



# 高速度 3 次元動画画像顕微鏡のモジュール ～デジタルホログラフィック顕微鏡の開発～

1 神戸大学先端融合研究環, 2 神戸大学大学院システム情報学研究科,  
3 京都工芸繊維大学電気電子工学系  
的場 修<sup>1</sup>, 全 香玉<sup>2</sup>, Manoj Kumar<sup>2</sup>, 栗辻安浩<sup>3</sup>

## 1. はじめに

ホログラフィーは、光波の振幅と位相分布を干渉を利用して記録し、再生する技術である。干渉強度分布を記録したものをホログラムという。記録には光強度を透過率または屈折率変化として保存する銀塩材料やフォトポリマーなどの感光材料フィルムが用いられる。再生時には、記録時に用いた参照光をホログラムに照射すると元の物体光波が再生される。デジタルホログラフィー<sup>1,2)</sup>では、ホログラムをイメージセンサーで記録し、デジタル情報として保存する。再生時には計算機内で光伝搬計算を行い、3次元像を再現する。特徴としては、感光材料フィルムに記録する際に必要な現像や定着などの処理が必要ないこと、定量的評価が可能であること、再生時に伝搬距離を設定することで所望の奥行き位置での再生が事後で可能であることなどが挙げられる。特に、ホログラムの記録をシングルショットで撮影できるため、ホログラム記録に用いるイメージセンサーのフレームレートと同じ記録速度で3次元計測を実現できる。そのため、3次元情報の高速記録や時間変化を捉えるタイムラプス計測に応用できる。この特徴により、3次元空間の複数地点で同時発生するイベント情報の記録に、この手法は威力を発揮する。

デジタルホログラフィーの主な応用としては定量位相イメージングが挙げられる<sup>3)</sup>。特に、位相シフト法を導入すると波長の100分の1の精度で位相差（段差）を求められる。これを利用して、nmレベルの微細構造の段差計測や $\mu\text{m}$ 程度の生体細胞等の厚さ計測、位相計測からの温度計測などに用いられている。また、ストークスパラメーターの測定による偏光計測や、スペクトル計測にも利用されている。バイオ応用に向けては蛍光イメージングの開発も重要である。種々の光応答性タンパク質やカルシウム感受性蛍光タンパク質が開発されており、ライブでの細胞活動イメージングを通じて生命現象の解明に繋がるのが期待されている。

本稿では、バイオ応用に向けたデジタルホログラフィック顕微鏡研究について概観する。特に、市販の光学顕微鏡との親和性を考慮し、共通光路型で位相と蛍光計測可能な、高速度3次元動画画像計測としてのデジタルホログラフィック顕微鏡を紹介する。

## 2. デジタルホログラフィック顕微鏡の種類

デジタルホログラフィーの概要を図1に示す。得られたホログラムを計算機に取り込み、振幅と位相分布を抽出する。角スペクトル伝搬計算やフレネル伝搬計算を用いて、イメージセンサーからの距離を設定し、再生光の振幅と位相分布を計算する。伝搬距離を複数設定すると断層画像を再構成でき、3次元光波分布が得られる。これにより物体の透過率や反射率、屈折率、厚さを計測できる。さらに、照明光の偏光と検出面での偏光板を組み合わせることで偏光情報も記録・再現できる。また、照明光の波長を変化させ、検出面で分光器または可変バンドパスフィルタを用いることでスペクトル情報も得られる。バイオ応用には、位相と蛍光情報がよく用いられる。位相計測から細胞形状や厚さが求められる。蛍光計測からは、細胞核など蛍光染色された対象の情報が得られる。生体ライブイメー