19a-A3-11

蛍光タンパク質の蛍光褪色抑制に向けた フェムト秒レーザーのスペクトル位相・振幅制御

Control of the spectral phase and amplitude of femtosecond laser pulses for suppressing the photobleaching of fluorescent proteins

東理大理工　○戸田 圭亮，高橋 弘史，須田　亮

Tokyo Univ. of Sci.　°Keisuke Toda, Hiroshi Takahashi, and Akira Suda

E-mail: j6212618@ed.tus.ac.jp

蛍光タンパク質をプローブに用いた二光子励起蛍光イメージングは，生体深部の観察を可能とする手法として注目されている．しかし光褪色が生じやすいという問題がある．特に FRET（蛍光共鳴エネルギー移動）イメージングではドナーとアクセプターの蛍光強度比を用いる，いわゆるレシオイメージングを行うため，二つの蛍光タンパク質の褪色速度に差異があると正しく観測できなくなる．我々は，二光子励起において支配的な光褪色過程が励起状態からの一光子吸収であることを示唆する結果を得た [1]．一光子吸収は光源のスペクトル振幅のみに依存するため，振幅の変調により褪色速度の制御が可能である．そこで，フーリエ面に一次元の SLM（空間光変調器）を配置した 4-f パルス整形器を用いてスペクトル位相，あるいは振幅をそれぞれ試行錯誤的に変調して褪色速度の制御を行ったところ，スペクトル振幅の変調によって褪色速度の制御が可能であった [2]．しかしこの装置ではスペクトル位相，振幅のどちらか片方の変調しかできないため，蛍光強度と褪色抑制を同時に最適化することはできなかった．本研究では，二次元の反射型 SLM を用いてスペクトル位相と振幅を同時に制御可能な 4-f 光学系を製作し，蛍光タンパク質の蛍光褪色を制御したので報告する．

光源はスペクトル帯域 650~1200 nm，繰り返し周波数 80 MHz，パルス幅 5 fs の Ti:S モード同期レーザーであり，その出力光を今回製作した 4-f 光学系に入射させた．入射光はプリズムによって水平方向に分散された後，焦点距離 100 mm のシリンドリカルレンズによって平行光にされ，ピクセル数 512×512 の反射型二次元 SLM に入射した(Fig.1)．二次元 SLM の水平方向に描いた位相マスクによりスペクトル位相を変調し，鉛直方向に描いた回折格子でスペクトル振幅を変調する．光源の波長帯域が広いため，0 次回折光を出力光とした．このためコントラストは二桁未満となるが，褪色速度の制御には十分である．講演では，スペクトル位相と強度を同時に変調して蛍光タンパク質の蛍光褪色を制御した結果を報告する予定である．

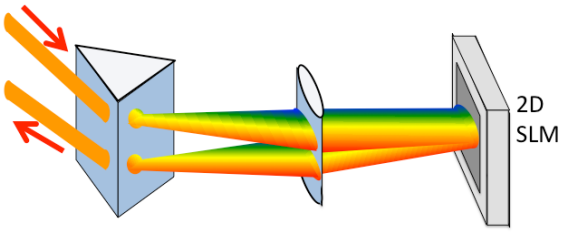

Fig.1 : Experimental setup

参考文献

1) 高橋他，第 73 回応用物理学会学術講演会 14p-B2-3 (2012).

2) 戸田他，第 60 回応用物理学会春季学術講演会 27p-D1-6 (2013).

© 2013 年　応用物理学会