

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5307439号
(P5307439)

(45) 発行日 平成25年10月2日(2013.10.2)

(24) 登録日 平成25年7月5日(2013.7.5)

(51) Int.CI.

F 1

G02B 21/06 (2006.01)
G02B 26/00 (2006.01)G02B 21/06
G02B 26/00

請求項の数 18 (全 17 頁)

(21) 出願番号 特願2008-105994 (P2008-105994)
 (22) 出願日 平成20年4月15日 (2008.4.15)
 (65) 公開番号 特開2008-292994 (P2008-292994A)
 (43) 公開日 平成20年12月4日 (2008.12.4)
 審査請求日 平成23年2月21日 (2011.2.21)
 (31) 優先権主張番号 特願2007-113042 (P2007-113042)
 (32) 優先日 平成19年4月23日 (2007.4.23)
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(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 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43番2号 オ
 リンパス株式会社内
 審査官 殿岡 雅仁

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】

超短パルスレーザ光を出射するレーザ光源と、
 該レーザ光源から出射された超短パルスレーザ光をポジティブチャーブ化しつつ伝播させる第1の光ファイバと、
 該第1の光ファイバにより伝播されたレーザ光をネガティブチャーブ化する負分散光学系と、
 該負分散光学系を通過したレーザ光をポジティブチャーブ化しつつ伝播させる第2の光ファイバと、

該第2の光ファイバにより伝播されたレーザ光をさらにポジティブチャーブ化し、生成された超短パルスレーザ光を標本に照射する顕微鏡本体と、

前記負分散光学系に設けられ、前記レーザ光源からの超短パルスレーザ光の波長の変化または顕微鏡本体における正分散量の変化に応じて、負分散量を調節する負分散量調節部とを備え、

前記第1の光ファイバと前記第2の光ファイバとの間に前記負分散光学系を配置することにより、前記第1の光ファイバ内の非線形効果と前記第2の光ファイバ内の非線形効果とのバランスが維持され、前記顕微鏡本体から標本に照射する超短パルスレーザ光のパルス幅を維持することができるレーザ顕微鏡。

【請求項 2】

前記第1の光ファイバへの超短パルスレーザ光の入射位置を調節する第1のアライメント

10

20

調節部と、

前記第2の光ファイバへのレーザ光の入射位置を調節する第2のアライメント調節部とを備える請求項1に記載のレーザ顕微鏡。

【請求項3】

前記レーザ光源から出射される超短パルスレーザ光の波長および／または前記顕微鏡本体の正分散量と対応づけて、前記第1のアライメント調節部および前記第2のアライメント調節部による入射位置を記憶する入射位置記憶部を備える請求項2に記載のレーザ顕微鏡。

【請求項4】

前記第1の光ファイバから出射されるレーザ光の出力を検出する第1の出力検出部と、該第1の出力検出部による検出結果に基づいて、第1の光ファイバへの超短パルスレーザ光の入射位置を調節する第1のアライメント調節部と、

前記第2の光ファイバから出射されるレーザ光の出力を検出する第2の出力検出部と、該第2の出力検出部による検出結果に基づいて、第2の光ファイバへのレーザ光の入射位置を調節する第2のアライメント調節部とを備える請求項1に記載のレーザ顕微鏡。

【請求項5】

前記レーザ光源から出射される超短パルスレーザ光の波長および／または前記顕微鏡本体の正分散量と対応づけて、前記第1のアライメント調節部および前記第2のアライメント調節部による入射位置を記憶する入射位置記憶部を備える請求項4に記載のレーザ顕微鏡。

20

【請求項6】

前記第1のアライメント調節部は、前記第1の出力検出部により検出されるレーザ光の出力が所定の閾値以下となったときに第1の光ファイバへの超短パルスレーザ光の入射位置を調節し、

前記第2のアライメント調節部は、前記第2の出力検出部により検出されるレーザ光の出力が所定の閾値以下となったときに第2の光ファイバへのレーザ光の入射位置を調節する請求項4または請求項5に記載のレーザ顕微鏡。

【請求項7】

前記入射位置記憶部に記憶された入射位置に前記第1または第2のアライメント調節部を調節する際に、第1の光ファイバへの超短パルスレーザ光の入射を遮断するシャッタを備える請求項3または請求項5に記載のレーザ顕微鏡。

30

【請求項8】

前記レーザ光源から出射される超短パルスレーザ光の波長および／または前記顕微鏡本体の正分散量と対応づけて、前記負分散量調節部の調節値を記憶する負分散量調節値記憶部を備える請求項1から請求項7のいずれかに記載のレーザ顕微鏡。

【請求項9】

前記顕微鏡本体が、超短パルスレーザ光を標本に照射する対物レンズを備え、該対物レンズから出射された超短パルスレーザ光のパルス幅または標本において発生する蛍光の強度を検出する対物検出部と、

前記負分散光学系が、該対物検出部における検出結果に基づいて負分散量を調節する請求項1から請求項8のいずれかに記載のレーザ顕微鏡。

40

【請求項10】

前記負分散光学系が、グレーティング対またはプリズム対を含む請求項1から請求項9のいずれかに記載のレーザ顕微鏡。

【請求項11】

前記第1の光ファイバおよび第2の光ファイバがシングルモードファイバからなる請求項1から請求項10のいずれかに記載のレーザ顕微鏡。

【請求項12】

前記第1の光ファイバおよび第2の光ファイバが、偏波保持型シングルモードファイバからなる請求項11に記載のレーザ顕微鏡。

50

【請求項 1 3】

前記第1の光ファイバおよび第2の光ファイバが、フォトニッククリスタルファイバからなる請求項11に記載のレーザ顕微鏡。

【請求項 1 4】

前記第1の光ファイバから出射されるレーザ光を略平行光にする1以上のレンズからなるコリメートレンズと、

前記レーザ光源からの超短パルスレーザ光の波長の変化に応じて、該コリメートレンズを構成するレンズの光軸方向位置を調節するコリメートレンズ調節部とを備える請求項1から請求項13のいずれかに記載のレーザ顕微鏡。

【請求項 1 5】

10

前記第2の光ファイバの出射端と前記顕微鏡本体との間に配置され、該顕微鏡本体に入射されるレーザ光の光束径および光束広がり角を調節する1以上のレンズからなるビーム整形光学系と、

前記レーザ光源からの超短パルスレーザ光の波長の変化に応じて、該ビーム整形光学系を構成するレンズの光軸方向位置を調節するレンズ位置調整機構とを備える請求項1から請求項14のいずれかに記載のレーザ顕微鏡。

【請求項 1 6】

前記レーザ光源と前記第1の光ファイバとの間または前記第2の光ファイバと前記顕微鏡本体との間のいずれかに、レーザ光の強度を変調する強度変調器を備える請求項1から請求項15のいずれかに記載のレーザ顕微鏡。

20

【請求項 1 7】

前記レーザ光源と前記第1の光ファイバとの間に、該第1の光ファイバに入射するレーザ光のピーク強度を調整する正分散量可変部を備える請求項1から請求項16のいずれかに記載のレーザ顕微鏡。

【請求項 1 8】

前記レーザ光源、第1の光ファイバおよび負分散光学系を含む光源ユニットと、顕微鏡本体とを第2の光ファイバにより接続してなる請求項1から請求項17のいずれかに記載のレーザ顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

