

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6562807号
(P6562807)

(45) 発行日 令和1年8月21日(2019.8.21)

(24) 登録日 令和1年8月2日(2019.8.2)

(51) Int. Cl. F I
G O 2 B 21/14 (2006.01) G O 2 B 21/14

請求項の数 9 (全 14 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2015-199061 (P2015-199061) (22) 出願日 平成27年10月7日 (2015.10.7) (65) 公開番号 特開2017-72700 (P2017-72700A) (43) 公開日 平成29年4月13日 (2017.4.13) 審査請求日 平成30年2月21日 (2018.2.21)</p>	<p>(73) 特許権者 306037311 富士フイルム株式会社 東京都港区西麻布2丁目26番30号 (74) 代理人 110001519 特許業務法人太陽国際特許事務所 (72) 発明者 涌井 隆史 神奈川県足柄上郡開成町宮台798番地 富士フイルム株式会社内 審査官 殿岡 雅仁</p>
--	--

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 顕微鏡装置および結像方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

観察対象に位相差計測用照明光を照射する照明光照射部と、
 前記位相差計測用照明光の照射によって前記観察対象を透過した光が入射される透過型表示部とを備え、

前記透過型表示部が、前記観察対象を透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを表示する表示部であって、外側から順に、赤色光の透過濃度を調整する赤色調整パターン、緑色光の透過濃度を調整する緑色調整パターン、及び青色光の透過濃度を調整する青色調整パターンが同心状に表示可能なパターン表示領域を備え、かつ前記パターン表示領域以外の領域に観察対象を透過した光に含まれる全ての波長の光に対して透明な部分を備え、前記パターン表示領域の光の透過濃度が変更可能であることを特徴とする顕微鏡装置。

【請求項 2】

前記透過型表示部が、相対的に波長が短い光に対する透過濃度の方が、相対的に波長が長い光に対する透過濃度よりも高いパターンを表示する請求項 1 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 3】

前記透過型表示部が、青色光に対する透過濃度の方が赤色光および緑色光に対する透過濃度よりも高いパターンを表示する請求項 2 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 4】

相対的に透過濃度を高くする波長の光の選択を受け付ける波長選択受付部を備え、

前記透過型表示部が、前記波長選択受付部によって受け付けられた波長の光に応じて、前記パターンの各波長の光の透過濃度を変更する請求項 1 から 3 いずれか 1 項記載の顕微鏡装置。

【請求項 5】

前記透過型表示部が、前記パターンを表示する位相差観察モードと前記パターンを非表示とする明視野観察モードとを有する請求項 1 から 4 いずれか 1 項記載の顕微鏡装置。

【請求項 6】

前記透過型表示部が、前記位相差観察モードの場合において、前記位相差計測用照明光に含まれる全ての波長の光を遮光するパターンを表示する請求項 5 記載の顕微鏡装置。

【請求項 7】

前記パターンが、リング状のパターンである請求項 1 から 6 いずれか 1 項記載の顕微鏡装置。

【請求項 8】

前記位相差計測用照明光の照射によって前記観察対象を透過した光が入射され、該入射された光の位相をずらす位相変更部をさらに備えた請求項 1 から 7 いずれか 1 項記載の顕微鏡装置。

【請求項 9】

観察対象に位相差計測用照明光を照射し、
該位相差計測用照明光の照射によって前記観察対象を透過した光を透過型表示部に入射させ、

外側から順に、赤色光の透過濃度を調整する赤色調整パターン、緑色光の透過濃度を調整する緑色調整パターン、及び青色光の透過濃度を調整する青色調整パターンが同心状に表示可能なパターン表示領域を備え、かつ前記パターン表示領域以外の領域に観察対象を透過した光に含まれる全ての波長の光に対して透明な部分を備え、前記パターン表示領域の光の透過濃度の変更可能である前記透過型表示部に、前記観察対象を透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを表示させ、

前記パターンが表示された透過型表示部を透過した光を結像することを特徴とする結像方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、観察対象に位相差計測用照明光を照射して位相差画像を撮像する顕微鏡装置に関するものである。

【背景技術】

【0002】

近年、幹細胞などの培養された透明な細胞を非染色に観察する方法として位相差計測が広く使われ始めている。そして、このような位相差計測を行うものとして位相差顕微鏡が使用されている。

【0003】

一般的な位相差顕微鏡においては、リング状の照明光が観察対象に照射され、観察対象を通過した直接光と観察対象で回折した回折光が位相板に入射される。そして、直接光は位相板のリング部分によって減光されるとともに位相がずらされ、回折光は位相板の透明な部分を通過し、この直接光と回折光とが結像されることによって明暗のコントラストのついた位相差画像を撮像することができる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献 1】特開 2012 - 222672 号公報

