(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6749648号
(P6749648)
(45)発行日　令和2年9月2日(2020.9.2)　(24)登録日　令和2年8月14日(2020.8.14)

(51)Int.Cl.　F I
G02B 21/00 (2006.01)　G02B 21/00

請求項の数 26　(全 25 頁)

(21)出願番号　特願2017-539749(P2017-539749)
(86)(22)出願日　平成28年7月28日(2016.7.28)
(86)国際出願番号　PCT/JP2016/072139
(87)国際公開番号　WO2017/047243
(87)国際公開日　平成29年3月23日(2017.3.23)
審査請求日　平成31年4月17日(2019.4.17)
(31)優先権主張番号　特願2015-184497(P2015-184497)
(32)優先日　平成27年9月17日(2015.9.17)
(33)優先権主張国・地域又は機関
日本国(JP)

(73)特許権者　503360115
国立研究開発法人科学技術振興機構
埼玉県川口市本町四丁目１番８号
(74)代理人　110000408
特許業務法人高橋・林アンドパートナーズ
(72)発明者　松崎　政紀
東京都文京区本郷七丁目３番１号国立大学法人東京大学内
(72)発明者　寺田晋一郎
東京都文京区本郷七丁目３番１号国立大学法人東京大学内

審査官　越河　勉

最終頁に続く

(54)【発明の名称】顕微鏡用光学モジュール、顕微鏡、顕微鏡用光学モジュール制御装置及び多光子励起顕微鏡

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

顕微鏡の対物光束側に付加する顕微鏡用光学モジュールであって、
光学素子を備える光軸シフト光学系と、
前記顕微鏡の対物光束に対して前記光軸シフト光学系を位置決めする光軸シフト光学系支持手段と、
前記光軸シフト光学系支持手段に配置され、前記対物光束の光軸に対して前記光軸シフト光学系を回転可能に支持する回動手段と、を備え、
前記光軸シフト光学系は、標本に対して前記対物光束の光軸を所定の距離だけシフトさせ、前記標本の観察視野を移動させたことを特徴とする顕微鏡用光学モジュール。

【請求項２】

第１の開口部と第２の開口部と、前記第１の開口部と前記第２の開口部に配置された光学素子を備える光軸シフト光学系を備えたことを特徴とする請求項１に記載の顕微鏡用光学モジュール。

【請求項３】

前記光軸シフト光学系の光学素子に光ファイバーを用いたことを特徴とする請求項１に記載の顕微鏡用光学モジュール。

【請求項４】

前記光学素子は、略平行な対向反射面を備えたプリズム又は略平行な対向反射面を固定支持してなる中空反射素子であることを特徴とする請求項１に記載の顕微鏡用光学モジュー

ル。
【請求項５】
前記光学素子は、ＧＲＩＮレンズと、前記ＧＲＩＮレンズの両端に配置される略平行な対向反射面又はプリズムを備えることを特徴とする請求項１に記載の顕微鏡用光学モジュール。
【請求項６】
前記光学素子は、三角プリズムであることを特徴とする請求項１に記載の顕微鏡用光学モジュール。
【請求項７】
前記顕微鏡の対物光束の光軸に沿った平面上で前記光学素子に対する入射角を変更可能にした前記光軸シフト光学系支持手段を備えたことを特徴とする請求項４に記載の顕微鏡用光学モジュール。
【請求項８】
前記中空反射素子での略平行な対向反射面の間に液体を充填可能にしたことを特徴とする請求項４に記載の顕微鏡用光学モジュール。
【請求項９】
前記光軸シフト光学系支持手段に前記回動手段を回転・停止させる駆動機構を備えたことを特徴とする請求項１に記載の顕微鏡用光学モジュール。
【請求項１０】
請求項１に記載の顕微鏡用光学モジュールを配置したことを特徴とする顕微鏡。
【請求項１１】
請求項１０に記載の顕微鏡に配置した顕微鏡用光学モジュールに接続する制御システムであって、前記光軸シフト光学系の回転の初期位置と回転角度の設定を可能にしたことを特徴とする顕微鏡用光学モジュール制御装置。
【請求項１２】
前記顕微鏡に備えられた撮影装置に対して、撮影開始を指示する撮影指示信号出力手段を備えたことを特徴とする請求項１１に記載の顕微鏡用光学モジュール制御装置。
【請求項１３】
前記顕微鏡用光学モジュールの駆動機構の回転駆動開始に先立って、前記顕微鏡に備えられた撮影装置に対して撮影終了を指示する撮影終了信号出力手段を備えたことを特徴とする請求項１１に記載の顕微鏡用光学モジュール制御装置。
【請求項１４】
前記顕微鏡用光学モジュールの駆動機構の回転駆動開始に先立って発信する信号の発信に応じて回転駆動を開始することを特徴とする請求項１１に記載の顕微鏡用光学モジュール制御装置。
【請求項１５】
前記顕微鏡用光学モジュールの駆動機構の回転駆動は角速度及び位置制御で行うことを特徴とする請求項１１に記載の顕微鏡用光学モジュール制御装置。
【請求項１６】
顕微鏡の対物光束側に付加する顕微鏡用光学モジュールであって、
前記顕微鏡の対物光束に対して傾斜した面を有するプリズムを備える光軸シフト光学系と、
前記顕微鏡の対物光束に対して前記光軸シフト光学系を位置決めする光軸シフト光学系支持手段と、
前記光軸シフト光学系支持手段に配置され、前記対物光束の光軸に対して平行方向及び垂直方向に前記光軸シフト光学系を移動可能に支持する移動手段と、を備え、
前記光軸シフト光学系は、標本に対して前記対物光束の光軸を所定の距離だけシフトさせ、前記標本の観察視野を移動させたことを特徴とする顕微鏡用光学モジュール。
【請求項１７】
第１の開口部と第２の開口部と、前記第１の開口部と前記第２の開口部に配置されたプリ

ズムを備える光軸シフト光学系を備えたことを特徴とする請求項１６に記載の顕微鏡用光学モジュール。
【請求項１８】
請求項１６に記載の顕微鏡用光学モジュールを配置したことを特徴とする顕微鏡。
【請求項１９】
請求項１８に記載の顕微鏡に配置した顕微鏡用光学モジュールに接続する制御システムであって、前記光軸シフト光学系の移動の初期位置と前記対物光束の光軸に対する平行方向及び垂直方向の位置設定を可能にしたことを特徴とする顕微鏡用光学モジュール制御装置。
【請求項２０】
前記顕微鏡に備えられた撮影装置に対して、撮影開始を指示する撮影指示信号出力手段を備えたことを特徴とする請求項１９に記載の顕微鏡用光学モジュール制御装置。
【請求項２１】
前記顕微鏡用光学モジュールの駆動機構の駆動開始に先立って、前記顕微鏡に備えられた撮影装置に対して撮影終了を指示する撮影終了信号出力手段を備えたことを特徴とする請求項１９に記載の顕微鏡用光学モジュール制御装置。
【請求項２２】
前記顕微鏡用光学モジュールの駆動機構の駆動開始に先立って発信する信号の発信に応じて駆動を開始することを特徴とする請求項１９に記載の顕微鏡用光学モジュール制御装置。
【請求項２３】
請求項１に記載の顕微鏡用光学モジュールを備えたことを特徴とする多光子励起顕微鏡。
【請求項２４】
請求項１６に記載の顕微鏡用光学モジュールを備えたことを特徴とする多光子励起顕微鏡。
【請求項２５】
前記顕微鏡が多光子励起顕微鏡であることを特徴とする請求項１１に記載の顕微鏡用光学モジュール制御装置。
【請求項２６】
前記顕微鏡が多光子励起顕微鏡であることを特徴とする請求項１９に記載の顕微鏡用光学モジュール制御装置。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は顕微鏡用光学モジュール、顕微鏡、顕微鏡用光学モジュール制御装置及び多光子励起顕微鏡に関する。特に観察視野を高速に切り替え、大きな視野を観察可能な顕微鏡用光学モジュール、顕微鏡、顕微鏡用光学モジュール制御装置及び多光子励起顕微鏡に関する。
【背景技術】
【０００２】
顕微鏡観察において広い観察視野を得るには、低倍率での観察、又は標本を走査しながら複数枚撮像して観察像を１つに合成する方法がある。しかし、高倍率での観察においては観察視野がさらに狭くなるため、広い観察視野を得るのは容易ではない。また、走査しながら撮像するには、一般にステージを水平方向に移動させるが、精度よく、高速にステージを移動させるのは困難であるため、瞬間的に生じる事象を広範囲にわたって、又は離れた２点以上について観察するのはこれまで困難であった。
【０００３】
このような問題に対して、例えば特許文献１には、対物レンズの切り替えや移動を伴うことなく、且つ、ステージや標本の位置を変えることなく、観察視野を移動させる方法として、標本から観察像までの光路において、最も標本側に位置する第１対物レンズと、標本

に共役な中間像を、第１対物レンズと共に形成する第２対物レンズとを備えた顕微鏡における、光学系であって、第１対物レンズと第２対物レンズとの間の光学系内に配置され、反射により光路の方向を変更する反射用ミラーを有し、反射用ミラーの反射面の延在方向が変わるように、反射用ミラーが回転可能である顕微鏡の光学系が記載されている。

【０００４】

しかし、特許文献１は、接眼レンズと広視野を観察するための低倍率の対物レンズとの間に、低倍率光学系と高倍率光学系を備えた変倍率光学系を配置することにより、対物レンズと標本との位置関係を変化させずに、対物レンズにより観察可能な視野において、反射用回転ミラーで視野ブロックを切り替えながら高倍率光学系で観察技術である。したがって、特許文献１では、標本に対して位置決めされた対物レンズにより観察可能な視野が制限されるため、それより大きな観察視野を得ることはできない。

【０００５】

また、特許文献１では、Ｘ軸方向及びＹ軸方向への視野ブロックの切り替えを反射用回転ミラーで行うため、回転軸が２つとなり、反射用回転ミラーの位置制御が難しい。このため、観察視野を連続して移動させる走査型の観察を行う場合、再現性よく繰り返しの観察を行うことは困難である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００６】

【特許文献１】特開２００５－３２１６５７号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００７】

本発明は、上述の問題を解決するものであって、観察視野を高速に切り替え、大きな視野を観察可能な顕微鏡用光学モジュール、顕微鏡、顕微鏡用光学モジュール制御装置及び多光子励起顕微鏡を提供する。

【課題を解決するための手段】

【０００８】

本発明の一実施形態によると、顕微鏡の対物光束側に付加する顕微鏡用光学モジュールであって、光学素子を備える光軸シフト光学系と、前記顕微鏡の対物光束に対して前記光軸シフト光学系を位置決め設定する光軸シフト光学系支持手段と、前記光軸シフト光学系支持手段に配置され、前記対物光束の光軸に対して前記光軸シフト光学系を回転可能に支持する回動手段と、を備えた顕微鏡用光学モジュールが提供される。