本発明は、レーザ顕微鏡に関するものである。

【背景技術】

【0002】

従来、超短パルスレーザ光源から出射された超短パルスレーザ光を第1の光ファイバを介して伝播し、該第1の光ファイバにより伝播されたレーザ光を負分散媒質に導入してネガティブチャーブ化し、その後、第2の光ファイバに伝播させて顕微鏡本体に導入する多光子励起型レーザ顕微鏡が知られている（例えば、非特許文献1参照。）。

このレーザ顕微鏡によれば、第2の光ファイバの出射端と顕微鏡との間の光学系が比較的簡素なため、超短パルスレーザ光の高出力伝送を効率よく行うことができる。

40

【0003】

【非特許文献1】S.W.Clark et al., "Fiber delivery of femtosecond pulses from a Ti:sapphire laser.", Opt.Lett. 26, 1320(2001), P.1320-1322

【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、非特許文献1に示されるレーザ顕微鏡では、超短パルスレーザ光の波長を変更したり、顕微鏡本体の対物レンズを交換したりした場合に、第1の光ファイバ内の非線形効果と第2の光ファイバ内の非線形効果のバランスが崩れたり、第2の光ファイバ出射端から標本面までの総正分散量が変化したりするため、顕微鏡本体の対物レンズから

50

所望のパルス幅の超短パルスレーザ光を出射させることができず、標本における多光子励起現象を効率的に発生させることができないという不都合がある。

【0005】

本発明は、上述した事情に鑑みてなされたものであって、波長が変化したり顕微鏡本体の正分散量が変化したりしても顕微鏡本体から標本に対して超短パルスレーザ光を照射することを可能とし、多光子励起現象を効率的に発生させて鮮明な蛍光画像を取得することができる顕微鏡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】

【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。

10

本発明は、超短パルスレーザ光を出射するレーザ光源と、該レーザ光源から出射された超短パルスレーザ光をポジティブチャーブ化しつつ伝播させる第1の光ファイバと、該第1の光ファイバにより伝播されたレーザ光をネガティブチャーブ化する負分散光学系と、該負分散光学系を通過したレーザ光をポジティブチャーブ化しつつ伝播させる第2の光ファイバと、該第2の光ファイバにより伝播されたレーザ光をさらにポジティブチャーブ化し、生成された超短パルスレーザ光を標本に照射する顕微鏡本体と、前記負分散光学系に設けられ、前記レーザ光源からの超短パルスレーザ光の波長の変化または顕微鏡本体における正分散量の変化に応じて、負分散量を調節する負分散量調節部とを備え、前記第1の光ファイバと前記第2の光ファイバとの間に前記負分散光学系を配置することにより、前記第1の光ファイバ内の非線形効果と前記第2の光ファイバ内の非線形効果とのバランスが維持され、前記顕微鏡本体から標本に照射する超短パルスレーザ光のパルス幅を維持することができるレーザ顕微鏡を提供する。

20

【0007】

本発明によれば、レーザ光源から出射された超短パルスレーザ光が、第1の光ファイバを介して伝播させられる間にファイバの正分散特性によりポジティブチャーブ化され、負分散光学系を通過させられる間に光学系の負分散特性によりネガティブチャーブ化され、第2の光ファイバを介して伝播させられる間にファイバの正分散特性によりネガティブチャーブがキャンセルされた状態で顕微鏡本体に入射され、標本に照射される。2本の光ファイバおよび顕微鏡本体において付与される正分散量に対向し得る大きさの負分散量を負分散光学系において付与するように調節しておくことにより、顕微鏡本体から標本に対して超短パルスレーザ光を照射することが可能となり、標本における多光子励起現象を効率的に発生させて鮮明な蛍光画像を取得することができる。

30

【0008】

この場合において、本発明によれば、レーザ光源からの超短パルスレーザ光の波長が変化したり顕微鏡本体における正分散量が変化したりした場合に、負分散量調節部の作動により、第1の光ファイバと第2の光ファイバとの間に配置された負分散光学系の負分散量が調節される。したがって、第1の光ファイバ内の非線形効果と第2の光ファイバ内の非線形効果とのバランスが維持され、顕微鏡本体から標本に照射する超短パルスレーザ光のパルス幅を十分に短くすることができる。

【0009】

40

また、上記発明においては、前記第1の光ファイバへの超短パルスレーザ光の入射位置を調節する第1のアライメント調節部と、前記第2の光ファイバへのレーザ光の入射位置を調節する第2のアライメント調節部とを備えることとしてもよい。

このようにすることで、第1、第2のアライメント調節部の作動により、第1、第2の光ファイバへのレーザ光のカップリング効率を向上し、高出力の超短パルスレーザ光を標本に照射することができる。また、出力の高いレーザ光が第1、第2の光ファイバのコアから外れることを防止して、第1、第2の光ファイバの劣化防止を図ることができる。また、負分散量光学系による負分散量の調節に応じて第2の光ファイバへの入射アライメントを精度よく調節することにより、第1、第2の光ファイバの非線形効果のバランスを維持して、顕微鏡本体から超短パルスレーザ光を出射させることができる。これにより、標

50

本における多光子励起効果を向上し、鮮明な蛍光画像を得ることができる。

【0010】

また、上記発明においては、前記レーザ光源から出射される超短パルスレーザ光の波長および／または前記顕微鏡本体の正分散量と対応づけて、前記第1のアライメント調節部および前記第2のアライメント調節部による入射位置を記憶する入射位置記憶部を備えることとしてもよい。

このようにすることで、レーザ光源から出射される超短パルスレーザ光の波長や顕微鏡本体における正分散量が変化したときに、これに応じて入射位置記憶部に記憶されている入射位置を読み出して第1、第2のアライメント調節部による入射位置に調節を行うことにより、簡易かつ迅速にレーザ光のカップリング効率の向上を図ることができる。

10

【0011】

また、上記発明においては、前記第1の光ファイバから出射されるレーザ光の出力を検出する第1の出力検出部と、該第1の出力検出部による検出結果に基づいて、第1の光ファイバへの超短パルスレーザ光の入射位置を調節する第1のアライメント調節部と、前記第2の光ファイバから出射されるレーザ光の出力を検出する第2の出力検出部と、該第2の出力検出部による検出結果に基づいて、第2の光ファイバへのレーザ光の入射位置を調節する第2のアライメント調節部とを備えることとしてもよい。

【0012】

このようにすることで、第1の出力検出部による検出の結果、第1の光ファイバからのレーザ光の出力が低下している場合に、第1のアライメント調節部を作動させ、第1の出力検出部において検出される出力を維持することができる。また、第2の出力検出部による検出の結果、第2の光ファイバからのレーザ光の出力が低下している場合に、第2のアライメント調節部を作動させ、第2の出力検出部において検出される出力を維持することができる。これにより、第1、第2の光ファイバへのレーザ光の入射位置を自動調節でき、より精密に高出力伝送を維持することができる。

20

【0013】

また、上記発明においては、前記レーザ光源から出射される超短パルスレーザ光の波長および／または前記顕微鏡本体の正分散量と対応づけて、前記第1のアライメント調節部および前記第2のアライメント調節部による入射位置を記憶する入射位置記憶部を備えることとしてもよい。

