

(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 12 月 29 日(29.12.2016)

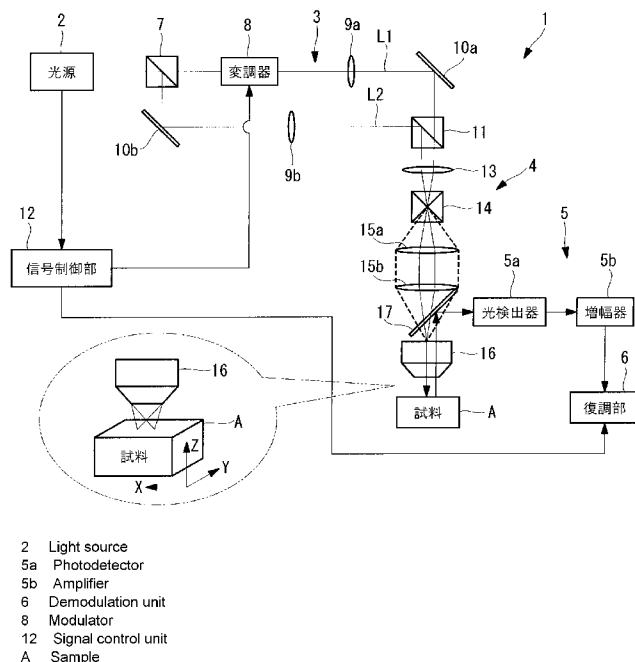


(10) 国際公開番号
WO 2016/208322 A1

- (51) 国際特許分類:
G02B 21/00 (2006.01) **G01N 21/64** (2006.01)
G01N 21/01 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/065610
- (22) 国際出願日: 2016 年 5 月 26 日(26.05.2016)
- (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:
62/183,227 2015 年 6 月 23 日(23.06.2015) US
- (71) 出願人: オリンパス株式会社 (OLYMPUS CORPORATION) [JP/JP]; 〒1928507 東京都八王子市石川町 2 9 5 1 番地 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 井元 兼太郎 (IMOTO, Kentaro); 〒1928507 東京都八王子市石川町 2 9 5 1 番地 オリンパス株式会社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 上田 邦生, 外 (UEDA, Kunio et al.); 〒2208137 神奈川県横浜市西区みなとみらい 2-2-1 横浜ランドマークタワー 3 7 F Kanagawa (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, JP, 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 METHOD FOR ACQUIRING IMAGE

(54) 発明の名称: 画像取得装置および画像取得方法



(57) Abstract: In order to increase a frame rate, an image acquisition device (1) according to the present invention comprises: an illumination light generation unit (3) for generating a plurality of illumination light beams (L1, L2) that have mutually linearly-independent patterns by modulating the intensity of the light emitted from a light source (2) and include modulated illumination light and non-modulated illumination light; an illumination optical system (4) for irradiating the different positions of a sample (A) with the plurality of illumination light beams generated by the illumination light generation unit; a photodetection unit (5) for outputting a synthesized signal by detecting synthesized signal light formed by synthesizing the signal light beams that are generated at the plurality of illumination positions irradiated with the illumination light beams by the illumination optical system; and a demodulation unit (6) for separating a modulated local signal corresponding to modulated illumination light from the synthesized signal output from the photodetection unit by integrating the product of a demodulated signal corresponding to the modulated illumination light and the synthesized signal over a time interval, and separating a non-modulated local signal corresponding to non-modulated illumination light by subtracting the sum of modulated local signals from the integral of the synthesized signal over the time interval.

(57) 要約:

[続葉有]



フレームレートを向上することを目的として、本発明に係る画像取得装置（１）は、光源（２）から射出された光の強度を変調し相互に一次独立なパターンを有し、変調された変調照明光と変調されていない非変調照明光とを含む複数の照明光（ L_1 , L_2 ）を生成する照明光生成部（３）と、照明光生成部により生成された複数の照明光を試料（Ａ）の異なる位置に照射する照明光学系（４）と、照明光学系により照明光が照射された複数の照射位置において発生した信号光が合成された合成信号光を検出して合成信号を出力する光検出部（５）と、該光検出部により出力された合成信号から、変調照明光に対応した復調信号と合成信号との積の時間積分を用いて変調照明光に対応する変調局所信号を分離し、合成信号の時間積分から変調局所信号の総和を差分して非変調照明光に対応する非変調局所信号を分離する復調部（６）とを備える。

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] 本発明は、画像取得装置および画像取得方法に関するものである。

背景技術

[0002] DMDによって照射パターンの異なる複数の照明光を生成して標本上の複数の異なる位置に照射し、検出器によって検出された複数位置からの蛍光が混合された蛍光から、DMDによって照明光に付与された照射パターンに基づいて、各照射位置から発せられた蛍光を復元する顕微鏡が知られている（例えば、特許文献1参照。）。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：WO2011/023593号パンフレット

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 特許文献1の技術は、DMDによって生成された照明光を標本の特定位置に照射するためのものであり、仮にこの技術を画像取得に応用する場合には、DMDの応答速度が光走査よりも遅いという問題から十分なフレームレートを確保することができないという不都合がある。

また、DMDの変わりにEOMのような高速変調可能なデバイスを使用すれば上記課題を解決することができるが、多重数分の変調デバイスが必要となるためシステムが非常に高価になるという不都合がある。

本発明は、上述した事情に鑑みてなされたものであって、多重数分のデバイスを必要とすることなくフレームレートを向上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している。

課題を解決するための手段

[0005] 本発明の一態様は、複数の領域を同時に照明しながら、各々の照明領域に

対応する局所信号を分離して取得する画像取得装置であって、光源から射出された光の強度を変調し相互に一次独立なパターンを有し、変調された変調照明光と変調されていない非変調照明光とを含む複数の照明光を生成する照明光生成部と、該照明光生成部により生成された複数の前記照明光を試料の異なる位置に照射する照明光学系と、該照明光学系により前記照明光が照射された複数の照射位置において発生した信号光が合成された合成信号光を検出して合成信号を出力する光検出部と、該光検出部により出力された前記合成信号から、前記変調照明光に対応した復調信号と前記合成信号との積の時間積分を用いて前記変調照明光に対応する変調局所信号を分離し、前記合成信号の時間積分から前記変調局所信号の総和を差分して前記非変調照明光に対応する非変調局所信号を分離する復調部とを備える画像取得装置である。

[0006] 本態様によれば、照明光生成部により、光源から射出された光の強度を変調し相互に一次独立なパターンを有し、変調された変調照明光と変調されていない非変調照明光とを含む複数の照明光が生成され、生成された複数の照明光が、照明光学系によって試料の異なる位置に照射される。各照明光の照射位置においては、信号光が同時にそれぞれ発生するので、光検出器において複数の照射位置において発生した複数の信号光の合成信号光が検出されて合成信号を出力する。そして、出力された合成信号が復調部に入力されることにより、合成信号から、変調照明光に対応した復調信号と合成信号との積の時間積分を用いて変調照明光に対応する変調局所信号を分離し、合成信号の時間積分から変調局所信号の総和を差分して非変調照明光に対応する非変調局所信号を分離して各照射位置において発生した信号光が復調される。

[0007] この場合において、信号光復調部は、各照明光のパターンに同期する復調信号を用いて復調処理を行うので、照明光の相互の一次独立性を利用して合成信号光から各信号光を精度よく抽出することができる。したがって、複数の照射位置から同時に発せられた信号光を精度よく分離して検出することができ、多重数分のデバイスを必要とすることなくフレームレートを向上することができる。

[0008] 上記態様においては、前記変調照明光に対応しない前記復調信号と前記変調照明光に対応しない前記変調局所信号および前記非変調局所信号との積の時間積分がゼロであってもよい。

また、上記態様においては、前記非変調照明光に対応する前記復調信号と前記合成信号との積の時間積分が前記合成信号の時間積分であってもよい。

[0009] また、上記態様においては、前記照明光生成部が生成した複数の前記照明光の少なくとも一つの光路に光の強度を変調する変調器を備えていてもよい。

[0010] また、上記態様においては、前記変調器を2以上備え、各該変調器が、相互に直交する前記復調信号を有する前記変調照明光をそれぞれ生成してもよい。

このようにすることで、複数の変調器によって、相互に直交する復調信号を有する2以上の照明光を生成することができ、直交性を有する復調信号を用いることによって得られる信号量が増加し、フレームレートをさらに向上することができる。

[0011] また、上記態様においては、複数の前記照射位置を前記試料中の任意位置に配置する機能を有していてもよい。

[0012] また、本発明の他の態様は、光源から射出された光の強度を変調し相互に一次独立なパターンを有し、変調された変調照明光と変調されていない非変調照明光とを含む複数の照明光を生成する照明光生成ステップと、該照明光生成ステップにより生成された複数の前記照明光を試料の異なる位置に照射する照射ステップと、該照射ステップにより前記照明光が照射された複数の照射位置において発生した信号光が合成された合成信号光を検出して合成信号を出力する光検出ステップと、該光検出ステップにより出力された前記合成信号から、前記変調照明光に対応した復調信号と前記合成信号との積の時間積分を用いて前記変調照明光に対応する変調局所信号を分離し、前記合成信号の時間積分から前記変調局所信号の総和を差分して前記非変調照明光に対応する非変調局所信号を分離する信号光復調ステップとを含む画像取得方

法である。

発明の効果

[0013] 本発明によれば、多重数分のデバイスを必要とすることなくフレームレート向上をすることができるという効果を奏する。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]本発明の一実施形態に係る画像取得装置を示す模式図である。

[図2A]図1の画像取得装置における電気光学変調器による変調を受けたパターンの変調信号の一例を示す図である。

[図2B]図1の画像取得装置における電気光学変調器による変調を受けていないパターンの変調信号の一例を示す図である。

[図2C]図1の画像取得装置における電気光学変調器による変調を受けたパターンの復調信号の一例を示す図である。

[図2D]図1の画像取得装置における電気光学変調器による変調を受けていないパターンの復調信号の一例を示す図である。

[図3]本発明の一実施形態に係る画像取得方法を説明するフローチャートである。

[図4]図1の画像取得装置の変形例であって、共焦点顕微鏡に適用した例を示す模式図である。

[図5A]図1の画像取得装置の変形例であって、複数の照明光を合波する他の方法を示す図である。

[図5B]図1の画像取得装置の変形例であって、図5Aにおける破線部Sの位置に一对のミラーを配置した方法を示す図である。

[図6]図1の画像取得装置の変形例であって、複数の照明光を合波する他の方法を示す図である。

[図7]図1の画像取得装置の変形例であって、複数の照明光の間隔を調節する方法を示す図である。

[図8]図1の画像取得装置の変形例であって、3つの照明光を多重化する場合を示す図である。

[図9A]図8の画像取得装置における第1の変調パターンの変調信号の一例を示す図である。

[図9B]図8の画像取得装置における第2の変調パターンの変調信号の一例を示す図である。

[図9C]図8の画像取得装置における変調を受けていないパターンの変調信号の一例を示す図である。

[図9D]図8の画像取得装置における第1の変調パターンの復調信号の一例を示す図である。

[図9E]図8の画像取得装置における第2の変調パターンの復調信号の一例を示す図である。

[図9F]図8の画像取得装置における変調を受けていないパターンの復調信号の一例を示す図である。

[図10]図1の画像取得装置の変形例であって、音響光学偏向素子を用いて変調する場合を示す図である。

[図11]図1の画像取得装置の変形例であって、2つの音響光学偏向素子を用いて4つの照明光を多重化する場合を示す図である。

[図12]図1の画像取得装置の変形例であって、電気光学変調器による変調の際に弾かれる光を有効利用して4つの照明光を多重化する場合を示す図である。

[図13A]図12の画像取得装置において使用される光のパターンであって、光源からの光の変調信号のパターンを示す図である。

[図13B]図12の画像取得装置において使用される光のパターンであって、電気光学変調器から出力された直後の第1の照明光の変調信号のパターンを示す図である。

[図13C]図12の画像取得装置において使用される光のパターンであって、電気光学変調器から出力された直後の第2の照明光の変調信号のパターンを示す図である。

[図13D]図12の画像取得装置において使用される光のパターンであって、ビ

ームスプリッタにより分岐された直後の第3の照明光の変調信号のパターンを示す図である。

[図13E]図12の画像取得装置において使用される光のパターンであって、ビームスプリッタにより分岐された直後の第4の照明光の変調信号のパターンを示す図である。

[図13F]図12の画像取得装置において使用される光のパターンであって、光源からの光の復調信号

[図13G]図12の画像取得装置において使用される光のパターンであって、電気光学変調器から出力された直後の第1の照明光の復調信号のパターンを示す図である。

[図13H]図12の画像取得装置において使用される光のパターンであって、電気光学変調器から出力された直後の第2の照明光の復調信号のパターンを示す図である。

[図13I]図12の画像取得装置において使用される光のパターンであって、ビームスプリッタにより分岐された直後の第3の照明光の復調信号のパターンを示す図である。

[図13J]図12の画像取得装置において使用される光のパターンであって、ビームスプリッタにより分岐された直後の第4の照明光の復調信号のパターンを示す図である。

[図14A]図12の画像取得装置においてビームスプリッタにより合波された直後の第1の照明光の変調信号のパターンを示す図である。

[図14B]図12の画像取得装置においてビームスプリッタにより合波された直後の第2の照明光の変調信号のパターンを示す図である。

[図14C]図12の画像取得装置においてビームスプリッタにより合波された直後の第3の照明光の変調信号のパターンを示す図である。

[図14D]図12の画像取得装置においてビームスプリッタにより合波された直後の第4の照明光の変調信号のパターンを示す図である。

[図14E]図12の画像取得装置においてビームスプリッタにより合波された直

後の第1の照明光の復調信号のパターンを示す図である。

[図14F]図12の画像取得装置においてビームスプリッタにより合波された直後の第2の照明光の復調信号のパターンを示す図である。

[図14G]図12の画像取得装置においてビームスプリッタにより合波された直後の第3の照明光の復調信号のパターンを示す図である。

[図14H]図12の画像取得装置においてビームスプリッタにより合波された直後の第4の照明光の復調信号のパターンを示す図である。

[図15]図1の画像取得装置の変形例であって、ビームスプリッタによる合波の際に弾かれる光を有効利用して4つの照明光を多重化する場合を示す図である。

[図16]図1の画像取得装置の変形例であって、シート照明を利用した場合を示す模式図である。

発明を実施するための形態

[0015] 以下、本発明の一実施形態に係る画像取得装置1および画像取得方法について、図面を参照して以下に説明する。

本実施形態に係る画像取得装置1は、多光子励起型の走査型蛍光顕微鏡であって、図1に示されるように、一定のピーク強度を有する極短パルスレーザ光を所定時間間隔で射出する光源2と、該光源2からの光から相互に一次独立なパターンを有し、変調された変調照明光と変調されていない非変調照明光とを含む2つの照明光L1、L2を生成する照明光生成部3と、生成された複数の照明光L1、L2を試料Aの異なる位置に照射する照明光学系4と、照明光L1、L2の複数の照射位置において発生した蛍光（信号光）の合成蛍光（合成信号光）を検出して合成信号を出力する光検出部5と、出力された合成信号から、各照射位置において発生した蛍光を復調する復調部（信号光復調部）6とを備えている。

