



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117098987 A

(43) 申请公布日 2023. 11. 21

(21) 申请号 202280026344.2

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
72002

(22) 申请日 2022.03.18

专利代理师 房永峰

(30) 优先权数据

2021-066769 2021.04.09 JP

(51) Int.Cl.

G01N 21/45 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.09.28

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2022/012806 2022.03.18

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/215499 JA 2022.10.13

(71) 申请人 富士胶片株式会社

地址 日本东京

(72) 发明人 安田英纪 大崎龙介

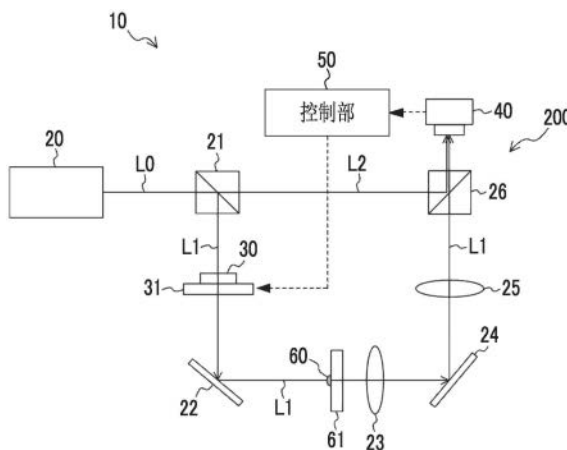
权利要求书1页 说明书9页 附图13页

(54) 发明名称

全息装置及细胞的评价方法

(57) 摘要

全息装置(10)具有形成由物光(L1)和参考光(L2)的干涉产生的干涉图像的光学系统(200)。光学系统(200)包含:移相器(30),配置于物光或参考光的光路上;及旋转机构(31),使移相器30以物光(L1)或参考光(L2)的光轴作为旋转轴进行旋转。全息装置(10)包含:摄像部(40),拍摄干涉图像;及控制部(50),针对由摄像部(40)拍摄到的干涉图像导出评价价值,并根据评价价值控制旋转机构(31)的旋转位置。



1. 一种全息装置,其包含:

光学系统,形成由物光和参考光的干涉产生的干涉图像,并且包含配置于所述物光或参考光的光路上的移相器和使所述移相器以所述物光或参考光的光轴作为旋转轴进行旋转的旋转机构;

摄像部,拍摄所述干涉图像;及

控制部,针对由所述摄像部拍摄到的干涉图像导出评价值,并根据所述评价值控制所述旋转机构的旋转位置。

2. 根据权利要求1所述的全息装置,其中,

所述评价值为所述干涉图像的像素值的标准差或方差,

所述控制部以使所述评价值成为最大的方式控制所述旋转机构的旋转位置。

3. 根据权利要求1所述的全息装置,其中,

所述移相器为半波片。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的全息装置,其中,

所述光学系统还包含:

起偏器,配置于所述物光的光路上;及

衰减器,配置于所述参考光的光路上,使所述参考光的光量衰减。

5. 根据权利要求4所述的全息装置,其中,

所述控制部以由所述摄像部拍摄到的基于物光的图像的亮度与基于参考光的图像的亮度之差在规定范围内的方式控制所述衰减器中的衰减量。

6. 一种评价方法,其为使用了权利要求1至5中任一项所述的全息装置的细胞的评价方法,其中,

将在对所述物光具有透射性的基板上培养的细胞配置于所述物光的光路上,并获取由透射过所述基板及所述细胞的物光和参考光的干涉产生的干涉图像,

根据所述干涉图像生成相位图像,

使用所述相位图像对所述细胞进行评价。

7. 根据权利要求6所述的评价方法,其中,

所述相位图像为由透射过所述基板及所述细胞的物光和参考光的干涉产生的干涉图像,是根据在以使干涉图像的像素值的标准差或方差成为最大的方式控制了所述旋转机构的旋转位置的状态下拍摄到的干涉图像生成的。

全息装置及细胞的评价方法

技术领域

[0001] 发明的技术涉及一种全息装置及使用了全息装置的细胞的评价方法。

背景技术

[0002] 作为与使用了数字全息技术的细胞的评价方法有关的技术,已知有以下的技术。例如,在国际公开第2019/176427号中记载有一种判定方法,其根据拍摄了作为多个细胞的凝聚体的细胞的全息图生成细胞的相位差图像,并根据相位差图像和与细胞的形状相对应的形状指标值来判定细胞的状态。

[0003] 并且,作为避免物光与参考光的干涉性下降的技术,已知有以下的技术。例如,在日本特开2003-15509号公报中记载有一种图像曝光记录装置,其特征在于,具备:曝光记录单元,将激光束作为物光及参考光向全息图用记录媒体照射而曝光记录全息图图像;偏振状态检测单元,检测透射过全息图用记录媒体的激光束的偏振状态;及偏振状态可变单元,以使全息图用记录媒体中的记录层上的物光与参考光的干涉性成为最高的方式,根据基于偏振状态检测单元的检测结果来改变入射到全息图用记录媒体的激光束的偏振状态。作为偏振状态检测单元,使用作为光学元件的偏振片和作为强度检测单元的光检测器。

发明内容

[0004] 发明要解决的技术课题

[0005] 在使用了数字全息技术的细胞的评价中,例如向在培养皿等具有透光性的基板上培养的细胞照射物光。通过透射过细胞及基板的物光和与物光相干(coherent)的参考光的干涉而产生的干涉图像(全息图)被摄像装置拍摄。通过针对干涉图像的图像数据实施基于光传播的数值计算,透射过细胞的光波的波前被复原。根据数字全息技术,能够获取细胞的三维信息。

[0006] 本发明人发现了使用全息技术获取的干涉图像的对比度具有基板上的位置依赖性而下降,即,干涉图像的对比度的偏差变大。另外,在干涉图像中对比度低意味着干涉条纹的对比度小。当对比度的下降起因于光学系统时,干涉图像不能说准确地表示了细胞的信息,根据这种干涉图像进行细胞的评价被认为是不适合的。尤其,在胚胎细胞等需要进行个别评价的细胞的评价中,测定误差的增大成为大问题。

[0007] 本发明人进行深入研究的结果,发现了干涉图像的对比度的偏差起因于培养皿等培养细胞的基板的双折射。如图1所示,干涉图像通过透射过细胞60及基板61的物光L1和与物光相干的参考光L2进行合波来形成。为了使物光L1和参考光L2发生干涉,物光L1及参考光L2需分别为直线偏振光且偏振方向(偏振轴)对齐。然而,在物光L1透射基板61时,产生双折射,物光成为椭圆偏振光。由此,物光L1的偏振轴进行旋转,物光L1的偏振方向与参考光L2的偏振方向变得不对齐。其结果,物光L1与参考光L2的相干性下降,从而干涉图像的对比度下降。由于双折射的大小根据基板61上的位置而不同,因此干涉图像的对比度根据基板61上的物光L1的照射位置而变化。

[0008] 发明的技术是鉴于上述点而完成的,其目的在于抑制使用全息技术获取的干涉图像的对比度的偏差。

[0009] 用于解决技术课题的手段

[0010] 发明的技术所涉及的全息装置包含:光学系统,形成由物光和参考光的干涉产生的干涉图像,并且包含配置于物光或参考光的光路上的移相器和使移相器以物光或参考光的光轴作为旋转轴进行旋转的旋转机构;摄像部,拍摄干涉图像;及控制部,针对由摄像部拍摄到的干涉图像导出评价值,并根据评价值控制旋转机构的旋转位置。

[0011] 评价值可以为干涉图像的像素值的标准差或方差,控制部可以以使评价值成为最大的方式控制旋转机构的旋转位置。移相器可以为半波片。

[0012] 光学系统还可以包含:起偏器,配置于物光的光路上;及衰减器,配置于参考光的光路上,使参考光的光量衰减。控制部可以以由摄像部拍摄到的基于物光的图像的亮度与基于参考光的图像的亮度之差在规定范围内的方式控制衰减器中的衰减量。

[0013] 发明的技术所涉及的细胞的评价方法为使用了上述的全息装置的细胞的评价方法,其包括如下步骤:将在对物光具有透射性的基板上培养的细胞配置于物光的光路上,并获取由透射过基板及细胞的物光和参考光的干涉产生的干涉图像,根据干涉图像生成相位图像,使用相位图像对细胞进行评价。

[0014] 优选相位图像为由透射过基板及细胞的物光和参考光的干涉产生的干涉图像,是根据在以使干涉图像的像素值的标准差或方差成为最大的方式控制了旋转机构的旋转位置的状态下拍摄到的干涉图像生成的。

[0015] 发明效果

[0016] 根据发明的技术,能够抑制使用全息技术获取的干涉图像的对比度的偏差。

附图说明

[0017] 图1是表示生成使用全息技术获取的干涉图像的过程的一例的图。

[0018] 图2是表示发明的技术的实施方式所涉及的全息装置的结构的一例的图。

[0019] 图3是表示发明的技术的实施方式所涉及的控制部所执行的处理的流程的一例的流程图。

[0020] 图4是表示发明的技术的实施方式所涉及的移相器的旋转位置与干涉图像的图像数据的像素值的标准差的关系的一例的图表。

[0021] 图5是表示发明的技术的实施方式所涉及的全息装置的结构的一例的图。

[0022] 图6是表示发明的技术的实施方式所涉及的全息装置的结构的一例的图。

[0023] 图7是表示发明的技术的实施方式所涉及的全息装置的结构的一例的图。

[0024] 图8是表示发明的技术的实施方式所涉及的控制部所执行的处理的流程的一例的流程图。

[0025] 图9是表示将与干涉图像的摄像位置对应的每个孔编号的标准差在装置之间进行了比较的结果的图表。

[0026] 图10是表示将针对基板的36个部位获取的像素值的标准差的平均值、最大值、最小值在装置之间进行了比较的结果的图表。

[0027] 图11A是表示凝聚体的干涉图像的一例的图。

- [0028] 图11B是表示凝聚体的傅里叶变换图像的一例的图。
- [0029] 图11C是表示凝聚体的展开前的相位差图像的一例的图。
- [0030] 图11D是表示凝聚体的展开后的相位差图像的一例的图。
- [0031] 图12是表示发明的技术的实施方式所涉及的相位差图像的概念的图。
- [0032] 图13是表示获取了凝聚体的体积与总相位量的相关特性的结果的图表。

