

(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
2017年12月21日(21.12.2017)



(10) 国際公開番号

WO 2017/217325 A1

(51) 国際特許分類:

H04N 5/232 (2006.01) G06T 3/40 (2006.01)
G02B 21/00 (2006.01) G01N 21/64 (2006.01)
G06T 1/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2017/021420

(22) 国際出願日: 2017年6月9日(09.06.2017)

(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 2016-118225 2016年6月14日(14.06.2016) JP

(71) 出願人: 国立研究開発法人理化学研究所
(RIKEN) [JP/JP]; 〒3510198 埼玉県和光市広
沢2番1号 Saitama (JP).

(72) 発明者: 宮代 大輔 (MIYASHIRO, Daisuke);
〒3510198 埼玉県和光市広沢2番1号 国立
研究開発法人理化学研究所内 Saitama (JP).
中野 明彦 (NAKANO, Akihiko); 〒3510198 埼

玉県和光市広沢2番1号 国立研究開発法
人理化学研究所内 Saitama (JP).

(74) 代理人: 佐貫 伸一, 外(SANUKI, Shinichi et al.);
〒1030004 東京都中央区東日本橋三丁目4番1
0号 アクロポリス21ビル8階 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, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, KE, KG, KH,
KN, KP, KR, KW, 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,

(54) Title: DATA RECOVERY DEVICE, MICROSCOPE SYSTEM, AND DATA RECOVERY METHOD

(54) 発明の名称: データ復元装置、顕微鏡システム、およびデータ復元方法

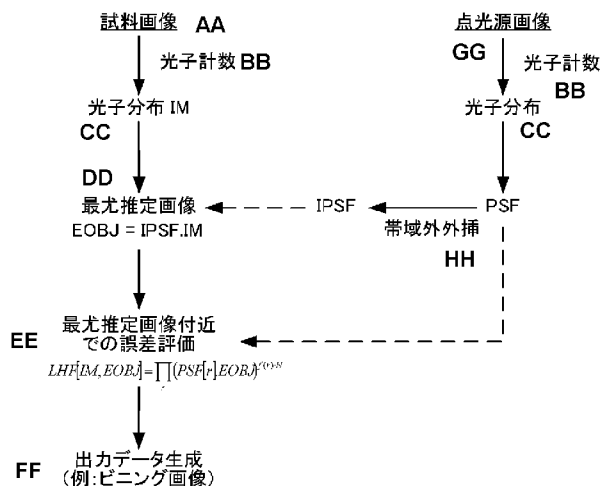


FIG. 1:

AA Sample image
BB Photon count
CC Photon distribution
DD Maximum likelihood estimation
image
EE Error evaluation near maximum
likelihood estimation image
FF Output data generation (e.g.
binning image)
GG Point light source image
HH Out-of-band extrapolation

(57) Abstract: This data recovery device is provided with: an acquiring means which acquires a photon detection number distribution of an image obtained from an image capturing optical system; a restoring means which acquires an estimation image from the photon detection distribution by using a pre-obtained IPSF (inverse function of point spread function (PSF)); an evaluation value calculating means which calculates an evaluation value indicating that the estimation image is confirmed as the right answer image with respect to the estimation image and a plurality of images similar to the estimation image; and an output means which generates and outputs a physical parameter in which the evaluation value is equal to or greater than an attentive level.

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：

- 一 国際調査報告（条約第21条(3)）

(57) 要約：データ復元装置は、撮像光学系から得られる像の光子検出数分布を取得する取得手段と、あらかじめ求められているIPSF（点像分布関数PSFの逆関数）を用いて前記光子検出分布から推定画像を取得する復元手段と、前記推定画像および当該推定画像と類似する複数の画像について、当該画像が正解画像である確からしさを表す評価値を算出する評価値算出手段と、評価値が有意水準以上となるような物理パラメータを生成し出力する出力手段と、を備える。

明 細 書

発明の名称：

データ復元装置、顕微鏡システム、およびデータ復元方法

技術分野

[0001] 本発明は、デコンボリューションによるデータ復元技術に関する。

背景技術

[0002] 顕微鏡などにおいて測定される画像（静止画像と動画像を含む）は、観察対象物体の空間構造に回折ボケが生じた画像となる。測定画像（IM）と真の物体（OBJ）は、撮影光学系の点像分布関数（PSF）を用いて、

$$\text{測定画像 (IM)} = \text{点像分布関数 (PSF)} * \text{物体 (OBJ)}$$

と表せる。ここで「*」は畳み込みを表す。

[0003] したがって、測定画像（IM）にPSFの逆畳み込み核（IPSF）を畳み込むことにより、元の超解像画像を得ることができる（ $\text{IPSF} * \text{IM} = \text{IPSF} * \text{PSF} * \text{OBJ} = \text{OBJ}$ ）。これがデコンボリューション法の原理である。

[0004] 非特許文献1に示すような顕微鏡画像に対するデコンボリューション法において、顕微鏡の対物レンズの透過帯域外の情報を復元するためには、大きなSN比が要求される。このため、従来のデコンボリューションソフトでは、ノイズ対策のために、帯域外の情報をフィルタにより除去したり漸近法を用いたりすることで復元画像を得ている。

[0005] また、超解像画像を得る方法として、デコンボリューション法以外に、SIM（structured illumination microscopy）、Localization法、エアリースキャン法（非特許文献2－4，特許文献1－2参照）などがある。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特許第3837495号公報

特許文献2：特許第5412394号公報

特許文献3：特開2004－93721号公報

非特許文献

- [0007] 非特許文献1 : Agard D A and Sedat J W 1983 Nature 302 676-81
非特許文献2 : Heintzmann R and Cremer C 1999 Proc. SPIE 3568 185-96
非特許文献3 : Gustafsson M G L 2000 J. Microsc. 198 82-7
非特許文献4 : Rust M J et al 2006 Nat. Methods 3 793-5
非特許文献5 : Harris, James L. "Diffraction and Resolving Power." JOSA 54.7 (1964): 931-936.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0008] しかしながら、非特許文献1のデコンボリューション法では、帯域外の情報をフィルタにより除去しているため、復元可能な微細構造には限界がある。また、推定法も点推定のため、信頼性が曖昧である。
- [0009] 非特許文献2-4や特許文献1-2に記載の方法によると、空間的分解能は改善するものの時間分解能との両立が困難である。
- [0010] このような問題を考慮して、本発明は、信頼性を指標によって定量的に評価可能であり空間分解能を従来よりもさらに向上させた超解像化を実現することを目的とする。

課題を解決するための手段

- [0011] 本発明の第一の態様は、
撮像光学系から得られる像の光子検出数分布を取得する取得手段と、
あらかじめ求められているIPSF（点像分布関数PSFの逆関数）を用いて前記光子検出分布から推定画像を取得する復元手段と、
前記推定画像および当該推定画像と類似する複数の画像について、当該画像が正解画像である確からしさを表す評価値を算出する評価値算出手段と、
評価値が有意水準以上となるような物理パラメータを生成し出力する出力手段と、
を備えることを特徴とするデータ復元装置である。

