

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2011-196873

(P2011-196873A)

(43) 公開日 平成23年10月6日(2011.10.6)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 21/64 (2006.01)</b>	GO 1 N 21/64 E	2 G 0 4 3
<b>A 6 1 B 1/00 (2006.01)</b>	A 6 1 B 1/00 3 0 0 D	2 H 0 5 2
<b>GO 2 B 21/16 (2006.01)</b>	GO 2 B 21/16	4 C 0 6 1
		4 C 1 6 1

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 15 頁)

(21) 出願番号 特願2010-65168 (P2010-65168)  
 (22) 出願日 平成22年3月19日 (2010. 3. 19)

(71) 出願人 000000376  
 オリンパス株式会社  
 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号  
 (74) 代理人 100147485  
 弁理士 杉村 憲司  
 (74) 代理人 100119530  
 弁理士 富田 和幸  
 (74) 代理人 100147692  
 弁理士 下地 健一  
 (72) 発明者 福山 宏也  
 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリンパス株式会社内  
 Fターム(参考) 2G043 AA03 BA16 EA01 FA01 FA02  
 GA08 GB28 HA01 HA05 HA09  
 KA02 KA09 LA01 MA12  
 最終頁に続く

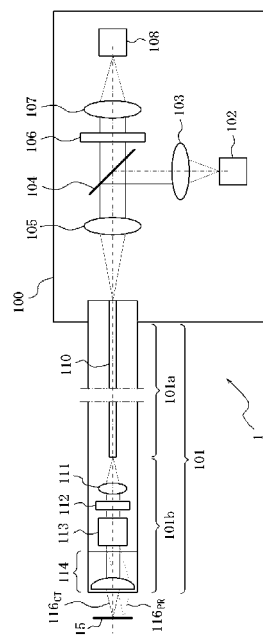
(54) 【発明の名称】 蛍光検出方法および蛍光検出装置

(57) 【要約】

【課題】装置の大型化、複雑化およびコストアップを招くことなく、観察対象から発生する蛍光を高いSN比で検出できる蛍光検出装置を提供する。

【解決手段】励起光源102から射出される励起光を観察対象115に照射し、該観察対象115から発生する蛍光を光増幅器110により光増幅して検出する蛍光検出装置1において、励起光源102から射出される励起光を光増幅器10に入射させて、観察対象115から発生する蛍光を光増幅する。

【選択図】 図1



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

励起光源から射出される励起光を観察対象に照射し、該観察対象から発生する蛍光を光増幅器により光増幅して検出するにあたり、

前記励起光源から射出される励起光を前記光増幅器に入射させて、前記観察対象から発生する蛍光を光増幅する、ことを特徴とする蛍光検出方法。

**【請求項 2】**

前記励起光源から射出される励起光を、前記光増幅器を経て前記観察対象に照射する、ことを特徴とする請求項 1 に記載の蛍光検出方法。

**【請求項 3】**

前記励起光源から射出される励起光を、少なくとも二つの励起光に分離し、該分離された一方の励起光を前記観察対象に照射し、前記分離された他方の励起光を前記光増幅器に入射させる、ことを特徴とする請求項 1 に記載の蛍光検出方法。

**【請求項 4】**

励起光源から射出される励起光を観察対象に照射し、該観察対象から発生する蛍光を光増幅器により光増幅して検出する蛍光検出装置において、

前記励起光源から射出される励起光を前記光増幅器に入射させて、前記観察対象から発生する蛍光を光増幅するように構成した、ことを特徴とする蛍光検出装置。

**【請求項 5】**

前記観察対象に照射する励起光と、前記光増幅器により前記蛍光を光増幅するための励起光との光量比を調整する光量調整部を備える、ことを特徴とする請求項 4 に記載の蛍光検出装置。

**【請求項 6】**

前記光増幅器は、利得媒質が添加された光ファイバを有する、ことを特徴とする請求項 4 または 5 に記載の蛍光検出装置。

**【請求項 7】**

前記光ファイバは、内視鏡の挿入部に延在して配置されている、ことを特徴とする請求項 6 に記載の蛍光検出装置。

**【請求項 8】**

前記光増幅器は、利得媒質が添加されたバルク状光学素子を有する、ことを特徴とする請求項 4 または 5 に記載の蛍光検出装置。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は、生体等の観察対象が発する蛍光を検出する蛍光検出方法およびその方法を実施する蛍光検出装置に関するものである。

**【背景技術】****【0002】**

従来、生体または非生体物質からの蛍光現象を観察する蛍光顕微鏡や、生体組織内の蛍光物質が発する蛍光を観察する蛍光内視鏡等の蛍光検出装置が知られている。ところが、物質が発する蛍光は、その蛍光を発生させるために照射された励起光に比較してはるかに弱い。このため、蛍光顕微鏡や蛍光内視鏡で得られる像は、他の照明方法による像、例えば顕微鏡におけるケラー照明の透過像や、内視鏡における白色光照明の反射像と比較すると、極めて暗く、その観察はより困難であるのが一般的である。

**【0003】**

その解決策の一つとして、観察対象に照射する励起光を強めて、明るい蛍光像を得ることが考えられる。また、他の解決策として、蛍光を光電変換する光検出器からの電気信号を、高利得増幅器で増幅することが考えられる。

**【0004】**

しかし、前者のように、観察対象に強い励起光を照射する場合は、観察対象すなわち顕

10

20

30

40

50

微鏡における標本や、内視鏡における患者の体にダメージを与えることになる。また、後者のように、蛍光を光電変換する光検出器からの電気信号を高利得増幅器で増幅する場合は、光電変換された段階で不可避免的に一定量の雑音が生じて信号に加わるために、後段の高利得増幅器で増幅しても、光電変換で加わった雑音に埋もれるほどに小さな信号は取り出すことができない。

【0005】

一方、従来の顕微鏡として、例えば、観察対象が発した散乱光を光増幅器で増幅して検出するようにしたものが提案されている（例えば、特許文献1参照）。かかる顕微鏡によれば、たとえ散乱光が光電変換で生じる雑音よりも小さくても、その散乱光を雑音よりも高いレベルにまで光増幅器により光増幅してから光電変換するので、光電変換信号のSN比を改善し、より小さな散乱光を取り出すことが可能となる。

