HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	透過型液晶デバイスを用いたレーザー走査型蛍光顕微鏡における波面収差補正に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	田辺, 綾乃
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(工学)
Dissertation Number	甲第12636号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65687
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Ayano_Tanabe_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学　位　論　文　内　容　の　要　旨

博士の専攻分野の名称　　博士（工学）　　氏名　田辺　綾乃

学　位　論　文　題　名

透過型液晶デバイスを用いたレーザー走査型蛍光顕微鏡における波面収差補正に関する研究
（Study on Correction of Wave-front Aberrations Using Transmissive Liquid Crystal Devices in Laser Scanning Fluorescence Microscopy）

レーザー走査型顕微鏡は 3D バイオイメージングの手法として広く使用されている。共焦点レーザー走査型顕微鏡では、観察面上の焦点と共役となる点にピンホールを置くことにより、観察面上で焦点を結ぶ光以外をピンホールで遮断し、コントラストの高い明瞭な断層像を得ることが可能である。一方、2 光子励起顕微鏡では、2 光子励起過程により焦点近傍の微小領域のみが蛍光励起されるため、ピンホールが不要となり、蛍光損失の少ない高画質な断層像を実現できる。さらに、2 光子励起顕微鏡観察で励起光として用いられる近赤外光は生体試料中での散乱や吸収が少ないという利点がある。上記の特色より、2 光子励起顕微鏡では生体試料深部での 3D イメージングが可能であり、例えばマウス脳のライブイメージングも行なわれている。しかし、生体深部では生体試料と対物レンズ浸液の屈折率の違いや試料の形状、試料中の複雑な屈折率分布など、光路中における屈折率の不整合によって波面収差が発生し、得られる画像の蛍光強度や分解能は低下してしまうことがある。これまでに、多数の先行研究において、顕微鏡観察時に発生する収差について数値計算的に、また実験的に検証されている。一方、補正環や反射型空間変調器を用いて、あらかじめ波面に収差と逆位相の変調を与えることで収差を補正する技術がある。しかし、補正環は操作性が悪く、また、励起光の試料深さ方向への焦点面移動に追従することができないため、3D イメージングに対応できない。加えて、非対称性収差を補正することができないという欠点がある。また、デフォーマブルミラーや LCOS(Liquid crystal on silicon) 等の反射型空間光位相変調器は多数の先行研究で収差補正用途に使用されており、球面収差だけでなく様々な波面収差を補正することができる。これらの反射型変調器は電気的に制御することができるため、励起光の焦点移動に追従することも可能であり、3D イメージングに対応することができる。しかし、反射型変調器を使用するには、従来の顕微鏡光学系にリレー光学系を加えるための顕微鏡改造が必要となり、収差補正は容易ではない。

そこで本研究では、従来光ピックアップ等で利用されていた透過型液晶セルを用いた位相変調技術をレーザー走査型顕微鏡に応用し、光学系の改造を必要としない電気的な収差補正システムの実現を目指す。光ピックアップに使用される対物レンズは比較的低 NA であるが、レーザー走査型顕微鏡による高分解能観察に使用される対物レンズは高 NA であり、より厳密に波面を制御する必要があるため、数値計算により最適なデバイス設計を行なう。本研究では、透過型デバイスで補正する収差成分を、画質への影響が特に大きい球面収差、非点収差、1 次コマ収差に限定することで、光学特性の良好な透過型収差補正デバイスを実現する。本研究で開発した透過型液晶デバイスは複数の Zernike 収差を電気的に補正することが可能であり、例えば顕微鏡光学系の中で光路が露出している部分である、顕微鏡のレボルバーと対物レンズの間に透過型デバイスを挿入することで簡便な収差補正システムを実現することができる。また、本デバイスは既存の収差補正手段と比較して

低コストでの作成が可能であり、産業的な観点からも有用であると言える。

第 1 章では、本研究の背景と研究目的について述べた。初めにレーザー走査型顕微鏡および 2 光子励起顕微鏡の概略を紹介した。次に、レーザー走査型顕微鏡観察時に発生する波面収差は正規直交関数系である Zernike 多項式に展開することが可能であり、球面収差や非点収差・コマ収差などの低次 Zernike 多項式成分が特に光学特性を劣化させることを示した。また、光学赤外望遠鏡への応用から発展した補償光学について述べ、現在レーザー走査型顕微鏡で使用されている既存の収差補正技術を紹介した。さらに、本研究で用いられている透過型液晶セルによる位相変調の原理について述べた。

第 2 章では、試料深部観察の際に最も影響が大きい球面収差を補正する透過型デバイスを設計・作成し、その補正効果を実験的に確認したことを報告した。実験では既存のレーザー走査型顕微鏡のレボルバと対物レンズの間にデバイスを挿入し、蛍光ビーズ試料の 1 光子・2 光子励起顕微鏡観察において、デバイスの収差補正による空間分解能および蛍光強度の改善を確認した。蛍光ビーズ試料における収差補正効果は数値計算結果とも定性的に一致する結果であった。さらに、マウスの透明化脳スライスの 2 光子励起顕微鏡観察においても、デバイスの収差補正による空間分解能および蛍光強度の改善を確認することができた。また、励起光の試料深さ方向への焦点面移動にデバイスの電圧制御を追従させることで、3D イメージングにおいて深さ方向で動的に変化する球面収差を補正することに成功した。

第 3 章では、非点収差・コマ収差を補正する透過型デバイスを設計・作成し、その補正効果を実験的に確認した。非点収差やコマ収差などの非対称性収差は、試料の形状や試料内部の屈折率分布によって発生し、例えば比較的表面付近であっても非対称収差によって像が劣化してしまうことがある。そこで、第 2 章と同様に既存のレーザー走査型顕微鏡のレボルバと対物レンズの間にデバイスを挿入し、蛍光ビーズ試料の 1 光子・2 光子励起顕微鏡観察において、デバイスの収差補正による空間分解能および蛍光強度の改善を確認した。蛍光ビーズ試料における収差補正効果は数値計算結果とも定性的に一致する結果であった。さらに、マウス固定全脳の 2 光子励起顕微鏡観察においても、デバイスの収差補正による空間分解能および蛍光強度の改善を確認することができた。

第 4 章では、以上の成果を総括して本研究の結論をまとめ、今後の研究課題についても簡単に述べた。

本透過型デバイスは試料深部および複雑な試料形状や内部屈折率分布を持つ生体試料中で、高画質像を取得するための簡便な手法を提供できる。本デバイスは透過型であり、光学系の改造を必要としないため、光学に精通していない、もしくは従来の顕微鏡の光学系を改造したくない研究者にとって、本透過型デバイスを用いた収差補正システムは有益である。また、第 2 章および第 3 章で示したように、本手法によって、試料のスライスや、屈折率分布を一様とするような処理が省ける可能性があり、臨床研究や病理学など、迅速な準備、観察が必要とされるような分野で有効となり得る。さらに、本デバイスは比較的低コストでの作成が可能であり、産業的な観点からも有用であると言える。