

(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2006-268004
(P2006-268004A)

(43) 公開日 平成18年10月5日(2006.10.5)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO2B 21/00 (2006.01)	GO2B 21/00	2H041
GO2B 27/58 (2006.01)	GO2B 27/58	2H052
GO2B 27/10 (2006.01)	GO2B 27/10	
GO2B 26/08 (2006.01)	GO2B 26/08	E

審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 12 頁)

(21) 出願番号	特願2005-299708 (P2005-299708)	(71) 出願人	000004112 株式会社ニコン
(22) 出願日	平成17年10月14日 (2005.10.14)		東京都千代田区丸の内3丁目2番3号
(31) 優先権主張番号	特願2005-52157 (P2005-52157)	(74) 代理人	100077919 弁理士 井上 義雄
(32) 優先日	平成17年2月25日 (2005.2.25)	(72) 発明者	大内 由美子 東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株式会社ニコン内
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	Fターム(参考)	2H041 AA13 AB14 AC07 AZ05 2H052 AA03 AA06 AC04 AC10 AC26 AC27 AC29 AC30 AD31 AD34 AF02 AF14 AF21

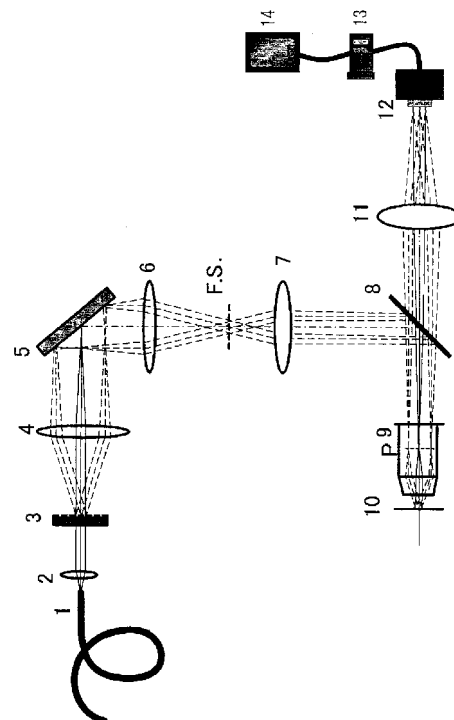
(54) 【発明の名称】 顕微鏡装置

(57) 【要約】

【課題】空間変調した照明光を用いて標本を照明し、取得画像を演算処理することで与えた空間変調を復調して、高解像な標本像を得る超解像顕微鏡において、高速で画像取得できる顕微鏡装置を提供することを目的とする。

【解決手段】光源と、瞳共役面近傍に配置され、前記光源からの光束の一部あるいは全部を位相変調させる位相変調手段5とを有し、前記光束を、標本面近傍で縞構造に空間変調して照射する照明光学系と、前記標本の回折光を結像する結像光学系と、撮像手段12と、撮像手段12により撮像された画像を演算処理することにより標本像を生成する画像処理手段13とを有する顕微鏡装置であって、前記位相変調手段5により、前記照明光の、前記標本面近傍に生成される縞構造の位相を変調することを特徴とする。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項1】

光源と、瞳共役面近傍に配置され、前記光源からの光束の一部あるいは全部を位相変調させる位相変調手段とを有し、前記光束を、標本面近傍で縞構造に空間変調して照射する照明光学系と、

前記標本の回折光を結像する結像光学系と、

撮像手段と、前記撮像手段により撮像された画像を演算処理することにより標本像を生成する画像処理手段とを有する顕微鏡装置であって、

前記位相変調手段により、前記照明光の、前記標本面近傍に生成される縞構造の位相を変調することを特徴とする顕微鏡装置。

10

【請求項2】

前記位相変調手段が光束を偏向させる反射面を有する角度変調手段からなり、該反射面の角度変調により前記標本面近傍に生成される縞構造の位相を変調することを特徴とする請求項1に記載の顕微鏡装置。

【請求項3】

前記位相変調手段が光束を偏向させる反射面を有し、該反射面の位相差または反射率を電氣的に制御することにより前記標本面近傍に生成される縞構造の位相を変調することを特徴とする請求項1に記載の顕微鏡装置。

【請求項4】

前記位相変調手段は、空間変調に不要な照明光を遮蔽する遮蔽手段を有することを特徴とする請求項1乃至3のいずれか1項に記載の顕微鏡装置。

20

【請求項5】

前記反射面が、複数の領域に区分され、前記空間変調した照明光に必要な光が反射する領域に対しては、相互の位相を相対的に変調するように構成し、不要な照明光が反射する領域に対しては不要な光が標本の方へ偏向しない構成にしたことを特徴とする請求項3に記載の顕微鏡装置。

【請求項6】

光源と、標本共役位置近傍に配置された、互いに異なる方向に周期構造を持つ3つ以上の二次元の回折格子を有することを特徴とする請求項1乃至3のいずれか1項に記載の顕微鏡装置。

30

【請求項7】

前記回折格子により回折された複数の光束のうち、2つの光束を選択する光束選択手段を瞳共役位置近傍に配置し、前記光束選択手段によって照明光の空間変調の方向を変換することを特徴とする請求項6に記載の顕微鏡装置

