

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2009-128152

(P2009-128152A)

(43) 公開日 平成21年6月11日(2009.6.11)

|                               |                |             |
|-------------------------------|----------------|-------------|
| (51) Int.Cl.                  | F I            | テーマコード (参考) |
| <b>GO 1 N 21/27 (2006.01)</b> | GO 1 N 21/27 C | 2 G 0 4 3   |
| <b>GO 1 N 21/64 (2006.01)</b> | GO 1 N 21/64 G | 2 G 0 5 9   |
| <b>GO 1 N 21/01 (2006.01)</b> | GO 1 N 21/01 D |             |

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 11 頁)

|                                                                                                                                        |                              |          |                                                                                                                                       |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) 出願番号                                                                                                                              | 特願2007-302773 (P2007-302773) | (71) 出願人 | 000001889                                                                                                                             |
| (22) 出願日                                                                                                                               | 平成19年11月22日(2007.11.22)      |          | 三洋電機株式会社                                                                                                                              |
| (出願人による申告) 国等の委託研究の成果に係る特許出願 (平成19年度独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構健康安心プログラム/再生医療評価研究開発事業/再生医療の早期実用化を目指した再生評価技術開発委託研究、産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願) |                              | (74) 代理人 | 100098361                                                                                                                             |
|                                                                                                                                        |                              |          | 弁理士 雨笠 敬                                                                                                                              |
|                                                                                                                                        |                              | (72) 発明者 | 韓 泰成                                                                                                                                  |
|                                                                                                                                        |                              |          | 大阪府守口市京阪本通2丁目5番5号 三洋電機株式会社内                                                                                                           |
|                                                                                                                                        |                              | (72) 発明者 | 岩間 明文                                                                                                                                 |
|                                                                                                                                        |                              |          | 大阪府守口市京阪本通2丁目5番5号 三洋電機株式会社内                                                                                                           |
|                                                                                                                                        |                              | Fターム(参考) | 2G043 BA16 EA01 EA14 GA02 GA06<br>GB03 GB19 HA01 HA02 JA02<br>KA09 LA03<br>2G059 AA05 BB12 EE02 EE07 GG01<br>JJ03 JJ11 JJ12 JJ25 KK04 |

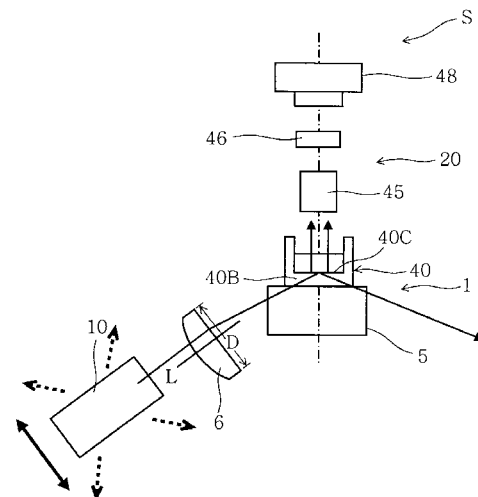
(54) 【発明の名称】 エバネッセント波発生装置及びそれを用いた観察装置

(57) 【要約】

【課題】入射角度の調整に伴う作業を簡便に行うことができるエバネッセント波発生装置とこの発生装置を用いた観察装置を提供する。

【解決手段】プリズム5内に導入された光によりエバネッセント波を発生させるエバネッセント波発生装置1において、光軸Lに平行な光が入射した場合に、入射位置にかかわらず、当該光を一点に集中させる屈折機能を有した導入用レンズ6と、この導入用レンズ6の光軸Lと平行な光を当該導入用レンズ6に入射させる光入射手段10とを備え、この光入射手段10から導入用レンズ6へ入射し、当該導入用レンズ6を通過した光をプリズム5内に導入すると共に、光入射手段10は、導入用レンズ6の光軸Lに対して平行に入射させる移動手段とを有し、導入用レンズ6の直径Dよりも狭い幅の光をこの導入用レンズ6に入射させる。

【選択図】 図1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

プリズム内に導入された光によりエバネッセント波を発生させるエバネッセント波発生装置において、

光軸に平行な光が入射した場合に、入射位置にかかわらず、当該光を一点に集中させる屈折機能を有した導入用レンズと、

該導入用レンズの光軸と平行な光を当該導入用レンズに入射させる光入射手段とを備え、

該光入射手段から前記導入用レンズへ入射し、当該導入用レンズを通過した光を前記プリズム内に導入すると共に、

前記光入射手段は、前記導入用レンズの光軸に対して平行に入射させる移動手段を有し、前記導入用レンズの直径よりも狭い幅の光を該導入用レンズに入射させることを特徴とするエバネッセント波発生装置。

## 【請求項 2】

前記光入射手段は、レーザー光を発生するレーザー光源を有し、該レーザー光源からのレーザー光を前記導入用レンズに入射させると共に、当該レーザー光源を移動させて前記導入用レンズへのレーザー光の入射位置を変更することを特徴とする請求項 1 に記載のエバネッセント波発生装置。