10

【0006】

したがって、このような光増幅器を蛍光検出装置に応用して、観察対象から発生する微弱な蛍光を、光増幅器で増幅してから検出するようにすれば、観察対象に照射する励起光の強度を、観察対象にダメージを与えない程度に抑えながら、それによって生じた弱い蛍光を雑音に埋もれさせることなく、SN比の高い電気信号として取り出すことができ、より明るく良好な蛍光像を得ることが可能になる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

20

【特許文献1】米国特許第6351325号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

しかしながら、光増幅器により蛍光を増幅するには、光増幅の主体である利得媒質を励起する光源が必要となる。その代表的な光源として、レーザ発振器の使用が想定される。また、蛍光検出装置は、例えば、レーザ走査型蛍光顕微鏡に代表されるように、観察対象の励起光源としてレーザ発振器を備えるものが多い。

【0009】

このため、従来の蛍光検出装置に、上記の特許文献1に開示の技術を単に応用して、蛍光を増幅するようにすると、観察対象を励起するレーザ発振器と、光増幅器の利得媒質を励起するレーザ発振器との二つの励起光源を要し、装置全体の大型化、複雑化およびコストアップを招くことになる。

30

【0010】

本発明は、かかる課題を解決し、装置の大型化、複雑化およびコストアップを招くことなく、観察対象から発生する蛍光を高いSN比で検出できる蛍光検出方法および蛍光検出装置を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0011】

上記課題を解決するため、本発明に係る蛍光検出方法は、励起光源から射出される励起光を観察対象に照射し、該観察対象から発生する蛍光を増幅器により光増幅して検出するにあたり、

40

前記励起光源から射出される励起光を前記光増幅器に入射させて、前記観察対象から発生する蛍光を増幅する、ことを特徴とするものである。

【0012】

本発明によると、一つの励起光源から射出される励起光の一部が観察対象の励起に寄与し、残りの一部が光増幅に寄与することになる。したがって、一つの励起光源を、観察対象の照明用と光増幅用とに共用することができるので、それらを別々の励起光源とする場合と比較して、装置の小型化、構成の簡略化、コストダウンを図りながら、観察対象から発生する蛍光を高いSN比で検出することが可能となる。

50

## 【 0 0 1 3 】

本発明の一実施の形態に係る蛍光検出方法においては、前記励起光源から射出される励起光を、前記光増幅器を経て前記観察対象に照射する。

## 【 0 0 1 4 】

本発明によると、励起光源から射出される励起光の一部が光増幅器で吸収されて、該光増幅器を構成する利得媒質が励起され、該利得媒質で吸収されなかった残りの励起光により観察対象が励起される。そして、観察対象から発生する蛍光が光増幅器に入射して光増幅される。

## 【 0 0 1 5 】

このように、光増幅器を経て観察対象に励起光を照射することは、観察対象に対する励起光の光路中に光増幅器を配置して用いることを意味する。そしてこの方法は、観察対象の励起光路と利得媒質の励起光路を共通とするために、光路径の増大を避け得る長所を有し、例えば内視鏡等に好適に採用することが可能となる。

10

## 【 0 0 1 6 】

本発明の一実施の形態に係る蛍光検出方法においては、前記励起光源から射出される励起光を、少なくとも二つの励起光に分離し、該分離された一方の励起光を前記観察対象に照射し、前記分離された他方の励起光を前記光増幅器に入射させる。

## 【 0 0 1 7 】

本発明によると、分離された一方の励起光により観察対象が励起され、他方の励起光により光増幅器を構成する利得媒質が励起されて、観察対象から発生する蛍光が光増幅器に入射して光増幅される。

20

## 【 0 0 1 8 】

このように、励起光源から射出される励起光を観察対象用と光増幅用とに分離することにより、これらの分離された励起光を、例えば強度や光束径や照射方向等について、個別に制御することが可能となり、照明条件を設定する上での自由度を向上させることが可能となる。

## 【 0 0 1 9 】

さらに、上記課題を解決するため、本発明に係る蛍光検出装置は、励起光源から射出される励起光を観察対象に照射し、該観察対象から発生する蛍光を光増幅器により光増幅して検出する蛍光検出装置において、

30

前記励起光源から射出される励起光を前記光増幅器に入射させて、前記観察対象から発生する蛍光を光増幅するように構成した、ことを特徴とするものである。

## 【 0 0 2 0 】

本発明によると、励起光源は、観察対象の照明用と、観察対象から発生する蛍光の光増幅用との共通の光源として機能し、この励起光源から射出された励起光の一部が観察対象の励起に寄与し、残りの一部が光増幅に寄与することになる。

## 【 0 0 2 1 】

このように、一つの励起光源を、観察対象の照明用と光増幅用とに共用することで、それらを別々の励起光源とする場合と比較して、装置の小型化、構成の簡略化、コストダウンを図りながら、観察対象から発生する蛍光を高いS/N比で検出することが可能となる。

40

## 【 0 0 2 2 】

本発明の一実施の形態に係る蛍光検出装置においては、前記観察対象に照射する励起光と、前記光増幅器により前記蛍光を光増幅するための励起光との光量比を調整する光量調整部を備える。

## 【 0 0 2 3 】

本発明によると、光量調整部により、観察対象に照射する励起光と、光増幅器により蛍光を光増幅するための励起光との光量比を最適化することが可能となる。これにより、例えば、観察対象に対してはダメージを与えないように比較的弱い励起照明とし、光増幅器に対しては十分な利得およびS/N比が得られるように比較的強い励起照明とすることができ、また、観察の目的や観察対象の種類等に応じて、光量比を最適に設定することが可

50

能となる。

【0024】

本発明の一実施の形態に係る蛍光検出装置においては、前記光増幅器を、利得媒質が添加された光ファイバを有して構成する。

【0025】

このように構成すると、例えば、観察対象の近くに位置する対物レンズと、観察対象から離れて位置する励起光源を有する装置本体部との間を、利得媒質が添加された光ファイバにより光学的に接続することにより、該光ファイバを、装置本体部から対物レンズへの励起光の伝送と、対物レンズから装置本体部への蛍光の伝達と、該蛍光の光増幅との3つの機能を担わせることが可能となる。