【請求項8】

前記光束選択手段を前記角度変調手段近傍に配置し、照明光の位相変調と空間変調の方向変換を行うことを特徴とする請求項6に記載の顕微鏡装置。

【請求項9】

前記位相変調手段は空間変調に不要な照明光を遮蔽する遮蔽手段を有し、

前記光束選択手段により選択された2光束のうち一方が通過する領域は中空あるいは一様な位相変化を与える透過部材とし、もう一方が通過する領域は時間的に位相が変化する位相変調手段を瞳共役位置近傍に配置し、照明光束の位相変調と空間変調の方向変換を時間的に選択できる構成としたことを特徴とする請求項7に記載の顕微鏡装置

40

【請求項10】

可干渉光源からの光束を二光束に分割する光束分割手段を有し、前記二光束を標本面近傍で二光束干渉させて、干渉縞構造に空間変調した照明光で標本を照明し、前記空間変調した照明光による標本の回折光を結像に関与させ、取得した画像を画像演算処理により標本像を生成する構造化照明顕微鏡において、

前記光束分割手段を照明光学系内の標本共役位置近傍に配置し、角度変調手段を瞳共役位置近傍に配置し、前記光束分割手段によって分割された光束の一部または全部を、前記

50

角度変調手段により角度変調することにより、標本面近傍に生成される干渉縞の位相を変調することを特徴とする顕微鏡装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は顕微鏡に関し、特に面内方向の超解像を実現できる高解像顕微鏡に関するものである。

【背景技術】

【0002】

試料の微小構造の観察や計測の分野において、より高い空間分解能での観測が求められている。試料の面内分解能を高める方法として、試料からの回折光のうち、高い空間周波数成分の光を結像させるため、試料面近傍で、あるいは照明光学系中の試料面と共役な位置で、それぞれ回折光あるいは照明光にある種の変調を加え、結像光学系中の試料面と略共役な位置において、与えた変調に対応する復調を行う手法がある。この例として古くは Lukosz の方法 (W. Lukosz, "Optical systems with resolving powers exceeding the classical limit. II", Journal of the Optical Society of America, Vol. 37, PP. 932 (1967)) などがあり、最近では、特開平 11-242189、US RE38307 公報に開示されている方法がある。

10

【特許文献 1】特開平 11 - 242189 号広報

【特許文献 2】UR Re 38307

20

【非特許文献 1】Journal of the Optical Society of America, Vol. 37, PP. 932 (1967)

Lukosz の方法では、試料近傍及び結像光学系中の試料面と略共役な位置に、共役な格子定数を持つ回折格子を 1 つずつ配置し、それらを共役的に動かす。試料面近傍に配置された回折格子は、本来結像光学系の対物レンズに入射することのできない回折光を像面に到達させることができる。結像光学系中の試料面と略共役な位置に配置された回折格子により、試料面近傍の回折格子による回折光が復調され、本来の回折成分として結像される。本来結像に寄与しなかった高い空間周波数成分を持つ光が試料面近傍の回折格子により像面に到達するため、通常より高い空間分解能を得ることができるというものである。

【0003】

30

特開平 11-242189 公報に開示されている第 6 の実施形態は、蛍光観察装置に適用した例であり、その光学系は、可干渉光源から発した照明光を回折格子等の光束分割手段によって分割後、照明光束を対物レンズの瞳位置に集光させ、対物レンズから角度の異なる平行光束として射出させ、観察物体近傍で重なり合い干渉縞を形成する。

【0004】

この方法は、Lukosz が回折格子を標本近傍に配置することによっておこなった空間変調の代わりに、照明光によって空間変調を行っている。その効果は Lukosz の方法と同様に、本来結像光学系のみでは伝達できなかった観察物体の形状情報の空間周波数成分を含む回折光を結像に関与させることができる。そして分割した照明光束の位相を相対的に変調して、干渉縞を観察物体上で移動させて複数の画像を取得し、画像演算処理による像形成を可能にしている。具体的には、回折格子を光軸と垂直に移動させることによって、あるいは別の例では、照明光の一方の光路に楔形プリズムを挿入し、それを光軸と垂直な方向に移動することによって位相変調を行っている。

40

【0005】

US RE38307 公報に開示されている方法は、可干渉光源からの照明光を光ファイバーをもちいて導入後、回折格子等の光束分割手段によって分割、その後照明光束を対物レンズの瞳位置に集光させ、観察物体近傍で干渉縞を形成する。縞状に変調された照明光により、本来結像光学系のみでは伝達できなかった観察物体の形状情報の高周波成分を結像に関与させることができる。そして同様に複数の画像を取得し、画像演算処理による像形成をおこなっている。この方法では、1 枚の画像を形成するために、照明光束に位相変調を与え

50

た複数の画像を取得するだけでなく、照明光の干渉縞の向きも変えて画像取得している。

その理由は、高周波成分が結像に関与できるのは、照明光の干渉縞の方向と同じ方向を持った構造のみであるため、2次元に広がる標本の形状を再現するには、干渉縞の方向を変換して複数の画像を取得して合成する必要があるからである。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

本発明は、空間変調した照明光を用いて標本形状の高周波成分まで結像に関与させ、取得画像を演算処理することで与えた空間変調を復調して、高解像な標本像を得る超解像顕微鏡において、高速で画像取得できる顕微鏡装置を提供することを目的とする。