## 【請求項 3】

前記光入射手段は、前記入射位置の変更方向に対して所定の幅を有し、且つ、前記導入用レンズの光軸に平行な光を発生させる平行光発生手段と、該平行光発生手段からの光の一部が通過する窓孔を有した遮蔽部材とを備え、該遮蔽部材を移動させて前記導入用レンズへの光の入射位置を変更することを特徴とする請求項 1 に記載のエバネッセント波発生装置。

## 【請求項 4】

前記平行光発生手段は、点光源と、該点光源からの拡散光を前記導入用レンズの光軸に平行な光に屈折させる光源用レンズとを有することを特徴とする請求項 3 に記載のエバネッセント波発生装置。

## 【請求項 5】

前記平行光発生手段からの光を、波長に応じて選択的に通過させるフィルタを備えたことを特徴とする請求項 3 又は請求項 4 に記載のエバネッセント波発生装置。

## 【請求項 6】

前記エバネッセント波により、測定サンプルの散乱光、及び／又は、蛍光を検出する手段を備えたことを特徴とする請求項 1 乃至請求項 5 の何れかに記載のエバネッセント波発生装置を用いた観察装置。

## 【請求項 7】

前記エバネッセント波を用いた表面プラズモン共鳴による反射光強度の変化を検出する手段を備えたことを特徴とする請求項 1 乃至請求項 5 の何れかに記載のエバネッセント波発生装置を用いた観察装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、エバネッセント波を発生させるエバネッセント波発生装置及びそれを用いた観察装置に関するものである。

## 【背景技術】

## 【0002】

近年組織工学では、細胞培養を基本とした組織再生の研究が注目を集め、医療の質までもかえると言われている。その中でも、培養した細胞を医療デバイスに付与することで移植時に生体との適合性をあげる技術（例えば、骨基材の上に培養細胞をのせる技術）や、各機能を有する細胞へ培養する技術（例えば、間葉系幹細胞から心筋、血管、皮膚などの

10

20

30

40

50

細胞へ分化する技術)などが再生医療の発展により急速に進歩して来ている。このような細胞培養技術においては、培養された細胞の状態を評価した上で、医療目的で用いる必要があり、そのための装置や技術も組織工学の進歩と共に発展しつつある。

#### 【0003】

特に、エバネッセント波を用いた観察装置は、全反射面から細胞の一部(全反射面から上方約100nm)だけを観察することができ、バックグラウンドを抑えた鮮明な観察図を得ることが可能であるため、培養容器に接触し増殖する細胞の状態を、より明確に観察することができるものとして注目されつつある。

#### 【0004】

具体的には、例えば、観察する細胞の乗ったサンプル容器の底壁の上面(屈折率境界面であり、全反射面となる)にプリズムなどを利用し、所定角度で励起光を照射して、サンプル容器の底壁の上面(屈折率境界面、且つ、全反射面)で反射させ、そのとき全反射面の上に発生するエバネッセント波により全反射面から上方約100nmの間にある測定(観察)サンプル(細胞)を励起させるものである。

#### 【0005】

このように、光(エバネッセント波)が到達する領域を約100nmに限定して、その領域にある測定サンプル(細胞)から発生した散乱光や蛍光を検出することで、測定サンプルの状況をより明確に検出することが可能となり、バックグラウンドのノイズを抑えることができるようになり、より鮮明な蛍光観察が可能になった(例えば、特許文献1参照)。

#### 【0006】

また、このようなエバネッセント波を用いた観察装置として、表面プラズモン共鳴現象の原理を利用した観察装置もある。この装置は、プリズムの上面に形成された金属薄膜表面に測定サンプル(細胞)を配置し、この測定サンプルを配置した金属薄膜のプリズム側の面にプリズムを介して光(レーザー)を入射させると、金属薄膜と測定サンプルとの境界面に電子の粗密波SP(表面プラズモン)との共鳴が発生する。このとき、光(レーザー)の入射角度を変化させて金属薄膜のプリズム側の面で全反射させると、ある特定の入射角度で反射光が減衰する現象、即ち、表面プラズモン共鳴が生じる。この表面プラズモン共鳴が生じる光の入射角度(共鳴角)は、測定サンプルの誘電率に依存するので、この共鳴角を測定することで、金属薄膜表面における測定サンプルを観察することができるというものである。即ち、光の入射角度を調整して、共鳴角の変化を測定することで、金属薄膜表面で測定サンプルのプロセス(例えば、抗体と抗原の相互作用)をリアルタイムで定性、定量分析できるようになった(例えば、特許文献2参照)。