30

このようにすることで、レーザ光源から出射される超短パルスレーザ光の波長や顕微鏡本体における正分散量が変化したときに、まず、入射位置記憶部に記憶されている入射位置を読み出して第1、第2のアライメント調節部による入射位置に調節を行うことにより、簡易かつ迅速にレーザ光のカップリング効率の向上を図ることができる。その後、レーザ光の入射位置が不適正になったときに、第1、第2のアライメント調節部の作動により、第1、第2の光ファイバへのレーザ光の入射位置を自動調節でき、より精密に高出力伝送を維持することができる。

【0014】

また、上記発明においては、前記第1のアライメント調節部は、前記第1の出力検出部により検出されるレーザ光の出力が所定の閾値以下となったときに第1の光ファイバへの超短パルスレーザ光の入射位置を調節し、前記第2のアライメント調節部は、前記第2の出力検出部により検出されるレーザ光の出力が所定の閾値以下となったときに第2の光ファイバへのレーザ光の入射位置を調節することとしてもよい。

40

このようにすることで、顕微鏡本体から標本に照射する超短パルスレーザ光の出力を常時安定させ、安定した蛍光観察を行うことができる。

【0015】

また、上記発明においては、前記入射位置記憶部に記憶された入射位置に前記第1または第2のアライメント調節部を調節する際に、第1の光ファイバへの超短パルスレーザ光の入射を遮断するシャッタを備えることとしてもよい。

入射位置記憶部に記憶された入射位置が達成されるようにするための第1または第2の

50

アライメント調節部の調節においては、現実にレーザ光を入射させる必要がない。

このようにすることで、アライメント調節部による調節中に、レーザ光が光ファイバのコアから外れた位置に入射されることによる光ファイバの劣化を防止することができる。

【0016】

また、上記発明においては、前記レーザ光源から出射される超短パルスレーザ光の波長および／または前記顕微鏡本体の正分散量と対応づけて、前記負分散量調節部の調節値を記憶する負分散量調節値記憶部を備えることとしてもよい。

このようにすることで、レーザ光源から出射される超短パルスレーザ光の波長や顕微鏡本体における正分散量が変化したときに、まず、負分散量調節値記憶部に記憶されている負分散量調節値を読み出して負分散量調節部の負分散量を調節することにより、簡易かつ迅速に第1、第2の光ファイバ内における非線形効果のバランスを図り、適正な超短パルスレーザ光を標本に照射することができる。

【0017】

また、上記発明においては、前記顕微鏡本体が、超短パルスレーザ光を標本に照射する対物レンズを備え、該対物レンズから出射された超短パルスレーザ光のパルス幅または標本において発生する蛍光の強度を検出する対物検出部と、前記負分散光学系が、該対物検出部における検出結果に基づいて負分散量を調節することとしてもよい。

このようにすることで、対物検出部において検出された対物レンズから出射された超短パルスレーザ光のパルス幅または標本において発生する蛍光の強度が不適正なときに、これに応じて負分散光学系により付与する負分散量が調節される。これにより、対物レンズから標本に照射される超短パルスレーザ光の短いパルス幅と高出力とを維持し、多光子励起効果を効率的に発生させて鮮明な蛍光画像を取得することができる。

【0018】

また、上記発明においては、前記負分散光学系が、グレーティング対またはプリズム対を含むこととしてもよい。

このようにすることで、グレーティング対のグレーティング間隔あるいはプリズム対のプリズム間隔を調節することによって、容易に負分散量を調節することができる。

【0019】

また、上記発明においては、前記第1の光ファイバおよび第2の光ファイバがシングルモードファイバからなることとしてもよい。

このようにすることで、第1および第2の光ファイバ内におけるモード分散の発生を防止し、伝送される超短パルスレーザ光のパルス幅制御を容易に行うことが可能となる。

【0020】

また、上記発明においては、前記第1の光ファイバおよび第2の光ファイバが、偏波保持型シングルモードファイバからなることとしてもよい。

このようにすることで、ランダム偏光型の光ファイバを使用する場合と比較して、ファイバ出射端の偏光状態を調整するための1/4板、1/2板およびその回転機構等の付帯する機器が不要となり、第1、第2の光ファイバから出射されるレーザ光の偏光を簡易に整えることができる。

【0021】

また、上記発明においては、前記第1の光ファイバおよび第2の光ファイバが、フォトニッククリスタルファイバからなることとしてもよい。

このようにすることで、広い波長域での超短パルスレーザ光のシングルモード伝送が可能となる。また、大口径化を図ることができ、第1、第2の光ファイバ内における非線形効果を低減して、伝送されるレーザ光のパルス幅制御を容易にすることができます。

【0022】

また、上記発明においては、前記第1の光ファイバから出射されるレーザ光を略平行光にする1以上のレンズからなるコリメートレンズと、前記レーザ光源からの超短パルスレーザ光の波長の変化に応じて、該コリメートレンズを構成するレンズの光軸方向位置を調節するコリメートレンズ調節部とを備えることとしてもよい。

10

20

30

40

50

このようにすることで、超短パルスレーザ光の波長の変化に応じて、コリメートレンズ調節部の作動により、コリメートレンズを構成するレンズの光軸方向位置を調節し、第2の光ファイバのカップリング効率を向上でき、第1の光ファイバから出射されるレーザ光を無駄なく利用し、高出力伝送を図ることができる。

【0023】

また、上記発明においては、前記第2の光ファイバの出射端と前記顕微鏡本体との間に配置され、該顕微鏡本体に入射されるレーザ光の光束径および光束広がり角を調節する1以上のレンズからなるビーム整形光学系と、前記レーザ光源からの超短パルスレーザ光の波長の変化に応じて、該ビーム整形光学系を構成するレンズの光軸方向位置を調節するレンズ位置調整機構とを備えることとしてもよい。

10

このようにすることで、超短パルスレーザ光の波長の変化に応じて、レンズ位置調整機構の作動により、ビーム整形光学系を構成するレンズの光軸方向位置を調節し、顕微鏡本体に入射されるレーザ光の光束径および光束広がり角を調節して、標本に照射される超短パルスレーザ光の開口数を確保し、多光子励起効率および分解能を向上することができる。

【0024】

また、上記発明においては、前記レーザ光源と前記第1の光ファイバとの間または前記第2の光ファイバと前記顕微鏡本体との間のいずれかに、レーザ光の強度を変調する強度変調器を備えることとしてもよい。

このようにすることで、第1、第2の光ファイバの間以外の場所に配置された強度変調器により、両ファイバ内の非線形効果のバランスを取り、顕微鏡本体から標本に対して出射される超短パルスレーザ光のパルス幅を安定させつつ、出力変調を行うことができる。

20

【0025】

また、上記発明においては、前記レーザ光源と前記第1の光ファイバとの間に、該第1の光ファイバに入射するレーザ光のピーク強度を調整する正分散量可変部を備えることとしてもよい。

このようにすることで、第1、第2の光ファイバ間の伝送効率に応じて正分散量可変部を調節することにより、両ファイバ内の非線形効果のバランスを常に維持することができる。また、第2の光ファイバ以降に配置される顕微鏡本体等の正分散量が比較的小さい場合においてもこれを補って、所望のパルス幅の超短パルスレーザ光を標本に照射することができる。

