(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3678456号
(P3678456)
(45)発行日　平成17年8月3日(2005.8.3)　(24)登録日　平成17年5月20日(2005.5.20)

(51)Int.Cl.[7]　F I
G02B 21/00　G02B 21/00

請求項の数 5　(全 12 頁)

(21)出願番号　特願平7-121510
(22)出願日　平成7年5月19日(1995.5.19)
(65)公開番号　特開平8-313812
(43)公開日　平成8年11月29日(1996.11.29)
審査請求日　平成14年5月16日(2002.5.16)

(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４３番２号
(74)代理人　100058479
弁理士　鈴江　武彦
(72)発明者　佐々木　浩
東京都渋谷区幡ヶ谷２丁目４３番２号　オリンパス光学工業株式会社内
(72)発明者　相方　隆
東京都渋谷区幡ヶ谷２丁目４３番２号　オリンパス光学工業株式会社内

審査官　山村　浩

最終頁に続く

(54)【発明の名称】走査型レーザ顕微鏡装置

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

試料に照射して蛍光を励起するため又は前記試料からの反射光を得るための第１のレーザ光、並びに、この第１のレーザ光および励起される蛍光のいずれとも異なる波長であって、かつ前記試料を透過した透過光を得るための第２のレーザ光、を発振するレーザ光源と、

このレーザ光源からの第１および第２のレーザ光を前記試料上に集光させる対物レンズと、

この対物レンズと前記レーザ光源の間に配置され、前記第１および第２のレーザ光を走査するためのレーザ光走査手段と、

前記蛍光又は前記反射光を検出する第１の光検出手段と、

前記透過光を検出する第２の光検出手段と、

前記第１のレーザ光の光路および前記第２のレーザ光の光路を前記対物レンズに対して同軸に導く第１の光学手段と、

一方のレーザ光の光路に設けられ、その光路を通過するレーザ光の集光位置を他方のレーザ光の光路を通過するレーザ光の集光位置に対して任意に調節可能な第２の光学手段と、

を有する走査型レーザ顕微鏡装置。

【請求項２】

前記第２の光学手段は、レーザ光を所定の直径に広げる複数の光学レンズからなるビー

ムエクスパンダであって、前記光学レンズの少なくとも１個を光軸方向に移動可能に構成したことを特徴とする請求項１記載の走査型レーザ顕微鏡装置。
【請求項３】
前記第１のレーザ光と前記第２のレーザ光が、それぞれ別のレーザ光源により発振されるように構成したことを特徴とする請求項１記載の走査型レーザ顕微鏡装置。
【請求項４】
前記第２の光学手段は、前記第２のレーザ光の光路に設けられていることを特徴とする請求項１または２に記載の走査型レーザ顕微鏡装置。
【請求項５】
前記第２の光学手段は、前記対物レンズに入射する光を集束光または発散光に調節するものであることを特徴する請求項１記載の走査型レーザ顕微鏡装置。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
【産業上の利用分野】
本発明は反射観察光学系例えば蛍光観察光学系と透過観察光学系を具備した走査型レーザ顕微鏡装置に関する。
【０００２】
【従来の技術】
従来、一般の走査型レーザ顕微鏡で、試料（標本）に照射されたレーザの反射光を利用した蛍光観察と、前記レーザで試料を透過した透過光を利用した透過観察の両方を、同時に行うものとして、図１３に示すものが、特願平５－３４８８０３号明細書で出願されている。
【０００３】
図１３は色素Ｉｎｄｏ－１を使用したカルシウムイオンCa^{2+}濃度測定（以下Ｉｎｄｏ－１観察と称する）と、透過観察を同時に行う走査型レーザ顕微鏡の概略図である。
【０００４】
なお、Ｉｎｄｏ－１観察とは、３５１nmの励起光で、４０５nmと４８０nmの中心波長の蛍光を得て、それらを測光し、その比によりカルシウム濃度を求めるものである。例えば、４０５nmの比率が高いとカルシウム濃度が低く、４８０nmの比率が高いとカルシウム濃度が高いことになる。
【０００５】
図１３に示すように少なくとも３５１ｎｍと５１５ｎｍの波長のレーザビームを出射し試料１０に照射するレーザ光源手段、例えばマルチラインアルゴンレーザ光源１、ビームエクスパンダ２、レーザラインフィルタ３、ダイクロイックミラー４、ガルバノメータスキャナ５，６、瞳投影レンズ７、プリズム８、対物レンズ９からなるものと、試料１０により反射されるレーザビームを分離し、各々を測光用光路上に配置された複数のフォトマルチプライヤ２０，２６に導く測光分離手段、例えば対物レンズ９、プリズム８、瞳投影レンズ７、ガルバノメータスキャナ５，６、ダイクロイックミラー４、集光レンズ１６、ダイクロイックミラー１７、吸収フィルタ１８、共焦点ピンホール１９、反射ミラー２２、吸収フィルタ２４、共焦点ピンホール２５からなるものと、フォトマルチプライヤ２６への透過観察用可視光の入射を防ぐ光学手段、例えばダイクロイックフィルタ２３とで構成され、透過観察光学系及び透過検出系を具備したものである。
【０００６】
レーザ光源１から発振された３５１ｎｍの励起光と、５１５ｎｍの透過観察用光は、ビームエクスパンダ２により、所定の直径の光束に広げられ、レーザラインフィルタ３により、３５１ｎｍと５１５ｎｍのレーザ光のみ透過し、ダイクロイックミラー４により３５１ｎｍと５１５ｎｍが反射し、ガルバノメータスキャナ５，６を通り、瞳投影レンズ７、対物レンズ９により試料１０上に集光する。
【０００７】
なお、この集光位置はガルバノメータスキャナ５，６により試料１０上を移動する。

