

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5638793号
(P5638793)

(45) 発行日 平成26年12月10日 (2014. 12. 10)

(24) 登録日 平成26年10月31日 (2014. 10. 31)

(51) Int. Cl.

F 1

GO 2 B	21/00	(2006. 01)	GO 2 B	21/00
GO 2 B	21/30	(2006. 01)	GO 2 B	21/30
GO 2 B	21/24	(2006. 01)	GO 2 B	21/24
GO 2 B	21/26	(2006. 01)	GO 2 B	21/26
GO 2 B	21/14	(2006. 01)	GO 2 B	21/14

請求項の数 8 (全 15 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2009-275584 (P2009-275584)
 (22) 出願日 平成21年12月3日 (2009. 12. 3)
 (65) 公開番号 特開2011-118162 (P2011-118162A)
 (43) 公開日 平成23年6月16日 (2011. 6. 16)
 審査請求日 平成24年11月20日 (2012. 11. 20)

前置審査

(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4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 顕谷 昭典
 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号 オ
 リンパス株式会社内
 (72) 発明者 中田 電男
 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号 オ
 リンパス株式会社内

審査官 森内 正明

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】顕微鏡装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

標本を収容して恒温恒湿を維持しつつ培養する培養部と、
 該培養部を保持するステージと、
 光源からの照明光を前記標本に集光する第1の集光光学系と、
 該第1の集光光学系により前記標本に照射され前記標本を透過した透過光を集光する第2の集光光学系と、
 前記標本における照明光の集光位置と光学的に共役な位置に配置され、前記第2の集光光学系により集光された透過光の一部を遮断する透過用ピンホールと、
 該透過用ピンホールを通過した透過光を検出する透過用光検出器と、
 これら第1および第2の集光光学系、前記透過用ピンホールおよび前記透過用光検出器と前記ステージとを相対的に移動させる移動機構と、
 前記培養部、前記ステージ、前記第1の集光光学系、前記第2の集光光学系、前記透過用ピンホール、前記透過用光検出器および前記移動機構を取り囲み外光を遮断する筐体と、
 該筐体内の温度を制御する温度制御部とを備え、
 前記培養部が培養液を貯留し、
 前記第2の集光光学系が前記培養液の液面から離れた位置に配置され、
 前記培養液の液面を検出する液面検出部と、該液面検出部により検出された前記培養液の液面位置に基づいて前記透過用ピンホールまたは前記第2の集光光学系の光軸に沿う方

10

20

向の位置を調節する位置調節機構とを備える顕微鏡装置。

【請求項 2】

前記光源と前記第 1 の集光光学系との間に配置され、光源からの照明光を走査する走査部と、

該走査部により照明光が前記標本上で走査されることにより、該標本において発生して前記第 1 の集光光学系により集光され、前記走査部を介して戻る蛍光を分岐する蛍光分岐部と、

前記標本と光学的に共役な位置に配置され、前記蛍光分岐部により分岐された蛍光の一部を遮断する落射用ピンホールと、

該落射用ピンホールを通過した蛍光を検出する落射用光検出器とを備え、

前記筐体が、前記走査部、前記蛍光分岐部、前記落射用ピンホールおよび前記落射用光検出器をも取り囲んでいる請求項 1 に記載の顕微鏡装置。

10

【請求項 3】

前記光源がレーザ光を射出するレーザ光源であり、

該レーザ光源から射出されたレーザ光を、前記標本への入射前に、互いに直交する偏光面を有する偏光成分に分割する第 1 の微分干渉素子と、

前記標本を通過した互いに直交する偏光面を有する偏光成分を単一偏光面を有する偏光に統合する第 2 の微分干渉素子と、

該第 2 の微分干渉素子により統合された偏光以外の光を遮断する偏光素子とを備え、

前記筐体が、前記第 1、第 2 の微分干渉素子および前記偏光素子をも取り囲んでいる請求項 1 又は請求項 2 に記載の顕微鏡装置。

20

【請求項 4】

前記第 1 および第 2 の集光光学系が、位相差観察用の集光光学系である請求項 1 又は請求項 2 いずれかに記載の顕微鏡装置。

【請求項 5】

前記光源からの照明光を複数の光束に分割する光束分割部を備え、

前記透過用ピンホールが、前記光束分割部により分割された複数の光束の前記標本上における集光位置とそれぞれ共役な位置に複数配置され、

前記透過用光検出器が、複数の前記透過用ピンホールを通過した複数の照明光をそれぞれ検出するように複数設けられている請求項 1 から請求項 4 のいずれかに記載の顕微鏡装置。

30

【請求項 6】

前記第 1 および第 2 の集光光学系が、それぞれ倍率を異ならせて複数組切替可能に設けられるとともに、倍率が切り替えられる際には、前記第 1 および第 2 の集光光学系の倍率が同一となるように切り替えられる請求項 5 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 7】

前記第 1 の集光光学系が、倍率を異ならせて複数組切替可能に設けられ、

前記透過用ピンホールが、反射または透過パターンを変更可能な空間変調器により構成され、

前記第 1 の集光光学系の倍率が切り替えられたときには、前記透過用ピンホールの反射または透過パターンを切り替える請求項 5 に記載の顕微鏡装置。

40

【請求項 8】

前記光源からの照明光をラインビームに変換する変換光学系と、

該変換光学系により変換されたラインビームの一部を選択的に反射または透過させるように反射または透過パターンを変更可能に構成され、複数の光束を生成する第 1 の空間変調器と、

前記透過用ピンホールが、反射または透過パターンを変更可能に構成され、反射または透過位置が前記第 1 の空間変調器と光学的に共役な位置関係を保つように駆動される第 2 の空間変調器により構成され、

前記透過用光検出器が、複数の前記透過用ピンホールを通過した複数の照明光をそれぞ

50

れ検出するように複数設けられている請求項 1 に記載の顕微鏡装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、顕微鏡装置に関するものである。

【背景技術】

【0002】

従来、光源から射出された照明光を固定し、標本を搭載したステージを駆動することにより、標本上において照明光を走査させ、標本を透過した光を検出する透過式のステージ走査型顕微鏡が知られている（例えば、特許文献 1 参照。）。 10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献 1】特開 2008 - 39882 号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかしながら、特許文献 1 の顕微鏡において、細胞等の標本を培養しながら観察する場合に、標本部分における温度と、その外部に配置されている光学系の温度との間に温度勾配が発生し、光学系に歪みが発生して長時間観察中に観察位置がずれてしまうという不都合がある。また、外来光によるノイズの増加を防止する必要もある。 20

