

ダブルビュー ジェミニ ツーシー

W-VIEW GEMINI-2C

イメージスプリッティング光学系 A12801-10

2波長同時イメージングを 超解像性能で実現。

入射光画像を2波長に分光し
それぞれの画像を2台のカメラに結像させる
顕微鏡用イメージスプリッティング光学系です。



特長

超解像性能

新しく設計開発された専用レンズの採用により、イメージエリアφ12 mm以内は回折限界が維持でき、超解像イメージングに使用可能です。①

1ピクセルレベルの色ズレ抑制

倍率色収差や光学歪による2波長画像の色ズレが1ピクセルレベルに抑えられています。②

ZOOM補正レンズユニット A12802-11 (オプション) を使用することで、対物レンズの倍率色収差も補正できます。

高ユニフォミティ

98%の高いユニフォミティにより、画像劣化が最小限に抑えられ、高精度な2波長イメージングが可能です。

瞳操作 (オプション)

瞳位置へ瞳デバイスを挿入可能です。また、瞳デバイスの位置は、接続されたカメラで確認しながら調整できます (特許取得済)。W-VIEW GEMINI-2C用のオプション製品「焦点深度伸長デバイス」も瞳デバイスとして使用可能です。

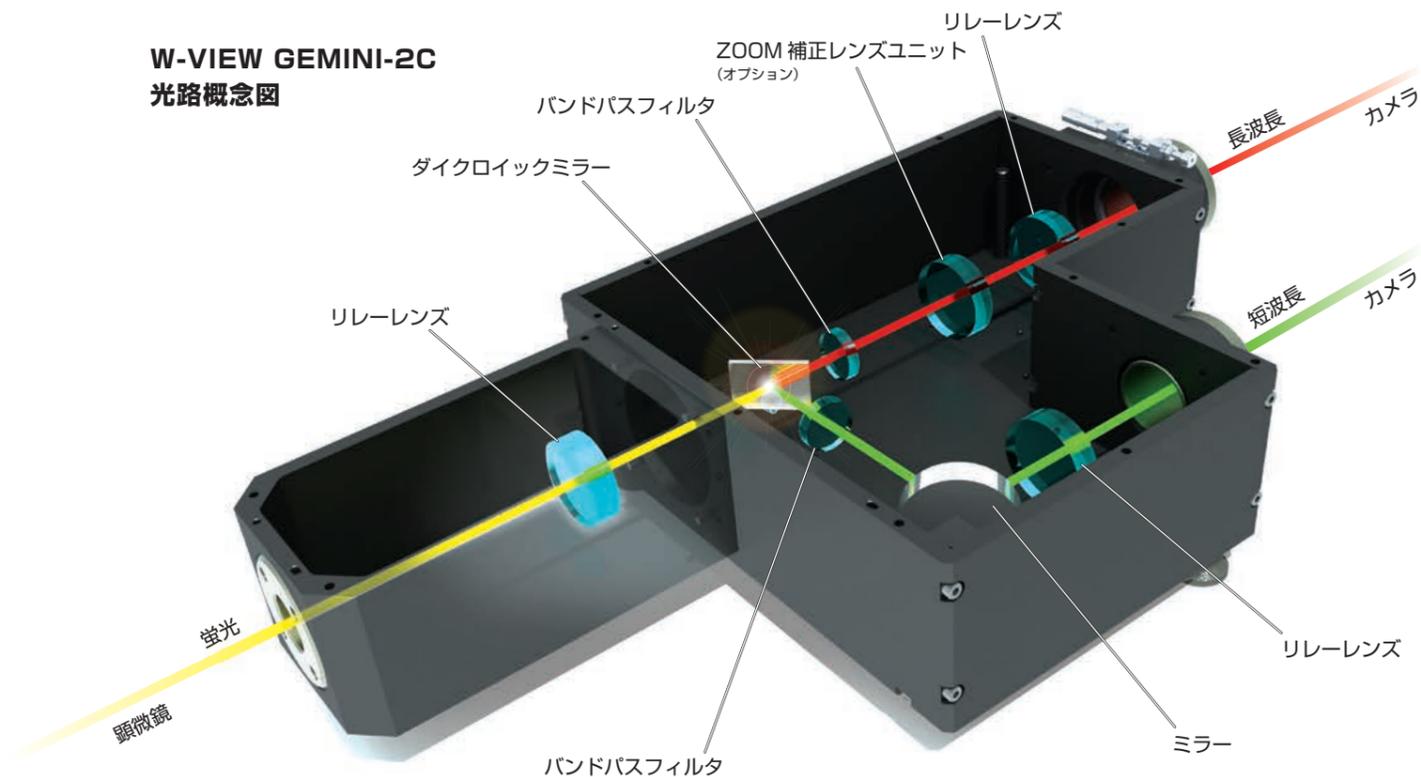
容易な位置合わせ

ユーザー目線の設計により、2波長画像の位置合わせがこれまでになく簡単に行えます。

① 像側 NA 0.025 以下の対物レンズに対する条件でのレンズや関連部品の製造・組立誤差も考慮した場合のシミュレーション結果です。

② ピクセルサイズは6.5 μm (ORCA-Flash4.0 使用時) で計算しています。

W-VIEW GEMINI-2C 光路概念図



応用

超解像顕微鏡での 2波長同時イメージング

ローカライゼーション法やSIM法（構造化照明法）は回折限界を超える超解像画像を取得できる技術で、2波長計測を行う場合は、フィルタを切り替えることによる逐次計測が行われています。しかし逐次計測では、取得時間が長いこと、全く同じ時間（タイミング）の現象を計測しているとは言えないことの2つのデメリットがありま

す。2波長を同時計測することで、取得時間を短縮でき、同じ時間に起きている現象をとらえることで、より正しい計測が行えます。

超解像顕微鏡で2波長同時計測を行う場合は、2波長分岐光学系を用いますが、現在市販されている2波長分岐光学系ではローカライゼーション法において十分な光学性能が得られません（p.3、超解像性能の項を参照）。ローカライゼーション法では、1分子に対応する輝点の位置情報や輝度情報、輝度分布情報が2波長を分

離した後もカメラ上で忠実に再現できることが重要になります。また、SIM法においても、位置情報、輝度情報、周波数応答が忠実に再現できることが重要になります。位置情報、輝度情報、輝度分布情報、周波数応答は2波長分岐光学系の色ズレ、ユニフォームティ、分解能に相当し、これらの特性に優れたW-VIEW GEMINI-2Cは超解像顕微鏡での2波長同時イメージングにおいて十分な性能を発揮します。

1分子蛍光観察における 2波長同時イメージング

