

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2009-288321

(P2009-288321A)

(43) 公開日 平成21年12月10日(2009.12.10)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
<b>G 0 2 B 21/06 (2006.01)</b>	G 0 2 B 21/06	2 H 0 5 2
<b>G 0 2 B 21/18 (2006.01)</b>	G 0 2 B 21/18	
<b>G 0 2 B 21/36 (2006.01)</b>	G 0 2 B 21/36	

審査請求 未請求 請求項の数 11 O L (全 12 頁)

(21) 出願番号	特願2008-138209 (P2008-138209)	(71) 出願人	000000376
(22) 出願日	平成20年5月27日 (2008.5.27)		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	100074099
			弁理士 大菅 義之
		(72) 発明者	日下 健一
			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	斎藤 良治
			東京都八王子市大和田町4丁目2番16号 株式会社オリンパスエンジニアリング内
		Fターム(参考)	2H052 AA07 AA08 AB14 AB17 AC04
			AC14 AC15 AC18 AC21 AC27
			AC28 AC29 AC34 AD32 AD34
			AD35 AF02 AF14

(54) 【発明の名称】 顕微鏡

(57) 【要約】

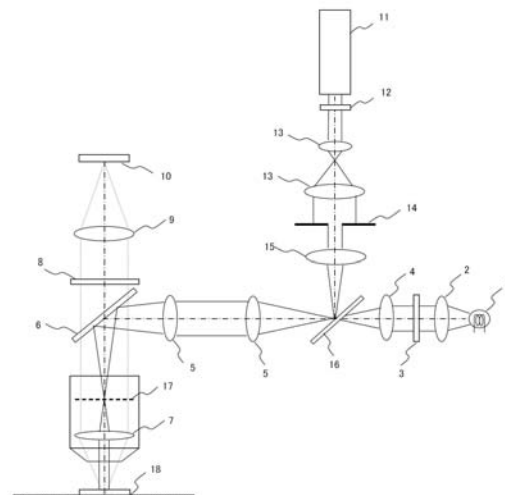
【課題】レーザー光の照射領域を調節するとともに、その照射領域の中で強度を均質に保つ照明手段を備えた顕微鏡を提供する。

【解決手段】上記課題は、レーザー光源から順に、ビーム径を変更する光学系と、標本面と共役な位置に配置された視野絞りとを備え、以下の関係式を満たすことによつて解決される。

$$A \geq D / 2$$

ただし、Aは前記視野絞りの径、Dは前記視野絞りに入射するビームのビーム径とする。

【選択図】 図1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

レーザー光源から順に、ビーム径を変更する光学系と、標本面と共役な位置に配置された視野絞りとを備え、以下の関係式を満たすことを特徴とする顕微鏡。

$$A \leq D/2$$

ただし、Aは前記視野絞りの径、Dは前記視野絞りに入射するビームのビーム径とする。

## 【請求項 2】

請求項 1 に記載の顕微鏡において、前記可変絞りの後段にレンズをさらに備え、前記レンズの前側焦点位置は前記視野絞りであり、前記レンズの後ろ側焦点位置にはミラーが備えられていることを特徴とする顕微鏡。

10

## 【請求項 3】

前記ミラーは角度を可変とすることを特徴とする請求項 2 に記載の顕微鏡。

## 【請求項 4】

前記ミラーはダイクロイックミラーであることを特徴とする請求項 3 に記載の顕微鏡。

## 【請求項 5】

前記ミラーはガルバノミラーであることを特徴とする請求項 3 に記載の顕微鏡。

## 【請求項 6】

請求項 5 に記載の顕微鏡はレーザー走査型顕微鏡であり、共焦点ピンホールとフォトマルチプライアをさらに備えることを特徴とする顕微鏡。

20

## 【請求項 7】

請求項 6 に記載の顕微鏡は観察用のガルバノミラーと刺激用のガルバノミラーを独立に備え、

前記視野絞りと前記ビーム径を変更する光学系は刺激用光路に備えられていることを特徴とする顕微鏡。

## 【請求項 8】

前記ビーム径を変更する光学系はズームであることを特徴とする請求項 1 から請求項 7 の何れかに記載の顕微鏡。

## 【請求項 9】

前記ビーム径を変更する光学系は挿脱可能であることを特徴とする請求項 1 から請求項 8 の何れかに記載の顕微鏡。

30

## 【請求項 10】

前記視野絞りは可変であることを特徴とする請求項 1 から請求項 9 の何れかに記載の顕微鏡。

## 【請求項 11】

前記視野絞りは挿脱可能であることを特徴とする請求項 1 から請求項 10 の何れかに記載の顕微鏡。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は顕微鏡の技術にかかわる。