ここで、試料１０に集光された３５１ｎｍのレーザ光は、４０５ｎｍと４８０ｎｍの蛍光を発生する。この２つ波長の光は、対物レンズ９、瞳投影レンズ７、ガルバノメータスキャナ５，６を前述とは逆方向に進み、ダイクロイックミラー４を透過する。

【０００８】

そして、集光レンズ１６を通り、測光用ダイクロィックミラー１７により、４０５ｎｍと４８０ｎｍの光に分割され、共焦点ピンホール１９，２５を通り、フォトマルチプライヤ２０，２６へ導かれて検出する。

【０００９】

一方、試料１０に集光された５１５ｎｍのレーザ光は、試料１０を透過し、コンデンサレンズ１１、ミラー１２、集光レンズ１３の透過観察光学系により、透過検出部１４に導かれ、検出される。

【００１０】

以上のような構成で、２つの蛍光４０５ｎｍと４８０ｎｍを測光するＩｎｄｏ－１観察と、５１５ｎｍの透過光による透過観察を同時に行うことができる、走査型レーザ顕微鏡装置となる。

【００１１】

【発明が解決しようとする課題】

以上述べた従来の走査型レーザ顕微鏡装置は、レーザ光の集光効果と合焦位置以外からの光を排除する共焦点光学系により、厚みのある組織標本を光学的にスライスすることができるというという特徴があり、コントラストがよく、分解能の高い観察を可能とし、またスライスした各画像を積み重ね、３次元観察を行うことも可能になる。

【００１２】

以上のような効果を利用すると、試料中の異なる２面を観察し、同時に表示することが可能で、実際にカルシウム濃度測定を行う蛍光観察面と、細胞の全体像を見るための透過観察面で生細胞の厚みの中で光軸方向に異なる面を観察したいという要求がある。つまり、蛍光観察は、細胞の核等のあるところの試料の内部を、また透過観察は細胞の全体像を把握するために、試料の表層面を観察することである。

【００１３】

前述した従来の走査型レーザ顕微鏡装置では、そのような観察を行う場合、最初に細胞内部の蛍光観察を行い、その後、ピエゾ素子等を用いてステージを光軸方向に移動する等で焦点面を光軸方向に動かし、細胞の表層面の透過観察を行うことになる。しかし、経時変化のない試料では前述の方法で問題がないが、生細胞のように時間と共に、常に動いて変化している試料の観察を行う場合、２つの観察をリアルタイムに行う必要があり、前述した従来の方法では正確に観察できない。

【００１４】

本発明の目的は、前記不具合を解消し、光軸方向にずらした所望の２つの面の蛍光観察と透過観察を同時に行うことができる走査型レーザ顕微鏡装置を提供することにある。

【００１５】

【課題を解決するための手段】

前記目的を達成するため、請求項１に対応する発明は、試料に照射して蛍光を励起するため又は前記試料からの反射光を得るための第１のレーザ光、並びに、この第１のレーザ光および励起される蛍光のいずれとも異なる波長であって、かつ前記試料を透過した透過光を得るための第２のレーザ光、を発振するレーザ光源と、