[0016] 照明光生成部3は、光源2からの光を2つの光路に分岐する第1ビームスプリッタ（光分岐部）7と、分岐された一方の光路に設けられ、通過する光の強度の時間変化のパターンを変調する電気光学変調器（変調器）8と、結

像レンズ 9 a, 9 b と、ミラー 10 a, 10 b と、2つの光路の光を合波する第2ビームスプリッタ（合波部）11とを備えている。ミラー 10 a は、一方の光路に設けられた結像レンズ 9 a による一次結像位置を他方の光路に設けられた結像レンズ 9 b による一次結像位置に対して光軸に直交する方向にシフトする位置に配置されている。

[0017] 電気光学変調器 8 には、信号制御部 12 が接続されている。信号制御部 12 は、電気光学変調器 8 に対して、例えば、図 2 A に示されるような変調信号を送ることにより、光源からのパルス光を 1 つ置きに遮断して、50% デューティとなるように変調させるようになっている。例えば、光源 2 から射出される光が 80 MHz の繰り返し周波数である場合に、電気光学変調器 8 は、光源 2 からの光の強度を変調して 40 MHz の照明光 L1 を生成するようになっている。これにより、電気光学変調器 8 から出力される照明光 L1 は、40 MHz で強度が変化する変調パターンを有している。

[0018] また、他方の光路には電気光学変調器 8 は設けられておらず、光源 2 から発せられた光がそのままのパターン、すなわち、一定のピーク強度を有するパルス列からなる変調を受けていないパターンの照明光 L2 が生成されるようになっている。

これにより、2つの光路を通過した変調パターンの照明光 L1 と変調を受けていないパターンの照明光 L2 とは、相互に一次独立なパターンで時間変化する強度を有するようになる。

[0019] 照明光学系 4 は、第2ビームスプリッタ 11 により合波された2つの照明光 L1, L2 をスキャナ 14 に投影する瞳投影レンズ 13 と、2つの照明光 L1, L2 を同時に同一方向（XY 方向）に2次元的に走査するスキャナ 14 と、該スキャナ 14 により走査された照明光 L1, L2 をリレーするリレーレンズ 15 a, 15 b と、該リレーレンズ 15 a, 15 b によりリレーされた照明光 L1, L2 を試料 A の複数の照射位置に照射する一方、試料 A の各照射位置において発生した蛍光を集光する対物レンズ 16 とを備えている。スキャナ 14 は、例えば、ガルバノミラーである。

[0020] スキャナ 14 と対物レンズ 16 の瞳位置とは、光学的に共役な位置に配置されている。また、結像レンズ 9a, 9b と瞳投影レンズ 13 との間のレンズ間距離は 2 つの光路で等しくなるように設定されている。

照明光学系 4 のリレーレンズ 15a, 15b と対物レンズ 16 との間には、照明光 L1, L2 を透過し、蛍光を反射する特性を有するダイクロイックミラー 17 が配置されている。光検出部 5 は、例えば、光電子増倍管等の光検出器 5a と、該光検出器 5a により検出された蛍光の強度信号を増幅する増幅器 5b とを備えている。

[0021] 復調部 6 は、信号制御部 12 から変調信号に同期した復調信号を受けて、光検出器 5a により検出された合成蛍光から各照射位置において発生した蛍光を復調するようになっている。具体的には、変調照明光に対応した復調信号と合成信号との積の時間積分を用いて変調照明光に対応する変調局所信号を分離し、合成信号の時間積分から変調局所信号の総和を差分して非変調照明光に対応する非変調局所信号を分離するようになっている。この場合、変調照明光に対応しない復調信号と変調照明光に対応しない変調局所信号および非変調局所信号との積の時間積分はゼロとなり、非変調照明光に対応する復調符号と合成信号との積の時間積分が合成信号の時間積分となる。

[0022] この例では、復調用信号が変調の ON/OFF に同期しており、ON 時を 1、OFF 時を -1 とする。上記例においては、光源 2 からの光の強度を変調して変調パターンの照明光 L1 を生成するための図 2A に示す変調信号に同期する図 2C に示す復調信号は $code1 = (-1, 1, -1, 1)$ と表現できる。一方、図 2B に示されるように変調を行わない場合の復調信号は、図 2D に示されるように、 $code2 = (1, 1, 1, 1)$ と表現できる。各 code 長は一画素の露光時間に対応している。この例では、code と光変調が各パルスに対応しているが、任意長さのパルス列ごとに変調を行ってもよい。

[0023] 復調部 6 においては、変調パターンの蛍光の強度を、光検出器 5a により検出された合成蛍光の強度に、変調タイミングに同期した復調信号 code

1 を乗算して露光時間にわたって積分することにより変調照明光に対応する変調局所信号を分離して復調するようになっている。他方、変調を受けていないパターンの蛍光の強度は、光検出器 5 a により検出された合成蛍光の強度を露光時間にわたって積分した合成蛍光の積分値から、復調された変調パターンの蛍光の強度（変調局所信号の総和）を減算することにより非変調照明光に対応する非変調局所信号を分離して復調するようになっている。復調信号 c o d e 2 を乗算することは何も乗算しないことに等しいので、検出された合成蛍光の積分値から変調パターンの蛍光の強度を減算するだけで済む。

[0024] 具体的な一例として、照明光 L 1 のパルス一つに対応する蛍光信号強度を α 、照明光 L 2 のパルス一つに対応する蛍光信号を β とする。

また、露光時間をパルス 4 つ分とすると、照明光 L 1 に対応する露光時間中の蛍光信号の時系列データ D 1 は (0, α , 0, α) となる。一方、照明光 L 2 に対応する露光時間中の蛍光信号の時系列データ D 2 は (β , β , β , β) となる。そのため合成蛍光信号の時系列データ D は $D = D 1 + D 2 = (\beta, \alpha + \beta, \beta, \alpha + \beta)$ となる。

[0025] 合成蛍光信号の時系列データ D と c o d e 1 との内積（乗算して積分するのと同じ）を取ると、D 1 の積分値に相当する 2α を算出することができる。さらに合成蛍光信号の時系列データ D と c o d e 2 との内積が合成蛍光信号の積分値 $2\alpha + 4\beta$ となり、これに対して先に求めた照明光 L 1 に対応する蛍光信号強度 2α を減算することにより、照明光 L 2 に対応する蛍光信号 4β を得ることができる。

[0026] このように構成された本実施形態に係る画像取得装置 1 を用いた画像取得方法について、以下に説明する。

本実施形態に係る画像取得方法は、図 3 に示されるように、光源 2 から射出された極短パルスレーザ光から、相互に一次独立なパターンを有する複数の照明光 L 1, L 2 を生成する照明光生成ステップ S 1 と、生成された複数の照明光 L 1, L 2 を試料 A の異なる位置に照射する照射ステップ S 2 と、

照明光 L 1, L 2 が照射された複数の照射位置において発生した蛍光が合成された合成蛍光を検出する光検出ステップ S 3 と、検出された合成蛍光から、各照明光 L 1, L 2 のパターンに同期する復調信号を用いて、各照射位置において発生した蛍光を復調する蛍光復調ステップ（信号光復調ステップ） S 4 とを含んでいる。

[0027] このように構成された本実施形態に係る画像取得装置 1 および画像取得方法によれば、2 つに分岐した光路の一方に電気光学変調器 8 を設ければ済むので、単一の電気光学変調器 8 だけで 2 つの照明光 L 1, L 2 を多重化させることができ、装置を簡易かつ安価に構成することができるという利点がある。

そして、多重化された 2 つの照明光 L 1, L 2 を試料 A に同時に照射するので、スキャナ 1 4 によって 2 つの照明光 L 1, L 2 のスポットを試料 A において走査することによりサンプルにおける二つの異なる領域を同時にイメージングすることができるため、多重数分のデバイスを必要とすることなく観察範囲の画像を取得するフレームレートを 2 倍に向上することができるという利点がある。

[0028] また、一方の光路を通過する照明光 L 2 に変調を掛けずに済むので、2 つの電気光学変調器によって 2 つの照明光 L 1, L 2 を生成する場合と比較して、取得信号量を最大で 1.5 倍向上することができるという利点がある。

[0029] なお、本実施形態においては、画像取得装置 1 として、多光子励起型の蛍光顕微鏡を例示したので、照明光 L 1, L 2 から蛍光を分岐するダイクロイックミラー 1 7 を対物レンズ 1 6 とリレーレンズ 1 5 b との間に配置したが、これに代えて、図 4 に示されるように、共焦点顕微鏡に適用し、スキャナ 1 4 よりも光源 2 側にダイクロイックミラー 1 7 を配置し、かつ、対物レンズ 1 6 による各照明光 L 1, L 2 の焦点位置と光学的に共役な位置にピンホール部材 1 8 を配置することにしてもよい。

[0030] ピンホール部材 1 8 における透孔 1 8 a の数および間隔は照明光 L 1, L 2 の数および焦点位置間の距離に応じて設定されている。

また、この場合、光源 2 としては一定の強度を有する連続光を射出するものを採用すればよい。

[0031] また、光分岐部 7 としてビームスプリッタを採用したが、偏光ビームスプリッタを採用してもよい。また、合波部 11 としてビームスプリッタを採用したが、偏光ビームスプリッタあるいは、図 5 A に示されるように三角プリズム 19 とミラー 20 a, 20 b との組み合わせを採用してもよい。この場合に、矢印 B の方向に三角プリズム 19 とミラー 20 a, 20 b とを相対移動させると、照明光 L 1, L 2 の X 方向における間隔を変更することができる。

[0032] また、結像レンズ 9 a, 9 b と瞳投影レンズ 13 との間で合波することに代えて、図 6 に示されるように結像レンズ 9 よりも光源 2 側において合波して、結像レンズ 9 を共通化してもよい。また、他の任意の方法により分岐および合波を行うことにしてもよい。

[0033] また、ミラー 10 a を固定して一次結像位置のシフト量を固定したが、これに代えて、ミラー 10 a を図 7 に示す矢印 C の方向に移動させることにより、一次結像位置のシフト量を調節可能にしてもよい。

また、変調器として電気光学変調器 8 を例示したが、これに代えて音響光学変調器等の変調器を採用してもよい。

[0034] また、図 5 B に示されるように、三角プリズム 19 とミラー 20 a, 20 b との組み合わせに加えて照明光 L 1 の光線高さを変化させるために、光路中に照明光 L 1, L 2 の Y 方向における間隔を可変可能な一対のミラー 37 a, 37 b を導入してもよい。これにより、ミラー 37 a, 37 b 間の間隔を狭めるまたは広げることによって、光軸に垂直な面において Y 方向（隣り合うビームに対して垂直方向）にビームを移動することができる。

また、レンズ 9 a, 9 b を光軸に沿う方向に移動可能に設け、光軸に沿ってレンズ 9 a, 9 b を移動させることにより、試料 A における各集光点の Z 方向位置を調整するようにしてもよい。

[0035] このようにすることにより、光軸に対して垂直な X Y 方向への移動および

光軸に沿うZ方向への移動を組み合わせることにより、各々の焦点を任意位置に配置することができる。これにより、離れた任意ボリュームのイメージングを時間的同時性を有して行うことができる。その結果、脳の機能解明等において、複数領域の同時イメージングを用いて、異なる機能を持つ領域の相互作用を明らかにすることができる。

[0036] また、本実施形態においては、光源2からの光を2つに分岐したが、これに代えて、3以上に分岐することにしてもよい。到着パルス数は復調に使用するベクトル空間の次元と同じと考えることができるので、照明光の多重化は、露光時間中の到着パルス数と同数だけ行うことができる。これによりさらなる高速化を図ることができる。

[0037] 図8に3つの光路に分岐する場合について例示する。

3つの光路への分岐は、光源2からの光を照明光L1、L2の光路と照明光L3の光路とに分岐するビームスプリッタ7aと、ビームスプリッタ7aの下流側に配置され、分岐された照明光L1、L2の光路を照明光L1の光路と照明光L2の光路とにさらに分岐するビームスプリッタ7bとによりなされる。3つの光路には、結像レンズ9a、9b、9cがそれぞれ配置されている。

1つの光路には電気光学変調器8がなく、他の2つの光路には、相互に直交する変調パターンの照明光（変調照明光）L1、L2を生成する電気光学変調器（変調器）8a、8bをそれぞれ配置している。

[0038] 具体的には、図9Aおよび図9Dに示すように、一方の電気光学変調器8aに対応する変調信号および変調パターンの復調信号 $\text{code 1} = (-1, 1, -1, 1)$ 、図9Bおよび図9Eに示すように、他方の電気光学変調器8bに対応する変調信号および変調パターンの復調信号 $\text{code 2} = (1, -1, -1, 1)$ 、図9Cおよび図9Fに示すように、電気光学変調器8a、8bによる変調をうけていない変調信号および変調パターンの復調信号 $\text{code 3} = (1, 1, 1, 1)$ とする。

