

周波数分割多重による超高速蛍光寿命イメージング

Ultrafast fluorescence lifetime imaging microscopy by frequency-division multiplexing

東大理¹, (M1)菅野 寛志¹, ○三上 秀治¹, 合田 圭介¹

School of Sci., Univ. of Tokyo¹, Hiroshi Kanno¹, °Hideharu Mikami¹, Keisuke Goda¹

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

蛍光寿命顕微鏡は、測定対象の局所的な環境(ph, 温度等)を測定可能であり、また通常の蛍光強度分布をマッピングする蛍光顕微鏡と比べて定量性が高いことから生物学、物理化学等の様々な分野において有用な観察・計測ツールとして用いられている。従来の蛍光寿命顕微鏡は撮像時間が秒～分単位であることが一般的であり、測定対象は静止した試料に限られていた。近年、リアルタイムに蛍光寿命像を撮像するニーズの高まりに伴い、複数の高速化方式が提案・実証されているが、依然として撮像速度は100 フレーム/秒程度以下であり[1]、動き回る生体試料の観察や、大量の試料のスクリーニングなどの応用には不十分である。

今回我々は、周波数分割多重顕微鏡[2, 3]を応用した、超高速蛍光寿命イメージング法を報告する。周波数分割多重顕微鏡は、レーザー走査顕微鏡の撮像過程を多重化した単一ピクセルイメージングであり、CCD・CMOS イメージセンサーのデータ転送速度を超えた速度での撮像を可能にする(Fig. 1)。本方式では、異なる周波数で強度変調された励起光スポット列をサンプルに同時照射・走査することで、励起光と同じ変調周波数の蛍光信号を観測する。その後、信号処理によって各変調周波数成分を抜き出し、励起光と蛍光信号の位相差を測定することで、サンプルの蛍光寿命値を推定することができる。これにより、約1,000 フレーム/秒を上回る従来よりも圧倒的に高速な撮像が可能となる。原理確認のため、変調帯域約200 MHzの励起ビーム列を用いて蛍光ビーズの蛍光寿命像を取得し、16,000 フレーム/秒での撮像が可能であることを確認した。本手法は、蛍光共鳴エネルギー移動の観測や、蛍光寿命イメージングフローサイトメトリーなど、幅広い分野での応用展開が期待される。

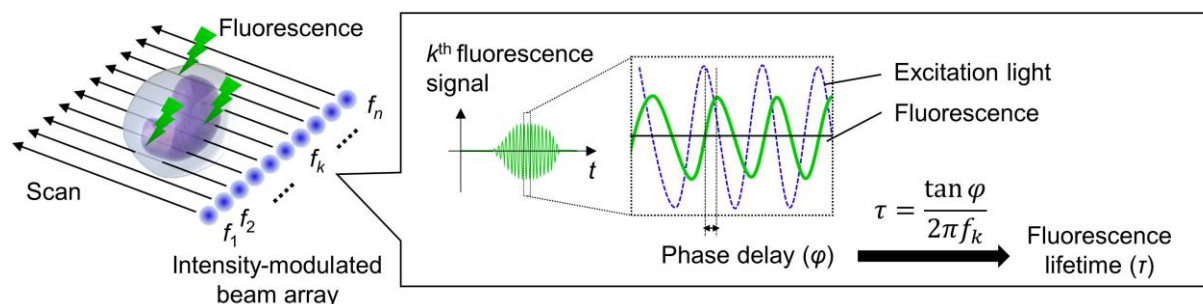


Fig. 1. Principle of ultrafast fluorescence lifetime imaging by frequency-division multiplexing.

[1] A.V. Agronskaia *et al.*, J. Phys. D: Appl. Phys. **36**, 1655 (2003).

[2] H. Mikami *et al.*, Optica **5**, 117 (2018).

[3] H. Kanno *et al.*, Opt. Lett. (2019) in press.