

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2016年7月28日(28.07.2016)

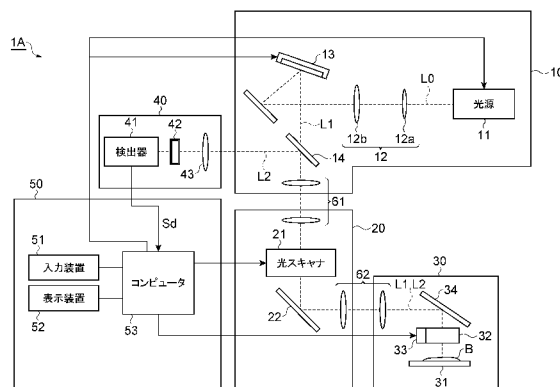


(10) 国際公開番号
WO 2016/117408 A1

- (51) 国際特許分類:
G02B 21/06 (2006.01) G02B 26/10 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01) G02F 1/01 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/050665
- (22) 国際出願日: 2016年1月12日(12.01.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2015-008444 2015年1月20日(20.01.2015) JP
- (71) 出願人: 浜松ホトニクス株式会社(HAMAMATSU PHOTONICS K.K.) [JP/JP]; 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町1-1-2-6番地の1 Shizuoka (JP).
- (72) 発明者: 松本 直也(MATSUMOTO Naoya); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町1-1-2-6番地の1 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP).
渡辺 向陽(WATANABE Koyo); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町1-1-2-6番地の1 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP).
- (74) 代理人: 長谷川 芳樹, 外(HASEGAWA Yoshiki et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内二丁目1番1号丸の内 MY PLAZA (明治安田生命
- ビル) 9階 創英国際特許法律事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: IMAGE ACQUISITION DEVICE AND IMAGE ACQUISITION METHOD

(54) 発明の名称: 画像取得装置および画像取得方法

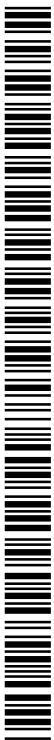


11 Light source
21 Optical scanner
41 Detector
51 Input device
52 Display device
53 Computer

(57) Abstract: An image acquisition device comprising: a spatial light modulator that modulates illumination light; a control unit that controls a modulation pattern such that first and second light-condensing points are formed on an observation target object; a condensing-light optical system that condenses the illumination light; a scanning unit that scans the positions of the first and second light-condensing points in a scanning direction that intersects the optical axis of the condensing-light optical system; and a light detector that detects a first observation light generated from the first light-condensing point and a second observation light generated from the second light-condensing point. The light detector has a first detection area for detecting the first observation light and a second detection area for detecting the second observation light. The positions of the first and second light-condensing points mutually differ in the optical axis direction.

(57) 要約:

[続葉有]



WO 2016/117408 A1

照射光を変調する空間光変調器と、観察対象物に第1の集光点および第2の集光点が形成されるように変調パターンを制御する制御部と、前記照射光を集光する集光光学系と、前記集光光学系の光軸と交差する走査方向に前記第1及び第2の集光点の位置を走査する走査部と、前記第1の集光点から生じた第1の観察光、及び前記第2の集光点から生じた第2の観察光を検出する光検出器と、を備え、前記光検出器は、前記第1の観察光を検出するための第1の検出領域と、前記第2の観察光を検出するための第2の検出領域と、を有し、前記光軸の方向における前記第1及び第2の集光点の位置が互いに異なる、画像取得装置。

明 細 書

発明の名称：画像取得装置および画像取得方法

技術分野

[0001] 本発明の一側面は、画像取得装置および画像取得方法に関する。

背景技術

[0002] 非特許文献1は、空間光変調器 (Spatial Light Modulator ; S L M) を用いた多光子吸収顕微鏡を開示する。この顕微鏡は、S L Mを用いて、複数の励起光スポットを形成して走査することにより、観察対象物内の蛍光画像を高速に且つ鮮明に取得することを企図している。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開2012-226268号公報

非特許文献

[0004] 非特許文献1：Wan Qin, Yonghong Shao, Honghai Liu, Xiang Peng, Hanben Niu, and Bruce Gao, “Addressable discrete-line-scanning multiphoton microscopy based on a spatial light modulator”, OPTICS LETTERS, Vol. 37, No. 5, pp.827-829, March 1, 2012

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 近年、観察対象物に照射される励起光や照明光といった光を、S L Mを用いて変調する技術が研究されている。このような技術によれば、観察対象物に対して様々な照射光、例えば平坦な強度分布を有する光や複数の位置（スポット）に同時に照射される光などを実現することができる。

[0006] このような技術において複数の位置に同時に光を照射する場合、照射光の光軸方向に対して垂直な面内において集光位置が異なる複数のスポット光を照射するものは存在するが（例えば非特許文献1を参照）、光軸方向と平行な方向、すなわち観察対象物の深さ方向において集光位置が異なる複数のス

ポット光を同時に照射する技術はこれまで何ら開示されていない。集光位置を深さ方向に異ならせることができれば、深さが異なる複数の箇所を同時に観察することが可能となるので、観察対象物が厚い場合などにおいて観察時間を短縮でき、また深さが異なる複数の箇所の同時刻における状況を取得できる等の顕著な利点がある。

[0007] 本発明の一側面は、観察対象物の深さ方向において集光位置が互いに異なる複数の光を同時に照射することができる画像取得装置および画像取得方法を提供することを目的とする。

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画像取得装置は、観察対象物の画像を取得する装置であって、光源から出力された照射光を変調する空間光変調器と、観察対象物において第1の集光点および第2の集光点が形成されるように、空間光変調器に呈示される変調パターンを制御する制御部と、観察対象物中に第1の集光点および第2の集光点を形成するために、変調された照射光を集光する集光光学系と、集光光学系の光軸と交差する走査方向に、観察対象物中の第1の集光点および第2の集光点の位置を走査する走査部と、第1の集光点から生じた第1の観察光、及び第2の集光点から生じた第2の観察光を検出する光検出器と、光検出器からの検出信号を用いて観察対象物の画像を作成する画像作成部とを備える。光検出器は、第1の観察光を検出するための第1の検出領域と、第2の観察光を検出するための第2の検出領域とを有する。集光光学系の光軸の方向における第1の集光点および第2の集光点の位置は互いに異なる。

[0009] また、本発明の別の実施形態による画像取得装置は、観察対象物の画像を取得する装置であって、光源から出力された照射光を変調する空間光変調器と、観察対象物において第1の集光点および第2の集光点が形成されるように、空間光変調器に呈示される変調パターンを制御する制御部と、観察対象物中に第1の集光点および第2の集光点を形成するために、変調された照射光を集光する集光光学系と、第1の集光点から生じた第1の観察光、及び第

2の集光点から生じた第2の観察光を検出する光検出器と、光検出器からの検出信号を用いて観察対象物の画像を作成する画像作成部とを備える。変調パターンは、集光光学系の光軸と交差する走査方向に第1の集光点および第2の集光点を走査するためのパターンを含む。光検出器は、第1の観察光を検出するための第1の検出領域と、第2の観察光を検出するための第2の検出領域とを有する。集光光学系の光軸の方向における第1の集光点および第2の集光点の位置は互いに異なる。

[0010] また、本発明の一実施形態による画像取得方法は、観察対象物の画像を取得する方法であって、観察対象物において第1の集光点および第2の集光点を形成するための変調パターンを空間光変調器に呈示するステップと、観察対象物中に第1の集光点および第2の集光点を形成するために、光源から出力された照射光を空間光変調器において変調し、変調された照射光を集光光学系により集光するステップと、集光光学系の光軸と交差する走査方向に、観察対象物中の第1の集光点および第2の集光点の位置を走査しつつ、第1の集光点から生じた第1の観察光、及び第2の集光点から生じた第2の観察光を検出するステップと、光検出ステップにより得られた検出信号を用いて観察対象物の画像を作成するステップとを含む。光検出ステップでは、第1の観察光を検出するための第1の検出領域と、第2の観察光を検出するための第2の検出領域とを有する光検出器を用いる。集光光学系の光軸の方向における第1の集光点および第2の集光点の位置は互いに異なる。

[0011] これらの画像取得装置および画像取得方法では、変調パターンが空間光変調器に呈示されることにより、光軸の方向（すなわち観察対象物の深さ方向）における集光位置が互いに異なる第1の集光点および第2の集光点を同時に且つ容易に形成することができる。そして、第1の集光点および第2の集光点が走査（スキャン）されるとともに、各集光点において生じた第1の観察光および第2の観察光が光検出器によって検出される。光検出器は、第1の観察光を検出するための第1の検出領域と、第2の観察光を検出するための第2の検出領域とを有するので、発光位置が互いに異なる第1の観察光お

よび第2の観察光を同時に検出することができる。このように、上記の各画像取得装置および画像取得方法によれば、観察対象物の深さ方向において集光位置が互いに異なる複数の光を同時に照射することができ、更に、深さ方向において発光位置が互いに異なる複数の観察光を同時に検出することができる。従って、観察対象物が厚い場合などにおいて観察時間を短縮でき、また深さが異なる複数の箇所の同時刻における状況を容易に取得できる。

[0012] 上記の画像取得装置および画像取得方法において、光軸の方向から見て第1の集光点および第2の集光点は走査方向に並んでいてもよい。これにより、例えば、走査方向前側に位置する集光点により該集光点とは異なる深さにて生じる影響を、走査方向後側に位置する集光点から生じる観察光を検出することによって同時に知ることができる。

[0013] 或いは、上記の画像取得装置および画像取得方法において、光軸の方向から見て第1の集光点および第2の集光点は走査方向と交差する第1の方向に並んでいてもよい。この場合、第1の方向は、走査方向と直交してもよく、或いは走査方向に対して傾斜してもよい。これにより、例えば、光軸方向に直交する面内の異なる位置の異なる深さによって生じる現象を同時に観察することができる。

[0014] 上記の画像取得装置において、走査部は、変調された照射光を受ける光スキャナを含んでもよく、或いは、観察対象物を保持しつつ走査方向に観察対象物を移動させるステージを含んでもよい。同様に、上記の画像取得方法の光検出ステップでは、変調された照射光を受ける光スキャナを用いて第1の集光点および第2の集光点の走査を行ってもよく、観察対象物を保持しつつ走査方向に観察対象物を移動させるステージを用いて第1の集光点および第2の集光点の走査を行ってもよく、或いは、第1の集光点および第2の集光点を走査するためのパターンを変調パターンに重畳させてもよい。これらの何れかによって、第1の集光点および第2の集光点の位置を走査することができる。

[0015] 上記の画像取得装置および画像取得方法において、光検出器は、複数のア

ノードを有するマルチアノード光電子増倍管を含んでもよく、或いは、複数の画素を有するエリアイメージセンサを含んでもよい。これらの何れかによって、第1および第2の観察光を精度良く検出することができる。

発明の効果

[0016] 本発明の一側面による画像取得装置および画像取得方法によれば、観察対象物の深さ方向において集光位置が互いに異なる複数の光を同時に照射することができる。

図面の簡単な説明

[0017] [図1]図1は、本発明の一実施形態に係る画像取得装置の構成を示す図である。

[図2]図2は、観察対象物及びその近傍における照射光の様子を概念的に示す図である。

[図3]図3は、対物レンズの光軸方向から見た集光点の並び方向の一例を概略的に示す図である。

[図4]図4は、対物レンズの光軸方向から見た集光点の並び方向の別の例を概略的に示す図である。

[図5]図5は、光検出器の光検出面を示す正面図である。

[図6]図6は、画像取得装置の動作を示すフローチャートである。

[図7]図7は、基準高さを設定する様子を概念的に示す図である。

[図8]図8は、第1変形例を示す図であって、観察対象物及びその近傍における照射光の様子を概念的に示している。

[図9]図9は、第4変形例による集光点の様子を示す図である。

[図10]図10は、第4変形例における光検出器の光検出面を示す正面図である。

[図11]図11は、照射光の光軸方向から見た集光点の走査の様子を概念的に示す図である。

[図12]図12は、照射光の光軸方向から見た集光点の走査の様子を概念的に示す図である。

[図13]図13は、集光点の各走査領域のうち共通の領域のみを切り抜いた画像を示す。

[図14]図14は、集光点の各走査領域のうち共通の領域のみを切り抜いた画像を示す。

発明を実施するための形態

[0018] 以下、添付図面を参照しながら本発明の一側面による画像取得装置および画像取得方法の実施の形態を詳細に説明する。なお、図面の説明において同一の要素には同一の符号を付し、重複する説明を省略する。

