

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02017/213171

発行日 平成31年3月22日 (2019. 3. 22)

(43) 国際公開日 平成29年12月14日 (2017. 12. 14)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 2 B 21/06 (2006. 01)</b>	GO 2 B 21/06	2 G O 4 3
<b>GO 1 N 21/64 (2006. 01)</b>	GO 1 N 21/64	E 2 G O 5 9
<b>GO 1 N 21/27 (2006. 01)</b>	GO 1 N 21/27	A 2 H O 5 2

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 38 頁)

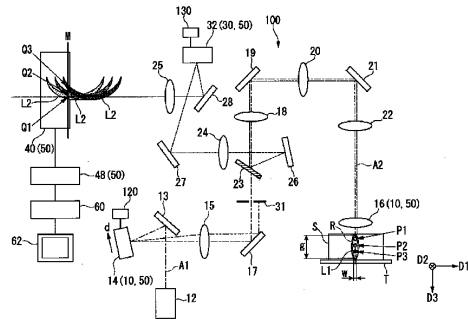
出願番号 特願2018-521751 (P2018-521751)	(71) 出願人 504157024 国立大学法人東北大学 宮城県仙台市青葉区片平二丁目1番1号
(21) 国際出願番号 PCT/JP2017/021138	
(22) 国際出願日 平成29年6月7日 (2017. 6. 7)	
(31) 優先権主張番号 特願2016-113770 (P2016-113770)	(74) 代理人 100106909 弁理士 棚井 澄雄
(32) 優先日 平成28年6月7日 (2016. 6. 7)	(74) 代理人 100188558 弁理士 飯田 雅人
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	(74) 代理人 100141139 弁理士 及川 周
	(72) 発明者 小澤 祐市 宮城県仙台市青葉区片平二丁目1番1号 国立大学法人東北大学内
	Fターム(参考) 2G043 AA04 CA06 EA01 FA01 HA01 HA02 HA09 JA02 KA01 KA02

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 光学情報検知装置及び顕微鏡システム

(57) 【要約】

本発明に係る光学情報検知装置50は、光軸A1に沿って幅寸法wよりも大きい長さ寸法gに亘り集光されているニードル状スポット光L1を生成するニードル状スポット光照射部10と、検知対象物Sの位置P1, P2, P3から発せられた出射光をシフトスポット光L2に変換するシフトスポット光変換部30と、受光面Mに沿ってシフトスポット光L2を受光するシフトスポット光受光部40と、シフトスポット光L2から位置P1, P2, P3の光学情報を取得する光学情報取得部48と、を備えている。



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

第一の光軸に沿って該第一の光軸に直交する方向に集光されている幅寸法よりも大きい長さ寸法に亘り集光されているニードル状スポット光を生成し、該ニードル状スポット光を検知対象物に照射するニードル状スポット光照射部と、

前記検知対象物における前記ニードル状スポット光の照射領域内の前記第一の光軸上の位置から発せられた出射光を、該出射光の第二の光軸に沿って移動するに従って該第二の光軸に交差する受光面における集光位置が前記検知対象物における前記第一の光軸上の前記出射光が出射された前記位置に応じて変化するようにシフトするシフトスポット光に変換するシフトスポット光変換部と、

10

前記受光面に沿って前記シフトスポット光を受光するシフトスポット光受光部と、

前記シフトスポット光受光部によって受光された前記シフトスポット光から前記出射光の出射位置の光学情報を取得する光学情報取得部と、

を備えていることを特徴とする光学情報検知装置。

**【請求項 2】**

前記ニードル状スポット光照射部は、

光源と、

前記光源から発せられた光を前記ニードル状スポット光に変換するために前記光源から発せられた光を変調する光変調部と、

前記光変調部によって変調された前記光を前記検知対象物に集光させ、前記ニードル状スポット光を生成するニードル状スポット光生成部と、

20

を備えていることを特徴とする請求項 1 に記載の光学情報検知装置。

**【請求項 3】**

前記ニードル状スポット光は、前記第一の光軸上に高光強度部を有するベッセルビームであることを特徴とする請求項 1 又は請求項 2 に記載の光学情報検知装置。

**【請求項 4】**

前記シフトスポット光変換部は、

前記出射光を変調することにより前記出射光を前記シフトスポット光に変換する出射光変調部を備えていることを特徴とする請求項 1 から請求項 3 の何れか一項に記載の光学情報検知装置。

30

**【請求項 5】**

前記シフトスポット光は、前記第二の光軸に対して放物線状に湾曲するエアリービームであることを特徴とする請求項 1 から請求項 4 の何れか一項に記載の光学情報検知装置。

**【請求項 6】**

請求項 1 から請求項 5 の何れか一項に記載の光学情報検知装置と、

前記光学情報取得部によって前記シフトスポット光から取得された光学情報に基づいて前記検知対象物に関するイメージ情報を作成するイメージ情報作成部と、

を備えていることを特徴とする顕微鏡システム。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】**

40

**【0001】**

本発明は、光学情報検知装置及び顕微鏡システムに関する。本願は、2016年6月7日に、日本に出願された特願2016-113770号に基づき優先権を主張し、その内容をここに援用する。

**【背景技術】****【0002】**

レーザー光は、位相がそろったコヒーレント光であり、指向性・単色性に優れ、高輝度であるという特徴を有することから、画像処理・通信・計測・医療をはじめとする様々な分野で応用されている。このようなレーザー光を発するレーザー光源を顕微鏡用の光源として用いたレーザー顕微鏡の一つに、走査型レーザー顕微鏡がある。走査型レーザー顕微

50

鏡は、レーザー光をビームとして走査させて試料（検知対象物）を観察する装置であり、高い光強度を有する光を照射された試料からの蛍光や燐光現象を観察することによって試料を観察する蛍光顕微鏡として利用されることが多い。近年では、走査型レーザー顕微鏡を用いた蛍光顕微鏡が生体物質の刺激に対する時間応答の解析等に用いられている。

#### 【0003】

例えば特許文献1には、レーザービームを試料に照射するための照射手段がレーザービームを適宜遮断するシャッターとシャッターの開閉を制御する手段とを有する走査型レーザー顕微鏡が開示されている。この走査型レーザー顕微鏡では、シャッターが開く前にレーザービームを走査するための走査手段によってビームの走査が開始され、シャッターが閉じた後も走査が続けられる。

10

特許文献1に記載の走査型レーザー顕微鏡では、シャッターが開かれてレーザービームが試料に照射される以前にレーザービームの走査が開始される。レーザービームの走査速度はシャッターが開かれるまでの間に所定の速度に達するので、機械的な機構に起因する走査開始時の応答遅れがなくなる。走査手段によってシャッターが閉じられた後もレーザービームの走査が続けられるので、シャッターが開いている間、実質的に画像形成に必要な情報、すなわち光検出器の出力が画像形成手段に取り込まれ、前記情報に基づいて画像が形成される。その結果、レーザービームの走査に要する時間、すなわち試料の観察に要する時間の短縮が図られる。

#### 【先行技術文献】

#### 【特許文献】

20

#### 【0004】

【特許文献1】特開平5-173077号公報

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0005】

上述した様々な応用分野では、試料のリアルタイムでの三次元画像化が求められている。従来の走査型レーザー顕微鏡では、照射光の光軸に直交する面方向の二次元画像を取得し、照射光の光軸に沿って、すなわち試料の厚み方向に走査型レーザー顕微鏡又は試料を相対的に移動させて再び二次元画像を取得し、このような動作を繰り返して得られた複数の二次元画像を画像処理等によって重ねることにより、三次元画像が構築されている。

30

#### 【0006】

特許文献1に記載の走査型レーザー顕微鏡をはじめとする従来の走査型レーザー顕微鏡では、照射光の光軸に直交する面方向の照射光の高速走査及び二次元画像の高速取得が可能であっても、照射光の光軸に沿って走査型レーザー顕微鏡又は試料を移動させるのに時間がかかるという問題があった。その結果、重ね合わせる複数の二次元画像の取得時間に差が生じ、様々な応用分野で求められるレベルのリアルタイムでの三次元画像の取得が困難であった。特に、生命機能解析等のバイオ分野や医療分野では生きた状態での細胞を観察することも多く、より高速且つ鮮明な三次元画像の取得実現が強く望まれている。高速且つ鮮明な三次元画像を取得するためには、機械的な走査等を必要とせず、試料において照射光の光軸上の異なる位置の光学情報を瞬時に取得可能な光学情報検知装置が求められる。

40

#### 【0007】

本発明は、上述の問題に鑑みてなされたものであり、検知対象物の照射領域における照射光の光軸に沿った方向において異なる位置からの光学情報をより高速に取得可能な光学情報検知装置及び顕微鏡システムを提供することを課題としている。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0008】

本発明者らは、光軸に沿って、該光軸に直交する方向に集光されている幅寸法よりも大きい長さ寸法に亘り集光されているニードル状スポット光を、光軸が厚み方向に略平行するように検知対象物に照射することで、検知対象物における厚み方向の照射領域内を一斉

50

に励起できることに着目した。また、励起された照射領域内の光軸上の互いに異なる位置から出射された出射光を、出射光の光軸に沿って移動するに従って出射光の光軸に交差する受光面における集光位置が検知対象物において励起された照射領域内の出射位置に応じて変化するようにシフトするシフトスポット光に変換することで、座標変換がなされる。前記座標変換により、光軸に沿う方向の互いに異なる位置の光学情報を受光面上の互いに異なる位置に集光させ、光学系や検知対象物を相対的に移動させなくても受光面上の光学情報を一括して取得することができることを見出し、本発明を完成させた。

すなわち、本発明は、上述の課題を解決するため、以下の手段を提供する。

【0009】

(1) 本発明の一態様にかかる光学情報検知装置は、第一の光軸に沿って該第一の光軸に直交する方向に集光されている幅寸法よりも大きい長さ寸法に亘り集光されているニードル状スポット光を生成し、該ニードル状スポット光を検知対象物に照射するニードル状スポット光照射部と、前記検知対象物における前記ニードル状スポット光の照射領域内の前記第一の光軸上の位置から発せられた出射光を、該出射光の第二の光軸に沿って移動するに従って該第二の光軸に交差する受光面における集光位置が前記検知対象物における前記第一の光軸上の前記出射光が出射された前記位置に応じて変化するようにシフトするシフトスポット光に変換するシフトスポット光変換部と、前記受光面に沿って前記シフトスポット光を受光するシフトスポット光受光部と、前記シフトスポット光受光部によって受光された前記シフトスポット光から前記出射光の出射位置の光学情報を取得する光学情報取得部と、を備えている。

10

20

【0010】

(2) 上記(1)に記載の光学情報検知装置において、前記ニードル状スポット光照射部は、光源と、前記光源から発せられた光を前記ニードル状スポット光に変換するために前記光源から発せられた光を変調する光変調部と、前記光変調部によって変調された前記光を前記検知対象物に集光させ、前記ニードル状スポット光を生成するニードル状スポット光生成部と、を備えていてもよい。

【0011】

(3) 上記(1)又は(2)の何れかに記載の光学情報検知装置において、前記ニードル状スポット光は、前記第一の光軸上に高光強度部を有するベッセルビームであってもよい。

30

【0012】

(4) 上記(1)から(3)の何れか一つに記載の光学情報検知装置において、前記シフトスポット光変換部は、前記出射光を変調することにより前記出射光を前記シフトスポット光に変換する出射光変調部を備えていてもよい。

【0013】

(5) 上記(1)から(4)の何れか一つに記載の光学情報検知装置において、前記シフトスポット光は、前記第二の光軸に対して放物線状に湾曲するエアリービームであってもよい。

【0014】

本発明の一態様にかかる顕微鏡システムは、上記(1)から(5)の何れか一項に記載の光学情報検知装置と、前記光学情報取得部によって前記シフトスポット光から取得された光学情報に基づいて前記検知対象物に関するイメージ情報を作成するイメージ情報作成部と、を備えている。

40

【発明の効果】

【0015】

本発明の一態様に係る光学情報検知装置及び顕微鏡システムによれば、第一の光軸に沿って幅寸法よりも大きい長さ寸法に亘り検知対象物に対してニードル状スポット光が照射され、照射領域内の第一の光軸上の互いに異なる位置から一斉に出射された出射光がシフトスポット光に変換されるので、検知対象物におけるニードル状スポット光の照射領域内の光軸上の互いに異なる位置の光学情報を受光面上の互いに異なる位置に集光させ、光学

50

情報検知装置の光学系や検知対象物を相対的に移動させなくても受光面上の光学情報を一括して同時に取得することができる。従って、検知対象物の照射領域内の第一の光軸上で異なる位置からの光学情報をより高速に取得できる。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】本発明の一態様にかかる光学情報検知装置の模式図である。

【図2】本発明の一態様にかかる光学情報検知装置の光変調部における位相変調パターンの一例を示す模式図である。

【図3】本発明の一態様にかかる光学情報検知装置の出射光変調部における位相変調パターンの一例を示す模式図である。

【図4】本発明の一態様にかかる光学情報検知装置に適用可能なニードル状スポット光の形成方法を説明するための模式図である。

【図5】本発明の一態様にかかる光学情報検知装置に適用可能なニードル状スポット光の別の形成方法を説明するための模式図である。

【図6】実施例1において、光学情報検知装置のニードル状スポット光照射部で形成された光（環状光）の強度分布を対物レンズの瞳位置で測定した結果を示す画像である。

【図7】実施例1において、光学情報検知装置のニードル状スポット光照射部で形成されたニードル状スポット光の強度分布を測定した結果を示す画像である。

【図8】実施例1において、個々の微小金属粒子からの散乱光の二次元強度分布を、位置 $z$ を変化させつつ測定した結果を示す画像である。

【図9】図8に示す散乱光の二次元強度分布の各々について、最も高い光強度の位置を通る $x$ 方向に対して、該位置で $x$ 方向に直交する $y$ 方向にCCDの10画素分で積算した強度プロファイルを示すグラフである。

【図10】実施例2における蛍光イメージングのための光学情報検知装置の模式図である。

【図11】実施例2において、平面波状の光ビームを集光することで形成される通常のスポット光の場合（1倍）、及び図10に示す光変調部14で環状の位相変調パターンを設定することでニードルスポット状スポットを形成し、焦点深度（depth of focus: DOF）を通常の集光スポットに対して2倍、5倍、10倍、15倍にそれぞれ変化させた場合の強度分布の測定結果を示す図である。

