

小型共焦点顕微鏡の開発

平野 俊幸†, 山田 貴哉†, 服部 公央亮†, 田口 亮†, 柴田 進‡, 保黒 政大††, 堀米 秀嘉‡‡, 梅崎 太造†
名古屋工業大学†, 有限会社ミュースカイネット‡, 中部大学††, 有限会社 ホーリーマイン‡‡

1 はじめに

共焦点レーザー顕微鏡はその高い分解能や定量性から高精度な表面微細形状計測手法として期待されている^[1]. また, 光を用いることにより, 試料の持つ情報を非侵襲, つまり試料を傷付けずに取り出せるという大きなメリットがある. この特徴から生きた細胞の観察が可能であるため, 医学, 生物学でも応用されている^[2]. しかし, 従来製品は非常に価格が高く, かつ計測装置が複雑で大掛かりであることから一部の研究機関, 病院でしか使用されていないという問題がある. そこで現在, 我々は小型で安価な共焦点レーザー顕微鏡の開発を進めている.

本稿では, 非侵襲で試料の内部計測が可能な共焦点レーザー顕微鏡を構築して, その実験装置による基礎実験の結果を報告する. 実験装置の光学構成で非侵襲内部計測が可能であることをゼラチンでコーティングしたコインを計測することで確認した. また, 段差基準器を用いた精度検証を実施した. 更に, 実験装置の光学構成を基に小型試作機を作成して, その動作確認の計測実験を実施した.

2 実験装置

実験装置の共焦点レーザー顕微鏡は図 1 の構成で構築した. 本装置は, レーザ発振器, $\lambda/2$ 波長板, $\lambda/4$ 波長板, 偏光ビームスプリッタ(PBS), ミラー, ビームエキスパンダ, レンズ, 対物レンズおよびピンホールからなる光学系とガルバノスキャナ, 試料ステージ, 光検出器からなる制御系で構成される.

光源から発射されたレーザー光は, ビームエキスパンダにより 10 倍の大きさに拡大, かつコリメートされ, ガルバノスキャナ, リレーレンズ系(L1, L2)を経たのち, 対物レンズにより試料に集光照射される. ビームが試

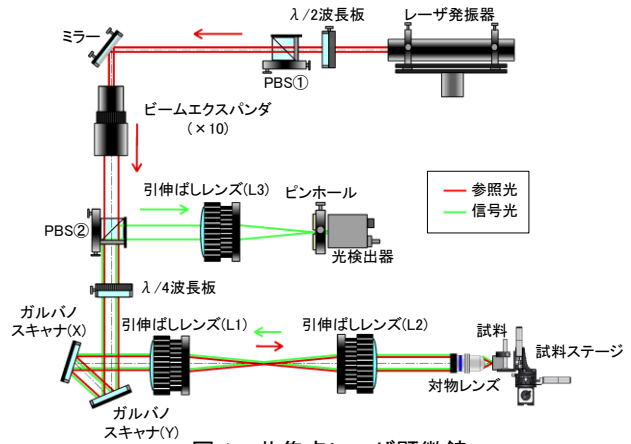


図 1 共焦点レーザー顕微鏡

料面に照射されるときに試料面が焦点位置の場合は, 試料からの反射光はピンホールを通過して光検出器で検出されるが, 非焦点位置の場合はピンホールを通過することができない. これにより, 焦点部分の画像情報だけを取得することができるため, 不要散乱光などの影響を受けず, 高解像度・高コントラストの画像が得られ, また深さ方向に高い分解能を持つ.

3 計測実験

構築した実験装置が非侵襲で試料内部の計測が可能か確認するために, ゼラチンでコーティングしたコイン(図 2)の計測を実施した. ただし, ゼラチンには光の散乱により内部を計測し難くするために牛乳を加えた. 計測は XY 平面で Z 座標を変えて複数回実施した. 光源には, 生体透過性の良い近赤外波長($\lambda=830[\text{nm}]$)を用いた. 計測結果を図 3 に示す. さらに, 図 2(a)の赤線位置において XZ 平面計測を実施した. ゼラチンありとなしの両方で計測を行い, 垂直断面画像を比較する. 計測結果を図 4 に示す.

計測結果から, ゼラチンを透過してコイン表面の計測に成功したことが確認できる. ただし, 図 3(d)において, 本来なら非焦点面のため計測できないコイン表面が確認できる. これは, 垂直方向の分解能が低いことが原因であり, 今後, 図 1 のレンズ(L3)およびピンホールの検討を行うことで, 垂直分解能の向上を図りたい.

