

■ 要旨

顕微鏡は、肉眼では見えないような微小な物体を拡大して観察する道具である。16世紀末ころにオランダで発明され、17世紀には細胞や微生物などが手製の顕微鏡で発見されるようになり、ミクロの世界が切り開かれた。18世紀にはイギリスを中心に顕微鏡製造業者が現れるようになったが、性能面で大きく進展するのは19世紀半ばになってからであった。特に顕微鏡の結像理論とレンズ設計法の基礎を確立し、対物レンズの性能を飛躍的に向上させたアッペを輩出したドイツやオーストリアの製造業者が、19世紀終盤には一気に世界のリーディングカンパニーとなった。こうして顕微鏡が性能向上することにより、医学、とりわけ細菌学が発展し、それまで人類を悩ませ続けてきた病原体の発見と治療という偉大な業績につながると共に、あらゆる科学の分野や産業技術の発展においても多大な貢献がなされた。

わが国では、明治時代中盤以降から顕微鏡の輸入が増加するようになり、医学や養蚕業を中心に利用されるようになった。こうした中、明治末から大正にかけて国産の顕微鏡を作ろうとする人たちが現れた。外国製顕微鏡の複製に挑む中で、とりわけ高品質の証しである高倍率対物レンズの製作は困難を極めたが、熱意と職人魂でそれを克服していった。国産顕微鏡はその後の改良と技術の継承により着実にその品質を向上させていき、工業化への道を拓いていった。戦後になると、多くの顕微鏡メーカーが誕生し、製造を開始した。戦前の技術水準の高さをベースに、日本顕微鏡工業会の設立と産官学あげての技術研究・標準化の取り組みにより、徐々にではあるが着実にその機能・性能レベルを向上させていった。やがて研究用顕微鏡、システム顕微鏡、高級写真顕微鏡の開発へと発展し、品質管理やサービス体制も充実することにより、国産顕微鏡は世界でも認められるようになり、コストパフォーマンスの優位性から、欧米を中心に年々輸出を増加させていった。これが可能であったのは、メーカー研究者・技術者の情熱や執念、製造者の技能の高さと共に、レンズ設計技術、光学ガラス、エレクトロニクス技術など国内環境の発展にも恵まれたこと、またユーザーである先端研究者の期待・支援等があったからであろう。そして1970年代後半以降になると、わが国の顕微鏡大手2社により新光光学系の開発が相次いで進められ、性能の大幅向上と共にエレクトロニクス技術の導入による操作性の改良、各種ユニット・アクセサリ類の充実などにより、光学顕微鏡において両社は名実共にドイツ2社と並ぶ世界のトップメーカーとなり現在に至っている。

このように光学顕微鏡の歴史は、見えないものを可視化するための飽くなき挑戦の歴史でもある。幾何光学を駆使した対物レンズの性能向上はもとより、干渉・回折・偏光・蛍光などあらゆる物理光学を応用してさまざまな観察法を確立することにより科学や技術の進歩向上、産業の発展に大きく寄与してきた。また目的に合わせて、倒立型顕微鏡、双眼実体顕微鏡、金属（工業用）顕微鏡などのタイプがあり、それぞれが進化を続けている。一方で光学顕微鏡は、主に可視光を使用するためその解像力には光の波長による限界があり、また対物レンズの性能もほぼ極限までに達していることから、研究者の中には電子顕微鏡などに比べてその発展は望めないとする見方も多かった。しかし1980年代後半になると、レーザ走査型顕微鏡をはじめとする新しい形態の光学顕微鏡が次々と登場し、生物試料を生きのまま動的に観察できるなどの光学顕微鏡の利点が見直されることによって、バイオイメージングなど最先端研究の主役に復帰してきている。また、さらに進化した多光子励起レーザ走査型顕微鏡や超解像顕微鏡なども登場し、今後の発展が期待されている。

本稿では、こうした光学顕微鏡の歴史とわが国における技術（特に対物レンズを中心とした光学技術）の発展につき報告する。第1章のはじめに続き、第2章では光学及び顕微鏡の基礎、第3章では顕微鏡の発明から19世紀までの歴史、第4章ではわが国の顕微鏡の誕生と生物用正立型顕微鏡を中心とした発展、第5章ではさまざまな顕微鏡観察法の歴史と発展、第6章では各種タイプの顕微鏡の歴史と発展、第7章では対物レンズ開発を中心とした顕微鏡光学技術の進展、第8章では最新の光学顕微鏡、第9章でまとめと考察、から構成されている。なお、光学顕微鏡技術の重要な要素である、機械設計・製造やエレクトロニクス設計・製造については、著者の専門性から本報告書では割愛した。

光学顕微鏡は、その理論とアプリケーションの両面において、多くのノーベル賞受賞研究のベースとなっている。近年においても、超解像顕微鏡開発が2014年のノーベル化学賞の受賞につながり、またわが国においても、医学生理学賞を含めた数多くの重要な研究において光学顕微鏡が活躍している。このように光学顕微鏡をベースとして、光技術、エレクトロニクス技術、ITなどを融合し、従来では不可能とされていた生命現象を可視化する技術や装置が実現している。見えないものが観察できるようになることは、研究者の長年の夢であり、限界を超える光学顕微鏡の開発への挑戦はこれからも続くであろう。わが国の顕微鏡研究開発・製造技術が、バイオサイエンスをはじめとするさまざまな分野のニーズに応え、さらに新たな理論や技術、材料などのシーズを取り込んで、これからも世界をリードしていくことが期待される。

■ Abstract

Microscopes are tools for observing infinitesimal objects that are invisible to the naked eye. Invented in the Dutch Republic in the late 16th century, handmade microscopes were used to discover cells and microorganisms in the 17th century, thus unveiling the microscopic world. Manufacturers of microscopes began to appear mostly in England in the 18th century, but microscope performance did not significantly improve until the second half of the 19th century. At the end of the 19th century, the German and Austrian lens manufacturers suddenly became the leading optics companies in the world, building on the foundation laid by Ernst Abbe, who established a theory of image formation and a method of designing lenses, and also drastically improved the performance of objective lenses. This improvement in the performance of microscopes led to further developments in medicine, especially bacteriology, and in addition to major achievements such as the discovery of the pathogens that have continuously plague mankind and ways of dealing with them, microscopy has made substantial contributions to the development of all other fields of science and industrial technologies.

In Japan, there was an increase in the importation of microscopes from the middle of the Meiji era, which were mainly used in the medical and sericulture industries, and this led to the appearance of Japanese who endeavored to make Japan's first microscopes during the period spanning the end of the Meiji and the beginning of the Taisho eras. Although reproducing foreign microscopes posed challenges, especially with regard to the production of high power objective lenses, which is the ultimate sign of high quality, this was overcome with the zeal and spirit of the craftsmen. Subsequent improvements and technological developments improved the quality of Japanese microscopes, paving the road to birth of this industry in Japan. The post-war period saw the emergence of a number of microscope manufacturers. Building on the base of pre-war technological standards, and due to the establishment of the Japan Microscope Manufacturers' Association and joint efforts by industry/government/academia in terms of technological research and standardization, slowly but surely, further improvements were made in terms of the level of functionality and performance. This eventually led to the development of research microscopes, compound microscopes and high-class microscopes for photography, and with improvements in quality control and customer service, Japanese microscopes have come to be recognized throughout the world, with annual exports to Europe and the US increasing year-on-year due to their superiority in terms of cost-performance. This was made possible not only by the passion and tenacity of the researchers and engineers who worked for the manufacturers, and the skill of the manufacturers, but also by thanks to the maturing of the domestic industrial environment in terms of lens design techniques, optical glass quality and electronics technologies, etc., and the support and expectations of personnel engaged in cutting edge research as users. Since the late 1970s, the top two leading microscope manufacturers in Japan have progressively developed new optical systems, and due to significant improvements in performance and usability with the introduction of electronics technologies and the increase in the number of units/accessories, both companies have now come to rank alongside the two German manufacturers as the top manufacturers in the world.

Thus the history of optical microscopes has been a tireless struggle to make visible the invisible. Beginning with the performance increase obtained in objective lenses by the use of geometric optics, a variety of methods of observation were established through the application of physical optics; interference, diffraction, polarization, and fluorescence, etc., which contributed greatly to the progress of science and technology, as well as industrial development. Many specialized types of microscopes exist; inverted microscopes, stereoscopic microscopes, metallurgical (or industrial) microscopes, and so on, and these continue to evolve. There exists a limit, imposed by the wavelength of light, on the resolving power of optical microscopes that rely on visible light, and as the performance of objective lenses had also all but reached its limit, many researchers held the view that further development of optical microscopes could not be expected, especially in light of the development of electron microscopes. However, new forms of optical microscope, such as the laser scanning microscope, emerged in the latter half of the 1980s, and optical microscopes made a comeback as the mainstay of cutting-edge research, such as bio-imaging, in light of their advantages, which

include the ability to dynamically observe living biological specimens. Even more advanced multi-photon excitation laser scanning microscopes and super-resolution microscopes have appeared, and further progress is expected.

In this paper I will report on the history of such optical microscopes and the spread of the technology in Japan, paying particular attention to optical technology for objective lenses. Following the introduction that is Chapter 1, I will then report on the fundamental principles of optics and microscopes in Chapter 2, the history of microscopes from their invention up until the 19th century in Chapter 3, the birth and growth of microscopy in Japan with particular regard to the spread of upright biological microscopes in Chapter 4, the history and development of the various microscopy techniques in Chapter 5, the history and development of the various types of microscope in Chapter 6, the evolution of optical technology for microscopes with particular regard to the development of objective lenses in Chapter 7, the latest optical microscopes in Chapter 8, and present a conclusion and a discussion in Chapter 9. Mechanical and electronic design and production, which are other important elements of optical microscope technology, have been omitted from this report as they are outside the Author's area of expertise.

The theory and application of the optical microscope has been the base for much Nobel prize-winning research. The awarding of the 2014 Nobel Prize in Chemistry was connected with the development of super-resolution microscopy, and even in Japan the optical microscope has played a part (amidst other important research) in securing the Nobel Prize in Physiology or Medicine. Thus the optical microscope has been a base for combining optical technology, electronics technology, and information technology, etc., to create technology and equipment for visualizing vital phenomena that were previously thought to be impossible to visualize. Researchers have long desired to have the ability to observe the invisible, and the struggle to push the boundaries of optical microscopy will undoubtedly continue. I look forward to seeing Japanese microscope R&D and manufacturing technology continue to lead the world in incorporating new theories, technologies and materials to meet the needs of the biosciences and other fields of research.

■ Profile

長野 主税 *Chikara Nagano*

国立科学博物館産業技術史資料情報センター主任調査員

1974年 大阪大学工学部応用物理学科卒業
1976年 大阪大学大学院工学研究科修士課程応用物理学専攻
修了
同年 オリnbas光学工業株式会社（現オリンパス株式会
社）入社
光学開発部 顕微鏡光学系の研究開発に従事
1996年 オリnbas販売株式会社
1999年 オリnbas株式会社 研究開発本部
2005年 日本顕微鏡工業会 事務局長
2016年 国立科学博物館産業技術史資料情報センター 主任
調査員
1994～2016年 ISO/TC172/SC5（顕微鏡及び内視鏡）エキ
スパート

■ Contents

1. はじめに	308
2. 光学と顕微鏡の基礎	310
3. 顕微鏡の発明と発展	324
4. 国産顕微鏡の誕生と発展	328
5. 各種観察法の発展	340
6. 各種タイプ顕微鏡の発展	353
7. 顕微鏡光学系の発展	366
8. 新しい光学顕微鏡	385
9. まとめと考察	389

1 | はじめに

2015年3月より国立科学博物館において企画展「国産顕微鏡100年展～世界一に向けた国産顕微鏡のあゆみ～」が日本顕微鏡工業会との共催で開催された(図1.1)¹⁾。国産顕微鏡発展の礎となった「エム・カテラ」の誕生から100周年になるのを記念したイベントであるが、光学顕微鏡420年余りの歴史の中で、わが国が100年足らずの期間で世界トップレベルの座を得るに至った経過を紹介したものであった。

この企画展の制作に携わる中で、世界の中でも特異な技術発展の歴史をもつわが国の光学顕微鏡の歴史をまとめて記録として残すことは、あとに続く国内外の顕微鏡技術者に極めて貴重な情報を与えるであろうとの思いを強くするようになった。おりしも国立科学博物館から光学顕微鏡系統化の調査報告に取り組むよう要請があり、絶好の機会と受諾した次第である。

また近年、日本人研究者のノーベル医学生理学賞受賞が続いていることは、大変喜ばしいところであるが、これとても光学顕微鏡なくしては望むべくもなかったことであり、この点からも、まさに現時点においてその系統化をなすことは大きな意味をもつことであると考える。

本編は、光で結像する光学顕微鏡に関する調査報告である。電子を使う透過型電子顕微鏡(第11集2008

透過型電子顕微鏡技術発展の系統化調査 参照)や走査型電子顕微鏡、試料とプローブとの間の相互作用を使う走査型プローブ顕微鏡(原子間力顕微鏡、走査型トンネル顕微鏡、走査型近接場光顕微鏡など)、X線顕微鏡、超音波顕微鏡などは対象外としている。また光学顕微鏡は、光学技術をはじめとして、精密機械技術、エレクトロニクス技術、ソフト技術、超精密加工・組立技術・技能など多くの技術の集大成である。本技術系統化調査では、その全てを網羅すべきところであるが、筆者の専門性と時間的制限により光学技術、特に対物レンズの技術発展を中心に展開することにした。なお、読者に顕微鏡の発展史に親しく接し、より理解を深めていただくために、光学と顕微鏡の基礎を説明する章を設け、また可能な限り関連する写真や図の掲載を心掛けた。筆者の思いが届いたとすれば幸いである。

引用

- 1) 独立行政法人国立科学博物館 企画展「国産顕微鏡100年展」冊子2015



図 1.1 国産顕微鏡 100 年展ポスター¹⁾

2 | 光学と顕微鏡の基礎^{1) 2) 3)}

本報告を理解していただくために、最初に光学と顕微鏡の基礎につき解説する。なお、本章以降に出てくる顕微鏡関連の国際規格 (ISO)、日本工業規格 (JIS) 及び日本顕微鏡工業会規格 (MIS) の一覧については、附属資料 1 を参照されたい。

2.1 光学の基礎

光学技術は、光の直進・反射・屈折の性質を利用する幾何光学と、光を波（光は電波や X 線と同じ電磁波の一部である）として扱う物理光学から成っており、ここではその基礎につき解説する。

2.1.1 光の波長と色

光学顕微鏡では主として可視光線とその長波長側の赤外線、短波長側の紫外線の範囲を対象としている。図 2.1 は、可視光域の概略の色区分を示したものである。可視光域は ISO 20473 で 380~780nm と規定されている。各種光学機器の基準波長は、ISO 7944 (JIS B 7090) で水銀灯の e 線 (546.07nm : 緑) と規定されているが、眼光学機器ではヘリウムの d 線 (587.56nm : 黄) の使用も認められている。また各色の推奨スペクトル線 (フラウンホーファー線) もこの規格で定められている。光は均質媒質中では直進し、別の媒質との境界面で反射するとき、その反射角は入射角に等しい。また境界面で屈折するとき、その入射角と屈折角の各正弦の比は一定である (図 2.2)。図の媒質 1 が空気 (厳密には真空) である場合、その値を媒質 2 の屈折率という。屈折率は光の波長に依存し、これを分散という。分散は光学ガラスの材質によって異なり、光学ガラスは屈折率と分散の指標であるアッペ数によって規定されることが多い (図 2.3)。

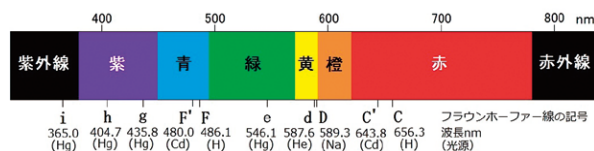


図 2.1 可視光線の概略色区分とフラウンホーファー線

図 2.4 は、わが国の光学ガラス大手メーカーであるオハラ社の光学ガラスマップ (縦軸は屈折率、横軸はアッペ数) である。アッペ数が大きい (分散が小さい) ガラスをクラウンガラス、アッペ数が小さい (分散が

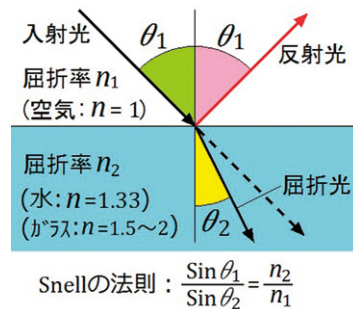


図 2.2 反射と屈折の法則



$$\text{アッペ数 } \nu_e = \frac{n_e - 1}{n_F - n_C} \quad \text{注] アッペ数が大=分散が小}$$

図 2.3 光の分散とアッペ数

大きい) ガラスをフリントガラスと呼んでいる。また青 (F 線) と赤 (C 線) の分散に対する第 3 の波長、例えば紫 (g 線) との分散の比は部分分散比と呼ばれ、 $\theta_{g,F} = (n_g - n_F) / (n_F - n_C)$ の式で表される。図 2.5 はオハラ社の光学ガラスの部分分散比マップで、通常の光学ガラスは図の斜線上にほぼ乗っているが、この斜線から外れた異常分散ガラスを使うと、通常の色消しレンズ (アクロマート) に対し、超色消しレンズ (アポクロマート) の設計が可能となる。特にアッペ数が 80 を超える特殊低分散ガラスは、ED (Extra-low dispersion) ガラスとも呼ばれ、凸レンズに使うと有効である。

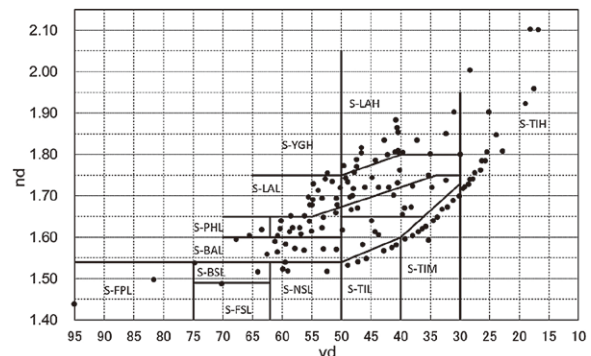


図 2.4 光学ガラス一覧図⁴⁾

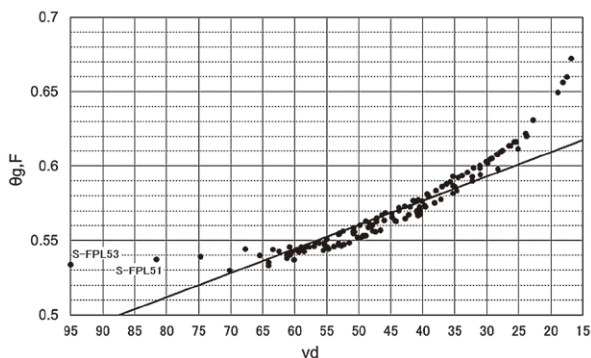


図 2.5 光学ガラスの部分分散比マップ

(引用文献 4 を参考に作成)

2.1.2 レンズの収差

収差とは、光学系によって結像する場合、像の理想像からの幾何光学的なずれをいう。ドイツのザイデル (P. L. Seidel, 1821-1896) が 1855 年に発表した 5 つの収差に加え、分散によって生じる色収差が代表的なものである。

- ① 球面収差は、光軸上の 1 点から出る光線が光学系に入射する場合、入射点からの距離によって、光線が光軸と交わる位置が異なる収差である。凸の単レンズでは光軸から離れた光線ほど像点より近くで交わり凹の単レンズでは遠くで交わる。このため球面収差の補正は、凸レンズと凹レンズの組み合わせで行われる (図 2.6 a, b, c)。収差図は、縦軸に開口数 (NA)、横軸に光線と光軸との交点位置で描かれる。
- ② コマ収差は、光軸から離れた位置にある物点の結像で、光線がレンズに入射する位置により像の大きさが変化し彗星状にぼけた像になる収差である (図 2.7)。
- ③ 非点収差は、光学系の軸外物点から出た光線束による軸外像点が一点に集まらず、かつメリジオナル像点 (主光線と光軸を含む平面内の光線が結ぶ像) とサジタル像点 (主光線を含みかつメリジオナル平面に垂直な平面内の光線が結ぶ像) が一致しない収差をいう (図 2.8)。二つの像点では、像は互いに直行する線となり、それ以外のところでは楕円形にぼけた像になる。
- ④ 像面湾曲は、平面の物体の像面が湾曲する収差をいう (図 2.9)。この収差があると、像の中心ではピントが合っても周辺はピントがずれてしまう。一般的に凸レンズ系では、像面は光軸から離れるほどレンズ側に湾曲する。
- ⑤ 歪曲収差は、像の大きさによって倍率が異なる収差をいい、ディストーションとも呼ばれる。倍率が大きくなる場合を正の歪曲収差 (糸巻き型ともい

う)、倍率が小さくなる場合を負の歪曲収差 (たる型ともいう) と呼ぶ (図 2.10)。

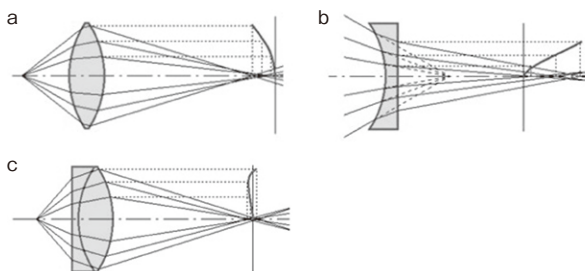


図 2.6 球面収差の説明図

- a 凸レンズによる球面収差と収差図
- b 凹レンズによる球面収差と収差図
- c 凸凹レンズの組み合わせによる球面収差の補正と収差図

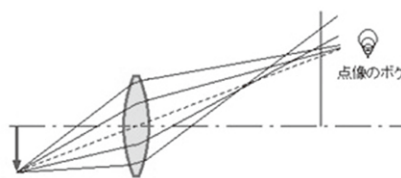


図 2.7 凸レンズによるコマ収差の説明図

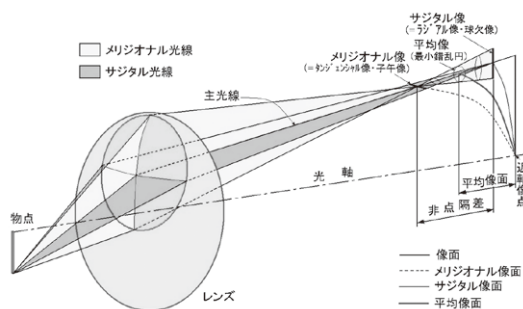


図 2.8 非点収差の説明図

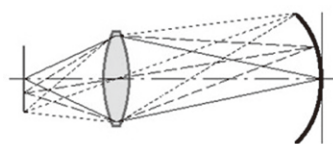


図 2.9 像面湾曲の説明図

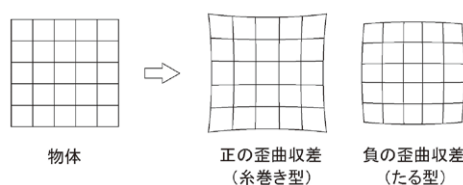


図 2.10 歪曲収差の説明図

⑥ 色収差は、光学系によって結像する場合、光の波長によって像の位置や倍率が異なる収差をいい、前者を軸上色収差、後者を倍率色収差と呼ぶ(図2.11)。光学ガラスの分散によって生じる収差で、材質の異なる光学ガラスの組み合わせ(凸レンズに分散の小さいクラウンガラス、凹レンズに分散の大きいフリントガラスを使う)によって色収差の補正(色消しともいう)が可能である(図2.12)。2つの色、例えば青(F線)と赤(C線)とで色消した場合、第3の色、例えば紫(g線)の色収差は補正しきれず、残る。この残存色収差を2次スペクトルと呼び、これを補正するためには前記の異常分散ガラスを使う。

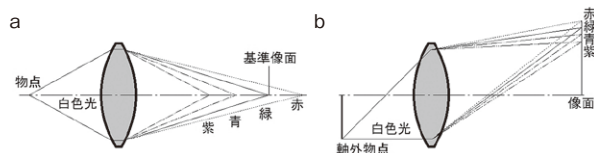


図 2.11 色収差の説明図

a. 軸上色収差
b. 倍率色収差

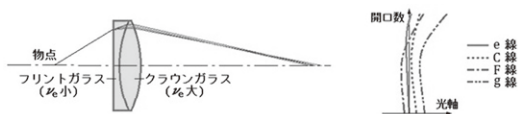


図 2.12 色収差の補正

右は色補正後の球面収差図

2.1.3 干渉・回折・偏光

光が波の性質をもっていることにより、干渉(interference)、回折(diffraction)、偏光(polarized light)などの現象を生じる。

(1) 光の干渉とは、二つ以上の光波が同一点で重なり合って互いに強め合い、または弱め合う現象をいう。この現象を発見したのは、イギリスのヤング(T. Young, 1773-1829)で、1803年のことである。彼は実験で、光源からの光を2つの平行なスリットを通すとスクリーンに干渉縞ができることを確認し、当時論争中であった光の波動説の重要な根拠を示した。図2.13に干渉現象を応用した例を示す。a)は反射防止コーティングで、ガラス面状に薄膜をコーティングし、その表面反射波とガラスの反射波との山と谷を一致させると、干渉により反射光の強度が0となる(コーティングのないガラス面は4~7%程度の反射光強度がある)。また同図b)は、ニュートンリングと呼ばれるもので、異なる曲率半

径の二つの球面(図では一方が平面)の接触部分付近に現れる同心円状の干渉縞である。接する両面の各反射光の重なりによって多重の干渉縞が生じる。レンズの加工工程では、基準となる曲率と面精度を保證した原器と加工したレンズの曲面を重ね合い、生じたニュートンリングの本数や形状で加工品質の評価を行っている場合が多い。

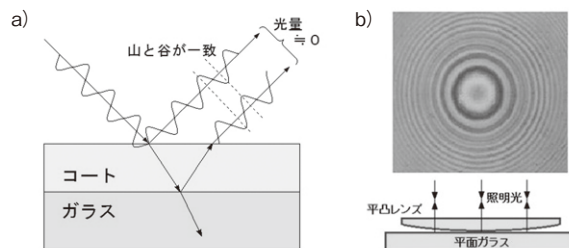


図 2.13 干渉の応用例

a) 反射防止コーティング
b) ニュートンリング

(2) 光の回折とは、光が物体に当たったとき、直進せずに広がって進み、物体の影の部分にも光が回り込む現象をいう。この現象を発見したのは、イタリアのグリマルディ(F. Grimaldi, 1618-1663)で1665年のことである。その後フランスのフレネル(A. Fresnel, 1788-1827)やドイツのフラウンホーファー(J. von Fraunhofer, 1787-1826)、イギリスのエアリー(G. Airy, 1801-1892)らによって、さまざまな回折現象の研究が進められた。図2.14 a)はその現象を図示したものである。この回折により、レンズのような円形開口で光を集光すると、無収差であっても光は点とならず、同図 b) に示したような広がりをもつ。この回折パターンの中の明るい円盤をエアリーディスク(Airy disc)と呼び、その直径は $1.22 \lambda / NA$ (λ は光の波長、NAはレンズの開口数:2.5参照)で与えられる。

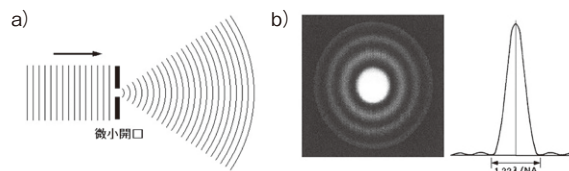


図 2.14 回折現象

a) 回折による光の広がり
b) 円形開口による回折パターンと強度分布

(3) 偏光とは、光波(電気ベクトル)の振動方向が規則的な光をいう。偏光特性を検出されない光は、自然光と呼ばれる(図2.15)。この現象は、フランス

のマリユス (E. Malus, 1775-1812) が 1808 年に窓の反射光を複屈折物質である方解石で観察していて発見したとされる。複屈折は、結晶などに入射する光が、屈折の法則に従う常光線とそうでない異常光線に分かれる現象をいう (図 2.16)。振動方向がランダムである自然光から、一定の振動方向をもつ直線偏光を得るために、イギリスのニコル (W. Nicol, 1770-1851) は、1828 年に二つの方解石プリズムを貼り合わせたニコルプリズム (図 2.17) を発明し、偏光装置を考案した。偏光装置により得られた直線偏光に対し振動方向が直交する偏光装置を配置する (これを直交ニコルまたはクロスニコルと呼ぶ) と、光はカットされる。このとき前者の偏光装置をポラライザ (polarizer: 偏光子)、後者の偏光装置をアナライザ (analyzer: 検光子) という。二つの偏光装置の間に結晶など光学的性質が方向によって異なる物質 (異方性物質) があると、その部分の光がアナライザを透過し観察できるようになる。偏光装置のニコルプリズムは、大きなものが高価であり使いにくいという欠点があったが、1929 年にアメリカのランド (E. H. Land, 1909-1991) は、薄板状の偏光板を発明し「ポラロイド polaroid」と名付けた。その後改良が重ねられ、安価で高性能の偏光素子としてサングラスや写真用フィルタ、偏光顕微鏡などにも使われるようになった。直交ニコル間に異方性物質があったとき、常光線と異常光線の屈折率差と物質の厚さにより両光線に位相差 (レターデーション retardation) を生じる。この二つの光線は、アナライザを通過後互いに干渉するが、波長によって干渉の強度が異なるため色付きを生じる。これを干渉色といい、レターデーション量と干渉色の関係を表す干渉色チャートを図 2.18 に示す。レターデーションが 530nm 前後では緑色がカットされ、わずかなレターデーションの差で、黄色、赤から青へと急激な変化があり、これを鋭敏色と呼ぶ。

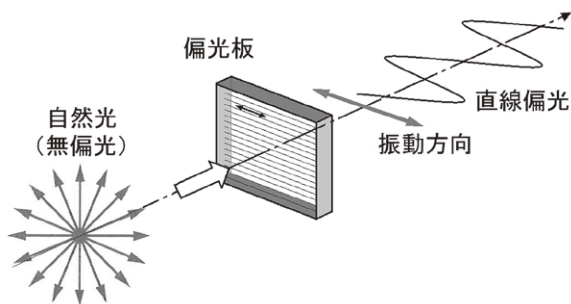


図 2.15 偏光

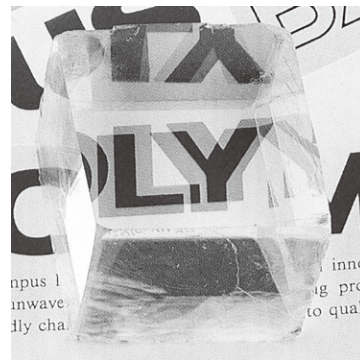


図 2.16 方解石による複屈折⁵⁾

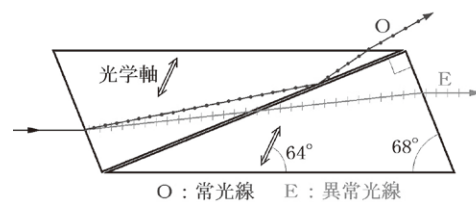
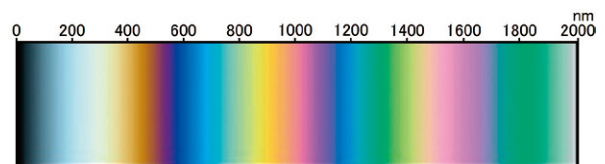


図 2.17 ニコルプリズム



レターデーション $R = d(n_e - n_o)$

図 2.18 干渉色チャート

2.2 レンズによる像

レンズを使って物体の像を作る方法には、カメラ撮影のようにフィルムや撮像素子に実際の像 (実像 real image という) を作る方法と、ルーペ Lupe (虫眼鏡・拡大鏡) のように見かけの像 (虚像 virtual image という) を作る方法とに大別される。図 2.19 に、凸レンズにより実像を作る様子を示している。a) は物体

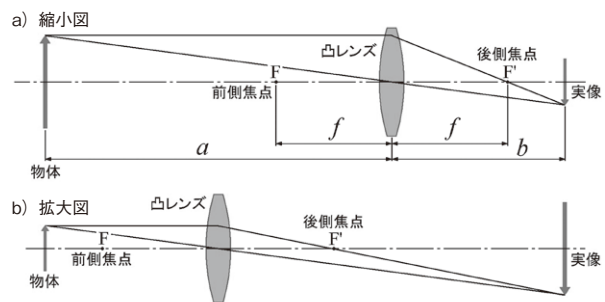


図 2.19 凸レンズと実像¹⁾

a) 縮小像 b) 拡大像

がレンズの前側焦点Fよりずっと遠くにある場合で、縮小された倒立の実像が得られる。b)は物体がFよりわずかに遠くにある場合で、拡大された倒立の実像が得られる。このとき、レンズから物体までの距離をa、像までの距離をb、レンズの焦点距離をf、実像の倍率(magnification)をMとすると、それぞれの関係は次の式で与えられる。

$$1/a + 1/b = 1/f \quad (2.1)$$

$$M = b/a \quad (2.2)$$

一方、図2.20は、凸レンズにより虚像を作る様子を示したもので、物体をレンズの前側焦点位置よりわずかに近くに置くと像は作られないが、レンズのすぐ後ろに目をもってくと拡大された正立の虚像が見える。この場合、物体とレンズの前側焦点との位置関係によって虚像の大きさは異なる。ルーペの表示倍率 M_L は、虚像が目から250mm離れた位置(これを明視距離 reference viewing distance という)に作られる場合に、その虚像が実物の何倍になるかを示したもので、レンズの焦点距離をfとすると、

$$M_L = 250/f \quad (2.3)$$

で与えられる。レーヴェンフックなどの単式顕微鏡(図3.3)には、このfを1mm程度に小さくしたものが、高倍率が得られるが、目とレンズとの距離が短すぎて観察には困難がともなった。

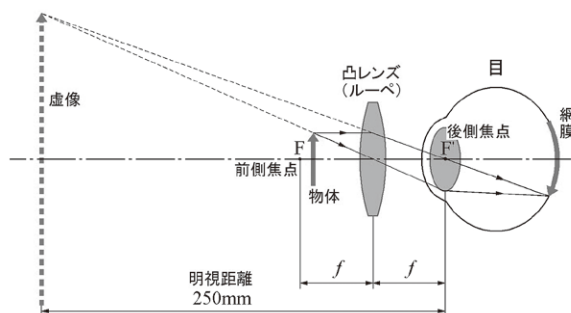


図 2.20 凸レンズと虚像¹⁾

2.3 顕微鏡による拡大像

通常の光学顕微鏡(複式顕微鏡)は、二つの凸レンズ系から成り立っている。その一つは、標本に近接する対物レンズ(objective)で、他の一つは目に近接する接眼レンズ(eyepieceまたはocular)である。図2.21に示すように、対物レンズの前側焦点 F_o のわずかに外側に物体ABを置くと、対物レンズによって拡大された倒立の実像A'B'(一次像と呼ばれる)が作られる。この像の位置を接眼レンズの前側焦点 F_e のわずかに内側にもってくる(ピントを合わせる)と、明

視距離にA'B'の拡大された虚像A''B''を観察することができる。

顕微鏡の観察総合倍率 M_T は、

$$M_T = \text{対物レンズの倍率 } M_o \times \text{接眼レンズの倍率 } M_e \quad (2.4)$$

で表される。観察している物体面上の大きさ(直径: mm)は、

$$\text{実視野} = \text{接眼レンズの視野数 } FN / \text{対物レンズの倍率 } M_o \quad (2.5)$$

で表される。ここに接眼レンズの視野数(FN: field number)は視野絞りの直径(mm)で決まる値で、通常接眼レンズ本体に表示されている。

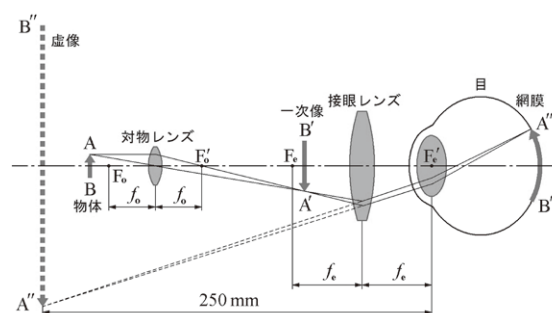


図 2.21 顕微鏡の基本的な光学系¹⁾

2.4 機械筒長と同焦点距離

多くの顕微鏡では、倍率の変換がしやすいように数種の倍率の対物レンズがレボルバに取り付けられている。この場合、対物レンズのレボルバ取り付け面(胴付)から接眼レンズの取り付け面(胴付)及び標本面までの距離は、対物レンズを転換しても常にピントが合うよう一定の値になっている。前者を機械筒長(mechanical tube length)、後者を同焦点距離(parfocalizing distance)と呼ぶ。機械筒長は有限(160mmなど)のものと無限遠のものに区別される(図2.22)。機械筒長が無限遠のものは、対物レンズから出た光線は平行(すなわち像の位置が無限遠)であり、結像レンズによって一次像を結ぶ。この平行光線部分にさまざまな光学素子(フィルタ、アナライザ、ミラーなど)を挿脱しても、像のずれや劣化は起こらない(図2.23)。金属顕微鏡では早くから採用されていたが、生物顕微鏡でもさまざまな観察法の組み合わせによるシステムの拡張性が重要視されるようになるにつれ、高級顕微鏡では機械筒長無限遠のものが主流となってきている。なお機械筒長無限遠の対物レンズの倍率 $M_{o\infty}$ は、対物レンズの焦点距離を f_o 、結像

レンズの焦点距離を f_t としたとき、

$$M_{\infty} = f_t / f_o \quad (2.6)$$

で与えられる。結像レンズの焦点距離はメーカーにより異なっている（例えばオリンパス 180 mm、ニコン 200 mm など：表 7.1 参照）。同焦点距離は、国内の主要メーカーでは 45 mm または 60 mm を採用しており（ISO 9345-2、JIS B 7132-2）、工業用対物レンズでは 95 mm のものもある。対物レンズの先端から試料面（カバーガラスがある場合はその上面）までの距離を作動距離（WD：working distance）といい、一般に倍率が高くなると作動距離は小さくなるが、高倍でも作動距離を長くし作業しやすくした対物レンズも市販されている。

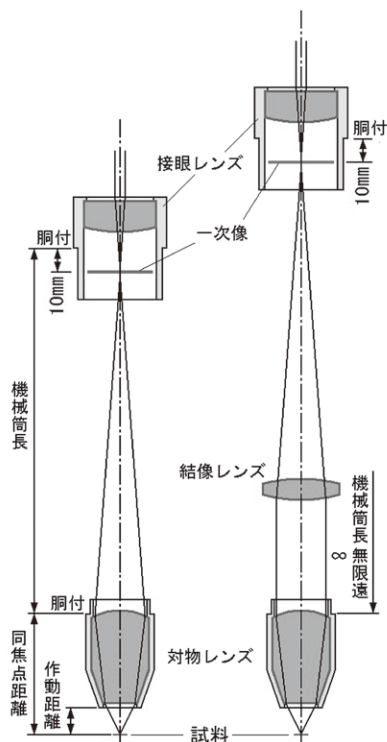


図 2.22 機械筒長有限補正（左）と無限遠補正（右）¹⁾

対物レンズのレボルバ取り付けねじの種類を表 2.1 に示す。この中で RMS (Royal Microscopical Society: 英国王立顕微鏡協会) ねじと呼ばれるものが古くから対物ねじの標準として用いられてきた。このため、ほかのメーカーの対物レンズでもこの規格であればレボ

ルバに取り付けることができるが、同焦点距離や結像レンズ、接眼レンズなどが異なり正しい倍率や性能が出ないことがあるため注意が必要である。また最近では性能の向上や用途の広がりにとともに、M25、M27、M32 など新たな規格のものが普及してきている。

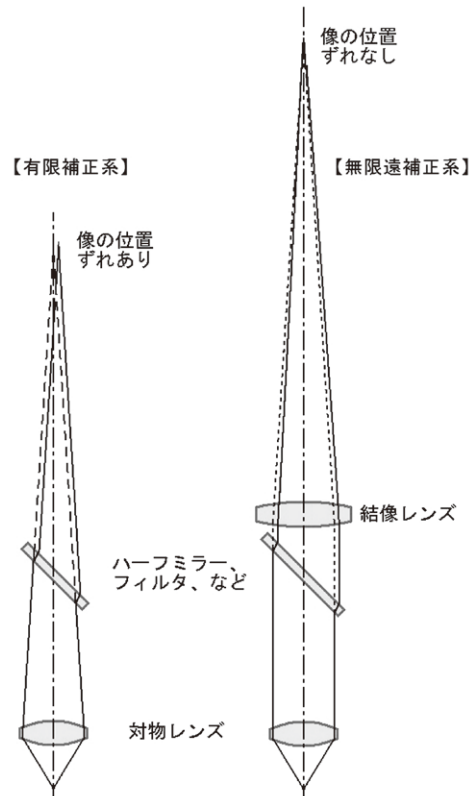


図 2.23 機械筒長無限遠のメリット¹⁾

2.5 分解能と開口数

顕微鏡は物体を拡大して観察する装置なので、その性能を表す数値として倍率はもちろん大切であるが、物体の細部をきちんと識別できることの方がより重要である。この能力のことを分解能(resolving power)といい、微小に接近している 2 点を識別できる最小の距離で表される。この最小距離(解像限界)を δ とすると、

$$\delta = k\lambda / NA \quad (2.7)$$

表 2.1 対物ねじの種類

ねじの呼び		呼び径	ピッチ	備考
ウィットねじ	RMS	20.32 mm	0.706 mm	一般用
	W26	26 mm	0.706 mm	工業用、反射暗視野用
メートルねじ	M25	25 mm	0.75 mm	一般用
	M27	27 mm	0.75 mm	一般用、反射暗視野用
	M32	32 mm	0.75 mm	反射暗視野用

(ISO 8038、JIS B 7141 より)

で表される。ここに k は係数で条件により異なるが、一般に 0.61 または 0.5 の値が使われる (アッペは $k = 0.5$ でこの式を導いた)。 λ は使用する光の波長で、通常の可視光では $0.55\mu\text{m}$ (最も目の感度が高い緑色の波長) である。また NA は開口数 (numerical aperture) で対物レンズの性能を決める上で最も重要な数値で、

$$NA = n \sin \theta \quad (2.8)$$

で与えられる。ここに n は物体側空間の媒質の屈折率、 θ は開口角といい軸上の 1 点から出て対物レンズに入る光のうち一番外側になる角度である (図 2.24)。この式から、対物レンズの開口数が大きいほど分解能が高い (δ が小さい) ことがわかる。乾燥対物レンズの場合、媒質は空気では $n = 1$ であるから、 NA は 1 を超えることはなく、実際には 0.95 ($\theta = 72^\circ$) が最大である。また対物レンズと試料 (カバーガラス) との間を液体で浸す液浸対物レンズの場合、最も一般的な均質油浸液 (カバーガラス、対物先端レンズとほぼ同じ屈折率を有するオイル) では $n = 1.52$ なので最大 NA は 1.45 程度、水浸では $n = 1.33$ なので最大 NA は 1.25 程度となる。開口数が 1.45 の油浸対物レンズを使用して可視光観察を行う場合、分解能は 2.7 式から ($k = 0.5$ とした場合)、 $\delta = 0.19\mu\text{m}$ となり、これが通常の光学顕微鏡の最小分解能ということになる。ただし前述のとおり、これはあくまでも 2 点分解能の値であり、微小物体の存在や動きに関してはこれよりはるかに小さい値のものが検出可能である (5.2 5.7 参照)。また高集積度 LSI 検査用として、遠紫外光 (波長が可視光の半分程度) により分解能を大幅に向上させた対物レンズも製品化されてきている (7.4.5 (7) 参照)。分解能は倍率とは直接関係ないので、拡大倍率だけを大きくしても分解能を超える微細構造は識別できない。適正な拡大倍率は対物レンズの開口数によって決まり、観察の場合は総合倍率で $500NA$ から $1000NA$ の間とされている。この上限を超えて拡大することは、無効倍率 (empty magnification) と呼ばれる。

顕微鏡で試料を観察した場合、試料の厚さ方向にピ

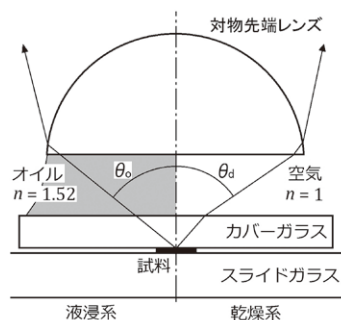


図 2.24 開口数の説明図¹⁾

ントが合う一定の範囲があり、これを (物体側の) 焦点深度 (depth of focus: DOF) と呼び、次の式 (ベレークの式)^{6) 7)} が代表的なものである。

$$DOF = n \cdot \left(\frac{\lambda}{2 \times NA^2} + \frac{250000 \times \omega}{M \times NA} \right) \quad (\mu\text{m}) \quad (2.9)$$

n : 標本と対物レンズとの間の媒質の屈折率

M : 総合倍率 ω : 目の分解能 (2分 = 0.00058)

この式の第 1 項は分解能から決まる深度で、第 2 項は観察者の目の分解能から決まる深度で個人差がある。また顕微鏡の像の明るさ I は、光源の明るさに加え、開口数や総合倍率によって決まる。

$$I = I_0 \times (NA/M_T)^2 \quad (2.10)$$

I : 像の明るさ I_0 : 試料面の明るさ M_T : 総合倍率

2.6 顕微鏡光学系の構成

顕微鏡光学系は基本的に結像系 (対物レンズ、結像レンズなど)、観察・記録系 (接眼レンズ・投影レンズなど)、及び照明系 (コレクタレンズ、コンデンサレンズなど) から成る。図 2.25 に代表的な光学顕微鏡 (正立生物顕微鏡) の光路図を示す。

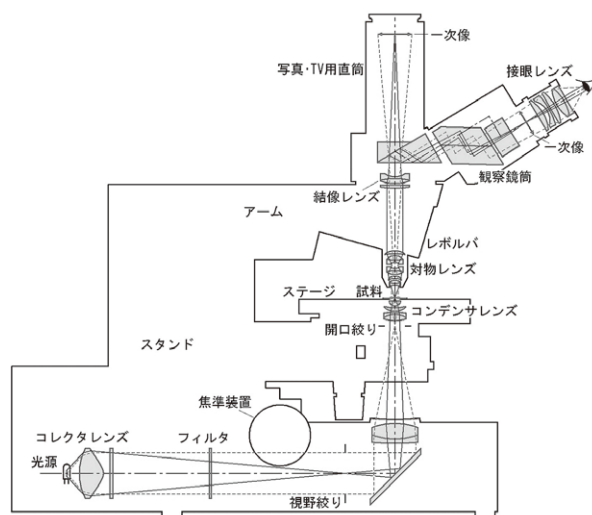


図 2.25 正立生物顕微鏡の光路図 (オリンパス BX50: 図 4.47)¹⁾

2.6.1 対物レンズ

先に述べたように、対物レンズは顕微鏡の性能を決定づける最も重要な部分であり、大手の顕微鏡メーカーでは百数十種類もの対物レンズをラインアップしているが、それらを大別すると性能、用途、倍率によって分類される。このうち性能は主に収差 (レンズによる結像の理想像からのずれ) の補正の程度により

分類される。

- 1) アクロマート achromat：二つの波長（例：赤及び青）に対し色収差を補正。
- 2) アポクロマート apochromat：三つの波長（例：赤、青及び緑）に対し色収差を補正。
- 3) セミアポクロマート（フルオリート fluorite）：アクロマートとアポクロマートの中間レベルの補正。
- 4) プラン plan：視野中心と周辺までが同時にピントが合うように像面湾曲や非点収差を補正。

したがって、最も標準的な対物レンズはアクロマート、最高級対物レンズはプランアポクロマートになる。それぞれのレンズ構成の違い等については、7.4で多くの事例を示して説明する。

次に用途による分類であるが、まず生物用と工業用（金属用）に分けられる。生物用はカバーガラスの厚さ（通常 0.17 mm、培養用は 1 mm 前後）を考慮した設計になっているが、工業用はカバーガラスを考慮しない（厚さ 0 mm）。ただし、生物用対物レンズにもノーカバー（血液塗抹標本用など）が、また工業用対物レンズにもカバーガラス対応（液晶パネル検査用など）のものがある。また機械筒長が有限の場合、工業用対物レンズでは、反射照明系が結像光路に配置される分だけ生物用に比べ機械筒長が長くなるため互換性がないが、両者とも無限遠補正に統一されていればこの問題はなくなる。

さらに観察法の種類によってもそれぞれの専用対物レンズがある（5、6章参照）。位相板を内蔵した位相差用対物レンズ、光学ひずみを除去した偏光用・微分干渉用対物レンズ、近紫外域の透過率が高くかつ自家蛍光の少ないガラス材料で構成された落射蛍光用対物レンズなどである。しかし、最近になってこうした観察法が複合して使われることが多くなると、全ての観察法に適合できる対物レンズシリーズが要望されるようになってきた。こうした設計条件を全て満足し、それぞれの観察法でも優れた性能を発揮する、いわゆるユニバーサル対物レンズの開発は決して容易ではないが、設計・製造技術の進歩、新しい光学ガラスの開発、コーティング技術の向上などにより、大手メーカー各社で実現されるようになってきた。

このほか、対物レンズには以下の機能を有するものも市販されている。

- 1) 補正環付き対物レンズ：カバーガラス付きの標本を観察する場合、特に高倍率・高開口数の乾燥対物レンズは、カバーガラス厚が設計値からずれていると性能が劣化するため、補正環（correction collar）により内部のレンズを光軸方向に移動させて補正す

る機構を有している。

- 2) 開口絞り付き対物レンズ：高開口数の液浸対物レンズで暗視野観察を行う場合、暗視野照明光が対物レンズ内に入りコントラストを著しく劣化させるため、開口絞り機構を対物レンズ内に組み込んだものである。
- 3) 反射暗視野用対物レンズ：工業用顕微鏡における暗視野観察用の対物レンズで、レンズの外周に反射照明用の光路があり、試料側付近でミラーやレンズによって試料を暗視野照明する構成になっている（6.4.1 及び図 6.38 参照）。
- 4) 長作動距離対物レンズ：対物レンズは一般に倍率や開口数が大きくなるほど作動距離が小さくなる。このため工業用顕微鏡や培養顕微鏡などでは、作動距離を特に大きく設計した対物レンズが用意されている。
- 5) 赤外対物レンズ：波長が 780 nm～2000 nm の近赤外域において高い透過率や像性能を有するもので、赤外用カメラを使って画像を表示する。半導体の検査やレーザーリペアなどに有用である。
- 6) 紫外対物レンズ：波長が 240 nm～380 nm の近紫外域において高い透過率や像性能を有するもので、紫外用カメラを使って画像を表示する。