【図12A】図11に示す通常のスポット光の強度分布における $x$ 方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図12B】図11に示すニードル状スポット光の焦点深度を2倍に変化させた場合の強度分布における $x$ 方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図12C】図11に示すニードル状スポット光の焦点深度を5倍に変化させた場合の強度分布における $x$ 方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図12D】図11に示すニードル状スポット光の焦点深度を10倍に変化させた場合の強度分布における $x$ 方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図12E】図11に示すニードル状スポット光の焦点深度を15倍に変化させた場合の強度分布における $x$ 方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図13A】図11に示す通常のスポット光の強度分布における $z$ 方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図13B】図11に示すニードル状スポット光の焦点深度を2倍に変化させた場合の強度分布における $z$ 方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図13C】図11に示すニードル状スポット光の焦点深度を5倍に変化させた場合の強度分布における $z$ 方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図13D】図11に示すニードル状スポット光の焦点深度を10倍に変化させた場合の強度分布における $z$ 方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図13E】図11に示すニードル状スポット光の焦点深度を15倍に変化させた場合の強度分布における $z$ 方向のビームプロファイルを示すグラフである。

10

20

30

40

50

【図14】実施例2において、1光子励起時のニードル状スポット光の強度分布（焦点深度；15倍）と2光子励起時における通常の集光スポット（焦点深度1倍）及び焦点深度を15倍としたニードル状スポット光の強度分布の測定結果を示す図である。

【図15A】図14に示す2光子励起時の通常の集光スポット光（焦点深度；1倍）の強度分布におけるx方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図15B】図14に示す2光子励起時のニードル状スポット光（焦点深度；15倍）の強度分布におけるx方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図16A】図14に示す2光子励起時の通常の集光スポット光（焦点深度；1倍）の強度分布におけるz方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図16B】図14に示す2光子励起時のニードル状スポット光（焦点深度；15倍）の強度分布におけるz方向のビームプロファイルを示すグラフである。

【図17】実施例2において、EMCCD上での蛍光ビーズの蛍光像（エアリービームパターン）を示す図である。

【図18】実施例2において、蛍光ビーズをニードル状スポット光に沿って走査させた場合の蛍光像を示す図である。

【図19】実施例2において、EMCCD上でのエアリービームパターンのx方向における強度分布を示す図であり、蛍光ビーズを焦点位置（ $z = 0$ ）から  $z = 7 \mu\text{m}$  へと変化させたときの蛍光像の強度分布を示す図である。

【図20】実施例2において、エアリービームのスポットのxy面（x方向及びy方向に広がる面）内におけるシフト量とスポットサイズとの関係を示す図である。

【図21】実施例2において、パラメータpが  $p = 3$  及び  $p = 5$  の場合のエアリービームのスポットのxy面内におけるシフト量とスポットサイズとの関係を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0017】

以下、本発明について、図面を参照して詳細に説明する。なお、以下の説明で用いる図面は模式的なものであり、長さ、幅、及び厚みの比率等は実際のものと同一とは限らず、適宜変更することができる。

【0018】

図1は、本発明の一態様にかかる顕微鏡システム100の模式図である。

図1に示すように、顕微鏡システム100は、少なくとも光学情報検知装置50を備え、その他にイメージ情報作成部60を備えている。

【0019】

[光学情報検知装置]

光学情報検知装置50は、ニードル状スポット光照射部10と、シフトスポット光変換部30と、シフトスポット光受光部40と、光学情報取得部48と、を備えている。光学情報検知装置50では、後述するニードル状スポット光L1を生成し、ニードル状スポット光L1の光軸（第一の光軸）A1が検知対象物Sの方向D3（すなわち、検知対象物Sの厚み方向）に略平行するようにニードル状スポット光L1を検知対象物Sに照射する。また、光学情報検知装置50では、検知対象物Sにおけるニードル状スポット光L1の照射領域R内の光軸A1上の互いに異なる位置P1, P2, P3から出射された出射光をシフトスポット光L2に変換するので、受光面Pで受光したシフトスポット光L2から出射光が発せられた位置P1, P2, P3の光学情報が検知される。

なお、図1には、検知対象物Sにおける照射領域R内の光軸A1上の互いに異なる位置として位置P1, P2, P3の三点を例示しているが、光学情報検知装置50の検知位置には照射領域R内の全位置が該当し、その数は限定されない。

【0020】

(ニードル状スポット光照射部)

ニードル状スポット光照射部10は、光軸A1に沿って光軸A1に直交する方向D1, D2の面内に集光されている幅寸法wよりも大きい長さ寸法gに亘り集光されているニードル状スポット光L1を生成し、ニードル状スポット光L1を検知対象物Sに照射する構

10

20

30

40

50

成を備えている。

【0021】

ニードル状スポット光 L1 は、上述のように幅寸法 w よりも長さ寸法 g が大きく集光され、非回折なスポット光であれば特に限定されない。このように非回折なスポット光であることで、照射領域 R に向けて強い光が確実に照射され、照射領域 R 内の検知対象物 S が一斉に励起される。ニードル状スポット光 L1 の長さ寸法 g が幅寸法 w に対して大きくなると、検知対象物 S の厚み方向の光学情報を一括して取得することができるという効果が高まる。

【0022】

なお、後述する光変調部 14 を備えていない従来の走査型レーザー顕微鏡では、検知対象物 S に対して、光変調を受けずに集光されたスポット光（以下、通常のスポット光とする）が照射される。通常のスポット光における方向 D3 の長さ寸法は、従来の走査型レーザー顕微鏡における方向 D3 の空間分解能に相当し、光源から発せられる光の波長と集光レンズの開口数に依存する。例えば、ニードル状スポット光 L1 の長さ寸法 g が通常のスポット光の方向 D3 の長さ寸法よりも 10 倍大きい場合は、本態様の顕微鏡システム 100 を用いると、検知対象物 S の三次元情報を従来の走査型レーザー顕微鏡に比べて約 1/10 の時間で測定することができる。すなわち、従来の走査型レーザー顕微鏡を用いて、ニードル状スポット光 L1 を用いる本態様の顕微鏡システム 100 と同じ厚み寸法の三次元情報を得るためには、方向 D3 に沿って 10 点分の二次元走査が必要であるから、測定時間が約 10 倍かかることになる。

10

20

【0023】

ニードル状スポット光 L1 の一例としては、ベッセルビームが挙げられる。ベッセルビームは、その波面が伝搬軸（すなわち、光軸 A1）の回転対称軸とした円錐面と与えられ、干渉によって伝搬軸に沿って軸状に高光強度部が生成されるビームであり、ビームの径方向（すなわち、方向 D1, D2）の光強度分布が名前の通りベッセル関数の二乗で表される。本態様では、ニードル状スポット光 L1 がベッセルビームであると想定して説明する。

【0024】

ニードル状スポット光照射部 10 は、光源 12 と、光源 12 から発せられた光（図示略）をニードル状スポット光 L1 に変換するために光源から発せられた光を変調する光変調部 14 と、光変調部 14 によって変調された光を検知対象物 S に集光させ、ニードル状スポット光 L1 を生成するニードル状スポット光生成部 16 と、を備えている。

30

【0025】

光源 12 は特に限定されないが、光源 12 から発せられた光をニードル状スポット光 L1 として検知対象物 S に照射した際に、照射領域 R 内から光軸 A2 に沿ってニードル状スポット光 L1 とは反対方向に出射する光が得られるように、適当な波長及び光強度、パワー等の特性、仕様を備えたものが好ましい。

【0026】

光変調部 14 は、光源 12 から発せられ、全反射ミラー 13 によって反射された光の振幅、位相等の任意の物理量を変調し、少なくとも検知対象物 S の内部に、検知対象物 S の厚み方向に平行して光軸 A1 に長く延びるニードル状スポット光 L1 を生成するように構成されている。ここで、「少なくとも検知対象物 S の内部に」とは、ニードル状スポット光 L1 を検知対象物 S の内部に直接形成する場合と、光軸 A1 に沿う方向において検知対象物 S よりも光源 12 に近い位置でニードル状スポット光 L1 が形成され、そのニードル状スポット光 L1 が非回折で検知対象物 S の内部に照射される場合の両方を含んでいる。

40

【0027】

光変調部 14 の一例としては、空間的な光の振幅や位相の分布を変調可能な空間光変調器（Spatial Light Modulator：SLM）が挙げられる。SLM としては、例えば液晶を用いて上述の変調を行う空間光位相変調器（Liquid Crystal on Silicon：LCOS-SLM）や、マイクロミラーを用いて上述の変調を行う微小電気機械システム（Micro Elec

50

tro Mechanical Systems : MEMS) によるデジタル・マイクロミラー・デバイス (Digital Micromirror Device : DMD) 等がある。本態様では、光変調部 14 として、反射型の LCOS - SLM が用いられている。

【0028】

ニードル状スポット光生成部 16 は、光変調部 14 によって変調された光を検知対象物 S の所定の領域にニードル状スポット光 L1 として集光する構成を備えている。本態様では、ニードル状スポット光生成部 16 として、対物レンズが用いられている。

【0029】

光変調部 14 とニードル状スポット光生成部 16 との間には、光変調部 14 によって変調された光を伝搬させて検知対象物 S に照射する照射側光学系として、光変調部 14 に近い方から光軸 A1 に沿って集光レンズ 15, 18, 20, 22 が順次配置されている。なお、集光レンズ 22 は、複レンズである。集光レンズ 15, 18, 20, 22 の各レンズは、光軸 A1 上において、光変調部 14 がニードル状スポット光生成部 16 をなす対物レンズの瞳面をリレーした位置に配されるように、適宜配置されている。集光レンズ 15, 18 の間、集光レンズ 18, 20 の間及び集光レンズ 20, 22 の間には、それぞれ光路折返し用の全反射ミラー 17, 19, 21 が配置されている。

光変調部 14 は、検知対象物 S の内部に集光するニードル状スポット光生成部 16 の長さ寸法  $g$  や幅寸法  $w$  をそれぞれ、後述するように検知対象物 S の光学情報の検知に適した所望の寸法にするためのニードル状スポット光設定部 120 を備えている。例えば、ニードル状スポット光設定部 120 は、光軸 A1 に沿って光源 12 から発せられた光の情報及び所望のニードル状スポット光 L1 の情報から光変調部 14 の変調パターンを算出するものであれば特に限定されない。ニードル状スポット光設定部 120 の一例としては、前記変調パターンを算出するプログラム等が内蔵されたコンピュータが挙げられる。ニードル状スポット光設定部 120 によれば、測定環境や検知対象物 S に応じて、所望の幅寸法  $w$  及び長さ寸法  $g$  を有するニードル状スポット光 L1 が設定される。通常の集光スポットにおける幅寸法と同程度の幅寸法  $w$  を有するニードル状スポットにおいて、通常の集光スポットの長さ寸法に比べて 10 倍以上の長さ寸法  $g$  が得られると、従来のレーザー顕微鏡を用いた 3 次元での画像化における面方向 (即ち、方向 D3 に直交する方向) の空間分解能が維持されつつ、最大で 10 倍の高速化が期待される。また、ニードル状スポット光設定部 120 では、前述のように方向 D3 において図る高速化の度合い (例えば、10 倍) に合わせ、光変調部 14 の変調パターンが算出される。また、ニードル状スポット光設定部 120 では、光変調部 14 とニードル状スポット光生成部 16 との間の光学素子 (例えば、集光レンズ 15, 18, 20, 22 等) の有無や各光学素子の情報が考慮される。光変調部 14 として SLM 等の能動型光学素子が用いられる場合、ニードル状スポット光設定部 120 から光変調部 14 への情報や信号によってリアルタイムに光変調部 14 における変調パターンが書き換え可能になり、ニードル状スポット光 L1 が高精度且つリアルタイムに設定される。

【0030】

また、集光レンズ 15, 18 の間の光軸 A1 上には、ビームスプリッタ 23 が配置されている。光変調部 14 から出射された光は、ビームスプリッタ 23 を透過し、ニードル状スポット光生成部 16 に向けて光軸 A1 上に出射される。

【0031】

図 1 に示すように検知対象物 S の所定の領域にニードル状スポット光 L1 としてベッセルビームを集光させるために、光変調部 14 としての LCOS - SLM では、光軸 A1 に直交する面内に配列されている複数の液晶分子のうち、図 2 に示すように、環状部 C に相当する部分の液晶分子についてのみ、入射波面を所定の角度に傾ける (所謂、チルトをつける) ための位相変調量 (すなわち、配向方向) :  $\exp[ikx\sin(\theta_d)]$  に設定する。前述の位相変調量 :  $\exp[ikx\sin(\theta_d)]$  において、 $k$  は波数 ( $= 2\pi / \text{波長}$ ) である。図 2 に示す各寸法は、波長を  $488 \text{ nm}$  とし、角度  $\theta_d$  が  $0.2^\circ$  である場合のものである。

【0032】

10

20

30

40

50



上述のように光変調部 14 としての LCOS - SLM の液晶分子が設定されることで、全反射ミラー 13 によって反射された光の波面（すなわち、位相の空間分布）が変調される。全反射ミラー 13 によって反射された光の波面が上述のように変調されることで、LCOS - SLM で反射された光はニードル状スポット光生成部 16 としての対物レンズの瞳面（図示略）において環状の光強度分布を有する。すなわち、対物レンズの瞳面には、環状の高光強度分布を有する光が形成される。なお、図 2 に示す破線 Q は、同図における対物レンズの瞳面の相対的な大きさを示している。

ニードル状スポット光設定部 120 によって図 2 に示す環状部 C の内径と外径との差を縮小することで、幅寸法 w に対する長さ寸法 g の比率を高め、ニードル状スポット光 L1 としたベッセルビームの焦点深度を増大させることができる。

#### 【0033】

光変調部 14 としての LCOS - SLM では、ニードル状スポット光設定部 120 からの信号により、光軸 A1 に直交する面内に配列されている複数の液晶分子のうち、環状部 C に相当する部分以外の液晶分子は変調されていない。

従って、環状部 C に相当する部分以外の液晶分子に照射された光の 0 次光は光変調部 14 で反射される。本態様では、集光レンズ 15 の光変調部 14 とは反対側の焦点位置（所謂、前側焦点距離）にアパーチャー 31 が設けられている。そのため、光変調部 14 の環状部 C 以外の部分から反射された無変調成分である 0 次光は、検知対象物 S の光学情報の取得には寄与せず、図 1 の二点破線で示すように集光レンズ 15 及び全反射ミラー 17 を通過して進むものの、アパーチャー 31 によって遮断され、検知対象物 S には照射されない。