- [0012] ここで、前記 P S F は点光源を撮影した画像から生成され、前記 I P S F は、前記 P S F および前記点光源を撮影した画像から帯域外外挿を用いて生成される、ことが好ましい。撮影画像には光学系の透過帯域外の周波成分は含まれないが、透過帯域内の情報から外挿によって透過帯域外の周波成分を得ることができる。
- [0013] 上述の光子検出数分布は、光子計数によって取得することが好ましい。すなわち、前記取得手段は、光子計数可能に撮影された複数の画像のそれぞれから光子の検出数を求めて前記光子検出数分布を得ることが好ましい。特に、単一光子条件で撮影された複数の画像のそれぞれから、輝度分布の中心に 1 つの光子が検出されたものとして前記光子検出数分布を得ることが好ましい。このような光子検出数分布を得るために、前記取得手段は、イメージインテンシファイアと撮像装置を含む顕微鏡によって撮影された画像を取得し、それに基づいて光子検出数分布を得るとよい。
- [0014] なお、撮像装置によって得られる輝度も光子検出数の分布を表すといえるので、撮影画像の輝度値を光子検出数分布として用いても構わない。
- [0015] 本発明における前記評価値は、推定画像が正解画像であると仮定したときに、前記光子検出数分布が得られる確率を表す値とすることができる。誤差評価は、たとえば、最尤推定法、ベイズ推定法、最小二乗法などにより行うことが考えられ、評価値は誤差評価方法に応じた値を用いればよい。
- [0016] 本発明における物理パラメータの例として、観察対象物を表す画像、形状および位置、エッジが挙げられる。観察対象物の画像を上記物理パラメータとして出力する場合には、前記出力手段は、前記推定画像およびそれに類似する複数の画像に基づいてビニング処理を行い評価値が有意水準以上となる画像を生成して出力するとよい。なお、出力とは表示装置に表示することだけでなく、記憶装置に記憶することや、通信装置によって送信することを含む。
- [0017] 本発明は、イメージインテンシファイアと撮像装置を含む顕微鏡と、上記のデータ復元装置とを含む顕微鏡システムと捉えることができる。ここで、

顕微鏡は、光子計数可能なように高速かつ高分解能で撮影できるものであることが望ましい。

[0018] なお、本発明は、上記手段の少なくとも一部を備えるデータ復元装置（画像復元装置）または顕微鏡システムとして捉えることもできる。また、本発明は上記の処理の少なくとも一部を含むデータ復元方法（画像復元方法）または顕微鏡システムにおける測定方法として捉えることもできる。また、本発明は、この方法をコンピュータに実行させるためのコンピュータプログラム、あるいはこのコンピュータプログラムを非一時的に記憶したコンピュータ可読記憶媒体として捉えることもできる。上記手段および処理の各々は可能な限り互いに組み合わせて本発明を構成することができる。

発明の効果

[0019] 本発明によれば、信頼性を指標によって定量的に評価可能であり、かつ空間分解能を従来よりもさらに向上させた超解像化が可能になる。

図面の簡単な説明

[0020] [図1]図1は、本手法による画像復元処理の概要を説明する図である。

[図2]図2は、光子検出を説明する図である。

[図3]図3（A）は撮影画像の検出光子分布IMを示す図であり、図3（B）はその復元結果IPSF.IMを示す図である。この図は、緑色蛍光タンパク質GFPで標識したCOP2小胞上の酵母SEC24の1つを拡大して示している（1ピクセル＝39nm）。

[図4]図4は、ビニング処理と光子数のばらつきを説明する図である。

[図5]図5（A）（B）は、区間推定を説明する図である。

[図6]図6（A）は復元結果IPSF.IMを示す図であり、図6（B）はその復元結果IPSF.IMにビニング処理を施した結果を示す図である。この図は、緑色蛍光タンパク質GFPで標識したCOP2小胞上の複数の酵母SEC24を示している（1ピクセル＝195nm）。

[図7]図7は、本実施形態に係る顕微鏡システムの構成を示す図である。

[図8]図8は、PSFおよびIPSFの決定処理の流れを示すフローチャート

である。

[図9]図9は、測定および画像復元処理の流れを示すフローチャートである。

発明を実施するための形態

[0021] 以下、図面を参照しながら、本発明に係る顕微鏡画像の超解像化手法について説明する。

[0022] <概要>

デコンボリューションは回折ボケによって損なわれた高周波数成分を戻す処理といえるので、高周波ノイズが混じった画像にデコンボリューションを施すとノイズが強調される。そこで、従来技術では、ノイズ対策のために帯域外の情報をフィルタにより除去したり漸近法を用いたりしている。このような手法では情報が棄てられてしまうので、十分な高解像化が行えない。そこで、本発明では、帯域外の情報を棄てずに超解像化を行う。

[0023] 本手法では、高精度な測定システムを用いて測定画像を得る。ここでいう高精度な測定システムとは、光子計数が可能なシステムを指す。特に、単一光子条件、すなわち光子の像が重ならず各光子を観察できる条件での測定を行うことが好ましい。

[0024] 図1は、本発明にかかる画像復元手法の全体の流れを示す図である。まず、上述のような高精度な測定システムを用いて、観察目的の試料（生体試料等）と光学特性評価用試料（Q-Dot（量子ドット）などの微小点光源）をそれぞれ撮影する。ここでは、それぞれの画像を、試料画像および点光源画像と称する。

[0025] 図2は撮影画像の一部分（1光子）を拡大した部分を示す。撮影画像は、イメージインテンシファイアによって1光子が増幅された結果であるので、その中心位置に1つの光子が検出されたとカウントできる。高速で撮影した時系列画像についてこの処理を行うことで、3次元空間+時間の4次元の空間上での光子の検出頻度が得られる。なお、以下では撮影画像から得られる光子検出数分布のことも単に撮影画像と称する。

[0026] この過程でイメージインテンシファイアの増幅の揺らぎとカメラのノイズ

が除去されるため、通常のカメラの撮影画像よりもSN比が向上する。さらに検出光子数の絶対値が得られる。

[0027] まず、PSF (Point Spread Function) を、点光源画像の光子分布を用いて求める。次に、IPSF (Inverse PSF) を、PSFと点光源画像の光子分布を用いて求める。ここで、点光源画像には撮像系の透過帯域外の成分が含まれないが、視野の大きさが有限であるという条件に基づいて、透過帯域内の情報から外挿によって透過帯域外の情報を得ることができる（非特許文献5）。本手法では、このように帯域外外挿を行ってIPSFを決定する。

[0028] 試料画像の光子分布に対してIPSFを畳み込むことにより、試料の正解画像を復元できる。図3（A）は試料画像IM（光子検出分布）の例を示し、図3（B）はその復元結果（IPSF*IM）を示す。復元結果は、増幅された高周波のノイズで満たされている。なお、図3（A）（B）はいずれも、緑色蛍光タンパク質GFPで標識したCOP2小胞上の酵母SEC24の1つを拡大して示している。

[0029] 図4に示すように、検出光子数が有限の場合には、検出光子数には確率的なばらつきが生じ、これが高周波ノイズの主要な成分である。また、同じ光子数でもばらつき（揺らぎ）はピクセルサイズに依存して変化する。この揺らぎがデコンボリューションにより増幅され、図3（B）のような結果となる。

[0030] 本手法においては、光子数を求めているので、それに基づく厳密な誤差評価を行う。誤差評価のための具体的な評価関数は目的に応じて決定すればよいが、ここでは尤度を評価関数として用いる例を説明する。この場合、評価関数（尤度関数）LHFは次のように定義できる。

[数1]

$$LHF[IM, EOBJ] = \prod_r (PSF[r]EOBJ)^{f(r) \cdot N}$$

[0031] ここで、 $f(r)$ は、画像IMにおいて位置 r で検出された光子数を全光子数 N で割った値（すなわち $IM = \{f(r)\}$ ）、 $EOBJ$ は推定画像である。 $PSF[r]$ 、 $EOBJ$ は、推定画像 $EOBJ$ が正解画像であると仮定したときに位置 r において光子が検出され

