

顕微鏡のリノベーション ～ 顕微鏡ポートを活用した光学系の導入

須河 光弘(ソーラボジャパン株式会社 技術部)

生命科学では新しい計測技術の開発と新規の発見がセットであることが多く、新たな研究プロジェクトを立ち上げるたびに今ある顕微鏡システムを解体して、新しい実験に合わせたものに再構築することは珍しくありません。特に生物物理学では自分で組んだ光学系を顕微鏡の筐体に組み込んで使っている研究者は多く、筆者もかつてその一人でした。アイデアに溢れている若い研究者にとって、顕微鏡をカスタマイズして試行錯誤することは、オリジナルの研究を展開していく上で非常に良い経験になることでしょう。とはいえ、論文に書いてある光学系の概要図から光学系を構築するには、どうすれば良いかわからないという方も多いのではないのでしょうか。そこで本稿では既存の顕微鏡の筐体に光学系を追加する方法を概説します。

顕微鏡ポートを活用しよう

一般的な倒立顕微鏡には各デバイスを取り付けるためのポートが備わっています。例えば、筐体の後ろには落射照明装置、上部には透過照明装置とコンデンサ、筐体の左右と三眼鏡筒の上部にはカメラを取り付けるためのポートがそれぞれ付いています。これらのポートに弊社の[顕微鏡ポート用アダプタ](#)を取り付けることで、[光学ケージシステムによる光学系](#)を構築していくことができます(図1, 2)。

筆者もこの方法で落射照明装置用ポートに全反射照明の光学系、カメラ用ポートに蛍光プローブなどの3次元位置計測や偏光計測の光学系、コンデンサ用ポートに光ピンセットのビーズ位置検出の光学系を構築した経験があります。

マルチLED照明と光刺激用走査光学系の導入

近年、植物やバクテリアなどの光受容体を応用した光スイッチタンパクを用いた研究が盛んに行われています。光スイッチタンパクを使った研究を進めるにあたって既存の顕微鏡に刺激光を入射する光学系を追加したい、できることなら視野内の狙った場所に刺激光を照射したいという場合もあるでしょう。例えば、細胞内の局所を光刺激して2つの細胞内因子の結合乖離を制御し、刺激に対する応答をFRET(蛍光共鳴エネルギー移動)で観察するといった蛍光イメージングが想定されます。

この場合に必要な光学系は、(1) 蛍光イメージング用のマルチ[LED光源](#)による落射照明と、(2) 刺激用の[ガルバノスキャナ](#)を用いた走査光学系です。この2つの光学系をケージシステムを使って構築・結合して、倒立顕微鏡の落射蛍光ポートからポート用アダプタを介して導入することができます。光学系の概要は図3となりますが、このような概要図は論文でもよく見かけるのではないのでしょうか。



図1: 顕微鏡後方部の落射蛍光ポート用アダプタ(左)、顕微鏡上部の透過照明ポート用アダプタとコンデンサポート用アダプタ(中央、右)



図2: ケージシステム構成例

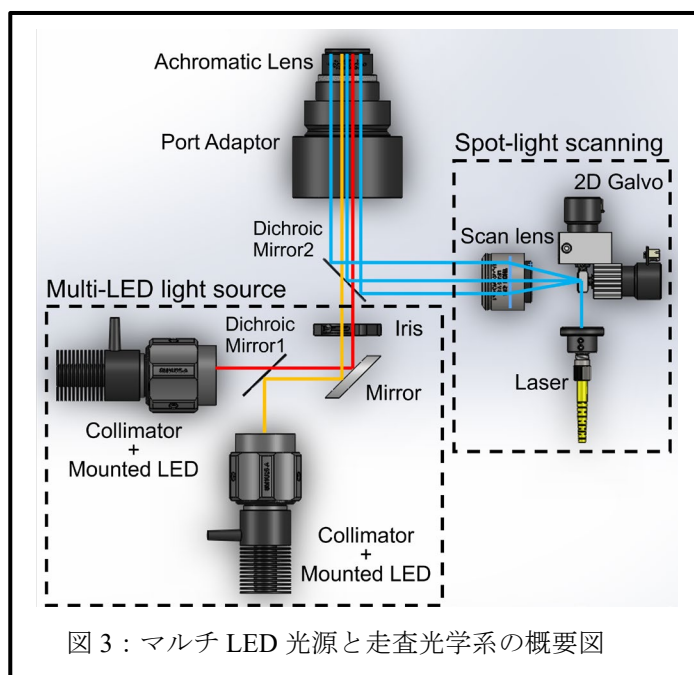


図3：マルチLED光源と走査光学系の概要図

一般的に顕微鏡用の電動ステージやカメラは、シリアル通信やTTL信号で外部コントロールが可能なので、今回作成した光学系と同期させてオリジナルの顕微鏡システムを構築することができます。

