

空間分割照合法を用いたホログラフィック蛍光マッピング Holographic fluorescence mapping using space-division matching method

宇都宮大学オプティクス教育研究センター 阿部 怜佑, 小川 仁志, 早崎 芳夫

Center for Optical Research & Education (CORE), Utsunomiya University

Ryosuke Abe, Hitoshi Ogawa, Yoshio Hayasaki

E-mail: hayasaki@cc.utsunomiya-u.ac.jp

1. はじめに

蛍光顕微鏡測は、複雑な構造を有する生体細胞内において、蛍光標識された対象を高いコントラストで可視化する。また、対象の大きさが顕微鏡の分解能以下であっても、その存在を可視化する。蛍光デジタルホログラフィック顕微鏡(FDH: fluorescence digital holography)は、蛍光を光源として、自己干渉計によりホログラムを作製し、サンプル移動や光走査なしに、少ない画像撮影回数で、蛍光の3次元分布を取得する方法である。我々は、FDHを用いて、蛍光ナノ粒子の3次元位置計測を行った¹⁾。本発表では、空間分割照合を用いて複数の蛍光ナノ粒子の3次元マッピングを示す。

2. 実験光学系

Fig. 1はFDHと光ピンセットを組み合わせた実験光学系を示す。FDHにおいて、励起光源は、光ファイバ付き紫外発光ダイオードであった。粒子からの蛍光は蛍光フィルターキューブで励起光と分離された後、自己干渉する。自己干渉計は、曲率の異なる凹面ミラーで光軸方向にずれた2つの波面の干渉縞を生成した。干渉縞は、ピエゾステージで片方のミラーを移動して位相シフトを行いながら、電子増倍型CCDイメージセンサーで撮像された。サンプルは、励起波長360nm、蛍光波長410nmとする直径500nmの蛍光ナノ粒子水溶液である。

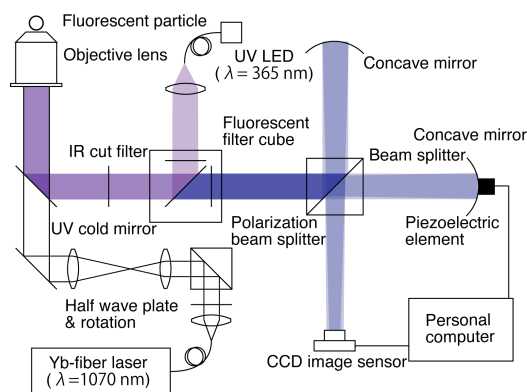


Fig. 1 Experimental setup.

3. 空間分割照合

Fig. 2は、複数の蛍光ナノ粒子の3次元位置を計測するための空間分割照合における処理の流れを示す。Fig. 2(a)に示される観測空間の全体は点線で示された部分空間(探索空間)に分割され

た。Fig. 2(c)は、Fig. 2(b)に示す1つの探索空間における最大強度値を中心に再形成された空間(計測空間)である。蛍光ナノ粒子の3次元位置は計測空間内で、最大強度値を含む数点の値からガウス関数による最小2乗フィッティングによって求められた。

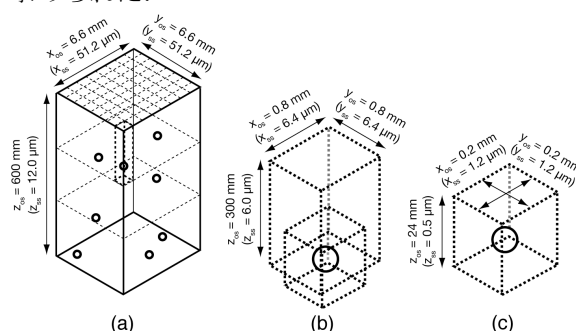


Fig. 2 (a) Whole observation space of holographic imaging. (b) Search subspace for searching the strongest fluorescence light source. (c) Measurement subspace for detecting the 3D position.

4. 実験結果

Fig. 3(a)は回折距離ごとに回折像のピーク強度の対数($\ln I_{\max}$)をプロットした結果である。空間分割照合で得られた結果を赤、青、緑の曲線で示した。Fig. 3(b)は蛍光ナノ粒子の3次元マッピングを示す。10個の粒子の位置が同時に計測された。

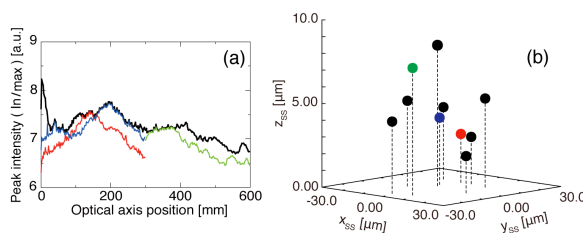


Fig. 3(a) The axial distribution of the peak intensities in the whole space (thick curves) and of three fluorescence sources were searched (red and blue, green curves). (b) 3D mapping of fluorescence nanoparticles.

参考文献

- (1) T. Yanagawa, R. Abe, and Y. Hayasaki, "Three-dimensional mapping of fluorescent nanoparticles using incoherent digital holography," Opt. Lett. **40**, 3312-3315 (2015).