

Application Note AN MIC418

赤外レーザー／QCLイメージングによる生体組織分析

赤外レーザーイメージング：新たな分析ツール

生体組織試料の分析は、生物学の分野における赤外顕微鏡の典型的なアプリケーションです。赤外顕微鏡による分析では、従来法で必須とされる染色剤による前処理を必要とせず、赤外スペクトルの化学情報に基づいて、病変組織および損傷組織をダイレクトに特定することができます。これにより、病気の発症や状態に関する情報を迅速に取得することが可能となります。

しかしこれまでのところ、その応用は研究目的に限定されてきました。^[1] その理由は、このスペクトルデータを取得するために膨大な時間が必要となるためです。たしかに、フォーカルプレーンアレイ（FPA）イメージング検出器の利用は、測定時間の大幅な削減に役立ちますが、この手法でさえも依然として時間の短縮が求められてきました。

この課題に対して、赤外レーザーイメージング機能を搭載したブルカーのHYPERION IIの誕生は、状況を大きく変えようとしています。赤外レーザーがもつエネルギー密度の高さを利用することで、非常に短時間で高品位の分光データを取得できるようになるからです。この速度的アドバンテージは非常に大きく、従来と比較して桁違いのスピードでスペクトルイメージの取得が可能となっています。このアプリケーションノートでは、赤外レーザーイメージングのメリットとその応用について説明します。

赤外レーザーイメージングの適用方法

HYPERION IIの赤外レーザーイメージングモジュール“ILIM”は、量子カスケードレーザー（QCL）と大型マイクロボロメータアレイ検出器とのコンビネーションをベースとし、さらにブルカーの特許技術による空間コヒーレンス低減

キーワード	装置とソフトウェア
FT-IR 顕微鏡	HYPERION II 赤外顕微鏡
FT-IR イメージング	LUMOS II FT-IR イメージング顕微鏡
QCL イメージング	赤外レーザーイメージングモジュール (ILIM)
FPA イメージング	K-Means クラスタリング
赤外レーザーイメージング	OPUS ソフトウェア

機構を組み込むことにより、さまざまな動作モードを可能にしています。

赤外ライブイメージング：

HYPERION IIがもつ“赤外線の間”で試料を観察し、その変化をリアルタイムかつビデオフレームレートの速度でモニターすることができます。

ディスクリット特定波数イメージング：

着目する分子振動に帰属される波数をいくつか指定し、順次それらの波数で試料全体を非常に高速でスキャンします。

波数スイープスキャンイメージング：

QCLの波数を連続的に掃引することで、一定の波数範囲をカバーする複数の赤外スペクトルを取得します。FPA検出器を用いたイメージング測定と同様に、試料全体がスキャンされます。^[2]

波数ステップワイズスキャンイメージング：

QCLの波数を段階的に掃引して、一定の波数範囲をカバーする赤外スペクトルを取得します。スイープスキャンモードに似ていますが、各波数での取り込み時間を長くすることで、スペクトルとイメージの質をさらに向上させることが可能です。

FT-IRvs赤外レーザーイメージング：生体組織試料

ここでは、生体組織試料の分析での利用を前提として、高速でのデータ取得が可能な FT-IR イメージング顕微鏡 (LUMOS II) と赤外レーザーイメージング顕微鏡 (HYPERION II-ILIM) を比較します。

	LUMOS II	HYPERION II
測定エリア	14.7 x 5.9 mm	
ピクセルサイズ	5 μm	4.9 μm
波数分解能	4 cm^{-1}	4 cm^{-1}
スペクトル範囲	4000 – 750 cm^{-1}	1800 – 950 cm^{-1}
測定時間	113 分	8 分

HYPERION II による赤外レーザーイメージングは、FPA 検出器を用いた LUMOS II による FT-IR イメージングに比べ、14 倍以上高速です。QCL を使用した場合、得られるスペクトルは指紋領域 (1800~950 cm^{-1}) に限られますが、HYPERION II は、FT-IR 顕微鏡としての機能も備えており、必要に応じて全スペクトル領域に対応する FT-IR モードに切り替えられるため、測定波数の制限は問題になりません。

図1は、イメージング技術におけるもう一つの画期的な進歩を示しています。ここで用いられる OPUS ソフトウェアのアダプティブ K-means クラスタリング機能は、生データからケミカルイメージを自律的に作成します。スペクトル変化に基づいて各成分の分布を自律的に解析し、ケミカルイメージを極めて高速に取得することができます。

図1に示す試料は、全体像を捉えるために 300 万本以上のスペクトルを必要とするような大きさの扁桃組織のマイクローム切片ですが、このような大型試料でさえも、データ

