性細胞が造 血幹・前駆細胞ニッチとして、髄外造血の場となっていることが明らかになった。さらに、LPS 誘 導性の脾臓髄外造血における Tlx1 欠損の影響について Tlx1<sup>Creff-Venus/Flox</sup> マウスを用いて解析した 結果、LPS 投与による脾臓微小環境の変化、すなわち、Venus 発現レベルの上昇(T1x1 遺伝子座 の活性化)、Venus 発現細胞の傍濾胞領域への集積ならびに Venus 発現細胞における SCF および CXCL12 などの造血ニッチ因子の発現上昇、それら全てが T1x1 欠損によって消失し、脾臓におけ る髄外造血も誘導されなかった。したがって、Tlx1の過剰発現により髄外造血が誘導されるとい う現在までの知見と総合すると、細菌感染によって誘発される脾臓髄外造血は間葉系前駆細胞に おける Tlx1 の発現亢進によって制御されていることが示唆された。(業績3参照)
# 【学術論文】

- Y. Ueno, K. Fujisaki, S. Hosoda, Y. Amemiya, S. Okazaki, C. Notsu, C. Nishiyama, Y. Mabuchi, Y. Matsuzaki, A. Oda, and <u>R. Goitsuka</u>, "Transcription factor Tlx1 marks a subset of lymphoid tissue organizer-like mesenchymal progenitor cells in the neonatal spleen," Sci. Rep., vol. 9, 20418, 2019.
- M. Namekata, M. Yamamoto, and R. <u>Goitsuka</u>, "Nuclear localization of Meis1 in dermal papilla promotes hair matrix proliferation in the anagen phase of hair cycle," Biochem. Biophys. Res. Commun., vol. 519, pp. 727-733, 2019.
- A. Oda, Y. Ueno, S. Hosoda, Y. Amemiya, C. Notsu, T. Tezuka, T. Kasahara, N. Nishiyama, and <u>R. Goitsuka</u>, "Niche-induced extramedullary hematopoiesis in the spleen is regulated by the transcription factor Tlx1," Sci. Rep., vol. 8, 8308, 2018.
- 4. Y. Tashiro, A. Murakami, Y. Hara, T. Shimizu, M. Kubo, <u>R. Goitsuka</u>, K. Kishimoto, and T. Azuma, "High-affinity IgM<sup>+</sup> memory B cells are defective in differentiation into IgM antibody-secreting cells by re-stimulation with a T cell-dependent antigen," Sci. Rep., vol. 8, 14559, 2018.
- Y. Kawai, A. Oda, Y. Kanai, and <u>R. Goitsuka</u>, "Germ cell-intrinsic requirement for the homeodomain transcription factor PKnox1/Prep1 in adult spermatogenesis," PLos One, vol. 13, e0190702, 2018.
- T. Owa, S. Taya, S. Miyashita, M. Yamashita, T. Adachi, K. Yamada, M. Yokoyama, S. Aida, T. Nishioka, Y. Inoue, <u>R. Goitsuka</u>, T. Nakamura, T. Inoue, K. Kaibuchi, and M. Hoshino, "Meisl coordinates cerebellar granule cell development by regulating Pax6 transcription, BMP signaling and Atohl degradation," J. Neurosci., vol. 38, pp. 1277-1294, 2018.
- T. Yokoyama, M. Nakatake, T. Kuwata, <u>R. Goitsuka</u>, S. Tsutsumi, H. Aburatani, P. J. M. Valk, R. Delwel, and T. Nakamura, "Tranactivation of Styll/Slp1 by Meis1 promotes CXCL12/CXCR4 signaling and myeloid leukemogenesis in vivo," J. Clin. Invest., vol. 126, pp. 1664-1678, 2016.
- K. Yoshioka, Y. Kawai, A. Oda, C. Notsu, Y. Mabuchi, S. Suzuki, Y. Matsuzaki, and <u>R. Goitsuka</u>, "Loss of Homeodomain Transcription Factor Prep1 Perturbs Adult Hematopoiesis in The Bone Marrow," Plos One, vol. 10, e0136107, 2015.
- 9. Y. Tashiro, A. Murakami, <u>R. Goitsuka</u>, T. Shimizu, H. Kishimoto, and T. Azuma, "An asymmetric antibody repertoire is shaped between plasmablasts and plasma cells after secodary immunization with (4-hydroxy-3-nitrophenyl) acetyl chicken gamma-

業績

globulin," Int. Immunol., vol. 27, pp. 609-620, 2015.

 Y. Seki, Y. Kikuchi, R. Yoshimoto, K. Aburai, Y. Kanai, T. Ruike, K. Iwabata, <u>R.</u> <u>Goitsuka</u>, F. Sugawara, M. Abe, and K. Sakaguchi, "Promotion of crystalline cellulose degradation by expansins from Orysa sativa," Planta, vol. 241, pp. 83-93, 2015.

#### 【著書】

- 1. 小田朗永, <u>後飯塚僚</u>, "成体脾臓における髄外造血ニッチとその構成要素," 医学のあゆみ, vol. 264, pp. 258-259, 2018.
- <u>後飯塚僚</u>, "間葉系ストローマ細胞による造血制御とその応用,"家畜感染症学会誌, vol.5, 2016.
- 3. <u>後飯塚僚</u>(共著分担),"獣医臨床のための免疫学,"学窓社, 2016年7月27日.

【学会発表】

- Y. Amemiya, S. Okazaki, C. Nishiyama, T. Nakamura and <u>R. Goitsuka</u>, "Accumulation of leukemic cells to the spleen is regulated by a transcription factor Tlx1 expressed in perifollicular mesenchymal cells," 第48回日本免疫学会学術集会, アク トシティー浜松, 浜松, 2019年12月11-13日.
- K. Fujisaki, S. Okazaki, C. Nishiyama, Y. Harada, and <u>R. Goitsuka</u>, "Genetic labeling of neonatal CXCR5-expressing cells for tracking long-lived B-1 cells in the adultsm" 第48回日本免疫学会学術集会, アクトシティー浜松, 浜松, 2019年12月11-13日.
- S. Hosoda, S. Okazaki, C. Nishiyama and <u>R. Goitsuka</u>, "Recruitment of peritoneal Bla cells to the spleen is regulated by the perifollicular mesenchymal niche," 第 48回日本免疫学会学術集会, アクトシティー浜松, 浜松, 2019年12月11-13日.
- 行方昌人、山本昌邦、後飯塚僚、"毛包器官におけるMeis1の局在変化と機能、"第42回日本分子生物学会年会、福岡国際会議場、福岡、2019年12月3-6日.
- 5. <u>後飯塚僚</u>, "2019年度ラスカー賞「B細胞とT細胞の発見」に寄せて,"日本大学大学院獣医学 研究科大学院生主催セミナー,日本大学生物資源科学部湘南キャンパス,2019年11月21日.
- Y. Amemiya, S. Okazaki, T. Nakamura and <u>R. Goitsuka</u>, "Extramedullary leukemogenic niche in the spleen exacerbates the progression of acute myeloid leukemia," 第78 回日本癌学会学術総会,国立京都国際会館,京都,2019年9月26-28日.
- 7. 藤崎桂子,西山千春,岡崎章悟,<u>後飯塚僚</u>, "脾臓微小環境による骨髄自然制御性プラズマ ブラストの分化・移行制御," 第29回学術集会Kyoto T cell conference (KTCC),京都大学 芝蘭会館,京都,2019年6月7-8日.
- 細田祥子,藤崎桂子,西山千春,原田陽介,岡崎章悟,<u>後飯塚僚</u>, "転写因子T1x1を発現す る成体脾臓微小環境による腹腔B-1a細胞の脾臓への移行制御," 第29回学術集会Kyoto T cell conference (KTCC),京都大学芝蘭会館,京都,2019年6月7-8日.
- 9. <u>後飯塚僚</u>, "脂肪組織とリンパ球," The Imaging Frontier Center Symposium 2019, 東京理

科大学野田キャンパス7号館6階ホール,千葉,2019年12月14日.(招待講演)

- <u>後飯塚僚</u>, "2019 年度ラスカー賞「B 細胞と T 細胞の発見」に寄せて、"日本大学大学院獣医 学研究科大学院生主催セミナー、日本大学生物資源科学部湘南キャンパス、2019 年 11 月 21 日.(招待講演)
- 11. <u>R. Goitsuka</u>, "A perinatal niche that regulates differentiation and function of fetal-type B-lineage cells," The 30<sup>th</sup> Anniversary International Symposium of Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science, 秋葉原コ ンベンションセンター, 東京, 2019 年 10 月 26 日. (Invited)
- Y. Amemiya, C. Nishiyama, A. Oda, T. Nakamura and <u>R. Goitsuka</u>, "Abnormality in the splenic microenvironment is involved in the malignant transformation of acute myeloid leukemia," 第47回日本免疫学会学術集会, 福岡国際会議場, 福岡, 2018年12月10-12日.
- Y. Ueno, C. Nishiyama, A. Oda, and <u>R. Goitsuka</u>, "Transcription factor Tlx1 is involved in the postnatal splenic architectural maintenance in a non-cell autonomous manner," 第47回日本免疫学会学術集会,福岡国際会議場,福岡,2018年12月10-12日.
- S. Hosoda, K. Fujisaki, Y. Ueno, C. Nishiyama, K. Haniuda, A. Oda, D. Kitamura, and <u>R. Goitsuka</u>, "Transcription factor Tlx1 regulates a niche for innate-like B cells in the spleen," 第47回日本免疫学会学術集会, 福岡国際会議場, 福岡, 2018年12月10-12日.
- 15. A. Oda, K. Fujisaki, Y. Ueno, C. Nishiyama, and <u>R. Goitsuka</u>, "The spleen serves as a specific microenvironment that support development of B-1a cells and LAG-3<sup>+</sup> CD138<sup>+</sup> natural regulatory plasma cells," 第47回日本免疫学会学術集会, 福岡国際会議場, 福 岡, 2018年12月10-12日.
- 16. 小田朗永,雨宮祐輔,<u>後飯塚僚</u>,"骨髄増殖性疾患発症における脾臓微小環境の役割,"第 28回学術集会Kyoto T cell conference (KTCC),京都大学芝蘭会館,京都,2018年6月15-16 日.
- 17. <u>R. Goitsuka</u>, "Wasteland or Wonderland?: the last unmapped organ in the homeostatic maintenance of the body," 2<sup>nd</sup> International Innovation Dialogue on Genome Engineering Animal Models and Biomedical Research Symposium, Dalian Medical University, China, 2018年9月10-12日. (Invited)
- 18. <u>R. Goitsuka</u>, "Myeloproliferative diseases triggered by the leukemogenic niche in the spleen," Third International BioMedical Interface Symposium, Okinawa Prefectural Museum & Art Museum, Naha, 2018年3月10-11日. (Invited)
- 19. <u>R. Goitsuka</u>, "The role of transcription factor Tlx1 in converting cell fate of dorsal pancreatic to spleen mesenchymal progenitors," International Symposium on

Imaging Frontier 2017, Katsushika Campus, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8-9, 2017.

- 20. A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "The mesenchymal cells expressing Tlx1 retain a potential to give rise to various types of mature stromal cells in the adult spleen," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika Campus, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8-9, 2017.
- Y. Ueno, A. Oda, T. Tezuka, C. Nishiyama, and <u>R. Goitsuka</u>, "Transcription factor Tlx1 marks hematopoietic stem/progenitor cell niche in the spleen," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika Campus, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, July 8-9, 2017.
- A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "The cell components of perifollicular hematopoietic niche in the spleen," 7th International Workshop of Kyoto T Cell Conference, Kyoto Univ., Kyoto, Japan, Mar. 13-17, 2017.
- 23. A. Oda, Y. Amemiya, S. Hosoda, and <u>R. Goitsuka</u>, "Niche-induced myeloproliferativelike disease caused by overexpression of Tlx1 in situ in splenic stromal cells," 第46回日本免疫学会学術集会,仙台国際センター,仙台,2017年12月12-14日.
- 24. Y. Ueno, S. Hosoda, C. Nishiyama, A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "Two mesenchymal progenitor cell populations in the spleen defined by a novel three-dimensional culture system," 第46回日本免疫学会学術集会, 仙台国際センター, 仙台, 2017年12月 12-14日.
- 25. T. Tezuka, M. Nishimoto, A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "Defects in splenic architectural organization by postnatal deletion of the gene encoding a transcription factor Tlx1," 第46回日本免疫学会学術集会,仙台国際センター,仙台,2017年12月12-14日.
- 26. A. Oda, Y. Amemiya, S. Hosoda, C. Nishiyama and <u>R. Goitsuka</u>, "The spleen is a potential leukemogenic niche accelerating myeloproliferative neoplasms," 第40回日 本分子生物学会年会,神戸ポートアイランド,神戸, 2017年12月6-9日.
- 27. T. Tezuka, A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "Postnatal deletion of a gene encoding a transcription factor Tlx1 in mesenchymal cells causes defects in the formation of white pulp and marginal sinus structures in the spleen," 第40回日本分子生物学会年 会,神戸ポートアイランド,神戸, 2017年12月6-9日.
- 28. Y. Ueno, S. Hosoda, C. Nishiyama, A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "A novel three-dimensional spheroid culture system that maintains mesenchymal progenitor cell populations of the spleen," 第40回日本分子生物学会年会,神戸ポートアイランド,神戸, 2017年12月 6-9日.

- 29. T. Owa, S. Taya, S. Miyashita, T. Nishioka, <u>R. Goitsuka</u>, T. Nakamura, K. Kaibuchi and M. Hoshino, "Role of Meis1 in the cerebellar development," 第40回日本分子生物 学会年会,神戸ポートアイランド,神戸, 2017年12月6-9日.
- 30. S. Koinuma, R. Nomura, T. Kojima, R. Negishi, K. Takeuchi, E. Segi-Nishida, <u>R. Goitsuka</u>, T. Fruichi, Y. Iwakura, N. Wada, N. Takahashi, Y. Koriyama, H. Kiyama and T. Nakamura, "Rho GTPase TC10, implicated in neuritegenesis through vesicle transport, promotes axon regeneration after PNS injury," 第40回日本分子生物学会年 会,神戸ポートアイランド,神戸, 2017年12月6-9日.
- 31. <u>後飯塚僚</u>, "骨髄増殖性疾患発症における脾臓微小環境の役割," 第160回日本獣医学会学 術集会, 鹿児島大学郡元キャンパス, 鹿児島, 2017年9月13-15日.
- 32. <u>R. Goitsuka</u>, "The role of transcription factor Tlx1 in converting cell fate of dorsal pancreatic to spleen mesenchymal progenitors," International Symposium on Imaging Frontier 2017, Katsushika Campus, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan, 2017年7月8-9日. (Invited)
- 33. A. Oda, T. Kasahara, and <u>R. Goitsuka</u>, "Mesenchymal cells expressing Tlx1 serve as an extramedullary niche in the spleen," International Congress of Immunology 2016, Melbourne Convention and Exhibition Centre, Melbourne, Australia, Aug. 21-26, 2016.
- 34. 大輪智雄,田谷真一郎,宮下聡,西岡朋生,中村卓郎,<u>後飯塚僚</u>,貝淵弘三,星野幹雄, "Meis1の小脳顆粒細胞における多段階発生制御,"第39回日本分子生物学会年会,パシフィコ横浜,神奈川,2016年11月30日-12月2日.
- 35. A. Oda, T. Tezuka, T. Kasahara, Y. Ueno, C. Nishiyama, and <u>R. Goitsuka</u>, "Interdependent roles of Tlx1-expressing mesenchymals cells and macrophages in extramedullary hematopoiesis in the spleen,"第45回日本免疫学会学術集会,沖縄コン ベンションセンター,沖縄, 2016年12月5-7日.
- 36. T. Kasahara, A. Oda, T. Tezuka and <u>R. Goitsuka</u>, "The splenic marginal sinus consists of two distinct cell populations expressing MAdCAM-1," 第45回日本免疫学会学術集会, 沖縄コンベンションセンター, 沖縄, 2016年12月5-7日.
- 37. T. Tezuka, T. Kasahara, Y. Ueno, C. Nishiyama, A. Oda and <u>R. Goitsuka</u>, "Transcription factor Tlx1 regulates the ability of spleen mesenchymal stromal cells to support the survival of hematopoietic progenitor cells *in vitro*," 第45回 日本免疫学会学術集会,沖縄コンベンションセンター,沖縄, 2016年12月5-7日.
- 小田朗永、野津智尋、<u>後飯塚僚</u>, "脾臓における髄外造血の間葉系ストローマ細胞とマクロ ファージによる制御,"第26回学術集会Kyoto T cell conference (KTCC), 延暦寺会館, 滋 賀, 2016年5月20-21日.

- 39. 後飯塚僚, "脾臓間葉系細胞による髄外造血の制御,"京都大学ウイルス研究所セミナー・共同利用・共同研究拠点セミナー,京都大学ウイルス研究所,京都,2016年9月28日. (招待講演)
- 40. <u>R. Goitsuka</u>, "Extramedullary hematopoietic niche in the spleen," International Symposium of the Center for Animal Disease Models 2016, "Metabolic Diseases and Aging" Tokyo Garden Place, Tokyo, 2016年7月16日. (Invited)
- 41. 後飯塚僚, "間葉系ストローマ細胞による造血制御とその応用," 第6回家畜感染症学会シンポジウム「基礎と臨床を結ぶ」~基礎研究の最前線で活躍する獣医師から学ぶ~,国立科学博物館,東京,2016年6月3日.(招待講演)
- 42. 後飯塚僚, "髄外造血ニッチとしての脾臓微小環境の形成機構," 福岡大学医学部再生医 学研究所セミナー, 福岡, 2016年2月24日. (招待講演)
- 43. 笠原透,中原亮,野津智尋,小田朗永,<u>後飯塚僚</u>, "ホメオドメイン転写因子Tlx1は脾臓原 基間葉系細胞の分化運命を規定する," 第25回学術集会Kyoto T cell conference (KTCC), 京都大学芝蘭会館,京都,2015年5月15-16日.
- 44. 小田朗永, 笠原透, 野津智尋, <u>後飯塚僚</u>, "ホメオドメイン転写因子Tlx1は赤脾髄における 赤芽球・マクロファージの維持に関与する," 第25回学術集会Kyoto T cell conference (KTCC), 京都大学芝蘭会館, 京都, 2015年5月15-16日.
- 45. A. Oda, R. Nakahara, C. Notsu, T. Kasahara, and <u>R. Goitsuka</u>, "Contribution of Tlx1expressing mesenchymal cells to splenic microenvironment formation during organogenesis and regeneration," Venice Thymus Meeting 2015, Venice International University, Italy, Apr. 9-13, 2015.
- 46. T. Kasahara, A. Oda, and <u>R. Goitsuka</u>, "Cell fate mapping of embryonic spleen primordium cells expressing the transcription factor Tlx1," 第24回日本バイオイメ ージング学会学術集会,東京理科大学葛飾キャンパス,東京, 2015年9月26-28日.
- T. Katsumoto, K. Yamagata, Y. Ogawara, T. Nakamura, <u>R. Goitsuka</u>, and I. Kitabayashi, "Endogenous MOZ was essential for MOZ-TIF2-induced Meis1 upregulation and AML development," 第77回日本血液学会学術集会, 金沢, 2015年10月16-18日.
- 48. A. Oda, C. Notsu, and <u>R. Goitsuka</u>, "Overexpression of Tlx1 *in situ* causes extramedullary hematopoiesis in the adult spleen," 第44回日本免疫学会学術集会,札 幌コンベンションセンター,札幌 2015年11月18-20日.
- 49. T. Kasahara, A. Oda, and <u>R. Goitsuka</u>, "Transcription factor Tlx1 regulates cell migration of the spleno-pancreatic mesenchyme in spleen organogénesis," 第44回日 本免疫学会学術集会,札幌コンベンションセンター,札幌、2015年11月18-20日.
- 50. C. Notsu, A. Oda, and <u>R. Goitsuka</u>, "Maintenance of the white pulp architecture in the postnatal spleen requires Meisl expression in mesenchymal progenitor cells," 第44回日本免疫学会学術集会,札幌コンベンションセンター,札幌,2015年11月18-20日.

51. Y. Tashiro, A. Murakami, <u>R. Goitsuka</u>, T. Shimizu, H. Kishimoto and T. Azuma, "An asymmetric antibody repertoire is shaped between plasmablasts and plasma cells after secondary immunization with (4-hydroxy-3-nitrophenyl acetyl; NP) hapten," 第44回日本免疫学会学術集会, 札幌コンベンションセンター, 札幌, 2015年11月18-20日.

【特許】

1. 山本昌邦, 行方昌人,<u>後飯塚僚</u>,「観察方法,測定方法,解析方法,定量方法,およびキット」,特願 2019-168469.

【広報】

1. 後飯塚僚, 2016年4月4日,日刊工業新聞,「白血病細胞の骨髄定着:マウスで仕組み解明」

# 植物の新規イメージング技術の開発 理工学部 応用生物科学科 朽津 和幸、橋本 研志

環境・食料・エネルギー問題の解決のために、植物研究の重要性が高まっているが、植物のイメ ージング研究には、①葉緑体・細胞壁・液胞等の植物特異的な細胞小器官が持つ自家蛍光物質、② 細胞壁が顕微注射や色素等の細胞内への導入の阻害要因となるなど、克服すべき課題が多い。応 用展開グループ(植物)では、他のグループとも協力しながら、さまざまなイメージング技術を開 発しながら、多面的に植物研究を進めて来た。

植物は、各細胞の自律的な応答性に基づく分散型の情報処理により個体全体を統御するシステムを進化させて来た。植物は神経系を持たないが、環境ストレスを感知して、局所的・全身的応答を誘導する。植物免疫、環境ストレス応答、先端成長・発生など植物の高次機能の基盤となる細胞内・細胞間情報伝達系、細胞表層における情報統御系の根幹に、活性酸素種(ROS)の積極的生成系とCa<sup>2+</sup>濃度変化とが重要な役割を担っており、積極的なROSの生成を担うNADPH oxidase (NOX)はその結節点に位置づけられる。

根毛・花粉管の極性を持った先端成長に、活性酸素種(ROS)の積極的な生成が必要であることを 明らかにした。さらに二次元的に成長、展開される成長様式を示し、植物組織の形態形成過程の モデル系として重要な苔類ゼニゴケをモデル系として、種々のイメージング技術を開発し、ゲノ ム編集等による遺伝学的解析と組み合わせることにより、二種のNox/RbohのうちRbohAは、細胞 分裂・細胞分化・幹細胞の維持等に重要な役割を果たすことを見出した。一方RbohBは、ストレス 応答と共に、仮根の先端成長に必須であることを見出した。極性を持つ細胞が一方向的に伸長す る先端成長に陸上植物共通の機構が想定され、分子機構の解明を進めた。

植物は、最表層に数百 nm の厚みの細胞壁を発達させており、発生や環境応答の過程でその力学 的性質を制御するが、植物細胞の成長と細胞壁の粘弾性との相関は明らかでない。そこで当セン ターの森作助教らが開発した、µm スケールの対象の動的粘弾性を非接触計測可能なレーザー誘 起表面変位(LISD)顕微鏡を、世界に先駆けて植物細胞に応用し、ゼニゴケ仮根の先端成長時の 細胞壁の粘弾性特性や、ROSの影響を解析し、成長と細胞壁の力学的特性との相関を解析する実 験系を構築した。ポンプ光を試料表面に集光することで、輻射圧が発生し、表面変形が誘起され る。ポンプ光と異なる波長のプローブ光を同軸で照射し、ポンプ光強度のON/OFFの周波数を掃 引した。各周波数での反射プローブ光の光子密度変化から、表面変位量を検出しパワースペクト ルを得た。

ポンプ光として近赤外域で水の吸収が最も小さい800 nmの波長の光を用いた。LISD顕微鏡によって細胞壁の局所粘弾性を生きたまま計測することで、ROS生成は、細胞壁の弾性低下に加えて、細胞壁の粘性を高める可能性が示唆された。

植物は、多種の色素や自家蛍光物質を葉緑体、細胞壁、液胞等に持ち、多くの細胞が光応答性 を示すことから、蛍光イメージング以外の非破壊的計測手法が求められている。そこで小関客員 准教授らと共同で、高速誘導ラマン散乱顕微鏡を植物組織に適用する手法を確立した。生体分子 がそれぞれに持つ分子振動状態の違いを検出することにより、標本に含まれる様々な組成分の空間的分布情報を得る手法であり、C-H伸縮振動領域 (2,800 – 3,100 cm<sup>-1</sup>) における分子振動スペクトルをわずか3秒で取得可能である。種々の植物組織の解析を試みたところ、飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸、デンプン粒、フェノール化合物など、様々な生体分子が細胞内外に分布する様子を可視化でき、無固定無染色で生きたままの組織において、6種の異なる成分の分布の可視化に成功した。

二光子レーザー顕微鏡等を用いたシングルセルから個体レベルにおけるROS/Ca<sup>2+</sup>シグナル動 態のライブイメージング解析実験系を構築した。細胞質内Ca<sup>2+</sup>プローブ蛍光蛋白質を発現させた ゼニゴケを作成し、葉状体に傷害、塩ストレス、電気刺激等を局所的に与えて、時空間的な[Ca<sup>2+</sup>]<sub>oy</sub> 変化を解析する実験系を構築した。その結果、維管束を持たないゼニゴケが迅速な長距離情報伝 達系を持つことを見出し、シロイヌナズナの維管束系における報告と同等の速度で[Ca<sup>2+</sup>]<sub>oy</sub>上昇が 波状に伝播する機構が存在することを発見した。イメージング解析と遺伝学的解析を組み合わせ、 長距離情報伝達系に関与する因子の同定を進めた。

植物の花粉成熟過程において、葯の最内層のタペート細胞でPCDが誘導され、花粉に表面構造の材料や栄養が供給される。イネのオートファジー欠損変異株は、タペート細胞のPCDの遅延による重篤な雄性不稔形質を示す。タペート細胞のオートファジー動態やROS蓄積の可視化系を構築した。PCD開始期である小胞子一核期でオートファジーが急激に誘導されることを見出し、オートファジーの誘導には、タペートPCDの鍵転写因子やROS生成酵素が重要な役割を果たすこと、花粉成熟に必須な葯タペート細胞のプログラム細胞死に、オートファジーやNox/Rbohが重要な役割を果たすことを見出した。また種子登熟過程のイメージング解析も進め、種子登熟過程と米の品質保持にオートファジーが重要な役割を果たすことを発見した。

### 業績

【学術論文】

- S. Hanamata, J. Sawada, B. Toh, S. Ono, K. Ogawa, T. Fukunaga, K-I Nonomura, T. Kurusu, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Monitoring autophagy in rice tapetal cells during pollen maturation," Plant Biotechnology, vol. 36, pp. 90-105, 2019.
- J.-P. Han, P. Köster, M. M. Drerup, M. Scholz, S. Li, K. H. Edel, K. Hashimoto, <u>K. Kuchitsu</u>, M. Hippler, and J. Kudla, "Fine tuning of RBOHF activity is achieved by differential phosphorylation and Ca<sup>2+</sup> binding," New Phytologist, vol. 221, pp. 1935-1949, 2019.
- J. S. Jiménez, K. Hashimoto, P. Vinuesa, O. Santana, A. Jesús, <u>K. Kuchitsu</u>, and L. Cárdenas, "Emerging roles of tetraspanins in plant inter-cellular and inter-kingdom communication," Plant Signaling & Behavior, vol. 14, e1581559, 2019.
- H. Kaya, S. Takeda, M. J. Kobayashi, S. Kimura, A. Iizuka, A. Imai, H. Hishinuma, T. Kawarazaki, K. Mori, Y. Yamamoto, Y. Murakami, A. Nakauchi, M. Abe, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Comparative analyses of ROS-producing enzymatic activity of Arabidopsis NADPH oxidases," The Plant Journal, vol. 98. pp. 291-300, 2019.
- T. Kurusu, D. Mitsuka, C. Yagi, N. Kitahata, T. Tsutsui, T. Ueda, Y. Yamamoto, J. Negi, K. Iba, S. Betsuyaku, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Involvement of S-type anion channels in disease resistance against an oomycete pathogen in Arabidopsis seedlings," Communicative & Integrative Biology, vol. 11, pp. 1-6, 2018.
- X. Zhang, P. Köster, K. Schlücking, D. Balcerowicz, K. Hashimoto, <u>K. Kuchitsu</u>, K. Vissenberg, and J. Kudla, "CBL1-CIPK26-mediated phosphorylation enhances activity of the NADPH oxidase RBOHC, but is dispensable for root hair growth," FEBS Letters, vol. 592, pp. 2582-2593, 2018.
- Y. Seo, K. Ide, N. Kitahata, <u>K. Kuchitsu</u>, and K. Dowaki, "Environmental impact and nutritional improvement of elevated CO<sub>2</sub> treatment: A case study of spinach production," Sustainability, vol. 9, e1854, 2017.
- T. Kurusu, T. Koyano, N. Kitahata, M. Kojima, S. Hanamata, H. Sakakibara, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Autophagy-mediated regulation of phytohormone metabolism during rice anther development," Plant Signaling & Behavior, e1365211, 2017.
- E. J. Jeon, K. Tadamura, T. Murakami, J-I. Inaba, BM Kim, M. Sato, G. Atsumi, <u>K. Kuchitsu</u>, C. Masuta, and K. S. Nakahara, "rgs-CaM Detects and Counteracts Viral RNA Silencing Suppressors in Plant Immune Priming," J. Virol, vol. 91, e00761-17, 2017.

- G. Gayatri, S. Agurla, <u>K. Kuchitsu</u>, K. Anil, A.R. Podile, and A. S. Raghavendra, "Stomatal Closure and Rise in ROS/NO of Arabidopsis Guard Cells by Tobacco Microbial Elicitors: Cryptogein and Harpin," Front Plant Sci., vol. 8, e1096, 2017.
- A. Webb, <u>K. Kuchitsu</u>, J. M. Kwak, Z. M. Pei, and H. Iida, "Sensors and Sensing in Plants. Sensors make sense of signaling," Plant Cell Physiol, vol. 58, pp. 1121-1125, 2017.
- K. T. Yamato and <u>K. Kuchitsu</u>, ""Fusion" in Fertilization: Interdisciplinary Collaboration among Plant and Animal Scientists," J. Plant Res, vol. 130, pp. 419– 421, 2017.
- T. Kurusu and <u>K. Kuchitsu</u>, "Autophagy, programmed cell death and reactive oxygen species in sexual reproduction in plants," J. Plant Res., vol. 130, pp. 491-499, 2017.
- K. Hyodo, K. Hashimoto, <u>K. Kuchitsu</u>, N. Suzuki, and T. Okuno, "Harnessing host ROSgenerating machinery for the robust genome replication of a plant RNA virus," Proc. Natl Acad. Sci. USA, vol. 114, pp. 1282-1290, 2017.
- T. Kurusu, S. Hanamata, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Quantitative live cell imaging of autophagic flux and roles of autophagy in reproductive development in plants," Bioimages, vol. 24, pp. 1-11, 2016.
- M. Ishikawa, H. Ide, H. Yamazaki, H. Murakawa, <u>K. Kuchitsu</u>, W. S. Price, and Y. Arata, "Freezing behaviours in wintering Cornus florida flower bud tissues revisited using MRI," Plant Cell and Environment, vol. 39, pp. 2663-2675, 2016.
- M. R. Puli, P. Rajsheel, V. Aswani, S. Agurla, <u>K. Kuchitsu</u>, and A. S. Raghavendra, "Stomatal closure induced by phytosphingosine-1-phosphate and sphingosine-1phosphate depends on nitric oxide and pH of guard cells in *Pisum sativum*," Planta, vol. 244, pp. 831-841, 2016.
- 18. Y. Yanagawa, H. Yoda, K. Osaki, Y. Amano, M. Aono, S. Seo, <u>K. Kuchitsu</u>, and I. Mitsuhara, "Mitogen-activated protein kinase 4-like carrying an MEY motif instead of a TXY motif is involved in ozone tolerance and regulation of stomatal closure," J. Exp. Bot., vol. 67, pp. 3471-3479, 2016.
- 19. <u>朽津和幸</u>, "オートファジー (細胞内自食作用)のメカニズム," 科学フォーラム, vol. 394, pp. 44-45, 2017.
- D. Klionsky, ..., <u>K. Kuchitsu</u>, ... 中略..., and S. M. Zughaier, "Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy, 3rd edition," Autophagy, vol. 12, pp. 1-222, 2016.

- T. Kurusu, <u>K. Kuchitsu</u>, and Y. Tada, "Plant signaling networks involving Ca<sup>2+</sup> and Rboh/Nox-mediated ROS production under salinity stress," Frontiers in Plant Science, vol. 6, e427, 2015.
- S. Wada, Y. Hayashida, M. Izumi, T. Kurusu, S. Hanamata, K. Kanno, S. Kojima, T. Yamaya, <u>K. Kuchitsu</u>, A. Makino, and H. Ishida, "Autophagy supports biomass production and nitrogen use efficiency at the vegetative stage in rice," Plant Physiology, vol. 16, pp. 60-73, 2015.
- 23. M. Izumi, J. Hidema, S. Wada, E. Kondo, T. Kurusu, <u>K. Kuchitsu</u>, A. Makino, and H. Ishida, "Establishment of monitoring methods for autophagy in rice reveals autophagic recycling of chloroplasts and root plastids during energy limitation," Plant Physiology, vol. 167, pp. 1307-1320, 2015.
- 24. 来須孝光,小谷野智子,花俣繁,<u>朽津和幸</u>,"イネの生殖器官発達におけるオートファジーの新たな役割," バイオイメージング, vol. 24, pp. 7-11, 2015.
- 25. M. Nara, H. Morii, T. Shimizu, <u>K. Kuchitsu</u>, T. Miyakawa, and M. Tanokura, "INFRARED STUDIES ON THE Ca<sup>2+</sup>-BOUND COORDINATION STRUCTURE OF SYNTHETIC PEPTIDE ANALOGUES OF THE Ca<sup>2+</sup>-BINDING SITE," Proceedings of 19th International Symposium on Calcium Binding Proteins and Calcium Function In Health and Disease, vol. 59, 2015.
- 26. A. Matsumoto, K. Kanamori, <u>K. Kuchitsu</u>, and H. Ohwada, "Automated Discovery of Compounds Related to the Plant Immunity Activation by a Logic-based machine learning," Proceedings of the 6th International Conference on Computational Systems-Biology and Bioinformatics, 2015.
- A. Matsumoto, K. Kanamori, <u>K. Kuchitsu</u>, and H. Ohwada, "Extracting the Common Structure of Compounds to Induce Plant Immunity Activation using ILP," 5th International Conference On Inductive Logic Programming, 2015.
- 28. <u>朽津和幸</u>, "人と人を結ぶバイオイメージング," 日経バイオテク, pp. 36-37, 2015.

【著書】

- M. Ishikawa, H. Yamazaki, T. Kishimoto, H. Murakawa, T. Stait-Gardner, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Survival Strategies in Extreme Cold and Desiccation, Ice Nucleation Activity in Plants: The Distribution, Characterization, and Their Roles in Cold Hardiness Mechanisms," William S. Price, pp 99-115, 2018,
- L. テイツ, E. ザイガー, I. M. モーラー, A. マーフィー編 西谷和彦/島崎研一郎監訳, <u>朽津和幸</u>他訳, "テイツ/ザイガー植物生理学・発生学 原著第6版,"講談社, 全832ペ ージ, 2017.
- 3. 浅見忠男, 柿本辰男編著, <u>朽津和幸</u>他著, "植物ホルモンの科学第3版," 講談社, 全192 ペ ージ, 2016.

- 4. <u>朽津和幸</u>他著,"植物学の百科事典,"日本植物学会編 日本育種学会編集協力 丸善出版, 全 802 ページ, 2016.
- T. Kurusu, T. Higaki, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Programmed cell death in plant immunity: Cellular reorganization, signaling and cell cycle dependence in cultured cells as a model system," in Plant Programmed Cell Death, Springer, pp. 77-96, 2015.

# 【学会発表】

- <u>K. Kuchitsu</u>, "Reactive oxygen species, autophagy and programmed cell death in plant reproduction,"日本植物生理学会国際シンポジウム New Trends of Plant Reproduction Emerging from Cell Biological Approaches, 札幌, 2018年3月28日.(招 待講演)
- <u>K. Kuchitsu</u>, "Stories of Oxygen and Active Molecular Species in Photosynthetic Organisms," 日本植物生理学会国際シンポジウム,札幌,2018年3月29日.(招待講演)
- K. Hashimoto, <u>K. Kuchitsu</u>, "Multiple roles of ROS-generating enzymes, MpRbohA and MpRbohB, in growth, development and stress responses in *Marchantia polymorpha*," 日本植物生理学会国際シンポジウム, 札幌, 2018 年 3 月 29 日. (招待講演)
- 4. <u>K. Kuchitsu</u>, "ROS-Mediated Regulation Development and Stress Responses in Plant; towards the Control of Growth and Quality of Crops by Plasma Technology," 2nd International Workshop On Plasma Agriculture, 岐阜, 2018年3月10日. (Invited)
- 5. <u>朽津和幸</u>, "活性酸素-Ca<sup>2+</sup>シグナルネットワーク・オートファジーによる植物の発生・プロ グラム細胞死・ストレス応答の制御,"細胞生物学セミナー 富山 2018 年 3 月 8 日. (招待 講演)
- 6. <u>朽津和幸</u>, "活性酸素を介した植物の成長・生殖・ストレス応答の制御,"システム情報科 学研究院セミナー, 福岡, 2018 年 3 月 2 日. (招待講演)
- <u>朽津和幸</u>, "宇宙における人間と植物:人間のパートナー「植物」を理解し、共に生きる," 宇宙教育セミナー東京 2018 年 2 月 12 日.(招待講演)
- <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of Development and Stress Responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> Signaling Network in plants," International Marchantia Workshop 2017-Renaissance of *Marchantia polymorpha*-the genome and beyond-, 愛知, 2018年12月17日. (Invited)
- <u>朽津和幸</u>, "植物オートファジー研究の第二の夜明け,"日本植物学会シンポジウム, 千葉 2018年9月9日. 招待講演)
- 10. 来須孝光, <u>朽津和幸</u>, "イネの生存戦略におけるオートファジーの重要性,"日本植物学会 シンポジウム, 千葉, 2018年9月9日.(招待講演)
- <u>K. Kuchitsu,</u> "Regulation of plant development and stress responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," 3rd International Symposium on Plant Environmental Sensing, 中国山西師範大学, 2017 年 8 月 14 日. (Invited)

- <u>K. Kuchitsu</u>, "Visualizing the regulation of plant development and stress responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," International Symposium on Imaging Frontier, 千葉, 2017年7月8日. (Invited)
- <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of plant development and stress responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," Plant Signaling & Behavior 2017, 島根, 2017 年 6月29日. (招待講演)
- 14. <u>朽津和幸</u>, "活性酸素-Ca<sup>2+</sup>シグナルネットワーク・オートファジーによる植物の免疫・発生・ 生殖の制御,"生物生産フロンティアセミナー,秋田, 2017 年 4 月 25 日. (招待講演)
- 15. <u>朽津和幸</u>, "植物と活性酸素: 明らかになりつつある活性酸素生成酵素の多彩な機能," 医理工学際セミナー,千葉, 2016. (招待講演)
- <u>朽津和幸</u>, "イネの生殖・免疫・代謝制御におけるオートファジーの役割," 第10回オート ファジー研究会,新潟, 2016.(招待講演)
- <u>朽津和幸</u>, "宇宙における人間と植物:人間のパートナー「植物」を理解し、共に生きる、" 宇宙教育プログラム、千葉、2016.(招待講演)
- 朽津和幸, "Regulation of plant development and defense responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," Comparative Aging Research Center Seminar, 大 邱広域市, 韓国, 2016. (Invited)
- 19. <u>朽津和幸</u>, "Reactive Oxygen Species, Programmed Cell Death and Autophagy as Double-Edged Swords in Plant Life: Roles in Morphogenesis and Adaptation," QBIC Workshop, 千葉, 2016. (招待講演)
- 20. <u>朽津和幸</u>, "Regulation of plant development and defense responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," Viikki Plant Science Seminar, Helsinki, Finland, 2016. (Invited)
- <u>朽津和幸</u>, "Regulation of plant development and defense responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," Centre of Excellence in Integrative Photosynthesis and Bioactive Compound Research at Systems Biology Level Seminar, Turku, Finland, 2016. (Invited)
- 22. <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of plant development and defense responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network," Finnish-Japanese symposium 2016 "Integration of photosynthesis with cellular metabolism: towards sustainable bioeconomy", Saariselkä, Finland, 2016. (Invited)
- 23. <u>朽津和幸</u>, "植物の生き方を学び, 活かす〜環境・食糧・エネルギー問題の基礎として〜," 東京都生物教育研究会, 東京, 2016. (招待講演)
- 24. <u>朽津和幸</u>, "Regulation of Plant Development and Stress Responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> Signaling Network and Autophagy," The 2nd Symposium on Plant Environmental Sensing, 杭州市, 中国, 2016. (Invited)

- 25. <u>朽津和幸</u>,橋本研志,賀屋秀隆,北畑信隆, "ROS-Ca<sup>2+</sup>シグナルネットワークによる植物の 発生とストレス応答の制御," 第 57 回日本植物生理学会年会,盛岡, 2016. (招待講演)
- 26. <u>朽津和幸</u>, "生物研究のおもしろさ, 大切さをどう伝えるか?~植物の生き方の理解とバイオイメージング~," 日本生物教育学会第100回大会公開シンポジウム「専門家育成のための高校生物教育の幹とは~大学・高校双方の視点を材料に~」," 東京, 2016. (招待講演)
- <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of plant stress responses and development by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network," International Plant Physiology Congress 2015, India, 2015. (Invited)
- 28. <u>朽津和幸</u>, "NADPH oxidase による活性酸素種の積極的生成と動物・植物・菌類の高次生命機能,第38回日本分子生物学会・第88回日本生化学会大会合同大会(BMB2015),神戸,2015. (招待講演)
- 29. <u>朽津和幸</u>, 橋本研志, 船木洋一, 木村貴史, 杉浦誠, 籔田渉二, "植物 NADPH oxidase/Rboh の Ca<sup>2+</sup>・リン酸化を介した活性制御機構と発生・生殖・ストレス応答におけ る生理的役割," 第38回日本分子生物学会・第88回日本生化学会大会合同大会(BMB2015), 神戸, 2015. (招待講演)
- 30. 橋本研志,山田融,船木洋一,賀屋秀隆,北畑信隆,石崎公庸,西浜竜一,河内孝之,<u>朽</u> <u>津和幸</u>, "植物 NADPH oxidase の分子進化と基部陸上植物ゼニゴケに探る活性制御の基本 機構," 第38回日本分子生物学会・第88回日本生化学会大会合同大会(BMB2015),神戸, 2015. (招待講演)
- 31. <u>朽津和幸</u>, "生物の歴史性と多様性: 植物の生き方と情報処理," 自然科学研究機構・大学 共同利用機関法人コロキウム(NINS/IURIC Colloquium) 2015「学術研究の未来」,静岡県 掛川市, 2015. (招待講演)
- 32. <u>朽津和幸</u>, "植物はオートファジーをどのように活用しているか?: イネの生殖・種子形成, 代謝制御におけるオートファジーの役割," 第9回オートファジー研究会, 淡路, 2015. (招待講演)
- <u>朽津和幸</u>, "植物の生き様~動物とは違うもう一つの生き方:環境・食糧・エネルギー問題解決に向けて~," グローバルサイエンスキャンパス基礎コース応用編生物,野田,2015. (招待講演)
- 34. <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of stress responses and development by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy in plants," International Symposium on Dynamics and Regulation of Photosynthesis, 奈良, 2015. (Invited)
- 35. <u>K. Kuchitsu</u>, "Signaling Network in Plants," International QBIC Workshop 2015, 野田, 2015. (Invited)

- 36. <u>朽津和幸</u>,大滝幹,羽山大介,北畑信隆,花俣繁,来須孝光,上田貴志,"植物の感染防 御応答の制御と細胞内の膜動態," 第 24 回日本バイオイメージング学会学術集会シンポ ジウム,葛飾, 2015. (招待講演)
- 37. 来須孝光,陶文紀,花俣繁,岡咲洋三,二平耕太朗,小嶋美紀子,徳永京也,北畑信隆, 榊原均,斉藤和季,多田雄一,小関泰之,<u>朽津和幸</u>,"イネの花粉・種子形成および代謝 制御におけるオートファジーの役割," 第 24 回日本バイオイメージング学会学術集会, 葛飾, 2015.
- 38. <u>K. Kuchitsu</u>, H. Kaya, and K. Hashimoto, "Enzymatic production of reactive oxygen species in sexual reproduction," 日本植物学会第79回大会シンポジウム,新潟, 2015.
- 39. T. Kurusu, B. Toh, S. Hanamata, T. Kubo, Y. Okazaki, T. Ohnishi, N. Nagata, K. Saito, T. Kinoshita, N. Kurata, Y. Tada, and <u>K. Kuchitsu</u>, "Roles of autophagy during male reproductive development and sexual reproduction in rice," 日本植物学会第79回 大会シンポジウム, 新潟, 2015.
- 40. A. Matsumoto, K. Kanamori, <u>K. Kuchitsu</u>, and H. Ohwada, "Extracting the Common Structure of Compounds to Induce Plant Immunity Activation using ILP," 25th International Conference On Inductive Logic Programming, 京都, 2015.
- <u>K. Kuchitsu</u>, "Comparative comprehensive analyses of calcium-mediated regulation, localization and functions of ROS-producing NADPH oxidases," 12th International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants: from model systems to field, Verona, Italy, 2015.
- 42. <u>朽津和幸</u>, "活性酸素-Ca<sup>2+</sup>シグナルネットワーク, オートファジーによる植物の免疫・発 生・生殖の制御," バイオフォーラム 2015, 京都, 2015.
- 43. M. Nara, H. Morii, T. Shimizu, <u>K. Kuchitsu</u>, T. Miyakawa, and M. Tanokura, "Infrared studies on the Ca<sup>2+</sup>-bound coordination structuure of synthetic pepride analoues of the Ca<sup>2+</sup>-binding site," 19th International Symposium on Calcium Binding Proteins and Calcium Function In Health and Disease, USA, 2015.
- <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of plant immunity, development and reproduction by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," 中国科学院上海生命科学研究院現代生物学 系列講座,中国, 2015.
- 45. <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of Plant Immunity, Development and Reproduction by ROS-Ca<sup>2+</sup> Signaling Network and Autophagy," International Symposium on Plant Environmental Sensing, 中国, 2015.
- <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of plant immunity, stress responses, development and reproduction by ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling networks and autophagy," Helsinki Plant Seminar, Finland, 2015.

47. <u>K. Kuchitsu</u>, "Regulation of plant immunity, development and reproduction by the ROS-Ca<sup>2+</sup> signaling network and autophagy," Bioproduction Research Institute Seminar,  $\neg < i \vec{x}$ , 2015.

機械学習を利用した肝臓に蓄積する脂質濃度分布の 近赤外線スペクトルイメージング 大阪市立大学大学院医学研究科 大谷 直子

#### 【研究の背景と目的】

近年、ウイルス性肝がんの治療法が発達する一方で、非ウイルス性肝がん、中でも脂肪肝に 伴う肝がんが増加の一途をたどっており、その早期診断や予防法・治療法の開発は喫緊の課題 である。先行研究において私たちは、発癌しやすい処理をしたマウスモデルを用いて、高脂肪 食摂取により、脂肪肝を素地とする肝癌の発症が著しく促進され、腸内細菌代謝物、デオキシ コール酸が肝がん促進の原因の一つであることを示した(Yoshimoto et al. 2013 Nature)。組 織学的解析により、この高脂肪食誘導性の肝がん腫瘍部では、周囲の非腫瘍部と比較して、脂 質の蓄積量が著しく多いことがわかった。このような脂質蓄積量の多い肝がんは、近年、ヒト においても非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)関連肝癌の一型である脂肪肝肝炎様肝細胞が ん、(steato-hepatitic HCC、SH-HCC)として分類され、特徴的な代謝経路の存在が示唆されて いる。このような背景から、肝臓に含まれる脂質の量や種類を、非侵襲的に検出することが、 肝がんの病態予測や診断につながる可能性があると考え、近赤外線スペクトルデータと機械学 習を組み合わせた近赤外線スペクトル・イメージング技術を用いて、肝臓に含まれる脂質の濃 度分布の可視化を目的とし、本研究を行った。

### 【方法】

#### ① 高脂肪食誘導性肝がんの腫瘍部における機能性脂質の同定と肝がん進展機構の解明

高脂肪食誘導性肝がんのマウスモデルにおける肝がんは脂質の含有量が著しく高く、ヒトにおける NASH 肝がんの一種、脂肪肝肝炎様肝細胞がん、(steatohepatitic HCC、SH-HCC)のモデルと考えられた。この腫瘍部に存在する脂質の種類をターゲット・リピドミクスの手法で解析し、脂質による肝がん促進のメカニズム解明に取り組んだ。

#### ② マウス肝臓における脂質濃度分布の近赤外スペクトル・イメージング

高脂肪食を含め、様々な試料を摂取させたマウスの肝臓試料を近赤外線スペクトルカメラで撮像(波長域1000-1600 nm、露光時間 30 ms)し、教師データとした。その後、各肝臓をすりつぶし、Folch 法による脂質の抽出を行い、脂質量を測定し実測値とした。59 サンプルを撮像できた時点で、撮像した肝臓の全画素から10 画素のスペクトルを任意に抽出し教師データとした方法で、39 サンプルの場合と比較した。さらに全画素の平均スペクトルを教師データとした方法でイメージングを実施し比較した(図1)。得られたデータをもとにクロス・バリデーションを行い、解析の精度を評価した。

#### 【結果】

#### ① 高脂肪食誘導性肝がんの腫瘍部における機能性脂質の同定と肝がん進展機構の解明

高脂肪食誘導性肝がんの腫瘍部では、アラキドン酸が多く検出された。腫瘍部の肝星細胞において、シクロオキシゲナーゼ2(COX-2)が高発現しており、アラキドン酸からプロスタグランジ

ン類が多く産生されていることがわかった。詳細を調べたところ、脂質メディエーターとして働く PGE<sub>2</sub>が過剰産生され、抗腫瘍免疫の担当細胞を標的として PGE<sub>2</sub>のレセプターEP4 を介して、抗 腫瘍免疫を抑制することが肥満関連肝がんの進展につながることがわかった。また、ヒトの NASH 肝がんの一型として分類される脂肪肝炎様肝細胞がん(steato-hepatitic HCC、SH-HCC)でも、マ ウスモデルと同様の PGE<sub>2</sub>の過剰産生が認められ、ヒトの (NASH) 関連肝癌の一部でも同様の機構 が働いていることが明らかになった (*Loo et al. 2017 Cancer Discovery*)。

#### ② マウス肝臓における脂質濃度分布の近赤外スペクトル・イメージング

10 画素のスペクトルを抽出し教師デ ータとした方法で、教師データ 39 サン プルの場合と 59 サンプルの場合で比較 したところ、 59 サンプルの教師データ により、作製したイメージング画像のほ うが脂質の濃度分布を詳細にイメージ ングすることができた。さらに全画素の 平均スペクトルを教師データとした方 法で、イメージング画像を作製した場 合、脂質の濃度分布をさらに詳細にイメ ージングすることができた。つまり、全 画素の平均スペクトルを教師データと



した方法が最も精密かつ、実測値に非常近い値を反映したイメージング画像を得ることができた (図1)。次に、全画素の平均スペクトルを教師データとした方法で得られた画像データをもとに クロスバリデーションを行い、イメージング解析の精度を評価した。その結果、撮像の波長域 1000-1600 nmの範囲をさらに狭めて、1000-1350 nm としてデータを解析した場合に、推定誤差 を10.0%まで縮めることができ、より精密化することができた(投稿準備中)。

#### 【考察】

近赤外線スペクトル・イメージング手法は、可視光より波長が長く赤外線光より波長が短い「近赤外線光」の特徴である高い透過性を利用して臓器を撮像し、得らえたスペクトルデータから、 機械学習によってイメージング画像に変換する方法である。本研究によりマウス肝臓に含まれる 脂質の濃度分布が、高い精度でイメージングできることがわかった。本研究では生体内に存在す る「内在性脂質」をもとに教師データを作り、機械学習によりイメージングするという、外来物 質に頼らない新規で安全な方法を開発することができた。この手法で肝臓に蓄積する脂質の分布 状況や濃度を非侵襲的に検出できれば、脂肪肝の質の評価や、PGE2が過剰産生される脂質蓄積量 が多い肝癌を質的に評価し、最適な治療法の選択につなげられる可能性がある。今後は教師デー タをさらに増やし精度を上げるとともに、脂質の種類別イメージングを目指して研究を進めたい。

# 業績

【学術論文】

- M. Wakita, A. Takahashi, O. Sano, T. M. Loo, Y. Imai, M. Narukawa, H. Iwata, T. Matsudaira, S. Kawamoto, <u>N. Ohtani</u>, and E. Hara, "A BET family protein degrader provokes senolysis by targeting NHEJ and autophagy in senescent cells," Nature Commun., vol. 11, 1935, 2020.
- <u>N. Ohtani</u>, "Deciphering the mechanism for induction of senescence-associated secretory phenotype (SASP) and its role in ageing and cancer development," J. Biochem. vol. 166, pp. 289-295, 2019.
- M. Iwamoto, W. Saso, R. Sugiyama, K. Ishii, M. Ohki, S. Nagamori, R. Suzuki, H. Aizaki, A. Ryo, J. H. Yun, S. Y. Park, <u>N. Ohtani</u>, M. Muramatsu, S. Iwami, Y. Tanaka, C. Sureau, T. Wakita, and K. Watashi, "Epidermal growth factor receptor is a host-entry cofactor triggering hepatitis B virus internalization," Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 116, pp. 8487-8492. 2019.
- <u>N. Ohtani</u> and N. Kawada, "Role of the Gut-Liver Axis in Liver Inflammation, Fibrosis, and Cancer: A Special Focus on the Gut Microbiota Relationship," Hepatol Commun., vopl. 3, pp. 456-470, 2019.
- H. Ohashi, K. Nishioka, S. Nakajima, S. Kim, R. Suzuki, H. Aizaki, M. Fukasawa, S. Kamisuki, F. Sugawara, <u>N. Ohtani</u>, M. Muramatsu, T. Wakita, and K. Watashi, "The aryl hydrocarbon receptor-cytochrome P450 1A1 pathway controls lipid accumulation and enhances the permissiveness for hepatitis C virus assembly," J. Biol. Chem., vol. 293, pp. 19559-19571, 2018.
- A. Takahashi, T. M. Loo, R. Okada, F. Kamachi, K. Miyata, Y. Watanabe, M. Wakita, S. Watanabe, S. Kawamoto, G. Barber, <u>N. Ohtani</u>, and E. Hara, "Downregulation of cytoplasmic DNases is implicated in cytoplasmic DNA accumulation and SASP in senescent cells," Nature Commun., vol. 9, 1249, 2018.
- M. Kaneko, Y. Futamura, S. Tsukuda, Y. Kondoh, T. Sekine, H. Hirano, K. Fukano, <u>H.</u> <u>Ohashi</u>, W. Saso, R. Morishita, S. Matsunaga, F. Kawai, A. Ryo, S. Y. Park, R. Suzuki, H. Aizaki, N. Ohtani, C. Sureau, T. Wakita, H. Osada, and K. Watashi, "Chemical array system, a platform to identify novel hepatitis B virus entry inhibitors targeting sodium taurocholate cotransporting polypeptide," Sci. Rep., vol. 9, e2769, 2018.
- M. Iwamoto, D. Cai, M. Sugiyama, R. Suzuki, H. Aizaki, A. Ryo, <u>N. Ohtani</u>, Y. Tanaka,
  M. Mizokami, T. Wakita, H. Guo, and K. Watashi, "Functional association of cellular

microtubules with viral capsid assembly supports efficient hepatitis B virus replication," Sci. Rep., vol. 6, e10620, 2017.