照明光L1のパルス一つに対応する蛍光信号を α 、照明光L2のパルス一

つに対応する蛍光信号を β 、照明光 L_3 のパルス一つに対応する蛍光信号を γ とする。

[0039] また、露光時間をパルス4つ分とすると、照明光 L_1 に対応する露光時間中の蛍光信号の時系列データ D_1 は $(0, \alpha, 0, \alpha)$ となる。そして、照明光 L_2 に対応する露光時間中の蛍光信号の時系列データ D_2 は $(\beta, 0, 0, \beta)$ となり、照明光 L_3 に対応する露光時間中の蛍光信号の時系列データ D_3 は $(\gamma, \gamma, \gamma, \gamma)$ となる。そのため合成蛍光信号の時系列データ D は $D = D_1 + D_2 + D_3 = (\beta + \gamma, \alpha + \gamma, \gamma, \alpha + \beta + \gamma)$ となる。

[0040] 合成蛍光信号の時系列データ D と $code_1$ との内積を取ると D_1 の積分値に相当する 2α 、合成蛍光信号の時系列データ D と $code_2$ との内積を取ると D_2 の積分値に相当する 2β を算出することができる。さらに合成蛍光信号の時系列データ D と $code_3$ との内積が合成蛍光信号の積分値 $2\alpha + 2\beta + 4\gamma$ となり、これに対して先に求めた照明光 L_1 に対応する蛍光信号強度 2α と照明光 L_2 に対応する蛍光信号強度 2β を減算することにより、照明光 L_3 に対応する蛍光信号 4γ を得ることができる。

[0041] 検出された合成蛍光の強度に変調に同期した復調信号 $code_1$ を乗算して積分することにより、第1の変調パターンの照明光 L_1 に対応する蛍光を復調することができる。また、検出された合成蛍光の強度に変調にタイミング同期した復調信号 $code_2$ を乗算して積分することにより、第2の変調パターンの照明光 L_2 に対応する蛍光を復調することができる。そして、検出された合成蛍光の強度の積分値から第1、第2の変調パターンに対応する蛍光をそれぞれ減算することにより、変調を受けていないパターンの照明光 L_3 に対応する蛍光を復調することができる。

[0042] 2つの変調パターンの照明光 L_1 、 L_2 の合波、および合波された変調パターンの照明光 L_1 、 L_2 と変調を受けていないパターンの照明光 L_3 との合波は、それぞれミラー21a、21bと三角プリズム22との組み合わせにより行うことにしている。これにより、3以上の照明光 L_1 、 L_2 、 L_3 を効率よく合波することができる。この場合、ミラー21a、21bと三角

プリズム 22 との矢印 D 方向への相対移動により、照明光 L 1, L 2, L 3 の間隔を変更することができる。

[0043] また、3つの光路に分岐する場合において、照明光 L 1, L 2 に対応する復調 C o d e が相互に直交する変調パターンを説明したが、これに限られるものではなく、照明光 L 1, L 2 に対応する復調 C o d e が相互に直交しない変調パターンのものを採用してもよい。

[0044] 具体的には、一方の電気光学変調器 8 a に対応する変調パターンの復調信号 c o d e 1 = (1, 0, 0, -1)、他方の電気光学変調器 8 b に対応する変調パターンの復調信号 c o d e 2 = (0, 1, 0, -1)、電気光学変調器 8 a, 8 b による変調を受けていないパターンの復調信号 c o d e 3 = (1, 1, 1, 1) とする。この場合、0 に対応する光変調は O F F である。

照明光 L 1 のパルス一つに対応する蛍光信号を α 、照明光 L 2 のパルス一つに対応する蛍光信号を β 、照明光 L 3 のパルス一つに対応する蛍光信号を γ とする。

[0045] また、露光時間をパルス 4 つ分とすると、照明光 L 1 に対応する露光時間中の蛍光信号の時系列データ D 1 は (α , 0, 0, 0) となる。そして、照明光 L 2 に対応する露光時間中の蛍光信号の時系列データ D 2 は (0, β , 0, 0) となり、照明光 L 3 に対応する露光時間中の蛍光信号の時系列データ D 3 は (γ , γ , γ , γ) となる。そのため合成蛍光信号の時系列データ D は $D = D 1 + D 2 + D 3 = (\alpha + \gamma, \beta + \gamma, \gamma, \gamma)$ となる。

[0046] 合成蛍光信号の時系列データ D と c o d e 1 との内積を取ると D 1 の積分値に相当する α 、合成蛍光信号の時系列データ D と c o d e 2 との内積を取ると D 2 の積分値に相当する β を算出することができる。さらに合成蛍光信号の時系列データ D と c o d e 3 との内積が合成蛍光信号の積分値 $\alpha + \beta + 4 \gamma$ となり、これに対して先に求めた照明光 L 1 に対応する蛍光信号強度 α と照明光 L 2 に対応する蛍光信号強度 β を減算することにより、照明光 L 3 に対応する蛍光信号 4γ を得ることができる。

[0047] また、本実施形態においては、電気光学変調器 8 に代えて、共振電気光学変調器（図示略）を採用してもよい。共振電気光学変調器によれば、低電圧で駆動できるため、電力増幅器が不要のためコストを低く抑えることができるという利点がある。共振電気光学変調器の共振周期を繰り返し周期と同じにすることにより、露光時間中で任意のパターンを作り出すことができる。

[0048] また、電気光学変調器 8 によって一方の光路の光の強度を変調することとしたが、これに代えて、図 10 に示されるように、音響光学偏向素子 23 と、レンズ 24 と、プリズム 25 と、ミラー 26 a, 26 b と、ビームスプリッタ 27 とを組み合わせて周波数の異なる光の干渉によるビート周波数に変調することにしてもよい。

[0049] 例えば、図 10 に示される例では、音響光学偏向素子 23 によって、周波数変調しない光（光源周波数 $Y \text{ MHz}$ の変調を受けていないパターン） $L1$ 、周波数 $X \text{ MHz}$ に周波数変調した光（第 1 の変調パターン） $L2a$ 、周波数 $X + 40 \text{ MHz}$ に周波数変調した光（第 2 の変調パターン） $L2b$ を生成する。生成された第 1, 第 2 の変調パターンの光 $L2a$, $L2b$ は、レンズ 24、プリズム 25、およびミラー 26 a, 26 b を経由して同一光路長の異なる光路を導かれた後にビームスプリッタ 27 で合波されることにより干渉によって両者の差分周波数（ 40 MHz ）の照明光 $L2$ となる。ミラー 26 a は、光路長を調整するために矢印 E の方向に移動可能に設けられている。

[0050] これにより、周波数 $Y \text{ MHz}$ の変調を受けていないパターンの照明光 $L1$ と、周波数 40 MHz の変調パターンの照明光 $L2$ とを試料 A の異なる位置に照射することができる。

この場合に、信号制御部 12 は、音響光学偏向素子 23 のドライバ 28 を制御して、2 つの変調パターンの光 $L2a$, $L2b$ の周波数を任意に調節することができる。周波数に応じて射出方向が異なることを利用して試料 A における照明光 $L2$ の照射位置を音響光学偏向素子 23 の電氣的な制御によって任意に調節することができる。

[0051] また、図 1 1 に示されるように 3 種類の変調パターンの照明光 L_1 , L_2 , L_3 と、変調を受けていないパターンの照明光 L_4 の合計 4 つを試料 A に同時に照射することにしてもよい。

例えば、図 1 1 に示される例では、2 組の音響光学偏向素子 2 3 a, 2 3 b、レンズ 2 4 a, 2 4 b、プリズム 2 5 a, 2 5 b、ミラー 2 6 およびビームスプリッタ 2 7 a, 2 7 b を利用している。

[0052] 一方の音響光学偏向素子 2 3 a には、光源 2 からの光の内、一偏光方向、例えば、P 偏光の光が入射される。この音響光学偏向素子 2 3 a は、入射された光を、 $X \text{ MHz}$, $Y \text{ MHz}$, $X + 20 \text{ MHz}$, $Y + 20 \text{ MHz}$ の 4 つの光に分岐する。分岐された光は、それぞれ、レンズ 2 4 a、プリズム 2 5 a、ミラー 2 6 を経由することにより、 $X \text{ MHz}$ の光と $X + 20 \text{ MHz}$ の光、 $Y \text{ MHz}$ の光と $Y + 20 \text{ MHz}$ の光がそれぞれビームスプリッタ 2 7 a で合波されることによって干渉させられる。これにより、ビート周波数 20 MHz の 2 つの照明光 L_1 , L_2 が生成される。2 つの照明光 L_1 , L_2 は、音響光学偏向素子 2 3 a のドライバ 2 8 に入力する駆動電圧波形の位相を調整することでビート周波数上での位相が 90° ずれるようにしている。これにより相互に直交するパターン作成することができる

[0053] 他方の音響光学偏向素子 2 3 b は、光源 2 からの光の内、他の偏光方向、例えば、S 偏光の光が入射される。この音響光学偏向素子 2 3 b は、入射された光を、 $\Omega = 80 \text{ MHz}$, $Z + 40 \text{ MHz}$, $Z \text{ MHz}$ の 3 つの光に分岐する。分岐された光は、それぞれ、レンズ 2 4 b、プリズム 2 5 b、ミラー 2 6 を経由することにより、 $Z + 40 \text{ MHz}$ の光と $Z \text{ MHz}$ の光とがビームスプリッタ 2 7 b で合波されることによって干渉させられる。これにより、ビート周波数 40 MHz の照明光 L_3 が生成される。 $\Omega \text{ MHz}$ の光は、レンズ 2 4 b、プリズム 2 5 b、ミラー 2 6 を経由してそのままビームスプリッタ 2 7 b に導かれ、変調を受けていないパターンの照明光 L_4 となる。

[0054] これら 4 つの照明光 L_1 から L_4 は、ミラー 3 6 を経由して偏光ビームスプリッタ 2 9 により合波され、試料 A の異なる位置に照射される。

このようにすることで、4つの照明光L 1からL 4を多重化して試料Aに照射し、さらにフレームレートを増大させることができるという利点がある。

[0055] また、図12に示されるように、電気光学変調器8により50%デューティで変調する際に、電気光学素子内の偏光素子により遮断された光を利用して多重化することにしてもよい。

すなわち、電気光学変調器8からは、位相が反転した2つの照明光L 1, L 2が射出されるので、一方の照明光L 2の光路長を調節してレーザ光の発振周期の半分の時間遅延を与えることで、検出タイミングが異なる、照明光L 1, L 2を生成することができる。また、電気光学変調器8を有しない光路にビームスプリッタ30を配置して分岐し、分岐された光の光路長を調節してレーザ光の発振周期の半分の時間遅延を与えることで、検出タイミングが異なる照明光L 3, L 4を生成することができる。

[0056] 具体的には、図13Aおよび図13Fに示されるように、光源2として周波数80MHzで、ピーク強度一定のパルスレーザ光を射出する光源2を想定する。

そして、電気光学変調器8により50%デューティに変調すると、図13Bおよび図13Gに示される40MHzでオンオフされる第1の照明光L 1と、図13Cおよび図13Hに示される位相が反転した第2の照明光L 2の2つの照明光L 1, L 2が生成される。

一方、電気光学変調器8を有しない光路を通過する光がビームスプリッタ30により分岐されることにより、図13D、図13E、図13Iおよび図13Jに示されるように、周波数80MHzでオンオフされる第3、第4の照明光L 3, L 4が生成される。

[0057] そして、第2の照明光L 2および第4の照明光L 4については、レーザ光の発振周期12.5nsの半分の時間遅延6.25nsを与えるように光路長を調節することにより、図14Aから図14Hに示されるように、第1の照明光L 1と第3の照明光L 3のペアと、第2の照明光L 2と第4の照明光L 4のペアとは異なる時刻に試料Aに照射されるので、照明光L 1, L 3の

ペアまたは照明光 L_2 、 L_4 のペアに対応して発生する蛍光は時間的に分離することができる。各ペアを構成する2つの照明光 L_1 、 L_3 および照明光 L_2 、 L_4 は相互に一次独立の関係を有しているので、上記と同様にして復調することができる。

[0058] このようにすることで、照明光 L_1 から L_4 の一次独立性と時間的な変調とを組み合わせ、より多くの多重化を行うことができ、さらにフレームレートを向上することができるという利点がある。電気光学変調部8において変調する際に弾かれた光も利用するので、エネルギーを効率よく利用することができるという利点もある。

[0059] さらに、図15に示されるように、図10に示される音響光学偏向素子23を用いた変調を行う画像取得装置1において、ビームスプリッタ27により合波する際に弾かれた光を遅延光路に導くことによって遅延させ、時間的に多重化することにしてもよい。図中、符号31は $\lambda/2$ 板、符号32はミラー、符号33はリレーレンズ、符号34は折り返しミラーである。ミラー32は、 $\lambda/2$ 板31を通過してきた光の光路からは外れており、折り返しミラー34によって折り返された光のみを反射する位置に配置されている。

[0060] 図10と同様にして、ビームスプリッタ27において反射された $X+40$ MHzの光と、ビームスプリッタ27を透過した X MHzの光とが合波されることにより、40 MHzの照明光 L_1 となり、ビームスプリッタ27を透過した $Y=80$ MHzの照明光 L_2 とともに、偏光ビームスプリッタ35において反射される。

[0061] ビームスプリッタ27において反射されずに透過した $X+40$ MHzの光と、ビームスプリッタ27を透過せずに反射された X MHzの光とが合波されることにより、40 MHzの照明光 L_3 となって遅延光路に入射される。遅延光路においては、 $\lambda/2$ 板31によって偏光方向を変更され、リレーレンズ33および折り返しミラー34を経由して戻る途中でミラー32により偏向され、偏光ビームスプリッタ35を通過させられる。

[0062] 一方、ビームスプリッタ27を透過せずに反射された $Y=80$ MHzの照

明光L 4は、遅延光路において、 $\lambda/2$ 板31によって偏光方向を変更され、リレーレンズ33および折り返しミラー34を経由して戻る途中でミラー32により偏向され、偏光ビームスプリッタ35を通過させられる。

[0063] これにより、相互に一次独立な40MHzの照明光L1と80MHzの照明光L2のペアおよび、相互に一次独立な40MHzの照明光L3と80MHzの照明光L4のペアが、時刻を異ならせて試料Aの異なる位置に照射される。これにより、照明光L1からL4の一次独立性と時間的な変調とを組み合わせ、より多くの多重化を行うことができ、さらにフレームレートを向上することができるという利点がある。ビームスプリッタ27において弾かれた光も利用するので、エネルギーを効率よく利用することができるという利点もある。

