

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6210754号  
(P6210754)

(45) 発行日 平成29年10月11日 (2017.10.11)

(24) 登録日 平成29年9月22日 (2017.9.22)

(51) Int. Cl. F I  
**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 12 (全 21 頁)

(21) 出願番号	特願2013-131824 (P2013-131824)	(73) 特許権者	000000376
(22) 出願日	平成25年6月24日 (2013.6.24)		オリンパス株式会社
(65) 公開番号	特開2015-7661 (P2015-7661A)		東京都八王子市石川町2951番地
(43) 公開日	平成27年1月15日 (2015.1.15)	(74) 代理人	100123962
審査請求日	平成27年12月3日 (2015.12.3)		弁理士 斎藤 圭介
		(74) 代理人	100120204
			弁理士 平山 巖
		(72) 発明者	島田 佳弘
			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
		(72) 発明者	上野 牧男
			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

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 走査型光学顕微鏡

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

照明光を射出する光源と、  
前記照明光を試料に照射する集光光学系と、  
前記試料を載置するステージと、  
前記照明光と前記ステージとを相対的に変位させる走査装置と、  
前記試料からの光を集光する検出光学系と、  
前記試料からの光を検出する光検出器と、  
瞳投影光学系と、  
光偏向部材と、  
前記光偏向部材に偏向信号を入力する駆動装置と、を備え、  
前記光源よりも前記集光光学系側に、光変調素子と、リレー光学系と、が配置され、  
前記光変調素子には、振幅のみを変化させた変調信号が入力され、  
所定の振幅の変調信号に対して前記光変調素子から射出する照明光が前記集光光学系の  
光軸と一致するように、前記光変調素子は位置決めされており、  
前記集光光学系の瞳の位置と前記光変調素子の位置とが、少なくとも前記リレー光学系  
を介して共役になっており、  
前記光変調素子の位置と前記光偏向部材の位置とが、前記リレー光学系によって共役にな  
り、  
前記集光光学系の瞳の位置と前記光偏向部材の位置とが、前記瞳投影光学系によって共

10

20

役になり、

前記光変調素子から射出する前記照明光の射出角度は、前記集光光学系の光軸と前記光変調素子から射出する前記照明光とのなす角度であって、前記所定の振幅の前記変調信号が前記光変調素子に入力されたときに = ゼロであり、

前記駆動装置は入力部を有し、

前記入力部には、前記光偏向部材に入射した前記照明光を所定の角度偏向させるための補正情報が入力され、

前記所定の角度は、前記光変調素子から射出するときの前記照明光の射出角度を相殺する角度であり、

前記駆動装置は、前記補正情報に基づいて生成された前記偏向信号を前記光偏向部材に入力することを特徴とする走査型光学顕微鏡。

10

【請求項 2】

前記走査装置は光偏向素子で構成されると共に、前記リレー光学系よりも前記集光光学系側に配置され、

前記走査装置は、前記集光光学系の瞳と共役な位置に配置され、

前記走査装置の前記光偏向素子が、前記光偏向部材を兼ねていることを特徴とする請求項 1 に記載の走査型光学顕微鏡。

【請求項 3】

記憶装置を備え、

前記補正情報は、前記記憶装置に予め記憶されていることを特徴とする請求項 1 又は 2 に記載の走査型光学顕微鏡。

20

【請求項 4】

ビームスプリッタと、光位置検出器と、を備え、

前記ビームスプリッタは、前記光変調素子から前記光偏向部材までの間に配置され、

前記光位置検出器から出力された検出信号に基づいて補正信号が生成され、

前記補正情報は、前記補正信号であることを特徴とする請求項 1 から 3 の何れか 1 項に記載の走査型光学顕微鏡。

【請求項 5】

記憶装置を備え、

前記補正信号は、前記記憶装置に記憶されていることを特徴とする請求項 3 又は 4 に記載の走査型光学顕微鏡。

30

【請求項 6】

ビームエキスパンダが配置されていることを特徴とする請求項 1 から 5 のいずれか 1 項に記載の走査型光学顕微鏡。

【請求項 7】

前記リレー光学系よりも前記集光光学系側に、前記ビームエキスパンダが配置されていることを特徴とする請求項 6 に記載の走査型光学顕微鏡。

【請求項 8】

前記光源から前記光変調素子までの間に光学ユニットが配置され、

前記光源の位置と前記光変調素子の位置とが、前記光学ユニットによって共役になっていることを特徴とする請求項 1 から 7 のいずれか 1 項に記載の走査型光学顕微鏡。

40

【請求項 9】

前記光源は、近赤外光を射出する超短パルスレーザであることを特徴とする請求項 1 から 8 のいずれか 1 項に記載の走査型光学顕微鏡。

【請求項 10】

前記光変調素子は、音響光学素子であることを特徴とする請求項 1 から 9 のいずれか 1 項に記載の走査型光学顕微鏡。

【請求項 11】

前記集光光学系は前記検出光学系を兼ねていることを特徴とする請求項 1 から 10 のいずれか 1 項に記載の走査型光学顕微鏡。

50

## 【請求項 12】

前記光検出器は、前記集光光学系により集光された前記試料からの光を、前記光変調素子を介さずに検出するように配置されていることを特徴とする請求項 11 に記載の走査型光学顕微鏡。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、走査型光学顕微鏡に関するものである。

## 【背景技術】

## 【0002】

従来、音響光学素子を用いた走査型レーザ顕微鏡が知られている。音響光学素子は、音響光学効果を利用した素子である。音波（超音波）が固体や液体中を伝播するとき、光弾性効果によって、その媒質中に屈折率の周期的変動が生じる。この周期的変動は、音波の進行方向と平行に生じる。また、この周期的変動では、変動の周期が音波の波長となっている。この媒質中に光が入射すると、入射した光の一部は超音波によって回折される。この現象を音響光学効果という。

## 【0003】

音響光学素子（AOM、OTF、OD等）の動作原理を図7に示す。音響光学素子では、媒質としてLiNbO<sub>3</sub>、PbMoO<sub>4</sub>、TeO<sub>2</sub>等の光学結晶が用いられている。この光学結晶に超音波を伝送するトランスデューサを取付けている。トランスデューサとしては、圧電体等が用いられる。トランスデューサに高周波電圧（RF電圧）を印加すると、結晶内に高周波の音波が発生する。この音波による屈折率の周期的変化を利用して入射光を回折させ、これにより光を偏向させている。

## 【0004】

音響光学素子に入射した入射光は全て回折されず、1次回折光と透過光（非回折光）が音響光学素子から射出する。なお、音響光学素子に印加する高周波電圧の周波数を変化させることで1次回折光の偏向方向が変化し、高周波電圧の振幅を変化させることで1次回折光の光強度が変化する。

## 【0005】

このような音響光学素子を用いた走査型レーザ顕微鏡として、特許文献1の走査型レーザ顕微鏡がある。

## 【0006】

特許文献1の走査型レーザ顕微鏡では、音響光学素子を光強度の変調に用いている。この走査型レーザ顕微鏡では、音響光学素子はレーザ光源とレーザ走査部との間に配置されている。

## 【0007】

走査型レーザ顕微鏡におけるアプリケーションの1つとして、観察対象（一般的には、生細胞や組織）に対して光刺激を加え、光刺激に対する反応を画像化したり、細胞の電位を計測したりするものがある。光刺激では、様々な光強度の光を観察対象に照射する。

## 【0008】

また、別のアプリケーションとして、観察対象の表面から内部までの様子を連続的に画像化し、取得した連続画像から3次元画像を生成するものがある。連続した画像を取得する場合、画像の取得位置が観察対象の内部になればなるほどレーザ光が減衰する。どの取得位置でも均一な明るさの画像が取得できるようにするために、取得位置に応じてレーザ光の光強度を変化させる必要がある。このようなことから、光刺激を行うアプリケーションや3次元画像を生成するアプリケーションでは、光強度を変化させること、すなわち、光強度の変調が行われる。

