

# 瞬間を捉える超高速イメージング

鵜川 昌士\*・小林 博文\*・合田 圭介\*,\*\*

## Ultrafast Optical Imaging for Freezing Fast Dynamics

Masashi UGAWA\*, Hirofumi KOBAYASHI\*, Keisuke GODA\*,\*\*

High-speed optical imaging is an effective tool for real-time observation of fast dynamical events such as shockwaves, laser fusion, microfluidics, spin dynamics, and laser surgery. Unfortunately, conventional cameras based on CCD or CMOS image sensors are unable to acquire images with high sensitivity at high speed due to the fundamental trade-off between speed and sensitivity — at high shutter speed, fewer photons are captured during each image frame. In this review article, we introduce an imaging method that overcomes the above limitation and enables high-speed imaging with high sensitivity. This is made possible by performing image serialization and amplification in the optical domain. The imager achieves a shutter speed of  $\sim 10$  ps, a frame rate of  $\sim 10$  Mfps, and an optical image gain of  $\sim 1000$ . We also show its utility to real-time observation of laser ablation dynamics, nanometer-resolved surface vibrometry, and flow cytometry for detection of rare cancer cells in blood.

**Key words:** imaging, spectroscopy, photography, medicine, inspection

光イメージングは、現在多くの分野で分析、検査、診断の用法で広く活躍している。そして、そのイメージングの幅をさらに広げるために、空間的にも時間的にもより高分解能を目指す研究が盛んである。特に高い時間分解能をもつイメージング技術は、衝撃波やレーザー核融合などの高速な物理現象を追うために必須である<sup>1,2)</sup>。また、生体の現象を分析するためにも必要であり、例えば細胞シグナリングを研究するために、細胞内や細胞間の生化学的分布変化をマイクロ秒からナノ秒単位でイメージングする必要がある<sup>3)</sup>。加えて、医学研究や医療で頻繁に使われるフローサイトメトリーにおいて、より迅速に多くの細胞の種類を評価するために、より高速なイメージング技術が必要とされている<sup>4)</sup>。

### 1. 現存の光イメージングの限界

現在の光イメージングでは CCD あるいは CMOS イメージセンサー等のアレイ検出器が広く用いられている。高速な CCD・CMOS イメージセンサーは読み出しを行うピク

セル数を減らすことで 1 Mfps 程度のフレームレートまで達成することができる<sup>5,6)</sup>。しかし、結局 CCD・CMOS イメージセンサーの速度は、ピクセルアレイからデータを読み出す速度に依存するため、大きな改善は見込めない。ほかに、時間分解イメージング手法としてポンプ・プローブ法などが用いられるが<sup>7,8)</sup>、これらは繰り返し起こる現象しかみることができないため、再現性が難しい複雑な現象や偶発的に起こる事象を捉えることはできない。また、より根本的な問題として、従来技術には速度と感度のトレードオフが存在する。例えば、CCD・CMOS イメージングでは、シャッター速度を速くすると、その分露出時間が減って感度が下がる。また、感度を上げるためには、より長い時間光を積算する必要がある。速度と感度を共に上げるには、強い光源を使う必要があるが、これは特に顕微鏡下では光のエネルギーが狭い範囲に集中し、生体試料を破壊してしまうので好ましくない。

\* 東京大学大学院理学系研究科 (〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1)

\*\* カリフォルニア大学ロサンゼルス校工学部 (420 Westwood Plaza, Los Angeles, CA 90095) E-mail: goda@chem.s.u-tokyo.ac.jp