[0019] 図1は、本発明の一実施形態に係る画像取得装置1Aの構成を示す図である。画像取得装置1Aは、観察対象物Bに照射光L1を照射し、これにより観察対象物Bにおいて生じる観察光（被検出光）L2を観察するための装置である。画像取得装置1Aは、例えば顕微鏡装置である。顕微鏡装置としては、例えば、正立型顕微鏡あるいは倒立型顕微鏡が挙げられる。観察光L2は、例えば蛍光、りん光、高周波発生光（SHG）、反射光、透過光、散乱光などである。図1に示されるように、画像取得装置1Aは、照射光生成ユニット10、走査ユニット20、照射光学ユニット30、観察ユニット40、及び制御ユニット50を備えている。

[0020] 照射光生成ユニット10は、観察対象物Bに照射される照射光L1を生成する。本実施形態の照射光生成ユニット10は、光源11、ビームエキスパンダ12、及び空間光変調器（Spatial Light Modulator：SLM）13を有する。

[0021] 光源11は、照射光L0を出力する。照射光L0は、例えば観察対象物Bに照射すべき波長の光を含む。光源11は、例えばパルス光発振や連続波発振のレーザ光源、SLD光源、或いはLED光源等を含んで構成される。ビームエキスパンダ12は、例えば照射光L0の光軸上に並んで配置された複数のレンズ12a、12bを含んで構成され、照射光L0の光軸に対して垂直な断面の大きさを調整する。なお、レンズ12a、12bは、凸レンズでも凹レンズでもよく、それらを組わせてもよい。

[0022] 空間光変調器 13 は、光源 11 と光学的に結合されており、光源 11 からの照射光 L0 を変調することにより、観察対象物 B へ照射される照射光 L1 を生成する。空間光変調器 13 は、二次元に配列された複数の画素を有し、光源 11 から出力された照射光 L0 の強度或いは位相を複数の画素列毎に変調する。空間光変調器 13 に呈示される変調パターン（ホログラム）は、後述する制御ユニット 50 によって制御される。空間光変調器 13 は、位相変調型でも良いし、振幅（強度）変調型でも良い。また、空間光変調器 13 は、反射型及び透過型の何れであってもよい。また、空間光変調器 13 は複数枚設けられてもよく、その場合、照射光 L0 は複数回にわたって変調される。

[0023] 走査ユニット 20 は、本実施形態における走査部の例である。走査ユニット 20 は、走査光学系としての光スキャナ 21 を有する。光スキャナ 21 は、空間光変調器 13 と光学的に結合されており、空間光変調器 13 によって変調された照射光 L1 を受ける。また、光スキャナ 21 は、観察対象物 B における照射光 L1 の照射位置を走査する。さらに、光スキャナ 21 は、観察対象物 B の集光点において発生する観察光 L2 を受ける。これにより、観察光 L2 はデスクャンされる。光スキャナ 21 は、後述する制御ユニット 50 によって制御される。光スキャナ 21 は、例えばガルバノミラー、共振ミラー、MEMS ミラー、2次元音響光学素子（AOM）若しくはポリゴンミラー等によって構成される。なお、光スキャナ 21 が二軸スキャナである場合、光スキャナ 21 はテレセントリック光学系などの像転送光学系を含むことができる。

[0024] なお、走査ユニット 20 は、光スキャナ 21 に加えて、ミラー 22 を更に有してもよい。ミラー 22 は、光スキャナ 21 と照射光学ユニット 30 とを光学的に結合させるために、照射光 L1 の光軸を屈曲させる。

[0025] 照射光学ユニット 30 は、走査ユニット 20 から提供される照射光 L1 を観察対象物 B に照射するとともに、観察対象物 B からの観察光 L2 を観察ユニット 40 へ出力する。照射光学ユニット 30 は、ステージ 31、対物レン

ズ 3 2、対物レンズ移動機構 3 3、及び反射ミラー 3 4 を有する。なお、反射ミラー 3 4 としてダイクロイックミラーを用いてもよい。

[0026] ステージ 3 1 は、観察対象物 B（若しくは観察対象物 B を収容するスライドガラスやシャーレ、マイクロプレート、ガラスボトムディッシュなどの容器）を支持するための部材である。ステージ 3 1 は、例えばガラスからなる。図 1 に示された例では照射光 L 1 はステージ 3 1 の表面側から照射されるが、照射光 L 1 はステージ 3 1 の裏面側からステージ 3 1 を透過して観察対象物 B に照射されてもよい。ステージ 3 1 は、後述する対物レンズ 3 2 の光軸に対して交差（たとえば直交）する面方向に移動可能である。また、対物レンズ 3 2 の光軸方向に移動可能であってもよい。

[0027] 対物レンズ 3 2 は、観察対象物 B と対向して配置され、観察対象物 B の内部に照射光 L 1 の集光点を形成する集光光学系である。また、対物レンズ 3 2 は、観察対象物 B の該集光点において発生した観察光 L 2 を受け、観察光 L 2 を平行化する。照射光 L 1 のための対物レンズと観察光 L 2 のための対物レンズとは別個に設けられてもよい。例えば、照射光 L 1 のために開口数（NA）が高い対物レンズを用い、空間光変調器 1 3 による収差補正により局所的に集光させてもよい。この場合、観察対象物 B の表面及び／又は内部の収差量は、実際に測定しても求められてもよいし、シミュレーション等により推定して求められてもよい。また、観察光 L 2 のために瞳の大きな対物レンズを用い、より多くの光を取り出せるようにしてもよい。照射光 L 1 のための対物レンズと観察光 L 2 のための対物レンズとを観察対象物 B を挟むように配置して、照射光 L 1 の観察対象物 B における透過光を観察光 L 2 として取得してもよい。

[0028] 対物レンズ移動機構 3 3 は、対物レンズ 3 2 を照射光 L 1 の光軸方向に移動させるための機構である。対物レンズ移動機構 3 3 は、例えばステッピングモータ若しくはピエゾアクチュエータ等によって構成される。

[0029] 反射ミラー 3 4 は、照射光生成ユニット 1 0 から照射光学ユニット 3 0 に到達した照射光 L 1 を、対物レンズ 3 2 へ向けて反射する。また、反射ミラ

ー34は、観察対象物Bからの観察光L2を走査ユニット20に向けて反射する。

[0030] 対物レンズ32と空間光変調器13との距離が長い場合には、照射光L1及び観察光L2の光軸上に少なくとも一つのテレセントリック光学系が設けられてもよい。一例として、図1には2つのテレセントリック光学系61及び62が示されている。テレセントリック光学系61及び62は、空間光変調器13において生成された照射光L1の波面を対物レンズ32の後側焦点へ転送する役割を有する。テレセントリック光学系61及び62は、両側テレセントリック光学系であってもよい。この場合、空間光変調器13と光スキャナ21との間に配置されるテレセントリック光学系61は、空間光変調器13の変調面と光スキャナ21の走査面とに結像するように調整される。また、光スキャナ21と対物レンズ32との間に配置されるテレセントリック光学系62は、光スキャナ21の走査面と対物レンズ32の瞳面とに結像するように調整される。なお、テレセントリック光学系61、62は、空間光変調器13にて生成された照射光L1の波面を対物レンズ32の後側焦点へ転送可能であれば、像側テレセントリック光学系や物体側テレセントリック光学系であってもよい。また、対物レンズ32と空間光変調器13との距離が極めて近い場合には、テレセントリック光学系を省くことも可能である。

[0031] 観察ユニット40は、光検出器41、フィルタ42、及び集光レンズ43を有する。光検出器41は、対物レンズ32及び光スキャナ21に光学的に結合されており、観察光L2を受けて、観察光L2の光強度を検出する。光検出器41は、照射光生成ユニット10に設けられたダイクロイックミラー14を介して光スキャナ21と光学的に結合される。ダイクロイックミラー14は、空間光変調器13によって変調された照射光L1及び光スキャナ21によってデスキャンされた観察光L2を受けける位置に配置され、照射光L1の少なくとも一部を透過し、観察光L2の少なくとも一部を反射する。光検出器41は、観察光L2の光強度を検出し、検出信号Sdを出力する。光

検出器 4 1 は、複数のアノードを有するマルチアノード型の光電子増倍管 (Photomultiplier Tube ; PMT) によって構成されてもよく、または、複数のフォトダイオードがアレイ状に並んで構成されるフォトダイオードアレイ、若しくは、複数のアバランシェフォトダイオードがアレイ状に並んで構成されるアバランシェフォトダイオードアレイによって構成されてもよい。或いは、光検出器 4 1 は、CCD イメージセンサ、EM-CCD イメージセンサ、若しくは CMOS イメージセンサといった、複数の画素を有するエリアイメージセンサであってもよく、また、ラインセンサであってもよい。特に、マルチアノード型の PMT は、増倍率が高く且つ受光面が他よりも大きい。

[0032] フィルタ 4 2 は、ダイクロイックミラー 1 4 と光検出器 4 1 との間の光軸上に配置される。フィルタ 4 2 は、光検出器 4 1 に入射する光から、照射光 L 1 の波長、及び観察に不要な蛍光等の波長をカットする。集光レンズ 4 3 は、光検出器 4 1 との直前に配置され、観察光 L 2 を光検出器 4 1 に向けて集光する。なお、フィルタ 4 2 は、集光レンズ 4 3 の前段、後段のどちらに配置されてもよい。また、フィルタ 4 2 が不要な場合は設けなくてもよい。

[0033] 制御ユニット 5 0 は、照射光生成ユニット 1 0、走査ユニット 2 0、及び照射光学ユニット 3 0 を制御する。例えば、制御ユニット 5 0 は、光源 1 1、空間光変調器 1 3、及び光スキャナ 2 1 を制御する。また、例えば、制御ユニット 5 0 は、対物レンズ移動機構 3 3 を用いて対物レンズ 3 2 の光軸方向の位置 (高さ) を制御する。また、例えば、制御ユニット 5 0 は、観察対象物 B を支持するステージ 3 1 を光軸方向と交差する方向に移動させる。制御ユニット 5 0 は、マウスやキーボードといった入力装置 5 1、ディスプレイといった表示装置 5 2、及びコンピュータ 5 3 を含んで構成される。

[0034] また、コンピュータ 5 3 は、本実施形態における画像作成部の例である。コンピュータ 5 3 は、パーソナルコンピュータ或いはスマートデバイスなどであり、画像処理回路 (画像処理プロセッサ) 及び制御回路 (制御プロセッサ)、内部メモリを有する。コンピュータ 5 3 は、光検出器 4 1 からの検出信号 S d、及び光スキャナ 2 1 における光照射位置情報を用いて、観察対象

物Bの画像を作成する。作成された画像は、表示装置52に表示される。また、コンピュータ53は、本実施形態における制御部（コントローラ）の例である。コンピュータ53は、観察対象物Bにおいて所望の集光点が形成されるように、空間光変調器13に呈示される変調パターン（ホログラム）を制御する。コンピュータ53は、空間光変調器13に呈示される変調パターンを制御することにより、空間光変調器13の複数の画素毎による強度或いは位相の変調量を制御する。作成された画像は、コンピュータ53のメモリや外部記憶装置に記憶されてもよい。

[0035] ここで、観察対象物Bにおける集光点の態様について詳細に説明する。図2は、観察対象物B及びその近傍における照射光L1の様子を概念的に示す図である。図2に示されるように、本実施形態では、対物レンズ32によって、照射光L1が、複数の集光点すなわち第1の集光点P1及び第2の集光点P2に集光される。なお、図中の仮想線A1は、対物レンズ32の基準高さを表す基準線である。

[0036] 集光点P1, P2は、次のような位置関係を有する。すなわち、対物レンズ32の光軸方向（言い換えれば、観察対象物Bの深さ方向）における集光点P1, P2の位置は、互いに異なる。これは、対物レンズ32の光軸と観察対象物Bの表面とが交わる位置からの第1の集光点P1の深さd1と、第2の集光点P2の深さd2とが互いに異なることを意味する。

[0037] また、対物レンズ32の光軸方向と垂直な或る方向における集光点P1, P2の位置もまた、互いに異なる。言い換えれば、対物レンズ32の光軸方向から見て、集光点P1, P2は互いに重なっておらず、所定の間隔Wを有する。

[0038] 図3は、対物レンズ32の光軸方向から見た集光点P1, P2の並び方向の一例を概略的に示す図である。図3(a)は、集光点P1, P2の走査方向A2を示し、図3(b)は、照射光L1の光軸方向から見た集光点P1, P2の、光スキャナ21による走査の様子を示す。図3(a)に示されるように、この例では、照射光L1の光軸方向から見て集光点P1, P2が走査

