

高次方位偏光ビームを用いた差引イメージングによる 高空間分解能レーザー顕微鏡

Resolution Enhancement of Confocal Laser Scanning Microscopy by the Subtraction Imaging using High-order Azimuthally Polarized Beams

○松永大地, 小澤祐市, 佐藤俊一 (東北大多元研)

○Daichi Matsunaga, Yuichi Kozawa, Shunichi Sato (Tohoku Univ.)

E-mail: b4tm5335@mail.tagen.tohoku.ac.jp

はじめに: 共焦点レーザー走査型顕微鏡(CLSM)の空間分解能は, 光の回折限界により 200 nm 程度が限界とされており, より簡便で高速なイメージング技術の開発が求められている. 近年, スポット状の点像分布関数(PSF)により取得した画像と, ドーナツ状の PSF を用いて取得した画像との単純な差引によって容易に空間分解能を向上する Subtractive imaging(差引法)が報告されている[1,2]. これまで我々は, フラットトップ形状を持つ PSF と, 多重リング状の位相シフトを持つ高次方位偏光ビームによるドーナツ状の PSF を用いた差引法によって, 可視域の励起光を用いても 100 nm を切る空間分解能が可能であることを計算により示した[3]. 本発表では, 実際にフラットトップ状 PSF と高次方位偏光ビームによるドーナツ状 PSF を用いた差引法を行い, 空間分解能のさらなる向上効果の検証を行った結果について報告する.

実験結果: 波長 532 nm のレーザー光を開口数 1.45 の油浸対物レンズで集光し, 共焦点ピンホールが 0.5 Airy unit の条件で共焦点イメージングを行った. 孤立した直径 100 nm の蛍光ビーズを用いて PSF を測定し, その断面強度プロファイルから半値全幅を求めた結果, 直線偏光ビームを用いた場合には x 軸方向で 191 nm, y 軸方向で 154 nm となった. ところが, フラットトップ状 PSF と高次方位偏光ビームによるドーナツ状 PSF による差引法を用いたところ, 差引の割合を調整すると, x 軸方向で 115 nm, y 軸方向で 82 nm という極めて小さな値が得られた. ここで x 軸方向と y 軸方向で異なる半値全幅の値となったのは, 使用した 2 つのレーザービームの集光スポット形状が非対称であったことが原因と考えられる. 次に凝集した直径 170 nm の蛍光ビーズに対しイメージングを行った結果を Fig. 1 に示す. 左に示した直線偏光ビームの場合, 隣接する粒子を分解できていないのに対して, フラットトップ状 PSF と高次方位偏光ビームのドーナツ状 PSF による差引法を用いてイメージングした場合, 右図のように個々の粒子が明確に判別できている. 詳細な分解能向上効果については当日報告する.

謝辞: 液晶デバイスの使用についてご協力いただいたシチズンホールディングス (株) に感謝します.

参考文献:

- [1] H. Dehez, *et al.*, Opt. Express **21**, 15912 (2013).
- [2] S. Segawa, *et al.*, Opt. Lett. **39**, 4529 (2014).
- [3] S. Segawa, *et al.*, Opt. Lett. **39**, 3118 (2014).

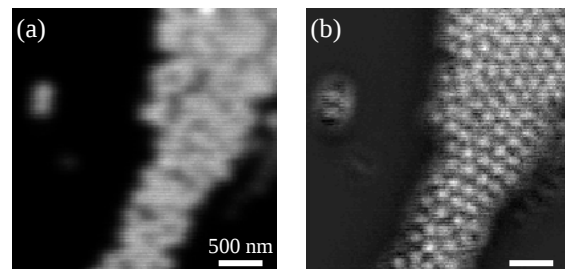


Fig. 1 直径 170 nm の蛍光ビーズのイメージング結果 (a)直線偏光ビームを用いた場合 (b)フラットトップ状 PSF と高次方位偏光ビームのドーナツ状 PSF による差引法を用いた場合