スーパーコンティニウム光を用いた分光学的イメージング

加納 英明^{1,2}, 米山 弘亮¹, 藤澤 理枝³, 岩村 拓海¹

¹筑波大学 数理工学科学研究科 電子・物理工学専攻 (〒305-8573 茨城県つくば市天王台1-1-1)

²筑波大学 エネルギー物質科学研究センター (TREMS) (〒305-8571 茨城県つくば市天王台1-1-1)

³コニカミノルタ株式会社 開発統括本部 (バイオ要素技術開発室) (〒191-8511 東京都日野市さくら町1)

Spectroscopic Imaging Using a Supercontinuum Light Source

Hideaki KANO,^{1,2} Hiroaki YONEYAMA,¹ Rie FUJISAWA,³ and Takumi IWAMURA¹

¹Department of Applied Physics, Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba,
1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8573

²Tsukuba Research Center for Energy Materials Science (TREMS), University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8571

³Konicaminolta Inc., No.1 Sakura-machi, Hino-shi, Tokyo, 191-8511

(Received September 20, 2018)

We have developed two-types of ultrabroadband multiplex coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) microspectroscopic systems using supercontinuum (SC) light sources. The first system employs an InGaAs image-intensified CCD camera, which enables us to perform single-shot CARS measurement. On the other hand, the second system employs a new laser source based on the master oscillator fiber amplifier (MOFA) configuration, which generates sub-100-ps (85 ps) laser pulses with sub-MHz (0.82 MHz) repetition rate. Owing to the high peak power and high repetition rate, the exposure time for CARS imaging of polymer beads was significantly shortened to be less than 1 ms (0.8 ms), which was mainly limited by the readout time of the CCD camera. Using the second system, CARS spectroscopic imaging was performed for living cells.

Key Words: CARS, Raman, spectroscopic imaging, supercontinuum, living cell

1. はじめに

非線形ラマン・イメージングの分野で, spectroscopy と imaging とを組み合わせた “spectroscopic imaging” (分光学的イメージング) という手法が提唱されている¹⁻³⁾. 関連した用語に “spectral imaging” (分光イメージング) という手法があるが, 前者の方が分光学的な掘り下げをより一層意図した手法であると解釈できよう.

非線形ラマン・イメージングは, ラベルフリー分子イメージング手法の一つとして近年急速に発展している^{1,2,4-8)}. この中で, コヒーレント・アンチストークス・ラマン散乱 (coherent anti-Stokes Raman scattering: CARS) および誘導ラマン散乱 (stimulated Raman scattering: SRS) が, 非線形ラマン・イメージングの主な手法としてよく用いられている. これらの手法をベースとして, これまでに様々なバリエーションの分光 (または分光学的) イメージング手法が報告されている. 例えば広帯域のスペクトル成分をもつレーザー光源を用いて複数の振動モードを同時に励振させるマルチプレックス法⁹⁻¹⁵⁾, レーザーの波長を高速に変化させてスペクトル及び空間情報を得る方法¹⁶⁻¹⁸⁾,

チャープしたフェムト秒レーザーを用いる方法¹⁹⁾, フーリエ変換による干渉分光法²⁰⁻²²⁾等がこれまで報告されている. これらに加えて, 2台の光コムを用いたデュアルコム分光によりCARS分光イメージングを行う研究 (spectro-imaging) も報告されている²³⁾. これらのうちでマルチプレックス法^{9,13)}は, マルチチャンネル検出器を用いて幅広いスペクトル帯域を持つ信号光を一括して簡便に測定することのできる手法であり, 典型的なスペクトル帯域は $\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ と, 振動モードの基音 (fundamental) すべてをカバーしており, 超広帯域CARS分光学的イメージングが実現可能である^{15,24)}. マルチプレックス法では, 一台のモード同期レーザー発振器²⁵⁾を用いた方法や, スーパーコンティニウム光 (supercontinuum; SC) を用いた手法^{11,12)}などがこれまで報告されている. 後者では, SC光発生のために, マスターレーザーからの出力をテーパー状ファイバー¹¹⁾やフォトニック結晶ファイバー (photonic crystal fiber; PCF)¹²⁾に導入する方法が一般的である. 我々のグループでは, SC光発生にサブナノ秒光パルスを用いることで, コストダウンと長期安定性を両立させたCARS分光学的イメージング装置を

