

第二高調波発生(SHG)顕微鏡の小型化

厚田耕佑¹, 長谷栄治¹, 安井武史²

¹徳島大学大学院先端技術科学教育部, ²徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部

近年, コラーゲンの新しい観察手段として, 生体コラーゲンSHG (second harmonic generation: 第2高調波発生光) 顕微鏡が注目されている[1]. SHG顕微鏡は, 非接触・非侵襲でのコラーゲンの選択的観測が可能であるため, 皮膚計測[2]や再生医療[3]を始めとしたコラーゲン関連分野での利用が期待されている. しかし, 従来のSHG顕微鏡は, 大型・複雑で, その利用は実験室レベルに限定されていた. SHG顕微鏡を, 臨床応用も含めた各種応用分野で幅広く利用するためには, レーザー光源も含めた装置の小型化が強く望まれる. もし, 光ファイバー技術をSHG顕微鏡に上手く導入できれば, ファイバーベースSHG顕微鏡が可能になり, 大幅な小型化が実現できる. 本発表では, ファイバーベースSHG顕微鏡用の小型プローブヘッドの開発を報告する.

従来のSHG顕微鏡では(図1), レーザー光源が大型・複雑である上に, 自由空間光学系に基づいた顕微鏡配置となっていたため, 小型化が困難であった(図1). もし, 小型ファイバーレーザーを光源とする一方で, 顕微鏡部分を小型プローブヘッドに納め, その両者間を光ファイバーで結合することが出来れば(図2), 装置の小型化だけでなく, ロバスト・アライメントフリー・フレキシブルなどの実用性を付与することが出来, 臨床現場でも利用可能になる. 小型ファイバーレーザー光源及び超短パルス光伝播用光ファイバーは市販されているが, 小型プローブヘッドは自作する必要がある.

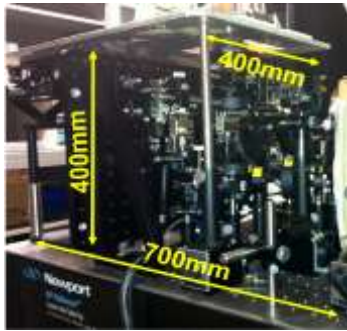


Fig. 1 Conventional SHG microscope

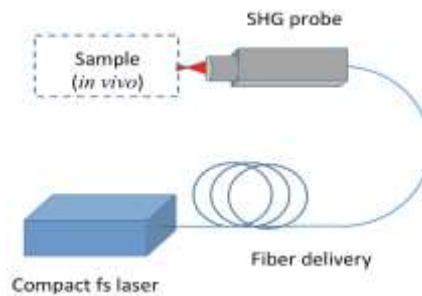


Fig. 2 Fiber-based SHG microscope

図3にセットアップを示す. Cr:F レーザー($\lambda_c = 1250 \text{ nm}$, $\Delta\tau = 90 \text{ fs}$, $P_{\text{mean}} = 250 \text{ mW}$, $f_{\text{rep}} = 73 \text{ MHz}$)から出た励起光は, プロブ外部のガルバノ走査ミラーにより反射後, プロブヘッドに導かれ, リレーレンズ対とダイクロイックミラー(DM)を通過し, 対物レンズ(油浸, $\text{NA}=0.9$, $\text{WD}=350\mu\text{m}$)で試料上に集束される. サンプルからの後方散乱SHG光はDMで反射され, バンドパスフィルタ(透過波長=625 nm)でフィルタリングされ, 最後にSHG信号が光電子増倍管(PMT)によって検出される. プロブの光学系はレンズチューブシステムに収まった構成である(図4).

ガルバノ走査ミラーをリサージュスキャンで取得したイメージを図5に示す. サンプルはスライスした腱であり, 腱独特の特徴的なコラーゲン線維分布が確認できる.

ガルバノ走査ミラーの代わりに, より小型なMEMS (micro electro mechanical system)ミラーを用いれば, レンズチューブシステムへの組み込みが可能になり, よりコンパクトなプローブヘッドが可能になると考えられる.

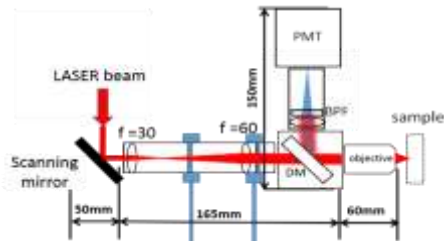


Fig. 3 setup



Fig. 4 The probe head

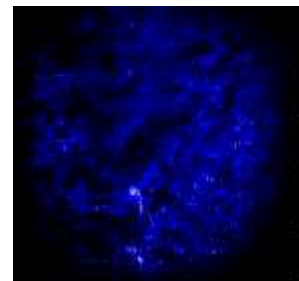


Fig. 5 SHG images by Lissajous

参考文献

- [1] P. J. Campagnola and C.-Y. Dong, *Laser Photon. Rev.* **5**, pp. 13–26 (2011).
- [2] T. Yasui *et al.* *J. Biomed. Opt.*, **18**, art. 031108 (2013).
- [3] E. Hase *et al.*, *Proc. SPIE* **9329**, art. 93292Q (2015).