【特許文献1】特開平9-61346号公報

【特許文献2】特許第2758904号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

#### 【0007】

ところで、このような装置では、観察対象に照射する励起光を全反射が生じる角度である、臨界角以上の入射角度で全反射のポイントに入射させる必要がある。この全反射を起こすための臨界角(全反射のポイントの面に対して垂直な線と励起光とが成す角度)は、測定サンプルによって異なるため、測定サンプルに応じて適切な入射角度となるように調整しなければならなかった。また、臨界角以上の入射角でも臨界角に近いほどエバネッセント波が到達する領域は全反射面からの距離が遠くなり、反面、臨界角から離れるとエバネッセント波の到達する領域は全反射面からの距離が短くなることから、入射角を変えることで、照明領域が変わる(エバネッセント波到達領域を100nmから変更することができる)ことになり、観察の幅を広げるためにも入射角の調整が必要であった。従来では、励起光の角度を変更することにより入射角度を調整していた。しかしながら、励起光の角度を変更すると、全反射のポイントが変わってしまうため、当該全反射のポイントが対象の測定サンプルに合うように励起光照射手段の位置も移動させなければならず、作業性

10

20

30

40

50

の煩雑化を招いていた。

【0008】

本発明は、従来の技術的課題を解決するために成されたものであり、入射角度の調整に伴う作業を簡便に行うことができるエバネッセント波発生装置とこの発生装置を用いた観察装置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】

【0009】

請求項1の発明のエバネッセント波発生装置は、プリズム内に導入された光によりエバネッセント波を発生させるものであって、光軸に平行な光が入射した場合に、入射位置にかかわらず、当該光を一点に集中させる屈折機能を有した導入用レンズと、この導入用レンズの光軸と平行な光を当該導入用レンズに入射させる光入射手段とを備え、この光入射手段から導入用レンズへ入射し、当該導入用レンズを通過した光をプリズム内に導入すると共に、光入射手段は、導入用レンズの光軸に対して平行に入射させる移動手段を有し、導入用レンズの直径よりも狭い幅の光をこの導入用レンズに入射させることを特徴とする。

10

【0010】

請求項2の発明のエバネッセント波発生装置は、上記発明において光入射手段は、レーザー光を発生するレーザー光源を有し、このレーザー光源からのレーザー光を導入用レンズに入射させると共に、当該レーザー光源を移動させて導入用レンズへのレーザー光の入射位置を変更することを特徴とする。

20

【0011】

請求項3の発明のエバネッセント波発生装置は、請求項1に記載の発明において光入射手段は、入射位置の変更方向に対して所定の幅を有し、且つ、導入用レンズの光軸に平行な光を発生させる平行光発生手段と、この平行光発生手段からの光の一部が通過する窓孔を有した遮蔽部材とを備え、この遮蔽部材を移動させて導入用レンズへの光の入射位置を変更することを特徴とする。

【0012】

請求項4の発明のエバネッセント波発生装置は、請求項3に記載の発明において平行光発生手段は、点光源と、この点光源からの拡散光を導入用レンズの光軸に平行な光に屈折させる光源用レンズとを有することを特徴とする。

30

【0013】

請求項5の発明のエバネッセント波発生装置は、請求項3又は請求項4に記載の発明において平行光発生手段からの光を、波長に応じて選択的に通過させるフィルタを備えたことを特徴とする。

【0014】

請求項6の発明の観察装置は、請求項1乃至請求項5の何れかに記載のエバネッセント波発生装置により発生されたエバネッセント波により、測定サンプルの散乱光、及び／又は、蛍光を検出する手段を備えたことを特徴とする。

【0015】

請求項7の発明の観察装置は、請求項1乃至請求項5の何れかに記載のエバネッセント波発生装置により発生されたエバネッセント波を用いた表面プラズモン共鳴による反射光強度の変化を検出する手段を備えたことを特徴とする。

40

【発明の効果】

【0016】

本発明によれば、プリズム内に導入された光によりエバネッセント波を発生させるエバネッセント波発生装置において、光軸に平行な光が入射した場合に、入射位置にかかわらず、当該光を一点に集中させる屈折機能を有した導入用レンズと、この導入用レンズの光軸と平行な光を当該導入用レンズに入射させる光入射手段とを備え、この光入射手段から導入用レンズへ入射し、当該導入用レンズを通過した光をプリズム内に導入すると共に、光入射手段は、導入用レンズの光軸に対して平行に入射させる移動手段を有し、導入用レ