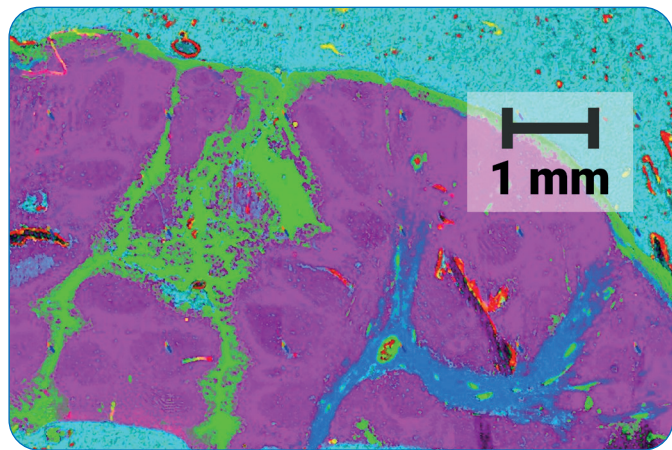


図1：扁桃組織切片に関する赤外レーザーイメージデータのアダプティブ K-means クラスタリングによる自律的解析。各成分の分布の様子が、360 万本に及ぶスペクトル間の差異に基づく色分けによって表現されています。

の取得から解析に至るすべてを数分以内に完了させることが可能です。

レーザーイメージングにおける革新：空間コヒーレンス低減機構

図2は、赤外レーザーイメージングにおける、ブルカーの特許技術によるハードウェアベースの空間コヒーレンス低減機構の効果を示したものです。左図では、レーザーを光源としたイメージングにおいて問題となる空間コヒーレンスの影響を確認できます。イメージは不鮮明であり、フリッジとスペckルノイズが見られます。一方、右図では、コヒーレンス低減機構により、レーザーの空間コヒーレンス現象が抑制され、特別な後処理なしで驚くほど鮮明なイメージが取得されていることが確認できます。

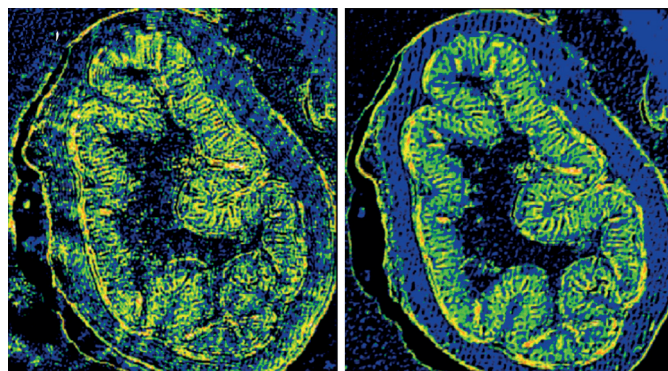


図2：QCLイメージングで取得した赤外イメージにおける、ブルカーの特許技術「空間コヒーレンス低減機構」の効果。左図では、解析の妨害となるフリッジやスペckルなどのアーティファクトが見られますが、右図ではそれらが抑制され、鮮明な赤外イメージを取得できています。これらのイメージに対しては、特別な後処理は適用されていません。^[1]

まとめ：高品位ケミカルイメージの超高速化を実現

赤外レーザーイメージングは、ライフサイエンスや医学の分野、特に組織の分析に最適なツールです。HYPERION II では、FT-IR 機能と組み合わせることで生体組織のイメージング分析をさらに高いステージへと推し進める、制限のない包括的なソリューションを提供します。

参考文献

- [1] Is infrared spectroscopy ready for the clinic? Anal. Chem. 2019; <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02280>.
- [2] Application Note MIC420: QCL in forensic analysis, Bruker Optics, 2021.
- [3] On the role of interference in laser-based MIR widefield microspectroscopy; J. Biophotonics 2018, doi.org/10.1002/jbio.201800015.

● ブルカー・ジャパン株式会社 オプティクス事業部

〒221-0022 神奈川県横浜市神奈川区守屋町 3-9
B 号ビル 6 階
Phone: 045-450-1601
Fax: 045-450-1602
marketing.bopt.jp@bruker.com

www.bruker.com/optics

ブルカー・ジャパン株式会社 オプティクス事業部は製品の改良を続けており、予告なしに仕様を変更する権利を有しています。
© 2022 Bruker Optics BOPT-01

大阪オフィス: 〒532-0004 大阪市淀川区西宮原 1-8-29
テラスキ第2ビル
Phone: 06-6394-8118
Fax: 06-6394-9003
marketing.bopt.jp@bruker.com