空間光変調器による三次元位置選択的光遺伝学のための ヘリカルビームイメージングの評価

瀧口 優・豊田 晴義

浜松ホトニクス株式会社中央研究所 〒 434-8601 静岡県浜松市浜北区平口 5000

Evaluation of Helical-beam Imaging for Three Dimensional Selective Access Optogenetics with Spatial Light Modulator

Yu TAKIGUCHI and Haruyoshi TOYODA

Central Research Laboratory, Hamamatsu Photonics K.K., 5000 Hirakuchi, Hamakita-ku, Hamamatsu, Shizuoka, 434–8601

We report here three dimensional sparse imaging to be employed in a high-access-speed microscope for optically stimulating sensory-driven synaptic activity across all inputs to single living neurons in an intact cerebral cortex. The system is based on holographic multi-beam generation by using a two-dimensional phase-only spatial light modulator to excite multiple locations in three dimensions simultaneously. In order to distinguish synapses located sparsely near one another on a dendrite, we considered a rotational point spread function to extend imaging depth-of-field and encode axial location in detection optics. We have successfully extended the depth-of-field from typically $3\mu m$ to $10\mu m$ and reconstructed three dimensional depth information from a single encoded image.

Key words: spatial light modulators, liquid-crystal devices, high throughput imaging, brain activity monitoring and stimulation, point spread function engineering

1. はじめに

ヒトの脳には100億から1兆個のニューロンがあるとさ れ、それぞれがさらに数万個の情報伝達のためのシナプス ネットワーク構造をもち、それらが複雑に絡み合ったネッ トワークを形成することで、多種多様な脳機能を生み出し ている. これらの脳機能を外部から刺激・計測する手段も 長年にわたり研究されてきており、中でもパッチクランプ 法などの電気生理学的手法1)は、空間分解能が低いとい うデメリットをもつものの、時間特性に優れていることか らゴールドスタンダードとして広く浸透してきていた。近 年, その空間分解能を克服する手法として, 蛍光プローブ などの開発進展とともに光学的手法が着目されてきてい る、特に、緑藻類の一種であるクラミドモナスの眼点近傍 に存在する光感受性タンパク質であるチャネルロドプシン 2 (ChR2)²⁾ を神経細胞に発現させ、これを青色光刺激す ると、神経細胞の発火現象が起こることが証明された³⁾ ことから、光遺伝学 (オプトジェネティクス)4) として、

神経回路機能を調べるための研究分野に非常に大きな影響を与えている。この手法は(1)線虫・ショウジョウバエ・ゼブラフィッシュ・マウス・霊長類に生きたまま適用が可能,(2)細胞レベルで,かつマイクロからミリ秒オーダーの神経活動の活性化や抑制ができるため,特定の神経活動のみの制御が可能,といった特長を有しているため,哺乳類などの動物の脳神経系における情報処理を,*in-vivo*で,しかもミリ秒単位の時間的精度で理解することができるようになる.

このような神経細胞レベルにおける情報処理を理解する場合、ニューロンがどのようにしてシナプス信号を受け取り、伝搬するかを知らなくてはならない。神経細胞の細胞体から出て複雑に枝分かれしている樹状突起では、他の神経細胞から電気信号を受け取り、軸索を通って次の神経細胞に伝達される。脳の中では軸索が密集しているが、髄鞘とよばれる絶縁体の鞘で覆われているため、電気信号の混在が抑制されている。上述の通り、1つの神経細胞あたり

E-mail: takiguchi-y@crl.hpk.co.jp

46巻 11 号 (2017) 455 (31)

数万個の情報伝達のためのシナプス接触構造を有しているため、これらをミリ秒単位で同時に計測・制御しなくては、脳神経系における情報がどのように処理されているか本質的に理解することができない。そこでわれわれは、長年培ってきた位相変調ホログラム技法を適用した三次元位置選択的複数ビームを利用し、150 μ m×150 μ m×30 μ m厚の領域に存在するシングルシナプス制御のための光刺激装置を開発している 50 .本稿では、位相変調型液晶空間光変調器(以下、LCOS-SLM) 60 を用いた光刺激装置と点像分布関数制御による三次元高速イメージング手法を検討し、それらにおいてキーテクノロジーとなるヘリカルビームの設計と実験的な評価をしたので、これを報告する。

