

小林孝嘉

国立大学法人電気通信大学 先端超高速レーザー研究センター  
特任教授

高性能レーザーによる細胞光イメージング・光制御と光損傷機構の解明

## §1. 研究実施体制

### (1) 電通大グループ

① 研究代表者: 小林 孝嘉 (電気通信大学先端超高速レーザー研究センター, 特任教授)

#### ② 研究項目

- ・誘導放出・散乱イメージング
- ・光劣化初期過程機構の研究
- ・2光子励起スペクトル測定

### (2) 東京大グループ

① 主たる共同研究者: 河西 春郎 (東京大学大学院医学系研究科, 教授)

#### ② 研究項目

- ・カルシウムアンケイジング法によるシナプス前終末研究法の開拓
- ・2色アンケイジング法によるシナプス競合機構の研究
- ・多光子イメージングの応用

### (3) 広島大グループ

① 主たる共同研究者: 安倍 学 (広島大学大学院理学研究科, 教授)

#### ② 研究項目

- ・光解離性分子の合成
- ・光解離性分子の物性評価
- ・光解離性分子の光反応

## §2. 研究実施の概要

### ・新奇レーザー顕微イメージング

前年度に構築した新奇レーザー顕微鏡の高性能化を行った。特に雑音低減測定法の導入により散弾雑音限界感度まで感度を向上させたことで高感度な生体イメージングが可能となった。さらに光学系の改良により、焦点平面での空間分解能を回折限界サイズと比較しておよそ 2 倍向上させることに成功した。また高性能走査ステージを導入し、実際に東京大学河西グループの準備した YFP 標識された神経細胞を対象とした生体標本試料の高解像・高速・広領域の観察を行った[図 1 左]。さらに順天堂大の鶴井博士の作製した弱蛍光性量子ドットで標識された免疫細胞のイメージングを行い、本手法が弱蛍光性の物質に対しても適用可能であることを実証した[図 1 右]。

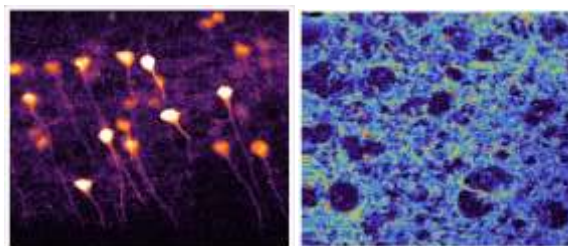


図 1 左:神経細胞の誘導放出イメージング 右:マウス脳のチューブリンの光熱イメージ

### ・誘導ラマンイメージング

前年度に開発した誘導ラマン分光イメージング顕微鏡は、白色プローブ光の光雑音が原因で生体試料の測定がやや困難である。そのため今年度は多波長で同時に光雑音を削減する新奇な検出法と検出器を開発した。この検出法によって白色プローブ光を分光しつつ原理的限界である散弾雑音限界より 3 dB 大きなところまで光雑音の低減が達成できることを実証した。さらに、この検出法を用いて、ポリスチレンビーズの誘導ラマンイメージを取得し、本手法が顕微鏡へ応用可能であることも実証した(図 2)。次年度は、本方法を多波長に適用しつつ、より明るいプローブ光によって散弾雑音を低減し、同時多波長計測による生体試料の誘導ラマン分光イメージングを実現する予定である。

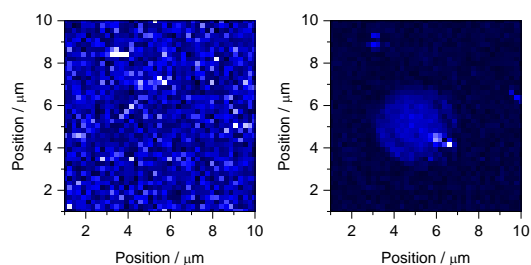


図2 4 μ m ポリスチレンビーズの誘導ラマンイメージ 左:雑音低減法未適用 右:雑音低減法適用

### §3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### 論文詳細情報(国際)

##### 【電通大チーム】

D-1. C.-W. Luo, I.-H. Wu, P.-C. Cheng, J.-Y. Lin, K.-H. Wu, T.-M. Uen, J.-Y. Juang, T. Kobayashi, D.-A. Chareev, O.-S. Volkova, and A.-N. Vasiliev, “Quasiparticle dynamics in FeSe superconductors studied by femtosecond spectroscopy”,

J. Supercond Nov Magn, Vol. 26, Issue 4, pp.1213–1215, 2013

(DOI 10.1007/s10948-012-1929-y)

D-2. T. Kobayashi, M. Yamashita, J. Du, J. Zhang, I. Iwakura, “Vibrational and electronic relaxation in MEH-PPV using few cycle pulses”, Chem. Phys. Lett. Vol.579, pp.51-57, 2013 (DOI: 10.1016/j.cplett.2013.06.029)

