

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		深部超解像イメージング技術の開発			
研究テーマ (欧文) AZ		Development of super-resolution deep imaging technique			
研究氏 代表 者	カナ CC	姓)イソベ	名)ケイスケ	研究期間 B	2011 ~ 2012 年
	漢字 CB	磯部	圭佑	報告年度 YR	2013 年
	ローマ字 CZ	Isobe	Keisuke	研究機関名	独立行政法人理化学研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名		独立行政法人理化学研究所 基幹研究所 緑川レーザー物理工学研究室・基幹研究所研究員			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>光学顕微鏡は生きたままの生体試料中における生命現象を3次元可視化するための重要な技術となっている。特に、生体試料中において透過性の高い近赤外光を用いた非線形光学顕微鏡は深部イメージングにおいて有用とされている。しかし、それでもなお、観察する深さが深くなるほど集光点以外(主に試料表面)で背景光が発生し、集光点近傍で発生する信号光と区別がつかなくなるため、観察可能な深さが制限されている。また、波長が長い近赤外光を励起光として用いるため、可視光を用いる線形光学顕微鏡より空間分解能が低下している。本研究では、2波長パルス光を励起光として用いる全ての非線形光学顕微鏡の観察可能な深さと3次元空間分解能を向上させる技術を開発した。</p> <p>2波長パルスを用いて励起可能な非線形光学過程は全て、2波長パルスを時間的、空間的に重ね合わせなければ観測できず、パルス間の時間的、空間的な重なり揺らぎは信号光強度の揺らぎになるため、従来手法ではパルス間の揺らぎを抑制している。本研究では、故意に2波長パルスの空間的な重なりに変調を与えて、発生する非線形信号光強度に揺らぎ(変調)を生じさせた。非線形光学顕微鏡では励起光を高い開口数の対物レンズを用いてきつく集光するので、2波長パルスが空間的に重なっている領域の揺らぎの大きさ、すなわち変調深さは集光点で最も大きく、集光点から離れるほど小さくなる。そのため、空間重なり変調によって特異的に変調された非線形信号のみを検出することにより、信号発生領域よりも小さな領域の信号を抽出することが可能となった。本手法により集光点以外で発生する背景光を約100倍抑制し、従来の非線形光学顕微鏡の2倍の深さまで観察可能となることがわかった。また、空間分解能を約1.4~1.8倍向上させることに成功した。本手法は深部超解像イメージングが可能な次世代の非線形光学顕微鏡の実用化につながるだろう。</p>					
キーワード FA	非線形光学顕微鏡	3次元イメージング			

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Background-free deep imaging by spatial overlap modulation nonlinear optical microscopy							
	著者名 ^{GA}	K. Isobe <i>et al.</i>	雑誌名 ^{GC}	Biomedical Optics Express					
	ページ ^{GF}	1594 ~ 1608	発行年 ^{GE}	2	0	1	2	巻号 ^{GD}	3
雑誌	論文標題 ^{GB}	深部超解像イメージングのための非線形光学顕微鏡							
	著者名 ^{GA}	磯部圭佑、 緑川 克美	雑誌名 ^{GC}	Oplus E					
	ページ ^{GF}	870 ~ 875	発行年 ^{GE}	2	0	1	2	巻号 ^{GD}	3 4
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

Nonlinear optical microscopy has the advantage of being able to image deeper within samples than linear optical microscopy when near-IR excitation is employed that falls in the window for maximum optical transparency in biological systems. Nonetheless, deep imaging is intrinsically difficult since the background signal is generated in out-of-focus regions. In addition, nonlinear optical microscopy using near-IR light has a lower spatial resolution than linear optical microscopy employing visible light because the effective focal spot size depends more on the wavelength than the intensity. Here, we demonstrated not only the suppression of the out-of-focus signals but also the enhancement of the spatial resolution by nonlinear optical microscopy using spatial overlap modulation of two-color pulses.

Nonlinear optical processes that are excited by a combination of two-color pulses are generated only when the two-color pulses are temporally and spatially overlapped. Since the fluctuations of the temporal and spatial overlap between the two-color pulses produce the fluctuation of the nonlinear signals. Thus, in conventional nonlinear optical microscopy, the temporal and spatial overlap has been locked. In our technique, however, the spatial overlap is actively modulated. Then, the nonlinear signals are temporally modulated and the frequency dependence of the nonlinear signal varies from the center to the edge in the focal volume. The components of the nonlinear signal at the center in the focal volume consist of even multiples of the modulation frequency, while those of the nonlinear signals towards the edge are odd multiples of the modulation frequency. Therefore, the spatial resolution is enhanced by extracting the even multiple frequency components of the modulation frequency. In addition, because the modulation depth of the spatial overlap in the focal region is much greater than those in out-of-focus regions, out-of-focus background signals, which limit the obtainable imaging depth, are well suppressed. We suppressed out-of-focus signals by a factor of 100, and enhanced the spatial resolution by factors of 1.4-1.8 respectively. Our technique would open up super-resolution imaging at large depths.