開発している。

非線形ラマン散乱に用いるレーザー光源は一般にパルスレーザーであるため尖頭出力が高く、CARSに加えて第二高調波発生(second harmonic generation: SHG)、第三高調波発生(third harmonic generation: THG)、二光子励起蛍光(two-photon excitation fluorescence)等の信号も同時に発生する。従って、CARSをはじめとする複数の検出チャンネルを持った、いわゆるマルチモーダル非線形光学イメージングを行うことができる。我々はこれまで、ラベルフリー・マルチモーダル非線形光学イメージングにより、ルートレチン(Rootletin)²⁶⁾というタンパク質により構成されたフィラメント(線毛根; rootlet)が、網膜視細胞や中心体においてSHGアクティブであることを報告している²⁷⁾。また、マウス頭頂骨のマルチモーダル非線形光学イメージングにより、pixel dwell time 5 msにて生体組織のex vivoマルチモーダル非線形光学イメージング(後方散乱配置)が可能であることも報告している²⁸⁾。

本装置の更なるスペックアップのためには、用いるレーザー光源のパルス幅やピーク出力及び繰り返し周波数、そして検出器の感度・応答特性等の最適化が欠かせない。本稿では、我々が現在開発を進めている二つのCARS分光学的イメージング装置：(1)InGaAsイメージ・インテンシファイア搭載CCDカメラを用いたシステム²⁹⁾、及び(2)繰り返し周波数サブ1 MHzの新しいSC光源を用いたシステム³⁰⁾、とその応用について解説する。前者ではシングルショットCARSスペクトル測定²⁹⁾を、後者ではCCDの読出し時間で決まるサブミリ秒CARSスペクトル測定及び分光イメージング³⁰⁾を実現した。

2. 原理

Fig. 1(a)にCARS過程のダイアグラムを示す。CARS過程では一般に二色のレーザー光(ω_1 , ω_2 光、またはポンプ光、ストークス光)を用いる。これら二つの入射光の角振動数差 $\omega_1 - \omega_2$ が試料分子の持つ振動モードの角振動数 Ω と一致すると($\omega_1 - \omega_2 = \Omega$)、レーザー照射された多数の試料分子の振動モードが共鳴励振される。このようにして生じた振動コヒーレンスは、試料分子が三目のレーザー光(ω_3 光、またはプローブ光)と相互作用することにより、角振動数 $\omega_3 \pm \Omega$ の三次の非線形分極に変換され、その分極からの光電場発生により、 $\omega_{\text{CARS}} (= \omega_3 + \Omega$ 光(CARS光))として取り出される($\omega_{\text{NRB}} (= \omega_3 - \Omega$ 光も同時に発生する；誘導ラマン利得(stimulated Raman gain: SRG)に相当する)。エネルギー保存則から、 $\omega_{\text{CARS}} =$

Fig. 1 Energy-level diagram of (a) CARS, (b) one of the nonresonant background, and (c) multiplex CARS processes.

$\omega_1 - \omega_2 + \omega_3$ であることが要請される。また、位相整合条件からCARS光は $k_{\text{CARS}} = k_1 - k_2 + k_3$ の方向に発生する。ここで、 k_s は ω_s 光の波数ベクトルである。 ω_3 光として、通常はすでに入力済みの ω_1 光が使われる。その場合($\omega_3 = \omega_1$)、 ω_{CARS} 光の信号強度は ω_1 光及び ω_2 光の強度の二乗及び一乗にそれぞれ比例する。すなわち、CARS光の信号強度は ω_1 光の強度に対して非線形に増大する。また、位相整合条件から、 $k_{\text{CARS}} = z k_1 - k_2$ の進行方向に指向性のよいCARS光(前方散乱)を得ることができる。このように、信号光をコヒーレントかつ非線形に増幅することができるため、高速イメージングも可能になる。信号の増倍ファクターについては、Petrov, Scullyらが、CARSと自発ラマン散乱の信号を実験的に評価し、(彼らのセットアップでは)100倍程度強くなった、と報告している³¹⁾。

