

高速超解像顕微鏡用レーザスキャナユニットの研究開発

横河電機株式会社 ライフイノベーション事業本部 ハイソリューションセンター開発部 景 虹之*

■技術開発の背景

近年、蛍光顕微鏡は技術的に大きく進歩した。これまで限界とされてきた200nmよりも微細な構造を観察できる超解像顕微鏡が実用化され、細胞内小器官レベルの機能の解析が進み、生命の神秘の解明が一段と期待されるようになった。そのような背景にあって、横河電機も独自の方式による超解像顕微鏡を提案し、研究開発を行ってきた。

■技術開発の内容

横河電機では、OPR(Optical photon reassignment)方式の超解像顕微鏡システムの試作を行った。OPRとは、試料上の一点からの蛍光を光学的に1/2縮小し、蛍光の位置をより正しく再配置することで超解像効果を得る方式である。本研究開発では、横河電機のニポウディスク式共焦点顕微鏡をベースとし、前記1/2縮小光学系を実現した。具体的には、共焦点画像を形成するニポウディスク上の個々のピンホールに対して、それを1/2に縮小するマイクロレンズを1対1に付加することで、OPR方式の超解像顕微鏡を開発した。

試作した超解像顕微鏡を評価した結果、分解能が150nmであり、回折限界200nmの約1/1.4に相当する。さらにデコンボリューションを加えたソフトウェア処理をすると、分解能が100nmとなった。これらOPR及びソフトウェアの効果はいずれも理論どおりであった。

本研究開発では、顕微鏡機内の温度変化による光学部品の位置ずれ、気流による光学部品へのコンタミネーションの状況を把握するため、石川県工業試験場が持つ熱流体解析技術を利用して、機内の気流をシミュレーションし、コンタミネーションの削減対策検討を行った。

■製品の特徴

超解像顕微鏡にはいくつかの方式があり、製品化されている。しかし、いずれも時間分解能に課題があり、撮影速度が2fps程度で、動きの速い生きた細胞を観察するのに適しているとは言えない。横河電機の方式は、撮影速度が200fpsと速く、時間分解能の課題を克服し、生きた細胞の観察を超解像の空間分解能で行うことができる。

試作機をエンドユーザに対してデモンストレーションを実施した所、ユーザから、超解像の画質について概ね良い評価を得た。所期した超解像の分解能を達成した上に、特に、撮影速度の速さ、画像の明るさ、細胞サンプルの観察可能な深さの3点は、既存製品では実現していない性能であり、差別化のポイントであるとのコメントがあった。

■今後の展開

横河電機では、本研究開発の成果の事業化を進めている。製品開始手順に沿って、商品企画審査、製品開発設計審査を実施した。事業の市場性、採算性、製品品質などの点で審査し、試作機の完成度が非常に高いことが認められ、製造部門と連携しながら、量産に向けて準備している。

