

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号
特許第4885429号
(P4885429)

(45) 発行日 平成24年2月29日 (2012. 2. 29)

(24) 登録日 平成23年12月16日 (2011. 12. 16)

(51) Int. Cl.

F I

GO 2 B 21/06 (2006. 01)

GO 2 B 21/00 (2006. 01)

GO 2 B 21/06

GO 2 B 21/00

請求項の数 3 (全 10 頁)

(21) 出願番号	特願2004-143579 (P2004-143579)	(73) 特許権者	000000376
(22) 出願日	平成16年5月13日 (2004. 5. 13)		オリンパス株式会社
(65) 公開番号	特開2005-326549 (P2005-326549A)		東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号
(43) 公開日	平成17年11月24日 (2005. 11. 24)	(74) 代理人	100118913
審査請求日	平成19年3月27日 (2007. 3. 27)		弁理士 上田 邦生
		(74) 代理人	100112737
			弁理士 藤田 考晴
		(72) 発明者	中田 竜男
			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	森内 正明
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 光刺激装置および光走査型観察装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

光源と、
該光源からの光を走査する走査部と、
該走査部により走査された光を標本上に結像させる対物光学系とを備え、
前記走査部が、
入力される振動周波数に応じて回折角度を一方向に変化させる第1の音響光学素子と、
該第1の音響光学素子から発せられた光を、該第1の音響光学素子による回折方向とは
交差する方向に回折させる第2の音響光学素子と、
前記第1の音響光学素子および前記第2の音響光学素子に入力される振動周波数を固定
して、前記第1の音響光学素子および前記第2の音響光学素子による回折角度を固定する
回折角度固定手段とを備え、
前記対物光学系が、
前記走査部からの光を結像させる第1の対物レンズと、
該第1の対物レンズによる結像位置に一端面を配置する光ファイバ束と、
該光ファイバ束の他端面に配置された第2の対物レンズとを備える光刺激装置。

【請求項 2】

第1の光源と、
該第1の光源からの光を走査する第1の走査部と、
該第1の走査部により走査された光を標本上に結像させる対物光学系と、

該対物光学系および第 1 の走査部を介して戻り光を検出する光検出器と、
第 2 の光源と、
該第 2 の光源からの光を走査する第 2 の走査部と、
該第 2 の走査部により走査された光の光軸を前記第 1 の光源からの光軸に一致させる光軸結合手段とを備え、
前記第 2 の走査部が、
入力される振動周波数に応じて回折角度を一方向に変化させる第 1 の音響光学素子と、
該第 1 の音響光学素子から発せられた光を、該第 1 の音響光学素子による回折方向とは交差する方向に回折させる第 2 の音響光学素子と、
前記第 1 の音響光学素子および前記第 2 の音響光学素子に入力される振動周波数を固定して、前記第 1 の音響光学素子および前記第 2 の音響光学素子による回折角度を固定する回折角度固定手段とを備え、
前記対物光学系が、
前記走査部からの光を結像させる第 1 の対物レンズと、
該第 1 の対物レンズによる結像位置に一端面を配置する光ファイバ束と、
該光ファイバ束の他端面に配置された第 2 の対物レンズとを備える光走査型観察装置。

10

【請求項 3】

前記第 1 の走査部が、集光ディスクおよびピンホールディスクを回転させるディスク型走査部である請求項 2 に記載の光走査型観察装置。

【発明の詳細な説明】

20

【技術分野】

【0001】

この発明は、光刺激装置および光走査型観察装置に関するものである。

【背景技術】

【0002】

従来、生物試料等の標本を生きたままの状態(in vivo)拡大観察する光学顕微鏡として、特許文献 1 に示される光ファイバ顕微鏡が提案されている。この顕微鏡は、レーザ光源から発せられたレーザ光を光ファイバ束の一端面に結像させる第 1 の対物レンズと、光ファイバ束の他端面に配置された第 2 の対物レンズとを備え、レーザ光走査器により、レーザ光源からのレーザ光を標本上において 2 次元的に走査させる構造のものである。

30

【0003】

レーザ光走査器としては、ミラー角度を変化させることで、レーザ光の反射方向を変化させるガルバノミラーやポリゴンミラー、レーザ光を通過させるピンホールの位置を変化させることで標本上の光スポットの位置を移動させるディスクスキャン方式等が知られている。