【０００９】

前記顕微鏡用光学モジュールにおいて、第１の開口部と第２の開口部と、前記第１の開口部と前記第２の開口部に配置された光学素子を備える光軸シフト光学系を備えてもよい。

【００１０】

前記顕微鏡用光学モジュールにおいて、前記光軸シフト光学系の光学素子に光ファイバーを用いてもよい。

【００１１】

前記顕微鏡用光学モジュールにおいて、前記光学素子は、略平行な対向反射面を備えたプリズム又は略平行な対向反射面を固定支持してなる中空反射素子であってもよい。

【００１２】

前記顕微鏡用光学モジュールにおいて、前記光学素子は、ＧＲＩＮレンズと、前記ＧＲＩＮレンズの両端に配置される略平行な対向反射面又はプリズムを備えてもよい。

【００１３】

前記顕微鏡用光学モジュールにおいて、前記光学素子は、三角プリズムであってもよい。

【００１４】

前記顕微鏡用光学モジュールにおいて、前記顕微鏡対物光軸に沿った平面上で前記光学素子に対する入射角を変更可能にした前記光軸シフト光学系支持手段を備えてもよい。

【００１５】
前記顕微鏡用光学モジュールにおいて、前記中空反射素子での略平行な対向反射面の間に液体を充填可能にしてもよい。
【００１６】
前記顕微鏡用光学モジュールにおいて、前記光軸シフト光学系支持手段に前記回動手段を回転・停止させる駆動機構を備えてもよい。
【００１７】
また、本発明の一実施形態によると、前記何れか一に記載の顕微鏡用光学モジュールを配置した顕微鏡が提供される。
【００１８】
また、本発明の一実施形態によると、前記顕微鏡に配置した顕微鏡用光学モジュールに接続する制御システムであって、前記光軸シフト光学系の回転の初期位置と回転角度の設定を可能にした顕微鏡用光学モジュール制御装置が提供される。
【００１９】
前記顕微鏡用光学モジュール制御装置において、前記顕微鏡に備えられた撮影装置に対して、撮影開始を指示する撮影指示信号出力手段を備えてもよい。
【００２０】
前記顕微鏡用光学モジュール制御装置において、前記顕微鏡用光学モジュールの駆動機構の回転駆動開始に先立って、前記顕微鏡に備えられた撮影装置に対して撮影終了を指示する撮影終了信号出力手段を備えてもよい。
【００２１】
前記顕微鏡用光学モジュール制御装置において、前記顕微鏡用光学モジュールの駆動機構の回転駆動開始に先立って発信する信号の発信に応じて回転駆動を開始してもよい。
【００２２】
前記顕微鏡用光学モジュール制御装置において、前記顕微鏡用光学モジュールの駆動機構の回転駆動は角速度及び位置制御で行ってもよい。
【００２３】
また、本発明の一実施形態によると、顕微鏡の対物光束側に付加する顕微鏡用光学モジュールであって、前記顕微鏡の対物光束に対して傾斜した面を有するプリズムを備える光軸シフト光学系と、前記顕微鏡の対物光束に対して前記光軸シフト光学系を位置決めする光軸シフト光学系支持手段と、前記光軸シフト光学系支持手段に配置され、前記対物光束の光軸に対して平行方向及び垂直方向に前記光軸シフト光学系を移動可能に支持する移動手段と、を備えた顕微鏡用光学モジュールが提供される。
【００２４】
前記顕微鏡用光学モジュールにおいて、第１の開口部と第２の開口部と、前記第１の開口部と前記第２の開口部に配置されたプリズムを備える光軸シフト光学系を備えてもよい。
【００２５】
また、本発明の一実施形態によると、前記顕微鏡用光学モジュールを配置した顕微鏡が提供される。
【００２６】
また、本発明の一実施形態によると、前記顕微鏡に配置した顕微鏡用光学モジュールに接続する制御システムであって、前記光軸シフト光学系の移動の初期位置と前記対物光束の光軸に対する平行方向及び垂直方向の位置設定を可能にした顕微鏡用光学モジュール制御装置が提供される。
【００２７】
前記顕微鏡用光学モジュール制御装置において、前記顕微鏡に備えられた撮影装置に対して、撮影開始を指示する撮影指示信号出力手段を備えてもよい。
【００２８】
前記顕微鏡用光学モジュール制御装置において、前記顕微鏡用光学モジュールの駆動機構の駆動開始に先立って、前記顕微鏡に備えられた撮影装置に対して撮影終了を指示する撮

影終了信号出力手段を備えてもよい。
【００２９】
前記顕微鏡用光学モジュール制御装置において、前記顕微鏡用光学モジュールの駆動機構の駆動開始に先立って発信する信号の発信に応じて駆動を開始してもよい。
【００３０】
また、本発明の一実施形態によると、前記何れかに記載の顕微鏡用光学モジュールを備えた多光子励起顕微鏡が提供される。
【００３１】
前記何れかに記載の顕微鏡用光学モジュール制御装置において、前記顕微鏡が多光子励起顕微鏡であってもよい。
【発明の効果】
【００３２】
本発明によると、従来のような対物レンズの切り替えやステージの移動を伴わず、対物レンズの対物光束側に配置することで観察視野を高速に切り替え、大きな視野を観察可能な顕微鏡用光学モジュール、顕微鏡、顕微鏡用光学モジュール制御装置及び多光子励起顕微鏡を提供することができる。
【００３３】
また、特許文献１のように、従来の顕微鏡では、顕微鏡自体の光学系を変更するため、新たな顕微鏡の購入が必要となる。しかし、本発明に係る顕微鏡用光学モジュール及び顕微鏡用光学モジュール制御装置を用いることにより、既存の顕微鏡を用いて観察視野を高速に切り替え、大きな視野を観察可能にする。
【図面の簡単な説明】
【００３４】
【図１】本発明の一実施形態に係るに顕微鏡用光学モジュール１００を配置した顕微鏡１０００を示す模式図である。
【図２】図１における本発明の一実施形態に係る光軸シフト光学系１３０近傍を拡大した模式図である。
【図３】本発明の一実施形態に係る連続撮影方法を説明する模式図である。
【図４】本発明の一実施形態に係る光学素子２１０の模式図である。
【図５】本発明の一実施形態に係る光学素子３１０の模式図である。
【図６】本発明の一実施形態に係る光学素子の変形例を示す模式図である。
【図７】本発明の一実施形態に係る光学素子６１０を備えた光軸シフト光学系６３０の模式図である。
【図８】本発明の一実施形態に係る顕微鏡用光学モジュール７００を配置した顕微鏡２０００を示す模式図である。
【図９】図７における本発明の一実施形態に係る光軸シフト光学系７３０近傍を拡大した模式図である。
【図１０】本発明の一実施例に係る顕微鏡用光学モジュール１００の模式図である。
【図１１】本発明の一実施例に係る観察したマウスの脳の領域を示し、（ｂ）は（ａ）の観察視野ｂを示し、（ｃ）は（ａ）の観察視野ｃを示す。
【図１２】本発明の一実施例に係る顕微鏡用光学モジュール１００の駆動制御したタイミングチャートを示す。
【図１３】本発明の一実施例に係る観察したマウスの脳の観察視野ａ～ｄを示し、（ａ）～（ｄ）は観察視野ａ～ｄをそれぞれ示す。
【図１４】本発明の一実施例に係る顕微鏡用光学モジュール１００の駆動制御したタイミングチャートを示す。
【図１５】本発明の一実施例に係る顕微鏡用光学モジュール１００の駆動制御したタイミングチャートを示す。
【図１６】（ａ）は本発明の一実施例に係る光軸シフト光学系１３０を観察視野ａ～ｃに回転させる様子を示した模式図を示し、（ｂ）はマウスの脳における観察視野ａ～ｃの位

置を示す図であり、（ｃ）は観察像I_1～I_3を広視野の１つの観察像に合成した図を示す。

【図１７】本発明の一実施例に係る顕微鏡用光学モジュール１００の駆動制御したタイミングチャートを示す。

【発明を実施するための形態】

【００３５】

以下に一実施形態に係る本発明の顕微鏡用光学モジュール、顕微鏡、顕微鏡用光学モジュール制御装置及び多光子励起顕微鏡について、図を参照して説明する。なお、以下の実施形態及び実施例は本発明の顕微鏡用光学モジュール、顕微鏡、顕微鏡用光学モジュール制御装置及び多光子励起顕微鏡の一例であり、本発明の顕微鏡用光学モジュール、顕微鏡、顕微鏡用光学モジュール制御装置及び多光子励起顕微鏡は以下の実施形態及び実施例に限定されるわけではない。

【００３６】

本発明に係る顕微鏡用光学モジュールは、顕微鏡の対物レンズとステージの間に配置し、対物光束に対して光軸をシフトさせることを特徴とする。本発明に係る顕微鏡用光学モジュールは、対物レンズ側に配置され、光学素子を備える光軸シフト光学系を有する。本発明において光学素子は、対物光束に対して光軸をシフトさせる機能を有する。光学素子には幾つもの態様が存在するため、以下に具体的に説明するが、本発明に係る顕微鏡用光学モジュールは以下の実施形態に限定されるものではない。

【００３７】

（実施形態１）

図１は、本発明の実施形態１に係る顕微鏡用光学モジュール１００を付加した顕微鏡１０００を示す模式図である。図２は図１における、本発明の実施形態１に係る光軸シフト光学系１３０近傍を拡大した模式図である。なお、図２において、（ａ）は光軸シフト光学系１３０と対物レンズ１２１０、標本１３３０の断面図であり、（ｂ）及び（ｃ）は光軸シフト光学系１３０を第１の開口部１３１側から見た上面図である。

【００３８】

顕微鏡用光学モジュール１００は、顕微鏡１０００の対物光束側に配置され、光学素子１１０を備える光軸シフト光学系１３０を備える。また、顕微鏡用光学モジュール１００は、顕微鏡１０００の対物光束に対して光軸シフト光学系１３０を位置決めする光軸シフト光学系支持手段１５０と、光軸シフト光学系支持手段１５０に配置され、対物光束の光軸に対して光軸シフト光学系１３０を回転可能に支持する回動手段１７０を備える。

【００３９】

光軸シフト光学系１３０は、顕微鏡１０００の対物光束側に配置する第１の開口部１３１と、標本１３３０側に配置する第２の開口部１３３を備える。光学素子１１０は、第１の開口部１３１と第２の開口部１３３との間に配置される。本明細書において、開口部は光学的開口部であり、第１の開口部１３１及び第２の開口部１３３が物理的に開口していることを必須の構成とするものではない。つまり、顕微鏡１０００が用いる光が観察に影響しない程度に透過可能であれば、光透過性の部材が第１の開口部１３１及び／又は第２の開口部１３３に配置されてもよい。