30

【0026】

また、上記発明においては、前記レーザ光源、第1の光ファイバおよび負分散光学系を含む光源ユニットと、顕微鏡本体とを第2の光ファイバにより接続してなることとしてもよい。

このようにすることで、第2の光ファイバを変形させることにより、光源ユニットに対して顕微鏡本体の取り回しを容易にし、設置の自由度を高めることができる。

【発明の効果】

【0027】

本発明によれば、波長が変化したり顕微鏡本体の正分散量が変化したりしても顕微鏡本体から標本に対して超短パルスレーザ光を照射することを可能とし、多光子励起現象を効率的に発生させて鮮明な蛍光画像を取得することができるという効果を奏する。

40

【発明を実施するための最良の形態】

【0028】

本発明の第1の実施形態に係るレーザ顕微鏡1について、図1を参照して以下に説明する。

本実施形態に係るレーザ顕微鏡1は、標本Aにおいて多光子励起効果を発生させる多光子励起型のレーザ顕微鏡1であって、図1に示されるように、超短パルスレーザ光を出射するレーザ光源2側から順に、該レーザ光源2と、カップリングレンズ3と、第1の光ファイバ4と、コリメートレンズ5と、負分散光学系6と、カップリングレンズ7と、第2

50

の光ファイバ8と、コリメートレンズ9と、顕微鏡本体10とを備えている。

【0029】

レーザ光源2は、例えば、波長帯域700nm～1000nm、少なくともピコ秒以下のパルス幅を有する超短パルスレーザ光を波長変更可能に出射するようになっている。

前記第1、第2の光ファイバ4, 8は、偏波保持型のフォトニッククリスタルファイバからなり、その入射端4a, 8aに、該入射端4a, 8aへのレーザ光の入射位置を調節するアライメント調節機構11, 12が設けられている。これら第1、第2の光ファイバ4, 8は、正分散特性を有し、レーザ光を伝播する際に、該レーザ光をポジティブチャーピ化するようになっている。

【0030】

アライメント調節機構11, 12は、例えば、固定されたカップリングレンズ3, 7に対して、光ファイバ4, 8の入射端4a, 8aをその光軸方向および光軸に直交する2方向に3次元的に移動可能としている。これにより、アライメント調節機構11, 12は、光ファイバ4, 8の入射端4a, 8aを移動させて、カップリングレンズ3, 7による集光位置にちょうど光ファイバ4, 8の入射端4a, 8aのコアが配置されるように調節するようになっている。

10

【0031】

コリメートレンズ5は、少なくとも1つのレンズからなり、その少なくとも一部が光軸方向に移動可能に設けられている。コリメートレンズ5にはレンズ位置調整機構22が接続されている。レンズ位置調整機構22の作動によって、コリメートレンズ5が所定の光軸方向位置に調整されることにより、第1の光ファイバ4から出射されたレーザ光を集光して略平行光とし、後段の負分散光学系6に入射させるようになっている。

20

【0032】

負分散光学系6は、相互に間隔調整可能に設けられた一対のグレーティング6a, 6bと、該グレーティング6a, 6b対から出射されるレーザ光の出射位置を調節するミラー6cとを備えている。グレーティング6a, 6b対は、一対のグレーティング6a, 6bの間隔を調節することにより、負分散量を調節することができ、レーザ光のネガティブチャーピ化の度合いを変更できる。ミラー6cは、グレーティング6a, 6b対の移動により光路が変動しても、負分散光学系6から出射されるレーザ光の出射位置および角度が変化しないように調節するようになっている。

30

【0033】

顕微鏡本体10は、第2の光ファイバ8から出射されコリメートレンズ9によって略平行光にされたレーザの光束径および光束広がり角を調節するビーム整形光学系13と、該ビーム整形光学系13により光束径および光束広がり角を調節されたレーザ光を2次元的に走査するスキャナ14と、瞳投影レンズ15および結像レンズ16と、結像レンズ16により略平行光にされた超短パルスレーザ光を集光して標本Aに照射する一方、標本Aにおいて発生した蛍光を集光する対物レンズ17と、該対物レンズ17により集光された蛍光を超短パルスレーザ光の光路から分岐するダイクロイックミラー18と、該ダイクロイックミラー18により分岐された蛍光を集光する集光レンズ19と、集光された蛍光を検出する光検出器20と、該光検出器20により検出された蛍光に基づいて蛍光画像を構築し表示する表示部21とを備えている。

40

【0034】

ビーム整形光学系13は、光軸方向に移動可能に設けられた1以上のレンズを備え、レンズ位置調整機構23によって所定の位置にレンズを調節されることにより、対物レンズ17の瞳を満たす光束径および光束広がり角のレーザ光をスキャナ14に対して入射させることができるようになっている。

【0035】

負分散光学系6、アライメント調整機構11, 12およびレンズ位置調整機構22, 23は、制御部24に接続され、該制御部24によって調節されるようになっている。制御部24には、記憶部25が接続されている。記憶部25には、レーザ光源2から発せられ

50

る超短パルスレーザ光の波長と、負分散光学系 6 による負分散量、光ファイバ 4 , 8 の入射端 4 a , 8 a の位置、コリメートレンズ 5 およびビーム整形光学系 1 3 を構成するレンズの位置とが対応づけて記憶されている。

【 0 0 3 6 】

したがって、レーザ光源 2 から発せられる超短パルスレーザ光の波長が決定されると、制御部 2 4 は、記憶部 2 5 内を検索して当該波長に対応する負分散光学系 6 、アライメント調整機構 1 1 , 1 2 およびレンズ位置調整機構 2 2 , 2 3 の調整値を読み出し、読み出され調整値に基づいて負分散光学系 6 、アライメント調整機構 1 1 , 1 2 およびレンズ位置調整機構 2 2 , 2 3 を調整するようになっている。

【 0 0 3 7 】

また、カップリングレンズ 3 , 7 の前段の光路には、シャッタ 2 6 , 2 7 がそれぞれ挿脱可能に設けられている。シャッタ 2 6 , 2 7 が光路に挿入されることにより、レーザ光源 2 からのレーザ光のカップリングレンズ 3 , 7 への入射が遮断され、シャッタ 2 6 , 2 7 が光路から離脱させられることにより、カップリングレンズ 3 , 7 へのレーザ光の入射が許容されるようになっている。

【 0 0 3 8 】

シャッタ 2 6 , 2 7 は、前記アライメント調整機構 1 1 , 1 2 およびレンズ位置調整機構 2 2 , 2 3 による調整動作中においては、制御部 2 4 からの指令により、カップリングレンズ 3 , 7 へのレーザ光の入射を禁止するように、光路内に挿入されるようになっている。そして、シャッタ 2 6 , 2 7 は、調整動作が終了した後に、制御部 2 4 からの指令により、光路から離脱させられて、レーザ光の通過を許容するようになっている。

【 0 0 3 9 】

このように構成された本実施形態に係るレーザ顕微鏡 1 の作用について以下に説明する。

本実施形態に係るレーザ顕微鏡 1 によれば、レーザ光源 2 から出射された超短パルスレーザ光がカップリングレンズ 3 により第 1 の光ファイバ 4 の入射端 4 a に入射され、第 1 の光ファイバ 4 内を伝播した後、コリメートレンズ 5 により略平行光とされる。

