

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6037623号
(P6037623)

(45) 発行日 平成28年12月7日 (2016. 12. 7)

(24) 登録日 平成28年11月11日 (2016. 11. 11)

(51) Int. Cl.	F 1
GO 2 B 21/00 (2006. 01)	GO 2 B 21/00
GO 2 B 26/10 (2006. 01)	GO 2 B 26/10 C

請求項の数 10 (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願2012-38760 (P2012-38760)	(73) 特許権者	000000376
(22) 出願日	平成24年2月24日 (2012. 2. 24)		オリンパス株式会社
(65) 公開番号	特開2013-174704 (P2013-174704A)		東京都八王子市石川町2951番地
(43) 公開日	平成25年9月5日 (2013. 9. 5)	(74) 代理人	100074099
審査請求日	平成27年2月10日 (2015. 2. 10)		弁理士 大菅 義之
		(72) 発明者	山崎 健太郎
			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	越河 勉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 レーザ走査型共焦点顕微鏡、及び、レーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ミラーの共振運動によりレーザ光で標本を走査する共振型走査手段の往路期間中に光検出器で検出された検出光の強度と前記共振型走査手段の復路期間中に前記光検出器で検出された検出光の強度との強度差を算出する強度差算出工程と、

前記強度差算出工程で算出された前記強度差が所定の範囲内になるまで、共焦点ピンホールに入射する検出光の光軸と前記共焦点ピンホールとの相対的な位置関係を調整する調整工程と、を含む

ことを特徴とするレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法において、さらに、

前記強度差算出工程と前記調整工程の間に、前記強度差算出工程で直前に算出された前記強度差と前記強度差算出工程で前回算出された前記強度差を比較して、前記調整工程での調整方向を決定する調整方向決定工程を含む

ことを特徴とするレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法。

【請求項 3】

請求項 2 に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法において、

前記調整工程は、前記強度差算出工程で算出された前記強度差が前記所定の範囲内にな

10

20

るまで、前記共焦点ピンホールと前記走査手段の間に配置されたビームシフタを回転させるシフタ回転工程である

ことを特徴とするレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法。

【請求項 4】

請求項 2 に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法において

、
前記調整工程は、前記強度差算出工程で算出された前記強度差が前記所定の範囲内になるまで、前記共焦点ピンホールが形成された前記共焦点絞りを移動させるピンホール位置移動工程である

ことを特徴とするレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法。

10

【請求項 5】

請求項 2 に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法において

、
前記調整工程は、前記強度差算出工程で算出された前記強度差が前記所定の範囲内になるまで、前記共焦点ピンホールと前記走査手段の間に配置されたミラーを回転させるミラー回転工程である

ことを特徴とするレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法。

【請求項 6】

レーザ光を射出するレーザ光源と、

ミラーを含み、前記ミラーの共振運動により前記レーザ光で標本を走査する共振型走査手段と、

前記レーザ光が照射された標本からの検出光を検出する光検出器と、

前記レーザ光源と前記共振型走査手段の間で、且つ、前記共振型走査手段と前記光検出器の間に配置された、前記レーザ光源からのレーザ光または前記標本からの前記検出光の一方を反射させ、他方を透過させる光路分岐手段と、

前記光路分岐手段と前記光検出器の間に配置された、共焦点ピンホールが形成された共焦点絞りと、

前記共振型走査手段の往路期間中に前記光検出器で検出された検出光の強度と前記共振型走査手段の復路期間中に前記光検出器で検出された検出光の強度との強度差を算出する強度差算出部と、

30

前記強度差算出部で算出された前記強度差が所定の範囲内になるように、前記共焦点ピンホールに入射する検出光の光軸と前記共焦点ピンホールとの相対的な位置関係を調整する調整部と、を含む

ことを特徴とするレーザ走査型共焦点顕微鏡。

【請求項 7】

請求項 6 に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡において、さらに、

前記強度差算出部で直前に算出された前記強度差と前記強度差算出部で前回算出された前記強度差を比較して、前記調整部での調整方向を決定する調整方向決定部を含む

ことを特徴とするレーザ走査型共焦点顕微鏡。

【請求項 8】

40

請求項 7 に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡において、さらに、

前記光路分岐手段と前記共焦点絞りの間に配置された、前記検出光を平行移動させるビームシフタを含み、

前記調整部は、前記強度差算出部で算出された前記強度差が前記所定の範囲内になるように、前記ビームシフタを回転させる

ことを特徴とするレーザ走査型共焦点顕微鏡。

【請求項 9】

請求項 7 に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡において、

前記調整部は、前記強度差算出部で算出された前記強度差が前記所定の範囲内になるように、前記共焦点ピンホールが形成された前記共焦点絞りを移動させる

50

ことを特徴とするレーザ走査型共焦点顕微鏡。

【請求項10】

請求項7に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡において、さらに、

前記光路分岐手段と前記共焦点絞りの間に配置された、前記検出光を反射するミラーを含み、

前記調整部は、前記強度差算出部で算出された前記強度差が前記所定の範囲内になるように、前記ミラーを回転させる

ことを特徴とするレーザ走査型共焦点顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明は、レーザ走査型共焦点顕微鏡、及び、レーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法に関し、特に、共振型走査手段を備えたレーザ走査型共焦点顕微鏡、及び、共振型走査手段を備えたレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法に関する。

【背景技術】

【0002】

レーザ走査型共焦点顕微鏡は、レーザ光で標本を走査することにより標本の画像を取得する顕微鏡の一種であり、その画像の取得に要する時間は、走査速度に依存している。

【0003】

20

レーザ走査型共焦点顕微鏡では、従来から、モータで駆動されるタイプのガルバノミラー（以降、モータ型ガルバノミラーと記す）が走査手段として最も一般的に用いられている。しかしながら、モータ型ガルバノミラーの走査速度ではビデオレートでの画像取得が困難であるなどの理由から、近年では、ミラーの共振運動を利用することでより高速な走査速度を実現することができる共振型走査手段が用いられるようになっている。

【0004】

共振型走査手段としては、例えば、共振型ガルバノミラーや、MEMS（Micro Electro Mechanical Systems）の一種であるDMD（Digital Micromirror Device、テキサスインスツルメンツ社の登録商標）などが知られている。