【特許文献 1】特開 2003 - 344777 号公報（図 1 等）

【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、一般に、ガルバノミラーの振動周波数は 500 Hz 程度であり、それ以上の高速走査は困難である。また、ガルバノミラーの角度は、検出器によって検出しておく必要があり、装置が大型化するおそれがある。

40

また、振動周波数を高くしようとすると、光量が低下するため、検出器の感度を高める必要があり、コストが高くなるという問題がある。また、検出器の感度を補うために、照射する光の強度を増加させたのでは、標本にダメージを与えることが考えられ、好ましくない。

【0005】

さらに、共振ガルバノミラーのような高速振動するガルバノミラーもあるが、検出器の感度に限界があり、画像取得のために使用するのは実用的ではなく、また、特定の位置に光を停止させておくことができない不都合がある。

50

また、ポリゴンミラーの場合も同様の不都合が考えられる。

【0006】

本発明は、上述した事情に鑑みてなされたものであって、標本に対して光刺激を与える位置を高速に走査させることができ、かつ、特定の位置に光刺激位置を固定することが可能な光刺激装置および光走査型観察装置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】

【0007】

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。

本発明は、光源と、該光源からの光を走査する走査部と、該走査部により走査された光を標本上に結像させる対物光学系とを備え、前記走査部が、入力される振動周波数に応じて回折角度を一方向に変化させる第1の音響光学素子と、該第1の音響光学素子から発せられた光を、該第1の音響光学素子による回折方向とは交差する方向に回折させる第2の音響光学素子と、前記第1の音響光学素子および前記第2の音響光学素子に入力される振動周波数を固定して、前記第1の音響光学素子および前記第2の音響光学素子による回折角度を固定する回折角度固定手段とを備え、前記対物光学系が、前記走査部からの光を結像させる第1の対物レンズと、該第1の対物レンズによる結像位置に一端面を配置する光ファイバ束と、該光ファイバ束の他端面に配置された第2の対物レンズとを備える光刺激装置を提供する。

【0008】

本発明によれば、光源から発せられた光が走査部により走査され、対物光学系により標本上に結像される。この場合において、音響光学素子からなる走査部の作動により、入力する振動周波数に応じた回折角度で光源からの光が回折されて出射される。音響光学素子によれば、 1×10^6 Hz程度の振動数で光を走査することができ、高速に光刺激位置を移動させることができる。その結果、高速の光刺激に対する標本の反応を観察することが可能となる。また、入力する振動周波数を固定しておくことにより、所望の回折角度に固定して、特定の光刺激位置に光を照射することもできる。

【0010】

本発明によれば、第1の音響光学素子により一方向に移動させた光刺激位置を、第2の音響光学素子によりこれに交差する方向に移動させることにより、光刺激位置を2次元的に変化させることができる。また、各音響光学素子に入力する振動周波数を連続的に変化させることにより、光刺激位置をそれぞれ交差する方向に連続的に移動させ、2次元的に光を走査させることができる。

【0011】

また、本発明は、第1の光源と、該第1の光源からの光を走査する第1の走査部と、該第1の走査部により走査された光を標本上に結像させる対物光学系と、該対物光学系および第1の走査部を介して戻る戻り光を検出する光検出器と、第2の光源と、該第2の光源からの光を走査する第2の走査部と、該第2の走査部により走査された光の光軸を前記第1の光源からの光軸に一致させる光軸結合手段とを備え、前記第2の走査部が、入力される振動周波数に応じて回折角度を一方向に変化させる第1の音響光学素子と、該第1の音響光学素子から発せられた光を、該第1の音響光学素子による回折方向とは交差する方向に回折させる第2の音響光学素子と、前記第1の音響光学素子および前記第2の音響光学素子に入力される振動周波数を固定して、前記第1の音響光学素子および前記第2の音響光学素子による回折角度を固定する回折角度固定手段とを備え、前記対物光学系が、前記走査部からの光を結像させる第1の対物レンズと、該第1の対物レンズによる結像位置に一端面を配置する光ファイバ束と、該光ファイバ束の他端面に配置された第2の対物レンズとを備える光走査型観察装置を提供する。

【0012】

本発明によれば、第1の光源から発せられた光が第1の走査部により走査されて、対物光学系により標本上に結像される。標本から発せられた戻り光は、対物光学系および第1の走査部を介して同一光路を戻り、光検出器により検出される。また、第2の光源から発

