デュアル光コム顕微鏡によるスキャンレス蛍光イメージング(3)
～ イメージング SNR の改善 ～

Scan-less Fluorescence Imaging using Dual Optical Comb Microscope (3)
~ Improvement of Signal to Noise Ratio ~

徳島大 [1]，JST ERATO 美濃島知的光シンセサイザ [2]，宇都宮大 [3]
○(P)水野 孝彦 [1,2]，長谷 栄治 [1,2]，南川 丈夫 [1,2]，山本 裕紹 [2,3]，安井 武史 [1,2]
Tokushima Univ. [1], JST ERATO MINOSHIMA IOS [2], Utsunomiya Univ. [3],
○Takahiko Mizuno[1,2], Eiji Hase[1,2], Takeo Minamikawa[1,2], Hirotsugu Yamamoto[2,3],
Takeshi Yasui[1,2]
E-mail: mizuno@femto.me.tokushima-u.ac.jp https://femto.me.tokushima-u.ac.jp

共焦点レーザ走査型蛍光顕微鏡(CLFM)は，共焦点性を有した 3 次元イメージング手法であり，高い迷光除去能力からバイオイメージング分野で広く利用されている．しかし，レーザ焦点の機械的走査は，画像取得速度の制限や環境外乱に対するロバスト性低下を招く．共振型ガルバノスキャナやニポウディスクを用いた高速イメージング法が提案されているが，環境外乱に対するロバスト性低下は依然として克服できていない．近年，スキャンレス化による高速蛍光イメージング法として，FIRE 法(fluorescence imaging using radiofrequency-tagged emission)が提案されている[2]．FIRE 法では，長軸方向に沿って異なる周波数で強度変調されたライン集光ビームでサンプルを励起し，発生した蛍光を点型光検出器で一括取得する．その結果，RF 周波数とライン集光ビーム位置が一対一対応した周波数多重化信号群が観測され，この周波数多重化信号群からラインイメージをスキャンレスに取得できる．しかし，2 次元イメージ取得には，ライン集光ビーム方向と直交方向に 1 次元ビーム走査が必要である．もしこの一次元ビーム走査も省略できれば更なる高速化やロバスト性の向上が期待できる．

2 次元スキャンレス蛍光イメージングを実現する手段として，我々はデュアルコム分光法(DCS)と 2 次元スペクトルエンコーディング(2D-SE)を融合したデュアル光コム蛍光顕微鏡を提案している[1]．デュアル光コムを光源として利用することにより，励起ビームの周波数多重化信号を大幅に高密度化でき，2D-SE によって 2 次元空間と高密度周波数多重化 RF 信号群を一対一対応させる．高密度周波数多重化蛍光 RF 信号を DCS によって取得し，スキャンレスに 2 次元蛍光イメージを再構成する．このとき，DCS によって得られる振幅スペクトルと位相スペクトルは，それぞれ蛍光強度像と蛍光寿命像に相当する．さらに，2 次元蛍光スポット群と共役な位置に共焦点ピンホールアレイを配置することで，フルフィールドイメージに共焦点性を付与することも可能である．

これまでに，中心波長 1560 nm の Er ファイバーコムを用いて，PPLN 結晶により 520 nm 帯に波長変換した後に原理検証を行ってきた．しかし，1 pixel 当たりの励起光強度が 10nW 以下と弱く，リアルタイムイメージングへの応用は困難であった．今回，PPLN 結晶に入力する 1560nm 光コムのスペクトルおよびパルス幅の最適化を行い，励起光強度を向上させた．図 1 に，取得レート 1.0 fps で得た蛍光時間波形と蛍光 RF スペクトルを示す．サンプルは，300 μM ローダミン 6G 水溶液とし，励起光の一部をネガ型テストチャートによってマスクした．図 2 に，得られた蛍光像を示す．このように，明瞭なサンプル構造が確認できる．

本研究は(財)マツダ財団 第 33 回マツダ研究助成，科研費(18K13768)，および JST, ERATO 美濃島知的光シンセサイザプロジェクトの助成を受けた．

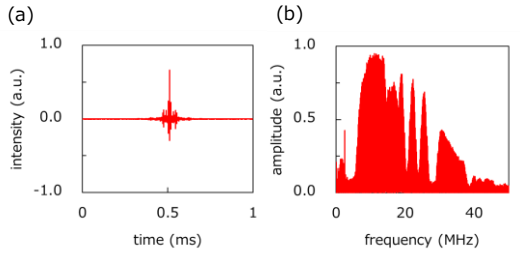

Fig. 1 (a)Temporal fluorescence waveform, (b) RF spectrum.

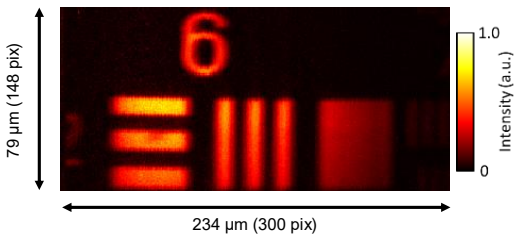

Fig. 2 Fluorescence image.

参考文献

[1] 水野他，第 79 回応用物理学会秋季学術講演会，19p-438-11 ，2018 年 9 月，名古屋.
[2] E. D. Diebold, et. al., Nat. Photonics **7**, 806-810 (2013).

© 2019年 応用物理学会