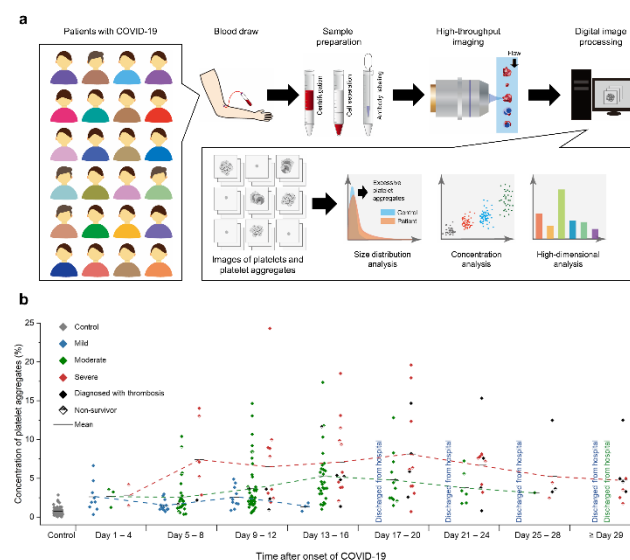


## Annual Research Highlights

### (1) “Massive image-based single-cell profiling reveals high levels of circulating platelet aggregates in patients with COVID-19”

With the increasing number of global case reports since the beginning of the COVID-19 pandemic, it has become clear that COVID-19-associated microvascular thrombosis is one of the key factors for the severity and mortality of COVID-19. In fact, COVID-19 autopsy reports have shown widespread thrombotic microangiopathy characterized by extensive diffuse microthrombi within peripheral capillaries and arterioles in lungs, hearts, and other organs, resulting in multiorgan failure. However, the underlying process of COVID-19-associated microvascular thrombosis remains elusive due to the lack of tools to statistically examine platelet aggregation (i.e., the initiation of microthrombus formation) in detail. Here we report the landscape of circulating platelet aggregates in COVID-19 obtained by massive single-cell image-based profiling and temporal monitoring of the blood of COVID-19 patients (n = 110). Surprisingly, our analysis of the big image data shows the anomalous presence of excessive platelet aggregates in nearly 90% of all COVID-19 patients. Furthermore, results indicate strong links between the concentration of platelet aggregates and the severity, mortality, respiratory condition, and vascular endothelial dysfunction level of COVID-19 patients.

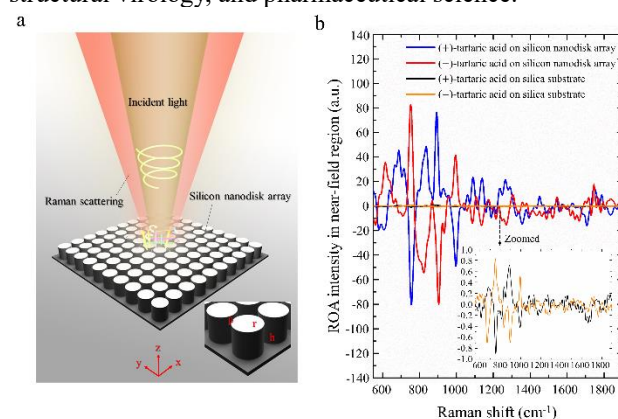


**Fig. 1** Massive image-based profiling of circulating platelets and platelet aggregates at single-cell resolution. (a) Experimental workflow consisting of blood draw, sample preparation, high-throughput imaging, and digital image analysis. (b) Evolution of the platelet aggregate concentrations of different severity groups (mild, moderate, severe).

1.(1)-1) *Nature Communications* **12**, 7135 (2021).