具体实施方式

[0033] 以下,参考附图对本发明的实施方式的一例进行说明。另外,在各附图中对相同或等价的构成要件及部分标注相同的参考符号,而适当省略重复的说明。

[0034] [第1实施方式]

[0035] 图2是表示发明的技术的第1实施方式所涉及的全息装置10的结构的一例的图。全息装置10包含激光光源20、光学系统200、摄像部40及控制部50而构成。光学系统200构成为形成由物光L1和参考光L2的干涉产生的干涉图像,包含分波器21、反射镜22、24、物镜23、成像透镜25、合波器26、移相器30及旋转机构31。本实施方式所涉及的全息装置10能够用于细胞的评价。评价对象的细胞60在基板61上进行培养,以粘接于基板61或从基板61浮游的状态配置于反射镜22与物镜23之间。细胞60的种类并不受特别限定,例如可以为可被要求按每个细胞进行个别评价的胚胎细胞。

[0036] 激光光源20例如能够使用波长632.8nm的HeNe激光。作为从激光光源20射出的直线偏振光的激光束L0由分波器21分割为两个激光束。两个激光束中的其中一个成为物光L1,另一个成为参考光L2。作为分波器21,能够使用分束器。物光L1经由保持于旋转机构31的移相器30入射到反射镜22。行进方向被反射镜22弯曲的物光L1照射到基板61上的细胞60。

[0037] 基板61可以构成培养皿及孔板等在细胞培养中一般使用的容器。基板61例如由聚苯乙烯等对物光L1具有透射性的材料构成。基板61也可以由除聚苯乙烯以外的塑料或玻璃构成。基于透射过细胞60及基板61的物光L1的图像被物镜23放大。透射过物镜23的物光L1的进行方向被反射镜24弯曲并经由成像透镜25入射到合波器26。另一方面,参考光L2也入射到合波器26。物光L1及参考光L2由合波器26进行合波,并成像在摄像部40的摄像面上。作为合波器26,能够使用分束器。

[0038] 通过物光L1和参考光L2的干涉而产生的干涉图像(全息图)被摄像部40拍摄。摄像部40具备CMOS(Complementary Metal-Oxide-Semiconductor:互补金属氧化物半导体)图像传感器等摄像元件,其生成干涉图像的图像数据。干涉图像的图像数据供给到控制部50。

[0039] 移相器30配置于物光L1的光路上的分波器21与反射镜22之间。移相器30具有改变物光L1的偏振方向的功能。即,移相器30将入射光的偏振方向改变为与移相器30的旋转位置相对应的方向而射出。移相器30例如为1/2波片($\lambda/2$ 片)。旋转机构31根据从控制部50供给的控制信号使移相器30以物光L1的光轴作为旋转轴进行旋转。通过使移相器30进行旋转,能够将透射过移相器30的物光L1的偏振方向规定为任意的方向。

[0040] 基于物光L1与参考光L2的干涉图像通过透射过细胞60及基板61的物光L1和参考光L2进行合波来形成。为了使物光L1和参考光L2发生干涉,物光L1及参考光L2需分别为直线偏振光且偏振方向(偏振轴)对齐。然而,当基板61由产生双折射的材料构成时,在物光L1

透射基板61时产生双折射,物光L1成为椭圆偏振光。由此,物光L1的偏振轴进行旋转,物光L1的偏振方向与参考光L2的偏振方向变得不对齐。其结果,物光L1与参考光L2的相干性下降,从而干涉图像的对比度下降。然而,通过使移相器30进行旋转来改变物光L1的偏振方向,能够使物光L1的偏振方向与参考光L2的偏振方向一致,由此能够抑制干涉图像的对比度下降。

[0041] 控制部50针对由摄像部40拍摄到的干涉图像导出评价值,并根据评价值控制旋转机构31(及移相器30)的旋转位置。评价值为表示干涉图像的对比度的指标值,例如可以为干涉图像的图像数据中的像素值的标准差或方差。像素值是指表示该像素的亮度的数值。物光L1与参考光L2的相干性越高,干涉图像的对比度变得越高,作为评价值的标准差或方差变得越大。评价值也可以说是表示物光L1与参考光L2的相干性的指标值。控制部50以使评价值成为最大的方式控制旋转机构31(及移相器30)的旋转位置。具体而言,控制部50包含具备处理器(未图示)的计算机而构成,其进行下述的处理。

[0042] 图3是表示控制部50所执行的处理的流程的一例的流程图。在步骤S1中,控制部50将旋转机构31(及移相器30)的旋转位置设定在初始位置。在步骤S2中,控制部50从摄像部40获取干涉图像的图像数据。在步骤S3中,控制部50针对在步骤S2中所获取的干涉图像的图像数据导出评价值。控制部50例如导出像素值的标准差作为评价值,并将其存储于存储器(未图示)中。

[0043] 在步骤S4中,控制部50判定针对预先规定的所有旋转位置是否已完成评价值的导出。当判定为针对所有旋转位置未完成评价值的导出时,控制部50将处理转移到步骤S5,当判定为已完成时,将处理转移到步骤S6。

[0044] 在步骤S5中,控制部50使旋转机构31(及移相器30)的旋转位置旋转1阶段(step)。由此,移相器30以物光L1的光轴作为旋转轴旋转与1阶段相当的量(例如 5°)。然后,控制部50将处理返回到步骤S2。即,控制部50获取移相器30的旋转位置旋转了与1阶段相当的状态下的干涉图像的图像数据,并针对该图像数据导出评价值。控制部50重复步骤S2至步骤S5的处理,直至基于移相器30的偏振方向自初始位置的变化量例如达到 180° 。当移相器30为 $1/2$ 波片($\lambda/2$ 片)时,通过使移相器从初始位置改变 90° ,物光L1的偏振方向改变 180° 。

[0045] 在步骤S6中,控制部50通过向旋转机构31供给控制信号,将旋转机构31(及移相器30)定位在存储于存储器中的评价值成为最大的旋转位置。

[0046] 如上,发明的技术的实施方式所涉及的全息装置10具有形成由物光L1和参考光L2的干涉产生的干涉图像的光学系统200。光学系统200包含:配置于物光L1的光路上的移相器30;及使移相器30以物光L1的光轴作为旋转轴进行旋转的旋转机构31。全息装置10具备:拍摄干涉图像的摄像部40;及针对由摄像部40拍摄到的干涉图像导出评价值,并根据评价值控制旋转机构31(及移相器30)的旋转位置的控制部50。作为上述的评价值,使用干涉图像的图像数据中的像素值的标准差或方差等表示干涉图像的对比度的状态的指标值。控制部50以使评价值成为最大的方式控制旋转机构31(及移相器30)的旋转位置。

[0047] 根据发明的技术的实施方式所涉及的全息装置10,即使在起因于基板61中的双折射而干涉图像的对比度下降的状况下,通过以使上述的评价值成为最大的方式控制旋转机构31(及移相器30)的旋转位置,也能够使物光L1的偏振方向与参考光L2的偏振方向一致,从而抑制干涉图像的对比度下降。即,根据全息装置10,能够抑制基板61中的双折射的影

响。当针对存在于基板61上的各位置的细胞获取干涉图像时,通过每次进行旋转机构31(及移相器30)的旋转位置的控制,能够抑制干涉图像的对比度的偏差。

[0048] 图4是表示移相器30的旋转位置与干涉图像的图像数据的像素值的标准差的关系的一例的图表。在图4中示出针对在物光L1的光路上配置了基板61的情况(有基板)及未配置基板61的情况(无基板)各自的关系。如图4所示,通过在物光L1的光路上配置产生双折射的基板61,与未配置基板61的情况相比,移相器30的旋转位置为 0° 时的标准差降低。然而,确认到通过改变移相器30的旋转位置,标准差变大,在特定的旋转位置(35° 附近)处取最大值。并且,标准差的最大值在配置了基板61的情况和未配置基板61的情况下相同。这表示通过移相器30的旋转位置的控制,能够将干涉图像的对比度改善至能够抵消基板61的双折射的影响的程度。

[0049] 图5及图6分别是表示变形例所涉及的全息装置10的结构的一例的图。如图5所示,也能够将移相器30及旋转机构31相对于细胞60及基板61配置于物光L1的行进方向后侧。在图5所示的例子中,移相器30及旋转机构31配置于反射镜24与成像透镜25之间。在该情况下,也能够抑制干涉图像的对比度的偏差。并且,如图6所示,也可以将移相器30及旋转机构31配置于参考光L2的光路上。在该情况下,也能够抑制干涉图像的对比度的偏差。

[0050] [第2实施方式]