【 0 0 4 0 】

レーザ光は、第 1 の光ファイバ 4 内を伝播する間に、ファイバの正分散特性によりポジティブチャーブ化される。この状態で負分散光学系 6 に入射されたレーザ光は、グレーティング 6 a , 6 b 対の間隔に応じて定まる負分散量により逆にネガティブチャーブ化された状態で、カップリングレンズ 7 により第 2 の光ファイバ 8 の入射端 8 a に入射され、第 2 の光ファイバ 8 内を伝播した後、コリメートレンズ 9 により略平行光とされる。

【 0 0 4 1 】

また、レーザ光は、第 2 の光ファイバ 8 内を伝播する間に、ファイバの正分散特性によりネガティブチャーブが次第にキャンセルされる。

また、第 2 の光ファイバ 8 から出射されたレーザ光は、コリメートレンズ 9 により略平行光とされた後、ビーム整形光学系 1 3 により光束径および光束広がり角を調節された状態でスキャナ 1 4 により 2 次元的に走査され、瞳投影レンズ 1 5 、結像レンズ 1 6 および対物レンズ 1 7 により集光されて標本 A に照射される。

【 0 0 4 2 】

第 2 の光ファイバ 8 の出射端 8 b の後段に配置される光学系、すなわち、コリメートレンズ 9 、ビーム整形光学系 1 3 およびスキャナ 1 4 、瞳投影レンズ 1 5 、結像レンズ 1 6 、ダイクロイックミラー 1 8 および対物レンズ 1 7 は、レーザ光に対し、全体として正分散とする。

すなわち、レーザ光源 2 から発せられた超短パルスレーザ光は、第 1 の光ファイバ 4 内を伝播する際にファイバの正分散特性により、パルス幅が広がるポジティブチャーブ状態となるが、負分散光学系 6 を通過させられることにより、大きな負分散特性によりパルス幅が広がったネガティブチャーブ状態となる。そして、第 2 の光ファイバ 8 内を伝播する際に再度ファイバの正分散特性により、ネガティブチャーブ状態から戻され、さらに、第

10

20

30

40

50

2 の光ファイバ 8 後の光学系を通過させられることにより光学系の正分散特性によって、対物レンズ 17 の先端から出射される際には、レーザ光源 2 から出射された際のパルス幅に復元された超短パルスレーザ光となる。

【 0 0 4 3 】

その結果、超短パルスレーザ光の標本 A における集光位置において、多光子励起現象が発生し、発生した蛍光が対物レンズ 17 により集光された後、ダイクロイックミラー 18 によって分岐されて光検出器 20 により検出される。スキャナ 14 による走査位置および光検出器 20 より検出された蛍光の強度に基づいて、2 次元的な蛍光画像が表示部 21 に表示されることになる。

【 0 0 4 4 】

この場合において、本実施形態に係るレーザ顕微鏡 1 によれば、レーザ光源 2 から出射される超短パルスレーザ光の波長が変更された場合に、制御部 24 の作動により、まず、シャッタ 26, 27 が光路内に挿入される。

超短パルスレーザ光の波長が変更されることにより、各部の光軸がずれるので、シャッタ 26, 27 を光路に挿入することにより、レーザ光が光ファイバ 4, 8 のコア以外の位置に入射してしまうのを防止して、光ファイバ 4, 8 の劣化を防止することができる。

【 0 0 4 5 】

次いで、変更された波長に基づいて記憶部 25 に記憶されている調整値が読み出され、負分散光学系 6、アライメント調整機構 11, 12 およびレンズ位置調整機構 22, 23 が調節される。

波長の変更に応じて負分散光学系 6 により負分散量が調整されるので、第 1 の光ファイバ 4 内の非線形効果と第 2 の光ファイバ 8 内の非線形効果とのバランスが維持され、顕微鏡本体 10 から標本 A に照射する超短パルスレーザ光のパルス幅を十分に短く維持することができる。

【 0 0 4 6 】

また、波長の変更に応じてアライメント調整機構 11, 12 を作動させ、カップリングレンズ 3, 7 による集光位置に光ファイバ 4, 8 の入射端 4a, 8a のコアを精度よく配置するので、カップリング効率の向上によってレーザ光の損失を防止し、高出力伝送を行うことができる。また、カップリングレンズ 3, 7 によるレーザ光の集光位置が光ファイバ 4, 8 のコアからずれることによる光ファイバ 4, 8 の劣化を防止することもできる。

【 0 0 4 7 】

特に、負分散光学系 6 における設定が変化することにより第 2 の光ファイバ 8 の入射端 8a へのレーザ光の入射位置がずれることを防止して、2 本の光ファイバ 4, 8 内の非線形効果のバランスを維持し、対物レンズ 17 から確実に超短パルスレーザ光を出射させることができる。

また、波長の変更に応じてコリメートレンズ 5 の調整を行うことで、第 2 の光ファイバ 8 におけるカップリング効率をさらに向上することができる。

【 0 0 4 8 】

また、波長の変更に応じてビーム整形光学系 13 の調整を行うことにより、対物レンズ 17 の瞳を満たす光束径および光束広がり角に設定されたレーザ光をスキャナ 14 に入射させることができ、対物レンズ 17 から出射される超短パルスレーザ光の開口数を十分に大きく確保して分解能を向上することができる。

これにより、標本 A において多光子励起現象を効率的に発生させ、明るく鮮明な蛍光画像を取得することができるという利点がある。

【 0 0 4 9 】

また、本実施形態によれば、超短パルスレーザ光の波長に対応づけて負分散光学系 6、アライメント調整機構 11, 12 およびレンズ位置調整機構 22, 23 の調整値を記憶部 25 に記憶しておくこととしたので、波長の変更時に、記憶部 25 に記憶された調整値によって、各部を迅速に調整することができる。

【 0 0 5 0 】

10

20

30

40

50

なお、本実施形態においては、レーザ光源2から出射される超短パルスレーザ光の波長が変更された場合に、負分散光学系6、アライメント調整機構11, 12およびレンズ位置調整機構22, 23を調整することとしたが、これに加えて、顕微鏡本体10における正分散量の変化に応じた調整値を記憶部25に記憶しておくことにしてよい。例えば、顕微鏡本体10における対物レンズ17が交換された場合に、その正分散量が変化するので、これを補償するよう負分散光学系6の設定を変更し、かつ、アライメント調整機構11, 12およびレンズ位置調整機構22, 23を調節することが必要となる。

【0051】

このようにすることで、対物レンズ17の交換等が行われても、第1の光ファイバ4内の非線形効果と第2の光ファイバ8内の非線形効果とのバランスが維持され、顕微鏡本体10から標本Aに照射する超短パルスレーザ光のパルス幅を十分に短く維持することができる。また、光ファイバ4, 8の劣化を防止し、高出力伝送を達成し、高分解能の蛍光観察を行うことができる。

【0052】

また、本実施形態においては、第1の光ファイバ4と第2の光ファイバ8との間以外の位置に、出力変調器（図示略）を配置することとしてもよい。出力変調器は、例えば、AO-TFのような音響光学素子、電気光学素子、NDフィルタ、アッテネータあるいは反射率可変ミラー等を挙げることができる。このようにすることで、第1の光ファイバ4内の非線形効果と第2の光ファイバ8内の非線形効果とのバランスを維持して対物レンズ17から出射される超短パルスレーザ光のパルス幅を安定させつつ、出力変調を行うことができる。