【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、光学系に発生する歪みを抑制するとともに、外来光によるノイズの増加を防止して、精度の高い観察を行う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。

本発明は、標本を収容して恒温恒湿を維持しつつ培養する培養部と、該培養部を保持するステージと、光源からの照明光を前記標本に集光する第 1 の集光光学系と、該第 1 の集光光学系により前記標本に照射され前記標本を透過した透過光を集光する第 2 の集光光学系と、前記標本における照明光の集光位置と光学的に共役な位置に配置され、前記第 2 の集光光学系により集光された透過光の一部を遮断する透過用ピンホールと、該透過用ピンホールを通過した透過光を検出する透過用光検出器と、これら第 1 および第 2 の集光光学系、前記透過用ピンホールおよび前記透過用光検出器と前記ステージとを相対的に移動させる移動機構と、前記培養部、前記ステージ、前記第 1 の集光光学系、前記第 2 の集光光学系、前記透過用ピンホール、前記透過用光検出器および前記移動機構を取り囲み外光を遮断する筐体と、該筐体内の温度を制御する温度制御部とを備え、前記培養部が培養液を貯留し、前記第 2 の集光光学系が前記培養液の液面から離れた位置に配置され、前記培養液の液面を検出する液面検出部と、該液面検出部により検出された前記培養液の液面位置に基づいて前記透過用ピンホールまたは前記第 2 の集光光学系の光軸に沿う方向の位置を調節する位置調節機構とを備える顕微鏡装置を提供する。 30 40

【0007】

本発明によれば、光源からの照明光が第 1 の集光光学系により集光されて、ステージ上に保持された培養部において培養されている標本に照射され、標本を透過した透過光が第 2 の集光光学系によって集光される。そして、集光された透過光の内、透過用ピンホールを通過した透過光のみが透過用光検出器により検出される。透過用光検出器により透過光が検出されたときのステージの位置とその透過光の強度を記憶しておくことにより画像を構築することができる。

【0008】

この場合において、本発明によれば、培養部、ステージ、第1の集光光学系、第2の集光光学系、透過用ピンホール、透過用光検出器および移動機構を取り囲む筐体によって外光が遮断されることにより、透過用光検出器に入射する外光が低減され、構築される画像に含まれるノイズを低減することができる。さらに、筐体内が温度制御部によって温度制御されることにより、恒温恒湿に維持された培養部とその外側に配置されている光学系との温度差が過大とならないように管理することができ、温度差による歪みの発生を抑えて、長時間観察における観察位置ズレの発生を抑制することができる。これにより、精度の高い観察を行うことができる。

また、培養部に貯留された培養液の液面が変動しても、液面検出部により検出された培養液の液面位置に基づいて位置調節機構が、落射用ピンホールまたは第2の集光光学系の光軸方向沿う位置を調節し、標本に対する落射用ピンホールの光学的に共役な位置関係を維持することができる。これにより、培養液の液面が変動しても、標本の鮮明な透過光観察を行うことができる。

10

【0009】

上記発明においては、前記光源と前記第1の集光光学系との間に配置され、光源からの照明光を走査する走査部と、該走査部により照明光が前記標本上で走査されることにより、該標本において発生して前記第1の集光光学系により集光され、前記走査部を介して戻る蛍光を分岐する蛍光分岐部と、前記標本と光学的に共役な位置に配置され、前記蛍光分岐部により分岐された蛍光の一部を遮断する落射用ピンホールと、該落射用ピンホールを通過した蛍光を検出する落射用光検出器とを備え、前記筐体が、前記走査部、前記蛍光分岐部、前記落射用ピンホールおよび前記落射用光検出器をも取り囲んでいてもよい。

20

【0010】

このようにすることで、ステージを停止させた状態で、光源から発せられた照明光が走査部によって走査されて第1の集光光学系により標本上に集光され、標本において発生し第1の集光光学系によって集光された蛍光が、走査部を介して戻る途中で蛍光分岐部により分岐される。そして、落射用ピンホールを通過した蛍光のみが落射用光検出器により検出される。したがって、落射用光検出器により検出された際における走査部の走査位置情報と蛍光の強度とを対応づけて記憶しておくことにより、共焦点蛍光画像を取得することができ、標本の落射蛍光観察を行うことができる。一方、標本の透過光観察は走査部を停止することにより行うことができる。

30

【0011】

この場合において、走査部、蛍光分岐部、落射用ピンホールおよび落射用光検出器も筐体に取り囲まれているので、外光によるノイズを低減した落射蛍光観察を行うことができる。また、長時間にわたる蛍光観察においても、温度差による観察位置ズレの発生を抑制することができ、精度の高い観察を行うことができる。

【0012】

上記発明においては、前記光源がレーザ光を射出するレーザ光源であり、該レーザ光源から射出されたレーザ光を、前記標本への入射前に、互いに直交する偏光面を有する偏光成分に分割する第1の微分干渉素子と、前記標本を通過した互いに直交する偏光面を有する偏光成分を単一偏光面を有する偏光に統合する第2の微分干渉素子と、該第2の微分干渉素子により統合された偏光以外の光を遮断する偏光素子とを備え、前記筐体が、前記第1、第2の微分干渉素子および前記偏光素子をも取り囲んでいてもよい。

40

【0013】

このようにすることで、第1、第2の微分干渉素子および偏光素子によって標本の微分干渉観察を行うことができ、その場合においても、外光によるノイズを低減し、長時間にわたる微分干渉観察においても、温度差による観察位置ズレの発生を抑制することができ、精度の高い観察を行うことができる。

【0014】

また、上記発明においては、前記第1および第2の集光光学系が、位相差観察用の集光

50

光学系であってもよい。

このようにすることで、外光によるノイズを低減し、長時間にわたる観察においても、温度差による観察位置ズレの発生を抑制しつつ標本の位相差観察を行うことができる。

【0017】

また、前記光源からの照明光を複数の光束に分割する光束分割部を備え、前記透過用ピンホールが、前記光束分割部により分割された複数の光束の前記標本上における集光位置とそれぞれ共役な位置に複数配置され、前記透過用光検出器が、複数の前記透過用ピンホールを通過した複数の透過光をそれぞれ検出するように複数設けられていてもよい。

