

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5452713号
(P5452713)

(45) 発行日 平成26年3月26日(2014.3.26)

(24) 登録日 平成26年1月10日(2014.1.10)

(51) Int.Cl.		F 1
GO 2 B 21/06	(2006.01)	GO 2 B 21/06
GO 2 B 21/36	(2006.01)	GO 2 B 21/36

請求項の数 15 (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願2012-512659 (P2012-512659)	(73) 特許権者	000004112 株式会社ニコン 東京都千代田区有楽町1丁目12番1号
(86) (22) 出願日	平成23年4月22日(2011.4.22)	(73) 特許権者	505177195 ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシ ティ オブ カリフォルニア アメリカ合衆国, カリフォルニア 941 07, サンフランシスコ, ペリー ストリ ート 185, スイート 4603
(86) 国際出願番号	PCT/JP2011/002375	(74) 代理人	100092897 弁理士 大西 正悟
(87) 国際公開番号	W02011/135819	(74) 代理人	100097984 弁理士 川野 宏
(87) 国際公開日	平成23年11月3日(2011.11.3)	(74) 代理人	100157417 弁理士 並木 敏章
審査請求日	平成24年10月30日(2012.10.30)		
(31) 優先権主張番号	61/282, 936		
(32) 優先日	平成22年4月26日(2010.4.26)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 構造化照明光学系および構造化照明顕微鏡装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

光源からの光束を複数の光束に分割する光束分割手段と、
前記光束分割手段を回転制御して前記複数の光束の分割方向を変更する回転手段と、
前記複数の光束による干渉縞を標本に形成する対物レンズと、
前記光源からの光の偏光方向に対して速い軸の方向が相対的に固定された第1の1/4波長板と、

前記複数の光束の分割方向の変更に応じて、前記分割方向と前記速い軸の方向との相対的關係が一定に維持されるように配置される第2の1/4波長板とを有する構造化照明光学系。

【請求項2】

前記第2の1/4波長板は、前記光束分割手段の回転軸と同軸で、かつ同一回転角で回転可能に配置されている請求項1に記載の構造化照明光学系。

【請求項3】

前記光束分割手段は、前記標本の共役位置近傍に配置され、
前記第1の1/4波長板は、前記光源と前記光束分割手段との間に配置され、
前記第2の1/4波長板は、前記第1の1/4波長板と前記光束分割手段との間に配置されることを特徴とする請求項1又は2に記載の構造化照明光学系。

【請求項4】

光源からの光束を所定の軸の周りで分割方向が異なる複数群の光束に分割する光束分割

手段と、

前記複数群の光束から、任意の1群の光束のみを選択する光束選択素子と、

前記1群の光束に含まれる複数の光束による干渉縞を標本に形成する対物レンズと、

前記光源からの光の偏光方向に対して速い軸の方向が相対的に固定された第1の1/4波長板と、

前記1群の光束の分割方向の変更に応じて、前記分割方向と前記速い軸の方向との相対的關係が一定に維持されるように配置される第2の1/4波長板とを有する構造化照明光学系。

【請求項5】

前記光束選択素子は、回転制御され、

前記第2の1/4波長板は、前記光束分割手段の回転軸と同軸で、かつ同一回転角で回転可能に配置されている請求項4に記載の構造化照明光学系。

10

【請求項6】

前記光束分割手段は、前記標本の共役位置近傍に配置され、

前記第1の1/4波長板は、前記光源と前記光束分割手段との間に配置され、

前記第2の1/4波長板は、前記光束分割手段と前記光束選択素子との間に配置されることを特徴とする請求項4又は5に記載の構造化照明光学系。

【請求項7】

前記第1の1/4波長板は、入射する前記光束の偏光方向に対して、前記速い軸の方向が $+45^\circ \pm 5.7^\circ$ とされている請求項1~6のいずれか一項に記載の構造化照明光学系。

20

【請求項8】

前記第2の1/4波長板の前記速い軸の方向は、前記光束分割手段の刻線の方向に対して $-45^\circ \pm 5.7^\circ$ とされている請求項1~6のいずれか一項に記載の構造化照明光学系。

【請求項9】

前記第2の1/4波長板の直後に、前記光束分割手段の刻線の向きに平行な透過偏光方向を有する偏光板を有する請求項1~8のいずれか一項に記載の構造化照明光学系。

【請求項10】

前記第2の1/4波長板の後であって、前記光束選択素子前又は後に、前記光束選択素子と前記照明光学系の光軸に対する回転角度が相対的に固定された、前記光軸のまわりに回転可能な偏光板を有する請求項4に記載の構造化照明光学系。

30

【請求項11】

前記第1の1/4波長板、前記第2の1/4波長板を透過した常光線と異常光線の位相差が、それぞれ $90^\circ \pm 5^\circ$ 以内である請求項1~10のいずれか一項に記載の構造化照明光学系。

【請求項12】

第1の構造化照明方向が1であり、前記第1の1/4波長板が発生する位相差の 90° (1/4波長)からの差が1であるとき、前記第2の1/4波長板が発生する位相差の 90° (1/4波長)からの差を2とすると、

