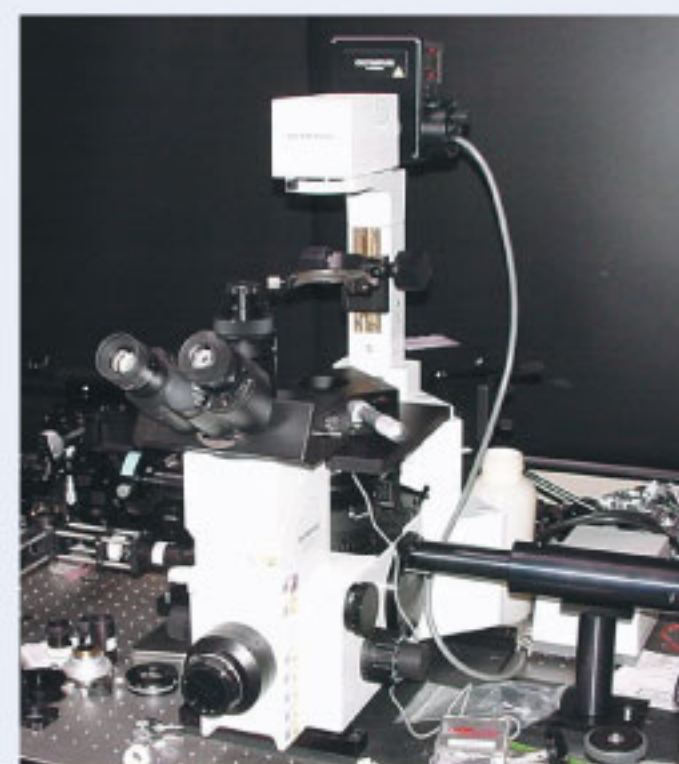


特開2004-138735号

全反射型蛍光顕微鏡及び照明光学系

発明者
にしざか たかゆき
西坂 崇之



蛍光顕微鏡（イメージ）

技術の概要

全反射型蛍光顕微鏡は、照射された光の波長よりも長い光を出す蛍光色素を励起させ、試料面に照射した光を全反射させて、その蛍光を観察することによって試料を観察する顕微鏡です。従来の全反射顕微鏡では、試料面に一方向からレーザー光が照射されてエバネッセント場が作られていましたが、この方法ではある方向の振動モーメントを有する色素を励起させ蛍光を発生させることができないため、試料の向いている方向によってはその試料を観察することができません。本発明は、蛍光色素と結合した試料の方向によらず、その試料が存在するかどうかを観察することができるため、一か所に集まった蛍光色素の個数を数えることができます。また、NMR や結晶後の X 線解析と異なり、水溶液中で活性を持ったタンパク質、DNA、RNA などの生体分子立体構造の変化の解析ができます。

その仕組みは、レーザー光源からの光を、回折拡散板を通すことによって、レーザー光を円錐面状に開き、それをレンズでつないで集光します。これにより、あらゆる方向の偏光成分を持つ光が作られるので、この光により色素は均一により励起されることから、上記効果をもたらします（図 1）。

