

# 多波長レーザーモジュールで、 ライフサイエンスにおける 包括的なデータセットが取得可能に

ジョン・アボット、ダン・カレン、マティアス・シュルツ

レーザーヘッド、オブティクス、電子部品をすべて一体化した光励起半導体レーザープラットフォームにより、複数波長の発振、制御が容易に実現する。

光励起半導体レーザー (OPSL: Optically Pumped Semiconductor Laser) は、共焦点顕微鏡、DNA シークエンシング、フローサイトメトリーなどのライフサイエンス分野で多く使われている (別掲記事「OPSLとレーザーダイオード」を参照)。ライフサイエンス市場でのレーザー利用の主なトレンドは、OEM (Original Equipment Manufacturer)、エンドユーザー向けどちらにおいても、ある特定の応用向けに設計され標準化されたモジュールやサブシステムの利用が増えているという点である。

このようなレーザーソリューションには、アプリケーションに応じて最適化されたレーザーや、光学部品、機械部品、エレクトロニクスなどが搭載され、レーザーの個々の出力パラメータよりもシステム全体でのパフォーマンスを保証することに重点がおかれている。本稿では、このトレンドを牽引する3つの主要な応用分野について説明する。

## ライフサイエンス向け装置における市場牽引要素

多波長フローサイトメトリー。フローサイトメトリーでは、特定の細胞、抗原、細胞内の構成要素 (または細胞そのものの遺伝子組み換えによって表現されるもの) にタグ付けされた蛍光プローブが使用される。細胞は、1つの

ファイル内で1つないしは多数のレーザービーム内を通過させることにより、異なる波長帯域において、それらの蛍光を複数の検出器で測定する。

ここでは、さらに多数のパラメータによって細胞を特徴づけられるように、レーザーの励起波長の数を増やすことが求められている (図1)。また、複雑な複数のパラメータのサイトメトリーは、かつては大型の計測装置で行わ

れていたが、そうした同様の技術が臨床 (クリニカル) 環境に導入されるケースがますます増加している。そのような例においては、サイズ、コスト、市場投入までの期間などが、これまで以上に重要視され、計測装置には複数の波長への対応が必要とされる。それにとともに、優れた性能と、ノイズやポインティング安定性などの高い安定性が望まれている。

多波長顕微鏡。蛍光顕微鏡は、OPSLの波長範囲が最も適応する応用分野である。特に、最新の蛍光色素分子では、長波長のレーザーが使用されている。それらには、蛍光たんぱくである mFruits シリーズと、もともと多量パラメータのフローサイトメトリーの応用向けに開発されたグリーン、イエロー、オレンジの蛍光色素などが含まれる。さらに、共焦点応用、新しい超解像度法では、2つ以上のタイプの構造または生化学的特徴について同時に試料をマッピングまたはプローブすることを可能にするため、しばしば複数の蛍光色素分子を組み合わせて使用することが多い (図2)。さらに、オプトジェネティクスにおいて、光刺激のための追加の波長の使用が増加している。ここでは、そのすべての波長を「必要に応じて」顕微鏡に結合することが課題となる。

フローサイトメトリーの例:  
それぞれ個別の位置を焦点とする  
4つのレーザーは、ユーザーが調整可能

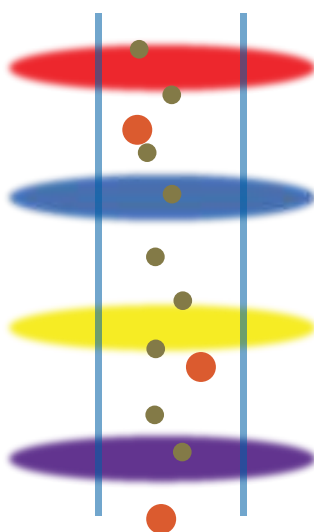


図1 フローサイトメトリーでは、通常、楕円形に成形された一列のビームの中を細胞が通過する。複数の波長を使用することで、より多くのソーティング基準によって細胞を分類することができる。