### (2) “All-dielectric chiral-field-enhanced Raman optical activity”

Since its first demonstration in the 1970s, Raman optical activity (ROA) has exhibited its powerful ability to identify the absolute conformational information and behavior of chiral molecules in aqueous solutions as well as its advantages over X-ray crystallography and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy in sample preparation and cost performance. However, ROA is extremely weak (3–5 orders of magnitude weaker than spontaneous Raman scattering), which makes ROA much less popular among users than X-ray crystallography and NMR spectroscopy. Localized surface plasmon resonance (LSPR) on metallic nanoparticles has been employed to enhance ROA signals, but is hindered by detrimental spectral artifacts due to its photothermal heat generation and inability to efficiently transfer and enhance optical chirality of excitation light from the far field to the near field. Here we report our development of on-chip chiral-field-enhanced ROA by harnessing a silicon nanodisk array that tailors the chiral field to significantly increase the interaction between the excitation light and chiral molecules via exploiting a dark mode. Specifically, we used the array with a pair of biological enantiomers to show >100x enhanced chiral light-molecule interaction with negligible artifacts for ROA measurements. With these capabilities, we think our silicon nanodisk array is expected to open an efficient, cost-effective, reliable way for absolute conformational analysis of trace chiral molecules which cannot be analyzed by X-ray crystallography and NMR spectroscopy and hence holds promise in diverse fields such as analytical chemistry, structural virology, and pharmaceutical science.



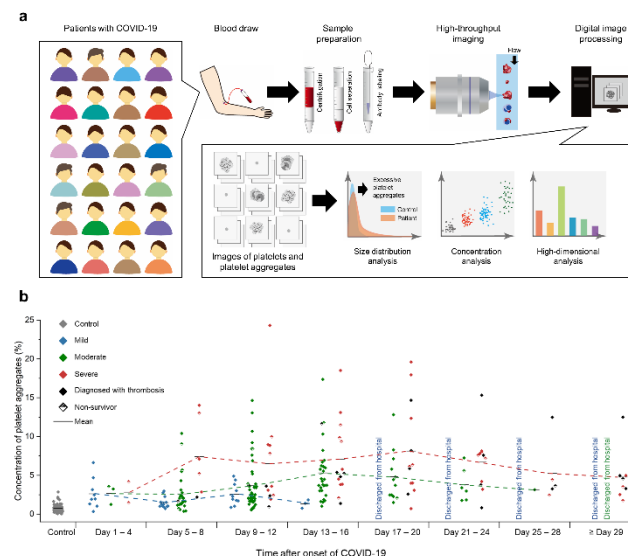
**Fig. 2** Chiral-field enhanced Raman optical activity by a silicon nanodisk array. (a) Concept of chiral-field enhanced Raman optical activity by a silicon nanodisk array. (b) ROA spectra of (±)-tartaric acid (a pair of biological enantiomers) with and without the chiral-field enhancement by the silicon nanodisk array.

1.(1)-3) *Nature Communications* **12**, 3062 (2021).

研究ハイライト

(1) “大規模な画像ベースのシングルセルプロファイリングによる COVID-19 患者における高レベルの循環血小板凝集塊の発見”

COVID-19 の流行開始以来、世界的に症例報告が増え、COVID-19 に関連した微小血管血栓症が COVID-19 の重症度と死亡率の重要な要因の一つであることが明らかになった。実際、COVID-19 の検死報告では、肺、心臓、その他の臓器の末梢毛細血管および細動脈内の広範な微小血栓を特徴とする血栓性微小血管症が見られ、多臓器不全に至っている。しかし、COVID-19 に関連する微小血管血栓症の根本的なプロセスは、血小板凝集（すなわち微小血栓形成の開始）を統計的に詳細に調べるツールがないため、依然として不明な点が多い。本論文では、COVID-19 患者 (n = 110) の血液を対象に、大規模なシングルセル画像ベースのプロファイリングと時間的モニタリングによって得られた COVID-19 の循環血小板凝集塊の全容を報告する。驚くべきことに、ビッグデータの解析により、COVID-19 患者全体の約 90% に過剰な血小板凝集塊の異常な存在が確認された。さらに、血小板凝集塊の濃度と COVID-19 患者の重症度、死亡率、呼吸状態、血管内皮機能障害レベルとの間に強い関連があることを示す結果も得られた。

