

1 μm 帯利得スイッチング LD ベースの高機能光源による 2 光子イメージングTwo-photon bioimaging with a light source based on a 1- μm band gain-switched laser diode東北大学 未来研¹, 北海道大学 電子研², 東北大学 多元研³, JST CREST⁴°横山雅美¹, 草間裕太¹, 川上良介^{2,4}, 小澤祐市^{3,4}, 佐藤俊一^{3,4}, 根本知己^{2,4}, 横山弘之^{1,4}NICHe, Tohoku Univ.¹, RIES, Hokkaido Univ.², IMRAM, Tohoku Univ.³, JST CREST⁴°M. Yokoyama¹, Y. Kusama¹, R. Kawakami^{2,4}, Y. Kozawa^{3,4}, S. Sato^{3,4}, T. Nemoto^{2,4}, H. Yokoyama^{1,4}

E-mail: ymasami@niche.tohoku.ac.jp, yoko@niche.tohoku.ac.jp

はじめに 近年, 2 光子顕微鏡による生体組織深部の高精細バイオイメージング技術の進展が著しい. 2 光子イメージング (TPI) では, 他の光学顕微鏡法と比較してより深部の生体組織の非侵襲的な観察が可能であることが, 脳神経系や免疫等の分野での目覚ましい普及の理由であるが, 現在, 生体深部到達性をさらに高めることが求められている. 我々は, 半導体レーザー (LD) を心臓部とする小型で安定性に優れた高ピークパワー超短光パルス光源の開発を進めてきた[1]. 最近, TPIの励起光源として, モード同期 (ML) 動作ベースの1030nm帯レーザー光源を用いることにより, マウスの脳表面から1400 μm という世界最深部のイメージングを初めて実現した[2]. 今回, 新規に開発した1060 nm帯LDの利得スイッチング (GS) 動作により数ps幅の光パルスを得ることができ, これを利用したより簡便かつ高安定な光源を用いてTPIを試行したので報告する.

実験および結果 1060 nm帯LDは10 GHz以上の周波数応答帯域を有するが, 高速電気パルスによる強励起のもとで時間幅が10 ps強程度の光パルスが発生する. 我々は, その光スペクトルを適正に整形することで光パルスの時間幅を7 psまで短縮することができた[3]. 図1にその光パルスの強度自己相関波形を示す. この光パルスをYb添加ファイバ増幅器 (YDFA) により2段階に増幅し, さらに自然放出光ノイズ成分を除去することで, 繰り返し周波数10 MHzにおいて0.7 W強の平均光パワーを得た. このとき, 光パルスのピークパワーは10 kW以上に達している. この光パルスをレーザー顕微鏡に導光し, 黄色蛍光タンパク質 (EYFP) を発現する遺伝子改変マウス (H-line マウス) の大脳皮質固定スライス標本を観察した. その結果, 図2に示すように, 神経細胞の微細形態を明瞭に捉えることができた. ML動作のLDでは吸収および利得の非線形性の精密なバランス制御が必要であるが, GS動作は電氣的な高速パルス励起が本質であり, 今回の結果は, より簡便な方式で動作するGS-LDがTPIのための超短パルス光源として大きなポテンシャルを持つことを示している. 図2は薄片標本によるTPI結果であるが, 今後, 限界的な生体組織深部のTPIを行っていく.

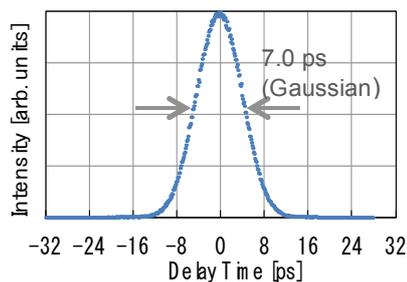


図1 1060nm帯GS-LDによって得られた7ps幅の光パルスの強度自己相関波形.

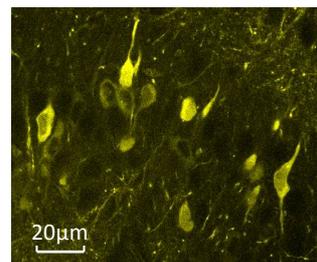


図2 EYFPが発現したマウス大脳皮質の神経細胞の2光子イメージング画像.

謝辞 本研究は, 一部, JST戦略的創造研究推進事業 (CREST) の研究課題「ベクトルビームの光科学とナノイメージング」, 及び文部科学省大学発新産業創出拠点プロジェクト (START) 「超高機能光源の開発と先端バイオメディカル応用」の支援を得た.

References

1. 横山弘之, オプトロニクス, **28**, 54 (2009).
2. R. Kawakami, K. Sawada, A. Sato, T. Hibi, Y. Kozawa, S. Sato, H. Yokoyama, and T. Nemoto, Sci. Reports, **3**, 1014 (2013).
3. 草間裕太, 横山弘之, 2013年 第74回応用物理学会秋季学術講演会, 発表予定, 同志社大学 (2013).