## 【0009】

このようなアプリケーションに用いられる走査型レーザ顕微鏡では、特許文献1のように、光強度の変調を行うために音響光学素子が用いられる。従来の走査型レーザ顕微鏡の

10

20

30

40

50

例を図 8 に示す。図 8 ( a ) は走査型レーザ顕微鏡の構成を示す図、図 8 ( b ) は対物レンズの瞳の位置におけるレーザ光の様子を示す図である。

【 0 0 1 0 】

図 8 ( a ) に示すように、走査型レーザ顕微鏡は、レーザ光源 1 0 1 と、音響光学素子 1 0 2 と、光走査装置 1 0 3 と、瞳投影レンズ 1 0 4 と、結像レンズ 1 0 5 と、ダイクロイックミラー 1 0 6 と、顕微鏡対物レンズ 1 0 7 と、光検出器 1 0 9 と、を備える。なお、必要に応じて、レーザ光源 1 0 1 から光走査装置 1 0 3 までの光路に励起フィルタを配置し、ダイクロイックミラー 1 0 6 から光検出器 1 0 9 までの光路にバリアフィルタ ( 吸収フィルタ ) やレンズを配置しても良い。なお、破線で示す矢印については後述する。

【 0 0 1 1 】

レーザ光源 1 0 1 は、例えば、超短パルスレーザである。超短パルスレーザからは、近赤外のレーザ光が射出される。レーザ光源 1 0 1 から射出したレーザ光は、音響光学素子 1 0 2 に入射する。音響光学素子 1 0 2 から射出したレーザ光 ( 1 次回折光 ) は、光走査装置 1 0 3 に入射する。光走査装置 1 0 3 は、例えば 2 つの光偏向素子を備える。偏向素子は、例えば、ガルバノスキャナである。レーザ光は一方のガルバノスキャナのミラーで X 方向に偏向され、他方のガルバノスキャナのミラーで Y 方向に偏向される。

【 0 0 1 2 】

光走査装置 1 0 3 から射出したレーザ光は、瞳投影レンズ 1 0 4 と結像レンズ 1 0 5 を介してダイクロイックミラー 1 0 6 に入射する。レーザ光はダイクロイックミラー 1 0 6 で反射され、顕微鏡対物レンズ 1 0 7 ( 以下、適宜、対物レンズ 1 0 7 とする ) に入射する。レーザ光は対物レンズ 1 0 7 で集光され、レーザスポットが試料 1 0 8 上に形成される。

【 0 0 1 3 】

レーザスポットは、ガルバノスキャナのミラーの動きに応じて、試料 1 0 8 上を 2 次元に移動する。これにより、試料 1 0 8 の走査が行われる。なお、ガルバノスキャナのミラーの位置と対物レンズの瞳 1 0 7 a の位置は、瞳投影レンズ 1 0 4 と結像レンズ 1 0 5 とによって略共役になっている。

【 0 0 1 4 】

試料 1 0 8 が蛍光試料の場合、試料 1 0 8 から蛍光が発生する。蛍光は対物レンズ 1 0 7 とダイクロイックミラー 1 0 6 を通過して、光検出器 1 0 9 に入射する。光検出器 1 0 9 に入射した蛍光は、光検出器 1 0 9 によって電気信号に変換される。光検出器 1 0 9 から出力される電気信号を走査と同期してサンプリングすることで、試料 1 0 8 の蛍光画像が取得される。

【 0 0 1 5 】

光刺激を行うときの様子を図 9 に示す。図 9 ( a ) は顕微鏡の実視野内の様子を示す図、図 9 ( b ) は細胞の位置、光強度を変化させるタイミング及び光強度の関係を示す図、図 9 ( c ) は光強度を変化させたときの観察対象の画像を示す図である。

【 0 0 1 6 】

図 9 ( a ) において、顕微鏡の実視野 2 2 0 内の矩形領域 2 2 1 が走査領域である。この矩形領域 2 2 1 内に存在する細胞が走査され、画像化される。矩形領域 2 2 1 内には複数の細胞が存在するが、ここでは、2 つの細胞 A と細胞 B に光刺激を加えるものとする。

【 0 0 1 7 】

図 9 ( b ) には、図 9 ( a ) に示す X X ' における細胞の断面図が示されている。また断面図の下には、1 ラインの走査における光強度の変化を示すグラフが示されている。グラフの縦軸は光強度 I、横軸は走査時間 t である。図 9 ( b ) に示すように、細胞 A と細胞 B に照射するレーザ光の光強度は、細胞 A に対しては最大光強度の 5 0 %、細胞 B に対しては最大光強度の 1 0 % である。また、1 ラインの走査は 1 m s e c で行われる。よって、この 1 m s e c の間に、光強度を 1 0 % や 5 0 % に変化させることになる。

【 0 0 1 8 】

音響光学素子 1 0 2 では、1 ラインの走査開始時点からの経過時間 ( 走査位置 ) に応じ

10

20

30

40

50

て、印加する高周波電圧の振幅を変化させている。これにより、様々な光強度のレーザー光が細胞 A や細胞 B に照射されるようにしている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0019】

【特許文献1】特許第4729269号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0020】

上述のように、音響光学素子102では、印加する高周波電圧の振幅を変化させることで、レーザー光の光強度を変化させることができる。従来、音響光学素子102から射出するレーザー光の射出角度（光軸となす角度）は、光強度の変化に関係なく一定であると思われていた。しかしながら、出願人は、高周波電圧の振幅を変化させて光強度を変化させると、音響光学素子102から射出するレーザー光の射出角度が、光強度の変化（高周波電圧の振幅の変化）に応じて微小に変化することを見出した。図8（a）に示す破線の矢印は、射出角度が変化したときのレーザー光を示している。

10

【0021】

例えば、光強度が最大光強度の50%のレーザー光（以下、適宜、50%レーザー光とする）が音響光学素子102から射出されるように、音響光学素子102に印加する高周波電圧の振幅を設定する。このとき、50%レーザー光が光軸と一致するように、音響光学素子102が位置決めされている。この位置決めによって、音響光学素子102から射出した50%レーザー光は光軸上を進み、ガルバノスキャナのミラーの中心に入射する。

20

【0022】

ここで、音響光学素子102に印加する高周波電圧の振幅を変化させ、光強度が最大光強度の10%のレーザー光（以下、適宜、10%レーザー光とする）が音響光学素子102から射出されるようにする。すると、図8（a）に示す破線の矢印のように、10%レーザー光では射出角度が変化する。この場合、10%レーザー光は、ガルバノスキャナのミラーの中心から外れた位置に入射する。

【0023】

上述のように、ガルバノスキャナのミラーは、対物レンズの瞳107aと共役な関係になっている。ここで、図8（b）の2点鎖線で示すように、対物レンズの瞳107aの中心と50%レーザー光の中心とは一致している。そのため、50%レーザー光では、光束全てが対物レンズの瞳107aを通過する。また、光走査装置103でレーザー光を偏向させても、常に、全ての光束が対物レンズの瞳107aを通過する。よって、蛍光色素の濃度がどの場所でも同じである場合、50%レーザー光を照射した細胞Aでは、取得した細胞Aの画像に明るさムラは生じない。

30

【0024】

これに対して、10%レーザー光では、図8（b）の破線で示すように、対物レンズの瞳107aの中心と50%レーザー光の中心とが一致しない。そのため、光束の一部は対物レンズの瞳107aを通過するものの、残りは対物レンズの瞳107aを通過できない。また、光走査装置103でレーザー光を偏向させると、対物レンズの瞳107aを通過できない光束の量が変化する。よって、蛍光色素の濃度がどの場所でも同じであったとしても、10%レーザー光を照射した細胞Bでは、取得した細胞Bの画像に明るさムラが生じてしまう。

40

【0025】

このように、従来の走査型レーザー顕微鏡では、音響光学素子で光強度を変化させると、対物レンズの瞳107aの中心に対するレーザー光の中心が、光強度の変更前と変更後とで異なってしまう。

【0026】

また、上述のように、音響光学素子102から射出した50%レーザー光は、光軸上を進

50

む。そのため、走査が行われていない状態では、試料 108 の位置において、50% レーザ光は光軸上に照射される。その結果、実視野の中心に、50% レーザ光のレーザスポットが形成される。一方、音響光学素子 102 から射出した 10% レーザ光は、光軸と交差する方向に進む。そのため、走査が行われていない状態では、試料 108 の位置において、10% レーザ光は光軸から離れた位置に照射される。その結果、実視野の中心から外れた位置に、10% レーザ光のレーザスポットが形成される。図 8 (a) では、10% レーザ光の照射位置のみが破線の矢印で示されている。

