



超快光纤激光器，下一代生物医学应用之最佳光源

葛强

光域激光有限公司

前言：

激光，是现代生物成像和分析系统中日益重要的工具，其应用包含了从流式细胞术到共焦和多光子显微镜技术。然而，在众多商业化的成像系统中，其性能因其传统激光技术所固有的如激光波长、成本、功率和可靠性等缺陷而受到严重限制。由深圳光域激光提供的超快光纤激光器能为您提供一个“交钥匙”、体积超小、高可靠性的解决方案，是下一代生物医学成像系统中最佳光源。

超快光纤激光器具有：超小的外观尺寸、与生俱来的高可靠性和低维护成本等特点，日益成为众多生物医学成像应用中倍受青睐的激光光源，对多光子激发显微技术中的传统钛-蓝宝石激光器提出了严重的挑战，以及对在荧光分析领域中的传统半导体激光器、氦氖激光器和氩离子激光器形成了巨大的竞争压力。

深圳光域激光的超快光纤激光器采用 MOPA 结构，大大简化和灵活了设计上的需要。MOPA 结构中有两大独立的部分组成：一个是低功率的飞秒或皮秒光纤激光器（MO），另一个是高功率的光纤放大器（PA）。可以独立地通过改变主机振荡激光器（MO）或放大器（PA）的参数，便可以得到一个不同光学参数和性能的激光器，从而来满足您特殊而指定的应用要求。该灵活的设计结构已使得超快光纤激光器能迅速地满足大范围内的各种不同应用需求。

超快光纤激光器的典型特征

主振荡器（MO）一般是个全光纤化的被动锁模激光器，它无需任何调整，可通过钥匙开关工作和自启动运行。脉冲频率（<1Mhz 到几百 Mhz）十分适合准连续激光应用，也符合寿命成像应用。

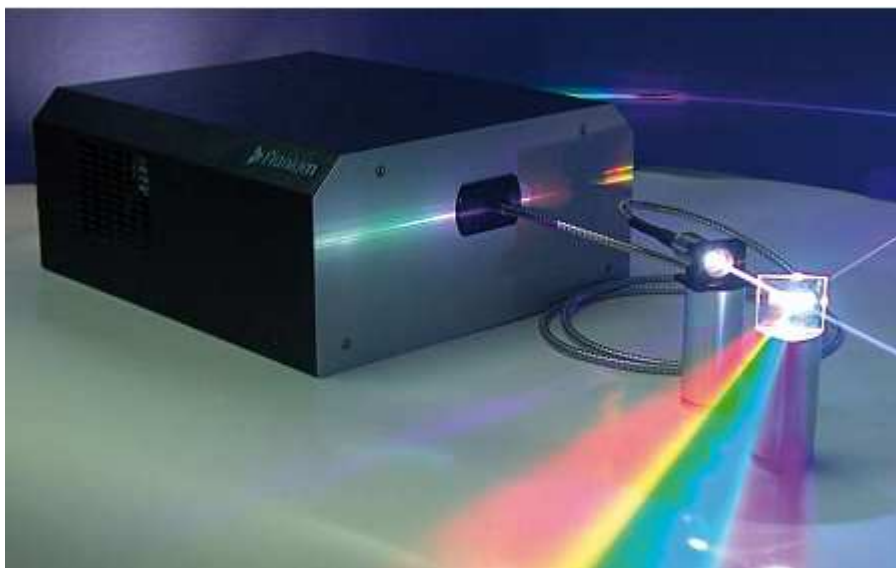


图 1 通过衍射光栅发散出可见光部分光谱

在显微技术诸多应用中，超快激光器往往会牵涉到多光子荧光显微技术，在这些应用中由于激光发展历史的原因，钛宝石激光器成为理所当然的选择。但是我们都知钛宝石激光器无法提供一个可调谐宽带光谱，但是深圳光域激光的飞秒光纤激光器不但可以提供

980nm-1100nm 范围的离散波段，它还具有成本低和体积小等优势，还有能和您现有的显微系统兼容等潜质。

今天，输出平均功率高达 5W，脉冲宽度短于 250fs 的“交钥匙”式的激光器早已面市。光纤化结构的激光系统所具有的超级长的波长范围超越了绝对多数钛宝石激光器可调谐的极限，为双光子荧光技术和二次谐波显微研究带来了诸多好处。