10

【課題を解決するための手段】

【0007】

上記課題を解決するために、

光源と、瞳共役面近傍に配置され、前記光源からの光束の一部あるいは全部を位相変調させる位相変調手段とを有し、前記複数の光束を、標本面近傍で縞構造に空間変調して照射する照明光学系と、前記標本の回折光を結像する結像光学系と、撮像手段と、前記撮像手段により撮像された画像を演算処理することにより標本像を生成する画像処理手段とを有する顕微鏡装置であって、

前記位相変調手段により、前記照明光の、前記標本面近傍に生成される縞構造の位相を変調することを特徴とする顕微鏡装置を提供する。

20

【発明の効果】

【0008】

本発明の顕微鏡装置では、瞳共役位置近傍に位相変調手段を配置することにより、標本面近傍に生成される照明光の縞構造の位相を高速で変調することが可能となった。

【発明を実施するための最良の形態】

【0009】

従来の方法では、位相変調を行う素子（回折格子等）を光軸と垂直方向に移動することにより位相変調を行う構成であったため、画像取得を高速に行うことが出来なかった。特に、観察対象が生きている生物標本の場合は、高速での画像取得が必須であるが、従来の方法では不十分であった。

30

【0010】

Lukoszの方法では、試料側と結像面側の2つの回折格子を同期して連続的に動かす必要があり、その機構が非常に複雑となる。

特開平11-242189公報に開示されている方法では、1枚の最終画像を得るためには、照明光の干渉縞の位相を3回変換してそれぞれ取得した画像から演算する必要がある。ここで、生物標本を対象にする場合は、画像取得の速さが問題となる。

【0011】

仮に対物レンズを倍率60倍、NA1.45とすると、一般的に観察1次像と照明系視野絞りの倍率関係は、0.3~0.5倍程度であることから、この場合標本面から視野絞り面への倍率は18~30倍となる。したがって、視野絞り面に結像する光束のNA_{fs}は、NAを倍率で割って、0.08~0.048となる。この角度に回折光を生じる回折格子のピッチを計算すると、そのピッチは6.6~11 μ mとなる。すなわち、位相を1/3ずつ1周期まで変換するには、回折格子を光軸と垂直な方向に、最大11 μ m移動させる必要がある。

40

【0012】

一方、高精度のリニアアクチュエータで、安定して駆動できる最大駆動量は、顕微鏡の照明装置に組み込むことから小型であることを考慮すると概ね10 μ m程度のものがあり、その場合の繰り返し駆動周波数は最大で10kHz程度である。しかしながら、1/3周期ごとにストップしながらの繰り返しとなると、実質1Hz程度になってしまい、画像取得は1フレーム1秒程度になる。これでは動きのある生物標本の撮影には向かない。

【0013】

50

US RE38307公報に開示の方法では、さらに回折格子を回転して干渉縞の向きを変換することを推奨している。仮に120°ごとに干渉縞の向きを3方向変換するとし、位相変換は上記と同様とすると、上記回折格子の動きは次のようになる。すなわち、基準位置で画像取得、光軸と垂直な方向に直線的にステップさせて2枚画像取得、光軸位置に戻し、回転モータによって120°回転させ画像取得、光軸と垂直方向にステップさせて2枚取得、光軸位置に戻し、回転モータによって基準から240°の向きまで回転させ画像取得、光軸と垂直方向にステップさせて2枚取得、光軸位置に戻し、回転モータによって基準位置に戻す。つまり、回転とシフトを組み合わせると都合9枚の画像を取得し、その後演算処理によって1枚の標本像が得られるわけである。この方法も画像取得のスピードを上げるのは困難である。

10

【0014】

本発明は、位相変調素子の配置場所を瞳共役位置近傍としたことが特徴である。その理由は、瞳共役位置近傍で光線の角度を振れば、標本面上での干渉縞の位相を変えることができるからである。また該2光束が空間的に完全に分離されている位置は瞳共役位置であり、それぞれの光束が集光しているから光束断面が非常に小さいため、配置する素子のサイズが小さくて済み、また、ノイズ（光束分割手段として回折格子を用いた場合には、0次回折光および不要な高次の回折光）を除去し、必要な光束のみを通過させる光束選択作用を併せ持つことができるからである。位相変調素子を配置する場所は瞳共役位置が最適であるが、瞳位置からわずかにずれた範囲（近傍）でも良い。

【第1実施形態】

20

【0015】

第1の実施形態について図を用いて説明する。図1は本発明の第1の実施形態の概略図を示す。図示しない可干渉光源からの光は光ファイバー1にて導かれ、コレクタレンズ2によって平行光に変換される。回折格子3によって回折光を生じさせ、レンズ4により瞳共役面を形成する。回折格子3は図1の紙面の垂直方向に1次元の周期構造をもっており、濃度（透過率）で構造をつけても、段差（位相差）で構造を持たせても良いが、位相型の方が±1次光の回折効率が高いので好ましい。

