

高速フーリエ変換 CARS 顕微鏡

High-speed Fourier-transform CARS microscopy

東京大学¹, UCLA², JST³ ○(M1)木下川 涼¹, 平松 光太郎¹, 井手口 拓郎¹, 合田 圭介^{1,2,3}

Univ. of Tokyo¹, UCLA.², JST.³ ○Ryo Kinogawa¹, Kotaro Hiramatsu¹, Takuro Ideguchi¹, Keisuke Goda^{1,2,3}

E-mail: kinogawa@chem.s.u-tokyo.ac.jp

顕微イメージング法は生命科学および化学において、必要不可欠な分析手法である。なかでも、顕微蛍光イメージング法は高感度であること、種々の蛍光プローブを用いて多色で測定できることから、広く用いられてきている。しかしながら、退色や細胞毒性といった問題点が指摘されており[1]、生きたサンプルへの適用は困難であることがある。一方で、ラマンイメージングでは対象の分子振動を介して、ラベルフリーで化学的特異性の情報を得るため、上記の問題が生じない。従来の自発ラマン散乱では信号強度が弱く、短時間での画像取得が困難であったが、CARS (coherent anti-stokes Raman scattering) ではコヒーレントな分子励起を介して信号強度を数桁単位で高めることができ、バイオイメージング応用が進められてきている[2]。最近我々は、24,000 スペクトル/秒を実現する超高速広帯域フーリエ変換 CARS(FT-CARS)分光を開発し[3]、従来法を上回る速度・帯域を有するラマンスペクトラルイメージング実現への端緒を拓いた。

本研究では、FT-CARS 分光と高速ピエゾステージを用いる顕微イメージング法とを組み合わせ、高速・広帯域 FT-CARS 顕微分光法を開発した。それにより、データ測定、解析、画像表示を含めて、1秒以内に広帯域ハイパースペクトル画像(100 $\mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$, 10,000 pixels)が取得できることを実証した。各ピクセルは指紋領域(300-1500 cm^{-1})を含む広帯域ラマンスペクトル情報を 10 cm^{-1} の分解能で含んでおり、サンプル中における分子局在の可視化が可能である。

図1は開発した高速・広帯域 FT-CARS 顕微鏡の模式図である。20 fs の超短パルスでレゾナントスキャナによって光路長を高速掃引できるマイケルソン干渉計に導入し、各アームのパルスをそれぞれポンプ、プローブパルスとして用いる。ポンプ光によって誘起される分子振動を、遅延時間に依存するプローブ光の波長シフトとして時間領域で測定し、そのフーリエ変換としてラマンスペクトルを取得する。測定サンプルは2D ピエゾステージによって走査し、得られたデータは自作の画像処理プログラムで処理することでラマンイメージを構築する。

図2に、トルエンで満たされた直径 10 μm の穴をもつキャピラリープレート上の CARS スペクトルとトルエンの 1003 cm^{-1} のラマン信号強度に基づき再構成したラマンイメージを示す。トルエンの空間分布が 2.5 フレーム(100 $\mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$, 10,000 pixels)/秒のフレームレートで可視化されていることがわかる。今後、広帯域・高速 FT-CARS 顕微分光法によって、分子構造情報とハイスループットの特性評価を必要とする多様な生物学・医学的知見が得られるが期待される。

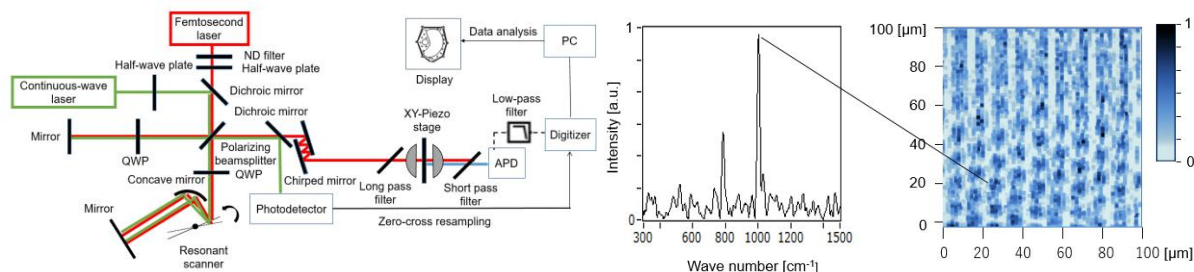


Figure 1. Schematic of the developed CARS microscope Figure 2. CARS spectrum and microscopic image of a capillary plate who holes are filled with toluene

References

- [1] R. Alford, *et al.*, *Mol. Imaging.*, **8**, 341-354 (2009). [2] J. X. Cheng and X. S. Xie, *Science*, **350**, 1054 (2015). [3] K. Hashimoto, *et al.*, *Sci. Rep.*, **6**, 21036 (2016).