

【序】近年, フォトニック結晶ファイバー (Photonic crystal fiber, PCF) からの超広帯域白色光が, 周波数標準の研究, 時間分解分光, 光 CT など様々な分野に応用されている. 我々はこれまで, この白色光を用いた新しい非線形ラマン分光及び顕微分光光学系の開発を行ってきており [1-3], 現在波数帯域  $>2800\text{cm}^{-1}$  という最も広帯域なマルチプレックス CARS (coherent anti-Stokes Raman scattering) スペクトルの測定を報告している [3]. 今回は, この新しい非線形ラマン顕微鏡を用いて分子 J 会合体微結晶や生細胞の振動イメージを得た結果について報告する.

【実験】図 1 に実験装置を示す [1]. 本装置の大きな特徴は, (1) 光源が発振器一台で構成されていること, さらに(2)複雑な光増幅システムを用いることなく超広帯域白色光が得られ, その広帯域性を活かしたマルチプレックス CARS スペクトルの測定が可能となっていることである.

光源には Ti:sapphire 発振器 (Coherent 社; Vitesse) を用い, 出力の一部を PCF (Crystal Fiber 社; NL-PM-750) に導入して白色光を発生させた. 発振器からの基本波を狭帯域化してポンプ光とし(波数幅約  $20\text{cm}^{-1}$ ), 白色光の近赤外成分をブロードバンドな

ストークス光として, 対物レンズを通して同軸に試料に入射した. 試料からの CARS 信号を対向させた対物レンズで集め, 各種フィルターを経由させた後分光測定した. 本装置の空間分解能は, 面内・面外方向でそれぞれ  $0.6\ \mu\text{m}$ ,  $1.5\ \mu\text{m}$  であった.

【結果・考察】図 2 に酵母の生細胞のマルチプレックス CARS スペクトル(a)と CARS イメージ(b,c)を示す. ポンプ光・ストークス光の間の遅延時間を制御することにより, C-H 伸縮領域 ( $2850\text{cm}^{-1}$  付近)の信号を特に強く発生させている. 非共鳴バックグラウンドとの干渉のため, 酵母に由来する  $2850\text{cm}^{-1}$  付近の C-H 伸縮信号は分散型のスペクトルとして図 2(a)に現れている. この干渉による分散型のスペクトル形を抽出して CARS イメージを構成

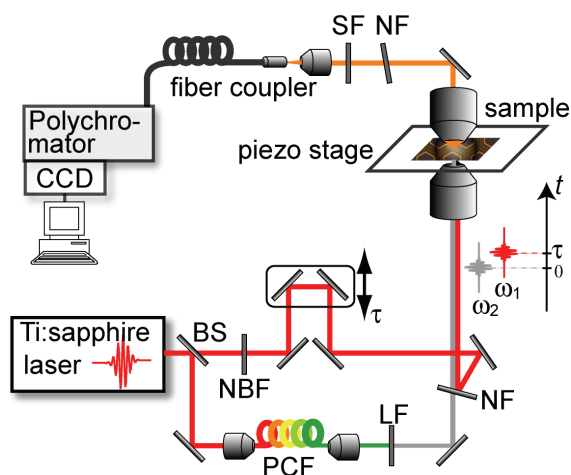


図 1 マルチプレックス CARS 顕微鏡; BS: beam splitter; NBF: narrow bandpass filter; LF: long-wavelength pass filter; NF: Notch filter; SF: short-wavelength pass filter.

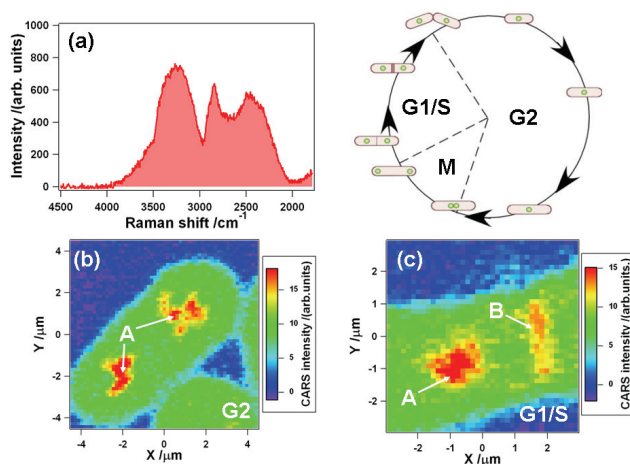


図 2 分裂酵母の CARS スペクトル (a)と CARS イメージ(b, c). 挿入図は細胞分裂過程の模式図

した結果を図 2(b,c)に示す。図 2(b)と(c)における酵母は、それぞれ細胞周期の G1 期と G1/S 期に相当する。いずれの結果についても、C-H 伸縮振動により酵母の形状に対応する様な信号が見られた他、酵母内部に局所的に信号の強い部分が存在した。これまでの当研究室の研究結果から、図 2(b)と(c)で示された領域 A はミトコンドリアに、図 2(c)で示された領域 B は隔壁に由来すると考えられる。以上のように、本装置を用いて細胞内オルガネラを可視化することにも成功した。

