

多光子励起蛍光を用いた生体深部イメージング



北海道大学 電子科学研究所 教授
根本知己

▼講演概要▼

多光子顕微鏡（2光子顕微鏡）は、2光子励起過程や高次高調波発生などの非線形光学過程を用いた顕微鏡法である。本顕微鏡法は、生体組織深部でイメージングを可能とすることから、神経回路や神経細胞の機能や分子基盤の可視化解析には不可欠なものとなってきている。

我々は半導体レーザー、補償光学、ベクトルビーム等の光技術を活用し、深部到達性や空間分解能向上や超解像顕微鏡化を推進してきた。マウス生体脳は通常の2光子顕微鏡法では、数 $100\mu\text{m}$ の深さまでしか観察できないが、我々は新規高出力半導体LD光源および高感度蛍光検出器を組み合わせ、深さ 1.5mm の海馬歯状回を、非侵襲的に *in vivo* 観察することに成功した (R. Kawakami, et al., *Biomed. Opt. Express*, 6 (2015) 891)。

さらに現在、補償光学を用いることで、試料深部の空間分解能と蛍光シグナルの強度を向上させることにも成功している (A. Tanabe, et al., *J. Biomed. Opt.* 20(2014) 101204, A. Tanabe, et al., *J. Biomed. Opt.* 21 (2015) 121503)。また、方位偏光ビームやラゲールガウス型の位相分布を持つレーザービーム（光渦）を集光した場合には光軸中心に特異点が存在し、ビーム断面の強度分布がドーナツ状になる。

我々は、透過型液晶素子を用いて発生させた光渦を用いた STED 光を焦点位置で形成させることにより、正立型の2光子顕微鏡の超解像化を試みた (K. Otomo, et al., *Optics Express*, 2014)。実際、直径 170nm の蛍光ビーズ像の直径は FWHM で、通常の2光子顕微鏡では 330nm であったものが 170nm まで改善され、およそ2倍の向上が確認された。

さらに、微小管を蛍光抗体法にて標識した固定培養細胞の画像では、通常の2光子励起顕微鏡では判別が困難な微小管の微細な構造が可視化できた。以上のように、既存の光学顕微鏡のデザインを大幅に改良することは無しに、空間分解能の向上を実現することができた。このようなアプローチは、生命科学分野において超解像顕微鏡法の広い普及や超分子複合体構造の分子構築に関する新規知見に貢献する可能性がある。本発表では、最近の進捗を紹介すると共に、本法の可能性について議論を行いたい。

なお、本研究は科学研究費補助金、JST・CREST、AMED・革新脳等の支援を受けて実施された。