

## コンフォーカル表面プラズモン顕微鏡の開発

### [1] 組織

代表者：加野 裕

(室蘭工業大学大学院)

対応者：川田 善正

(静岡大学電子工学研究所)

### [2] 研究経過

金属表面に励起される自由電子の集団的な振動の量子である表面プラズモンは、金属表面の屈折率変化を高感度に測定するプローブとして有用性が知られており、この特性を利用した顕微鏡の開発が進められている。特に、表面プラズモンを金属表面の顕微領域に局在させる手法を用いることによって、光の回折限界に達する空間分解能を得ながら、屈折率分布イメージングにおけるコントラストを保つことができるため、透明な生体細胞構造物の無染色観察などでの活用が始まっている。本研究では、この顕微鏡のイメージング速度の向上を目的として、0次ベッセル光照明系とコンフォーカル検出系を有する走査型表面プラズモン顕微鏡の開発に取り組んだ。

0次ベッセル光照明系を有する表面プラズモン顕微鏡については、アキシコン素子、フーリエ変換レンズ、ズームレンズを組み合わせて実現可能であったが、照明光の空間周波数を適切に調整するには熟練を要する点が問題であった。本研究では、空間位相変調器を用いることで照明光の空間周波数を電氣的に制御し、従来法に比べて容易な光学調整を実現する。実際に、空間位相変調器を用いて光学系を構築し、表面プラズモンの局在特性の確認、透明微小球を用いた顕微鏡像特性の評価、検出系にコンフォーカル光学系を用いた際の効果の検証を行った。

また、本研究においては、代表者、対応者間で1度研究打ち合わせを実施した。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本研究では、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、空間位相変調器(浜松ホトニクス, LCOS-SLM X10468-07)を用いて環状瞳照明光学系を構築した。具体的には、空間位相変調器にアキシコン素子を模倣する位相変化パターンを与えることで0次ベッセル光を発生させ、レンズでフーリエ

変換した環状光を2段のテレセントリック系によって、対物レンズの入射瞳に結像させた。初段のテレセントリック系の直後には偏光操作素子を配置して、環状光をラジアル偏光に変換した。この光学系では、空間位相変調器の位相変化パターンを変更することによって、環状光の半径を電氣的に制御することが可能である。環状光が発生している位置にイメージセンサーを配置して、0次ベッセル光の空間周波数分布を調べたところ、メインピークの半値全幅は、空気に接する金表面に励起される表面プラズモンの伝搬定数に比べて十分小さいことを確認できた。

第2に、構築した光学系を用いて、クレッチマン配置(ガラス/金/空気の3層構造)に加工した基板表面に表面プラズモンを励起可能であることを確認した。この検証実験では、空間位相変調器で与える位相変化を制御して、照明光の空間周波数を変化させ、基板から反射される光の強度を測定した。その結果、表面プラズモンの理論的な伝搬定数に相当する空間周波数において反射光強度の顕著な低下を確認できた。そのとき、照明光と表面プラズモンの結合効率率は~80%であった。

第3に、表面プラズモンの局在が光の回折限界に達することを確認した。この検証実験では、表面プラズモンが励起される基板表面と光学的に共役な位置にイメージセンサーを配置して、基板からの反射強度分布を測定する検出光学系を構築した。表面プラズモンが励起される基板の表面に直径175nmの透明ラテックス球を分散させて、基板表面において照明光が集光される領域からの反射光の強度が画素値となるようにラスタースキャンを行ったところ、シングルピークの像を得た。その像の半値全幅は、表面プラズモンが電場表面に形成する電場強度分布の理論値と一致していた。また、反射光強度を求める際に、イメージセンサーの積分領域を、基板表面でのエアリーディスクに相当する大きさに制限すると、像のコントラストが増大されることから、コンフォーカル光学系の効果を確認できた。

さらに、直径1 $\mu$ mの透明ラテックス球を基板表面に分散させて、これをイメージングしたところ、密着状態の2つの微小球のそれぞれを高いコントラストで観察できることを確認した。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本プロジェクトの研究成果より、開発した装置の検出器をイメージセンサーからフォトダイオードに、データ収集装置をフレームグラバーからアナログ・デジタル変換ボードに変更可能であることが実験的に明らかになったので、今後、顕微鏡のイメージング速度が大幅に向上すると考えられる。従来から、生体細胞を画像観察するシステムとして、(1) 無染色で細胞の主要構造物を観察することが可能、(2) 200nm 程度の空間分解能で観察することが可能、(3) 水中の生きた細胞を観察することが可能。(4) 基板表面から 100nm 程度の領域を選択的に観察することが可能、などの特徴を有していたが、これを維持したまま、リアルタイム観察が可能になれば、無染色細胞の経時変化観察などへの展開が期待される。中でも、生体細胞に生じる物理的、化学的な刺激に対する細胞応答のメカニズム解明などに寄与するものと思われる。

#### [4] 成果資料

本プロジェクトに係る成果については現在投稿準備中である。

出張報告（特別教育研究経費を使用した場合について、全員分記載して下さい。）

氏名： 加野 裕

所属： 室蘭工業大学大学院工学研究科 しくみ情報系領域

期間： 平成27年2月22日～平成27年2月24日

用務先： 静岡大学浜松キャンパス

用務内容： 研究討議

主たる対応者： 川田 善正