



"БЕЛЫЕ" ЛАЗЕРЫ "СУПЕРКОНТИНУУМ" – ШИРОКОПОЛОСНЫЕ ЛАЗЕРЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ИЗОБРАЖЕНИЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

К. Хансен, д.т.н.,
руководитель отдела NKT Photonics, Дания;
nktphotonics.com;
kph@nktphotonics.com

Компания NKT Photonics производит генераторы суперконтинуумов ("белые" лазеры) – источники света, которые находят применение в самых разнообразных прикладных задачах. Наиболее мощным представителем этой линейки продуктов является лазер SuperK EXTREME. В нем – удачно сочетаются возможности источника широкополосного излучения, мощность и надежность волоконного лазера. С помощью SuperK EXTREME можно получать любую длину волны в диапазоне от 400 до 2400 нм, необходимую для конкретной задачи. Известно, что при наблюдении объектов с помощью методов флуоресценции важную роль выполняют измерения времени флуоресценции. Такие измерения можно легко осуществить с помощью "белого" лазера, генерирующего импульсы небольшой длительности. В настоящее время "белые" лазеры находят применение при получении изображений биологических объектов в таких методиках, как оптическая когерентная томография (ОКТ), конфокальная микроскопия, FLIM, FRET*, при получении изображения сложных молекул и т.д.

ШИРОКОПОЛОСНЫЕ ИСТОЧНИКИ СВЕТА В БИОФОТОНИКЕ

Несколько сотен лет источники белого света служили исследователям для освещения, изучения или возбуждения биологических и химических материалов.

* FLIM (Fluorescence Lifetime Image Microscopy) – флуоресцентная микроскопия в реальном времени, дающая возможность определять характеристики затухания флуоресценции, FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) – передача энергии посредством флуоресцентного резонанса, применяется для определения расстояния между молекулами разных типов, их окружения и взаимодействия.

SUPERCONTINUUM WHITE LIGHT LASERS BROADBAND SUPERCONTINUUM LASERS FOR BIO-IMAGING

Kim P. Hansen, Dr. (Eng.),
Global Product Line Manager NKT Photonics,
Denmark; nktphotonics.com; kph@nktphotonics.com

Supercontinuum white light laser, like the SuperK EXTREME from NKT Photonics, combines the broadband nature of a lamp with the power and robustness of a fiber laser. One can access any wavelength in the 400 to 2400 nm range enabling optimal dye excitation. Also fluorescence lifetimes are easily measured with the short pulses from the lasers. Today supercontinuum lasers are used for numerous bio-imaging applications including OCT, confocal microscopy, FLIM, FRET and optical molecular imaging.

BROADBAND SOURCES IN BIO-PHOTONICS

White light sources have allowed users to illuminate, interrogate, and excite biological materials and chemicals for several hundred years. Traditionally, filament or gas discharge lamps have been used and they are today supplemented by LEDs and other white light sources. However, the output power and/or bandwidth of these sources remain inadequate for many applications.

Lasers provide excellent beam quality and power but they are inherently single wavelength devices. To address several wavelengths one must combine a number of lasers adding cost and complexity. Moreover, only certain discrete wavelengths are available.

Официальный представитель компании
NKT Photonics в России –
компания ООО "Спецоптопродукция",
www.specoptics.com; micron@progtech.ru

Традиционно для этого использовали либо лампы накаливания, либо газоразрядные лампы, а сегодня наравне с ними применяют светодиоды и другие источники белого света. Однако мощность и/или ширина спектра этих источников во многих случаях не удовлетворяет задачам исследователей.

В отличие от них лазеры позволяют получить пучок света высочайшего качества, но они по своей природе дают свет с одной длиной волны. Когда решение задачи требует использования нескольких различных длин волн, встает необходимость иметь несколько лазеров. Согласитесь, это увеличивает стоимость работы и создает дополнительные конструкторские сложности. И вдобавок надо учесть, что современные методики построены на работе с дискретным набором частот.