10

【0026】

本発明の一実施の形態に係る蛍光検出装置においては、前記利得媒質が添加された光ファイバを、内視鏡の挿入部に延在して配置する。

【0027】

このように構成すれば、例えば、内視鏡型蛍光顕微鏡、蛍光内視鏡、ファイバ스코ープ型の蛍光内視鏡等を容易に構成することが可能となる。

【0028】

本発明の一実施の形態に係る蛍光検出装置においては、前記光増幅器を、利得媒質が添加されたバルク状光学素子を有して構成する。

【0029】

このように構成すれば、バルク状光学素子が容易に製造可能であることから、さらなるコストダウンが図れる。

20

【発明の効果】

【0030】

本発明によれば、装置の大型化、複雑化およびコストアップを招くことなく、観察対象から発生する蛍光を高いSN比で検出することが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【0031】

【図1】本発明の第1実施の形態に係る内視鏡型蛍光顕微鏡の概略構成を示す図である。

【図2】図1に示す励起光強度バランスフィルタの光学特性を説明するための図である。

30

【図3】本発明の第2実施の形態に係る蛍光内視鏡の概略構成を示す図である。

【図4】本発明の第3実施の形態に係るファイバ스코ープ型の蛍光内視鏡の概略構成を示す図である。

【図5】本発明の第4実施の形態に係る蛍光顕微鏡の概略構成を示す図である。

【図6】図5に示すダイクロイックミラーの光学特性を説明するための図である。

【図7】本発明の第5実施の形態に係る全反射蛍光顕微鏡の概略構成を示す図である。

【図8】本発明の第6実施の形態に係るニポウディスク型共焦点蛍光顕微鏡の概略構成を示す図である。

【図9】本発明の第7実施の形態に係る実験小動物用蛍光マクロ観察装置の概略構成を示す図である。

40

【発明を実施するための形態】

【0032】

以下、本発明の実施の形態について、図を参照して説明する。

【0033】

(第1実施の形態)

図1は、本発明の第1実施の形態に係る蛍光検出装置の概略構成を示す図である。この蛍光検出装置は、内視鏡型蛍光顕微鏡1として構成されたもので、本体部100と挿入部であるプローブ部101とを備える。本体部100には、励起光源102、コリメートレンズ103、ダイクロイックミラー104、第1のリレーレンズ105、励起光カットフィルタ106、結像レンズ107および光検出器108が配置されている。また、プロー

50

ブ部 101 は、可撓部 101 a および先端部 101 b からなり、可撓部 101 a には、光増幅器を構成する光ファイバ 110 が延在して配置されており、先端部 101 b には、第 2 のリレーレンズ 111、光量調整部を構成する励起光強度バランスフィルタ 112、スキャナ 113 および顕微鏡対物レンズ 114 が配置されている。

【0034】

図 1 において、本体部 100 の励起光源 102 から射出された励起光は、コリメートレンズ 103 でコリメートされてダイクロイックミラー 104 で反射された後、第 1 のリレーレンズ 105 を経てプローブ部 101 の光ファイバ 110 に入射する。光ファイバ 110 には、蛍光を増幅するための利得媒質が添加されており、該光ファイバ 110 に入射した励起光は、その一部が、該光ファイバ 110 に吸収されて利得媒質を励起し、吸収されなかつた残りの励起光が、該光ファイバ 110 から射出されて、第 2 のリレーレンズ 111 を経て励起光強度バランスフィルタ 112 に入射する。

10

【0035】

励起光強度バランスフィルタ 112 は、入射した励起光を所定の割合で透過させる。そして、励起光強度バランスフィルタ 112 を透過した励起光は、スキャナ 113 を経て顕微鏡対物レンズ 114 により観察対象 115 に集光される。これにより、観察対象 115 の集光部位を構成する分子または集光部位に含まれる蛍光色素が励起されて、蛍光が発生する。

【0036】

観察対象 115 から発生した蛍光は、顕微鏡対物レンズ 114、スキャナ 113、励起光強度バランスフィルタ 112 および第 2 のリレーレンズ 111 を経て光ファイバ 110 に入射する。ここで、光ファイバ 110 は、往路において既に利得媒質が励起されているので、蛍光が入射すると誘導放出を起こして、入射した蛍光を光増幅して射出する。

20

【0037】

光ファイバ 110 で光増幅されて射出される蛍光は、第 1 のリレーレンズ 105 を経てダイクロイックミラー 104 に入射する。ダイクロイックミラー 104 を透過した蛍光は、励起光カットフィルタ 106 に入射し、ここで入射光に含まれる不要な励起光がカットされて、結像レンズ 107 により光検出器 108 に集光されて光電変換される。そして、プローブ部 101 側において、励起光がスキャナ 113 の作用により観察対象 115 をスキャンするのに伴って、観察対象 115 の蛍光強度分布を反映した信号が得られる。

30

【0038】

上記構成において、光ファイバ 110 に添加される利得媒質は、種々の元素、例えば、プラセオジウム(Pr)、ネオジウム(Nd)、ホルミウム(Ho)、エルビウム(Er)、ツリウム(Tm)、イッテルビウム(Yb)、テルビウム(Tb)等が利用可能であるが、特に可視域の蛍光を増幅する場合は、プラセオジウム、ホルミウム、エルビウム、ツリウムやテルビウムが有効である。また、スキャナ 113 は、光学的走査が可能であれば良く、例えば MEMS(micro electro mechanical systems)型ガルバノミラーを用いて構成することもできるし、光ファイバ 110 の対物レンズ側端部を、アクチュエータにより光軸と直交する方向に駆動するように構成することもできる。なお、図 1 では、スキャナ 113 によりスキャンされる光路のうち、軸上光路を符号 116<sub>CT</sub>で示し、軸外光路を符号 116<sub>PR</sub>で示している。

40

【0039】

図 2 は、励起光強度バランスフィルタ 112 の光学特性を説明するための図で、図 2 (a) は励起光強度バランスフィルタ 112 に入射する励起光および蛍光のスペクトル分布を示し、図 2 (b) は励起光強度バランスフィルタ 112 の分光透過率特性を示す。なお、図 2 (a) において、蛍光のスペクトル強度は、図面を明瞭とするため強調して示している。図 2 に示すように、励起光強度バランスフィルタ 112 は、励起光の波長  $\lambda_{EX}$  (例えば、488 nm) における透過率  $T_{EX}$  を比較的 low、逆に、蛍光の波長帯域  $\lambda_{FL1} \sim \lambda_{FL2}$  (例えば、500 nm ~ 600 nm) における透過率  $T_{FL}$  は、比較的高くなるように構成する。このような励起光強度バランスフィルタ 112 は、例えば、ダイクロイックフィルタ等の誘電体多層膜フィルタ、チューナブルフィルタ、ファブリペロ干渉計等により構成

