

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：11301  
研究種目：挑戦的萌芽研究  
研究期間：2013～2014  
課題番号：25600106  
研究課題名(和文)スーパーオシレーションによる超解像イメージング

研究課題名(英文)Super-resolution imaging by super-oscillation

## 研究代表者

佐藤 俊一 (Sato, Shunichi)

東北大学・多元物質科学研究所・教授

研究者番号：30162431

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ベクトルビームを用いたスーパーオシレーションによって、光の回折限界よりもはるかに小さな光のスポットを形成し、共焦点光学系における超解像イメージングを目指した。そのために、多重リング構造の径偏光ビームを液晶素子を用いて形成し、これを顕微鏡対物レンズで集光し、試料からの蛍光あるいは散乱光像を取得した。波長の四分の一に相当する微小なスポットが形成され、凝集した直径170nmの蛍光ビーズのひとつひとつが明確に判別できることがわかり、従来の光学顕微鏡の限界を打破する分解能を達成することができた。

研究成果の概要(英文)：We aimed to explore super-resolution imaging with confocal optics by super oscillation of a vector beam, which generates a much smaller spot than diffraction limit. By focusing a multi-ring structured, radially polarized beam generated by a liquid crystal device, fluorescence or scattering images were acquired. A small spot corresponding to quarter of the wavelength was formed and used for the imaging of aggregated 170 nm fluorescent beads, which were clearly distinguished with each other. Eventually, higher resolution breaking the limit of conventional optical microscopy was accomplished.

研究分野：光工学

キーワード：ベクトルビーム スーパーオシレーション 超解像顕微鏡

1. 研究開始当初の背景

光を用いる超解像イメージングは、空間分解能では電子顕微鏡などに及ばないものの、生体を生きたまま観察できることから、生命科学などにおいては必須の技術となっている。現在、SIM や PALM/STORM、STED などの技術開発によって、数 10nm とした光の回折限界を大きく超える空間分解能が得られている。しかしながら、これらのイメージングにおいては特殊な蛍光体や照明法が必要であり、試料の作製や装置の調整などに高度な技術を要するため、広く普及しているとは言い難く、波及効果が限定的である。

一方、レーザー走査顕微鏡は、簡便な方法であるものの、使用する光スポットの径を光の回折限界以下まで小さくすることは困難であるとされているため、大幅な空間分解能の向上は望めなかった。しかしながら、スーパーオシレーション(帯域制限された関数は、その Fourier 成分よりも早く振動する成分を持つことができる)の発見によって、光学の分野においては、局所的には回折理論で予測される値よりも小さな径のスポットの形成が可能であることがわかってきている。

2. 研究の目的

スーパーオシレーションによって、光の回折限界を大きく超える、微小な光スポット形成を実現し、これを共焦点レーザー顕微鏡に適用することによって、光学系が簡便でほとんどの試料に適用可能な新しい超解像イメージングの基盤を確立する。

3. 研究の方法

(1) 回折理論に基づいて、強く集光した場合の焦点付近の強度分布を数値計算によって徹底的に調査し、径偏光ビームによるスーパーオシレーションの振舞いを明らかにする。

(2) 焦点付近での、特に中心および周囲のサイドローブとの強度比および分布を考慮して適切な入射光を選択し、それらを共焦点レーザー顕微鏡に適用した場合の結像シミュレーションを行って空間分解能などの結像特性を評価する。

(3) 得られた結果から最適な入射光ビームを選択し、それを実験的に形成し、集光特性を実測する。

(4) 上記ビームを共焦点顕微鏡に適用し、本方法が超解像イメージングに有用であることを実証する。

4. 研究成果

(1) レーザー光の横断面において光軸を中心に半径方向に放射状の偏光分布を持つ径偏光ビームは、強く集光すると軸方向電場が効率的に発生する特異な集光特性を発現することが知られている。我々はこれまで、多重リング状の強度分布を持つ高次径偏光ビームを強く集光した場合、その集光スポットが直線・円偏光ビームよりも 3 割程度小さくなることを見出し、レーザー顕微鏡に応用することで空間分解能を向上することに成功している。本研究では、以下のように数値計算