このレーザ光源からの第１および第２のレーザ光を前記試料上に集光させる対物レンズと、

この対物レンズと前記レーザ光源の間に配置され、前記第１および第２のレーザ光を走査するためのレーザ光走査手段と、

前記蛍光又は前記反射光を検出する第１の光検出手段と、

前記透過光を検出する第２の光検出手段と、

前記第１のレーザ光の光路および前記第２のレーザ光の光路を前記対物レンズに対して同

軸に導く第１の光学手段と、
一方のレーザ光の光路に設けられ、その光路を通過するレーザ光の集光位置を他方のレーザ光の光路を通過するレーザ光の集光位置に対して任意に調節可能な第２の光学手段と、
を有する走査型レーザ顕微鏡装置である。
【００１６】
前記目的を達成するため、請求項２に対応する発明は、前記第２の光学手段として、レーザ光を所定の直径に広げる複数の光学レンズからなるビームエクスパンダであって、前記光学レンズの少なくとも１個を光軸方向に移動可能に構成したことを特徴とする請求項１記載の走査型レーザ顕微鏡装置である。
【００１７】
前記目的を達成するため、請求項３に対応する発明は、前記第１のレーザ光と前記第２のレーザ光が、それぞれ別のレーザ光源により発振されるように構成したことを特徴とする請求項１記載の走査型レーザ顕微鏡装置である。
前記目的を達成するため、請求項４に対応する発明は、前記第２の光学手段は、前記第２のレーザ光の光路に設けられていることを特徴とする請求項１または２に記載の走査型レーザ顕微鏡装置である。
前記目的を達成するため、請求項５に対応する発明は、前記第２の光学手段は、前記対物レンズに入射する光を集束光または発散光に調節するものであることを特徴する請求項１記載の走査型レーザ顕微鏡装置である。
【００１８】
【作用】
請求項１に対応する発明によれば、試料からの蛍光観察を行うためのレーザ光の焦点位置に対して試料の透過光を観察するためのレーザ光の焦点位置を光軸方向に任意にずらすことが可能なので、光軸方向にずれた任意の２つの面の蛍光観察と透過観察を同時に行うことができる。
【００１９】
請求項２に対応する発明によれば、透過光用レーザ光の焦点位置と蛍光用レーザ光の焦点位置をずらすために、特別光学系を必要としない。
請求項３に対応する発明によれば、第１のレーザ光と第２のレーザが、それぞれ別のレーザ光源に発振されるようにしたので、透過光用レーザ光の波長と蛍光用レーザの反射光の波長を離すことができ、透過、反射特性が向上する。
【００２０】
【実施例】
以下、本発明の実施例について図面を参照して説明する。
＜第１実施例＞
第１実施例は図１～図６に示すように構成され、その概略構成は次のようになっている。
すなわち、第１のレーザ光としての試料１０を励起して蛍光（試料１０に入射した光により励起され、発生するもので、入射光とは波長の異なる光）を発生させる蛍光観察用レーザ並びに第２のレーザ光としての試料１０を透過しかつ蛍光観察用レーザと発生する蛍光のいずれとも波長が異なる透過観察用レーザを得るためのレーザ光源例えばマルチラインアルゴンレーザ光源１と、
このレーザ光源１からのレーザ光を試料１０上に集光させるための対物レンズ４７と、この対物レンズ４７とレーザ光源１の間に配置され、レーザ光を走査するためのレーザ光走査手段例えばＸ－Ｙガルバノメータスキャナ４３と、
前記蛍光を検出する第１の光検出手段例えばフォトマルチプライヤ５８ａ，５８ｂと、前記透過光を検出する第２の光検出手段例えば透過光検出器１４と、前記レーザ光源１から発振された蛍光観察用レーザと透過観察用レーザをそれぞれ別の光路３７、３８に分岐させるダイクロイックミラー３３ａと、
分岐された蛍光観察用レーザの光路３７と透過観察用レーザの光路３８を対物レンズ４７に向けて同軸に導く第１の光学手段例えばダイクロイックミラー３３ｂと、前記透過観察

用レーザ光の光路上に配置され、前記透過観察用レーザ光の焦点位置を、前記蛍光観察用レーザの焦点位置に対して光軸方向に移動可能な第２の光学手段例えばレンズ３６ａ，３６ｂからなるビームエクスパンダとを具備したものである。

【００２１】

図１に示すように、ダイクロイックミラー３３ａ，３３ｂは、前記蛍光観察用レーザを透過し、透過観察用レーザを反射させるものである。ビームエクスパンダの光学系３５および３６ａ，３６ｂは、ダイクロイックミラー３３ａにより分岐されたレーザ光路３７および３８上に配置されており、レンズ３６ｂはレンズ枠３９に保持されている。

【００２２】

また、レンズ枠３９は、摺動軸４０を介して光軸方向に移動可能な構成となっている。また、ダイクロイックミラー３３ｂは、光路３７と３８を同軸に導く位置にある。励起ダイクロイックミラー４２は、蛍光観察用レーザ光と、透過観察用レーザ光を反射し、試料１０から発生した蛍光の波長、この場合は４０５ｎｍと４８０ｎｍを透過するものである。

