

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3656252号
(P3656252)

(45) 発行日 平成17年6月8日(2005.6.8)

(24) 登録日 平成17年3月18日(2005.3.18)

(51) Int. Cl.⁷

F I

GO2B 21/00
GO2B 5/30
GO2B 21/02
GO2B 21/08

GO2B 21/00
GO2B 5/30
GO2B 21/02
GO2B 21/08

Z

請求項の数 3 (全 10 頁)

<p>(21) 出願番号 特願平5-196717 (22) 出願日 平成5年7月15日(1993.7.15) (65) 公開番号 特開平7-35982 (43) 公開日 平成7年2月7日(1995.2.7) 審査請求日 平成12年4月5日(2000.4.5) 審判番号 不服2002-20808(P2002-20808/J1) 審判請求日 平成14年10月28日(2002.10.28)</p>	<p>(73) 特許権者 000004112 株式会社ニコン 東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 (72) 発明者 大瀧 達朗 東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株式会社ニコン内 (72) 発明者 川人 敬 東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株式会社ニコン内 合議体 審判長 上野 信 審判官 青木 和夫 審判官 末政 清滋</p>
---	---

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微分干渉顕微鏡

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

光源と、該光源からの光を集光して被検物を照明するコンデンサレンズと、前記被検物を介した前記コンデンサレンズからの光を集光して前記被検物の像を形成する対物レンズと、前記像を観察するための観察手段とを有し、

前記光源と前記コンデンサレンズとの間に、前記光源側から順に、前記光源からの光束を所定の偏光光とする第1の偏光手段と、前記偏光光を常光線と異常光線との2光線に分離する第1の複屈折素子とを配置すると共に、

前記対物レンズと前記観察手段との間に、前記被検物から順に、前記被検物を介した前記2光線を同一光路上に導く第2の複屈折素子と、前記同一光路上に導かれた2光線を干渉させる第2の偏光手段とを配置した微分干渉顕微鏡において、

前記観察手段は、前記被検物の像を光電的に検出する撮像手段と、該撮像手段に検出された前記被検物の像のコントラストを強調するコントラスト強調手段とを有し、

さらに、前記対物レンズの分解能を $\frac{1}{20} S \frac{2}{5}$ としたとき、前記常光線と前記異常光線とのシアール量 S が以下の条件を満たすことを特徴とする微分干渉顕微鏡。

$\frac{1}{20} S \frac{2}{5}$

【請求項2】

前記コンデンサレンズが前記被検物からの反射光を集光する対物レンズとして共用されると共に、前記第1の複屈折素子が前記第2の複屈折素子として共用される構成とし、前記第1の偏光手段と前記第1の複屈折素子との間に、前記コンデンサレンズと前記第1の

10

20

複屈折素子とを介した前記被検物からの反射光を前記第2の偏光手段へ導く光路分割手段を備えたことを特徴とする請求項1に記載の微分干渉顕微鏡。

【請求項3】

前記シアー量 S を $\frac{1}{5}$ あるいは $\frac{1}{10}$ とすることを特徴とする請求項1に記載の微分干渉顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明は、例えば生物標本の観察等に用いられる微分干渉顕微鏡に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

従来の微分干渉顕微鏡には、例えば図5に示すような透過照明型のものがあつた。この微分干渉顕微鏡は、図5(a)において、光源 S からの光をレンズ L_1 、レンズ L_2 およびコンデンサレンズ L_3 によって標本 M をケラー照明し、この標本 M の透過光が対物レンズ L_4 を介して形成する拡大像 Y を接眼レンズ L_5 を介して肉眼で観察するという顕微鏡光学系に微分干渉部材、即ち偏光子 P 、検光子 A 、ウオラストンプリズム W_1 、ウオラストンプリズム W_2 を組み込んだものである。