#### 【0034】

（検知対象物）

検知対象物 S は、上述説明したニードル状スポット光照射部 10 から出射されたニードル状スポット光 L1 の光軸 A1 上に配置されている。検知対象物 S は、ニードル状スポット光 L1 を照射可能であって、照射されたニードル状スポット光 L1 によって刺激される物質や要素を含み、例えば生体であってもよく、非生体であってもよく、特に制限されない。

#### 【0035】

検知対象物 S において、ニードル状スポット光 L1 が照射された物質や要素からは、光の吸収、反射や蛍光、燐光、散乱光等の何らかの光学応答がなされる。本態様では、ニードル状スポット光 L1 が照射された検知対象物 S の照射領域 R 内の光軸 A1 上の位置 P1, P2, P3 から光軸 A2 に沿って発せられる散乱光を受光対象とする。

#### 【0036】

顕微鏡システム 100 は、検知対象物 S を載置するためのステージ T を備えている。ステージ T は、少なくともニードル状スポット光 L1 の光軸 A1 に直交する面内（すなわち、方向 D1, D2）において移動可能とされている。

#### 【0037】

（シフトスポット光変換部）

シフトスポット光変換部 30 は、検知対象物 S におけるニードル状スポット光 L1 の照射領域 R 内の光軸 A1 上の位置 P1, P2, P3 から発せられた出射光（図示略）を、シフトスポット光 L2 に変換する構成を備えている。シフトスポット光 L2 は、出射光の光軸（第二の光軸）A2 に沿って移動するに従って、光軸 A2 に交差する受光面 M における集光位置 Q1, Q2, Q3 が検知対象物 S における位置 P1, P2, P3 に応じて変化するようにシフトする光である。

#### 【0038】

シフトスポット光 L2 は、上述のように出射光の光軸 A2 に沿って移動するに従い、受光面 M における集光位置 Q1, Q2, Q3 が、出射光が出射された位置 P1, P2, P3 に応じて変化するようにシフトする非回折なスポット光であれば特に限定されない。シフトスポット光 L2 が非回折なスポット光であることによって、光軸 A2 上の任意の位置で

10

20

30

40

50

受光面 M を設定可能になり、且つ設定した受光面 M 上でシフトスポット光 L 2 の集光位置 Q 1 , Q 2 , Q 3 をより確実に異ならせ、シフトスポット光を高分解能で受光可能になる。複数のシフトスポット光 L 2 の個々に含まれる情報を分解するという観点から、受光面 M における集光位置 Q 1 , Q 2 , Q 3 の間隔は、受光面 M 上におけるシフトスポット光 L 2 のスポット径以上となるように設定されている。言い換えれば、検知対象物 S の厚み方向において、従来のレーザー走査顕微鏡の方向 D 3 の空間分解能のズレに対して、集光位置 Q 1 , Q 2 , Q 3 の間隔がシフトスポット光 L 2 のスポット径以上となるように設定されている。さらに、受光面 M における集光位置 Q 1 , Q 2 , Q 3 の間隔は、後述するシフトスポット光受光部 4 0 で集光位置 Q 1 , Q 2 , Q 3 に集光したシフトスポット光 L 2 を個別に検出可能な最小寸法以上であることが好ましく、シフトスポット光受光部 4 0 の二次元ディテクターの一つの画素サイズの整数倍であることがより好ましい。受光面 M における集光位置 Q 1 , Q 2 , Q 3 の間隔が上述の範囲内であれば、集光位置 Q 1 , Q 2 , Q 3 に集光するシフトスポット光 L 2 の個々に含まれる情報が分解され、検知対象物 S の厚み方向の光学情報を一括して高精度に取得することができるという効果がさらに高まる。

10

#### 【 0 0 3 9 】

シフトスポット光 L 2 の一例としては、エアリービームが挙げられる。エアリービームは、自由空間内で光軸 A 2 に対して放物線を描くように湾曲する放物線状のビームである。本態様では、シフトスポット光 L 2 がエアリービームであると想定して説明する。

#### 【 0 0 4 0 】

シフトスポット光変換部 3 0 は、ニードル状スポット光 L 1 の照射領域 R 内の光軸 A 1 上の位置 P 1 , P 2 , P 3 から発せられた出射光を変調することにより出射光をシフトスポット光に変換する出射光変調部 3 2 を備えている。

20

#### 【 0 0 4 1 】

出射光変調部 3 2 の一例としては、光変調部 1 4 と同様に、S L M 等が挙げられる。出射光変調部 3 2 への適用に好適な S L M としては、例えば L C O S - S L M や M E M S による D M D があり、これらに加えてメンブレン型のデフォーダブルミラー等がある。本態様では、出射光変調部 3 2 として、反射型の L C O S - S L M が用いられている。

出射光変調部 3 2 は、前述のシフトスポット光 L 2 の方向 D 1 , D 3 方向におけるシフト量や強度分布、集光位置 Q 1 , Q 2 , Q 3 をそれぞれ、シフトスポット光受光部 4 0 での受光に適した所望の量や分布、位置にするためのシフトスポット光設定部 1 3 0 を備えている。例えば、シフトスポット光設定部 1 3 0 は、光軸 A 2 に沿って検知対象物 S から発せられた厚み方向の情報及び所望のシフトスポット光 L 2 の情報から出射光変調部 3 2 の変調パターンを算出するものであれば特に限定されない。シフトスポット光設定部 1 3 0 の一例としては、前記変調パターンを算出するプログラム等が内蔵されたコンピュータが挙げられる。シフトスポット光設定部 1 3 0 によれば、測定環境や検知対象物 S の光学特性、シフトスポット光受光部 4 0 の二次元ディテクターの仕様・性能に応じて、所望のシフトスポット光 L 2 が設定される。例えば、受光面 M における集光位置 Q 1 , Q 2 , Q 3 の間隔は、受光面 M 上におけるシフトスポット光 L 2 のスポットの直径以上であって、シフトスポット光受光部 4 0 の二次元ディテクターで検出することができる最小寸法の 2 倍よりも大きくなるように設定されることが好ましい。シフトスポット光設定部 1 3 0 では、ニードル状スポット光生成部 1 6 とシフトスポット光受光部 4 0 との間の光学素子（例えば、集光レンズ 1 8 , 2 0 , 2 2 , 2 4 , 2 5 等）の有無や各光学素子の情報が考慮される。出射光変調部 3 2 として前述のように S L M 等の能動型光学素子が用いられる場合、シフトスポット光設定部 1 3 0 から出射光変調部 3 2 への情報や信号によってリアルタイムに出射光変調部 3 2 における変調パターンが書き換え可能になり、シフトスポット光 L 2 が高精度且つリアルタイムに設定される。

30

40

#### 【 0 0 4 2 】

本態様では、図 1 に示すように、ニードル状スポット光 L 1 の照射領域 R 内の光軸 A 1 上の位置 P 1 , P 2 , P 3 から光軸 A 2 に沿って、ニードル状スポット光 L 1 の進行方向とは反対向き（すなわち、方向 D 3 とは反対向き）に発せられる散乱光が出射光として受

50

光される。前述の散乱光から、照射領域 R 内の検知対象物 S に関する光学情報が検知される。シフトスポット光変換部 30 は、検知対象物 S における照射領域 R の光軸 A1 上の位置 P1, P2, P3 から発せられた光を出射光変調部 32 に向けて伝搬するための検知側光学系として、ニードル状スポット光 L1 の照射領域 R からビームスプリッタ 23 までの間は、光軸 A2 に沿って、ニードル状スポット光生成部 16 に用いられている対物レンズと、集光レンズ 18, 20, 22 と、光路折返し用の全反射ミラー 19, 21 と、をニードル状スポット光照射部 10 と共有している。

【0043】

光軸 A2 に沿って集光レンズ 18 から出射された出射光は、ビームスプリッタ 23 に対して光源 12 から発せられた光の入射面とは反対側から入射するので、出射光の一部がビームスプリッタ 23 で反射される。

光軸 A2 に沿って、ビームスプリッタ 23 と出射光変調部 32 との間には、上述の検知側光学系の続きとして、集光レンズ 24 が配置されている。ビームスプリッタ 23 と集光レンズ 24 との間、集光レンズ 24 と出射光変調部 32 との間には、それぞれ光路折返し用の全反射ミラー 26, 27 が配置されている。

【0044】

図 1 に示すように受光面 M にシフトスポット光 L2 としてエアリービームを集光させるために、出射光変調部 32 としての LCOS-SLM では、光軸 A2 に対して所定の角度をなして配列されている複数の液晶分子の位相変調量を公知の原理（例えば、S. Jia et al., Nature Photon. 8, 302-306 (2014) 等を参照）に基づいてシフトスポット光設定部 130 によって設定すると、光軸 A1 上の位置 P1, P2, P3 から発せられた出射光の波面が変調される。公知の方法では、図 3 に示すように、複数の液晶分子の全体としての波面が次に示す (1) 式で表される波面  $W(s, t)$  となるように、個々の液晶分子の位相変調量を制御する。

【0045】

【数 1】

$$W(s, t) = \exp\left(ik \frac{s^3 + t^3}{R_{eff}^3} p\right) \text{rect}\left(\frac{t}{\sqrt{2}h}\right) \quad (1)$$

【0046】

なお、上述の (1) 式において、 $R_{eff}$  は LCOS-SLM の位相変調領域の有効径であり、 $h$  は LCOS-SLM の位相変調領域の有効高さであり、 $p$  は LCOS-SLM の位相変調領域の中心に対して  $R_{eff}$  の位置での相対的な位相シフト量であり、 $k$  は波数 (=  $2\pi / \text{波長}$ ) である。例えば、 $p = 3$  であれば、LCOS-SLM の位相変調領域の中心に対して  $R_{eff}$  での位相変調量は  $6\pi = 3 \times 2\pi$  である。

【0047】

例えば、図 3 は (1) 式において  $p = 3$  としたときの場合の LCOS-SLM の液晶分子の位相変調量を模式的に示しており、頂部（すなわち、図 3 に示す位相変調領域 U の中心部）が平面で切断された三次関数的な位相分布が形成されていることを示す。

【0048】

LCOS-SLM によって位相変調された出射光が受光面 M でシフトスポット光 L2 として形成されるように、光軸 A2 に沿って出射光変調部 32 と受光面 M との間には、光路折り返し用の全反射ミラー 28、集光レンズ 25 が順次配置されている。検知側光学系において、光軸 A2 上における集光レンズ 24, 25 の各レンズ間の距離は、各レンズの焦点距離の和とされている。

従って、LCOS-SLM で反射された光は、全反射ミラー 28 で反射され、集光レンズ 25 に入射し、集光レンズ 25 によって、光軸 A2 に対して放物線を描くように湾曲す

10

20

30

40

50

る放物線状のエアリービームとして集光され、非回折で伝搬する。光軸 A 1 上の互いに異なる位置 P 1 , P 2 , P 3 から発せられた出射光に基づくエアリービームは、互いに略同様の湾曲形状を有し、光軸 A 2 に平行して互いにずれて分布する。

【 0 0 4 9 】

( シフトスポット光受光部 )

シフトスポット光受光部 4 0 は、受光面 M に沿ってシフトスポット光 L 2 を受光する構成を備えている。シフトスポット光受光部 4 0 としては、例えば C C D やイメージセンサ等のアレイ受光素子が挙げられる。

【 0 0 5 0 】

( 光学情報取得部 )

光学情報取得部 4 8 は、シフトスポット光受光部 4 0 によって受光されたシフトスポット光 L 2 の情報から検知対象物 S の三次元画像化等に必要な情報を取得するために設けられている。光学情報取得部 4 8 は、例えばコンピュータである。

【 0 0 5 1 】

光学情報取得部 4 8 には、シフトスポット光受光部 4 0 の受光面の受光素子の配列情報 ( ピクセル番号等 ) と検知対象物 S の照射領域 R 内の光軸 A 1 上の位置 P 1 , P 2 , P 3 との対応関係や、シフトスポット光受光部 4 0 からの情報に関する具体的な処理内容 ( 例えば、色情報とするのか、特定物質を強調するように表示するのか ) 等の詳細について予め記憶されている。また、光学情報取得部 4 8 には、シフトスポット光受光部 4 0 のからの情報に対するノイズ除去処理や、所望の情報を効果的に可視化するためのフィルタリング処理の機能等が備わっている。

【 0 0 5 2 】

( イメージ情報作成部 )

イメージ情報作成部 6 0 は、光学情報取得部 4 8 によって取得された検知対象物 S に関する情報から三次元画像をはじめとするイメージ情報を作成し、モニタ 6 2 に映し出す構成を備えている。なお、イメージ情報作成部 6 0 は、光学情報取得部 4 8 を構成するコンピュータに組み込まれていてもよい。これにより、シフトスポット光受光部 4 0 によって受光されたシフトスポット光 L 2 の情報を即時にモニタ等に映し出し、可視化することができる。

【 0 0 5 3 】

以上説明した光学情報検知装置 5 0 によれば、光軸 A 1 における幅寸法 w よりも長さ寸法 g に延びるように集光された非回折なニードル状スポット光 L 1 を検知対象物 S に照射することにより、検知対象物 S の光軸 A 1 に沿った奥行き方向 ( すなわち、検知対象物 S の厚み方向 ) に対してニードル状スポット光 L 1 の長さ寸法 g に亘って一斉に刺激が与えられる。そして、検知対象物 S におけるニードル状スポット光 L 1 の照射領域 R 内の異なる位置 P 1 , P 2 , P 3 から発せられた出射光を、非回折なシフトスポット光 L 2 に変換する。シフトスポット光 L 2 は、光軸 A 2 に沿って移動するに従って、受光面 M における集光位置 Q 1 , Q 2 , Q 3 が、出射光が出射された検知対象物 S の位置 P 1 , P 2 , P 3 に応じて変化するようにシフトする光である。出射光をシフトスポット光 L 2 に変換することで、検知対象物 S の厚み方向における情報を受光面 M の面内の情報へと変換することができる。これにより、ニードル状スポット光 L 1 を一回照射すれば、機械的な走査や装置の移動・制御を必要とせず、検知対象物 S の厚み方向の異なる位置の情報を光の速度で瞬時に取得し、検知することができる。さらに、光軸 A 1 に直交する面内で検知対象物 S への照射光を高速に走査する公知の技術と組み合わせれば、一回の二次元走査で検知対象物 S の三次元情報をより高速に取得することができる。

