

1P082

シングルショット構造化照明法を用いた

レーザー誘起相分離過程に現れる周期構造の観測

(東北大院・理¹, 東北大院・WPI-AIMR²) ○豊内秀一¹, 梶本真司¹, 戸田昌利¹,
赤間陽二¹, 川勝年洋¹, 小谷元子^{1&2}, 福村裕史¹

Observation of periodic structures during laser-induced phase separation by using single-shot structured illumination microscopy

(Graduate School of Science, Tohoku Univ.¹, WPI-AIMR, Tohoku Univ.²)

○Shuichi Toyouchi¹, Shinji Kajimoto¹, Masatoshi Toda¹, Yohji Akama¹,
Toshihiro Kawakatsu¹, Motoko Kotani^{1 & 2}, Hiroshi Fukumura¹

【序】ある種の有機溶媒と水との二液混合溶液は下部臨界点を持ち、温度上昇によって均一な 1 相状態から有機相、水相が界面を隔てて存在する 2 相状態へと相分離を示す事が知られている。このような溶液に温度上昇を誘起する近赤外光パルスレーザーを照射すると、界面および微小相が生成し、成長することで二相へと相分離する。この相分離初期過程における微小相の成長ダイナミクスはシャドウグラフ法を用いて可視化することで研究されてきたが[1]、観測光の波長以下程度の大きさを持つ微小相は回折限界のために観測する事が出来ていない。近年では回折限界を超える様々な超分解能手法が考案され、生体細胞の観測に広く応用されて来ている[2]。そこで我々はこれまで観測することが出来なかった相分離初期過程の微小相に関する情報を得ることを目的とし、超解像能を有する構造化照明法(SIM)を微小相の観測に応用した。SIM は広視野蛍光顕微手法の一つで、蛍光を誘起する励起光としてある単一の周期構造を持つ構造化照明(SI)を用いる方法である[3]。SI を用いることで観測不可だった周波数がフーリエ変換(FT)の周波数偏移特性によって FT 画像上でシフトし、検出可能となる。通常の SIM では複数枚の蛍光画像を撮影し、超解像イメージを再構成しているが、観測する試料自体が周期構造を有する場合にはシングルショットでの観測が可能であると期待される。本発表ではシングルショット構造化照明によって相分離構造の可視化を行い相分離ダイナミクスについて調べた。

【実験】試料として下部臨界点を持つ水と 2-ブトキシエタノール(2BE)との混合溶液を用いた。この混合溶液の臨界濃度は 2BE モル分率 0.052 で、下部臨界点は 49.2°Cである。試料は混合溶液を 2 枚のスライドガラス間に挟むことで、厚さが 10 μm 程度になるように作製した。試料温度は室温(20~22°C程度)で、近赤外光パルス(波長 1.88 μm, パルス幅 8 ns, 強度 20 mJ/pulse)を照射し、35°C程度の温度上昇と相分離を誘起した。近赤外光パルスは高圧水素ガス中に Nd:YAG レーザー基本波(1064 nm, 8 ns, ~1J/pulse)を集光し、ラマンシフトすることで得た。試料溶液には蛍光色素としてローダミン B を 1.5×10^{-5} M で溶解した。SI は Nd:YAG レーザー第二高調波パルスビーム(532 nm, 6 ns)を位相変調器によって 2 本のビームに分割し、対物レンズ(40 倍, N.A.

0.6)の焦点面で重ね合わせ干渉させることで作製した。近赤外光パルスと SI またはフラッシュランプとの時間差はデジタルディレイジェネレーターを用いて電氣的に制御した。画像のフーリエ変換(FT)などを含めた解析は Matlab を用いて行った。

