

2次元 SLM を用いた 2光子励起蛍光および光褪色の適応制御

Adaptive control for two-photon excited fluorescence and photobleaching

with a two-dimensional SLM

東理大理工 ○本田成、前迫啓志、神山直人、戸田圭亮、須田亮

Tokyo Univ. of Sci., ○Shigeru Honda, Satoshi Maesako, Naoto Kamiyama, Keisuke Toda,

and Akira Suda

E-mail: 6213090@ed.tus.ac.jp

蛍光分子が不可逆的に蛍光を発しなくなる光褪色は、2光子励起蛍光観察における観察障害の一つである。一般に、1光子励起に比べて2光子励起の方が光褪色しやすく、励起状態吸収 (Excited State Absorption: ESA) がその一因であると報告されている [1]。本研究では、2次元の反射型空間光変調器を用いて励起光のスペクトル位相とスペクトル強度を変調することで、それぞれ2光子励起による蛍光強度の向上と光褪色の抑制の両立を試みた。

励起光として Ti:S モード同期レーザー (波長帯域 650-1200 nm、繰り返し周波数 120 MHz、パルス幅 5 fs、平均パワー200 mW) を用いた。スペクトル変調を行う 4-f 光学系は、プリズム、円筒面鏡 ($f=254$ mm)、LCOS-SLM によって構成した (Fig. 1)。LCOS-SLM のピクセル数は 512×512 、ピクセルサイズは $15 \mu\text{m}$ である。SLM の水平方向で励起光のスペクトル位相を変調し、垂直方向に回折格子のパターンを描画することで励起光のスペクトル強度を変調した (Fig. 1)。スペクトルの制御は適応制御を用いており、フィードバック制御における探索アルゴリズムとして擬似焼きなまし法を用いた。試料は精製された緑色蛍光タンパク質 eGFP の水溶液 (60 mg/ml) と Mowiol を 1:7 で混合したものを用い、試料内における分子の拡散を抑制した。結果として、スペクトル強度変調によって褪色を抑制することができ、適応制御の前後で励起光のスペクトルは Fig. 2 のように変化した。詳細は講演にて報告する予定である。

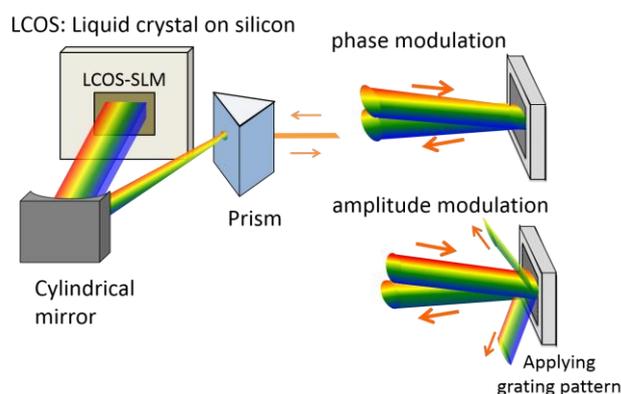


Fig.1 Setup for phase and amplitude modulation with a LCOS-SLM

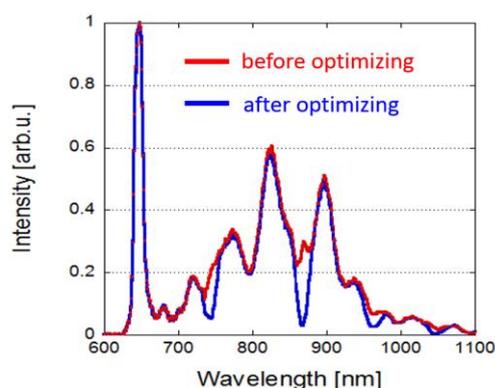


Fig. 2. Excitation laser spectra before and after the spectral amplitude optimization for eGFP

[1] G. H. Patterson and D. W. Piston, *Biophys. J.* **78**, 2159 (2000).