#### 【0027】

図 9 (a) の X X' における走査を例に説明する。走査開始時、レーザ光の光強度はゼロである。走査が始まるとレーザスポットは移動して細胞 B の左端に到達し、ここで、レーザ光の光強度が変更される。このとき、光強度を変更した後のレーザ光が 50% レーザ光の場合は、レーザスポットの位置は変化しないので、細胞 B の左端に 50% レーザ光が照射される。

#### 【0028】

しかしながら、図 9 (b) に示すように、細胞 B には 10% レーザ光が照射される。そのため、レーザスポットの位置は本来の照射位置、すなわち、細胞 B の左端からずれた位置に変わってしまう。その結果、図 9 (c) に示すように、細胞 B では、取得された細胞 B の画像 (破線) が、本来の位置 (実線) からずれた位置に表示されてしまう。一方、細胞 A には 50% レーザ光が照射されるため、レーザスポットの位置は本来の照射位置に照射される。よって、取得された細胞 A の画像は本来の位置に表示される。

#### 【0029】

このように、従来の走査型レーザ顕微鏡において音響光学素子 102 で光強度を変化させると、対物レンズの瞳 107 a に入射するレーザ光の入射角度が、光強度の変更前と変更後とで異なってしまう。その結果、レーザ光の照射位置が、光強度の変更前と変更後とで異なってしまう。

#### 【0030】

特に、超短パルスレーザは大型である。そのため、超短パルスレーザを用いる走査型レーザ顕微鏡では、大型の除振台上に、超短パルスレーザ、光走査装置及び顕微鏡が載置される。ここで、顕微鏡が正立型顕微鏡の場合、超短パルスレーザからガルバノスキャナ (走査装置) までの距離は 1 m を越えることになる。そのため、音響光学素子から射出するレーザ光の射出角度の変化が僅かであっても、ガルバノスキャナにおけるレーザ光の入射位置は、ガルバノスキャナのミラーの中心から大きく外れてしまう。

#### 【0031】

レーザ光の入射位置がガルバノスキャナのミラーの中心から外れるということは、対物レンズの瞳の中心とレーザ光の中心とが一致しない、ということである。この場合、画像における明るさムラがより大きくなったり、画像の本来の位置からのずれがより大きくなったりする。

#### 【0032】

例えば、ガルバノスキャナのミラーの大きさが 4 mm で、超短パルスレーザからガルバノスキャナ (走査装置) までの距離が 1.5 m の場合、音響光学素子から射出するレーザ光の射出角度が 200 秒変化すると、ガルバノスキャナのミラーの位置では、レーザ光はガルバノスキャナのミラーの中心から 1.5 mm ずれてしまう。

#### 【0033】

ここで、特許文献 1 の走査型レーザ顕微鏡では、音響光学素子を光強度の変調に用いている。しかしながら、特許文献 1 においても、高周波電圧の振幅を変化させて光強度を変化させると、音響光学素子から射出するレーザ光の射出角度が光強度の変化に応じて微小に変化すること、に関しては何ら言及されていない。

#### 【0034】

なお、特許文献 1 には、ビームシフタが開示されている。このビームシフタでは、レーザ光の平行移動と角度変化が可能である。ビームシフタは 2 枚の平面ミラーで構成されて

10

20

30

40

50

いるので、平行移動や角度変化は機械的な動作によって行われる。ここで、図 9 ( a )、( b ) に示すように、1 ラインの走査を 1 m s e c で行う場合、角度変化の補正はマイクロ秒のオーダーで行う必要がある。しかしながら、特許文献 1 のビームシフタでは、平面ミラーをモータで動かしている。そのため、特許文献 1 のビームシフタでマイクロ秒のオーダーの角度変化を行うことは困難である。

#### 【 0 0 3 5 】

本発明は、上記に鑑みてなされたものであって、光変調素子で光強度を変化させても、光学系の瞳の中心に対する照明光の中心が、光強度の変更前と変更後とで変化しない走査型光学顕微鏡を提供することを目的とする。また、光変調素子で光強度を変化させても、照明光の照射位置が光強度の変更前と変更後とで変化しない走査型光学顕微鏡を提供する

10

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【 0 0 3 7 】

また、本発明の走査型光学顕微鏡は、更に、  
照明光を射出する光源と、  
照明光を試料に照射する集光光学系と、  
試料を載置するステージと、  
照明光とステージとを相対的に変位させる走査装置と、  
試料からの光を集光する検出光学系と、  
試料からの光を検出する光検出器と、  
 瞳投影光学系と、  
 光偏向部材と、  
 光偏向部材に偏向信号を入力する駆動装置と、を備え、  
光源よりも集光光学系側に、光変調素子と、リレー光学系と、が配置され、  
光変調素子には、振幅のみを変化させた変調信号が入力され、  
所定の振幅の変調信号に対して光変調素子から射出する照明光が集光光学系の光軸と一  
致するように、光変調素子は位置決めされており、  
集光光学系の瞳の位置と光変調素子の位置とが、少なくともリレー光学系を介して共役  
になっており、

20

光変調素子の位置と光偏向部材の位置とが、リレー光学系によって共役になり、  
 集光光学系の瞳の位置と光偏向部材の位置とが、瞳投影光学系によって共役になり、  
 光変調素子から射出する照明光の射出角度 は、集光光学系の光軸と光変調素子から射出する照明光とのなす角度であって、所定の振幅の変調信号が光変調素子に入力されたときに  $\theta = 0$  であり、

30

駆動装置は入力部を有し、  
 入力部には、光偏向部材に入射した照明光を所定の角度偏向させるための補正情報が入力され、

所定の角度は、光変調素子から射出するときの照明光の射出角度  $\theta$  を相殺する角度であり、

駆動装置は、補正情報に基づいて生成された偏向信号を光偏向部材に入力することを特徴とする。

40

#### 【発明の効果】

#### 【 0 0 3 8 】

本発明によれば、光変調素子で光強度を変化させても、光学系の瞳の中心に対する照明光の中心が、光強度の変更前と変更後とで変化しない走査型光学顕微鏡を提供することができる。また、光変調素子で光強度を変化させても、照明光の照射位置が光強度の変更前と変更後とで変化しない走査型光学顕微鏡を提供することができる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【 0 0 3 9 】

【図 1】本実施形態の走査型光学顕微鏡を示す図であって、( a ) は第 1 の実施形態の走

50

査型光学顕微鏡を示す図、(b)は第2の実施形態の走査型光学顕微鏡を示す図である。

【図2】第1実施例の走査型レーザ顕微鏡を示す図であって、(a)は走査型レーザ顕微鏡の構成を示す図、(b)は対物レンズの瞳の位置におけるレーザ光の様子を示す図、(c)はビームエクスパンダを配置した構成を示す図である。

【図3】第2実施例の走査型レーザ顕微鏡を示す図であって、(a)は走査型レーザ顕微鏡の構成を示す図、(b)は対物レンズの瞳の位置におけるレーザ光の様子を示す図である。

【図4】第3実施例の走査型レーザ顕微鏡を示す図である。

【図5】第4実施例の走査型レーザ顕微鏡を示す図である。

【図6】第5実施例の走査型レーザ顕微鏡を示す図である。

【図7】音響光学素子の動作原理を示す図である。

【図8】従来の走査型レーザ顕微鏡の例を示す図であって、(a)は走査型レーザ顕微鏡の構成を示す図、(b)は対物レンズの瞳の位置におけるレーザ光の様子を示す図である。

【図9】光刺激を行うときの様子を示す図であって、(a)は顕微鏡の実視野内の様子を示す図、(b)は細胞の位置、光強度を変化させるタイミング及び光強度の関係を示す図、(c)は光強度を変化させたときの観察対象の画像を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0040】

以下に、本発明にかかる走査型光学顕微鏡の実施形態及び実施例を、図面に基づいて詳細に説明する。なお、この実施形態及び実施例によりこの発明が限定されるものではない。第1の実施形態の走査型光学顕微鏡と第1実施例の走査型光学顕微鏡は参考例である。

【0041】

本実施形態の走査型光学顕微鏡について説明する。図1は本実施形態の走査型光学顕微鏡を示す図であって、(a)は第1の実施形態の走査型光学顕微鏡を示す図、(b)は第2の実施形態の走査型光学顕微鏡を示す図である。

