

EMCCD のチュートリアル

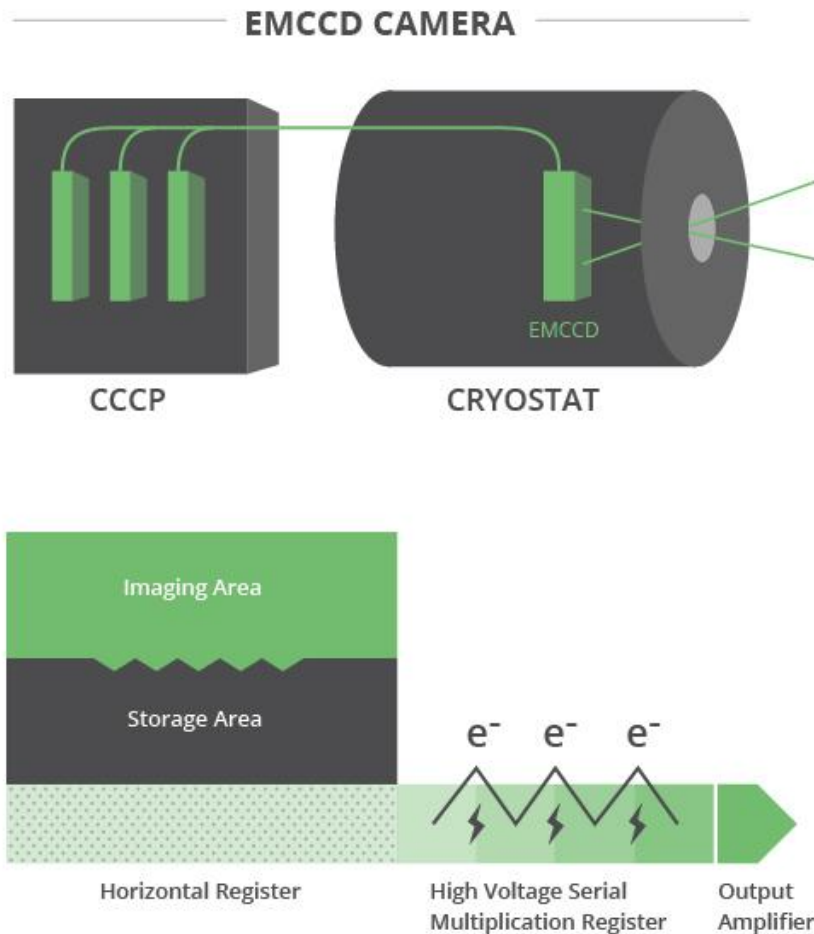
EMCCD カメラを選ぶ理由

低光量イメージングは、蛍光マーカーを用いて脳シナプスの分子動力学を追跡する事や、分光法を用いて遠く離れた太陽系外惑星の大気を研究する等、あらゆる範囲の分野で行われています。しかしながら、光子が乏しい状況において、撮像装置に到達する信号は、バックグラウンドノイズと混合してしまうぐらい非常に弱い場合があります。したがって、光子信号を回復する戦略が非常に重要です。

低光量 CCD (L3CCD) とも呼ばれている、電子増倍 CCD (EMCCD) の技術は、読み出しプロセスの内因性電子ノイズを打ち消すように設計されており、露光あたりの僅かな光子の信号に匹敵します。このように、EMCCD カメラは、低光量イメージングのほとんどの課題に取り組んでいます。また、CCD よりも高速なフレーム取得レートをサポートし、ライブでのイメージングに非常に適しています。さらに良いことに、EMCCD カメラは、広視野のリアルタイムフォトンカウンティングイメージングデバイスになる事によって、最も暗いシーンでの観察に最高の感度を提供することができます。