【結果と考察】 Fig.1(a)-(d)に、均一照明(UI)、および SI によって撮影された蛍光画像と、それぞれのフーリエ変換(FT)画像を示した。スピノーダル分解に際して現れる双連結構造(相分離構造)が綺麗に可視化されている。蛍光色素として使用したローダミン B は有機相中で発光効率が良いことが確認されているため、白く観測されている部分が有機相であると考えられる。FT 画像上には中央にリング状の構造が観測されており、これは相分離構造がある遅延時間に特有の周期構造を持ち、かつ等方的であることを示している。SI によって撮影された蛍光画像にはこの相分離構造に加えて SI の縦縞が見られており、FT 画像上には中央のリング構造が左右にシフトしている様子が観測されている。これは序論で説明したフーリエ変換の周波数偏移特性によって周波数がシフトしたものと考えられる。いくつかの遅延時間においてこのシフトしたリング構造から相分離の周期を計算し、UI での結果から計算された周期と共にプロットした結果を Fig.1(e)に示した。SI と UI による結果は非常によく対応していることが確認できた。このように観測対象となる試料自体が周期構造を持つ場合にはシングルショットでの構造化照明が適用可能であることを示すことが出来た。発表では結果の詳細について報告すると共に、今後の課題について議論する。

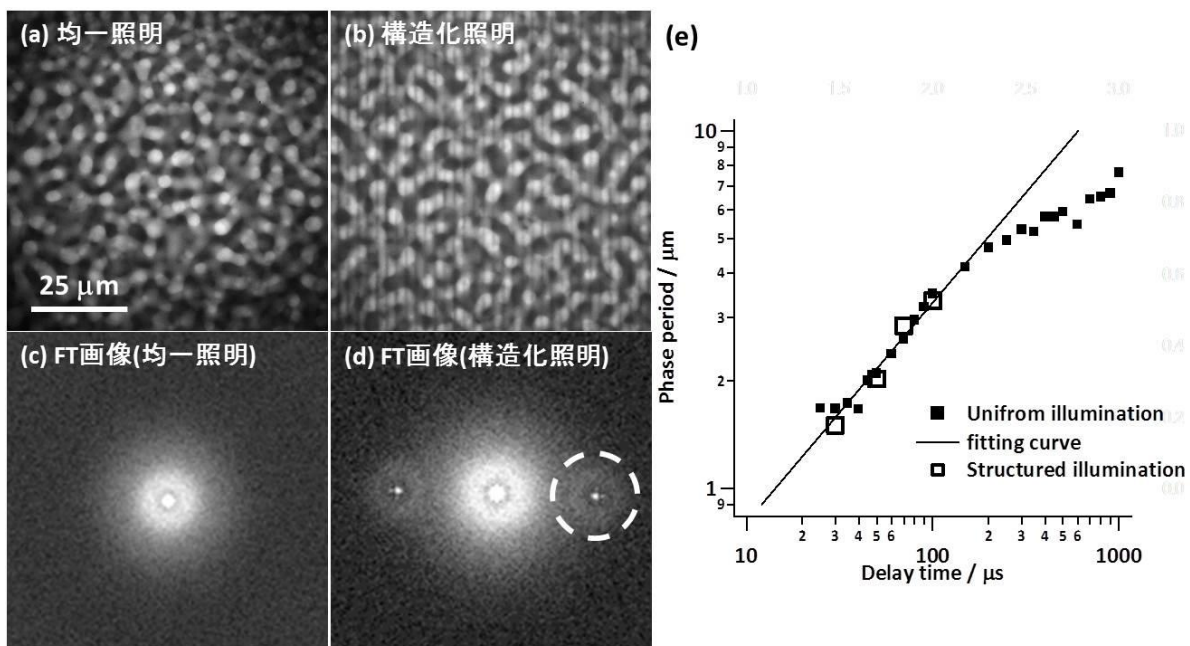


Fig.1 遅延時間500 μsにおける(a)均一照明、(b)構造化照明で撮影された蛍光画像とそれぞれの蛍光画像のフーリエ変換画像(c,d)。(e)蛍光画像測定から得られた相分離構造周期の遅延時間依存性。

- [1] A. Takamizawa, S. Kajimoto, J. Hogley, H. Fukumura, *Phys. Rev. E*, 68, 020501 (2003)
- [2] S. W. Hell, *Science*, 316, 1153 (2007)
- [3] L. Shao, B. Isaac, S. Uzawa, D. A. Agard, J. W. Sedat, M. G. L. Gustafsson, *Biophysical J.*, 94, 4971 (2008)