【００４０】

本実施形態において、光学素子１１０は略平行な対向反射面１１１及び１１３を備える。光学素子１１０は、例えば、略平行な対向反射面を備えたプリズム又は略平行な対向反射面を固定支持してなる中空反射素子である。一実施形態において、中空反射素子での略平行な対向反射面の間に液体を充填可能としてもよい。中空反射素子での略平行な対向反射面の間に液体を充填することにより、液浸法による観察が可能となり、対物レンズ１２１０と標本１３３０の間での空気による屈折率への影響を抑制することができる。

【００４１】

図２（ａ）において、図１の顕微鏡用光学モジュール１００を配置していない時は、対物光束の光軸Ａと標本１３３０との交点近傍２０が観察視野となる。一方、本発明に係る顕

微鏡用光学モジュール１００を用いることにより、対物光束に対して光軸Ａ’へ距離ｄだけシフトさせ、光軸Ａ’と標本１３３０との交点近傍２１を観察することができる。すなわち、対物光束は、対向反射面１１１及び１１３の間で反射を繰り返し、第１の開口部１３１と第２の開口部１３３の間で距離ｄだけシフトする。

【００４２】

本実施形態に係る顕微鏡用光学モジュール１００を用いることにより、図２（ｂ）に示したように、第１の開口部１３１から対物レンズ１２１０を介して、距離ｄだけシフトした第２の開口部１３３の下に位置する標本１３３０の観察視野を観察することができる。また、光軸シフト光学系１３０は、回動手段１７０により回転駆動することができる。回転前の第２の開口部１３３ａに対して、回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を１８０°回転させることにより、第２の開口部１３３ｂの下に位置する標本１３３０の観察視野を観察することができる。このとき、回転前の第２の開口部１３３ａと１８０°回転後の第２の開口部１３３ｂとは距離２ｄ離れており、本実施形態において、回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させることにより、距離２ｄ離れた２点を順次観察することができる。

【００４３】

回動手段１７０は、対物光束の光軸に対して光軸シフト光学系１３０を回転可能に支持する。また、光軸シフト光学系支持手段１５０には、回動手段１７０を回転・停止させる駆動機構１７５を備える。駆動機構１７５としては、モータを用いることができる。また、回動手段１７０として、例えば、ステッピングモータは、正確な位置決め制御が可能であるため好ましい。ただし、光軸シフト光学系１３０を回転可能で、正確な位置決め制御が可能であれば、回動手段１７０として他の公知の手段を用いてもよい。回動手段１７０として、ステッピングモータを用いた場合、例えば、数十ミリ秒で第２の開口部１３３ａから第２の開口部１３３ｂへと観察視野を切り替えることが可能である。

【００４４】

光軸シフト光学系支持手段１５０は、対物光束に対して第１の開口部１３１を位置決め設定すると共に、顕微鏡用光学モジュール１００を顕微鏡１０００のアーム１９００に固定する。光軸シフト光学系支持手段１５０によるアーム１９００への固定は、ネジやクリップ等の公知の固定手段を用いることができる。

【００４５】

回転駆動による光軸シフト光学系１３０の制御は、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０を用いて行うことができる。顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、顕微鏡１０００に配置した顕微鏡用光学モジュール１００に接続する制御システムであり、光軸シフト光学系１３０の回転の初期位置と回転角度の設定を可能にする。顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、例えば、顕微鏡用光学モジュール制御プログラムを備えたコンピュータである。顕微鏡用光学モジュール制御装置１０に、初期位置と回転角度を設定すると、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、駆動機構１７５を制御して、回動手段１７０を用いて、光軸シフト光学系１３０の第２の開口部１３３を初期位置に移動させ、その後、第２の開口部１３３を設定された回転角度に移動する。これにより、標本１３３０の２つの観察視野を順次観察することができる。なお、複数の回転角度を設定することにより、複数の観察視野を順次観察することもできる。また、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、第２の開口部１３３を設定された回転角度に移動した後に、第２の開口部１３３を初期位置に戻すように設定されてもよい。さらに、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、初期位置と設定された回転角度とで、設定された回数で第２の開口部１３３の移動を繰り返すようにしてもよい。

【００４６】

また、顕微鏡用光学モジュール１００の駆動機構１７５の回転駆動は、角速度及び位置制御で行ってもよい。顕微鏡用光学モジュール制御装置１０に第２の開口部１３３を移動させる角速度と、第２の開口部１３３の位置を設定することにより、標本１３３０の２つ以上の観察視野を所定の時間間隔で観察することが可能になる。顕微鏡用光学モジュール制

御装置１０に、角速度と第２の開口部１３３の位置を設定すると、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、駆動機構１７５を制御して、回動手段１７０を用いて、光軸シフト光学系１３０の第２の開口部１３３を設定された角速度で、設定された位置に移動させる。これにより、第１の観察視野を観察後、所定の時間経過後の第２の観察視野を観察することで、２点間での位置的、経時的変化を観察することができる。また、駆動機構１７５を高速に回転駆動させることにより、ミリ秒単位で２つ以上の観察視野を観察することができ、それより遅い事象については、２つ以上の観察視野をほぼ同時に観察するに等しい効果を得ることができる。

【００４７】

また、顕微鏡１０００が撮影装置１７００を備える場合、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、撮影装置に対して、撮影開始を指示する撮影指示信号出力手段を備えてもよい。顕微鏡用光学モジュール制御装置１０が撮影指示信号出力手段を備えることにより、光軸シフト光学系１３０の第２の開口部１３３の移動と、撮影装置１７００での撮影のタイミングを制御することができる。２つ以上の観察視野を所定の時間間隔で順次撮影することが可能であり、２つ以上の観察視野で発生した事象を連続的に撮影することができる。また、光軸シフト光学系１３０の第２の開口部１３３の移動速度よりも遅い事象については、２つ以上の観察視野をほぼ同時に撮影するに等しい効果を得ることができる。

【００４８】

顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、顕微鏡用光学モジュール１００の駆動機構１７５の回転駆動開始に先立って、顕微鏡１０００に備えられた撮影装置に対して撮影終了を指示する撮影終了信号出力手段を備えてもよい。顕微鏡用光学モジュール制御装置１０が撮影終了信号を出力することにより、撮影装置１７００は撮影を終了し、その後、駆動機構１７５の回転駆動により光軸シフト光学系１３０を駆動する。これにより、駆動時の不要な撮影が行われず、必要な観察像のみを得ることができる。また、光軸シフト光学系１３０の回転の衝撃から、撮影装置１７００を保護することもできる。

【００４９】

また、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、顕微鏡用光学モジュール１００の駆動機構１７５の回転駆動開始に先立って回転駆動開始信号を発信する。駆動機構１７５は、回転駆動開始信号に応じて回転駆動を開始する。例えば、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、撮影終了信号を出力して撮影装置１７００に撮影を終了させた後に、回転駆動開始信号を発信して駆動機構１７５の回転駆動を開始させることができる。

【００５０】

上述した顕微鏡用光学モジュール制御装置１０による初期位置と回転角度、角速度、回転駆動開始信号、撮影指示信号及び撮影終了信号を組み合わせることにより、図３に示したような連続撮影が可能となる。図３は、本発明の一実施形態に係る連続撮影方法を説明する模式図である。連続撮影は、駆動機構１７５は第２の開口部１３３を第１の位置に移動させ、撮影装置１７００は第１の観察視野を所定の時間撮影し、駆動機構１７５は第２の開口部１３３を第２の位置に移動させ、撮影装置１７００は第２の観察視野を所定の時間撮影することにより実施することができる。より詳細には、撮影指示信号出力手段から出力される撮影指示信号により、駆動機構１７５は第２の開口部１３３を第１の位置に移動させ、撮影装置１７００での撮影のタイミングを制御して、第１の観察視野を撮影する。また、撮影終了信号出力手段から出力される撮影終了信号により、撮影装置１７００は第１の観察視野での撮影を終了する。続いて撮影指示信号出力手段から出力される撮影指示信号により、駆動機構１７５は第２の開口部１３３を第２の位置に移動させ、撮影装置１７００での撮影のタイミングを制御して、第２の観察視野を撮影する。また、撮影終了信号出力手段から出力される撮影終了信号により、撮影装置１７００は第２の観察視野での撮影を終了する。

【００５１】

本実施形態において、顕微鏡用光学モジュール１００は、対物光束の光軸Ａを回転中心とした回転駆動により制御される。例えば、光軸シフト光学系１３０を第２の開口部を１３

３ａの位置から１３３ｂの位置まで回転させて、連続撮影した観察像を結合することにより、標本１３３０の２点を走査した観察像を得ることができる。ここで、光軸シフト光学系１３０を回転させて撮影すると、光軸シフト光学系１３０の回転と共に、観察像Ｉは、対物光束の光軸Ａに垂直な平面におけるＸ軸方向及びＹ軸方向に対して平行に移動する。観察像を結合して得られる画像は、光軸Ａを中心とする円周上を平行に移動した画像となる。しかし、得られた画像は局所的には直線状となるが、図３にＸで示したような複数の観察像に渡るような大きな構造が存在する場合、その全体像を得ることもできる。

【００５２】

１軸の回転軸を有する顕微鏡用光学モジュール１００は、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０によりステッピングモータのような回動手段１７０を制御することにより、高速且つ高精度の位置制御が可能である。このため、観察視野を連続して移動させる走査型の観察を行う場合、再現性よく繰り返しの観察を行うことができる。また、そのような連続観察を高速に実現することができる従来にない優れた機構である。

【００５３】

本発明に係る顕微鏡用光学モジュールは、既存の顕微鏡に配置して上述した観察を行うことができる。また、本発明に係る顕微鏡用光学モジュールを組み込んだ顕微鏡として提供することもできる。一実施形態において、顕微鏡１０００は、対物レンズ１２１０、接眼レンズ１２３０、ステージ１３１０、光源１５１０、窓レンズ１５３０及びアーム１９００を備える。光源１５１０から供給される光は窓レンズ１５３０からステージ１３１０上に配置された標本１３３０を透過して、対物レンズ１２１０から接眼レンズ１２３０へと導かれ、光が透過した標本１３３０の部分の観察像を提供する。または光源は顕微鏡とは独立に光ファイバーを通して標本１３３０へ照射し、その反射した光が対物レンズ１２１０から接眼レンズ１２３０へと導かれ、標本１３３０の部分の観察像を提供してもよい。本実施形態において、顕微鏡用光学モジュール１００は、光軸シフト光学系支持手段１５０により、アーム１９００に固定される。上述したように、顕微鏡１０００に顕微鏡用光学モジュール１００を配置することにより、対物光束に対して光軸をシフトさせ、これまでにない広範囲の観察視野と２点以上の観察視野での高速な観察視野の切り替えを可能とする。