- T. M. Loo, F. Kamachi, Y. Watanabe, S. Yoshimoto, H. Kanda, Y. Arai, Y. Nakajima-Takagi, A. Iwama, T. Koga, Y. Sugimoto, T. Ozawa, M. Nakamura, M. Kumagai, K. Watashi, W. W. Taketo, T. Aoki, S. Narumiya, M. Oshima, M. Arita, E. Hara, and <u>N.</u> <u>Ohtani</u>, "Gut microbiota promotes obesity-associated liver cancer through PGE2mediated suppression of antitumor immunity," Cancer Discovery, vol. 7, pp. 522-538, 2017.
- S. Watanabe, S. Kawamoto, N. <u>Ohtani</u>, and E. Hara, "Impact of senescence-associated secretory phenotype and its potential as a therapeutic target for senescenceassociated diseases," Cancer Sci., vol. 108, pp. 563-569, 2017.
- S. Sato, Y. Kawamata, A. Takahashi, Y. Imai, A. Hanyu, A. Okuma, M. Takasugi, K. Yamakoshi, H. Sorimachi, H. Kanda, Y. Ishikawa, S. Sone, Y. Nishioka, <u>N. Ohtani</u>, and E. Hara, "Ablation of the p16INK4a tumour suppressor reverses ageing phenotypes of klotho mice," Nature Commun, vol. 6, e7035, 2015.
- M. Kaneko, K. Watashi, S. Kamisuki, H. Matsunaga, M. Iwamoto, F. Kawai, H. Ohashi, S. Tsukuda, S. Shimura, R. Suzuki, H. Aizaki, M. Sugiyama, S. Y. Park, T. Ito, N. Ohtani, F. Sugawara, Y. Tanaka, M. Mizokami, C. Sureau, and T. Wakita, "A Novel Tricyclic Polyketide, Vanitaracin A, Specifically Inhibits the Entry of Hepatitis B and D Viruses by Targeting Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide," J. Virol., Vol. 89, pp. 11945-11953, 2015.
- 13. <u>N. Ohtani</u>, "Microbiome and cancer," Semin Immunopathol, vol. 37, pp. 65-72, 2015.
- K. Yamakoshi, S. Katano, M. Iida, H. Kimura, A. Okuma, M. Ikemoto-Uezumi, <u>N. Ohtani</u>, E. Hara, and M. Maruyama, "Dysregulation of the Bmi-1/p16<sup>Ink4a</sup> pathway provokes an aging-associated decrease in submandibular gland function," Aging Cell, vol. 14, pp. 616-624, 2015.

総説

- <u>大谷直子</u>, "肥満誘導性肝癌の微小環境における脂質代謝物を標的とした治療戦略," 医学のあゆみ, vol. 271, pp. 803-807, 2019.
- <u>大谷直子</u>, "肝癌微小環境における肝星細胞の細胞老化随伴分泌現象と癌促進機構," 肝・ 胆・膵, vol. 79, pp. 831-836, 2019.
- 3. <u>大谷直子</u>, "腸肝循環を介した胆汁酸による肝癌の進展機構," 肝・胆・膵, vol. 77. pp. 41-46, 2018.
- <u>大谷直子</u>, "抗腫瘍免疫抑制による肥満関連肝がんの促進機構と分子標的," がん分子標的 治療, vol. 16, pp. 154–157, 2018.

- 5. <u>大谷直子</u>, "細胞老化随伴分泌現象とがん微小環境," 細胞 (特集 がん微小環境), vol. 50, pp. 247-250, 2018.
- 6. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌と肥満関連がん," 臨床と研究, vol. 95, pp. 187-192, 2017.
- <u>大谷直子</u>, "細胞老化随伴分泌現象(SASP)の分子メカニズム," 内分泌・糖尿病・代謝内科, vol. 46, pp. 26-31, 2018.
- <u>大谷直子</u>, "腸肝軸を介する腸内細菌関連物質の肝癌促進作用 癌微小環境における肝星細胞の細胞老化," 肝・胆・膵, vol. 76, pp. 713-718, 2018.
- 9. 河本新平, <u>大谷直子</u>, <u>原英二</u>, "腸内細菌と細胞老化による発がん促進機構," 実験医学, vol. 35, pp. 3363-3368, 2017.
- 10. <u>大谷直子</u>, "細胞老化と SASP の生体における役割," アンチエイジング医学, vol. 13, pp. 479-485, 2017.
- 11. <u>大谷直子</u>, "肥満とがん: 腸内細菌の関与について," 生体の科学, vol. 68, pp. 118-122, 2017.
- 12. <u>大谷直子</u>, "がん微小環境における SASP の役割," CLINICAL CALCIUM, vol. 27, pp. 835-843, 2017.
- 13. <u>大谷直子</u>, "腸内フローラとがん," ファルマシア, vol. 53, pp. 1069-1072, 2017.
- 羅智文,<u>大谷直子</u>, "腸内細菌由来の代謝物と発がん—TLR2 シグナルを介した COX-2 経路の 活性化による肥満誘導性肝がんの進展," 実験医学, vol. 35, pp. 142-147, 2017.
- 15. <u>大谷直子</u>, "がん微小環境における SASP の役割," Clinical Calcium, vol. 27, pp. 835-843, 2017.
- 16. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌と消化器がん," Medical Science Digest, vo. 43, pp. 187-190, 2017.
- 17. <u>大谷直子</u>, "発癌とマイクロバイオーム," The Lung perspective, vol. 25, pp. 148-152, 2017.
- 18. 大谷直子, "腸内細菌と肝発がん,"最新医学, vol. 71, pp. 1822-1828, 2016.
- 19. <u>大谷直子</u>, 原英二, "腸内細菌による栄養成分の代謝物と宿主病態-発がん・がん予防との 関連に着目して-," 実験医学, vol. 34, 2016.
- 20. <u>大谷直子</u>, "肥満による肝がん/促進機構と腸内細菌," Modern Media, vol. 62, pp. 208-212, 2016.
- 佐藤正大, <u>大谷直子</u>, <u>原英二</u>, 西岡安彦, "がん抑制遺伝子による細胞と個体老化の制御," がん分子標的治療, vol. 14, pp. 76-81, 2016.
- <u>大谷直子</u>, "細胞老化と SASP に伴う慢性炎症と発がん," 別冊 Bio Clinica: 慢性炎症と疾患, vol. 5, pp. 37-42, 2016.
- <u>大谷直子</u>, "腸内細菌叢による肥満・肥満関連肝疾患・肝癌への作用," 臨床と微生物, vol. 42, pp. 69-73, 2015.
- 24. 大谷直子, "腸内細菌代謝物による細胞老化・SASPとがん化," 血管医学, vol. 16, pp.

25-31, 2015.

- 25. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌と発癌," Pharma Medica, vol. 33, pp. 49-53, 2015.
- <u>大谷直子</u>, "SASPの生体内における役割〜組織損傷修復とがん進展における微小環境に 着目して〜,"細胞工学, vol. 34, pp. 1130–1133, 2015.
- 27. <u>大谷直子</u>, "細胞老化の二面性~SASP による炎症と発がん促進~," 医学のあゆみ, vol. 253, pp. 753-759, 2015.
- 28. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌叢と肝臓がん," 細胞, vol. 47, pp. 21-24, 2015.
- 29. 高杉征樹, <u>大谷直子</u>, 原英二, "細胞老化シグナルとがん間質反応," 実験医学, vol. 33, pp. 765-769, 2015.

【学会発表】

- <u>大谷直子</u>, "肥満と肝がん~腸内細菌関連物質によるがん進展機構とその予防~," 第42回 分子生物学会年会 ワークショップ:代謝が連携・駆動する細胞・組織ネットワーク, 2019 年12月3日.
- <u>大谷直子</u>, "マウスモデルを用いた発がん研究を再考する 肥満関連がんの発症メカニズム (Carcinogenesis experiments revisited The mechanism of obesity-associated liver cancer development)," The 78th Annual meeting of JCA Symposium 7 Carcinogenesis experiment revisited, 2019年9月26日.
- K. Soga, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, T. K. D. Doan, M. Umezawa, K. Okubo, M. Kamimura, and N. Ohtani, "Near Infrared Biomedical Imaging for Visualizing Subcutaneous and Submucosal Information," 第28回日本バイオイメージング学会学術集 会, 2019年9月.
- <u>大谷直子</u>, "腸内細菌叢による生体恒常性維持機構," 第 19 回日本蛋白質科学会年会 第 71 回日本細胞生物学会大会合同年次大会 高次生命体の恒常性維持と破綻, 2019 年 6 月 26 日.
- 5. <u>大谷直子</u>, "老化シグナルとがん 細胞老化と SASP その誘導機構と生体における役割," 第 42 回日本基礎老化学会大会, 2019 年 6 月 7 日.
- F. Kamachi, R. Yamagishi, M. Nakamura, S. Yamazaki, Y. Nonaka, W.-Y. Chen, Y. Yukawa, N. Kawada, S. Nakae, E. Hara and <u>N. Ohtani</u>, "Gut-Liver axis-mediated mechanism of obesity-associated hepatocellular carcinoma development," 2019 Cold Spring Harbor Asia Conference LIVER, BIOLOGY, DISEASES & CANCER, Dec. 10, 2019.
- N. Takada, M. Kumagai, T. Ando, F. Kamachi, and <u>N. Ohtani</u>, "Regular exercise suppresses obesity-associated HCC development," The 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019), Mar. 30, 2019.
- 8. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌関連物質による肝がんの進展メカニズム," 第 33 回肝類洞壁細胞研 究会学術集会 特別講演, 2019 年 12 月 1 日. (招待講演)

- <u>大谷直子</u>, "腸内細菌叢と疾患," 第39回日本マグネシウム学会学術集会 特別講演, 2019 年11月30日. (招待講演)
- <u>大谷直子</u>, "臓器横断的に考える肥満症の健康障害:領域横断的肥満症 WG 連携企画(2) 肥満と肝がん 腸内細菌関連物質が関わるがん進展機構," 第40回日本肥満学会・第37回日本肥満症治療学会学術集会,2019年11月2日. (招待講演)
- <u>N. Ohtani</u>, "The Mechanism of Obesity-associated Liver Cancer Progression," The 50th International Symposium of The Princess Takamatsu Cancer Research Fund, New Horizons for Cancer Research and Precision Medicine, Nov. 13, 2019. (Invited)
- 12. <u>N. Ohtani</u>, "The Role of Gut Microbiota in Anti-tumor Immunity in Liver Tumor Microenvironment," JSH International Liver Conference 2019, "Liver Cirrhosis and Portal Hypertension: Modern Pathophysiology and Emerging Therapies" Session V: Gut-Liver Axis in Cirrhosis and Portal Hypertension, Oct. 1, 2019. (Invited)
- <u>N. Ohtani</u>, "The role of cellular senescence and SASP in tumor microenvironment ofobesity-associated liver cancer," The 19th Scientific meeting of the Japanese Society of Anti-Aging Medicine International Joint Symposium, 2019年6月14日. (Invited)
- 14. <u>N. Ohtani, "The suppression mechanism of antitumor immunity in the tumor microenvironmentof obesity-associated liver cancer," Nature conference Grand Challenges in Immunology: Immunotherapy for Cancer and Beyond Session 2: The microbiota and immunotherapy, Qingdao, China, June 12, 2019. (Invited)</u>
- <u>N. Ohtani</u>, "Obesity-induced gut microbiome and liver cancer," U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim (EID), Hanoi, Vietnam, Feb. 27, 2019. (Invited)
- <u>N. Ohtani</u>, T. M. Loo, and F. Kamachi, "The role of gut microbial metabolites in obesity-associated liver cancer development via gut liver axis," 第41回日本分子 生物学会 シンポジウム がん悪性化におけるステムネスと代謝, 横浜, 2018年11月29日.
- 17. <u>大谷直子</u>, "腸肝軸を介した腸内細菌由来デオキシコール酸による肝がん進展機構," 第12
  回メタボロームシンポジウム Session 2 エピメタボライツ・オンコメタボライツ, 2018 年
  10月17日
- <u>大谷直子</u>, "The yin and yang role of cellular senescence in cancer development)," 第77回日本癌学会総会 Women scientists in cancer research (WSCR symposia), 2018年 9月28日.
- 19. <u>大谷直子</u>, 蒲池史卓, "Senescence-associated secretory phenotype (SASP) in tumor micro environment promotes liver cancer," 第77回日本癌学会総会 Symposium Cancer and cellular senescence signaling, 2018年9月28日.

- 20. <u>大谷直子</u>, "肥満による肝がん促進機構~腸内細菌代謝物によるがん微小環境の変化~," 平成 30 年度 文部科学省 科学研究費 新学術領域研究「学術研究支援基盤形成」 生命科学 4プラットフォーム 成果シンポジウム, 2018 年 6 月 5 日.
- <u>大谷直子</u>, "細胞老化とSASP その誘導機構と生体における役割," 第29回フォーラム・ イン・ドージン 細胞と個体の老化生物学 ~科学は不老長寿に迫れるか~, 2018 年 11 月 22 日.(招待講演)
- 22. <u>大谷直子</u>, "腸肝軸と肝疾患:腸内細菌関連因子による肝がんの進展機構," 第25回日本門 脈圧亢進症学会総会 第20回肝不全治療研究会 合同シンポジウム 分子病態解明に基づ く肝不全の治療:脳腸肝などの臓器相関を中心に,2018年9月20日.(招待講演)
- <u>N. Ohtani</u>, "The Role of SASP and Anti-tumor Immunity in Tumor-microenvironment of Obesity-associated liver cancer," Australia Japan Medical Research Symposium, Osaka, Japan, Sep. 11, 2018. (Invited)
- 24. <u>N. Ohtani</u>, "The role and the mechanism of SASP in tumor micro-environment of obesity-associated liver cancer," The 37th Sapporo International Cancer Symposium -Deciphering the complexity of cancer microenvironment-, Sapporo, Japan, July 19, 2018. (Invited)
- 25. <u>大谷直子</u>, "肥満関連腸内細菌代謝物による肝がんの促進," 第39回日本炎症・再生医学会 シンポジウム7 腸内微生物を用いた治療戦略の新展開, 2018年7月12日. (招待講演)
- <u>N. Ohtani</u>, "The Role of SASP and Anti-tumor Immunity in Tumor-microenvironment of Obesity-associated liver cancer," The 45th Naito Conference Immunological and Molecular Bases for Cancer Immunotherapy, Sapporo, Japan, June 27, 2018. (Invited)
- 27. <u>大谷直子</u>, "肥満関連腸内細菌による肝がんの進展機構~がん微小環境の変化に着目して ~," 千葉大学リーディング研究育成プログラム 第3回免疫希少・難治性疾患に対する革 新的治療創生研究シンポジウム, 2018 年3月10日. (招待講演)
- <u>大谷直子</u>, "腸内細菌由来リガンドと TLR シグナルによる PGE2 の生成と肝癌の進展," 第 11 回メタボロームシンポジウム セッション: 医薬分野, 2017 年 11 月 14 日.
- <u>N. Ohtani</u>, T. M. Loo, and F. Kamachi, "Obesity-associated gut microbiota and cancer development," The 76th Annual meeting of JCA (Japanese Cancer Association) Symposium 8 Environmental carcinogenesis and cancer risk assessment, 2017年9月28 日.
- <u>大谷直子</u>, "Gut-Liver axis~腸内細菌代謝物による肝癌の進展機構~ 第 27 回日本病態生 理学会大会 シンポジウム, 2017 年 8 月 19 日.
- 31. <u>大谷直子</u>, "TLR シグナルによる脂質代謝物の生成と肝がんの促進," 第5回がんと代謝研 究会 in 札幌 2017 年7月13日.
- 32. <u>大谷直子</u>, "腸肝軸と肝がん~腸内細菌代謝物デオキシコール酸による肝がんの進展機構
  ~," 第 39 回胆汁酸研究会 シンポジウム 胆汁酸代謝と腸内細菌, 2017 年 11 月 11 日.

(招待講演)

- <u>N. Ohtani</u>, "The Role of SASP in Tumor Microenvironment of Obesity-associated Liver Cancer," The 48th International Symposium of The Princess Takamatsu Cancer Research Fund, Tokyo, Japan, Nov. 9, 2017. (Invited)
- <u>N. Ohtani</u>, "Gut Microbiota Promotes Obesity-associated Liver Cancer through PGE<sub>2</sub> mediated Suppression of Antitumor Immunity," International Symposium on Imaging Frontier (ISIF2017), Tokyo, Japan, July 9, 2017. (Invited)
- 35. <u>N. Ohtani</u>, "Gut Microbiota Promotes Obesity-associated Liver Cancer Development: a collaborative role of lipoteichoic acid and deoxycholic acid," The 4th JSGE International Topic Conference, Tokyo, Japan, Apr. 21, 2017. (Invited)
- 36. <u>大谷直子</u>, "がん微小環境の細胞老化随伴分泌現象による肥満誘導性肝がんの促進機構," 第 38 回日本炎症・再生医学会 シンポジウム 3 炎症と老化, 2017 年 7 月 18 日. (招待講 演)
- 37. T. M. Loo and <u>N. Ohtani</u>, "Cooperative role of gut microbial components and metabolites in obesity-associated liver cancer development," The 75th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (日本癌学会総会) Symposium 10 Therapeutic vulnerability in infection/ inflammation- associated cancer, 2016年10月7日.
- 38. 羅智文, 蒲池史卓, 渡辺喜洋, 大谷直子, "肥満誘導性の腸内細菌代謝物による肝星細胞の 細胞老化・SASPと肝がんの促進," 第 39 回日本分子生物学会年会 シンポジウム 臓 器老化による臓器間ネットワークの破綻を探る, 2016 年 12 月 2 日.
- <u>N. Ohtani</u>, "The role of gut microbiota for obesity-associated liver cancer progression," International Symposium of the Center for Animal Disease Models 2016 -Metabolic disease and Aging-, Tokyo, Japan, July 16, 2016. (Invited)
- <u>N. Ohtani</u>, "The role of gut microbiota for obesity-induced liver cancer development," RIKEN IMS-JSI International Symposium on Immunology 2016 Immune homeostasis and diseases, Yokohama, Japan, June 16, 2016. (Invited)
- 41. <u>大谷直子</u>, "細胞老化・SASP: その誘導機構と生体における役割," 第44回日本毒性学 会学術年会 シンポジウム7 ストレスバイオロジーから分子毒性学への展開, 2017年7月 10日.(招待講演)
- 42. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌メタボライトによる細胞老化・SASP の誘導と病態," 第17回抗加齢 学会 シンポジウム 老化の多様性とその代謝特性, 2017年6月2日. (招待講演)
- 43. <u>大谷直子</u>, "細胞老化・SASP とその生体における役割," 日本放射線影響学会 第 59 回大 会シンポジウム 低線量(率)放射線生物影響の課題への分子生物学的アプローチ, 2016 年 10 月 28 日. (招待講演)
- <u>大谷直子</u>, "肥満により増加する腸内細菌による肝がん進展メカニズム," 第 16 回日本抗 加齢医学会総会シンポジウム 腸内フローラの臨床への展開, 2016 年 6 月 12 日. (招待講

演)

- 45. <u>N. Ohtani</u>, "The mechanism of obesity-induced liver cancer development through gut microbial components and metabolites," Bridging Biomedical Worlds meeting, Frontiers in Human Microbiota Symbiotic Interactions, Hong Kong, China, May 24, 2016. (Invited)
- 46. <u>大谷直子</u>, "細胞老化の誘導メカニズムとその生体内における役割," 日本生化学会東北支 部第82回例会・シンポジウム, 弘前, 2016年5月21日.(招待講演)
- 47. <u>大谷直子</u>, "肥満による肝がん促進機構 ~腸内細菌代謝物の関与~," 第11回日本実験動物学会総会,シンポジウム 腸内細菌による生体恒常性維持 ~腸内細菌が引き起こす疾患~,川崎,2016年5月18日.(招待講演)
- <u>N. Ohtani</u>, "The Mechanism of Obesity-associated Liver Carcinogenesis: a cooperation between gut microbial metabolites and lipid," The International Liver Congress, EASL, Barcelona Spain, Apr. 14, 2016. (Invited)
- 49. <u>N. Ohtani</u>, "Cellular Senescence and Tissue regeneration," 3rd ICRS Summit-Kyoto, Kyoto, Japan, 2016年4月10日. (Invited)
- 50. <u>大谷直子</u>, "腸内細菌代謝産物による細胞老化の誘導と肝がん," 第 11 回日本食品免疫学 会学術大会,シンポジウム3老化と腸内環境,腸管機能,東京, 2015 年 10 月 16 日.
- 51. <u>N. Ohtani</u>, "Gut microbiota and obesity-associated hepatocarcinogenesis," The 74th Annual meeting of The JCA (日本癌学会) Symposium: "Microbiome and cancer", Nagoya, Japan, 2015 年 10 月 10 日.
- 52. <u>大谷直子</u>, "肥満と腸内細菌 一腸内細菌代謝物による肝がんの促進一," 未病社会の診断 技術研究会 2015 年度第1回講演会, 2015 年 5 月 19 日.
- 53. 大谷直子, "肥満による肝がん促進作用 ~腸内細菌代謝物の関与~," AMED-CREST「炎症 の慢性化機構の解明と制御に向けた基盤技術の創出」研究領域 若手研究者報告会特別講演, 逗子, 2015 年 11 月 10 日. (招待講演)
- 54. <u>N. Ohtani</u>, "Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senencnce- associated secretome," 24th Symposium on Intestinal Flora, Dynamism of Intestinal microbiota- pathophysiology of microbial metabolites-, Tokyo Japan, 2015 年10月30日. (Invited)
- 55. <u>大谷直子</u>, 羅智文, "肥満により増加する腸内細菌による肝がん促進機構," 第 36 回日本 肥満学会 シンポジウム「肥満と臓器障害」,名古屋,2015 年 10 月 2 日. (招待講演)
- 56. <u>大谷直子</u>, "肥満による肝がん促進機構 ~腸内細菌代謝物の関与~," 第18回日本臨床腸 内微生物学会総会・学術集会 教育講演 III 病態と治療法を探る,東京,2015年8月29 日. (招待講演)
- 57. <u>大谷直子</u>, "細胞老化による炎症とその生体における役割," 第 15 回日本抗加齢医学会総会 シンポジウム 6 炎症を標的とした疾患発症メカニズムの解明, 福岡, 2015 年 5 月 29

日. (招待講演)

 <u>N. Ohtani</u>, "Obesity-induced Gut Microbial Metabolite Promotes Liver Cancer through Senescence Secretome," The 3rd JSGE International Topic Conference, Sendai, Japan, Apr. 24, 2015. (Invited)

【広報】

- 1. <u>大谷直子</u> 腸内フローラと疾患 腸内細菌による発がん促進メカニズムとその予防 文化交流センター市民公開講座, 2018.12.11.
- 2. <u>大谷直子</u> 大学卒業後のキャリアパス ~子育てと研究の両立~ 第13回 大阪市女性医師ネ ットワーク シンポジウム「今、思う事 そして一歩前へ」, 2018.3.17.
- 3. <u>大谷直子</u> 男女の働き方改革 ~研究者夫婦の一例 (妻編) ~ 四国 5 大学連携男女共同参画 推進シンポジウム 2017, 2017. 12. 18.
- 4. <u>大谷直子</u>理工学部・応用生物科学科・大谷研究室理大祭・秋のマドンナプロジェクト「細胞の運命を目で見てみよう~アポトーシスの観察~」女子高校生向け実験体験, 2015.11.22.
- 5. <u>大谷直子</u>発がんのしくみを探り予防法の開発を目指す ~老化とがん、肥満とがんに着目 して~ 東京理科大学・こうよう会広島支部 講演会, 2015. 10. 30.
- <u>大谷直子</u> 老化の分子機構 -細胞老化の生体における役割- 第31回東京理科大学・薬 学講座, 2015.10.17.
- 7. <u>大谷直子</u> 細胞の老化と炎症 ~老化とがんの仕組みについて~ とやま市民公開講座, 2015.10.3
- 8. <u>大谷直子</u> 細胞老化と慢性炎症 ー細胞老化の生体における役割ー 日本抗加齢医学会 専門医・指導士 研修用 応用・実践編講習会 講師, 2015. 04. 12.

# 【特許】

 N. Ohtani, F. Kamachi, T. M. Loo, S. Koizumi, T. Okumura, "Use of EP4 receptor antagonists for the treatment of NASH-associated liver cancer," New U.S. Patent Application No. 15/343,999, 出願日: 2016年11月4日.

# 【受賞】

1. 大谷直子, 第1回日本癌学会女性科学者賞 受賞, 2017年9月.

# 認知行動を担うセルアセンブリの可視化 理工学部 応用生物科学科 佐野 良威

記憶は学習時に活動した神経細胞群の一部に保存され、記憶を保存した細胞群(セルアッセ ンブリ)が再度活動することにより記憶は想起される。しかしながら、このセルアッセンブリ が学習過程にどのように活動し記憶を安定的に形成するのか、そして脳領域間でセルアッセン ブリがどのように相互作用するのか十分に明らかとなっていない。そこで本研究は、実験動物 としてマウスを用いて、学習や記憶想起など認知関連行動に伴い活動したセルアッセンブリを 可視化し解析することにより、これらを明らかとすることを目的とした。

1. 記憶痕跡をもつセルアッセンブリの決定における領域間相互作用の解明

味覚嫌悪学習(CTA)の成立に必要とされる味覚皮質と扁桃体に着目し、記憶を取り込む神 経細胞群がどのように決定されるか解析した。はじめに任意の脳領域において、ランダムな一 部の細胞集団の神経活動を操作する手法を確立した。この手法を用いて扁桃体の一部の細胞群 の活動性を上昇させて学習を行った。そして、記憶を思い出す時に活動する細胞群(記憶痕跡 細胞)を最初期遺伝子である c-fos タンパク質の発現を指標にイメージングを行ったところ、学 習時に活動性の高かった細胞群が、記憶想起時にもより選択的に活動した。一方、島皮質の一 部の細胞軍の活動性を上昇させても、記憶想起時に活動する細胞の選択性の変化は起きなっ た。しかしながら、島皮質と扁桃体の細胞群を同時に学習時に活動性を上昇させた場合におい て、島皮質においても学習時に活動性の高かった細胞群が、記憶想起時にもより選択的に活動 することを明らかとした。さらに、島皮質と扁桃体間の神経回路特異的な可視化技術と活動依 存的な c-fos 解析によるイメージングを組み合わせることから、扁桃体と双方向正の投射関係を もつ島皮質の神経細胞群が記憶想起時により選択的に活動することを明らかとした。これらの 結果は、島皮質において味覚記憶痕跡をもつセルアッセンブリの形成には扁桃体との相互作用 が重要であることを示唆する。

2. 認知課題遂行中のマウス脳活動を観察するための脳内視微小カメラの作製

学習や記憶想起に伴う神経活動により細胞内 Ca2+濃度が上昇する。GCaMP は Ca<sup>2+</sup>の濃度変化 を蛍光強度の変化として検出することができるタンパク質プローブである。GCaMP を脳の任意 の領域に発現させ、認知課題遂行中の神経活動をリアルタイムで記録するために、マウス頭部 に設置可能な小型蛍光顕微鏡を作製した。また、記憶形成と記憶の取り込みを制御する転写因 子 CREB の発現と Ca<sup>2+</sup>イメージングを同時に行う実験系を確立した。

○副次的成果:大学院生のイメージングの理解と技術が向上し、良質な結果を得ることができ、第41回日本神経科学大会においてイメージングを中心とした研究発表を行い2名の大学院 生がポスター発表賞を受賞した。

# 【学術論文】

- M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, <u>Y. Sano</u>, Y. Shinoda, T. Furuichi, and K. Kansaku, "Rubber tail illusion is weakened in Ca<sup>2+</sup>-dependent activator protein for secretion 2 (Caps2)-knockout mice," Sci. Rep., vol. 9, 7552, 2019.
- N. Oishi, M. Nomoto, N. Ohkawa, Y. Saitoh, <u>Y. Sano</u>, S. Tsujimura, H. Nishizono, M. Matsuo, S. Muramatsu and K. Inokuchi, "Artificial association of memory events by optogenetic stimulation of hippocampal CA3 cell ensembles," Molecular Brain, vol. 12, 2, 2019.
- Y. Shinoda, T. Sadakata, K. Yagishita, E. Kinameri, R. Katoh Semba, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi "Aspects of excitatory/inhibitory synapses in multiple brain regions are correlated with levels of brain-derived neurotrophic factor/neurotrophin-3," Biochem Biophys Res Commun., vol. 509, pp. 429-434, 2019.
- 4. <u>佐野良威</u>, 阿部こなみ, 柴野奈津美, "Recruiting cell assembly into a given memory trace," The Cell, vol. 51, pp. 47-51, 2019.
- 5. <u>佐野良威</u>, 阿部こなみ, 柴野奈津美, "Recruiting cell assembly into a trace of tasteemotion memory," Agricultural Biotechnology, vol. 3(, pp. 60-64, 2019.
- L. Caracciolo, M. Marosi, J. Mazzitelli, S. Latifi, <u>Y. Sano</u>, L. Galvan, R. Kawaguchi, S. Holley, M. S. Levine, G. Coppola, C. Portera-Cailliau, A. J. Silva and S. T. Carmichael, "CREB controls cortical circuit plasticity and functional recovery after stroke," Nature Commun., vol. 9, 2250, 2018.
- Y. Shinoda, T. Sadakata, T. Akagi, Y. Sakamaki, T. Hashikawa, <u>Y. Sano</u>, and T. Furuichi, "Calcium-dependent activator protein for secretion 2 (CADPS2) deficiency causes abnormal synapse development in hippocampal mossy fiber terminals," Neuroscience Letters. vol. 677, pp. 65-71. 2018.
- K. Yagishita, R. Suzuki, S. Mizuno, R. Katoh-Semba, T. Sadakata, <u>Y. Sano</u>, T. Furuichi, and Y. Shinoda, "CAPS2 deficiency affects environmental enrichment-induced adult neurogenesis and differentiation/survival of newborn neurons in the hippocampal dentate gyrus," Neuroscience Letters, vol. 661, pp. 121-125, 2017.
- K. Hayashi, A. Furuya, Y. Sakamaki, T. Akagi, Y. Shinoda, T. Sadakata, T. Hashikawa, K. Shimizu, H. Minami, <u>Y. Sano</u>, M. Nakayama, and T. Furuichi, "The brain-specific RasGEF very-KIND is required for normal dendritic growth in cerebellar granule cells and proper motor coordination," PLoS One, vol. 12, e0173175, 2017.
- M. Zhou, S. Greenhill, S. Huang, T. K Silva, <u>Y. Sano</u>, S. Wu, Y. Cai, Y. Nagaoka, M. Sehgal, D. J Cai, Y-S. Lee, K. Fox, and A. J. Silva, "CCR5 is a suppressor for cortical plasticity and hippocampal learning and memory," eLIFE, vol. 5, e20985, 2016.
- F. Yoshikawa, Y. Sato, K. Tohyama, T. Akagi, T. Furuse, T. Sadakata, M. Tanaka, Y. Shinoda, T. Hashikawa, S. Itohara, <u>Y. Sano,</u> M. Said Ghandour, S. Wakana, and T. Furuichi, "Mammalian-Specific Central Myelin Protein Opalin Is Redundant for Normal Myelination: Structural and Behavioral Assessments," PLoS One, vol. 11, e0166732, 2016.
- T. Rogerson, B. Jayaprakash, D. J Cai, <u>Y. Sano</u>, Y-S Lee, Y. Zhou, P. Bekal, K. Deisseroth, and A. J Silva, "Molecular and Cellular Mechanisms for Trapping and Activating Emotional Memories," PLoS ONE, vol. 11, e0161655, 2016.

# 業績

- Y. Shinoda, C. Ishii, Y. Fukazawa, T. Sadakata, Y. Ishii, <u>Y. Sano</u>, T. Iwasato, S. Itohara, and T. Furuichi, "CAPS1 stabilizes the state of readily releasable synaptic vesicles to fusion competence at CA3-CA1 synapses in adult hippocampus," Scientific Reports, vol. 6, 31540, 2016.
- 14. D. J. Cai, D. Aharoni, T. Shuman, J. Shobe, J. Biane, W. Song, B. Wei, M. Veshkini, M. La-Vu, J. Lou, S. Flores, I. Kim, <u>Y. Sano</u>, M. Zhou, K. Baumgaerte, A. Lavi, M. Kamata, M. Tuszynski, M. Mayford, P. Golshani, and A. J. Silva, "A shared neural ensemble links distinct contextual memories encoded close in time," Nature, vol. 534, pp. 115-118, 2016.
- 15. <u>佐野良威</u>, 大川宜昭, 鈴木章円, 井ノ口馨, "記憶痕跡とメモリーアロケーション," 生体の科学, vol. 67, pp. 22-26, 2016.

# 【著書】

- 1. <u>佐野良威</u>, 阿部こなみ. 柴野奈津美, "Recruiting cell assembly into a given memory trace, 記憶する細胞を決めるメカニズム," The Cell, vol. 51, pp. 47-51. 2019.
- <u>佐野良威</u>,阿部こなみ,柴野奈津美, "Recruiting cell assembly into a trace of tasteemotion memory. 感覚と情動を記憶する細胞を決める機構," Agricultural Biotechnology, vol. 3, pp. 60-64. 2019.
- 3. <u>佐野良威</u>, "リアルタイムイメージングと活動操作からひもとく認知の神経基盤," 理大科 学フォーラム, vol. 34, pp. 8-11, 2017.
- 4. <u>佐野良威</u>,大川宜昭, 鈴木章円, 井ノ口馨, "記憶痕跡とメモリーアロケーション," 生体の科学, vol. 67, pp. 22-26, 2016.

# 【学会発表】

- K. Abe, M. Kuroda, Y. Narumi, Y. Kobayashi, S. Itohara, T. Furuichi and <u>Y. Sano</u>, "The role of coordinated activation between insular cortex and basolateral amygdala during taste-aversion association learning to recruit a memory trace," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct. 2019.
- N. Shibano, M. Yamazaki, M. Kuroda, K. Abe, T. Arima, Y. Kobayashi, S. Itohara, T. Furuichi and <u>Y. Sano</u>, "Excitation of medial prefrontal cortex during conditioning enhances fear memory formation," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct. 2019.
- S. Fujima, R. Maniwa, R. Yamaga, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi "A possible involvement of Ca2+-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2) in regulating release of the hypothalamic neuropeptide oxytocin that has a pivotal role in social behavior," Society for Neuroscience, Neuroscience 2019, Chicago, Oct. 2019.
- 4. S. Mizuno, J. Hirota, H. Iwasaki, S. Okabe, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Comprehensive profiling and localization of gene expression in the cerebral cortex and striatum of BTBR mice, a mouse model of autism spectrum disorder by comparing with those of C57BL6/J, a highly social mouse strain," Society for Neuroscience, Neuroscience

2019, Chicago, Oct. 2019.

- 5. 加藤優奈,水野翔太,石井千晶,山中琴未,栄田浩伸,村上祐香,斉藤貴志,西道隆臣, 古市貞一,<u>佐野良威</u>,"アミロイド β の蓄積による軽度認知機能低下と炎症性免疫反応の 亢進,"第42回日本分子生物学学会,福岡,2019年12月.
- 佐藤陽太郎, 露崎美穂, 志村拓哉, 小林りか, 定方哲史, <u>佐野良威,</u> 古市貞一, "分泌関連 タンパク質 CAPS2 の欠損は自然発症慢性膵炎を引き起こす," 第92回日本生化学学会, 横 浜, 2019年9月.
- 7. 弘田淳奈,水野翔太,岩崎広英,岡部繁男,佐野良威,古市貞一,"自閉症モデルマウス BTBR 系統で特異的に発現変動する遺伝子の脳内局在および機能解析," 第92回日本生化学 学会,横浜、2019年9月.
- 8. 阿部こなみ,黒田真鈴,鳴海陽介,小林祐樹,糸原重美,古市貞一,<u>佐野良威</u>, "味覚記憶 の形成における階層的領域間相互作用," 第92回日本生化学学会,横浜,2019年9月.
- 9. S. Mizuno, J. Hirota, H. Iwasaki, S. Okabe, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Comprehensive gene expression profiling between BTBR mice, a mouse model of autism spectrum disorder, and C57BL6/J mice showing high levels of sociality," NEURO2019 (第42回日本神経科学大会、第62回日本神経化学会大会,新潟, 2019年7月.
- K. Abe, M. Kuroda, Y. Narumi, Y. Kobayashi, S. Itoahra, T. Furuichi and <u>Y. Sano</u>, "The role of coordinated activation between insular cortex and basolateral amygdala during taste-aversion association learning to recruit a memory trace," NEURO2019 (第42回日本神経科学大会, 第62回日本神経化学会大会),新潟, 2019年7月.
- S. Fujima, R. Yamaga, H. Minami, R. Maniwa, Y. Shinoda, M. Abe, K. Sakimura, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Mice lacking Ca2+-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2) show a decrease in oxytocin release and impaired social behavior," NEURO2019 (第42回日本神経科学大会, 第62回日本神経化学会大会),新潟, 2019年7月.
- K. Yamanaka, S. Mizuno, T. Furuichi and Y. Sano, "Decreased social interaction and motivated approach behavior in the X11L-deficient mice," NEURO2019 (第42回日 本神経科学大会、第62回日本神経化学会大会),新潟, 2019年7月.
- T. Arima, C. Ishii, Y. Ishii, N. Shibano, M. Yamazaki, Y. Kato, A. Yamato, Y. Shinoda, T. Sadakata, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Significant role of CAPS1, a regulator of synaptic exocytosis, in trisynaptic circuit and hippocampal learning," NEURO2019 (第42回日本神経科学大会、第62回日本神経化学会大会),新潟, 2019年7月.
- M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, K. Takano, <u>Y. Sano</u>, Y. Shinoda, T. Fruichi, and K. Kansaku, "Lower c-Fos expressions in the posterior parietal cortex during rubber tail task in Caps2 KO mice," 9th FAOPS (第9回アジア・オセアニア生理学会連合大会) &第96回日本生理学会合同大会,神戸, 2019年3月.
- 15. S. Fujima, R. Maniwa, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Oxytocin secretion and social

behavior in mice lacking Ca2+-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2)," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, Nov., 2018.

- Y. Shinoda, M. Oka, N. Tanika, Y. Fujiwara, <u>Y. Sano</u>, T. Sadakata, and T. Furuichi, "Social isolation-mediated hyperactivity and reduction of anxiety are not affected by Caps2 deficiency," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, Nov. 2018.
- 17. C. Ishii Y. Sshinoda, T. Sadakata, Y. Ishii N. Shibano, Y. Kato, M. Yamazaki A. Yamato, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "CAPS1 finely regulates the exocytosis of synaptic vesicles in calcium- and/or synapse type-dependent manners, affecting on learning and memory," Neuroscience 2018, Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, Nov., 2018.
- Y. Sano, "CAPS1 is critical for hippocampal synaptic transmission and learning," 13th International Conference of Neurons and Brain Diseases, Taipei, Taiwan, 2018.
- K. Abe, Y. Narumi, S. Fujima, Y. Kobayashi, S. Itohara, T. Furuichi and <u>Y. Sano</u>, "味覚嫌悪学習における脳領域間相互作用," 2018 年度生理研研究会 『記憶・学習の基盤 機構と回路研究の新展開へのアプローチ』, 岡崎, 2018 年.
- 20. C. Ishii, Y. Ishii, N. Shibano, Y. Kato, M. Yamazaki, A. Yamato, Y. Shinoda, T. Sadakata, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "海馬における分泌関連因子 CAPS1 の機能解析と記憶・学習への寄与," 2018 年度生理研研究会 『記憶・学習の基盤機構と回路研究の新展開 へのアプローチ』, 岡崎, 2018 年.
- N. Oishi, K. Koga, M. Nomoto, N. Ohkawa, S. Tsujimura, <u>Y. Sano</u>, Y. Saitoh, H. Nishizono, M. Matsuo, S. Muramatsu and K. Inokuchi, "Synchronous activation of distinct memory ensembles in CA3 integrate two memories," 2018 年度生理研研究会『記憶・学習の基盤機構と回路研究の新展開へのアプローチ』, 岡崎, 2018 年.
- K. Shimizu, K. Kawamoto, T. Sadakata, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "The molecular mechanism regulating axonal localization of the secretion-related protein CAPS2,"
  第 61 回日本神経化学会大会・第 40 回日本生物学的精神医学会,神戸市, 2018 年.
- 23. K. Abe, Y. Narumi, S. Fujima, Y. Kobayashi, S. Itohara, T. Furuichi and <u>Y. Sano,</u> "Interaction between insular cortex and amygdala during a taste aversion association," Neuroscience 2018, 神戸, 2018年.
- S. Fujima, R. Yamaga, H. Minami, R. Maniwa, Y. Shinoda, M. Abe, K. Sakimura, Y. Sano and T. Furuichi., "Oxytocin secretion and social behavior in mice lacking Ca2+-dependent activator protein for secretion 2," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- 25. N. Oishi, K. Koga, M. Nomoto, N. Ohkawa, S. Tsujimura, <u>Y. Sano</u>, Y. Saitoh, H.

Nishizono, M. Matsuo, S. Muramatsu and K. Inokuchi, "Establishment of in vivo field excitatory post synaptic potential (fEPSP) recording system at hippocampal CA3-CA3 synapses," Neuroscience 2018, 神戸, 2018年.

- 26. C. Ishii, Y. Ishii, N. Shibano, Y. Kato, M. Yamazaki, A. Yamato, Y. Shinoda, T. Sadakata, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "CAPS1 regulates efficient and/or synchronous exocytosis of releasable synaptic vesicles, which effects on hippocampal synaptic plasticity, learning and memory," Neuroscience 2018, 神戸, 2018年.
- 27. S. Mizuno, C. Ishii, H. Iwasaki, S. Okabe, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "Comparative gene expression profiling between BTBR mice, a mouse model of autism spectrum disorder," Neuroscience 2018, 神戸, 2018年.
- 28. M. Oka, T. Sadakata, <u>Y. Sano</u>, T. Furuichi, Y. Fujiwara, and Y. Shinoda, "CAPS2 deficiency does not affect social isolation-induced behavioral abnormalities," Neuroscience 2018, 神戸, 2018年.
- 29. M. Wada, M. Ide, T. Atsumi, K. Takano, Y. Sano, Y. Shinoda, T. Fruichi, and K. Kansaku, "Lower c-Fos expressions in the posterior parietal cortex during rubber tail task in Caps2 KO mice," Neuroscience 2018, 神戸, 2018 年.
- 30. <u>佐野良威</u>, "シンポジウム:神経・精神疾患の病態解明・治療戦略のブレイクスルーを目指 した脳・神経科学基礎研究の最前線," 第138回日本薬学会,金沢,2018年3月28日.
- <u>佐野良威</u>, "CAPS1 is critical for hippocampal synaptic transmission and learning," 13th International Conference of Neurons and Brain Diseases, 2018年10月5日. (Invited)
- 32. <u>佐野良威</u>, "記憶保存細胞の選択における転写調節因子 CREB の役割," 日本薬学会第138 年会, 脳・神経科学基礎研究の最前線」, 2018 年 3 月 28 日. (招待講演)
- 33. C. Ishii, Y. Shinoda, Y. Fukazawa, T. Sadakata, Y. Ishii, T. Iwasato, S. Itohara, <u>Y. Sano</u> and T. Furuichi, "CAPS1 stabilizes synaptic vesicles on active zones and ensures basal synaptic transmission at hippocampal CA3-CA1 synapses," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, Washington, DC, Nov., 2017.
- Y. Sano, "Selection of Memory Cells," International Symposium of the Center for Animal Disease Models 2017 INNER COSMOS OF THE BODY, Tokyo, Oct., 2017.
- 35. <u>佐野良威</u>, "記憶を保存する細胞群を決める機構の解明," 第1回東京理科大学脳学際研 究部門公開シンポジウム 「脳の理科(サイエンス) ~脳の謎に挑む」,東京,2017年10月 21日.
- 36. T. Atsumi, M. Ide, <u>Y. Sano</u>, Y. Shinoda, T. Furuichi, and M. Wada, "Aberrant responses to the biological motion of CAPS2 knockout mice by conspecificse," 行動 2017 日本動物行動関連学会・研究会合同大会, 東京, 2017 年.
- 37. 和田真, 渥美剛史, 井手正和, <u>佐野良威</u>, 篠田陽, 古市貞一, 神作憲司, "ラバーテイル

応答における CAPS2 遺伝子変異型マウスへのオキシトシン投与関する予備検討," 行動 2017 日本動物行動関連学会・研究会合同大会,東京, 2017 年.

- 38. 渥美剛史,井手正和,<u>佐野良威</u>,篠田陽,古市貞一,和田真, "CAPS2遺伝子変異型 マウスにおける同種個体バイオロジカル・モーションへの応答の変容," 第40回日本神経 科学大会,千葉,2017年.
- 39. 石井千晶, 篠田陽, 深澤有吾, 定方哲史, 石井佑季, <u>佐野良威</u>, 岩里琢治, 糸原重美, 古市貞一, "CAPS1はシナプス小胞を活性帯上で安定化させることで海馬CA3-CA 1シナプスにおいて開口放出を調節する," 第40回日本神経科学大会、千葉、2017年.
- 40. 柴野奈津美, 石井佑季, <u>佐野良威</u>, 古市貞一, "エピソード記憶の形成における分泌関連 タンパク質CAPS1の役割," 第40回日本神経科学大会、千葉、2017年.
- 41. Y. Sano, J. L. Shobe, M. Zhou, S. Huang, T. Shuman, D. J. Cai, P. Golshani, M. Kamata and A. J. Silva, "メモリーアロケーションの神経基盤," 第159回日本獣医学会 学術集会, 千葉, 2017年.
- 42. <u>佐野良威</u>, "Selection of Memory Cells," International Symposium of the Center for Animal Disease Models 2017, 2017 年 10 月 28 日. (招待講演)
- 43. <u>佐野良威</u>, "記憶を保存する細胞群を決める機構の解明," 第1回東京理科大学脳学際研 究部門公開シンポジウム, 2017年10月21日.(招待講演)
- 44. Y. Ishii, C. Ishii, Y. Shinoda, Y. Sano and T. Furuichi, "A deficiency of Ca2+ dependent activator protein for secretion 1 affects hippocampal long-term potentiation," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, San Diego, Nov., 2016.
- 45. T. Sato, R. Motodate, <u>Y. Sano</u>, S. Kamada, S. Uchida, T. Suzuki, T. Sato, R. Motodate, <u>Y. Sano</u>, S. Kamada, S. Uchida, and T. Suzuki, "Adaptor protein, X11 and X11L have distinct roles in exploratory activity," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, San Diego, Nov., 2016.
- D. J. Cai, D. Aharoni, T. Shuman, J. Shobe, J. Biane, W. Song, B. Wei, M. Veshkini, M. La-Vu, J. Lou, S. Flores, I. Kim, <u>Y. Sona</u>, M. Zhou, K. Baumgaertel, A. Lavi, M. Kawata, M. Tuszynski, M. Mayford, P. Golshani and A. J. Silva, "Linking memories across time," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, San Diego, Nov., 2016.
- 47. M. Zhou, S. Greenhill, S. Huang, T. Silva, <u>Y. Sano</u>, S. Wu, Y. Cai, Y. Nagaoka, M. Sehgal, D. Cai, Y.-S. Lee, K. Fox and A. J. Silva, "Role of CCR5 in learning and memory and in HIV V3 peptide induced cognitive deficits," Society for Neuroscience, Neuroscience 2017, San Diego, Nov., 2016.
- D. J. Cai, D. Aharoni, T. Shuman, J. Shobe, J. Biane, W. Song, B. Wei, M. Veshkini, M. La-Vu, J. Lou, S. Flores, I. Kim, <u>Y. Sona</u>, M. Zhou, K. Baumgaertel, A. Lavi, M. Kawata, M. Tuszynski, M. Mayford, P. Golshani and A. J. Silva, "Linking memories across time," Molecular and Cellular Cognition Society, San Diego, Nov., 2016.

- 49. M. Zhou, S. Greenhill, S. Huang, T. Silva, <u>Y. Sano</u>, S. Wu, Y. Cai, Y. Nagaoka, M. Sehgal, D. Cai, Y.-S. Lee, K. Fox and A. J. Silva, "Role of CCR5 in learning and memory and in HIV V3 peptide induced cognitive deficits," Molecular and Cellular Cognition Society, San Diego, Nov., 2016.
- 50. <u>佐野良威</u>, "メモリーアロケーションの神経基盤 ~これから起きる出来事はどの神経細胞 に保存されるのか?~,"第159回日本獣医学会学術集会【獣医解剖分科会シンポジウム】 「脳の形態形成と統合機能研究のカッティング・エッジ」,2016年9月7日.(招待講演)
- <u>佐野良威</u>, "Neuronal memory allocation ~記憶を保存する神経細胞群は学習前に決められているのか?~," 東京理科大学特別講演, 2016 年 3 月 14 日. (招待講演)
- 52. M. Zhou, S. Greenhill, S. Huang, T. Silva, <u>Y. Sano</u>, S. Wu, Y. Cai, Y. Nagaoka, M. Sehgal, D. Cai, Y.-S. Lee, M. Chu, K. Wong, K. Yamamoto, K. Fox, and A. J. Silva, "CCR5 is a suppressor for learning and memory," Society for Neuroscience, Neuroscience 2015, Chicago, Oct., 2015.
- 53. L. Caracciolo, A. Hamade, T. Bulfone, A. Guzner, Y. Sano, A. J. Silva, and S. T. Carmichael, "CREB/DREADD system: switching on/off recovery of motor function after stroke," Society for Neuroscience, Neuroscience 2015, Chicago, Oct., 2015.
- 54. M. Zhou, S. Greenhill, S. Huang, T. Silva, <u>Y. Sano</u>, S. Wu, Y. Cai, Y. Nagaoka, M. Sehgal, D. Cai, Y.-S. Lee, M. Chu, K. Wong, K. Yamamoto, K. Fox, and A. J. Silva, "CCR5 is a suppressor for learning and memory," Society for Neuroscience, Neuroscience 2015, Chicago, Oct., 2015.
- 55. <u>佐野良威</u>, "記憶を保持するセルアセンブリの選択機構 ~メモリーアロケーションの分子 細胞基盤~," 福井大学 社会行動研究会, 2015 年 5 月 26 日. (招待講演)
- 56. <u>佐野良威</u>, "メモリーアロケーションの分子, 細胞機構 ~記憶を保持する神経細胞はどの ように選択されるのか?~," 北海道大学特別講演会(主催:北海道大学大学院薬学研究院 日本薬学会北海道支部 共催:日本生化学会北海道支部、北海道分子生物学研究会), 2015 年5月14日.(招待講演)
# イメージング技術を基盤とした植物免疫活性化剤スクリーニング系の構築 理工学部 応用生物科学科 北畑 信隆

現代の農業において、農薬は病原菌や害虫の防除のために必要不可欠であり、りんごや桃な ど、農薬なしに栽培することが困難な作物すら存在する。現在の主要な農薬は、殺虫剤・殺菌 剤であるが、これらの薬剤は圃場に存在する共生菌や益虫なども含む、圃場の生物相を破壊し てしまうことや、繰り返し使用することで薬剤耐性菌が出現してしまうことなどの問題があ る。植物免疫活性活性化剤は、植物自身の免疫力を高める薬剤であり、殺菌・殺虫活性を持た ないことから、既存農薬の問題点を解決できる次世代の農薬として注目されている。

植物の主要な免疫経路には生きた植物から栄養を奪うバイオトロフで活性化するサリチル酸 経路と、植物を殺して栄養を奪うネクロトロフや害虫に傷害で活性化するジャスモン酸・エチ レン経路がある。これまでに報告されている植物免疫活性化剤はすべてサリチル酸経路を活性 化する薬剤であり、ジャスモン酸・エチレン経路を活性化する薬剤は存在しない。サチリル酸 経路とジャスモン酸経路のどちらも、病害応答の初期応答として活性酸素種(ROS)の生成を伴 う。そこで、ROSの生成を指標とした新規植物免疫活性剤候補化合物のスクリーニング系の確立 を試みた。

生成する ROS はルミノールと反応させ、ルミノールの発光量として検出した。ルミノール発 光は微弱であるため、イメージングセンターの共通機器である EM-CCD カメラ(浜松ホトニクス) を用いた。また、多くの化合物を効率的にスクリーニングするため、96 ウェルプレートにシロ イヌナズナの種子を播種し、1 プレート上ですべての処理を完結できるスクリーニング系を構築 し、植物免疫活性化剤候補化合物のスクリーニングを行った。

選抜した候補化合物 CY22、CY55 は、抗菌活性は見られず、シロイヌナズナのトマト斑葉細菌 病菌 Pseudomonas syringae pv. tomato DC3000 に対する耐病性、MAMP(微生物分子パターン) flg22 誘導性の ROS 生成や応答性遺伝子発現を亢進したことから、植物の基礎的抵抗性を高める 効果があると考えられる。サリチル酸(SA)経路を介して植物の耐病性を亢進する BTH 等の既存 剤と異なり、化合物単体では PR1 の発現誘導や生育阻害がほとんど見られなかった。また BTH は、SA 経路変異体 npr1 では flg22 誘導性の ROS 生成を亢進しなかったが、CY22、CY55 は npr1 においても亢進効果が見られた。 これらの化合物は既存剤と異なり、SA 経路を介さずに植物の 病害応答を亢進する可能性が考えられる。

### 【学術論文】

- T. Kurusu, D. Mitsuka, C. Yagi, <u>N. Kitahata</u>, T. Tsutsui, T. Ueda, Y. Yamamoto, J. Negi, K. Iba, S. Betsuyaku, and K. Kuchitsu, "Involvement of S-type anion channels in disease resistance against an oomycete pathogen in Arabidopsis seedlings," Commun Integr Biol., vol. 11, pp. 1-6, 2018.
- T. Kurusu, T. Koyano, <u>N. Kitahata</u>, M. Kojima, S. Hanamata, H. Sakakibara, and K. Kuchitsu, "Autophagy-mediated regulation of phytohormone metabolism during rice anther development," Plant Signal Behav., vol. 12, e1365211, 2017.
- K. Jiang, H. Shimotakahara, M. Luo, M. Otani, H. Nakamura, S. S. Moselhy, K. Abualnaja, Al-Malki AL, T. Kumosani, <u>N. Kitahata</u>, T. Nakano, M. Nakajima, and T. Asami, "Chemical screening and development of novel gibberellin mimics," Bioorg. Med. Chem. Lett., vol. 27, pp. 3678-3682, 2017.
- 北畑信隆,羽山大介,吉川岳史,筒井友和,吉田亜佑美,末次真悠,大滝幹,来須孝光, 平塚和之,海老根一生,上田貴志,浅見忠男,朽津和幸,"新規植物免疫活性化剤候補化 合物の作用機構の解析," Jpn J. Phytopath., vol. 82, pp. 281–282, 2016.
- 5. 朽津和幸, 大滝幹, 羽山大介, <u>北畑信隆</u>, 花俣繁, 来須孝光, 上田貴志, "植物の感染防御 応答の制御と細胞内の膜動態," バイオイメージング, vol. 25, p. 31, 2016.

