レーザー走査型光コム分光顕微鏡による生体計測

Biomedical Measurement with Laser Scanning Optical-Frequency-Comb Spectromicroscopy

徳島大 [1]，JST さきがけ [2]，電通大 [3]，宇都宮大 [4]
°中野 祥汰 [1]，南川 丈夫 [1,2]，長谷 栄治 [1]，浅原 彰文 [3]，水野 孝彦 [1]，
佐藤 克也 [1]，山本 裕紹 [4]，美濃島 薫 [3]，安井 武史 [1]
Tokushima Univ. [1], JST-PRESTO [2], UEC [3], Utsunomiya Univ. [4],
°Shota Nakano [1,2], Takeo Minamikawa [1,2], Eiji Hase [1], Akifumi Asahara [3], Takahiko Mizuno [1],
Katsuya Sato [1], Hirotsugu Yamamoto [4], Kaoru Minoshima [3], Takeshi Yasui [1]
E-mail: nakano@femto.me.tokushima-u.ac.jp http://femto.me.tokushima-u.ac.jp/

光学顕微鏡は生物学および医学の分野を中心に，組織，細胞の理解や解析のために広く使われている．従来の光学顕微鏡では，光の強度または位相のどちらか一方の情報のみを議論し，そこからサンプルの形状や機能の解析を行ってきた．しかし，強度と位相を同時に計測することで，屈折率や厚さなどの光とサンプルのより詳細な相互作用の解析や，光学顕微鏡の高機能化を実現できる．我々は，レーザー走査型光学系を採用した光コム顕微鏡の構築を行い，光の強度と位相の分光情報の同時取得が可能で，レーザー集光による高感度計測が可能な新たなレーザー走査型光コム分光顕微鏡の開発を行ってきた[1,2]．今回は本顕微鏡を生体計測に応用し，生体サンプルの定量位相イメージングを行った．

Figure 1に実験のセットアップを示す．本研究では，レーザー走査型反射光学系を構築し，サンプルから反射した光をデュアルコム分光法で計測することで，強度および位相計測を行う．Erファイバー光コム（n_c = 1560 nm, Δn = 20 nm, f_{rep} = 100 MHz）から出力された光は，ビーム走査機構と対物レンズを通過してサンプルに集光する．サンプルから反射してきた光はビームスプリッター（BS）で反射され，デュアルコム分光計（Δf_{rep} = 700 Hz）で，その強度および位相スペクトルを計測する．1画素ごとにスペクトルを計測し，それぞれのスペクトルから任意の波長における強度および位相の情報を抽出し，これを全画素数回繰り返すことで，強度画像と位相画像が再構成できる．この時，再構成を行う波長を変えることで分光画像が取得できる．

Figure 2に，この実験装置を用いて透明サンプルのイメージングを行った結果を示す．使用したサンプルはラット皮膚切片（Wistarラット，日本SLC，オス，8-10週齢）であり，Fig. 2(a)に明視野顕微鏡で撮影した写真を示す．イメージングの結果，ラット毛包の境界でコントラストが付き，従来の位相差顕微鏡と同等の画像を得られることが確認できた（Fig. 2(b)）．また，定量位相分光測定によって，位相差画像，微分干渉画像，位相分散画像が得られることが明らかとなった．さらに，分光振幅画像と分光定量位相画像を多面的に解析することで，生体サンプルの屈折率，厚さ，構造などを反映した，波長依存的なコントラストをつけることが可能になると考えられる．

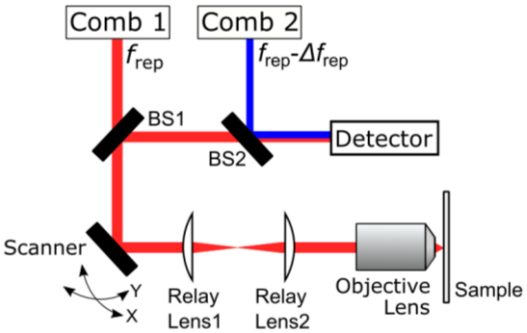

Fig. 1 Experimental setup.

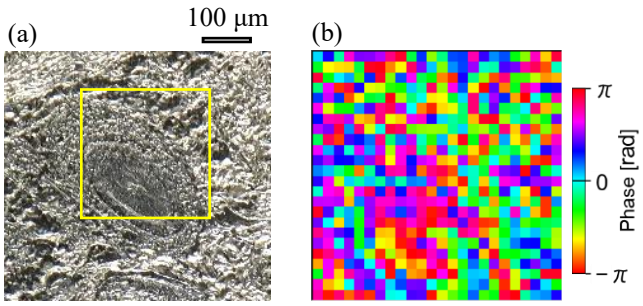

Fig. 2 2D images of a rat skin by optical-frequency-comb microscope.
(a) Photo of rat skin, (b) Quantitative phase image
(Image size: 270 μm × 270 μm, 24 pixel × 24 pixel).

[1] 中野 他，第79回応用物理学会秋季学術講演会，19p-438-9，(2018)
[2] 中野 他，第66回応用物理学会春季学術講演会，9p-W935-3，(2019)