【特許文献 2】特開 2008 - 139613 号公報

【特許文献 3】特開 2015 - 082100 号公報

10

20

30

40

50

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

ここで、位相差顕微鏡によって撮像された位相差画像は、細胞の輪郭などのコントラストを強調することはできるが、細胞の色については明瞭に現れない場合がある。

【0006】

たとえばiPS(induced pluripotent stem)細胞に対して多能性マーカであるアルカリホスファターゼを添加し、その色を観察することによってiPS細胞の未分化状態を確認する場合がある。このような場合、位相差顕微鏡によって撮像された位相差画像だけではその色の変化が分かり難い場合がある。

10

【0007】

すなわち、従来の位相差顕微鏡では、細胞の色の変化を観察しながら、かつ細胞の輪郭のコントラストを明確に観察できる画像を撮像することができず、その他の明視野顕微鏡などでもこのような画像を撮像することができなかった。

【0008】

なお、特許文献1および特許文献2には、位相差画像を撮像することができ、かつ明視野画像も撮像することができる顕微鏡が開示されているが、色とコントラストの両方が明瞭な画像を撮像することはできない。

【0009】

また、特許文献3には、偏斜照明観察を行う顕微鏡が開示されているが、この顕微鏡でも色とコントラストの両方が明瞭な画像を撮像することはできない。

20

【0010】

本発明は、上記の問題に鑑み、細胞などの観察対象の色とコントラストの両方が明瞭な画像を撮像することができる顕微鏡装置および結像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】

【0011】

本発明の顕微鏡装置は、観察対象に位相差計測用照明光を照射する照明光照射部と、位相差計測用照明光の照射によって観察対象を透過した光が入射される透過型表示部と、透過型表示部を透過した光を検出することによって観察対象を撮像する撮像部とを備え、透過型表示部が、観察対象を透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを表示することを特徴とする。

30

【0012】

ここで、複数の波長の光とは、異なる分光スペクトルを有する複数の光を意味する。

【0013】

また、上記本発明の顕微鏡装置において、透過型表示部は、複数の波長の光毎のパターンをそれぞれ異なる位置に表示することができる。

【0014】

また、上記本発明の顕微鏡装置において、透過型表示部は、複数の波長の光毎のパターンを同心円状に表示することができる。

【0015】

また、上記本発明の顕微鏡装置において、透過型表示部は、相対的に波長が短い光に対する透過濃度の方が、相対的に波長が長い光に対する透過濃度よりも高いパターンを表示することができる。

40

【0016】

また、上記本発明の顕微鏡装置において、透過型表示部は、青色光に対する透過濃度の方が赤色光および緑色光に対する透過濃度よりも高いパターンを表示することができる。

【0017】

また、上記本発明の顕微鏡装置においては、相対的に透過濃度を高くする波長の光の選択を受け付ける波長選択受付部をさらに設けることができ、透過型表示部は、波長選択受付部によって受け付けられた波長の光に応じて、上記パターンの各波長の光の透過濃度を

50

変更することができる。

【0018】

また、上記本発明の顕微鏡装置において、複数の波長の光として、赤色光、緑色光および青色光を用いることができる。

【0019】

また、上記本発明の顕微鏡装置において、透過型表示部は、上記パターンを表示する位相差観察モードと上記パターンを非表示とする明視野観察モードとを切り替え可能とできる。

【0020】

また、上記本発明の顕微鏡装置において、透過型表示部は、位相差観察モードの場合において、位相差計測用照明光に含まれる全ての波長の光を遮光するパターンを表示することができる。

10

【0021】

また、上記本発明の顕微鏡装置において、パターンは、リング状のパターンとすることが好ましい。

【0022】

また、上記本発明の顕微鏡装置においては、位相差計測用照明光の照射によって観察対象を透過した光が入射され、その入射された光の位相をずらす位相変更部をさらに備えることができる。

【0023】

20

本発明の結像方法は、観察対象に位相差計測用照明光を照射し、位相差計測用照明光の照射によって観察対象を透過した光を透過型表示部に入射させ、観察対象を透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを透過型表示部に表示させ、上記パターンが表示された透過型表示部を透過した光を検出することによって観察対象を撮像することを特徴とする。

【発明の効果】

【0024】

本発明の顕微鏡装置によれば、位相差計測用照明光の照射によって観察対象を透過した光を透過型表示部に入射させ、観察対象を透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを透過型表示部に表示させ、上記パターンが表示された透過型表示部を透過した光を検出する。これにより、相対的に透過濃度が高い波長の光については、その直接光が上記パターンによって減光されるので、位相差観察における減光作用と同等の作用を得ることができる。すなわち、上記波長の光の直接光と回折光との干渉による結像光と直接光とのコントラストが強調された位相差画像を取得することができる。一方、相対的に透過濃度が低い波長の光については、上記パターンによって減光されないので一般的な明視野観察と同等の作用を得ることができ、上記波長の光を主成分とする明視野画像を取得することができる。

