

(東大院・理¹, JST さきがけ², 花王³) ○加納英明^{1,2}, 尾藤宏達³, 濱口宏夫¹

【序】 フォトニック結晶ファイバー (photonic crystal fiber; PCF) を用いることにより、kW 程度の尖頭出力を持つレーザー光で非常に広帯域なスペクトル成分を持つコヒーレント白色光を発生させることができる¹。我々は、フェムト秒²またはサブナノ秒³の光源を用いてこの白色光を発生させ、これまで複数の超広帯域マルチプレックス・コヒーレント・アンチストークス・ラマン (CARS) 顕微分光装置を開発し^{2,3}、生細胞を含む様々な生体試料を可視化観測することに成功している^{2,4}。本発表では、この装置を用いて、毛髪、皮膚組織など、いくつかの生体組織の分子分光イメージングを行い、ラベルフリーかつマルチカラーのイメージを得ることに成功したので、報告する。

【実験】 本研究では、我々が開発したフェムト秒 Ti:sapphire 発振器ベースのマルチプレックス CARS 顕微分光装置を用い、² 前方方向に出射する CARS 光を分光器及び CCD カメラにより分光測定した。CARS 過程における ω_1 光、 ω_2 光はそれぞれ、狭帯域化した基本波 (波長中心 800 nm、波数幅 20 cm^{-1})、白色光源の近赤外成分を用いた。

【結果 その 1】 図 1 に、毛髪を測定した結果を示す。試料には、白髪のスライス (厚み 5 μm) を用いた。図 1(a) に試料の光学像と、測定した領域 (破線) を示す。また、図 1(b) にマルチプレックス CARS スペクトル (赤線) を示す。露光時間は 100 ms である。鋭い分散型の振動共鳴の信号が 2850 cm^{-1} 付近に観測される。これまでの研究から、これは脂質に由来すると考えられる。指紋領域の信号を詳細に検討するため、拡大したスペクトル (青線) を図 1(b) に示す。これから、1650 cm^{-1} や 1440 cm^{-1} 付近に鋭い分散型の信号が見られることがわかる。これらはそれぞれタンパク質由来のアミド I と C-H 変角振動であると考えら

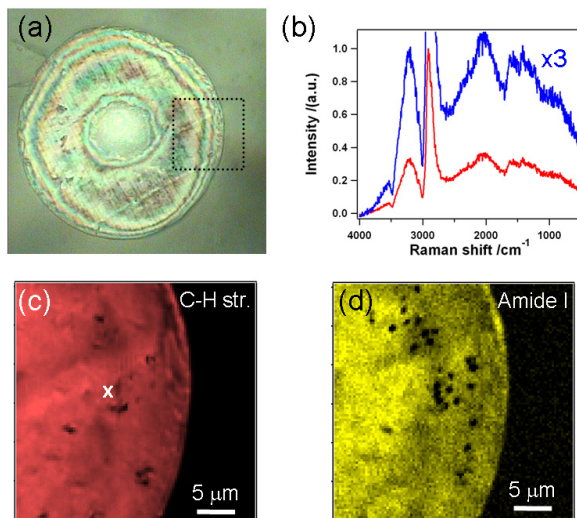


図 1(a) 白髪スライスの光学像と測定領域 (破線), (b) マルチプレックス CARS スペクトル, C-H 伸縮振動(c)及びアミド I(d)による CARS イメージ (b)は, (c)で印 (x) をつけた位置におけるスペクトル

れる。脂質 (C-H 伸縮)、タンパク質 (アミド I) のバンドを用いた CARS 分光イメージの結果を図 1(c),(d)に示す。興味深いことに、両者は異なる振動イメージを与えている。図 1(c), (d)共に、毛髪中に黒いスポットが見られるが、これらのスポットは試料が黒髪の際に、メラニンが顆粒状に存在していた部分であると予想される。

【結果 その 2】図 2 に、皮膚を測定した結果を示す。試料には、豚皮のスライス (厚み 5 μm) を用いた。図 2(a)に試料の光学像と、測定した領域 (破線) を示す。また、図 2(b)に異なる空間点における二種類のスペクトルを示す。露光時間は 100 ms である。

鋭い分散型の振動共鳴の信号が 2850 cm^{-1} 付近に観測される他、短波長側に複雑なスペクトル形状を持つ幅広い信号が見られる。 ω_1 , ω_2 光の遅延時間依存性などから、この信号は主に和周波 ($\omega_1+\omega_2$) であると同定した。C-H 伸縮、和周波で豚皮を可視化した結果を図 2(c), (d)に示す。図 2(d)から、和周波の信号が特に真皮の部分で強く観測されていることがわかる。これまでの第二高調波の研究⁵などから、これはコラーゲンに由来する信号であると考えられる。本測定では、指紋領域における振動共鳴成分は明瞭には観測されていないが、波数分解能が格段に向上したマルチプレックス CARS 顕微分光

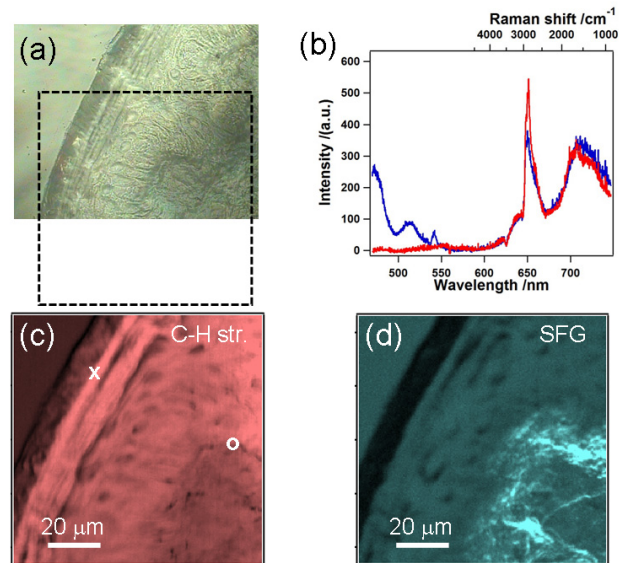


図 2(a) 豚皮スライスの光学像と測定領域 (破線), (b) 得られた信号光のスペクトル, C-H 伸縮振動 (c)及び和周波(d)によるイメージ (b)のスペクトル (赤及び青) は、それぞれ(c)の×及び○の位置におけるスペクトルである

システムを用いることにより、複数の明瞭な振動共鳴の信号を得ることにも成功している⁶。以上のように、白色光源を用いた本方法により、生体組織をラベルフリーかつマルチカラーで高速に可視化観測可能であることが示された。

[1] J. K. Ranka, R. S. Windeler and A. J. Stentz: *Opt. Lett.* 25, 25 (2000).

[2] H. Kano and H. Hamaguchi, *Appl. Phys. Lett.* 86, 121113 (2005).

[3] M. Okuno, H. Kano, P. Leproux, V. Couderc, and H. Hamaguchi, *Opt. Lett.* 33, 923 (2008); 特願 2008-66832

[4] 加納, *Mol. Sci.* 1, A0005 (2007); *Anal. Chem.* 79, 8967 (2007).

[5] P. J. Campagnola, A. C. Millard, M. Terasaki, P. E. Hoppe, C. J. Malone, and W. A. Mohler, *Biophys. J.* 82, 493 (2002).

[6] 本討論会 3P072 奥野, 加納, Leproux, Couderc, 濱口, “近赤外 CARS 顕微分光法による指紋領域バイオイメージング”