40

## 【背景技術】

## 【0002】

近年の顕微鏡では通常白色光源ではなく、レーザー光源も用いられることがしばしばある。その時には、レーザー光源は単に標本を照らすという目的ではなく、照射位置や範囲を精密に制御して観察することが多い。たとえば、このような顕微鏡としてレーザー走査型顕微鏡が上げられる。

## 【0003】

レーザー走査型顕微鏡ではレーザーの照射範囲が解像度に直結しているので、レーザー光を正確に制御することが非常に重要となる。

さらに、レーザー光を観察目的ではなく、標本への刺激目的で用いることもある。これ

50

は光刺激と呼ばれ、近年の生物研究では重要な手法となっている。

【 0 0 0 4 】

この光刺激にレーザー光を用いる場合にも、照射位置や範囲を精密に制御することが重要であることはいうまでもない。さらに、照射範囲内で均質にレーザー光を照射することが要求される。

【 0 0 0 5 】

ある程度の広さの照射領域にレーザー光を照射する目的の技術として、従来技術として特許文献 1 が挙げられる。この特許文献 1 ではガルバノミラーの前段に開口数を調節するための光学系を挿脱可能に備えることによって、照射領域を調節する技術が開示されている。しかし、レーザー光はガウシアンプロファイルと呼ばれる強度分布を持つために、特

10

許文献 1 による方法では、照射領域を均質に照射することができなかった。

【特許文献 1】特開 2 0 0 0 7 - 3 3 4 3 1 9 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 6 】

本発明では、レーザー光の照射領域を調節するとともに、その照射領域の中で強度を均質に保つ照明手段を備えた顕微鏡を提供する。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 7 】

上記課題は、レーザー光源から順に、ビーム径を変更する光学系と、標本面と共役な位置に配置された視野絞りとを備え、以下の関係式を満たすことによって解決される。

20

$$A \leq D / 2$$

ただし、Aは前記視野絞りの径、Dは前記視野絞りに入射するビームのビーム径とする。

【 0 0 0 8 】

また、前記可変絞りの後段にレンズをさらに備え、前記レンズの前側焦点位置は前記視野絞りであり、前記レンズの後側焦点位置にはミラーが備えられていることがこのましい。

【 0 0 0 9 】

前記ミラーは角度を可変とすることが好ましい。

前記ミラーはダイクロイックミラーであることも考えられ、ガルバノミラーであることも考えられる。

30

【 0 0 1 0 】

本発明はレーザー走査型顕微鏡にも適用可能であり、この場合、共焦点ピンホールとフォトマルチプライアをさらに備える。

さらに、観察用のガルバノミラーと刺激用のガルバノミラーを独立に備え、前記視野絞りと前記ビーム径を変更する光学系は刺激用光路に備えられている構成が好ましい。

【 0 0 1 1 】

前記ビーム径を変更する光学系はズームであることが好ましく、挿脱可能であることも好ましい。

前記視野絞りは可変であることが好ましく、挿脱可能であることも好ましい。

40

【発明の効果】

【 0 0 1 2 】

本発明によれば、レーザー光の照射領域を調節するとともに、その照射領域の中で強度を均質に保つ照明手段を備えた顕微鏡を提供される。

【発明を実施するための最良の形態】

【 0 0 1 3 】

以下では、本発明の実施の形態を図面を参照しながら説明する。

【実施例 1】

【 0 0 1 4 】

図 1 に示される顕微鏡の概略図は、正立顕微鏡の同軸落射照明における本発明の実施例

50

を説明する。

図 1 に示される正立顕微鏡は、落射照明部として、光源 1 とコリメータレンズ 2 と、励起フィルター 3、照明光集光レンズ 4 と、落射投光管光学系 5 を備え、ダイクロイックミラー 6 によって観察光路と結合される。観察光学系は対物レンズ 7 と、バリアフィルター 8 と、結像レンズ 9 と、撮像素子 10 を備える。なお、撮像素子 10 の代わりに、接眼部や接眼レンズを備えて目視観察をする構成も考えられる。