50

レンズの直径よりも狭い幅の光をこの導入用レンズに入射させるので、全反射のポイントが変わることなく、光の入射角度のみを変更することが可能となる。

【0017】

ここで、観察対象に照射する励起光を全反射が生じる角度である、臨界角以上の入射角度で全反射のポイントに入射させる必要がある。この全反射を起こすための臨界角は、測定サンプルによって異なるため、測定サンプルに応じて適切な入射角度となるように調整しなければならない。また、臨界角以上の入射角でも臨界角に近いほどエバネッセント波が到達する領域は全反射面からの距離が遠くなり、反面、臨界角から離れるとエバネッセント波の到達する領域は全反射面からの距離が短くなることから、入射角を変えることで、照明領域が変わる（エバネッセント波到達領域を100nmから変更することができる）ことになり、観察の幅を広げるためにも入射角の調整が必要である。従来では、励起光の角度を変更することにより入射角度を調整しており、その場合は励起光の角度を変更することにより、全反射のポイントも変わってしまうため、当該全反射のポイントが対象の測定サンプルに合うように励起光照射手段の位置も移動させなければならず、作業性の煩雑化を招いていたが、本発明によれば係る入射角度の調整に伴う作業を極めて簡便に行うことが可能となる。

10

【0018】

特に、請求項2の発明の如く光入射手段は、レーザー光を発生するレーザー光源を有し、このレーザー光源からのレーザー光を導入用レンズに入射させると共に、当該レーザー光源を移動させて導入用レンズへのレーザー光の入射位置を変更することで、簡単に全反射角を変えることができるようになる。また、単位面積当たりの出力の強いレーザー光源をつかうことで、より強いエバネッセント波を得ることができるようになる。

20

【0019】

更に、請求項1に記載の発明において、請求項3の発明の如く光入射手段は、入射位置の変更方向に対して所定の幅を有し、且つ、導入用レンズの光軸に平行な光を発生させる平行光発生手段と、この平行光発生手段からの光の一部が通過する窓孔を有した遮蔽部材とを備え、この遮蔽部材を移動させて導入用レンズへの光の入射位置を変更するので、遮蔽部材により必要な部分の光のみを導入用レンズに入射させることができるようになる。また、遮蔽部材の位置を移動させることで、全反射の位置を変えることなく、入射角度を変えることができるようになる。これにより、導入用レンズの光軸に平行な光を発生可能な光入射手段であれば、どのようなものであっても光源として用いることが可能となる。

30

【0020】

請求項4の発明では、請求項3に記載の発明において平行光発生手段は、点光源と、この点光源からの拡散光を導入用レンズの光軸に平行な光に屈折させる光源用レンズとを有するので、点光源により、幅広い波長の光を得ることができるようになる。

【0021】

請求項5の発明では、請求項3又は請求項4に記載の発明において平行光発生手段からの光を、波長に応じて選択的に通過させるフィルタを備えたので、フィルタにより任意の波長の光を自在に抽出することができるようになる。

【0022】

請求項6の発明の観察装置によれば、上記請求項1乃至請求項5の何れかに記載の発明のエバネッセント波発生装置にて発生されたエバネッセント波により、測定サンプルの散乱光、及び／又は、蛍光を検出する手段を備えたので、細胞などの観察対象となる測定サンプルの散乱光や蛍光を検出することができるようになる。

40

【0023】

これにより、上記各発明のエバネッセント波発生装置を用いて測定サンプルの散乱光や蛍光を検出することが可能となり、装置の簡略化を図ることができるようになる。従って、高感度な観察を可能とした観察装置を低コストにて構築することが可能となる。

【0024】

また、請求項7の発明の観察装置によれば、上記請求項1乃至請求項5の何れかに記載

50

の発明のエバネッセント波発生装置にて発生されたエバネッセント波を用いた表面プラズモン共鳴による反射光強度の変化を検出する手段を備えたので、測定サンプルのプロセスをリアルタイムで定量分析することができるようになる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0025】

以下、図面に基づき本発明の実施形態を詳述する。

【実施例1】

【0026】

図1は本発明の一実施例のエバネッセント波発生装置1を備えた観察装置Sの構成図、図2は図1の一部拡大図をそれぞれ示している。この観察装置Sは、後述するエバネッセント波発生装置1と、光検出手段20とを備える。具体的に、本実施例の観察装置Sは、エバネッセント波発生装置1により発せられたエバネッセント波を細胞等の観察対象物質となる測定サンプル（本実施例では測定対象を励起光の照射により蛍光を発する細胞とする）が収容されたサンプル容器40の下面から照射することにより、サンプル容器40の底壁40Bの上面40Cでエバネッセント波を発生させて、このエバネッセント波の発生面である上記サンプル容器40の底壁40Bの上面40Cから所定の範囲内にある細胞を励起させて、散乱光や蛍光を発生させ、この散乱光や蛍光をサンプル容器40の一方（図1では上方）に配置された光検出手段20にて検出する構成とされている。

【0027】

上記光検出手段20は、エバネッセント波発生装置1からの励起光により細胞からの散乱光や蛍光を検出するための手段である。本実施例の光検出手段20は、細胞からの散乱光や蛍光を集光するための対物レンズ45と、散乱光や蛍光から特定の波長を除去する光フィルタ（蛍光フィルタ）46と、この光フィルタ46を通過した散乱光や蛍光を結像する図示しない結像レンズと、結像レンズからの光像を二次元的に検出し、撮像するCCDカメラ48とから構成されている。尚、散乱光や蛍光を検出する手段は、本実施例の光検出手段に限らず、散乱光や蛍光を検出できるものであればどのような検出手段であっても差し支えない。例えば、実施例ではCCDカメラを用いるものとしたが、フォトダイオード等の受光素子を用いても構わない。