【００２３】

ＸーＹガルバノメータスキャナ４３は、集光スポットをＸーＹ方向に走査するものである。プリズム８は接眼観察光路に導くものである。

レーザ光源１から発振されたレーザ光は、レーザラインフィルタ３２により、蛍光観察用の３５１ｎｍと透過観察用の５１５ｎｍのみ選択される。そして、ダイクロイックミラー３３ａにより３５１ｎｍのレーザ光は、光路３７に進み、ビームエクスパンダ３５により、所定の直径の平行光に拡大される。

【００２４】

また、５１５ｎｍのレーザ光は、反射した光路３８に進み、ビームエクスパンダ３６ａ，３６ｂにより、３５１ｎｍのレーザ光と同様に所定の直径の平行光に拡大される。

【００２５】

そして、ダイクロイックミラー３３ｂにより、３５１ｎｍのレーザ光と５１５ｎｍのレーザ光は同軸に導かれ、ダイクロイックミラー４２により、図１の下方に反射され、ＸーＹガルバノメータスキャナ４３、瞳投影レンズ７、結像レンズ４６を通り、対物レンズ４７により試料１０上にスポットで焦光される。このスポットは、ＸーＹガルバノメータスキャナ４３によりＸーＹ方向に試料１０上を走査される。

【００２６】

ここでは、５１５ｎｍのレーザ光は、試料１０を透過し、コンデンサレンズ１１、ミラー１２、集光レンズ１３により検出器１４を介してフレームメモリ１５に導かれる。

【００２７】

一方、試料１０から発生した４０５ｎｍと４８０ｎｍの蛍光は、対物レンズ４７、結像レンズ４６、瞳投影レンズ７、ＸーＹガルバノメータスキャナ４３を前述とは逆方向に進み、ダイクロイックミラー４２を通過する。そして、集光レンズ５３を通り、測光ダイクロイックミラー５４により４０５ｎｍと４８０ｎｍの２つの蛍光は分岐される。

【００２８】

この分岐された４０５ｎｍの蛍光は、吸収フィルタ５６ａ、共焦点ピンホール５７ａを通り、フォトマルチプライヤ５８ａを介してフレームメモリ５９ａに導かれる。また分岐された４８０ｎｍの蛍光は、それぞれ吸収フィルタ５６ｂ、共焦点ピンホール５７ｂを通り、フォトマルチプライヤ５８ｂを介してフレームメモリ５９ｂに導かれる。

【００２９】

そして、フレームメモリ５９ａ，５９ｂで４０５ｎｍと４８０ｎｍの光量比を算出し、透過観察の検出器１４のフレームメモリ１５のデータを処理して蛍光観察（この場合Ｉｎｄｏー１の観察）と透過観察を同時に行うことになる。

【００３０】

図２は、図１の試料１０を拡大した図であり、試料１０の厚さ方向で、蛍光観察面１０´を蛍光観察する時に、透過観察面１０ａまたは１０ｂのように、１０´とは別の面を透過観察したい場合、透過観察用の光を、透過観察面１０ａまたは１０ｂに集光させる必要が

