

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5259157号
(P5259157)

(45) 発行日 平成25年8月7日 (2013.8.7)

(24) 登録日 平成25年5月2日 (2013.5.2)

(51) Int. Cl.

F 1

G O 2 B 21/00 (2006.01)

G O 2 B 21/00

G O 2 B 27/28 (2006.01)

G O 2 B 27/28

Z

請求項の数 4 (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2007-292413 (P2007-292413)
 (22) 出願日 平成19年11月9日 (2007.11.9)
 (65) 公開番号 特開2009-116280 (P2009-116280A)
 (43) 公開日 平成21年5月28日 (2009.5.28)
 審査請求日 平成22年8月30日 (2010.8.30)

(73) 特許権者 000000376
 オリンパス株式会社
 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号
 (74) 代理人 100118913
 弁理士 上田 邦生
 (74) 代理人 100112737
 弁理士 藤田 考晴
 (72) 発明者 久保 博一
 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号 オ
 リンパス株式会社内
 (72) 発明者 上野 牧男
 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号 オ
 リンパス株式会社内

審査官 菊岡 智代

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 レーザ顕微鏡

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ピコ秒以下の極短パルスレーザ光を発振するレーザ光源と、
 該レーザ光源から発せられた極短パルスレーザ光を伝送する伝送光学系と、
 該伝送光学系により伝送された極短パルスレーザ光を入射させ、その入射偏光状態に応
 じて出射光特性が変化する偏光依存素子とを備え、
 前記伝送光学系が、伝送される極短パルスレーザ光の一部を反射する反射光発生源を備
 え、
 該反射光発生源を挟む位置であり、かつ前記偏光依存素子より前段に、一对の / 4 波
 長板が配置されているレーザ顕微鏡。

【請求項 2】

前記極短パルスレーザ光を2次元に走査するスキャナと、該スキャナにより走査された
極短パルスレーザ光を標本に照射する対物レンズと、極短パルスレーザ光が照射された標
 本からの光を検出する検出器とを備える走査型2光子励起顕微鏡であり、

前記偏光依存素子として音響光学素子を備える請求項1に記載のレーザ顕微鏡。

【請求項 3】

前記極短パルスレーザ光を2次元に走査するスキャナと、該スキャナにより走査された
極短パルスレーザ光を標本に照射する対物レンズと、極短パルスレーザ光が照射された標
 本からの光を検出する検出器とを備える走査型第2高調波顕微鏡であり、

前記偏光依存素子として、前記極短パルスレーザ光の偏光方向を回転させる直線偏光回

転ユニットを備える請求項 1 に記載のレーザ顕微鏡。

【請求項 4】

前記極短パルスレーザ光を 2 次元に走査するスキャナと、該スキャナにより走査された極短パルスレーザ光を標本に照射する対物レンズと、極短パルスレーザ光が照射された標本からの光を検出する検出器とを備える走査型微分干渉顕微鏡であり、

前記偏光依存素子が照明側微分干渉素子である請求項 1 に記載のレーザ顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、光学装置およびレーザ顕微鏡に関するものである。

10

【背景技術】

【0002】

従来、レーザ光源から発せられ 2 光子励起顕微鏡に伝送されるレーザ光の一部が、その伝送途中において反射してレーザ光源に戻ることににより、レーザ光源のレーザ発振が不安定化して故障が誘発される不都合を防止するために、レーザ光源の後段に光アイソレータを配置する技術が知られている（例えば、非特許文献 1 参照。）。

【0003】

【非特許文献 1】D. L. Wokosin, et. al., "Characterization of Range of Fura Dyes with Two-Photon Excitation", Biophysical Journal, Volume 86, March 2004, p1726-1738

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかしながら、光アイソレータは、広い波長範囲にわたるレーザ光を伝送する場合の反射戻り光を防止するための手段としては、効率が悪い上に高価であるという不都合がある。また、磁力により作動するため、周囲に磁場を形成し、外部に悪影響を及ぼす不都合が考えられる。さらに、2 光子励起顕微鏡のようにレーザ光源としてフェムト秒オーダのパルスレーザ光源を使用する場合には、光アイソレータにおける群速度遅延分散が大きく、その補償を十分に行う必要があるという問題もある。