1分子蛍光観察も分子の位置情報が重要になります。1分子蛍光観察では既に2波長計測が行われてきていますが、sCMOSカメラの登場とともに、より広い面積を同時に計測したいという要求が出てきています。現在市販されている2波長分岐光学系では、広い視野において1分子蛍光観察に十分な光学性能が得られるものはありません。1分子蛍光観察では、1分子に対応する輝点の位置情報や輝度情報、輝度分布情報が2波長を分離した後もカメラ上で忠実に再現できることが重要になります。

W-VIEW GEMINI-2Cは、広い視野で優れた光学特性が得られ、1分子蛍光観察における2波長同時イメージングを強力にサポートします。

ライトシート顕微鏡における 2波長同時イメージング

ライトシート顕微鏡は、低光毒性・低退色かつ高速、広視野での3Dイメージングが可能な手法です。ライトシート顕微鏡を用いた2波長計測を高速で行うには、2波長同時イメージングが重要な技術になります。ライトシート顕微鏡は、薄いシート状の照明を使用するため、検出光学系の像面湾曲が大きいと照明の一部にしかフォーカスが合わなくなります。

W-VIEW GEMINI-2Cは、像面湾曲が非常に小さく抑えられ、ライトシート顕微鏡における2波長同時イメージングにも適した光学系です。

また、ライトシート顕微鏡の技術と超解像顕微鏡の技術とが組み合わせられるケースもあり、高精度な2波長同時イメージングはより重要になってきています。

対物レンズの 倍率色収差補正

2波長同時イメージングを精度良く行う上で対物レンズの倍率色収差は無視できません。収差の少ない対物レンズを使用しても波長によっては数ピクセルの色ズレが発生します。

W-VIEW GEMINI-2Cは、オプションのZOOM補正レンズユニットを使用することでフィルタ交換方式でも補正しきれなかった対物レンズの倍率色収差を補正でき、これまでにない色ズレの少ない2波長同時イメージングが可能となります。

超解像性能

超解像顕微鏡では、単一分子の蛍光が生成するPoint Spread Function (PSF) の径や形が、ローカライゼーション性能に影響を及ぼすことが知られています。W-VIEW GEMINI-2Cは、PSFの劣化を最小限に抑え、光学系で発生する波面収差を $\lambda/14$ RMS以下に抑え、回折限界が得られるように、製造公差まで含めて設計されています。市販のレンズを使用した場合に、実際に製造した際の製造公差まで含んだシ

ミュレーションは行えないため、当社ではレンズの自社開発を行っています。（市販のレンズを使用した場合、実際に製造した際の製造公差を除いた理想的な性能はシミュレーションでできますが、その場合においても波面収差を $\lambda/14$ RMS以下までに抑えることはできませんでした。）

ここでは、従来の2波長分岐光学系とW-VIEW GEMINI-2Cとの性能をシミュレーションで比

較します。従来の2波長分岐光学系はダブルレットレンズ（OptoSigma 2-doublets lenses）2個を使用して4fの配置にて1：1リレー光学系を組んだものと仮定しています。