ある。
【００３１】
図３および図４は図１のビームエクスパンダ３５付近を拡大した図であり、図５および図６は焦光面をずらした時の試料１０、対物レンズ４７の拡大図である。
【００３２】
図３に示すように、透過光用レーザ光の５１５ｎｍの光路上のビームエクスパンダのレンズ３６ａ，３６ｂのうち、レンズ枠３９に固定されたレンズ３６ｂを、左方向に所定量動かした状態を示す図である。
【００３３】
この時、５１５ｎｍのレーザ光は、レンズ３６ｂを通り、透過観察用のレーザの光線３８ａのように発散光となる。また、蛍光観察用のレーザ光３５１ｎｍは、ビームエクスパンダ３５により、所定の大きさの平行光３７′となる。この２つの３５１ｎｍと５１５ｎｍのレーザ光は、図１と同様に同じ光路を進み、図５で示すように３５１ｎｍの平行光３７′は対物レンズ４７を出て試料１０の蛍光観察面１０′に集光し、５１５ｎｍのレーザ光は対物レンズ４７を出て試料１０ａ面に集光する。
【００３４】
図４は、透過光用レーザ光５１５ｎｍの光路上のビームエクスパンダ３５のレンズ３６ａ，３６ｂのうち、レンズ枠３９に固定されたレンズ３６ｂを右方向に所定量動かした状態を示す図である。このとき、５１５ｎｍのレーザ光はレンズ３６ｂを通り、光線３８ｂのように集束光となる。
【００３５】
また、蛍光観察用のレーザ光３５１ｎｍは、図３と同じように平行光３７′となる。この２つの３５１ｎｍと５１５ｎｍのレーザ光は、図１で説明した光路とき同じ光路を進み、図６で示すように、３５１ｎｍの平行光３７′は試料１０の蛍光観察面１０′に集光し、５１５ｎｍのレーザ光３８ｂは試料１０の透過観察面１０ｂに集光する。従って、図３および図４でのレンズ枠３９の移動量を調整することにより、透過観察面（焦点面）１０ａ，１０ｂを光軸方向に任意にずらして観察できる。
【００３６】
以上説明したように、透過光用レーザのレーザ光路上にあるビームエクスパンダの光学系であるレンズ３６ａ，３６ｂを動かして透過光用レーザの焦点面を蛍光観察用レーザの焦点面に対して任意にずらすことができるようにしたので、厚さのある試料１０の２つの透過観察面１０ａ，１０ｂの透過観察、蛍光観察をリアルタイムに行うことが可能な走査型レーザ顕微鏡が得られる。
【００３７】
＜第２実施例＞
第２実施例は図７～図９に示すように構成され、第１実施例と同一部分には同一符号を付してその説明を省略する。図１とは異なる点は、図１のレーザ光源１と励起ダイクロイックミラー４２の間に設けた構成を、励起ダイクロイックミラー４２ｇ、透過観察用レーザの光路６１、Ｇｒｅｅｎ　ＨｅーＮｅレーザ光源６２、レーザラインフィルタ６３、ビームエクスパンダ６４、第１の光学手段を構成するダイクロイックミラー６５、ビームエクスパンダのレンズ６６ａ，６６ｂ、レンズ枠６７、摺動軸６８とで構成したものである。
【００３８】
すなわち、レーザラインフィルタ６３はレーザ光源１からのレーザ光のうち、蛍光観察用の３５１ｎｍのレーザ光のみ透過させるものである。ビームエクスパンダ６４は、レーザラインフィルタ６３を透過したレーザ光の直径を拡大するものである。レンズ枠６７にはビームエクスパンダのレンズ６６ｂが固定され、またレンズ枠６７は摺動軸６８を介してこの軸線方向に摺動可能に支持されている。透過光用レーザの光路６１に、第２のレーザ光源として５４３ｎｍの波長のレーザ光を発振するＧｒｅｅｎ　ＨｅーＮｅレーザ光源６２が設けられている。
【００３９】

このような構成のものにおいて、レーザ光源１から発振したレーザ光は、レーザラインフィルタ６３により、蛍光観察用の３５１ｎｍのレーザ光のみ透過され、ビームエクスパンダ６４により、所定の直径を持つ平行光となり、ダイクロイックミラー６５を透過する。

【００４０】

また、第２のレーザ光源６２からのレーザ光は、は、ビームエクスパンダの光学系のレンズ６６ａ，６６ｂを通る。このうち、レンズ６６ｂはレンズ枠６７に固定されており、摺動軸６８に対して光軸方向に移動可能な構成となっている。

【００４１】

そして、レンズ枠６７が図７の位置にある場合には、レンズ６６ｂを通ったレーザ光は、平行光となり、また図８に示すようにレンズ６６ａの方に移動した場合は、レンズ６６ｂを通ったレーザ光は、発散光６１ａとなり、さらに図９ようにレンズ枠６７がレンズ６６ａと離れた方向に移動した場合は、レンズ６６ｂを通ったレーザ光は、集束光６１ｂとなってダイクロイックミラー６５によりいずれも反射され、第１のレーザ光源１からのレーザ光と同軸に進む。

【００４２】

そして、励起ダイクロイックミラー４２ｇにより、蛍光観察用の３５１ｎｍのレーザ光と、透過観察用の５４３ｎｍのレーザ光が反射される。その後は、第１実施例と同様の経路で検出器１４、フォトマルチプライヤ５８ａ，５８ｂに導かれて検出される。

【００４３】

なお、図８の状態で、透過観察用のレーザ光６１ａは、発散光となっているので、図５のように蛍光観察用のレーザ光の焦点位置よりコンデンサレンズ１１側に焦光する。また、図９の状態では、透過観察用のレーザ光６１ｂは、集束光となっているので、図６のように蛍光観察用のレーザ光の焦点位置より対物レンズ４７側に集光する。

【００４４】

以上述べた第２実施例は、前述した第１実施例と同様な効果が得られることは言うまでもない。第１実施例では、試料１０から発生した蛍光の１つが４８０ｎｍであり、透過観察用のレーザ光の波長が５１５ｎｍと近く、４８０ｎｍを透過し、５１５ｎｍを反射させる励起ダイクロイックミラー４２の透過特性が落ちるということが考えられる。これに対して、第２実施例では透過観察用レーザ光源を別のレーザ光源にできることから、蛍光の４８０ｎｍと離れた５４３ｎｍの波長を発振するＧｒｅｅｎ　ＨｅーＮｅレーザを使用できるので、励起ダイクロイックミラー４２ｇの透過反射特性を向上できる。

