



多光子(二光子)顕微鏡用レーザー(1/3):15フェムト秒パルスレーザーがもたらす高い光量子束

～極短パルス励起光(15 fs)が光量子束を激増～

キーワード: 多光子(二光子)励起顕微鏡、SHG顕微鏡、フェムト秒レーザー、極短パルス、生体イメージング、明るさ、深部、低光毒性

二光子励起蛍光(TPEF)顕微鏡法(二光子顕微鏡法としても知られています)は、生体組織の深部3Dイメージングに最適な手法です。TPEF顕微鏡は、従来共焦点顕微鏡で用いられてきた可視光よりも散乱の少ない近赤外光の長い励起波長を用いるため、深部イメージングが本質的に可能です。これにより、散乱光に由来するバックグラウンド信号の影響が減少し、高深度でのコントラスト比が向上します。例えば、TPEF顕微鏡では、深さ1mmの生体内脳画像を得ることができます。

二光子励起は、2つの独立した光子がある媒体に同時に吸収されることで発生します。このためには、適切なエネルギーの2つの光子が媒体上で時間的・空間的に一致させる必要があります、そのために非常に大きな励起光量子束が必要である。このような現象の発生は容易ではありません。光量子束が大きければ大きいほど、2つの光子が同時に吸収される確率は高まります。TPEF顕微鏡では、光量子束を大きくすることで効率が上がり、画質や解像度が向上します。

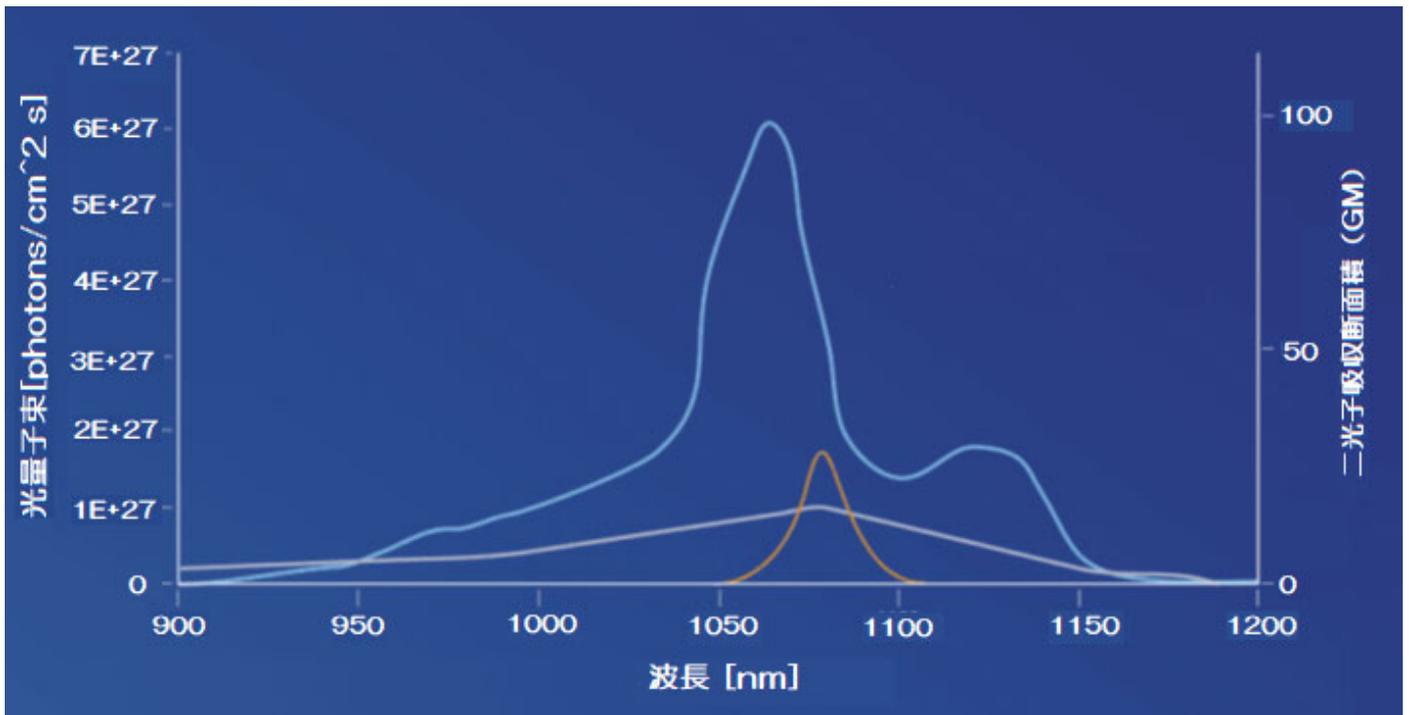
従来のTPEF顕微鏡法では、二光子励起に必要な大きな光量子束は、パルス幅100fs程度、繰り返し周波数約80MHzの波長可変固体フェムト秒レーザーを用いて実現されてきました。これらは、二光子顕微鏡に必要な、大きな光量子束レベルと非常に高いピーク出力を提供することができます。一方で、これらのレーザーの高い平均出力(1~4[W]レベル)は、基本波励起波長の線形吸収による媒体との光熱的相互作用の結果、熱損傷を引き起こす可能性があります。この効果は、40°Cを超える温度で不可逆的な損傷を引き起こす生体内イメージングにおいて特に重要となります。その結果、この従来型固体レーザーが提供する平均出力は、実用的にTPEF顕微鏡で使用するためには減衰させる必要があります。これはピーク出力に直接影響を与え、それに応じて減少してしまいます。