【0016】

5は瞳共役面近傍に配置された折返しミラーである。図2(a)は、折返しミラー5を光軸方向から見た図であり、図2(b)は、光軸に垂直な方向から見た図である。この折返しミラー5の反射面は図2(a)に示すように5a,5bの2つの領域に分割されている。回折格子3によって生じた±1次回折光が集光する位置は領域5aの輪帯内にあり、領域5bは0次回折光が集光する位置に相当している。面の特性は、5aは通常の反射ミラー面であり、5bは遮光部で、0次光をカットする働きをしている。そして、画像処理に必要な位相変調を行うために折返しミラー5はミラーの角度を変調して、光束の偏向角度を振ることができる構成になっている。その手段は図2(b)の5aの端5cを固定し、反対側の端5dを図示しない圧電アクチュエータによって、反射面に垂直方向にステップ移動させることを行うが、ミラー5の角度を変調する方法はこれに限ったものではなく、ガルバノミラー等の公知の技術を用いることができる。これにより、2光束の瞳共役位置を通過する角度を変調することができる。これにより標本面近傍では、2光束の干渉縞の位相を変調することができるのである。図2では領域5bを遮光膜とし、0次光をもれなく遮断するようにしているが、この構成に限るものではなく、折返しミラーをドーナツ状にして0次光は透過させることによって標本の方へ進行させないこともできる。

30

40

【0017】

また、回折格子3によって生じる2次以上の回折光は、反射面5の5aの外側に輪帯状に遮光部を設けて遮光しても良いし、折返しミラー5の直径を、高次回折光がこの近傍を通る光軸からの距離よりも小さくして、高次回折光が反射しないような構造としても良い。もしどちらの策もとらず、高次回折光が1次回折光とともに折返しミラー5で折り返したとしても、その後の光学系（例えば対物レンズの瞳面P）で排除することが可能であるためあまり気にする必要はない。

50

【0018】

折返しミラー5で90度向きを変えた照明光は、レンズ6によって視野絞り面F.S.で標本共役面を形成したのち、レンズ7および落射照明系と結像系を分割合成するハーフミラー8を介して対物レンズ9の瞳Pに2つのスポットを形成する。この2つのスポットは対物レンズの瞳の概ね最外周部に形成され、対物レンズから射出する際には、対向する最大NAの角度の平行光束となって標本面を照射する。このとき、2光束は可干渉であるため等間隔の干渉縞の構造をもって標本面を照射するのである。この、縞構造を持った照明光を構造化照明と呼ぶ。

【0019】

この構造化照明光で標本を照明すると、照明光の周期構造と標本の周期構造が干渉してモアレ干渉縞を生成するが、そのモアレ干渉縞は標本の高周波の形状情報を含んでいながらもとの周波数より低周波であるため対物レンズに入射することができる。そして結像した画像を取得し、既知の照明光の周期構造を演算、復元処理することにより、未知である標本の形状をもとめ可視化する技術が構造化照明超解像顕微鏡の原理である。

10

【0020】

そして標本からの光は、対物レンズを通過して平行光に変換されたのち、ハーフミラー8を透過して、第2対物レンズ11によってCCDカメラなどの撮像手段12の撮像面上に標本像を形成する。ただしこの取得画像は、先にも述べたように変調された照明光で照明された結果の画像であるから、画像記憶・演算装置13によって画像処理され逆の変調をかけて復元することで標本像を得て、画像表示装置14に標本の超解像画像を表示することができる。

20

【0021】

画像処理で元画像を復元する際には、同じ標本に対して、照明の干渉縞の位相を3回以上変調させて撮影するとよい。それは、標本の構造には、強度の平均値と、位相シフト量と、変調幅の3つの未知のパラメータがあるからで、演算処理で未知数を求めるためには、未知数の数以上の情報が必要になるからである。

【0022】

本実施形態の配置において、回折格子3のピッチは以下の式で表わすことができる。

$$p = (M \cdot \lambda \cdot f_4) / (NA \cdot f_6)$$

ここで、M：対物レンズの倍率、 λ ：1次像 視野絞り倍率、 λ ：使用波長、NA：対物レンズのNA、 f_4, f_6 ：図1のレンズ4, 6の焦点距離、である。

30

本実施形態ではそれぞれM = 40、 $\lambda = 0.4$ 、 $\lambda = 550$ [nm]、NA = 0.75、 $f_4 = 50$ [mm]、 $f_6 = 50$ [mm]とした。この場合、回折格子のピッチは $p = 11.7 \mu\text{m}$ となる。

【0023】

一方瞳共役位置近傍で折返しミラー5の面の領域5aの5cを固定して5dを面と垂直に押すことによって1波長分の位相変調を行うと、押し量 Δz は

$$\Delta z = (\lambda / 2) \cdot \sin^2 \theta$$

で計算でき、本実施形態では $\Delta z = 0.78 \mu\text{m}$ である。この量が圧電アクチュエータで振動させる必要ストロークである。

回折格子を光軸に垂直に移動する際のストローク11.7 μm に比べて、非常に小さい移動量で位相変調を行うことができるので、振動の周波数を大きくすることができ、画像取得の速度が上がる。