【００４５】

＜第３実施例＞

第３実施例は図１０に示すように構成されている。

レーザ光源６９から発振したレーザ光は、レーザラインフィルタ７０により、蛍光観察用の波長のレーザ光と、透過観察用の波長のレーザ光のみ透過され、ビームエクスパンダ７１により所定の直径をもつ平行光に拡大される。ダイクロイックミラー７２ａ，７２ｂ（第１の光学手段を構成する）は蛍光観察用レーザ光を透過し、透過観察用レーザ光を反射する特性をもつもので、蛍光観察用レーザ光は、ダイクロイックミラー７２ａを透過し、レーザ光路７３を進み、さらにダイクロイックミラー７２ｂも透過し、励起ダイクロイックミラー７５に導かれる。

【００４６】

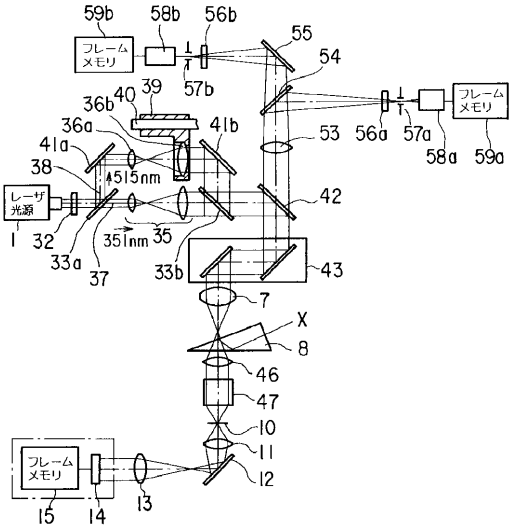
一方、透過観察用レーザ光は、ダイクロイックミラー７２ａで反射し、レーザ光路７４を進む。そして、レンズ７６ａ，７６ｂを通り、ダイクロイックミラー７２ｂで反射され、蛍光観察用レーザ光と同軸に導かれ、励起ダイクロィックミラー７５へ導かれる。ここで、レーザ光路７４上の２つレンズ７６ａまたは７６ｂの間隔を変えることにより、励起ダイクロイック７５へ導かれるレーザ光を、平行光、発散光、集束光に変化させ、レーザ光路７４を進んだ、透過観察用レーザ光の試料１０上の焦点面を蛍光観察用レーザ光の焦点面に対して任意にずらすことが可能となる。

【００４７】

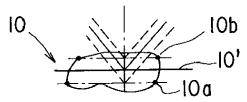
＜第４実施例＞
図１１に示すように、第１実施例のビームエクスパンダのレンズ３６ａ，３６ｂ、第２実施例のビームエクスパンダのレンズ６６ａ，６６ｂ、第３実施例のビームエクスパンダのレンズ７６ａ，７６ｂは、いずれも凸レンズ同士の組み合わせであったものを、凹レンズ７８ａと凸レンズ７８ｂの組み合わせとし、凹レンズ７８ａを固定とし、かつ凸レンズ７８ｂを光軸方向に移動自在に構成したものである。
【００４８】
このように構成した移動可能な凸レンズ７８ｂをもつビームエクスパンダを透過観察用のレーザ光路に配置されているので、凸レンズ７８ｂを光軸方向に移動させることにより、凸レンズ７８ｂを透過して出るレーザ光を、発散光、集束光、平行光にすることが可能になる。従って、透過観察用のレーザ光の焦点面を、蛍光観察用のレーザ光の焦点面に対して任意にずらすことが可能になる。
【００４９】
＜第５実施例＞
図１２に示すように、ダイクロイックミラー７９ａ，７９ｂ（第１の光学手段を構成する）、ビームエクスパンダのレンズ８０ａ，８０ｂ、蛍光観察用レーザのレーザ光路８１、レーザ光源８２、レーザラインフィルタ８３、ミラー８４ａ，８４ｂからなり、以下のように構成されている。
【００５０】
すなわち、透過観察用レーザ光を反射し、蛍光観察用レーザ光を透過するダイクロイックミラー７９ａを２群からなるビームエクスパンダ光学系のレンズ８０と８０ｂかつ８０と８０ａの間に設け、透過観察用レーザ光の進むレーザ光路８１上のレンズ８０ａを、光軸方向に移動させるようにして透過観察用レーザ光の焦点面に対して任意にずらすことが可能になる。
【００５１】
さらに、ビームエクスパンダのレンズのうちの１つのレンズ８０が、第１実施例では２個必要となるのに対し、第４実施例では透過観察用レーザと蛍光観察用レーザと共用することになり、１個で足り、安価となる。
【００５２】
＜変形例＞
前述の実施例では、第１のレーザ光は蛍光を発生するための励起光として用い、かつ第１の光検出器では発生した蛍光を検出するものとして説明したが、これを第１のレーザ光を単なる試料の照明光として使用し、第１の光検出器で試料からの反射光を検出するようにしてもよい。
【００５３】
また、前述した実施例では、第２の光学手段（ビームエクスパンダの光軸方向に移動可能なレンズ）を透過観察用レーザ（第２のレーザ）の光路に設けた構成を示したが、蛍光観察用レーザ（第１のレーザ）の光路に設けても同じ効果が得られる。
【００５４】
【発明の効果】
本発明によれば、光軸方向にずらした所望の２つの面の蛍光観察と透過観察を同時に行うことができる走査型レーザ顕微鏡装置を提供できる。
【図面の簡単な説明】
【図１】本発明の走査型レーザ顕微鏡装置の第１実施例の概略構成を示す図。
【図２】図１の試料の拡大図。
【図３】図１のビームエクスパンダ付近を拡大した詳細説明図。
【図４】図１のビームエクスパンダ付近を拡大した詳細説明図。
【図５】図３および図４においてレンズ枠を動かしたときの対物レンズ近辺の拡大図。
【図６】図３および図４においてレンズ枠を動かしたときの対物レンズ近辺の拡大図。
【図７】本発明の走査型レーザ顕微鏡装置の第２実施例の概略構成を示す図。

