

# 多焦点コヒーレントアンチストークスラマン散乱顕微鏡の開発

阪大院・基礎工、阪大院・工\*

井上桂吾、橋本守、藤田克昌\*、中村収\*、河田聡\*、荒木勉

＝序論＝

我々は非線形ラマン散乱であるコヒーレントアンチストークスラマン散乱(CARS)を利用した顕微鏡を開発し、指紋領域での CARS 画像の観測を行ってきた[1][2]。CARS 顕微鏡には、1)CARS 分光がラマン分光の一種であるため、非染色に分子構造に関する情報が得られる、2)非線形光学現象であるため、多光子励起蛍光顕微鏡と同様に、検出器の前にピンホールを配置しなくても、三次元の空間分解能を有する、などの優れた特徴がある。しかしながら CARS 光は微弱であるため、非常に多くの観測時間を必要とすることが CARS 顕微鏡の問題点の一つとなっていた。

今回我々は、マイクロレンズアレイを用いた多焦点 CARS 顕微鏡を開発し、その観測時間を従来と比べ、約 100 分の 1 に短縮することができた。

＝実験＝

図 1 に、今回開発した多焦点 CARS 顕微鏡の概略図を示す。フェムト秒モード同期チタンサファイアレーザ光を、ピコ秒再生増幅器(RGA)で増幅した光の一方を $\omega_1$ 光、もう一方を光パラメトリック発信機(OPA)の励起光に用い、発生する波長可変なアィドラー光の第二高調波を $\omega_2$ 光に用いた。これら二つのレーザ光を、空間的に同軸上に重ね合わせ、さらに光学遅延によって時間的に重ね合わせる。これらのレーザ光をマイクロレンズアレイに照射すると、各マイクロレンズがそれぞれ焦点を形成するため、対物レンズ(N.A.=0.65)でレーザ光を集光したとき、試料を多点同時に励起できる。各焦点で発生した CARS 光は、フィルタにより励起レーザ光と分離され、対物レンズ(N.A.=0.65)によって CCD に取り付けられたイメージンシファイアの受光面上で結像される。マイクロレンズアレイディスクを、高速回転させることにより、試料上を走査し、CARS 画像を取得する。

＝結果・考察＝

図 2(a)に、開発した多焦点 CARS 顕微鏡下で、 $\omega_1-\omega_2=990\text{cm}^{-1}$ で測定した直径  $4.5\mu\text{m}$  のポリスチレンビーズの CARS 画像を示す( $\omega_1=775\text{nm}$ ,  $\omega_2=840\text{nm}$ )。このとき $\omega_1, \omega_2$ レーザ光のスペクトル幅はそれぞれ  $14.5\text{cm}^{-1}$ ,  $18.9\text{cm}^{-1}$ であった。これらの値から、観測される CARS 光のスペクトル幅は約  $23.8\text{cm}^{-1}$ と推定される。また、画像 1 枚あたりの観測時間は約 30 秒であり、これは従来の観測時間の約 100 分の 1 の値となっている。次に、図 2(b)に、ラマンシフトに対するポリスチレンビーズの CARS 光強度変化の様子を示す。約  $990\text{cm}^{-1}$ にピークが見られるが、これは通常のラマン散乱スペクトルで得られるフェニル骨格の振動モードより約  $10\text{cm}^{-1}$ 低波数側にシフトしている。このシフトは、CARS の非共鳴バックグラウンド光とラマンバンドとの干渉によるものと思われる。

今回の実験から、CARS 顕微鏡にマイクロレンズアレイを用いることにより、大幅な観測時間の短縮が実現できたことが示された。今後は、生体試料の CARS スペクトルイメージングを行っていく予定である。

謝辞 本研究は日本学術振興会未来開拓学術研究推進事業「フォトリック生体情報計測制御プロジェクト」の一環として行われた。

[1] Mamoru Hashimoto and Tsutomu Araki, 18<sup>th</sup> Congress of the International Commission for Optics, SPIE3749, 496-497 (1999)

[2] Mamoru Hashimoto, Tsutomu Araki and Satoru Kawata, Optics Letters, in press

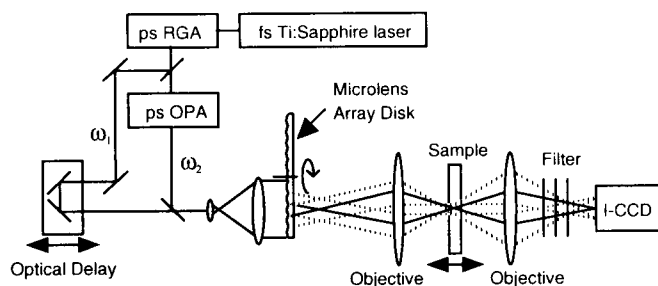


図1. CARS顕微鏡の概略図

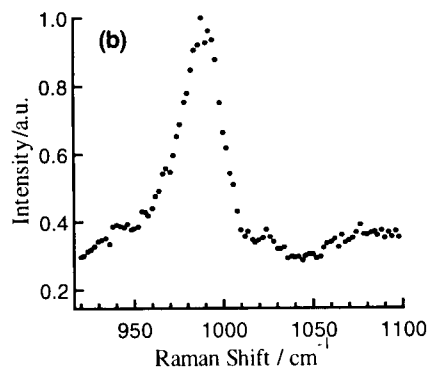
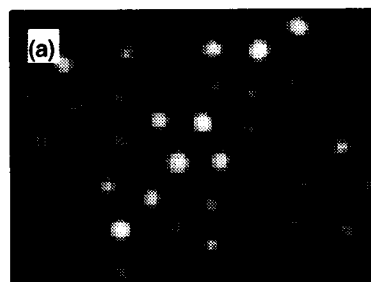


図2. (a)直径  $4.5\mu\text{m}$  のポリスチレンビーズの CARS 像( $\omega_1-\omega_2=990\text{cm}^{-1}$ )。 (b)ポリスチレンの CARS スペクトル。