

## ベッセル光照明を用いたラマン顕微鏡

## Raman microscopy using Bessel-beam illumination

阪大院工<sup>1</sup>, 産総研・先端フォトバイオ<sup>2</sup> 藪内俊平<sup>1</sup>, 畔堂一樹<sup>1</sup>, 李 夢露<sup>1</sup>, 芝田拓真<sup>1</sup>,  
久保俊貴<sup>1,2</sup>, 桶谷亮介<sup>1</sup>, スミス ニコラス<sup>1</sup>, °藤田克昌<sup>1,2</sup>

Osaka Univ.<sup>1</sup>, AIST Advanced Photo-Bio Lab<sup>2</sup> Shunpei Yabuuchi<sup>1</sup>, Kazuki Bando<sup>1</sup>, Menglu Li<sup>1</sup>,  
Takuma Shibata<sup>1</sup>, Toshiki Kubo<sup>1,2</sup>, Ryosuke Oketani<sup>1</sup>, Nicholas I. Smith<sup>1</sup>, °Katsumasa Fujita<sup>1,2</sup>

E-mail: fujita@ap.eng.osaka-u.ac.jp

ラマン顕微鏡技術の発展により、細胞や生体組織のラマン分光分析イメージングの応用研究が進み、細胞/生体組織の種別、状態、薬物応答等を、無標識で識別、評価することが可能になってきた[1,2]。また、ラマン散乱で検出可能な微小な分子構造による標識（ラマンタグ）技術も登場し、従来の蛍光顕微鏡では不可能であった小分子を特異的に観察する道が拓かれた[2,3]。しかしながら、ラマン散乱は微弱な光学効果であるため、試料内部からのラマン散乱光の検出は困難であり、ラマン散乱顕微鏡による観察は試料表面部位に限られていた。

本研究では、生体試料の内部の観察を目的として、ベッセル光照明を用いたラマン散乱顕微鏡を開発した（図 a）。ベッセル光が試料を側方から照明し、試料中の照明された部位が分光器スリット上に結像され、分光検出されるラマン分光光学系を構築した。ベッセル光を試料内で走査することにより、試料内部のラマン散乱像を構築できる。分光器スリットにより焦点面以外からの光が検出されにくくなるため、ベッセル光のサイドローブの影響を軽減し、高いコントラスト、かつ3次元空間内にほぼ等方的な空間分解能をもつ結像特性が実現される。

ベッセル光照明（図 a）および従来のライン照明（図 b）を用いて HeLa 細胞のラマン散乱観察を実施した結果を、図 c および図 d に示す。ベッセル光照明を用いた場合、像コントラストと空間分解能がともに向上していることが確認できる。特に、ベッセル光照明では、細胞の境界がより明確に観察されており、奥行き方向の空間分解能が向上していることがよく分かる。発表では、開発した顕微鏡の結像特性の詳細と他の試料への応用結果も報告する。

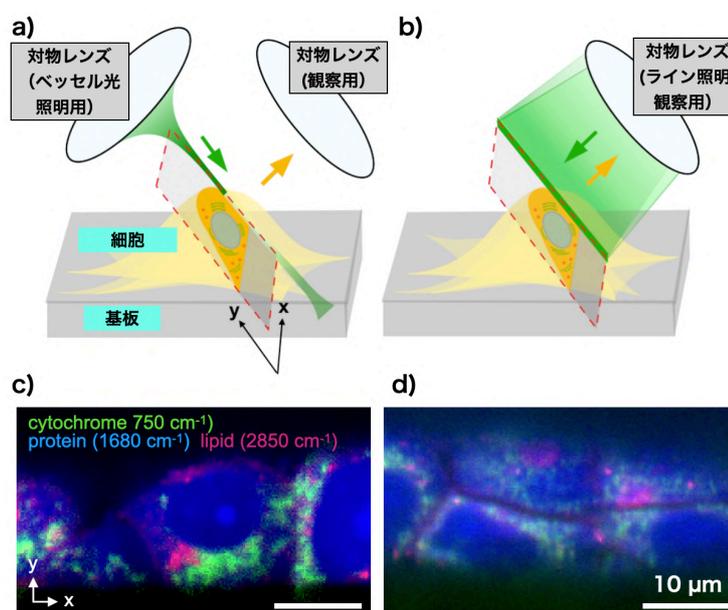


図 ベッセル光照明、epi ライン照明による細胞の観察様子(a, b)と、観察された HeLa 細胞のラマン散乱像(c, d)。

[1] Hamada et al., J. Biomed. Opt., **13**, 044027 (2008). [2] Ando et al., Curr. Opin. Chem. Biol., **33**, 16-24 (2016). [3] Palonpon et al., Nat. Protoc., **8**, 677-692 (2013).