"Белые" лазеры позволяют получать столь же широкополосный свет, как от лампы. В то же время они обеспечивают хорошую спектральную плотность мощности, просты и надежны в эксплуатации. Поэтому "белые" лазеры уже широко используются в биофотонике с момента их вывода на рынок компанией NKT Photonics в 2003 году. "Белый", суперконтинуумный лазер генерирует непрерывное излучение с длинами волн в диапазоне от 400 до 2400 нм и позволяет с помощью фильтров выделять нужную часть спектра. Классический диспергирующий элемент – дифракционная решетка – выводит свет со стандартной спектральной плотностью в несколько милливольт на нанометр через оптоволокно. В результате оказывается, что при общей мощности до нескольких десятков ватт, яркость такого источника превышает на несколько порядков яркость ламп. Кроме того, монолитная конструкция белых лазеров исключает необходимость дополнительной регулировки пучков и иной сложной юстировки. Испытания показали, что срок службы лазерных источников света NKT Photonics превышает несколько тысяч часов.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕРАТОРА СУПЕРКОНТИНУУМА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ИЗОБРАЖЕНИЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

В конфокальной флуоресцентной микроскопии наличие в арсенале исследователя источника с непрерывным спектром позволяет выбрать любую длину волны возбуждения. А узкую спектральную ширину линии излучения, от которой зависит разрешение получаемого изображения, выделяют акустической дифракционной решеткой. Такие дифракционные решетки, стоящие на входе, по существу являются оптико-акустическими настраиваемыми фильтрами. Набор фильтров



Лазер SuperK EXTREME
SuperK EXTREME laser

The supercontinuum white light laser combines the broadband nature of the lamp with the power and robustness of a laser and has been used in bio-photonics since their introduction to the market by NKT Photonics in 2003. A supercontinuum laser typically provides a continuous output in the entire 400-2400nm range and by filtering one can address any part of the spectrum individually. The diffraction limited output is fiber delivered with a typical spectral density of several mW/nm – many orders of magnitude brighter than lamp-based sources and the total power can reach several Watt. Moreover, since supercontinuum lasers are monolithic fiber lasers, they require no alignment or service and NKTs sources have lifetimes exceeding thousands of hours.

BIO-IMAGING APPLICATIONS

In confocal fluorescence imaging, the continuous spectrum allows the choice of any excitation wavelength and the diffraction limited



помогает выбрать любую длину волны возбуждения. Технически набор выполнен в виде устройства SuperK SELECT, является важным аксессуаром для работы и предоставляет исследователям широкий выбор длины волны или комбинации волн в видимой или ИК- частях спектра. Заметим, такие особенности источника, в свою очередь, позволяют добиться возбуждения оптимального поглощения и перекрестного возбуждения флуоресцентного красителя. В результате исследователь получает высококонтрастные изображения.

Специалистам известно, что для получения изображений живых организмов часто требуется использовать ближнюю ИК-область спектра с длинами волн от 650 до 900 нм (в этом диапазоне поглощение биологической ткани ниже, чем в диапазоне видимой части спектра). И то, что такие длины волн имеют лишь немногие источники света, превращает "белые" лазеры в очень привлекательные устройства для многих исследований, включая, например, получение изображений молекул живых организмов.

Измерение продолжительности флуоресценции (FLIM) также упрощается благодаря тому, что "белые" лазеры обладают естественным импульсным режимом. В лазере SuperK EXTREME регулируется частота генерируемых импульсов. Поэтому время возбуждения можно согласовать со временем затухания образца, а лазер может быть напрямую подключен для синхронизации к оборудованию измерения времени.

Непрерывный широкий спектр белых лазеров позволяет использовать их в оптической когерентной томографии (ОКТ). В сочетании с формирующим фильтром Гаусса, таким как SuperK HAUSS, можно получить широкополосный спектр в диапазоне $\Delta\lambda > 200$ нм. Сглаженный спектр снижает число артефактов в изображениях ОКТ, а широкий диапазон позволяет получить весьма высокое разрешение. Кроме того, так как источник излучения покрывает весь диапазон от 400 до 2400 нм, исследователь может подобрать длину волны λ в зависимости от исследуемого материала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Белые суперконтинуумные лазеры обладают множеством преимуществ перед иными источниками света при получении изображений биологических объектов. Именно поэтому в настоящее время ведущие организации, работающие в данной области, используют лазеры нашего производства линии SuperK. Подчеркнем наиболее важные преимущества белого лазера:

light ensures great resolution. The excitation wavelength can be controlled using acousto-optic tunable filters (AOTFs), like the SuperK SELECT, that allows the user to choose any wavelength or combination of wavelengths in the visible and nIR spectrum. This ensures optimal excitation of the fluorescent dyes in terms of absorption and minimization of cross excitation between dyes, leading to higher contrast images.

