

誘導ラマン顕微鏡による高速・無標識生体イメージング

東京大学 小関泰之

光学顕微鏡は、生きたままの生体をサブミクロンの高い空間分解能で観察することができるため広く使われている。しかし、生体はマイクロなスケールではほぼ透明であることが多く、光学顕微鏡で観察するためには様々な工夫が必要である。位相差顕微鏡は生体分子の屈折率の違いを用いて透明な細胞の形態情報を可視化する。また、様々な染色手法や蛍光標識手法では、特定の物質を着色したり蛍光性を持たせることで、高い特異性をもって生体を可視化することができる。これらは既に医学・生物学の研究や臨床現場で生体観察のための不可欠な手法となっている。また、波長以下の空間分解能での観察を可能とする超解像顕微鏡や、生体の深部観察に有利な多光子顕微鏡においても、蛍光標識は必須である。

一方、このような染色や標識を行うことなく生体を可視化する手法のひとつにラマン顕微鏡がある。ラマン顕微鏡では、生体にレーザー光を照射し、分子振動周波数に相当する周波数シフトを有する散乱光を検出する。従来のラマン顕微鏡は信号強度が極めて低く、信号取得に極めて長い時間を要していたが、近年、様々な手法によって信号取得速度が何桁も向上し、従来の顕微鏡では見えないものを見る手法として注目を集めている。

我々は、高速ラマン顕微鏡の一手法である誘導ラマン(stimulated Raman scattering, SRS)顕微鏡を米・独のグループと独立に提案・実証し、その性能向上を図ってきた。SRS 顕微鏡では、2色のピコ秒レーザーパルスを生体に集光照射することで発生する SRS 効果を測定し、特定の分子振動周波数を有する生体分子を検出する。SRS 顕微鏡は毎秒 30 フレーム以上の高速イメージングが可能であり、生きて動く個体のイメージングにも適用可能である。また、レーザーパルスの波長を高速に掃引することで分光イメージングを行い、複数の構成分子の空間分布を短時間で計測することもできる。

本講演では、SRS 顕微鏡の原理、特長、国内外の研究状況を概観したのち、我々が研究を進めてきた高速 SRS 分光イメージングシステムとその応用について紹介する。また、SRS の原理に立ち返り、計測速度や感度について議論するとともに、SRS 顕微鏡の実用性向上のために開発した様々なレーザー光源についても紹介する。