【学会発表】

- <u>北畑信隆</u>,斉藤優歩,中野正貴,石賀康博,佐藤静香,諸橋賢吾,来須孝光,平塚和之, 浅見忠男,朽津和幸, "病原体に対する植物の抵抗性を向上させる新規化合物の作用機構の 解析,"植物病理学会,神戸,2017年3月.
- 北畑信隆,斉藤優歩,中野正貴,諸橋賢吾,来須孝光,浅見忠男,朽津和幸,"植物免疫活 性化剤候補化合物の選抜と作用機構の解析,"日本農芸化学会,名古屋,2017年3月.
- 3. <u>北畑信隆</u>,渡辺健志郎,鈴木優志,浅見忠男,朽津和幸, "植物ホルモンエチレン代替化 合物の探索と作用機構の解析," Conbio2017,神戸,2017 年 12 月.
- <u>北畑信隆</u>,渡辺健志郎,鈴木優志,浅見忠男,朽津和幸,"新規エチレン様活性化合物の作 用機構の解析,"植物化学調節学会,鹿児島,2017年10月.
- 5. <u>北畑信隆</u>,吉田亜祐美,中野正貴,石賀康博,来須孝光,平塚和之,浅見忠男,朽津和幸, "病原体に対する植物の抵抗性を向上させる化合物の作用機構の解析,"植物病理学会関東 部会,横浜,2017年9月.

- <u>北畑信隆</u>,渡辺健志郎,鈴木優志,浅見忠男,朽津和幸,"新規エチレン様活性物質の作用 機構の解析,"日本植物学会,野田,2017年9月.
- 7. <u>北畑信隆</u>,渡辺健志郎,鈴木優志,浅見忠男,朽津和幸,"エチレン様の植物ホルモン活性 を持つ化合物の探索と作用機構の解析,ケミカルバイオロジー学会,北海道,2017年6月.
- <u>北畑信隆</u>,吉田亜祐美,吉川岳史,石賀康博,来須孝光,平塚和之,浅見忠男,朽津和幸, "病原体に対する植物の抵抗性を向上させる化合物の作用機構の解析,"日本植物病理学会, 岩手,2017年4月.
- 9. <u>北畑信隆</u>,渡辺健志郎,鈴木優志,浅見忠男,朽津和幸,"新規エチレン様活性物質の耐性 変異体の選抜,"日本農芸化学会,京都,2017年3月.
- <u>北畑信隆</u>,吉田亜祐美,羽山大介,筒井友和,石賀康博,上田貴志,来須孝光,浅見忠男, 朽津和幸,"新規植物免疫活性化剤候補化合物の選抜と作用機構解析,"植物病理学会,松山,2017年3月.
- 11. <u>N. Kitahata</u>, H. Hayase, H. Shimizu-Yumoto, M. Suzuki, M. Nakayama, K. Kuchitsu, and T. Asami, "New lead compounds for regulating ethylene signaling," IPGSA, Toronto, Canada, June 2016.
- 北畑信隆,吉田亜祐実,羽山大介,佐藤静香,斉藤優歩,中野正貴,吉川岳史,来須孝光, 上田貴志,浅見忠男,朽津和幸,"新規植物免疫活性化剤候補化合物の探索と作用機構の解 析,"植物化学調節学会,高知,2016年10月.
- 13. <u>北畑信隆</u>,羽山大介,筒井友和,花俣繁,海老根一生,来須孝光,上田貴志,朽津和幸, "病原体に対する植物の抵抗性を向上させる化合物のハイスループットスクリーニングと 作用機構の解析,"植物病理学会関東部会,横浜,2016年9月.
- 14. <u>北畑信隆</u>,吉田亜祐美,羽山大介,末次真悠,来須孝光,上田貴志,浅見忠男,朽津和幸, "新規植物免疫活性化剤の選抜と作用機構の解析,"ケミカルバイオロジー学会,京都, 2016年6月.
- 15. <u>北畑信隆</u>,渡辺健志郎,鈴木優志,浅見忠男,朽津和幸,"エチレン様活性化合物の作用機構の解析,"日本農芸化学会,札幌,2016年3月.
- 16. <u>北畑信隆</u>,吉川岳史,羽山大介,吉田亜祐美,末次真悠,大滝幹,来須孝光,上田貴志, 浅見忠男,朽津和幸,"新規植物免疫活性化剤の作用機構の解析,"日本農薬学会,松江, 2016年3月.

# 高分子複合化プローブによる近赤外光バイオフォトニクス 基礎工学部 材料工学科 上村真生

種々の蛍光プローブを用いた蛍光 *in vivo*イメージング技術は、高感度かつリアルタイム観察 が可能であるなどの特徴を有し、生命科学・医学研究における重要な実験手法となっている。し かし、一般的な蛍光プローブは組織透過性が低い可視蛍光を発するものが多く、深部の観察が困 難であるという問題がある。そのため、近年では組織透過性が高い近赤外光(>700 nm)を用いた 蛍光イメージングが積極的に報告されている。生体内の光損失が比較的少ない近赤外光の波長域 は「生体の窓」と呼ばれ、生体深部の蛍光イメージングに適した波長域であることがよく知られ ている(図1)。特に最近、その近赤外光の中でも、波長が1000 nm を超える近赤外(OTN-NIR)光 が、極めて高い生体組織透過性を示すことが明らかとなっており、生体組織の深さ 20 nm 程度ま

で光が透過できることから、「Second Biological Window (NIR-II)」(1000-1350 nm)や「Third Biological Window (NIR-III)」(1500-1700 nm)などと呼 ばれ、*in vivo*イメージングへの利用 が積極的に報告されている。本研究で は、OTN-NIR 蛍光を発する様々な蛍光 プローブを開発し、*in vivo*イメージ ングへの応用に取り組んだ(図2)。

OTN-NIR 波長域の蛍光を発するプロ ーブとしては、主に単層カーボンナノ チューブ (SWCNT) や量子ドット (QDs)、希土類含有セラミックスナノ



図1. 光の波長と組織透過性の関係.

粒子、低分子有機蛍光色素などが知られている(図3)。SWONT は強いOTN-NIR 蛍光を示す材料で あり、OTN-NIR 蛍光イメージングの黎明期から使用されている材料である。しかし、SWONT は水中 での分散安定性が乏しいだけでなく、その形状が針状であるためにアスベストに似た健康被害を ひき起こす可能性が指摘されており、生体内に投与が難しい材料である。我々も、SWONT の表面 に poly(ethylene glycol) (PEG) を修飾することで水中分散可能なプローブを作製し、細胞やマ ウスのイメージングを行うことに成功した。しかし、今後実際の医療に応用するためにはまだ多 くの課題が残されているのが現状である。

QDs も OTN-NIR 蛍光イメージングの初期から報告されているプローブである。QDs は量子サイズ効果によって粒径的に異なる蛍光波長を示すナノ粒子であり、可視蛍光を発するものは既に市

販化されている。OTN-NIR 蛍光を示す QDs とし ては PbS や PbSe などがよく利用されるが、Pb のような重金属を含有する QDs はその毒性が懸 念されている。この問題を解決するために我々 は、ワンポットで PEG 修飾 PbS を合成する手法 を新たに開発し、ほとんど生体毒性を示さずに マウスの血流を観察することに成功した。

また我々は、SWCNT や QDs と比較して、毒性 や形状などの生体への影響が極めて低い希土類 含有セラミックスナノ粒子の利用にも取り組ん だ。希土類含有セラミックスナノ粒子は、NaYF4 やNaGdF4などのセラミックスに希土類イオンを



図2.OTN-NIR 蛍光イメージングの実例.

ドープとした材料であり、NIR 光励起・可視蛍光を示すことから「アップコンバージョン蛍光ナノ粒子」という名称でもよく知られている材料である。我々は、この希土類含有セラミックスナノ粒子の OTN-NIR 発光を利用したさまざまな *in vivo* 蛍光イメージングや、アップコンバージョン蛍光を利用した光線力学療法(PDT)を同時に行う技術、蛍光強度の温度依存性を利用したナノ温度イメージングなどを確立することに成功した。

しかし、上述の OTN-NIR 蛍光プローブはいずれも無機・金属系の材料であり、将来的な医療応用を目指す上では体外排泄の問題をクリアしなければならないことが課題となっている。そこで 我々は、腎排泄可能な分子サイズの低分子蛍光色素を用いた OTN-NIR 蛍光プローブの研究に取り 組み、OTN-NIR 蛍光を示す有機蛍光色素をポリマーミセルに内包することで、マウスの血流を観 察することに成功した。

このように我々は、OTN-NIR 蛍光イメージング技術について世界に先駆けて研究を進めてきた。これらの蛍光プローブのさらなる機能化や体外排泄、安全性の向上などをすすめることで、これまで発見することが難しかった深部の病変部位を迅速に観察することや治療することが可能になると期待される。



図 3. 主な OTN-NIR 蛍光プローブ.

### 【学術論文】

- G. Yeroslavsky, K. Okubo, M. Umezawa, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, K. Miyata, K. Nomura, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Energy Transfer Between Rare Earth-doped Ceramic Nanoparticles for Gauging Strain and Temperature in Elastic Polymers," Journal of Photopolymer Science and Technology, 2020 (in press).
- D. T. K. Dung, M. Umezawa, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, K. Okubo, <u>M. Kamimura</u>, M. Yamaguchi, H. Fujii, and K. Soga, "Development of molecular imaging probe for dual NIR/MR imaging," Journal of Photopolymer Science and Technology, 2020 (in press).
- G. Yeroslavsky, M. Umezawa, K. Okubo, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, K. Miyata, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Stabilization of Indocyanine Green Dye in Polymeric Micelles for NIR-II Fluorescence Imaging and Cancer Treatment," Biomaterials Science, vol. 8, pp. 2245-2254, 2020.
- T. Chihara, M. Umezawa, K. Miyata, S. Sekiyama, N. Hosokawa, K. Okubo, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Biological Deep Temperature Imaging with Fluorescence Lifetime of Rare-Earth-Doped Ceramics Particles in the Second NIR Biological Window," Sci. Rep., vol. 9, 12806, 2019.
- K. Soga, <u>M. Kamimura</u>, K. Okubo, M. Umezawa, D. T. K. Dung, K. Nigoghossian, "Near Infrared Biomedical Imaging for Transparency," Journal of the Imaging Society of Japan, vol. 58, pp. 602-616, 2019.
- S. Sekiyama, M. Umezawa, Y. Iizumi, T. Ube, T. Okazaki, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Delayed Increase in Near-Infrared Fluorescence in Cultured Murine Cancer Cells Labelled with Oxygen-Doped Single-Walled Carbon Nanotubes," Langmuir, vol. 35, pp. 831-837, 2019.
- M. Umezawa, S. Haruguchi, R. Fukushima, S. Sekiyama, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Rapid increase in transparency of biological organs by matching refractive index of media to cell membrane using phosphoric acid," RSC Advances, vol. 9, pp. 15269-15276, 2019.
- M. Kamimura, Y. Ueya, E. Takamoto, K. Iso, M. Yoshida, M. Umezawa, and K. Soga, "Fluorescent Polystyrene Latex Nanoparticles for NIR-II in vivo Imaging," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 31, pp. 93-96, 2019.
- 9. G. Yeroslavsky, M. Umezawa, K. Okubo, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Photostabilization of Indocyanine Green Dye by Energy Transfer in

## 業績

Phospholipid-PEG Micelles," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 32, pp. 115-121, 2019.

- S. Sekiyama, M. Umezawa, S. Kuraoka, T. Ube, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Temperature Sensing of Deep Abdominal Region in Mice by Using Over-1000 nm Near-Infrared Luminescence of Rare-Earth-Doped NaYF4 Nanothermometer," Sci. Rep., vol. 8, 16979, 2018.
- Y.-C. Tsai, P. Vijayaraghavan, W.-H. Chiang, H.-H. Chen, T.-I. Liu, M.-Y. Shen, A. Omoto, <u>M. Kamimura</u>, K. Soga, and H.-C. Chiu, "Targeted Delivery of Functionalized Upconversion Nanoparticles for Externally Triggered Photothermal/Photodynamic Therapies of Brain Glioblastoma," Theranostics, vol. 8, 1435-1448, 2018.
- L. Wortmann, S. Suyari, T. Ube, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Tuning the thermal sensitivity of β-NaYF4: Yb3+, Ho3+, Er3+ nanothermometers for optimal temperature sensing in OTN-NIR (NIR II/III) biological window," Journal of Luminescence, vol. 198, pp. 236-242, 2018.
- G. Yeroslavsky, <u>M. Kamimura</u>, R. Inoue, Y. Kogo, and K. Soga, "Visual Mapping of Strain in Elastic Silicone Polymers Using Fluorescence," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 31 pp. 533-540, 2018.
- 14. <u>上村真生</u>, "高分子複合化近赤外蛍光プローブによる in vivo イメージング,"高分子論文 集, vol. 75, p. 468, 2018.
- 15. 曽我公平, <u>上村真生</u>, "OTN 近赤外蛍光バイオイメージングシステムの開発," 生物物理, vol. 57, pp. 81-84, 2017.
- M. Kamimura, S. Takahiro, M. Yoshida, Y. Hashimoto, R. Fukushima, and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Biodegradable Polymer Nanoparticles for Deep Tissue in vivo Imaging in the Second Biological Window," Polymer Journal, vol. 49, pp. 799-803, 2017.
- M. Kamimura, Y. Yano, S. Kuraoka, S. Suyari, T. Ube, L. Wortmann, and K. Soga, "Near-Infrared to Visible Upconversion Emission Induced Photopolymerization: Polystyrene Shell Coated NaYF4 Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging and Nanothermometry," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 30, pp. 265-270, 2017.
- T. Chihara, S. Fujii, <u>M. Kamimura</u>, and K. Soga, "Green Color Purity Control of Dual-Excitation Upconversion Display by Using Polymer/NaYF4:Er3+ Crystal Transparent Composite," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 30, pp. 437-443, 2017.

- M. Kamimura, A. Omoto, H.-C. Chiu, and K. Soga, "Enhanced Red Upconversion Emission of NaYF4: Yb3+, Er3+, Mn2+ Nanoparticles for Near-Infrared Induced Photodynamic Therapy and Fluorescence Imaging," Chemistry Letters, vol. 46, pp. 1076-1078, 2017.
- <u>M. Kamimura</u>, T. Matsumoto, S. Suyari, M. Umezawa, and K. Soga, "Ratiometric Near-Infrared Fluorescence Nanothermometry in the OTN-NIR (NIR II/III) Biological Window Based on Rare-Earth Doped β-NaYF4 Nanoparticles," Journal of Materials Chemistry B, vol. 5, pp. 1917-1925, 2017.
- <u>M. Kamimura</u>, R. Saito, H. Hyodo, K. Tsuji, I. O. Umeda, H. Fujii, and K. Soga, "Over-1000 nm Near-infrared Fluorescence and SPECT/CT Dual-modal in vivo Imaging Based on Rare-earth Doped Ceramic Nanophosphors, Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 29, pp. 525-532, 2016.
- 梅澤雅和,新海雄介,小野田淳人,武田健,<u>上村真生</u>,曽我公平,"動物体内におけるナノ 粒子の未知なる動態メカニズムと検出技術改善のニーズ,"バイオイメージング,vol. 25, pp. 22-27, 2016.
- 竹内司, 大谷敬亨, <u>上村真生</u>, "NIR-II 波長域を用いたマウス in vivo 蛍光イメージング の可能性、"バイオイメージング, vol. 25, pp. 11-15, 2016.
- 24. 曽我公平, <u>上村真生</u>, "第2の生体の窓における OTN (over 1000 nm) 蛍光バイオイメージ ング," JSMI Report, vol. 9, pp. 12–17, 2016.

### 【著書】

曽我公平, 上村真生, "近赤外蛍光イメージングプローブ," 実験医学 増刊 生きてるものは全部観る! イメージングの選び方・使い方100+(原田慶恵, 永井健治編), vol. 36, pp. 178-179, 2018.

### 【学会発表】

- <u>M. Kamimura</u>, A. Omoto, H.-C. Chiu, and K. Soga, "Near-Infrared Light Triggered Cancer Theranostics Based on Rear-Earth Doped Ceramics Nanoparticles," Resonance Bio International Symposium (RBIS 2019), Oct. 30 - Nov. 1, 2019.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Poly (ethylene glycol) Modified Near-Infrared Nanophosphors for Deep Tissue in vivo Bioimaging," OKINAWA COLLOIDS 2019, Bankoku Shinryokan, Nago, Okinawa, Japan, Nov. 3-8, 2019.
- 3. <u>上村真生</u>, 吉田萌, 梅澤雅和, 曽我公平, "NIR-II蛍光ポリマーミセルによるin vivoイメ ージング," 第68回高分子討論会, 福井大学文京キャンパス, 2019年9月25-27日.
- 4. <u>M. Kamimura</u>, "Near-Infrared Fluorescence Imaging Technology in Over-1000 nm Biological Window," 7th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical

Sciences (iPoPS2020), Tokyo University of Science Noda Campus, Feb. 28-29, 2020. (Invited)

- 5. <u>上村真生</u>, "Over-1000 nm (OTN) 近赤外光を用いた in vivo イメージング," 第23回酸素 ダイナミクス研究会・第26回医用近赤外線分光法研究会 合同研究会, 持田製薬株式会社本 社, 東京, 2019年9月6日. (招待講演)
- <u>上村真生</u>, "波長1000 nmを超える近赤外蛍光を用いるin vivoイメージング," 第44回レー ザ顕微鏡研究会&シンポジウム, 大阪大学銀杏会館, 2019年7月4-5日. (招待講演)
- M. Kamimura, Y. Ueya, E. Takamoto, K. Iso, M. Yoshida, M. Umezawa, and K. Soga, "Fluorescent Polystyrene Latex Nanoparticles for NIR-II in vivo Imaging," The 36th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, Japan, June 24-27, 2019. (Invited)
- M. Kamimura and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared Phosphors for Nanotheranostics," 4th International Bio/Medical Interface Symposium 2019, National Chiao Tung University, Hsinchu, Taiwan, Mar. 9-10, 2019. (Invited)
- <u>上村真生</u>, "体内深部を可視化する近赤外光バイオイメージング," 第69回医用高分子研究 会, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2019年3月1日. (招待講演)
- 10. <u>上村真生</u>, 曽我公平, "体内深部を可視化する波長1000nmを超える近赤外蛍光高分子ナノ粒子," 第67回高分子討論会, 北海道大学, 北海道, 2018年9月12-14日.
- <u>上村真生</u>, "波長1000nmを超える近赤外光バイオイメージング," 第7回 Chem-Bio Joint Seminar 2018, 東京大学駒場キャンパス,東京, 2018年8月4日.
- 12. <u>上村真生</u>,吉田萌,梅澤雅和,曽我公平,"近赤外蛍光高分子ナノ粒子による波長1000nmを 超えるin vivoイメージング," 第47回医用高分子シンポジウム,産業技術総合研究所 臨 海副都心センター,東京,2018年7月19-20日.
- M. Kamimura and K. Soga, "Polymer Conjugated Nanophosphors for Over-1000 nm Fluorescence in vivo Imaging," 1st G'L'owing Polymer Symposium in KANTO (GPS-K2018), Waseda University, Nishiwaseda Campus, Dec. 15, 2018. (Invited)
- 14. <u>上村真生</u>, "光応答性マテリアルによるバイオ分析法の開発,"日本分析化学会第67年会, 東北大学,仙台,2018年9月12-14日. (招待講演)
- 15. <u>M. Kamimura</u>, "Polymer Conjugated Fluorescent Nanoparticles for Over-1000 nm Near-Infrared Bioimaging," 日韓高分子学会シンポジウム,第67回高分子討論会,北海道大学, 北海道, 2018年9月12-14日. (招待講演)
- M. Kamimura and K. Soga, "Near-Infrared Light Triggered Theranostics Based on Polymer Modified Nanophosphors," The 35th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, Japan, June 25-28, 2018. (Invited)
- 17. <u>上村真生</u>, "生体内深部を観察する近赤外光バイオイメージング法の開発,"日本分析化学 会関東支部 新世紀新人賞受賞講演,秋葉原ダイビル, 2018年1月9日. (招待講演)

- 18. <u>M. Kamimura</u>, Y. Yano, S. Kuraoka, S. Suyari, T. Ube, L. Wortmann, and K. Soga, "Near-Infrared to Visible Upconversion Emission Induced Photopolymerization: Polystyrene Shell Coated NaYF4 Nanoparticles for Fluorescence Bioimaging and Nanothermometry," The 34th International Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, Japan, June 26-29, 2017.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared (OTN-NIR) Fluorescence in vivo Imaging," Taiwan-Japan Joint Meeting on Bioimaging for Young Researchers - Academia Sinica - 4D Cell - ResonanceBio -, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, Nov. 1-2, 2017.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Development of OTN Near-Infrared Fluorescent Probes for Deep Tissue in vivo Imaging in the Second and Third Biological Windows," 12th European Molecular Imaging Meeting (EMIM 2017), University of Cologne, Germany, Apr. 5-7, 2017.
- <u>上村真生</u>,大本歩,関山翔太,梅澤雅和,邱信程,曽我公平,"がんイメージングと治療の ための近赤外光励起型ナノセラノスティクス粒子,"第39回日本バイオマテリアル学会大 会,タワーホール船堀,東京,2017年11月20-21日.
- 22. <u>上村真生</u>,大本歩,関山翔太,梅澤雅和,邱信程,曽我公平,"生体深部のがん診断・治療のための近赤外光刺激応答型セラノスティックナノ粒子," 第66回高分子討論会,愛媛大学,愛媛,2017年9月20-22日.
- 23. <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Development of Polymer Conjugated Nanoparticles for Near-Infrared Triggered Theranostics in the Second Biological Window," International Conference on Advances in Polymer Science & Technology 2017, Radisson Blu Hotel, Dwarka, New Delhi, India, Nov. 23-25, 2017. (Invited)
- 24. <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared (OTN-NIR) (NIR-II/III) Fluorescence in vivo Imaging," 18th International Union of Materials Research Societies International Conference in Asia (IUMRS-ICA), Taipei Nangang Exhibition Hall, Taipei, Taiwan, Nov. 5-9, 2017. (Invited)
- <u>上村真生</u>, 曽我公平, "波長1000 nmを超える近赤外(OTN-NIR) 蛍光in vivoイメージング,"
   第26回日本バイオイメージング学会学術集会, 東京薬科大学, 東京, 2017年9月16-17日.
   (招待講演)
- 26. K. Soga and <u>M. Kamimura</u>, "Fluorescent Ceramic Nanoparticles for Biophotonics in the Second Biological Window," 12th Pacific Rim Conference on Ceramic and Glass Technology (PACRIM 12), including Glass & Optical Materials Division Meeting (GOMD 2017), Hilton Waikoloa Village, Waikaloa, Hawaii, May 21-26, 2017. (Invited)
- M. Kamimura, R. Saito, H. Hyodo, K. Tsuji, I. O. Umeda, H. Fujii, and K. Soga, "Over-1000 nm Near-infrared Fluorescence and SPECT Dual-modal in vivo Imaging Based on Rare-earth Doped Ceramic Nanophosphors," The 33rd International

Conference of Photopolymer Science and Technology, Makuhari Messe, Chiba, Japan, June 24-26, 2016.

- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared Luminescent Polymeric Micelles for in vivo Imaging," The 11th SPSJ International Polymer Conference (IPC2016), Fukuoka International Congress Center, Dec. 13-16, 2016.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Probes for Non-Invasive Deep Tissue Bioimaging," 3rd International Conference on Biomaterials Science in Tokyo (ICBS2016), The University of Tokyo, Tokyo, Japan, Nov. 28-30, 2016.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Near-Infrared Dye-Loaded Polymer Micelles for Over-1000 nm Fluorescence in vivo Imaging," Biointerfaces International 2016, University of Zurich, City Campus, Zurich, Switzerland, Aug. 23-25, 2016.
- 31. <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over-1000 nm NIR Luminescence Thermometry at the Nanoscale: An Analytical Technique for Mechanobiology," 2nd International Symposium on Nanoarchitectonics for Mechanobiology, National Institute for Materials Science, Tsukuba, Japan, July 27-28, 2016.
- 32. <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Polymer/inorganic phosphor nanocomplex for near-infrared biophotonics in the second biological window," 10th World Biomaterials Congress, Palais des congrès de Montréal, Montreal, Canada, May 17-22, 2016.
- 33. <u>上村真生</u>, 曽我公平, "波長1000nmを超える近赤外(OTN-NIR) 蛍光ナノ粒子による生体内深 部の観察," 日本分析化学会第66年会, 東京理科大学葛飾キャンパス, 2017年9月9-12日.
- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Probes for Deep Tissue in vivo Imaging," 第26回日本MRS年次大会, 横浜開港記念館, 2016年12月19-22 日.
- 35. <u>上村真生</u>,高廣祥子,吉田萌,曽我公平,"近赤外蛍光高分子ミセルによる波長1000nmを超 えるin vivoイメージング," 第65回高分子討論会,神奈川大学横浜キャンパス,2016年9 月14-16日.
- 36. <u>上村真生</u>, 曽我公平, "1000 nmを超える近赤外光バイオイメージングに向けた蛍光プローブの開発," 第76回分析化学討論会,岐阜薬科大学, 2016年5月28-29日.
- 37. <u>上村真生</u>, 曽我公平, "1000 nmを超える近赤外蛍光イメージングプローブの開発," 第18 回次世代医工学研究会, 東京女子医科大学先端生命医科学研究所 (TWIns), 2016年1月29日.
- 38. <u>M. Kamimura</u>, "Development of Fluorescence Nanoprobes for Over-1000 nm Near-infrared Bioimaging," Symposium of the Japanese Society for Biomaterials, Fukuoka International Congress Center, Nov. 21-22. 2016. (Invited)

- <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Nanoprobes for in vivo Bioimaging," 8th International Workshop on Advanced Materials Science and Nanotechnology, IWAMSN 2016, Ha Long City, Vietnam, Nov. 8-12, 2016. (Invited)
- <u>M. Kamimura</u>, "Development of Fluorescence Nanoprobes for Over-1000 nm Near-infrared Bioimaging," 20th Anniversary International Symposium of the Korean Society for Biomaterials 2016, KIST, Seoul, Korea, Sep. 29-30, 2016. (Invited)
- <u>上村真生</u>, "近赤外蛍光 in vivoイメージングのためのナノ粒子プローブの設計,"東京理 科大学研究推進機構総合研究院 界面科学研究部門2016夏季シンポジウム,東京理科大学森 戸記念館,2016年8月5日.(招待講演)
- 42. <u>M. Kamimura</u> and K. Soga, "Biocompatible Polymer-conjugated Inorganic Nanophosphors for Near-infrared in vivo Imaging in the Second Biological Window," 9th International Conference on High Temperature Ceramic Matrix Composites (HTCMC9) and Global Forum on Advanced Materials and Technologies for Sustainable Development (GFMAT2016), Toronto Marriott Downtown Eaton Center Hotel, Toronto, Canada, June 26-July 1, 2016. (Invited)
- 43. <u>上村真生</u>, 曽我公平, "「第2の生体の窓」における近赤外蛍光in vivoイメージング,"バイ オイメージ・インフォマティクスワークショップ 2016, 大阪大学吹田キャンパス 銀杏会館, 2016年6月22-23日.(招待講演)
- 44. <u>上村真生</u>, 曽我公平, "近赤外蛍光ナノ粒子を利用するナノ温度イメージング,"日本化学会第96春季年会,特別企画:機能性材料・デバイスで新時代の生命分析化学を切り拓く,同志社大学京田辺キャンパス,京都,2016年3月24-27日.(招待講演)

【受賞】

- 1. <u>上村真生</u>, 奨励賞, "光応答性マテリアルによるバイオ分析法の開発,"日本分析化学会, 2018年9月13日.
- 上村真生,高分子論文集高分子科学・工学のニューウェーブ-2018-, "高分子複合化近赤外 蛍光プローブによる in vivo イメージング,"高分子学会,2018年7月11日.
- 3. <u>上村真生</u>, 高分子研究奨励賞, "機能性高分子複合化ナノ粒子の設計と近赤外蛍光バイオイ メージングへの応用," 高分子学会, 2018 年 5 月 24 日.
- 上村真生,新世紀新人賞,"生体内深部を観察する近赤外光バイオイメージング法の開発," 日本分析化学会関東支部,2018年1月9日.
- <u>M. Kamimura</u>, APA Young Researcher Award 2017, Asian Polymer Association, Radisson Blu Hotel, Dwarka, New Delhi, India, Nov 23-25, 2017.
- 6. <u>上村真生</u>,大本歩,関山翔太,梅澤雅和,邱信程,曽我公平,ハイライト講演, "がんイメージングと治療のための近赤外光励起型ナノセラノスティクス粒子," 第 39 回日本バイオマテリアル学会大会,タワーホール船堀,東京,2017 年 11 月 20-21 日.

- M. Kamimura, K. Soga, 奨励賞, "Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Probes for Deep Tissue in vivo Imaging," 第26回日本MRS 年次大会, 横浜開港記念館, 2016 年12 月 19-22 日.
- M. Kamimura, 日韓バイオマテリアル学会若手研究者交流 AWARD (Japanese and Korean Biomaterials Societies Young Scientist Exchange Program Award 2016), "1000nm を 超える近赤外光バイオイメージングのための蛍光ナノプローブの開発," Development of Fluorescence Nanoprobes for Over-1000 nm Near-infrared Bioimaging, Korea Institute of Science and Technology (KIST), 2016 年9月 29日, 福岡国際会議場, 2016 年11月 21-22日.

# 近赤外蛍光寿命計測システムの構築 基礎工学部 材料工学科 大久保香平

蛍光の強度、波長、寿命には蛍光体周囲のイオン濃度、pH、温度等の情報が反映される。特に、温度は細胞分裂・伝達のような生体機能を統御する変数の一つであるが、非侵襲・非接触な 生体深部の温度計測技術は確立されていない。本研究では、生体透過性が極めて高い近赤外波長 の蛍光寿命に基づく温度計測システムの構築を行った。蛍光寿命計測には、蛍光体の励起時刻と 蛍光取得時刻間の遅延を制御するタイムゲートイメージング(TGI)手法を用いた。蛍光寿命は 観察深度や蛍光体周囲の材質に関わるキャリブレーションが不要である。温度マッピング用の蛍 光プローブ作製には、希土類含有セラミックス粒子を中心に検討を行った。この蛍光粒子は、生 体透過性の高い近赤外光領域(励起波長 808 nm、蛍光波長 1000 nm)で機能する。希土類含有セ ラミックス蛍光体は、有機蛍光色素などと比較して、極めて長い蛍光寿命(数百 μscc−mscc)を 有し、比較的安価なカメラで蛍光寿命の取得が可能である点が長所である。蛍光寿命マッピング における観察深度の影響を調べるために、生体環境を模したアガロースゲル中に挿入した希土類 含有セラミックス粒子の蛍光寿命を計測した。観察深度はゲル上に厚さ 0.7 nm の薄切り肉を積 層させる事で変化させた。ヒーターを用いて45℃に加熱したゲルが自然冷却される様子を撮像し た所、25℃-45℃の範囲で温度に依存した蛍光寿命マッピングが可能である事を実証した。(Fig.1)

本研究で開発した TGI システムにより生体深部の温度マッピングを実証できたが、同時に CCD カメラ応答特性に起因する蛍光寿命の誤差が、課題として浮き彫りになった。CCD 素子に 高輝度の光が入射する場合は、情報の読み出しに遅延が生じるために実際よりも長寿命に算出



Fig. 1 蛍光寿命イメージングシステムの模式図。パルスレーザーと近赤外カメラは 進行発生装置と同期することで画像中の各ピクセルにおける蛍光寿命が計測可能。

た。CCD素子に高輝度の光が入射する場合は、情報の読み出しに遅延が生じるために実際より も長寿命に算出される。一方で、低輝度の場合では低い S/N 比のため、画素毎の蛍光寿命に無 視できない誤差が含まれた。蛍光寿命を算出する輝度範囲の限定や蛍光取得時間範囲(遅延時 間)の調整により一定の解決が見られた。

蛍光寿命マッピングを用いた生体深部の温度計測を3次元に拡張するために、TGI 手法とコン ピューター断層撮影とを組み合わせて、蛍光寿命の3次元マッピングを試みた(Fig. 2)。まず、生 体環境を模したアガロースゲル中に蛍光寿命の異なる2種類のセラミックス蛍光体粒子(NaYF4 と YPO4)を包埋し、近赤外カメラおよび光増倍管(photo-multiplier tube: PMT)で計測した蛍光減 衰曲線を比較した。 蛍光体は円柱状のアクリル樹脂 (polymethyl methacrylate, PMMA; 直径5mm) に分散・固化させた試料を用いた。上述の調整方法を用いることで近赤外カメラにより取得した 蛍光寿命は PMT の場合とほぼ一致する結果を得た。さらに、蛍光体を包埋したアガロースゲル の外から近赤外励起光を連続的に回転しながら断続的に照射することにより試料の断層像を取 得した。Fig.2 右に示すように、蛍光体の蛍光寿命の差異と位置を3次元的に描出することに成功 した。 蛍光体の形状は、 アガロースゲル=空気の界面における光の屈折により正しく描出できな いという課題が明らかとなったが、これは試料をアガロースゲルと等しい屈折率の溶媒に浸漬す ることで解決が可能である。2波長の蛍光強度比の変化からは、相対的な温度変化の検出のみが 可能であったが、蛍光寿命は絶対温度が検出可能である。近赤外光の高い生体秀過性と本撮像シ ステムを組み合わせることで、生体深部における3次元温度マッピング実現に向けて、さらに改 良を進めていきたい。また、今後はウィルス感染マウスの3次元温度可視化により「ウィルス感 染によって体内のどこから温度が増加していくか?」という課題に挑戦したい。



Fig. 22種類のセラミックス蛍光体粒子の蛍光寿命測定結果 (左)。蛍光寿命の3次元マッピング(右)。

### 【学術論文】

- G. Yeroslavsky, <u>K. Okubo</u>, M. Umezawa, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, K. Miyata, K. Nomura, M. Kamimura, and K. Soga, "Energy Transfer Between Rare Earth-doped Ceramic Nanoparticles for Gauging Strain and Temperature in Elastic Polymers," Journal of Photopolymer Science and Technology, 2020 (in press).
- D. T. K. Dung, M. Umezawa, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, M. Yamaguchi, H. Fujii, and K. Soga, "Development of molecular imaging probe for dual NIR/MR imaging," Journal of Photopolymer Science and Technology, 2020 (in press).
- G. Yeroslavsky, M. Umezawa, <u>K. Okubo</u>, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, K. Miyata, M. Kamimura, and K. Soga, "Stabilization of Indocyanine Green Dye in Polymeric Micelles for NIR-II Fluorescence Imaging and Cancer Treatment," Biomaterials Science, 2020 (in press).
- K. Soga, M. Kamimura, <u>K. Okubo</u>, M. Umezawa, D. T. K. Dung, K. Nigoghossian, "Near Infrared Biomedical Imaging for Transparency," Journal of the Imaging Society of Japan, vol. 58, pp. 602-616, 2019.
- S. Yokota, H. Kuramochi, <u>K. Okubo</u>, A. Iwaya, S. Tsuchiya, and T. Ichiki, "Exosome nanoarray technology: Immobilization of individual exosomes on nanopatterned polyethylene glycol-lipid conjugate brushes," PLOS ONE, vol. 14, e0224091, 2019.
- T. Chihara, M. Umezawa, K. Miyata, S. Sekiyama, N. Hosokawa, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, and K. Soga, "Biological Deep Temperature Imaging with Fluorescence Lifetime of Rare-Earth-Doped Ceramics Particles in the Second NIR Biological Window," Sci. Rep., vol. 9, 12806, 2019.
- G. Yeroslavsky, M. Umezawa, <u>K. Okubo</u>, K. Nigoghossian, D. T. K. Dung, M. Kamimura, and K. Soga, "Photostabilization of Indocyanine Green Dye by Energy Transfer in Phospholipid-PEG Micelles," Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 32, pp. 115-121, 2019.
- K. Ebihara, K. Uchiyamada, K. Asakawa, <u>K. Okubo</u>, and H. Suzuki, "Trimodal polymer waveguide interferometer for chemical sensing," Japanese Journal of Applied Physics, vol. 58, 062005, 2019.
- K. Uchiyamada, <u>K. Okubo</u>, K. Asakawa, Y. Kamon, Y. Kitayama, T. Takeuchi, and H. Suzuki, "Perforated bimodal interferometric biosensor for affinity sensing," Advanced Materials Technologies, vol. 4, 1800533, 2019.
- 10. Y. Niimura, N. Oonishi, <u>K. Okubo</u>, Loan Le Thi Ngoc, and E. T. Carlen, "High-

## 業績

precision nanofabrication technology for metal nanoparticle ensembles using nanotemplate-guided thermal dewetting," Nanoscale, vol. 10, pp 14390-14394. 2018.

 K. Uchiyamada, <u>K. Okubo</u>, K. Asakawa, Y. Kamon, Y. Kitayama, T. Takeuchi, H. Suzuki, "Directional coupler biosensor with molecularly imprinted polymer," Sensors and Materials, vol. 30, pp 1009-1017, 2018.

## 【学会発表】

- H. Kobayashi, A. Oshima, K. Ikeda, T. K. D. Doan, M. Umezawa, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, and K. Soga, "Effect of physiological saline and albumin on OTN-NIR fluorescent DSPE-PEG micelles for in vivo deep imaging," 7th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences (iPoPS2020), Chiba, Japan, Feb. 27-28, 2020.
- K. Soga, K. Nigoghossian, G. Yeroslavsky, T. K. D. Doan, M. Umezawa, <u>K.</u> <u>Okubo</u>, M. Kamimura, and N. Ohtani, "Materials design and processing for near-infrared biomedical photonics with transparency," 107th Indian Science Congress - Materials Science Section, Bangalore, India, Jan. 3-7, 2020.
- <u>K. Okubo</u>, M. Umezawa, and K. Soga, "Quantitative visualization of lipid distribution in mouse livers by using near-infrared hyperspectral imaging," 107th Indian Science Congress (ISC2020) Materials Science Section, Bangalore, India, Jan. 3-7, 2020. (Invited)
- 4. D. Satou, N. Hosokawa, K. Maeda, T. Takamatsu, T. Kadota, <u>K. Okubo</u>, M. Umezawa, M. Kamimura, H. Takemura, H. Yokota, T. Kuwata, H. Ikematsu, T. Yano, and K, Soga, "Development of near-infrared hyperspectral imaging endoscopy," United European Gastroenterology (UEG) Week 2019, Barcelona, Spain, Oct. 19–23, 2019.
- 5. K. Miyata, M. Umezawa, T. Chihara, S. Sekiyama, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, and K. Soga, "Contactless temperature sensing for deep biological tissues by time-gated imaging with near-infrared fluorescence of rare earth-doped ceramic particles," 第29回日本 MRS 年次大会, 横浜情報文化センター, 2019 年11月 27-29日.
- 6. <u>K. Okubo</u>, T. Chihara, M. Umezawa, K. Miyata, S. Sekiyama, N. Hosokawa, K. Okubo, M. Kamimura, and K. Soga, "Biological deep thermal imaging with fluorescence lifetime of rare-earth doped ceramics particles in the second NIR biological window," The 36th International Conference of Photopolymer Science and Technology (ICPST36), Chiba, Japan, July 24-27, 2019.

(Invited)

- S. Haraguchi, M. Umezawa, S. Sekiyama, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, and K. Soga, "Rapid clearing of biological tissues by matching refractive index between cell membrane and media using phophoric acid," The 28th Annual Meeting of Material Research Society of Japan (MRS-J 2018), Kitakyushu, Japan, Dec. 18-20, 2018.
- H. Kobayashi, M. Umezawa, S. Sekiyama, <u>K. Okubo</u>, M. Kamimura, and K. Soga, "Synthesis of bright NIR-II fluorescenct polymer nanoparticles with IR-1061 dye via mild heating-cooling process for deep bioimaging in the second biological window," The 28th Annual Meeting of Material Research Society of Japan (MRS-J 2018), Kitakyushu, Japan, Dec. 18-20, 2018.
- <u>K. Okubo</u>, Y. Niimura, N. Oonishi, L. L. T. Ngoc, and E. T. Carlen, "Nanofabrication technology for single-crystalline metal nanoparticle ensembles using nanotemplate-guided thermal dewetting," Japan Society of Applied Physics (JSAP)-OSA Joint Symposia-The 79th JSAP Autumn Meeting, Nagoya, Japan, Sep. 18-20, 2018.
- <u>K. Okubo</u>, H. Kuramochi, A. Iwaya, and T. Ichiki "Sub-100 nm scale nanoarray platform for single exosome analysis," The 35th International Conference of Photopolymer Science and Technology (ICPST35), Chiba, Japan, July 24-27, 2018.

5. シンポジウム・セミナー等の開催

○ イメージングフロンティアセンター シンポジウム (2015年12月25日)



○ イメージングフロンティアセンター William S. Price教授特別講義「核磁気共鳴イメージング(magnetic resonance imaging; MRI)の生物学への応用」(2016年4月11日)

# Price 教授特別講義のご案内

2016年4月11日(月) 14:50-16:20 野田キャンパス講義棟 K205 教室



Prof. Dr. William (Bill) S. Price Nanoscale Group, University of Western Sydney, Australia

http://www.uws.edu.au/staff\_profiles/uws\_profiles/professor\_bill\_price

「 核 磁 気 共 鳴 イ メ ー ジ ン グ (magnetic resonance imaging; MRI)の生物学への応用」

興味をお持ちの方は、どなたでも御参加ください。

共催:

東京理科大学大学院理工学研究科 農理工学際連携コース(平成29年度発足予定) 東京理科大学重点課題特別研究「植物科学と工学の学際連携による環境負荷が少なく食の 安全が高い高付加価値植物育成の技術基盤の構築」

○ イメージングフロンティアセンター 講演会(2016年6月22日)講師:石川雅也 (東京電機大)「植物の凍結挙動のイメージング解析と凍結を制御するメカニズム」  ○ イメージングフロンティアセンター 講演会(2016年6月29日)講師: 桧垣 匠 (東京大学新領域創成科学研究科)「気孔開閉を調節する膜交通因子のイメージング解 析」

 ○ イメージングフロンティアセンター「力とレオロジーのイメージング」ワークショ ップ(2016年7月23日)

- 主催:東京理科大学総合研究院 イメージングフロンティアセンター
- 日時: 2016年7月23日(土) 13:00-16:30
- 場所:東京理科大学葛飾キャンパス 講義棟101 教室 (予定)
  - 〒125-8585 東京都葛飾区新宿 6-3-1 (JR 常磐線(東京メトロ千代田線)

「金町」駅/京成金町線「京成金町」駅下車、徒歩8分)

カとレオロジーは見えそうで見えない現象の一つであるが、近年バイオメディカル分野 の諸方面でその計測と可視化に対するディマンドが急速に高まりつつある。このワーク ショップでは「カとレオロジーのイメージング」のユーザーとデザイナーの双方の立場 からディマンドとシーズを提示することでディマンドとシーズのマッチングを測ること を狙いとする。

プログラム:

- カとレオロジーのイメージング —ディマンドとシーズの出会いの必要性— 東京理科大学 基礎工学部 材料工学科/イメージングフロンティアセンター 曽我 公平
- 2. 【ディマンド】細胞メカノバイオロジーにおける力のイメージングへの期待 物質材料研究機構国際ナノアーキテクトニクス研究拠点(MANA) 中西 淳
- 【シーズ】細胞のレオロジーイメージング/イメージングフロンティアセンター 東京理科大学 理学部第一部 化学科 由井 宏治
- 【ディマンド】歯科矯正における力のイメージングへの期待 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 医歯学系専攻 咬合機能矯正学分野 簡野 瑞誠
- 5. 【シーズ】 歯科矯正における力のイメージング 東京理科大学 理工学部 機械工学科 竹村 裕
- 6. 【ディマンド】メカノセラピーにおける力のイメージングへの期待 日本医科大学 大学院医学研究科 形成外科学分野 小川 令
- 7. 【ディマンド】消化器外科におけるイメージングへの期待 日本医科大学 大学院医学研究科 消化器外科学分野 山田 岳史

○ イメージングフロンティアセンター シンポジウム (2016年12月10日)

東京理科大学研究推進機構総合研究院
イメージングフロンティアセンター
シンポジウム
東京理科大学 野田キャンパス・講義棟1階 K103講義室
平成28年12月10日(土)午前10時~午後5時20分(参加無料)
プログラム
10:00 開会の挨拶 森口 泰孝 (東京理科大学副学長)
10:05 センター長挨拶 須田 亮(センター長・東京理科大学理工学部物理学科)
10:10 石黒 孝 (観察障害排除グループ・東京理科大学基礎工学部材料工学科) 「水中反応その場観察」
10:25 政池 知子(多次元情報可視化グループ・東京理科大学理工学部応用生物科学科) 「モーター蛋白質1分子とオルガネラ1個のしくみのイメージング」
10:40 佐野 良威 (応用展開グループ・東京理科大学理工学部応用生物科学科) 「認知のイメージング」
11:10 ≪招待講演≫ 鈴木 宏明(中央大学理工学部精密機械工学科) 「人工細胞膜システムの細胞らしい挙動」
12:00 昼食 / 総会
13:00 - 15:00 ポスター発表(講義棟1階フロア)
15:05 曽我 公平(応用展開グループ・東京理科大学基礎工学部材料工学科) 「フロンティアイメージングの応用展開へ向けて」
15:20 来須 孝光 (応用展開グループ・東京工科大学応用生物学部) 「イネのオートファジー動態のイメージングと生存戦略における重要性」
15:45 ≪招待講演≫ 佐甲 靖志 (理化学研究所) 「細胞内1分子イメージング:生理学から薬理学へ」
16:30 ≪招待講演≫ 坂無 英徳(産業技術総合研究所・人工知能研究センター ) 「機械学習と画像認識による医療診断支援」
17:15 閉会の挨拶 朽津 和幸 (副センター長・東京理科大学理工学部応用生物科学科)
18:00 交流会

○ イメージングフロンティアセンター 特別セミナー(2017 年1月18日)
 講師:小関泰之(東京大学工学系研究科)「誘導ラマン顕微鏡による生体の無標識観察」

# イメージングフロンティアセンター特別セミナー

# 2017年1月18日(水) 13:10-14:30

野田キャンパス計算科学研究センター4 階大会議室

講師:小関泰之准教授 (東京大学工学系研究科) 「誘導ラマン顕微鏡 による生体の無標識観察」



われわれはものを見るとき、その色や形で見分けています。このため、生体に 含まれる透明な分子を見分けるのは困難です。透明な分子の性質を、別の形の 「色」として見せてくれる現象にラマン効果があります。ラマン効果を使うと、 物質の分子振動の情報を使って、透明な試料をマルチカラーで可視化すること ができます。従来、ラマン効果は発生効率が低く、その検出には長い時間がか かっていました。我々は、光パルスを用いてラマン効果を効率良く発生させる ことで、透明な生体をリアルタイムで可視化する、誘導ラマン顕微鏡の開発を 進めてきました。本講演では、誘導ラマン顕微鏡の原理・特長と無標識生体イ メージングへの応用について紹介します。



○ 総合研究院イメージングフロンティアセンター講演会(2017年7月7日)講師:
 Dr. Luis Cárdenas (メキシコ国立自治大学 生物工学研究所 植物分子生物学研究部長)
 「REACTIVE OXYGEN SPECIES AS KEY REGULATORS OF POLAR GROWTH AND SYMBIOSIS」

○ International Symposium on Imaging Frontier 2017 (2017年7月8日-9日)

主催:東京理科大学研究推進機構総合研究院イメージングフロンティアセンター 共催:文部科学省科学研究費新学術領域研究「レゾナンスバイオ」、「環境記憶統

合」、「リポクオリティ」

日時: 2016年7月8日(土),9日(日)

場所:東京理科大学葛飾キャンパス図書館大ホール



○ イメージングフロンティアセンター講演会(2017年7月12日)
 講師: 桧垣 匠(東京大学 大学院新領域創成科学研究科)「葉っぱと頭蓋骨の意外な関係: 葉表皮細胞によるジグゾーパズル型パターン形成の理論モデル」

○ イメージングフロンティアセンターシンポジウム(2018年12月15日)

- 10:00-10:05 開会挨拶
- 10:05-10:10 須田センター長挨拶

観察障害排除グループ

- 10:10-10:25 松永幸大
- 10:25-10:40 石黒孝
- 10:40-10:55 須田亮
- 10:55-11:10 磯部圭佑 (客員·理化学研究所)

多次元情報可視化グループ

- 11:10-11:25 青木伸
- 11:25-11:40 伴野元洋
- 11:40-11:55 政池知子
- 11:55-12:10 中村岳史

全体会議

応用展開グループ(動物)

- 13:15-13:30 曽我公平
- 13:30-13:45 古市貞一
- 13:45-14:00 後飯塚僚

応用展開グループ(植物)

- 14:00-14:15 朽津和幸
- 14:15-14:30 檜垣匠 (客員・・熊本大学)
- 14:30-14:45 来須孝光 (客員・公立諏訪東京理科大学)
- 14:45-15:00 花俣繁 (客員・新潟大学)
- 15:00-15:50 ポスター発表(奇数)
- 15:50-16:40 ポスター発表(偶数)
- 16:40-17:10 座古保 (客員教授・愛媛大学)
- 17:10-17:40 大谷直子 (客員教授·大阪市立大学)

## 18:00-20:00 意見交換会

○ イメージングフロンティアセンターシンポジウム (2019年12月14日)



# 6. Internationl Conference on Imaging Frontier 2017

抄録集

# International Symposium on Imaging Frontier 2017 ISIF 2017



July 8th (Sat.)-9th (Sun.), 2017 Katsushika Campus, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan

# **Abstract Book**

Organized by Imaging Frontier Center (IFC), RIST, Tokyo University of Science



Co-Organized by Scientific Research on Innovative Areas of MEXT "KAKENHI" Scientific Research on Innovative Areas, a MEXT Grant-in Aid Project FY2015-2019 - Resonance Bio (Resonance Biology for Innovative Bioimaging), - Plant Environmental Signaling (Integrative system of autonomous environmental signal recognition and memorization for plant plasticity) - Lipoquality

(Quality of lipids in biological systems)

## Chair Person

Akira SUDA (Director, IFC, TUS)

### **Program Committee**

Chair: Kohei SOGA (IFC, TUS/ Resonance Bio) Kazuyuki KUCHITSU (IFC, TUS) Takeshi NAKAMURA (IFC, TUS) Sachihiro MATSUNAGA (IFC, TUS/ Plant Environmental Signaling) Hideo YOKOTA (Resonance Bio/ IFC, TUS) Minako UEDA (Plant Environmental Signaling Mitsutoshi SETOU (Lipoquality) Naoko OHTANI (IFC, TUS)

# Sponsors (alphabetical order)

Canon Marketing Japan Inc. Carl Zeiss Microscopy Co., Ltd. Chroma Technology Japan G.K. CORENS TECHNOLOGIES LTD. KATAYAMA CHEMICAL INDUSTRIES Co., Ltd. Molecular Devices Japan KK NIKON INSTECH CO., LTD. Nippon Genetics Co., Ltd. OLYMPUS CORPORATION Shimadzu Corporation Summit Pharmaceuticals International Corporation Thorlabs Japan Inc. TOKAI HIT Co., Ltd.

# Table of Contents

Scope	 i
Venue	 ii
Program	 iii∼x
Oral Presentations	 1~27
Poster Presentations	 28~90

## Color PDF

The password locked color PDF file of this abstract book is available from the following site. URL: http://www.sogalabo.jp/ISIF2017/ISIF2017ABook.pdf Password: isififctus2017

### WiFi Access

SSID: ext.tus.ac.jp Key: 5WP4mnjj

### Scope

The ISIF 2017 aim to make the advanced developers and users of "bioimaging" for creating innovative sciences and technologies for innovative bioimging to create new paradigms for biomedical sciences. The symposia are co-organized by the member of the Imaging Frontier Center (IFC), RIST, Tokyo University of Science together with the members for the three leading projects of MEXT KAKENHI which are relating to the bioimaging.