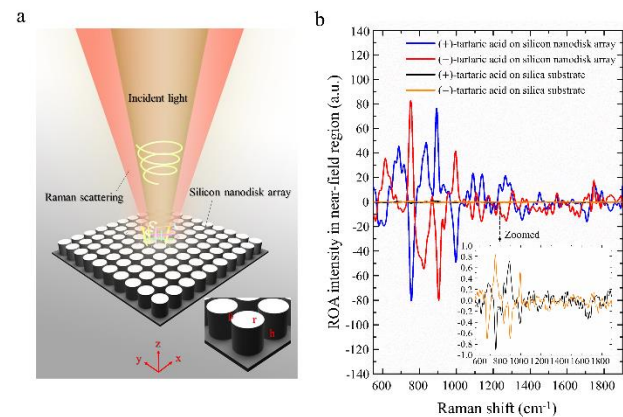


**Fig. 1** 循環血小板および血小板凝集塊の画像による単一細胞レベルでの大規模プロファイリング。(a) 採血、サンプル調製、ハイスループット画像処理、デジタル画像解析からなる実験ワークフロー。(b)異なる重症度グループ（軽度、中等度、重度）の血小板凝集塊濃度の経時変化。

1.(1)-1) *Nature Communications* **12**, 7135 (2021).

(2) “全誘電体のキラル場増強ラマン光学活性”

ラマン光学活性 (ROA) は、1970 年代に初めて実証されて以来、水溶液中のキラル分子の構造情報や挙動を同定する強力な能力を示すとともに、X 線結晶学や核磁気共鳴 (NMR) 分光法に比べて試料調製やコストパフォーマンスに優れている現象として知られてきた。しかし、ROA は自然ラマン散乱に比べて 3~5 桁程度弱いので、X 線結晶構造解析や NMR 分光法に比べてユーザーへの普及が進んでいない。金属ナノ粒子の局在表面プラズモン共鳴 (LSPR) が ROA 信号を増強するために採用されているが、ROA 信号のアーチファクトに悩まされている。具体的には LSPR による光熱発生と、遠方場から近接場への光学キラリティーの効率的な伝達と増強ができないという二つの問題点がある。本研究では、これらの難問を解決するために、シリコンナノディスクアレイを開発し、そのダークモードを利用することで、全誘電体のキラル場増強 ROA を実証した。また、それを ROA 分光計測基板として用いることで、化学的および生物学的な鏡像異性体のペアをそれぞれ測定し、ROA 分光測定においてアーチファクトを無視できる程度の大きさに抑えながら、従来 ROA 分光法と比べて 100 倍強い相互作用を実証した。本手法は、X 線結晶構造解析法や NMR 分光法では不可能な、微量のキラル分子の絶対構造解析を、簡便・迅速・安価・安定的に行うことができる。また、本手法は分析化学、構造生物学、物質科学、薬学、量子生命科学などの多様な分野での応用を期待されている。



**Fig. 2** シリコンナノディスクアレイによるキラル場増強ラマン光学活性。(a) シリコンナノディスクアレイによるキラル場増強ラマン光学活性の概念。(b) 生体内エナンチオマーである(±)-酒石酸の ROA スペクトルを、シリコンナノディスクアレイによるキラル磁場増強の有無で比較。

1.(1)-3) *Nature Communications* **12**, 3062 (2021).

