

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 1 日現在

機関番号：14401
研究種目：挑戦的萌芽研究
研究期間：2011～2012
課題番号：23656048
研究課題名（和文） 非線形ロックイン顕微鏡のための隣接光パルス干渉による帯域動作型強度雑音抑圧法
研究課題名（英文） Narrow-bandwidth intensity noise suppression through the interference of neighboring pulses for nonlinear-optical lock-in microscopy
研究代表者 伊東 一良 (ITO KAZUYOSHI) 大阪大学・大学院工学研究科・教授 研究者番号：80113520

研究成果の概要（和文）：ファイバーレーザーパルスを二分割し遅延を与えて合成することで、光検出後の光電流の雑音を特定周波数においてショット雑音レベルまで低減する方式を実証した。さらに、本方式を、ロックイン検出を用いる最新の非線形光学顕微鏡である誘導ラマン散乱顕微鏡に適用したところ、ファイバーレーザー光源を用いてイメージ取得時間 0.4 s/frame のリアルタイムイメージングに成功した。

研究成果の概要（英文）：We demonstrated a technique for reducing the photocurrent noise of fiber laser pulses based on a delay-and-add line. The noise was reduced down to the shot noise level. We then applied this technique to stimulated Raman scattering microscopy which exploits lock-in detection for label-free biological imaging. As a result, we achieved real-time imaging of polymer beads at an imaging speed of 0.4 s/frame.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,700,000	810,000	3,510,000

## 研究分野：工学

科研費の分科・細目：応用物理学・工学基礎，応用光学・量子光工学

キーワード：レーザー，雑音，誘導ラマン散乱，顕微鏡

## 1. 研究開始当初の背景

生物学・医学・薬学等の分野において、生体のダイナミクスを可視化するバイオイメージング技術が強く求められている。その中で、ロックイン検出を用いる高機能かつ高性能な非線形顕微鏡法が近年相次いで提案されている。その例としては、(a) 申請者ら、ハーバード大学、シュツットガルト大学が独立に提案・実証した、高感度かつ高コントラストな分子振動イメージング法である誘導ラマン散乱(SRS)顕微鏡法、(b) デューク大学が実証した、高コントラストなヘモグロビン可視化手法である2光子吸収顕微鏡法、(c) ハーバード大学が実証した、無輻射蛍光を光らせる誘導放出顕微鏡法などが挙げられる。

これらの方式における課題のひとつは、極

めて低雑音な光源を必要とすることである。具体的には、数十 mW オーダーの高い平均強度を有しつつ、量子限界(～170 dB/Hz)まで雑音レベルを下げる必要がある。これまで、固体レーザーと高周波ロックイン技術を駆使して量子限界感度を実現してきた。今後の実用化に向けては、小型・安定・メンテナンスフリーなファイバーレーザーへの置き換えが望ましい。しかしながら、ファイバーレーザーは出力強度が低く、光増幅が必須であるため、増幅器雑音が重畳し、雑音レベルは量子限界よりも20 dB程度高くなると予想され、これによる感度低下や観察時間の長時間が懸念された。

## 2. 研究の目的

本研究では、小型・安定かつメンテナンス

フリーなファイバーレーザーを上記技術に適用するための光源の超低雑音化手法として、隣接光パルス干渉法を提案した。本手法は、繰り返し周波数の半分の周波数における強度雑音を、理論的な最小レベルであるショット雑音限界まで抑圧可能と期待される。これによって、ファイバーレーザーベースの、実用性が高く、高機能かつ高感度な非線形光学イメージング技術の実現を目指した。

### 3. 研究の方法

当初の実験計画では、干渉計を用いて光パルスを二分割し、一方に遅延を与えた後、光位相を制御した上で合波する方式を考案していた。しかし、偏波分離・合成をもちいることで、光位相制御を用いることなく、雑音を低減できるアイデアとして、コリニアバランスド検出(CBD)法を考案した。そこで、偏波分離・合成による雑音低減の実証とファイバーレーザーベース誘導ラマン散乱(SRS)顕微鏡への適用を進めた。

CBD法の原理を図1に示す。光パルスを2分割し、一方に時間遅延 $\tau_0$ を与えて合波する。このパルスをフォトダイオードに入射すると、その光電流は、各々のパルスの光電流の和となる。時間遅延は周波数領域において周波数 $\omega$ に比例した線形位相シフト $-\omega\tau_0$ に相当する。したがって、位相シフトが $\pi$ となる周波数において、各々のパルスの過剰雑音が打ち消しあうとともに、確率的過程に由来するショット雑音のみが残留する。