D-3. T. Kobayashi, Z. Nie, J. Du, K. Okamura, H. Kataura, Y. Sakakibara, Y. Miyata, “Electronic relaxation and coherent phonon dynamics in semiconducting single-walled carbon nanotubes with several chiralities”, Physical Review B, Vol.88, No.3, pp.35424-35439, 2013 (DOI: 10.1103/PhysRevB.88.035424)

D-4. S.-A. Ku, C.-M. Tu, W.-C. Chu, C.-W. Luo, K.-H. Wu, A. Yabushita, C.-C. Chi, and T. Kobayashi, “Saturation of the free carrier absorption in ZnTe crystals”, Opt. Exp., Vol.21, No.12, pp. 13930-13937, 2013 (DOI:10.1364/OE.21.013930)

D-5. J.-P. He, T. Kobayashi, “Generation of sub-20-fs deep-ultraviolet pulses by using chirped-pulse four-wave mixing in CaF<sub>2</sub> plate”, Opt. Lett., Vol.38, No.16, pp. 2938-2940, 2013 (<http://dx.doi.org/10.1364/OL.38.002938>)

D-6. K. Seto, Y. Okuda, E. Tokunaga, and T. Kobayashi, “Development of a multiplex stimulated Raman microscope for spectral imaging through multi-channel lock-in detection”, Rev. Sci. Instrum., Vol. 84, No.8, 83705, 2013 (DOI: 10.1063/1.4818670):

D-7. I. Iwakura, A. Yabushita, J. Liu, K. Okamura, S. Kezuka, and T. Kobayashi, “A new reaction mechanism of Claisen rearrangement induced by few-optical-cycle pulses: Demonstration of nonthermal chemistry by femtosecond vibrational spectroscopy”, Pure Appl. Chem., ASAP Article, 2013 (<http://dx.doi.org/10.1351/PAC-CON-12-12-01>)

- D-8. C. W. Luo, H.-J. Chen, C. M. Tu, C. C. Lee, S. A. Ku, W. Y. Tzeng, T. T. Yeh, M. C. Chiang, H. J. Wang, W. C. Chu, J.-Y. Lin, K. H. Wu, J. Y. Juang, T. Kobayashi, C.-M. Cheng, C.-H. Chen, K.-D. Tsuei, H. Berger, R. Sankar, F. C. Chou, H. D. Yang, "THz Generation and detection on Dirac Fermions in topological insulators", *Adv. Opt. Mater.*, Volume 1, Issue 11, pages 804–808, 2013 (DOI: 10.1002/adom.201300221)
- D-9. K. Nakagawa, Y. Numata, H. Ishino, D. Tanaka, T. Kobayashi and E. Tokunaga, "Excimer luminescence from nonresonantly excited pyrene and perylene molecules in solution", *J. Phys. Chem. A*, Vol.117, Issue.45, pp.11449–11455, 2013 (DOI: 10.1021/jp402330n)
- D-10. D. Hasegawa, K. Nakata, E. Tokunaga, K. Okamura, J. Du, T. Kobayashi, "Vibrational energy flow between modes by dynamic mode coupling in THIATS J-Aggregates", *J. Phys. Chem.*, Vol.117, Issue.45, pp.11441-11448, 2013 (DOI: 10.1021/jp4015228)
- D-11. C.W. Luo, H. J. Wang, S. A. Ku, H.-J. Chen, T. T. Yeh, J.-Y. Lin, K.-H. Wu, J.-Y. Juang, B. L. Young, T. Kobayashi, C.-M. Cheng, C.-H. Chen, K.-D. Tsuei, R. Sankar, F. Chou, K. Kokh, O. E. Tereshchenko, E. V. Chulkov, Yu. M. Andreev, and Genda Gu, "Snapshots of Dirac fermions near the Dirac point in topological insulators", *Nano Letters*, Vol.13, 12, pp 5797–5802, Nov. 2013 (DOI: 10.1021/nl4021842)
- D-12. T. Kobayashi, Ph. D; Nie Zhaogang; Juan Du, "Coherent phonon coupled with exciton in semiconducting single-walled carbon nanotubes using a few-cycle pulse laser", *J. Lumin.*, Available online 31 December 2013 (in press) DPC2013 (10.1016/j.jlumin.2013.12.025)
- D-13. Takayoshi Kobayashi, Zhaogang Nie, Bing Xue, H. Kataura, Y. Sakakibara, Y. Miyata, "Real-time spectroscopy of single-walled carbon nanotubes for negative time delays by using a few-cycle pulse laser", *J. Phys. Chem. C*, Vol. 118, Issue.6, pp.3285–3294, Publication Date (Web): January 16, 2014, jp-2013-09202z.R1 (DOI: 10.1021/jp409202z)
- D-14. K. Seto, T. Tsukada, Y. Okuda, E. Tokunaga, and T. Kobayashi, "Development of a balanced detector with biased synchronous detection and application to noise cancelling of supercontinuum pulse light", *Rev. Sci. Instrum.*, Vol.85, 023702, Feb.5, 2014 (<http://dx.doi.org/10.1063/1.4863879>):