【図８】図７のビームエクスパンダ付近を拡大した詳細説明図。
【図９】図７のビームエクスパンダ付近を拡大した詳細説明図。
【図１０】本発明の走査型レーザ顕微鏡装置の第３実施例の概略構成を示す図。
【図１１】本発明の走査型レーザ顕微鏡装置の第４実施例の概略構成を示す図。
【図１２】本発明の走査型レーザ顕微鏡装置の第５実施例の概略構成を示す図。
【図１３】従来の技術を説明するための図。
【符号の説明】
１…マルチラインアルゴンレーザ光源、２…ビームエクスパンダ、３…レーザラインフィルタ、４…ダイクロイックミラー、５，６…ガルバノメータスキャナ、７…瞳投影レンズ、８…接瞳観察光路へ導くプリズム、１０…試料、１０′…蛍光観察面、１０ａ，１０ｂ…透過観察面、１１…コンデンサレンズ、１２…反射ミラー、１３…コレタクレンズ、１４…透過検出器、３２…レーザラインフィルタ、３３ａ，３３ｂ…ダイクロイックミラー、３５…ビームエクスパンダ、３６ａ，３６ｂ…ビームエクスパンダのレンズ、３７…蛍光観察用レーザのレーザ光路、３８…透過観察用レーザのレーザ光路、３９…レンズ枠、４０…摺動軸、４１ａ，４１ｂ…ミラー、４２，４２ｇ…励起ダイクロイックミラー、４３…ＸーＹガルバノメータスキャナ、４６…結像レンズ、４７…対物レンズ、６１…透過観察用レーザの光路、６２…Ｇｒｅｅｎ　ＨｅーＮｅレーザ、６３…レーザラインフィルタ、６４…ビームエクスパンダ、６５…ダイクロイックミラー、６６ａ，６６ｂ…ビームエクスパンダのレンズ、６７…レンズ枠、６８…摺動軸、６９…レーザ光源、７０…レーザラインフィルタ、７１…ビームエクスパンダ、７２ａ，７２ｂ…ダイクロイックミラー、７３…蛍光観察用レーザのレーザ光路、７４…透過観察用レーザのレーザ光路、７５…励起ダイクロイックミラー、７６ａ，７６ｂ…ビームエクスパンダのレンズ、７７ａ，７７ｂ…ミラー、７８ａ，７８ｂ…ビームエクスパンダのレンズ、７９ａ，７９ｂ…ダイクロイックミラー、８０ａ，８０ｂ…ビームエクスパンダのレンズ、８１…蛍光観察用レーザのレーザ光路、８２…レーザ光源、８３…レーザラインフィルタ、８４ａ，８４ｂ…ミラー。