#### 【 0 0 1 5 】

レーザー導入光学系は、レーザー光源 11 と、シャッター 12 と、ビーム径変更光学系 13 と、可変絞り 14 と、レーザー光集光レンズ 15 とを備え、ミラー 16 によって落射照明部に結合される。ここで、ミラー 16 はダイクロイックミラーとすることも可能であり、挿脱可能の全反射ミラーとする構成も考えられる。また、ビーム径変更光学系 13 はズームレンズを用いて拡大率を可変とする構成としても良いし、挿脱可能な構成として拡大率を交換する構成としてもよい。

10

#### 【 0 0 1 6 】

落射照明部において、光源 1 から放射された照明光はコリメータレンズ 2 によって略並行光束に変換され、励起フィルター 3 によって所望の波長の照明光に制限される。さらに、照明光集光レンズ 4 によってミラー 16 の位置にいったん集光され、この集光位置は落射投光管光学系 5 によって対物レンズ 7 の瞳位置 17 にリレーされる。すなわち、本実施例はケーラー照明となっている。

#### 【 0 0 1 7 】

20

レーザー導入光学系において、レーザー光源 11 から射出したレーザー光はシャッター 12 によって照射時間を制御され、ビーム径変更光学系 13 によって適切なビーム径に変更され、可変絞り 14 に照射される。可変絞り 14 の後段にはレーザー光集光レンズ 15 が配置され、このレンズの前側焦点位置は可変絞り 14 となり、後側焦点位置はミラー 16 となっている。すなわち、ミラー 16 は対物レンズ 7 の瞳位置 17 と共役であるので、可変絞り 14 は標本面 18 と共役となっている。

#### 【 0 0 1 8 】

上記構成では、可変絞り 14 は標本面 18 と共役であるので、この絞りの大きさを変えることによってレーザー光の照明範囲を調節することができる。また、ミラー 16 は対物レンズ 7 の瞳位置 17 と共役の位置に配置されていることにより、この角度を調節することにより、レーザー光の照明位置を調節することができる。また、レーザー光はビーム径変更光学系 13 によって変更され、ガウシアン強度分布の略一定の強度分布をしている領域だけを、可変絞り 14 によって抽出しているので、照明領域では略一定の強度分布でレーザー光が照射される。

30

#### 【 0 0 1 9 】

このとき、可変絞りに照射されるレーザー光のビーム径  $D$  と可変絞りの径  $A$  は以下の関係を満たすことが好ましい。

$$A < D / 2 \quad \cdots (1)$$

ここで、レーザー光のビーム径  $D$  は最大強度の  $1 / e^2$  によって定義する。さらに好ましくは、

40

$$A < D / (2.3) \quad \cdots (2)$$

を満たすことが好ましい。

#### 【 0 0 2 0 】

なお、本構成においてシャッター 12 は周期的に開閉することによってパルス状のレーザー光を照射する構成とすることも可能である。また、レーザー光源からの光路はミラーなどを使って適切に光路を配置することが好ましい。光ファイバーなどを使ってレーザーを導入する構成も考えられる。

#### 【 0 0 2 1 】

本実施例における数値例を挙げる。落射投光管光学系 5 を焦点距離が 180 mm のレンズを組み合わせて等倍投影とし、レーザー光集光レンズ 15 も焦点距離を 180 mm とし

50

た場合は、60倍の対物レンズ7によって、可変絞り14の絞り径3mmが標本面に50 $\mu$ mに投影される。ビーム径が0.6mmのレーザー光を利用した場合、12倍のビーム径変更光学系を用いて、ビーム径7.2mmのレーザー光に拡大する。この場合は、可変絞りの径Aと可変絞り照射されるレーザー光のビーム径Dの比率は2.4となる。

【実施例2】

【0022】

図2に示される顕微鏡の概略図は、レーザー走査型顕微鏡における本発明の実施例を説明する。本構成は、観察用の走査手段と刺激用の走査手段を独立して備えた、いわゆるツインスキャンと呼ばれる構成である。

