

3次元構造化照明と時空間集光を用いた2光子蛍光顕微鏡

Two-photon fluorescence microscopy by combining temporal focusing with 3D structured illumination

理研¹, JST さきがけ², 慶大理工³, 埼大理工⁴ ○磯部圭佑^{1,2}, 宋 啓原^{1,3}, 戸田圭亮^{1,4},
神成文彦³, 河野弘幸¹, 宮脇敦史¹, 緑川克美¹

RIKEN¹, JST-PRESTO², Keio Univ.³, Saitama Univ.⁴ ○Keisuke Isobe^{1,2}, Qiyuan Song^{1,3}, Keisuke Toda^{1,4}, Fumihiko Kannari³, Hiroyuki Kawano¹, Atsushi Miyawaki¹, Katsumi Midorikawa¹

E-mail: kisobe@riken.jp

近年、時空間集光法を用いた多光子蛍光顕微鏡は、レーザー走査を行うことなく広視野断層像を取得可能であることから注目されている¹⁾。しかし、時空間集光法では、試料内部の各点を共役な2次元検出器に結像して画像を取得する必要があるため、発生した蛍光が試料内部で散乱すると背景光となる。そのため、生体組織の深部イメージングに応用することが困難となっている。この問題を解決するために、我々は、時空間集光法と構造化照明法を組み合わせることによって、背景蛍光の除去を可能とした²⁾。また、2次元構造化照明法によって、面内方向の空間分解能も同時に向上可能であることも報告している。本発表では、時空間集光法と3次元構造化照明法を組み合わせることによって、光軸方向の空間分解能も向上可能であることを報告する。

3次元構造化照明と時空間集光を用いた2光子蛍光顕微鏡の構築には、デジタルマイクロミラーデバイスを用いた。デジタルマイクロミラーデバイスでは、ON状態のマイクロミラー群は時空間集光のための位相型ブレード回折格子となり、ON状態とOFF状態のマイクロミラーを周期的には配列すると構造化照明のための振幅型回折格子となる。振幅型回折格子から発生する0次と±1次の3つの回折光を用いることによって、光軸に垂直な面内方向だけでなく、光軸方向にも干渉縞が発生するので、3次元構造化照明が実現できる。図1はローダミンBの溶液とカバーの境界近傍の光軸方向の蛍光強度分布を示している。図1の曲線の差分から光軸方向の空間分解能が3次元構造化照明法により5.5倍改善できていることがわかった。

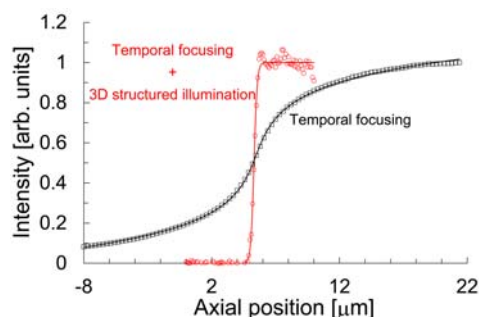


図1. 光軸方向の蛍光強度分布。

1) D. Oron *et al.*, Opt. Express **13**, 1468 (2005). 2) K. Isobe *et al.*, Biomed. Opt. Express, **4**, 2396 (2013).

謝辞

本研究の一部は光科学技術研究振興財団の助成を受けたものである。