【0053】

また、第2の光ファイバ8の出射端以降の光学系における正分散量が足りない場合は、他の正の分散量を有する任意の光学素子を追加して、分散量を最適化することにしてもよい。

また、本実施形態においては、アライメント調整機構11, 12として、固定されたカップリングレンズ3, 7に対して光ファイバ4, 8の入射端4a, 8aを3次元的に移動させるものを例示したが、これに代えて、カップリングレンズ3, 7および光ファイバ4, 8の入射端4a, 8aを光軸に交差する方向には一体的に移動させ、光軸方向には相対的に移動させることにしてもよい。また、光ファイバ4, 8の入射端4a, 8aをカップリングレンズ3, 7と一体的に光軸に直交する方向に移動可能とすることにしてもよい。

【0054】

また、本実施形態においては、光ファイバ4, 8として、偏波保持型のフォトニッククリスタルファイバを使用したが、これに代えて、ランダム偏光型のシングルモードファイバを採用してもよい。この場合には、光ファイバ4, 8の出射端に $\lambda/4$ 板および $\lambda/2$ 板（図示略）を配置し、これらを光軸回りに回転させることで偏光方向を調節することにすればよい。

【0055】

次に、本発明の第2の実施形態に係るレーザ顕微鏡30について、図2を参照して以下に説明する。

本実施形態の説明において、上述した第1の実施形態に係るレーザ顕微鏡1と構成を共通とする箇所には同一符号を付して説明を省略する。

【0056】

本実施形態に係るレーザ顕微鏡30は、第1、第2の光ファイバ4, 8の出射端4b, 8bから出射されるレーザ光の一部を分岐するビームスプリッタ31, 32と、該ビームスプリッタ31, 32により分岐されたレーザ光の強度を検出する出力検出器33, 34とを備え、該出力検出器33, 34による検出結果に基づいて、アライメント調整機構11, 12が制御される点において第1の実施形態に係るレーザ顕微鏡1と相違している。

【0057】

10

20

30

40

50

なお、図2において、第1の実施形態において説明した制御部24および記憶部25は、説明の簡単のために図示を省略している。

アライメント調整機構11, 12は、レーザ光源2から出射される超短パルスレーザ光の波長が変更されたとき、あるいは、顕微鏡本体10において対物レンズ17が交換されたときは、制御部24の作動により、記憶部25に記憶されている調整値が読み出されて設定され、それによって、予め定められた位置に光ファイバ4, 8の入射端4a, 8aを調整するようになっている。一方、出力検出器33, 34の作動により、光ファイバ4, 8の出射端4b, 8bから出力されるレーザ光の強度が常時監視され、出力検出器33, 34の出力が所定のしきい値を下回ったときに、出力値が最大となるようにアライメント調整機構11, 12が、光ファイバ4, 8の入射端4a, 8aの位置を調整するようになっている。10

【0058】

このようにすることで、波長変更時あるいは対物レンズ17交換時には記憶部25に記憶されている調整値に迅速に調整することができる。また、出力検出器33, 34による常時監視によって、光軸不適正になった際にその変動量を補正することができる。したがって、レーザ光の集光位置が光ファイバ4, 8のコアから外れてしまうことによる光量の損失や光ファイバ4, 8の劣化等の不都合の発生を防止することができる。

【0059】

次に、本発明の第3の実施形態に係るレーザ顕微鏡40について、図3および図4を参考して以下に説明する。20

本実施形態の説明において、上述した第2の実施形態に係るレーザ顕微鏡30と構成を共通とする箇所には同一符号を付して説明を省略する。

【0060】

本実施形態に係るレーザ顕微鏡40は、ビームスプリッタ31, 32により分岐されたレーザ光をさらに分岐するビームスプリッタ41, 42と、該ビームスプリッタ41, 42により分岐されたレーザ光のビーム形状を検出するCCD等のビーム形状検出器43, 44とを備え、該ビーム形状検出器43, 44による検出結果に基づいて、レンズ位置調整機構22, 45がコリメートレンズ5、ビーム整形光学系13を調節する点、対物レンズ17から出射される超短パルスレーザ光のパルス幅あるいは、蛍光の強度を検出する対物検出器46を備え、該対物検出器46による検出結果に応じて負分散光学系6が制御される点において第2の実施形態に係るレーザ顕微鏡30と相違している。30

【0061】

このように構成された本実施形態に係るレーザ顕微鏡40を用いて標本Aの観察を行うに先立って、超短パルスレーザ光の波長が変更された場合には、図4に示されるように、まず、制御部24が、シャッタ26, 27を光路に挿入し(ステップS1)、次いで、変更後の波長に基づいて記憶部25を検索し(ステップS2)、アライメント調整機構11, 12、レンズ位置調整機構22, 45、負分散光学系6を波長に対応づけて記憶されている調整値に設定する(ステップS3)。

【0062】

この状態で、シャッタ26, 27が開放され(ステップS4)、出力検出器33, 34による検出結果を監視し(ステップS5)、出力検出器33, 34からの出力が最大となるようにアライメント調整機構11, 12による微調整を行う(ステップS6)。さらに、ビーム形状検出器43, 44の作動により、光ファイバ4, 8の出射端4b, 8bから出力されるレーザ光のビーム形状が監視され(ステップS7)、ビーム形状が所望の形状となるようにレンズ位置調整機構22, 45が微調整される(ステップS8)。さらに、対物検出器46において、対物レンズ17から出射される超短パルスレーザ光のパルス幅あるいは、蛍光の強度が監視され(ステップS9)、所望のパルス幅あるいは所望の蛍光強度となるように負分散光学系6におけるグレーティング6a, 6b対およびミラー6cの位置が微調整される(ステップS10)。そして、ステップS5～S10が調整終了まで繰り返される(ステップS11)。4050

【0063】

このように構成された本実施形態に係るレーザ顕微鏡40によれば、対物レンズ17の先端から出射される超短パルスレーザ光のパルス幅が監視され、所望のパルス幅が達成される負分散量が負分散光学系6により調節されるので、より確実に超短パルスレーザ光を実現して、標本Aにおける多光子励起効率を向上することができるという利点がある。

【0064】

次に、本発明の第4の実施形態に係るレーザ顕微鏡50について、図5および図6を参考して以下に説明する。

本実施形態の説明において、上述した第2の実施形態に係るレーザ顕微鏡30と構成を共通とする箇所には同一符号を付して説明を省略する。

10

【0065】

本実施形態に係るレーザ顕微鏡50は、図5に示されるように、レーザ光源2と第1の光ファイバ4との間にピーク強度調整機構51を備えている点において、第2の実施形態に係るレーザ顕微鏡30と相違している。

ピーク強度調整機構51は、超短パルスレーザ光に付与する正分散量を変更して超短パルスレーザ光のポジティブチャーブ化の度合いを調整するもので、例えば、図6(a)または(b)に示されるように、逐一的に光路上に配置される正分散素子51a, 51bの素子長を変更する方式のものが採用される。(a)、(b)はレボルバー式にして、例えば、結晶長の異なるZnSe結晶51a, 51bを切り替えるものである。図6(a)はシングルパス方式、(b)はマルチパス方式である。図中、符号51cはミラーである。また、図6(c)に示されるように、プリズム方式を採用してもよい。

