

# 先端追跡

## [R-428] 回折限界を越えたイメージング手法

光学顕微鏡の空間分解能が、波長程度に制限されるのはよく知られているが、近年、この回折限界を越えた「超高分解能」光学顕微鏡が多数の方式で発表されている。

超高分解能光学顕微鏡は、近接場と遠距離場の二方式に分けられる。近接場方式では、先鋭化した金属被膜光学ファイバーや先鋭化した金属探針を「ナノアンテナ」として使う。金属中に表面プラズモンポラリトン(SPP)を励起し、光を回折限界以下の狭い空間に閉じ込め、蛍光やラマン散乱などの光学情報を取り出す。さらに電場強度も、局在SPPの共鳴によって増強され、信号強度は $10\text{--}10^7$ 倍にまで増強される<sup>1,2)</sup>。分解能は探針の鋭さと閉じ込めた光の強さによって決まり、15 nmから4 nm<sup>3)</sup>に達している。

遠距離場方式で最も有名なものが、誘導放出抑制(stimulated emission depletion; STED)顕微鏡<sup>4,5)</sup>である。STEDでは、試料を蛍光標識しておく。励起光パルスに続いて、ドーナツ状のSTED光を照射すると、STED光の照射領域は誘導放出抑制のために蛍光を発しない。結果として、蛍光発光する領域をドーナツの中心部の狭い範囲に限定できる。分解能は、80 nmから最近では数nm<sup>6)</sup>の値も報告されている。他にも1分子蛍光イメージング法と光スイッチを組み合わせた推計光学再構成顕微鏡(stochastic optical reconstruction microscopy; STORM)<sup>7)</sup>など、多数の顕微鏡が開発されている。

これらの手法には長所と短所があり、互いに相補的な関係にある。例えば近接場方式では蛍光標識が不要だが、探針が位置する表面近傍の情報しか得られない。遠距離場方式では高速化や三次元観察が可能だが、蛍光色素分子や複雑な光学系が必要となる。ここで紹介した手法は、X線や電子顕微鏡で使う凍結切片法が不要で、細胞のin vivo観察や構造の経時変化観察も可能である。また、生物分野に限らず電子デバイス評価などへの応用も可能で、今後の発展が期待される。

## 文 献

- 1) B.-S. Yeo et al. : Chem. Phys. Lett. **472**, 1 (2009).
- 2) S. Kawata et al. : Nature Photon. **3**, 388 (2009).
- 3) T. Yano et al. : Nature Photon. **3**, 1 (2009).
- 4) S.W. Hell et al. : Opt. Lett. **19**, 780 (1994).
- 5) S.W. Hell et al. : Nature Photon. **3**, 381 (2009).
- 6) E. Rittweger et al. : Nature Photon. **3**, 144 (2009).
- 7) M.J. Rust et al. : Nature Method **3**, 793 (2006).

(筑波大 寺田康彦, 重川秀実)