10

20

30

40

50

せられた光は第2の走査部により走査され、光軸結合手段によって第1の光源からの光軸と同一の光軸に入射される。そして、第1の光源からの光と同じ対物光学系を通して標本上に走査される。この場合において、第2の走査部が音響光学素子により構成されているので、光刺激が高速に行われ、その結果得られる画像を光検出器により検出することが可能となる。

【0013】

このようにすることで、2次元的に高速に光刺激が行われた標本の画像を光検出器により検出することが可能となる。

【0014】

さに、上記発明においては、前記第1の走査部が、集光ディスクおよびピンホールディスクを回転させるディスク型走査部であることが好ましい。

10

このようにすることで、ピンホールディスクに設けた多数のピンホールによって、標本上を迅速に走査して、光刺激に対する標本の反応を観察することができる。

【発明の効果】

【0015】

本発明によれば、音響光学素子に加える振動周波数を高速に変化させることにより、光刺激位置を高速に移動させた標本の反応を得ることができる。また、音響光学素子に加える振動周波数を所定の値に固定することにより、特定の光刺激位置に光を照射させ続けることができる。これにより、光刺激位置に光を照射し続けた場合の標本の反応を得ることができる。

20

【発明を実施するための最良の形態】

【0016】

以下、本発明の一実施形態に係る光刺激装置について、図1および図2を参照して説明する。

本実施形態に係る光刺激装置は、図1に示されるように、レーザ光を発するレーザ光源2と、レーザ光を拡大するビームエキスパンダ3と、第1の音響光学素子(AOD: Acoust-Optical Device)4と、第2の音響光学素子5と、これら音響光学素子4, 5を制御するAOD制御装置6と、第1の音響光学素子4から発せられた光を所定の光束径に保持するテレスコープレンズ7と、前記第2の音響光学素子5から出射された光の中間像を形成する瞳投影レンズ8と、該瞳投影レンズ8により中間像を形成した光を集光する結像レンズ9と、該結像レンズ9により集光された光を結像させる第1の対物レンズ10と、該第1の対物レンズ10による結像位置に一端面を配置する光ファイバ束11と、該光ファイバ束11の他端面に配置された第2の対物レンズ12とを備えている。第2の対物レンズ12は、光ファイバ束11により伝播されてきた光を、該第2の対物レンズ12の先端に対向配置された実験小動物等の標本Aの観察対象部位に結像させるようになっている。

30

【0017】

前記第1の音響光学素子4は、前記AOD制御装置6から、内蔵されているピエゾ変換素子(図示略)に電圧が供給されることにより、ピエゾ変換素子を介して結晶(例えば、モリブデン酸鉛等)に高周波振動を加え、結晶を透過する光の回折角度を一方向に、例えば、図1に示す例では、紙面に沿う方向に変化させるようになっている。第1の音響光学素子4からは、入射する光に対してまっすぐに透過する0次光も出射されるが、本実施形態では、この0次光は利用せず、それに隣接する+1次光を利用するようになっている。

40

【0018】

前記第2の音響光学素子5も、ピエゾ変換素子が発生する高周波振動により光の回折角度を一方向に変化させるものであるが、第1の音響光学素子4による回折角度の変化方向に対して交差する方向、例えば、直交する方向に回折角度を変化させるように配置されている。第1の音響光学素子4と同様に、本実施形態では、0次光ではなく、+1次光を利用するように構成されている。

【0019】

前記AOD制御装置6は、レーザ光源2からのレーザ光を、標本A上において2次元的

50

に走査させたい場合には、第 1、第 2 の音響光学素子 4, 5 に対し、それぞれ、一定の周期で変化する電圧信号を供給するようになっている。また、標本 A 上において 1 次元的に走査させたい場合には、いずれか一方の音響光学素子 4 (5) に入力する電圧信号を固定し、他方の音響光学素子 5 (4) への電圧信号を一定の周期で変化させるようになっている。さらに、標本 A 上に入射させるレーザ光の入射位置を固定したい場合には、両音響光学素子 4, 5 に入力する電圧信号を固定するようになっている。この場合に、圧電変換素子が発生する高周波振動の周波数と、それに応じて決定される回折角度との関係から、所望の回折角度を達成するような電圧信号を決定して各音響光学素子 4, 5 に対して出力するようになっている。

