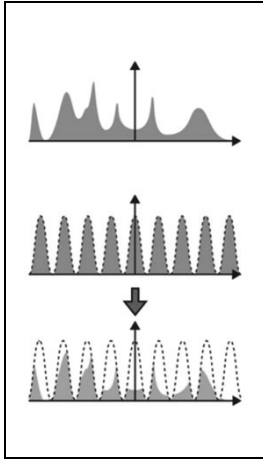


超解像バイオイメージング

大阪大学 大学院工学研究科
藤田克昌



1. はじめに

バイオイメージング技術は生物学や基礎医学研究向けのツールとして著しく発展している技術の一つである。電子顕微鏡から PET 等の機器まで、様々な原理、方法の装置が利用されているが、光学顕微鏡は多くの研究室に普及し、様々な用途に使用されている。なかでも蛍光顕微鏡は、生体試料内部の観察対象、たとえば、特定のタンパク質や核、ミトコンドリア等の微細構造を蛍光色素で染色し、選択的に観察するために用いられる。さらに周囲の環境に応じて光学特性が変化する蛍光分子を用いて、イオン濃度や細胞電位の計測などにも利用され、その応用は多岐にわたっている。

多くの生体情報を計測できる蛍光顕微鏡であるが、その空間分解能は十分とはいえない。従来、光学顕微鏡の空間分解能は、使用する光の波長の半分程度（可視光を使う場合は 200 nm 程度）が限界と言われてきた。細胞内の微細構造は数百から数十 nm のものが多く、またタンパク質の大きさとなるとそれよりも一桁程度小さいため、生体の仕組みをより詳しく理解するために、光学顕微鏡の空間分解能の向上が望まれていた。

光学顕微鏡の空間分解能の限界は、19 世紀後半から発展した結像理論をベースに議論されてきたが、20 世紀後半から、その限界を超えて空間分解能を向上する方法、超解像法、の議論が活発になった。実に様々な法が提案されており、光と観察対象の相互作用を巧みに利用して古典的な結像理論の枠を超えた新しい結像法も登場している。特に蛍光分子は光照射により複雑な挙動を示すため、超解像法の多くは、上記の蛍光顕微鏡にて実現されている。本稿では、それらの手法の原理といくつかの例を紹介する。

2. 光学顕微鏡における結像

光学顕微鏡における結像は以下の簡単な数式で表現できる。試料として発光体の濃度が $o(x)$ (x は空間座標) で示される関数で分布しており、それを点像分布関数が $h(x)$ である結像光学系を通して観察した場合、観察面に形成される像の光強度分布 $i(x')$ (x' は結像位置での空間座標) は、 $o(x)$ と $h(x)$ とのコンボリューション積分で表される。

$$i(x') = o(x) * h(x)$$

*はコンボリューション記号を示す。すなわち、観察像 $i(x')$ は、インパルス応答 $h(x)$ を持つ装置に対し、 $o(x)$ の入力があった場合の出力として得られる。 $h(x)$ はインパルス応答であるため、微小な発光体を結像した場合の観察像として求められる。どんなに微小な発光体からの光であっても、空間を伝搬してレンズにより集光される場合は、光の波動性のために波長の半分程度の大きさまでしか絞り込むことができない。この広がりのために、ふたつ以上の隣接する発光点が存在する場合、それらの像のボケが重なってしまい、その発光点の分布を正しく知ることができなくなってしまう(図 1a)。観察