

ProScan III TTL ブレイクアウトボックスを用いた、 Zスタック画像の高速撮像

はじめに：

Zスタック画像は、デジタル技術を駆使した撮像で、多数の異なるフォーカスで撮像した画像を積み重ねたものです。これにより撮影範囲全てにピントがあった画像を作り出すことができます。

これからご紹介する用途では、Master 8パルス発生器と、プライアーのProScanコントローラ、及びTTLブレイクアウトボックスが連携して、CCDカメラ、プライアーの高速シャッターとZフォーカスドライブを制御し、高速でZスタック画像を作り出します。Master 8パルス発生器は、パルスを異なるピンに順序良く送り、30の異なる画像を30ミクロンの範囲で撮像するようにプログラムされています。このパルス発生器を使うことで、Zスタック画像を作るために重要である、パルス発生タイミングを最適化できます。このタイミングの最適化によって、ユーザーはトリガーとディレイをプログラムしておけば、あらゆる撮像を高速に処理することができるようになります。また、プライアーのProScanコントローラとTTLブレイクアウトボックスを使用することで、ユーザー様は画像システムの各機器の動作タイミングを一括で制御できるようになります。

使用機器：

- AMPI社製パルス発生器Master 8
- オリンパス社製顕微鏡BX51WI
- 浜松ホトニクス社製カメラImagEM EMCCD
- プライアー製 ProScan コントローラ
- プライアー製TTLブレイクアウトボックス
- プライアー製シャッター
- プライアー製フォーカスドライブ

事例：

このユーザー様のご要望は、CCDカメラとMaster 8パルス発生器を用いて、30ミクロンの範囲で、Zスタック画像を撮影することでした。顕微鏡には、プライアーの高速シャッターとZフォーカスドライブが取り付けられていて、高速シャッターとフォーカスの自動化は既になされた状態でした。これに加えて、ユーザー様はMaster 8パルス発生器から、プライアーのProScanコントローラにTTLシグナルを送るようにプログラムを作り、シャッター開閉とZの移動を、カメラと連動しながら自動で動作するようにしました。プライアーのTTLブレイクアウトボックス(画像2)は、Master 8パルス発生器とProScanコントローラをつなげる役割をします(ProScanコントローラへの接続は、コントローラ背面にある10ピンのTTLのコネクターに接続します)。



画像1



画像2

TTLブレイクアウトボックスは、入力端子と出力端子をそれぞれ4つずつ備えています。今回は、Master 8パルス発生器から3つのTTLトリガー信号を発生させ、このうち2つはプライアーのコントローラへ、残りひとつはカメラへ、TTLブレイクアウトボックスを経由して送ります。プライアーコントローラ背面にある3つのTTLピンは、シャッターを開く、フォーカスを下方向へ1ミクロン下げる、そしてフォーカスを1ミクロン上げるとプログラムされています。全ての接続がオンになると、Master 8パルス発生器は、下記の手順を実行するようにプログラムされています。

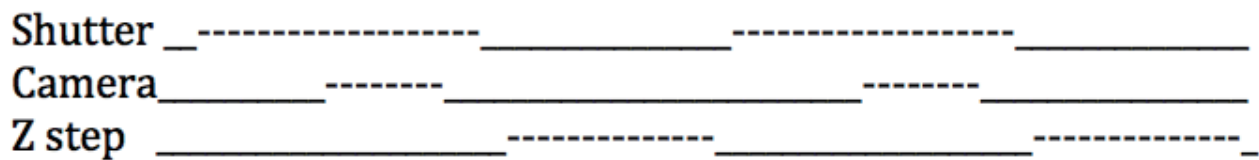
- シャッターの開閉
- カメラの動作(撮像)
- 1ミクロン下に移動

この手順は30回繰り返され、30ミクロンの範囲での撮像が完了します。今回の手順のように、フォーカスを下げるようにプログラムされている一方で、ハードウェアは反対方向に、つまりフォーカスを上方向に動かしても機能するようになっています。最後の命令を「1ミクロン上に移動」と置き換えるだけで、下から上に1ミクロンずつ30回撮像することができるようになります。

システムの同期：

30枚の画像取得に要する時間は、原理的には一枚の撮像に要する露出時間に依存することになります。厳密には、Master 8パルス発生器にプログラムされているディレイなどのタイミングも関係します。今回の露出時間は、100m秒です。Master 8パルス発生器は、次のようなタイミング情報がプログラムされています。初めに、シャッター開口がトリガーされます。この500m秒後、カメラは撮像するようにトリガーされます。次いで100m秒の露出時間の後、400m秒のディレイが設定されています。このディレイが終わると、シャッターは閉じるようにトリガーされます。ユーザー様がカメラの露出前後に、500m秒と400m秒のディレイを入れた理由は、カメラの露出が始まる前に、シャッターが完全に開いている状態にすることと、カメラの露出時間が完了する前に、シャッターが閉じてしまうことを防ぐためです。シャッターが閉じると直ちにフォーカス位置が移動し、1秒のディレイが入ります。ユーザー様がこの1秒のディレイを入れた理由は、次の撮像が始まる前に、対物レンズが撮像場所まで移動完了していることを確実にするためです。

