

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5861873号  
(P5861873)

(45) 発行日 平成28年2月16日(2016.2.16)

(24) 登録日 平成28年1月8日(2016.1.8)

(51) Int. Cl.		F I			
<b>GO 1 J</b>	<b>3/18</b>	<b>(2006.01)</b>	GO 1 J	3/18	
<b>GO 1 N</b>	<b>21/27</b>	<b>(2006.01)</b>	GO 1 N	21/27	E
<b>GO 1 N</b>	<b>21/64</b>	<b>(2006.01)</b>	GO 1 N	21/64	E
<b>GO 2 B</b>	<b>21/06</b>	<b>(2006.01)</b>	GO 2 B	21/06	
GO 1 J	3/443	(2006.01)	GO 1 J	3/443	

請求項の数 6 (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願2012-13720 (P2012-13720)  
 (22) 出願日 平成24年1月26日(2012.1.26)  
 (65) 公開番号 特開2013-152179 (P2013-152179A)  
 (43) 公開日 平成25年8月8日(2013.8.8)  
 審査請求日 平成26年12月16日(2014.12.16)

(73) 特許権者 000004112  
 株式会社ニコン  
 東京都港区港南二丁目15番3号  
 (74) 代理人 100140800  
 弁理士 保坂 丈世  
 (72) 発明者 左高 良一  
 東京都千代田区有楽町1丁目12番1号  
 株式会社ニコン内  
 審査官 塚本 丈二

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分光器及び顕微分光システム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

信号光を略平行光束とするコリメートレンズと、  
 前記コリメートレンズから射出した前記略平行光束を第1光路及び第2光路の2つの光路に分け、且つ、前記第1光路中の光をP偏光成分とし、前記第2光路中の光をS偏光成分とする偏光分離素子と、  
 前記第1光路中に配置され、当該第1光路中の前記P偏光成分の光をS偏光成分の光とする偏光回転素子と、  
 前記第1光路及び前記第2光路の各々の前記略平行光束の光束径を平行状態を維持しつつ縮小する光路結合部材と、  
 前記光路結合部材から射出された前記略平行光束を分光する分光素子と、  
 前記分光素子で分光された分光光を検出する受光器と、  
 前記分光素子からの前記分光光を前記受光器に集光する集光光学系と、を有し、  
 前記光路結合部材は、  
前記第1光路から射出する前記略平行光束を反射する軸外放物面形状の第1の反射面及び第2の反射面から構成される第1のビームエキスパンダと、  
前記第2光路から射出する前記略平行光束を反射する軸外放物面形状の第1の反射面及び第2の反射面から構成される第2のビームエキスパンダと、から構成されていることを特徴とする分光器。

【請求項2】

前記光路結合部材は、光束径が縮小された各々の前記略平行光束を互いに隣接させて射出するように構成されていることを特徴とする請求項 1 に記載の分光器。

【請求項 3】

前記光路結合部材は、当該光路結合部材から射出する各々の前記略平行光束の全体の径を、前記コリメートレンズから射出して前記偏光分離素子に入射する前記略平行光束の径以下とすることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の分光器。

【請求項 4】

前記偏光分離素子は、前記コリメートレンズから射出した前記略平行光束が入射する位置に配置され、前記略平行光束のうち P 偏光成分の光を透過して前記第 1 光路に導き、S 偏光成分の光を反射する偏光ビームスプリッタと、

前記偏光ビームスプリッタで反射された前記 S 偏光成分の光を反射して前記第 2 光路に導く平面鏡と、から構成されていることを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の分光器。

【請求項 5】

前記偏光回転素子は、フレネルロム 1 / 2 波長板であることを特徴する請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の分光器。

【請求項 6】

光源から放射された照明光を走査して対物レンズにより標本に照射するとともに、前記標本から放射される信号光を前記対物レンズで集光する顕微鏡と、

前記顕微鏡からの前記信号光を分光して検出する請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の分光器と、を有することを特徴とする顕微分光システム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、分光器及び顕微分光システムに関する。

