

コラーゲン線維の第2高調波 発生信号：偏光、開口数、波 長の役割

B4 小谷洸平

Oscar del Barco, Juan M. Bueno,” Second harmonic generation signal in collagen fibers: role of polarization, numerical aperture, and wavelength,” *Journal of Biomedical Optics* 17, **045005**,(April 2012).

はじめに

- 従来のコラーゲン観察方法

- 選択性、侵襲性に難あり

- in vivo計測が不可能

- SHG顕微鏡

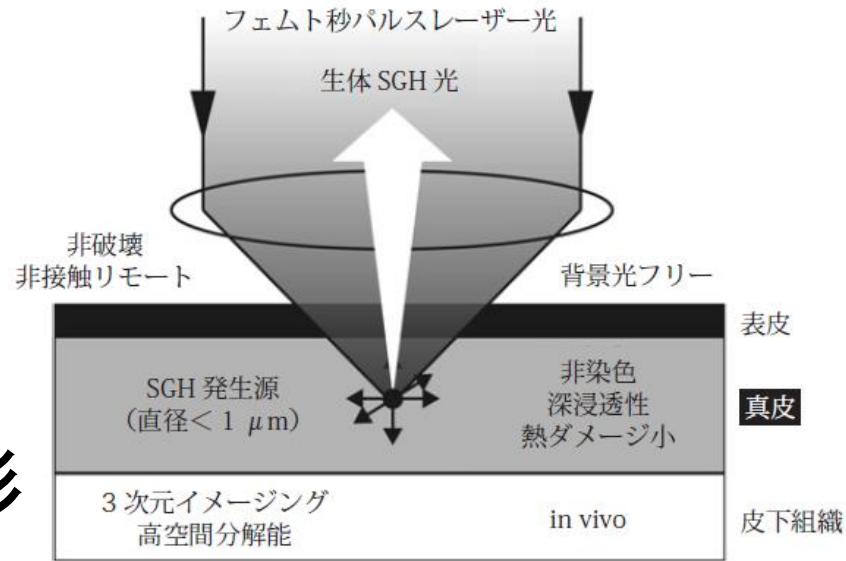
- 選択性、非侵襲性、非染色、3次元イメージング

- 再生医療や皮膚計測に応用が期待される

SHG顕微鏡

非線形光学顕微鏡

- 非中心対称構造物質と高ピーク光電場の非線形相互作用により波長変換
- SHG光発生 (入射光の半波長)



- 非中心対称構造の生体構造物質 (コラーゲン等) を観察することができる

SHG強度信号 $I_{2\omega}$

$$I_{2\omega,x}(r,\theta,\varphi) = \frac{1}{2} n_{2\omega} \epsilon_0 c |E_{2\omega,x}|^2$$

$$= \left[\frac{1}{8} n_{2\omega} \epsilon_0 c (N_v V)^2 \right] \left(\frac{\eta}{r} \right)^2 (\sin^2 \theta \sin^2 \varphi + \cos^2 \theta) \times$$

$$\exp \left[-\frac{k_{2\omega}^2}{4} (w_{xy}^2 \sin^2 \theta + w_z^2 (\cos \theta - \xi')^2) \right] \times$$

$$\left[\left(E_{\omega,x}^{(0)} \right)^4 \beta_{xxx}^2 + \left(E_{\omega,y}^{(0)} \right)^4 \beta_{xxx} \beta_{xyy} \cos(2\delta) \right]$$