工作在皮秒或飞秒状态下的高功率光纤激光器，单脉冲能量可达皮焦至几十微焦，这个参数对材料加工尤其重要，对组成部件和生物组织也同等重要。

通过非线性频率转化技术可拓宽光纤激光器辐射光谱从近红外到可见光到紫外范畴，得到 532nm, 355nm 和 266nm 波长输出，还可以产生带宽超级宽的“超连续光谱”——该现象将会对下一代生物医学成像系统有着巨大的“洗脑冲击”。

超连续激光器——激光历史的最新发展

在高非线性光学纤维如光子晶体纤维或锥形光纤中产生超连续光谱现象被 Lucent 公司和英国 Bath 大学在 1999-2000 年相继发现，当时演示的连续光谱从 400nm 到 2000nm。早期的光纤超连续光源是通过自由空间式地把高强度的飞秒光脉冲（如钛宝石激光）或纳秒级的脉冲光（如调 Q 芯片激光器）耦合进光子晶体纤维来实现的。然而当需要为实验室提供一台真正意义上的白光激光器时，却发现采用以上高强度光进行端面耦合进入十分细微的光纤（直径为 $3\mu\text{m}$ ）这种工艺做成的激光器却有着诸多如不稳定和不可靠等先天性的问题，从而使得该工艺技术无



法满足真正商业化的实际要求。

2005 年，深圳光域激光的英国合作公司研制出了成熟的超连续光纤激光器，当时它的光谱覆盖了 450nm 到 2000nm，平均功率接近 2W。该超连续光纤激光器基于一个高功率的皮秒光源和一段高非线性光子晶体纤维。高密度的脉冲光被紧紧地约束在空间很窄的光学纤维波导中，从而会产生一个从可见光（400nm 以下）到 2000 μm 的超连续光谱。基于全光纤化的结构，该激光系统的耦合是通过成熟而简单的光纤熔融，而非传统意义上的自由空间式的端面投射进入光纤，所以大大提高了它的可靠性和稳定性，而这些问题是其他固体激光器产生超连续光谱时几乎无法克服的困难。

作为一个已经商业化 4 年的产品，深圳光域的超连续光纤激光器已经在很多方面都进行了提高和完善。在 2005 年，我们一台新的激光系统打破了在波长和输出功率上的限制。表格一清楚地比较了我们今天和 2005 年当时年激光器参数的比较。在过去的 3 年中我们主要把精力放在提高激光亮度和更短波长输出上，因为这两个参数是许多成像应用中很关键和基本的要求。最新的（2007 年）改进是在 400nm 到 2000nm 全波段把光谱密度提高到好几个 mW/nm （见图 1）。但是，也许最重要的完善是对激光器的可靠性上，而这个性能通过我们多次实地的演示应用如从荧光成像到纳米光学到基础研究等等都得到满意的认证。

表格 1: 2005 年和 2007 年超连续光纤激光器参数比较:

Device Specifications	Fianium SC450-2 (2005)	Fianium SC450-8 (2007)	Fianium SC400-4 (2007)
Spectral Bandwidth	450–2000 nm	450–2000 nm	400–2000nm
Repetition rate	20 MHz	80 MHz	40 MHz
Total output power	2 W	8W	4 W
Spectral density	> 1 mW/nm	> 5 mW/nm	> 3 mW/nm
Dimensions	300 x 250 x 120 mm		
Additional options	Variable repetition rates from 0.5 MHz to 80 MHz		

该文后半部分将集中介绍一些关键的生物医疗技术，在这些应用都用到了我们的超连续光纤激光器，如：流式血细胞技术、共焦显微技术和光学相干断层摄影术等。

一台激光器解决荧光成像

流式细胞术（FACS）是生物医学研究很关键的工具手段。这些复杂的仪器用来测量单个细胞的特性，一般是通过探测附在它们表面上的荧光分子（荧光团）来进行。这些荧光分子就好比一根探针，在研究细胞免疫系统，辨别癌细胞和诊断疾病等多研究领域起到十分关键的同时性细胞分析作用。流式细胞术的进行几乎完全依赖于激光束来激发荧光团。然而这些激光的相干性和功率水平使得他们十分合适做光照单个细胞的理想光源，但是他们不连续的光波限制了本能够通过流式细胞术分析出来的荧光探针的类型，