2. シングルシナプス制御のための光刺激装置

光遺伝学において、顕微鏡下で光刺激する領域を時間 的・空間的に制御する要求が高まっている。神経細胞は数 万個の離散的なシナプス接触構造をもつため、離散的な複 数の集光点による刺激が効率的である。そのためこれまで は、その容易性から、光ファイバーやプロジェクターと LED とを組み合わせた装置⁷⁾ が開発されてきており、二 次元に広範囲な光照射に適した装置は大きな進展をみせて きた. しかしながら、これらの装置を三次元に対応させる ためには、スピードやその制御性で課題が多い。 例えば、 プロジェクターと LED を組み合わせた光刺激装置では、 DMD (digital micromirror devices) が利用できるため、二 次元平面内で1kHz以上の高速なスイッチングが可能であ る. しかし、奥行き方向にも光照射・制御が必要な場合に は、ステージやピエゾ素子、液体レンズなどの動的なデバ イスを用いた深さ方向への順次制御が必要になってくる. 加えて、このような照射光学系は一般的にテレセントリッ ク光学系による結像になるため、焦点深度が長くなり、光 軸方向の照射領域が伸長してしまう8)

そのため本研究では、脳深部へ光を到達させつつ、複数の ChR2 を同時かつ個別に刺激するために有効なフェムト秒レーザーを光源として採用し、ホログラムを用いた回折限界スポットで刺激可能な二光子・三次元多点同時光制御装置を検討した(Fig. 1). 三次元複数ビームを生成するためのホログラムの設計法は数多く提案されてきているが 9-11)、ここでは将来的に GPGPU(GPUによる汎用計算)による高速化を念頭において、三次元高速フーリエ変換を用いた重み付き反復フーリエ変換法 12)をベースとしたアルゴリズムを採用した。本稿では詳細は割愛するが、低開口数(NA)光学系で評価した結果、10×10×10点のピーク強度分布の標準偏差で 0.4%を容易に達成することが確

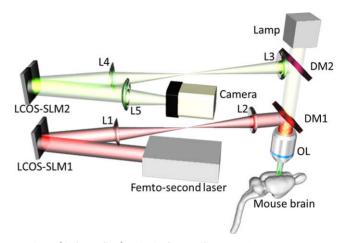


Fig. 1 (Color online) Optical setup diagram of our optogenetics system. Collimated laser from the light source shines LCOS-SLM1, transferring the wavefront to the pupil of an objective lens with telecentric optics (L1 and L2). Focusing the excitation light with objective lens (OL), fluorescence light from the sample is collected and transferred to second LCOS-SLM2 with upper telecentric optics (L3 and L4). Phase modulated fluorescence light is imaged to the camera with tube lens (L5).

認できている.

このようにホログラフィックな手法を採用することで、 三次元的に神経細胞へ高精度にアクセスすることは可能になるが、これらからの信号を三次元的に観察する際には、 深さの異なる断層像を順次取得することになる。このような断層像の取得自体が観測速度の律速になるため、これらの信号を一括で高速に読み出す手法も必要になる。そこで本装置では、光検出側の光学系にも波面制御を適用して点像分布関数を積極的に伸長することで、三次元情報を観測領域中央近傍の二次元画像内にエンコーディングし、通常のCMOS カメラなどのような二次元イメージセンサーで高速なシングルショット読み出しを実現する手法を目指した。

3. 点像分布関数制御によるヘリカルビームイメージングの開発

3.1 本手法の原理

通常の三次元イメージングではガルバノミラーなどを組み合わせたラスタースキャンにより観測するが、今回のように隣接輝点が十分に離れたスパース画像の場合は、何らかの方法で各輝点にz方向の奥行き情報を埋め込むことで三次元情報をエンコーディングすることができる。例えば、球面収差のような光軸を伝搬するに従い形状が変化する点像分布関数を採用すると、観測する二次元平面上で、輝点の平面内の位置と深さに応じた強度分布をもつ画像を

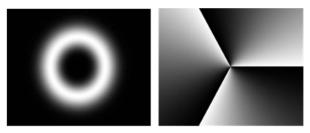


Fig. 2 Intensity distribution (left) and phase distribution (right) of LG beam (l=3).

