

蛍光顕微鏡学用レーザー

ここ10年に亘り、蛍光発光ベースの生命科学研究は新しいイメージング法と、大型ガスレーザー光源から固体レーザーへの移行による革命が起きており、より小さい必要面積、より長い稼働寿命およびより低いメンテナンス要件を得られるようになっていきます。

微生物学研究にとって最も重要な手段の1つは蛍光顕微鏡による高精細生細胞イメージングであり、そこでは特定の分子、いわゆる蛍光色素あるいは蛍光体が定義された波長の光による励起の後に低エネルギー光、すなわち励起光より低い（長い）波長を持つ光を返します。生物学を深める過程の中で、科学者はこの物理的効果を利用してより小さい構造を可視化して研究を進めます。解像度を増やそうする努力は、特別な顕微鏡だけではなく、異なる波長のレーザーといった適切な光源を使用する必要を迫りました。特に、適切なレーザーの正確な選択は、時間的かつ局所的な解像度の増強を可能とします。レーザーは最新の蛍光顕微鏡学の不可欠な要素です！

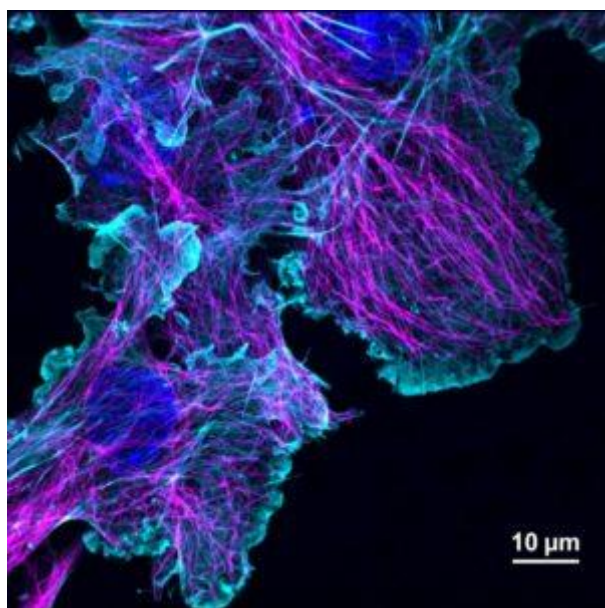
小型で信頼性が高い固体レーザーの開発は高解像度蛍光顕微鏡技術の新しい市場とアプリケーションの商業化と拡大にとって最初の有力な技術であり、少数の例を挙げれば、データ記憶装置と先進的なカメラシステムなどの並行した改善も伴いました。一部の顕微鏡アプリケーションが LED とスーパーコンティニウム白色光源での進歩を利用できる一方で、共焦点顕微鏡のような高精細かつ高速の技術はまだレーザーの高輝度と波長精度に依存しています。

最新の蛍光顕微鏡は、標準的な共焦点レーザー走査型顕微鏡、TIRF（全反射照明蛍光顕微鏡）、スピニングディスク顕微鏡、光シート顕微鏡および蛍光シグナルの空間操作を用いる超解像イメージングへの様々な手法を含む膨大な種類の異なる技術で成り立っています。

これらすべての技術は、用いられる励起光源に対して、波長、出力レベル、出力変調、ビーム品質とスペクトル特性など多くの異なる改善を要求しました。ほとんどの技術に

共通する要因は、蛍光体の連続的に増加する数を特定し、マルチカラーイメージングを達成するために多くの励起波長を必要とすることです。

マルチカラーの励起能力を持つほとんどの顕微鏡機構には、光学部品を介して組み合わせられ、1つ以上の出射ビームや光ファイバーと接続された複数の個別レーザーが搭載されています。こうしたレーザーコンバイナーは、高速/低速の変調を含む多くの波長、多くの出力レベルといった全側面で最大の柔軟性を提供できます。ただし、柔軟性が最も高い優先度ではないシステムや機構では、多波長レーザーがより永久的な光軸調整、簡易な使用、そしてメンテナンスフリーを有する代替物となり得ます。



Cobolt 社製 Skyra を搭載した 1 分子局在化顕微鏡 (SMLM) 機構で撮られたイメージ例
(Department of Biotechnology & Biophysics at Julius-Maximilian-University of Würzburg)

HÜBNER Photonics 社では、Cobolt 社製の単色および多色レーザーの非常に幅広い選択が可能で、蛍光顕微鏡学アプリケーションに最適です。Cobolt 社製 06-01 レーザーダイオードの高速変調能力は、cLSM (共焦点レーザー顕微鏡)、回転ディスク、TIRF (全反射照明蛍光顕微鏡) といったすべての共焦点システムに非常に適しております。さらに、優れたオン/オフ変調は、真のオフを含め、少数の例を挙げるだけでも、光活性化、光変換、光遺伝学、レーザー操作、FRET (蛍光共鳴エネルギー移動)、FRAP (光褪色後蛍光回復法) などのアプリケーションにとって魅力的です。加えるに、これらのレーザーは STORM (確率光学式再構築顕微鏡)、PALM (光活性化局在化顕微鏡)、STED (誘導放出抑制顕微鏡) などの超解像顕微鏡技術に適しております。なぜなら、それらは高い出力でも広い波長範囲に亘って利用できるからです。

すべての Cobolt 社製レーザーは、高い柔軟性とユーザーフレンドリーなレーザーコンバイナー装置として組み合わせることができ、1基のコンバイナーに最高8台のレーザーで C-FLEX プラットホームを構築できます。独自の C-WAVE レーザーは、全可視光および近赤外のスペクトル全体に亘る波長選択性を提供でき、より異質な蛍光体へのアクセスも可能となります。さらに、Cobolt 社製 Skyra は極めてコンパクトで永久に光軸調整された多波長レーザーであり、現場での光軸調整とサービスを不要とすることによって、小型顕微鏡装置でのマルチカラー励起の統合を単純化し、製造原価が下がり、よりコンパクトなデザインを可能にしています。Cobolt 社製 Skyra は、Ar - イオンレーザーへの完ぺきな小型固体レーザー置換品となるように設計されてもおります。

最近のレーザーベースのイメージング法は、cLSM(共焦点レーザー顕微鏡)とラマン分光学などの異なる技術を組み合わせようとしております。04/05と08-01シリーズの Cobolt 社製レーザーは、非常に狭い線幅と優れたスペクトル純度によりラマン分光学に適切です。C-FLEX レーザーコンバイナーは、プラグ・アンド・プレイのダイオードレーザーである Cobolt 社製 06-01 シリーズと、04/05 および 08-01 シリーズからなる狭線幅レーザーを組み合わせた完璧な製品となっており、多くの生命科学アプリケーションで最大の柔軟性を提供しております。