

## 共焦点顕微鏡

(Confocal Laser Scanning Microscopy)

共焦点顕微鏡の原理は、1953年にマービン・ミンスキーのよって開発されました。当時、理想の光源がなく実用化しませんでした。レーザーが発明され一般化し、レーザー顕微鏡として広まったのは1980年代でした。共焦点レーザー顕微鏡は、レーザービームがレーザーから出され、レンズにより絞りこまれ、ピンホールを通ります。ピンホールを通過した光は対物レンズで焦点を結び試料に照射されます。その試料から発する蛍光と反射光が対物レンズから集められます。その蛍光と反射光はバンドパスフィルター、ダイクロイックミラーなどのフィルターで、蛍光と反射光は分離されます。観測するのは蛍光で、フォトダイオードやフォトマルなどで検出されます。蛍光はそのフォトダイオードなどで電気の信号として変換され、コンピュータに記録されます。共焦点レーザー顕微鏡は焦点距離が異なるような厚い資料についても、解像度の高い3次元情報が得ることができます。焦点の違う像をそれぞれイメージとして保存し、それを PC 上で画像が再構築することで、全体がボケの無い像を得ることができます。レーザーの走査は、焦点方向と水平方向にされ、全体の画像が最終的に得られます。平面方向と深さ方向にデータが得られることは、3次元としてのデータになり、画像としても3次元画像になります。特徴としてまとめると、解像度が高い像が得られることと、3Dのイメージングが可能で、ノイズの少ない高コントラスト像が得られることです。

共焦点顕微鏡は、神経細胞学、免疫学、生理学、細胞生物学、分子生物学の学問分野で使われ具体的に蛍光寿命イメージング、FCS(蛍光相関分光法)解析、FCCS(蛍光相互相関分光法)解析、がん研究、脳細胞研究の用途で使われます。

使われるレーザーは、その試料に依存します。励起するレーザー光源の波長に対しどの蛍光の波長を発光するかにより、光源が選択されます。一般的には、レーザー顕微鏡のオプションとして、レーザーを選択できるようになっております。主流は、小型の半導体レーザーで、405nm、435nm、486nm、514nm、546nm、578nm、639nm、659nm のそれぞれの波長になります。