取得できる。この強度分布にパターンマッチングなどの画 像処理を施すことで、三次元の位置座標と強度情報を再構 成することができる。 さらに、ベッセルビームやエアリー ビーム, ラゲール・ガウス (LG) ビームなどのような無 回折ビーム 13) と組み合わせることで、 z 方向の分解能を確 保しつつ、被写界深度の拡張が期待できる。中でも、単一 モードの LG ビーム (Fig. 2)¹⁴⁾ はビームウエストでドーナ ツ状の強度分布をもっているが、これらの各モードを適切 に重畳させると、ビームが2つに分裂し、z方向に伝搬す るにつれてらせん状に回転するヘリカルビームが形成され ることが知られている¹⁵⁾. このようなビームを検出側の点 像分布関数に重畳させると、本来1輝点である強度分布が 2 輝点に分割し、かつ深さに応じて 2 輝点のなす角が異な る像が得られることになる。よって、ある1つの深さの画 像を取得して2輝点の角度を解析することで、三次元情報 を再構築できることになる. これまでの報告では、PALM/ STORM などの超解像顕微鏡への適用が念頭に置かれてい たため、被写界深度の伸長にはさほど着目されておらず、 ガウスビーム集光程度の被写界深度であった。しかし、こ れらのビームは高次 LG ビームの多重化であるため、逐次 計算などで適切に設計することで、LG ビームの無回折性 に重きを置いた点像分布関数の設計が可能である.

3.2 ヘリカルビームの設計

偏角指数l, 動径指数p をもつ LG ビーム $L_p^l(\vec{r})$ の高次モード多重化は、

$$L(\vec{r}) = \sum_{i} \sum_{i} a_{ij} L_{b}^{l_i}(\vec{r}) \tag{1}$$

で表すことができる。このとき、 a_{ij} は各モードの係数である。ヘリカルビームのように回転する特性を有する高次多重 $\mathbf{L}\mathbf{G}$ ビーム $L_{rot}(\vec{r})$ は、回転特性を決定するパラメーター(定数)を Vとすると、動径指数 p_i が

$$p_i = \frac{Vl_i - \left| l_i \right|}{2} \tag{2}$$

を満たす高次 LG ビームを多重化させたとき、すなわち、

$$L_{\rm rot}(\vec{r}) = \sum_{i} a_i L_{b_i}^{l_i}(\vec{r}) \tag{3}$$

を満足したときに、回転するビームが得られる¹⁶⁾. このよ

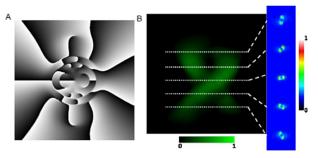


Fig. 3 (Color online) A) shows the phase distribution of designed helical beam and B) is the three-dimensional vectorial diffraction integral simulated point spread function.

うな条件を満たすビームは数多く存在するが、それらの中でヘリカルビームのような 2 輝点が回転する特性をもたせるために、逐次的あるいは探索的に各係数 a_i を算出しなくてはならない。われわれの場合は被写界深度の伸長にも注目しており、探索の結果、パラメーター Vを小さくしつつ、より高次の LG ビームを多重化させることで被写界深度を改善できることを見い出した。しかし、ピーク強度とはトレードオフの関係が成り立つため、被写界深度を過度に伸長させると観測に十分な光量(光子数)が得られなくなるという問題が生じる。本稿では、Fig.1 に示した光学系の実験条件を考慮して、ガウスビーム励起光による通常観測下の被写界深度である 3μ から、1 つの神経細胞を中央に配置した際に隣接する神経細胞との連結が観測できる 30μ となるような制限を探索条件として与えることとした。

