共焦点表面位置検出を用いた細胞のフェムト秒レーザー加工

Femtosecond laser processing of cells using confocal surface detection system

宇都宮大オプティクス [1]，宇都宮大農学部 [2]
○(M1C)三浦誠 [1]，長谷川智士 [1]，岩永将司 [2]，早崎芳夫 [1]
CORE, Utsunomiya Univ. [1], Faculty of Agriculture, Utsunomiya Univ. [2]
◦(M1C)Makoto Miura[1], Satoshi Hasegawa[1], Masashi Iwanaga[2], Yoshio Hayasaki[1]
E-mail: miura_m@opt.utsunomiya-u.ac.jp

１．はじめに

フェムト秒レーザーを物質に集光照射すると，集光点近傍で多光子励起を介して改質や構造変化が誘起される．これまでに，この効果を利用して，細胞や生体組織の加工による生体機能の制御が試みられた[1]．従来の細胞のレーザー加工では，顕微鏡画像を指標として，レーザーの集光位置を合わせていた[2]．しかし，細胞は不定形な構造を有するため，固定の焦点位置では，同様な加工結果を得られない．加えて，細胞小器官のような微細構造を加工する場合，より高精度な焦点位置の制御が必要となる．

本研究では，フェムト秒レーザー加工装置に共焦点表面位置検出機構を組み合わせることで，不定形な細胞への高精度な加工を実現する．本稿では，共焦点光学系による試料表面位置の検出とレーザー加工の結果を示す．

２．実験光学系

Fig. 1 は，表面位置検出機構を有するフェムト秒レーザー加工システムを示す．本システムは，再生増幅型 Ti:Sapphire フェムト秒レーザーと共焦点光学系で構成された．フェムト秒パルスは，中心波長 800nm，繰り返し周波数 1kHz，パルス幅 50fs であった．パルスエネルギーはλ/2 板(HWP)，偏光ビームスプリッター(PBS)，および ND フィルタにより調節された．培養液中の細胞にレーザーを照射するために，水浸対物レンズ(60×, NA1.0)が用いられた．加工はシングルショット照射により行われた．表面位置検出のための共焦点光学系は，波長 1060nm のレーザーダイオードとピンホール，および光検出器で構成された．試料を固定する自動ステージを光軸方向に走査し，光検出器から得られる信号よりサンプルの表面位置が検出された．レーザー加工された構造は，走査型電子顕微鏡により観察された．

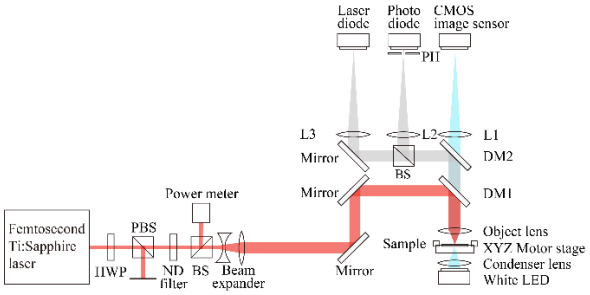


Fig. 1 Experimental setup.

３．実験結果

基礎実験として，共焦点表面位置検出系の光軸方向分解能の評価が行われた．Fig. 2 は，自動ステージの光軸方向移動距離に対する検出された共焦点光学系からの信号強度を示す．強度が最大となる光軸方向距離を原点とし，その位置にフェムト秒レーザーの集光位置を合わせた．フェムト秒レーザーの集光位置が試料（石英ガラス）内部方向のときを正，外部方向のときを負で表した．パルスエネルギーが加工しきい値近傍（60nJ）のとき，信号強度が最大となる集光位置のみで加工痕が観察された．

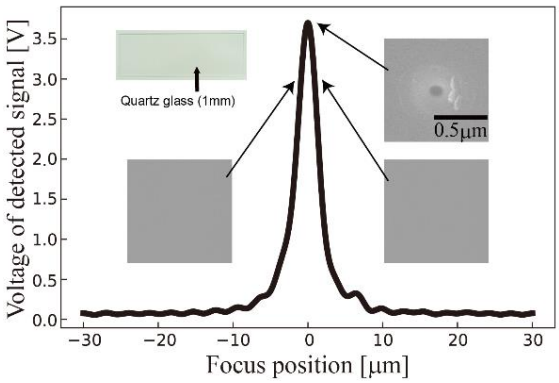


Fig. 2 Voltage of the detected signal versus the focus position of femtosecond laser.

４．おわりに

本報告では，細胞のフェムト秒レーザー加工において，集光位置を高精度に制御するための共焦点表面位置検出機構を述べた．基礎実験として，構築した表面位置検出系の光軸方向分解能を評価した．また，石英ガラスの表面位置を検出しながらフェムト秒レーザー加工を行った．

参考文献

1) A. Vogel et al., Appl. Phys. B, **81**, 1015 (2005).
2) D. Stevenson et al., Opt, Express, **14**, 7125 (2006).

© 2019年 応用物理学会