$0.20 \times \sin(6.1) \quad 2 \quad 0.30 \times \sin(6.1)$
の關係が成り立つ請求項1~11のいずれか一項に記載の構造化照明光学系。

40

【請求項13】

請求項1~12のいずれか一項に記載の構造化照明光学系と、

前記標本からの光を撮像装置の撮像面上に結像させる結像光学系と、

前記複数の光束の位相が変調される度に前記撮像装置により撮像された複数の画像を演算処理することにより標本像を生成する画像処理部と

を備えた構造化照明顕微鏡装置。

【請求項14】

さらに、対物レンズを有し、前記対物レンズの瞳近傍に位相部材が配置された請求項1

50

3に記載の構造化照明顕微鏡装置。

【請求項15】

前記光束分割手段は所定の方向に並進移動可能に構成されてなる請求項13に記載の構造化照明顕微鏡装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、構造化照明光学系および構造化照明顕微鏡装置に関するものである。

【背景技術】

【0002】

試料の微小構造の観察や計測の分野において、より高い空間分解能での観測が求められている。試料の面内分解能を高める方法として、試料を縞状の照明光で変調して撮像し、画像処理によって復調を行う手法が、構造化照明顕微鏡装置として知られており、例えば特開平11-242189号公報、US RE38307公報に開示されている。

【0003】

特開平11-242189公報に開示されている第6の実施形態は、蛍光観察装置に適用した例であり、その光学系は、可干渉光源から発した照明光を回折格子等の光束分割手段によって分割後、照明光束を対物レンズの瞳位置に集光させ、対物レンズから角度の異なる平行光束として射出させ、観察物体近傍で重なり合い干渉縞を形成する。

【0004】

縞状に変調された照明光により、本来結像光学系のみでは伝達できなかった観察物体の形状情報の空間周波数成分を含む回折光を結像に関与させることができる。そして分割した照明光束の位相を相対的に変調して、干渉縞を観察物体上で移動させて複数の画像を取得し、画像演算処理による像形成を可能にしている。

【0005】

具体的には、回折格子を光軸と垂直に移動させることによって、あるいは別の例では、照明光の一方の光路に楔形プリズムを挿入し、それを光軸と垂直な方向に移動することによって位相変調を行っている。

【0006】

US RE38307公報に開示されている方法は、可干渉光源からの照明光を光ファイバを用いて導入後、回折格子等の光束分割手段によって分割し、その後照明光束を対物レンズの瞳位置に集光させ、観察物体近傍で干渉縞を形成する。縞状に変調された照明光により、本来結像光学系のみでは伝達できなかった観察物体の形状情報の高周波成分を結像に関与させることができる。そして同様に複数の画像を取得し、画像演算処理による像形成をおこなっている。

【0007】

この方法では、1枚の画像を形成するために、照明光束に位相変調を与えた複数の画像を取得するだけでなく、照明光の干渉縞の向きも変えて画像取得している。その理由は、高周波成分が結像に関与できるのは、照明光の干渉縞の方向と同じ方向を持った構造のみであるため、2次元に広がる標本の形状を再現するには、干渉縞の方向を変換して複数の画像を取得して合成する必要があるからである。

【0008】

このような構造化照明において、一般に2光束以上を干渉させる場合には干渉面に対して光束がS偏光であることが望ましい。その理由は、S偏光の光束が干渉した場合のコントラストが入射角によらず1であることに対して、P偏光で入射した場合のコントラストは光束の入射角の差 θ に対して $\cos(\theta)$ に比例して減衰するためである。観察される光は、S偏光とP偏光の和であるので、P偏光の減衰により、それだけ、観察されるコントラストが小さくなる。なお、 $\theta > 90$ 度においてP偏光のコントラストの数値が負になるが、これは干渉縞の明暗が反転することを意味し、S偏光で形成された干渉縞が打ち消されてしまう結果となり好ましくない。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 9 】

特に、構造化照明顕微鏡は高い解像度を得るために利用される技術であることから、利用される対物レンズのNAはできるだけ大きいことが望ましく、構造化照明の縞周期もできるだけ細かいことが望ましい。その結果、構造化照明のための光束は大きな角度での標本への入射となるためP偏光成分があると、前述の が大きいため、P偏光の減衰が大きく、それが構造化照明コントラストを悪化させる原因となる。

【 0 0 1 0 】

この問題を解決するために従来は、光源からの光を拡散板や振動させたマルチモード光ファイバに通すなどして無偏光状態としてから、回折格子近傍に設置し、回折格子と同軸に回転する偏光板を使って標本上でS偏光入射となるような直線偏光としていた。

10

【 0 0 1 1 】

その結果、良好な構造化照明コントラストは得られたが、偏光板でほぼ1/2の光量を遮断することとなり、光の利用効率が50%と低い状態であった。

【 発明の概要 】

【 0 0 1 2 】

本発明は、このような事情に鑑みてなされたもので、光源からの光の利用効率の高い構造化照明光学系および構造化照明顕微鏡装置を提供することを目的とする。

【 0 0 1 3 】

本発明の第1の態様に係る構造化照明光学系は、光源からの光束を複数の光束に分割する光束分割手段と、前記光束分割手段を回転制御して前記複数の光束の分割方向を変更する回転手段と、前記複数の光束による干渉縞を標本に形成する対物レンズと、前記光源からの光の偏光方向に対して速い軸の方向が相対的に固定された第1の1/4波長板と、前記複数の光束の分割方向の変更に応じて、前記分割方向と前記速い軸の方向との相対的關係が一定に維持されるように配置される第2の1/4波長板とを有する。

