

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20550016

研究課題名（和文） 光パラメトリック増幅法の時間分解イメージングへの適用

研究課題名（英文） Time-resolved imaging by using optical parametric amplification

研究代表者

永原 哲彦 (NAGAHARA TETSUHIKO)

京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・助教

研究者番号：70390664

研究成果の概要（和文）： CCDカメラによって蛍光寿命イメージングを行う新規な装置を開発した。この手法では、任意の時刻の蛍光イメージがサブピコ秒レーザーパルスによって決まる時間分解能で得られる。信号のコントラストを空間モード，ゲート波長，非線形光学結晶の選択によって改良した。次に、専用の光学ポートを備えた顕微鏡を設計・製作し、顕微鏡に適用した。顕微鏡下での増幅率やコントラストは光学セルを用いた場合と比べて低かったが、顕微鏡分析などへの応用の可能性を示した。

研究成果の概要（英文）： A new method of fluorescence lifetime imaging that uses optical parametric amplification and CCD camera has been developed. Fluorescence images at different delay times were obtained with a temporal resolution limited by the duration of the sub-picosecond laser used. The method combined with a microscope can be applied to a variety of fields such as microscopic analysis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	4,000,000	1,200,000	5,200,000

研究分野：物理化学

科研費の分科・細目：基礎化学 ・ 物理化学

キーワード：光物性、非線形光学、超精密計測、化学物理、メゾスコピック系

## 1. 研究開始当初の背景

これまで、分子系ダイナミクスの観測は様々な分光学的手法でなされてきたが、時間分解分光法は励起状態分子種のダイナミッ

クスを直接にプローブすることができるすぐれた手法である。報告者はこれまで時間分解吸収分光法、時間分解蛍光分光法、走査プローブ顕微鏡による時間分解顕微分光法、非

線形分光法を利用し分子系のダイナミクスや構造について分光手法の開発も同時に行いながら研究してきた。これまでの研究を通して、複雑かつ高度に集積された分子系において、メソスコピックなサイト依存性とダイナミクスの同時測定が重要と考え、新規な時間分解発光イメージング法を開発を行うことにした。

従来の時間分解発光イメージングは、

(1) 場所を走査しながらそれぞれの位置での発光の光信号強度の時間変化を測定し、各時刻でのイメージ(像)を再構築する方法、

(2) 時刻を走査しながら各時刻での発光イメージを直接に取得する方法、

で行われてきた。電気回路による時間分解取り込みが容易であるナノ秒以上の領域では(2)の方法が、それ以下の超高速時間領域では(1)の方法が一般に用いられている。事実、報告者が以前に開発を行った走査型プローブ顕微鏡による時間分解顕微分光法では、(1)の方法で約100フェムト秒の時間分解能が得られたが、そのダイナミクスを時間分解イメージとして可視化するには数千点以上の場所を走査する必要があり、1時間以上の測定を要した。

超短パルスレーザーによる光ゲートでイメージングを行えば、レーザーパルスによって決まる時間分解能を維持したまま、そのダイナミクス・イメージを2次元検出器上に取得することが可能となる。これには空間周波数のバンド幅を広くとった光カーゲート、または光パラメトリック増幅過程を使用する。前者・後者はそれぞれ、三次の光学過程で位相整合条件を自動的に満たすこと、二次の光学過程であるが擬縮重条件では位相整合条件が緩和されること、からバンド幅を広くとることが可能となる。

しかし、前者の光カーゲート法による時間

分解イメージングには、Manley-Rowe 関係によって、集光光学系で集めた蛍光フォトン数以上の信号を得ることができないという問題があり、本質的に感度が低い欠点がある。すなわち、長時間の光照射測定に耐えられる試料以外では試料の光損傷のためダイナミクスのイメージング測定が困難であり、分子複合系などの高度の材料の測定にはあまり適さない。

対して後者の光パラメトリック増幅法では、擬縮重領域でコリニアな光学配置をとり、適当な空間モードを選択し光パラメトリック増幅することで、時間分解蛍光像のイメージングが可能であることが数10ピコ秒の時間分解能で示されている。この方法は、試料より集めた光を光ゲートパルスによって高い信号/雑音強度比で光増幅し検出系に導く。原理的に、レーザー波長の変換法としてよく知られ一般に市販・用いられている装置と同じ原理であるが、増幅の対象がレーザー光か試料からの発光かという点が異なる。また光ゲートパルスを用いて増幅するため、超高速時間領域で時間分解測定が可能なすぐれた手法である。

## 2. 研究の目的

本研究ではこの手法をサブピコ秒レーザーで行う。これにより更に時間分解能が高まるだけでなく、レーザーパルスの尖塔出力が増大することで増幅率が上がり更に高感度化できる可能性があり、高感度サブピコ秒時間分解発光イメージングへと発展させる。またイメージング性能を有しているので顕微鏡と組み合わせることで、顕微鏡下での時間分解発光像を光増幅して高感度に取得できるようになる可能性があり、測定感度と時間分解能を共に飛躍的に高めることができ、近い将