【0005】

30

このような共振型走査手段を用いたレーザ走査型共焦点顕微鏡は、例えば、特許文献1に開示されている。特許文献1に開示される共焦点顕微鏡システムは、レゾナントスキャナとして構成された水平走査装置と、ガルバノスキャナとして構成された垂直走査装置を備えている。この共焦点顕微鏡システムは、共振型走査手段であるレゾナントスキャナの角速度が正弦波状に変化することに起因して生じる画像の歪みを解消することができる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】特開2004-212622号公報

【発明の概要】

40

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

ところで、共振型走査手段を用いたレーザ走査型共焦点顕微鏡では、共振型走査手段のミラーの往復運動における往路期間中の検出強度と復路期間中の検出強度に差が生じることがある。共振型走査手段の往路期間中と復路期間中で検出強度が異なると、取得された画像に共振型走査手段の走査方向と平行な明暗の縞が生じてしまう。このため、共振型走査手段を用いたレーザ走査型共焦点顕微鏡では、通常、往路期間または復路期間のいずれか一方の期間のみが標本の走査に用いられる。

【0008】

往路期間と復路期間の両方の期間を標本の走査に用いることができれば、従来の共振型

50

走査手段の走査速度のおよそ２倍の走査速度を実現することが可能となり、より高速な画像生成が可能となる。

【０００９】

特許文献１では、共焦点顕微鏡システムが往復走査を行うことが開示されているが、往路期間中と復路期間中での検出強度の差については何ら考慮されていない。このため、特許文献１に開示される技術では、レゾナントスキャナの走査方向に生じる縞を回避することは難しい。

【００１０】

以上のような実情を踏まえ、本発明では、レーザ走査型共焦点顕微鏡で取得する画像に明暗の縞を生じさせることなく共振型走査手段による標本の往復走査を可能とする技術を提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【００１１】

本発明の第１の態様は、ミラーの共振運動によりレーザ光で標本を走査する共振型走査手段の往路期間中に光検出器で検出された検出光の強度と前記共振型走査手段の復路期間中に前記光検出器で検出された検出光の強度との強度差を算出する強度差算出工程と、前記強度差算出工程で算出された前記強度差が所定の範囲内になるまで、共焦点ピンホールに入射する検出光の光軸と前記共焦点ピンホールとの相対的な位置関係を調整する調整工程と、を含むレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法を提供する。

【００１２】

本発明の第２の態様は、第１の態様に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法において、さらに、前記強度差算出工程と前記調整工程の間に、前記強度差算出工程で直前に算出された前記強度差と前記強度差算出工程で前回算出された前記強度差を比較して、前記調整工程での調整方向を決定する調整方向決定工程を含むレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法を提供する。

【００１３】

本発明の第３の態様は、第２の態様に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法において、前記調整工程は、前記強度差算出工程で算出された前記強度差が前記所定の範囲内になるまで、前記共焦点ピンホールと前記走査手段の間に配置されたビームシフタを回転させるシフタ回転工程であるレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法を提供する。

【００１４】

本発明の第４の態様は、第２の態様に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法において、前記調整工程は、前記強度差算出工程で算出された前記強度差が前記所定の範囲内になるまで、前記共焦点ピンホールが形成された前記共焦点絞りを移動させるピンホール位置移動工程であるレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法を提供する。

【００１５】

本発明の第５の態様は、第２の態様に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法において、前記調整工程は、前記強度差算出工程で算出された前記強度差が前記所定の範囲内になるまで、前記共焦点ピンホールと前記走査手段の間に配置されたミラーを回転させるミラー回転工程であるレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整方法を提供する。

【００１６】

本発明の第６の態様は、レーザ光を射出するレーザ光源と、ミラーを含み、前記ミラーの共振運動により前記レーザ光で標本を走査する共振型走査手段と、前記レーザ光が照射された標本からの検出光を検出する光検出器と、前記レーザ光源と前記共振型走査手段の間で、且つ、前記共振型走査手段と前記光検出器の間に配置された、前記レーザ光源からのレーザ光または前記標本からの前記検出光の一方を反射させ、他方を透過させる光路分岐手段と、前記光路分岐手段と前記光検出器の間に配置された、共焦点ピンホールが形成

10

20

30

40

50

された共焦点絞りと、前記共振型走査手段の往路期間中に前記光検出器で検出された検出光の強度と前記共振型走査手段の復路期間中に前記光検出器で検出された検出光の強度との強度差を算出する強度差算出部と、前記強度差算出部で算出された前記強度差が所定の範囲内になるように、前記共焦点ピンホールに入射する検出光の光軸と前記共焦点ピンホールとの相対的な位置関係を調整する調整部と、を含むレーザ走査型共焦点顕微鏡を提供する。

【0017】

本発明の第7の態様は、第6の態様に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡において、さらに、前記強度差算出部で直前に算出された前記強度差と前記強度差算出部で前回算出された前記強度差を比較して、前記調整部での調整方向を決定する調整方向決定部を含むレーザ走査型共焦点顕微鏡を提供する。

10

【0018】

本発明の第8の態様は、第7の態様に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡において、さらに、前記光路分岐手段と前記共焦点絞りの間に配置された、前記検出光を平行移動させるビームシフタを含み、前記調整部は、前記強度差算出部で算出された前記強度差が前記所定の範囲内になるように、前記ビームシフタを回転させるレーザ走査型共焦点顕微鏡を提供する。

【0019】

本発明の第9の態様は、第7の態様に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡において、前記調整部は、前記強度差算出部で算出された前記強度差が前記所定の範囲内になるように、前記共焦点ピンホールが形成された前記共焦点絞りを移動させるピンホール位置移動手段であるレーザ走査型共焦点顕微鏡を提供する。

20

【0020】

本発明の第10の態様は、第7の態様に記載のレーザ走査型共焦点顕微鏡において、さらに、前記光路分岐手段と前記共焦点絞りの間に配置された、前記検出光を反射するミラーを含み、前記調整部は、前記強度差算出部で算出された前記強度差が前記所定の範囲内になるように、前記ミラーを回転させるミラー回転手段であるレーザ走査型共焦点顕微鏡を提供する。