50

することができる。

【0040】

このように、励起光強度バランスフィルタ112を構成して、該励起光強度バランスフィルタ112を光ファイバ110と観察対象115との間に配置することにより、励起光源102から射出される励起光のうち比較的高い割合を光ファイバ110に入射させて励起させながら、観察対象115に対しては、光ファイバ110を透過した励起光のうち透過率 $T_{EX}$ によって制限された比較的低い割合の励起光を照射することができる。また、観察対象115から発した蛍光を、励起光強度バランスフィルタ118における透過率 $T_{FL}$ によって、その大部分を光ファイバ110に入射させることができる。

【0041】

これにより、光ファイバ110の励起および蛍光増幅作用をほとんど妨げることなく、観察対象115を照射する励起光を適度に弱めて、観察対象115が励起光によって受けるダメージ（例えば、蛍光色素の退色）を低減することができる。すなわち、観察対象115に照射する励起光と、光ファイバ110に入射させて蛍光を増幅する励起光との光量比を最適化することができる。

【0042】

以上のように、本実施の形態に係る内視鏡型蛍光顕微鏡1によれば、一つの励起光源102から射出される励起光を、観察対象115の照明用と、光ファイバ110による光増幅用とに最適化して用いるようにしたので、装置の大型化、複雑化およびコストアップを招くことなく、観察対象115から発生する蛍光が弱い場合でも、光ファイバ110により光増幅して、SN比の良好な画像を得ることができる。また、可撓部101aの撓み作用により、本体部100を移動させることなく、先端部101bの位置や方向を任意に変えることができ、さらにプローブ部101を生体の狭まった部位や管腔・内腔部に入れることができるので、例えば、実験動物や実験小動物の体内に挿入して蛍光観察を容易に行うことができる。したがって、本実施の形態によれば、生体内の組織や細胞の蛍光顕微鏡画像を高感度に観察できる内視鏡型蛍光顕微鏡1を提供することができ、特に、医学・生物学の研究に供することができる。

【0043】

（第2実施の形態）

図3は、本発明の第2実施の形態に係る蛍光検出装置の概略構成を示す図である。この蛍光検出装置は、蛍光内視鏡2として構成されたものである。この蛍光内視鏡2は、被検部位の自家蛍光や、病変部に特異的に結合する蛍光色素が発する蛍光を観察することによって診断を行う医療機器であり、対物レンズとして内視鏡対物レンズ201を用いることを除き、全体の構成および各部の作用は、図1に示した内視鏡型蛍光顕微鏡1と基本的に同じである。したがって、図1に示した構成要素と、同一作用を成す構成要素には、同一参照符号を付して説明を省略する。

【0044】

本実施の形態に係る蛍光内視鏡2においても、第1実施の形態と同様に、一つの励起光源102から射出される励起光を用いることで、装置の大型化、複雑化およびコストアップを招くことなく、観察対象202から発生する蛍光が弱い場合でも、光ファイバ110により光増幅して、SN比の良好な画像を得ることができる。

【0045】

（第3実施の形態）

図4は、本発明の第3実施の形態に係る蛍光検出装置の概略構成を示す図である。この蛍光検出装置は、ファイバスコープ型の蛍光内視鏡3として構成されたもので、内視鏡本体部300と挿入部であるプローブ部301とを備える。内視鏡本体部300には、励起光源302、励起光集光レンズ303、ダイクロイックミラー304、リレーレンズ305、励起光カットフィルタ306、結像レンズ307および撮像素子308が配置されている。また、プローブ部301は、可撓部301aおよび先端部301bからなり、可撓部301aには、多数の光ファイバを束ねてなる光ファイババンドル310が延在して配

10

20

30

40

50

置され、先端部 301b には、励起光強度バランスフィルタ 312 および内視鏡対物レンズ 314 が配置されている。

【0046】

図 4 において、内視鏡本体部 300 の励起光源 302 から射出された励起光は、励起光集光レンズ 303 で集光されてダイクロイックミラー 304 で反射された後、リレーレンズ 305 を経てプローブ部 301 の光ファイババンドル 310 の後端部 310a の端面全体に入射する。光ファイババンドル 310 は、各々の光ファイバが光増幅器を構成するもので、各光ファイバには、第 1 実施の形態における光ファイバ 110 と同様の蛍光を増幅するための利得媒質が添加されている。そして、光ファイババンドル 310 に入射した励起光は、その一部が、各光ファイバに吸収されて利得媒質を励起し、吸収されなかった残りの励起光が、光ファイババンドル 310 の先端部 310b の端面から射出されて、励起光強度バランスフィルタ 312 に入射する。

10

【0047】

励起光強度バランスフィルタ 312 は、光量調整部を構成するもので、第 1 実施の形態における励起光強度バランスフィルタ 112 と同様に構成され、入射した励起光を所定の割合で透過させる。そして、励起光強度バランスフィルタ 312 を透過した励起光は、内視鏡対物レンズ 314 により観察対象 315 の画像観察領域に対応する照明領域（視野）316 を照明する。これにより、観察対象 315 の照明領域 316 内の分子または照明領域に含まれる蛍光色素が励起されて、蛍光が発生する。

【0048】

観察対象 315 の照明領域 316 から発生した蛍光は、内視鏡対物レンズ 314 により励起光強度バランスフィルタ 312 を経て光ファイババンドル 310 の先端部 310b の端面に集光されて、該先端面に照明領域 316 の蛍光像が結像される。そして、この先端面に結像された蛍光像は、光ファイババンドル 310 を経て光増幅されて伝送され、これにより後端部 310a の端面に光増幅された蛍光像が形成される。

20

【0049】

この後端部 310a の端面に形成される光増幅された蛍光像は、リレーレンズ 305 およびダイクロイックミラー 304 を経て励起光カットフィルタ 306 に入射され、ここで蛍光像に含まれる不要な励起光がカットされて、結像レンズ 307 により撮像素子 308 上に結像されて光電変換される。