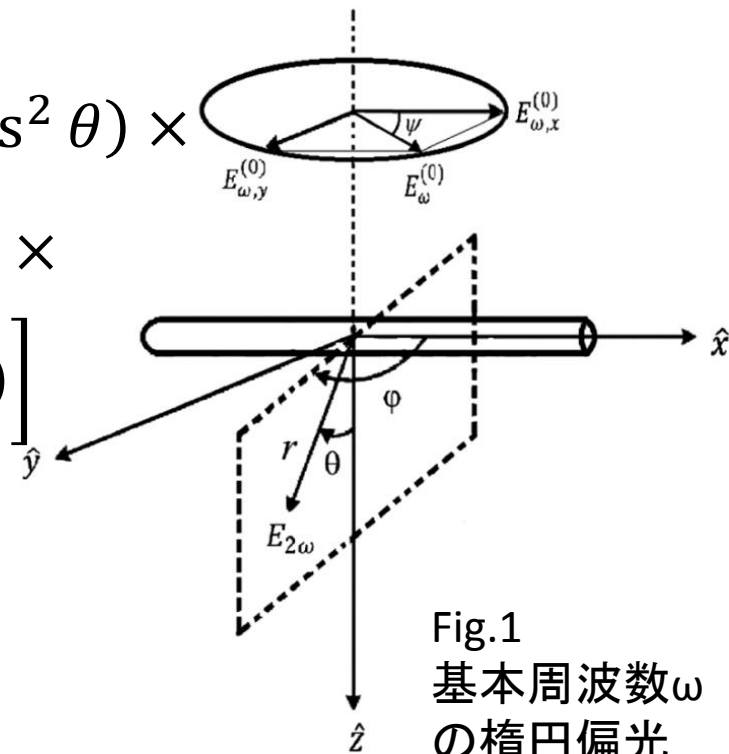
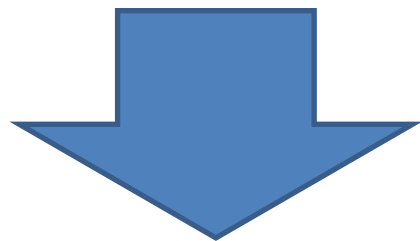


Fig.1
基本周波数 ω
の楕円偏光

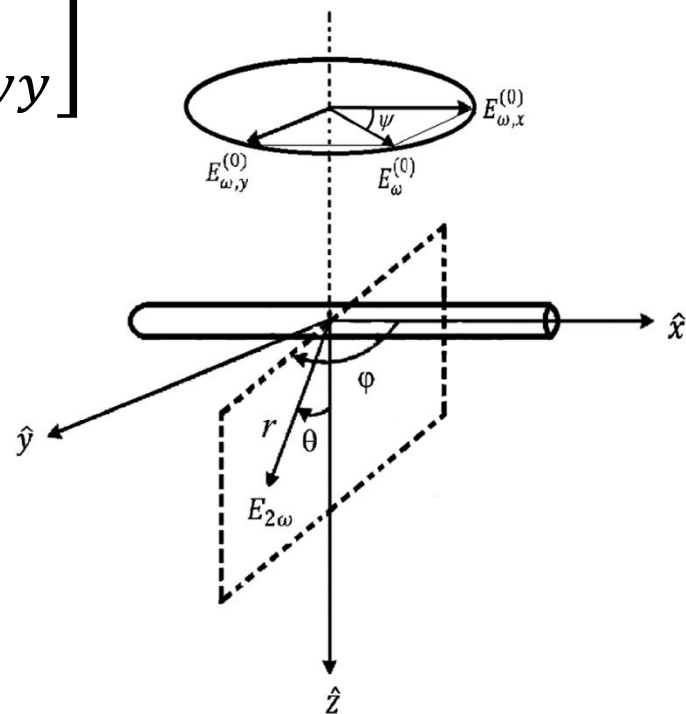
楕円偏光 E_{ω} の垂直成分

$$E_{\omega,y}^{(0)} = E_{\omega}^{(0)} \sin \psi \quad E_{\omega,x}^{(0)} = E_{\omega}^{(0)} \cos \psi \quad \text{より}$$

$$I_{2\omega,x}(\psi, r, \theta, \varphi) = \left[\frac{1}{8} n_{2\omega} \epsilon_0 c (N_v V)^2 \right] \left(\frac{\eta}{r} \right)^2 (\sin^2 \theta \sin^2 \varphi + \cos^2 \theta) \times \exp \left[-\frac{k_{2\omega}^2}{4} (w_{xy}^2 \sin^2 \theta + w_z^2 (\cos \theta - \xi')^2) \right] \times \left| E_{\omega}^{(0)} \right|^4 \left[\cos^4 \psi \beta_{xxx}^2 + \sin^4 \psi \beta_{xyy}^2 + \frac{1}{2} \sin^2(2\psi) \cos(2\delta) \beta_{xxx} \beta_{xyy} \right]$$