【発明の効果】

【0025】

本発明によれば、レーザ走査型共焦点顕微鏡で取得する画像に明暗の縞を生じさせることなく共振型走査手段による標本の往復走査を可能とする技術を提供することができる。

30

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】往路期間中と復路期間中における共振型走査手段に含まれるミラーの様子を説明するための図である。

【図2】往路期間中と復路期間中での共焦点ピンホールに入射する検出光の集光位置の違いについて説明するための図である。

【図3】検出光と共焦点ピンホールの相対的な位置関係について説明するための図である。

40

【図4】実施例1に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡の構成を例示した図である。

【図5】実施例1に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡に含まれるビームシフタの作用について説明するための図である。

【図6】実施例1に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡に含まれる制御部の機能ブロック図である。

【図7】実施例1に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整処理のフローを示すフローチャートである。

【図8】実施例1に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡の変形例について説明するための図である。

【図9】実施例1に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡の他の変形例について説明するための

50

図である。

【図10】実施例1に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡のさらに他の変形例について説明するための図である。

【図11】実施例2に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡の構成を例示した図である。

【発明を実施するための形態】

【0027】

本発明の各実施例について説明する前に、図1から図3を参照しながら、共振型走査手段によって標本の往復走査を行う場合に、画像に明暗の縞が生じる原因について検討する。

図1は、往路期間中と復路期間中における共振型走査手段に含まれるミラーの様子を説明するための図である。図2は、往路期間中と復路期間中での共焦点ピンホールに入射する検出光の集光位置の違いについて説明するための図である。図3は、検出光と共焦点ピンホールの相対的な位置関係について説明するための図である。

【0028】

共振型走査手段に含まれるミラーが時計回りに回転している期間中は、図1(a)に例示されるようにミラー301に対して反時計回りに力が加わるため、ミラー301は、図1(c)に例示されるように反時計回りに変形した形状となる。一方、ミラーが反時計回りに回転している期間中は、図1(b)に例示されるようにミラー302に対して時計回りに力が加わるため、ミラー302は、図1(d)に例示されるように時計回りに変形した形状となる。このため、回転方向が反対になる往路期間中と復路期間中では、図1(e)に例示されるように、共振型走査手段のミラーの形状は異なっていると考えられる。

【0029】

ミラーの形状が往路期間中と復路期間中で異なると、図2に例示されるように、往路期間中にミラーで反射した検出光Loと復路期間中にミラーで反射した検出光Lhは、互いに異なる角度で共焦点レンズ303に入射し、共焦点絞り304（共焦点ピンホール305）の異なる位置に集光する。

異なる位置に集光する往路期間中の検出光Loと復路期間中の検出光Lhは、図3に例示されるように、それぞれある程度の広がりをもって集光する。このため、共焦点ピンホール305の位置に応じて、共焦点ピンホール305を通過する検出光Loと検出光Lhの光量に差が生じることになり、その結果、画像に明暗の縞が発生すると考えられる。

【0030】

例えば、共焦点ピンホール305が図3に例示される位置P1に位置する場合であれば、往路期間に対応する画素列は暗く、復路期間に対応する画素列は明るくなる。また、共焦点ピンホール305が図3に例示される位置P2に位置する場合であれば、往路期間に対応する画素列は明るく、復路期間に対応する画素列は暗くなる。その結果、共焦点ピンホール305が位置P1と位置P2のいずれに位置する場合でも、画像に明暗の縞が生じる。

【0031】

さらに、ミラーの変形に加えて、照明光がミラーを反射してから検出光がミラーに入射するまでの時間に生じるミラーの移動も、画像に明暗の縞が生じる原因であると考えられる。

走査手段は、一般に照明光と検出光の両方に作用することで、照明光の照射位置によらず検出光を共焦点ピンホールに導くように構成されている。光は光速で進行するため、走査手段を反射してから標本で反射して再び走査手段に入射するまでに要する時間は、極僅かである。走査手段としてモータ型ガルバノミラーが用いられている場合には、その極僅かな時間の間に生じるミラーの移動量は極僅かであり、照明光がミラーに入射する角度と検出光がミラーに入射する角度の差は、無視し得る。

【0032】

しかしながら、走査手段としてミラーが高速に動作する共振型走査手段が用いられている場合には、極僅かな時間の間にミラーがある程度移動するため、照明光がミラーに入射

10

20

30

40

50

する角度と検出光がミラーに入射する角度の差は無視できない。この無視できない角度差によって生じる共焦点絞りのずれは、往路期間中と復路期間中で反対方向に生じる。このため、往路期間中と復路期間中では、検出光は共焦点絞りの異なる位置に集光することになり、往路期間中と復路期間中でミラーが異なる変形した場合と同様に、画像に明暗の縞が生じる。

【0033】

以上で説明したように、画像に明暗の縞が生じる原因は、共振型走査手段の往路期間中と復路期間中で検出光に対する共焦点ピンホールの相対的な位置が異なり、その結果、共焦点ピンホールを通過する光量に差が生じることにあると考えられる。特に、ミラーの共振運動によって標本を走査する共振型走査手段の場合、高い周波数で往復運動を繰り返しているミラーには従来の走査手段よりも大きな力が加わる。また、照明光がミラーに入射する角度と検出光がミラーに入射する角度の差も無視できない大きさになる。これらのことから、往路期間中と復路期間中で共焦点ピンホールを通過する光量の差が大きくなり、その結果、画像に明暗の縞が顕著に生じると考えられる。

10

【0034】

従って、画像に明暗の縞を生じさせることなく共振型走査手段による標本の往復走査を可能とするためには、往路期間中と復路期間中に共焦点ピンホールを通過する検出光の光量差を抑える必要があり、その具体的な方法としては、以下の2つの方法が考えられる。

【0035】

第1の方法は、検出光 L_o と検出光 L_h がほぼ同じ光量だけ通過する位置、つまり、往路期間と復路期間の両方の期間を含む走査期間全体に対して最適な位置、に共焦点ピンホールを配置する方法である。この方法では、共焦点ピンホールは、例えば、図3に例示される位置 P_0 など、往路期間中の検出光 L_o の光軸（つまり、集光スポットの中心）と復路期間中の検出光 L_h の光軸とのおよそ中間の位置に配置される。この方法については、以下の実施例1で詳細に説明する。