Fig. 3A に, Fig. 1 の光学系において被写界深度が 30 μm となるように設計したヘリカルビームが発生する位相分布 を、Fig. 3Bに、設計した位相分布を対物レンズの瞳面に 配置したと仮定したベクトル回折積分計算によるビームウ エスト近傍のシミュレーション結果を示す。図上部より光 が入射するように強度分布を計算しているが、2 集光点が 回転するのがみてとれる。今回の方法では、2 輝点に分割 したうえで、2方向に強度分布を伸長させているため、必 然的にピーク強度が通常のガウスビーム集光時よりも劣化 することが推定される. Fig. 4 に, 位相分布を観察側光学 系に搭載し、1 μm の蛍光ビーズを観測したと仮定した際 のz方向の強度分布シミュレーションを示す。 ガウスビー ム集光時と比較すると、ヘリカルビームではピーク強度が 10分の1程度にまで下がってしまうものの, 2.5 μm 近傍 でクロスオーバーポイントが存在することが拡大図よりわ かる。これは、より深部の情報が強い信号で検出できるこ とになるため、被写界深度の改善を示すものである.

46 巻 11 号 (2017) 457 (33)

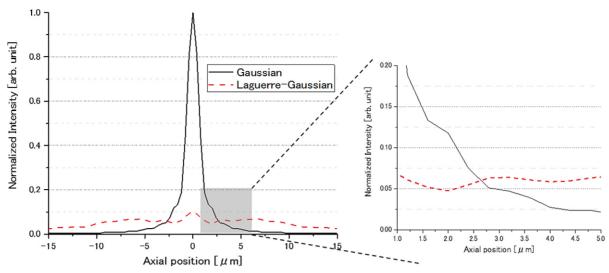


Fig. 4 (Color online) Comparison of peak intensity distribution in optical axis direction with (dotted line) and without (solid line) phase information. Profile derived from the simulation (left) and enlarged view of crossover point (right).



Fig. 5 (Color online) LCOS-SLM (Hamamatsu Photonics K.K.). Pictures of X10468 series mainly for academic or general purpose use (left) and X11480 series for built-in systems (right). CMOS technology is adopted to manufacture pixelated electrodes and circuits on silicon backplane as address section. Liquid crystal layer is inserted between this backplane and glass substrates with transparent electrode. The refractive index changes according to tilting angle of liquid crystal molecule due to the birefringence. This tilt can be controlled by externally supplying voltage, refractive index of each pixel can be modulate independently with applied voltage to the electrodes.

4. 原理検証実験

Fig. 3Aのような複雑な位相分布は、LCOS-SLM (Fig. 5) や回折光学素子を用いることで容易に実現することができる。本来、LCOS-SLM 自体は水平偏光にのみ作用するため、ランダム偏光である蛍光の半分程度の光しか変換できないが、提示する位相分布の制御性・原理確認の容易性の観点から、本実験では検出側にもLCOS-SLMを採用した。光源として波長 1030 nm の 140 fs 超短パルスレーザー (Fidelity-10, Coherent 社)を採用し、LCOS-SLM の変調面全面に 10 mm 径程度の均一な強度分布で照射されるように、ビームエキスパンダーにてコリメートした。光源の繰り返し周波数が 80 MHz になるので、サンプルの光励起は複数パルスにて行われている。対物レンズの瞳面が共役な

位置関係になるように配置した LCOS-SLM (X10468-01, 浜 松ホトニクス)の変調面に入射させ、SLM に表示した計 算機ホログラムに従って波面を制御した。2枚のリレーレ ンズ (L1, L2) を配置し、振幅および位相分布を対物レン ズの瞳面付近に結像させる。サンプル内部に対物レンズで 集光すると, 焦点近傍に三次元複数ビームが生成される. 対物レンズは、20倍のノンカバー水浸対物レンズ (XLUMPlanFL, NA 0.95, オリンパス)を用いた。この対物 レンズにはピエゾステージが備えられており、後述の動作 確認のための光軸方向(z方向)スキャンを実現している. サンプルからの二光子励起蛍光は同一の対物レンズで集め られて、蛍光フィルターやダイクロイックミラーを通して 波長選択された後、瞳面が共役な位置関係になるように配 置した2台目のLCOS-SLMの変調面に照射した. 変調され た光を結像レンズと sCMOS カメラによって撮像し記録し た. また、励起レーザー光に起因する収差の影響と明確に 弁別するために,落射照明系も搭載した.