【００５４】

また、撮影装置１７００を備えることにより、標本１３３０の撮影をすることもできる。さらに、顕微鏡１０００が蛍光顕微鏡である場合、第２の光源１５５０により、対物レンズ１２１０を介して蛍光を励起する波長の光を標本１３３０に照射することができる。本実施形態においては、励起光も顕微鏡用光学モジュール１００により、対物光束に対して光軸をシフトさせることができる。なお、図１では、正立型の顕微鏡を例示したが、本発明はこれに限定されるものではなく、倒立顕微鏡に配置することもできる。

【００５５】

また、一実施形態において、顕微鏡用光学モジュール１００を備えた多光子励起顕微鏡を提供することができる。多光子励起顕微鏡とは、多光子励起過程を用いた顕微鏡であり、２光子以上の励起過程を用いる。このため、本明細書においては、多光子励起顕微鏡は、２光子励起顕微鏡でもよく、３光子励起顕微鏡でもよく、それ以上の光子を用いて励起する顕微鏡であってもよい。多光子励起顕微鏡は、標本１３３０の深部を励起して、その蛍光を観察することができる。多光子励起顕微鏡には低倍率高開口数の対物レンズはなく、広視野の観察は困難であった。また、標本の深部の蛍光を観察可能である特性から、バイオイメージングに好適に用いられるが、組織の離れた部位で発生する事象を連続的に、又は同時に観察することはできなかった。本発明に係る顕微鏡用光学モジュール１００を配置することにより、既存の多光子励起顕微鏡を用いて、組織の離れた部位で発生する事象を連続的に、又はほぼ同時に観察することができる。

【００５６】

また、上述した顕微鏡用光学モジュール制御装置を、顕微鏡用光学モジュール１００を配置した多光子励起顕微鏡と組み合わせることにより、生体や組織の深部で発生した事象を

離れた２点以上について、連続的に、又はほぼ同時に撮影することができる。

【００５７】

ここで、顕微鏡用光学モジュールを顕微鏡対物光軸に沿って移動可能な態様について説明する。図４は、本発明の一実施形態に係る光学素子２１０の模式図である。本実施形態に係る光軸シフト光学系２３０は、光学素子２１０を回転させることにより、顕微鏡対物光軸に対して光学素子２１０に対する入射角を変更することができる。

【００５８】

図４（ａ）において、光軸シフト光学系２３０に配置された光学素子２１０を顕微鏡対物光軸に沿った平面上で回転軸２１５を中心として回転させると、光学素子２１０に対する入射角が変更され、標本１３３０のＡの位置から、標本１３３０のＡ’に位置に距離ｄ１だけ観察視野を移動させることができる。このとき、標本１３３０のＡにおける焦点距離に対して、標本１３３０のＡ’に位置での焦点距離は、距離ｆ１だけシフトする。また、図４（ｂ）において、光軸シフト光学系２３０に配置された光学素子２１０を顕微鏡対物光軸に沿った平面上で回転軸２１５を中心として逆方向に回転させると、光学素子２１０に対する入射角が変更され、標本１３３０のＡの位置から、標本１３３０のＡ"に位置に距離ｄ２だけ観察視野を移動させることができる。

【００５９】

標本１３３０のＡにおける焦点距離に対して、標本１３３０のＡ"に位置での焦点距離は、距離ｆ２だけシフトする。図４（ｂ）に示した距離ｆ２は、距離ｆ１より長く、即ち、図４（ｂ）に示した例では、焦点距離が短くなる。したがって、本実施形態においては、光軸シフト光学系２３０に配置された光学素子２１０を顕微鏡対物光軸に沿った平面上で回転軸２１５を中心として回転させると、光学素子２１０に対する入射角が変更され、焦点距離を変更することができる。例えば、標本１３３０の観察面に凹凸があるような場合には、回転軸２１５を中心として光学素子２１０を回転させることにより、焦点距離を調節することができる。

【００６０】

ここで、回転軸２１５を中心として光学素子２１０が回転可能な範囲は入射面の広さＬｘＬのプリズムに対しL/2の光線を入射した場合、反時計回りを正方向とすると-7.07°から+7.07°となる。

【００６１】

光軸シフト光学系２３０は上述した光軸シフト光学系１３０の変形例であるため、上述した顕微鏡１０００において顕微鏡用光学モジュール１００に組み込み可能である。したがって、上述した実施形態で説明した顕微鏡用光学モジュール１００を用いることによる作用及び効果を全て包含する。

【００６２】

回転軸２１５を中心として回転角を制御することにより、顕微鏡対物光軸に対して、光学素子２１０への入射角を変更し、光軸Ａからの観察視野の距離を変更して、標本１３３０を観察することができる。本実施形態において、光軸シフト光学系２３０は上述した回動手段１７０により回転駆動され、光軸Ａから所望の距離にある観察視野を選択して、光軸Ａを中心とする円周上の２点以上を順次観察することができる。

【００６３】

図４においては、光学素子２１０を回転させることにより、顕微鏡対物光軸に対して光学素子２１０に対する入射角を変更する例について説明した。図５に、第２の対向反射面３１３のみを回転させる例について説明する。

【００６４】

図５（ａ）において、光軸シフト光学系３３０に配置された光学素子３１０の第２の対向反射面３１３を顕微鏡対物光軸に沿った平面上で回転軸３１５を中心として回転させると、第１の対向反射面３１１により反射した光に対する入射角が変更され、標本１３３０のＡの位置から、標本１３３０のＡ’に位置に距離ｄ１だけ観察視野を移動させることができる。また、図５（ｂ）において、第２の対向反射面３１３を顕微鏡対物光軸に沿った平

面上で回転軸３１５を中心として逆方向に回転させると、第１の対向反射面３１１により反射した光に対する入射角が変更され、標本１３３０のＡの位置から、標本１３３０のＡ"の位置に距離ｄ２だけ観察視野を移動させることができる。

【００６５】

図５（ｂ）に示したように、本実施形態においては、第２の対向反射面３１３の傾きに応じて光軸が傾く。このため、標本１３３０の観察面が光軸に対し斜めとなっている場合でも観察も可能となる。このとき、第２の対向反射面３１３がθ回転した場合、標本１３３０の撮像面は２θだけ傾くことになる。

【００６６】

ここで、回転軸３１５を中心として第２の対向反射面３１３が回転可能な範囲は、入射面の広さＬｘＬのプリズムに対しL/2の光線を入射した場合、反時計回りを正方向とすると-24.29°から12.15°である。

【００６７】

光軸シフト光学系３３０は上述した光軸シフト光学系１３０の変形例であるため、上述した顕微鏡１０００において顕微鏡用光学モジュール１００に組み込み可能である。したがって、上述した実施形態で説明した顕微鏡用光学モジュール１００を用いることによる作用及び効果を全て包含する。

【００６８】

次に、実施形態１の変形例として、光学素子の別の態様を説明する。図６（ａ）は光学素子として光ファイバー４１０を用いた例を示す。光軸シフト光学系４３０は、第１の開口部４３１と第２の開口部４３３との間に配置された光ファイバー４１０を備える。第１の開口部４３１と第２の開口部４３３の間において、対物光束は、光ファイバー４１０コアの内部を伝搬し、顕微鏡用光学モジュールを配置していない時の対物光束の光軸Ａから光軸Ａ’へ距離ｄだけシフトする。図６（ａ）においては、光ファイバー４１０を光軸シフト光学系４３０に直線状に配置した例を示したが、これに限定されるものではない。光ファイバーは可撓性を有するため、光軸シフト光学系４３０に曲線状に配置することも可能である。なお、光軸シフト光学系４３０は、上述した光軸シフト光学系１３０の変形例であるため、上述した顕微鏡１０００において顕微鏡用光学モジュール１００に組み込み可能である。したがって、上述した実施形態で説明した顕微鏡用光学モジュール１００と同等の作用及び効果を全て包含する。

【００６９】

図６（ｂ）は光学素子として三角プリズム５１０を用いた例を示す。光軸シフト光学系５３０は、第１の開口部５３１と第２の開口部５３３との間に配置された三角プリズム５１０を備える。第１の開口部５３１と第２の開口部５３３の間において、対物光束は、三角プリズム５１０の内部で反射を繰り返して、顕微鏡用光学モジュールを配置していない時の対物光束の光軸Ａから光軸Ａ’へ距離ｄだけシフトする。なお、光軸シフト光学系５３０は、上述した光軸シフト光学系１３０の変形例であるため、上述した顕微鏡１０００において顕微鏡用光学モジュール１００に組み込み可能である。したがって、上述した実施形態で説明した顕微鏡用光学モジュール１００と同等の作用及び効果を全て包含する。

【００７０】

また、光軸シフト光学系５３０は、上述した顕微鏡用光学モジュール１００の光軸シフト光学系１３０の変形例でもある。光軸シフト光学系支持手段１５０の移動機構１５１を用いることにより、光軸シフト光学系５３０は、顕微鏡対物光軸に沿った平面上で三角プリズム５１０に対する入射角を変更することができる。これにより、光軸Ａからの観察視野の距離を変更して、標本１３３０を観察することができる。本実施形態において、光軸シフト光学系５３０は回動手段１７０により回転駆動され、光軸Ａから所望の距離にある観察視野を選択して、光軸Ａを中心とする円周上の２点以上を順次観察することができる。

【００７１】

光学素子の変形例として、光学素子１１０で説明した対向反射面とＧＲＩＮレンズを組合せた光学素子について説明する。図７は、光学素子６１０を備えた光軸シフト光学系６３

０の模式図である。光学素子６１０は、ＧＲＩＮレンズ６２１と、ＧＲＩＮレンズ６２１の両端に配置される略平行な対向反射面６１１及び６１３を備える。なお、ＧＲＩＮレンズ６２１の両端に配置される略平行な対向反射面６１１及び６１３は、プリズムで置換してもよい。

【００７２】

図７（ａ）において、標本１３３０から入射した光は、第２の開口部６３３により反射し、ＧＲＩＮレンズ６２１を透過する。ＧＲＩＮレンズ６２１を透過した光は第１の開口部６３１により反射し、対物レンズ１２１０に入射する。この作用により、対物光束に対して光軸Ａ’へ距離ｄだけシフトさせ、光軸Ａ’と標本１３３０との交点近傍を観察することができる。

【００７３】

なお、光学素子６１０において、ＧＲＩＮレンズと略平行な対向反射面又はプリズムを複数組み合わせることにより、距離ｄを大きくすることもできる。図７（ｂ）は、２つのＧＲＩＮレンズ６２１ａ及び６２１ｂと、略平行な対向反射面６１１及び６１３を備える光学素子６１０ａを有する光軸シフト光学系６３０ａの模式図である。光学素子６１０ａは、光学素子６１０に対して、顕微鏡対物光軸に沿って対物光束をシフトさせることができる。