【0003】

ウオラストンプリズム W_1 はコンデンサレンズ L_3 の入射瞳位置に、ウオラストンプリズム W_2 は対物レンズ L_4 の射出瞳位置に各々配置され、偏光子 P はウオラストンプリズム W_1 の手前(光源 S 側)に、検光子 A はウオラストンプリズム W_2 の後ろ(接眼レンズ L_5 側)に配置されている。

【0004】

ウオラストンプリズムは、図6に示すように、それぞれの光学軸方向が互いに直交する状態で切り出された2つの直角プリズムを接合してなるものであり、ここでは一方が紙面に平行な光軸方向(矢印)で他方が紙面に垂直な光軸方向(+印)となっている。このプリズムは、入射光線を互いに直交する振動面を持つ2つの直線偏光に分離する。この時2つの光線は、直角プリズムの頂角 θ で決定される偏角 $\alpha = 2(n_e - n_o) \tan \theta$ で分離する。ここで、 n_e は異常光線に対するウオラストンプリズムの屈折率、 n_o は常光線に対するウオラストンプリズムの屈折率である。

【0005】

上記のような構成において、図5(b)に示すように、光源 S からの光は偏光子 P によって矢印方向の直線偏光が取り出され、この直線偏光は、ウオラストンプリズム W_1 によって互いに直交する2つの直線偏光に偏角 α をもって分離される。通常ウオラストンプリズムは、使用される対物レンズに応じて選択され、対物レンズを取り替える際に一緒に取り替えられる。

【0006】

この分離された2光線はコンデンサレンズ L_3 に入射するが、このときウオラストンプリズム W_1 がコンデンサレンズ L_3 の前側焦点面に位置すれば、2つの直線偏光はコンデンサレンズ L_3 の焦点距離 f_c と角度 α によって決まる量(シアー量) $S = f_c \cdot \tan \alpha$ だけ離れた平行光線となって標本 M を照射する。

【0007】

標本 M を透過した2光線は、対物レンズ L_4 によって対物レンズ L_4 の後ろ側焦点面で交わり、ここに配置されたウオラストンプリズム W_2 によって1つとなり、同一光路上を進む。さらに検光子 A を透過することによってこれら2光線の逆位相成分が取り出され、互いに干渉し合うようになる。

【0008】

即ち、標本 M 内を通過することによって2つの光線に光路差が生じなければ、2光線は干渉し打ち消し合て暗くなるが、逆に光路差が生じていれば明るく見える。微分干渉顕微鏡はこの原理を利用したものであり、標本 M が無色透明であっても、標本 M 内の屈折率や厚

10

20

30

40

50

さの差に応じて2光線に光路差が生じていれば、標本Mを明暗の差で観察することが可能となる。

【0009】

このような微分干渉顕微鏡では、肉眼による観察が主であったため、像Yにある程度のコントラストが必要であった。このコントラストはシアー量Sの大きさに決定される。コントラストを上げたい時にはシアー量Sを大きくすれば良い。

【0010】

例えば、図7(a)に示すような標本M内に屈折率が高い部分M'が存在する場合を考えると、光線の同一位相面を線分abで表すと、入射光abは標本Mを通過後a'b'となって進む。この時シアー量Sだけ離れた2つの光線は図7(b)に示すごとく重なりあうが、2光線の光路差によって生じる明暗によってコントラストが得られる。図からも明らかなように、シアー量Sが小さいと2光線の光路差が小さくコントラストが低くなる。シアー量Sを大きく取ればコントラストは上り、わずかな傾斜であっても明暗のコントラストが生じる。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、上記の如き従来の微分干渉顕微鏡では、シアー量Sを大きく取ってコントラストを上げようとする、対物レンズL₄の分解能をある程度犠牲にしなければならなかった。

【0012】

例えば、シアー量Sが対物レンズの分解能($= 0.61 \times \lambda / N.A.$)を越えた時には標本Mの像Yは2重になって見えてしまう。さらに、シアー量Sをそれほど小さくなく対物レンズL₄の分解能以下としても、分解能近くに設定した場合、このシアー量Sの方向に像が伸びる現象も起こる。

