

レーザースペckル揺動を利用した細胞観察

○平川 靖之 (久留米高専 電気電子工学科)

【緒 言】

細胞にレーザーを照射すると観察される縞模様の揺動を、我々はレーザースペckル (LS) 揺動と呼んでいる。この LS 揺動を観察・解析することで細胞の情報を得ることができる。本講演では、細胞と LS 揺動の周波数スペckルとの関係について説明するとともに、周波数スペckルの時間変化を求めることができるウェーブレット解析を紹介する。

【原 理】

LS は、ホログラフィーと同じ光の干渉現象の一つで、表面等に光の波長オーダーの物理的変化のある散乱体にレーザーのようなコヒーレントな光が照射されると発生する小さな干渉縞のことである。散乱体に何らかの動きがあれば、当然干渉縞は揺らぐことになる。これを LS 揺動と呼んでいる。LS 揺動の解析法には、これまで様々な手法が提案され、特に血流観察などに多用されているが、我々は LS 揺動のフーリエ変換を用いた解析により得られる周波数スペckルに着目し、LS 揺動の原因を探っている。

これまでの LS 揺動の周波数スペckル解析により、図 1 に示すように周波数 1~2 Hz 以下の低周波域は細胞の生体活動の影響を受けていることが分かっているものの、細胞内の何の活動によるものであるのかは明確にできていない。一方、8~10 Hz の比較的高周波成分は、細胞小器官等のブラウン運動に由来することが分かっている。そこで、周波数スペckルの時間変化を求め、LS 揺動の要因を明確にさせるための一つの手法として、ウェーブレット変換を利用した解析を行った。フーリエ変換は、時間変化する信号に正弦波を当てはめて周波数スペckルを求めていくが、ウェーブレット変換では、小さい波 (ウェーブレット) の周波数と遅れ時間を変えて、周波数スペckルの時間変化を求める手法である。

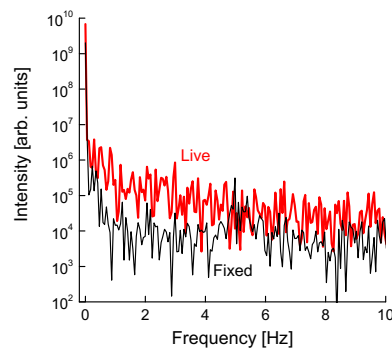


図 1 生細胞と固定細胞の LS 揺動スペckル。

【実 験】

ウェーブレット変換処理を行った細胞上の LS 揺動は、以下のようにして取得した。通常の生物顕微鏡の観察試料の入ったディッシュに、レーザー光 (635 nm, 3.5 mW) を水平方向から照射することで得られる LS 揺動を CCD カメラにより撮影し、コンピューターに取り込んだ。試料にはヒト肝細胞癌細胞株 (KIM1) 細胞を使用し、様々な刺激を与えて LS 揺動を観察、解析した。LS 揺動解析をウェーブレット変換した結果は、スカログラム (ウェーブレットスペckログラム) として表すことができる。結果の一例として、細胞をハーフカルノフスキー液により固定した際の LS 揺動周波数スペckルの時間変化を示すスカログラムを図 2 に示す。この図は、LS 揺動を記録した動画の画素 (計 1600 点) の一つ一つについて LS 揺動をウェーブレット変換し、算出されたスカログラムの平均値を求めたものをプロットしたものである。実験では、LS 揺動の動画撮影開始 10 s 後に固定液を投与したが、その後に細胞が固定されていく様子が本スカログラムにより明確に分かる。すなわち、15 s 付近では、1 Hz 以上の揺らぎの高周波成分が急激に弱くなっていくとともに、1 Hz 以下の低周波成分も時間が経つにつれ緩やかに弱くなっていることが見て取れる。一方、0.15 Hz 付近の極低周波の揺らぎ成分は固定液投与後、

一度強くなった後に弱くなっている。これは、投与された固定液により当初細胞に急激な変化が生じ、徐々にその変化が広がりながら落ち着いていっている様子を示しているものと考えられる。図には示していないが、生細胞の LS 揺動は、時間に対して安定しており、周波数スペクトルの各成分の強度はほぼ一定である。

このことから、ウェーブレット解析は、視覚的に LS 揺動の変化、つまり細胞状態の時間変化を追跡するのに適しており、LS 揺動の低周波成分の要因を調べるのに有力なツールとなるポテンシャルを有しているものと判断している。

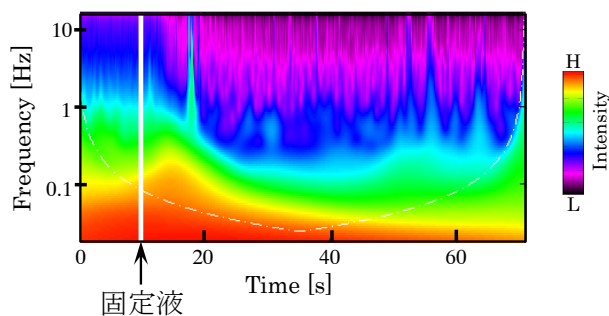


図2 細胞固定を記録したLS揺動をウェーブレット解析した結果得られたスカログラム。記録10s後に固定液を投与した。

【謝 辞】

本研究は、久留米大学医学部 中村桂一郎 教授、太田 啓介 准教授、並びに久留米高専学生諸君のご支援、ご協力の下に行われたものである。ここに深謝する。