【 0 0 2 0 】

10

また、第 1 の音響光学素子 4 により発生した 0 次光を利用しないようにするために、第 2 の音響光学素子 5 は、その入射側の開口部 5 a を、0 次光が通過することなく + 1 次光が通過する位置に配置している。また、その開口部 5 a は、圧電変換素子により発生される振動周波数に応じて変化する回折角度範囲にわたる全ての 1 次光を、第 2 の音響光学素子 5 に入射させることができる口径を有している。

【 0 0 2 1 】

このように構成された本実施形態に係る光刺激装置 1 の作用について、以下に説明する。

本実施形態に係る光刺激装置 1 によれば、レーザ光源 2 から発せられたレーザ光は、ビームエキスパンダ 3 によりその光束径を拡大されて第 1 の音響光学素子 4 に入力される。第 1 の音響光学素子 4 においては、AOD 制御装置 6 から入力される電圧信号に応じた回折角度で + 1 次光が出射され、テレスコープレンズ 7 によって平行光とされて、第 2 の音響光学素子 5 に入射される。第 2 の音響光学素子 5 においては、第 1 の音響光学素子 4 から発せられた + 1 次光が入力され、AOD 制御装置 6 から入力される電圧信号に応じた回折角度で + 1 次光が出射される。

20

【 0 0 2 2 】

そして、第 2 の音響光学素子 4 から出射された光は、瞳投影レンズ 8、結像レンズ 9 および第 1 の対物レンズ 10 を経て、光ファイバ束 11 の一端面に結像され、光ファイバ束 11 を伝播して、他端面に配置されている第 2 の対物レンズ 12 により、標本 A 上に再結像される。これにより、標本 A 上にレーザ光源 2 からの光を照射して、光刺激を与えることができる。

30

標本 A に対向する第 2 の対物レンズ 12 が光ファイバ束 11 の端部に配置されているので、光ファイバ束 11 を湾曲させることにより第 2 の対物レンズ 12 の位置および姿勢を自由に設定できる。したがって、標本 A の形態や光刺激位置に合わせて、第 2 の対物レンズ 12 を適正な位置に配置して、所望の位置に正確に光刺激を与えることができる。

【 0 0 2 3 】

この場合において、第 1 の音響光学素子 4 による回折方向、すなわち、第 1 の音響光学素子 4 から出射される + 1 次光の回折角度が変化する方向と、第 2 の音響光学素子 5 による回折方向とは相互に直交するように配置されているので、第 2 の音響光学素子 5 からは、2 次元的に広がる範囲に出射可能となる。したがって、AOD 制御装置 6 から入力される電圧信号が所定の値に設定されると、それに応じて発生される高周波振動の周波数も一定の値に設定されるので、標本 A に照射される光による光刺激位置は特定の位置に固定された状態に維持されることになる。

40

【 0 0 2 4 】

また、AOD 制御装置 6 から第 1 の音響光学素子 4 に入力する電圧信号を固定し、第 2 の音響光学素子 5 に入力する電圧信号のみを変化させることにより、第 1 の音響光学素子 4 に入力する電圧信号に応じて定まる紙面に沿う方向の特定の位置において、紙面に垂直な方向に沿う直線上で 1 次元的に光刺激位置を移動させることが可能となる。逆に、第 2 の音響光学素子 5 に入力する電圧信号を固定して第 1 の音響光学素子 4 に入力する電圧信号のみを変化させることにより、第 2 の音響光学素子 5 に入力する電圧信号に応じて定ま

50

る紙面に垂直な方向に沿う特定の位置において、紙面に沿う直線上で１次元的に光刺激位置を移動させることが可能となる。

【００２５】

さらに、ＡＯＤ制御装置６から両音響光学素子４，５に入力する電圧信号を変化させることにより、光刺激位置を２次元的に移動させることが可能となる。例えば、図２に示されるように、第１の音響光学素子４に入力する電圧信号をステップ状に変化させ（図２（ａ））、第２の音響光学素子５に入力する電圧信号を三角波状に変化させることにより（図２（ｂ））、同図（ｃ）に示されるように、標本Ａ上における光刺激位置を２次元的に走査させることができる。