（図1、図2、図3参照）

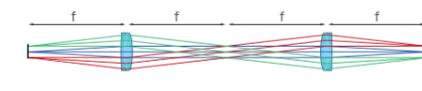


図1. 1：1 リレー光学系（4f配置）

超解像顕微鏡、 1分子イメージング

顕微鏡イメージングでは、対物レンズの開口数（NA）を倍率（M）で割った「像側NA」がビーム径となり、それが大きいほどレンズの設計は難しくなります。1分子蛍光観察や超解像顕微鏡では、ビーム径が比較的小さな対物レンズが使用されます。ここでは、例として60倍、NA1.45、像側NA：0.025の対物レンズ、波長560 nm～650 nmの条件における従来の2波長分岐光学系とW-VIEW GEMINI-2Cのシミュレーションによるスポットダイアグラムを示します（図2参照）。

スポットダイアグラムは一点から出た光束がどのように結像されるかを示し、画像の解像度の目安になります。通常、レンズは、見ようとしている範囲全体にバランス良くフォーカスが合うように光軸から少し離れた位置でフォーカスを合わせるため、この例では視野の像高3 mmの位置でフォーカスを合わせています。

従来の2波長分岐光学系は、フォーカスを合わせた像高3 mmの位置ではスポットダイアグラ

ムがエアリーディスクよりも小さくなりますが、像高0 mmや6 mmでは、エアリーディスクよりも大きく、形状も円ではなくなり、超解像顕微鏡に必要な光学性能が得られていないことが判ります。

それに対して、W-VIEW GEMINI-2Cでは、

スポットダイアグラムのサイズがエアリーディスクよりも小さく余裕があり、形状も円に近いため、超解像に必要な光学性能が得られていることが判ります。W-VIEW GEMINI-2Cでは $\phi 12$ mm以内を超解像エリアとして定義しています。

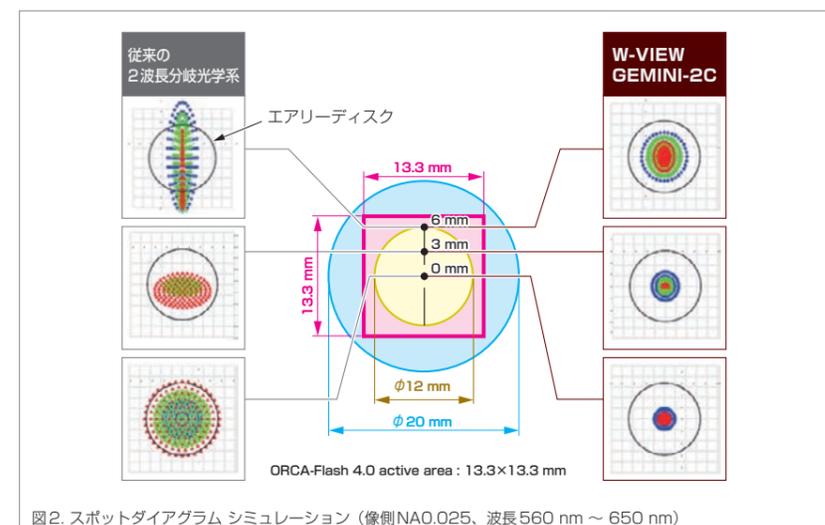


図2. スポットダイアグラム シミュレーション（像側NA0.025、波長560 nm～650 nm）

広視野蛍光イメージング、 ライトシート顕微鏡

広視野蛍光イメージングやライトシート顕微鏡では、像側NAの大きい対物レンズが使用されます。例として10倍、NA0.5、像側NA：0.05の対物レンズ、波長560 nm～650 nmの条件における従来の2波長分岐光学系とW-VIEW GEMINI-2Cのシミュレーションによるスポットダイアグラムを示します（図3参照）。像側NAの大きい対物レンズに対して、従来の2波長分岐光学系は大きな像面湾曲と非点収差が発生し、最良のフォーカス位置が定められないばかりか、像高によりPSFが大きく異なり、その大きさはエアリーディスク径を大きく超えていることが判ります。それに対して、W-VIEW GEMINI-2Cではスポットダイアグラムのサイズはエアリーディスクに入りませんが、形状は円に近く、光学性能の劣化が小さいことが判ります。

