

W3-4

生きた細胞観察のための多光子顕微鏡

藤田克昌、高松哲郎

(京都府立医科大学 第2病理学教室)

共焦点顕微鏡の登場以降、レーザーを光源とした顕微鏡は様々な分野で一般的に利用されている。近年では、高いピーク光強度を有する超短パルスレーザーの入手が容易になり、従来のレーザーでは得られなかった非線形な光物理効果を用いた新しいレーザー顕微鏡の開発がおこなわれている。ここで用いられる非線形な光物理効果とは、2光子吸収、第2高調波、第3高調波、コヒーレントアンチストークスラマン散乱、等の多光子過程と呼ばれる現象である。この過程を顕微鏡の試料中で誘起し、その際に発生する蛍光や高調波、誘導ラマン散乱光を検出し顕微レベルで画像化するのが多光子顕微鏡である。この過程を顕微鏡に用いた場合の利点としては、1) 高い空間分解能、2) 高い像コントラスト、3) 近赤外光を用いて紫外光照射とほぼ同様の効果を得ることが出来ることがあげられる。多光子過程では、試料・標本に照射した光強度のべき乗に比例して得られるため、蛍光や高調波の発生を観察面内に限定することができ、その結果、高い分解能と像コントラストを得ることができる。多光子過程では複数の光子が同時に現象に関与するため、紫外域の光で得られる効果と同様の効果を近赤外域の光を用いて得ることができる。このため、特殊なレンズ等の高価な光学部品を使用することなく、紫外光を用いた実験が可能となる。また、一般に多光子顕微鏡に使用されるレーザーの波長は近赤外領域にあるため、多光子顕微鏡は生体に優しい計測技術として注目されている。さらに、高調波発生、コヒーレントアンチストークスラマン散乱は試料の分子構造に影響される現象であるため、これらの現象を用いることで、顕微鏡の空間分解能を超えた分子レベルでの変化を捉えることが可能となる。講演では、これら多光子過程の物理現象およびそれを応用した多光子顕微鏡の原理を示した後、近年の応用研究例を紹介する。