このようにすることで、光束分割部により分割された複数の光束を同時に標本上に集光し、各光束の標本における透過光の内、透過用ピンホールを通過した透過光のみを別個に透過用光検出器によって検出することにより、多点で透過観察を行うことができ、1画面を迅速に構築することが可能となる。

【0018】

また、上記発明においては、前記第1および第2の集光光学系が、それぞれ倍率を異ならせて複数組切替可能に設けられるとともに、倍率が切り替えられる際には、前記第1および第2の集光光学系の倍率が同一となるように切り替えられてもよい。

このようにすることで、倍率を変更した観察を行っても透過用ピンホールの標本に対する光学的に共役な位置関係を保持することができ、透過共焦点観察を継続することができる。

【0019】

また、上記発明においては、前記第1の集光光学系が、倍率を異ならせて複数組切替可能に設けられ、前記透過用ピンホールが、反射または透過パターンを変更可能な空間変調器により構成され、前記第1の集光光学系の倍率が切り替えられたときには、前記透過用ピンホールの反射または透過パターンを切り替えてもよい。

【0020】

このようにすることで、第1の集光光学系の倍率が切り替えられたときに、透過用ピンホールを構成する空間変調器によって反射または透過パターンを切り替えることにより、第2の集光光学系を切り替えることなく、透過用ピンホールの標本に対する光学的に共役な位置関係を保持することができ、透過共焦点観察を継続することができる。

【0021】

また、上記発明においては、前記光源からの照明光をラインビームに変換する変換光学系と、該変換光学系により変換されたラインビームの一部を選択的に反射または透過させるように反射または透過パターンを変更可能に構成され、複数の光束を生成する第1の空間変調器と、前記透過用ピンホールが、反射または透過パターンを変更可能に構成され、反射または透過位置が前記第1の空間変調器と光学的に共役な位置関係を保つように駆動される第2の空間変調器により構成され、前記透過用光検出器が、複数の前記透過用ピンホールを通過した複数の透過光をそれぞれ検出するように複数設けられていてもよい。

【0022】

このようにすることで、変換光学系によりラインビームに変換された照明光の一部が、第1の空間変調器の反射または透過パターンによって選択的に反射または透過されることにより複数の光束が生成されて、第1の集光光学系により標本上に集光され、標本を透過した透過光が第2の集光光学系により集光されて、透過用ピンホールに入射される。透過用ピンホールは、第2の空間変調器によって構成されて、第1の空間変調器と光学的に共役な位置関係を保つように反射または透過パターンが設定されるので、透過用ピンホールを通過した透過光のみを透過用光検出器により検出することで、多点の透過共焦点観察を行うことができる。

【発明の効果】

【0023】

本発明によれば、光学系に発生する歪みを抑制するとともに、外来光によるノイズの増加を防止して、精度の高い観察を行うことができるという効果を奏する。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【 0 0 2 4 】

【図 1】本発明の第 1 の実施形態に係る顕微鏡装置を模式的に説明する全体構成図である。

【図 2】図 1 の顕微鏡装置の培養部近傍の詳細を示す拡大立て断面図である。

【図 3】本発明の第 2 の実施形態に係る顕微鏡装置を模式的に説明する全体構成図である。

【図 4】図 3 の顕微鏡装置における標本上のレーザ光の集光点とその移動経路を示す図である。

【図 5】本発明の第 3 の実施形態に係る顕微鏡装置を模式的に説明する全体構成図である。

【図 6】図 5 の顕微鏡装置の光学系を図 5 とは直交する方向から見た部分的な図である。

【図 7】図 3 の顕微鏡装置における標本上のレーザ光の集光点とその移動経路を示す図である。

【図 8】本発明の第 4 の実施形態に係る顕微鏡装置を模式的に説明する全体構成図である。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 5 】

本発明の第 1 の実施形態に係る顕微鏡装置 1 について、図面を参照して以下に説明する。

本実施形態に係る顕微鏡装置 1 は、図 1 に示されるように、レーザ光源 2 と、標本 A を収容して培養する培養部 3 と、該培養部 3 を搭載して移動させるステージ 4 と、レーザ光源 2 からの光を集光して標本 A に照射する第 1 の集光光学系 5 と、標本 A を透過した透過光を集光する第 2 の集光光学系 6 と、第 2 の集光光学系 6 により集光された透過光の一部を遮断するピンホール部材 7 と、ピンホール部材 7 を通過した透過光を検出する光検出器 8 と、これらを取り囲む筐体 9 と、筐体 9 に配置された温度センサ 10 およびヒータ 11 と、これらを制御する制御部 12 と、制御部 12 に接続されたモニタ 13 とを備えている。

【 0 0 2 6 】

培養部 3 は、図 2 に示されるように、培養液 B を貯留し該培養液 B 内に標本 A を浸漬した状態で収容する培養容器 14 と、該培養容器 14 を取り囲む外側容器 15 とを備えている。培養容器 14 は外側容器 15 内において上方に開口されている。外側容器 15 は、上方に開口する容器本体 15a と、該容器本体 15a の開口に接触状態に配置されて、容器本体 15a に対して水平方向に移動可能に配されつつ開口を閉鎖する蓋体 15b とを備えている。蓋体 15b は、後述する Z ステージ 4c に固定され、Z ステージ 4c の作動によって鉛直方向に移動させられるようになっている。

【 0 0 2 7 】

Z ステージ 4c には、支柱 16 が固定され、蓋体 15b が支柱 16 に蝶番 17 によって揺動可能に固定されている。

蓋体 15b の中央部には、第 2 の集光光学系 5 の一部を構成する後述する第 2 対物レンズを貫通させる貫通孔 18 が設けられている。貫通孔 18 と第 2 対物レンズ 6a との間はシール部材 19 によって鉛直方向に相対移動可能に密封され、容器本体 15a と蓋体 15b との間は、シール部材 20 によって、水平方向に相対移動可能に密封されている。

【 0 0 2 8 】

培養部 3 の培養容器 14 内には、培養液 B を循環するためのチューブ 21 が接続されている。

また、培養部 3 の外側容器 15 と培養容器 14 との間の空間には、蒸気や、CO₂ を供給するためのチューブ 22 が接続されている。また、この空間には、該空間内の温度を検出する温度センサ 10 が設けられている。