20

【 0 0 1 4 】

上記構成の構造化照明光学系において、好ましくは、前記第2の1/4波長板は、前記光束分割手段の回転軸と同軸で、かつ同一回転角で回転可能に配置されている。

【 0 0 1 5 】

上記構成の構造化照明光学系において、好ましくは、前記光束分割手段は、前記標本の共役位置近傍に配置され、前記第1の1/4波長板は、前記光源と前記光束分割手段との間に配置され、前記第2の1/4波長板は、前記第1の1/4波長板と前記光束分割手段との間に配置される。

30

【 0 0 1 6 】

本発明の第2の態様に係る構造化照明光学系は、光源からの光束を所定の軸の周りで分割方向が異なる複数群の光束に分割する光束分割手段と、前記複数群の光束から、任意の1群の光束のみを選択する光束選択素子と、前記1群の光束に含まれる複数の光束による干渉縞を標本に形成する対物レンズと、前記光源からの光の偏光方向に対して速い軸の方向が相対的に固定された第1の1/4波長板と、前記1群の光束の分割方向の変更に応じて、前記分割方向と前記速い軸の方向との相対的關係が一定に維持されるように配置される第2の1/4波長板とを有する。

40

【 0 0 1 7 】

上記構成の構造化照明光学系において、好ましくは、前記光束選択素子は、回転制御され、前記第2の1/4波長板は、前記光束分割手段の回転軸と同軸で、かつ同一回転角で回転可能に配置されている。

【 0 0 1 8 】

上記構成の構造化照明光学系において、好ましくは、前記光束分割手段は、前記標本の共役位置近傍に配置され、前記第1の1/4波長板は、前記光源と前記光束分割手段との間に配置され、前記第2の1/4波長板は、前記光束分割手段と前記光束選択素子との間に配置される。

50

【0019】

上記構成の構造化照明光学系において、好ましくは、前記第1の1/4波長板は、入射する前記光束の偏光方向に対して、前記速い軸の方向が $+45^\circ \pm 5.7^\circ$ とされている。

【0020】

上記構成の構造化照明光学系において、好ましくは、前記第2の1/4波長板の前記速い軸の方向は、前記光束分割手段の刻線の方向に対して $-45^\circ \pm 5.7^\circ$ とされている。

【0021】

上記構成の構造化照明光学系において、好ましくは、前記第2の1/4波長板の直後に、前記光束分割手段の刻線の向きに平行な透過偏光方向を有する偏光板を有する。

10

【0022】

上記構成の構造化照明光学系において、好ましくは、前記第2の1/4波長板の後であって、前記光束選択素子前又は後に、前記光束選択素子と前記照明光学系の光軸に対する回転角度が相対的に固定された、前記光軸のまわりに回転可能な偏光板を有する。

【0023】

上記構成の構造化照明光学系において、好ましくは、前記第1の1/4波長板、前記第2の1/4波長板を透過した常光線と異常光線の位相差が、それぞれ $90^\circ \pm 5^\circ$ 以内である。

【0024】

上記構成の構造化照明光学系において、好ましくは、第1の構造化照明方向が1であり、前記第1の1/4波長板が発生する位相差の 90° (1/4波長)からの差が1であるとき、前記第2の1/4波長板が発生する位相差の 90° (1/4波長)からの差を2とすると、

20

$$0.20 \quad 1 \times \sin(6 \quad 1) \quad 2 \quad 0.30 \quad 1 \times \sin(6 \quad 1)$$

の関係が成り立つ。

【0025】

本発明に係る構造化照明顕微鏡装置は、上記構成の構造化照明光学系と、前記標本からの光を撮像装置の撮像面上に結像させる結像光学系と、前記複数の光束の位相が変調される度に前記撮像装置により撮像された複数の画像を演算処理することにより標本像を生成する画像処理部とを備える。

30

【0026】

上記構成の構造化照明顕微鏡装置は、好ましくは、さらに、対物レンズを有し、前記対物レンズの瞳近傍に位相部材が配置される。

【0027】

上記構成の構造化照明顕微鏡装置は、好ましくは、前記光束分割手段は所定の方向に並進移動可能に構成される。

【図面の簡単な説明】

【0031】

【図1】本発明の第1の実施例である構造化照明顕微鏡装置の光学系の概要を示す図である。

40

【図2】第1の実施例における各光学素子の軸の方向と、光束の偏光状態を示す図である。

【図3】第1の1/4波長板の位相誤差と、第2の1/4波長板の位相誤差と、直線偏光の照明強度の低下との関係を示す図である。

【図4】最小の直線偏光の照明強度の低下を与える、第1の1/4波長板の位相誤差と、第2の1/4波長板の位相誤差と、第1の構造化照明方向の関係を示す図である。

【図5】広帯域波長板（色消し波長板）の特性の例を示す図である。

【図6】設計波長の異なる2枚の1/4波長板の特性の例を示す図である。

【図7】本発明の第2の実施例である構造化照明顕微鏡装置の光学系の概要を示す図であ

50

る。

【図 8】本発明の第 2 の実施例における回折格子と、回折光の集光位置を示した図である。

【図 9】本発明の第 2 の実施例における光束選択素子の概要を示す図である。

【図 10】本発明の第 2 の実施例における各光学素子の軸の方向と、光束の偏光状態を示す図である。

【図 11】本発明の第 2 の実施例の位相変調を行う方法を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0032】