対物レンズの倍率は、ISO や JIS に規定された値をベースに設定されている（ISO 8039、JIS B 7254）。極低倍（1× や 2.5× など）から超高倍（150× や 250× など）があるが、通常は 4×（5×）、10×、20×、40×（50×）、60×、100× の組み合わせが一般的である。また 16×、32×、63× などの倍率をもつ対物レンズがあるが、これらは標準数 R10（10 の 10 乗根：ISO 3）をベースにした数列に基づいている。対物レンズの表示は、ISO 8578、JIS B 7252 に規定されており、製造業社名、種別、倍率、開口数、用途、機械筒長、カバーガラス厚、対物視野数などのほか、倍率や浸液を表すカラーリングが付けられている。図 2.26 及び表 2.2、2.3 にこれらの表示をまとめた。

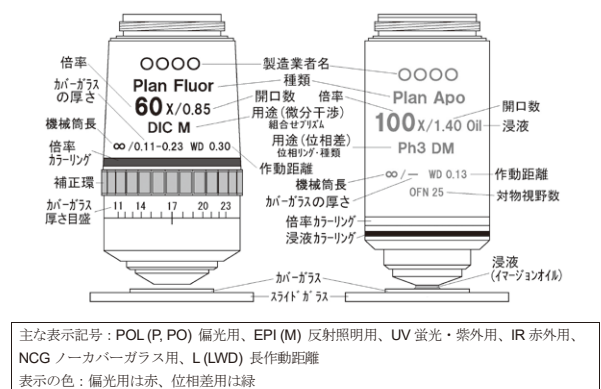


図 2.26 対物レンズの表示例¹⁾

表 2.2 対物レンズの倍率カラーリング

倍率値	1/1.25	1.6/2	2.5/3.2	4/5	6.3/8	10/12.5	16/20	25/32	40/50	60/63/80	≥100
カラーリング	黒	灰色	茶色	赤	オレンジ	黄	明るい緑	緑	明るい青	暗い青	白

表 2.3 対物レンズの液浸媒質カラーリング

媒質	空気	オイル*	水	グリセリン	その他
カラーリング	無印	黒	白	オレンジ	赤

* ISO 8038、JIS K 2400 に規定する液浸油を示す

2.6.2 結像レンズ (チューブレンズ)

2.4 で述べた無限遠補正対物レンズでは、結像レンズと組み合わせて像を作る。対物レンズと結像レンズの間は平行光束 (図 2.22) であるため、その間の距離を変えても一次像の位置や倍率は変化しないが、一定の距離を超えると像の周辺が暗くなる。また周辺の像性能が劣化しないためには、結像レンズ単独でも周辺像の収差がよく補正されている必要がある (図 2.25、図 6.37 参照)。

2.6.3 接眼レンズ

接眼レンズは、結像系で作られた実像を眼で観察するために、さらに拡大された虚像にする役割もっている。倍率はおおよそ 8~15 倍の範囲であるが、5 倍や 20 倍、30 倍といったものもある。また観察できる視野の範囲を表す視野数 (FN) も接眼レンズによってまちまちだが、標準的な 10 倍の場合、18 以上で広視野、23 以上で超広視野と呼んでいる。接眼レンズの鏡筒スリーブ挿入部の外径は、23.2 mm 及び 30 mm が標準寸法として規定されている (ISO 10937、JIS B 7143)。観察するときの眼の位置 (アイポイント) が接眼レンズの端面より離れていると、眼鏡を掛けたままでも観察できるため特にハイアイポイントと呼ばれる。また、観察者の両眼の視度の違いを補正するため、視度調整機構が付いた接眼レンズもある。このほか、視野絞りの位置にマイクロメータなどの目盛りを刻んだ焦点板 (graticule: 図 2.27) を内蔵したもの (あるいは着脱可能なもの) も市販されている。図 2.28 は接眼レンズの外観を表したもので、各記号は規格 (ISO 8578、JIS B 7252) で定められている。接眼レンズのレンズタイプについては、7.5 で説明する。

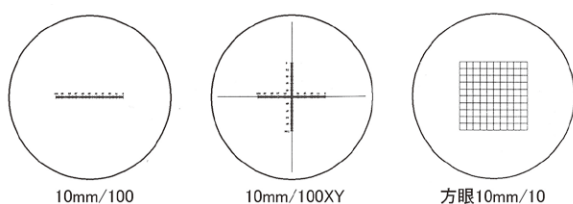


図 2.27 各種焦点板 (マイクロメータ) の例¹⁾

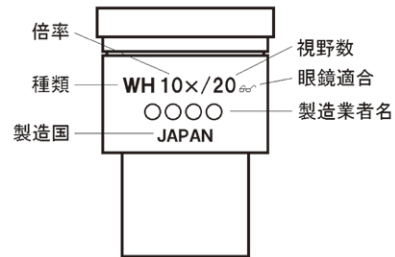


図 2.28 接眼レンズの表示例¹⁾

2.6.4 写真用投影レンズ

対物レンズの像を、写真フィルムや CCD 等の撮像デバイスに実像投影するためのレンズで、三眼鏡筒の直筒部分に装着される。35 mm フィルムによる写真撮影の場合は、2.5 倍~5 倍程度の投影倍率が一般的であるが、最近のようにデジタルカメラが普及すると、撮像デバイスのサイズが小さいため投影倍率も 1 倍以下のものが多く使われるようになった。観察視野と写真フィルム、撮像デバイスの撮影範囲の関係を図 2.29 に示す。

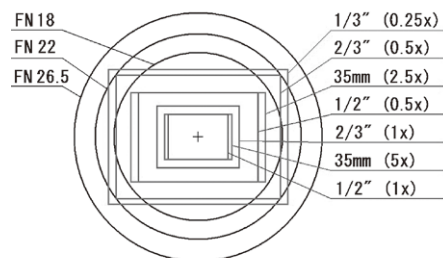


図 2.29 観察視野と撮影範囲¹⁾

() 内は投影レンズの倍率

2.6.5 鏡筒光学系

観察鏡筒 (viewing tube) には接眼レンズや投影レンズの取り付けられる数によって、単眼、双眼、三眼などがある。単眼鏡筒には、光軸が真っすぐの直筒式と、プリズムやミラーで観察しやすい角度に傾けた傾斜式 (図 2.30 a) の種類がある。また双眼鏡筒では光路を左右の接眼レンズ光軸に分割するが、その方法によって、イエンチュ (Jentsch: 図 2.30 b) 式とジーデントップ (Siedentopf: 図 2.30 c) 式とが

ある。前者の場合、眼幅を調整すると中間像位置が前後に移動するため、自動的にそれを補正する機構が付いているものもある。三眼鏡筒（図 2.25 の鏡筒部）は傾斜式双眼鏡筒に直筒を追加したもので、直筒部分に写真装置などを取り付ける。観察側と鏡筒側の光路分割比は、一般にプリズムの移動によって切り換えられるようになっている。このほか、双眼観察部の傾斜角が可変になったもの（図 2.30 d）や、複数の人が同時に観察できるディスカッション鏡筒（図 2.30 e：5 人用の中間鏡筒）などさまざまな種類の鏡筒が市販されている。

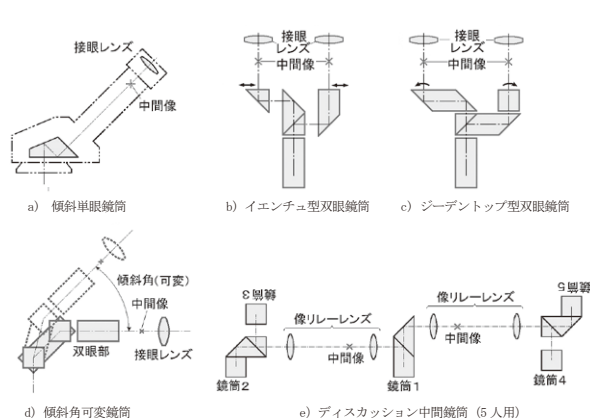


図 2.30 各種鏡筒の構成例¹⁾

2.6.6 照明光学系

標本の微小部分を拡大して観察する顕微鏡では、明るさを確保するための照明が不可欠である。最もシンプルな照明装置は、反射ミラーで（図 4.5~14 の顕微鏡はこのタイプである）、光源は北側の窓やくもりガラスの窓などからの自然光（直射日光は避けること）、あるいは電気スタンドなどの人工光源を利用する。反射ミラーは表裏が平面と凹面になっているものが多く、倍率の低い観察の場合は平面側を、高い観察の場合は凹面側を使う。さらに標本面に光を集めるためにはコンデンサレンズ（condenser lens：集光器）を使う。

一方、本格的に観察する場合には、人工光源による専用の照明装置を使う必要がある。この場合、照明系に求められる要件として、白色で十分な明るさがあること、観察範囲全体が均一に照明されること、対物レンズの最大 NA を満たしていること、が挙げられる。通常的光源（タングステンランプ、ハロゲンランプ等）はフィラメント構造になっているため、直接光源の像を標本面に作ると照明ムラが目立ってしまい、特に倍率の低い観察や写真には不向きである。こうした問題を解決し前記要件を全て満たす照明方法が、ケー

ラー（図 3.8）の発明によるケーラー照明法である。これは、図 2.31 に示すように、光源の像をコンデンサレンズの前側焦点位置に作るもので、標本に対して光源像は無限遠にあることになるので照明ムラは生じない。ケーラー照明では、光源像位置に開口絞り（明るさ絞り）を、また標本面と共役（物体と像の関係にあること）な位置に視野絞りを置くことができ、これらを調節することにより最適なコントラストが得られる。このため、ほとんどの高級顕微鏡はケーラー照明法を採用している。

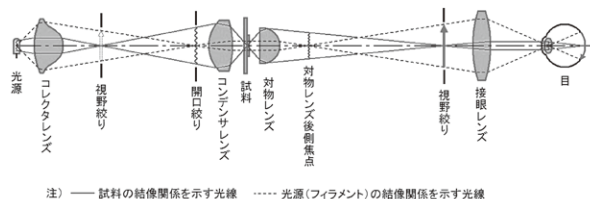


図 2.31 ケーラー照明法の構成¹⁾

光源には、高輝度で色温度（光源の光の色度）も高いハロゲンランプが多く使われるようになっている。しかし、完全な白色光を得るためにはカラーバランス（色温度転換）フィルタを使わなければならない。また色温度はランプの電源電圧によっても変わるので、色温度調整後に明るさを変えたい場合は、ニュートラル（ND）フィルタを用いて色温度を保ちつつ明るさを変化させる。

2.6.7 コンデンサレンズ

コンデンサレンズは、照明光を有効に標本面に集光するための装置であるが、目的によって数多くの種類がある（図 2.32）。通常のコンデンサはアッベ（Abbe）型と呼ばれる 2 枚レンズ構成のものが広く使われている。しかし高級対物レンズの性能を十分に発揮させるためには、照明系といえども球面収差や色収差を十分に補正したコンデンサレンズ（アクロマートアプラナートコンデンサ：AAC）を使うことが薦められる。また光学の理論から、低倍率のときの実視野と、高倍率の開口数とを一つのコンデンサレンズで満足させることは難しいので、対物レンズを低倍・高倍に切り換えたときに、コンデンサの先玉レンズを光路に出し入れするスイングアウトコンデンサも多く使われる。このほか、次章で述べるさまざまな観察法（暗視野観察、位相差観察、偏光観察、微分干渉観察、変調コントラスト観察など：5 章参照）のそれぞれに専用のコンデンサが用意されており、さらにこれら全ての観察が一つで対応できるユニバーサルコンデンサもある。

レンズ 構成			
名 称	アッペコンデンサ	アクロマートアプラナートコンデンサ	スイングアウトコンデンサ
開口数	1.25	1.4	0.9 (先玉 in)
対物レンズ 適用倍率	4×～100×	10×～100×	2×～4× (先玉 out) 10×～100× (先玉 in)

図 2.32 各種コンデンサレンズの例¹⁾

2.7 顕微鏡の種類と構造

顕微鏡はその構造型式により、試料の上方から観察する正立型顕微鏡と下方から観察する倒立型顕微鏡に分類される。また生物標本などの試料を透過してきた照明光で観察する生物顕微鏡と、金属など不透明な試料に照明光を当て反射してきた光で観察する工業用顕微鏡（金属顕微鏡ともいう）にも分類される。このほか、試料を立体的に観察できる双眼実体顕微鏡などもある。それぞれの特徴を以下に説明する。

2.7.1 正立型顕微鏡 upright microscope

顕微鏡は長い歴史の中で、医学・生物学・産業をはじめとした科学の発達にともない、さまざまな形で進歩し、数多くの種類のもが開発されてきた。その中で現在最も多く使われているのが、正立型顕微鏡である。これは図 2.25 に示したように、対物レンズが標本の上にあるタイプで、照明法によりさらに透過型と反射型（落射型）とに分類される。医学・生物分野では透過型正立顕微鏡が最も一般的であるが、透過照明と落射蛍光照明を両方内蔵した研究用の正立顕微鏡もある。一方、半導体や材料などの工業品検査には、鏡基と鏡筒の間に反射照明系が組み込まれた反射型正立顕微鏡が用いられる。

2.7.2 倒立型顕微鏡 inverted microscope

正立型顕微鏡に対し、標本を下側から観察する構造のものを倒立型顕微鏡という（6.1 及び 6.4 参照）。対物レンズはステージの下にあり、正立型顕微鏡と同じ観察姿勢となるように、光軸は途中で斜め上方に折り曲げられて接眼レンズに至る。光路が長くなるため、対物レンズの一次像を接眼レンズまでリレーする光学系が内蔵されている場合もある。倒立型顕微鏡も照明法により、透過型と反射型（落射型）とに分類される。医学・生物分野では、主に培養細胞検査に透過倒立型顕微鏡が用いられることが多く、簡易型の場合は培養顕微鏡とも呼ばれる。これは培養容器（シャー

レ）を底から観察する必要があるため、透過照明系はステージ上に配置され、作動距離の長いコンデンサが組み合わされる。また容器の厚さは、通常のカバーガラスと比べかなり厚いため、培養用の対物レンズもこれに対応した設計となっており、作動距離も長くなっている。またステージは固定式で、焦点合わせは対物レンズを上下して行う。このことはマイクロマニピュレータで細胞操作を行う場合などには、どうしても必要なことである。倒立型生物顕微鏡は、生きた標本を観察するのに便利なため、最近では最先端のバイオ研究にも盛んに使われるようになってきている。一方、工業分野における倒立型顕微鏡は、主に金属材料の研究・検査に用いられている。研磨された金属表面を下向きにしてステージに置くだけで、観察面の水平だしができることや、大きく重い標本でも固定されたステージに載せることができるためである。

2.7.3 双眼実体顕微鏡 stereomicroscope

物体を立体的に見るためには、左右の眼によるパララックス（視差）が必要である。双眼実体顕微鏡は、標本を異なる方向から観察するための二つの光路をもつことによって立体像を作る、低倍率・広視野・長作動距離の顕微鏡である（6.2 参照）。鏡筒内の正立プリズムにより観察像は正立となっている。主に精密・電子工業における組み立て・検査の作業や、医学・生物学における解剖・細胞操作などに用いられている。脳外科や眼科などで使われる手術用顕微鏡も、顕微鏡本体部分は実体顕微鏡である。

双眼実体顕微鏡は、一定の内角（12°程度）をもった二つの光軸上に左右2対の光学系を配置した内斜型（図 2.33 a、グリノー Greenough 型ともいう）と、一つの対物レンズにより作られた互いに平行な二つの光軸上に左右2対の光学系を配置した平行光路型（図 2.33 b、単対物型ともいう）の2種類に分類できる。前者はコンパクトな構成で操作も容易なため広く使われている。また後者は、システムの拡張が容易にできる利点があり、高級実体顕微鏡に多く採用されて

いる。倍率の変換はズーム方式によるものが一般的となっているが、対物レンズやコンバージョンレンズの切り換えでも行われる。一般の顕微鏡に比べると、同じ倍率でも開口数が小さいため解像力は劣るが、物体側の焦点深度は深いので作業にはこの方が向いている。実体顕微鏡では、蛍光灯やライトガイドを使った簡易的な照明が多く使われているが、高級実体顕微鏡では透過照明装置や、暗視野照明装置、同軸照明装置なども用意されている。

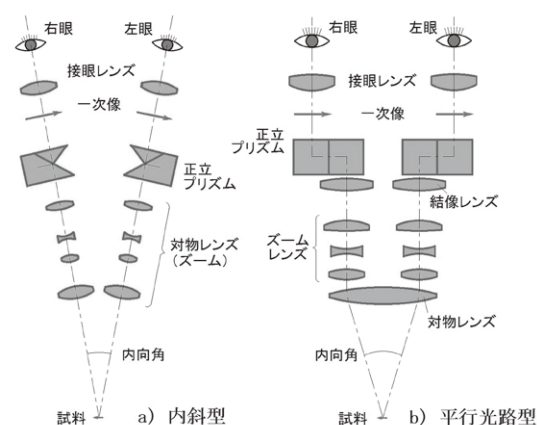


図 2.33 双眼実体顕微鏡の光学系構成¹⁾

2.8 顕微鏡の構成装置

顕微鏡は、物体を拡大観察するための対物レンズと接眼レンズのほか、試料を照明するための光源やコンデンサレンズなどの光学系と、それを支える機械系から構成される。図 2.34 に正立生物顕微鏡の各部の名称を示す。

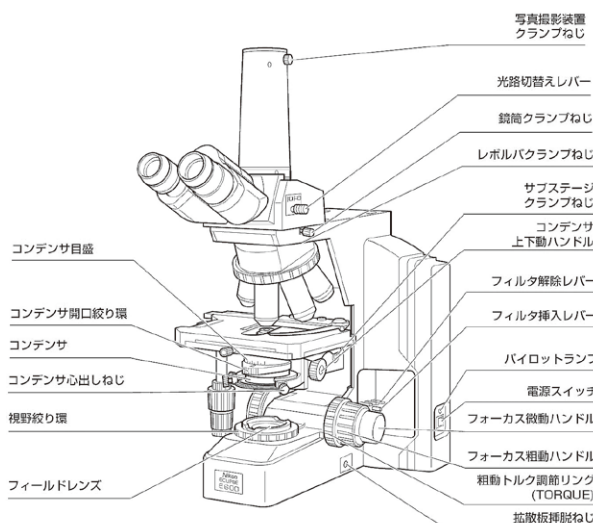
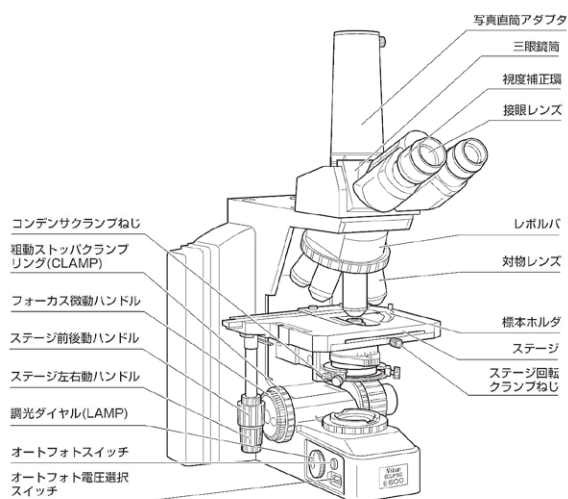


図 2.34 顕微鏡各部の名称 (ニコン E600 : 図 4.50)⁸⁾

以下、顕微鏡の機械的装置につきそれぞれ説明する。

(1) スタンド (鏡基 : base)

顕微鏡の本体部分であるスタンドは、最下部で鏡基全体を支えるベース部 (鏡台) と光学系各部を支えるアーム部 (鏡柱) から成っている。ベース部は顕微鏡全体の安定性を確保する形状、大きさ、重さをもっている。小型の顕微鏡では U 字型のものが多くあるが、最近の照明系を内蔵した顕微鏡では四角い台型や T 字型・Y 字型のものが一般的となっている。アーム部は鏡筒やカメラ装置などを上部に載せ、ステージを支えるため特に頑丈に作られている。また焦準装置もアーム部に組み込まれている。

(2) ステージ (stage)

標本を保持し、正確にスムーズに移動させる装置である。鏡基に固定されたステージ固定型と、焦準装置によって上下に移動するステージ上下可動型とがある。また標本を 2 つのクリップで固定し、移動は手で行うプレーンステージ (図 2.35 a) と、ハンドルにより標本を前後左右に移動するメカニカルステージ (図 2.35 b) がある。このほか 360° 回転可能な回転ステージ (図 2.35 c) があり、偏光顕微鏡などで使われている。また、工業用では大型ウェハや液晶パネルを検査するための大型ステージ (図 2.35 d) も用意されている。

(3) 焦準装置 (focusing)

標本にピントを合わせるための装置で、低倍率で観察するとき使用する粗動ハンドルと、高倍率で観察するとき使用する微動ハンドルがあり、高級顕微鏡ではこれらが共軸になっている (図 2.36)。

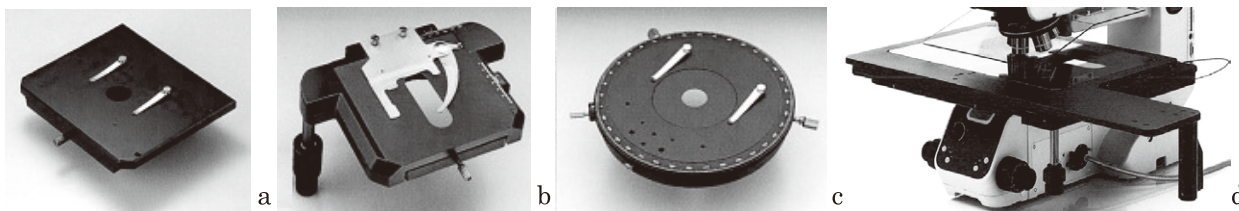


図 2.35 各種ステージの例⁹⁾

a) プレーンステージ b) メカニカルステージ c) 回転ステージ d) 大型ステージ

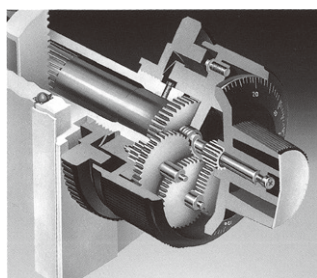


図 2.36 共軸粗微動装置⁹⁾

(4) 鏡筒 (tube)

アームの上端部に組み付け、その上部に接眼レンズ、下部にレボルバを介して対物レンズを取り付ける装置である。旧型の顕微鏡ではピント合わせ時に対物・接眼レンズと共に鏡筒がラックピニオン式で上下移動する機構となっている。一方、最近の多くの顕微鏡は鏡筒がアームにクランプされた固定式（回転は可能）となっている。鏡筒の種類については 2.6.5 でも述べたので説明は省略する。

(5) レボルバ (revolving nosepiece)

倍率や種類の異なる対物レンズを回転交換する装置で、2~7個の対物レンズが取り付けられる（図 2.37）。対物レンズを素早くスムーズに切り換えられ、かつ視野中心の標本の位置やピントのずれが小さくなるよう、精密に加工されている。



図 2.37 レボルバ (7穴)⁹⁾

2.9 顕微鏡の周辺装置 accessories

高級顕微鏡には各種アクセサリ類が用意されており、観察、記録、計測などさまざまな目的に適應できるシステム性を備えている。ここではその代表的な装置につき簡単に紹介する。

2.9.1 写真装置

顕微鏡画像の記録として写真の重要性は言うまでもないが、かつての銀塩フィルムによる顕微鏡写真ではさまざまな撮影の技術・ノウハウが必要とされてきた。このためエレクトロニクス技術の発展を背景として、顕微鏡写真撮影装置の改良が各メーカーで図られ、以下のような操作は自動化されている。図 2.38 はそうした自動写真装置の例である。

- ① フィルムの装填・巻き上げ・巻き戻し
- ② フィルムの特性のセット (= DX コード読取)
- ③ 色温度調整 (= 電源電圧のセット)
- ④ 照明系切換え (視野絞り・開口絞り調整)
- ⑤ ピント合わせ (オートフォーカス)
- ⑥ 測光 (移動スポット測光、二次元測光)
- ⑦ 露出 (相反則不軌補正、オートブラケット)

また、複数のカメラが装着できたり、フレーミングが容易なズーム変倍やスケール・データの写し込みなどの機能を用意したものもある。このように装置の改良により、言い換えるならば撮影者は標本の場所と撮影倍率を決めるだけで、良好な顕微鏡写真が比較的容易に撮れるようになった。しかし最近のようにデジタル



図 2.38 自動露出写真装置⁹⁾

画像記録が一般的に普及すると、こうした装置も使われなくなりつつある。

2.9.2 カメラ装置

古くは顕微鏡標本の動的な挙動を記録する方法として16 mm シネ装置による映画撮影が行われていた時代もあったが、苦勞の割に失敗も多く、ビデオの出現と共に姿を消してしまった。ビデオ装置は、その簡便な操作性に加え、高画質化・高感度化の技術的進歩も著しく、顕微鏡画像の記録手段として急速に普及した。特に3-CCD カラービデオカメラやハイビジョン HDTV カメラ、高画素デジタルカメラ等による顕微鏡画像は、パソコンによる解析・処理・保存の容易性からシステム上必要不可欠のユニットとなってきている。

2.9.3 計測装置

標本の中の組織や細胞の寸法を計測する場合、大きなサイズであれば簡易的にXY ステージのパーニアを使って読み取ることができるが、ある程度精密に計測するには、焦点板(図 2.27)を組み込んだ接眼レンズを使う。さらに測定精度を上げるには、測微接眼レンズ(図 2.39)も用意されている。使用する対物レンズによっては、倍率の誤差や歪曲収差など、測定誤差要因が含まれていることもあるので、対物マイクロメータで正確な寸法を校正しておく必要がある。測定顕微鏡では多くの計測用アクセサリが用意されているが、ここではその説明は省略する。



図 2.39 測微接眼レンズ⁹⁾

2.9.4 顕微測光装置

顕微測光法 microphotometry は、細胞が発する蛍光や透過率を測定することにより、DNA・RNA・タンパクの定量、Ca²⁺等のイオン濃度などの測光解析に用いられる。かつては、顕微測光装置は大型の専用機であったが、現在は通常の顕微鏡に組み込み可能な

モジュールとなっている。その構成は、高感度フォトマルチプライヤとそのコントローラ、微小測光部位を限定する数種類のピンホールを内蔵した測光ユニット、測光部位を視野内で確認する測光鏡筒(または測光ファインダ)から成っている(図 2.40)。また Ca²⁺濃度測定用として高速励起切り換えユニットやダイクロイックミラーユニット等もある。さらに分光測光のためのモノクロメータ、二次元分布測光のためのオートスキニングユニットが組み合わせできるものも用意されている。測定データは、コンピュータにより各種統計処理、画像処理、経時変化解析などが行われ、モニタに表示される。

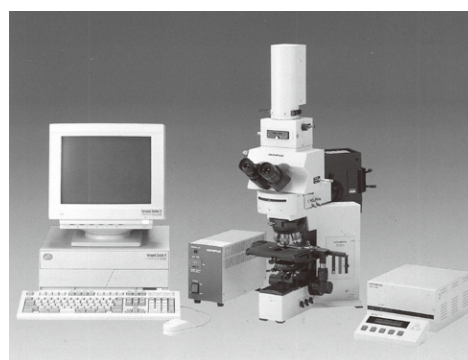


図 2.40 顕微測光装置⁹⁾

引用

- 1) 長野主税：光学を中心とした顕微鏡の基礎 日本顕微鏡工業会ホームページ
<http://www.microscope.jp/knowledge/index.html> (2016.12.20), 日本顕微鏡工業会提供
- 2) 長野主税：最新光学技術ハンドブック IV 光学機器 1.2 光学顕微鏡, 朝倉書店, pp.685-704, 2002
- 3) 長野主税：光学顕微鏡の基礎と応用, 日本医学写真学会雑誌, Vol.34 No.2-Vol.35 No.1, 1996-1997
- 4) 上原進：光学ガラスの高屈折率化, 光学, Vol.42 No.7, pp.345-350, 2013
- 5) 偏光顕微鏡基本解説書, オリジナル光学工業株式会社, 1995
- 6) Martin L.C.: The Theory of the Microscope, Blackie London, pp.192-205, 1966
- 7) 鶴田匡夫：目視光学器械の物空間深度, 第5光の鉛筆, 新技術コミュニケーションズ, 1997, pp.365-379
- 8) ニコン, 生物顕微鏡 E600 取扱説明書
- 9) オリジナル光学工業株式会社提供

3 | 顕微鏡の発明と発展 1) 2) 3) 4) 5)

3.1 光学とレンズ

光によるさまざまな現象は、古代より哲学者の関心事であり、幾何光学の基本である反射の法則は、紀元前3世紀にギリシャのユークリッド (Euclid, BC.330?-275?) やアルキメデス (Archimedes, BC.287?-212) らが記述している。また屈折の法則も紀元2世紀にアレキサンドリアのプトレマイオス (=トラーミー Ptolemy, AD.83?-168?) も記述しているが、屈折の正しい関係式を導いたのは15世紀も後のスネル (Snell: オランダ) によってである。その後ギリシャの衰退、キリスト教の広がりにより、科学の発展はアラビアに移った。中でもイブン・アルハイサム (Ibn al-Haytham: ラテン名 アルハーゼン Alhazen, 965-1040) は、11世紀初めに発表した主著「光学」で光線の反射・屈折の現象をさらに詳しく記述し、凸レンズによる拡大鏡などについても言及している。この著書はラテン語に翻訳され、後の光学の発展に大きな影響を与えた。13世紀のイギリスのカトリック司祭であったベーコン (Roger Bacon, 1214-1294) もその一人で、レンズの拡大作用と老眼鏡としての有用性を示唆している。この老眼鏡が最初に作られたのは1280年代のイタリアのベニスである。その後、眼鏡は聖書を研究する修道士などを中心に徐々に普及した。北イタリアの教会に、眼鏡を掛けた枢機卿が書物を読んでいる姿と、僧がルーペ (虫眼鏡) で書見している姿が描かれたフレスコ画 (1352年) があり、これが記録に残る最初の眼鏡とルーペである。さらに15世紀前半には凹レンズを使った近視用眼鏡も登場した。こうしてヨーロッパ各地に眼鏡製造職人の集団が誕生するようになった。

3.2 顕微鏡と望遠鏡の発明

2枚の凸レンズを組み合わせた複式顕微鏡の原型を最初に作ったのは、オランダのミッデルブルフの眼鏡職人のヤンセン (Zacharias Janssen, 1580頃 - 1638頃) で、父親 (Hans Janssen) と共に1590年頃の発明とされているのが通説であるが、異論も多い。ヤンセンの顕微鏡 (図3.1) は、両凸の対物レンズと平凸の接眼レンズが真ちゅう製の筒に組み込まれたもので、総合倍率は9倍程度とされる。一方、ヤンセンの近隣の眼鏡職人であったリップルスハイ (=リパーシー: Hans Lippershey, 1570-1619) が、1608年に凸の対物

レンズと凹の接眼レンズとで構成した望遠鏡の特許を申請し、発明者とされている。これがイタリアに伝わり、翌年にはガリレオ (Galileo Galilei, 1564-1642) が自作の望遠鏡で数々の天文現象を観測し、近代科学の扉を開いたことはよく知られている。また1611年にはドイツのケプラー (Johannes Kepler, 1571-1630) が対物・接眼レンズとも凸レンズの望遠鏡の理論を「屈折光学」に発表している。

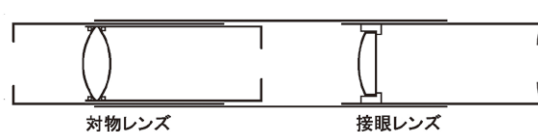


図3.1 ヤンセンの顕微鏡の構成図

(引用4を参照し作成)

顕微鏡では、ロンドン王立協会のフック (Robert Hooke, 1635-1703) が、対物レンズと接眼レンズ (ともに凸レンズ) から成る顕微鏡を自作し、生物の観察をまとめた「ミクログラフィア (Micrographia)」⁶⁾ を1665年に出版した。ノミやハエ、シラミ等の細密画も好評で、当時としては大ベストセラーになった。フックはこの中でコルクの小孔を「細胞 (cell)」と名付けている (図3.2)。またオランダのデルフトで織物商を営んでいたレーヴェンフック (Antoni van Leeuwenhoek, 1632-1723) は、独自に単レンズの顕微鏡 (図3.3) を多数作り、1670年代から80年代にかけて赤血球、水中の微生物、酵母、細菌、精子などを発見した (図3.4)⁷⁾。これらの成果を逐一ロンドンの王立協会に報告し、後に微生物学の父と呼ばれるようになった。レーヴェンフックは、微小な凸レンズを自ら磨いて改良を重ね、最大倍率は単レンズでは驚異的な275倍に、また分解能も1.4 μ mに達したとされるが、顕微鏡自体は、彼にしか使いこなせなかったと言われる。17世紀後半から18世紀にかけて、イタリアのカンパーニ (Campani)、イギリスのマーシャル (Marshall)、カルペッパー (Culpeper)、カフ (Cuff)、マーチン (Martin)、アダムス (Adams) 父子、フランスのナッシュ (Nachet) など、数多くの顕微鏡製作者が現れたが、色消し対物レンズの発明や、顕微鏡の解像理論が確立されるまでのおよそ200年間、これら複式顕微鏡はレーヴェンフックの単式顕微鏡に追いつけなかった。

3.3 対物レンズの進歩

顕微鏡は微小なものを拡大してその細部構造を観察するための道具であるが、その能力を決定づけるのは対物レンズの性能である。その改良の第一歩は、レンズのさまざまな収差、特に色収差を除去することにあった。光のスペクトルを発見したニュートン (Isaac Newton, 1643-1727) が、望遠鏡の対物レンズに光を屈折させるレンズでは色収差除去が不可能とし、反射鏡を使った反射望遠鏡を製作 (1668年) したことは有名である。レンズによる色収差の除去は、スイスのオイラー (Leonhard Euler, 1707-1783) により異なる材料の組み合わせにより可能であることが提唱され (1747年)、イギリスのドロンド (John Dollond, 1706-1761) が、1758年に分散 (波長による屈折率の違い) が小さいクラウンガラスの凸レンズと分散の大きいフリントガラスの凹レンズとの組み合わせにより色消しレンズを実現した。その後、色消しレンズは顕微鏡対物レンズにも適用されたが、望遠鏡対物レンズよりも設計・製造が困難であり、実用的な顕微鏡色消し対物レンズを完成させたのは、イギリスのリスター (Joseph J. Lister, 1786-1869) で 1830年のことである (図 7.1)。また彼は、解像力を上げるためには対物レンズの開口数を大きくする必要があることを認識していた。イタリアのアミチ (Giovanni B. Amici, 1786-1863) も物体側に半球レンズを追加することにより、さらに高倍率の対物レンズを設計した (1837年: 図 7.2)。アミチは、標本と先端レンズの間を液体で満たす (液浸という) ことによりさらに開口数を大きくし、解像力を高めた対物レンズも考案している。こうした対物レンズの性能向上により、複式顕微鏡はようやく単式顕微鏡の解像力を上回ることができるようになった。単式顕微鏡は使い勝手の悪さもあり、高倍率ルーペ (20~30倍) としての解剖顕微鏡として残るにとどまっている。19世紀はじめころからイギリスでは、ロス (Ross)、スミスとベック (Smith & Beck)、ポーエルとリーランド (Powell & Lealand)、ワトソン (Watson) らにより顕微鏡製造がさらに発展し、世界をリードしていた。1839年にリスターらが中心となって、産学協同のロンドン顕微鏡協会 (1866年より王立顕微鏡協会, Royal Microscopical Society: RMS) を設立した。

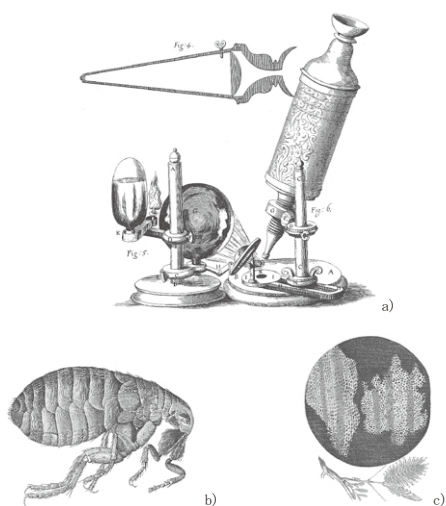


図 3.2 フックの顕微鏡: ミクログラフィア⁶⁾より
a) 顕微鏡イラスト b) ノミの図 c) コルクの図

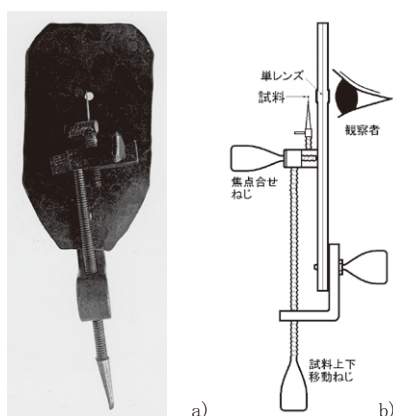


図 3.3 レーヴェンフックの単式顕微鏡
a) 外観 (日本顕微鏡工業会所有レプリカ品) b) 使用説明図
(引用 3 を参照し作成)

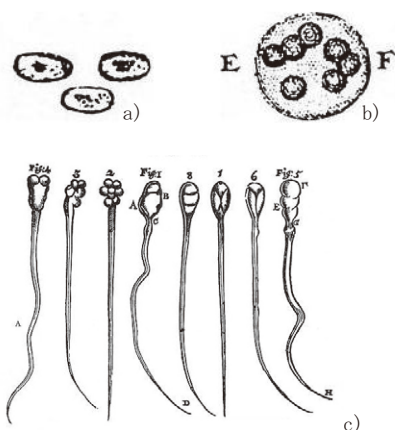


図 3.4 レーヴェンフックの観察図²⁾
a) 魚の赤血球 b) ボルボックス c) 人と犬の精子

3.4 ドイツ製顕微鏡の飛躍^{8) 9) 10) 11)}

19世紀も半ばになると、イギリス以外でも後に世界的な顕微鏡メーカーとなる企業の創設が相次いだ。アメリカでは1847年にスペンサー（Charles Spencer, 1813-1881）によって創業、光学会社（1935年にアメリカンオプティカルに改称、1990年よりライカグループ）がバッファローにて、1853年にボシュ&ロム（John J. Bausch 1830-1926 & Henry Lomb 1828-1908、によって創業、1990年よりライカグループ）がロチェスターにて設立された。一方、ドイツでは1846年にイエナ（Jena）にてツァイス（Carl Zeiss, 1816-1888：図3.5）が、1849年にウェツラー（Wetzlar）にてケルナー（Carl Kellner, 1826-1855）がそれぞれ光学工場を開設し、創業した。

このうちカールツァイス社（顕微鏡部門は現カールツァイスマイクロコピー、以下ツァイスという）は、創設以来顕微鏡の製造に実績を上げつつあったが、さらに科学的製造をめざし、若い物理学者アッベ（Ernst Abbe, 1840-1905：図3.6）に対物レンズの理論研究と開発を依頼した。アッベはこれに応え、1870年には対物レンズ設計の基本となる正弦条件を1872年には顕微鏡結像理論を発表し（2.5参照）、さまざまな測定法や測定装置を開発した。また1873年にアッベ集光器（コンデンサ、図2.32）を、1877年には均質油浸法（2.5参照）を、1886年には蛍石（CaF₂）をレンズ材料としたアポクロマート（超色消し対物レンズ、2.6.1参照）を開発するなど、顕微鏡の大幅な性能向上のための画期的成果を次々に挙げていった。また1879年に新種ガラスを開発したショット（Otto Schott, 1851-1935：図3.7）と共同のガラス工場をイエナに新設し（1884年）、1893年に新しい照明法（図2.31）を発表したケーラー（August Köhler, 1866-1948、図3.8）を入社させ（1900年）、1897年にはアメリカの生物学者グリノー（Horatio Greenough）の発案に基づき、最初の双眼実体顕微鏡（2.7.3参照）を開発した。アッベは、ツァイスの死後カールツァイス財団として経営を引き継ぎ、数々の近代的労働条件を制定した優れた企業家でもあった。ケーラーをはじめとするアッベの後継者たちは、その後もさまざまな顕微鏡観察法の発明や開発に関係し、ツァイスは光学産業における世界のリーディングカンパニーとしての地位を保ち続けている。

一方、ケルナーが起こした光学会社は、1869年にライツ（Ernst Leitz, 1843-1920：図3.9）が経営を引



図3.5 ツァイス¹²⁾



図3.6 アッベ¹²⁾



図3.7 ショット¹²⁾

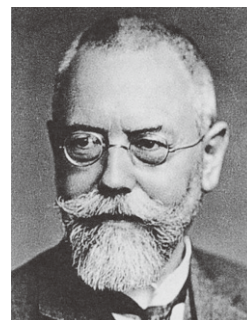


図3.8 ケーラー¹²⁾

き継ぎ、エルンストライツ社（顕微鏡部門は現ライカマイクロシステムズ、以下ライツ、1990年以降はライカという）に社名を変えて、顕微鏡の製造で大きく成長した。特に数学者メッツ（Carl Metz, 1861-1941）の設計による対物レンズは評価が高く、ツァイスと並ぶ世界的顕微鏡メーカーとして発展した。またライツの娘婿であるライヘルト（Carl Reichert, 1851-1922：図3.10）は、1876年にオーストリア・ウィーンに新たな顕微鏡会社を創設（1990年よりライカグループ）、ツァイスとライツに次ぐヨーロッパの顕微鏡メーカーに成長した。ライツの技師バルナック（Oskar Barnack, 1879-1936）の発明で、1925年に製品化された35mmスチルカメラのライカ（Leica）は、光学設計者ベレーク（Max Berek, 1886-1949：図3.11）による数々の名レンズにより、カメラ市場を席卷したが、これに対抗しツァイス・イコンは1932年に35mmカメラ、コンタックス（Contax）を発売し、以降2社のライバル争いが続いたことはよく知られている。ツァイスは東ドイツ側にあったため、第2次世界大戦で1945年にドイツが連合軍に無条件降伏した翌月には、米軍がツァイスの管理者・技術者126名を西側に強制連行し、西ドイツ・ツァイスとしてドイツ南部のオーバーコッヘン Oberkochen の地で新たに再興した。これによりツァイスは東西に分裂して戦後の光学機器の生産を再開したが、1991年に統合し再びイエナに本社を置いた。一方のライツは、本拠地が西

ドイツ側で被害も少なかったため、戦後の立ち直りは早かった。



図 3.9 ライツ¹³⁾



図 3.10 ライヘルト¹³⁾

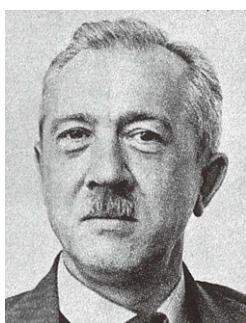


図 3.11 ベレーク¹³⁾

引用

- 1) わが国の顕微鏡の歩み, 財団法人科学博物館後援会, 1963
- 2) 小林義雄: 世界の顕微鏡の歴史, 1980
- 3) 田中新一: 顕微鏡の歴史, 九州文庫出版社, 権歌書房, 1979
- 4) 林春雄: 写真で見る顕微鏡発達の史的展望, 1988, pp.100
- 5) 鶴田匡夫: 最新光学技術ハンドブック, I. 光学技術史, 朝倉書店, 2002
- 6) Hooke R.: Micrographia, Royal Society, 1665 (Dover edition 1961)
- 7) Ford B.J., 伊藤智夫訳: シングル・レンズ-単式顕微鏡の歴史-, りぶらりあ選書, 法政大学出版局, 1986
- 8) Innovation - Zeiss Information with Jena Review, No.1, Carl Zeiss, 1996
- 9) Innovation No.15, In Memory of Ernst Abbe, Carl Zeiss AG, 2005
- 10) Carl Zeiss 150 years Innovation in Optics, Carl Zeiss Jena GmbH, 1996.11
- 11) Scheffel F., 藤田五郎訳: 硝子の驚異, 天然社, 1942
- 12) カールツァイスマイクロコピー株式会社提供
- 13) ライカマイクロシステムズ株式会社提供

4 | 国産顕微鏡の誕生と発展

4.1 江戸時代から明治時代のわが国の顕微鏡^{1) 2) 3)}

わが国に顕微鏡が伝わったのは1750年(宝暦年間)のころと推定される。望遠鏡(遠眼鏡)が、イギリス人から徳川家康に献上されたのが、発明されてから間もない1613(慶長18)年であることと比べると、かなり遅かったことになる。文献に初めて顕微鏡の記載が出てくるのは、後藤梨春の「紅毛談」で1765(明和2)年のことである。このあと、1781(天明元)年に大坂の中井履軒は「顕微鏡記」を著し、服部永錫、油屋吉左衛門が顕微鏡を製作したとある。また同年、小林規右衛門が製作した木製顕微鏡(図4.1)は、わが国で作られた現存する最古の顕微鏡として、島津製作所創業記念資料館(京都市)に保管展示されている。1787(天明7)年には、森島中良が「紅毛雑話」の中で、「ミコラスコーピュン」としてカルペッパー型顕微鏡(図4.2)と蚊やノミ、ほうふらなどのスケッチ画を紹介している。また彼の実兄である桂川甫周は、顕微鏡を医学に用い、1802(享和2)年に「顕微鏡用法」を著している。このほか、1832(天保3)年には飯沼慾斎が「草木図説」を発表し、来日中のオランダ人シーボルト(Philipp F. von Siebold)から顕微鏡を贈られた宇田川榕庵は、1833(天保4)年に「植物啓源」を出版した。また古河藩主であった土居利位は、顕微鏡で雪の結晶を研究して「雪華図説」(図4.3)を著し、その後の雪華文様の流行をもたらした。このように江戸時代の顕微鏡は、ごく一部の文化人や蘭学者の研究や趣味に使われるにとどまった。



図4.1 現存する最古の国産木製顕微鏡(島津製作所創業記念資料館 所蔵)⁴⁾



図4.2 紅毛雑話より⁴⁾



図4.3 雪華図説より⁴⁾

明治時代になると、西洋文明の導入が一気に始まったが、医学分野でも当時の先端医学をいち早くドイツから取り入れた。特に伝染病の原因であるバクテリアが高性能顕微鏡により次々と発見され、細菌学や免疫学などが急速に発展していた。このためわが国では、大学や政府機関で顕微鏡を使った実験・研究・教育に重点が置かれ、また多くの留学生をヨーロッパやアメリカに送り出した。北里柴三郎(1889年・破傷風菌の純粋培養、1890年・血清療法の開発、1894年・ペスト菌の発見など)、志賀潔(1897年・赤痢菌の発見)、高峰讓吉(1894年・酵素タカジアスターゼの発見、1900年アドレナリンの発見)、野口英世(梅毒スピロヘータの研究、黄熱病の研究)らによる世界的な成果につながった。また当時わが国の主力産業に成長していた養蚕業では、蚕卵の品質管理に顕微鏡が使われ、当時の輸入顕微鏡の重要な市場となっていた。顕微鏡の輸入は、1887(明治20)年頃から盛んになっ

たが（図 4.4）、優秀な品質のツァイス製品よりも、比較的価格が手ごろなライツ製品の方が需要は多く、またライヘルト製品やアメリカ製顕微鏡も輸入されていた。こうした中、国産の顕微鏡を作ろうとする人たちも現れてきた。

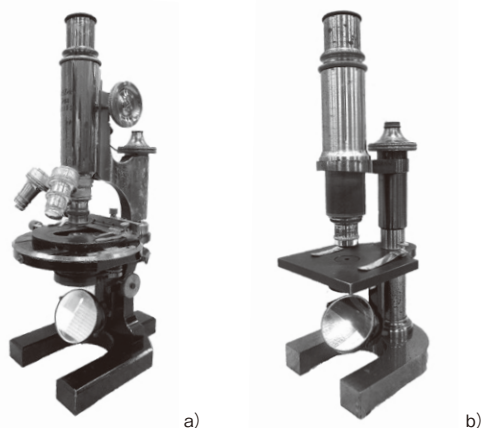


図 4.4 明治後期の輸入顕微鏡の例⁵⁾

a) ツァイス I a) b) ライツ IV 型 (共に有限会社浜野顕微鏡 所蔵)

4.2 国産顕微鏡の誕生^{1) 6) 7)}

明治後半になって 1895 年に開催された第 4 回国内勧業博覧会では複数の国産顕微鏡が展示されたが、倍率は 20 倍程度しかないものもあり、実用レベルにはほど遠いものであった。また 1909 年にはいわしや岩本藤吉器械店による国産顕微鏡としては最初の販売広告が「中外医事新報第 697 号」に「岩本式純日本製顕微鏡」として掲載された。品質は不明だが、最大 600 倍で価格も輸入品に比べ半額近くであったが、この製品の現物やその後の記録は見当たらず、一過性のものであったと考えられる^{7) 8)}。

工業的に量産化された最初の国産顕微鏡は、田中柰次郎（田中合名会社）が 1907（明治 40）年に製作した「田中式顕微鏡」（図 4.5、乾燥系 600 倍）である⁸⁾。同年に開催された東京勧業博覧会で金賞を獲得し、翌年にはカタログ^{9) 10)}が発行され、月産 100 台程度を達成していた。1910 年にはロンドンで開催された日英博覧会にも出品し銅賞を受賞している。一方、加藤嘉吉（レンズ担当）と神藤新吉（機械担当）は、1910 年に顕微鏡の製作を始めた。ライツ IV 型をモデルにしたが、試行錯誤の繰り返しという苦難の連続を乗り越えて、2 人は 1912 年に試作第 1 号を完成させた。この 2 人の技量を生かし、国産品として博覧会に出品するまで尽力したのが、寺田新太郎である。3 人はさら

