

分析化学 3 第 3 回 082110424_中村優作

今回の講義では、光学顕微鏡について、その中でも特に生物顕微鏡について詳しく学んだ。生物顕微鏡には、明視野観察と蛍光観察があり、明視野観察はランプから光を投下させて観察することで、光の透過度を反映した画像を観察することができる。蛍光観察では、蛍光を当てて観察し、蛍光分子の色(波長)と強度を観察することができる。核がどこに存在するかなどを蛍光観察では調べることができる。

吸光と蛍光

蛍光分子に光をあてると第一電子励起状態になる(吸光)。励起状態は不安定なためより安定な状態になろうとし、基底状態に戻る。この際に放出されるエネルギーが蛍光である。

物質に吸収された光の一部は振動やそのほかのエネルギーとして失われ、物質から発せられる蛍光の波長は励起光の波長よりも長くなる。これをストークスシフトという。

蛍光観察の構成要素

蛍光観察では、光源から出た光が励起フィルタを通り、サンプルに対物レンズを通して光を当て、その反射光を観察することで観察ができる。それぞれの構成要素について以下に示す。

- 光源：ハロゲンランプと水銀ランプが存在する
- 励起フィルタ：光源から出た光だけを通すように、ある波長以下の光だけを通すフィルター
- ダイクロイックミラー：ある波長以下の光は反射し、ある波長以上の光は通過するミラー
- 対物レンズ
 - 油浸対物レンズ：カバーガラスと対物レンズの間に、屈折率がカバーガラスとほとんど同じ油を入れたレンズ。薄いサンプル、カバーガラスに密着したサンプルに向いている。
 - 水浸対物レンズ：カバーガラスと対物レンズの間に、水が入っており、水の屈折率を考慮したレンズ。厚いサンプル、カバーガラスから離れたサンプルに適している。

その他の顕微鏡

- 位相差顕微鏡：生物顕微鏡の一つ。位相差観察の光路には、リングスリットと位相板が配置されている。リングスリットは照明光をリング状にする働き、位相板は通過した光の位相をずらす働きを持つ。
- 実体顕微鏡
- 偏光顕微鏡
- 微分干渉顕微鏡

など。