

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6192280号
(P6192280)

(45) 発行日 平成29年9月6日(2017.9.6)

(24) 登録日 平成29年8月18日(2017.8.18)

(51) Int.Cl.

F 1

GO1N 21/64	(2006.01)	GO1N 21/64	Z
GO2F 1/35	(2006.01)	GO2F 1/35	
GO2B 21/06	(2006.01)	GO2B 21/06	
HO1S 3/10	(2006.01)	HO1S 3/10	Z
HO1S 3/00	(2006.01)	HO1S 3/00	F

請求項の数 15 (全 17 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願2012-214454 (P2012-214454)

(22) 出願日

平成24年9月27日(2012.9.27)

(65) 公開番号

特開2013-83970 (P2013-83970A)

(43) 公開日

平成25年5月9日(2013.5.9)

審査請求日 平成27年9月24日(2015.9.24)

(31) 優先権主張番号 特願2011-217160 (P2011-217160)

(32) 優先日 平成23年9月30日(2011.9.30)

(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

東京都八王子市石川町2951番地

(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 立澤 正樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】レーザ光源装置およびレーザ顕微鏡

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

波長の異なる複数の極短パルスレーザ光を標本に照射する照射光学系を備え前記複数の極短パルスレーザ光によって前記標本に対して操作を行う光学装置に前記極短パルスレーザ光を導入するレーザ光源装置であって、

第1の波長の極短パルスレーザ光を射出する単一のレーザ光源と、

該レーザ光源から射出された極短パルスレーザ光のうち少なくとも一部の波長を変換することにより波長の異なる複数のパルスレーザ光を生成する波長変換手段と、

該波長変換手段によって生成された各パルスレーザ光の周波数分散量を調節する分散調節手段と、

該分散調節手段によって周波数分散量が調節された複数のパルスレーザ光を射出する導入光学系とを備え、

前記波長変換手段が、前記レーザ光源からの前記極短パルスレーザ光を2つに分岐する分岐手段と、該分岐手段により分岐された2つの前記極短パルスレーザ光の一方の光路に配置されて波長を変換する波長変換素子とを有し、

前記分散調節手段は、前記分岐手段で分岐された他方の光路に配置されて前記第1の波長のパルスレーザ光が前記標本上において略フーリエ限界パルスに近づくように負の周波数分散を付与する第1の分散補償光学系と、前記分岐手段で分岐された一方の光路の前記波長変換素子の後段に配置されて前記波長変換素子で変換された波長のパルスレーザ光が前記標本上において略フーリエ限界パルスに近づくように負の周波数分散を付与する第2

10

20

の分散補償光学系とを有し、

前記導入光学系は、前記第1の分散補償光学系で周波数分散量が調節された前記第1の波長のパルスレーザ光と、前記波長変換部で波長変換され前記第2の分散補償光学系で周波数分散量が調節されたパルスレーザ光とを合成する合成手段を有し、

前記波長変換素子は、入射するパルスレーザ光を波長の異なるシグナル光とアイドラー光とに変換する光学パラメトリック発振器を有し、

前記第2の分散補償光学系は、前記シグナル光と前記アイドラー光を異なる光路に分岐する第2の分岐手段により生成されたシグナル光の光路とアイドラー光の光路にそれぞれ配置される2つの分散補償光学系を備え、

前記合成手段は、前記第2の分散補償光学系である2つの分散補償光学系により周波数分散量を個別に調節されたシグナル光とアイドラー光を合成する、レーザ光源装置。 10

【請求項2】

波長の異なる複数の極短パルスレーザ光を標本に照射する照射光学系を備え前記複数の極短パルスレーザ光によって前記標本に対して操作を行う光学装置に前記極短パルスレーザ光を導入するレーザ光源装置であって、

第1の波長の極短パルスレーザ光を射出する単一のレーザ光源と、

該レーザ光源から射出された極短パルスレーザ光のうち少なくとも一部の波長を変換することにより波長の異なる複数のパルスレーザ光を生成する波長変換手段と、

該波長変換手段によって生成された各パルスレーザ光の周波数分散量を調節する分散調節手段と、 20

該分散調節手段によって周波数分散量が調節された複数のパルスレーザ光を射出する導入光学系とを備え、

前記波長変換手段は、入射するパルスレーザ光を波長の異なるシグナル光とアイドラー光とに変換する光学パラメトリック発振器を有し、

前記シグナル光と前記アイドラー光を異なる光路に分岐する分岐手段をさらに備え、

前記分散調節手段は、前記シグナル光の光路と前記アイドラー光の光路にそれぞれ配置され、各光路におけるパルスレーザ光が前記標本上において略フーリエ限界パルスに近づくように負の周波数分散を付与する、第1及び第2の分散補償光学系を有し、

前記導入光学系は、前記第1及び第2の分散補償光学系で周波数分散量がそれぞれ調節された前記シグナル光と前記アイドラー光を合成する合成手段を有する、レーザ光源装置。 30

【請求項3】

波長の異なる複数の極短パルスレーザ光を標本に照射する照射光学系を備え前記複数の極短パルスレーザ光によって前記標本に対して操作を行う光学装置に前記極短パルスレーザ光を導入するレーザ光源装置であって、

第1の波長の極短パルスレーザ光を射出する単一のレーザ光源と、

該レーザ光源から射出された極短パルスレーザ光のうち少なくとも一部の波長を変換することにより波長の異なる複数のパルスレーザ光を生成する波長変換手段と、

該波長変換手段によって生成された各パルスレーザ光の周波数分散量を調節する分散調節手段と、 40

該分散調節手段によって周波数分散量が調節された複数のパルスレーザ光を射出する導入光学系とを備え、

前記波長変換手段が、前記レーザ光源からの前記極短パルスレーザ光を2つに分岐する分岐手段と、該分岐手段により分岐された2つの前記極短パルスレーザ光の一方の光路に配置されて波長を変換する波長変換素子とを有し、

前記分散調節手段は、前記レーザ光源と前記分岐手段の間の光路に配置され、前記第1の波長のパルスレーザ光が前記標本上において略フーリエ限界パルスに近づくように負の周波数分散を付与する第1の分散補償光学系と、前記分岐手段で分岐された一方の光路の前記波長変換素子の前段に配置されてこの光路の前記第1の波長のパルスレーザ光に対し前記波長変換素子の入射位置において略フーリエ限界パルスとなるように正の周波数分散 50

を付与する正分散素子と、前記波長変換素子の後段に配置されて前記波長素子で変換された波長のパルスレーザ光が前記標本上において略フーリエ限界パルスに近づくように負の周波数分散を付与する第2の分散補償光学系とを有し、

前記導入光学系は、前記第1の分散補償光学系で周波数分散量が調節された前記第1の波長のパルスレーザ光と、前記波長変換手段で波長変換され前記第2の分散補償光学系で周波数分散量が調節されたパルスレーザ光とを合成する合成手段を有する、レーザ光源装置。