EMCCD の中心にあるテクノロジー

電荷結合素子 (CCD) 技術と相対的な EMCCD は、特殊な出力レジスタが付加されたフレーム転送方式 CCD です。最初に、入射光子がカメラの冷却されたエンクロージャ内にある検出器の感光領域 (撮像領域) で光電子に変換される事によって動作します。センサーのシリコン基板は、露光中に光電効果によって生成される光電子を捕えるポテンシャルウェル (電位の井戸) または、ピクセルの格子で綿密に構成されています。これらの負の電荷を収集した後、一連の電圧をセンサに印加すると、イメージングから検出器のストレージ領域への全ての電子の転送が強制される。それにより、新しい画像を取得している間に、画像処理が実行されます。ストレージ領域では、検出器の最下部の列の電子が、画素ごとに 1 つずつ、数百の電極からなる増倍レジスタに移動します。光電子が電極に遭遇すると、衝突電離 (アバランシェ効果の一種) によって二次電子が発生する確率は 1~2% です。その結果、僅かな光子の入力信号を数千倍まで増幅する事ができます。その後、電荷は出力増幅器に到達し、そこで電気インパルスに変換され、その後デジタル化されて画像が形成されます。



EMCCD の感度に影響を与えるパラメーター

他の低フラックスイメージング技術と比較して、EMCCD は従来の CCD によく似た高い量子効率 (QE) と僅かな暗電流を示します。さらに、インテンシファイア CCD (ICCD) に匹敵する、低い読み出しノイズを提供する為、不十分な照明条件下でも最高の感度を提供します。現在、利用可能な様々な低光量イメージングカメラの詳細については、Biophotonics で発行された弊社の記事「Pushing Sensitivity to the Brink: Selecting the Right Imaging Technology for Your Application」をご参照下さい。

しかしながら、全てのイメージング技術と同じく、EMCCD は感知性に影響を及ぼす他の電子的要因と同様に、熱雑音および読み出し雑音に影響を受けます。EMCCD の主要なノイズ源であるクロ

ック誘導電荷(CIC)は、特に高い読み出しレートで少数の光子がカメラセンサに到達すると、暗電流の最大 200 倍も画質を落とす可能性があります。以下に挙げるのは、未照射時、低光量イメージング EMCCD システムの感度を低下させる主なパラメータであり、またこのような障害を NüvüCameras が独創的かつエレガントに克服する方法を示します。

熱ノイズ

理想的には、EMCCD センサーは光電子のみを検出します。しかし、EMCCD チップ内の僅かな熱攪拌は、シリコン基板から電子を放出するのに十分であり、ポテンシャルウェル(電位の井戸)によって収集されます。完全な暗闇の中でさえ、ウェル(電位の井戸)はこれらの電荷をゆっくり集め (dark electrons と呼ばれる)、露光時間が長くなるにつれて増加します。それは、まるでカメラがかすかな光源にずっとさらされているかのようです。

EMCCD 検出器は、暗電流または熱ノイズとして知られるこれらのノイズに対処する為、 -90°C に近い温度まで冷却されます。これにより、チップ内の dark electrons 数が大幅に減少し、光電子信号が大幅に改善されます。反転モード動作(IMO)で取得を実行すると、暗電流の付加がさらに低減されます。詳細については、このチュートリアル後半の「動作モード」セクションを参照下さい。

Nüvü™は液体窒素または検出器の熱を吸収する熱電冷却(TEC)ユニットで熱ノイズを処理します。その目的の為に、NüvüCameras は、高速取り込みや検出器フレーム全体での読み取り時にも、ディテクターの温度を -85°C に維持(高精度 0.01°C で)できる、画期的なカメラパッケージを開発しました。このような安定性は、dark electrons の数を同じまま残され、電子増倍レジスタを通る信号増幅の均一性を保証します。詳細については、サブセクション「EM ゲイン」をご参照下さい。



NüvüCameras の [EMCCD](#) 技術



他社の EMCCD

取得条件: センサの動作温度は -85°C ; 10MHz の読み出し速度; NüvüCameras の EM ゲインは 5,000、他の EMCCD の EM ゲインは 1,000 です。