【 0 0 5 4 】

また、光学情報検知装置 5 0 によれば、ニードル状スポット光照射部 1 0 は、光変調部 1 4 と、ニードル状スポット光生成部 1 6 と、を備えているので、光源 1 2 から発せられた光を予め変調パターン等が設計・計算された光変調部 1 4 によって自在に且つ円滑に変調し、変調された光をニードル状スポット光生成部 1 6 によって検知対象物 S に集光し、

10

20

30

40

50

ニードル状スポット光 L 1 を生成することができる。

本態様では、光変調部 1 4 としてアクティブ素子である LCOS - SLM を用いているため、光源 1 2 から発せられた光の波面や特性、ニードル状スポット光 L 1 の長さ寸法 g に応じて液晶分子の位相変調量を自在に設定・変更し易く、光学情報検知装置 5 0 全体の設計自由度がより高まると共に、光源 1 2 から発せられた光に対する変調パターンが異なる毎に光変調部 1 4 を取り換えずに済む。

【 0 0 5 5 】

また、光学情報検知装置 5 0 によれば、ニードル状スポット光 L 1 としてベッセルビームを用いることで、光軸 A 1 に直交する方向 D 1 , D 2 の光強度分布がベッセル関数の二乗で表され、幅寸法 w 内に高光強度部が形成された照射光を非回折で検知対象物 S に照射し、検知対象物 S の所定の領域に対してより確実に刺激を与えることができる。

10

【 0 0 5 6 】

また、光学情報検知装置 5 0 によれば、シフトスポット光変換部 3 0 は、出射光変調部 3 2 を備えているので、検知対象物 S における照射領域 R 内の異なる位置 P 1 , P 2 , P 3 から発せられた出射光を予め変調パターン等が設計・計算された出射光変調部 3 2 によって自在に且つ円滑に変調し、シフトスポット光 L 2 を生成することができる。

本態様では、光変調部 1 4 と同様に、出射光変調部 3 2 としてアクティブ素子である LCOS - SLM を用いているため、検知対象物 S における照射領域 R 内の異なる位置 P 1 , P 2 , P 3 から発せられた出射光の波面や特性、シフトスポット光受光部 4 0 で検出可能な最小寸法等に応じて液晶分子の位相変調量を自在に設定・変更し易く、光学情報検知装置 5 0 全体の設計自由度がより高まると共に、検知対象物 S から発せられる出射光やシフトスポット光受光部 4 0 の仕様に依りて変調パターンが異なる毎に出射光変調部 3 2 を取り換えずに済む。

20

【 0 0 5 7 】

また、光学情報検知装置 5 0 によれば、シフトスポット光 L 2 としてエアリービームを用いることで、検知対象物 S における照射領域 R 内の異なる位置 P 1 , P 2 , P 3 からの出射光を光軸 A 2 に対して放物線を描くように湾曲する放物線状のビームとし、且つ異なる位置 P 1 , P 2 , P 3 毎に光軸 A 2 に沿って互いにずれるように分布させることができる。これにより、光軸 A 2 に交差する受光面 M で複数のシフトスポット光を切り出して個々のシフトスポット光をより確実に受光し、検知対象物 S における照射領域 R 内の異なる位置 P 1 , P 2 , P 3 の光学情報を精度良く検知することができる。

30

【 0 0 5 8 】

また、顕微鏡システム 1 0 0 によれば、上述の光学情報検知装置 5 0 と、イメージ情報作成部 6 0 と、を備えているので、ニードル状スポット光 L 1 を一回照射すれば、機械的な走査や装置の移動・制御を必要とせず、光学情報検知装置 5 0 によって検知した検知対象物 S における照射領域 R 内の異なる位置 P 1 , P 2 , P 3 の光学情報に基づいて検知対象物 S の三次元情報をより高速に取得し、三次元光イメージングを行うことができる。

【 0 0 5 9 】

以上、本発明の好ましい実施形態について詳述したが、本発明は係る特定の実施形態に限定されるものではなく、特許請求の範囲内に記載された本発明の要旨の範囲内において、種々の変形・変更が可能である。

40

【 0 0 6 0 】

また、上述の態様では、LCOS - SLM を用いてニードル状スポット光 L 1 としてのベッセルビームを生成する構成を例示したが、ベッセルビームを生成する方法は他にもいくつか知られている。例えば、図 4 に示すように、光源等からの平行光を環状の開口部 7 2 が形成された振幅マスク 7 1 に通し、透過した光をレンズ 7 3 で集光させることにより、光軸 A x に沿って光軸 A x に直交する方向で集光されている幅寸法よりも大きい長さ寸法に亘り集光するベッセルビーム B が生成される。この方法では、開口部 7 2 の直径 d 7 2 や幅 p 7 2 を変化させることで、ニードル状スポット光 L 1 の幅寸法に対する長さ寸法を制御することができる。

50

ベッセルビームを生成する別の方法としては、例えば、図5に示すように、光源等からの平行光を出射側が円錐形状に形成されているアキシコンレンズ74を用いて集光させることによって、ベッセルビームBが生成される。このように生成されたベッセルビームBをニードル状スポット光L1として用いても構わない。

【0061】

また、ニードル状スポット光L1としてベッセルビームを用いると、上述したように光軸A1に直交する方向D1, D2の幅寸法w内には高光強度部が形成されるが、同方向において高光強度部の外側にサイドローブとして微弱光が発生する。この微弱光が受光面Mにおいて本来検知すべき検知対象物Sの位置P1, P2, P3からの出射光に重なって受光されると、信号対雑音比(SN比)が低下し、位置P1, P2, P3の光学情報と微弱光の情報とが合わさった情報を検知してしまう。このようなSN比の低下を抑える観点から、光学情報検知装置50及び顕微鏡システム100には、公知の多光子励起顕微鏡の構成を導入することが好適である。多光子励起顕微鏡の構成を導入することで、n光子励起(nは正の整数である)の場合には励起光強度分布のn乗に比例して出射光の光強度が変わるため、微弱光の影響がより弱くなる。これにより、受光面Mにおいて微弱光は略検出されない程度に弱くなり、本来検知すべき検知対象物Sの位置P1, P2, P3の光学情報をより高精度に検知することができる。

10

【0062】

また、上述の態様では、検知対象物Sを載置するためのステージTがニードル状スポット光L1の光軸A1に直交する面内で移動可能とされている構成を例示して説明したが、検知対象物Sに対してニードル状スポット光L1を光軸Axに直交する面内で移動させる際には、検知対象物Sに対してニードル状スポット光L1が相対的に移動すればよい。従って、検知対象物S及びステージTの位置は固定し、ガルバノミラー等を用いてニードル状スポット光L1を検知対象物Sに対して光軸A1に直交する面内で走査させてもよい。

20

すなわち、顕微鏡システム100は、ニードル状スポット光L1を光軸A1に直交する面内で走査させることが可能なビーム走査型のレーザー顕微鏡であってもよい。

【0063】

また、上述の態様では、シフトスポット光としてエアリービームを採用して説明したが、光軸A2に沿って移動するに従い、受光面Mにおける集光位置Q1, Q2, Q3が、出射光が発せられた位置P1, P2, P3に応じて変化するようにシフトする非回折なスポット光であればよく、例えば光軸A2に対して湾曲はせず、光軸A2に沿って移動するに従い、光軸A2との距離が線形的に変化し、且つ出射光が発せられた位置P1, P2, P3毎にシフトスポット光が集光される位置Q1, Q2, Q3が異なってもよい。すなわち、シフトスポット光は光軸A2に対して傾斜し、出射光が発せられた位置P1, P2, P3毎に互いに平行に延びるスポット光であってもよい。

30

【0064】

また、上述の態様では、光変調部14及び出射光変調部32としてLCOS-SLMを用いているが、各変調部に入射する光波を入力側の光波とし、且つ各変調部から出力される光波を出力光として、入力波と出力波との関係から、各変調部における変調量を適宜算出し、予め設定しておいてもよく、適宜補正してもよい。また、各変調部に入射する光波を物体光とすると共に、適当な参照光を設定し、各変調部から出力される光波を出射させるような干渉縞を計算し、計算機合成ホログラム(Computer Generated Hologram: CGH)を光変調部14や出射光変調部32に適用してもよい。

40

【0065】

また、上述の顕微鏡システム100は検知対象物Sにおいて光軸A1に沿った方向の互いに異なる位置P1, P2, P3の光学情報を略同時取得することができるので、公知の多点走査型レーザー顕微鏡に導入してもよい。公知の多点走査型レーザー顕微鏡の導入により、光軸A1に直交する面内で互いに異なる位置の光学情報も略同時取得することができるので、検知対象物Sの三次元情報の取得及び三次元画像化が略瞬時に可能となる。

【0066】

50

また、上述の顕微鏡システム100では、検知側光学系に分散素子、或いは波長毎の出射光を、光軸A2に交差する方向であり、且つ光軸A1上の位置によって集光位置がずれる方向とは異なる方向に分離可能な構成を導入することで、出射光のスペクトル毎の光学情報の検出やスペクトルイメージングや多色イメージングが可能になる。従って、細胞等の生体試料を検知対象物Sとした際に、複数の検知用色素を検知対象物Sに付し、ニードル状スポット光L1によって照射領域R内を一斉に励起し、上述のようにスペクトルイメージングを行うと、細胞内の器官・機能・特定部位の局在の様子を観察することができる。

#### 【0067】

また、上述の光学情報検知装置50や顕微鏡システム100では、検知対象物Sにおいて、ニードル状スポット光L1が照射された物質や要素から散乱光が発せられるものとして説明したが、既述のように検知対象物Sからの光学応答は一光子励起や多光子励起を含む蛍光や、検知可能であれば、蛍光以外に、ラマン散乱光、第二高調波等の非線形発光、さらには光の吸収、反射や燐光等であってよい。これらの光学応答に合わせて、照射側光学系及び検知側光学系に使用する集光レンズや光路折り返し用の全反射ミラー、ビームスプリッタの配置や数を適宜変更することができる。

10

#### 【0068】

さらに、上述の光学情報検知装置50や顕微鏡システム100では、ニードル状スポット光L1を検知対象物Sに照射した際に、照射領域R内から光軸A2に沿ってニードル状スポット光L1とは反対方向に出射する光を検出対象としたが、照射領域R内から光軸A2に沿ってニードル状スポット光L1と同じ方向に出射する光を検出対象としても構わない。すなわち、本発明に係る光学情報検知装置及び顕微鏡システムは、図1に例示した反射型の構成を備えたものに限定されず、検知側光学系が検知対象物Sを基準として照射側光学系の反対側に配置されているような透過型の構成を備えてもよい。

20

#### 【実施例】

#### 【0069】

次いで、本態様の光学情報検知装置50及び顕微鏡システム100の効果を裏付けるために行った実施例について説明する。なお、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

#### 【0070】

30

#### (実施例1)

図1に示す光学情報検知装置50を構築し、ニードル状スポット光L1の照射領域R内の検知対象物Sの厚み方向における光学情報の検知について検証した。但し、光学情報取得部48は省略し、シフトスポット光受光部40として用いたCCDの出力を確認し、光学情報の検証を行った。

また、ステージTには、ピエゾ駆動型の三次元精密稼働ステージを使用した。

顕微鏡システム100に用いた光学部品の概要を表1に示す。

#### 【0071】

【表 1】

構成要素名	設計条件、型番等
光源12	波長:488nm, 連続発振光・平行光
光変調部14	LCOS-SLM:X10468-01 (製造販売元:浜松ホトニクス株式会社)
ビームスプリッタ23	透過率:反射率=50:50
集光レンズ15	焦点距離:250mm
集光レンズ18	焦点距離:200mm
集光レンズ20	焦点距離:100mm
集光レンズ22	焦点距離:200mm
ニードル状スポット光生成部16 (対物レンズ)	焦点距離:1.8mm, 開口数:1.4 油浸レンズ
集光レンズ24	焦点距離:300mm
出射光変調部32	LCOS-SLM:X10468-07 (製造販売元:浜松ホトニクス株式会社)
集光レンズ25	焦点距離:150mm
シフトスポット光受光部40	CCD:DMK51BU02.WG (製造販売元:株式会社アルゴ)

10

20

## 【0072】

上述のように構築した光学情報検知装置50において、光源12から直線偏光ガウスビームのレーザー光を出射させ、そのレーザー光を光変調部14のLCOS-SLMで変調した。変調時には、図2に示す環状部Cに相当する部分の液晶分子の入射波面を $0.2^\circ$ で傾けるような位相変調量(すなわち、配向方向)に設定することで、ニードル状スポット光生成部16の対物レンズの瞳面(図示略)において図6に示すように環状の高光強度分布を有する光(環状光)を形成した。図6の破線は、参考として、ニードル状スポット光生成部16の対物レンズの瞳のサイズを相対的に示したものである。具体的には、瞳の直径 $5.04\text{mm}$ の対物レンズに対して内径が $0.66$ 倍、外径が $0.77$ 倍の環状の高光強度分布を有する光を形成した。

30

図6に示す環状光を対物レンズで集光させ、図7に示すように幅寸法 $w$ が $0.18\mu\text{m}$ 、長さ寸法 $g$ が $1.9\mu\text{m}$ のニードル状スポット光L1を生成した。

## 【0073】

検知対象物Sは、平均粒径 $100\text{nm}$ の金ナノ粒子とした。この金ナノ粒子をカバーガラス上に散布し、イメージンオイルで包埋することにより、プレパラートを作製し、ステージT上に設置した。この際、カバーガラス上で孤立した金ナノ粒子が対物レンズ焦点に形成したニードル状スポット光L1の照射範囲R内に位置するように、ステージTを三次元的に精密に移動させた。

40

## 【0074】

図7に示すニードル状スポット光L1を金ナノ粒子に照射すると、金ナノ粒子からは散乱光が発せられ、この散乱光(すなわち、出射光)はニードル状スポット光生成部16の対物レンズから光軸A2に沿って伝搬する。約半分のパワーの散乱光がビームスプリッタ23で反射され、さらに検出側光学系へと伝搬する。