【請求項4】

前記波長変換素子が光学パラメトリック発振器を有する、請求項3に記載のレーザ光源装置。

10

【請求項5】

前記光学パラメトリック変換器の前段に第2高調波素子を備える、請求項2に記載のレーザ光源装置。

【請求項6】

前記分岐手段と前記波長変換素子の間に第2高調波素子を備える、請求項1または請求項4に記載のレーザ光源装置。

【請求項7】

前記分岐手段は部分反射ミラーである、請求項1または請求項3のいずれかに記載のレーザ光源装置。

【請求項8】

前記複数の波長の極短パルスレーザ光の各波長の個別の光路に、ビーム整形光学系を個別に備える、請求項1から請求項7のいずれかに記載のレーザ光源装置。

20

【請求項9】

前記合成手段はダイクロイックミラーを有する、請求項1から請求項8のいずれかに記載のレーザ光源装置。

【請求項10】

前記波長変換素子が光学パラメトリック発振器を有し、

前記正分散素子と前記波長変換素子の間に第2高調波素子を備え、

前記正分散素子は、前記第1の波長のパルスレーザ光に対し前記第2高調波素子の入射位置において略フーリエ限界パルスとなるように正の周波数分散を付与する、請求項3に記載のレーザ光源装置。

30

【請求項11】

波長の異なる複数の極短パルスレーザ光を標本に照射するレーザ顕微鏡であって、

請求項1から請求項10のいずれかに記載のレーザ光源装置と、

対物レンズを有し、前記レーザ光源装置の前記導入光学系から射出される複数の波長の極短パルスレーザ光を前記対物レンズを介して標本上に集光して照射する照射光学系と、

前記照射に基づく多光子励起効果によって発生して前記対物レンズで集光された前記標本からの蛍光を検出する検出光学系と、を備えるレーザ顕微鏡。

【請求項12】

波長の異なる複数の極短パルスレーザ光を標本に照射するレーザ顕微鏡であって、

40

前記複数の極短パルスレーザ光を射出する導入光学系を備えるレーザ光源装置と、

対物レンズを有し、前記レーザ光源装置の前記導入光学系から射出される複数の波長の極短パルスレーザ光を前記対物レンズを介して標本上に集光して照射する照射光学系と、

前記照射に基づく多光子励起効果によって発生して前記対物レンズで集光された前記標本からの蛍光を検出する検出光学系と、を備え、

前記レーザ光源装置が、

第1の波長の極短パルスレーザ光を射出する単一のレーザ光源と、

該レーザ光源から射出された極短パルスレーザ光のうち少なくとも一部の波長を変換することにより波長の異なる複数のパルスレーザ光を生成する波長変換手段と、

該波長変換手段によって生成された各パルスレーザ光の周波数分散量を調節する分散調

50

節手段と、

該分散調節手段によって周波数分散量が調節された複数のパルスレーザ光を射出する前記導入光学系とを備え、

前記波長変換手段が、前記レーザ光源からの前記極短パルスレーザ光を2つに分岐する分岐手段と、該分岐手段により分岐された2つの前記極短パルスレーザ光の一方の光路に配置されて波長を変換する波長変換素子であって光学パラメトリック発振器を有する波長変換素子とを有し、

前記分岐手段と前記波長変換素子の間に第2高調波素子が設けられ、

前記分散調節手段は、前記分岐手段で分岐された他方の光路に配置されて前記第1の波長のパルスレーザ光が前記標本上において略フーリエ限界パルスに近づくように負の周波数分散を付与する第1の分散補償光学系と、前記分岐手段で分岐された一方の光路の前記波長変換素子の後段に配置されて前記波長変換素子で変換された波長のパルスレーザ光が前記標本上において略フーリエ限界パルスに近づくように負の周波数分散を付与する第2の分散補償光学系とを有し、

前記導入光学系は、前記第1の分散補償光学系で周波数分散量が調節された前記第1の波長のパルスレーザ光と、前記波長変換部で波長変換され前記第2の分散補償光学系で周波数分散量が調節されたパルスレーザ光とを合成する合成手段を有する、レーザ顕微鏡。

【請求項13】

前記レーザ光源装置は前記複数の波長の極短パルスレーザ光の出力を波長毎に調節する光変調器を更に備え、

前記照射光学系は、前記複数の波長の極短パルスレーザ光を前記標本上で2次元走査するスキャナを備える、請求項11または請求項12に記載のレーザ顕微鏡。

【請求項14】

前記光変調器における前記極短パルスレーザ光の出力調節が、前記スキャナの走査周期に同期している、請求項13の記載のレーザ顕微鏡。

【請求項15】

前記対物レンズと前記スキャナの間に配置され、前記蛍光を前記検出光学系に向けて前記極短パルスレーザ光の光路から分岐させるダイクロイックミラーを備える、請求項11から請求項14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】

【0001】

本発明は、レーザ光源装置およびレーザ顕微鏡に関するものである。

【背景技術】

【0002】

従来、レーザ顕微鏡用の光源装置として、単一光源から発せられた1つの波長のレーザ光を2つに分岐し、一方のレーザ光の波長を光学パラメトリック発振器(OPO)によって変換することにより、複数の波長のレーザ光を生成するものが知られている(例えば、特許文献1および2参照。)。

【0003】

このような光源装置によれば、複数の光源を使用した光源装置と比べ、特にフェムト秒パルスレーザ光やピコ秒パルスレーザ光のようなパルス幅が非常に短いパルスレーザ光を用いる場合に、複数のレーザ光間のタイミング制御が容易になる。したがって、複数の波長の極短パルスレーザ光を使用して、多重染色された標本からの複数の蛍光を同時に観察したり、光刺激と観察とを同時に行ったりするのに適している。また、複数の光源を備えた装置に比べて安価な構成で複数の波長のレーザ光を使用することができる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】特開2002-196252号公報

10

20

30

40

50

【特許文献 2】米国特許出願公開第 2005 / 0078363 号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

しかしながら、OPO によって十分な波長変換効率を得るためにには OPO に入射するレーザ光を略フーリエ限界パルスにしてパワー密度を高める必要がある。したがって、OPO から出力される波長変換後のレーザ光もフーリエ限界パルスに近い状態となる。このようなレーザ光をそのままレーザ顕微鏡に導光して標本に照射した場合、光路の途中位置に配置された対物レンズやその他の光学素子が有する周波数分散によってレーザ光のパルス幅が略フーリエ限界パルス幅よりも広がる。そのため、多光子励起効果による蛍光観察や光刺激を行う場合には、多光子励起効果を効率的に発生させることができず、また、標本に与えるダメージが大きくなるという問題がある。10

【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、単一のレーザ光から複数の波長のレーザ光を生成しつつ、各レーザ光により多光子励起効果を高効率で発生させることができるレーザ光源装置およびレーザ顕微鏡を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0007】

