



高速分光技術の開発と 大規模細胞解析への応用

第2回ナイスステップな研究者講演会

Kotaro Hiramatsu, Professor, Kyushu University

hiramatsu@chem.kyushu-univ.jp

July 8, 2025

About me: Kotaro Hiramatsu (平松 光太郎), Ph. D.

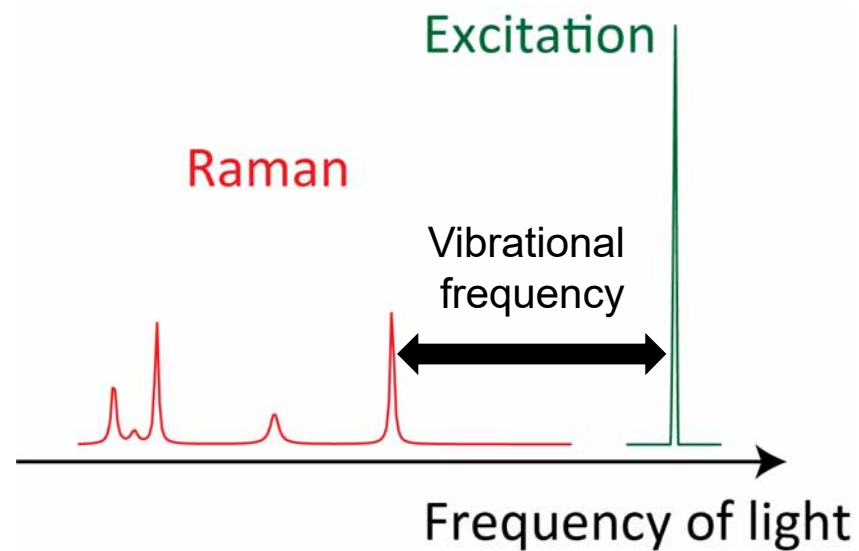
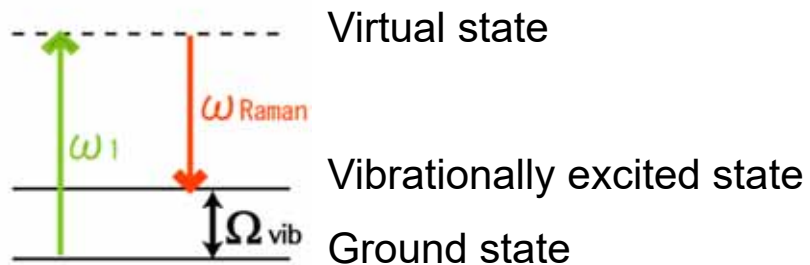
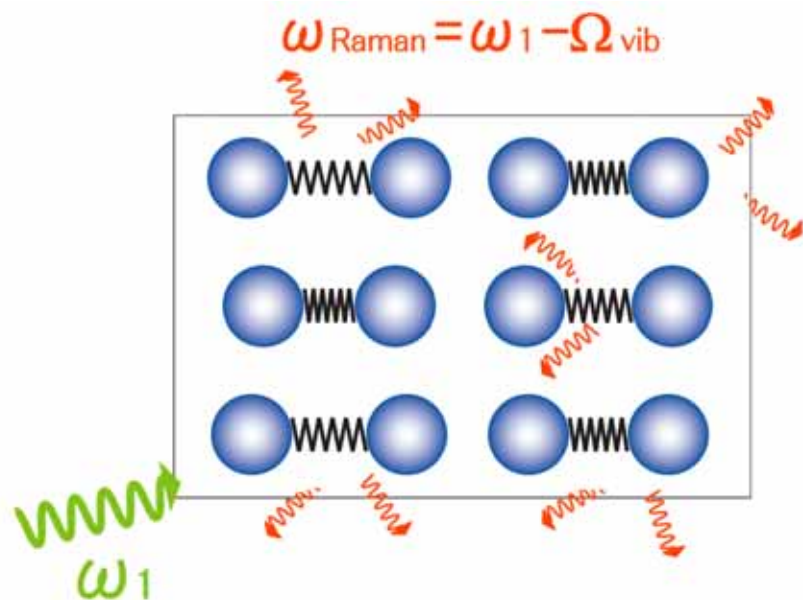
Oct. 1987	茨城県ひたちなか市に生まれる
Apr. 2011 – Mar. 2013	修士課程@東大理学系研究科化学専攻 (Prof. Hamaguchi group)
Apr. 2013 – Mar. 2016	博士課程@東大理学系研究科化学専攻 (Prof. Nagata group)
Oct. 2014 – Mar. 2015	訪問研究院, サウサンプトン大学 (Prof. Zheludev group)
Apr. 2016 – Aug. 2016	基礎科学特別研究院@理研 (Prof. Tahara group)
Sep. 2016 –	助教@東大理学系研究科スペクトル化学研究センター (Prof. Goda group)
Oct. 2018 – Mar. 2022	JSTさきがけ @ 情報計測
Apr. 2022 –	JST創発@ 八木パネル
Oct. 2023 –	准教授@九州大学大学院理学研究院化学部門
May 2025 –	教授@九州大学大学院理学研究院化学部門



2005

2024

分子は振動している！



Raman分光法：
分子構造情報を無標識に取得可能

ラマン分光法を細胞解析に利用できないか？



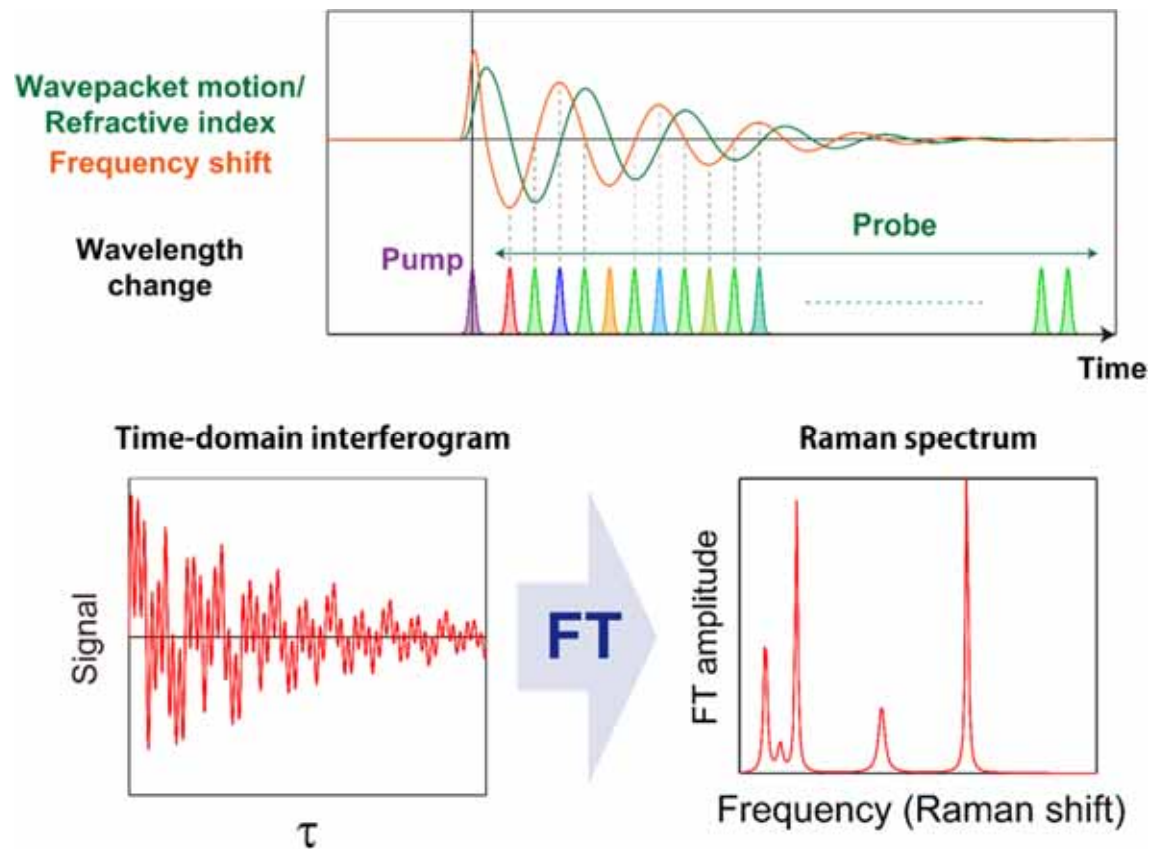
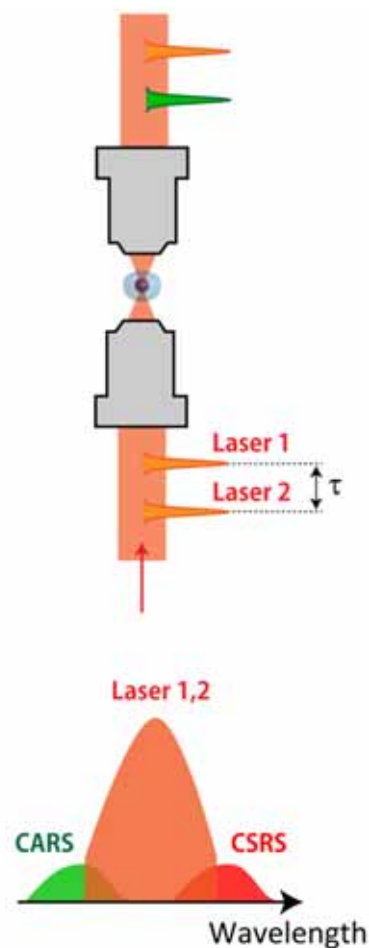
良いところ

- 測定プローブが不要
 - 細胞毒性がない
 - 細胞機能に影響を与えない
 - 褪色しない
 - 非特異的結合がない
- 小分子(代謝物)の検出が可能

難しいところ

- とにかく信号が弱い！
 - 感度が低い
 - 測定に時間がかかる

Raman分光計測は遅い -> 新しい測定法（高速FT - CARS法）の開発



分子振動を時間領域で計測し、フーリエ変換でスペクトルに変換

広帯域ラマンスペクトルが高速に取得可能

FT-CARS分光法の高性能化

ヘテロダイン検出法



Rapid-scan Fourier-transform coherent anti-Stokes Raman scattering spectroscopy with heterodyne detection