【００２６】

これらの場合において、本実施形態に係る光刺激装置１によれば、振動周波数を変化させることにより、回折角度を高速で変化させて光刺激位置を高速に移動することができる。したがって、高速に光刺激位置を移動させて、標本Ａから得られる電気信号を観察する場合のような用途に使用して、効果的な観察を行うことを可能とすることができる。また、音響光学素子４，５によれば、ガルバノミラーの場合のような検出器が不要であり、検出器の感度によって走査速度が制限されることがないという利点があるとともに、装置をコンパクトにすることができるという効果がある。

【００２７】

なお、本実施形態に係る光刺激装置１においては、単一のレーザ光源２を使用する場合について説明したが、これに代えて、図３に示されるように、波長の異なる複数のレーザ光源２ａ～２ｃを用いることにしてもよい。この場合、各レーザ光源２ａ～２ｃからの光は、ダイクロイックミラー１３またはミラー１４によってその光軸を結合することにすればよい。

【００２８】

次に、本発明の一実施形態に係る光走査型観察装置２０について、図４を参照して以下に説明する。

本実施形態に係る光走査型観察装置２０は、図４に示されるように、図１に示される光刺激装置１、照明光学系２１および観察光学系２２を備える。照明光学系２１は、例えば、励起光である近赤外光を発するハロゲンランプ２３と、該ハロゲンランプ２３からの光を平行光に変換するコリメートレンズ２４と、該コリメートレンズ２４により発せられた平行光を２次元的に走査する近接ガルバノミラー２５と、近接ガルバノミラー２５により走査された光を前記光刺激装置１の結像レンズ９と第１の対物レンズ１０との間の光軸に結合させるハーフミラー（光軸結合手段）２６とを備えている。

【００２９】

また、観察光学系２２は、標本Ａから戻る蛍光を前記近接ガルバノミラー２５とコリメートレンズ２４との間の光軸から分離するダイクロイックミラー２７と、蛍光を透過させ励起光および光刺激のための光をカットするバリアフィルタ２８と、該バリアフィルタ２８を通過して戻る蛍光を波長毎に分離するダイクロイックミラー２９と、２組の蛍光フィルタ３０、集光レンズ３１および光検出器３２とを備えている。光検出器３２は、例えば、光電子増倍管（Photomultiplier Tube）である。

【００３０】

このように構成された本実施形態に係る光走査型観察装置２０の作用について、以下に説明する。

本実施形態に係る光走査型観察装置２０によれば、ハロゲンランプ２３から発せられた近赤外光がコリメートレンズ２４を通して平行光にされ、近接ガルバノミラー２５によって２次元的に走査されてハーフミラー２６により第１の対物レンズ１０に入射させられる。第１の対物レンズ１０により光ファイバ束１１の端面に結像された光は、光ファイバ束１１内を伝播されて第２の対物レンズ１２により標本Ａ上に再結像される。標本Ａにおいて近赤外光を照射された観察対象部位は、蛍光を発するようになる。

【００３１】

10

20

30

40

50

発せられた蛍光は、第２の対物レンズ１２、光ファイバ束１１および第１の対物レンズ１０を介して戻り、ハーフミラー２６によって照明光学系２１に戻される。そして、近接ガルバノミラー２５を介して、ダイクロイックミラー２７により照明光学系２１から分離されてバリアフィルタ２８、ダイクロイックミラー２９、蛍光フィルタ３０および集光レンズ３１を介して光検出器３２により検出される。

【００３２】

照明光学系２１および観察光学系２２による標本Ａにおいて発せられた蛍光の観察が行われる間に、光刺激装置１の作動により、標本Ａ上において、特定の光刺激位置に光刺激が行われたとき、および、光刺激位置が高速で移動させられたときの標本Ａの反応を観察光学系２２により取得される画像によって観察することができる。

10

【００３３】

なお、本実施形態に係る光走査型観察装置２０においては、近接ガルバノミラー２５により光源２３からの光を２次元的に走査させることとしたが、これに代えて、図５に示されるように、ディスクスキャン型の走査部３３を備えることにしてもよい。この走査部３３は、集光ディスク３４とピンホールディスク３５とをドラム３６により接続してなり、モータ３７によって一方向に回転させられるようになっている。

【００３４】

集光ディスク３４はガラス基板の片面に形成された複数のフレネルレンズを有し、このフレネルレンズが半径方向に所定距離だけずれた状態で配置されている。ピンホールディスク３５は、基板に複数のピンホールを有するものであり、このピンホールが半径方向に所定距離だけ順次ずれた状態で配置されている。集光ディスク３４とピンホールディスク３５との間にはダイクロイックミラー３８が配置されており、第１の対物レンズ１０、ハーフミラー２６およびピンホールディスク３５を介して戻る蛍光がダイクロイックミラー３８によって反射されて光検出器３９により検出されるようになっている。図中、符号４０は集光レンズ、符号４２は光源、符号４１はコリメートレンズである。