なお、光計測において過剰雑音の影響を低減する一般的な方法として、バランスド検出法が知られている。これは既にファイバーレーザー型SRS顕微鏡への適用もなされている。バランスド検出法では、レーザーパルスを二分割し、その一方を直接光検出し、もう一方を計測系に導入した後に光検出する。これらの光電流の差を取ることで、過剰強度雑音の影響を除去する。バランスド検出においては、両光電流のバランスを一定に保つことが重要である。特に、イメージング応用においては、レーザー走査に伴い、試料による光散乱などの影響で光透過率が数割変化する場合もあり、バランスド検出の効果が十分に得られない。一方、CBD法では2つのパルスが同じ光路を通るため、光透過率が変化してもバランスが一定に保たれる。これがCBD法の特長である。

### 4. 研究成果

図2に、CBD法により雑音を低減したファイバー光源の実験系を示す。Erファイバーレーザーパルスを増幅し、周期分極反転LiNbO<sub>3</sub>結晶を用いて第二次高調波を発生させた後、光ファイバーによる分岐遅延線に導入した。この強度雑音を測定したところ、遅延線の無

い場合と比較して雑音を22 dB以上抑制し、ショット雑音限界に迫る強度雑音特性を得ることができた(図3, 4)。

このパルスを用いて、SRSイメージング実験を行った。実験系の模式図を図5に示す。繰り返し50 MHzのErファイバーレーザーと同25 MHzのYbファイバーレーザーを同期させた。同期手法として、図には示していないが、二光子吸収フォトダイオードによるタイミング検出法とYbファイバーレーザー内の位相変調器による高速繰り返し制御法を組み合わせた位相同期ループを用いた。同期した2色のレーザーパルスをSRS顕微鏡に導入し、透過光のうち、Erファイバーレーザーパルスをロックイン検出することで、SRS信号を得た。このシステムを用いて、ポリマービーズを0.4 s/frameの高速性をもってイメージングすることに成功した(図6)。このようにして、提案する雑音低減手法を実証できた。

本成果は、現在日米欧で研究競争が進められている最新の無染色生体顕微鏡であるSRS顕微鏡に対して、ファイバーレーザー光源を適用して実用性を向上させるためのキー技術になりうるものであり、大きなインパクトがある。今後、遅延線による光損失や非線形光学効果の影響など、いくつかの技術的な課題を解決していく必要がある。

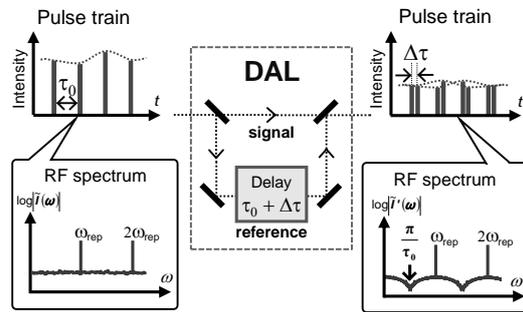


図1. コリニアバランスド検出法の原理模式図。

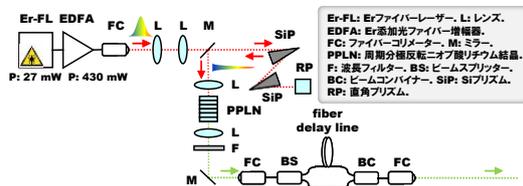


図2. CBD法により強度雑音を低減したファイバーパルス光源の実験系。

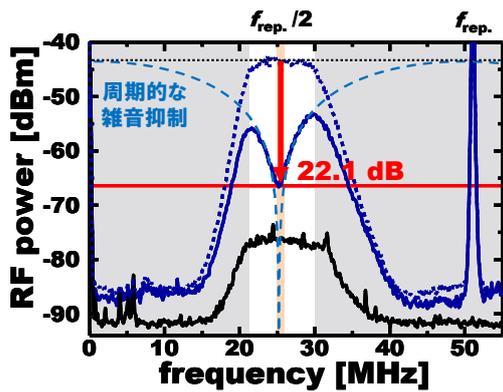


図 3. 強度雑音スペクトル. 25 MHz において強度雑音由来の光電流雑音が低減された。

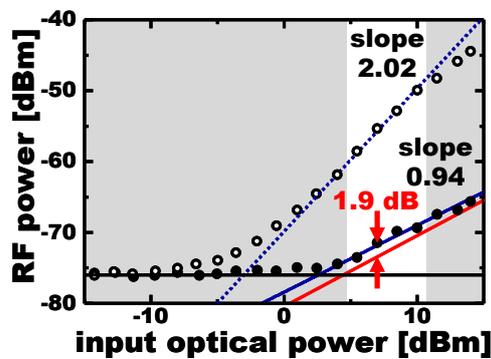


図 3. 強度雑音の光パワー依存性. 白丸：雑音低減を行わない場合. 黒丸：雑音低減を行った場合. 赤線：ショット雑音レベル.