The projects are of Scientific Research on Innovative Areas, a MEXT Grant-in Aid Project FY2015-2019;

- Resonance Bio (Resonance Biology for Innovative Bioimaging) represented by Dr. Atsushi MIYAWAKI,

- Plant Environmental Signaling (Integrative system of autonomous environmental signal recognition and memorization for plant plasticity)

represented by Dr. Toshinori KINOSHITA

and

- Lipoquality (Quality of lipids in biological systems) represented by Dr. Makoto ARITA.

i

## Venue

Library Hall, Katsushika Campus, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan (6-3-1 Niijuku, Katsushika, Tokyo 125-8585, Japan)



ii

# Program

### Oral Presentations (Lecture Hall)

#### 9:20-9:40 Opening Remarks

### Symposium A 9:40-11:20, Day 1, Sat., July 8th chaired by S. Matsunaga

### Imaging Obstacle Removal

01A	Contributed	9:40- 10:00	Akira SUDA	Photobleaching properties of fluorescent proteins	1
02A	Contributed	10:00- 10:20	Takuji Ube	Application of transmission infrared spectroscopy to living cells and biomaterials evaluation in aqueous solution	2
03A	Contributed	10:20- 10:40	Sachihiro MATSUNAGA	Deep and live imaging in plants	3
04A-Inv	Invited	10:40- 11:20	Dan Ohtan WANG	Synaptic Epitranscriptomics and Dynamic RNA Imaging	4

#### 11:20-13:00 Poster Session

#### 11:30-12:30 Luncheon Seminar (Ōmura Hall) 11:30-12:00 Nippon Genetics Co., Ltd. 12:00-12:30 CORENS TECHNOLOGIES LTD.

### Symposium B 13:00-14:40, Day 1, Sat., July 8th chaired by T. Nakamura

#### Multimodal Visualization

05B-Inv	Invited	13:00- 13:25	Kohei OTOMO	Improving two-photon microscopy for clear visualization of subcellular structures	5
06B-Inv	Invited	13:25- 14:15	Periklis PANTAZIS	Advancing biosystems imaging: Imaging the hierarchical organization of biological systems	6
07B	Contributed	14:15- 14:40	Takeshi NAKAMURA	Visually dissecting Rab switch in macropinocytosis	7

Short Break (10 min.)

### Symposium C 14:50-16:10, Day 1, Sat., July 8th chiared by K. Kuchitsu

### Imaging Frontier of Plants

08C-Inv	Invited	14:50- 15:20	Shigeyuki BETSUYAKU	Deciphering the spatiotemporal regulation of the plant immune system using intravital imaging	8		
09C	Contributed	15:20- 15:40	Kazuyuki KUCHITSU	Visualizing the regulation of plant development and stress responses by the ROS-Ca <sup>2+</sup> signaling network and autophagy	9		
10C-Inv	Invited	15:40- 16:10	Luis CARDENAS	A new approach for visualizing hydrogen peroxide in living plant cells.	10		
Short Break (10 min.)							

iii

Syn	ipos	sium	D	16:20-1	7:40	, Day	1, Sat.	, July	8th	chaired	l by	K. Sog	;a
		-		<b>C A</b>									

Imaging Frontier of Animals

11D-Inv	Invited	16:20- 16:55	Mei Chee TAN	Rare Earth Doped Nanoparticles as Dual-Modality Contrast Agents	11
12D	Contributed	16:55- 17:10	Kohei SOGA	Potential of OTN-NIR (NIR II chaired byIII) for various scenes of bioimaging	12
13D	Contributed	17:10- 17:25	Naoko OHTANI	Challenges Towards Imaging of Lipid in the Liver	13
14D	Contributed	17:25- 17:40	Ryo GOITSUKA	The Role of Transcription Factor Tlx1 in Converting Cell Fate of Dorsal Pancreatic to Spleen Mesenchymal Progenitors	14

18:00-22:00 BANQUET (Ōmura Hall)

iv

Symposium E (100 min)9:20-11:00, Day 2, Sun., July 9th chiared by H. Yokota and K.Soga *Resonance Bio* 

15E-Sp	Special Lecture	9:20- 10:00	Atsuhi MIYAWAKI	Cruising inside cells	15
16E	Contributed	10:00- 10:10	Kohei SOGA	Second Biological Window: The Key for the Next Generation Bioimaging	16
17E	Contributed	10:10- 10:20	Hideo YOKOTA	Bioimage processing	17
18E-Inv	Invited	10:20- 10:35	Daiki HASHIMOTO	Detection and Tracking Method for Cells Using Adaptive Thresholding	18
19E-Inv	Invited	10:35- 11:00	Ming-Dar TSAI	Image Processing Methods for detecting Induced Pluripotent Stem Cell Reprogramming Using Microscopy Images	19

### 11:00-13:00 Poster Session

11:30-12:30 Luncheon Seminar (Ōmura Hall) Carl Zeiss Microscopy Co., Ltd. Symposium F 13:00-14:40, Day 2, Sun., July 9th chaired by M. Ueda and S. Matsunaga *Plant Environmental Signaling* 

20F	Contributed	13:00- 13:20	Minako UEDA	Live-cell imaging of the plant axis formation responding to fertilization signals	20
21F	Contributed	13:20- 13:40	Takumi HIGAKI	A strange link between leaves and skulls? A theoretical model of jigsaw- puzzle pattern formation by plant leaf cells	21
22F	Contributed	13:40- 14:00	Noriyoshi YAGI	Insights into Cortical Microtubule Nucleation and Dynamics in Arabidopsis	22
23F-Inv	Invited	14:00- 14:40	David EHRHARDT	Tuning a molecular amplifier: mechanistic insights into the rapid re- organization of interphase microtubule arrays by blue light perception in higher plants	23

### Break (20 min.)

Symposium G 15:00-16:40, Day 2, Sun., July 9th chaired by M. Setou and N. Ohtani *Quality of Lipids in Biological Systems* 

24G-Inv	Invited	15:00- 15:40	Volker HAUCKE	Phosphoinositide conversion in endocytosis and in the endolysosomal system	24
25G	Contributed	15:40- 16:00	Naoko OHTANI	Gut microbiota promotes obesity- associated liver cancer through PGE2- mediated suppression of antitumor immunity	25
26G	Contributed	16:00- 16:20	Takehiko SASAKI	INPP4B is a tumor suppressor in the context of PTEN insufficiency by modulating the levels of PI3K lipid products	26
27G	Contributed	16:20- 16:40	Koji IKEGAMI	Lipoquality-mediated regulation of primary cilia dynamics	27
16.50 17.0	O Clasing	Domonly			

16:50-17:00 Closing Remarks

#### v
# Program

# Poster Presentations

P01A	Ranjeet Kumar and Akira Suda	Bespoke microscope using macrolens for wide-field nonlinear imaging	28
P02A	Shinnosuke Uno, Mako Kamiya, Toshitada Yoshihara, Ko Sugawara, Kohki Okabe, Takashi Funatsu, Yasushi Okada, Seiji Tobita and Yasuteru Urano	A spontaneously blinking fluorophore based on intramolecular spirocyclization for live-cell super-resolution imaging	29
P03A	Shigeru Honda, Satoshi Maesako, Naoto Kamiyama and Akira Suda	Adaptive control of two-photon excited fluorescence and photobleaching using a two-dimensional spatial light modulator	30
P04A	Keisuke Isobe, Kana Namiki, Hiroyuki Kawano, Atsushi Miyawaki and Katsumi Midorikawa	Background-free deep imaging by multiphoton excited fluorescence microscopy using modulation techniques	31
P05B	Ryota Negishi, Shingo Koinuma, Naoyuki Wada and Takeshi Nakamura	Growth cones in 3D culture have different structural dynamics from those in 2D culture	32
P06B	Akane Kumayama, Taisuke Inage, Masayuki Higuchi, Kazuhito Tabata, Hiroyuki Noji and Tomoko Masaike	Real-time imaging of accumulating Pi dissociated from single-molecule enzymes by phosphate-binding protein encapsulated in droplet arrays	33
P07B	Toshinori Morisaku and Hiroharu Yui	Development of the Near-infrared Laser-induced Surface Deformation (NIR-LISD) Microscope	34
P08B	Ryo Bando, Toshinori Morisaku and Hiroharu Yui	Development of the Time-domain Laser-induced Surface Deformation (TD-LISD) Microscope	35
P09B	So Morishita, Naoyuki Wada, Mitsunori Fukuda and Takeshi Nakamura	Mechanism of Rab5 activation/inactivation on EGF-induced macropinosome	36
P10B	Kouhei Takeuchi, Motonori Sugizawa, Kyo Tanaka, Akira Suda and Takeshi Nakamura	Optimization of biosensor and condition for FRET time- lapse imaging under two-photon excitation systems.	37
P11C	Satoru Fujimoto and Sachihiro Matsunaga	Chromatin live imaging with transcription activator-like effector in plant	38
P12C	Kae Akita, Takumi Higaki and Seiichiro Hasezawa	Cell biological dissection of guard cells of clustered stomata induced by sucrose solution immersion in Arabidopsis thaliana	39
P13C	Satoshi Kadokura, Kaoru Sugimoto and Sachihiro Matsunaga	Characterization of the initiation of somatic embryogenesis in Arabidopsis shoot apical tip	40

vi

P14C	Miho Kihira, Kazushi Taniguchi, Chihiro Kaneko, Yohei Ishii, Hiromi Aoki, Atsushi Koyanagi, Hiroaki Kusano, Nobuo Suzui, Yong-Gen Yin, Naoki Kawachi, Shu Fujimaki and Hiroaki Shimada	Arabidopsis thaliana FLO2 is involved in efficiency of photoassimilate translocation, which associates with leaf growth and aging, yield of seed, and seed quality.	41
P15C	Kenji Hashimoto, Takuya Asai, Shigeru Hanamata, Junpei Sawada, Yasuyuki Ozeki and Kazuyuki Kuchitsu	Stain-Free Imaging of Plant Tissues with Stimulated Raman Scattering Microscopy	42
P16C	Takuya Sakamoto, Yuki Sakamoto, Tomoe Yamashita, Yuka Oko and Sachihiro Matsunaga	Molecular mechanism of centromere distribution in Arabidopsis	43
P17C	Tamako Yamaoka, Takuya Sakamoto and Sachihiro Matsunaga	Cell cycle visualization based on nuclear dynamics	44
P18C	Yuki Sakamoto and Sachihiro Matsunaga	Localization analysis of CRWN proteins in Arabidopsis thaliana	45
P19C	Shigeru Hanamata and Kazuyuki Kuchitsu	Dynamics of autophagy and antimicrobial defense responses in tobacco BY-2 cells as model plant cells suitable for in vivo imaging	46
P20C	Masaya Ishikawa, Hideyuki Yamazaki, Hiroki Murakawa, Kazuyuki Kuchitsu and William S. Price	Visualization of freezing behaviors in cold hardy plant tissues using MRI and infra-red thermography.	47
P21C	Mizuki Iwamoto, Nobuhiko Nomura and Shigeyuki Betsuyaku	Spatiotemporal regulation of Arabidopsis PAD3 promoter during plant effector-triggered immunity	48
P22C	Hiroya Ishihara, Kaoru Sugimoto, Takuya Sakamoto, Haruka Temman, Taku Sasaki, Takamasa Suzuki, Soichi Inagaki, Paul Tarr, Motoaki Seki, Tetsuji Kakutani, Elliot Meyerowitz and Sachihiro Matsunaga	Analysis of Histone Demethylase involved in acquisition of competency for shoot regeneration in Arabidopsis	49
P23C	Haruka Temman, Kaoru Sugimoto, Minoru Ueda, Motoaki Seki and Sachihiro Matsunaga	Analysis of Histone Deacetylase Involved in Greening and Shoot Formation in Arabidopsis de novo Organ Regeneration	50
P24C	Yuri Sera, Takamitsu Kurusu, Shigeru Hanamata, Shingo Sakamoto, Seijiro Ono, Kentaro Kaneko, Nobutaka Kitahata, Hikaru Saji, Toshiaki Mitsui, Ken-Ichi Nonomura, Nobutaka Mitsuda and Kazuyuki Kuchitsu	Roles of autophagy in seed development in rice.	51
P25C	Mohamed R.M. Ali, Abdelaziz Ramadan, Keichiro Nemoto, Tatsuya Sawasaki and Gen-Ichiro Arimura	JUL1, Arabidopsis E3 ubiquitin ligase interacting with JAV1 negative regulator in jasmonate signaling pathway	52

vii

P26D	Shingo Koinuma, Kouhei Takeuchi, Naoyuki Wada and Takeshi Nakamura	Visualization of a Pathway from cAMP to TC10 Inactivation during Neurite Outgrowth	53
P27D	Takayasu Kawasaki, Toyonari Yaji, Toshiaki Ohta, Koichi Tsukiyama and Kazuhiro Nakamura	Amyloid beta Imaging using mid-IR Free Electron Laser	54
P28D	Masakazu Umezawa, Masao Kamimura, Moe Yoshida, Shota Sekiyama, Yoko Iizumi, Toshiya Okazaki and Kohei Soga	Over-1000 nm Near-Infrared (OTN-NIR) Fluorescent Deep Bioimaging Applicable to the Respiratory Organs of Mice	55
P29D	Akihisa Oda and Ryo Goitsuka	The mesenchymal cells expressing Tlx1 retain a potential to give rise to various types of mature stromal cells in the adult spleen	56
P30D	Yuta Ueno, Akihisa Oda, Toshiki Tezuka, Chiharu Nishiyama and Ryo Goitsuka	Transcription factor Tlx1 Marks Hematopoietic stem/progenitor Cell Niche in The Spleen	57
P31D	Shusei Hamamichi, Izumi Umeda, Tetsuya Kadonosono, Takahiro Kuchimaru, Shinae Kizaka-Kondoh and Hirofumi Fujii	Biodistribution Pattern of a Novel Anti-Cancer Agent TOP3	58
P32D	Atsuto Onoda, Takayasu Kawasaki, Koichi Tsukiyama, Ken Takeda and Masazu Umezawa	Infrared Microscopy Analysis of Brain Perivascular Abnormalities Induced by Maternal Exposure to Carbon Black Nanoparticle	59
P33D	Chiaki Ishii, Yo Shinoda, Yugo Fukazawa, Tetsushi Sadakata, Yuki Ishii, Yoshitake Sano and Teiichi Furuich	CAPS1 stabilizes synaptic vesicles on the active zone and ensures basal synaptic transmission at hippocampal CA3- CA1 synapses	60
P34D	Moe Yoshida, Masao Kamimura, Masakazu Umezawa and Kohei Soga	Design of Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Polymer Nanoparticles for Brain Imaging by Intranasal Injection	61
P35D	Natsumi Shibano, Yhuki Ishii, Chiaki Ishii, Yoshitake Sano and Teiichi Furuichi	Calcium-dependent activator protein for secretion 1 (CAPS1) is involved in hippocampus-dependent memory formation	62
P36D	Naoki Hosokawa, Yuya Yasuda, Masao Kamimura, Hiroshi Takemura, Kazuhiro Kaneko and Kohei Soga	Near-Infrared Hyperspectral Imaging for in vivo Cancer Detection	63
P37D	Shota Mizuno, Haruka Minami, Yo Shinoda, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Yoshitake Sano and Teiichi Furuichi	Ca <sup>2+</sup> -dependent activator protein for secretion 1 (CAPS1) is involved in oxytocin-associated social behavior	64
P38D	Shiro Ohgo, Sayaka Ichinose, Mika Sato-Maeda, Wataru Shoji and Naoyuki Wada	Analysis of newly formed cartilage during zebrafish lower jaw regeneration.	65

viii

P39D	Miho Tsuyusaki, Rika Kobayashi, Takuya Shimura, Ryo Goitsuka, Yoshitake Sano and Teiichi Furuichi	CAPS2 protein regulates pancreatic exocrine and endocrine secretion and its loss causes the pancreatitis	
P40D	Kazuki Shimizu, Kazuo Kawamoto, Tetsushi Sadakata, Yoshitake Sano and Teiichi Furuichi	The Molecular Mechanism Regulating Axonal Localization of The Secretion-Related Protein CAPS2	67
P41D	Natsuki Amemiya, Yoshitake Sano and Teiichi Furuichi	Elucidation of the secretion mechanism of proopiomelanocortin (POMC) -derived peptide by secretion control protein CAPS2	68
P42E	Nodoka Sakata, Satoshi Maesako and Akira Suda	Analysis of triplet/dark state dynamics of fluorescent molecules in photobleaching process	69
P43E	Laura Wortmann, Satoru Suyari, Masao Kamimura and Kohei Soga	Tuning the thermal sensitivity of $\beta$ -NaYF <sub>4</sub> : Yb <sup>3+</sup> , Ho <sup>3+</sup> , Er <sup>3+</sup> nanothermometers for optimal temperature sensing in the II-and III-biological window	70
P44E	Gil Yeroslavsky, Masao Kamimura and Kohei Soga	Visual Mapping of Strain in Elastic Polymers Based on Forster Resonance Energy Transfer (FRET) Phenomena	71
P45E	Keisuke Toda, Keisuke Isobe, Kana Namiki, Hiroyuki Kawano, Atsushi Miyawaki and Katsumi Midorikawa	3-photon interferometric temporal focusing microscopy	72
P46E	Shota Sekiyama, Masakazu Umezawa, Masao Kamimura, Yoko Iizumi, Takuji Ube, Toshiya Okazaki and Kohei Soga	Over-1000 nm Near-Infrared (OTN-NIR) Fluorescent Labeling of Cultured Murine Colon-26 Cells by Using Single-Walled Carbon Nanotube	73
P47E	Ryuta Takeda, Masao Kamimura and Kohei Soga	Synthesis of Rare-Earth Doped NaGdF4 Nanoparticles for OTN-NIR/MR Multimodal Imaging	74
P48E	Akira Honda, Masao Kamimura and Kohei Soga	Design of Biocompatible Polymer Modified Rare-Earth Doped Ceramic Nanophosphors as Highly Stable Near- Infrared Fluorescence Imaging Probe	75
P49E	Shuhei Kuraoka, Masao Kamimura and Kohei Soga	Formation of Hydrophobic Polymer Layer on Rare-Earth doped $\beta$ -NaYF <sub>4</sub> Nanoparticles by Surface Initiated Atom Transfer Radical Polymerization for Fluorescence Nanothermometry	76
P50E	Masaya Sato, Kazuhiro Hotta, Ayako Imanishi, Michiyuki Matsuda and Kenta Terai	Segmentation of cell membrane and cell nucleus Using pix2pix of Local Regions	77
P51F	Surachat Tangpranomkorn, Sota Fujii, Motoko Igarashi, Megumi Iwano and Seiji Takayama	Identification of pollen compatibility factor required for successful pollination	78
P52F	Takeshi Hirakawa and Sachihiro Matsunaga	Nuclear dynamics of chromatin remodeler RAD54 in DNA damage response of plant	79

P53F	Michitaro Shibata, Christian Breuer, Ayako Kawamura, Bart Rymen, Lewis Watt, Natalie Clark, Luke Braidwood, Rosangela Sozzani, Philip Benfey and Keiko Sugimoto	The regulatory mechanisms for root hair growth of Arabidopsis by two transcription factors, GTL1 and RSL4	80
P54F	Kenji Hashimoto, Hiroki Shindo, Tomohiro Takagawa, Takeru Itabashi, Kimitsune Ishizaki, Ryuichi Nishihama, Takayuki Kohchi and Kazuyuki Kuchitsu	Multiple crucial functions of NADPH oxidase-mediated production of reactive oxygen species in a liverwort Marchantia polymorpha	81
P55F	Nobutaka Kitahata, Daisuke Hayama, Ayumi Yoshida, Masataka Nakano, Yasuhiro Ishiga, Takamitsu Kurusu, Takashi Ueda, Tadao Asami and Kazuyuki Kuchitsu	Screening and characterization of novel plant defense activators	82
P56F	Yuki Katsuyama, Kaoru Sugimoto, Satoshi Kadokura, Motoaki Seki and Sachihiro Matsunaga	Analysis of an epigenetic factor involved in cell proliferation in plant regeneration.	83
P57F	Takamitsu Kurusu, Jumpei Sawada, Yuri Sera, Shigeru Hanamata, Seijiro Ono, Nobutaka Kitahata, Keni-Chi Nonomura and Kazuyuki Kuchitsu	Critical roles of autophagy in the regulation of reproductive development and programmed cell death in rice	84
P58F	Hiroko Nagai, Yusuke Niino, Natsuo Sukegawa, Nobutaka Kitahata, Atsushi Miyawaki and Kazuyuki Kuchitsu	Imaging cytosolic $Ca^{2+}$ concentration at a single cell level in plants by a novel bioluminescent ratiometric $Ca^{2+}$ probe	85
P59F	Yuta Arakawa, Takuya Sakamoto and Sachihiro Matsunaga	Phosphorylation of a 26S proteasome subunit has a crucial function in DNA damage tolerance in Arabidopsis thaliana	86
P60G	Katsura Masukawa, Takuji Ube and Takashi Ishiguro	Transmission FT-IR spectroscopy of DPPC membrane modified by using ScaleA2	87
P61D	Kazunobu Ohnuki, Hirofumi Fujii	Longitudinal analysis of the immune cells in the sentinel lymph node in a mouse model: possibility of the application toward an imaging diagnostic technology	88
P62B	Kana NAITO, Nozomi SUZUKI, Kenta YOKOI, Yosuke HISAMATSU, Abdullah-Al Masum and Shin AOKI	Cancer Cell Death Induced by Cyclometalated Iridium(III) Complexes Having Hydrophobic Groups at the N-terminus of Peptide	89
P63B	Shin AOKI, Tomohiro TANAKA, Rikita ARAKI, Takaomi SAIDO and Ryo ABE	<sup>11</sup> B NMR/MRI of Copper (II) Ions in Vitro Based on the Full Decomposition of o-Carborane Derivatives under Physiological Conditions	90

х

## Photobleaching properties of fluorescent proteins ! Akira SUDA<sup>1,2</sup>

## (asuda@rs.tus.ac.jp)

 <sup>1</sup> Imaging Frontier Center, RIST Tokyo University of Science, Chiba, Japan
<sup>2</sup> Department of Physics, Faculty of Science and Technology Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Photobleaching of fluorescent proteins is a problematic issue in long-term time-lapse imaging, for instance, the ratio measurements in FRET imaging are severely affected by photobleaching because donor and accepter molecules bleach at different rates. A number of investigations have been carried out to explore the mechanism for photobleaching, in particular much attention has been given to the issue of photobleaching in two-photon excitation since it is faster than that in one-photon excitation. Excited-state absorption (ESA) following two-photon excitation from the ground state of the fluorescent molecules was considered to be a possible process in two-photon excited fluorescence measurements. From this standpoint we applied nonlinear Fourier-transform spectroscopy to measure the photobleaching action spectra of fluorescent proteins using an ultrabroadband laser pulse with a spectrum ranging from 650 to 1100 nm [1]. We have shown that a sequential multi-photon excitation process, with one- or two-photon ESA following two-photon excitation, is one of the routes to photobleaching. Although the final product is still unknown, the results help us to understand the kinetics together with the practical use in many of applications.

It is also considered that the fluorescent molecule reversibly transits to dark states including the lowest excited triplet state  $T_1$  which cannot emit fluorescence, and ESA from such dark states causes photobleaching since the lifetime is much longer than that of the lowest excited singlet state  $S_1$  [2]. Aiming to evaluate the photobleaching mechanism of fluorescent proteins and to predict the effect quantitatively, we have made a series of experiments on the fluorescence decay and recovery of various fluorescent proteins. Analysis for the transient response of fluorescence intensity was performed on the transition to dark states and photobleaching. Experiments with enhanced green fluorescent protein (eGFP) revealed that the lifetimes of  $T_1$  and another unknown dark state are 350 µs and 15 ms, respectively. In addition, the branching ratio from ESA to the photobleaching was estimated to be  $1 \times 10^{-8}$ .

In two-photon excited fluorescence, the fluorescence intensity depends on both the spectral phase and amplitude of the excitation light, while photobleaching depends only on the spectral amplitude. Based on this point of view it is possible to enhance the fluorescence intensity by controlling the spectral phase and suppress photobleaching by the spectral amplitude. Here, we developed a system that can modulate the spectral phase and amplitude using a two-dimensional reflective spatial light modulator, and controlled the fluorescence intensity and photobleaching of fluorescent proteins. The result of spectral amplitude control was consistent with the ESA spectrum acquired by nonlinear Fourier-transform spectroscopy.

#### References

- A. Suda, H. Takahashi, and K. Toda, "Nonlinear Fourier-transform spectroscopy using ultrabroadband femtosecond pulses for the measurement of photobleaching of fluorescent proteins," *Ultrafast Phenomena XIX*, 543-546 (2015); A. Suda, H. Takahashi, and K. Toda, "Measurement of photobleaching spectra of fluorescent proteins using nonlinear Fourier-transform spectroscopy," *Rev. Laser Engineer.* 43, 213-216 (2015).
- [2] G. Donnert, C. Eggeling, and S. W. Hell, "Major signal increase in fluorescence microscopy through darkstate relaxation," *Nature Methods* 4, 81-86 (2007).

1

01A

## Application of transmission infrared spectroscopy to living cells and biomaterials evaluation in aqueous solution

## Takuji UBE and Takashi ISHIGURO

(t.ube@rs.noda.tus.ac.jp)

Department of Materials Science and Technology Tokyo University of Science, Tokyo, Japan

Most of chemical reactions on our planet earth take place in the water. Infrared (IR) spectroscopy is one of the useful and sensitive methods to identify the chemical species and to catch their change in the molecular vibration. However the transmission IR spectroscopy of the aqueous solution is not so popular because IR ray attenuates quickly in the water. In order to avoid this difficulty, we made an optical cell with a short optical path length comparable to IR penetration depth in the water.

As an application of this optical cell, the cells living in the culture solution were observed. An isolated absorption peak corresponding to the lactic acid was detected from the cancer cells. On the other hand, lactic acid was not detected from the normal cells, although it could also be detected from confluent normal cells. These facts support a confirmation of the Warburg's effect, i.e., the cancer cell yields the lactic acid due to anaerobic glycolysis, and the normal cell does not yield the lactic acid by the usual aerobic respiration but its metabolism mechanism changes from aerobic to anaerobic respiration by shortage of oxygen with increasing cell number density. An indicator of lactic acid may be applicable to the cancer cell diagnosis without invasive treatment.

The other application example is observation of the transparency process of the biological tissue by using ScaleA2. As an artificial cell membrance: dipalmitoyl-phosphatidylcholine (DPPC) laminated films are prepared. In-situ IR observation suggests that the urea molecule including in the ScaleA2 acts upon the choline group in DPPC molecule.

As a conclusion, present transmission IR spectroscopy using short optical length is useful for the in-situ observation of the chemical reaction in the aqueous solution.

# Deep and live imaging in plants Sachihiro MATSUNAGA<sup>1,2</sup>, Satoru FUJIMOTO<sup>1</sup>, Kazuki KURITA<sup>1</sup>, Noriyoshi YAGI<sup>1</sup>, Takuya SAKAMOTO<sup>1</sup> and Yuki SAKAMOTO<sup>2</sup>

(sachi@rs.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Faculty of Science and Technology Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center Tokyo University of Science, Chiba, Japan

We established a transgenic plant cell line to track histone H3 lysine 9 acetylation (H3K9ac) with a modification-specific intracellular antibody (mintbody) [1]. The H3K9ac specific mintbody fused to the enhanced green fluorescent protein (H3K9ac-mintbody-GFP) was introduced into plant cells. The ratio of nuclear/cytoplasmic H3K9ac-mintbody-GFP detected in quantitative analysis reflected the endogenous H3K9ac levels. Enhancement of H3K9ac by histone deacetylase inhibitors was detected by H3K9ac-mintbody-GFP dependent on the concentration of inhibitors. Using this live imaging system, we assessed the environmental responses of H3K9ac under cold and salt stresses.

Live imaging of the chromatin dynamics provides the opportunity to uncover the mechanisms responsible for four-dimensional architecture of the nucleus [2]. We developed the use of fluorescent protein (FP) fusions of transcription activator-like effectors (TALEs) to visualize chromatin in plants. We could detect TALE-FP signals associated with chromatins around centromeric, telomeric, and rDNA repeats. TALE-FPs are advantageous because they permit the observation in plant living cells of intact tissues. We used our TALE-FP method to investigate the nuclei of several multicellular plant tissues including roots, hypocotyls, leaves, and flowers. We successfully observed the temporal dynamics of centromeres and telomeres in plant organs. Transgenic plant lines stably expressing TALE-FPs will provide new insights into chromatin organization and dynamics in multicellular organisms.

Clearing techniques eliminate factors that interfere with microscopic observation, including light scattering and absorption. The clearing techniques allow fluorescence-based detailed analyses of materials and characterization of the three-dimensional structure of organs. We describe a simple and rapid clearing and imaging method for plants, termed 'TOMEI' (Transparent plant Organ MEthod for Imaging), which enables microscopic observation of intact plant organs [3]. Transparent plant organs were prepared within only 3–6 h. We detected fluorescent stains at a depth of approximately 200 µm using confocal laser scanning microscopy and analyzed fluorescent proteins in internal tissues of transparent organs cleared using TOMEI [4][5].

#### References

[1] Kurita, K.\*, Sakamoto, T.\*, Yagi, N., Sakamoto, Y., Ito, A., Nishino, N., Sako, K., Yoshida, M., Kimura, H., Seki, M. and Matsunaga, S. (2017) Live imaging of H3K9 acetylation in plant cells. *Sci. Rep.*, 7, 45894. \*These authors equally contributed to this work.

[2] Fujimoto, S., Sugano, S. S., Kuwata, K., Osakabe, K and Matsunaga, S. (2016) Visualization of specific repetitive genomic sequences with fluorescent TALEs in *Arabidopsis thaliana*. J. Exp. Bot, 67, 6101-6110.

[3] Katagiri, Y., Hasegawa, J., Fujikura, U., Hoshino R., Matsunaga, S.<sup>+</sup> and Tsukaya, H.<sup>+</sup> (2016) The coordination of ploidy and cell size differs between cell layers in leaves. *Development*, 143:1120-1125. +Double corresponding authors.

[4]!Hasegawa, J., Sakamoto, Y., Nakagami, S., Aida, M., Sawa, S. and Matsunaga, S. (2016) Three-dimensional imaging of plant organs using a simple and rapid transparency technique. *Plant Cell Physiol.*, 57, 462-472.

[5]Tissue-Clearing Reagent TOMEI [for Plants] (Product Number : T3530) Tokyo Chemical Industry Co., LTD. http://www.tcichemicals.com/eshop/en/jp/commodity/T3530/

## 03A

04A-Inv

## Dynamic RNA Ikumi OOMOTO<sup>1</sup>, Hiroki UMESHIMA<sup>1</sup>, Wan Ting HONG<sup>1</sup>, Akimitsu OKAMOTO<sup>2</sup>, Dan Ohtan WANG<sup>1</sup>

(dwang@icems.kyoto-u.ac.jp)

 <sup>1</sup> Institute for Integrated Cell-Material Sciences (WPI-iCeMS) Kyoto University, Kyoto, Japan
<sup>2</sup> Research Center for Advanced Science and Technology University of Tokyo, Tokyo, Japan

One of the main challenges in the post-genomic era is to decipher the dynamic spatiotemporal organization of gene expression in relation to cell function. Its complexity is exemplified by the versatile *cis*- and *trans*-, proteinand RNA-mediated regulation mechanisms, identified in every known aspect of life. Mounting evidence has suggested that both the quantity such as concentrations and copy numbers, and quality, such as structures, locations, and covalent chemical modifications of a specific RNA, contribute to the metabolic processes thus the expression and function of the RNA. To decipher the dynamics of RNA expression profiles in space and time, we have developed new quenching-based RNA imaging techniques. The new imaging methods allow endogenous RNA to be labeled in intact animals and imaged in living tissues, opening up the possibility of studying RNA dynamics in their physiological context. Already we have applied our imaging techniques to probe RNA foci dynamics and test phase-transition physical models in mediating RNA concentrations in living cells (Fig. 1).

Covalent chemical modifications have recently been shown to regulate most if not all dynamic processes of the modified RNA. Methyl-N6-adenosine (m<sup>6</sup>A) has been identified in thousands of messenger RNAs in embryonic and adult brains, adding another layer of complexity in post-transcriptional regulation in the nervous system. In order to delineate its spatial regulation and contribution to synaptic functions, we developed a low-input m<sup>6</sup>A-seq protocol using sub-microgram quantities of input RNA, enabling characterization of an m<sup>6</sup>A-epitranscriptome in the synaptic compartment of adult mouse forebrain synaptosomes (SME). Select but diverse methylated transcripts are found enriched in SME and strikingly, methylation marks the local transcripts for a functional partition between cellular metabolism (e.g. protein synthesis, lipid metabolism, oxidation, etc.) and synapse-specific functions (e.g. synaptic organization, transmission, plasticity, etc). Methylated transcripts at synapse over-represent pathways in neurodevelopmental and neuropsychiatric diseases. Thus our findings indicate that spatial distribution and enzyme-mediated chemical modifications pathways may intersect to regulate the synaptic transcriptome and local function.



Fig 1. RNA imaging and synaptic epitranscriptomics. A. Eletroporated hybridization-sensitive exciton probes label endogenous RNA in intact brains; B. Confocal image of poly(A) RNA in living cerebellar granule neurons; C. U3 snoRNA in living HeLa cells colocalizes with B23 protein at nucleolus; D. 28S rRNA in living HeLa cells colocalizes with B23 protein at nucleolus; E. poly(A) RNA in Hela cells colocalizes with SC35 protein at nuclear speckles; Scale bar, 20 µm. F. Model of a chemically modified transcriptome at neuronal synapses.

#### References

[1] Ohmachi M, Fujiwara Y, Muramatsu S, Yamada K, Iwata O, Suzuki K, Wang DO. A modified single-cell electroporation method for molecule delivery into a motile protist, Euglena gracilis. *J Microbiol Methods.* 2016 doi: 10.1016/j.mimet.2016.08.018.

[2] Oomoto I, Hirano-Suzuki A, Umeshima H, Han YW, Yanagisawa H, Carlton P, Harada Y, Kengaku M, Okamoto A, Shimogori T, and Wang DO. ECHO-liveFISH: in vivo RNA Labeling Reveals Dynamic Regulation of Nuclear RNA Foci in Living Tissues. *Nucl Acids. Res* doi:10.1093/narlgkv614 (2015)

05B-Inv

# Improving two-photon microscopy for clear visualization of subcellular structures Kohei OTOMO<sup>1, 2</sup>, Tomomi NEMOTO<sup>1, 2</sup>

(otomo@es.hokudai.ac.jp)

<sup>1</sup> Research Institute of Erectronic Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Japan <sup>2</sup> Graduate School of Information Science and Technology, Hokkaido University, Sapporo, Japan

Laser scanning microscopy by a two-photon excitation process (TPLSM) is a powerful tool for visualization of microstructures in living specimens. In TPLSM, the excitation was spatially localized at the focus of the objective lens due to its non-linear dependence on photon density, enabling us to acquire optically-sectioned fluorescence images. The excitation induced by near-infrared laser lights leads to other advantages of superior penetration depth and a less invasion for bio-imaging of living animal [1]. In this presentation, our spatial and temporal resolution improvement studies of TPLSM are introduced.

Compared to the conventional confocal microscopy, however, the spatial resolution in TPLSM tends to be inferior, because the wavelength of the excitation laser light is longer. To improve the lateral resolution, several novel microscopic methodologies have been proposed recently, and the application of stimulated emission depletion (STED) to TPLSM for living cell samples has been recently revealed. Recently, we have developed simplified STED microscopy based on a conventional TPLSM using transmissive liquid crystal devices (tLCDs) [2]. tLCD can modify optical properties such as phase, polarization, and intensity in a wide range of wavelength. Fluorescent images of tiny fluorescent beads showed that this newly-developed microscope has improved the spatial resolution at the focal plane, and this microscopy successfully visualized finer network structures of the microtubules in fixed mammalian cells immunostained by fluorescent-dye-labelled antibodies. This method might be thus expected as more simplified super-resolution microscopy in deep regions of biological samples.

On the other hand, the temporal resolution of LSM is limited by the scanning speed of the excitation laser beam, which mainly depends on the physical movement of the scanning mirrors. Although the TPLSM system is equipped with a spinning-disk confocal scanning unit to improve the temporal resolution, the insufficient energy of the conventional Titanium-Sapphire laser source restricts the field of view (FOV) to a narrow region [3]. Therefore, we introduced a high-peak-power laser to extend the FOV [4]. This system provided three and four-dimensional bio-imaging of a sufficiently deep and wide region of a living specimen.

#### References

- [1] Kawakami, R. et al., Sci. Rep. 3, 1014 (2013).
- [2] Otomo, K., et al., Opt. Express, 22, 28215-28221 (2014).
- [3] Shimozawa, T., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 110, 3399-3404 (2013).
- [4] Otomo, K., et al., Anal. Sci., 31, 307-313 (2015).

06B-Inv

# Advancing Biosystems Imaging: Imaging the hierarchical organization of biological systems Periklis (Laki) Pantazis

(periklis.pantazis@bsse.ethz.ch)

Department of Biosystems Science and Engineering (D-BSSE) Laboratory of Nano Bio Imaging (http://www.bsse.ethz.ch/nbi) ETH Zurich, Basel, Switzerland

In recent years, advances in imaging probes, microscopy techniques and bioinformatics image analysis have markedly expanded the imaging toolbox available to developmental biologists. Apart from conventional phenotypic studies, embryonic development is increasingly investigated *in vivo* with improved accuracy in time and space and more detailed quantitative analyses down to the single-cell level (reviewed in<sup>1</sup>). To get more insight into the elaborate cell dynamics (i.e. cell division, motility and morphological changes) and protein dynamics (i.e. turnover and kinetics of key factors) that underlie development, my laboratory addresses the growing imaging needs of the biological community by developing assays<sup>2</sup>, imaging technologies<sup>3,4</sup>, and reagents<sup>5</sup> for carrying out imaging with i) high spatiotemporal resolution at the single- cell level and with ii) sensitivities down to individual proteins. Such newly introduced and future imaging tools can then be used as a means of performing qualitative and quantitative imaging in order to mechanistically dissect development, disease progression, and tissue regeneration *in vivo*.





#### References

[1] Pantazis, P. & Supatto, W. Advances in whole-embryo imaging: a quantitative transition is underway. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 15, 327–339 (2014).

[2] Plachta, N., Bollenbach, T., Pease, S., Fraser, S. E. & Pantazis, P. Oct4 kinetics predict cell lineage patterning in the early mammalian embryo. *Nature Cell Biology.* 13, 117–123 (2011).

[3] Dempsey, W. P. et al. In vivo single-cell labeling by confined primed conversion. *Nature Methods* 12, 645–648 (2015).

[4] Mohr, M. A., Argast, P., & Pantazis, P. Labeling cellular structures in vivo using confined primed conversion of photoconvertible fluorescent proteins. *Nature Protocols* 11, 2419–2431 (2016).

[5] Pantazis, P., Maloney, J., Wu, D. & Fraser, S. E. Second harmonic generating (SHG) nanoprobes for in vivo imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 14535–14540 (2010).

# Visually Dissecting Rab Switch in Macropinocytosis Takeshi NAKAMURA<sup>1,2</sup>, So MORISHITA<sup>1</sup>, Sayaka YASUDA<sup>1</sup>, Naoyuki WADA<sup>3</sup>, and Mitsunori FUKUDA<sup>4</sup>

#### (tnakamr@rs.noda.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
<sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
<sup>3</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
<sup>4</sup> Department of Developmental Biology and Neurosciences, Graduate School of Life Sciences, Tohoku University,

Miyagi, Japan

Endolysosomal transport are linked to all aspects of cell life and diseases. The endocytic transport is initiated at plasma membrane. Endocytosed vesicles fuse with early endosomes (EEs), which mature into late endosomes (LEs) prior to their fusion with lysosomes. Two Rab GTPases, Rab5 and Rab7, are of key importance for endolysosomal network. In 2005, Zerial et al. proposed the framework, Rab switch, for understanding the step transition in endolysosomal process. He has claimed the exchange from Rab5 to Rab7 on endosomes is a driving force to get over EE-LE boundary. Since then, researchers have been unraveling players acting on this switch. However, it remains unclear when and where GEF (Rab activator) or GAP (Rab inactivator) regulates Rab5 and Rab7. Therefore, we developed FRET sensors to examine Rab activation in greater detail and reevaluated the model of Rab5-to-7 switch.

Here, we used macropinocytosis as a model system. Macropinocytosis originates from the closure of membrane ruffle into large vesicles. Rab5 and Rab7 were simultaneously recruited to a macropinosome. While Rab5 activation on macropinosomes occurred concomitantly with Rab5 recruitment, Rab7 activation occurred gradually. We examined the effect of depletion of candidate GEFs on Rab5 activation on macropinosomes. ALS2 depletion inhibited Rab5 activation. However, in Rin1-depleted cells, the level of Rab5 activation was comparable to that in control. Next, we examined the effect of depletion of Rab7 or Ccz1 (Rab7 activation) on Rab5 inactivation. In Rab7- or Ccz1-depleted cells, Rab5 activation on macropinosomes prolonged in the absence of active Rab7.

Next, we will focus on Mon1–Ccz1 complex, which has recently been described as a GEF for Rab7. Although Rab7's roles in endolysosomal process are well established, much less is known regarding its regulation. Newly-developed Rab7 sensor has shown that under steady-state conditions, there is considerable variation in Rab7 activity at individual Rab7+ endosomes. Unexpectedly, Mon1–Ccz1 only regulates Rab7 at late endosomes, because Ccz1 depletion affects Rab7 activity on late endosomes but not on lysosomes. We found that Rab7 is initially recruited to macropinosomes in its inactive form and becomes activated by Mon1–Ccz1 during macropinosome maturation, before the GEF is released upon fusion with the lysosome.

The current Rab switch model might be applicable to clathrin-mediate endocytosis. However, we have shown that Rab5-to-7 switch mechanism in micropinocytosis is different from that in CME at some important points.

07B

!

!

08C-Inv

# Deciphering the spatiotemporal regulation of the plant immune system using intravital imaging Shigeyuki Betsuyaku<sup>1</sup>

(betsuyaku.shige.ge@u.tsukuba.ac.jp)

<sup>1</sup> Faculty of Life and Environmental Sciences University of Tsukuba, Japan

Multicellular organisms require precise regulation of immune responses to limit invading pathogens and to avoid excess collateral damages. Spatial restriction of immune responses to infection foci can be a simple way to limit those unwanted damages, but it is largely unknown how immune signals are regulated spatiotemporally during the course of disease resistance. Plant immune responses, such as hypersensitive response (HR), are also regulated spatially and temporally. In the case of HR, dead cells appear at the site of pathogen infection and the surrounding cells are thought to exert immune responses promoting accumulation of antimicrobial compounds like PR proteins and phytoalexins (Fig. 1). This is also known as Effector-Triggered Immunity (ETI). Formation of a concentration gradient of salicylic acid (SA), a key molecule in plant immunity, upon pathogen infection has been proposed to regulate such a spatiotemporal pattern of plant immune responses in ETI. A high concentration of SA produced at the center of HR is expected to trigger cell death and lower doses of SA are thought to cause different defense reactions depending on its concentration. Thus, SA has been predicted to function as a "morphogen" in ETI. This "French-flag" hypothesis for SA action was originally raised by studies of Tobacco immunity nearly two decades ago and was further formulated by a number of studies in other species. However, the hypothesis has not been clearly examined. In order to dissect spatiotemporal regulation of ETI, We have developed a live-imaging system of plant immune responses. The system enabled us to detect dynamic immune responses in non-detached living Arabidopsis leaves. We identified that jasmonic acid (JA) as well as SA signaling pathways are activated in distinct concentric domains around infection sites in Arabidopsis. Centrally activated SA can stimulate its synthesis in neighboring cells, which is strictly limited in immunity where JA is activated peripherally. Our cell biology-based approach revealed that mutually antagonistic interaction of two phytohormones, SA and JA, shapes the ETI pattern, rather than a simple French-flag model.



Fig. 1. SA-mediated defense is tightly limited around the infection sites during ETI in *Arabidopsis*. (A) The *pPR1-YFP-NLS* (an established marker of SA activity) leave inoculated with an incompatible oomycete pathogen isolate. (B) Magnified views of the interacting area (shown as a white square in A). The pathogen spores (autofluorescence), pPR1-YFP-NLS activity (YFP) and Chlorophyll autofluorescence (the loss of it indicates plant cell death) were separately shown. (C) Intensity profiles over the yellow line shown in A.

#### References

[1] Betsuyaku et al., in prep.

## Visualizing the Regulation of Plant Development and Stress Responses by the ROS-Ca<sup>2+</sup> Signaling Network and Autophagy

## Kazuyuki KUCHITSU<sup>1,2</sup>, Kenji HASHIMOTO<sup>1</sup>, Takamitsu KURUSU<sup>1,2</sup>, Shigeru HANAMATA<sup>2</sup>, and Nobutaka KITAHATA<sup>1,2</sup> (kuchitsu@rs.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan

Reactive oxygen species (ROS), such as superoxide anion radical  $(O_2^{-})$  and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), are highly toxic molecules produced during photosynthesis and aerobic respiration. However, ROS are enzymatically produced in a highly regulated manner spatially and temporally. ROS play key roles in regulating a broad range of physiological processes, such as growth and development including tip growth of root hairs [1] and pollen tubes [2-3], defense responses against biotic and abiotic stresses as well as cell wall metabolism [4]. Respiratory burst oxidase homologues (Rboh) have been identified as ROS-producing NADPH oxidases, which act as key signaling nodes integrating multiple signal transduction pathways in plants. Rbohs are synergistically activated by Ca2 binding to the N-terminal EF-hand motifs and phosphorylation by several families of protein kinases [5-6]. We have identified several proteins that interact with the N-terminal cytosolic region of Rbohs in vivo and regulate their ROS-producing activity [7-9]. Tip growth and ROS accumulation in Arabidopsis pollen tubes were severely impaired in the rbohH rbohJ double mutant. Point mutations in the EF-hand motifs impaired Ca2+-induced ROS production and complementation of the double mutant phenotype, indicating that Ca2+-activated ROS production is essential for proper tip growth [2-3].

The ROS- $Ca^{2+}$  positive feedback regulation [1,6,10,11] seems to be conserved not only in polarized cell growth but also various signaling processes in plants. We have recently identified and characterized two Rbohs from an emerging model liverwort Marchantia polymorpha. Knockout lines of the two isozymes established by the CIRSPR/Cas9 genome editing system revealed that they have distinct physiological roles in development, morphogenesis and environmental stress responses. We will discuss various imaging techniques to characterize the morphological phenotypes of the rboh mutants such as cell proliferation rate and the cell division pattern during the vegetative development. Evolutionary aspects and molecular regulatory mechanisms of Rboh/ROS-mediated signaling will also be discussed. Furthermore, novel chemical screening led us to identify potential compounds that affect Rboh-mediated signaling events including plant defense responses positively and negatively.

In flowering plants, programmed cell death (PCD) of the tapetum, the innermost layer of the anther, is one of the most critical and sensitive steps for pollen maturation and fertility. It is severely affected by various environmental stresses, which cause serious problems in agriculture. We recently discovered that autophagy is induced at the uninucleate stage during pollen maturation and required for tapetal PCD, postmeiotic anther development and nutrient supply to the pollens in rice [12-15]. We also established an in vivo imaging system to analyze the dynamics of autophagic flux in rice tapetum cells by expressing GFP-tagged marker of autophagosomes, and revealed the dynamics of autophagy during pollen maturation. Possible involvement of Rboh/ROS-mediated signaling and transcriptional network in the regulation of autophagy and the proper timing of tapetal PCD during anther development will be discussed.

#### References

- [1] Takeda et al. (2008) Science 319: 1241-1244.
- [2] Kaya et al. (2014) *Plant Cell* 26: 1069-1080.
- [3] Kaya et al. (2015) Plant Signal Behav 10: e989050.
- [4] Kärkönen and Kuchitsu (2015) Phytochemistry 112: 22-32.
- [5] Ogasawara et al. (2008) J Biol Chem 283: 8885-8892.
- [6] Kimura et al. (2012) BBA 1823: 398-405.
- [7] Kimura et al. (2013) J Biochem 153: 191-195
- [8] Drerup et al. (2013) *Mol Plant* 6: 559-569.
- [9] Kawarazaki et al. (2013) BBA 1833: 2775-2780.
- [10] Kurusu et al. (2015) Front Plant Sci 6: 427.
- [11] Kurusu et al. (2013) Trends in Plant Sci 18: 227-233.
- [12] Kurusu et al. (2014) Autophagy 10: 860-870.
- [13] Hanamata et al. (2014) Front Plant Sci 5: 457.
- [14] Kurusu et al. (2016) *Bioimages* 24: 1-11.
- [15] Kurusu and Kuchitsu (2017) J Plant Res 130: 491-499.

09C

## 10C-Inv

## A new approach for visualizing hydrogen peroxide in living plant cells

<u>Luis Cárdenas</u><sup>1</sup>, Fernando Lara<sup>1</sup>, Marcos Juárez, Ramsés García-Niño<sup>1</sup>, Ana Velarde-Buendía, Rocío Pérez<sup>1</sup>, Rosana Sánchez<sup>1</sup>, Johnson E.<sup>2</sup>, Heng Ming Whu<sup>2</sup>, Carmen Quinto<sup>1</sup>, Alice Cheung<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ap. Postal 510-3 Cuernavaca, Morelos, México. luisc@ibt.unam.mx

<sup>2</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Massachusetts, Amherst.

In plant cells ROS accumulation have been involved in several processes such as: development, hypersensitive response, hormonal perception, gravitropism and stress response. In guard cells from *Vicia faba* regulates the opening of stomata and more recently in root hair cells from *Arabidopsis* ROS levels generate and maintain an apical calcium gradient. This ROS accumulation plays a key role in root hair tip growth and suggested to play a similar role in pollen tubes and other tip growing cells. Furthermore, the enzymes generating ROS such as the NADPH oxidases, also plays a key role during the pathogenic and mutualistic interactions.

The most widely used sensors for measuring intercellular ROS generation have been the dichlorofluorescein (DCF) derivatives. This chemically synthetized fluorescent probe fluoresces after oxidation by ROS, however, this response is not specific, i.e. are sensitive to multiple types of ROS, is not possible be targeted to specific intracellular compartments; and, most importantly, they can produce ROS upon exposure to light, which results in artefactual ROS generation.

Herein we report a new generated molecular probe to depict the ROS dynamic during root hair cell and pollen tube apical growth. Hyper is a new generated GFP fused to the OxyR domain that result in a hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) specific probe. This molecular probe was expressed in root and root hair cells from Arabidopsis, also in tobacco pollen tubes (1). By using high resolution microscopy, we depicted an apical  $H_2O_2$  gradient at the tip dome where the polar growth occurs, furthermore it allows to visualize dynamic ROS oscillations in root hair cells and pollen tubes, which are couple to growth. In pollen tubes, we also found a particular ROS distribution, with clear oscillations couple to growth fluctuations. In both tip growing cells, the apical regions are the site where the more dynamic ROS changes were observed, suggesting a pivotal role in polar growth. This new approach also allows to visualize the cellular hydrogen peroxide distribution in the whole plant root which, from the meristematic region to the elongation and differentiating region. This is an important method if we want to measure the oxidative response during biotic and abiotic stress conditions.

1. Hernandez-Barrera, A., Quinto, C., Johnson, E. A., Wu, H. M., Cheung, A. Y., & Cardenas, L. (2013) *Methods Enzymol* **527**, 275-290.

The work was funded by DGAPA IN-207814 and Conacyt 132155 and 240595 to LC.

11D-Inv

## Rare Earth Doped Nanoparticles as Dual-Modality Contrast Agents <u>Mei Chee Tan<sup>1</sup></u>, \*, Shuqing He,<sup>1</sup> Xinyu Zhao,<sup>1</sup> Yang Sheng,<sup>1</sup> Lun-De Liao,<sup>2</sup> Nitish V. Thakor<sup>2</sup> Email: meichee.tan@sutd.edu.sg

<sup>1</sup> Engineering Product Development, Singapore University of Technology and Design, Singapore 487372

<sup>2</sup> Singapore Institute for Neurotechnology, National University of Singapore, Singapore 117456

\* Corresponding author, phone: +65-6499 4572; e-mail: meichee.tan@sutd.edu.sg

Multi-modal imaging is an emerging area that integrates multiple imaging modalities into single platform to simultaneously capture visual information over many spatial scales. We seek to combine shortwave infrared (SWIR) and photoacoustic (PA) imaging modalities to create a portable dual modality imaging platform that is capable of rapidly acquiring images with good spatial resolutions accompanied with high contrast. Together with the development of the dual modal imaging platform, it is just as critical to design excellent probes that facilitate the target identification of lesions. Rare earth doped nanoparticles (REDPs) have been extensively investigated as shortwave infrared (SWIR) imaging contrast agents since they can be excited and emitted in the tissue transparent infrared window [1-5]. In particular, Yb, Er co-doped NaYF<sub>4</sub> nanoparticles have been shown to emit brightly at 1530 nm which is in the SWIR window. In addition to the excellent SWIR-emitting properties, we have also recently demonstrated that these REDPs can serve as photoacoustic (PA) contrast agents at the same time. Whilst the SWIR fluorescence images capture the radiative transitions from the REDPs, the non-radiative transitions are detected during PA imaging. Therefore, our REDPs fully exploit the strengths of both fluorescence and PA imaging by detecting the signals of both the radiative and nonradiative decays, respectively from our probes under the same excitation wavelength. In this way, the lost energy that was previously considered as unfavorable for fluorescent probes are now harnessed to contribute to signal enhancement of another imaging platform. This talk will discuss the synthesis of REDPs of different morphologies and their luminescence and photoacoustic properties. The multiple absorption peaks of REDPs, which are controlled by rare earth dopants, can be potentially used for multi-wavelength PA imaging by switching excitation wavelengths between visible and infrared optical windows. While materials exhibiting bright fluorescent emissions would be expected to have weak PA signals, we have found that anisotropic microparticles exhibited both bright fluorescent emissions and strong PA signals. However, reduction in REDP sizes led to a decrease in both fluorescence and PA signals. To circumvent these deleterious size effects, multilayered nanocomposites was synthesized. The interfacial characteristics and layer (e.g., SiO2, vs polymer) effects on the properties of these multilayered nanocomposites will be discussed [3-5].