20

【００３５】

このように構成することにより、光源４２からの光を複数のピンホールに同時に通過させて、複数点の光スポットによって標本Ａを走査することができ、標本Ａの蛍光画像を迅速に取得することができる。

【図面の簡単な説明】

30

【００３６】

【図１】本発明の一実施形態に係る光刺激装置を示す模式図である。

【図２】図１の光刺激装置における音響光学素子の動作パターンと標本における光の走査パターンとを示す図である。

【図３】図１の光刺激装置の変形例を示す模式図である。

【図４】本発明の一実施形態に係る光走査型観察装置を示す模式図である。

【図５】図３の光走査型観察装置の変形例を示す模式図である。

【符号の説明】

【００３７】

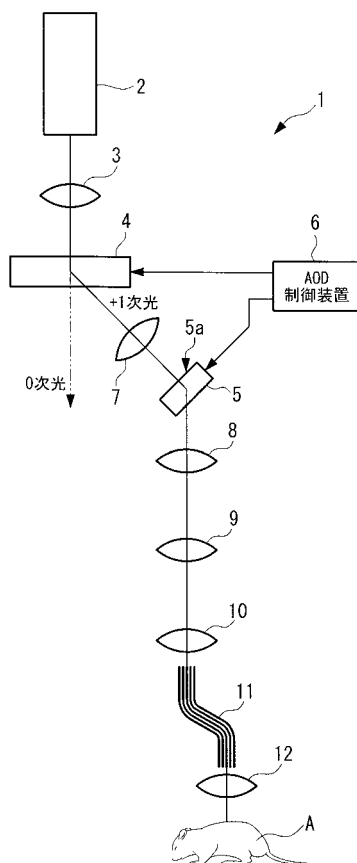
- A 標本
- １ 光刺激装置
- ２ レーザ光源（光源、第２の光源）
- ４ 第１の音響光学素子（走査部、音響光学素子）
- ５ 第２の音響光学素子（走査部、音響光学素子）
- ６ AOD制御装置（走査部）
- １２ 第２の対物レンズ（対物光学系）
- ２０ 光走査型観察装置
- ２５ 近接ガルバノミラー（第１の走査部）
- ２６ ハーフミラー（光軸結合手段）
- ３３ 走査部（第１の走査部）

40

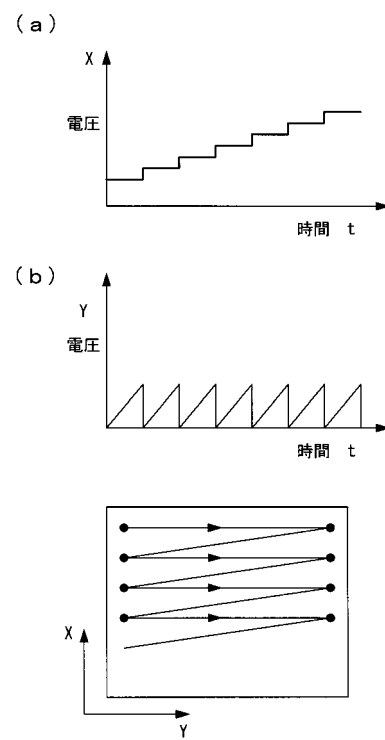
50

- 3 4 集光ディスク
- 3 5 ピンホールディスク
- 4 1 光源 (第1の光源)

