

中赤外フォトサーマル定量位相顕微鏡による ビデオレート生細胞分子振動イメージング

Video-rate live-cell vibrational imaging

with a mid-infrared photothermal quantitative phase microscope

東大理¹

○石金 元氣¹, 戸田 圭一郎¹, 玉光 未侑¹, 島田 紘行¹, 井手口 拓郎¹

The Univ. of Tokyo¹,

○Genki Ishigane¹, Keiichiro Toda¹, Miu Tamamitsu¹, Hiroyuki Shimada¹, Takuro Ideguchi¹

非標識分子振動イメージングは非破壊・低侵襲で生体試料の分子特異的な情報を取得できるため、単一細胞イメージングに有用である。代表的な手法として、ラマンイメージングと赤外吸収イメージングが挙げられる。ラマンイメージングは可視光を用いることにより μm 以下の高い空間分解能を達成できる。自発ラマン散乱イメージングでは画像取得レートの遅さが弱点であったが、3 次の非線形光学効果を用いたコヒーレントラマン散乱の利用により検出感度が向上し、ビデオレートでのイメージングが可能となった[1]。一方で、赤外吸収イメージングは、赤外光の回折限界による空間分解能の低さ(5-10 μm)程度や、水の吸収による制限のため、単一細胞解析にはほとんど用いられてこなかった。しかし、水の O-H 結合の観測や、タンパク質の二次構造解析など、赤外吸収分光の特性を利用した様々な応用例が知られており[2]、単一細胞から赤外吸収の情報を高精度に取得することができれば有意義である。

近年、上記の課題を解決する中赤外フォトサーマル定量位相顕微鏡が開発された[3-5]。この手法では、分子振動特異的な赤外吸収により局所的な温度上昇を起こし、それに伴う屈折率変化を可視光を用いた定量位相顕微鏡で検出する(Fig.1a)。検出に可視光を用いることで μm 以下の高空間分解能を達成できる。また、赤外光を透過させる必要がある赤外吸収イメージングとは異なり、赤外光がサンプルに到達さえすれば、可視光の透過性により屈折率変化を検出できるため、水の吸収による制限も受けにくい。しかし、これまでの研究では、十分な信号対雑音比の画像を得るためには積算する必要があり、細胞の観測では数フレーム/秒程度の計測速度にとどまっている。

そこで我々は、光学系にいくつかの改善を施した。まず、細胞観測のためにはナノ秒赤外パルス光が適していることを熱拡散シミュレーションを用いて示し、ナノ秒光パラメトリック発振器を自作することで、従来用いていた量子カスケードレーザーより 100 倍高いフォトサーマル信号を得ることに成功した。また、従来よりも大きな飽和電荷量を持つイメージセンサを用いることで、位相計測の信号対雑音比を 7 倍向上した(Fig.1b)。これらの改善により、フォトサーマル位相画像の信号対雑音比が約 3 桁向上し、50 フレーム/秒の計測速度を実現した。これは、高速コヒーレントラマンイメージングと同等のフレームレートである。非破壊・低侵襲性を生かした生細胞内の動的現象を明らかにするアプリケーションへの適用が期待される。

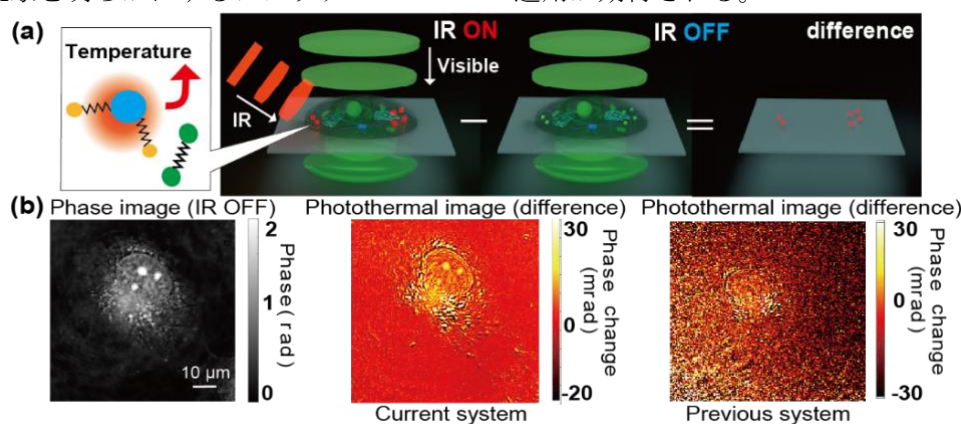


Fig.1 (a) Principle of MIR photothermal quantitative phase imaging. (b) Single-shot MIR photothermal images of a live COS-7 cell excited at 2975 cm^{-1} .

[1] B. G. Saar *et al.*, *Science* **330**, 1368-1370 (2010). [2] A. Barth, *Biochim. Biophys. Acta* **1767**, 1073-1101 (2007).

[3] M. Tamamitsu *et al.*, *Opt. Lett.* **44**, 3729-3732 (2019). [4] M. Tamamitsu *et al.*, *Optica* **7**, 359-366 (2020).

[5] D. Zhang *et al.*, *Light Sci Appl* **8**, 1-12 (2019).