

(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 I
GO 1 N 21/64 (2006.01)	GO 1 N 21/64 Z
GO 2 F 1/35 (2006.01)	GO 2 F 1/35
GO 2 B 21/06 (2006.01)	GO 2 B 21/06
HO 1 S 3/10 (2006.01)	HO 1 S 3/10 Z
HO 1 S 3/00 (2006.01)	HO 1 S 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)	(73) 特許権者	000000376
(22) 出願日	平成24年9月27日 (2012.9.27)		オリンパス株式会社
(65) 公開番号	特開2013-83970 (P2013-83970A)		東京都八王子市石川町2951番地
(43) 公開日	平成25年5月9日 (2013.5.9)	(74) 代理人	100118913
審査請求日	平成27年9月24日 (2015.9.24)		弁理士 上田 邦生
(31) 優先権主張番号	特願2011-217160 (P2011-217160)	(74) 代理人	100112737
(32) 優先日	平成23年9月30日 (2011.9.30)		弁理士 藤田 考晴
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(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

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】

20

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。

【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、

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

40

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に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はOPOに入射するレーザー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ー光もフーリエ限界パルスに近い状態となる。このようなレーザー光をそのままレーザー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ー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、単一のレーザー光から複数の波長のレーザー光を生成しつつ、各レーザー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ー光源装置およびレーザー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ー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ー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ー光を導入するレーザー光源装置であって、極短パルスレーザー光を射出する単一のレーザー光源と、該レーザー光源から射出された極短パルスレーザー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ー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ー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ー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ー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ー光の周波数分散量を調節するレーザー光源装置を提供する。

20

30

【0008】

本発明によれば、レーザー光源から射出された極短パルスレーザー光は、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ー光となった後、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ー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。

【0009】

この場合に、導入光学系に入射される各パルスレーザー光は、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、単一のレーザー光から複数の波長のレーザー光を生成しつつ、照射光学系から標本に照射された各パルスレーザー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ー光から2つの波長のパルスレーザー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

はチャープ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。

【 0 0 1 2 】

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。

【 0 0 1 3 】

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。

【 0 0 1 4 】

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単一の分散補償光学系とを備えていることとしてもよい。

【 0 0 1 5 】

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単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。

【 0 0 1 6 】

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。

【 0 0 1 7 】

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。

【 0 0 1 8 】

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が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。

【 0 0 1 9 】

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。

10

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。

【 0 0 2 0 】

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に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。

20

【 0 0 2 1 】

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 】

【 0 0 2 2 】

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 】

【 0 0 2 3 】

30

【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。

40

【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 】

【 0 0 2 4 】

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

50

～ P 3 に分岐する分岐手段 4 と、各光路 P 1 ～ P 3 に配置された分散補償光学系（分散調節手段）5 1 ～ 5 3、高速出力変調器（光変調器）6 1 ～ 6 3 およびビーム整形光学系 7 1 ～ 7 3 と、3つの光路 P 1 ～ P 3 を導光されてきたパルスレーザ光 L p , L s , L i を合成して射出する導入光学系 8 とを備えている。

【 0 0 2 5 】

波長変換手段 3 は、第 2 高調波（S H G）素子 3 1 と、波長変換素子としての光パラメトリック発振器（O P O）3 2 とを備えている。

S H G 素子 3 1 は、入射されたポンプ光 L p から該ポンプ光 L p の第 2 高調波を生成して出力する。

O P O 3 2 は、S H G 素子 3 1 から出力されたポンプ光 L p 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 L s およびアイドラー光 L i を生成する。ポンプ光 L p の第 2 高調波の周波数 1 と、O P O 3 2 から出力されるシグナル光 L s の周波数 2 およびアイドラー光 L i の周波数 3（ $3 < 2$ ）との間には、 $1 = 2 + 3$ の関係が成立する。

【 0 0 2 6 】

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）H M 1 と、該部分反射ミラー H M 1 との間に S H G 素子 3 1 および O P O 3 2 を挟んで配置されたダイクロイックミラー D M 1 とを備えている。部分反射ミラー H M 1 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。

【 0 0 2 7 】

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

【 0 0 2 8 】

分散補償光学系 5 1 ～ 5 3 はそれぞれ、入射したパルスレーザ光 L p , L s , L i に負の周波数分散を付与する。各分散補償光学系 5 1 ～ 5 3 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、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 2 0 が備える照射光学系 2 1 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 5 1 ～ 5 3 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プミラーが用いられる。