#### References

- X Zhao, S He, MC Tan, Advancements in Infrared Imaging Platforms: Complementary Imaging Systems and Contrast Agents, Journal of Materials Chemistry B, invited submission for Emerging Investigator Series (2017).
- [2] X Zhao, Y Sheng, L-D Liao, N Thakor, MC Tan, "Rare-Earth Doped CaF2 Nanocrystals for Dual-Modal Short-Wavelength Infrared Fluorescence And Photoacoustic Imaging", Nanoscience and Nanotechnology Letter, Nanoscience and Nanotechnology Letters, 9:480 (2017).
- [3] Y Sheng, L-De Liao, A Bandla, Y-H Liu, J Yuan, N Thakor, MC Tan, "Enhanced Near-Infrared Photoacoustic Imaging of Silica-Coated Rare-Earth Doped Nanoparticles", Materials Science and Engineering: C 70, Part 1: 340 (2017).
- [4] Y Sheng, L-De Liao, A Bandla, Y-H Liu, N Thakor, MC Tan, "Size and Shell Effects on the Photoacoustic and Luminescence Properties of Dual Modal Rare-Earth-Doped Nanoparticles for Infrared Photoacoustic Imaging", ACS Biomaterials Science and Engineering, 2:809 (2016).
- [5] Y Sheng, L-D Liao, N Thakor, MC Tan, "Rare-Earth Doped Particles as Dual-Modality Contrast Agent for Minimally-Invasive Luminescence and Dual-Wavelength Photoacoustic Imaging," Scientific Reports., 4:6562 (2014).

# Potential of OTN-NIR (NIR II/III) for Various Scenes of Bioimaging Kohei SOGA<sup>1,2</sup>, Gil YEROSLAVSKY<sup>2</sup>, Laura WORTMANN<sup>1</sup>, Msakazu UMEZAWA<sup>1</sup>, Masao KAMIMURA<sup>1,2</sup>

(mail@ksoga.com)

<sup>1</sup> Department of Materials Science and Technology Tokyo University of Science, Tokyo, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Transparency is one of the important issues for bioimaging to overcome for deep tissue imaging. The near infrared (NIR) wavelength between 1000 and 1800 nm is the most transparent wavelength range for optical bioimaging because of the much less scattering and much less infrared absorption than the shorter or longer wavelength as shown in figure 1. The range is called as "second biological window (SBW)," "NIR II/III" or "over-1000-nm (OTR) NIR" to attract much interests of researchers for bioimaging. The absorption by organic molecules mainly occurs in so-called mid infrared (MIR) wavelength region over 2500 nm. The OTN-NIR range has very weak absorption due to the over tones of the molecular vibration. For example, water (gas) is known to have  $\bar{\nu}_1(3657 \text{ cm}^{-1})$ ,  $\bar{\nu}_2(1595 \text{ cm}^{-1})$ cm<sup>-1</sup>) and  $\bar{\nu}_3(3756 \text{ cm}^{-1})$  in the MIR region, which corresponds to the wavelength of 2734, 6270 and 2662 nm, respectively. In the OTN-NIR, the overtones of  $\bar{v}_2 + \bar{v}_3$  and  $2\bar{v}_2 + \bar{v}_3$  are known to have absorption at 1876 and 1455 nm, respectively. These overtone absorptions are much weaker than the fundamental vibration ones. As fluorescent materials, organic dyes, quantum dots, carbon nanotubes and rare-earth doped ceramic nanoparticles (RED-CNPs) are known. The authors have developed various fluorescence imaging probes by using the phosphors. As well, an in vivo OTN-NIR fluorescence imaging system was developed by the collaboration between Tokyo University of Science and Shimadzu Co. and marketed by Summit Pharmaceuticals International Co. since 2014<sup>[11]</sup> The presentation will review the various works of in vivo OTN-NIR fluorescence imaging. Beside these simple fluorescence imaging, one of the interesting novel imaging is nanothermal fluorescence imaging. By using the two separate and individually temperature sensitive fluorescence band of the RED-CNPs, one can decide the local temperature around the particle by ratio metric approach<sup>[2]</sup>. The OTN-NIR fluorescence nanothermometry will be shortly reviewed. Another interesting OTN-NIR is the analysis of the very weak absorptions of the overtones of the molecular vibration. By exploring it into spectral mapping, OTN-NIR hyperspectral imaging is attracting much interests for clinical use of the imaging such as cancer detection. The review will also include this topic shorty.

#### References

D. Jqaue, K. Soga et al., *Adv. in Optics and Photonics*, 8 (2016) 1.
M. Kamimura, K. Soga et al., *J. Mater. Chem. B*, 5 (2017) 1917.





12D

## Challenges towards Imaging of Lipid in the Liver

Naoko Ohtani<sup>1,2</sup>, Naoki Hosokawa<sup>1,2</sup> Kohei Soga<sup>1,2</sup>,

(e-mail address: ohtani.naoko@med.osaka-ci.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Pathophysiology Osaka City University, Graduate School of Medicine, Osaka, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center Tokyo University of Science, Chiba, Japan

We previously reported that HFD accelerates liver cancer development through the mechanism that the enterohepatic circulation of the obesity-induced gut microbiota metabolite, deoxycholic acid (DCA) induce the cellular senescence and senescence-associated secretory phenotype (SASP) of hepatic stellate cells, a phenotype that senescent cells secrete inflammatory cytokines, chemokines, proteases, growth factors and so on. This obesity-induced SASP of hepatic stellate cells creates tumor promoting microenvironment. We also noticed that severe amount of lipid is accumulated in the liver tumor region which could promote liver cancer progression. We are now identifying specific fatty acids that are able to promote hepatocyte proliferation. Therefore, identification of specific lipid types non-invasively in vivo could be useful for diagnosis and prognosis prediction. We are currently trying to identify specific lipid by Near-infrared hyperspectral imaging by utilizing support vector regression (SVR) method. We will show you our current progress.

13D

## The Role of Transcription Factor Tlx1 in Converting Cell Fate of Dorsal Pancreatic to Spleen Mesenchymal Progenitors Rvo Goitsuka<sup>1,2,3</sup>

## (ryogoi@rs.tus.ac.jp)

Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
<sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
<sup>3</sup>Center for Animal Disease Models, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

The spleen is a lymphoid organ that serves various important roles in the generation of immune responses against blood-borne pathogens and extramedullary hematopoiesis, as well as acting as a filter to remove and process aged red blood cells. The spleen anlage in the mouse is first detectable during embryonic development at approximately embryonic day (E) 10.5-11, as mesenchyme starts to condense within the dorsal mesogastrium adjacent to the stomach and dorsal pancreas. Spleen organogenesis subsequently proceeds through the interaction of mesenchymal cells that form the spleen anlage with invading endothelial and hematopoietic cells. Tlx1 is a transcription factor required for spleen organogenesis, and its absence causes asplenia; however, the mechanisms of how Tlx1regulates spleen organogenesis remain obscure. Here we demonstrate by genetic lineage-tracing of Tlx1-expressing cells and their progeny using  $Tlx1^{CreER-Venus}$ ; Rosa26-tdTomato mice that Tlx1 deficiency causes many of these cells to change their cell fate and become incorporated into the dorsal pancreatic mesenchyme, where they give rise to desmin- and vimentin-positive mesenchymal cells scattering around the endocrine, exocrine and ductal cells. Furthermore, we utilize a Matrigel-based embryonic gut organ culture system to monitor their behavior in developing spleno-pancreatic primordium, in which tdTomato fluorescence is used as a marker. Embryonic guts, including the stomach and spleno-pancreatic mesenchyme, were taken from E12.5 embryos pretreated with tamoxifen at E11.5, and then time-lapse imaging of the Matrigel-embedded explants was performed during the 48 hour-culture period. In the Tlx1-sufficient condition, Tlx1-expressing descendants expanded in spleno-pancreatic mesenchyme through the mesenchyme overlying the stomach from the posterior to anterior direction. In contrast, individual cells of the Tlx1-deficient spleno-pancreatic mesenchyme appeared to migrate rather randomly and did not show any directionality of the movement, suggesting that the Tlx1-deficient progenitors, in which the Tlx1 locus was once transcriptionally activated, fail to move out from spleno-pancreatic mesenchyme, thus being misallocated to the dorsal pancreas. These findings provide evidence that Tlx1 expression in spleno-pancreatic mesenchyme is specifically connected to the acquisition of splenic mesenchymal cell fate

#### References

[1] Nakahara, R., Kawai, Y., Oda, A., Nishimura, M., Murakami, A., Azuma, T., Kaifu, T. and Goitsuka, R: Generation of a Tlx1<sup>CreER-Venus</sup> Knock-in Mouse Strain for the Study of Spleen Development. *Genesis*, 2014, 52 (11):916-923.

14D

### 15E-Sp

Cruising inside cells Atsushi Miyawaki<sup>1,2</sup> (matsushi@brain.riken.jp) <sup>1</sup> RIKEN Brain Science Institute <sup>2</sup> RIKEN Center for Advanced Photonics

In a signal transduction diagram, arrows are generally used to link molecules to show enzymatic reactions and intermolecular interactions. To obtain an exhaustive understanding of a signal transduction system, however, the diagram must contain three axes in space and the time base, because all events are regulated ingeniously in space and time. The scale over time and space is ignored in biochemical approaches in which electrophoresis is applied to a specimen prepared by grinding millions of cells. A farseeing article entitled "Fluorescence Imaging Creates a Window on the Cell" was written by Roger in 1994, which appeared in Chemical & Engineering News. He advocated employing the so-called real-time and single-cell imaging technique to fully appreciate cell-to-cell heterogeneity. He also had steadfastly pursued the creation of a reliable gate that would enable researchers to better understand the "feelings" of individual cells. Over the past 2 decades, various genetically encoded probes have been generated principally using fluorescent proteins. I will discuss how the probes have advanced our understanding of the spatio-temporal regulation of biological functions, such as cell-cycle progression, autophagy, protein-protein interactions, and metabolism inside cells, neurons, embryos, and brains. I will speculate on how these approaches will continue to improve due to the various features of fluorescent proteins.

The behavior of biochemical molecules moving around in cells makes me think of a school of whales wandering in the ocean, captured by the Argus system on the artificial satellite. When bringing a whale back into the sea --- with a transmitter on its dorsal fin, every staff member hopes that it will return safely to a school of its species. A transmitter is now minute in size, but it was not this way before. There used to be some concern that a whale fitted with a transmitter could be given the cold shoulder and thus ostracized by other whales for "wearing something annoying." How is whale's wandering related to the tide or a shoal of small fish? What kind of interaction is there among different species of whales? We human beings have attempted to fully understand this fellow creature in the sea both during and since the age of whale fishing.

In a live cell imaging experiment, a luminescent probe replaces a transmitter. We label a luminescent probe on a specific region of a biological molecule and bring it back into a cell. We can then visualize how the biological molecule behaves in response to external stimulation. Since luminescence is a physical phenomenon, we can extract various kinds of information by making full use of its characteristics. For example, the excited energy of a fluorescent molecule donor transfers to an acceptor relative to the distance and orientation between the two fluorophores. This phenomenon can be used to identify interaction between biological molecules or structural change in biological molecules.

Cruising inside cells in a supermicro corps, gliding down in a microtubule like a roller coaster, pushing our ways through a jungle of chromatin while hoisting a flag of nuclear localization signal --- we are reminded to retain a playful and adventurous perspective at all times. What matters is mobilizing all capabilities of science and giving full play to our imagination. We believe that such serendipitous findings can arise out of such a sportive mind, a frame of mind that prevails when enjoying whale-watching.

# Second Biological Window: The Key for the Next Generation Bioimaging Kohei SOGA<sup>1,2</sup>, Gil YEROSLAVSKY<sup>2</sup>, Laura WORTMANN<sup>1</sup>, Msakazu UMEZAWA<sup>1</sup>, Masao KAMIMURA<sup>1,2</sup>

(mail@ksoga.com)

<sup>1</sup> Department of Materials Science and Technology Tokyo University of Science, Tokyo, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Near infrared wavelength range has been known as the "biological window," where the optical loss is minimal. The potential of deep tissue imaging in the range was predicted long time ago, 1980's, by analyzing the optical loss of human skin. However, it could not be applied for decades due to missing of imaging device. Namely, the wavelength more than 1000 nm (1  $\mu$ m), since the silicon semiconductor device can only visualize up to 1000 nm, poor availability of imaging device impeded researchers to use the range. Around the time when the author started to work on bioimaging, InGaAs CCD camera that can visualize in the above over-1000-nm near infrared (OTN-NIR) wavelength range has become commercially available. In recent years, the range is called OTN-NIR, second biological window (SBW) or NIR II/III and attracting much interests of the researchers seeking for transparency for bioimaging.

As for fluorescence imaging, organic dyes, quantum dots, carbon nanotubes and rare-earth doped ceramic nanoparticls (RED-CNPs) are known to be used. Figure 1 shows the mouse images of the in vivo fluorescence imaging by using these florescent materials. Several dyes are known to be fluorescent in the range. A common feature among them is that they can only be fluorescent in hydrophobic environment. The authors grope dissolved a dye into the hydrophobic core of polymer micelle with hydrophobic core and hydrophilic shell (Figure 1 (a)) to make the dye fluorescent in hydrophobic live body. In the same way, we always need some sort of materials processing to use these fluorescent agents in live body, normally for avoiding agglomeration in live body. For keeping the mono dispersion, polyethylene glycol is introduced on the surface of the nano fluorescent agents.

Simultaneously, the authors have developed and commercialized an *in vivo* fluorescence imaging system in the SBW[1]. The presentation will review the development and applications of the *in vivo* fluorescence imaging in the SBW as the next generation deep tissue imaging method.

#### References

[1] D. Jqaue, K. Soga et al., Adv. in Optics and Photonics, 8 (2016) 1.







d) PbS quantum dots

c) Carbon nanotubes (CNT)

Figure 1. Fluorescence in vivo imaging in SBW (NIR II/III or OTN-NIR) wavelength range.

## 16E

## Bioimage processing Hideo YOKOTA<sup>1,2</sup> (hyokota@riken.jp) <sup>1</sup> RIKEN Center for Advanced Photonics <sup>2</sup> Imaging Frontier Center Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Recent advances in imaging technologies have made it possible to obtain valuable data such as different types of images: X-ray and optical CT, 2 photon and confocal laser microscopy. Thus, image-based quantitative analysis and biological simulations based on images have become popular and essential in cutting-edge research in science. In the other hand, analysis of scientific images is challenging and interesting owing to their low signal-to-noise ratio and dynamic changes in geometry and topology. Thus, new image processing methods are required in order to tackle these types of images. We have been working not only on image processing applications, but also on new algorithms and computational methods within computer science to process images that are difficult to analyze using conventional tools. Our developed algorithms have been implemented in our image processing software (VCAT5) equipped with a graphical user interface, 3D graphics viewer, and macro editor (Fig. 1). Further, we have developed a novel cloud-based image platform (RBICP :Resonance Bio Image Communication Platform) including a database and VCAT5, which provides computationally expensive image processing to users' inexpensive hardware such as mobile phones and tablet PCs through the internet and/or local network (Fig. 2). This platform automatically stores images captured by imaging devices and uploads them to the database. The platform also includes computing servers with advanced graphics hardware and image processing software. We are running our research towards the de facto standard of image-based science in the world.



Fig. 1 Image processing platform VCAT5

Fig.2 Cloud-based image processing system RBICP

Furthermore, we are working on creating the field of bio image processing. It is a resonance bio image processing contest. Many image processing researchers are not related to the field of bio image. Therefore, we hosted a contest organized by the Precision Engineering Society of Image Application Technical Committee. There were more than 100 entries in the 2016 contest. We selected three Resonance Bio Awards from the viewpoint of biological image analysis.

### References

 Y.H. Chang, et. Al., Automated Detection and Tracking of Cell Clusters in Time-Lapse Fluorescence Microscopy Images, J. Medical and Biological Engineering, 37, 1, pp 18–25(2017)

- [2]A. Sakane, et. Al., Conformational plasticity of JRAB/MICAL-L2 provides 'law and order in collective cell migration, Article in Molecular Biology of the Cell, 27,pp.3095-3108,(2016)
- [3]N. Yamashita, et. Al., Three-dimensional tracking of plus-tips by lattice light-sheet microscopy permits the quantification of microtubule growth trajectories within the mitotic apparatus, J. Biomedical Optics, 20(10),pp.1-18(2015)
- [4]M. Morita, et. Al., Communication Platform for Image Analysis and Sharing in Biology", Inter. J. Networking Computing, 4, 2, pp.369-391(2014)

17

17E

18E-Inv

# Detection and Tracking Method for Cells Using Adaptive Thresholding Daiki HASHIMOTO<sup>1</sup>, Takeshi NAGATA<sup>12</sup>, and Akiyoshi HIZUKURI<sup>1</sup>

 $(\{ daiki.hashimoto, takeshi.nagata, akiyoshi.hizukuri \} @mizuho-ir.co.jp)$ 

<sup>1</sup> Mizuho Information & Research Institute, Inc., Japan <sup>2</sup> School of Integrative and Global Majors, University of Tsukuba, Japan

This paper describes the results of our method to track and classify cells in time-lapse images. The performance of our method won the top 3 in the Algorithm Contest 2016 organized by Technical Committee on Industrial Application of Image Processing. Our method consists of 3 parts; detection of cell regions, tracking of the cells in time-lapse images and classification of cell states. The target images of our methods is pre-recorded time-lapse images of red (mKO2) and green (mAG) fluorescent proteins used in "Fluorescent Ubiquitination-based Cell Cycle Indicator (FUCCI)" [1]. The cells tracked were classified into 4 types; "red," "green," "yellow" and "black." The states of classification type "red" and "green" are G1 and S/G2/M phases of the cell cycle (indicated by each of the red and green fluorescent protein), respectively. Further, the state of type "yellow" is the transition period from G1 phase to S phase (indicated by both of the proteins) and "black" is the transition period from M phase to G1 phase (indicated by neither of the proteins).

Firstly, we detected cell regions in the image. In order to extract the cell regions whose pixel values may be slightly different from the values of background, we used the adaptive thresholding method [2] for image binarization. In the method, the thresholds of binarization were changed dynamically over the image. Specifically, we used, as the local threshold, the mean of pixel values in the near-field region (19x19 pixels square region) of target pixels. Furthermore, to reduce the noise, we removed the small (area of region <= 100) foreground regions after applying morphological opening (erosion of an image followed by a dilation). Figure 1 shows that our method can detect the unclear cells.



Figure 1. The results of our detection: (a-1) and (a-2) are the images of red and green fluorescent proteins, and (b-1) and (b-2) are the binarization result of (a-1) and (a-2), respectively.

Next, we tracked cells from one image to another-time image, based on closeness. Owing to the fact that a cell can be divided into multiple cells, we tracked a cell backwards, from last time-series image to first. The "black"-type cells which are at the transition period from M phase to G1 phase do not appear in the images of red and green fluorescent proteins, however, they exist. Our method tried to track them and interpolate those shapes and locations using surrounding time-series images.

Finally, we classified cells into 4 types. Our classification is on the basis of the hue that is calculated from the pixel values of red and green fluorescent proteins' images.

The results of our proposed method are shown in Table 1. We successed the tracking on 81% images and estimation of the phases on 74% images with data set "HeLa\_Fucci5\_pos-1."

Table 1. The success rates of our proposed tracking and estimation of the phases.			
data set	tracking	estimation of the phases	
HeLa_Fucci5_pos-1	0.81	0.74	
HeLa_Fucci5_pos-13	0.37	0.53	
CO2_2008_20_pos-1	0.44	0.48	
CO2_2008_20_pos-3	0.58	0.55	
CO2 2009 4 pos-5	0.48	0.22	

References

[1] Sakaue-Sawano A, Kurokawa H, Morimura T, Hanyu A, Hama H, Osawa H, Kashiwagi S, Fukami K, Miyata T, Miyoshi H, Imamura T, Ogawa M, Masai H, Miyawaki A. Visualizing spatiotemporal dynamics of multicellular cell-cycle progression. *Cell*. 132, 487-498 (2008)

[2] Image processing learning resources HIPR2, http://homepages.inf.ed.ac.uk/rbf/HIPR2/adpthrsh.htm (2016/10/27)

19E-Inv

# **Image Processing Methods for detecting Induced Pluripotent Stem Cell Reprogramming Using Microscopy Images** Ming-Dar Tsai<sup>1</sup>, Hideo Yokota<sup>2</sup>, Kuniya Abe<sup>3</sup> and Yuan-Hsiang Chang<sup>1</sup> (tsai@ice.cycu.edu.tw)

<sup>1</sup> Department of Information and Computer Engineering Chung-Yuan Christian University, Chung-Li, Taiwan

<sup>2</sup> Center for Advanced Photonics, RIKEN, Wako, Japan

<sup>3</sup> BioResource Center, RIKEN, Tsukuba, Japan

We herein present an automated method for detection and localization of Induced pluripotent stem (iPS) cells formation on microscopy images. The differentiated cells that possibly undergo reprogramming to iPS cells can be detected by our methods for screening reagents or culture conditions in iPS induction. Image preprocessing techniques are used to detect isolated fluorescent (separate reprogramming or reprogrammed iPS) cells and cluster vague areas (reprogrammed iPS cell regions). Figure 1 shows an implementation example for mouse iPS cells. Deep learning techniques are used to classify and thus detect cells surrounding a pixel of bright-field microscopy images as reprogramming iPS, reprogrammed iPS or general differentiated cells (Figure 2). Through the detection results from time-series images, the processes of cell differentiation, iPS cell formation and reprogramming can be visualized and quantified (Figure 3)



(a) fluorescence microscopy image (b) brightfield microscopy image (c) reprogrammed iPS cell clusters Fig. 2 Deep learning for classifying Fig. 1 Image processing for detecting mouse iPS cell formation. reprogrammed human iPS cells.



(c) Regions of reprogrammed iPS cells

Fig. 3 iPS reprogramming and formation process can be quantified by classified iPS cells on time-series images.

#### References

[1] Y. H. Chang, H. Yokota, K. Abe, J. H. Liu and M. D. Tsai, "Detection and localization of mouse induced pluripotent stem cell formation using time-lapse fluorescence microscopy images," in 2016 Proc. Int. 38th Int. Annu. Conf. IEEE EMBS, pp. 3914-3917.

[2] Y. H. Chang, K. Abe, H. Yokota, K. Sudo, Y. Nakamura, C. Y. Lin and M. D. Tsai, "Human Induced Pluripotent Stem Cell Region Recognition in Microscopy Images Using Convolutional Neural Networks," in 2017 Proc. Int. 39th Int. Annu. Conf. IEEE EMBS.

# Live-cell imaging of the plant axis formation responding to fertilization signals Minako UEDA<sup>1,2</sup>, Yusuke KIMATA<sup>1</sup>, Takumi HIGAKI<sup>3</sup>, Tomokazu KAWASHIMA<sup>4,5</sup>, Daisuke KURIHARA<sup>1,6</sup>, Yoshikatsu SATO<sup>2</sup>, Tomomi YAMADA<sup>1,2</sup>, Seiichiro HASEZAWA<sup>3</sup>, Frederic BERGER<sup>4</sup>, and Tetsuya HIGASHIYAMA<sup>1,2,6</sup>

(m-ueda@itbm.nagoya-u.ac.jp)

 <sup>1</sup> Division of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University, Aichi, Japan
<sup>2</sup> Institute of Transformative Bio-Molecules (ITbM), Nagoya University, Aichi, Japan
<sup>3</sup> Department of Integrated Biosciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, Chiba, Japan
<sup>4</sup> Gregor Mendel Institute (GMI), Austrian Academy of Sciences, Vienna Biocenter (VBC), Vienna, Austria
<sup>5</sup> Department of Plant and Soil Sciences, University of Kentucky, Kentucky, USA
<sup>6</sup> JST, ERATO Higashiyama Live-Holonics Project, Nagoya University, Aichi, Japan

The asymmetric cell division of the zygote is the initial and crucial developmental step in most multicellular organisms. In flowering plants, recent studies identified the signaling cascade that regulates the asymmetric division of the zygote to set up the apical-basal axis of the embryo [1][2]. Nevertheless, it was remained elusive how dynamically the intracellular organization is generated during zygote polarization and how the embryo develops the pattern along the apical-basal axis. Therefore we have established a live-cell imaging system of polarizing zygote and developing embryo with Arabidopsis [3]. This system enabled us to visualize the dynamics of the major elements of the cytoskeleton, microtubules (MTs) and actin filaments (F-actin), during the entire process of zygote polarization [4], and the coordinated cell division and cell differentiation during embryo patterning formation [5]. By combining image analysis and pharmacological experiments using specific inhibitors of the cytoskeleton, we found that the pre-existing alignment of MTs and F-actin in the egg cell is lost upon fertilization. Then, MTs organize into a transverse ring defining the zygote subapical region and driving cell outgrowth in the apical direction. F-actin forms an apical cap and longitudinal arrays and is required to position the nucleus to the apical region of the zygote, setting the plane of the first asymmetrical division. Our findings show that in flowering plants the pre-existing cytoskeletal patterns in the egg cell are lost upon fertilization and the zygote re-orients the cytoskeletons to perform directional cell elongation and polar nuclear migration. Our genetic and biochemical analysis also found that the fertilization signal would be generated by the coordination of paternal and maternal factors, which temporally coexist in the zygote [2].

#### References

[1] Ueda M, Zhang Z, Laux T. (2011) Transcriptional activation of *Arabidopsis* axis patterning genes *WOX8/9* links zygote polarity to embryo development.!*Dev Cell.* 20(2):264-70.

[2] Ueda M, Aichinger E, Gong W, Groot E, Verstraeten I, Vu LD, De Smet I, Higashiyama T, Umeda M, Laux T. (2017) Transcriptional integration of paternal and maternal factors in the *Arabidopsis* zygote.! *Genes Dev.* 31(6):617-627.

[3] Kurihara, D.\*, Kimata, Y.\*, Higashiyama, T., Ueda, M. (2017) *In Vitro* Ovule Cultivation for Live-cell Imaging of Zygote Polarization and Embryo Patterning in *Arabidopsis Thaliana*.!*J Vis Exp.* In press. \*These authors equally contributed to this work.

[4] Kimata, Y., Higaki, T., Kawashima, T., Kurihara, D., Sato, Y., Yamada, T., Hasezawa, S., Berger, F., Higashiyama, T., Ueda, M. (2016) Cytoskeleton dynamics control the first asymmetric cell division in *Arabidopsis* zygote. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 113(49):14157-14162.

[5] Live-cell imaging and optical manipulation of *Arabidopsis* early embryogenesis. (2015) Live-Cell Imaging and Optical Manipulation of *Arabidopsis* Early Embryogenesis. *Developmental Cell*. 34(2):242-51.

Keywords: zygote, axis formation, embryo, Arabidopsis

### 20F

# A strange link between leaves and skulls? A theoretical model of jigsaw-puzzle pattern formation by plant leaf cells

## Takumi HIGAKI<sup>1, 2</sup>

## (higaki@edu.k.u-tokyo.ac.jp) <sup>1</sup> Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, Chiba, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Plant leaf epidermal cells exhibit a jigsaw puzzle–like pattern that is generated by interdigitation of the cell wall during leaf expansion. Cell wall interdigitation is regulated by two Rho-like GTPases from plants (ROPs), ROP2 and ROP6. ROP2 localizes to the cell protrusions and enhances outgrowth. In contrast, ROP6 localizes to the concave region and accumulates cortical microtubules that likely restrict cell expansion via cell wall reinforcement. The activity of ROP2 dominates under low auxin concentrations, whereas ROP6 activity becomes dominant under high auxin concentrations. Although their contribution to the cell wall interdigitation has already been examined, how interactions between these molecules result in pattern formation remains to be elucidated.

The winding dynamics of a band structure have been modeled using the FitzHugh–Nagumo equation in applied mathematics. The dynamics of winding are controlled by the combination of two mechanisms: maintenance of the band shape by the interaction of two interfaces and formation of curvature due to interface instability. This mechanism has been applied to the interdigitation of the junctions between bones in human skulls [1].

We proposed a simple interface equation model that incorporates both the cell wall remodeling activity of ROP GTPases and the diffusible signaling molecules by which they are regulated [2]. This model successfully reproduces pattern formation observed *in planta*. To examine the influence of cell wall metabolism on pattern formation, we investigated the effects of cellulose synthase dysfunction in *rsw2/kor1* mutant plants or the enzymatic degradation of cellulose in wild-type plants treated with 1.0% cellulase for 7 days. A thicker lateral cell wall was observed in *rsw2/kor1* mutants and cellulase-treated seedlings. To model the effect of impaired cellulose deposition on pattern formation, we assumed that decreased cellulose in the cell wall permits increased diffusion of signaling molecule and thus increases its range of action. By increasing the action range, our model reproduced increased cell wall becomes thicker. Cell wall curvature was decreased in both *rsw2/kor1* mutants and cellulase-treated seedlings. We also reproduced this decrease in cell wall curvature by increasing the action range of the signaling molecules. Therefore, our model provides a possible mechanism for cell wall interdigitation formation in plant leaf epidermal cells. Although animal and plant developmental mechanisms are considered to be very different, mathematical modeling of the phenomena can show some relationship between seeningly diverse pattern formation processes.

#### References

[1] Miura, T., Perlyn, C.A., Kinboshi, M., Ogihara, N., Kobayashi-Miura, M., Morriss-Kay, G.M. and Shiota K. (2009) Mechanism of skull suture maintenance and interdigitation. *J. Anat.*, 215, 642–655.

[2] Higaki, T., Kutsuna, N., Akita, K., Takigawa-Imamura, H., Yoshimura, K. and Miura, T. (2016) A theoretical model of jigsaw-puzzle pattern formation by plant leaf epidermal cells. *PLoS Comput. Biol.*, 12, e1004833.

21F

# Insights into Cortical Microtubule Nucleation and Dynamics in Arabidopsis Noriyoshi YAGI<sup>1</sup>, Sachihiro MATSUNAGA<sup>1</sup>, and Takashi HASHIMOTO<sup>2</sup>

(noriyoshi@rs.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Faculty of Science and Technology Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>2</sup>Graduate School of Biological Sciences Nara Institute for Science and Technology, Nara, Japan

Microtubules (MTs) are one of well-known cytoskeleton, which are composed of  $\alpha$ - and  $\beta$ -tubulin heterodimer subunits, and their de novo formation depends on  $\gamma$ -tubulin containing ring complexes ( $\gamma$ TuRC), consisting of  $\gamma$ -tubulin and 5 types of related proteins, GCP2 to GCP6. In plants, MTs have critical roles, in directional cell growth, chromosome segregation and new cell wall formation. When we see MTs organization in interphase cells of higher plants, MTs are located around the cell cortex. These cortical MTs (cMTs) have a critical function in directional cell growth, which is an essential process for creating a diverse form of plant cells. cMTs are initiated from the sides of pre-existing cMTs, either at a branching angle of approximately 40 degree or in a parallel orientation, with a daughter MT growing along a mother MT [1],[2]. In Arabidopsis cells, the antiparallel configuration, where two bundled MTs grow in the opposite direction, is predominate [3]. However, it has been reported that in bundle-forming nucleation, daughter MTs have favored the parallel configuration for their growth direction [2].

We have developed a live imaging system where cMTs and  $\gamma$ TuRC have been fluorescently labeled to investigate several aspects of cMT and  $\gamma$ TuRC dynamics in Arabidopsis cotyledon cells. Our results indicate that an antiparallel orientation is preferred in bundle forming nucleation. We also found that  $\gamma$ TuRCs reduced the depolymerization rate when they decollated the deoplymerizing cMT end. Some fraction of non-nucleating  $\gamma$ TuRC associated cMT lattice promoted rescue events when depolymerizing cMT encountered with the lattice-associated  $\gamma$ TuRC. These results suggested that  $\gamma$ TuRCs contribute MT dynamics regulation in addition to their essential roles in MT nucleation.



#### References

[1] Murata, T, Sonobe, S, Baskin TI, Hyodo S, Hasezawa S, Nagata T, Horio T, Hasebe M. (2005) Microtubule-dependent microtubule nucleation based on recruitment of gamma-tubulin in higher plants. Nat. Cell Biol., 10,961-968.

[2] Chan J, Sambade A, Calder G, Lloyd C. (2009) Arabidopsis cortical microtubules are initiated along, as well as branching from, existing microtubules. Plant Cell, 8, 2298-2306.

[3] Shaw SL, Lucas J. (2011) Intrabundle microtubule dynamics in the Arabidopsis cortical array. Cytoskeleton, 68, 56-67.

## 23F-Inv

## Tuning a molecular amplifier: mechanistic insights into the rapid reorganization of interphase microtubule arrays by blue light perception in higher plants

# Masayoshi Nakamura<sup>1</sup>, Jelmer J. Lindeboom<sup>1</sup>, Marco Saltini<sup>2</sup>, Bela Mulder<sup>2</sup>, Zdenek Lansky<sup>3</sup>, and <u>David W. Ehrhardt<sup>1</sup></u> (ehrhardt@stanford.edu)

<sup>1</sup>Department of Plant Biology, Carnegie Institution for Science, Stanford CA, USA <sup>2</sup>AMOLF, Amsterdam, Netherlands <sup>3</sup>BIOCEV, Vestec, Czech Republic

Interphase microtubule arrays in higher plants acquire highly organized architectures that are essential for cell and tissue growth morphogenesis, in part by guiding patterns of cell wall biosynthesis. Higher plant development is non-deterministic, proceeding as a conversation with the environment. An immediate target of environmental signaling is the cytoskeleton. Blue light, for example, stimulates a dramatic and rapid reorientation of the cortical microtubule cytoskeleton, a reorganization that can be completed on a timescale minutes. These interphase microtubule arrays are organized without benefit of a central organizer such as a centrosome, featuring microtubules that are detached from their birth sites by the severing protein katanin, producing treadmilling polymers that are dynamic at both ends. How such acentrosomal arrays are organized into particular arrangements, and how they are rorganized in response to signaling are poorly understood. We recently reported a novel mechanism by which blue light perception drives rapid cortical array reorientation in the epidermal cells of the plant axis, a mechanism in which a new population of microtubules is created and quickly amplified by katanin mediated severing at microtubule intersections. The success of this mechanism depends on recruitment of katanin to microtubule intersections and stablization of the new microtubule ends created by severing. While a number of proteins have been identified that modulate plus end growth and stability, relatively little is understood about how free minus ends are regulated in vivo. Here we report progress from in vivo and in vitro imaging experiments in understanding how katanin may recognize its sites of action, and present evidence that a protein novel to plants, SPR2, dynamically tracks and protects minus ends from rapid depolymerization in vivo. This activity is required to effect rapid array reorientation. Our experimental data and quantitative modeling analyses indicate that SPR2 acts to increase the likelihood of severing at microtubule intersections by promoting the length scale of treadmilling polymers and thus the opportunity time for severing.

24G-Inv

## Phosphoinositide conversion in endocytosis and in the endolysosomal system Alexander Wallroth<sup>1</sup>, Katharina Ketel<sup>1</sup>, Martin Lehmann<sup>1</sup>, Andrea L. Marat<sup>1</sup>, and Volker Haucke<sup>1</sup>

## (haucke@fmp-berlin.de)

<sup>1</sup> Department of Molecular Pharmacology & Cell Biology Leibniz Research Institute for Molecular Pharmacology (FMP), Berlin, Germany

Phosphoinositides (PIs) form a minor class of phospholipids with crucial functions in cell physiology, ranging from cell signalling and motility to a role as signposts of compartmental membrane identity. Phosphatidylinositol 3-phosphates are present at the plasma membrane and within the endolysosomal system [1], where they serve as key regulators of both cell signalling and of intracellular membrane traffic. In my talk I will discuss how local recruitment and assembly of PI-associated membrane scaffolds at defined nanoscale plasma membrane sites is spatiotemporally controlled and how membrane deformation is coupled to fission in endocytosis [2]. I will present evidence from combined computational modeling and super-resolution imaging that phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate [PI(3,4)P2] synthesis by phosphatidylinositol 3-kinase C2a [PI3KC2a] within the clathrin-coated area of endocytic intermediates triggers selective recruitment of the PX-BAR domain protein SNX9, as a result of complex interactions of endocytic proteins competing for a limiting number of phospholipids (Figure 1). Our data explain how lipid conversion at endocytic pits couples local membrane constriction to fission in endocytosis [3]. Furthermore, I will cover our recent advances in the analysis of the metabolic pathways that regulate cellular synthesis of PI 3-phosphates at distinct intracellular sites and discuss the mechanisms by which these lipids regulate cell signalling and membrane traffic. Specifically, we have identified PI(3,4)P2, synthesized by class II PI3K  $\beta$  (PI3KC2 $\beta$ ) at late endosomes (LEs), as a negative regulator of mTORC1 signaling, while loss of PI3KC2β hyperactivates mTORC1. These results unravel an unexpected function for local PI(3,4)P<sub>2</sub> production in shutting off mTORC1 [4]. These data provide a framework for how PI 3-phosphate metabolism is integrated into the cellular network.



#### References

Figure 1: Model for PI-driven membrane remodelling in clathrin-mediated endocytosis.

[1] Ketel, K. et al. Haucke, V. (2016) A phosphoinositide conversion mechanism for exit from endosomes. *Nature*, 529, 408-412

[2] Posor, Y. et al. Haucke, V. (2013) Spatiotemporal Control of Endocytosis by Phosphatidylinositol 3,4-Bisphosphate. *Nature*, 499, 233-237

[3] Schöneberg, J.<sup>#</sup>, Lehmann, M.<sup>#</sup> et al. Haucke, V.\*, Noe, F.\* (2017) Lipid-mediated PX-BAR domain recruitment couples local membrane constriction to endocytic vesicle fission. (\*co-corresponding) *Nature Communications*, in press

[4] Marat, A.L. et al Haucke, V. (2017) mTORC1 activity repression by late endosomal phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate. *Science*, in press

# Gut microbiota promotes obesity-associated liver cancer through PGE2-mediated suppression of antitumor immunity Naoko Ohtani<sup>1,2</sup>

(e-mail address: ohtani.naoko@med.osaka-ci.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Pathophysiology Osaka City University, Graduate School of Medicine, Osaka, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Obesity increases the risk of cancers, including hepatocellular carcinomas (HCCs). However, the precise molecular mechanisms through which obesity promotes HCC development are still unclear. Recent studies have shown that gut microbiota may influence liver diseases by transferring its metabolites and components. Here, we show that the hepatic translocation of obesity-induced lipoteichoic acid (LTA), a Gram positive gut microbial component, promotes HCC development by creating a tumor-promoting microenvironment. LTA enhances the senescence-associated secretory phenotype (SASP) of hepatic stellate cells (HSCs) collaboratively with an obesity-induced gut microbial metabolite, deoxycholic acid (DCA) to upregulate the expression of SASP factors and cyclooxygenase-2 (COX-2) through Toll-like receptor (TLR) 2. Interestingly, COX-2-mediated prostaglandin E2 (PGE2) production suppresses the anti-tumor immunity through EP4 receptor, thereby contributing to HCC progression. Moreover, COX-2 overexpression and excess PGE2 production were detected in HSCs in human HCCs with non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (NASH), indicating that a similar mechanism could function in humans. These results suggest that PGE2 and its receptor could be novel therapeutic targets for non-cirrhotic NASH-associated HCC.

#### References

Yoshimoto et al. Nature 499:97-101, 2013
Loo et al. Cancer Discovery, 7:522-538 2017

25G

# INPP4B is a tumor suppressor in the context of PTEN insufficiency by modulating the levels of PI3K lipid products Takehiko Sasaki, Hiroki Nakanishi, Satoshi Eguchi, and Junko Sasaki

(tsasaki@med.akita-u.ac.jp)

Department of Medical Biology Akita University Graduate School of Medicine, Akita, Japan

Phosphoinositides constitute an intricate metabolic network: combinatorial phosphorylation at the three hydroxyls on the inositol ring of phosphatidylinositol produces eight phosphoinositides (PIPs). These lipids can be interconverted by the activities of 19 kinases and 29 phosphatases [1]. Given the myriad functions of PIPs target proteins, it is not surprising that genetic mutations or alterations to the protein expression of PIPs kinases and phosphatases cause a variety of disorders. For instance, the inherited disease multiple hamartoma syndrome is caused by either germline heterozygous inactivating mutations in the PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> phosphatase *PTEN*, or germline activating mutations or amplifications of the PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub>-synthesizing enzyme *PIK3CA*. The patients show a predisposition to developing breast, thyroid, and endometrial cancers, presumably due to the deleterious effects of excessive intracellular PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub>, although formal experimental proof is lacking.

Inositol polyphosphate 4-phosphatase (INPP4) B has been identified as a tumor suppressor mutated in human cancers. The molecular mechanism underlying INPP4B's tumor-suppressive role is currently unknown. We demonstrate that INPP4B restrains tumor development by dephosphorylating the PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> that accumulates in situations of PTEN deficiency [2]. *In vitro*, INPP4B directly dephosphorylated PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub>, although it required a higher substrate concentration than did PTEN to exert its phosphatase activity. In sharp contrast to the severe neurodegeneration and immature death in *Inpp4a*-deficient mice [3], *Inpp4b<sup>-/-</sup>* mice had a normal lifespan and showed no gross tissue abnormalities. Interestingly, neither inactivation of *Inpp4b* nor heterozygous deletion of *Pten* (*Pten<sup>+/-</sup>*) in mice caused thyroid abnormalities, but a combination of these mutations induced malignant thyroid cancers with lung metastases. At the molecular level, simultaneous deletion of *Inpp4b* and *Pten* synergistically increased PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> phosphatase activity of INPP4B can function as a "back-up" mechanism when PTEN is deficient and thus PtdIns(3,4,5)P<sub>3</sub> is upregulated, making INPP4B a potential novel therapeutic target for PTEN-deficient or PIK3CA-activated cancers.

#### References

- [1] Sasaki T. et al., Prog Lipid Res, 48, 307-343, 2009
- [2] Kofuji S. et al., Cancer Discov, 5, 730-739, 2015
- [3] Sasaki J. et al., Nature, 465, 497-501. 2010

26G

# Lipoquality-mediated regulation of primary cilia dynamics Koji Ikegami<sup>1</sup>, Mitsutoshi Setou<sup>1</sup>

(kikegami@hama-med.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Cellular and Molecular Anatomy International Mass Imaging Center Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan

A primary cilium is an organelle protruding from cell surface of almost all cells in mammalian bodies. The primary cilium is usually formed during a quiescent, i.e. G0, stage of cell cycle, while it is resorbed when cells exit from G0 stage and disappears at mitotic stages. The primary cilium is rich in a phosphoinositide, phosphatidylinositol 4-monophosphate (PI(4)P), whereas poor in another phosphoinositide, phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PI(4,5)P2). A phosphoinositide 5-phosphatase, inositol polyphosphate 5-phosphatase E (Inpp5e), mediates the high level of PI(4)P and the lack of PI(4,5)P2 in primary cilium [1,2]. Loss of Inpp5e results in an abnormal accumulation of PI(4,5)P2 in primary cilium [1,2]. The loss of Inpp5e causes an increase in serum stimulation-dependent ciliary disassembly [3]. We have recently found that serum stimulation induces scission of primary cilium tip by means of time-lapse imaging of fluorescent protein-labeled primary cilia [4]. Serum stimulation changed phosphorylation states of phosphoinositide in primary cilium: the level of PI(4,5)P2 was increased by serum stimulation. Proteomics of the primary cilia tips severed by serum stimulation revealed preferential removal of IFT-B components and Inpp5e from cilia tip into the released tips. A component of IFT-B complex, Ift-81, accumulated into primary cilium and its tip by serum stimulation. Time-lapse imaging also revealed that cilia tip scission preceded cilia resorption. Blockade of PI(4,5)P2 accumulation by overexpression of cilia-targeting Inpp5e suppressed primary cilia shortening as well as cilia tip scission. Our findings demonstrate that "quality", i.e. phosphorylation state, of phosphoinositide regulates primary cilia dynamics.



Figure caption: Time-lapse imaging of scission of primary cilia tip.

## References

- [1] Chávez M et al. Dev Cell 34: 338-350, 2015.
- [2] Garcia-Gonzalo FR et al. Dev Cell 34: 400-409, 2015.
- [3] Jacoby M et al. Nat Genet 41: 1027-1031, 2009.
- [4] Phua SC et al. Cell168: 264-279, 2017.

## 27G

## Bespoke microscope using macrolens for wide-field nonlinear imaging Ranjeet KUMAR<sup>1</sup> and Akira SUDA<sup>1,2</sup>

(ranjeetkumar@rs.tus.ac.jp)

 <sup>1</sup> Imaging Frontier Center, RIST Tokyo University of Science, Chiba, Japan
<sup>2</sup> Department of Physics, Faculty of Science and Technology Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Simultaneous monitoring of bio-activities with high temporal resolution and spatial discrimination are key to understand the dynamics of implicitly complex biological system. In this context, two-photon laser scanning fluorescence microscopy (2P-LSM) has been widely used as gold-standard because of being non-invasive modality for tissue and cellular imaging resulting from its unique capability of fostering optical sectioning which comes inherently from quadratic dependence on photon-flux thus rejecting out-of-focus signal and deeper penetration [1]. However, variant of 2P-LSM are not well suited for live animal imaging due to motion induced artifacts, limited depth of penetration (1.7 mm) and FOV (~1mm<sup>2</sup>). This limitation is imposed due to a trade-off among various imaging parameters viz. objective numerical aperture, probe wavelength, inertia of scanning components, camera frame rate and optical aberrations etc. Extensive efforts are underway to enhance imaging volume with caveat of non-deteriorating spatio-temporal resolution using non-scanning methods [2] such as, spatio-temporal focusing [3], scanless 2PE based on selective plane illumination microscopy [4] etc. and many more have been reported for various biological applications. Wide-field bio-imaging through customized macroscopes has seen a renaissance because of extra-large FOV and less photo-bleaching, unlike 2P-LSM. For example, using custom made objective lens-Mesolens, a 3D imaging of 6x6x3 mm<sup>3</sup> mice embryos with sub-cellular lateral resolution of 0.7 µm and axial resolution at 7 µm (using NA of 0.47) [5], concurrent dynamic activity of thousands of neurons over millimeters of brain issue in task performing mice [6], a reproducible and simple wide-field imaging technique over large areas of the cortex in awake head-fixed mice for months etc. [7] are a few reports.

Aiming to extend further optical imaging area to several millimeters or centimeters, here we present a new bespoke imaging set-up designed around an upright Olympus BX50 microscope. To the best of authors' knowledge, this is the first demonstration of its kind using MVX 10 macrolens (Olympus). However, commercial microscope (MVPLAPO, from Olympus) equipped with a macrolens (1 X) having relatively inferior features (NA 0.25, magnification from 6.3 to 63) are already available and have been used for imaging of muscles fiber and nuclei of large samples (FOV 5.8x4.3 mm at a zoom factor of 1.25) [8]. Taking into account pixel size of sCMOS camera (ORCA Flash 2.8) to 3.63 $\mu$ m at full frame (1920x1440), magnification at 10X; we calculated the lateral resolution of system using relation 2\*(pixel size/objective magnification) and found it to be 0.7  $\mu$ m (ideally).

#### References

- W. Denk, J. H. Strickler, and W. W. Webb, "Two-photon laser scanning fluorescence microscopy," *Science* 248, 73-76 (1990).
- [2] Na Ji, J. Freeman, and S. L. Smith, "Technologies for imaging neural activity in large volumes," *Nature Neuroscience* **19**, 1154-1164 (2016).
- [3] D. Oron, E. Tal, and Y. Silberberg, "Scanningless depth-resolved microscopy," *Opt. Express* 13, 1468-1476 (2005).
- [4] J. Palero, S. I. C. O. Santos, D. Artigas, and P. Loza-Alvarez, "A simple scanless two-photon fluorescence microscope using selective plane illumination," *Opt. Express* 18, 8491-8498 (2010).
- [5] G. McConnell, J. Tragardh, R. Amor, J. Dempster, E. Reid, and W. B. Amos, "A novel optical microscope for imaging large embryos and tissue volumes with sub-cellular resolution throughput," *eLife* 5, 18659 (2016).
- [6] A. I. Mohammad, H. J. Gritton, H. Tseng, M. E. Bucklin, J. Yao, and X. Han, "An integrative approach for analysis hundreds of neurons in task performing mice using wide-field calcium imaging," *Scientific Reports* 6, 20986 (2016).
- [7] G. Silasi, D. Xiaoa, M. P. Vanni, A. C. N. Chen, and T. H. Murphy, "Intact skull chronic windows for mesoscopic wide-field imaging in awake mice," J. Neuroscience Methods 267, 141-149 (2016).
- [8] W. C. Puah and M. Wasser, "Live imaging of muscles in Drosophila metamorphosis: Towards high-throughput gene identification and function analysis," *Methods* 96, 103-117 (2016).

28

P01A

## P02A

## A spontaneously blinking fluorophore based on intramolecular spirocyclization for live-cell super-resolution imaging

Shin-nosuke Uno<sup>1</sup>, Mako Kamiya<sup>2, 3</sup>, Toshitada Yoshihara<sup>4</sup>, Ko Sugawara<sup>1</sup>, Kohki Okabe<sup>1</sup>, Takashi Funatsu<sup>1</sup>, Yasushi Okada<sup>5, 6, 7</sup>, Seiji Tobita<sup>4</sup>, Yasuteru Urano<sup>1, 2, 7</sup> (suno@m.u-tokyo.ac.jp)

<sup>1</sup>Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo, Tokyo, Japan., <sup>2</sup>Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan. <sup>3</sup>JST, PRESTO, Saitama, Japan, <sup>4</sup>Faculty of Science and Technology, Gunma University, Kiryu, Japan, <sup>5</sup>Graduate School of Science, The University of Tokyo, Tokyo, Japan. <sup>6</sup>Quantitative Biology Center, RIKEN, Suita, Japan, <sup>7</sup>AMED CREST, Tokyo, Japan

Single-molecule localization microscopy (SMLM) is used to construct super-resolution images by repeated detection and high-precision localization of individual fluorophores. However, to achieve an initial dark state and subsequent blinking of conventional fluorophores for SMLM, additives such as thiols, an oxygen scavenging system, and high-intensity laser irradiation prior to measurement are needed, and these requirements are unfavorable for live-cell imaging. From this point of view, fluorophores that spontaneously blink in the absence of any additive and without the need for special conditions are highly desirable. Herein, we report a new class of spontaneously blinking fluorophore, utilizing intramolecular spirocyclization, which is suitable for live-cell SMLM without additives or special conditions. We focused on the phenomenon that rhodamine derivatives bearing an intramolecular nucleophile exist in thermal equilibrium between a fluorescent open form and a non-fluorescent spirocyclic form in the ground state. In order to utilize this thermal equilibrium to achieve spontaneous fluorescence blinking suitable for SMLM, we optimized two parameters, an equilibrium constant of intramolecular spirocyclization (pKcycl) and a lifetime of the open form (the duration until the open form reverts to the closed form,  $\tau$ ) by changing intramolecular nucleophiles and/or fluorophores (electrophiles). Among synthesized rhodamine candidates, we selected **HMSiR**, which has the  $pK_{cycl}$  value of 5.8 and the life time of 245 ms. HMSiR exists in almost non-fluorescent at pH 7.4 and the fluorescent state lasts for several camera frames to enable detection of sufficient photons for accurate localization. Next, we performed SMLM of RecA filaments polymerized on a plasmid DNA in vitro using HMSiR. The super-resolution image of RecA filaments revealed their circular structure with greatly increased spatial resolution compared with the projection image. Then, we performed live-cell SMLM of microtubules in HeLa cells with HMSiR. β-Tubulin-SNAP was expressed and labeled with benzylguanine derivative of HMSiR, and SMLM was carried out in culture medium after washing. Spontaneous blinking of HMSiR was observed in the absence of any additive in the intracellular environment and microtubule structures were successfully constructed at far higher resolution than the projection image. In conclusion, HMSiR can be used for live-cell SMLM without the any additive and high-intensity laser irradiation to convert the fluorophore to the dark state. Thus, SMLM with HMSiR has substantial advantages over existing methodology for super-resolution imaging in live cells.

#### References

[1] Uno, S. et al. Nat. Chem. 6, 681-689 (2014).

## Adaptive control of two-photon excited fluorescence and photobleaching using a two-dimensional spatial light modulator Shigeru HONDA<sup>1</sup>, Satoshi MAESAKO<sup>1</sup>, Naoto KAMIYAMA<sup>1</sup>, and Akira SUDA<sup>1,2</sup>

(6217621@ed.tus.ac.jp)

 <sup>1</sup> Department of Physics, Faculty of Science Technology Tokyo University of Science, Chiba, Japan
<sup>2</sup> Imaging Frontier Center, RIST Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Photobleaching of fluorescent molecules degrades proper measurement and efficient image acquisition. In order to improve the fluorescent observation, the spectrum of the excitation laser pulse is modulated using a liquid-crystal spatial light modulator (SLM) eliminating photobleaching. Excited-state absorption (ESA) is considered as one of the causes of photobleaching in two-photon excitation [1],[2]. If the ESA causing photobleaching is based on one-photon absorption process, it can be eliminated by spectral amplitude modulation of the excitation laser pulse. On the other hand, two-photon excited fluorescence (TPEF) intensity depends on both spectral phase and amplitude. Therefore, one can control TPEF and ESA-based photobleaching through the spectral phase and amplitude modulation of the excitation laser pulse. The spectral phase of the excitation laser pulse can be modulated in the frequency domain using a 4-*f* pulse shaper with SLM. Both spectral phase and amplitude using a two-dimensional reflective SLM. By applying a phase grating pattern and modulating the depth of the grating, the diffraction efficiency of each spectral component can be controlled [3].

The experimental setup was based on a home-built two-photon excitation microscope. The excitation laser pulse was generated by a Ti:sapphire mode-locked laser (Venteon Pulse: One UB) with a spectrum ranging from 650 nm to 1200 nm. The repetition rate was 150 MHz and the average output power was 200 mW. Our 4-f pulse shaper was comprised of an isosceles Brewster prism (BK7), a cylindrical mirror (f=254 mm) and an LCOS-SLM (Boulder Nonlinear Systems P512), which has 512×512 pixels with a pixel size of 15 µm. Dispersion caused by the optical elements was compensated for by using a pair of chirped mirrors (~50 fs²/bounce x 48 bounce). The excitation laser was focused on a fluorescent sample through an objective lens (Olympus UPLSAPO40X). The average power on the sample was 8 mW. The fluorescence signal was detected in the backward direction using a photomultiplier tube. EGFP was dissolved in HEPES NAOH buffer, whose concentration was 50 mM and pH was 7.4. The solution was mixed with Mowiol at a ratio of 1:7 and dried with a refrigerator. This is to suppress sample diffusion. In order to use unbleached fluorescent molecules, the samples were slid horizontally by a three-dimensional electrical stage after each exposure. The exposure time of the excitation laser was controlled by an electrical shutter to be 200 ms, which was long enough to detect a decrease in fluorescence intensity due to photobleaching. Fluorescence intensity was recorded at a PC and fluorescence decay was automatically evaluated by linear regression fitting. In order to increase the TPEF, the spectral phase of the excitation laser was modulated by the horizontal direction on the 2D-SLM. In order to reduce photobleaching, the spectral amplitude was modulated by a rectangular phase grating depicted in the vertical direction on the 2D-SLM. The modulation depth was controlled by a simulated annealing algorithm. The results of the experiment will be presented at the symposium.