[0064] また、上記各実施形態においては、落射型の画像取得装置1について説明したが、これに限定されるものではない。例えば、図16に示されるように、相互に一次独立なパターンを有するシート状の照明光L1、L2を対物レンズ16の光軸に沿う方向に離間した位置に対物レンズ16の光軸に直交する方向から同時に入射させるライトシート顕微鏡40に適用してもよい。

[0065] 図16に示す例では、カメラ41の1フレーム毎に一方の照明光L1、L2の強度を切り替えて対物レンズ16の光軸に沿う方向に離れた2つの平面内において走査することにより、照明光L1、L2を擬似的にシート状に生成している。各走査位置における試料Aからの光を顕微鏡レンズ42および結像レンズ43により集光し、カメラ41によって画像を複数枚、例えば、露光時間中に4つのパルスがくる場合に2多重を行う場合は、パルス到着毎に画像を4枚取得し、照明光L1、L2の一次独立性を利用して取得された画像を演算することにより、各照射位置に対応する2枚の蛍光画像を復調して取得することができる。これを用いれば同じ時間に異なる場所で起きている現象を同時に捉えることができる

なお、擬似的なシート状の照明光に代えて、シリンドリカルレンズを用いて生成されたシート状の照明光を採用してもよい。

符号の説明

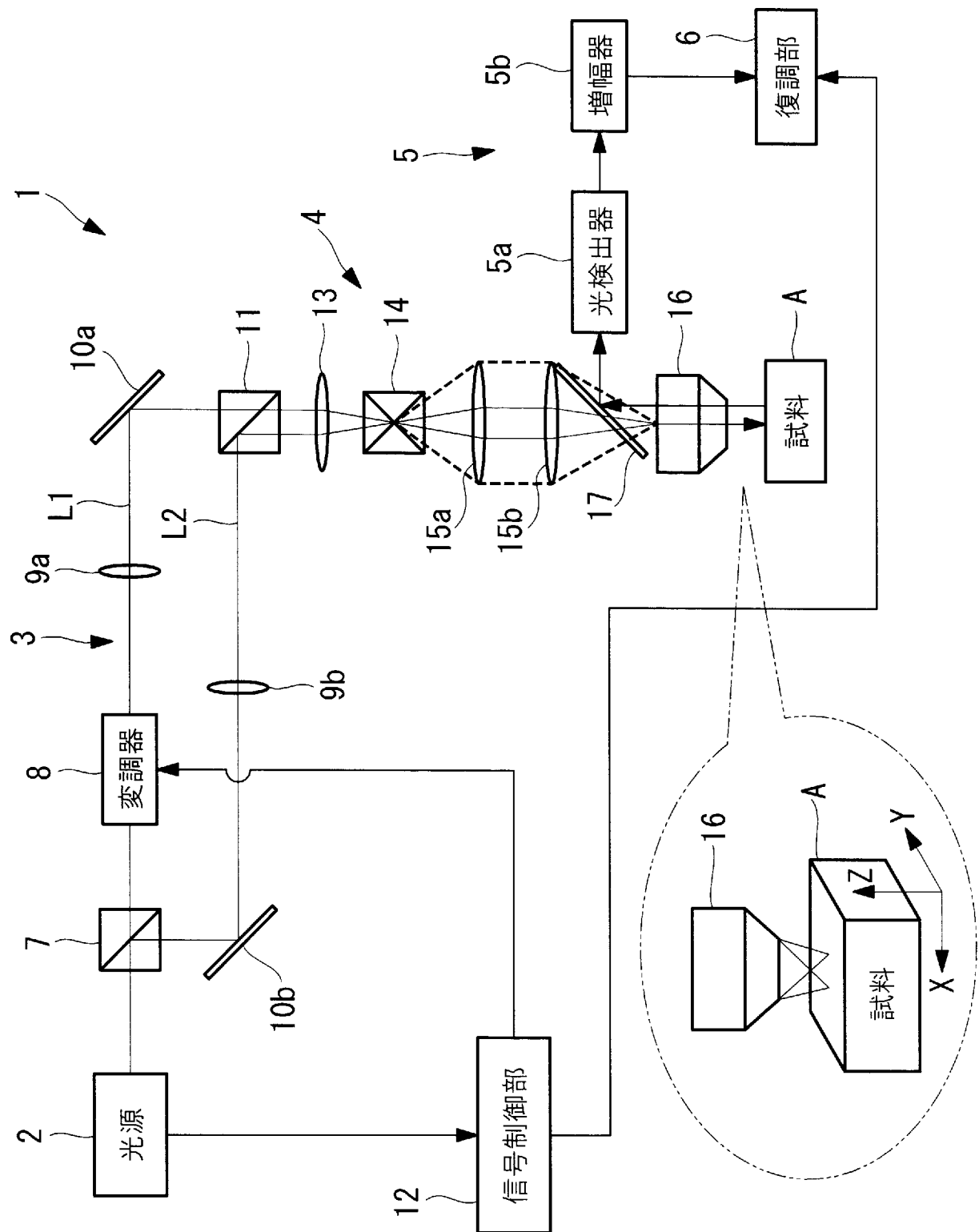
- [0066] 1 画像取得装置
- 2 光源
- 3 照明光生成部
- 4 照明光学系
- 5 光検出部
- 6 復調部（信号光復調部）
- 7, 7 a, 7 b 第1ビームスプリッタ（光分岐部）
- 8, 8 a, 8 b 電気光学変調器（変調器）
- S 1 照明光生成ステップ
- S 2 照射ステップ
- S 3 光検出ステップ
- S 4 蛍光復調ステップ（信号光復調ステップ）
- L 1, L 2, L 2 a, L 2 b, L 3, L 4 照明光の主光線
- A 試料

請求の範囲

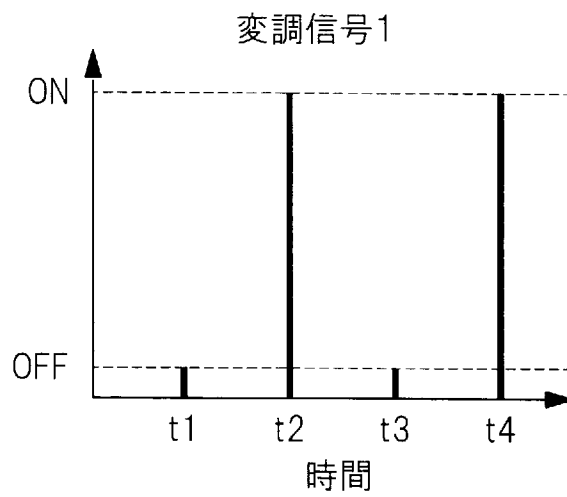
- [請求項1] 複数の領域を同時に照明しながら、各々の照明領域に対応する局所信号を分離して取得する画像取得装置であって、
- 光源から射出された光の強度を変調し相互に一次独立なパターンを有し、変調された変調照明光と変調されていない非変調照明光とを含む複数の照明光を生成する照明光生成部と、
- 該照明光生成部により生成された複数の前記照明光を試料の異なる位置に照射する照明光学系と、
- 該照明光学系により前記照明光が照射された複数の照射位置において発生した信号光が合成された合成信号光を検出して合成信号を出力する光検出部と、
- 該光検出部により出力された前記合成信号から、前記変調照明光に対応した復調信号と前記合成信号との積の時間積分を用いて前記変調照明光に対応する変調局所信号を分離し、前記合成信号の時間積分から前記変調局所信号の総和を差分して前記非変調照明光に対応する非変調局所信号を分離する復調部とを備える画像取得装置。
- [請求項2] 前記変調照明光に対応しない前記復調信号と前記変調照明光に対応しない前記変調局所信号および前記非変調局所信号との積の時間積分がゼロである請求項1に記載の画像取得装置。
- [請求項3] 前記非変調照明光に対応する前記復調信号と前記合成信号との積の時間積分が前記合成信号の時間積分である請求項2に記載の画像取得装置。
- [請求項4] 前記照明光生成部が生成した複数の前記照明光の少なくとも一つの光路に光の強度を変調する変調器を備える請求項1から請求項3のいずれかに記載の画像取得装置。
- [請求項5] 前記変調器を2以上備え、
- 各該変調器が、相互に直交する前記復調信号を有する前記変調照明光をそれぞれ生成する請求項4に記載の画像取得装置。

- [請求項6] 複数の前記照射位置を前記試料中の任意位置に配置する機能を有する請求項1から請求項3のいずれかに記載の画像取得装置。
- [請求項7] 光源から射出された光の強度を変調し相互に一次独立なパターンを有し、変調された変調照明光と変調されていない非変調照明光とを含む複数の照明光を生成する照明光生成ステップと、
- 該照明光生成ステップにより生成された複数の前記照明光を試料の異なる位置に照射する照射ステップと、
- 該照射ステップにより前記照明光が照射された複数の照射位置において発生した信号光が合成された合成信号光を検出して合成信号を出力する光検出ステップと、
- 該光検出ステップにより出力された前記合成信号から、前記変調照明光に対応した復調信号と前記合成信号との積の時間積分を用いて前記変調照明光に対応する変調局所信号を分離し、前記合成信号の時間積分から前記変調局所信号の総和を差分して前記非変調照明光に対応する非変調局所信号を分離する信号光復調ステップとを含む画像取得方法。

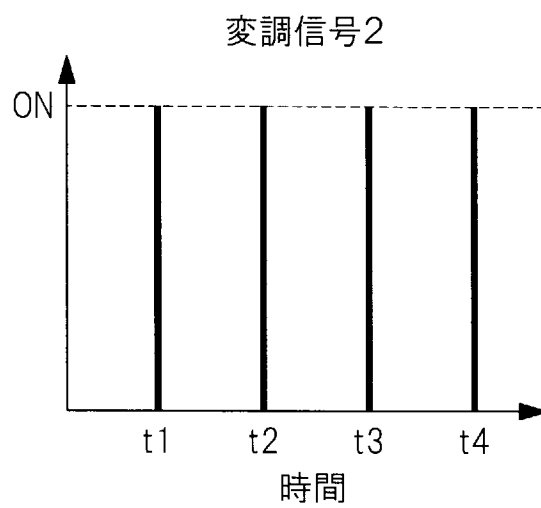
[図1]



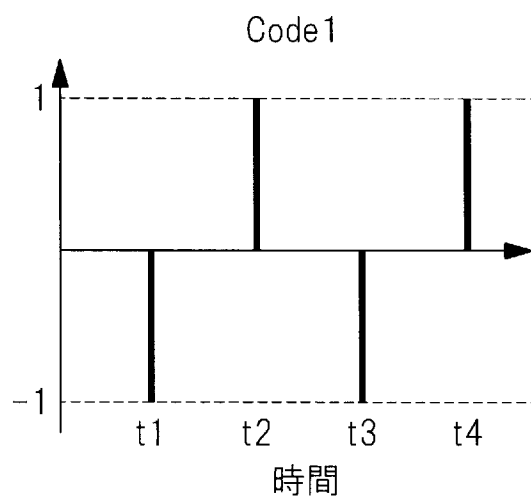
[図2A]



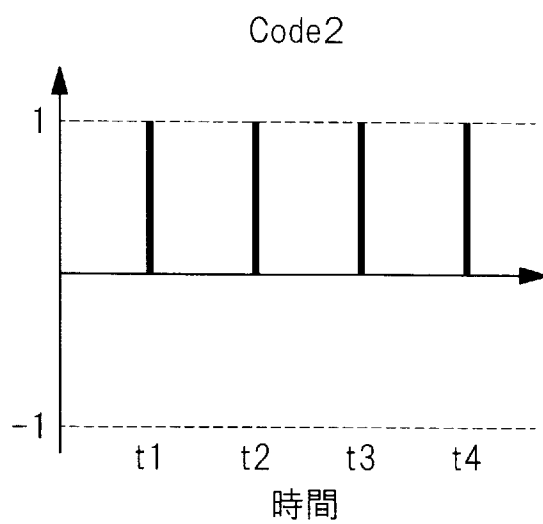
[図2B]



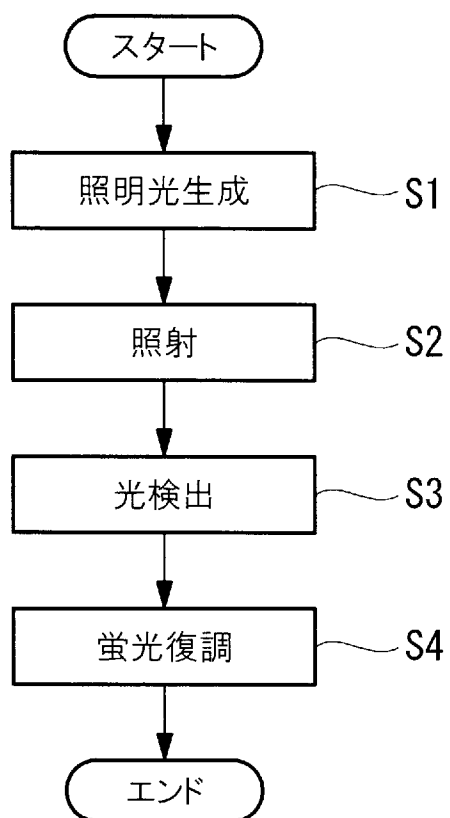
[図2C]