通常のCARS顕微鏡では、 ω_1 , ω_2 光として各々単色のレーザー光を用いるため、特定かつ単一の振動モードしか励振することができない。このことは、脂質分子の CH_2 伸縮振動($\sim 2850 \text{ cm}^{-1}$)のように、他のバンドから比較的離れ、鋭くかつラマン散乱断面積の大きい振動モードについては大きな問題とならないが、指紋領域のように多数のバンドが密集しているスペクトル領域では、以下述べるように注意が必要である。一般に、測定により得られる信号光($\omega_1 - \omega_2 + \omega_3$)の成分には、振動モードに共鳴するCARS光の他に、Fig. 1(b)に示すような非共鳴バックグラウンド(nonresonant background: NRB)と呼ばれる成分も含まれる(NRBの角振動数 ω_{NRB} も $\omega_{\text{NRB}} = \omega_1 + \omega_3 - \omega_2$ 等で表され、 ω_{CARS} と同じ値になる)。我々の経験では、特に生細胞の指紋領域のバンドを測定する際、振動共鳴CARS光はNRBと同じかそれ以下の強度となるため、単一波長のCARS測定では両者を分離することが難しい。複数の振動モードについての情報を同時に取得し、かつ、NRBのコンタミネーションのない、純粋に振動共鳴したCARS信号のみを得るために、我々はFig. 1(c)に示したマルチプレックスCARS過程を用いてCARSスペクトルを取得し振動共鳴成分を抽出している。この過程では広帯域ストークス光(ω_2 光)が必要になるが、高い空間コヒーレンスを持ちスポット状に集光することのできるSC光により、それを実現している。

3. 実験装置

3.1 InGaAsイメージ・インテンシファイア搭載CCDカメラを用いたCARS分光学的イメージング装置の開発

Fig. 2(a)に実験装置を示す。本装置では、従来用いていたCCDカメラをInGaAsイメージインテンシファイア搭載CCDカメラ(InGaAs intensified CCD: InGaAs ICCD)に置き換えた点が大きな特徴の一つである。CW Q-スイッチ・マイクロチップNd:YAGレーザー発振器(Leukos, カスタムメイド)をマスター光源として用いた。中心波長、パルス幅、および繰り返し周波数はそれぞれ1064 nm, 800 ps, および33 kHzであった。マスター光源の出力の一部を ω_1 光、もう一方をPCFに導入し

Fig. 2 (a) Schematic of the experimental setup of ultra-broadband multiplex CARS microspectroscopic system using an InGaAs ICCD camera; (b) Laser-shots (75, 50, 10, 5 shots, and 1 shot; from top to bottom) dependence of the CARS spectra. The sample was a polystyrene bead (adapted after modification with permission from Chem. Lett. 47 (2018) 704.).

てSC光を発生させ、 ω_2 光として用いた。二つの光パルスをノッチフィルターにより同軸に重ね合わせ、正倒立顕微鏡(Nikon, カスタムメイド)に導入した。入射レーザーパルスは、倒立側の対物レンズ(Nikon: CFI Plan Apo 60 $\times$ NA 1.27)によって試料に集光された。試料は三軸ピエゾステージ(MadCityLabs, Nano-LP200)上に載っており、三次元的なスキャンが可能である。CARS信号は、正立側の対物レンズ(Nikon: Plan S Fluor40 $\times$ NA0.6)によって集められ、分光器(Princeton Instruments: LS-785)によって波長分散された後、InGaAs ICCDカメラ(Princeton Instruments: PI-MAX4: 256f-InGaAs-18-P46)によって検出された。InGaAsイメージ・インテンシファイアは近赤外域に感度を持つため、CARS信号の基音に対応する800~1050 nmの領域すべての信号光を同時に検出することができる。

本装置の性能評価のために、テストサンプルとして直径10 μ mのポリスチレンビーズ(Polysciences Inc.)を用い、シングルショットCARS測定が可能か検証した。Fig. 2 (b)にCARS信号のレーザーショット数(上から下へ75, 50, 10, 5, 1ショット)依存性を示す。レーザー出力は ω_1 , ω_2 光それぞれ25 mW, 12 mWであった。InGaAs ICCDのゲート幅は5ナノ秒、インテンシファイアゲインは最大(94倍)とした。1ショットの結果を見ると、信号対雑音比は低いが、芳香族C-H伸縮モードに由来する3056 cm^{-1} 付近のバンドとフェニル基環呼吸振動モードに由来す

Fig. 3 Schematic of the experimental setup of ultra-broadband multiplex CARS microspectroscopic system using a laser source with sub-1-MHz repetition rate(adapted after modification with permission from APL Photonics 3 (2018) 092408.).