【0042】

図1(a)と図1(b)の各々には、第1の構成と第2の構成とが一緒に示されている。第1の構成は、試料3から紙面の上方向に向かう光(例えば、蛍光や反射光)を検出する構成である。第2の構成は、試料3から紙面の下方向に向かう光(例えば、蛍光や透過光)を検出する構成である。本実施形態の走査型光学顕微鏡は、第1の構成と第2の構成の少なくとも一方を備えていれば良い。

【0043】

第1の実施形態の走査型光学顕微鏡について説明する。本実施形態の走査型光学顕微鏡は、光源1と、集光光学系2と、ステージ4と、光検出器5と、検出光学系6と、光検出器7と、走査装置9と、を備えている。そして、光源1よりも集光光学系2側に、光変調素子20とリレー光学系30とが配置されている。光変調素子20とリレー光学系30は、集光光学系2の光軸AX(以下、適宜、光軸AXとする)上に配置されている。

【0044】

光源1は、例えば、レーザである。なお、光源1は、面光源、ピンホール及びレンズを組み合わせ構成しても良い。光源1からは、照明光が射出する。光源1から射出した照明光は、光変調素子20とリレー光学系30を通過して、集光光学系2に入射する。そして、集光光学系2によって、試料3に照明光が照射される。集光光学系2は、例えば顕微鏡対物レンズである。なお、光変調素子20とリレー光学系30については、後述する。

【0045】

第1の構成では、光源1から試料3に向かう光と試料3から光検出器5に向かう光とが、集光光学系2を通過する。そこで、両者を分離するために、光学素子8が配置されている。この光学素子8は、例えば、ダイクロイックミラーやハーフミラーである。一方、第2の構成では、試料3からの光は集光光学系2を通過しないので、光学素子8を用いる必要は必ずしも無い。

10

20

30

40

50



## 【 0 0 4 6 】

試料 3 はステージ 4 上に載置されている。集光光学系 2 から射出した照明光は試料 3 に照射され、これにより、試料 3 上に光スポットが形成される。試料 3 からは、紙面の上方に向かう光（例えば、蛍光や反射光）や、下方に向かう光（例えば、蛍光や透過光）が出てくる。

## 【 0 0 4 7 】

紙面の上方に向かう光は集光光学系 2 に入射し、集光光学系 2 で集光される。集光された光は光学素子 8 を通過して、光検出器 5 で検出される。一方、紙面の下方に向かう光は検出光学系 6 に入射し、検出光学系 6 で集光される。集光された光は、光検出器 7 で検出される。検出光学系 6 は、例えば、コンデンサレンズである。また、光検出器 5 や光検出器 7 は、例えば、光電子増倍管やフォトダイオードである。

10

## 【 0 0 4 8 】

上述のように、試料 3 上には光スポットが形成されるが、このままでは 1 点の情報しか得られない。そこで、複数の点の情報を得る場合には、集光光学系 2 の光軸 A X と直交する面内で、ステージ 4 と光スポット（照明光）とを相対的に変位させれば良い。

## 【 0 0 4 9 】

そのために、ステージ 4 に走査装置 9 が接続されている。走査装置 9 は、例えば、ステッピングモータとステッピングモータの駆動装置で構成されている。走査装置 9 でステージ 4 を移動させることにより、光スポットを静止させた状態で、ステージ 4（試料 3）の位置を移動させることができる。このようにすることで、試料 3 に関する複数の点の情報、例えば、試料の 2 次元画像が得られる。

20

## 【 0 0 5 0 】

なお、ステージ 4（試料 3）を静止させて、光スポットを移動させても良い。この場合は、光源 1 から集光光学系 2 までの光路中に、走査装置 9 を配置すれば良い。このときの走査装置 9 は、例えば、ガルバノスキャナや音響光学素子等の光偏向素子である。なお、光偏向素子の配置に際しては、光偏向素子の位置と集光光学系の瞳 2 a の位置とが共役になるように、光偏向素子から集光光学系 2 までの間に光学系を配置する。また、ステージ 4 の移動による走査と光スポットの移動による走査とを併用しても良い。

## 【 0 0 5 1 】

光変調素子 2 0 とリレー光学系 3 0 について説明する。光変調素子 2 0 は、例えば、音響光学素子や電気光学素子である。光変調素子 2 0 には駆動装置 2 1 が接続されている。光変調素子 2 0 が音響光学素子の場合、駆動装置 2 1 から光変調素子 2 0 に変調信号、すなわち高周波電圧が入力される。ただし、本実施形態の走査型光学顕微鏡では、入力される変調信号は、振幅のみを変化させた変調信号である。すなわち、入力される変調信号の周波数は一定となっている。

30

## 【 0 0 5 2 】

光変調素子 2 0 では、変調信号（高周波電圧）の振幅を変化させることで、光変調素子 2 0 から射出する照明光の光強度を変化させることができる。なお、光変調素子 2 0 については、所定の振幅の変調信号に対して光変調素子 2 0 から射出する照明光が光軸 A X と一致するように、光変調素子 2 0 は位置決めされている。これにより、所定の振幅の変調信号が光変調素子 2 0 に入力されたとき、光変調素子 2 0 から射出する照明光は光軸 A X 上を進む。

40

## 【 0 0 5 3 】

ここで、変調信号の振幅を所定の振幅とは異なる振幅に変化させると、光変調素子 2 0 から射出する照明光の光強度が変化するが、同時に、実線 L で示すように、光変調素子 2 0 から射出する照明光の射出角度も微小に変化する。このまま何もしなければ、図 8（a）や図 8（b）に示したように、集光光学系の瞳 2 a の中心に対する照明光の中心が、光強度の変更前と変更後とで異なってしまう。

## 【 0 0 5 4 】

そこで、第 1 の実施形態の走査型光学顕微鏡では、光変調素子 2 0 よりも集光光学系 2

50

側に、リレー光学系 30 を配置している。リレー光学系 30 は、レンズ 31 とレンズ 32 とで構成されている。ここで、リレー光学系 30 では、以下の (I)、(II)、(III) の関係を満足するように、レンズ 31、レンズ 32、光変調素子 20 及び集光光学系 2 (瞳 2a の位置) が位置決めされている。(I) レンズ 31 の前側焦点位置と光変調素子 20 の位置とが一致し、(II) レンズ 31 の後側焦点位置とレンズ 32 の前側焦点位置とが一致し、(III) レンズ 32 の後側焦点位置と集光光学系の瞳 2a の位置とが一致する。これにより、集光光学系の瞳 2a の位置と光変調素子 20 の位置とが、リレー光学系 30 によって共役になっている。

【0055】

このようにすると、光変調素子 20 から射出した照明光 (実線 L) はレンズ 31 で屈折され、光軸 AX と平行に進む。そして、照明光はレンズ 32 で光軸 AX と交差する方向に屈折され、集光光学系の瞳 2a に到達する。ここで、上述のように、集光光学系の瞳 2a の位置と光変調素子 20 の位置とが、リレー光学系 30 によって共役になっている。そのため、集光光学系の瞳 2a に到達した照明光の中心は、集光光学系の瞳 2a の中心と一致する。よって、照明光の光束全てが集光光学系の瞳 2a を通過する。

【0056】

このように、第 1 の実施形態の走査型光学顕微鏡では、光変調素子 20 で光強度を変化させても、集光光学系の瞳 2a の中心に対する照明光の中心が、光強度の変更前と変更後とで変化しなくなる。その結果、第 1 の実施形態の走査型光学顕微鏡では、光変調素子で光強度を変化させても、変更前に取得した画像と変更後に取得した画像とで、明るさに差は生じない。また、光走査を行った場合、変更後に取得した画像において明るさムラは生じない。

【0057】

なお、レンズ 31 の焦点距離とレンズ 32 の焦点距離は同じであって良いが、異なっても良い。レンズ 32 の焦点距離をレンズ 31 の焦点距離よりも長くすると、リレー光学系 30 は拡大光学系になる。このようにすると、レンズ 32 から射出する照明光の射出角度を小さくすることができ、なお且つ、光束径を大きくできる。

【0058】

また、リレー光学系 30 とは別に光学系を用意し、リレー光学系 30 と別の光学系とで、集光光学系の瞳 2a の位置と光変調素子 20 の位置とが共役になるようにしても良い。

