

干渉時空間集光技術を用いた 2 光子蛍光顕微鏡の背景光抑制

Background suppression in two-photon fluorescence microscopy by using an interferometric temporal focusing technique

理研¹, 慶大理工², 東理大理工³ ○磯部圭佑¹, 宋 啓原^{1,2}, 望月恭平^{1,3}, 須田 亮³, 神成文彦²,
河野弘幸¹, 熊谷安希子¹, 宮脇敦史¹, 緑川克美¹

RIKEN¹, Keio Univ.², Tokyo Univ. of Science³ ○Keisuke Isobe¹, Qiyuan Song^{1,2}, Kyohei Mochizuki^{1,3},
Akira Suda³, Fumihiko Kannari², Hiroyuki Kawano¹, Akiko Kumagai¹, Atsushi Miyawaki¹,
Katsumi Midorikawa¹

E-mail: kisobe@riken.jp

近年, 生体試料中において透過性の高い近赤外光を用いた多光子蛍光顕微鏡は, 深部イメージングに有用とされている. しかし, それでもなお, 焦点面以外において発生する背景蛍光によって, 観察可能な深さが制限されている. 背景光を抑制する技術の一つとして, 時空間集光法が報告されている¹⁾. 時空間集光法は, 2次元検出器を用いた広視野多光子蛍光イメージングが可能な手法である. 時空間集光法のイメージング特性は励起光の空間集光特性だけではなく, 蛍光の空間検出特性にも依存する. そのため, 時空間集光法では, 焦点面で発生した蛍光が試料内部で散乱すると, 背景光となる. また, 広視野蛍光イメージングの背景光を抑制する技術として構造化照明法も報告されているが, 多光子蛍光イメージングにはまだ応用されていない²⁾.

本発表では, 時空間集光法と構造化照明法を組み合わせた干渉時空間集光法について報告する. 干渉時空間集光法では, 集光ビームの面内における 1 次元方向に時空間集光法を, 他方の 1 次元方向に 2 光束干渉を用いた構造化照明法を応用した. 図 1(a)にローダミン溶液とカバーガラスの境界近傍の光軸方向の信号強度分布とその一階微分 (点線) を示す. 干渉時空間集光法により, 光学切片能力が向上していることから, 焦点面以外で発生する背景光を抑制可能であることがわかる. また, 図 1(b)は 200 nm の蛍光ビーズの深部イメージング像である. 干渉時空間集光法により, 発生した蛍光の散乱による背景光が抑制されていることがわかる.

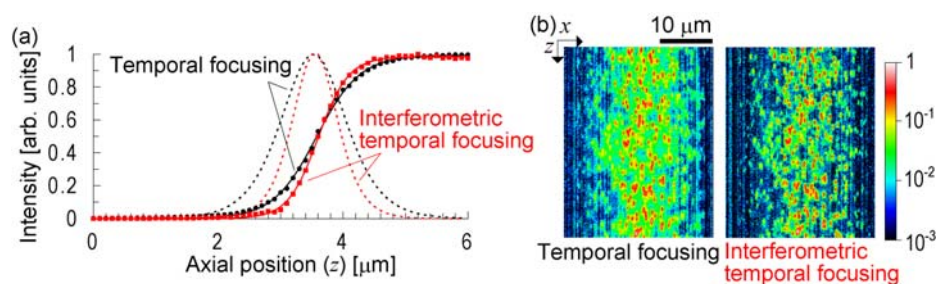


図 1. (a) 光軸方向の蛍光強度分布. (b) 2 光子蛍光像.

1) G. Zhu *et al.*, Opt. Express **13**, 2153 (2005). 2) M. A. A. Neil *et al.*, Opt. Lett. **22**, 1905–1907 (1997).

謝辞

本研究の一部は倉田記念日立科学技術財団の助成を受けたものである.