次に、本装置を用いて分子 J 会合体微結晶の振動イメージングを行った。非水溶性ポルフィリンの液液・気液界面における自己組織化が報告されて以来 [4]、その特異なナノ構造と先鋭な励起子吸収が注目を集め、新規な光機能材料としての応用が期待されている。図 3 に *meso*-Tetraphenylporphyrin (TPP) を構成要素とする J 会合体微結晶の線形吸収スペクトル及びマルチプレックス CARS スペクトルを示す。CARS 測定に要した露光時間は約 60 ms である。励起子吸収帯が 720 nm 付近にピークを持つため、ポンプ光 (800 nm) の前期共鳴効果及び CARS 光の真性共鳴効果による非常に強い CARS 信号を得ることができた。最も強い  $1540\text{ cm}^{-1}$  付近のバンドはポルフィリン環の C=C 伸縮振動であると考えられる。このバンドを用いてポルフィリン J 会合体微結晶の三次元振動イメージングを行った結果を図 4 に示す。非線形顕微鏡の特徴を活かした高い空間分解能で、板状の微結晶を可視化することに成功した。三次元測定により、板状結晶が面外にやや歪んでいることがわかる。本実験では、J 会合体微結晶からの蛍光も同時に観測されたため、CARS 及び蛍光のマルチイメージングも可能である。発表では、それらの関連についても議論する。

- [1] H. Kano and H. Hamaguchi, *Appl. Phys. Lett.* **86**, 121113 (2005).  
 [2] H. Kano and H. Hamaguchi, *Opt. Express* **13**, 1322 (2005).  
 [3] H. Kano and H. Hamaguchi, "Dispersion-compensated supercontinuum generation for ultrabroadband multiplex coherent anti-Stokes Raman scattering spectroscopy", *J. Raman Spectrosc.*, accepted  
 [4] S. Okada and H. Segawa, *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 2792 (2003).

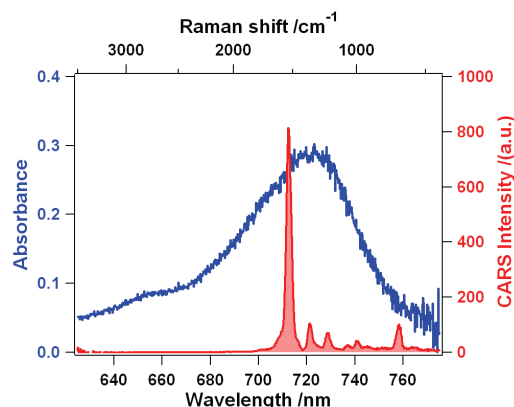


図 3 ポルフィリン J 会合体微結晶の吸収スペクトル (青) 及び CARS スペクトル (赤)

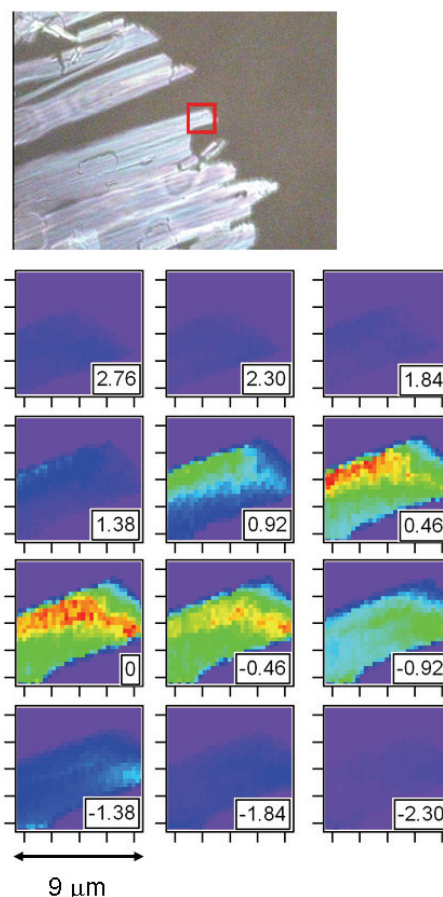


図 4 ポルフィリン J 会合体微結晶の光学像 (上: 赤枠内を測定) と CARS による三次元振動イメージング (下). 図中の数字は光軸方向の変位量 (単位はマイクロメートル).