#### References

[1] A. Suda, H. Takahashi, and K. Toda, "Nonlinear Fourier-transform spectroscopy using ultrabroadband femtosecond pulses for the measurement of photobleaching of fluorescent proteins," *Ultrafast Phenomena XIX*, 543-546 (2015).

[2] G. H. Patterson and D. W. Piston, "Photobleaching in two-photon excitation microscopy," *Biophys. J.* 78, 2159-2162 (2000).

[3] J. C. Vaughan, T. Hornung, T. Feurer, and K. A. Nelson, "Diffraction-based femtosecond pulse shaping with a two-dimensional spatial light modulator," *Opt. Lett.* **30**, 323-325 (2005).

30

## P03A

## Background-free deep imaging by multiphoton excited fluorescence microscopy using modulation techniques

Keisuke Isobe<sup>1,2</sup>, Kana Namiki<sup>3</sup>, Hiroyuki Kawano<sup>3</sup>, Atsushi Miyawaki<sup>1,3</sup>,

# and Katsumi Midorikawa<sup>1</sup>

# (keisuke.toda@riken.jp)

<sup>1</sup> RIKEN Center for Advanced Photonics, Wako, Saitama, Japan

## <sup>2</sup>JST, PRESTO, 4-1-8 Honcho, Kawaguchi, Saitama, , Japan

### <sup>3</sup>Laboratory for Cell Function Dynamics, RIKEN Brain Science Institute, Wako, Saitama, Japan

Multiphoton excited fluorescence (MPEF) microscopy has become a powerful tool for investigating biological phenomena because of its inherent advantages, including three-dimensional resolution without a confocal pinhole, high penetration depth with near-infrared light excitation, and reduced out-of-focus photon-induced damage and photobleaching. Especially, MPEF microscopy benefits from the ability to image deeper within samples than confocal fluorescence microscopy, when near-IR excitation in the range for maximum optical transparency in biological systems is employed. Nonetheless, deep imaging is intrinsically difficult because the excitation light is attenuated by scattering and absorption in the sample. The signal intensity in the focal region can be maintained by compensating the reduced excitation power causes an increase in background signals, which include fluorescent signals generated in the out-of-focus regions. This background limits the maximum imaging depth inside a highly scattering sample [1].

In this talk, we will present deep imaging techniques that enable the rejection of the out-of-focus

background and enhance the three-dimensional spatial resolution in MPEF [2]. By spatially and temporally controlling the interaction between light and molecules, the fluorescence intensity can be modulated only near the focal plane. Since the fluorescence intensity at the out-of-focus region is not modulated, we can reject the out-of-focus backgrounds by extracting the modulation signal. Figures 1 (a) and (b) show the two-photon fluorescence images of a fixed mouse brain tissue expressing an YFP in a subpopulation of neurons obtained conventional two-photon by excited fluorescence microscopy and modulation microscopy, respectively. The transparency of a fixed tissue is much lower than that of a living tissue. However, we could extend the imaging depth limit by using modulation microscopy.

#### References

[1] P. Theer and W. Denk, "On the fundamental imaging-depth limit in two-photon microscopy," J. Opt. Soc. Am. A **23**, 3139–3149 (2006).

[2] K. Isobe, H. Kawano, T. Takeda, A. Suda, A. Kumagai, H. Mizuno, A. Miyawaki, and K. Midorikawa, "Background-free deep imaging by spatial overlap modulation nonlinear optical microscopy," Biomed. Opt. Express **3**, 1594–1608 (2012).



Fig. 1. Fluorescence images of a fixed mouse brain tissue obtained by (a) conventional TPEF microscopy and (b) modulation microscopy.

## P04A
# Growth cones in 3D culture have different structural dynamics from those in 2D culture

# Ryota NEGISHI<sup>1,2</sup>, Shingo KOINUMA<sup>1</sup>, Naoyuki WADA<sup>2</sup>, and Takeshi NAKAMURA<sup>1,3</sup> (6413084@alumni.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
 <sup>2</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
 <sup>3</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

During development of the nervous system, newborn neurons extend neurites their appropriate targets. At the neurite tips, growth cones integrate various guidance cues and regulate the rate and direction of the neurite outgrowth. In an ordinary two-dimensional culture, growth cones take a fan-like shape and their peripheries consist of actin-rich structures, filopodia and lamellipodia. In contrast, previous studies have shown that under in vivo (three-dimensional) situations, growth cones appear remarkably different structure from 2D counterparts. Some 3D growth cones are simple and have less filopodia without lamellipodia. This leads to a question whether or not the same molecular mechanism regulates structural dynamics of 2D and 3D growth cones. However, at present, we do not have an enough information about the detail of structural dynamics of 3D growth cones; this is mainly due to the technical limitations such as low spatial resolution and very low signal-to-noise ratio. To overcome these difficulties, we tried to image a dynamical behavior of growth cones of primary cultures and neuronal cell lines which grew in a two- or three-dimensional environment using confocal microscope. In neuronal cell lines such as PC12 cells, we used green fluorescent protein harboring the C-terminus of K-Ras to visualized the plasma membrane. In primary cultures such as dorsal root ganglion neurons, cells were stained with CellMask. If necessary, Lifeact-mCherry was co-expressed to visualize F-actin structure. Thereafter we processed raw Images and constructed stereoscopic structures. Overall structure of three-dimensional growth cones was dissimilar to that of two-dimensional growth cones. Typical three-dimensional growth cones look like harpoons having several filopodia, while typical two-dimensional growth cones were a fan-shape and have well-developed lamellipodia. Their speed of extension was almost comparable. Now we are starting a morphometrical analysis based on a MATLAB software to perform a more quantitative comparison between 2D growth cones and 3D growth cones.

## P05B

# Real-time imaging of accumulating Pi dissociated from single-molecule enzymes by phosphate-binding protein encapsulated in droplet arrays Akane Kumayama<sup>1</sup>, Taisuke Inage<sup>1</sup>, Masayuki Higuchi<sup>1</sup>, Kazuhito Tabata<sup>2</sup>, Hiroyuki Noji<sup>2</sup> and Tomoko Masaike<sup>1,3</sup>

(tmasaike@rs.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>2</sup> Department of Applied Chemistry, School of Engineering The University of Tokyo, Tokyo, Japan <sup>3</sup> Imaging Frontier Center Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Detection of inorganic phosphate (Pi) is a key to elucidating mechanisms of enzymes such as phosphatases and nucleotide-hydrolyzing enzymes. Conventional Pi quantification methods such as an end-point assay followed by a color reaction are robust but sometimes disadvantageous because of low temporal resolution. This problem had been overcome by introducing phosphate binding protein (PBP) in real-time Pi measurements. PBP changes its conformations upon binding of Pi<sup>[1]</sup>, and concomitant increase in fluorescence intensity of probes on PBP was utilized for determination of P<sub>i</sub> concentration<sup>[2][3]</sup>. Nevertheless, submicromolar sensitivity of these bulk-phase measurements was still insufficient for detection of P<sub>i</sub> release from single-molecule enzymes.

Here we applied the PBP method to a new "digital" assay of Pi which realizes higher sensitivity by an improved lower limit of detection using femtoliter droplet chamber arrays<sup>[4]</sup>. Diluted P<sub>i</sub>-dissociating enzymes of interest were encapsulated in arrayed droplet chambers together with fluorescently labeled PBP (FL-PBP) (Fig. 1), and accumulation of Pi in each chamber was captured through the increase in fluorescence intensity under the optical microscope.

The first demonstration of single-molecule enzyme assay using this system is F1-ATPase, a motor protein hydrolyzing ATP. Histograms of the increase in fluorescence intensity of chambers showed multiple peaks. Area of each peak estimated by multiple Gaussian fits obeyed Poisson distribution, which supported stochastic encapsulation of small numbers of F1-ATPase molecules. Moreover, each peak reflected a rate of Pi accumulation catalyzed by one, two, or three F1-ATPase molecules which were consistent with bulk-phase ATPase activity measured by the ATP regenerating system. Thus, measurements of P<sub>1</sub> released from single F<sub>1</sub>-ATPase molecules are now achieved with a high sensitivity below a hundred picomolar range.

In summary, femtoliter FL-PBP droplet chambers enable digital counting of the enzymes, and allow real-time measurements of Pi-dissociating activity of single enzymes. This assay is expected to become a powerful tool for real-time P<sub>i</sub> detection in high sensitivity, and we are testing this system for other P<sub>i</sub>-dissociating enzymes.



setup for Pi detection by fluorescently labeled PBP in droplet chamber arrays

#### References

[1] Gonçalves, M. B., Dreyer, J., Lupieri, P., Barrera-Patiño, C., Ippoliti, E., Webb, M. R., Corrie, J. E. T. and Carloni, P. Phys. Chem. Chem. Phys., 2013, 15, 2177-2183

33

- [2] Okoh, M. P., Hunter, J. L., Corrie, J. E. T. and Webb, M. R. Biochemistry, 2006, 45, 14764-14771
- [3] Brune, M., Hunter, J. L., Howell, S. A., Martin, S. R., Hazlett, T. L., Corrie, J. E. T. and Webb, M. R. Biochemistry, 1998, 37, 10370-10380
- [4] Sakakihara, S., Araki, S., Iino, R. and Noji, H. Lab Chip, 2010, 10, 3355-3362

## P06B

# Development of the Near-infrared Laser-induced Surface Deformation (NIR-LISD) Microscope Toshinori Morisaku<sup>1</sup> and Hiroharu Yui<sup>1,2</sup> yui@rs.kagu.tus.ac.jp

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan
 <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Viscoelastic properties of plasma membranes in single living cells play a crucial role for tissue morphogenesis and cancer metastasis [1]. Conventionally, they have been measured using atomic force microscope, glass micropipette aspiration, and beads tracking [2]. However, by their contact manners, it is impossible to measure the viscoelastic properties of plasma membranes in cells buried into biological tissues. In addition, their measurements have been limited to the application of an external force with a given frequency. We have developed the laser-induced surface deformation (LISD) microscope that enables us to measure the dynamic viscoelastic properties of plasma membranes in single cells with a noncontact manner [3]. However, in the LISD microscope, a visible laser (532 nm) has been used as a pump beam. It is expected that the measurements of cells buried into tissues with the visible laser are difficult because of its strong scattering from biological tissues. Here, with the aim of measuring the viscoelastic properties of plasma membranes in single cells buried into biological tissues, we newly developed the LISD microscope where a near-infrared (NIR) laser was used as a pump beam, namely NIR-LISD microscope.

In the LISD measurements, light pressure of a pump beam induced the deformation of plasma membranes. The membranes were forced to oscillate by the periodic control of the pump beam intensity by acousto-optic device (AOM). The dynamic response of the deformation of the membranes depends on their viscoelastic properties. We monitored it by the changes in the photon density of a probe beam reflected from the deformed membranes. As the wavelength of the pump beam, we used 800 nm, where the absorption of water is minimum in the near-infrared region. The diameter of the pump beam was  $4-5 \mu m$  at the focal plane.

As a test cell, we measured keratinocyte, which has developed keratin filament networks. From the NIR-LISD power spectra of single keratinocytes, we observed the following three different regions regarding the change in the signal intensity to the modulation frequency of pump beam intensity: the region where little intensity was changed (~2 kHz), the region where intensity was decreased as the increase in modulation frequency (2 kHz~40 kHz), and the region where the slope of the intensity to the frequency was  $-2 (\geq 40 \text{ kHz})$ . The third region corresponds to one where the displacement induced by the pump beam was buried into that by thermal fluctuation of surface [4]. The spectra observed by the NIR-LISD microscope were similar to those by the previous LISD one, indicating that the NIR-LISD microscope enabled us to measure the dynamic viscoelastic properties of plasma membranes in single living cells. The newly developed NIR-LISD microscope will be a useful tool for the measurements of the viscoelastic properties of cells buried into biological tissues.

#### References

- [1] D. Wirtz, et al., Nat. Rev. Cancer 11, 512–522 (2011).
- [2] E. M. Reichl, et al., Trends Cell Biol. 15, 200-206 (2005).
- [3] T. Morisaku and H. Yui, 25th Annual Meeting of the Materials Research Society of Japan (MRS-J) (2015) (Invited).
- [4] E. Helfer, et al., Phys. Rev. Lett. 85, 457-460 (2000).

### P07B

# Development of the Time-domain Laser-induced Surface Deformation (TD-LISD) Microscope Ryo Bando<sup>1</sup>, Toshinori Morisaku<sup>1</sup>, and Hiroharu Yui<sup>1,2</sup> yui@rs.kagu.tus.ac.jp

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan
 <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Viscoelasticity of plasma membranes in a cell has attracted considerable attention due to the fact that it is related to various cell activities such as migration [1]. Since membrane skeletons and cytoskeletons, which closely contribute to the expression of the viscoelasticity, are inhomogeneously distributed over a cell, the imaging of the viscoelasticity over a cell has been required. At present, atomic force microscope (AFM) has been used for the measurements of dynamic viscoelasticity of plasma membranes [2]. However, the upper limit of the frequency of applied external forces for the AFM measurements is  $\sim 10^3$  Hz. In addition, ones need about 10 minutes for imaging the viscoelasticity over a cell. Since various cellular dynamics such as migration occur at the scale from milliseconds to seconds, the development of a new method for measurements of dynamic viscoelasticity of plasma membranes on the time-scale is desired. We have developed the LISD microscope that enables us to measure the dynamic viscoelasticity in a cell in the frequency range up to  $10^6$  Hz [3]. However, in the microscope, we needed about 20 minutes to acquire a power spectrum at a single point because of the sequential modulation of the intensity in a continuous beam for frequency sweep. Here, for imaging the dynamic viscoelasticity over a cell at a second scale, we developed the time-domain LISD (TD-LISD) microscope where power spectra were obtained without frequency sweep by the use of a pulse beam as a method for surface deformation.

In the TD-LISD measurements, a Nd: YAG laser (pulse width: 10 ns, wavelength: 532 nm, repetition frequency: 10 Hz, output: 5 mW) (pump beam) was focused onto a sample surface for its deformation. The relaxation response of the deformation was monitored by the temporal changes in the photon density of a probe beam (633 nm, 30 mW) transmitted from the deformed surface. The measured temporal waveform was Fourier-transformed for the acquisition of a corresponding power spectrum. As a test, we measured tetradecane.

By the irradiation of the pump beam onto a tetradecane surface, the signal intensity of the probe beam was decreased for about 2  $\mu$ s, followed by the recovery of the intensity for about 13  $\mu$ s. The decrease in the intensity showed the decrease in the photon density of the probe beam due to the surface deformation and the recovery did the relaxation of the deformed surface. The power spectrum acquired by the Fourier-transformation of the measured temporal waveform contained the following three regions: the region where little intensity was changed (5 kHz–30 kHz), the region where intensity was decreased as the increase in frequency (30 kHz–200 kHz), and the region where the slope of intensity to frequency was –2 (200 kHz–400 kHz). The third region corresponds to one where the displacement induced by the pump beam was buried into that by the previous LISD one where power spectra were obtained by frequency sweep. In addition, the accumulation time for the acquisition of the waveform with adequate signal-to-noise ratio was about 40 s, indicating the TD-LISD microscope allowed us to acquire a power spectrum about 30 times faster compared with the previous LISD one. The developed TD-LISD microscope will have a potential for the imaging of the dynamic viscoelasticity over a cell at a second scale.

#### References

E. Moeendarbary, et al., Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Bio. Med., 6, 371–388 (2014).
 F. M. Hecht, et al., Soft Matter, 11, 4584–4591 (2015).
 T. Morisaku, H. Oonuki, E. Oyama, and H. Yui, 76th Symposium of the Japan Society for Analytical Chemistry (2016).
 E. Helfer, et al., Phys. Rev. E., 63, 021904 (2001).

35

## P08B

# Mechanism of Rab5 activation/inactivation on EGF-induced macropinosome So MORISHITA<sup>1</sup>, Naoyuki WADA<sup>2</sup>, Mitsunori FUKUDA<sup>3</sup>, and Takeshi NAKAMURA<sup>1,4</sup>,

(tnakamr@rs.noda.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>2</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>3</sup> Department of Developmental Biology and Neurosciences, Graduate School of Life Sciences, Tohoku University, Miyagi, Japan <sup>4</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Macropinocytosis is one of clathrin-independent endocytosis processes and makes  $0.2 - 10 \mu m$  vacuoles induced by growth factors and activated oncogenes. In recent years, macropinocytosis is regarded as not only a system for taking an extracellular fluid into the cell non-selectively but also a variety of pathways which are used for neuritic regression and bacterial infection. Rab5 GTPase regulates fusion, transport, maturation on early endosome. However, our understanding of the mechanism that regulates spatiotemporal change of Rab5 activity during macropinocytosis is still In this study, we examined a mechanism of Rab5 limited. activation/inactivation on EGF-induced macropinosome with a FRET biosensor. Rab5 and Rab7 are recruited to macropinosome almost simultaneously. The recruitment and activation of Rab5 were occurred simultaneously, whereas Rab7 is activated gradually. Depletion of ALS2, a one of Rab5 GEFs, prevented Rab5 activation on macropinocytosis. However, depletion of Rin1, which was previously regarded as a Rab5 GEF acting on macropinosome, does not affect Rab5 activation on macropinosomes. Interestingly, in Rab7- or Ccz1-depleted cells, Rab5 activation on macropinosome significantly persisted than control. Consistently with the lasting Rab5 activation, the retention time of ALS2 on macropinosomes prolonged in the absence of active Rab7. These results indicate that Rab5 inactivation depends on active Rab7.

# Optimization of biosensor and condition for FRET time-lapse imaging under two-photon excitation systems.

# Kohei TAKEUCHI<sup>1,2</sup>, Motonori SUGIZAWA<sup>1,3</sup>, Kyo TANAKA<sup>1</sup>, Akira SUDA<sup>2,3</sup>, and Takeshi NAKAMURA<sup>1,3</sup>

### a28094@rs.tus.ac.jp

<sup>1</sup> Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
 <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
 <sup>3</sup> Department of Physics, Faculty of Science and Technology, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Biosensors based on the principle of Föster resonance energy transfer (FRET) are useful for monitoring the spatiotemporal dynamics of signaling molecules. The biosensors developed for One-photon excitation systems. Two-photon excitation systems enable us to observe cellular events at deep position of tissues. However, to perform FRET imaging under Two-photon excitation systems remains challenging. Photo-bleaching is one of the matters to make difficult to perform FRET imaging by Two-photon excitation systems. The photo-bleaching is caused by overlap of Two-photon excitation spectra of fluorescent proteins which are different from One-photon. While pairs of cyan and yellow fluorescent proteins (CFP and YFP) are commonly used as FRET partner fluorophores, green and red fluorescent protein (GFP and RFP) offer distinct advantages for FRET, such as spectral separation, less phototoxicity. We identified fluorescent proteins, mRubyII and mNeonGreen or Clover show minimal overlap of excitation spectra. So we modified existing CFP and YFP paired c-jun N-terminal kinase (JNK) targeting biosensors to make mNeonGreen or Clover and mRubyII paired biosensors as an example. The biosensors were transfected into HeLa cells to perform time-lapse FRET imaging. The GFP and RFP paired biosensors detected JNK activity at 860-930 nm under Two-photon excitation systems. 860 nm excite little the RFP however it need to make the laser power strong to gain enough signals of the biosensors. Therefore it is possible that the cells experience light induced damage while 930 nm is reverse. To decide optimal condition, the JNK activity detected GFP and RFP paired biosensors were identified FRET efficiency and degree of decrease in fluorescent intensity at several wave length, laser power and exposure time respectively.

#### References

[1] Komatsu N, Aoki N, Yamada M, Yukinaga H, Fujita Y, Kamioka Y, Matsuda M (2011). Development of an optimized backbone of FRET biosensors for kinases and GTPases. Mol Biol Cell 22, 4647-56.

[2] Tao W, Rubart M, Ryan J, Xiao X, Qiao C, Hato T, Davidson MW, Dunn KW, Day RN (2015). A practical method for monitoring FRET-based biosensors in living animals using two-photon microscopy. Am J Physiol Cell Physiol 309, C724-35.

[3] Lam AJ, St-Pierre F, Gong Y, Marshall JD, Cranfill PJ, Baird MA, McKeown MR, Wiedenmann J, Davidson MW, Schnitzer MJ, Tsien RY, Lin MZ(2012). Improving FRET dynamic range with bright green and red fluorescent proteins. Nat Methods 9, 1005-12.

#### P10B

# Chromatin live imaging with transcription activator-like effector in plant Satoru Fujimoto, Sachihiro Matsunaga

sfujimt@rs.tus.ac.jp

Department of Applied Biological Science Faculty of Science and Technology Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) has been widely used to detect DNA distribution in nuclei and on chromosomes. However, FISH provides only a snapshot of subnuclear dynamics because it requires the fixation of cells. Moreover, in the case of plants, usually the cells are macerated before FISH because of the rigid cell walls, so tissues are no longer preserved.

We established transcription activator-like effector (TALE) based method for labeling specific DNA sequences in plants. We designed TALEs for endogenous repetitive genomic sequences in *Arabidopsis thaliana*. Then, the TALEs were fused with fluorescent proteins enabling us to follow the intranuclear positioning of the chromosome loci. We have successfully visualized 180-bp centromeric repeat, telomere and rDNAs in Arabidopsis nuclei. Using this TALE-fluorescent protein (TALE-FP) system, specific signals can be detected without disturbing the tissue structure [1]. This method will provide important insight into our understanding of chromatin organization of living plant cell.



Figure 1. Principle of TALE-FP

#### Reference

[1] Fujimoto S, Sugano SS, Kuwata K, Osakabe K, Matsunaga S. Visualization of specific repetitive genomic sequences with fluorescent TALEs in *Arabidopsis thaliana*. J. Exp. Bot. 2016;67(21): 6101-10.

# Cell biological dissection of guard cells of clustered stomata induced by sucrose solution immersion in *Arabidopsis thaliana*

## Kae AKITA<sup>1</sup>, Takumi HIGAKI<sup>1, 2</sup> and Seiichiro HASEZAWA<sup>1</sup>

(kae.akita@edu.k.u-tokyo.ac.jp)

<sup>1</sup> Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, Chiba, Japan
<sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

The spatial distribution of plant stomata is a model system to study epidermal cell pattern formation. Molecular genetic approaches have identified several key genes required for stomatal distribution patterning, but environmental conditions that perturb the stomatal spacing distribution have not yet been identified. We found that immersing hydroponic cultures in 1-5% sucrose solution induced abnormally clustered stomata in the cotyledons of Arabidopsis seedlings [1]. Clustered stomata were also induced by treatment with glucose or fructose solution but not by mannitol solution, suggesting that osmotic stress was not a cause of the disturbed stomatal patterns. Stomatal lineage cell-specific enhancer trap lines revealed that the sugar solution treatment led to ectopic expression of stomatal lineage cell-specific genes in non-stomatal lineage cells. Aniline blue staining also showed that there was reduced deposition of callose, a plant cell wall component, in new cell walls during formation of stomatal precursor cells (meristemoids). These results suggested that the immersion treatment with sugar solution permitted ectopic guard cell differentiation through dysfunction of the cell wall dividing stomataland non-stomatal lineage cells. To reveal property of the clustered guard cells cultured in sucrose solution, we next focused on intracellular structure characteristics of the guard cells. Guard cells have distinct intracellular features such as (1) elongated cortical microtubules from ventral to dorsal side of the cell, resulting in radially orientation and (2) ventral thick cell wall, which are were identified by stained with a lipophilic dye, Nile red. These cell biological features were confirmed in clustered guard cells same as normal guard cells. However, chloroplast became lager and deformed in sucrose condition compared to sugar-free guard cells. Transmission electron microscopy showed that deformed chloroplast had giant starch. To uncover the effects of sucrose solution immersion on the ability of stomatal movement, we used fusicoccin for stomatal opening. Fusicoccin-induced stomatal opening occurred regardless of the guard cell position in the stomatal cluster.

#### References

[1] Akita, K., Hasezawa, S. and Higaki, T. (2013) Breaking of plant stomatal one-cell-spacing rule by sugar solution immersion. *PLoS ONE*, 8, e72456.

## P12C

# Characterization of the initiation of somatic embryogenesis in *Arabidopsis* shoot apical tip Satoshi KADOKURA<sup>1</sup>, Kaoru SUGIMOTO<sup>1</sup>, and Sachihiro MATSUNAGA<sup>1</sup>

(kenkyuyou.kadokura@gmail.com)

<sup>1</sup>Department of Applied Biological Science, Faculty of Science and Technology, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan

It is well-known that plant cells are more plastic than animal cells, but the mechanisms that explain why plant has high plasticity are not clear. Somatic embryogenesis is one of the best examples that demonstrate the high plasticity of plant. During this process, differentiated somatic cells dedifferentiate and acquire the ability to form embryo, that is, to regenerate an entire plant. In *Arabidopsis*, the most commonly used tissue source for inducing somatic embryo (SE) is zygotic embryo taken from silique (Figure 1). Zygotic embryos are cultured to form embryonic callus and the SE is subsequently induced from it. Several other types of tissues also have been reported to form SE under proper culture conditions. One of those tissues is shoot apical tip, which is cultured and injured by osmotic stress (Figure 2). In this SE induction system, the cells in the shoot apical tip change their fate from shoot to embryo, demonstrating the plasticity of plant more clearly than the embryo-to-embryo induction system written above. However, which cells of the shoot apical tip give rise to embryo and how the morphology and gene expression of those cells change during SE induction are completely unknown. To elucidate the mechanisms by which plant cells reprogram themselves into embryonic, we are now characterizing the SE formation from shoot apical tip. As the first step, we are observing the expression of several fluorescent markers, such as hormone transporter, apical meristem genes, and embryo-related genes, in the explants using two-photon excitation microscopy.



Figure 1. SE-induction system from embryo



Shoot apical meristem



Seedling

Figure 2. SE-induction system from shoot apical tip

#### References

- [1] Ikeda-iwai et al. (2003) Plant Journal 34, 107-114
- [2] Su et al. (2009) Plant Journal 59, 448-460
- [3] Su et al. (2015) Frontier in Plant Science 5, 792

#### P13C

# Arabidopsis thaliana FLO2 is involved in efficiency of photoassimilate translocation, which associates with leaf growth and aging, yield of seed, and seed quality. Miho KIHIRA<sup>1</sup>, Kazushi TANIGUCHI<sup>2</sup>, Chihiro KANEKO<sup>1</sup>, Yohei ISHII<sup>1</sup>, Hiromi AOKI<sup>2</sup>, Atsushi KOYANAGI<sup>1</sup>, Hiroaki KUSANO<sup>3</sup>, Nobuo SUZUI<sup>4</sup>, Yong-Gen YIN<sup>4</sup>, Naoki KAWACHI<sup>4</sup>, Shu FUJIMAKI<sup>5</sup> and Hiroaki SHIMADA<sup>1</sup>

(miho8313702@gmail.com, shimadah@rs.tus.ac.jp) <sup>1</sup> Department of biological Science and Technology Tokyo University of Science, Tokyo, Japan <sup>2</sup>Biomass Engineering Research Division RIKEN Center for Sustainable Resource Science, Wako, Japan <sup>3</sup>Research Institute for Sustainable Humanosphere Kyoto University, Kyoto, Japan <sup>4</sup> Takasaki Advanced Radiation Research Institute Quantum Beam Science Research Directorate, Takasaki, Japan National Institute for Quantum and Radiological Science and Technology <sup>5</sup>Department of Management and Planning, National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology, Chiba, Japan

FLO2, (FLOURY ENDOSPERM 2), is highly conserved in higher plants, and rice FLO2 has been predicted to be involved in regulation of storage substance accumulation. We analyzed the function of Arabidopsis thaliana FLO2 (AtFLO2) because A. thaliana set structurally different seeds from those of rice. Although the flo2 mutant of A. thaliana showed normal germination, inflorescence and morphogenesis of flowers, peculiar phenotypes on leaves and siliques were observed, suggesting that this gene played important roles both during vegetative and reproductive stages. The mutant leaves showed decrease of chloroplast numbers, and increased total biomass with faster growth. When grown in the high luminous intensity condition, it was observed that aging events were induced. The flo2 mutant depressed transportation of photassimilates into the sink organs. In the reproductive stage, the *flo2* mutant showed significantly small size siliques, invoking a reduced yield of seeds. These seeds were structurally weak, and quality of seeds was significantly lowered with reduction of seed storage accumulation. A positron-emitting tracer imaging system (PETIS) analysis detected the decreased amount of the photoassimilate transport in the *flo2* mutant. Therefore, it was performance of translocation or transportation of the photoassimilates. Our observation suggests that AtFLO2 is strongly involved in regulation of translocation and transport of assimilates, and deeply contributes to quality control on the various processes involving substance supply or transfer, such as photoassimilation, leaf enlargement, yield of seeds in a silique, and accumulation of seed storage substances.



## P14C

## Stain-Free Imaging of Plant Tissues with Stimulated Raman Scattering Microscopy <u>Kenji HASHIMOTO</u><sup>1</sup>, Takuya ASAI<sup>2</sup>, Shigeru HANAMATA<sup>1,3</sup>, Junpei SAWADA<sup>1</sup>, Yasuyuki OZEKI<sup>2</sup>, Kazuyuki KUCHITSU<sup>1,3</sup> kenji.hashimoto@rs.tus.ac.jp

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan
<sup>2</sup> Department of Electrical Engineering and Information Systems, University of Tokyo, Tokyo, Japan
<sup>3</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan

Stimulated Raman scattering (SRS) microscopy is a method to obtain the spatial distributions of various constituents by detecting their characteristic molecular vibrations. Our high-speed SRS microscope [1] enables the image acquisition with molecular vibrational spectra in the CH-stretching region (2,800 to 3,100 cm<sup>-1</sup>) within only three seconds, and is expected to be widely useful in medical diagnoses and biological researches. To examine the application of the imaging system to plant studies, we analyzed tissues and cells from several plant species, a rice (*Oryza sativa*), the tobacco cell line BY-2 (*Nicotiana tabacum*) and a liverwort (*Marchantia polymorpha*). Intracellular and extracellular distribution of biological constituents (e.g., fatty acids, starch granules and phenolic metabolites) was distinctively visualized without any staining processes. These results are shown in the poster, and their biological implications as well as prospects for further application of the high-speed SRS imaging to plant sciences will be discussed.

#### Reference

 [1] Ozeki et al. (2012) High-speed molecular spectral imaging of tissue with stimulated Raman scattering, Nature Photonics 6:845-851.

P15C

#### Molecular mechanism of centromere distribution in *Arabidopsis* Takuya Sakamoto, Yuki Sakamoto, Tomoe Yamashita, Yuka Oko, Sachihiro Matsunaga (sakataku@rs.tus.ac.jp)

Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

There are two patterns for centromere distribution in interphase nuclei among eukaryotes. Centromeres clustered at one side of nuclear poles with reflecting the anaphase chromosome arrangement is termed Rabl configuration. In contrast, centromeres randomly distribute along the nuclear periphery is termed non-Rabl configuration (Schubert and Shaw, 2011). So far, the molecules that determine the position of centromeres and the biological significances of this difference are largely unknown. In Arabidopsis nuclei, centromeres take a non-Rabl like configuration. We found that a chromosomal protein complex, condensin II (Cnd II), mediates a non-Rabl like configuration, as the Cnd II mutants showed clustered centromere positioning. In addition, the involvement of a nuclear envelope protein complex in centromere positioning was shown. Members of the nuclear envelope protein complex interacted with Cnd II, suggesting the collaboration of Cnd II with nuclear envelope components in the regulation of centromere positioning. Time-lapse imaging analysis of centromere dynamics throughout the mitosis suggested that the centromere positioning is determined during late anaphase to early telophase, in which nuclear envelope is reconstituted. Interestingly, Cnd II is strongly localized on centromere from late G2 to early G1 phase. Therefore, we propose that Cnd II on centromere interacts with nuclear envelope components during mitosis to achieve proper centromere positioning in Arabidopsis. Interestingly, the mutants required for the centromere positioning had growth retardation even under normal condition and hypersensitivity to abiotic stresses. This suggested that the centromere positioning could be significant for the development and response to environmental stimuli. We now hypothesize that gene regulation and/or chromatin integrity was affected by centromere positioning.

#### Reference

[1] Shubert I., Shaw P. (2011) Organization and dynamics of plant interphase chromosomes, *Trends Plant Sci.* 16: 273-281.

# Cell cycle visualization based on nuclear dynamics Tamako Yamaoka<sup>1</sup>, Takuya Sakamoto<sup>1</sup>, and Sachihiro Matsunaga<sup>12</sup>

(tamakoyamaoka0510.@yahoo.co.jp)

<sup>1</sup> Department of Materials Science and Technology Tokyo University of Science, Tokyo, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center Tokyo University of Science, Chiba, Japan

The cell cycle is controlled by various factors to promote precise cell division. In plant, mitotic and endoreduplicative cell cycle progressions are essential processes to development. Monitoring of cell cycle progression enable us precise measurements of time for replication, gap junction and mitotic phase, which are responsive to developmental and environmental stimuli.

To establish a useful marker line to measure the duration of DNA replication and analyze the dynamics of DNA replication, we focused on the proliferating cell nuclear antigen (PCNA), which functions as a DNA sliding clamp for replicative DNA polymerases and is an essential component of replisomes. Previously, we have created a new S phase specific cell cycle marker line, PCNA1-sGFP. PCNA have three distinct cell cycle specific nuclear localization patterns (whole, dotted and speckled) and PCNA nuclear localization patterns are changing in accordance with cell cycle progression<sup>1</sup>. On the other hand, the resultant dual-color marker system, Cell Cycle Tracking in Plant Cells (Cytrap) is also developed to monitoring plant cell cycles. This enabled us to visualize S to G2 transitions by manipulating CDT1a, which functions DNA replication licensing and G2 to M transitions is labeled by G2/M specific CYCB1-GFP marker in Arabidopsis<sup>2</sup>.

Combing these cell cycle monitoring system, here we report a new triple colored cell cycle tracking line that can classify cell cycles into five phases, G1, early S, late S, G2 and M phase.

#### References

[1] Yokoyama R, Hirakawa T. Hayashi H. Sakamoto T. Matsunaga S. 2017. Dynamics of plant DNA replication based on PCNA visualization. Scientific Reports;7:40831.

[2] Yin K. Ueda M. Takagi H. Sugamata Aki S. Nobusawa T. Umeda-Hara C. Umeda M. A dual-color marker system for in vivo visualization of cell cycle progression in Arabidopsis..2014 The Plant Journal;80(3):541-52.

P17C

# Localization analysis of CRWN proteins in *Arabidopsis thaliana* Yuki Sakamoto<sup>1</sup> and Sachihiro Matsunaga<sup>2</sup>

# (sachi@rs.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
<sup>2</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Plants do not harbor animal lamin protein homologues. Because nuclear lamina mesh-like structures were observed by electron microscopy, it was suggested that a functional analogue of animal lamin exists in plant. In 1997, Nuclear Matrix Constituent Protein1 (NMCP1) was identified as nuclear lamina protein from carrot calli (1), however whether NMCP1 functioned as an analogue of lamin was not cleared. We have already reported that Crowded Nuclei (CRWN) proteins, which are homologues of NMCP in *A. thaliana*, played important roles in maintenance of nuclear morphology (2). In this study, we confirmed that CRWNs were functional analogues of lamin and were involved in a regulation of gene expression. Nuclear lamina specific localization patterns of CRWNs were investigated by confocal microscopy, super resolution microscopy, and immune-electron microscopy. CRWNs showed meshwork structure at nuclear periphery. Additionally, we found that CRWNs regulated gene expression under stress condition through the regulation of chromatin distribution. We will discuss the molecular mechanism of regulation of gene expression by CRWNs.

#### References

Masuda K et al., (1997) Exp Cell Res., 232(1):173-181.
 Sakamoto Y and Takagi S, (2013) Plant and Cell Physiol. 54(4): 622-633.

P18C

## Dynamics of autophagy and antimicrobial defense responses in tobacco BY-2 cells as model plant cells suitable for *in vivo* imaging

## <u>Shigeru HANAMATA</u><sup>1</sup>, Kazuyuki KUCHITSU<sup>1,2</sup> hanamata@rs.tus.ac.jp

<sup>1</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan
<sup>2</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan

Tobacco BY-2 cells are widely recognized as HeLa cells of higher plants. As extremely rapid-growing model plant cells, they are especially advantageous for efficient synchronization of the cell cycle and *in vivo* imaging of intracellular localization and dynamics of proteins and organelles.

Plants recognize various signaling molecules from pathogens to activate various antimicrobial defense responses including production of reactive oxygen species (ROS), expression of defense-related genes and the programmed cell death (PCD) that restrict pathogen growth at the site of infection. A proteinaceous elicitor cryptogein from an oomycete triggers two layers of defense responses in tobacco BY-2 cells. To gain insights into the interrelationship between the initial and later layers of defense responses, we comparatively analyzed the effect of a mutated cryptogein L19R, which does not induce PCD. L19R triggered rapid/transient responses, whereas did not trigger the slow/sustained responses including the cell cycle arrest and PCD. These results shed light on the importance of the temporal pattern of the signaling.

We established *in vivo* quantitative monitoring systems for autophagy [1]. Using synchronized tobacco BY-2 cells expressing YFP-NtAtg8 as a marker for the autophagosomes, we analyzed the dynamics of autophagy during cell cycle progression. *In vivo* imaging studies revealed that the level of basal autophagy is affected by the cell cycle progression and differently regulated at each phase. Basal autophagy showed highest activity in the G1 phase and strongly suppressed during mitosis.

Possible involvement of autophagy in immune responses has extensively been discussed in various organisms. However, little is known on the dynamics of autophagy during the induction of antimicrobial defense responses in plant cells. We analyzed the effects of cryptogein on the dynamics of autophagosomes using a transgenic BY-2 cell line expressing YFP-NtAtg8, and revealed that treatment of BY-2 cells with cryptogein rapidly induced rapid decrease in autophagosomes within 15 min. Continuous recognition of cryptogein has been shown to be prerequisite for the suppression of autophagosome formation.

Since BY-2 cells are suitable for *in vivo* imaging as model plant cells, we are conducting interdisciplinary collaboration to apply several state-of-the-art imaging techniques for plant cells.

#### Reference

 Hanamata et al. (2013) In vivo imaging and quantitative monitoring of autophagic flux in tobacco BY-2 cells, *Plant Signaling & Behavior* 8.1: e22510.

### P19C

# Visualization of freezing behaviors in cold hardy plant tissues using MRI and infra-red thermography.

## Masaya Ishikawa<sup>1</sup>, Hideyuki Yamazaki<sup>2</sup>, Hiroki Murakawa<sup>3</sup>, Kazuyuki Kuchitsu<sup>1,3</sup>, William S. Price<sup>4</sup> (isikawam@rs.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science

<sup>2</sup> International Patent Organism Depository, National Institute of Technology and Evaluation <sup>3</sup>Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science <sup>4</sup>Nanoscale Organisation and Dynamics Group, Western Sydney University

Freezing is likely the severest abiotic stresses that wintering perennial plant tissues may encounter. How cold hardy plants control their tissue water behaviors (phase and movement) under subfreezing temperatures is vital for their freeze survival. As yet, the diversity and mechanisms involved in freeze-regulation remain obscure simply because freezing events inside complex thick organs like woody plant winter buds are not readily visible and difficult to analyze.

In an attempt to address this question, we have attempted to develop non-invasive methods to visualize freezing behaviors (strategies) in complex plant organs using high resolution MRI (NMR micro-imaging) and infra-red (IR) thermography. With NMR micro-imaging, practical resolutions of  $20 \sim 100 \,\mu\text{m}$  can be obtained, sufficient for tissue ~ organ level studies. MRI can visualize spatial distributions of unfrozen water inside complex plant organs under subfreezing temperatures while the signal from frozen water becomes undetectable as the  $T_2$  relaxation time becomes extremely short. With such a contrast mechanism, diverse freezing behaviors in plant tissues can be successfully imaged.

In theory, IR thermography detects the latent heat flow released from the surface of tissues being frozen and can visualize rapid phenomena such as ice nucleation and propagation. Recently, thermography cameras have greatly improved in sensitivity. Various image analyses have allowed successful visualization of detailed freezing processes. Yet, from the nature of infra-red thermography, tissues that remain unfrozen and freezing events localized in complex inner tissues (away from the surface) are difficult to visualize.

Here some examples of such studies using MRI and IR thermography will be demonstrated. The results show that freezing behaviors are finely regulated by cold hardy plant organs, resulting in species- and tissue-specific freezing behaviors and the order of freezing. Our ultimate interests are in identifying the diversity in such freezing behaviors and also in biochemical and anatomical mechanisms involved: how some tissues initiate freezing autonomously at warm temperatures and how some tissues can stably remain unfrozen by deep supercooling whilst adjacent tissues are frozen.

### P20C

# Spatiotemporal regulation of *Arabidopsis PAD3* promoter during plant effector-triggered immunity Mizuki IWAMOTO<sup>1</sup>, Nobuhiko NOMURA<sup>2</sup>, Shigeyuki BETSUYAKU<sup>2</sup>

(s1613057@u.tsukuba.ac.jp)

 <sup>1</sup> College of Agro-biological Resource Sciences University of Tsukuba, Ibaraki, Japan
 <sup>2</sup> Faculty of Life and Environmental Sciences University of Tsukuba, Ibaraki, Japan

Plants exhibit defense against microbial infection. The plant defense mechanisms can be divided into two levels. First, upon recognition of common features of microbes (so-called pathogen-associated molecular patterns, or PAMPs), plants induce PAMP -triggered immunity (PTI). Some microbes are able to overcome PTI response through secretion of effectors into the plant cells plants. The other layer is known as effector-triggered immunity (ETI), where plants activate defenses in response to effectors secreted by successful pathogens..

When ETI is activated, the plant hormones: salicylic acid (SA) and jasmonic acid (JA), are produced to activate plant defense responses. We have successfully captured the dynamics of the local plant immune responses using time-lapse imaging of defense-related promotor-reporter plants. During ETI, SA- and JA- marker genes were found to be activated in spatially different domains around the infection site. Phytoalexins are the antimicrobial compounds produced by plants upon pathogen infection. In *Arabidopsis*, camalexin is a known phytoalexin synthesized through the activity of *PHYTOALEXIN DEFICIENT 3 (PAD3)* encoding a cytchrome P450 monooxygenase. In this study, we aim at dissecting the spatiotemporal regulation of *PAD3* promoter activity during ETI. We will report our current progress.

P21C

## Analysis of Histone Demethylase involved in acquisition of competency for shoot regeneration in *Arabidopsis*

Hiroya Ishihara<sup>1</sup>, Kaoru Sugimoto<sup>1</sup>, Takuya Sakamoto<sup>1</sup>, Haruka Temman<sup>1</sup>, Taku Sasaki<sup>2,3</sup>, Takamasa Suzuki<sup>4</sup>, Soichi Inagaki<sup>5</sup>, Paul Tarr<sup>6</sup>, Motoaki Seki<sup>2</sup>, Tetsuji Kakutani<sup>3,5</sup>, Elliot Meyerowitz<sup>6</sup>, Sachihiro

Matsunaga<sup>1</sup>

#### (hiroya.lab@gmail.com)

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Faculty of Science and Technology Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>2</sup> Plant Genomic Network Research Team, RIKEN Center for Sustainable Resource Science, Yokohama, Japan <sup>3</sup> Faculty of Science, The University of Tokyo, Tokyo, Japan <sup>4</sup> College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University, Aichi, Japan <sup>5</sup> National Institute of Genetics, Shizuoka, Japan <sup>6</sup>Division of Biology and Biological Engineering and Howard Hughes Medical Institute, California Institute of Technology, California

The plant has a high regenerative capacity as is shown in tissue culture, where an entire organism can regenerate from a small piece of plant tissue (explant) under appropriate culture condition. In the commonly used in vitro regeneration system of Arabidopsis thaliana, explants are first induced to form calli, followed by shoot and root induction. Although understanding the mechanism of shoot regeneration is important from both biological and agricultural points of view, it has not been fully elucidated yet. Expecting that epigenetic regulation is involved in plant regeneration so as is in the animal cells undergoing reprograming, we carried out screening of mutant plants deficient in epigenetic-related genes for their regenerative capability. As a result, we found that one of the mutants for a histone modification enzyme showed a phenotype of reduced shoot regeneration. The mutant did not show any phenotype in either of plant development, aerial growth, or de novo root/callus formation. From the temporal expression pattern, the gene seemed to function in the process of acquisition of competency for shoot regeneration, prior to shoot induction. To further investigate the role and the molecular function of the gene in shoot regeneration, we performed genome-wide analysis of gene expression and histone modifications using RNA-seq and ChIP-seq during callus/shoot formation. The transcriptome analysis identified the genes that showed different response to the shoot induction between wild-type and the mutant. The histone modification profiling determined a specific histone mark, which is regulated by the gene. Through the integrated analysis of RNA-seq and ChIP-seq, we selected putative targets of the genes, and performed mutant analysis for those genes. Among them, shoot regeneration was suppressed in five mutants, suggesting that those five genes play roles downstream of the histone modification enzyme we are studying. Taken all together, our results revealed a specific histone modification critical for shoot regeneration and the novel molecular pathway that controls the shoot regeneration through that histone modification.

#### References

 Li M, Liu GH, Izpisua Belmonte JC (2012) Navigating the epigenetic landscape of pluripotent stem cells. Nat Rev Mol Cell Biol 13(8):524-35

[2] Sugimoto K, Jiao Y, Meyerowitz EM (2010) Arabidopsis regeneration from multiple tissues occurs via a root development pathway. Dev Cell 18(3):463-71

## P22C

# Analysis of Histone Deacetylase Involved in Greening and Shoot Formation in *Arabidopsis de novo* Organ Regeneration

# Haruka Temman<sup>1</sup>, Kaoru Sugimoto<sup>1</sup>, Minoru Ueda<sup>2</sup>, Motoaki Seki<sup>2</sup>, Sachihiro Matsunaga<sup>1</sup>

(<u>temman.lab0809@gmail.com)</u>

<sup>1</sup>Department of Applied Biological Science, Graduate School of Science and Technology,

Tokyo University of Science,

<sup>2</sup> Plant Genomic Network Research Team, RIKEN Center for Sustainable Resource Science.

The plant cell has high plasticity, as is observed in *de novo* organ regeneration system, where a small piece of plant tissue is induced to propagate and form pluripotent cell mass called callus by incubation on an auxin-rich callus inducing medium (CIM) as the first step. Subsequently, *de novo* shoots or roots can be regenerated from callus upon incubation medium containing different ratios of two plant hormones: cytokinin and auxin. Cytokinin-rich shoot inducing medium (SIM) exerts the explants to regenerate shoots *de novo*, and auxin-rich root inducing medium (RIM) promotes roots vice versa. During the regeneration processes, cells are thought to undergo dynamic trans-differentiation, but the mechanisms underlying it still largely remains to be elucidated.

In this study, we focus on epigenetic factors and analyze their roles in shoot regeneration. We found that a mutantion for *HDAX*, one of the *Histone Deacetylases* (*HDACs*) family genes, suppressed shoot regeneration and promoted greening during shoot induction processes. The mutant showed the alteration of the expression level of cytokinin-response genes upon callus- and shoot-induction. Furthermore, we observed that shoot regeneration rate in mutant was not promoted when the level of cytokinin contained in SIM was decreased and that greening in mutant was not promoted when the level of cytokinin contained in CIM was decreased. Based on these results, we suggest that HDAX might regulate greening and shoot regeneration through cytokinin signaling pathways.

#### Reference

[1] Skoog, F., and Miller, C.O. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. Symposia of the Society for Experimental Biology

[2] Courtney Hollender and Zhongchi Liu (2008). Histone Deacetylase Genes in Arabidopsis Development. Plant Biology

### P23C

## Roles of autophagy in seed development in rice.

# Yuri Sera<sup>1</sup>, Takamitsu Kurusu<sup>1,2</sup>, Shigeru Hanamata<sup>1,2</sup>, Shingo Sakamoto<sup>3</sup>, Seijiro Ono<sup>4</sup>, Kentaro Kaneko<sup>5</sup>, Nobutaka Kitahata<sup>1,2</sup>, Hikaru Saji<sup>6</sup>, Toshiaki Mitsui<sup>5</sup>, Ken-ichi Nonomura<sup>4</sup>, Nobutaka Mitsuda<sup>3</sup>, and Kazuyuki Kuchitsu<sup>1,2</sup>

## (6416621@ed.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan
 <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan
 <sup>3</sup> National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba, Ibaraki, Japan
 <sup>4</sup> National Institute of Genetics, Mishima, Shizuoka, Japan
 <sup>5</sup> Graduate School of Science and Technology, Niigata University, Niigata, Japan
 <sup>6</sup> National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, Ibaraki, Japan

Autophagy, one of the major catabolic pathways in eukaryotic cells, plays critical roles in recycling of proteins and metabolites including lipids, and is involved in many physiological processes including abiotic and biotic stress responses, maintenance of cellular homeostasis, efficient nutrient remobilization at the whole-plant level and biomass production in plants. However, its roles in reproductive development had remained poorly understood. Rice autophagy-deficient mutants showed sporophytic male sterility, failed to accumulate lipidic and starch components in pollen grains at the flowering stage, showed reduced pollen germination activity, and had limited anther dehiscence [1-4]. We here show that sugar and starch metabolism during seed maturation is also affected in the autophagy-deficient mutant of rice (Fig. 1). Recent phenotypic, microscopic and proteomic analyses revealed critical roles of autophagy in seed development and quality of grains in rice. We will also discuss possible physiological roles of autophagy in the programmed cell death in the endosperm during seed maturation, and impact of control of autophagy in agriculture.



Fig.1. Abnormal morphology of starch granules in the endosperm of autophagy-deficient mutant (*Osatg7-1*). The ultrastructure of mature seed in the wild type (left) and the mutant (right). Starch granules of the endosperm was smaller and sparse in the *Osatg7-1* mutant.

#### References

- Kurusu et al. (2014) OsATG7 is required for autophagy-dependent lipid metabolism in rice postmeiotic anther development. Autophagy 10: 878-888.
- [2] Hanamata et al. (2014) Roles of autophagy in male reproductive development in plants. *Frontiers in Plant Science* 5: e457.
- [3] Kurusu et al. (2016) Quantitative live cell imaging of autophagic flux and roles of autophagy in reproductive development in plants. *Bioimages* 24: 1-11.
- [4] Kurusu and Kuchitsu (2017) Autophagy, programmed cell death and reactive oxygen species in sexual reproduction in plants. *Journal of Plant Research* 130: 491-499.

51

## P24C

# JUL1, Arabidopsis E3 ubiquitin ligase interacting with JAV1 negative regulator in jasmonate signaling pathway

# Mohamed R.M. Ali<sup>1</sup>, Abdelaziz Ramadan<sup>2</sup>, Keichiro Nemoto<sup>2</sup>, Tatsuya Sawasaki<sup>2</sup> and Genichiro Arimura<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Biological Science & Technology, Faculty of Industrial Science & Technology, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan

<sup>2</sup> Proteo-Science Center, Ehime University, Matsuyama, Japan

#### Abstract

Jasmonates (JAs) regulate defense responses and development processes in plants. JAV1, JA-associated VQ motif gene 1, is a negative regulator protein involved in JA-mediated defense responses against herbivory and pathogenesis in Arabidopsis. In response to biotic damage, JAV1 is degraded through the proteasome 26S system to elicit defense properties in the damaged leaves. However, the responsible E3 ubiquitin ligases have not yet been characterized. In the current study, we determined the characteristics of RING type E3 ubiquitin ligases that interact with JAV1 (JUL1 and JUL2, JAV1-associated ubiquitin ligases 1 and 2). Expression of JUL1 but not JUL2 was induced in Arabidopsis leaves in response to methyl jasmonate in a CO11-dependent manner, implying that JUL1 is associated with JA signaling. JUL1 was co-localized and interacted with JAV1 in the nucleus. Both *in vivo* and *in vitro* ubiquitination assays showed JUL1 is able to ubiquitinate JAV1 for proteasomal degradation. Moreover, transgenic plants overexpressing JUL1 showed an increased expression level of the JA-inducible defense gene *PDF1.2*. Conversely, *jul1* mutant plants showed attenuated *PDF1.2* expression levels in leaves, leading to weaker resistance to attack by herbivore (*Spodoptera littoralis*). Neither *jul1* nor *jav1* mutants nor transgenic lines showed any obvious growth or developmental defects. Together, these results indicate the JAV1/JUL1 system carries out multifaceted functions for plant defense regulation downstream of JA/CO11 signaling in a growth-independent manner.

# P25C

# Visualization of a Pathway from cAMP to TC10 Inactivation during Neurite Outgrowth Shingo KOINUMA<sup>1,2</sup>, Kohei TAKEUCHI<sup>1,3</sup>, Naovuki WADA<sup>4</sup>, and Takeshi NAKAMURA<sup>1,2,3</sup>

(0315701@ed.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
 <sup>2</sup> Center for Animal Disease Models, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
 <sup>3</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
 <sup>4</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Cyclic AMP plays a pivotal role in neurite/axon growth and guidance. During outgrowth, a trafficking system supplies the membrane for surface expansion at growth cones. However, the cAMP-induced signaling leading to the regulation of membrane trafficking remains unknown. TC10 is a Rho family GTPase that is essential for specific types of vesicular trafficking to the plasma membrane and a cycling between GTP-TC10 and GDP-TC10 promotes vesicle fusion. Recent studies have demonstrated a role of TC10 in axon/neurite growth in hippocampal neurons and NGF-treated PC12 cells. In this study, we investigated whether a mechanical linkage between cAMP and TC10 existed in neuritogenesis. Using a Förster resonance energy transfer (FRET) sensor, we found that TC10 activity at the plasma membrane decreased abruptly following dibutyryl cAMP (dbcAMP) treatment in PC12 and Neuro2A cells, whereas TC10 activity did not change in non-neuronal cells. TC10 depletion led to a decrease in neurite outgrowth in dbcAMP-treated PC12 cells. Constitutively active TC10 could not rescue the TC10 depletion-induced reduction in outgrowth, supporting our model for a role of GTP hydrolysis of TC10 near the plasma membrane in neuritogenesis by accelerating vesicle fusion. The dbcAMP-induced inactivation of TC10 was mediated by protein kinase A (PKA). Based on our result that plasmalemmal RhoA activity was decreased following dbcAMP addition, we found that p190B, but not p190A, mediated down-regulation of TC10 and RhoA. After searching for a factor linking PKA to p190B, we found that both Rac1-N17 expression and depletion of Sifand Tiam1-like exchange factor (STEF) reduced dbcAMP-induced TC10 inactivation. These results indicate that the PKA-STEF-Rac1-p190B pathway leading to inactivation of TC10 and RhoA at the plasma membrane plays an important role in cAMP-induced neurite outgrowth.

