

レンズレス無歪高分解能 ホログラフィック3次元顕微鏡

兵庫県立大学大学院 工学研究科 電気系工学専攻
准教授 佐藤 邦弘

研究背景 (1/2)

光学顕微鏡

- 焦点深度が極めて浅く(数 μm 以下)、動く微生物の観察や流体中の微粒子の計測は難しい。
- 微生物や生体細胞を生きた状態で水中観察できない。
- 結像レンズによって像の歪が生じる。

ホログラフィック顕微鏡

- 3次元像を記録でき、歪の無い自由焦点画像を再生できる。
- 水中の生体細胞や微生物を生きたまま4次元(空間 + 時間)観察できる。
- 透明な生体や微生物を観察でき、光位相解析が可能である。
- 光透過物体に対して3次元情報検出が可能である。
- 生体細胞の低エネルギー照射高速撮像が可能である。

研究背景 (2/2)

市販されているホログラフィック顕微鏡

➤ 結像レンズによる像の拡大 (Lyncee Tec 社)

E. Cuhe, P. Marquet, and C. Depeursinge, Appl. Opt, **38**, 6994-7001 (1999)

P. Ferraro et. al., Opt. Lett., **28**, 1257-1259 (2003)

D. Carl et. al., Appl. Opt, **43**, 6536-6544 (2004)

浅い奥行き、像の歪、空気中の被写体のみ

➤ インラインホログラフィによる記録 (Resolution Optics 社)

W. Xu, M. H. Jericho, I. A. Meinertzhagen, H. J. Kreuzer, Appl. Opt. **41**, 5367-5375 (2002)

H. J. Kreuzer, US 6,411,406 B1, June 25, 2002

被写体の制限、画質の低下

課題:

結像レンズを使わない 大開口数物体光の正確な連続記録と無歪高分解能画像の再生

技術の概要

1. 大開口数ホログラムの連続記録

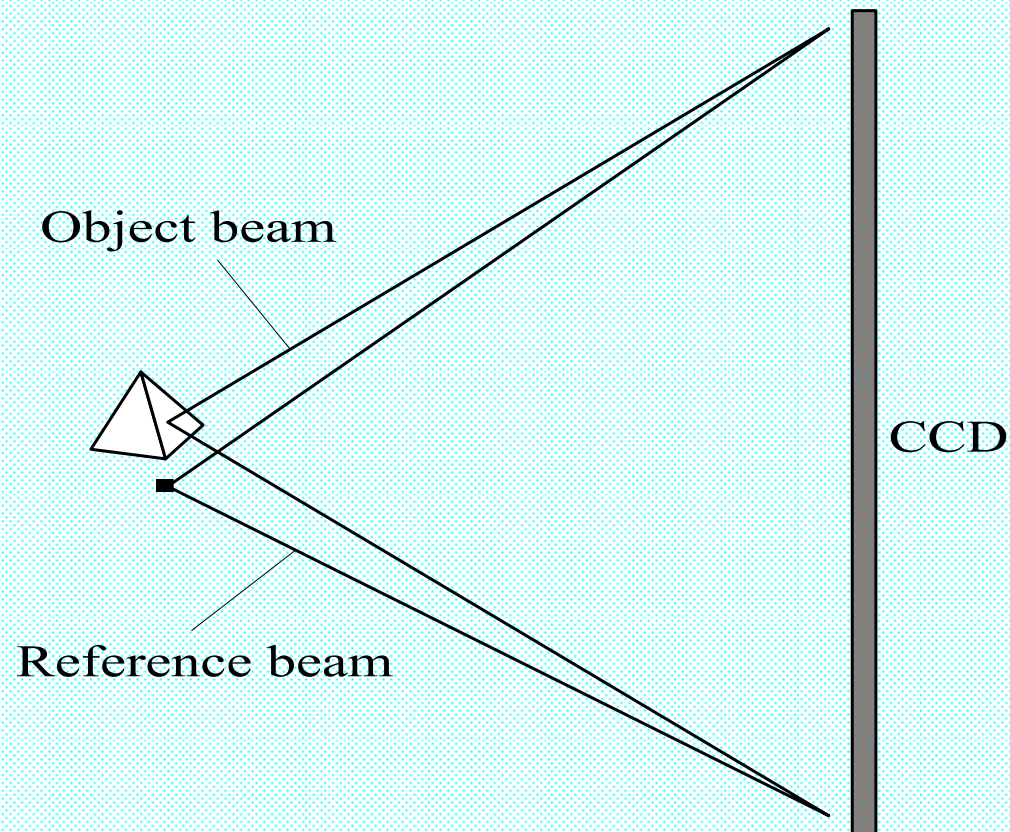
- a) 大開口数(NA)物体光を、結像レンズを使わないで連続記録する。
- b) ヘテロダイン変調と周波数フィルタリングを施して、複素振幅インラインホログラムを作成する。

2. 無歪高分解能画像の再生

- a) 物体光波面を、光伝搬の厳密解である平面波を用いて展開する。
- b) ホログラムの空間サンプリング間隔を細分化する。
- c) ホログラムの分割と重ね合わせを行って、画像再生のための微小ホログラムを再生する。

大開口数ホログラムの記録(1/2)

- 結像レンズを使わずに、歪の無い像を記録する。
- 高分解能を達成するために、開口数(NA)の大きい物体光を光干渉縞としてワンショット記録する。



大開口数ホログラムの記録(2/2)