40

【0024】

このように、高速で照明光の位相変調を行うことができるため、生きた生体標本の高解像度の像を得ることができる。

次に、本実施形態と、位相変調をする素子を光軸と垂直方向に移動させて位相を変調する従来の方式と比較する。

【0025】

一般に圧電アクチュエータによれば、印加電圧に対応した素子の微小な伸長を制御することが可能であるが、伸長のストロークの大きさと、共振周波数には逆比例の関係があり

50

、一般的な精密アクチュエータの例では、ストローク $5 \mu\text{m}$ では共振周波数 60kHz 、 $15 \mu\text{m}$ では 40kHz 等となっている。すなわち、ストロークを大きくとると、共振周波数を小さくせざるを得ない。

【0026】

回折格子を光軸と垂直に移動して相互の位相差を1波長与えるためには先に計算したように、 $11 \mu\text{m}$ 程度のストロークを要する。

また、特開平11-242189公報に開示の別の方法、すなわち2枚の楔プリズムの一方を光軸と垂直に移動して位相差を与える場合は以下ようになる。楔プリズムの入っている光路とそうでない光路の位相差が、ある状態で波長の m 倍 (m : 整数) だったと仮定し、その状態から、楔プリズムを斜面に沿ってスライドすることにより、該位相差が $(m+1)$ 倍となるまでの、移動量 (スライド量) を x (光軸に垂直方向の移動量) とすると、

$$x = \lambda / (\tan \theta * (1 - 1/n))$$

ここで、 λ は波長、 θ は楔プリズムの頂角、 n は楔プリズムの屈折率であり、それぞれ $\lambda = 550$ 、 $\theta = 10$ 度、 $n = 1.5168$ とおくと、 $x = 9.15 \mu\text{m}$ となる。したがって、この方法でも位相変調のストロークは $9 \mu\text{m}$ 程度必要とする。

【0027】

しかし同じ位相変調を、光の進行方向に作用すれば、ストロークをもっと短くすることができる。例えば光の進行方向を180度変換する反射ミラーで位相変調を行う場合は、1波長の位相変調に対応する反射ミラーの移動量 l_1 は、

$$l_1 = \lambda / 2$$

であるから、 $\lambda = 550 \text{nm}$ とおくと、 $l_1 = 275 \text{nm}$ である。あるいは、45度に光路を折り曲げるミラーの部分で行えば、一波長の位相変調に対応する折り曲げミラーの移動量 l_2 は、

$$l_2 = \lambda / \sqrt{2}$$

であるから、 $\lambda = 550 \text{nm}$ の場合、 $l_2 = 389 \text{nm}$ である。いずれにしても、光路に垂直に作用する場合の20分の一以下のストロークで済むことが分かる。

【0028】

一方、照明光が標本面近傍に形成する2光束干渉の干渉縞の位相を変調する場合、標本面と共役な位置で行う場合は、該2光束を光軸に垂直な面内で位置を変化させる必要があり、それは、前述の従来技術では回折格子をシフトさせることで行っている。この場合は移動方向は格子のピッチの方向に決まってしまう。

【0029】

前述の従来技術の別の方法である、楔プリズムのような位相変調を行う素子を利用する場合は、該2光束が空間的に分離されているところで行えばよく、標本共役位置よりある程度離せば、光路上どこにおいてもよい。

【第2実施形態】

【0030】

本発明の第2の実施形態について説明する。光学系の構成は第1の実施形態と同様で、折り返しミラー5の構成が異なる。本実施形態の折り返しミラーは、図3に示すように3つの領域5e, 5f, 5gに分割されている。回折格子3で回折した+1次光が5e、-1次光が5f、0次光が5gを通過するように領域を設定してある。そしてそれぞれの領域は、液晶で構成されていて反射の際の位相差や反射率を電氣的に制御することができる。本実施形態では、光線の角度を振る代わりに、反射の際5eと5fで異なる位相差を与えることで、標本面近傍に生成される干渉縞の位相を変調するものである。本実施形態では、液晶の例で説明したが、位相差や反射率を電氣的に制御する機能を持つものを液晶の代わりに使用しても良い。

【第3実施形態】

【0031】

本発明の第3の実施形態について説明する。光学系の構成は第1の実施形態と同様で、異なる点は回折格子3の構造と折返しミラー5の構造である。

本実施形態は第1の実施形態の回折格子3のかわりに図4(a)に示す構造をもつ回折格子

10

20

30

40

50

13を使用する。これは互いに60度ずつ向きを変えた3方向の周期構造を持っている。この角度は正確に60度でなくても良いが、概ね3等分する角度である方が好ましい。そしてこの回折格子13によって生じた0次光と ± 1 次光とが、レンズ4を介して瞳共役位置でそれぞれ集光する様子を表わしたのが図4(b)である。図(b)の20は0次光集光部を、21は ± 1 次光集光部を表している。

【0032】

そして本実施形態は前述の第1の実施形態の折返しミラー5の代りに図5(a)に示す構造を持つ折り返しミラー15を使用する。この反射面の領域15a~15gは、図4(b)の各スポットの集光位置に対応している。折返しミラー15は瞳共役面近傍に斜め45度に配置されるため、スポットサイズは図4(b)の状態よりも多少広がるが、互いの光束が交わるほどではないため、図5(a)の分割で分離できる。

10

【0033】

本実施形態の場合、不要な0次光は透過させる方法で除去する構成にした。すなわち折返しミラー15の領域15gに相当し、ここには反射部材は何も置かず、0次光が真っ直ぐ透過するようにしている。そして、第1の実施形態と同様に、斜線で示した15a、15b、15cの領域をそれぞれ径方向の一端を固定し、他端を圧電アクチュエータで押し引きすることにより、各領域で反射する光束の角度を振り、標本上の干渉縞の位相を変換することができる。

