B790

脳ダイナミック計測のための時間分解型光計測法による実験的検討

○高槻 玲^{1,2}、江田 英雄²、佐瀬 一郎³、村田 勉²、精山 明敏^{2,4}、柳田 敏雄^{2,5}（¹ 阪大院・基礎工、² 通総研・脳情報、³ ニコン・設計、⁴ 阪大院・医学系、⁵ 阪大院・生命機能）

ダイナミックな脳活動計測を目的とし、我々は定常光源を用いた近赤外光計測法と機能的磁気共鳴撮像法（fMRI）の両手法を融合させた新しい計測システムを開発した（第40回本年会において村田らが報告）。賦活部位を空間分解能が高いfMRIにより同定し、時間分解能が高い光計測法によりその部位を標的として計測するものであり、両手法の特長を活かせるものである。また光計測法には、光源として定常光を使う計測法以外にも、超短パルス光を用いて検出光の時間的な広がり測定する時間分解計測法があるが、平均光路長の算出等の限られた用途にしか使われておらず、その情報を有効に活かしている研究は少ない。そこで本研究は、時間分解計測により、一部のタイムウィンドウの情報を使うことにより定常光源装置よりも感度良く測定できること、および、ある検出対象の情報を最も良く抽出できる計測条件を実験的に示すことを目的とした。実験には、第39回本年会において佐瀬らが報告した、光源に波長780nmのピコ秒パルスレーザ（Tsunami, Spectra Physics）、検出に高速時間分解計測カメラ（PicoStar, LaVision）を用いた時間分解型イメージング装置を使用した。生体の散乱特性に近い白色樹脂を用い、その中で黒色吸収体を空間的に移動できるよう加工した疑似生体試料を計測対象とした。様々な位置に吸収体を配置し、タイムウィンドウをずらしながら検出光の減衰を二次元平面で測定し、ゲーティングの効果を定量的に検討した。計測表面から吸収体までの距離を変化させた結果、浅い時には早いタイムウィンドウで、深い時には遅いタイムウィンドウでの光の吸収が大きいことを実験的に示すことができた。また、比較的遅いタイムウィンドウの光を抜き出すことにより、吸収体の影響が計測面へ真上に投影するという特性があるという結果を得た。

A.Takatsuki, H.EDA, I.Sase T.Murata, A.Seiyama, and T.Yanagida : Experimental Study on Near Infrared Time Resolved Imaging for Dynamic Measurement of Brain

B792

ディジタルオシロスコープによるナノ秒蛍光寿命測定

○西村 吾朗、田村 守（北大・電子研）

【概要】蛍光寿命や多重散乱光の時間応答などナノ秒領域の光の応答測定には、多くの電気的な回路を含む測定系を用いるのが一般的である。しかし、近年の電子回路技術の進歩により、ディジタルオシロスコープで単発のサブナノ秒領域の測定が可能になって来ている。今回は、最新のオシロスコープを用いることによりどの程度の測定が可能であるのか代表的な蛍光色素溶液の蛍光寿命測定により評価した。

【方法】ローダミン123水溶液について時間相関単一光子計数法（TC-SPC）と、ディジタルオシロスコープ（LeCroy Wavemaster 8600A）により蛍光の時間応答を測定した。ディジタルオシロスコープは、2種類のトリガーモード（リファレンス信号のみによるトリガーと、光子信号が入ったときのみにリファレンス信号でトリガーを発生させる場合）を比較した。

【結果】光の強度が強いところで TCSPC の結果は変形し、単一光子の仮定が崩れ pile up 効果が見られることが確認された。オシロスコープによる測定では、このような領域まで変形なく単一の指数関数の蛍光減衰曲線を得ることができた。蛍光寿命の絶対値は、PMT の時間的な広がりのため 10%程度大きめに見積もられた。リファレンス信号のみでトリガーを発生させる場合、大部分の信号には光子の信号が含まれないため、光強度が弱いところではばらつきが大きくなった。KIによる消光を利用し蛍光寿命の変化を評価した。その結果、相対的な変化もオシロスコープによりモニターできる事が示された。

【まとめ】オシロスコープによりナノ秒オーダーの蛍光寿命を実測し、かなり正確に測定できることがわかった。アナログの積算であるためダイナミックレンジが小さいことが問題点であるが、簡便に計測できる手法であることは将来、医療や工業などの分野のモニタリングに用いることができるのではないかと考えられる。

G.Nishimura and M.Tamura : Nano-second fluorescence decay measurements by a digital storage oscilloscope

