

(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
2010年11月11日(11.11.2010)

PCT

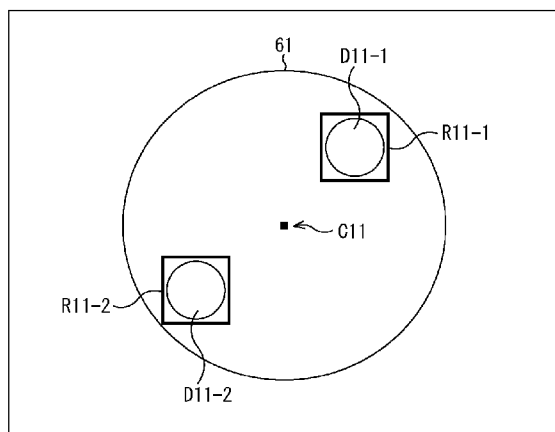
(10) 国際公開番号
WO 2010/128670 A1

- (51) 国際特許分類:
G02B 7/28 (2006.01) G02B 21/00 (2006.01)
G02B 7/36 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/057789
- (22) 国際出願日: 2010年5月7日(07.05.2010)
- (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 2009-113396 2009年5月8日(08.05.2009) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社ニコン(NIKON CORPORATION) [JP/JP]; 〒1008331 東京都千代田区有楽町一丁目1番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 清田 泰次郎(KIYOTA Yasujiro) [JP/JP]; 〒1008331 東京都千代田区有楽町一丁目1番1号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP). 和田 陽一(WADA Yoichi) [JP/JP]; 〒1008331 東京都千代田区有楽町一丁目1番1号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP). 紀伊 宏昭(KII Hiroaki) [JP/JP]; 〒1008331 東京都千代田区有楽町一丁目1番1号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 稲本 義雄(INAMOTO Yoshio); 〒1600023 東京都新宿区西新宿7丁目1番18号 711ビルディング4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, 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, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, 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, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, 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: FOCUS CONTROL DEVICE, AND INCUBATION AND OBSERVATION DEVICE

(54) 発明の名称: フォーカス制御装置および培養観察装置

[図6]
図6



(57) Abstract: Provided are a focus control device by which an in-focus position of an objective lens with respect to an object can be easily and certainly detected, and an incubation and observation device. When detecting an in-focus position of an objective lens with respect to a medium drop (D11) provided in an incubation container (61), the incubation and observation device selects an area which includes an edge portion of the medium drop (D11) and does not include an area located within a predetermined distance from an end of the incubation container (61), as an AF area in which the in-focus position of the objective lens with respect to the medium drop (D11) is to be detected. The incubation and observation device detects the in-focus position with respect to the medium drop (D11), on the basis of the image observed in the AF area. The detection precision can be increased by detecting the in-focus position with reference to an area different from an area in the vicinity of the end of the incubation container (61) in which irregular lighting occurs. The invention can be applied to an incubation and observation device.

(57) 要約: 本発明は、対物レンズの対象物への合焦位置をより簡単かつ確実に検出できるようにするフォーカス制御装置および培養観察装置に関する。培養観察装置は、培養容器61内にある培地ドロップD11への対物レンズの合焦位置を検出するにあたり、培地ドロップD11のエッジ部分を含み、かつ培養容器61の端から所定距離内の領域を含まない領域を、対物レンズの培地ドロップD11への合焦位置の検出の対象となるAF領域として選択する。そして、培養観察装置は、AF領域の観察画像に基づいて、培地ドロップD11への合焦位置を検出する。このように、培養容器61の端近傍の照明むらが生じる領域とは異なる領域を対象として合焦位置を検出することで、検出精度を向上させることができる。本発明は、培養観察装置に適用することができる。

WO 2010/128670 A1

明 細 書

発明の名称：フォーカス制御装置および培養観察装置

技術分野

[0001] 本発明はフォーカス制御装置および培養観察装置に関し、特に、培地ドロップ内で浮遊する観察物を観察する場合に用いて好適なフォーカス制御装置および培養観察装置に関する。

背景技術

[0002] 従来、培養容器内の細胞を培養するとともに、内蔵された顕微鏡を利用して、細胞の観察画像を撮像して記録する細胞培養システムが知られている。

[0003] このような細胞培養システムにおいて、観察者の操作によらず、一定の時間間隔で細胞の観察画像を撮像するには、顕微鏡の対物レンズからの光が細胞に合焦するときの対物レンズの位置を検出する機構、つまりオートフォーカス機能を細胞培養システムに設ける必要がある。