読み出しノイズ

読み出しノイズは、電荷が増幅・デジタル化すると発生します。光量が確保された条件下では無視出来るレベルですが、2~10の電子オーダーのように、暗闇に近い条件下では光電子信号に匹敵するようになります。EMCCD技術は、電荷増幅ステージ、電子増倍(EM)レジスタ含まれており、デジタル化の前に光電子信号を増幅します。このステージで入力信号を数千倍まで増加させる為、読み出しノイズは無視できる程度になります。

EM ゲイン

光電子増幅に関連するファクターは、EM ゲインとして知られています。しかし、光電子信号を増幅する事は代償も大きいです。例えば、EM レジスタは容易に飽和する恐れがある繊細な要素であり、飽和によって早期の劣化や損傷を招く可能性があります。

EM レジストリーは光電子信号だけでなく、dark electrons やクロック誘起電荷も増幅するので注意して下さい(次のサブセクションを参照)。Nüvü™は、光子計測用の革新的な CCD コントローラ (CCCP)と、他に類を見ない冷却性能の両方を備え、問題に対処します。前者はクロック誘起電荷の付与を最小限にし、後者は暗電流レベルを低減します。したがって、Nüvü™は EM ゲイン最大 5000 までをサポートしたカメラを提供できる、唯一の EMCCD カメラメーカーです。

ほとんどのアプリケーションでは、Nüvü™はダイナミックレンジの損失を避けるために、EM ゲインを 1,000 以下にすることを推奨しています。飽和電子容量とカメラ全体のノイズレベルとの間の比として定義されるカメラのダイナミックレンジは、電荷増幅レジスタの容量の結果として、EM ゲインの増加に伴い低下します。増幅するゲインのため、個々のピクセルではなく、列全体に含まれる電荷の増幅による飽和の前に、EM レジスタは、より少ない電子を受け入れます。しかし、ゲインが低いほどダイナミックレンジが向上し、画像のコントラストを改善します。

しかしながら、フォトンカウンティングを必要とするアプリケーションでは、NüvüCameras は感度とダイナミックレンジを最適化するため、3,000 以上の EM ゲイン値を強く推奨しています。

クロック誘起電荷

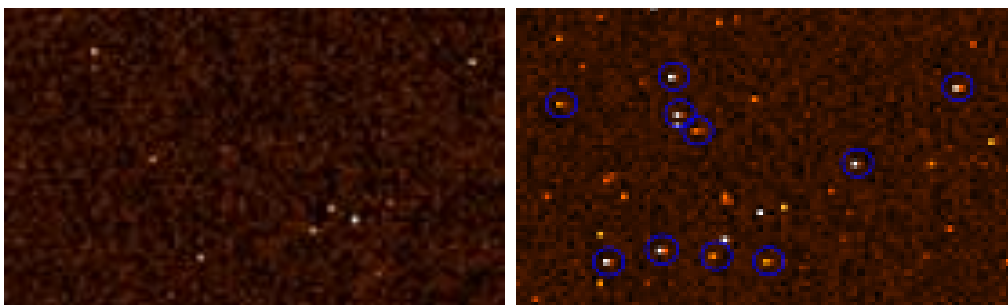
高い読み出しレートで光電子をシフトするには、高電圧および高周波クロック(EMCCD センサ内の光電変換を調整する信号)の両方の印加が必要です。より大きなクロック周波数は、クロック誘起電荷(CIC)として知られている補足的なノイズ源に関連付けられます。

幸いにも、革新的な特許取得済みの NüvüCamēra の光子カウンティング用 CCD コントローラー (CCCP) は、他のコントローラーによって生成されるものよりも、細かく調整可能なクロック信号を生成します。このように、高速で EMCCD を読み取っている間、CIC の生成を大幅に制限します。

電荷転送効率

いくつかの光電子は電荷転送プロセスの間、特に高い読み出し速度で、わずかに取り残されることがあります。例えば、電位の井戸から次の井戸への電子の転送プロセスが不完全で、そのためイメージング領域にいわゆる遅延電荷を作ってしまいます。その結果、残った電子は人為的に特定の画素の輝度値を増加させ、EMCCD カメラの全体的な画質を低下させます。