【 0 0 2 9 】

10

20

30

40

50

ステージ 4 は、図 2 に示されるように、外側容器 1 5 を搭載して、水平方向（X 方向）に移動させる X ステージ 4 a と、該 X ステージ 4 a を X 方向に直交する水平方向（Y 方向）に移動させる Y ステージ 4 b と、X ステージ 4 a および Y ステージ 4 b を鉛直方向（Z 方向）に移動させる Z ステージ 4 c とを備えている。各 X, Y, Z ステージ 4 a, 4 b, 4 c には、外側容器の下方に配される位置に開口部 2 3 が設けられており、鉛直下方から入射される照明光が開口部 2 3 を介して容器本体 1 5 a の底面から培養部 3 の標本 A に照射されるようになっている。

【0030】

第 1 の集光光学系 5 は、レーザ光を集光する集光レンズ 5 a と、該集光レンズ 5 a により集光されたレーザ光を互いに直交する偏光面を有する偏光成分に分割する第 1 の微分干渉素子 5 b と、該第 1 の微分干渉素子 5 b を透過したレーザ光をその上方に配置されている標本 A 上に集光する第 1 対物レンズ 5 c とを備えている。

10

【0031】

第 2 の集光光学系 6 は、標本 A を透過したレーザ光を集光する第 2 対物レンズ 6 a と、該第 2 対物レンズ 6 a により集光された互いに直交する偏光面を有する偏光成分を単一偏光面を有するレーザ光に統合する第 2 の微分干渉素子 6 b と、該第 2 の微分干渉素子 6 b を透過した統合された偏光以外のレーザ光を遮断する偏光素子 6 c と、該偏光素子 6 c を透過したレーザ光を集光する集光レンズ 6 d とを備えている。

本実施形態において、第 2 対物レンズ 6 a は、図 2 に示されるように、液浸レンズにより構成され、培養容器 1 4 内の培養液 B に浸漬された状態で使用されるようになっている。

20

【0032】

ピンホール部材 7 は、標本 A におけるレーザ光の集光位置と光学的に共役な位置に配置され、集光点を通ったレーザ光のみが通過でき、集光点以外からのレーザ光は遮断されるようになっている。

光検出器 8 は、例えば、光電子増倍管である。

【0033】

筐体 9 は、図 1 に示されるように、ステージ 4 を挟んで上下に配置されたレンズ等の光学素子をそれぞれ取り囲んで外部に対して閉塞している。これにより、ステージ 4 を挟んだ上下の空間 2 4, 2 5 が、該空間 2 4, 2 5 内に外来光が入射しないように遮断され、特に、光検出器 8 やピンホール部材 7 の周囲に外来光が入射しないようになっている。

30

【0034】

温度センサ 1 0 は、上述したように培養容器 1 4 と外部容器 1 5 との間の空間、および筐体 9 内のステージ 4 の上部空間 2 4 および下部空間 2 5 の温度をそれぞれ検出するようにそれぞれ配置されている。

ヒータ 1 1 も、筐体 9 内の上部空間 2 4、下部空間 2 5 および培養部 3 の近傍にそれぞれ配置され、それぞれの部位を独立して加温することができるようになっている。

【0035】

制御部 1 2 は、温度センサ 1 0 により検出された温度情報を受け取って、筐体 9 内の上部空間 2 4、下部空間 2 5 および培養部 3 内がそれぞれ所望の温度になるようにヒータ 1 1 を制御するようになっている。

40

また、制御部 1 2 は、ステージ 4 を駆動して培養部 3 を移動させるとともに、各位置において光検出器 8 において検出された透過光の強度をステージ 4 の位置情報と対応づけて記憶するようになっている。そして、制御部 1 2 は、記憶している透過光の強度をステージ 4 の位置情報に基づいて並べることにより、標本 A の 2 次元的な微分干渉画像を生成するようになっている。

モニタ 1 3 は、制御部 1 2 により生成された透過光の微分干渉画像を表示するようになっている。

【0036】

このように構成された本実施形態に係る顕微鏡装置 1 の作用について、以下に説明する

50

。

本実施形態に係る顕微鏡装置 1 を用いて標本 A の観察を行うには、チューブ 2 1 を介して培養部 3 の培養容器 1 4 内に貯留した培養液 B を循環させながら、チューブ 2 2 を介して供給した蒸気や CO_2 により、培養容器 1 4 内の湿度および CO_2 濃度等の培養条件を一定に維持しつつ、温度センサ 1 0 により検出した培養部 3 内の温度に基づいて、該温度が所定の温度、例えば、37 となるように、制御部 1 2 がヒータ 1 1 を制御する。

また、制御部 1 2 は、筐体 9 内の上部空間 2 4 および下部空間 2 5 内部の温度センサ 1 0 により検出した筐体 9 内の温度に基づいて、該温度が所定の温度になるように、ヒータ 1 1 を制御する。

【 0 0 3 7 】

10

そして、筐体 9 内および培養部 3 内の温度が恒温化された状態で、制御部 1 2 が、ステージ 4 を駆動して標本 A を所望の位置に配置する。この状態で、レーザ光源 2 から発せられたレーザ光を第 1 の集光光学系 5 によって標本 A 上に集光し、標本 A を透過した透過光を第 2 の集光光学系 6 によって集光し、ピンホール部材 7 を通過した透過光のみを光検出器 8 によって検出する。制御部 1 2 は、検出された透過光の強度をステージ 4 の位置情報と対応づけて記憶し、ステージ 4 を次の位置まで移動させ、上記動作を繰り返す。

【 0 0 3 8 】

これにより、標本 A 上の所望の領域にレーザ光が通過させられて、標本 A の透過光画像を取得することができる。第 1 の集光光学系 5 および第 2 の集光光学系 6 には第 1 , 第 2 の微分干渉素子 5 b , 6 b および偏光素子 6 c が設けられているので、透過光画像としては、微分干渉画像が取得される。取得された微分干渉画像はモニタ 1 3 に表示される。

20

【 0 0 3 9 】

この場合において、本実施形態に係る顕微鏡装置 1 によれば、各光学素子が筐体 9 によって取り囲まれているので、外来光が遮断され、取得される透過レーザ光画像に発生するノイズを低減して鮮明な観察を行うことができるという利点がある。

