波長/1D 空間変換によるビーム走査フリーな ラインフィールド共焦点顕微鏡

Scanless, Line-field, Confocal Microscopy by use of Wavelength / 1D Space conversion

○ 宮本 周治¹、長谷 栄治^{1,2}、南川 丈夫³、謝 宜達^{1,2}、山本 裕紹^{2,4}、安井 武史^{1,2} (1. 徳島大学、2. JST-ERATO 美濃島知的光シンセサイザプロジェクト、

の大子、2.001-LIMIO 天辰毎州的ルクフピッイップロフェ

3. 京都府立医科大学、4. 宇都宮大学)

^OShuji Miyamoto¹, Eiji Hase^{1,2}, Takeo Minamikawa³, Y.-D. Hsieh^{1,2}, Hirotsugu Yamamoto^{2,4}, Takeshi Yasui^{1,2} (1.Tokushima Univ., 2. JST-ERATO Minoshima Intelligent Optical Synthesizer Project,

3. Kyoto Pref. Univ. Med., 4. Utsunomiya Univ.)

E-mail: miyamoto@femto.me.tokushima-u.ac.jp http://femto.me.tokushima-u.ac.jp/

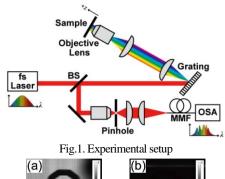
共焦点レーザー顕微鏡[1]は、高空間分解能、 3D 情報の取得が可能, 低侵襲性といった特徴を 持つことから, バイオイメージング分野を中心 に広く用いられている。近年、このような分野 では、組織、細胞、分子の動きを生きたありの まま可視化する手法が求められており、 共焦点 レーザー顕微鏡の更なる高速化が強く望まれて いる。従来の共焦点レーザー顕微鏡では、対物 レンズにより形成されたスポットをガルバノミ ラー等により機械的に走査することで空間情報 を取得しているため、この機械的走査がイメー ジ取得時間を制限していた。そこで本研究では、 フェムト秒レーザー光と1次元波長分散素子に よる波長/10空間変換[2]を用いて、フェムト秒 レーザーのスペクトルを1次元ラインビームに 変換し、サンプルからの反射光スペクトル波形 を計測することにより、機械的走査が不要な共 焦点レーザー顕微鏡を開発した。

図1に実験のセットアップを示す。フェムト 秒レーザー(λ =780 nm, $d\lambda$ >7 nm, P_{mean} = 20 mW)から出力されたレーザー光は,ビームス プリッター (BS)を通過し,回折格子(2000 本/mm)によって各波長成分が 1D 空間に展開される。 2 枚のリレーレンズを用いて,対物レンズ(NA=0.25,f=16.3 mm)後側焦点面に,回 折格子面ビーム出射の状態を転送することにより,各波長毎に異なる位置に集光されたラインビームが生成される。ここで,空間に波長情報を展開していることで,サンプルのラインイメージ情報(ここでは反射率)がレーザー光のスペクトルに重畳される。サンプルからの反射光(回折光)を回折格子に逆側から入射することで各波長成分が再び重ね合わされてシングルビ

ームとなり、BS によって反射された光の内、サンプル位置と共焦点関係があるピンホール(直径 5 μm)を通過した成分のみを光スペクトラムアナライザー (OSA) でスペクトル計測を行う。 更に、サンプル上のラインビーム長手方向と直交する方向にサンプルをスキャンすることで2次元イメージを取得する。

図 2 にテストチャートの反射イメージ (視野 = 232 μ m*232 μ m) を示す。(a)の対物レンズ焦点面 (z=0 μ m) の位置におけるイメージでは"6"の字が鮮明に見えているのに対して,サンプルを焦点面からずらした面 (z=+100 μ m)では,共焦点特性により完全に字が消えていることが確認出来る。上記結果より,共焦点レーザー顕微鏡の計測時間短縮が期待出来る。

本研究の一部はJSPS 科研費 15H02025 による。



(a) (b) (b)

Fig. 2. 2D image of test chart, (a) confocal image at the focal spot ($z = 0 \mu m$), and (b) that out of focus ($z = +100 \mu m$).

[1] P. Davidovits et al., Nature 223, 5208 (1969).

[2] G. J. Tearney et al., Opt. Lett. 23, 1152 (1998).