高時空間分解能・広視野多光子レーザー顕微鏡のための Ybファイバーレーザーシステムの開発

Development of an Yb-doped fiber laser system for a multi-photon wide-field microscopy with high spatio-temporal resolution and wide field of view

石川 智啓 (D1), 稲澤 健太(B4)

Tomohiro Ishikawa, Kenta Inazawa

Abstract

We developed an Yb-doped fiber laser system for multiphoton microscopy, which enables us to investigate neural circuits. The laser system consists of a modelocked fiber oscillator and chirped pulse fiber amplifiers, which produces output power of 3.0 W, pulse duration of 122 fs at a repetition rate of 600 kHz..

1. はじめに

私達は脳神経回路の機能解明が可能なレーザー顕微鏡と光刺激技術の開発に取り組んでいる. ハツカネズミの脳機能観察には,個々の細胞(直径が数十から数 μm)を識別し,1回の活動電位(1 ms 程度)を検出しうる高い時空間分解能が必要とされる.また,脳の広範囲(十数 mm)に存在する神経細胞集団の活動を同時に計測できる広い視野が求められている. 加えて,神経回路の応答と生体機能を結びつけるための光刺激技術にも同様の性能が必要である. このような要求を満たす光技術は今までに報告されておらず,神経回路の観察以外の応用も期待できると考えている.

上記の実現に向け、高時空間分解能・広視野多光 子レーザー顕微鏡として三光子励起干渉時空間集 光顕微鏡の開発を行ってきた[1]. Yb ファイバーレ ーザーシステムからのフェムト秒レーザーパルス を用いるとともに、三光子励起・時空間集光・構造 化照明を組み合わせることで、視野 30 μm×30 μm において焦点面内方向分解能 106 nm, 軸方向分解 能 860 nm を達成した.

さらなる広視野化に向けて、レーザーのピーク強度向上が必要である。多光子蛍光はピーク強度の高いレーザー光によって生じる非線形現象であり、蛍光物質に多光子吸収させることで励起範囲を局所化でき、空間分解能を向上できる。一方、高いピーク強度の実現には集光スポットを小さくする必要があり、集光スポット半径の2乗に比例してピーク強度は低下する。ゆえに、多光子蛍光レーザー顕微鏡の広視野化にはレーザーのピーク強度を向上する必要がある。

本報告では、Yb ファイバーレーザーシステムの 開発について述べる. 今までに開発してきた Yb ファイバーレーザーシステム[2]の発振器と増幅器に 改良を施した. 繰り返し周波数 600 kHz において、出力 3.0 W、パルス幅 122 fs を確認した. このレーザーシステムを用いてさらなる広視野化を目指す.

2. Yb ファイバーレーザーシステム

Ybファイバー発振器の構成を Fig. 1 に示す. 利得媒質は Yb ゲインファイバーを使用した. 励起光は波長 976 nm の半導体レーザーを使用し, 波長分割多重カプラで Yb ゲインファイバーに結合し, 励起を行った. モード同期には非線形偏波回転を用いた. 分散補償手法は, 従来は反射型回折格子ペアによる構成を採用していた[3]が本研究では共振器内損失低減のため透過型回折格子ペアに変更した.

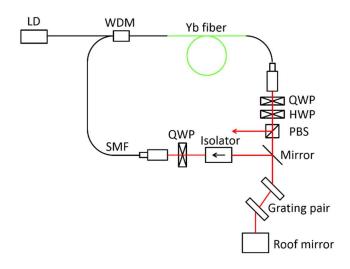
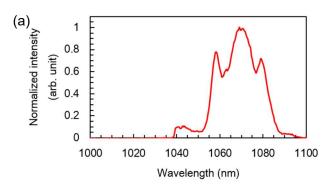


Fig. 1. Schematic of the Yb fiber mode-locked oscillator. また,終端ミラー前のスリットを取り除いた.

発振器の出力特性を Fig. 2 に示す. 波長板を調 整しスペクトルの広がりが認められたことからモ ード同期の発生を確認した. 後段の Yb ファイバ ー増幅システムでは 1030 nm 付近に高い利得を持 つが、利得帯域が狭くスペクトルの狭帯域化が生 じてしまう. そのため、スペクトルが長波長側に シフトするように調整を行い、広帯域な増幅がで きるようにした. モード同期時の発振器の出力は 22 mW であった. また, 1030 nm 付近のスペクト ルを抑制するため、発振器からの出力にロングパ スフィルタを施した. Fig. 2(a)はこの条件で計測し たスペクトルである. 波長 1070 nm をピークとす るスペクトルが得られた. また, Fig. 2 (b)はこの 条件で計測したパルス列である. パルス間隔 21 ns(繰り返し周波数 48MHz)が得られ、シングルパ ルス発振していることを確認した.

次に、Ybファイバー増幅システムの構成を Fig. 3に示す. 発振器からの出力をファイバーストレッチャーで引き伸ばし、偏波コントローラーで偏光を調整して偏波保持ファイバーに結合した. その後、1段目の増幅器に導いた. 増幅後の出力は 180 mWであった. 増幅器 1 段目からの出力の 1%をパルス遅延発生器に入力し、音響光学変調器で繰り返し周



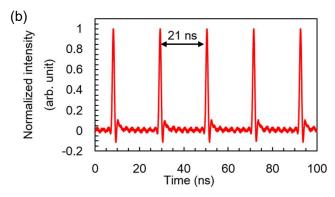


Fig. 2. Characteristics of the oscillator output. (a)Spectrum with long pass filter. (b)Pulse train.

