

深さ位置分解した 3 次元光ニードル顕微鏡の開発

Development of Axially Resolved, Three-Dimensional Light Needle Microscopy

東北大多元研 ○小澤 祐市, 佐藤 俊一

IMRAM, Tohoku Univ., °Yuichi Kozawa, Shunichi Sato

E-mail: y.kozawa@tohoku.ac.jp

はじめに：共焦点レーザー走査型顕微鏡や多光子励起レーザー走査型顕微鏡法は、深さ方向に対する空間分解能を有し、観察対象に対する 3 次元の可視化を可能とする。一方で、これらの手法は、集光した励起レーザー光を 2 次元に走査することを基本原理とするため、3 次元画像を得るためには観察面を移動しながら複数の 2 次元画像を逐次取得する必要がある、観察深度が大きい場合には 3 次元画像取得には時間を要するという課題がある。我々は現在、深さ方向に長い焦点深度を持つベッセルビームを走査レーザー光（光ニードルスポット）とし、焦点から発生した蛍光シグナルに対して自己湾曲特性を持つエアリービームに変換することで、観察面を移動することなく一回の 2 次元走査のみから 3 次元の画像を取得可能な新しいレーザー顕微鏡法を開発を行っている[1]。これまでに、本原理に基づく深さ方向の分解と 3 次元の画像構築が実際に可能であることを報告した[2]。今回は、本原理を生体試料に対してイメージングを試み、その適用可能性について検討した結果を報告する。

実験および結果：波長 1040 nm のフェムト秒パルスレーザーを励起光源とする 2 光子励起レーザー顕微鏡に対して、液晶空間光変調器により励起光を円環状に整形し、水浸対物レンズ(開口数 1.15)の焦点に光ニードルスポット(焦点深度：15 μm)を形成した。蛍光試料から発生した蛍光シグナルは、検出側光路中に設置した別の空間光変調器によりエアリービームに変換し、像面での強度分布を高感度 2 次元検出器により記録した。本手法では、像面の面内方向が試料の深さ方向に対応するため[1,2]、2 次元の全ての走査点で得られた検出画像から 3 次元の画像を構築する。固定した COS-7 細胞のアクチンを染色した試料を、本手法により観察した結果を図 1 に示す。ニードルスポットの 1 回の 2 次元走査から厚さ 10 μm 程度の COS-7 細胞全体の 3 次元的な構造が可視化されており、通常のガウスビームによる 2 次元スタック画像により構築した 3 次元像と同等の画像が得られることがわかった。当日は、観察可能な深度と空間分解能に関する詳細な検討結果についても報告する。

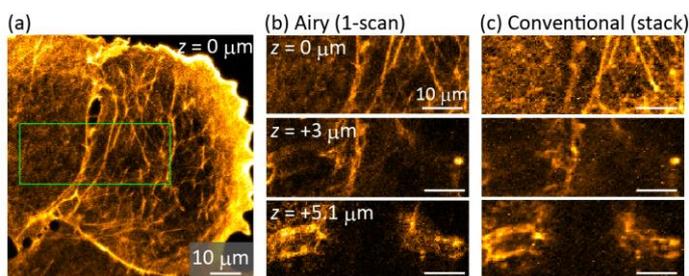


Fig. 1. (a) Image ($z = 0 \mu\text{m}$) for F-actin in fixed COS-7 cells reconstructed from a single scanning of a light needle. (b) Magnified views for the rectangular region in (a) for the different depth positions. (c) Corresponding images taken by the conventional image stacking.

謝辞：生体試料をご提供頂きました北海道大学 石井宏和博士, 根本知己博士に感謝申し上げます。

参考文献：

- [1] 小澤, 佐藤, 第 78 回応用物理学会秋季学術講演会, 7p-S44-18, (2017).
- [2] 小澤, 佐藤, 第 79 回応用物理学会秋季学術講演会, 19a-PA2-11, (2018).