【背景技術】

【0002】

従来の走査型蛍光顕微鏡では、点光源から射出された照明光（励起光）を走査ユニットにより標本上で走査し、この照明光により励起された標本から射出された信号光（蛍光）を走査ユニットでデスクャンした後、分光器の分光素子で分光することにより、分光された信号光をそれぞれの受光器で検出するように構成されている。このような分光器用の分光素子として、回折格子が広く用いられている。この回折格子は、偏光依存性があり、入射光の電場振動方向が回折格子の刻線に平行な P 偏光成分の光に比べて、回折格子の刻線に垂直な S 偏光成分の光の方が、一般的に回折効率が高いとされている。特に、入射光の波長が回折格子の周期（刻線のピッチ）と同程度以上の長波長帯域では、上記傾向が顕著に現われる。これは、言い換えると、回折格子の周期が短いものほど上記傾向が顕著に現われ、偏光依存性が高くなるということであり、分解能の高い回折格子を用いる場合には考慮すべき点である。そこで、偏光方向の相違による回折効率の差異を解消するために、信号光を P 偏光成分の光と S 偏光成分の光に分離するとともに、P 偏光成分の光を S 偏光成分の光に変換してこれらの光を回折格子で分光する構成が開示されている（例えば、特許文献 1 参照）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献 1】米国特許第 6 4 9 8 8 7 2 号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかしながら、分離された P 偏光成分の光と S 偏光成分の光とを回折格子の異なる位置に入射させると回折格子が大型化してしまい、また、これらの信号光の少なくとも一部が

10

20

30

40

50

回折格子上で重なるように入射させると、回折格子の大型化は避けられるが、これらの光の回折格子に対する入射角度が異なるためこの回折格子で分光された分光光を受光器に集光するための集光光学系（例えば、結像レンズや凹面鏡）が2つ必要になり、結果として分光器が大型化してしまうという課題があった。

【0005】

本発明はこのような課題に鑑みてなされたものであり、分光素子の偏光依存性を考慮しつつ、大型化及びコスト増加を抑えることができる分光器、及びこの分光器を備える顕微分光システム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】

【0006】

前記課題を解決するために、本発明に係る分光器は、信号光を略平行光束とするコリメートレンズと、このコリメートレンズから射出した略平行光束を第1光路及び第2光路の2つの光路に分け、且つ、第1光路中の光をP偏光成分とし、第2光路中の光をS偏光成分とする偏光分離素子と、第1光路中に配置され、当該第1光路中のP偏光成分の光をS偏光成分の光とする偏光回転素子と、第1光路及び第2光路の各々の略平行光束の光束径を平行状態を維持しつつ縮小する光路結合部材と、光路結合部材から射出された略平行光束を分光する分光素子と、分光素子で分光された分光光を検出する受光器と、分光素子からの分光光を受光器に集光する集光光学系と、を有することを特徴とする。

【0007】

また、このような分光器において、光路結合部材は、第1光路から射出する略平行光束を反射する軸外放物面形状の第1の反射面及び第2の反射面から構成される第1のビームエキスパンダと、第2光路から射出する略平行光束を反射する軸外放物面形状の第1の反射面及び第2の反射面から構成される第2のビームエキスパンダと、から構成されている。

【0008】

また、このような分光器において、光路結合部材は、光束径が縮小された各々の略平行光束を互いに隣接させて射出するように構成されていることが好ましい。

【0009】

また、このような分光器において、光路結合部材は、当該光路結合部材から射出する各々の略平行光束の全体の径を、コリメートレンズから射出して偏光分離素子に入射する略平行光束の径以下とすることが好ましい。

【0010】

また、このような分光器において、偏光分離素子は、コリメートレンズから射出した略平行光束が入射する位置に配置され、この略平行光束のうちP偏光成分の光を透過して第1光路に導き、S偏光成分の光を反射する偏光ビームスプリッタと、偏光ビームスプリッタで反射されたS偏光成分の光を反射して第2光路に導く平面鏡と、から構成されていることが好ましい。