【００７４】

また、図７（ｃ）は、４つのＧＲＩＮレンズ６２１ａ～６２１ｄと、二組の略平行な対向反射面６１１ａ及び６１３ａと６１１ｂ及び６１３ｂを備える光学素子６１０ｂを有する光軸シフト光学系６３０ｂの模式図である。光学素子６１０は、第１の光軸シフト光学部６３５と第２の光軸シフト光学部６３７を備え、それぞれ独立して回転可能である。第１の光軸シフト光学部６３５は対向反射面６１１ａ及び６１３ａと２つのＧＲＩＮレンズ６２１ａ及び６２１ｂを備え、光軸Ａを回転中心として回転する。また、第２の光軸シフト光学部６３７は対向反射面６１１ｂ及び６１３ｂと２つのＧＲＩＮレンズ６２１ｃ及び６２１ｄを備え、光軸Ｂを回転中心として回転する。ここで、光軸Ｂは、光軸Ａが第１の光軸シフト光学部６３５によりシフトした光軸である。

【００７５】

光軸シフト光学系６３０ｂにおいて、光軸Ａは、対向反射面６１１ａからＧＲＩＮレンズ６２１ａ、対向反射面６１３ａ及びＧＲＩＮレンズ６２１ｂにより順次導かれ、光軸Ｂへシフトする。光軸Ｂは、対向反射面６１１ｂからＧＲＩＮレンズ６２１ｃ、対向反射面６１３ｂ及びＧＲＩＮレンズ６２１ｄにより順次導かれ、光軸Ａ’へシフトする。光軸シフト光学系６３０ｂにおいては、第１の光軸シフト光学部６３５と第２の光軸シフト光学部６３７からなる２つの回転機構を与えることでＸＹ平面上の２自由度で光軸をシフト可能である。

【００７６】

このように、光学素子６１０において、ＧＲＩＮレンズと略平行な対向反射面又はプリズムを複数組み合わせることにより、距離ｄを任意に変更可能である。

【００７７】

なお、光軸シフト光学系６３０は、上述した光軸シフト光学系１３０の変形例であるため、上述した顕微鏡１０００において顕微鏡用光学モジュール１００に組み込み可能である。したがって、上述した実施形態で説明した顕微鏡用光学モジュール１００と同等の作用及び効果を全て包含する。

【００７８】

以上説明したように、本発明に係る顕微鏡用光学モジュールは、観察視野を高速に切り替え、大きな視野を観察可能である。また、本発明に係る顕微鏡用光学モジュールを用いることにより、観察視野を高速に切り替え、大きな視野を観察可能な顕微鏡、顕微鏡用光学モジュール制御装置及び多光子励起顕微鏡を提供することができる。

【００７９】

（実施形態２）

上述した実施形態１では光軸シフト光学系を回転駆動することにより、観察視野を切り替える態様について説明した。本実施形態においては、プリズムを用いて、対物光束の光軸に対して水平方向にプリズムを移動することにより観察視野を切り替える態様について説明する。

【００８０】

図８は、本発明の実施形態２に係る顕微鏡用光学モジュール７００を配置した顕微鏡２０００を示す模式図である。図９は図８における、本発明の実施形態２に係る光軸シフト光学系７３０近傍を拡大した模式図である。光軸シフト光学系７３０は、プリズム７１０を備える。プリズム７１０は、顕微鏡の対物光束に対して傾斜した面を有する。プリズム７１０は、第１の開口部７３１と第２の開口部７３３との間に配置される。

【００８１】

また、顕微鏡用光学モジュール７００は、顕微鏡１０００の対物光束に対して第１の開口部７３１を位置決めする光軸シフト光学系支持手段７５０と、光軸シフト光学系支持手段７５０に配置され、対物光束の光軸に対して平行方向及び垂直方向に光軸シフト光学系７３０を移動可能に支持する移動手段７７０を備える。

【００８２】

図９（ａ）において、顕微鏡用光学モジュール１００を配置していない時は、対物光束の光軸Ａと標本１３３０との交点近傍が観察視野となる。一方、本発明に係る顕微鏡用光学モジュール７００を用いることにより、対物光束に対して光軸Ａ’へ距離ｄだけシフトさせ、光軸Ａ’と標本１３３０との交点近傍を観察することができる。すなわち、対物光束はプリズム７１０の内部で反射を繰り返し、第１の開口部７３１と第２の開口部７３３の間で距離ｄだけシフトする。

【００８３】

移動手段７７０は、対物光束の光軸に対して平行方向及び垂直方向に光軸シフト光学系７３０を移動可能に支持する。また、光軸シフト光学系支持手段７５０には、移動手段７７０を移動・停止させる駆動機構７７５を備える。駆動機構７７５としては、モータを用いることができる。また、移動手段７７０として、例えば、電動シリンダは、正確な位置決め制御が可能であるため好ましい。ただし、光軸シフト光学系７３０を移動可能で、正確な位置決め制御が可能であれば、移動手段７７０として他の公知の手段を用いてもよい。移動手段７７０として、電動シリンダを用いた場合、光軸シフト光学系７３０を水平方向に前進及び後退させることにより、光軸Ａ’の観察視野から光軸Ａ"の観察視野へ第２の開口部７３３へと切り替えることが可能である。

【００８４】

光軸シフト光学系支持手段７５０は、対物光束に対して第１の開口部７３１を位置決め設定すると共に、顕微鏡用光学モジュール１００を顕微鏡１０００のアーム１９００に固定する。光軸シフト光学系支持手段７５０は、移動機構７５１を備え、光軸シフト光学系７３０を顕微鏡対物光軸に沿って移動させることができる。移動機構７５１はステージ１３１０の対物光軸に沿った方向への移動手段と同様に公知の技術を用いることができ、例えば、高さ調整可能な摘みを含む。移動機構７５１を用いることにより、光軸シフト光学系７３０は、顕微鏡対物光軸に沿った平面上でプリズム７１０に対する入射角を変更することができる。

【００８５】

駆動機構７７５及び移動機構７５１による光軸シフト光学系１３０の制御は、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０を用いて行うことができる。顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、顕微鏡２０００に配置した顕微鏡用光学モジュール７００に接続する制御システムであり、光軸シフト光学系７３０の移動の初期位置と対物光束の光軸に対する平行方向及び垂直方向の位置設定を可能にする。顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、例えば、顕微鏡用光学モジュール制御プログラムを備えたコンピュータである。顕微鏡用光学モジュール制御装置１０に、初期位置と対物光束の光軸に対する平行方向及び垂直方向の位置を設定すると、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、駆動機構７７５を制御して、

移動手段７７０を用いて、光軸シフト光学系７３０の第２の開口部７３３を初期位置に移動させ、その後、第２の開口部７３３を設定された対物光束の光軸に対する平行方向の位置に移動する。これにより、標本１３３０の２つの観察視野を順次観察することができる。なお、複数の位置を設定することにより、複数の観察視野を順次観察することもできる。また、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、第２の開口部７３３を設定された位置に移動した後に、第２の開口部７３３を初期位置に戻すように設定されてもよい。さらに、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、初期位置と設定された対物光束の光軸に対する平行方向の位置とで、設定されて回数で第２の開口部７３３の移動を繰り返すようにしてもよい。

【００８６】

また、顕微鏡２０００が撮影装置１７００を備える場合、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、撮影装置に対して、撮影開始を指示する撮影指示信号出力手段を備えてもよい。顕微鏡用光学モジュール制御装置１０が撮影指示信号出力手段を備えることにより、光軸シフト光学系７３０の第２の開口部７３３の移動と、撮影装置１７００での撮影のタイミングを制御することができる。２つ以上の観察視野を所定の時間間隔で順次撮影することが可能であり、２つ以上の観察視野で発生した事象を連続的に撮影することができる。また、光軸シフト光学系７３０の第２の開口部７３３の移動速度よりも遅い事象については、２つ以上の観察視野をほぼ同時に撮影するに等しい効果を得ることができる。

【００８７】

顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、顕微鏡用光学モジュール７００の駆動機構７７５の駆動開始に先立って、顕微鏡２０００に備えられた撮影装置に対して撮影終了を指示する撮影終了信号出力手段を備えてもよい。顕微鏡用光学モジュール制御装置１０が撮影終了信号を出力することにより、撮影装置１７００は撮影を終了し、その後、駆動機構７７５の駆動により光軸シフト光学系７３０を駆動する。これにより、駆動時の不要な撮影が行われず、必要な観察像のみを得ることができる。また、光軸シフト光学系７３０の移動の衝撃から、撮影装置１７００を保護することもできる。

【００８８】

また、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、顕微鏡用光学モジュール７００の駆動機構７７５の回転駆動開始に先立って駆動開始信号を発信する。駆動機構７７５は、駆動開始信号に応じて駆動を開始する。例えば、顕微鏡用光学モジュール制御装置１０は、撮影終了信号を出力して撮影装置１７００に撮影を終了させた後に、駆動開始信号を発信して駆動機構７７５の駆動を開始させることができる。

【００８９】

上述した顕微鏡用光学モジュール制御装置１０による初期位置と対物光束の光軸に対する平行方向の位置、回転駆動開始信号、撮影指示信号及び撮影終了信号を組み合わせることにより、連続撮影が可能となる。連続撮影した観察像を結合することにより、標本１３３０の２点間を走査した観察像を得ることができる。

【００９０】

本発明に係る顕微鏡用光学モジュールは、既存の顕微鏡に配置して上述した観察を行うことができる。また、本発明に係る顕微鏡用光学モジュールを組み込んだ顕微鏡として提供することもできる。一実施形態において、顕微鏡２０００は、対物レンズ１２１０、接眼レンズ１２３０、ステージ１３１０、光源１５１０、窓レンズ１５３０及びアーム１９００を備える。光源１５１０から供給される光は窓レンズ１５３０からステージ１３１０上に配置された標本１３３０を透過して、対物レンズ１２１０から接眼レンズ１２３０へと導かれ、光が透過した標本１３３０の部分の観察像を提供する。本実施形態において、顕微鏡用光学モジュール７００は、光軸シフト光学系支持手段７５０により、アーム１９００に固定される。上述したように、顕微鏡２０００に顕微鏡用光学モジュール７００を配置することにより、対物光束に対して光軸をシフトさせ、これまでにない広範囲の観察視野と２点以上の観察視野での高速な観察視野の切り替えを可能とする。

【００９１】

また、撮影装置１７００を備えることにより、標本１３３０の撮影をすることもできる。さらに、顕微鏡２０００が蛍光顕微鏡である場合、第２の光源１５５０により、対物レンズ１２１０を介して蛍光を励起する波長の光を標本１３３０に照射することができる。本実施形態においては、励起光も顕微鏡用光学モジュール７００により、対物光束に対して光軸をシフトさせることができる。なお、図８では、正立型の顕微鏡を例示したが、本発明はこれに限定されるものではなく、倒立顕微鏡に配置することもできる。

