

医療分野研究成果展開事業/産学共創基礎基盤研究プログラム（産学共創）

平成 27 年度成果報告書（公開）

研究代表者 (所属機関・氏名)	大阪大学大学院基礎工研究科 橋本 守
参加機関	静岡大学
研究開発課題	高速誘導ラマン散乱スペクトルイメージングシステムの開発

### 1. 研究開発の目的

ラマン散乱は、無染色に分子種・分子構造に関する知見が得られるために、化学分析、物理化学研究、半導体物性研究等に用いられてきたが、近年になって生体観測への応用が盛んに行われるようになってきた。しかしながら、ラマン散乱は非常に微弱であるために、そのイメージをリアルタイム観測することは困難であった。

本研究では、誘導ラマン散乱顕微鏡の多焦点化を行い、非共鳴バックグラウンドの影響なく、分子識別能力の高い指紋領域 ( $500\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ ) でのリアルタイム・ラマン・イメージングを実現する。これを実現するために、高い背景光下で、高速にかつ微少に変動する光強度をイメージングする検出器を開発する。また、リアルタイムにラマン画像を観測可能な内視鏡を開発する。

### 2. 研究開発の概要

本研究では、ラマン散乱イメージングのリアルタイム観測を実現することで、分子レベルからの生理学的・生化学的機能とその病態検出を非侵襲的にリアルタイムで計測する手法を開発する。すなわち、プローブを用いないリアルタイム分子イメージング技術を確認する。また、これを実現する過程で、高い背景光下で高速にかつ微少に変動する光強度をイメージングする撮像デバイスを開発することで、世界に類を見ないユニークな装置となり、当該分野だけでなく、さまざまな産業応用が期待できる。さらに、内視鏡へと展開することで、将来医療へと応用可能な基盤技術となり得る。

### 3. 研究開発の成果（平成 27 年度）

#### (1) 【大阪大学】

ロックインカメラの複数の素子を用いた信号取得を目指し、まず 10 fs レーザーと 5 ps レーザーを用いた CARS 顕微鏡システムを構築した。10 fs レーザーと 5 ps レーザーを、電気信号による位相検出と、バランス相互相関器による高精度なパルス時間差検出を行ない、これらの信号を 10 fs のアウトプットカプラーにフィードバックすることで同期を実現している。これらの光を空間的に重ね合わせ、顕微鏡へと導入

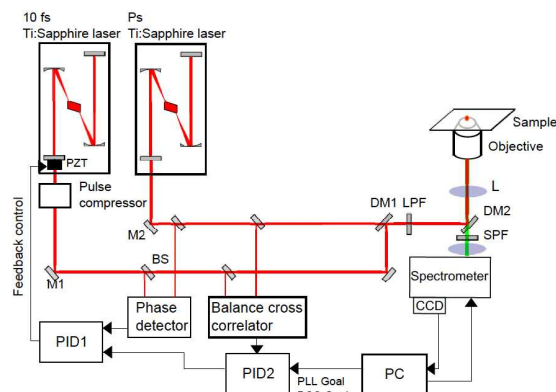


図 1 10 fs と 5 ps レーザーを用いた CARS 顕微鏡システム

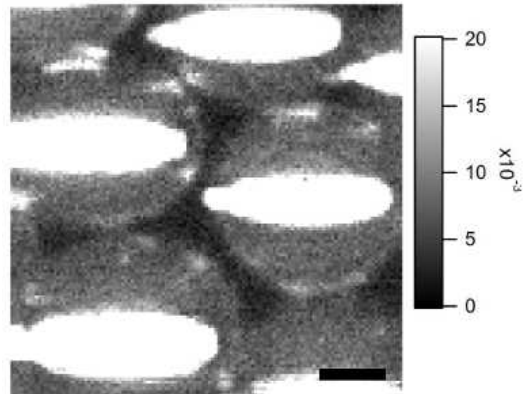
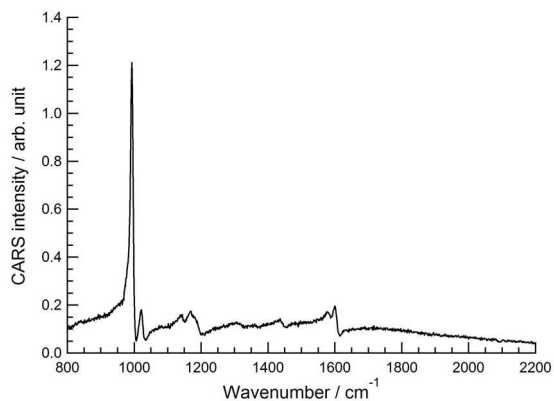


図2 ポリスチレンビーズのCARSスペクトル(左)と1000 cm<sup>-1</sup>でのイメージ(右)

し、発生したCARS光の後方散乱光を分光器を通して分光、CCDでそのスペクトルを検出した。このシステムを用いて観測したポリスチレンビーズのスペクトルとイメージを図2に示す。広範囲1400 cm<sup>-1</sup>に渡る領域のスペクトルを一度に取得できていることが分かる。

1本の光ファイバーによって励起光を伝送するCARS硬性鏡を開発した。図3にその光学系の概略を示す。同期・高速波長走査ピコ秒レーザー光をファイバーカップラ(FC1)で重ね合わせた後、単一モード光ファイバーに導入し、CARS硬性鏡へと導入した。外径12mm全長300mmの二重構造となっている鏡筒を示す(図4)。直径650 μmの視野があることを透過像により確認した(図5左)。また、直径45 μmポリスチレンビーズを観測した結果を図5(右)に示す。計測時間は200 sであるが、今後より高速なイメージングの実現を目指す。