【0011】

また、このような分光器において、偏光回転素子は、フレネルロム1/2波長板であることが好ましい。

【0012】

また、本発明に係る顕微分光システムは、光源から放射された照明光を走査して対物レンズにより標本に照射するとともに、この標本から放射される信号光を対物レンズで集光する顕微鏡と、顕微鏡からの信号光を分光して検出する上述の分光器のいずれかと、を有することを特徴とする。

【発明の効果】

【0013】

本発明によれば、分光素子の偏光依存性を考慮しつつ、大型化及びコスト増加を抑えた分光器、及びこの分光器を備える顕微分光システムを提供することができる。

【図面の簡単な説明】

10

20

30

40

50

## 【0014】

【図1】顕微分光システムの構成を示す説明図である。

【図2】分光器の構成を示す説明図である。

【図3】上記分光器の要部を示す説明図である。

【発明を実施するための形態】

## 【0015】

以下、本発明の好ましい実施形態について図面を参照して説明する。まず、図1を用いて顕微分光システムの構成について説明する。図1に示すように、この顕微分光システム1は、光源系10、共焦点ユニット20及び顕微鏡30を有する共焦点顕微鏡と、分光器40と、制御部50と、を有して構成されている。この顕微分光システム1において、共焦点ユニット20と分光器40とは、ファイバケーブル29a、29bを介して光ファイバ28により光学的に接続されている。

10

## 【0016】

光源系10は、レーザ装置11と、光ファイバ13と、ファイバケーブル12、14と、を有する。レーザ装置11は、例えば、レーザダイオードを備え、目的の波長特性を有するレーザ光（照明光）を射出する。このレーザ光は、光ファイバ13を介して共焦点ユニット20に導かれる。なお、図1の例では、照明光として、標本33を励起して蛍光を発生させるための励起光を射出する。

## 【0017】

共焦点ユニット20は、光源系10からの照明光を略平行光束とするコリメートレンズ21と、ダイクロイックミラー22と、走査ユニット23と、スキャナレンズ24と、集光レンズ25と、ピンホール26aを有するピンホール板26と、リレーレンズ27と、を有する。また、顕微鏡30は、第2対物レンズ31及び対物レンズ32と、標本33が載置されるステージ34と、を有する。これらの共焦点ユニット20と顕微鏡30とを組み合わせて走査型共焦点顕微鏡が構成される。なお、ダイクロイックミラー22は、光源系10から射出されたレーザ光を顕微鏡30側に反射し、このレーザ光により励起した標本33から放射される蛍光（信号光）を透過するように構成されている。また、集光レンズ25の像側焦点は、ピンホール板26のピンホール26aと略一致するように配置されている。

20

## 【0018】

光源系10のレーザ装置11から射出されたレーザ光（照明光）はファイバケーブル12を介して光ファイバ13に導入される。さらにこの光ファイバ13を通ったレーザ光はファイバケーブル14から共焦点ユニット20のコリメートレンズ21に入射する。そして、このレーザ光はコリメートレンズ21で略平行光に変換された後、ダイクロイックミラー22で顕微鏡30側の光路に反射され、直交配置された2つのガルバノミラーからなる走査ユニット23及びスキャナレンズ24に導入されて、二次元的に走査される。走査されたレーザ光は、第2対物レンズ31で略平行光にされた後、対物レンズ32で標本33上の1点に集光される。なお、走査ユニット23により二次元的に走査される標本33上の位置は、制御部50により走査ユニット23を構成するガルバノミラーの動作を制御することにより制御される。そして、このレーザ光（照明光）により励起された標本33から放射された蛍光（信号光）は、対物レンズ32で略平行光に変換され、レーザ光（照明光）と逆の経路を辿り、走査ユニット23でデスキャンされた後、ダイクロイックミラー22に入射する。さらに、ダイクロイックミラー22に入射した蛍光はこのダイクロイックミラー22を透過し、集光レンズ25によりピンホール板26のピンホール26a上に集光される。

30

40

## 【0019】

ピンホール26aを通過した蛍光（信号光）は、リレーレンズ27を経て、ファイバケーブル29aから光ファイバ28に導かれる。リレーレンズ27を介すると、図1に示すように、ピンホール26aを通過した光が、そのままであると発散光束となるところを、再び、集光され、光ファイバ28の開口端において、見かけ上、小さな開口径でも、有効に

