

Selected Article

一般論文

世界レベル最高感度を有する蛍光分光測定装置

Ray Kaminsky, Stephen M. Cohen

HORIBAグループのHORIBA Jobin Yvon (ホリバジョバンイボン)社は、定常スペクトル測定に対応する卓上型の蛍光分光光度計から、近赤外蛍光測定、蛍光異方性測定、蛍光寿命測定にアップグレード可能なモジュール型の蛍光分光測定装置、さらに顕微蛍光寿命マッピングシステムに至るまで、各種の蛍光分光装置を製造し、世界中の市場に供給している。

はじめに

蛍光分光分析は、励起光ではなく試料からの発光の検出を利用しているため、吸光分光分析よりも遥かに高感度な検出法である。蛍光分光分析が硬貨を直接秤に載せて重量を測ることに例えられるとすれば、吸光分光分析は硬貨を象の背中に載せたときと載せないときの体重差から硬貨の重量を求めるようなものと言える。

蛍光分析は高感度検出であるため、紫外～近赤外の波長域に対応する蛍光分光装置は、生化学・バイオテクノロジー分野において分子間距離の測定や、生体組織や細胞の局所環境のダイナミクスの研究等に広く利用されている。また、近年マテリアルサイエンス、特にナノテクノロジー分野において、カーボンナノチューブの構造解析、量子ドット、機能性色素の研究に活用されている。

HORIBA Jobin Yvon社の蛍光分光製品は、微弱な信号を検出する能力において業界トップクラスをほこる。HORIBA Jobin Yvon社では、新しい蛍光分光光度計を開発する際には、検出感度の向上を最優先事項においている。高感度の蛍光分光製品は、光学系、電子系、ソフトウェアに関して細部に至る創意工夫の積み重ねによってはじめて達成されるものである。

開発小史

1976年に発売のFluorolog™は、当時として最も先駆的な蛍光分光光度計であり、初めてコンピュータにより自動化された蛍光分光光度計としても知られている。その後、1980年代初頭には後継機であるFluorolog™-2を、1996年には現行機であるFluorolog™-3を発売した。

モジュール式のFluorologシリーズに対して、1990年には卓上型の蛍光分光光度計FluoroMax™を発売した。2006年からはひ孫世代に当たるFluoroMax™-4の販売を開始した。HORIBA Jobin Yvon社は、定常分析および周波数領域の蛍光寿命分析(位相変調方式)の技術に加えて、2003年にIBH社(英国)を買収することで時間相関単一光子計数(TCSPC)方式による蛍光寿命分析の技術を取得した。

現在、HORIBA Jobin Yvon社は、米国ニュージャージー州エジソンに研究開発センターを持ち、蛍光分光装置の世界的なリーディングカンパニーとしての地位を確立するとともに、業界最高の売上を誇っている。

全光路に反射型光学系を採用

HORIBA Jobin Yvon社の製品が高感度である理由の一つは、レンズの代わりにミラーを用いた光学系を採用し

ていることがある。ミラーの最大の利点は焦点合わせやコリメーションの際に色収差を生じない点であり、これにより光の波長に関係なく焦点を結ばせることが可能となる。これに対してレンズでは通常1波長に対してしか焦点を合わせることができないため、焦点から離れるにしたがって装置の送光・集光能力が低下する。光源、試料、検出器が小型である場合に特に顕著となる。

フォトンカウンティング検出

HORIBA Jobin Yvon社の製品が誇る高感度に寄与するもう一つの特徴は、光電子増倍管(PMT)の光電面から放出された光電子を増倍し、陽極から出力される電荷パルスを計数するフォトンカウンティング検出である。アナログ方式では、多数のパルスに由来する電流のほか、回路に起因するノイズ電流をも含めた総和を検出する。このためアナログ方式では、光量が弱くなると信号をバックグラウンドノイズから区別する能力に限界がでてしまう。パルスをアナログ的に扱うよりも、パルス数を数える方がはるかに信号対ノイズ比(S/N比)の点で優れた測定を行うことができる。

ルールドグレーティングとその分光感度(ブレース)、検出器、分光器の焦点距離、さらに光源の選択も検出の感度に大きく寄与する。ではなぜ他メーカーのシステムがこれら全てを備えていないのか。最も大きな理由は製品コストだろう。高感度検出を求めると、装置価格に反映されてしまうのである。

どうして蛍光分光に感度が求められるのか

検出感度は、低濃度試料からの微弱な信号を検出できる能力にはとどまらない。光子計数が多いほど統計的サンプルが大きくなり、データの正確度が高まることは明らかである。もし信号が強い場合には、正確なデータを得るのにかかる時間がそれだけ短くてすむことになる。

HORIBA Jobin Yvon社の蛍光分光光度計は、高感度、正確度、高速測定を提供できる。

卓上タイプの簡便さと モジュラータイプのフレキシビリティ

多分野の研究者の様々なご要望に応えるため、HORIBA Jobin Yvon社では、大きく分けて2タイプの蛍光分光装置を提供している。

まず、第1のタイプは、卓上タイプの蛍光分光光度計 FluoroMax™-4(図1)である。FluoroMax-4は先端研究で蛍光分析に要求される感度とアクセサリ類を豊富に備え、かつコンパクトで扱いやすい独立ユニットとして仕上げられている。自動波長校正、自動制御可能なスリット、ソフトウェアによる自動3Dスキャン機能等が標準で装備される。FluoroMax™-4は、納品のその日からすぐにデータ測定を開始することができる。