## 【0075】

50



そこで、ビームスプリッタ 23 で反射された散乱光を出射光変調部 32 の LCOS-SLM で変調した。変調時には、LCOS-SLM における複数の液晶分子の全体としての波面が前述の (1) 式で表される波面  $W(s, t)$  となるように、個々の液晶分子の位相変調量を制御し、(1) 式において、 $p = 3$ 、 $R_{eff} = 1.89 \text{ mm}$ 、 $h = 1.89 \text{ m}$ 、 $k = (2 / ) = (2 / 488 \text{ nm})$  とした。

【0076】

以上説明した配置及び設定の光学情報検知装置 50 において、金ナノ粒子をニードル状スポット光 L1 の照射領域 R 内の光軸 A1 上において  $0.5 \mu\text{m}$  間隔で精密に移動させ、その都度、シフトスポット光受光部 40 としての CCD 上での散乱光の二次元強度分布を記録した。散乱光の二次元強度分布の測定結果を図 8 に示す。図 8 における位置  $z$  は、ニードル状スポット光 L1 の長さ寸法  $1.9 \mu\text{m}$  の中心を基準とした光軸 A1 上での距離を示す。すなわち、図 8 における  $z = 0$  は、ニードル状スポット光 L1 の長さ寸法  $1.9 \mu\text{m}$  の中心を示す。また、図 8 に示す散乱光の二次元強度分布の各々について、最も高い光強度の位置を通る  $x$  方向に対して、前記位置で  $x$  方向に直交する  $y$  方向に CCD の 10 画素分で積算した強度プロファイルを図 9 に示す。

10

【0077】

図 8 及び図 9 に示す実験結果から、対物レンズの焦点位置 (すなわち、ニードル状スポット光 L1 の照射領域 R) での異なる位置  $z$  からの散乱光シグナルが CCD の受光面において異なる面内位置に結像していることを確認した。すなわち、ニードル状スポット光 L1 の照射による検知対象物 S の発光に対し、エアリービームの自己湾曲特性によって、光軸 A1, A2 に沿った方向の情報が光軸 A2 に直交する面内方向への情報に変換可能であることがわかる。

20

【0078】

以上説明した実施例の結果から、光学情報検知装置 50 によれば、ニードル状スポット光 L1 による照射領域 R 内の光軸 A1 に沿った方向の一斉励起と、励起された照射領域 R から発せられた光学応答による光シグナルをシフトスポット光に変換することによる光軸 A1 に沿った方向からこの方向に交差する受光面 M 上への変換と、を駆使した新しい光学情報検知装置の実現が可能であることを実証した。従って、光学情報検知装置 50 にイメージ情報作成部 60 等を組み合わせ、三次元高速光イメージングも実現可能といえる。

30

【0079】

(実施例 2)

次いで、図 10 に示す顕微鏡システム 110 を構築し、本発明に係る光学情報検知装置及び顕微鏡システムによる蛍光イメージングへの適用について検証した。図 10 に示す顕微鏡システム 110 の構成要素において、図 1 に示す顕微鏡システム 100 の構成要素と共通する構成要素については、共通の符号を付し、その説明を省略する。

【0080】

顕微鏡システム 110 において、蛍光を発生させるための励起光はニードル状スポット光とした。1 光子励起用に波長  $532 \text{ nm}$  のレーザー光と、2 光子励起用に波長  $1040 \text{ nm}$  のレーザー光を使用した。2 光子励起用の波長  $1040 \text{ nm}$  のレーザー光は、ニードル状スポット光が形成されていることを確認するために用いられている。ステージ T は、ピエゾ駆動ステージであり、三次元的に精密に移動可能となるように構成した。複数のレンズ 15, 18A, 18B, 18C, 20, 22, 24A, 24B, 25 は、各々のレンズが配置されている光軸 A1 / A2 / A3 上で各々のレンズを挟んで両側で各々のレンズの焦点距離等に合った位置 P を物体面の位置及び像面の位置として  $4f$  光学系 ( $4f$  フーリエ変換光学系) を構成するように設置されている。複数の位置 P には、必要に応じて、空気中のごみやレンズ表面の汚れ・傷等による干渉縞を除去するためのピンホールを配置した。複数のレンズ 15, 18A, 18B, 18C, 20, 22, 24A, 24B, 25 は、それぞれ組み合わせレンズである。図 10 出射光から変換されたエアリービームは、シフトスポット光受光部 40 を用いて検出した。シフトスポット光受光部 40 には、超微弱光でも高速に撮影可能な EMCCD (Electron-Multiplying Charge Coupled Device

40

50

を用いた。また、分岐用ミラー102は、ダイクロイックミラー23Bと出射光変調部32との間の光軸A2に対して挿抜自在となるように配置されている。分岐用ミラー102が光軸A2に挿入された場合は、分岐用ミラー102よりも光の出射方向の前方の光軸は、破線で示す光軸A3に切り替わる。また、分岐用ミラー102が光軸A2に挿入された場合は、蛍光ビーズからの蛍光がエアリービームに変換される前に光軸A3に取り出されるので、共焦点ディテクター108では蛍光ビーズから発せられる蛍光の光強度（z方向の情報によらない光強度）が測定される。共焦点ディテクター108はファイバー型受光端子107を備え、ファイバー型受光端子107の受光側端面は集光レンズ24Aの光軸A3上の像面の位置Pに配置されている。なお、分岐用ミラー102とファイバー型受光端子107の間にはレンズペアが配置されているが、レンズペアの図示は省略されている。集光レンズ24Aの後の位置P（即ち、分岐用ミラー102の挿入位置と同じ位置P）の光は前記レンズペアによってファイバー型受光端子107の受光側端面に結像される。ファイバー型受光端子107の受光側端面のコアの直径は、1mmとした。

【0081】

顕微鏡システム110に用いた光学部品の概要を表1に示す。

【表2】

構成要素名	設計条件、型番等
光源(図示略)	532nm/laser source:(連続波発振) 1040nm/laser source:(繰り返し周波数:10 MHz, パルス幅:200 fs)
光変調部14	LCOS-SLM:SLM-100 (製造販売元:santec株式会社)
ダイクロイックミラー23B	(532nm光源用)透過帯域:550nm-600nm、 反射帯域:531nm-534nm (1040nm光源用)透過帯域:450nm-850nm、 反射帯域:1000nm以上1100nm以下
集光レンズ15	焦点距離;150mm
集光レンズ18A	焦点距離;150mm
集光レンズ18B	焦点距離;75mm
集光レンズ20	焦点距離;150mm
集光レンズ22	焦点距離;200mm
ニードル状スポット光生成部16 (対物レンズ)	倍率;40倍, 開口数;1.15(水浸) (製造販売元:株式会社ニコン)
集光レンズ24A	焦点距離;75mm
集光レンズ24B	焦点距離;150mm
出射光変調部32	LCOS-SLM:X10468-01 (製造販売元:浜松ホトニクス株式会社)
集光レンズ25	焦点距離;250mm
シフトスポット光受光部40	EMCCD:iXon Ultra 897 (製造販売元:Andor Technology)
共焦点ディテクター108	R10467U-40(製造販売元:浜松ホトニクス株式会社)

## 【 0 0 8 2 】

先ず、波長 532 nm のレーザー光による 1 光子励起でのニードル状スポット光形成の検証を行うために、市販の蛍光ビーズ（平均直径：170 nm）を三次元的に走査させ、各点での蛍光シグナルを従来の共焦点レーザー顕微鏡検出器（製造販売元：浜松ホトニクス株式会社）で検出して、焦点での強度分布を計測した。図 11 に、平面波状のレーザー光を集光した通常集光スポットの場合（以下、この場合の焦点深度を 1 倍とし、「基本の焦点深度」という場合がある）及びニードル状スポット光の焦点深度を 2 倍、5 倍、10 倍、15 倍にそれぞれ変化させた場合の強度分布の測定結果を示す。ニードル状スポット光の焦点深度は、光変調部 14 である LCOS-SLM において円環状マスクの形状を変化させることによって調整した。測定の結果、顕微鏡システム 110 では、ニードル状スポット光の焦点深度を約 15 倍まで伸張し、ニードル状スポット光の長さを 11 μm 程度まで拡大することが可能であると推測される。すなわち、従来の共焦点レーザー顕微鏡検出器等に比べて 15 倍の焦点深度の奥行き情報を取得できる見込みが得られた。また、ニードル状スポット光の焦点深度を変化させない場合、及びニードル状スポット光の焦点深度を 2 倍、5 倍、10 倍、15 倍にそれぞれ変化させた場合の各強度分布における x 方向のビームプロファイルを図 12 A ~ 12 E に示し、z 方向のビームプロファイルを図 13 A ~ 13 E に示す。図 12 A ~ 12 E 及び図 13 A ~ 13 E の実線は理論値を表し、ドット状の複数の点は測定値を表している。顕微鏡システム 110 における条件及びパラメータを考慮すると、理論値と測定値の傾向が合っていることがわかる。

10

## 【 0 0 8 3 】

次に、波長 1040 nm のパルスレーザー光による 2 光子励起でのニードル状スポット光形成の検証を行った。蛍光ビーズは、1 光子励起の検証時の蛍光ビーズと同じものを使用した。図 14 に、1 光子励起時の蛍光像（エアリービームパターンをシフトスポット光受光部 40 で受光した際の像）の強度分布と 2 光子励起時の蛍光像の強度分布の測定結果を並べて示す。2 光子励起時には、x 方向におけるサイドローブが低く抑えられていることがわかる。このようにサイドローブが低く抑えられることで、ノイズの低い高精度な三次元高速光イメージングが可能になる。ニードル状スポット光の焦点深度が基本の焦点深度（1x）である場合とニードル状スポット光の焦点深度が 15 倍の焦点深度（15x）である場合の蛍光像の強度分布における x 方向のビームプロファイルを図 15 (a), (b) に示す。図 15 (a), (b) の各々に示されているビームプロファイルを比較すると、ニードル状スポット光の焦点深度を 15 倍まで大きくした場合でも矢印の部分のようにサイドローブが大幅に低く抑えられていることがわかる。ニードル状スポット光の焦点深度が基本の焦点深度（1x）である場合とニードル状スポット光の焦点深度が 15 倍の焦点深度（15x）である場合の蛍光像の強度分布における z 方向のビームプロファイルを図 16 (a), (b) に示す。近赤外の波長域でもある 1040 nm の波長のレーザー光による 2 光子励起の条件下で、約 10 μm の焦点深度を確保することができた。

20

30

## 【 0 0 8 4 】

上述のように光ニードル状スポット光が良好に形成されることを確認した光学系 110 において、1 光子の光ニードル状スポット光による励起下での蛍光シグナルに対するエアリービームパターンの形成の検証を行った。1 光子励起での (1) 式における p の値と x y z の各平面における寸法と、EMCCD 上での孤立蛍光ビーズの蛍光像を図 17 に示す。但し、本検証時において、前述の (1) 式における h は  $h = 2 R_{e, f, f}$  とした。図 17 に示すように、ニードル状スポット光上の蛍光ビーズからの発光に対してエアリーパターンが形成されていることがわかる。

40

## 【 0 0 8 5 】

また、蛍光ビーズをニードル状スポット光に沿って（すなわち、z 方向に沿って）走査した場合の蛍光像の変化を図 18 に示す。蛍光ビーズは、500 nm の間隔で移動させた。図 18 に示す測定結果から、パラメータ p の値が大きくなる程、エアリービームパターンの z 方向に対する非回折性を伴う伝搬距離が増大し、蛍光ビーズの焦点の z 方向の位置に応じて x y 面内方向にエアリービームパターンがシフトすることがわかる。

50

さらに、パラメータ  $p$  について  $p = 3$  とし、蛍光ビーズをニードル状スポット光の焦点から  $z$  方向に  $1 \mu\text{m}$  間隔で  $0 \mu\text{m}$  から  $7 \mu\text{m}$  まで移動させた。各位置における E M C C D 上での蛍光像の中心を通る  $x$  方向に沿った強度分布を図 19 に示す。図 19 に示す測定結果から、E M C C D 上でのエアリービームパターンのピーク位置は、ニードル状スポット光上における蛍光ビーズの  $z$  方向の位置に応じて  $x y$  面内方向にシフトすることがわかる。

【 0 0 8 6 】

図 20 は、ニードル状スポット光上での  $z$  方向の蛍光ビーズの位置と受光部におけるエアリービームのスポットの  $x y$  面内シフト量の関係を示している。図 20 の網掛けは、エアリービームの中心スポットの面内方向に対する半値全幅 ( F W H M ) に対応する。スポット位置は放物線の軌跡を描くのに対し、スポットサイズは伝搬距離に対して略一定である。従って、エアリービームの非回折と自己湾曲性を用いることで  $z$  方向の空間分解能が得られる一方で、 $z$  方向 ( 奥行き方向 ) の空間分解能は蛍光を発する  $z$  位置に依存することが推測される。また、イメージングで  $z$  方向の空間分解能を確保する観点から、 $x y$  面内のエアリービームのシフト量は、エアリービームの面内スポットサイズ以上が必要となることがわかる。

10

【 0 0 8 7 】

図 21 は、パラメータ  $p$  について、 $p = 3$  及び  $p = 5$  の場合のニードル状スポット光上での  $z$  位置に対する受光部でのエアリービームスポットの  $x y$  面内シフト量との関係を示している。図 21 に示すように、パラメータ  $p$  の値が大きい程、ニードル状スポット光上での  $z$  方向の位置の変化に対するシフトスポット光受光部 40 でのエアリービームスポットの面内シフト量は小さくなる。一方で、パラメータ  $p$  の値が大きい程、エアリービームの非回折伝搬距離が大きくなる。従って、 $z$  方向 ( 奥行き方向 ) に対する空間分解能と検知可能な  $z$  方向の範囲にはトレードオフの関係がある。このトレードオフの関係に基づいて、パラメータ  $p$  や光学系の結像倍率及び出射光の波長等の各種パラメータを適宜調整することによって、三次元高速イメージング時の条件が決まることが推測される。

20

【 産業上の利用可能性 】

【 0 0 8 8 】

本発明に係る光学情報検知装置及び顕微鏡システムは、検知対象物の光軸上の長さ寸法  $g$  に亘る照射領域にニードル状スポット光  $L 1$  を照射し、検知対象物  $S$  の照射領域内の第一の光軸上で異なる位置からの光学情報を瞬時に取得し、3次元イメージングすることができるので、より高速且つ鮮明な三次元画像の取得実現が求められる分野で広く利用可能である。このような分野には、生きた状態での細胞を観察することが多い生命機能解析等の生物分野・生体分野や医療分野をはじめ、微細な機能性素材の開発が進められている金属、化学等の産業分野等も含まれる。