30

【0050】

したがって、本実施の形態においても、上記実施の形態と同様に、一つの励起光源 302 から射出される励起光を用いることで、装置の大型化、複雑化およびコストアップを招くことなく、観察対象 315 の蛍光像が弱い場合でも、光ファイババンドル 310 により光増幅して、SN 比の良好な画像を得ることができる。

【0051】

（第 4 実施の形態）

図 5 は、本発明の第 4 実施の形態に係る蛍光検出装置の概略構成を示す図である。この蛍光検出装置は、蛍光顕微鏡 4 として構成されたもので、上述した実施の形態と同様に、一つの励起光源 401 を有する。図 5 において、励起光源 401 から射出された励起光は、第 1 のコリメートレンズ 402 でコリメートされてダイクロイックミラー 403 に入射し、該ダイクロイックミラー 403 を透過および反射して二つの励起光に分離される。

40

【0052】

ダイクロイックミラー 403 を透過した一方の励起光は、反射ミラー 404 で反射されて再びダイクロイックミラー 403 に入射し、ここで反射される励起光が、スキャナ 405 および瞳リレーレンズ 406 を経て顕微鏡対物レンズ 407 により観察対象 408 に集光される。これにより、観察対象 408 の集光部位を構成する分子または集光部位に含まれる蛍光色素が励起されて、蛍光が発生する。

【0053】

この観察対象 408 から発生した蛍光は、顕微鏡対物レンズ 407 により捕集されて、

50

瞳リレーレンズ 406 およびスキャナ 405 を経てダイクロイックミラー 403 に入射する。そして、ダイクロイックミラー 403 に入射した蛍光は、該ダイクロイックミラー 403 を透過して、第 1 の結像レンズ 410、第 1 の共焦点ピンホール 411 および第 2 のコリメートレンズ 412 を経て、利得媒質が添加されたバルク状光学素子 413 に入射する。なお、第 1 の共焦点ピンホール 411 は、顕微鏡対物レンズ 407 の焦点以外からの光を遮光して、観察対象 408 の三次元計測を行うためのピンホールである。

【0054】

一方、励起光源 401 から射出されてダイクロイックミラー 403 で反射される他方の励起光は、第 1 の結像レンズ 410、第 1 の共焦点ピンホール 411 および第 2 のコリメートレンズ 412 を経てバルク状光学素子 413 に入射し、該バルク状光学素子 413 の利得媒質を励起する。これにより、バルク状光学素子 413 に入射した観察対象 408 からの蛍光は、光増幅されて該バルク状光学素子 413 から射出される。

10

【0055】

バルク状光学素子 413 から射出された蛍光は、励起光カットフィルタ 414 により不要な励起光がカットされた後、第 2 の結像レンズ 415 により第 2 の共焦点ピンホール 416 に集光されて、バルク状光学素子 413 から発生する不所望な自然放出光が遮光され、この第 2 の共焦点ピンホール 416 を透過した蛍光が第 3 の結像レンズ 417 により光検出器 418 に集光されて光電変換される。そして、観察対象 408 に照射される励起光が、スキャナ 405 によりスキャンされるのに伴って、観察対象 408 の蛍光強度分布を反映した信号が得られる。なお、図 5 では、スキャナ 405 によりスキャンされる光路のうち、軸上光路を符号 419<sub>CT</sub> で示し、軸外光路を符号 419<sub>PR</sub> で示している。

20

【0056】

ここで、ダイクロイックミラー 403 は、観察対象 408 に照射する励起光と、バルク状光学素子 413 により蛍光を光増幅する励起光との光量比を最適化する光量調整部を構成する。図 6 は、このダイクロイックミラー 403 の光学特性を説明するための図で、図 6 (a) はダイクロイックミラー 403 に入射する励起光および蛍光のスペクトル分布を示し、図 6 (b) および (c) はそれぞれダイクロイックミラー 403 の分光反射率特性および分光透過率特性を示す。なお、図 6 (a) において、蛍光のスペクトル強度は、図面を明瞭とするため強調して示している。

30

【0057】

図 6 から明らかなように、ダイクロイックミラー 403 は、励起光の波長  $\lambda_{EX}$  における反射率  $R_{EX}$  を比較的高く、逆に、蛍光の波長帯域  $\lambda_{FL1} \sim \lambda_{FL2}$  における反射率  $R_{FL}$  は、極力低くなるように構成する。そしてその結果、励起光の波長  $\lambda_{EX}$  における透過率  $T_{EX}$  は、比較的低く、逆に、蛍光の波長帯域  $\lambda_{FL1} \sim \lambda_{FL2}$  における透過率  $T_{FL}$  は、高いものになる。

【0058】

このように構成することにより、一つの励起光源 401 から射出される励起光のうち、ダイクロイックミラー 403 で一回反射したものの、すなわち割合にして  $R_{EX}$  相当分を光増幅用として用い、またダイクロイックミラー 403 で一回透過し一回反射したものの、すなわち割合にして  $T_{EX} \times R_{EX}$  相当分を観察対象 408 の照明用として用いることができる。これにより、観察対象に照射する励起光と、光増幅器により蛍光を光増幅するための励起光との光量比を最適化することが可能となる。したがって、上述した実施の形態と同様に、装置の大型化、複雑化およびコストアップを招くことなく、観察対象 408 からの蛍光が弱い場合でも、バルク状光学素子 413 により光増幅して、SN 比の良好な画像を得ることができる。

40

【0059】

(第 5 実施の形態)

図 7 は、本発明の第 5 実施の形態に係る蛍光検出装置の概略構成を示す図である。この蛍光検出装置は、全反射蛍光顕微鏡 5 として構成されたもので、上述した実施の形態と同様に、一つの励起光源 501 を有する。図 7 において、励起光源 501 から射出された励起光は、第 1 のコリメートレンズ 502 でコリメートされてビームスプリッター 503 に

50

入射し、該ビームスプリッター503を透過および反射して二つの励起光に分離される。

【0060】

ビームスプリッター503を透過した一方の励起光は、反射ミラー504、コンデンサレンズ系505および反射ミラー506を経て、顕微鏡対物レンズ507の瞳の周縁部から観察対象508を収容するサンプル容器509に照射される。このとき、照明光がサンプル容器509と観察対象508との間で全反射を生じる条件を満たすようにする。この照明光の全反射により発生するエバネッセント光により観察対象508が照明されて蛍光が励起される。そして、この観察対象508から発生した蛍光は、顕微鏡対物レンズ507により捕集されて、集光レンズ510により、利得媒質が添加されたバルク状光学素子511内に集光される。