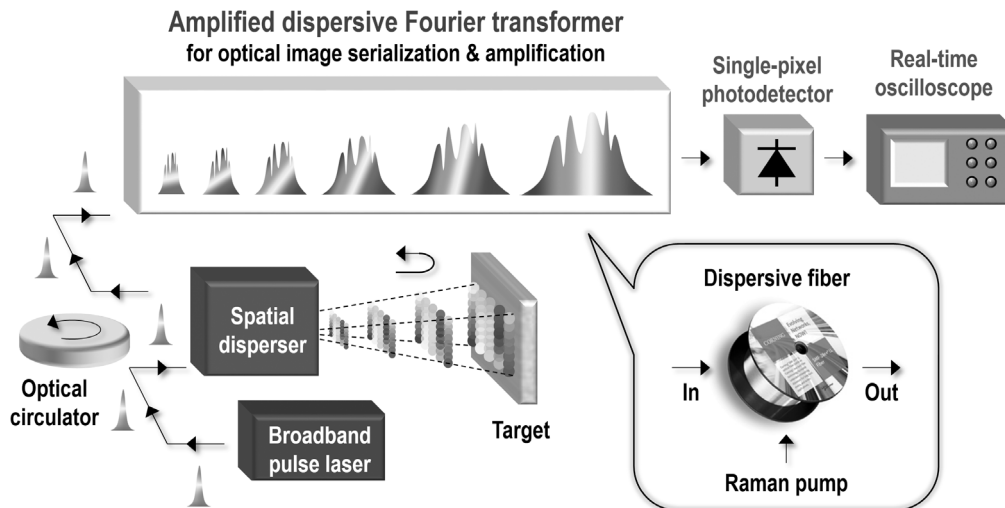


図1 STEAMの概略図。広いバンド幅をもつレーザーパルスのスペクトルを二次元に展開し、対象物に照射して対象物の空間プロファイル情報を得る。対象物の情報を含んだパルス光は分散ファイバーを通過することでパルスが増幅されながら引き伸ばされて光検知器によって検出される。このとき、対象物の空間プロファイル情報がシリアル化された状態で光検知器に検出される。この光画像増幅機能は、イメージングにおける感度と速度の間のトレードオフの問題を克服し、高速および高感度で連続撮影を行うことを可能とする。

## 2. 超高速イメージング法 STEAM

これらの技術的・根本的制限を克服するために、STEAM (serial time-encoded amplified imaging / microscopy) という超高速光イメージング手法が近年開発された<sup>9,10)</sup>。この手法では、二次元の空間情報を分光的に光シグナルの時間波形にマッピングし、光学的に画像を増幅させ、時間の律速となるアレイ検出器の代わりに単一ピクセルのフォトダイオードで、それを検出する(図1)。これにより、約10 Mfpsのフレームレート、約100 ps程度のシャッター速度、および約1,000倍の光学画像増幅率を実現した。STEAMは連続で撮影を行うことができ、その中で瞬間的で確率的な現象を捉えることができる。また、多少の改善によって、さらに撮影速度や感度を向上させることも可能である。

### 2.1 STEAMの原理

STEAMの鍵となるのは、振幅分散フーリエ変換(amplified dispersive Fourier transformation)を用いた画像の光学的シリアル化と光学的増幅である(図1)。具体的には、まず、光源のブロードバンド光パルスを波長ごとに空間的に振り分け、対象物に照射する。ここでの反射光(もしくは透過光)を入射光と同じ光路に戻し、パルスに再構成し、光サーキュレーターによって振幅分散フーリエ変換器に導入される。振幅分散フーリエ変換器では光学的に信号を増幅させるとともに、パルスの波長成分をフーリエ変換して時間領域にマッピングする。最初にエルビウムドープファイバー増幅器(erbium-doped fiber amplifier)によって約10 dB増幅させた信号を光分散ファイバーに入れ、波長による速度の違いによって光学的にフーリエ変換