に苦難を重ねて品質の改良に取り組み、1914（大正 3）年に上野で開催された東京大正博覧会に寺田名で出品し、銅牌を受賞した（この博覧会で田中式顕微鏡は銀牌を受賞している¹¹⁾）。当時、医療機器販売の老舗でドイツ製顕微鏡の輸入を行っていた「いわしや松本器械店」の松本福松は、かねてより外国製に対抗しうる国産顕微鏡を念願していた。そこで松本は、名義人の寺田と製造者の加藤、神藤と会い、出品された顕微鏡の品質のさらなる改善と、製造販売に向けた話し合いを重ねた。これを受け 3 人は懸命に品質改良に努めた結果、ついに納得のいく品質の顕微鏡を完成することができたのである。この顕微鏡（図 4.6）は、松本、加藤（+神藤）、寺田の頭文字をとって「エム・カテラ（M・KATERA）」と名付けられ、松本はその製造部門として翌 1915 年にエム・カテラ光学器械製作所を設立、顕微鏡の開発・販売・広告宣伝を開始した。おりしも 1914 年に勃発した第 1 次世界大戦の影響から、輸入品が日本に入りづらくなったこともあり、生産・販売とも順調にスタートした。1923 年の関東大震災では、田中商事株式会社（田中合名会社から改称）とエム・カテラ光学器械製作所とは本社・工場に大きな被害を受け、前者は顕微鏡の製造から撤退したが、後者の松本はこれを災い転じて福となすと捉え、より高品質の顕微鏡をめざした技術開発に取り組むことによってこれを乗り切った。

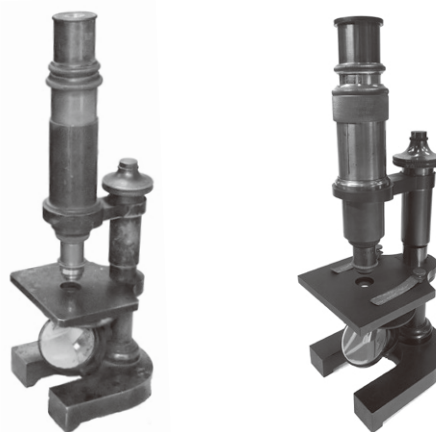


図 4.5 田中式顕微鏡¹⁵⁾

図 4.6 エム・カテラ¹⁶⁾

山下長（たけし）は、知人であった寺田との縁で、外国製に劣らない国産顕微鏡の製造をめざし、1919（大正 8）年に高千穂製作所（1949 年にオリンパス光学工業、2003 年にオリンパスに社名変更、以下オリンパスという）を設立した。寺田は取締役として顕微鏡製作の技術指導を行い、レンズと組立調整は加藤の弟子であった鈴木泰一が担当して、翌年には最初の顕

微鏡「旭号」(図4.7) 20台を完成した。同じ年には商標「オリンパス (Olympus)」を登録し、その後も苦難を乗り越えて高性能化技術の開発に努め、昭和になって以降大きく飛躍する^{12) 13)}。



図 4.7 旭号¹⁷⁾

一方、加藤は神藤の協力を得て1924(大正13)年にカルニュー光学器械製作所(現・島津デバイス製造株式会社)を設立し、顕微鏡(図4.8)の製造とエム・カテラ用レンズの供給を開始した。またオリンパスの鈴木は1927(昭和2)年に東洋光学工業を設立し、「エリザ (Eliza)」顕微鏡を発表した(2002年に事業閉鎖)。

エム・カテラ光学器械製作所では、1934(昭和9)年に神藤らによって開発された顕微鏡から「千代田顕微鏡」と名称変更し、会社も1942年に千代田光学工業と改称して新しく発足した(以下、千代田という)。このようにエム・カテラを開発した3人とその技術は、その後のわが国の顕微鏡工業の発展の礎となったのである。

1917(大正6)年に、三菱合資会社社長岩崎小彌太の出資をもって、光学機器の国産化を目的に、東京計器製作所の光学計器部門と岩城硝子製造所の反射鏡部門を統合、日本光学工業(1988年よりニコンに社名変更、以下日本光学、社名変更後はニコンという。製品の商標はニコン)が設立され、直後に藤井レンズ製造所を合併した。1921年にはドイツから光学・精密の技術者8名を招聘し、技術が急速に向上した。このドイツ人技術者の一人、アハト(Heinrich Acht)は顕微鏡用レンズ、写真用レンズなど各種レンズの数学的設計を行い、アハトの残したその設計データとドイツ設計手法は、後の写真レンズの基礎的な設計資料となった。日本光学は、アハトの設計による最初の顕微鏡「ジョイコ (JOICO)」(図4.9)を1925年に発表した¹⁴⁾。

昭和に入り軍事色が強まる中で、顕微鏡メーカー各



図 4.8 カルニュー顕微鏡⁵⁾ 図 4.9 ジョイコ¹⁸⁾

社とも軍関係の受注がメインとなり、顕微鏡を簡単に折りたたんで木箱に納めた携帯用顕微鏡も開発され、数多く納入された。また各社ともその光学技術を生かし、双眼鏡、潜望鏡、照準器など各種光学兵器の生産に重点が置かれるようになった。こうした中で、オリンパスは1938年に写真装置付万能顕微鏡スーパーフォト(「萬能号」: 図4.10)を開発した。生物用・工業用とも使用可能で、透過・反射の明視野・暗視野観察や写真撮影・投影・描画装置も内蔵しており、戦前における国産最高級顕微鏡であった。販売数は少なかったが、当時の技術の高さを示す機種であり、同社の戦後における最高級万能顕微鏡のフォトマックスやバノックスに継承されることになる。やがて戦争末期になると、空襲が激しくなり工場の疎開も余儀なくされた。オリンパスは1944年に顕微鏡部門を信州の伊那工場へ疎開したが、1945年5月の東京大空襲により本社・工場は大きな被害を受けた。こうして8月に終戦を迎える。

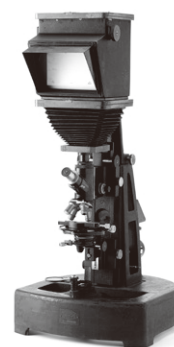


図 4.10 写真装置付万能顕微鏡スーパーフォト 萬能号¹⁷⁾

4.3 顕微鏡工業の再興

1945(昭和20)年に終戦を迎え、混乱の中で光学各社も大幅な人員整理(日本光学では従業員25,000

名が、1,724名まで整理された)や工場の閉鎖、経理面の整理などが行われた。そしてあらゆる産業分野において軍需産業から平和産業への転換が行われたが、戦前・戦中においてめざましい技術進歩を遂げたわが国の光学産業は、立ち上がりも比較的早く行われた。こうした中で1946年1月には、光学機器工業の進歩発展を図り会員の相互援助を目的として、映画機械、写真機、望遠鏡、顕微鏡、測量機、精密測定機の6部会、73社から成る光学精機工業協会(会長:波多野義男・日本光学社長)が発足した。協会は1954(昭和29)年6月に日本光学工業協会に改称し、6つの部会もそれぞれ日本顕微鏡工業会などと名称を改め、現在に至っている(その後、日本写真用品工業会、日本医用光学機器工業会が設立され、日本映画機械工業会が退会し、現在は1協会7工業会体制となっている)。

顕微鏡メーカーのうち、千代田は幸い工場が戦災を免れたこともあり、1945年12月には神藤が社長に就任し、生産を再スタートした。戦前からの高級顕微鏡ACM(図4.11)や携帯顕微鏡などのほか、1947年にはツァイスのL型顕微鏡を範とした研究用顕微鏡LCM(図4.12)も開発した。オリンパスは、伊那工場で生産を再開したが、機械設備や治具等を新たに手配するところから始めざるをえず、G型顕微鏡(図4.13)が初めて生産されたのは1946年の7月で、また戦前からの高級顕微鏡UCEが完成したのは1948年末になってからであった。一方、国内トップの光学技術力を有する日本光学は、戦後になってから本格的に顕微鏡の開発・製造に取り組んだ。1948年に普及型顕微鏡のO型(図4.14)、1949年には高級油浸顕微鏡K型(図4.15)の生産を開始した。このほか戦後になって多くの顕微鏡メーカーが創設され(附属資料2)、戦後復興にともなう医療・厚生、研究・教育施設の拡充や新設、さらに各種工業の進展等による需要の増大もあって、顕微鏡産業の再興・発展が始まった。



図 4.13 オリンパス GK¹⁷⁾

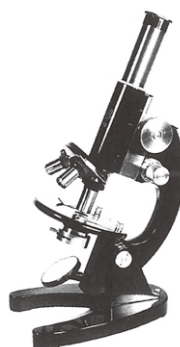


図 4.14 ニコン O 型¹⁴⁾

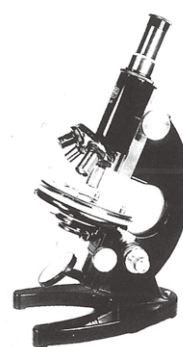


図 4.15 ニコン K 型¹⁴⁾

4.4 顕微鏡関連の JIS 制定

戦後になると、国産顕微鏡は国内需要のみでなく輸出品としての重要性、発展性に注目されるようになり、その性能や精度に関する標準の作成が急がれた。このため、1947(昭和22)年1月には、顕微鏡の工業規格につき光学精機工業会顕微鏡部会で原案を作成し、日本工業標準調査会・精密機械部会・顕微鏡委員会(委員長は久保田広・東京大学教授)の審議を経て、1948(昭和23)年10月にJES 7132(1949年12月よりJIS B 7132、現・日本顕微鏡工業会規格 MIS 1001)生物顕微鏡が制定された。この中では、各部の寸法許容差や偏心、倍率誤差、像の中心解像力と周辺性能などが、世界の顕微鏡を調査した上で規定された。このときに問題となったのは、像の解像力を測定するための検査標本で、適当な微細構造をもち同じものが多数作成可能でかつ経年変化のないものは容易に見当たらなかった。これを解決したのは千代田光学で、回折格子のレプリカを合成樹脂で作し、真空中で斜方向からメッキして明暗の格子とし、これを極微粒子乳剤を用いて密着焼付して作成した⁷⁾。第一種(300本/mm)と第二種(600本/mm)の検査標本を規定したJES



図 4.11 チヨダ ACM⁷⁾

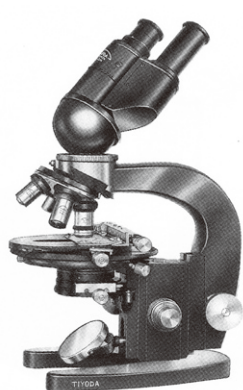


図 4.12 チヨダ LCM-Bi⁷⁾

7140 (現・MIS 8602) も同時に制定された。図 4.16 は、その後日本光学で製作された第一種 (No.1) の検査標本とその部分拡大写真であるが、格子パターンの欠陥部分も性能 (解像や収差など) の評価に有効であった。このあと、1951 年には小形生物顕微鏡、双眼実体顕微鏡、対物ねじ、接眼マイクロメータなど JIS が 11 件制定され、顕微鏡の JIS はその後も充実していった。本稿執筆時点の光学顕微鏡に関する国際規格 (ISO)、日本工業規格 (JIS) 及び日本顕微鏡工業会規格 (MIS) の一覧を、附属資料 1 に示す。

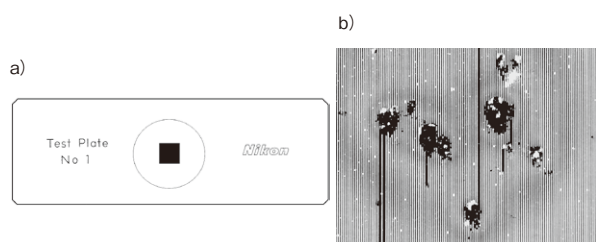


図 4.16 検査標本¹⁹⁾

a) 検査標本第一種 b) 格子パターンの部分拡大写真

4.5 研究用顕微鏡の開発

大戦後の再興をめざす西ドイツ・カールツァイス社は、1950 年に顕微鏡スタンダード (Standard: 図 4.17) を発売した。各ユニットが交換可能で、機能・性能とも一段と改良が加えられ、文字通り世界の高級顕微鏡の標準機となった。さらに 1955 年には、カメラと自動露出装置を一体化した最高級自動写真顕微鏡フォトマイクロスコープ (Photomicroscope: 図 4.18) が発表され、世界のトップ研究者のステータス顕微鏡として絶大な評価を受けた。



図 4.17 ツァイススタンダード²⁰⁾

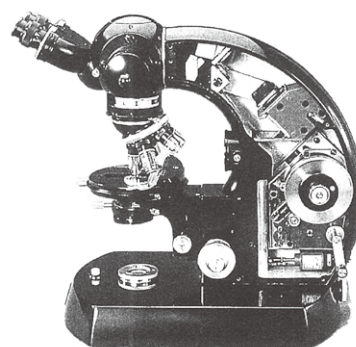


図 4.18 ツァイス フォトマイクロスコープ (内部構造展示用のカットモデル)²⁰⁾

これに触発され、わが国でも顕微鏡のさらなる改良への取り組みが進められた。日本光学は 1956 年にステージ上下動による粗微動方式を採用した S 型 (図 4.19) を発売した。その後 30 種以上のユニットを標準化してその組み合わせで多品種・多機能化するシステムを業界に先駆けて採用した。またわが国で初めてケーラー方式の照明装置も開発し、1961 年にはその照明系を内蔵した S-Ke 型 (図 4.20) を発売している。オリンパスでは、ステージ上下動方式の研究用顕微鏡 DF 鏡基 (図 4.21) を 1957 年に新たに開発した。さらに 1958 年には臨床研究用の顕微鏡 E 鏡基 (図 4.22) を発売し、その高いコストパフォーマンスから広く普及した。この E 鏡基は、1963 年には粗微動共軸の高精度微動装置を有し、光源装置を内蔵させた FH 鏡基 (図 4.23) へと発展した。一方、千代田では大型写真顕微鏡ポリフォト (図 4.24) を 1958 年に発表した。35mm カメラが 2 台装着され、6 個の対物レンズが取り付けられるレボルバ、光源内臓でケーラー方式を採用した照明系など、国産顕微鏡としては画期的なスペックで、高い評価を得た。また 1959 年には研究用顕微鏡 R 型 (図 4.25) を専用の写真装置と共に発売している。

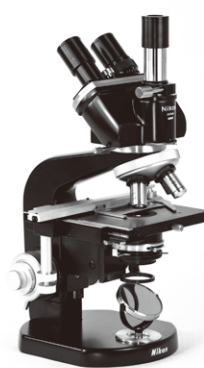


図 4.19 ニコン S 型¹⁸⁾ 図 4.20 ニコン S-Ke 型¹⁸⁾



図 4.21 オリンパス DF 鏡基¹⁷⁾

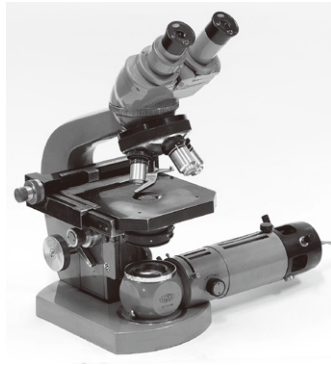


図 4.22 オリンパス E 鏡基¹⁷⁾



図 4.23 オリンパス FH 鏡基¹⁷⁾



図 4.24 千代田ポリフォト⁷⁾

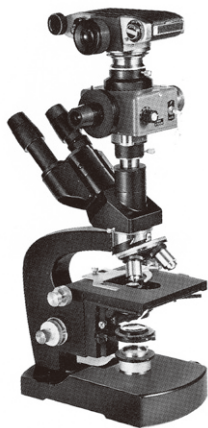


図 4.25 千代田 R 型 + 写真装置⁷⁾

こうして、わが国の顕微鏡産業が発展をはじめ中、国立科学博物館は1963年9月8日～10月13日に日本顕微鏡工業会と共催で「わが国の顕微鏡の歩み」特別展を開催し、多くの外国製品、アンティーク顕微鏡、国産品が展示され、会期中には昭和天皇、皇太子殿下（今上天皇）のご観覧を賜るなど盛会であった。また記念出版「わが国の顕微鏡の歩み」¹⁾も発行された。

その後、各種観察法の導入が進むにつれ、さまざまなユニットを組み合わせることができる万能性をもつ

た大型の研究用顕微鏡がフラッグシップ機として開発されるようになる。すでにツァイスではフォトマイクロスコープをさらに大型化したウルトラフォト、ライツはオルソルックス、ライヘルトはゼットパンを販売しており、これらが当時世界最高級の万能顕微鏡として先行していた。

オリンパスでは、これらに対抗する最高級万能顕微鏡の開発に着手し、1966年にフォトマックス（図4.26）を発表した。これは基幹本体部に標準ユニットを取り付けることにより、「生物顕微鏡」「金属顕微鏡」「偏光顕微鏡」の3種の基本形に使い分けられ、また自動露出写真装置をはじめ20種に及ぶ付属品を装着することにより万能性を発揮した。対物レンズも完成したばかりのプランシシリーズが標準装備された。日本光学でも1967年に最高級機の研究用万能顕微鏡アポフォト（図4.27）を発売した。透過照明・反射照明・透過反射同時照明が可能で、透過照明には対物レンズの開口数に合わせたズーム・ケーラー方式を採用した。各種観察法に加え写真・映画装置も装着可能な万能性を持ち、工業デザイナーによる機能的かつユニークなデザインとなった。



図 4.26 オリンパス フォトマックス¹⁷⁾



図 4.27 ニコンアポフォト¹⁸⁾

オリンパスではさらにシステム性と本体の剛性を高めたバノックス (Vanox) AH (図 4.28) を 1971 年に発売した。国内初の落射蛍光装置、金属位相差装置なども組み合わされた。また 1974 年には、E 鏡基のシステム性をさらに発展させて開発した BH シリーズ (図 4.29) を発売した。AH、BH 共に対物レンズはプランアポシリーズ (1975 年) や LB シリーズが搭載された。1976 年には臨床検査・学生実習用の CH シリーズも発売されている。こうしてわが国の高級研究用顕微鏡も機能・性能の向上が図られ、ヨーロッパ勢との距離を徐々に縮めていったのである。

一方、エム・カテラの商品化以来、戦前・戦後とわが国の顕微鏡産業を牽引してきた千代田は、1974 年に研究用顕微鏡 MT-A を、また翌年にはさらに改良を加えた MT-B (図 4.30) を開発した。対物レンズの 1 倍から高倍まで超広視野 (視野数 26.5) でかつ同焦点で観察可能で、操作性も大幅な向上が図られていた。ユニークな仕様で技術的な評価も高かったが、千代田は経営上の問題が続き、1976 年に工場閉鎖となり、以降サクラ精機が経営を引き継いだ。顕微鏡事業が再興することはなかった。現在は、サクラファインテックジャパンが顕微鏡遺産を管理している。

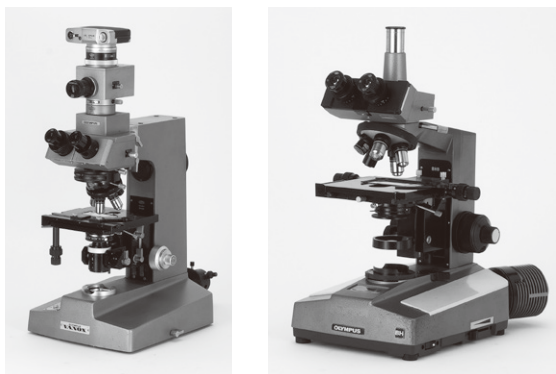


図 4.28 バノックス AHB¹⁷⁾ 図 4.29 オリンパス BHA¹⁷⁾



図 4.30 千代田 MT-B⁷⁾

4.6 新光学系と生物用顕微鏡の進化

1970 年代後半になると国産顕微鏡に大きな進化があった。日本光学では、全く新しい CF 光学系 (7.4.3 参照) を採用し、最高級研究用顕微鏡アポフォトの後継となるマイクロフォト V シリーズを 1976 (昭和 51) 年 7 月に発表した。V シリーズは生物・医学用のバイオフィット (図 4.31)、金属・工業用のメタフォト、蛍光用のフルオフィットから構成されていた。さらに 1956 年の発売以来長く高級顕微鏡の標準機であった L 型及び S 型 (光源内蔵機は S-Ke 型) の後継となるオプチフォト (X 型: 図 4.32) とラボフォト (Y 型: 図 4.33) を 1978 年 7 月に発売した。CF 光学系の優れた性能と、機能的で斬新なデザインも高く評価され、ニコン顕微鏡の世界的地位を大きく高めた。



図 4.31 ニコン
バイオフィット V¹⁸⁾



図 4.32 ニコン
オプチフォト X¹⁸⁾



図 4.33 ニコン
ラボフォト Y¹⁸⁾

一方、オリンパスでも 1975 年から顕微鏡光学系の全面設計変更 (LB シリーズ: 7.4.3 参照) と AH、BH、CH シリーズ顕微鏡本体の見直しに着手していた。しかし、日本光学の CF 光学系と V シリーズの発表が先行すると、新設計の LB 光学系を組み合わせられるよう AH (図 4.28) と BH (図 4.29) を急ぎよ

マイナーチェンジし、1978年にAH-LB、BH-LBを発売して、市場シェアの大幅低下をくい止めた。また開発スケジュールは、フラッグシップ機のAHからでなく、経営上の影響がより大きいBHの後継機を優先した。こうして1980(昭和55)年にBH2シリーズが発売された。BH2は高輝度12V100Wハロゲン光源使用のBHS(図4.34)とBHSU、及び6V20Wハロゲン光源使用で本体がやや小ぶりのBHTとBHTU(図4.35)の4タイプが用意された。このうちBHSUとBHTUはレボルバが本体アーム向きであることが特徴であった。BH2も高性能のLB光学系や操作性、システム性が好評で、世界的なベストセラー顕微鏡となった。学生実習用顕微鏡として日本光学はCF光学系を採用したアルファフォトYS(図4.36)を1983年に、またオリンパスはLB光学系を採用したCH2(図4.37)を1986年に発売している。なお、金属(工業用)顕微鏡も生物顕微鏡に続いて大きな進化があったが、これについては6.4にて説明する。



図 4.34 オリンパス BHS¹⁷⁾



図 4.35 オリンパス BHTU¹⁷⁾



図 4.36 ニコン アルファ フォトYS¹⁸⁾



図 4.37 オリンパス CH2¹⁷⁾

オリンパスはBH2開発の終了後、直ちに最高級機AH(パノックス)の全面設計変更に着手した。基本コンセプトは、光学性能を最高度に発揮し操作を可能な限り自動化・電動化した万能写真顕微鏡とした。

1) 対物レンズを転換(ボタンによる電動)すると、

その倍率に対応した照明レンズを切り替える。同時に視野絞りを視野に外接するまで、開口絞りを対物レンズ開口数の約80%にまで絞り込む。また明るさの変化は、色温度を一定に保つためランプ電圧は変えずNDフィルタの選択を行う。以上を即座に自動でセットする。

- 2) カメラ(最大3台)・ビデオカメラの光路と写真用レンズの選択は、それぞれボタンによる電動で行う。
- 3) 低倍率の写真撮影は、目側とフィルム側の焦点深度の違いから、ピント合わせが難しいという課題は、世界初の顕微鏡用オートフォーカス機構を搭載することにより解決した。これは写真レンズの射出瞳位置に置いた瞳分割チョッパを高速回転させ、像の移動からピントずれ量を求める像位相差方式(図4.38)を原理とする²¹⁾。
- 4) 写真撮影範囲を直接確認するためのファインダ光学系も内蔵された。周回光路を鏡筒プリズムに戻すときに像が30°回転するため、これを2回反射で元に戻すための特殊形状プリズムも考案された。
- 5) 万能性を確保するために、落射蛍光ユニットや位相差ユニットをはじめ、各種アクセサリも用意された。

このように照明光学系、結像光学系(対物・接眼レンズ)、写真光学系、ファインダ光学系などを本体に

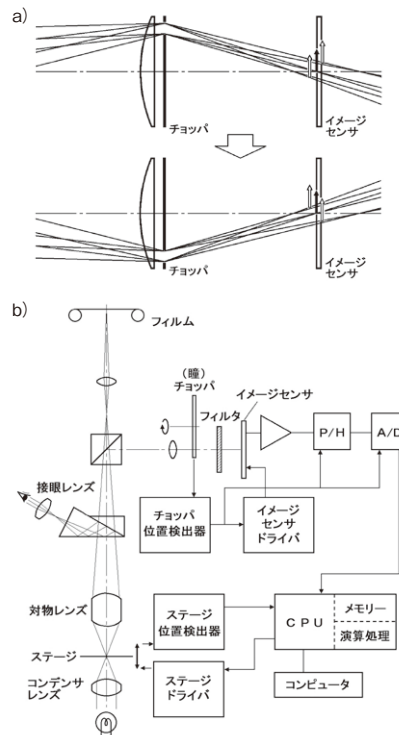


図 4.38 顕微鏡オートフォーカスの原理 a) と構成 b)

(引用 21 を参考に作成)

全て組み込んだため、顕微鏡としては前例のない複雑な光学系となった(図 4.39)。こうして開発された AH2 (ニューバノックス) は、自動タイプの AHBS (図 4.40)、電動マニュアルタイプの AHBT、工業用タイプの AHMT の 3 機種として 1983 年に発売された。その先進性は、特に顕微鏡写真を頻繁に使うユーザーに歓迎され、またドイツ勢メーカーにも少なからず衝撃を与えた。

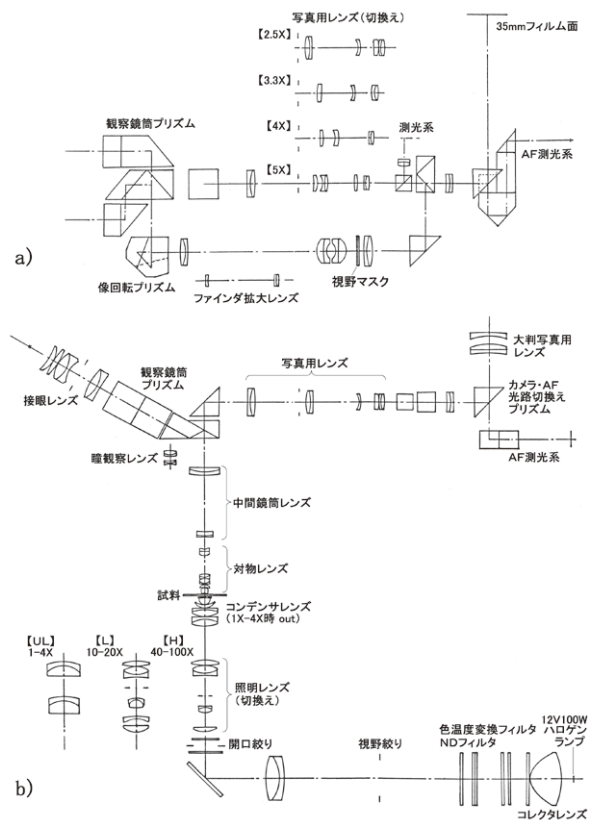


図 4.39 オリンパス AHBS の光学構成図¹⁷⁾

a) 平面図 b) 側面図

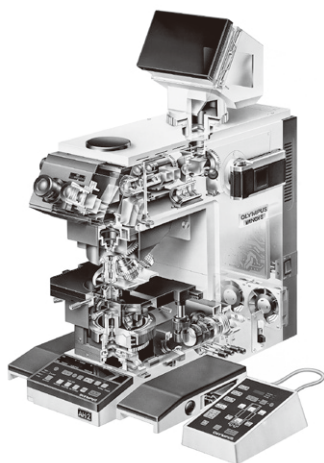


図 4.40 オリンパス AHBS とその光学系¹⁷⁾

一方、日本光学でも 1985 年に自動露出機能を内蔵し CF 光学系の解像・コントラストをさらに向上させた新光学系 NCF シリーズ (7.4 参照) を採用した高級万能写真顕微鏡マイクロフォト FX を発表し、さらに 1988 年にはオートフォーカス (像コントラスト方式)、電動レボルバ、通信機能などを搭載したマイクロフォト FXA (図 4.41) を発売した。また、同年に生物顕微鏡アルファフォト YS2 (図 4.42) を発売、さらに 1990 年にはオプチフォト 2 X2 (図 4.43) とラボフォト 2 Y2 と立て続けに新製品を発売している。



図 4.41 ニコン マイクロフォト FXA¹⁸⁾



図 4.42 ニコン アルファ
フォト YS2¹⁸⁾



図 4.43 ニコン オプチフォト
2 X2¹⁸⁾

このように 1970 年代後半に、日本光学とオリンパスが互いに切磋琢磨しながら、新しい顕微鏡光学系の開発と顕微鏡システムを一新したことにより、国産顕微鏡の機能・性能が高まり、19 世紀後半以降世界トップに君臨し続けてきたドイツ製顕微鏡との差を一気に縮めていったのである。

4.7 無限遠補正光学系と生物用顕微鏡の刷新

ツァイス社では、世界最高峰の研究用顕微鏡フォトマイクロスコプ、ウルトラフォト以来、長い間このクラスの新製品を出してこなかったが、1973 年に革新的な大型顕微鏡アキシオマート Axiomat (図 4.44) を発表し

た。対物レンズは従来の機械筒長 160mm とは全く異なる専用の機械筒長無限遠補正 (2.4 参照) の光学系を採用し、本体は堅牢なブロック方式で構成され、組み合わせによりさまざまな観察法に対応できた。このため技術的には高く評価されたものの、操作性に難点がありまた非常に高額であったため、必ずしも成功した機種とは言えなかった。そして 1986 年、ツァイス社は満を持して開発したアキシオ Axiio シリーズを発表した。最高級の写真顕微鏡アキシオフォト Axiophot (図 4.45)、研究用顕微鏡アキシオプラン Axioplan、産業用顕微鏡アキシオトロン Axiotron の 3 機種から構成され、光学系も ICS (Infinity Color-corrected System) と名付けられた新設計の機械筒長無限遠補正を採用した。このアキシオシリーズが業界に与えた影響は極めて大きく、改めてツァイス顕微鏡の技術力を誇示しその名声を高らしめるものであった。またライカも 1992 年に無限遠補正光学系 Delta (Δ) を採用した、最高級顕微鏡 DM シリーズ (図 4.46) を発表・市場導入した。

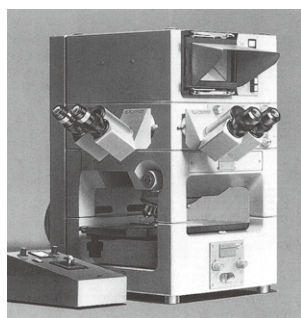


図 4.44 ツァイス アキシオマート²⁰⁾



図 4.45 ツァイス
アキシオフォト²⁰⁾



図 4.46 ライカ DAS
Mikroskop DMRX²²⁾

オリンパスでは、ツァイスの新光学系に対し、LB 光学系の充実と性能改良で対抗するか、全ての光学系を無限遠補正に設計変更するかで検討と議論が続けられ、1988 年に後者を選択する決断が下された。この新光学系 (UIS: Universal Infinity System と名付けられた) のコンセプトと特徴は 7.4.4 にて詳細説明す

る。UIS と同時に顕微鏡本体も新設計となり、AH2、BH2、CH2、IMT2 (倒立型顕微鏡: 6.1 参照) の後継機はそれぞれ AX、BX、CX、IX と名付けられ、1993 (平成 5) 年の BX と UIS を皮切りに、1994 年に AX と IX、1997 年に CX が発売された。各シリーズとも本体の形状は、人間工学 (エルゴノミー) に基づいた Y シェイプのデザインが採用された。BX は、標準タイプの BX40、高級タイプの BX50 (図 4.47)、落射蛍光組み込みタイプの BX60 の 3 機種から構成され、観察姿勢が調節できる傾斜角可変鏡筒 (図 2.30 d) や各種カメラアダプタなど、数多くのユニットやアクセサリーが新たに開発された。また AX (プロビス Provis) も研究用顕微鏡 AX70、その全自動タイプの AX80 (図 4.48) があり、従来の BH2、AH2 の評価をさらに高める形で引き継いでいった。



図 4.47 オリンパス BX50¹⁷⁾



図 4.48 オリンパス AX80¹⁷⁾

一方、ニコンが従来の NCF 光学系から機械筒長無限遠の CFI₆₀ 光学系に切り替えたのは 1996 年で、対物レンズの同焦点距離 (2.4 参照) を 45mm から 60mm と長くした (詳細は 7.4.4 参照)。それに対応した生物顕微鏡エクリプス Eclipse シリーズの最高級機 E800 (図 4.49)、高級機 E600 (図 4.50) と E400 を同時に発表した。また 1997 年には最高級全自動写真顕微鏡 E1000 と相次いで発表した。こうして国産の高級生物顕微鏡の主流は、2000 年までには無限遠光学系へと移行していったのである。

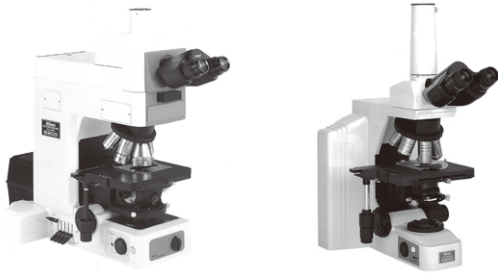


図 4.49 ニコン エクリプス E800¹⁸⁾ 図 4.50 ニコン エクリプス E600¹⁸⁾

オリンパスは、2000年にBXシリーズをフルモデルチェンジしたPower BX Plusシリーズを発売した。BX51、52、61、62、41、45など工業用も含めて全12機種から成り、蛍光観察や微分干渉観察の性能向上、デジタルイメージングに対応したコンピュータ制御、人間工学にのっとり使いやすさを追求したエルゴミック顕微鏡などがポイントであった。同社は、このシリーズをさらにフルモデルチェンジしたBX3シリーズを2010年に発売した。BX43、53、63の3機種から成り、BX43は色再現性を改良した新開発のLED光源を搭載したほか観察の効率性を追求したモデルで、BX53は照明性能の改良や人感センサーによるエコロジーモードを搭載したモデル、またBX63(図5.39)は各種ユニットの電動化とタッチパネル操作が特徴のモデルである。

一方のニコンは、2004年に研究用正立顕微鏡のエクリプス80i、90iと臨床用正立顕微鏡のエクリプス50i、55iを発売した。80iは、蛍光観察や微分干渉観察の性能向上、照明均一性の改良のほか、接眼部・蛍光装置・写真ポート・ズーム光学系を一体化させた新開発のデジタルイメージングヘッド(DIH)が特徴であった。90i(図4.51)は、80iに電動機能を追加したもので、新しいソフトウェアとの組み合わせでより使いやすいデジタル画像システムを構築できる、シリーズ最上位機種である。また50i、55i(図4.52)は、臨床検査用として操作性の向上を図ったモデルで、50iはハロゲン光源を、55iはLED光源を採用している。同社は2011年にさらにフルモデルチェンジを行い、研究用顕微鏡のエクリプスNiシリーズと検査用顕微鏡のエクリプスCiシリーズを発売した。Niシリーズは各種電動アクセサリを充実させ、操作性のさらなる向上を図ると共に、新対物レンズのCFI Plan Apo λシリーズ(7.4.5(4)参照)を加えて光学性能もアップさせた。電動タイプNi-E(図4.53)と手動タイプNi-Uの2機種がある。また検査用顕微鏡のCiシリーズは、LED光源のCi-E(電動タイプ)とCi-L(手動タイプ)及びハロゲン光源のCi-S(手動タイプ:図4.54)の3機種がある。



図 4.51 ニコン エクリプス 90i DIH 付¹⁸⁾



図 4.53 ニコン エクリプス Ni-E¹⁸⁾



図 4.52 ニコン エクリプス 55i¹⁸⁾



図 4.54 ニコン エクリプス Ci-S¹⁸⁾

引用

- 1) わが国の顕微鏡の歩み, 財団法人科学博物館後援会, 1963
- 2) 小林義雄: 世界の顕微鏡の歴史, pp.1-68, 1980
- 3) 田中新一: 顕微鏡の歴史, pp.131-139, 九州文庫出版社, 権歌書房, 1979
- 4) 独立行政法人国立科学博物館提供
- 5) 独立行政法人国立科学博物館提供 (有限会社浜野顕微鏡所蔵)
- 6) 手島安太郎: 日本の光学工業史 第5篇第2章第1節 顕微鏡, 光学工業史編集会, 1955.12, pp.422-426
- 7) 千代田顕微鏡の歴史, サクラ精機株式会社, 1994, pp.32-108
- 8) 井上了: 明治時代の国産顕微鏡に関する覚書, 日本医史学会関西支部 医譚 復刊 86号 pp.16-24, 2007
- 9) 田中式顕微鏡カタログ, 田中合名会社, 1908
- 10) 理化学器械薬品標本目録, 田中合名会社, 1908, pp.269-270
- 11) 東京大正博覧会出品審査概況・第一部教育及学芸・第十一類受賞人名簿・銀牌 p.33, 銅牌 p.111, 1914
- 12) 50年の歩み, オリパス光学工業株式会社, pp.3-110, 1969
- 13) 苦節十三年 オリパス顕微鏡・幻灯器・映写器の経歴, 株式会社高千穂製作所, 1932
- 14) 光とマイクロと共に - ニコン 75年史, 1993, pp.19-20, pp.40-44
- 15) 独立行政法人国立科学博物館提供 (井上了氏所蔵)
- 16) サクラファインテックジャパン株式会社提供
- 17) オリパス株式会社提供
- 18) 株式会社ニコン提供
- 19) 日本顕微鏡工業会提供
- 20) カールツァイスマイクロコピー株式会社提供
- 21) 堀川嘉明: 顕微鏡用自動焦点装置, 光学, Vol.13 No.4, 1984.8, p.320
- 22) ライカマイクロシステムズ株式会社提供

5 | 各種観察法の発展^{1) 2) 3)}

顕微鏡でさまざまな物体を観察する上で、通常は自然光のみによる方法だけでなく、屈折・散乱・回折・干渉・偏光・蛍光など光のもつさまざまな特性を応用して、目に見えないものや物体がもつ情報を引き出すさまざまな観察法が20世紀に入ってから発明され、普及してきた。光学顕微鏡ほどこうした光の性質を幅広く応用した光学器械はないといっても過言ではないであろう。この章では、こうした各種観察法の原理と世界及びわが国の開発の歴史について述べる。

5.1 明視野観察法 bright field microscopy

明視野観察法は、照明された標本を対物レンズで拡大像を作り、接眼レンズでさらに拡大観察したり、カメラやビデオで記録・表示する光学顕微鏡の最も一般的な方法である。多くの標本は明視野観察法で直接見られる(図5.1 a)し、透明で見にくいものはコンデンサの開口絞りを絞ることによってコントラストを付けて見ることができる。しかし、より微小な生物構造を観察するためには、標本を固定したあとマイクローム(microtome)という装置を使って薄片化する必要がある、この場合標本の多くは透明体となるため、特定の色素で標本を着色する染色という作業が行われる。これらの手法は、19世紀後半から急速に技術が確立されてきた。現在でも、染色した標本を観察する明視野観察法は、光学顕微鏡の一般的な方法として、医学や生物学の研究・検査に幅広く使われている(図5.1 b, c)。一方、染色法は組織を固定したあとに色素を作用させるため、生体を死滅させるかその機能を著しく損ない、生きたままの状態を観察できないという欠点がある。

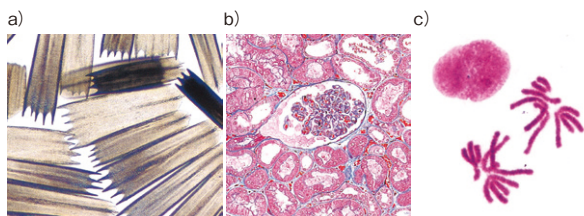


図 5.1 明視野観察法による写真例¹⁾

a) 蝶の鱗粉(無染色)、b) 腎臓(HE染色)、c) 染色体(ギムザ染色)

5.2 暗視野観察法 dark field microscopy

標本を照射した光が対物レンズに入らないようにすると、真っ暗な視野の中に標本により反射・散乱・回折等を受けて対物レンズに入ってくる光のみが輝いて見える。固定や染色などの前処理なしで、生の標本を観察できる上、顕微鏡の解像限界(約200 nm)よりはるかに小さいコロイド粒子(直径数nm)や細菌の鞭毛(直径約20 nm)などの存在や動きを検出できるという特長がある。

暗視野観察を行うには、使用する対物レンズの開口数(NA)よりも大きなNAの照明光のみを標本に当てるように工夫した暗視野コンデンサを組み合わせるだけで可能となる。暗視野コンデンサには、通常のNAの大きなコンデンサの入射光側にリング絞りを置いた簡易型(図5.2 a)と、専用のタイプとしてドライ型(図5.2 b)、オイル型(図5.2 c)がある。専用型コンデンサでは入射した照明光を標本に集光させるため、カージオイド(cardioid:心臓形)曲面またはこれに近似した球面をもたせている(図5.2 b及びcの第2反射面)。また100×など高NA油浸対物レンズで暗視野観察を行うためには、対物レンズ自身に開口絞り(iris)を内蔵したものが必要となる。

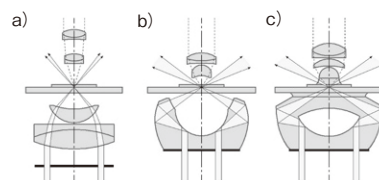


図 5.2 各種暗視野コンデンサの例¹⁾

a) 簡易型 b) 専用型(ドライ) c) 専用型(オイル)

暗視野コンデンサは、1850年にイギリスのウェーナム(F. H. Wenham)が作ったパラボロイド(paraboloid、放物面)反射鏡タイプのものが最初とされている。オーストリア出身のジグモンディ(R. Zsigmondy, 1865-1929)は、コロイドの研究のためツァイス社の光学研究者ジードントップ(H. Siedentopf)と共同で、1903年に限外顕微鏡ultramicroscopeを発明・開発した。これは試料を横から照明し、その直接光が対物レンズに入らず、試料中の微粒子からの散乱光を顕微鏡で観察する方法で、暗視野観察法の原型である。彼は限外顕微鏡を使って光学顕微鏡の解像限界をはるかに超えるコロイド微粒子の研究を行い、1925年にノーベル化学賞を受

賞している。暗視野観察法は、現在でも細菌の鞭毛の動きや金コロイド標識による生物的・化学的検査等 nm オーダーの研究・検査に使われている。暗視野観察法による写真例を図 5.3 に示す。

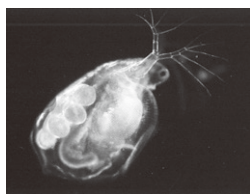


図 5.3 暗視野観察法による写真例 (ミジンコ)¹⁾

5.3 位相差観察法 phase contrast microscopy

光は物理学的に波の性質をもっているが、人の目や写真フィルム、電子撮像素子などが光を感じる場合、その振幅の大きさは明るさの差、波長の違いは色の差として識別される。しかし、生物の組織切片や培養細胞のように、それを透過した光の吸収がほとんどないような物体 (位相物体) では、無色透明な物体として識別が困難である (図 5.4)。このような微小な無色透明の標本に、光の回折と干渉を利用して明暗のコントラストに変換し、観察可能にした方法が位相差観察法である。

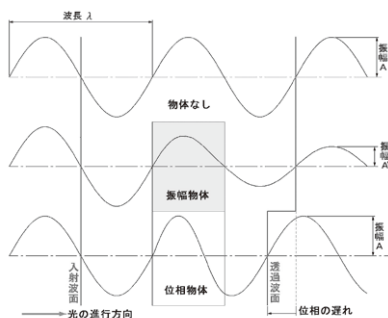


図 5.4 物体を透過した光の変化¹⁾

位相差顕微鏡の構成は、図 5.5 に示すように、コンデンサの前側焦点位置にリング絞りを置き、それと共役対物レンズの後側焦点位置にやはりリング状の位相膜をもつ位相板 phase plate を置いたものである。図 5.6 により簡単に原理を説明すると、位相物体を透過した光 P は、物体の影響を全く受けない直接光 S に回折光 D が合成されたものと考えることができる。このとき位相のずれが十分に小さいものであれば、回折光 D は直接光 S に対して $1/4$ 波長だけ位相が遅れている。直接光 S は全て位相膜を通過するが、回折光

D は位相物体により回折しているため、位相膜を通過するのはごく一部である。そこで、位相膜を通過する光の位相を $1/4$ 波長だけ進めさせるように設定しておけば、直接光と回折光の位相は $1/2$ 波長ずれることになり、干渉により合成波の振幅 I' は、直接光の振幅 (背景の明るさ) よりも小さくなる。すなわち、周りより屈折率の高い位相物体に暗いコントラストがついた像が得られる。このとき位相板に吸収膜を付け、直接光の強度を落としてやると、コントラストはさらに向上する (図 5.6 b)。これをポジティブ (またはダーク) コントラストと呼んでいる。同様に、位相板を通過する光の位相を $1/4$ 波長だけ遅らせると、直接光と回折光の位相が合わさって、干渉により合成波の振幅 I' は直接光の振幅より大きくなり、位相物体が周りより明るくなる (図 5.6 c)。これをネガティブ (またはブライツ) コントラストと呼んでいる。図 5.7 に両者の比較写真を示す。位相差観察法は、現在でも培養細胞など生きた試料の研究・検査に広く普及している。

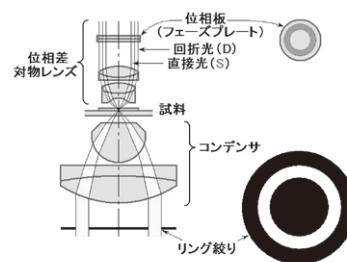


図 5.5 位相差顕微鏡の構成図¹⁾

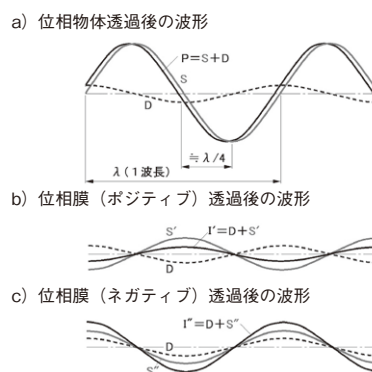


図 5.6 位相差コントラストの原理¹⁾

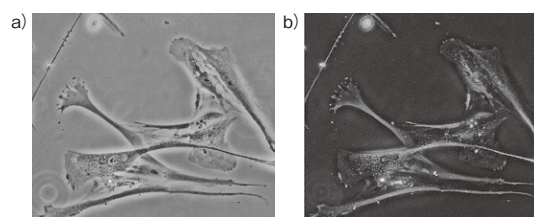


図 5.7 位相差コントラスト (線維芽細胞)¹⁾
a) ポジティブ (ダーク) b) ネガティブ (ブライツ)

アッペの顕微鏡結像理論を研究していたオランダのゼルニケ (F. Zernike, 1888-1966) は、1932 (昭和7) 年に位相差顕微鏡の原理を発表した。ツァイス社は、1936年に位相差顕微鏡の試作機 (図5.8) を完成、第二次大戦中の1941年に論文を発表し、さらに1943年には細胞分裂の映画撮影にも成功して世界の注目を浴びた。そして戦後間もなくアメリカでも製造されるようになった。培養細胞や染色体 (従来は染色しないと観察できないためこの名がある) などを、生きたままの状態でも明瞭なコントラストで観察することが可能となる画期的な方法で、ゼルニケはその功績により1953 (昭和28) 年にノーベル物理学賞を受賞している。

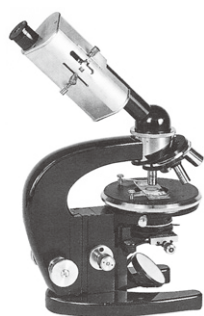


図 5.8 ツァイス位相差顕微鏡試作機⁵⁾

わが国ではこの論文に注目した東京大学第二工学部久保田広博士の提案に千代田が応え、1948 (昭和23) 年に共同研究を開始した⁶⁾。またオリンパスの宮田尚一も独自にこの論文に注目し、研究開発に着手した。当時、東京大学三崎臨海実験所 (神奈川県油壺) の團勝磨教授 (後に都立大学総長) が、ジーン夫人の持ち帰ったアメリカのボシュ・ロム社製の最初の位相差顕微鏡をわが国でただ一台所有しており、千代田とオリンパス両社の開発者がたびたび足を運んで観察や試作品との比較検討を続ける、いわゆる「三崎詣で」が続いた。1949 (昭和24) 年4月の応用物理学会で千代田が国産初となる位相差顕微鏡の試作品を発表し⁷⁾、センセーションを起こした (図5.9)。一方のオリンパスは、同年10月に創立30周年を記念して発表した位相膜に量産が可能な真空蒸着法を採用していた点に優位性があった (図5.10)⁸⁾。同年の12月には位相差顕微鏡談話会 (後に研究会) が発足し、その会誌^{9) 10)} を通じて位相差顕微鏡の有用性と使用方法に関する知識を普及させるなど、使用者と製造者に大きく貢献した。さらに日本光学など他の国産顕微鏡メーカーも位相差顕微鏡の開発・製造をスタートし、わが国の位相差顕微鏡は急速に普及していき、生物学の発展に貢献したのである。



図 5.9 千代田位相差装置 PI⁶⁾



図 5.10 オリンパス位相差装置 PA⁸⁾

5.4 偏光観察法 polarized light microscopy^{11) 12) 13)}

光の振動方向に偏りがあるという偏光 (2.1.3 (3)) 参照) の現象は、フランスのマリュス (E. Malus, 1775-1812) が、1808年に宮殿の窓の反射光を複屈折物質である方解石で観察していて発見したとされる。振動方向がランダムである自然光から、一定の振動方向をもつ直線偏光を得るために、イギリスのニコル (W. Nicol, 1768-1856) は、1828年に二つの方解石プリズムを貼り合わせたニコルプリズム (図2.17) を発明し、偏光装置を考案して岩石や鉱物などの研究を行った。照明光路と観察光路にそれぞれニコルプリズムを配した偏光顕微鏡は、1834年イギリスのタルボット (H. F. Talbot, 1800-1877, カロタイプ写真法の発明でも有名) の発明とされている。また標本の染色法の創始者としても知られる同じイギリスのソービー (H. C. Sorby, 1826-1908) は、1851年に偏光顕微鏡を使って岩石・鉱物の結晶構造の研究を開始し、ドイツのツィルケル (F. Zirkel, 1838-1912)、ローゼンブッシュ (H. Rosenbusch, 1836-1914) らに引き継がれ、岩石学 petrography の黄金期を築いた。一方、偏光顕微鏡で使用するニコルプリズムは、視野角が小さくまた高価であるという問題があった。これを解決したのがアメリカのランド (E. H. Land, 1909-1991) で、1929年に薄板状の偏光子を発明し「ポラロイド polaroid」と