それにも関わらず、CIC ノイズを下げる上で、光子カウンティング用 CCD コントローラーは、電荷転送効率 (CTE) を向上させ、かつあらゆる動作温度および読み出し周波数で非常に優れた画質をもたらします



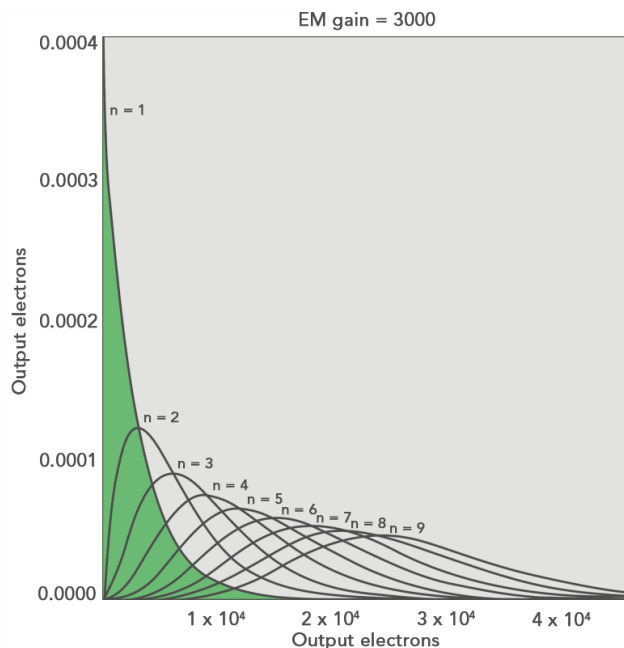
Nüvü Camēras の [EMCCD](#) 技術

他社の EMCCD

取得条件: センサの動作温度は -85°C です。10MHz の読み出し速度。NüvüCamēras の EM ゲインは 5,000、他の EMCCD の EM ゲインは 1,000 です。

過剰ノイズファクター

読み出し前に光電子信号を増幅するアバランシェの過程は、本質的に予測不可能です。例えば、EM ゲインの平均値を確かめる事はできませんが、正確な値を確認する事はできません。下の図に示されているように、信号はポアソン確率分布に従います。



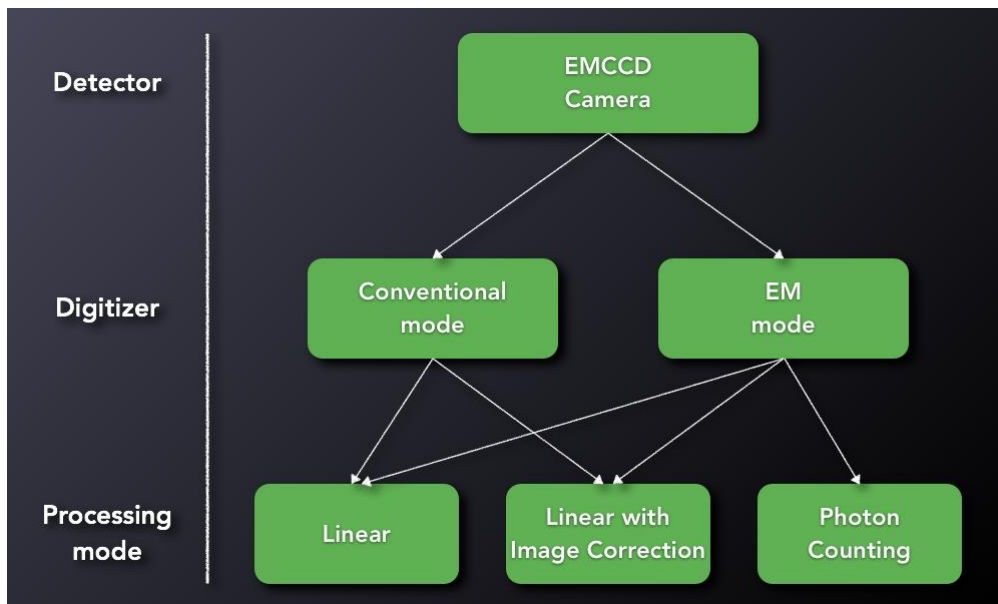
EMレジスタにおけるアバランシェ処理後の電子分布。出力確率分布は、EMゲイン3000の値の出力電子に対してプロットされます。 n 値は、EMレジスタを通過する前のピクセル内の電子の数に相当します。

