

## 時間多重化マルチライン時空間集光顕微鏡による光軸方向の分解能向上

### Enhancement of the axial resolution with time-multiplexed multi-line temporal focusing microscopy

理研光子<sup>1</sup>, 慶大理工<sup>2</sup> 京大生命<sup>3</sup>, 理研脳神経科学<sup>4</sup> ○稲澤 健太<sup>1,2</sup>, 石川 智啓<sup>1,2</sup>,

磯部 圭佑<sup>1,3</sup>, 並木 香奈<sup>4</sup>, 道川 貴章<sup>1,4</sup>, 宮脇 敦史<sup>1,4</sup>, 神成 文彦<sup>2</sup>, 緑川 克美<sup>1</sup>

RIKEN RAP<sup>1</sup>, Keio Univ.<sup>2</sup>, Kyoto Univ.<sup>3</sup>, RIKEN CBS : Kenta Inazawa<sup>1,2</sup>, Tomohiro Ishikawa<sup>1,2</sup>, Keisuke Isobe<sup>1,3</sup>,

Kana Namiki<sup>4</sup>, Takayuki Michikawa<sup>1,4</sup>, Atsushi Miyawaki<sup>1,4</sup>, Fumihiko Kannari<sup>2</sup>, Katsumi Midorikawa<sup>2</sup>

E-mail: ina-ken1022@keio.jp

時空間集光顕微鏡[1]はレーザー走査無しで多光子蛍光の断層像を取得可能な顕微鏡であるため、多細胞の相互作用を観察するための手段として期待されている。しかしながら、回折格子による分光方向(x)と垂直な方向(y)における空間集光特性を持たないため光軸方向の分解能はレーザー走査型多光子顕微鏡と比べると低い。この問題を解決するため y 方向において多焦点で空間集光を行うマルチライン時空間集光に反射型エッセル回折格子を用いた時間分割多重化技術[2]が応用されている[3]。しかし、エッセル回折格子によって分割されたビームを回折限界まで集光するために、試料面までの結像倍率が 1000 倍以上必要であり、視野が直径  $5\ \mu\text{m}$  と非常に狭い。本発表では、この問題を解決するために時間多重化プレートと Digital micromirror device (DMD)を応用し時間多重化マルチライン時空間集光顕微鏡を提案する。

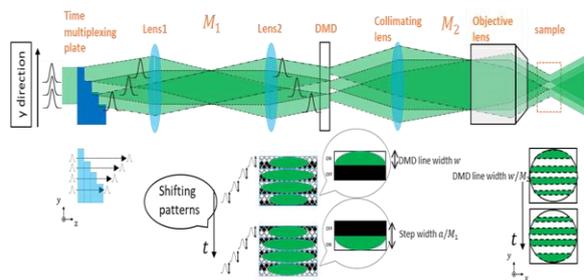


Fig.1 Schematic of time-multiplexed multi-line temporal focusing (TM-ML-TF) microscopy.

Fig.1 に y 方向における本提案手法の概要図を示す。時間多重化プレートと DMD は 2 つの 4-f 系で構成され試料面と共役な位置に配置されている。前者で隣り合うビーム間に遅延時間を与え、後者でマルチライン

の時空間集光を行う。DMD に表示するマルチラインの幅を狭くすることによって、回折限界まで集光できるため、時間多重化プレートから試料への結像倍率を下げるができる。このとき、試料面にできるライン間のギャップをなくすためにマルチラインのシフトが数回必要となるが、DMD の高速パターン切り替えで走査すれば、画像取得時間の低下はほとんどない。

Fig.2 に時間分割多重化マルチライン時空間集光顕微鏡における二光子観察画像を示す。時間分割多重化によって、マルチラインにおける焦点面外での励起を抑制できることを確認し、時空間集光と比べ、光軸方向の分解能は半値全幅で 2.37 倍の向上を達成した。

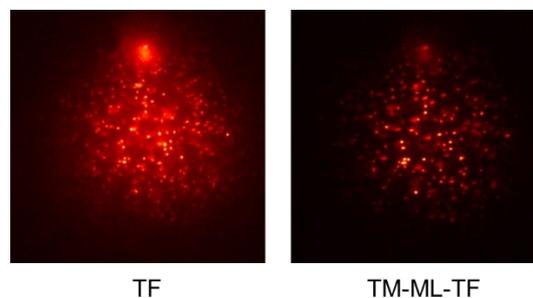


Fig.2 2-photon fluorescent image with temporal focusing (TF) and TM-ML-TF.

### 謝辞

本研究は、科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業 CREST (JPMJCR1851, JPMJCR1921), MEXT/JSPS KAKENHI Grant Number JP18H04750 “Resonance Bio” からの助成を受けて行われました。ここに深く感謝の意を表します。

### 参考文献

- [1] D. Oron et al., Opt. Express **13**, 1468 (2005).
- [2] A.Egner et al., J. Opt. Soc. Am. A **17**, 1192 (2000).
- [3] A. Vaziri et al., Opt. Express **18**, 19645 (2010).