【0005】

30

本発明は、上述した事情に鑑みてなされたものであって、安価で、外部に悪影響を及ぼすことなく、小さい群速度遅延分散で、効率的にレーザ光の反射戻り光がレーザ光源に戻らないように遮断することができ、後段の偏光依存素子に対して適正な偏光状態のレーザ光を入射させることができる光学装置およびレーザ顕微鏡を提供することを目的としている。

【課題を解決するための手段】

【0006】

上記目的を達成するために、本発明は以下の手段を提供する。

本発明の参考例としての発明は、レーザ光源と、該レーザ光源から発せられたレーザ光を伝送する伝送光学系と、該伝送光学系により伝送されたレーザ光を入射させ、その入射偏光状態に応じて出射光特性が変化する偏光依存素子とを備え、前記伝送光学系が、伝送されるレーザ光の一部を反射する反射光発生源を備え、該反射光発生源を挟む位置に、 $\lambda/4$ 波長板が配置されている光学装置を提供する。

40

本発明は、ピコ秒以下の極短パルスレーザ光を発振するレーザ光源と、該レーザ光源から発せられた極短パルスレーザ光を伝送する伝送光学系と、該伝送光学系により伝送された極短パルスレーザ光を入射させ、その入射偏光状態に応じて出射光特性が変化する偏光依存素子とを備え、前記伝送光学系が、伝送される極短パルスレーザ光の一部を反射する反射光発生源を備え、該反射光発生源を挟む位置であり、かつ前記偏光依存素子より前段に、 $\lambda/4$ 波長板が配置されているレーザ顕微鏡を提供する。

【0007】

50

本発明によれば、レーザ光源から発せられたレーザ光が伝送光学系により伝送され、偏光依存素子に入射される。伝送光学系には、反射光発生源が含まれているので、伝送途中においてレーザ光の一部が反射光発生源において反射される。この場合において、レーザ光源から発せられて伝送されてきたレーザ光は、反射光発生源の前段に配置された $\lambda/4$ 波長板によって円偏光のレーザ光に変換される。そして、反射光発生源において反射されることにより逆方向に回転する円偏光に変換されたレーザ光は、再度同じ $\lambda/4$ 波長板を通過させられることにより、入射レーザ光とは偏光方向が 90° 異なる反射レーザ光としてレーザ光源側に戻される。

【0008】

したがって、入射レーザ光と同一光路において、レーザ光源に備えられるブリュースターウィンドウ等により、反射レーザ光を容易に遮断することが可能となり、レーザ光源内に戻されることによるレーザ発振の不安定化を防止することができる。

【0009】

一方、円偏光に変換されたレーザ光のうち、反射光発生源において反射されることなく透過したレーザ光は、該反射光発生源の後段に配置されている $\lambda/4$ 波長板によって再度直線偏光に変換される。この際、円偏光の回転方向は維持されるので、この $\lambda/4$ 波長板から後段に出射されるレーザ光の偏光方向は、入射レーザ光の偏光方向と同一方向に維持される。これにより、レーザ光源から発振された直線偏光のレーザ光を適正な偏光状態を維持したまま偏光依存素子に入射させることができる。

したがって、適正な偏光状態が維持されたレーザ光を用いて、標本を精度よく観察することができる。

【0010】

ここで、偏光依存素子としては、音響光学素子や、ネガティブチャープ光学系、波長変換結晶、およびこれらのいずれかを含む共焦点顕微鏡や2光子励起顕微鏡、あるいは、入射偏光に応じて標本観察状態が変化するSHG顕微鏡、微分干渉顕微鏡、偏光顕微鏡等を挙げることができる。

【0011】

上記発明の参考例としての発明においては、前記レーザ光源が、ピコ秒以下の極短パルスレーザ光を発振することとしてもよい。

また、上記の参考例としての発明においては、前記レーザ光源が、レーザダイオードであることとしてもよい。

反射戻り光によるレーザ発振の不安定化が起こり易いこれらの場合において、特に、レーザ発振の不安定化を効果的に防止することができる。

【0012】

上記発明においては、前記極短パルスレーザ光を2次元に走査するスキャナと、該スキャナにより走査された極短パルスレーザ光を標本に照射する対物レンズと、極短パルスレーザ光が照射された標本からの光を検出する検出器とを備える走査型2光子励起顕微鏡であり、前記偏光依存素子として音響光学素子を備えることとしてもよい。

