

ライフサイエンス分野に改善をもたらす レーザーエンジン

ジョン・アボット、マティアス・シュルツェ、キム・ネッツェバント

多波長レーザーエンジンは、アライメントと安定化済みのフリースペースの集光光学系、または統合型ファイバデリバリシステムを、レーザー光源に組み合わせたもので、蛍光顕微鏡の利用者やフローサイトメトリーのOEMによるアライメントと統合の作業を簡素化する。

ライフサイエンス分野で今日適切に活用されている、フォトニクス手法のほとんどが、何らかの形の蛍光検出に基づいている。その例は、生きた細胞のイメージングに使われる共焦点顕微鏡法や、臨床用の血球計数装置を支えるフローサイトメトリー、DNAシーケンサなど、多岐にわたる。

これらの用途では、複数の励起波長を使用することにメリットがある場合が多い。蛍光顕微鏡法では、それによって、従来型の色素、遺伝子的に発現する蛍光タンパク質、初期細胞含有物を含む、さまざまな対象物の励起が可

能になる。神経科学分野の光遺伝学手法では、1つの波長を使って対象ニューロンの活性化と非活性化を行い、2つめの波長で、相互に接続されたニューロンの応答を、蛍光タンパク質インジケータによってマッピングする。この方法により、活性化チャンネルとイメージングチャンネル間のクロストークは最小限に抑えられる。フローサイトメトリーでは、マルチパラメータの計数/分類に、複数の波長が使われることが多い。これは、単一の装置による細胞やその他の生物学的粒子の解析に、波長分離された蛍光色素信号が

使用されることを意味する。

互いに全く異なるこれらの用途のすべてに、複数のレーザービームの集光、成形、位置決めをミクロン以上の精度で行うという共通のニーズが存在する。このニーズに対応するために、安定性に優れたフリースペース集光光学系、あるいは、統合型ファイバデリバリシステムを光源に組み合わせた「レーザーエンジン」を使用するケースが増加している。これは、OEMとエンドユーザーの両方に対して、コストを削減し、時間のかかる光学アライメント作業を不要にし、開発時間を短縮し、装置の安定性と信頼性を高める効果をもたらす。

マルチパラメータ フローサイトメトリー用の レーザーエンジン

レーザーエンジンはもともと、フローサイトメータ用に開発されたものである。フローサイトメータは基礎研究において、血球計数や、畜産や養魚用の精液や受精卵の選別に、日常的に使用される装置である。フローサイトメトリーでは、蛍光標識された細胞などの小さな検体が、1つずつ1列に並んだストリームとしてフローセルの中に流される(図1)。検体は、はしごの段のように長いライン上に成形及び集光された、複数のレーザービームとの相互作用ゾーンを通過する。得られた蛍光と散乱光が収集され、ダイクロイックフィルタとバンドパスフィルタによって波長帯に分離されてから、検出される。

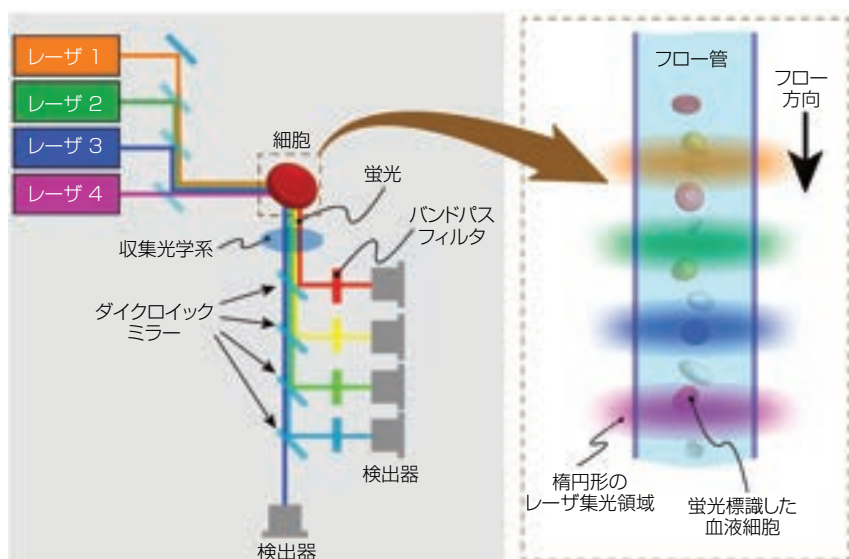


図1 フローサイトメータでは、1つずつ1列に並んだフローストリームとして通過する蛍光標識された細胞に、複数の異なるレーザー波長が照射される。得られた蛍光は、異なる波長帯に分離されてから検出される。