増幅前にシグナルに寄与した電子の正確な数を決定しようとする、不確実性が生じます。上記のように、電子数 n にも関わらず、電子分布が大きく重なって、最初に何個の電子がEMレジスタに入ったのかを確かめることができません。このような曖昧性の結果、高いEMゲインで $\sqrt{2}$ の値を持つ過剰ノイズファクター(ENF)による、EMCCD取得画像の汚染を招きます。この確率ノイズ源は低光量条件下で顕著で、センサーの量子効率を半分にしてしまうように、画像のS/N比(SNR)に影響します。

フォトンカウンティング測定を行う事により、ピクセルあたりの光電子の数を評価し、それぞれの値が1または0の特性によって、ENFを排除します。したがって、電荷増幅レジストリーは、出力画素数を変更することができず、不確実性を伴う電子増倍に関連するこれらの値を変更できません。追加の説明は“フォトンカウンティング”セクションに記載されています。

EMCCD 操作

EMCCD カメラを使用したデータの収集は、いくつかの方法で実行できます。例えば、2つの異なるデジタイザから成り、1つは電子増倍レジスタ有り、もう1つはレジスタ無しです。Nüvü™は、下記の全ての動作モードをサポートします。



従来のモード

従来モードは、EMCCD が CCD 検出器のように実行されます。例えば、光電子は追加の増幅なしでピクセル毎に読み出されます。このモードは、全体的なノイズが入力信号と比べて無視できる、明るい条件には理想的です。

EM モード

電子増倍 (EM) モードは、デジタル化される前に光電子信号が EM レジスタを介して増幅されて、読出しノイズを打ち消す事を確実にします。このようなデジタイザは、より少ない光子が検出する低光量イメージングで好ましいです。同様の条件で従来モードでは、入力信号よりも高い、または大きい読出しノイズを発生します

処理操作

各デジタイザは、処理操作のサブセットを含みます。リニアモード(LM)では、各ピクセルの強度は、露光中に集められた光子の数を反映します。このようなモードでは、カメラ関連のアーチファクトを削除するため、画像補正オプションや、一連の閉じたシャッターフレームから成る、結合また画像から減算されるバイアスを含みます。LM モードは、従来型の取込みと EM リニアの取込みの両方をサポートします。

Nüvü™は、EM モードでのみ動作する超低光量アプリケーション用のフォトンカウンティング(PC)モードも提供しています。

動作モード: 全体的なノイズへの強い影響

検出器の適切な動作モードを選択する事により、EMCCD カメラの性能も向上します。

反転モード動作(IMO)は、センサーのシリコン基板内にホールの集合(電子の不存在)を生成します。ホールはその後、読み出し前に熱攪拌によって生成された dark electrons と再結合します。その結果、IMO は熱ノイズを大幅に低減し、長時間の取り込みにも完全に適しています。

但しその代償として、電子が読み出しレジスターへシフトする間に、移動するホールが CIC のレベルを増加させます。逆に、非反転モード動作(NIMO)では、ホールの集団を誘導せず、CIC が減少します。例えば、暗電流が蓄積されない短い取り込みには理想的です。

それでも、EMCCD コントローラー信号を微調整すると、反転モード動作で CIC が大幅に低下します。これは Nüvü™の最先端かつ、特許取得済みのフォトンカウンティング用 CCD コントローラ(CCCP)の能力であり、反転モード(IMO)でのみ動作します。すべての Nüvü™製品に備えた CCCP により、ユーザは高速読み出し速度で短時間、長時間の取り込み両方を実行する事ができ、優れた SNR で高品質な画像を得る事ができます。