20

【0036】

第2の方法は、往路期間中には共焦点ピンホールを検出光 L_o に対して最適な位置に配置し、復路期間中には共焦点ピンホールを検出光 L_h に対して最適な位置に配置する方法である。この方法では、共焦点ピンホールは、例えば、往路期間中には図3に例示される位置 P_2 に、復路期間中には図3に例示される位置 P_1 に配置されるなど、共振型走査手段の走査周波数に合わせて配置が切換えられる。この方法については、以下の実施例2で詳細に説明する。

30

【実施例1】

【0037】

図4は、本実施例に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡の構成を例示した図である。図5は、本実施例に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡に含まれるビームシフタの作用について説明するための図である。図6は、本実施例に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡に含まれる制御部の機能ブロック図である。図7は、本実施例に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整処理のフローを示すフローチャートである。

【0038】

40

レーザ走査型共焦点顕微鏡100は、共振型走査手段3により標本Sの往復走査を行う顕微鏡である。レーザ走査型共焦点顕微鏡100は、図4に例示されるように、レーザ光を射出するレーザ光源1と、レーザ光源1からのレーザ光を反射させて標本Sからの検出光（例えば、蛍光、レーザ光など）を透過させる光路分岐手段2と、ミラーの共振運動によりレーザ光で標本を走査する共振型走査手段3と、共振型走査手段3で反射したレーザ光を標本Sに照射する走査光学系4と、光路分岐手段2を通過した検出光を集光させる共焦点レンズ5と、検出光を平行移動させるビームシフタ6と、共焦点ピンホール8が形成された共焦点絞り7と、共焦点ピンホール8を通過した検出光を検出する光検出器9と、光検出器9とビームシフタ6に電氣的に接続された制御部10を含んでいる。

【0039】

50

光路分岐手段２は、検出光が蛍光である場合には、例えば、ダイクロイックミラーであり、検出光がレーザ光である場合には、例えば、偏光ビームスプリッタである。なお、光路分岐手段２は、レーザ光源１からのレーザ光または標本Ｓからの検出光の一方を反射させ、他方を透過させるように構成されていればよく、レーザ光源１と共振型走査手段３の間で且つ共振型走査手段３と光検出器９との間に配置される。従って、光路分岐手段２は、ダイクロイックミラーや偏光ビームスプリッタに限らない。

【００４０】

共振型走査手段３は、例えば、共振型ガルバノミラーやＤＭＤ（テキサスインスツルメンツ社の登録商標）などである。なお、レーザ走査型共焦点顕微鏡１００では、共振型走査手段３の往路期間と復路期間の両方の期間が標本の走査に用いられる。即ち、共振型走査手段３により往復走査が行われる。

10

【００４１】

ビームシフタ６は、例えば、平行平板ガラスであり、図５に例示されるように、光路分岐手段２と共焦点ピンホール８との間に、回転自在に配置されている。このときビームシフタ６の回転の軸は、光軸上で、かつ共振型走査手段の往路と復路で検出光の位置が移動する方向と直交する方向に設定される。ビームシフタ６を回転させると、ビームシフタ６での検出光の平行移動量（以降、シフト量と記す）が変化する。このため、ビームシフタ６の回転を制御することで、共焦点ピンホール８に入射する検出光の光軸と共焦点ピンホール８との相対的な位置関係を変化させることができる。

共焦点ピンホール８が形成された共焦点絞り７は、検出光にのみ作用させるために、光路分岐手段２と光検出器９の間に配置される。

20

【００４２】

制御部１０は、光検出器９からの信号に基づいてビームシフタ６の回転を制御するように構成されていて、図６に例示されるように、画像生成部１１と、強度差算出部１２と、調整部１３と、調整方向決定部１４と、記憶部１５を含んでいる。

【００４３】

画像生成部１１は、光検出器９から出力された信号から標本Ｓの画像を生成するように構成されている。強度差算出部１２は、共振型走査手段３の往路期間中に光検出器９で検出された検出光の強度と共振型走査手段３の復路期間中に光検出器９で検出された検出光の強度との強度差を算出するように構成されている。

30

【００４４】

調整部１３は、強度差算出部１２で算出された強度差が所定の範囲内になるように、ビームシフタ６を回転させることにより、共焦点ピンホール８に入射する検出光の光軸と共焦点ピンホール８との相対的な位置関係を調整するように構成されている。

【００４５】

調整方向決定部１４は、強度差算出部１２からの出力に基づいて、調整部１３での調整方向、即ち、ビームシフタ６の回転方向を決定するように構成されている。より具体的には、調整方向決定部１４は、強度差算出部１２で直前に算出された強度差と前回算出された強度差を比較して、強度差が小さくなっている場合には回転方向を前回と同じ方向に決定し、強度差が大きくなっている場合には回転方向を前回と反対の方向に決定する。

40

【００４６】

記憶部１５は、制御部１０で用いられる種々のデータを記憶するように構成されている。記憶部１５には、例えば、画像生成部１１で生成された画像、強度差算出部１２で算出された強度差、調整部１３で決定した回転方向などのデータが記憶されている。

【００４７】

以上のように構成されたレーザ走査型共焦点顕微鏡１００は、ビームシフタ６を回転させて光学系のアライメントを調整することで、共振型走査手段３の全走査期間に対して最適な位置に共焦点ピンホールを配置する。その結果、往路期間中と復路期間中での検出光の強度差を抑えることができる。

レーザ走査型共焦点顕微鏡１００の光学系のアライメントの調整方法について、図７を

50

参照しながら説明する。

【0048】

まず、処理が開始されると、記憶部15に記憶された設定データが読み出されて、強度差算出部12により前回算出された強度差を示す強度差 Δpre 、許容される強度差の閾値である所定値 T 、ビームシフタ6の回転方向などの初期設定が行われる（ステップS1）。ここでは、強度差 Δpre が0に、人間が明暗のパターンを認識することができる強度差を考慮して、所定値 T が3%に設定される例について説明する。

【0049】

初期設定が完了すると、共振型走査手段3が標本Sを走査することで得られる光検出器9からの信号に基づいて、画像生成部11が標本Sの画像を生成する（ステップS2）。 10