る確率を表す。尤度関数LHFは、推定画像E0BJが正解画像であると仮定したときに測定画像IMが得られる確率を表す。

[0032] 評価値（尤度）を最大とする推定画像E0BJ（最尤推定値）は $IPSF * \{f(r)\}$ （図3（B））である。PSF[r].E0BJは総和が1なので、イェンゼンの不等式から、 $f(r)=PSF[r].E0BJ$ の時のみ尤度関数LHFが最大値を取ることを示せる。

[0033] さらに、評価関数LHFは上に凸な関数なので、最尤推定値の周りの推定画像について尤度を計算すると誤差を評価できる。図5（A）（B）は、最尤推定値付近での推定画像の評価値を表す。簡単のために、図5（A）は推定画像E0BJが2画素の場合、図5（B）は推定画像E0BJが3画素の場合を示すが、推定画像E0BJは実際にはより多数の画素（たとえば、 $100^3 \sim 1000^3 = 10^6 \sim 10^9$ 画素）からなる。想定される推定画像の全てに対して評価値を求めると計算量・データ量が多くなるが、最尤推定値付近のみの評価値を求めることで計算量およびデータ量を削減できる。

[0034] 図5（A）に示すように有意水準を決めれば区間推定が可能であり、その区間を表現する画像を直感的に理解しやすい形で出力する。具体的な一例として、信頼できる水準までビニング（隣り合う画素を加算して画素を大きくする）すれば、信頼できる画像が得られる。たとえば、3画素からなる復元画像がいずれも有意水準以上でない場合（図5（B））でも、ビニングによって2画素にすることで有意水準以上の復元画像（図5（A））を得ることができる。図6（A）は推定画像E0BJを示し、図6（B）は適当な有意水準を与えて信頼できる水準までビニングした結果の画像である。ビニングによってピクセルあたりの光子数を十分大きくすることで、高信頼で高分解能な画像が得られる。

[0035] 最尤推定値（最尤推定元画像）の周りにおける推定画像とその評価値を関連付けたデータを保存しておけば、有意水準を変更した場合の画像を容易に生成できる。また、ここでは最終的な出力を画像形式としているが、復元情報をどのように出力するかは任意である。

[0036] 本手法によれば、従来のデコンボリューションでは諦められていた帯域外

外挿による復元を実現している。フィルタ処理による情報の欠落が無くなるため、元データと復元後のデータが1対1変換となり、従来のような曖昧さが無くなる。さらに最尤推定値の近傍において誤差評価を行うことで、推定の信頼性を定量的に議論できる。

[0037] なお、本手法においては、実際の数値計算においては計算精度も厳密に決めて、近似計算は行わない。これは誤差評価を精密に行うためである。そのため、計算量が従来よりも大きくなるため、並列計算や対称性を利用した計算量低減を行う。

[0038] <装置構成>

本実施形態における顕微鏡は単一光子条件で高速かつ高分解能に撮影を行う必要がある。単一光子条件とは、1回の照射に対して検出される光子が1個以下であるという条件である。このような測定装置として、高速撮影可能な共焦点スキャナ顕微鏡システム（特許文献3参照）が挙げられる。ここでは、その構成を簡単に説明する。

[0039] 図7は、本実施形態に係る共焦点スキャナ顕微鏡システムの概要構成を示す図である。共焦点スキャナ顕微鏡システムは、大略、マイクロレンズディスク付きのニポウディスク型スキャナユニット10、顕微鏡ユニット20、分光ユニット30、カメラシステム40、制御装置50、表示装置60、解析装置70からなる。

[0040] スキャナユニット10は、主に、光源部、マイクロレンズディスク、ピンホールディスクを備える。光源部は、観察対象である物質をマーキングしている蛍光物質に対して励起波長を有する励起光を照射する装置である。光源部として、レーザ光源、超高圧水銀灯、キセノンランプ、紫外線LEDなど、観察対象から発せられる蛍光の種類に応じて単数または複数の光源が用いられる。

[0041] マイクロレンズディスクとピンホールディスクは対抗配置され、マイクロレンズディスク上の各マイクロレンズは、入射するレーザ光を対応するピンホールディスク上のピンホール上に集光する。マイクロレンズアレイによる

集光によってピンホールディスクを通過する光量は大幅に向上する。また、ピンホール以外のディスク表面での反射光（ノイズ光）が減少し、SN比も向上する。ピンホールディスクのピンホールから出射されたレーザ光は、顕微鏡ユニット20を介して、試料Sを励起する。試料Sから出た蛍光は再び顕微鏡ユニット20を介してスキャナユニット10のピンホールディスクを通過し、ダイクロイックミラーで反射して観察光路系に導かれる。

[0042] 分光ユニット30は、ダイクロイックミラー等によって、蛍光に含まれる2つの光を分岐する。ここでは2つに分岐しているが、3つ以上に分岐してもよいし、分岐せずに1つの波長の光のみを撮影するようにしてもよい。なお、カメラシステム40は、分岐数に応じた数のイメージインテンシファイア41、リレーレンズ42、カメラ43で構成される。

[0043] イメージインテンシファイア41は、フォトンの検出信号を100倍から10000倍程度増幅することで、入力された微弱な光学像を増強された出力像として出力する。イメージインテンシファイア41の出力光は、リレーレンズ42により集光されてカメラ43に入射する。カメラ43は、例えばsCMOSを用いた高速・高感度のカメラである。カメラ43は、撮影画像を表す画像データを、制御装置50に出力する。イメージインテンシファイア41およびカメラ43はいずれも冷却によりノイズを抑制することが望ましい。

[0044] 制御装置50は、マイクロプロセッサや記憶装置などを含む通常のコンピュータであり、顕微鏡システム全体の制御を司る。制御装置50は、カメラ43から得られる画像データを解析装置70によって後から再構成処理するために記憶装置に蓄積する。表示装置60には、カメラ43から取得された画像や、測定中の動作状態を表す画面などが表示される。

[0045] <処理内容>

[PSFおよびIPSFの決定]

図8は、点像分布関数PSFおよびその逆関数IPSFの決定処理のフローチャートである。ステップS11において、Q-Dot（量子ドット）のような微小点光

源（評価用試料）を単一光子条件下で測定する。この際、たとえば、高速に Z 位置を変えて撮影することによって 3 次元画像を得る。この際、システムのノイズ特性の確率分布も測っておく。

[0046] 解析装置 70 は、ステップ S 12 において、それぞれの撮影画像から光子の検出位置を求める。撮影画像には図 2 に示すように、イメージインテンシファイアによって 1 光子が増幅されて拡がりを持つ領域が撮影される。そこで、解析装置 70 は、この領域の中心に 1 つの光子が検出されたものとして計数する。それぞれの撮影画像について光子を検出することで、光子の検出頻度の 3 次元分布が得られる。

[0047] 解析装置 70 は、ステップ S 13 において、点光源の撮影画像（光子分布）を用いて PSF を決定する。解析装置 70 は、ステップ S 13 において、PSF と点光源の撮影画像から、帯域外外挿によって IPSF を求める。上述したように、観測視野が有限の大きさしか持たないときは、透過帯域内のスペクトル情報を用いて、透過帯域外のスペクトル情報を得ることができる。PSF は代数的手法によって求めることができる。

[0048] 解析装置 70 は、以上のようにして求められた PSF および IPSF をメモリに記憶する。

[0049] [測定・復元処理]

図 8 は、測定対象物の測定処理および解析処理の流れを示すフローチャートである。

[0050] ステップ S 21 において、観察目的の試料（生体試料等）を単一光子条件下で測定する。この際、高速に Z 位置を変えて連続的に撮影することによって 3 次元画像を得る。