また、上記発明においては、前記極短パルスレーザ光を2次元に走査するスキャナと、該スキャナにより走査された極短パルスレーザ光を標本に照射する対物レンズと、極短パルスレーザ光が照射された標本からの光を検出する検出器とを備える走査型第2高調波顕微鏡であり、前記偏光依存素子として、前記極短パルスレーザ光の偏光方向を回転させる直線偏光回転ユニットを備えることとしてもよい。

また、上記発明においては、前記極短パルスレーザ光を2次元に走査するスキャナと、該スキャナにより走査された極短パルスレーザ光を標本に照射する対物レンズと、極短パルスレーザ光が照射された標本からの光を検出する検出器とを備える走査型微分干渉顕微鏡であり、前記偏光依存素子が照明側微分干渉素子であることとしてもよい。

【発明の効果】

【0013】

10

20

30

40

50

本発明によれば、安価で、外部に悪影響を及ぼすことなく、小さい群速度遅延分散で、効率的にレーザ光の反射戻り光がレーザ光源に戻らないように遮断することができ、後段の偏光依存素子に対して適正な偏光状態のレーザ光を入射させることができるという効果を奏する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

本発明の一実施形態に係る光学装置1について、図1を参照して以下に説明する。

本実施形態に係る光学装置1は、図1に示すように、レーザ顕微鏡2に備えられている。

レーザ顕微鏡2は、光学装置1と、該光学装置1から出射されるレーザ光Lが入射され、標本Aを観察する顕微鏡本体3とを備えている。

【0015】

本実施形態に係る光学装置1は、フェムト秒パルスレーザ光源（以下、単にレーザ光源という。）4と、該レーザ光源4から出射されたパルスレーザ光Lを伝送する伝送光学系5とを備えている。

伝送光学系5は、顕微鏡本体3を含む光学系全体の群速度分散を補償するためのネガティブチャープ光学系6と、該ネガティブチャープ光学系6から出射されたパルスレーザ光Lの光軸ズレを調節するアライメント調節光学系7と、ビーム整形光学系8と、音響光学素子9と、該音響光学素子9から出射されたパルスレーザ光Lの光軸ズレを調節するアライメント調節光学系10と、視準光学系11と、アライメント調節光学系12と、ビーム整形光学系8を挟んで配置された2枚の1/4波長板13、14と、視準光学系11の前端に配置された1/4波長板15とを備えている。

【0016】

ネガティブチャープ光学系6は、例えば、一对のプリズム6a、6bとミラー6cとから構成されている。あるいはグレーティング対により構成されていてもよい。プリズム6a、6bどうしの間隔あるいはグレーティングどうしの間隔を調節することで、レーザ光源4から顕微鏡本体3の対物レンズ3aに至る全光学系における群速度分散を補償するようになっている。

【0017】

前記アライメント調節光学系7、10、12は、例えば、レーザ光軸の位置および角度を調節可能な2枚のミラー（図示略）を備え、パルスレーザ光Lの光軸の位置と偏向を調節し、音響光学素子、視準光学系11あるいは顕微鏡本体3に対して、それぞれ適正な位置と角度で精度よく入射させるように構成されている。図中、符号16は、レーザ光源4から発せられたパルスレーザ光Lを反射してネガティブチャープ光学系6に指向させる一方、ネガティブチャープ光学系6から出力されたパルスレーザ光Lの光軸から紙面に垂直方向に外れた位置に配置されているミラーである。

【0018】

ビーム整形光学系8は、ネガティブチャープ光学系6を通過し、アライメント調節光学系7によって光軸ズレを補正されたパルスレーザ光Lの光束径を絞り、音響光学素子9の結晶（図示略）の有効範囲内に漏れなく入射させるように構成されている。

本実施形態においては、ビーム整形光学系8は、例えば、凸平レンズと平凹レンズとを組み合わせたガリレイ型のビームエキスパンダにより構成されている。

【0019】

前記音響光学素子9は、例えば、AOMであって、2酸化テルルからなる結晶に接着された圧電素子からなるトランスデューサによって結晶に加える音響波の振幅を変更することにより、結晶内におけるパルスレーザ光Lの回折強度を変化させ、出射されるパルスレーザ光Lの強度を、音響波の振幅に応じた所定の割合で変調するようになっている。