さらに、筐体 9 内の各部の温度は温度センサ 1 0 により検出された温度に基づいてヒータ 1 1 を制御することにより恒温化されているので、各光学素子に温度差による歪みが発生するのを防止することができ、長時間観察中に観察位置がずれてしまう不都合の発生を未然に防止することができるという利点もある。

【 0 0 4 0 】

30

また、本実施形態においては、第 2 の集光光学系 6 を構成する第 2 対物レンズ 6 a が液浸レンズによって構成され、培養液 B 内に浸漬された状態で使用されるので、培養液 B の液面位置が変動しても標本 A 上におけるレーザ光の集光点とピンホール部材 7 との光学的に共役な位置関係が崩れることがなく、常に鮮明な透過光画像を取得することができる。

また、本実施形態においては、透過光画像として微分干渉画像を取得するので、透明な標本 A であっても、その形態を鮮明に観察することができる。

【 0 0 4 1 】

この場合において、第 2 対物レンズ 6 a の焦点位置を合わせるために、Z ステージ 4 c を移動させると、Z ステージ 4 c とともに、容器本体 1 5 a および蓋体 1 5 b が同時に上下に移動する。蓋体 1 5 の貫通孔 1 8 と第 2 対物レンズ 6 a との間はシール部材 1 9 によって鉛直方向に摺動可能に設けられているので、Z ステージ 4 c を移動させて蓋体 1 5 が第 2 対物レンズ 6 a に対して鉛直方向に移動しても、両者間の密封状態が維持される。

40

【 0 0 4 2 】

また、標本 A に対するレーザ光の集光点を変更するために、X ステージ 4 a および Y ステージ 4 b を移動させると、X ステージ 4 a に搭載されている容器本体 1 5 a も水平方向に移動させられる。容器本体 1 5 a の上端と蓋体 1 5 b の下面との間もシール部材 2 0 によって水平方向に摺動可能に設けられているので、X , Y ステージ 4 a , 4 b を移動させて容器本体 1 5 a が第 2 対物レンズ 6 a に対して水平方向に移動しても、蓋体 1 5 b と容器本体 1 5 a との間の密封状態が維持される。

これにより、外側容器 1 5 a 内が密封された状態に維持され、培養環境が一定に保持さ

50

れて、生細胞等の標本 A の長時間にわたる観察においても、標本 A を健全な状態に維持することができる。

【 0 0 4 3 】

なお、本実施形態においては、第 2 対物レンズ 6 a を液浸レンズとして、培養液 B 内に常に浸漬した状態を維持することとした。しかし、液浸レンズであっても培養液 B の液面から離れて上方に配された状態で観察する場合や、液浸レンズではない場合には、培養液 B の液面が変動すると、ピンホール部材 7 への集光位置がずれてしまい、レーザ光の標本 A における集光点を通過する透過光を検出することができない。そのような場合には、液面の位置を検出する液面センサ（図示略）を設け、液面センサにより検出された液面の位置に基づいて、制御部 1 2 がピンホール部材 7 あるいは第 2 対物レンズ 6 a を鉛直方向に移動させる位置調節機構（図示略）を有することにすればよい。

10

【 0 0 4 4 】

次に、本発明の第 2 の実施形態に係る顕微鏡装置 3 0 について、図面を参照して説明する。

本実施形態の説明において、上述した第 1 の実施形態に係る顕微鏡装置 1 と構成を共通とする箇所については、同一符号を付して説明を省略する。

【 0 0 4 5 】

本実施形態に係る顕微鏡装置 3 0 は、図 3 に示されるように、第 1 の集光光学系 3 1 に、レーザ光源 2 からのレーザ光を集光する集光レンズ 3 1 a と、該集光レンズ 3 1 a によって集光されたレーザ光を複数の光束に分割するマイクロレンズアレイ 3 1 b とを備えている。また、ピンホール部材 3 2 としては、複数の光束が標本 A 上においてそれぞれの集光点に集光することにより、各集光点を通過したレーザ光を通過させるために、各集光点と光学的に共役な位置関係に配置される複数のピンホール 3 2 a を備えたものが採用されている。また、光検出器 3 3 としては、各ピンホール 3 2 a を通過した透過光をそれぞれ独立に検出する複数の受光部 3 3 a を有するマルチアノード光電子増倍管あるいは CCD が採用されている。

20

【 0 0 4 6 】

このように構成された本実施形態に係る顕微鏡装置 3 0 によれば、レーザ光源 2 から射出されたレーザ光は、マイクロレンズアレイ 3 1 b を通過することにより複数の光束に分割され、第 1 の集光光学系 3 1 によって、図 4 に示されるように、標本 A 上の複数箇所に集光される。図中、斜線部が集光点を示している。

30

【 0 0 4 7 】

そして、X、Y ステージ 4 a、4 b を駆動して標本 A を水平方向に移動させることにより、図 4 に矢印で示されるように、集光点によって視野内の所定範囲を埋めるように標本 A 上における集光点を移動させ、各位置を透過した透過光を検出して透過光画像を得ることができる。

【 0 0 4 8 】

すなわち、本実施形態に係る顕微鏡装置 3 0 によれば、第 1 の実施形態に係る顕微鏡装置 1 と比較して、複数の集光点を透過した複数の透過光を同時に検出するので、より迅速に画像を取得することができる。特に、生細胞のように動く標本 A を観察する場合に、ブレを低減しつつ観察することができ、効果的である。

40

また、本実施形態においても、全ての光学素子が筐体 9 によって囲まれているので、外来光を遮断して鮮明な画像を得ることができるとともに、筐体 9 内の温度を管理することによって温度差による光学素子の変形を防止して長時間観察においても位置ズレが生じないようにすることができる。

【 0 0 4 9 】

なお、本実施形態においては、各ピンホール 3 2 a を通過したレーザ光を別個の受光部 3 3 a によって独立に検出することとしたが、これに代えて、隣接する複数の受光部 3 3 a（あるいは画素）によって各ピンホール 3 2 a を通過したレーザ光を検出することにしてもよい。この場合には、各受光部 3 2 a により検出されたレーザ光の強度を加算して 1

