利得スイッチング駆動半導体レーザを用いた誘導ラマン顕微鏡による生細胞イメージング

Live Cell Imaging with Stimulated Raman Microscopy using a Gain-Switched Laser Diode

○徳永 京也[1]、房 宜澂[2]、横山 弘之[2]、小関 泰之[1] (1. 東大院工、2. 東北大 NICHe)

○Kyoya Tokunaga[1], Yi-Cheng Fang[2], Hiroyuki Yokoyama[2], Yasuyuki Ozeki[1]

(1.The Univ. of Tokyo, 2.Tohoku Univ.)

E-mail: tokunaga@ginjo.t.u-tokyo.ac.jp

誘導ラマン散乱(SRS)顕微法[1-3]は無染色かつ高速に生体を観察出来る手法として注目されている。一方で、2 色の同期したピコ秒のパルス光源を必要とする点が技術課題として挙げられる。従来、そのような光源として固体レーザや光パラメトリック発振器が主に使われてきたが、これらの光源は大型かつ高価である。近年、SRS イメージングの実用性向上を目指して、より小型な光源であるファイバーレーザ(FL)の適用が進められている[4-6]。また、さらに小型かつ安価で長期安定性に優れた半導体レーザ(LD)を光源に用いて、CW 光に対する光パラメトリック増幅によるパルス化を利用した SRS イメージングが報告されている[7]。我々は LD から直接光パルスを得ることが出来る利得スイッチング駆動 LD (GS-LD) [8,9]に着目し、GS-LD とチタンサファイアレーザ(TSL)を光源に用いた SRS 顕微鏡を製作し、ポリマービーズの SRS イメージングの結果を報告してきた[10]。今回我々は同光源を用いて生細胞の SRS イメージングに成功したのでその結果を報告する。

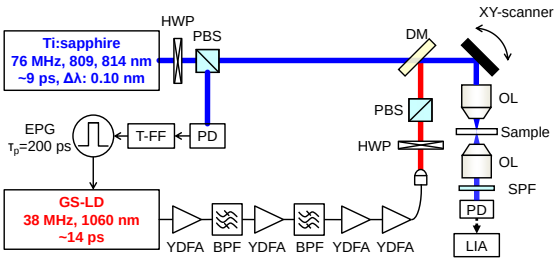

図 1. 実験系。HWP: 半波長板、PBS: 偏光ビームスプリッタ、PD: 光受光器、T-FF: トグルフリップフロップ、EPG: 電気パルス生成器、YDFA: Yb 添加光ファイバ増幅器、BPF: 帯域通過フィルタ、DM: ダイクロイックミラー、SPF: 低域通過フィルタ、LIA: ロックインアンプ。

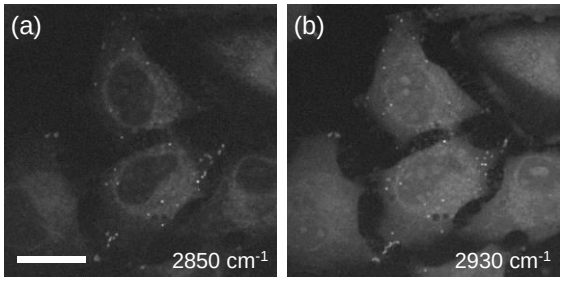

図 2. HeLa 細胞の SRS 像。(a) 2850 cm^{-1}、(b) 2930 cm^{-1}。500 × 500 ピクセル。スケールバー: 20 μm。

図 1 に実験系を示す。繰り返し周波数 76 MHz、波長約 810 nm の TSL パルスの一部を PD で受光し、その光電流をトグルフリップフロップ(T-FF)に入力する。T-FF の出力を電気パルスジェネレータに入力することで得られる時間幅 200 ps、繰り返し周波数 38 MHz の電気パルスを用いて LD の利得スイッチング駆動を行った。GS-LD から得られる光パルスを、多段の Yb 添加光ファイバ増幅器(YDFA)により増幅した。増幅後の GS-LD パルスの中心波長は 1060.35 nm であった。GS-LD パルスと TSL パルスを合波し、SRS 顕微鏡に導入した。異なる波数の SRS 像を取得するために TSL の波長を手動で変化させた。

図 2 に HeLa 細胞の SRS 像を示す。図 2(a)、(b)の波数はそれぞれ 2850 cm^{-1}、2930 cm^{-1} であり、1 枚あたりの画像取得時間は 3.3 s、視野は 80×80 μm である。波数による細胞質内外のコントラストの違いが明瞭に確認できた。このようにして、GS-LD と TSL を光源に用いて生細胞の SRS 分光イメージングに成功した。今後、TSL を FL や GS-LD に置き換えることで、更なる実用性向上が期待される。

参考文献

[1] W. Min *et al.*, Annu. Rev. Anal. Chem. **62**, 507 (2011). [2] C. W. Freudiger *et al.*, Science **322**, 1857 (2008).
[3] Y. Ozeki *et al.*, Opt. Express **17**, 3651 (2009). [4] K. Nose *et al.*, Opt. Express **20** 13958 (2012).
[5] A. Gambetta *et al.*, Opt. Lett. **35** 226 (2010). [6] C. W. Freudiger *et al.*, Nat. Photon. **8** 153 (2014).
[7] T. Steinle *et al.*, Opt. Lett. **40**, 593 (2015). [8] Y. Kusama *et al.*, Opt. Express **22**, 5746 (2014).
[9] K. Kawakami *et al.*, Biomed. Opt. Express **6**, 891 (2015). [10] K. Tokunaga *et al.*, JSAP 14p-2N-1 (2015).

© 2016年 応用物理学会