図2 第2世代のレーザーエンジンは、外装カバー（右下挿入図）を一時的に取り外して、最大4つのレーザー波長をそれぞれ個別に光学調整することができる。

高性能研究用装置の中には、100以上の検出器を搭載するものも存在する。

最初に提供されたレーザーエンジンによって、フローサイトメトリー装置の構築者は、複数のレーザー波長に容易にアクセスできるようになった。しかし、これらのレーザーエンジンは、単に複数の個別レーザーを組み合わせることによって構成されていたため、必然的に冗長だった。各レーザーに、個々にコントローラ、インタフェース、機械的筐体があったためである。また、ブレッドボード上に実装されていたため、ユーザーや装置構築者が、調整可能な光学系とマウントを用意してアライメントする必要があった。

第2世代のレーザーエンジンは、OEM装置構築者をまさにターゲットとして開発された。小型化されていて、複数のレーザーコアを搭載する。つまり、単一のドライバ回路基板、インタフェース、電源がすべてのレーザーで共有されており、その全体が1つのコンパクトな筐体に収容されている。

この種のレーザーエンジンには、ビー

ム成形と結合機能が搭載されており、各レーザーの焦点と向きは、シンプルなネジ（各自由度に対して1つ）の調整によって、個別に制御される。最初に提供された製品は、フローサイトメトリー装置で最もよく使用される波長の中の最大4つ（405nm、488nm、640nmと、オプションで561nm）に対応していた（図2）。

研究用装置では現在、2つのレーザーエンジンを搭載して、紫外域（UV）から640nmまでの最大8波長を利用可能にするものが多い。これによって、最大で数十種類の異なるデータパラメータの細胞計数を、単一の装置で行うことができる。

小型化された光学系、低いコスト、卓越した安定性

フローサイトメトリーの利用は、研究から個別化医療や、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）などの疾病の感染経路と進行の追跡にまで、拡大し続けている。また、市場需要によって、開発時間の短縮、ベンチトップモデル

のサイズの縮小、コストの低下、保守間隔の延長が、装置構築者に求められる状況にある。

レーザーメーカーは、第3世代のレーザーエンジンによって、この動向に対応している。第3世代のレーザーエンジンは、小型化された光学系をベースとすることで、全体的なパッケージを小さくしつつ、優れた安定性を備え、コストは低減されている。

このパッケージサイズの縮小を実現するには、2つの主要な設計イノベーションが必要である。1つは単純に、より小さな口径の光学系を使用することである。内部のレーザービーム径が1mm未満であるため、これは理にかなっている。これまで一般的に使用されていた0.5インチ口径のレンズ（約13mm）と、それに付随する大きなマウントを使用しなければならない理由は見当たらない。

2つめは、従来の光学マウントを使用しないことである。これらの従来型マウントは、複数の個別の金属部品、屈曲部、ネジで構成されており、長期

使用に伴って温度サイクルと環境振動に起因するドリフトが避けられない。

最新レーザーエンジンには、密封された共振器内でのレーザーの使用を念頭にもともと開発された、PermaTrackというマウント方法が採用されており、光学系マウントは取り払われている。光学系は、製造時にアライメントされて、安定基板に永久接着されている。個別の機械部品は存在しないため、通常使用でずれが生じることはあり得ない。

このマウント技術は、レーザーの再アライメントという、フローサイトメータに対する現場作業が必要になる主な理由の1つを取り除くもので、装置構築者とユーザーの両方にメリットをもたらす。また、この最新レーザーエンジン技術は、製造時の自動(すなわち、ロボットによる)アセンブリやアライメントに基づくため、ユニット間の一貫性の向上につながる。