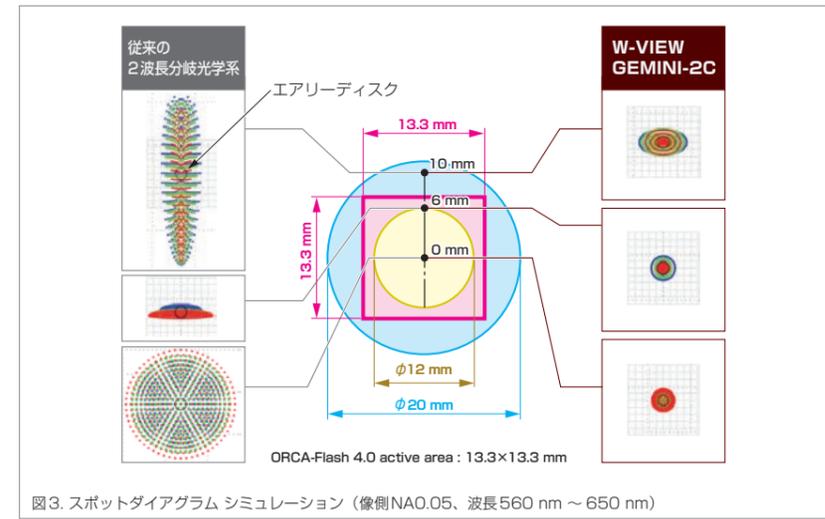


図3. スポットダイアグラム シミュレーション（像側NA0.05、波長560 nm～650 nm）

容易な位置合わせ

鏡像反転がない直観的な位置合わせ

多くの市販されている2波長分岐光学系では、入射した光画像はダイクロイックミラーで反射側と透過側とに分離され、そのままカメラに結像されるため、反射側画像は鏡像反転画像となり、そのままでは位置合わせが困難です。W-VIEW GEMINI-2Cは、鏡像反転が発生しない構造に加え、接続される2台のカメラは同じ向きに配置されるため、カメラ、光学系、サンプルの位置合わせを直観的で容易に行うことができます。ソフトウェアによる画像反転の必要もありませんので、反転作業を忘れるなどの「人為的ミス」も発生しません。(図4、図5参照)

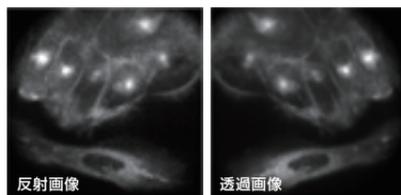


図4. 鏡像反転画像の例 (市販品)

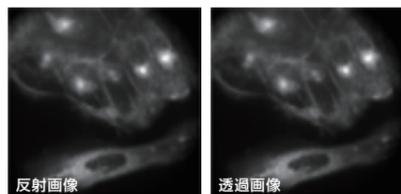


図5. 鏡像反転の無い画像の例 (W-VIEW GEMINI-2C)

カメラの回転方向の位置合わせ

2台のカメラの位置合わせをする上で、特にsCMOSカメラはピクセルサイズが小さく、ピクセル数が多いため、ピクセル単位で回転位置を合わせることは非常に時間がかかります。W-VIEW GEMINI-2Cは、回転調整ステージを透過側のカメラマウントに搭載することで、ピクセル単位の回転位置合わせがマイクロメータヘッドにて正確かつ容易に行えます。

X, Y方向の位置合わせ

反射側光路に取り付けられたミラーの角度を変えることにより、反射画像のX, Y方向の位置調整が容易に行えます。

調整ソフトウェアによる容易な位置合わせ

W-VIEW GEMINI-2Cと当社カメラとを組み合わせる場合、カメラに付属する専用調整ソフトウェアを使用することで、さらに効率良く容易に位置合わせを行うことができます。ネットワーク経由で2台のカメラの画像を重ねてライブ表示できるため、位置合わせ、収差補正が画像を見ながら正確かつ容易に行えます(図6参照)。また、1台のPCで2台のカメラを同様に制御することも可能です。

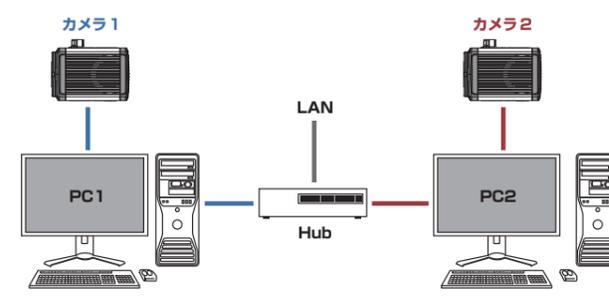


図6. ネットワークを用いたカメラ2台のライブ画像表示



図7. 色収差補正例

軸上色収差補正機構

W-VIEW GEMINI-2Cは、色収差により発生する2波長のフォーカス位置のズレを補正する軸上色収差補正機構を備えています(図7参照)。この補正は後段のリレーレンズを光軸方向に移動することで実現されます。また、ダイクロイックミラーをビームスプリッタに変え、この軸上色収差補正機能を使用し、異なるZ位置を計測するデュアルフォーカスイメージングが可能です。後段のリレーレンズの移動範囲はおおよそ-5 mm ~ +7 mmの範囲で、マイクロメータヘッドにて正確かつ容易に行えます。