が行われる。同時に、ファイバーに別の光源からポンプ光を入れることで、誘導ラマン散乱が起き、信号(つまり画像)が増幅される。これによって、光ファイバーで生じる光の減衰を補いつつ、加えて約15 dBの増幅がなされる。つまり、合計約25 dBの光学的増幅が行われる。光パルスのスペクトルにマッピングされた空間情報を、さらに光の時間波形に変換したことで、単一ピクセルのフォトダイオードで検出することができる。また、光信号の増幅によって、検出側のノイズを相対的に小さくできる。高速な撮影の際には、積算時間が短くなり、SN比が小さくなってしまうため、光信号の増幅は必要である。そのために強い光源を用いる方法もあるが、それは顕微鏡などにおいては試料を破壊してしまうので問題である。実際、この光学的増幅がなければ、信号はノイズに埋もれて検出できない。最終的に、オシロスコープで検出された光の時間波形から得られた一次元の情報を、デジタル領域で二次元的に並べかえることで、画像が取得できる。また、このパルス波形は約100 nsごとに繰り返され、各フレームに該当する。つまり、約10 Mfpsのフレームレートでの連続リアルタイム撮影が可能である。また、シャッター速度も約100 psであり、約10 Mfpsのフレームレートとともに連続リアルタイム撮影においては記録的速度である。

### 2.2 STEAMの特長と優位性

STEAMは、従来技術の技術的・根本的制限を克服する機能を多く有する。前述のように、検出器に単一ピクセルのフォトダイオードを用いることで、CCD・CMOSイメージセンサーのような二次元ピクセルアレイからの読み

出し時間を取り除くことで、より高速なイメージングを可能とした。また、信号の増幅を、イメージ・インテンシファイアーのように電子的にはなく、光学的に行うことで、電子回路のGB積による増幅率と速度の限界を克服できた。

### 3. STEAMの応用

高速現象をリアルタイムで連続的にイメージングすることは重要であり、従来技術では不可能であった新たな応用が研究、産業、医療などのさまざまな分野で創出された。ここでは、STEAMを実際に応用したレーザーアブレーションの観測や表面の振動測定、そしてフローサイトメトリーを通じたがん検査の例を取り上げる。

#### 3.1 レーザーアブレーションの観測

レーザーアブレーションとは、強力な短パルスレーザーを物質に照射することで、照射された部分が蒸発などして欠けてなくなることである。レーザーアブレーションは汎用性の高い技術であり、レーザー手術、化合物合成、レーザー切断、MEMS (micro electro mechanical systems) の作製など、さまざまな分野で利用されている。そのため、レーザーアブレーションの発生過程をリアルタイムで観察することで、そこで起こる現象の理解を深めることができ、さらにはこれらの技術の改良にも結びつけることができる。しかしながら、レーザーアブレーションは非常に微小かつ高速の現象であり、これまでのCCD・CMOSを使った技術ではリアルタイムでの観測は困難であった。われわれはSTEAMを用いて、レーザーアブレーションによる変化のダイナミクスを163 nsの時間分解能でリアルタイム観測することに成功した<sup>9)</sup> (図2)。

#### 3.2 表面検査

機械部品や楽器を非破壊で高速検査することは、生産性

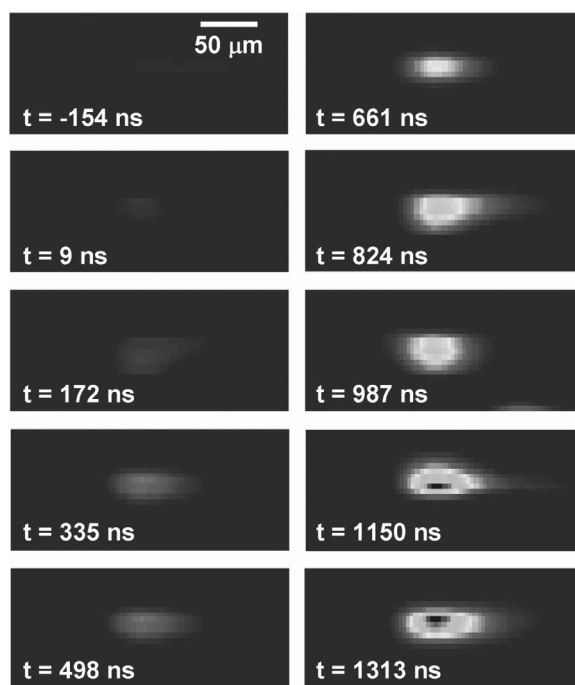


図2 レーザーアブレーションのリアルタイム観測。レーザーアブレーションによるサンプル表面の反射率変化を、STEAMカメラを用いて163 nsの時間分解能で連続撮影した。t = 0 nsのときに照射したレーザーにより、物質が噴出するのがみとれる。

