

ファイバ伝送システムを利用した フローサイトメトリ設計の改良

フィオナ・エバンス

ゲノム学で使われている分析機器は、迅速、丈夫、安定かつコンパクトで、試料にレーザービームを送る単一モード光ファイバシステムによって可能になった高画質解像度が得られるフローサイトメトリシステムをさらに利用できるようになっている。

遺伝子発現の先端研究や、ハイスループットな臨床・診断スクリーニングの市場の拡大は、バイオフォニクス技術に大きな変化をもたらしている。これらの進歩によって、その用途が学術研究の分野から離れ、大量な工業規模の研究に使われることが可能になった。その究極の目標は、パーソナルゲノム学と、それによるオーダーメイド医療をより身近にもたすことである。

多くのスクリーニング機器は、マイクロ流体力学やマイクロアレイ中の極小の標的試料の分析において、信頼できて迅速・高解像度な結果を得るために、高性能なレーザーや高度な光学システム、検出器を使う。DNA・血液分析といった分析処理はいずれもフローサイトメトリ技術によって分析可能で、光学システム設計を利用しており、さらに光学システム設計は自由空間光学系や光ファイバ伝送システムを基盤としている。

DNA・血液分析

DNA分析は、免疫蛍光に次ぐフローサイトメトリの重要な用途であり、フローサイトメトリ機器の進歩をもたらしたものである。最初のヒトゲノムのマッピング完了には10年かかったが、現在ではデータ分析にはより多くの時間がかかるものの、マッピングは3日以内で可能である。また遺伝病や、ガ

ン指標といった細胞・遺伝子変異に関する具体的な課題解決に向けて、DNA鎖の目的の部分の研究するために、より短い断片的なDNAやRNAのリード長から、より早く情報が集められている。

しばしば代替が効かない試料を取り扱うときに、この分野の研究者は短時間で信頼できるデータを得られ、そして長期に渡って繰り返し可能な計測を必要とする。機器の安定性と解像度は重要で、あらゆる変化はデータや結果

の質に深刻な影響をもたらす。

同様な流れとして、診断・免疫学目的の血液分析があり、広く急速に拡大している市場である。ゲノム学研究所の進歩が、今では新たな診断検査や検査装置を生み出している。

これらのすべての分析機器の設計は、パフォーマンスを向上させると同様に、エラー源を減少させることが重要で、レーザーの光ファイバ伝送は両方の問題に対処する有用なツールである。光ファイバは機器設計者に対して、レーザーを現場での使用のために、容易に接続できる場所に設置できるという、

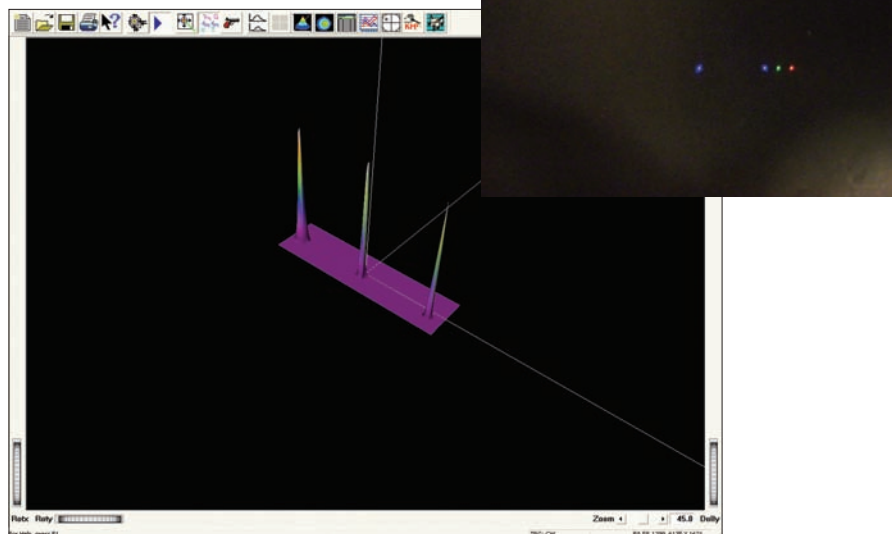


図1 3Dビームのプロファイル画像を3列のkineFLEX-Hydraのファイバ伝送システムの出力から直接撮影した。この例では、単一モードファイバチャネルはアクティブ・アライメントされており、そのため偏光軸が互いに平行になっている。これらのビームは本来高いガウス分布となっており、統合されたビーム形成光となるため、レンズや小型レンズアレイに焦点を合わせるような用途に利用できる。統合された光は、フローチャネルやマイクロアレイにおいて完璧に配置・間隔を空けたスポットを繰り返し伝送する密接なシステムを作り出す。挿入図：3列のkineFLEX-Hydraから、平行でガウス分布を示す、多色のビームスポットを黒い用紙に映したもの。