Development of a small Confocal Laser Scanning Microscope
Toshiyuki Hirano†, Takaya Yamada†, Koosuke Hattori†, Ryo Taguchi†, Susumu Shibata‡, Masahiro Hoguro††, Hideyoshi Horimai‡‡, Taizo Umezaki†
Nagoya Institute of Technology†, μ -Skynet CO.LTD‡, Chubu University††, Holymine Ltd‡‡

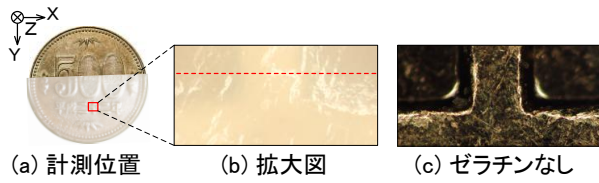


図2 試料

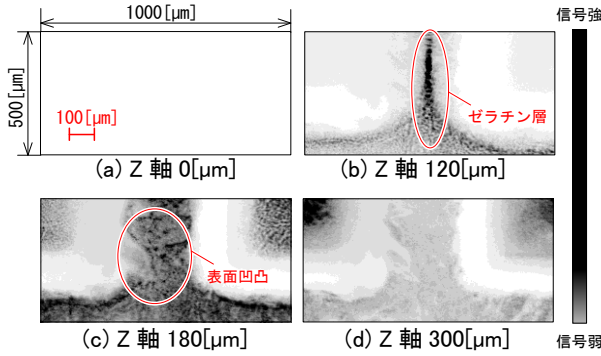


図3 XY平面計測結果

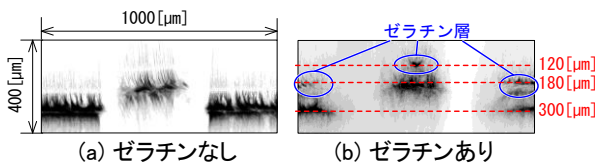


図4 XZ断面計測結果

4 精度検証

実験装置の評価を行うために、段差基準器を用いて深さ方向の計測精度を検証した。300[μm], 100[μm], 50[μm], 20[μm]それぞれの段差に対して5回の計測を実施し、計測値の平均二乗誤差を計算した。結果を図5に示す。

図5から、平均二乗誤差は最大で約2.2[μm]であることが確認でき、これは使用目的の一つである皮膚を計測するには十分な精度である。また、この値は使用した移動ステージの繰り返し位置決め精度の2.0[μm]に影響されていることが考えられるため、精度向上を図るには移動ステージの検討が必要である。

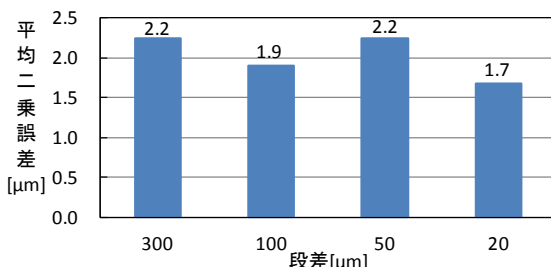


図5 段差計測結果

5 小型試作機

実験装置の光学構成を基に小型の試作機を作成した。小型試作機を図6に示す。

図6から、約100[mm]という小型に作成できている

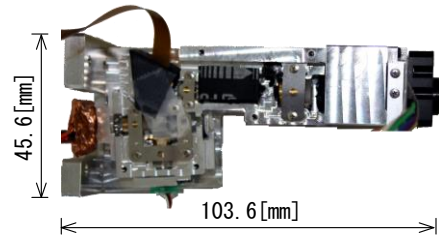


図6 小型試作機

ことが確認できる。これは、従来製品ではXYスキャナにガルバノスキャナ、もしくはポリゴンスキャナが使用されているのに対して、本試作機では2次元MEMSスキャナを採用したことが大きく影響している。また、2次元MEMSスキャナには汎用部品が使われているものを採用することで安価に作成した。

本試作機の動作を確認するため計測実験を実施した。試料には金属メッシュを用いた。金属メッシュを図7に、計測結果を図8に示す。計測結果から、拡大画像と同様の形状が計測できたことが確認できる。このことから、試作機が顕微鏡として正しく動作していると考えられる。

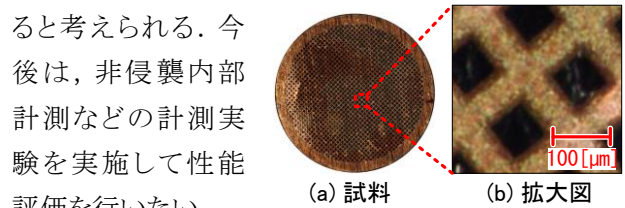


図7 金属メッシュ

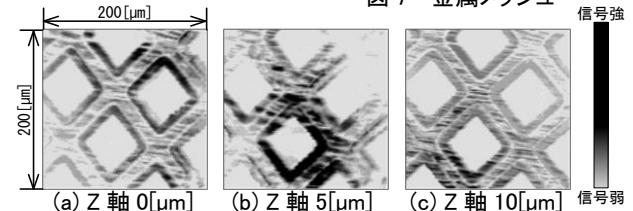


図8 金属メッシュ計測結果

6 まとめ

本稿では小型で安価な共焦点レーザー顕微鏡の光学構成を検討するために、光学定盤上に共焦点レーザー顕微鏡を構築して、基礎実験を実施した。また、実験装置の光学構成を基に小型試作機を作成して、その動作を確認した。

参考文献

- [1] 宮本昌幸, 辻裕一, 佐々木哲也, 本田尚, 山際謙太: レーザ顕微鏡を用いたアルミニウム合金疲労破面の三次元定量解析, M&M 材料力学カンファレンス, pp.258-259, 2009
- [2] 石川春律: 共焦点レーザー顕微鏡-原理と基礎-, 組織細胞科学, pp.19-23, 1996