

STRUCTURAL CHEMISTRY

Annual Research Highlights

(1) “Ultrafast confocal fluorescence microscopy beyond the fluorescence lifetime limit”

Laser-scanning confocal fluorescence microscopy is an indispensable tool for biomedical research by virtue of its high spatial resolution, but its temporal resolution is inadequate for many applications. We developed a confocal fluorescence microscope that surpasses the highest possible frame rate constrained by the fluorescence lifetime of fluorophores (typically a few to several nanoseconds). This microscope was enabled by integrating a broadband, spatially distributed, dual-frequency comb and quadrature amplitude modulation for optimizing spectral efficiency into frequency-division multiplexing with single-pixel photodetection for signal integration. We demonstrated confocal fluorescence microscopy at a record high frame rate of 16,000 frames/s. To show its broad biomedical utility, we used the microscope to demonstrate 3D volumetric confocal fluorescence microscopy of cellular dynamics at 104 volumes/s and confocal fluorescence imaging flow cytometry of hematological and microalgal cells at up to 2 m/s.

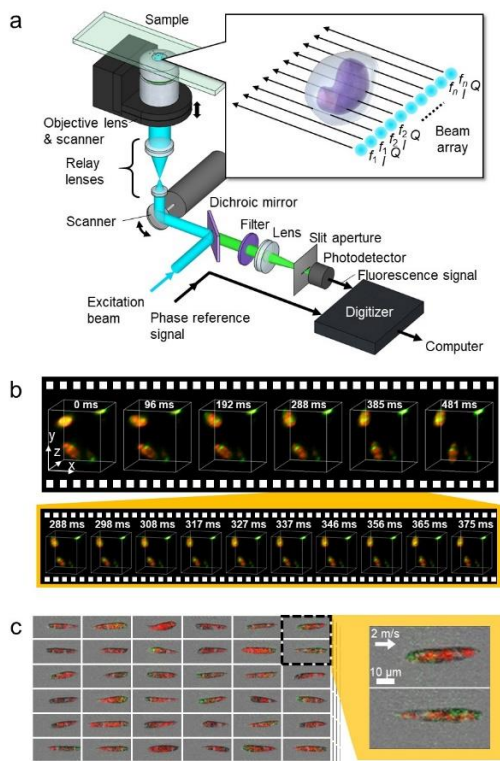


Fig. 1 Ultrafast confocal fluorescence microscopy. (a) Schematic of the system. (b) 3D fluorescence movie of *Euglena gracilis* at 100 volumes/sec. (c) Fluorescence images of *Euglena gracilis* at a flow speed of 2 m/s.

1.(1)-3) *Optica*, **5**, 117-126 (2018).

(2) “Intelligent Image-Activated Cell Sorting”

A fundamental challenge of biology is to understand the vast heterogeneity of cells, particularly how cellular composition, structure, and morphology are linked to cellular physiology. Unfortunately, conventional technologies are limited in uncovering these relations. To overcome this limitation, new approaches are needed to rapidly search through and sort out cells with unique chemical and morphological features from large heterogeneous populations. In this work, we developed an intelligent image-activated cell sorting technology, integrates high-throughput cell microscopy, focusing, and sorting on a hybrid software-hardware data-management infrastructure, enabling real-time automated operation for data acquisition, data processing, decision-making, and actuation, all within 32 ms even with deep-learning algorithms. The technology is highly versatile and expected to enable machine-based scientific discovery in biological, pharmaceutical, and medical sciences.

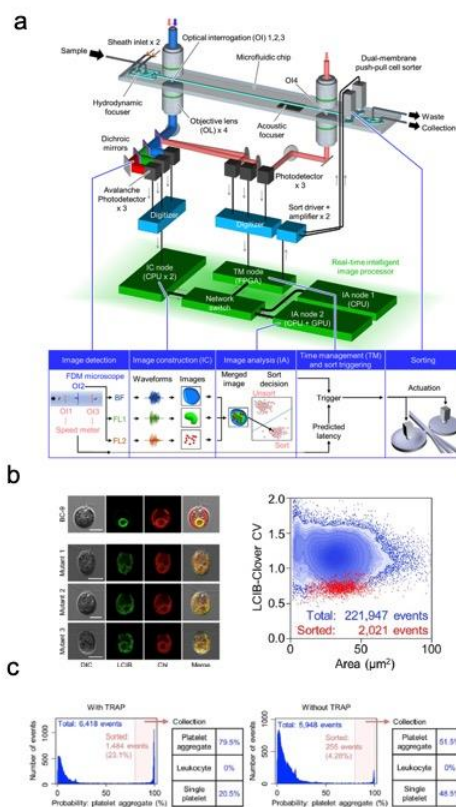


Fig. 2 Intelligent image-activated cell sorting. (a) Schematic and functionality of the intelligent image-activated cell sorting machine. (b) Real time sorting of microalgal mutants based on intracellular protein localization. (c) Real-time sorting of blood cells based on cell-cell interaction.