方向A2に沿って並んでいる。また、図3(b)に示されるように、光スキャナ21による走査には高速軸と低速軸とが存在し、集光点P1、P2は、高速軸に沿って移動したのち、低速軸の方向にシフトされて再び高速軸に沿って移動するという動作を繰り返す。この例では、照射光L1の光軸方向から見た集光点P1、P2の並び方向は、高速軸（すなわち走査方向）に沿っている。なお、光スキャナ21は、集光点P1、P2が高速軸に沿って移動しながら、低速軸方向にも移動するように、集光点P1、P2を走査してもよい。また、ラインスキャンに限らず、タイリングスキャンでもよい。

[0039] また、図4は、対物レンズ32の光軸方向から見た集光点P1、P2の並び方向の別の例を概略的に示す図である。図4(a)は、集光点P1、P2の走査方向A3を示し、図4(b)は、照射光L1の光軸方向から見た集光点P1、P2の、光スキャナ21による走査の様子を示す。図4(a)に示されるように、この例では、照射光L1の光軸方向から見て集光点P1、P2が走査方向A3と交差する方向A4（第1の方向）に沿って並んでいる。また、図4(b)に示されるように、この例では、照射光L1の光軸方向から見た集光点P1、P2の並び方向A4は、低速軸（すなわち走査方向と交差する軸）に沿っている。方向A4は、例えば走査方向A3と直交しており、或いは、走査方向A3に対して傾斜している。

[0040] 上記のような位置関係でもって形成される集光点P1、P2は、空間光変調器13に呈示される変調パターンを制御するコンピュータ53と、対物レンズ32とによって実現される。コンピュータ53は、観察対象物Bにおいて集光点P1、P2が形成されるように変調パターンを制御する。そして、変調後の照射光L1を受けた対物レンズ32によって、集光点P1、P2が形成される。

[0041] 図5は、本実施形態の光検出器41の光検出面44を示す正面図である。図5に示されるように、光検出面44には、集光点P1から発生した観察光（第1の観察光）の点像P3と、集光点P2から発生した観察光（第2の観察光）の点像P4とが形成される。光検出器41は、点像P3、P4それぞれ

れの光強度を検出することにより、第1及び第2の観察光を検出する。なお、観察対象物Bにおける集光点の深さが深いほど、集光点と対物レンズ32との距離が長くなるので、光検出器41に達する観察光の光径が大きくなる。本実施形態では集光点P1が集光点P2よりも深い位置に形成されるので、図5では、集光点P1からの観察光の点像P3が、集光点P2からの観察光の点像P4よりも大きく図示されている。

[0042] また、光検出器41は、複数の光検出部44aを含む。例えば光検出器41がマルチアノードPMTである場合、光検出部44aは、マルチアノードPMTの各アノードに相当する。また、例えば光検出器41がエリアイメージセンサである場合、光検出部44aは、一つの画素もしくは画素群に相当する。また、例えば光検出器41がフォトダイオードアレイ（ラインセンサ）である場合、光検出部44aは、各フォトダイオードに相当する。

[0043] また、光検出器41は、点像P3を検出するための第1の検出領域45aと、点像P4を検出するための第2の検出領域45bとを有する。検出領域45a及び45bは、互いに独立した領域であって、それぞれ一又は複数の光検出部44aを含んで構成される。本実施形態では集光点P1、P2の深さが互いに異なることから、平面である光検出面44に形成される点像P3、P4の大きさも互いに異なる。すなわち、集光点P1、P2の深さd1、d2が深いほど点像P3、P4が大きくなる。また、対物レンズ32の焦点位置の像が光検出面44に結像されるように構成される場合、対物レンズ32の光軸方向における対物レンズ32の焦点位置と集光点P1、P2との距離が互いに異なることから、平面である光検出面44に形成される点像P3、P4の大きさも互いに異なる。すなわち、対物レンズ32の光軸方向における対物レンズ32の焦点位置と集光点P1、P2の距離が大きいほど点像P3、P4が大きくなる。点像P3、P4の大きさが光検出部44aよりも大きい場合には、複数の光検出部44aを検出領域として設定するとよい。

[0044] 図6は、上述した画像取得装置1Aの動作を示すフローチャートである。図6を参照しながら、本実施形態による画像取得方法について説明する。

[0045] まず、ステージ31上に観察対象物Bを載置したのち、対物レンズ32の基準高さを設定する（ステップS1）。このステップS1では、対物レンズ移動機構33またはステージ31によって対物レンズ32と観察対象物Bとの距離を調整し、基準高さを設定する。図7は、基準高さZ0を設定する様子を概念的に示す図である。例えば、対物レンズ32の焦点位置が観察対象物Bの表面に合うように対物レンズ32の高さを調整し、その高さを基準高さZ0としてもよい。また、ステージ31を対物レンズ32の光軸方向に移動させることにより、対物レンズ32の焦点位置が観察対象物Bの表面に合うようにしてもよい。コンピュータ53は、この基準高さZ0を記憶する。

[0046] 次に、図2に示された集光点P1、P2の深さd1、d2（すなわち画像を取得する観察対象物B内部の深さ）を設定する（ステップS2）。このステップS2では、観察者が入力装置51を介して、画像化したい観察対象物B内部の深さ（図2の深さd1、d2）を設定する。観察対象物B内部の深さは、実距離であってもよいし、光学距離であってもよい。なお、対物レンズ32と観察対象物Bとの間の媒体（例えば空気、水、オイル、グルセリン、シリコンなど）の屈折率及び／又は観察対象物Bの屈折率を考慮して、深さd1、d2を算出してもよい。例えば、コンピュータ53は、ステージ31及び／又は対物レンズ32の光軸方向における移動量（実距離）をdとし、対物レンズ32と観察対象物Bとの間の媒体の屈折率を n_a 、観察対象物Bの屈折率を n_b とすると、実際の光学距離が $n_b \cdot d / n_a$ となることを考慮して、深さd1、d2を算出する。また、光学距離をdとして、ステージ31及び／又は対物レンズ32の光軸方向における移動量が $n_a \cdot d / n_b$ となることを考慮してもよい。

[0047] 続いて、図2に示された集光点P1、P2の間隔Wを設定する（ステップS3）。前述したように本実施形態では、空間光変調器13により変調された照射光L1を対物レンズ32により集光することによって、観察対象物B内部に複数の集光点P1、P2を形成する。複数の集光点P1、P2の間隔Wが狭いと、光検出器41において点像P3、P4が重なりクロストークを

生じてしまうので、点像P 3, P 4が重ならない程度の適切な間隔Wを設定することが望ましい。特に、図5に示されたように、集光点P 1, P 2の深さd 1, d 2が深いほど点像P 3, P 4が大きくなるので、クロストークを防ぐために、集光点の深さが深いほど間隔Wを大きくするとよい。また、例えば、対物レンズ3 2の開口数(NA)、対物レンズ3 2と観察対象物Bとの間の媒体の屈折率、観察対象物Bの屈折率、照射光L 1の波長といったパラメータを基に、間隔Wを設定してもよい。

[0048] 続いて、変調パターン(ホログラム)を作成する(ステップS 4)。このステップS 4では、上記ステップS 2, S 3において設定された集光点P 1, P 2の間隔W及び深さd 1, d 2に基づいて、空間光変調器1 3に呈示される計算機ホログラム(CG H)を作成する。なお、このステップS 4は、例えばコンピュータ5 3によって行われる。また、深さd 1, d 2及び間隔Wに対応するCG Hを予め計算し、コンピュータ5 3内部の記憶手段にテーブルとして保存しておき、その中から適切なCG Hを選択してもよい。

[0049] 続いて、ステップS 4において作成されたCG H、すなわち観察対象物Bにおいて集光点P 1, P 2が形成されるような変調パターンを、空間光変調器1 3に呈示する(パターン呈示ステップS 5)。そして、光源1 1から出力された照射光L 0を空間光変調器1 3において変調し、変調後の照射光L 1を対物レンズ3 2により集光することによって、観察対象物Bの深さd 1, d 2に集光点P 1, P 2を形成する(集光点形成ステップS 6)。このステップS 5及びS 6では、観察対象物B内部の深さd 1, d 2に集光点P 1, P 2が形成されるように、対物レンズ3 2と観察対象物Bとの距離を調整する。この状態で、CG Hが空間光変調器1 3に呈示されることによって、光源1 1から出力された照射光L 0が変調され、対物レンズ3 2により変調後の照射光L 1が集光され、観察対象物B内部の深さd 1の位置に第1の集光点P 1が、深さd 2の位置に第2の集光点P 2が間隔Wでもって形成される。なお、対物レンズ3 2と観察対象物Bとの距離を調整した後に、CG Hを空間光変調器1 3に呈示し、対物レンズ3 2により変調後の照射光L 1を

集光してもよい。

[0050] 続いて、集光点 P 1, P 2 の走査及び光検出を行う（光検出ステップ S 7）。この光検出ステップ S 7 では、照射光 L 1 の光軸と交差する走査方向に、観察対象物 B 内部の集光点 P 1, P 2 の位置を走査しつつ、集光点 P 1, P 2 から生じた観察光 L 2 を検出する。このとき、観察光 L 2 は光スキャナ 2 1 によってデスキャンされるので、集光点 P 1, P 2 を移動させながらも、光検出器 4 1 における観察光 L 2 の点像 P 3, P 4 の位置を固定して検出することができる。光検出器 4 1 からは、それぞれの点像 P 3, P 4 に対応した検出信号 S d がコンピュータ 5 3 に出力される。

[0051] 続いて、観察対象物 B の画像を作成する（画像作成ステップ S 8）。この画像作成ステップ S 8 では、光検出ステップ S 7 により得られた検出信号 S d（光強度情報）と、光スキャナ 2 1 による光走査位置情報（集光点 P 1, P 2 の平面位置情報）とを用いて、コンピュータ 5 3 にて観察対象物 B の画像を作成する。なお、この画像作成ステップ S 8 は、上記の光検出ステップ S 7 と並行して行われてもよい。

[0052] なお、画像作成ステップ S 8 では、走査方向に対する集光点 P 1, P 2 の並び方向に応じて、取得される画像の特徴が異なる。まず、集光点 P 1, P 2 の並び方向が走査方向に沿っている場合（図 3 を参照）には、集光点 P 2 が移動した跡の下部領域に時間差をもって集光点 P 1 が到達する。この場合、集光点 P 2 により観察される領域の下部領域を集光点 P 1 により観察することになるので、集光点 P 2 による周囲の影響を、集光点 P 1 の画像から知ることができる。また、集光点 P 1 によって得られた画像と集光点 P 2 によって得られた画像とを結合して、3次元の合成画像を作成してもよい。

[0053] また、集光点 P 1, P 2 の並び方向が走査方向と交差している場合（図 4 を参照）には、対物レンズ 3 2 の移動を行わなくても、集光点 P 1 を走査することによって深さ d 1 の画像を取得することができ、集光点 P 2 を走査することによって深さ d 2 の画像を取得することができる。

[0054] 以上に説明した本実施形態の画像取得装置 1 A 及び画像取得方法による効

果について説明する。本実施形態の画像取得装置 1 A および画像取得方法では、変調パターンが空間光変調器 1 3 に呈示されることにより、照射光 L 1 の光軸方向（すなわち観察対象物 B の深さ方向）における集光位置が互いに異なる集光点 P 1, P 2 を同時に且つ容易に形成することができる。そして、集光点 P 1, P 2 が走査（スキャン）されるとともに、各集光点 P 1, P 2 において生じた観察光 L 2 が光検出器 4 1 おいて点像 P 3, P 4 を形成し、各点像 P 3, P 4 の光強度が光検出器 4 1 によって検出される。光検出器 4 1 は、点像 P 3 での観察光 L 2 の光強度を検出するための検出領域 4 5 a と、点像 P 4 での観察光 L 2 の光強度を検出するための検出領域 4 5 b とを有するので、発光位置が互いに異なる 2 つの観察光 L 2 を同時に検出することができる。このように、本実施形態の画像取得装置 1 A および画像取得方法によれば、観察対象物 B の深さ方向において集光位置が互いに異なる複数の照射光 L 1 を同時に照射することができ、更に、深さ方向において発光位置が互いに異なる複数の観察光 L 2 を同時に検出することができる。従って、観察対象物 B が厚い場合などにおいて観察時間を短縮でき、また深さが異なる複数の箇所の同時刻における状況を容易に取得できる。

[0055] 観察時間を短縮について、具体的な例を挙げて説明する。光スキャナの一例として共振ミラーを用いた光スキャナが挙げられるが、共振ミラーの走査速度は約 10 kHz であり、高速軸の走査時間は 100 μ sec である。従来の顕微鏡装置では、1 回の掃引が終わったのちに、対物レンズ若しくはステージを光軸方向に移動させて、光軸方向に異なる深さで掃引を行う必要があった。このため、異なる深さの領域を掃引するためには、少なくとも 100 μ sec 以上の時間を要していた。また、ガルバノミラーを用いた光スキャナなどその他の光スキャナも、異なる深さの領域を掃引するためには、対物レンズ若しくはステージを光軸方向に移動させる必要があるため、同程度の時間を要する。従って、いずれの場合でも、異なる深さの領域を同時に観察することは難しかった。一方、本実施形態の画像取得装置 1 A によれば、空間光変調器 1 3 によって光軸方向の位置が異なる複数の集光点 P 1, P 2