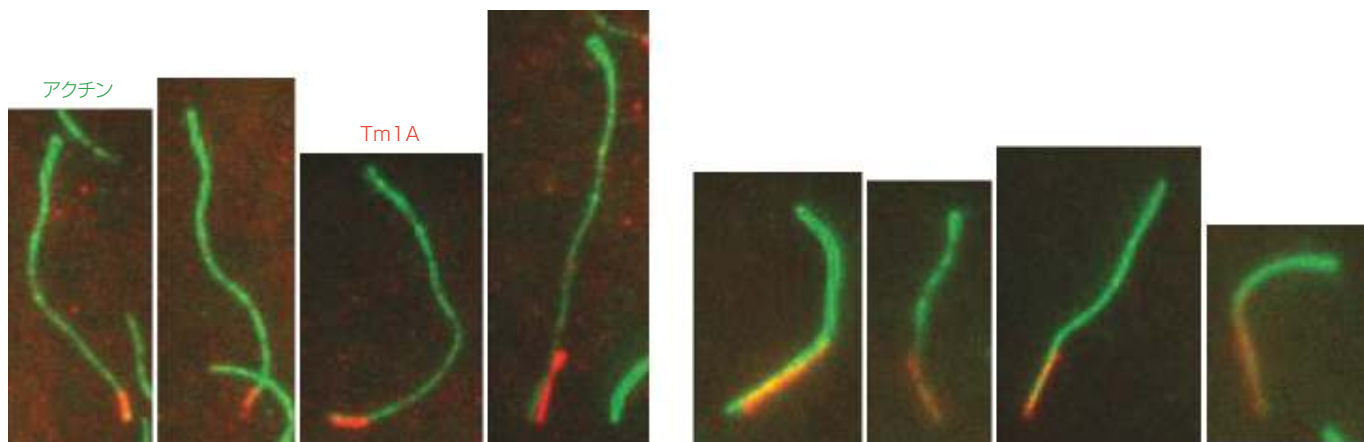


図2 多くの蛍光顕微鏡実験で、複数の励起波長が使用されている。これらの全反射蛍光顕微鏡(TIRF: Total Internal Reflection Fluorescence)画像は、ショウジョウバエから採取したアクチン線維に対するTm1Aタンパク結合を示している。赤色シグナルは、640nmで励起されたCy5標識のTm1A蛍光で、緑色シグナルは、488nmで励起されたAlexa488 標識アクチン(J.Y.ヒシアオ氏、L.M.ゴインズ氏、N.A.ペテック氏、R.D.マリンス氏が執筆したCurrent Biology25,12,1573-1582[2015]から許可を得て転載)。

マルチモーダル顕微鏡法。もう1つの主要なトレンドは、異なる顕微鏡技術を組み合わせて、分子事象をさらに巨視的な行動へと関連づける研究である。蛍光標識された異なる遺伝子産物の位置をマッピングする、ないしは、カルシウムイオン(Ca<sup>2+</sup>)イメージングを使用して代謝活性の高い領域を視覚化するなどといった、化学的特異性によるイメージングを独自に提供できるため、共焦点イメージングなどのレーザーベースの顕微鏡技術が不可欠となる。しかし、超解像技術を用いても、それらの空間分解能は>20nmの範囲に制限されている。

そのため、多くのライフサイエンス研究者が、原子間力顕微鏡(AFM: Atomic Force Microscope)や反射電子顕微鏡(REM: Reflection Electron Microscope)といった、より高い解像度を提供する他のモダリティのデータと蛍光顕微鏡情報を組み合わせたいと考えている。そうしたモダリティはすべて単一のプラットフォームに統合されることが理想的である。このような背景は、装置メーカー間の合併買収(M&A)を促進し、OEM企業は流体

光学、化学、信号処理、ソフトウェアといったコア的な技術に注力せざるを得ない。こうしたOEM企業が装置を開発するためには、専門的な光技術の部分を外部に委託することが近道である。

### アプリケーションに特化して標準化されたモジュール

新しい装置やアプリケーションにはそれぞれ固有の要件があるが、個々のケースに対して新しいカスタムエンジンを装置メーカーが都度定義していたのではコスト効率が悪い。レーザーメーカーはそれを行う代わりに、各特定用途に必要な限られたカスタマイズや構成に特化して標準化した新たなモジュールシステムを提供することによって、このニーズに対応している。たとえば、OPSLに採用されている同じプラグアンドプレイ機能を、レーザーエンジンやモジュール全体にまで広範囲に活用できるよう改良している。

各アプリケーションへの対応の目標は、装置プラットフォームに求められる約95%のニーズを満たすために必要な柔軟性を備えた標準化モジュールを提供することである。これに最初に成

功したのが顕微鏡である。エンドユーザーと装置メーカーは、多数の可視光レーザー波長の出力と接続を容易に交換できるような機能を求めている。そのニーズを満たすために開発されたのが米コヒレント社(Coherent)の「OBIS Galaxy」で、ファイバ結合レーザー(波長405~640nm)を、ねじ式のFC/UFCシングルモードファイバコネクタによってシステムに着脱可能とした。これにより、従来ファイバ結合で数時間かかっていた新しいレーザーの接続時間が、わずか数秒にまで短縮された。ただし顕微鏡に使われる波長は範囲が広いので、この手法は必然的に、中央モジュールに結合される主要なレーザー波長に限られたものだった。

しかしフローサイトメトリーで使われるレーザー波長は非常に標準的で、多くの装置で405nm、488nm、640nmが使われ、時々それに561nmが加わるのが標準的である。そこで、モジュール内に最大4つのレーザーを標準で搭載する「OBIS CellX」というサイトメトリー用の新しいモジュールが2017年に発表された。この統合モジュールでは、たとえばレーザーコントローラボ

## OPSLとレーザーダイオード

2種類の固体レーザー技術（光励起半導体レーザー（OPSL）とレーザーダイオード）が、ライフサイエンス市場のほとんどのアプリケーションで利用されている。その2種類の技術を使った、同一のパッケージを持つ、スマートでコンパクトなプラグアンドプレイのレーザーが開発され、大きな変化をもたらした。