各領域の形状は、本図に限定されるものではなく、たとえば15aと15d、15bと15e、15cと15fをそれぞれ一体化し、その径方向で第1の実施形態に示したごとくのみラーの角度変調を行っても良い。

20

【0034】

また、本実施形態の構成において、折返しミラーによる位相変調を行う方法は、前述の第2の実施形態のごとく、液晶を利用して、反射率や反射位相差を電氣的に変調する方法におきかえてもよい。

【0035】

第1の実施形態では標本上に生じる干渉縞は、1次元の周期構造であったが、本実施形態では、2次元3方向の干渉縞である。この場合、標本の微細構造の周期の方向を問わず、超解像画像を取得することができる。

【第4実施形態】

30

【0036】

本発明の第4の実施形態について説明する。本実施形態は前述の第3の実施形態と構成は同じで、折返しミラー15の近傍に図6に示す回転シャッター16を用いたことを特徴とする。回転シャッター16はその中心16aを回転中心として回転する構造である。領域16bと16cは中空あるいは透過率の高いガラス等で素通しになっている。領域は図4の各領域15a~15fの大きさに対応し、回転する毎に15aと15d、15bと15e、15cと15fの対の光束が透過し、それ以外の光束はシャッターが遮断する構成である。これを高速で回転することにより、回折格子13で生じた3組の ± 1 次光のうち1組ずつを選択することができる。そして領域16bと16cが通るタイミングと撮像手段の画像取り込みタイミングを同期させれば、回転シャッター16は一旦停止をせず、一定速度で回転し続けることができる。回転シャッター16は、シャッター面を折返しミラーの反射面に平行にして反射面の前に取付けることもできるし、シャッター面を折返し前後の光軸に垂直(回転軸が光軸と一致)に折り返し前後どちらかに配置してもよい。但し折返しミラー15からあまり離さずに配置する方が、光束が広がらないため都合がよい。

40

【0037】

また、シャッターの窓の部分の形状は図6では三角形としたが、これに限定されるものではなく、扇形でも良いし、あるいは周辺の輪帯を残さずに、シャッターを羽根形としてもよい。

【0038】

本実施形態の方法によれば、標本面における照明光の周期構造は1次元であるため、画

50

像処理の際に演算する構造が簡単であり、時間的に照明光の周期構造の方向が変わるので、標本の構造の方向を問わず、超解像が可能である。

【0039】

US Re 38307には2光束干渉の干渉縞の方向を変換する方法についての記載があるが、回折格子を所定の角度回転後一時停止して撮影しているため、画像取得に時間がかかっていた。本実施形態では、予め3方向に周期構造を作成してあり、それぞれの方向の±1次光を1群のレンズで瞳共役面に結像させた6点のスポットうち対応する2点のスポットの光束は透過させ、残りの4点のスポットは遮光するような、部分遮光膜を配置する。そして、その遮光膜を光軸を回転軸として回転させることにより、一時停止する必要がなく透過領域にあるスポットのみ照明に關与させ、短時間に画像取得することができる。

10

【第5の実施形態】

【0040】

本実施形態の構成は前述の第4の実施形態とほぼ同じで、折返しミラーと回転シャッターの部分異なる。本実施形態の回転シャッター17は第3の実施形態の回転シャッター16と同様の位置に配置し、構造は図6に示すようになっている。すなわち、中空あるいは一様な透過部材であった、窓の一方を3分割し、それぞれ位相差を持たせているのが特徴である。17aに対し17bは1/3波長、さらに17cは1/3波長位相が遅れるようにしている。例えば同じ屈折率のガラスで、厚みを相当分変更し段差を設けることで、実現することができる。あるいはMgF₂等の薄膜を膜厚を制御して蒸着することでも実現可能である。またその際遮光部である17dに吸収膜を施せば、1枚の基板で回転シャッター17を製造することが可能である。さらにこの窓の部分のみまたは回転シャッター全体を透過型の液晶で構成し、図6の対応する領域ごとに透過率、位相の遅れを電氣的に発生させて使用することもできる。それによって、透過する一対の2光束の一方のみを時間的に位相変調することができる。

20

【0041】

そして、本実施形態の折返しミラーは一様な反射ミラーでよい。それは、位相変調手段と干渉縞の方向の選択手段をこの回転シャッター17で行っているからである。したがって、折り返しミラーを配置せず、ファイバー1からレンズ4の光軸をレンズ6の光軸と同じ方向にする配置も可能であり、構成の自由度が広がる。

【0042】

本実施形態の方法によれば、標本面における照明光の周期構造は1次元であるため、画像処理の際に演算する構造が簡単であり、時間的に照明光の周期構造の方向が変わるので、標本の構造の方向を問わず、超解像が可能である。そして可動部は回転シャッター17の回転移動だけであるため、装置がシンプルである。