を保つ上で非常に重要な課題となっている。しかしこれまでの技術では、計測速度の不足のために、表面振動計を用いたリアルタイムでの検査は困難であった。ストロボ像モードでの撮影は、時間分解イメージングが可能であるが、反復的な現象にしか利用できず、ランダムな現象や反復的でない現象を撮ることは不可能であった。われわれはSTEAMを応用した技術により、高速で振動する物体表面のリアルタイム・イメージングに成功した。STEAMの技術を干渉計に応用することで、z軸方向0.4 nmの空間分解能と9.5 μsの時間分解能を実現した。ナノ機構振動でここ

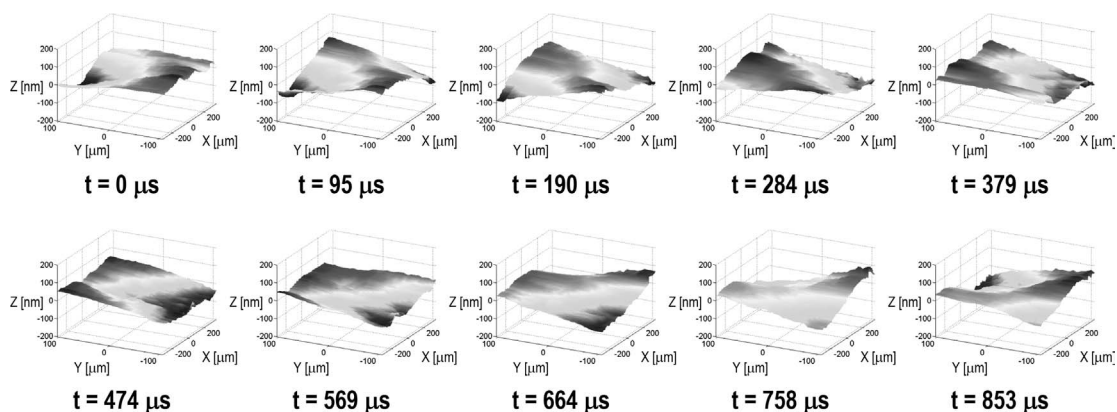


図3 高速振動する薄膜表面のリアルタイム観測。1 kHzで振動する薄膜表面を深さ方向で0.4 nmの分解能で連続撮影した。図は10スキャンごとに1枚の撮影像を示している。

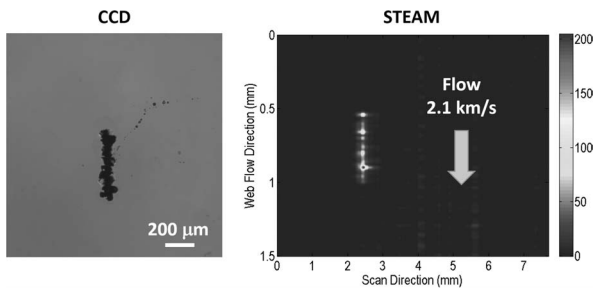


図4 シリコンウェハー上の欠陥検出。左は CCD カメラで撮影した静止したシリコンウェハー上の欠陥の写真。右は STEAM カメラで撮影した流れる同サンプルの写真。シリコンウェハーの流れる方向に対して  $23 \mu\text{m}$  の分解能と  $90.9 \text{ MHz}$  のスキャンレートを達成した。STEAM カメラを用いることで、従来技術では検出不可能な超高速 ( $2.1 \text{ km/s}$ ) で流れる小さな埃を検出することができた。

