

位相コントラスト増強による 単一ビーム CARS 分光法を用いた 吸入麻酔薬のラマンスペクトルの測定

(東大院医*, 東京農工大院工**, 東京医歯大院医***)
○長島 優*,***, 鈴木隆行**, 寺田純雄***, 三沢和彦**

【背景】非細胞染色下で分子特異性のある画像を得る技術として CARS 顕微分光法は有用である。しかし生物学研究において常用するには、複数の物質を同時に計測・識別するのに十分なだけの広いスペクトル帯域と高いスペクトル解像度を、なるべく簡便な仕組みで実現することが望まれる。

【実験】本研究では、Oron ら[1]によって提唱された位相コントラスト増強による単一ビーム CARS 光学系を構築した[図 1]。本測定法は、強度の強い非共鳴 CARS 信号を参照信号として、相対的に強度の弱い共鳴 CARS 信号をヘテロダイン検出している。

図 1 において反射型 SLM を用いた $4f$ 系に入射したフーリエ変換限界のフェムト秒パルスは、光源スペクトル帯域の短波長側で、短冊型の位相変調(π シフト)を受けると同時に、短冊型の位相変調(π シフト)を受ける。このとき CARS 信号の非共鳴成分と共鳴成分は、短冊型の π シフト位相変調の短波長側では建設的に、長波長側では破壊的に干渉しあう。その結果、なだらかな非共鳴 CARS 信号のスペクトルの上に、共鳴 CARS 由来の変調信号が比較的鋭い山と谷をもつ二相性の波形成分として重畳して観測される。このとき、共鳴 CARS 由来の二相性波形が零点を横切る周波数が、ラマンスペクトルのピークの波数に相当する。二相性波形の幅は短冊型位相変調の幅で決まるため、広帯域レーザースペクトルを用いた場合においても、共鳴 CARS 信号を高スペクトル解像度で選択的に計測できる。なお単一ビーム光学系であることは、今後顕微鏡応用する際に構造が複雑にならない利点がある。

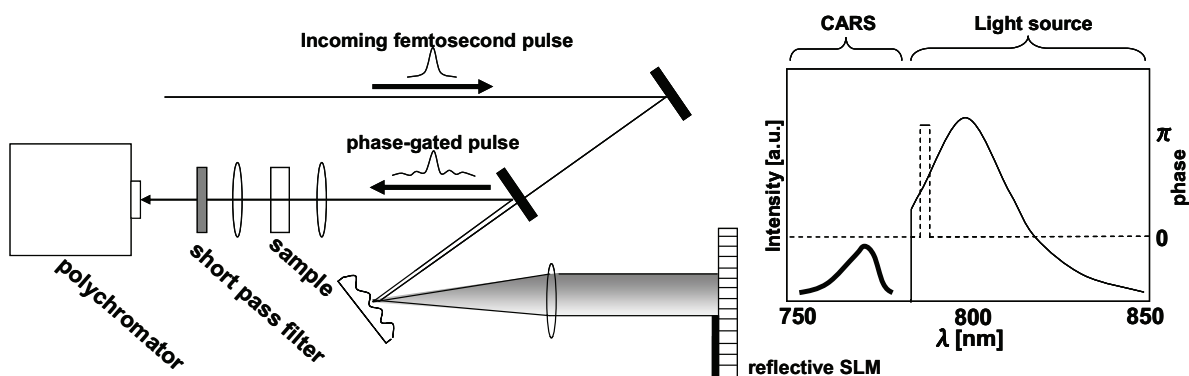


図 1: フーリエ変換限界のフェムト秒パルスを反射型 SLM を用いた $4f$ 系に入射し、光源のスペクトル帯域の短波長側に、短冊型の位相変調(π シフト)をかける(グラフ点線)。光源スペクトルの短波長側は、CARS 信号が見やすいようにパルス整形器で除去する。

【結果】実際にこの測定系を用いて、ラマンスペクトルのよく知られたハロゲン化有機化合物であるクロロホルムとブロモジクロロメタンの指紋領域の測定を行った[図2]。またそれを足がかりにハロゲン化麻酔薬であるセボフルランを調べ、300 ~ 800 [cm⁻¹]付近にラマンスペクトル由来の変調信号を観測できた[図3]。