に基づいて高次径偏光ビームの集光特性をさらに詳細に検討した結果、レンズに入射する径偏光ビームのビーム径を制御すると、焦点中心に局所的に任意サイズの微小スポットを形成するスーパーオシレーション特性が発現し、この特性を用いれば、さらに微小な集光スポットを形成可能であることを明らかにした。

高次径偏光 Laguerre-Gauss (RP-LG) ビームを開口数 1.4 (媒質の屈折率  $n = 1.52$ ) のレンズで集光することを仮定している。RP-LG ビームのビームサイズを特徴付けるガウスビーム半径  $w$  とレンズの瞳半径  $R$  の比として  $\beta_0 = R/w$  を定義した。6 重リング状強度分布を有する RP-LG<sub>51</sub> ビームの強い集光では、 $\beta_0 = 3.67$  の時、焦点には最も強く軸方向電場が発生し、集光スポットサイズの半値全幅は  $0.49\lambda$  (ただし  $\lambda = \lambda_0 / n$ ,  $\lambda_0$  は真空中での波長) となった。 $\beta_0$  の値をこの条件から小さくすると、集光スポットの光軸上での強度が弱くなり、相対的に周囲に強いサイドローブを形成することがわかった。一例として図 1(a) に  $\beta_0 = 3.05$  の場合の焦点での強度分布を示す。この時に形成される中心スポットのサイズは  $0.36\lambda$  となり、同条件で円偏光ガウスビームを集光した場合[図 1(b)]のスポットサイズである  $0.66\lambda$  に比べて約 45% 小さくなることわかった[図 1(c)]。スーパーオシレーション現象は強いサイドローブを伴いながら局所的に微小なスポットを形成することを特徴としており、RP-LG ビームの集光においてもこのスーパーオシレーションが生じていることを示唆している。共焦点レーザー顕微鏡では、共焦点ピンホールによりサイドローブの効果を抑制できるため、この極めて微小な集光スポットを共焦点レーザー顕微

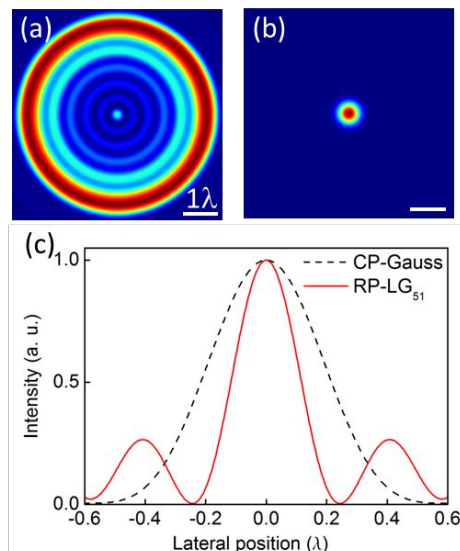


図1 スーパーオシレーションの下での(a)RP-LG<sub>51</sub> ビーム、(b)円偏光ガウスビーム(c)。(c)は(a)と(b)に対する、中心スポットの規格化した強度プロファイル。

鏡に応用すれば、さらなる高分解能化が期待される。

(2) 共焦点レーザー走査型顕微鏡 (CLSM) の空間分解能は、光の回折限界により実用上 200 nm 程度が限界とされている。この限界を超える超解像技術がいくつか報告されているが、画像取得に長時間を要することや観察条件が制限されるなどの欠点があり、より簡便で高速なイメージング技術が求められている。本研究では、多重リング状の強度分布を有する高次径偏光ビームが従来の光ビームよりも微小な集光スポットを形成できることを用い、CLSM の空間分解能を向上する手法を開発している。そこでは、高次径偏光ビームの集光特性をさらに詳細に検討した結果、集光条件によってはスーパーオシレーション特性が発生し、中央に極めて小さいスポットとその周囲に大きなサイドローブを焦点に形成することを見出している。CLSM では、共焦点ピンホールを用いてサイドローブの影響を抑制することができ、中央の小さいスポットのみでイメージングを行うことで CLSM の空間分解能を大きく向上させることができると考えられる。そこで、CLSM の空間分解能の向上を目的とし、6 重リング状の高次径偏光ビームを用いてスーパーオシレーションによる微小集光スポットを発生させてイメージングを行った。