来にバイオ・ライフサイエンスなどの分野に新しい分析・測定手段を提供できる可能性がある。

本研究では以下を目論んだ：

- (1) サブピコ秒 Ti:Sapphire レーザと組み合わせて、増幅後に検出される信号を測定し、サブピコ秒領域で発光ダイナミクスのイメージングのイメージングをおこなうこと。
- (2) 顕微鏡下のイメージングにおける光パラメトリック増幅法の有効性を示すこと。

### 3. 研究の方法

#### (1) 光パラメトリック増幅器と時間分解蛍光イメージの検出

本研究で開発する機器では~100 fs, 800 nm の Ti:Sapphire レーザを非線形光学結晶に通過させ、第二高調波を発生させる。これにより 400 nm の近紫外光パルスを得る。半透鏡を用いて二つに分け、一方を用いて試料を光励起し、得られた蛍光を集光し、二つに分けた他方のレーザ（ゲート光）と共に光パラメトリック増幅器に導入する。光パラメトリック増幅されたアイドラー光を光学フィルタで分光し、2次元検出器で検出する。

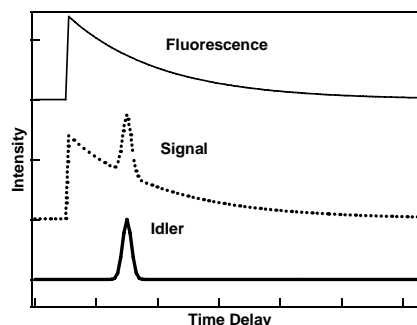
#### (2) 光パラメトリック増幅器

光パラメトリック増幅器では、サンプル上での蛍光スポットの空間プロファイルを適切に整形し、増幅用の非線形光学結晶上にイメージリレーし、ゲート光と重ねる。ゲート光の遅延時間を走査することで各ゲート光到達時刻での信号イメージを得る。

#### (3) 検出器

発生したアイドラーパルスは、シグナルパルスとは異なりバックグラウンドがなく、時間分解された信号であるので、光学フィルタによって分離して2次元検出器で検出する。

ゲート、シグナル、アイドラーのうち、アイドラーは最も低エネルギー側すなわち近赤外光領域に発生するのでシリコン CCD 検出器で検出する。



蛍光、シグナル光、アイドラー光の概念図

#### (4) 顕微鏡蛍光寿命イメージング

先に述べたとおり、光パラメトリック増幅法のイメージング性能を顕微鏡に適用し、顕微鏡下でのサブピコ秒時間分解蛍光イメージングへと発展させる。この為に、CCD カメラの手前に光パラメトリック増幅器とゲート光の入射ポートを取り付ける必要がある。そこで本研究に適した顕微鏡の設計・製作も行う。

### 4. 研究成果

#### (1) 研究成果

150 fs, 20 mJ/pulse, 10 Hz の Ti:Sapphire レーザの基本波で石英光学セル中の HDITCP 色素溶液励起し、2 倍波をゲート光として Type-I LBO 結晶（厚さ 1 mm）中でパラメトリック増幅し、アイドラー信号を時間分解分光検出することが出来た。また光学遅延を変化させて測定した蛍光寿命は報告されているものと良く一致した。

次に色素-検出器間のイメージング光学系の途中に、金属蒸着の解像力ターゲットを置いて、時間分解イメージングを試みた。空

間モードをフィルタによって成形した後、強いパラメトリック蛍光を減算することによって、冷却 CCD 検出器上で時間分解画像を検出することに成功した。空間モード、パラメトリック蛍光、信号光の関係については、現在解析中である。

また、本手法と組み合わせる専用の顕微鏡を設計・製作した。時間分解顕微画像の解析により、分子の凝集状態による励起状態寿命の差が明らかになってきている。

## (2) 今後の展望

光パラメトリック増幅法を用いた時間分解蛍光イメージングによって、高い時間分解能と高い感度を両立した蛍光寿命イメージングが可能となり、新規な計測手段を提供することができるようになった。顕微時間分解顕微イメージングの研究については、平成 22 年度までに十分に進めることは出来なかったが、手法・装置の開発という点でその基礎を築くことは出来たので、今後も展開を計りたいと考えている。

例えば巨大 $\pi$ 共役高分子など、蛍光励起スポットサイズよりも比較的大きな分子を用いれば、超高速蛍光エネルギー移動などが顕微鏡下でダイレクトに観測可能になる可能性があり、この方向で既に研究を進めている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

(1) Tetsuhiko Nagahara, Nobuyuki Ichinose, and Shinpei Nakamura, Laser-Induced Shockwave Chromatography: A Separation and Analysis Method for Nanometer-Sized Particles

and Molecules, *Analytical Chemistry*, **83** (2011) pp. 2416-2419, 査読有.

[学会発表] (計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

永原 哲彦 (NAGAHARA TETSUHIKO)

京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・助教

研究者番号 : 70390664

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号 :

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号 :