30

【 0 0 8 9 】

また、本発明に係る光学情報検知装置は、検知対象物  $S$  の照射領域  $R$  内の光軸  $A 1$  上で異なる位置からの光学情報を瞬時に取得することができる観点から、照射領域  $R$  内にニードル状スポット光  $L 1$  に反応する物質や要因が存在するか否かを検知する分野で利用可能である。例えば、地面や生体を検知対象物  $S$  として、これらを破断・切断することなくニードル状スポット光  $L 1$  を直接照射し、検知対象物  $S$  からのシフトスポット光  $L 2$  を取得し、検知対象物  $S$  の深さ方向に対する特定物質の有無や分布を高速に検知することができる。従って、光学情報検知装置はあらゆる計測に対して利用可能であり、精密計測分野、環境分野や天体観測分野での活用も期待される。

40

【 符号の説明 】

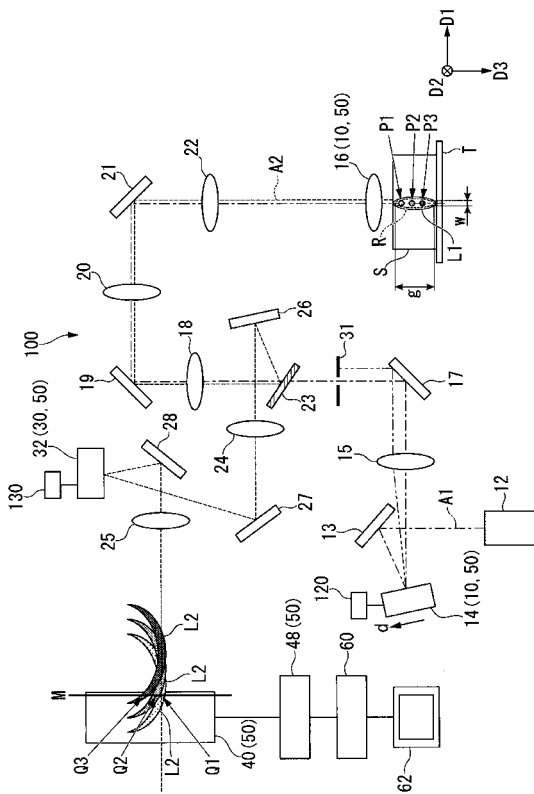
【 0 0 9 0 】

- 1 0 ... ニードル状スポット光照射部
- 1 2 ... 光源
- 1 4 ... 光変調部
- 1 6 ... ニードル状スポット光生成部

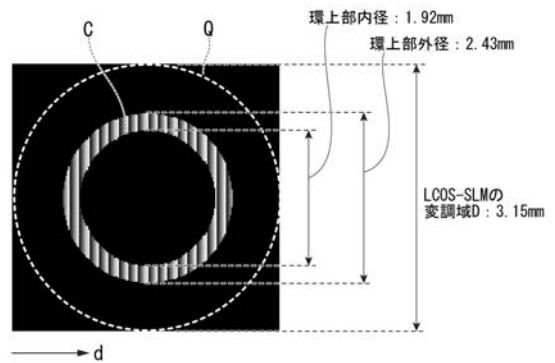
50

- 30 ... シフトスポット光変換部
- 32 ... 出射光変調部
- 40 ... シフトスポット光受光部
- 48 ... 光学情報取得部
- 50 ... 光学情報検知装置
- 60 ... イメージ情報作成部
- 100 ... 顕微鏡システム
- A1 ... 光軸 (第一の光軸)
- A2 ... 光軸 (第二の光軸)
- L1 ... ニードル状スポット光
- L2 ... シフトスポット光
- S ... 検知対象物