SHG信号が入射光の楕円率 ψ に依存している



δ は0方位の楕円偏光の $\pm\pi/2$ に等しい

$$\begin{aligned} \text{SHG強度信号の最終表現形式 } I_{2\omega}(\psi, r, \theta, \varphi) = & \\ = & \left[\frac{I_{\omega}^2}{2} \frac{n_{2\omega}}{n_{\omega}^2 \epsilon_0 c} (N_v V)^2 \right] \left(\frac{\eta}{r} \right)^2 (\sin^2 \theta \sin^2 \varphi + \cos^2 \theta) \times \\ & \exp \left[-\frac{k_{2\omega}^2}{4} (w_{xy}^2 \sin^2 \theta + w_z^2 (\cos \theta - \xi')^2) \right] \times \\ & \left[\cos^4 \psi \beta_{xxx}^2 + \sin^4 \psi \beta_{xyy}^2 - \frac{1}{2} \sin^2(2\psi) \beta_{xxx} \beta_{xyy} \right] \end{aligned}$$

式1とおく

Fig.2
 入射光の楕円率 ϕ においてSHG
 強度の強い依存性

F-SHG ($-\pi/2 < \phi < \pi/2$)

B-SHG ($\pi/2 < \phi < 3\pi/2$)

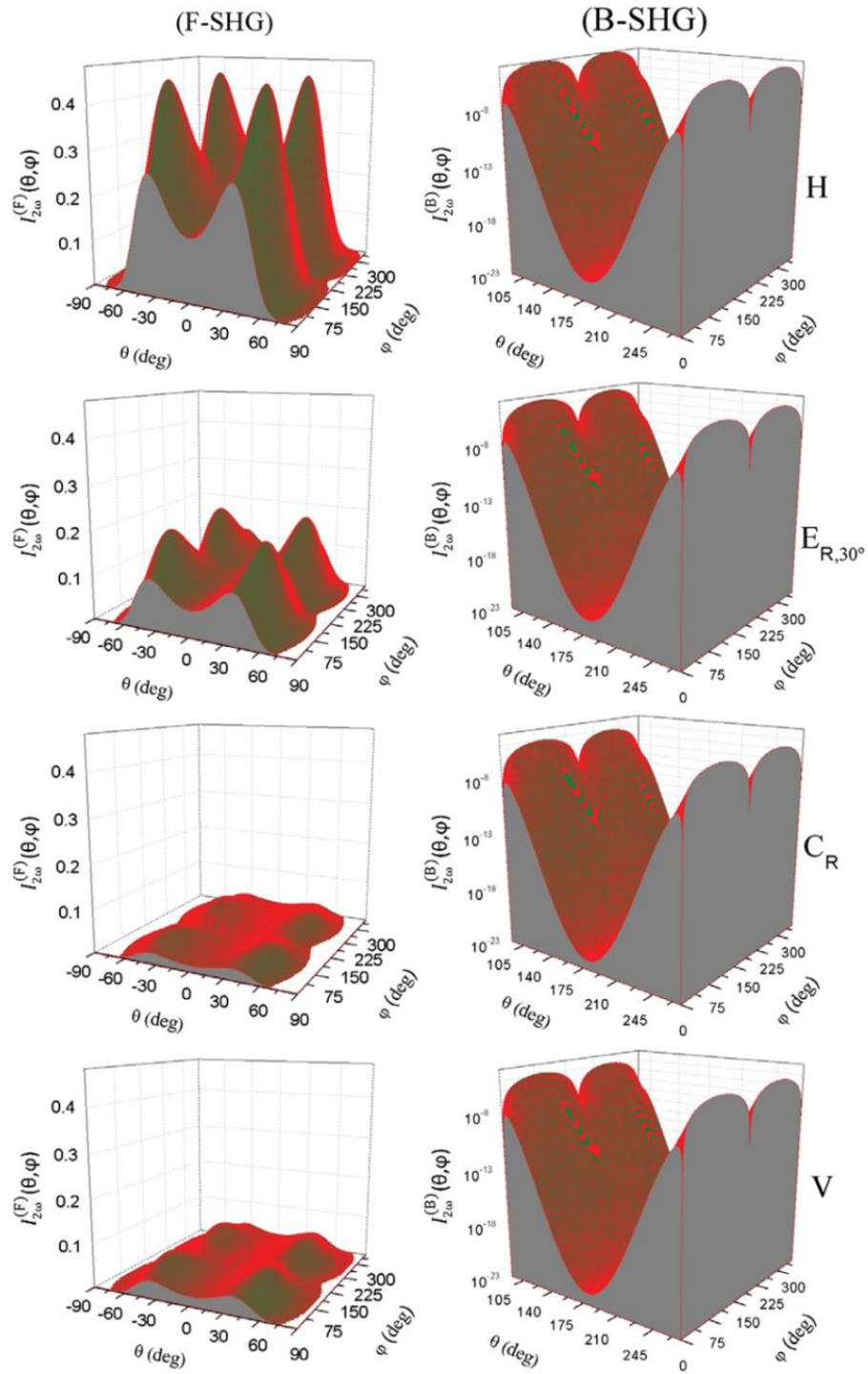
H:直線偏光

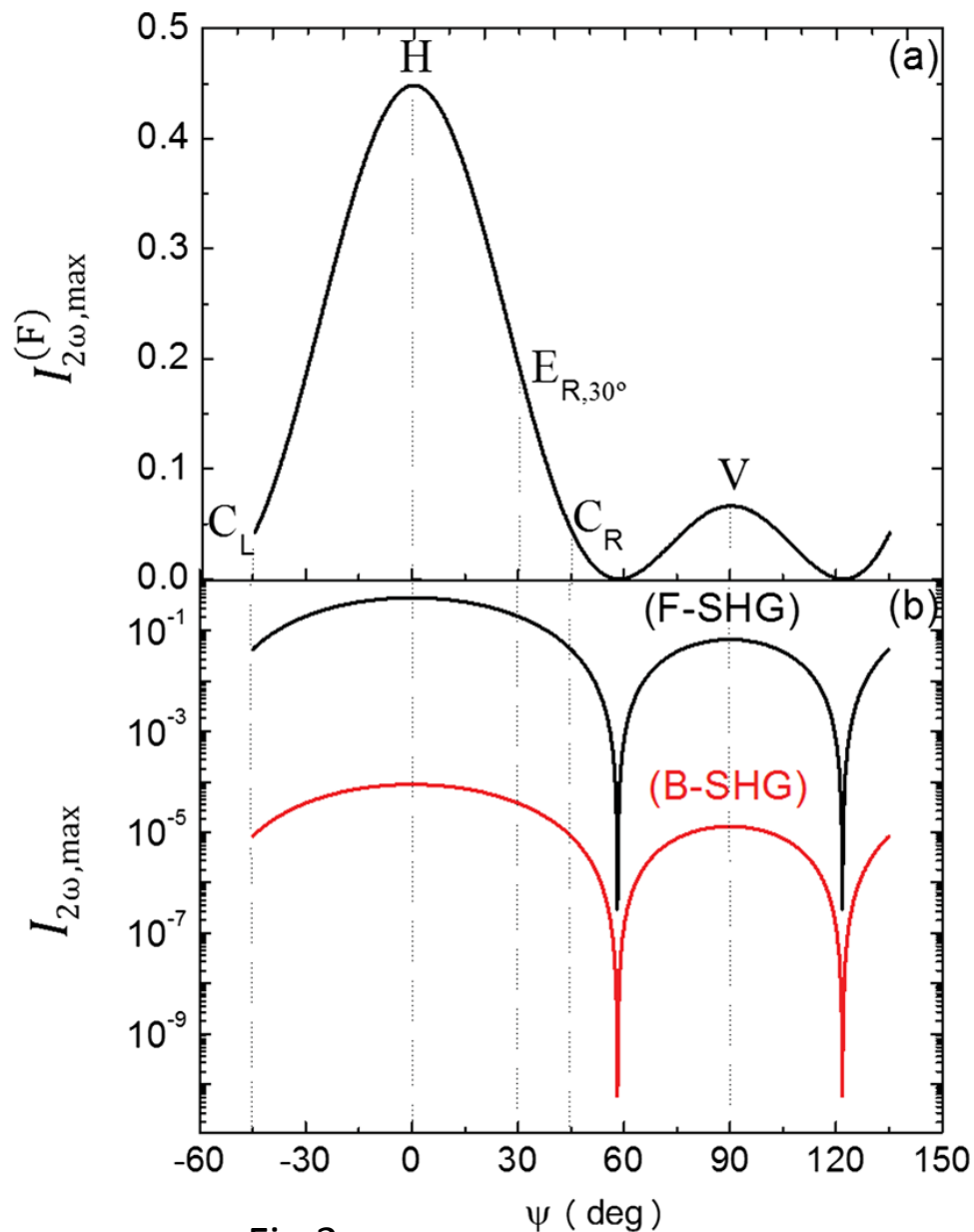
$E_{R,30deg}$:楕円率 30° の右回り
 楕円偏光

C_R :右回りの円形偏光

V:直線垂直偏光

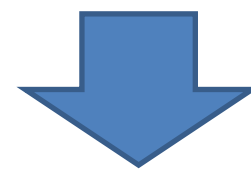