50

つの集光点からの情報として処理すればよい。

【 0 0 5 0 】

また、標本 A を異なる倍率で観察するために、第 1 対物レンズ 5 c および第 2 対物レンズ 6 a が、レボルバ等（図示略）によって複数の倍率のものを切替可能に用意されていてもよい。この場合には、制御部 1 2 が、第 1 対物レンズ 5 c および第 2 対物レンズ 6 a の両方の倍率が同一倍率となるように切り替えることにすればよい。あるいは、手動で同一倍率に切り替えることにしてもよい。

【 0 0 5 1 】

あるいは、第 1 対物レンズ 5 c のみ切替可能にして、ピンホール部材 3 2 として、デジタルマイクロミラーデバイス（DMD）や液晶シャッタ等の反射または透過パターンを変更可能な空間変調器を採用してもよい。このようにすることで、第 1 対物レンズ 5 c の倍率を切り替えることによりレーザ光の集光点変動しても、それに合わせるように空間変調器の反射または透過パターンを変更することで、ピンホール部材 3 2 と標本 A 上の集光点との光学的に共役な位置関係を維持することができる。

【 0 0 5 2 】

次に、本発明の第 3 の実施形態に係る顕微鏡装置 4 0 について、図面を参照して説明する。

本実施形態の説明において、上述した第 2 の実施形態に係る顕微鏡装置 3 0 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。

【 0 0 5 3 】

本実施形態に係る顕微鏡装置 4 0 は、図 5 および図 6 に示されるように、第 2 の実施形態に係る顕微鏡装置 3 0 におけるマイクロレンズアレイ 3 1 b に代えて、シリンドリカルレンズ 4 1 a および DMD や液晶シャッタ等の第 1 の空間変調器 4 1 b を使用し、ピンホール部材 3 2 に代えて、第 2 の空間変調器 4 2 a およびシリンドリカルレンズ 4 2 b を採用している。

また、光検出器 4 3 としては、一列に並んだ複数の受光部 4 3 a を有するライン CCD あるいはマルチアノード光電子増倍管を採用している。

【 0 0 5 4 】

第 1 の集光光学系 3 1 におけるシリンドリカルレンズ 4 1 a は、レーザ光源 2 から発せられたレーザ光をライン状に集光して第 1 の空間変調器 4 1 b に入射させるようになっている。また、第 1 の空間変調器 4 1 b は、その透過または反射パターンによって、ライン状に集光されたレーザ光を部分的に透過または反射することにより複数本の光束を生成するようになっている。

【 0 0 5 5 】

一方、第 2 の集光光学系 6 における第 2 の空間変調器 4 2 a は、標本 A 上における光束の集光点と光学的に共役な位置に入射する光のみを反射または透過するように反射または透過パターンが設定されている。また、シリンドリカルレンズ 4 2 b は、第 2 の空間変調器 4 2 a により反射または透過された透過光を集光して、一列に並ぶ光検出器 3 3 の複数の受光部 3 3 a にそれぞれ入射させるようになっている。

【 0 0 5 6 】

このように構成された本実施形態に係る顕微鏡装置 4 0 によれば、レーザ光源 2 から射出されたレーザ光は、シリンドリカルレンズ 4 1 a および第 1 の空間変調器 4 1 b を通過することにより複数の光束に分割され、第 1 の集光光学系 3 1 によって、図 7 に示されるように、標本 A 上の複数箇所を通過させられる。図中、斜線部がレーザ光の通過位置を示している。

【 0 0 5 7 】

そして、X、Y ステージ 4 a、4 b を駆動して標本 A を水平方向に移動させることにより、図 7 に矢印で示されるように、集光点によって視野内の所定範囲を埋めるように標本 A 上におけるレーザ光の通過位置を移動させ、各位置を透過した透過光を検出して透過レーザ光画像を得ることができる。

【 0 0 5 8 】

このようにすることで、第 2 の実施形態に係る顕微鏡装置 3 0 と同様に、複数箇所の透過光を同時に検出するので、より迅速に画像を取得することができる。特に、生細胞のように動く標本を観察する場合に、ブレを低減しつつ観察することができ、効果的である。

【 0 0 5 9 】

また、本実施形態においても、全ての光学素子が筐体 9 によって囲まれているので、外来光を遮断して鮮明な画像を得ることができるとともに、筐体 9 内の温度を管理することによって温度差による光学素子の変形を防止して長時間観察においても位置ズレが生じないようにすることができる。

【 0 0 6 0 】

次に、本発明の第 4 の実施形態に係る顕微鏡装置 5 0 について、図面を参照して説明する。

本実施形態の説明において、上述した第 1 の実施形態に係る顕微鏡装置 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。

【 0 0 6 1 】

本実施形態に係る顕微鏡装置 5 0 は、図 8 に示されるように、集光レンズ 5 a によって集光されたレーザ光を 2 次元的に走査するスキャナ 5 1 と、該スキャナ 5 1 により走査されたレーザ光を集光する瞳投影レンズ 5 2 および結像レンズ 5 3 と、標本 A において発生し、レーザ光源 2 側に戻る蛍光をスキャナ 5 1 と集光レンズ 5 a との間でレーザ光の光路から分岐するダイクロイックミラー 5 4 と、蛍光検出光学系 5 5 とをさらに備えている。

【 0 0 6 2 】

スキャナ 5 1 は、例えば、異なる軸線回りに揺動させられる 2 枚のガルバノミラー（図示略）を対向配置してなる近接ガルバノミラーである。2 枚のガルバノミラーを同期させつつ揺動させることにより、レーザ光を標本 A 上において 2 次元的に走査させることができるようになっている。一方、ガルバノミラーの揺動を停止させることにより、レーザ光を静止させ、ステージ 4 を移動させることによっても、レーザ光を標本 A 上において 2 次元的に走査させることができるようになっている。

【 0 0 6 3 】

蛍光検出光学系 5 5 は、ダイクロイックミラーによって分岐された蛍光を集光する共焦点レンズ 5 5 a と、該共焦点レンズ 5 5 a の焦点位置に配置され、焦点位置を通過する蛍光のみを通過させる共焦点ピンホール 5 5 b と、該共焦点ピンホール 5 5 b を通過した蛍光を集光する集光レンズ 5 5 c と、蛍光に含まれるレーザ光を遮断するバリアフィルタ 5 5 d と、該バリアフィルタ 5 5 d を透過した蛍光を検出する光電子増倍管からなる光検出器 5 5 e とを備えている。