[0051] 解析装置 70 は、ステップ S 22 において、それぞれの撮影画像から光子の検出位置を求める。この処理は、ステップ S 12 と同様であるため詳しい説明は省略する。時刻 t_k における撮影画像を $I_k(x, y)$ としたときに、検出光子分布 $I'_k(x, y)$ は検出位置で値 1、それ以外の位置で値 0 とする。

[0052] 以下では、ある時間範囲 $t - a$ から $t + a$ のあいだに撮影された画像を統

合したものを、時刻 t における 3 次元画像のスナップショットとして取り扱う。具体的には、次のようにして時刻 t における光子の 3 次元分布 $IM = f(x, y, z)$ を得る。

[数2]

$$IM = f(x, y, z) = \frac{1}{N} \sum_{t-a < t_k < t+a} I'_k(x, y)$$

ただし、 N は当該期間中の全検出光子数：
$$\sum_{t-a < t_k < t+a, \text{ for all } x', y'} I'_k(x', y')$$

[0053] ここで時間 a は試料の移動を無視できる短い時間とする。ただし、時間変化も考慮した 4 次元画像として扱ってもよいし、特定の平面のみの 2 次元画像として扱ってもよい。

[0054] 次にステップ S 2 3 において、解析装置 7 0 は、3 次元光子分布 $f(x, y, z)$ に対して IPSF を掛けることによって、推定画像 $OBJ_{EST} = \text{IPSF} \cdot \{f(x, y, z)\}$ を得る。後述するようにこのようにして復元される推定画像 OBJ_{EST} は、評価値（尤度）を最大にする最尤推定画像（最尤推定値）すなわち正解画像である確からしさが最も高い画像である。

[0055] ステップ S 2 4 において、解析装置 7 0 は最尤推定値付近の推定画像について、誤差評価のための評価値を算出する。誤差評価手法として、最尤法、ベイズ法、最小二乗法などを用いることができる。どの評価手法を用いるかをユーザが指定可能とすることも好ましい。以下では、最尤法を用いる場合を例に説明する。

[0056] 最尤法では、評価関数 LHF を次のように定義する。

[数3]

$$LHF[IM, EOBJ] = \prod_{x, y, z} (PSF[x, y, z] \cdot EOBJ)^{f(x, y, z) \cdot N}$$

[0057] PSF・EOBJ は総和が 1 なので、イエンゼンの不等式から $f(x, y, z) = \text{PSF} \cdot \text{EOBJ}$ の時のみ LHF が最大値を取る。すなわち、 $\text{EOBJ} = \text{IPSF} \cdot \{f(x, y, z)\} = OBJ_{EST}$ が最尤推定値である。

[0058] 解析装置 7 0 は、最尤推定値 OBJ_{EST} 付近の推定画像 OBJ'_{EST} について尤度（評

価値)を算出する。ここで、最尤推定値の「付近」は適宜定義すればよい。たとえば、最尤推定値 $0BJ_{EST}$ の各画素値に -2 から $+2$ の変動を加えた画像(5画素数個)を、最尤推定値の「付近」と定義することができる。もっとも、変動値の幅は画素ごとに異なってもよいし、複数の画素に与える変動値に相関を持たせてもよい。

[0059] なお、PSFの測定処理においてシステムのノイズ特性の確率分布も測っている場合には、ノイズ特性の確率分布も考慮して尤度関数を定義することが好ましい。これにより、尤度をより適正なものすることができる。

[0060] ステップS25において、解析装置70は、ステップS24, S25において求めた最尤推定値付近 $0BJ_{EST}$ の複数の推定画像 $0BJ'_{EST}$ をその尤度と関連付けて中間データとしてメモリに記憶する。このデータをもとに、区間推定や種々の表示形式でのデータ出力が可能となる。

[0061] ここでは、測定試料を画像形式で表示する場合を例に説明する。ステップS26において、解析装置70は、区間推定のための有意水準を決定する。たとえば、ユーザから有意水準の入力を受け付ける。

[0062] ステップS27において、解析装置70は、有意水準を満たすようにデータ加工を行う。測定試料を画像形式で表示する場合には、ビニング処理を施す。有意水準を満たすようなビニングは、どのように決定してもよい。単純には、1つの画素にまとめる画素数を徐々に増やしていき、尤度(評価値)が有意水準以上となる画像が初めて得られる時点を決すればよい。解析装置70は、ステップS28において、有意水準以上の尤度(評価値)を有する加工後のデータ(すなわち今の例ではビニング処理後の画像)を表示装置60に出力(表示)したりメモリに格納したりする。

[0063] <本実施形態の有利な効果>

本実施形態では、高速かつ高精度な測定系により得られた画像に基づき、帯域外外挿による復元が実現できる。フィルタ処理による情報の欠落が無くなるため、元データと復元後のデータは1対1変換となり従来のような曖昧さが無くなる。さらに、光子計数により光子数を求めているので、それに基

づいて厳密な誤差評価が可能である。推定値の近傍において誤差評価を行うことで、推定の信頼性を定量的に評価できる。この誤差評価によって、フィルタ処理によるノイズ除去を行わなくても信頼できる復元結果を得ることができる。

[0064] 最尤推定値付近の元画像候補と評価値（尤度）を中間データとして記憶しているので、有意水準を変更する場合にはデータ加工処理（S 27）のみを再度行えばよい。また、表示形式を変更する場合も、中間データを用いて処理を行えばよい。すなわち、有意水準や表示形式を簡単に変更できる。

[0065] <変形例>

本手法は、シーケンサーやマイクロアレイを用いた測定に好適に適用できる。DNAサンプルなどの観察対象物質が格子状に配置されている場合、輝点位置が常に同一である。輝点位置が離散的で定まっているので、本手法における計算処理の際の制約条件として用いることで、推定画像の次元数が減るので計算量が減るとともに復元精度を向上させることができる。また、本手法によって高分解能化が達成できれば、格子密度を上げることができ、並列処理能力の増大、基板の微小化、試料の微量化などの効果を得られ、測定のスループットが向上する。

[0066] 上記の実施形態では、単一光子条件下でイメージインテンシファイアを用いて光子計数を行っている。しかしながら、光子の検出分布が得られれば本手法は利用可能であり、必ずしも光子計数によって検出光子分布を得る必要はない。たとえば、イメージインテンシファイアを用いた計数を行わずに、カメラの輝度値から光子数の分布を得ればよい。