30

【0025】

すなわち、透過型表示部を透過した光を検出することによって、位相差画像と明視野画像の両方の特性を有する画像を撮像することができ、細胞などの観察対象の色とコントラストの両方が明瞭な画像を撮像することができる。

40

【0026】

なお、本発明の結像方法も、本発明の顕微鏡装置と同様の効果を得ることができる。

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図1】本発明の顕微鏡装置の一実施形態を用いた顕微鏡システムの概略構成を示す図

【図2】スリット板の構成の一例を示す図

【図3】透過型表示部に表示される赤色調整パターンと緑色調整パターンと青色調整パターンの一例を示す図

【図4】位相板の構成の一例を示す図

50

【図5】透過型表示部に表示されるパターンの種々の例を示す図

【図6】本発明の顕微鏡装置の一実施形態を用いた顕微鏡システムの作用を説明するためのフローチャート

【発明を実施するための形態】

【0028】

以下、本発明の顕微鏡装置の一実施形態を用いた顕微鏡システムについて、図面を参照しながら詳細に説明する。図1は、本実施形態の顕微鏡システムの概略構成を示す図である。

【0029】

本実施形態の顕微鏡システムは、図1に示すように、照明光照射部10と、結像光学系20と、撮像部30と、顕微鏡制御装置40と、表示装置50、入力装置55とを備えている。照明光照射部10と結像光学系20の間には、ステージ61が設けられており、このステージ61上に観察対象Sが収容された培養容器60が設置される。ステージ61は、ステージ駆動部62によって互いに直交するX方向およびY方向に移動するものである。なお、X方向およびY方向は、培養容器60の観察対象Sの設置面に平行な面上において互いに直交する方向である。

【0030】

本実施形態の顕微鏡システムにおいては、照明光照射部10、結像光学系20、撮像部30、ステージ61およびステージ駆動部62から位相差顕微鏡装置が構成され、顕微鏡制御装置40は、この位相差顕微鏡装置を制御するものである。以下、位相差顕微鏡装置の具体的な構成を説明する。

【0031】

照明光照射部10は、培養容器60内に収容された観察対象Sに対して、いわゆる位相差計測のための照明光を照射するものであり、本実施形態では、その位相差計測用照明光としてリング状照明光を照射する。具体的には、本実施形態の照明光照射部10は、白色光を出射する白色光源11と、リング形状のスリットを有し、白色光源11から出射された白色光が入射されてリング状照明光を出射するスリット板12と、スリット板12から射出されたリング状照明光が入射され、その入射されたリング状照明光を観察対象Sに対して照射する第1の対物レンズ13とを備えている。

【0032】

図2は、スリット板12の具体的な構成を示す図である。図2に示すように、スリット板12は、白色光源11から出射された白色光を遮光する遮光板12bに対して白色光を透過するリング形状のスリット12aが設けられたものであり、白色光がスリット12aを通過することによってリング状照明光が形成される。

【0033】

なお、本実施形態においては、上述したようにスリット板12を用いてリング状照明光を形成するにしたが、リング状照明光を形成する方法としては、これに限らず、たとえば空間光変調素子などを用いてリング状照明光を形成するようにしてもよい。

【0034】

また、本実施形態においては、位相差計測用照明光としてリング状照明光を用いるようにしたが、リング状以外の構造を有する照明光でもよく、後述する位相板と共役な形状となっていれば三角形状や四角形状などその他の形状でもよい。

【0035】

ステージ61上に設置された培養容器60は、白色光に対して透明な樹脂またはガラスなどから形成されたものであり、たとえばシャーレ、ディッシュおよびウェルプレートなどを用いることができる。そして、培養容器60の底面に観察対象Sとして細胞群などが配置される。観察対象の細胞群としては、iPS細胞およびES(embryonic stem)細胞といった多能性幹細胞、幹細胞から分化誘導された神経、皮膚、心筋および肝臓の細胞、並びに人体から取り出された皮膚、網膜、心筋、血球、神経および臓器の細胞などがある。培養容器60内には、細胞群を培養するための培養液Cも収容される。

10

20

30

40

50

【0036】

結像光学系20は、第2の対物レンズ21と、透過型表示部22と、位相板23と、結像レンズ24とを備えたものである。

【0037】

第2の対物レンズ21は、図示省略したレンズ駆動部によってZ方向に移動するものである。この第2の対物レンズ21のZ方向への移動によってオートフォーカス制御が行われ、撮像部30によって撮像される画像のコントラストが調整される。

【0038】

透過型表示部22は、観察対象Sを透過し、第2の対物レンズ21によって集光された光が入射されるものであり、具体的には、白色光を透過し、かつカラー表示が可能な透過型液晶ディスプレイから構成されるものである。そして、透過型表示部22は、観察対象Sを透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを表示するものである。なお、本実施形態では、透過型表示部22として透過型液晶ディスプレイを用いるようにしたが、透過型有機ELディスプレイなどその他の透過型のディスプレイを用いるようにしてもよい。