原理確認のために、対物レンズ下集光点近傍の点像分布 関数の取得を行った。高 NA 対物レンズで観測を試みる と、観察深さの変更ごとに屈折率ミスマッチによる球面収 差が強く影響することが懸念される¹⁷⁾. そのため、この影 響を極力抑制するために、蛍光色素(Rhodamine 6G)水 溶液を 0.15 mm 厚のガラスカバー間に封入し、このサンプ ルを集光点近傍で光軸方向に動かすことで、その深さ位置 における蛍光強度分布を取得した。また同時に、観察側カ メラの位置も調整して結像関係を保持した。二次元面内に 500 点照射したときの代表的な 1 点の観測結果を Fig. 6 に 示す、サンプルは 1 μm 間隔で光軸方向に移動させた。2

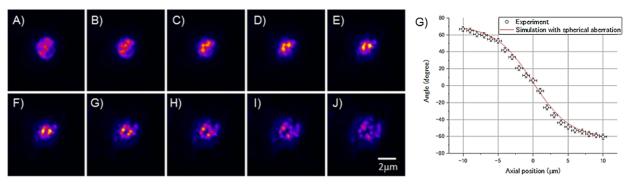


Fig. 6 (Color online) Observed point spread function. Two photon excited fluorescence from Rhodamin 6G is observed with sCMOS camera. Setting F) as vicinity of focal point, images obtained in the region of $10 \mu m$ shallow to $10 \mu m$ deep position in $2 \mu m$ interval. A) is the observation result at $10 \mu m$ from the focal point to objective lens (shallow), J) is the result of $8 \mu m$ apart from the focal point (deep). Gravity center of two points were calculated in each images and angle from these two points were plotted as a function of depth in K). Spherical aberration effected simulation was performed and plotted as a curve on a same graph.

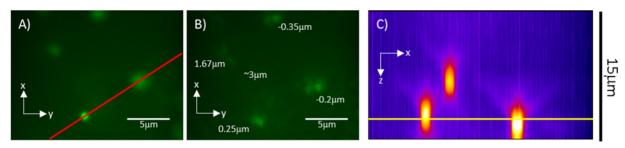


Fig. 7 (Color online) Experimental results of helical beam imaging. A) Fluorescent image obtained with typical epi-illumination, B) fluorescent helical image obtained at same position with A), C) x-z reconstructed image at line profile shown in A) by 15 μ m raster scanned in z-direction with epi-illumination.

輝点が光軸方向に伝搬するに従い回転することが、これら の画像からもみてとれる。各画像に2点重心演算処理を行 うことで2輝点の中心座標を算出し、その2点間の角度を プロットしたものが Fig. 6K になる。角度は集光点近傍と 推定される画像の角度を0°としている。誘電体界面で発生 する球面収差17)を加味したシミュレーション結果もあわ せて示されており、よい一致を示している。深さに対する 角度変化量の大きい集光点近傍付近と比較し, 5 μm 程度 離れた深さでは回転が緩やかになることも確認された。こ れは深さ同定の不確かさを生じさせる要因になるため、よ り厳密な角度推定の必要性が要求されるものと推定され る. また, 2 輝点の回転と光軸方向で 10 μm 以上の蛍光取 得に成功したものの、集光位置に対して浅い位置 (Fig. 6A) と深い位置 (Fig. 6J) では、強度分布の形状が異なっ ている. これらの形状の非対称性は、空気とガラスカバー との界面で、励起光に 0.3% 程度の球面収差が発生したこ とに起因することが、光伝搬シミュレーションの結果から わかった. 実験的にこの影響を除去するためには、補正環 付対物レンズの採用や、LCOS-SLM による動的な収差補 正 18), 補償光学 19) などが実用化に際し有効となる.