【0028】

更に、光検出手段として、エバネッセント波を用いた表面プラズモン共鳴による反射光強度の変化を検出する手段を用いるものとしても有効である。具体的に、その場合の観察装置は、この表面プラズモン共鳴現象の原理を利用した観察装置である。当該装置は、プリズムの上面に形成された金属（例えば金）薄膜表面に測定サンプル（細胞）を配置し、この測定サンプルを配置した金属薄膜のプリズム5側の面にプリズム5を介して光（レーザー）を入射させると、金属薄膜と測定サンプルとの境界面に電子の粗密波SP（表面プラズモン）との共鳴が発生する。

【0029】

このとき、光（レーザー）の入射角度を変化させて金属薄膜のプリズム5側の面で全反射させると、ある特定の入射角度で反射光が減衰する現象、即ち、表面プラズモン共鳴が生じる。この表面プラズモン共鳴が生じる光の入射角度（共鳴角）は、測定サンプルの誘電率に依存するので、この共鳴角を測定、即ち、エバネッセント波を用いた表面プラズモン共鳴による反射光強度の変化を検出することで、金属薄膜表面における測定サンプルを測定することができる。従って、光の入射角度を調整して、共鳴角の変化を測定することで、金属薄膜表面で測定サンプルのプロセス（例えば、抗体と抗原の相互作用）をリアルタイムで定性、定量分析することができる。

【0030】

次に、前述した本発明のエバネッセント波発生装置1について説明する。本発明のエバネッセント波発生装置1は、プリズム5と、導入用レンズ6と、光入射手段10とを備えたものであり、光入射手段10から導入用レンズ6に当該導入用レンズ6の光軸L（図2）と平行な光を入射し、この導入用レンズ6を通過した光をプリズム5内に導入するもの

である。

#### 【0031】

実施例のプリズム5は、BK7（SCHOTT GLASS社製）から成るもので、この屈折率は、1.52である。このプリズム5の一面（図1では左側面）は、後述する光入射手段10からの励起光をプリズム5内に入射するための光入射部とされている。

#### 【0032】

一方、前述した光入射手段10は、導入用レンズ6の光軸Lと平行な光を該導入用レンズ6に導入させるための手段であり、前記プリズム5内に光を入射するための励起光源と、導入用レンズ6の光軸Lに対して平行に上記光を入射させながら、当該光入射手段10をエバネッセント波が発生する面に対する光の入射角度が変化する方向に移動させる移動手段とを有する。そして、この光入射手段10は、導入用レンズ6の直径（本実施例では図1に示すD）よりも狭い幅の光を導入用レンズ6に入射させるよう構成されている。

#### 【0033】

具体的に、上記移動手段は図示しないモータ及びラックアンドピニオンギヤなどにより構成されており、導入用レンズ6の光軸Lに対して平行に上記光を入射させながら、エバネッセント波が発生する面であるサンプル容器40の底壁40Bの上面40Cに対する光の入射角度を変更する方向に移動させるものであり、本実施例では、図1及び図2に実線矢印で示すように導入用レンズ6の光軸Lに対して直交する方向に光入射手段10を移動可能に構成されている。尚、実施例では移動手段は、導入用レンズ6の光軸Lに対して直交する方向に光入射手段10を移動させるものとしたが、本発明の移動手段は、これに限らず、導入用レンズ6の光軸Lに対して平行に上記光を入射させながら、エバネッセント波が発生する面に対する光の入射角度を変更する方向に移動させるものであれば良く、例えば、図1に破線矢印で示す各方向に移動するものであっても本発明は有効である。

#### 【0034】

上記励起光源として、本実施例ではレーザー光を発生するレーザー光源を用いるものとする。即ち、本実施例の光入射手段10は、レーザー光を発生するレーザー光源を有し、このレーザー光源からのレーザー光を導入用レンズ6に入射させると共に、光入射手段10の移動によりこのレーザー光源も移動し、導入用レンズ6への入射位置を変更可能に構成されている。

#### 【0035】

他方、前述した導入用レンズ6は、光入射手段10とプリズム5との間に配置されており、図2（尚、図2に示した例ではエバネッセント波が発生する面はプリズム5の上面としている）に示すように導入用レンズ6の光軸Lに平行な光が入射した場合に、この導入用レンズ6への光の入射位置、及び、波長に拘わらず、当該光を一点に集中させる屈折機能を有したレンズである。本実施例では、この導入用レンズ6としてアクロマートレンズを用いるものとする。このアクロマートレンズは、光の波長で生じる色収差を補正したレンズである。具体的に、屈折率と色分散の異なる2枚のレンズ（凸レンズと凹レンズ）を貼り合わせて2色（通常は赤と青）の焦点位置のずれを補正したものである。尚、実施例では導入用レンズ6として、アクロマートレンズを用いるものとするが、3枚以上のレンズを組み合わせて、球面収差とコマを修正し、且つ、アクロマートレンズより色収差を小さくしたアポクロマートレンズを導入用レンズ6として用いるものとしても本発明は有効である。