上記目的を達成するため、本発明は以下の手段を提供する。

本発明は、波長の異なる複数の極短パルスレーザ光を標本に照射する照射光学系を備え前記複数の極短パルスレーザ光によって前記標本に対して操作を行う光学装置に前記極短パルスレーザ光を導入するレーザ光源装置であって、極短パルスレーザ光を射出する単一のレーザ光源と、該レーザ光源から射出された極短パルスレーザ光のうち少なくとも一部の波長を変換することにより波長の異なる複数のパルスレーザ光を生成する波長変換手段と、該波長変換手段によって生成された各パルスレーザ光の周波数分散量を調節する分散調節手段と、該分散調節手段によって周波数分散量が調節された複数のパルスレーザ光を射出する導入光学系とを備え、前記分散調節手段は、前記導入光学系から前記光学装置の前記照射光学系に導入された各パルスレーザ光が前記標本上において略フーリエ限界パルスに近づくように各パルスレーザ光の周波数分散量を調節するレーザ光源装置を提供する。20

【0008】

本発明によれば、レーザ光源から射出された極短パルスレーザ光は、波長変換手段によって変換されることにより波長の異なる複数のパルスレーザ光となった後、分散調節手段によって周波数分散量が調節されてから導入光学系によって再び 1 つに合成されて他の光学装置が備える照射光学系に向けて射出される。光学装置は、照射光学系から標本に複数の波長のパルスレーザ光を照射することにより、標本の観察、計測、光刺激または加工等の操作を標本に対して行う。30

【0009】

この場合に、導入光学系に入射される各パルスレーザ光は、標本上に略フーリエ限界パルスに近づくように、照射光学系が有する周波数分散を考慮してその周波数分散量が分散調節手段によって調節されている。これにより、単一のレーザ光から複数の波長のレーザ光を生成しつつ、照射光学系から標本に照射された各パルスレーザ光により多光子励起効果を高効率で発生させることができる。40

【0010】

上記発明においては、前記波長変換手段が、光学パラメトリック発振器 (OPO) を備えていてもよい。

このようにすることで、OPO に入射された 1 つの波長の極短パルスレーザ光から 2 つの波長のパルスレーザ光を生成することができる。

【0011】

また、上記発明においては、前記分散調節手段が、プリズム対、グレーティング対また

50

はチャーブミラーを備えることとしてもよい。

このようにすることで、簡便な構成で各パルスレーザ光の周波数分散量を調節することができる。

【0012】

また、上記発明においては、前記波長の異なる複数のパルスレーザ光を波長によって複数の光路に分岐する分岐手段を備え、前記分散調節手段が、各前記光路に設けられた複数の分散補償光学系を備えていることとしてもよい。

このようにすることで、各パルスレーザ光の周波数分散量を各分散補償光学系によって独立に調節することができる。

【0013】

また、上記発明においては、前記分散調節手段が、一対の周波数分散素子からなる複数の分散補償光学系を備え、該複数の分散補償光学系は、前記一対の周波数分散素子のうち前段側に配置された一方を共有し、該一方は、前記複数のパルスレーザ光が入射されて該パルスレーザ光を波長によって他方に分散し、該他方は前記一方と協働して一の波長のパルスレーザ光に負の周波数分散を付与してもよい。

このようにすることで、一方の周波数分散素子により複数のパルスレーザ光が波長毎に分散され、パルスレーザ光の周波数分散量が他方の周波数分散素子により波長毎に別々に調節される。これにより、複数のパルスレーザ光を波長毎に別々の光路に分岐して各光路に分散補償光学系を設ける構成と比べて、光路をパルスレーザの数と同じ数だけ設ける必要がないので、光路の構成を簡素にすることができる。

【0014】

また、上記発明においては、前記波長の異なる複数のパルスレーザ光を合成する合成手段を備え、前記分散調節手段が、前記合成手段の前段において前記波長の異なる複数のパルスレーザ光のうち最も波長の短いパルスレーザ光を除くパルスレーザ光に正の周波数分散を付与する正分散素子と、前記合成手段によって合成された前記波長の異なる複数のパルスレーザ光に対して、前記最も波長の短いパルスレーザ光が前記標本上において略フーリエ限界パルスに近づくような負の周波数分散を付与する单一の分散補償光学系とを備えていることとしてもよい。

【0015】

一般に、光学系がパルスレーザ光に与える周波数分散の大きさはパルスレーザ光の波長に依存し、パルスレーザ光は波長が短いほど光学系から大きな周波数分散を受ける。したがって、最も波長の短いパルスレーザ光の周波数分散を最適に補償する負の周波数分散を单一の分散補償光学系によって全てのパルスレーザ光に付与し、分散補償光学系によって他のパルスレーザ光に過剰に付与される負の周波数分散を正分散素子によって相殺する。これにより、共通の分散補償光学系を使用しつつ複数のパルスレーザ光の周波数分散を適切に補償することができる。

【0016】

また、上記発明においては、前記波長変換手段が、前記レーザ光源からの前記極短パルスレーザ光を2つに分岐する分岐手段と、該分岐手段により分岐された2つの前記極短レーザ光のうち一方の波長を変換する波長変換素子とを備えていてもよい。

【0017】

また、上記発明においては、前記分散調節手段が、前記レーザ光源と前記分岐手段との間ににおいて、前記極短パルスレーザ光が前記標本上において略フーリエ限界パルスとなるように前記極短パルスレーザ光の周波数分散量を調節する第1の分散補償光学系と、前記分岐手段と前記波長変換素子との間ににおいて、前記分岐手段により分岐された一方の前記極短パルスレーザ光が前記波長変換素子の入射位置において略フーリエ限界パルスとなるように該極短パルスレーザ光に正の周波数分散を付与する正分散素子と、前記波長変換素子の後段において、該波長変換素子により生成されたパルスレーザ光が前記標本上において略フーリエ限界パルスとなるように該パルスレーザ光の周波数分散量を調節する第2の分散補償光学系とを備えていてもよい。

10

20

30

40

50

【0018】

また、上記発明においては、各パルスレーザ光の出力を変調する光変調器を備えることとしてもよい。

単一の極短パルスレーザ光から生成された複数のパルスレーザ光には強度のばらつきが生じる。したがって、光変調器によって各パルスレーザ光の出力を調節することにより、いずれのパルスレーザ光によっても適切な多光子励起効果を発生させることができる。このような前記光変調器としては、音響光学変調器または電気光学変調器が好ましい。

【0019】

また、上記発明においては、前記光変調器が、各前記パルスレーザ光の出力のオンオフを行うこととしてもよい。

このようにすることで、波長の異なるパルスレーザ光を時分割で照射光学系に導入することができる。これにより、例えば、複数のパルスレーザ光によって標本に含まれる複数の蛍光を励起する場合に、これらの蛍光を時間で区別しながら共通の光検出器によって検出することができる。

【0020】

また、上記発明においては、各パルスレーザ光のビーム径と波面形状を調節するビーム整形光学系を備えることとしてもよい。

このようにすることで、照射光学系が備える対物レンズの入射瞳の形状と一致するようビーム整形光学系によって各パルスレーザ光のビーム径と波面形状を調節することにより、各パルスレーザ光を適切に光学装置に導入することができる。