以下、本発明の実施例について図を用いて説明するが、この説明は発明の範囲を制限するものではない。図 1 は、本発明の第 1 の実施例である構造化照明顕微鏡装置の光学系の概要を示す図である。

【0033】

可干渉な光源 LS からの光は光ファイバ 1 にて導かれ、コレクタレンズ 2 によって平行光に変換される。光ファイバ 1 の出射端からの照明光は、その偏光方向に対して速い軸を +45 度傾けて固定された 1/4 波長板 5 1 (第 1 の 1/4 波長板) を通過する。ここで、1/4 波長板の速い軸とは、偏光している光が、1/4 波長板を通過した場合に位相遅れが最も小さくなる時の偏光の方向をいう。その結果、照明光はほぼ円偏光となる。なお、速い軸の傾きは正確に +45° でなくても $\pm 5.7^\circ$ 程度の誤差は許される。

【0034】

この許容誤差は、強度変化 1% に対応する。

【0035】

この円偏光は、回折格子 3 に固定され、回折格子 3 と共に回転することのできる 1/4 波長板 5 2 (第 2 の 1/4 波長板) を通過し、直線偏光となる。この 1/4 波長板 5 2 の速い軸の方向を、回折格子 3 の刻線の方向に対して -45 度となるように決めれば、回折格子の回折方向に対して S 偏光となる直線偏光に変換することができる。なお、速い軸の方向は正確に +45° でなくても $\pm 5.7^\circ$ 程度の誤差は許される。

【0036】

このようにしてほぼ完全な S 偏光が得られるが、残された P 偏光をさらに除去したい場合には、回折格子 3 の刻線の向きに平行な透過偏光方向を持つ偏光板 5 3 を設けるとよい。

【0037】

光源としては、照明光が可干渉光であることが必要なため、レーザーが利用される。そのため、特にスクランプリングなどを行わない光ファイバ 1 の出射端での偏光状態はほぼ直線偏光であるが、1/4 波長板 5 1、5 2 の角度誤差、位相誤差によるわずかに残った P 偏光成分を除去するために偏光板 5 3 に通すことが望ましい。本実施例では、光ファイバ 1 として、偏波面保存のシングルモードファイバを用いている。

【0038】

回折格子 3 は光束分割手段としての役割を果たしている。光分割手段としては、光の可干渉性を阻害するものでなければ、プリズム等の他の光学素子も使用できる。なお、本実施例においては、回折格子 3 を回転させることによって、発生する回折光の長さ方向の向きを変えることができる。レンズ 4 とレンズ 7 により、回折格子 3 の像が標本共役面に形成されるようにし、回折格子 3 の像が形成される位置に視野絞り 8 を設ける。又、レンズ 4 により、対物レンズ 1 2 の瞳共役面を形成して各次数の光を収束させ、その近傍に位相板 5 及び遮光板 6 を配置する。回折格子 3 は図 1 の紙面の垂直方向に 1 次元の周期構造を持っている。周期構造は濃度 (透過率) で構造をつけても、段差 (位相差) で構造を持たせても良いが、位相差で構造を持たせた方が ± 1 次光の回折効率が高いので好ましい。

【0039】

なお、この実施例においては、照明光として ± 1 次回折光のみを使用しており、0 次回折光及び 2 次以上の回折光は遮光板 6 によりカットされるようになっている。従って実線

10

20

30

40

50

で示される 0 次回折光は、実際には遮光板 6 より後側では存在しないが、図 1 においては、光線の進路を分かりやすくするため、光軸のみ便宜上図示している。

【 0 0 4 0 】

対物レンズ 1 2 の瞳共役面近傍に配置された位相板 5 は、入射する光束 (± 1 次光) の一方あるいは両方に適当な位相の遅れが生じるような透明基板の厚みとなっているか、または膜厚を制御した薄膜を蒸着してある。これにより、 + 1 次光と - 1 次光の間に位相差が発生する。

【 0 0 4 1 】

視野絞り 8 を透過した光は、フィールドレンズ 9 により、平行光に変換されて、励起フィルタ 1 0、ダイクロイックミラー 1 1 を経て、対物レンズ 1 2 の瞳面 P 上に各回折次数ごとに集光する。各光束が対物レンズ 1 2 から射出する際には、平行光束となって標本 1 3 面を照射する。このとき各光束は可干渉であるため等間隔の干渉縞の構造をもって標本 1 3 面を照射する。この、縞構造を持った照明光を構造化照明光と呼び、こうした照明方法を構造化照明と呼ぶ。