入射偏光が直線平行Hのとき
 SHG信号が最大になる





φ が58.2または121.8のとき
SHG強度は0になる

(b)のF-SHGとB-SHGのグラフ
は大きさが違うが形は似て
いる



なぜ入射光の偏光状態を
変えることでSHG強度が0に
なるのか

Fig.3

(a)最大F-SHG強度数値

(b)最大F-SHG及びB-SHG強度信号

式1は次の楕円率 ψ_0 によって消える

$$\psi_0 = \cos^{-1} \left(\frac{\pm 1}{\sqrt{1 + \rho}} \right)$$

強い電場 E によって電子雲がゆがみ新しくできる双極子モーメント $P = \alpha E + \beta EE + \gamma EEE + \dots$

超分極率

SHG強度を消す2つの楕円率の存在が確認できる



楕円率 ψ_0 のときSHG強度0

Fig.2~4によって直線偏光H

$\lambda_\omega = 700\text{nm}, \text{NA} = 1.2$

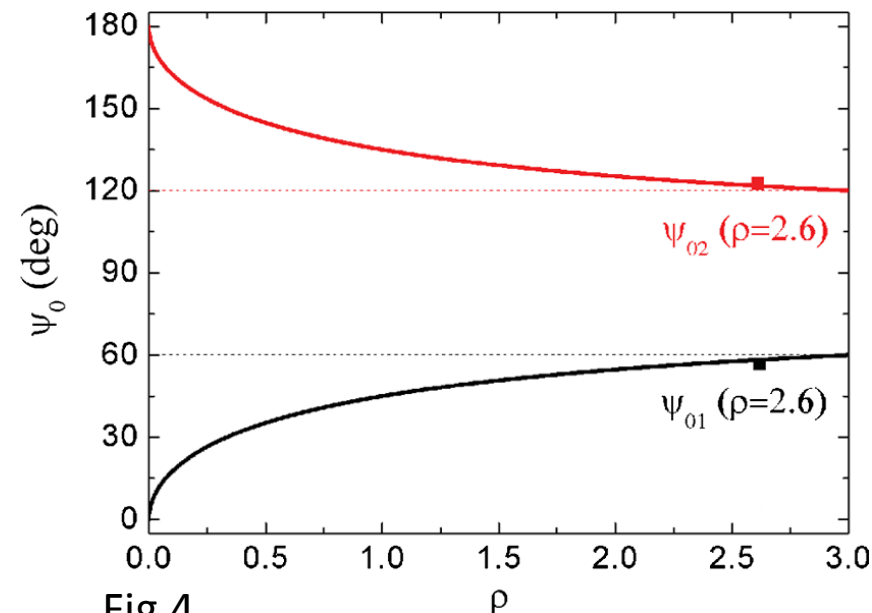
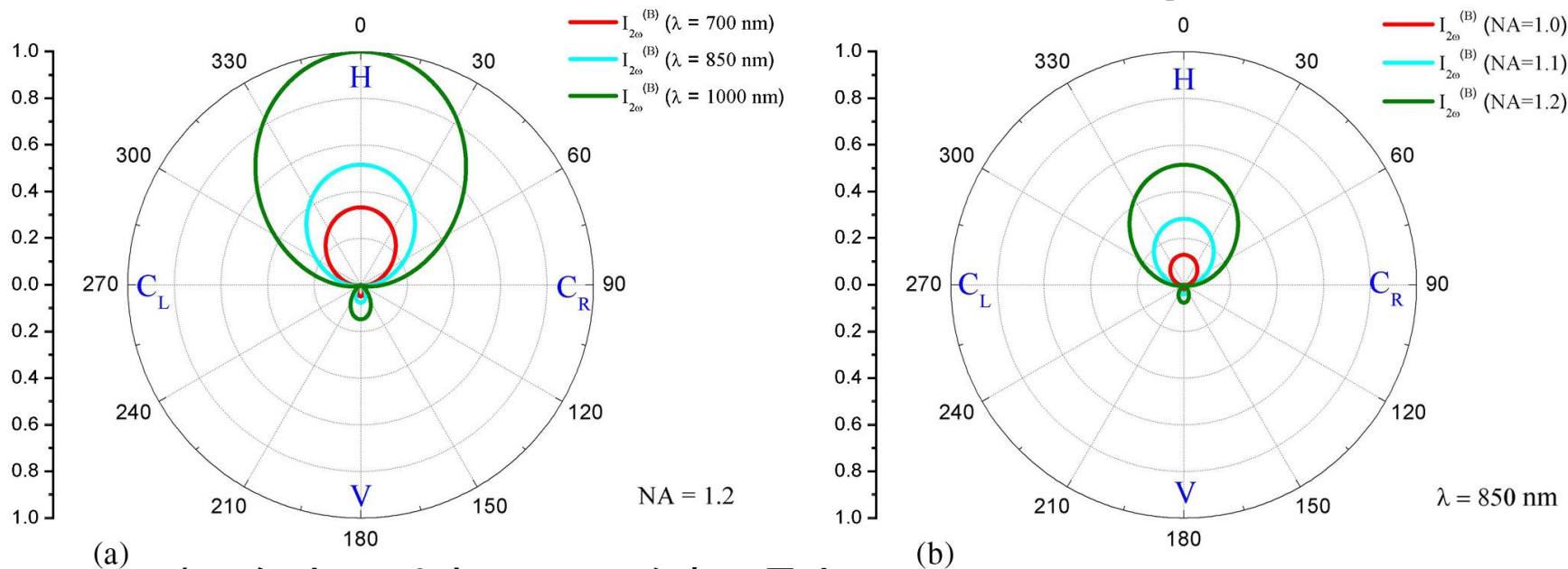


Fig.4
超分極率 ρ の比と楕円率 ψ_0 のグラフ

基本波長と開口数が SHG信号に与える影響



(a) 水平偏光HのときにB-SHG強度は最大
最大B-SHG強度は入射波長に強く依存

Fig.5
B-SHG信号強度

左赤 ($\lambda = 700$ 、 $NA = 1.2$) と右緑 ($\lambda = 850$ 、 $NA = 1.2$) : 右が1.4倍大きい
左青 ($\lambda = 850$ 、 $NA = 1.2$) と右赤 ($\lambda = 850$ 、 $NA = 1.0$) : 左が3.4倍大きい