10

【0061】

一方、励起光源501から射出されてビームスプリッター503で反射される他方の励起光は、バルク状光学素子511に入射して、該バルク状光学素子511の利得媒質を励起する。これにより、バルク状光学素子511に入射した観察対象508からの蛍光は、光増幅されて該バルク状光学素子511から射出される。そして、このバルク状光学素子511から射出される蛍光は、第2のコリメートレンズ512および励起光カットフィルタ513を経て結像レンズ514により撮像素子515に結像される。

【0062】

ここで、ビームスプリッター503は、観察対象508を全反射照明する励起光と、バルク状光学素子511により蛍光を増幅するための励起光との光量比を最適化する光量調整部を構成する。これにより、本実施の形態においても、上記実施の形態と同様の効果を得ることができる。

20

【0063】

(第6実施の形態)

図8は、本発明の第6実施の形態に係る蛍光検出装置の概略構成を示す図である。この蛍光検出装置は、ニポウディスク型共焦点蛍光顕微鏡6として構成されたもので、上述した実施の形態と同様に、一つの励起光源601を有する。図8において、励起光源601から射出された励起光は、第1のコリメートレンズ602でコリメートされて、マイクロレンズアレイディスク603、ダイクロイックミラー604およびピンホールアレイディスク605を経て、利得媒質が添加されたバルク状光学素子606に入射される。

30

【0064】

マイクロレンズアレイディスク603には、多数のマイクロレンズが渦巻き状に配列されている。また、ピンホールアレイディスク605は、いわゆるニポウディスクと同様のものであり、これにはマイクロレンズアレイディスク603の多数のマイクロレンズと対を成す多数のピンホールが、同様に渦巻き状に配列されている。これらマイクロレンズアレイディスク603およびピンホールアレイディスク605は、モータ607により一体に回転される。

【0065】

バルク状光学素子606に入射した励起光は、その一部が、該バルク状光学素子606に吸収されて利得媒質を励起し、吸収されなかった残りの励起光が、該バルク状光学素子606から射出されて、第2のコリメートレンズ608を経て励起光強度バランスフィルタ609に入射する。励起光強度バランスフィルタ609は、光量調整部を構成するもので、上記第1～3実施の形態の励起光強度バランスフィルタと同様に、入射した励起光を所定の割合で透過させる。そして、励起光強度バランスフィルタ609を透過した励起光は、顕微鏡対物レンズ610により観察対象611に集光される。これにより、観察対象611の集光部位を構成する分子または集光部位に含まれる蛍光色素が励起されて、蛍光が発生する。

40

【0066】

また、観察対象611から発生した蛍光は、顕微鏡対物レンズ610、励起光強度バランスフィルタ609および第2のコリメートレンズ608を経てバルク状光学素子606

50

に入射して光増幅される。この光増幅された蛍光は、ピンホールアレイディスク605を経てダイクロイックミラー604で反射されて、第3のコリメートレンズ612を経て励起光カットフィルタ613に入射し、ここで不要な励起光がカットされて、結像レンズ614により撮像素子615に結像される。そして、モータ607によるマイクロレンズアレイディスク603およびピンホールアレイディスク605の回転により、観察対象611がスキャンされるのに伴って、観察対象611の蛍光強度分布を反映した蛍光画像が得られる。

【0067】

したがって、本実施の形態においても、上記実施の形態と同様に、一つの励起光源601から射出された励起光を、観察対象611の照明用と、観察対象611から発生した蛍光の光増幅用とに用いることで、装置の大型化、複雑化およびコストアップを招くことなく、観察対象611からの蛍光が弱い場合でも、バルク状光学素子606により光増幅して、SN比の良好な画像を得ることができる。

10

【0068】

(第7実施の形態)

図9は、本発明の第7実施の形態に係る蛍光検出装置の概略構成を示す図である。この蛍光検出装置は、実験小動物用蛍光マクロ観察装置7として構成されたもので、上述した実施の形態と同様に、一つの励起光源701を有する。図9において、励起光源701から射出された励起光は、励起光集光レンズ702で集光されてダイクロイックミラー703で反射された後、利得媒質が添加されたバルク状光学素子704に入射される。

20

【0069】

バルク状光学素子704に入射した励起光は、その一部が、該バルク状光学素子704に吸収されて利得媒質を励起し、吸収されなかった残りの励起光が、該バルク状光学素子704から射出されて、励起光強度バランスフィルタ705に入射する。励起光強度バランスフィルタ705は、光量調整部を構成するもので、上記第6実施の形態の励起光強度バランスフィルタ609と同様に、入射した励起光を所定の割合で透過させる。そして、励起光強度バランスフィルタ705を透過した励起光は、対物レンズ706により実験小動物である観察対象707の画像観察領域を照明する。これにより、観察対象707が励起されて、蛍光が発生する。

30

【0070】

観察対象707から発生した蛍光は、対物レンズ706および励起光強度バランスフィルタ705を経てバルク状光学素子704に入射して光増幅され、その光増幅された蛍光が、ダイクロイックミラー703を透過し、さらに励起光カットフィルタ708で不要な励起光がカットされた後、結像レンズ709により撮像素子710上に結像されて光電変換される。

【0071】

このように、本実施の形態においても、上記実施の形態と同様に、一つの励起光源701から射出された励起光を、観察対象707の照明用と、観察対象707から発生した蛍光の光増幅用とに用いることで、装置の大型化、複雑化およびコストアップを招くことなく、観察対象707からの蛍光が弱い場合でも、バルク状光学素子704により光増幅して、SN比の良好な画像を得ることができる。

40

【0072】

なお、本発明は、上記実施の形態にのみ限定されるものではなく、幾多の変形または変更が可能である。例えば、光量調整部を構成する励起光強度バランスフィルタやダイクロイックミラーは、観察の目的や観察対象の種類等、あるいは、使用する励起光の波長や検出する蛍光の波長等に応じて、交換あるいは切り替え可能に構成することができる。