このような励起レーザーの熱による生体の損傷を避けるその他の方法は、平均出力を低く抑えながら、ピーク出力を上げ、パルス幅を短くすることが有効です。これにより、光子が媒体に到達する時間間隔が短くなり、同時に吸収される確率が高くなります。

最近、最先端のスーパーコンティニウム全ファイバーレーザー技術により、[FYLA社のCycloneレーザー](#)が15 fsという極短パルス、低平均出力、高ピーク出力を発生する商用レーザーを初めて実現させました。

従来のパルス幅100fsクラスの固体レーザーと比較すると、パルス幅15 fsのCycloneレーザーは、同レベルの平均出力において、7倍の驚異的な光量子束をもたらします。





- i) 光量子束
 - a) 青線の中心値: Cycloneレーザ (15[fs], FWHM=200~[nm], 75[MHz], 50[mW])
 - b) 橙線の中心値: 他社固体レーザ (100[fs], FWHM=13[nm], 80[MHz], 50[mW])
- ii) 蛍光色素DsRedの二光子吸収断面積 (右側の縦軸)
 GM: (1 GM = $1 \times 10^{-50} \text{cm}^4 \cdot \text{s} \cdot \text{photon}^{-1}$)、励起効率を示す指標の一つ

多光子(二光子)顕微鏡(2/3)、(3/3)の号で、この光束の大幅な増強がどのようにして顕微鏡の焦点面に到達するのかを説明します。また、低平均出力レーザを用いてTPEF顕微鏡の効率を向上させ、生体内イメージングでの熱損傷を低減する方法の例も紹介します。

[Cyclone](#)に関するすべての技術情報は、このWebサイトの「製品情報」に掲載されています。



Ronda Guglielmo Marconi 12. Parque Tecnológico 46980 Paterna – Valencia (Spain)
 Tel +34 96 389 10 92 / Fax +34 393 12 95 / www.fyla.com



※ 製品のご使用にあたっては、製品に添付されている取扱説明書をよくお読みください。
 ※ 改良のため外観・仕様などを予告なく変更することがありますので予めご了承下さい。
 ※ 本カタログに記載の会社名・製品名は、各社の商標もしくは登録商標です。



M スクエアレーザ社日本総代理店
オーシャン フォトニクス 株式会社 M スクエアレーザ課
 〒 169-0051 東京都新宿区西早稲田 3-30-16 ホリゾン1ビル
 TEL 03-6278-9470 FAX 03-6278-9480
<http://www.oceanphotonics.com> E-mail: sales@oceanphotonics.com