【考察】本手法では、本実験で用いたパルス幅 30[fs]のフェムト秒パルスの場合、およそ 100~1000[cm⁻¹]の領域が観測できる。

ハロゲン化有機化合物は、原子量の大きなハロゲン原子を含むため低波数領域に特徴的な振動モードを持つことが多い。クロロホルムやブロモジクロロメタンのラマンスペクトルにおいては、指紋領域の中でも特に 200~700[cm⁻¹]に見られる大きなピークが、炭素-ハロゲン原子間の伸縮運動や変角運動に由来すると考えられている[2, 3]。

ハロゲン化麻酔薬であるセボフルランも、分子内に炭素-ハロゲン結合を複数持っており[図4]、今回測定できた共鳴CARSスペクトル[図3]も、炭素-ハロゲン結合の関わる振動モードに由来すると考えている。

セボフルランは臨床的に最もよく使用される吸入麻酔薬であるが、低分子で標識が困難であったため、従来その細胞内局在を調べる方法は限られていた。そのため、作用機序や細胞内受容体は現在でも不明なままである。本測定はこのようなハロゲン化麻酔薬の生体内での挙動を調べるのに役立つと期待される。

[1] D. Oron et al., *Phys. Rev. Lett.* **89**, 273001(2002).

[2] L. Edwin et al., *J. Chem. Phys.* **116**(1)237-257 (2002)

[3] A. Anderson et al., *J. Raman Spectroscopy*, **27**, 699-704(1996)

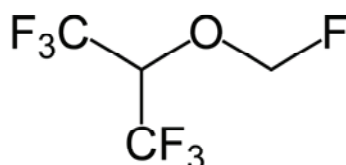


図4: セボフルランの構造式

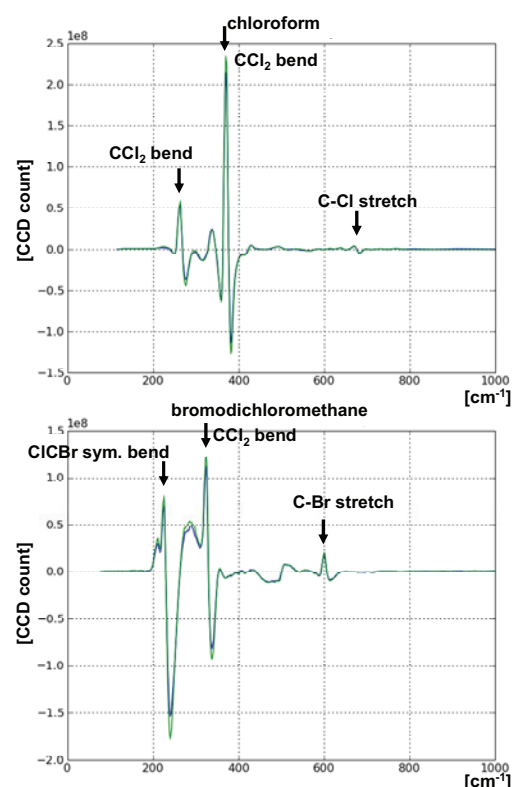


図2: chloroformの263, 369, 669[cm⁻¹], bromodichloromethaneの223, 332, 604[cm⁻¹]のラマンスペクトルに相当するスペクトル変調波形が確認できる。

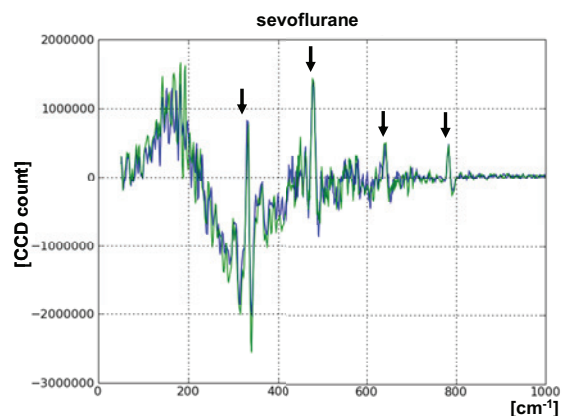


図3: sevofluraneの共鳴CARSスペクトル。300~800[cm⁻¹]に4つのピークが確認できる。