

顕微鏡の改造・改良は光源から

勝木健雄(ソーラボジャパン株式会社 技術部)

生物発光する標本を除けば、顕微鏡で観察する対象のほとんどは照明を必要とします。照明の均一性や安定性が画像の質を左右するのはもちろんのこと、照明を工夫することでさまざまな観察方法が可能になります。また、光は少なからず試料に影響を与えるので(光毒性)、特に生体試料を観察する場合には照明の光量を最小限に抑えるなどの配慮も欠かせません。顕微鏡イメージングの成否の半分は照明によって決まるといっても過言ではないのではないのでしょうか。本稿では、ソーラボ社製の光源、アダプタ、レンズ等を用いて既存の顕微鏡の照明を改変する方法について紹介します。顕微鏡の改造というとなかなか聞かれないかもしれませんが、光源の交換は比較的簡単で効果の大きい方法ですので、ぜひお試しください。

1. 光源の種類

一昔前までは、蛍光顕微鏡の使い方を教わるときには、使い終わったら必ず水銀ランプを消すこと、消してから次の人が使うまでには30分は間隔をあけること、などと口酸っぱくいわれたものです。これは水銀ランプの寿命が300時間程度と短いためと、水銀ランプが大きな熱を発生するため

した。しかし、安価で出力の高いLED光源の出現で状況は大きく変わりました。

一般にLEDは数万時間という長い寿命を持ち、出力の安定性が高く、発する熱も少ないので、定量的な解析や長時間の観察に適しています。外部トリガによる高速なオンオフの切り替えや変調(光の強弱を変えること)にも対応しているので、照明とカメラを同期することにより細胞に対する光毒性を抑えた観察も可能になります。このように、光源をLEDにすると水銀ランプに比べてランニングコストが圧倒的に低くなるだけでなく、使い勝手とデータの質の向上にもつながります。

光源の交換作業は簡単です。水銀ランプまたはハロゲンランプのランプハウスを取り外し、そこにコリメートレンズと顕微鏡用アダプタの付いたLED光源を取り付けます(図1)。必要な工具は六角レンチ1本だけです。LEDの波長帯は、紫外から赤外までの幅広い種類を取りそろえ、広帯域の白色LEDも提供しています。LEDのドライバには、チャンネル数、出力強度、USB入力の有無、変調可能な周波数などの異なるいくつかの製品があります。



図1. 顕微鏡用LED光源(左)、高出力ドライバ(中)および顕微鏡取り付け例(右)

LED よりも強い照明が必要な場合は、やや高価にはなりますが、[高出力プラズマ光源](#)という選択肢もあります。LED ほど高速ではありませんが、シャッター切り替えや強度調節 (0.1%-100%) も可能です。安定性 (0.5%)、寿命 (10,000 時間以上) 共に優れています。

2. 照明の光学

ここで、顕微鏡の照明に使われる光学系を簡単に見てみましょう。一般に、顕微鏡の照明にはクリティカル照明もしくはケーラー照明が用いられます。前者は対物レンズに平行光を導入し、サンプルに照明が集光する方式で、後者は対物レンズの後焦点面に集光し、サンプルに平行光を照射する方式です (図 2)。クリティカル照明では、光源の像がサンプル上に投影され、その像の倍率は2枚のレンズの比になります。一方、ケーラー照明は、光源の形状によらず均一な照明を作り出すことができます。光源が水銀ランプやハロゲンランプの場合には、クリティカル照明では均一な照明を作り出すことができませんが、LED や[液体ライトガイド](#)、光ファイバなどは端面が比較的均一なため、クリティカル照明でもムラのない照明が得られます。むしろ、次に述べるように、照明をサンプル面に集光することにより密度の高い照明を作り出せることがクリティカル照明の利点になるケースもあります。

3. 光刺激

照明は観察のためだけに用いられるわけではありません。近年、光を用いて細胞にさまざまな生体反応を引き起こす光遺伝学 (オプトジェネティクス) という技術が目覚ましい発展を遂げています。光遺伝学の実験では、顕微鏡の視野の一部に特定の波長をもった強い光を照射することにより一部の細胞にのみ刺激を与えるといったことが行われます。上述のクリティカル照明を用いれば、例えば、[光ファイバ](#)を介して顕微鏡に LED 光を導入することで光源のサイズを小さくし、視野中の細胞やオルガネラを標的とした局所的な光刺激パターンを作り出すことも可能です。どのようなレンズを使えばよいか、光学設計の例題としてご自身で取り組んでみてはいかがでしょうか。

4. 豊富なデモ機

本稿では、顕微鏡の照明方法を簡単に紹介しました。光源の交換作業は難しくないとされても、どの光源やアダプタを選べばよいのか分からない、と思われる方もいるかもしれません。心配ありません。ソーラボ社では、光源やアダプタのデモ機を多数ご用意しています。製品をご購入の前にお手持ちの顕微鏡に取り付けてお試しになりたい場合や、製品の選定でご不明な点があれば、お気軽に[お問い合わせ](#)ください。

ソーラボジャパン株式会社
THORLABS

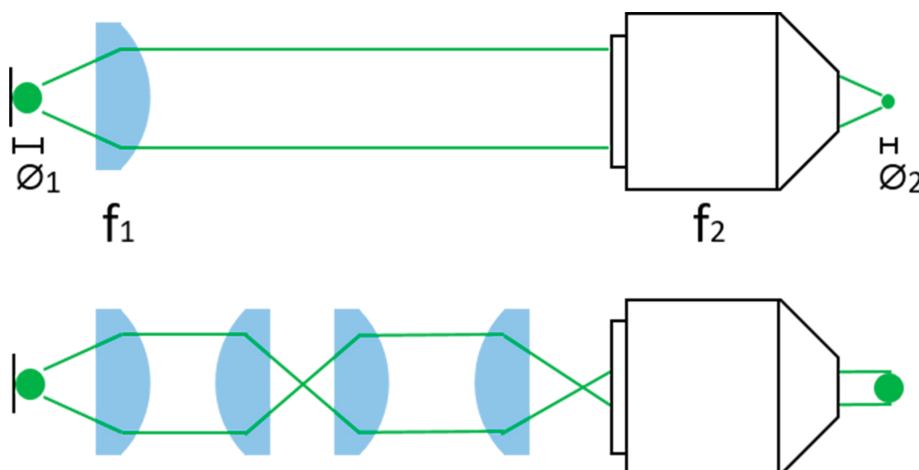


図 2. クリティカル照明 (上) とケーラー照明 (下) の光学構成。クリティカル照明では光源の像がサンプル面に投影される。コリメートレンズと対物レンズの焦点距離をそれぞれ f_1 、 f_2 とすると、照明のスポット径 \varnothing_2 は光源の素子の径 \varnothing_1 の f_1/f_2 倍となる。