

繰り返し誘導遷移を用いた非線形蛍光顕微鏡による高解像イメージング

High-resolution imaging by nonlinear fluorescence microscopy using repetitive stimulated transition

株式会社ニコン 研究開発本部, °嶽文宏, 福武直樹, 林世莉, 瀧優介

Research & Development Division, Nikon Corporation,

°Fumihiko Dake, Naoki Fukutake, Seri Hayashi, Yusuke Taki

E-mail: Fumihiko.Dake@nikon.com

光の回折限界を超えた超解像蛍光顕微鏡はバイオイメージングにおいて不可欠なツールとなっている¹⁻⁴⁾。本稿では、繰り返し誘導遷移(REST, Repetitive stimulated transition)を利用した超解像非線形蛍光顕微鏡を提案する。REST 顕微鏡では、それぞれ異なる周波数で強度変調された 2 色のレーザー光を光源として用いる。入射レーザー光が誘起する励起(誘導吸収)遷移と誘導放出遷移を複数回経て生じた非線形蛍光をロックイン検出することで画像を取得する。

Fig. 1 に線形蛍光と非線形蛍光の概念図を示す。Pump 光は励起を、Probe 光は誘導放出を誘起する。Fig.1(a)は通常の蛍光であり、Pump 光による励起を受けて、蛍光が発生する。Fig.1(b)は Pump-probe fluorescence(PF)⁵⁾であり、Pump 光による励起、Probe 光による誘導放出の結果、2 つの入射光強度の積に比例する非線形蛍光が発生する。REST 過程では、Pump 光による励起、Probe 光による誘導放出を経た蛍光分子の一部は、更に Pump 光あるいは Probe 光により励起されと考える(Figs.1(c, d))。これを経て生じる非線形蛍光信号の発生領域は入射光の点像強度分布の多重積で決定されるため、通常の蛍光や PF 信号と比較して、分解能向上が期待される。

これまでに、光源として 2 色のピコ秒パルスレーザーを用いた REST 顕微鏡(Fig. 2)による分解能向上効果を確認している⁶⁾。講演においては、非線形蛍光を利用した蛍光寿命測定⁷⁾や光源として CW レーザーを用いた REST 顕微鏡による蛍光ビーズ・生物試料イメージングの結果について報告する。

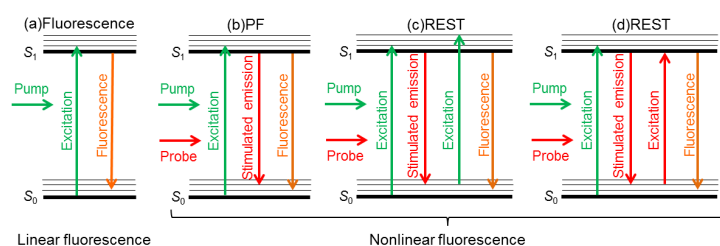


Fig. 1 Phenomenological model.

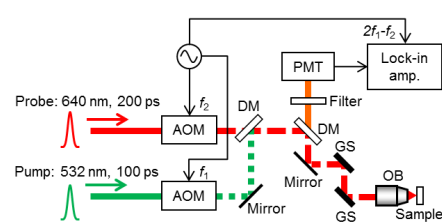


Fig. 2 Experimental setup.

参考文献

- 1) B. Hein *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 14271 (2008).
- 2) E. Betzig, *et al.*, *Science* **313**, 1642 (2006).
- 3) D. Li, *et al.*, *Science* **349**, aab3500 (2015).
- 4) K. Fujita *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **99**, 228105 (2007).
- 5) C. Y. Dong *et al.*, *Biophys. J.* **69**, 2234 (1995).
- 6) F. Dake *et al.*, *Appl. Phys. Express* **11**, 012401 (2018).
- 7) F. Dake *et al.*, *Appl. Opt.* **57**, 757 (2018).