ZOOM補正レンズユニット A12802-11 (オプション)

W-VIEW GEMINI-2Cは、レンズの色収差や焦点距離のバラツキによる2画像の倍率の違いが小さくなるように設計されていますが、補正が必要な場合のためZOOM補正レンズユニットを用意しています。ZOOM補正レンズユニットは、倍率の調整がマイクロメータヘッドを用いて正確かつ容易に行えます。また、顕微鏡の対物レンズで発生する倍率の違いも補正することができます。また、異なるZ位置を2台のカメラで同時計測(デュアルフォーカスイメージング)する場合も倍率が変わることが知られていますが、その倍率の違いも補正することができます。補正可能な倍率はおおよそ±1.5%となります。

Grid Chartユニット A12802-14 (オプション)

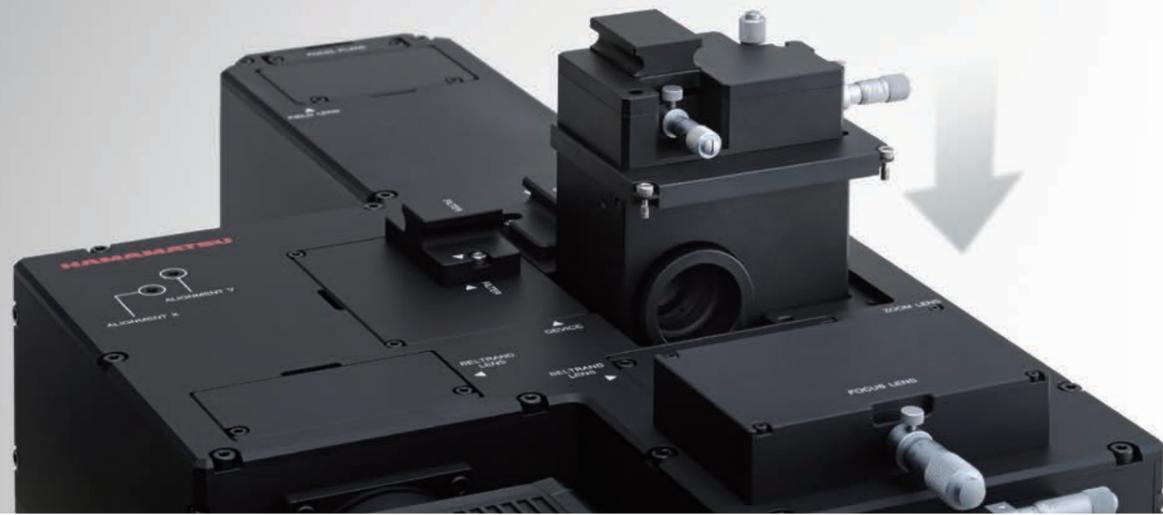
ライトシート顕微鏡などでは、サンプルの位置に同心円チャート(位置合わせ調整用ガラススライド)が設置できない場合があります。その場合、Grid Chartユニットを一次結像面の位置に配置し、接続したカメラに格子チャートを結像させることで、W-VIEW GEMINI-2C内部の位置合わせと収差補正が容易に行えます。

ビームスプリッタキューブホルダ A12802-16 (オプション)

ビームスプリッタキューブホルダは、デュアルフォーカスイメージングや偏光イメージングなどで使用されるキューブ型のビームスプリッタを装着でき、計測の幅を広げることができます。



瞳操作 (オプション)



3軸ホルダユニット A12802-12 (オプション)

近年、顕微鏡光学系の対物レンズの瞳位置に特殊な光学素子(瞳デバイス)を配置することで、従来よりも多くの情報を持った画像を取得できる瞳操作と呼ばれる顕微鏡イメージング手法(例えばZ位置を計測できるイメージング手法)が使われるケースが増えてきています。しかし、実際の顕微鏡においては、瞳の位置は対物レンズの中に位置しているために、正しい瞳位置に瞳デバイスを配置することができません。正しい瞳位置に瞳デバイスを配置するためには、瞳位置を瞳デバイスが配置できる場所までリレーすることが必要になります。

W-VIEW GEMINI-2Cでは、対物レンズの瞳をリレーし、その位置に瞳デバイスを配置できる3軸ホルダユニットを用意しています。3軸ホルダユニットは、瞳デバイスを取り付けたままデバイスのX、Y方向だけでなく、Z方向(光軸方向)にも位置調整が可能です。X軸、Y軸、Z軸の調整はマイクロメータヘッドにて正確かつ容易に行えます。

フィールドレンズユニット A12802-20 (オプション)