【0021】

また、本発明は、上記いずれかに記載のレーザ光源装置と、前記導入光学系から射出された合成された前記パルスレーザ光が導入され、該パルスレーザ光を標本上に照射する照射光学系とを備えるレーザ顕微鏡を提供する。

【発明の効果】

【0022】

本発明によれば、単一のレーザ光から複数の波長のレーザ光を生成しつつ、各レーザ光により多光子励起効果を高効率で発生させることができるという効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【0023】

【図1】本発明の第1の実施形態に係るレーザ光源装置の全体構成図である。

【図2】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図である。

【図3】本発明の第2の実施形態に係るレーザ光源装置の全体構成図である。

【図4】図3のレーザ光源装置の第1の変形例を示す部分的な構成図である。

【図5】図4のレーザ光源装置の変形例を示す部分的な構成図である。

【図6】図4のレーザ光源装置のもう1つの変形例を示す部分的な構成図である。

【図7】図6のレーザ光源装置の変形例を示す部分的な構成図である。

【図8】図3のレーザ光源装置の第2の変形例を示す部分的な構成図である。

【図9】図8のレーザ光源装置の変形例を示す部分的な構成図である。

【図10】図8のレーザ光源装置のもう1つの変形例を示す部分的な構成図である。

【図11】図10のレーザ光源装置の変形例を示す部分的な構成図である。

【発明を実施するための形態】

【0024】

以下に、本発明の第1の実施形態に係るレーザ光源装置1について図1および図2を参照して説明する。

本実施形態に係るレーザ光源装置1は、図1に示されるように、フェムト秒パルスレーザ光（極短パルスレーザ光）を射出する単一のレーザ光源2と、該レーザ光源2からのフェムト秒パルスレーザ光（以下、ポンプ光 L_p という。）の波長を変換して波長の異なる2つのパルスレーザ光（以下、シグナル光 L_s およびアイドラー光 L_i という。）を生成する波長変換手段3と、3つのパルスレーザ光 L_p 、 L_s 、 L_i を第1～第3の光路 P_1

10

20

30

40

50

～P3に分岐する分岐手段4と、各光路P1～P3に配置された分散補償光学系（分散調節手段）51～53、高速出力変調器（光変調器）61～63およびビーム整形光学系71～73と、3つの光路P1～P3を導光されてきたパルスレーザ光Lp, Ls, Liを合成して射出する導入光学系8とを備えている。

【0025】

波長変換手段3は、第2高調波（SHG）素子31と、波長変換素子としての光パラメトリック発振器（OPO）32とを備えている。

SHG素子31は、入射されたポンプ光Lpから該ポンプ光Lpの第2高調波を生成して出力する。

OPO32は、SHG素子31から出力されたポンプ光Lpの第2高調波を差周波に波長変換し、波長の異なるシグナル光Lsおよびアイドラー光Liを生成する。ポンプ光Lpの第2高調波の周波数1と、OPO32から出力されるシグナル光Lsの周波数2およびアイドラー光Liの周波数3（3 < 2）との間には、1 = 2 + 3の関係が成立する。

【0026】

分岐手段4は、レーザ光源2の直後段に配置された部分反射ミラー（分岐手段、波長変換手段）HM1と、該部分反射ミラーHM1との間にSHG素子31およびOPO32を挟んで配置されたダイクロイックミラーDM1とを備えている。部分反射ミラーHM1は、入射された光の一部を反射し他を透過するミラーであり、反射する光と透過する光の光量の比率は適宜設計される。

10

20

【0027】

レーザ光源2からのポンプ光Lpの半分は部分反射ミラーHM1によって反射されることにより第1の光路P1を導光する。一方、ポンプ光Lpの他の半分は部分反射ミラーHM1を透過してSHG素子31に入射し、OPO32からシグナル光Lsおよびアイドラー光Liとして射出させられる。そして、シグナル光LsはダイクロイックミラーDM1を透過して第2の光路P2を導光し、アイドラー光LiはダイクロイックミラーDM1によって反射されて第3の光路P3を導光する。符号M1, M2は、部分反射ミラーHM1によって反射されたポンプ光LpおよびダイクロイックミラーDM1によって反射されたアイドラー光Liを偏向するミラーである。

【0028】

30

分散補償光学系51～53はそれぞれ、入射したパルスレーザ光Lp, Ls, Liに負の周波数分散を付与する。各分散補償光学系51～53が各パルスレーザ光Lp, Ls, Liに付与する周波数分散量は、後述するようにレーザ光源装置1が組み合わせられる顕微鏡本体20が備える照射光学系21の周波数分散に応じて決定される。このような分散補償光学系51～53としては、例えば、プリズム対、グレーティング対またはチャーブミラーが用いられる。

【0029】

高速出力変調器61～63は、例えば、音響光学変調器（AOM）または電気光学変調器（EOM）である。高速出力変調器61～63はそれぞれ、入射したパルスレーザ光Lp, Ls, Liの出力を所定の大きさに変調して出力する。また、高速出力変調器61～63は、後述するように、各パルスレーザ光Lp, Ls, Liの出力をオンオフすることによりこれら3つのパルスレーザ光Lp, Ls, Liの出力のタイミングを制御する。

40

ビーム整形光学系71～73はそれぞれ、入射した各パルスレーザ光Lp, Ls, Liのビーム径と波面形状を、対物レンズ25（後述）の入射瞳に対して適切に整形して出力する。

【0030】

導入光学系8は、2つの光路に1つずつ配置されたミラーM3, M4と、残りの1つの光路に配置された2つのダイクロイックミラーDM2, DM3とによって構成されている。図示される例では、ミラーM3, M4は第1の光路P1および第3の光路P3に配置され、ダイクロイックミラーDM2, DM3は第2の光路P2に配置されている。ポンプ光

50

L_p およびシグナル光 L_s はそれぞれミラー M_3 , M_4 によって第2の光路 P_2 の方向に偏向される。前段のダイクロイックミラー $D_M 2$ は、偏向されたポンプ光 L_p を第2の光路 P_2 の延長線上に反射し、シグナル光 L_s を透過させる。後段のダイクロイックミラー $D_M 3$ は、アイドラー光 L_i を第2の光路 P_2 の延長線上に反射し、シグナル光 L_s およびポンプ光 L_p を透過させる。これにより、3つのパルスレーザ光 L_p , L_s , L_i が第2の光路 P_2 の延長上において合成させられて合成光 L として外部に射出される。

【0031】

次に、このように構成されたレーザ光源装置1を備えるレーザ顕微鏡100の一実施形態について説明する。

本実施形態に係るレーザ顕微鏡100は、波長の異なる複数の極短パルスレーザ光による多光子励起効果を利用して標本Aに含まれる複数種類の蛍光を観察するものであり、図2に示されるように、レーザ光源装置1と、顕微鏡本体(光学装置)20とを備えている。