本実施形態においては、これらの光学素子も全て筐体 9 内に配置されて、温度管理されている。

【 0 0 6 4 】

このように構成された本実施形態に係る顕微鏡装置 5 0 によれば、スキャナ 5 1 を停止した状態でステージ 4 を移動させて透過光の透過共焦点観察を行い、ステージ 4 を停止した状態でスキャナ 5 1 を駆動して、標本 A において発生した蛍光の落射共焦点観察を行うことができる。

本実施形態においても、全ての光学素子が筐体 9 によって囲まれているので、外来光を遮断して鮮明な透過光画像および蛍光画像を得ることができるとともに、筐体 9 内の温度を管理することによって温度差による光学素子の変形を防止して長時間観察においても位置ズレが生じないようにすることができる。

【 0 0 6 5 】

蛍光画像はスキャナ 5 1 を使用しているのでフレームレートが高い。スキャナ 5 1 を停止した状態でステージ 4 を移動させて透過光の透過共焦点観察と、標本 A において発生した蛍光を同時に取得することにしてもよい。この場合には、透過画像と蛍光画像とが同時刻に取得されているので、細胞の形態変化を透過画像と蛍光画像で比較するような観察方

10

20

30

40

50

法に適している。

【 0 0 6 6 】

なお、上記各実施形態においては、レーザ光源 2 も筐体 9 内に收容することとして説明したが、レーザ光源 2 は筐体 9 外に配置することにしてもよい。

また、ステージを光学系に対してその光軸に直交する方向に移動させることとしたが、これに代えて、ステージを固定し、光学系全体を移動させることにしてもよい。

【 0 0 6 7 】

また、上記各実施形態においては、微分干渉画像を取得するために第 1 の微分干渉素子 5 b、第 2 の微分干渉素子 6 b、偏光素子 6 c を備えることとしたが、これに代えて、第 2 の集光光学系 6 としては、位相リング（図示略）を、第 1 の集光光学系 5 としては、位相膜（図示略）を有する位相差観察用の集光光学系を採用してもよい。

10

【符号の説明】

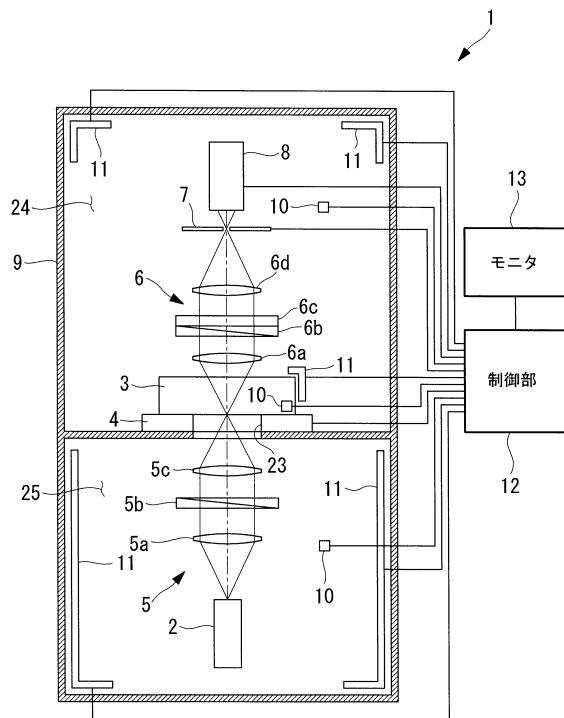
【 0 0 6 8 】

- A 標本
- B 培養液
- 1, 3 0, 4 0, 5 0 顕微鏡装置
- 2 光源
- 3 培養部
- 4 ステージ（移動機構）
- 5, 3 1 第 1 の集光光学系
- 5 b 第 1 の微分干渉素子
- 6 第 2 の集光光学系
- 6 b 第 2 の微分干渉素子
- 6 c 偏光素子
- 7, 3 2 ピンホール部材（透過用ピンホール）
- 8 光検出器（透過用光検出器）
- 9 筐体
- 1 0 温度センサ（温度制御部）
- 1 1 ヒータ（温度制御部）
- 3 1 b マイクロレンズアレイ（光束分割部）
- 3 2 a ピンホール（透過用ピンホール）
- 3 3 a 受光部（透過用光検出器）
- 4 1 a シリンドリカルレンズ（変換光学系）
- 4 1 b 第 1 の空間変調器
- 4 2 a 第 2 の空間変調器（透過用ピンホール）
- 5 1 スキャナ（走査部）
- 5 4 ダイクロイックミラー（蛍光分岐部）
- 5 5 b 共焦点ピンホール（落射用ピンホール）
- 5 5 e 光検出器（落射用光検出器）

