

Title	局所励起飽和応答による超回折限界顕微鏡法
Author(s)	河野, 省悟
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58500">https://hdl.handle.net/11094/58500</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>〉</a> をご参照ください。

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

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

Osaka University

【150】

氏 名	河野省悟
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 24699 号
学位授与年月日	平成 23 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	Localized saturable response for super-resolution microscopy (局所励起飽和応答による超回折限界顕微鏡法)
論文審査委員	(主査) 教授 河田 聡 (副査) 教授 木下 修一 教授 近藤 寿人 教授 柳田 敏雄

## 論文内容の要旨

光学顕微鏡は、回折限界による空間分解能の制限を受けるにもかかわらず、その非侵襲性、透過性、また分光による光からの試料の情報から分子レベルの解析ができ、現代においても医学・生物学において重要なツールの一つである。光学顕微鏡の空間分解能を向上することができれば、これらの利点を生かしたまま、より詳細に生体や生細胞の観察を行うことができ、医学・生物学の発展に貢献できる。

本研究では、分子の励起光強度と蛍光・散乱強度の関係に見られる飽和に着目し、飽和という低次の非線形応答から、高次の非線形応答を取り出し光学顕微鏡の空間分解能を向上する。励起光強度を変調し、蛍光・散乱信号を変調周波数の整数倍の周波数で復調することで、高次の非線形性のみを取り出すことができる。蛍光・散乱信号を変調周波数の整数倍で復調した際の顕微鏡の結像特性を理論的に求めた。

試作した共焦点蛍光顕微鏡を用いて、蛍光で染色された試料を観察し、回折限界を超えた空間分解能で観察することに成功した。コヒーレントアンチストークスラマン散乱 (CARS) における励起飽和を理論的に見出し、高次の非線形応答を取り出すことで、CARS顕微鏡の空間分解能を向上させることに世界で初めて成功した。CARS光を変調周波数の整数倍の周波数で復調した際の、高い空間分解能を持つ点像分布関数を理論的に求めた。また、試作したCARS顕微鏡を用いて、ダイヤモンド粒子から発せられたCARS光の飽和を観察し、ダイヤモンド粒子の結晶性を従来の空間分解能を超える高い空間分解能でのイメージングに成功した。

非線形蛍光プローブ分子を用いた、従来の共焦点蛍光顕微鏡による高い空間分解能の実現を目指し、高次の非線形応答を得た。非線形蛍光プローブ分子はドナー部位及びアクセプター部位よりなり、アクセプター部位を飽和させることでドナー部位からの発光に高次の非線形応答を誘起する。このため、共焦点顕微鏡でドナー部位の発光を観察するだけで空間分解能を向上できる。共鳴蛍光エネルギー移動を用いた分子、及び光電子移動を用いた非線形蛍光プローブ分子を試作し、高次の非線形応答の測定に成功した。

## 論文審査の結果の要旨

光学顕微鏡の回折限界を超えた顕微鏡を用いれば、生体試料の微細な構造を生きたまま観察できる。光の回折限界を超える顕微鏡法は、光と分子の相互作用において、局所的に非線形な応答を誘起することで実現することができる。本学位審査論文は、局所的に分子に励起飽和を誘起することで、光の回折限界を超えた空間分解能を実現する顕微鏡法の研究をまとめたものである。局所的に発生させた

励起飽和から光の回折限界を超えた空間分解能をもつ顕微鏡法を提案し、結像理論の導出と実験による実証を行っている。ラマン分光法に提案した超回折限界顕微鏡法を応用し、光学顕微鏡の利点である分光法を用いながら空間分解能を向上できることを示している。さらに局所的な励起飽和を蛍光プローブ分子自身が検出することで、従来の共焦点顕微鏡を用いたまま回折限界を超えた観察法を提案している。これらの結果は、応用物理学、さらに生体光学及び顕微分光学分野において寄与するところが大きい。よって本学位審査論文は博士論文として価値あるものと認める。