【0023】

図2に示される顕微鏡において、観察用光路は、観察用レーザー光源19と、観察用シャッター20と観察用走査手段21と、観察用瞳投影レンズ22と、結像レンズ23と、対物レンズ7と、励起光用ダイクロイックミラー24と、共焦点レンズ25と、共焦点ピンホール26と、バリアフィルター27と、光検出器28をそなえる。ここで、観察用走査手段21はガルバノミラーや光電偏向素子などを用いることができる。

【0024】

刺激用光路は、刺激用レーザー光源29と、刺激用シャッター30と、ビーム径変更光学系31と、可変絞り32と、レーザー光集光レンズ34と、刺激用走査手段35と、刺激用瞳投影レンズ36と、刺激用ダイクロイックミラー37を備える。刺激用走査手段35においてもガルバノミラーや光電偏向素子などを用いることができる。また、ビーム径変更光学系13はズームレンズを用いて拡大率を可変とする構成としても良いし、挿脱可能な構成として拡大率を交換する構成としてもよい。

【0025】

観察用光路において、観察用レーザー光源19から射出されたレーザー光は、観察用シャッター20によって照射時間を制御され、励起光用ダイクロイックミラー24によって、観察用光路に導入される。このとき、観察用レーザー光源19はいくつかの波長のことを複数備えて利用する構成も考えられる。また、それらのレーザー光源はユニット化され、外部から光ファiberを用いて導入する構成も考えられる。

【0026】

観察光路に導入されたレーザー光は、観察用走査手段21によって偏向される。観察用走査手段21は、観察用瞳投影レンズ22と結像レンズ23によって、対物レンズ7の瞳位置17と共役の位置に配置される。すなわち、観察用走査手段21によって偏向されたレーザー光は標本面18を走査する。

【0027】

レーザー光を照射された標本面18上の標本は観察光を放射する。このとき、観察光としては、レーザー光によって励起された蛍光体からの蛍光であることが多い。この観察光はレーザー光の照射とは逆方向の経路を辿り、励起光用ダイクロイックミラー24へと至る。このとき、観察光も観察用走査手段21を経由することにより、標本面18上を走査した情報として検出される。

【0028】

励起光用ダイクロイックミラー24へと至った観察光は、ここでレーザー光と分離され、共焦点レンズ25へ導かれる。共焦点レンズ25は後側焦点位置に共焦点ピンホール26を備え、共焦点ピンホール26は標本面18と共役な関係になっている。その結果、共焦点ピンホール26を通過できる観察光は対物レンズのフォーカルポイントからのみである。すなわち、ボケ光が排除された観察光が共焦点ピンホール26を通過する。

【0029】

共焦点ピンホール26を通過した観察光は、バリアフィルター27によって所望の波長を制限してフォトマルチプライアに代表されるような光検出器28によって検出される。光検出器28は1つに限らず、波長を分離して多チャンネル検出をしてもよい。

【0030】

10

20

30

40

50

刺激光路では、刺激用レーザー光源 29 から射出されたレーザー光は刺激用シャッター 30 によって照射時間を制御され、ビーム径変更光学系 31 によって適切なビーム径に変更され、可変絞り 32 に照射される。可変絞り 32 の後段にはレーザー光集光レンズ 34 が配置され、このレンズの前側焦点位置は可変絞り 32 であり、後ろ側焦点距離は刺激用走査手段 35 となっている。ここで、刺激用走査手段 35 はガルバノミラーや光電偏向素子などを用いることができる。

#### 【0031】

刺激用走査手段は刺激用瞳投影レンズ 36 の前側焦点位置に配置され、刺激用瞳投影レンズ 36 の後段には刺激用ダイクロイックミラー 37 が備えられ、ここで観察光路と結合される。刺激用瞳投影レンズ 36 は結像レンズ 23 とともに機能し、刺激用走査手段 35 を対物レンズ 7 の瞳位置 17 にリレーする。すなわち、刺激用走査手段 35 と対物レンズ 7 の瞳位置 17 は共役の関係であり、標本面 18 と可変絞り 32 も共役の関係である。