KOTARO HIRAMATSU

Department of Chemistry

Department of Physics

Department of Electrical Engineering

Department of Applied Science and Technology

Graduate School of Science and Technology

Chiba University

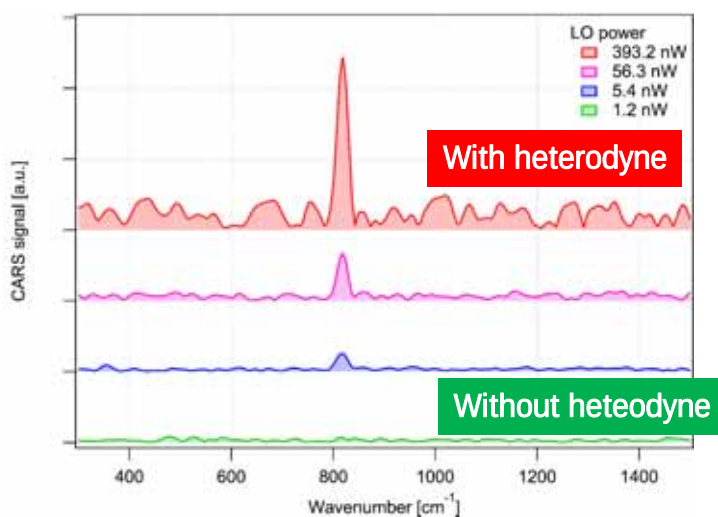
Chiba, Japan

Corresponding author: hiramatsu@chem.s.t.chiba-u.ac.jp

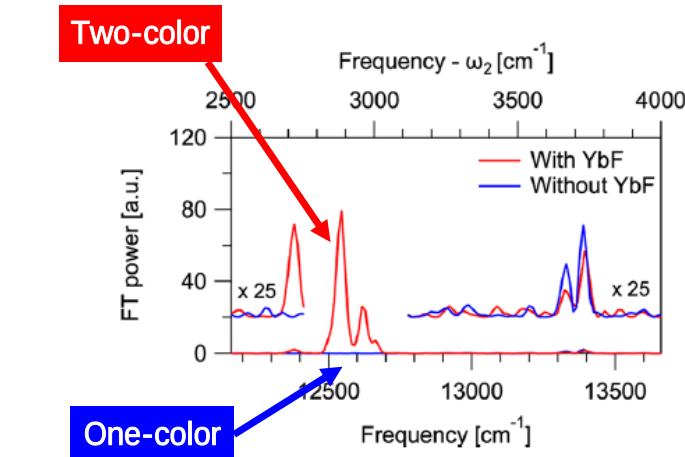
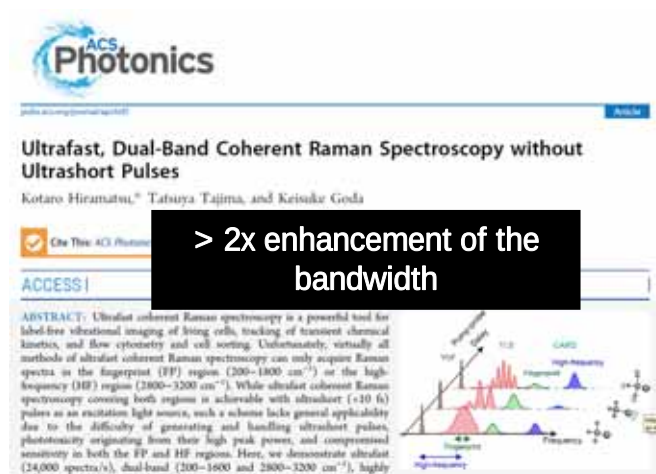
Received 16 August 2017; revised 19 September 2017; accepted 21 September 2017; posted 26 September 2017; Doc. ID: 304997

published 19 October 2017

> 5x enhancement at low excitation power



2色レーザーによる広帯域化



圧縮センシングの利用



Compressed time-domain coherent Raman spectroscopy with real-time random sampling

Shigekazu Takizawa*, Kotaro Hiramatsu^{1,2,3,4}, Keisuke Goda^{5,6,7}

¹Department of Chemistry

²Research Center for Spectroscopy

³Faculty of Science and Technology

⁴Department of Biotechnology

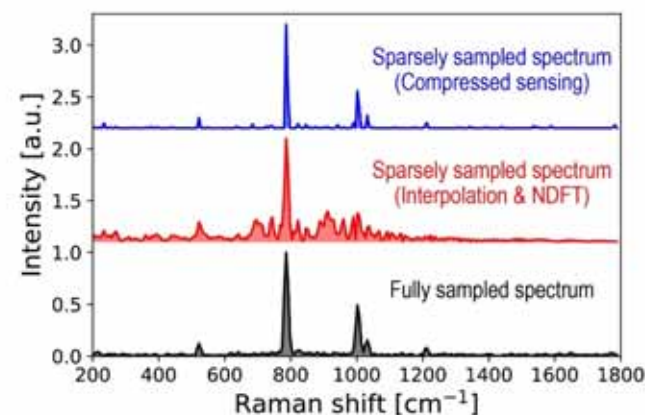
⁵Department of Technology

⁶Department of Technology

⁷Department of Technology

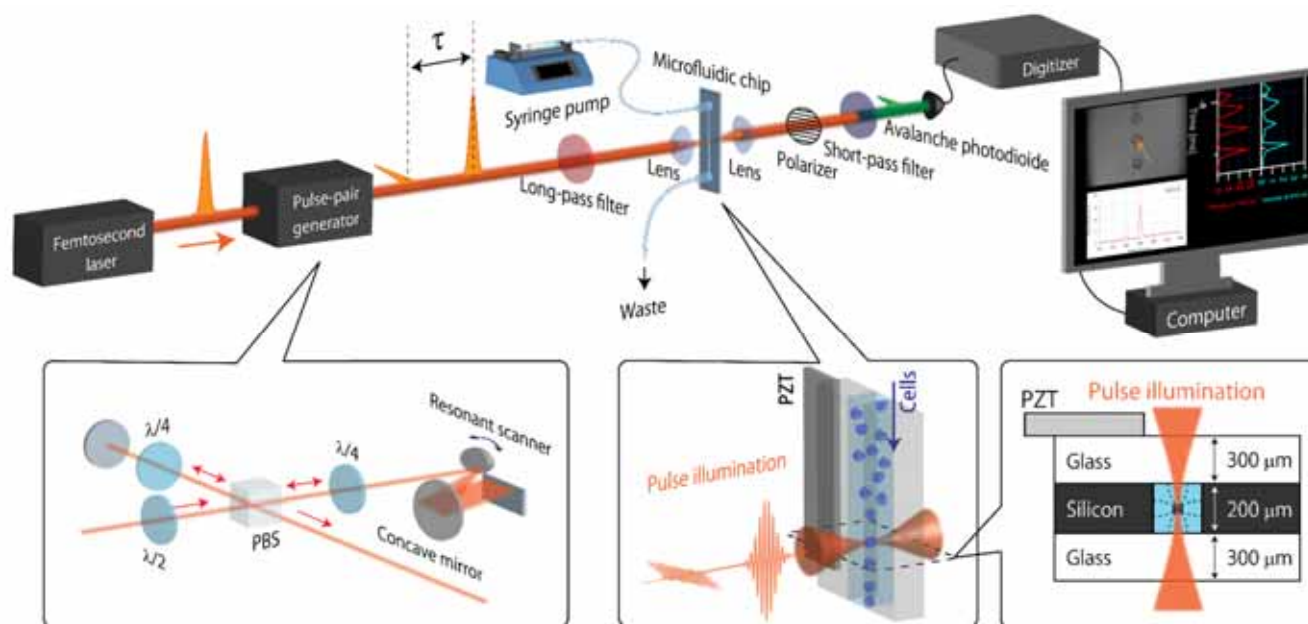
> 30x compression ratio

ABSTRACT
We experimentally demonstrate compressed time-domain coherent Raman spectroscopy with real-time random sampling. Specifically, we employ Fourier transform coherent anti-Stokes Raman scattering as a platform for the spectroscopy and demonstrate reconstruction of Raman spectra from sparsely sampled time-domain data by using the iterative denoising algorithm. We show that Raman spectra reconstructed at compression ratios down to 0.5 retain the quality of a fully sampled Raman spectrum. We also verify the performance with multiple molecules in demonstrating its versatility. Advantages of our method include data volume reduction, signal-to-noise ratio reduction, and shortened requirements for the measurement instrument. © 2019 Optical Society of America

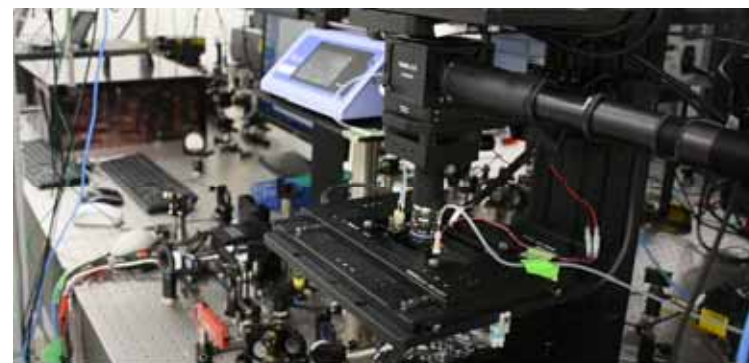


K. Hiramatsu, et al., Opt. Lett. **42**(21), 4335 (2017).
K. Hiramatsu, et al., ACS Photonics, **9**, 3522-3528, (2022).
S. Takizawa, et al., Vib. Spectrosc., **107**, 103042 (2020).

FT-CARSを用いた大規模細胞計測：実験セットアップ

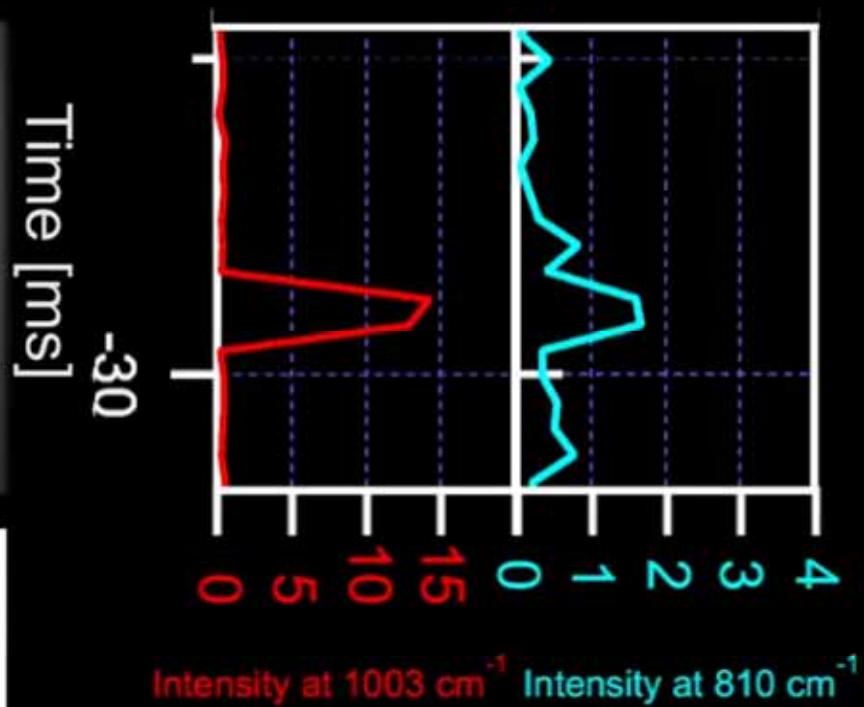
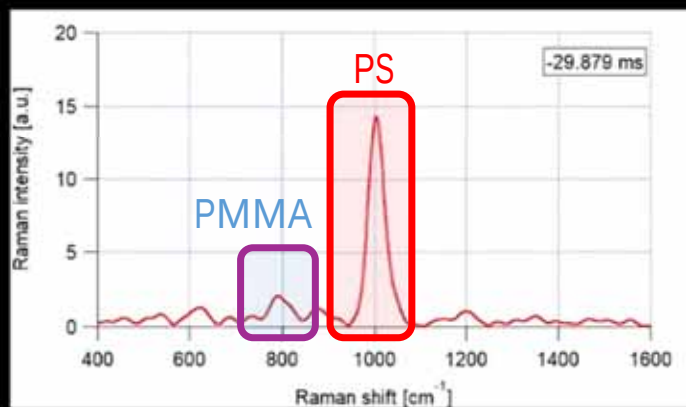