- ・ オファクシスホログラムのワンショット記録

$$\text{物体光} : O(x, y) = O_0(x, y) \exp[-i\phi_o(x, y)]$$

$$\text{オフアクシス参照光} : R(x, y) = R_0(x, y) \exp[-i\phi_r(x, y)]$$

$$\text{インライン参照光} : L(x, y) = L_0(x, y) \exp[-i\phi_L(x, y)]$$

記録される干渉縞

$$I_{OR}(x, y) = (O_0^2 + R_0^2) + \boxed{O_0 R_0 \exp[-i(\phi_o - \phi_r)]} + O_0 R_0 \exp[i(\phi_o - \phi_r)]$$

- ・ 空間ヘテロダイン変調と空間周波数フィルタリングによる複素振幅インラインホログラムの作成

$$\boxed{\tilde{I}_{OL} = O_0 R_0 \exp[-i(\phi_o - \phi_L)]}$$

高分解能画像の再生 (1/3)

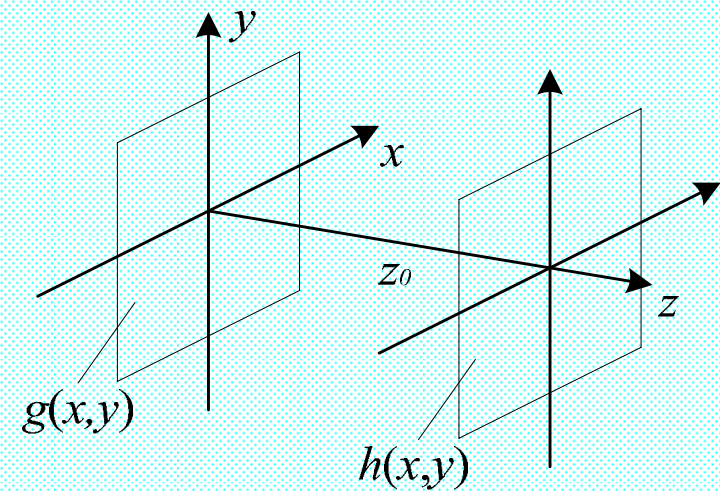
平面波展開:

- ヘルムホルツ方程式の**厳密解** $G(u, v) \exp[i2\pi(ux + vy + wz)]$ を合成して物体光を表す。

ここに、

$$G(u, v) = F\{g(x, y)\} \\ = \iint g(x, y) \exp[-i2\pi(ux + vy)] dx dy$$

$$w(u, v) = \sqrt{1/\lambda^2 - u^2 - v^2}$$

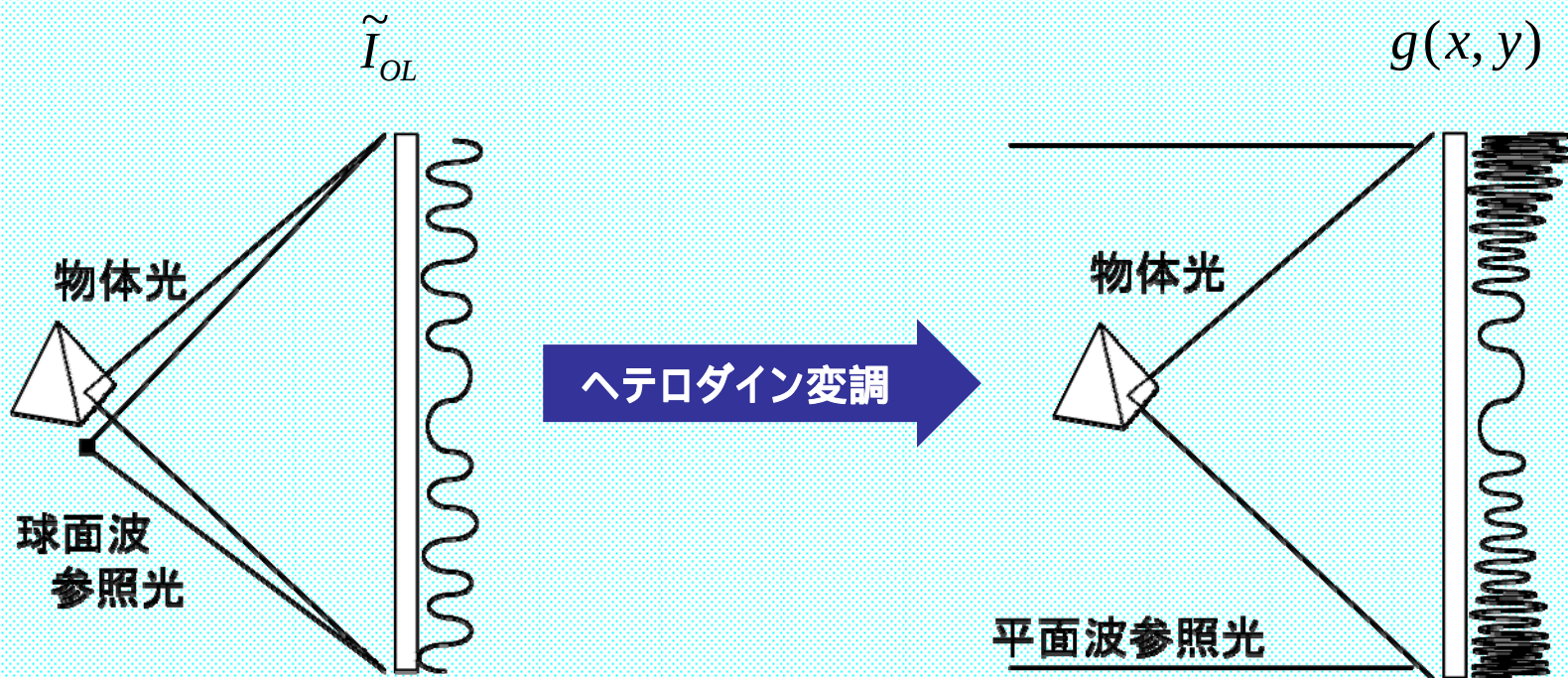


- 平面 $z = z_0$ における物体光 $h(x, y)$ は、逆フーリエ変換によって得られる。

$$h(x, y) = F^{-1}\{G(u, v) \exp[i2\pi w(u, v)z_0]\} \\ = \iint G(u, v) \exp[i2\pi w(u, v)z_0] \exp[i2\pi(ux + vy)] du dv$$

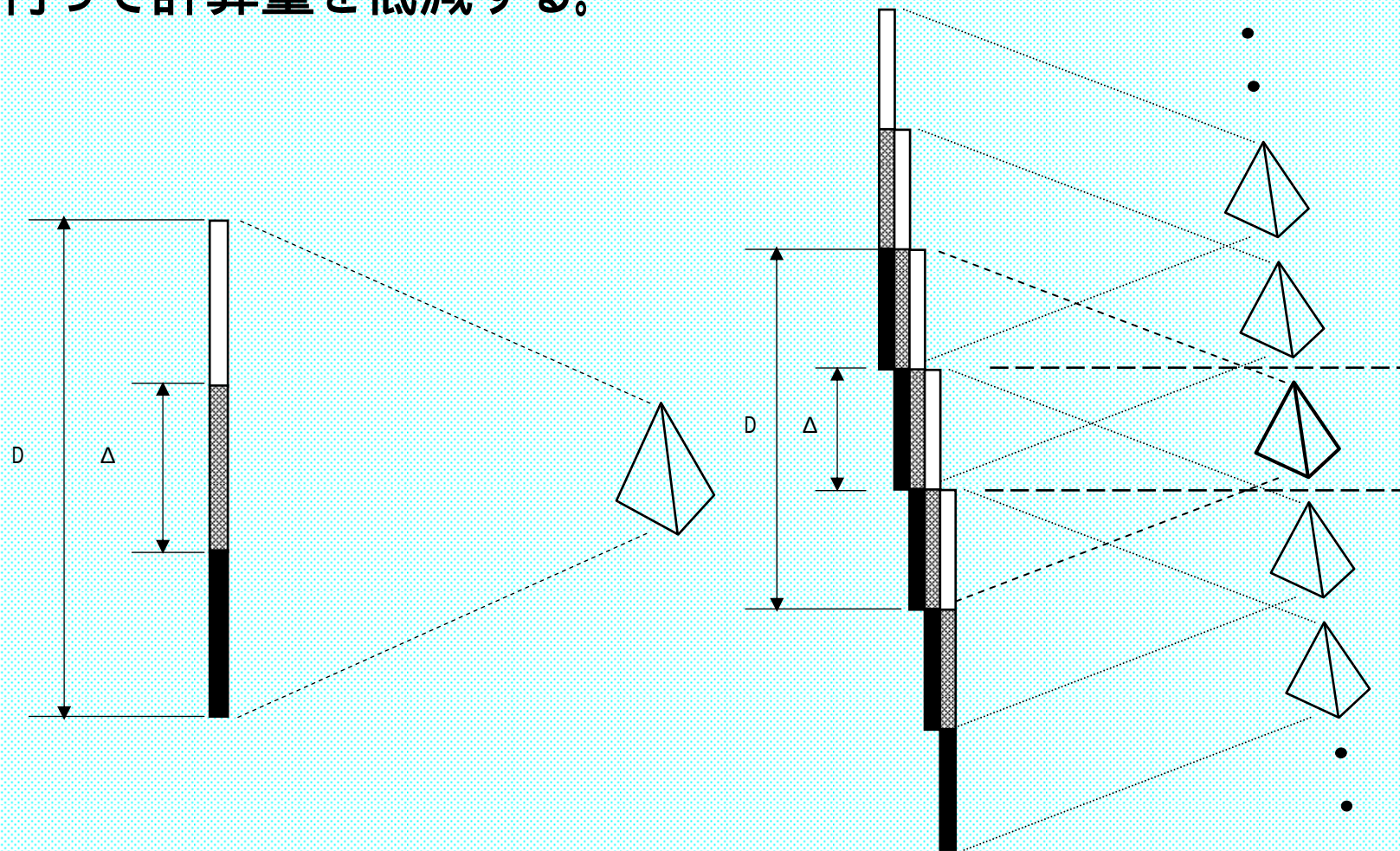
高分解能画像の再生(2/3)

- 空間サンプリング間隔の細分化とデータ補間を行って、高分解能画像を再生する。
- 空間ヘテロダイン変調を行って、 $\tilde{I}_{OL}(x, y)$ から $g(x, y)$ を求める。