特許取得済

顕微鏡の対物レンズの射出瞳位置は、顕微鏡の種類、ポート、対物レンズなどによって、無限遠から離れた位置に移動していることが知られています。W-VIEW GEMINI-2Cは、一次結像面近傍にフィールドレンズを挿入することで移動した瞳位置を無限遠近傍(理想的な瞳位置)に補正することができます。こうすることで、3軸ホルダユニットのデバイスホルダの位置に瞳位置がリレーされるようになります。また、顕微鏡の中間変倍レンズやリレーレンズの使用により、射出瞳位置は大きく移動するこ

とも知られています。この場合もフィールドレンズを挿入することで、移動した瞳位置を理想的な無限遠近傍に補正することができ、シェーディングやケラレといった問題を解決することができます。①②③④

- ① フィールドレンズユニットには、レンズが付属されていません。別途ご購入が必要です。
- ② フィールドレンズの選定、購入、装着等は、お客様にて行って頂く必要があります。
- ③ 顕微鏡によっては、射出瞳位置が理想の位置に補正しきれない場合があります。
- ④ フィールドレンズを使用することで、光学特性の低下や像が劣化する場合があります。

瞳リレー光路図

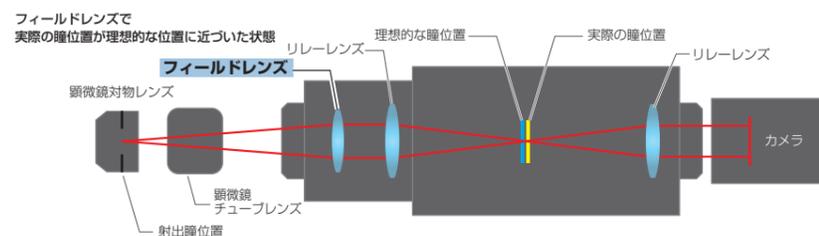
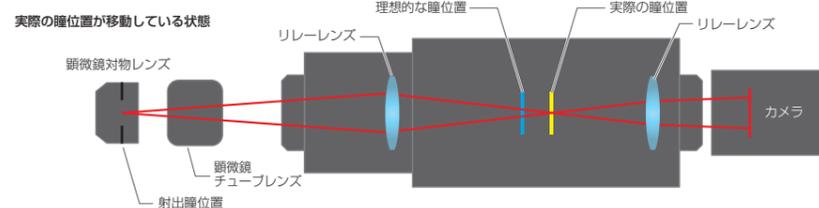


図8. 瞳の位置の例

フィールドレンズホルダ A12802-21 (オプション)

フィールドレンズユニットには、複数のフィールドレンズホルダが挿入でき、その位置は移動可能なため、補正範囲が可変できます。また、移動調整はマイクロメータヘッドにより、正確かつ容易に行えます。⑤

⑤ フィールドレンズホルダには、レンズは付属されません。別途ご購入が必要です。

ベルトランレンズユニット A12802-13 (オプション)

特許取得済

ベルトランレンズユニットを挿入することで、3軸ホルダユニットのデバイス挿入位置を接続されたカメラで映し出すことができます。これにより、フィールドレンズの調整において瞳が正しい位置に結像されているかの確認を接続されたカメラの画像を通して容易に行えます。また、瞳デバイスのX、Y位置の調整もカメラの

画像を通して容易に行うことができます。これらの調整がカメラを取り外すことなく行えるため、カメラの取り外しによる再度の位置合わせの必要がありません。瞳デバイスへのフォーカス合わせもマイクロメータヘッドにて正確かつ容易に行えます。

その他のメリット

最大98%の 高い透過率

W-VIEW GEMINI-2Cは、蛍光イメージングで使用される様々な蛍光タンパク質や試薬の検出波長である450 nm ~ 800 nmの広い波長範囲において高い透過率を実現しています。暗いサンプルの検出や弱い励起光での観察に使用可能です(図9参照)。

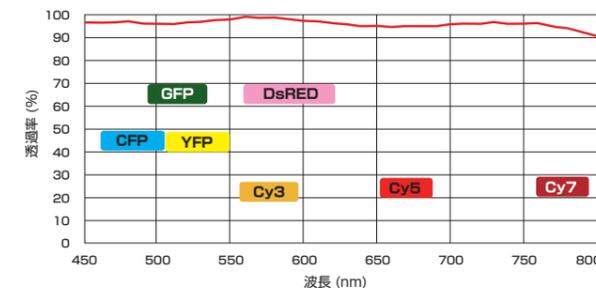
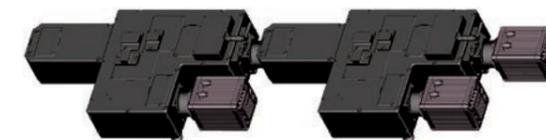