Method: Time-domain CARS
 Raman acquisition rate: 24,000 spectra/s
 Flow speed: ~250 mm/s
 Spectral range: 400 - 1800 cm^{-1}
 Spectral resolution: 20 cm^{-1}

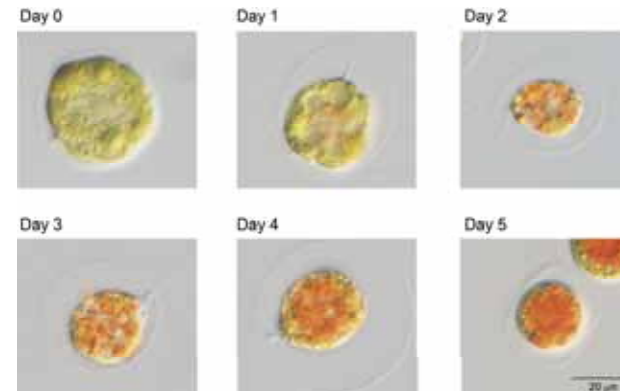
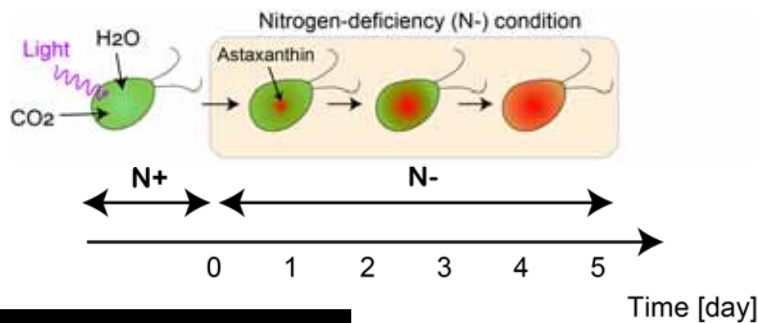


K. Hashimoto, et al., Sci. Rep. 6, 21036 (2016)
 K. Hiramatsu, et al., Sci. Adv. 5, eaau0241 (2019)

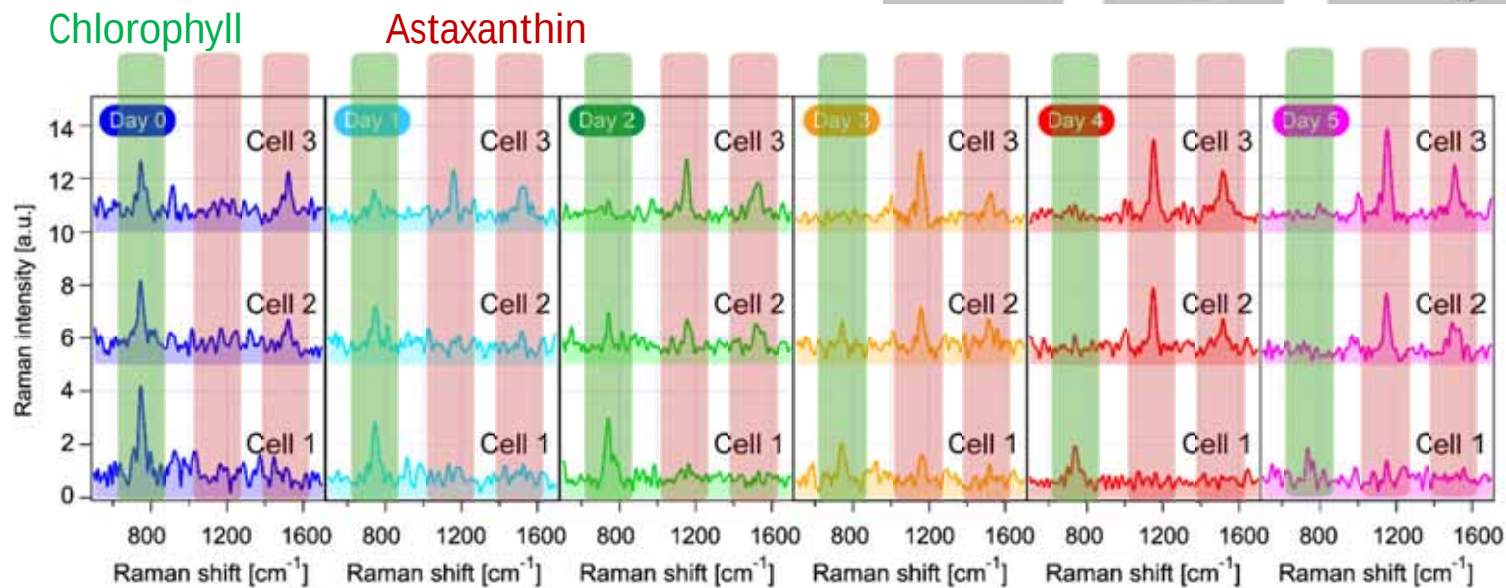
マイクロポリマーの超高速計測



ヘマトコッカス細胞におけるアスタキサンチン生産性



Single-cell Raman spectra

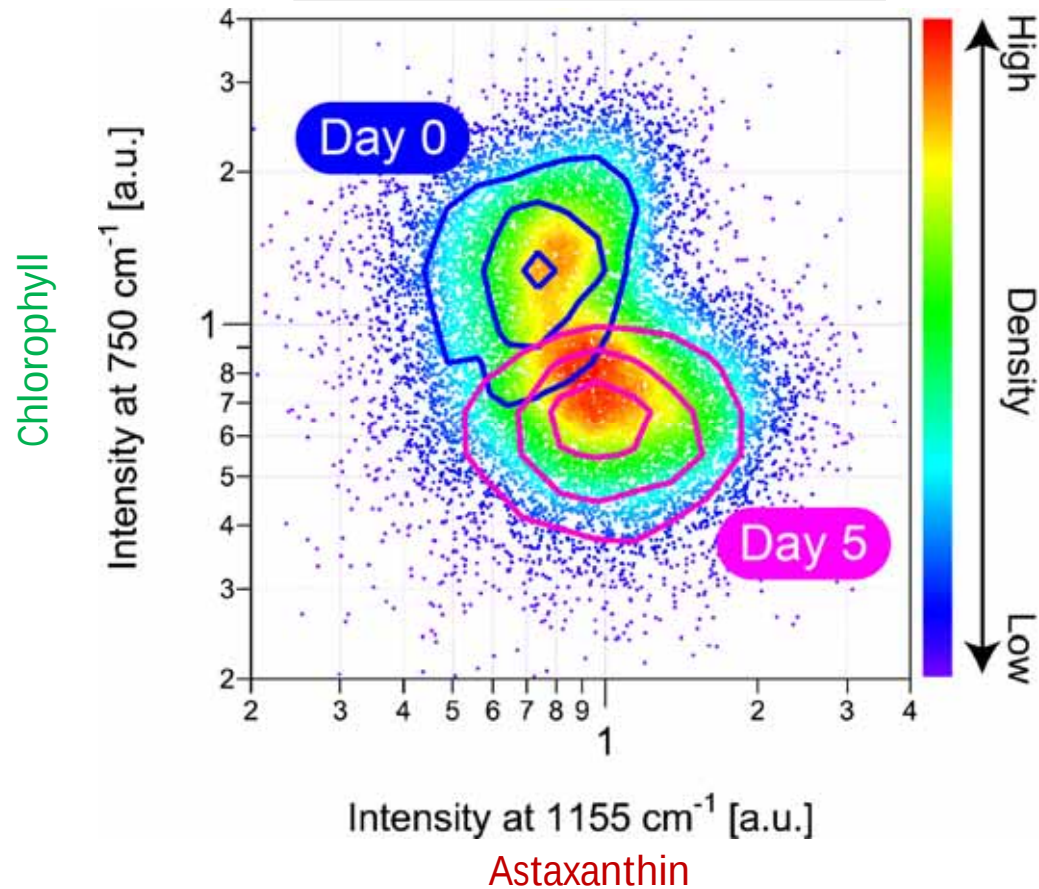


クロロフィルおよびアスタキサンチン含有量を単一細胞レベルでモニタリング

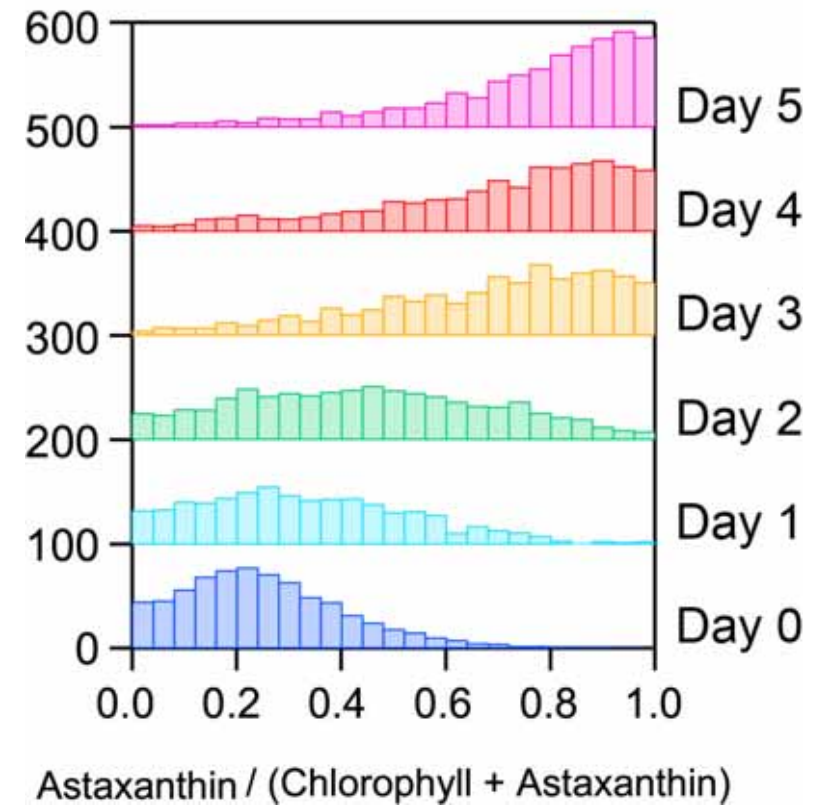
K. Hiramatsu, et al., "High-throughput label-free molecular fingerprinting flow cytometry," Sci. Adv. **5**, eaau0241 (2019).

