

空間／波長変換を用いたワンショット共焦点顕微鏡による 生体組織観察への応用

One-shot confocal microscope using space/wavelength conversion for bioimaging

徳島大¹, JST-ERATO², JST さきがけ³, 宇都宮大⁴, 高輝度光科学研究センター⁵

○(B)福池悠人¹, 南川丈夫^{1,2,3}, 中野翔太^{1,2}, 塩見涼介¹, 長谷栄治^{1,2,5}, 山本裕紹^{2,4}, 安井武史^{1,2}

Tokushima Univ.¹, JST-ERATO², JST-PRESTO³, Utsunomiya Univ.⁴, JASRI⁵

○Yuto Fukuike¹, Takeo Minamikawa^{1,2,3}, Shota Nakano^{1,2}, Ryosuke Shiomi¹, Eiji Hase^{1,2,5},

Hirotsugu Yamamoto^{2,4}, and Takeshi Yasui^{1,2}

E-mail: minamikawa.takeo@tokushima-u.ac.jp

<https://femto.me.tokushima-u.ac.jp>

共焦点顕微鏡は、高空間分解能、非接触、低侵襲であるといった特長を持つことから、非接触表面形状検査や、バイオイメージング等に広く用いられている。共焦点顕微鏡では、試料上の励起共焦点とピンホールまたはスリットを共役な位置に配置することによって、焦点以外の光を除いて観察する。そのため、生体表面などの非常に強い反射光を抑制しながら、生体内部からの散乱光のみを効果的に取得することができる。しかし、従来の共焦点顕微鏡は、イメージを得るために試料上の励起光焦点をミラー等により走査する必要があった。そのためイメージの取得に時間がかかるという問題点が存在した。また、機械的可動部は振動等の外乱の影響を受けやすくなるので高安定の光学定盤などの特殊な環境が求められる。その問題の解決策として、我々の研究グループでは、共焦点スリットと波長分散素子を組み合わせることで空間／波長変換型ワンショット共焦点顕微鏡を開発した[1]。

本研究では、空間／波長変換型ワンショット共焦点顕微鏡を用いて、生体組織観察の内部観察への応用を試みた。特に、角膜内皮組織の観察を目指した光学系の最適化、および角膜モデルの観察を行った。本研究で開発した空間／波長変換型ワンショット共焦点光学顕微鏡の光学系を図1aに示す。励起光源は緑色LED（中心波長 530 [nm]、波長幅 33 [nm]、M530L3、Thorlabs）を用いた。LEDの出射光をシリンダカルレンズ（CL）と共焦点スリット（Slit）を用いてY軸方向のラインビームに整形した。次に、波長分散素子を用いて、各波長成分をX軸方向に空間展開し（波長／空間変換）、サンプルに照射した。サンプルの情報に反映した反射・散乱光は、同一光路を逆伝搬することで、再びラインビームに戻る（空間／波長変換）。このラインビームが共焦点スリットを通過することで、共焦点性を付与する。その後、2次元センサーを装備したマルチチャネル分光光学系を用いることで、試料の空間情報を反映したイメージを得る。

図1bに開発した空間／波長変換型ワンショット共焦点顕微鏡を用いて得られたテストチャートの共焦点イメージを示す。波長にエンコードされた2次元空間イメージが、本手法により取得できていることがわかる。本研究では、開発したシステムの面内・深さ分解能、感度等の基礎特性評価を行った。また、模擬眼を用いた角膜内皮細胞モデルの観察を行うことで、角膜内皮細胞観察への応用可能性について評価を行った。

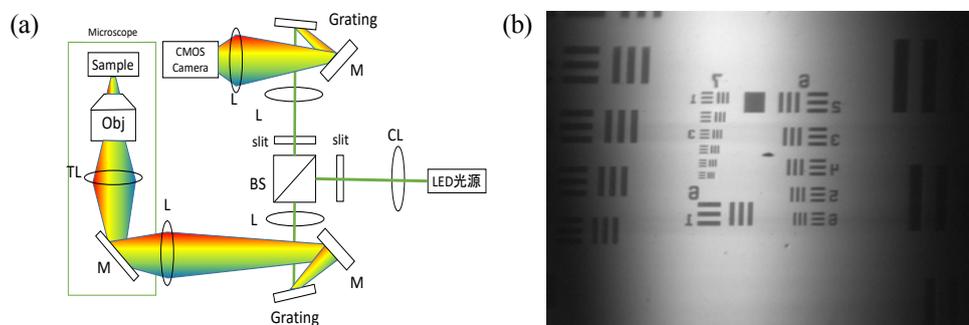


図1 空間／波長変換型ワンショット共焦点顕微鏡によるイメージング。(a) 開発したワンショット共焦点顕微鏡の光学系。(b) 試料としてテストチャートを用いた場合の共焦点イメージ。

- [1] 宮本周治 他, "スリット共焦点と波長／空間変換を用いたスキャンレス・フルフィールド共焦点顕微鏡", 精密工学会誌, Vol. 82 (7), pp. 679-682 (2016).