20

【0066】

ピーク強度調整機構51は、例えば、2つの出力検出器33, 34による検出信号の比に応じて、ピーク強度を調節することにすればよい。そして、第1の光ファイバ4に入射する超短パルスレーザ光のピーク強度が変更された場合には、それに応じて負分散光学系6のグレーティング6a, 6b対の間隔およびミラー6cの位置を調整する。

【0067】

これにより、第1の光ファイバ4内の非線形効果と第2の光ファイバ8内の非線形効果とのバランスを維持して、対物レンズ17の先端から超短パルスレーザ光を出射させることができる。この場合に、ピーク強度調整機構51がレーザ光をある程度ポジティブチャーブ化することとなるので、第2の光ファイバ8の後段に配される顕微鏡本体10等における正分散量を低減することができるという利点がある。

30

【0068】

なお、上記各実施形態においては、例えば、図7に示されるように、第2の光ファイバ8よりも前段側を光源ユニット60とし、後段側を顕微鏡本体ユニット61としてとらえることができる。

すなわち、このようにすることで、光源ユニット60に対して、第2の光ファイバ8を変形させて、顕微鏡本体ユニット61を任意の位置に配置することができる。これにより、顕微鏡本体ユニット61の取り回しが容易であり、かつ、配置の自由度を向上することができるという利点がある。