を例えば高速軸に沿って生成することができ、わずかな時間差で、深さが異なる部分の情報を得ることができる。従って、同時に深さが異なる部分の情報を得ることができるので、深さが異なる部分の比較などを行うことが簡便になる。

[0056] また、空間光変調器 13 に呈示される変調パターンを用いて複数の集光点 P1, P2 を形成することにより、照射光 L1 の光軸方向に垂直或いは平行な方向における所望の位置に容易に集光でき、且つ、集光点数、位置、強度等を容易に変えることができる。

[0057] また、図 3 に示されたように、照射光 L1 の光軸方向から見て集光点 P1, P2 は走査方向 A2 に沿って並んでいてもよい。これにより、例えば、走査方向 A2 の前側に位置する集光点 P2 により該集光点 P2 とは異なる深さにて生じる影響を、走査方向 A2 の後側に位置する集光点 P1 から生じる観察光 L2 を検出することによってほぼ同時に知ることができる。

[0058] また、本実施形態のように、光検出器 41 は、複数のアノードを有するマルチアノード光電子増倍管を含んでもよく、或いは、複数の画素を有するエリアイメージセンサを含んでもよい。これらの何れかによって、点像 P3, P4 それぞれにおいて観察光 L2 を精度良く検出することができる。

[0059] なお、本実施形態の画像取得装置は、特に多光子励起蛍光顕微鏡に用いることができる。その理由を以下に説明する。通常、液晶型の空間光変調器には、偏光依存性が存在する。蛍光は一般的に無偏光であるため、液晶型の空間光変調器を用いて位相制御を実施するためには、2枚の空間光変調器を用い、2つの偏光方向に対して位相変調を行うことが望ましい。しかしながら、一般的に液晶型の空間光変調器の反射率は90%程度であり、2枚の空間光変調器を用いると反射率は81%となる。従って、微弱な蛍光をさらに弱めてしまうおそれがある。一方、空間光変調器に代えてデフォーダブルミラーを用いる場合、デフォーダブルミラーには偏光依存性がない。しかし、1枚のミラーを背面から複数のアクチュエータで押す構造のものは位相の表現能力の点で劣り、また、マトリックス状にミラー及びアクチュエータが配置

されたものは反射率の点で劣る。

[0060] 多光子励起蛍光顕微鏡では、集光点近傍の光子密度の高い位置において特に蛍光を生じる。励起光を収差の影響なく集光できれば、生じる蛍光は、集光点近傍の蛍光のみであると考えられる。従って、励起光の収差のみを補正し、生じた蛍光をすべて観測すれば、蛍光側の収差の影響はほぼ無視できる。故に、観察光に空間光変調器を適用する必要がないので、上記の問題が生じず、多光子励起蛍光顕微鏡では空間光変調器を好適に使用し得る。

[0061] (第1変形例)

図8は、上記実施形態の第1変形例を示す図であって、観察対象物B及びその近傍における照射光L1の様子を概念的に示している。図8に示されるように、本変形例では、対物レンズ32の焦点位置に一つの集光点(例えば集光点P2)を形成する。そのため、対物レンズ32と観察対象物Bとの距離が図2と比較して短くなっている。この場合、対物レンズ32及び/又はステージ31を対物レンズ32の光軸方向に移動させることにより、対物レンズ32と観察対象物Bとの距離を調整し、対物レンズ32と一つの集光点との距離を、対物レンズ32の焦点距離と一致させる。なお、図中の仮想線A1は、対物レンズ32の基準高さを表している。

[0062] 本変形例のように、対物レンズ32と観察対象物Bとの距離を調整することにより、集光点P2の深さd2を実現してもよい。この場合、空間光変調器13では、単に対物レンズ32の焦点距離に集光点P2が形成されるような変調パターンを呈示すればよく、集光点P2の深さd2を実現するための(言い換えれば、集光点P2と対物レンズ32との距離を焦点距離から変化させるための)変調パターンは不要となる。そしてこの場合、集光点P1の深さd1を実現するために、コンピュータ53は、照射光L1の光軸方向における集光点P1と集光点P2との距離d3に基づいて、集光点P1の深さd1を実現するための変調パターンを算出する(もしくは選択する)とよい。また、使用者が基準高さZ0に対する対物レンズ32の位置をコンピュータ53に直接入力してもよい。

- [0063] (第2変形例) 上記実施形態では光スキャナ21によって集光点P1, P2を走査しているが、ステージ31を光軸方向と交差する面方向に移動させることによって集光点P1, P2を走査してもよい。言い換えれば、上記実施形態の走査部は、光スキャナ21に代えて若しくは光スキャナ21とともに、ステージ31を含んでもよい。このような構成であっても、集光点P1, P2を好適に走査することができる。
- [0064] (第3変形例) 上記実施形態では光スキャナ21によって集光点P1, P2を走査しているが、空間光変調器13に呈示される変調パターンに、集光点P1, P2を走査するためのパターン(光走査ホログラム)を含ませ(重畳させ)てもよい。この場合、上記実施形態における走査部が不要となるので、画像取得装置1Aの構成部品を削減し、小型化に寄与できる。
- [0065] (第4変形例) 上記実施形態では2つの集光点P1, P2を観察対象物B内部に形成する場合について説明したが、3つ以上の集光点が観察対象物B内部に形成されてもよい。図9は、上記実施形態の第4変形例による集光点の様子を示す図である。図9に示されるように、本変形例では、4つの集光点P5~P8を観察対象物B内部に形成する。集光点P5~P8は、照射光L1の光軸方向における位置が互いに異なるので、観察対象物B表面からのこれらの深さd5~d8は互いに異なる。また、照射光L1の光軸方向から見て、これらの集光点P5~P8は互いに一定の間隔をあけて走査方向(図中の矢印A5~A8)に沿って並んでいる。
- [0066] ここで、図9に示されるように、照射光L1の光軸方向から見て走査方向に集光点P5~P8が並んでいる場合、走査方向における観察対象物Bの両端部には、集光点が通過しない領域(図中のB1, B2)が生じる。そこで、例えば集光点P5~P8全てが通過する領域B3に限定して画像を作成するとよい。具体的には、例えば集光点P5~P8からの観察光をそれぞれ検出して深さの異なる画像を取得し、それらの画像から、走査範囲が共通する領域の画像を切り出すとよい。
- [0067] また、図10は、本変形例における光検出器46の光検出面47を示す正

面図である。図10に示されるように、光検出面47には、集光点P5～P8それぞれから発生した観察光による点像P9～P12が形成される。光検出器46は、点像P9～P12それぞれの光強度を検出することにより、複数の観察光を検出する。なお、観察対象物Bにおける集光点の深さが深いほど、集光点と対物レンズ32との距離が長くなるので、光検出器46に達する観察光の光径が大きくなる。本実施形態では集光点P5～P8の順に深い位置に形成されるので、図10では、集光点P5からの観察光の点像P9が最も大きく、集光点P8からの観察光の点像P12が最も小さい。

[0068] また、光検出器46は、複数の光検出部47aを含み、点像P9～P12をそれぞれ検出するための検出領域48a～48dを有する。検出領域48a～48dは、互いに独立した領域であって、それぞれ一又は複数の光検出部47aを含んで構成される。

[0069] ここで、本変形例における集光点P5～P8の走査態様について説明する。図11及び図12は、照射光L1の光軸方向から見た集光点P5～P8の走査の様子を概念的に示す図である。例えば、図11(a)に示されるように、高速軸に沿って集光点P5～P8を一列に配置してもよい。また、図11(b)に示されるように、集光点P5～P8を複数群形成し、観察対象物Bを複数の領域に分割し、各領域を一群の集光点P5～P8によって走査してもよい。また、例えば図12に示されるように、観察対象物Bを複数の領域B11～B14に分割し、各領域を一つの集光点P5、P6、P7若しくはP8によって走査してもよい。

[0070] 本変形例によれば、上記実施形態と同様に、観察対象物Bの深さ方向において集光位置が互いに異なる複数の照射光L1を同時に照射することができ、更に、深さ方向において発光位置が互いに異なる複数の観察光L2を同時に検出することができる。従って、観察対象物Bが厚い場合などにおいて観察時間を短縮でき、また深さが異なる複数の箇所同時刻における状況を容易に取得できる。

[0071] なお、本変形例では4つの集光点P5～P8が形成される場合について例

示したが、集光点の数は、空間光変調器に呈示される変調パターンを制御することによって容易に変更可能である。その場合、集光点一つあたりの照射光強度は、照射光L1の全光量をE、集光点の数をN、空間光変調器の効率を η とすると、 $(E/N) \times \eta$ として表される。空間光変調器の効率 η は、光利用効率（入射光量のうち位相変調に利用される光量の割合）と、回折効率（所望の位置に回折させることができる光量の割合。空間光変調器に呈示されたホログラムの空間周波数に応じて決まる。）との積である。従って、集光点の数Nを変更すると、集光点一つあたりの照射光強度も変化することとなる。各集光点の照射光強度が変化すると観察光強度も変化するので、再構成画像にブロックノイズが発生するおそれがある。このような問題を回避するためには、例えば、観察光L2の各点像の強度変化および強度バラツキを測定するための光学系及び測定系を設け、光源11の光出力強度にフィードバックするとよい。或いは、集光点の数Nに応じて予め強度変化を予測し、集光点の数Nを変更する際に光源11の光出力強度を変化させるとよい。

[0072] （実施例）ここで、上記実施形態の実施例について説明する。本実施例では、観察対象物Bとして、直径 $3\ \mu\text{m}$ の蛍光ビーズと、直径 $10\ \mu\text{m}$ の蛍光ビーズとをそれぞれ複数個内包した樹脂を用意した。この樹脂を対物レンズ（水浸40倍、NA1.15）を用いて観察した。深さ $d_5 \sim d_8$ の各位置にそれぞれ集光点 $P_5 \sim P_8$ を形成し、これらの集光点 $P_5 \sim P_8$ を走査して画像を取得した。このとき、複数の集光点 $P_5 \sim P_8$ は、走査方向に対して直交する方向に沿って並ぶものとした。また、深さ $d_5 \sim d_8$ は、光学距離として、 $d_5 = 15.0\ \mu\text{m}$ 、 $d_6 = 11.25\ \mu\text{m}$ 、 $d_7 = 7.5\ \mu\text{m}$ 、 $d_8 = 3.75\ \mu\text{m}$ とした。

[0073] 図13及び図14は、集光点 $P_5 \sim P_8$ の各走査領域のうち共通の領域（図9の領域B3）のみを切り抜いた画像を示す。図13（a）は集光点 P_8 から得られた画像を示し、図13（b）は集光点 P_7 から得られた画像を示し、図14（a）は集光点 P_6 から得られた画像を示し、図14（b）は集光点 P_5 から得られた画像を示す。これらの画像においては、下部中央付近

に10 μ mの蛍光ビーズが存在しているが、この蛍光ビーズを何れの深さにおいても観察できていることがわかる。また、これら4つの画像のうち3つの画像にわたって存在するような直径3 μ mの蛍光ビーズが見当たらないことから、深さ方向の分解能も十分確保できていると考えられる。

産業上の利用可能性

[0074] 観察対象物の深さ方向において集光位置が互いに異なる複数の光を同時に照射することができる。

符号の説明

[0075] 1A…画像取得装置、10…照射光生成ユニット、11…光源、12…ビームエキスパンダ、13…空間光変調器、14…ダイクロイックミラー、20…走査ユニット、21…光スキャナ、22…ミラー、30…照射光学ユニット、31…ステージ、32…対物レンズ、33…対物レンズ移動機構、34…反射ミラー、40…観察ユニット、41…光検出器、42…フィルタ、43…集光レンズ、44…光検出面、44a…光検出部、45a…第1の検出領域、45b…第2の検出領域、50…制御ユニット、51…入力装置、52…表示装置、53…コンピュータ、61, 62…テレセントリック光学系、B…観察対象物、L0…照射光、L1…照射光、L2…観察光、P1…第1の集光点、P2…第2の集光点、P3, P4…点像、P5～P8…集光点、P9～P12…点像。