名付けた。その後改良が重ねられ、安価で高性能の偏光素子としてサングラスや写真用フィルタとして普及し、やがて偏光顕微鏡にも標準的に使われるようになった。

偏光顕微鏡の基本構成は、明視野顕微鏡でコンデンサ側にポラライザ（polarizer：偏光子）、対物レンズ側にアナライザ（analyzer：検光子）の二つの偏光板を配置したものである。ポラライザとアナライザの振動方向を直角に配置（クロスニコルと呼ぶ）し、暗くなった背景に光学異方性物質（複屈折物質）が明るく観察できる。偏光顕微鏡の観察方法には大きく分けて二通りの方法がある。一つは照明の開口数を小さくし（偏光用コンデンサの先玉をはねのける）、4倍または10倍程度の低倍対物レンズで、標本のもつ複屈折性を観察する基本的な方法で、オルソスコープ（orthoscope：図5.11 a）と呼ぶ。物質の複屈折を定量的に測定するためには、検板（波長板、鋭敏色板）やコンペンセータ（補償板）を使う。もう一つは、照明の開口数を大きくし（偏光用コンデンサの先玉を光路に入れる）、NAの大きな対物レンズの後側焦点付近にできた干渉縞（結晶標本の光学特性を表す）を観察する方法で、コノスコープ（conoscope：図5.11 b）と呼ばれる。コノスコープ像を観察しやすくするためには、ベルトランレンズ Bertrand lens を観察光路に挿入する。本格的な偏光顕微鏡では、ポラライザとアナライザに加えて、標本の方法を厳密に決めるための回転ステージ、偏光状態を変換するための検板、試料の複屈折量を測定するコンペンセータ（補償板）、クロス焦点板付きの接眼レンズなどが用意されている。

またポラライザとアナライザの間にある対物レンズやコンデンサレンズなどは、複屈折の要因となる光学ひずみを除去した偏光専用のものを使う必要がある。検板には、直線偏光を円偏光（またはその逆）に変換する四分の一波長板、直線偏光の方向転換や円偏光の回転方向の逆転に使う二分の一波長板、複屈折量のわずかな違いを黄・赤・青の鮮やかな色に変換する鋭敏色板（tint plate、一波長板ともいう）などがあり、雲母や水晶の薄片をガラス板で挟んで作られるが、最近は高分子材料で作られたものも多くなっている。またコンペンセータは、試料の複屈折量（レターデーショ：2.1.3 (3) 参照）を定量測定する装置で、その測定範囲や精度によりベレーク（Berek, 図3.11）型、セナルモン（Sénarmont）型、ブレース・ケーラー（Brace-Köhler）型などがある。図5.12 a) はオルソスコープ像（黒雲母片麻岩・鋭敏色板使用）、同 b) は一軸性結晶（方解石）の、同 c) は二軸性結晶（トパーズ）のコノスコープ像である。

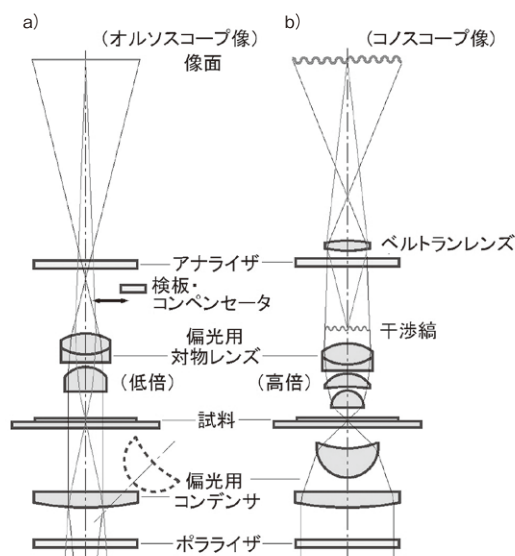


図 5.11 偏光顕微鏡の構成図¹⁾
a) オルソスコープ b) コノスコープ

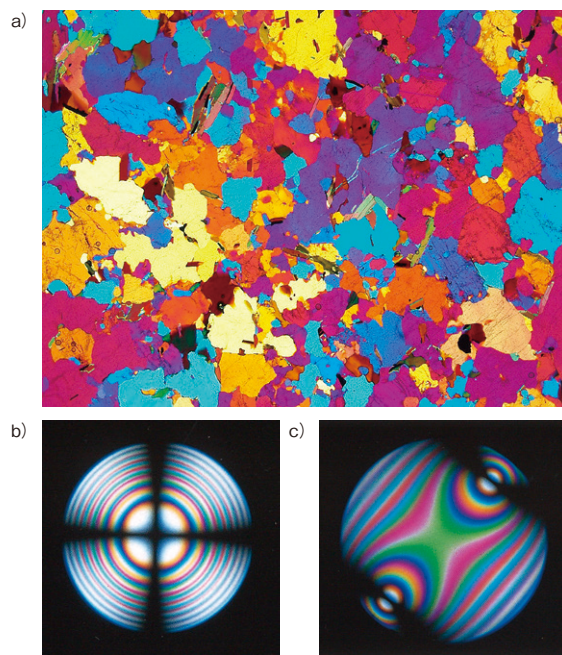


図 5.12 偏光顕微鏡写真¹⁾

- a) オルソスコープ像 黒雲母片麻岩
- b) コノスコープ像 方解石（一軸結晶）
- c) コノスコープ像 トパーズ（二軸結晶）

前述したように、偏光顕微鏡は主として岩石や鉱物の研究・検査に用いられてきた。鉱物顕微鏡と呼ばれてきたのもそのためである。わが国でも高千穂製作所と島津製作所が共同で1925（大正14）年に鉱物顕微鏡（図5.13）を製造している。そして、1949（昭和24）年には本格的な偏光顕微鏡の国産化をめざし、偏

光顕微鏡委員会（主査：坪井誠太郎・東京大学名誉教授）が設置された。そして日本光学より1951年に文部省科学試験研究費の補助を受けて偏光顕微鏡 POB が、次いで1952年に本格的偏光顕微鏡 POH（図 5.14）が発売され¹⁴⁾、オリンパスでも1960（昭和 35）年に POM（図 5.15）が、1963（昭和 38）年に POS が発売された。その後、偏光顕微鏡は各社の顕微鏡システムの一部として、各ユニットがラインアップされ現在に至っている。



図 5.13 オリンパス・島津製作所 鉞物顕微鏡⁴⁾



図 5.14 日本光学 偏光顕微鏡 POH 型¹⁷⁾



図 5.15 オリンパス 偏光顕微鏡 POM⁴⁾

偏光顕微鏡用対物レンズとコンデンサレンズは、光学ひずみのないよう製造されているが、レンズの球面による偏光面の回転は避けられない。この回転量は、対物レンズの開口数に比例し、かつポライザの振動方向に対し $\pm 45^\circ$ の方位で最大値を持った光漏れが生

じるため、アナライザを通過後も対物レンズの瞳は真っ黒にならず、アイソジャイア (isogyre) と呼ばれる暗十字になり、偏光性能が劣化してしまう。これを解決したのが、井上信也らが1957年に発表したレクティファイア (rectifier) である^{15) 16)}。これは、図 5.16 に示すように二分の一波長板と一對の強い屈折面をもつパワーのないレンズを組み合わせたもので、レンズによる偏光面の回転を補償する機能を持ち、コンデンサ側と対物側に配置する（図 5.17）。これにより極めて偏光特性の高い光学系が得られる。井上はさらに画像処理により微弱なコントラストを増幅するビデオ顕微鏡 video microscopy も開発し、細胞分裂時に生じる微弱複屈折の可視化により紡錘体の存在や分裂メカニズムを解明した。レクティファイアは、1975（昭和 50）年に日本光学よりアポフォトに搭載して製品化された（図 5.18）。

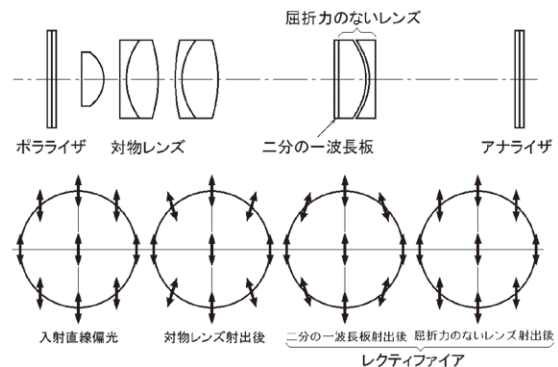


図 5.16 レクティファイアの説明図（対物レンズ部のみ）
（引用 15 を参考に作成）

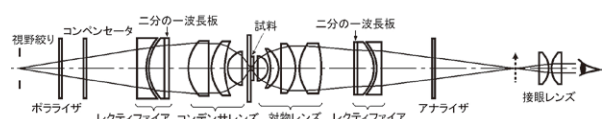


図 5.17 レクティファイアの光学系
（引用 15 を参考に作成）

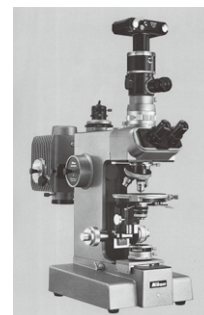


図 5.18 日本光学 レクティファイア顕微鏡¹⁷⁾

最近では、偏光状態が可能な液晶素子と画像処理技術を組み合わせることで、顕微鏡自身による偏光状態の低下を補償する方法も提案されており、観察画像の鮮明化やさまざまな定量計測が可能になってきている。

5.5 微分干渉観察法 differential interference contrast microscopy (DIC)

微分干渉法は、無色透明な物体の位相情報を、偏光干渉により干渉色のコントラストを付けて可視化する方法で、図 5.19 に示した構成及び原理図に基づきそのしくみを説明する。

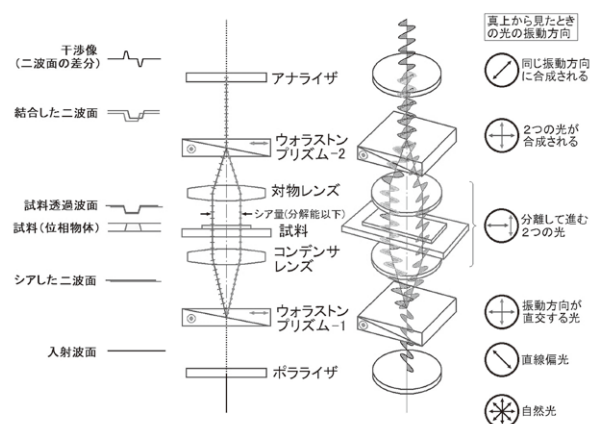


図 5.19 微分干渉顕微鏡の構成及び原理図
(引用 19 を参考に作成)

コンデンサ下の偏光ライザを通過した直線偏光（振動方向は図の右側に表示）は、第 1 のウオラストンプリズム（図 5.20 a、水晶などの結晶を特定の方向に切り出し微小なくさび角をつけたプリズム 2 枚を貼り合わせたもの）に入射し、互いに直交した振動方向をもつ 2 つの直線偏光に分離する。この 2 つの光が位相物体を透過し、波面の変形を受けたあと対物レンズを通過して再び第 2 のウオラストンプリズムで結合し、アナライザにより振動方向が合致して、2 つの波面のずれに対応した干渉が起こる。このとき、位相物体を透過する 2 つの光線の分離幅（シア量）が対物レンズの分解能以下であれば、像は 2 重にならず位相のずれ（透過波面の微分係数）に対応した干渉色のコントラストが付く。このため微分干渉の像には、レリーフのような立体感がある。この微分干渉顕微鏡の方式は、イギリスのスミス（F. Smith）とフランスのフランソン（M. Françon）が 1947 年に発明した。第 1 及び第 2 のウオラストンプリズムは、それぞれコンデンサレンズの前側焦点、対物レンズの後側焦点の位置に

配置する必要があるが、対物レンズの場合この位置はレンズ内部にあることが多く、実際に適用するのは困難がある。このため、1952 年ノマルスキー（G. Nomarski、ポーランド→フランス、1919-1997）は、ウオラストンプリズムの一方の光学軸を傾けたノマルスキープリズム（図 5.20 b）を発明し¹⁸⁾、この問題を解決した。微分干渉顕微鏡は、現在このノマルスキー方式が主流となっている。ノマルスキー式微分干渉顕微鏡では、コンデンサ側と対物レンズ側にそれぞれプリズムが配置されるが、それには二通りの方式がある。一つは、コンデンサ側のプリズムを対物レンズごとに用意し、対物レンズ側は一つの共用プリズムとする方式で、もう一つは、コンデンサ側プリズムは対物レンズの NA に対応した区分で用意し、対物レンズ側は個別プリズムとする方式である。なお、背景のコントラスト調整は、対物レンズ側プリズムの横方向への移動で行う方式と、コンデンサの下側で四分の一波長板と回転する偏光ライザを組み合わせたセナルモン方式とがある。背景はグレーのコントラストが最も試料の検出感度が高いため一般的に使われるが、さらに調整して鋭敏色を使うと黄・赤・青の色鮮やかなコントラストが得られる。ノマルスキープリズムは水晶を材料とし、光学軸の角度を分レベルで、くさび角を秒レベルで加工する必要がある、製造難度の高い光学部品の一つである。図 5.21 a に珪藻の微分干渉写真、同 b に位相差顕微鏡との比較写真を示す。

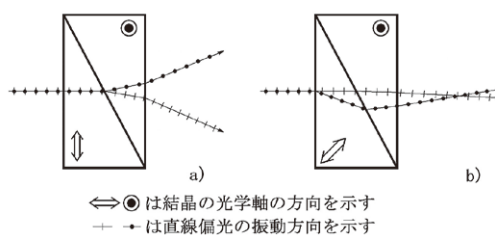


図 5.20 a) ウオラストンプリズム と b) ノマルスキープリズム

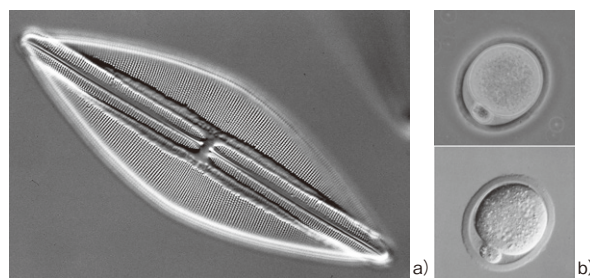


図 5.21 微分干渉写真¹⁾
a) 珪藻 b) ラットの胚 (上: 位相差法、下: 微分干渉法)

生物顕微鏡用ノマルスキー微分干渉装置は、1965年にツァイスで製品化された²⁰⁾。わが国では、日本光学の山本忠昭がフランソンと共同で独自方式の微分干渉理論を1962年に発表し^{21) 22)}、日本光学は1966年に生物用のT型(透過型:図5.22 a)と金属用のR型(反射型:同b)を発売し高く評価された。一方、ノマルスキー方式は、ユニオン光学がライセンスを得て1971年に工業用顕微鏡用として開発を行った(図6.54)。オリンパスも再実施権を得て、1973年に工業用顕微鏡用(図6.55)に、1974年に生物用顕微鏡用にノマルスキー式微分干渉装置NICをバノックス(AH)用とBH用に発売している。図5.23はBH用の微分干渉装置で、左より中間鏡筒(対物レンズ側ノマルスキープリズムとアナライザ)、心出し望遠鏡、コンデンサ、ノマルスキー用対物レンズ(3本)である。

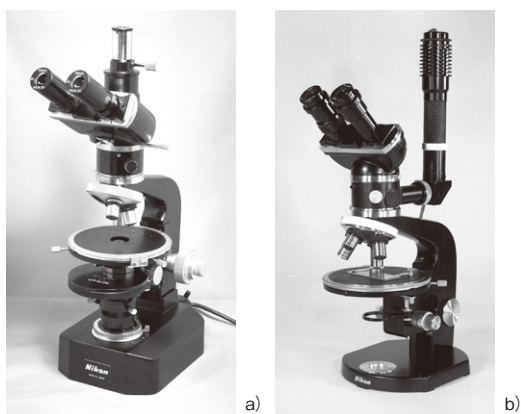


図 5.22 日本光学 山本・フランソン式微分干渉顕微鏡¹⁷⁾
a) 透過型 S-Ke-T、b) 反射型 S-R



図 5.23 オリンパス微分干渉装置 BH-NIC⁴⁾

生物用の場合、微小な位相物体を生きたまま明瞭なコントラストで観察できるため、位相差法と類似の目的で使われることが多い。ただ微分干渉法は偏光を使うため、コンデンサ、標本、対物レンズに光学ひずみが小さいことが必要で、プラスチック製容器の標本に

は使用できない。一方、厚い標本でも問題なく観察でき、ハローも出ないため位相差法とは像の特性が相補の関係にあるので、目的に応じて使い分けるとよい。最近では、標本の厚さなどに応じて、シア量の異なるプリズムを用意するなど、ユーザーニーズへの対応が図られている。

5.6 変調コントラスト観察法 modulation contrast microscopy (MC)

位相物体を可視化する方法として、1975年にアメリカのホフマン(R. Hoffmann)により考案された変調コントラスト法(レリーフコントラスト relief contrast 法とも呼ばれる)²³⁾がある。これは図5.24に示すように、コンデンサレンズの前側焦点面の光軸から外れた位置に矩形のスリットを置き、これと共役な対物レンズの後側焦点面にモジュレータを配置した構成になっている。このモジュレータは図のような透明(B)・グレー(G)・暗黒(D)の三段階の領域をもったもので、スリット像はG領域に投影されるよう調整される。スリットに付加している P_1 とその下の P_2 は偏光板で、 P_2 を回転させることによりスリットの幅と光量を変え、像のコントラストを調節することができる。標本にわずかな屈折率の勾配があると、スリットからの光は屈折し、モジュレータのBあるいはD領域へと振れるため、その部分に明暗のコントラストが付き、微分干渉法のような立体感のある像が得られる(図5.25)。変調コントラスト法は、位相差法の像に付きもののハローがなく、また微分干渉法のようにプラスチック容器が使えないといった制限も

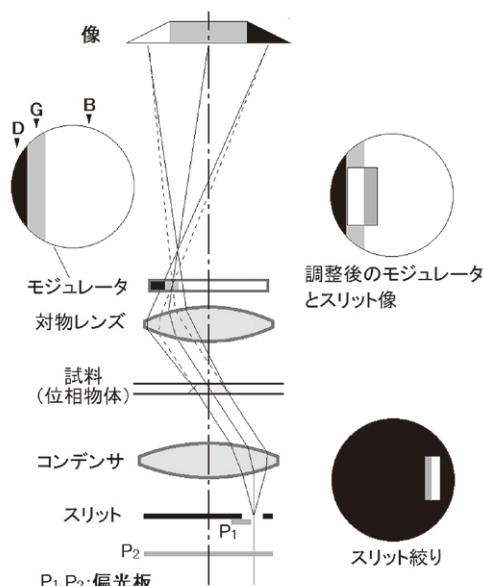


図 5.24 変調コントラスト法の原理図¹⁾

ない、という利点を有している。微分干渉法に対して解像力は劣るものの、比較的廉価であるため培養細胞の研究・検査を中心に徐々に普及してきている。

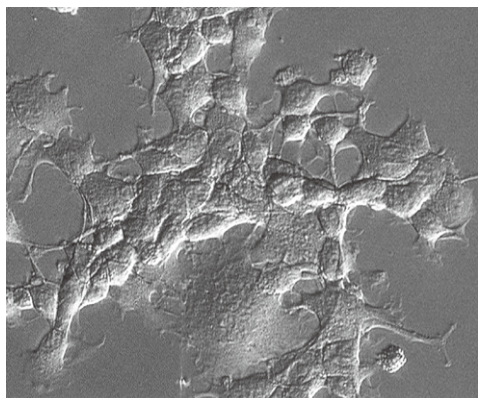


図 5.25 変調コントラストによる像（神経細胞）¹⁾

5.7 蛍光観察法

5.7.1 透過型蛍光顕微鏡

蛍光は、光（紫外・可視光）のエネルギーを吸収（励起）し発光するフォトルミネッセンスの一種であり、励起を止めたときの発光寿命が短い（ほほない）ものをいう（寿命が長いものは燐光という）。蛍光は、励起光の波長より長く（ストークス Stokes の定理：1852 年）、また非常に微弱である。ツァイス社のケーラーは、顕微鏡の分解能を向上させるため、1904 年に蛍石や石英を組み合わせた対物レンズを使った紫外線顕微鏡を製作した。これを応用してレーマン（H. Lehmann）らは、蛍光顕微鏡の開発に取り組み、1913 年にツァイス社より発表された。蛍光顕微鏡の商品化はライヘルト社の方が早く 1911 年のことであった²⁴⁾。当初は、微生物や植物組織自身が発する自家蛍光（一次蛍光ともいう）の観察が主体であったが、1933 年にオーストリアのハイティンガー（M. Haitinger）は、蛍光色素 fluorochrome を発見し、これにより組織や細胞の特定部分を染色して、その二次蛍光を観察する蛍光染色法が開発された。その後も数々の蛍光色素が発見され、蛍光顕微鏡の実用化が進んだ。1941 年には、アメリカのクーンズ（A. H. Coons, 1912-1978）らが抗原に特異的に結合した抗体に蛍光色素を付着させ、蛍光観察することにより抗原を特定する方法を開発し、1950 年には蛍光色素 FITC（Fluorescein isothiocyanate）による蛍光抗体法を確立²⁵⁾することにより、免疫学の大きな進展をもたらした。このように蛍光顕微鏡は、多様な蛍光色素の開

発により、医学・生物学の最新研究においてもなくてはならない手法となっている。

国産の蛍光顕微鏡は、超高圧水銀灯光源装置が、1953 年に日本光学から 1954 年に千代田から H-200 が、1963 年にオリンパスから HLS が発売されたことに始まる。さらに専用の蛍光顕微鏡として千代田より FM-200A（図 5.26）と日本光学より S-FS（図 5.27）が 1965 年に、オリンパスより FLM（図 5.28）が 1970 年に発売され、蛍光抗体法を始めとするニーズに応じていった。

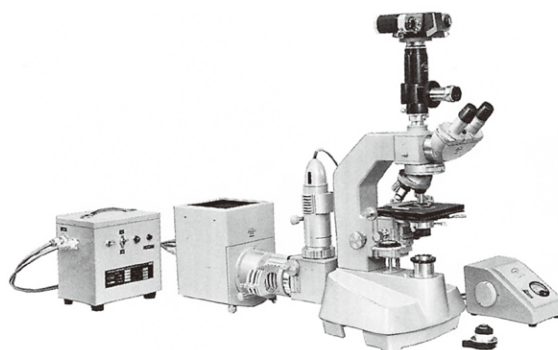


図 5.26 千代田 蛍光顕微鏡 FM-200A⁶⁾

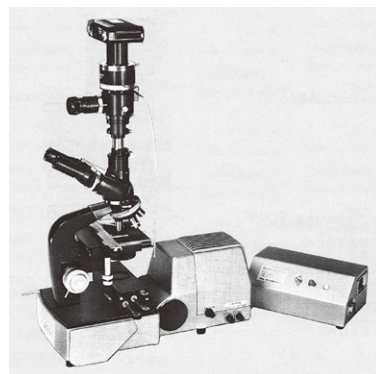


図 5.27 ニコン 透過型蛍光顕微鏡 S-FS¹⁷⁾

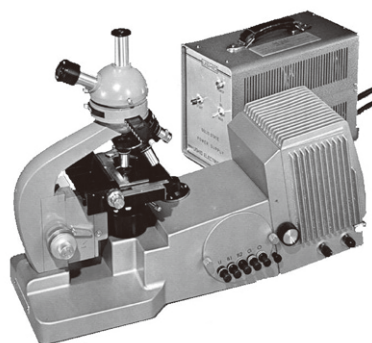


図 5.28 オリンパス 透過型蛍光顕微鏡 FLM⁴⁾

透過型蛍光顕微鏡の光路図を図 5.29 に、試料の励起光吸収スペクトルとそれにより発する蛍光スペクトルの分光特性を図 5.30 に示す (FITC の例、強度はそれぞれ正規化している)。蛍光は励起光に比べ格段に弱いため、光源は近紫外から可視光域に強い輝線をもつ超高压水銀灯が使われることが多い。試料を照射した励起光を観察光路からカットし、蛍光のみで観察できるように暗視野コンデンサが用いられる。また励起と蛍光スペクトルのオーバーラップ部分を完全に分離するため、照明側には励起波長を選択する励起フィルタが、観察側には光路に入った励起光の一部をカットし、蛍光波長のみを透過させる吸収フィルタが配置される (図 5.30 の細線)。図の励起フィルタは当時製造技術が確立しはじめた干渉フィルタである。高倍率観察時には、対物レンズ及び暗視野コンデンサと試料間を油浸にする必要があるが、この浸液に自家蛍光があってはならず、一般のオイル (屈折率 1.518) の代わりにグリセリン (同 1.450) を使った。また暗視野照明の励起光をカットするため、グリセリン用対物レンズには開口絞 (iris) を内蔵し、観察時には開口数 (NA) を絞って使った。

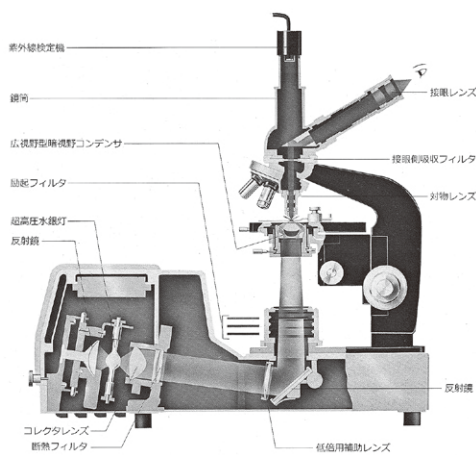


図 5.29 透過型蛍光顕微鏡 (ニコン S-FS) の光路図 (引用 26 より一部修正)

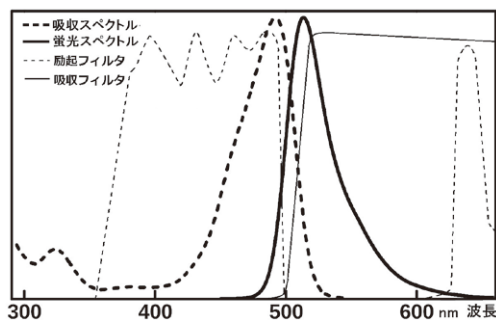


図 5.30 FITC の吸収・蛍光スペクトルと励起フィルタ・吸収フィルタの分光特性

5.7.2 落射型蛍光顕微鏡

オランダのプローム (J. S. Ploem, 1927-) は、短波長を反射し長波長を透過するダイクロックミラー (dichroic mirror) を組み込んだ落射蛍光照明法を 1967 年に発表し²⁷⁾、間もなくライツ社は 4 種の励起ユニットを回転により簡単に切り換えできる落射蛍光装置を PLOEMOPAK の商品名で発売した。この落射型蛍光照明方式は、透過型に比べ多くの利点をもっていた。

- 1) 対物レンズがコンデンサを兼ね、励起照明の NA と照明範囲が対物レンズの NA と観察範囲に一致するため、明るく高解像の蛍光像が得られ、また退色 (励起光により蛍光の強度が徐々に落ちる現象) も限定的となる。
- 2) 透過型では、グリセリンのような粘度の高い浸液を暗視野コンデンサ側にも使うため、使い勝手は良くなかったが、落射型では対物レンズ側のみのためかなり改善される。

一方で落射型の場合、対物レンズに直接励起光が照射されるので、対物レンズ自体の自家蛍光を小さくしないと、蛍光像の背景が明るくなりコントラストを落とす。このため無蛍光ガラス材料による対物レンズが必須となる。

また蛍光の明るさを高めるためには色収差の少ない高 NA 対物レンズが望まれる。こうした課題を乗り越えて各社で開発された落射型蛍光顕微鏡は、その後の蛍光顕微鏡の主流となり現在に至っている。

次に図 5.31 に基づき、落射型蛍光顕微鏡の構成を説明する。落射照明装置は、鏡基と鏡筒の間に配置される。光源から出た光は、励起波長を選択する励起フィルタ Exciting filter を通り、ダイクロックミラーで反射され対物レンズにより標本を照射 (励起) する。励起された標本から発した蛍光は、対物レンズを通りダイクロックミラーを透過する。この時点で励起光の大部分はカットされるが、このあとさらに吸収フィルタ Barrier filter を通ることによって、蛍光のみが

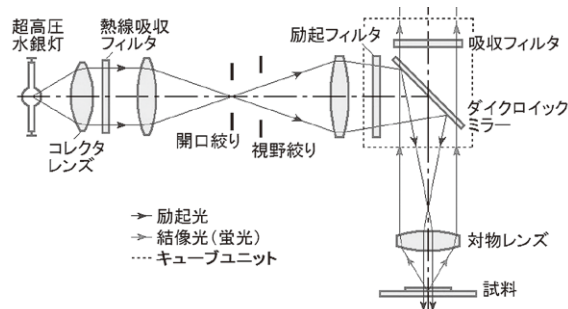


図 5.31 落射型蛍光顕微鏡の構成図¹⁾

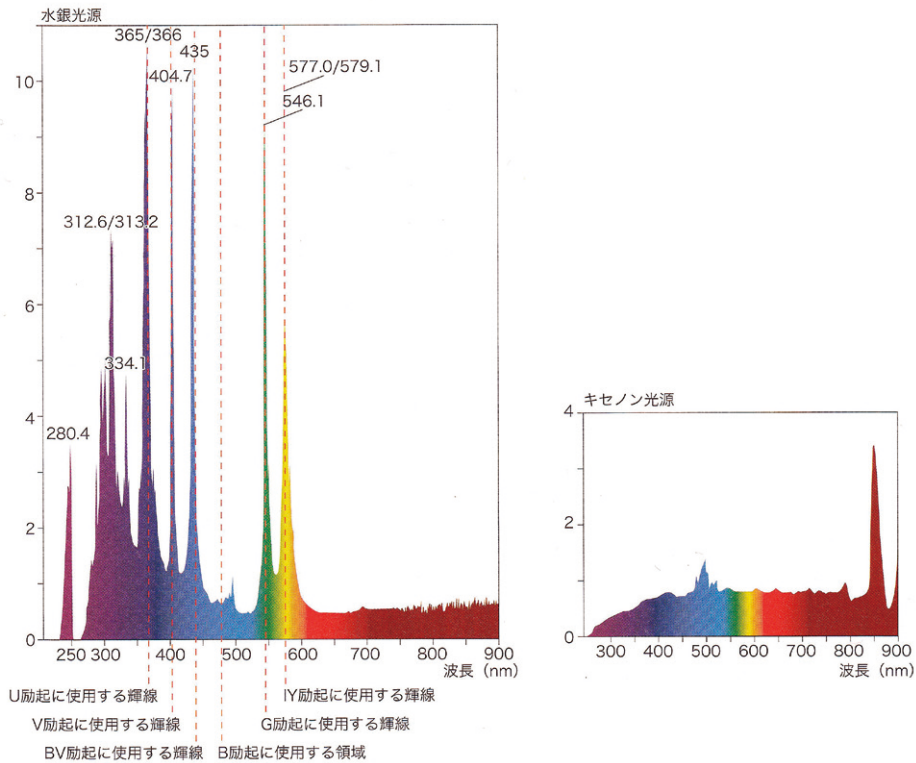


図 5.32 超高压水銀灯とキセノンランプの分光特性⁴⁾

結像光線となり、観察・記録される。励起光の波長は、標本や蛍光色素によって選択する。光源は主に超高压水銀灯が使われてきたが、光学系の改良や撮像素子感度の向上により、幅広い波長帯域をもつキセノンランプも使われることが多くなっている。両者の分光特性を図 5.32 に示す。主な励起法の種類としては、U (365nm)、V (405nm)、BV (436nm)、B (490nm)、G (546nm) などがある (カッコ内は主励起波長)。図で点線で囲んだ励起フィルタ、ダイクロイックミラー、吸収フィルタの組合せはキューブ (図 5.33) としてユニットになっており、各種励起法に対応して組み合わせと切り替えが容易にできるようになっている。図 5.34 に U、V、B、G 各励起の励起フィルタ (EX)、ダイクロイックミラー (DM)、吸収フィルタ



図 5.33 蛍光キューブ群⁴⁾

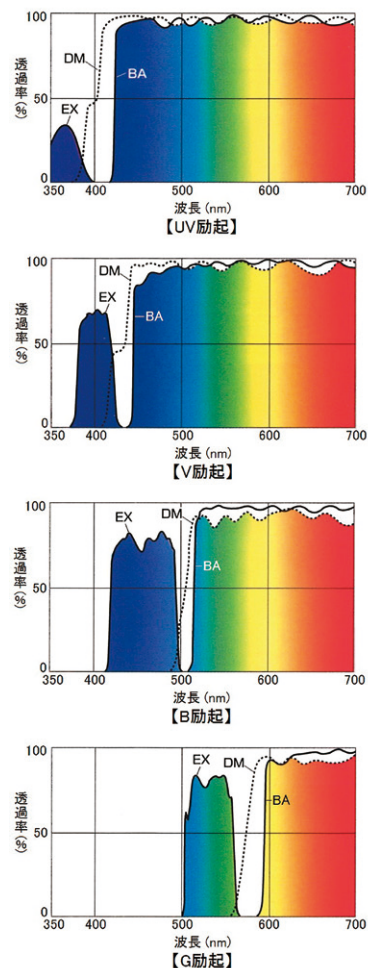


図 5.34 各励起法の分光特性¹⁾

(BA) の特性を、図 5.35 に U、B、G 各励起による蛍光像の写真を示す。最近では干渉フィルタ技術の発達により、それぞれの複数の波長を反射・透過させる特性をもったものが製造できるようになり、異なる蛍光色素に対する二重励起や三重励起と蛍光の同時観察が可能になっている (図 5.36)。

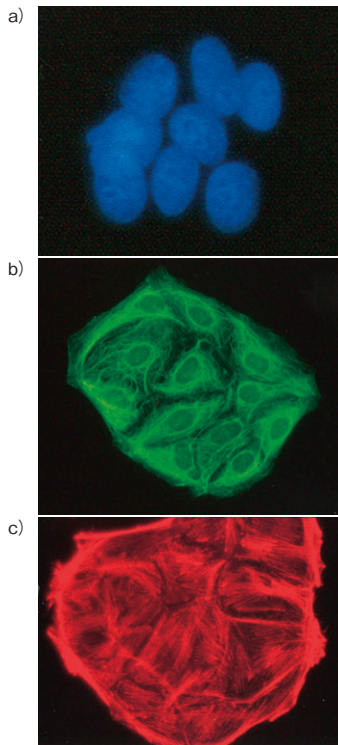


図 5.35 蛍光顕微鏡各励起法による写真¹⁾

a) U 励起 b) B 励起 c) G 励起

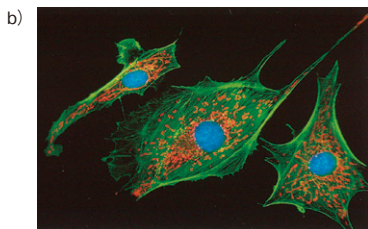
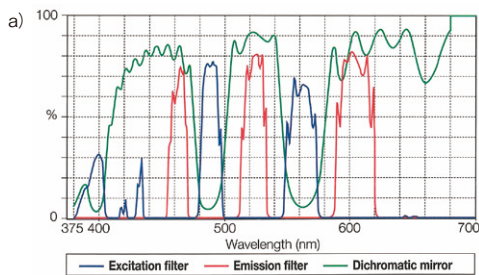


図 5.36 a) U、B、G 励起の 3 バンド励起フィルタ (青)、ダイクロミックミラー (緑)、吸収フィルタ (赤) の分光特性⁴⁾

b) U (DAPI 染色: 細胞核)、B (FITC 染色: 微小管)、G (TRITC 染色: アクチンフィラメント) の三重励起蛍光写真¹⁾

国産の落射蛍光装置は、1973 年にオリンパスよりパノックス (AH) の付属ユニットとして発売されたのが最初である (図 5.37)。対物レンズは比較的自家蛍光の少ない種類が選別された。また油浸液は、独自開発のシリコーンオイル (グリセリンに比べ粘度が低く使いやすい) を採用した専用の 100 倍対物レンズも開発された。1976 年には、日本光学より落射蛍光専用鏡基フルオフォト (Fluophot: 図 5.38) も蛍光専用の CF UV-F 対物レンズ (図 7.22d) と共に発売された。こうして、リサーチ分野を中心に蛍光顕微鏡のウェイトが高まると、落射蛍光装置を内蔵した生物顕微鏡がラインアップされるようになってきた。図 5.39 は、オリンパスが 2010 年に発売した BX63 である。

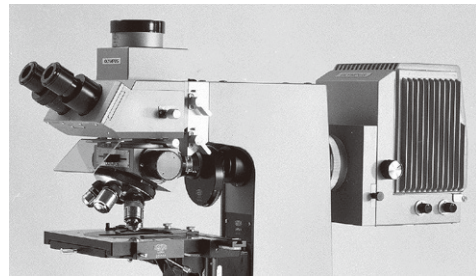


図 5.37 オリンパス 落射蛍光装置 AH-RFL⁴⁾

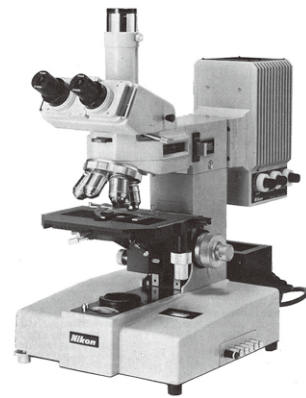


図 5.38 ニコン フルオフォト¹⁷⁾



図 5.39 オリンパス BX63⁴⁾

5.7.3 蛍光観察法の応用例^{28) 29)}

先に述べたように、蛍光顕微鏡は新たな蛍光色素、蛍光タンパクが次々に開発され、それまで見えなかった現象も観察できるようになった。その代表的なものを以下に紹介する。

- 1) 下村脩 (1928-) は、1962年にオワンクラゲから緑色蛍光タンパク (Green Fluorescent Protein : GFP) を発見し³⁰⁾、その発光メカニズムを解明した。このGFPは、生きた細胞・組織に使い、特定の単一分子が検出可能であるという優れた性質があった。チャルフィー (M. Chalfie : アメリカ) は1992年、大腸菌と線虫にGFPをコードとする遺伝子を導入し、生きたままの細胞内でGFPを発現させることに成功した。これ以降GFPは、分子レベルの生命活動を観察する有効な技術として急速に普及した。下村、チャルフィーは、GFPの構造・機構を解明したツイエン (R.Y. Tsien : アメリカ) と共に2008年のノーベル化学賞を受賞した。その後、BFP (青)、CFP (シアン)、YFP (黄)、RFP (赤) などの蛍光タンパクが次々と発見されている。
- 2) カルシウムイオン (Ca^{2+}) は、さまざまな細胞の機能を制御しており、その動態は生命機能を理解する上で重要である。1960年代に、筋繊維に蛍光プローブを直接注入し Ca^{2+} の変化を測定する方法が報告され、1980年代にはさらに多くの蛍光プローブが開発され、細胞内 Ca^{2+} の動態を可視化する際のなくてはならない方法となっている。代表的な蛍光プローブの一つである Fura-2 は、 Ca^{2+} と結合すると、380nm の励起光で蛍光 (510nm) 強度が低下し、340nm の励起光では蛍光強度が増加する。この蛍光強度比を測定することにより Ca^{2+} 濃度を求めることができる。また別の蛍光プローブである Indo-1 は、340nm の励起光による蛍光スペクトルが Ca^{2+} 濃度によって変化するため、480nm と 420nm の蛍光強度比を求めることにより Ca^{2+} 濃度が求まる。このほか、1波長励起・1波長測光の Ca^{2+} 測定用蛍光プローブも多くある。
- 3) 調べたい DNA 断片が染色体のどの位置にあるのかを決定する方法として FISH (Fluorescence in situ hybridization) 法がある。スライドガラス上に固定された染色体 (DNA) に蛍光試薬で標識されたプローブを反応させて、ハイブリッド (分子雑種) を形成させ、蛍光顕微鏡で観察して位置とコピー数を決定する。1986年に発表されて以来、比較的簡単な手法で解析精度が高いことから、生物医学分野では DNA マッピングや遺伝子異常の検出な

どで広く使われるようになった。

新しい蛍光顕微鏡の方式として、全反射蛍光顕微鏡 (Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy : TIRFM) がある。屈折率の高い媒質から低い媒質へ臨界角以上の入射角で光を入射させると、全反射が起こるが、このとき境界面では低屈折率側の媒質に光がごくわずかにしみ出す現象があり、この光をエバネッセント (evanescent) 光 (または近接場光) という。TIRFMは、このエバネッセント光を励起光として利用することで、カバーガラス表面近傍 (または試料表面近傍) 150nm 程度の限られた領域の蛍光分子のみを励起する方法で、バックグラウンドからの蛍光が少ない高 S/N 比の観察が可能となる。その構成を図 5.40 に示す。カバーガラス (屈折率 1.52) 上の水 (同 1.33) や細胞 (同 1.37~1.38) に対して全反射を起こす臨界角は、それぞれ 61° 、 64.3° であり、対物レンズの NA に換算すると 1.33、1.37 になる。最高級のプランアポクロマト 60×、100×でも NA は 1.40 なので、全反射照明する領域はほとんどない。このため TIRFM 専用 NA1.49 の対物レンズが発売されている。また専用の高屈折率オイル・カバーガラスと組み合わせると NA1.7 を実現した対物レンズも開発された (7.4.5 (4) 参照)。TIRFM は、1989年にプリズムを使った全反射照明方式のものが発表され、その後上記の専用高 NA 対物レンズの開発にともない、上方からの試料操作が容易で他の装置との併用も可能な対物レンズ照明方式が主流となってきた。

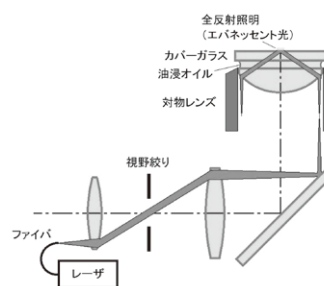


図 5.40 全反射蛍光顕微鏡の構成図 (倒立型顕微鏡)

(引用 31 を参考に作成)

このように蛍光観察法は、さまざまな蛍光色素 (プローブ) の開発と新たな観察手法、超高感度の撮像素子、画像処理ソフトの飛躍的進歩により、生物医学分野をはじめとする最先端分野の研究開発・検査に不可欠な手法となっている。この蛍光観察法を飛躍的に進展させた、レーザー走査型顕微鏡、多光子励起顕微鏡、超解像顕微鏡については、8.1~8.3 で述べる。

引用

- 1) 長野主税：光学を中心とした顕微鏡の基礎 日本顕微鏡工業会ホームページ
<http://www.microscope.jp/knowledge/index.html> (2016.12.20), 日本顕微鏡工業会提供
- 2) 長野主税：最新光学技術ハンドブック, IV 光学機器 1.2 光学顕微鏡, 朝倉書店, 2002, pp.685-704
- 3) 長野主税：光学顕微鏡の基礎と応用, 日本医学写真学会雑誌 Vol.34 No.2-Vol.35 No.1, 1996-1997
- 4) オリンパス株式会社提供
- 5) カールツァイスマイクロスコーピー株式会社提供
- 6) 千代田顕微鏡の歴史, サクラ精機株式会社, 1994, pp.83-85
- 7) 久保田広, 及川昇：応用物理, 第18巻 第6~7号, pp.163-179
- 8) 50年の歩み, オリンパス光学工業株式会社, 1969, pp.136-138
- 9) 位相差顕微鏡談話会会報, No.1 (1949.12), No.2 (1950.7), No.3 (1950.10)
- 10) 位相差顕微鏡研究会ニュース, 第1号 (1951.6)
- 11) 坪井誠太郎：偏光顕微鏡, 岩波書店, 1959
- 12) 井上勤：新版 顕微鏡観察シリーズ4 岩石・化石の顕微鏡観察, 地人書館, 2001
- 13) 偏光顕微鏡基本解説書, オリンパス光学工業株式会社, 1995
- 14) 光とマイクロと共に - ニコン75年史, 株式会社ニコン, 1993, pp.121-123
- 15) 竹中裕, 藤野健, 陸川克二：レクティファイヤ, ニコンテクニカルジャーナル, No.5, 1973, pp.14-20
- 16) 鶴田匡夫：光の鉛筆, 25. 偏光顕微鏡とレクティファイヤ, 新技術コミュニケーションズ, 1984, pp.186-196
- 17) 株式会社ニコン提供
- 18) Nomarski G : US Patent No.2, 924, 142, 1952
- 19) 野島博編：顕微鏡の使い方ノート, 改訂第3版, 羊土社, 2011.4, pp.50
- 20) Lang W : Nomarski Differential Interference-Contrast Microscopy, ZEISS Information, No.70, 1968, pp.114-120
- 21) Françon M and Yamamoto T. : Optica Acta, Vol.9 No.4, 1962, p.395
- 22) 山本忠昭：精密機械, Vol.31 No.12, 1965, pp.1008-1015
- 23) Hoffmann R and Gross L : Modulation Contrast Microscope, Applied optics, Vol.14, 1975, pp.1169-1176
- 24) Grundlach H : Fluorescence Microscopy: Past, Present and Future, Royal Microscopical Society, 1997, pp.28-33
- 25) Coons A. H. et al : Localization of antigen in tissue cells, J. Exp. Med., Vol. 91 No.1, 1950, pp.31-37
- 26) 塩育：蛍光顕微鏡とその応用, ニコンテクニカルジャーナル, No.2, 1973, pp.8-23
- 27) Ploem J. S. : The use of a vertical illuminator with interchangeable dichroic mirrors for fluorescence microscopy with incident light, Z. Wiss. Mikrosk., Vol.68 No.3, 1967.11, pp.129-142
- 28) 宮脇敦史：蛍光イメージング革命, 細胞工学別冊, 学研メディカル秀潤社, 2010
- 29) 日本光生物学協会編, 船津高志 担当編集：「生命科学を拓く新しい光技術」, 共立出版, 1999.12
- 30) Shimomura O : Science 140, 1963, p.1339-1340
- 31) 阿部勝行：蛍光顕微鏡 VII 全反射蛍光顕微鏡, 野島博編, 顕微鏡の使い方ノート, 羊土社, 2011, pp.103-110

6 | 各種タイプ顕微鏡の発展

4章では、わが国の光学顕微鏡の誕生と発展につき、生物用正立型顕微鏡を中心に解説してきた。一方、2.7にあるように光学顕微鏡にはさまざまな形式や、用途による種類がある。本章では、倒立型顕微鏡、双眼実体顕微鏡、教育用顕微鏡、金属顕微鏡（工業用顕微鏡も含む）につき、わが国におけるその発展を解説する。

6.1 倒立型顕微鏡

2.7.2で述べたように、倒立型顕微鏡はステージ上の試料に対し下側に置かれた対物レンズで観察するタイプの顕微鏡を指す。透過標本では、光源・コンデンサ等の照明系は、試料の上側に配置される。倒立型の顕微鏡は、1834年にフランスのシェバリエ（C. Chevalier, 1804-1859）が最初に試作したとされるが、同国のル・シャトゥリエ（Le Chatelier, 1850-1936、化学平衡の法則で有名）が、金属標本の観察面を下向きにして観察するために倒立型を使ったことから、倒立型金属顕微鏡は、シャトゥリエ型とも呼ばれた。その後も倒立型顕微鏡は、金属試料の観察をメインに普及していったが、やがて位相差観察法の出現により、培養細胞の研究・検査が始まると、ステージが固定で培養液の底の細胞を観察するのに便利な倒立型生物顕微鏡が広まってきた。本節では、現在バイオ研究・検査の主流となっているこの倒立型生物顕微鏡の発展について述べ、倒立型金属顕微鏡については、6.4.2で記述する。

わが国の倒立型生物顕微鏡は、オリンパスが1958年に倒立型の万能金属顕微鏡をベースに、透過照明を組み込んだPMB（図6.1）が最初とされる。一方、日本光学は1964年に東京大学医科学研究所と共同で本格的倒立型生物顕微鏡MD（図6.2）を開発した²⁾。サイドポートの採用によりシステム性が向上し、またステージ固定で対物レンズを上下させる焦点合わせ機構で時間経過によるピントずれを防止するなど、長時間のタイムラプス映画撮影を可能とした。当時の細胞研究に必要なスペックを全て網羅し、研究用倒立型生物顕微鏡の先駆的製品であった。1967年にはこのMDをシステム化し、生物用・金属用・生物金属両用にすることができる多目的なModel Mを発表した。また千代田も1965年に倒立型顕微鏡T-2（図6.3）を発売している。その後、培養細胞研究・検査の普及と共に、培養顕微鏡と呼ばれる簡易型の倒立生物顕

微鏡が1966年に相次いで発売された。オリンパスのCK（図6.4）と日本光学のMSD（図6.5）がそれである。さらに1976年には、オリンパスから倒立型生物顕微鏡IMT（図6.6）と専用の長作動距離対物レンズLWDCPlan40×が発売された。

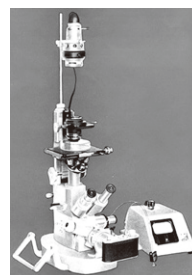


図 6.1 オリンパス PMB¹⁾

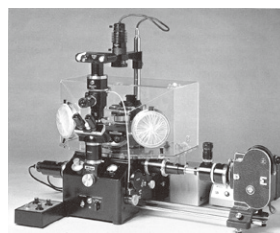


図 6.2 ニコン MD³⁾



図 6.3 千代田 T-2⁴⁾



図 6.4 オリンパス CK¹⁾



図 6.5 日本光学 MSD³⁾

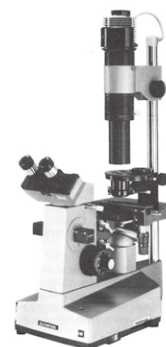


図 6.6 オリンパス IMT¹⁾

4.6で述べたように、国産の正立型顕微鏡が1970年代後半から対物レンズなど光学系を全面的に新設計に切り替えたことにともない、顕微鏡の機能・性能・デザインが一新されたが、倒立型顕微鏡もこれに続いて新製品が開発された。1976年にCF光学系を市場導入した日本光学は、1980年に倒立型生物顕微鏡ダイアフォト Diaphot TMD (図 6.7) を、また1984年には培養顕微鏡 TMS を発売した。TMD は、優れた光学性能、本体の堅牢性、落射蛍光や微分干渉を含む多様なシステム性などの点で評価され、海外を含めてこのバイオリサーチ分野でシェアを伸ばした。一方、1978年に新光光学系 LB を発売したオリンパスは、1984年にIMT2 (図 6.8) 及びCK2 (図 6.9) を発売し、これを追った。1993年にニコンはダイアフォトの改良版であるTMD300 (図 6.10) を発売した。さらに、無限遠補正方式を採用した新光光学系に切り替わると、オリンパスがUIS光学系の倒立型生物顕微鏡IX50、IX70 (図 6.11) を1994年に発売して先行し、これに対抗してニコンではCFI₆₀光学系を搭載したエクリップス Eclipse TE300 (図 6.12) を1997年に発売した。その後、ニコンでは2007年にエクリップス Ti-E (図 6.13) を、オリンパスでは2002年にIX2シリーズを、また2012年にはIX3シリーズ (図 6.14) を発売し、それぞれ最先端ニーズに対応した機種へと進化していった。