【0059】

次に、第 2 の実施形態の走査型光学顕微鏡について説明する。図 1 (b) に示すように、第 2 の実施形態の走査型光学顕微鏡は、第 1 の実施形態の走査型光学顕微鏡の構成を備え、更に、瞳投影光学系 40 と、光偏向部材 50 と、駆動装置 51 と、を備える。よって、第 1 の実施形態の走査型光学顕微鏡の構成と同じ構成については説明を省略する。

【0060】

以下の説明においても、光変調素子 20 を音響光学素子として説明する。また、光偏向部材 50 としては、例えば、ガルバノスキャナ、音響光学素子、ポリゴンスキャナ等があるが、ここでは光偏向部材 50 を音響光学素子として説明する。なお、図 1 (b) では、便宜上、光偏向部材 50 は光軸と直交するように配置され、また、光偏向部材 50 の両側の光軸も同一直線状となるように描かれている。しかしながら、実際は、光偏向部材 50 の光軸に対する配置方向や、光偏向部材 50 の両側の光軸の向きは、光変調素子 20 と同様になっている。

【0061】

本実施形態の走査型光学顕微鏡でも、所定の振幅の変調信号に対して光変調素子 20 から射出する照明光が光軸 AX と一致するように、光変調素子 20 は位置決めされている。これにより、所定の振幅の変調信号が光変調素子 20 に入力されたとき、光変調素子 20 から射出する照明光は光軸 AX 上を進む。

【0062】

ここで、変調信号の振幅を所定の振幅とは異なる振幅に変化させると、光変調素子 20

10

20

30

40

50

から射出する照明光の光強度が変化するが、同時に、実線 L で示すように、光変調素子 20 から射出する照明光の射出角度が微小に変化する。ここで、射出角度  $\theta$  は、光軸 AX と光変調素子 20 から射出する照明光とのなす角度である。所定の振幅の変調信号に対しては、光変調素子 20 から射出する照明光は光軸 AX と一致しているので、所定の振幅の変調信号が光変調素子 20 に入力されたとき  $\theta = 0$  である。

#### 【0063】

これに対して、所定の振幅とは異なる振幅の変調信号が光変調素子 20 に入力された場合、 $\theta \neq 0$  になる。この場合、光変調素子 20 から射出角度  $\theta$  で射出した照明光は、実線 L で示すようにレンズ 31 で屈折され、光軸 AX と平行に進む。そして、照明光はレンズ 32 で光軸 AX と交差する方向に屈折され、光偏向部材 50 に到達する。

10

#### 【0064】

ここで、光変調素子 20 の位置と光偏向部材 50 の位置とが、リレー光学系 30 によって共役になっている。そのため、光偏向部材 50 に到達した照明光の中心は、光偏向部材 50 の開口の中心と一致する。ただし、実線 L で示す照明光では、光変調素子 20 を射出したときの射出角度  $\theta$  が維持されている。そのため、集光光学系の瞳 2a においても、照明光は光軸 AX と交差する方向に進行する。なお、光偏向部材 50 の開口の中心は、例えば、ガルバノスキャナだとミラーの中心であり、音響学素子だと入射光側の開口部の中心である。

#### 【0065】

そこで、本実施形態の走査型光学顕微鏡では、駆動装置 51 に入力部を設け、この入力部に、光偏向部材 50 に入射した照明光を所定の角度偏向させるための補正情報が入力されるようにしている。そして、駆動装置が、補正情報に基づいて生成された偏向信号を光偏向部材 50 に入力するようにしている。ここで、所定の角度は、光変調素子 20 から射出するときの照明光の射出角度  $\theta$  を相殺する角度である。

20

#### 【0066】

例えば、図 1 (b) において、リレー光学系 30 の倍率を 1 倍とし、角度は光軸 AX から測るものとする。また、角度は、反時計回りの方向をプラスとする。ここで、図 1 (b) の照明光 L の射出角度  $\theta$  を  $\theta = 1^\circ$  とすると、所定の角度は  $\theta = -1^\circ$  を相殺する角度であるから、射出角度  $\theta$  で表すと  $\theta = -1^\circ$  となる。

#### 【0067】

このようにすることで、光強度の変化（変調信号の振幅の変化）に応じて射出角度  $\theta$  が変化しても、その変化を相殺するような補正情報が駆動装置 51 に入力される。その結果、光強度を変化させても、光偏向部材 50 から射出する照明光を、常に光軸 AX と一致するように射出することができる。すなわち、光変調素子 20 に入力される変調信号の振幅が、所定の振幅であっても、所定の振幅とは異なる振幅であっても、光偏向部材 50 から射出する照明光の射出角度（光軸 AX とのなす角度）は、略一致する。

30

#### 【0068】

また、本実施形態の走査型光学顕微鏡では、光偏向部材 50 と集光光学系 2 との間に、瞳投影光学系 40 が配置されている。瞳投影光学系 40 は、瞳投影レンズ 41 と結像レンズ 42 とで構成されている。光偏向部材 50 から射出した照明光は、瞳投影レンズ 41 と結像レンズ 42 とを通過して、集光光学系の瞳 2a の位置に到達する。

40

#### 【0069】

ここで、集光光学系の瞳 2a の位置と光偏向部材 50 の位置とが、瞳投影光学系 40 によって共役になっている。よって、光偏向部材 50 から射出した照明光の中心は、集光光学系の瞳 2a の中心と一致する。そのため、光偏向部材 50 から射出した照明光は、集光光学系の瞳 2a を通過するときも光軸 AX 上を進む。すなわち、光変調素子 20 に入力される変調信号の振幅が、所定の振幅であっても、所定の振幅とは異なる振幅であっても、集光光学系の瞳 2a における照明光の射出角度（光軸 AX とのなす角度）は、略一致する。

#### 【0070】

50

このように、第2の実施形態の走査型光学顕微鏡では、光変調素子20で光強度を変化させても、集光光学系の瞳2aの中心に対する照明光の中心が、光強度の変更前と変更後とで変化せず、なお且つ、集光光学系の瞳2aに入射する照明光の入射角度が、光強度の変更前と変更後とで変化しなくなる。すなわち、光変調素子で光強度を変化させても、照明光の照射位置が、光強度の変更前と変更後とで変化しない。

【0071】

その結果、第2の実施形態の走査型光学顕微鏡では、光変調素子で光強度を変化させても、変更前に取得した画像と変更後に取得した画像とで、明るさに差が生じることがなく、なお且つ、変更後に取得した画像の位置にずれは生じない。また、照明光で走査を行った場合、変更後に取得した画像の位置にずれは生じることがなく、なお且つ、変更後に取得した画像において明るさムラは生じない。

10

【0072】

なお、駆動装置51に入力する補正情報としては、例えば、駆動装置21の駆動信号に基づく情報や、光線Lの位置を検出したときの位置信号に基づく情報がある。また、これらの情報は駆動装置51に直接入力しても良いが、これらの情報を記憶装置に記憶させておき、記憶装置から読み出した情報を駆動装置51に入力させても良い。

【0073】

また、光偏向部材50としてガルバノスキャナを用いる場合、リレー光学系30側の光路と瞳投影光学系40側の光路とがガルバノスキャナのミラーの位置で交差するようにすれば良い。ポリゴンスキャナの場合も同様である。

20

【0074】

次に、本実施形態の走査型光学顕微鏡のより具体的な構成について説明する。なお、図1(a)と同じ構成については同じ番号を付し、詳細な説明は省略する。図2は第1実施例の走査型レーザ顕微鏡を示す図であって、(a)は走査型レーザ顕微鏡の構成を示す図、(b)は対物レンズの瞳の位置におけるレーザ光の様子を示す図、(c)はビームエクspandaを配置した構成を示す図である。

【0075】

第1実施例の走査型レーザ顕微鏡は、図2(a)に示すように、レーザ光源101と、音響光学素子102と、光走査装置103と、瞳投影レンズ104と、結像レンズ105と、ダイクロイックミラー106と、対物レンズ107と、光検出器109と、を備える。  
光走査装置103はガルバノスキャナで構成されている。

30

【0076】

なお、音響光学素子102や光走査装置103には、それぞれ駆動装置が接続されているが、図示を省略している。また、図示を省略しているが、レーザ光源101から光走査装置103までの光路に励起フィルタが配置され、ダイクロイックミラー106から光検出器109までの光路にバリアフィルタ(吸収フィルタ)が配置されている。