#### 【0036】

そして、光入射手段10からの励起光（本実施例ではレーザー光）を導入用レンズ6の何れかの部分に、当該導入用レンズ6の光軸Lに対して平行に入射させると、この導入用レンズ6を通過した光は入射位置や波長に拘わらず、屈折して必ず或る一点に集中することとなる。そこで、当該光が集中する一点に測定サンプルを配置すると共に、この測定サンプルに照射する励起光を全反射が生じる角度である臨界角以上の入射角度で入射させて、当該測定サンプルの臨界面で反射させ、そのとき、全反射面の上側に発生するエバネッセント波により全反射面から上方の所定範囲内にある測定サンプルを励起させる。

## 【0037】

このように、入射位置や波長にかかわらず、当該光入射手段10からの光を一点に集中させる屈折機能を有した導入用レンズ6を設けて、光入射手段10から導入用レンズの直径Dよりも狭い幅の光を当該導入用レンズ6に入射させ、該導入用レンズ6を通過した光をプリズム5内に導入することで、導入用レンズ6を通過した光は、入射位置や波長に拘わらず、必ず一点に集中することとなる。即ち、光入射手段10からの光は、如何なる位置で導入用レンズ6に入射させたとしても、当該導入用レンズ6を経た光は、必ず一点に集中するので、光入射手段10の位置が変わった場合であっても全反射のポイントは変わらず、当該ポイントに入射される光の入射角度のみが変わることとなる。

## 【0038】

図6は、従来のエバネッセント波発生装置の説明図である。図6に示すように従来のエバネッセント波発生装置では、光入射手段100からの光を導入用レンズを介することなくそのままプリズム150内に導入していた。この場合、光入射手段からの入射角度を変更すると、全反射のポイントも変わってしまう。具体的に、全反射のポイントPに光入射手段100から光(a)をプリズム150内に導入していた状態から、光入射手段100の位置を変えることなく、入射角度のみを変更した場合について説明する。例えば、入射角度をより小さい入射角度に変更すると（この場合も入射角度は臨界角より大きいものとする）、光入射手段からの光の全反射のポイントは、図6に破線で示すように上記Pの位置より手前（光入射手段側）にずれてしまう。この場合、全反射ポイントをPの位置に合わせる（戻す）ためには、図6の(b)に示すように光入射手段100の位置を移動させなければならない。即ち、入射角度の変更に伴い、光入射手段100を移動して、全反射のポイントがPの位置となるように調整する必要がある。即ち、光入射手段100の入射角度の調整に加えて、光入射手段100を移動させて（図6では矢印の方向に移動させて）、全反射のポイントがPとなるように位置の調整を行わなければならない、作業性の煩雑化を招いていた。

## 【0039】

また、上記のような問題を解消すべく、図7に示すように光入射手段100をPを中心として移動させるものとすれば、当該光源の移動により、入射角度も調整することができる。具体的に、図7に示すように光(a)をプリズム150内に導入するAの状態から、入射角度を大きくするには、光源をBの位置に移動させることで、入射角度と光源の移動とを一度に行うことが可能であるが、光入射手段100をPを中心とした円弧方向に移動させるための格別な移動手段が必要となるため、製造コストが著しく高騰するという問題が生じることとなる。

## 【0040】

そこで、本発明では、光軸Lに平行な光が入射した場合に、入射位置にかかわらず、当該光を一点に集中させる屈折機能を有した導入用レンズ6と、この導入用レンズ6の光軸Lと平行な光を当該導入用レンズ6に入射させる光入射手段10とを備え、光入射手段10から導入用レンズ6へ入射し、当該導入用レンズ6を通過した光をプリズム5内に導入すると共に、光入射手段10は、導入用レンズ6の光軸Lに対して平行に光を入射させながら、図1の実施例におけるエバネッセント波が発生する面であるサンプル容器40の底壁40Bの上面40Cに対する光の入射角度を変更する方向に移動させる移動手段を有し、導入用レンズ6の直径Dよりも幅よりも狭い幅の光を当該導入用レンズ6に入射させるものとする。

## 【0041】

このように、本発明の如く入射位置や波長に拘わらず、光入射手段10からの光を一点に集中させる屈折機能を有した導入用レンズ6を設けて、導入用レンズ6の直径Dよりも狭い幅の光を当該導入用レンズ6に入射させ、且つ、その入射位置を変更することで、全反射のポイント（図2ではPで示すプリズム5の上面の一点。尚、図1ではサンプル容器40の底壁40Bの上面40Cの一点となる）が変わることなく、光の入射角度（全反射ポイントの面に垂直な線と入射光（励起光）とが成す角度）のみを変更することが可能と

