

### 3P062

#### アポディゼーション位相差顕微鏡を用いた生細胞の高速動態計測 (広市大・情報) ○藤原 久志, 石渡 孝, 洲崎 悦子

【序】我々は「情報科学の理学研究への応用」を念頭に置き、産業用カメラを利用した高速度画像記録装置を開発してきた<sup>1,2)</sup>。今回、この装置とアポディゼーション位相差顕微鏡を組み合わせ、好中球の貪食過程を観測した。

【高速度画像記録装置の概要】 昨年の発表<sup>1)</sup>で紹介した CCD 高速度カメラ (IPX-VGA210-LM, IMPERX) を用い、データ記録用のパーソナルコンピュータに改良を加えた<sup>2)</sup>。すなわち、コンピュータの仕様は、CPU (Core2 Extreme X6800, Intel, 2.93 GHz)、マザーボード (P5N32-E SLI, ASUS) で、OS として Windows XP Professional Service Pack 2 (Microsoft) をインストールしている。さらに画像記録用にハードディスク (WD Raptor, Western Digital: 10000 rpm, 150 GB, SATA) 3 台で RAID 0 を構築した。また、コンピュータとカメラの接続には、PCI Express × 1 バス接続の Camera Link ボード (GrabLink Express, Euresys) を採用した。

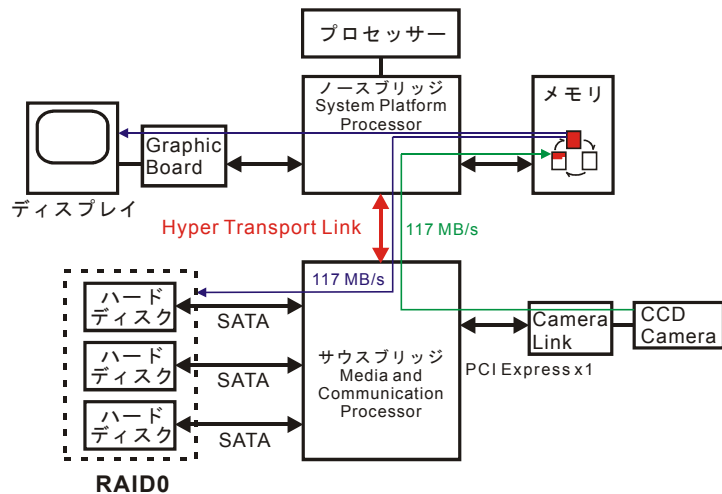


図1 高速画像記録装置の構成と内部でのデータの流れ。

上記カメラで 640×480 画素の 12 ビット画像を 200 枚/秒で取得すると、データ転送速度は 117 MB/s (一画素分のデータは 16 ビットとして転送) である。このように、高速度画像記録装置では、内部で大量かつ高速なデータ転送が生じるので(図1参照)、チップセット<sup>3)</sup>が重要である。今回採用したマザーボード内のチップセット (nForce 680i SLI, NVIDIA) は、ノースブリッジとサウスブリッジが高速な Hyper Transport で接続され<sup>4)</sup>、サウスブリッジには高性能の SATA RAID コントローラーが実装されるなど、高速度画像記録に適した特徴を有している。

CCD カメラの画像撮影・表示・記録を行うプログラムは、Win32 Application Programming Interface (API) 関数及びボードのライブラリ関数 (Multicam 6.0.0.2, Euresys) を主体として作成した。また、プログラム作成環境として、Visual C++ 6.0 Professional Edition (Microsoft) を用いた。

予備的に行なった試験によれば、構築した装置は 640×480 画素ならば 200 枚/秒で、224×200 画素ならば 1000 枚/秒で、全ディスク容量 (419 GB) 分の記録 (200 枚/秒で約 60 分、1000 枚/秒で約 80 分) が可能である。本装置の有望な応用先としては、

「トリガーをかけられない高速現象（例えば、長時間に亘って非定期的に生ずる高速現象）全般の観測」が挙げられる。

**【アポディゼーション位相差顕微鏡の特長】**<sup>5)</sup> 位相差顕微鏡では、位相物体（光の強度を変えず、位相のみを変える物体）によって生じる光の位相のずれを、光の強弱のコントラストに変えて観察する。しかし、従来の位相差法では、大きな物体の周囲に光の縁取りのような偽像（「ハロ」と呼ばれる）が生ずる欠点があった。これに対し、アポディゼーション位相差法では、リング状の位相膜の周り（両側）に吸収膜を追加し、大きな物体で生じる回折光の強度を選択的に弱めている。この結果、上述のハロは軽減し、微細部分を強調できる特長を有している。さらに、今回用いた顕微鏡（ECLIPSE Ti-U、ニコン）では、アポディゼーション位相板を顕微鏡本体に配置する外部位相差システムを採用しており、高 NA レンズが使用可能である。

**【生細胞の顕微鏡観測への適用：好中球の貪食過程の観測】** 上述のように、アポディゼーション位相差顕微鏡の対象は位相物体（生細胞も近似的に）であり、高速度画像記録装置と相性が良い。すなわち高速度撮像（応じた短時間露光）に必要な高強度の照明光を用いても、試料の光損傷は少ないと考えられるためである。

そこで、両者を組み合わせ、好中球（白血球系の細胞の一つ）の貪食（異物を取り込み処理すること）を観測した。図 2 には、ザイモサン（パン酵母抽出物）を貪食する好中球を 200 枚/秒で画像記録したデータより、3 枚の画像を抽出・表示している。この貪食過程では、昨年度の微分干渉顕微鏡観測と同様に<sup>1,2)</sup>、開口放出現象（顆粒の内容物の放出による異物処理）も高速記録されている。今後、得られたデータの解析を進め、微分干渉画像とも比較することで、開口放出における高速細胞動態の詳細を明らかにしてゆきたい。

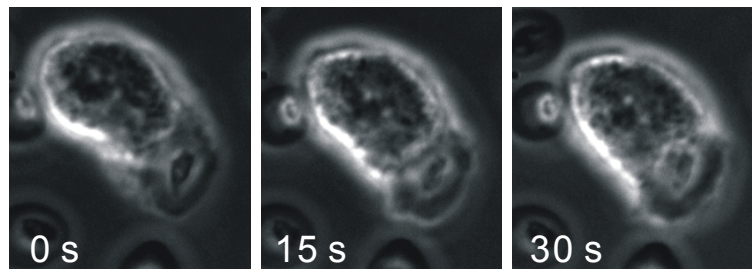


図 2 異物（ザイモサン）を貪食する好中球（対物レンズ：NA1.49, ×100）。露出時間は 4 ms であり、原画像に対してコントラスト処理を行っている。

謝辞：アポディゼーション位相差顕微鏡の試用に関して、株式会社ニコンインステックには種々の便宜を図っていただきました。心より御礼申し上げます。

#### 【参考文献】

- 1) 藤原、石渡、分子構造総合討論会、2C04 (2007).
- 2) 藤原、石渡、高速度撮影とフォトニクスに関する総合シンポジウム 2007、(2007).
- 3) 安井健治郎、チップセットの秘密（ディー・アート、東京、2001）.
- 4) 伊勢 雅英、パソコンの仕組み（ソフトバンクパブリッシング、東京、2002）.
- 5) <http://www.nikon-instruments.jp/jpn/products/solution/index3.aspx>