10

【0039】

本実施形態の透過型表示部22は、具体的には、図3に示すように、赤色光の透過濃度を調整する赤色調整パターン22aと、緑色光の透過濃度を調整する緑色調整パターン22bと、青色光の透過濃度を調整する青色調整パターン22cとを表示させるものである。なお、赤色調整パターン22a、緑色調整パターン22bおよび青色調整パターン22c以外の範囲22dには何も表示されず、観察対象Sを透過した光に含まれる全ての波長の光に対して透明である。

20

【0040】

赤色調整パターン22aは、観察対象Sを透過した光のうちの赤色光の透過濃度を調整するためのパターンであり、赤色光を吸収する色で表示される。具体的には、たとえば赤色を吸収する緑色または青緑色のパターンである。

【0041】

緑色調整パターン22bは、観察対象Sを透過した光のうちの緑色光の透過濃度を調整するためのパターンであり、緑色光を吸収する色で表示される。具体的には、たとえば緑色を吸収する赤色または赤紫色のパターンである。

30

【0042】

青色調整パターン22cは、観察対象Sを透過した光のうちの青色光の透過濃度を調整するためのパターンであり、青色光を吸収する色で表示される。具体的には、たとえば青色を吸収する黄色のパターンである。

【0043】

そして、赤色調整パターン22a、緑色調整パターン22bおよび青色調整パターン22cは、図3に示すように同心円状に表示され、一番外側に赤色調整パターン22a、一番内側に青色調整パターン22cが表示され、赤色調整パターン22aと青色調整パターン22cとの間に緑色調整パターン22bが表示される。

【0044】

透過型表示部22は、上述したスリット板12と光学的に共役な位置に配置され、赤色調整パターン22a、緑色調整パターン22bおよび青色調整パターン22cの形状も、スリット板12のスリット12aの形状に合わせたものとなっている。

40

【0045】

赤色調整パターン22a、緑色調整パターン22bおよび青色調整パターン22cを上述したような配置で表示するようにしたのは、観察対象Sを透過した直接光には、赤色光、緑色光および青色光が含まれるが、その波長によって屈折の仕方が異なり、赤色光、緑色光および青色光の透過型表示部22への照射位置がそれぞれ異なるからである。図3に示すような配置で各パターンを表示することによって、より適切に各色の透過濃度を調整することができる。

50

【0046】

図1に戻り、透過型表示部22の観察対象S側とは反対側の面には、位相板23が設けられている。図4は、位相板23の具体的な構成を示す平面図である。図4に示すように、位相板23は、リング状照明光の波長に対して透明な部材から形成されるものであり、位相リング23aを有するものである。

【0047】

位相リング23aは、入射された光の位相を $1/4$ 波長ずらす位相膜がリング状に形成されたものである。位相板23に入射された直接光は位相リング23aを通過することによって位相が $1/4$ 波長ずれる。一方、観察対象Sによって回折された回折光は大部分が位相板23の位相リング23a以外の部分を通り、その位相は変化しない。なお、位相

10

【0048】

そして、透過型表示部22に表示されたパターンによる光の吸収と位相板23による光の位相ずらしの作用によって、観察対象Sの位相差画像を得ることができる

ここで、一般的な位相差観察の作用について説明する。一般的な位相差観察においては、上述したように直接光の位相をずらすことによって、直接光と回折光の位相を揃えるもしくは $1/2$ 波長のずれとすることができるので、回折光の強度変化をより強調することができる。さらに直接光を減光することによって、直接光と回折光との干渉による結像光と直接光の結像光とのコントラストを強調することができる。これにより観察対象の構造などが強調された位相差画像を形成することができる。しかしながら、一般的な位相差観察においては、観察対象の色については、直接光に含まれる全ての波長成分(色)の光が減光されてしまうため、位相差画像の色の変化が分かり難い場合がある。

20

【0049】

これに対し、本実施形態では、観察対象のコントラストだけでなく色も明瞭な画像を形成することができる。以下、透過型表示部22において赤色調整パターン22aを表示した場合の画像形成の作用について説明する。

【0050】

透過型表示部22において赤色調整パターン22aを表示した場合、観察対象Sを透過した光のうち赤色成分の直接光については、赤色調整パターン22aによって減光されるとともに、位相リング23aによってその位相が $1/4$ 波長だけずらされる。一方、赤色成分の回折光については、赤色調整パターン22aおよび位相リング23a以外の部分を通り、その強度と位相は変化しない。したがって、赤色成分の直接光と回折光との干渉による結像光の強度を大きくすることができるとともに、結像光と直接光とのコントラストを大きくすることができ、これにより赤色成分を主成分とする位相差画像を形成することができる。