アスタキサンチン生産性の不均一性

Raman-intensity scatter plot

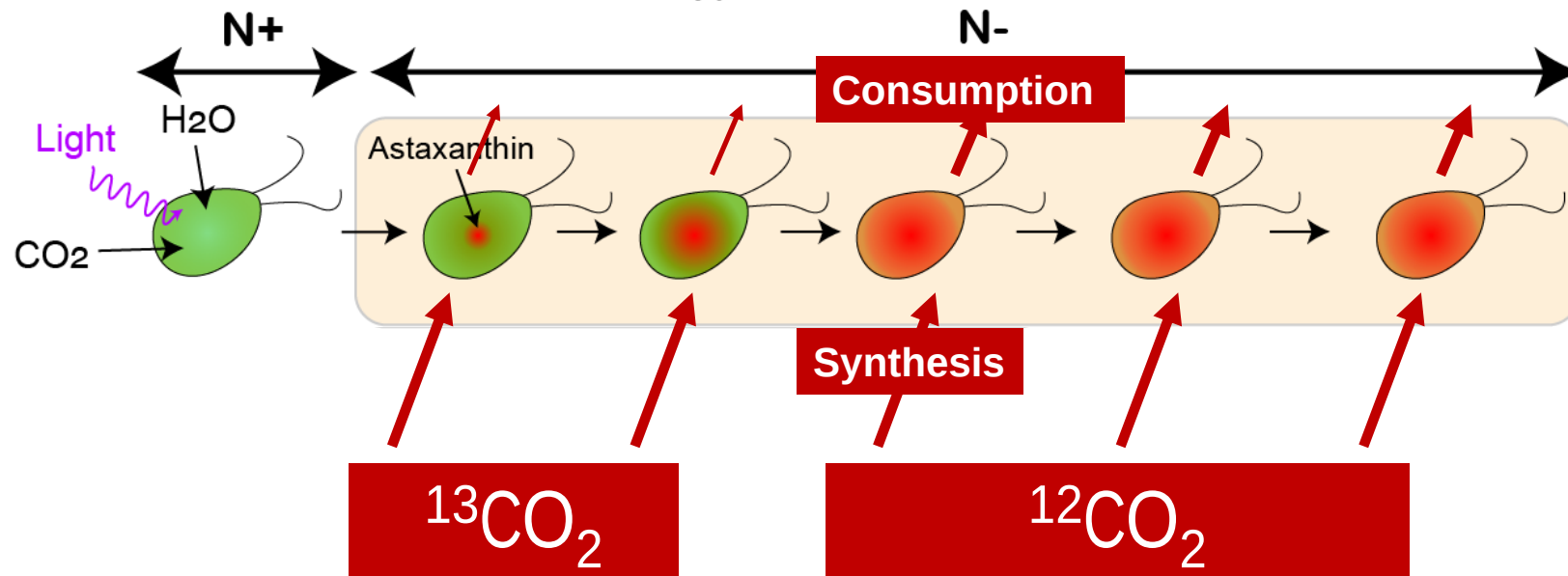


Histogram of astaxanthin contents

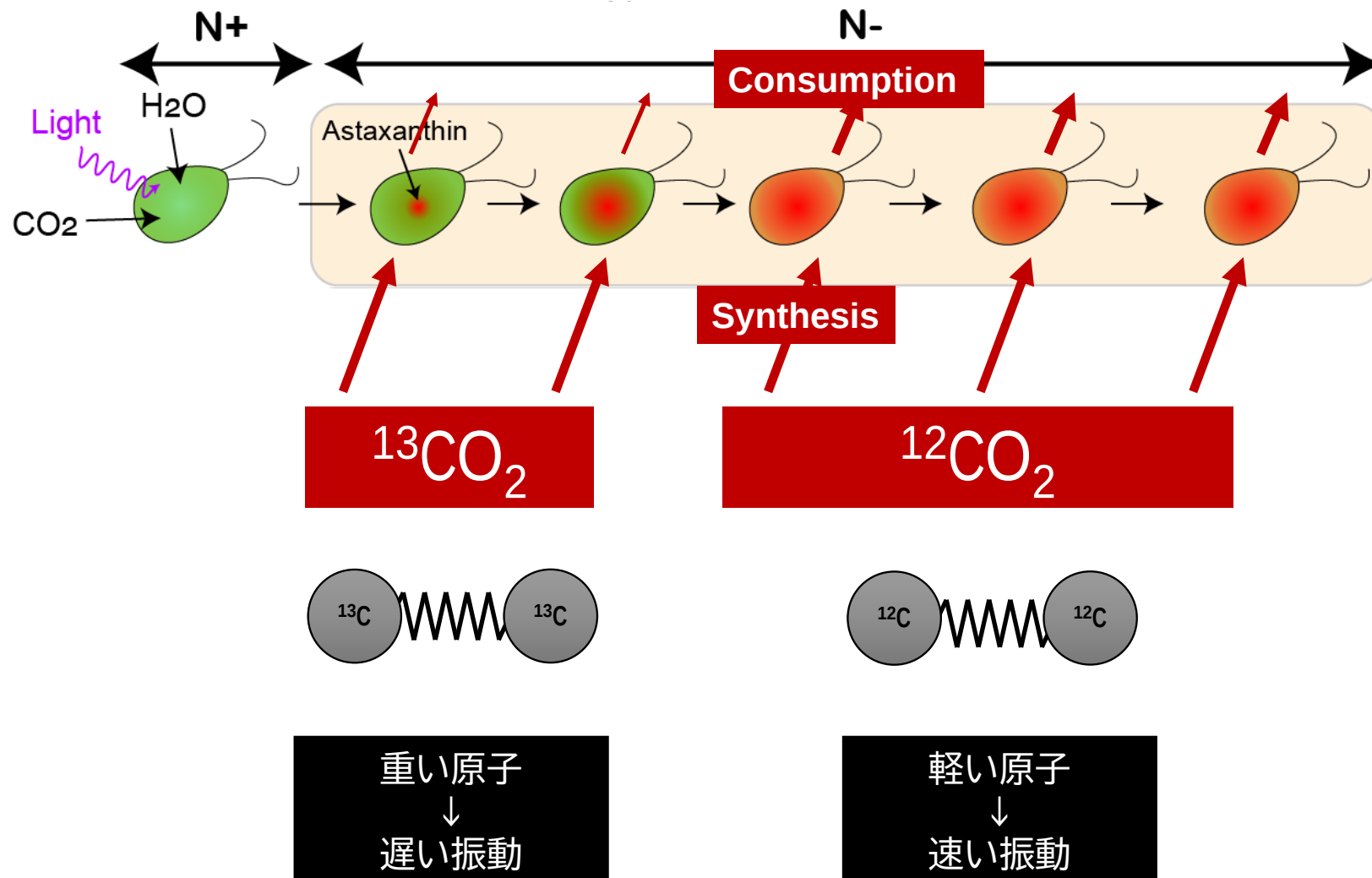


アスタキサンチン生産性の細胞間不均一性をラベルフリーにモニタリング

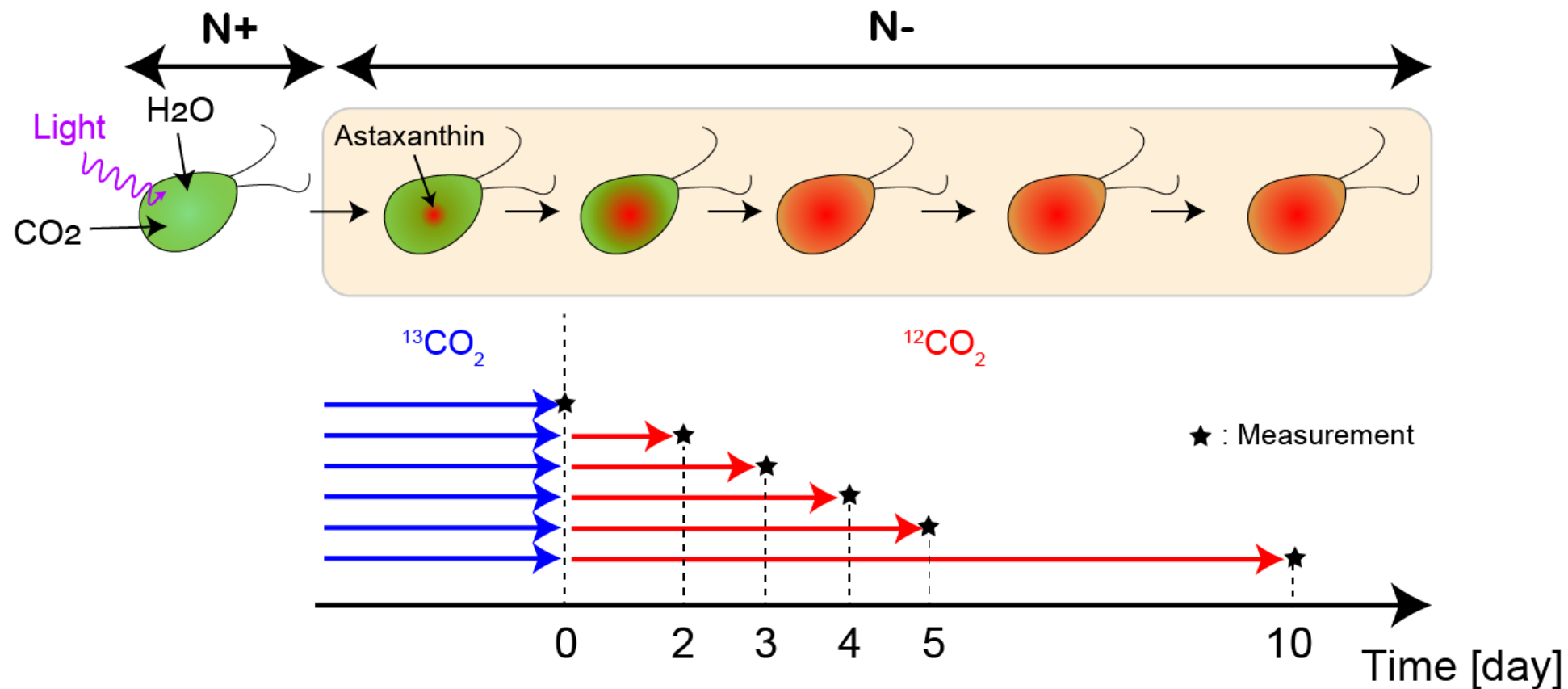
代謝ダイナミクスへの応用



代謝ダイナミクスへの応用

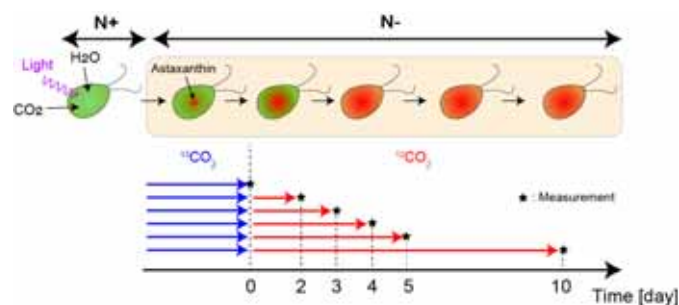


細胞の炭素源を時間的に変調し、取り込みの様子を分光学的に計測

