

周波数分割多重化された蛍光共焦点顕微鏡法的高速化

Enhanced Speed in Frequency Division Multiplexed Fluorescence Confocal Microscopy

○三上 秀治¹、小林 博文¹、Syed Hamad¹、王 艺森¹、小関 泰之²、合田 圭介^{1,3,4} (1. 東大院理、
2. 東大院工、3. UCLA、4. JST)

○Hideharu Mikami¹、Hirofumi Kobayashi¹、Syed Hamad¹、Yisen Wang¹、Yasuyuki Ozeki²、Keisuke Goda^{1,3,4} (1. School of Sci., Univ. of Tokyo, 2. School of Eng., Univ. of Tokyo, 3. UCLA, 4. JST)

E-mail: mikami@chem.s.u-tokyo.ac.jp

近年、生体内のサブミリ秒オーダーの高速なダイナミクスの観察や、多数の細胞集団を解析するフローサイトメトリへの応用などの要求に伴い、蛍光共焦点顕微鏡に周波数分割多重化の概念を導入することで高速化を狙った方式が複数提案されている。これらの方式は、互いに異なる周波数で変調された多数のレーザ光を同時に試料に集光し、それらによる発生する蛍光を単一の検出器（光電子増倍管など）で一括して検出したのち、周波数領域で各成分を分離、抽出して画像を再構成する。並列化を行うためにスキャナの走査軸を1つ省略できることにより、従来よりも大幅な高速化が可能である。特に、マルチビームの生成に音響光学ディフレクタ（AOD）を使用する Fluorescence Imaging by Radiofrequency-tagged Emission (FIRE)法(図1)が速度性能の点で優れているが、速度性能は上記 AOD の変調帯域により制限され、さらなる高速化が望まれる[1]。

我々は上記の AOD による帯域制限を打破し、従来 FIRE 法に比べて2倍の速度性能を有する dual-AOD FIRE 法を提案する。本方式では2つの AOD からそれぞれマルチビームを生成し、それらを重ねることによって変調されたマルチビームを生成する(図1)。これにより被測定信号の帯域が AOD の帯域に対して2倍となるため、2倍高速な撮像が可能となる。本方式を用いてフレームレート 16,000 フレーム/秒での蛍光画像の取得に成功している(図2)。本講演では、dual-AOD FIRE 法において並列取得するピクセル数を増大した場合に隣接ピクセル間のクロストークによるアーティファクトが発生しうることを示し、AOD への駆動信号を適切に設定することで本クロストークを光学的にキャンセルする方法の実証について報告する。

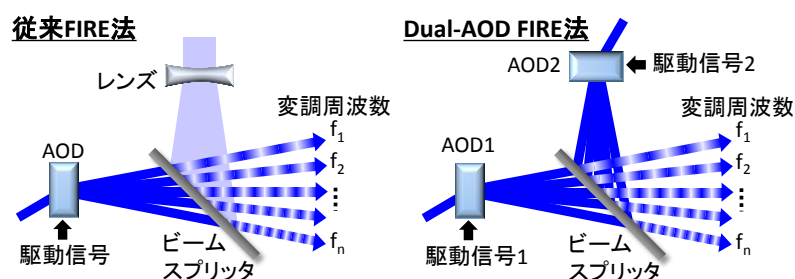


図1 従来 FIRE 法と dual-AOD FIRE 法のマルチビーム生成方法

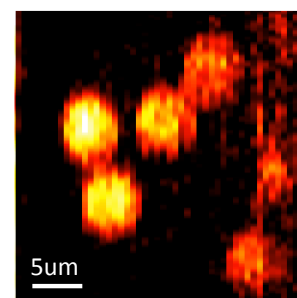


図2 Dual-AOD FIRE 法で取得された蛍光ビーズ(直径 $6\mu\text{m}$)画像

[1] E. Diebold, *et al.*, Nature Photon. 7, 806 (2013)