【0050】

生成された画像は、記憶部15に記憶されるとともに強度差算出部12に送信される。強度差算出部12は、受信した画像から、共振型走査手段3の往路期間に対応する画素列のデータと復路期間に対応する画素列のデータを抽出する。そして、抽出されたデータから往路期間中に光検出器9で検出された検出光 L_o の強度 I_o と復路期間中での光検出器9で検出された検出光 L_h の強度 I_h を算出し、さらに、それらの強度差 Δnew を算出する（ステップS3）。ここで強度差 $\Delta new = |I_o - I_h| / I_o \times 100 (\%)$ で定義する。

【0051】

なお、ステップS3で強度差の算出に用いられる往路期間に対応する画素列のデータと復路期間に対応する画素列のデータは、隣接した画素列のデータであることが望ましい。隣接した画素列のデータを利用することで標本自体が示す輝度分布による影響を最小限に抑えることができるからである。 20

【0052】

強度差算出部12で算出された強度差 Δnew は、調整部13に送信される。調整部13は、強度差 Δnew と所定値 T とを比較する（ステップS4）。

【0053】

強度差 Δnew が所定値 T を上回っている場合には、強度差 Δnew は、調整方向決定部14に送信される。調整方向決定部14は、強度差 Δnew と強度差 Δpre との差分をとって、強度差が拡大したか否かについて判定する（ステップS5）。さらに、調整方向決定部14は、ステップS5で強度差が拡大していると判定した場合には、ビームシフタ6の回転方向を現在の設定とは反対の方向に決定し、その設定を記憶部15に記憶させる（ステップS6）。 30

【0054】

即ち、調整方向決定部14は、ステップS5及びステップS6において、強度差算出部12で直前に算出された強度差 Δnew と前回算出された強度差 Δpre を比較して、調整部13によるビームシフタ6の回転方向を決定している。

【0055】

調整部13は、記憶部15に記憶されている回転方向に従って、ビームシフタ6を回転させる（ステップS7）。これにより、図5に例示されるように、共焦点ピンホール8に入射する検出光の光軸と共焦点ピンホール8との相対的な位置関係が調整される。なお、調整部13は、強度差 Δnew が大きいほど、ビームシフタ6を大きく回転させることが望ましい。 40

【0056】

ビームシフタ6の回転後、記憶部15が、強度差 Δpre を強度差算出部12で算出された強度 Δnew で更新して、記憶する（ステップS8）。以降、レーザ走査型共焦点顕微鏡100は、ステップS2からステップS8までの処理を、強度差 Δnew が所定値 T 以下になるまで繰り返し実行する。

【0057】

以上のように、レーザ走査型共焦点顕微鏡100では、調整方向決定部14が強度差の 50

増減に応じてビームシフタ 6 の回転方向を切り替えながら、調整部 1 3 が強度差算出部 1 2 で算出された強度差 Δnew が所定の範囲内（ここでは、3 % 以内）になるまで、ビームシフタ 6 を回転させて、共焦点ピンホール 8 に入射する検出光の光軸と共焦点ピンホール 8 との相対的な位置関係を調整する。

【0058】

これにより、レーザ走査型共焦点顕微鏡 1 0 0 によれば、取得する画像に明暗の縞を生じさせることなく共振型走査手段 3 による標本 S の往復走査を行うことが可能となるため、高品質な画像を高速に生成することができる。また、レーザ走査型共焦点顕微鏡 1 0 0 によれば、手動で共焦点ピンホール 8 の位置を調整する必要がなく、調整作業に要する利用者の負担は極僅かである。このため、観察開始前に都度調整作業を行うことで、利用者

10

に負担を課すことなく、温度変化などにより変化する検出光の光軸と共焦点ピンホール 8 との相対的な位置関係を最適な関係に維持することができる。

20

【0059】

なお、図 7 では、レーザ走査型共焦点顕微鏡の光学系のアライメント調整が、標本の観察を開始する前に行う事前調整作業として行われる例を示したが、この調整は、標本の観察と並行して行われてもよい。その場合、図 7 に例示される処理フローを、ステップ S 4 で強度差 Δnew が所定値 T 以下であると判定されたときに制御がステップ S 2 に遷移するように変更すればよい。これにより、標本の観察中も随時調整が行われることになるため、標本の観察中に検出光の光軸と共焦点ピンホール 8 との相対的な位置関係が変化した場合であっても、検出光の光軸と共焦点ピンホール 8 との相対的な位置関係を最適な関係

【0060】

また、調整部 1 3 がビームシフタ 6 を回転させることにより、共焦点ピンホール 8 に入射する検出光の光軸と共焦点ピンホール 8 との相対的な位置関係を調整する例を示したが、この調整は、ビームシフタ 6 以外の構成要素を用いて行われてもよい。

【0061】

図 8 は、本実施例に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡の変形例について説明するための図である。図 9 は、本実施例に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡の他の変形例について説明するための図である。図 1 0 は、本実施例に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡のさらに他の変形例について説明するための図である。

30

【0062】

以下、図 8 から図 1 0 を参照しながら、調整部 1 3 が、ビームシフタ 6 以外の構成要素を用いて、共焦点ピンホール 8 に入射する検出光の光軸と共焦点ピンホール 8 との相対的な位置関係を調整する例について説明する。

【0063】

図 8 に例示されるレーザ走査型共焦点顕微鏡 1 0 1 は、ビームシフタ 6 が省略されている点、共焦点絞り 7 が制御部 1 0 に接続されている点、及び、調整部 1 3 が共焦点絞り 7 を移動させる点が、図 4 に例示されるレーザ走査型共焦点顕微鏡 1 0 0 と異なっている。その他の点については、レーザ走査型共焦点顕微鏡 1 0 0 と同様である。

【0064】

レーザ走査型共焦点顕微鏡 1 0 1 では、調整部 1 3 が、強度差算出部 1 2 で算出された強度差 Δnew が所定の範囲内になるように、共焦点絞り 7 が形成された共焦点ピンホール 8 を移動させることで、共焦点ピンホール 8 に入射する検出光の光軸と共焦点ピンホール 8 との相対的な位置関係が調整される。

40

【0065】

図 9 に例示されるレーザ走査型共焦点顕微鏡 1 0 2 は、ビームシフタ 6 の代わりに共焦点レンズ 5 と共焦点絞り 7 の間に検出光を反射するミラー 1 6 を含む点、ミラー 1 6 が制御部 1 0 に接続されている点、及び、調整部 1 3 がミラー 1 6 を回転させる点が、図 4 に例示されるレーザ走査型共焦点顕微鏡 1 0 0 と異なっている。その他の点については、レーザ走査型共焦点顕微鏡 1 0 0 と同様である。

