

波形整形パルスを用いた位相変調誘導ラマン散乱顕微鏡

Phase-Modulated Stimulated Raman Scattering Microscopy Using Shaped Pulses

農工大工 ○伊藤 輝将, 小原 祐樹, 三沢 和彦

Tokyo Univ. of Agric. and Tech., ○Terumasa Ito, Yuki Obara, Kazuhiko Misawa

E-mail: teru-ito@cc.tuat.ac.jp

誘導ラマン散乱 (stimulated Raman scattering: SRS) 顕微鏡は、分子振動スペクトルを指標として化学物質の空間濃度分布を高い感度で描画する非染色の分光顕微鏡であり、生命科学や医学をはじめ多くの分野で応用研究が盛んに進められている。

SRS は、周波数の異なる 2 つの光パルスが試料中で空間的・時間的に重なり、かつ光の差周波数と試料のラマン振動周波数が一致した時に起こる、パルス間のエネルギー移動過程である。すなわち、一方の光強度は分子濃度に比例して増加し、他方の光強度は減少する。したがって、一方の光に振幅変調 (AM) をかけておくことで、他方の光に現れる微小変調信号から試料濃度を測定することができる。しかし、光強度変調に付随する物質の非線形光学応答は、SRS の他にも 2 光子吸収、熱レンズ効果、相互位相変調などがあり、これらが全て背景光として重畳されて顕微鏡像にアーティファクトを生じてしまう。さらに根本的な課題は、ラマン散乱自身も背景光になる、という点である。特に生体組織中で薬剤分子を検出する場合には、振動寿命の短い水分子やガラス基板、あるいは生体組織自身が発するラマン散乱が支配的になり、薬剤の信号対背景光のコントラストが極端に低くなるため、定量分析が困難であるという問題があった。

筆者らは、SRS における分子振動励起と光ヘテロダイン検出の 2 つの過程を時間的に分離し、位相変調 (PM) をかけたプローブ光で分子振動を検出することで、AM に伴うアーティファクトや背景ラマン散乱の影響を除去できる位相変調 SRS 顕微鏡 (PM-SRS) を開発した [1,2]。酢酸水溶液のラマンピーク (893 cm^{-1}) の AM-SRS、PM-SRS スペクトル測定例を Fig. 1 に示す。PM-SRS では、フェムト秒パルス (中心波長 790 nm 、パルス幅 15 fs) で全ての分子振動を励起した直後 (遅延時間約 1.2 ps 後) に、時間波形が非対称な形状に整形されたプローブパルス (立上がり 0.5 ps 、立下がり 1.9 ps) で特定周波数の分子振動を検出する。これにより、励起直後に緩和する背景ラマン成分を除去することができる。本手法は従来の AM-SRS に比べ、特異性の高い振動モードを高コントラストで検出することが可能であるため、低濃度薬剤の定量測定により適した手法といえる。

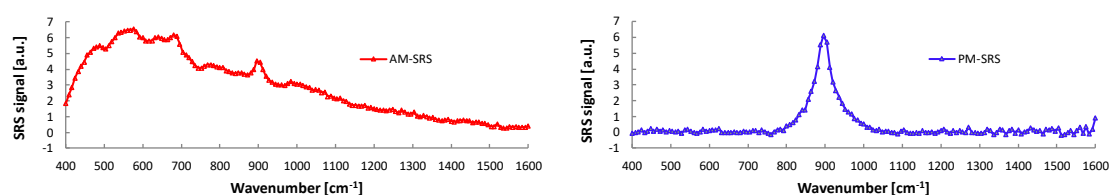


Fig. 1 (Left) AM- and (Right) PM-SRS spectra of 5% acetic acid (aq.). Integration time: 300 ms.

[1] T. Ito, Y. Obara and K. Misawa, J. Opt. Soc. Am. B **34**, 1004-1015 (2017).

[2] T. Ito, Y. Obara and K. Misawa, APL Photonics **3**, 090901 (2018).