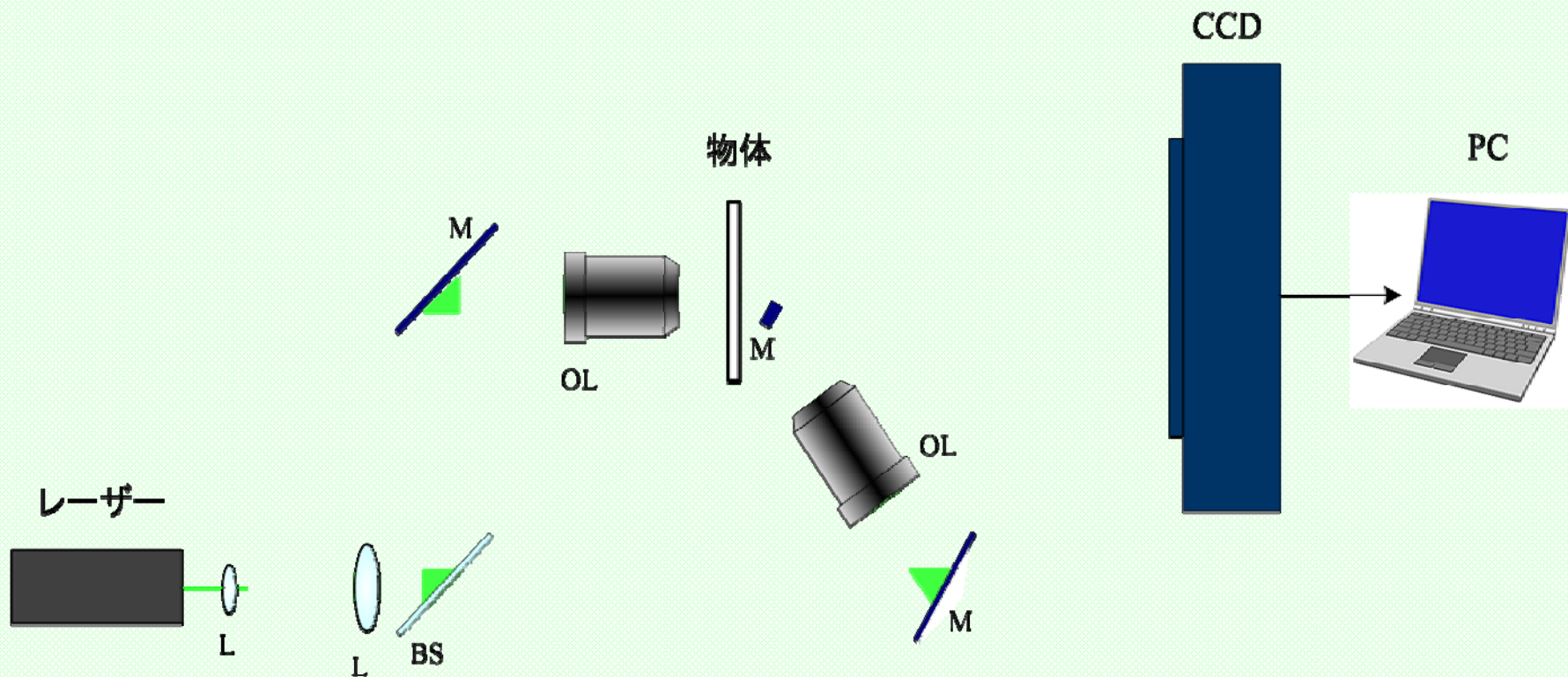
高分解能画像の再生(3/3)