【 0 0 4 2 】

この構造化照明光で標本 1 3 を照明すると、照明光の周期構造と標本 1 3 の周期構造が干渉してモアレ干渉縞を生成するが、そのモアレ干渉縞は標本の高周波の形状情報を含んでいながら、もとの周波数より低周波であるため、対物レンズ 1 2 に入射することができる。

【 0 0 4 3 】

標本 1 3 の表面から発生したこの光 (蛍光) は、対物レンズ 1 2 で平行光に変換された後、ダイクロイックミラー 1 1 とバリアフィルタ 1 4 を透過して、第 2 対物レンズ 1 5 によって CCD カメラなどの撮像手段 2 1 の撮像面 1 6 上に標本像を形成する。この標本像を画像記憶・演算装置 2 2 によって取得する。

【 0 0 4 4 】

取得画像は、先にも述べたように変調された照明光で照明された結果の画像であるから、画像記憶・演算装置 2 2 によって公知の画像演算手段により画像処理され逆の変調をかけて復元することで標本像を得て、画像表示装置 2 3 に標本の超解像画像を表示することができる。

【 0 0 4 5 】

画像処理で元画像を復元する際には、同じ標本に対して、照明の干渉縞の位相を 3 回以上変調させて撮影するとよい。それは、変調画像には標本の周波数成分が構造化照明によって回折された情報のうち 0 次成分、 + 1 次成分、 - 1 次成分の 3 つの未知のパラメータがあるからで、演算処理で未知数を求めるためには、未知数の数以上の情報が必要になるからである。

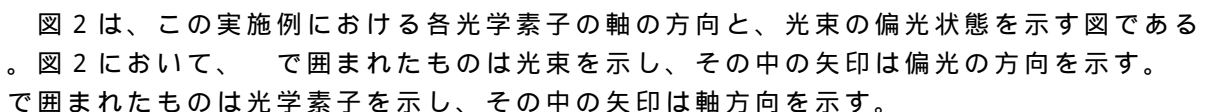
【 0 0 4 6 】

このような撮像、演算・復元、可視化技術は従来 of 構造化照明顕微鏡装置において周知のものであり、本発明と直接の関係がないのでその説明を省略する。

【 0 0 4 7 】

本実施例の場合は、位相板 5 を回転することにより位相変調を行っているが、回折格子 3 をその回折の生じる方向に並進駆動して位相変調を行ってもよい。その場合位相板 5 は不要である。

【 0 0 4 8 】

図 2 は、この実施例における各光学素子の軸の方向と、光束の偏光状態を示す図である。図 2 において、 で囲まれたものは光束を示し、その中の矢印は偏光の方向を示す。で囲まれたものは光学素子を示し、その中の矢印は軸方向を示す。

【 0 0 4 9 】

光ファイバ 1 射出時の偏光は、第 1 の 1/4 波長板 5 1 を通すことによって、前述のように円偏光とされる。1/4 波長板 5 1 の速い軸と書かれているものは、前述のように、偏光している光が、1/4 波長板を通過した場合に位相遅れが最も小さくなる時の偏光の方向

10

20

30

40

50

をいう。1/4波長板 5 2 の速い軸と書かれているものも同様である。

【 0 0 5 0 】

光ファイバ 1 射出時の偏光の方向と第 1 の1/4波長板 5 1 の速い軸の方向とは、前述のように、光ファイバ 1 射出時の偏光方向に対して、第 1 の1/4波長板 5 1 の速い軸が + 4 5 度傾けられている。

【 0 0 5 1 】

第 2 の1/4波長板 5 2 に入射した円偏光は S 偏光である直線偏光に変換される。前述のように、この1/4波長板 5 2 の速い軸の方向は、回折格子 3 の刻線の方向に対して - 4 5 度となるようにされている。

【 0 0 5 2 】

偏光板 5 3 の軸は、S 偏光を透過させる方向とされている。直線偏光となった光は、偏光板 5 3 により、僅かに残存する P 偏光を除去されるが、偏光板 5 3 は、必ずしも必要がない。偏光板 5 3 を透過した光は、回折格子 3 により、回折光に分割される。

【 0 0 5 3 】

ところで、1/4波長板 5 1、及び1/4波長板 5 2 は、光源の波長が変化すると位相差が本来の1/4波長板からずれた波長特性を持つようになるため、光源の波長に応じたものを利用することが望ましいが、広い波長に対して1/4波長に対する位相変化量が小さな広帯域波長板を利用してもよい。その場合でも、常光線と異常光線の位相差が $90 \text{度} \pm 5 \text{度}$ (1/4波長 $\pm 1/72$ 波長) 以内となるようにすべきである。その理由を図 3 を用いて説明する。

【 0 0 5 4 】

図 3 は、横軸 (単位は $^{\circ}$) に1/4波長板 5 2 によって形成される位相差の 90度 (1/4波長) からの差をとり、1/4波長板 5 1 によって形成される位相差の 90度 からの差のいくつかに対して、そこから直線偏光を取り出したときの光強度がどのように変化するかをプロットしたものである。図中の線が、1/4波長板 5 1 によって形成される位相差の 90度 からの差 (単位は $^{\circ}$) を示す。