1.(1)-1) *Cell*, **175**, 266-276 (2018).

研究ハイライト

(1) “蛍光寿命限界を突破した超高速共焦点蛍光顕微鏡法”

レーザー走査型共焦点蛍光顕微鏡は、その高い空間分解能により、生物医学研究に不可欠なツールであるが、時間分解能は多くの応用研究に対して不十分である。そこで我々は、蛍光寿命（通常は数ナノ秒以内）によって制約される撮像速度限界を超える共焦点蛍光顕微鏡を開発した。この顕微鏡は、スペクトル効率を最適化するための広帯域の空間分布デュアル周波数コムおよび直交振幅変調を、信号統合用の単一ピクセル光検出による周波数分割多重化に統合することで実現される。本顕微鏡により、16,000 フレーム/秒の記録的な高フレームレートでの蛍光撮像が可能になった。生命科学や医学研究における有用性を示すために、本顕微鏡を使用して、104 ボリューム/秒での細胞動態の 3D 蛍光イメージングと、最大 2 m /秒での血液細胞および微細藻類細胞の共焦点蛍光イメージングフローサイトメトリーを実証した。

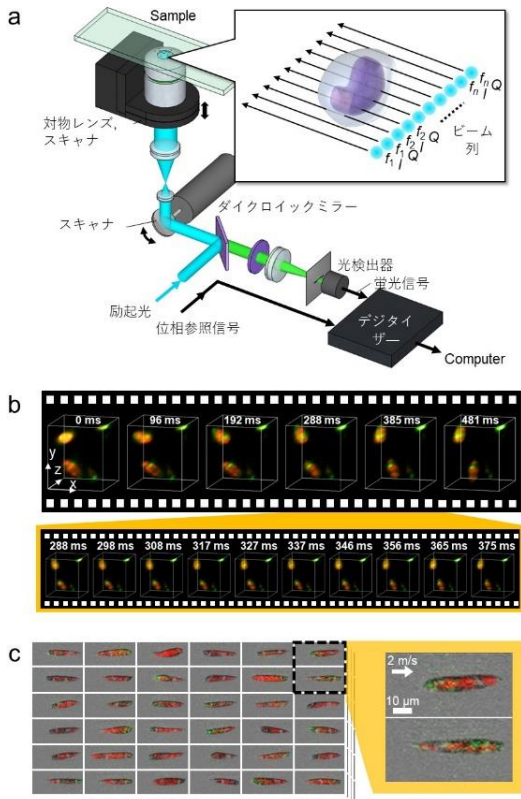


図 1. 超高速共焦点蛍光顕微鏡法。(a)システムの概略図。(b)100 ボリューム/秒でとらえたユーグレナ (*Euglena gracilis*) の 3D 蛍光動画。(c)流速 2 m/s でとらえたユーグレナ (*Euglena gracilis*) の蛍光画像。

1.(1)-3) *Optica*, **5**, 117-126 (2018).

(2) “インテリジェント画像活性細胞選別法”

細胞の多様性、特に細胞の組成、構造、および形態が細胞生理学にどのように関連しているかを理解することは、生物学における根本的な研究課題となっている。しかしながら、従来の技術はこれらの関係を明らかにすることは難しかった。この困難を解決するために、多様性のある大きな細胞集団からユニークな化学的および形態学的特徴を持つ細胞を高速に観察して分取するための新しいアプローチが求められていた。本研究では、インテリジェント画像活性細胞選別法を開発し、ハイスループットの顕微鏡観察技術、細胞整列技術、および細胞分取技術をソフトウェアとハードウェアのハイブリッドデータ管理インフラストラクチャに統合し、データ取得、データ処理、意思決定、および分取動作のリアルタイム自動操作を可能にする。そのスピードは、深層学習アルゴリズムを使用した場合でも、すべて 32 ミリ秒以内に行うことができるスピードである。本技術の応用先は非常に広く、生物学、製薬、および医学の科学的発見を可能にすることが期待される。