[0051] 图7是表示发明的技术的第2实施方式所涉及的全息装置10A的结构的一例的图。本实施方式所涉及的全息装置10A与第1实施方式所涉及的全息装置10(参考图2)不同点在于,还包含起偏器27、衰减器28、第1快门29A及第2快门29B。起偏器27配置于物光L1的光路上。在图7所示的例子中,起偏器27配置于反射镜24与成像透镜25之间。起偏器27为具有去除包含于通过物光L1透射基板61而产生的椭圆偏振光中的、在干涉图像的形成中不需要的偏振成分的功能的偏振滤光片。

[0052] 衰减器28配置于参考光L2的光路上。衰减器28具有使参考光L2以与从控制部50供给的控制信号相对应的衰减量衰减的功能。通过物光L1透射起偏器27而物光L1的光量下降。当不使参考光L2的光量衰减时,物光L1与参考光L2的光量变得不均匀。因此,控制部50以使在摄像部40中拍摄的仅基于物光L1的图像的图像数据的平均像素值(平均亮度值)与仅基于参考光L2的图像数据的平均像素值(平均亮度值)变得相同的方式控制衰减器28中的衰减量。

[0053] 第1快门29A配置于物光L1的光路上。在图7所示的例子中,第1快门29A配置于成像透镜25与合波器26之间,但只要在物光L1的光路上,则可以配置于任何位置。第1快门29A根据从控制部50供给的控制信号来切换物光L1的通过及阻断。

[0054] 第2快门29B配置于参考光L2的光路上。在图7所示的例子中,第2快门29B配置于衰减器28与合波器26之间,但只要在参考光L2的光路上,则可以配置于任何位置。第2快门29B根据从控制部50供给的控制信号来切换参考光L2的通过及阻断。

[0055] 图8是表示本实施方式所涉及的控制部50所执行的处理的流程的一例的流程图。图8所示的各处理在图3所示的处理结束之后执行。

[0056] 在步骤S11中,控制部50将第1快门29A控制为打开状态,并且将第2快门29B控制为关闭状态。由此,仅基于物光L1的图像被摄像部40拍摄。在步骤S12中,控制部50从摄像部40获取仅基于物光L1的图像的图像数据。在步骤S13中,控制部50导出由在步骤S12中所获取

的图像数据表示的物光图像的平均像素值(平均亮度值),并将其存储于存储器(未图示)中。

[0057] 在步骤S14中,控制部50将第1快门29A控制为关闭状态,并且将第2快门29B控制为打开状态。由此,仅基于参考光L2的图像被摄像部40拍摄。在步骤S15中,控制部50从摄像部40获取仅基于参考光L2的图像的图像数据。在步骤S16中,控制部50导出由在步骤S15中所获取的图像数据表示的参考光图像的平均像素值(平均亮度值),并将其存储于存储器(未图示)中。

[0058] 在步骤S17中,控制部50判定存储于存储器中的物光图像的平均像素值(平均亮度值)与参考光图像的平均像素值(平均亮度值)是否一致。当判定为平均像素值(平均亮度值)不一致时,控制部50将处理转移到步骤S18,当判定为平均像素值(平均亮度值)一致时,将处理转移到步骤S19。

[0059] 在步骤S18中,控制部50使衰减器28的衰减量增加1阶段,并将处理返回到步骤S15。即,控制部50针对衰减器28中的衰减量增加了与1阶段相当的量的状态下的参考光图像进行图像数据的获取、向存储器中的存储及平均像素值(平均亮度值)的导出。控制部50重复进行步骤S15至步骤S18的处理,直至存储于存储器中的物光图像的平均像素值(平均亮度值)与参考光图像的平均像素值(平均亮度值)一致。在步骤S19中,控制部50将第1快门29A控制为打开状态,并且将第2快门29B控制为打开状态。

[0060] 根据本实施方式所涉及的全息装置10A,包含于通过物光L1透射基板61而产生的椭圆偏振光中的、在干涉图像的形成中不需要的偏振成分被起偏器27去除。并且,以使物光L1的光量与参考光L2的光量变得相同的方式控制衰减器28的衰减量。由此,促进抑制干涉图像的对比度下降的效果及抑制干涉图像的对比度的偏差的效果。

[0061] 另外,在本实施方式中,示出了以使由摄像部40拍摄的基于物光L1的图像的亮度与基于参考光L2的图像的亮度一致的方式控制衰减器28中的衰减量的情况,但也可以以使基于物光L1的图像的亮度与基于参考光L2的图像的亮度之差在规定范围内的方式控制衰减器28中的衰减量。

[0062] [实施例]

[0063] 分别使用上述的第1实施方式所涉及的全息装置10(参考图2)、第2实施方式所涉及的全息装置10A(参考图7)及比较例所涉及的全息装置(未图示)形成干涉图像,并比较了干涉图像的对比度及其偏差。

[0064] 将各全息装置的构成组件示于下述的表1。第1实施方式所涉及的全息装置10为不具备表1所示的构成组件中的起偏器及衰减器的结构。比较例所涉及的全息装置为不具备表1所示的构成组件中的移相器、旋转机构、起偏器及衰减器的结构。即,比较例所涉及的全息装置为不具有校正由基板61的双折射引起的物光的偏振方向的变动的单元的结构。

[0065] [表1]

[0066]

组件	制造商	型号
激光光源	Thorlabs	HNL100LB
分波器	Thorlabs	TW630R5F1
移相器	Thorlabs	WPHSM05-633
旋转机构	Thorlabs	ELL14

基板	Cooper Surgical	38Special GPS
物镜	Nikon	CFI Plan Apochromat Lambda 10X
成像透镜	Edmund Optics	TS消色差透镜50×100VIS-NIR INK
合波器	Thorlabs	BP250
摄像部	Baumer	VCXU-50
控制部	DELL	Precision 7820T
起偏器	SIGMAKOKI	SPF-50C-32
衰减器	Thorlabs	V600F

[0067] 在基板所具有的12个孔内培养了胚胎细胞。在各全息装置中,针对每个基板12个部位的合计3个基板,获取了胚胎细胞的干涉图像的图像数据。即,各全息装置中的干涉图像的获取数为36。针对所获取的干涉图像的图像数据分别导出了像素值的标准差。

[0068] 图9是表示将与干涉图像的摄像位置对应的每个孔编号的标准差在装置之间进行了比较的结果的图表。图10是表示将标准差的与36个部位相当的量的平均值、最大值、最小值在装置之间进行了比较的结果的图表。在图9及图10中,实施例1对应于第1实施方式所涉及的全息装置10,实施例2对应于第2实施方式所涉及的全息装置10A,比较例对应于比较例所涉及的全息装置。

[0069] 如图9及图10所示,确认到通过全息装置具备作为校正由基板61的双折射引起的物光的偏振方向的变动的单元的移相器,干涉图像的像素值的标准差变大及标准差的偏差变小。这表示通过基于移相器的偏振方向的校正,可抑制由基板61的双折射引起的干涉图像的对比度下降,且可抑制对比度的偏差。

[0070] [细胞的评价方法]

[0071] 以下,对发明的技术的实施方式所涉及的细胞的评价方法进行说明。本实施方式所涉及的细胞的评价方法使用上述的第1实施方式所涉及的全息装置10或第2实施方式所涉及的全息装置10A。

[0072] 本实施方式所涉及的细胞的评价方法包括如下步骤:将在对物光L1具有透射性的基板61上培养的细胞60配置于物光L1的光路上,并获取基于透射过基板61及细胞60的物光L1和参考光L2的干涉图像,根据干涉图像生成相位图像,使用相位图像对细胞进行评价。

[0073] 以下,参考图11A~图11D对根据干涉图像获取相位图像的方法的一例进行说明。另外,图11A~11D是针对iPS细胞(induced pluripotent stemcells:诱导多能干细胞)的凝聚体(球体:sphere)获取的图。

[0074] 首先,对由摄像部40获取的图11A中所例示的细胞的干涉图像(全息图)例如以成为 2048×2048 的尺寸的方式进行修剪之后,进行二维傅里叶变换。图11B是通过该处理而得到的细胞的傅里叶变换图像的一例。在图11B中示出基于直接光、物光、共轭光的图像。

[0075] 接着,通过确定傅里叶变换图像中的物光相对于直接光的偏移量来确定物光的位置,例如通过使用了半径250pixel的圆形开口的掩模的频率滤波处理来提取仅物光的复振幅成分。

[0076] 接着,例如适用角谱法使表示任意的空间位置的细胞的相位的图像复原。具体而言,求出在摄像部40的摄像面上捕获的波前 $u(x, y; 0)$ 的傅里叶变换图像的角谱 $U(f_x, f_y; 0)$ 。接着,如下述的(1)式所示,通过对角谱 $U(f_x, f_y; 0)$ 乘上传递函数 $H(f_x, f_y; z)$,再现光轴方向

(z方向)的任意位置z处的波前。其中,传递函数 $H(f_x, f_y; z)$ 为频率响应函数(脉冲响应函数(格林函数)的傅里叶变换)。

[0077] [数式1]

$$[0078] \quad U(f_x, f_y; z) = U(f_x, f_y; 0)H(f_x, f_y; z), \quad H = e^{-\frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{1 - (\lambda f_x)^2 - (\lambda f_y)^2}} \quad \dots (1)$$

[0079] 接着,如下述的(2)式所示,通过针对光轴方向(z方向)的位置z处的波前 $U(f_x, f_y; z)$ 实施傅里叶逆变换,导出位置z处的解 $u(x, y; z)$ 。