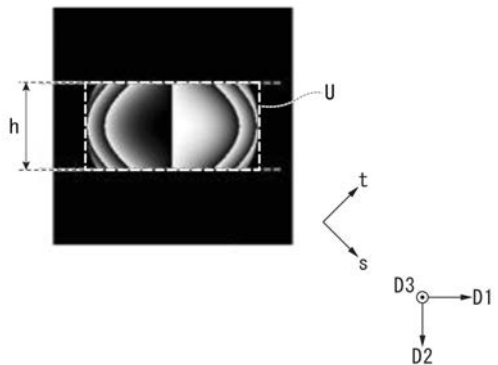
【 図 1 】



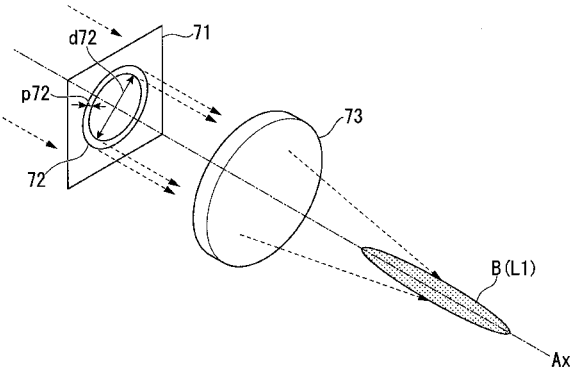
【 図 2 】



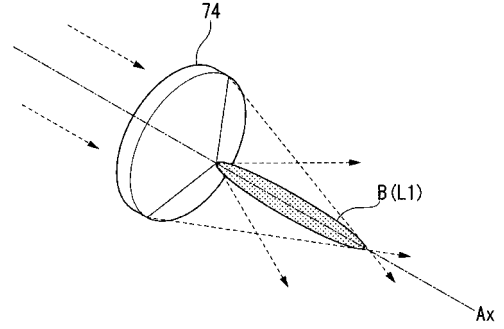
【 図 3 】



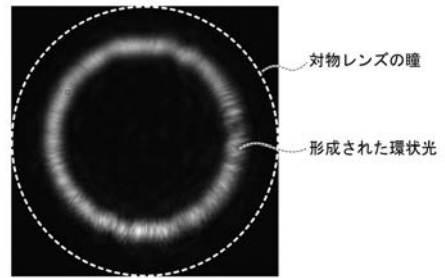
【 図 4 】



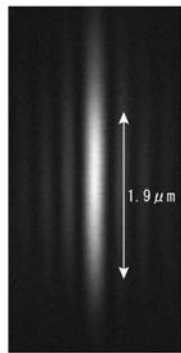
【 図 5 】



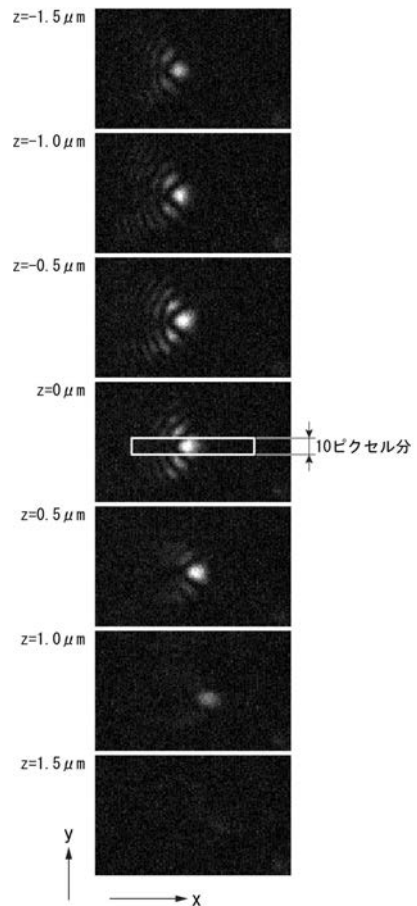
【 図 6 】



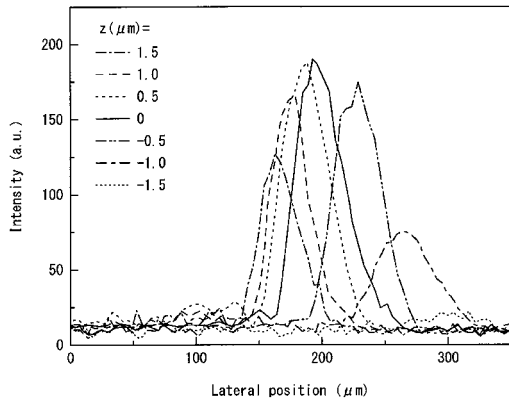
【 図 7 】



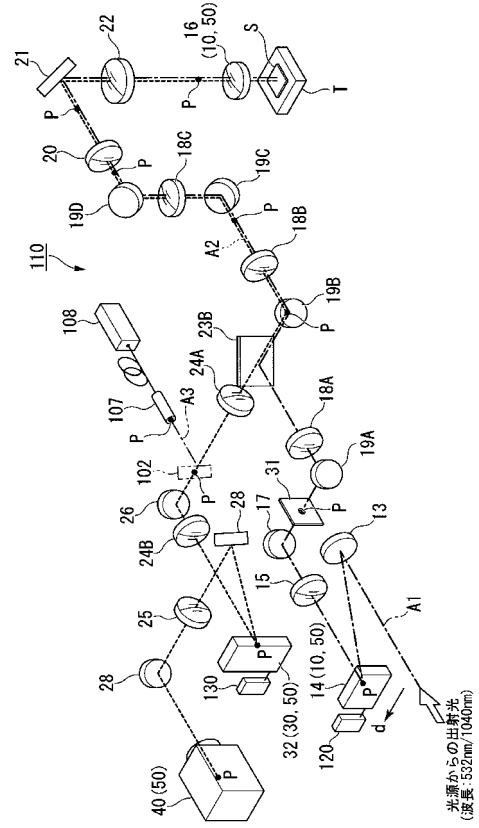
【 図 8 】



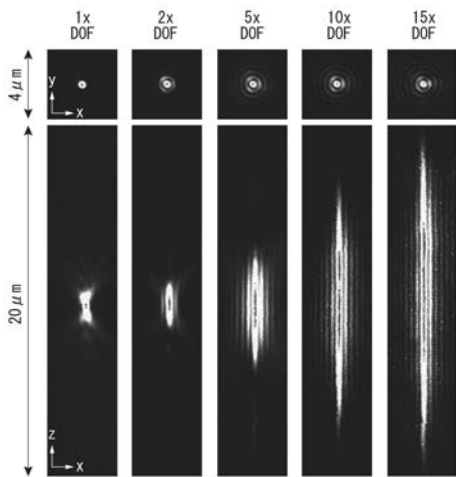
【 図 9 】



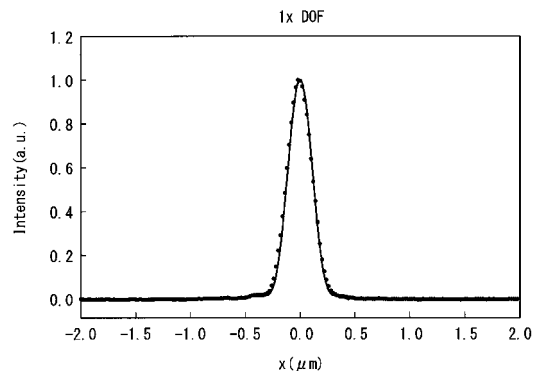
【 図 1 0 】



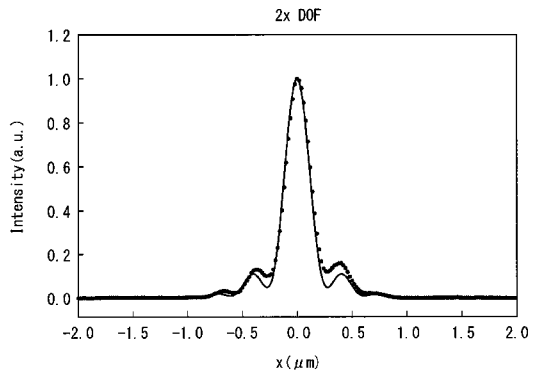
【 図 1 1 】



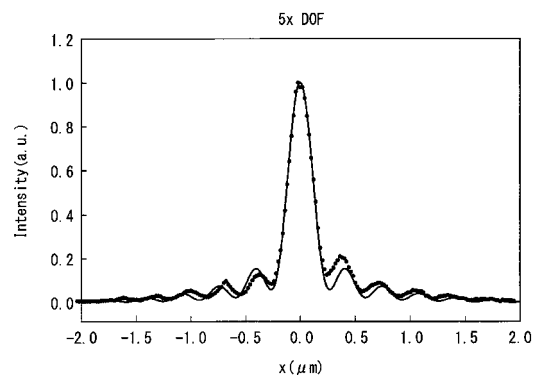
【 図 1 2 A 】



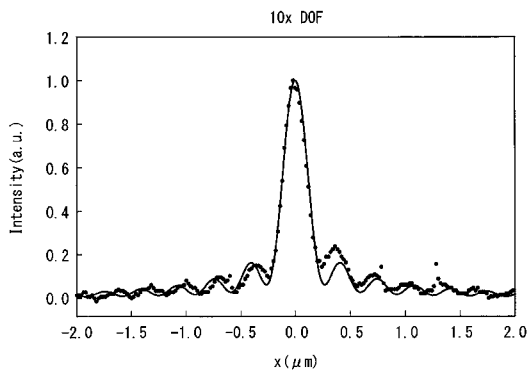
【 図 1 2 B 】



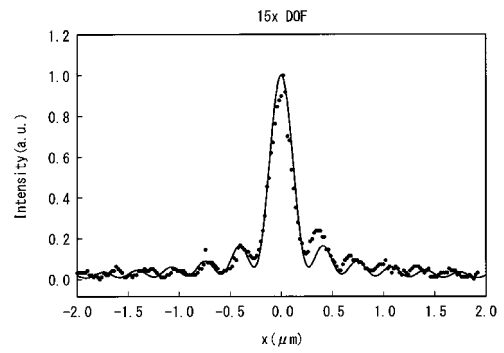
【 図 1 2 C 】



【 図 1 2 D 】

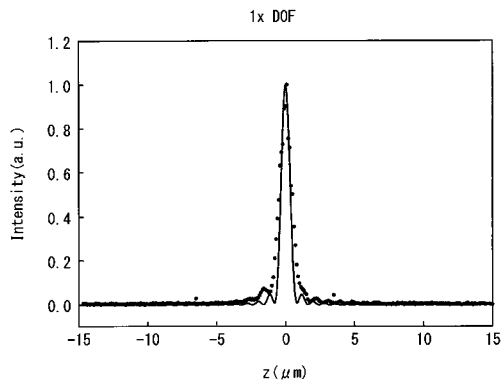


【 図 1 2 E 】

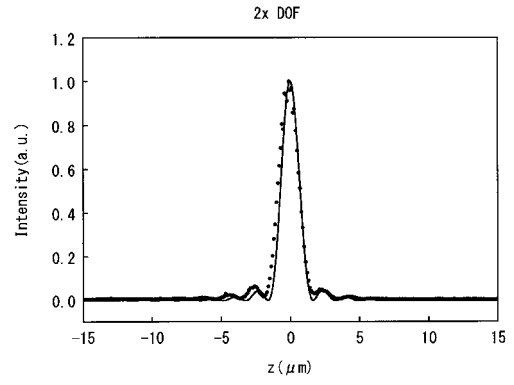




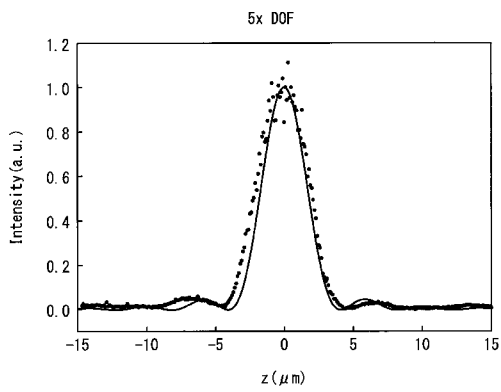
【 図 1 3 A 】



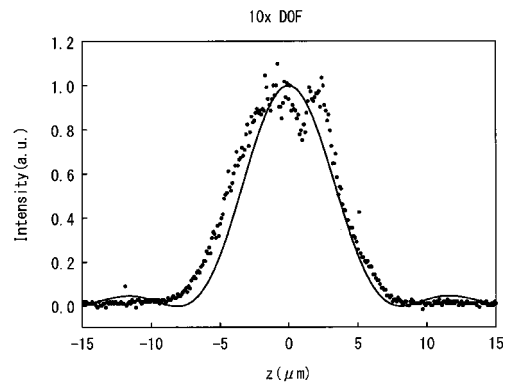
【 図 1 3 B 】



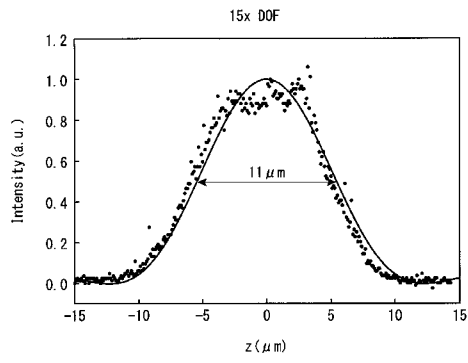
【 図 1 3 C 】



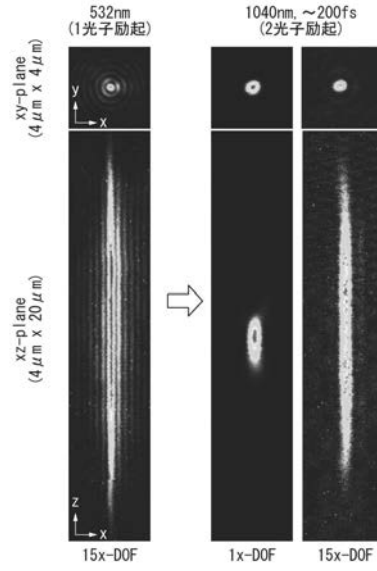
【 図 1 3 D 】



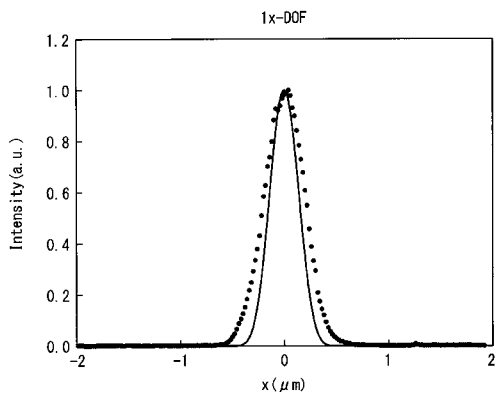
【 図 1 3 E 】



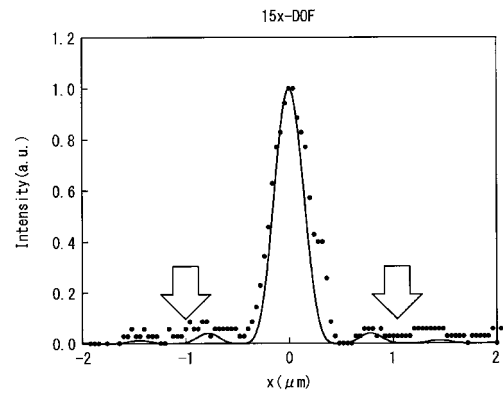
【 図 1 4 】



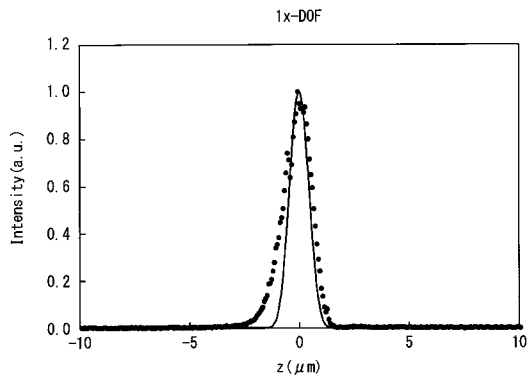
【 図 1 5 A 】



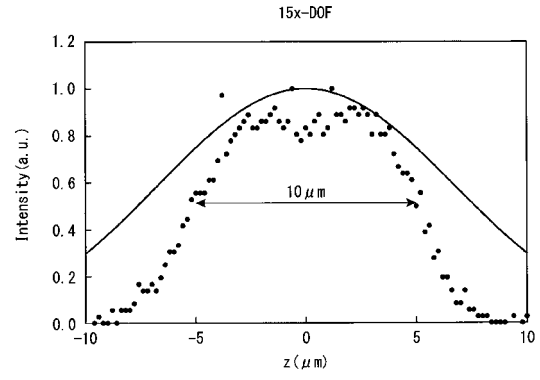
【 図 1 5 B 】



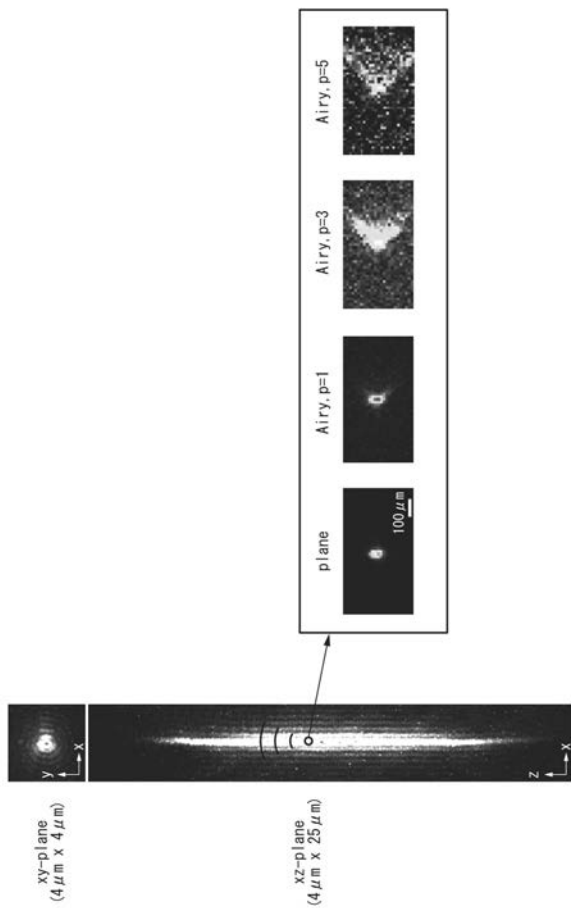
【 図 1 6 A 】



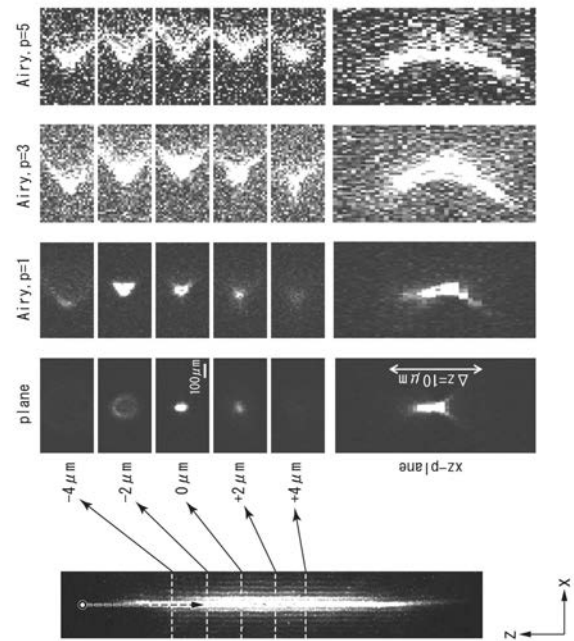
【 図 1 6 B 】



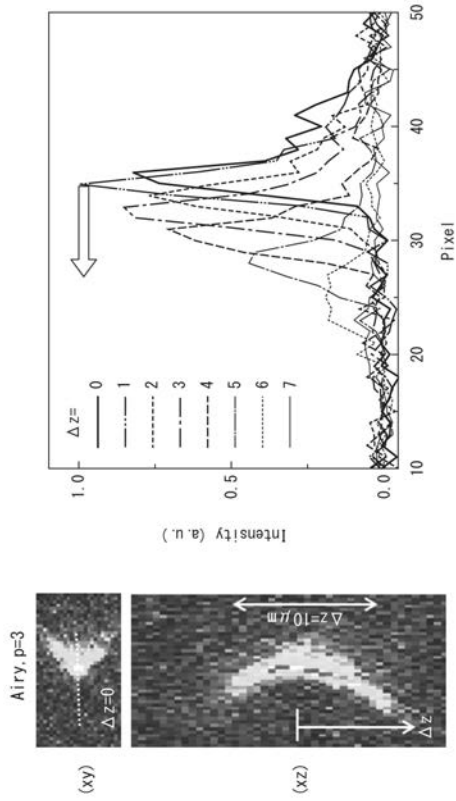
【 図 1 7 】



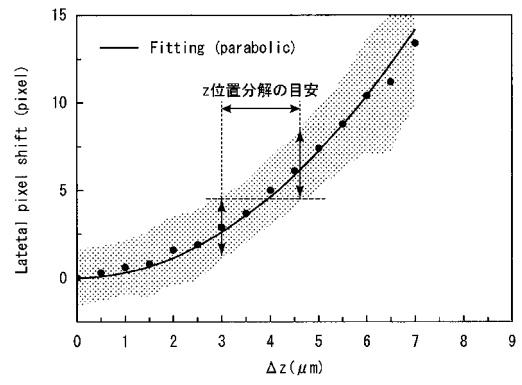
【 図 1 8 】



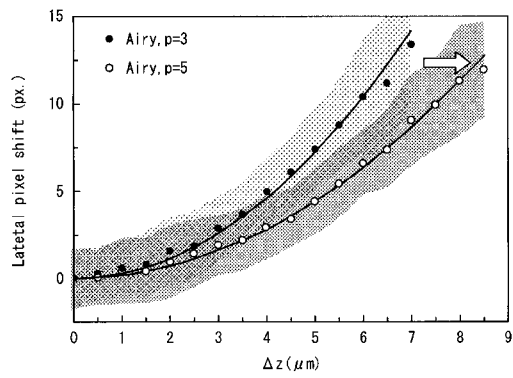
【 図 1 9 】



【 図 2 0 】



【 図 2 1 】



## 【手続補正書】

【提出日】平成30年12月7日(2018.12.7)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

第一の光軸に沿って該第一の光軸に直交する方向に集光されている幅寸法よりも大きい長さ寸法に亘り集光されているニードル状スポット光を生成し、該ニードル状スポット光を検知対象物に照射するニードル状スポット光照射部と、

前記検知対象物における前記ニードル状スポット光の照射領域内の前記第一の光軸上の互いに異なる複数の位置から発せられた出射光を、該出射光の第二の光軸に沿って移動するに従って該第二の光軸に交差する受光面における集光位置が前記検知対象物における前記第一の光軸上の前記出射光が出射された前記複数の位置に応じてそれぞれ変化するようにシフトするシフトスポット光に一括で変換するシフトスポット光変換部と、

前記受光面に沿って前記シフトスポット光を受光するシフトスポット光受光部と、

前記シフトスポット光受光部によって受光された前記シフトスポット光から前記出射光の出射位置の光学情報を取得する光学情報取得部と、

を備えていることを特徴とする光学情報検知装置。

【請求項2】

前記ニードル状スポット光照射部は、光源と、

前記光源から発せられた光を前記ニードル状スポット光に変換するために前記光源から発せられた光を変調する光変調部と、

前記光変調部によって変調された前記光を前記検知対象物に集光させ、前記ニードル状スポット光を生成するニードル状スポット光生成部と、

を備えていることを特徴とする請求項1に記載の光学情報検知装置。

【請求項3】

前記ニードル状スポット光は、前記第一の光軸上に高光強度部を有するベッセルビームであることを特徴とする請求項1又は請求項2に記載の光学情報検知装置。

【請求項4】

前記シフトスポット光変換部は、

互いに異なる前記複数の位置から発せられた前記出射光を、共通の前記第二の光軸に沿って変調することにより前記出射光を前記シフトスポット光に変換する出射光変調部を備えていることを特徴とする請求項1から請求項3の何れか一項に記載の光学情報検知装置。