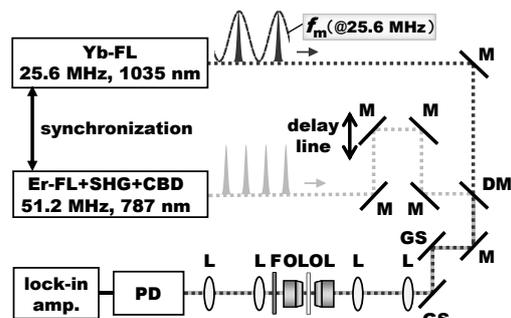


図 4. ファイバーレーザー型 SRS 顕微鏡の実験系. SHG: 第二次高調波発生. CBD: コリニアバランス検出. DM: ダイクロイックミラー. GS: ガルバノスキャナー. M: ミラー. L: レンズ. OL: 対物レンズ. F: フィルター. PD: 光検出器.

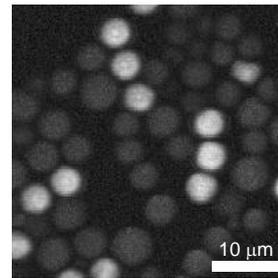


図 5. ポリマービーズ (ポリスチレン及びアクリル) の SRS イメージング結果. ラマンシフト: 3036  $\text{cm}^{-1}$ . イメージ取得時間: 0.4 s. ピクセル数: 200 x 200. ピクセル積算時間: 10  $\mu\text{s}$ .

### 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] Keisuke Nose, Yasuyuki Ozeki, Tatsuya Kishi, Kazuhiko Sumimura, Norihiko Nishizawa, Kiichi Fukui, Yasuo Kanematsu, and Kazuyoshi Itoh, "Sensitivity enhancement of fiber-laser-based stimulated Raman scattering microscopy by collinear balanced detection technique," Optics Express, vol. 20, no. 13, pp. 13958-13965 (2012).

[学会発表] (計 6 件)

[1] 能勢啓輔, 小関泰之, 岸 達也, 住村和彦, 西澤典彦, 兼松泰男, 伊東一良「同軸型バランス検出法と高調波同期法を用いたファイバーレーザーベース誘導ラマン散乱顕微鏡」第 59 回応用物理学関係連合講演会, 早稲田大学, 6p-B9-13, 2012 年 3 月 15 日.

[2] 能勢啓輔, 小関泰之, 岸 達也, 兼松泰男, 伊東一良「ファイバーレーザー誘導ラマン散乱顕微鏡のためのファイバー遅延線による同軸型バランス検出法」(応用物理学学会, 14a-B2-1, 松山, 9 月 14 日).

[3] 岸 達也, 能勢啓輔, 小関泰之, 兼松泰男, 伊東一良, "誘導ラマン散乱顕微鏡用ファイバー光源におけるパルスの高強度化と雑音特性の検討", Optics & Photonics Japan 2012 (OPJ 2012), 25aA6, 2012 年 10 月 25 日.

[4] 能勢啓輔, 小関泰之, 岸 達也, 住村和彦, 兼松泰男, 伊東一良, "ファイバー光源による誘導ラマン散乱分光顕微鏡", Optics & Photonics Japan 2012 (OPJ 2012), 25aA7, 2012 年 10 月 25 日.

[5] Keisuke Nose, Yasuyuki Ozeki, Tatsuya Kishi, Kazuhiko Sumimura, Norihiko Nishizawa, Yasuo Kanematsu, and Kazuyoshi Itoh, "Sensitivity enhancement of Fiber-laser-based stimulated Raman

scattering microscopy by intensity noise suppressor," CLEO 2012, San Jose, JW3G.7, May 9<sup>th</sup>, 2012.

[6] Keisuke Nose, Yasuyuki Ozeki, Tatsuya Kishi, Kazuhiko Sumimura, Yasuo Kanematsu, and Kazuyoshi Itoh, "A fiber-laser-based stimulated Raman scattering spectral microscope," Photonics West 2013, paper 8588-35, Feb 5<sup>th</sup>, 2013.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

[www-photonics.mls.eng.osaka-u.ac.jp](http://www-photonics.mls.eng.osaka-u.ac.jp)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

伊東 一良 (Kazuyoshi Itoh)

大阪大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：80113520

### (2) 研究分担者

小関 泰之 (Yasuyuki Ozeki)

大阪大学・大学院工学研究科・助教

研究者番号：60437374

### (3) 連携研究者

なし.