倒立型顕微鏡を使う重要なアプリケーションの一つ



図 6.7 ニコン TMD³⁾

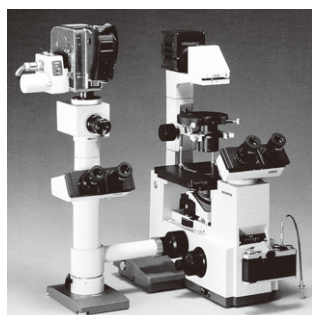


図 6.8 オリンパス IMT2¹⁾



図 6.9 オリンパス CK2¹⁾



図 6.10 ニコン TMD300³⁾



図 6.11 オリンパス IX70¹⁾



図 6.12 ニコン TE300³⁾



図 6.13 ニコン Ti-E³⁾



図 6.14 オリンパス IX83¹⁾

に不妊治療がある。活発な精子を選んで子宮内に人工的に入れることで受精・着床の支援を行う人工授精とは違い、体外受精 (IVF: In Vitro Fertilization) は、排卵近くまで発育した卵子を体外に取り出し (採卵)、精子と接触させて受精し分割した卵を子宮内に戻す (胚移植) 方法である。1978年にイギリスで初めて体外受精児が誕生して以来、全世界で急速に普及し、わが国でも年間約4万人の赤ちゃんが体外受精により誕生している。また顕微受精 (細胞質内精子注入法、

ICSI : Intracytoplasmic sperm injection) は、体外に取り出した卵に対し、顕微鏡で観察しつつ精子を直接注入する治療法で、1992年に始まった治療法（ニコン TMD が使われた）である。図 6.15 は、マイクロマニピュレータを装備した倒立型顕微鏡の例で、図 6.16 は顕微鏡下でヒト胚に精子を注入しているところである。1996年にはクローン羊ドリーがイギリスで誕生した（発表は1997年）。これは羊の体細胞の核を、他の羊の未受精卵を除核した胚細胞に挿入して細胞融合させ、代理母の雌羊の子宮に移植して生まれたものである（ニコン TMD が使われた）。その後、ウシやウマなど大型哺乳動物にもクローン技術が適用されてきているが、わが国ではヒトに関するクローン技術等は2000年に公布された法律で禁じられている。



図 6.15 オリンパス IX71 + マニピュレーションシステム¹⁾

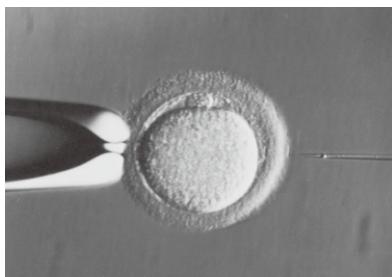


図 6.16 ヒト胚への精子注入⁵⁾

6.2 双眼実体顕微鏡

2.7.3でも述べたように、双眼実体顕微鏡は試料からの2つの光軸をそれぞれ左右の目で観察し、その光軸のなす角度を視差 (parallax) として立体視する顕微鏡である。検査や解剖などの作業に使われるため、観察像は試料と同じ正立像でなければならない。アメリカの生物学者グリノー (H. S. Greenough) は、正立像で立体視できる方式を独自に考案し、ツァイス社に持ち込んだ。そのアイデアは、2つの光軸上に対物

レンズとその像を正立させるリレーレンズをそれぞれ配置したものであったが、ツァイス社はすでに1893年にポロプリズム (イタリアのポロ I. Porro, 1801-1875 が発明した正立プリズム) を使った双眼鏡を製造しており、リレーレンズ部をこれに置き換えることにより、コンパクトで現在の双眼実体顕微鏡の原型となる製品に仕上げ (1897年)、グリノー型と呼んで発売した (図 6.17)。

わが国では、高千穂が1933年に製作したXA (図 6.18)³⁾ が最初の双眼実体顕微鏡とされる。対物レンズは3種類で、総合倍率は最高48倍まであり、作業のためのハンドレスト (手の肘を乗せる台) も用意された。日本光学は1954年に同社最初の実体顕微鏡 SM 型 (図 6.19) を発売した。ガリレオ望遠鏡 (凸レンズと凹レンズの組み合わせ) タイプからなる3段変倍系を内蔵しており、変倍時にもピントのずれを生じない設計で、また落射照明装置も付属していた。オリンパスも同様の仕様をもった X (図 6.20) を1959年に発売している。

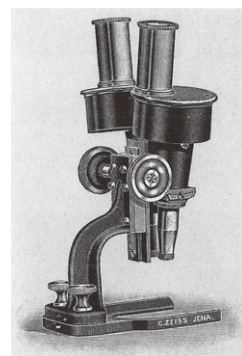


図 6.17 ツァイス 実体顕微鏡 (1897年)⁶⁾

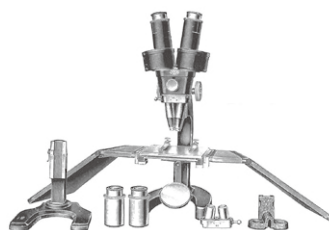


図 6.18 オリンパス XA^{1) 7)}



図 6.19 日本光学 SM³⁾



図 6.20 オリンパス X¹⁾

1957年にアメリカンオプティカル社は、単対物レンズにより2本の平行光軸を作り、そこに変倍光学系（ガリレオ望遠鏡2種を回転させ0.7×～2.5×の5段階）を配置した方式の双眼実体顕微鏡“商標名 Cycloptic”を発表した。この方式は、グリノー型（内斜型）に対し、単対物型（Common Main Objective: CMO）または平行光路型と呼ばれる。この実体顕微鏡は、始まったばかりの半導体製造工程を中心に急速に普及していった。これに対抗する形で同じアメリカのボシュ&ロム社は、2年後の1959年にグリノー方式ながら連続変倍（ズーム）機構をもつ双眼実体顕微鏡“商標名 StereoZoom”を発売した。対物レンズの変倍範囲は0.7～3×（ズーム比4.3）であり、鏡筒内の4枚の反射ミラーで正立像が得られるよう工夫していた。さらに多くの交換レンズや照明装置、アーム、スタンド等を用意して、時代とニーズに対応できるようにしたため、このシステムは半導体をはじめとする産業分野や生物・医学分野でも好評で、アメリカンオプティカルなどと共にライカグループに併合される1990年まで40年以上も製造・販売を続けた。

わが国の双眼実体顕微鏡のズーム化の対応も早かった。当時は高い解像を必要としないTVカメラや小型映画カメラなどにズームレンズが用いられることはあったが、日本光学は1959年に一眼レフ「ニコンF」用にNikkorズーム8.5-25cmを発売し、光学設計技術水準の高さを示した。これを双眼実体顕微鏡のズーム化に活かし開発したのが1961年に発売されたSMZ（図6.21）である。倍率は0.8-4×（ズーム比5）であった。一方、オリンパスではカメラレンズに先駆けて実体顕微鏡のズーム化を進め、わが国最初のズーム式双眼実体顕微鏡SZ（図6.22）を1960年に発表し、SMZと同じ1961年に発売した。SZは国産顕微鏡で最初のグッドデザイン賞（1957年に通商産業省が創設：通称Gマーク制度）を1966年に授与された。両機種ともそれまでのステップ変倍方式に比べ使い勝手が格段に向上したため、時計などの精密工業、半導体などの電子工業の組み立て工程に多数導入され、またバイオ産業の研究などにも幅広く使用されてロングセラーと

なった。SMZは発売から50年以上たった現在でも生産・販売が続いており、2011年度のグッドデザイン・ロングライフデザイン賞を受賞している。この内斜型（グリノー型）は、普及型双眼実体顕微鏡として、その後のオリンパスとニコンをはじめ、メイジテクノ（旧明治ラボックス）、カートン光学、協和光学、清和光学、ミナト光学、オプトアート、日商精密光学など中堅の顕微鏡メーカーでも生産・輸出され現在に至っている。2000年ころからは照明光源に省エネ・長寿命の白色LEDが採用される機種も増えてきた。



図 6.21 ニコン SMZ³⁾



図 6.22 オリンパス SZ¹⁾

半導体の高集積化や組織細胞の操作など、双眼実体顕微鏡のニーズがより高倍率・高解像で観察方法も多様化を求められるようになると、グリノー方式の限界が現れるようになった。試料に対する光軸の傾きによる光学収差の補正が難しく、また中間にさまざまなユニットを装着することが困難であるという欠点があるためシステム化に大きな制限があった。これを解決するために単対物・平行光路方式が改めて見直された。わが国で本格的な単対物方式の双眼実体顕微鏡は、日本光学より1977年に発売されたSMZ-10（図6.23）である。対物レンズ部は0.66-4×（ズーム比6）で単対物レンズ、接眼レンズの交換で総合倍率は3.5-160×であった。同軸落射照明を含む各種照明装置や、スタンドなど多くのアクセサリをラインアップし、双眼実体顕微鏡を使う研究市場のニーズにも対応した。当時の高級実体顕微鏡の世界市場は、スイスのウィルド社（Wild, 後にウィルドーライツ、現ライカグループ）が牽引していたが、SMZ-10は国産高級実体顕微鏡の先駆となった。これらに対抗してオリンパスは、1985年に高級実体顕微鏡SZH（図6.24）を発売した。対物レンズ部は0.7-6×と大ズーム比8.5を実現し（総合倍率3.5-360×）、かつ単対物レンズは大偏心光学系による像のゆがみ対策や色収差のセミアポクロマート化など数々の技術を導入して高い光学性能を確保した。また数多くの付属品ユニットを取りそろ

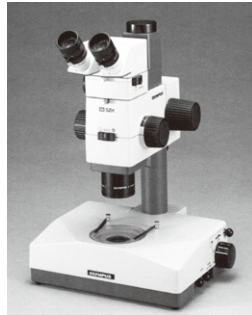


図 6.23 ニコン SMZ-10³⁾ 図 6.24 オリジンバ S Z H¹⁾



図 6.28 ニコン SMZ1500³⁾ 図 6.29 ニコン SMZ25³⁾

え、高級システム実体顕微鏡と称した。さらにニコンでは、1990年にズーム比10(対物レンズ部0.75-7.5×、総合倍率3.75-450×)のシステム実体顕微鏡SMZ-U(図6.25)を発売した。その後、オリンパスでもズーム比10(0.7-7×)のSZH10をはじめSZX12(0.7-9×、ズーム比12.86、図6.26)、SZX16(0.7-11.5×、ズーム比16.5、図6.27)とより高いズーム比の製品を発売していった。一方ニコンでも、1999年発売のSMZ800に続き、SMZ1000、SMZ1500(0.75-11.25×、ズーム比15、図6.28)のシリーズを、また2013年にはSMZ25(0.63-15.75×、ズーム比25、図6.29:電動落射蛍光セット組み合わせ)を発売した。この間、両社とも実体顕微鏡用落射蛍光ユニット、単対物の転換レボルバ、傾斜角可変鏡筒、電動焦準装置など付属品の充実を図

り、また対物レンズのアポクロマート化と高解像化(最大NA0.312は双眼実体顕微鏡として現時点で世界トップレベル)で光学性能も着実にアップしてきた。こうしてオリンパスとニコンが、高スペック・高性能をめざして互いに製品開発に努めた結果、双眼実体顕微鏡の分野においても国産品が世界をリードしていく地位を築いてきたのである。

6.3 教育用顕微鏡 Educational Microscope

教育用顕微鏡に明確な定義はないが、小中高等学校の理科教育用として、必要最小限の機能と性能を備え、堅牢で壊れにくく、かつ廉価である顕微鏡が一般に採用されている。小学校の理科では、5年生で顕微鏡を使った授業が行われている。大学の理工学・医学等の教育実習で使われるワンランク高い顕微鏡は、実習用顕微鏡と呼ばれ、本章では対象から除外する。

わが国で教育用と銘打った顕微鏡は、高千穂光学が京都の理化学器械商から小中学生教育用の簡単な顕微鏡の注文を受けて1922年に作った桜号(図6.30)が最初と思われる。これはドイツ製の実習用顕微鏡をモデルに対物レンズを1個のみとしたもので、後にST鏡基の初風号に発展した。

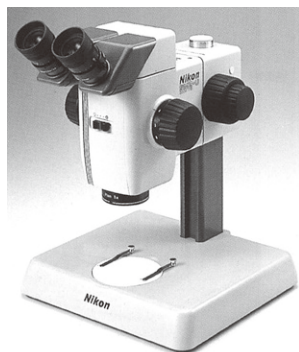


図 6.25 ニコン SMZ-U³⁾



図 6.26 オリジンバ S Z X 1 2¹⁾



図 6.27 オリジンバ S Z X 1 6¹⁾



図 6.30 オリジンバ さくら号¹⁾

戦後になって政府は、理科教育が文化的な国家の建設の基盤として特に重要な使命を有するとの観点から、1953年に理科教育振興法（通称：理振法）を制定し、翌年に施行した。また顕微鏡に関する日本工業規格の作成も始まり、まずJIS B 7132生物顕微鏡が1949年に制定され、続いて同 7133 乾燥系レンズ用生物顕微鏡、7134 小形生物顕微鏡、7139 双眼実体顕微鏡などが1951年に制定された（附属資料1参照）。これにともない、各顕微鏡メーカーもJISに準拠した教育用顕微鏡の開発に力を注いだ。オリンパスは、1959年に一般家庭への普及も意図した低価格の簡易顕微鏡ミックMK（図6.31）を発売した。対物レンズはハンドル転換方式の4段切り換えで総合倍率40-300倍、30°の傾斜角鏡筒、ステージ上下式焦点合わせなど取り扱いの容易性にも配慮していた。1960年にはJISと理振法の指定も受けた。またこの年、オリンパス光学が毎日小学生新聞との共催でスタートした「顕微鏡観察コンクール」は、「自然科学観察コンクール（シゼコン）」と名を変え、小中学生の理科教育振興に貢献しつつ現在も続いている。カルニユー光学は、島津製作所の系列会社になった翌年の1960年に、教育用顕微鏡SGL-600（図6.32）を発売した。東京教育大学（現筑波大学）の指導の下で開発され、児童用として全体サイズや鏡筒傾斜角、ステージ上下方式など随所に工夫がみられ、当時の代表的な教育用顕微鏡の一つとなった。同じ年、日本光学も教育用顕微鏡E型（図6.33：Elementaryの頭文字）を発売している。研究用顕微鏡S型をベースに理科学習用に新設計したもので、児童生徒が取り扱いやすいよう、収納箱は顕微鏡本体と一体化して砲弾型のユニークなデザインになっていた。ほかの国産顕微鏡メーカーからも教育用顕微鏡の参入が続く一方で、やがて大手メーカーはこの市場への新製品投入を見送るようになり、内田洋行や島津理化など教育機器の大手会社のウエイトが高まるようになってきた。最近では顕微鏡のデジタル表示化（図6.34は2014年発売のデジタル表示顕

微鏡の例）や教育ソフトの充実など、理科教育現場にもICT（情報通信技術）化にともなう変化が見られる。わが国は科学技術立国をめざし、理科教育に重点が置かれてきている。顕微鏡は子供たちが科学に関心をもつ第一歩として重要な教育設備であり、顕微鏡を肉眼でのぞいてミクロの世界を観察することの楽しさを感じさせる教育が行き届くよう望むものである。またこの分野は特に中国をはじめとする新興国製からの輸入品が増加しており、顕微鏡大国であるわが国の中堅メーカーの踏ん張りが望まれる。



図 6.33 日本光学 E 型³⁾



図 6.34 ウチダ D-EL4N⁹⁾

6.4 金属（工業用）顕微鏡 Metallurgical (Industrial) Microscope

6.4.1 反射照明観察法 Reflected light (Incident light, Epi-illumination) microscopy¹⁰⁾

これまで述べてきた観察法は、生物標本などを照明しその透過光や蛍光により観察するものであったが、金属やセラミック材料など光を透過しない試料を観察する場合は、照明の反射光を利用する。標準的な反射明視野観察の照明光学系を図6.35に示す。光源からの光はハーフミラーにより反射され、対物レンズを通し



図 6.31 オリンパス ミック¹⁾



図 6.32 シマヅ・カルニユー SGL-600⁸⁾

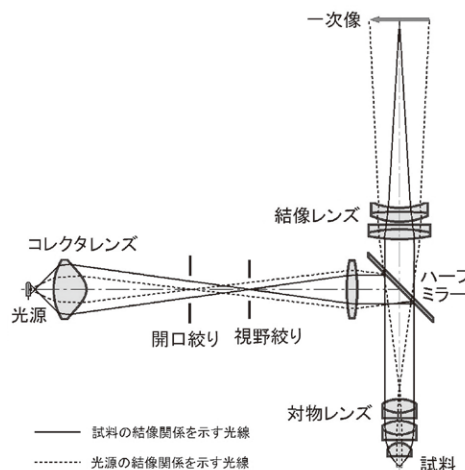


図 6.35 反射明視野法の光学系¹⁰⁾

て試料を照明する。試料からの反射光は、対物レンズを通りハーフミラーを透過して像を結ぶ。反射照明法においても暗視野法や微分干渉法がよく使われる。図 6.36 は反射暗視野法の光学系で、絞りによりリング状となった照明光は穴あきミラーで反射され、暗視野用対物レンズの胴内の照明光路を通りリング状のレンズまたはミラーにより試料を照射する。試料による散乱・回折光のみが対物レンズを通して像を結ぶ。細かいキズや段差の部分が輝いて観察できるため、試料表面の検査法として有効である。次に、反射微分干渉法の光学系を図 6.37 に示す。光源からの光は照明光路にあるポラライザにより直線偏光となり、ハーフミラーで反射され、ノマルスキープリズムで互いに直交する振動方向をもつ 2 つの直線偏光に分離し、分解能以下の横ずれ（シア）量で試料を照射する。試料から反射した 2 つの直線偏光は、再びノマルスキープリズムにより結合し、アナライザを通過後に干渉して試料の段差（位相差）の微分係数に相当したコントラストの像が得られる。またプリズムを水平方向に移動することにより鋭敏色を含むコントラストの調節ができる。反

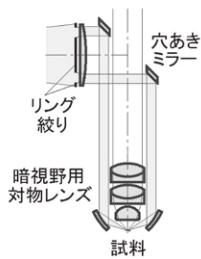


図 6.36 反射暗視野法¹⁰⁾

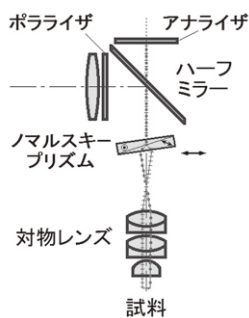


図 6.37 反射微分干渉法¹⁰⁾

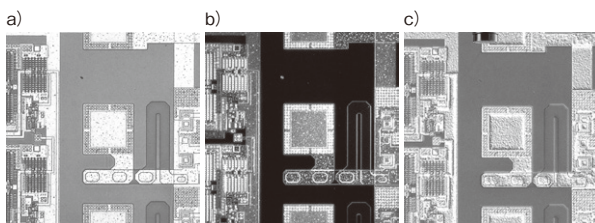


図 6.38 反射顕微鏡による集積回路の写真¹⁰⁾

a) 明視野法 b) 暗視野法 c) 微分干渉法

射微分干渉法も反射明視野法で検出できない試料の微小な凹凸が検出しやすくなるため、検査工程で広く使われている。図 6.38 に反射明視野・反射暗視野、反射微分干渉による集積回路の同一視野画像を示す。

6.4.2 金属（工業用）顕微鏡の歴史と発展

フランスの科学者・数学者 レオミュール (F. de Réaumur, 1683-1757) は、鉄の破面の組織を顕微鏡で観察し、1722 年に「鍛鉄を鋼に変える技術」を発表した。またドイツの医者リバキューン (J. N. Lieberkühn, 1711-1756) は、顕微鏡に凹面鏡 (リバキューン鏡と呼ばれる) を取り付け反射照明で動物の解剖実験を行った (図 6.39)。イギリスのソービー (5.4 参照) は、反射照明装置を備えた専用の顕微鏡を使って、1858 年に鉱物の結晶構造を、また 1863 年には鉄鋼の組織構造を発表した。これ以降、金属顕微鏡はイギリスで多く作られるようになった。金属顕微鏡の試料は、生物顕微鏡のものとは大きく重いことが多く、また試料表面を観察光軸に対し垂直に置く必要があり、これらの問題を解決するためにステージが固定で試料の観察面を下向きに置く倒立型金属顕微鏡 (シャトゥリエ型) が考案された (6.1 参照)。照明光を試料に垂直に当てるためには、対物レンズ自体をコンデンサレンズとして使う同軸落射方式となる。これには図 6.40 a) に示す薄い

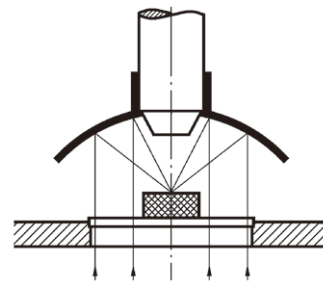


図 6.39 リバキューン鏡反射照明

(引用 11 を参考に作成)

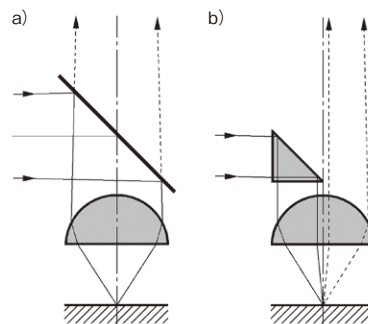


図 6.40 反射照明

a) 平面板方式 b) プリズム方式

(引用 11 を参考に作成)

平板を使う方式と、同 b) に示すプリズム方式がある。当初は半透過ミラーの製作が難しく、平板方式は照明光のロスが多く暗い像しか得られなかった。プリズム方式は全反射により明るい照明が得られたが、対物レンズの開口の半分を覆うため解像力が落ち、像に明るさムラや焦準時の横ずれを生じた。結局、色付きのない半透過ミラーの製造が可能になってからは、平板方式が主流となった。反射の暗視野照明は、対物レンズの周囲を通った光を試料に入射させる方法で、図 6.41 a) のリング状凹面ミラーを使う方式と、同 b) のリング状レンズを使う方式がある。ライツ社のウルトラパーク Ultrapak が原型で、元々は生物標本観察用であったものが、金属顕微鏡にも適用された。

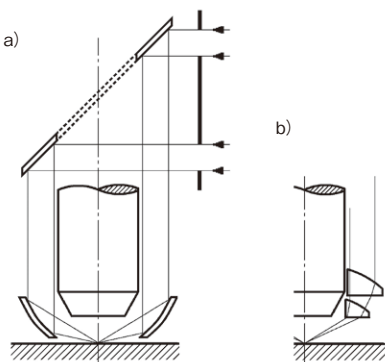


図 6.41 反射暗視野照明

a) 凹面ミラー方式 b) レンズ方式

(引用 11 を参考に作成)

わが国の金属顕微鏡の開発は、高千穂製作所が商工省より奨励金を受け、1928 年に開発をスタートしたことに始まる。当時、世界最高と評価の高かったライヘルト社の金属顕微鏡を研究し、1930 年にオリンパス MC (図 6.42) を完成させた¹²⁾。さらに写真撮影を主体とした横型の倒立金属顕微鏡写真装置 PMA (図 6.43) も開発している。また 1938 年には透過・反射の明視野・暗視野観察が可能で写真撮影装置などを内蔵した、スーパーフォト「萬能号」(図 4.10) を開発

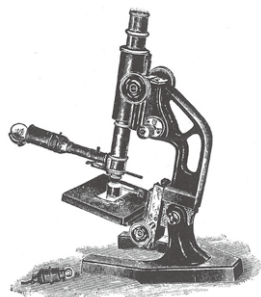


図 6.42 オリンパス 金属顕微鏡 MC¹³⁾

している。戦後になり、いち早く金属顕微鏡で頭角を現したのは、1948 年創設のユニオン光学工業 (以下ユニオンという、2010 年に破産) で、1952 (昭和 27) 年に倒立型万能金属顕微鏡 UM 型 (図 6.44 は UM を一部改良した NUM 型) を発売し、続いて MeC 型など中小型金属顕微鏡を相次いで発表し、国産金属顕微鏡の有力企業に発展した¹⁴⁾。一方オリンパスは、1954 年に倒立型万能金属顕微鏡 PMF (図 6.45) を発売した。これは従来の横型から縦型にし、写真装置も従来の大型乾板から 35mm フィルムを用いることによりコンパクトで使いやすくしたもので、落射の位相差や偏光観察も可能であり、まさに当時の国産金属顕微鏡の最高峰であった。オリンパスは、続いて 1959 年に正立型金属顕微鏡のスタンダードとなる MF (図 6.46) を、1964 年には PMF をさらに進化させ、写真撮影用の露出計を内蔵した最高級倒立型万能顕微鏡 PMG (図 6.47) を登場させている。また 1967 年に明暗視野金属顕微鏡のネオパーク Neopak MN (図 6.48) も発売した。ユニオンは、1967 年頃に正立型万能写真顕微鏡 UPM (図 6.49) を発表、反射・透過明視野

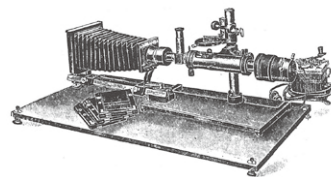


図 6.43 オリンパス 倒立金属顕微鏡写真装置 PMA¹³⁾

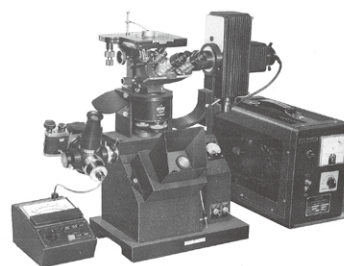


図 6.44 ユニオン 倒立型万能顕微鏡 NUM¹⁵⁾



図 6.45 オリンパス 倒立型万能顕微鏡 PMF¹⁾

照明のほか位相差・干渉・偏光・暗視野の各観察法ができる同社の最高機種で、オリンパスと共に国産金属顕微鏡を牽引した。日本光学は、研究用生物顕微鏡システムのS型に反射照明装置を組み込み、1961年に正立型金属顕微鏡S-M型(図6.50)としてこの分野

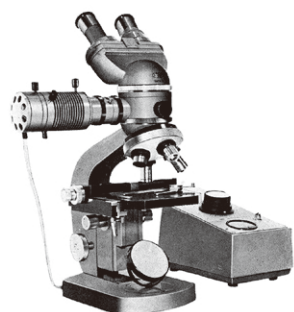


図 6.46 オリンパス 金属顕微鏡 MF¹⁾



図 6.47 オリンパス 倒立型万能顕微鏡 PMG¹⁾

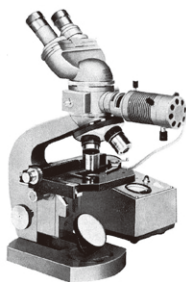


図 6.48 オリンパス 明暗視野金属顕微鏡
ネオパーク MN¹⁾

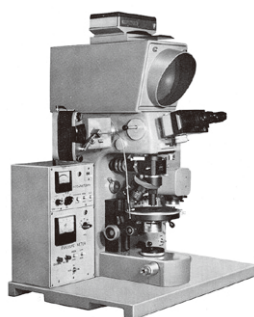


図 6.49 ユニオン 正立型
万能写真顕微鏡 UPM¹⁴⁾

に参入し、1964年には倒立型金属顕微鏡MEを発売している。

金属顕微鏡は、様々な産業分野における精密部品の検査・計測にも利用されるようになり、光学測定機としても発展した。比較的簡易なものは、工具顕微鏡、工場顕微鏡などと呼ばれている。わが国でこの分野の先鞭をつけたのは日本光学で、1920年から社内用の検査設備として各種測定機を開発した。日中戦争の勃発により欧米諸国から測定機の輸入が困難になると、国の要請を受け、1938年以降は多くの種類の光学測定機を社外にも提供した¹⁶⁾。1939年には万能投影機(投影検査機、輪郭投影機とも呼ばれる)第1号(図6.51)を完成した。戦後には製造業の発展と共に、こうした測定顕微鏡が各メーカーから数多く販売された。それぞれの機種代表例として、1955年にユニオンが発売した工場顕微鏡SM(図6.52)、1968年にオリンパスが発売したモアレ縞式大型工具顕微鏡MTM(図6.53)を示す。これらは顕微鏡技術を使った光学測定機であり、測定法の開発や技術、各社製品の進展には非常に奥深いものがあるが、本報告は光学顕微鏡がテーマであるため、これ以上の記述は省略する。

反射微分干渉顕微鏡は、5.5で述べたように日本光学より山本・フランソン方式のS-R型(図5.22b)が



図 6.50 ニコン
金属顕微鏡 S-M³⁾



図 6.51 日本光学 万能投影機 1号¹⁶⁾



図 6.52 ユニオン 工場顕微鏡 SM¹⁵⁾

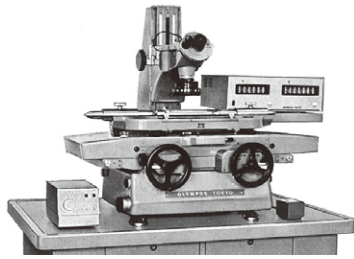


図 6.53 オリジナル 大型工具顕微鏡 MTM¹⁾

1966年に発売された。一方ユニオンは、ノマルスキー方式の反射型微分干渉装置を開発し、ME-IC (図 6.54) として1971年に発売した¹⁷⁾。オリンパスは、ユニオンからノマルスキー特許の再実施権を得て、1973年に落射微分干渉ユニット M-NIC (図 6.55) が、MF用及び万能顕微鏡 AHM用にラインアップされた。



図 6.54 ユニオン ME-IC¹⁵⁾



図 6.55 オリジナル M-NIC¹⁾



図 6.57 ニコン
メタフォト³⁾

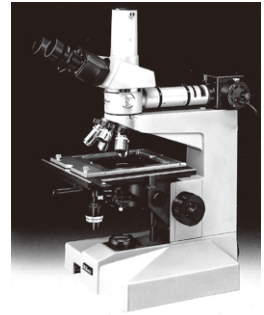


図 6.58 ニコン
オプチフォト-55³⁾

その後、金属顕微鏡は市場の広がりと共に、金属試料以外の用途に用いられることが一般的になってきたため、倒立型を除いて工業用顕微鏡と呼ばれるようになってきた。オリンパスでは、高級システム顕微鏡 BH をベースとして1975年に市場導入された工業用顕微鏡 BHM (図 6.56) が、そのスタンダードとなっていた。一方日本光学は、1974年に IC 検査用顕微鏡を発売した以外は、長らく工業用顕微鏡の新製品は出していなかったが、1976年に新光学系 CF と共に発売した金属・工業用顕微鏡メタフォト Metaphot (図 6.57) を皮切りに、1978年に

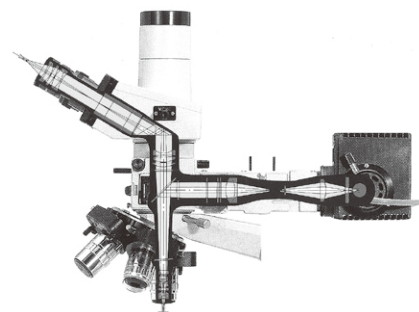


図 6.59 オリジナル BH2M (光路図)¹⁾

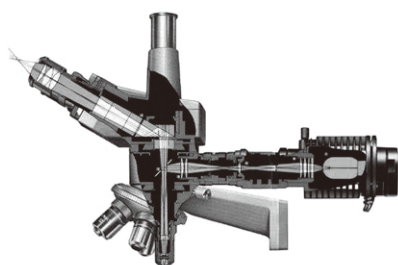


図 6.56 オリジナル BHM (光路図)¹⁾



図 6.60 ニコン オプチステーション¹⁵⁾

工業用顕微鏡オプチフォト XP を、その翌年に IC 検査顕微鏡オプチフォト-55 (図 6.58) を発売し、高い光学性能と暗視野や微分干渉 (この時点からノマルスキー方式を採用している) など観察法の充実、ウェハ用大型ステージ (名称の 55 はステージの XY ストロークが 5" × 5" であることを示す) の仕様等で市場のニーズを捉え、工業用顕微鏡市場への攻勢を強めた。これに対抗してオリンパスは、工業用対物レンズに無限遠補正光学系の IC (Infinity Correction) シリーズ (7.4.3 参照) を新開発し、明・暗視野、偏光、微分干渉が簡単に切り換え可能なユニバーサル反射照明装置 BH2-UMA (図 6.59) と共に1981年に発売された。翌年ニコンは、主に半導体製造のリソグラフィ工程、エッチング工程における外観検査に使用するウェハ検査顕微鏡装置オプチステーション (図 6.60) を発売し、半導体製造産業分野にお

ける工業用顕微鏡のシェアを大きく高めていった。その後、両社とも対物レンズの種類の充実や、液晶・ウェハサイズの大型化にともなう大型ステージ（ニコンは1987年にはオプチフォト-88を発売している）の導入、操作の自動化などの改良バージョンが続いた。

1993年にオリンパスは生物顕微鏡用に機械筒長無限遠の新光学系UISを市場導入すると、翌年には工業用顕微鏡のUIS光学系と工業用顕微鏡BX60M（図6.61）を、また翌々年には6”と8”ウェハ兼用の大型ステージに対応した半導体検査顕微鏡MX50（図6.62）と、普及クラスの工業用検査顕微鏡MX40を発売した。MX50では傾斜角可変鏡筒（俯視角0~35°）を付属品とするなど、操作性の向上が図られた。また1999年に発売されたMX80（図6.63）は、300mmウェハやフォトマスク、フラットパネルディスプレイ（FPD）検査にも対応する拡張性と、オートフォーカ



図 6.61 オリンパス BX60M¹⁾



図 6.62 オリンパス MX50¹⁾



図 6.63 オリンパス MX80¹⁾

スを含む各種操作の自動化・電動化を進めた。これらに対抗するニコンは、1994年に開発した無限遠光学系CF & ICシリーズをLSI検査用顕微鏡及び金属顕微鏡オプチフォト100S（図6.64）に採用し、さらに2000年には新開発のCFI60光学系を搭載した200mmウェハ対応のLSI検査顕微鏡 エクリプスL200と、操作の自動化・システム拡張性アップを実現した同L200A（図6.65）を、そして2001年には150mmウェハ対応の工業用顕微鏡 エクリプスL150とL150Aを発売した。さらに2004年には、400mm×300mmのサンプルサイズに対応したFPD検査顕微鏡エクリプスL300D（図6.66）、2005年にはオプチフォト100Sの後継である工業用顕微鏡エクリプスLV150（図6.67）と100シリーズも登場した。



図 6.64 ニコン オプチフォト 100S³⁾



図 6.65 ニコン エクリプス L200A³⁾



図 6.66 ニコン エクリプス L300D³⁾



図 6.67 ニコン エクリプス LV150A³⁾

一方、倒立型金属顕微鏡は1970年代後半に新光学系が登場しても、新機種の開発は正立型・倒立型生物顕微鏡や正立型工業用顕微鏡に比べ遅れた。日本光学は最初の倒立型金属顕微鏡となるエピフォト TME (図 6.68) を1981年に発売した。それまで国産の倒立型金属顕微鏡は、オリンパスとユニオンが大部分を占めていたが、CF 光学系の高性能と堅牢な鏡体でユーザーの高い評価を得た。オリンパスは、無限遠補正光学系の IC シリーズが1981年に発売されたあと、倒立型金属顕微鏡の最高機種 PMG3 (図 6.69) が発売されたのは1987年のことである。1972年に発売されたそれまでの最高級万能顕微鏡 PMG2 に対し、大幅な設計改良が行われ、従来の鏡像 (左右反転像) が正像になり、ズーム変倍機構も取り入れられた。IC 光学系の性能向上もあり、多くのユーザーから高く評価された。また翌年には普及タイプの PME3 (図 6.70) も発



図 6.68 ニコン エピフォト TME³⁾

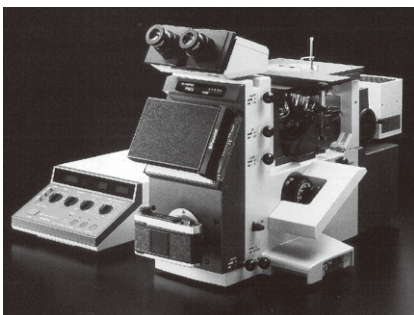


図 6.69 オリンパス PMG3¹⁾

売された。ユニオンでは、新開発の無限遠補正光学系 SPLM シリーズを高級倒立型金属顕微鏡バーサメット Versamet-3 (図 6.71) に搭載し発売したのは1990年のことである。

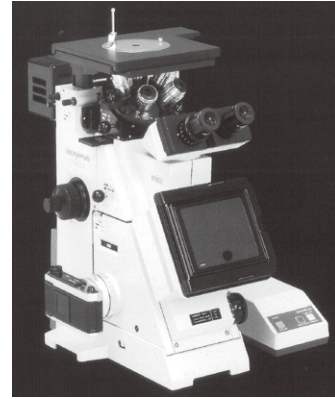


図 6.70 オリンパス PME3¹⁾



図 6.71 ユニオン バーサメット 3¹⁴⁾

ニコンは、CF & IC 光学系の登場により1995年に TME の後継機として研究用万能倒立顕微鏡 TME300 (図 6.72) 及び TME200 を発売した。さらに2006年には、新たに CFI₆₀ 光学系を搭載した普及型の倒立金属顕微鏡エクリプス MA100 を、また2008年には斬新な箱型デザインと同 MA200 (図 6.73) を発売し、現在に至っている。一方のオリンパスは、1994年に

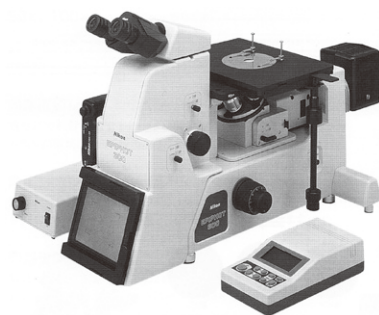


図 6.72 ニコン エピフォト TME300³⁾

導入した工業用の UIS 光学系を搭載した高級システム倒立金属顕微鏡 GX71 (図 6.74) 及びシステム倒立金属顕微鏡 GX51 を 2001 年に発売した。2004 年には小型倒立金属顕微鏡 GX41 (図 6.75) を発売している。いずれも 2000 年以降の新製品は、観察像の記録を 35mm カメラや大判装置からデジタルの重視に変えることで、性能や操作性の向上が図られている点が特徴である。

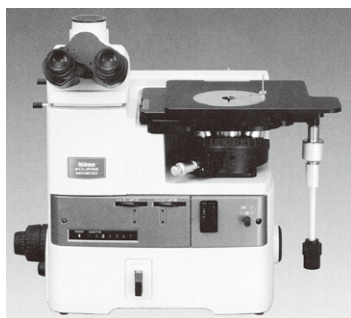


図 6.73 ニコン エクリプス MA200³⁾



図 6.74 オリンパス GX71¹⁾

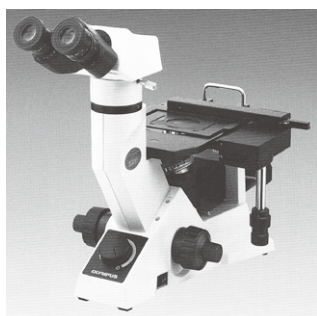


図 6.75 オリンパス GX41¹⁾

引用

- 1) オリンパス株式会社提供
- 2) 加藤仁一：生物用倒立顕微鏡，ニコンテクニカルジャーナル，No.9，1974，pp.6-20
- 3) 株式会社ニコン提供
- 4) 千代田顕微鏡の歴史，サクラ精機株式会社，1994，p.98
- 5) 長野主税：光学顕微鏡の基礎と応用，日本医学写真学会雑誌，Vol. 35 No.1，1997，pp.2-7
- 6) カールツァイスマイクロコピー株式会社提供
- 7) オリンパス顕微鏡カタログ，高千穂製作所，1934，p.13
- 8) 株式会社島津理化提供
- 9) 株式会社内田洋行提供
- 10) 長野主税：光学を中心とした顕微鏡の基礎 日本顕微鏡工業会ホームページ
<http://www.microscope.jp/knowledge/index.html> (2016.12.20)，日本顕微鏡工業会提供
- 11) Mütze K. et al.：ABC DER OPTIK, Verlag Werner Dausien, 1961, pp.561-562
- 12) 50年の歩み，オリンパス光学工業，1969，pp.46-49
- 13) 苦節十三年 オリンパス顕微鏡・幻灯器・映写器の経歴，株式会社高千穂製作所，1932
- 14) 20年の歩み，ユニオン光学，1968
- 15) ユニオン光学製品カタログ
- 16) 光とマイクロと共に－ニコン 75 年史，1993，p.85, p.375
- 17) 菊池恭孝：干渉コントラスト ME-IC，菱光技報，第 8 卷 90 号，1971

7 | 顕微鏡光学系の発展

顕微鏡の技術構成要素は、光学系、機械系、電気・電子系、ソフトウェア系等があるが、特に性能を決定づけ、また筆者の専門性から光学系、とりわけ顕微鏡の心臓部である対物レンズに絞って、その歴史と発展につき記述する。

7.1 対物レンズの歴史¹⁾

7.1.1 基本性能の進歩

3.2で述べたように、複式顕微鏡の対物レンズは1600年前後の発明以降、色消しレンズが発明されるまでは単レンズであり(図3.1, 3.2)、倍率を高くすることはできなかった。また3.3で述べたように、1758年にドロンドが色消しレンズの製作に成功してからも、開口数NAを大きくすると発生する球面収差を除去しきれず、満足できる高倍率対物レンズはすぐには出現しなかった。これを解決したのがリスターで1830年のことである。図7.1において、物体Oの虚像O'を平凸の色消しレンズAで作成し、さらに平凸の色消しレンズBでO'の実像を作製し、接眼レンズで観察する。これにより開口数が比較的大きく、球面収差、色収差の少ない対物レンズを製作した。

1837年にはアミチが、リスター型対物レンズの物体側に半球レンズを追加して全体で球面収差・色収差を補正した高開口数・高倍の対物レンズ(図7.2)の製作に成功した。彼はまた対物レンズ先端と試料の間を液体で満たし開口数を大きくする液浸レンズも考案しており、開口数を大きくすると解像力が高くなることを理解していた。1853年には最初の水浸対物レンズを完成させている。

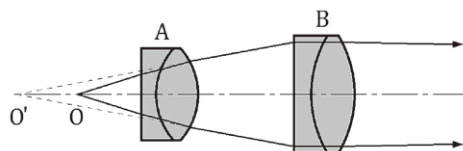


図 7.1 リスター型対物レンズ

(引用 1 を参考に作成)

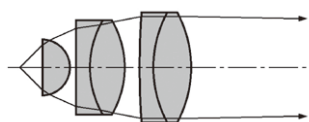


図 7.2 アミチ型対物レンズ

(引用 1 を参考に作成)

こうして顕微鏡対物レンズの改良が徐々に進んできたが、1870年代以降にその結像理論を確立し、対物レンズの光線追跡法による設計及び製造工程における検査体制の構築などにより、ツァイス社を超一流の顕微鏡メーカーへと変身させたのがアッペ(図3.6)であった。現在も行われている光線追跡法によるレンズの設計は、18世紀初めころには一部で行われていたが、ガラスのデータ(屈折率と分散)を使って大口径($\phi 244\text{mm}$)の屈折望遠鏡対物レンズを設計したのはフラウンホーファー(J. Fraunhofer, 1787-1826)で、1819年のことであった。アッペはこの設計法を顕微鏡対物レンズに適用し、さらに正弦条件(物体側と像側のNAの比がNA全体で一定=倍率値)を満たすことにより周辺のコマ収差も補正されることを見いだした(1870年)。こうして彼は、球面収差補正と正弦条件を満たし(アブラナート)、色収差も補正された(アクロマート)対物レンズシリーズの設計を完了した。彼はさらに材料の品質や加工・組立工程において設計値どおりに作られていることを検査するため、屈折率計、アパーチャーメータ(apertometer、開口数計)、正弦条件テストチャートなど、彼の名をつく数々の測定具も開発・導入した。こうして従来の職人の経験と勘に頼った製造法から脱却し、ツァイス社は、1872年に顕微鏡を全面的にアッペ設計のものに切り替え、世界トップメーカーの地位を確保するに至ったのである。また物体の微細構造を像として忠実に再現するためには、物体による高次の回折光を対物レンズが取り込む必要があり、そのためには開口数が大きくなければならないという結像理論を、膨大な計算と実験により導き、その結果顕微鏡の分解能 δ は、 $\delta = \lambda/2NA$ (λ は光の波長)で表されることを示した(1872年)。この研究経過の中で照明系の性能改善も必要との認識から、アッペ式コンデンサ(図2.32)等の開発も同じ年に行っている)。1877年にカバーガラス及び先端レンズとほぼ同じ屈折率のセダー(ツェーデル)油を使った均質油浸法(homogeneous immersion: HI)を開発した。この場合、対物レンズの第1面は屈折面として働かず、第2の球面から働くため、大きなNAにもかかわらず収差がよく除去された設計ができる。さらに光学材料の重要性を認識していたアッペは、ショット(図3.7)と出会い、1882年に共同で光学ガラス工場をイエナに設立し、新種ガラスの研究開発を始めた。そしてアッペは、1886年

に新種ガラスであるバリウムクラウンガラスと天然の螢石 (fluorite : CaF_2) を用いて、可視光全域にわたり色消しされたアポクロマート対物レンズを完成したのである。螢石は分散が通常の光学ガラスと違って異常分散性 (2.1.1 参照) をもっており、凸レンズとして使うと第3の波長に対しても有効な色消しができるが、天然の螢石は透明度や均質性が優れたものの入手が困難で、またキズがつきやすく (モース硬度4)、結晶のため高精度研磨が難しいなど加工面でも熟練を要する難しい材料である。図7.3はアポクロマート対物レンズ60× (乾燥系=油浸ではない、×は倍率を表す記号) のレンズ構成図で、網掛けしたレンズは材質が螢石であることを示している。

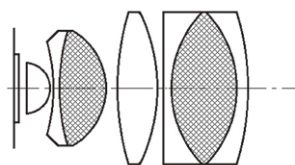


図7.3 ツァイス・アポクロマート60×/0.95
(引用2を参考に作成)

顕微鏡対物レンズの進歩の第1ステップがリスター型とアマチ型のアポクロマート、第2ステップが前記アポクロマートとすれば、第3ステップはプラン Plan であろう。顕微鏡の対物レンズは、画角は写真レンズのように広くはないが、特に高倍対物レンズでは焦点距離が小さいから像面湾曲が補正しきれず、視野の中心にピントを合わせると周辺部はぼけが大きくなる。20世紀になり顕微鏡画像を写真で記録することが増えてくると、撮影範囲の隅々までピントが合うもののニーズが高まってきた。このため、写真用に負のパワーをもった拡大投影レンズにより像面湾曲を補正する方式 (ツァイス社ではこの投影レンズをホマール Homal と呼んだ) がとられたが、対物レンズ単独で像面湾曲や周辺収差を補正したものへの要求も強かった。この像面湾曲を補正するためには、凸レンズに高屈折率ガラスを、凹レンズに低屈折率ガラスを使う方法と、負のパワーをもつ強いメニスカスレンズ (両面の曲率が同じ方向のレンズ) を使う方法がある。顕微鏡対物レンズの場合、色収差補正の関係で低屈折率・低分散ガラスを使うことが多いため、前者の方法は設計上採用しづらく、後者の方法を採用することになるが、視野周辺の諸収差も含めてバランスよく設計することは、当時のレンズ設計環境では高度の設計能力が必要であった。最初のプラン対物レンズは、やはりツァイス社のベーゲホルト (P. H. Bögéhold, 1876-

1965) の設計で1938年に特許出願された (図7.4)³⁾。物体側の先端レンズと像側の後端レンズが強いメニスカスレンズになっている。その後、ツァイス社やライツ社でもプラン対物レンズシリーズがラインアップされ、さらに最高級対物レンズであるプランアポクロマートの開発も進められて、ドイツ製顕微鏡の優位性は揺るぎないものとなった。



図7.4 ツァイス・プランアポクロマート40×/0.65
(引用3を参考に作成)

7.1.2 対物レンズ関連標準と技術の進歩 (2.4 参照)

(1) 機械筒長

対物レンズのレボルバ取り付け面から接眼レンズの鏡筒取り付け面までの距離である機械筒長は、王立顕微鏡協会 (RMS) が1882年に160mmを推奨して以来、ツァイス社をはじめ多くのメーカーがこの値を採用してきたが、ライツ社は170mmを採用するなど、必ずしも統一されていなかった。関連するドイツ工業規格 (Deutsches Institut für Normung) DIN 58887が発行され、機械筒長が160mmと無限遠に規定されたのは1975年であった。このとき、ライツ社も機械筒長を170mmから160mmに変更している。機械筒長無限遠補正光学系が登場したのは、1920年代から30年代にかけてで、ライヘルト社、ツァイス社、ライツ社がいずれも金属顕微鏡用として発売している。しかしその後約60年間は大きな広がりはなく、本格的にわが国を含む大手メーカー各社が無限遠補正光学系を採用したのは、ツァイス社が1986年に発表したICS光学系以降のことである。

(2) 同焦点距離

試料面から対物レンズのレボルバ取り付け面までの寸法である同焦点距離は、レボルバで対物レンズを切り換えてもほぼピントの合った状態が保たれるよう、一定の値で設計される。この値は、以前は各社とも37mm前後であったが、ドイツメーカーの主流が45mmとなり、前記のDIN 58887で規定されると、わが国も同焦点距離45mmの新光学系へと移行した。さらにニコンでは、1996年に発売のCFI₆₀シリーズから同焦点距離60mmを採用し現在に至っている。

(3) ねじ山の形状 (表 2.1 参照)

