

超短パルスレーザーを用いた 2 光子位相分解蛍光寿命測定法による 3 次元温度分布測定

3-D temperature distribution measurement by two-photon phase-resolved fluorescence lifetime measurement method using ultra-short pulsed laser

静岡大院工¹, 静岡大電研²

○吉村 勇人¹, 居波 渉^{1,2}, 川田 善正^{1,2}

Graduate school of Engineering, Shizuoka Univ.¹, Research Institute of Electronics, Shizuoka Univ.²

○Yuto Yoshimura¹, Wataru Inami^{1,2}, Yoshimasa Kawata^{1,2}

E-mail: yoshimura.yuto.16@shizuoka.ac.jp

細胞の機能は無数の生化学的反応に還元され、個々の生化学的反応は熱収支をともなう。温度は、細胞の機能を解明する上で重要な物理量のひとつであるため、細胞内の温度測定技術が確立されることにより、細胞の機能や病態化のメカニズムを温度という観点から解明する可能性をもたらし、生物学や医学分野への発展が期待される。

本研究では、超短パルスレーザーを励起光とした 2 光子励起法による蛍光寿命測定法を提案する。この方法ではロックインアンプを使用し、超短パルスレーザーを参照信号としてパルスの繰り返し周波数に同期した正弦波状の信号を作り、蛍光を入力信号として掛け合わせる。つまり、 $I(\tau) = \int_0^T \alpha \exp(-t/\tau) \times \cos(\omega t + \varphi) dt$ (α : 蛍光強度, φ : 位相差) の式が出力として得られる。ロックインアンプでは参照信号と入力信号の位相差の調整が可能であり、ここでは位相差を 0, 45, 90° の 3 つに変化させる。Fig.1 のように、それぞれの位相差に応じて 3 つの測定データが得られ、それぞれの値を $d1$, $d2$, $d3$ とする。ここでは、 $\alpha = 1$ として計算をした。この 3 点のデータより、新たに $x = (d1 - d2)/(d1 - d3)$ を計算する。すると、Fig.2 のように x と蛍光寿命 τ の関係が決まる。したがって x の値を算出することにより蛍光寿命を導くことができる。この計算により、分子と分母で蛍光強度 α が相殺されるため、物質の蛍光強度を考える必要がなくなる。物質の蛍光強度に依存しない測定が可能であり、またロックインアンプを使用することにより、ノイズに強い蛍光寿命測定法である。Fig.3 に、Cellular Thermoprobe[1] という温度測定のための蛍光プローブを用いて蛍光寿命測定した結果を示す。温度を上げると蛍光寿命が長くなることを確認した。

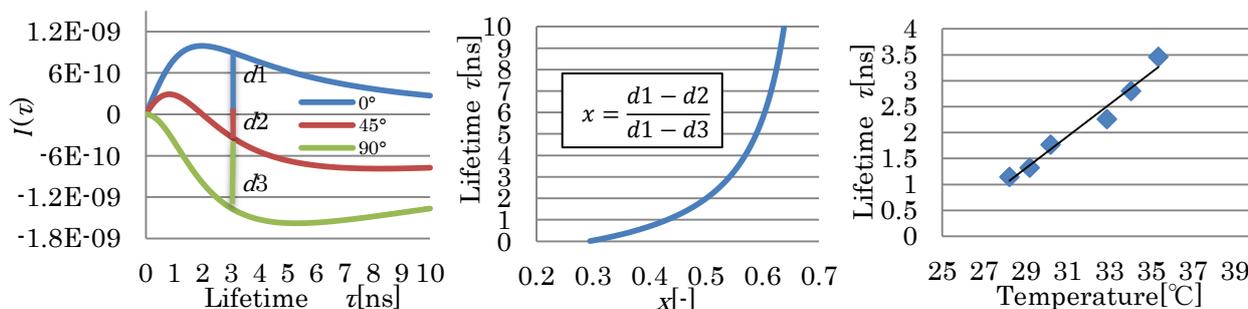


Fig1. Calculation of $I(\tau)(\alpha=1)$ Fig.2 Relationship between x and τ Fig.3 Temperature dependence of τ

[1]Kohki Okabe, et al., nature COMMUNICATIONS, DOI: 10.1038/ncomms1714