[0080] [数式2]

$$[0081] \quad \begin{aligned} u(x, y; z) &= F^{-1}[U(f_x, f_y; z)] \\ &= F^{-1}[U(f_x, f_y; 0)H(f_x, f_y; z)] \quad \dots (2) \\ &= F^{-1}[F[u(x, y; 0)]H(f_x, f_y; z)] \end{aligned}$$

[0082] 接着,如下述的(3)式所示,通过导出针对 $u(x, y; z)$ 的相位 ϕ 来生成相位图像。图11C是通过上述的各处理而得到的展开前的相位图像的一例。

[0083] [数式3]

$$[0084] \quad \phi = \arctan\left(\frac{\text{Im}(u)}{\text{Re}(u)}\right) \quad \dots (3)$$

[0085] 图11C所示的展开前的相位差图像中的相位卷积为 $0 \sim 2\pi$ 的值。因此,例如,通过适用Unweighted Least Squares(未加权最小平方法)或Flynn's Algorithm(费林算法)等相位解缠(展开)方法还连接 2π 以上的部分,能够得到如图11D中所例示的最终相位图像。另外,展开方法提出有很多种,适当选择不会产生相位失配的方法即可。

[0086] 以下,针对相位图像进行说明。图12是表示相位图像 I_p 的概念的图。图12的下段三维显示相位图像 I_p 的各像素k处的相位量。图12的上段将相位图像 I_p 的各像素k处的相位量以灰度表示在平面上。

[0087] 其中,在将存在于相位图像 I_p 的同一焦平面内的背景(不存在细胞的区域)的相位设为 P_B 、将存在细胞的区域的相位设为 P_S 时,相位图像 I_p 中的相位量 P 由下述的(4)式表示。并且,本说明书中的“相位”这一术语为将光视为电磁波时的电场振幅的相位,以更一般的含义使用。

[0088] [数式4]

$$[0089] \quad P = P_S - P_B \quad \dots (4)$$

[0090] 相位图像 I_p 的各像素k处的相位量 P_k 能够由下述(5)式表示。但是, n_k 为与相位图像 I_p 的各像素k对应的部位处的细胞的折射率, d_k 为与相位图像 I_p 的各像素k对应的部位处的细胞的厚度, λ 为全息图光学系统中的物光的波长。

[0091] [数式5]

$$[0092] \quad P_k = 2\pi \frac{n_k \cdot d_k}{\lambda} \quad \dots (5)$$

[0093] 细胞的相位图像为表示透射过细胞的物光的光路长度分布的图像。细胞内的光路长度相当于细胞的折射率与细胞的厚度之积,因此细胞的相位图像还如(5)式所示包含细

胞的折射率及厚度(形状)的信息。

[0094] 作为使用了相位图像的细胞的评价方法的例子,可以举出使用根据相位图像导出的总相位量 P_A 的方法。总相位量 P_A 由下述的(6)式表示。其中, s 为相位图像的各像素 k 的面积, v_k 为与相位图像的各像素 k 对应的部位处的细胞的体积。如(6)式所示,总相位量 P_A 相当于针对所有像素 k 将细胞的相位图像在每个像素的相位量 P_k 进行了相加的值。相位图像的像素值对应于相位量 P_k 。

[0095] [数式6]

$$[0096] \quad P_A = \sum_{k=0}^N P_k \cdot s = \frac{2\pi}{\lambda} \sum_{k=0}^N n_k \cdot d_k \cdot s = \frac{2\pi}{\lambda} \sum_{k=0}^N n_k \cdot v_k \quad \dots (6)$$

[0097] 图13是表示获取了iPS细胞的凝聚体(球体)的体积与总相位量 P_A 的相关特性的结果的图表。如图13所示,确认到总相位量 P_A 与凝聚体的体积存在比例关系。在图13中,将表示凝聚体的体积与总相位量 P_A 之间的相关性的基准的趋势线 L_S 与标绘图一同示出。适用了从图13所示的各标绘图导出的回归线作为趋势线 L_S 。

[0098] 在图13中示出与存在于趋势线 L_S 上的标绘图a1及a2对应的凝聚体的相位图像及存在于从趋势线 L_S 偏离的位置的标绘图a3、a4、a5对应的凝聚体的相位图像。针对与存在于趋势线 L_S 上的标绘图a1及a2对应的凝聚体,得到了亮度遍及凝聚体整体而均匀的相位图像。这表示构成凝聚体的多个细胞均质及凝聚体内的细胞的密度均匀等。另一方面,针对与存在于从趋势线 L_S 偏离的位置的标绘图a3及a4对应的凝聚体,得到了中心部的亮度比其他部位下降的相位图像。这表示构成凝聚体的多个细胞不均质及凝聚体内的细胞的密度不均匀等。并且,针对与存在于从趋势线 L_S 偏离的位置的标绘图a5对应的凝聚体,得到了凝聚体的轮廓线的凹凸显著的相位差图像。这表示构成凝聚体的细胞发生了异常等。

[0099] 根据以上的结果,可以说使用总相位量 P_A 与凝聚体的体积的相关性能够判定凝聚体的状态。并且,可以说对表示总相位量 P_A 与凝聚体的体积的相关性的趋势线 L_S 和针对判定对象的凝聚体的总相位量 P_A 与凝聚体的体积的相关性进行比较,根据针对判定对象的凝聚体的相关性从趋势线 L_S 的偏离程度,能够判定该凝聚体的状态。具体而言,可以说根据标绘于在一个轴上取凝聚体的体积、在另一个轴上取总相位量 P_A 的图表上的、针对判定对象的凝聚体的标绘图从趋势线 L_S 的偏离程度,能够判定各凝聚体的状态。因此,例如针对总相位量 P_A 从趋势线 L_S 的负宽度为阈值以上的凝聚体,能够判定为包含于该凝聚体中的多个细胞的密度、均质性及球体的外形形状中的至少一个有异常。

[0100] 在使用了相位图像的细胞的评价中,优选使用根据高对比度的干涉图像生成的相位图像。即,优选使用根据在以使干涉图像中的像素值的标准差或方差成为最大的方式控制旋转机构31(及移相器30)的旋转位置的状态下拍摄到的干涉图像生成的相位图像。

[0101] 另外,2021年4月9日申请的日本专利申请2021-066769的所有公开内容通过参考而被并入本说明书中。并且,本说明书中所记载的所有文献、专利申请及技术标准与具体地且分别地记载通过参考而被并入的各个文献、专利申请及技术标准的情况相同程度地,通过参考而被并入本说明书中。