る1003 cm^{-1} 付近のバンドを検出していることがわかる。すなわち、本システムによりシングルショットCARS測定が可能であることが示された。

本装置の応用例として、二種類のポリマー材料(cellulose acetate (CA)及びcellulose tris(phenyl carbamate) (CPC))をブレンドしたフィルムを測定した結果を文献²⁹⁾に報告した。

3.2 繰り返し周波数サブ1 MHz光源を用いたCARS分光学的イメージング装置の開発

次に、光源を新規レーザー光源に更新した装置について紹介する。Fig. 3に実験装置図を示す。光源はマスター発振器ファイバ増幅器(master oscillator fiber amplifier: MOFA)構成を取っている(Leukos: SM-1000)。マスター発振器にはCW Qスイッチ・マイクロチップNd:YVO₄レーザーを、ファイバ増幅器はYb添加ファイバを採用している。最終的な光源仕様は、中心波長、パルス幅、繰り返し周波数、平均出力がそれぞれ1064 nm, ~85 ps, ~0.82 MHz, ~2 Wである。発振器からの出力の一部をPCFに通すことで広帯域SC光を発生させ、ストークス光(ω_2 光)とした。一方、残りの基本波(1064 nm)を従来通りポンプ光(ω_1 光)とした。ポンプ光、ストークス光のパルスエネルギーはそれぞれ約2及び1 μ Jであり、これは約24及び12 kWの尖頭出力に対応する。

本装置の性能評価のために、直径10 μ mのポリスチレンビーズを測定した。CARS光検出に新規CCDカメラ(Princeton Instruments Blaze 400-HR)を用いたところ、最短露光時間サブミリ秒(約0.8 ms)のCARS測定が実現可能であると実証できた³⁰⁾。

4. 生細胞のラベルフリー分光学的イメージング

本節では、3.2節の繰り返し周波数サブ1 MHz光源を用いたCARS分光学的イメージング装置にて得られた結果を紹介する。サンプルであるHeLa生細胞は理研バイオリソースセンターから提供いただいた。ウシ血清(fetal bovine serum: FBS)10%入りのminimum essential me-

Fig. 4 Intracellular-averaged $\text{Im}[\chi^{(3)}]$ spectrum of a HeLa cell in G1 phase (adapted after modification with permission from APL Photonics 3 (2018) 092408.).

dium中で 37°C 、 CO_2 濃度5%のインキュベーター環境で3–4日間隔にて細胞継代を行った。CARS測定のために、細胞培養ディッシュにカバーガラスを沈め、そこに細胞を撒いて1日間培養した。測定直前に細胞培養ディッシュからカバーガラスを取り出し、スライドグラス上にマウントしてマニキュアで封じた後、直ぐ測定した。スペクトルのS/N比重視のため露光時間50 ms/pixelと長めの露光時間で測定を行った(露光時間2 ms/pixelでの生細胞測定も可能である³³⁾)。

4.1 HeLa細胞(G1期)

Fig. 4に、G1期のHeLa細胞内のすべての空間点におけるスペクトルを平均した $\text{Im}[\chi^{(3)}]$ スペクトルを示す。 $\text{Im}[\chi^{(3)}]$ スペクトルは、実測で得られるCARSスペクトルからmaximum entropy method (MEM)^{24,32)}を用いて復元した。この $\text{Im}[\chi^{(3)}]$ スペクトルは、通常の(自発)ラマンスペクトルのスペクトルと等価であるため、CARSにより詳細なスペクトル解析、すなわち分光学的イメージング(spectroscopic imaging)が可能である³²⁾。これに加え、 Im

