

空間構造を持つ光を駆使した高速 3 次元イメージング

東北大学 多元物質科学研究所
小澤祐市, 久米大輔, 上杉祐貴, 佐藤俊一

1. はじめに

レーザー走査型顕微鏡法は、集光したレーザー光の焦点における集光スポットを走査プローブ光として、試料からの反射光や蛍光などを信号として画像化する観察方法である。特に、焦点と共役な位置にピンホールを設置した共焦点レーザー顕微鏡法では、焦点面からの信号のみを効果的に抽出することができるため、光学断層画像を取得できる¹⁾。このことから、レーザー顕微鏡法は、試料の 3 次元画像を取得できる観察法として、生命科学を始めとした科学研究に加えて、産業分野での検査技術としても広く用いられている。一方で、3 次元画像を得るためには、観察面をピエゾ駆動デバイスなどで移動しながら 2 次元画像取得を繰り返し、得られた画像（スタック画像）から再構築する必要がある、このことがレーザー走査型顕微鏡法における 3 次元画像の取得スピードを制限する要因となっている。

この課題を解決するために、現在までに様々な高速 3 次元イメージング法が開発されている。代表的なものとしては、レーザー光の集光スポットを多点にして試料を照明・励起するスピニングディスク顕微鏡法²⁾や、レーザー光をライン状にして 1 方向に走査する方式^{3,4)}、観察する光軸に直交する方向から光をシート状に照射するライトシート顕微鏡法^{5,6)}などが挙げられる。これらの方法は、レーザー光を 2 次元的に走査（ラスタ走査）する必要がなくなるため、撮像時間を大幅に短縮できる。しかしながら、これらの技術では 1 枚の光学断層像は瞬時に取得できるものの、3 次元像を得るためには観察面の移動が必要であり、結果的に 3 次元画像取得の時間分解能は観察面の移動速度に制限される。

我々は、レーザー走査型蛍光顕微鏡法において、高速な 3 次元画像取得を実現するために、従来とは全く異なるアプローチによる新しい顕微鏡法を提案している^{7,8)}。本イメージング法では、励起光および蛍光の両方に対する空間的な波面制御によって、光波の空間構造をデザインし、これによって得られる特異な伝搬特性を用いる。具体的には、光軸方向に伸びた針状の強度分布（ニードルスポット）によって試料の深さ方向に対して一斉に励起し、さらに蛍光信号の波面制御によってその深さ位置を空間的に分解することを基本原理とする。本原理を応用すると、観察面を移動すること無く、ニードルスポットの 1 回の 2 次元走査から 3 次元情報を一挙に取得することができ、3 次元イメージングの高速化が可能になる。特に近年は、通常のレーザー顕微鏡装置においてもレゾナント走査ミラーを用いた高速な 2 次元画像取得の技術導入が進んでおり、本提案法と組み合わせることで、このような高速撮像のフレームレートで 3 次元画像取得の実現も期待できる。本稿では、我々が開発した本イメージング法の原理と、実際に 3 次元イメージングを行った例について述べる。

2. 励起光と蛍光に対する波面制御

我々がこれまで提案してきた空間転写検出に基づくニードルス走査型顕微鏡法の概念図を図 1 に示す。本イメージング法では、焦点深度の大きなニードルスポットを走査光とした上で、試料からの蛍光信号に対する波面制御によって、その深さ位置（ z 座標）を検出面での面内位置（ H 座標）の情報