【0077】

本実施例の走査型レーザ顕微鏡は、更に、リレー光学系110を備えている。リレー光学系110の具体的な構成や技術的意義は、図1(a)、(b)におけるリレー光学系30と同じである。

40

【0078】

レーザ光源101は、例えば、超短パルスレーザである。レーザ光源101から射出したレーザ光は、音響光学素子102に入射する。音響光学素子102には、振幅のみを変化させた高周波電圧が印加される。高周波電圧の振幅を変化させることで、音響光学素子102から射出するレーザ光の光強度を変化させることができる。

【0079】

音響光学素子102には、第1の振幅の高周波電圧と第2の振幅の高周波電圧とが印加される。第1の振幅の高周波電圧は、50%レーザ光を射出するための電圧である。また、第2の振幅の高周波電圧は、10%レーザ光を射出するための電圧である。第1の振幅の高周波電圧を音響光学素子102に印加すると、音響光学素子102から50%レーザ

50

光が射出する。高周波電圧の振幅を第1の振幅から第2の振幅に変更すると、音響光学素子102から10%レーザ光が射出する。

【0080】

ここで、音響光学素子102は、音響光学素子102から射出する50%レーザ光（光強度が最大光強度の50%のレーザ光）が光軸と一致するよう位置決めされている。このような状態で、高周波電圧の振幅のみを変化させる。例えば、10%レーザ光（光強度が最大光強度の10%のレーザ光）が音響光学素子102から射出されるように、高周波電圧の振幅を、第1の振幅から第2の振幅に変化させる。

【0081】

すると、破線で示す矢印のように、10%レーザ光では射出角度が変化する。ここで、本実施例の走査型レーザ顕微鏡では、音響光学素子102と光走査装置103との間に、リレー光学系110が配置されている。

10

【0082】

そのため、音響光学素子102から射出した10%レーザ光は、実線で示すように、1つ目のレンズで屈折され、光軸と平行に進む。そして、レーザ光は2つ目のレンズで光軸と交差する方向に屈折され、光走査装置103に到達する。この到達した位置には、ガルバノスキャナのミラーが配置されている。ここで、音響光学素子102の位置と光走査装置103の位置とが、リレー光学系110によって共役になっている。そのため、10%レーザ光の中心は、ガルバノスキャナのミラーの中心と一致する。

【0083】

20

光走査装置103を射出した10%レーザ光は、瞳投影光学系、すなわち瞳投影レンズ104と結像レンズ105を通過して、対物レンズの瞳107aに到達する。ここで、光走査装置103の位置と対物レンズの瞳107aの位置とは、瞳投影レンズ104と結像レンズ105とによって共役になっている。そのため、図2(b)の実線で示すように、10%レーザ光の中心（実線）は、対物レンズの瞳107aの中心と一致する。なお、2点鎖線は50%レーザ光を示している。

【0084】

このように、本実施例の走査型レーザ顕微鏡では、音響光学素子102の位置と対物レンズの瞳107aの位置とが、リレー光学系110及び瞳投影光学系によって共役になっている。そのため、音響光学素子102でレーザ光の光強度を変化させても、対物レンズの瞳107aの中心に対するレーザ光の中心が、光強度の変更前と変更後とで変化しなくなる。その結果、本実施例の走査型レーザ顕微鏡では、音響光学素子102でレーザ光の光強度を変化させても、変更後に取得した画像において明るさムラは生じない。

30

【0085】

なお、光走査装置103を2つのガルバノスキャナで構成する場合、一方のガルバノスキャナのミラーの位置と音響光学素子102の位置とを、リレー光学系110によって共役にする。そして、他方のガルバノスキャナのミラーの位置と対物レンズの瞳107aの位置とを、瞳投影光学系によって共役にする。そして、2つのガルバノスキャナのミラーの間に光学系を設けて、2つのガルバノスキャナのミラーが共役になるようにすれば良い。このようにすることで、音響光学素子102の位置と対物レンズの瞳107aの位置とを共役にすることができる。

40

【0086】

また、2つのガルバノスキャナのミラーの間に光学系を設けない構成、すなわち、2つのミラーを近接させる構成の場合は、2つのミラーの間の任意の位置が、音響光学素子102の位置や対物レンズの瞳107aの位置と共役になるようにすれば良い。

【0087】

また、リレー光学系110の倍率は、光走査装置103、瞳投影レンズ104、結像レンズ105及び対物レンズ107を考慮して、最適な倍率にすれば良い。

【0088】

また、図2(c)に示すように、リレー光学系110よりも対物レンズ107側、より

50

具体的には、リレー光学系 110 と光走査装置 103 との間に、ビームエクspanda 111 を配置することが好ましい。このようにして、図 2 (b) に示すように、対物レンズの瞳 7a の位置において、レーザ光の径と対物レンズの瞳 7a の径とが略一致するようにしても良い。

【0089】

また、ビームエクspanda 111 を、アフォーカルズームにすることで、ビームエクspanda 111 から射出するレーザ光の光束径を変化させることができる。そのため、使用する対物レンズが変わったとしても、対物レンズの瞳の位置において、レーザ光の径と対物レンズの瞳の径とを、常に略一致させることができる。

【0090】

10

図 3 は第 2 実施例の走査型レーザ顕微鏡を示す図であって、(a) は走査型レーザ顕微鏡の構成を示す図、(b) は対物レンズの瞳の位置におけるレーザ光の様子を示す図である。

【0091】

第 2 実施例の走査型レーザ顕微鏡は、第 1 実施例の走査型レーザ顕微鏡の構成を備えると共に、駆動装置 112 と、記憶装置 113 と、を備える。なお、図 3 (a) において、音響光学素子 102 の駆動装置は図示を省略しているが、後述の第 3 ~ 第 5 実施例も同様に図示を省略している。

【0092】

本実施例の走査型レーザ顕微鏡は、第 1 実施例の走査型レーザ顕微鏡と同様に、リレー光学系 110 を備えている。よって、音響光学素子 102 から射出されるレーザ光を、50%レーザ光から 10%レーザ光にしたとしても、10%レーザ光の中心は、ガルバノスキャナのミラーの中心と一致する。ただし、10%レーザ光では、音響光学素子 102 を射出したときの射出角度が維持されている。

20

【0093】

そこで、本実施例の走査型レーザ顕微鏡では、駆動装置 112 に入力部を設け、この入力部に、光走査装置 103 に入射した照明光を所定の角度で射出するための補正情報が入力されるようにしている。この補正情報は、記憶装置 113 に予め記憶されている。

【0094】

補正情報は、例えば、走査型レーザ顕微鏡の組み立て時に取得しておけば良い。組み立て時、音響光学素子 102 に印加する変調信号の振幅を連続的に変化させ、振幅ごとに音響光学素子 102 から射出する光の射出角度を測定しておく。そして、測定した結果を、補正情報として記憶装置 113 に記憶させておけば良い。

30

【0095】

音響光学素子 102 に入力する高周波電圧の振幅が、第 1 の振幅から第 2 の振幅に変更すると、音響光学素子 102 から射出されるレーザ光が、50%レーザ光から 10%レーザ光に変わる。第 2 の振幅の情報は、有線や無線で、記憶装置 113 に伝達される。記憶装置 113 では、第 2 の振幅に対応する補正情報を抽出し、抽出した補正情報を駆動装置 112 に有線や無線で伝達する。

【0096】

40

駆動装置 112 は、補正情報に基づいて偏向信号を生成する。生成された偏向信号は光走査装置 103 に入力される。光走査装置 103 は、入力された偏向信号に基づいて、ガルバノスキャナのミラーの向きを変化させる。

【0097】

ここで、音響光学素子 102 から射出する 10%レーザ光の射出角度を  $\theta$  とすると、所定の角度は、音響光学素子 102 から射出する 10%レーザ光の射出角度が  $\theta$  となる角度である。リレー光学系 110 の倍率が 1 倍の場合、光走査装置 103 のガルバノスキャナには、光軸とのなす角度が  $\theta$  の 10%レーザ光が入射する。よって、光走査装置 103 に入力される偏向信号は、ガルバノスキャナのミラーを  $\theta/2$  偏向させる信号になる。偏向する方向は、 $\pm$  の符号によって決まる。

