

## 白色レーザーを用いたマルチプレックス CARS 用 ファイバプローブの開発

(東大院・理<sup>1</sup>, JST さきがけ<sup>2</sup>, NCTU 分子科学研究所<sup>3</sup>)

○加納英明<sup>1,2</sup>, 濱口宏夫<sup>1,3</sup>

**【序】**我々はこれまで、ラマンスペクトルを高効率に取得し、高速にイメージングを行う Coherent Anti-Stokes Raman Scattering (CARS) 顕微分光装置を開発し、生細胞を含め様々な生体試料の非標識・マルチカラーイメージングの研究成果を報告してきた<sup>1,2</sup>。しかしながら、生体における動的な生命現象を直接“その場”観察するためには、顕微分光イメージングでは適用範囲に限界がある。そこで本研究では、生体組織の“その場”測定を目指して、CARS スペクトルを *in vivo, in situ* で取得することのできる、新しいファイバベースの CARS 分光光学系を開発したので報告する。

**【実験】**実験装置を図1に示す。光源にはモード同期イッテルビウム・ファイバレーザー (Fianium 社; SC450-4 : 特注品) を用いた。発振器からの出力を二分岐し、一方をファイバアンプにて増幅後、直接出力、もう一方はファイバアンプにて増幅後、フォトニック結晶ファイバ (photonic crystal fiber; PCF) に導入して白色レーザー光を発生させた。二つの出力を、各々 CARS のポンプ光、ストークス光として用いた。ポンプ光、ストークス光を、時間的遅延を合わせた後、同軸に重ねてシングルモードファイバに入力した。ファイバプローブ (Inphotonics, 特注品) にはダイクロイックミラーが内蔵されており、レーザー入射用と CARS 受光用の二つの経路が一つの管体コンパクトにおさまられている (図1 写真参照)。ポンプ光、ストークス光を、

プローブ先端に搭載したレンズ (焦点距離 10 mm) により試料に集光し、試料から発生した CARS 光の後方散乱成分を同じレンズで集めた。

CARS 光をマルチモードファイバにより分光器 (Acton, SpectraPro2300i) へと導き、CCD カメラ (Roper Scientific,

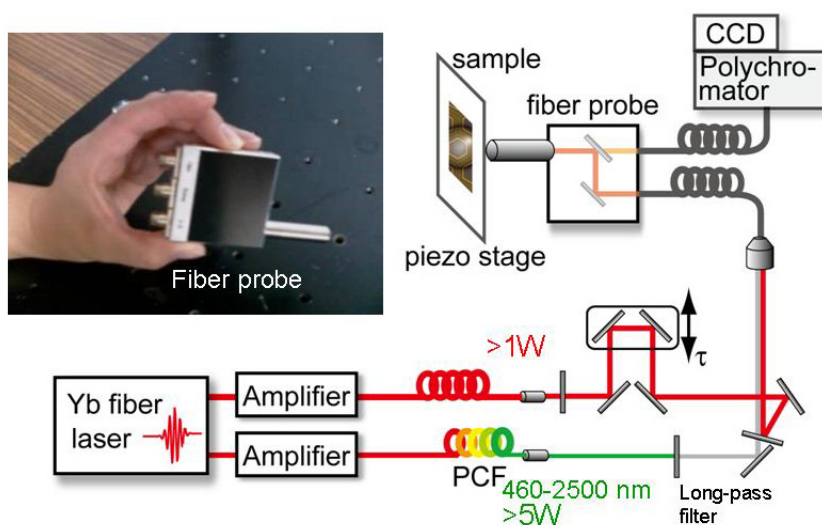


図1. 実験装置とファイバプローブの写真。左側に3つあるFCコネクタのうち、2つを入力・出力用に用いている。

PIXIS 100B)によりスペクトル測定を行った。試料は三軸ピエゾステージ (MadCity; Nano-LPQ) 上に載っており、三次元的なスキャンが可能である。

**【結果】** 図 1 に、CARS 発生に用いたポンプ光、ストークス光のスペクトルを示す。ファイバプロブ導入前(a)、後(b)のものが示されている。ポンプ光のスペクトルは、ファイバアンプにかける電流値に依存して変化する。特に電流値を高くして高出力にしたとき、図 2 に示したように二つのピークを持つ。今回は、ダイクロミックミラーの特性により、長波長側のスペクトル成分のみをポンプ光として用いた。ストークス光は可視 460 nm から近赤外 2500 nm まで幅広いスペクトル広がりを持つが、各種フィルターを用いることで 1200nm 以上の近赤外成分のみを選択して用いた。図 3 にパラニトロアニリン微結晶のマルチプレックス CARS スペクトルを示す。露光時間は 2 秒であった。図 3(a) に示すように、NO<sub>2</sub> 対称伸縮に由来する振動共鳴の信号が観測された。このバンドを用いた CARS イメージングの結果を図 3(b) に示す。数マイクロメートルのサイズの微結晶が可視化できていることがわかる。以上のように、CARS ファイバプロブにより、スペクトル及びイメージの取得が可能であることが示された。

[1] M. Okuno, H. Kano, P. Leproux, V. Couderc, J. Day, M. Bonn, and H. Hamaguchi, “Quantitative CARS molecular fingerprinting of single living cells with the use of the maximum entropy method”, *Angew. Chem. Int. Ed.*, accepted.

[2] 本討論会 1P090 廣崎, 奥野, 加納, 濱口, “波長可変非縮退マルチプレックス CARS 顕微分光装置の製作”

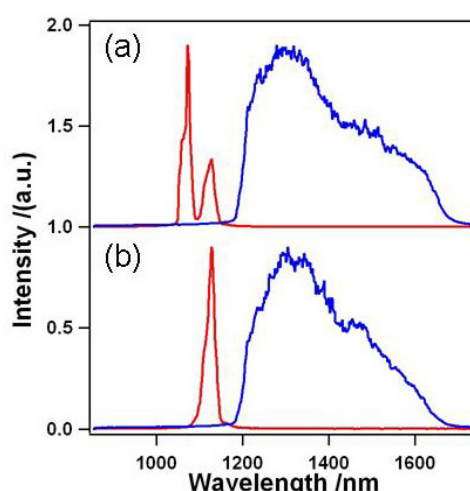


図 2 ファイバプロブ導入前(a)及び後(b)のポンプ光、ストークス光のレーザースペクトル

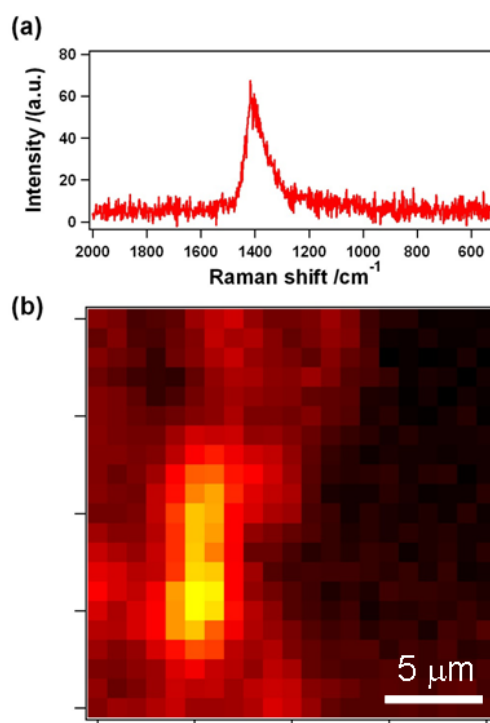


図 3 パラニトロアニリン微結晶のマルチプレックス CARS スペクトル (a)とイメージ (b)