【００９２】

また、一実施形態において、顕微鏡用光学モジュール７００を備えた多光子励起顕微鏡を提供することができる。多光子励起顕微鏡は、標本１３３０の深部における蛍光を励起して、その蛍光を観察することができる。多光子励起顕微鏡には高開口数の対物レンズはなく、広視野の観察は困難であった。また、標本の深部の蛍光を観察可能である特性から、バイオイメージングに好適に用いられるが、組織の離れた部位で発生する事象を連続的に、又は同時に観察することはできなかった。本発明に係る顕微鏡用光学モジュール７００を配置することにより、既存の多光子励起顕微鏡を用いて、組織の離れた部位で発生する事象を連続的に観察することができる。

【００９３】

また、上述した顕微鏡用光学モジュール制御装置を、顕微鏡用光学モジュール７００を配置した多光子励起顕微鏡と組み合わせることにより、生体や組織の深部で発生した事象を離れた２点以上について、連続的に撮影することができる。

【実施例】

【００９４】

上述した実施形態１の顕微鏡用光学モジュール１００を作製し、観察を行った。図１０は、本実施例に係る顕微鏡用光学モジュール１００の模式図である。顕微鏡用光学モジュール１００は、光軸シフト光学系１３０と、光軸シフト光学系支持手段１５０と、回動手段１７０を備える。回動手段１７０は、駆動機構１７５としてモータを備えたステッピングモータである。光軸シフト光学系１３０の第１の開口部側には、対物レンズ１２１０を接続した。駆動機構１７５による回転駆動は、駆動機構１７５に接続したギア１７１からギア１７２を介して、光軸シフト光学系１３０に接続したギア１７３に伝達される。なお、対物レンズ１２１０はピエゾ１２１１に接続し、光軸方向（Ｚ軸方向）への移動が可能である。

【００９５】

本実施例においては、略平行な対向反射面を固定支持してなる中空反射素子を光学素子１１０として用いた。光学素子１１０は、高さ２ｍｍ、傾斜４５°の反射面を対向して配置し、対物光束の光軸に対して、対物光束を２ｍｍシフトさせた。本実施例の顕微鏡用光学モジュール１００は、光軸シフト光学系１３０を６０°回転させるのに要する時間が４３ミリ秒と、従来にない高速な視野の切り替えを達成することができた。

【００９６】

本実施例に係る顕微鏡用光学モジュール１００は、光学顕微鏡に配置することができる。例えば、図１に示したような正立型の光学顕微鏡に配置することができる。また、本実施例に係る顕微鏡用光学モジュール１００は、倒立顕微鏡に配置することもできる。顕微鏡用光学モジュール１００は、対物レンズ１２１０に光軸シフト光学系１３０を位置決め支持可能であれば、正立型の光学顕微鏡、倒立顕微鏡に関わらず配置することができる。また、位相差顕微鏡、微分干渉顕微鏡、偏光顕微鏡、蛍光顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡等にも配置可能である。

【００９７】

一例として、顕微鏡用光学モジュール１００を多光子励起顕微鏡（製造元：オリンパス株式会社、機種：FVMPE-RS）に配置して、マウスの脳を観察した。本実施例においては、多光子励起顕微鏡として、２光子励起顕微鏡を用いたが、３光子以上で励起する顕微鏡を用いることも可能である。

【００９８】

図１１（ａ）は、観察したマウスの脳の領域を示す。図１１（ｂ）は図１１（ａ）の観察視野ｂを示し、図１１（ｃ）は図１１（ａ）の観察視野ｃを示す。また、図１２は、顕微鏡用光学モジュール１００の駆動制御したタイミングチャートを示す。本実施例においては、多光子励起顕微鏡の光学系が備えるピエゾ１２１１を駆動して、Ｚ軸方向のピント合わせを観察視野毎に設定して撮影を行った。

【００９９】

図１２のタイミングチャートにおいて、期間（ｂ）は図１１の観察視野ｂを観察した期間を示し、期間（ｃ）は図１１の観察視野ｃを観察した期間を示す。回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させ、第２の開口部を観察視野ｂに移動させた。撮影指示信号を撮影装置に出力し、観察視野ｂの観察像を撮影した。撮影終了信号を撮影装置に出力し、観察視野ｂでの撮影を終了した。回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させ、第２の開口部を観察視野ｃに移動させた。このとき、ピエゾ１２１１を駆動し、対物レンズ１２１０のＺ軸をマウスの脳側（下方）に移動し、観察視野ｃにピントを合わせた。撮影指示信号を撮影装置に出力し、観察視野ｃの観察像を撮影した。撮影終了信号を撮影装置に出力し、観察視野ｃでの撮影を終了した。次に、回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させ、第２の開口部を観察視野ｂに移動させた。このとき、ピエゾ１２１１を駆動し、対物レンズ１２１０のＺ軸を元の位置（上方）に移動し、観察視野ｂにピントを合わせた。このような制御を繰り返し、観察視野ｂ及び観察視野ｃを撮影した。

【０１００】

本実施例において、１．８ｍｍ離れた２つの観察視野について、５．６フレーム／秒の高速な撮影を実現可能であることが示された。

【０１０１】

［撮影深度の制御］

顕微鏡用光学モジュール１００を多光子励起顕微鏡（製造元：オリンパス株式会社、機種：FVMPE-RS）に配置して、マウスの脳の２つの視野について、それぞれ２つの深度の領域を観察した。本実施例においては、多光子励起顕微鏡として、２光子励起顕微鏡を用いたが、３光子以上で励起する顕微鏡を用いることも可能である。

【０１０２】

図１３（ａ）～（ｄ）は、マウスの脳の観察視野ａ～ｄをそれぞれ示す。図１３（ａ）の観察視野ａと図１３（ｂ）の観察視野ｂは、マウスの脳の第１の領域の異なる深度の観察視野を示し、観察視野ｂは観察視野ａより深度が深い領域である。また、図１３（ｃ）の観察視野ｃと図１３（ｄ）の観察視野ｄは、マウスの脳の第２の領域の異なる深度の観察視野を示し、観察視野ｄは観察視野ｃより深度が深い領域である。

【０１０３】

また、図１４は、顕微鏡用光学モジュール１００の駆動制御したタイミングチャートを示す。本実施例においては、多光子励起顕微鏡の光学系が備えるピエゾ１２１１を駆動して、観察視野毎にＺ軸方向の深度を制御して撮影を行った。図１４のタイミングチャートにおいて、期間（ａ）は図１３（ａ）の観察視野ａを観察した期間を示し、期間（ｂ）は図１３（ｂ）の観察視野ｂを観察した期間を示す。また、期間（ｃ）は図１３（ｃ）の観察視野ｃを観察した期間を示し、期間（ｄ）は図１３（ｄ）の観察視野ｄを観察した期間を示す。

【０１０４】

回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させ、第２の開口部を観察視野ａに移動させた。撮影指示信号を撮影装置に出力し、観察視野ａの観察像を撮影した。撮影終了信号を撮影装置に出力し、観察視野ａでの撮影を終了した。その後、ピエゾ１２１１を駆動し、対物レンズ１２１０のＺ軸をマウスの脳側（下方）に移動し、深度が深い領域である観察視野ｂにピントを合わせた。撮影指示信号を撮影装置に出力し、観察視野ｂの観察像を撮影した。撮影終了信号を撮影装置に出力し、観察視野ｂでの撮影を終了した。

【０１０５】

次に、回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させ、第２の開口部を観察視野ｃに移動させた。このとき、ピエゾ１２１１を駆動し、対物レンズ１２１０のＺ軸を元の位置（上方）に移動した。撮影指示信号を撮影装置に出力し、観察視野ｃの観察像を撮影した。撮影終了信号を撮影装置に出力し、観察視野ｃでの撮影を終了した。その後、ピエゾ１２１１を駆動し、対物レンズ１２１０のＺ軸をマウスの脳側（下方）に移動し、深度が深い領域である観察視野ｄにピントを合わせた。撮影指示信号を撮影装置に出力し、観察視野ｄの観察像を撮影した。撮影終了信号を撮影装置に出力し、観察視野ｄでの撮影を終了した。

【０１０６】

次に、回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させ、第２の開口部を観察視野ａに移動させた。このとき、ピエゾ１２１１を駆動し、対物レンズ１２１０のＺ軸を元の位置（上方）に移動した。このような制御を繰り返し、観察視野ａ～ｄを撮影した。

【０１０７】

本実施例において、１．８ｍｍ離れた２つの観察視野について、２つの深度の領域を高速に撮影可能であることが示された。

【０１０８】

［撮影倍率の制御］

顕微鏡用光学モジュール１００を多光子励起顕微鏡に配置して、マウスの脳の２つの視野について、撮影倍率を変更して観察することも可能である。また、多光子励起顕微鏡は２光子励起顕微鏡に限定されず、３光子以上で励起する顕微鏡を用いることも可能である。

【０１０９】

図１５は、一例として、顕微鏡用光学モジュール１００を駆動制御するためのタイミングチャートを示す。撮影倍率の変更は、例えば、多光子励起顕微鏡のデジタルズーム機構を使用して実施することが可能であり、観察視野毎に倍率を変更して撮影することも可能である。

【０１１０】

具体的な撮影倍率の制御方法としては、例えば、回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させ、第２の開口部を観察視野ａに移動させる。撮影指示信号を撮影装置に出力し、観察視野ａの観察像を撮影する。このとき、多光子励起顕微鏡のデジタルズーム機構を使用し、高倍率での撮影を行うことができる。撮影終了信号を撮影装置に出力し、観察視野ａでの撮影を終了する。次に、回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させ、第２の開口部を観察視野ｂに移動させる。図１５には、デジタルズーム機構を使用し、撮影倍率を元の倍率に戻す例を示す。撮影指示信号を撮影装置に出力し、観察視野ｂの観察像を撮影する。撮影終了信号を撮影装置に出力し、観察視野ｂでの撮影を終了する。

【０１１１】

次に、回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させ、第２の開口部を観察視野ａに移動させる。図１５には、多光子励起顕微鏡のデジタルズーム機構を使用し、撮影倍率を高倍率にする例を示す。このような制御を繰り返し、観察視野ａ及びｂを撮影することができる。

【０１１２】

このような方法により、離れた２つの観察視野について、観察視野毎に倍率を変更して高速に撮影可能である。

【０１１３】

［広視野の撮影］

顕微鏡用光学モジュール１００を多光子励起顕微鏡（製造元：オリンパス株式会社、機種：FVMPE-RS）に配置して、マウスの脳の隣接する３つの視野を撮影し、広視野の１つの観察像を得た。本実施例においては、多光子励起顕微鏡として、２光子励起顕微鏡を用いたが、３光子以上で励起する顕微鏡を用いることも可能である。

【０１１４】

図１６（ａ）は、マウスの脳の観察像I_1～I_3を得るために、光軸シフト光学系１３０を観察視野ａ～ｃに回転させる様子を示した模式図である。図１６（ｂ）は、マウスの脳における観察視野ａ～ｃの位置を示す図である。図１６（ｃ）は、観察像I_1～I_3を、広視野の１つの観察像に合成した図である。また、図１７は、顕微鏡用光学モジュール１００の駆動制御したタイミングチャートを示す。