$[\chi^{(3)}]$ スペクトルの振幅は分子濃度に比例するため、細胞内生体分子の定量評価³⁴⁾に用いることもできる。Fig. 4に示されているとおり、波数範囲600から3200 cm^{-1} の領域において良好なS/N比の $\text{Im}[\chi^{(3)}]$ スペクトルが得られていることがわかる。特に指紋領域においては、複数の複雑な形状の振動バンドが見てとれる。これらのアサイメントは文献³⁰⁾に示されている。各空間位置におけるスペクトルを複数のガウス関数でフィットすることにより、各々の振動バンドのCARSイメージを再構成した結果(CARS分光学的イメージング)をFig. 5に示す。Fig. 5(a–j)はそれぞれ、3063, 3010, 2930, 2851, 1738, 1574, 1098, 1004, 791, 719 cm^{-1} におけるCARSイメージである。これらに加え、SHGおよびTHGイメージもFig. 5(k)および(l)に示した。分子指紋を用いて、細胞内のマイクロスコピックな構造が明瞭に可視化されていることがわかる。特に、Fig. 5(b–e)及び(i)には直径数マイクロメートルの粒子状の構造物が多数見られている。これらの振動モードはそれぞれ、不飽和結合由来のC-H伸縮振動(=C-H)、 CH_3 伸縮振動、 CH_2 伸縮振動、そしてエステル結合由来のC=O伸縮振動に対応しており、すべて脂質分子のスペクトルにて典型的に見られる振動モードである。従って、これら粒子状構造は細胞内の脂肪滴であると同定できる。一方、 CH_3 伸縮振動である2930 cm^{-1} のCARSイメージは、細胞の中心付近に比較的暗く丸い領域がある。これは細胞核に相当する。細胞核内には、複数の丸い構造物が見られるが、これらは核小体である。核小体は、特にFig. 5(a), (c), (f), (g), (h), そして(i)にて顕著なコントラストを与えている。これらは芳香環由来のC-H伸縮振動、 CH_3 伸縮振動、アデニン及びグアニンの持つプリン環由来の伸縮振動、DNA由来の PO_2 伸縮振動、フェニル基の環呼吸振動、そしてシトシン、チミン及びウラシルの持つピリミジン環の伸縮振動と同定できる。従って、この領域ではDNA/RNAとタンパク質が共局在していることがわかる。

5. まとめ

以上のように、SC光を用いることでCARS分光学的イメージングが可能であることが示された。InGaAs ICCDを用いた装置ではシングルショット測定が可能であることが、MOFA光源を用いた装置では露光時間が0.8 msまで短縮できることが、テストサンプルにて示された。後者の装置を用いることで、HeLa細胞内の分子分布を10種類の振動バンド(分子指紋)にて可視化することに成功した。蛍光分子などをあらかじめ入れる必要のない本手法は、分泌およびエンドソーム膜輸送のダイナミクス³⁵⁾や非対称細胞分裂³⁶⁾など、細胞生物学のホットトピックにダイレクトに切り込める強力な装置として、これから益々活躍するであろう。

謝 辞

本成果の一部は、文部科学省科学研究費補助金 基盤

Fig. 5 CARS, SHG, and THG images of a HeLa cell in G1 phase. CARS images at (a)–(j) 3063, 3010, 2930, 2851, 1738, 1574, 1098, 1004, 791, and 719 cm^{-1} , respectively, and the (k) SHG and (l) THG images. All images were acquired within 8.5 min (adapted after modification with permission from APL Photonics 3 (2018) 092408.).

研究B(No. 26282117)の研究助成のもと行われました。本稿で紹介したレーザー光源開発はPhilippe Leproux博士、Vincent Couderc博士(仏Limoges大学)、右近 寿一郎氏(右近工舎)との共同研究によるものです。ここに記して感謝の意を表します。また、HeLa細胞を用いた研究は須藤 和寛博士(理研BRC)、猪子 誠人博士(愛知県がんセンター)との共同研究によるものです。ここに記して感謝の意を表します。(株)日本ローパー様には、最新のCCDカメラ(Blaze 400-HR)をお貸し出し頂きました。ここに記して感謝の意を表します。