符号の説明

[0067] 10：スキャナユニット
20：顕微鏡ユニット
30：分光ユニット
40：カメラシステム
50：制御装置

60 : 表示装置

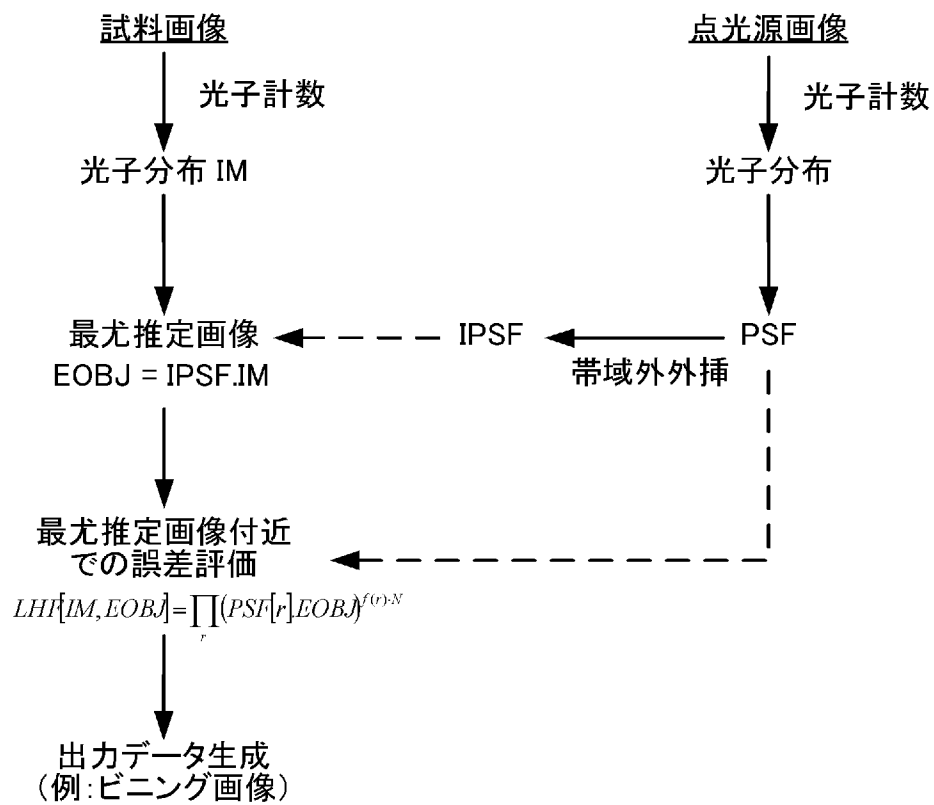
70 : 解析装置

請求の範囲

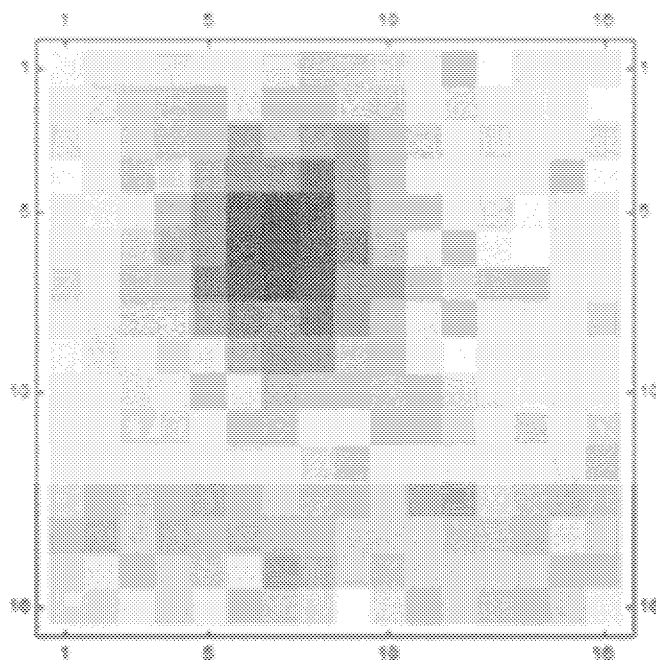
- [請求項1] 撮像光学系から得られる像の光子検出数分布を取得する取得手段と、
、
あらかじめ求められている I P S F（点像分布関数 P S F の逆関数）を用いて前記光子検出分布から推定画像を取得する復元手段と、
前記推定画像および当該推定画像と類似する複数の画像について、当該画像が正解画像である確からしさを表す評価値を算出する評価値算出手段と、
評価値が有意水準以上となるような物理パラメータを生成し出力する出力手段と、
を備える、データ復元装置。
- [請求項2] 前記 P S F は点光源を撮影した画像から生成され、
前記 I P S F は、前記 P S F および前記点光源を撮影した画像から帯域外外挿を用いて生成される、
請求項 1 に記載のデータ復元装置。
- [請求項3] 前記取得手段は、光子計数可能に撮影された複数の画像のそれぞれから光子の検出数を求めて前記光子検出数分布を得る、
請求項 1 又は 2 に記載のデータ復元装置。
- [請求項4] 前記取得手段は、単一光子条件で撮影された複数の画像のそれぞれから、輝度分布の中心に 1 つの光子が検出されたものとして前記光子検出数分布を得る、
請求項 3 に記載のデータ復元装置。
- [請求項5] 前記取得手段は、イメージインテンシファイアと撮像装置を含む顕微鏡によって撮影された画像から、前記光子検出数分布を得る、
請求項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載のデータ復元装置。
- [請求項6] 前記評価値は、推定画像が正解画像であると仮定したときに、前記光子検出数分布が得られる確率を表す値である、
請求項 1 から 5 のいずれか 1 項に記載のデータ復元装置。

- [請求項7] 前記物理パラメータは画像であり、
前記出力手段は、前記推定画像およびそれに類似する複数の画像に基づいてビニング処理を行い評価値が有意水準以上となる画像を生成して出力する、
請求項1から6のいずれか1項に記載のデータ復元装置。
- [請求項8] イメージインテンシファイアと撮像装置を含む顕微鏡と、
請求項1から7のいずれか1項に記載のデータ復元装置と、
を備える、顕微鏡システム。
- [請求項9] 撮像光学系から得られる像の光子検出数分布を取得する取得ステップと、
あらかじめ求められているIPSF（点像分布関数PSFの逆関数）を用いて前記光子検出分布から推定画像を取得する復元ステップと、
前記推定画像および当該推定画像と類似する複数の画像について、当該画像が正解画像である確からしさを表す評価値を算出する評価値算出ステップと、
評価値が有意水準以上となるような物理パラメータを生成し出力する出力ステップと、
を含む、データ復元方法。
- [請求項10] 請求項9に記載の方法の各ステップをコンピュータに実行させるためのプログラム。

[図1]

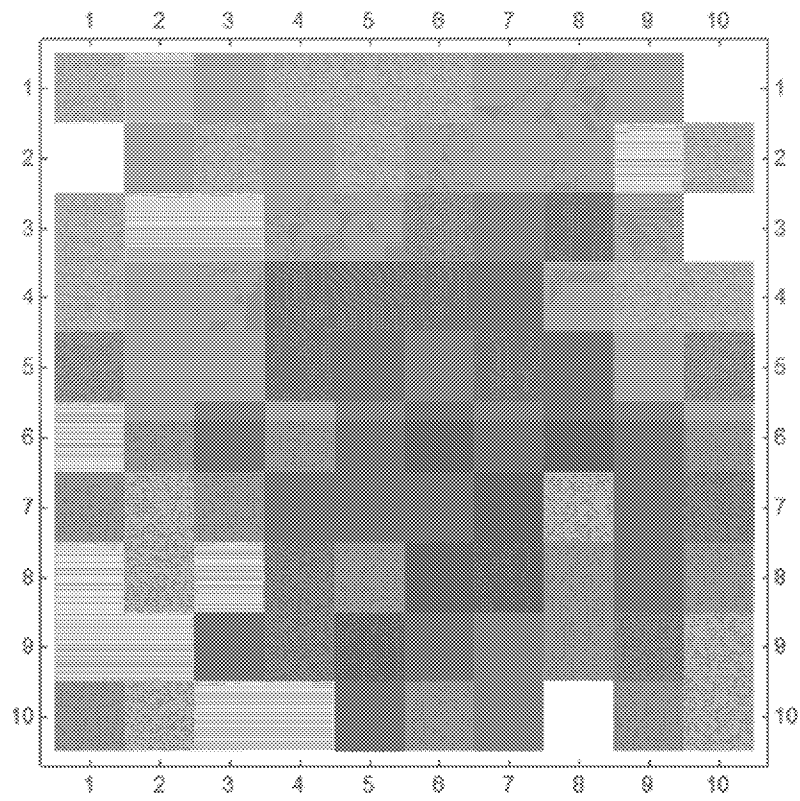


[図2]