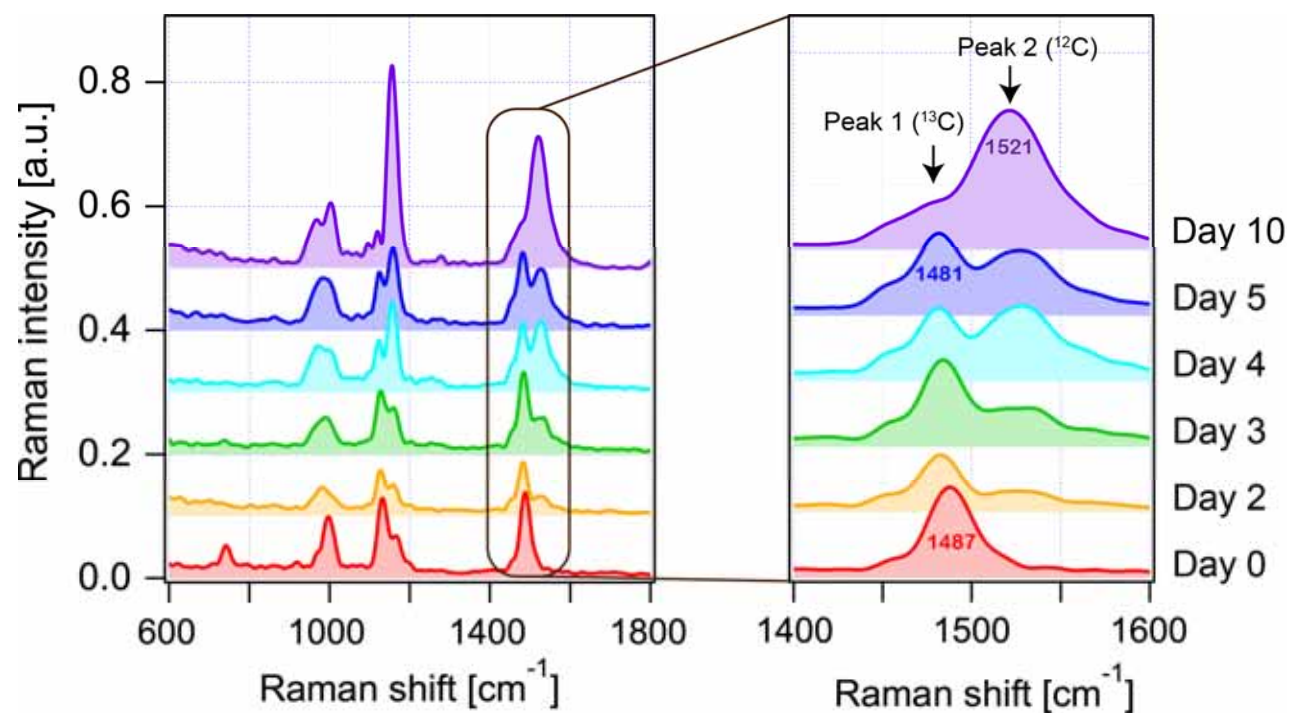


同位体標識と分光学の融合による代謝ダイナミクスの追跡

ラマン分光による炭素取り込みダイナミクスの解析

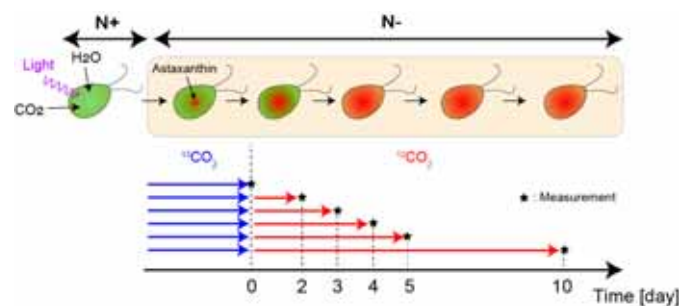


Averaged Raman spectra

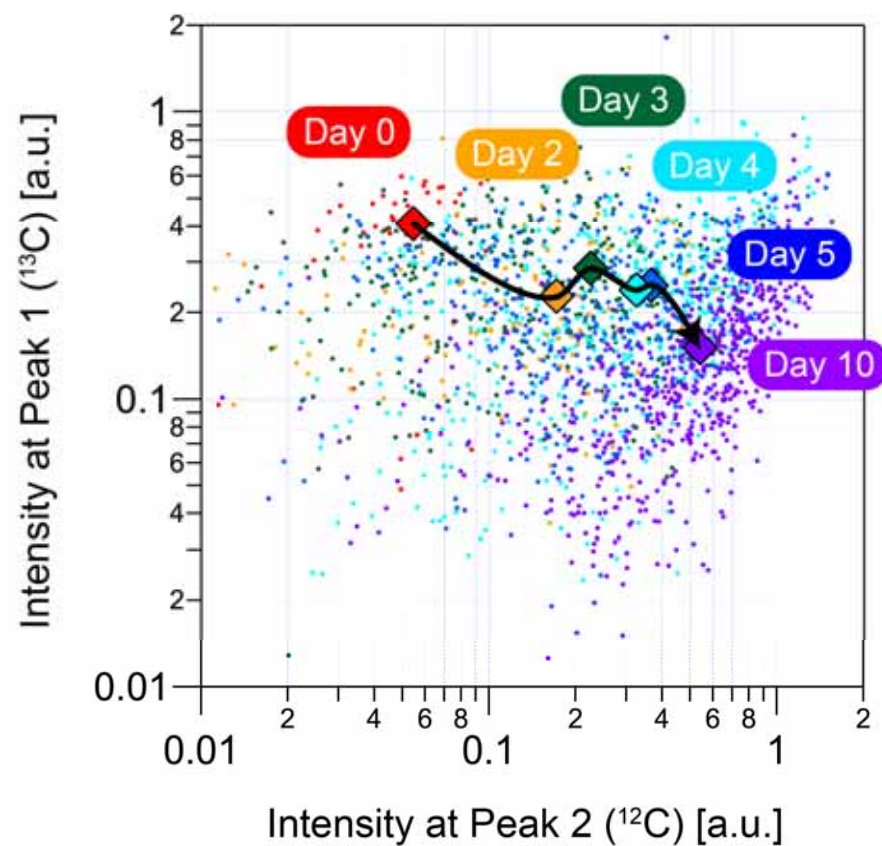


アスタキサンチン分子における炭素置換が、ピーク強度の変化によって検出

1 細胞ラマン分光による炭素取り込みダイナミクスの解析

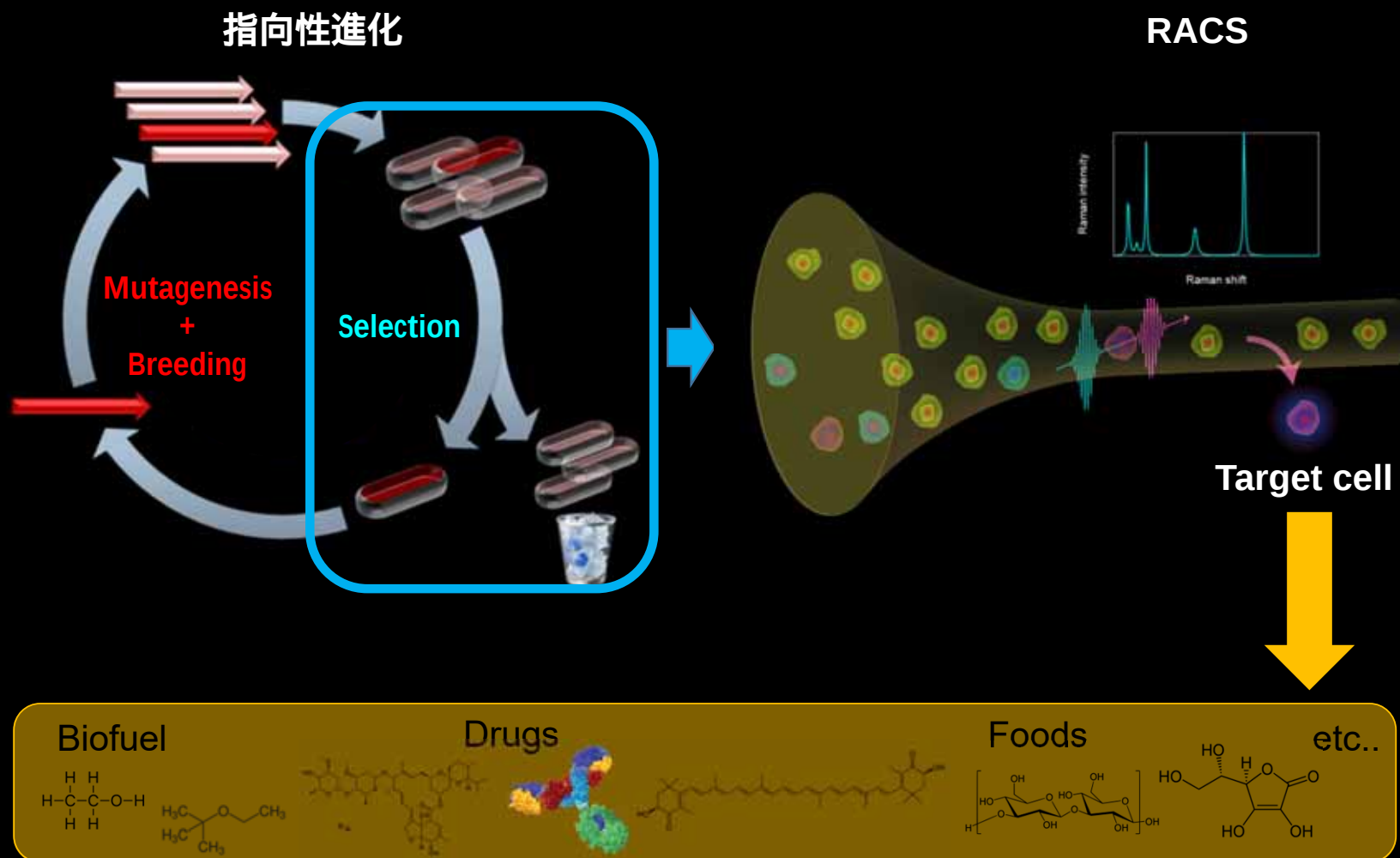


Raman intensity scatter plot



