

4D 細胞計測顕微鏡の開発

Development of Microscope for 4D Cell Imaging

理研光量子制御技術開発チーム¹, 理研生細胞超解像イメージング研究チーム²

○前田 康大¹, 黒川 量雄², 伊藤 容子², 中野 明彦², 和田 智之¹

Photonics Control Technology Team, RIKEN Center for Advanced Photonics¹,

Live Cell Super-Resolution Imaging Research Team, RIKEN Center for Advanced Photonics²,

○Yasuhiro Maeda¹, Kazuo Kurokawa², Yoko Ito², Akihiko Nakano², Satoshi Wada¹

E-mail: yasumaeda@riken.jp

細胞や生体組織内の分子の挙動をより詳細に観察する手法として二光子励起蛍光顕微鏡の利用が拡大している。さらに近年の生物学における観察対象の複雑化に伴って、生体顕微鏡には高分解能化や観察範囲の拡大、高速な画像取得などの要求が高まっている。

本研究では、この様な要望を満たす手法として生体浸透性の高い近赤外光による二光子励起蛍光イメージング技術と Nipkow ディスク式ビームスキャナによる高速ビームスキャンを組み合わせた 4D (x, y, z + Time) イメージング技術の開発を行っている。

本研究では、顕微鏡、Nipkow ディスク式共焦点ビームスキャナ (CSU) の二光子励起蛍光観察への最適化と、CSU におけるビームのロスとビーム径拡大によって低下する励起光強度を補うための励起光源として高出力近赤外フェムト秒ファイバーの開発を行った。図 1 に、開発した高出力近赤外フェムト秒レーザーの構成図を示す。当レーザーは中心波長 1030 nm、出力約 100 mW、パルス幅 2 ps、繰り返し周波数 72.5 MHz の Yb 添加モードロックファイバーレーザーを発振器とし、2 段の Yb 添加ファイバープリアンプ、Yb 添加フォトニック結晶ファイバー (PCF) メインアンプ、976 nm 連続波半導体励起レーザー、グレーティングパルス圧縮器からなる。このレーザーから出力されるパルス幅 330 fs のビームを CSU を介して顕微鏡に導入し、二光子励起蛍光イメージの取得試験を行った。図 2 にこの顕微鏡を用いて得られた二光子励起蛍光イメージを示す。サンプルは FM4-64 で染色したシロイヌナズナの根である。同様のサンプルを用いて励起面積の拡大、高深度観察、高速イメージ取得などの検証試験を行った。講演では、装置構成や検証試験の結果について詳細に報告する。

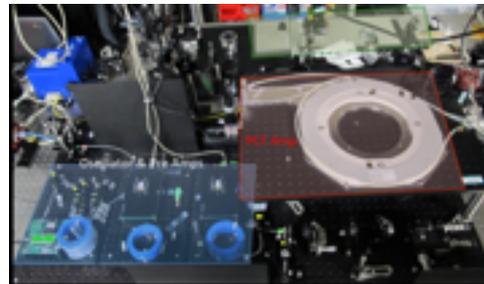


図 1 開発したレーザーの構成図

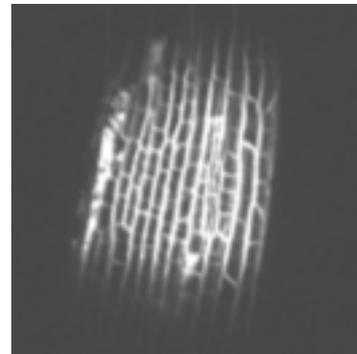


図 2 得られた二光子励起蛍光イメージ (FM4 で染色したシロイヌナズナの根)