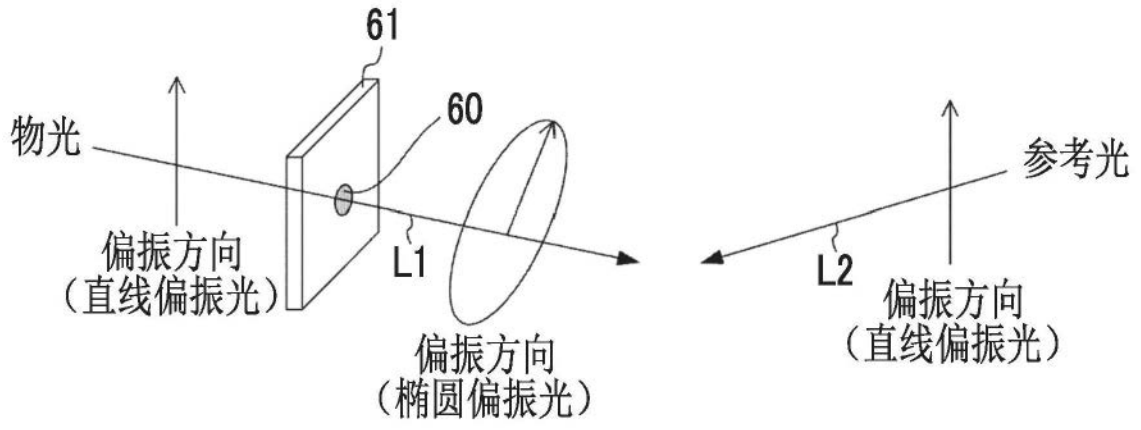


图1

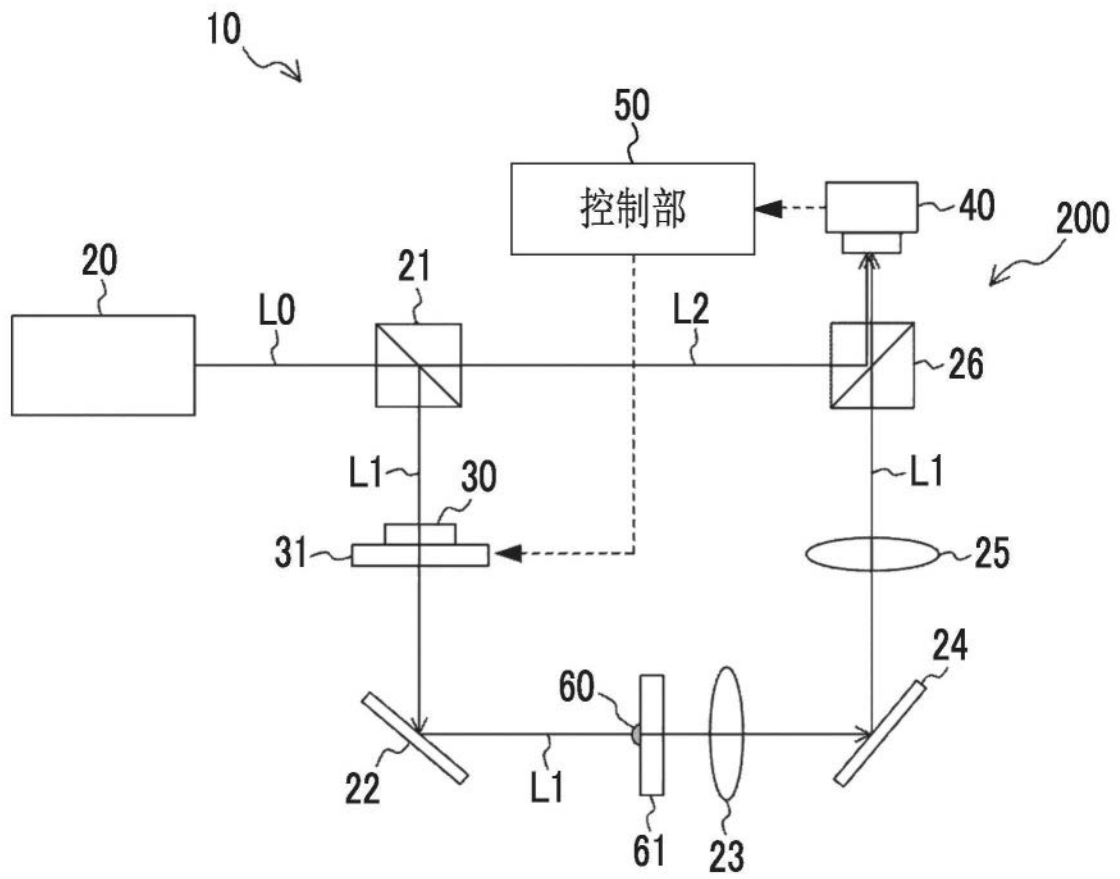


图2

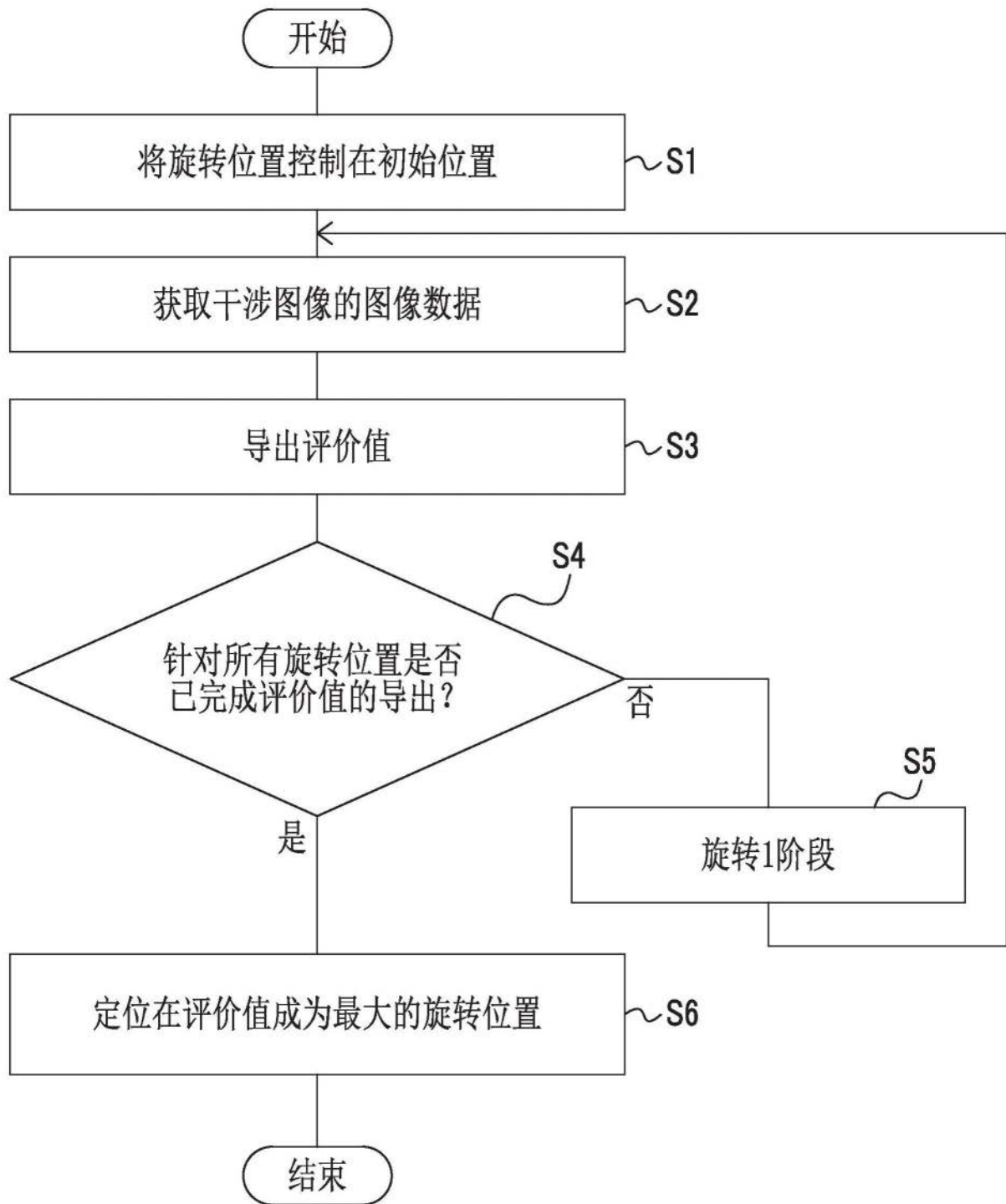


图3

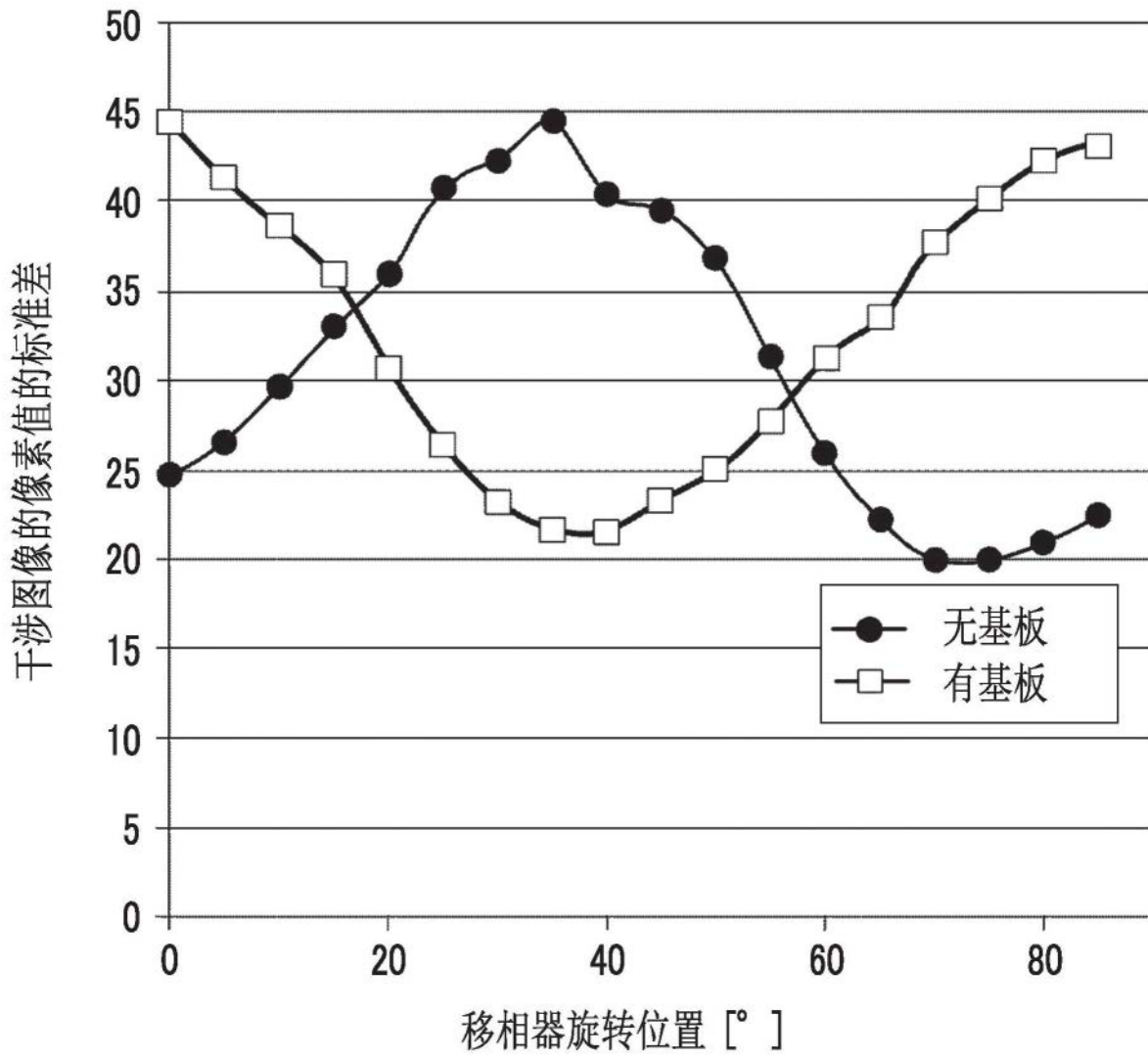