λ 、 NA が大きくなるとSHG信号強度は大きくなる
直線偏光よりSHG信号強度が大きくなる組み合わせ有り

式1から F/B SHG比 $I_{2\omega}^{(F)} / I_{2\omega}^{(B)}$ は入射光の偏光状態に依存しない

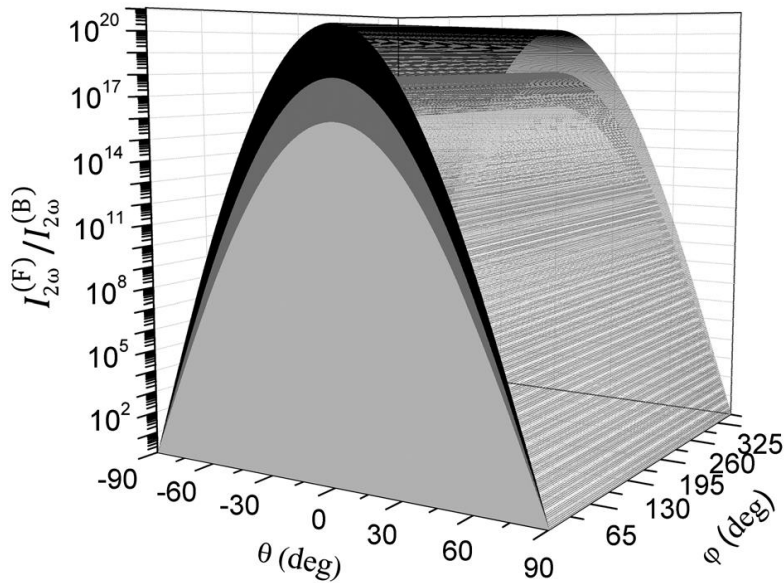


Fig.6 F/B SHG強度比
基本波長 λ_ω (grey:700 nm, dark grey:
850 nm, and black: 1000 nm)



λ_ω が大きくなる
→ F/B も大きくなる

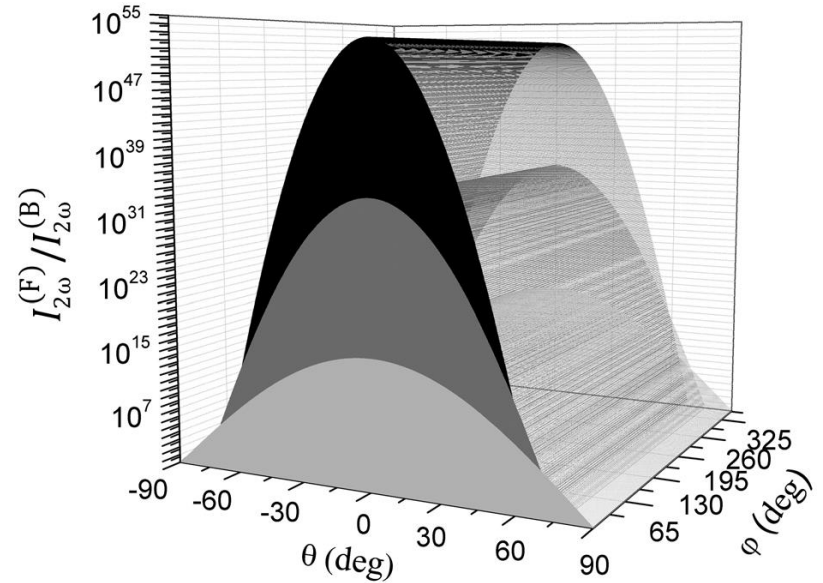


Fig.7 F/B SHG強度比
開口数NA(grey: 1.2, dark grey:
1.1, and black: 1.0)