次に、1つの深さの画像から蛍光情報の三次元再構築が 可能かを確認する実験を行った、ここでは、解像度など観 点からは劣るものの、上述の励起光によって発生する収差 の影響を抑制するために、落射照明系で評価を行った. Fig. 7 に、観測側に LCOS-SLM を設置し、1 μm の蛍光 ビーズを観察した実験結果を示す. Fig. 7Aに LCOS-SLM に位相分布を表示せず通常の落射照明系として観察した結 果を、Fig. 7Bにはヘリカルビームを適用した結果を示す が、通常の落射照明ではz方向に同じような像のぼけ方を するのに対し、ヘリカルビームでは2輝点が回転してい る. この2輝点の角度から蛍光発生の深さ情報を再構成す ると、1枚の画像から±3 µm 程度の範囲の輝点を推定で きることを示すことができた. 確認のために, 通常の落射 照明で三次元ラスタースキャンし、 蛍光の三次元像を再構 成した. Fig. 7Cに, Fig. 7A上に示したプロファイル位置 の z 方向に、 蛍光像を再構成した結果を示すが、 エンコー ディングされた画像から導出した深さ情報と、観察された ビーズの深さがほぼ一致することが確認できた. xy平面内 での位置精度は各画像の重心演算より比較でき、0.02 um の精度で一致することも確認できている.

46 巻 11 号 (2017) 459 (35)

5. 角度解析高速化・高精度の検討

今後さまざまな脳機能を制御・測定するうえで、二次元 にエンコードされた情報を高速かつ高精度に三次元情報に 再構成するアルゴリズムの開発が重要になる。今回提案し た2点重心演算からその角度を推定する方法は、高速かつ 簡便ではあるものの、大きな構造を観察する場合や収差が 影響している環境下など、2輝点が十分に分離できていな い画像では、その重心計算精度は著しく劣化する。また一 般的に、既知の点像分布関数を用いる場合は、デコンボ リューションによって得られた蛍光画像の先鋭化、高解像 度化を狙うことが多い. しかし, これは三次元から三次元 を再構成する方法であるため、今回のように二次元画像か ら三次元情報への再構成には不向きである。そこでわれわ れは、ハイパースペクトル分光などで各波長成分や構成成 分に分離するための手法であるアンミキシングを用いるこ とを検討し、その妥当性評価を行っている。ハイパースペ クトル分光は二次元の画像データを波長軸にスタックした 三次元データからなるが、これらの各成分の分光特性が オーバーラップされた形で出力される。そのため各構成成 分に分離する必要があるが、線形アンミキシングモデル20) を用いると、あらかじめ実験もしくは計算で作成した確率 密度行列を求め、実際の画像と演算を行うことで、各成分 別の分離が可能となる。 ハイパースペクトル分光の場合は 二次元画像と波長の3軸であるが、われわれの場合はPSF の三次元空間分布を利用し、分析したい成分として三次元 の輝点位置に対する像面で取得される二次元強度分布を検 討している.

6. まとめと今後の課題

本稿では点像分布関数制御について説明してきたが、ヘリカルビームによってエンコーディングされた画像から導出した深さ情報と、観察された測定対象の深さがほぼ一致することを実験的に確認できた。今回のような二光子励起で数千点同時照射するようなアプリケーションの場合、数十Wクラスの超短パルスレーザー光源を適用することになるため、各光学素子の耐光性と熱安定性が需要になる。とりわけ、LCOS-SLMの画素電極はCMOSプロセスで作製されているため、高強度の光が回路に漏れ込むことによるダメージが予想される。また、高強度光照射に伴うデバイスの温度上昇に起因したLCOS-SLMの波面制御性の劣化も懸念される。これらについて、それぞれハードウェア面とソフトウェア面、両方のアプローチから対応する必要がある。まず回路へのダメージについては、誘電体多層膜ミラーを画素電極上に形成し、95%以上の反射率を確保す