【符号の説明】

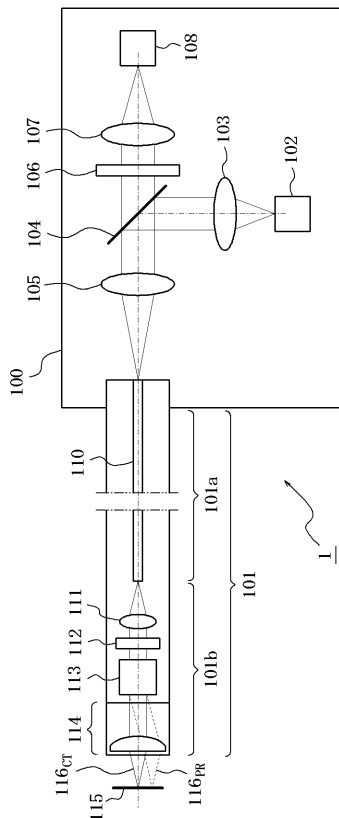
【0073】

- 1 内視鏡型蛍光顕微鏡
- 2, 3 蛍光内視鏡

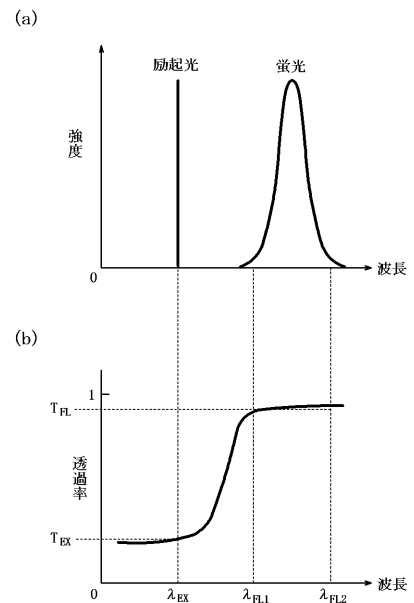
50

- 4 蛍光顕微鏡
- 5 全反射蛍光顕微鏡
- 6 ニポウディスク型共焦点蛍光顕微鏡
- 7 実験小動物用蛍光マクロ観察装置
- 100, 300 本体部
- 101, 301 プロープ部
- 102, 302, 401, 501, 601, 701 励起光源
- 108, 418 光検出器
- 110 光ファイバ
- 112, 312, 609, 705 励起光強度バランスフィルタ
- 115, 202, 315, 408, 508, 611, 707 観察対象
- 308, 515, 615, 710 撮像素子
- 310 光ファイババンドル
- 104, 304, 403, 604, 703 ダイクロイックミラー
- 503 ビームスプリッター
- 413, 511, 606, 704 パルク状光学素子