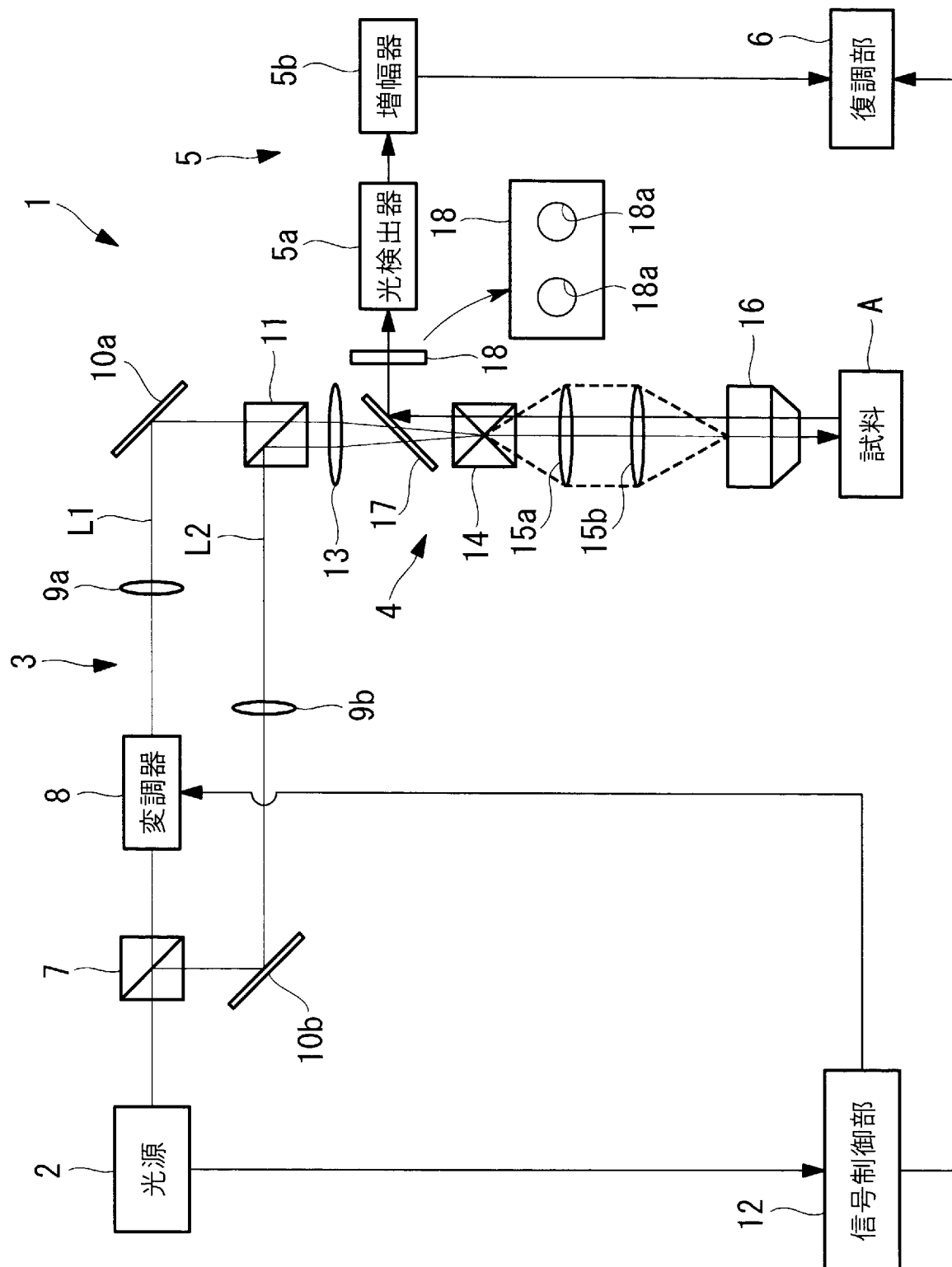
[図2D]



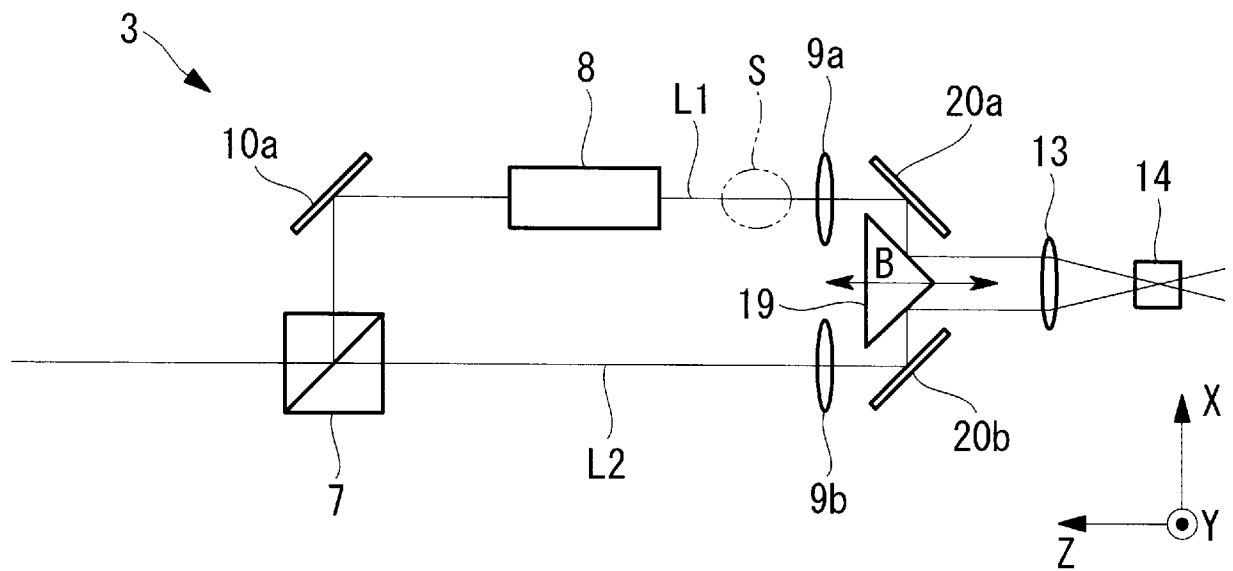
[図3]



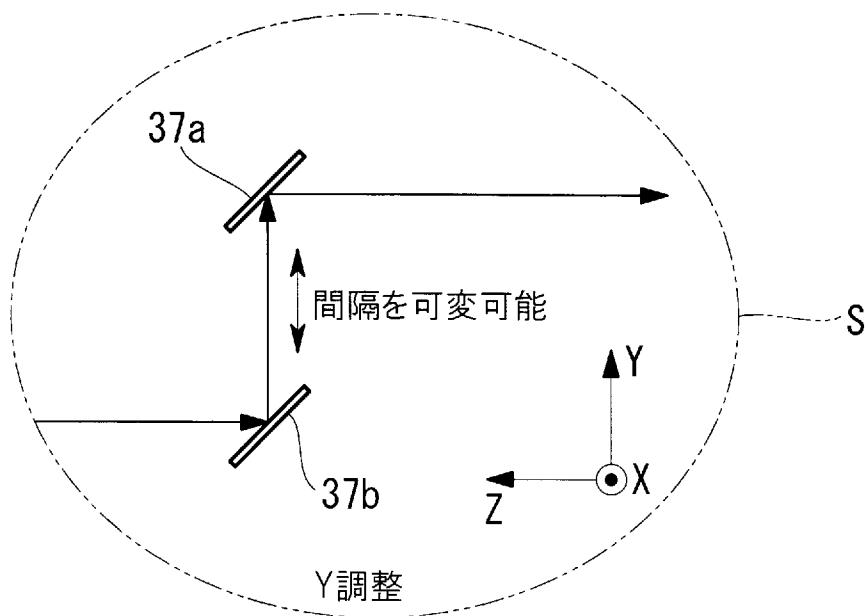
[図4]



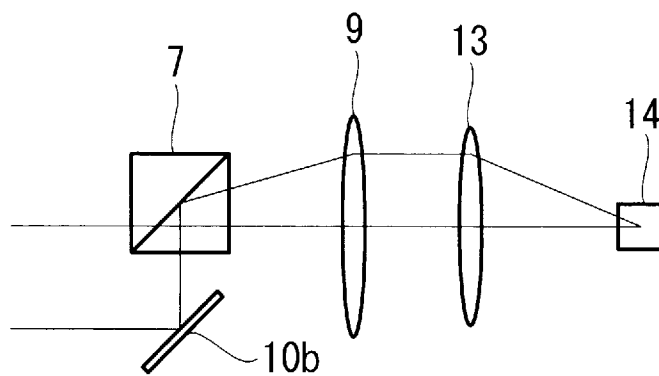
[図5A]

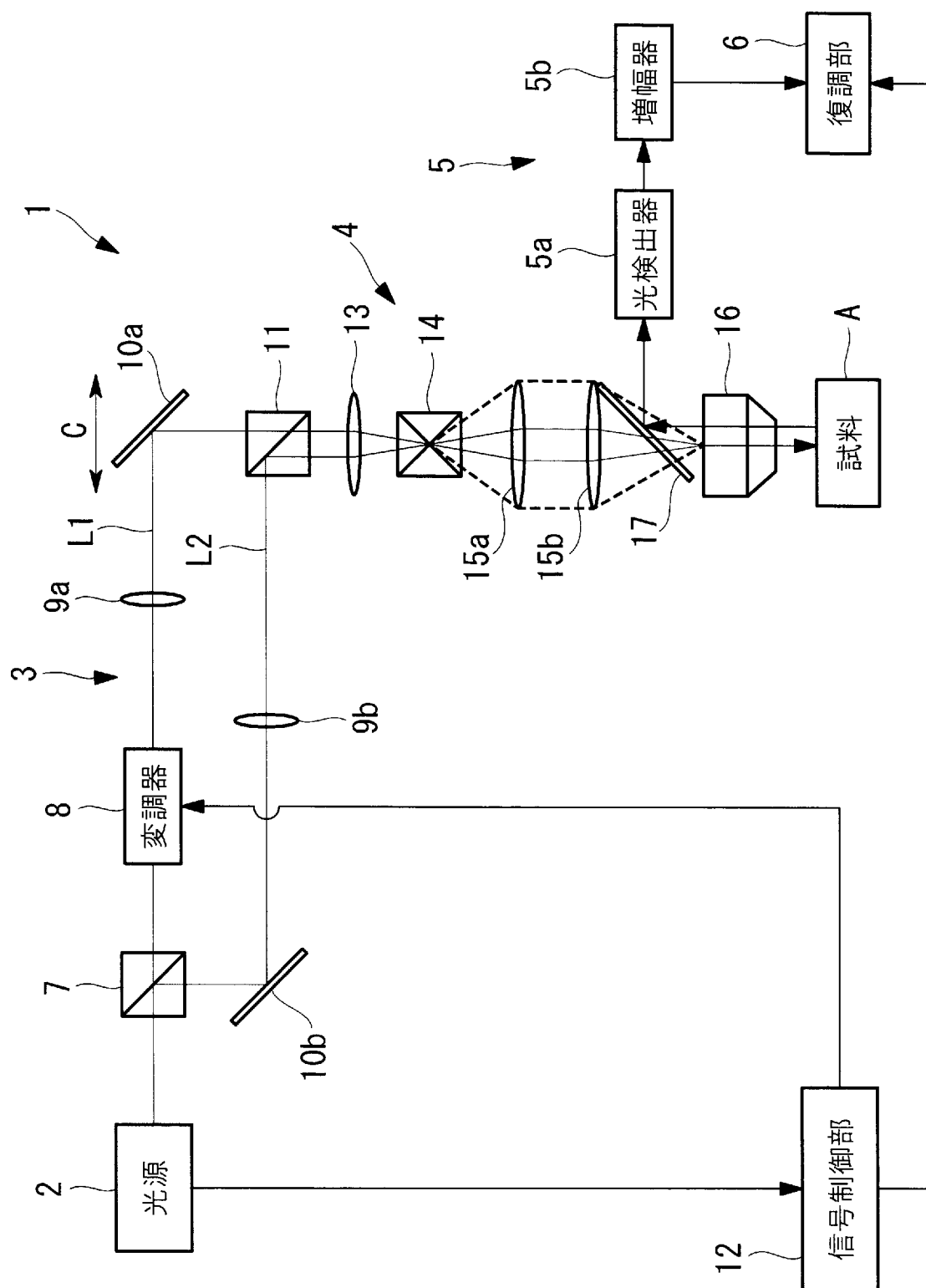


[図5B]

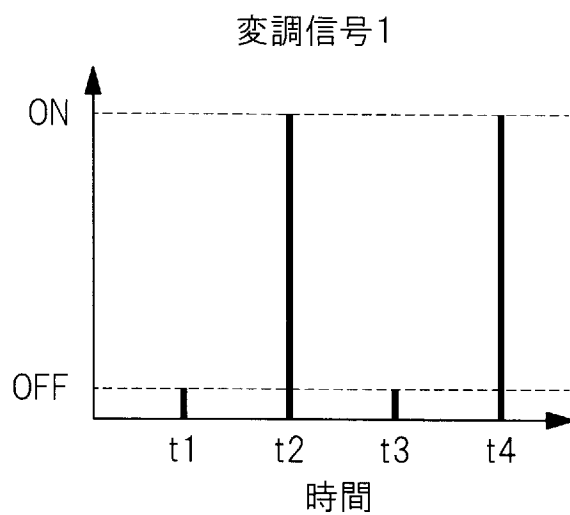


[図6]

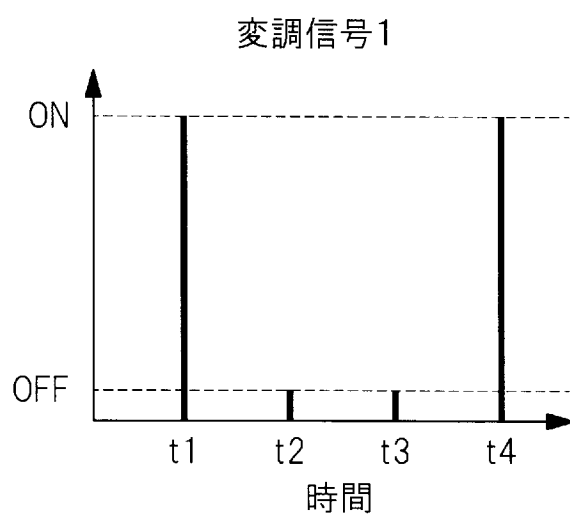




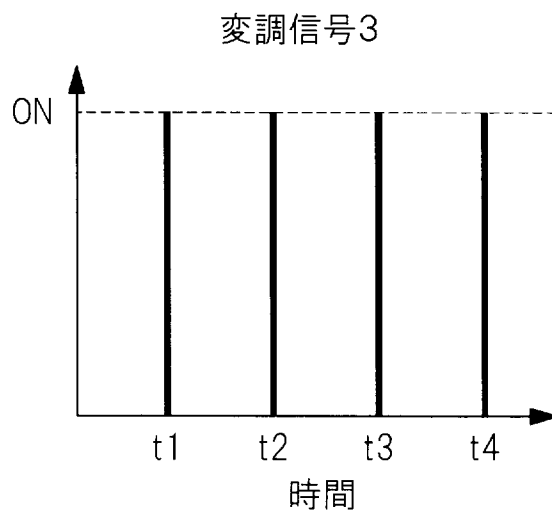
[図9A]