## 1. 原著論文

### (1) Refereed Journals

- 1) M. Nishikawa, H. Kanno, Y. Zhou, T. Xiao, T. Suzuki, Y. Ibayashi, J. Harmon, S. Takizawa, K. Hiramatsu, N. Nitta, R. Kameyama, W. Peterson, J. Takiguchi, M. Shifat-E-Rabbi, Y. Zhuang, X. Yin, A. H. M. Rubaiyat, Y. Deng, H. Zhang, S. Miyata, G. K. Rohde, W. Iwasaki, Y. Yatomi, and K. Goda, “Massive image-based single-cell profiling reveals high levels of circulating platelet aggregates in patients with COVID-19”, *Nature Communications* 12, 7135 (2021)
- 2) H. Koide, A. Okishima, Y. Hoshino, Y. Kamon, K. Yoshimatsu, K. Saito, I. Yamauchi, S. Ariizumi, Y. Zhou, T. Xiao, K. Goda, N. Oku, T. Asai, and K. J. Shea, “Synthetic hydrogel nanoparticles for sepsis therapy”, *Nature Communications* 12, 5552 (2021)
- 3) T. Xiao, Z. Cheng, Z. Luo, A. Isozaki, K. Hiramatsu, T. Itoh, M. Nomura, S. Iwamoto, and K. Goda, “All-dielectric chiral-field-enhanced Raman optical activity”, *Nature Communications* 12, 3062 (2021)
- 4) P. Cheng, X. Tian, W. Tang, J. Cheng, J. Bao, H. Wang, S. Zheng, Y. Wang, X. Wei, T. Chen, H. Feng, T. Xue, K. Goda, and H. He, “Direct control of store-operated calcium channels by ultrafast laser”, *Cell Research* 31, 758 (2021)
- 5) R. Kameyama, S. Takizawa, K. Hiramatsu, and K. Goda, “Dual-comb coherent Raman spectroscopy with near 100% duty cycle”, *ACS Photonics* 8, 975 (2021)
- 6) M. Xu, D. Yuan, S. Yan, C. Lei, K. Hiramatsu, J. Harmon, Y. Zhou, M. H. Loo, T. Hasunuma, A. Isozaki, and K. Goda, “Morphological indicator of *Euglena gracilis* with a high heavy metal removal efficiency”, *Environmental Science and Technology* 55, 7880 (2021)
- 7) P. C. McCann, K. Hiramatsu, and K. Goda, “Highly sensitive low-frequency time-domain Raman spectroscopy via fluorescence-encoding”, *Journal of Physical Chemistry Letters* 12, 7859 (2021)
- 8) Y. Nakagawa, S. Ohnuki, N. Kondo, K. Itto, F. Ghanegolmohammadi, A. Isozaki, Y. Ohya, and K. Goda, “Are droplets really suitable for single-cell analysis? A case study on yeast in droplets”, *Lab on a Chip* 21, 3793 (2021)
- 9) R. Bekdash, J. R. Quejada, S. Ueno, F. Kawano, K. Morikawa, U. Mahesh, R. Avula, E. Wan, S. L. Lee, K. Nakanishi, A. Chalan, T. Lee, R. Liu, S. Homma, S. O. Marx, K. Goda, and M. Yazawa, “GEM-IL: a highly responsive fluorescent lactate indicator”, *Cell Reports Methods* 1, 100092 (2021)
- 10) M. H. Loo, Y. Nakagawa, A. Isozaki, and K. Goda, “High-throughput sorting of nanoliter droplets enabled by a sequentially addressable dielectrophoretic array”, *Electrophoresis* 43, 477 (2021)
- 11) M. Lindley, J. Gala de Pablo, R. Kinogawa, K. Hiramatsu, and K. Goda, “Highly sensitive Fourier-transform coherent anti-Stokes Raman scattering spectroscopy via genetic algorithm pulse shaping”, *Optics Letters* 46, 4320 (2021)
- 12) A. Isozaki, D. Huang, Y. Nakagawa, and K. Goda, “Dual sequentially addressable dielectrophoretic array for high-throughput, scalable, multiplexed droplet sorting”, *Microfluidics and Nanofluidics* 25, 32 (2021)

### (2) その他

- 1) K. Tsia and K. Goda, “High-speed biomedical imaging and spectroscopy VI”, *SPIE Proceedings* 11654 (2021)
- 2) Y. Zhou, A. Yasumoto, M. Nishikawa, Y. Nobori, T. Xiao, M. Anraku, Y. Yatomi, and K. Goda, “Real-time monitoring of blood clots in extracorporeal life support by intelligent platelet aggregate characterizer”, *SPIE Photonics West, Virtual, USA* (2021)
- 3) M. Xu, J. Harmon, T. Hasunuma, A. Isozaki, and K. Goda, “AI on a chip for identifying microalgal cells with high heavy metal removal efficiency”, *Transducers, Virtual* (2021)
- 4) spectroscopy through single-photon counting”, *SPIE Photonics West, Virtual, USA* (2021)
- 5) R. Kameyama, S. Takizawa, K. Hiramatsu, and K. Goda, “Fast, sensitive dual-comb CARS spectroscopy with a quasi-dual-comb laser”, *SPIE Photonics West, Virtual, USA* (2021)
- 6) M. Lindley, J. Gala de Pablo, A. Isozaki, K. Hiramatsu, and K. Goda, “High-throughput Raman-activated on-chip cell sorting”, *International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science, Virtual, Tokyo* (2021)