【０１１５】

回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させ、第２の開口部を観察視野ａに移動させた。撮影指示信号を撮影装置に出力し、観察視野ａの観察像I_1を撮影した。撮影終了信号を撮影装置に出力し、観察視野ａでの撮影を終了した。次に、回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させ、第２の開口部を観察視野ｂに移動させた。撮影指示信号を撮影装置に出力し、観察視野ｂの観察像I_2を撮影した。撮影終了信号を撮影装置に出力し、観察視野ｂでの撮影を終了した。次に、回動手段１７０により光軸シフト光学系１３０を回転させ、第２の開口部を観察視野ｃに移動させた。撮影指示信号を撮影装置に出力し、観察視野ｃの観察像I_3を撮影した。撮影終了信号を撮影装置に出力し、観察視野ｃでの撮影を終了した。このような制御を繰り返し、観察視野ａ～ｃを撮影した。

【０１１６】

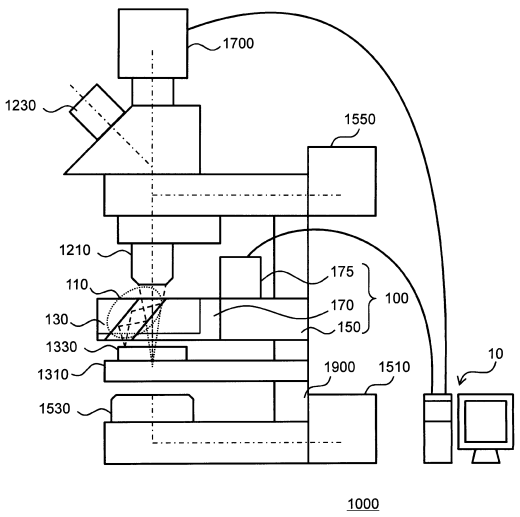
観察像I_1～I_3を合成し、広視野の１つの観察像を得た。本実施例において、顕微鏡用光学モジュール１００は、対物光束の光軸Ａを回転中心とした回転駆動により制御した。光軸シフト光学系１３０を第２の開口部を観察視野ａ～ｃまで回転させて、連続撮影した観察像を結合することにより、広視野の１つの観察像に合成可能であることが示された。

【符号の説明】

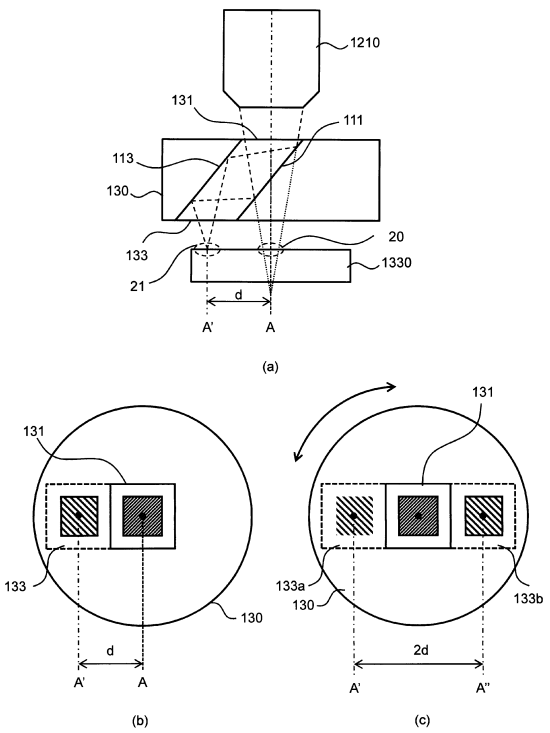
【０１１７】

１０：顕微鏡用光学モジュール制御装置、２０：交点近傍、２１：交点近傍、１００：顕微鏡用光学モジュール、１１０：光学素子、１１１：対向反射面、１１３：対向反射面、１３０：光軸シフト光学系、１３１：第１の開口部、１３３：第２の開口部、１３３ａ：第２の開口部、１３３ｂ：第２の開口部、１５０：光軸シフト光学系支持手段、１７０：回動手段、１７５：駆動機構、２１０：光学素子、２１１：対向反射面、２１３：対向反射面、２１５：回転軸、２３０：光軸シフト光学系、２３１：第１の開口部、２３３：第２の開口部、３１０：光学素子、３１１：第１の対向反射面、３１３：第２の対向反射面、３１５：回転軸、３３０：光軸シフト光学系、３３１：第１の開口部、３３３：第２の開口部、４１０：光ファイバー、４３０：光軸シフト光学系、４３１：第１の開口部、４３３：第２の開口部、５１０：三角プリズム、５３０：光軸シフト光学系、５３１：第１の開口部、５３３：第２の開口部、６１０：光学素子、６１１：対向反射面、６１３：対向反射面、６２１：ＧＲＩＮレンズ、６３０：光軸シフト光学系、６３１：第１の開口部、６３３：第２の開口部、６３５：第１の光軸シフト光学部、６３７：第２の光軸シフト光学部、７００：顕微鏡用光学モジュール、７３０：光軸シフト光学系、７３１：第１の開口部、７３３：第２の開口部、７５０：光軸シフト光学系支持手段、７５１：移動機構、７７０：移動手段、７７５：駆動機構、１０００：顕微鏡、１２１０：対物レンズ、１２１１：ピエゾ、１２３０：接眼レンズ、１３１０：ステージ、１３３０：標本、１５１０：光源、１５３０：窓レンズ、１７００：撮影装置、１９００：アーム、２０００：顕微鏡

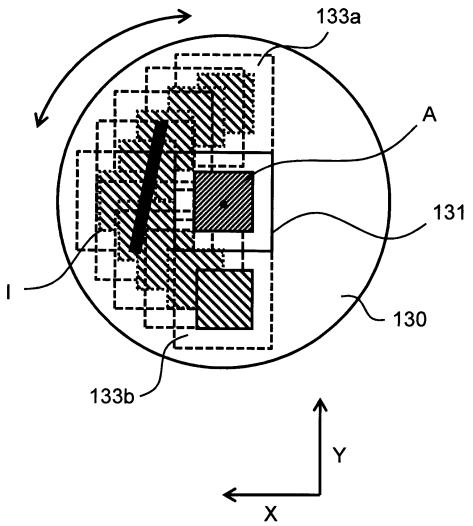
【図１】


1700
1230
1550
1210
110
130
1330
1310
1530
175
170
150
100
1900
1510
10
1000

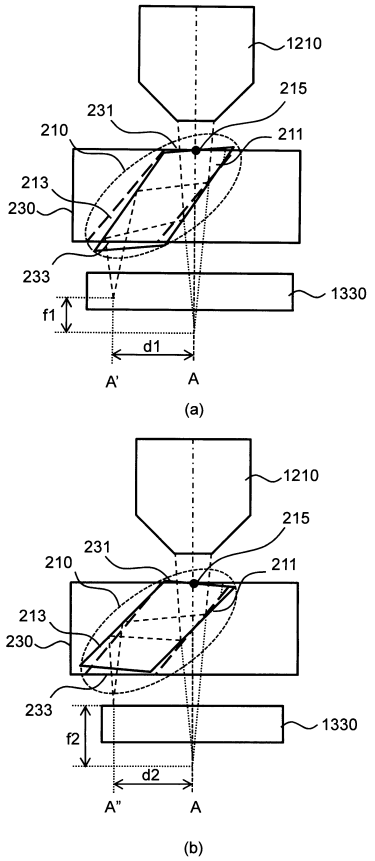
【図２】


1210
131
111
113
130
133
21
20
1330
d
A'
A
(a)
131
133
130
d
A'
A
(b)
131
133a
130
133b
2d
A'
A"
(c)

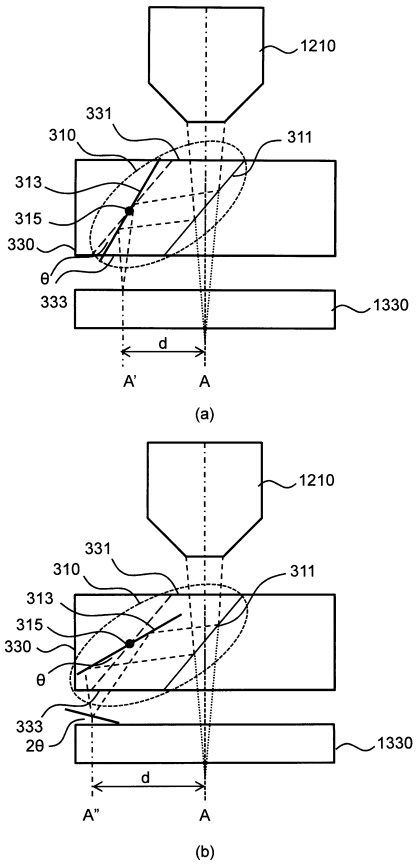
【図３】


133a
A
131
I
130
133b
Y
X

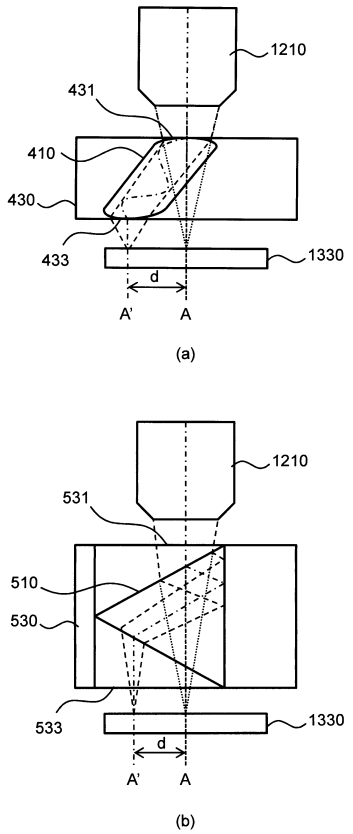
【図４】


1210
215
231
210
211
213
230
233
1330
f1
d1
A'
A
(a)
1210
215
231
210
211
213
230
233
1330
f2
d2
A"
A
(b)

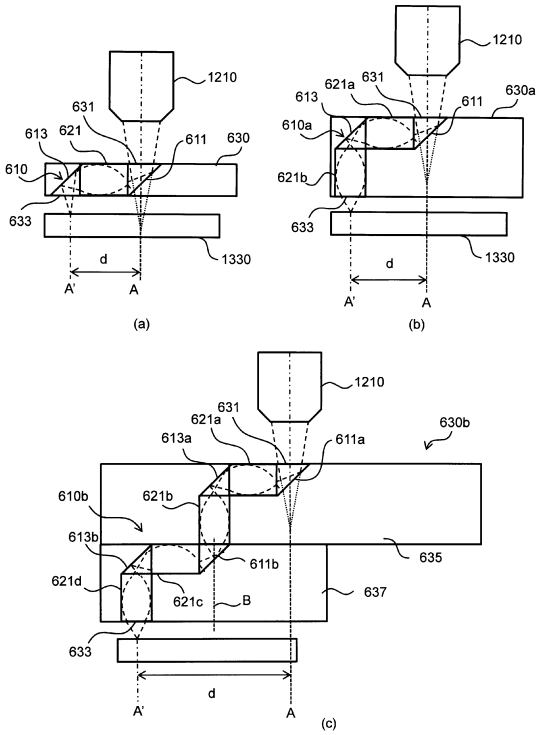
【図５】


1210
331
310
311
313
315
330
θ
333
1330
d
A'
A
(a)
1210
331
310
311
313
315
330
θ
333
2θ
1330
d
A"
A
(b)