【 0 0 5 5 】

図 3 を見ると、いずれの1/4波長板においても、 90度 (1/4波長) からの差が大きくなるにつれて光強度は小さくなるが、両方の1/4波長板において位相誤差を 5° 以内とすることで、直線偏光を取り出した際の光強度変化を 1% 以内とすることができる。従って、直線偏光を取り出した際の光強度変化を 1% 以内とするためには、いずれの位相板においても、それらを透過した常光線と異常光線の位相誤差が $\pm 5^{\circ}$ 以内であるようにすればよい。

【 0 0 5 6 】

しかしながら、直線偏光を取り出した際の光強度変化は、小さければ小さいほど好ましい。そこで、シミュレーションにより、直線偏光を取り出した際の光強度変化を最低にする、2つの1/4波長板の位相の関係を求めた。その結果を図 4 を用いて説明する。図 4 において、横軸は構造化照明の第 1 の方向 (構造化照明顕微鏡装置においては、一般に多方向からの構造化照明を行うが、その最初の方向) θ_1 (単位は $^{\circ}$) を示し、図中の各線は第 1 の1/4波長板 5 1 の位相差の 90度 からの差 (ずれ) Δ_1 (単位は $^{\circ}$) に対応している。縦軸は、第 2 の1/4波長板 5 3 の位相差の 90度 からの差 (ずれ) Δ_2 (単位は $^{\circ}$) を示している。

【 0 0 5 7 】

各線は、それぞれのパラメータを変化させたとき、直線偏光を取り出した際の照明光強度低下を最低にする各パラメータの関係の軌跡を示している。例えば、第 1 の構造化照明方向 θ_1 が 45° であるとき、 $\Delta_1 = 10^{\circ}$ とすると、 $\Delta_2 = -2.5^{\circ}$ とすれば、直線偏光を取り出した際の光強度変化を最低にできる。同様、第 1 の構造化照明方向 θ_1 が 35° であるとき、 $\Delta_1 = 6^{\circ}$ とすると、 $\Delta_2 = -0.07^{\circ}$ とすれば、直線偏光を取り出した際の光強度変化を最低にできる。

【 0 0 5 8 】

このようなグラフから回帰式により Δ_1 、 θ_1 、 Δ_2 の関係式を作ると、

10

20

30

40

50

$$2 = 0.25 \cdot 1 \times \sin(6 \cdot 1)$$

が得られる。最適値からのずれを多少許すとすると、

$$0.20 \cdot 1 \times \sin(6 \cdot 1) \quad 2 \quad 0.30 \cdot 1 \times \sin(1) \quad \dots (1)$$

が成り立つように 1 、 1 、 2 の関係を定めればよい。これにより、直線偏光を取り出した際の光強度変化は、0.5%以内に抑えられる。

【0059】

(1)式のような 1 と 2 の関係を実現させるためには、広帯域波長板を使用するとよい。図5に広帯域波長板(色消し波長板)の特性の例を示す。横軸は波長(単位はnm)であり、縦軸は位相差を示す。図5を見ると分かるように、色消し波長板は一般に位相差が最大となる波長よりも短波長側で波長に対する位相差の傾きが大きく、長波長側で緩やかとなっている。

10

【0060】

よって、図6に示すように、設計波長の異なる2枚の1/4波長板を製造し、(図6における縦軸と横軸の単位は図5と同じである)、波長板1(太線の特性)を波長板51、波長板2(細線の特性)を波長板52として使用すれば、波長がほぼ460nm~560nmの間において、(1)式に近い関係を持たせることが容易である。よって、(1)式に近い関係を満足させるような広帯域波長板を製造して、組み合わせて使用すれば、広い波長帯域において、構造化照明光の明るさの減衰を防止することができる。

【0061】

図7は、本発明の第2の実施例である構造化照明顕微鏡装置の光学系の概要を示す図である。第2の実施例は、第1の実施例とは、回折格子3、103の構造と、1/4波長板52、152の位置、および光束選択素子106が用いられていることが異なるのみであるので、第1の実施例を示す図1に示された構成要素と同じ構成要素には同じ符号を付し、作用が同じ部分についてはその説明を省略することができる。

20

【0062】

第2の実施例は、第1の実施例の回折格子3の代わりに、図8(a)に示すような構造を持つ回折格子103を使用する。これは互いに60度ずつ向きを変えた3方向の周期構造を持っていて、三角柱が凹凸に並んだ格好をしている。図の白い三角形を凹部とすれば、黒い三角形は凸部である。この三角形の頂角は正確に60度でなくてもよいが、概ね60度である方が好ましい。

30

【0063】

そして、この回折格子103によって生じた0次光と ± 1 次光とが、図7においてレンズ4を介して瞳共役位置でそれぞれ集光する様子を表したのが図8(b)である。図8(b)の110は0次回折光集光部を、111a~111fは ± 1 次光集光部を表している。