50

(ロスが少なく)入射できるようになる。

【0020】

ここで、ピンホール26aに形成される集光点は標本33上での光スポットの像となっているため、標本33上の他の点から発した光がたとえあったとしても、ピンホール26aでは像を結ばずピンホール板26により遮られ、ファイバケーブル29aにほとんど到達できない。そのため、このピンホール26aを通過できた光のみ、すなわち、上述の光スポットの位置から出た光のみが、リレーレンズ27を介してファイバケーブル29aに到達できる。この結果、走査型共焦点顕微鏡では高い横分解能だけでなく、高い縦分解能を持って標本を観察できる顕微鏡となっている。

【0021】

ファイバケーブル29aに入射した蛍光(信号光)は、光ファイバ28を通り、ファイバケーブル29bを介して分光器40に導入される。以下、本実施形態に係る分光器40の構成について説明する。

【0022】

図2及び図3に示すように、分光器40は、ファイバケーブル29bを介して光ファイバ28から入射する信号光(図1の例では蛍光)を略平行光束とするコリメートレンズ41と、このコリメートレンズ41で略平行光束にされた信号光を、P偏光成分とS偏光成分の光に分離し、P偏光成分の光を第1光路C1に導き、S偏光成分の光を第2光路C2に導く偏光分離素子42と、第1光路C1に設けられ、P偏光成分の光をS偏光成分の光に変換する偏光回転素子43と、第1光路C1及び第2光路C2の光の光束径を変えるときにも、これらの光を互いに平行で且つ隣接させて射出する光路結合素子44と、光路結合素子44から射出した略平行光束を分光する分光素子である反射型の回折格子45と、複数の受光素子がアレイ状に並べられてラインディテクタを構成する受光器47と、回折格子45から射出された回折光(分光光)を受光器47の受光面に結像させる集光光学系46と、を有する。ここで、受光器47は、32個のPMT(光電子倍增管:Photomultiplier Tube)を用いたものである。この複数のPMTは、回折格子45の複数の刻線が並んでいる方向、つまり回折格子45の光分散方向(分光方向)に並んでいる。このように、本実施形態では、受光器47として、複数の検出セル(PMT)を持つ光検出アレイを用いているので、複数の波長域の光を同時に検出することができる。なお、図2においては集光光学系46として凹面鏡(反射光学系)を用いた場合について示しているが、正の屈折力を有するレンズ(屈折光学系)で構成しても良い。

【0023】

偏光分離素子42は、コリメートレンズ41から射出した略平行光束が入射する位置に、この略平行光束の入射角度が略45°になるように配置された偏光ビームスプリッタ板42aと、偏光ビームスプリッタ板42aで反射された略平行光束の入射角度が略45°になるように配置され、この略平行光束を反射する平面鏡42bと、から構成されている。なお、入射角度とは、入射面の法線に対する入射光の角度である。ここで、偏光ビームスプリッタ板42aは、平行平板ガラスに誘電体反射コーティングを施したもので、入射する光のうち、S偏光成分の光を反射し、P偏光成分の光を透過する性質を有する。そのため、この偏光ビームスプリッタ板42aに入射した略平行光束(信号光)のうち、P偏光成分の光はこの偏光ビームスプリッタ板42aを透過して第1光路C1に導かれ、S偏光成分の光はこの偏光ビームスプリッタ板42aで反射し、さらに、平面鏡42bで反射して第2光路C2に導かれる。なお、上述したように偏光ビームスプリッタ板42a及び平面鏡42bは、その入射光に対する角度が略45°になるように配置されているため、第1光路C1及び第2光路C2は、略平行に延びて配置されている。なお、以下の説明の都合上、コリメートレンズ41の光軸と平行な方向をZ方向、コリメートレンズ41からの光が偏光ビームスプリッタ板42aにより反射される方向とZ方向とに平行な面内でZ方向に垂直な方向をY方向、Y方向及びZ方向に垂直な方向をX方向とする。

