

広視野型 2 光子励起ライトシート顕微鏡の開発

Development of wide field 2-photon excitation light-sheet microscopy

齋藤卓^{1,2}、今村健志^{1,2}

¹愛媛大・院 医学系研究科、²愛媛大・附属病院 先端医療創生センター

近赤外光を利用した 2 光子励起現象の新たな利活用によって、(1) 観察対象への低い光毒性、(2) 広い視野範囲、(3) 高い空間分解能、の 3 条件の向上を達成する光シート蛍光顕微鏡を開発した。2 光子励起顕微鏡は、生体に優しい蛍光イメージングを行うための装置であるが、2 光子励起を起こすためには狭い範囲に光を集中させる必要があるために励起範囲（光シート顕微鏡では“視野範囲”）が狭くなってしまうという特性がある。本研究ではこれを解決するためにレーザー集光範囲を光軸方向に伸長させる（励起範囲を広げる）ベッセルビーム形成ユニットを作製した。このユニットを使うことで、分解能を 2-3 μm （10 倍拡大率、開口数 0.3 の対物レンズを利用した場合）に保ったまま、ビーム長を 600-1000 μm の範囲で変化させることができることを示した。この光学ユニットを用いて視野性と解像度に優れた 2 光子励起光シート蛍光顕微鏡を構築し、小型魚類（メダカ）の観察に応用し、メダカ稚魚での全身での脈管系イメージング、全脳神経細胞イメージングに成功した。本技術により、多様な生物の成長過程を細胞レベルの高分解能で、生きたまま観察することができるようになる。