【0013】

これによって本来対物レンズの性能としては分解できるはずの微細部分がつぶれて見えるという問題もあった。従って従来は、対物レンズの分解能をできるだけ損なわないようにするためにはシアー量Sを小さくすることが望まれるが、比較的高いコントラストを得るためには、シアー量Sを $\lambda / 2$ 程度が限界であった。

【0014】

本発明は、上記問題を解消し、コントラストを上げて対物レンズの分解能をより活かすことのできる微分干渉顕微鏡を得ることを目的とする。

【0015】

【課題を解決するための手段】

上記目的を達成するため、請求項1に記載の発明に係る微分干渉顕微鏡装置では、光源と、該光源からの光を集光して被検物を照明するコンデンサレンズと、前記被検物を介した前記コンデンサレンズからの光を集光して前記被検物の像を形成する対物レンズと、前記像を観察するための観察手段とを有し、前記光源と前記コンデンサレンズとの間に、前記光源側から順に、前記光源からの光束を所定の偏光光とする第1の偏光手段と、前記偏光光を常光線と異常光線との2光線に分離する第1の複屈折素子とを配置すると共に、前記対物レンズと前記観察手段との間に、前記被検物から順に、前記被検物を介した前記2光線を同一光路上に導く第2の複屈折素子と、前記同一光路上に導かれた2光線を干渉させる第2の偏光手段とを配置した微分干渉顕微鏡において、前記観察手段は、前記被検物の像を光電的に検出する撮像手段と、該撮像手段に検出された前記被検物の像のコントラストを強調するコントラスト強調手段とを有し、さらに、前記対物レンズの分解能としたとき、前記常光線と前記異常光線とのシアー量Sが以下の条件(1)式を満たすものとした。

$$\frac{\lambda}{20} \leq S \leq \frac{\lambda}{5} \quad \dots (1) \text{ 式}$$

【0016】

また、請求項2に記載の発明に係る微分干渉顕微鏡では、請求項1に記載の微分干渉顕微

10

20

30

40

50

鏡において、前記コンデンサレンズが前記被検物からの反射光を集光する対物レンズとして共用されると共に、前記第1の複屈折素子が前記第2の複屈折素子として共用される構成とし、前記第1の偏光手段と前記第1の複屈折素子との間に、前記コンデンサレンズと前記第1の複屈折素子とを介した前記被検物からの反射光を前記第2の偏光手段へ導く光路分割手段を備えた。

【0017】

【作用】

本発明は、光源側からの光束を第1の偏光手段で所定の偏光光とし、該偏光光をウオラストンプリズム等の複屈折素子によって常光線と異常光線との2光線に分離し、コンデンサレンズで集光し被検物を照明させ、被検物を介した2光線を第2の複屈折素子により同一光路上に導き、さらに第2の偏光手段によって互いに干渉させる、微分干渉像を得る微分干渉顕微鏡であり、この像を観察するための観察手段において、撮像手段によって被検物の像を光電的に検出し、コントラスト強調手段によって撮像手段に検出された被検物の像のコントラストを強調してモニタ等の表示手段の画面上に表示するものである。

10

【0018】

請求項1に記載の本発明においては、上記構成により、得られる微分干渉像のコントラストが低くてもこれを強調することができるので、コントラストを低く、即ち常光線と異常光線との被検面上でのシアー量 $S = f_c \cdot \tan(\theta)$ (f_c : コンデンサレンズの焦点距離、 θ : 第1の結晶光学素子による常光線と異常光線との分離角) が小さくなるよう光学系を設定することができる。

20

【0019】

従って、本発明によれば、被検物の像が2重に見えたり微細部分がつぶれて見えたり等、像の品質が損なわれることがなく、対物レンズの分解能が活かされたまま、対物レンズによる像を極めてシャープな微分干渉像として捕らえることができるとともに、最終的にはコントラストの高い観察像を得ることができる。