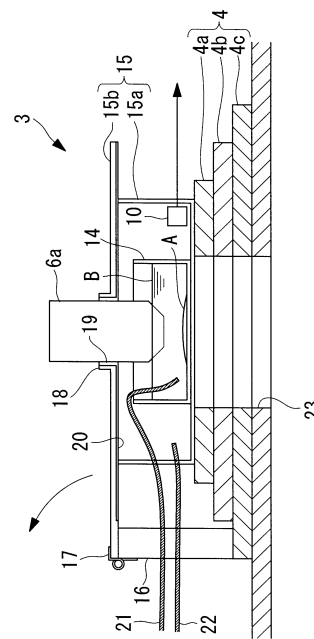
20

30

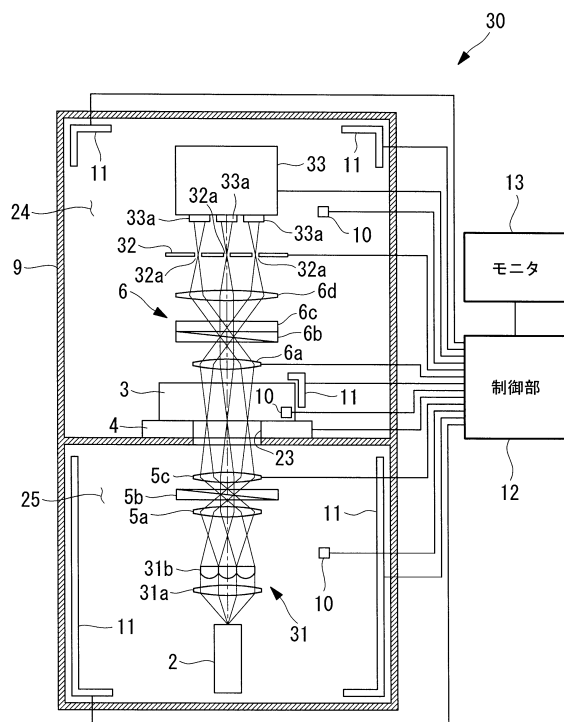
【図 1】



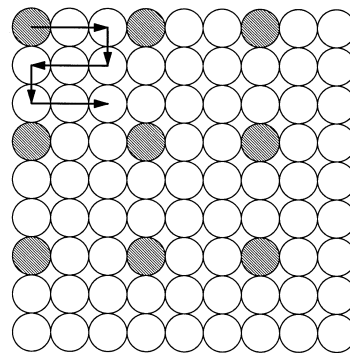
【図 2】



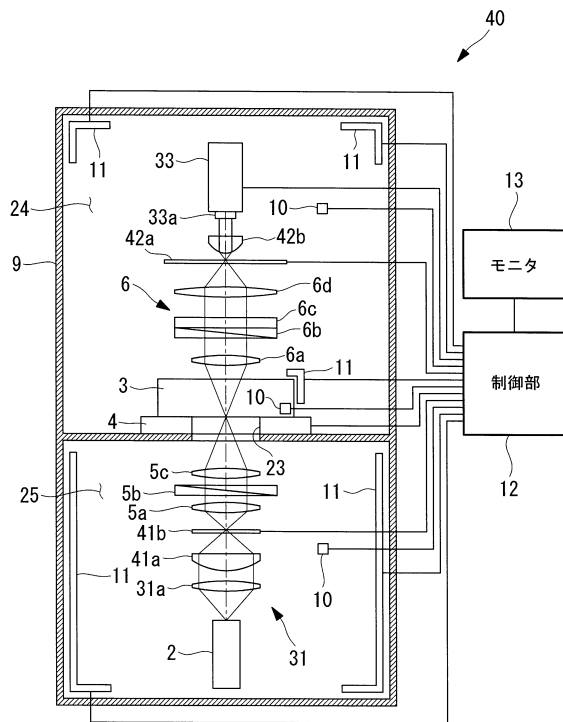
【図 3】



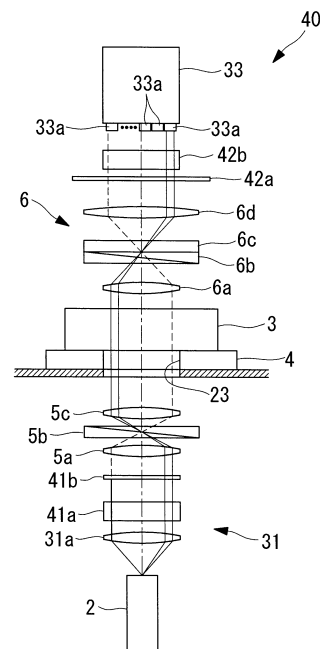
【図 4】



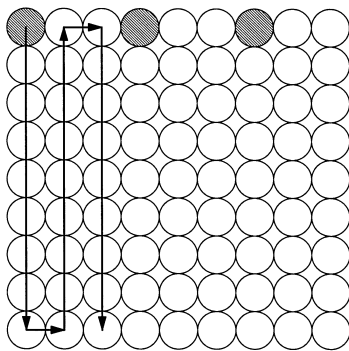
【図 5】



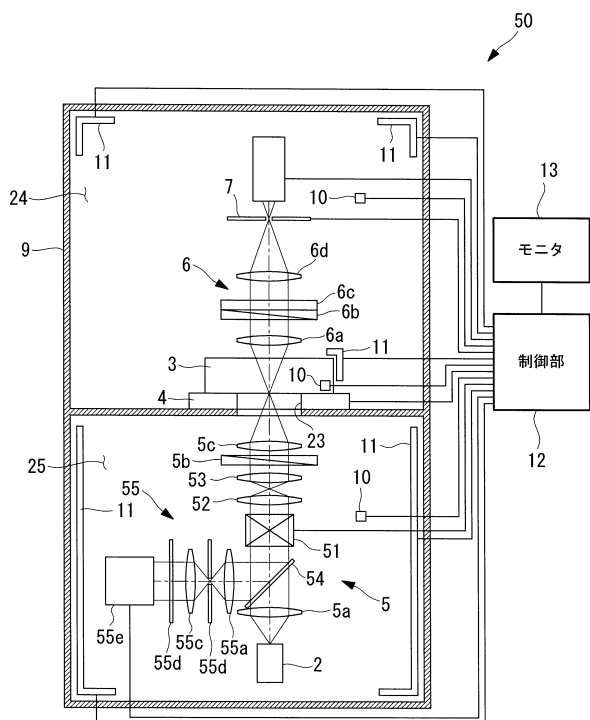
【図 6】



【図 7】



【図 8】



 フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
 G 0 1 N 21/64 (2006.01) G 0 1 N 21/64 E

(56)参考文献 特開 2 0 0 6 - 3 6 5 3 (J P , A)
 特開平 3 - 9 1 7 0 9 (J P , A)
 特開 2 0 0 8 - 2 5 6 9 2 7 (J P , A)
 特開 2 0 0 2 - 2 6 7 9 4 2 (J P , A)
 特開平 8 - 2 3 3 5 4 4 (J P , A)
 特開昭 5 9 - 1 7 2 6 1 7 (J P , A)
 特開 2 0 0 6 - 2 3 5 4 2 0 (J P , A)
 特開 2 0 0 5 - 3 0 9 4 1 5 (J P , A)
 特開平 1 0 - 9 0 6 0 4 (J P , A)
 特開 2 0 0 5 - 1 9 8 5 6 5 (J P , A)
 特許第 4 2 8 8 3 2 3 (J P , B 2)
 国際公開第 2 0 0 7 / 1 3 9 2 0 1 (W O , A 1)
 特開 2 0 0 6 - 1 6 2 7 6 4 (J P , A)
 特開 2 0 0 7 - 3 1 6 2 8 1 (J P , A)
 特開 2 0 0 0 - 3 5 5 4 0 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

G 0 2 B	2 1 / 0 0	-	2 1 / 3 6
G 0 1 N	2 1 / 6 2	-	2 1 / 7 4