デュアル光コム顕微鏡によるスキャンレス蛍光イメージング(2) ~520 nm 帯光コムによる蛍光イメージング~

Scan-less Fluorescence Imaging using Dual Optical Comb Microscope(2) ~Fluorescence Imaging using 520 nm Wavelength Optical Comb~

徳島大¹, JST ERATO 美濃島知的光シンセサイザ², 高輝度光科学研究センター³, 宇都宮大⁴ ^O(P)水野 孝彦^{1,2}, 長谷 栄治¹⁻³, 南川 丈夫^{1,2}, 山本 裕紹^{2,4}, 安井 武史^{1,2}

Tokushima Univ.¹, JST ERATO MINOSHIMA IOS², JASRI/SPring-8³, Utsunomiya Univ.,

^oTakahiko Mizuno^{1,2}, Eiji Hase¹⁻³, Takeo Minamikawa^{1,2}, Hirotsugu Yamamoto^{2,4},

Takeshi Yasui^{1,2}

E-mail: mizuno@femto.me.tokushima-u.ac.jp https://femto.me.tokushima-u.ac.jp

我々はレーザスポットの機械的走査を排除した共焦点蛍光顕微鏡を実現する手段として,光コムを 励起光源としたデュアル光コム蛍光顕微鏡を提案している[1].従来,共焦点レーザ走査型蛍光顕微鏡 (CLFM)は,共焦点性を有した3次元イメージング手法であり,バイオイメージング分野で広く利用さ れている.しかし,レーザ焦点スポットの機械的走査は,画像取得速度の制限や環境外乱に対するロ バスト性低下に繋がる.高速化のため共振型ガルバノスキャナやニポウディスクを用いる方法が提案 されているが,環境外乱に対するロバスト性低下は依然として克服できていない.近年,スキャンレ ス化による高速蛍光イメージング法として,FIRE 法(fluorescence imaging using radiofrequency-tagged emission)が提案されている[2].FIRE 法では,長軸方向に沿って異なる周波数で強度変調されたライン 集光ビームでサンプルを励起し,発生した蛍光を点型光検出器で一括取得する.その結果,RF 周波数 とライン集光ビーム位置が一対一対応した周波数多重化信号群が観測され,この周波数多重化信号群 からラインイメージをスキャンレスに取得できる.しかし,2次元イメージ取得には、ライン集光ビーム 方向と直交方向に、1次元ビーム走査が必要である.もしこの一次元ビーム走査も省略できれば更な る高速化やロバスト性の向上が期待できる.

2次元スキャンレス蛍光イメージングを実現する手段として、デュアルコム分光法(DCS)と2次元スペクトルエンコーディング(2D-SE)を融合したデュアル光コム蛍光顕微鏡を提案している.デュアル光コムを光源として利用することにより、励起ビームの周波数多重化信号を大幅に高密度化し、2D-SEによって2次元空間と高密度周波数多重化 RF 信号群を一対一対応させる.高密度周波数多重化蛍光 RF 信号を DCS によって取得し、スキャンレスに2次元蛍光イメージを再構成する.このとき、DCS によって得られる振幅スペクトルと位相スペクトルは、それぞれ蛍光強度像と蛍光寿命像に相当する. さらに、2次元蛍光スポット群と共役な位置に共焦点ピンホールアレイを配置することで、フルフィールドイメージに共焦点性を付与することも可能である.

これまでに、中心波長 1560 nm の Er ファイバーコムを用いて、PPLN 結晶により 780 nm 帯に波長変換した後に原理検証を行ってきた. 今回, Er ファイバーコムの THG 波長帯に相当する 520 nm 帯に波長変換し、蛍光イメージングを行ったので報告する. 520 nm 帯は蛍光色素の選択肢が多く実際の蛍光観察への応用が容易である. また PMT や APD 等の高感度検出器が利用できる. 図1に発生した光コムの光スペクトルを示す. 2 台の光コムともに 520 nm 帯に発光が確認できる. 図2に原理検証に用いたサンプル配置を示す. 蛍光サンプルは、300 µM ローダミン 6G 水溶液とし、励起光の一部をネガ型テストチャートによってマスクした. 図3に、得られた蛍光像を示す. このように、テストチャートの構造が観察できている.

本研究は(財)マツダ財団 第33回マツダ研究助成,およびJST, ERATO 美濃島知的光シンセサイザプ ロジェクトの助成を受けた.



参考文献 [1] 水野他, 第 65 回応用物理学会春季学術講演会, 19p-C303-14, 2018 年 3 月, 東京. [2] E. D. Diebold, et. al., Nat. Photonics **7**, 806-810 (2013).