

# 世界最高の空間分解能を持つ中赤外顕微鏡の開発

東京大学 大学院理学系研究科  
菅原優生, 戸田圭一郎, 井手口拓郎

## 1. はじめに

生命科学や医療分野において、細胞内分子の空間分布を可視化する顕微鏡技術は不可欠である。なかでも蛍光顕微鏡は、標的分子に結合させた蛍光プローブの発光を観察することで、高い分子特異性と優れた検出感度を両立できる手法として、長年にわたり広く利用されてきた。一方で、プローブ分子の導入を要することから、標的分子の機能攪乱、光退色に伴う信号低下、さらにはプローブ濃度のばらつきに起因する定量性の不足といった課題も指摘されている<sup>1,2)</sup>。こうした問題を回避するアプローチとして、近年、分子振動をコントラスト源とするラベルフリー分子振動イメージングが注目されている。ラマン散乱や中赤外吸収といった光学現象を利用して分子振動スペクトル情報を取得することで、標識を用いずに化学情報を読み出すことが可能となる。

ラマン散乱顕微鏡は、分子振動に対応した散乱光の周波数シフトを測定する。一般に可視～近赤外光を用いるため、サブミクロン( $<1\ \mu\text{m}$ )の空間分解能で分子振動イメージングが実現できる。この手法は、高い空間分解能故に、単一細胞レベルの生命現象の解析に大きく貢献してきた。さらに近年では、自発ラマン散乱顕微鏡の主要な制約である感度の低さが、非線形光学現象を用いて信号を増幅する非線形ラマン顕微鏡によって克服されつつあり、ビデオレートでの画像取得も実現されている<sup>3,4)</sup>。これに伴い、単一細胞スケールでの代謝計測や薬剤応答評価、さらには組織切片を用いた術中迅速診断など、多様な応用展開が報告されている<sup>5-7)</sup>。

一方、赤外吸収顕微鏡は、中赤外域における吸収断面積が大きいことから、非線形光学効果を用いずに高い検出感度を達成できる。また、中赤外光は可視・近赤外光に比べて光子エネルギーが低いいため、非線形ラマン顕微鏡で問題となり得る多光子吸収に起因した電子遷移ダメージを大幅に抑制できる。さらに、ラマン散乱が非極性分子に対して高感度であるのに対し、中赤外吸収は極性分子に対して高感度であるため、タンパク質の二次構造に関連する情報など、ラマン散乱では一般に信号が弱くなりやすい分子振動情報も感度よく検出できる。しかし、中赤外吸収顕微鏡の空間分解能は、中赤外光の回折限界によって数  $\mu\text{m}$  程度に制限されるため、単一細胞内部の微細構造を詳細に観察する用途にはほとんど用いられてこなかった。

この空間分解能の制約を克服する手法として、近年、中赤外光熱(Mid-infrared photothermal: MIP)顕微鏡の開発が進められている<sup>8)</sup>。MIP 顕微鏡では、分子振動に共鳴する中赤外光吸収により局所温度上昇を生じさせ、それに伴う試料の屈折率変化を可視光で検出することでコントラストを得る。このとき空間分解能は中赤外光ではなく可視光の回折限界によって決まるため、サブミクロン分解能の中赤外吸収イメージングが可能となる。

本稿では、最近我々が報告した<sup>9)</sup>世界最高水準の空間分解能を持つ MIP 顕微鏡の原理と応用について解説する。