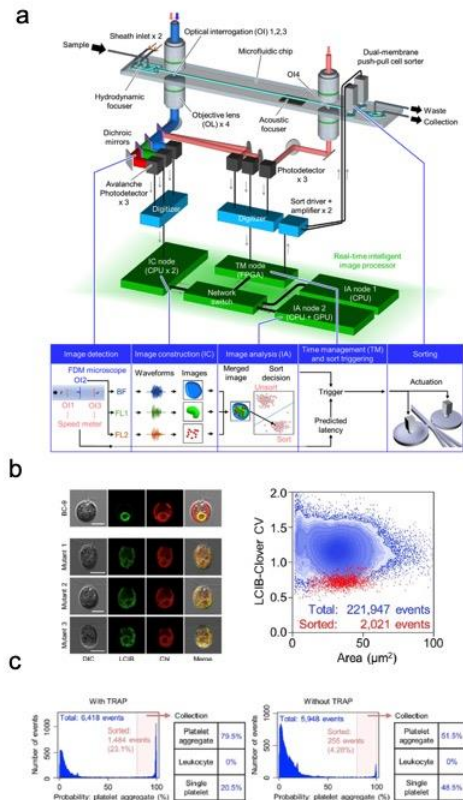


図 2. インテリジェント画像活性細胞選別法。(a)装置の概略図と機能。(b)細胞内タンパク質局在に基づく微細藻類変異体の分取。(c)細胞間相互作用に基づいた血液細胞の分取。

1.(1)-1) *Cell*, **175**, 266-276 (2018).

1. 原著論文

(1) Refereed Journals

- 1) N. Nitta, T. Sugimura, A. Isozaki, H. Mikami, K. Hiraki, S. Sakuma, T. Iino, F. Arai, T. Endo, Y. Fujiwaki, H. Fukuzawa, M. Hase, T. Hayakawa, K. Hiramatsu, Y. Hoshino, M. Inaba, T. Ito, H. Karakawa, Y. Kasai, K. Koizumi, S. Lee, C. Lei, M. Li, T. Maeno, S. Matsusaka, D. Murakami, A. Nakagawa, Y. Oguchi, M. Oikawa, T. Ota, K. Shiba, H. Shintaku, Y. Shirasaki, K. Suga, Y. Suzuki, N. Suzuki, Y. Tanaka, H. Tezuka, C. Toyokawa, Y. Yalikun, M. Yamada, M. Yamagishi, T. Yamano, A. Yasumoto, Y. Yatomi, M. Yazawa, D. Di Carlo, Y. Hosokawa, S. Uemura, Y. Ozeki, and K. Goda, “Intelligent image-activated cell sorting”, *Cell* **175**, 266-276 (2018)
- 2) C. Lei, H. Kobayashi, D. Wu, M. Li, A. Isozaki, A. Yasumoto, H. Mikami, T. Ito, N. Nitta, T. Sugimura, M. Yamada, Y. Yatomi, D. Di Carlo, Y. Ozeki, and K. Goda, “High-throughput imaging flow cytometry by optofluidic time-stretch microscopy”, *Nature Protocols* **13**, 1603-1631 (2018)
- 3) H. Mikami, J. Harmon, H. Kobayashi, S. Hamad, Y. Wang, O. Iwata, K. Suzuki, T. Ito, Y. Aisaka, N. Kutsuna, K. Nagasawa, H. Watarai, Y. Ozeki, and K. Goda, “Ultrafast confocal fluorescence microscopy beyond the fluorescence lifetime limit”, *Optica* **5**, 117-126 (2018)
- 4) M. Li, M. van Zee, C. T. Riche, B. Tofig, S. Gallaher, S. Merchant, R. Damoiseaux, K. Goda, and D. Di Carlo, “A gelatin microdroplet platform for high-throughput sorting of hyperproducing single-cell-derived microalgal clones”, *Small* **14**, 1803315 (2018)
- 5) H. Mikami, C. Lei, Y. Ozeki, and K. Goda, “High-speed imaging meets single-cell analysis”, *Chem* **4**, 2278-2300 (2018)
- 6) H. E. Munoz, M. Li, C. T. Riche, N. Nitta, E. Diebold, J. Lin, K. Owsley, M. Bahr, K. Goda, and D. Di Carlo, “Single-cell analysis of morphological and metabolic heterogeneity in *Euglena gracilis* by fluorescence imaging flow cytometry”, *Analytical Chemistry* **90**, 11280-11289 (2018)
- 7) M. Li, M. van Zee, K. Goda, and D. Di Carlo, “Size-based sorting of hydrogel droplets using inertial microfluidics”, *Lab on a Chip* **18**, 2575-2582 (2018)
- 8) T. Xiao, Z. Bao, Z. Cheng, and K. Goda, “Giant optical activity in an all-dielectric spiral nanoflower”, *Small* **14**, 1800485 (2018)
- 9) T.-H. Xiao, Z. Zhao, W. Zhou, M. Takenaka, H. K. Tsang, Z. Cheng, and K. Goda, “High-Q germanium optical nanocavity”, *Photonics Research* **6**, 925-928 (2018)
- 10) T. Miura, H. Mikami, A. Isozaki, T. Ito, Y. Ozeki, and K. Goda, “On-chip light-sheet fluorescence imaging flow cytometry at a high flow speed of 1 m/s”, *Biomedical Optics Express* **9**, 3424-3433 (2018)
- 11) T. Ideguchi, T. Nakamura, S. Takizawa, M. Tamamitsu, S. Lee, K. Hiramatsu, V. R. Badarla, J. Park, Y. Kasai, T. Hayakawa, S. Sakuma, F. Arai, and K. Goda, “Microfluidic single-particle chemical analyzer with dual-comb coherent Raman spectroscopy”, *Optics Letters* **43**, 4057-4060 (2018)
- 12) T. Xiao, Z. Zhao, W. Zhou, C. Chang, S. Y. Set, M. Takenaka, H. K. Tsang, Z. Cheng, and K. Goda, “Mid-infrared high-Q germanium microring resonator”, *Optics Letters* **43**, 2885-2888 (2018)
- 13) T. Maeno, T. Uzawa, I. Kono, K. Okano, T. Iino, K. Fukita, O. Iwata, K. Suzuki, T. Ito, K. Goda, and Y. Hosokawa, “Targeted delivery of fluorogenic peptide aptamers into live microalgae by femtosecond laser photoporation at single-cell resolution”, *Scientific Reports* **8**, 8271 (2018)