尽管固体激光技术已经增加了不连续波长激光器的多样性，但是它们与荧光激发所能接受的光波范围仍然存在着巨大的差距，而这大大限制了在生物医疗分析中进行荧光探测的能力。

共焦荧光显微技术，是生物医疗科学领域中探测更为广泛而复杂医学现象的最强有力的专业技术之一，在该技术中也同样需要和流式细胞术一样要求的激光光源。

几乎目前所有的商业化使用的共焦显微系统都是通过组合好几台在可见光附近的不连续波长激光器来进行荧光激发的。但是在流式细胞术中，通过使用波长固定的激光器（哪怕是好几台）去进行激发，得到激发波长其实是很小的一部分。受此限制很多荧光团便无法探测和利用。

为促进荧光激发技术的发展，近年来发展出了把多通道 AOTF 技术（声光调制滤波器）和超连续光纤激光器结合起来的新技术。一台带有 8 通道的 AOTF 的超连续光纤激光器可以在可见光范围内提供 8 个激光束，每一个通道激光都可以在整个光谱范围内进行调制，并且都处于在同样的发散衍射极限的同线上。超连续光谱和 AOTF 技术的结合为流式细胞术或荧光共焦显微技术进行大范围激发和探测进行最优化的需要提供了一个十分灵活的解决方案。这种激光器的波长能够通过精密调谐至荧光探针的激发峰进行分析研究。



图2 由波长不连续的 8 个激光器组成的高标准流式细胞术工作台完全可以通过一台超连续激光器来取代。

更有甚者，深圳光域激光提供的超连续光纤激光器不仅在性能上有了显著的提高，同时在成本上也有着巨大的优势。例如，在如图 2 所示的流式细胞式实验平台上，除了一台三倍频的 Nd:YVO₄ 355nm 紫外激光器外，所有其他的激光器和众多光学器件都可以只用一台超连续光纤激光器来取代。同时，随着超连续光纤激光技术的不断发展，其光谱范围扩展到紫外波段只是一个时间问题而已，那时一台超连续光纤激光器便可取代所有的激光器，甚至都可以满足最高规格的成像系统所需要的各种连续光谱。

然而，从事共焦显微技术的商业单位将会很快把超连续光纤激光器集成到他们的成像系统中，他们一般是那些具有远见的第一个投资该先进技术的科研单位。比如说英国剑桥的“激光分析集团”的 Clemens Kaminski 博士和他的团队近来就集成了一台超连续光纤激光器在他的奥林巴斯 FluoView 显微镜扫描系统中来进行二维和三维和活细胞成像研究。

图3展示了采用深圳光域激光的SC450系列超连续激光器和AOTF系统进行两维高精度的荧光共焦成像样品图。在该实验中,一个铃兰花标本经过番红和固绿染色,分别拥有530nm和620nm的峰值激发波长。既然这两个分染料和该样品的其他区域有着很多亲和关系,所以扫描它的激发波长便能突现出样品的不同区域。有纤维质的细胞壁经过固绿染色后出现在整个样品中(620nm和640nm图象),而经过番红染料染色的木质素在内皮和木质部出现,而且在540nm到560nm激发波段尤为突出可见。

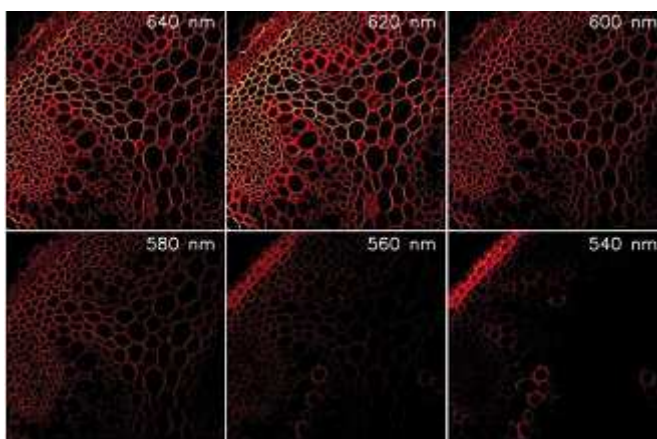


图3 经过番红和固绿染色后的铃兰花根茎在530nm和620nm峰值激发波段的分别成像。

光学相干断层成像术

光学相干断层成像术(OCT)是一门干涉测量和非侵入式成像技术,它能够提供毫米量级的渗入(在生物组织中可高达3mm),而纵向精度一般是微米量级。超连续光源在OCT的应用是其在生物医疗成像领域的另一个重要应用。

