

吸収飽和を利用した染色組織切片の超解像透過イメージング

Super-resolution transmission imaging of stained tissue sections by using saturated absorption

阪大工¹, 産総研・先端フォトバイオ², 京府医大医³

◦佐藤 光¹, 西田 健太郎^{1,2}, 桶谷 亮介¹, 望月 健太郎³, 天満 健太^{1,2},

熊本 康昭¹, 田中 秀央³, 藤田 克昌^{1,2}

Osaka Univ.¹, AIST Advanced Photo-Bio Lab.², Kyoto Prefectural Univ of Medicine.³,

◦Hikaru Sato¹, Kentaro Nishida^{1,2}, Ryosuke Oketani¹, Kentaro Mochizuki³, Kenta Temma^{1,2},

Yasuaki Kumamoto¹, Hideo Tanaka³ and Katsumasa Fujita^{1,2}

E-mail: fujita@ap.eng.osaka-u.ac.jp

透過顕微鏡を使って色素染色した組織切片を観察することは、病理診断において広く確立されている手法である。しかしながら、これまで得られる透過像の空間分解能は光の波動性により制限され、入射光の波長のおよそ半分よりも細かな組織構造の観察は困難であった。透過顕微鏡の空間分解能をさらに向上できれば、色素染色した疾患組織内のより微細な病変を識別でき、病理診断の精度の改善に貢献できる。

本研究では、色素の吸収飽和を利用することでレーザー走査型透過顕微鏡の空間分解能を向上させた。色素の吸収飽和は照明スポット中心付近に局在して起こり、励起光強度に対して非線形な応答を示す透過信号成分を発生させる。この非線形な透過信号成分を選択的に検出しながら撮像を行うことで、照明スポットの大きさよりも小さな領域から発生した透過信号で画像を構成でき、光の回折限界よりも細かな試料の構造を観察できる。非線形な透過信号成分は、照明強度に単一周波数で変調を与え、透過信号を照明光の周波数の倍波で復調することで線形な透過信号成分と区別して検出できる [1]。

Fig. 1 に提案する透過超解像顕微鏡で観察したエオジン Y で染色したラット腎臓組織切片を示す。Fig 1(A) (B) は、それぞれ、励起強度の変調周波数と同じ周波数で復調した線形な透過信号、および 2 倍波で復調した非線形な透過信号で構成した画像を示す。励起光には波長 532 nm の CW レーザーを用い、10 kHz の周波数で強度変調を加えた。試料の照明には倍率 100 倍、NA1.4 の油浸対物レンズを用いた。透過光の集光には NA1.4 の油浸コンデンサレン

ズを用いた。Fig. 1(A), (B)における励起光強度はそれぞれ 0.11 kW/cm², 13 kW/cm²であった。Fig. 1(C)に Fig. 1(A), (B)内の矢印で示した部分のラインプロファイルの比較を示す。Fig. 1(C)から、Fig. 1(B)は Fig. 1(A)よりも微細な構造を観察できていることが分かる。これらの実験結果より、本手法を用いることで透過顕微鏡の空間分解能が向上することが示された。

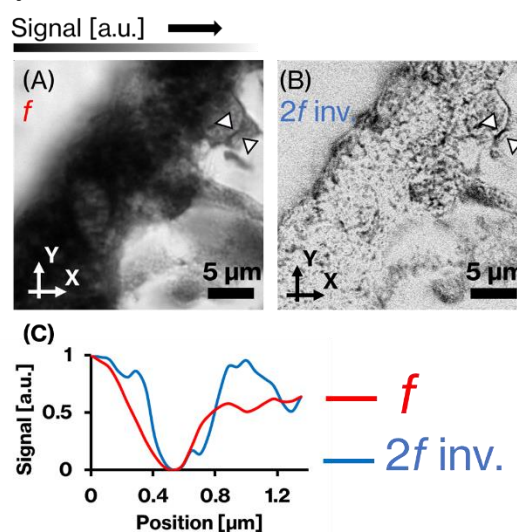


Fig.1 Transmission images of eosin-Y stained rat kidney tissue reconstructed by the signal demodulated at (A) fundamental frequency (f) and (B) second harmonic frequency ($2f$). (C) Intensity profiles of transmission images indicated by the white arrow heads in (A) and (B).

[1] Fujita et al., Phys. Rev. Lett.99(22), 228105 (2007)