対物レンズを顕微鏡のレボルバに取り付けるときのねじ山形状は、各社の対物レンズの機械的互換性に関係するため、古くからイギリスの王立顕微鏡協会 RMS で決められた寸法が標準になっており、現在でも多くのメーカーで採用されている。これは、ねじ山の角度が 55°、外径が 20.32mm (= 0.8inch)、ピッチが 0.706mm (= 1/36 inch) のウィットねじ (Whitworth screw) である。ただ近年になり、対物レンズの径が大きくなると M25 や M27 も採用されてきている。また反射暗視野用の対物レンズは、その外周に照明光を通すためさらにねじ径は大きくなり、W26、M27、M32 の外径値をもち、これらはいずれも、寸法公差等も含めて ISO 8038 (JIS B 7141) に規定されている。表 7.1 に主要顕微鏡メーカーの機械筒長無限遠補正光学系の、結像レンズの焦点距離、同焦点距離、ねじ山の形状、機械筒長無限遠補正に転向した年を示す。

7.2 レンズ設計の進歩

ツァイス社のアッペが、光線追跡法による顕微鏡対物レンズの設計を開始して以降、欧米各社はこの方法を踏襲し、優れた光学性能の顕微鏡を世の中に送り出してきた。わが国の顕微鏡開発の先駆けとなった田中式顕微鏡やエム・カテラなどの対物レンズ製作は、こうした欧米の対物レンズを分解・測定して、あとは技能者のカンと試行錯誤により何とか性能を確保していた。こうした中で、経営者が光学設計法の研究を優先するのは当然の成り行きであった。エム・カテラ光学器械製作所は、1931年にエム・カテラ光学研究所を開設し、手計算によるレンズ設計を開始した^{4) 5)}。また高千穂製作所も、1935年に瑞穂光学研究所を設立

し、写真用レンズの数学的設計に着手し、翌年に完成した試作レンズは研究所の名前から「瑞光 (ズイコー)」と名付けられた⁶⁾。これに先立ち日本光学では、1921年に第1次大戦敗戦国のドイツから技術者8名を招聘し、光学設計・設計製図・ガラス加工・機械加工の技術指導と研究にあたらせた^{7) 8)}。この中には光学設計の権威であったランゲ (M. Lange) や顕微鏡光学設計に従事していたアハト (H. Acht) らもあり、特にアハトは各種写真レンズ (後の「ニコール」レンズの原型) のほか、日本光学における最初の顕微鏡ジョイコ (JOICO: 図 4.9) の対物レンズの設計・開発も行った。彼の残したレンズ設計データとドイツ式設計手法は、その後の日本光学におけるレンズの基礎的設計資料となった。やがて戦争色が濃くなってくると、光学各社は双眼鏡、照準器、測距機、潜望鏡などのさまざまな光学兵器の開発・製造に資源を集中するようになり、わが国の光学技術は大きく向上することになった。

戦後になると、光学機器も平和産業への転換が行われ、双眼鏡やカメラレンズなどの需要が増大し、光学各社とも新製品の開発に力を注いだ。一方で新しくレンズを設計するためには、技術者が蓄積されたデータやノウハウに基づいてレンズのタイプやガラスの組み合わせを考え、数百本の光線を三角関数を使って追跡計算するため、膨大な数値計算を、対数表を片手に全てを人手に頼らざるをえず (図 7.5)、1本の高級レンズを設計するのに3年もの歳月を要することもあった。また設計技術者は、レンズ設計法の文献である「応用光学と光学設計」(コンラディ著 1929年 Part 1刊)⁹⁾、「レンズ設計法の原理」(バレーク著 1930年刊)¹⁰⁾ や、「レンズ設計と測定」(芦田静馬著 1940年刊)¹¹⁾ などを通じてその知識・手法を習得していった。1951年に鈴木達朗 (1919-1993) らによりレンズ

表 7.1 主要顕微鏡メーカーの光学系関連寸法

メーカー名 (光学系名)	結像レンズの 焦点距離 (mm) *	同焦点距離 (mm)	ねじ山の形状 ()は反射暗視野	無限遠補正光学系への転向年		
				生物用	金属・工業用	
Leica	E. Leitz	250	45	RMS	—	1931, 1972
	(DELTA)	200	45	M25 (M32)	—	1992
	(HC)	200	45	M25 (M32)	—	1997
Nikon	(CF)	(MTL=160, 210)	45	RMS	—	1976
	(CF & IC)	200	45	RMS (M27)	—	1994
	(CFI60)	200	60	M25 (M32)	1996	1999
Olympus	(LB)	(MTL=160)	45	RMS	1978	—
	(IC)	180	45	RMS (W26)	—	1981
	(UIS)	180	45	RMS (W26)	1993	1994
Zeiss					—	1924
	Axiomat 用	250	45	M27	—	1973
	(ICS)	164.5	45	RMS, M27 (M27)	—	1986

(* カッコ内の MTL は有限補正における機械筒長を示す)



図 7.5 レンズ設計計算を行う女子従業員⁷⁾

設計法に関する学術論文が発表された^{12) 13)}。これはレンズ収差のそれぞれの変化率を、レンズ各要素の微分補正係数により予測する有効な方法であり、レンズ設計の効率化に貢献した。1953年以降になると、モンロー (Monroe) 社の電動計算機 (図 7.6) の導入が始まり、計算効率是人手の数倍にアップした。富士写真フィルム (現富士フィルム) ではレンズ設計の自動化を考え、7年かけて1956年3月にわが国で最初に稼働した計数型電子計算機 FUJIC (図 7.7) を完成させ、これにより計算効率は人手の約 2000 倍にもなった。さらに1957年以降になるとリレー式自動計算機の導入も行われ、商品化された国産自動計算機第1号の FACOM138 (富士通信機: 現・富士通) は、1957年オリンパスなどに納入され、日本光学も同年にドイツ製のものを導入している。また電子計算機が導入されたのは日本光学が1962年、オリンパスが1963年のことで、計算速度は飛躍的に向上した。電子計算機によ

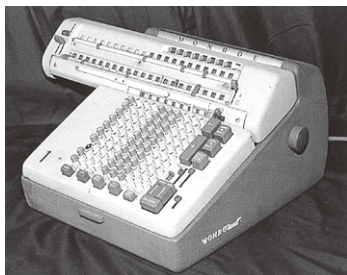


図 7.6 モンロー式電動計算機⁷⁾

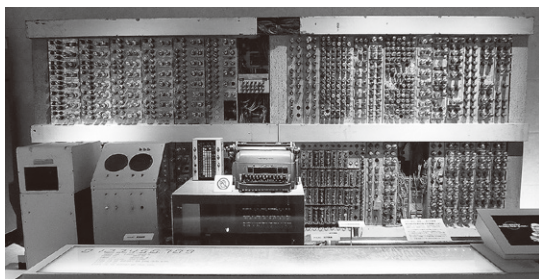


図 7.7 国産自動計算機 1 号 FUJIC

(国立科学博物館所蔵: 筆者撮影)

りレンズの収差を自動的に補正する研究は、1955年ころから始まった。大手光学メーカーでは、独自にレンズ設計プログラムを構築し、ズームレンズや非球面などそれぞれの設計ニーズを取り込み、光学設計技術も世界トップレベルへと進歩していった。その後もスーパーコンピュータ、マイクロコンピュータ、パーソナルコンピュータへと進展し、それに合わせて処理能力の大幅アップと価格の低下により、設計者が直接操作して高度なレンズ設計も行えるようになっていった。さらに商用のレンズ設計ソフトも普及し、現在では個人レベルで高度のレンズ設計を行うことも可能となっている。

7.3 光学ガラスの進歩¹⁴⁾

レンズ用のガラス、すなわち光学ガラスの製造法を最初に研究し確立したのは、スイスのギナン (P. L. Guinand, 1748-1824) である。色消しレンズが発明され、酸化鉛を多く含有するフリントガラス (工芸用に多用された) がレンズに使われるようになると、脈理など屈折率の不均一性や可視光域透過率が問題となっていた。彼は耐火粘土製のつぼで原材料を高熱溶解し、機械的に攪拌するという現代まで伝わる製法を1790年頃に確立した。この製法を伝授されたフラウンホーファーは、さらに製法の改良を進めて1812年には大型で均質な光学ガラスを作ることに成功し、天体望遠鏡用の口径175mm色消し対物レンズを完成させた。同時に彼が発見した太陽スペクトルの暗線 (フラウンホーファー線) における屈折率の精密測定も行い、そのデータに基づきレンズの設計・製造を行った。またギナンの製造法は、その後フランスのパラマントワ Parra-Mantois 社やイギリスのチャンス Chance 兄弟社に引き継がれ、両国が19世紀後半の光学ガラスの重要な供給元となった。その間、レンズの設計理論の進歩があり、諸収差をバランスよく補正するためには当時の光学ガラスにはない屈折率と分散をもつ光学ガラスの出現が望まれるようになった。ドイツの光学ガラス研究者ショットは、顕微鏡対物レンズの設計法を確立し光学ガラスの特性に着目していたツァイス社のアッペと出会い、1884年に共同でバリウム系クラウンガラスなどの新種ガラスを開発すると共に、イエナにガラス工場を設立した (3.4 参照)。このガラスは、旧ガラスに対し屈折率が高く、アポクロマート対物レンズや高性能写真レンズの設計に非常に有効であった。1886年発行の同社カタログには19種の新ガラスを含む44種の光学ガラスがその

特性・価格と共に掲載され、1888年には24種が追加された。翌年には重クラウンガラスの開発にも成功し、1913年のカタログには17種の新ガラスを含む97種が、1923年には22種の新ガラスを含む114種が掲載された。図7.8は、ショット社で最も初期のものといわれるこの1923年版光学ガラスマップで、図の右上から左下へと弧に連なる旧ガラスに加え、より高屈折率の新ガラスが多数分布している。こうしてショットガラスは新種ガラスの開発と優れた品質管理により「イエナガラス」として評価を高め、イギリスやフランスの光学ガラスを凌駕していった。その後、アメリカのモーレイ (G. W. Morey) は、ランタン La、トリウム Th、タンタル Ta 等の希元素を含んだ高屈折率のランタン系ガラスを開発し、それまでの光学設計の可能性を飛躍的に向上させた。

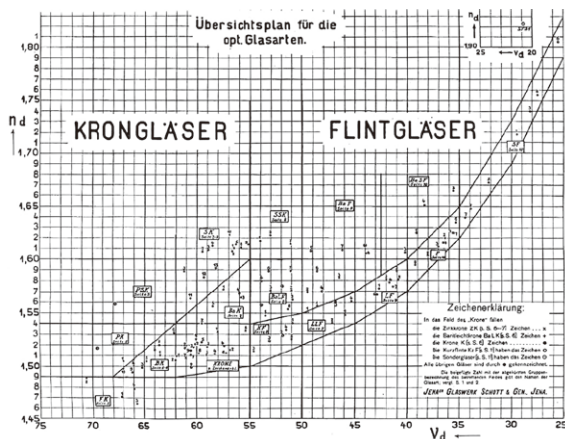


図 7.8 ショット社の 1923 年版光学ガラスマップ¹⁵⁾

わが国では、一般用ガラス工業は明治末から大正初めにかけて数多く誕生したが、無色で均質な光学ガラスを製造する業者は皆無で、輸入品に頼らざるをえなかった。最初に光学ガラスの製造に成功したのは1918年で海軍東京造兵廠（築地）においてであった。その後、日本光学がガラスの開発・製造を引き継ぎ、1927年には大量溶解にも成功し、1935年頃までには15種のガラスを溶解するまでになった。同年、研究主任であった小原甚八（1888-1968）は、独立して小原光学硝子製造所（現オハラ、以下オハラという）を創業し、わが国最初の光学ガラス専門メーカーとなり、多くの光学機器メーカーに光学ガラスを供給して現在に至っている。また富士写真フィルム（現富士フィルム）も1938年に、千代田光学精工（現コニカミノルタ）も1944年に光学ガラスの製造を開始した。さらに、1941年には、東洋光学硝子製造所（現HOYA）、1953年には住田光学硝子製造所（現住田光

学ガラス）も光学ガラス製造を目的に創業している。

終戦後、わが国の光学産業が再スタートするとカメラレンズを中心に光学ガラスの需要が増加した。同時に高屈折率ガラスへの要求も強まり、光学ガラス製造業者も、大学や国立工業試験所との技術交流・共同研究や、1948年に発足した日本光学硝子工業会における5社共同研究により新硝種開発に着手した。高屈折率化に必要なランタン (La)、タンタル (Ta)、チタン (Ti)、ジルコニウム (Zr) などを含むガラスは、従来の粘土のつぼでの溶解が困難なため、白金をつぼによる製造が開始されたのはこのあとである。このうち大手メーカーであるオハラでは、1958年に屈折率が1.8程度のLaSF（現硝種名：S-LAH）系のガラス開発に成功している。1962年には138種、1967年には207種（図7.9）、1986年には229種とガラスの種類も増加している。この間、ショット社が先行していた低屈折率・低分散ガラス（EDガラス）であるFK01（現・S-FPL51）を1975年に、また蛍石と光学特性がほぼ同じFK03（現・S-FPL53）の開発にも1989年に成功した。これにより材料費が高価で加工も困難であった蛍石からの置き換えが進み、アポクロマートやフルオリートなど高級顕微鏡対物レンズの設計・製造に大きく貢献した。

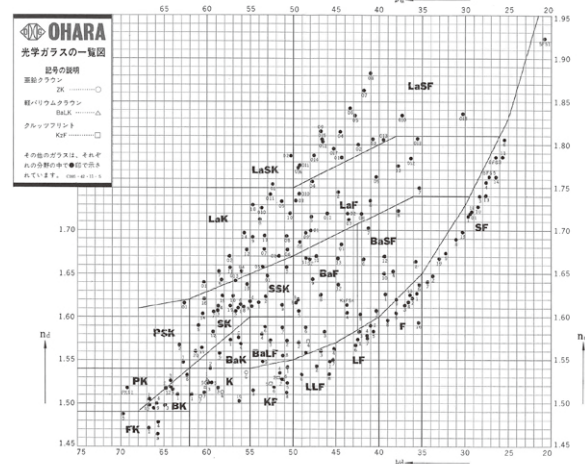


図 7.9 1967 (昭和 42) 年版光学ガラスチャート ($n_d - v_d$) 小原光学硝子¹⁶⁾

小原光学硝子製造所は、1985年に社名を(株)オハラに改め、1990年には、硝種名をそれまでのショット社の硝種名から、独自の名称への改訂を行った。また環境対策として、世界に先駆け鉛・ヒ素フリーのガラス開発に取り組み、1991年に発表した。その後、光学ガラスのエコ化と同時に資源保護の観点からそれ以前は約250種類あった光学ガラスを112硝種にまで絞

り込み、1997年に全ての推奨光学ガラスのエコ化を達成した。一方、顕微鏡対物レンズで使用されていた異常分散ガラスのクルツフリント (KzF、KzFS) 系ガラスも廃止されたが、代替エコガラスの研究を進めた結果、1998年にS-NBH、S-NBM系ガラスの開発に成功した。また蛍光顕微鏡用対物レンズのために、低自家蛍光の光学ガラス開発にも取り組み、2007にS-NBH系の新ガラスを発表している。さらに高屈折率ガラスの開発も進み、現在は屈折率2.0を超える硝種も数種が市販されるようになっている。最近の光学ガラスマップ (オハラ) は、図2.4を参照されたい。

このように、世の中の動向や光学機器メーカーのニーズを早期に捉え、新種ガラスの開発や品質・コスト面の改良に取り組んできたオハラ、HOYA、住田光学ガラス、光ガラス (2004年よりニコングループ) などの優れた光学ガラスメーカーがわが国にあったことこそが、わが国の光学産業が世界トップを継続し続けることができた重要なポイントの一つであった。

7.4 わが国の対物レンズの開発

7.4.1 1945年まで^{5) 6)}

4.2で述べたとおりわが国の工業的顕微鏡製造は、ライツなどの外国製品を模倣する形でスタートしたが、性能レベルの差は大きく、特に対物レンズの製作は光学材料も含めて設計データが入手できないため、苦難の連続であった。エム・カタラでレンズの加工・組立を担当した加藤嘉吉と弟子の鈴木泰一によれば、当時の対物レンズ製作は次のようであった。「ライツの対物レンズを中央から切断し、レンズの厚さや曲率、間隔などを測り、手持ちの数種類のガラス材料を研磨して、順次ライツのレンズと置き換えてみて、一番良いガラスを決める、という気の遠くなるような作業の繰り返しが続けられた。こうして手持ちのガラス材料のみでどうやら見える対物レンズを作り上げた。しかし高倍率対物レンズの先端レンズは、曲率半径が小さく半球かそれ以上に厚いため通常の研磨方法ではだめで、棒の先端に打ち込んだ釘の頭の平面部にレンズを貼りつけて磨くことに成功した。ただガラス材料がライツのレンズと異なっているため、観察時に標本のカバーガラスに当たってもピントが合わないものでできてしまった。当時のレンズ製作は、工場内の面会窓のついた狭い特別室で行われ、その技術は一子相伝風の秘術に近いものであった」。こうした膨大な試行錯誤と改良の積み重ねにより、対物レンズの加

工・組立技術は着実に向上していき、エム・カタラ光学器械では、1918年に油浸対物レンズ1/12 (焦点距離でインチ単位、およそ90倍) の発売をはじめている。これにともない、標本の焦点合わせを行う微動機構や、標本をXY方向に移動する十字動ステージ機構の精度向上も図られ、1924年には総合倍率1000倍の高級顕微鏡も開発製造するようになった。また高千穂も1920年に100倍油浸対物レンズ (図7.10) を完成させ、1927年には高級油浸顕微鏡GK (昭和号) を発売している。

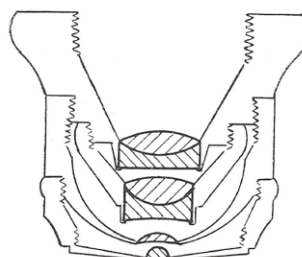


図7.10 アクロマート100倍油浸対物レンズ断面図¹⁷⁾

しかし、世界でも最高級の対物レンズは1879年にアッペが完成させたアポクロマートであり、レンズ材料の特殊性からわが国での製造は不可能と考えられていた。1928年に高千穂製作所は、商工省の工業研究奨励金を受けアポクロマートの研究をスタートした。構成する凸レンズの一部材料として無色透明の天然螢石が使われていたが、その入手先がわからず世界中に八方手を尽くして調査した結果、尾平鉦山 (大分県) が原産地であることが判明した。螢石は結晶で硬度が低く、高精度のレンズとして加工するためには熟練と多くのノウハウを必要とした。また別の凹レンズ材料としてミョウバン (明礬) が使われており、分解研究中に潮解して消えるというエピソードもあった。ミョウバンレンズの研磨加工法と枠構造設計も新たな技術開発が必要であった。こうした苦難を乗り越え、1931 (昭和6) 年に90倍のアポクロマート油浸対物

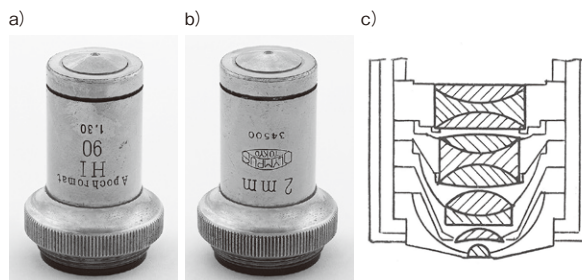


図7.11 アポクロマート90倍油浸対物レンズ^{18) 19)}

a) 表面 b) 裏面 c) 断面図¹⁷⁾

レンズ (NA1.30:図 7.11) の試作品を完成、1934 (昭和 9) 年にアポクロマート 10 倍 (NA0.30) と 20 倍 (NA0.65) 及び補正環付の 40 倍アポクロマート乾燥対物レンズ (NA0.95) (図 7.12) と共に、当時の最高級顕微鏡「富士号 OCE」と組み合わせて発表された⁶⁾¹⁷⁾。このアポクロマート対物レンズの完成は、わが国における当時の光学技術レベルの向上を象徴する画期的な成果であった。

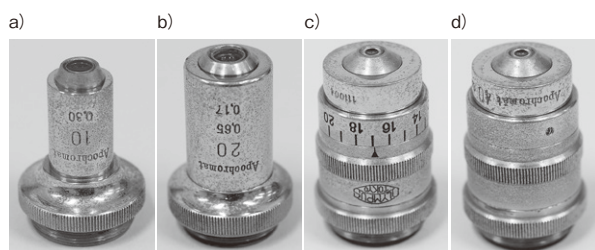


図 7.12 アポクロマート対物レンズ¹⁹⁾

a) 10 倍 b) 20 倍 c) 40 倍補正環付 d) 同・反対側面

7.4.2 1945 - 1975 年の開発

戦後になると、わが国の顕微鏡工業は戦前の機種種の再生産からスタートしたが、やがて需要の増大と共に高性能化への要求も高まった。各メーカーにとって、機械部品の高精度化はもちろんであったが、光学部品、とりわけ対物レンズの性能向上が重要な課題であった。1950 年に機械試験所報告第 1 号として「国産顕微鏡の現状」が発行されたが、この中で対物レンズの審査結果は、欧米製品に見劣りせず良好との報告であった。しかし、審査に出品された対物レンズは、アクロマートのみで、アポクロマートやセミアポクロマート (フルオリート) は出品されておらず、また像面平坦なプラン対物レンズは各社とも未開発の状況で、全体的な顕微鏡光学性能はまだ欧米製品に対し大きく後れている、との認識が示された。

わが国におけるプラン対物レンズは、オリンパスと日本光学が共に 1963~1967 年にかけてラインアップを完成させている。一方、1964 年の論文に掲載されたライツ社のプラン系対物レンズは、1 倍から 160 倍まで、生物用と工業用の合計で 66 種類にもものぼっており、その技術開発力の差は歴然としていた²⁰⁾。図 7.13 及び図 7.14 は、当時のオリンパスと日本光学のアクロマート対物レンズ (Ach)、図 7.15 及び図 7.16 は、同じ両社のプランアポクロマート対物レンズ (Plan) の構成図である。なお図中各上部の左右にある横短線は対物レンズ胴付 (レボルバの取り付け面)、斜線またはクロスハッチングがあるレンズは、それぞれ材料が ED ガラスまたは蛍石であることを示している (以下

同じ)。また工業用の Plan 対物レンズは、オリンパス (機械筒長 200mm、同焦点距離 42.5mm) が 1966 年に、日本光学 (機械筒長 210mm、同焦点距離 33.6mm) が 1970 年ころにシリーズ化を完成した。アクロマート対物レンズと比較すると、倍率が高くなるにつれメニ

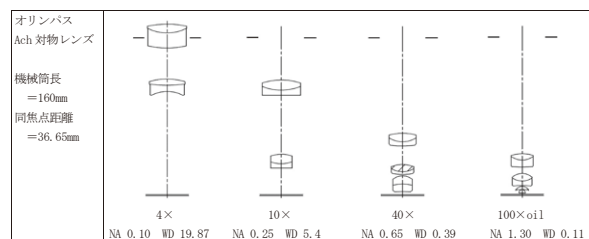


図 7.13 アクロマート対物レンズの構成図 (オリンパス)²¹⁾

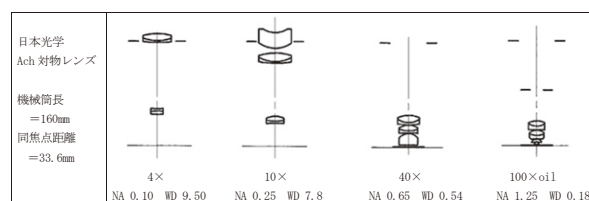


図 7.14 アクロマート対物レンズの構成図 (日本光学)²²⁾

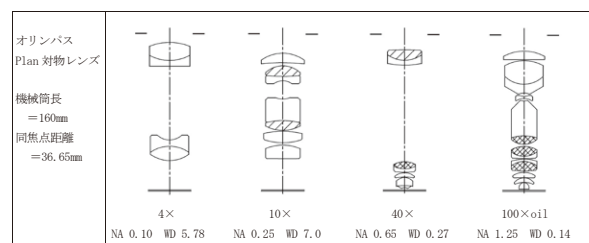


図 7.15 プランアポクロマート対物レンズの構成図 (オリンパス)²¹⁾

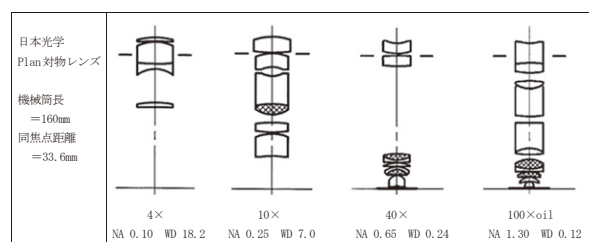


図 7.16 プランアポクロマート対物レンズの構成図 (日本光学)²²⁾

スカスレンズを含めたレンズ枚数が増え、また蛍石や ED ガラスも使われていることがわかる。

最高級のプランアポクロマート (PlanApo) 対物レンズは、すでに 1950 年代からドイツ勢がシリーズ化していたが、わが国では、1964 年に日本光学が最初の PlanApo100 倍油浸対物レンズ (図 7.17) とプランフルオリート PlanFl 40 倍を発売している。戦前にア

ポクロマート対物レンズシリーズを完成させたオリンパスであったが、戦後は蛍石を使ったセミアポクロマートのFL100倍 (NA 1.30:油浸) とFL40倍 (NA 0.77) を1953-55年に発売したのみであった。プランアポクロマートのシリーズ化は、4倍、10倍、20倍が1972年に、補正環付の40倍と油浸の100倍が完成したのは1974年のことであった (図7.18、7.19)。このうち、特に困難だったのは100倍で、先端レンズは屈折率が油浸液とほぼ同じクラウンガラスの微小半球レンズと、屈折率が極めて高いフリントガラスのメニスカスレンズの接合で構成されており (図7.20)、また後端の凹レンズには異常分散性のあるミョウバン (n=1.456) を通常ガラスレンズで挟んだ3枚構成となっている (図のドット表示部分)。この研磨加工技術は、技術者がドイツに留学して習得したものである。こうしてわが国の対物レンズも、ドイツ勢に形

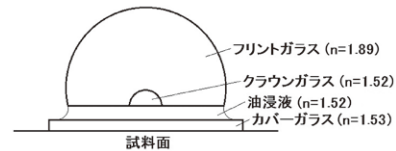


図7.20 プランアポクロマート100×oilの先端レンズの構成

上では追いついたが、実際の総合性能レベルではまだ肩を並べたと言える状態ではなかった。

7.4.3 1976-1992年の開発

わが国の光学顕微鏡メーカーが、教育・実習用の普及クラスから先端研究のための最高級クラスまでをラインアップし、国内外の評価を高め市場シェアも拡大していったが、特にバイオメディカルの研究分野をはじめとしてドイツ製顕微鏡が世界トップであるとの評価は揺るがなかった。これを覆すためには、顕微鏡システム全体の再構築、なかんずく光学性能のナンバーワン評価を確立するための技術開発が必須の状況にあった。

先行したのは日本光学で、1972年に対物レンズの同焦点距離を33.6mmからドイツ工業規格 (DIN) の45mmに変更し (機械筒長160mmは変更なし)、併せて光学系の設計思想も刷新する方針をたて、営業・設計・技術・製造のメンバーから成るプロジェクトをスタートした。同焦点距離の変更は、光学設計上は自由度が増えて有利であるが、従来の顕微鏡システムとの互換性等でユーザーにとっては不利益を生じさせる。この課題を踏まえての決断であった。光学設計は、アッペが19世紀末に確立した対物レンズと接眼レンズとで倍率の色収差を補正するコンペーション方式が世界の常識であった。これに対し、日本光学の設計陣は対物レンズ、接眼レンズでそれぞれ単独で色収差補正する新しい設計思想CFシステム (Chromatic aberration Free system) と従来方式の設計検討を行った結果、新システムへの移行を決断し、開発に着手した^{23) 24)}。CFシステムの特徴は以下の5点にあった。

- 1) 倍率色収差が視野中心部から中間部、周辺部までよく補正される。
- 2) 接眼レンズの視野絞りの色付き (従来方式では絞りの内側に赤のにじみが出る) がなくなり、100%有効視野として観察できる。
- 3) 接眼レンズに焦点板を入れたとき、目盛りや数字の色付きがない。
- 4) 対物レンズ、接眼レンズの軸上の色収差も改善される。

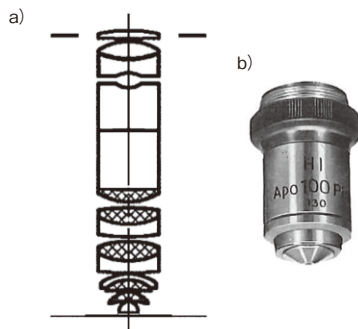


図7.17 日本光学プランアポクロマート100×oil²²⁾

a) 構成図 b) 外観

(機械筒長=160mm, 同焦点距離=33.6mm, NA 1.30 WD 0.12)

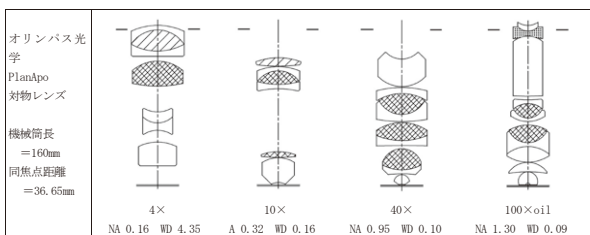


図7.18 プランアポクロマート対物レンズの構成図 (オリンパス)²¹⁾



図7.19 プランアポクロマート

4×, 10×, 20×, 40×, 100×oil (左より)²¹⁾

5) 対物レンズ、接眼レンズともそれぞれが完成した光学系なので、あらゆる分野で応用ができる。

一方、アッベがコンペーション方式を採用したのは、特に高倍率対物レンズで倍率の色収差を補正することが困難であったためであるが、これは対物レンズを前群と後群に分けて前群で過剰の色補正を、後群で逆色補正をすることにより解決される。図 7.21 に生物用 CF 対物レンズのアクロマート (Ach)、プランアクロマート (Plan)、プランアポクロマート (PlanApo) 各シリーズの構成図を示すが、Ach 40 ×、100 × oil を従来の構成 (例えば図 7.14) と比較するとその特徴がよくわかる。さらに高級対物レンズの Plan や PlanApo では、蛍石のほか新たに開発された ED ガラスを多用することにより、大きな開口数でも高度の色収差・像面湾曲等の収差補正を達成した。また落射蛍光用として、近紫外域の透過率が高くレンズ自体の自家蛍光が小さい CF UV-F シリーズも新たにラインアップに加えた。生物用の CF 各対物シリーズの外観を図 7.22 に示す。金属顕微鏡用の対物レンズ (機械筒長 210mm、同焦点距離 45mm) の CF MPlan (図 7.23 はレンズ構成図)、CF MPlanApo と同反射明暗視野用の CF BD Plan、CF BD PlanApo シリーズも同時に開発した。CF システムは、新たに開発された高級顕微鏡マイクロフォト V シリーズの生物用バイオフォト (図 4.31)、落射蛍光用フルフォト (図 5.38)、金属・工業用のメタフォト (図 6.57) の 3 製品と共に 1976 年に発売された。

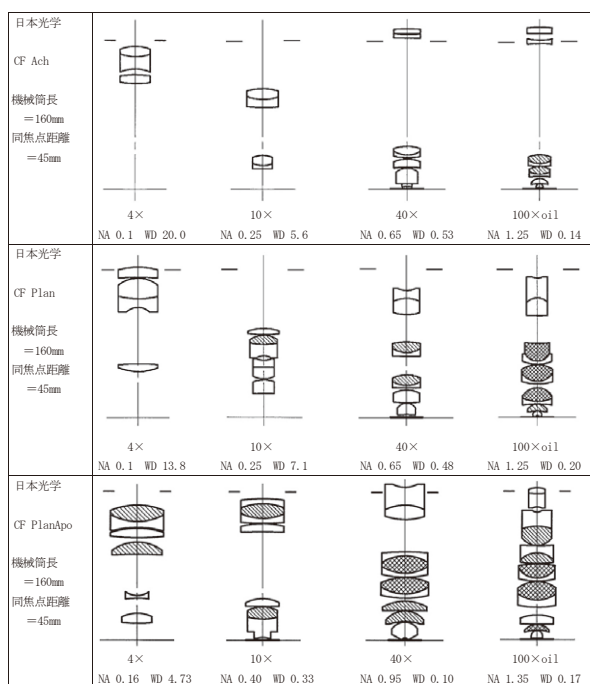


図 7.21 日本光学 CF 対物レンズの構成図

(Ach, Plan, PlanApo シリーズより抜粋)²²⁾

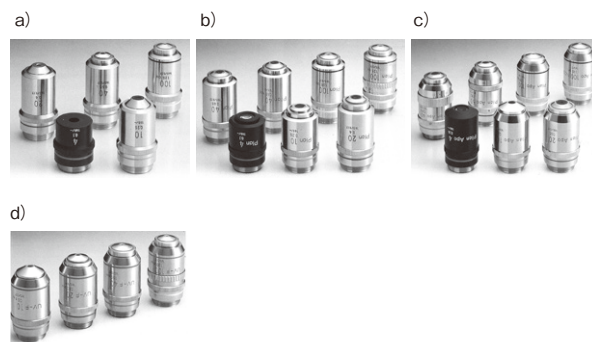


図 7.22 日本光学 生物用 CF 対物レンズ²²⁾

- a) Ach シリーズ: 前列 4 ×, 10 ×, 後列 20 ×, 40 ×, 100 × oil
- b) Plan シリーズ: 前列 4 ×, 10 ×, 20 × 後列 40 ×, 40 × NCG (ノーカバーガラス用), 100 × oil, 100 × oil 絞り付
- c) PlanApo シリーズ: 前列 4 ×, 10 ×, 20 × 列 40 ×, 60 ×, 100 × oil, 100 × oil NCG (ノーカバーガラス用)
- d) UV-F シリーズ: 10 ×, 20 ×, 40 × gly, 100 × gly (gly はグリセリン浸)

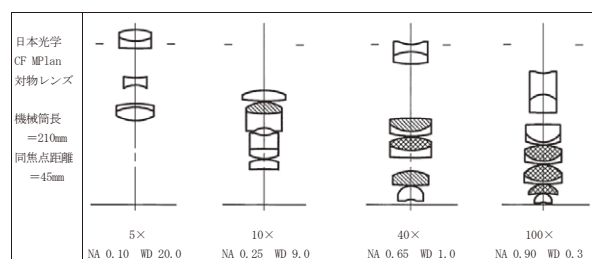


図 7.23 日本光学 CF MPlan 対物レンズの構成図

(シリーズより抜粋)²²⁾

一方のオリンパスは、やはり同焦点距離を従来の 36.65mm (金属用は 42.5mm) から DIN に規定された 45mm に変更する新光学系の開発を 1974 年ころから企画していた。LB (Long Barrel: 長頸) と呼ばれたこの生物顕微鏡用対物レンズシステムの特徴を以下に示す²⁵⁾。

- 1) メインとなる Plan 系対物レンズを、高級タイプの SPlan と普及タイプの DPlan の 2 シリーズとする。
- 2) 最高級である SPlanApo シリーズも NA を大きくし、色収差を十分に補正する。
- 3) 標準視野数を従来の 18 から 20 に拡大し、対物レンズの作動距離も極力大きくして操作性向上を図る。
- 4) 極低倍対物レンズの SPlanFl 1x, 2x を他の倍率と同じ同焦点距離でラインアップに加える。
- 5) 新しい ED ガラスや新マルチコーティング技術の採用により、像コントラストの大幅向上を図る。
- 6) Ach、普及 Plan 対物レンズは、従来性能を維持向上しつつ、コストダウン設計を行う。
- 7) 光学設計の基本思想は、機械筒長 160mm で倍率色収差はコンペーション方式のままとする。ところがこの設計が開始されて間もなく、日本光学よ

り CF 光学系と新顕微鏡シリーズが発表されたこともあり、急きょ SPlan シリーズを先行して 1978 年に市場導入した（顕微鏡本体は、AH-LB と BH-LB）。LB の開発においては、設計・加工・評価に関する社内専門委員会が設置され、さまざまな要素技術開発に取り組んだ。位相差用の新位相膜の開発と理論的最適化、落射蛍光用無蛍光オイル（シリコンオイル）の開発などがそれである。図 7.24 に LB 対物レンズシリーズのうち、DAch、SPlan、SPlanApo の構成図を、また図 7.25 に各写真を示す。

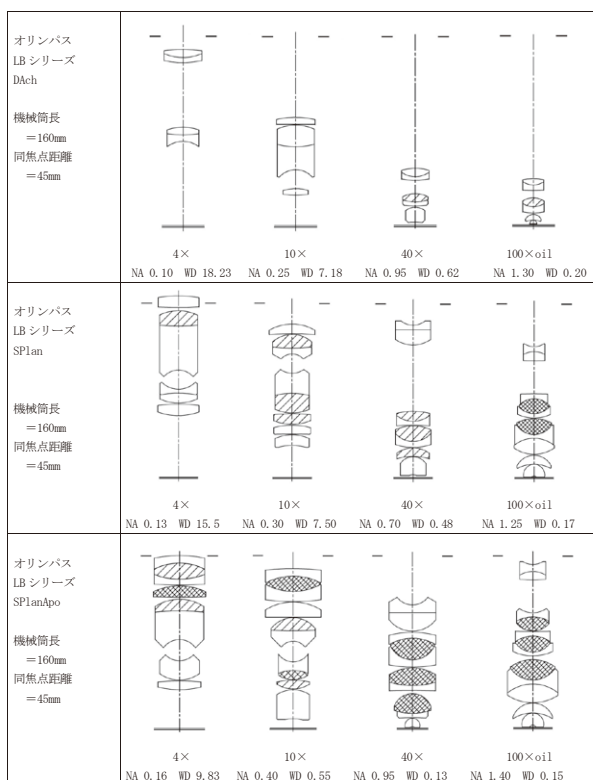


図 7.24 オリンパス光 LB 対物レンズの構成図
(DAch, SPlan, SPlanApo シリーズより抜粋)²¹⁾

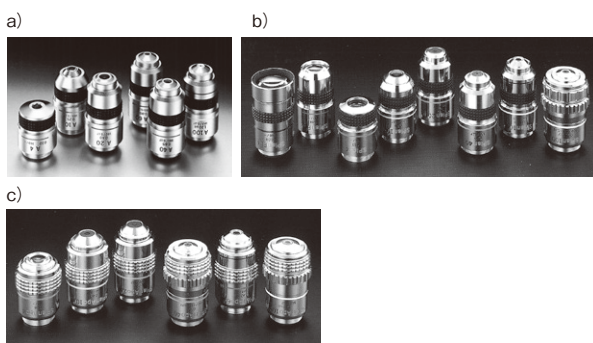


図 7.25 オリンパス LB 対物レンズ（生物用）²¹⁾

- a) DAch 4×, 10×, 20×, 60×, 40×, 100× oil
 b) SPlanFI 1×, 2×, SPlan 4×, 10×, 20×, 40×, 100× oil, 100× dry
 c) SPlanApo 4×, 10×, 20×, 40×, 60× oil, 100× oil 絞り付

オリンパスは、LB 光学系の開発が一段落すると、引き続き金属・工業用対物レンズの開発に着手した。その設計思想は、単に同焦点距離を従来の 42.5mm から 45mm とするだけでなく、機械筒長を従来の 200mm から無限遠補正（2.4 参照）とするもので、対物レンズシリーズ名は IC 光学系（Infinity Corrected optics）と名付けられた²⁶⁾。鏡筒や接眼レンズは LB 光学系と共通化のため、倍率色収差補正はコンペンセーション方式とした。また結像レンズの焦点距離は、さまざまな検討を行った結果、180mm に定められた。生物系の LB と同様に、プラン系対物レンズを、高級タイプの MSPlan シリーズ（図 7.26 a）と普及タイプの MDPlan シリーズに分け、それぞれ明暗視野用の NeoSplan シリーズ（図 7.26 b）と NeoDPlan シリーズをラインアップした。また反射偏光・微分干渉用の光学歪を小さくした MSPlan-NIC と NeoSplan-NIC のシリーズや、超長作動距離の ULWDMSPan（図 7.26 c）と ULWDNeoSPlan（図 7.26 d）のシリーズなどと共に 1981 年に発売された。その後の追加も含めると、50 種類にも及ぶ対物レンズシステムとなった。

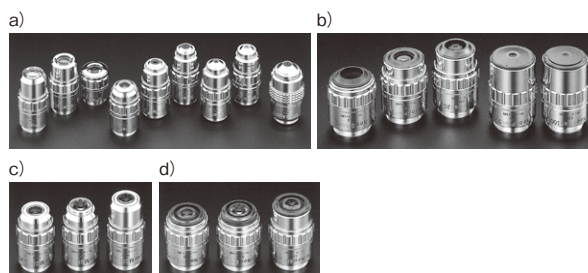


図 7.26 オリンパス IC 対物レンズ²¹⁾

- a) MSPlan 1.5×, 2.5×, 5×, 10×, 20×, 50×, 100× dry, 100× oil, MSPlanApo 50×
 b) NeoSPlan 5×, 10×, 20×, 50×, 100×
 c) ULWDMSPan 20×, 50×, 80×
 d) ULWDNeoSPlan 20×, 50×, 80×

精密測定機器メーカーの三豊製作所（1987 年より株式会社ミットヨ、以下ミットヨという）は、1984 年に、光学顕微鏡 FS シリーズを発売し、工業市場をメインとした顕微鏡事業に参入した。このシリーズの最大の特徴は、同焦点距離が標準の 2 倍以上もある 95mm（ISO 9345-2 及び JIS B 7132-2 の規定には含まれない）で無限遠補正光学系（結像レンズの焦点距離 200mm）の対物レンズシリーズであった^{27) 28)}。標準である MPlanApo とその明暗視野用の BD PlanApo シリーズでは、特に大きな同焦点距離を活かして設計された超長作動距離をもち、さらに ED ガラスを多用する

表 7.2 ミットヨ MPlanApo 対物レンズシリーズの仕様

	1×	2×	5×	7.5×	10×	20×	50×	80×	100×	200×
MPlanApo	0.025 11	0.055 34	0.14 34	0.21 35	0.28 33.5	0.42 20	0.55 13		0.7 6	
MPlanApo-SL						0.28 30.5	0.42 20.5	0.5 15	0.55 13	0.62 13
MPlanApo-HR			0.21 25.5		0.42 15		0.75 5.2		0.9 1.3	

(上段：NA、下段：WD)

ことによりアポクロマトを実現している。表 7.2 に MPlanApo とさらに作動距離の長い MPlanApo-SL および NA の大きな MPlanApo-HR シリーズの仕様を、図 7.27 に MPlanApo シリーズの外観写真を示す。ミットヨではその後、可視光域から近赤外光域まで色収差補正をして近赤外光域の透過率も上げた MPlan-NIR と液晶検査用の LCD Plan-NIR シリーズ、可視光域から近紫外光域まで色収差補正をして近紫外光域の透過率も上げた MPlan-NUV と液晶検査用の LCD Plan-NUV シリーズ、蛍石と合成石英をレンズ材料とし紫外域の透過率と性能を確保した MPlan-UV シリーズ、厚さ 3.5mm のカバーガラスを通して観察する前提で設計された G PlanApo シリーズなどのラインアップをそろえ、工業市場を中心に存在感を示している。



図 7.27 ミットヨ MPlanApo (後列) と同-HR (前列) シリーズ²⁹⁾

日本光学は、1985 年に発売した高級万能写真顕微鏡マイクロフォト FX に合わせ、従来の CF 対物レンズシリーズのコントラストと解像力を一段と向上させた新対物レンズ NCF シリーズを同時発売した。NCF Plan と NCF PlanApo シリーズ (図 7.28) ではそれまでの CF Plan と CF PlanApo シリーズに対し NA を大きくして、オリンパスの SPlan、SplanApo シリーズに対抗した。

7.4.4 1993 年以降の開発

このようにわが国では同焦点距離の変更と、金属・工業用対物レンズの機械筒長無限遠化への取り組みが進められ、それがほぼ一段落したとき、1986 (昭和 61) 年にツァイス社から全く新しい光学系 ICS (Infinity Color-corrected System)³⁰⁾ を搭載した新型顕微鏡 Axiophot、Axioplan、Axiotron、Axiovert が次々と発表された (4.7 参照)。ICS は生物用、金属・工業用とも機械筒長無限遠補正でかつ倍率色収差独立補正という設計思想で、全ての対物レンズ、接眼レンズ等を新開発したもので、高級顕微鏡リーダーとしての威信を示すものであった。結像レンズは対物レンズと一体で諸収差を補正する方式となっていた。この生物用顕微鏡も無限遠補正光学系というコンセプトは、必ずしも斬新なものではなかったが、かのツァイス社

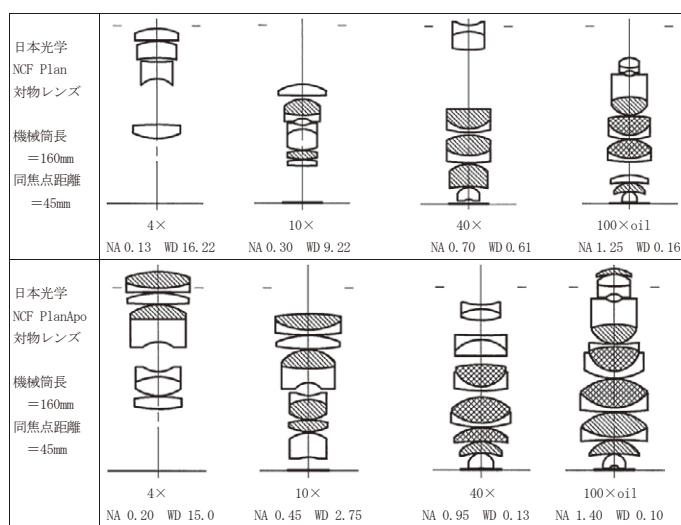


図 7.28 日本光学 NCF 対物レンズの構成図

(NCF Plan, NCF PlanApo シリーズより抜粋)²²⁾

が全面的に採用したということで、すぐに世界のバイオメディカル研究者から高い評価を受けることになった。ライカ社でも同じ設計思想のデルタ光学系 (Delta optics)³¹⁾ を 1992 年に発表し、1998 年には HC 光学系 (Harmonic Compound System) へと発展している。

わが国では、まずオリンパスがこの光学系思想を採用すべきか検討を開始し、技術的・経営的検討を重ねて、1988 年に新思想による対物レンズ・接眼レンズシリーズ及び生物用顕微鏡と金属・工業用顕微鏡の全面的同時見直しを決定し、開発プロジェクトをスタートさせた。光学系は世界最高レベルの性能とさまざまなニーズに対応できるシステム拡張性を有することを目標に、UIS (Universal Infinity System) と名付けられた^{32) 33)}。先行する ICS シリーズとの差別化も意識したその特徴は、次のようなものであった。

- 1) あらゆる観察法において世界最高レベルの解像力、コントラストを有する。
- 2) 生物用、金属・工業用の設計思想を統一し、無限遠補正光学系の採用により、高いシステム拡張性を有する。
- 3) 対物レンズ、結像レンズ、接眼レンズの諸収差を独立補正とし、拡張性の高いフレキシブルな光学系とする。
- 4) 一つのシリーズで、さまざまな観察法に対応できるユニバーサル対物レンズをラインアップする。

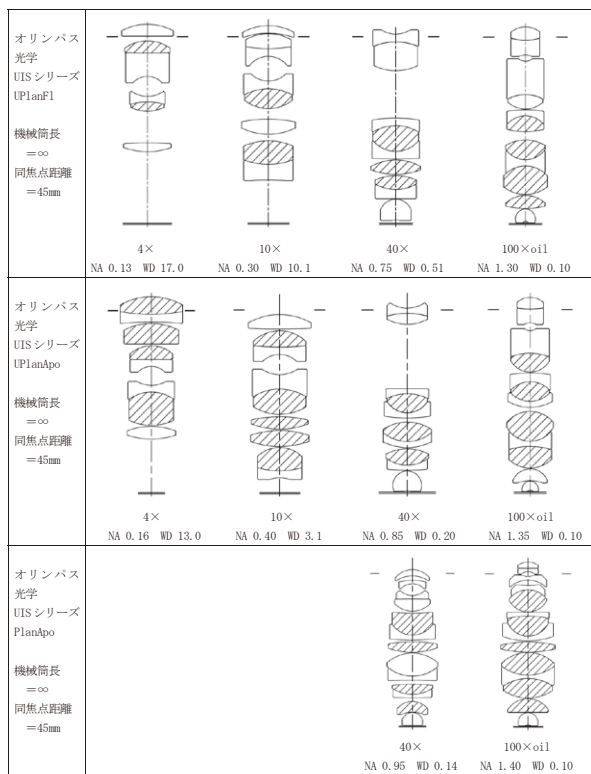
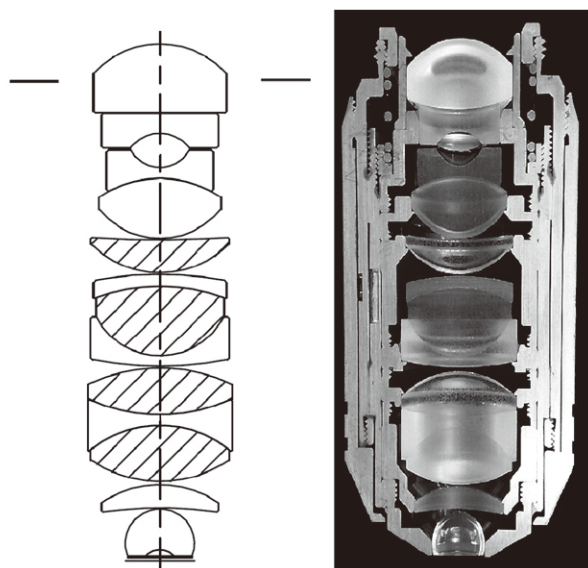


