

多光子(二光子)顕微鏡(2/3): 極短パルス励起光により明るい画像

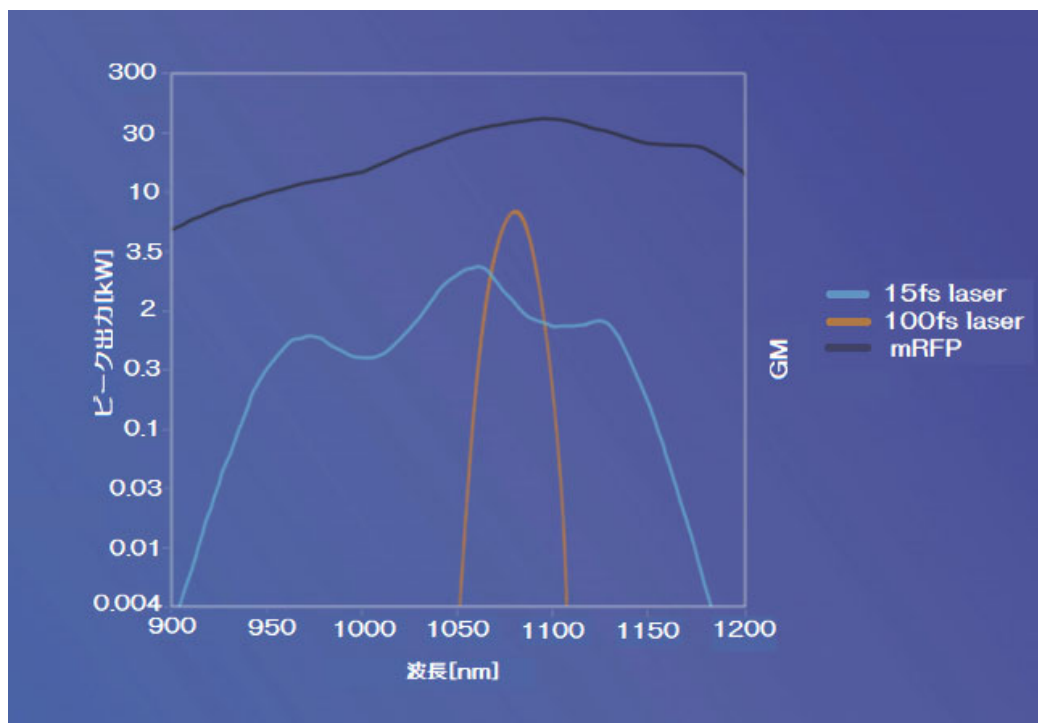
キーワード: 多光子(二光子)励起顕微鏡、SHG顕微鏡、フェムト秒レーザー、極短パルス、生体イメージング、深部、低光毒性、明るさ、高い励起効率

前回1/3の号では、二光子励起顕微鏡用光源として、パルス幅15fsのFYLA社製Cycloneのような近赤外レーザーが、これまで標準とされた100fsレーザーと比較すると、同様の繰り返し周波数と平均出力において7倍以上の光量子束を提供できることを紹介しました。

しかし、このように時間と面積あたりで利用できる光子の数が飛躍的に向上した場合、画像の明るさにはどのような影響があるのでしょうか？

理論的には、二光子顕微鏡の画像の明るさは、光量子束と蛍光色素の2次非線形励起断面積(GM)に2次関数的に依存する励起効率に直接関係します。(GM=10⁻⁵⁰ cm⁴ photon⁻¹s)

例えば、蛍光タンパク質mRFPを15fsレーザー(Cycloneなど)で1050nmに照射した場合の励起効率を、100fsレーザーと比較して計算することができます。波長帯域幅が200nmを有する15fsレーザーは、11nm程の100fsレーザーと比較して、900~1200nmと非常に幅広い波長域でmRFPを励起することができます。