請求の範囲

- [請求項1] 光源から出力された照射光を変調する空間光変調器と、
観察対象物において第1の集光点および第2の集光点が形成されるように、前記空間光変調器に呈示される変調パターンを制御する制御部と、
前記観察対象物中に前記第1の集光点および前記第2の集光点を形成するために、変調された前記照射光を集光する集光光学系と、
前記集光光学系の光軸と交差する走査方向に、前記観察対象物中の前記第1の集光点および前記第2の集光点の位置を走査する走査部と、
前記第1の集光点から生じた第1の観察光、及び前記第2の集光点から生じた第2の観察光を検出する光検出器と、
前記光検出器からの検出信号を用いて前記観察対象物の画像を作成する画像作成部と、
を備え、
前記光検出器は、前記第1の観察光を検出するための第1の検出領域と、前記第2の観察光を検出するための第2の検出領域とを有し、
前記光軸の方向における前記第1の集光点および前記第2の集光点の位置が互いに異なる、画像取得装置。
- [請求項2] 前記光軸の方向から見て前記第1の集光点および前記第2の集光点が前記走査方向に並んでいる、請求項1に記載の画像取得装置。
- [請求項3] 前記光軸の方向から見て前記第1の集光点および前記第2の集光点が前記走査方向と交差する第1の方向に並んでいる、請求項1に記載の画像取得装置。
- [請求項4] 前記第1の方向が前記走査方向と直交する、請求項3に記載の画像取得装置。
- [請求項5] 前記第1の方向が前記走査方向に対して傾斜する、請求項3に記載の画像取得装置。

- [請求項6] 前記走査部は、変調された前記照射光を受ける光スキャナを含む、請求項1～5のいずれか1項に記載の画像取得装置。
- [請求項7] 前記走査部は、前記観察対象物を保持しつつ前記走査方向に前記観察対象物を移動させるステージを含む、請求項1～5のいずれか1項に記載の画像取得装置。
- [請求項8] 前記光検出器は、複数のアノードを有するマルチアノード光電子増倍管を含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の画像取得装置。
- [請求項9] 前記光検出器は、複数の画素を有するエリアイメージセンサを含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の画像取得装置。
- [請求項10] 前記光検出器は、複数のアバランシェフォトダイオードを有するアバランシェフォトダイオードアレイを含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の画像取得装置。
- [請求項11] 光源から出力された照射光を変調する空間光変調器と、
観察対象物において第1の集光点および第2の集光点が形成されるように、前記空間光変調器に呈示される変調パターンを制御する制御部と、
前記観察対象物中に前記第1の集光点および前記第2の集光点を形成するために、変調された前記照射光を集光する集光光学系と、
前記第1の集光点から生じた第1の観察光、及び前記第2の集光点から生じた第2の観察光を検出する光検出器と、
前記光検出器からの検出信号を用いて前記観察対象物の画像を作成する画像作成部と、
を備え、
前記変調パターンは、前記集光光学系の光軸と交差する走査方向に前記第1の集光点および前記第2の集光点を走査するためのパターンを含み、
前記光検出器は、前記第1の観察光を検出するための第1の検出領域と、前記第2の観察光を検出するための第2の検出領域とを有し、

前記光軸の方向における前記第1の集光点および前記第2の集光点の位置が互いに異なる、画像取得装置。

[請求項12]

観察対象物において第1の集光点および第2の集光点を形成するための変調パターンを空間光変調器に呈示するパターン呈示ステップと、

前記観察対象物中に前記第1の集光点および前記第2の集光点を形成するために、光源から出力された照射光を前記空間光変調器において変調し、変調された前記照射光を集光光学系により集光する集光点形成ステップと、

前記集光光学系の光軸と交差する走査方向に、前記観察対象物中の前記第1の集光点および前記第2の集光点の位置を走査しつつ、前記第1の集光点から生じた第1の観察光、及び前記第2の集光点から生じた第2の観察光を検出する光検出ステップと、

前記光検出ステップにより得られた検出信号を用いて前記観察対象物の画像を作成する画像作成ステップと、

を含み、

前記光検出ステップでは、前記第1の観察光を検出するための第1の検出領域と、前記第2の観察光を検出するための第2の検出領域とを有する光検出器を用い、

前記光軸の方向における前記第1の集光点および前記第2の集光点の位置が互いに異なる、画像取得方法。

[請求項13]

前記光軸の方向から見て前記第1の集光点および前記第2の集光点が前記走査方向に並んでいる、請求項12に記載の画像取得方法。

[請求項14]

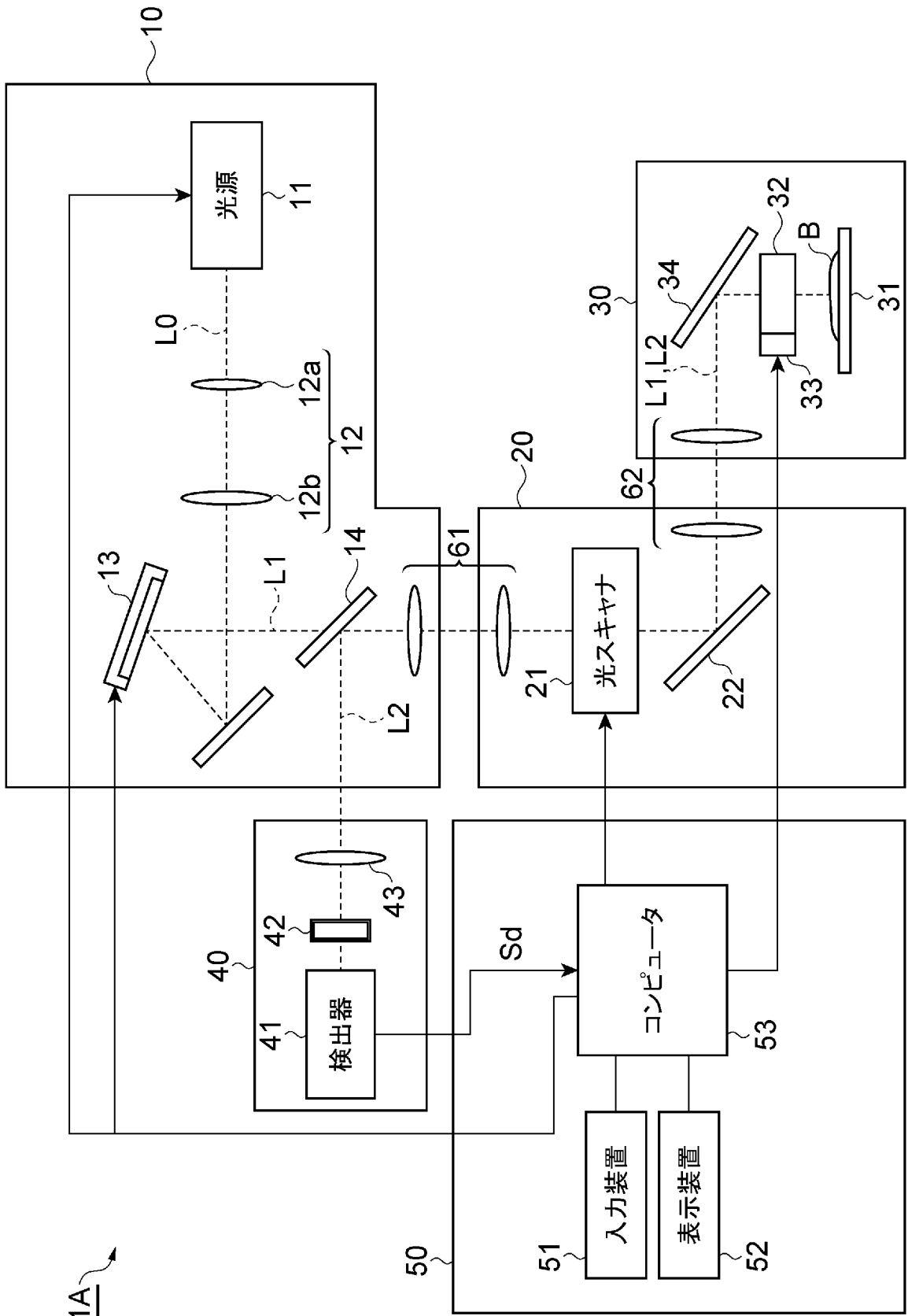
前記光軸の方向から見て前記第1の集光点および前記第2の集光点が前記走査方向と交差する第1の方向に並んでいる、請求項12に記載の画像取得方法。

[請求項15]

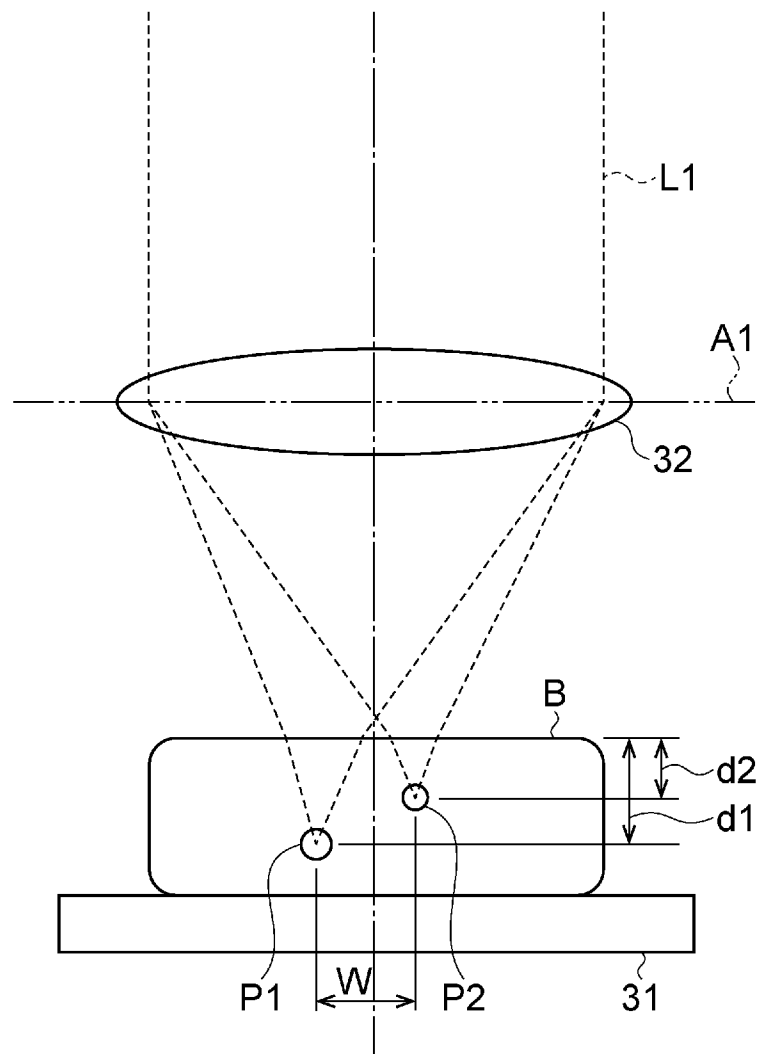
前記第1の方向が前記走査方向と直交する、請求項14に記載の画像取得方法。

- [請求項16] 前記第1の方向が前記走査方向に対して傾斜する、請求項14に記載の画像取得方法。
- [請求項17] 前記光検出ステップでは、変調された前記照射光を受ける光スキャナを用いて前記第1の集光点および前記第2の集光点の走査を行う、請求項12～16のいずれか1項に記載の画像取得方法。
- [請求項18] 前記光検出ステップでは、前記観察対象物を保持しつつ前記走査方向に前記観察対象物を移動させるステージを用いて前記第1の集光点および前記第2の集光点の走査を行う、請求項12～16のいずれか1項に記載の画像取得方法。
- [請求項19] 前記光検出ステップでは、前記第1の集光点および前記第2の集光点を走査するためのパターンを前記変調パターンに重畳させる、請求項12～16のいずれか1項に記載の画像取得方法。
- [請求項20] 前記光検出器は、複数のアノードを有するマルチアノード光電子増倍管を含む、請求項12～19のいずれか1項に記載の画像取得方法。
- [請求項21] 前記光検出器は、複数の画素を有するエリアイメージセンサを含む、請求項12～19のいずれか1項に記載の画像取得方法。
- [請求項22] 前記光検出器は、複数のアバランシェフォトダイオードを有するアバランシェフォトダイオードアレイを含む、請求項12～19のいずれか1項に記載の画像取得方法。