- ホログラムの分割と重ね合わせを行って計算量を低減する。



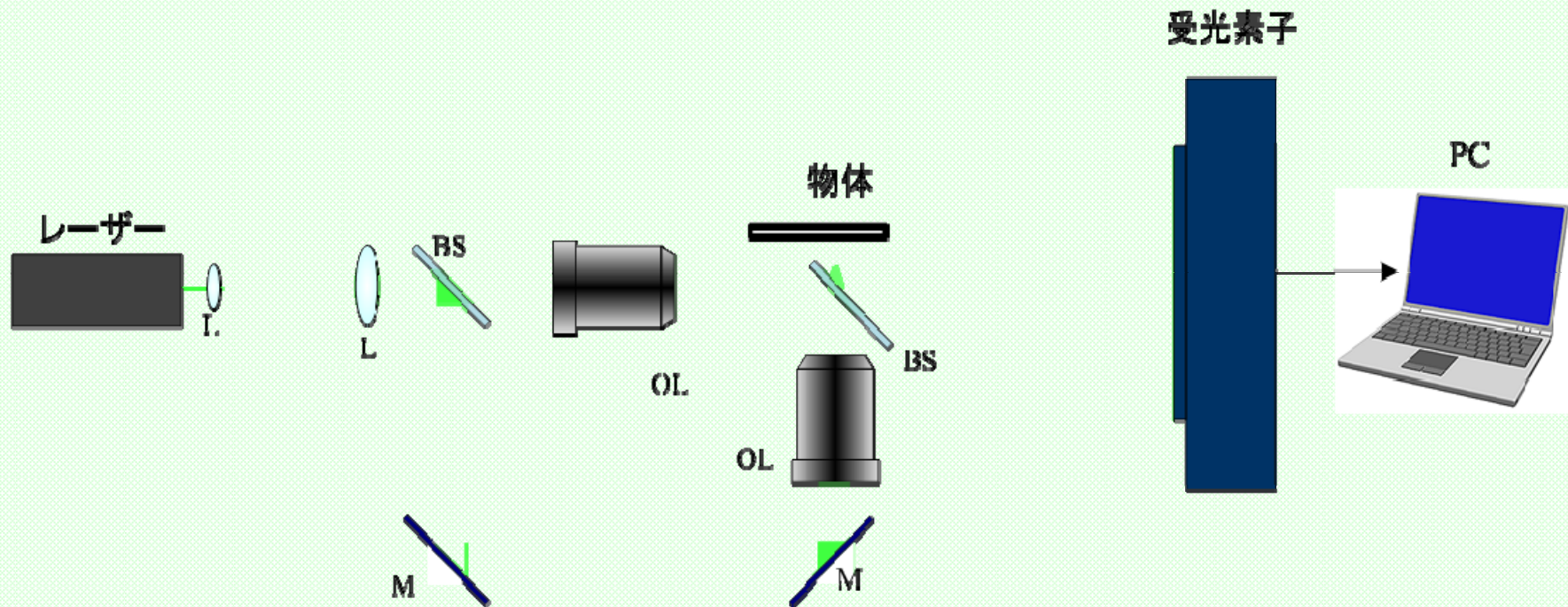
透過型顕微鏡の実験装置

- 非常に簡単な構成で、装置の小型化が可能



反射型顕微鏡の実験装置

- 非常に簡単な構成で、装置の小型化が可能



実験結果(1/5)

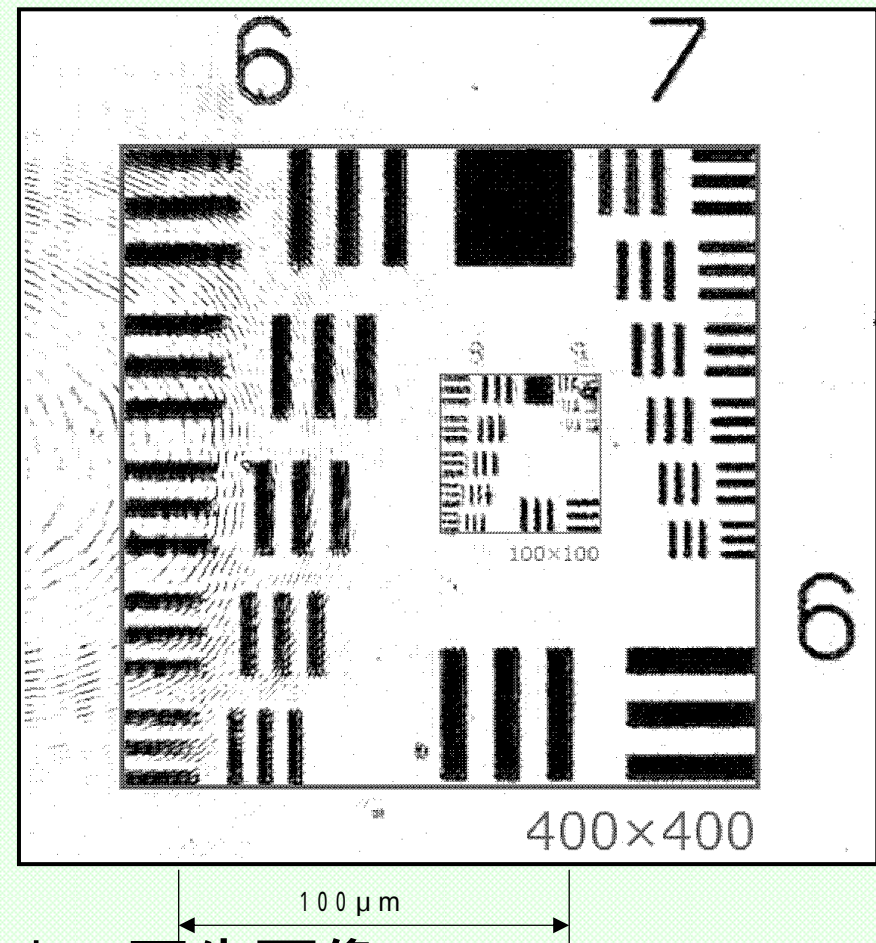
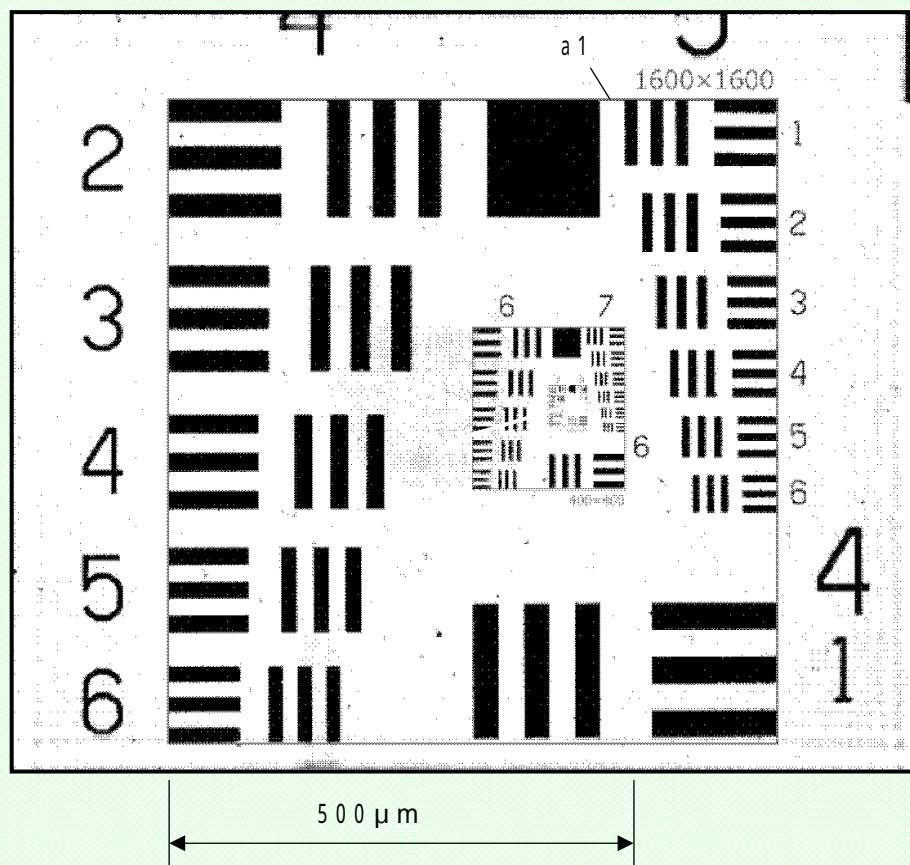
- 歪や色ズレの無い高画質カラー画像を再生できた。
- 視野角は理論限界近くまで拡大できた。