【0032】

顕微鏡本体20は、レーザ光源装置1から射出された合成光 L が導入され該合成光 L を標本Aに照射する照射光学系21と、合成光 L の照射により標本Aにおいて発生した蛍光を検出する検出光学系28とを備えている。照射光学系21は、導入された合成光 L をラスター方式で2次元的に走査するスキャナ23およびレンズ群24と、スキャナ23により走査された合成光 L を標本A上に集光して照射するとともに標本Aからの蛍光を集光する対物レンズ25とを備えている。図中、符号26は標本Aが載置されるステージを、符号 $D_M 4$ はダイクロイックミラーを示している。検出光学系28は、レンズ27と、単一の光検出器22とを備えている。

【0033】

次に、このように構成されたレーザ光源装置1およびレーザ顕微鏡100の作用について説明する。

まず、レーザ光源2を作動させてフェムト秒パルスレーザ光を射出させると、フェムト秒パルスレーザ光は部分反射ミラー $H_M 1$ によって2つに分岐され、一方はポンプ光 L_p として第1の光路 P_1 を導光し、他方は $S H G$ 素子31および $O P O 32$ によって周波数変換されてシグナル光 L_s およびアイドラー光 L_i となる。すなわち、部分反射ミラー $H_M 1$ および $O P O 32$ により、フェムト秒パルスレーザ光から互いに波長の異なる3つのパルスレーザ光が生成される。シグナル光 L_s およびアイドラー光 L_i はダイクロイックミラー $D_M 1$ によって分岐されて第2の光路 P_2 と第3の光路 P_3 とをそれぞれ導光する。

【0034】

ポンプ光 L_p は、第1の光路 P_1 を導光する間に、分散補償光学系51によって周波数分散量が調節され、高速出力変調器61によって出力が調節され、ビーム整形光学系71によってビーム径と波面形状が調節される。シグナル光 L_s およびアイドラー光 L_i も同様に、各光路 P_2 , P_3 を導光する間に分散補償光学系52, 53、高速出力変調器62, 63およびビーム整形光学系72, 73によって周波数分散量、出力、ビーム径と波面形状がそれぞれ調節される。

【0035】

ここで、各分散補償光学系51～53が各パルスレーザ光 L_p , L_s , L_i に付与する周波数分散量は、顕微鏡本体20が備えるレンズ群24および対物レンズ25が有する周波数分散によって決定される。すなわち、各パルスレーザ光 L_p , L_s , L_i は、レンズ群24および対物レンズ25を通過する間に、各パルスレーザ光 L_p , L_s , L_i に含まれる周波数成分によって伝搬する速度が異なるがことが要因で、入射時のパルス幅に対して射出時のパルス幅は広がってしまう。このパルス幅の広がりを相殺する負の周波数分散を各分散補償光学系51～53はパルスレーザ光 L_p , L_s , L_i に対してそれぞれ付与する。これにより、標本A上において各パルスレーザ光 L_p , L_s , L_i は、略フーリエ限界パルスとなる。

10

20

30

40

50

【0036】

周波数分散量が調節された各パルスレーザ光 L_p , L_s , L_i は導入光学系 8 によって 1 つに合成されて合成光 L となる。合成光 L は、顕微鏡本体 20 に入射させられ、スキャナ 23 によって 2 次元的に走査された後、レンズ群 24 と対物レンズ 25 を介して標本 A 上に集光される。これにより、標本 A から各パルスレーザ光 L_p , L_s , L_i に対応する蛍光が発生させられる。蛍光は、対物レンズ 25 によって集光された後、ダイクロイックミラー DM 4 によって反射され、集光レンズ 27 を介して光検出器 22 によって検出される。

【0037】

ここで、各高速出力変調器 61 ~ 63 は、スキャナ 23 の走査周期に同期させ、スキャナ 23 が 1 ラインまたは 1 フレーム走査する毎にパルスレーザ光 L_p , L_s , L_i が順番に切り替わるようにパルスレーザ光 L_p , L_s , L_i の出力のタイミングを調節する。これにより、複数の波長の蛍光が時分割で光検出器 22 に入射するので、単一の光検出器 22 を使用しつつ各蛍光を別々に画像化することができる。

10

【0038】

光検出器 22 によって検出された蛍光の強度は、その励起光であるパルスレーザ光 L_p , L_s , L_i 毎に、標本 A 上での集光位置の座標と対応付けて記憶される。これにより、励起波長の異なるパルスレーザ光 L_p , L_s , L_i によって励起された 3 種類の蛍光の 2 次元的な蛍光画像を得ることができる。

【0039】

20

このように、本実施形態に係るレーザ光源装置 1 およびレーザ顕微鏡 100 によれば、各パルスレーザ光 L_p , L_s , L_i が標本 A 上において略フーリエ限界パルスとなるように、顕微鏡本体 20 に導入される各パルスレーザ光 L_p , L_s , L_i の周波数分散量が調節されているので、各パルスレーザ光 L_p , L_s , L_i によって多光子励起効果を効率良く発生させ、鮮明な蛍光画像を得ることができる。また、パルスレーザ光 L_p , L_s , L_i の照射による標本 A へのダメージを最小限に抑えることができる。

【0040】

なお、本実施形態においては、3 つのパルスレーザ光 L_p , L_s , L_i のうち 1 つまたは 2 つを標本 A の光刺激に用い、他のパルスレーザ光によって蛍光画像を観察することとしてもよい。この場合には、高速出力変調器 61 ~ 63 は、光刺激用のパルスレーザ光が蛍光画像観察用のパルスレーザ光と同時に標本 A に照射されるように、各パルスレーザ光 L_p , L_s , L_i の出力のタイミングを制御してもよい。

30

【0041】

次に、本発明の第 2 の実施形態に係るレーザ光源装置 1' について図 3 ~ 図 11 を参照して説明する。本実施形態の説明において、第 1 の実施形態と同一の構成については同一の符号を付して省略する。

本実施形態に係るレーザ光源装置 1' は、図 3 に示されるように、2 つのパルスレーザ光を外部に射出する点、これら 2 つのパルスレーザ光を合成した後に周波数分散量を調節する点、および、合成光 L' に対して高速出力変調器およびビーム整形光学系が設けられている点において主に第 1 の実施形態と異なっている。

40

【0042】

具体的には、分岐手段 4' は、図 1 におけるダイクロイックミラー DM 1 が省略されて部分反射ミラー HM 1 のみから構成され、波長変換手段 3' は、OPO 32 から出力されたシグナル光 L_s とアイドラー光 L_i のうち一方（本実施形態においてはアイドラー光 L_i ）を遮断するカットフィルタ 9 を OPO 32 の後段に備えている。第 1 の光路 P 1 を導光したポンプ光 L_p およびカットフィルタ 9 を透過して第 2 の光路 P 2 を導光したシグナル光 L_s は、ダイクロイックミラー DM 2（合成手段）とミラー M 3（合成手段）とによって合成されて合成光 L' となり、分散補償光学系（分散調節手段）10 に入射する。

