# 高次ベクトルビームを用いた差引イメージングの生体試料への適用

## Subtraction Imaging using Higher-Order Vector Beams for Biological Samples

東北大多元研，　吉田 実生，°小澤 祐市，佐藤 俊一

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

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

**はじめに:** 通常の共焦点レーザー走査型顕微鏡法(CLSM)の空間分解能は, 光の回折効果により 200 nm 程度が限界とされている．近年，通常の CLSM の画像取得において，スポット状の点像分布関数(PSF)により得られた画像と，ドーナツ状 PSF により得られた画像の差引演算を行うことにより空間分解能を簡便に向上可能な差引イメージング法が提案されている[1]．しかし本手法には，差引に用いる 2 種類の PSF 形状の差異により負のサイドローブが発生し，取得画像にアーティファクトが発生するなどの課題が残されている．我々のグループは，軸対称な偏光分布を持つベクトルビーム(径偏光および方位偏光ビーム)の集光特性に着目し, 両者の重ね合わせによって形成される台形状の強度プロファイルを有するフラットトップ状 PSF と，多重リング状の強度分布を有する高次方位偏光 Laguerre-Gauss ビーム(AP-$LG_{p1}$ ビーム，$p$ は次数)を用いたドーナツ状 PSF による差引を提案し，負のサイドローブ発生を抑制しつつ空間分解能を大幅に向上できることを示した[2, 3]．また，数値計算により差引イメージングに適した高次ベクトルビームの組合せを明らかにした[4]．今回は，生体試料を観察対象とし，最適なビームの組合せを差引法に適用した場合の空間分解能向上効果と, 負のサイドローブの影響について実験的に評価を行った結果を報告する．

**実験結果：** 波長 488 nm のレーザー光を開口数 1.45 の油浸対物レンズで集光し，共焦点ピンホールが 0.5 Airy unit の条件において微小管を染色した COS-7 細胞のイメージングを行った．一般的に用いられる直線偏光ビームで微小管を観察した場合[Fig. 1(a),(c)]には，隣接する微小管は判別不可能であったのに対し，高次ベクトルビームの組合せによる差引を適用した場合[Fig. 1(b),(d)]は, 個々の微小管を明確に識別することが可能となった. Fig. 1(e)は，Fig. 1(c)および(d)中の破線に沿った強度分布を示しており，この結果からも明瞭な分解能向上効果が確認された．高次ベクトルビームを用いた差引イメージングの詳細な特性および，詳細な分解能向上効果については当日報告する．

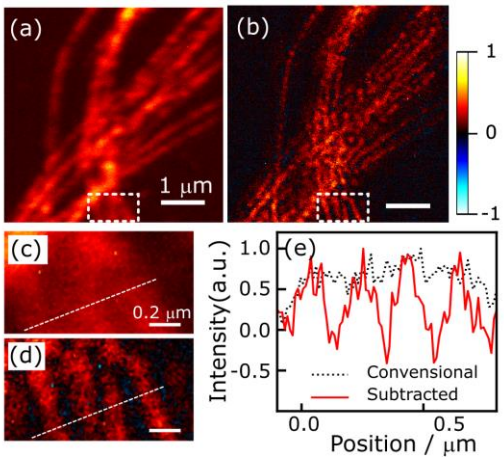


Fig. 1. Images of microtubules of COS-7 cells taken by a conventional CLSM (a) and the subtraction method (b). (c) and (d) are the magnified images of the regions indicated by the dashed squares in (a) and (b), respectively. Intensity profiles along the dashed lines in (c) and (d) are shown in (e).

### 参考文献

[1] H. Dehez *et al.*, Opt. Express **21**, 15912 (2013).

[2] S. Segawa *et al.*, Opt. Lett. **39**, 3118 (2014).

[3] 松永他: 第 63 回応用物理学会春季学術講演会 19p-H116-1 (2016).

[4] 吉田他: 第 79 回応用物理学会秋季学術講演会 19p-231C-3 (2018).

© 2019年 応用物理学会