OPSLでは、InGaAs系量子井戸式半導体レーザーを用い、励起用高出力長寿命InGaAsP系半導体チップ全体に照射し縦励起する手法（面発光）を用いている。半導体チップは希望の基本波長が発振する材料の配合により設計、選択され、更には、共振器内に配置されたSHG（第二高調波発生）結晶を組み合わせることにより効率的にブルー、グリーン、イエロー光を発振することが可能である。波長選択性に加えて、結晶レーザーのような熱レンズ効果の影響がないため、このテクノロジーは、出力のスケーリングが容易で、パワー調整も柔軟に可能である。

また、大面積のゲインチップであるため、そのままTEM<sub>00</sub>の円形出力ビームをサポートする。

かつてレーザーダイオードと言えば、赤色や青色に限られていたが、今日では複数の可視光波長で提供されている。レーザーダイオードタイプの場合、出力はOPSLよりも低いが、その代わりにコストが低く、最大数百メガヘルツという高速直接変調が可能である。その一方で、出力ビームは非常に発散角が広く非対称であるため、コリメートされた円形に近いビームを生成するためには、複数の光学部品が必要となる。

特定用途向けの最適なレーザーの選択は、波長や出力レベルに加えて、変調速度やビーム品質によっても異なる。両方のタイプを同一のプラグアンドプレイ形式でパッケージ化することにより、各アプリケーションにあわせた柔軟な選択が可能になり、ニーズに応じた適切な波長を選択することも簡単になっている。

多波長フローサイトメトリーでは、複数の励起源（または光散乱）から複数の異なるシグナルを相関することによって、識別可能な細胞種類の総数を最大化する。これを行うには、たとえば550nmで蛍光が検出されたのは405nmで励起したからか、それとも488nmで励起したからかといったことを、計測機器で把握する必要がある。これを実現するための最も一般的な方法は、図1に示すように、フローストリームと共に調整された楕円形の焦点の配列を少しずつずらすことである。トリガ信号と時間遅延のゲーティングを使用することで、シーケンシャルに生成された信号を、単一のオブジェクトから単一のデータパケットへと相関することができる。これにより、発光する波長の選択とフローストリーム内の位置の両方の関数としてシグナルの選別が達成される。

フローサイトメトリー装置用のこうした共通要素を提供するとともに、OPSLモジュールは、レーザービームパラメータを、特定の装置用にカスタマイズする柔軟性も備える（図3）。最も重要な点として、4つのビームの出力光学部品はすべて個別に調整可能で、OEMインテグレーターは、焦点を最適化してシーケンスや間隔を変更することができる。間隔はゼロ（コアライメント）から±250μmまで変更できる。また、4つのレーザーは、標準のUSB接続を介してそれぞれ個別に設定および制御することができるようになっている。

### 著者紹介

ジョン・アボット (John Abbott) は、LMCセールスグループのディレクター、ダン・カレン (Dan Callen) はプロダクトマネージャー、マティアス・シュルツ (Matthias Schulze) はマーケティングディレクター。すべて、米コヒレント社に属する。

e-mail: john.abbott@coherent.com

URL: www.coherent.com

LPWJ

ードや、電源、およびI/Oコネクタは単一のものを使用するなど、ハードウ

エアとエレクトロニクスの統合によるコスト削減を実現している。

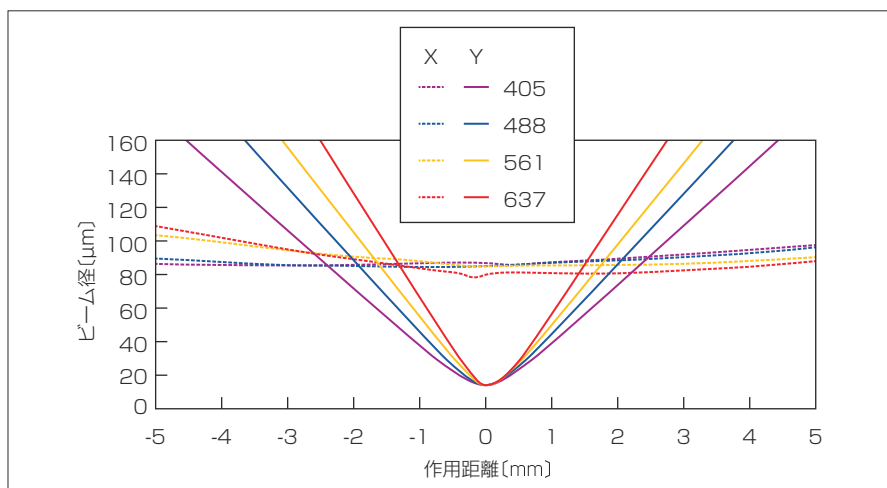


図3 一体型モジュールの場合は、複数の楕円形スポットの焦点パラメータの調整が重要となる。この例は、各波長で15mW定格の4波長Cell-Xモジュールの例である。