波長 532 nm のレーザー光を開口径数 1.4 の油浸対物レンズで集光し、共焦点ピンホールが 1 Airy unit の条件での蛍光ビームの共焦点イメージングを行った。直径 100 nm の孤立した蛍光ビームを用いて CLSM における点像分布関数を測定した結果、直線偏光ビームを用いた場合、強度プロファイルの半値全幅は 206 nm であった。一方、これまで我々が報告してきた液晶デバイスによる偏光および位

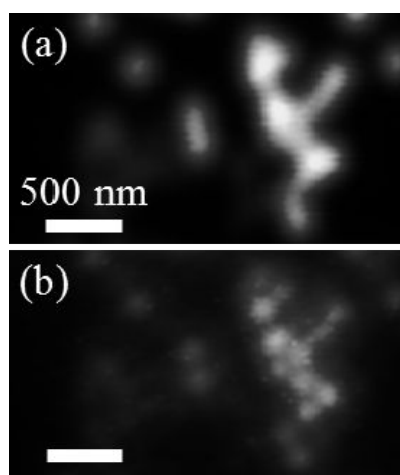


図 2 直径 170 nm の蛍光ビームのイメージング結果。(a) 直線偏光ビームを用いた場合 (b)スーパーオシレーションを用いた場合

相の変調により高次径偏光ビームに変換し、スーパーオシレーションスポットを形成した場合、そのスポットサイズは 138 nm となった。次に、凝集した直径 170 nm の蛍光ビームをイメージングした結果を図 2 に示す。直線偏光ビームの場合、隣接する粒子を分解することはできなかったが、高次径偏光ビームを用いてイメージングした場合、個々の粒子が明瞭に判別できることが分かる。また、共焦点ピンホールによってサイドローブの発生もほとんど抑制できていることが確認できる。

以上のように本研究では、ベクトルビームを用いたスーパーオシレーションを実験的に形成し、波長の 4 分の 1 程度の小さなスポットが生じていること、および強度分布が理論とほぼ同じであることを明らかにした。さらに、この微小スポットを用いた共焦点顕微鏡において蛍光像を観測し、超解像イメージングとしての有用性を実証した。

#### 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 3 件)

Yuichi Kozawa and Shunichi Sato, Numerical analysis of resolution enhancement in laser scanning microscopy using a radially polarized beam, *Optics Express*, 査読有, 23 巻, 2015, 2076-2084

DOI: 10.1364/OE.23.002076

Sunil Vyas, Yuichi Kozawa, and Shunichi Sato, Generation of radially polarized Bessel-Gaussian beams from c-cut Nd:YVO<sub>4</sub> laser, *Optics Letters*, 査読有, 39 巻, 2014, 1101-1104

DOI: 10.1364/OL.39.001101

Sunil Vyas, Yuichi Kozawa, and Shunichi Sato, Generation of a vector doughnut beam from an internal mirror He-Ne laser, *Optics Letters*, 査読有, 39 巻, 2014, 2080-2082

DOI: 10.1364/OL.39.002080

[学会発表](計 2 件)

小澤 祐市, 松永 大地, 佐藤 俊一, 高次径偏光ビームのスーパーオシレーション集光, 応用物理学会春季学術講演会, 2015 年 03 月 11 日 ~ 2015 年 03 月 14 日, 東海大学

松永大地, 小澤祐市, 佐藤俊一, 高次径偏光ビームのスーパーオシレーション特性による共焦点レーザー顕微鏡の空間分解能の向上, 応用物理学会春季学術講演会, 2015 年 03 月 11 日 ~ 2015 年 03 月 14 日, 東海大学

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://satolab.tagen.tohoku.ac.jp/>

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

佐藤 俊一（SATO, Shunichi）  
東北大学・多元物質科学研究所・教授  
研究者番号：30162431