【0020】

なお、本発明においては、対物レンズの分解能を θ としたときシアー量 S を前記条件式(1)を満たすものとした。この条件式の下限を越えた場合、シアー量 S が小さ過ぎて2光線の干渉効果が非常に小さく、コントラストの強調を施しても観察に十分な高いコントラストを得ることができない。また、このようにシアー量 S を非常に小さくするような、即ち常光線と異常光線の分離角 θ が小さい結晶光学素子(ウオラストンプリズム)を形成することが困難である。

30

【0021】

一方、上限を越えた場合は、従来の微分干渉顕微鏡と同様に対物レンズの分解能を損なう恐れがあり、分解能限界付近で被検物を観察する際に不利である。本発明はシアー量 S を条件式(1)の範囲内に限定することにより、常に対物レンズの分解能を活かしつつ高いコントラストの観察像が得られる。なお、対物レンズの分解能をより高めながら、高いコントラストのもとで被検物の像を観察するためには、条件式(1)に示したシアー量 S に関する範囲をさらに $1/20 \leq S \leq 1/5$ とすることが望ましい。

【0022】

さらに、請求項2に記載の本発明は、コンデンサレンズを被検物からの反射光を集光する対物レンズとして共用し、且つ第1の複屈折素子を第2の複屈折素子として共用する構成とし、第1の偏光手段と複屈折素子との間に、コンデンサレンズと第1の複屈折素子とを介した被検物からの反射光を第2の偏光手段へ導く光路分割手段を設けることによって反射型の微分干渉顕微鏡とするものである。

40

【0023】

このような構成においては、第1の複屈折素子で分離した2光線をコンデンサレンズによって被検物に照射し、被検物からの反射光を逆行させ、再びコンデンサレンズを介して集光し、さらに第1の複屈折素子で2光線を同一光路上に導いた後、光路分割手段によって第2の偏光素子へ導き、これによって2光線を互いに干渉させ被検物の微分干渉像を得る

50

ことができる。

【0024】

この像は、請求項1に記載の発明と同様に、観察手段において、撮像手段によって光電的に検され、コントラスト強調手段によって像のコントラストが強調される。従って、本発明によれば、常に対物レンズの分解能を活かしつつ高いコントラストの観察像が得られる反射型微分干渉顕微鏡をも実現できる。

【0025】

【実施例】

以下に、本発明の実施例を説明する。図1(a)に、本発明の第1の実施例として透過照明型の微分干渉顕微鏡装置を示す。本実施例は、光源1からの光をレンズ2、レンズ3、コンデンサレンズ6により標本7を照明し、対物レンズ8によって拡大像11を得るとい
10

【0026】

ウオラストンプリズム5はコンデンサレンズ6の入射瞳位置に、ウオラストンプリズム9は対物レンズ8の射出瞳位置に各々配置され、偏光子4はウオラストンプリズム5の手前(光源1側)に、検光子10はウオラストンプリズム9の後ろに配置されている。

【0027】

上記のような構成において、光源1からの光は偏光子4によって直線偏光が取り出され、この直線偏光は、ウオラストンプリズム5によって互いに直交する2つの直線偏光に偏角
20

【0028】

この分離された2光線はコンデンサレンズ6に入射し、シアー量 S だけ離れた平行光線となって標本7を照射する。標本7を透過した2光線は、対物レンズ8によって対物レンズ8の後ろ側焦点面で交わり、ここに配置されたウオラストンプリズム9によって1つとなり、同一光路上を進む。さらに検光子10を透過することによってこれら2光線の逆位相成分が取り出され、互いに干渉し合うようになり、像面11に微分干渉像を形成する。

【0029】

ここで、ウオラストンプリズム5およびウオラストンプリズム9は、標本7におけるシアー量 S が対物レンズ8の分解能に対して $\lambda/20 < S < \lambda/2$ の範囲内になるよう設定
30

【0030】

そこで、本実施例においては、このコントラストを増強するためのビデオエンハンスメントを行う回路13を、像面11の像を光電的に検出するCCDや撮像管等の撮像手段12とモニタ14との間に設置した。

