

楕円スポットを用いたスリット走査型

マルチプレックスコヒーレントアンチストークスラマン散乱分光顕微鏡による生細胞観測

Live-cell observation with slit-scanning multiplex CARS microspectroscopy
using an elliptical focal spot

北大院情報 (M2) 木澤 駿, 橋本 守

Hokkaido Univ., [○]Shun Kizawa, and Mamoru HashimotoE-mail: s-kizawa@ist.hokudai.ac.jp

CARS (coherent anti-Stokes Raman scattering) 顕微分光観測により生細胞を高効率に分析する場合、観測時間の短縮や光ダメージの低減、信号光の高効率検出が重要となる。近赤外励起 CARS 顕微鏡においては、並列励起/観測による多スポット走査が観測時間の短縮と光ダメージの低減にとって有用であることが実験的に示されている [1, 2]。これは、照射光の放射照度 (単位面積当たりの光パワー) を制限することで多光子吸収に起因した光ダメージを低減しても、並列励起/観測により各点あたりの観測時間を長くすることで高 SN 比化あるいは観測時間の短縮が可能なのである。

我々は、楕円スポットによるマルチプレックス CARS の並列励起/観測を可能とするスリット走査型マルチプレックス CARS 顕微鏡を開発した [3, 4]。これまで、楕円スポットを用いることで、最大放射照度を同一とした多スポットと比較して、CARS 光強度を約 1.3 倍に増強して観測できることを計算と実験によって示した。これは、スポットを楕円状にすることで、同一焦点面内からコヒーレントに放射される CARS 光同士の強め合い干渉によって像面での CARS 光強度が増強される為である。

今回、開発した装置を用いて生細胞の観測が可能かを検証する為に、3T3-L1 脂肪細胞のマルチプレックス CARS イメージングを行な

った (Fig. 1)。スポットの楕円率は 0.125 であり、平均放射照度を $27.9 \text{ mW}/\mu\text{m}^2$ (ω_1 光) と $8.7 \text{ mW}/\mu\text{m}^2$ (ω_2 光) に設定して $(512 \times 512)_{\text{image}} \times 512_{\text{spectrum}}$ pixels の CARS スペクトルイメージを 102 秒で取得した。CARS 観測後の細胞をトリパンブルー染色により見分けたところ、少なくとも 85% 以上の生存率で生細胞のイメージングが可能であることがわかった。

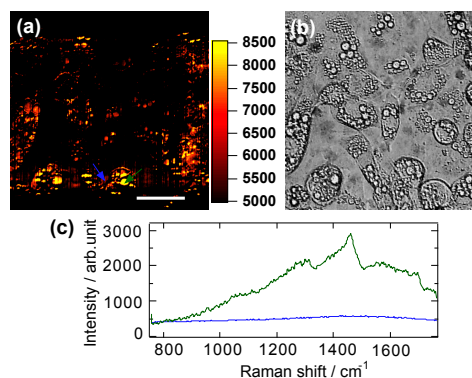


Fig. 1: (a) CARS image at 1460 cm^{-1} and (b) bright field image of living 3T3-L1 adipocytes. (c) CARS spectra at arrows (blue & green) in (a). The incident laser powers of ω_1 and ω_2 beams were 170.8 and 64.5 mW, respectively. The scale bar indicates $50 \mu\text{m}$.

- [1] T. Minamikawa, M. Hashimoto, K. Fujita, S. Kawata, and T. Araki, Optics Express, **17**(12), 9526-9536 (2009)
- [2] T. Minamikawa, Y. Murakami, N. Matsumura, H. Niioka, S. Fukushima, T. Araki, and M. Hashimoto, Journal of spectroscopy, **2017**, 5725340 (2017)
- [3] S. Kizawa and M. Hashimoto, Proceedings of Optics & Photonics Japan 2018, 2aA2 (2018)
- [4] S. Kizawa and M. Hashimoto, Proceedings of the 80th JSAP Autumn Meeting, 9a-W641-3 (2019)