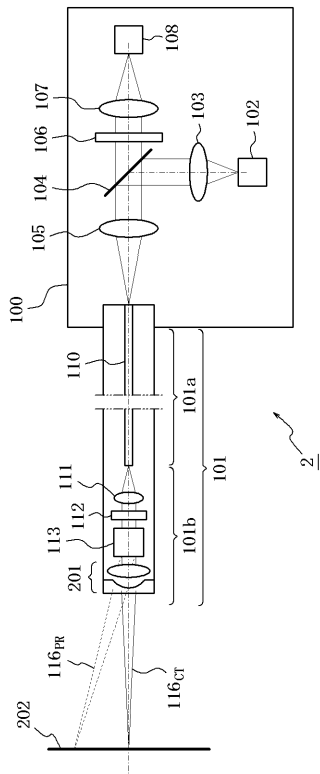
【 図 1 】



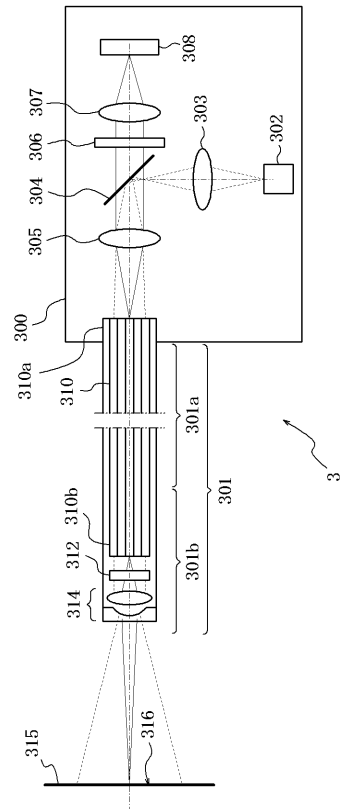
【 図 2 】



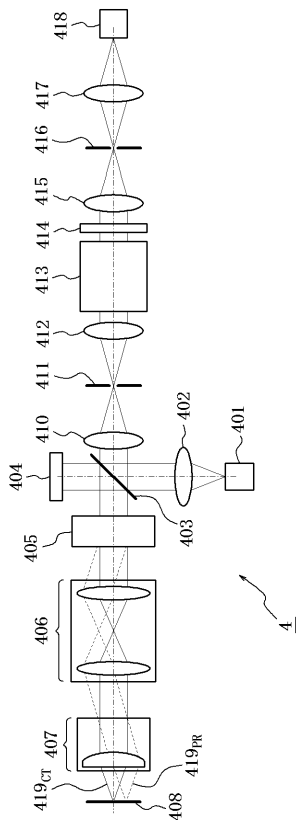
【 図 3 】



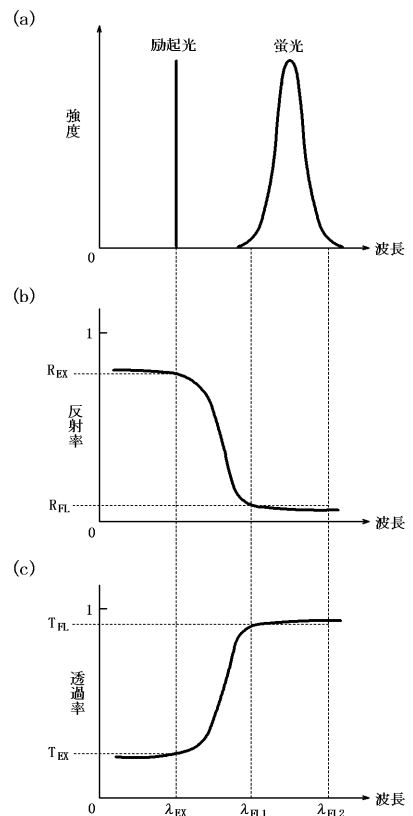
【 図 4 】



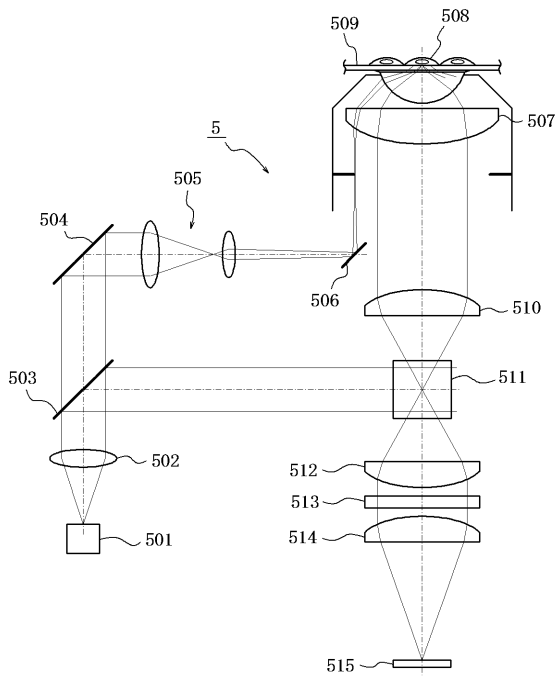
【 図 5 】



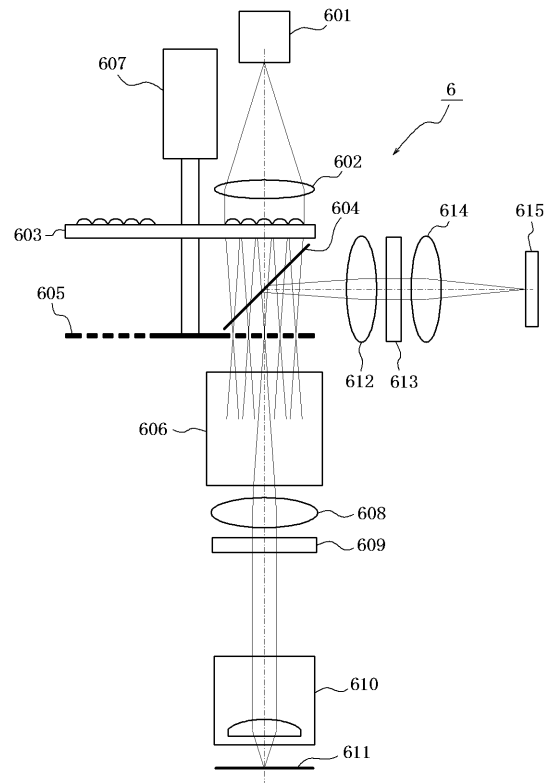
【 図 6 】



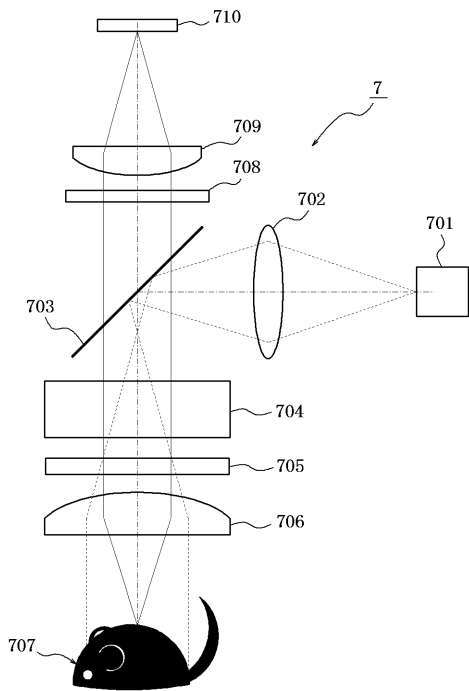
【 図 7 】



【 図 8 】



【 図 9 】



---

フロントページの続き

F ターム(参考) 2H052 AA08 AA09 AB01 AB14 AB24 AC04 AC09 AC12 AC15 AC26  
AC29 AD34 AD35 AF02 AF11  
4C061 CC06 FF46 FF47 HH54 MM10 NN01 NN05 QQ04 WW17  
4C161 CC06 FF46 FF47 HH54 MM10 NN01 NN05 QQ04 WW17

专利名称(译)	荧光检测方法和荧光检测装置		
公开(公告)号	<a href="#">JP2011196873A</a>	公开(公告)日	2011-10-06
申请号	JP2010065168	申请日	2010-03-19
[标]申请(专利权)人(译)	奥林巴斯株式会社		
申请(专利权)人(译)	奥林巴斯公司		
[标]发明人	福山宏也		
发明人	福山 宏也		
IPC分类号	G01N21/64 A61B1/00 G02B21/16		
FI分类号	G01N21/64.E A61B1/00.300.D G02B21/16 A61B1/00.511 A61B1/00.550 A61B1/00.732 A61B1/07.730 A61B1/07.731 A61B1/07.732		
F-TERM分类号	2G043/AA03 2G043/BA16 2G043/EA01 2G043/FA01 2G043/FA02 2G043/GA08 2G043/GB28 2G043/HA01 2G043/HA05 2G043/HA09 2G043/KA02 2G043/KA09 2G043/LA01 2G043/MA12 2H052/AA08 2H052/AA09 2H052/AB01 2H052/AB14 2H052/AB24 2H052/AC04 2H052/AC09 2H052/AC12 2H052/AC15 2H052/AC26 2H052/AC29 2H052/AD34 2H052/AD35 2H052/AF02 2H052/AF11 4C061/CC06 4C061/FF46 4C061/FF47 4C061/HH54 4C061/MM10 4C061/NN01 4C061/NN05 4C061/QQ04 4C061/WW17 4C161/CC06 4C161/FF46 4C161/FF47 4C161/HH54 4C161/MM10 4C161/NN01 4C161/NN05 4C161/QQ04 4C161/WW17		
代理人(译)	杉村健二 下地健一		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种荧光检测装置，其能够检测具有高SN比的观察对象产生的荧光，而不会增大装置的复杂性和成本。解决方案：在该荧光检测装置1中，用于从激发光源102发射的激发光照射观察对象115，并且通过光学放大器110放大从观察对象115产生的光学荧光以检测它，从该发射器发射的激发光。允许激发光源102进入光放大器110，并且从观察对象115产生的荧光被光学放大。