10

#### 【0032】

上記構成では、可変絞り 32 は標本面 18 と共役であるので、この絞りの大きさを変えることによってレーザー光の照明範囲を調節することができる。また、刺激用走査手段 35 は対物レンズ 7 の瞳位置 17 と共役の位置に配置されていることにより、この位置で光線偏向することにより、レーザー光の照明位置を調節することができる。また、レーザー光はビーム径変更光学系 31 によって変更され、ガウシアン強度分布の略一定の強度分布をしている領域だけを、可変絞り 32 によって抽出しているので、照明領域では略一定の強度分布でレーザー光が照射される。

20

#### 【0033】

このとき、可変絞り 32 に照射されるレーザー光のビーム径  $D$  と可変絞りの径  $A$  は以下の関係を満たすことが好ましい。

$$A < D/2 \quad \cdots (1)$$

ここで、レーザー光のビーム径  $D$  は最大強度の  $1/e^2$  によって定義する。さらに好ましくは、

$$A < D/(2.3) \quad \cdots (2)$$

を満たすことが好ましい。

#### 【0034】

本実施例における数値例を挙げる。結像レンズ 23 の焦点距離を 180 mm とし、瞳投影レンズ 36 の焦点距離を 50 mm とし、レーザー光集光レンズ 34 の焦点距離を 100 mm とする。このとき、60 倍の対物レンズ 7 によって、標本面の径 5  $\mu$ m を照射するには可変絞りの径は 0.6 mm である。ビーム径が 2 mm のレーザー光を利用した場合、0.2 倍のビーム径変更光学系を用いて、ビーム径 1.2 mm のレーザー光に変換する。この場合は、可変絞りの径  $A$  と可変絞りに照射されるレーザー光のビーム径  $D$  の比率は 3.33 となる。

30

#### 【0035】

なお、本構成においてシャッターは周期的に開閉することによってパルス状のレーザー光を照射する構成とすることも可能である。また、レーザー光源からの光路はミラーなどを使って適切に光路を配置することが好ましい。光ファイバーなどを使ってレーザーを導入する構成も考えられる。なお、図 2 中の 38 はミラーであり、目視観察用の光路からレーザー走査用の光路を分離している。

40

#### 【実施例 3】

#### 【0036】

図 3 に示される顕微鏡の概略図は、レーザー走査型顕微鏡における本発明の実施例を説明する。

図 3 に示されるレーザー走査型顕微鏡におけるレーザー導入光学系は、レーザー光源 1 と、シャッター 12 と、ビーム径変更光学系 13 と、可変絞り 14 と、レーザー光集光レンズ 15 とを備える。さらに、走査手段 39 と、瞳投影レンズ 40 と、結像レンズ 23 と、対物レンズを 7 備え、レーザー光を標本に照射する。ビーム径変更光学系 13 はズー

50

ムレンズを用いて拡大率を可変とする構成としても良いし、挿脱可能な構成として拡大率を交換する構成としてもよい。

【0037】

検出光学系は、励起光用ダイクロイックミラー24と、共焦点レンズ25と、共焦点ピンホール26と、パリアフィルター27と、光検出器28を備える。

レーザー導入光学系において、レーザー光源11から射出したレーザー光はシャッター12によって照射時間を制御され、ビーム径変更光学系13によって適切なビーム径に変更され、可変絞り14に照射される。可変絞り14の後段にはレーザー光集光レンズ15が配置され、このレンズの前側焦点位置は可変絞り14となり、後側焦点位置は走査手段39となっている。この走査手段39はガルバノミラーや光電偏向素子などを用いることができる。

10

【0038】

走査手段39は瞳投影レンズ40の前側焦点位置に配置され、瞳投影レンズ40は結像レンズ23とともに機能し、走査手段39を対物レンズ7の瞳位置17にリレーする。すなわち、走査手段39と対物レンズ7の瞳位置17は共役の関係であり、標本面18と可変絞り32も共役の関係である。

【0039】

レーザー光を照射された標本面18上の標本は観察光を放射する。このとき、観察光としては、レーザー光によって励起された蛍光体からの蛍光であることが多い。この観察光はレーザー光の照射とは逆方向の経路を辿り、励起光用ダイクロイックミラー24へと至る。このとき、観察光も観察用走査手段21を経由することにより、標本面18上を走査した情報として検出される。