#### References

# P26D

<sup>[1]</sup> Akane Fujita, Shingo Koinuma, Sayaka Yasuda, Hiroyuki Nagai, Hiroyuki Kamiguchi, Naoyuki Wada, and Takeshi Nakamura. 2013. GTP hydrolysis of TC10 promotes neurite outgrowth through exocytic fusion of Rab11- and L1-containing vesicles by releasing exocyst component Exo70. PLoS One 8, e79689.

<sup>[2]</sup> Kazuho Kawase, Takeshi Nakamura, Akiyuki Takaya, Kazuhiro Aoki, Kazuhiko Namikawa, Hiroshi Kiyama, Shuichiro Inagaki, Hiroshi Takemoto, Alan S. Saltiel and Michiyuki Matsuda. 2006. GTP hydrolysis by the Rho-family GTPase TC10 promotes exocytic vesicle fusion. Dev. Cell 11: 411-421.

# Amyloid β Imaging using mid-IR Free Electron Laser Takayasu KAWASAKI<sup>1</sup>, Toyonari YAJI<sup>2</sup>, Toshiaki OHTA<sup>2</sup>, Koichi TSUKIYAMA<sup>1</sup>, and Kazuhiro NAKAMURA<sup>3</sup>

#### (kawasaki@rs.tus.ac.jp, knakamur@gunma-u.ac.jp)

<sup>1</sup> IR-FEL Research Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>2</sup> SR Center, Ritsumeikan University, Shiga, Japan <sup>3</sup> Gunma University, Gunma, Japan

A neuropathological hallmark in the brain of Alzheimer's disease (AD) is senile plaques made of amyloid  $\beta$  (A $\beta$ ) and tau protein. Those proteinaceous components tend to aggregate each other and form toxic amyloid fibrils that are rigidly stacked by  $\hat{\beta}$ -sheet conformation. We irradiated mid- infrared (IR) free electron laser (FEL) to amyloid fibrils and found that the  $\beta$ -sheet stacking fold could be dissociated by amid-I specific FEL irradiation [1-3]. Here, we show a novel imaging method for detection of  $A\beta$  fibrils by using the mid-IR laser targeting the amide I band. Since  $A\beta_{1.42}$  fibril absorbed a considerable FEL energy at amide I band (around 6.2 µm), we irradiated the FEL at 6.17  $\mu$ m and found that  $\beta$ -sheet content of naked A $\beta_{1.42}$  fibril was decreased using infrared microscopic analysis (Fig. 1). Other wavelengths (5.0 and 7.2  $\mu$ m) that were low-absorption regions of proteins were not effective for conformational change of the A $\beta$  fibrils. Consistent with the decrease in the  $\beta$ -sheet content, the amount of A $\beta_{1-42}$ monomer is increased and Congo-red signal is decreased after the irradiation to AB1.42 fibril. Furthermore, electron microscopy analysis revealed that morphologies of the fibril and proto-fibril were largely changed after the irradiation, and the FEL reduced entire contents of proteins exhibiting  $\beta$ -sheet structure in brain sections from AD model mice, as shown by synchrotron-radiation infrared microscopy analysis. Thus, an intense mid-IR laser tuned to amide I band can dissociate β-sheet structure of Aβ fibrils in biological tissues. These results indicate that Aß fibrils can be detected by measurement of the correlation between the FEL energy absorption profile and the change of proportion of β-sheet in amyloid fibrils (Fig. 1B).



Fig. 1 Infrared microscopy analysis of amyloid  $\beta$  (A $\beta$ ) fibrils after the FEL irradiation. (A) Infrared spectra of A $\beta$  fibrils. Black line: A $\beta$  fibrils before irradiation, blue line: A $\beta$  fibrils after irradiation tuned to 5.0  $\mu$ m, red line: A $\beta$  fibrils after irradiation tuned to 6.17  $\mu$ m, green line: A $\beta$  fibrils after irradiation tuned to 7.19  $\mu$ m. Spectral measurement was performed with a reflection mode. (B) Correlation of FEL-energy absorption with proportion of  $\beta$ -sheet in A $\beta$  fibrils.

#### References

 Kawasaki, T., Ohori, G., Chiba, T., Tsukiyama, K., Nakamura, K. Picosecond pulsed infrared laser tuned to amide I band dissociates polyglutamine fibrils in cells. *Lasers in Medical Science* 31(7), 1425-1431 (2016).
 Kawasaki, T., Yaji, T., Ohta, T., Tsukiyama, K. Application of mid-infrared free-electron laser tuned to amide bands for dissociation of aggregate structure of protein. *Journal of Synchrotron Radiation* 23(1), 152-157 (2016).
 Kawasaki, T., Fujioka, J., Imai, T., Torigoe, K., Tsukiyama, K. Mid-infrared free-electron laser tuned to the amide I band for converting insoluble amyloid-like protein fibrils into the soluble monomeric form. *Lasers in Medical Science* 29(5), 1701-1707 (2014).

# Over-1000 nm Near-Infrared (OTN-NIR) Fluorescent Deep Bioimaging Applicable to the Respiratory Organs of Mice Masakazu UMEZAWA<sup>1,2,\*</sup>, Masao KAMIMURA<sup>1,2</sup>, Moe YOSHIDA<sup>1</sup>, Shota SEKIYAMA<sup>1</sup>, Yoko IIZUMI<sup>3</sup>, Toshiya OKAZAKI<sup>3</sup>, Kohei SOGA<sup>1,2</sup>

### (\*e-mail: masa-ume@rs.noda.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Materials Science and Technology, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan;
<sup>2</sup> Imaging Frontier Center, RIST, Tokyo University of Science, Chiba, Japan; <sup>3</sup> CNT-Application Research Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Ibaraki, Japan

Mammalian airway is composed of nasal cavity, pharynx, trachea, bronchi, and alveolus and has an important role in gas exchange by breathing. The functional and organic obstacles of the airway leads to pulmonary disease symptoms and decreased quality of life; however, there has been no way to achieve non-invasive visualization of the airway at present. Imaging techniques for the pulmonary organs in the breast region are X-ray photography for tuberculosis and magnetic resonance imaging (MRI) and positron-emission tomography (PET) for lung cancer, but they are not for imaging the airway.

The aim of our study is to achieve various kinds of deep and definitive bioimaging by using over-thousandnanometer near-infrared (OTN-NIR) light, which shows less scattering-induced beam distortions resulting in potentially allowing high-resolution imaging [1] and its application to biosensing [2]. Here we show that nanoparticles which emit OTN-NIR fluorescent light are able to visualize non-invasively the mouse airway. One of the major OTN-NIR fluorophores is single-walled carbon nanotube (SWCNT), which has a merit of non-photobleaching and no blinking at high fluorescence.

SWCNT was oxygenated by reacting with ozone under ultraviolet irradiation and dispersed in an aqueous solution of N-(carbonyl-methoxypolyethyleneglycol 2000)-1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanol-amine (DSPE-PEG<sub>2k</sub>) to prepare the biocompatible SWCNT-PEG. The distribution of OTN-NIR fluorescence of SWCNT-PEG, introduced into the lung of mice by cannula, can be detected from outside the body (Fig. 1) by using a portable *in vivo* NIR fluorescence imaging system (SAI-1000; Shimadzu Co., Kyoto, Japan). When SWCNT-PEG was instilled intranasally to mice under anesthesia, SWCNT-PEG diffusion by spontaneous breathing into deeper region of the airway can be monitored. In both cases, the fluorescence from deep region of mouse pulmonary organs was visible at various angles of head and breast parts (Fig. 1) and allowed more definitive and deep bioimaging. These results showed that non-invasive fluorescent imaging in the OTN-NIR (NIR-II) biological window is applicable to not only blood circulation [1, 2], stomach [3], brain stem [1] but also pulmonary organs in mice.

#### References

[1] D. Jaque et al., Advanves in Optics and Photonics 8(1), 1-103 (2016)

- [2] M. Kamimura et al., Journal of Materials Chemistry B 5: 1917-1925 (2017)
- [3] K. Soga et al., Proc. SPIE 7598, 759807 (2010)



Fig. 1 – Detection of OTN-NIR Fluorescence of SWCNT-PEG Introduced in the Airway by Cannula. OTN-NIR fluorescence in the lung is visible from various angles and allows determination of the distribution of the probes in deep regions.

# The mesenchymal cells expressing Tlx1 retain a potential to give rise to various types of mature stromal cells in the adult spleen

# Akihisa ODA<sup>1</sup> and Ryo GOITSUKA<sup>1</sup>

(roei@rs.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Research Institute for Biomedical Sciences Tokyo University of Science, Tokyo, Japan

Spleen microenvironment is composed of various stromal components, such as follicular dendritic cells (FDCs), fibroblastic reticular cells (FRCs), and marginal reticular cells (MRCs). Recent researches have shown that these stromal cells serve as an essential niche for various functions of the spleen, including immune responses. However, it remains obscure how the postnatal stromal microenvironment of the spleen is maintained throughout life. To investigate whether the meroenvironment of the speen is maintained throughout me. To investigate whether the mesenchymal cells are involved in the maintenance of the postnatal spleen microenvironment, we generated a reporter mouse line in which the  $CreER^{72}$ -*Ires2-Venus* cassette was knocked into the Tlx1 gene locus, with the *Rosa26-tdTomato* allele, which enables both visualization of Tlx1<sup>+</sup> cells by Venus and their lineage-tracing by tdTomato. At 4 weeks after birth, a majority of Tlx1<sup>+</sup> cells was localized in the red pulp, and these cells did not express known mature stromal cell markers, indicating that Tlx1<sup>+</sup> cells represent an immature stromal cell population in the postnatal spleen. To further explore the relation of Tlx1<sup>+</sup> cells to mature stromal cells, we treated the adult mice (4-week-old) with tamoxifen and then examined their cell fate 7 weeks later. Although Venus<sup>+</sup> cells lacking a mature stromal cell markers, most of which were also tdTomato<sup>+</sup>, were still localized outside the white pulp, Venus' tdTomato+ cells were observed inside the white pulp, which include CD35<sup>+</sup> CXCL13<sup>+</sup> FDCs, podoplanin<sup>+</sup> FRCs and MAdCAM1<sup>+</sup> MRCs. Thus, these findings indicate that the postnatal Tlx1<sup>+</sup> cells serve as a source of mature stromal cells, participating in the homeostatic maintenance of the adult spleen.

#### P29D

# Transcription factor Tlx1 Marks Hematopoietic stem/progenitor Cell Niche in The Spleen

Yuta UENO<sup>2</sup>, Akihisa Oda<sup>1</sup>, Toshiki Tezuka<sup>1</sup>, Chiharu Nishiyama<sup>2</sup>and Ryo Goitsuka<sup>1</sup>

(8317608@ed.tus.ac.jp)

<sup>1)</sup>Division of Development and Aging, Research Institute for Biomedical Sciences,

Tokyo University of Science, Chiba, Japan

<sup>2)</sup>Laboratory of Molecular Biology and Immunology, Department of Biological Science and Technology, Tokyo

University of Science, Tokyo, Japan

Under a steady-state hematopoiesis in the bone marrow, both mesenchymal stem/progenitor cells and vascular endothelial cells serve as a niche for hematopoietic stem/progenitor cells (HSPCs) through secreting various hematopoietic factors, including CXCL12 and SCF, which sustain growth and survival of HSPCs. In contrast, information concerning cellular components as well as molecular mechanisms involved in the formation of HSPC niche outside the bone marrow for an emergency hematopoiesis, such as in the spleen, has not been provided in detail. We have an advantage to manipulate gene expression in the spleen mesenchymal cells expressing Tlx1, a transcription factor required for spleen organogenesis by using  $TlxI^{CreER-Venus}$  knock-in mice. By utilizing this experimental system, we have recently demonstrated that overexpression of Tlx1 in situ in Tlx1-expressing cells in the spleen causes extramedullary hematopoiesis, which is accompanied by the elevated expression levels of hematopoietic factors, such as CXCL12 and SCF, leading to the recruitment and expansion of HSPCs in the spleen. In the present study, we examined whether Tlx1-expressing mesenchymal cells has a function to form HSPC niche in the spleen. Immunohistochemical analyses revealed that Tlx1 overexpression induce accumulation of Tlx1-expressing cells, which normally scattered in the red pulp area, to the perifollicular region around marginal sinus, and co-localized with HSPCs. When we estimated the distance of Tlx1-expressing cells to the lineage-negative c-Kit-positive HSPCs, more than 80% HSPCs were localized adjacent to Tlx1-expressing cells within 5 µm in range, indicating that HSPCs directly contact with Tlx1-expressing cells. To understand how Tlx1expressing cells accumulate to the perifollicular region of the spleen, we examined the involvement of vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in this process, because Tlx1 overexpression up-regulates VEGF receptor (VEGFR) 2 mRNA expression in Tlx1-expressing cells. As expected, treatment of VEGFR2-specific inhibitor partially inhibited the accumulation of TIx1-expressing cells to the perifollicular region. Given that upregulation of Tlx1 and the accumulation of Tlx1-expressing cells to the perifollicular region were similarly observed in LPS-induced extramedullary hematopoiesis, these findings provide evidence that Tlx1-expressing mesenchymal cells are an important cell component to form the HSPC niche in the spleen,

- 312 -

## P30D

## **Biodistribution Pattern of a Novel Anti-Cancer Agent TOP3**

# Shusei Hamamichi<sup>1</sup>, Izumi O. Umeda<sup>1</sup>, Tetsuya Kadonosono<sup>2</sup>, Takahiro Kuchimaru<sup>2</sup>, Shinae Kizaka-Kondoh<sup>2</sup>, Hirofumi Fujii<sup>1</sup> (shamamic@east.ncc.go.jp)

<sup>1</sup> Division of Functional Imaging National Cancer Center, Kashiwa, Japan
<sup>2</sup> School of Life Science and Technology Tokyo Institute of Technology, Yokohama, Japan

**Background:** Hypoxic region in the solid tumor demonstrates resistance against radiotherapy and chemotherapy, and one of the factors associated with its resistance is stable expression of transcription factor, hypoxia inducible factor  $1\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ). We have developed an anti-cancer agent termed TOP3 (TAT-ODD-Procaspase 3) that is designed to target a region with HIF1 $\alpha$  expression. Under normoxic condition, this protein is rapidly degraded via ubiquitinylation of oxygen-dependent degradation (ODD) domain whereas in the hypoxic HIF1 $\alpha$ -positive region of tumor, the protein remains stable. Because of this intracellular stability, if caspase signaling pathway is activated in the HIF1 $\alpha$ -positive region of tumor, then procaspase 3 of TOP3 is also activated, inducing cell death of these cancer cells.

**Objective:** While TOP3 offers significant potential for advanced cancer therapy, its biodistribution pattern is not clear. In this study, we radiolabeled TOP3 with <sup>125</sup>I, and assessed its biodistribution by using a mouse xenograft model bearing human head and neck cancer (FaDu), a tumor with HIF1α-positive region.

**Materials and Methods:** TOP3 was radiolabeled with <sup>125</sup>I by using the Iodogen method. Stability of <sup>125</sup>I-TOP3 in the mouse serum was evaluated by SDS-PAGE electrophoresis, followed by autoradiography (ARG). Biodistribution pattern was determined by injecting <sup>125</sup>I-TOP3 (200  $\mu$ g) to BALB/*c<sup>nu/nu</sup>* mice bearing FaDu tumor and measuring radioactivities of blood, tumor, and major organs from 0.5 to 6 hr after administration. Stability of <sup>125</sup>I-TOP4 3 hr after administration was determined by SDS-PAGE/ARG analysis of tumor and tissue 500 x *g* supernatants.

**Results:** By using the Iodogen method, TOP3 was labeled with <sup>125</sup>I, with over 90% of labeling efficiency. Under incubation with mouse serum at 37 °C, a majority of <sup>125</sup>I-TOP3 remained stable for 24 hrs. We determined that, after administration of <sup>125</sup>I-TOP3, radioactivity in the tumor remained relatively constant for over 3 hrs; i.e., 2.66% of administered dose (AD) at 0.5 hr, 2.58% AD at 1 hr, and 2.39 %AD at 3 hr In contrast, radioactivities in the major organs were rapidly decreased over the same course of time. Next, the results obtained from SDS-PAGE/ARG demonstrated the presence of intact <sup>125</sup>I-TOP3 in the tumor, but not other organs, for at least 3 hrs after administration.

**Conclusion:** Collectively, these results suggest retention of <sup>125</sup>I-TOP3 in the tumor and its rapid degradation in other normoxic organs.

58

### P31D

## Infrared Microscopy Analysis of Brain Perivascular Abnormalities Induced by Maternal Exposure to Carbon Black Nanoparticle

Atsuto Onoda<sup>1,2,3,\*</sup>, Takayasu Kawasaki<sup>4</sup>, Koichi Tsukiyama<sup>4,5</sup>, Ken Takeda<sup>2</sup>, and Masakazu Umezawa<sup>2,6</sup>

(\* 3b13624@alumni.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Hygienic Chemistry, Graduate School of Pharmaceutical Sciences,

Tokyo University of Science, Noda, Japan

<sup>2</sup> The Center for Environmental Health Science for the Next Generation, Research Institute for Science and

Technology, Organization for Research Advancement, Tokyo University of Science, Noda, Japan

<sup>3</sup> Research Fellow of Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo, Japan

<sup>4</sup> Infrared Free Electron Laser Research Center, Research Institute for Science and Technology,

Organization for Research Advancement, Tokyo University of Science, Noda, Japan

<sup>5</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan

<sup>6</sup> Department of Materials Science and Technology, Faculty of Industrial Science and Technology,

Tokyo University of Science, Tokyo, Japan

Environmental stimulation during perinatal brain development is an important risk factor for the development of neurodegenerative disease. Clinical evidence indicates that prenatal exposure to particulate air pollutants leads to diffuse damage to the neurovascular unit in the developing brain and accelerates neurodegeneration [1]. Maternal exposure to carbon black nanoparticles (CB-NPs), used as a model for particulate air pollution, induces long-lasting diffuse perivascular abnormalities (2,3). We aimed to comprehensively characterize the perivascular abnormalities related to maternal NPs exposure using Fourier transform infrared microspectroscopy (in situ FT-IR) and classical staining analysis.

Pregnant ICR mice were intranasally treated with a CB-NPs suspension (95 µg/kg at a time) on gestational days 5 and 9. Brains were collected from 6-week-old offspring mice, fixed by paraformaldehyde, and then sliced to prepare 10-µm-thick serial sections. Reflective spectra of in situ FT-IR were acquired using lattice measurements (x-axis: 7, y-axis: 7, 30-µm apertures) around a centered blood vessel. We also performed mapping analysis of protein secondary structures. Serial sections were stained with using periodic acid-Schiff to visualize the brain perivascular macrophages, or immunofluorescence for glial fibrillary acidic protein (GFAP) and aquaporin-4 proteins in order to examine the phenotypes of the perivascular areas.

Peaks of amide I bands in IR absorption spectra of brain perivascular areas were shifted by maternal NPs exposure. There were two types of peak-shift in one mouse brain of the exposure group. Some vessels showed a large peak-shift and others showed a small peak-shift. In situ FT-IR combined with traditional staining revealed that the large peak-shift was induced in the areas around blood vessel adjacent to astrocytes with over-expression of GFAP and Aqp-4, and to perivascular macrophages (PVMs) with enlarged lysosome granules. Furthermore, protein secondary structural analysis indicated that maternal NPs exposure led to increases in  $\beta$ -sheet content and decreases in  $\alpha$ -helix content in areas that are mostly close to the centered blood vessel displaying the histopathological changes [4]. These results suggest that  $\beta$ -sheet-rich waste proteins, which are denatured by maternal NPs exposure, likely accumulate in the perivascular space as they are processed by the clearance systems in the brain. This may in turn lead the denaturation of PVMs and astrocyte activation. The risk of neurodegeneration may be enhanced by exposure to particulate air pollutants during brain development following the perivascular accumulation of  $\beta$ -sheet-rich waste proteins.

#### References

- Allen J. L. et al. (2017). Developmental Neurotoxicity of Inhaled Ambient Ultrafine Particle Air Pollution: Parallels with Neuropathological and Behavioral Features of Autism and Other Neurodevelopmental Disorders. *Neurotoxicology* 59: 140-154
- [2] Onoda A. et al., (2017). Dose-Dependent Induction of Astrocyte Activation and Reactive Astrogliosis in Mouse Brain Following Maternal Exposure to Carbon Black Nanoparticle. *Part. Fibre Toxicol.* 14 4
- [3] Onoda A. et al., (2014). Effects of Maternal Exposure to Ultrafine Carbon Black on Brain Perivascular Macrophages and Surrounding Astrocytes in Offspring Mice. PLoS One 9: e94336
- [4] Onoda A. et al., (2017) Perivascular Accumulation of β-Sheet-Rich Proteins in Offspring Brain following Maternal Exposure to Carbon Black Nanoparticles. Front. Cell. Neurosci. 11: 92

# CAPS1 stabilizes synaptic vesicles on the active zone and ensures basal synaptic transmission at hippocampal CA3-CA1 synapses

# Chiaki Ishii<sup>\*, 1</sup>, Yo Shinoda<sup>2</sup>, Yugo Fukazawa<sup>3</sup>, Tetsushi Sadakata<sup>4</sup>, Yuki Ishii<sup>1</sup> Yoshitake Sano<sup>1</sup>, and Teiichi Furuichi<sup>1</sup>

\*E-mail address: atmo\_sphere@hotmail.co.jp

1. Dept. of Appl. Biol. Sci., Fac. of Sci. and Tech., Tokyo Univ. of Sci., Chiba, Japan

2. Dep. of Envrn. Hlth., Sch. of Pharm., Tokyo Univ. of Pharm. and Life Sci., Tokyo, Japan

3. Dept. of Brain Struc. and Func., Fac. of Med. Sci., Univ. of Fukui, Fukui, Japan

4. Adv. Sci. Res. Leaders Develop. Unit, Gumma Univ. Gumma, Japan

The exocytosis of synaptic vesicles (SVs) plays a pivotal role in synaptic transmission and consists of 3 steps: docking, priming and fusion. A precise control of these steps contributes to not only basal synaptic transmission but also synaptic plasticity. Although various kinds of synaptic molecules, including SNARE complex, have been shown to regulate the underlying mechanism<sup>1</sup>, a more subtle and fine-tuning mechanism in each step remains unclear.

 $\square$   $\square$  Calcium-dependent activator protein for secretion 1 (CAPS1) is considered to be involved in the priming step of the exocytosis and exclusively regulate the release of dense-core vesicles (DCVs)<sup>2)</sup>. However, the neonatal lethality of CAPS1 knockout mice has delayed evaluation of its detailed function in the brain. A few researches using cultured hippocampal neurons suggested that CAPS1 also regulate SV exocytosis<sup>3)</sup>. Thus, there is a possibility that CAPS1 plays a role in SV exocytosis as well as DCV exocytosis, both of which are cooperatively involved in the fine regulation in the synaptic transmission and plasticity in mammalian brains.

⊠In this study, we utilized Emx1-Cre-mediated forebrain-specific CAPS1 conditional knockout (cKO) mice to evaluate its function in synaptic transmission and plasticity. Electrophysiological recording from hippocampal CA3-CA1 synapses showed that a deficit in CAPS1 perturbed basal synaptic transmission. Live cell imaging techniques using the lipophilic fluorescent dye FM4-64 demonstrated that SV release was inhibited in CAPS1-deleted hippocampal cultures. Moreover, electron microscopic analyses revealed that the number of SVs docked at the active zone was significantly decreased in CAPS1 cKO presynapses in spite of the excessive number of total SVs compared to control mice. Intriguingly, elevating extracellular Ca<sup>2+</sup> level enhanced synaptic transmission in CAPS1 cKO mice, indicating that high Ca<sup>2+</sup> could rescue synaptic release without CAPS1. Taken together, we conclude that CAPS1 is one of the key players that finely regulate SV exocytosis and takes charge of stabilizing releasable SVs on the active zone, which ensures basal synaptic transmission in hippocampal CA3-CA1 synapses. Furthermore, our results suggest that these synapses have distinct mechanisms for mediating basal synaptic transmission and/or synaptic plasticity. We hypothesize that CAPS1 is likely to be involved in a high Ca<sup>2+</sup>-rescuable sub-step of the priming of SVs.

Sudhof, T. C. & Rothman, J. E. Science 323, 474–477 (2009).
 Walent, J. H., Porter, B. W. & Martin, T. F. Cell 70, 765–775 (1992).

3) Jockusch, W. J. et al. Cell 131, 796-808 (2007).



CAPS1 deleted synapses showed slight and slow decay of FM4-64 fluorescence, indicating CAPS1 positively regulates SV release.



3D reconstructed synapses from EM serial sections, suggesting SVs are accumulated in CAPS1 cKO synapses.

# Design of Over-1000 nm Near-Infrared Fluorescent Polymer Nanoparticles for Brain Imaging by Intranasal Injection

Moe Yoshida<sup>1</sup>, Masao Kamimura<sup>1,2</sup>, Masakazu Umezawa<sup>1,2</sup> and Kohei Soga<sup>1,2</sup>

## (mail@ksoga.com)

<sup>1</sup>Department of Materials Science and Technology, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

#### Introduction

Recently, over-1000 nm near-infrared (OTN-NIR) (NIR-II and III) fluorescence has attracted much attention for deep tissue *in vivo* imaging applications. As compared to current NIR fluorescence imaging (NIR-I: 700–900 nm), OTN-NIR light can penetrate into deeper part of animal bodies due to the weak scattering<sup>1</sup>). However, most of current OTN-NIR nanophosphors are inorganic or semiconductor materials, such as quantum dos, rare-earth doped ceramic nanoparticles and single-walled carbon nanotubes. Compared to them, organic nanophosphors may be more compatible for biological and clinical applications.

On the other hand, recently, "nose-to-brain" pathway has attracted attention as novel candidate for effective drug delivery route to brain. In this pathway, ultra small sized nanoparticle can go through olfactory cell membranes and migrate to the brain. Therefore, ultra small sized OTN-NIR fluorescence nanoparticle can probably go through the "nose-to-brain" pathway and it can visualize the pathway route without dissection of animals.

In this study, polymer micelles loading OTN-NIR fluorescent dye were developed for the imaging of "nose-tobrain" pathway. Polymer micelles are formed from amphiphilic biocompatible block copolymers to load small dyes into the core of the micelles. Additionally, since the obtained OTN-NIR fluorescent polymer micelles are formed from organic molecules, as compared to current metal/inorganic nanophosphors, it is an attractive candidate for clinical applications. Moreover, to enhance the cellular uptake of the NPs, cell membrane permeable peptide (TAT peptide) was installed at the end of the PEG chain in the block copolymer. The NPs were injected into nose and intranasal administration was investigated.

#### Experimental

A THF solution containing OTN-NIR dyes, DSPE-PEG<sub>2000</sub>, and DSPE-PEG<sub>2000</sub>-Maleimide were poured into Milli-Q water. The micelles were formed by stirring overnight by evaporating the THF in the mixture. The OTN-NIR fluorescence spectrum of the prepared NPs was measured under 980 nm excitation. The cytotoxicity of NPs was evaluated by a standard WST assay. Furthermore, amount of the TAT peptide on the TAT installed NPs (TAT<sup>+</sup>)

NPs) was evaluated by micro BCA protein assay. The OTN-NIR fluorescence imaging of live cells was performed using OTN-NIR fluorescence microscope (Exposure Time : 800 ms, Laser Power : 1500 mA). Then, prepared NPs were injected into mouse by intranasal injection and OTN-NIR fluorescence imaging was performed (Excitation: 980 nm, Exposure Time : 500 ms, Laser Power : 10 W).

## **Results and Discussion**

Fig. 1 shows the OTN-NIR fluorescence images of the live cells. From the images, TAT<sup>+</sup> NPs displayed time-dependent increasing of cellular uptake amount. Fig. 2 shows the OTN-NIR fluorescence image of a mouse. From this result, OTN-NIR fluorescence of TAT<sup>+</sup> NPs was observed from the nasal cavity and olfactory bulb part of the mouse after intranasal injection. These results suggest that the OTN-NIR fluorescence imaging using TAT<sup>+</sup> NPs can be used for visualization of "nose-to-brain" pathway route. **References** 

1) D. Jaque et al., Adv. Opt. Photonics., 8 (2016) 1.

2) Z. Tao et al., Ange. Chem. Int. Ed., **125** (2013) 13240.



Fig. 1 OTN NIR fluorescence microscope images of the cellular uptake of TAT<sup>+</sup> NPs (ex. 980 nm).



Fig. 2 OTN-NIR fluorescence images of mouse brain after intranasal injection of TAT+ NPs (ex. 980nm).

P34D

# Calcium-dependent activator protein for secretion 1 (CAPS1) is involved in hippocampus-dependent memory formation.

## Natsumi Shibano<sup>1\*</sup>, Yhuki Ishii<sup>1</sup>, Chiaki Ishii<sup>1</sup>, Yoshitake Sano<sup>1</sup> and Teiichi Furuichi<sup>1</sup>.

(\*E-mail address: 6417052@alumni.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Appropriate synaptic transmission and plasticity are believed to underlie learning and memory. Calcium-dependent activator protein for secretion 1 (CAPS1) regulates the release of neurotransmitter from dense-core vesicles (DCVs)<sup>1</sup>. Recently, we showed CAPS1 stabilizes releasable synaptic vesicles (SVs) on the active zone, which results in vesicles fusing with the presynaptic membrane and releasing neurotransmitter in hippocampal CA3-CA1 synapses<sup>2</sup>. We also observed that basal synaptic transmission and short-term plasticity at DG-CA3 synapse are impaired in CAPS1 knockout mice as with CA3-CA1 synapses. The role of CAPS1 for learning and memory, however is not clear. Here, we show CAPS1 is involved in the hippocampus-dependent memory formation.

To address the physiological role of CAPS1 *in vivo*, we generated forebrain specific CAPS1 conditional knockout (cKO) mice because CAPS1 global knockout mice is lethal at birth<sup>1</sup>. In a non-associative place recognition memory test, mice were exposed to a novel open field to learn the place. Then mice were again exposed to the same context one day later. If mice remember the context, exploration time is decreased at day 2. And it is known the hippocampus is necessary for this task. In control mice, exploration time was significantly decreased at day 2 compared with day 1. But there was no difference between day 1 and 2 in CAPS1 cKO. Next, we implemented the contextual and cued fear conditioning test. Mice were conditioned in the square context, then they were tested 24 hour later. In the contextual fear conditioning test, the freezing behavior in cKO mice was significantly decreased compared with them in control mice. Interestingly, there was no difference between cKO and control mice in the cued fear conditioning test. These results indicate hippocampus-dependent memory formation is impaired in CAPS1 cKO mice.

#### References

[1] Tetsushi Sadakata et al., Journal of neuroscience, 33 (44) 17326-17334 (2013)
[2] Yo Shinoda et al., Scientific Reports, 6:31540 (2016)

## P35D

# Near-Infrared Hyperspectral Imaging for *in vivo* Cancer Detection Naoki HOSOKAWA<sup>1</sup>, Yuya YASUDA<sup>1</sup>, Masao KAMIMURA<sup>1, 2</sup>, Hiroshi TAKEMURA<sup>3</sup>, Kazuhiro KANEKO<sup>4</sup>, and Kohei SOGA<sup>1, 2, \*</sup>

\*e-mail: mail@ksoga.com

<sup>1</sup>Department of Materials Science and Technology, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan <sup>2</sup>Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>3</sup>Department of Mechanical Engineering, Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>4</sup>National Cancer Center Hospital East, Chiba, Japan

#### 1. Background

Near-infrared (NIR) spectroscopy analysis is used as a method for measuring the composition of organic substances. In recent years, the advances in NIR spectroscopy and computational methods have enabled to utilize the NIR hyperspectral imaging (HSI). The combination of the NIR HSI and a machine learning technique enables to visualize the composition distribution in living tissue. Therefore, the NIR-HSI system with machine learning is expected to be used for detection of specific region in the body, such as cancer area. In this study, discrimination of tumor issue by using machine learning and *in vivo* NIR-HSI of tumor-bearded mice was investigated. 2. Methods

Murine colon-26 cancer cells were injected into the back of male BALB/cSlc mice. The HSI data of the tumor-bearded mice exposed under halogen lamp was captured by a NIR spectroscopic camera (1000-2350 nm). Absorption spectra of tumor and normal tissues extracted from the HSI data were treated with the standard normal variate (SNV) transformation which is a statistical method to calibrate the difference in intensity and variance of the original spectra as a preprocess<sup>1</sup>). Additionally, one of machine learning systems, support vector machine (SVM), was employed to discriminate the tumor tissue and normal tissue. The HSI data of samples was converted into SNV spectrum data and the data was classified into "cancer" region and "normal" region by the SVM. <u>3. Results and discussion</u>

The HSI data of 4 tumor-bearded mice and 2 normal mice were classified into the cancer and

normal region by the SVM. From these results, transformation of the SNV enhanced the accuracy of all samples. Figure shows the prediction results of cancer region. From this result, predicted region of cancer area was almost correspondent with the actual cancer region (circled area). From these results, cancer region of mice was successfully predicted by the detection method by the combination of the NIR-HSI and machine learning technique.

#### 4. References

1) Q. Guo et al., Anal. Chim. Acta, 382 (1999) 88.



Fig. Cancer detection results. The actual cancer region of mouse (a), cancer prediction results without SNV (b) with SNV (c).

## P37D Ca<sup>2+</sup>-dependent activator protein for secretion 1 (CAPS1) is involved in oxytocin-associated social behavior

Shota Mizuno<sup>1)</sup>, Haruka Minami<sup>1)</sup>, Yo Shinoda<sup>2)</sup>, Manabu Abe<sup>3)</sup>, Kenji Sakimura<sup>3)</sup>, Yoshitake Sano<sup>1)</sup>, Teiichi Furuichi<sup>1)</sup> (<u>smizunokaennbyou@gmail.com</u>)

<sup>1)</sup>Dept. of Appl. Biol. Sci., Fac. of Sci. and Technol., Tokyo Univ. of Sci., Chiba, Japan
<sup>2)</sup> Dept. of Env. Health, Sch. of Pharm., Tokyo Univ. of Pharm. and Life Sci., Hachioji, Japan
<sup>3)</sup> Dept. of Cellular Neurobiology. BRI, Niigata Univ., Niigata, Japan

Oxytocin (OXT) is a neuropeptide/peptide hormone, which is produced in the paraventricular nucleus (PVN) of hypothalamus. Recent studies have revealed that OXT is associated with social and maternal behavior. However, it is still unclear how OXT regulates social behavior. In this study, we focused on the relationship between OXT and Ca2+-dependent activator protein for secretion 1 (CAPS1); a neuropeptide secretion-regulated protein. CAPS1 plays a regulatory role in dense-core vesicle (DCV) exocytosis pathway and is widely, but specifically, expressed in various mouse brain regions including the PVN and the supraoptic nucleus (SON) in which OXT-expressing neurons are located. Therefore, we hypothesized that CAPS1 protein contributes to social behavior through regulating activity-dependent OXT secretion. We showed immunohistochemically that CAPS1 protein is expressed in ca. 55% of OXT neurons in the PVN. To investigate the role of CAPS1 in OXT neurons, we generated conditional knock-out (cKO) mice which have no CAPS1 protein specifically in OXT neurons. It was interesting that three chamber sociability test showed an increase in social interaction time of CAPS1 cKO mice with familiar mice. We then examined projection patterns from OXT neurons to other areas of the central nervous system by injecting the adeno-associated virus vector containing mCherry red fluorescent protein (AAV5-ChR2-mCherry). mCherry signal was detected in the PVN, posterior pituitary and median eminence (ME), which are along the projection path of OXT neurons from the PVN to the pituitary gland, but hardly observed in other brain regions tested by our approach. Thus, we assumed that OXT mainly regulates social behavior as a hormone through the peripheral pathway. Moreover, we found that neural activity-dependently expressed c-Fos signals in the insular cortex (IC) after OXT intraperitoneal (i.p.) injection. Taken together, our results suggest that OXT neurons control social behavior through the peripheral pathway released into the bloodstream from the posterior pituitary lobe via CAPS1-associated DCV exocytosis, although it remains elusive whether blood OXT levels in the brain acts to the IC.



[1] Mitre M, et al. Journal of Neuroscience 36: 2517-2535 (2016).

[2] Fujita Y et al. The Journal of Biological Chemistry 282: 21392-21403 (2007).

# Analysis of newly formed cartilage during zebrafish lower jaw regeneration. Shiro OHGO<sup>1</sup>, Sayaka ICHINOSE<sup>1</sup>, Mika SATO-MAEDA<sup>2</sup>, Wataru SHOJI<sup>2</sup>,

Naoyuki WADA<sup>1</sup>

(shiro.ohgo@rs.tus.ac.jp) <sup>1</sup> Department of Applied Biological Science Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>2</sup> Tohoku University, Miyagi, Japan

Urodele amphibians show high regenerative ability throughout their life. One of these regeneration systems is epimorphic regeneration that is characterized by the formation of a blastema, which consists of undifferentiated and/or dedifferentiated cells and regenerating lost parts. In addition to amphibians, teleosts like zebrafish can also regenerate various organs (e.g. fin and heart). Recently, it was reported that the zebrafish lower jaw can regenerate after amputation. However, the detailed progress of regeneration in the lower jaw remains unclear. In this presentation, we analyzed zebrafish lower jaw regeneration by histological analysis.

Firstly, to confirm regenerative ability at different amputation levels, we compared the regeneration process between the proximal amputation level, which includes Meckel's cartilage, and the distal amputation level, which lacks Meckel's cartilage. In the proximal amputation level, newly formed cartilage arose adjacent to Meckel's cartilage and the bone was formed as regeneration progressed. Furthermore, even though the regeneration was completed, the cartilage still existed in the distal region, although the cartilage normally disappears during development. Meanwhile, when the lower jaw was amputated at the distal level, newly formed cartilage arose adjacent to the mandibular bone and disappeared when regeneration was completed. We next focused on the muscular tissue. Although the muscle fiber is well aligned in the intact lower jaw, it disintegrated when regeneration occurred and mononuclear cells were observed below the amputation plane. When the regeneration was completed, these cells were again re-aligned.

These results suggest that newly formed cartilage that appears in the distal amputation level originates from the mandibular bone, and is necessary for bone regeneration, but disappears after regeneration. On the other hand, when the lower jaw is amputated at the proximal level, Meckel's cartilage also contributes to newly formed cartilage, which remains in the distal region after regeneration. These results indicate that each tissue contributes to the regeneration of their own tissue and that there are different regeneration systems between distal and proximal amputation levels. In limb regeneration, the muscular tissue disintegrated and mononuclear muscle cells contributed to the blastema formed distal to the amputation plane. Disintegrated and mononuclear muscle cells were also observed during lower jaw regeneration. This indicates that these cells reflect the blastema. However, bone and cartilage disintegration were not observed and this blastema-like structure was formed proximal to the amputation plane. Therefore, it is necessary to investigate whether this structure is actually a blastema. We are now investigating the tissues or cells that actually proliferate and contribute to lower jaw regeneration and the molecular mechanisms underlying lower jaw regeneration.



Figure 1. The regeneration process of the lower jaw in zebrafish.

65

#### P38D

# CAPS2 protein regulates pancreatic exocrine and endocrine secretion and its loss causes the pancreatitis Miho TSUYUSAKI<sup>1</sup>, Rika KOBAYASHI<sup>1</sup>, Takuya SHIMURA<sup>1</sup>, Ryo GOITSUKA<sup>2</sup>, Yoshitake SANO<sup>1</sup>and Teiichi FURUICHI<sup>1</sup>

(6414061@ed.tus.ac.jp)

 <sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Chiba, Japan
 <sup>2</sup> Research Institute for Biomedical Sciences,

Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Ca<sup>+</sup>-dependent activator protein for secretion (CAPS) regulates exocytosis of dense-core vesicles (DCVs) in neurons and neuroendocrine cells and is also expressed in bronchus epithelium cells, adrenal medulla and pancreas. Secretory proteins such as peptide hormones and digestive enzyme are secreted by exocytosis of DCVs. In vertebrate animals, the CAPS family consists of two distinct isoforms, CAPS1 and CAPS2. In pancreas, CAPS1 is expressed only in pancreatic islets, whereas CAPS2 is expressed in both islet cells and acinar cells. Thus, two CAPS isoforms are involved in secretion in the same and different pancreatic cell-types. In this study, to reveal roles of each CAPS isoform in the pancreas, we performed the imaging analyses of anatomical and physiological pathology as well as the glucose tolerance test, using CAPS1 cKO mice did not have apparent abnormality in morphological and inflammatory phenotype in the islet and acinar cells and showed normal levels of blood glucose. On the other hand, the loss of CAPS2 resulted in the inflammatory cell infiltration in acinar cells (Fig. 1), increase in blood glucose, and abnormal secretion of amylase. Moreover, anatomical imaging of CAPS2 KO mice showed pancreatic acinar atrophy and damage like pancreatitis. In conclusion, our data suggested that CAPS2 plays a regulatory role not only in blood glucose levels, probably via regulating pancreatic endocrine secretion of insulin from the islet, but also in pancreatic exocrine secretion of digestive enzymes from acinar cells.



Fig.1 Immunohistochemical imaging of T cell surface glycoprotein CD3 in pancreas of wild type (WT) and CAPS2 KO mice

66

#### P39D

# The Molecular Mechanism Regulating Axonal Localization of The Secretion-Related Protein CAPS2 Kazuki Shimizu<sup>1</sup>, Kazuo Kawamoto<sup>1</sup>, Tetsushi Sadakata<sup>2</sup>, Yoshitake Sano<sup>1</sup>, Teiichi Furuichi<sup>1</sup>

#### (kazuki\_be\_ambitious@yahoo.co.jp)

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>2</sup> Advanced Scientific Research Leaders Development Unit, Gunma University Graduate School of Medicine, Gunma, Japan

CAPS2 (Ca<sup>2+</sup>-dependent activator protein for secretion 2) regulates exocytosis of secretory vesicles containing the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and neurotrophin-3 (NT-3) both of which are critical for neuronal development, function and survival. CAPS2 has several alternative splicing subtypes. We previously reported an aberrant increase in expression of a rare CAPS2 subtype lacking exon 3 (deletion of exon3, "dex3") in some autistic patients <sup>1)</sup>. Unlike the major type harboring exon 3 ("CAPS2"), dex 3 subtype expressed in cultured neurons does not localize to axons, resulting in a deficit in axonal release of BDNF. Genetically-modified mice expressing only dex3 exhibit impairments in neuronal synapse morphology and function, and autistic-like social behaviors2<sup>2)</sup>. In the present study, to clarify the molecular mechanism regulating axonal localization of CAPS2, we carried out the imaging analysis of fluorescent protein tagged CAPS2 and dex3 expressed in primary-cultured neurons (cerebral cortex cells and cerebellar granule cells). We prepared various CAPS2 deletion mutants fused to the red fluorescent protein tdTomato and the Flag tag. Our imaging data confirmed that dex3 lacks the ability of axonal distribution in both cerebellar and cerebral neurons, suggesting the presence of a critical region for axonal transport in the amino-acid residues encoded in exon3.



Fig1. CAPS2,dex3,exon3 of CAPS2 axonal localization

- 1. Sadakata, T., et. al. J. Clin. Invest. 117: 931-943, 2007
- 2. Sadakata, T., et. al. PNAS 109: 21104-21109, 2012
## Elucidation of the secretion mechanism of proopiomelanocortin (POMC) -derived peptide by secretion control protein CAPS2 Natsuki Amemiya<sup>1</sup>, Yoshitake Sano<sup>2</sup>, and Teiichi Furuichi<sup>1</sup>

(6417603@ed.tus.ac.jp) <sup>1</sup> Department of Applied Biological Science

Tokyo University of Science, Tokyo, Japan

Proopiomelanocortin (POMC) is a precursor polypeptide of up to 10 active peptides which are produced by protein processing in a cell- and tissue-dependent manner.  $\alpha$ -MSH is a POMC-derived peptide produced in and secreted from the pituitary, mesencephalon, hypothalamic arcuate nucleus (ARC), and hippocampus.  $\alpha$ -MSH plays an important role in some metabolic physiology (pigment aggregation, body temperature, obesity, immune function) and brain function (learning and memory). However, the detailed mechanism underlying POMC/ $\alpha$ -MSH secretion is largely unknown. Ca<sup>2+</sup>-dependent activator protein for secretion 2 (CAPS2) is a protein that regulates exocytosis of dense-core vesicles <sup>[1]</sup>. In this study, by immunohistochemical imaging we analyzed whether CAPS2 is involved in the secretory pathway of POMC in the mouse brain. Immuno-staining of the pituitary showed that both POMC- and CAPS2-immunoreactivities were localized in the pituitary intermediate lobe (Fig. 1). The immune-signals for POMC and CAPS2 were also observed in the hypothalamic arcuate nucleus (ARC). These imaging data suggested the possibility that CAPS2 is involved in regulating in secretion of  $\alpha$ -MSH derived from POMC.





Immuno-signals for POMC (red) in panel D and CAPS2 (green) in panel A are mostly localized in the middle pituitary. Panel C is a merged image of A and B. Panels D, E and F are enlarged images of panels A, B and C, respectively. Scale bars represent 100  $\mu$ m

68

## References

[1] Sadakata, T., et al., PNAS 108(1): 373-378 (2010)

P41D

## Analysis of triplet/dark state dynamics of fluorescent molecules in photobleaching process Nodoka SAKATA<sup>1</sup>, Satoshi MAESAKO<sup>1</sup>, Naoto KAMIYAMA<sup>1</sup>, and Akira SUDA<sup>1,2</sup> (6217611@ed.tus.ac.jp)

<sup>1</sup>Department of Physics, Faculty of Science Technology Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, RIST Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Fluorescent proteins are widely used as probes in biology and life science research. Many fluorescent proteins have been mutated, enabling a variety of biological measurements and imaging methods. However, photobleaching of fluorescent molecules reduces proper measurement and efficient image acquisition. The mechanism of photobleaching has been explored in many studies, and excited-state absorption (ESA) is considered as one of the causes of photobleaching [1]. In the case of eGFP, photobleaching is induced by ESA at a wavelength of 760 nm [2]. In this work, based on a series of experiments to understand the molecular dynamics of fluorescent proteins, we estimate the fractional contribution of the excited state, from which ESA take place, to photobleaching.

We assume that chromophore molecules of eGFP takes the four-level system shown in Fig.1. Photobleaching through the excited state is enhanced by irradiating ESA-stimulation light after excitation from the ground state. Therefore, by observing the photobleaching rate as a function of the delay time, the most dominant excited state in the photobleaching process can be identified. In the experiment, we used a 473-nm laser for one-photon excitation of eGFP and another laser at 760 nm to induce ESA. We observed fluorescence decay due to photobleaching. Table 1 shows the photobleaching rates for various values of the delay time  $\Delta t$  of the ESA-stimulation light with regard to the excitation light. The sample was irradiated with ESA-stimulation light at a repetition rate of 50 Hz. The photobleaching rate varied slightly depending on photobleaching from individual excited states. As a result, ESA-induced photobleaching from singlet, triplet and dark states was almost the same. Details will be presented at the symposium.

Table 1. Photobleaching rate for various delay time

S <sub>1</sub>			
	T <sub>1</sub>	Delay time [ms]	Photobleaching rate [ $\times 10^{-3}$ s <sup>-1</sup> ]
	0.8 ms	w/o ESA stimulation	$3.78 \pm 0.07$
	<sup>350 μs</sup> D	$\Delta t = 0$	4.96 Ī 0.07
$S_0 \xrightarrow{15} ms$		$\Delta t = 0.15$	4.11 Ī 0.08
		$\Delta t = 4.0$	5.31 Ī 0.08

Fig. 1. Four-level system for eGFP

#### References

- G. Donnert, C. Eggeling, and S. W. Hell, "Major signal increase in fluorescence microscopy through darkstate relaxation," *Nature Methods* 4, 81-86 (2007).
- [2] A. Suda, H. Takahashi, and K. Toda, "Nonlinear Fourier-transform spectroscopy using ultrabroadband femtosecond pulses for the measurement of photobleaching of fluorescent proteins," *Ultrafast Phenomena XIX*, 543-546 (2015).

#### P42E

## Tuning the thermal sensitivity of β-NaYF<sub>4</sub>: Yb<sup>3+</sup>, Ho<sup>3+</sup>, Er<sup>3+</sup> nanothermometers for optimal temperature sensing in the II- and IIIbiological window

#### Laura Wortmann<sup>1</sup>, Satoru Suyari<sup>1</sup>, Masao Kamimura<sup>1,2</sup>, Kohei Soga<sup>1,2</sup>

#### (laura@sogalabo.jp)

## <sup>1</sup> Department of Materials Science and Technology, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan

<sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Temperature is probably the most fundamental parameter to determine cell dynamics and function. Exact knowledge of the intracellular temperature promotes the understanding of fundamental cellular processes and improves temperature based treatments (hyperthermia).<sup>1</sup> Optical nanothermometry as a noncontact, noninvasive method is a promising tool for straight-forward temperature sensing. Particularly, the luminescence intensity ratiometric (LIR) approach, which tracks temperature-induced changes of the LIR at two different wavelengths.<sup>2</sup> However, most common probes operate in the visible region suffering from low penetration depth and causing harmful side effects by photodamage. Recently, the over 1000 nm near infrared (OTN-NIR) region was opened for deep tissue temperature sensing.<sup>3</sup> Besides, several advantages like higher penetration depth, reduced scattering and phototoxicity these nanothermometers have commonly lower thermal sensitivities (S) compared to their upconversion (UC) counterparts. By optimizing the temperature sensitive properties of the material higher S can be reached, but a deeper understanding how material properties influence S is still rare.

In the current framework, we systematically studied the influence of the surrounding medium as well as NP properties towards S. Dependent on the surrounding medium (cyclohexane versus water) the emission intensity of either Ho<sup>3+</sup> (1150 nm, I. BW) or Er<sup>3+</sup> (1550 nm, II. BW) is influenced by temperature changes and can be used for temperature detection. Since the temperature independency from external factors is obligatory for cellular temperature sensing, the PL properties under physiological conditions are studies. Furthermore, by tailoring the NP size, doping concentration and surface coating to transfer the NPs from nonpolar to polar medium, we found that S is (1) increasing with decreasing NP size, (2) decreasing with increasing Ho<sup>3+</sup> content and (3) in principle higher in water compared to cyclohexane. This can be attributed to modifications in the electron transfer (ET) processes. These findings illustrate that NP design has a high impact on the sensing performance and can help to optimize current nanothermometers operating in the OTN-NIR region.

- [1] T. Bai; N. Gu *Small* **2016**, *12*, 4590–4610.
- H. Zhou, M. Sharma, O. Berezin, D. Zuckerman, M. Y. Berezin *ChemPhysChem* 2016, 17, 27-36.
- [3] M. Kamimura, T. Matsumoto, S. Suyari, M. Umezawa, K. Soga J. Mater. Chem. B 2017, 5, 1917-192.

#### P43E

## Visual Mapping of Strain in Elastic Polymers Based on Förster Resonance Energy Transfer (FRET) Phenomena <u>Gil YEROSLAVSKY</u>, Masao KAMIMURA and Kohei SOGA<sup>1,2</sup>

#### (gil@sogalabo.jp)

<sup>1</sup> Department of Materials Science and Technology Tokyo University of Science, Tokyo, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center Tokyo University of Science, Chiba, Japan

The use of near-infrared (NIR) dyes is gaining considerable scientific attention as a tool for non-invasive diagnosis of a wide range of diseases and health problems. The main advantage of NIR radiation is its low absorption by body tissues, in contrast to light in the UV-Vis range, allowing it to be detected outside the body<sup>1</sup>. One of the most important optical phenomena used in the study of molecular interactions in-vitro is Förster resonance energy transfer (FRET), in which an excited fluorophore ("donor") transfer its excess energy to an adjacent fluorophore ("acceptor") and causes it to emit a photon<sup>2</sup>. This energy transfer is non-radiative and occurs through dipole-dipole coupling, meaning its efficiency is proportional to the sixth power of the distance between the two molecules. FRET is a tool widely used in biochemical science, especially in the study of intracellular protein interactions<sup>3</sup> .By monitoring the decline in donor emission compared to increase in that of the acceptor, evidence of FRET can be gathered and spatial information be determined. In this research we utilize FRET using visible and NIR dyes as a tool for detecting strain in polymers, including ones that are often used for biomedical application and in-dwelling devices. This type of information can prove to be very useful for detection of malfunction and complications in medical devices. We first demonstrate the successful doping of polydimethylsiloxane (PDMS) elastomer with the dyes fluorescein and rhodamine B with absorption and emission spectra in the visible range. By incorporating donor and acceptor dyes of different concentrations into an elastic and biocompatible elastomer, we were able to detect changes in strain on the polymer, as they prompt changes in emission ratios. We use spectroscopic and imaging techniques to demonstrate how ratiometric changes in emission can be used to detect and extrapolate the degree of elongation in polymers. We next used image analysis techniques to map the strain experienced by the polymer as it is being stretched. We also compare the response of polymers of different thickness and show how they each behave under different forces. In the future we will set out to demonstrate the use of NIR dyes in polymers and their application for in-vivo applications.

#### References

[1] Jaque, D., Richard, C., Viana, B., Soga, K., Liu, X., & García Solé, J. (2016). Inorganic nanoparticles for optical bioimaging. *Advances in Optics and Photonics*, **8**(1), 1.

