

## サブ回折限界照明顕微鏡における奥行き方向分解能の評価

## Evaluation of axial resolution in subdiffraction-limited illumination microscopy

阪大院情<sup>1</sup>, 阪大院工<sup>2</sup>, 宇大工<sup>3</sup>, 神奈工大バイオ<sup>4</sup>○山田 理己<sup>1</sup>, 小倉 裕介<sup>1</sup>, 西村 隆宏<sup>2</sup>, 玉田 洋介<sup>3</sup>, 村田 隆<sup>4</sup>, 谷田 純<sup>1</sup>Graduate School of Information Science and Technology, Osaka University<sup>1</sup>,Graduate School of Engineering, Osaka University<sup>2</sup>,School of Engineering, Utsunomiya University<sup>3</sup>,Department of Applied Bioscience, Kanagawa Institute of Technology<sup>4</sup>Riki Yamada<sup>1</sup>, Yusuke Ogura<sup>1</sup>, Takahiro Nishimura<sup>2</sup>,Yosuke Tamada<sup>3</sup>, Takashi Murata<sup>4</sup>, and Jun Tanida<sup>1</sup>

E-mail: r.yamada@ist.osaka-u.ac.jp

レーザー走査型顕微鏡は、共焦点位置に配置されるピンホールによりコントラストやセクショニング性能の高い画像を得ることができる。我々は、回折限界スポットよりも小さな複数のサブ回折限界スポットを走査し、イメージセンサ取得画像群から観測画像を再構成する超解像イメージング手法を報告している[1]。これにより空間分解能の向上や、光スポットの並列走査によるフレームレート向上が期待できる。本手法の三次元イメージングに対する有効性の検証を進めてきたが、焦点外の物体構造による散乱に起因する画像コントラストの低下が課題となっている。これに対して、画素値の分散を用いて再構成する処理[2]を導入することで、コントラストが向上することを確認している[3]。この手法では、走査中の強度変動が小さい散乱信号を効果的に除去することができる。しかし、サブ回折限界照明は奥行き方向に対し複雑なパターン変化が生じ、単一の回折限界スポット走査による従来法とは三次元イメージングの特性が異なるため、さらなる調査が必要である。そこで、本研究では、提案手法の性能の定量的評価の一つとして、奥行き方向の分解能について検討した。

実験では、量子ドットの凝集体を観察対象として三次元蛍光イメージングを行なった。7×7のサブ回折限界光スポットを出力する位相変調を空間光変調器(SLM;HOLOEYE, LC2012)により実装した。波長 488nm のレーザー(Coherent, Inc., OBIS FP 488LX)を光源とし 100 倍油浸対物レンズ(NA=1.4)により試料面に光パターンを生成した。水平方向の走査間隔は各スポット間の距離 370nm を考慮し 37nm とした。奥行き方向の走査間隔は 80nm, 取得画像枚数を 30 枚とした。画像から適当な位置の画素値を抽出して配置する従来の再構成法による画像を Fig. 1(a), 分散を用いた再構成法による画像を Fig. 1(b)に示す。また、量子ドットの中心位置付近の強度プロファイルの比較を Fig. 2 に示す。焦点外の散乱信号を除去する再構成処理により奥行き方向の分解能が向上されている。また、蛍光タンパク質が導入されたチューブリンに対しても同様の効果が得られることを確認した。

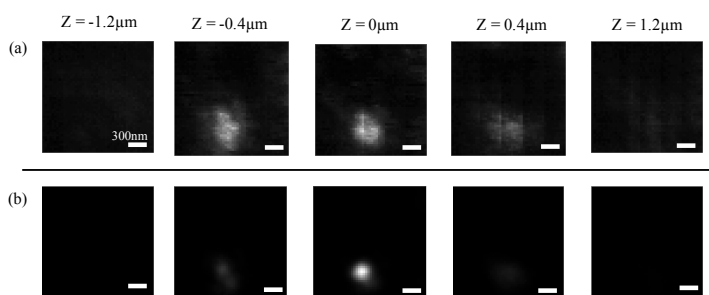


Fig.1 Fluorescence images of quantum dots obtained by our scanning microscopy using (a) a conventional reconstruction method and (b) the variance-based reconstruction method.

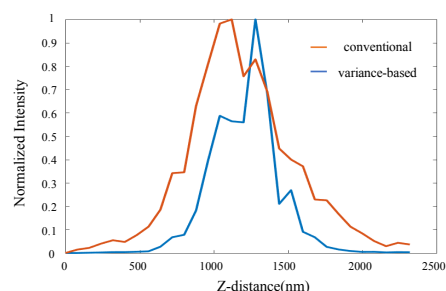


Fig.2 Axial intensity profiles around the center position of the quantum-dot aggregate.

本研究の一部は、JSPS 科研費 JP20H02657, JP20H05886 の助成を受けたものです。

[1]小倉 他, 第 65 回応用物理春季学術講演会, 19p-B201-3 (2018).

[2]Wei Zhang *et al.*, Optics Express **28**, 10919-10927 (2020).

[3]山田 他, Optics & Photonics Japan 2020 (OPJ2020), 17aB2 (2020).