さらなる利点を持っている。

分析技術

このような遺伝子発現や薬理ゲノム学の新たな分野で使われる機器は、顕微鏡法とフローサイトメトリの原理が基盤となっている。これらの機器の設計では、常に繁忙なスケジュールとなっている中核施設で、大きく広がっている分析要求に対応できるように、スピードと処理量が重要となる。

こういった施設の中には、研究スペースを拡大しないとアウトプットを増加できないところもある。そのため、既存の研究施設により多くの機器が配置できるように、設置面積がより小さい機器が求められている。

通常フローサイトメトリでは、1回のランにおいて、試料中の1つのプローブに対してそれぞれの励起レーザー光源が割り当てられている。分析スピードを上げる方法のひとつは、試料に対して励起する複数の光の波長を使って並列処理を行うというものである。第1の課題は、フローストリーム中に流れている試料に光の焦点を合わせることで、通常は幅が $100\mu\text{m}$ 以下である。

動いている標的から有意なデータを得るためには、検出器と照明源を可能な限り安定・固定させる必要がある。そうしなければ、どちらか一方でも動いてしまったときに画像がぶれたり低解像度になってしまう。第2の物理的な課題は、フローセルに焦点を当てる並列な照明スポットを作るために、十分に近づけた複数の光源からのレーザーを位置調整するということであるが、これは検出チャンネルにおいて放出光と蛍光を同時に検出してしまうクロストーク防止のために、これらのスポットを十分に離すための位置調整でもある。

さらに、遺伝子分析においてはより



図2 2列のkineFLEX-Hydraファイバ伝送システムは、平行で同一線上のビームを形成する、統合出力ビーム光学系を含む。このシステムには2つのkineMATIX マニピュレータが含まれており、アライメントおよびそれぞれのレーザーをファイバに接続するための各入力端である。レーザーを寿命で交換するときに、レーザー側においてファイバから切り離すレーザーを選択することで、ファイバは「その場に (*in situ*)」残すことができ、出力端を機器内に埋め込んだままにできる。これによって、整備や放熱のためにレーザーをより便利な場所に設置できるようになる。

サイズの小さな試料を扱っており、現在では1分子レベルの画像を得ようになっている。これは、フローサイトメトリが本来直面している課題をさらに増やしていることを意味する。

自由空間光学系

フローサイトメータは、レーザーを形成してフローセルに伝送するために、レンズやフィルタ、顕微鏡対物の光学システムを伝統的に使用してきた。その原理はよく知られているが、しばしば長距離の光ビーム列となるため、レーザーのジッターの影響を受けやすいものとなっている。さまざまな位置に取り付けられた光のオープンビームパスは、熱温度の違いの影響をさらに受けやすく、試料中でビームの移動を引き起こす原因となりうる。

試料上にビームを当てるときには、わずかな動きでも大きな変化がおきうるため、光のアライメントは入念に行う必要がある。その結果、自由空間光学系を使用する機器は、物理的な損傷

や、レーザーによる発熱を含めた環境条件の変化を受けやすい。

それにもかかわらず、自由空間光学系は通常のフローサイトメータの用途において、いまだに広く使われている。光長路を可能な限り短くし、機器内の温度を制御できる冷却方法を追加して、最適な設計となるように改良されている。

光ファイバ伝送

微生物スクリーニングや遺伝子発現のような用途の要求に対しては、試料にレーザービームを伝送させる単一モードファイバを使用することで、レーザー安定性から、画像解像度の向上、機器サイズの縮小、機器のさらなる堅牢性まで、機能的にさまざまな利点が得られる。

単一モードファイバを使用すると、使用されているレーザーの発光方法に関わらず、レーザービーム照射の不安定性(ジッター)を激減させることができる。最もよいシステムでは、 $30\mu\text{rad}/^\circ\text{C}$ から1

$\mu\text{rad}/^\circ\text{C}$ 以上まで及ぶ改良となりうる。ファイバはまた、ほぼ完璧なガウス分布を形成するために、空間フィルタとして機能して、ビームの非点収差を除去する。それによって生じたビームは自由空間システムのビームよりも安定しており、複数の光インターフェースによる蓄積エラーがなく、より信頼できる、安定した測定が保証されている(図1)。

ファイバに被覆すると、移動や熱温度の変化に対するビームの感受性はさらに低下し、これにより装置のアライメントのために訪問する必要が減り、より強固な機器を設計できる。ファイバは熱を発生させるレーザー源をフローセルから離して設置させることもできるため、レーザーを機器の外部に取り付けるといった、機器のレイアウトにさらなる柔軟性を持たせることができる。機器の光学アライメントが固定されており、レーザーから独立しているため、取り付けも大幅に容易になることから、レーザーを取り付けたときに、長々とした再アライメント処理を必要としない。