In vivo imaging often requires the use of the near-infrared wavelengths between 650 and 900 nm where tissue absorption is lower than at visible wavelengths. Not many light sources are available at these wavelengths making supercontinuum lasers very attractive for e.g. in vivo molecular imaging.

Lifetime measurements (FLIM) are easily added since the supercontinuum lasers are naturally pulsed. The SuperK EXTREME comes with adjustable repetition rate so that excitation can be matched to the decay times of the sample and the integrated NIM trigger can be connected directly to FLIM equipment for timing.

Optical Coherence Tomography (OCT) utilizes the continuous broadband nature of the supercontinuum output. In combination with a Gaussian shaping filter, like the SuperK GAUSS, one can get a smooth broadband spectrum covering more than 200 nm. The smooth spectrum reduces artifacts in the OCT images and the large bandwidth increases resolution. Moreover, since the source covers the entire 400 to 2400 spectrum, one can freely choose which wavelength range to use depending on the sample studied.

CONCLUSION

Supercontinuum white light lasers provide numerous advantages as a light source for bio-imaging and many of the leading players in the field today are using SuperK supercontinuum lasers. Among the most important advantages are:

- Only one source needed to cover all wavelength regions
- No alignment of multiple sources leading to better stability and less maintenance
- Excitation can be tuned to the absorption peak of the dye maximizing the signal-to-noise ratio.
- Reduced cross excitation in samples with several dyes.
- Robust maintenance free system



- суперконтинуум позволяет использовать один источник света для работы в широком диапазоне длин волн;
- отсутствие необходимости совмещения в работе пучков, идущих от нескольких источников света, придает измерительной установке более высокую стабильность и простоту в обслуживании;
- конструкция суперконтинуума обеспечивает настройку длины волны возбуждения по максимуму поглощения света, что значительно увеличивает соотношение сигнал-шум;
- "белый" лазер, как источник света, позволяет снизить перекрестное возбуждение в образцах, содержащих несколько красителей;
- "белый" лазер обладает высокой надежностью и простотой обслуживания.

Всего компанией NKT Photonics выпущено несколько десятков тысяч источников. Так что "белые" лазеры – это хорошо проработанный коммерческий продукт. Следует подчеркнуть, что компания выпускает большое количество разнообразных волоконных устройств-аксессуаров, позволяющих выделять и комбинировать свет выделенных диапазонов. ■

XI МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ "ИМПУЛЬСНЫЕ ЛАЗЕРЫ НА ПЕРЕХОДАХ АТОМОВ И МОЛЕКУЛ – AMPL"

XI международная конференция по импульсным лазерам и их применениям AMPL-2013 пройдет в Томске с 16 по 20 сентября 2013 года. Одна из основных целей конференции – обмен новыми знаниями, сближение фундаментальной и прикладной наук. Научная программа конференции включает в себя следующие секции: "газовые и плазменные лазеры" – председатели В.Ф.Тарасенко и Е.Л.Латуш; "лазеры на парах металлов" – сопредседатели Г.С.Евтушенко и И.Г.Иванов; "фотоника оптических материалов" – сопредседатели Т.Н.Копылова и О.Н.Чайковская; "фемтосекундные лазерные системы" – сопредседатели А.А. Землянов и В.Ф. Лосев; "лазерные системы и новые лазерно-оптические технологии, применения лазеров, инновационные проекты" – сопредседатели А.Н.Солдатов и М.Е.Левицкий; "некогерентные источники УФ- и ВУФ-излучения" – сопредседатели Э.А.Соснин и Г.Н.Герасимов; "преобразование лазерного излучения, оптоэлектронные устройства" – сопредседатели Ю.М.Андреев и В.А.Светличный; "диффузные разряды, инициируемые убегающими электронами" – председатель В.Ф.Тарасенко.

Среди приглашенных докладчиков ожидаются: В.В. Осипов, Институт электрофизики УрО РАН (Россия) с докладом "Характеристики лазерных керамик с разупорядоченной кристаллической структурой"; М.С.Трница с докладом "Использование лазеров для получения наночастиц в жидкостях" Институт Ядерных наук (Сербия); в Программе заявлены выступления А.Ульриха из Мюнхенского технического университета (Германия), Ф. Мартина из Комиссариата по атомной энергии (Франция), Т.Шао из Электротехнического института КАН (Китай) и многих других видных ученых.

Секретарь конференции А.Климкин; ampl@asd.iao.ru