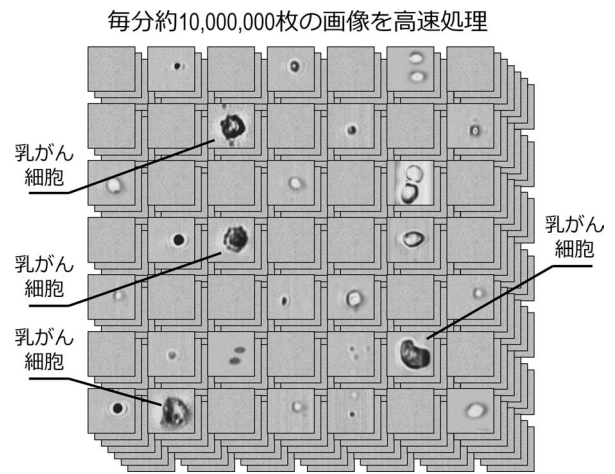


図6 イメージプロセッサによるがん細胞の選別。STEAM カメラで取得した画像を使ってイメージプロセッサが選別することで、稀少ながん細胞を迅速に検出することが可能となった。

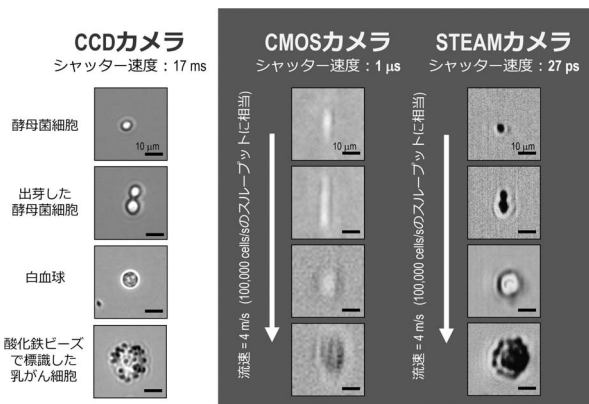


図5 フローサイトメーター内を流れる細胞。流れていない細胞を、CCD カメラを用いて撮影した (左)。流速  $4 \text{ m/s}$  で流れる細胞を世界最高速の CMOS カメラ (中) および STEAM カメラで撮影した (右)。STEAM カメラは細胞の大きさ、形、ビーズの有無をはっきりと見分けることができる。

まで高分解能の定量観測は、世界でも初めてである<sup>11)</sup> (図3)。また、STEAM カメラを用いて、従来技術では検出不可能な超高速 ( $2.1 \text{ km/s}$ ) で流れるシリコンウェハーの表面にある小さな埃を検出することができた<sup>12)</sup> (図4)。

### 3.3 フローサイトメーターを通じたがん検査

最後に、STEAM の技術をフローサイトメーターに応用した例を紹介する。現在のフローサイトメーターでは一般に細胞1つを1ピクセルの画素で認識するため、高速で分析できるが、精度は低い。その結果、大多数の細胞のうちごく微量にしか存在しない希少細胞の存在を定量的に検出、分析できない。われわれは、STEAM をマイクロ流体チップと画像処理プロセッサと融合することによって、STEAM を応用したイメージ・フローサイトメーターを開発した<sup>13)</sup>。このフローサイトメーターでは、慣性力を利用した流圧によって一列に並べられた細胞を STEAM で高

速撮影し、それをプロセッサがリアルタイムで画像を構築して細胞を自動的に識別する。STEAM を用いることによって、 $4 \text{ m/s}$  の高速で流れる細胞の鮮明な二次元画像を取得し (図5)、最大毎秒10万個のスループットと100万分の1の疑陽性率で細胞を識別することができた。その結果、血液中の稀少ながん細胞の検出を短時間で高い統計精度で行うことができた (図6)。