图4

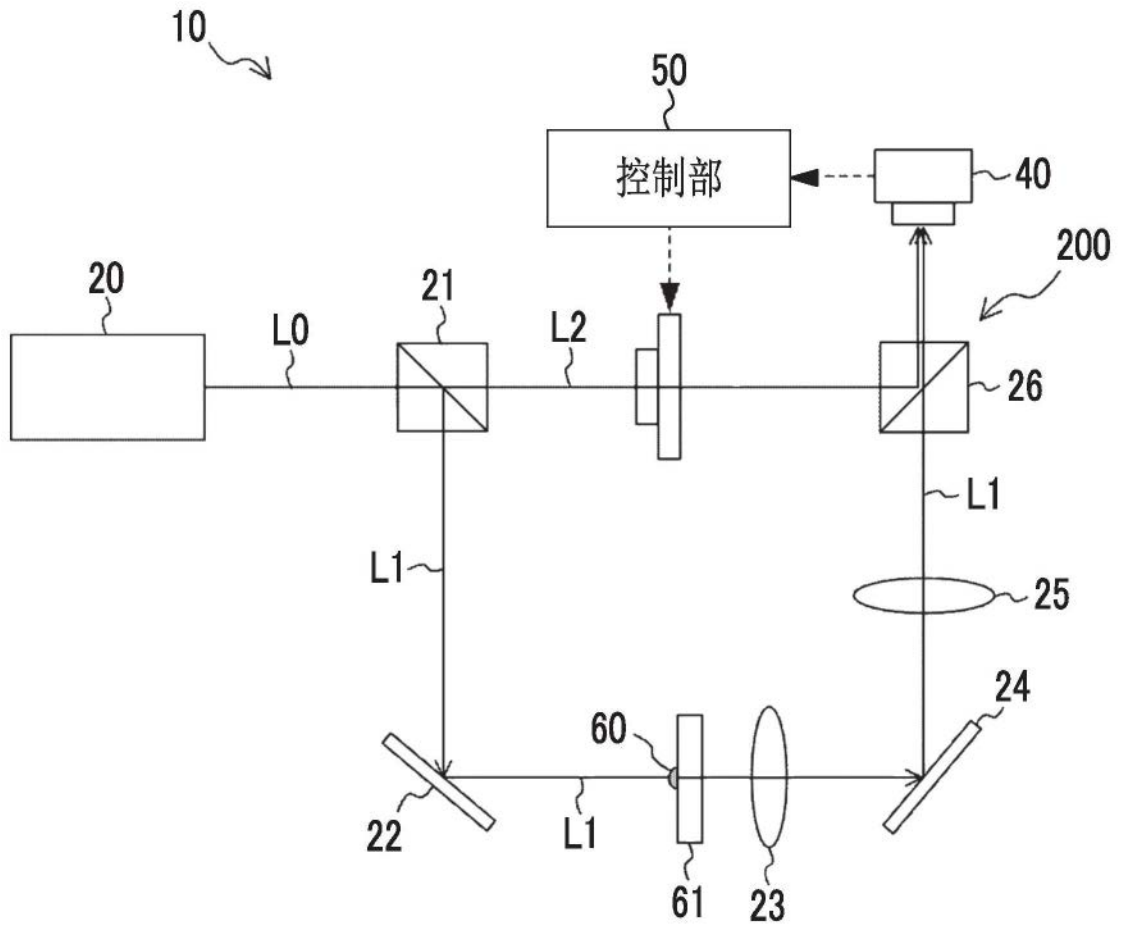


图6

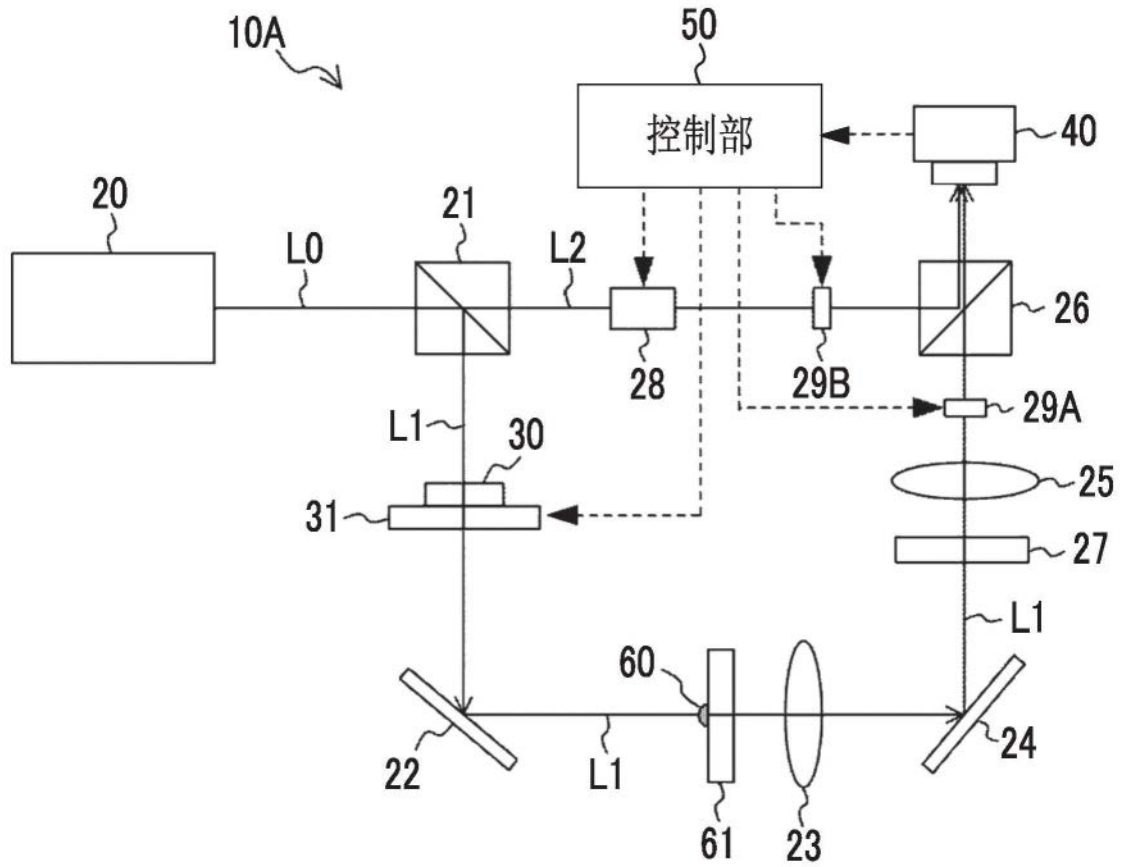


图7

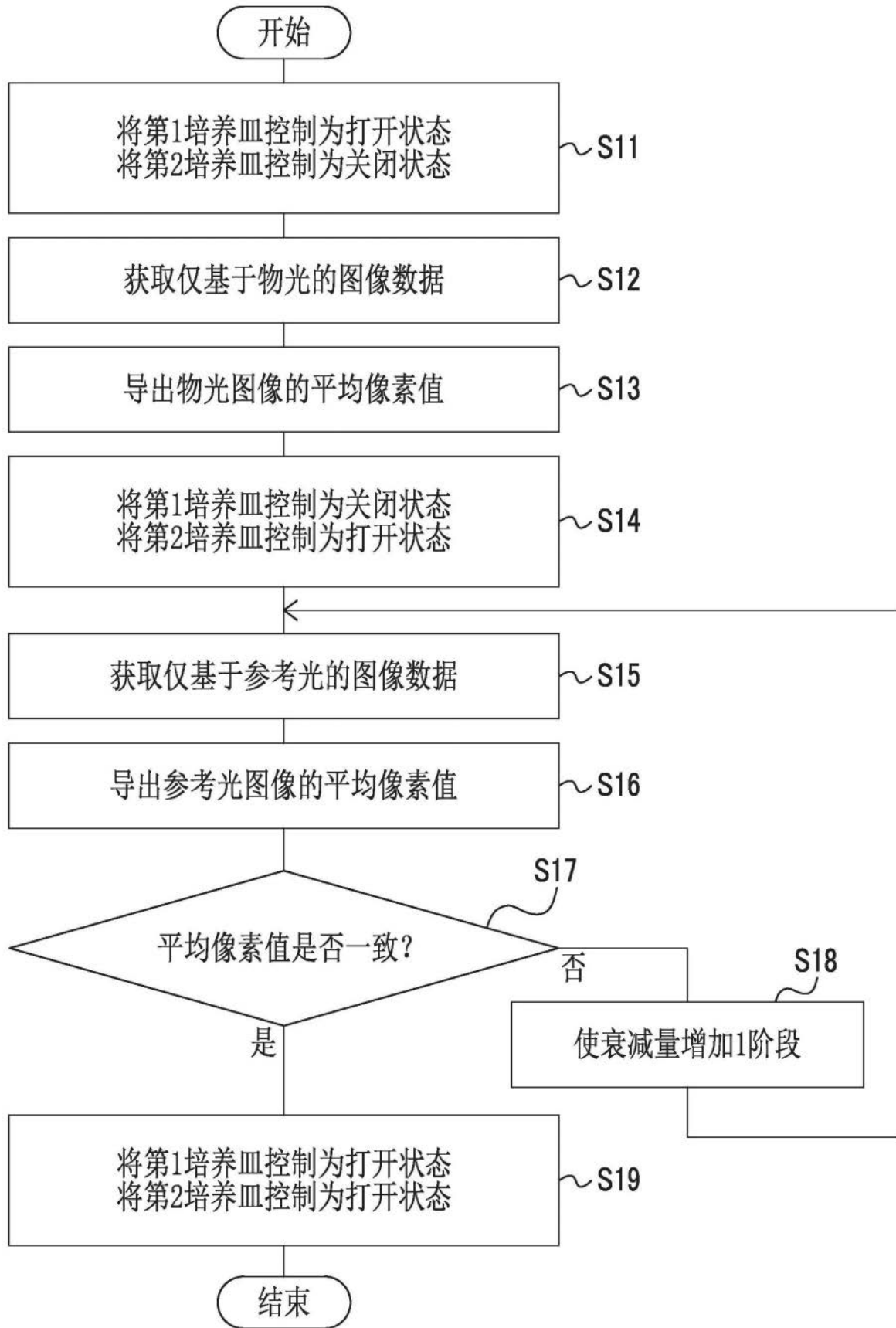


图8

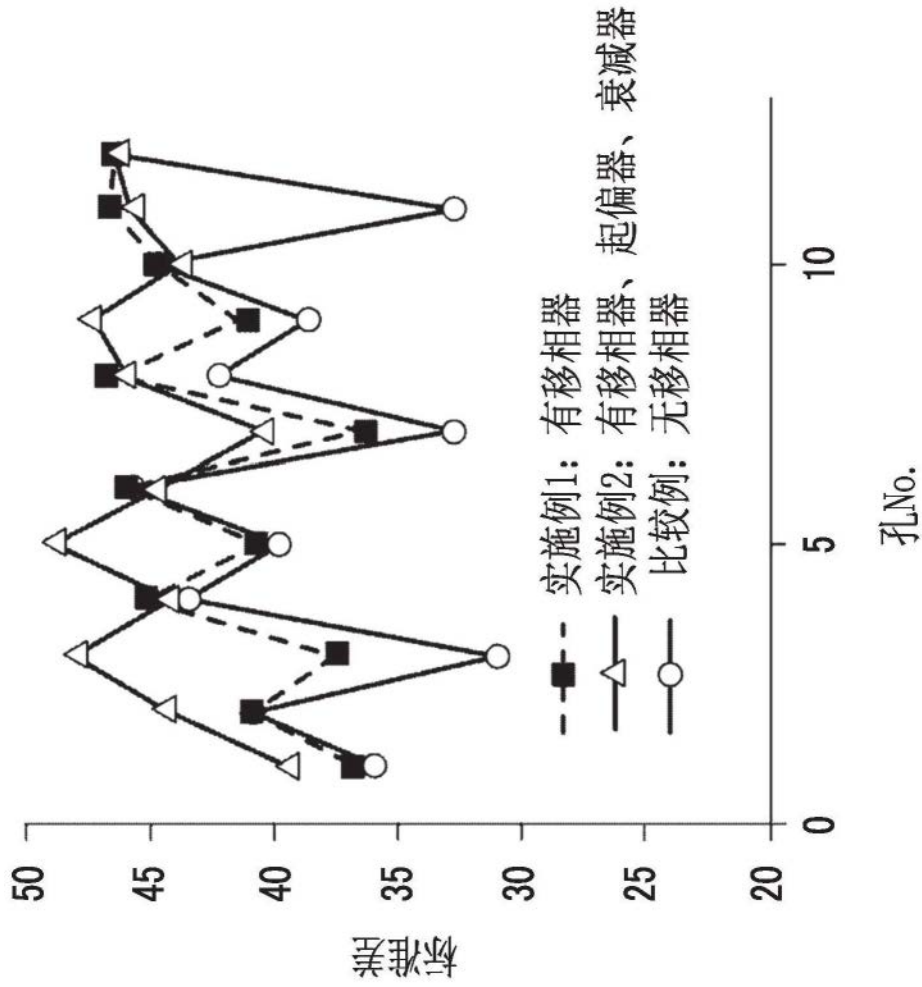