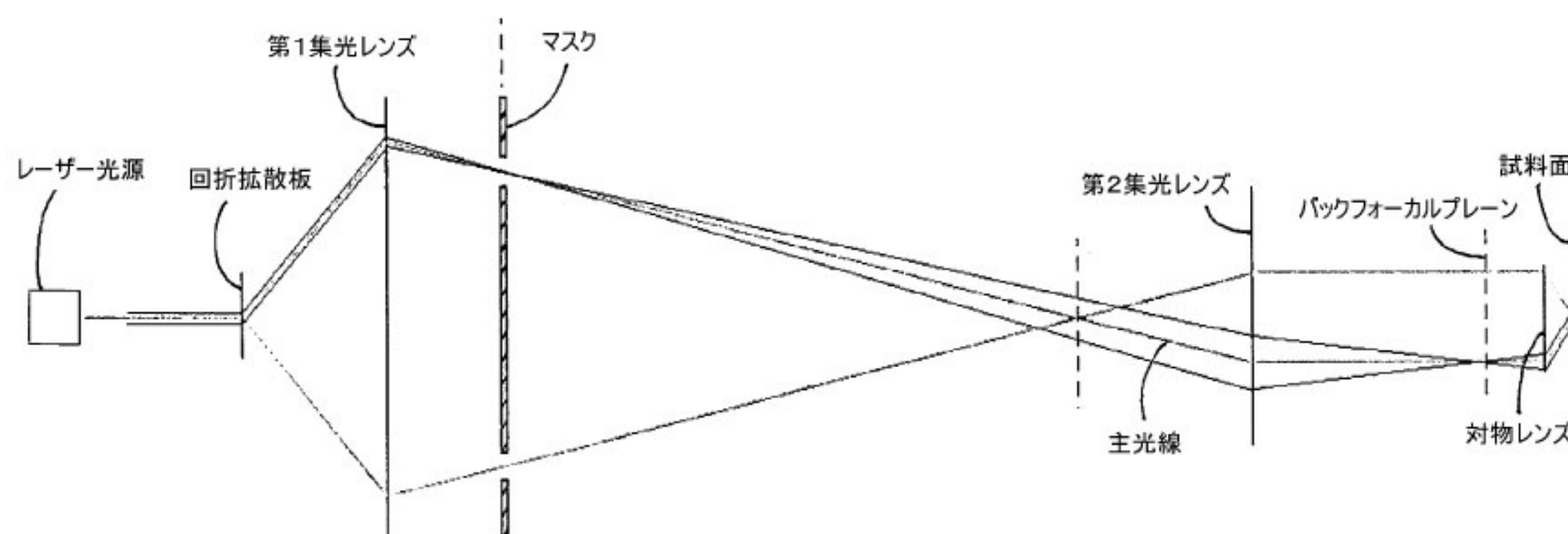


図1 全反射型蛍光顕微鏡の照明光学系

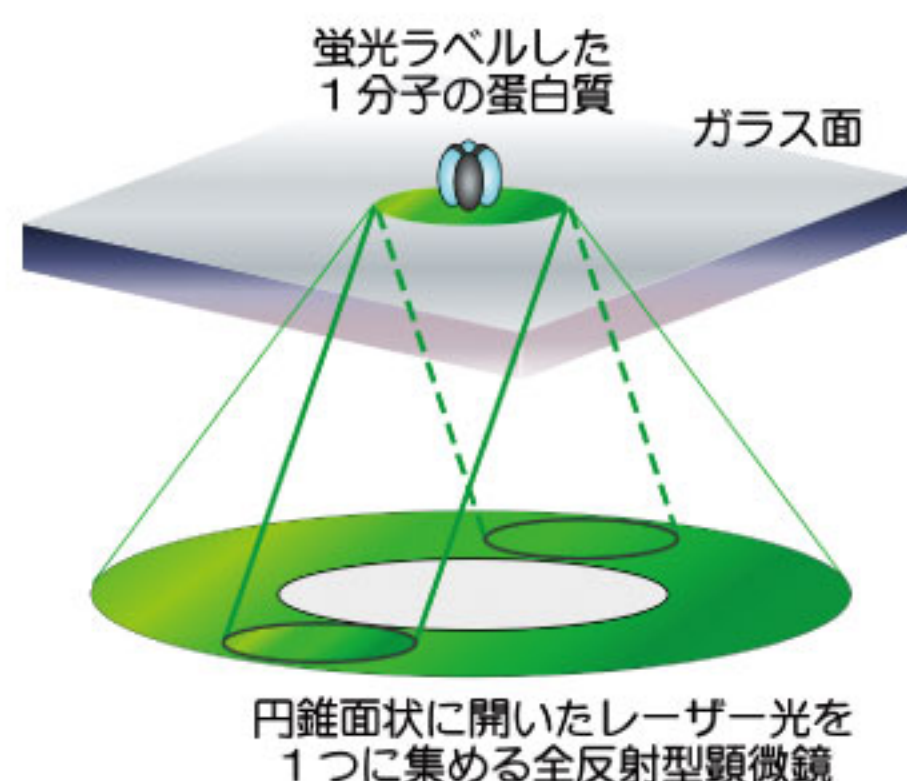


図2 色素が均一に励起される仕組み

試作品開発の背景

生物の体は、蛋白質というわずか 10 ナノメートルの精巧な部品でできており、この機能を分子レベルで調べていくことが生物現象の解明につながります。研究の最先端の現場では、機能を損なわずにたった 1 個の蛋白質を観察しようという技術「1 分子イメージング」が確立しつつあります。ここで活躍するのは蛍光色素です。小さすぎて見ることでできない蛋白質に、蛍光色素の標識を付け、そこに強い光を当てて色素を光らせます。蛋白質が水中で動く様子や、複数の蛋白質が集まったり離れたりするダイナミックな様子を画像化することができるのです。生体物性グループでは、約 10 年前より、全反射型顕微鏡という装置を用いて、エバネッセント光という特殊な光で蛍光色素 1 分子の観察に成功しています。この顕微鏡は、最近では様々なメーカーから使いやすい形で市販されるようになってきています。

しかしながら、従来の全反射型顕微鏡では、光の偏光が極端にかたよっているという問題点がありました。色素は非対称な形をしているので、偏光している光で 1 個の色素を観察する場合、色素の向きと偏光の向きがそろっていなければ 1 分子からの信号が小さくなってしまいます。試料によっては信号を正確に数値化することはできません。

本発明により、この問題が大きく改善されました。1 分子からの信号はもともと非常に微弱なものです。それらの評価がより信頼できるようになります。また、この顕微鏡では、レーザー特有の干渉パターンを消す工夫もなされているほか、これまで限界とされていた強度の 100 倍強いレーザー光を用いてもレンズが壊れないという特徴があります。本装置の普及により、多くの大学や研究機関において、これまでにとらえることができなかった蛋白質の動きや、様々な生物現象が解明されていくことが期待されます。

商品化

この技術は、株式会社シグマ光機により商品化、販売を開始する予定です。偏光の問題を改善したこの新しい光学システムは、市販の生物顕微鏡に簡単に取り付けられる形で製品化されます。本装置の普及により、多くの大学や研究機関において、これまでにとらえることができなかった蛋白質の動きや、様々な生物現象が解明されていくことが期待されます。

NICTが取得した特許は有償で利用できます。
これらの特許権の実施及び技術情報についてのお問い合わせは
情報通信研究機構 総合企画部 知財・産学連携室
Tel. 042-327-7464 E-mail: ip@ml.nict.go.jp
までお願いいたします。