50

## 【0098】

このように、本実施例の走査型レーザ顕微鏡では、音響光学素子102で光強度を変化させても、対物レンズの瞳107aの中心に対するレーザ光の中心が、光強度の変更前と変更後とで変化せず、なお且つ、対物レンズの瞳107aに入射するレーザ光の入射角度が、光強度の変更前と変更後とで変化しなくなる。すなわち、音響光学素子102で光強度を変化させても、レーザ光の照射位置が、光強度の変更前と変更後とで変化しない。

## 【0099】

その結果、本実施例の走査型レーザ顕微鏡では、音響光学素子102で光強度を変化させても、変更前に取得した画像と変更後に取得した画像とで、明るさに差が生じることがなく、なお且つ、変更後に取得した画像の位置にずれは生じない。また、変更後に取得した画像において明るさムラは生じない。

10

## 【0100】

また、本実施例の走査型レーザ顕微鏡では、記憶装置113を備えているので、大量の補正情報を持つことができる。例えば、補間法を用いて、走査型レーザ顕微鏡の組み立て時に取得した補正情報から、より細かい補正情報を取得する。そして、取得した補正情報を、記憶装置113に記憶させておくことができる。このようにすることで、光強度を変化させたときの射出角度の変動に対する補正を、より高い精度で行なうことができる。

## 【0101】

なお、音響光学素子における光の偏向では、偏向が機械的に行われたい。そのため、光走査装置103を音響光学素子で構成すると、光強度を変化させたときの射出角度の変動に対する補正を、より短時間で行なうことができる。

20

## 【0102】

図4は第3実施例の走査型レーザ顕微鏡を示す図である。第3実施例の走査型レーザ顕微鏡は、第1実施例の走査型レーザ顕微鏡の構成を備えると共に、駆動装置112と、ビームスプリッタ114と、レンズ115と、光位置検出器116と、を備えている。レンズ115は、必要に応じて用いられる。

## 【0103】

光位置検出器116は、例えば、2次元CCD(Charge Coupled Device)や2次元PSD(Position Sensitive Detector)である。ビームスプリッタ114は、音響光学素子102から光走査装置103までの間に配置されていれば良い。本実施例の走査型レーザ顕微鏡では、ビームスプリッタ114は、音響光学素子102とリレー光学系110との間に配置されている。

30

## 【0104】

本実施例の走査型レーザ顕微鏡は、第1実施例の走査型レーザ顕微鏡と同様に、リレー光学110を備えている。よって、音響光学素子102から射出されるレーザ光を、50%レーザ光から10%レーザ光に変えたとしても、10%レーザ光の中心は、ガルバノスキャナのミラーの中心と一致する。ただし、10%レーザ光では、音響光学素子102を射出したときの射出角度が維持されている。そのため、10%レーザ光は、光軸と交差する方向に進行する。

## 【0105】

そこで、本実施例の走査型レーザ顕微鏡では、音響光学素子102から射出したレーザ光を、ビームスプリッタ114で反射光と透過光とに分け、反射させたレーザ光を、レンズ115を介して光位置検出器116に入射させている。そして、光位置検出器116から出力された検出信号に基づいて補正信号を生成し、生成した補正信号を補正情報として用いている。

40

## 【0106】

音響光学素子102から射出されるレーザ光の射出角度は、50%レーザ光と10%レーザ光とで異なる。そのため、光位置検出器116に入射したレーザ光の位置も、50%レーザ光と10%レーザ光とで異なる。そこで、例えば、50%レーザ光が光位置検出器116の中央に入射するようにしておく。この場合、光位置検出器116に50%レーザ

50

光が入射した場合、光位置検出器 116 から出力された検出信号は 0 になる。

【0107】

次に、音響光学素子 102 から射出されるレーザ光を、50%レーザ光から10%レーザ光に変えると、光位置検出器 116 に10%レーザ光が入射する。この場合、10%レーザ光は、光位置検出器 116 の中央からはずれた位置に入射する。その結果、光位置検出器 116 から出力された検出信号は入射位置に応じた値を持つ。

【0108】

光位置検出器 116 から出力された検出信号は、音響光学素子 102 から射出する10%レーザ光の射出角度と等価である。そこで、検出信号に基づいて補正信号が生成される。光位置検出器 116 は検出回路（不図示）を備えているので、補正信号の生成を検出回路で行うことができる。あるいは、検出回路とは別の回路を用意して、別の回路で補正信号の生成を行っても良い。そして、補正信号を補正情報として用いれば良い。

10

【0109】

駆動装置 112 は、補正情報に基づいて偏向信号を生成する。生成された偏向信号は光走査装置 103 に入力される。光走査装置 103 は、入力された偏向信号に基づいて、ガルバノスキャナのミラーの向きを変化させる。

【0110】

本実施例の走査型レーザ顕微鏡においても、第2実施例の走査型レーザ顕微鏡と同様の効果を奏する。また、本実施例の走査型レーザ顕微鏡では、音響光学素子 102 から射出されるレーザ光を用いて、補正信号（補正情報）を生成している。そのため、射出角度が時間の経過と共に変化した場合であっても、光強度を変化させたときの射出角度の変動に対する補正を、より高い精度で行なうことができる。

20

【0111】

図5は第4実施例の走査型レーザ顕微鏡を示す図である。第4実施例の走査型レーザ顕微鏡は、第3実施例の走査型レーザ顕微鏡の構成を備えると共に、記憶装置 113 を備えている。

【0112】

第3実施例の走査型レーザ顕微鏡では、光位置検出器 116 から出力された検出信号に基づいて補正信号を生成している。そして、生成した補正信号を補正情報として、駆動装置 112 の入力部に直接入力している。これに対して、本実施例の走査型レーザ顕微鏡では、補正信号を駆動装置 112 の入力部に入力する前に、記憶装置 113 に記憶させている。そして、記憶装置 113 から記憶した補正信号を補正情報として駆動装置 112 の入力部に入力している。

30

【0113】

本実施例の走査型レーザ顕微鏡においても、第2実施例の走査型レーザ顕微鏡と同様の効果を奏する。加えて、第3実施例や第4実施例の走査型レーザ顕微鏡の効果も、併せて奏する。

【0114】

図6は第5実施例の走査型レーザ顕微鏡を示す図である。第5実施例の走査型レーザ顕微鏡は、第4実施例の走査型レーザ顕微鏡の構成を備えると共に、光学ユニット 117 を備えている。

40

【0115】

レーザ光源 101 によっては、レーザ光源 101 から射出するレーザ光の射出角度が時間と共にわずかに変化することがある。レーザ光の射出角度が変化すると、音響光学素子 102 でレーザ光の射出角度が変化した場合と同様に、レーザ光の中心と対物レンズの瞳 107a の位置とが一致しなくなる。

【0116】

そこで、本実施例の走査型レーザ顕微鏡では、光学ユニット 117 が、レーザ光源 101 から音響光学素子 102 までの間に配置されている。光学ユニット 117 は、例えば、リレー光学系で、これにより、レーザ光源 101 の位置と音響光学素子 102 の位置とが

50



、光学ユニット１１７によって共役になっている。

【０１１７】

このようにすることで、レーザ光源１０１の位置と対物レンズの瞳１０７aとが共役になるので、レーザ光源１０１から射出されたレーザ光の射出角度が変化しても、レーザ光の中心と対物レンズの瞳１０７aの位置とを一致させることができる。

【０１１８】

更に、光位置検出器１１６を備えているので、レーザ光源１０１から射出されたレーザ光の射出角度の変化と、音響光学素子１０２から射出されたレーザ光の射出角度の変化とを、光位置検出器１１６で検出できる。よって、高い精度の補正情報を得ることができる。

10

【０１１９】

なお、本発明は、その趣旨を逸脱しない範囲で様々な変形例をとることができる。

【産業上の利用可能性】

【０１２０】

以上のように、本発明は、光変調素子で光強度を変化させても、光学系の瞳の中心に対する照明光の中心が、光強度の変更前と変更後とで変化しない走査型光学顕微鏡に適している。また、光変調素子で光強度を変化させても、照明光の照射位置が光強度の変更前と変更後とで変化しない走査型光学顕微鏡に適している。

【符号の説明】

【０１２１】

20

- １ 光源
- ２ 集光光学系
- ２a 集光光学系の瞳
- ３ 試料
- ４ ステージ
- ５ 光検出器
- ６ 検出光学系
- ７ 光検出器
- ８ 光学素子
- ９ 走査装置