図9. W-VIEW GEMINI-2Cの透過率

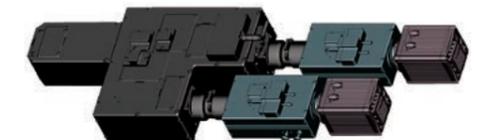
3波長同時計測

W-VIEW GEMINI-2Cは、4f光学系で構成されています。1台目のW-VIEW GEMINI-2Cに理想的な平行光が入力された場合、2台目にも理想的な平行光を出力できます。これにより、2台を組み合わせることにより、高精度な3波長同時計測が可能です。



4波長同時計測

W-VIEW GEMINI-2Cに2台のW-VIEW GEMINI-2Cを組み合わせると4波長同時計測も可能です。



関連製品

W-VIEW GEMINI A12801-01

W-VIEW GEMINIは、入射光を2波長に分光し、1台のカメラに結像させる顕微鏡用光学系です。2波長画像を1画面で同時に観察することができます。



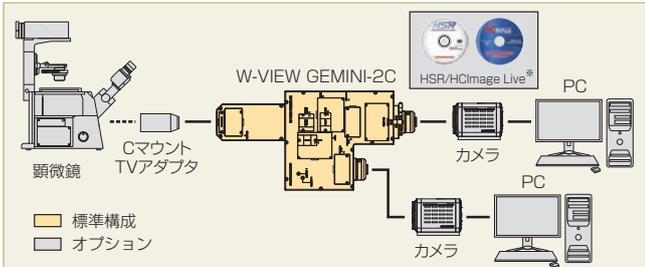
W-VIEW GEMINI-2C用 焦点深度伸長デバイス A12802-35シリーズ

焦点深度伸長デバイスは、W-VIEW GEMINI-2Cの瞳位置に入れ、焦点深度を約5倍伸長させるオプション製品です。焦点深度が浅い高NAの対物レンズでも、ピントの合う範囲を広げることができます。※詳細は焦点深度伸長デバイスA12802-35シリーズのカタログをご覧ください。



仕様・オプション

システム構成例



* HSR (High Speed Recording)・HClmage Live は、カメラセットに標準で付属する画像取得ソフトウェアです。

仕様

品名	W-VIEW GEMINI-2C イメージスプリッティング光学系
用途	顕微鏡蛍光イメージング用
型名	A12801-10
構造	カメラ2台タイプ カメラ並列設置構造、倒立型顕微鏡向け
入力マウント	Cマウント (メス)
出力マウント	Cマウント (オス)
リレー倍率	1.0 倍
リレーレンズ焦点距離	130 mm
視野 ①	φ20 mm φ12 mm (回折限界) ②
バイパスモード ③	有
透過波長範囲 ④	450 nm ~ 800 nm
最大透過率 (Typ.) ⑤	98 %
ダイクロイックミラー ⑥⑦	市販のダイクロイックミラーが使用可能
ビームスプリッタキューブ ⑥⑦	オプション、市販のビームスプリッタキューブが使用可能
バンドパスフィルタ ⑥⑦	市販のバンドパスフィルタが使用可能
NDフィルタ ⑥⑦	市販のNDフィルタが使用可能
軸上色収差補正機構	有
倍率色収差補正機構	オプション
鏡像反転	無
X-Y位置調整	有
回転調整機構	有
ディストーション (Typ.) ⑧	0.05 %
色ズレ (Typ.) ⑧⑨	6 μm
ユニフォミティ (Typ.) ⑩	98 %
動作周囲温度	0 °C ~ +40 °C
保存周囲温度	-10 °C ~ +50 °C
動作・保存周囲湿度	70 %以下 (ただし結露しないこと)

- ① リレーレンズや中間変倍レンズと共に使用した場合にケラレ等が発生する場合があります。
- ② 像側NA 0.025の対物レンズを使用したシミュレーションにおいての値です。
- ③ ダイクロイックミラー等を光路から外して、顕微鏡からの入力光画像をそのままカメラに結像させるモードです。
- ④ バイパスモードでの値になります。
- ⑤ バイパスモード時におけるピーク波長での代表値になります。
- ⑥ ダイクロイックミラー・ビームスプリッタキューブ・バンドパスフィルタ・NDフィルタは本体に付属されませんので、別途ご購入が必要です。ご使用には、結像特性の良いイメージンググレードと呼ばれる反射側の平坦度の高いもの(厚み3 mmのもの)を使用することを推奨します。ダイクロイックホルダ(空)とフィルタホルダ(空)は、1セット付属されています。セットの追加はA12802-10の型名で購入が可能です。ビームスプリッタキューブをご使用の場合には、ビームスプリッタキューブホルダA12802-16の購入が必要です。
- ⑦ 使用可能なサイズは「光学部品の指定寸法」をご参照ください。
- ⑧ 対物レンズなどの無いW-VIEW GEMINI-2C単体での値です。
- ⑨ 中央位置を合わせた時の周辺位置のズレを示します。
- ⑩ 顕微鏡にORCA-Flash4.0を直接取り付け測定した画像とW-VIEW GEMINI-2Cを介して測定した画像との比の最大値と最小値の差を示します。
- ⑪ 詳細は焦点深度伸長デバイスA12802-35シリーズのカタログをご覧ください。