【0043】

分散補償光学系 10 は、各パルスレーザ光 L_p , L_s に対して 1 つずつ設けられ、合成

50

光 L' をポンプ光 L_p とシグナル光 L_s とに分光する第1のプリズム（周波数分散素子）10aと、第2のプリズム（周波数分散素子）10bと、ミラー10cとを備えている。第1のプリズム10aは、2つの分散補償光学系10によって共有されている。第1のプリズム10aを通過したパルスレーザ光 L_p 、 L_s はそれぞれ、第2のプリズム10bを通過した後にミラー10cによって折り返されて再度第2プリズム10bおよび第1のプリズム10aを通過して第2の光路P2の延長線上に戻されるようになっている。

【0044】

ここで、第2のプリズム10bおよびミラー10cを一体で矢印の方向に移動させて第1のプリズム10aと第2のプリズム10bとの間の光路長を調節することにより、各パルスレーザ光 L_p 、 L_s に与える負の周波数分散量を調節することができる。なお、第1のプリズム10aおよび第2のプリズム10bに代えて回折格子（図示略）を用いてもよい。

10

【0045】

第2の光路P2に戻されたポンプ光 L_p およびシグナル光 L_s は、ミラーM5によって偏向されて高速出力変調器6に入射する。なお、ミラーM5が分散補償光学系10に入射する合成光 L' に干渉しないように、これら2つの合成光 L' の高さ（参照する図面において紙面に垂直な方向の位置）が例えばミラー10cの角度によって調節されている。

【0046】

高速出力変調器6は、例えば、音響光学チューナブルフィルタ（AOTF）である。高速出力変調器6は、第1の実施形態における高速出力変調器61～63のように、スキアナ23の走査周期に同期させてポンプ光 L_p およびシグナル光 L_s を順番に切り替えて出力する。なお、高速出力変調器6は、用途に応じてポンプ光 L_p およびシグナル光 L_s の両方を同時に出力することもできる。また、高速出力変調器6としてAOMが用いられてもよい。この場合、AOMは、変調周波数を変化させることによってポンプ光 L_p とシグナル光 L_s とを順番に切り替えて出力する。

20

【0047】

このように構成されたレーザ光源装置1'は、第1の実施形態と同様に、図2に示される顕微鏡本体20と共にレーザ顕微鏡を構成することができる。すなわち、本実施形態に係るレーザ顕微鏡は、図2においてレーザ光源装置1をレーザ光源装置1'に置き換えたものである。

30

【0048】

このように構成された本実施形態に係るレーザ光源装置1'およびレーザ顕微鏡によれば、各パルスレーザ光 L_p 、 L_s が標本A上において略フーリエ限界パルスとなるように分散補償光学系10によって周波数分散量が調節されているので、各パルスレーザ光 L_p 、 L_s によって多光子励起効果を効率良く発生させ、鮮明な蛍光画像を得ることができる。また、パルスレーザ光 L_p 、 L_s の照射による標本Aへのダメージを最小限に抑えることができる。

【0049】

なお、本実施形態に係るレーザ光源装置1'は、以下のように変形されることとしてもよい。

40

本実施形態に係るレーザ光源装置1'の第1の変形例は、図4に示されるように、アイドラー光 L_i もポンプ光 L_p およびシグナル光 L_s とともに合成光 L として射出されるように構成したものである。すなわち、カットフィルタ9が省略され、もう1つの分散補償光学系10を備える。この場合、ダイクロイックミラーDM2'は、シグナル光 L_s とアイドラー光 L_i の両方を透過させる。なお、図4～図11において、高速出力変調器6およびビーム整形光学系7は図示が省略されている。

【0050】

第1の変形例においては、図5に示されるように、部分反射ミラーHM1を省略することにより、シグナル光 L_s およびアイドラー光 L_i のみが合成光 L'' として射出されるように構成することもできる。

50

【0051】

また、第1の変形例においては、図6に示されるように、ポンプ光Lpを分岐する部分反射ミラーHM1の前段に分散補償光学系5が備えられていてもよい。分散補償光学系5は、ポンプ光Lpが標本A上において略フーリエ限界パルスとなるような負の周波数分散量をポンプ光Lpに付与する。この構成においては、部分反射ミラーHM1を透過したポンプ光LpがSHG素子31に入射する前に、ポンプ光Lpに正の周波数分散を付与してポンプ光LpをSHG素子31への入射位置で略フーリエ限界パルス化する正分散素子(分散調節部)11がSHG素子31の前段に設けられている。

【0052】

図7に示されるレーザ光源装置1'-4は、図6に示されるレーザ光源装置1'-3の変形例であり、OPO32の後段にカットフィルタ9を設け、シグナル光Lsおよびアイドラー光Liの一方(図示する例ではシグナル光Ls)を選択してポンプ光Lpと合成するように構成したものである。

【0053】

本実施形態に係るレーザ光源装置1'の第2の変形例は、図8に示されるように、分散補償光学系10'が、ポンプ光Lpとシグナル光Lsの周波数分散を共通の第2のプリズム10dおよびミラー10cを使用して調節するように構成したものである。この場合、第2のプリズム10dおよびミラー10cの位置は、一方のパルスレーザ光(図示する例ではポンプ光Lp)が標本A上で略フーリエ限界パルスとなるような負の周波数分散をポンプ光Lpとシグナル光Lsに付与するように調節される。

【0054】

ここで、シグナル光Lsの波長がポンプ光Lpの波長よりも短い場合には、正の周波数分散をシグナル光Lsに付与する正分散素子(分散調節部)11'がカットフィルタ9の後段に設けられ、分散補償光学系10'によりシグナル光Lsに過剰に付与される負の周波数分散を正分散素子(分散調節部)11'が相殺するように構成される。

【0055】

第2の変形例においては、図9に示されるように、部分反射ミラーHM1およびカットフィルタ9を省略することにより、ポンプ光Lpに代えてアイドラー光Liがシグナル光Lsと共に合成光L"として射出されるように構成することもできる。この場合も、第2のプリズム10dの位置は、一方のレーザ光(図示する例ではシグナル光Ls)が標本A上で略フーリエ限界パルスとなるような負の周波数分散をアイドラー光Liとシグナル光Lsに付与するように調節される。

ここで、アイドラー光Liの波長がシグナル光Lsの波長よりも長い場合には、アイドラー光Liに過剰に付与される負の周波数分散を相殺する正分散素子11"が第3の光路P3に設けられる。

【0056】

また、第2の変形例においては、図10に示されるように、カットフィルタ9を省略し、アイドラー光Liもポンプ光Lpおよびシグナル光Lsとともに合成光Lとして射出されるように構成することもできる。ここで、シグナル光Lsおよびアイドラー光Liの波長がポンプ光Lpの波長よりも長い場合には、分散補償光学系10'によりシグナル光Lsおよびアイドラー光Liに付与される過剰な負の周波数分散を相殺するために、第2の光路P2および第3の光路P3にはそれぞれ正分散素子11', 11"が設けられる。