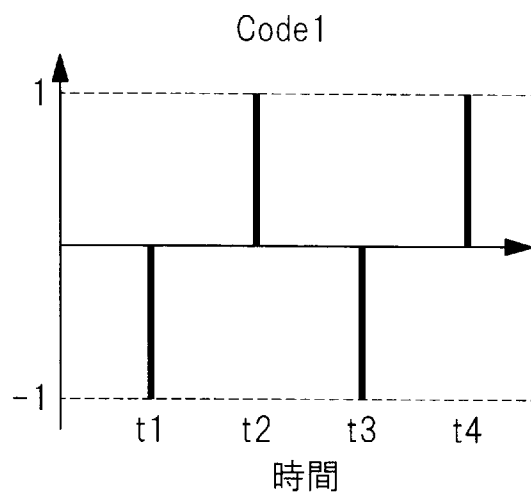
[図9B]



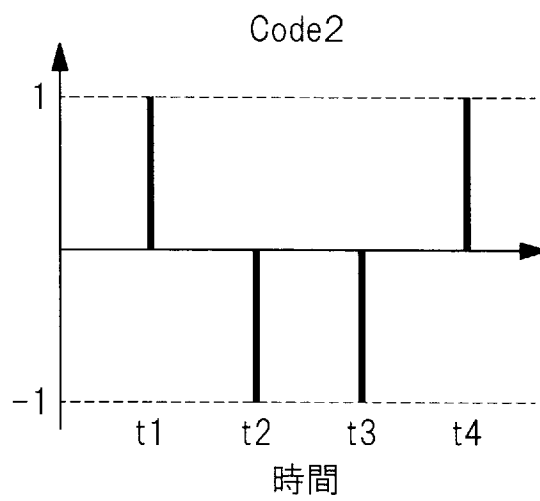
[図9C]



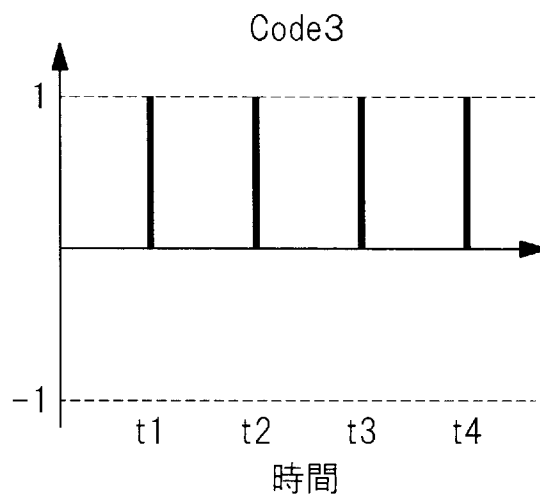
[図9D]



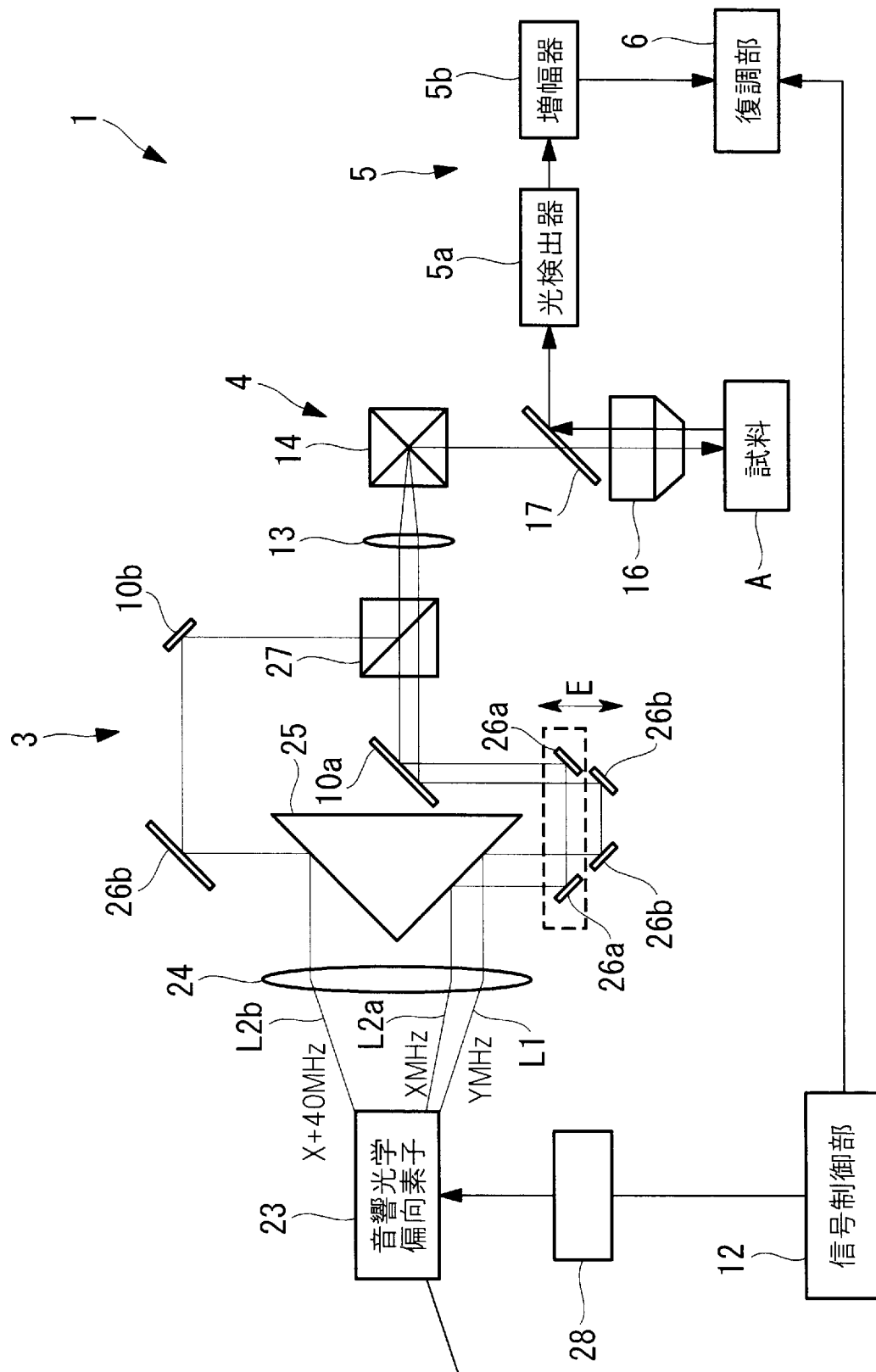
[図9E]



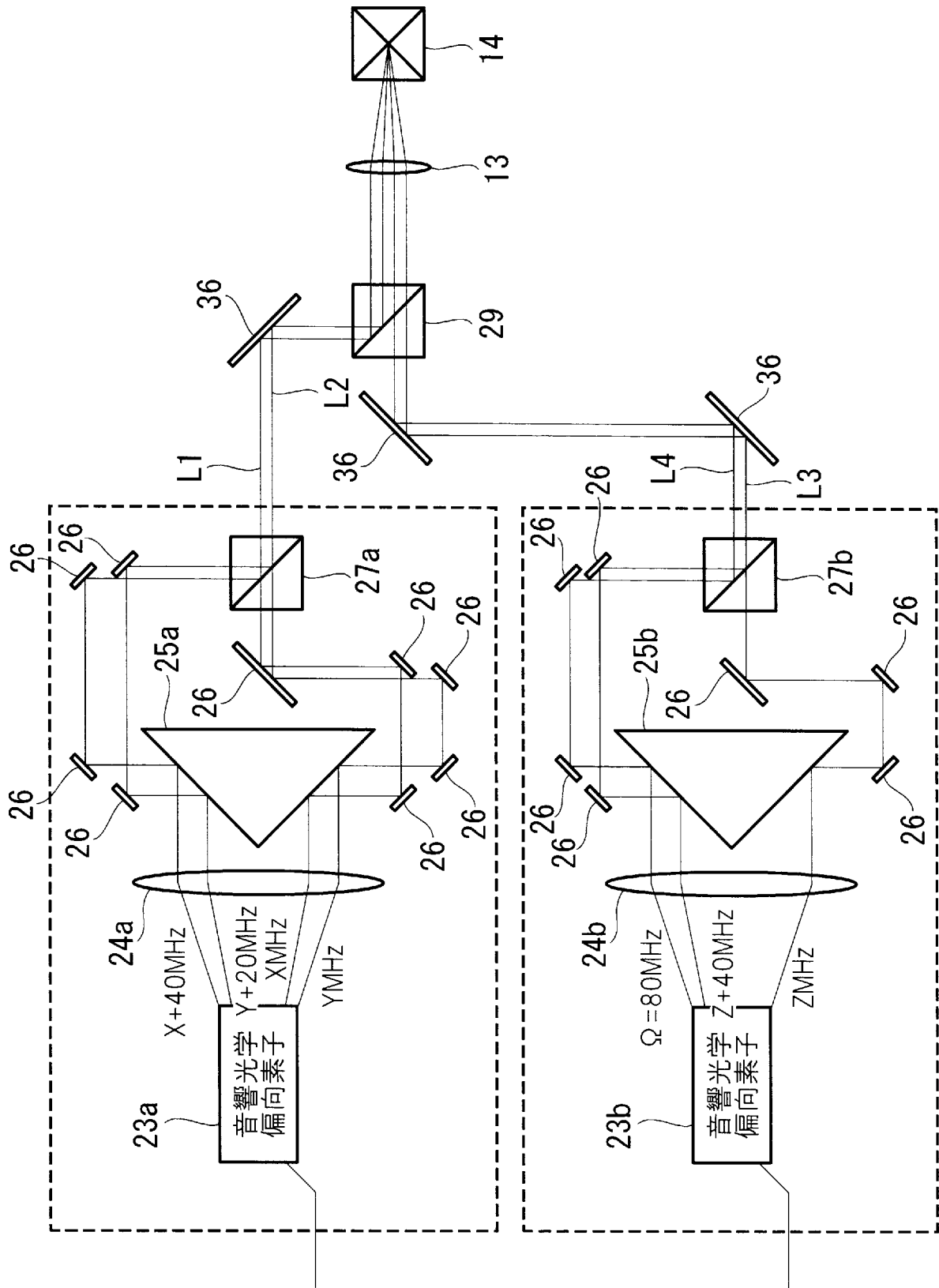
[図9F]



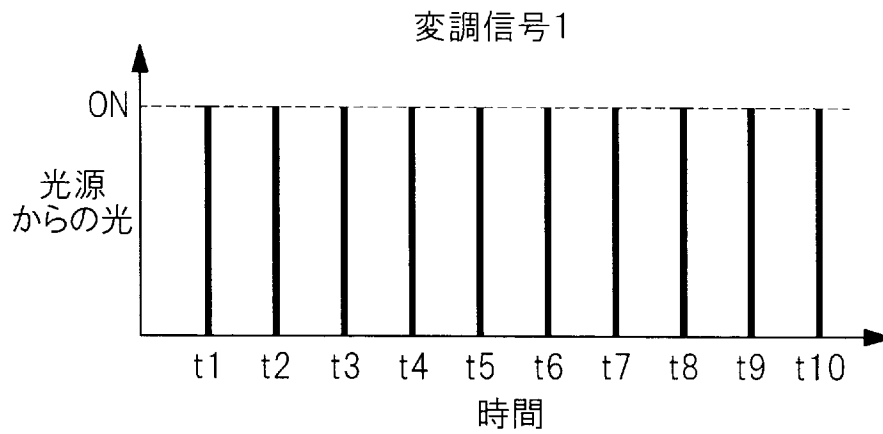
[図10]



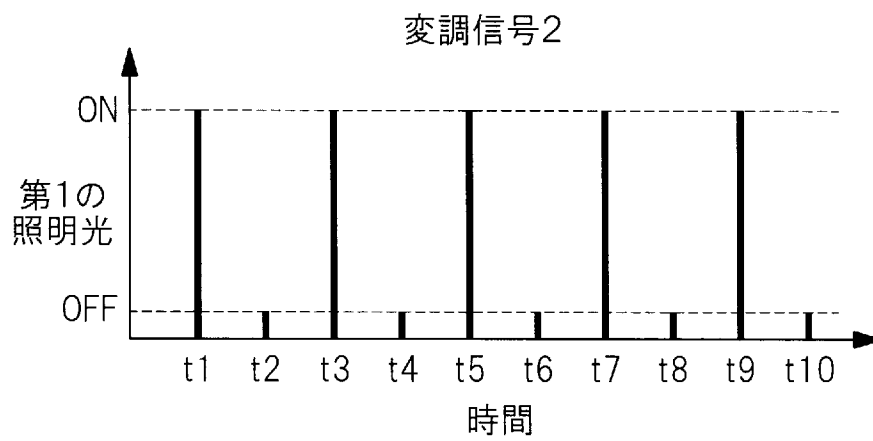
[図11]



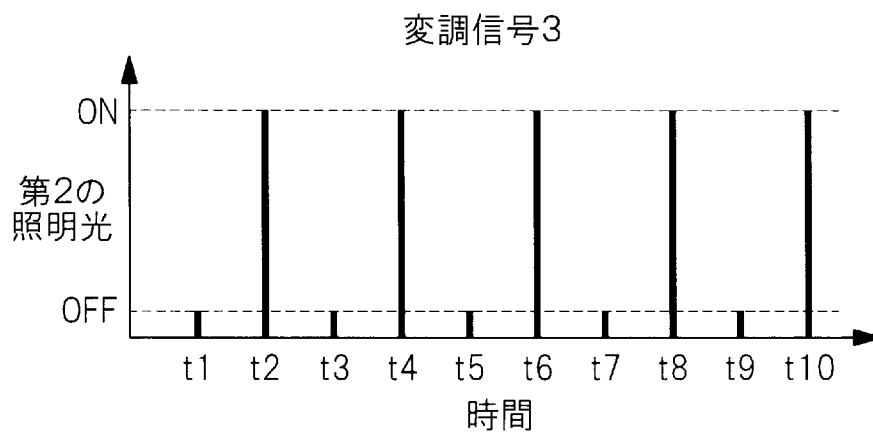
[図13A]



