

楕円スポット型コヒーレント反ストークスラマン散乱分光顕微鏡の CARS 光強度増強効果の実験的検証

Experimental verification of signal enhancement by elliptical focal spot in coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy

○(M1) 本間 宗一郎, 橋本 守 北大院情報

○Soichiro Homma and Mamoru Hashimoto

Grad. Sch. of Info. Sci. & Tech., Hokkaido Univ.

E-mail: s-homma@ist.hokudai.ac.jp

我々は、並列励起/並列観測することで、低照度でありながら高速なラマンイメージングを可能とする、楕円スポット励起スリット走査型マルチプレックス CARS (coherent anti-Stokes Raman scattering) 分光顕微鏡を開発してきた [1,2]。また、数値計算により、得られる CARS 光強度は励起光スポットの形状によって異なることを見出した [1]。例えば、8 個の独立な（十分に距離が離れた）回折限界円形スポットと、同一スポット面積となる楕円スポット（楕円率 0.125）で、厚さを無視できる均一薄膜の CARS 光強度を比べると、楕円スポットが 1.64 倍となる。これは、コヒーレントな発光である CARS 光の強め合い干渉によるものと考えられる。そこで、楕円スポットによる CARS 光強度の増強効果を実験的に検証した。

本研究では、

1. 同一光学系で観測した非縮退二光子励起蛍光を reference とする
2. 2 種類の CARS 励起光の強度比を一定に保ちながら、CARS 光強度の励起光強度依存性を計測する
3. 均一で十分に薄い試料を作成する

ことによって CARS 光強度の増強効果を精密に計測した。なお、比較対象となる複数個（今回は 8 個）の同一強度な回折限界円形スポットを形成することは容易ではないため、単独の回折限界円形スポットを用い、その 8 倍の CARS 信号が得られるとした。

厚さが無視できる均一な試料を、回折限界で集光した光を用いた場合の CARS 信号は

$$P_{\text{CARS}}^g = \alpha I_p^2 I_s S_g$$

で与えられる。ここで、 α , I_p , I_s , S_g は、それぞれ CARS の発光効率、ポンプ光照射度、プローブ光照射度、スポット断面積である。同様に、楕円形状の光で励起した場合は、

$$P_{\text{CARS}}^e = \gamma \alpha I_p^2 I_s S_e$$

で与えられる。ここで γ , S_e は、増強効果、楕円スポットの断面積である。一方、CARS と同時に得られる、ポンプ光とプローブ光それぞれの光子によって励起（非縮退二光子励起）された二光子蛍光信号 P_{TPF} は、 β を蛍光の発光効率とすると、

$$P_{\text{TPF}} = \beta I_p I_s S$$

で与えられる。ここで、 S はスポットの断面積である。したがって、円形スポット、楕円スポットによる非縮退二光子励起蛍光をそれぞれ P_{TPF}^g と P_{TPF}^e とすると、CARS 光強度と TPF 強度の関係は

$$\log P_{\text{CARS}}^g = \frac{3}{2} \log P_{\text{TPF}}^g + \frac{1}{2} \log C$$

$$\log P_{\text{CARS}}^e = \frac{3}{2} \log P_{\text{TPF}}^e + \frac{1}{2} \log C - \frac{1}{2} \log r + \log \gamma$$

で表される。ここで、ポンプ光とプローブ光の照度比を n として、 $C = \frac{\alpha^2 n}{\beta^3 S_g}$, $r = 8$ である。したがって、照度比 n を一定に保ちながら励起光照射度を変化させて観測を行い、横軸に P_{TPF} 、縦軸に P_{CARS} を $\log - \log$ プロットして、その切片を比較することで増強効果 γ を得る。

試料として、カバーガラス上にスピンコートした、厚さ $0.5 \mu\text{m}$ の蛍光分子（クマリン 30）を含むポリスチレン膜を用意した。結晶型偏光素子を用いて、レーザー光の照度比を一定に保ちながら異なる照度で励起して、CARS 光強度と TPF 強度を分光測定した。なお、TPF 信号として、2 レーザー光のパルスと同時に試料に照射した場合（縮退+非縮退二光子励起）と、時間的に重ならないように照射した場合（縮退二光子励起）の蛍光画像を差分したものをを用いた。

結果、楕円スポットにより CARS 光強度が 1.49 倍大きくなることが確認された。

[1] 木澤 俊, 橋本 守, 日本光学会年次学術講演会 2018, 2aA2 (2018).

[2] 阿部 隆爾, 橋本 守, 応用物理学会春季学術講演会, 10p-Z28-2 (2020).