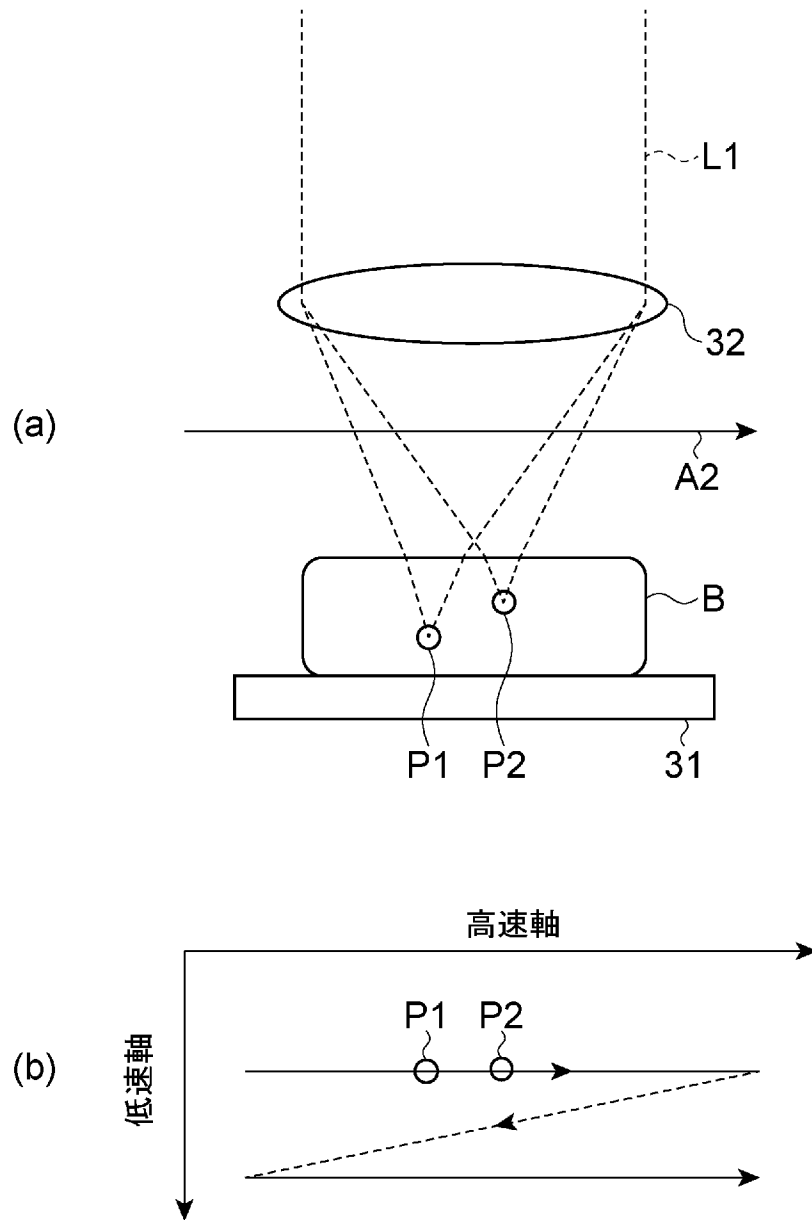
[図1]



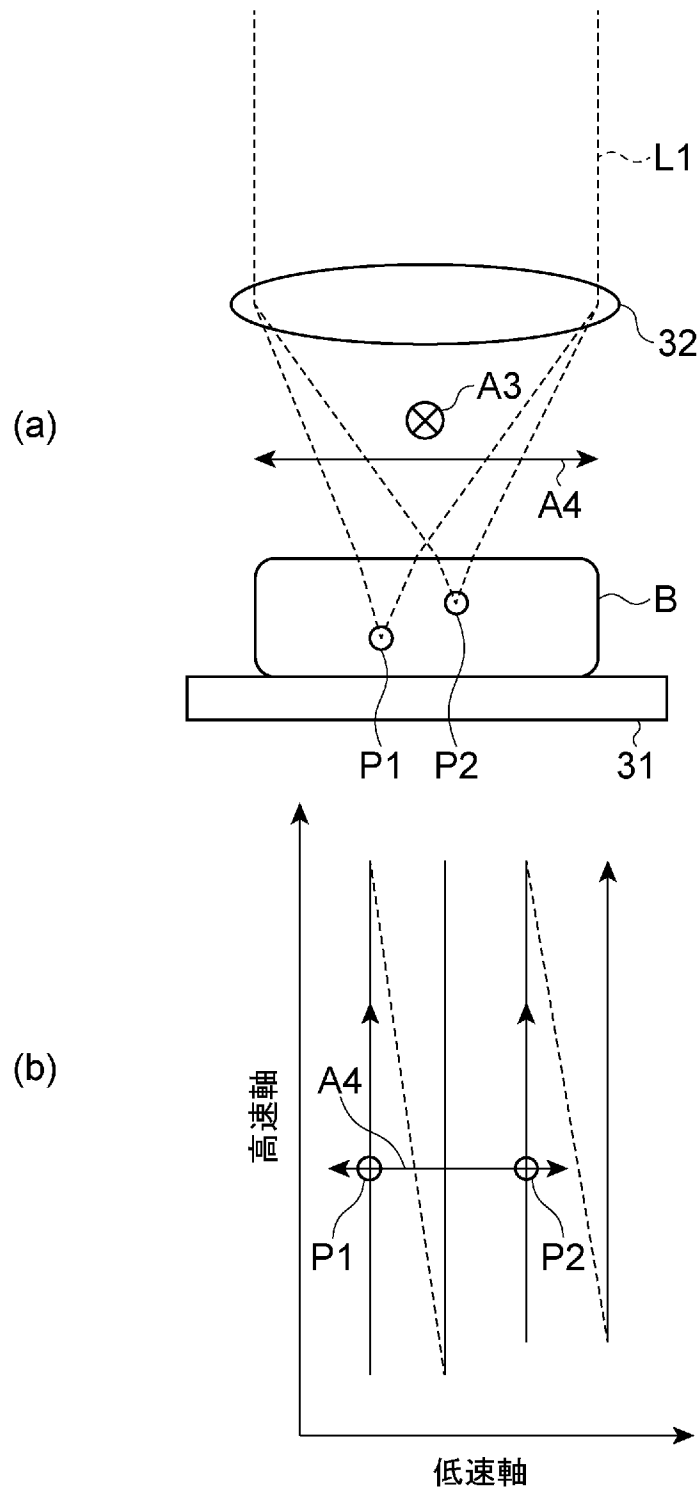
[図2]



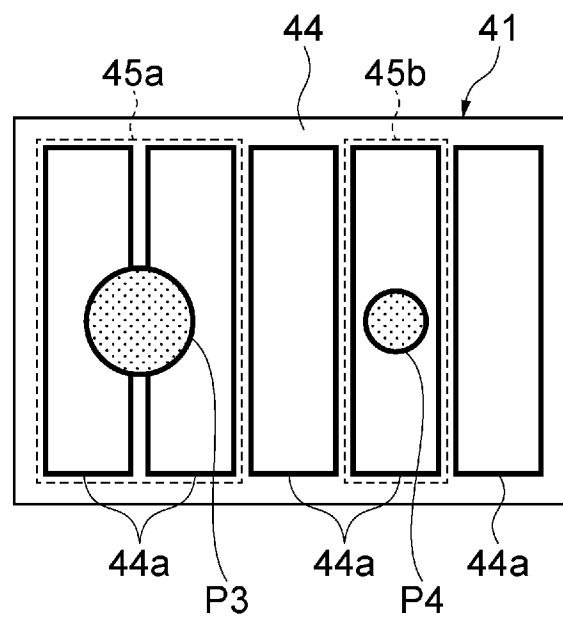
[図3]



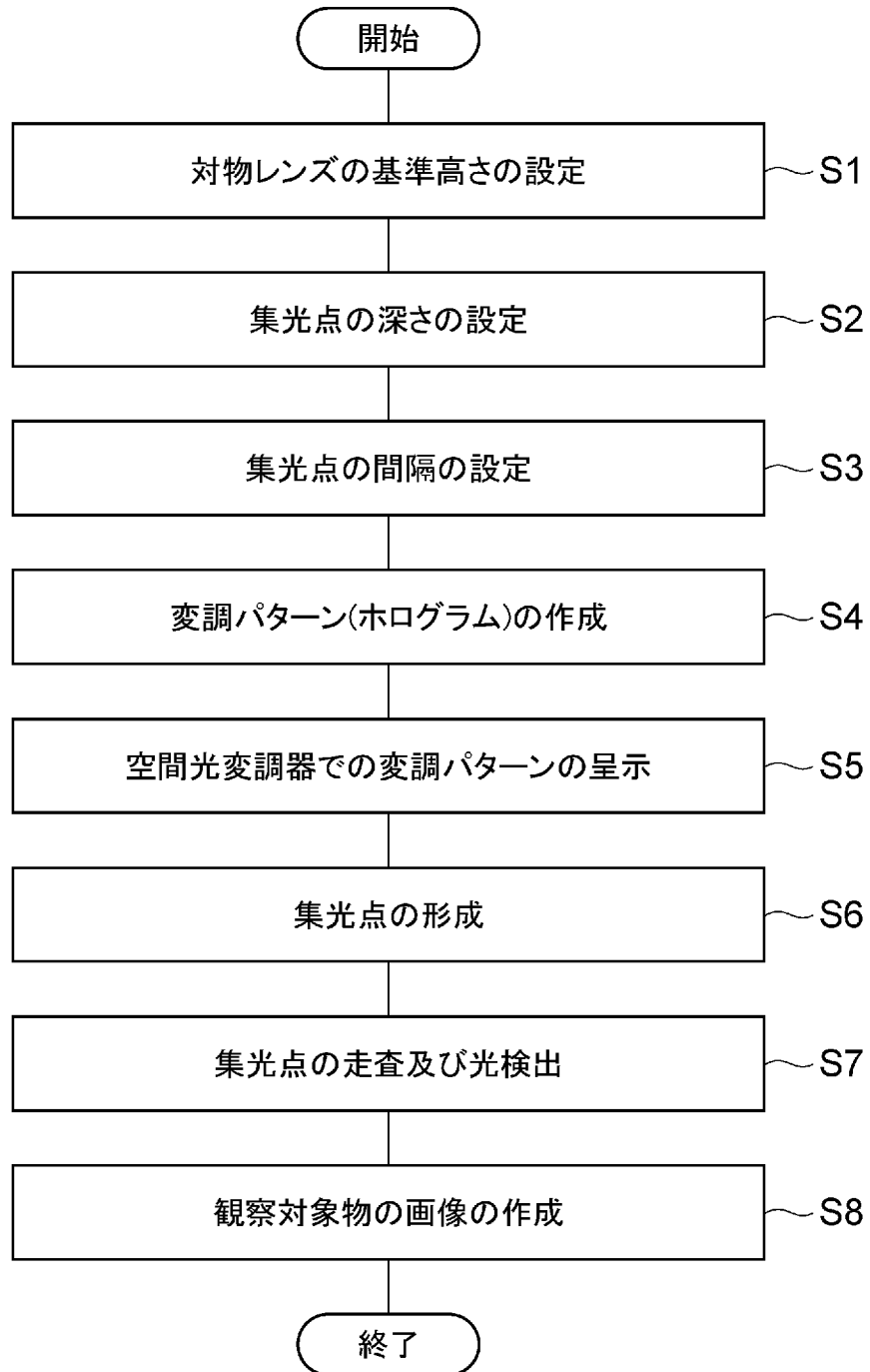
[図4]



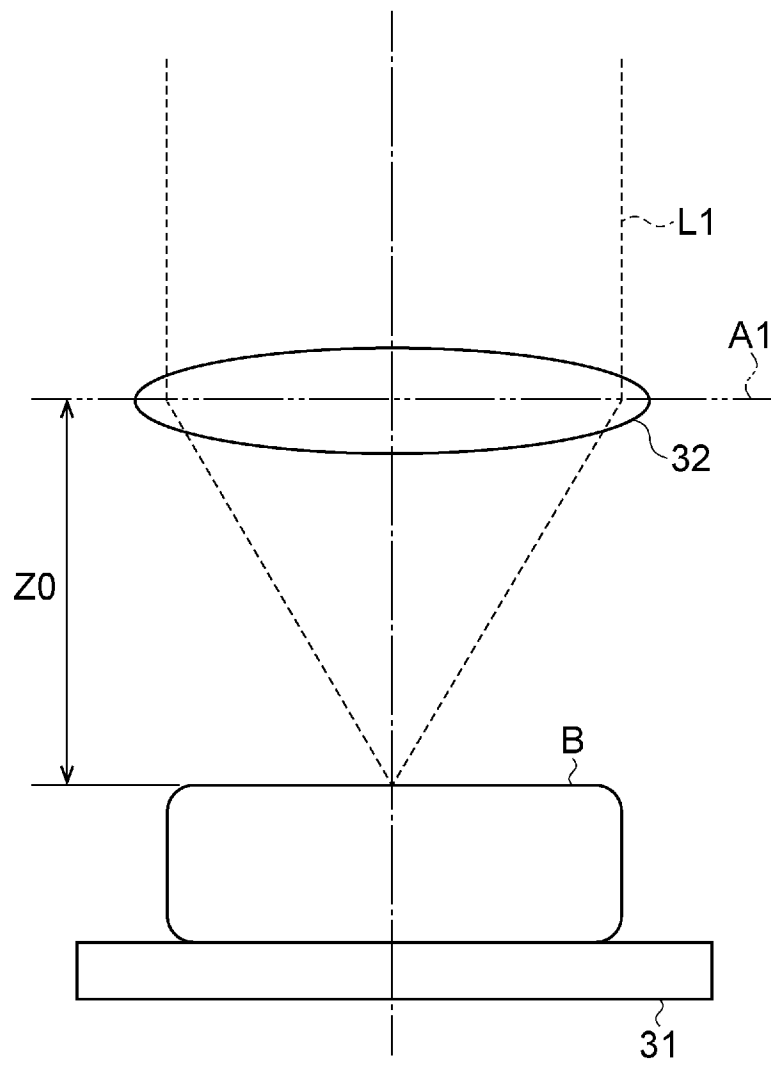
[図5]