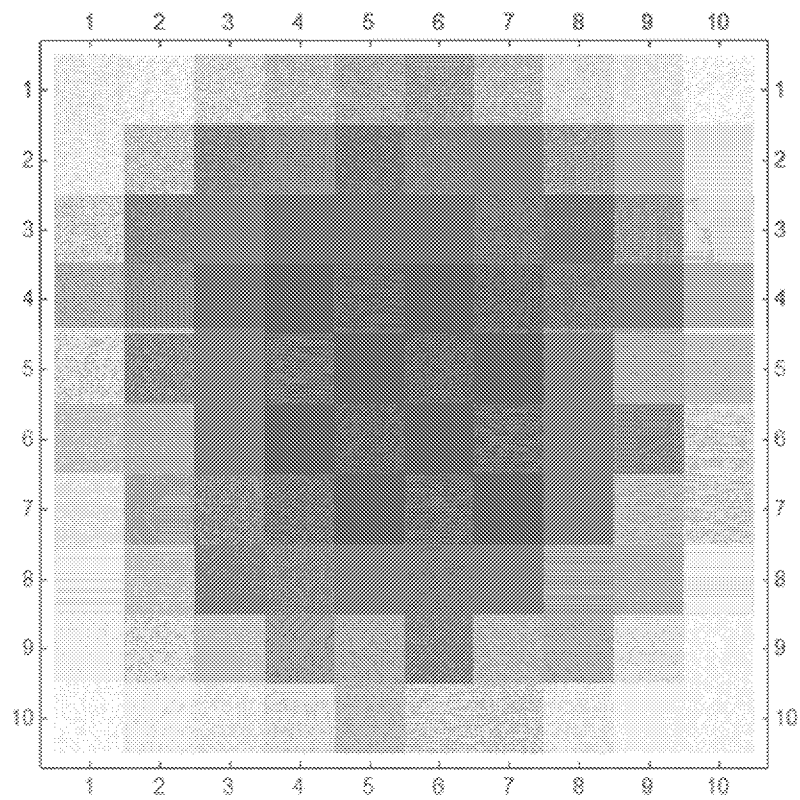


[図3]

(A)

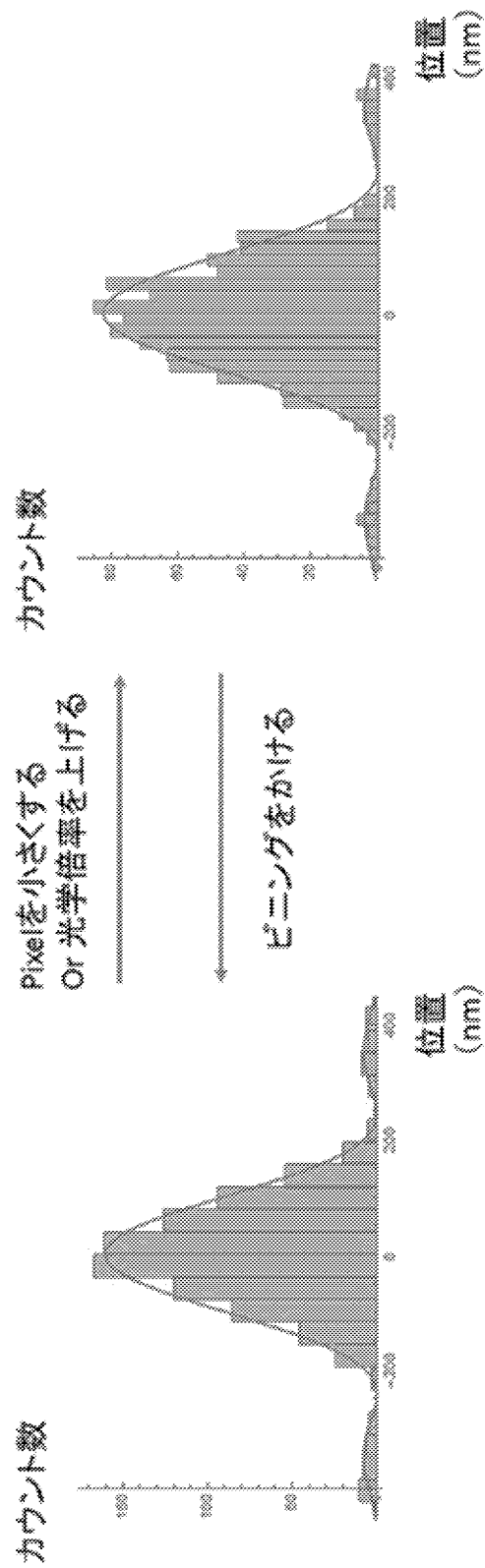


(B)



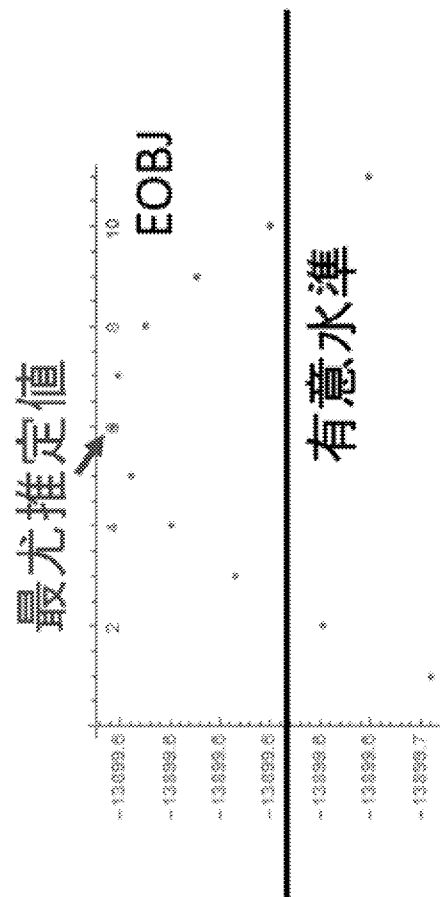
[図4]

乱数1000個によるシミュレーション
曲線が確率密度関数(=PDF)

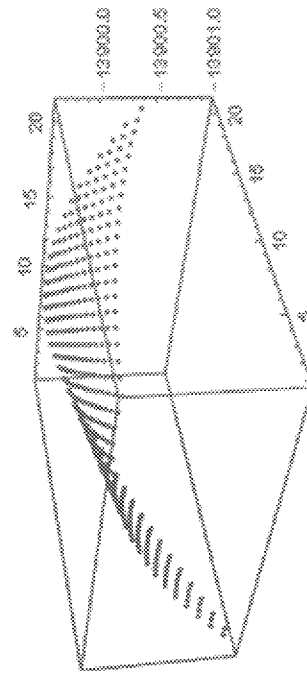


[図5]