【 0 0 2 9 】

高速出力変調器 6 1 ～ 6 3 は、例えば、音響光学変調器（A O M）または電気光学変調器（E O M）である。高速出力変調器 6 1 ～ 6 3 はそれぞれ、入射したパルスレーザ光 L p , L s , L i 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 6 1 ～ 6 3 は、後述するように、各パルスレーザ光 L p , L s , L i 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 L p , L s , L i の出力のタイミングを制御する。

ビーム整形光学系 7 1 ～ 7 3 はそれぞれ、入射した各パルスレーザ光 L p , L s , L i のビーム径と波面形状を、対物レンズ 2 5（後述）の入射瞳に対して適切に整形して出力する。

【 0 0 3 0 】

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 M 3 , M 4 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 D M 2 , D M 3 とによって構成されている。図示される例では、ミラー M 3 , M 4 は第 1 の光路 P 1 および第 3 の光路 P 3 に配置され、ダイクロイックミラー D M 2 , D M 3 は第 2 の光路 P 2 に配置されている。ポンプ光

L_pおよびシグナル光L_sはそれぞれミラーM₃、M₄によって第2の光路P₂の方向に偏向される。前段のダイクロイックミラーDM₂は、偏向されたポンプ光L_pを第2の光路P₂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DM₃は、アイドラー光L_iを第2の光路P₂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P₂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DM4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HM1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P₁を導光し、他方はSHG素子31およびOPO32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HM1およびOPO32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DM1によって分岐されて第2の光路P₂と第3の光路P₃とをそれぞれ導光する。

【0034】

ポンプ光L_pは、第1の光路P₁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P₂、P₃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DM4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DM1が省略されて部分反射ミラーHM1のみから構成され、波長変換手段3'は、OPO32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OPO32の後段に備えている。第1の光路P1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P2を導光したシグナル光 L_s は、ダイクロイックミラーDM2（合成手段）とミラーM3（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。

【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、スキャナ 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。

【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。

【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。

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。

【 0 0 5 1 】

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 L_p 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 L_p 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 L_p 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 L_p が SHG 素子 3 1 に入射する前に、ポンプ光 L_p に正の周波数分散を付与してポンプ光 L_p を SHG 素子 3 1 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）1 1 が SHG 素子 3 1 の前段に設けられている。

【 0 0 5 2 】

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、 $OP032$ の後段にカットフィルタ 9 を設け、シグナル光 L_s およびアイドラー光 L_i の一方（図示する例ではシグナル光 L_s ）を選択してポンプ光 L_p と合成するように構成したものである。

【 0 0 5 3 】

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 1 0' が、ポンプ光 L_p とシグナル光 L_s の周波数分散を共通の第 2 のプリズム 1 0 d およびミラー 1 0 c 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 1 0 d およびミラー 1 0 c 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 L_p ）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 L_p とシグナル光 L_s に付与するように調節される。

【 0 0 5 4 】

ここで、シグナル光 L_s の波長がポンプ光 L_p 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 L_s に付与する正分散素子（分散調節部）1 1' がカットフィルタ 9 の後段に設けられ、分散補償光学系 1 0' によりシグナル光 L_s 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）1 1' が相殺するように構成される。

【 0 0 5 5 】

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 L_p に代えてアイドラー光 L_i がシグナル光 L_s 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 1 0 d の位置は、一方のレーザ光（図示する例ではシグナル光 L_s ）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 L_i とシグナル光 L_s に付与するように調節される。

ここで、アイドラー光 L_i の波長がシグナル光 L_s の波長よりも長い場合には、アイドラー光 L_i 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 1 1'' が第 3 の光路 $P3$ に設けられる。

【 0 0 5 6 】

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 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することもできる。ここで、シグナル光 L_s およびアイドラー光 L_i の波長がポンプ光 L_p の波長よりも長い場合には、分散補償光学系 1 0' によりシグナル光 L_s およびアイドラー光 L_i 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 1 1' , 1 1'' が設けられる。

【 0 0 5 7 】

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 L_p 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 1 0' によってシグナル光 L_s の周波数分散を最適に補償し、正分散素子 1 1 および分散補償光学系 1 0' によってアイドラー光 L_i に付与される過剰な負の周波数分散を正分散素子 1 1' によって相殺するように構成することもできる。

【 0 0 5 8 】

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 , 1 1 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 2 3 と対物レンズ 2 5 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。