40

【図面の簡単な説明】

【0069】

【図1】本発明の第1の実施形態に係るレーザ顕微鏡の全体構成を示すブロック図である。

【図2】本発明の第2の実施形態に係るレーザ顕微鏡の全体構成を示すブロック図である。

【図3】本発明の第3の実施形態に係るレーザ顕微鏡の全体構成を示すブロック図である。

【図4】図3のレーザ顕微鏡の動作を説明するフローチャートである。

【図5】本発明の第4の実施形態に係るレーザ顕微鏡の全体構成を示すブロック図である。

50

。

【図6】図5のレーザ顕微鏡のピーク強度調整機構を例示する図である。

【図7】本発明に係るレーザ顕微鏡の構成例を示すブロック図である。

【符号の説明】

【0070】

A 標本

1, 30, 40, 50 レーザ顕微鏡

5, 9 コリメートレンズ

6a, 6b グレーティング

8b 出射端

10

10 顕微鏡本体

11 アライメント調整機構（第1のアライメント調節部）

12 アライメント調整機構（第2のアライメント調節部）

13 ピーム整形光学系

17 対物レンズ

22, 45 レンズ位置調整機構（コリメートレンズ調節部）

23 レンズ位置調整機構

24 制御部（負分散量調節部）

25 記憶部（入射位置記憶部、負分散量記憶部）

26, 27 シャッタ

20

33 出力検出部（第1の出力検出部）

34 出力検出部（第2の出力検出部）

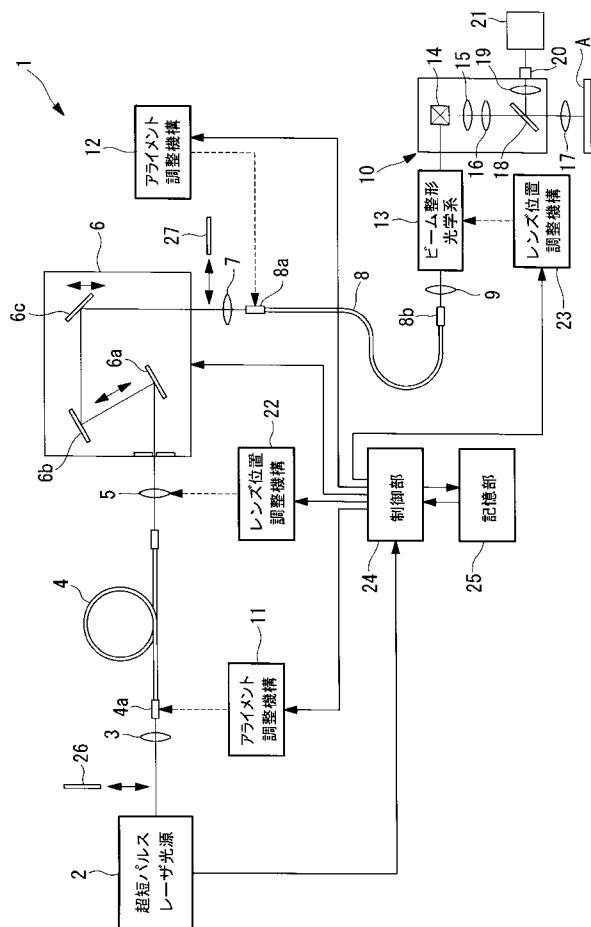
46 対物検出器（対物検出部）

51 ピーク強度調整機構（正分散量可変部）

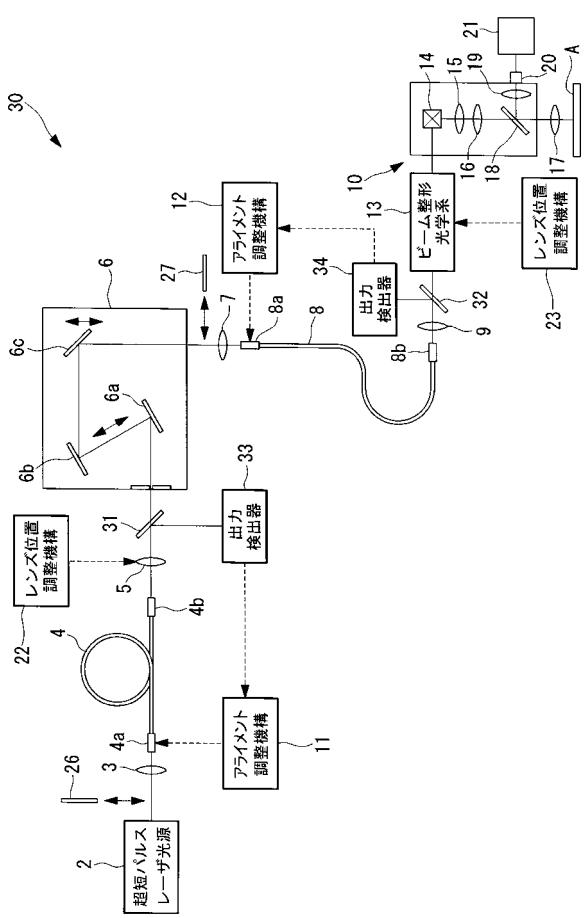
60 光源ユニット

61 顕微鏡本体ユニット（顕微鏡本体）

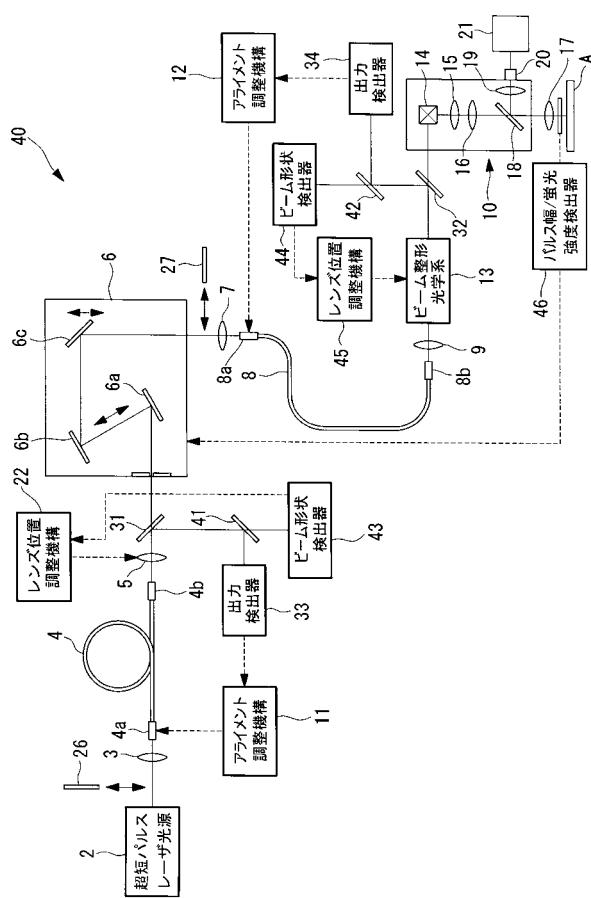
【図1】



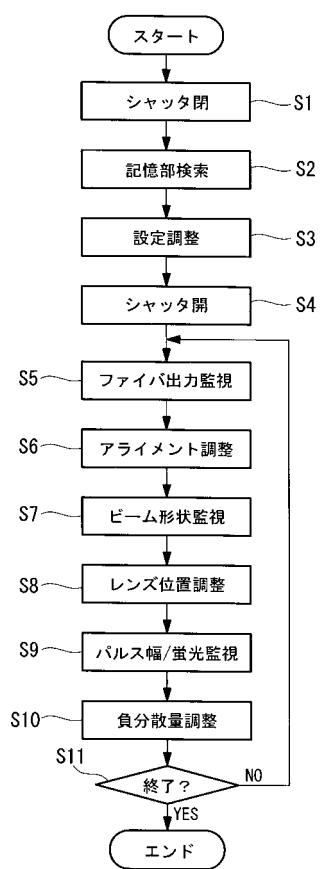
【図2】



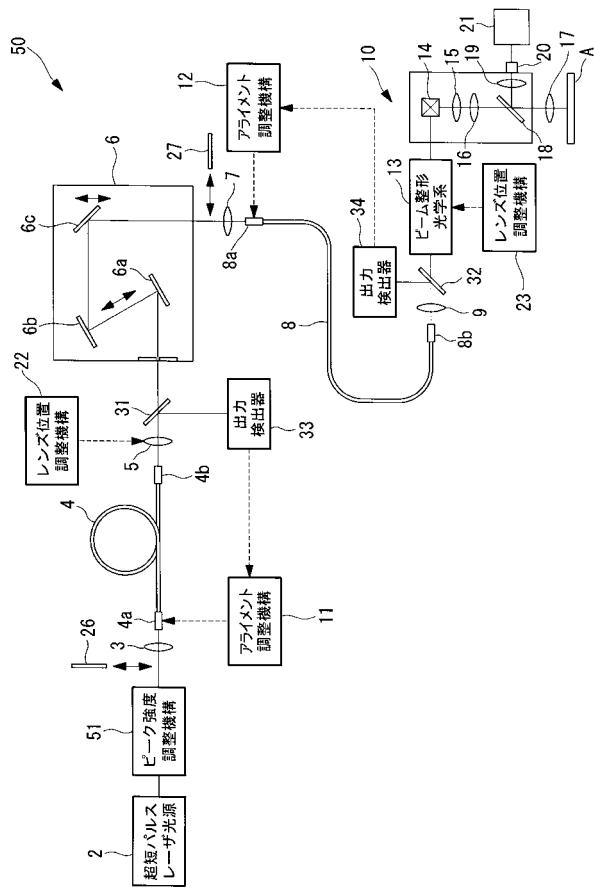
【図3】



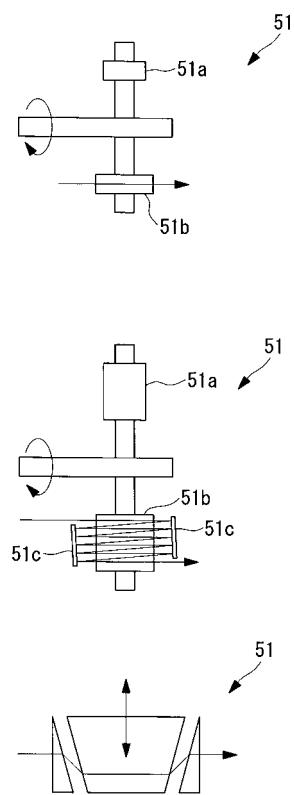
【図4】



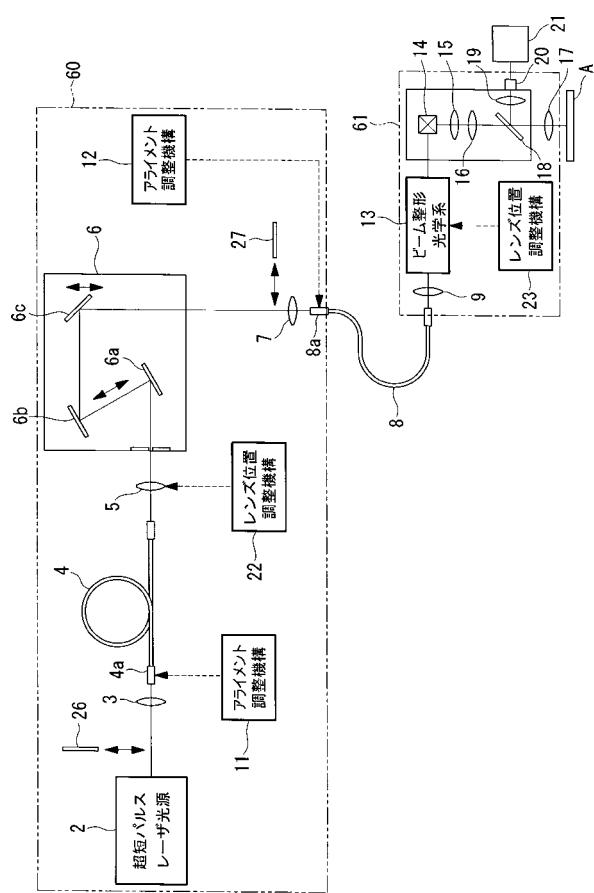
【 义 5 】



【 四 6 】



【図7】



フロントページの続き

(56)参考文献 特開平11-218490(JP,A)
特開2002-243641(JP,A)
特開2005-257507(JP,A)
特開2006-330685(JP,A)
特開2000-304619(JP,A)
特開平10-213714(JP,A)
特表2008-517291(JP,A)
特開2006-018051(JP,A)
特開平10-186424(JP,A)
特開2006-275917(JP,A)
特開2006-171027(JP,A)
特開2003-322799(JP,A)
特開昭63-041814(JP,A)
特開2002-107635(JP,A)
特開平10-318924(JP,A)
特開2005-345614(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G02B 21/00
G02B 21/06 - 21/36