【0020】

視準光学系11は、例えば、凸平レンズと平凸レンズとからなるビームエキスパンダにより構成されている。視準光学系11は、ビーム整形光学系8により音響光学素子9の有

10

20

30

40

50

効範囲を漏れなく通過するようにその光束径およびビームダイバージェンスを補正され、かつ、アライメント調節光学系 12 により光軸の位置および偏向を調節されたパルスレーザ光 L が、顕微鏡本体 3 の対物レンズ 3 a に対して適正な光束径とビームダイバージェンスになるように、その光束径およびダイバージェンスを補正するようになっている。さらに具体的には、視準光学系 11 は、対物レンズ 3 a の瞳位置において、パルスレーザ光 L が、その瞳径と略同等の光束径を有するように、その光束径およびダイバージェンスを補正するようになっている。

【0021】

本実施形態においては、ビーム整形光学系（反射光発生源）8 および視準光学系 11 において、それぞれに入射されるパルスレーザ光 L の一部が反射されるようになっている。

10

ビーム整形光学系 8 および視準光学系 11 の前段に設けられた $\lambda/4$ 波長板 13, 15 は、図 2 に示されるように、これらビーム整形光学系 8 または視準光学系 11 に入射される入射パルスレーザ光 L を直線偏光 P1 から円偏光 P2 に変換するとともに、これらビーム整形光学系 8 または視準光学系 11 において反射された反射パルスレーザ光 L を円偏光 P2 から直線偏光 P3 に変換するようになっている。この際、反射により円偏光 P2 の回転方向が円偏光 P2 に対して反転されるので、反射パルスレーザ光 L が $\lambda/4$ 波長板 13 により円偏光 P2 から直線偏光 P3 に変換される際には、入射パルスレーザ光 L に対して偏光方向が 90° 回転している。

【0022】

また、ビーム整形光学系 8 の後段に設けられた $\lambda/4$ 波長板 14 は、前段に設けられた $\lambda/4$ 波長板 13 により変換された円偏光 P2 のパルスレーザ光 L をそのまま通過させるので、入射パルスレーザ光 L と同一の偏光方向を有する直線偏光 P1 として後段の音響光学素子 9 に入射させることができるようになっている。

20

【0023】

顕微鏡本体 3 は、伝送光学系 5 から伝送されてきたパルスレーザ光 L を 2 次元的に走査するスキャナ 17、走査されたパルスレーザ光 L を伝送し集光する瞳投影レンズ 18、結像レンズ 19 および対物レンズ 3 a、対物レンズ 3 a により集光された標本 A からの蛍光 F をパルスレーザ光 L から分岐するダイクロイックミラー 20、パリアフィルタ 21 および集光レンズ 22 を介した蛍光 F を検出する光検出器 23、および該光検出器 23 からの信号に基づいて蛍光画像を構築する画像処理装置 24 を備えている。

30

【0024】

このように構成された本実施形態に係る光学装置 1 の作用について説明する。

本実施形態に係る光学装置 1 によれば、アライメント調整光学系 7 により光軸ズレが補正され、ビーム整形光学系 8 によりビーム径が調整されたパルスレーザ光 L が音響光学素子 9 の結晶に漏れなく入射される。音響光学素子 9 に入射されるパルスレーザ光 L は、図 2 に示されるように、2 枚の $\lambda/4$ 波長板 13, 14 を通過させられることにより、その偏光方向が、レーザ光源 4 から出射されたままの直線偏光状態に維持される。したがって、出射時と同一の適正な直線偏光状態のまま音響光学素子 9 に入射させることができ、音響光学素子 9 におけるパルスレーザ光 L の変調を適正に行うことができる。

【0025】

40

また、ビーム整形光学系 8 および視準光学系 11 においては、パルスレーザ光 L の一部が反射されることとなるが、いずれも同一の $\lambda/4$ 波長板 13, 15 を通過させられることにより、入射パルスレーザ光 L とは 90° 偏光方向の異なる直線偏光のパルスレーザ光 L としてレーザ光源 4 側に戻される。このような 90° 偏光方向の異なる直線偏光のパルスレーザ光 L は、レーザ光源 4 に備えられているブリュースターウィンドウ（図示略）等によって容易に遮断することができ、レーザ光源 4 の内部に戻ることを確実に防止して、レーザ発振の不安定化の発生を未然に防止することができる。

【0026】

特に、レーザ光源 4 として、ピコ秒以下の極短パルスレーザ光を発振するパルスレーザ光源あるいはレーザダイオードを採用することにより、反射戻り光によるレーザ発振の不