D-15. A.Yabushita, D.-Y.Juang, C.-H.Kao, A.Baltuška, T.Kobayashi, “Generation of multi-color carrier-envelope phase locked pulse with continuous color tenability”, *Optics Communications Opt.Comm.*, Vol.315, pp.310–316, Mar. 15, 2014

【東京大チーム】

T-1. Hira, R., Ohkubo, F., Tanaka, Y.R., Masamizu, Y., Augustine, G.J., Kasai, H. & Matsuzaki, M. (2013). *In vivo* optogenetic tracing of functional corticocortical connections between motor forelimb areas. *Frontier in Neural Circuits* 7:55. (DOI: 10.3389/fncir.2013.00055)

T-2. Hayama, T., Noguchi, J., Watanabe, S., Ellis-Davies, G.C.R., Hayashi, A., Takahashi, N., Matsuzaki, M. & Kasai, H. (2013). GABA promotes the competitive selection of dendritic spines by controlling local Ca<sup>2+</sup> signaling. *Nature Neurosci.* 16:1409-1416. (DOI:10.1038/nn.3496).

T-3. Nuriya, M., Momotake, A., Kimura, Y., Yasui, M., Kasai, H. & Arai, T. (2013) Evaluation of dialkylaminofluorene-based hemicyanine dyes for second harmonic generation imaging by the direct comparison approach. *Bull. Chemical Soc. Jpn.* 86:1190-1192. (doi:10.1246/bcsj.20130094)

T-4. Asrican, B., Augustine, G.J., Berglund, K., Chen, S., Chow, N., Deisseroth, K., Feng, G., Gloss, B., Hira, R., Hoffman, C., Kasai, K., Katarya, M., Jinsook, K., Kudolo, J., Lee, L., Qiang Lo, S., Mancuso, J., Matsuzaki, M., Nakajima, R., Qiu, L., Tan, T., Tang, Y., Ting, J.T., Tsuda, S. & Wen, L. (2013). Next-generation transgenic mice for optogenetic analysis of neural circuits. *Frontier in Neural Circuits* 7:160. (DOI:10.3389/fncir.2013.00160)

T-5. Takehara, H., Nagaoka, A., Noguchi, J., Akagi, T., Sakai, T., Chung, U., Kasai, H. & Ichiki, T. (2013). Implementation of tetra-poly (ethylene glycol) hydrogel with high mechanical strength into microfluidic device technology. *Biomicrofluidics* 7, 054109. (DOI: 10.1063/1.4822033)

T-6. Hayashi-Takagi, A., Araki, Y., Nakamura, M., Vollrath, B., Duron, S.G., Yan, Z., Kasai, H., Haganir, R.L., Campbell, D.A. & Sawa, A. (2014) PAK inhibitors rescue DISC1-deficit-triggered dendritic spine deterioration: novel therapeutic potential for schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* In press.

【広島大チーム】

H-1. Substituent Effect on the Energy Barrier for  $\sigma$ -Bond Formation from  $\pi$ -Single Bonded Species, Singlet 2,2-Dialkoxycyclopentane-1,3-diyls. Ye, J.; Fujiwara, Y.; Abe, M. *Beilstein J. Org. Chem.* 2013, 9, 925-933. (DOI:10.3762/bjoc.9.106)

H-2. On the decarboxylation of 2-methyl-1-tetralone-2-carboxylic acid – oxidation of the enol intermediate by triplet oxygen. A. Riahi, J. Muzart, M. Abe and N. Hoffmann, *New J. Chem.* 2013, 37(8), 2245-2249. (DOI:10.1039/C3NJ00457K)

H-3. Kinetic Stabilization and Reactivity of  $\pi$  Single-Bonded Species: Alkoxy Group Effect on the Lifetime of Singlet 2, 2-Dialkoxy-1,3-diphenyloctahydropentalene-1,3-diyls. Nakagaki, T.; Sakai, T.; Mizuta, T.; Fujiwara, Y.; Abe, M. *Chem. Eur. J.* 2013, 19(31), 10395-10404. (DOI: 10.1002/chem.201300038)

H-4. Synthesis and photochemical reactivity of caged glutamates with a  $\pi$ -extended coumarin chromophore as a photolabile protecting group. Sakamoto, Y.; Boinapally, S.; Katan, C.; Abe, M. *Tetrahedron Lett.*, 2013, 54(52), 7171-7174. (DOI:10.1016/j.tetlet.2013.10.107)

H-5. Scope and Limitation for FeSO<sub>4</sub>-Mediated Direct Arylation of Heteroarenes with Arylboronic Acids and Its Synthetic Applications. Komeyama, K.\*; Nagao, Y.; Abe, M.; Takaki, K.\*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 2014, 87(2), 301-313. (DOI:10.1246/bcsj.20130166)

(3-2) 知財出願

- ① 平成 25 年度特許出願件数 (国内 4 件)
- ② CREST 研究期間累積件数 (国内 4 件)