20

【0040】

励起光用ダイクロイックミラー24へと至った観察光は、ここでレーザー光と分離され、共焦点レンズ25へ導かれる。共焦点レンズ25は後側焦点位置に共焦点ピンホール26を備え、共焦点ピンホール26は標本面18と共役な関係になっている。その結果、共焦点ピンホール26を通過できる観察光は対物レンズのフォーカルポイントからのみである。すなわち、ボケ光が排除された観察光が共焦点ピンホール26を通過する。

【0041】

上記構成では、可変絞り32は標本面18と共役であるので、この絞りの大きさを変えることによってレーザー光の照明範囲を調節することができる。また、走査手段35は対物レンズ7の瞳位置17と共役の位置に配置されていることにより、この位置で光線偏向することにより、レーザー光の照明位置を調節することができる。また、レーザー光はビーム径変更光学系31によって変更され、ガウシアン強度分布の略一定の強度分布をしている領域だけを、可変絞り32によって抽出しているので、照明領域では略一定の強度分布でレーザー光が照射される。

30

【0042】

このとき、可変絞り32に照射されるレーザー光のビーム径Dと可変絞りの径Aは以下の関係を満たすことが好ましい。

$$A < D/2 \quad \cdots (1)$$

40

ここで、レーザー光のビーム径Dは最大強度の  $1/e^2$  によって定義する。さらに好ましくは、

$$A < D/(2.3) \quad \cdots (2)$$

を満たすことが好ましい。

【0043】

本実施例における数値例を挙げる。結像レンズ23の焦点距離を180mmとし、瞳投影レンズ40の焦点距離を50mmとし、レーザー光集光レンズ15の焦点距離を100mmとする。このとき、60倍の対物レンズ7によって、標本面の径5μmを照射するには可変絞りの径は0.6mmである。ビーム径が2mmのレーザー光を利用した場合、0.2倍のビーム径変更光学系を用いて、ビーム径1.2mmのレーザー光に変換する。こ

50

の場合は、可変絞りの径 A と可変絞りに照射されるレーザー光のビーム径 D の比率は 3 . 3 3 となる。

【 0 0 4 4 】

なお、本構成においてシャッターは周期的に開閉することによってパルス状のレーザー光を照射する構成とすることも可能である。また、レーザー光源からの光路はミラーなどを使って適切に光路を配置することが好ましい。光ファイバーなどを使ってレーザーを導入する構成も考えられる。なお、図 2 中の 3 8 はミラーであり、目視観察用の光路からレーザー走査用の光路を分離している。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 5 】

10

【図 1】落射照明顕微鏡における本発明実施の概略図。

【図 2】ツインスキャンレーザー走査型顕微鏡における本発明実施の概略図。

【図 3】レーザー走査型顕微鏡における本発明実施の概略図。

【符号の説明】

【 0 0 4 6 】

- 1 . . . 光源
- 2 . . . コリメータレンズ
- 3 . . . 励起フィルター
- 4 . . . 照明光集光レンズ
- 5 . . . 落射投光管
- 6 . . . ダイクロイックミラー
- 7 . . . 対物レンズ
- 8 . . . バリアフィルター
- 9 . . . 結像レンズ
- 1 0 . . . 撮像素子
- 1 1 . . . レーザ光源
- 1 2 . . . シャッター
- 1 3 . . . ビーム径変更光学系
- 1 4 . . . 可変絞り
- 1 5 . . . レーザー光集光レンズ
- 1 6 . . . ミラー
- 1 7 . . . 瞳位置
- 1 8 . . . 標本面
- 1 9 . . . 観察用レーザー光源
- 2 0 . . . 観察用シャッター
- 2 1 . . . 観察用走査手段
- 2 2 . . . 観察用瞳投影レンズ
- 2 3 . . . 結像レンズ
- 2 4 . . . 励起光用ダイクロイックミラー
- 2 5 . . . 共焦点レンズ
- 2 6 . . . 共焦点ピンホール
- 2 7 . . . バリアフィルター
- 2 8 . . . 光検出器
- 2 9 . . . 刺激用レーザー光源
- 3 0 . . . 刺激用シャッター
- 3 1 . . . ビーム径変更光学系
- 3 2 . . . 可変絞り
- 3 4 . . . レーザー光集光レンズ
- 3 5 . . . 刺激用走査手段
- 3 6 . . . 刺激光用瞳投影レンズ