30

【0051】

一方、観察対象Sを透過した光のうち緑色成分および青色成分の直接光については、赤色調整パターン22aによって減光されることがないので、赤色成分の光の場合ほど結像光と直接光とのコントラストは大きくなりませんが、明視野観察と同等の強度を得ることができる。これにより、緑色成分および青色成分を主成分とする、すなわちみず色光を主成分とする明視野画像を形成することができる。

40

【0052】

つまり、観察対象Sを透過した光が、透過型表示部22および位相板23を通過することによって、赤色成分を主成分とする位相差画像とみず色成分を主成分とする明視野画像の両方の特性を有する画像を形成することができる。したがって、細胞などの観察対象の色とコントラストの両方が明瞭な画像を形成することができる。

【0053】

なお、本実施形態の位相板23は、本発明の位相変更部に相当するものである。ただし

50

、位相変更部の構成は、上記のような構成に限らず、透過型表示部 2 2 において表示される調整パターンの色に応じて、位相板 2 3 を切り替えるようにしてもよい。具体的には、透過型表示部 2 2 において赤色調整パターン 2 2 a を表示する場合には、赤色光の位相を選択的に 1 / 4 波長ずらす位相リングを有する位相板を使用し、透過型表示部 2 2 において緑色調整パターン 2 2 b を表示する場合には、緑色光の位相を選択的に 1 / 4 波長ずらす位相リングを有する位相板を使用し、透過型表示部 2 2 において青色調整パターン 2 2 c を表示する場合には、青色光の位相を 1 / 4 波長ずらす位相リングを有する位相板を使用するようにしてもよい。

【 0 0 5 4 】

また、位相板 2 3 の代わりに位相を変更するための透過型空間光変調素子を用いるようにしてもよい。この場合、入射した光の全波長について位相を 1 / 4 波長ずらすように透過型空間光変調素子を制御するようにしてもよいし、透過型表示部 2 2 の表示パターンに応じて、位相を 1 / 4 波長ずらす光の波長を選択するように透過型空間光変調素子を制御してもよい。

【 0 0 5 5 】

また、本実施形態においては、位相板 2 3 を設けるようにしたが、必ずしも位相板 2 3 を設けなくてもよく、この場合でも、透過型表示部 2 2 による減光によってコントラストが強調された位相差画像を得ることができる。そして、たとえば位相差画像のコントラストをより強調したい場合には、位相板 2 3 を設けるようにすればよい。

【 0 0 5 6 】

また、位相板 2 3 を設けない場合で、透過型表示部 2 2 が透過型液晶ディスプレイから構成される場合は、透過型表示部 2 2 を、上述した調整パターンを表示し、かつ入射した光の位相を 1 / 4 波長ずらすものとする 것도できる。

【 0 0 5 7 】

透過型表示部 2 2 は、ユーザが所望とする画像の種類に応じてパターンの表示を切り替えるものである。

【 0 0 5 8 】

具体的には、図 5 I に示すように、赤色調整パターン 2 2 a を表示することなく、緑色調整パターン 2 2 b および青色調整パターン 2 2 c を表示した場合には、観察対象 S を透過した光のうち緑色光および青色光の直接光が吸収されて減光され、赤色光の直接光は透過するので、緑色光と青色光とを合わせたみず色光の位相差画像のコントラストと赤色光の明視野画像の色特性を有する画像が得られる。

【 0 0 5 9 】

また、図 5 II に示すように、緑色調整パターン 2 2 b を表示することなく、赤色調整パターン 2 2 a および青色調整パターン 2 2 c を表示した場合には、観察対象 S を透過した光のうち赤色光および青色光の直接光が吸収されて減光され、緑色光の直接光は透過するので、赤色光と青色光とを合わせた紫色光の位相差画像のコントラストと緑色光の明視野画像の色特性を有する画像が得られる。

【 0 0 6 0 】

また、図 5 III に示すように、青色調整パターン 2 2 c を表示することなく、赤色調整パターン 2 2 a および緑色調整パターン 2 2 b を表示した場合には、観察対象 S を透過した光のうち赤色光および緑色光の直接光が吸収されて減光され、青色光の直接光は透過するので、赤色光と緑色光とを合わせた黄色光の位相差画像のコントラストと青色光の明視野画像の色特性を有する画像が得られる。

【 0 0 6 1 】

また、図 5 IV に示すように、赤色調整パターン 2 2 a および緑色調整パターン 2 2 b を表示することなく、青色調整パターン 2 2 c のみを表示した場合には、観察対象 S を透過した光のうち青色光の直接光が吸収されて減光され、赤色光および緑色光の直接光は透過するので、青色光の位相差画像のコントラストと黄色光の明視野画像の色特性を有する画像が得られる。

