

奨励金No.1631

# 分子化学反応のリアルタイム計測を可能にする 蛍光偏光顕微鏡の開発

齋藤 卓

愛媛大学大学院理工学研究科 准教授

## Development of a Fluorescence Polarization Microscope for Real-Time Measurement of Molecular Chemical Reactions

Takashi Saitou

Graduate School of Science and Engineering, Associate Professor



本研究では、分子配向や化学反応に関わる蛍光偏光情報を、スキャンレスかつ高速に読み出すための蛍光偏光符号化顕微鏡の原理検証を行った。特に、 $1/2$  波長光渦リターダを用いることで、任意の直線偏光角を点像分布関数（PSF）の強度パターンへ写像できることをシミュレーションにより示した。これにより、偏光状態を空間強度像として識別可能であることが確認され、高速単一分子計測や分子反応ダイナミクス可視化に向けた基盤が得られた。

In this study, I investigated the principle of a fluorescence polarization-encoding microscope for scan-free and high-speed detection of polarization information related to molecular orientation and chemical reactions. In particular, numerical simulations demonstrated that a vortex half-wave retarder can map an arbitrary linear polarization angle onto a characteristic point spread function (PSF) intensity pattern. This result confirms that polarization states can be converted into distinguishable spatial intensity distributions without mechanical scanning. The proposed framework provides a fundamental basis for future high-speed single-molecule measurements and real-time visualization of molecular dynamics and reaction processes in living systems.

### 1. 研究内容

本研究では、生体分子の配向変化や化学反応過程に関連する蛍光偏光情報を、スキャンレスかつ高速に読み出す新しい蛍光顕微鏡技術の原理検証を行った。構造生命科学や分子イメージングの分野においては、分子の位置情報だけでなく分子の配向や回転運動、さらに分子間相互作用に起因する配向変化を捉えることが極めて重要である。特に、蛍光分子の偏光状態は、その遷移双極子モーメントの向きや局所環境の変化を鋭敏に反映するため、分子構造変化や化学反応ダイナミクスを解

析する上で有力な情報源となる。しかしながら、従来の偏光計測法では、偏光ビームスプリッターや偏光子を用いて直交成分に分離する方式が一般的であり、取得可能な情報が限られるとともに、任意の偏光状態を柔軟に一括して取り扱うことが難しい。また、高速な時間分解能と高い情報次元を同時に実現することも容易ではなく、単一分子レベルでのリアルタイム偏光計測技術は十分には確立されていないという課題が存在する。

この課題に対し本研究では、偏光状態そのものを点像分布関数（PSF）の空間強度パターンへ写

像するという情報光学的アプローチに基づき、蛍光偏光を画像として直接符号化する原理を検討した。本手法は、光の持つ自由度を空間構造として再配置する「光符号化」の概念に基づくものであり、従来の分離検出型とは本質的に異なる測定原理を提供する。特に本年度は、その中核となる偏光－PSF 写像の成立性の検証に重点を置き、1/2 波長光渦リターダを用いた数値シミュレーション解析を実施した。

具体的には、直線偏光を入力光とし、その偏光角を連続的に変化させた場合に、1/2 波長光渦リターダを通過した光が焦点面においてどのような強度分布を形成するかを、ベクトル回折理論に基づいて評価した。ここで用いた光渦リターダは、空間的に方位角依存の位相遅延と偏光変換を与える特性を有し、入射偏光状態に応じて出力光の偏光分布および回折像に特徴的な変調を生じさせる。本研究では、入射偏光角 $\psi$ をパラメータとして設定し、それぞれの条件に対して形成される PSF の強度分布を比較した。

その結果、直線偏光角の変化に応じて PSF の非対称な強度分布が系統的に変化し、それぞれの偏光状態に固有の特徴的なパターンが形成されることが明確に示された（図 1）。すなわち、偏光角の違いが PSF の空間構造の違いとして可視化され、偏光情報を強度分布として符号化可能であることが確認された。特に、 $\psi=0^\circ$ 、 $45^\circ$ 、 $90^\circ$ 、 $135^\circ$ といった代表的な直線偏光状態に対して、互いに識

別可能な強度分布が得られたことから、偏光状態が離散的に識別できるだけでなく、連続量としての偏光角が像パターンの変化として一対一に対応付けられる可能性が示唆された。この結果は、単純な偏光検出を超え、偏光情報を高次元な像情報として扱う新しい計測概念の有効性を示すものである。

本手法の大きな利点は、偏光情報を複数の光路や検出器に分離することなく、単一の像に集約して取得できる点にある。このため、光学系の構成を簡潔に保ちながら、高い時間分解能と情報密度を両立することが可能となる。特に、高速カメラやアレイ型高感度検出器と組み合わせることで、従来困難であったマイクロ秒オーダーでの偏光ダイナミクス計測への展開が期待される。こうした計測が実現すれば、分子の構造変化や結合・解離過程といった高速現象を、配向情報とともに直接観測することが可能となり、構造生命科学や化学生物学に新しい解析手段を提供する。

さらに本研究は、偏光情報のみならず位置情報との統合も見据えている。最終的には、分子の三次元位置と偏光状態を同時に符号化し、深層学習やデコンボリューション法を用いて再構成する多次元蛍光顕微鏡システムの構築を目標としている。本年度の成果は、その中の偏光チャンネルに相当する部分の基礎原理を実証したものであり、今後は  $z$  位置依存の PSF 変調を付加する位相マスクと統合することで、位置と偏光の同時計測へと発展さ

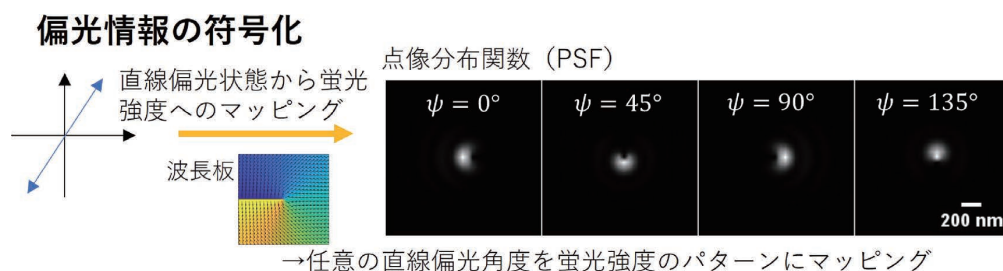


図 1. 偏光情報の PSF 符号化のシミュレーション結果。

1/2 波長光渦リターダを用いることで、任意の直線偏光角が点像分布関数（PSF）の強度分布パターンへ写像されることを示す。

せることが可能である。このような多次元情報の同時計測が実現すれば、単一分子の位置変化と配向変化を同時に追跡することが可能となり、分子モーターや膜タンパク質、受容体、核酸複合体などの動的挙動の理解に進展をもたらすと期待される。

以上のように、本研究では、1/2 波長光渦リターダを用いて任意の直線偏光角を PSF 強度パターンへ写像できることをシミュレーションにより示し、蛍光偏光情報のスキャンレス符号化原理を明確化した。本成果は、高速かつ高次元な蛍光計測を実現する新しい顕微鏡技術の基盤となるものであり、今後の実機実装および応用展開に向けた重要な第一歩である。今後は、偏光識別精度の定量評価、位置情報との統合設計、さらに機械学習を活用した画像再構成手法の高度化を進めることで、分子配向と化学反応をリアルタイムで可視化可能な情報光学技術の確立を目指す。

## 2. 発表（研究成果の発表）

なし