【0064】

第2の実施例では、前述の第1の実施例の遮光板6の代わりに図9に示すような構造を持つ光束選択素子106を使用している。光束選択素子106はその中心106aを回転中心として回転する機構を有する。領域106bと106cは中空あるいは透過率の高いガラス等で素通しになっている。光束選択素子106が回転する毎に、図8(b)に示す111aと111d、111bと111e、111cと111fの対の光束のうち、1対の光束のみが領域106bと106cを、それぞれ透過し、これらの対以外の光束は遮光部で遮断される。光束選択素子106は、図7に示す回転ステージ142によって回転させることにより、回折格子103で生じた3組の ± 1 次光のうち1組ずつを選択して透過させ、構造化照明に使用することができる。こうして選択された7光束のレンズ7以降のふるまいは、第1の実施例と全く同じである。なお、0次回折光は光束選択素子106で遮蔽され、それ以後には存在しないが、光線の進行を分かりやすくするために図示してあるのは図1と同じである。

40

【0065】

そして領域106bと106cが光束を選択するタイミングと、撮像手段の画像取り込

50

みタイミングを同期させれば、光束選択素子106は一旦停止をせず、一定速度で連続的に回転させることができる。例えば、図9に示すごとく、光束選択素子の外周部の形状を領域106b、106cと対応させておき、タイミングセンサでエッジ検出をするタイミングを測る方法がある。第1の実施例では、回折格子3を一定角度回転させた後、停止して画像取得を行うため、静定に時間がかかる場合があるが、第2の実施例では連続回転が可能のため、画像取得が高速に行える利点がある。

【0066】

次に第2の実施例の偏光制御について、図7と図10を用いて説明する。図10は、第1の実施例おける図2に対応した図であり、各光学素子の軸の方向と、光束の偏光状態を示す図である。

10

【0067】

光ファイバ1の出射端からの照明光はその偏光方向に対して、速い軸を+45傾けて固定された1/4波長板151を通過するとほぼ円偏光となる。本実施例では、照明光を円偏光のまま回折格子103に入射させる。すると照明光はそれぞれ円偏光のまま回折作用を受ける。そして第2の1/4波長板152は、その速い軸を、選択する2光束がS偏光となる偏光方向に対して-45傾けた状態で、前述の光束選択素子106と一体で回転するように配置する。そうすることで、常に選択する2光束がS偏光となるような直線偏光に変換することができる。

【0068】

第2の実施例の位相変調は、図7のアクチュエータ141で行う。アクチュエータ141は図11(a)に示すように、回折格子103を1軸(図ではx方向)に並進駆動する。図11(b)は格子線方向と駆動方向の拡大図である。格子の周期(ピッチ)をpとし、格子線の駆動方向に対する角度をそれぞれ1、2、3とすると、駆動方向の換算ピッチp1、p2、p3はそれぞれ、

20

$$p1 = p / \cos 1$$

$$p2 = p / \cos 2$$

$$p3 = p / \cos 3$$

である。したがって、画像処理に必要な位相変調はそれぞれの方向について、換算ピッチの1/3ずつ(またはその整数倍)駆動すればよい。

【0069】

30

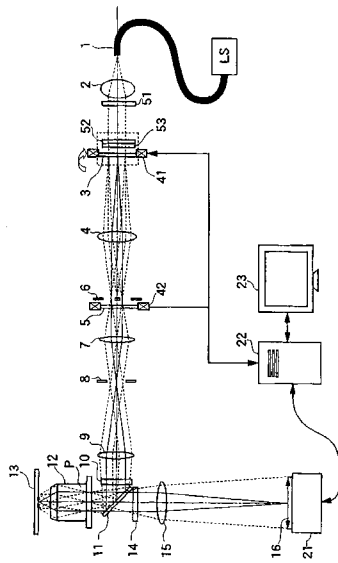
本実施例では、偏光板を使用していないが、最終的な直線偏光度をより高めるために、第1の実施例と同様に偏光板を追加することもできる。その場合は第2の1/4波長板152の後であって、光束選択素子106の前又は後に配置して、光束選択素子106と一体で回転するようにするか、あるいは光ファイバ1の出射端直後に配置することができる。偏光板の偏光方向は、前者の場合の2光束がS偏光となる方向であり、後者の場合は光ファイバ1の偏光方向と平行な方向である。

【0070】

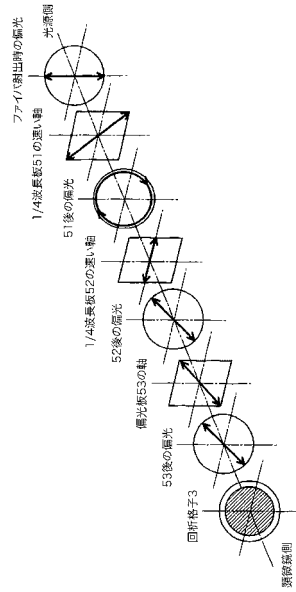
以上説明したように、ノイズとしてのP偏光を除去する目的のためにオプションとして使用する場合は別として、本発明においては、構造化照明光を形成するのに偏光板を使用していないので、光源からの光のほとんどをS偏光の構造化照明光として使用することができ、光の使用効率を高くすることができる。