図 7.29 オリンパス UIS 対物レンズ構成図²¹⁾

a) UPlanFl、UPlanApo、PlanApo 各シリーズより抜粋

5) 標準の視野数を 22 (従来は 20) に拡大し、対物レンズの作動距離 (WD) も大きくして操作性の向上を図る。

結像レンズの焦点距離は、様々な設計検討・試作評価を経て、結果的に IC 光学系と同じ 180mm とした。ユニバーサル対物レンズは、プランアポクロマートとプランフルオライトの 2 つのシリーズとしたが、本来の明視野性能を最高度に確保しつつ、近紫外透過率や偏光特性の向上を同時に達成する必要があり、難度の高い設計であった。特に蛍光観察用として高い近紫外透過率をもち、かつ自家蛍光の少ない硝種を厳選したことは、設計の自由度を狭めた。このころ蛍石とほぼ同等の特性をもつ FK03 (オハラ製: 現 S-FPL53) や GFK70 (住田光学ガラス製: 通称ガドロン) 等が出現し (7.3 参照)、加工困難な蛍石の代替硝種として生産性向上にもつながり設計に多用された。また近紫外域を含む広帯域反射防止コーティング技術開発があったことも支援材料となった。さらに対物レンズの高速高精度・省力化のレンズ自動加工ラインが工場に導入されたことも生産性の向上に大きな役割を果たした。こうして 1993 年に UIS が、搭載する新開発顕微鏡 BX シリーズ (4.7 参照) と共に、また翌年には倒立型生物系と金属・工業系 UIS が AX シリーズ、IX シリーズ、BXM 系シリーズの顕微鏡と共に発売され、国内外のユーザーから高い評価を受けた。図 7.29 に UIS 対物レンズの構成図と PlanApo 60 × oil



b) PlanApo 60 × oil の構成図と断面写真

の断面写真を示す。また図 7.30 と 7.31 はそれぞれ生物用、金属・工業用対物レンズ各シリーズの写真である。

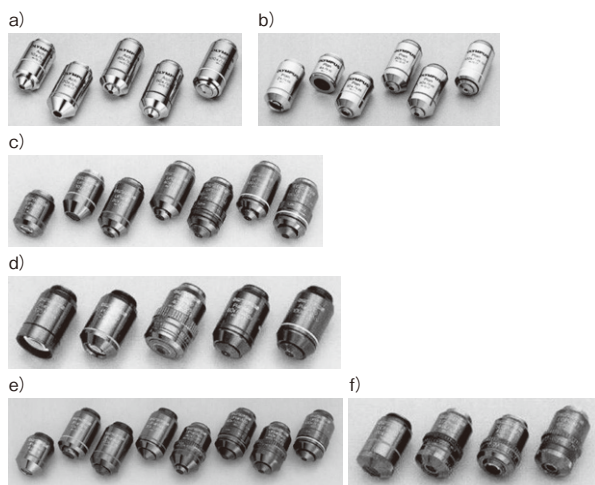


図 7.30 オリンパス UIS 対物レンズ (生物用)²¹⁾

- a) Ach 10 ×, 20 ×, 40 ×, 60 ×, 100 × oil
- b) Ach 10 ×, 20 ×, 40 ×, 60 ×, 100 × oil
- c) UPlanFI 4 ×, 10 ×, 20 ×, 40 ×, 60 × oil iris, 100 × oil, 100 × oil iris
- d) PlanApo 1.25 ×, 2 ×, 40 ×, 60 × oil, 100 × oil
- e) UPlanApo 4 ×, 10 ×, 20 ×, 20 × oil, 40 ×, 40 × oil, 60 ×, 100 × oil
- f) LCPlanFI 20 ×, 40 ×, S-40 ×, 60 × c

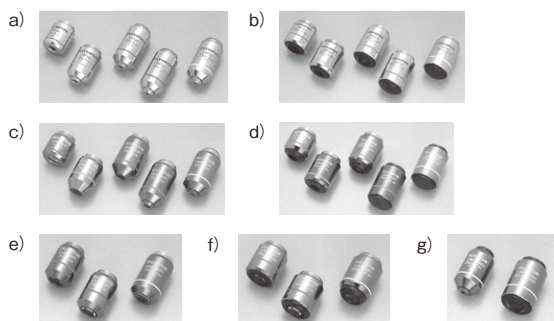


図 7.31 オリンパス UIS 対物レンズ (金属・工業用)²¹⁾

- a) MPlan 5 ×, 10 ×, 20 ×, 50 ×, 100 ×
- b) MPlan-BD 5 ×, 10 ×, 20 ×, 50 ×, 100 ×
- c) UMPlanFI 5 ×, 10 ×, 20 ×, 50 ×, 100 ×
- d) UMPlanFI-BD 5 ×, 10 ×, 20 ×, 50 ×, 100 ×
- e) LMPlanFI 20 ×, 50 ×, 100 ×
- f) LMPlanFI-BD 20 ×, 50 ×, 100 ×
- g) LMPlanApo(-BD) 250 ×

一方ニコンは、機械筒長無限遠化の動向に合わせて、1994年にCF対物レンズと無限遠補正を融合させた新しい金属・工業用対物レンズCF & IC光学系を開発した。結像レンズの焦点距離は、200mmを採用した。従来のCF MPlanシリーズからNAを大きくして解像力とコントラストを高めたCF IC EPI Plan、長作動距離のCF IC EPI Plan ELWD、超長作動距離のCF IC EPI Plan SLWDの各シリーズと、明暗視野用のCF IC BD Plan、CF IC BD Plan ELWDシリーズなどから成っていた(図7.32)。

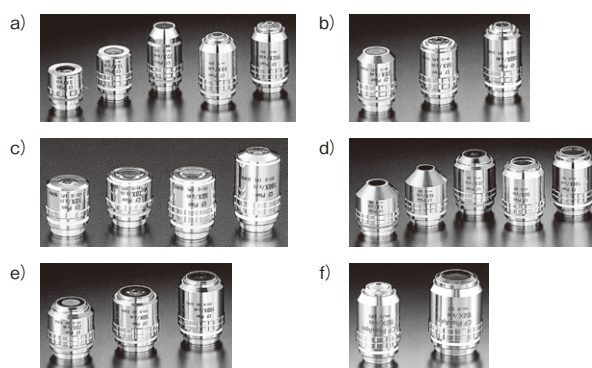


図 7.32 ニコン CF & IC 対物レンズ²²⁾

- a) CF IC EPI Plan 5 ×, 10 ×, 20 ×, 50 ×, 100 ×
- b) CF IC EPI Plan ELWD 20 ×, 50 ×, 100 ×
- c) CF IC EPI Plan SLWD 10 ×, 20 ×, 50 ×, 100 ×
- d) CF IC BD Plan 5 ×, 10 ×, 20 ×, 50 ×, 100 ×
- e) CF IC BD Plan ELWD 20 ×, 50 ×, 100 ×
- f) CF IC EPI PlanApo/CF IC BD PlanApo 150 ×

さらにニコンは、生物用と金属・工業用対物レンズを全面的に設計見直ししたCFI₆₀光学系を新たに開発し、1996年に新型顕微鏡エクリップス(Eclipse)シリーズと共に発表した。生物用対物レンズも機械筒長を無限遠補正にすると共に、全ての同焦点距離を従来の45mmから60mmへと長くし、またレボルバ取り付けねじ径をRMSからM25へと広げて、仕様・性能の改善を図ったことに大きな特徴があった。表7.3に生物用対物レンズのNCFシリーズ(PlanとPlanApoシリーズ)及びCFI₆₀シリーズ(Plan FluorとPlan Apoシリーズ)との仕様比較を示す。低倍から中倍にかけて特に作動距離(WD)が大きくなってい

表 7.3 ニコン 生物用対物レンズCFI₆₀とNCFシリーズの仕様比較²²⁾

	Plan(Fluor)シリーズ						PlanApoシリーズ							
	4×	10×	20×	40×	60×	100×oil	2×	4×	10×	20×	40×	60×	60×oil	100×oil
NCF シリーズ	0.13 16.22	0.30 9.22	0.50 1.78	0.70 0.61		1.25 0.16	0.05 5.80	0.20 15.0	0.45 2.75	0.75 0.64	0.95 0.13		1.40 0.17	1.40 0.1
CFI ₆₀ シリーズ	0.13 17.1	0.30 16.0	0.50 2.10	0.75 0.66	0.85 0.30	1.30 0.16	0.10 8.50	0.20 20.0	0.45 4.00	0.75 1.00	0.95 0.14	0.95 0.15	1.40 0.13	1.40 0.13

るのがわかる。また図 7.33 に CFI₆₀ シリーズの主要なラインアップの写真を示す。

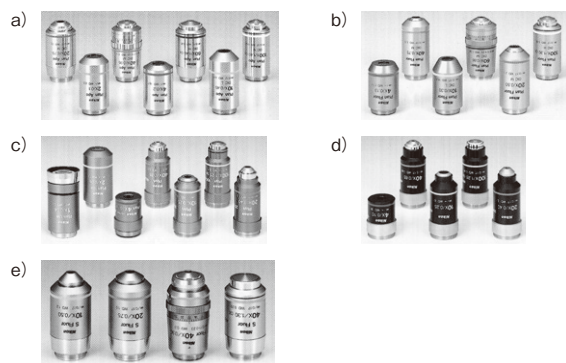


図 7.33 ニコン CFI₆₀ 対物レンズ (生物用)²²⁾

- a) CFI Plan Apo 20×, 2×, 40×, 4×, 60× oil, 10×, 100× oil
- b) CFI Plan Fluor 4×, 40×, 10×, 60×, 20×, 100× oil
- c) CFI Plan 1×, 2×, 4×, 40×, 10×, 100× oil, 20×
- d) CFI Ach 4×, 40×, 10×, 100× oil, 20×
- e) CFI S Fluor 10×, 20×, 40×, 40× oil

オリンパスは、2004年に UIS 光学系を見直し、新しい光学系 UIS2 シリーズを開発して、生物用の正立型顕微鏡「Power BX plus」と倒立型顕微鏡「Power IX plus」に搭載して発売した。その主な特徴を以下に挙げる。

- 1) 新開発のレンズコーティング技術とガラス材料の厳選により、蛍光の SN 比を向上した。
- 2) 最高級対物レンズの UPLSAPO シリーズは、可視域の 430nm から近赤外の 1,000nm までの広帯域で色収差を高度に補正し、また近紫外から近赤外の透過率を従来よりも向上して、マルチカラー蛍光観察などの先端アプリケーションにも対応した。
- 3) デジタルイメージングに対応し、標本のより忠実な色再現や均質照明システムを実現した。
- 4) 全ての光学系に使用するガラス材質は、鉛やヒ素などの有害物質を含まないエコガラスを採用し、環境への対応を行った。

図 7.34 に UIS2 の写真を示す。



図 7.34 オリンパス UIS2 対物レンズ²¹⁾

- a) UPlan SApo 4×, 10×, 20×, 20× oil, 40×, 60× w, 60× oil, 100× oil
- b) PlanApo N 1.25×, 2×, 60× oil, 60× oilSC
- c) UPlanFL N 4×, 10×, 20×, 40×, 60× oil, 100× oil
- d) Plan N 2×, 4×, 10×, 20×, 40×, 50× oil, 100× oil

またニコンは 2012 年に、工業用として CFI₆₀₋₂ 対物レンズシリーズを発売した。独自の技術である位相フレネルレンズを採用し、色収差の低減とさらなる長作動距離化を実現した³⁴⁾。位相フレネルレンズは、回折光学素子 (DOE : Diffractive Optical Element) の一種で、通常の屈折レンズとは異なり負の分散をもつ (凸レンズでは波長が短いほど焦点位置が遠い) ため、これらを組み合わせると色ずれを相殺することが可能になり、強力な色収差補正を実現できる。CFI₆₀₋₂ 対物レンズシリーズは、この位相フレネルレンズを採用した長作動距離の TU Plan EPI/BD ELWD、超長作動距離の T Plan EPI SLWD、長作動距離高級の TU Plan Apo EPI/BD の各シリーズと、標準設計の TU Plan Fluor EPI/BD、極低倍率の T Plan EPI、偏光用の TU Plan Fluor EPI P の各シリーズから成っている。図 7.35 に CFI₆₀₋₂ 各シリーズの写真を示す。



図 7.35 ニコン CFI₆₀₋₂ 対物レンズ

- a) T Plan 1×, 2×
- b) T Plan SLWD 10×, 20×, 50×, 100×
- c) TU Plan Fluor 5×, 10×, 20×, 50×, 100×
- d) TU Plan Apo 50×, 100×, 150×

7.4.5 特徴ある対物レンズ

これまで、各社の標準的な対物レンズシリーズにつき説明してきたが、ニーズの多様化にともないさまざまな仕様や特性の対物レンズが、設計技術の進歩にともなって開発されてきた。以下に特徴的なものについて解説する。

(1) 極低倍率対物レンズ

生物顕微鏡における対物レンズの倍率は、4 倍から一般的であるが、標本のより広い範囲を観察・記録したいというニーズに対応して、倍率が 2 倍以下の極低倍対物レンズも開発された。この場合、対物レンズの焦点距離が大きくなるため、他の倍率との同焦点を維持することが設計的に難しくなる。このため、例えばオリンパスでは、同焦点距離 36.65mm に対し Plan 1.3× は 60.6mm になっており、使い勝手は良くなかった。国内で最初に極低倍対物レンズの同焦点化に成功

したのは千代田で、新型顕微鏡 MT-B と共に、視野数 26.5 の対物レンズ Plan 1 × (NA 0.035, WD 1.6mm) が 1975 年に発表された。また日本光学は、1976 年発売の CF 対物レンズの中に CF Plan 1 × をラインアップした。オリンパスも LB シリーズの中で SPlanFl 1 × を、UIS シリーズの中で PlanApo 1.25 × (NA 0.04, WD 5.1mm) を発売している。図 7.36 は SPlanFl 1 × の構成図であるが、この図に示すように、同焦点距離 45mm の中に焦点距離 138mm のレンズ系が詰め込まれ、かつ射出瞳（後ろ側焦点位置）を他の倍率とほぼ同じ胴付面近傍にもってこなければならぬため、全体で凸レンズ群、凹レンズ群、凸レンズ群から成る特異なレンズタイプとなる。さらにニコンは、CFI シリーズでマクロ 0.5 × 対物レンズ (NA0.025, WD7.0mm : 図 7.37、他の図よりもサイズを縮小して示している) を開発した。対物レンズとは別に本体部に補助レンズ (図上部のレンズ) を挿入する方式であり、対物レンズ自身も同焦点距離が 60mm と大きくなったため設計可能となったが、合成焦点距離 400mm、実視野 ϕ 50mm は世界に類を見ない仕様である。

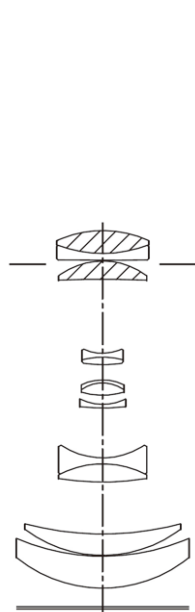


図 7.36 オリンパス SPlanFl 1 × ²¹⁾



図 7.37 ニコン CFI Macro Plan 0.5 × ²²⁾

(2) 超高倍率対物レンズ

顕微鏡像の解像力は主に対物レンズの NA により決まるため、むやみに倍率を高くしても試料の細部が見えるようになるわけではない。一般に総合倍率 M の有効範囲は、500NA から 1000NA の間とされ、これを超える総合倍率は、無効倍率と呼ばれている (2.5 参照)。このため対物レンズの最高倍率も 100 倍

かせいぜい 160 倍であったが、工業検査市場を中心にモニタによる観察が広がってくると、より高倍の方が見やすいというニーズが出てきた。これに対応したのが、CF MPlanApo 200 × (NA0.95, WD 0.2mm) や UIS シリーズの LMPlanApo250 × (NA 0.90, WD 0.80mm : 図 7.38) である。

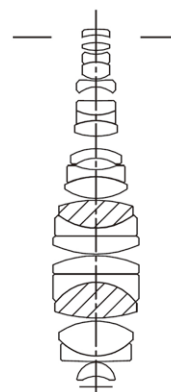


図 7.38 オリンパス LMPlanApo250 × ²¹⁾

(3) 超長作動距離対物レンズ

顕微鏡の対物レンズの作動距離 (WD) は、一般に倍率が高くなるとほど短くなる傾向にあるが、使う上では試料の視認性や、対物レンズと試料との衝突の不安などの観点から、長いほど便利で安心である。このため特に金属・工業用顕微鏡や培養顕微鏡では、WD の長い対物レンズがラインアップされており、L、LWD などの名称が付いている。図 7.39 に超長 WD 対物レンズの構成図の例を示す。NA は 0.45 で 50 × としては小さいが、WD は 15mm と焦点距離の約 4.2 倍もある。先端レンズはどうしても光線高が大きくなり、色収差も増えやすいため、ED ガラスが多用される。また後群には強い凹パワーのレンズが配置されている。この例は同焦点距離が 45mm のものであるが、前述の同焦点距離 60mm や 95mm の対物レンズでは長 WD 対物レンズの設計は有利になる。



図 7.39 オリンパス SLMPlan 50 × ²¹⁾

(4) 高開口数 (NA) 対物レンズ

NA を大きくするためのイメージンオイルの屈折率 n_e は 1.518 であるから、対物レンズの開口 NA の最大値は長い間 1.30~1.40 であり、光学設計上もこのあたりが限界と考えられていた。最近ではオリンパスの UIS2 シリーズ (2004 年) に PlanApo N60 \times oil (NA1.42) やニコンの CFI Planapo λ シリーズ (2011 年) に 100 \times oilH (NA1.45) が開発されている。さらに全反射蛍光観察法 (TIRF : 5.7.3 参照) で対物レンズ自身を通して高 NA 照明を行うニーズが高まると、メーカー各社とも像面平坦性を犠牲にして、高倍率対物レンズの高 NA 化に挑戦した。ニコンでは CFI Apo TIRF 60 \times oil と 100 \times oil (共に NA 1.49) を、オリンパスも Apo N 60 \times oil TIRF、100 \times oil TIRF (共に NA 1.49) 及び 150 \times oil TIRF (NA 1.45) と、専用オイル ($n_d=1.780$, $V_d=19.1$) 及び専用カバーガラスを使う Apo 100 \times oil HR (NA 1.65、図 7.40) や Apo N 100 \times Hoil TIRF (NA 1.70) を発売した。

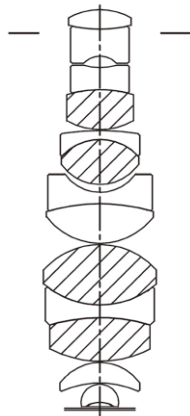


図 7.40 オリンパス Apo 100 \times oil HR ²¹⁾

(5) 水浸対物レンズ

浸液が水である対物レンズは古くからあったが (7.1.1 参照)、最近では培養液中の細胞を観察するためその重要性は再び高まってきている。電気生理学的手法の一つであるパッチクランプ (Patch clamp) 法は、開発者のネーアー (E. Neher) とザックマン (B. Sakmann) が 1991 年のノーベル医学・生理学賞を受賞し、神経科学・電気生理学領域で一躍脚光を浴びた。また遺伝子解析や一分子イメージングなど新たな技法においても、培養細胞の観察・操作のため水浸対物レンズが重要な役割を果たしている。顕微鏡は専用のステージ固定正立型顕微鏡が使われる。通常の対物レンズと異なり、水浸部の絶縁性が配慮され、マニピュレーション操作がしやすいよう、WD を長くし

先端形状に角度をつけている。また高倍対物レンズでは、水中細胞の深さに対応して収差を補正する補正環機構を有しているものもある。さらに対物レンズを固定するため、比較的低倍で大きな NA をもち倍率変換は別の変倍装置で行う。図 7.41 はニコンの CFI75 LWD 16 \times W (NA0.80、WD 3.0mm) の外観で、同焦点距離は 75mm と特殊である。

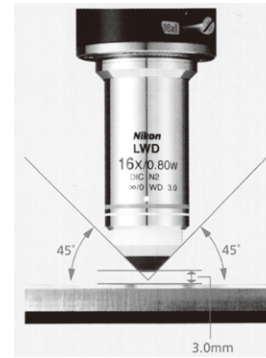


図 7.41 ニコン CFI75 LWD 16 \times W²²⁾

(6) 赤外対物レンズ

半導体の Si や GaAs、セラミックの一部は、波長が $1\mu\text{m}$ を超える近赤外域で透明になる。このため赤外線顕微鏡を使えば、チップ裏面 (シリコン基板の裏面研磨が必要) から IC パターンの非破壊観察、MEMS の内部観察、セラミック焼結前検査などさまざまな用途で TV モニタ観察できる。赤外用対物レンズは、試料の肉眼観察も考慮し、可視から近赤外域 (波長 $2\mu\text{m}$ 前後) で諸収差の補正と広帯域分光透過率を確保した設計になっている。赤外対物レンズは、単体でも YAG レーザ ($1,064\text{nm}$) による半導体回路や液晶基板等のレーザーリペアやフェムト秒レーザーなどの応用にも使用される。製品としては、オリンパスの ULWDMIRPlan シリーズ (IC シリーズ) や LMPlan-IR シリーズ (UIS シリーズ)、ニコンの LR PlanApo-NIR シリーズ、ミットヨの MPlanApo NIR シリーズなどがある。

(7) 深紫外対物レンズ

紫外域における試料の観察や、より高解像を得る目的で紫外用対物レンズの開発も各社で取り組まれた。通常の光学ガラスは、紫外分光透過率の高いフッ化クラウン系でも 300nm 前後までであるので、それ以下の深紫外波長域では、蛍石や石英などの材料に限定される。ツァイス社は、1959 年に約 240nm の近紫外域から近赤外域まで分光透過率が高いウルトラフルアル (ULTRAFUAR) シリーズを発売している。生

物用で浸液はグリセリン ($n_e=1.450$, $\nu_e=58$) を使い、広波長域における分光測光や蛍光観察などに適用された。一方、工業用で高解像を目的とした深紫外用対物レンズとしては、ニコンが1998年にウェハ外観検査システム DUV レーザ顕微鏡 LU2000-DUV に搭載した専用の $100\times$ (NA 0.9, WD 0.42mm, λ 266nm) があり、 $0.1\mu\text{m}$ L/S の超高分解能で非接触・非破壊のリアルタイム観察・評価が可能としている。またオリンパスも2001年に DUV 用の MApo100 \times -248NC (NA 0.90, WD 0.2mm, λ 248nm : 図 7.42) を開発し、DUV 共焦点ユニットと共に発売している。いずれも人工蛍石と合成石英の単レンズ群から成り、レンズ接合剤は使われておらず、加工・組立には格段に高い精度が要求される極めて製造難度の高い光学系である。

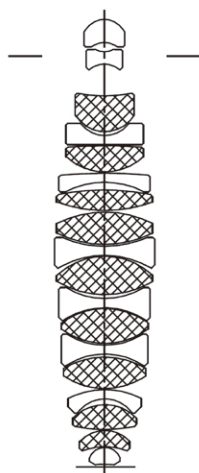


図 7.42 オリンパス MApo100 \times -248NC²¹⁾

(8) その他

上記のほか、目的ごとにさまざまな顕微鏡対物レンズが存在する。二光束干渉計や多光束干渉計を組み込んだ干渉用対物レンズ、反射面のみで構成され色収差の全くない反射対物レンズ、ディストーションを十分に補正した測定顕微鏡用対物レンズ等々である。それぞれの歴史と技術的發展があるが、紙面と時間的都合により報告は省略する。

7.5 わが国の接眼レンズの開発

接眼レンズ (2.6.3 参照) は、顕微鏡や望遠鏡・双眼鏡の対物レンズによる像を拡大観察するためのレンズである。レンズ構成が1群の場合、視野を大きくするとレンズ径も大きくなるため、2群で構成し前群で対物レンズからの光線を集め、後群のレンズで拡大するタイプが古くから用いられている。このとき、前

群を視野レンズ (field lens)、後群を眼レンズ (eye lens) と呼ぶ。それぞれが単レンズで、対物レンズの像位置が両レンズの間にあるタイプは、1703年にオランダのホイヘンス (C. Huygens) が発明したハイゲン式接眼レンズ (図 7.43) で、視野レンズより対物側にあるタイプは、1783年にイギリスのラムスデン (J. Ramsden) が発明したラムスデン式接眼レンズ (図 7.44) である。後者は、対物レンズの像位置に十字線や目盛り等のついた焦点板を装着しやすいというメリットがある。1849年にドイツのケルナー (C. Kellner : 3.4 参照) は、ラムスデン式の眼レンズを色消し接合レンズとして色収差を改良したケルナー式接眼レンズ (図 7.45) を発明した。これらの接眼レンズは、観察視野の広さを表す視野数が比較的小さく、またアイポイント (観察者の瞳位置 : 各図中の●EP) の高さも低いため、その後の顕微鏡の高級化にともない使われることは少なくなった。

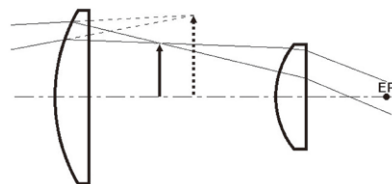


図 7.43 ハイゲン式接眼レンズ

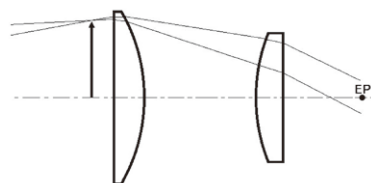


図 7.44 ラムスデン式接眼レンズ

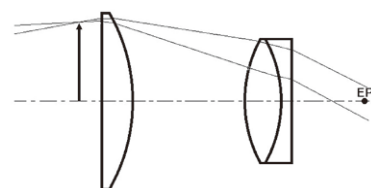


図 7.45 ケルナー式接眼レンズ

1860年にオーストリアのプレスル (S. Plöbl) は、ケルナー式を改良した2群4枚のプレスル式接眼レンズ (図 7.46) を発明した。また1880年にアッペは3枚接合レンズと単レンズからなるアッペ式接眼レンズ (図 7.47) を発明した。これらは諸収差が比較的良好に補正され、オルソスコピック (整像の意味) と呼ばれている。視野数も大きくでき高級対物レンズとの組み合わせも可能で、かつアイポイントも高く眼鏡使用

者の観察も容易なため、現在も広く使われている。さらにツァイス社のエルフレ (H. Erfle) は 1918 年に軍用双眼鏡用の広視界の接眼レンズ (図 7.48) を開発した。プレスル式にさらに 1 群 (接合レンズのタイプもある) を追加したもので、高い性能が得られるため、顕微鏡用としても普及している。

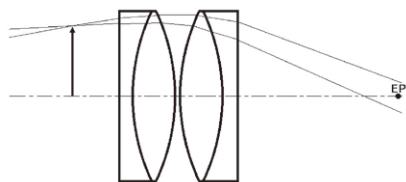


図 7.46 プレスル式接眼レンズ

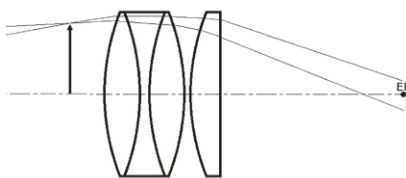


図 7.47 アッペ式接眼レンズ

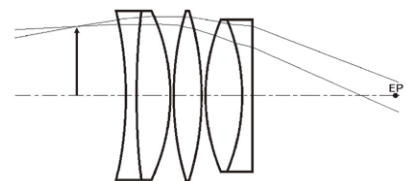


図 7.48 エルフレ式接眼レンズ

戦前から戦後にかけてのわが国の顕微鏡接眼レンズは、上記のハイゲン式、ラムステン式、ケルナー式が多かったが、プラン対物レンズの開発が進むと、視野数を大きくできる高級タイプが発売されるようになった。標準的な 10 倍接眼レンズでは、視野数 18 の広視野でハイポイントのオリンパス WF10 × (アッペ式) や日本光学 HKW10 × (プレスル式) が 1960 年代に登場した。通常の観察鏡筒では、接眼レンズを装着するスリーブの内径は $\phi 23.2$ が標準であったが、オリンパスでは内径が $\phi 30$ の超広視野鏡筒を新たに開発し、超広視野接眼レンズ SW7 × (視野数 29) と SW10 × (視野数 26.5: 図 7.49) を EH と FH 鏡基から組み合わせるようになった。1970 年代後半になると、新しい光学系の採用にともない接眼レンズの性能向上も図られ、ニコンは視野数 26.5 の超広視野 UW10 × を含む CF 接眼レンズを発売し、オリンパスでは新光学系 LB 用として視野数を 20 にした WHK10 × (エルフレ式) を開発した。また UIS 光学

系完成時には視野数 22 の WH10 × (図 7.50) と視野数 26.5 の SWH10 × (図 7.51) を開発している。いずれも接眼レンズ単独で諸収差を補正するため、レンズ構成がより複雑になっている。

このように接眼レンズも改良が続けられているが、

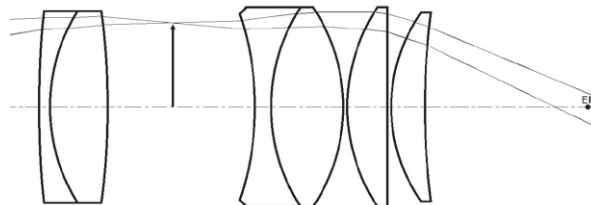


図 7.49 SW 10 × ²¹⁾

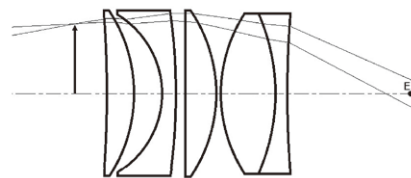


図 7.50 WH 10 × ²¹⁾

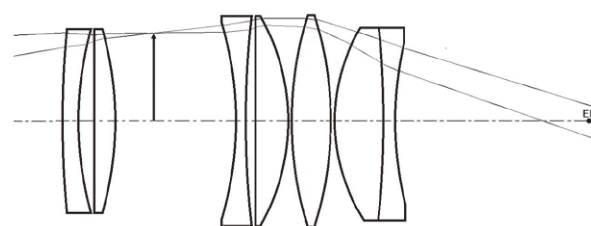


図 7.51 SWH 10 × ²¹⁾

対物レンズが新技術顕微鏡に対応して進化を遂げつつあるのに対して、これから先にどのような発展があるのだろうか。顕微鏡像の肉眼観察はなくなるにしても、デジタル表示技術との融合など、新しい発想による接眼レンズの進化に期待したい。

引用

- 1) 鶴田匡夫：光学技術史，最新光学技術ハンドブック，朝倉書店，2002，pp.1-81
- 2) Bögehold H.：Das Optische System des Mikroskops, Veb Verlag Technik Berlin, 1958, pp.77-100
- 3) Bögehold H.：Microscope objective, USP No. 2,206,155, 1938
- 4) 池上俊三 座談会「顕微鏡の今昔」-日本の顕微鏡製造会社の光学設計技術 (1910~1936), 科学史研究, 第 270 号, 2014, pp.227-230

- 5) 千代田顕微鏡の歴史, サクラ精機株式会社, 1994, pp.66-70
- 6) 50年の歩み, オリパス光学工業株式会社, 1969, pp.67-72
- 7) 光とミクロと共に-ニコン75年史, 1993, pp.19-20, 40-44, p.117, p.181
- 8) 鶴田匡夫: 光学設計事始め, 第5・光の鉛筆, 新技術コミュニケーションズ, 1997, pp.95-130
- 9) Conrady A. E.: Applied Optics and Optical Design, Part 1, Oxford Univ. Press, 1929
Part 2, Dover N.Y., 1958
- 10) Berek M.: Grundlagen der praktischen Optik; Analyse und Synthese optischer Systems, Berlin, 1930
邦訳 三宅和夫: レンズ設計の原理, 講談社, 1970
- 11) 芦田静馬: レンズの設計と測定, 河出書房, 1940
- 12) Suzuki T.: Proc. Jpn. Acad. 27 (1951) No.4, p.179, p.184
- 13) 鈴木達郎: 光学レンズ自動設計の発展, 応用物理, Vol 51 No.5, 1982, pp.508-512
- 14) 黒川高明, ガラスの技術史, アグネ技術センター, 2005, pp.151-196
- 15) ショット日本株式会社提供
- 16) 株式会社オハラ提供
- 17) 苦節十三年!! オリパス顕微鏡・幻灯器・映写器の経歴, 高千穂製作所, 1932, pp.5-12
- 18) 有限会社浜野顕微鏡提供
- 19) オリパス株式会社技術歴史館瑞古洞提供
- 20) Claussen H. C.: Microscope Objectives with Plano-Correction, Applied Optics, Vol.3, No.9 1964, pp.993-1003
- 21) オリパス株式会社提供
- 22) 株式会社ニコン提供
- 23) 牛田一雄, 新しい顕微鏡光学系, 光学, Vol.10 No.5, 1981.10, pp.326-333
- 24) Shimizu Y. and Takenaka H.: Microscope Objective Design, Advances in Optical and Electron Microscopy Vol.14, Academic Press, 1994, pp.249-334
- 25) 松原正樹, 最近の顕微鏡対物レンズについて, 光技術コンタクト, Vol.16 No.3 1978, pp.24-32
- 26) 松原正樹, 顕微鏡の知識-無限遠補正顕微鏡光学系, O plus E, 1981年12月, pp.83-87
- 27) 中村泰三, 有澤勝義, 超長作動距離を持つ顕微鏡光学系とその展開, 光技術コンタクト, Vol.29 No.3, 1991 pp.360-368
- 28) 有澤勝義, 中村泰三, 新しい設計による顕微鏡の光学系, O plus E, 1993年10月, pp.94-97
- 29) 株式会社ミットヨ提供
- 30) Muchel F.: "ICS"-A New Principle in Optics, ZEISS Information, Oberkochen, 30 20, 1989/1990
- 31) Euteneuer F., Müller-Rentz A und Schade K. H.: DELTA - das neue Mikroskop-Optiksystem, Mitteilungen für Wissenschaft und Technik Bd. X. Nr.4, 1992, S.114-122
- 32) 長野主税: 顕微鏡新光学系 - UIS, OMR (Olympus Microscope Review) No.22, 1993, pp.34-38
- 33) 長野主税: 最近の生物顕微鏡光学系 - 無限遠補正光学系とシステム化 -, 光技術コンタクト, Vol.31, No.12, 1993, pp.705-712
- 34) 吉田三環子: 第38回光学シンポジウム予稿集, Vol.38, 2013.6, pp.85-88

れた。これはテレビの機械式画像走査法であるニポウ (Nipkow) ディスクの原理を拡張したもので、これを高速回転することにより肉眼や CCD で共焦点画像を観察できる。レーザを走査顕微鏡の光源に初めて用いたのは、1969年、ダビドビッツ (P. Davidovits) とエガー (A. M. D. Egger) とされる。LSM と共焦点光学系の理論研究は、1977~80年頃にイギリスのシェパード (C. J. R. Sheppard) とウィルソン (T. Wilson) らを中心に進められた。共焦点レーザ走査型顕微鏡 (CLSM: Confocal LSM) のこうした特長は、医学・生物分野では蛍光顕微鏡に適用することで最もよく活かされるため、LSM の用途は蛍光顕微鏡を中心に発展し、さまざまな蛍光色素と各種レーザの組み合わせが開発されてきた。また工業用の LSM では、基本構成は同じであるが XY スキャナに MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) 技術に応用した一体型構造によりコンパクト化を実現したものもあり、高解像の三次元計測装置等の用途として利用が広がっている。

LSM の製品化は、ツァイス社が 1982 年に He-Ne レーザをガルバノミラーで走査する方式の LSM を発表し、バイオラッド (Bio-Rad) 社は、1985 年にケンブリッジ大と共同開発した MRC-500 の市販を開始した。また日本自動制御 (株) (現レーザーテック (株)) も同年にカラーの LSM を発表、1986 年より ILM シリーズ (工業用) として発売している。オリンパスでは、1990 年に生物用の LSM-GB (正立型) と LSM-GI (倒立型) を発売した。このときに搭載された画像メモリは 640×480 画素であった。1992 年には改良型の LSM-GB200 (図 8.3) を発売した。ニコンも 1993 年に最初の製品となるレーザ走査型顕微鏡 RCM8000 (図 8.4) を発売した。また横河電機は、1996 年にマルチピンホールディスクを高速回転する方式の共焦点レーザ顕微鏡スキャナユニット CSU シリーズを発売し、バイオテクノロジー分野に参入した。オリンパスは、同年に新しい LSM である FLUOVIEW (FV) を発売し、以降 1999 年に FV300/500、2004 年に FV1000 (図 8.5)、2008 年にワンボックス型の FV10i (図 8.6)、2016 年に FV3000、と改良を加えながら機能・性能向上を図り現在に至っている。またニコンも 2002 年にコンフォーカルシステム DEGITAL ECLIPSE C1 を発売し、2005 年に分光機能を追加したリアルスペクトルイメージング蛍光レーザ顕微鏡システム C1si、2008 年には機能をアップした共焦点レーザ顕微鏡システム A1/AIR、2011 年には同 C2+/C2si+ (図 8.7) を発売して現在に至っている。また主な国産の工業用 LSM としては、オリンパスの OLS

(LEXT) シリーズ (図 8.8)、キーエンスの VK-X シリーズ、レーザーテックの OPTELICS などがある。

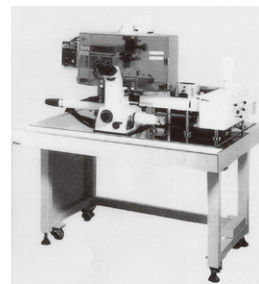
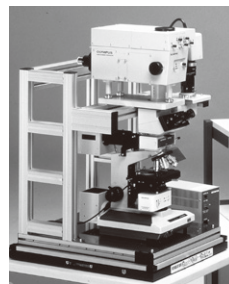


図 8.3 オリンパス LSM-GB200³⁾ 図 8.4 ニコン RCM8000⁴⁾



図 8.5 オリンパス FV1000³⁾



図 8.6 オリンパス FV10i³⁾



図 8.7 ニコン C2+⁴⁾

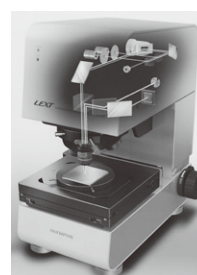


図 8.8 オリンパス LEXT4000³⁾

8.2 多光子励起レーザー走査型顕微鏡 (MPE: Multi Photon Excitation LSM)^{5) 6) 7)}

蛍光分子に励起光を照射するとき、二つの励起光子が同時に吸収される(二光子励起)と、2倍のエネルギーとなり1/2波長の励起と同様の現象が生じる。二光子以上の場合は多光子励起(MPE)と呼ぶ。この過程は自然界では極めてまれにしか起こらないが、光子密度を極端に高めることによりその確率を高めることが可能となる。二光子励起顕微鏡では、高い光子密度と試料のダメージを避けるために、光源としてフェムト(10⁻¹⁵)秒超短パルスレーザーが用いられる。レーザー光が対物レンズの焦点面に集光されると、その部分のみで二光子励起過程が引き起こされるため、自動的に共焦点効果が得られる。画像は通常のLSMと同様にXYスキャナで走査し構築されるが、共焦点ピンホールが不要であるため蛍光のロスはない(図8.9)。さらに対物レンズの近くで蛍光検出を行えば、散乱した蛍光も含めた多くの蛍光を検出できる。また励起波長は2倍で良いため、可視光・紫外光レーザーより生体組織の透過性に優れる近赤外光レーザー(チタンサファイアレーザー)が用いられ、組織表面から数百μmから数mmの深部の顕微鏡像を少ないダメージで得ることができる。このため生きた動物の脳内で起こっている神経細胞活動や血流などの観察も可能となってきている。二光子励起顕微鏡は、多くの場合レーザー走査型共焦点顕微鏡として構成されるが、一光子に比べ波長域が広がるため、対物レンズはその波長域で透過率が高く色収差が良好に補正された高性能のものが必要で、また試料の深部観察を実現するためには長い作動距離も必要で、浸液は水よりもさらに生細胞に近い屈折率をもつシリコンオイルや生体を透明化する特殊溶液が用いられる。図8.10に多光子励起専用対物レンズの例(オリンパスXLPlan N 25×SVMP: NA 1.0, WD 4 mm, シリコン浸)を示す。国内における多光子励起LSMは、2006年にオリンパスからFV1000-

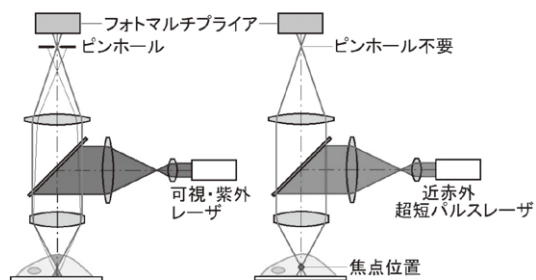


図8.9 LSMと多光子励起LSMの構成比較¹⁾

MPE(図8.11)が、ニコンからA1R-MP(図8.12)が発売されている。

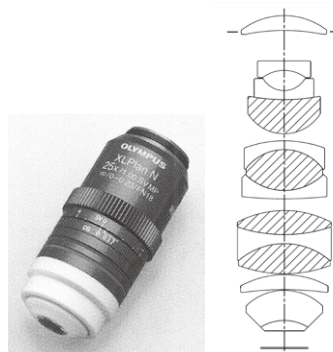


図8.10 オリンパスMPE専用対物レンズと構成図³⁾

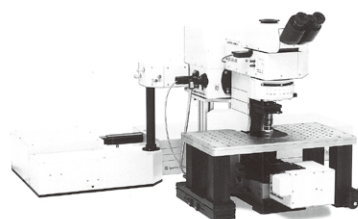


図8.11 オリンパスFV1000-MPE³⁾

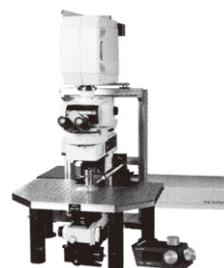


図8.12 ニコンA1R-MP⁴⁾

8.3 超解像顕微鏡 (SRM: Super Resolution Microscope)^{8) 9) 10) 11)}

光学顕微鏡における超解像とは、アッペが顕微鏡結像理論で導いた2.7式(2.5参照)で与えられる顕微鏡の解像限界(およそ200nm)を超えた分解能を発揮する光学的手法を指す。光よりもはるかに波長の短い電子線を使う電子顕微鏡では、光学顕微鏡より高い分解能を有するが、生細胞のイメージングができない、多重染色ができないなどバイオ研究における問題点も多い。このため生体に優しい光を使って光学限界を超える技術、すなわち超解像顕微鏡が求められてきた。これを解決するために新たに開発された超解像手法がPALM、STED、SIMなどである。いずれも蛍光イメージングを対象としている。開発者の中でベツィグ(E. Betzig:アメリカ)、ヘル(S. W. Hell:ドイツ)、モーナー

(W. E. Moerner : アメリカ) は、2014 年のノーベル化学賞を受賞した。以下に各方式の要点を説明する。

(1) Localization 法

PALM (PhotoActivated Localization Microscopy) は、試料中の特定の蛍光プローブに適当な強度の励起で一部分子を個別に発光させてその重心を求め、それが退色したあとに再度励起して別の分子を発光させ重心を求める。この手法を繰り返すと個別の発光点が 10nm 程度の精度で測定でき、試料中の全ての分子の位置を記録すればその分布から蛍光画像を構築できる。個別分子の蛍光は非常に微弱であるが、全反射蛍光顕微鏡 (5.7 参照) により背景光を劇的に抑えイメージングが可能となった。なお、別の超解像顕微鏡である STORM (STochastic Optical Reconstruction Microscopy) も光学系や解析手法は同じである。

(2) STED (Stimulated Emission Depletion)

励起用のレーザー焦点に、ドーナツ状の強度分布をもつ誘導放出用のレーザー光 (STED 光) を重ねると、励起される蛍光分子のうち中心部分は自然放出により発光し、周辺部分は誘導放出により発光する。誘導放出光は STED 光と同じ波長であり、その強度を大きくすると自然放出による蛍光発光の領域が狭くなる。誘導放出光の波長をカットすることにより、蛍光発光を数十 nm の高い分解能で得ることができる。

(3) SIM (Structured Illumination Microscopy)

試料を 2 光束または 3 光束に分けたレーザーで作った干渉縞パターンで励起照明する (構造化照明法)。この縞の方向と位相を変化させながら、蛍光像を取得後、得られた画像を結合・処理することにより高い解像度の像を再構築する。これにより通常の顕微鏡よりも 2 倍の分解能が得られる。従来の蛍光プローブが使い、比較的高速に高解像観察ができるなどのメリットがある。

こうした超解像顕微鏡の製品化は 2007 年にライカ (STED) が先行し、ツァイス (SIM、PALM) が 2009 年末に発表した。またニコンも同じ 2009 年末に N-SIM (図 8.13) 及び N-STORM (図 8.14) をそれぞれカリフォルニア大、ハーバード大とのライセンス契約により発表した。オリンパスも 2015 年に理化学研究所と共同開発したスピニングディスク超解像顕微鏡法 (SDSRM : Spinning Disk Super-Resolution Microscopy) のソフトウェアモジュール FV-OSR を発売し、共焦点 LSM の FV シリーズに搭載した。

超解像顕微鏡に関する技術開発は現在進行形であり、生きた試料をより高い分解能で観察できるようになることが予期される。こうした新しい光学顕微鏡が、生命科学等において近い将来に輝かしい発見につながることを期待してやまない。

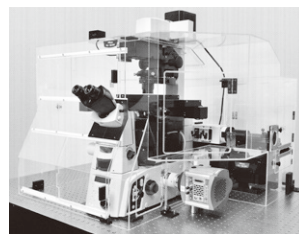


図 8.13 ニコン N-SIM⁴⁾

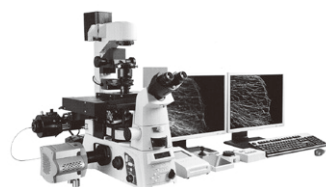


図 8.14 ニコン N-STORM⁴⁾

引用

- 1) 長野主税 : 光学を中心とした顕微鏡の基礎 日本顕微鏡工業会ホームページ
<http://www.microscope.jp/knowledge/index.html> (2016.12.20), 日本顕微鏡工業会提供
- 2) 河田聡編 : 新しい光学顕微鏡 第一巻 レーザ顕微鏡の理論と実際, 学際企画, 1995
- 3) オリンパス株式会社提供
- 4) 株式会社ニコン提供
- 5) 宮脇敦史 : 蛍光イメージング革命, 細胞工学別冊, 学研メディカル秀潤社, 2010, pp.227-234
- 6) 大久保洋平, 飯野正光 : 二光子励起顕微鏡, 実験医学別冊 染色・バイオイメージング実験ハンドブック, 羊土社, 2006, p.262-267
- 7) 野島博編 : 顕微鏡の使い方ノート, 改訂第 3 版, 羊土社, 2011.4, pp.136-226
- 8) 藤田克昌 : 超解像顕微鏡の進展, 生物物理, Vol.50 No.4, 2010, pp.174-179
- 9) 古田彩 : 細胞内の生命現象を見る超高解像度の蛍光顕微鏡の開発, 日経サイエンス, 2014.12
- 10) 岡田康志 : ライブイメージングのための超解像顕微鏡, 光技術コンタクト, Vol.51, No.4, 2013, pp.4-12
- 11) 永井健治 : 回折限界を超えた超解像蛍光顕微鏡, 化学, Vol.69 No.12, 2014, pp.21-26

9 | まとめと考察

顕微鏡は発明されてから420年余りを経ており、その発展の歴史は、ミクロの世界を究明したいという先人たちの英知、情熱、執念の歴史でもある。またその歴史の中で、医学をはじめとする科学や産業など様々な分野の発展に重要な役割を果たしてきた。附属資料3の光学顕微鏡発展系統図からもわかるように、世界の顕微鏡の歴史は、以下のように時代区分ができる。

- 1) 黎明の時代：誕生から19世前半までの長い間、複式顕微鏡による科学的な成果は、R.フックの「ミクログラフィア」の出版(1665年)や、レーヴェンフックの単式顕微鏡による微生物の発見(1673年)などであり、倍率・解像力とも単式顕微鏡の方が優れていた。
- 2) 性能向上の時代：19世紀半ばになると、色消しレンズの組み合わせによる高倍率対物レンズが作られるようになって、複式顕微鏡が性能・操作性で単式顕微鏡を圧倒するようになった。また対物レンズの理論・設計の研究が始まった。偏光顕微鏡や反射型顕微鏡が登場したのもこのころである。
- 3) 理論・技術確立の時代：19世紀後期になると、ドイツのアッペは顕微鏡結像理論や対物レンズの光線追跡設計法を確立し、アポクロマートや均質油浸法を完成させ、その性能は飛躍的に向上した。この時期に伝染病の病原体が顕微鏡により次々と発見され、ツァイスやライツ(現ライカ)などドイツ製顕微鏡が世界のリーダーシップを握るに至った。さらに20世紀初頭にかけて、双眼実体顕微鏡、限外顕微鏡(暗視野顕微鏡)、蛍光顕微鏡など現在につながる観察法の顕微鏡がドイツで相次いで誕生した。
- 4) 極限追及の時代：20世紀になり二度の大戦を経て、顕微鏡開発の環境も、電算機によるレンズ設計、新種ガラスの開発、エレクトロニクス技術の導入など大きく変化した。こうした中、顕微鏡作りをゼロからスタートした日本が、徐々にその品質の向上を遂げてきた。1970年代後半以降の数度の新光学系開発にともない、光学顕微鏡の性能はほぼ極限にまで到達し、ドイツと世界トップを競い合うまでに至った。
- 5) 新しい光学顕微鏡の時代：1980年代後半に共焦点レーザー走査型顕微鏡が登場し、従来限界と考えられていた光学顕微鏡がバイオイメージングなどの最先端研究に不可欠なツールとして注目されている。さらに多光子励起レーザー走査型顕微鏡、超解像顕微鏡

へと進化しており、さらなる発展が期待されている。

本報告書は、上記の光学顕微鏡の歴史の中で、わが国における顕微鏡技術、特に光学技術を中心に記述している。明治末期の光学産業そのものが黎明期にある中で、先駆者たちはドイツ製顕微鏡を分解・計測・加工し懸命に複製を試みた。とりわけ対物レンズはガラス材料も不明で高精度の加工・組立を必要とするため、その性能を再現することは至難の業であった。それを熱意と職人魂で克服して1914(大正3)年に「エム・カテラ」顕微鏡が発売され、以降のわが国顕微鏡工業の礎となった。この流れをくみ1919年に創立した高千穂製作所(現オリンパス)が、1934年に最高級対物レンズのアポクロマートを完成させたことは、わが国の光学技術の成長を示す画期的な成果であった。また1917年に設立の日本光学工業(現ニコン)は、わが国最高峰の光学技術を有し、各種光学機器の開発・製造を進めていた。このようにわが国では、戦前においてすでに光学産業の基盤技術が世界水準にまで達しつつあり、終戦後の各製造技術の平和産業転換において光学機器産業が大きく花開くことになる。戦後の顕微鏡産業の復興は、戦前の機種復活から始まると共に、産官学あげての技術研究や標準化などの取り組みからスタートした。大戦中にドイツで初めて試作された位相差顕微鏡が、1949年に千代田光学(旧エムカテラ)とオリンパスによりそれぞれ独自に完成されたのも、戦後の劣悪な開発環境の中での特筆すべき成果であった。こうして国産顕微鏡は、千代田光学、オリンパス、ニコンをはじめとする各メーカーで、開発・製造技術力を地道にそして着実に高度化させていき、品質の向上や、より高級な新製品の開発を進めていった。その結果、年々伸長する国内需要を満たすと共に、欧米をはじめとする海外への輸出も増加させて、価格やサービス面も含めた世界的評価を高めていった。1950年代後半になると、ニコンのS型やオリンパスのE鏡基など、各種ユニットをそろえたシステム顕微鏡が発売され、また60年代にかけて千代田のポリフォト、オリンパスのフォトマックスやバノックス、ニコンのアポフォトといった最高級万能写真顕微鏡も開発され、微分干渉、落射蛍光、変調コントラストなどの新しい観察法も取り入れていくことにより、世界リーダーであるドイツ製顕微鏡を追う体制を整えていった。