ワンショットホログラフィによるカラー再生画像

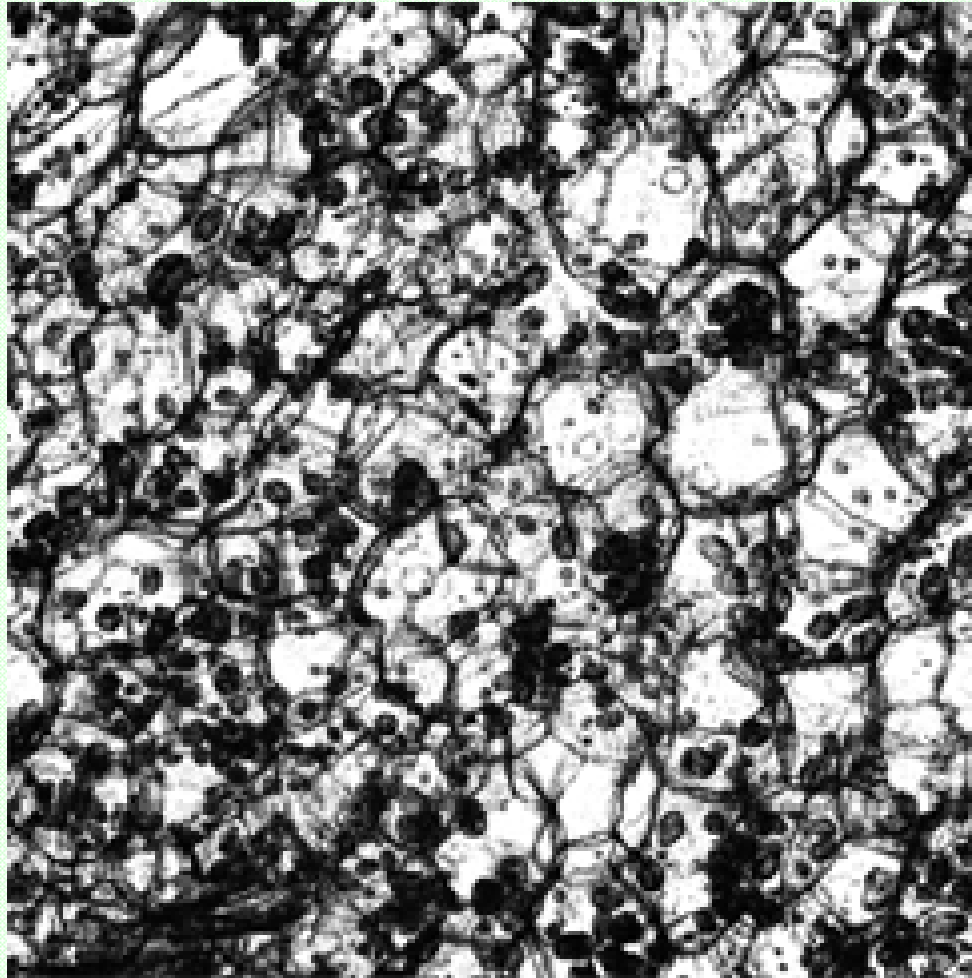
実験結果(2/5)