20

30

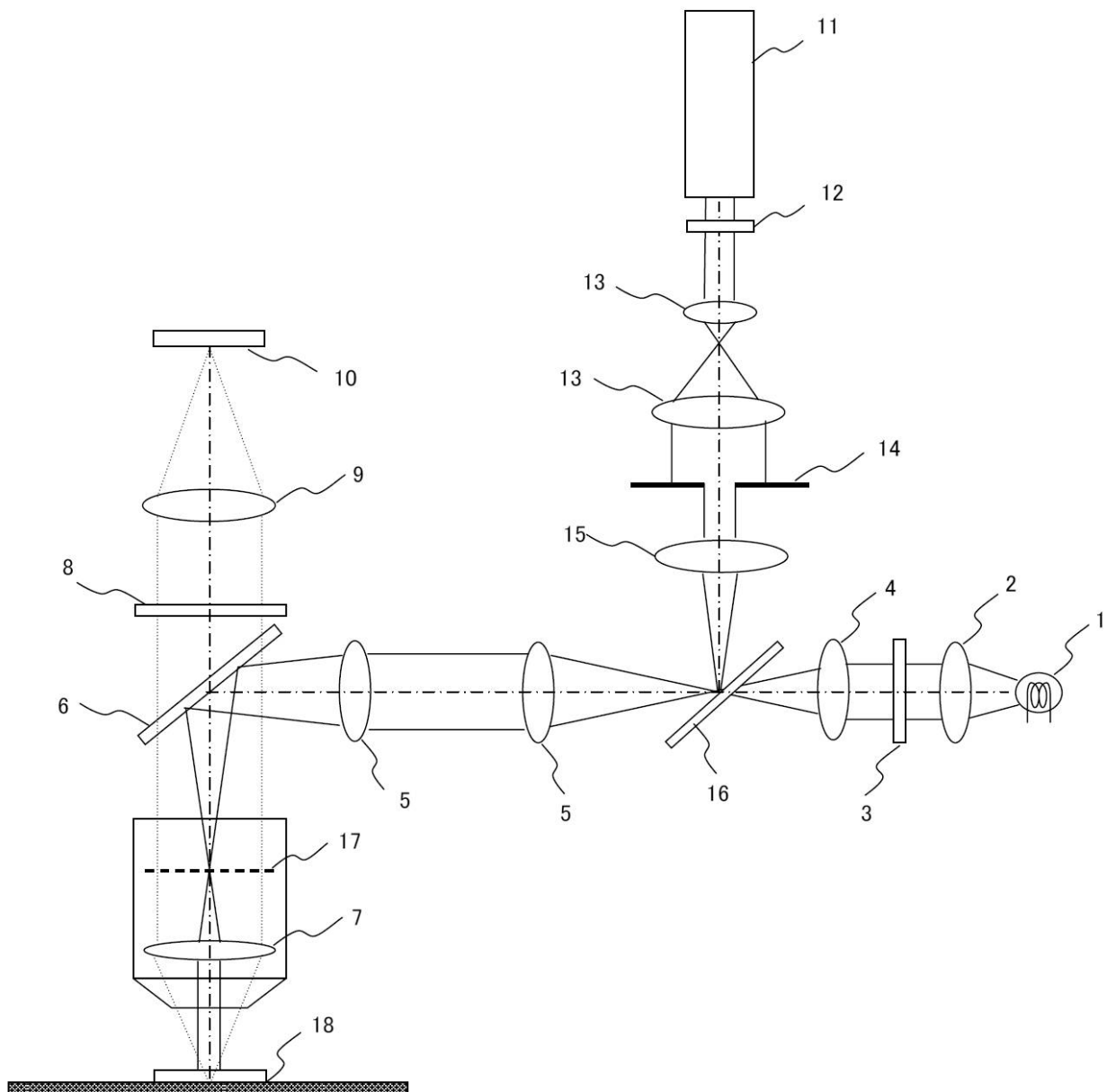
40

50

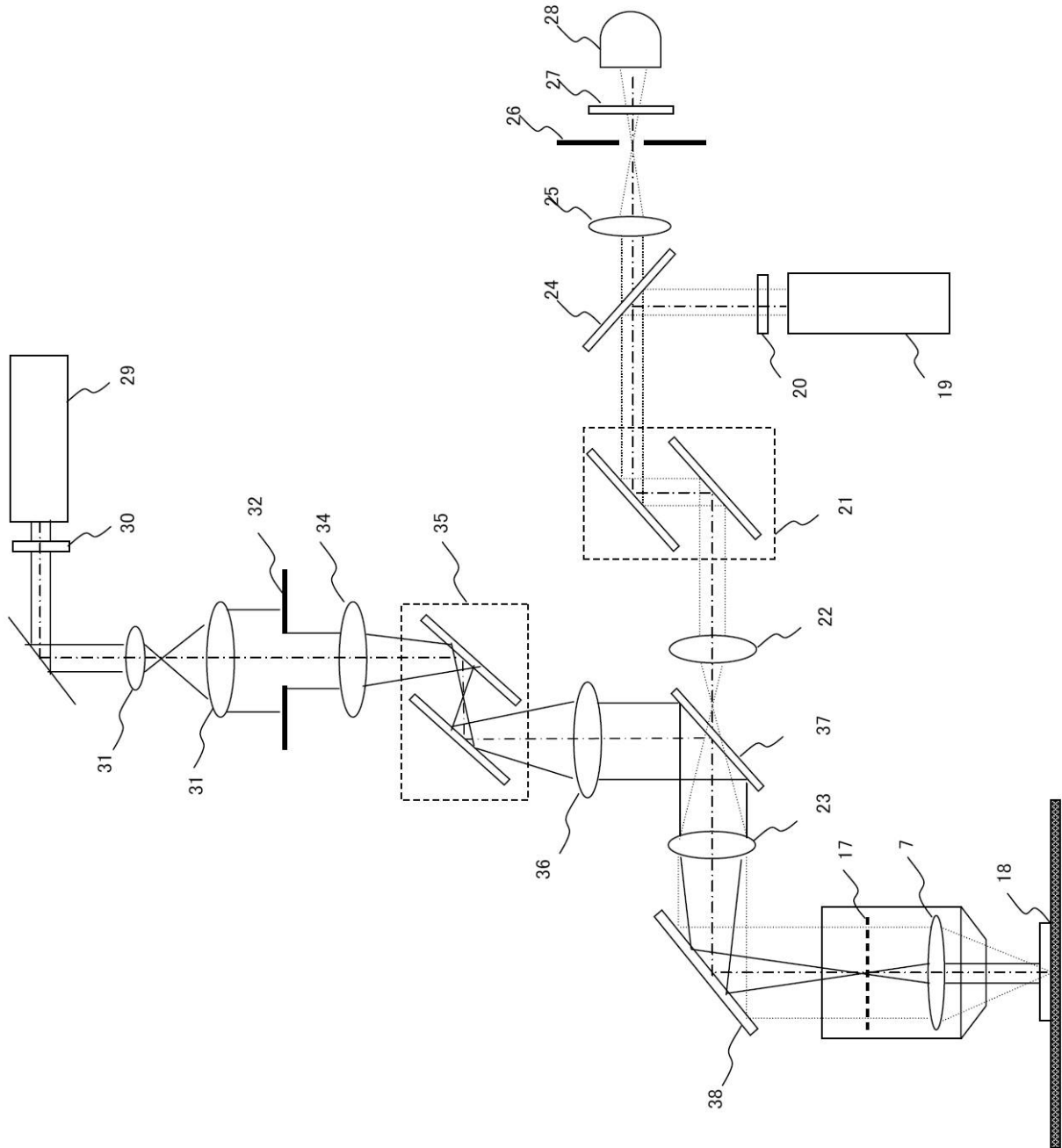


- 37・・・刺激用ダイクロイックミラー
- 38・・・ミラー
- 39・・・走査手段
- 40・・・瞳投影レンズ

【図 1】



【図 2】



【図 3】

