

全視野デュアル光コム蛍光寿命顕微鏡の開発

Full-field Fluorescence Lifetime Dual-comb Microscopy

徳島大 pLED¹, JST, ERATO 美濃島 IOS², 徳島大³, 宇都宮大⁴, アンリツ ARL⁵

○水野 孝彦^{1,2,5}, 長谷 栄治^{1,2}, 南川 丈夫^{1,2,3}, 時実 悠¹, 麻植 凌³,

是澤 秀紀³, 山本 裕紹^{2,3,4}, 安井 武史^{1,2,3}

pLED, Tokushima Univ.¹, JST, ERATO Minoshima IOS²,

Tokushima Univ.³, Utsunomiya Univ.⁴, ARL, Anritsu Corp.⁵

○Takahiko Mizuno^{1,2,5}, Eiji Hase^{1,2}, Takeo Minamikawa^{1,2,3}, Yu Tokizane¹, Ryo Oe³,

Hidehiko Koresawa³, Hirotsugu Yamamoto^{2,3,4}, Takeshi Yasui^{1,2,3}

E-mail: yasui.takeshi@tokushima-u.ac.jp <https://femto.me.tokushima-u.ac.jp>

蛍光寿命顕微鏡(FILM; fluorescence lifetime imaging microscopy)は、蛍光強度でコントラストをつける蛍光顕微鏡法に対して、強度と独立した蛍光寿命をコントラストとして新たなイメージを提供するものである。従来の一般的な FILM では、パルスレーザを励起光源として、観察点を 2 次元走査する走査イメージング法によって蛍光寿命イメージを得ていた。しかし観察点の走査速度が無視できず、リアルタイムイメージング等への障害となっていた。そこで我々は、機械的走査を完全に除去した広視野蛍光イメージング法として、2 次元波長分散素子(2D-SD; 2D spectral disperser)を用いたスペクトルマッピング法およびデュアルコム分光法の原理を応用した全視野スキャンレス蛍光顕微鏡を提案した[1]。

図 1 に原理を示す。まず、繰り返し周波数がわずかに異なる 2 台の光コム光源を合波すると波長毎に独立した 44,400 ものデュアル光コム干渉ビート群が RF 周波数帯域に得られる。これを VIPA 回折格子対で構成した 2D-SD に導入することで、空間 1 点と RF ビート周波数に 1 対 1 の対応関係が得られる。蛍光は線形周波数応答を示すので、このビートによって蛍光を励起すると RF 帯域に蛍光の定常周波数応答が重畳された蛍光信号が得られる。これを周波数分解することで蛍光像が回復できる。ここで、周波数分解によって蛍光の振幅と位相が得られるが、振幅は蛍光強度に依存し、一方、位相は蛍光寿命に依存する。すなわち、蛍光強度イメージと蛍光寿命イメージを同時に取得できる。図 2 に測定例を示す。本手法による最大フレームレートは 2 台の光コム光源の繰り返し周波数差となり、原理的に最大 980 フレーム/秒まで高められる。この高フレームレート性により細胞内での分子の広がりや動きをつぶさに観察でき、生きた細胞の定量的評価が必要なライフサイエンス研究への応用が期待できる。

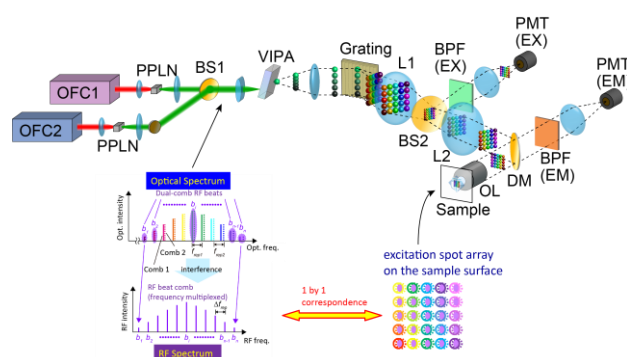


Fig. 1 Principle of operation of full-field fluorescence lifetime dual-comb microscopy.

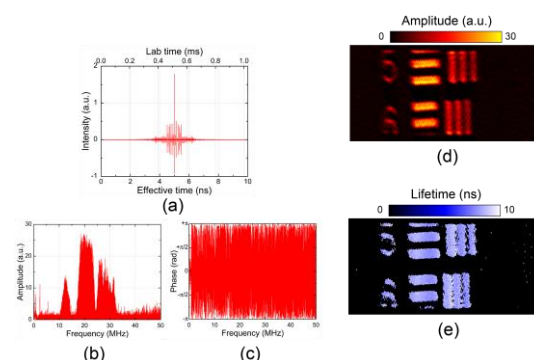


Fig. 2 Experimental results: (a) Temporal waveform, (b) amplitude spectrum, (c) phase spectrum of fluorescent RF comb modes. (d) Fluorescence intensity image, and (e) fluorescence lifetime image.

本研究は科研費(18H01901, 18K13768, 19H00871), JST, ERATO 美濃島知的光シンセサイザプロジェクト, 内閣府, 地方大学・地域産業創生交付金の助成を受けた。

[1] T. Mizuno, *et. al.*, Sci. Adv. 7, eabd2102 (2021).