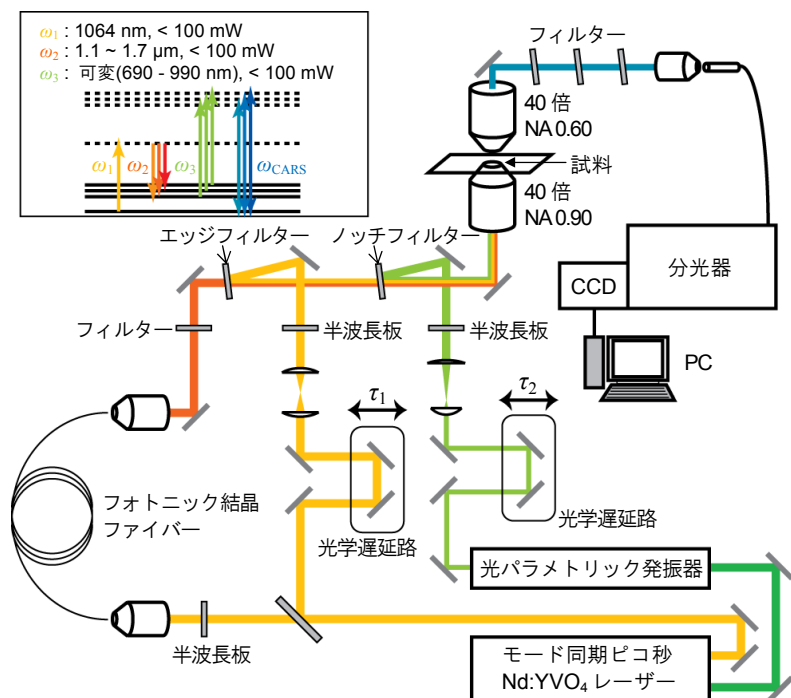


## 波長可変非縮退マルチプレックス CARS 顕微分光装置の製作

(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>)○廣崎拓登<sup>1</sup>, 奥野将成<sup>1</sup>, 加納英明<sup>1,2</sup>, 濱口宏夫<sup>1,3</sup>

【序】コヒーレント・アンチストークス・ラマン散乱 (CARS) は、三次の非線形光学過程の一つで、ラマン散乱と同等な振動スペクトルを与える過程である。CARS の信号光は、高強度で指向性が良いうえ、入射光の短波長側に生じるため蛍光の妨害を受けにくい。これらの長所から、CARS 分光法は有力な振動分光法として広く研究、応用されている。特に、CARS 過程の  $\omega_2$  光として広帯域光を用いるマルチプレックス CARS 分光では、複数の振動モードに由来する豊富な振動情報をスペクトルとして一度に得ることができるため、これを顕微鏡に応用したマルチプレックス CARS 顕微分光法は、生細胞や生体組織の非標識、マルチカラーでの分子分光イメージングを実現する強力な手法となっている<sup>1</sup>。本研究では、本手法の更なる発展として、試料分子の電子励起状態の共鳴効果を利用した非縮退 CARS イメージングの実現を目指した。非縮退 CARS は、異なる角振動数  $\omega_1$ ,  $\omega_2$ ,  $\omega_3$  を持つ三つの入射光から  $\omega_1 - \omega_2 + \omega_3$  の信号光を得る過程である。このとき、生体試料へのダメージが少ない近赤外領域の  $\omega_1$  光,  $\omega_2$  光を用いながら、試料分子の電子吸収に応じて  $\omega_3$  を選ぶことで、信号強度を著しく増大させ、選択的かつ高感度な測定が可能になることが期待される。そこで、狭帯域  $\omega_1$  光, 広帯域  $\omega_2$  光に加えて、光パラメトリック発振器の出力を波長可変な  $\omega_3$  光とする、非縮退マルチプレックス CARS 顕微分光装置を製作し、種々の試料について測定を行った。