图9

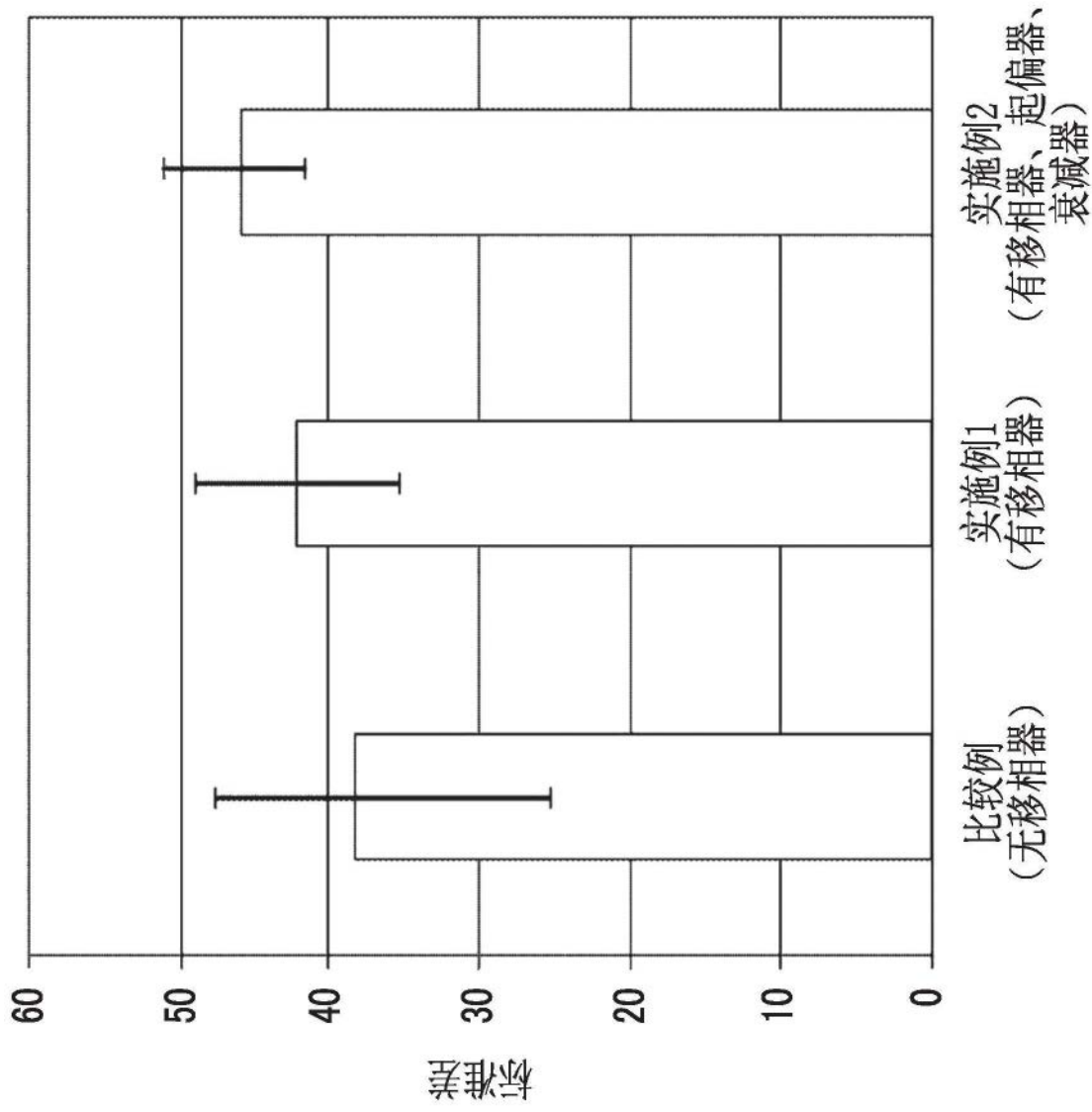


图10

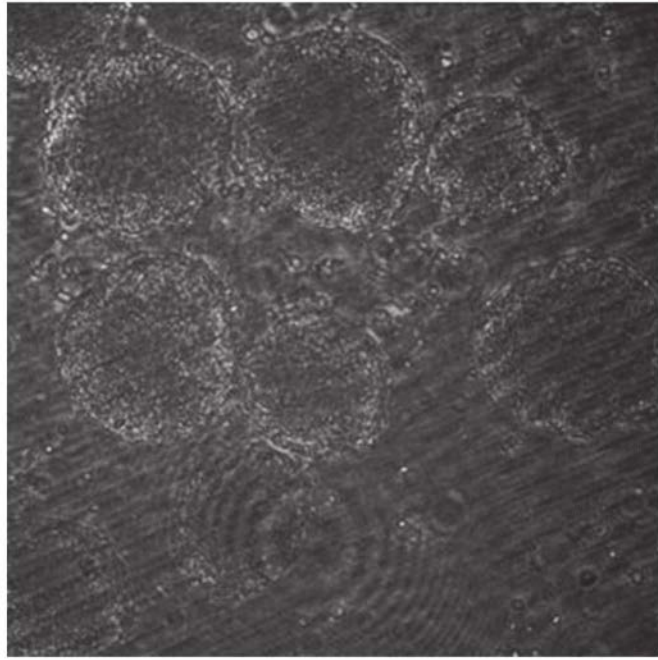


图11A

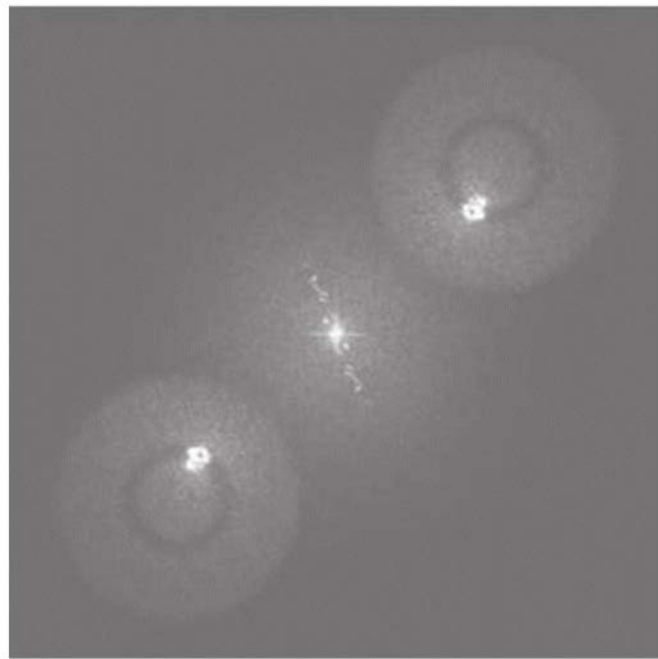


图11B

