

## 4Pp067 2波長 Dip 分光法を応用したファーフールド超解像顕微鏡の開発(VI)

- ナノ超解像及び消光過程の考察 -

(東工大資源研<sup>1</sup>・オリンパス光学工業(株)<sup>2</sup>・千葉大工<sup>3</sup>・慶應大理工<sup>4</sup>・JST<sup>5</sup>)

渡邊 武史<sup>1</sup>, 池滝 慶記<sup>2</sup>, 尾松 孝茂<sup>3</sup>, 山元 公寿<sup>4</sup>, 酒井 誠<sup>1</sup>, 石内 俊一<sup>5</sup>,  
藤井 正明<sup>1</sup>

【序】分子の高励起状態を観測する手段として2波長 Dip 分光法が挙げられる。この分光法は分子を第1のレーザー光(ポンプ光)で  $S_1$  に励起した後、さらに第2のレーザー光(イレース光)を照射することにより高励起状態  $S_n$  に励起する(図1)。このとき、高励起状態では速い無輻射遷移が起こるため、イレース光の照射によって  $S_1$  からの蛍光が抑制される。この蛍光抑制過程は気相分子では一般的であるが、凝集相においても同様の現象が観測される。我々は、この蛍光抑制過程を利用することにより、光の回折限界で限定されている光学顕微鏡の分解能を打ち破る超解像顕微鏡が実現されることを見出した。

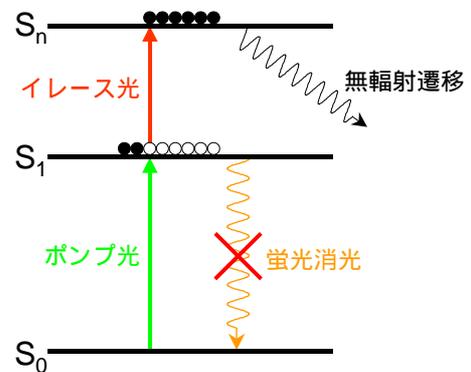


図1. 2波長Dip分光法の原理

【超解像原理】レーザー走査型顕微鏡(LSM)はポンプ光を対物レンズで集光し、集光スポットから発生する蛍光をモニターしながら試料走査する。分解能はスポットの大きさで決定されるが、その大きさはレンズのNAと波長で一意に決まる回折限界により制限され、回折限界以下に集光することは物理的に不可能である。図2に本超解像原理を示す。ポンプ光と合わせてドーナツ状に整形したイレース光を同時に照射すると、2色が重なった所では蛍光が抑制されるため、ドーナツの中心からの蛍光のみが観測される。従って蛍光スポットは回折限界以下に収縮する。この蛍光スポットを用いて試料走査することにより回折限界以下の像すなわち超解像が実現できる。

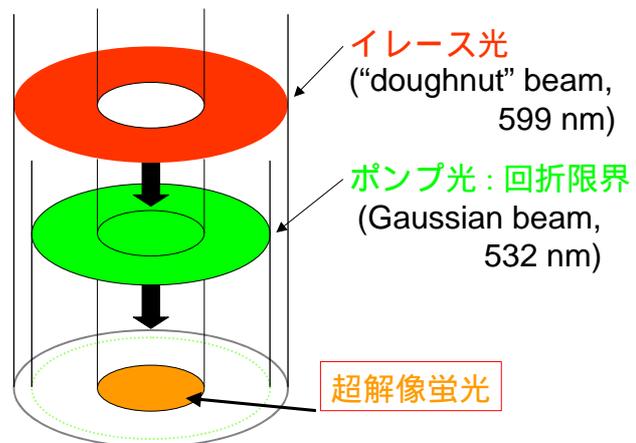


図2. 超解像の原理

【実験】図3に実験装置の概略を示す。ポンプ光にはYAGレーザーの2倍波を、イレース光にはYAGレーザーの2倍波で固体ラマンレーザーを励起し、その2nd Stokes 発振である599 nmの光を発生して用いた。イレース光は光空間変調器で軸対称性を有する一次のBesselビームに変調してドーナツ状に変換してから用いた。サンプルはRhodamine 6Gがドープされた蛍光ビーズを用い、走査型方式で蛍光像を観測した。