10

20

30

40

50

【 0 0 6 2 】

また、図 5 V に示すように、赤色調整パターン 2 2 a および青色調整パターン 2 2 c を表示することなく、緑色調整パターン 2 2 b のみを表示した場合には、観察対象 S を透過した光のうち緑色光の直接光が吸収されて減光され、赤色光および青色光の直接光は透過するので、緑色光の位相差画像のコントラストと紫色光の明視野画像の色特性を有する画像が得られる。

【 0 0 6 3 】

また、図 5 VI に示すように、緑色調整パターン 2 2 b および青色調整パターン 2 2 c を表示することなく、赤色調整パターン 2 2 a のみを表示した場合には、観察対象 S を透過した光のうち赤色光の直接光が吸収されて減光され、緑色光および青色光の直接光は透過するので、上述したように赤色光の位相差画像のコントラストとみず色光の明視野画像の色特性を有する画像が得られる。

10

【 0 0 6 4 】

また、赤色調整パターン 2 2 a、緑色調整パターン 2 2 b および青色調整パターン 2 2 c の範囲を全て黒の表示とした場合には、従来の黒色のスリットを有する位相板を用いた場合と同様の位相差画像が撮像される。

【 0 0 6 5 】

図 1 に戻り、結像レンズ 2 4 は、透過型表示部 2 2 および位相板 2 3 を通過した直接光および回折光が入射され、これらの光を撮像部 3 0 に結像するものである。

【 0 0 6 6 】

撮像部 3 0 は、結像レンズ 2 4 によって結像された画像を撮像する撮像素子を備えたものである。撮像素子としては、C C D (charge-coupled device) イメージセンサや C M O S (Complementary Metal-Oxide Semiconductor) イメージセンサなどが用いられる。なお、本実施形態では、上述したように透過型表示部 2 2 において赤色光、緑色光および青色光の透過濃度を調整するようにしているので、撮像素子としては、赤色フィルタ、緑色フィルタおよび青色フィルタからなるカラーフィルタを備えた撮像素子が用いられる。

20

【 0 0 6 7 】

顕微鏡制御装置 4 0 は、C P U (Central Processing Unit) やストレージデバイスを備えたコンピュータから構成されるものである。

【 0 0 6 8 】

顕微鏡制御装置 4 0 は、具体的には、図 1 に示すように、透過型表示部 2 2 の各パターンの表示を制御することによって、各色の光の透過濃度を制御する透過濃度制御部 4 1 と、ステージ駆動部 6 2 を制御するステージ制御部 4 2 とを備えている。

30

【 0 0 6 9 】

透過濃度制御部 4 1 は、ユーザが入力装置 5 5 を用いて設定入力した所望の位相差画像の種類の情報を受け付け、その情報に基づいて、透過型表示部 2 2 の各パターンの表示を制御するものである。具体的には、たとえばユーザは、入力装置 5 5 を用いて位相差画像のベースとなる色の設定入力を行う。位相差画像のベースとなる色とは、透過型表示部 2 2 における透過濃度を相対的に高くする色のことである。たとえば位相差画像のベースとなる色を赤色としたい場合には、その情報がユーザによって設定入力される。透過濃度制御部 4 1 は、ユーザによって設定入力された色の情報に基づいて、赤色の透過濃度が相対的に高くなるように透過型表示部 2 2 を制御する。具体的には、緑色調整パターン 2 2 b および青色調整パターン 2 2 c を表示することなく、赤色調整パターン 2 2 a のみを表示するように制御する。このように、透過濃度制御部 4 1 は、ユーザによって設定入力された位相差画像のベースとなる色の情報に応じて、透過型表示部 2 2 における各パターンの表示を制御する。

40

【 0 0 7 0 】

また、顕微鏡制御装置 4 0 は、撮像部 3 0 の撮像素子を駆動制御し、撮像素子から出力された画像信号を取得し、その画像信号に基づいて表示装置 5 0 に画像を表示させるものである。

50

【0071】

顕微鏡制御装置40には、入力装置55と表示装置50とが接続されている。入力装置55は、キーボードやマウスなどの入力デバイスを備えたものであり、ユーザによる設定入力を受け付けるものである。特に、本実施形態における入力装置55は、上述したように透過型表示部22において相対的に透過濃度を高くする色の情報の設定入力を受け付けるものである。本実施形態においては、入力装置55が、本発明の波長選択受付部に相当するものである。

【0072】

表示装置50は、液晶ディスプレイなどの表示デバイスから構成されるものであり、撮像部30において撮像された画像などを表示するものである。なお、表示装置50と入力装置55とをタッチパネルによって構成することにより兼用するようによい。

10

【0073】

次に、本実施形態の顕微鏡システムの作用について、図6に示すフローチャートを参照しながら説明する。

【0074】

まず、観察対象Sおよび培養液Cが収容された培養容器60がステージ61上に設置される(S10)。次に、ユーザが、入力装置55を用いて位相差画像のベースとなる色を選択して設定入力する(S12)。