[2] Truong, K., & Ikura, M. (2001). The use of FRET imaging microscopy to detect protein-protein interactions and protein conformational changes in vivo. *Current Opinion in Structural Biology*, **11**(5), 573–8.

[3] Wu, P., & Brand, L. (1994). Resonance energy transfer: methods and applications. *Analytical Biochemistry*, **218**(1), 1–13.

#### P44E

## **3-photon interferometric temporal focusing microscopy** Keisuke Toda<sup>1,2</sup>, Keisuke Isobe<sup>1,3</sup>, Kana Namiki<sup>4</sup>, Hiroyuki Kawano<sup>4</sup>, Atsushi Miyawaki<sup>1,4</sup>, and Katsumi Midorikawa<sup>1,2</sup>

(keisuke.toda@riken.jp)

<sup>1</sup> RIKEN Center for Advanced Photonics, Wako, Saitama, Japan

<sup>2</sup> Graduate School of Science and Engineering, Saitama University, Saitama, Japan

<sup>3</sup>JST, PRESTO, Kawaguchi, Saitama, Japan

<sup>4</sup>Laboratory for Cell Function Dynamics, RIKEN Brain Science Institute, Wako, Saitama, Japan

Super-resolution optical microscopy is a powerful tool for investigating biological phenomena. However its penetration depth is limited, because the small signal is easily buried in the background light, such as fluorescence produced at out-of-focus regions. In order to solve this problem, we developed interferometric temporal focusing (ITF) microscopy in which structured illumination microscopy was combined with two-photon excitation fluorescence (2PEF) temporal focusing (TF) microscopy [1]. The optical sectioning capability of 2PEF-TF microscopy is less than that of laser scanning TPEF microscopy. The structured illumination technique can be used to enhance the optical sectioning capability. Nevertheless, because the background fluorescence (3PEF) TF microscopy, we suppressed the out-of-focus fluorescence significantly compared with that of 2PEF-TF microscopy [2]. In this study, we demonstrate 3PEF-ITF microscopy, which not only suppresses the out-of-focus fluorescence but also enhances the lateral resolution up to 106 nm at an excitation wavelength of 1060 nm.

A home-built Yb-fiber chirped pulse amplifier (CPA) system, which produces 92-fs 9.0-µJ 1060-nm pulses at a repetition rate of 200 kHz, were utilized as a light source [2]. The output pulses were reflected by a digital micromirror device both as an amplitude grating and as a phase grating, which gave zero and ±1 order diffraction lights as three TF pulses. A structured illumination was produced by the interference between the three TF pulses. 3PEF images were acquired by a CMOS camera with an image intensifier. The excitation volume of 2PEF-TF and 3PEF-TF microscopies were shown in Figure 1(a). The out-of-focus background fluorescence in 3PTF microscopy was suppressed compared with that of 2PEF-TF microscopy [2]. We also characterized the lateral resolution. Figure 1(b) shows the signal distribution of a 100-nm diameter bead along the lateral direction. The full width at half maxima of the signal distributions for 3PEF-TF and 3PEF-ITF microscopies were 255 nm and 106 nm, respectively. Figures 1 (c), (d), (e) and (f) show the acquired 3P-TF and 3P-ITF images of the nucleus of a fixed mouse brain tissue stained with DAPI. We found that the lateral resolution and optical sectioning capability could be enhanced by 3P-ITF.



Fig. 1. (a) Excitation volume. (b) Lateral resolution. (c, d) x-y cross-sectional (c) TF and (d) ITF images. (e, f) x-z cross-sectional (e) TF and (f) ITF images along the dotted lines indicated in (c, d).

#### References

[1] K. Isobe, T. Takeda, K. Mochizuki, Q. Song, A. Suda, F. Kannari, H. Kawano, A. Kumagai, A. Miyawaki, and K. Midorikawa, "Enhancement of lateral resolution and optical sectioning capability of two-photon fluorescence microscopy by combining temporal-focusing with structured illumination," Biomed. Opt. Express 4, 2396-2410 (2013).

[2] K. Toda, K. Isobe, K. Namiki, H. Kawano, A. Miyawaki, and K. Midorikawa, "Temporal focusing microscopy using three-photon excitation fluorescence with a 92-fs Yb-fiber chirped pulse amplifier," Biomed. Opt. Express 8, 2796-2806 (2017).

72

#### P45E

## Over-1000 nm Near-Infrared (OTN-NIR) Fluorescent Labeling of Cultured Murine Colon-26 Cells by Using Single-Walled Carbon Nanotube Shota SEKIYAMA<sup>1</sup>, Masakazu UMEZAWA<sup>1, 2</sup>, Masao KAMIMURA<sup>1, 2</sup>, Yoko IIZUMI<sup>3</sup>, Takuji UBE<sup>1, 2</sup>, Toshiya OKAZAKI<sup>3</sup>, and Kohei SOGA<sup>1, 2, \*</sup>

\*e-mail: mail@ksoga.com

<sup>1</sup>Department of Materials Science and Technology Tokyo University of Science, Tokyo, Japan
<sup>2</sup>Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan, <sup>3</sup>CNT-Application Research Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Ibaraki, Japan

#### 1. Background

Cancer is one of the most serious clinical diseases with excess cell proliferation and metastasis. Especially, metastasis of cancer cells accelerated fatality of cancer patients. Therefore, observation of cell division and tracking of cancer metastasis is quite important study for future cancer medicine. One of the emerging techniques of *in vivo* imaging technique of cells in deep tissue is over-1000-nm-near-infrared (OTN-NIR) fluorescence imaging, because the OTN-NIR light is well known to penetrate into a deep part of animal bodies. An OTN-NIR nanophosphor, single-walled carbon nanotube (SWCNT) was used in the present study for its strong OTN-NIR emission. In this study, OTN-NIR fluorescent labeling of cultured murine Colon-26 cells with SWCNT was investigated for the application of the metastasis tracking of cancer cells.

#### 2. Methods

SWCNT was oxygenated under UV irradiation and dispersed in an aqueous solution of N-(carbonylmethoxypolyethyleneglycol 2000)-1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanol-amine (DSPE-PEG<sub>2k</sub>) to prepare

the biocompatible SWCNT-PEG. Infrared absorption spectrum of SWCNT dispersions was measured by Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR). Cultured murine Colon-26 cells were treated by SWCNT-PEG mixed with the culture medium and OTN-NIR fluorescence image was observed by OTN-NIR fluorescence microscope and Raman microscope. For acquiring the micro-Raman image, a Renishaw inVia confocal Raman microscope was used with a 532-nm excitation laser source. We measured the multiple point spectra from distinct locations on the sample, and the Raman mapping was obtained by plotting the G-band intensity in each spot.

#### 3. Results and discussion

From the IR spectra, the surface of SWCNT was effectively modified with DSPE-PEG (Fig. 1). Fig. 2 shows OTN-NIR fluorescence images of Colon-26 cells with different incubation time. From this result, incubation time-dependent increase of OTN-NIR emission intensity was clearly observed. In contrast, at 24 h after the addition of SWCNT-PEG, OTN-NIR fluorescence was not observed in the cells. This result was further confirmed by the Raman signals, suggesting that OTN-NIR fluorescence intensity was associated with cellular uptake of SWCNT. These results suggest that the Colon-26 cells were successfully labeled by SWCNT-PEG and it showed strong OTN-NIR emission. Therefore, the obtained OTN-NIR fluorescent labeled cells can be used for *in vivo* tracking of the metastasis in deep tissues.





Fig. 1 Infrared absorption spectra Fig. 2 Fluorescence image of Colon-26 cells

#### P46E

## Synthesis of Rare-Earth Doped NaGdF<sub>4</sub> Nanoparticles for OTN-NIR/MR Multimodal Imaging Ryuta TAKEDA<sup>1</sup>, Masao KAMIMURA<sup>1, 2</sup>, and Kohei SOGA<sup>1, 2</sup>

#### (mail@ksoga.com)

<sup>1</sup> Department of Materials Science and Technology, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

#### Introduction

Multimodal imaging techniques based on the combination of different imaging methods have been interested in medical and biological research field. Rare-earth doped NaGdF<sub>4</sub> nanoparticles (NPs) are well known to show tissue penetrable over-1000 nm near-infrared (OTN-NIR) fluorescence and thus are attractive as a candidate for deep tissue *in vivo* fluorescence imaging probe. Furthermore, NaGdF<sub>4</sub> NPs also possess magnetic properties and they can potentially be used as contrast agent of magnetic resonance (MR) imaging. Therefore, NaGdF<sub>4</sub> NPs are anticipated to be used as multimodal imaging probe based on both OTN-NIR fluorescence and MR imaging<sup>2</sup>.

It is well known that the particle size of NPs strongly affects on the blood circulation behavior and tumor uptake of themselves<sup>3)</sup>. Thus, synthesis of size controlled NaGdF<sub>4</sub> NP is required for successful imaging. In addition, due to the surface capping by oleic acid (OA) on the NaGdF<sub>4</sub> NPs to cause hydrophobic character, it is quite difficult to disperse them in aqueous environment. To solve this problem, in this study, the surface of NaGdF<sub>4</sub> NPs were modified with hydrophilic and biocompatible polymer, poly(ethylene glycol) (PEG) for developing multi modal *in vivo* imaging agent.

#### Experimental

OA capped NaGdF<sub>4</sub> NPs co-doped with 20 mol%  $Yb^{3+}$  and 2 mol%  $Er^{3+}$  (OA-NaGdF<sub>4</sub> NPs) were synthesized by a thermal decomposition method<sup>5,6</sup>). The surface of the obtained OA-NaYF<sub>4</sub> NP samples were converted into PEGylated surface via a stepwise ligand exchange method.

#### **Results and Discussion**

Fig. 1 shows the average particle sizes of the  $NaGdF_4 NP$  sampels before and after the PEGylaion. From this result, the OA-NaGdF<sub>4</sub> NP samples with

result, the OA-NaGdF4 NP samples with diferrent particle sizes (sample 1-3: ca. 10, 15, and 30 nm) were succesfully synthesized. Furthremore, after the PEGylation, average particle size of these samples were almost constant, and this result indicates that the PEGylated NPs were obtained without aggregation of NPs. From these findings, PEGylated NaGdF4 NPs with unimodal size distribution were successfully prepared and it has great potential for the multimodal imaging applications.

#### References

1) D. Ma et al., ACS Appl. Mater. Interfaces, 7 (2015) 16257.

P. Mi *et al.*, ACS Nano, 9 (2015) 5913.
 H. Cabral *et al.*, Nat. Nanotech., 6

(2011) 815.4) M. Kamimura *et al.*, J. Photopolym.

*Sci. Technol.*, **28** (2015) 711. 5) Noah J. J. Johnson *et al.*, *Chem. Mater.*,

**23** (2011) 3714.

6) E. Hemmer *et al.*, *Chem. Mater.*, **27** (2015) 235.



Fig.1 Average particle size of NaGdF<sub>4</sub> NP samples. Dispersion media: cyclohexane (OA-NPs) and distilled water (PEG-NPs), respectively.

## Design of Biocompatible Polymer Modified Rare-Earth Doped Ceramic Nanophosphors as Highly Stable Near-Infrared Fluorescence Imaging Probe Akira HONDA<sup>1</sup>, Masao KAMIMURA<sup>1,2</sup>, and Kohei SOGA<sup>1,2</sup>

(mail@ksoga.com)

<sup>1</sup> Department of Materials Science and Technology, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

#### Introduction

Rare earth ion doped ceramics nanoparticles (RED-CNPs) are expected as fluorescence bioimaging probes because these NPs show issue penetrative over-1000 nm near infrared (OTN-NIR) fluorescence under NIR excitation<sup>[1]</sup>. One of the most common RED-CNPs, Yb<sup>3+</sup> and Er<sup>3+</sup> co-doped NaYF<sub>4</sub> NPs show 1550 nm emission under 980 nm excitation<sup>[2]</sup>. The cationic polymer, polyethyleneimine capped NaYF<sub>4</sub> NPs (PEI-NaYF<sub>4</sub> NPs) is synthesized by solvothermal synthesis method<sup>[3]</sup>. Because of the PEI-NaYF<sub>4</sub> NPs possess amine groups on the NP surface, various biomolecules can be immobilized on the NPs surface. However, positive changed PEI-NaYF<sub>4</sub> NPs display serious cytotoxicity. To solve this problem, in this study, the surface of PEI-NaYF<sub>4</sub> NPs was modified

with biocompatible poly(ethylene glycol) (PEG) -block-poly(acrylic acid) (PAAc) via amide bond linking (Fig.1). Additionally, to inhibit the adsorption of negatively charged ions and small molecules on the NPs surface, butoxyacetic acid was also co-immobilized on the empty space of PEI chains on the PEGylated NP surface.

#### Method

PEI-NaYF<sub>4</sub> NPs were synthesized by solvothermal method<sup>[3]</sup>. PEG-b-PAAc was immobilized on PEI-NaYF4 NPs by using propyl]-N'-ethyl (dimethylamino) N-[3carbodiimide (EDC) and 1-hydroxy-2.5pyrrolidinedione (NHS) in MES buffer (pH 5.0). After PEGylation, 2-butoxyacetic acid was added into the mixture and immobilized on PEG-NaYF<sub>4</sub> NPs. These samples were dispersed in 10 mmol/L of phosphate buffered saline (PBS) and time dependent changes of relative absorbance was measured.

#### **Results and Discussion**

Fig 2 shows time-dependent changes of relative absorbance of NPs sample in PBS. From this result, although the only PEGylated NPs was unstable in PBS, 2-butoxyacetic acid and PEG co-immobilized NPs displayed excellent dispersion stability in PBS. This is probably because the 2-butoxyaceic acid molecules were reacted with excess amine group of the PEI and thus, absorption of anionic phosphate molecules of PBS was effectively shielded. Therefore, the obtained surface modified NPs can be used for OTN-NIR fluorescence imaging probe with high dispersion stability under physiological conditions.

References

[1] D. Jaque et al., Adv. Opt. Photonics., 8 (2016) 1.

[2] G. Jiang *et al.*, *Langmuir*, **28** (2012) 3239.

[3] F. Vetrone *et al.*, *Nanoscale*, **2** (2010) 495.



Fig.1 Schematic illustration of surface modification of PEI-NaYF4 NPs.



Fig.2 Time dependent changes of relative absorbance of NP samples in PBS.

#### P48E

## Formation of Hydrophobic Polymer Layer on Rare-Earth doped β-NaYF<sub>4</sub> Nanoparticles by Surface Initiated Atom Transfer Radical Polymerization for Fluorescence Nanothermometry

Shuhei KURAOKA<sup>1</sup>, Masao KAMIMURA<sup>1,2</sup> and Kohei SOGA<sup>1,2</sup>

(mail@ksoga.com)

 Department of Materials Science and Technology, Tokyo University of Science, Tokyo, Japan
 <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

#### Introduction

Temperature sensitive emission of rare-earth doped ceramic nanophosphors (RED-CNPs) has attracted attention in terms of the application for "nanothermometry", which can measure the temperature of small region in the living specimens. Over-1000-nm near-infrared (OTN-NIR) emission has higher transparency in biological tissues compared to below-1000-nm emission for fluorescence nanothermometry. Therefore, OTN-NIR nanothermometry can be applied especially for deep tissue temperature imaging. Hexagonal-phase  $\beta$ -NaYF<sub>4</sub> nanoparticles co-doped with Yb<sup>3+</sup>, Ho<sup>3+</sup> and Er<sup>3+</sup> (NaYF<sub>4</sub> NPs) displays two OTN-NIR emission peaks at 1150 nm of Ho<sup>3+</sup> and 1550 nm of Er<sup>3+</sup> under 980 nm excitation, and these emission peaks shows different temperature dependence<sup>[1]</sup>. Recently, our group reported the ratio metric fluorescence nanothermometry by using these emission properties. However, since the temperature dependencies of Ho<sup>3+</sup> and Er<sup>3+</sup> are strongly affected by dispersion media, formation of non-polar shielding layer is required to avoid the effects of dispersion media to optical properties. In this study, we investigated the formation of non-polar and hydrophobic polystyrene (PSt) layer on NaYF<sub>4</sub> NPs by surface initiated atom transfer radical polymerization. (ATRP)<sup>[2][3]</sup> for ---OA capped NaYF<sub>4</sub>NPs ----OA capped NaYF<sub>4</sub>NPs

#### Methods

Oleic acid (OA) capped NaYF<sub>4</sub> NPs (d = 25 nm) was synthesized by a thermal decomposition method<sup>[4]</sup>. OA molecules on the surface of NaYF<sub>4</sub>NPs were replaced with 11-(2-bromoisobutyrate)undecyl-1-phosphonic acid (BIUPA) via a stepwise ligand exchange method<sup>[5]</sup>. Then, hydrophobic PSt layer was formed on the surface of BIUPA-NaYF<sub>4</sub>: Yb<sup>3+</sup>,Ho<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup> NPs via the ATRP method. Particle size distribution of NaYF<sub>4</sub> NP samples was measured by dynamic light scattering (DLS). Amount of surface layer of NaYF<sub>4</sub> samples were evaluated by thermogravimetric analysis.

#### **Results and discussion**

Figure 1 shows the particle size distribution of the modified NaYF<sub>4</sub> samples. From this result, particle size of OA-NaYF<sub>4</sub> NPs ( $25 \pm 10 \text{ nm}$ ) and BIUPA-NaYF<sub>4</sub> NPs ( $25 \pm 10 \text{ nm}$ ) were almost same. On the other hand, particle size of PSt-NaYF<sub>4</sub> NPs was increased ( $105 \pm 35 \text{ nm}$ ) as compared to OA-NaYF4 NPs and BIUPA-NaYF<sub>4</sub> NPs. Furthermore, surface modification of NaYF<sub>4</sub> NP was also evaluated by thermogravimetric analysis (Figure 2). From this result, 23 wt% of PSt layer was formed on the surface of NaYF<sub>4</sub> NPs. Therefore, PSt layer was successfully formed on the NaYF<sub>4</sub> NPs surface and the obtained PSt-NaYF<sub>4</sub> NPs is promising candidate for fluorescence nanothermometer in various dispersion media.

#### References

- [1] M. Kamimura et al., J. Mater. Chem. B, 5 (2017) 1917.
- [2] K. Matyjaszewski et al., Nat. Chem., 1 (2009) 276.
- [3] Q. Song et al., J. Lumin., 136 (2013) 437.
- [4] F. Wang et al., Nat. Protoc., 9 (2014) 1634
- [5] A. Dong et al., J. Am. Chem. Soc., 133 (2011) 998.



Figure 1 Particle size distribution of NaYF<sub>4</sub> NP samples.



#### P49E

#### **P50E**

Segmentation of cell membrane and cell nucleus Using pix2pix of Local Regions Masaya Sato<sup>1</sup> Kazuhiro Hotta<sup>2</sup> Ayako Imanishi<sup>3</sup> Michiyuki Matsuda<sup>4</sup> and Kenta Terai<sup>5</sup> Email: <sup>1</sup>163433017@ccmailg.meijo-u.ac.jp, <sup>2</sup>kazuhotta@meijo-u.ac.jp, { <sup>3</sup>imanishi.ayako.38a@st., <sup>4</sup>matsuda.michiyuki.2c@, <sup>5</sup>terai.kenta.5m@}kyoto-u.ac.jp <sup>1,2</sup>1–501 Siogamaguchi, Nagoya, Tenpaku-ku, Aichi 468-0073, Japan <sup>3,4,5</sup>Yoshidakonoecho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8315 Japan

<sup>1,2</sup>Meijo University, <sup>3,4,5</sup>Kyoto University

We propose a semantic segmentation method of cell membrane and cell nucleus. In recent years, deep learning gave high accuracy in many computer vision tasks. Since SegNet is a segmentation method using deep learning, we used the SegNet [1] but segmentation accuracy is not enough. Thus, we try to use pix2pix [2] which is an improved method of deep convolutional generative adversarial networks (DCGAN) [3]. Pix2pix generates good segmentation result by the competition of generator and discriminator.

Here, we used fluorescence images of the liver of transgenic mice that expressed fluorescent markers on the cell membrane and in the nucleus. The size of the 50 images used in the analysis is 256 x 256 pixels. We randomly divided images into 40 training images and 10 test images. Since the number of training images is not sufficient for deep learning, we cropped 20 local regions from each a training image to increase the number of training images. We tried to evaluate the local regions of 128x128, 64x64 and 32x32 pixels. In addition, we also evaluated the integration of global, 128x128 and 64x64 pixels. The segmentation result by each method was voted at each pixel and the class label with maximum vote was used as final segmentation result.

The accuracy of original image and local regions are evaluated using two measures; global accuracy and class average. Global accuracy is correct classification rate of all pixels. This is influenced by objects with large area such as background. Class average is the mean classification rate of each class. This is influenced by objects with small area such as cell membrane and cell nucleus. Table 1 shows the accuracy of our method. We see that the accuracy of local regions is better than that of a global region. Integration of 3 regions also gives good accuracy. Figure 2 shows the segmentation results. The segmentation accuracy for cell membrane of the proposed method with 128x128 pixels is much better than that of a global region.



Table 1 Accuracy of the proposed method

References

[1] V. Badrinarayanan et al. "SegNet: A Deep Convolutional Encoder-Decoder Architecture for Image Segmentation", IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, vol. 99, pp. 1–1, 2017.
 [2] P. Isola et al. "Image-to-Image Translation with Conditional Adversarial Networks", Conputer Vision and Pattern Recognition 2017.
 [3] A.Radford et al. "Unsupervised Representation Learning with Deep Convolutional Generative Adversarial Networks" International Conference on Learning Representations 2016

## Identification of pollen compatibility factor required for successful pollination Surachat TANGPRANOMKORN<sup>1</sup>, Sota FUJII<sup>1,2</sup>, Motoko IGARASHI<sup>3</sup>, Megumi IWANO<sup>3</sup> and Seiji TAKAYAMA<sup>1</sup>

(surachatbc@gmail.com)

 <sup>1</sup> Graduate School of Agricultural and Life Sciences University of Tokyo, Tokyo, Japan
 <sup>2</sup> Precursory Research for Embryonic Science and Technology Japan Science and Technology Agency
 <sup>3</sup> Graduate School of Biological Sciences Nara Institute of Science and Technology, Nara, Japan

Pollination is an important step in flowering plant mate selection. Various mechanisms have been employed to accept only compatible pollen for fertilization. Dry stigma species, such as Brassicaceae, require pollen compatibility factor to trigger proper responses in the pistil. Early after pollen-stigma contact, protein/lipid-rich pollen coat flows from the pollen surface and mix with stigma pellicle forming foot-like structure. This is when the compatibility factor is thought to be recognized by the stigma. Extracted pollen coat fraction possesses an activity to induce compatible-like response in the pistil<sup>[1]</sup>. Furthermore, heat or proteinase K treatment impaired pollen coat activity. These results suggest that the proteinaceous pollen factor resides in the pollen coating. However, the discovery of such factor is hampered by the lack of method to directly detect compatibility factor activity. Here, we utilized pollination-inducible promoter obtained from our previous transcriptomic data<sup>[1]</sup> to introduce a high-throughput luciferase-based bioassay. Compatible pollination would induce the promoter activity resulting in bioluminescence induction in the transgenic pistil. This is the first method to track compatible signaling in real-time. Also, the assay directly detects compatibility factor in the pollen coat, since pollen coat-less mutants fails to induce the luciferase activity. We call this assay Pollen Coat Compatibility Factor (PCCF) detection assay. PCCF assay is used to screen more than 2,000 randomly-mutagenized Arabidopsis population. Interestingly, I found 15 pollen mutants showing affected compatibility phenotype. This is to be expected if the compatibility factor gene is mutated. The work to identify causal mutations underlying this phenotype is now underway.

#### Reference

[1] Iwano, M., Igarashi, M., Tarutani, Y., Kaothien-Nakayama, P., Nakayama, H., Moriyama, H., Yakabe, R., Entani, T., Shimosato-Asano, H., Ueki, M., Tamiya, G. and Takayama, S. "A pollen coat–inducible autoinhibited Ca<sup>2+</sup>-ATPase expressed in stigmatic papilla cells is required for compatible pollination in the Brassicaceae." *The Plant Cell* 26(2), 2014: 636-649.

#### P51F

## P52F

## Nuclear dynamics of chromatin remodeler RAD54 in DNA damage response of

### plant

#### Takeshi Hirakawa and Sachihiro Matsunaga\*

#### (\*sachi@rs.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Faculty of Science and Technology, Tokyo University of Science

Genome stability is constantly challenged by exogenous and endogenous stresses that induce DNA damage. Because plants are sessile organism, their genome integrity is threatened by environmental stresses such as drought, heat, and cold. These stresses also induce DNA damage through the production of reactive oxygen species in plants. Genetic and biochemical analyses revealed that functional genes and signaling pathway in response to DNA damage in plants. Recently, it is revealed that subnuclear dynamics dramatically change in DNA damage response of unicellular models and systems, however, little is known about it in multicellular organism including plants.

Previously, we revealed that the spatial arrangement of homologous loci is changed by DNA-double strand breaks and RAD54 is involved in this phenomenon in Arabidopsis [1]. RAD54 is chromatin remodeler conserved in eukaryotes and has an important role in DNA repair by homologous recombination. There are findings about RAD54 as chromatin remodeler *in vitro*, however, little is known about the behavior of RAD54 *in vivo*.

In this study, we found that RAD54 forms several foci (RAD54 foci) in nuclei of Arabidopsis with DNA-double strand breaks. Genetic and live-imaging analyses revealed that RAD54 foci were formed during DNA damage response and were detected specifically at damaged sites. Therefore, we defined RAD54 foci as DNA repair foci in Arabidopsis. Interestingly, RAD54 foci formation showed cell-type and tissue region specificity depended on cell cycle stage. This study will be useful to identify sensors in DNA damage response of plants [2].

#### References

[1] Hirakawa, T., Katagiri, Y., Ando, T. and Matsunaga, S. (2015) DNA double-strand breaks alter the spatial arrangement of homologous loci in plant cells. *Sci Rep*, 5, 11058

[2] Hirakawa, T., Hasegawa, J., White, C. I. and Matsunaga, S. (2017) RAD54 forms DNA repair foci in response to DNA damage in living plant cells. *Plant J*, 90, 372-382.

## The regulatory mechanisms for root hair growth of Arabidopsis by two transcription factors, GTL1 and RSL4

Michitaro Shibata<sup>1</sup>, Christian Breuer<sup>1</sup>, Ayako Kawamura<sup>1</sup>, Bart Rymen<sup>1</sup>, Lewis Watt<sup>1</sup>, Natalie

M. Clark<sup>2</sup>, Luke Braidwood<sup>1</sup>, Rosangela Sozzani<sup>2</sup>, Siobhan M. Brady<sup>3</sup>, Philip N. Benfey<sup>4</sup>,

Keiko Sugimoto<sup>1</sup>

#### (michitaro.shibata@riken.jp)

<sup>1</sup> RIKEN Center for Sustainable Resource Science, Kanagawa, Japan
<sup>2</sup>Department of Plant and Microbial Biology, North Carolina State University, Raleigh NC, USA.
<sup>3</sup>Department of Plant Biology, University of California Davis, Davis, California USA
<sup>4</sup>Department of Biology, Howard Hughes Medical Institute, Duke University, Durham, USA.

Root hairs are the outgrowth from root epidermis which contributes efficient nutrient-uptake by increasing the surface area. Indeed, the hair length is sensitive to environmental conditions such as phosphorus, nitrogen, potassium, and other minerals. Compare to the physiological role and functions, however, the molecular mechanisms underlying the environmental response is largely unknown. Since a lot of genes are related for the cell growth, we focus on transcription factors on root hairs.

We have previously shown that a trihelix transcription factor GT-2 LIKE1 (GTL1) is a regulator for cell size in Arabidopsis. GTL1 expressed in both shoots and roots. The loss-of-function mutations in shoots cause enlarged trichomes, demonstrating that GTL1 restricts trichome cell growth[1]. We have also shown that GTL1 directly suppresses the expression of CCS52A1 gene that promotes endoreplication, suggesting that GTL1 regulates trichome growth in a ploidy-dependent manner[2]. In this study we investigated the role of GTL1 in roots and found that GTL1 functions as a negative regulator for root hair development. Although single mutants of GTL1 do not show clear phenotypes in root hairs, double mutants of GTL1 and its close homolog cause longer root hairs than those of wild-type plants. Consistently, overexpression of GTL1 or its homolog strongly suppresses root hair growth, indicating that root hair growth is sensitive to the dose of this family of trihelix transcription factors. To uncover the downstream transcriptional cascade of GTL1 for root hair development, we have performed root hair-specific transcriptome analysis coupled with chromatin immunoprecipitation analysis. From these analysis, we have found GTL1 directly regulate RSL4 which is another transcription factor working for root hair development as a positive manner.

These findings suggest that two transcription factors RSL4 and GTL1 govern root hair growth as an activator and a repressor, respectively.

#### References

- C. Breuer, A. Kawamura, T. Ichikawa, R. Tominaga-Wada, T. Wada, Y. Kondou, S. Muto, M. Matsui, and K. Sugimoto, 'The Trihelix Transcription Factor Gtl1 Regulates Ploidy-Dependent Cell Growth in the Arabidopsis Trichome', Plant Cell, 21 (2009), 2307-22.
- [2] C. Breuer, K. Morohashi, A. Kawamura, N. Takahashi, T. Ishida, M. Umeda, E. Grotewold, and K. Sugimoto, 'Transcriptional Repression of the Apc/C Activator Ccs52a1 Promotes Active Termination of Cell Growth', EMBO J, 31 (2012), 4488-501.

#### P53F

## Multiple crucial functions of NADPH oxidase-mediated production of reactive oxygen species in a liverwort *Marchantia polymorpha*

#### Kenji HASHIMOTO<sup>1</sup>, <u>Hiroki SHINDO<sup>1</sup></u>, Tomohiro TAKAGAWA<sup>1</sup>, Takeru ITABASHI<sup>1</sup>, Kimitsune ISHIZAKI<sup>2</sup>, Ryuichi NISHIHAMA<sup>3</sup>, Takayuki KOHCHI<sup>3</sup>, and Kazuyuki KUCHITSU<sup>1,4</sup> j6413057@ed.tus.ac.jp

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo Univ. of Science, Noda, Chiba, Japan
 <sup>2</sup> Graduate School of Science, Kobe University, Kobe, Hyogo, Japan
 <sup>3</sup> Graduate School of Biostudies, Kyoto University, Kyoto, Japan
 <sup>4</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan

Respiratory burst oxidase homologs (Rbohs) that produce reactive oxygen species (ROS) in the cell wall/apoplast are known to function in a variety of physiological processes in plants including tip growth of root hairs and pollen tubes [1-2]. The liverwort *Marchantia polymorpha* harbors two homologs, MpRbohA and MpRbohB, that share high structural similarity among land plants. Biochemical analyses using a heterologous expression system [3] have demonstrated that both MpRbohs are synergistically activated by phosphorylation of and binding of  $Ca^{2+}$  to the conserved N-terminal regulatory domain. We have established knockout lines of the two isozymes using the CIRSPR/Cas9 genome editing system and revealed that they have distinct physiological roles in development, morphogenesis and environmental stress responses. We will discuss various imaging techniques to characterize the morphological phenotypes of the *rboh* mutants such as cell proliferation rate and the cell division pattern during the vegetative development. For further understanding of the significance of the Rboh-dependent ROS production as well as the crosstalk between ROS and  $Ca^{2+}$  in each function, we have been establishing a spatio-temporal imaging system using various ROS- and  $Ca^{2+}$  specific probes.

#### Reference

- Takeda et al. (2008) Local Positive Feedback Regulation Determines Cell Shape in Root Hair Cells. Science 319:1241-1244.
- [2] Kaya et al. (2014) Ca<sup>2</sup>-activated ROS production by Arabidopsis RbohH and RbohJ is essential for proper pollen tube tip growth. *Plant Cell* 26:1069-1080.
- [2] Ogasawara et al. (2008) Synergistic Activation of the Arabidopsis NADPH Oxidase Atrohob by Ca<sup>2+</sup> and Phosphorylation, J. Biol. Chem. 283:8885-8892.

## P54F

#### Screening and characterization of novel plant defense activators

## Nobutaka KITAHATA<sup>1,2</sup>, Daisuke HAYAMA<sup>1</sup>, Ayumi YOSHIDA<sup>1</sup>, Masataka NAKANO<sup>1</sup>, Yasuhiro ISHIGA<sup>3</sup>, Takamitsu KURUSU<sup>1,2</sup>, Takashi UEDA<sup>4</sup>, Tadao ASAMI<sup>5</sup>, and Kazuyuki KUCHITSU<sup>1,2</sup>

#### (kitahata@rs.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan
 <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan
 <sup>3</sup> Faculty of Life and Environmental Science, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Japan
 <sup>4</sup> Division of Cellular Dynamics, National Institute for Basic Biology, Okazaki, Aichi, Japan
 <sup>5</sup> Graduate School of Agricultural and Life Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan

Plants recognize signal molecules from pathogens to induce multiple layers of defense responses including production of reactive oxygen spices (ROS) and expression of defense-related genes. Priming plays an important role in plant defense against pathogens. Priming state is induced by primary infection with pathogens and elicits strong resistance against secondary pathogen attack. Plant defense activators are chemicals that induce the priming state in noninfected plants. Compared with antimicrobial substances and insecticides, plant defense activators have advantages to avoid emergence of drug-resistant pathogens and to protect microbes in the field. However, only a few effective plant defense activators have been found so far, and its range of application is still limited.

We established a new high-throughput screening method to identify novel lead compounds for plant defense activators. From a total of 11,000 compounds screened, we selected dozens of candidates. These candidates enhanced defense responses such as production of ROS and induction of programmed cell death in tobacco BY-2 cells triggered by cryptogein, a protein from an oomycete. They also potentiated ROS production and expression of defense-related genes in Arabidopsis seedlings triggered by a microbe-associated molecular pattern (MAMP), flg22, a peptide derived from bacteria.

One of the candidate compounds was a phosphoinositide 3-kinase (PI3K) inhibitor. PI3Ks are associated with the regulation of several types of intracellular membrane trafficking systems such as endocytosis and autophagy. Several layers of defense responses were found to be upregulated in mutants defective in the endosome-vacuole fusion that requires PI3K. Intracellular dynamics of the pattern recognition receptor upon recognition of the ligand, flg22, was also comparatively analyzed in the wild type and the mutant by confocal imaging. Based on the results using the mutants and the PI3K inhibitor, possible regulatory mechanisms of the MAMP-triggered defense responses by intracellular membrane trafficking systems will be discussed.

#### P55F

# Analysis of an epigenetic factor involved in cell proliferation in plant regeneration.

## Yuki Katsuyama<sup>2</sup>, Kaoru Sugimoto<sup>2</sup>, Satoshi Kadokura<sup>1</sup>, Motoaki Seki<sup>3</sup>, Sachihiro Matsunaga<sup>1,2</sup>

(katsu 0269@yahoo.co.jp)

<sup>1</sup>Department of Applied Biological Science, Faculty of Science and Technology, Tokyo University of Science, <sup>2</sup>Department of Applied Biological Science, Graduate School of Science and Technology, Tokyo University of Science, <sup>3</sup>Plant Genomic Network Research Team, RIKEN Center for Sustainable Resource Science.

In the initial process of in vitro plant regeneration, pluripotent cell mass called callus is induced from differentiated tissues under proper culture conditions, which can form roots and shoots in response to the subsequent cultural treatment. Callus formation is, therefore, an important process for the acquisition of the pluripotency of the tissues. However, the molecular mechanisms that explain the entire process of the callus formation still remain unclear. Previous studies have shown that the regulation of the epigenetic state in the cells, such as histone modifications, are critical for callus formation. But the molecular pathway through which, epigenetic factors regulate cell proliferation of the callus still largely remained unclear. To reveal the molecular mechanisms that regulate callus growth, we performed a screening of mutant plants deficient in the gene for a histone modifying enzyme. We found that the mutant for ASH1 HOMOLOG2 (ASHH2) displayed a reduced degree of callus formation from leaf explants, compared to wild type callus. By measuring the weight of each callus-forming explant, we found that the ashh2 callus was significantly lighter than the wild type callus. ASHH2 gene codes for an enzyme responsible for H3K36me3, which enhances transcriptional activity. We confirmed that methylation amount of trimethyl-H3K36 was reduced in the callus derived from ashh2 mutant, suggesting that H3K36me3 caused by ASHH2 might be associated with the cell proliferation of callus. We next examined which component of callus-inducing-medium (CIM) is associated with the ashh2 callus phenotype. By testing various media containing different concentrations of CIM components, we found that one of the components had an effect on the changes of the cell proliferative states of the callus in ashh2 mutant, comparing to those of wild type. Taken all together, our results suggest that the cell proliferation of callus might be regulated by the ASHH2-mediated H3K36me3.

#### Reference

Skoog, F., and Miller, C.O. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. Symp. Soc. Exp. Biol. 11, 118–130.

#### P56F

## Critical roles of autophagy in the regulation of reproductive development and programmed cell death in rice.

## Takamitsu Kurusu<sup>1</sup>, Jumpei Sawada<sup>1</sup>, Yuri Sera<sup>1</sup>, Shigeru Hanamata<sup>1,2</sup>, Seijiro Ono<sup>3</sup>, Nobutaka Kitahata<sup>1,2</sup>, Keni-chi Nonomura<sup>3</sup>, and Kazuyuki Kuchitsu<sup>1,2</sup>

(kurusu@rs.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan <sup>3</sup> National Institute of Genetics, Mishima, Shizuoka, Japan

In flowering plants, programmed cell death (PCD) of the tapetum, the innermost layer of the anther, is one of the most critical and sensitive steps for pollen maturation and fertility. It is severely affected by various environmental stresses, which cause serious problems in agriculture. Autophagy contributes to various cellular processes including maintenance of cellular homeostasis, innate immunity, development, and PCD in multicellular organisms. However, its roles in plant development had remained poorly understood. We recently discovered that autophagy is induced at the uninucleate stage during pollen maturation and required for tapetal PCD, postmeiotic anther development and nutrient supply to the pollens in rice (Fig. 1) [1-4]. We also established an *in vivo* imaging system to analyze the dynamics of autophagy during pollen maturation. Transcriptomic, metabolomic and microscopic analysis of the autophagy-deficient mutant suggested novel functions of autophagy in the regulation of reproductive development and lipid metabolism. Possible involvement of reacting and transcriptional network in the regulation of autophagy and the proper timing of tapetal PCD during anther development will also be discussed.



Fig.1. Schematic representation of a cross-section of a rice anther containing immature microspores, and a hypothetical model of tapetal PCD regulation [4]. Autophagy plays a critical role in pollen maturation in rice, and is essential for supply of nutrients such as lipids including lipid body from the tapetum to pollens, and tapetal PCD during pollen maturation and tapetal degradation in rice. Unbroken and broken arrows indicate established and hypothetical links, respectively. T, tapetum; ML, middle layer; En, endothecium; M, microspores; V, vascular bundle.

#### References

- Kurusu et al. (2014) OsATG7 is required for autophagy-dependent lipid metabolism in rice postmeiotic anther development. *Autophagy* 10: 878-888.
- [2] Hanamata et al. (2014) Roles of autophagy in male reproductive development in plants. *Frontiers in Plant Science* 5: e457.
- [3] Kurusu et al. (2016) Quantitative live cell imaging of autophagic flux and roles of autophagy in reproductive development in plants. *Bioimages* 24: 1-11.
- [4] Kurusu and Kuchitsu (2017) Autophagy, programmed cell death and reactive oxygen species in sexual reproduction in plants. *Journal of Plant Research* 130: 491-499.

84

#### P57F

## Imaging cytosolic Ca<sup>2+</sup> concentration at a single cell level in plants by a novel bioluminescent ratiometric Ca<sup>2+</sup> probe

Hiroko Nagai<sup>1</sup>, Yusuke Niino<sup>2</sup>, Natsuo Sukegawa<sup>1</sup>, Nobutaka Kitahata<sup>1,3</sup>, Atsushi Miyawaki<sup>2</sup>, and Kazuyuki Kuchitsu<sup>1,3</sup>

(h.nagai@alumni.tus.ac.jp)

<sup>1</sup>Department of Applied Biological Science, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan <sup>2</sup>RIKEN Brain Science Institute, Wako, Saitama, Japan <sup>3</sup>Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan

 $Ca^{2+}$  plays a fundamental role in intracellular signaling in most eukaryotic cell types. Since many signaling proteins are regulated by cytosolic  $Ca^{2+}$  concentration ( $[Ca^{2+}]_{cyt}$ ) apparently in the right place at the right time, it is important to have a quantitative understanding of the spatiotemporal pattern of  $[Ca^{2+}]_{cyt}$ . On the one hand, fluorescence-based  $Ca^{2+}$  probes are difficult to use in cells and tissues of higher plants, which possess a large amount of chlorophyll fluorescence and exhibit various light responses via photoreceptor proteins.

On the other hand, bioluminescence produces much less photons than fluorescence, and it is still difficult to use bioluminescent probes for quantitative  $Ca^{2+}$  imaging at a single cell level.

Here we report the development of a novel dual-emission ratiometric  $Ca^{2+}$  probe, OC, which enables quantitative  $[Ca^{2+}]$  imaging in both bioluminescence and fluorescence modes. Its bioluminescence is bright enough to image  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  in a single cell, allowing for comparative evaluation with fluorescence readout. We generated stably-transformed *Arabidopsis thaliana* lines constantly expressing OC under the 35S promoter of cauliflower mosaic virus. We acquired high-resolution images of OC-expressing root and guard cells in bioluminescence as well as fluorescence modes (Fig. 1, 2). Spatiotemporal regulations of  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  using the dual-mode probe will be discussed.



Figure 1. Fluorescence (left) and luminescence (right) images of the Arabidopsis root expressing OC. Scale bar =  $100 \mu m$ .



Figure 2. Fluorescence (left) and luminescence (right) images of the Arabidopsis leaf epidermis and stomatal guard cells expressing OC. Scale bar =  $20 \mu m$ .

85

#### P58F

## Phosphorylation of a 26S proteasome subunit has a crucial function in DNA damage tolerance in *Arabidopsis thaliana* Yuta Arakawa<sup>1</sup>, Takuya Sakamoto<sup>1</sup>, and Sachihiro Matsunaga<sup>1</sup> (6417605@ed.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Applied Biological Science, Faculty of Science and Technology,

Tokyo University of Science, Chiba, Japan

In eukaryotes, many cellular processes are regulated through a major proteolytic system, the ubiquitin proteasome pathway. In this system, 26S proteasome actively degrades ubiquitin-tagged proteins (Vierstra *et al.*, 2003). We have been focusing on the functions of this system in stress responses in *Arabidopsis thaliana*. We established that RPT5a, a subunit of 26S proteasome plays an important role in tolerance to zinc deficiency (Sakamoto *et al.*, 2011). Furthermore, our recent analysis indicated that RPT5a is also involved in DNA damage response. Here, we report the possibility of phosphoregulation of RPT5a functions in DNA damage response.

We found that a defect in a prospinoregulation of NT 15a ruletions in D1A damage response. We found that a defect in a protein kinase, AUR3, caused similar phenotype in root morphology as the mutants of RPT5a did under DNA damage inducing condition. This result indicated the possibility of phosphoregulation of RPT5a by AUR3. In vitro phosphorylation assay showed that AUR3 phosphorylates RPT5a. LC-MS/MS analysis identified several candidate sites for AUR3-dependent phosphorylation in RPT5a (T29, T116, S286, and S419). Genetic analysis suggested that the phosphorylation of S419 in RPT5a is required for the tolerance to DNA damage induction.

#### References

Vierstra et al., Tendents Plant Sci., 2003, 8: 135-42.
 Sakamoto et al., Biosci Biotechnol Biochem., 2011, 75: 561-7.

P59F

## Transmission FT-IR spectroscopy of DPPC membrane modified by using ScaleA2 Katsura MASUKAWA<sup>1</sup>, Takuji UBE<sup>1</sup>, and Takashi ISHIGURO<sup>1</sup> (8217651@ed.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Department of Materials Science and Technology Tokyo University of Science, Tokyo, Japan

Fluorescence imaging techniques are being studied to observe the connection of brain neurons. Therefore, it is effective to make the brain tissue transparent. The group of RIKEN succeeded in making the mouse to be transparent by  $Sca/eA2^{[1]}$ . The transmittance is related to light scattering, and the transmittance is improved by reducing the difference in refractive index between the sample and the solvent. On the other hand, since water has large absorption in the infrared region, it was difficult to evaluate the bonding state and vibration state of the sample in the aqueous solution by infrared spectroscopy. However, we developed the cell with the optical path length of about 1  $\mu$ m, which made it possible to measure molecular vibrations in aqueous solution. So far, optical evaluation of transparency by various reagents has been conducted, but the study on the mechanism of transparency of phospholipid (Dipalmitoyl-phosphatidyl-choline, DPPC), the main constituent of the cell membrane of animals, by Sca/eA2, and to investigate the process by using Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy.

We formed DPPC membrane on Si substrate and measured change of its IR spectrums in ScaleA2 and ultrapure water every 5 minutes for 10 hours by using FT/IR-6200 spectrophotometer (JASCO Inc.). The structure of DPPC is shown in the Fig. 1. As shown in Fig. 2, paying attention to absorption of  $\gamma$  (CH<sub>2</sub>) <sup>[2]</sup>, the peak of DPPC in ScaleA2 shifted to lower wavenumber than the peak of DPPC in ultrapure water. Figure 3 shows the IR spectrum of DPPC in ScaleA2 and itself. Focusing on absorption of v(CO) <sup>[3]</sup>, the peak of DPPC in ScaleA2 shifted to higher wavenumber than the peak of ScaleA2.

As a result, it was possible to observe change of IR spectra when DPPC membrane was modified by using ScaleA2. Moreover, the carbonyl group of urea in ScaleA2 is thought to act on choline site of DPPC.

#### References

H. Hama, et al., Nat Neurosci, 14,1481-1490 (2011)
 D. G. Cameron, et al., BBRC, 83(3), 886-892 (1978)
 J. E. Stewart, et al., AIP, 26(2), 248-254 (1956)



87

#### P60G

## Longitudinal analysis of the immune cells in the sentinel lymph node in a mouse model: possibility of the application toward an imaging diagnostic technology

## Kazunobu Ohnuki, Hirofumi Fujii (konuki@east.ncc.go.jp)

Division of Functional Imaging, Exploratory Oncology Research and Clinical Trial Center (EPOC), National Cancer Center, Kashiwa, Japan

**Background:** The goal of sentinel lymph node (SLN) imaging studies is to establish the methods to visualize metastatic statuses inside SLNs that would be useful for the prediction of patients' prognosis. We are actively investigating immunological responses inside SLNs to identify the reactions that would deteriorate patients' prognosis and to visualize signals originated from these reactions *in vivo*. In this study, we found that B cells increase in metastatic SLNs and we are studying the longitudinal change of the numbers of B cells and the formation of germinal centers inside SLNs towards *in vivo* imaging of these changes. We expect that the visualization of these interesting findings *in vivo* would provide additional information to conventional imaging tests for SLNs that would be useful toward the improved prediction of patients' prognoses.

Materials and Methods: We used syngeneic tumor models of B16F10 melanoma in C57/BL6 and EMT6 breast carcinoma in BALB/c and complete Freund's adjuvant (CFA)-induced inflammatory model. The interval changes of numbers of immune cells inside SLNs were measured by flow cytometry. Moreover, localization of these immune cells inside SLNs was also longitudinally observed by immunohistochemistry.

**Results:** Flow cytometry tests revealed that the progression of metastases of melanoma inside SLNs increased the number of B220+ cells more significantly than those of CD3+ cells. These increased B220+ cells were judged as B cells by positive results for CD19+. Moreover, germinal center (GC) B cells (B220+, GL7+) strongly increased in models of BALB/c-EMT6 tumor model in comparison with models of CFA induced inflammation. Immunohistochemical findings demonstrated advanced metastases insides SLNs facilitated formations of GCs.

**Discussion/Conclusion:** So far, immunological studies on SLNs have been focused on the changes of T cells, especially CD8+ T cells (CTL). But, in the light of diagnostic imaging tests, more attention should be paid to cell groups that would more dramatically change their numbers according to the progress of metastases. In this study, we found that the onset of metastases in SLNs induced significant increase of the B cells, and the progress of metastases facilitated the formation of germinal centers inside SLNs. We expect that the visualization of these interesting findings *in vivo* would provide additional information to conventional imaging tests for SLNs that would be useful toward the improved prediction of patients' prognoses. We are planning further evaluations to confirm the specificity of the obtained findings and to apply them to *in vivo* imaging tests.

88

#### P61D

## Cancer Cell Death Induced by Cyclometalated Iridium(III) Complexes Having Hydrophobic Groups at the *N*-terminus of Peptide Kana NAITO<sup>1</sup>, Nozomi SUZUKI<sup>1</sup>, Kenta YOKOI<sup>1</sup>, Yosuke HISAMATSU<sup>1</sup>, Abdullah-Al Masum<sup>1</sup> and Shin AOKI<sup>1, 2</sup>

#### (3b17646@ed.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Faculty of Pharmaceutical Science, Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

Tris-cyclomethalated iridium(III) (Ir(III)) complexes have received considerable attention as important candidates for organic light-emitting diods (OLEDs), luminescent probes for cellular imaging, and so on, because of their excellent phosphorescence and photophysical properties. We found that Ir complexes **1a** and **1b** linked with cationic peptides through C6 or C8 linker exhibit potent cytotoxity against Jurkat cells and strong green emission in dead cells.<sup>1)</sup> For the mechanistic study, we synthesized **2** containing trifluoromethyl-3-phenyldiaziridine (TFPD) groups at the *N*-terminus of GGKKK (G: glycine, K: lysine) peptides, which has higher cytotoxity against Jurkat cells than that of **1**.<sup>2)</sup> These results prompted us to design and synthesize new complexes containing hydrophobic groups such as benzoyl (**3**), 1-adamanthylcarbonyl (**4**) and heptadecancyl units (**5**).

The results of MTT assay of these Ir complexes against Jurkat cells suggest that hydrophobic parts (3-5) considerably enhance their cytotoxity. Moreover, the localization of these Ir complexes in/on Jurkat cells and the effect of some inhibitors of the intracellular events were examined to study mechanistic aspects of cell death induced by Ir complexes. In this paper, these results will be reported.



#### Refrrences

Y. Hisamatsu, A. Shibuya, N. Suzuki, T. Suzuki, R. Abe and S. Aoki, *Bioconjugate Chem.* 2015, 26, 857–879.
 Y. Hisamatsu, N. Suzuki, A.-A, Masum, A. Shibuya, R. Abe, A. Sato, S. Tanuma and S. Aoki, *Bioconjugate Chem.* 2017, 28, 507–523.

#### P62B

## <sup>11</sup>B NMR/MRI of Copper (II) Ions in Vitro Based on the Full Decomposition of o-Carborane Derivatives under Physiological Conditions Shin AOKI<sup>1,2</sup>, Tomohiro TANAKA<sup>1,3</sup>, Rikita ARAKI<sup>4</sup>, Takaomi SAIDO<sup>5</sup>, and Ryo ABE<sup>6</sup>

#### (shinaoki@rs.noda.tus.ac.jp)

<sup>1</sup> Faculty of Pharmaceutical Science, Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>2</sup> Imaging Frontier Center, Tokyo University of Science, Chiba, Japan <sup>3</sup> The Noguchi Institute, Tokyo, Japan <sup>4</sup> Bruker Biospin K. K., Yokohama, Japan <sup>5</sup> Laboratory for Proteolytic Neuroscience, RIKEN Brain Science Institute, Wako, Japan <sup>6</sup> Research Institute for Biomedical Sciences, Tokyo University of Science, Chiba, Japan

It is known that Cu<sup>2+</sup> is an abundant element in bio-organism (an essential element in humans) and functions as a crucial cofactor for a numerous enzymes such as tyrosinase, cytochrome c oxidase and superoxide dismutase. Although the levels of  $Cu^{2+}$  in normal human serum range from 19  $\mu$ M to 32  $\mu$ M, current research indicates that it is altered in many diseases such as Menkes syndrome, Willson's disease, Alzheimer's disease, Parkinson's diseases, and certain types of cancer. Thus, the development of imaging probes for detecting  $Cu^{2+}$  is important to understand its metabolism and roles in pathological events. Nevertheless, progress in developing MRI probes of metal ions such as Cu<sup>2+</sup> has been much slower than that of fluorescent sensors.

We previously reported on phenylboronic acid-pendant cyclen 1 ( $L^1$ ) for the detection of d-block metals (cyclen = 1,4,7,10-tetraazacyclododecane)<sup>[1]</sup> The C-B bond of L<sup>1</sup> is cleaved upon the formation of the metal complex 2 (ML) with d-block metals to give 3  $(ML^2)$  and B(OH)<sub>3</sub> in aqueous solution at neutral pH, resulting in the formation of 3  $(ML^2)$  and one equivalent of B(OH)<sub>3</sub> (Scheme 1). Moreover, we succeeded in the *in-cell* <sup>11</sup>B NMR detection of Zn<sup>2+</sup> in cultured Jurkat cells.



Scheme 1. Structures of boron compounds and their decomposition reactions

Herein, we report on the development of Cu2+-specific 11B NMR/MRI probes based on the full decomposition of *ortho-* and *nido-o*-carborane analogs 4-7 promoted by  $Cu^{2+}$  (Scheme 1). Although it is generally believed that *o*-carborane are so stable under physiological conditions,<sup>[2]</sup> full decomposition of these *o*-carboranes was observed in the presence of  $Cu^{2+}$  in aqueous solution at neutral pH to give B(OH)<sub>3</sub> and these reactions have been applied to <sup>11</sup>B NMR/MRI of  $Cu^{2+}$  *in vitro*.<sup>[3,4]</sup> In this paper, these results will be reported.

#### References

- [1] Kitamura, M.; Suzuki, T.; Abe, R.; Ueno, T.; Aoki, S. *Inorg. Chem.* 2011, *50*, 11568-11580.
   [2] (a) Issa, F.; Kassiou, M.; Rendina, L. M. *Chem. Rev.* 2011, *111*, 5701-5722. (b) R. N. Grimes, *Carboranes, 2<sup>nd</sup>* ed.; Academic Press, New York, 2011.
- [3] Tanaka, T.; Nishiura, Y.; Araki, R.; Saido, T.; Abe, R.; Aoki, S. Eur. J. Inorg. Chem. 2016, 1819-1834.
- [4] Tanaka, T.; Araki, R.; Saido, T.; Abe, R.; Aoki, S. Eur. J. Inorg. Chem. 2016, 3330-3337.

#### P63B