B791

脳ダイナミック計測のための非侵襲光計測理論解析

○江田 英雄¹、村田 勉¹、高槻 玲^{1,2}、精山 明敏^{1,3}、柳田 敏雄^{1,4}（¹ 通信総研・脳情報、² 阪大院・基礎工、³ 阪大院・医学系・情報生理、⁴ 阪大院・生命機能）

ダイナミックな情報処理を特徴とする脳の活動を非侵襲的に計測するために、我々は機能的磁気共鳴イメージング（fMRI）と近赤外線イメージングとを融合させたシステムを開発した。それはfMRI画像によって推定される脳の活動部位を狙って近赤外線で計測するものであり、空間情報に優れたfMRI画像と時間情報に優れた近赤外計測との、それぞれの長所を活かしたものとなっている。このシステムを実現するためにはfMRIと近赤外線イメージングの基本的な理解に加えて、MRI構造画像から頭皮や脳を三次元レンダリングする技術、それらのレンダリング画像とfMRI機能画像とを三次元的に位置合わせして表示する技術、最も感度良く計測するために頭皮上の最適な位置に光計測プローブを配置する技術、などが要求される。光計測プローブの配置は、これまで光照射と光検出のおおまかな位置を決めるだけで最適な位置を決定していなかった。今回の研究の目的は、生体内光伝播解析を通して、その最適位置を決定することである。生体に照射された光が伝播していく様子は光拡散方程式で記述することができる。均一半無限平面のような簡単な形状ならばGreen関数と第一境界条件（境界においてスカラー値を与える）とを用いて、解析的に解いた式を導くことができる。この式はそれほど複雑なものではないため、エクセルなどの表計算ソフトを使った計算が可能である。しかし複雑な実際の頭部構造を扱うには、有限要素法などを使って第二境界条件（境界においてベクトルを与える）を考慮した上で、光拡散方程式を数値計算するしかない。表計算ソフトを用いた簡便な解析手法と有限要素法を用いた詳細な解析手法とを使って、プローブの最適位置の検討を行ったので報告する。

H.EDA, T.Murata, A.Takatsuki, A.Seiyama, and T.Yanagida : Near infrared spectroscopic method for dynamic measurement of brain

B793

マイクロチップを用いた蛍光時間分解偏光解消法による細胞産生物質のモニタリング

○務中 達也^{1,2}、叶井 正樹^{1,3}、阿部 浩久¹、藤山 陽一¹、坂本 隆²、馬原 淳²、中西 博昭¹、庄子 智一³、山岡 哲二²、村上 章²（¹ 島津製作所、² 京工繊大・繊維、³ 早大・理工）

生物のゲノム構造が明らかにされつつある中で、遺伝子の発現が実際の細胞系においてどのように機能するかを研究することが重要となってきた。我々は、刺激に対する細胞の応答を顕微鏡下で経時的に測定することができるマイクロチップを用いた解析システムの開発を行っている。マイクロチップを用いることで、多数の細胞の平均値ではない細胞個々の機能解析並びに刺激物質による細胞の局所刺激による応答の観測が可能となると考えている。本発表では、マイクロチップ中の微小空間で培養されたハイブリドーマが産生する抗体を、蛍光時間分解偏光解消法を用いて経時的にモニタリングした結果を報告する。

微細加工技術を用いて作製したマイクロチップの円柱状の培養室（体積0.4μl）にマウスハイブリドーマ（12-1B6）を導入し、倒立顕微鏡に組み込んだ環境制御チェンバー中で培養した。検出系は浜松ホトニクス社製蛍光寿命測定装置を倒立顕微鏡に接続することで構築した。抗体（IgG）は、それと特異的に結合するプロテインAをRu(II)錯体で標識した蛍光プローブを用いた蛍光時間分解偏光解消法により検出した。このシステムを用いて0.2pmolの抗体が検出できることの確認、並びにハイブリドーマより産生された抗体のモニタリングを行った。

本研究は生研機構「新事業創出開発事業」の委託により行われた。マウスハイブリドーマ（12-1B6）は理研・細胞開発銀行より提供を受けた。Yamada,MichiYuki,et.al ;Biochem Biophys Res Commun,166,852(1990)

T.Munaka, M.Kanai, H.Abe, Y.Fujiyama, T.Sakamoto, A.Mahara, H.Nakanishi, S.Shoji, T.Yamaoka and A.Murakami : Cell Monitoring on a Microchip using Time-Resolved Fluorescence Anisotropy Analysis