

時空間集光法による二光子蛍光イメージングの高速化

High-speed two-photon fluorescence imaging by means of spatio-temporal focusing

東理大理工,[○]高橋弘史, 戸田圭亮, 大内拓馬, 須田亮Tokyo Univ. of Sci.,[○]Hiroshi Takahashi, Keisuke Toda, Takuma Ouchi, and Akira Suda

E-mail: Hiroshi_Takahashi@rs.tus.ac.jp

二光子蛍光顕微鏡は生体内のダイナミクスを可視化する手段として広く活用されている。しかし、通常の二光子顕微鏡では、レーザー光を測定試料に集光しながら走査するため、蛍光画像の構築に時間を要する。これに対し時空間集光法では、回折格子などによって分光されたレーザー光を面状に集光するため、レーザー光を走査することなく一度に断層像を取得することが出来る。また、レーザー光のスペクトル位相を変化させることで、深さ方向に集光面の移動が可能になる[1]。本研究では、1パルス当たりのエネルギーの高いレーザー光源を用いることで、レーザー光を試料に面照射させることを可能にし、二光子蛍光画像取得の高速化を図った。

Fig.1に実験装置の構成を示す。励起光源として、中心波長 780 nm、スペクトル幅 20 nm、平均パワー300 mW、繰り返し周波数20 kHzのフェムト秒Ti:sapphireレーザーを用いた。時空間集光法による二光子励起光学系を回折格子 (600 g/mm)、コリメートレンズ (f=200 mm)、対物レンズ (倍率40倍、NA 0.85) 用いて構成した。試料には直径 1 μm の蛍光ビーズを精製水で希釈した模擬生体試料を作製し、試料の蛍光像をCMOSカメラを用いて観察した。また、レーザー光に二次の分散を与えることで深さ方向に集光面の移動を可能にさせた。このような装置により、二光子蛍光画像の取得を行った結果、水溶液中をブラウン運動している蛍光ビーズを100~1000フレーム/秒で観測をすることができた。

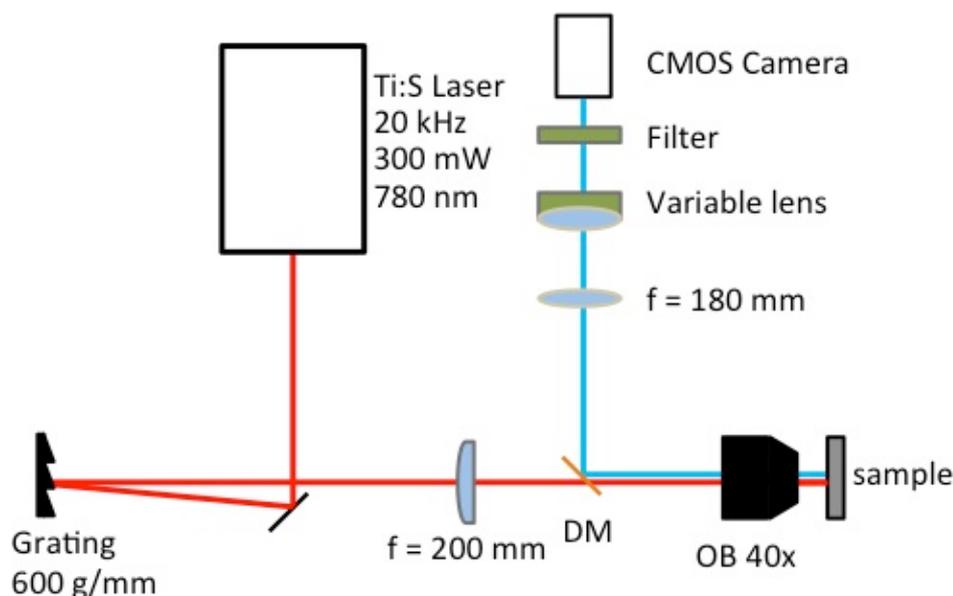


Fig.1 Experiment system of the spatio-temporal focusing

[1] D. Oron, E. Tal, and Y. Silberberg, Opt. Express **13**, 1468-1476 (2005).