機器の設置面積を減らし、さらにフローセルに焦点を合わせる複数の照明スポットを伝送させるために、より短いビームパスが求められている需要に対して、英キオプティック社(Qioptiq)は単一モードで偏光アライメントされたファイバアレイ「kineFLEX-Hydra」を開発し、これによって2つ以上の空間的に分割され並行するビームをフローセルに伝送させることができる(図2)。

それぞれのファイバの中心は、必要とされるビーム偏光軸を並列処理させるために、実際にはサブミクロン精度で配置されている。光長路をさらに減少させるために、ビーム形成光やフィルタをファイバアレイに統合させることもできる。機器製造業者と協力して、こ

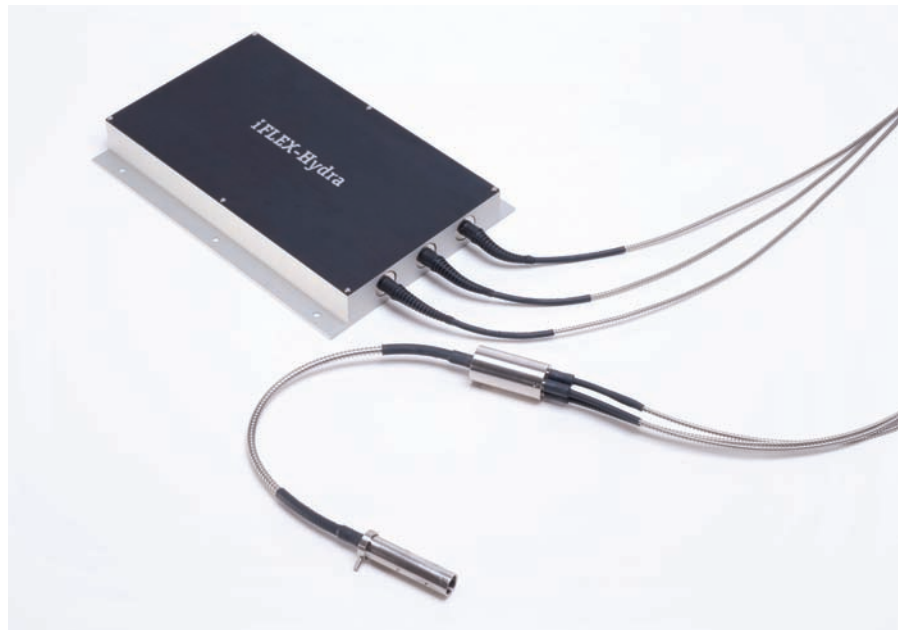


図3 完全なマルチラインレーザーシステムを形成するために、結合された3つのレーザーモジュールに取り付けられた3列のkineFLEX-Hydra。それぞれのラインは分離した単一モードで偏光アライメントされたファイバチャンネルによって伝送される。この例では、専用の機器フォーマットに合わせて必要最小限なパッケージサイズにするために、取り外しできないようにファイバが複数列のレーザーシステムに取り付けられている。

の方法によって設置面積を半分に減らすことができた。

この改良が重要である理由は、結果として強固な計測ヘッドが得られ、そこには必要とされるビーム形成やビーム伝送光がすべて包括されているという点である。つい最近まで複雑な光学設定やアライメントを必要とした複雑な光学システムは、基本的には長さ200mm以下のプラグインコンポーネントに置き換わりつつある(図3)。

カスタマイズ用途

キオプティック社は、分析や治療の新たな可能性をもたらす計測方法を開発するため、生物工学研究者や装置メーカーと共同研究をしている。たとえば、現在利用可能なゲノムスクリーニングシステムでは、生物学的な試料をスキャンして、感染した生命体から大腸菌やブドウ球菌といった菌株を3時間以内で検出・同定できる。かつては、

このプロセスに数日を要していた。これによって診断と治療との間の時間が劇的に短縮され、最適な効果を得るために標的を絞った抗感染薬の使用が可能になる。ビーム形成を統合した光ファイバ伝送システムは、複数の偏光アライメントされた並列ビームを、堅牢で小さなパッケージに厳密に配置させて製造するという工学的な課題を解決する。

そのほかの例として、遺伝子発現のための最新のマイクロアレイ用スキャナにおいて、計測解像度を5倍に向上できる専用ソリューションとともに、向上したレーザー安定性を提供するため、キオプティック社は著名な装置製造業者と提携した。標的となる試料が小さくなるほど、光源に対するより多くの制御が必要となる。

著者紹介

フィオナ・エバンスはキオプティック社(英Qioptiq)の事業開発担当マネージャーである。
e-mail: fiona.evans@qpl.qioptic.com
URL: www.qioptic.com