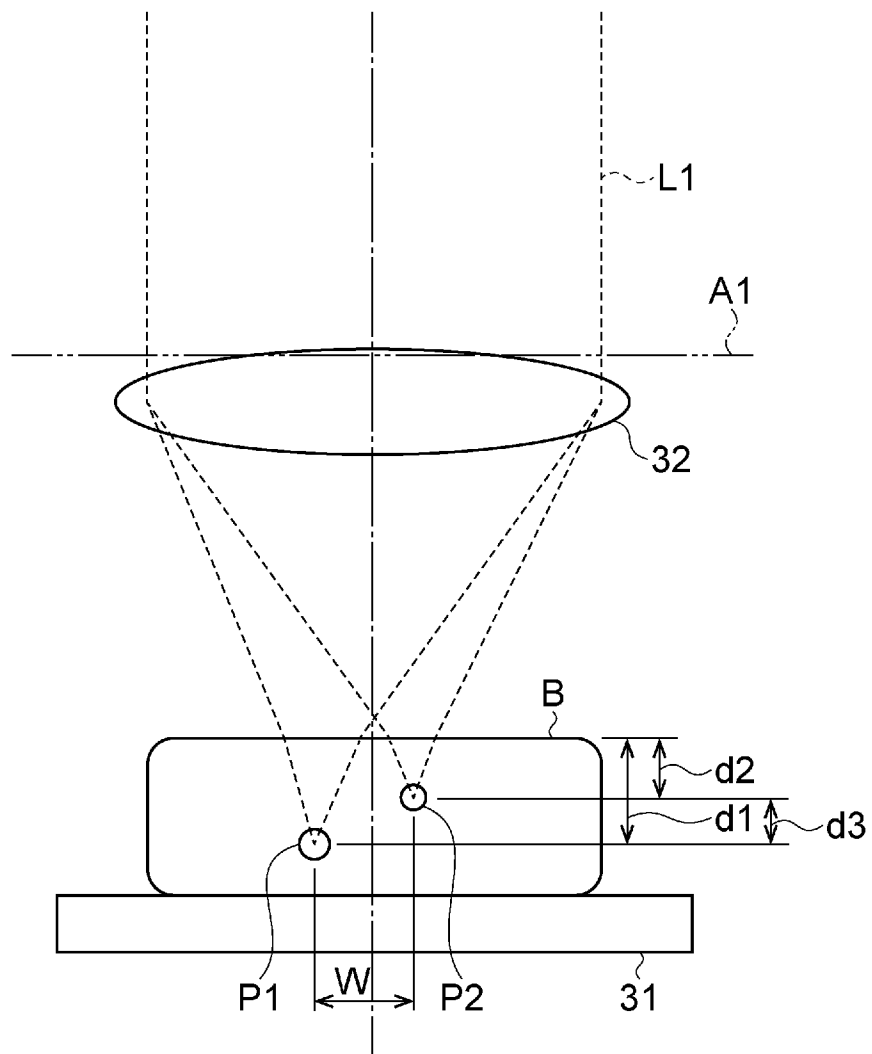
[図6]



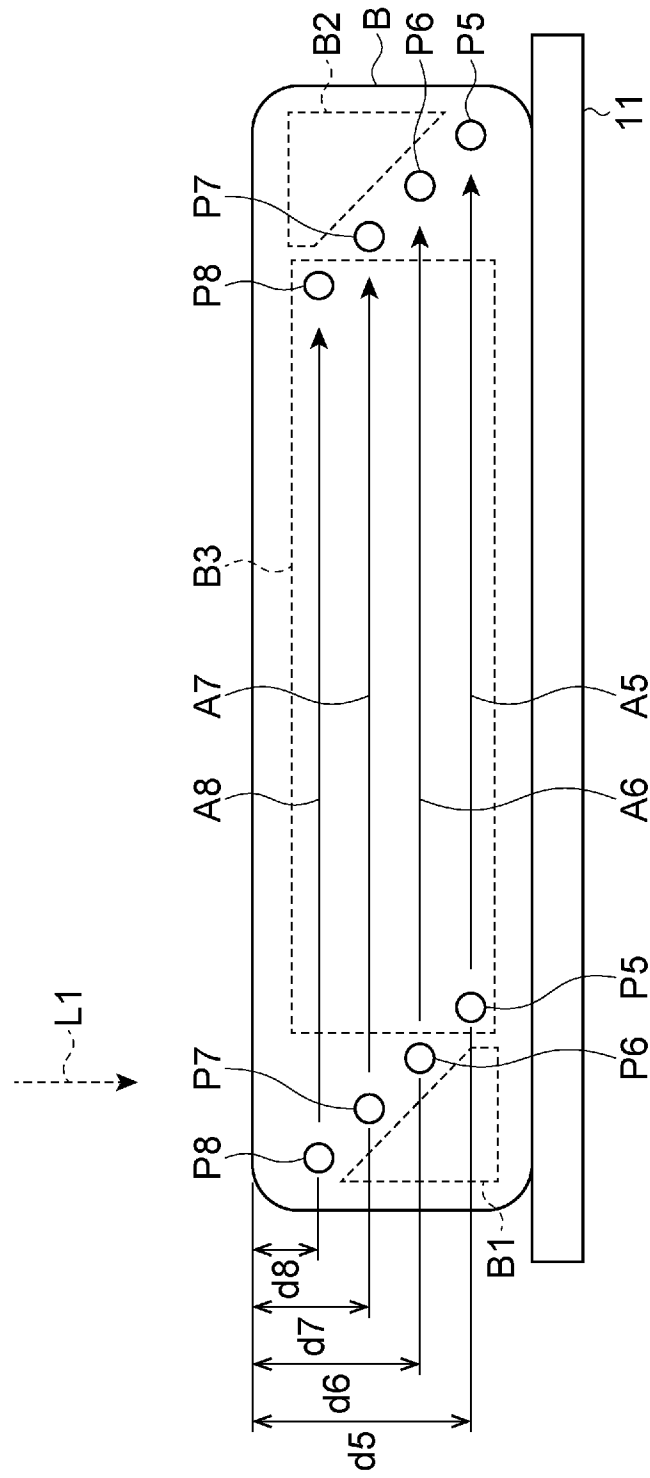
[図7]



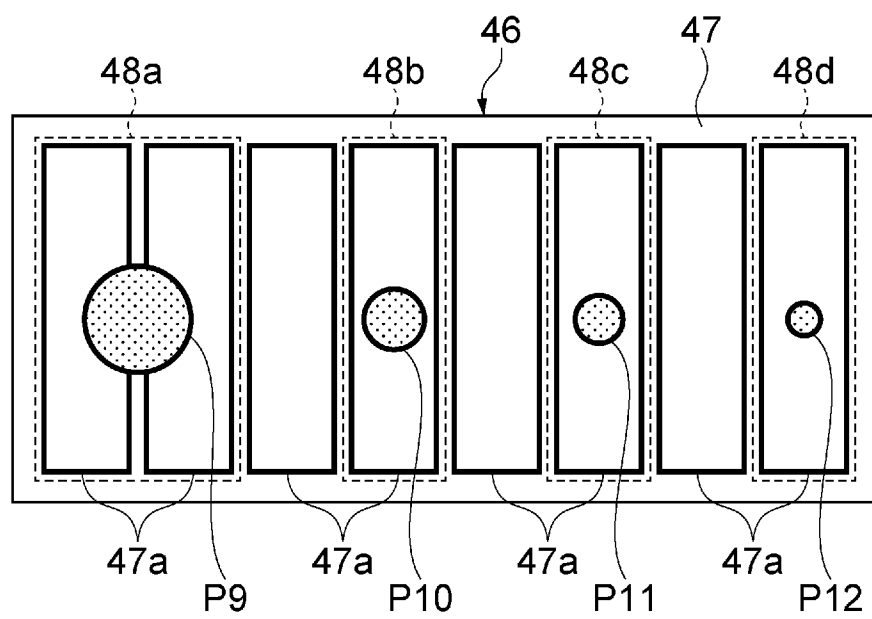
[図8]



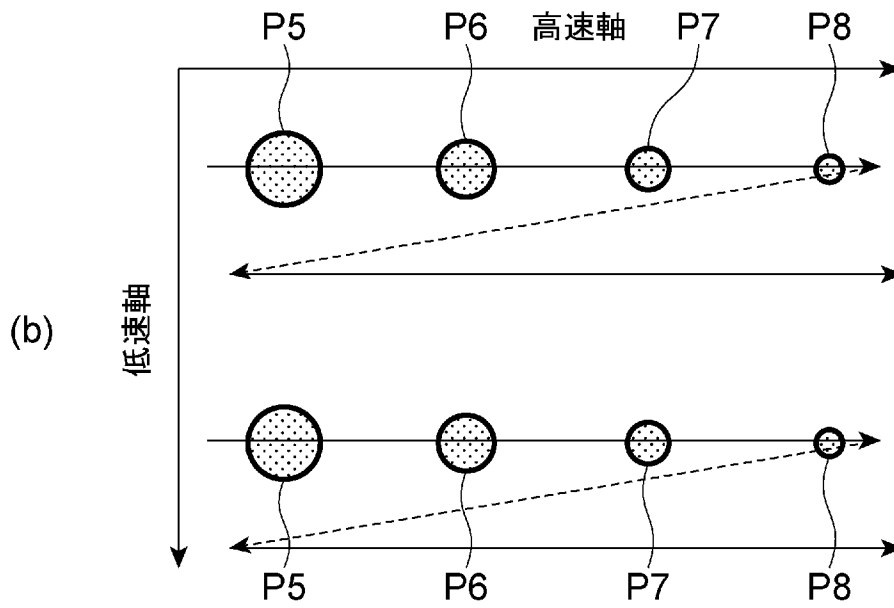
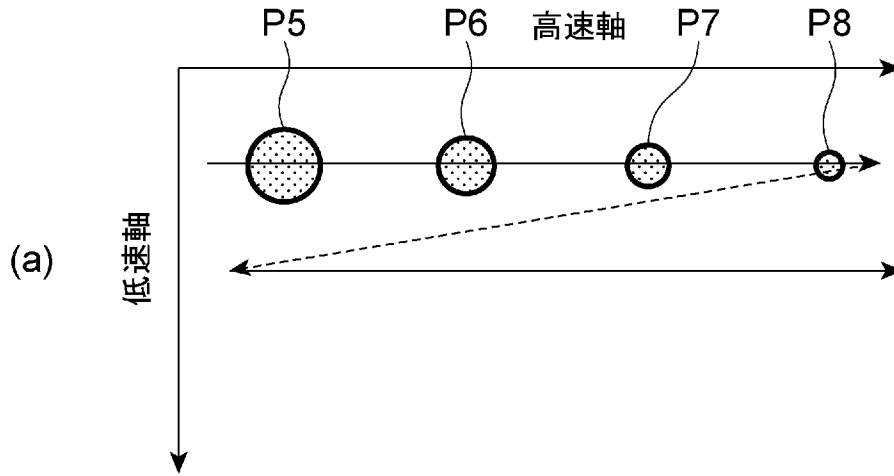
[図9]