NAが小さくなる
→ F/B は大きくなる

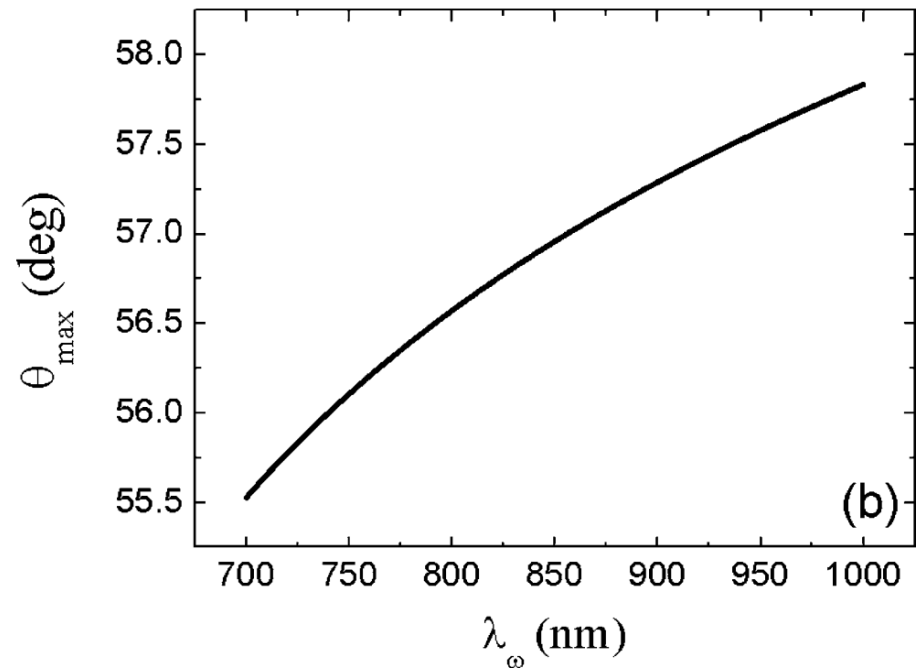
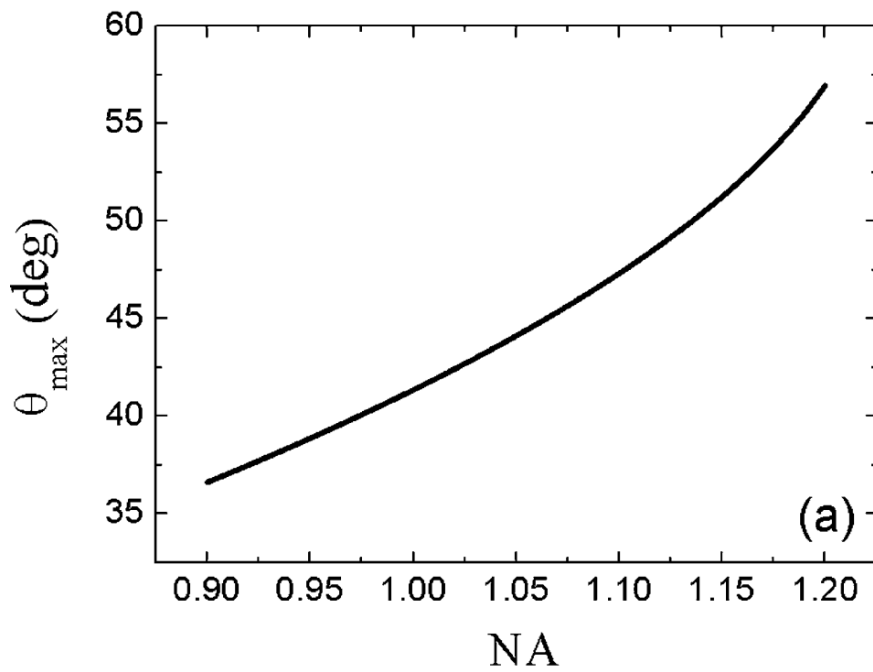


Fig.8 最大SHG強度の角度 θ_{max}

(a)開口数NA($\lambda = 850\text{nm}$)

(b)入射波長 λ (NA=1.2)

$$\theta_{max} = \cos^{-1}[\xi(n_{\omega}/n_{2\omega})]$$

(a)NAが0.9から1.2
 $\rightarrow \theta_{max}$ は65%増えた

(b) λ_{ω} が700nmから1000nm
 $\rightarrow \theta_{max}$ は4%増えた



開口数の影響大

まとめ

- $\psi_0 = \cos^{-1} \left(\pm 1 / \sqrt{1+\rho} \right)$ のときSHG強度は0になる
- 入射波長と開口数が高ければ高いほどSHG信号は高くなる
→H偏光に対応するSHG信号より大きいSHG信号をつくることもできる
- 最大SHG強度の角度 θ_{max} は開口数の影響を受けやすい

今後

非侵襲性・・・回復工程、手術、病理学、熱的損傷
の解析

開口数、入射波長・・・多光子顕微鏡で記録され
たシグナルの最大化

SHGイメージング機器において、光損傷を最小化
するために入射レーザー光のパワーを減らす