わが国の光学顕微鏡が、その品質面で大きく飛躍したのは1970年代後半からである。その基幹となったのは、対物レンズをはじめとする光学系の新開発による顕微鏡システム全体のレベル向上である。1976年にニコンより新光学系CFシリーズと新顕微鏡Vシリーズ、1978年にX・Yシリーズが発売されたのを皮切りに、オリンパスでも1978年に新光学系LBシリーズ、1980年にBH2シリーズ、1981年に工業用新光学系ICシリーズ、1983年にニューバノックスAH2を発売した。ニコンは1985年にさらにスペックアップした新光学系NCFシリーズを追加している。さらにドイツのツァイスが1986年に無限遠補正の新光学系ICSと新顕微鏡アキシオシリーズを、またライツ（ライカ）が1992年にデルタ光学系と新顕微鏡DMシリーズを発表すると、オリンパスは1993～4年に無限遠補正の新光学系UISとBX、AX、IXを、ニコンも1996年に新光学系CFI₆₀とエクリプスシリーズを発売し、これら日独4社が名実共に世界の光学顕微鏡のトップの地位を競い合っている。

光学顕微鏡は、その開発の歴史の中であらゆる光学理論と技術力が結集され、光による限界分解能に極限まで迫るに至った。この認識により一部の研究者からは、電子顕微鏡やプローブ顕微鏡などと比べてさらなる発展の余地はないと思われてきた。しかし、位相差・微分干渉などの観察法により生きた細胞を直接観察でき、さらに新たな蛍光色素・蛍光タンパクの登場により蛍光観察法が免疫・DNA・脳神経・分子生物学の主役となると、光学顕微鏡は再び見直されるようになった。それに拍車をかけたのは、1980年代後半から始まったレーザー走査型顕微鏡の登場であった。特に共焦点法による効果は絶大で、蛍光顕微鏡との組み合わせで最先端バイオイメージング研究になくはない存在となった。さらに多光子励起レーザー走査型顕微鏡や超解像顕微鏡などへと発展し、今後ますます光学顕微鏡の重要性が高まっていくことが期待される。

このようにわが国は、ドイツと並んで光学顕微鏡の世界のリーダーシップを握るに至った。およそ100年前に当時の外国製顕微鏡を複製することから始まったわが国の光学顕微鏡産業は、なぜここまで発展しえたのであろうか。日本人の精密光学機器に対する強い関心と憧憬、精密加工に関する適性、国策としての重要性認識などもあったであろう。また光学ガラスの国産化や、レンズ設計ソフトの自主開発、戦後の産官学共同による技術開発・標準化などインフラも同時進行で発展してきたことも重要な要素である。さらにドイツという当時としては雲の上の存在に対する目標と挑戦

意識、千代田、オリンパス、ニコンを中心とした国内ライバルメーカーの存在と、それにとまなう開発競争も国産顕微鏡の発展には欠かせないものであった。併せてわが国における医療・バイオを含む科学技術研究や各種産業の先進性が、厳しいユーザー要求となって顕微鏡の研究開発者にフィードバックされ、製品をさらにブラッシュアップする推進力となったことも見逃せない。またわが国の光学顕微鏡の歴史を振り返ると、新しい観察法にしる、無限遠補正光学系の採用にしる、いずれも欧米、特にドイツにおける発明や技術革新に追随したものであった。先行するドイツ製品に対し、機能・性能をアップしたコストパフォーマンスの良い製品を、いかに早く開発・発売するか、というキャッチアップの歴史であったとも言える。しかし、その中で開発者・技術者・製造者が互いに創意工夫を凝らし、良い製品にするために徹底的にこだわってきたことが、わが国の強みであり世界トップレベルに至る原動力であったと考える。そのような営々とした努力の中から、ニコンのCF光学系やオリンパスの全自動万能顕微鏡のように、世界に先駆けた製品・技術を得ることができた。ようやくドイツと横一線に並んだのであり、今後まさに日本オリジナルの重要な技術・製品の出現が期待できる状況となったが、それがなるかならないかは、技術開発にどれだけの投資をするかにかかっている。将来を見据えた経営トップの度量に大きく依存することになる。

顕微鏡は何度も述べたように、ミクロの世界を解明する重要な道具である。そうしたものを自ら製品化し、世の中に貢献するという理想を現実化したいという開発者の願い、古い言葉で言うならば「ロマン」もモチベーションの源泉であったと思える。筆者が入社し顕微鏡光学設計を担当することになったとき、一冊の本「硝子の驚異」に出会った。ツァイスとアッペ、ショットの顕微鏡開発成功物語で、太平洋戦争中の翻訳出版であった。この中で、アッペの物理学者としての才能と顕微鏡の理論・設計の確立に向けた苦闘、若手研究者を率い指導する統率力、ツァイスの死後経営者としてツァイス財団を創設して8時間労働制や有給休暇・年金制度、門閥・思想信条の自由など当時としては画期的な社会保障制度の制定にみる経営力、などに深く感銘を受け、アッペのような開発者を志す、と決意したことを覚えている。当時の上司・先輩たちを含め、そうした先人たちの英知、情熱、執念で発展してきた顕微鏡開発を引き継ぎ、世界トップ性能の製品を開発して科学・産業の進歩に貢献することは、まさに「ロマン」であり、自己実現であった。LB、IC、

UISと三度にわたる新光学系の開発を通して、世界トップであるドイツの光学顕微鏡をめざし、トップを競い合うまでに至ったことは、誠に感慨深いものがあるし、こうした顕微鏡開発の仕事に携わってこられたことに感謝の念を覚える。もちろんこれは筆者に限らず、各社創業の先人たちや上司・先輩・後輩、さらには互いに切磋琢磨してきた国内顕微鏡メーカー関係者たちとも共通する感情であろう。こうした多くの関係者の顕微鏡に対するポジティブな精神のベクトルが合うことによって、わが国をして顕微鏡大国にならしめたのであろう。情緒的ではあるが、筆者の思いである。

2012年と2016年にノーベル医学生理学賞を受賞した、山中伸弥博士のiPS細胞研究と大隅良典博士のオートファジー研究は、共に光学顕微鏡をベースとした成果である。また2014年のノーベル化学賞は、超解像顕微鏡理論を研究したベッチグ(米)、ヘル(独)、モーナー(米)の3博士に授与された。このように光学顕微鏡を利用した、あるいは光学顕微鏡の新しい理論研究・装置開発は世界的に注目されており、これからも限界を超える光学顕微鏡の開発への挑戦は続くであろう。わが国の光学顕微鏡が、引き続き世界のリーダーシップをとり続けていくことを願うと共に、本報告書が、国産顕微鏡の事業に携わる方、研究対象として捉えられている方たちに、少しでも役立つようであれば幸いである。

謝辞

本報告書「光学顕微鏡の技術系統化調査」を作成するにあたり、以下の数多くの方々からご指導、ご教示を頂くと共に、貴重な資料・情報等をご提供いただいた

た。深く感謝申し上げます。

オリンパス株式会社	阿部 勝行氏 山下日出人氏
オリンパス技術歴史館 株式会社ニコン	松井 忠彦氏 中村 温巳氏 水野 次郎氏 米澤 康男氏 竹内 淳氏 大内由美子氏
カールツァイスマイクロコピー株式会社	田中 亨氏
ライカマイクロシステムズ株式会社	新田 浩氏
サクラファインテックジャパン株式会社	西村 裕之氏
大阪大学医学部附属病院 有限会社浜野顕微鏡 株式会社オプトアート・元ユニオン光学株式会社	井上 了氏 浜野 一郎氏
株式会社オハラ	瀬谷 正樹氏 廣瀬 孝二氏 穴戸 裕氏 小野沢雅浩氏
株式会社島津理化 株式会社内田洋行 島津製作所創業記念資料館 日本顕微鏡工業会	梅田 篤史氏 前田 君彦氏 川勝美早子氏 小林 哲夫氏 大房 真由氏
ショット日本株式会社 田中科学機器製作株式会社 株式会社ミットヨ 営業本部広報宣伝課	井口 一行氏 下平 克彦氏

1. 光学顕微鏡関連 JIS 一覧表

2016.12.20 現在

JIS 番号: 制定・改正年	名 称	対応 ISO, 統合・廃止
B 7132: 1949 → 1998	生物顕微鏡	2009 廃止 ⇒ MIS 1001: 2011
B 7132-1: 2009	顕微鏡の鏡筒長関連寸法 - 第 1 部: 機械筒長 160 mm	ISO 9345-1
B 7132-2: 2009	顕微鏡の鏡筒長関連寸法 - 第 2 部: 機械筒長無限遠	ISO 9345-2
B 7133: 1951	乾燥系レンズ用生物顕微鏡	1998 廃止 ⇒ JIS B 7132: 1998
B 7134: 1951	小形生物顕微鏡	1999 廃止 ⇒ MIS 8801: 2008
B 7135: 1957	単対物双眼顕微鏡	1986 廃止 ⇒ JIS B 7132: 1986
B 7136: 1965	中形生物顕微鏡	1999 廃止 ⇒ MIS 9503: 2008
B 7137: 1990	生物顕微鏡用対物マイクロメータ	1999 廃止 ⇒ MIS 9001: 2008
B 7138: 1990	生物顕微鏡用対物方眼マイクロメータ	1999 廃止 ⇒ MIS 9002: 2008
B 7139: 1951 → 1997	双眼実体顕微鏡	2008 廃止 ⇒ JIS B 7139-1~4: 2008 に改正再編
B 7139-1: 2008	双眼実体顕微鏡: 第 1 部 - 一般要求事項	ISO 11884-1 & ISO 11884-2
B 7139-2: 2008	双眼実体顕微鏡: 第 2 部 - 試験	ISO 15227
B 7139-3: 2008	双眼実体顕微鏡: 第 3 部 - 表示	ISO 11883
B 7139-4: 2008	双眼実体顕微鏡: 第 4 部 - 仕様項目	ISO 15362
B 7140: 1951	顕微鏡検査標本	1999 廃止 ⇒ MIS 8602: 2008
B 7141: 2012	顕微鏡 - 対物ねじ	ISO 8038
B 7142: 1951	顕微鏡対物レンズ及びレボルバのねじ部	1994 廃止 ⇒ JIS B 7141: 1994
B 7143: 1951 → 1977	顕微鏡接眼レンズと接眼スリーブとのはめあい部	ISO 10937
B 7144: 1951	顕微鏡 - 透過交換用集光器と集光器スリーブとのはめあい部	1999 廃止 ⇒ MIS 9501: 2008
B 7145: 1951	顕微鏡 - ステージ附属品のはめあい部	1999 廃止 ⇒ MIS 9502: 2016
B 7146: 1951	クレンメルはめあい部	1995 廃止 ⇒ JIS B 7145: 1995
B 7147: 1967	生物顕微鏡用対物レンズ	1999 廃止 ⇒ MIS 9301: 2011
B 7148: 1967	顕微鏡用接眼レンズ	1999 廃止 ⇒ MIS 9201: 2007
B 7149: 1951	顕微鏡用接眼レンズ焦点板	1999 廃止 ⇒ MIS 9505: 2007
B 7150: 1967	測微顕微鏡	1999 廃止
B 7151: 1967	測微接眼レンズ	1999 廃止
B 7152: 1967	生物顕微鏡用対物レンズ及び接眼レンズ - 性能測定方法	1999 廃止 ⇒ MIS 9101: 2016
B 7158-1: 2010	顕微鏡対物レンズの性能及び表示 - 第 1 部: プラン対物レンズの像面平坦性	ISO 19012-1
B 7158-2: 2011	顕微鏡対物レンズの性能及び表示 - 第 2 部: 色収差補正	ISO 19012-2
B 7158-3	顕微鏡対物レンズの性能及び表示 - 第 3 部: 対物レンズの分光透過率	ISO 19012-3、2017 年制定見込
B 7251: 2000	偏光顕微鏡の基準系	ISO 8576
B 7252: 2015	顕微鏡対物レンズ及び接眼レンズの表示方法	ISO 8578
B 7254: 2007	顕微鏡 - 倍率	ISO 8039
B 7255: 2007	顕微鏡 - C マウント	ISO 10935
B 7256: 2007	顕微鏡 - 仕様項目	ISO 12853、2017 年改正見込
K 2400: 2015	顕微鏡用浸液 (追補発行)	ISO 8036
R 3702: 1957 → 1996	顕微鏡用カバーガラス	ISO 8255-1 & ISO 8255-2
R 3703: 1957 → 1996	顕微鏡用スライドガラス	ISO 8037-1 & ISO 8037-2
T 4204:	血球計	2001 廃止
T 10936-1: 2014	手術用顕微鏡 - 第 1 部: 要求事項及び試験方法	ISO 10936-1

2. 光学顕微鏡関連 ISO 規格一覧表

2016.12.20 現在

番号：制定・改正年	名 称	対応 JIS
ISO 8036: 2015	Immersion liquids for light microscopy	K 2400
ISO 8037-1: 1986	Slides – Part 1: Dimensions, optical properties and marking	R 3703
ISO 8037-2: 1997	Slides – Part 2: Quality of material, standards of finish and mode of packaging	
ISO 8038: 2013	Screw threads for objectives and related nosepieces	B 7141
ISO 8039: 2014	Values, tolerances and symbols for magnification	B 7254
ISO 8040: 2001	Dimension of tube slide and tube slot connections	—
ISO 8255-1: 2011	Cover glasses – Part 1: Dimensional tolerances, thickness and optical properties	R 3702
ISO 8255-2: 2013	Cover glasses – Part 2: Quality of material, standards of finish and mode of packaging	
ISO 8576: 1996	Reference system of polarized light microscopy	B 7251
ISO 8578: 2012	Marking of objectives and eyepieces	B 7252
ISO 9344: 2016	Graticules for eyepieces	(B 7149)
ISO 9345-1: 2012	Imaging distances related to mechanical reference planes – Part 1: Tube length 160 mm	B 7132-1
ISO 9345-2: 2014	Imaging distances related to mechanical reference planes – Part 2: Infinity-corrected optical systems	B 7132-2
ISO 10934-1: 2002	Vocabulary for microscopy – Part 1: Light microscopy	—
ISO 10934-2: 2007	Vocabulary for microscopy – Part 2: Advanced techniques in light microscopy	—
ISO 10935: 2009	Interfacing connection type C	B 7255
ISO 10936-1: 2000	Operation microscopes – Part 1: Requirements and test methods	T 10936-1
ISO 10937: 2000	Diameter of interchangeable eyepieces	B 7143
ISO 11882: 1997	Interfacing connections for 35 mm SLR photo camera (T – thread adaptation)	—
ISO 11883: 1997	Marking of stereomicroscopes	B 7139-3
ISO 11884-1:2006	Minimum requirements for stereomicroscopes – Part 1: Stereomicroscopes for general use	B 7139-1
ISO 11884-2:2007	Minimum requirements for stereomicroscopes – Part 2: High performance microscopes	
ISO 12853: 2015	Information provided to the user	B 7256
ISO 15227: 2000	Testing of stereomicroscopes	B 7139-2
ISO 15362: 2014	Stereomicroscopes – Information provided to the user	B 7139-4
ISO 18221: 2016	Microscopes with digital imaging displays – Information provided to the user regarding imaging performance	—
ISO 19012-1: 2013	Designation of microscope objectives – Part 1: Flatness of field/Plan	B 7158-1
ISO 19012-2: 2013	Designation of microscope objectives – Part 2: Chromatic correction	B 7158-2
ISO 19055: 2015	Minimum requirements for binocular tubes	—
ISO 19056-1: 2015	Definition and measurement of illumination properties – Image brightness and uniformity in bright field microscopy	—

3. 日本顕微鏡工業会規格（MIS）一覧表

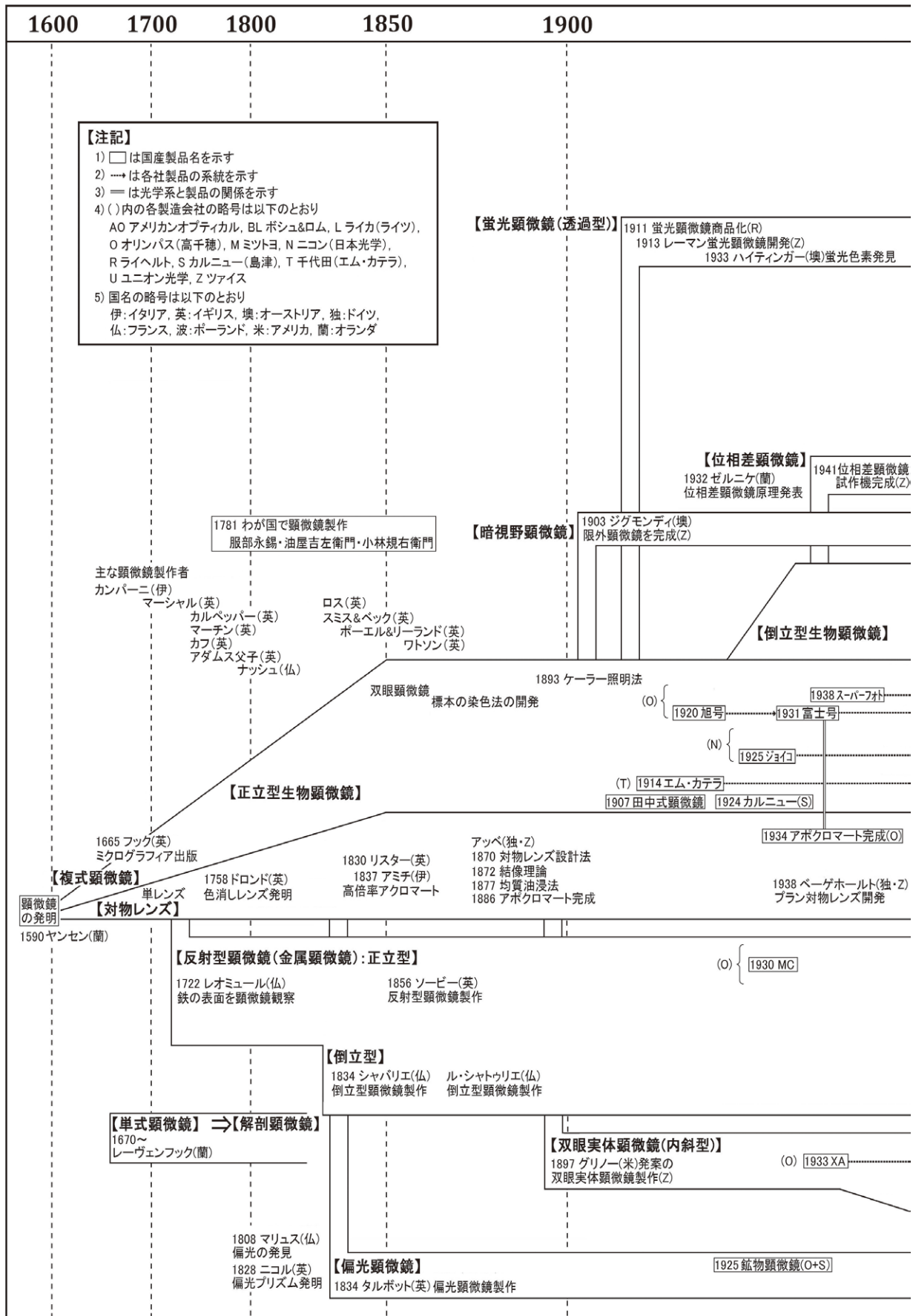
2016.12.20 現在

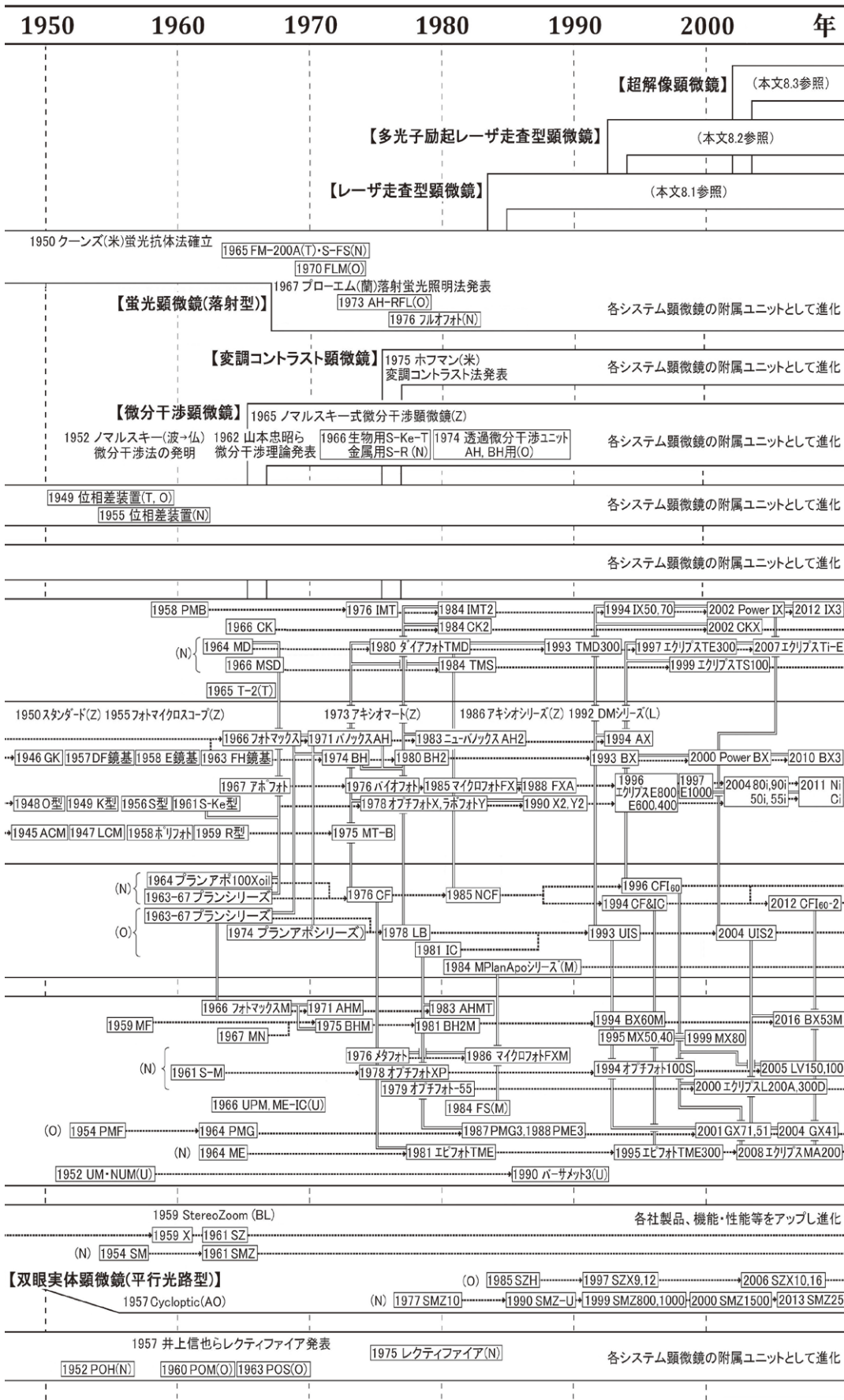
番号: 制定・改正年	名 称	対応 JIS
MIS 7801: 2016	日本顕微鏡工業会規格制定方法	—
MIS 7804: 2007	小形生物顕微鏡総合偏位検査標本	—
MIS 8602: 2008	顕微鏡検査標本	JIS B 7140 (1999.10 廃止)
MIS 8801: 2008	小形生物顕微鏡	JIS B 7134 (1999.03 廃止)
MIS 9001: 2008	生物顕微鏡用対物マイクロメータ	JIS B 7137 (1999.10 廃止)
MIS 9002: 2008	生物顕微鏡用対物方眼マイクロメータ	JIS B 7138 (1999.10 廃止)
MIS 9101: 2016	生物顕微鏡用対物レンズ及び接眼レンズ－性能測定方法	JIS B 7152 (1999.10 廃止)
MIS 9201: 2007	顕微鏡用接眼レンズ	JIS B 7148 (1999.10 廃止)
MIS 9301: 2011	生物顕微鏡用対物レンズ	JIS B 7147 (1999.10 廃止)
MIS 9501: 2008	顕微鏡－透過交換用集光器と集光器スリーブとのはめあい部	JIS B 7144 (1999.10 廃止)
MIS 9502: 2016	顕微鏡－ステージ附属品のはめあい部	JIS B 7145 (1999.10 廃止)
MIS 9503: 2008	中形生物顕微鏡	JIS B 7136 (1999.03 廃止)
MIS 9001: 2008	顕微鏡用接眼レンズ焦点板	JIS B 7149 (1999.10 廃止)
MIS 1001: 2011	生物顕微鏡	JIS B 7132 (2009.10 廃止)

附属資料 2

わが国の光学顕微鏡メーカー各社の創業（日本顕微鏡工業会会員ほか）

西暦（和暦）		備考
1875（明 8）	初代島津源蔵が理化学機器製造を開始（京都市木屋町）	現・(株)島津製作所
1892（明 25）	田中奎次郎、医療器械・化学薬品輸入商・田中商店を創業（東京日本橋）	現・田中科学機器製作(株)
1906（明 39）	杉田藤太郎、杉田商店を設立（日本橋）	現・(株)杉藤
1910（明 43）	内田小太郎、満鉄御用商として翠苔号を創業（大連）	現・(株)内田洋行
1914（大 3）	鈴木保、光学用品輸入商・鈴木保商店が開業（横浜）	現・東海産業(株)
〃	松本福松、エム・カテラ光学器械製作所を設立（日本橋本町）	現・サクラファインテック ジャパン(株)
1917（大 6）	東京計器・岩城硝子・藤井レンズを統合し、日本光学工業が設立	現・(株)ニコン
1919（大 8）	山下長、高千穂製作所を創業（渋谷区幡ヶ谷）	現・オリンパス(株)
1921（大 10）	加藤嘉吉・神藤新吉、カルニュー光学器械製作所を設立（新宿区四谷）	現・島津デバイス製造(株)
1927（昭 2）	鈴木泰一、高千穂製作所より独立し東洋光学工業（エリザ）を設立	2002（平 14）事業廃止
1930（昭 5）	眼鏡卸商・加藤六次郎商店が創業（台東区竹町）	現・カートン光学(株)
1932（昭 7）	服部時計店精工舎の測量機部門を母体とし東京光学機械(株)が設立	現・(株)トプコン
1935（昭 10）	西野邦三郎らが高千穂製作所より分離独立し、八洲光学工業(株)を設立	
〃	今小七、今光学機械製作所を設立（今精機も同年設立、中野区南台）	現・(株)今光学機械製作所
1939（昭 14）	山下長、日眞光学精機(株)を設立（スンプ顕微鏡）	1950（昭 25）事業廃止
1940（昭 15）	石井春吉、協和光学精機製作所を創業（杉並区方南町）	現・協和光学工業(株)
1947（昭 22）	鈴木清太郎、鈴木製作所を設立（中野区弥生町）	現・(株)清和光学製作所
〃	阿武国次、(株)日本顕微鏡製作所を創業（港区南青山）	
1948（昭 23）	比留間輝治、ベスタ光学(株)を創業（中野区南台）	
〃	八洲電機の光学部が独立し、ユニオン光学(株)を設立（初代社長：柳川了）	2010（平 22）会社破産
〃	石井久義ら、レンズ設計製造の(株)三恵舎を創業（世田谷区上馬）	
1950（昭 25）	下山和美、クリヤ精光(株)を設立（渋谷区初台）	
1954（昭 29）	今野伊勢夫、(株)新日本通商を設立（新宿区四谷）	
1955（昭 30）	堀田節夫、中央精機(株)を設立（千代田区神田小川町）	
1956（昭 31）	北川晴亮、(株)朝日光学機製作所を設立（中野区高円寺）	
1959（昭 34）	長野県飯田市の出資によりミナト光学工業(株)が設立	
1960（昭 35）	内山康、東京 ITV 研究所（後に日本自動制御に改称）を創業	現・レーザーテック(株)
1963（昭 38）	四方田和雄、(有)日商精密光学製作所を設立（港区青山）	現・日商精密光学(株)
〃	下平誠、渋谷光学工業製作所を設立（渋谷区初台）	現・(株)渋谷光学
1975（昭 50）	佐藤善祐、明治ラボックス(株)を設立（豊島区東池袋）	現・メイジテクノ(株)
1978（昭 53）	上代道夫、(株)ハイロックスを設立（港区赤坂）	
1985（昭 60）	山本正男、(株)スカラを設立（新宿区若葉町）	
1987（昭 62）	富士山和夫、(株)オプトアートを設立（墨田区江東橋）	
2011（平 23）	吉峰貴司、(株)マイクロネットを設立（埼玉県川口市）	





- 分子生物学
- ゲノム
- 脳神経
- DNA
- 免疫
- 細胞
- 培養
- 形態
- 組織
- 病理
- 細菌
- 工業
- 材料
- 品質
- 解剖
- 鉱物・工業生物

主な観察分野・対象

光学顕微鏡関連年表（国産の生物顕微鏡を中心に）

西暦年（和暦）	顕微鏡に関する年表	関連事項
1590 頃	ヤンセン父子（オランダ）複式顕微鏡を作成	
1665	フック（英）複式顕微鏡による図譜「ミクログラフィア」を公表	1608 リバーシー（オランダ）望遠鏡を製作
1667～70 年代	レーヴェンフック（オランダ）単式顕微鏡により微生物等を発見	1609 ガリレオ（イタリア）望遠鏡で天体観測
1670～	カンパーニ（イタリア）顕微鏡製作	1613 セーリス（英）、徳川家康に望遠鏡を献上
1690～	マーシャル（英）顕微鏡製作	
1700～	カルペッパー（英）顕微鏡製作	
1740～	カフ（英）、マーチン（英）、アダムス父子（英）ら 顕微鏡製作	
1750 代（宝暦）	このころ日本に顕微鏡がもたらされる	1758 ドロンド（英）色消しレンズを設計
1765（明和 2）	後藤梨春「紅毛談」で顕微鏡を紹介	
1781（天明元）	服部永錫や小林規右衛門、木製顕微鏡を製作	
1787（天明 7）	森島中良「紅毛雑話」に顕微鏡図とミコラスコーピュンの記載	
1813（文化 10）	古河藩主・土井利位、顕微鏡による雪の結晶観察開始	
1827	アミチ（イタリア）水浸対物レンズを公表	1822 ダゲール（仏）銀板写真発明
1828	ニコル（英）偏光プリズムを発明	
1829	リスター（英）色消し顕微鏡対物レンズを公表	
1833（天保 4）	宇田川榕庵「植物啓源」を表す	
1834	タルボット（英）偏光顕微鏡を発明	
1838	ワトソン光学会社創立（英）	
1840	スペンサー（米）顕微鏡製作開始（後のアメリカンオプティカル）	
1846	ツァイス 光学機器製作開始（独・イエナ）	
1849	ケルナー顕微鏡製作開始（独、1869 よりエルンスト・ライツ社）	
1850	ナッシュ（仏）光線分離プリズムによる双眼顕微鏡を発明	
1853	ボシュアンドロム社（米）創立、光学機器の製造	
1861	パストゥール（仏）生命の自然発生説を否定	
1866	ロンドンに王立顕微鏡協会（RMS）が設立	
ク	アッペ、ツァイス社に入社、顕微鏡理論研究開始	1868 明治維新
1873	アッペ、顕微鏡の結像理論を発表	
1876	ライヘルト（オーストリア）顕微鏡会社を創立	
1877	アッペ、均質油浸法を完成	
1879	ハンセン（ノルウェー）らい菌を発見	1879 エジソン 白熱電球の点灯に成功
1882	コッホ（独）結核菌を発見、翌年コレラ菌を発見	
1884	アッペとショット、共同で光学ガラス研究所を設立	
1886	アッペ、アポクロマート対物レンズを完成	
1890（明治 23）	北里柴三郎とベーリング（独）血清療法発見（破傷風菌・ジフテリア）	
1893	ケーラー（独）顕微鏡照明法を発表	
1894（明治 27）	北里柴三郎とイエリサン（仏）、ペスト菌を発見	

西暦年 (和暦)	顕微鏡に関する年表	関連事項
1897 ㄥ (明治 30)	グリノー、ツァイス社と共同で双眼実体顕微鏡を完成 志賀潔、赤痢菌を発見	
1903 1904 1907 (明治 40) 1910 (明治 43) 1913 (大正 2) 1914 (大正 3) ㄥ 1915 (大正 4) 1917 (大正 6) 1919 (大正 8) 1920 (大正 9) 1922 (大正 11) 1924 (大正 13) 1925 (大正 14) ㄥ 1927 (昭和 2) ㄥ 1928 (昭和 3) 1929 (昭和 4) 1932 ㄥ 1933 (昭和 8) 1934 (昭和 9) ㄥ 1935 (昭和 10) 1938 ㄥ (昭和 13) 1941 1945 (昭和 20) ㄥ 1946 (昭和 21) ㄥ 1948 (昭和 23) 1949 (昭和 24)	ジードントップ (ツァイス社) とジグモンディ 限外顕微鏡を開発 ケーラー (ツァイス社) 紫外線顕微鏡を開発 田中空次郎 (田中合名会社)、顕微鏡を製作 加藤嘉吉・神藤新吉が顕微鏡の試作を開始、寺田新太郎が協力 レーマン (ツァイス社)、蛍光顕微鏡を開発 野口英世、精神障害者の脳内に梅毒スピロヘータを発見 東京大正博覧会に田中式顕微鏡とエム・カテラが出展・受賞 いわしや松本福松、エム・カテラ光学器械製作所設立、販売開始 エム・カテラV・IIIを発売 東京計器・岩崎硝子・藤井レンズが統合し日本光学工業設立 山下長 高千穂製作所を設立 (現オリンパス)、翌年旭号を発売 高千穂製作所、「オリンパス」を商標登録 オリンパス 学生実習顕微鏡 桜号 (SA) を発売 加藤嘉吉、神藤新吉と カルニュー光学器械 (現島津デバイス製造) 設立 日本光学 最初の顕微鏡ジョイコ (JOICO) を発売 オリンパスと島津製作所、共同で鉱物顕微鏡を開発 鈴木泰一 (加藤嘉吉の弟子) 東洋光学 (エリザ顕微鏡) を設立 オリンパス 油浸顕微鏡 昭和号 (GK) を発売 大礼記念博覧会でオリンパス精華号が優良国産賞、陛下へ献上 鈴木純一、顕微鏡標本作製方法であるスンプ (SUMP) 法を發明 ゼルニケ (オランダ) 位相差顕微鏡を発表 (1953 ノーベル賞) ルスカ (ツァイス社) 磁界型電子顕微鏡を発表 (1986 ノーベル賞) オリンパス、双眼実体顕微鏡 XA を発売 オリンパス、アポクロマート対物レンズを完成 エム・カテラ光学器械製作所、千代田光学工業に改称 八洲光学工業設立 ベージェホルト (ツァイス社)、像面が平坦な Plan 対物レンズを設計 オリンパス 万能写真顕微鏡スーパーフォトを完成 ツァイス社、位相差顕微鏡を試作・発表 敗戦により光学機器メーカーの平和産業転換が始まる。 千代田光学、顕微鏡の生産を再開 光学精機工業会発足 (顕微鏡部会発足) オリンパス、伊那工場にて 顕微鏡 GK の生産を再開 日本光学 戦後最初の顕微鏡 O 型を、翌年研究用の K 型を発売 千代田光学とオリンパス、相次いで位相差顕微鏡装置を完成	1901 第 1 回ノーベル賞授与式 1904 日露戦争始まる (~1905) 1914 第一次世界大戦始まる (~1918) 1923 関東大震災 1939 第二次世界大戦始まる (~1945) 1941 太平洋戦争始まる (~1945) 1946 世界初の電子式コンピュータ ENIAC 開発

西暦年(和暦)	顕微鏡に関する年表	関連事項
1950	クーネズ、蛍光顕微鏡による抗原抗体検査法を発表	
1952	ノマルスキー(仏)、反射型微分干渉顕微鏡を発表	
〃(昭和27)	日本光学 偏光顕微鏡 POH を発売	
1953(昭和28)	理科教育振興法(理振法)制定	1953 ワトソンとクリック、DNA 構造を提唱
1954(昭和29)	日本光学工業協会設立(日本顕微鏡工業会設立)	
1955	ノマルスキー、透過型微分干渉顕微鏡を発表	
1956(昭和31)	日本光学 高級システム顕微鏡 S 型を発売	
1957(昭和32)	オリンパス 国産初のステージ上下式高級顕微鏡 DF を開発	
〃	井上信也 偏光性能を高めたレクティファイアを発表	
1958(昭和33)	オリンパス 研究用生物顕微鏡 E を開発	
1959(昭和34)	日本光学 S 型用ケーラー照明装置を開発	
〃	オリンパス 教育用顕微鏡ミックを発売	
1960(昭和35)	オリンパス 偏光顕微鏡 POM を発売	1960 メイマン、ルビーレーザーの発振に成功
〃	カルニュー 教育用顕微鏡 SGL-600 を発売	
〃	日本光学 教育用顕微鏡 E を発売	
1961(昭和36)	日本光学とオリンパス ズーム式双眼実体顕微鏡 SMZ と SZ を発売	1961 ガガーリン(ソ連)人類初の宇宙飛行
1962(昭和37)	山本忠昭(日本光学)とフランソン、微分干渉顕微鏡を共同発表	
〃	下村脩 緑色蛍光タンパク質(GFP)を発見(2008年ノーベル賞)	
1963(昭和38)	オリンパス 国産初の光源内蔵型高級顕微鏡 EH、FH を発売	
〃	国立科学博物館にて「わが国の顕微鏡の歩み」展開催	
1964(昭和39)	日本光学 倒立型顕微鏡 MD を発売	1964 東京オリンピック開催
1965(昭和40)	千代田光学 透過蛍光顕微鏡 FM200 を発売	
1966(昭和41)	オリンパス 万能写真顕微鏡 フォトマックスを発売	
〃	日本光学 微分干渉装置 T 型(透過)と R 型(反射)を発売	
〃	オリンパス 倒立型培養顕微鏡 CK を発売	
1967	ライツ社、プローエム教授の発明による落射蛍光装置を発売	
〃(昭和42)	日本光学 研究用万能顕微鏡アポフォトを発売	1969 人類月に立つ、アポロ 11 号月面着陸
1970(昭和45)	オリンパス 透過蛍光顕微鏡 FLM を発売	1970 大阪万国博覧会開催
1971(昭和46)	ユニオン光学、ノマルスキー式反射型微分干渉を発売	
〃	オリンパス 最高級万能顕微鏡 AH(バノックス)を発売	1972 札幌冬季オリンピック開催
1973(昭和48)	オリンパス 落射蛍光装置 AH-RFL を発売	
1974(昭和49)	オリンパス 高級システム顕微鏡 BH シリーズを発売	
1975	ホフマン(米)、変調コントラスト法を発表	
〃(昭和50)	千代田光学 高級システム顕微鏡 MT-B を発売、翌年事業を閉鎖	
〃	オリンパス プランアボクロマート対物レンズシリーズを完成	
〃	オリンパス AH、BH 用透過型ノマルスキー微分干渉装置を発売	
〃	日本光学 高性能偏光顕微鏡レクティファイアを発売	

西暦年(和暦)	顕微鏡に関する年表	関連事項
1976(昭和51)	日本光学 新光学系 CF システムと高級顕微鏡バイオフォトを発売	
1978(昭和53)	日本光学 高級システム顕微鏡 オプチフォト、ラボフォトを発売	
〃	オリンパス 新光学系 LB シリーズを発売	
1980(昭和55)	オリンパス 高級システム顕微鏡 BH2 シリーズを発売	
1981(昭和56)	日本光学 倒立型顕微鏡 TMD (ダイアフォト) を発売	
1983(昭和58)	オリンパス 最高級万能写真顕微鏡 AH2 (ニューバノックス) を発売	
1984(昭和59)	オリンパス 高級双眼実体顕微鏡 SZH を発売	
1985(昭和60)	日本光学 高級万能写真顕微鏡 FX を発売、1988 FXA に進化	
〃	日本自動制御(現レーザーテック) 走査型レーザー顕微鏡発売	
1988(昭和63)	日本光学工業(株)、(株)ニコンに社名変更	1989 ベルリンの壁崩壊、翌年東西ドイツ統合
1990(平成2)	オリンパス 生物用レーザー走査型顕微鏡 LSM-GB を発売	
1993(平成5)	オリンパス 新光学系 UIS を発表、高級システム顕微鏡 BX を発売	1995 ウィンドウズ 95 発売、パソコンが普及
1996(平成8)	ニコン 新光学系 CFI を発表、高級システム顕微鏡 Eclipse シリーズ発売	〃 阪神淡路大震災
〃	ニコン 野外観察用実体顕微鏡ファールブルを発売	1998 長野冬季オリンピック開催
2002(平成14)	オリンパス 倒立型培養顕微鏡 CKX を発売	2001 米国で同時多発テロ発生
2003(平成15)	オリンパス光学工業(株)、オリンパス(株)に社名変更	2002 日韓ワールドカップ開催
〃	オリンパス ディスク走査型共焦点顕微鏡 IX-DSU 発売	
2006(平成18)	山中伸弥 人工多能性幹細胞(iPS)を発表(2012年ノーベル賞)	
2007(平成19)	ニコン 研究用倒立型顕微鏡エクリプス Ti を発売	
2008(平成20)	サクラファインテックジャパン ミクロトーム TTM-200 発売	
〃	オリンパス 共焦点レーザー走査型顕微鏡 FV10i を発売	
〃	ニコン レーザ走査型顕微鏡 A1、A1+ を発売	
2010(平成22)	オリンパス 高級システム顕微鏡 BX63、53 を発売	2010 小惑星探査機はやぶさが帰還
〃	ニコン 多光子励起レーザー走査型顕微鏡 AIR MP+ 発売	
〃	ニコン 超解像顕微鏡 N-SIM 及び N-STORM 発売	2011 東日本大震災
2012(平成24)	島津理化 デジタルマイクロスコープ BA210EINT 発売	
2013(平成25)	ニコン 研究用システム実体顕微鏡 SMZ25 発売	
〃	オリンパス 多光子励起レーザー走査型顕微鏡 FVMPE-RS 発売	
2014(平成26)	内田洋行 デジタルマイクロスコープ D-EL4N 発売	
〃	オリンパス 超解像顕微鏡 FV-OSR 発表	
〃	超解像顕微鏡開発の米・独3研究者にノーベル化学賞授与	
2015(平成27)	国立科学博物館にて「国産顕微鏡100年展」開催	
2016(平成28)	大隅良典 オートファジーの機構解明でノーベル医学・生理学賞受賞	

光学顕微鏡に関する産業技術史資料の所在確認調査結果

番号	名称	製作年	製作者	資料の現況	所在地	選定理由
1	現存するわが国最古の木製顕微鏡	1781年 (天明元年)	小林規右衛門	展示	京都市 島津製作所創業記念資料館	箱書きに「天明元年 小林規右衛門作」とあり、付随する「顕微鏡見様」には交換用対物レンズの使い方の記述もあり、制作年代や使用方法がわかる貴重な資料である。(4.1、図 4.1)
2	田中式顕微鏡	1907年 (明治 40年)	田中空次郎 (田中合名会社)	保管 非公開	京都市 大阪大学 井上丁氏所蔵	明治 40 年に発売されたわが国最初の量産型顕微鏡。ライツ顕微鏡をモデルにし、倍率は 25 倍から 600 倍である。国内博覧会等で多くの賞を受けた。(4.2、図 4.5)
3	エム・カテラ IV	1914年 (大正 3年)	寺田新太郎 加藤嘉吉 神藤新吉 松本福松	展示	東京都中央区 サクラファインテックジャパン(株)	エム・カテラは、初期の量産型顕微鏡で、その後社名を千代田光学と改称し、戦前・戦後のわが国の顕微鏡産業を牽引した。開発者とその技術は、わが国の顕微鏡工業の礎となった。(4.2、図 4.6)
4	アポクロマート対物レンズ	1934年 (昭和 9年)	高千穂製作所 (現オリンパス)	展示	東京都八王子市 オリンパス技術歴史館 「瑞古洞」	2014 (平成 26) 年度未来技術遺産 (No.184) 登録済 色収差を極限まで補正したアポクロマート対物レンズは、蛍石やミヨウバンなど特殊レンズ材料を使い、最高度の加工組立技術を要する。戦前にわが国がこれを完成させたことは、光学技術レベルの高さを示す画期的成果であった。(7.4.1、図 7.11、7.12)
5	写真装置付万能顕微鏡 スーパーフォト (萬能号)	1938年 (昭和 13年)	高千穂製作所 (現オリンパス)	展示	東京都八王子市 オリンパス技術歴史館 「瑞古洞」	戦前における光学顕微鏡の技術を集大成した万能顕微鏡。透過型・反射型の明視野・暗視野観察が可能で、投影・描画・撮影装置を一体化し、生物・金属両用の顕微鏡として当時のあらゆる機能を搭載した、海外製品にも負けない画期的製品であった。(4.2、図 4.10)
6	倒立型顕微鏡 MD	1964年 (昭和 39年)	日本光学工業 (現ニコン)	展示	東京都品川区 株式会社ニコン ニコンミュージアム	わが国における最初の本格的倒立型生物顕微鏡。組織培養研究用として、ステージ固定で対物レンズを上下させて焦点を合わせる機構を採用し、映画撮影用のサイドポートなどで優れたシステム性は、現在の高級倒立型顕微鏡でも標準となっている。(6.1、図 6.2)
7	高感度偏光顕微鏡 レクティファイア (研究用万能顕微鏡 アポフォト)	1975年 (昭和 50年)	日本光学工業 (現ニコン)	保管	埼玉県熊谷市 ニコン熊谷製作所 100周年プロジェクト室	レクティファイアは井上信也(米国)らの発明によるもので、特殊な光学系により偏光特性を大幅に向上し、生物発生時における微弱な複屈折等を観察できる。本体のアポフォトは、1967(昭和 42)年に発売され、透過・反射同時照明やさまざまな観察法に対応した当時の最高級万能顕微鏡の一つである。(5.4、図 5.18)
8	CF 光学系と研究用生物顕微鏡バイオフィア	1976年 (昭和 51年)	日本光学工業 (現ニコン)	保管	埼玉県熊谷市 ニコン熊谷製作所 100周年プロジェクト室	わが国の顕微鏡対物レンズの性能が飛躍的に向上する転換点となった光学系。それまで世界の主流であった対物レンズと接眼レンズで倍率色収差を補正し合う方式でなく、それぞれ単独で補正する方式を世界で最初に採用した。顕微鏡本体も機能・デザインが一新された。(7.4.3、図 7.21、22、4.6、図 4.31)
9	最高級写真顕微鏡 ニューパノックス AHBS	1983年 (昭和 58年)	オリンパス光学工業 (現オリンパス)	展示	東京都八王子市 オリンパス技術歴史館 「瑞古洞」	世界初の顕微鏡オートフォーカスを含む全自動写真撮影装置を内蔵し、対物レンズを電動で切り替えると、照明系が自動でベストの調整を行う。最良の顕微鏡写真撮る手間とノウハウが一挙に解決された画期的な顕微鏡システムである。(4.6、図 4.38-40)

光学顕微鏡の技術系統化調査 正誤表

ページ	段落	行	技術の系統化調査報告 第24集 2017年3月 (誤)	全文PDF版 2017年8月 (正)
317	右	↑2	カラーバンド	カラーリング
328	左	7	このあと、1781（天明1）年に大坂の中井履軒は「顕微鏡記」を著し、服部永錫、油屋吉左衛門、小林規右衛門らが顕微鏡を製作したとある。小林の木製顕微鏡（図4.1）は・・・	このあと、1781（天明元）年に大坂の中井履軒は「顕微鏡記」を著し、服部永錫、油屋吉左衛門が顕微鏡を製作したとある。また同年、小林規右衛門が製作した木製顕微鏡（図4.1）は...
328	左	23-24	「雪花図説」、雪花文様	「雪華図説」、雪華文様
356	左	13	0.7～3倍	0.7～3×
361	図6.50		日本化学 金属顕微鏡S-M	ニコン 金属顕微鏡S-M
370	図7.9		$(n_g - n_d)$	$(n_g - n_d)$
371～372	右	↑4	・・・1934（昭和9）年に90倍のアポクロマト油浸対物レンズ（NA1.30：図7.11）をはじめ、アポクロマト10倍（NA0.30）と20倍（NA0.65）及び補正環付の40倍アポクロマト乾燥対物レンズ（NA0.95）が完成し（図7.12）、当時の最高級顕微鏡「富士号OCE」と組み合わせて発表された ⁶⁾¹⁷⁾ 。	・・・1931（昭和6）年に90倍のアポクロマト油浸対物レンズ（NA1.30：図7.11）の試作品を完成、1934（昭和9）年にアポクロマト10倍（NA0.30）と20倍（NA0.65）及び補正環付の40倍アポクロマト乾燥対物レンズ（NA0.95）（図7.12）と共に、当時の最高級顕微鏡「富士号OCE」と組み合わせて発表された ⁶⁾¹⁷⁾ 。
377	左	4	・・・1991年に発表し、1997年には・・・	・・・1992年に発表し、1998年には・・・
378	図7.32		CF & IC対物レンズシリーズ ²²⁾	CF & IC対物レンズ ²²⁾
381	図7.41		CFI75 LWD Plan16×W	CFI75 LWD 16×W
384	右	31)	・・・ Muller-Rentz A ・・・ Nr.5 ・・・	・・・ Müller-Rentz A ・・・ Nr.4 ・・・
387	左	↑4	XLPlan N 25xSVMP	XLPlan N 25×SVMP
393	ISO一覧表		対応JISの空白欄（3か所）	それぞれ上側罫線を消去し、上の欄とつなげ、対応JISは欄のセンター位置に移動する（該当のISOはそれぞれ上の欄のJISに統合されている）
397	系統図	↑7	1959 StereoZoom (B&L)	1959 StereoZoom (BL)