

サブ回折限界光スポットの走査に基づく超解像イメージング

Super-resolution imaging based on scanning subdiffraction-limit spots

○小倉 裕介¹、新川 大生¹、西村 隆宏¹、玉田 洋介²、谷田 純¹ (1. 阪大院情、2. 基生研)

○Yusuke Ogura¹, Daiki Shinkawa¹, Takahiro Nishimura¹, Yosuke Tamada², Jun Tanida¹

(1. Osaka Univ., 2. NIBB)

E-mail: ogura@ist.osaka-u.ac.jp

超解像蛍光イメージングは、生体における分子スケールの構造や機能の解析に有用なツールである。Image scanning microscopy (ISM)[1]はその一種であり、蛍光に特殊な特性が必要なく、かつ簡便な手法として注目されている。この手法では、励起用の光スポットを走査しながら蛍光信号分布をイメージセンサで取得し、コンピュータで蛍光画像を再構成する。再構成画像の点像分布関数 (PSF) は、励起光の PSF と観察系の PSF の積となり、超解像が実現される。一方、我々は、計算機合成ホログラムを用いて回折限界よりも細かい光スポット (サブ回折限界光スポット) のアレイを生成する手法を開発してきた [2,3]。サブ回折限界光スポットアレイを励起光として利用すれば、ISM の分解能や画像取得速度を向上できると考えられる。考案したサブ回折限界光スポット走査による超解像イメージングの概念を Fig. 1 に示す。空間光変調器 (SLM) の変調パターン書き換えにより、サブ回折限界光スポットアレイを生成・走査する。アレイ上の各光スポットで異なる領域内を同時に励起することにより、走査時間を短縮できる。各光スポットの領域ごとに再構成し、それらを結合することで、最終的な超解像蛍光画像を得る。

サブ回折限界光スポットの有用性を確認するため、直径 500nm の蛍光ビーズを対象物体として実験を行った。He-Ne レーザー (波長 633 nm) を励起光源として用い、励起光照射系、観察系で対物レンズ (20×, NA 0.46) を共用した。回折限界光スポット、および、サブ回折限界光スポットを一次元走査して得られた蛍光強度プロファイルを図 2 に示す。半値全幅は 1.02 μm から 0.85 μm に縮小されており、本手法による分解能向上の効果を確認できた。

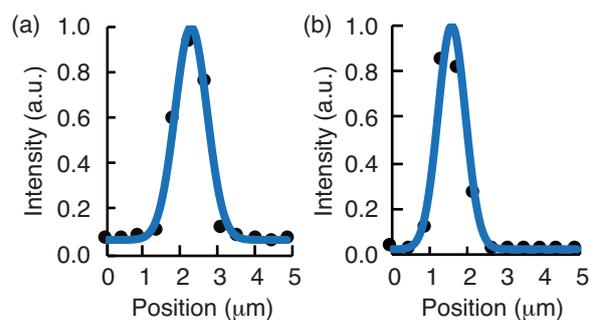
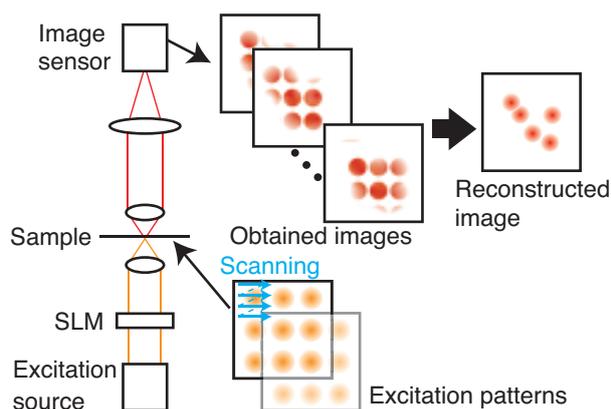


Fig. 2: Fluorescence intensity profile obtained by scanning (a) a diffraction limit spot and (b) a sub-diffraction limit spot.

Fig. 1: Concept of the proposed imaging method.

本研究は、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) の助成を受けたものである。

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

[2] Y. Ogura, M. Aino, and J. Tanida, *Opt. Express* **22**, 25196 (2014).

[3] Y. Ogura, M. Aino, and J. Tanida, *Appl. Opt.* **55**, 6371 (2016).