(A) 2pixelの場合の尤度

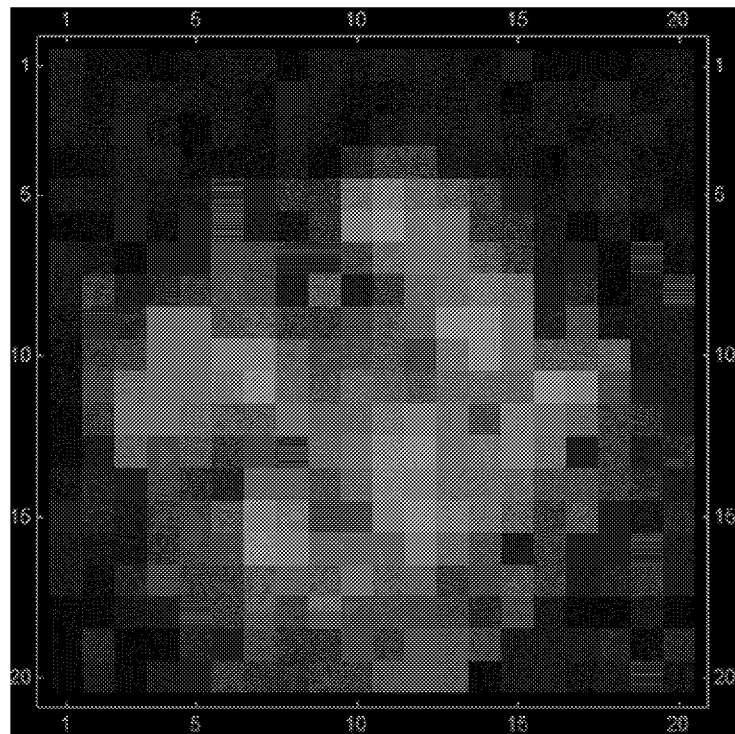


(B) 3pixelの場合の尤度

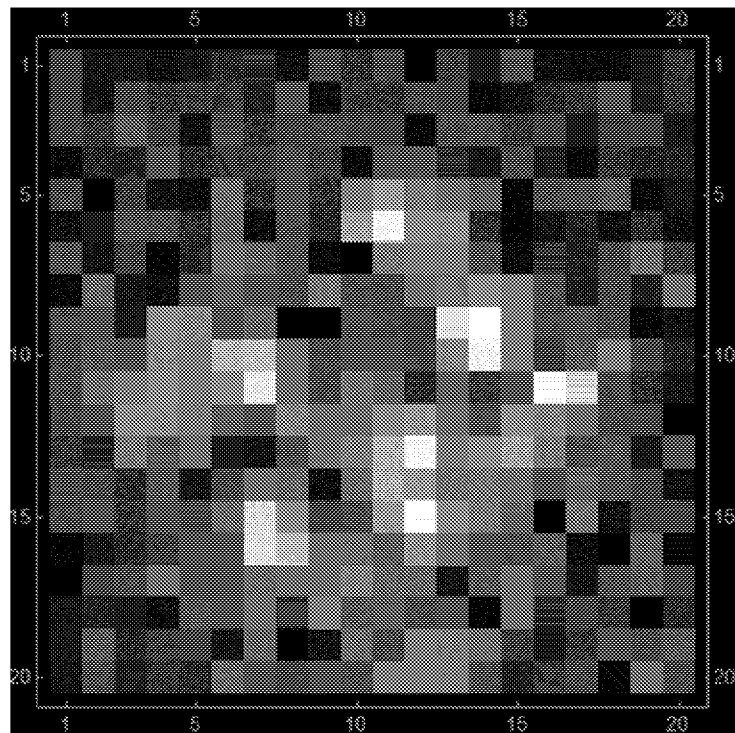


[図6]

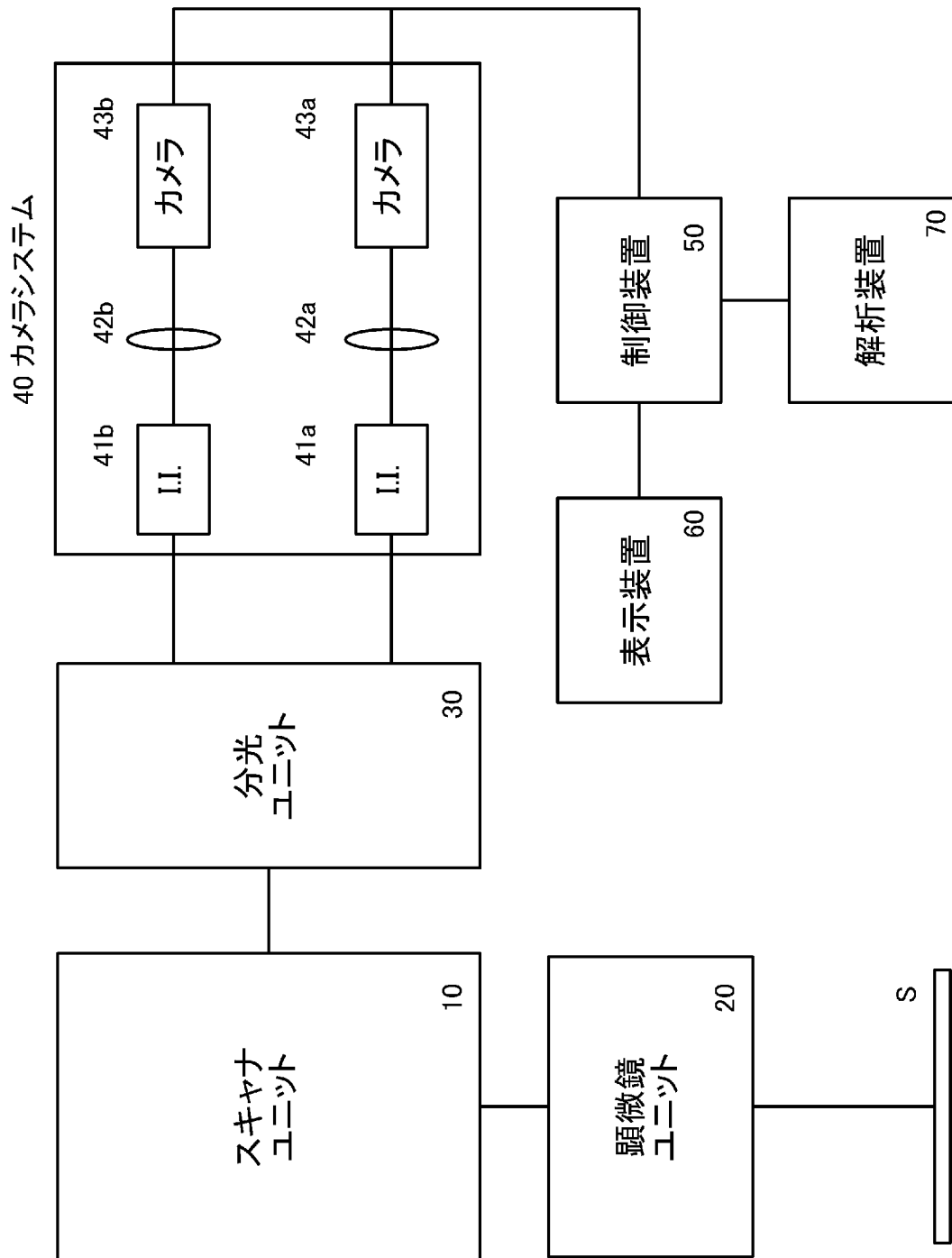
(A)



