

位相ホログラムを用いた二光子励起多点蛍光相関分光装置の開発

Development of multipoint holographic fluorescence correlation spectroscopy based on phase holography

北大院先端生命¹, 北大院生命科学², ○山本条太郎¹, 北村直樹², 金城政孝¹

Faculty Adv. Life Sci., Hokkaido Univ.¹, Grad. Sch. Life Sci., Hokkaido Univ.²,

◦Johtaro Yamamoto¹, Naoki Kitamura², Masataka Kinjo¹

E-mail: jyamamoto@mail.sci.hokudai.ac.jp

蛍光相関分光法 (Fluorescence Correlation Spectroscopy, FCS) は、試料中の蛍光分子の数密度および拡散係数を、非破壊・非接触で計測可能とする技術である。FCS では、励起光源たるレーザー光を試料中に集光入射し、生じた蛍光のうち焦点領域から発せられた蛍光のみを共焦点光学系によって検出する。蛍光分子が共焦点領域を拡散によって出入りすることによる蛍光強度ゆらぎの速さを自己相関解析することで、蛍光分子の動態解析が実現できる。また、高開口数の対物レンズを用いた時、その回折限界における共焦点領域は一般的な培養細胞よりも十分に小さいため、生きた細胞中でさえも対象分子の動態計測を実現可能であり、生物学分野における分子間相互作用の計測などの応用が近年注目されている。

我々は以前、空間光変調器で形成した位相ホログラムによって多点励起光スポット (一光子励起) を試料内部に生成し、バンドルマルチコア光ファイバによってそれぞれの励起光スポットから生じた蛍光を個別かつ同時に検出する多点 FCS 装置 (Multipoint holographic FCS, MP-hFCS) を開発した。この装置によって7点までの同時 FCS 計測を実現したが、さらなる多点化を目指す上では、多点同時照明によって生じる細胞に対する光毒性が問題になることが予想された。

本研究ではこの問題を避けるため、図に示す二光子励起による多点 FCS 装置 (MultiPhoton

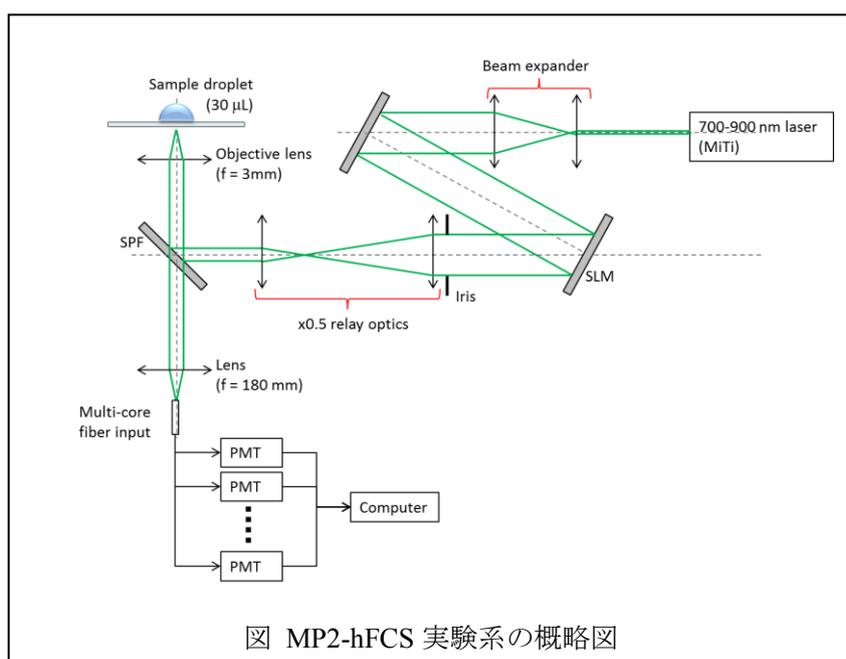


図 MP2-hFCS 実験系の概略図

MP-hFCS, MP²-hFCS) を開発した。一光子励起では、励起光の通過点全ての蛍光分子で励起光の吸収が起きるが、二光子励起では励起光の焦点領域でのみ吸収が起きるため、光毒性を最低限にまで低減できると期待できる。発表では、本装置による溶液中での計測結果と、植物深部における FCS 計測結果について報告する。