

蛍光寿命イメージングに向けた励起光の疑似ノイズ変調による デッドタイムレス測定法

Dead-time-less Measurement with Pseudo-noise Modulated Excitation Light for Fluorescence Lifetime Imaging

東理大理¹, 電通大² ○山田 弘夢¹, 瀬戸 啓介¹, 小林 孝嘉², 徳永 英司¹

Tokyo Univ. Sci.¹, Univ. Electro-Commun.²,

○Hiromu Yamada¹, Keisuke Seto¹, Takayoshi Kobayashi², Eiji Tokunaga¹

E-mail: 1219539@ed.tus.ac.jp

蛍光寿命イメージング (FLIM) では、試料のイオン濃度、pH 値、屈折率、溶存ガス濃度、生体組織中の局所環境などのパラメーターを測定できる^[1]。FLIM は、パルス励起した蛍光の減衰曲線から寿命を測定する。緩和中は励起光を入射せず、初期に励起した蛍光のみを取得する。十分な信号雑音比(S/N)を確保するために時に数十秒以上の積算時間を伴う。我々は、蛍光緩和を待つ励起のデッドタイムを無くし、FLIM を高速化する新奇法を開発した。

本方法では、蛍光の十分な緩和を待たずに、疑似乱数で変調された励起光パルスを照射する。離散時間(k)系で試料のインパルス応答を $g(k)$ 、変調波形を $u(k)$ とすると、検出信号は $y(k) = \sum_{\tau=0}^{\infty} g(\tau)u(k-\tau)$ である。ここで、

$$\sum_{k=1}^N [u(k-\tau)u(k-\tau')] = \delta_{\tau,\tau'} \quad (\text{クロネッカデルタ})$$

ならば、

$$g(\tau') = \sum_{k=1}^N [y(k)u(k-\tau')] \quad (1)$$

の相関により、応答が得られる。

実験では、励起光に 532 nm の LD を用いた (Fig. 1)。励起光を EOM で M 系列の疑似乱数で変調し、試料に入射する。発光信号はビットシフトさせた疑似乱数と相関がとられる。試料は燐光性の白金オクタエチルポルフィリン (PtOEP) のクロロホルム溶液 (32 μ M) である。

Fig.2 (a) は、励起光を単一パルスとしてオシロスコープで得た減衰曲線である。Fig.2 (b) の黒線は (a) の波形を疑似乱数 1 ビットの時間窓で移動平均したものである。本方法の結果 (Fig.2 (b) 赤点) は、オシロスコープによる結果とよく一致している。本実験では、励起光を従来の単一パルスではなく疑似乱数パターンの 32 パルスとしているため、従来の 1/32 の時間で同品質の S/N が得られる。実験結果にある誤差は、マイコンの動作速度不足に起因する。本講演では、上記の系統誤差を改善した結果を報告する予定である。本方法は光変調器と検出器、相関器を高速なものにすることで FLIM への適用が可能である。

[1] Varun Mannam et al 2020 *J. Phys. Photonics* 2 042005

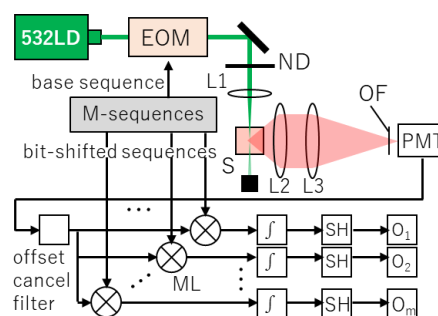


Fig.1 System for present phosphorescence lifetime measurement. EOM: modulator, S: sample, ML: multiplier, SH: sample-and-hold circuit.

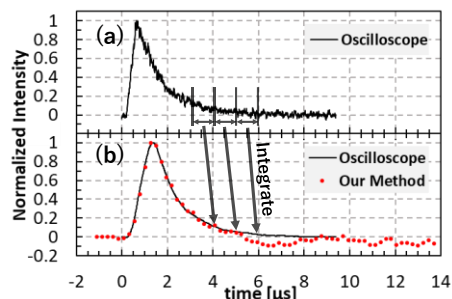


Fig.2 Measured phosphorescence decay curve of PtOEP-chloroform solution. (a) Decay curve observed with an oscilloscope after the sample was excited by single pulse, (b) Black line; decay curve calculated from (a), red dots; the result of our method.