

時空間集光顕微鏡における励起光波面の測定と補償

Wavefront measuring and compensation in temporal focusing microscopy

理研¹, °戸田 圭亮¹, 磯部 圭佑¹, 並木 香奈¹, 河野 弘幸¹, 宮脇 敦史¹, 緑川 克美¹RIKEN¹, °Keisuke Toda¹, Keisuke Isobe^{1,2}, Kana Namiki¹, Hiroyuki Kawano¹, Atsushi Miyawaki¹
and Katsumi Midorikawa¹

E-mail: keisuke.toda@riken.jp

生体深部イメージングには、多光子励起蛍光顕微鏡が有用とされているが、深部においては、励起光の波面歪みにより空間分解能が制限される。空間集光における波面歪みは、焦点面に対するフーリエ面の空間位相変調により補正できる。一方、励起光のスペクトル成分を空間的に分散させて試料上において再び重ね合わせる時空間集光においては、フーリエ面の空間位相が励起光のスペクトル位相と等価となるため、スペクトル位相変調により波面補償が可能となる。我々は、適応制御によるスペクトル位相の最適化によって、時空間集光顕微鏡における波面補償の効果を実証してきた¹⁾。しかし、適応制御による最適化は多数の試行回数を必要としたため時間がかかり、実用的でないという問題があった。そこで、パルス整形器を用いて焦点面におけるスペクトル位相を測定する手法を開発した。励起光パルスの特定の波長成分について局所的な位相変調を与え、第二高調波(SH)スペクトルを測定する。位相変調された波長成分と、それ以外の波長成分との干渉によって生じる SH スペクトルの変化量から励起パルスのスペクトル位相を得ることができる。ここで、散乱の強い生体組織中において発生した SH 光のスペクトルを分光器によって測定することは困難であるため、SH スペクトルは、二光子励起蛍光の干渉自己相関(IAC)信号のフーリエ変換より取得する。

実験には、中心波長 1065 nm の Yb ファイバーレーザーを励起光源とした時空間集光顕微鏡を用いた。位相変調は、フーリエ面に空間光変調器を設置した 4-f パルス整形器を用いて波長 1045-1087 nm にわたって行ない、IAC の取得にはマイケルソン干渉計を用いた。試料は、直径 200 nm の蛍光ビーズをカバーガラス表面に一層だけ敷き詰めて作成し、発生した蛍光は、光電子増倍管により取得した。図 1 は、励起光の焦点面に対して ± 3 , $\pm 6 \mu\text{m}$ の位置に試料がある時の、本手法によって得られたスペクトル位相の測定結果である。空間集光におけるデフォーカスの二次の位相変化と同様に、時空間集光における励起パルスの二次分散が焦点面からの距離に応じて変化している様子を捉えている。このようにして得たスペクトル位相を用いて、励起光波面の補償が可能となる。

1) 戸田他, 第 76 回応用物理学会秋季学術講演会, 14a-PB1-7(2015).

謝辞 本研究の一部は、中谷医工計測技術振興財団開発研究助成, MEXT/JSPS KAKENHI Grant Number JP18H04750 “Resonance Bio” の助成を受けたものである。

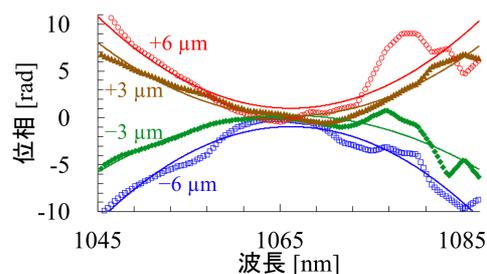


図 1. スペクトル位相の測定結果. 実線は二次関数による近似.