【0057】

また、第2の変形例においては、図11に示されるように、部分反射ミラーHM1の前段に設けられた分散補償光学系5によってポンプ光Lpの周波数分散を標本A上において略フーリエ限界パルスとなるように調節し、分散補償光学系10'によってシグナル光Lsの周波数分散を最適に補償し、正分散素子11および分散補償光学系10'によってアイドラー光Liに付与される過剰な負の周波数分散を正分散素子11'によって相殺するように構成することもできる。

【0058】

10

20

30

40

50

なお、上述した第1および第2の実施形態のうち図1, 6, 7, 11に記載の構成においては、各パルスレーザ光の合波を、図2に示されるスキャナ23と対物レンズ25との間の光路で行ってもよい。このようにすることで、2つ以上のパルスレーザ光を標本の任意の位置で走査することができる。

【0059】

また、第1および第2の実施形態においては、光学装置として顕微鏡装置を例示したが、レーザ光源装置が組み合わせられる光学装置はこれに限定されるものではない。上述したレーザ光源装置1, 1' - 1 ~ 1' - 8は、光刺激や各種の光学計測、加工など、複数の波長のパルスレーザ光を使用して標本に対して操作を行う他の光学装置とも組み合わせて用いられることができる。

10

【符号の説明】

【0060】

1, 1', 1' - 1 ~ 1' - 8 レーザ光源装置

2 レーザ光源

3, 3' 波長変換手段

3 1 第2高調波素子

3 2 光パラメトリック発振器(波長変換素子)

4, 4', 4" 分岐手段

5, 5 1 ~ 5 3 分散補償光学系(分散調節手段)

6, 6 1 ~ 6 3 高速出力変調器(光変調器)

20

7, 7 1 ~ 7 3 ビーム整形光学系

8, 8 - 1 ~ 8 - 9 導入光学系

9 カットフィルタ

10, 10' 分散補償光学系(分散調節手段)

10a, 10b, 10d プリズム(周波数分散素子)

10c ミラー

11, 11', 11" 正分散素子(分散調節部)

2 0 顕微鏡本体(光学装置)

2 2 光検出器

2 3 スキャナ

30

2 4 レンズ群

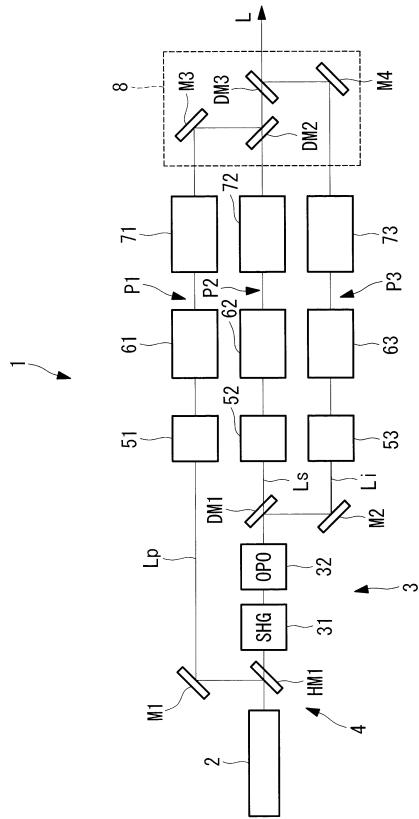
2 5 対物レンズ

H M 1 部分反射ミラー(分岐手段、波長変換手段)