【0024】

偏光回転素子43は、例えば、フレネルロム1/2波長板で構成される。このフレネル

10

20

30

40

50

ロム 1 / 2 は波長板は、全反射を利用した複屈折素子で、波長依存性が極めて小さく、各種波長の光に対して用いることができる。このフレネルロム 1 / 2 波長板では、入射面 4 3 a から入射した光は、一平面上で 4 回反射して（平面 4 3 b ~ 4 3 e で反射して）出射面 4 3 f から出射される。このフレネルロム 1 / 2 波長板は、入射面 4 3 a 及び出射面 4 3 f が Z 方向に対して垂直で且つ前述の一平面 4 3 b ~ 4 3 e が図 3 ( b ) に示すように、ZX 平面に対して 45° を成すように配置されている。このように、偏光回転素子 4 3 としてフレネルロム 1 / 2 波長板を設けることにより、偏光ビームスプリッタ板 4 2 a を通過して P 偏光成分の光になった信号光（略平行光束）は、このフレネルロム 1 / 2 波長板内での全反射 1 回につき、偏光方向が / 8 分変化して、合計で / 2 分変化し、結果として、S 偏光成分の光に変換される。この S 偏光成分の光は、コリメートレンズ 4 1 の光軸上、言い換えると、Z 方向に平行な方向に進む。

10

## 【 0 0 2 5 】

光路結合素子 4 4 は、第 1 光路 C 1 に配置された第 1 のビームエキスパンダ 4 4 1 と、第 2 光路 C 2 に配置された第 2 のビームエキスパンダ 4 4 2 と、から構成されている。これらの第 1 及び第 2 のビームエキスパンダ 4 4 1 , 4 4 2 の各々は、第 1 及び第 2 光路 C 1 , C 2 からの光が入射する位置に配置され、軸外放物面形状を有し、これらの光を反射する第 1 の反射面 4 4 1 a , 4 4 2 a と、この第 1 の反射面 4 4 1 a , 4 4 2 a に対向するように配置され第 1 の反射面 4 4 1 a , 4 4 2 a で反射された光を反射する、軸外放物面形状を有する第 2 の反射面 4 4 1 b , 4 4 2 b と、からなる 2 つの軸外放物面で構成されている。また、本実施形態においては、第 1 の反射面 4 4 1 a , 4 4 2 a の焦点距離は、第 2 の反射面 4 4 1 b , 4 4 2 b の焦点距離の略 2 倍になるように構成されている。そのため、この第 2 の反射面 4 4 1 b , 4 4 2 b で反射された信号光の光束径は、第 1 及び第 2 光路 C 1 , C 2 の光束径の略半分に縮小される。また、本実施形態において第 1 のビームエキスパンダ 4 4 1 に用いられている第 2 の反射面 4 4 1 b と第 2 のビームエキスパンダ 4 4 2 に用いられている第 2 の反射面 4 4 2 b とは接するようにつ Z 軸と略平行に光を射出するように配置してあるため、回折格子 4 5 への入射時の最大光束径は、偏光分離素子 4 2 に入射するときの光束径と同じである。そのため、コリメートレンズ 4 1 から射出した信号光を偏光分離素子 4 2 により 2 つの光路に分割して偏光回転素子 4 3 で偏光を揃えても、結果的に光束径が 2 倍になってしまうことはなく、回折格子 4 5 が大型化することはない。また、光路結合素子 4 4 を射出した第 1 及び第 2 光路 C 1 , C 2 の各々を通った信号光は略平行光束であり、回折格子 4 5 に対する入射角が同じであるため、集光光学系 4 6 を 2 つ用意する必要がなく、分光器 4 0 の大型化を防ぐことができる。なお、本実施形態では第 1 及び第 2 のビームエキスパンダ 4 4 1 , 4 4 2 の光束径の変換倍率を揃えているが、第 1 のビームエキスパンダ 4 4 1 と第 2 のビームエキスパンダ 4 4 2 とで異なる変換倍率にしてもよい。なお、この場合も、回折格子 4 5 への入射時の最大光束径が、偏光分離素子 4 2 に入射するときの光束径以下となることが好ましい。