30

【第6の実施形態】

【0043】

本発明の第6の実施形態について説明する。図8は、本発明の第6の本実施形態の概略図を示す。

本実施形態に係る顕微鏡装置は、上記第1の実施形態における可干渉光源に替えて、干渉長の非常に短い照明光を発する光源として白色光源30を備えており、当該白色光源30からの照明光を光ファイバー1を介さずレンズ2に直接入射させる構成としている。

40

【0044】

また、本実施形態に係る顕微鏡装置は、上記第1の実施形態における回折格子3に替えて濃度型の回折格子31を備えている。この濃度型の回折格子31には、白色光源30からの照明光を上記第1の実施形態における構造化照明光に相当する照明光に変換するための、縞状の濃度パターン(透過率の異なるマスクパターン)が設けられている。この濃度パターンは透過率が正弦波状に変化するパターンにすると、高次の回折光が生じないため好ましい。これにより、濃度型の回折格子31によって回折された光は、レンズ4を介して、瞳共役面上に、回折次数に応じた位置に集光する。すなわち白色光源30からの照明光が濃度型の回折格子31によって光束分割されたことになる。このようにして本実施形態

50

でも、上記第1の実施形態における照明光と同様の光束を折り返しミラー5へ導くことができる。

【0045】

なお、本実施形態において、上述した構成以外の部分については、上記第1の実施形態と同様であるため、その説明を省略する。

以上、本実施形態によれば、可干渉光源を用いることなく上記第1の実施形態と同様の効果を奏する顕微鏡装置を実現することができる。

【図面の簡単な説明】

【0046】

【図1】は、第1実施形態の顕微鏡装置の構成を示す図である。

10

【図2】は、第1実施形態に用いる折り返しミラーの構成を示す図である。