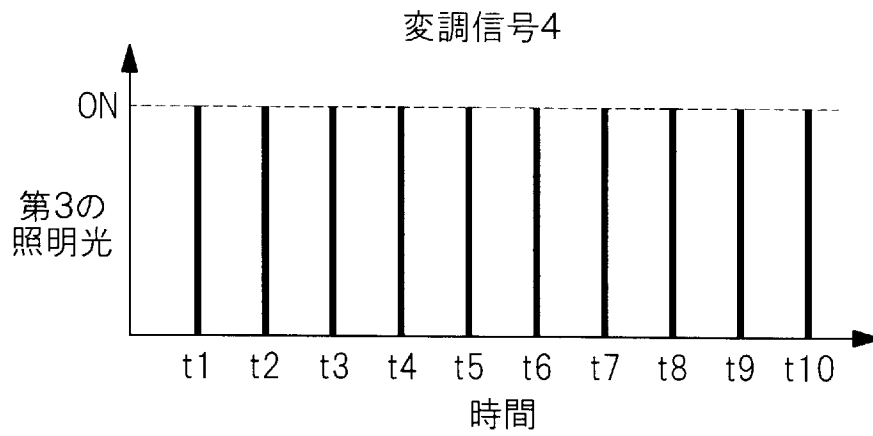
[図13B]



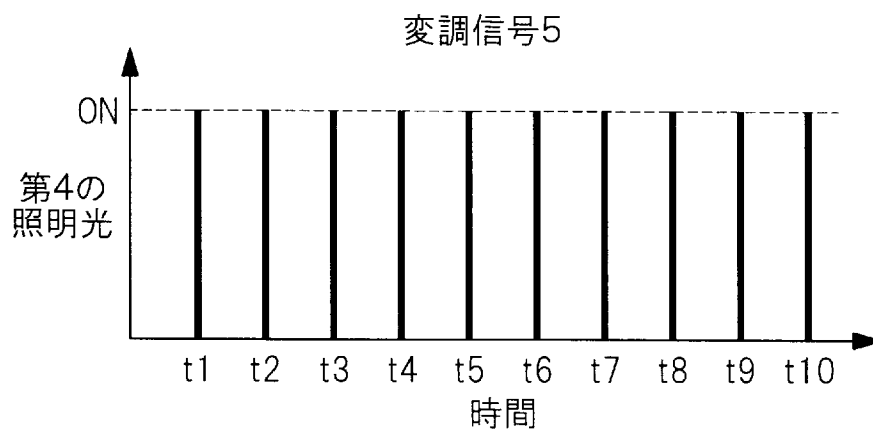
[図13C]



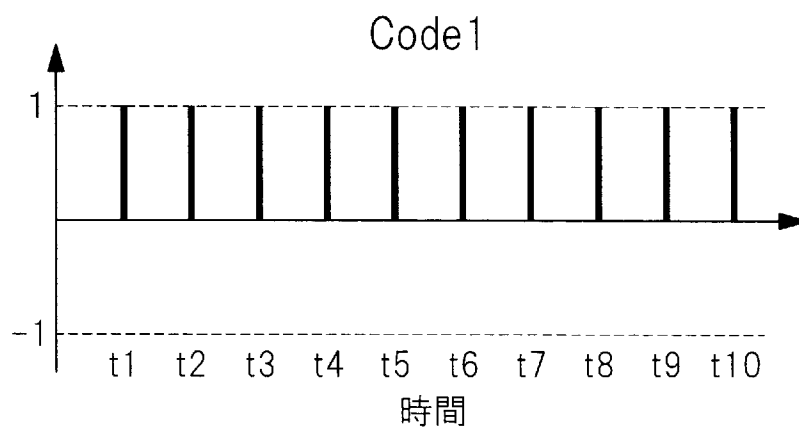
[図13D]



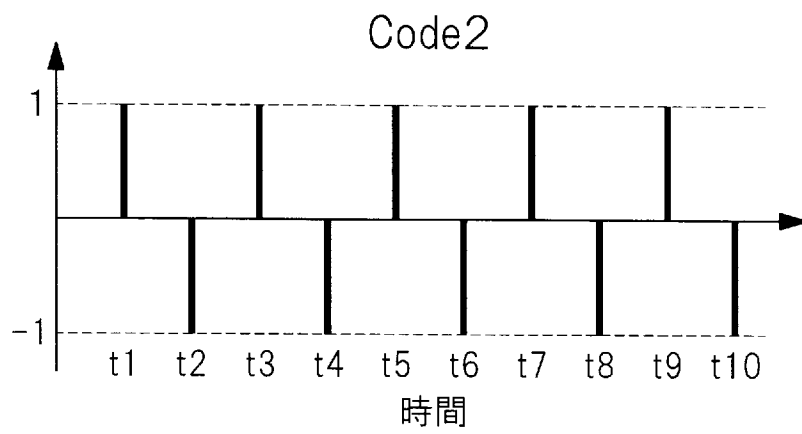
[図13E]



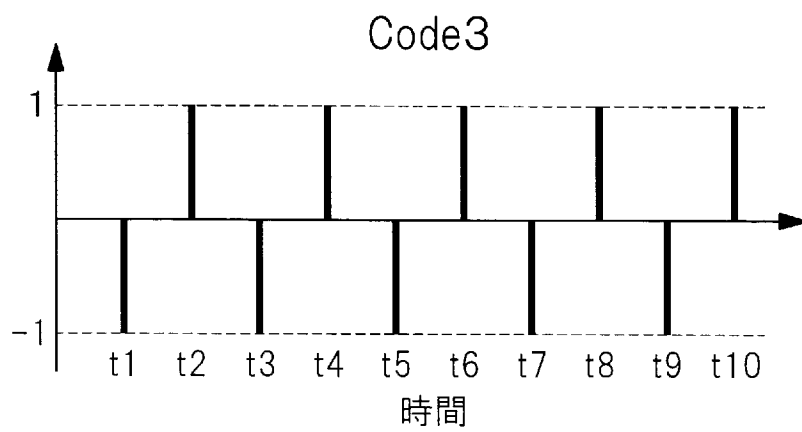
[図13F]



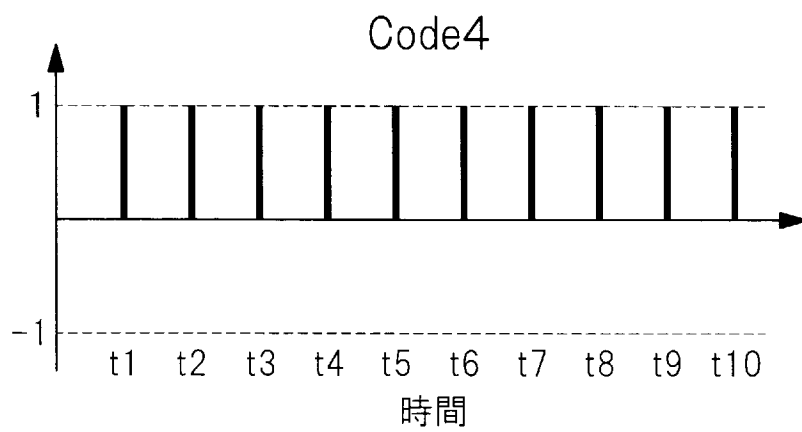
[図13G]



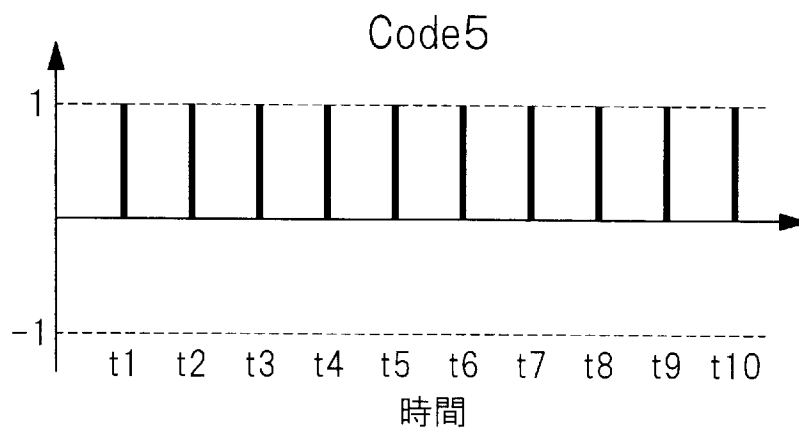
[図13H]



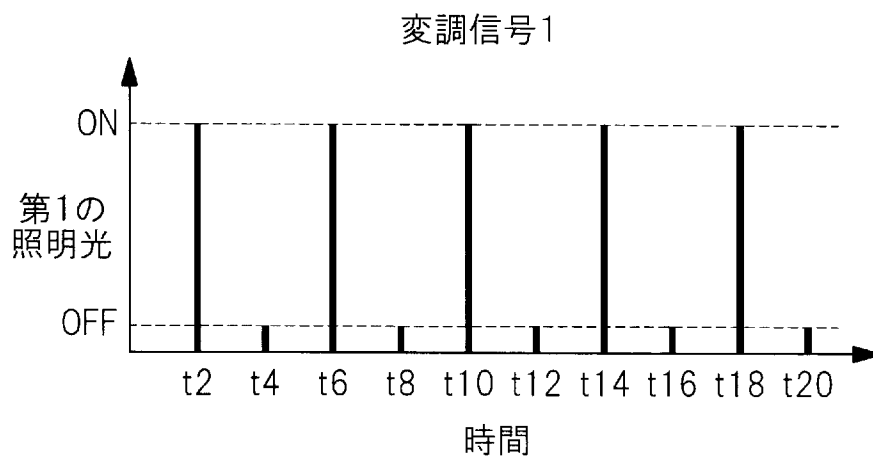
[図13I]



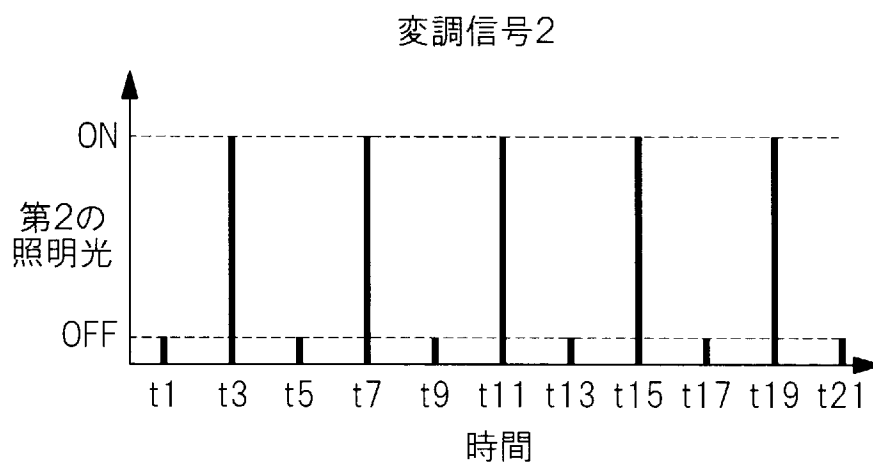
[図13J]



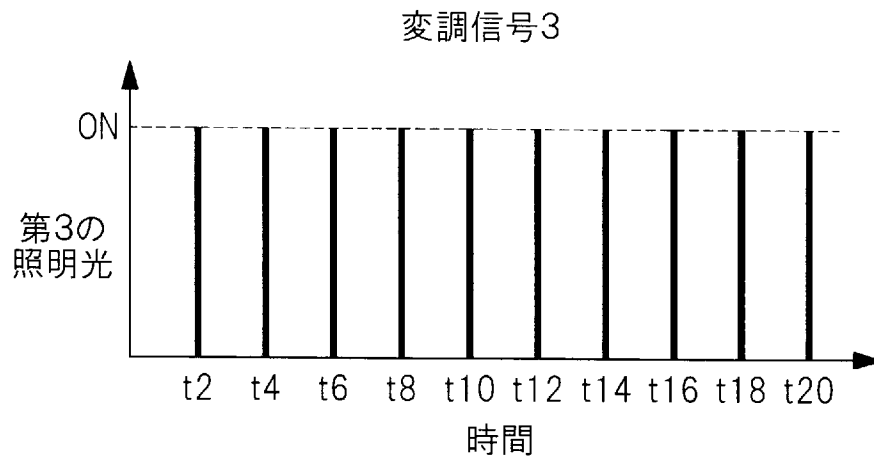
[図14A]



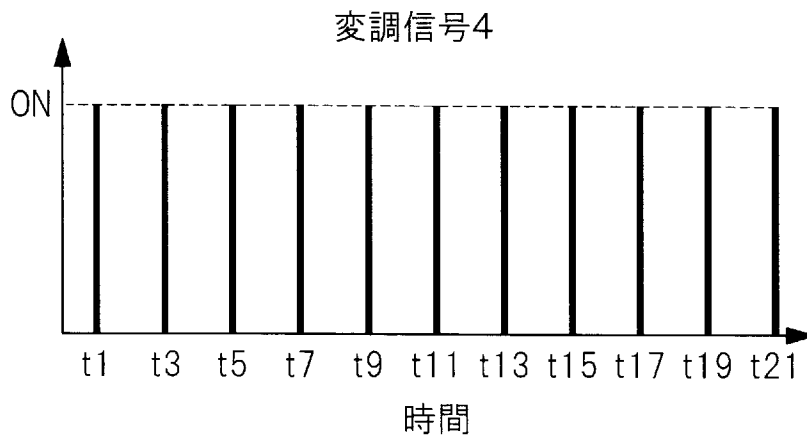
[図14B]



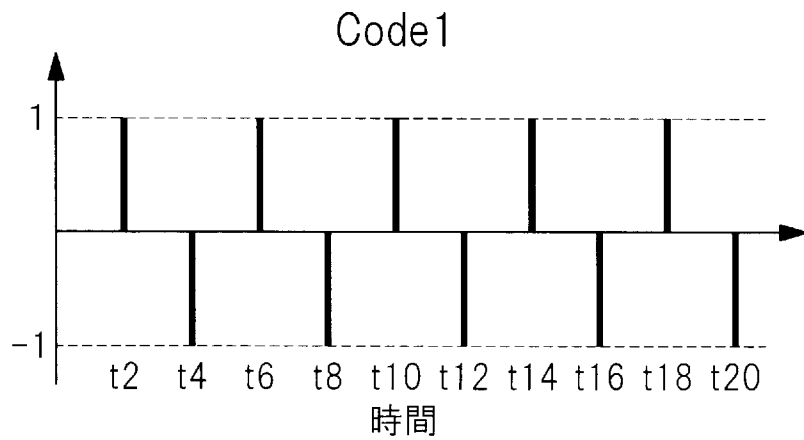
[図14C]