【実験装置】 図 1 に装置のブロック図を示す。モード同期ピコ秒 Nd:YVO<sub>4</sub> レーザーの出力



【実験装置】 図 1 に装置のブロック図を示す。モード同期ピコ秒 Nd:YVO<sub>4</sub> レーザーの出力

図 1. 波長可変非縮退マルチプレックス CARS 顕微分光装置のブロック図

の基本波（中心波長 1064 nm，スペクトル幅  $3\text{ cm}^{-1}$ ，パルス幅 8 ps，繰り返し 76 MHz，パルスエネルギー  $> 50\text{ nJ}$ ）を二分割し，一方を CARS 過程の  $\omega_1$  光として用いた．もう一方をフォトニック結晶ファイバーに導入し，広帯域の白色レーザー光を発生させたのち， $\omega_1$  光より長波長の成分のみをフィルターで選別して  $\omega_2$  光とした． $\omega_2$  光のスペクトルを図 2 に示す．また，光パラメトリック発振器のシグナル光（中心波長は 690 - 990 nm の範囲で可変，パルス幅 6 ps，繰り返し 76 MHz，パルスエネルギー  $> 15\text{ nJ @ } 800\text{ nm}$ ）を  $\omega_3$  光として用いた． $\omega_1$  光， $\omega_3$  光はそれぞれ光学遅延路を経ており， $\omega_2$  光に対する遅延時間を独立に変えることができる．以上の三つの光を同軸にし，対物レンズに導入して試料に集光した．試料からの信号光は対向させた対物レンズで集め，種々のフィルターとファイバー，分光器を経由させて CCD カメラで検出した．

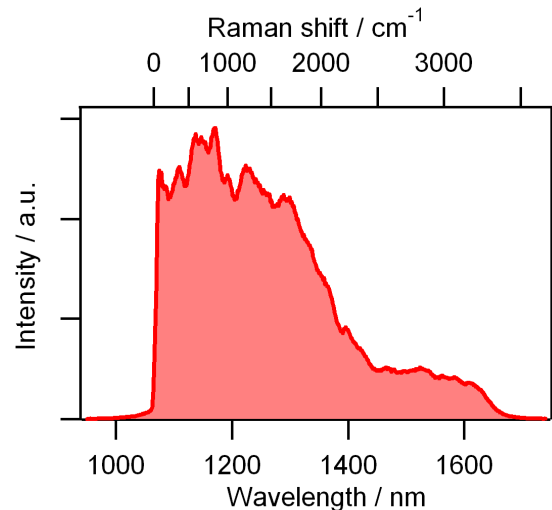


図 2. CARS 過程の  $\omega_2$  光のスペクトル

【実験結果】  $\omega_3$  光として中心波長 800 nm の光を用いて，インデンおよび *p*-ニトロアニリン結晶について測定を行った結果を図 3 (a)(b)に示す．露光時間は(a)で 0.1 秒，(b)で 0.2 秒である．また，波数分解能は  $13\text{ cm}^{-1}$  程度であった．いずれの試料においても，指紋領域に複数のピークを持つ，非縮退マルチプレックス CARS スペクトルを得ることができた．

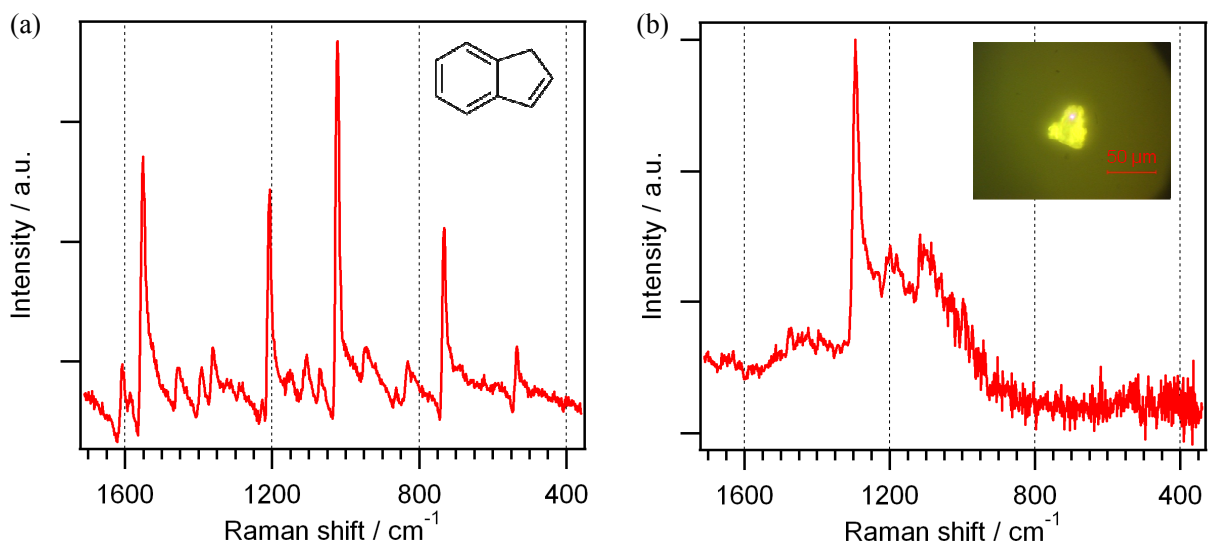


図 3. (a)インデン，(b)*p*-ニトロアニリン結晶の非縮退マルチプレックス CARS スペクトル

[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.