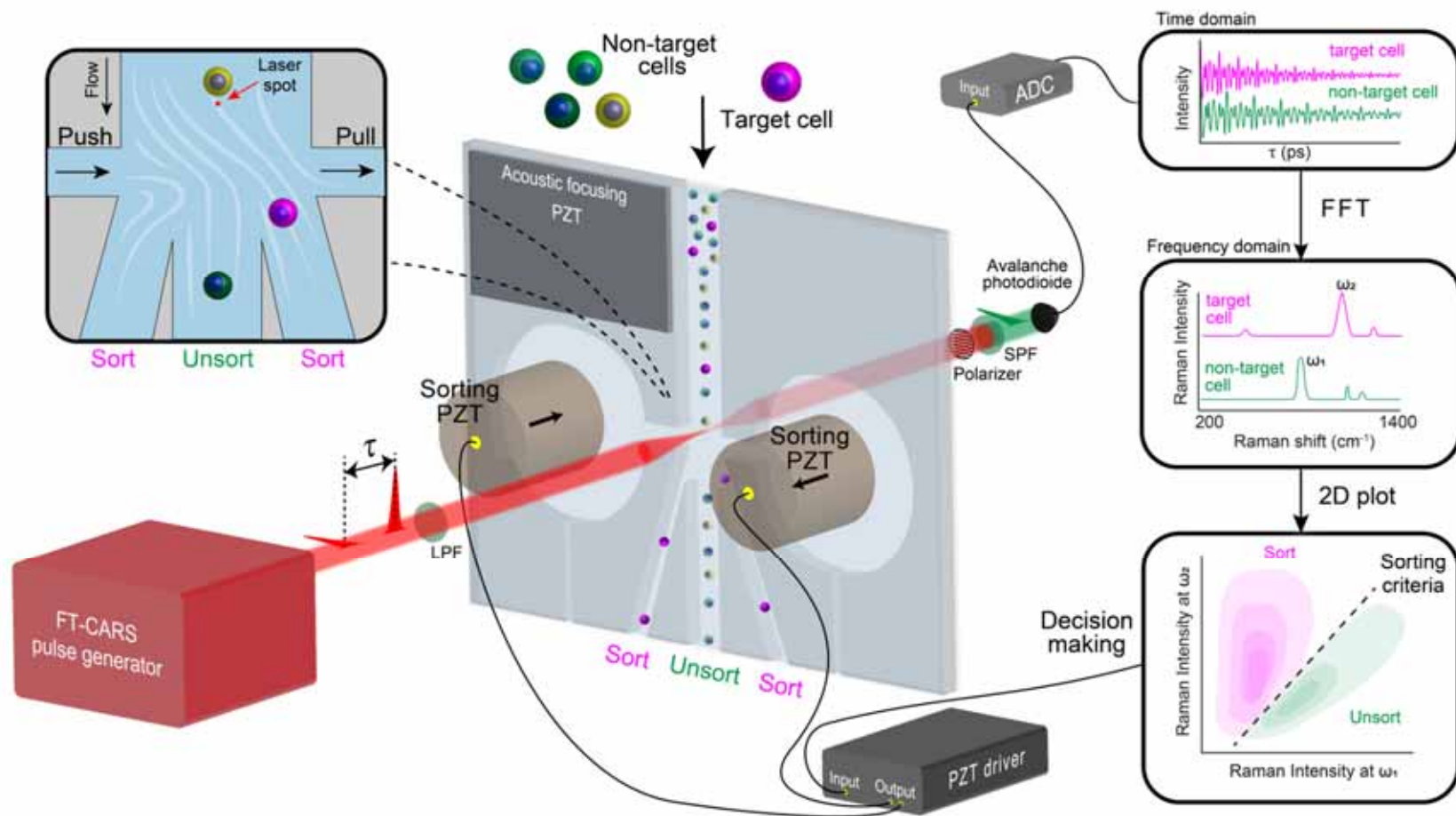
1 細胞ごとの炭素固定活性の違いを定量化できた

RACS x 指向性進化



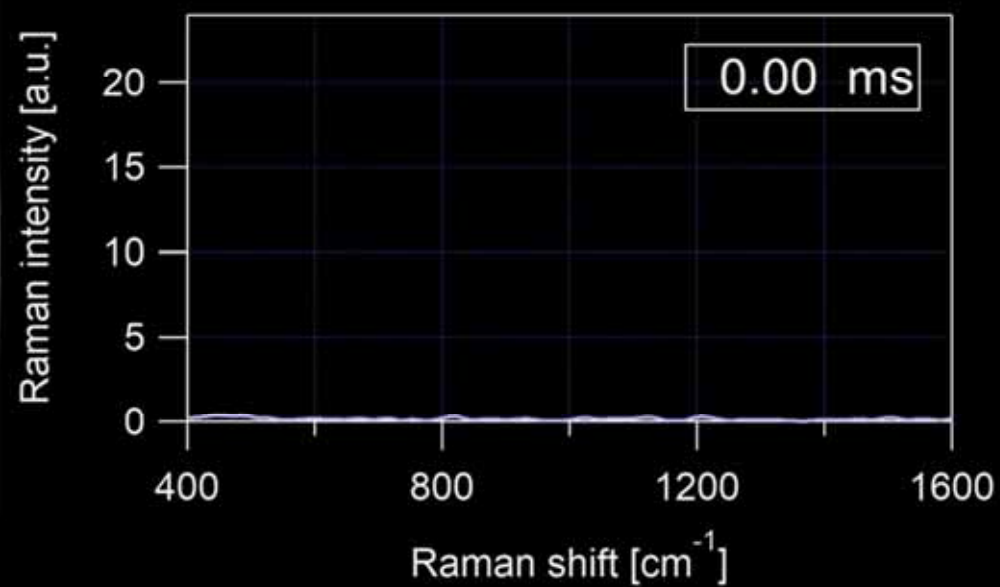
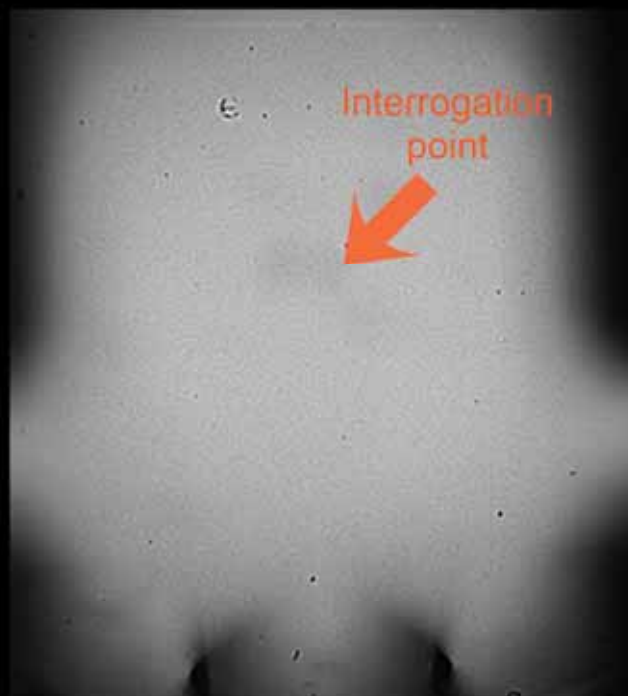
変異導入とラマンソーティングの反復による新しい細胞株の樹立を目指す

ラマン活性細胞分取

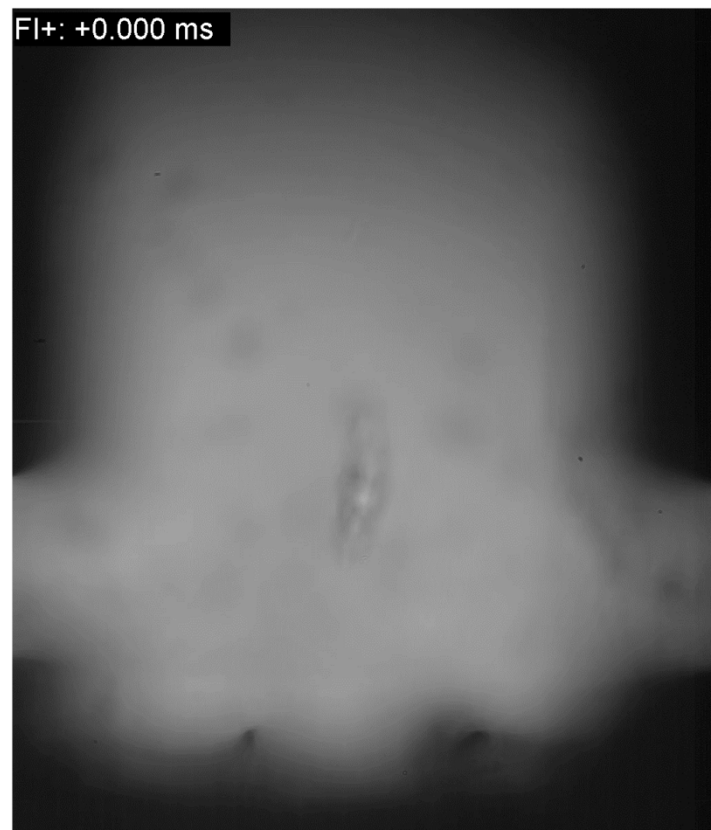


実験の様子

RACS: 実証実験



RACSによる細胞分取



Haematococcus + Euglena

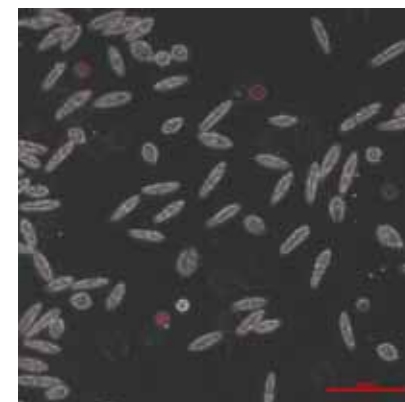


Sort!