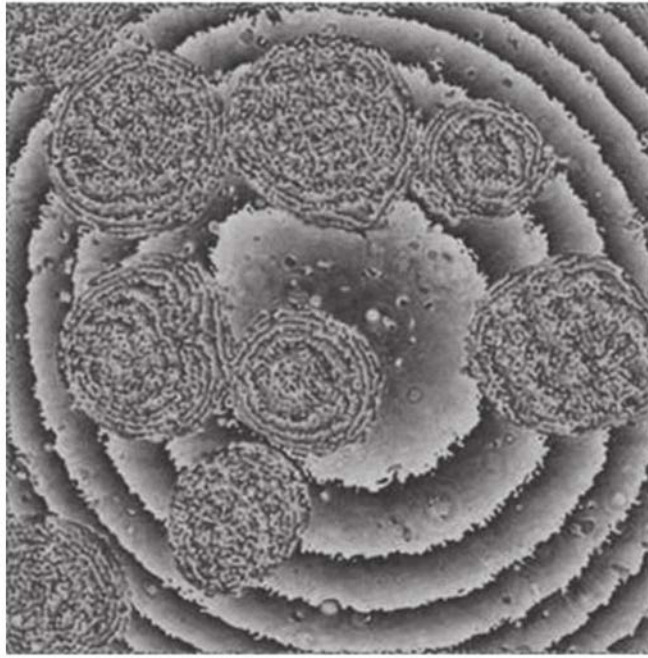


图11C

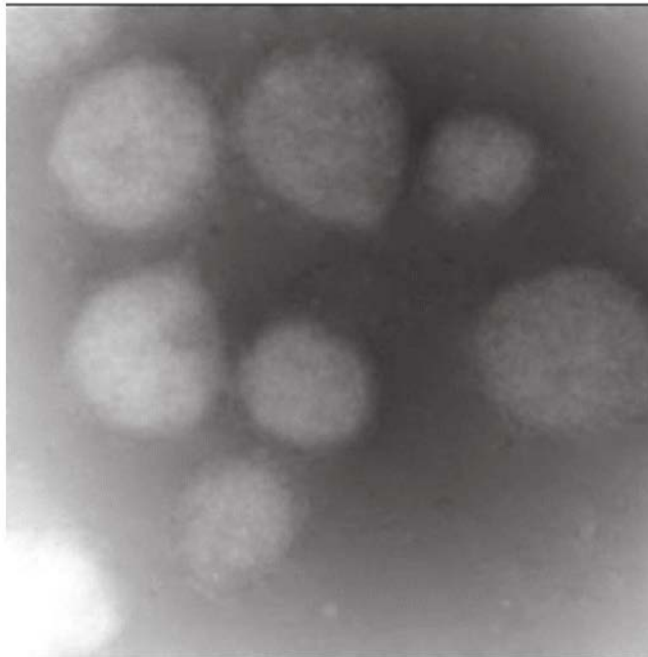


图11D

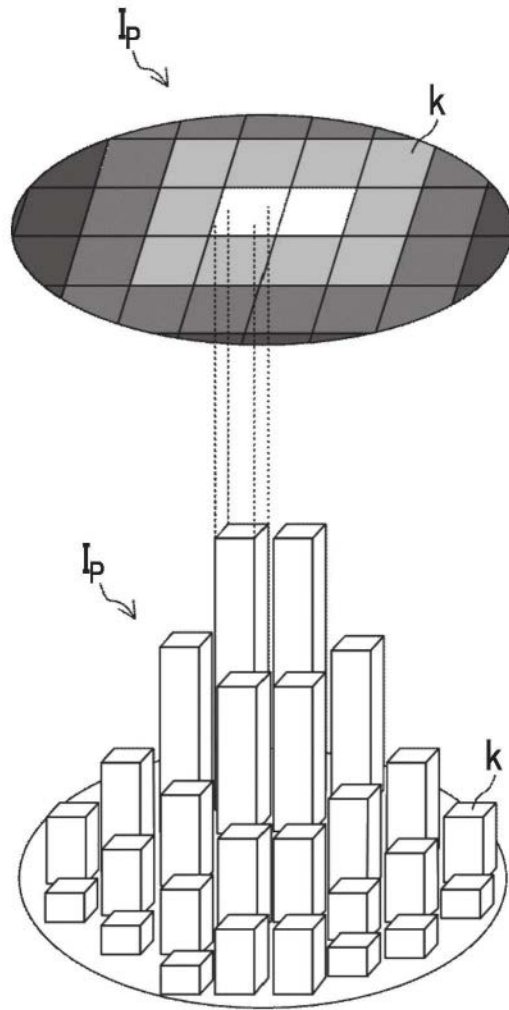


图12

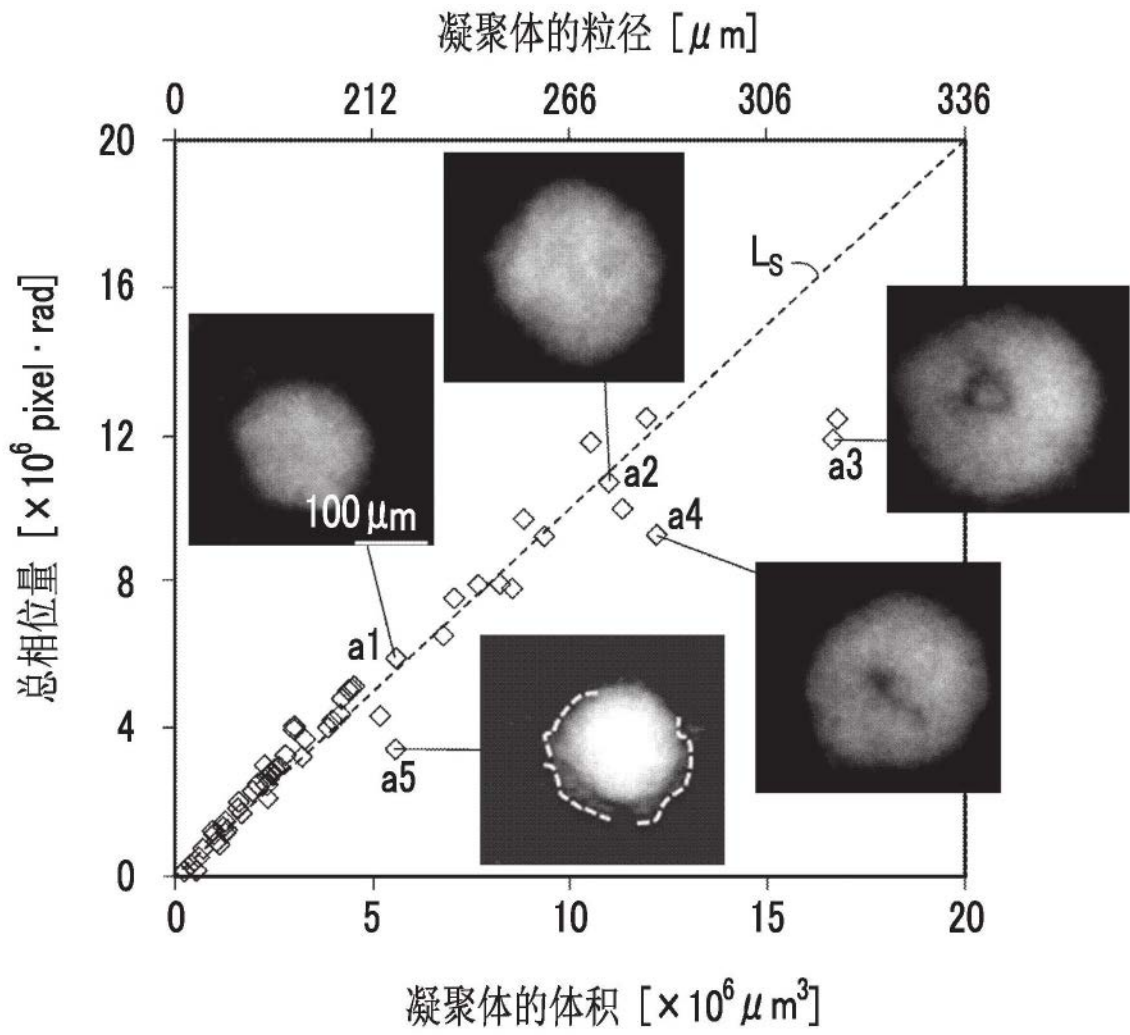


图13