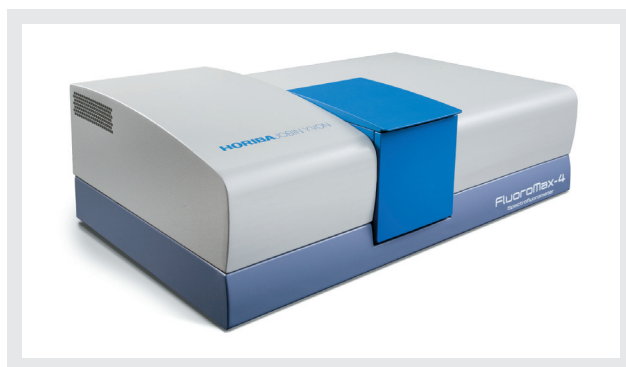


図1 卓上タイプ 蛍光分光光度計FluoroMax™-4

次に、第2のタイプは、モジュラータイプのFluorolog™-3(図2)で世界レベル最高感度を有するハイパフォーマンス装置である。Fluorologではユーザーの試料、用途、予算に応じて理想的なシステムを構築することができる。例えば、散乱の多い試料を測定する場合には、ダブルモノクロメーターを含む構成により、スループットを向上させてバックグラウンドノイズを効果的に低減したり、スペクトログラフとCCD検出器を搭載しスペクトルをミリ秒オーダーで測定することで、高速3Dマトリックスデータを取得することができる(図3)。モノクロメーターのグレーティングは交換可能で、各種検出器を選択することができる。グレーティングと検出器の適切な組み合わせによって紫外、可視、近赤外の幅広い波長領域の測定に対応することができる。また、目的に応じて複数の検出器や光源を選択することもできる。



図2 モジュラータイプ 蛍光分光測定装置 Fluorolog™-3

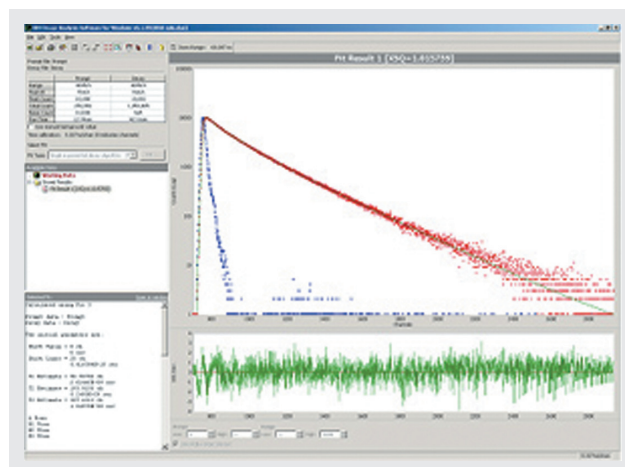


図4 TCSPC法によるピコ秒レベルの蛍光寿命測定

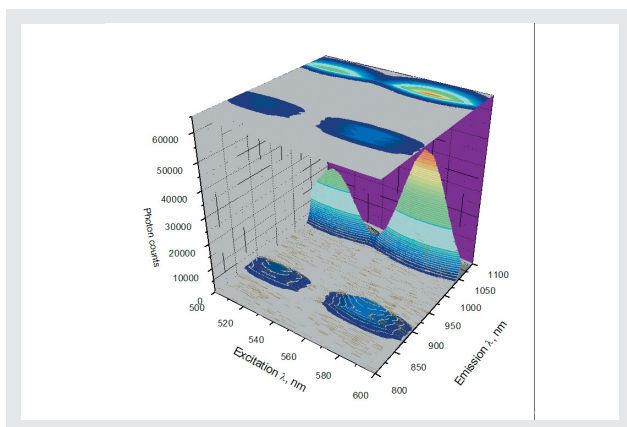


図3 モジュラータイプ Fluorolog™-3の変形バージョンを用いた近赤外3D発光マトリックス測定による超微量試料の特性評価

卓上タイプのFluoroMax™, モジュラータイプのFluorolog™ は、どちらも定常スペクトルを測定できるだけでなく、時間分解寿命ユニットを搭載すれば蛍光寿命測定にも対応できる。蛍光寿命は、励起光の吸収から蛍光の放出までの時間の平均値で定義される。蛍光寿命を測定することで、試料内のプロセスに関するダイナミックスの情報や、分子をとりまく環境、分子の大きさ、分子間の距離に関する一層詳細な知見が得られる。HORIBA Jobin Yvon社は、蛍光寿命を測定するための主な方法として、高感度を追及する時間相関単一光子計数(TCSPC)法(図4)と、高速データ取得を特徴とするマルチ周波数(位相変調)法の2つの方式を製品化している唯一のメーカーである。いずれの検出法によってもピコ秒台の短い蛍光寿命を測定することができる。

おわりに

以上, HORIBA Jobin Yvon社の蛍光分光光度計について簡単に説明した。蛍光分光光度計には, 温度調整機構, 顕微鏡ユニット, 異方性測定のための自動偏光子ユニット, クライオスタット等, 豊富なアクセサリを搭載することができる。

新しい研究分野のアプリケーションに, HORIBA Jobin Yvon社が誇る世界レベル最高感度の蛍光分光光度計の更なる活用を期待する。



Ray Kaminsky

HORIBA Jobin Yvon Inc.
Molecular and Microanalysis Division
Fluorescence Spectroscopy
Vice President



Stephen M. Cohen

HORIBA Jobin Yvon Inc.
Molecular and Microanalysis Division
Technical Writer
Ph.D.