なる。これにより、入射角度の調整に伴う作業を簡便に行うことが可能となる。

【0042】

特に、本実施例の如く光入射手段10が、レーザー光を発生するレーザー光源（例えば固体レーザー）を有し、このレーザー光源からのレーザー光を導入用レンズ6に入射させると共に、当該レーザー光源を移動させて導入用レンズ6へのレーザー光の入射位置を変更するものとすれば、レーザー光源は、単一面当たりの出力が強いので、全反射のポイントで強いエバネッセント波を得ることができる。これにより、より高感度の観察面を得ることができるようになる。

【実施例2】

【0043】

10

尚、上記実施例1では、光入射手段10としてレーザー光を発生するレーザー光源を有し、このレーザー光源からのレーザー光を導入用レンズ6に入射させると共に、当該レーザー光源を移動させて導入用レンズ6へのレーザー光の入射位置を変更するものとしたが、本発明の請求項1の発明に記載の光入射手段は、これに限定されるものではない。従って、レーザー光以外の光を光源として光入射手段を構成した場合であっても請求項1の発明は有効である。

【0044】

図3は、この場合の一実施例の導入用レンズ6への光の入射位置の変更により、エバネッセント波が発生する面に対する光の入射角度を変化させる方法を説明する図である。尚、図3において図1及び図2と同一の符号が付されたものは、同様、若しくは、類似の効果、或いは、作用を奏するものとして、説明を省略する。本実施例の光入射手段50は、入射位置の変更方向（導入用レンズ6の直径方向）に対して所定の幅を有し、且つ、導入用レンズ6の光軸Lに平行な光を発生させる平行光発生手段52と、遮蔽部材55とを備える。

20

【0045】

この遮蔽部材55は、平行光発生手段52からの一部の光を導入用レンズ6に入射させるための部材であり、平行光発生手段52からの光の一部を通過させるための窓孔56（スリット）を有している。この遮蔽部材55は平行光発生手段52と導入用レンズ6との間に配置されている。

【0046】

30

そして、この場合はモータ及びラックアンドピニオンギアなどにより構成された移動手段により、実施例では導入用レンズ6の光軸Lに対して直交する方向に遮蔽部材55を移動させて導入用レンズ6への光の入射位置を変更する。尚、この場合も図1の破線で示す方向に遮蔽部材55を移動させてもよい。これにより、この遮蔽部材55の窓孔56を通過する光入射手段50（平行光発生手段52）からの一部の光のみが導入用レンズ6に入射される。従って、本実施例では前記実施例の如く光源を移動させることなく、遮蔽部材55を移動させることで、入射角度を変更することが可能となる。具体的に、遮蔽部材55を移動させて、遮蔽部材55により必要な部分の光のみが導入用レンズ6に入射されるように調整することで、全反射のポイント（図3にPで示す）を変えることなく、容易に光の入射角度を変えることができるようになる。

40

【0047】

このように、光の一部が通過可能な窓孔56を有した遮蔽部材55を設けて、当該遮蔽部材55を移動することで、導入用レンズ6への光の入射位置を変更することができるので、全反射の位置を変えることなく、入射角度を変えることが可能となる。これにより、導入用レンズ6の光軸Lに平行な光を発生可能な平行光発生手段であれば、どのようなものであっても光源として用いることが可能となる。

【実施例3】

【0048】

次に、本発明のもう一つの他の実施例について図4を用いて説明する。尚、図4において図1乃至図3と同一の符号が付されているものは、同様、或いは、類似の効果を奏する

50

ものとして説明を省略する。図4に示す本実施例の光入射手段60の平行光発生手段65は、点光源67（例えば、キセノンランプ等）と、光源用レンズ68とを有する。この光源用レンズ68は、点光源67からの拡散光を導入用レンズ6の光軸Lに平行な光に屈曲させるためのレンズであり、点光源67と遮蔽部材55との間に配設されている。遮蔽部材55は、図3に示す前記実施例2と同様であるため説明を省略する。

#### 【0049】

この場合、点光源67の光は、拡散光であり、且つ、幅の広い波長の光であるが、光源用レンズ68を通過させることで、当該拡散光を屈折させて、導入用レンズ6の光軸Lに平行な光とすることができる。即ち、点光源67からの拡散光は、光源用レンズ68を通過する過程で導入用レンズ6の光軸Lと平行な光とされた後、遮蔽部材55により必要な部分の光のみが導入用レンズ6に入射されるように調整される。これにより、導入用レンズ6に当該導入用レンズ6の光軸Lと平行な必要な部分の光を入射させることが可能となる。また、導入用レンズ6を通過した光は前記実施例で詳述したように一点に集中される。これにより、点光源を用いた場合であっても、上記で詳述した本実施例の如き構成とすることで、全反射のポイント（図4にPで示す）を変えることなく、容易に光の入射角度を変更することができるようになる。