Sort channel



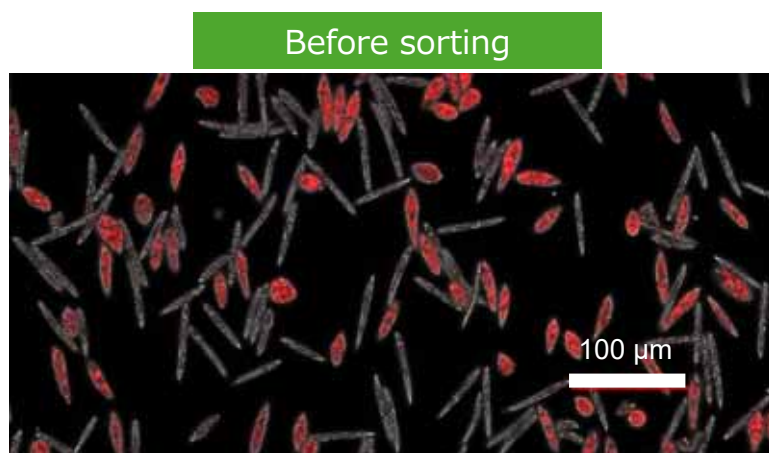
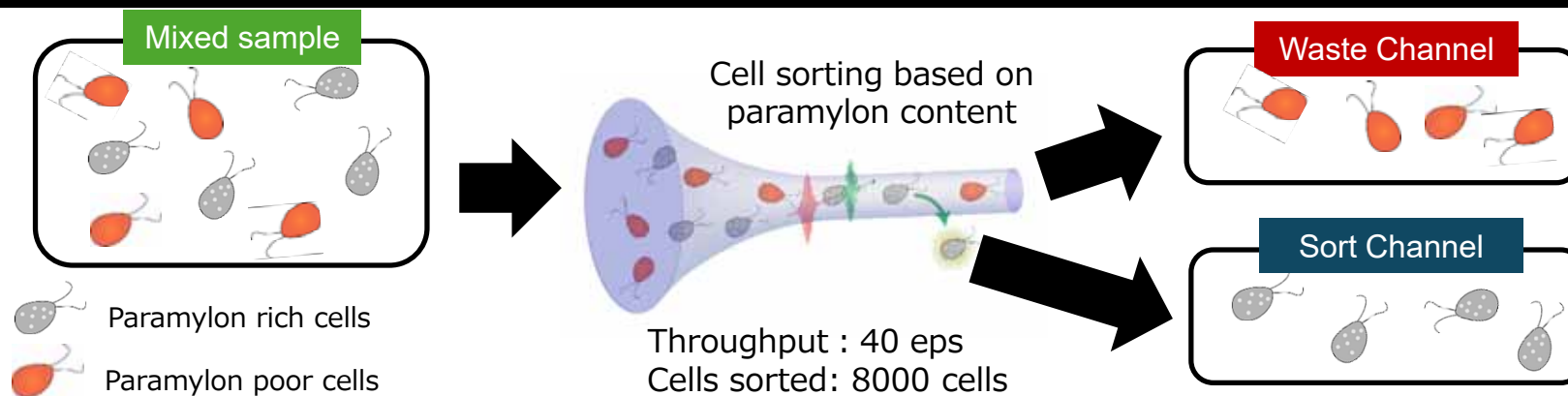
Waste channel



	<i>Haematococcus</i>	<i>Euglena</i>
Sort	718 (90.1%)	79 (9.9%)
Unsort	678 (13.8%)	4219 (86.2%)
Original	25%	75%

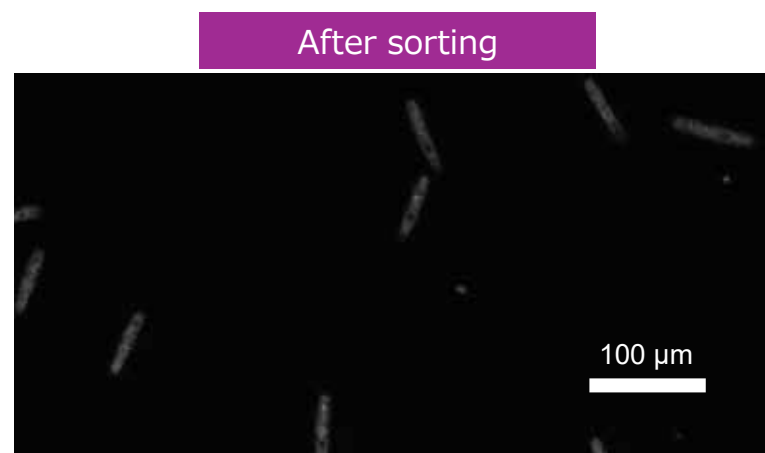
Throughput	22 ± 11 eps
Purity	90.1 %
Yield	51.4 %
Enrichment	3.67

細胞内の代謝生成物に基づいた細胞分取



 : 約4,000

 : 約4,000



 : 334

 : 29

Purity= 92% Yield=61%

これからの研究について

AI: Artificial intelligence



AI: Artificial intelligence

九州大学大学院理学府化学専攻
2024年度大学院入試(構造化学)



画像の問題を解いて。

画像の内容について説明できますか？
1m 21sの間、思考

以下は提示された問題のステップ別解答例です。問題文の内容から、電子1および電子2のスピン関数として、以下の4つの2電子系スピン関数が与えられています。

$$\Gamma_A = \frac{1}{\sqrt{2}}(\alpha_1\beta_2 + \beta_1\alpha_2), \quad \Gamma_B = \alpha_1\alpha_2, \quad \Gamma_C = \beta_1\beta_2, \quad \Gamma_D = \frac{1}{\sqrt{2}}(\alpha_1\beta_2 - \beta_1\alpha_2).$$

ここで、 α_i は電子*i*のスピンの「アップ」状態 ($|\uparrow\rangle$)、 β_i はスピンの「ダウン」状態 ($|\downarrow\rangle$) を表します。各1電子スピン関数は正規直交化条件を満たしています：

$$\int \alpha_i^* \alpha_i d\sigma_i = 1, \quad \int \alpha_i^* \beta_i d\sigma_i = 0, \quad \int \beta_i^* \alpha_i d\sigma_i = 0, \quad \int \beta_i^* \beta_i d\sigma_i = 1.$$

ここで $d\sigma_i$ は電子*i*のスピンの座標に関する積分であり、2電子系の場合は $d\sigma_1 d\sigma_2$ により二つのスピンの座標に関する積分を行います。

(a) $\Gamma_A, \Gamma_B, \Gamma_C, \Gamma_D$ のうち任意の1つを選び、その正規化を示す。

たとえば $\Gamma_B = \alpha_1\alpha_2$ を選びましょう。

正規化条件を確認するには、 Γ_B について

$$\iint \Gamma_B^* \Gamma_B d\sigma_1 d\sigma_2 = \iint (\alpha_1\alpha_2)^* (\alpha_1\alpha_2) d\sigma_1 d\sigma_2.$$

ここで $(\alpha_1\alpha_2)^* = \alpha_1^* \alpha_2^*$ なので、

$$\iint \alpha_1^* \alpha_1 d\sigma_1 \cdot \int \alpha_2^* \alpha_2 d\sigma_2 = (1)(1) = 1.$$

よって Γ_B は正規化されていることがわかります。同様に $\Gamma_A, \Gamma_C, \Gamma_D$ についても同様の計算をすれば正規化が示せます。

例としてもう一つ Γ_A についても触れると、

$$\Gamma_A = \frac{1}{\sqrt{2}}(\alpha_1\beta_2 + \beta_1\alpha_2).$$

正規化条件：

$$\iint \Gamma_A^* \Gamma_A d\sigma_1 d\sigma_2 = \frac{1}{2} \iint (\alpha_1\beta_2 + \beta_1\alpha_2)^* (\alpha_1\beta_2 + \beta_1\alpha_2) d\sigma_1 d\sigma_2.$$

展開すると4つの項が出ますが、直交性によりクロスタームは消え、残るは $\alpha_1\beta_2$ 自身と $\beta_1\alpha_2$ 自身の正規化項のみ：

$$= \frac{1}{2} \left[\left(\int \alpha_1^* \alpha_1 d\sigma_1 \right) \left(\int \beta_2^* \beta_2 d\sigma_2 \right) + \left(\int \beta_1^* \beta_1 d\sigma_1 \right) \left(\int \alpha_2^* \alpha_2 d\sigma_2 \right) \right] = \frac{1}{2} (1 \cdot 1 + 1 \cdot 1) = \frac{1}{2} (2) = 1.$$

よって Γ_A も正規化されていることがわかります。

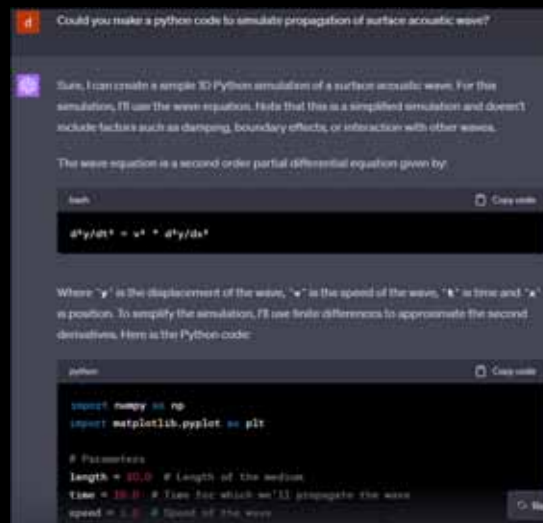
AIができること

AI研究（特に深層学習）が有用な3大領域

画像



言語



- ・ビッグデータに容易アクセス可能
- ・Annotateされた良質なデータセット
- ・ありふれたイベントを高い精度で解析・予想

音声処理



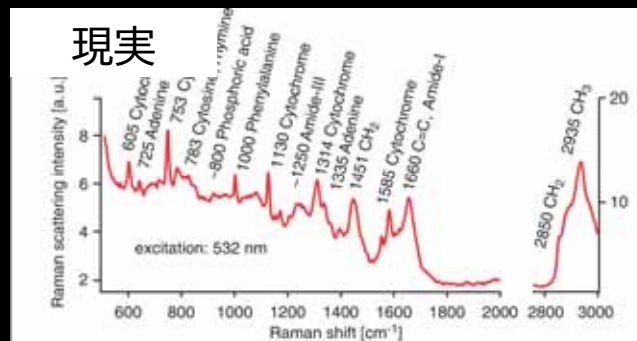
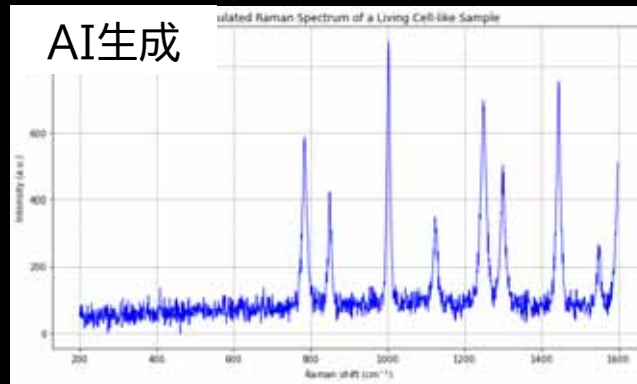
<https://cloud.google.com/>

AIが(まだ)できないこと

スカイツリーを発射



生細胞の ラマンスペクトル



A. F. Palonpon, M. Sodeoka, and K. Fujita, Curr. Opin. Chem. Biol. 17, 708 (2013).

データセットが少ない/無い 領域への外挿は苦手

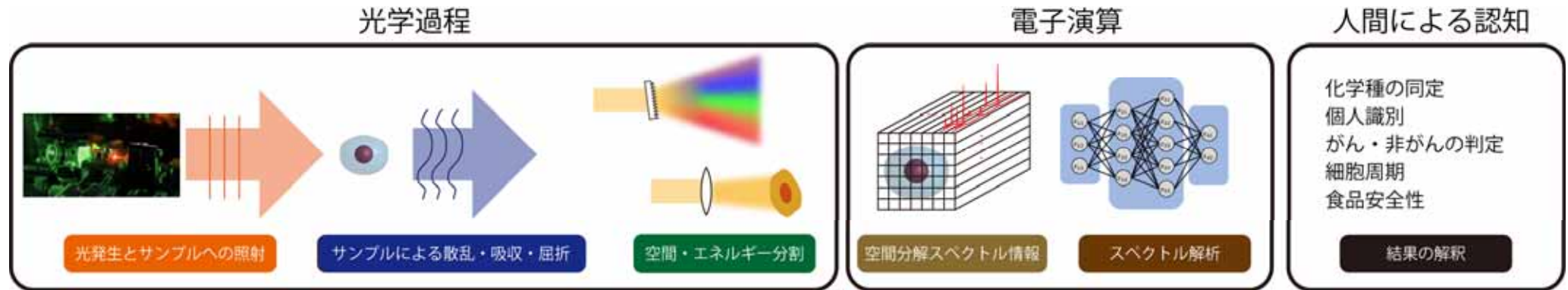
- 自然科学ではビッグデータへのアクセスが悪い
- 自然科学ではレアイベントを扱うことが多い