20

30

## 【 0 0 2 6 】

本実施形態に係る分光器 4 0 を以上のように構成すると、信号光の偏光方向を S 偏光に揃えることができるため、回折格子 4 5 に入射する信号光の電場振動方向がこの回折格子 4 5 の刻線に対して垂直にすることができるので、回折格子 4 5 の回折効率を高くすることができ、明るい分光光を得ることができる。また、上述したように、光路結合素子 4 4 により回折格子 4 5 に入射する信号光の光束径（第 1 及び第 2 光路 C 1 , C 2 を通過した信号光の全体の光束径）がコリメートレンズ 4 1 を射出して偏光分離素子 4 2 に入射する前の光束径より大きくならないようにすることができるため、偏光分離素子 4 2 等を用いて偏光方向を揃えない従来の分光器と同じ大きさの回折格子 4 5 を用いることができる。さらに、光路結合素子 4 4 を射出した信号光は略平行光束であるため、集光光学系 4 6 は 1 つで良い。そのため、この分光器 4 0 の大型化を防ぐことができる。また、本実施形態に示す分光器 4 0 は光ファイバ 2 8（ファイバカプラ 2 9 b）を入射端としているので、容易に共焦点顕微鏡に接続することが可能である。すなわち、上述したように一般的な共焦点顕微鏡では光検出をピンホール板 2 6 に接続した光検出器で行っているが、ピンホー

40

50

ル 2 6 a 透過後の光を光ファイバ 2 8 に入射させることで分光器 4 0 への光導入を容易に光ファイバ 2 8 で行うことが可能である。

【 0 0 2 7 】

なお、以上の説明においては、1つの回折格子 4 5 を用いた場合を示したが、波長分解能の異なる複数の回折格子を回折格子台上に配置し、この回折格子台を回転させて、光路結合素子 4 4 から射出した信号光が入射する回折格子を切り替え可能に構成しても良い。回折格子を載せている回折格子台を回転させることで、回折格子の波長分解能を切り替えることができ、また、この回折格子に対する光の入射角度及び出射角度を変えることができるため、アレイ状の受光器 4 7 で検出できる波長領域を変えることができる。

【 0 0 2 8 】

また、以上の説明では、第 2 光路 C 2 中に平面鏡 4 2 b を設けたが、第 1 光路 C 1 中に平面鏡を設けても良いことは言うまでもない。また、以上の実施形態では、回折格子 4 5 で分光された光を凹面鏡からなる集光光学系 4 6 で集光した後、受光器 4 7 で受光しているが、この受光器 4 7 の代わりに、特定の波長域の光を出射する出射スリットを設けても良い。

【 0 0 2 9 】

また、以上の説明では、偏光分離素子 4 2 にいわゆる平面型の偏光ビームスプリッタである偏光ビームスプリッタ板 4 2 a を設けた場合について説明したが、プリズム型やウェッジ基板型の偏光ビームスプリッタを用いることも可能である。

【 符号の説明 】

【 0 0 3 0 】

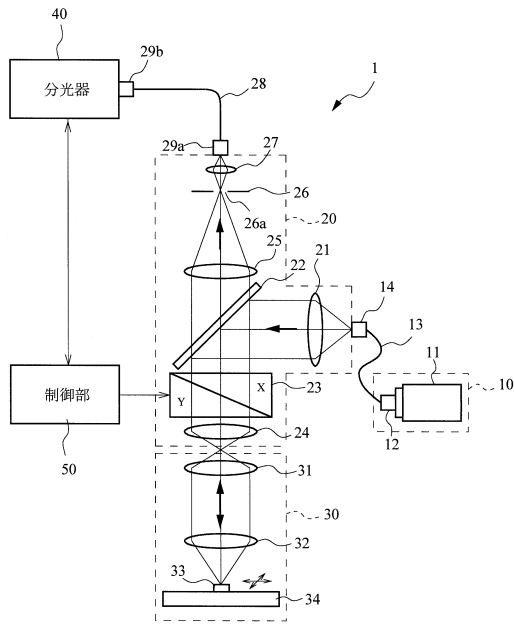
1 顕微分光システム      3 0 顕微鏡      3 2 対物レンズ  
 4 0 分光器      4 1 コリメートレンズ  
 4 2 偏光分離素子      4 2 a 偏光ビームスプリッタ板      4 2 b 平面鏡  
 4 3 偏光回転素子      4 4 光路結合部材  
 4 4 1 第 1 のビームエキスパンダ  
 4 4 1 a 第 1 の反射面      4 4 1 b 第 2 の反射面  
 4 4 2 第 2 のビームエキスパンダ  
 4 4 2 a 第 2 の反射面      4 4 2 b 第 2 の反射面  
 4 5 回折格子      4 6 集光光学系      4 7 受光器

