

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成22年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	生体機能可視化のための超解像分子イメージング技術の開発
研究機関・ 部局・職名	大阪大学・大学院工学研究科・准教授
氏名	藤田 克昌

1. 当該年度の研究目的

多光子励起の飽和の測定のための顕微光学系の設計、試作を目的とする。微弱な非線形蛍光応答を測定するのに十分な感度をもつ蛍光測定システムを構築する。試作した測定システムを用いて、有機蛍光分子の多光子励起において、飽和励起応答が得られるかを確認する。また、飽和励起により誘起される高次の非線形応答と励起条件（波長、強度、変調周波数）との関係を把握し、より高効率に非線形応答を誘起、検出するための光学条件を把握する。

2. 研究の実施状況

多光子励起による蛍光分子の飽和応答の計測のための顕微光学系の設計、試作を行った。光源にモードロックチタンサファイアレーザー（波長 800-900nm、繰り返し周波数 80MHz、パルス幅 100fs）を用い、レーザーから発生したパルス光を顕微鏡光学系に導入した。レーザー光は対物レンズにより試料中に集光され、レーザー集光点から発した蛍光は、ダイクロイックミラーにより励起光波長と分離された後、光電子増倍管により検出された。試料にはローダミン 6G 水溶液を用いて、試料中に集光されるレーザー光の波長、強度を変化させながら、励起光強度と蛍光強度との関係を測定した結果、波長 820nm 付近でのパルスレーザー光により飽和励起応答を効率よく得ることができた。約 $2\text{MW}/\text{cm}^2$ のピーク強度付近より、飽和による高次の非線形応答（4 次の非線形応答）が確認できた。さらに、高い強度では、蛍光信号の著しい低下が見られた。この現象は理論的にも予想されていた結果であり、より高い空間分解能の達成に利用できる。反面、励起光の強度を大きくすると蛍光の応答が完全には飽和しないという予測とは異なる結果も得られた。これは試料中の蛍光検出領域が、飽和励起のため、拡大していることが原因と考えられる。この現象は $10\text{MW}/\text{cm}^2$ 以下では見られないため、励起光強度をこれ以下に設定すれば問題無く空間分解能が向上できることが分かった。次に励起光の変調周波数を変更しながら同様の測定を行った。その結果、10kHz より変調周波数を増大すると飽和信号の低下を確認した。その理由を蛍光応答の計算により確認した結果から、高い周波数では分子の励起状態からの緩和が十分でなく、変調信号の振幅が低下することが示唆された。高周波での信号変調では雑音抑制の効果もあるため、今後信号対雑音比を測定しながら最適な周波数を求める必要があることが分かった。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

雑誌論文 計1件	(掲載済み一査読有り) 計0件 (掲載済み一査読無し) 計0件 (未掲載) 計1件 S. Kawano, N. I. Smith, M. Yamanaka, S. Kawata and <u>K. Fujita</u> , "Determination of the expanded optical transfer function in saturated excitation imaging and high harmonic demodulation," <u>Appl. Phys. Express, Vol.4, 042401 (2011).</u>
会議発表 計0件	専門家向け 計0件 一般向け 計0件
図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状 況 計0件	(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件
Webページ (URL)	http://lasie.ap.eng.osaka-u.ac.jp/ap1g1kat/index_j.html 大阪大学: http://www.osaka-u.ac.jp/ja/research/program_next 大阪大学大型教育研究プロジェクト支援室: http://www.lserp.osaka-u.ac.jp/index_jisedai.html
国民との科 学・技術対話 の実施状況	ホームページを作成し、今後の情報公開のための準備を行った。
新聞・一般雑 誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成22年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額
直接経費	123,000,000	0	46,591,000	76,409,000
間接経費	36,900,000	0	13,977,300	22,922,700
合計	159,900,000	0	60,568,300	99,331,700

2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度 執行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額
直接経費	0	46,591,000	0	46,591,000	400,000	46,191,000
間接経費	0	13,977,300	0	13,977,300	0	13,977,300
合計	0	60,568,300	0	60,568,300	400,000	60,168,300

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	400,000	レンズ・ミラー等の消耗品購入のため
旅費	0	
謝金・人件費等	0	
その他	0	
直接経費計	400,000	
間接経費計	0	
合計	400,000	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
				0		
				0		
				0		