★ORCAは、浜松ホトニクス(株)の登録商標です。
その他の記載商品名、ソフト名等は該当商品製造会社の商標または登録商標です。
※本カタログの記載内容は2020年8月現在のものです。本内容は改良のため予告なく変更する場合があります。

付属品

Cマウントキャップ - オス*1、Cマウントキャップ - メス 2個*1、ダイクロイックホルダ(空)*1*2、フィルタホルダ(空) 2個*1*2、ダイクロイックカバー、フィルタカバー、フィールドレンズカバー*1、3軸ホルダカバー 2個*1、ベルトランレンズカバー 2個*1、イメージプレーンカバー*1、六角ドライバ(2.5 mm)、六角ドライバ(4 mm)、マイナスドライバー、スケール、スパナ、同心円チャート、付属品収納ケース、取扱説明書

- *1 本体に装着されて出荷されます。
- *2 ダイクロイックミラー、バンドパスフィルタ、NDフィルタは付属されませんのでお客様にてご用意していただく必要があります。

オプション

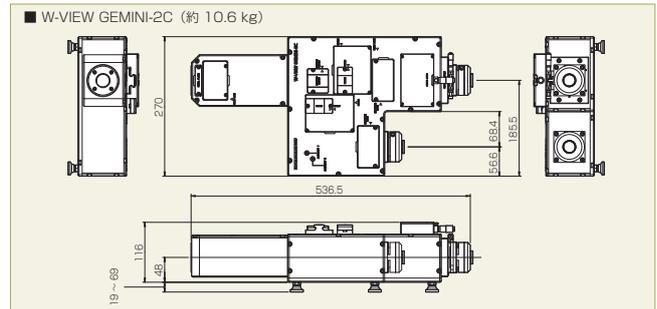
品名/型名	説明
ダイクロイックホルダ & フィルタホルダセット A12802-10	ダイクロイックホルダ(1個)、フィルタホルダ(2個)
ZOOM補正レンズユニット A12802-11	拡大率を変更でき、倍率色収差の補正を行うことができます。
3軸ホルダユニット A12802-12	1個。瞳位置に瞳デバイスを装着でき、X,Y,Zの位置を調整できます。
ベルトランレンズユニット A12802-13	1個。3軸ホルダユニットにより、瞳位置に実装した光学素子をカメラに結像させることができます。
Grid Chartユニット A12802-14	一次結像面にGrid Chartを装着でき、位置合わせ、色収差補正に使用します。
オプション用ケース A12802-15	オプションの3軸ホルダユニット(2個)、フィールドレンズユニット、ベルトランレンズユニットを収納できるケースです。
ビームスプリッタキューブホルダ A12802-16	キューブ型のビームスプリッタを装着でき計測の幅を広げることができます。
フィールドレンズユニット A12802-20	瞳位置の補正が行えます。レンズは含まれません。
フィールドレンズホルダ A12802-21	φ25 mm、φ30 mmのレンズをフィールドレンズユニットに実装するために使用します。レンズは含まれません。
焦点深度伸長デバイス A12802-35シリーズ	3軸ホルダユニットに装着でき、焦点深度を伸長することができます。⑪

光学部品の指定寸法

	寸法(mm)/公差(mm)		厚さ(mm)
ダイクロイックミラー	25.1×35.5 ~ 26.1×38.1		0.9 ~ 3.1*1
ビームスプリッタキューブ	24.8×24.8 ~ 25.8×25.8		24.8 ~ 25.8
バンドパスフィルタ	φ25.4	+0/-0.6	最大 6.0*2
NDフィルタ			

- *1 結像特性の良いイメージンググレードと呼ばれる反射側の平坦度の高いもの(厚み3 mmのもの)を使用することを推奨します。
- *2 バンドフィルタとNDフィルタの厚みを合わせた値です。

外形寸法図(単位:mm)



浜松ホトニクス株式会社

www.hamamatsu.com

□ システム営業推進部 〒431-3196 浜松市東区常光町812
TEL (053)431-0150 FAX (053)433-8031
E-Mail sales@sys.hpk.co.jp

- 仙台営業所 TEL (022)267-0121 FAX (022)267-0135
- 筑波営業所 TEL (029)848-5080 FAX (029)855-1135
- 東京営業所 TEL (03)3436-0491 FAX (03)3433-6997
- 中部営業所 TEL (053)459-1112 FAX (053)459-1114
- 大阪営業所 TEL (06)6271-0441 FAX (06)6271-0450
- 西日本営業所 TEL (092)482-0390 FAX (092)482-0550

Cat. No. SBIS0117J04
AUG/2020 HPK