50

安定化を生じ易いこれらのレーザ光源 4 を用いた場合においても、確実に反射戻り光を遮断することができるという利点がある。

【 0 0 2 7 】

このような / 4 波長板 1 3 , 1 5 は、光アイソレータと比較して、構成が簡易であって安価に入手でき、確実に反射戻り光を遮断可能にすることができ、磁気を利用しないので外部に悪影響を与えず、かつ、群速度遅延分散が小さいという利点がある。

なお、 / 4 波長板 1 5 を通過したパルスレーザ光 L は、円偏光となって顕微鏡本体 3 に入射されるが、2 光子励起効果自体は、偏光に依存しないので、問題はない。

【 0 0 2 8 】

また、本実施形態においては音響光学素子 9 を偏光依存素子として例示し、該音響光学素子 9 への直線偏光状態を確保することとしたが、これに代えて、図 3 に示されるように、S H G 顕微鏡 3 0 に適用することとしてもよい。

図中、符号 3 1 は出力変調器、符号 3 2 は直線偏光を維持したまま、その方向を回転させる / 2 波長板、符号 3 3 はコンデンサレンズ、符号 3 4 , 3 5 はミラーである。

【 0 0 2 9 】

この S H G 顕微鏡 3 0 においては、視準光学系 1 1 のみが反射光発生源となるので、視準光学系 1 1 を挟む 2 箇所に / 4 波長板 1 3 , 1 4 を配置することにより、上記実施形態と同様にして、顕微鏡本体 3 に入射させるパルスレーザ光 L の直線偏光状態を維持し、かつ、レーザ光源 4 への反射戻り光を確実に遮断し易くすることができる。

【 0 0 3 0 】

また、図 4 に示されるように、微分干涉顕微鏡 4 0 に適用することとしてもよい。

図中、符号 4 1 は照明側微分干涉素子、符号 4 2 は観察側微分干涉素子、符号 4 3 は偏光素子である。

このようにすることで、偏光依存素子としての微分干涉顕微鏡 4 0 の顕微鏡本体 3 への入射パルスレーザ光 L の直線偏光状態を確保することができる。また、視準光学系 1 1 における反射パルスレーザ光が、レーザ光源 4 に戻ることを確実に防止することができる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 3 1 】

【図 1】本発明の一実施形態に係る光学装置を含むレーザ顕微鏡を模式的に示す全体構成図である。

【図 2】図 2 の光学装置のビーム整形光学系におけるレーザ光の偏光状態を説明する図である。

【図 3】図 1 の光学装置の変形例であって、S H G 顕微鏡に適用した場合を示す全体構成図である。

【図 4】図 1 の光学装置の他の変形例であって、微分干涉顕微鏡に適用した場合を示す全体構成図である。

【符号の説明】

【 0 0 3 2 】

- L パルスレーザ光
- 1 光学装置
- 3 , 3 顕微鏡本体 (偏光依存素子)
- 4 レーザ光源
- 5 伝送光学系
- 8 ビーム整形光学系 (反射光発生源)
- 9 音響光学素子 (偏光依存素子)
- 1 1 視準光学系 (反射光発生源)
- 1 3 , 1 4 , 1 5 / 4 波長板