50

【0066】

レーザ走査型共焦点顕微鏡102では、調整部13が、強度差算出部12で算出された強度差 Δn_{ew} が所定の範囲内になるように、ミラー16を回転させることで、共焦点ピンホール8に入射する検出光の光軸と共焦点ピンホール8との相対的な位置関係が調整される。

【0067】

図10に例示されるレーザ走査型共焦点顕微鏡103は、ビームシフタ6の代わりに図示しない光路分岐手段2と共焦点レンズ5の間に検出光を反射するミラー17を含む点、ミラー17が制御部10に接続されている点、及び、調整部13がミラー17を回転させる点が、図4に例示されるレーザ走査型共焦点顕微鏡100と異なっている。その他の点については、レーザ走査型共焦点顕微鏡100と同様である。

10

【0068】

レーザ走査型共焦点顕微鏡103では、調整部13が、強度差算出部12で算出された強度差 Δn_{ew} が所定の範囲内になるように、ミラー17を回転させることで、共焦点ピンホール8に入射する検出光の光軸と共焦点ピンホール8との相対的な位置関係が調整される。

【0069】

図9に示されるミラー16と図10に示されるミラー17のいずれもが光路分岐手段2と共焦点絞り7の間に配置されていることから明らかなように、調整部13が回転させるミラーは、光路分岐手段2と共焦点絞り7の間に配置される限り、任意の位置に配置することができる。

20

【0070】

図8から図10に例示されるレーザ走査型共焦点顕微鏡101、レーザ走査型共焦点顕微鏡102、及び、レーザ走査型共焦点顕微鏡103によっても、レーザ走査型共焦点顕微鏡100と同様に、取得する画像に明暗の縞を生じさせることなく共振型走査手段3による標本Sの往復走査を行うことが可能である。また、利用者に負担を課すことなく、温度変化などにより変化する検出光の光軸と共焦点ピンホール8との相対的な位置関係を最適な関係に維持することができる点についても同様である。即ち、調整部13が共焦点ピンホール8に入射する検出光の光軸と共焦点ピンホール8との相対的な位置関係を調整することができる限り、その制御対象は特に限定されない。

30

【0071】

なお、レーザ走査型共焦点顕微鏡100からレーザ走査型共焦点顕微鏡103までを比較すると、レーザ走査型共焦点顕微鏡101は、共焦点ピンホール8自体の移動により、検出光の光軸と共焦点ピンホール8との相対的な位置関係が調整されるため、他のレーザ走査型共焦点顕微鏡に比べて、構成要素を少なくできるというメリットがある。一方で、レーザ走査型共焦点顕微鏡101を除くレーザ走査型共焦点顕微鏡100、レーザ走査型共焦点顕微鏡102、レーザ走査型共焦点顕微鏡103は、共焦点ピンホール8自体は移動しないため、レーザ走査型共焦点顕微鏡101に比べて、共焦点ピンホール8を通過した後作用する光学系で検出光がケラレにくいというメリットがある。

【実施例2】

40

【0072】

図11は、本実施例に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡の構成を例示した図である。レーザ走査型共焦点顕微鏡200は、共振型走査手段3により標本Sの往復走査を行う顕微鏡であり、制御部10の代わりに駆動部18を含む点が、実施例1に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡100と異なっている。その他の構成は、レーザ走査型共焦点顕微鏡100と同様であるので、同一の符号を付して説明を省略する。

【0073】

駆動部18は、共振型走査手段3の振動周波数と同じ周波数でビームシフタ6を揺動させるように構成されている。ビームシフタ6が共振型走査手段3の振動周波数と同じ周波数で揺動することで、共振型走査手段3の往路期間中と復路期間中で、集光位置を異なら

50

せることができる。ここでビームシフタ6は、例えば共振型走査手段3と同様の共振器（共振型モータ）を備えている。

【0074】

共振型走査手段3の変形等に起因する共振型走査手段3の往路期間と復路期間での集光位置の違いは、共振型走査手段3の振れ角にほぼ比例している。このため、製品出荷時などに、共振型走査手段3の往路期間中には往路期間中の検出光Loの光軸と共焦点ピンホール8の中心が略一致し、復路期間中には復路期間中の検出光Lhの光軸と共焦点ピンホール8の中心が略一致するように、共振型走査手段3の振れ角に合わせてビームシフタ6の振れ角に設定しておく。これにより、共振型走査手段3の振れ角に起因する集光位置の違いをビームシフタ6の振れ角に起因する集光位置の違いで相殺することができるため、往路期間中は検出光Loの光軸と共焦点ピンホール8の相対的な位置関係が最適化され、復路期間中は検出光Lhの光軸と共焦点ピンホール8の相対的な位置関係が最適化される。

10

【0075】

なお、共振型走査手段3と同じ周波数でビームシフタ6やミラーなどを揺動させた場合であっても、レーザ走査型共焦点顕微鏡200の光学系の構成上、ビームシフタ6やミラーの振れ角は、共振型走査手段3のミラーに比べて小さくなる。このため、共振型走査手段3のミラーで生じるような変形は生じないか、または、極めて小さな変形が生じる程度であるので無視することができる。また、ビームシフタ6やミラーは、検出光のみ作用するため、共振型走査手段3で生じる入射角度の差に起因する問題は生じない。

20

【0076】

レーザ走査型共焦点顕微鏡200によれば、レーザ走査型共焦点顕微鏡100と同様に、取得する画像に明暗の縞を生じさせることなく共振型走査手段3による標本Sの往復走査を行うことが可能である。また、往路期間と復路期間のそれぞれの期間において、検出光の光軸と共焦点ピンホール8の相対的な位置関係が最適化されているため、走査期間全体に対して相対的な位置関係が最適化されているレーザ走査型共焦点顕微鏡100に比べて、より多くの検出光に共焦点ピンホール8を通過させることができる。従って、レーザ走査型共焦点顕微鏡100に比べてより明るい画像を生成することができる。