このように、STEAM はリアルタイムおよびシングルショットで高速連続撮影が可能な超高速イメージング法であり、ここで紹介した応用も含め、幅広い応用が可能である。STEAM を例とする光学的分散フーリエ変換を利用した高速イメージングの研究は、これまでも行われてきたが、これを産業あるいは医療応用に結びつける研究は、まだ始まったばかりである。高速イメージングは、今後私たちの生活に革新的な変化をもたらす可能性を秘めており、これからも一層発展していく分野であろう。

### 文 献

- 1) R. A. Riehle, Jr.: *Principles of Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy* (Churchill Livingstone, 1987).
- 2) R. Kodama, P. A. Norreys, K. Mima, A. E. Dangor, R. G. Evans, H. Fujita, Y. Kitagawa, K. Krushelnick, T. Miyakoshi, N. Miyanaga, T. Norimatsu, S. J. Rose, T. Shozaki, K. Shigemori, A. Sunahara, M. Tampo, K. A. Tanaka, Y. Toyama, T. Yamanaka and M. Zepf: "Fast heating of ultrahigh-density plasma as a step towards laser fusion ignition," *Nature*, **412** (2001) 798-802.
- 3) H. R. Petty: "Applications of high speed microscopy in biomedical research," *Opt. Photon. News*, **15** (2004) 40-45.
- 4) J. V. Watson: *Introduction to Flow Cytometry* (Cambridge Univ. Press, 2004).
- 5) N. Nishino, K. Takahashi, H. Kawazome, Y. Fukagawa, T.

- Mizuuchi, K. Kondo, F. Sano, K. Nagasaki, H. Okada, S. Kobayahi and S. Yamamoto: "High-speed 2-D image measurement for plasma-wall interaction studies," *J. Nucl. Mater.*, **337** (2005) 1073–1076.
- 6) S. T. Thoroddsen, T. G. Etoh and K. Takehara: "High-speed imaging of drops and bubbles," *Annu. Rev. Fluid Mech.*, **40** (2008) 257–285.
- 7) A. Barty, S. Boutet, M. J. Bogan, S. Hau-Riege, S. Marchesini, K. Sokolowski-Tinten, N. Stojanovic, R. Tobey, H. Ehrke, A. Cavalleri, S. Düsterer, M. Frank, S. Bajt, B. W. Woods, M. M. Seibert, J. Hajdu, R. Treusch and H. N. Chapman: "Ultrafast single-shot diffraction imaging of nanoscale dynamics," *Nat. Phys.*, **2** (2008) 415–419.
- 8) C. Porneala and D. A. Willis: "Observation of nanosecond laser-induced phase explosion in aluminum," *Appl. Phys. Lett.*, **89** (2006) 211121.
- 9) K. Goda, K. K. Tsia and B. Jalali: "Serial time-encoded amplified imaging for real-time observation of fast dynamic phenomena," *Nature*, **458** (2009) 1145–1149.
- 10) K. Goda and B. Jalali: "Dispersive Fourier transformation for fast continuous single-shot measurements," *Nat. Photonics*, **7** (2013) 102–112.
- 11) K. Goda, A. Mahjoubfar, C. Wang, A. Fard, J. Adam, D. R. Gossett, A. Ayazi, E. Sollier, O. Malik, E. Chen, Y. Liu, R. Brown, N. Sarkhosh, D. Di Carlo and B. Jalali: "Hybrid dispersion laser scanner," *Sci. Rep.*, **2** (2012) 445.
- 12) H. Chen, C. Wang, A. Yazaki, C. Kim, K. Goda and B. Jalali: "Ultrafast web inspection with hybrid dispersion laser scanner," *Appl. Opt.*, **52** (2013) 4072–4076.
- 13) K. Goda, A. Ayazi, D. R. Gossett, J. Sadasivam, C. K. Lonappan, E. Sollier, A. M. Fard, S. C. Hur, J. Adam, C. Murray, C. Wang, N. Brackbill, D. Di Carlo and B. Jalali: "High-throughput single-microparticle imaging flow analyzer," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **109** (2012) 11630–11635.

(2013年11月1日受理)