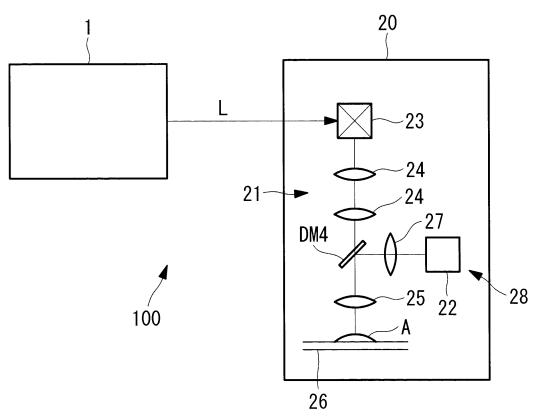
M 1 ~ M 6 ミラー

D M 1 ~ D M 5 ダイクロイックミラー

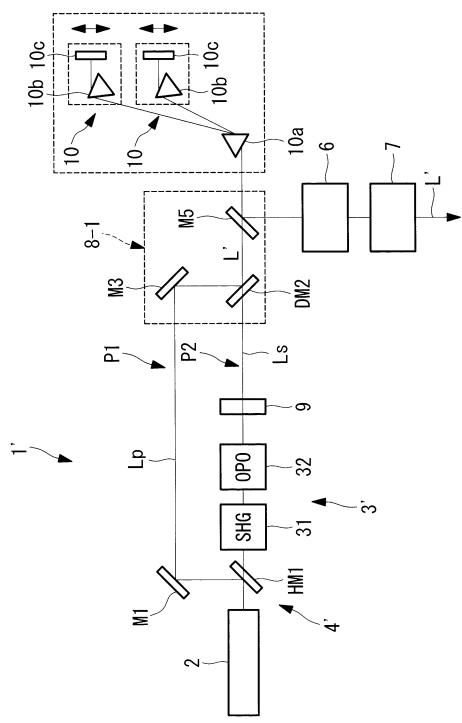
【 図 1 】



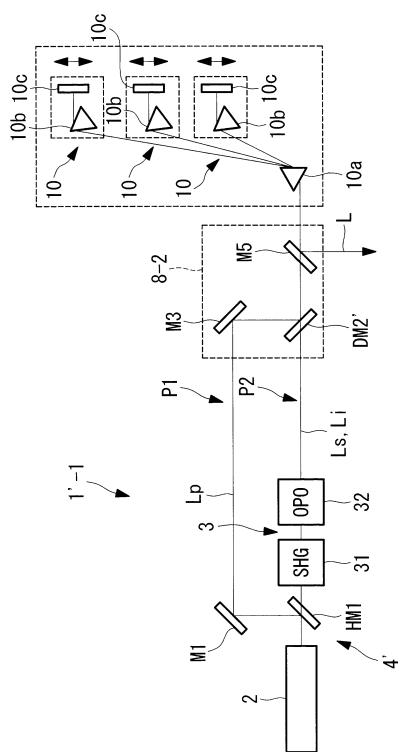
【 図 2 】



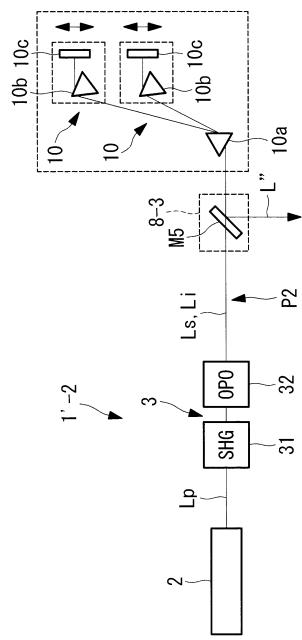
【図3】



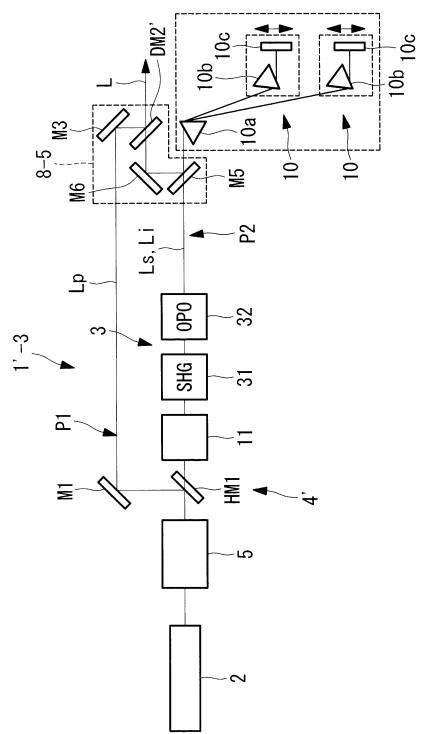
【 図 4 】



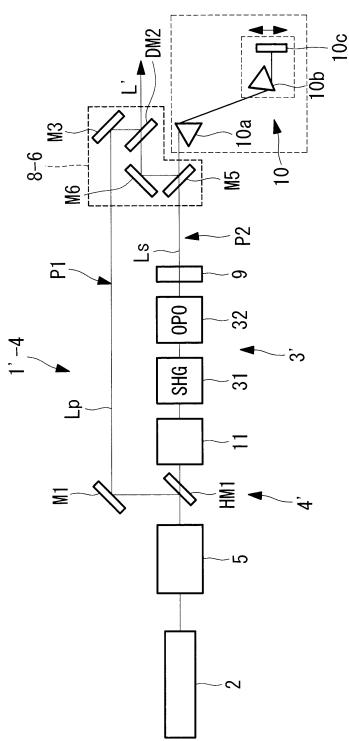
【図5】



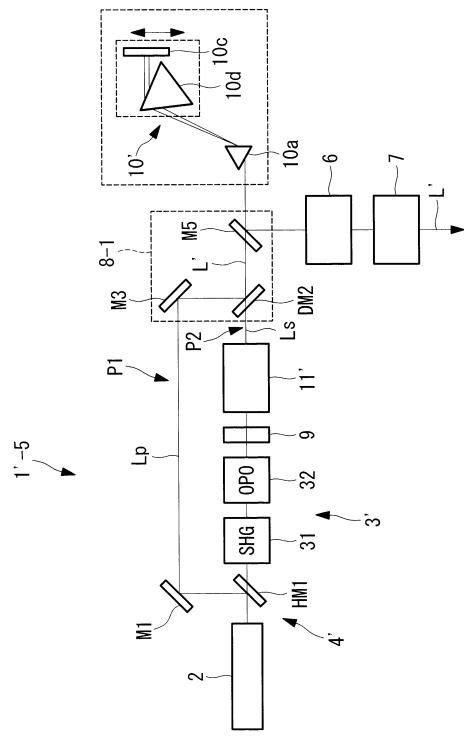
【図6】



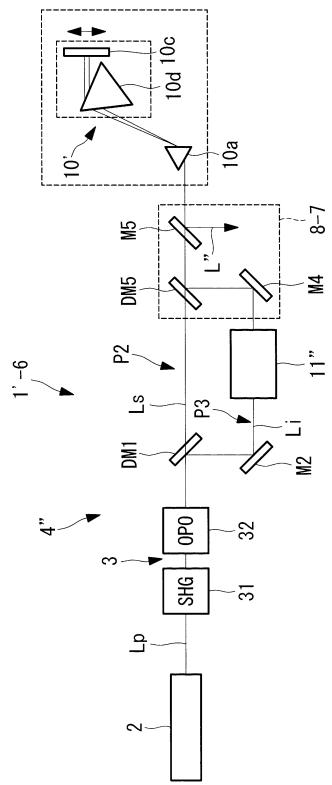
【図7】



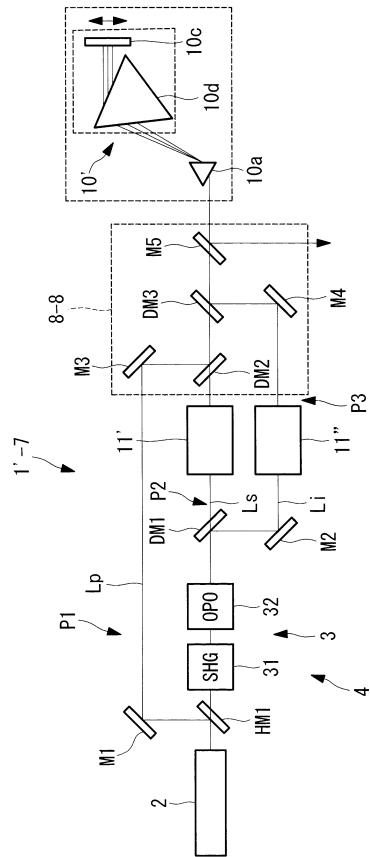
【図8】



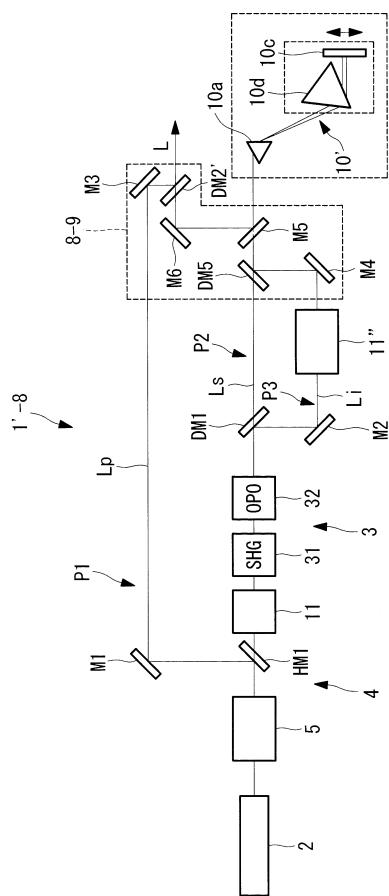
【図9】



【図10】



【図11】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	
G 02 F 1/37	(2006.01)	G 02 F 1/37
G 02 F 1/39	(2006.01)	G 02 F 1/39

(56)参考文献 特開2011-146463 (JP, A)
特開2009-281923 (JP, A)
国際公開第2011/091316 (WO, A1)
特開2011-017965 (JP, A)
特開2002-196252 (JP, A)
特開2005-172776 (JP, A)
特表2008-517291 (JP, A)
特開2011-128287 (JP, A)
米国特許出願公開第2005/0078363 (US, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G 01 N 21/00 - 21/958
G 02 B 21/06
G 02 F 1/35 - 1/39
H 01 S 3/00 - 3/13
S c i t a t i o n
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)