IMO モードと NIMO モードは互いに専門的・排他的であり、一方がもう一方より優れた仕様をもたらす可能性がある事は注目に値します。Nüvü Cameras では、すべての仕様データは IMO で取得されますが、他の EMCCD カメラメーカーは NIMO で CIC を提供し、IMO で暗電流レベルを提供するかもしれません。両方のモードが相互に排他的であることを考えると、これらのメーカーのカメラを使用すると、実験室で測定される全体的なノイズは、予想以上に大きい可能性があります。

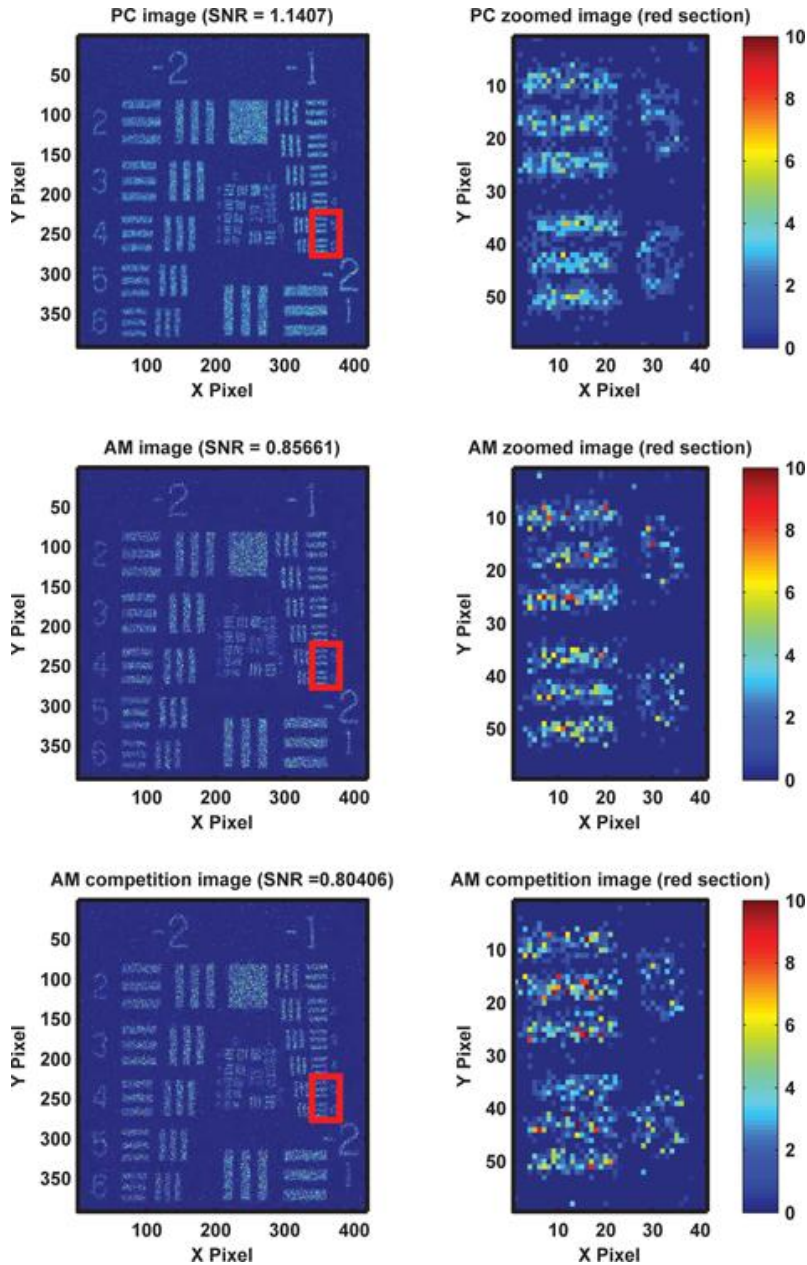
フォトンカウンティング

1フォトン/1ピクセル/イメージ又はそれ以下の信号を期待する時、バイナリ形式でピクセル単位で画像を分析する事は、感度をブーストする鍵となります。関連する閾値ピクセル値を設定することにより、純粋な光電子が取得画素に含まれるか否かを判定することが可能になります。フォトンカウンティング(PC)として知られているこのようなプロセスは、検出器に衝突した光子を集計することになります。閾値以上のピクセルカウントを1とし、それ以下でヌルと見なします。このような条件では、EMプロセスの確率的性質も関連せず、ENFの寄与は消滅します。