【0077】

なお、本実施例に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡200も、実施例1に係るレーザ走査型共焦点顕微鏡100と同様に、種々の変形が可能である。具体的には、ビームシフタ6を取り除いた上で、駆動部18が共振型走査手段3の振動周波数と同じ周波数で共焦点絞り7を光軸と直交する方向に往復移動させてもよい。また、ビームシフタ6の代わりに光路分岐手段2と共焦点ピンホール8の間に検出光を反射するミラーを設けて、駆動部18が共振型走査手段3の振動周波数と同じ周波数でそのミラーを揺動させてもよい。即ち、駆動部18が光路分岐手段2と光検出器9の間に配置された光学部材を共振型走査手段3の振動周波数と同じ周波数で駆動するように構成されていればよく、その駆動対象は特に限定されない。

30

【符号の説明】

【0078】

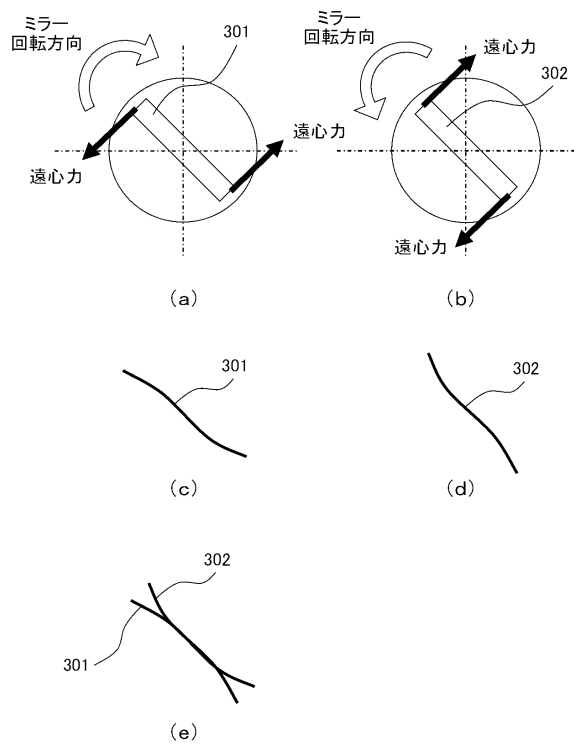
- 1・・・レーザ光源
- 2・・・光路分岐手段
- 3・・・共振型走査手段
- 4・・・走査光学系
- 5、303・・・共焦点レンズ
- 6・・・ビームシフタ
- 7、304・・・共焦点絞り
- 8、305・・・共焦点ピンホール
- 9・・・光検出器
- 10・・・制御部

40

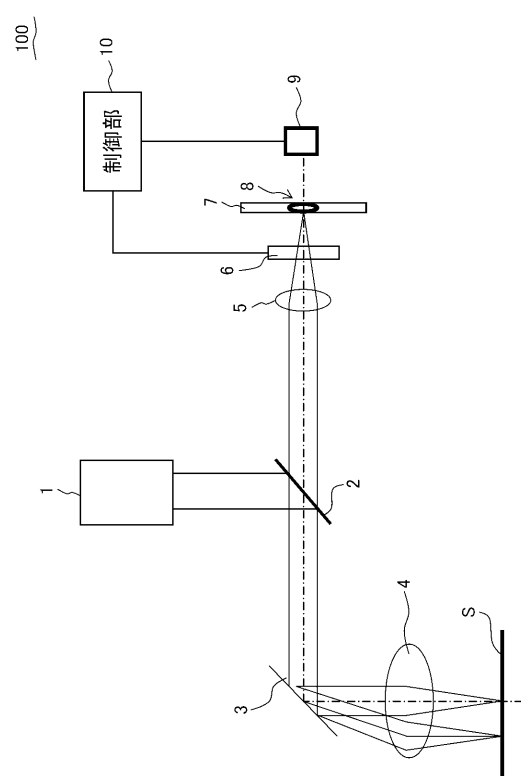
50

- 1 1 . . . 画像生成部
- 1 2 . . . 強度差算出部
- 1 3 . . . 調整部
- 1 4 . . . 調整方向決定部
- 1 5 . . . 記憶部
- 1 6、1 7、3 0 1、3 0 2 . . . ミラー
- 1 8 . . . 駆動部
- 1 0 0、1 0 1、1 0 2、1 0 3、2 0 0 . . . レーザ走査型共焦点顕微鏡