【図3】は、第2実施形態に用いる回折格子の構造およびその回折光の集光の様子を示す図である。

【図4】は、第3実施形態に用いる回折格子の構成を示す図である。

【図5】は、第3実施形態に用いる折返しミラーの構成を示す図である。

【図6】は、第4実施形態に用いる回転シャッターの構成を示す図である。

【図7】は、第5実施形態に用いる回転シャッター兼位相変調手段の構成を示す図である。

【図8】は、第6実施形態の顕微鏡装置の構成を示す図である。

【符号の説明】

20

【0047】

1： 光ファイバ

2： コレクタレンズ

3： 回折格子

4： レンズ

5： 折返しミラー

9： 対物レンズ

10： 標本

12： 撮像手段

13： 画像記憶・演算装置

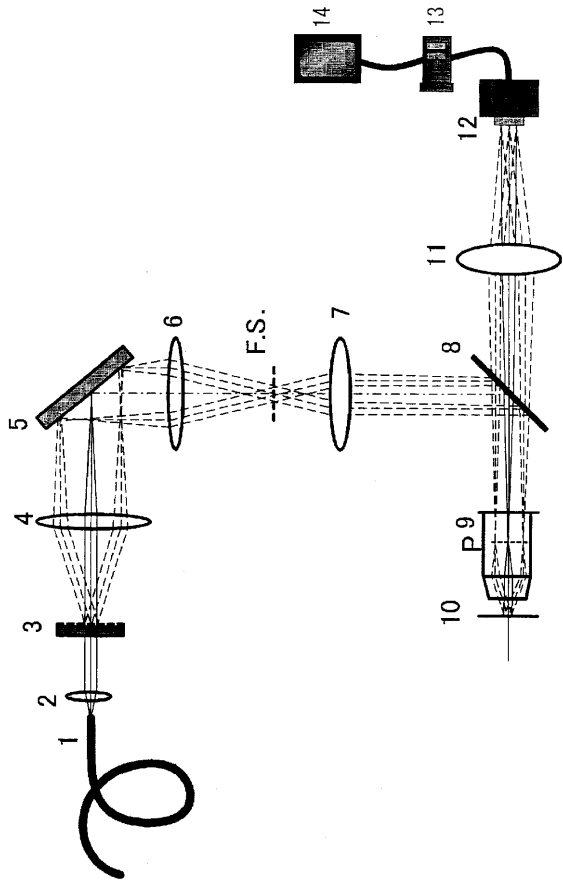
30

14： 画像表示装置

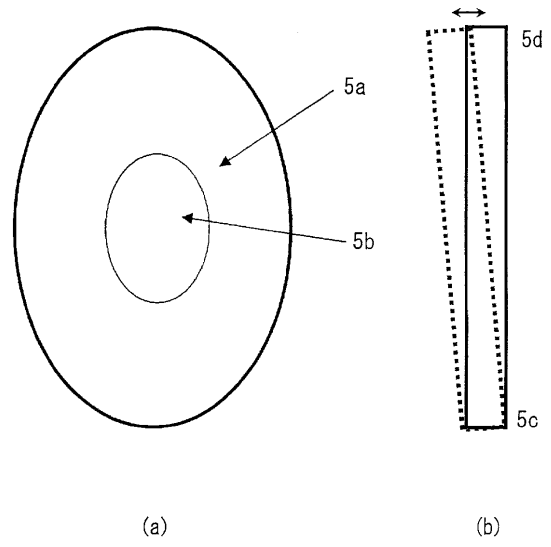
30： 白色光源

31： 濃度型の回折格子

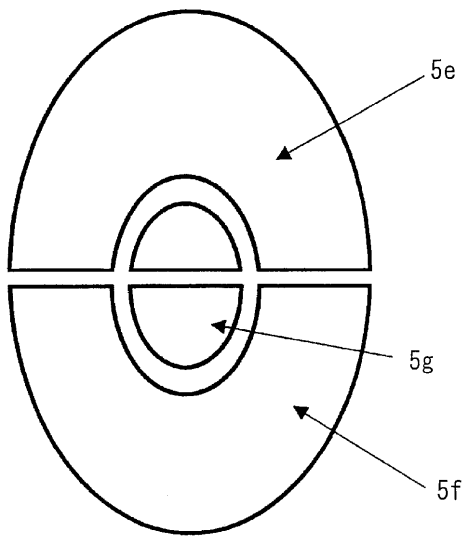
【 図 1 】



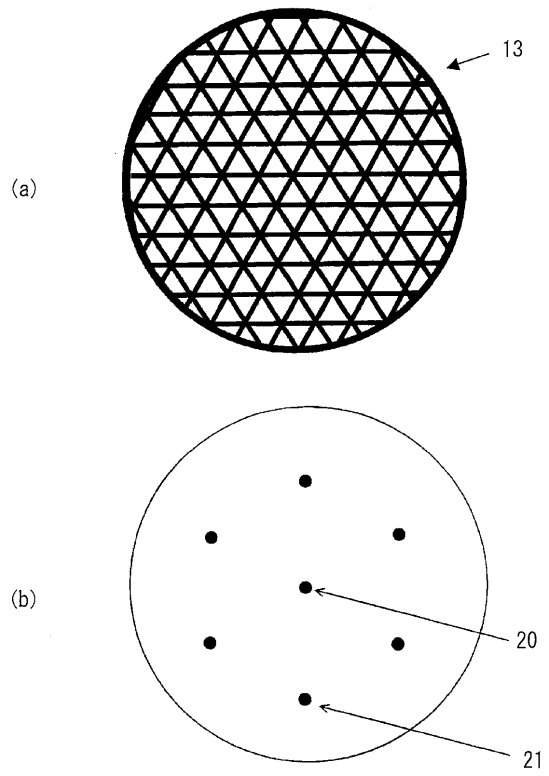
【 図 2 】



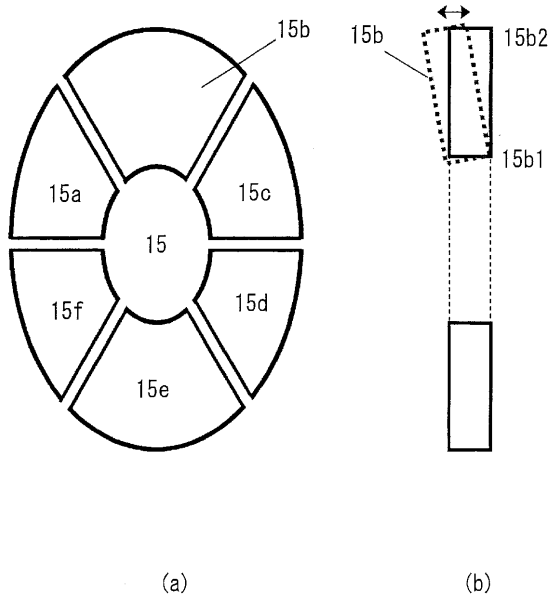
【 図 3 】



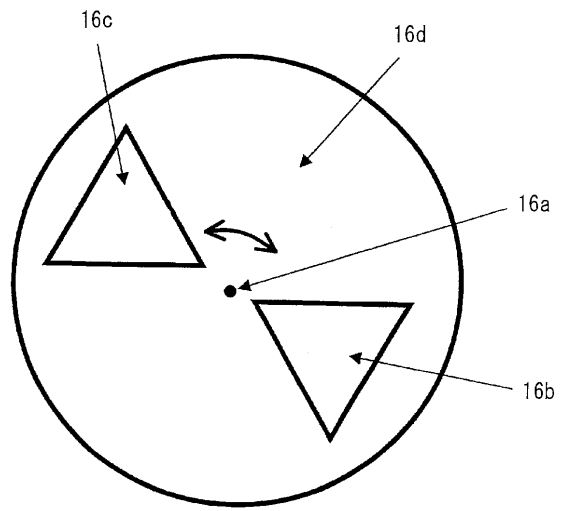
【 図 4 】



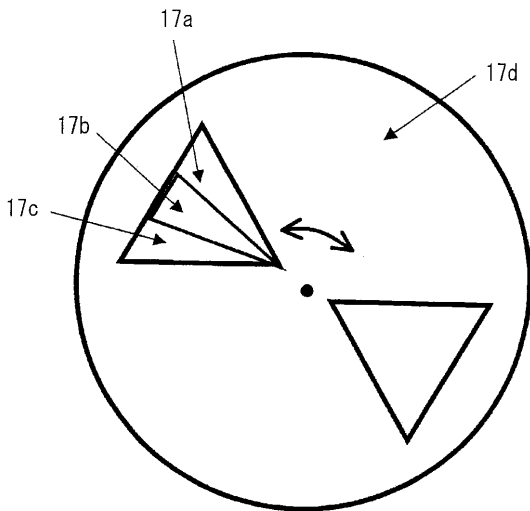
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】

