

多光子三次元構造化照明顕微鏡

Multi-photon 3D Structured Illumination Microscopy

○戸田圭亮^{1,2}, 磯部圭佑^{1,3}, 河野弘幸¹, 宮脇敦史¹, 緑川克美^{1,2}

(1. 理研, 2. 埼玉大理工, 3. JST さきがけ)

○Keisuke Toda^{1,2}, Keisuke Isobe^{1,3}, Hiroyuki Kawano¹, Atsushi Miyawaki¹, Katsumi Midorikawa^{1,2}

(1. RIKEN, 2. Saitama Univ., 3. JST-PRESTO), E-mail: keisuke.toda@riken.jp

超解像顕微鏡は、近年の生体イメージングにおいて欠かせない技術となってきたが、生体深部観察への応用は困難であった。我々は深部超解像顕微鏡を開発するため、超解像技術である構造化照明法と試料の深部観察を可能とする時空間集光法とを組み合わせた干渉時空間集光顕微鏡を開発してきた¹⁾。しかし、光学系が複雑であり、二光子励起を始めとする多光子過程を広い視野にわたって誘起するにはさらなる励起光強度が求められていた。我々はこれまで、デジタルマイクロミラーデバイス(DMD)を導入することで光学系の簡素化と光軸方向分解能の向上を図ってきた。本発表では、もう一つの課題である励起光強度の増強について報告する。

中心波長 1055 nm、スペクトル半値全幅 23 nm、繰り返し周波数 44 MHz の Yb ファイバーレーザーを作成した。その出力パルスをも Yb ファイバーチャープアップパルス増幅器で増幅し、パルス幅 100 fs、パルスエネルギー 1 μ J、繰り返し周波数 200 kHz の出力パルスを得ることができた。低次の分散は回折格子対により補償され、高次の分散は 4-f パルス整形器にて補償される。Fig.1 は、DMD を用いて作成した干渉時空間集光顕微鏡にこの励起光源を入射して得た、蛍光色素ローダミン B とカバーガラスの境界近傍における蛍光強度分布を示している。この信号の光軸方向についての一階微分より分解能を求めたところ、一般的な時空間集光法では 6.2 μ m 程度であるが、多光子三次元構造化照明法では約 0.8 μ m となり、多光子三次元構造化照明顕微鏡が極めて高い光軸方向分解能を持っていることを確認できた。

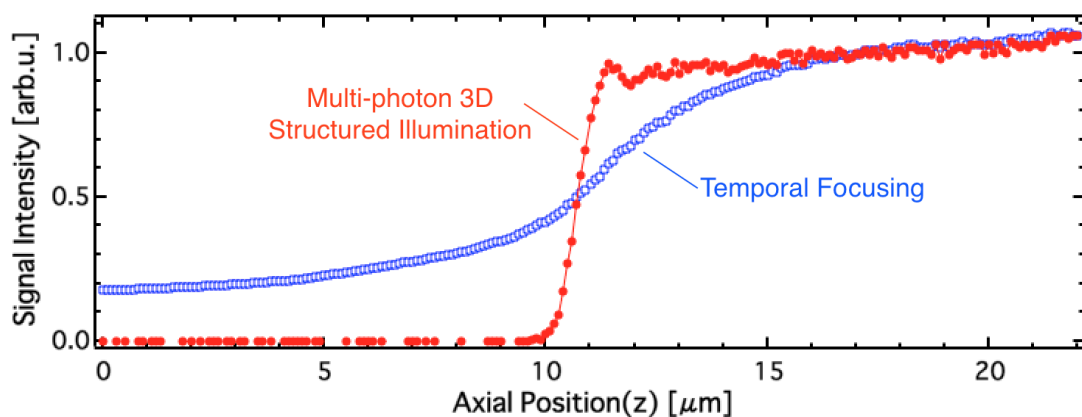


Fig.1 Fluorescence Intensity distribution

1) 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。