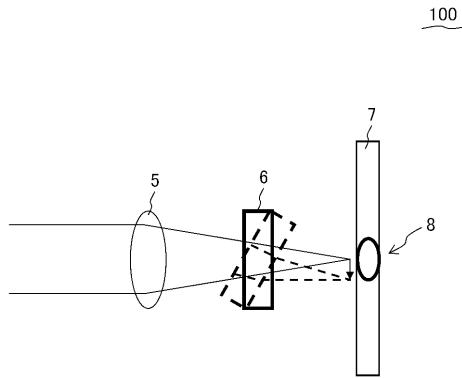
【図 1】



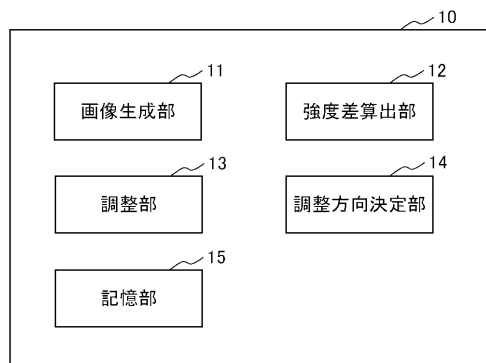
【図 4】



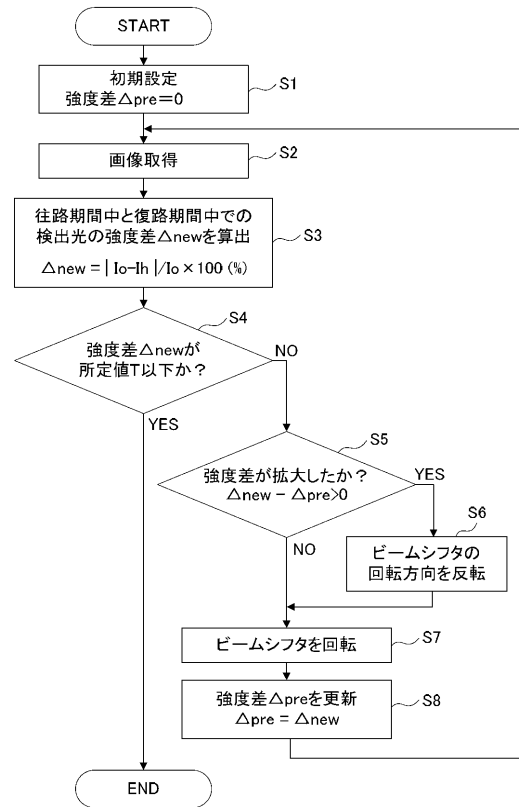
【図 5】



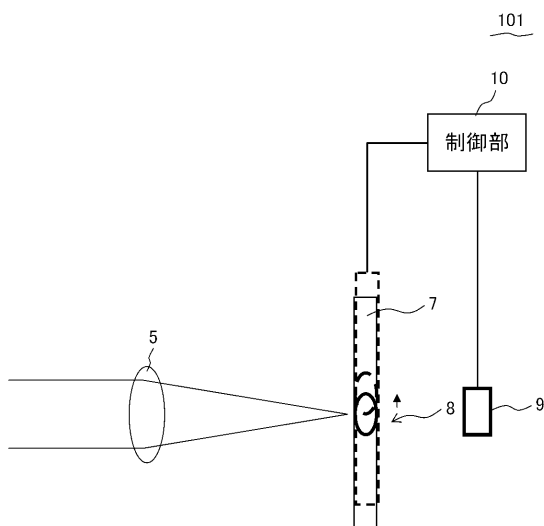
【図 6】



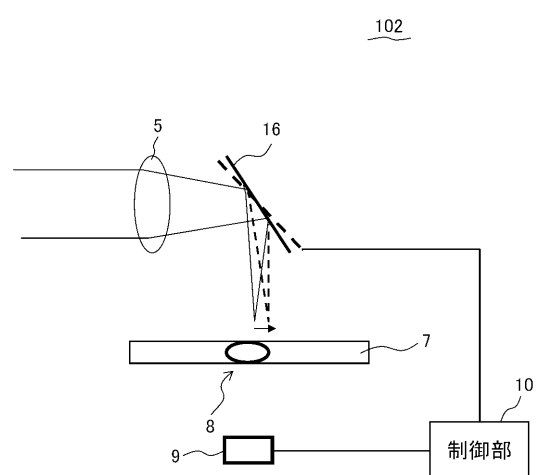
【図 7】



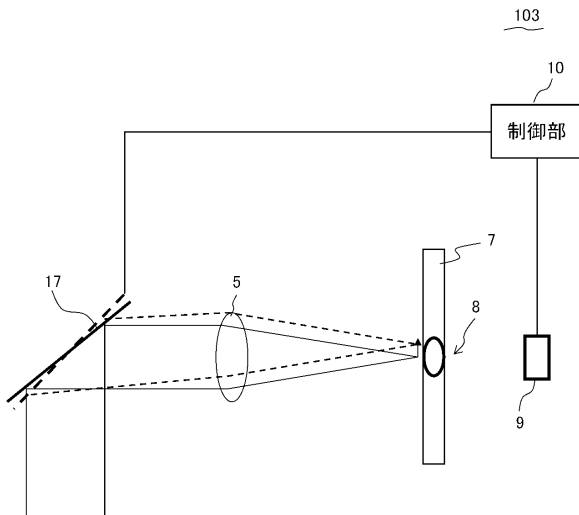
【図 8】



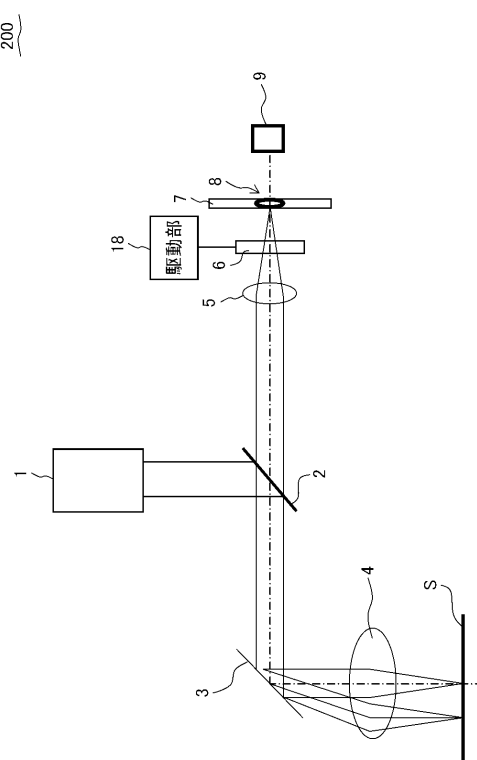
【図 9】



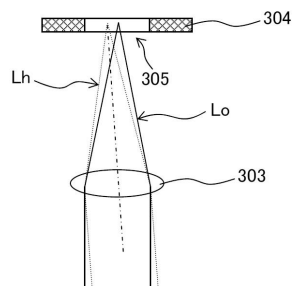
【図 10】



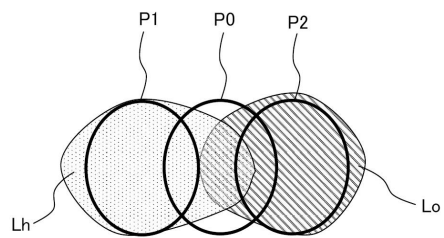
【図 11】



【図 2】



【図 3】



フロントページの続き

- (56)参考文献 特開平08-271792 (JP, A)
特開2005-043892 (JP, A)
特開2005-189290 (JP, A)
国際公開第2008/081729 (WO, A1)
特開2004-212622 (JP, A)
特表2007-514970 (JP, A)
米国特許出願公開第2007/0146472 (US, A1)
米国特許出願公開第2009/0231692 (US, A1)
特開2000-028926 (JP, A)
特開2002-168784 (JP, A)
米国特許出願公開第2005/0018282 (US, A1)
特開2004-264670 (JP, A)
米国特許出願公開第2004/0240017 (US, A1)
米国特許出願公開第2002/0181096 (US, A1)
米国特許出願公開第2009/0303583 (US, A1)
米国特許出願公開第2008/0316898 (US, A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G02B 21/00
G02B 26/10