波数を 600 kHz に低下させた. 繰り返し周波数低下 後のパルスを増幅器2段目に導いた.本研究では、 増幅器 2 段目において従来より利得が低いゲイン ファイバーを使用した. それにより, 増幅器2段目 での自然放出光(Amplified Spontaneous Emission, ASE)の発生が抑制され、より高励起できるように なった. 増幅器 2 段目の出力は従来は 120 mW であ ったが,本研究では 180 mW まで向上できた.SLM を用いた 4-f 波形整形器を増幅器 2 段目後に配置し, パルスの精密な分散補償を行った. 分散補償の最適 化には疑似焼きなまし法(Simulated Annealing, SA) を用いた. 4-f 波形整形器からの出力に発振器と同 様にロングパスフィルタを施し、増幅器3段目へと 導いた. 増幅器 3 段目からの出力は透過型回折格子 対に導き, 主な分散補償を行った. 以上が増幅シス テムの構成である.

増幅システムの出力特性を Fig. 4 に示す. Fig. 4(a)

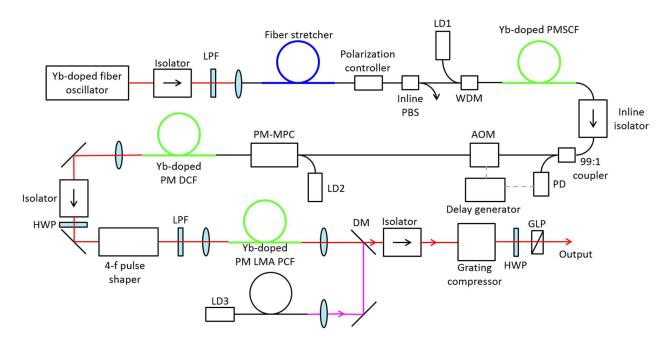


Fig. 3. Configuration of the Yb fiber amplifier system.

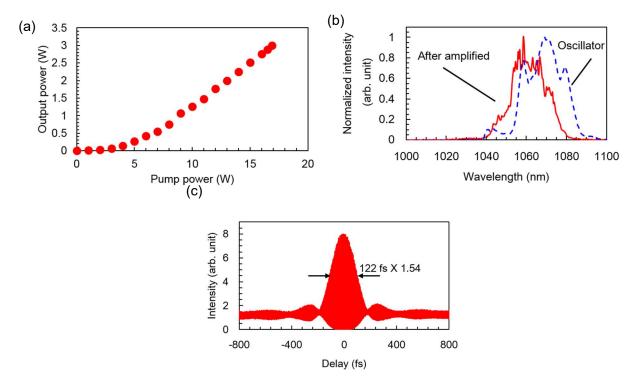


Fig. 4. Output characteristics of the Yb amplifier system. (a)Output power. (b)Spectrum. (c)Interferometric autocorrelation trace.

は増幅器 3 段目における出力特性である. 従来は出力 1.8 W が上限であったが、本研究では出力 3.0 W まで向上できた. これは、増幅器 2 段目の出力が向

上し増幅器 3 段目に入力するシード光の出力が向上したためである. ASE 発生を抑制でき, 従来と比較し高励起できるようになった. Fig. 4(b)に本増幅

システムにおける増幅前後のスペクトルを示す. 増 幅器の利得は波長 1030 nm 付近から長波長側に向 かって低下するため、増幅後にはスペクトルのピー ク波長が短波長側にシフトする. Fig. 4(b)において, ピーク波長は増幅前(発振器)では 1070 nm であるが 増幅後には 1060 nm にシフトしていることがわか る. Fig. 3(c)に干渉自己相関の計測結果を示す. 干 渉自己相関で得られた波形の包絡線に sech² を想定 してフィッティングすることにより、パルス幅は 122 fs と求められた. 従来のパルス幅は 92 fs であ り, それと比較し本研究ではパルス幅が長くなって いる. この原因として, 従来と比較し増幅率が高く なったことによるスペクトルの狭帯域化および分 散補償の精度不足が挙げられる.後者に関しては回 折格子対の微調整およびSA の試行回数を増加させ ることで対策できると考えられ、より短いパルス幅 が得られるものと想定している.

3. まとめ

Yb ファイバー発振器および Yb ファイバー増幅システムを改良することにより、出力3.0W、ピーク波長1060 nm、パルス幅122 fs の特性を得た.今後は本レーザーシステムを用いて高時空間分解能・広視野レーザー顕微鏡の開発に取り組む.

謝辞

本研究は国立研究開発法人理化学研究所光量子工学研究センターアト秒科学研究チーム主任研究員緑川克美博士に実験環境を提供していただき、磯部圭佑博士の指導を受けて行われました.厚くお礼申し上げます.

References

[1] K. Toda, K. Isobe, K. Namiki, H. Kawano, A. Miyawaki and K. Midorikawa, "Interferometric temporal focusing microscopy using three-photon

- excitation fluorescence." *Biomed. Opt. Express* **9**, 1510 (2018).
- [2] K. Toda, K. Isobe, K, Namiki, H. Kawano, A, Miyawaki and K. Midorikawa, "Temporal focusing microscopy using three-photon excitation fluorescence with a 92-fs Yb-fiber chirped pulse amplifier." *Biomed. Opt. Express* 8, 2796 (2017).
- [3] 戸田圭亮,"生体深部を観察可能な超解像リアルタイムイメージング技術に関する研究." 埼玉大学大学院, 2018, 博士論文.