

波面制御技術を用いた高感度定量位相顕微鏡

Highly sensitive quantitative phase imaging by wavefront shaping technique

東大理¹, JST さきがけ²

○戸田 圭一郎¹, 玉光 未侑¹, 井手口 拓郎^{1,2}

The Univ. of Tokyo¹, PRESTO²,

○Keiichiro Toda¹, Miu Tamamitsu¹, Takuro Ideguchi^{2,3}

E-mail: keiichiro-toda@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

定量位相顕微鏡は、試料による照明光の位相遅れを計測することで試料の形態情報を非標識且つ定量的に可視化する技術として生命科学をはじめとした幅広い分野で利用されている。近年では、定量位相情報を元に成長速度などの細胞の状態を定量可能な単一細胞解析の新たなツールとして注目を集めている[1]。しかし、定量位相顕微鏡のダイナミックレンジは撮像素子で検出する光子数制限に伴う光のショットノイズによって制限されており、大きな位相遅れ分布(~数 rad)を生む細胞内で、ウイルス、エクソソームなどの細胞内外の微粒子追跡や細胞内生体分子の動的挙動による僅かな位相変化(~mrad)を計測することは難しい。

そこで我々は、波面制御技術と暗視野顕微鏡技術を用いて試料の大きな位相遅れ分布と小さな位相遅れ分布を別々に計測することにより、従来の定量位相顕微鏡のダイナミックレンジを大幅に拡大する新たな高感度定量位相顕微鏡を開発した[2]。まず、一度目の計測では従来の定量位相顕微鏡を用いて試料による大きな位相遅れ分布を計測する。次に、取得した位相分布の逆位相を波面制御技術を用いて照明光に与えることで大きな位相遅れ成分をキャンセルする。これにより、キャンセル前と比較して試料由来の散乱光成分が減少するため、透過光除去により散乱光成分のみを取得する暗視野顕微鏡技術と組み合わせることで撮像素子で検出される光子数が著しく減少する。よって、二度目の計測では一度目の計測時よりも高強度の照明光を用いることで、撮像素子を飽和させることなく残りの小さな位相遅れ分布による微小散乱信号を増幅して高感度に計測することが可能となる (図1の a,b)。

原理検証実験として、赤外光吸収による僅かな位相変化を検出することで試料内の分子分布画像を取得する赤外フォトサーマル定量位相顕微鏡[3]に本手法を適用し、従来型に比べて約7倍の検出感度向上に成功した。また、単一生細胞イメージングを行い、細胞内のタンパク質分布を高SNRで可視化した(図1の c,d)。

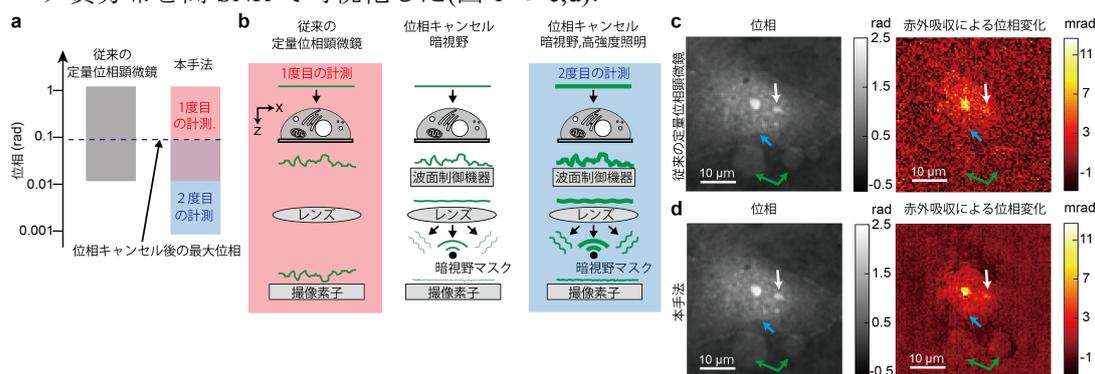


図 1. 波面制御技術を用いた高感度定量位相顕微鏡。(a)本手法のコンセプト。(b)原理。(c,d)赤外フォトサーマル定量位相顕微鏡におけるダイナミックレンジ拡大。左: COS7 生細胞の位相画像。右: ペプチド結合の分子振動に共鳴する中赤外光(波数 1550 cm^{-1})を照射した時の赤外吸収に伴う位相変化画像であり、主にタンパク質の分布を表す(c は従来の定量位相顕微鏡, d は本手法で取得した画像)。白矢印:核小体, 青矢印:核, 緑矢印:粒子を示す。

[1] Y. Park et. al, *Nat. Photonics* **12**, 578-589 (2018). [2] K. Toda et. al, *Light Sci. Appl.* **10**, 1 (2021). [3] M. Tamamitsu et. al, *Optica* **7**, 359-366 (2020).