- 分解能として約 $1\ \mu\text{m}$ の値が得られた。
- 再生画像に全く歪が生じてない。



USAFテストターゲットの再生画像

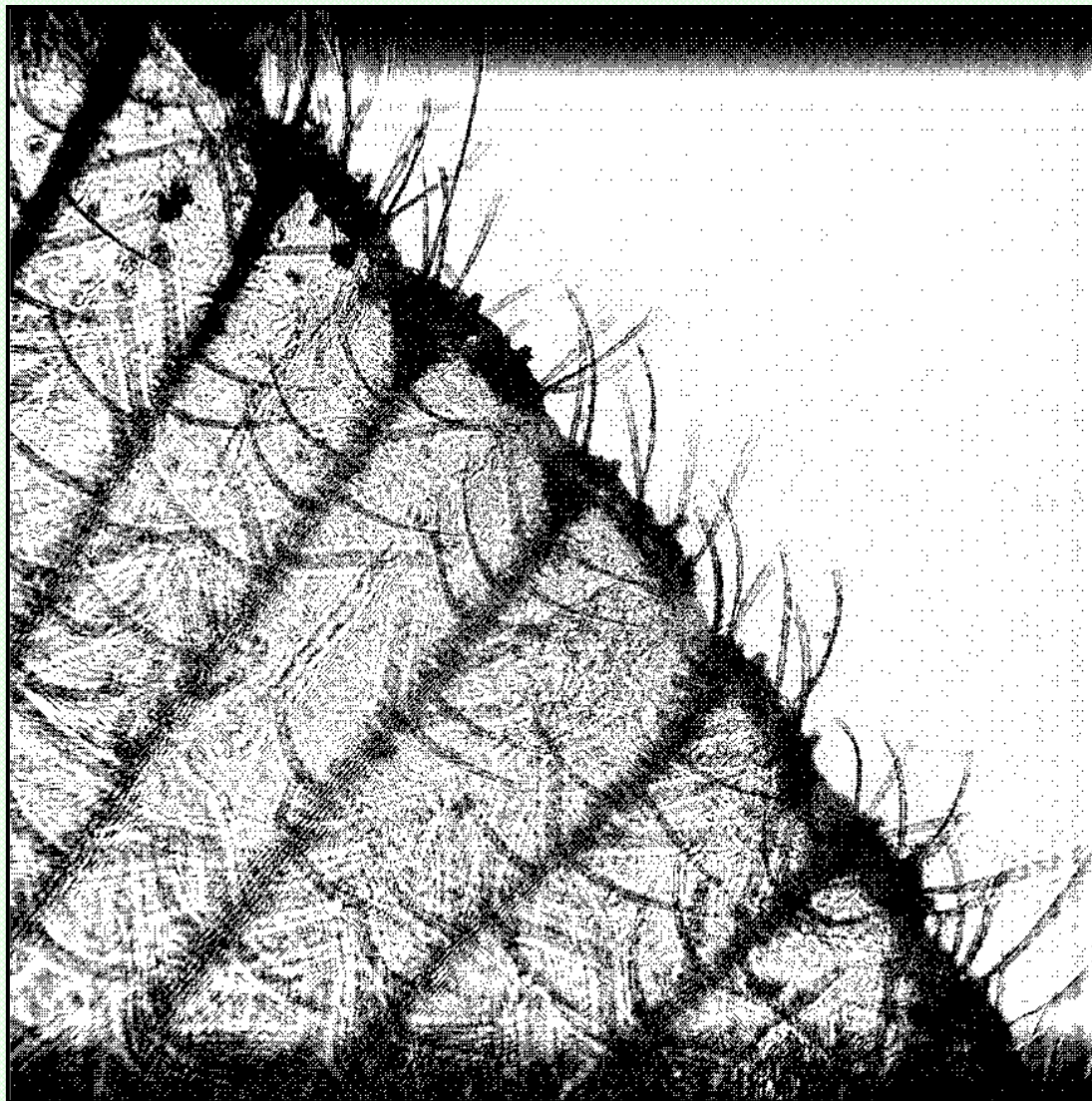
実験結果 (3/5)



500μm

植物細胞中に貯蔵された澱粉の再生画像

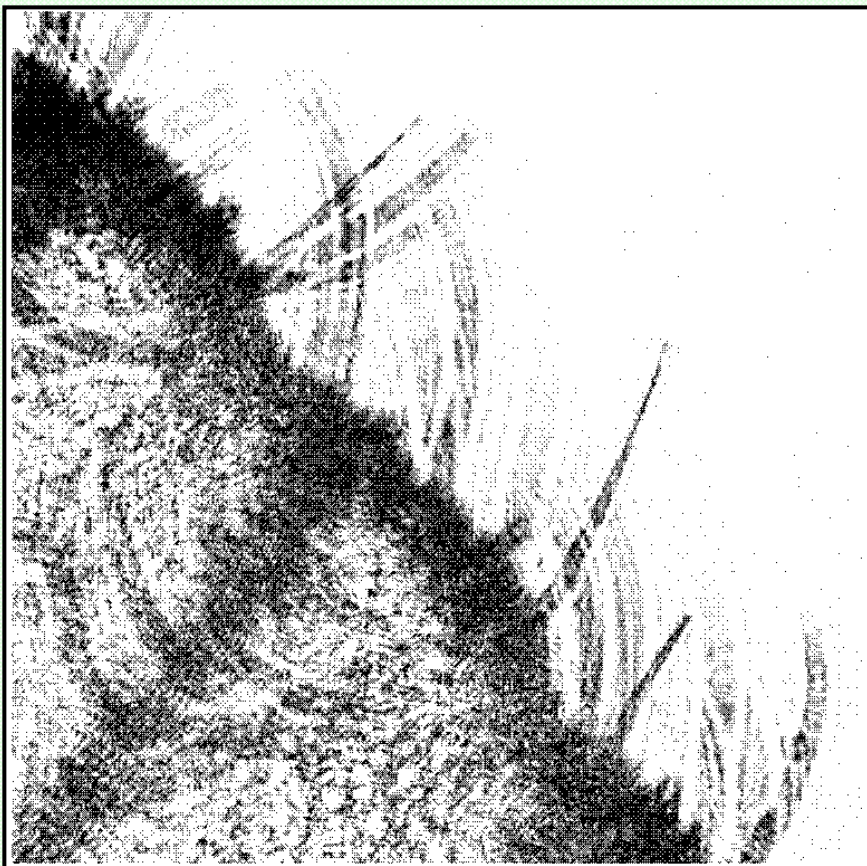
実験結果(4/5)