【0031】

本実施例によるコントラスト増強の例を図1(b)に示す。なお、簡単のためコントラスト強度は横軸に位置 x 、縦軸に強度 I の一次元で表している。ここでは撮像手段12からの入力信号 S_i を単純に増幅しモニタ14上に信号 S_o として出力するものである。入力信号 S_i のコントラストが、従来の微分干渉顕微鏡における肉眼での観察可能な閾値以下の弱いものであっても、モニタ14上では十分観察可能なコントラストの出力 S_o となっている。
40

【0032】

以上のような構成の本実施例の微分干渉顕微鏡において、シアー量 S を $\lambda/5$ および $\lambda/10$ (対物レンズ8の分解能) に設定し、標本の観察を行って見たところ、いずれの場合も、シャープな観察像が得られ、従来の微分干渉顕微鏡において肉眼で見る以上にコントラストの強い迫力ある像が見られた。

【0033】

次に、本発明の第2の実施例として、反射型（落射照明）の微分干渉顕微鏡を図2に示す。本実施例は、光源21からの光をコレクタレンズ22によって平行光束とした後、レンズ24にて対物レンズ27の瞳面に結像させ、対物レンズ27をによって標本面28を照明させ、標本面28からの反射光を再び対物レンズ27を通過させることによって像30を得るという構成の反射型顕微鏡に、微分干渉用部材である偏光子23、検光子29、ウオラストンプリズム26を組み込んだものである。

【0034】

ウオラストンプリズム26は、対物レンズ27の瞳面に配置され、第1の実施例と同様にシアー量Sが前記条件式(1)を満たすよう設定されている。このような構成において、光源21からの光は偏光子23によって直線偏光が取り出され、この直線偏光は、レンズ24、ハーフミラー25を介してウオラストンプリズム26によって互いに直交する2つの直線偏光に分離される。

10

【0035】

この分離された2光線は対物レンズ（コンデンサレンズ）27に入射し、シアー量Sだけ離れた平行光線となって標本面28を照射する。標本面28で反射された2光線は、再び対物レンズ27を通過し、対物レンズ27の後ろ側焦点面で交わり、ここに配置されたウオラストンプリズム26によって1つとなり、同一光路上を進む。さらにハーフミラー25を透過し検光子29を透過することによってこれら2光線の逆位相成分が取り出され、互いに干渉し合うようになり、像面30に微分干渉像を形成する。

【0036】

像面30の像は、第1の実施例と同様に、CCDや撮像管等の撮像手段31によって光電的に検出され、回路32でコントラストが強調された後、モニタ33の画面上に表示される。この表示画像は、シャープでコントラストの強いものである。

20

【0037】

なお、以上の実施例においては、対物レンズを有限系とし、第2の複屈折素子と第2の偏光手段とを対物レンズと像面との間に配置する構成を示したが、本発明はこれに限るものではない。例えば、図3(a)に示す如く、以上の実施例と同様に対物レンズ8を有限系の構成とし、標本7と対物レンズ8との間に第2の複屈折素子9を配置すると共に、対物レンズ8と像面11との間に第2の偏光手段10を配置しても良い。この場合、第1の複屈折素子5はコンデンサレンズ6と標本7との間に配置されると共に第1の偏光手段4はコンデンサレンズ6の光源側に（レンズ3とコンデンサレンズ6との間）に配置される。

30

【0038】

また、図3(b)に示す如く、図3(a)に示した対物レンズ8をレンズ81、レンズ82の2群系として、各レンズ間を平行系（無限遠系）とする構成とし、その平行光束中に、標本7側から順に、第2の複屈折素子9と第2の偏光手段10とを配置しても良い。この場合、コンデンサレンズ6は、対物レンズ8と同様に、レンズ61、レンズ62の2群系として各レンズ間を平行系（無限遠系）とする構成とし、第1の複屈折素子5と第1の偏光手段4とは、標本7側から順にそれぞれ平行光束中に配置される。