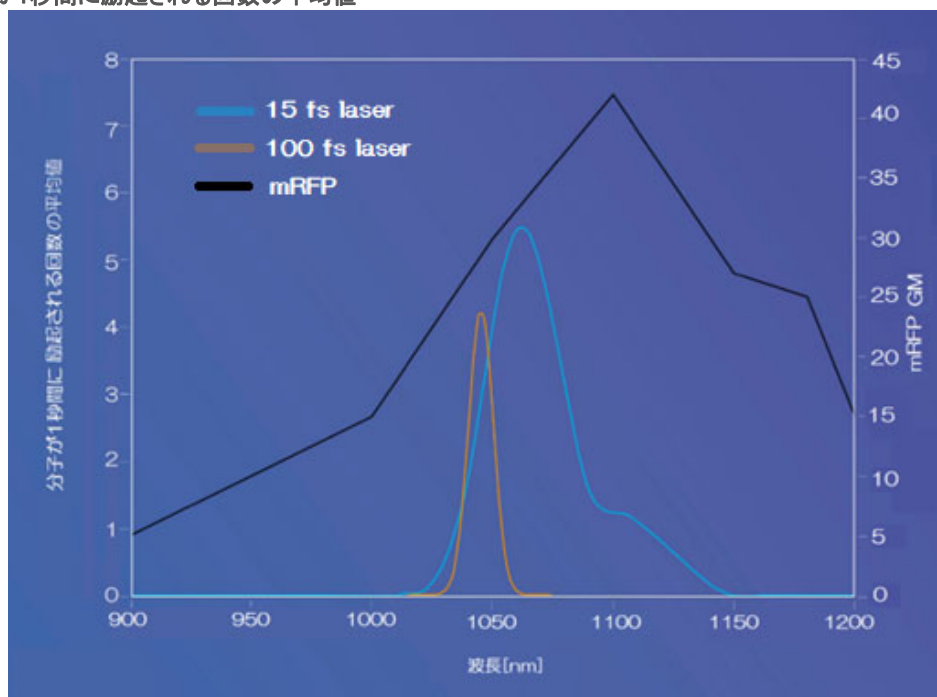
青線: ピーク出力=Cyclone全ファイバ・レーザー(15[fs]、中心波長@1050[nm])

橙線: ピーク出力=他社固体レーザー(100[fs]、中心波長@1050[nm])

黒線(右側縦軸): mRFPの2次非線形励起断面積(GM)

各波長におけるピーク出力と励起断面積を考慮すると、mRFPの励起効率が計算できます。その結果、Cycloneなどの15fsレーザーでは、従来の100fs固体レーザーと比べ、効率が50%向上することが分かりました。

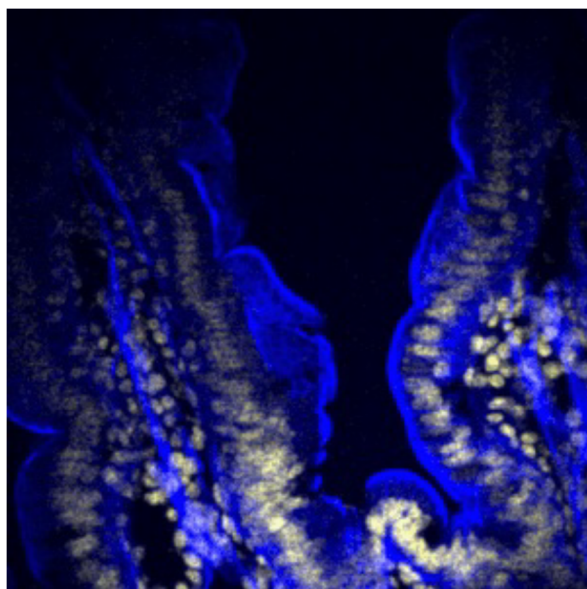
分子が1秒間に励起される回数の平均値



青線:ピーク出力=Cyclone全ファイバ・レーザ(15[fs])

橙線:ピーク出力=他社固体レーザ(100[fs])

黒線(右側縦軸):mRFPの2次非線形励起断面積(GM)



マウス腸管切片の二光子蛍光顕微鏡画像

核を SYTOX Green で(黄色)、アクチンフィラメントを Alexa Fluor 568 ファロイジンで(青色)染色した。



Ronda Guglielmo Marconi 12. Parque Tecnológico 46980 Paterna – Valencia (Spain)

Tel +34 96 389 10 92 / Fax +34 393 12 95 / www.fyla.com



- ※ 製品のご使用にあたっては、製品に添付されている取扱説明書をよくお読みください。
- ※ 改良のため外観・仕様などを予告なく変更することがありますので予めご了承下さい。
- ※ 本カタログに記載の会社名・製品名は、各社の商標もしくは登録商標です。



M スクエアレーザ社日本総代理店

オーシャン フォトニクス 株式会社 M スクエアレーザ課

〒169-0051 東京都新宿区西早稲田 3-30-16 ホリゾン1ビル

TEL 03-6278-9470 FAX 03-6278-9480

<http://www.oceanphotonics.com> E-mail: sales@oceanphotonics.com