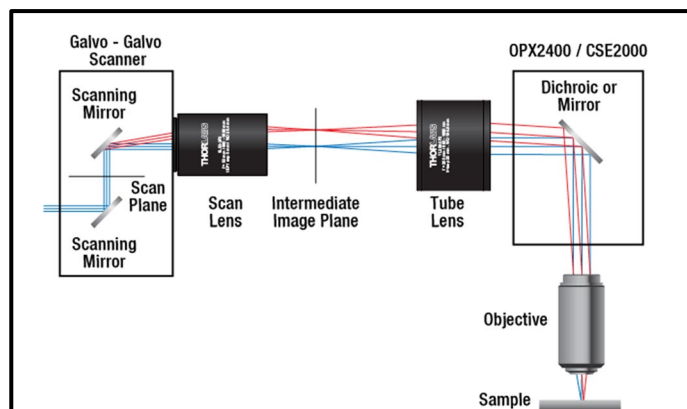


図4：一般的な走査光学系のレンズ配置

この図3に沿って実際に構築した例を紹介します。使用した顕微鏡の筐体は Olympus/Evident 社製の IX71 です。IX71 の落射蛍光用ポートにアダプタを接続して、ここを起点に光学系を構築します。

まず、(1) マルチLED光源による落射照明は、2つのコリメートされたLED光をダイクロイックミラーで結合し、視野絞り用のアイリスを設置します。さらにポート用アダプタの先端にアクロマティック複レンズを設置し、LED光を対物レンズの後焦点面で集光させて対物レンズに入射させます。

次に、(2) 走査光学系は、2軸ガルバノスキャナ、走査レンズ (テレセントリックレンズ)、さらにレンズをもう1つ設置します。2つ目のレンズはマルチLED光源のアクロマティック複レンズを利用します。走査レンズの位置を微調整してガルバノスキャナと対物レンズの後焦点面が共役になるようにします (図4)。走査光学系での各光学素子は、2つのレンズの焦点距離に合わせて配置されるので「4f光学系」と呼ばれることがあります。

最後に、作成したマルチLED光源と走査光学系をダイクロイックミラーで合波した光学系を、落射蛍光ポート用アダプタで顕微鏡に組み込めば完成です (図5)。

ガルバノスキャナの駆動やLED光源の変調は、ファンクションジェネレータまたはDAQデバイスのアナログ出力やデジタルI/Oなどで制御できます。

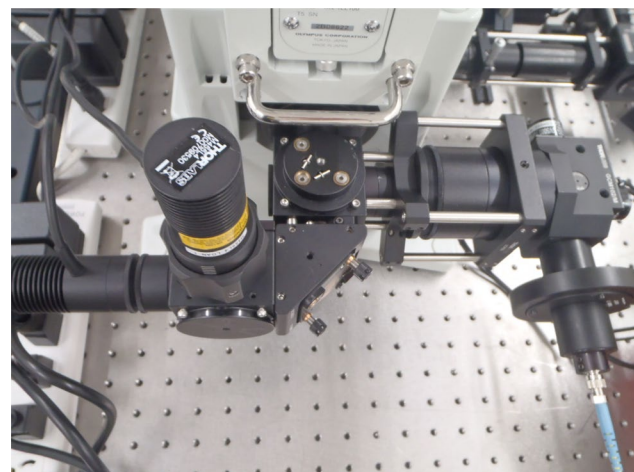


図5：マルチLED光源と走査光学系をIX71に組み込んだ様子

おわりに

接続アダプタとケージシステムを使って、お手持ちの顕微鏡のポートに光学系を手軽に追加できる例を紹介しました。新しい実験に合わせて光学系を追加したい、古い顕微鏡をリノベーションしたいときにぜひご活用ください。製品についてご不明な点がありましたらお気軽にお問い合わせください。