## 2. 総説・解説

- 1) J. Gala de Pablo, M. Lindley, K. Hiramatsu, and K. Goda, “High-throughput Raman flow cytometry and beyond”, *Accounts of Chemical Research* 54, 2132 (2021)

- 2) Y. Zhou, A. Isozaki, A. Yasumoto, T. Xiao, Y. Yatomi, C. Lei, and K. Goda, “Intelligent platelet morphometry”, Trends in Biotechnology 39, 978 (2021)
- 3) K. C. M. Lee, J. Guck, K. Goda, and K. K. Tsia, “Deep biophysical cytometry: prospects and challenges”, Trends in Biotechnology 39, 1249 (2021)
- 4) M. Li, H. Liu, S. Zhuang, and K. Goda, “Droplet flow cytometry for single-cell analysis”, RSC Advances 11, 20944 (2021)
- 5) K. Goda, “科学の成長モデルの変化と今後の展望”, 光学 50, 216 (2021)
- 6) A. Isozaki, N. Nitta, T. Sugimura, and K. Goda, “画像活性セルソーター:画像情報に基づく生きた細胞の高速分取法”, 実験医学増刊 39, 198 (2021)
- 7) Y. Zhou, H. Kanno, T. Xiao, R. Shakhmatov, Y. Ibayashi, M. Nishikawa, Y. Yatomi, and K. Goda, “COVID-19 の診断補助に向けたタイムストレッチ・イメージング”, レーザー研究 49, 228 (2021)
- 8) K. Hiramatsu and K. Goda, “バイオイメージング極秘ファイル:展望”, Optronics 12 (2021)

### 3. 著書

### 4. その他

- 1) センサ基板の製造方法、センサ基板、センサシステム、及びラマン散乱光検出方法, 令和3年3月29日, 日本, 特願 2021-055087
- 2) 読売新聞 (2021年12月26日) 「コロナ患者の重症化、高い精度で予測可能も…東大チームが英科学誌に論文」
- 3) EurekAlert! (2021年12月13日) 「New technology could help doctors improve COVID-19 patient outcomes」
- 4) Medical Press (2021年12月13日) 「Researchers find an early and treatable indicator of blood clotting in COVID-19 patients」
- 5) 日刊工業新聞 (2021年12月10日) 「新型コロナ重症化リスク、血小板濃度が目印に 東大など発見」
- 6) 日本経済新聞 (2021年12月9日) 「新型コロナ、血小板の塊が重症化に関連 東大など」
- 7) 産経新聞 (2021年12月9日) 「コロナ重症化 血小板の量から予測へ 東大など」
- 8) 朝日新聞 (2021年12月9日) 「コロナ患者9割に血小板の塊 重症化予測に期待 東大など」
- 9) 時事通信(2021年12月9日) 「感染者9割に血小板の塊 新型コロナ、重症化予測へ—東大など」
- 10) NHK (2021年12月9日) 「新型コロナ “血小板の塊の数で重症化予測も” 研究結果発表」
- 11) World Business Satellite (2021年12月9日) 「感染者9割に血小板の塊 重症化予測に“役立つ発見”」
- 12) 朝日新聞 論座 (2021年3月11日) 「日本の大企業はなぜイノベーションを起こせないのか〜「縦割り」を乗り越える異分野融合がカギ 米国の対中戦略に活路あり ネットワーク型の構造が開く可能性」
- 13) Mugendai (2021年2月16日) 「細胞の「ウォーリー」を探せ！計画的にセレンディピティを創出し、ライフサイエンスに大変革を」
- 14) SPIE. (2021年1月12日) 「Keisuke Goda: The 2021 SPIE Biophotonics Technology Innovator Award」