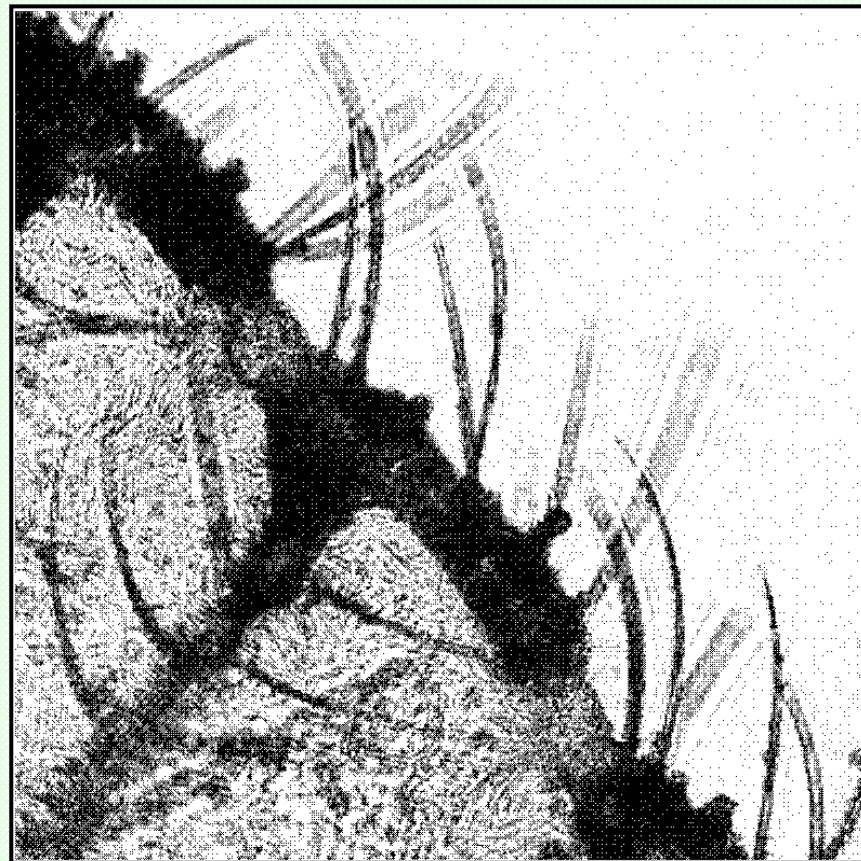
翅のトンボの部分再生画像

実験結果 (5/5)

- 深度の大きい高分解画像の記録と再生が可能である。



(a) 焦点距離 : 52.0mm



(b) 焦点距離 : 52.3mm

翅のトンボの部分再生画像

従来技術とその問題点

既に実用化されているものには、結像レンズを使用する方法とインラインホログラフィによる方法があるが、

結像レンズの使用による像の奥行き制限や歪の発生、空気中の被写体のみ

被写体の制限や画質の低下

等の問題があり、広く利用されるまでには至っていない。

新技術の特徴・従来技術との比較

- 動く生体の4次元(空間 + 時間)観察や気流中微粒子の4次元計測が可能になる。
- 微生物や生体細胞の水中観察が可能になる。
- 透明な生体細胞や微生物の4次元観察が可能になり、光位相分布を使った定量解析が可能になる。
- 本技術の適用により、光透過物体に対して光干渉を使った3次元情報の検出が期待される。

想定される用途

- 生物顕微鏡に適用することで、本技術の特徴である水中における4次元観察や光位相解析のメリットを生かせる。
- 工業用顕微鏡に適用することで、気流中や流体中における無歪4次元計測のメリットを生かせる。
- また、光干渉を使った3次元情報の検出に着目すると、医療分野で重要になっている断層画像撮影 (OCT)の用途に展開することも可能と思われる。

想定される業界

- 利用者・対象

製薬会社の薬品開発研究所

水中や海中の微生物や生体細胞、バクテリア、細胞培養などの研究者

マイクロ流体の研究者

精密マイクロ部品の加工工場や検査場

医療用断層画像撮影(OCT)装置製造メーカー等

実用化に向けた課題

- 現在、微小被写体の3次元観察が可能のところまで開発済み。しかし、実時間観察の点が未解決である。
- 今後、実時間観察のために、画像再生のための高速計算手法を開発する。

企業への期待

- 未解決の実時間観察については、高速計算手法の開発により克服できると考えている。
- 光学や精密計測、生体基盤の技術を持つ、企業との共同研究を希望。
- また、計測機器や医療診断機器を開発中の企業、計測分野や医療・ライフサイエンス分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

・発明の名称 : 微小被写体のホログラム画像記録方法、高分解能画像再生用ホログラム作成方法、画像再生方法、およびホログラフィック顕微鏡

出願番号 : 特願2010-155024

・発明の名称 : 複素振幅インラインホログラムの生成方法および該方法を用いた画像記録装置

出願番号 : 特願2010-012425

- ・出願人 : 兵庫県立大学
- ・発明者 : 佐藤邦弘

お問い合わせ先

兵庫県立大学 知的財産本部

知的財産コーディネーター 林谷 正雄

T E L 0 7 8 - 3 6 7 - 8 6 4 5

F A X 0 7 8 - 3 6 2 - 0 6 5 4

e - mail u_hyogo_07@pref.hyogo.lg.jp