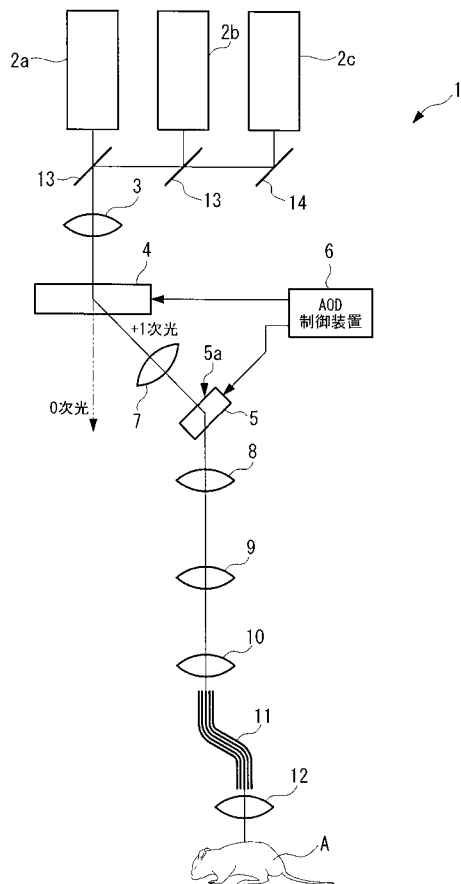
【図1】



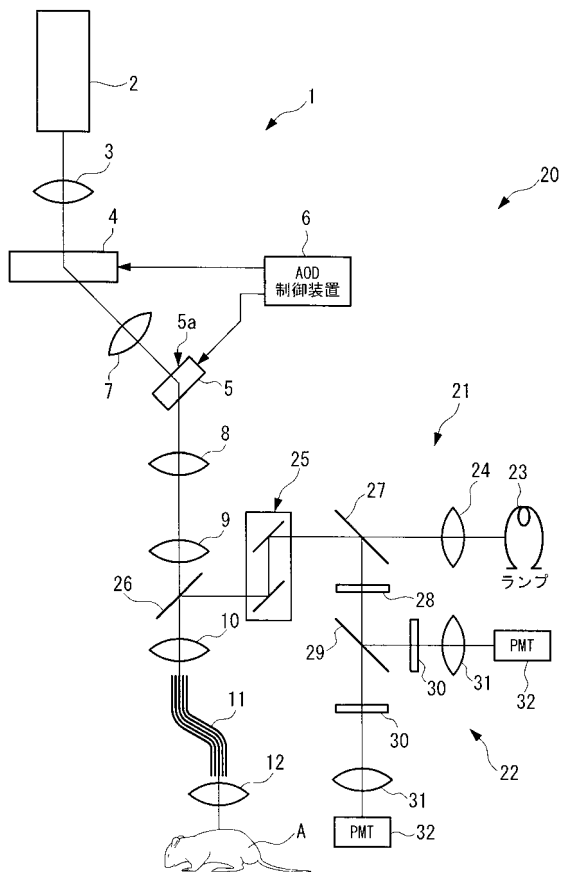
【図2】



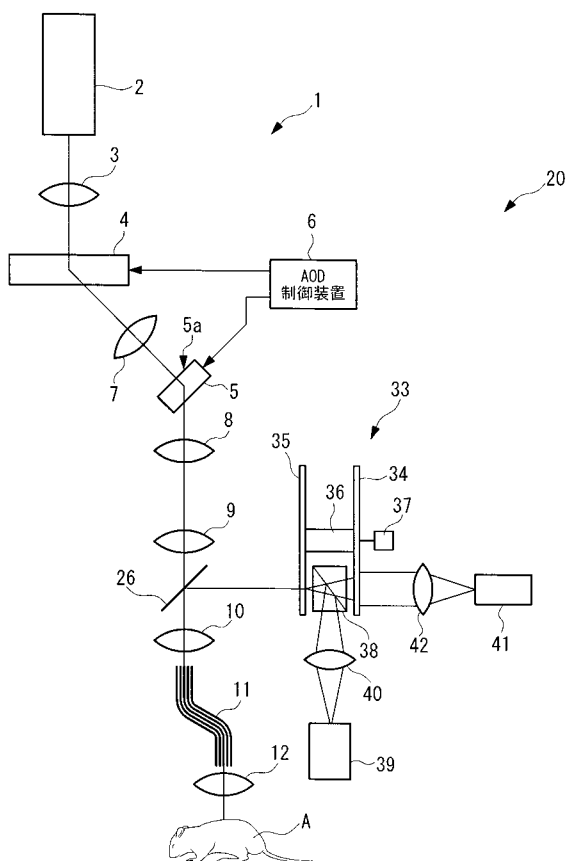
【図 3】



【図 4】



【図 5】



フロントページの続き

(56)参考文献 特開2000-206415(JP,A)
特開平11-218682(JP,A)
特開2002-196249(JP,A)
特開2002-98901(JP,A)
特開2003-315681(JP,A)
特開2003-344777(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G02B 21/00 - 21/36