40

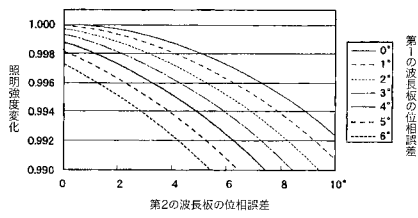
【図1】



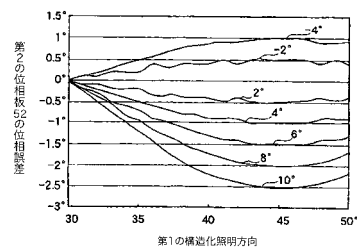
【図2】



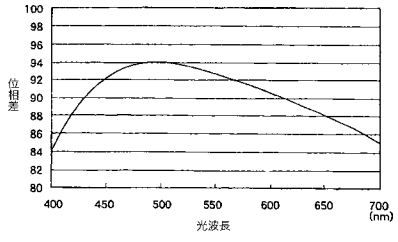
【図3】



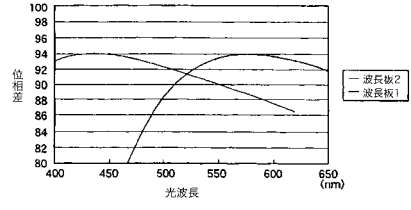
【図4】



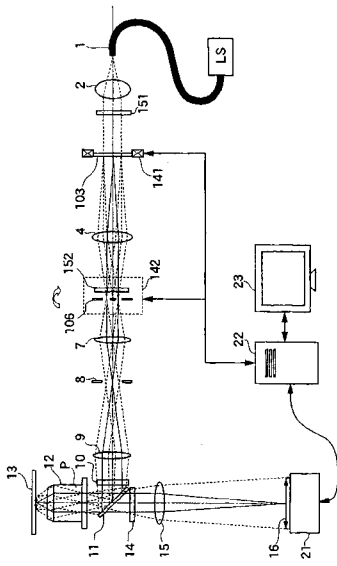
【 図 5 】



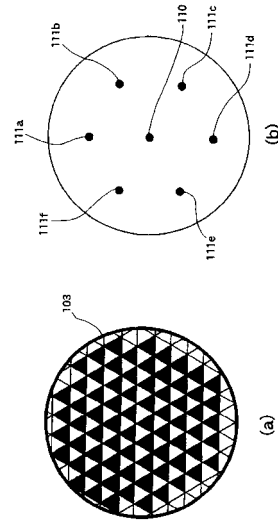
【 図 6 】



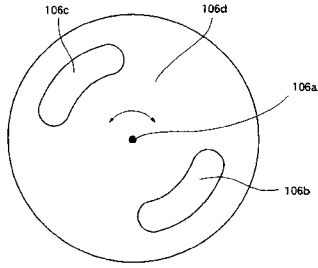
【 図 7 】



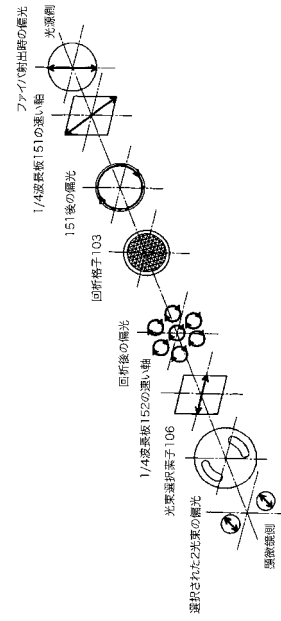
【 図 8 】



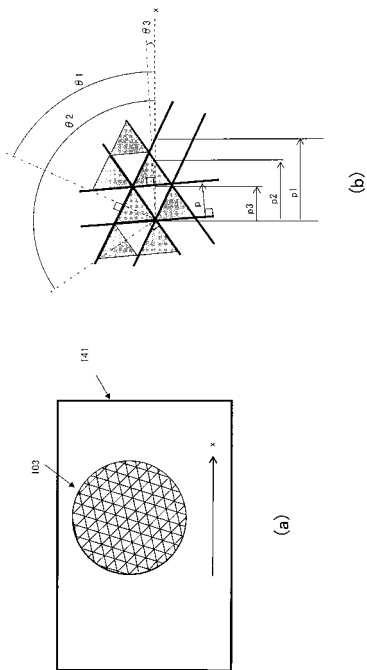
【図9】



【図10】



【図11】



フロントページの続き

- (72)発明者 大内 由美子
東京都千代田区有楽町一丁目12番1号 株式会社ニコン内
- (72)発明者 大澤 日佐雄
東京都千代田区有楽町一丁目12番1号 株式会社ニコン内
- (72)発明者 グスタフソン マッツ ジー.エル.
東京都千代田区有楽町一丁目12番1号 株式会社ニコン内
- (72)発明者 アガード デイビット エー.
東京都千代田区有楽町一丁目12番1号 株式会社ニコン内

審査官 堀井 康司

- (56)参考文献 特開平11-242189(JP,A)
特開2009-098215(JP,A)
国際公開第2009/031418(WO,A1)
米国特許出願公開第2008/0158668(US,A1)
米国特許出願公開第2009/0268280(US,A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G02B 21/06
G02B 21/36