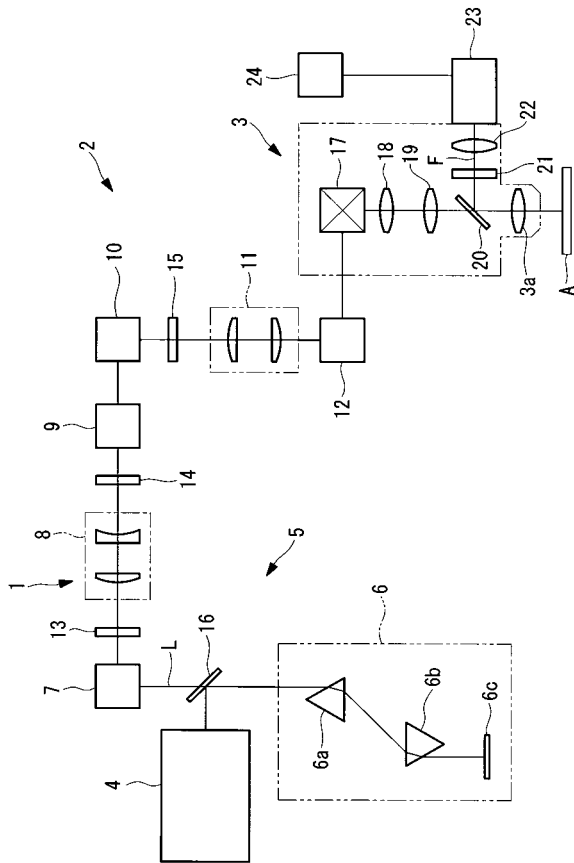
10

20

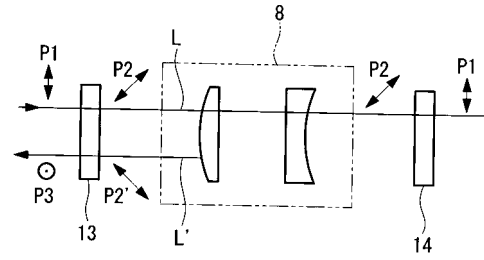
30

40

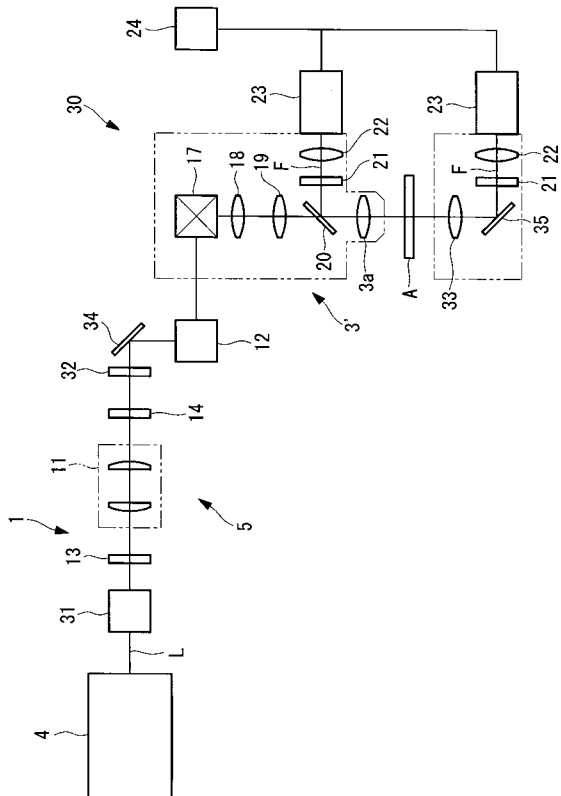
【図 1】



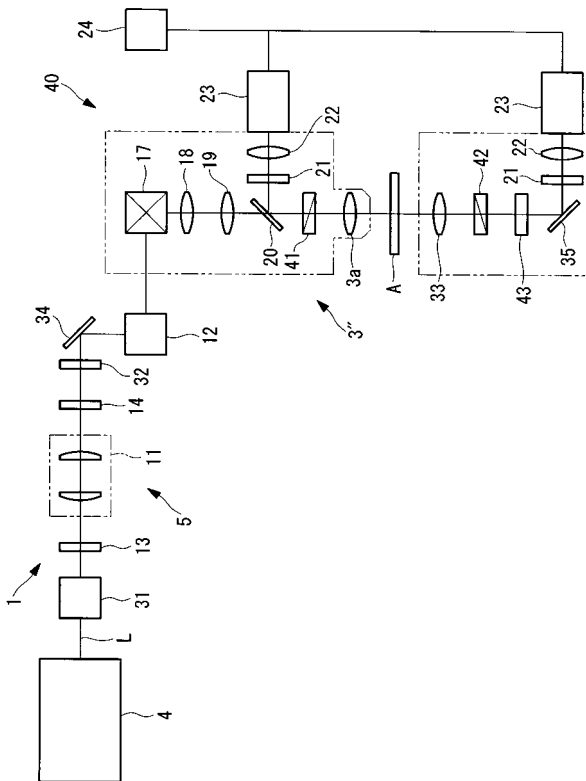
【図 2】



【図 3】



【図 4】



フロントページの続き

(56)参考文献 特開2006-275917(JP,A)
特開平08-035810(JP,A)
特開2003-098597(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G02B 21/00
G02B 27/28