

時間多重化マルチライン時空間集光法を用いた多細胞同時多光子光刺激

Simultaneous multi-photon photostimulation of multi cells using time multiplexed multi line temporal focusing

○稲澤 健太^{1,2,3},磯部 圭佑^{1,2},道川 貴章^{1,2,4},並木 香奈⁴,宮脇 敦史^{1,4},緑川 克美¹

(¹理研光量子、²京大生命、³浜松ホトニクス(株)、⁴理研脳神経科学)

○Kenta Inazawa^{1,2,3}, Keisuke Isobe^{1,2}, Takayuki Michikawa^{1,2,4}, Kana Namiki⁴, Atsushi Miyawaki^{1,4},

Katsumi Midorikawa¹

(¹RIKEN RAP, ²Kyoto University, Graduate school of Biostudies ³Hamamatsu Photonics K.K. , ⁴RIKEN CBS)

1. はじめに

生体の活動と神経活動を効率的に紐づけるためには、複数の細胞を同時に光刺激することが有効である。時空間集光法(TF)と計算機合成ホログラム(CGH)を組み合わせた方法によって、レーザー走査を不要としながら複数の細胞を同時に光刺激することが実現されている¹⁾。しかしながらTF-CGHではマルチスポット間の距離が近い場合、干渉する²⁾ため狙ったパターンでの光刺激を実現することは困難である。加えてTFは走査型のポイント集光と比べると深さ方向の分解能は低い³⁾ため、異なる深さ方向に存在する細胞も刺激されてしまう。ここで我々はこの問題を解決すべく、TF-CGHに時間多重化マルチライン集光技術(TM-ML)³⁾を組み合わせた。本発表では時間多重化によって得られるマルチスポット間における干渉の抑制の効果と深さ方向の改善におけるマルチパターン光刺激領域の局所化について報告する。

2. 時間多重化マルチライン時空間集光

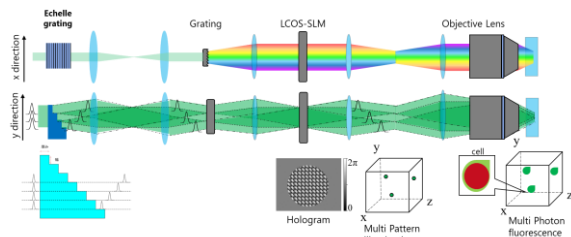


Fig1. Schematics of Time-multiplexed multi-line Temporal focusing with Computer Generated Holograms at xy-direction.

Fig.1にTM-ML-TF-CGHの模式図を示す。自作した透過型エッシェル回折格子によって時間多重化マルチライン集光が実現される。エッシェル回折格子と共役な位置に配置された回折格子によりTFが実現され、試料に結像される。対物レンズの瞳と共役な位置に配置されたシリコン型空間光変調器によってCGHが実現されマルチスポットパターン生成を可能とする。

Fig.2(a),(b)にTF-CGH, TM-ML-TF-CGHそれぞれで8つのマルチスポットを平面方向に形成し

た際の2光子蛍光画像を示す。マルチスポットにおけるスポット間距離は $7\mu\text{m}$ とした。Fig.2(a)では干渉の影響により、パターンが歪んでいるが、Fig.2(b)ではパターン間の干渉を抑制でき綺麗なマルチスポットパターンを確認した。Fig.2(c),(d)にTF-CGH, TM-ML-TF-CGHそれぞれで深さ方向に2つのマルチスポットを形成した際の2光子蛍光画像を示す。Fig.2(c)では干渉の影響に加え、深さ方向の分解能が低い影響からスポット間で二光子励起が強く行われている。一方でFig.2(d)はスポット間での励起を大幅に抑えることが可能となっている。

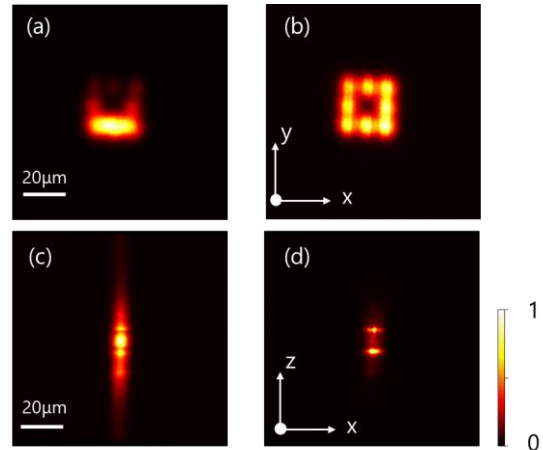


Fig2. 2-photon fluorescent image of thin Rhodamine B by laterally arranged 8-spot pattern of (a) TF, (b) TM-ML-TF and axially arranged 2-spot pattern of (c) TF, (d) TM-ML-TF

謝辞

本研究は科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業 CREST (JPMJCR1851, JPMJCR1921), MEXT/JSPS KAKENHI Grant Number JP18H04750 “Resonance Bio”からの助成を受けて行われました。ここに深く感謝の意を表します。

References

- [1] Papagiakoumou, E., *et al.*, (2008). “Patterned two-photon illumination by spatiotemporal shaping of ultrashort pulses.” *Optics Express*, 16(26).
- [2] Sun, B., Salter, *et al.*, (2017). Four-dimensional light shaping: manipulating ultrafast spatiotemporal foci in space and time. *Light: Science & Applications*, 7(1), 17117–17117.
- [3] Inazawa, K., *et al.*, (2021). Enhancement of optical sectioning capability of temporal focusing microscopy by using time-multiplexed multi-line focusing. *Applied Physics Express*, 14(8), 082008.