ることで、ダメージ抑制ができている。一方の熱対策は、近年水冷による強制的な廃熱機構と、温度変化に伴うLCOS-SLM 自身による面精度補正法の開発²¹⁾ により、高い安定性を示すことができている。またLCOS-SLMは、DMDなどのデバイスなどと比較して応答が遅い(60 Hz程度)という課題が挙げられている。これは液晶の物理的な応答時間に律速されるものである。現在、キロヘルツオーダーにまでは到達していないものの、特殊な電圧駆動方法で液晶の応答速度を向上させるオーバードライブ方式²²⁾ を採用することで改善を図っている。

本研究は、マサチューセッツ工科大学の Laser Biomedical Research Center と浜松ホトニクス株式会社の共同研究によって実施され、一部、JSPS 科研費 JP16H06289 の助成を受けたものである。

文 献

- 1) E. Neher and B. Sakmann: Nature, 260 (1976) 799-802.
- G. Nagel, T. Szellas, W. Huhn, S. Kateriya, N. Adeishvili, P. Berthold, D. Ollig, P. Hegemann and E. Bamberg: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 100 (2003) 13940–13945.
- 3) E. S. Boyden, F. Zhang, E. Bamberg, G. Nagel and K. Deisseroth: Nat. Neurosci., 8 (2005) 1263–1268.
- K. Deisseroth, G. Feng, A. K. Majewska, G. Miesenbock, A. Ting and M. J. Schnitzer: J Neurosci., 26 (2006) 10380–10386.
- 5) 瀧口 優, 大津知子, 酒井寛人, 松井克宜, 宅見宗則, 黄 洪欣, 田中 博, 豊田晴義: "光遺伝学のための空間光制御", 第6回光操作研究会, P9(仙台, 2014).
- 6) 原 勉:光学, 43 (2013) 20-26.
- 7) 長沼恒雄:光学, 44 (2015) 440-447.
- 8) J. B. Pawley (ed.): *Handbook of Biological Confocal Microscopy*, 3rd ed. (Springer, 2006).
- 9) R. W. Gerchberg and W. O. Saxton: Optik, **35** (1972) 237–246.
- 10) M. W. Farn: Proc. SPIE, 1555 (1991) 34-42.
- R. Di Leonardo, F. Ianni and G. Ruocco: Opt. Express, 15 (2007) 1913–1922.
- X. Li, Y. Cao, N. Tian, L. Fu and M. Gu: Optica, 2 (2015) 567– 570
- J. Durnin, J. J. Miceli and J. H. Eberly: Phys. Rev. Lett., 58 (1987) 1499–1501.
- 14) T. Ando, N. Matsumoto, Y. Ohtake, Y. Takiguchi and T. Inoue: J. Opt. Soc. Am. A, **27** (2010) 2602–2612.
- 15) S. R. Pavani and R. Piestun: Opt. Express, 16 (2008) 22048– 22057
- 16) S. R. Pavani and R. Piestun: Opt. Express, 16 (2008) 3484-3489.
- 17) Y. Takiguchi, T. Ando, Y. Ohtake, T. Inoue and H. Toyoda: J. Opt. Soc. Am. B, 30 (2013) 2605–2610.
- H. Itoh, N. Matsumoto and T. Inoue: Opt. Express, 17 (2009) 14367–14373.
- H. Huang, T. Inoue and H. Tanaka: Opt. Express, 19 (2011) 15026–15040.
- T. Zimmermann, J. Rietdorf and R. Pepperkok: FEBS Lett., 546 (2003) 87–92.
- Y. Takiguchi, T. Otsu, T. Inoue and H. Toyoda: Opt. Express, 22 (2014) 16087–16098.
- 22) G. Thalhammer, R. W. Bowman, G. D. Love, M. J. Padgett and M. Ritsch-Marte: Opt. Express, 21 (2013) 1779–1797.