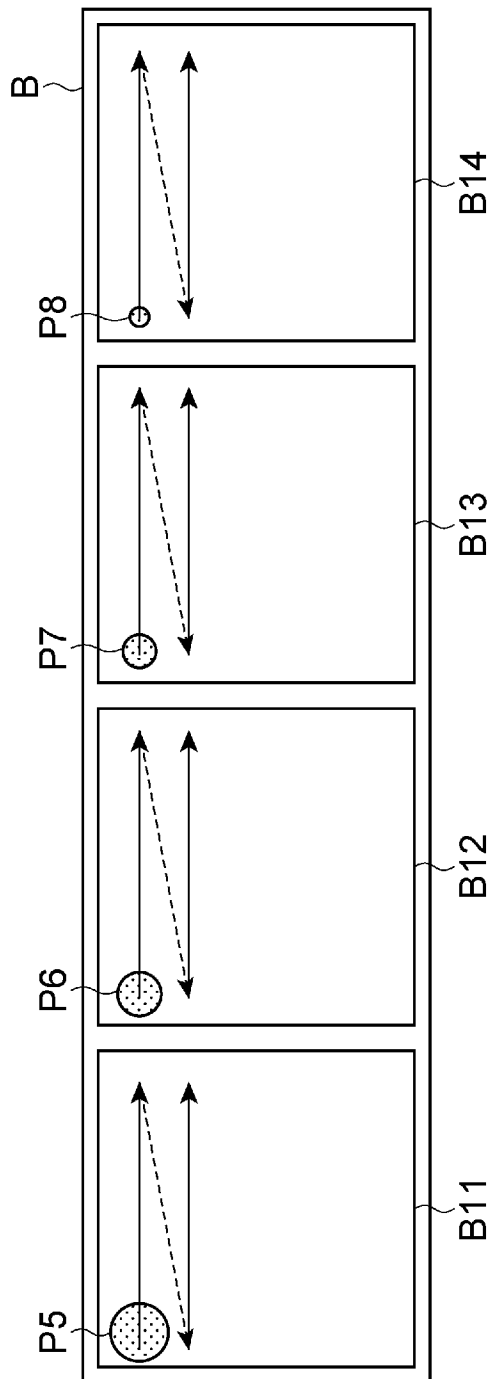
[図10]



[図11]

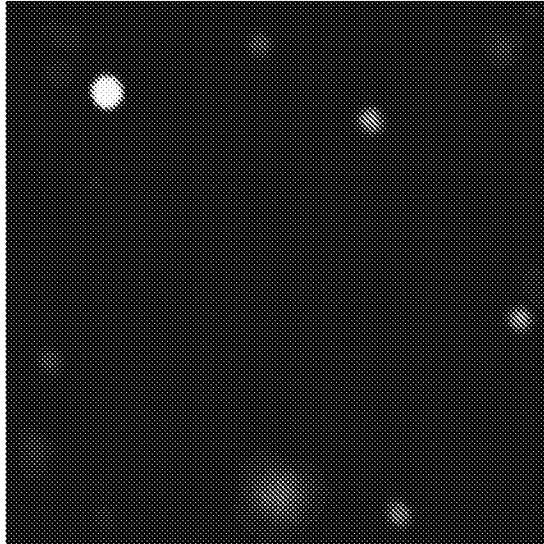


[図12]

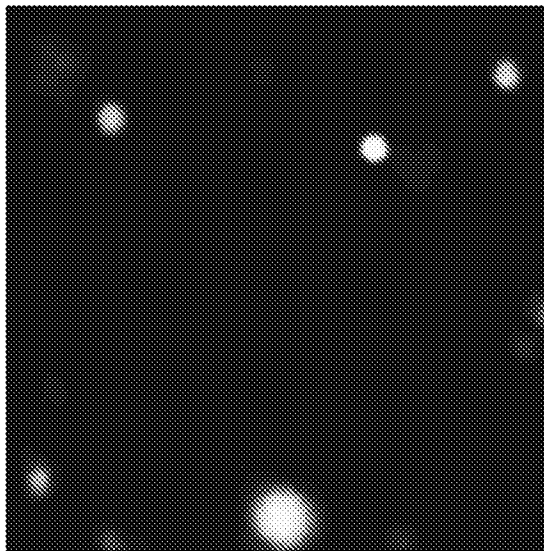


[図13]

(a)

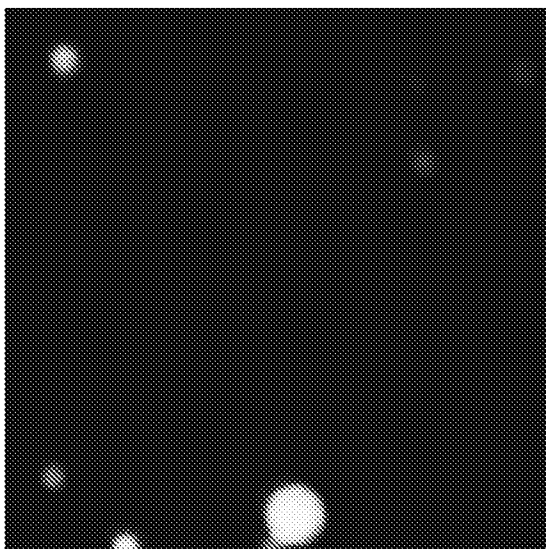


(b)

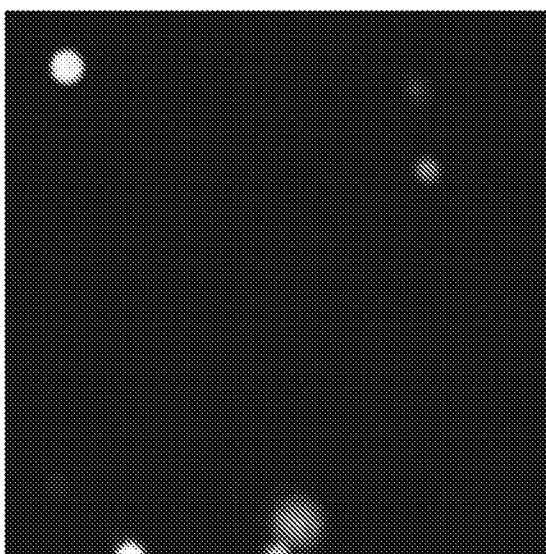


[図14]

(a)



(b)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/050665

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G02B21/06(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i, G02B26/10(2006.01)i, G02F1/01(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G02B21/00-21/36, G01N21/62-21/74, G02B26/10, G02F1/01, G02F1/13

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2016	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2016

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
IEEE Xplore, SPIE Digital Library, OSA Publishing

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2014-6308 A (Olympus Corp.), 16 January 2014 (16.01.2014), entire text; all drawings; particularly, example 1 (paragraphs [0021] to [0045]; fig. 1); example 3 (paragraphs [0049] to [0052]; fig. 3) (Family: none)	1-22

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 05 April 2016 (05.04.16)	Date of mailing of the international search report 19 April 2016 (19.04.16)
---	--

Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.
--	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/050665

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2006-71611 A (Hamamatsu Photonics Kabushiki Kaisha), 16 March 2006 (16.03.2006), entire text; all drawings; particularly, paragraphs [0017] to [0023], [0028] to [0032], [0049]; fig. 1, 2 & US 2007/0262264 A1 entire text; all drawings; particularly, paragraphs [0065] to [0070], [0075] to [0080], [0096]; fig. 1 to 2 & US 7884337 B2 & WO 2006/028020 A1 & EP 1788379 A1 & CN 101019018 A & CN 100559165 C & JP 4425098 B2	1-22
Y	JP 2011-128572 A (Olympus Corp.), 30 June 2011 (30.06.2011), entire text; all drawings; particularly, paragraphs [0022] to [0060]; fig. 1 to 7 & US 2011/0267663 A1 entire text; all drawings; particularly, paragraphs [0037] to [0098]; fig. 1 to 7	1-22
Y	WO 2014/136784 A1 (Hamamatsu Photonics Kabushiki Kaisha), 12 September 2014 (12.09.2014), entire text; all drawings; particularly, paragraphs [0025] to [0096]; fig. 1 to 9 & US 2016/0018786 A1 entire text; all drawings; particularly, paragraphs [0032] to [0116]; fig. 1 to 9 & DE 112014001147 T & CN 105026916 A	2-10,13-22
Y	JP 10-311950 A (Olympus Optical Co., Ltd.), 24 November 1998 (24.11.1998), entire text; all drawings; particularly, paragraphs [0051] to [0082]; fig. 1 to 12 & US 6028306 A entire text; all drawings; particularly, column 5, line 13 to column 18, line 19; fig. 1 to 12 & JP 3816632 B2	2-10,13-22
Y	JP 6-94641 A (International Business Machines Corp.), 08 April 1994 (08.04.1994), entire text; all drawings; particularly, paragraphs [0020] to [0087]; fig. 1 to 19 & US 5248876 A entire text; all drawings; particularly, column 4, line 20 to column 16, line 36; fig. 1 to 19 & JP 7-85060 B2	2-10,13-22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/050665

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2009-175441 A (Hamamatsu Photonics Kabushiki Kaisha), 06 August 2009 (06.08.2009), entire text; all drawings; particularly, paragraphs [0073] to [0074]; fig. 11 (Family: none)	11,19-22
Y	JP 2011-527218 A (Imperial Innovations Ltd.), 27 October 2011 (27.10.2011), entire text; all drawings; particularly, paragraph [0038]; fig. 2(a) to 3 & US 2011/0137126 A1 entire text; all drawings; particularly, page 4, left column, line 55 to right column, line 18; fig. 2 to 3 & US 8585587 B2 & WO 2010/004297 A1 & EP 2310893 A1	11,19-22

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. G02B21/06(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i, G02B26/10(2006.01)i, G02F1/01(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. G02B21/00-21/36, G01N21/62-21/74, G02B26/10, G02F1/01, G02F1/13

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2016年
日本国実用新案登録公報	1996-2016年
日本国登録実用新案公報	1994-2016年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

IEEE Xplore, SPIE Digital Library, OSA Publishing

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2014-6308 A（オリンパス株式会社）2014.01.16, 全文、全図、特に、実施例1（段落[0021]-[0045]、図1）、実施例3（段落[0049]-[0052]、図3）（ファミリーなし）	1-22
Y	JP 2006-71611 A（浜松ホトニクス株式会社）2006.03.16, 全文、全図、特に、段落[0017]-[0023]、[0028]-[0032]、[0049]、図1、図2 & US 2007/0262264 A1、全文、全図、特に、段落[0065]-[0070]、[0075]-[0080]、[0096]、FIGS. 1-2 & US 7884337 B2 & WO 2006/028020 A1 & EP 1788379 A1 & CN 101019018	1-22

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- | | |
|--|--|
| 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの | 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの |
| 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの | 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの |
| 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） | 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの |
| 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 | 「&」同一パテントファミリー文献 |
| 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願 | |

国際調査を完了した日

05.04.2016

国際調査報告の発送日

19.04.2016

国際調査機関の名称及びあて先
 日本国特許庁（ISA/J P）
 郵便番号100-8915
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

森内 正明

電話番号 03-3581-1101 内線 3271

2V

9222

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
	A & CN 100559165 C & JP 4425098 B2	
Y	JP 2011-128572 A (オリンパス株式会社) 2011.06.30, 全文、全図、特に、段落[0022]-[0060]、図1-図7 & US 2011/0267663 A1、全文、全図、特に、段落[0037]-[0098]、FIGS. 1-7	1-22
Y	WO 2014/136784 A1 (浜松ホトニクス株式会社) 2014.09.12, 全文、全図、特に、段落[0025]-[0096]、図1-図9 & US 2016/0018786 A1、全文、全図、特に、段落[0032]-[0116]、FIGS. 1-9 & DE 112014001147 T & CN 105026916 A	2-10, 13-22
Y	JP 10-311950 A (オリンパス光学工業株式会社) 1998.11.24, 全文、全図、特に、段落[0051]-[0082]、図1-図12 & US 6028306 A、全文、全図、特に、第5欄第13行-第18欄第19行、FIGS. 1-12 & JP 3816632 B2	2-10, 13-22
Y	JP 6-94641 A (インターナショナル・ビジネス・マシーンズ・コーポレーション) 1994.04.08, 全文、全図、特に、段落[0020]-[0087]、図1-図19 & US 5248876 A、全文、全図、特に、第4欄第20行-第16欄第36行、FIGS. 1-19 & JP 7-85060 B2	2-10, 13-22
Y	JP 2009-175441 A (浜松ホトニクス株式会社) 2009.08.06, 全文、全図、特に、段落[0073]-[0074]、図11 (ファミリーなし)	11, 19-22
Y	JP 2011-527218 A (インペリアル・イノベーションズ・リミテッド) 2011.10.27, 全文、全図、特に、段落[0038]、図2(a)-図3 & US 2011/0137126 A1、全文、全図、特に、第4ページ左欄第55行-右欄第18行、FIGS. 2-3 & US 8585587 B2 & WO 2010/004297 A1 & EP 2310893 A1	11, 19-22