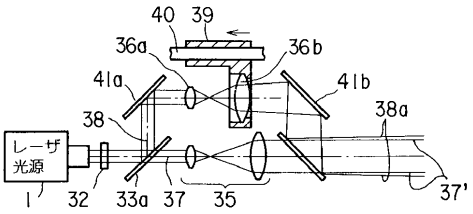
【図１】



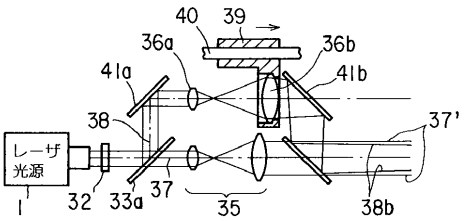
【図２】



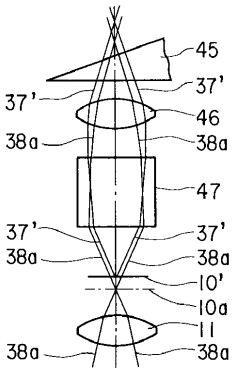
【図３】



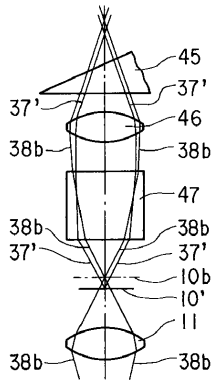
【図４】



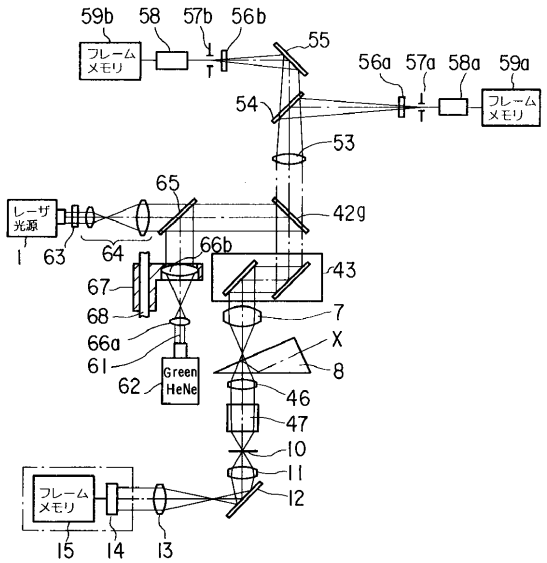
【図５】



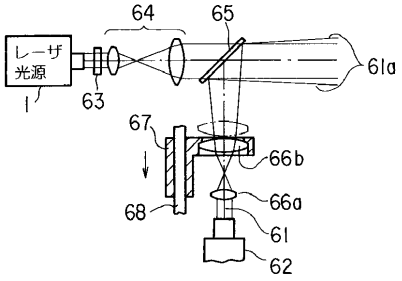
【図６】



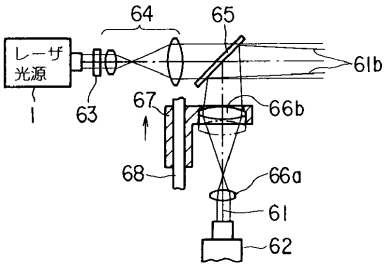
【図７】



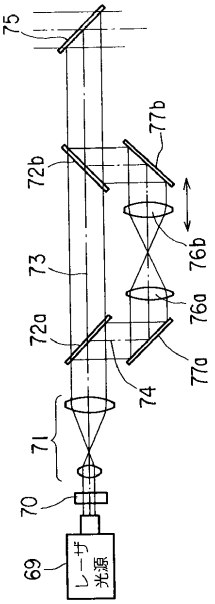
【図８】



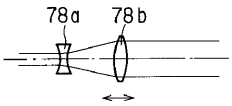
【図９】



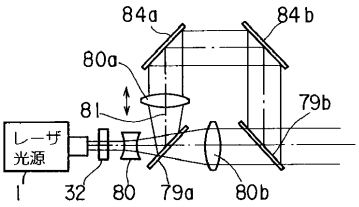
【図１０】



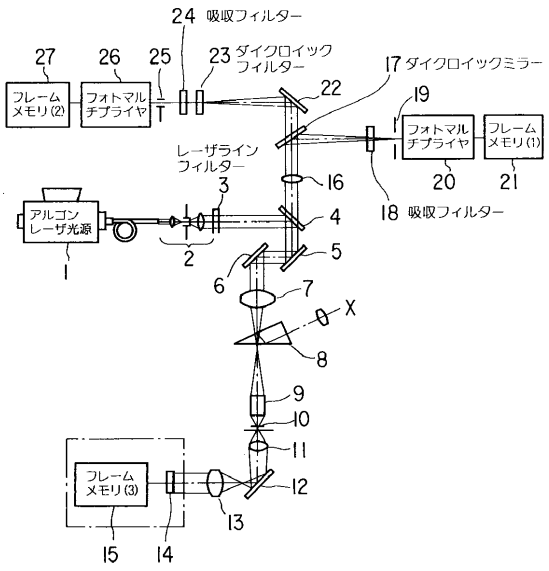
【図１１】



【図１２】



【図１３】



フロントページの続き

(56)参考文献 特開平０７－０１３０８３（ＪＰ，Ａ）
特表平０６－５０６５３８（ＪＰ，Ａ）
特開平０５－１３４１８６（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.[7]，ＤＢ名)
G02B 21/00-21/36