

サブ回折限界スポットを用いた超解像手法： 高倍率対物レンズ系による検証

A super-resolution method using subdiffraction-limit spots:

verification using a system with a high-magnification objective lens

阪大院情¹, 阪大院工², 基生研³ ○新川 大生¹, 西村 隆宏², 小倉 裕介¹,

玉田 洋介³, 谷田 純¹

Grad. Sch. IST, Osaka Univ.¹, Grad. Sch. Eng., Osaka Univ.², NIBB.³,

Daiki Shinkawa¹, Takahiro Nishimura², Yusuke Ogura¹, Yosuke Tamada³, and Jun Tanida¹

E-mail: d-shinkawa@ist.osaka-u.ac.jp

レーザを走査して試料を照明するレーザ走査型顕微鏡は、通常の広視野顕微鏡と比べて高分解能の画像を得られることが知られている[1]。ただし、照明光として用いる光スポットは回折限界の制約を受け、そのサイズによって空間分解能が制限される。これに対し、我々は回折限界よりも小さなサブ回折限界スポットを利用した超解像イメージングについて報告している[2]。この手法では、蛍光励起領域が縮小され空間分解能が向上するだけでなく、多数の微小光スポットを並列に走査することで画像取得のフレームレートも向上できる。これまで比較的low倍率の対物レンズを用いた実験によりサブ回折限界スポットを用いることの効果を示している。しかし、バイオ応用を想定すると更に高い分解能が要求されることも多い。そこで高倍率対物レンズを用いた系により本手法の有効性を検証した。

まず、独自の拘束条件を適用した反復フーリエ変換法を用いて 3×3 のサブ回折限界スポットを出力する位相変調分布を設計した[3]。実験では、光源として波長405nmの固体レーザ (Coherent, Inc., OBIS FP 405LX)を用いた。設計した位相変調分布を空間光変調器 (SLM; HOLOEYE, LC2012)に表示しレーザ光を変調した後、100倍の油浸対物レンズ (NA=1.4)を通して蛍光励起用の光パターンを生成した。Fig. 1(a) (b)に生成された光パターンを示す。半値全幅は回折限界スポットが194 nm, サブ回折限界スポットが150 nmであり、スポットのサイズを約77%に縮小できた。さらに、生成したスポットを用いて粒径100 nm, 蛍光ピーク波長450 nmの量子ドットを観察した。励起光の走査はSLMに投影するパターンを随時変更することにより行った。励起光の走査間隔は約51 nmとし、 17×17 点で撮影した。得られた画像群において、各画像の励起光位置の蛍光強度を取得し、再構成した画像をFig. 1(c) (d)に示す。得られた画像を二次元ガウス関数でフィッティングしそれぞれの蛍光像の大きさ (半値全幅)を求めたところ、回折限界スポット走査の場合は264 nm, サブ回折限界スポット走査の場合は232 nmであった。この結果より、本手法が高倍率対物レンズを用いた場合の超解像手法として有効であることを確認した。

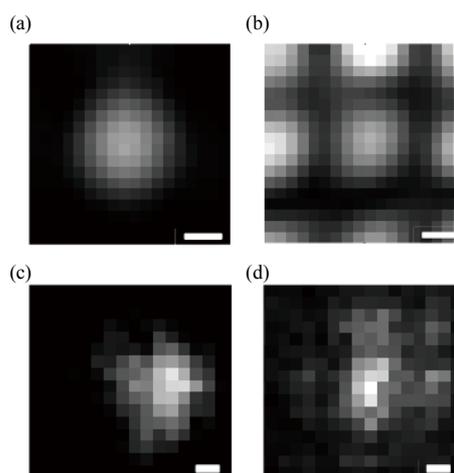


Fig. 1 Experimental results. (a) The generated diffraction-limit spot and (b) subdiffraction-limit spots. (c) Fluorescence image of a 100-nm Q-dot obtained using a diffraction-limit spot and (d) using a subdiffraction-limit spot. Scale bar indicates 100 nm.

本研究の一部は、大学共同利用機関法人自然科学研究機構分野融合型共同研究事業(01111702)および光科学技術研究振興財団の助成を受けたものである。

[1] E. N. Ward and R. Pal, *Journal of Microscopy* **266**, 221-228 (2017).

[2] 小倉 裕介 他, 第 65 回応用物理学会春季学術講演会, 19p-B201-3 (2018).

[3] Y.Ogura *et al.*, *Optics Express*. **22**, 25196-25207 (2014).