#### 【0050】

尚、本実施例、或いは、前記実施例2において、例えば、本実施例の構成において、図5に示すように平行光発生手段と導入用レンズ6との間に平行光発生手段からの光を波長に応じて選択的に通過させるフィルタ70を設置するものとすれば、複数の波長を含む光を光源として用いた場合であっても、当該フィルタ70により必要とされる特定の波長以外の光をカットし、当該特定の波長の光（予め設定された波長の光）のみを通過させることができる。このようにフィルタ70を設けることで、複数波長の光を含む光源からの光から任意の波長の光を自在に選択することができるようになる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0051】

【図1】本発明の一実施例のエバネッセント波発生装置を備えた観察装置の構成図である。（実施例1）

【図2】図1のエバネッセント波発生装置の一部拡大図である。

【図3】図1の観察装置の他の実施例のエバネッセント波発生装置の説明図である（実施例2）。

【図4】図1の観察装置のもう一つの他のエバネッセント波発生装置を説明する図である（実施例3）。

【図5】更にもう一つの他のエバネッセント波発生装置を説明する図である。

【図6】従来のエバネッセント波発生装置を示す説明図である。

【図7】従来のエバネッセント波発生装置のもう一つの説明図である。

#### 【符号の説明】

#### 【0052】

- S 観察装置
- 1 エバネッセント波発生装置
- 5 プリズム
- 6 導入用レンズ
- 10 光入射手段
- 20 光検出手段
- 40 サンプル容器
- 40B 底壁
- 45 対物レンズ
- 48 CCDカメラ

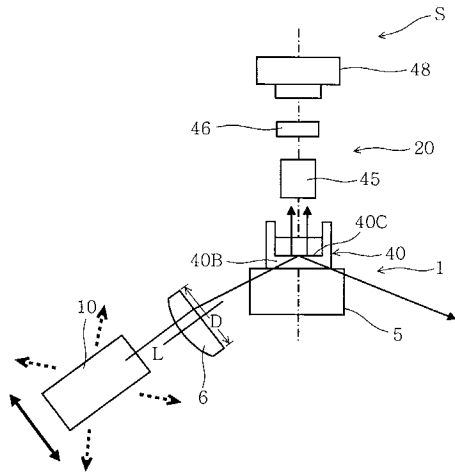
10

20

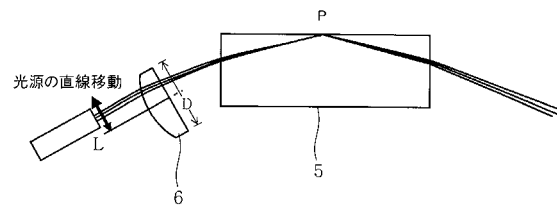
30

40

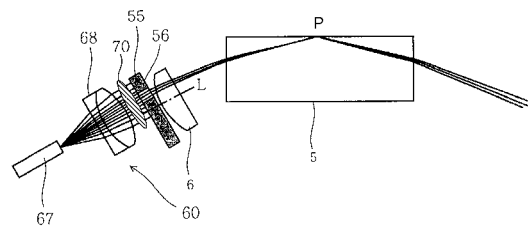
【図 1】



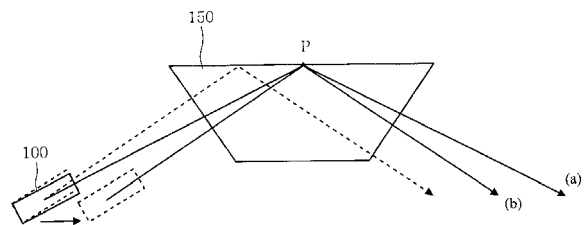
【図 2】



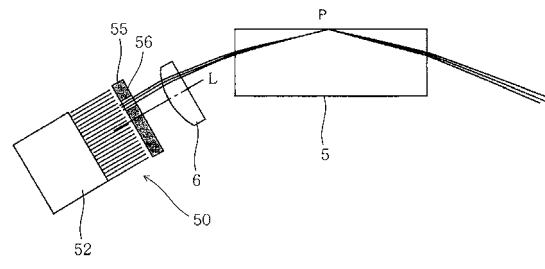
【図 5】



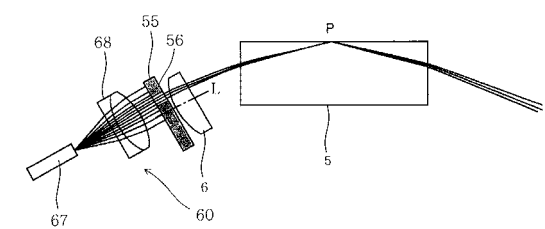
【図 6】



【図 3】



【図 4】



【図 7】

