

新しい光学顕微鏡の開発： 超解像顕微鏡とラマン散乱顕微鏡

大阪大学 大学院工学研究科 精密科学・応用物理学専攻
応用物理学コース ナノフォトニクス領域 教授

藤田 克昌

1. 古い顕微鏡

光を使った顕微イメージング技術の開発は、あまり目に触れない研究分野かと思えます。顕微鏡といえば電子顕微鏡を想像する方が多く、日本顕微鏡学会で議論されているのもほとんど電子顕微鏡のことばかりです。日本顕微鏡学会はもともと日本電子顕微鏡学会が改名されたものですので、当然と言えば当然ですが、日本光学顕微鏡学会は設立さえされていません。光を制御する素子、たとえばレンズや色フィルターなどは、性能の良いものがすぐ手に入り、理論的に考えた実験はほぼ実施でき、光学研究にはチャレンジが無さそうに見えるのかもしれませんが、光学顕微鏡の空間分解能は光の波長で決まるとアッペが示し、遙か昔にそれが達成されていたので、これ以上開発するのは無駄と思われるのかもしれませんが。

ですので、2014年に超解像光学顕微鏡の開発にノーベル賞が贈られたことに驚かれた方も多いかと思えます。これらの技術はわずか20年前に提案されたものです。実は、光学顕微鏡に関する研究開発は国外の方が盛んです。生物学や基礎医学への応用を見据えた研究開発が多く、装置開発をする側と最新の技術をいち早く手に入れたい医学・生物学分野側の科学者・研究者が集まり、分野融合的に発展を見せています（ちなみに、Focus on Microscopyという光学顕微鏡の国際会議を来年4月に大阪で主催します。少しでも光学顕微鏡に関わる方には大変楽しめる会議ですので、ぜひ参加をご検討ください）。

光学顕微鏡の研究であっても、光学技術のみで完結することはまずありません。光の伝搬はもちろんのこと、試料内の物質とその光応答を理解し、様々な信号処理技術の適用も念頭に置きながら、顕微鏡画像を構築する新しい方法を考えます。そして、実際にその装置を試作し、動作確認をし、生物学や医学の研究者の方と応用研究を進めます。原理提案から検証、応用まで進めるには大変ですが、そこまで示さない技術として信用されないの、時間をかけて取り組んでいます。

2. 最近の研究

散乱、吸収、発光など、光と物質との相互作用には様々な種類があり、それらの様子は物質に当てる光の波長により異なります。また、いわゆる非線形現象と呼ばれる、複雑な光学過程を経て得られる現象もあります。これらの種類だけ光学顕微鏡の種類があり、それらは異

なる世界を私たちに見せてくれます。その中で、最近、私が研究開発と応用を進めているのが超解像顕微鏡とラマン散乱顕微鏡です。

超解像顕微鏡はアッペの示した空間分解能の限界を超える顕微鏡の総称で、上にありますように2014年のノーベル賞のテーマとなりました。私は、大学院の学生の頃から、独自の方法でこの限界を超えることを考えていました。ノーベル賞には全く届きませんでした。2007年にPhysics Review Lettersに発表した飽和励起顕微鏡は、シンプルでかつ多くの光学観察に利用できる手法として評価されています。特に試料の内部の3次元観察に威力を発揮し（図1）、散乱や吸収など様々な光学効果にも適用できるため、幅広い応用を目指して研究を進めています。

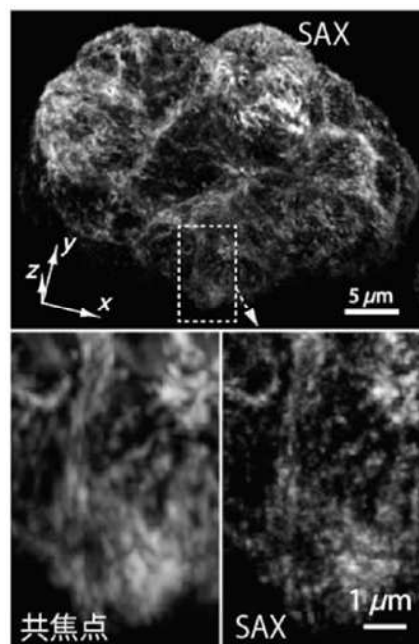


図1 3次元的に培養したヒト癌細胞の蛍光観察像。細胞を支える繊維状のタンパク質（アクチン）を蛍光染色して観察。下の画像は、上の点線を拡大した部分。"SAX"は開発した飽和励起顕微鏡による観察像を示し、"共焦点"は従来手法による観察像を示す。

ラマン散乱顕微鏡は、分析技術として有用なラマン散乱分光と光学顕微鏡とを融合させたもので、試料を構成する物質を分光分析しながら、その分布を画像化します。

ラマン分光技術はよく知られており、顕微イメージングへの応用例も多くありましたが、ラマン散乱の微弱さゆえ、モザイク画像のような低解像度の観察像しか得られず、また時間変化する生体試料の観察にはほとんど利用されていませんでした。私たちはラマン顕微鏡の撮像速度を400倍向上する技術を開発して2008年に発表しました。ラマン散乱により物質を無染色で分析しながら、試料が生きた細胞であっても解像度の高い観察像が得られます(図2)。速度向上は今では20000倍に達しました。また、2015年にはラマン散乱顕微鏡での超解像イメージングを初めて達成しました。

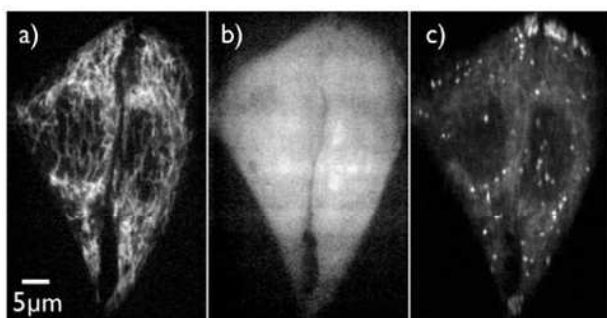


図2 生きたヒト癌細胞のラマン散乱観察像。染色を行わなくとも、脂質とタンパク質とが分離され、細胞内の微細構造が可視化されている。
a) タンパク質 (シトクロム)、b) タンパク質 (共通)、c) 脂質。

3. 周回遅れ

私は4年生の卒研テーマを決める際に寝坊をしてしまい、残り物の研究をすることになりました。そこからの光学顕微鏡との付き合いですが、もともと絵を書く(らくがき)ことが好きだったので、とても良いテーマに巡り会ったと思っています。大阪大学で学部から学位取得までお世話になり、学振研究員として京都府立医科大学の病理学教室で、医学と生物学に触れました。全く計画性の無い選択でありましたが、もともと生物観察には興味がありましたので、医学部での研究もたいへん楽しめ、それは今では様々なかたちで役に立っています。2002年に大阪大学で助手に採用された頃は、ほとんど研究費にも当たらず、ヒアリングに呼ばれても結果を見せてくれないと信用できない言われたこともあります。今では、のんびり研究をしていた結果、いつの間にか周回遅れで先頭に立っていた気分です。研究室では、自分の手を動かすのではなく、光に対する物質の応答が、自分のデザインした光学系を通して、自分で構築した理論通りに、微細な世界を描きます。こういった絵の描き方も悪くないと思いつながり日々研究を進めています。

(応用物理 平成7年卒 9年前期 12年後期)