ビーム走査・スリット取得型偏光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の高速分光イメージング

High-speed hyperspectral imaging of living cells with beam scanning and slit acquisition polarization coherent anti-Stokes Raman scattering microspectroscopy

○(M2) 阿部 隆爾，橋本 守　北大院情報
○Ryuji Abe and Mamoru Hashimoto
Grad. Sch. of Info. Sci. & Tech., Hokkaido Univ.
E-mail: r-abe@ist.hokudai.ac.jp

M-CARS（Multiplex-coherent anti-Stokes Raman scattering）分光顕微法は，分子振動情報を利用することにより，無染色で生細胞内の分子を分別・可視化することを可能にする．無染色で生細胞を観察できることから，再生医療や術中における迅速な病理診断への応用が期待される．しかしながら，M-CARS 分光顕微法によって得られるスペクトルは，分子振動に由来しない非共鳴信号の影響によって歪み，解析が困難であるといった問題や，生細胞の動的観察に向けた計測時間の短縮化の課題がある．

そこで，非共鳴信号を低減化可能な偏光 CARS 顕微法 [1] と，計測時間の短縮化が可能なイメージング方法であるスリットに沿ったビーム走査を行う M-CARS 顕微鏡法 [2] を組み合わせ，非共鳴信号フリーなスペクトルイメージを高速に取得可能とするビーム走査・スリット取得型偏光マルチプレックス CARS（PM-CARS）分光顕微鏡を構築し，その性能評価を行った．

構築した装置を用いて生細胞の観測可能かを検証するために，3T3-L1 脂肪細胞の PM-CARS 分光イメージングを行った（Fig. 1）．レーザーパワーをそれぞれ 100 mW (ω_{pump})，50 mW (ω_{Stokes}) とし，$(256\times256)_{\mathrm{image}}\times512_{\mathrm{spectrum}}$ pixels の指紋領域の PM-CARS 分光スペクトルイメージを 25.6 秒の計測時間で取得することに成功した．Figure 1(b) の矢印の位置において，PM-CARS 分光顕微法で得られたスペクトルはベースラインが 0 付近まで引き下げられており，従来の M-CARS 分光顕微法で得られたスペクトルと比較して，非共鳴信号の低減を確認することができた (Fig. 1(c))．また，計測時間を 1 秒あたりのスペクトル数に換算すると 2,560 spectra/s となり，従来の M-CARS の分光顕微鏡と比較して [3]，Maximum entropy method 等の処理を必要としない非共鳴信号フリーなスペクトルイメージングのイメージング速度を 2.0 倍向上することができた．

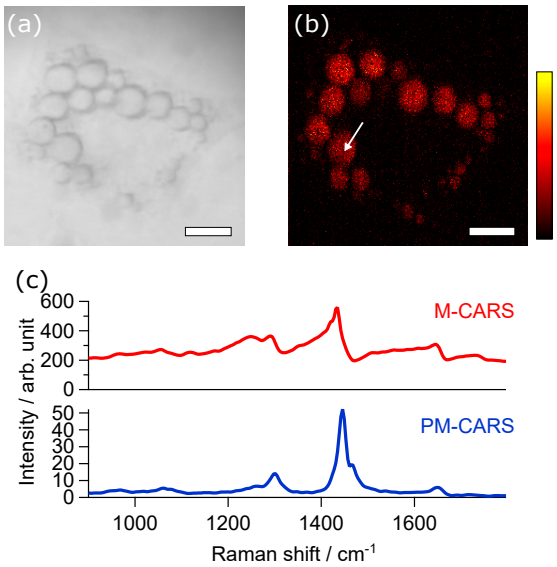

Fig. 1: (a) Bright field image and (b) PM-CARS image at 1440 cm^{-1} of living 3T3-L1 adipocytes. (c) PM-CARS spectrum & M-CARS spectrum at the arrow in (b). The incident laser powers of ω_{pump} and ω_{Stokes} were 100 and 50 mW, respectively. The scale bar indicates 10 μm.

[1] J. -X. Cheng *et al.*, *Optics letters*, **26** (17), 1341-1343 (2001).
[2] I. S. Ryu *et al.*, *Optics letters*, **40** (24), 5826-5829 (2015).
[3] H. Kano, *et al.*, *OSA Continuum*, **2** (5), 1693-1705(2018).

© 2020年 応用物理学会