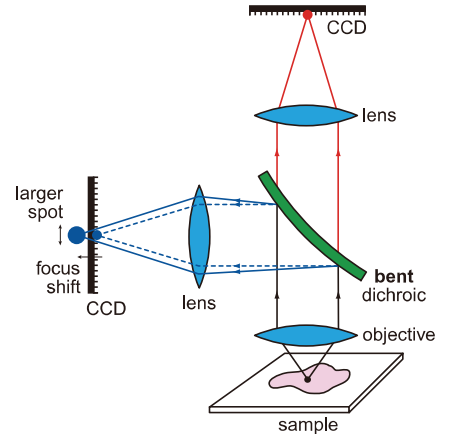


ダイクロイック・ビームスプリッタの平坦度が焦点と画質に影響

光学フィルターは通常平坦なガラス基板を平行に重ねたものに薄膜コーティングを何層にも施した構造となっています。Semrockのフィルターはいずれも単一基板にコーティングを片面のみあるいは両面に施すことで、最大の透過率と信頼性を実現するとともに、界面が複数存在することによる人為的影響（内面フレアー等）が最小となるよう設計されています。

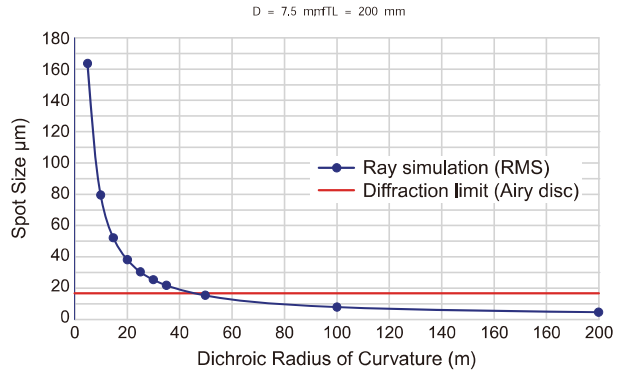
ガラス基板は通常完全な平面精度が出ているわけではありません。特にコーティングを施した結果、基板がわずかに反ってしまう場合があります。しかしながら、幸い光学フィルターの透過光に対しては、通常の入射角あるいはそれに近い角度である限り、こうした基板の湾曲が目立った影響を与えることはありません。入射角が大きい場合にも（例えば45°のダイクロイック・ビームスプリッタなど）、唯一の影響としてビーム軸のわずかな発散が生じる程度です。一方、反射光、すなわち試料に当たる前にダイクロイックから反射される励起ビームや、ダイクロイックで2色に分けられるイメージングビームなどについては、フィルター基板の湾曲が顕著な影響を与えてしまう可能性があります。起こりうる影響としては2つ。焦点面の位置の移動、そして焦点スポットサイズの拡大や画質の悪化です。



焦点面の移動は、レンズやカメラの調整でそれを補正することが可能なので、通常はほとんど問題となりません。しかし、その移動の度合いが大きすぎて補正できない場合もあります。例えば、全反射照明蛍光（TIRF）顕微鏡で対物レンズの背面焦点面にレーザービームの焦点を絞る場合や、構造化照明顕微鏡で試料面にグリッドをイメージングする場合においては、平坦度の高いダイクロイック（レーザー用途として設計された製品など。）を使用するなどの配慮が必要となります。

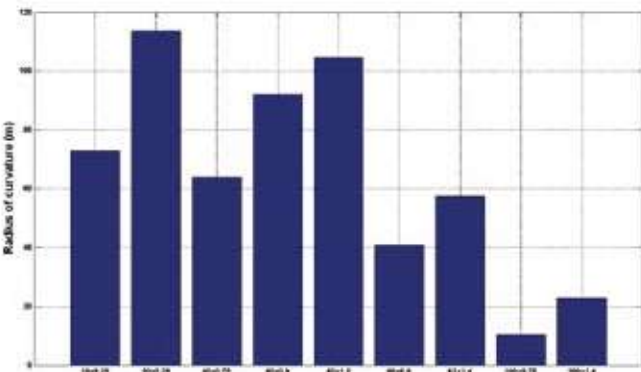
ダイクロイックの湾曲により収差が発生する可能性がある

ダイクロイックがわずかに曲がっていると、入射角45°の光が反射した際に収差（像面に対して非点収差など）が生じ、イメージング用レンズ後の画質を悪くしてしまう可能性があります。その一例として右のグラフに、完璧なポイント光源が様々な曲率半径のダイクロイックに反射した後の画像面上におけるスポットサイズを示します。



この図は、典型的な落射蛍光顕微鏡の構成に基づき、試料の位置に完璧なポイント光源があり、仮想上の40X/0.75NAの対物レンズと焦点距離200mmの標準的な結像（チューブ）レンズにより、像面（例：CCD平面）へイメージングされる状態を想定しています。（結像レンズの焦点距離は160~200mmが業界標準です。）

この場合のビーム径は6.75mmです。ダイクロイックからの反射は対物レンズと結像レンズの間で発生します。このシステムの視野はカメラ平面において直径20mmの大きさに限定され、この光の波長は510nm（GFP蛍光のピーク）と推測されます。ちなみに、完璧な対物レンズと結像レンズ、および完璧に平坦なダイクロイックで生じる回折限界のスポットサイズは、16.6µm（図の赤線部分）となります。



ダイクロイックからの反射光でイメージング用ビーム（CCDなどの検出器アレイへ焦点を当てるなど）の用途に耐えうるかどうかの基準としては、回折限界のスポットサイズがビームスプリッターからの反射で著しく変わらないことが挙げられます。対物レンズと結像レンズの組み合わせ（標準的な結像レンズを使用した場合）に対し要求される最小曲率半径は蛍光顕微鏡に共通しており、その値は以下の数値にまとめられます。必要最小の半径は、高倍率の対物レンズ（ビーム径の小さいもの）に対しては数十メートルから、低倍率の対物レンズ（ビーム径の大きいもの）では約50~100メートルと、さまざまです。

完全な平坦度を持たないダイクロイックに対しては、反射された画質は仮想上の回折限界応答より劣る可能性がある一方、像面における真のスポットサイズは、実際のシステムにおける回折限界のスポットサイズより著しく大きくなる可能性があるため、注意が必要です。いずれにせよ、反射光を利用した作業の際には、正しく最適化された平坦度の高いダイクロイック・ビームスプリッターを選択する配慮が必要です。レーザー光を反射するよう設計されたダイクロイック（「レーザーダイクロイック」を参照のこと）は通常十分な平坦度でレーザービームの焦点移動が直径数ミリと無視できるレベルが確保されています。

イメージング用ビームを反射するよう設計されたダイクロイック（「イメージングダイクロイック」を参照のこと）は、1cmあるいはそれ以上のビームについて非点収差の影響を効果的に取り除かなければならないため、最も厳しい平坦度の要件をクリアしています。

棒グラフ

縦軸：曲率半径

多数の顕微鏡対物レンズのためのイメージング用途のダイクロイックに求められる曲率半径。各対物レンズは倍率、開口数（NA）、関係する結像（チューブ）レンズの焦点距離（mm）