フォトンカウンティングは高いEMゲインを必要とするので、このプロセスはカメラのダイナミックレンジをかなり減少させます。それでも、複数のフォトンカウンティングフレームを合計することによって、ダイナミックレンジを回復し、かつてない感度で高品質の画像を得る事ができるでしょう。

性能

付加価値を提供するため、フォトンカウンティング用に設計された EMCCD カメラは、高いフレームレートをサポートする必要があります(CICを最少減に抑え、3,000以上のEMゲインを達成-できるだけノイズの少ない入射光子を多く検出)。これらの要素を組み合わせると、以下の比較で示すように、超低光量イメージングで最大SNRが得られます。



スタンダードUSAF 1951ターゲットを使用したLMモード(図中にはAMと記載)とPCモードの比較。最初の2つはNüvü™のEM N2 512カメラで取り込まれた画像で、3番目の画像は他のEMCCDカメラの最も有効な仕様に基づくシミュレーションです(IMOやNIMOの操作に関する仕様は無い条件で)。PC画像は、10MHzのピクセルレートで50ミリ秒の露光時間およびEMゲイン5,000で、10個のバイナリフレームを累積および加算することによって生成されています。LM画像も10MHzのピクセルレートおよびEMゲインが5,000で、500ミリ秒の単一取得です。

Relative SNR in Photon Counting mode (30 fps)

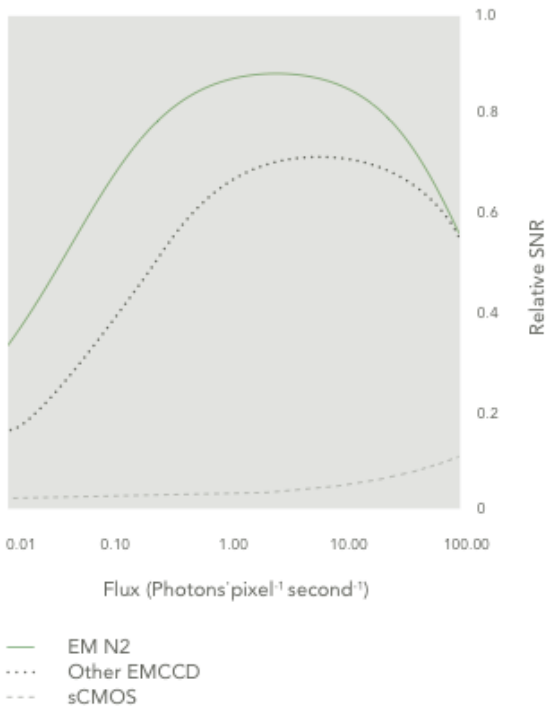


Figure 1 Comparative SNR in Photon Counting for EM N2, other EMCCDs and sCMOS where a value of 1 represents a perfect photon counting device

あらゆる光子が重要な時

NüvüCameras のイメージング感度は、革新的なカウンティングフォトン用 CCD コントローラー (CCCP) に基づいており、それは天文学や生物医学などのアプリケーションにおいての低光量条件下で、EMCCD デバイスをより高速で正確にします。CCCP の驚異的なクロック精度は、高速読み出しレートでの EMCCD の主なノイズ源である CIC を、大幅に削減します

Nüvü™ のイメージングデバイスは、天文学と生物医学研究の分野を最新化します。天文学では、星・銀河の背後にある物理的な原理のより深い理解を提供します。生物医学研究では、生体マーカーによって散乱された蛍光マーカーやレーザーライトなどの医療診断ツールから放出される、最も暗い光信号でさえも検出します。これらの信号は、黄斑変性症や早期癌などの疾患の初期症状を示し得ます。