参考文献

- 1) J. X. Cheng and X. S. Xie: *Science* **350** (2015) aaa8870.
- 2) H. Kano: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **83** (2010) 735.
- 3) C. Zhang and J.-X. Cheng: *APL Photonics* **3** (2018) 090901.
- 4) J. P. R. Day, K. F. Domke, G. Rago, H. Kano, H. Hamaguchi, E. M. Vartiainen, and M. Bonn: *J. Phys. Chem. B* **115** (2011) 7713.
- 5) W. Min, C. W. Freudiger, S. J. Lu, and X. S. Xie: *Annu. Rev. Phys. Chem.* **62** (2011) 507.
- 6) C. Y. Chung, J. Boik, and E. O. Potma: *Annu. Rev. Phys. Chem.* **64** (2013) 77.
- 7) C. S. Liao and J. X. Cheng: *Annu. Rev. Anal. Chem.* **9** (2016) 69.
- 8) C. H. Camp Jr. and M. T. Cicerone: *Nat. Photonics* **9** (2015) 295.
- 9) J. X. Cheng, A. Volkmer, L. D. Book, and X. S. Xie: *J. Phys. Chem. B* **106** (2002) 8493.
- 10) M. Muller and J. M. Schins: *J. Phys. Chem. B* **106** (2002) 3715.
- 11) T. W. Kee and M. T. Cicerone: *Opt. Lett.* **29** (2004) 2701.
- 12) H. Kano and H. Hamaguchi: *Appl. Phys. Lett.* **86** (2005)
- 13) G. I. Petrov and V. V. Yakovlev: *Opt. Express* **13** (2005) 1299.
- 14) E. R. Andresen, H. N. Paulsen, V. Birkedal, J. Thogersen, and S. R. Keiding: *J. Opt. Soc. Am. B* **22** (2005) 1934.
- 15) C. H. Camp, Jr., Y. J. Lee, J. M. Heddleston, C. M. Hartshorn, A. R. Hight Walker, J. N. Rich, J. D. Lathia, and M. T. Cicerone: *Nat. Photonics* **8** (2014) 627.
- 16) C. W. Freudiger, W. Min, G. R. Holtom, B. Xu, M. Dantus, and X. S. Xie: *Nat. Photonics* **5** (2011) 103.
- 17) Y. Ozeki, W. Umemura, Y. Otsuka, S. Satoh, H. Hashimoto, K. Sumimura, N. Nishizawa, K. Fukui, and K. Itoh: *Nat. Photonics* **6** (2012) 845.
- 18) C.-S. Liao, K.-C. Huang, W. Hong, A. J. Chen, C. Karanja, P. Wang, G. Eakins, and J.-X. Cheng: *Optica* **3** (2016) 1377.
- 19) T. Hellner, A. M. K. Enejder, and A. Zumbusch: *Appl. Phys. Lett.* **85** (2004) 25.
- 20) J. P. Ogilvie, E. Beaurepaire, A. Alexandrou, and M. Joffe: *Opt. Lett.* **31** (2006) 480.
- 21) K. Hashimoto, M. Takahashi, T. Ideguchi, and K. Goda: *Sci. Rep.* **6** (2016) 21036.
- 22) K. Hashimoto, J. Omachi, and T. Ideguchi: *Opt. Express* **26** (2018) 14307.
- 23) T. Ideguchi, S. Holzner, B. Bernhardt, G. Guelachvili, N. Picque, and T. W. Hansch: *Nature* **502** (2013) 355.
- 24) M. Okuno, H. Kano, P. Leproux, V. Couderc, J. P. R. Day, M. Bonn, and H. Hamaguchi: *Angew. Chem. Int. Edit.* **49** (2010) 6773.
- 25) K. Isobe, A. Suda, M. Tanaka, H. Hashimoto, F. Kannari, H. Kawano, H. Mizuno, A. Miyawaki, and K. Midorikawa: *Opt. Express* **17** (2009) 11259.
- 26) R. Vlijm, X. Li, M. Panic, D. Ruthnick, S. Hata, F. Herrmannsdorfer, T. Kuner, M. Heilemann, J. Engelhardt, S. W. Hell, and E. Schiebel: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **115** (2018) E2246.
- 27) T. Akiyama, A. Inoko, Y. Kaji, S. Yonemura, K. Kakiguchi, H. Segawa, K. Ishitsuka, M. Yoshida, O. Numata, P. Leproux, V. Couderc, T. Oshika, and H. Kano: *Sci. Rep.* **7** (2017) 39967.
- 28) E. Capitaine, N. O. Moussa, C. Louot, S. M. Bardet, H. Kano, L. Duponchel, P. Leveque, V. Couderc, and P. Leproux: *Biomed. Opt. Express* **9** (2018) 245.
- 29) R. Fujisawa, T. Iwamura, P. Leproux, V. Couderc, H. Okada, and H. Kano: *Chem Lett* **47** (2018) 704.
- 30) H. Yoneyama, K. Sudo, P. Leproux, V. Couderc, A. Inoko, and H. Kano: *APL Photonics* **3** (2018) 092408.
- 31) G. I. Petrov, R. Arora, V. V. Yakovlev, X. Wang, A. V. Sokolov, and M. O. Scully: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104** (2007) 7776.
- 32) E. M. Vartiainen, H. A. Rinia, M. Müller, and M. Bonn: *Opt. Express* **14** (2006) 3622.
- 33) Kano, *et al.*, in preparation.
- 34) M. Okuno, H. Kano, K. Fujii, K. Bito, S. Naito, P. Leproux, V. Couderc, and H. Hamaguchi: *PLOS ONE* **9** (2014)
- 35) G. W. Gould and J. Lippincott-Schwartz: *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **10** (2009) 287.
- 36) P. Gonczy: *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **9** (2008) 355.