(2) その他

- 1) C. Lei and K. Goda, “The complete optical oscilloscope”, *Nature Photonics* **12**, 190-191 (2018)
- 2) C. Lei, N. Nitta, Y. Ozeki, and K. Goda, “Optofluidic time-stretch imaging: recent advances”, *Optical Review* **25**, 464-472 (2018)

- 3) K. Goda, A. Zumbusch, Z. Huang, and Y. Ozeki, “Guest editorial: Special topic on coherent Raman spectroscopy and imaging”, *APL Photonics* **3**, 090401 (2018)

2. 総説・解説

- 1) Y. Ozeki and K. Goda, “Opening a new world by unconventional bioimaging”, *Optronics* **37**, 62 (2018)
- 2) C. Lei, H. Kobayashi, Y. Ozeki, and K. Goda, “Optical time-stretch imaging for biofuel production, medical diagnostics, and drug discovery”, *Optronics* **37**, 74 (2018)
- 3) H. Mikami, Y. Ozeki, and K. Goda, “Ultrafast confocal fluorescence microscopy using telecommunication technology”, *Optronics* **37**, 94 (2018)
- 4) T. Xiao, Z. Cheng, and K. Goda, 「高性能ナノデバイスを実現する螺旋状ナノフラワー」, 化学 **74**, 45 (2018)
- 5) K. Goda and N. Nitta, 「スーパースター細胞を超高速に発見する」, 理学部ニュース **11**, 6 (2018)

3. 著書

4. その他

- 1) EurekAlert (2018年8月27日) 「Massive effort yields image-based cell sorting technology」
- 2) 日経バイオテク (2018年8月29日) 「ImPACT 発ベンチャー、深層学習用いた高速細胞分離装置の実用化を目指す」
- 3) 日刊工業新聞 (2018年8月28日) 「東大、AI活用の細胞分取装置を開発 手作業半年分が40分に」
- 4) Nature Research Highlights (2018年8月30日) 「A smart system could upend a decades-old method of cell analysis」
- 5) Science Trends(2018年11月5日) 「Intelligent image-based cell sorting and beyond」