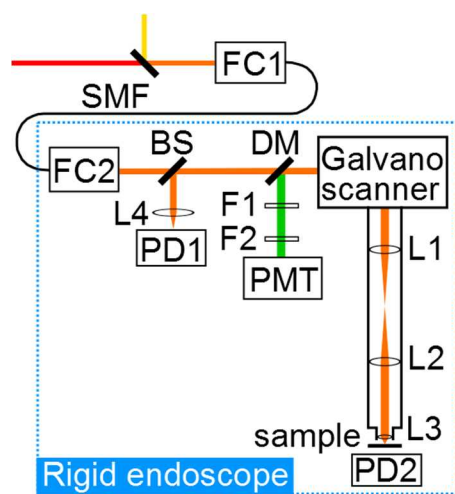


図3 1本のファイバーを用いた硬性鏡の光学配置



図4 直径12mmのCARS硬性鏡の鏡筒

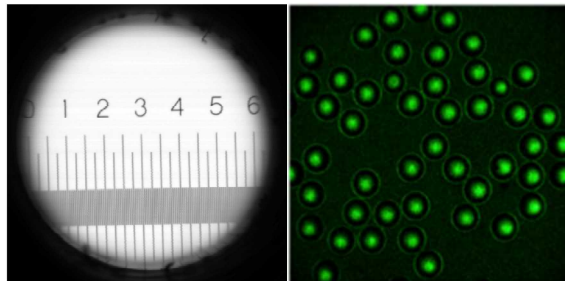


図5 直径12mmのCARS硬性鏡の視野(左)とポリスチレンビーズのCARS像(右)

(2) 並列化誘導ラマンロックインカメラの開発【静岡大学】

10×10画素で2,800fpsまでのイメージング（波長固定）が可能な小型・堅牢で振動に強いSRSロックインカメラを開発した。図6に、試作センサを搭載したカメラを含む顕微鏡システムを示す。

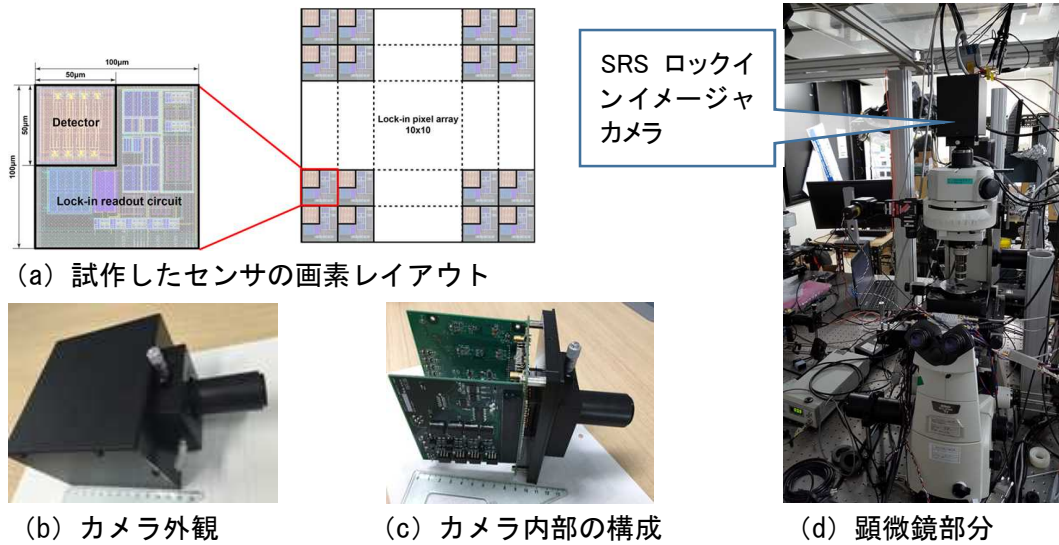


図6 SRS 顕微鏡システム

センサの前年度からの性能改善，カメラとしての改良の成果として，特定の1画素に着目したSRSスペクトルの取得と，32×32ステップ（1μm/step）のステージを用いて脂肪細胞のSRSイメージングにも成功した。図7には，ステアリン酸のSRSスペクトルを示す。

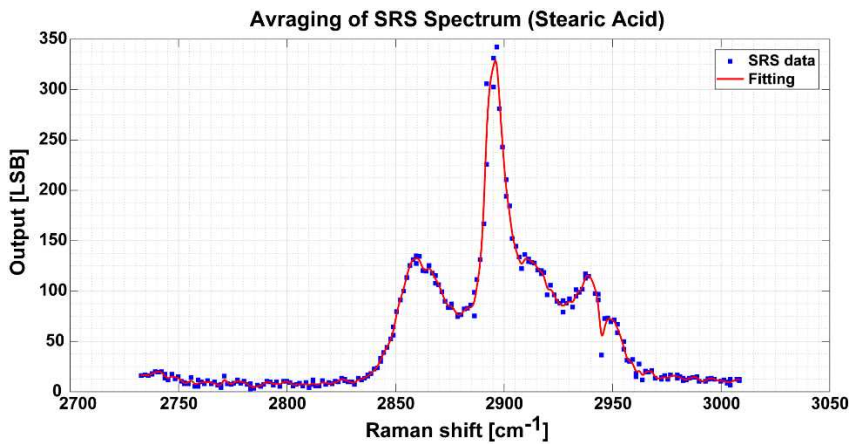


図7 ステアリン酸（結晶）のSRSスペクトル