【 0 0 5 9 】

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】

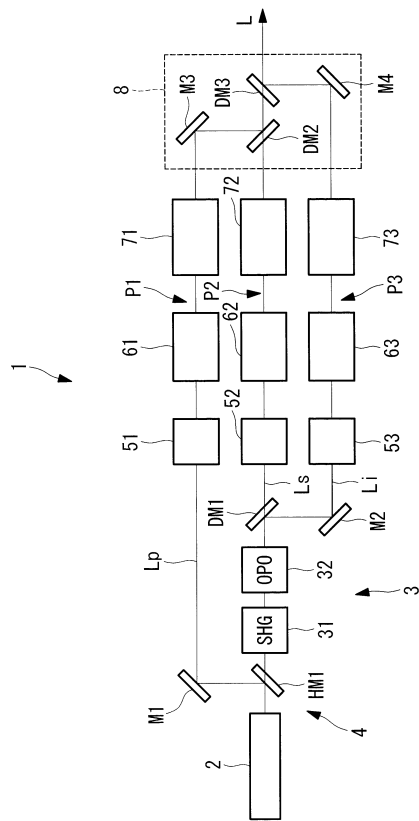
【 0 0 6 0 】

- 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)
- 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
- 1 0 , 1 0 ' 分散補償光学系 (分散調節手段)
- 1 0 a , 1 0 b , 1 0 d プリズム (周波数分散素子)
- 1 0 c ミラー
- 1 1 , 1 1 ' , 1 1 " 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
- 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