【0075】

ユーザによって設定入力された位相差画像のベースとなる色の情報は透過濃度制御部41に入力され、透過濃度制御部41は、入力された色の情報に基づいて、透過型表示部22に各色の調整パターンを表示させる(S14)。

20

【0076】

そして、照明光照射部10からリング状照明光が出射され、培養容器60の観察対象Sに照射される(S16)。

【0077】

観察対象Sを透過した光は、第2の対物レンズ21によって集光されて透過型表示部22および位相板23に入射される。

【0078】

透過型表示部22に表示された調整パターンの色と位相板23の作用によって観察対象Sの位相差画像が形成され、さらにその位相差画像を形成する波長以外の波長の色の明視野画像が形成される。そして、これらの画像が結像レンズ24によって撮像部30に結像されることによって、位相差画像のコントラストと明視野画像の色特性を有する観察対象Sの画像が撮像部30によって撮像される(S18)。

30

【0079】

撮像部30によって撮像された画像信号は、顕微鏡制御装置40に出力され、顕微鏡制御装置40は、入力された画像信号に基づいて、表示装置50に観察対象Sの画像を表示させる(S20)。

【0080】

上記実施形態の顕微鏡システムによれば、位相差計測用照明光の照射によって観察対象Sを透過した光を透過型表示部22に入射させ、観察対象Sを透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを透過型表示部22に表示させ、上記パターンが表示された透過型表示部22を透過した光を検出することによって観察対象Sを撮像する。これにより、相対的に透過濃度が高い波長の光については、上記パターンによって減光されるので位相差観察と同等の効果を得ることができ、相対的に透過濃度が低い波長の光については、上記パターンによって減光されないため明視野観察と同等の効果を得ることができる。すなわち、透過型表示部22を透過した光を検出することによって、観察対象Sの色とコントラストの両方が明瞭な画像を撮像することができる。

40

【0081】

なお、上記実施形態においては、図5I~図5VIに示したような種々のパターンを透過

50

型表示部 2 2 に表示可能としたが、必ずしもこれらの全てのパターンを表示可能としなくてもよく、いずれかのパターンの表示に固定するようにしてもよい。その場合、相対的に波長が短い光に対する透過濃度の方が、相対的に波長が長い光に対する透過濃度よりも高いパターンを表示することが望ましい。波長が短い光の方が回折角が小さく、コントラストをより明確にすることができるので、この光の透過濃度を高くし、位相差画像に対する寄与度を大きくすることが望ましい。

【 0 0 8 2 】

具体的には、青色光に対する透過濃度の方が赤色光および緑色光に対する透過濃度よりも高いパターンを表示することが望ましい。すなわち、図 5 IV に示すように、赤色調整パターン 2 2 a および緑色調整パターン 2 2 b を表示することなく、青色調整パターン 2 2 c のみを表示させることが望ましい。

10

【 0 0 8 3 】

また、上記実施形態においては、ユーザが位相差画像のベースとなる色の情報を設定入力するようにしたが、これに限らず、観察対象 S の種類の情報と透過型表示部 2 2 に表示させるパターンの種類の情報とを対応づけたテーブルを透過濃度制御部 4 1 に予め設定しておき、ユーザによって設定入力された観察対象 S の種類の情報に基づいて、透過型表示部 2 2 に表示させるパターンを制御するようにしてもよい。なお、観察対象 S の種類の情報としては、細胞の種類の情報やアルカリホスファターゼのような試薬の種類の情報などがある。

【 0 0 8 4 】

20

また、細胞の種類によって細胞内での光の散乱の程度が異なる場合があるので、細胞の種類の情報に応じて透過型表示部 2 2 に表示される各色のパターンの大きさを変更するようにしてもよい。具体的には、散乱が大きい細胞の場合ほど各色のパターンの径を大きくすればよい。

【 0 0 8 5 】

また、上記実施形態においては、赤色調整パターン 2 2 a と緑色調整パターン 2 2 b と青色調整パターン 2 2 c とを同心円状にそれぞれ異なる位置に表示させるようにしたが、これらのパターンの表示位置を同じ位置とし、ユーザにより設定入力された色の情報に基づいて、これらのパターンを切り替えて表示させるようにしてもよい。

【 0 0 8 6 】

30

また、上記実施形態において、ユーザによる位相差観察モードと明視野観察モードの設定入力を可能とし、位相差観察モードが設定入力された場合には、上述したように透過濃度制御部 4 1 が透過型表示部 2 2 に所望のパターンを表示させ、観察対象 S の位相差画像を撮像部 3 0 によって撮像するようにし、明視野観察モードが設定された場合には、透過濃度制御部 4 1 が透過型表示部 2 2 には何も表示せず、観察対象 S の明視野画像を撮像部 3 0 によって撮像するようにしてもよい。