10

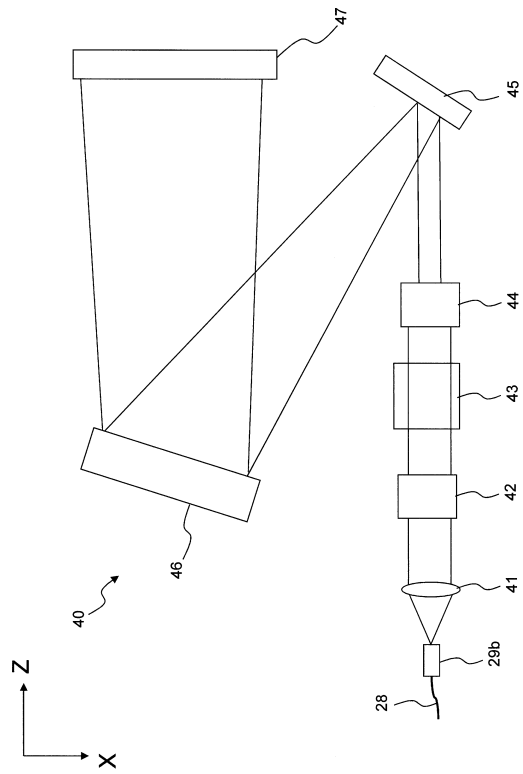
20

30

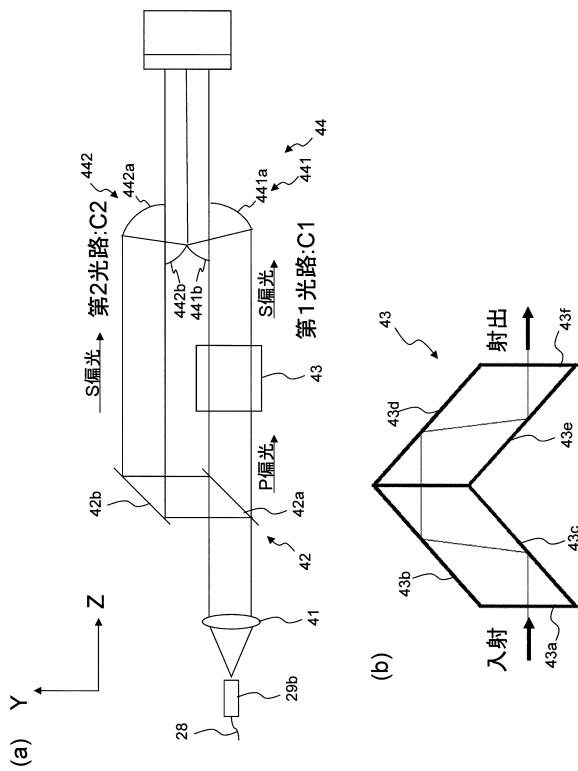
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】





---

フロントページの続き

- (56)参考文献 特開2006-153587(JP,A)  
特開2003-083810(JP,A)  
特開平02-156124(JP,A)  
特開平05-203894(JP,A)  
国際公開第2010/026640(WO,A1)  
特開2002-267951(JP,A)  
米国特許第07177496(US,B1)  
米国特許出願公開第2006/0114458(US,A1)  
特開2008-139652(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01J 3/00 - 3/52  
G01N 21/27  
G01N 21/64  
G02B 21/06