

プログラム名： セレンディピティの計画的創出による新価値創造

PM名： 合田 圭介

プロジェクト名： 細胞計測技術開発

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成 果)

平 成 2 7 年 度

研究開発課題名：

ホログラフィック高速マルチモーダルイメージングフローサイトメトリーの開発

研究開発機関名：

学校法人関西大学

研究開発責任者

田原 樹

I 当該年度における計画と成果

1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

当該年度では、マルチカラーの透過像と位相像を高速に同時動画像センシングする、(1)高速同時RGB光透過像・位相像動画イメージングシステムと、位相像に偏光特性像を同時動画像センシングするシステム、(2)高速同時透過像・位相像・偏光特性像動画イメージングシステムを開発する。いずれのシステムにおいても、ホログラフィと呼ばれる技術を用いることで、各種特徴量(透過、位相、波長、偏光)の情報を1枚のホログラム画像に多重記録・像再生する。(1),(2)いずれのシステムにおいても開発が必須であるため設計・構築を行なう。また、ホログラフィシステムでは、像再生の計算負荷が計測速度のボトルネックである。当該課題の解決のために、計算負荷においては2次元フーリエ変換の計算を高速化する必要がある。将来的な高速化のために、像再生アルゴリズム自体の負荷低減を検討する。上記研究と並行して、ホログラフィで得られる位相画像が細胞計測にどのように有効であるか実験的に検討する。また、4[cells/frame]記録システムでThroughput 1,000[cells/sec]達成のために必要な条件の洗い出しを目標とする。

2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

2-1 進捗状況

1. 記載の計画に対し、概ね計画通りの進捗が見られた。

まず、(1),(2)いずれのシステムにも対応可能な顕微鏡システムを構築した。透過型のホログラフィック顕微鏡システムで、倒立型の拡大系を構築することにより、ユーグレナの自由泳動を観察可能にした。構築システムを用いた実験により、位相画像で細胞の種類の識別精度を向上できることが判明した。(1)のシステムに対しては複数波長情報の単一露光同時記録の実証に成功したものの、記録システムを原因とする、生体に対し再生されるカラー画像の色再現性が低いという課題に直面した。そのため、チームメンバーとの連携が遅れ、カラー画像も用いた識別には至っていない。計算負荷の低減に関しては、フーリエ変換を用いずに(1)のシステムで得られるマルチカラー透過像、位相像を抽出できる像再生手続き法を考案でき、目標達成できた。Throughputに関する見積りとして、1枚のホログラム画像記録あたりの露光時間が重要な要素であることが判明し、ユーグレナに対し16,000[cells/sec]に相当する流速1[m/sec]での計測を実施するためには、1[μ sec]オーダまたはそれ以下の露光時間とする必要があるとの実験的知見を得た。

2-2 成果

3波長のホログラム画像を単一露光で同時記録し、マルチカラーの透過像と位相画像を取得するシステムを構築し、図1に示す通り100nmオーダの開口を3次元イメージング可能であることを実証し、図2に示す通りユーグレナの3波長透過像、位相画像を取得できることを示した。また、フーリエ変換を用いずに(1)のシステムで得られるマルチカラー透過像、位相像を抽出できる像再生手続き法を考案し、新規性と有用性に基づいて特許出願した。位相画像を用いた細胞の識別では、種類に応じて位相画像に異なる特徴が見られることを明らかにした。特筆すべき点として、細胞内部の組成の密度に応じて光の散乱の程度が変わる結果として、図3に示す通り組成の密度が位相画像のスペckルノイズとして現れ、プロジェクト4の協力により識別に利用できることを明らかにした。

