

蛍光寿命による撮像速度限界を越えた超高速共焦点顕微鏡法

Fluorescence-Lifetime-Surpassed Ultrafast Confocal Fluorescence Microscopy

○三上 秀治¹、小関 泰之²、合田 圭介^{1,3} (1. 東大院理、2. 東大院工、3. JST)

○Hideharu Mikami¹, Yasuyuki Ozeki², Keisuke Goda^{1,3}

(1. School of Sci., Univ. of Tokyo, 2. School of Eng., Univ. of Tokyo, 3. JST)

E-mail: mikami@chem.s.u-tokyo.ac.jp

近年、生物学・医学の研究に欠かせないツールである共焦点蛍光顕微鏡を高速化するニーズが高まっており、様々な方式が提案されている。共焦点蛍光顕微鏡の速度限界は観察対象の蛍光体の寿命で決まっており、ピクセル滞在時間が蛍光寿命よりも短くなると信号強度が急激に落ち込むために画像の取得が困難になる。従来の共焦点蛍光顕微鏡はいずれもこの速度限界に達しておらず、原理的には撮像速度に改善の余地があることがわかっているものの、それを実現する方式は知られていなかった。

今回我々は、情報通信技術である周波数分割多重と直交振幅変調 (Quadrature Amplitude Modulation, QAM) により撮像速度と感度を高め、蛍光寿命による撮像速度限界を超えた共焦点蛍光顕微鏡を報告する。実装方法としては、これまで提案してきた周波数分割多重の方式である dual-AOD 法[1]において変調位相が互いに 90 度異なる 2 種類の変調ビーム (それぞれ多数の強度変調ビームにより構成される) を生成し (Fig. 1)、これらを QAM の同相成分、直交位相成分として用いる。これらの変調ビームは試料に照射され、試料から発する蛍光が光検出器により検出されたのち、各周波数成分および同相・直交位相成分が信号処理により分離され、これらが画素情報となる。これにより信号周波数帯域 400MHz での共焦点蛍光イメージングが実現される。本方式の応用例として 104 ボリューム/秒における超高速 3D イメージング (Fig.2) や、多数の細胞集団を蛍光画像により解析するイメージングフローサイトメトリについて報告する[2]。

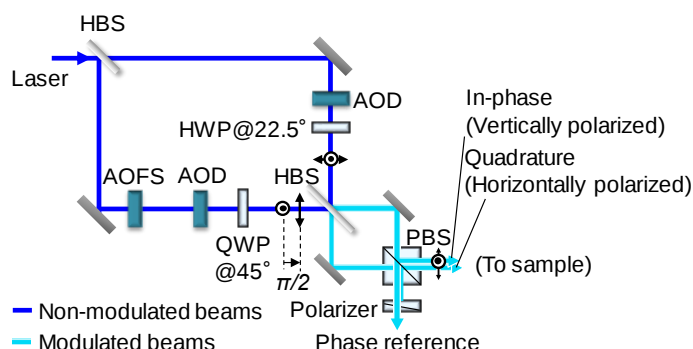


Fig. 1 Dual-AOD method with quadrature amplitude modulation. HBS, half beam splitter; AOFS, acousto-optic frequency shifter; AOD, acousto-optic deflector; HWP, half-wave plate; QWP, quarter-wave plate.

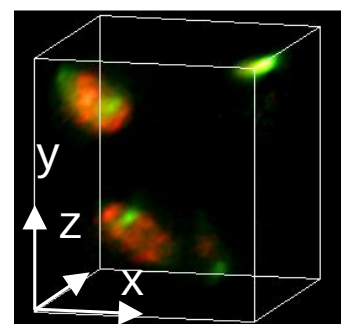


Fig. 2 Obtained 3D image of *Euglena gracilis* cells at a volume rate of 104 volumes/s. Box size: 70 μm (x) × 80 μm (y) × 90 μm (z).

[1] 三上秀治他 第 63 回応用物理学会 春季学術講演会 21p-S422-8 (2016).

[2] H. Mikami, *et al.*, *Optica* (2018), in press.