【0039】

なお、図3(a)及び(b)には、透過照明型の微分干渉顕微鏡の例を示したが、コンデンサレンズ6と対物レンズ8とを共用させ、複屈折素子5、複屈折素子9と、偏光手段4、偏光手段10とを各々共用させて図2に示した如き反射照明型の微分干渉顕微鏡としても良い。

40

【0040】

また、本実施例では、複屈折素子としてウオラストンプリズムを用いる場合を示したが、本発明はこれに限るものではなく、第1の偏光手段で取り出された直線偏光を互いに直交する2つの直線偏光に所定の偏角で分離できるものであれば良い。例えば、対物レンズが複数のレンズ群で構成される場合など、焦点位置が対物レンズ中に存在することがある。

【0041】

50

この時、焦点面にウオラストンプリズムを配置することはできないので、図4に示す様なノマルスキープリズム(変形ウオラストンプリズム)を用いることができる。これは、プリズムと距離dだけ離れた位置で2光線を分離するものであるので、分離点Hが対物レンズの瞳位置となるよう設定すれば、ウオラストンプリズムが瞳位置にある場合と同様の作用が得られる。

【0042】

【発明の効果】

以上説明したとおり、本発明によれば、対物レンズの分解能を活かしたままコントラストの強い被検物の観察像を得ることができる。従って、例え無色透明な標本であっても、その屈折率や厚さの差に応じて極めてシャープな像がコントラスト良く観察することができるという効果がある。