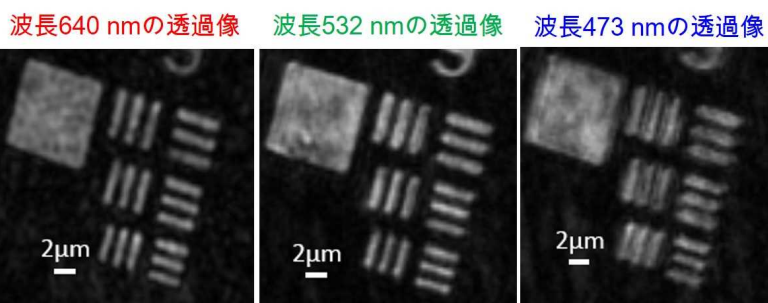


図 1. 単一露光 3 波長デジタルホログラフィック顕微鏡システムによる微小開口のイメージング。

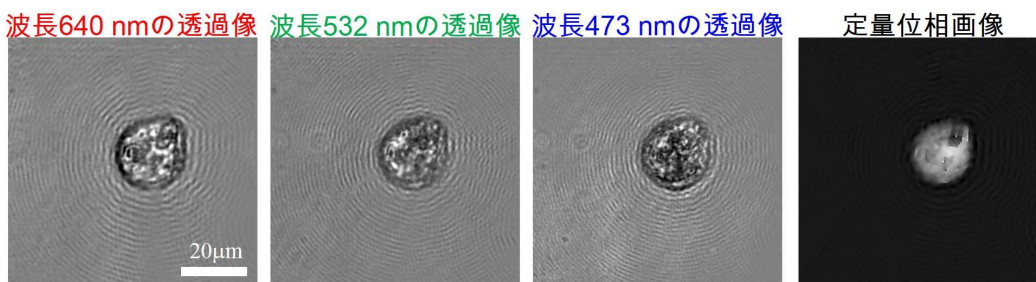


図 2. 構築顕微鏡システムによるユーグレナのホログラフィックイメージング。

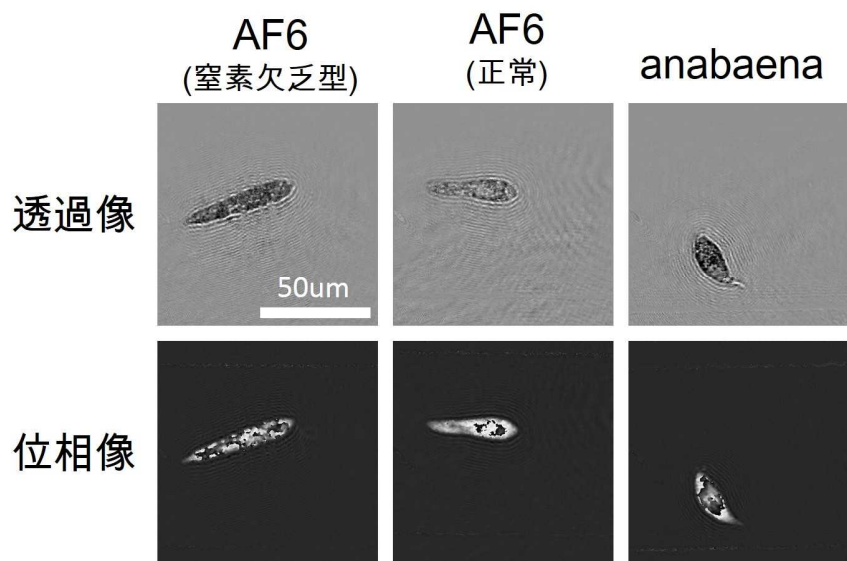


図 3. ユーグレナの種類とその位相画像。窒素欠乏した個体と正常な個体では、位相画像の明暗の乱れ(スペckルノイズ)の程度が識別に有用な情報であると、プロジェクト 4 との成果により明らかとされた。

2-3 新たな課題など

現在、(1)の記録システムにおいて、再生像の色再現性が課題である。高速に移動する物体を計測するとき、測定対象が移動することにより干渉縞が薄くなり、結果として像が暗くなる問題が判明した。縞が暗くなるのは、短波長で顕著であることがこれまでに明らかとなっている。カラー画像の信頼性を上げるべく、縞のブレを低減する記録システムの構築中である一方、信号処理による課題解決のアプローチを並行して行なっている。

3. アウトリーチ活動報告

特になし。