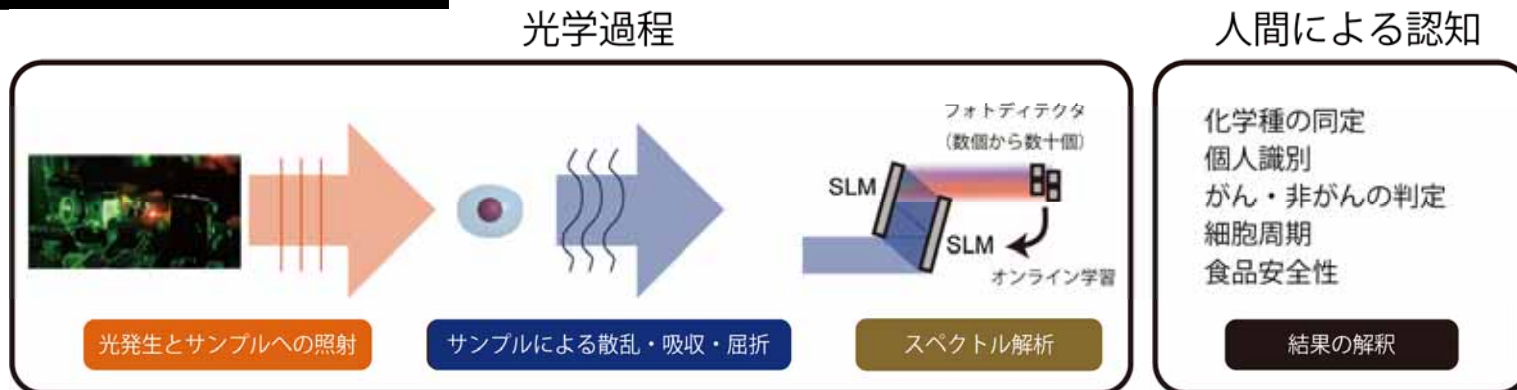
- 測定の自動化、標準化、高速化
- モデルに基づく推論
- アルゴリズムと現実系（分析装置、合成装置など）のつなぎ

アルゴリズムと光学系をつなぐために

一般的な分光計測から解析への流れ

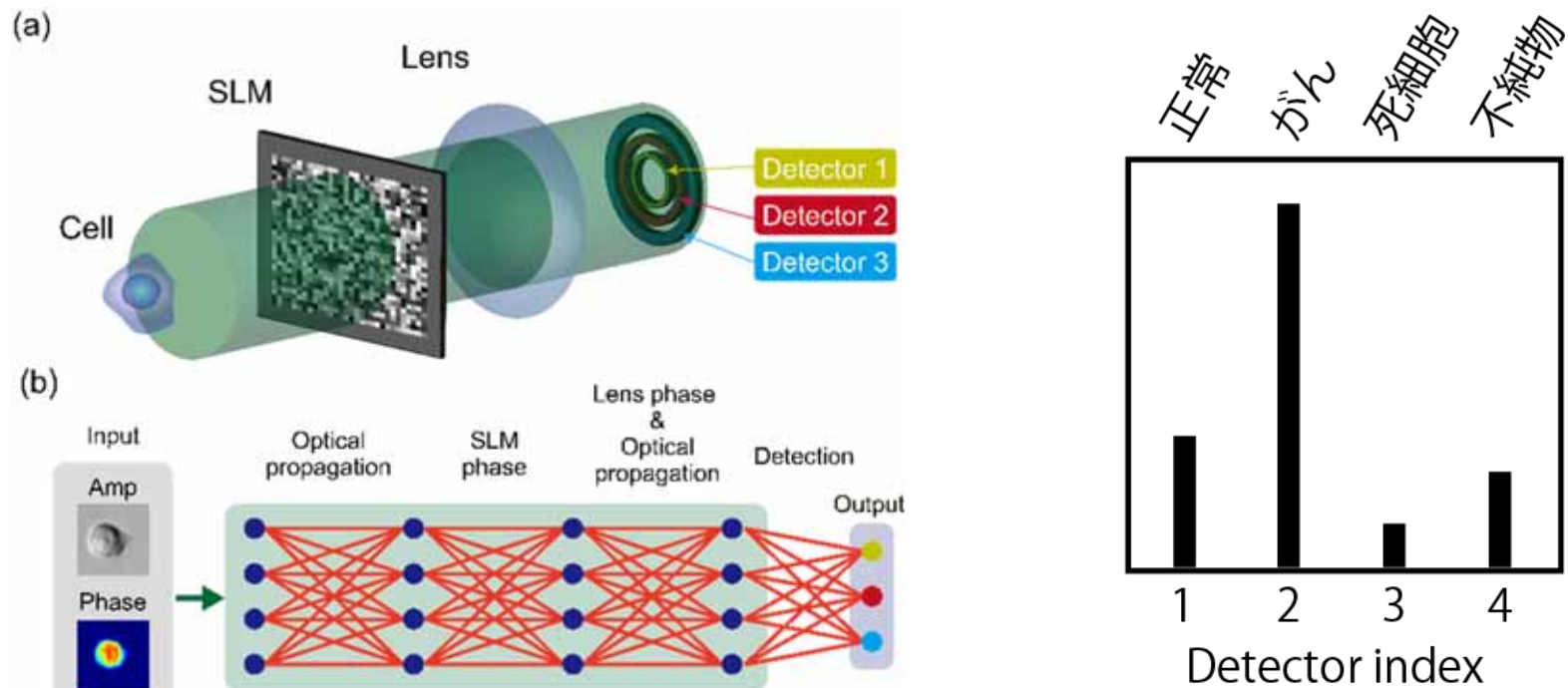


コグニティブ分光プラットフォーム



直接解釈可能な信号を“光学的に”生成する

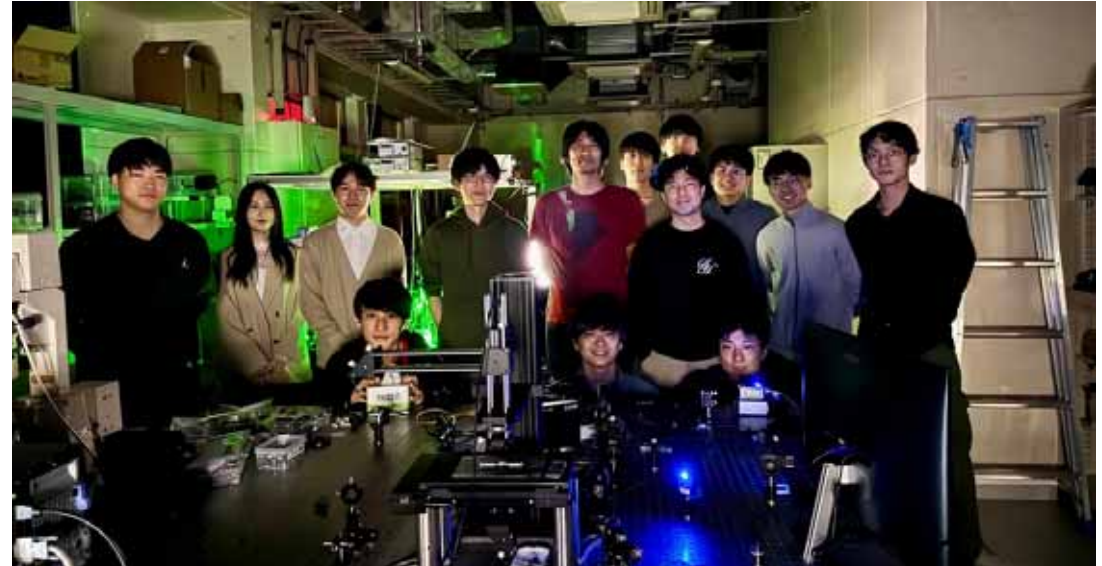
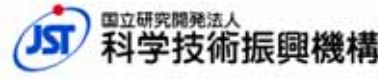
空間モードを用いた演算による細胞識別



細胞形状から生物学的・物質科学的に意味のある情報を光学的に抽出

細胞状態の長時間かつ高時間分解モニタリングや、
材料破壊のような不可逆過程の起こる瞬間の計測へと応用

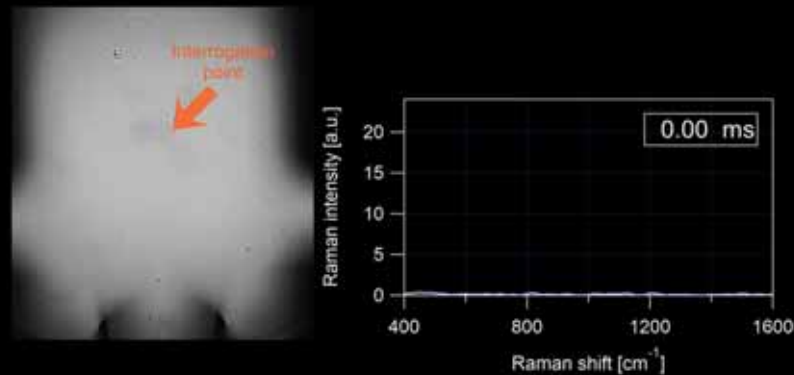
Acknowledgements



Dr. Matthew Lindley, Dr. Julia Gala de Pablo, Dr. Shigekazu Takizawa, Dr. Ryo Nishiyama, Kei Furuya, Prof. Keisuke Goda (UTokyo)
Dr. Ryosuke Oketani, Norihide Sagami, Shusuke Ooue, Takeru Sasaki, Wataru Yamamoto (Kyushu Univ.)
Prof. Wei Min, Prof. Mikiko Sodeoka, Prof. Kosuke Dodo, Prof. Shintaro Kawamura (RIKEN)
Prof. Cheng Lei, Yueyun Weng (Wuhan Univ.)

まとめ

- 分子分光学の深化と高速化によって大規模細胞解析や分取への応用を行ってきました。
- 特にラマン分光法とフローサイトメトリーの融合によって、無標識に多数細胞の細胞内分子解析を実現しました。



展望

- 科学のような外挿的活動に対してAIが推定を行うのはまだ難しい。
- ビッグデータの取得、モデルに基づく推論、アルゴリズムと物理系の統合が重要。
- **ビッグデータ取得**：高速分光法としてラマンフローサイトメーター・セルソーターを実証。
- **モデルに基づく推論**：圧縮センシングを用いた高速分光計測を実証。
- **物理系との統合**：光を用いた演算による細胞分取に挑戦中。