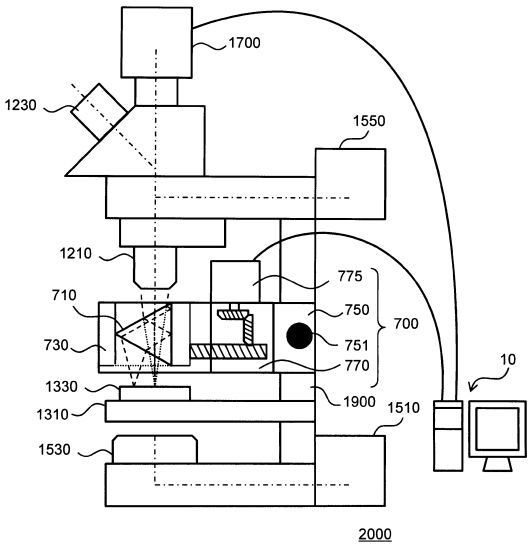
【図６】


1210
431
410
430
433
1330
d
A'
A
(a)
1210
531
510
530
533
1330
d
A'
A
(b)

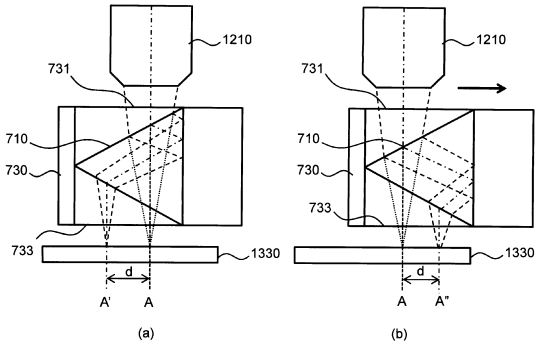
【図７】


1210
631
613
621
611
630
610
633
1330
d
A'
A
(a)
1210
621a
631
613
611
630a
610a
621b
633
1330
d
A'
A
(b)
1210
631
621a
613a
611a
630b
610b
621b
613b
611b
635
621d
621c
B
637
633
d
A'
A
(c)

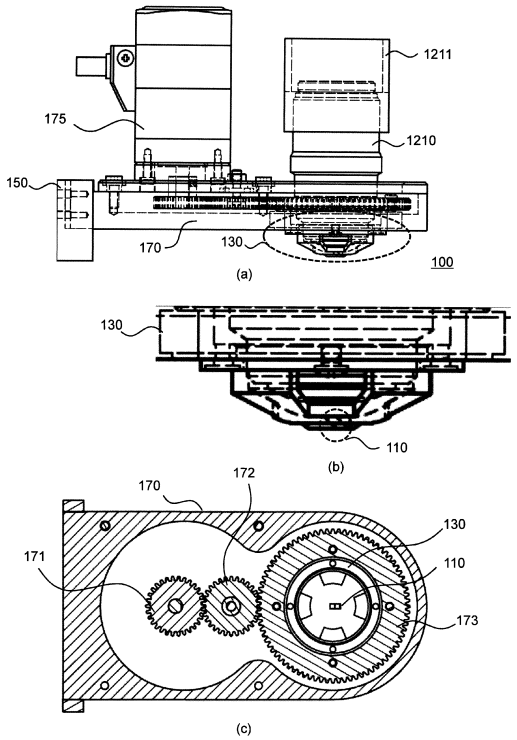
【図８】


1700
1230
1550
1210
775
710
750
700
730
751
770
10
1330
1900
1310
1510
1530
2000

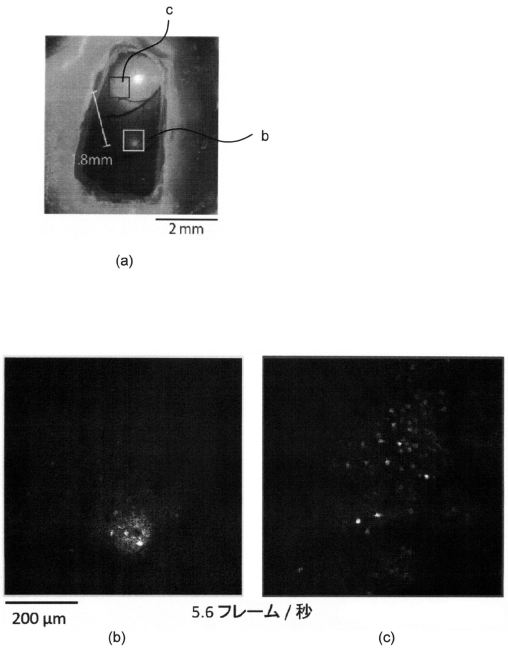
【図９】



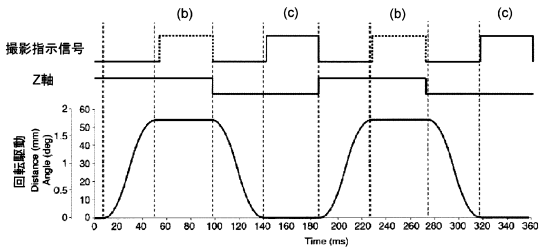
【図１０】



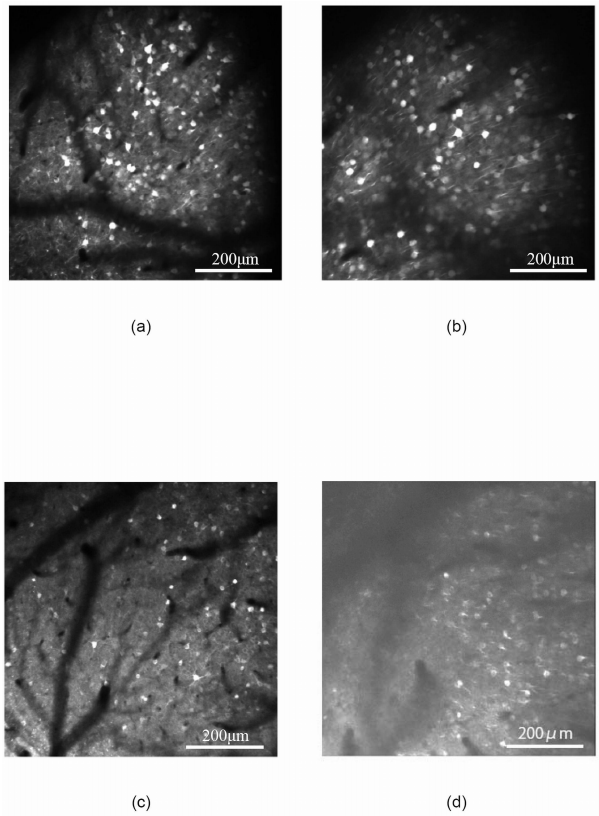
【図１１】



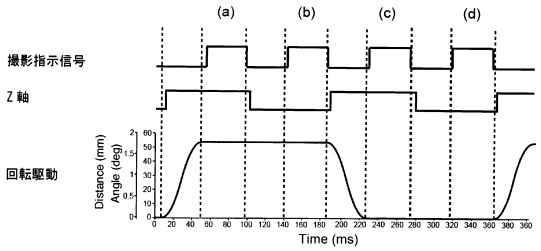
【図１２】



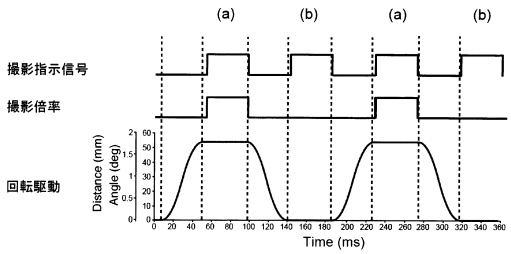
【図１３】



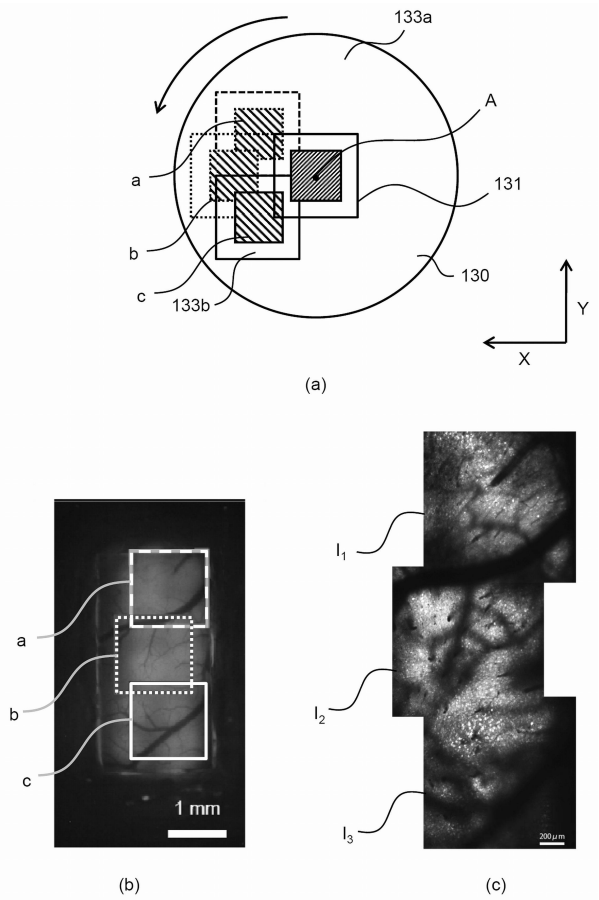
【図１４】



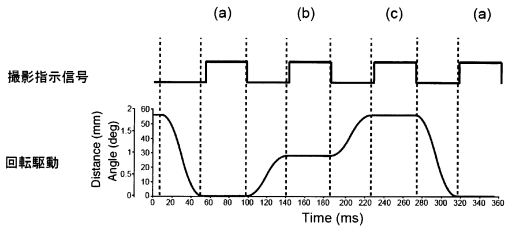
【図１５】



【図１６】



【図１７】



フロントページの続き

(56)参考文献　特開昭５７－１０２６０７（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２０１３／１６２０７９（WO，Ａ１）
特開２００１－１４６２１（ＪＰ，Ａ）

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