传统的OCT系统中最普遍的做法是采用超级冷光半导体激光器做光源,但是它严重受到带宽的限制,所以成像的纵向精度一般只有10-15微米。超高精度的OCT系统可能会采用价格超级昂贵但又超级复杂的飞秒固体激光器来实现,并能够在725nm波段得到了亚微米量级的纵向精度。

深圳光域激光的“交钥匙”式超连续光纤激光器可以实现更高光谱带宽和不断增加的输出功率和保持恒定不变的可靠性能。

德国亚琛市的半导体电子研究所的Felix Spoler和他的同事们近来充分利用超连续光纤激光器的高亮度和宽带宽来示范超高精度的OCT系统。他们的方法是把超连续光纤激光器在840nm和1230nm中心光谱分成两个带宽,每个带有着超过100mW的平均功率,而每个带都有着近200nm的带宽。840nm和1230nm的双波长OCT系统能充分利用短波长照射的高纵向精度和在长波长下的高渗透深度。该技术的实现可以分别得到自由空间上1.8μm的精度(840nm)和3.8μm精度(1230nm)。另外,两个波长同时使用还会使得每个波长OCT成像时发生混频,从而可以减少成像斑点。利用不同光谱成像还可以提高成像的对比度,因此可以通过样品的后向散射光对每个波长带宽进行分析,从而对该样品的结构提供了另一个信息标准。

图四展示了一个人类指甲活体的不同光谱成像，在该区域内呈现出了不同的层次和血管。在这里，两个波长带宽散射强度的不同通过颜色标记出来。

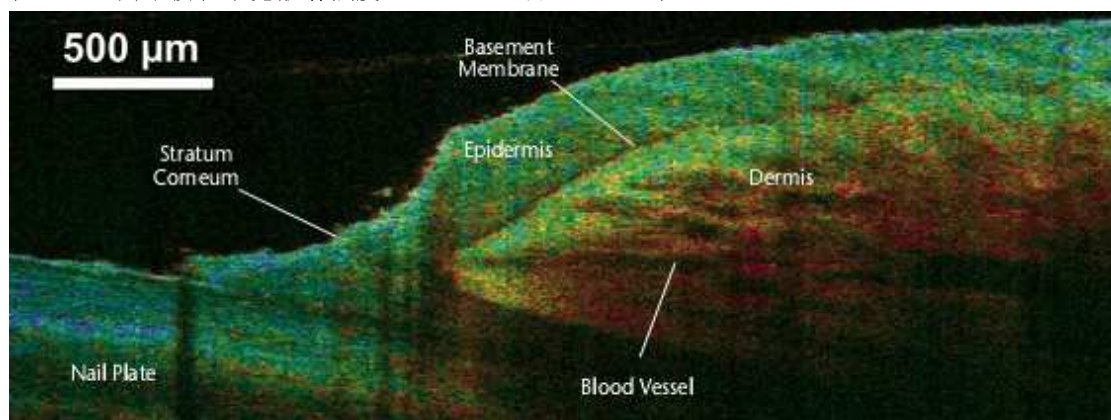


图 4 一个人类指甲活体在超高精度 OCT 上的双波段不同颜色图像。

展望

流式细胞术、光学相干断层成像术、CARS 显微镜、以及共焦荧光显微技术等生物医学的应用对合适的宽光谱照射光源有着巨大的实际需求，这持续地推动了激光技术的发展。

在过去的 5 年中，超快光纤激光器已经开始在许多应用市场挑战传统意义上的固体激光器、半导体激光器和气体激光器，同时可以预期随着激光技术不断发展和成本的降低，作为下一代生物医疗成像系统的最好光照用途的光源，超连续光纤激光器会得到越来越广泛的推广与应用。