30

- ２０ 光変調素子
- ２１ 駆動装置
- ３０ リレー光学系
- ３１、３２ レンズ
- ４０ 瞳投影光学系
- ４１ 瞳投影レンズ
- ４２ 結像レンズ
- ５０ 光偏向部材
- ５１ 駆動装置

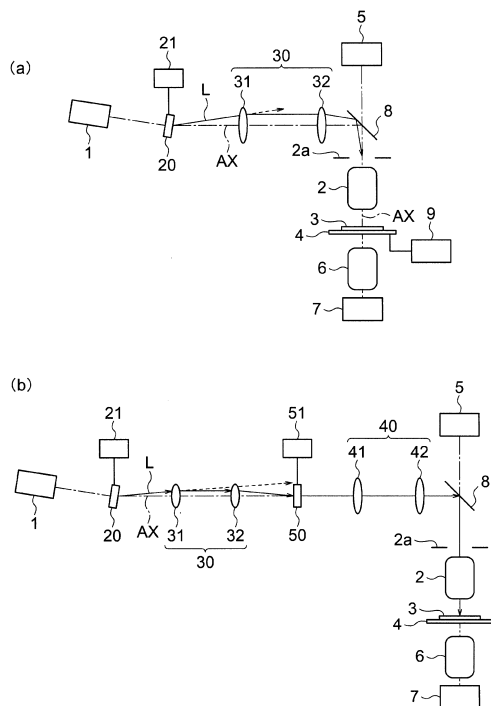
- １０１ レーザ光源
- １０２ 音響光学素子
- １０３ 光走査装置
- １０４ 瞳投影レンズ
- １０５ 結像レンズ
- １０６ ダイクロイックミラー
- １０７ 対物レンズ
- １０７a 対物レンズの瞳
- １０８ 試料
- １０９ 光検出器
- １１０ リレー光学系

40

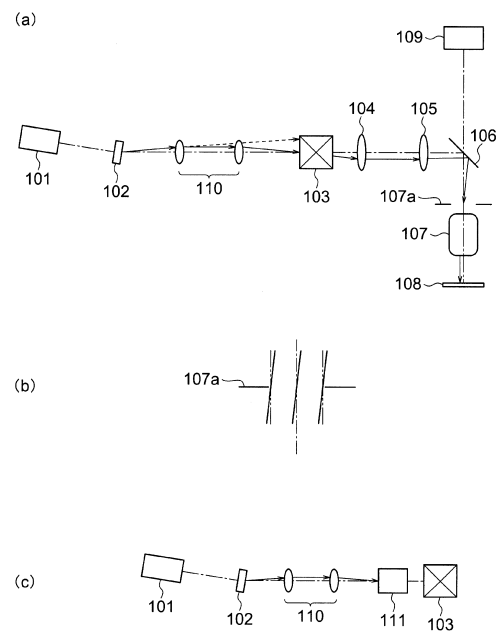
50

- 1 1 1 ビームエクspанда
- 1 1 2 駆動装置
- 1 1 3 記憶装置
- 1 1 4 ビームスプリッタ
- 1 1 5 レンズ
- 1 1 6 光位置検出器
- 1 1 7 光学ユニット
- 2 2 0 顕微鏡の実視野
- 2 2 1 矩形領域（走査領域）

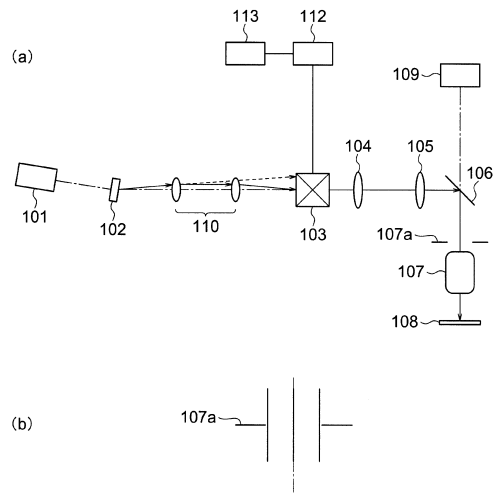
【図 1】



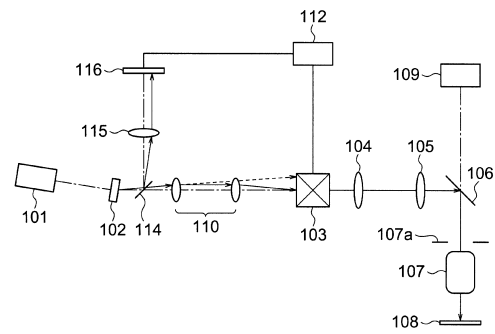
【図 2】



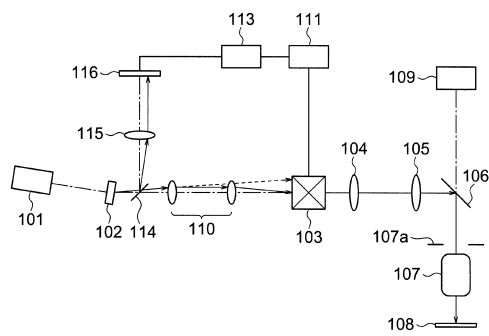
【図 3】



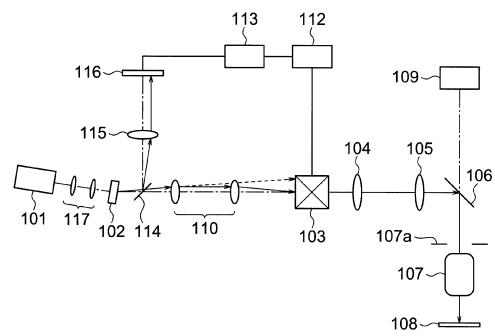
【図 4】



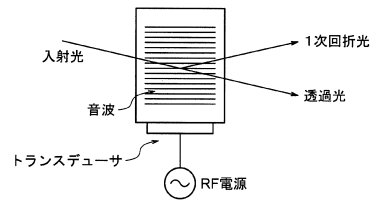
【図 5】



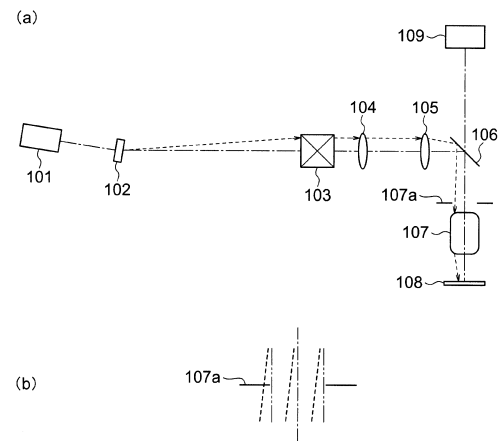
【図 6】



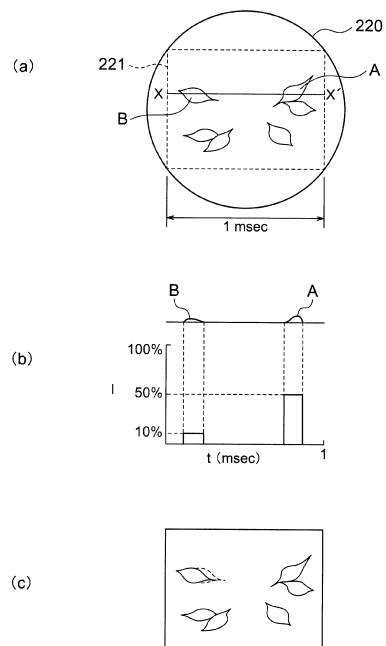
【図 7】



【図 8】



【図 9】



---

フロントページの続き

- (72)発明者 玉野 真悟  
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリパス株式会社内
- (72)発明者 林 直樹  
長野県上伊那郡辰野町大字伊那富6666番地 長野オリパス株式会社内
- (72)発明者 横井 英司  
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリパス株式会社内

審査官 殿岡 雅仁

- (56)参考文献 特開2009-103958(JP,A)  
特開2010-197986(JP,A)  
特開2008-116756(JP,A)  
特開2008-233227(JP,A)  
特開2003-195172(JP,A)  
特開2012-103379(JP,A)  
特開2014-052476(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
G02B 21/00  
G02B 21/06 - 21/36