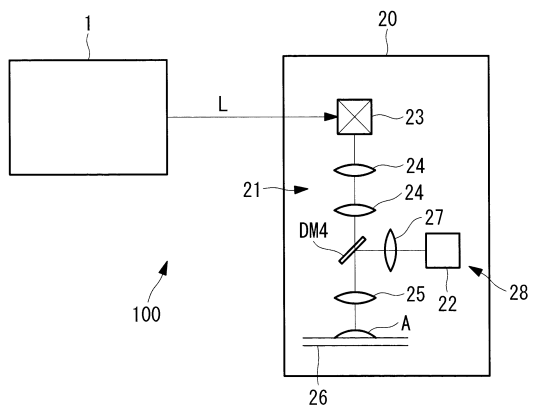
20

30

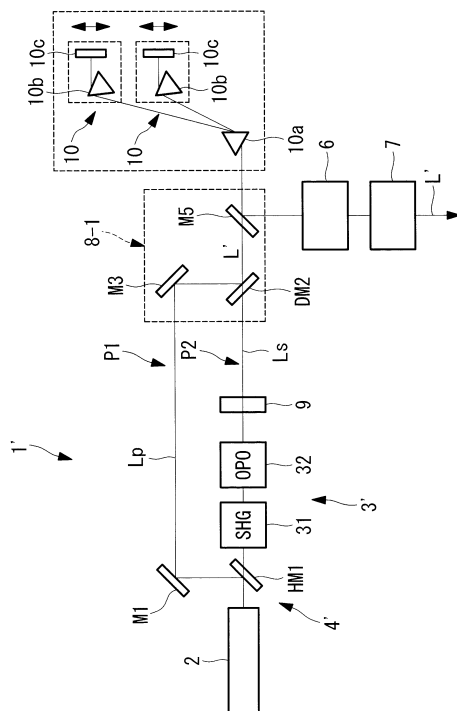
【 図 1 】



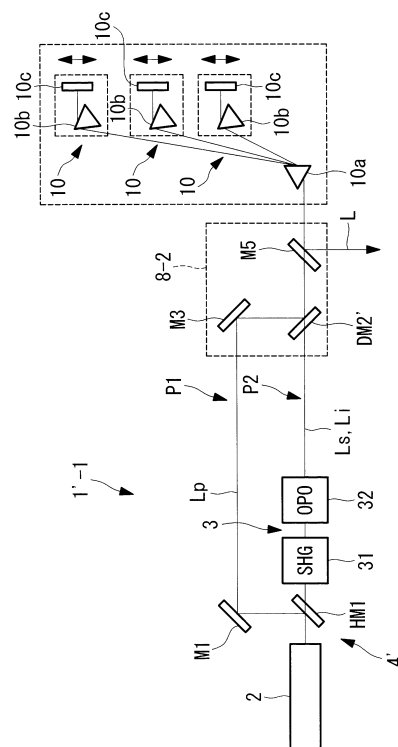
【 図 2 】



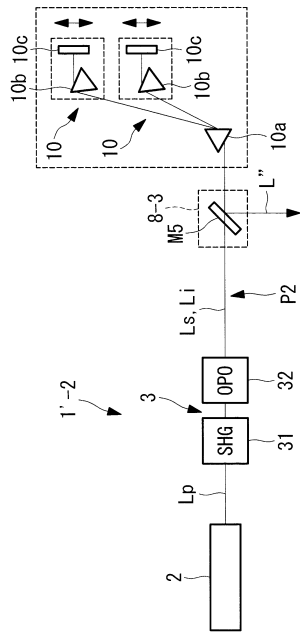
【圖 3】



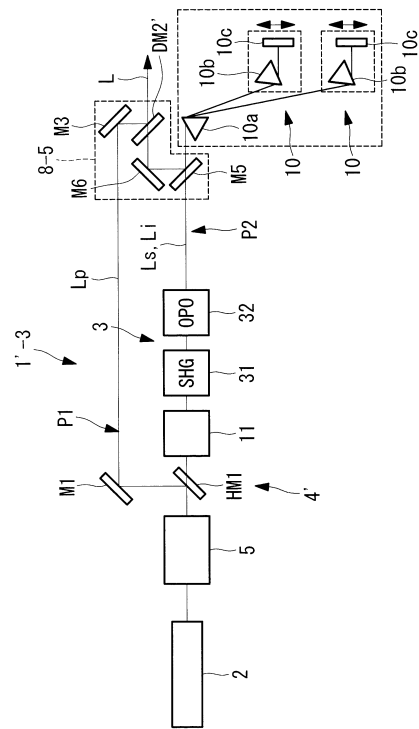
【 図 4 】



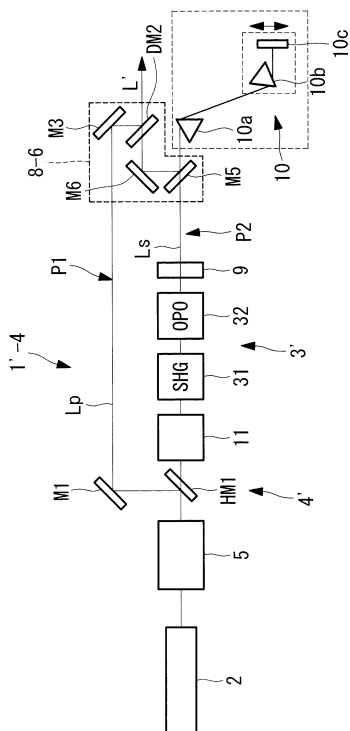
【 図 5 】



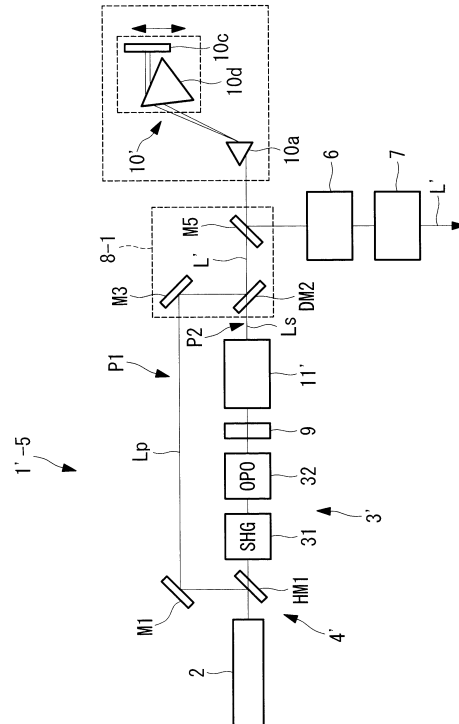
【圖 6】



【圖 7】



【 図 8 】



 フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I	
G 0 2 F	1/37	(2006.01)	G 0 2 F	1/37
G 0 2 F	1/39	(2006.01)	G 0 2 F	1/39

(56)参考文献 特開 2 0 1 1 - 1 4 6 4 6 3 (J P , A)
 特開 2 0 0 9 - 2 8 1 9 2 3 (J P , A)
 国際公開第 2 0 1 1 / 0 9 1 3 1 6 (W O , A 1)
 特開 2 0 1 1 - 0 1 7 9 6 5 (J P , A)
 特開 2 0 0 2 - 1 9 6 2 5 2 (J P , A)
 特開 2 0 0 5 - 1 7 2 7 7 6 (J P , A)
 特表 2 0 0 8 - 5 1 7 2 9 1 (J P , A)
 特開 2 0 1 1 - 1 2 8 2 8 7 (J P , A)
 米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 0 7 8 3 6 3 (U S , A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)
 G 0 1 N 2 1 / 0 0 - 2 1 / 9 5 8
 G 0 2 B 2 1 / 0 6
 G 0 2 F 1 / 3 5 - 1 / 3 9
 H 0 1 S 3 / 0 0 - 3 / 1 3
 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)