この手順が完了するのは合計2秒ですから、30枚の撮像を終えるまでに要する時間は1分となります。この手順の2サイクル（4秒間）のイメージを下記に示します。波線になっているところは、該当する機器がトリガーされている状態です。



もうひとつの導入事例として、このユーザー様は、眠っているマウスの目のvivoイメージを撮像するため、同様のシステム構築を行いました。この用途では、カメラの露出時間は100m秒と同じですが、シャッターは、全撮像時間を通じて開きっぱなしとしました。フォーカスドライブは、露出時間1000m秒毎（1秒毎）に動くこととしました。こちらの事例では、ユーザー様は300枚の画像を30秒で取得できることになり、この300枚の画像は、ひとつのフォーカス点で、10枚の画像を撮影していることとなります。一ヶ所で必要以上の撮像を行っているように思えますが、この大量処理を行うことで、呼吸による動きが影響を及ぼさない画像を含めることができるようになります。

この事例では、TTLのディレイは、撮像場面に応じて、ユーザー様が任意に設定しています。このように、用途に応じて、画像取得手順を早くも遅くもできるように、最適化していくことも可能です。

ProScanコントローラのプログラミング：

1.

設定されている全てのトリガーポイントを削除します。次いで全ての操作は、TTLインプットによって起動されるように設定します。(初めに全ての設定を削除することは、既にTTLによる起動がTTLインプットのピンに割り振られていることも考えられるため、推奨できる設定手順であると思われます。)このコマンドは、それぞれの用途で使われる、全てのTTLインプットピンに送ります。

TTLDEL,n

(nには、TTLインプットピンの番号、1、2、3、4のいずれかを入力します。)

2.

ProScanコントローラを、TTL High (Low →High)のTTLインプットを受け取れるように設定します。(これはMaster 8が各ピンに送るパルスの形の設定です。)このコマンドは、それぞれの用途で使われる、全てのTTLインプットピンに送ります。

TTLTP,n,1

(nには、TTLインプットピンの番号、1、2、3、4のいずれかを入力します。このnの後の1は、TTL

High(Low →High)の設定を意味し、これを0とすれば、TTL Low (High→Low)の設定となります。)

3.

TTLのインプットが起動する動作を設定します。この場合は、3つの動作を設定します。つまり、シャッターを開く、Zを上げる、Zを下げるの3つです。設定できる動作に関しては、コマンドリストをご参照ください。 TTLACT,n,action,data1,data2,data3

(nには、TTLインプットピンの番号、1、2、3、4のいずれかを入力します。actionのところには、コマンドリストにあるコマンドを入力します。dataには、actionに入力したコマンドに応じて特定の数値を入れます。時にはdataの入力が不要がありますが、その場合は0を入力して下さい。)

動作の設定は、下記のように設定します。

1. TTLACT,1,60,0,0,0 (シャッターを開く)
2. TTLACT,2,30,10,0,0 (Zを1ミクロン上げる)
3. TTLACT,3,30,-10,0,0 (Zを1ミクロン下げる)

Zの動作範囲を示すdata1の項目として10を入力する理由は、ProScanコントローラでのZj1ステップの動作範囲が、標準設定では0.1ミクロンとなっているためです。ここから、1ミクロン動かすためには10ステップが必要となるので、10と入力します。反対方向(下方向)に動かすためには、この数字をマイナスで入力します。

4.

TTLトリガーの入力を有効にします。この設定によって、TTLインプットを受信すると、ProScanコントローラは各機器の操作を実行できるようになります。

TTLTRG,n

(nには、TTLインプットピンの番号、1、2、3、4のいずれかを入力します。)

PRIOR

Scientific

まとめ：

TTLトリガーは、画像取得の用途で広く使われるようになってきています。これは最適な画像取得を高い効率で行うためです。プライアーのTTLブレイクアウトボックス、ProScanコントローラ、その他の周辺機器と接続すれば、カメラなどお手持ちの画像取得自動化のための機器とも連携することができ、画像取得時間と手間を大幅に減らすことに繋がります。今回ご紹介した事例では、プライアーのフォーカスドライブと高速シャッターのみが使われていましたが、電動XYステージやフィルターホイールをはじめ全てのプライアー製品を、TTLからのトリガーで操作することが可能です。

PRIOR

Scientific

WORLDWIDE DISTRIBUTION



Prior Scientific Ltd
Cambridge UK

t: +44 (0)1223 881711
e: uksales@prior.com



Prior Scientific Inc
Rockland MA. USA

t: +1 781-878-8442
e: info@prior.com



Prior Scientific GmbH
Jena. Germany

t: +49 (0) 3641 675 650
e: jena@prior.com



Prior Scientific KK
Tokyo. Japan

t: +81-3-5652-8831
e: info-japan@prior.com



FM 61600

プライアー・サイエンティフィック株式会社

103-0025 東京都中央区日本橋茅場町 2-7-10
茅場町第三長岡ビル 10F
電話 : 03-5652-8831
電子メール : info-japan@prior.com
<http://www.priorjp.co.jp>