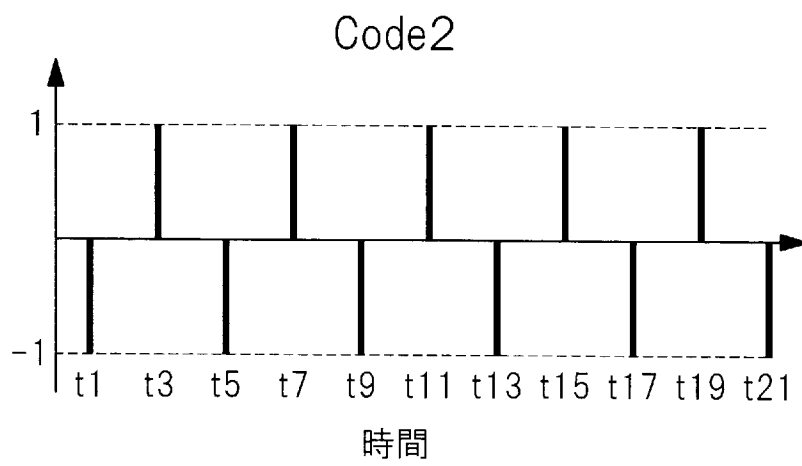
[図14D]



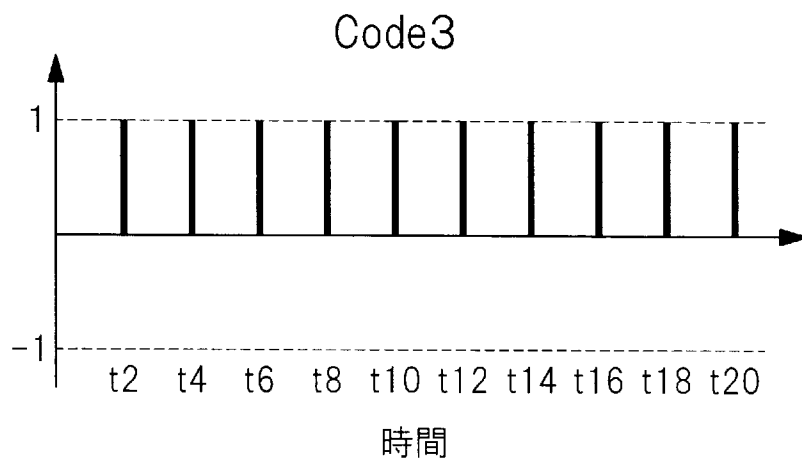
[図14E]



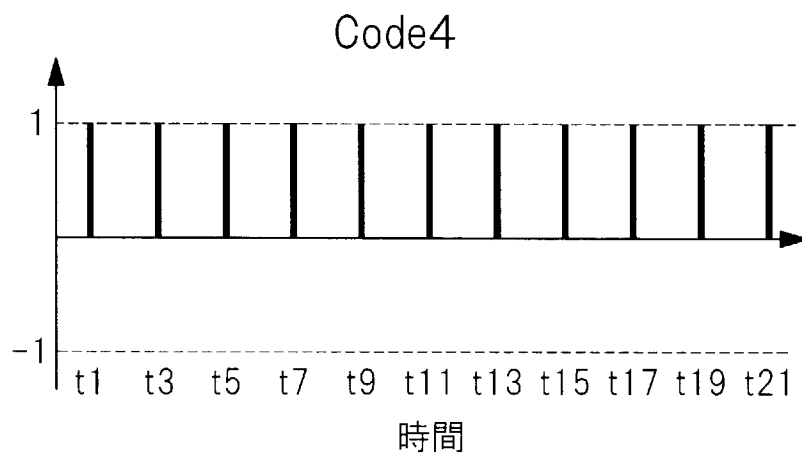
[図14F]



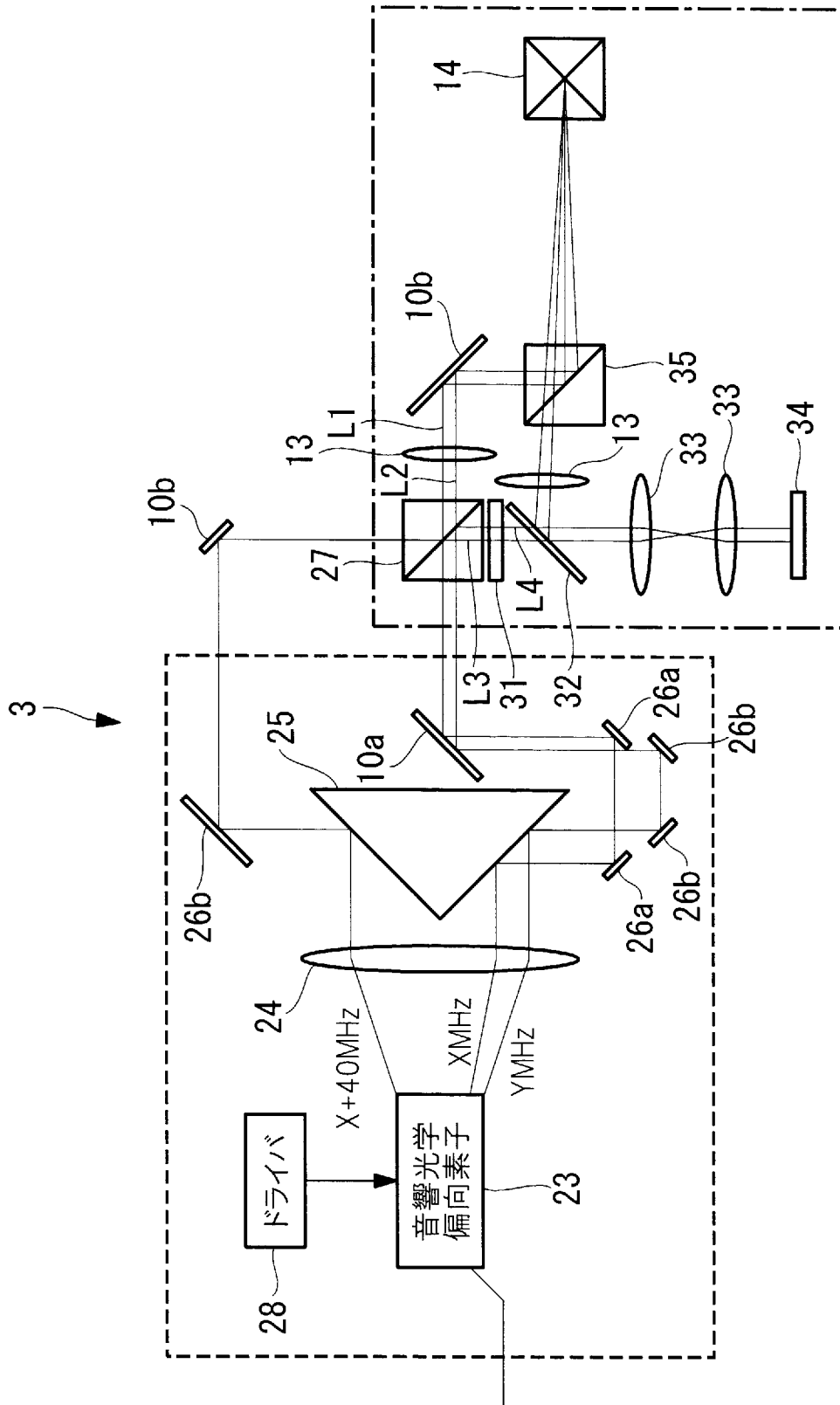
[図14G]



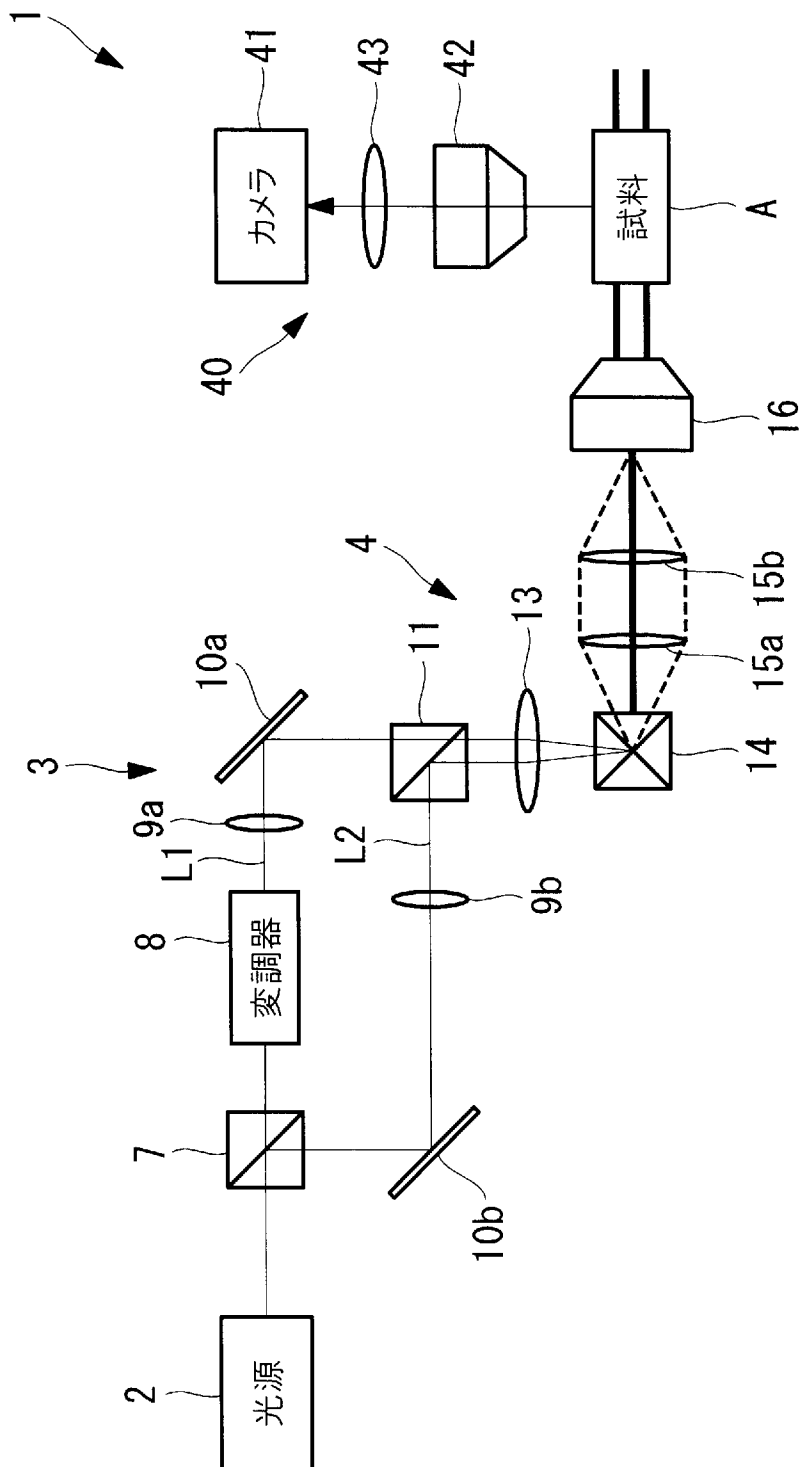
[図14H]



[図15]



[図16]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/065610

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G02B21/00(2006.01)i, G01N21/01(2006.01)i, G01N21/64(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, G01N21/01, 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	1996-2016
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)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2013-19908 A (Carl Zeiss Microscopy GmbH), 31 January 2013 (31.01.2013), claims; entire text; all drawings & US 2007/0023686 A1 all claims; detailed description; all figures & WO 2007/009812 A1 & EP 1907826 A & DE 102005034443 A & AT 441103 T	1-7
A	JP 2012-208442 A (Olympus Corp.), 25 October 2012 (25.10.2012), claims; entire text; all drawings (Family: none)	1-7

☒ 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
18 August 2016 (18.08.16)

Date of mailing of the international search report
30 August 2016 (30.08.16)

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/JP2016/065610

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 2012-78802 A (Carl Zeiss MicroImaging GmbH), 19 April 2012 (19.04.2012), claims; entire text; all drawings & US 2012/0268812 A1 all claims; detailed description; all figures & EP 2437096 A2 & DE 102011013613 A	1-7
A	JP 2006-23387 A (Olympus Corp.), 26 January 2006 (26.01.2006), claims; entire text; all drawings & US 2006/0238745 A1 all claims; detailed description; all figures	1-7

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. G02B21/00(2006.01)i, G01N21/01(2006.01)i, G01N21/64(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, G01N21/01, 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	1971-2016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）

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 2013-19908 A（カール ツァイス マイクロスコピー ゲーエム ベーハー）2013.01.31, 特許請求の範囲、全文、全図 & US 2007/0023686 A1, all claims, detailed description, and all figures & WO 2007/009812 A1 & EP 1907826 A & DE 102005034443 A & AT 441103 T	1-7
A	JP 2012-208442 A（オリンパス株式会社）2012.10.25, 特許請求の 範囲、全文、全図（ファミリーなし）	1-7

☒ 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

18.08.2016

国際調査報告の発送日

30.08.2016

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）

越河 勉

2 V

9313

電話番号 03-3581-1101 内線 3271

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	JP 2012-78802 A (カール ツァイス マイクロイメージング ゲー エムペーハー) 2012.04.19, 特許請求の範囲、全文、全図 & US 2012/0268812 A1, all claims, detailed description, and all figures & EP 2437096 A2 & DE 102011013613 A	1-7
A	JP 2006-23387 A (オリンパス株式会社) 2006.01.26, 特許請求の範 囲、全文、全図 & US 2006/0238745 A1, all claims, detailed description, and all figures	1-7