10

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の第1の実施例による微分干渉顕微鏡の概略構成図である。

【図2】本発明の第2の実施例による微分干渉顕微鏡の概略構成図である。

【図3】第1、第2の実施例と異なる対物レンズ、偏光手段、複屈折素子の配置を示す構成図である。

【図4】複屈折素子として使用可能なノマルスキープリズムを説明する模式図である。

【図5】従来の微分干渉顕微鏡を示す概略構成図である。

【図6】実施例で複屈折素子として使用するウオラストンプリズムを説明する模式図である。

20

【図7】常光線と異常光線による標本M面上でのシアー量を示す模式図である。

【符号の説明】

1, 21, S:光源

4, 23, P:偏光子

6, 27, 61, 62, L₃:コンデンサレンズ

5, 9, 26, W₁, W₂:ウオラストンプリズム

7, 28, M:標本

8, 27, 81, 82, L₄:対物レンズ

10, 29, A:検光子

11, 30, Y:像面

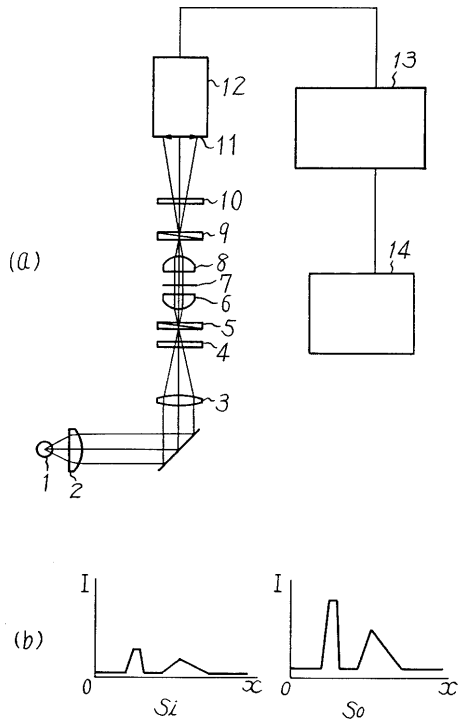
12, 31:撮像装置

13, 32:(コントラスト強調)回路

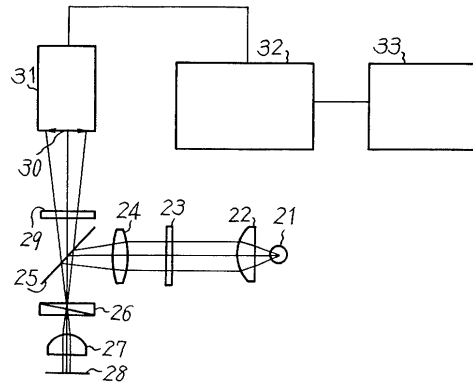
14, 33:モニタ

30

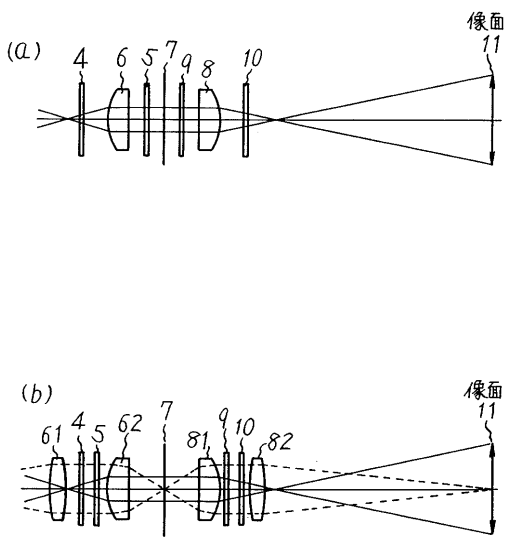
【 図 1 】



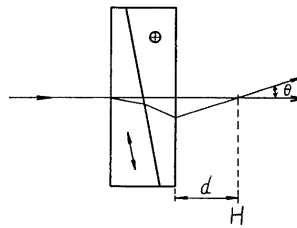
【 図 2 】



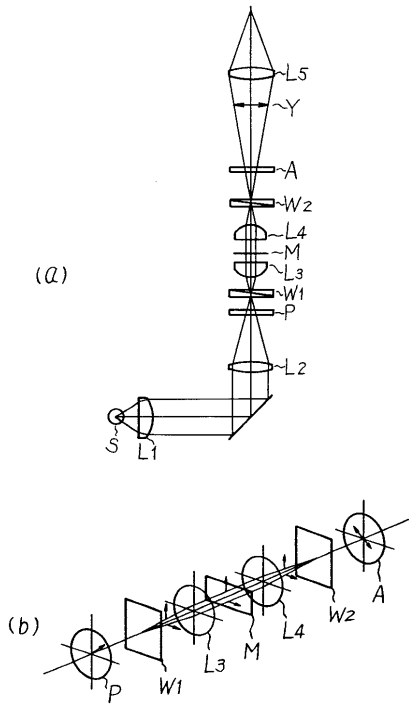
【 図 3 】



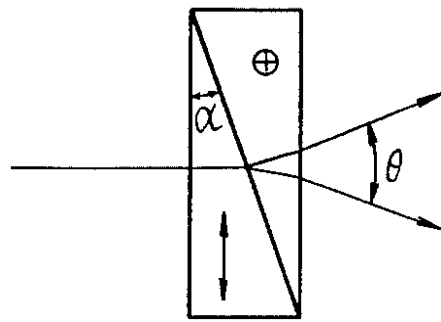
【 図 4 】



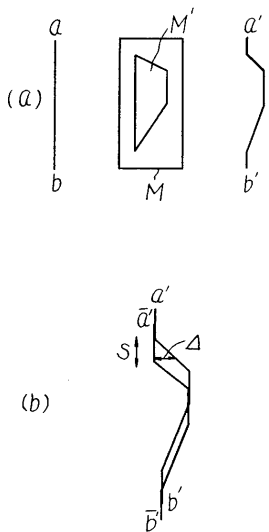
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



フロントページの続き

(56)参考文献 米国特許第4412246(US,A)

特開平5-149719(JP,A)

実開昭55-68112(JP,U)

特開平4-335315(JP,A)

特開平4-269846(JP,A)

「光工学ハンドブック」638~639頁(小瀬他編集 1986年2月20日 初版第1刷
朝倉書店発行)

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)

G02B 21/00