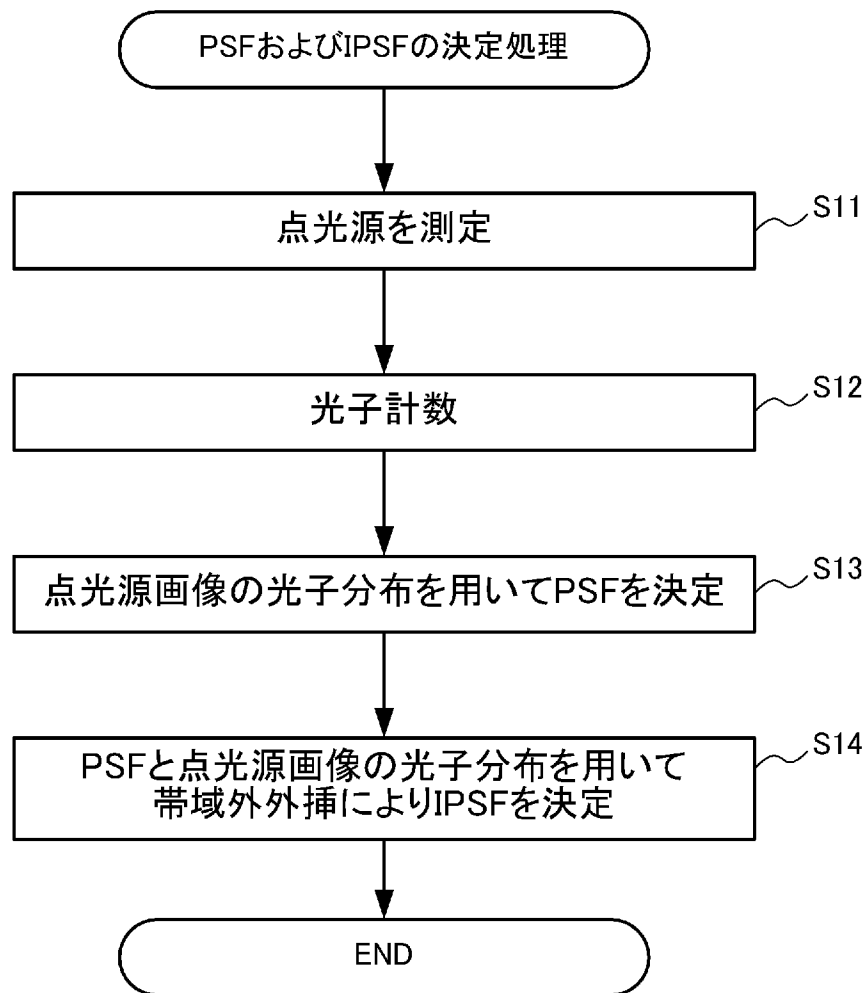
(B)



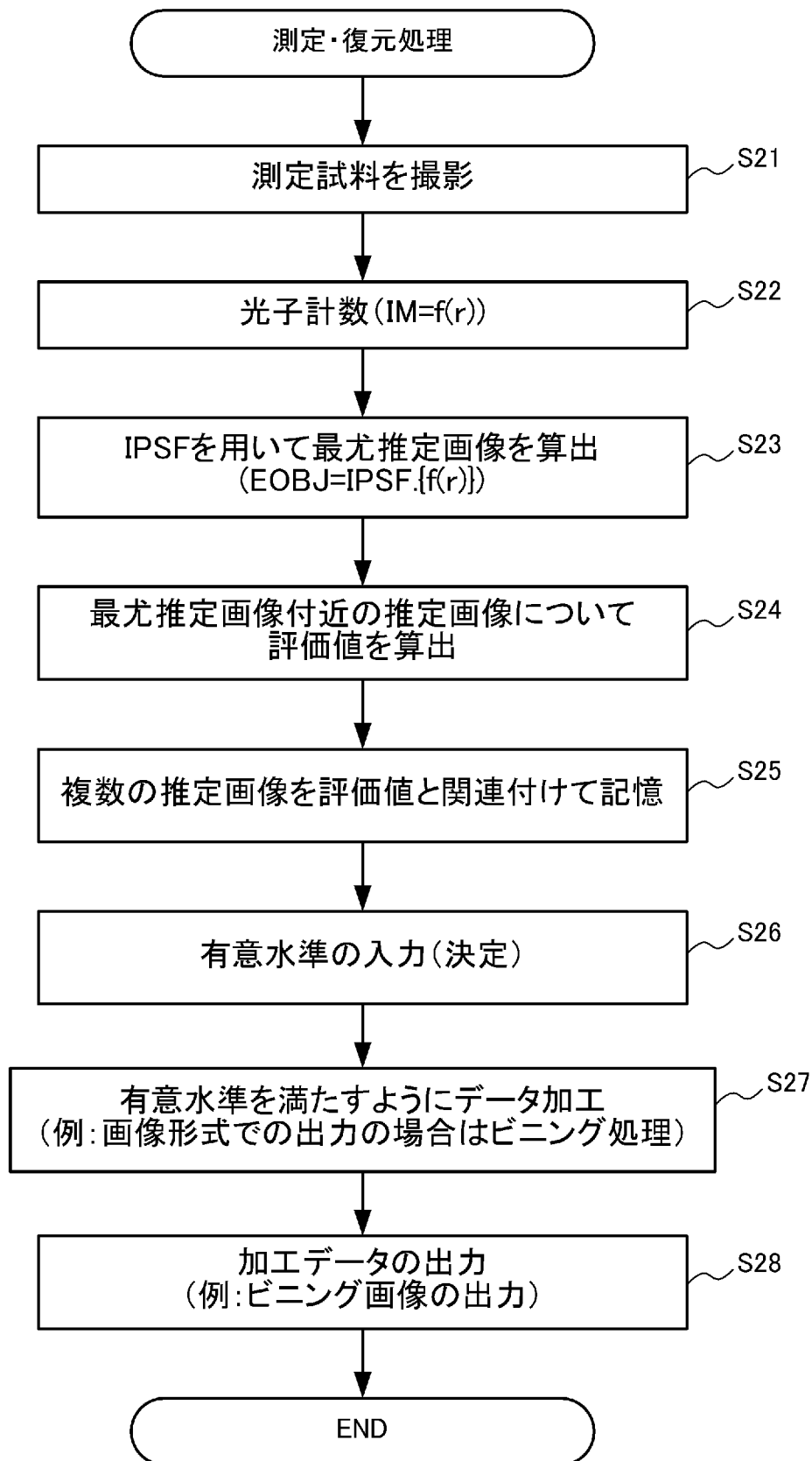
[図7]



[図8]



[図9]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/021420

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

H04N5/232(2006.01)i, G02B21/00(2006.01)i, G06T1/00(2006.01)i, G06T3/40(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)n

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)

H04N5/232, G02B21/00, G06T1/00, G06T3/40, G01N21/64

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	1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2017	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2017

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2009-188891 A (Victor Company of Japan, Ltd.), 20 August 2009 (20.08.2009), paragraphs [0105] to [0112]; fig. 18, 19 (Family: none)	1-10
A	JP 2003-255231 A (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), 10 September 2003 (10.09.2003), entire text; all drawings (Family: none)	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"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)

"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

"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

"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

"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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
30 August 2017 (30.08.17)

Date of mailing of the international search report
12 September 2017 (12.09.17)

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/JP2017/021420

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2012-078408 A (Olympus Corp.), 19 April 2012 (19.04.2012), entire text; all drawings & US 2012/0081535 A1 entire text; all drawings & EP 2781943 A1	1-10

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. H04N5/232(2006.01)i, G02B21/00(2006.01)i, G06T1/00(2006.01)i, G06T3/40(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)n

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. H04N5/232, G02B21/00, G06T1/00, G06T3/40, G01N21/64

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	1971-2017年
日本国実用新案登録公報	1996-2017年
日本国登録実用新案公報	1994-2017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)

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
A	JP 2009-188891 A (日本ビクター株式会社) 2009.08.20, 段落 105-112, 第 18, 19 図 (ファミリーなし)	1-10
A	JP 2003-255231 A (独立行政法人産業技術総合研究所) 2003.09.10, 全文全図 (ファミリーなし)	1-10
A	JP 2012-078408 A (オリンパス株式会社) 2012.04.19, 全文全図 & US 2012/0081535 A1, 全文全図 & EP 2781943 A1	1-10

❏ 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	の日の後に公表された文献
「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

30.08.2017

国際調査報告の発送日

12.09.2017

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)

藤原 敬利

5 P

3354

電話番号 03-3581-1101 内線 3581