【結果と考察】図4に $\phi 175\text{ nm}$ の蛍光ビーズを走査型方式で観測した蛍光像を示す。

(a)はポンプ光のみを入射したときの蛍光像で、半値全巾は $720\text{ nm}$ と観測されている。理論的に求められる回折限界は $\sim 500\text{ nm}$ であるが、これは焦点の深さ方向のステージステップが粗いため弱冠デフォーカスしているためである。しかし、この条件でドーナツ状に変換したイレーズ光を入射すると(b)  $220\text{ nm}$ まで蛍光像が収縮していることが判る。これは回折限界を凌駕しており、2色を用いることでナノメートル領域での超解像を達成することができた。しかも、測定された蛍光像の大きさはビーズと同程度であることから、このビーズを用いた測定の限界まで分解能が向上していることを示している。

講演では蛍光 Dip の波長・レーザーパルス長及び強度依存性に基づき、蛍光消光に関する遷移過程についても議論する。

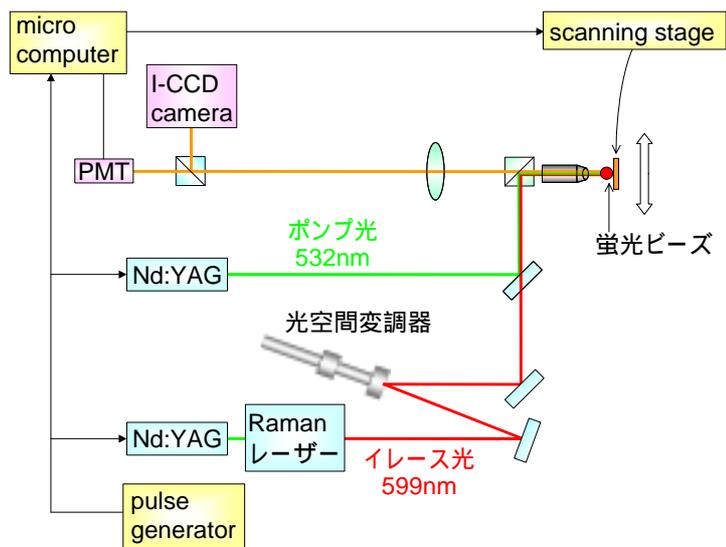


図3. 実験装置図

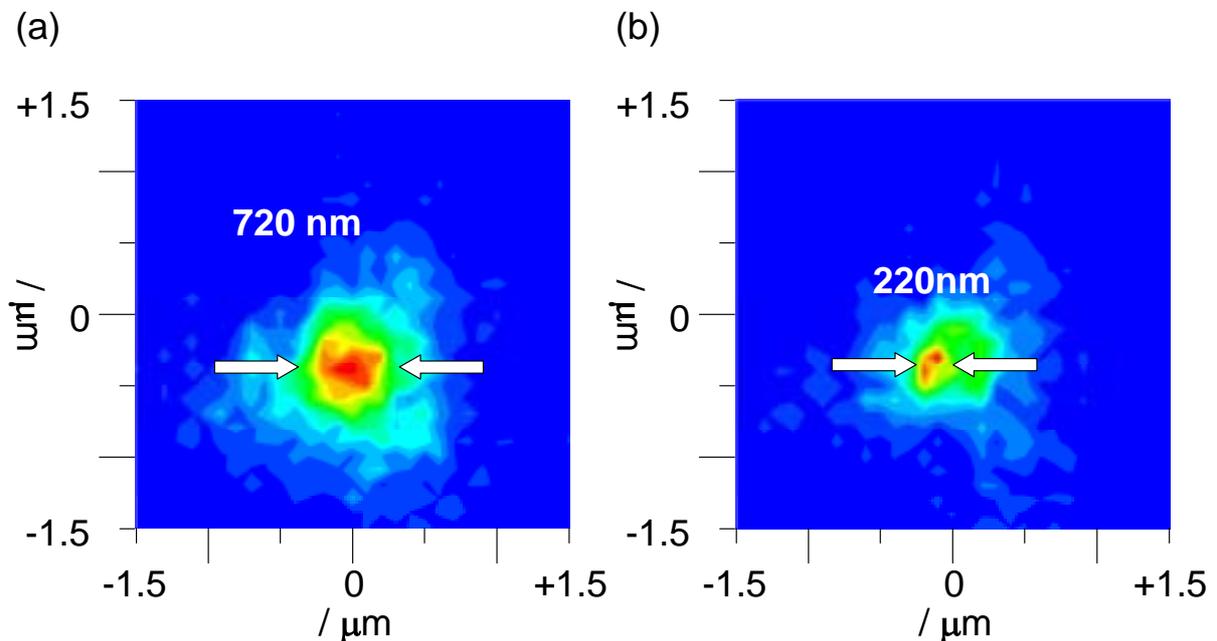


図4. 走査型方式による $\phi 175\text{ nm}$ ビーズの蛍光像

(a)ポンプ光のみ (b)ポンプ光 + イレーズ光