[0004] ところが、細胞培養システムにおいて、観察者の操作によらず細胞への合焦位置を検出することは困難であるため、細胞培養システムでは、観察者により予め指定された焦点位置を基準として対物レンズが移動され、複数の観察画像が撮像されることが多い。すなわち、細胞培養システムは、指定された焦点位置を中心として、対物レンズを、その光軸方向に移動させながら、対物レンズの各位置における観察画像を撮像する。

[0005] これは、観察者が、細胞に合焦する対物レンズの位置を焦点位置として指定しておけば、その焦点位置を中心とする各位置に対物レンズを移動させて観察画像を撮像することで、細胞にピントが合った観察画像が得られると推定されるからである。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開2007-6841号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0007] ところで、細胞培養システムにおける観察対象が、接着性の細胞など、観察面が比較的安定している場合には、対物レンズの位置を移動させて複数枚の観察画像を撮像すれば、細胞にピントの合った観察画像を得ることができる可能性が高い。しかしながら、観察対象が浮遊性の細胞である場合には、対物レンズの位置を移動させながら複数の観察画像を撮像しても、細胞にピントが合った観察画像を得ることができないことがある。
- [0008] 例えば、体外受精を行うクリニックなどでは、ディッシュ上に培地ドロップを配置し、その培地ドロップ内で受精胚を培養することがある。そのような場合、受精胚は、培地ドロップ内を自在に移動するため、受精胚が観察視野内に入り、かつ受精胚に合焦するような対物レンズの位置を予め指定しておくことはできなくなる。そのため、細胞培養システムにおいて、観察者の操作なしに、自動で受精胚を観察することは困難であった。
- [0009] 特に、培地ドロップがディッシュの端近傍にある場合には、ディッシュの側壁面において光がけられ、照明むらが生じるため、受精胚に合焦する対物レンズの位置を検出することは、さらに困難となってしまう。
- [0010] 本発明は、このような状況に鑑みてなされたものであり、対物レンズの対象物への合焦位置を、より簡単かつ確実に検出することができるようにするものである。

課題を解決するための手段

- [0011] 本発明のフォーカス制御装置は、対物レンズの対象物への合焦位置を検出するフォーカス制御装置であって、前記合焦位置の検出の対象となる第1の対象領域として、ステージに載置された容器の端から所定距離内にある領域が含まれず、かつ前記容器内の前記対象物の境界部分が含まれる領域を選択する領域設定手段と、前記対物レンズと前記ステージとの前記対物レンズの光軸方向への距離を変化させながら、前記距離が異なる状態で、複数の前記第1の対象領域の観察画像を撮像させる撮像制御手段と、複数の前記観察画像に基づいて、前記合焦位置を検出する合焦位置検出手段とを備えることを

特徴とする。

- [0012] 本発明の培養観察装置は、培地ドロップ内の受精胚を観察し、前記受精胚を培養する培養観察装置であって、培養容器内の前記培地ドロップのエッジを含む領域を検出領域に設定する領域設定手段と、前記検出領域において合焦位置を検出する合焦位置検出手段と、前記合焦位置検出手段によって検出された合焦位置に基づいて、前記培地ドロップを撮像して観察画像を取得し、前記観察画像に基づき、前記培地ドロップ内の受精胚の位置を特定する特定手段と、前記受精胚の位置に基づき、前記受精胚を観察する観察制御手段とを備える。

発明の効果

- [0013] 本発明によれば、対物レンズの対象物への合焦位置を、より簡単かつ確実に検出することができる。

図面の簡単な説明

- [0014] [図1]本発明を適用した培養観察装置の全体構成を示す正面図である。
[図2]第1筐体の内部の構成例を示す図である。
[図3]観察ユニットの構成例を示す図である。
[図4]培養観察装置の機能的な構成例を示す図である。
[図5]観察処理を説明するフローチャートである。
[図6]観察対象となる培養容器内の培地ドロップについて説明する図である。
[図7]培地ドロップおよび受精胚について説明する図である。
[図8]A F領域について説明する図である。
[図9]A F領域について説明する図である。
[図10]タイリングについて説明する図である。
[図11]粗スキャン処理について説明するフローチャートである。
[図12]A F領域について説明する図である。
[図13]本スキャン処理について説明するフローチャートである。