*開発部長 Email: Takayuki.kei@jp.yokogawa.com

代表者名: 代表取締役 西島 剛

住 所: 〒920-0177 金沢市北陽台2-3

TEL 076-258-7032 FAX 076-258-7029

coming soon

超解像共焦点スキャナユニット

CSU-W1 SoRa

Confocal Scanner Unit

Super resolution via optical re-assignment

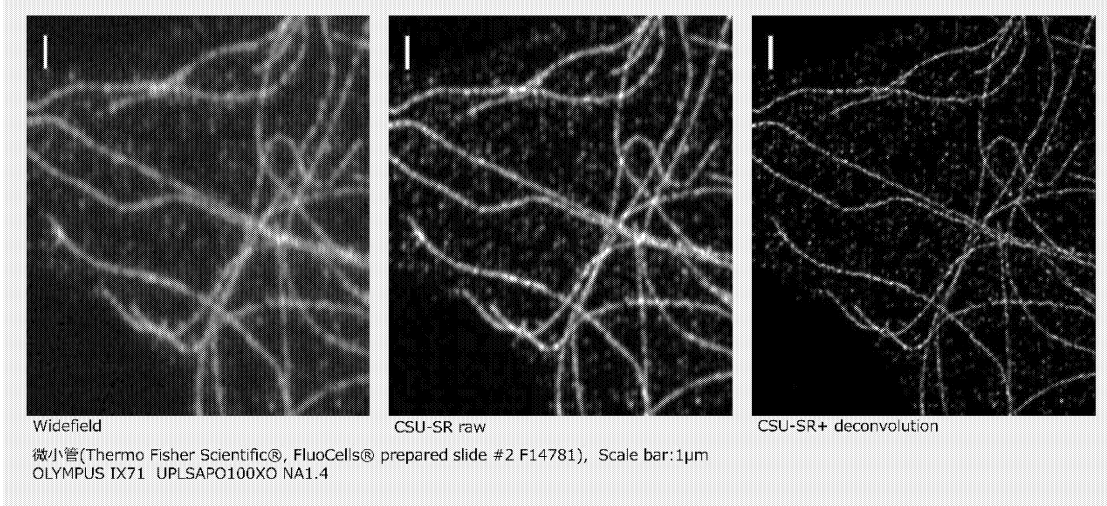
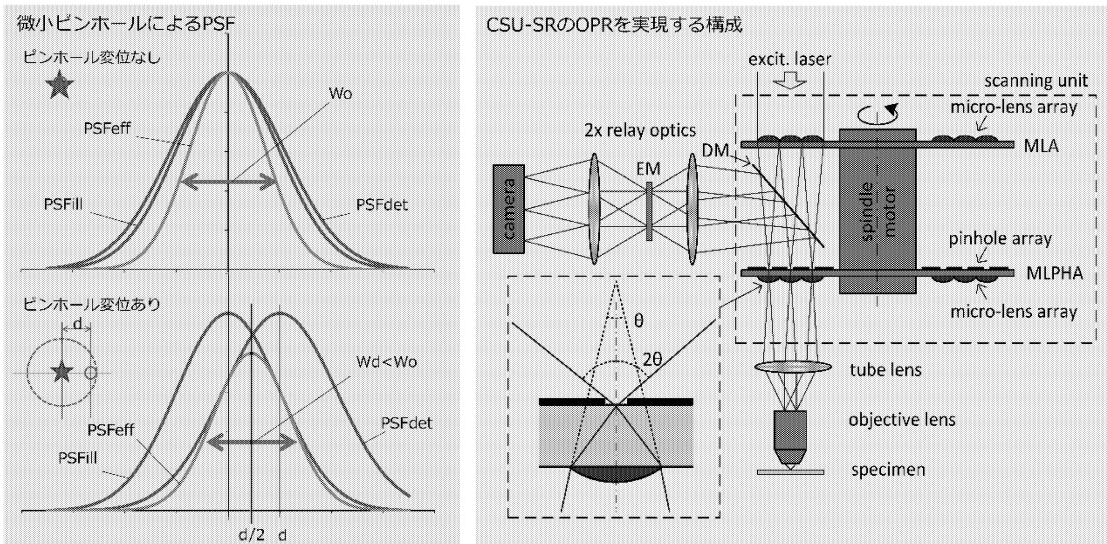
YOKOGAWA

Co-innovating tomorrow™

Optical Photon Reassignment (OPR) 超解像の原理

光は回折限界で決まる点像サイズまでしか絞り込むことができません。その点像の分布関数PSF(Point Spread Function)で解像限界を考察します。共焦点顕微鏡において、照明系のPSFillと同様に検出系のPSFdetを考え、ピンホールを極小に絞ればほぼ同じPSFになります。厳密に見ると蛍光で波長が長い分PSFdetが少し広がります。共焦点顕微鏡の解像度は、それらの積 $PSF_{eff} = PSF_{fill} \times PSF_{det}$ となり、約1.4倍の向上が見込めます。しかしピンホール極小では暗すぎるため実用上ピンホールを広げますが、ピンホールの周辺を通る光が解像度を劣化させます。広げたピンホールを極小ピンホールの集合として考えると、中心からの変位dの極小ピンホールでは、 PSF_{eff} はd/2シフトし幅は少し狭くなります。そこで各微小ピンホールのシフトを補正し中心に重ね合わせると、明るさを維持して解像度を微小ピンホールの共焦点と同じ約1.4倍まで回復できます。これを実現するのがOPRです。また高周波成分も含まれるので、さらにデコンボリューションすることで解像度を約2倍まで向上できます。

CSU-SRでは、マイクロレンズをピンホール直近に配置することで集光角を倍にし、光学的に微小ピンホールのシフトを補正してOPRを実現しています。マイクロレンズはピンホールアレイディスク上に一体で形成できるため、各光学素子の相対的な位置関係が安定で特別な調整も不要です。このようにスピニングディスク共焦点ならではの超解像を実現しました。特殊な蛍光試薬が不要で、CSUシリーズの高速スキャン、低退色・低細胞毒性の特長を活かして超解像ライブセルイメージングを実現できます。



Widefield CSU-SR raw CSU-SR+ deconvolution
 微小管(Thermo Fisher Scientific®, FluoCells® prepared slide #2 F14781), Scale bar:1µm
 OLYMPUS IX71 UPLSAPO100XO NA1.4