【 0 0 8 7 】

また、上記実施形態においては、赤色調整パターン 2 2 a、緑色調整パターン 2 2 b および青色調整パターン 2 2 c を透過型表示部 2 2 に表示させるようにしたが、すなわち R G B (R e d、G r e e n、B l u e) の光を吸収するパターンを表示させるようにしたが、シアン、マゼンダおよびイエローの光を吸収するパターンを表示させるようにしてもよい。その場合、撮像素子としては、シアン、マゼンダおよびイエローのカラーフィルタを有する補色系の撮像素子を用いるようにすればよい。

40

【 0 0 8 8 】

また、上記実施形態においては、観察対象に対して白色光からなる位相差計測用照明光を照射するようにしたが、これに限らず、たとえば細胞などの観察対象に対して励起光からなる位相差計測用照明光を照射し、細胞から発生せられる蛍光や試薬から発生せられる蛍光などを検出して観察対象の蛍光画像を撮像するようにしてもよい。

【 符号の説明 】

【 0 0 8 9 】

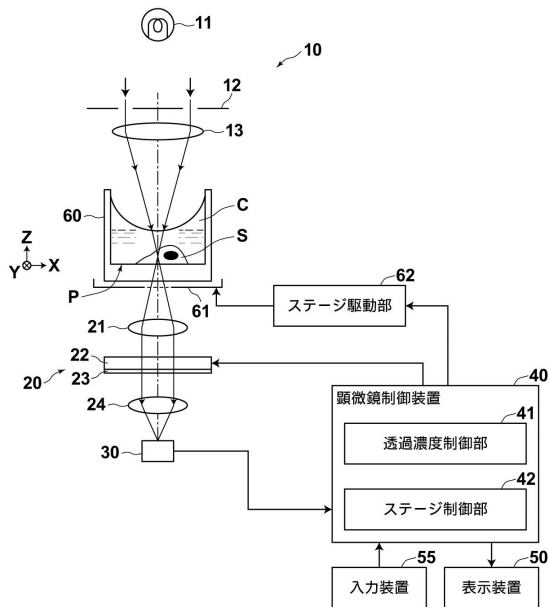
50

- 1 0 照明光照射部
- 1 1 白色光源
- 1 2 スリット板
- 1 2 a スリット
- 1 2 b 遮光板
- 1 3 第 1 の対物レンズ
- 2 0 結像光学系
- 2 1 第 2 の対物レンズ
- 2 2 透過型表示部
- 2 2 a 赤色調整パターン
- 2 2 b 緑色調整パターン
- 2 2 c 青色調整パターン
- 2 3 位相板
- 2 3 a 位相リング
- 2 4 結像レンズ
- 3 0 撮像部
- 4 0 顕微鏡制御装置
- 4 1 透過濃度制御部
- 4 2 ステージ制御部
- 5 0 表示装置
- 5 5 入力装置
- 6 0 培養容器
- 6 1 ステージ
- 6 2 ステージ駆動部

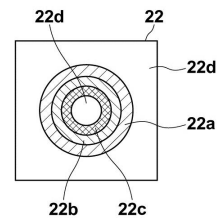
10

20

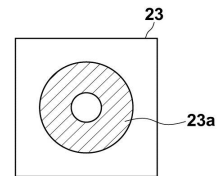
【 図 1 】



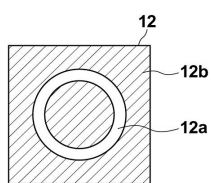
【 図 3 】



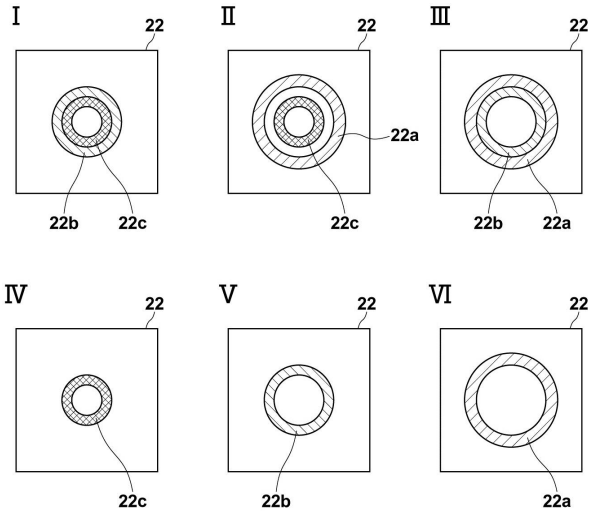
【 図 4 】



【 図 2 】



【図5】



【図6】



フロントページの続き

- (56)参考文献 特開平04 - 254815 (JP, A)
特表2006 - 512620 (JP, A)
特開2011 - 007598 (JP, A)
特開2003 - 121749 (JP, A)
特開平10 - 206740 (JP, A)
特開2011 - 248278 (JP, A)
英国特許出願公開第648801 (GB, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G02B 21/00 - 21/36