

Title	LABEL-FREE IMAGING BY STIMULATED PARAMETRIC EMISSION (SPE) MICROSCOPY
Author(s)	Dang, Minh Hieu
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/57495">https://hdl.handle.net/11094/57495</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【9】

氏 名	Dang Minh Hieu		
博士の専攻分野の名称	博士(工学)		
学位記番号	第 23351 号		
学位授与年月日	平成21年9月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科生命先端工学専攻		
学位論文名	LABEL-FREE IMAGING BY STIMULATED PARAMETRIC EMISSION (SPE) MICROSCOPY (誘導パラメトリック発光顕微鏡(SPE)による無標識イメージング)		
論文審査委員	(主査) 教授 福井 希一	(副査) 教授 野地 博行	教授 福崎英一郎 教授 金谷 茂則 教授 原島 俊 教授 大竹 久夫 教授 渡邊 肇 教授 紀ノ岡正博 教授 仁平 卓也 教授 藤山 和仁 教授 四方 哲也 教授 清水 浩

### 論文内容の要旨

Simulated parametric emission (SPE) microscopy is a method based on nonlinear four-wave mixing (FWM) process which has been proposed recently. SPE contrast involves the nonlinear interaction of optical pulses at angular frequencies of  $\omega_p$  (pump) and  $\omega'_p$  (probe) produces a signal at  $\omega_{SPE} = 2 \times \omega_p - \omega'_p$ . On this nature, SPE is considered as an alternative technique in the field of biomedical imaging providing 3-D resolution and intrinsic signal detection. The biological application of SPE microscopy in literature, however, is quite rare to date, and what SPE can visualize is still unclear. This thesis concentrates on demonstrating the capabilities and usefulness of SPE microscopy in biological and medical sciences. The first chapter introduced the principle of SPE and by

discussing briefly about other label-free techniques in the literature featuring the needs for developing SPE microscopy. The second chapter demonstrated the abilities of SPE microscopy for 2D and 3D label-free imaging of live cells. Taking advantage of its single broad-band laser configuration, SPE was proven to have the capability of simultaneous multi-signal detection. A study on the effect of laser irradiation on live cells was also provided. The third chapter described the application of SPE to visualize hemoglobin in unstained live erythrocytes. This application helped to resolve the difference in hemoglobin distribution between live and fixed erythrocytes. Going deeper, the forth chapter exploited the applications of SPE in medical researches with SPE imaging of various unstained tissue sections. The imaging of unstained mouse's brain and muscle sections revealed that SPE is capable of label-free visualizing neurons, striated muscles and collagen fibers, which opened new prospects of this microscopy for diagnostic studies. The last chapter summarized all the important results and described the general conclusions of the research.

### 論文審査の結果の要旨

本論文では、非線形光学効果の一つである四光波混合 (FWM) 過程を利用した誘導パラメトリック発光 (SPE, Stimulated parametric emission) 顕微鏡を用いた生体試料の三次元可視化の結果について述べている。ここで用いた SPE 顕微鏡法の生命科学分野への利用については現在までは極めて限られており、SPE により、生体試料の何が、どの様に可視化されるのかも従来知られていないものである。

SPE 顕微鏡についてまず、タバコやヒトの異なる細胞種を用いてその光学的選択性、z 軸方向への浸透性、非侵襲性について検討し、SPE 顕微鏡は無標識の生きた細胞を用いて三次元観察が充分可能であるとの結果を述べている。しかも SPE 顕微鏡は動物、植物の異なる細胞種を通じてそれぞれの細胞種に固有の構造が明瞭に観察できるのである。すなわち SPE 顕微鏡は無染色で広範囲に及ぶ生きた細胞を三次元で観察する能力を有する新しい顕微鏡といえる。

次にニワトリ赤血球について固定した状態と生きた状態での観察を同様に SPE 顕微鏡を用いて行くと、ヘモグロビンの分布に関して明らかな違いが可視化される。そこで、先の細胞における観察と同様に、これら二種のニワトリ赤血球におけるヘモグロビンの局在の変化を詳細に観察すると、固定した赤血球ではヘモグロビンが核や細胞質内部の一部に局在するが、固定していない赤血球では細胞質、核を通じてヘモグロビンはほぼ均一に分布するのである。すなわち従来知られていたニワトリ赤血球内でのヘモグロビンの分布は試料の固定による単なる人工産物である可能性が大であることを示すのである。

さらに本論分では従来の顕微鏡では光散乱のため、困難であったマウスの筋肉組織や脳組織について、SPE 顕微鏡は無染色でも良好な三次元像が得られることを示すのである。

以上のように、本論文は SPE 顕微鏡の生物分野への利用に重要な基礎的かつ新しい知見を加えることに大きく寄与し、さらには医療分野への貢献も期待できる。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。