再アライメントのためにレーザーエンジンのカバーを開ける必要がないことには、大きなメリットがもう1つある。筐体をハーメチックシール(気密封止)して、埃や、有機物質から放出される可能性のある化学物質に、内部コンポーネントが決してさらされないようにできることだ。また、清潔な環境をさらに保護するために、アクティブな「ゲッター」(吸着剤)を含めることができる。これは、産業用途向けの長寿命の封止型可視光/UVレーザーに利用されているのと同じ方法を、レーザーエンジン用に改変したものである。

実際には、工場でアライメントされて封止されたレーザーエンジンには、4本(または3本)のビームの集光ラインが、はしご(ラダー)の段のように並べられた一般的な配置で設定されている。ラインの相対間隔は、業界全体で比較的標準化されているが、OEMは

異なるジオメトリを指定することもできる。調整可能な集光光学系を使用することにより、ビームラダーの位置を3次元で調整して、装置アセンブリのユニット間のばらつきに対応することができる。

顕微鏡ユーザーのための プラグアンドプレイシステム

同じ設計理念は、蛍光顕微鏡法にも適用されている。蛍光顕微鏡法は、大学から製薬会社に至るまでのほぼすべてのライフサイエンス研究施設で利用されている手法である。これらの顕微鏡に複数のレーザー波長を導入するための統合型ソリューションが、しばらく前から提供されている。

最も一般的な方法は、ファイバ結合を利用するものである。この方法は、顕微鏡の周辺エリアが光学系や関連ハードウェアで乱雑な状態になることを回避できる。しかし、複数のレーザーをファイバにアライメントして、そのすべてを顕微鏡への単一の入力ファイバに結合しなければならない。

蛍光顕微鏡法では、シングルモードファイバが一般的に望ましい。高い効率と明確な焦点(高い分解能)で試料が励起されるためである。しかし、標準的なシングルモード光ファイバのコア径は、8.0~10.5 μm である。5または6自由度の従来のファイバ結合マウントを使用して、レーザービームをこのサイズのファイバコアにアライメントするのは、時間のかかる作業であることが広く知られている。経験豊富な技術者であっても、各レーザーに対してこの作業を完了するまでに数時間を要する

可能性がある。

アライメントができたとしても、使用時だけでなく長期間にわたって、必要なミクロンレベルでアライメントを維持しなければならないという問題がある。装置の取り扱いや周辺温度の通常の変化によって、アライメントは簡単にずれる可能性がある。また、波長を結合するためのダイクロイックフィルタ、偏光板、波長板の使用に関しても課題が存在する。

レーザーメーカーは、光パスのように機能するコンパクトなモジュールによって、この問題に対処している。これらのモジュールは、複数のファイバ結合レーザー光源の出力を結合して、1本のシングルモードファイバとして顕微鏡に供給する。ユーザーは、スナップインコネクタ付きの8つの特定波長のファイバポートを介して、入力を供給する。出力は1本の光ファイバで、開口数(Numerical Aperture: NA)は405~640nmの全範囲で固定となっており、ユーザーによる調整は不要である。

今日のコンパクトでスマートな固体レーザーは、電球を扱うのと同じくらい簡単に操作することができる。これによって、ライフサイエンス分野の研究者や装置構築者は、レーザー調整に煩わされることなく、自分の作業に集中することができるようになった。そしてそれは、蛍光に基づくさまざまな手法が、研究施設や臨床現場において広く利用される状況につながっている。多波長の利用を容易にするレーザーエンジンの継続的な進化は、今後も蛍光手法に明るい未来をもたらすだろう。

著者紹介

ジョン・アボット(John Abbott)は、米コヒレント社(Coherent)のLMCセールス担当ディレクター、マティアス・シュルツェ(Matthias Schulze)は、同社OEM部品/計測器マーケティング担当ディレクター、キム・ネットツェバンド(Kim Netzeband)は、同社ライフサイエンスマーケティング担当ディレクター。e-mail: john.abbott@coherent.com URL: www.coherent.com