【請求項5】

前記シフトスポット光は、前記第二の光軸に対して放物線状に湾曲するエアリービームであることを特徴とする請求項1から請求項4の何れか一項に記載の光学情報検知装置。

【請求項6】

請求項1から請求項5の何れか一項に記載の光学情報検知装置と、

前記光学情報取得部によって前記シフトスポット光から取得された光学情報に基づいて前記検知対象物に関するイメージ情報を作成するイメージ情報作成部と、

を備えていることを特徴とする顕微鏡システム。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0009】

本発明の一態様にかかる光学情報検知装置は、第一の光軸に沿って該第一の光軸に直交する方向に集光されている幅寸法よりも大きい長さ寸法に亘り集光されているニードル状スポット光を生成し、該ニードル状スポット光を検知対象物に照射するニードル状スポット光照射部と、前記検知対象物における前記ニードル状スポット光の照射領域内の前記第一の光軸上の互いに異なる複数の位置から発せられた出射光を、該出射光の第二の光軸に沿って移動するに従って該第二の光軸に交差する受光面における集光位置が前記検知対象物における前記第一の光軸上の前記出射光が出射された前記複数の位置に応じてそれぞれ変化するようにシフトするシフトスポット光に一括で変換するシフトスポット光変換部と、前記受光面に沿って前記シフトスポット光を受光するシフトスポット光受光部と、前記シフトスポット光受光部によって受光された前記シフトスポット光から前記出射光の出射位置の光学情報を取得する光学情報取得部と、を備えている。

## 【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0012

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0012】

上記(1)から(3)の何れか一つに記載の光学情報検知装置において、前記シフトスポット光変換部は、互いに異なる前記複数の位置から発せられた前記出射光を、共通の前記第二の光軸に沿って変調することにより前記出射光を前記シフトスポット光に変換する出射光変調部を備えていてもよい。

## 【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0029

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0029】

光変調部14とニードル状スポット光生成部16の間には、光変調部14によって変調された光を伝搬させて検知対象物Sに照射する照射側光学系として、光変調部14に近い方から光軸A1に沿って集光レンズ15, 18, 20, 22が順次配置されている。なお、集光レンズ22は、複レンズである。集光レンズ15, 18, 20, 22の各レンズは、光軸A1上において、光変調部14がニードル状スポット光生成部16をなす対物レンズの瞳面をリレーした位置に配されるように、適宜配置されている。集光レンズ15, 18の間、集光レンズ18, 20の間及び集光レンズ20, 22の間には、それぞれ光路折返し用の全反射ミラー17, 19, 21が配置されている。

光変調部14は、検知対象物Sの内部に集光するニードル状スポット光L1の長さ寸法gや幅寸法wをそれぞれ、後述するように検知対象物Sの光学情報の検知に適した所望の寸法にするためのニードル状スポット光設定部120を備えている。例えば、ニードル状スポット光設定部120は、光軸A1に沿って光源12から発せられた光の情報及び所望のニードル状スポット光L1の情報から光変調部14の変調パターンを算出するものであれば特に限定されない。ニードル状スポット光設定部120の一例としては、前記変調パターンを算出するプログラム等が内蔵されたコンピュータが挙げられる。ニードル状スポット光設定部120によれば、測定環境や検知対象物Sに応じて、所望の幅寸法w及び長さ寸法gを有するニードル状スポット光L1が設定される。通常集光スポットにおける幅寸法と同程度の幅寸法wを有するニードル状スポットにおいて、通常集光スポットの長さ寸法に比べて10倍以上の長さ寸法gが得られると、従来のレーザー顕微鏡を用いた3次元での画像化における面方向(即ち、方向D3に直交する方向)の空間分解能が維持されつつ、最大で10倍の高速化が期待される。また、ニードル状スポット光設定部12

0では、前述のように方向D3において図る高速化の度合い(例えば、10倍)に合わせ、光変調部14の変調パターンが算出される。また、ニードル状スポット光設定部120では、光変調部14とニードル状スポット光生成部16との間の光学素子(例えば、集光レンズ15, 18, 20, 22等)の有無や各光学素子の情報が考慮される。光変調部14としてSLM等の能動型光学素子が用いられる場合、ニードル状スポット光設定部120から光変調部14への情報や信号によってリアルタイムに光変調部14における変調パターンが書き換え可能になり、ニードル状スポット光L1が高精度且つリアルタイムに設定される。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0080

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0080】

顕微鏡システム110において、蛍光を発生させるための励起光はニードル状スポット光とした。1光子励起用に波長532nmのレーザー光と、2光子励起用に波長1040nmのレーザー光を使用した。2光子励起用の波長1040nmのレーザー光は、ニードル状スポット光が形成されていることを確認するために用いられている。ステージTは、ピエゾ駆動ステージであり、三次元的に精密に移動可能となるように構成した。複数のレンズ15, 18A, 18B, 18C, 20, 22, 24A, 24B, 25は、各々のレンズが配置されている光軸A1/A2/A3上で各々のレンズを挟んで両側で各々のレンズの焦点距離等に合った位置Pを物体面の位置及び像面の位置として4f光学系(4fフーリエ変換光学系)を構成するように設置されている。複数の位置Pには、必要に応じて、空気中のごみやレンズ表面の汚れ・傷等による干渉縞を除去するためのピンホールを配置した。複数のレンズ15, 18A, 18B, 18C, 20, 22, 24A, 24B, 25は、それぞれ組み合わせレンズである。図10に示すように出射光から変換されたエアリービームは、シフトスポット光受光部40を用いて検出した。シフトスポット光受光部40には、超微弱光でも高速に撮影可能なEMCCD(Electron-Multiplying Charge Coupled Device)を用いた。また、分岐用ミラー102は、ダイクロイックミラー23Bと出射光変調部32との間の光軸A2に対して挿抜自在となるように配置されている。分岐用ミラー102が光軸A2に挿入された場合は、分岐用ミラー102よりも光の出射方向の前方の光軸は、破線で示す光軸A3に切り替わる。また、分岐用ミラー102が光軸A2に挿入された場合は、蛍光ビーズからの蛍光がエアリービームに変換される前に光軸A3に取り出されるので、共焦点ディテクター108では蛍光ビーズから発せられる蛍光の光強度(z方向の情報によらない光強度)が測定される。共焦点ディテクター108はファイバー型受光端子107を備え、ファイバー型受光端子107の受光側端面は集光レンズ24Aの光軸A3上の像面の位置Pに配置されている。なお、分岐用ミラー102とファイバー型受光端子107の間にはレンズペアが配置されているが、レンズペアの図示は省略されている。集光レンズ24Aの後の位置P(即ち、分岐用ミラー102の挿入位置と同じ位置P)の光は前記レンズペアによってファイバー型受光端子107の受光側端面に結像される。ファイバー型受光端子107の受光側端面のコアの直径は、1mmとした。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0081

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0081】

顕微鏡システム110に用いた光学部品の概要を表2に示す。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0083

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0083】

次に、波長1040nmのパルスレーザー光による2光子励起でのニードル状スポット光形成の検証を行った。蛍光ビーズは、1光子励起の検証時の蛍光ビーズと同じものを使用した。図14に、1光子励起時の蛍光像（エアリービームパターンをシフトスポット光受光部40で受光した際の像）の強度分布と2光子励起時の蛍光像の強度分布の測定結果を並べて示す。2光子励起時には、x方向におけるサイドローブが低く抑えられていることがわかる。このようにサイドローブが低く抑えられることで、ノイズの低い高精度な三次元高速光イメージングが可能になる。ニードル状スポット光の焦点深度が基本の焦点深度（1x）である場合とニードル状スポット光の焦点深度が15倍の焦点深度（15x）である場合の蛍光像の強度分布におけるx方向のビームプロファイルを図15A, 15Bに示す。図15A, 15Bの各々に示されているビームプロファイルを比較すると、ニードル状スポット光の焦点深度を15倍まで大きくした場合でも矢印の部分のようにサイドローブが大幅に低く抑えられていることがわかる。ニードル状スポット光の焦点深度が基本の焦点深度（1x）である場合とニードル状スポット光の焦点深度が15倍の焦点深度（15x）である場合の蛍光像の強度分布におけるz方向のビームプロファイルを図16A, 16Bに示す。近赤外の波長域でもある1040nmの波長のレーザー光による2光子励起の条件下で、約10μmの焦点深度を確保することができた。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0084

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0084】

上述のようにニードル状スポット光が良好に形成されることを確認した光学系110において、1光子のニードル状スポット光による励起下での蛍光シグナルに対するエアリービームパターンの形成の検証を行った。1光子励起での(1)式におけるpの値とxyzの各平面における寸法と、EMCCD上での孤立蛍光ビーズの蛍光像を図17に示す。但し、本検証時において、前述の(1)式におけるhは $h = 2R_{eff}$ とした。図17に示すように、ニードル状スポット光上の蛍光ビーズからの発光に対してエアリーパターンが形成されていることがわかる。

【手続補正9】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図2

【補正方法】変更

【補正の内容】



【 図 2 】

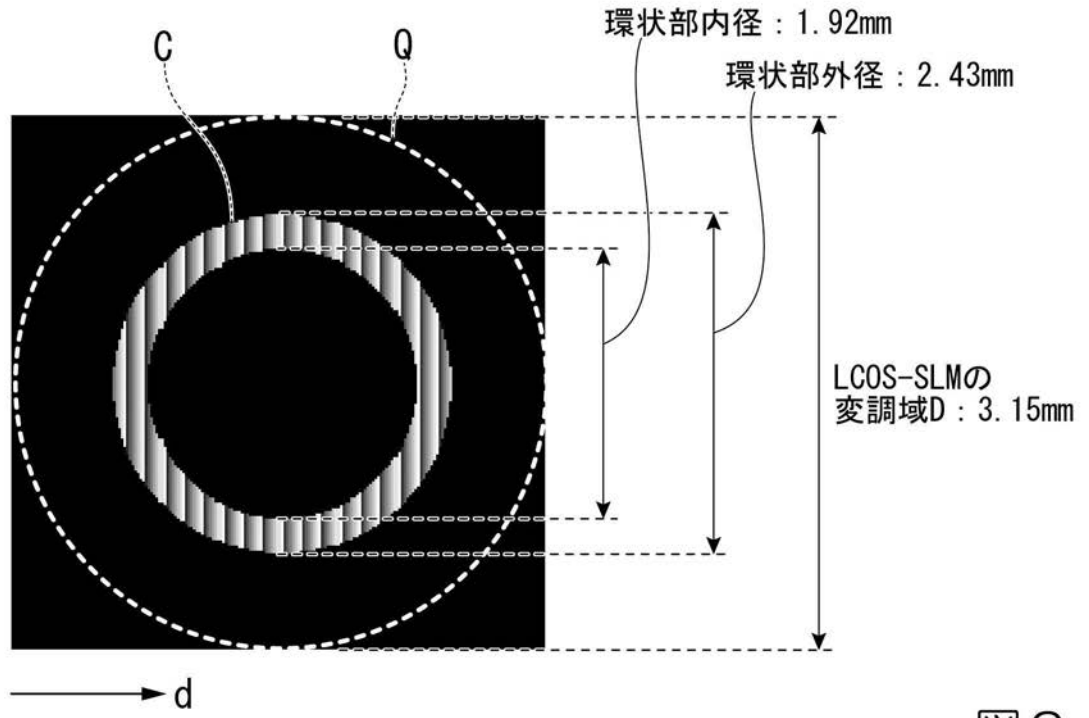


図 2

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2017/021138
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> G02B21/06(2006.01)i, G01N21/17(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i, G02B21/36(2006.01)i  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G02B21/06, G01N21/17, G01N21/64, G02B21/36  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2017 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2017 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2017  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 2013-167654 A (The University of Tokyo), 29 August 2013 (29.08.2013), claims; paragraphs [0007] to [0064] (particularly, paragraphs [0032] to [0033]); fig. 1 & WO 2011/152432 A1	1-4, 6 5
Y A	JP 2009-186509 A (Waseda University), 20 August 2009 (20.08.2009), claims; paragraphs [0007] to [0049]; fig. 1 (Family: none)	1-4, 6 5
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 01 September 2017 (01.09.17)		Date of mailing of the international search report 12 September 2017 (12.09.17)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan		Authorized officer  Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2017/021138

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 2015-504177 A (Centre National de la Recherche Scientifique), 05 February 2015 (05.02.2015), claims; paragraphs [0006] to [0065]; fig. 1 to 3 & US 2014/0347462 A1 all claims; paragraphs [0001] to [0080]; fig. 1 to 3 & WO 2013/093275 A1 & EP 2795390 A1 & FR 2984531 A1	1-4, 6 5

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 7 / 0 2 1 1 3 8	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G02B21/06(2006,01)i, G01N21/17(2006,01)i, G01N21/64(2006,01)i, G02B21/36(2006,01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G02B21/06, G01N21/17, G01N21/64, G02B21/36			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2017年 日本国実用新案登録公報 1996-2017年 日本国登録実用新案公報 1994-2017年			
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	
Y A	JP 2013-167654 A (国立大学法人 東京大学) 2013.08.29, 特許請求の範囲、段落【0007】 - 【0064】 (特に【0032】 - 【0033】)、第1図 & WO 2011/152432 A1	1-4, 6 5	
Y A	JP 2009-186509 A (学校法人早稲田大学) 2009.08.20, 特許請求の範囲、段落【0007】 - 【0049】、第1図 (ファミリーなし)	1-4, 6 5	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願			
国際調査を完了した日 01.09.2017		国際調査報告の発送日 12.09.2017	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 越河 勉	2 V 9 3 1 3 電話番号 03-3581-1101 内線 3271

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2017/021138
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y A	JP 2015-504177 A (サントル ナショナル ドゥ ラ ルシエルシ ユ シアンティフフィク) 2015.02.05, 特許請求の範囲、段落【0006】 - 【0065】、第1図-第3図 & US 2014/0347462 A1, all claims, paragraph 【0001】 - 【0080】 , and Fig.1-3 & WO 2013/093275 A1 & EP 2795390 A1 & FR 2984531 A1	1-4, 6 5

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ

(出願人による申告)平成27年度、国立研究開発法人科学技術振興機構、戦略的創造研究推進事業(個人型研究(さきがけ))に係る委託研究、「非回折と自己湾曲性を駆使した3次元高速光イメージング」、産業技術力強化法第19条の適用を受ける特許出願

Fターム(参考) 2G059 AA05 BB09 EE02 FF01 GG01 HH01 HH02 JJ02 JJ11 JJ13  
JJ22 KK04  
2H052 AA09 AB01 AB24 AC05 AC27 AD34 AD35 AF14 AF21 AF25

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。