発明を実施するための形態

- [0015] 以下、図面を参照して、本発明を適用した実施の形態について説明する。

[0016] [培養観察装置の構成]

図 1 は、本発明を適用した培養観察装置の全体構成を示す正面図である。
なお、図 1 において、実線は外観に表れる部位の構造を示し、破線は外観に表れない内部の部位の構造を示している。

[0017] 培養観察装置 11 は、観察対象となる受精胚の培養を行う第 1 筐体 21 と、フォーカス制御装置を構成する第 2 筐体 22 とから構成され、第 1 筐体 21 は、第 2 筐体 22 の上に載せられた状態で使用される。

[0018] 第 1 筐体 21 の内部には、断熱材で覆われた恒温室 31 が形成されており、この恒温室 31 は、第 1 筐体 21 の正面に設けられた正面扉 32 と、第 1 筐体 21 の正面から見て、左側側面に設けられた搬出入口 33 とによって、外部と連絡している。また、第 1 筐体 21 の恒温室 31 内には、受精胚が入れられた図示せぬ培養容器を保持するストッカ 34 と、培養容器を搬送する容器搬送機構 35 とが設けられている。

[0019] さらに、第 2 筐体 22 には、培養容器内の受精胚を撮像して得られた観察画像等が表示される表示部 36、培養観察装置 11 の全体を制御する制御ユニット 38、および受精胚を観察して観察画像を撮像する観察ユニット 37 が設けられている。

[0020] 表示部 36 は、第 2 筐体 22 の正面側の表面に設けられており、例えば液晶ディスプレイなどから構成される。また、観察ユニット 37 は、例えば顕微鏡などからなり、その一部が恒温室 31 内に突出するように固定されている。

[0021] また、図 2 に示すように、観察者は正面扉 32 を開けることにより、ストッカ 34 に培養容器 61 を載せたり、ストッカ 34 から培養容器 61 を取り出したりすることができる。すなわち、ストッカ 34 には複数の棚が設けられており、各棚に 1 または複数の培養容器 61 が収納可能となっている。ここで、培養容器 61 は、例えば、観察対象の受精胚が入れられるディッシュなどとされる。

[0022] また、観察ユニット 37 には、培養容器 61 が載置されるステージ 62 が

設けられており、ステージ62は、恒温室31内の容器搬送機構35近傍に位置するように設けられている。容器搬送機構35は、制御ユニット38の制御に従って、指定された培養容器61をストック34からステージ62上に搬送したり、ステージ62上の培養容器61をストック34の所定の棚に搬送したりする。

[0023] さらに、図2の観察ユニット37は、より詳細には図3に示すように構成される。

[0024] すなわち、観察ユニット37は、本体91、ステージ62、およびアーム92から構成され、ステージ62およびアーム92は、本体91の図中、上側に設けられている。また、観察ユニット37では、ステージ62およびアーム92が第1筐体21の恒温室31内に配置され、本体91が第2筐体22内に配置されるようになされている。

[0025] ステージ62は、透光性の材質で構成され、制御ユニット38の制御に基づいて、図中、上下方向（以下、 z 方向と称する）、および z 方向と垂直な方向（以下、 x y 方向と称する）に移動する。

[0026] アーム92は、ステージ62の表面と対向する面を有し、アーム92のステージ62と対向する位置には、第1照明部101および容器観察部102が設けられている。

[0027] 第1照明部101は、観察対象の受精胚を照明する照明光を射出する光源、光源からの照明光をステージ62上の培養容器61に照射する照明光学系などからなり、図中、上側から培養容器61に向けて照明光を照射する。この第1照明部101は、培養容器61内の受精胚を位相差観察する場合に用いられる。

[0028] また、容器観察部102は、ステージ62上の培養容器61から入射した光を結像する結像光学系、結像光学系により集光された光を受光して光電変換することで、受精胚を被写体とする観察画像を撮像するカメラなどからなる。この容器観察部102は、受精胚を明視野観察する場合に用いられる。

[0029] さらに、本体91には、第1照明部101と対向する顕微観察部103と

、容器観察部１０２に対向する第２照明部１０４とが設けられている。顕微観察部１０３は、受精胚を位相差観察する場合に用いられ、第２照明部１０４は、受精胚を明視野観察する場合に用いられる。

[0030] 顕微観察部１０３には、互いに光学倍率の異なる複数の対物レンズ１２１－１乃至対物レンズ１２１－３と、複数の中間変倍レンズ１２２－１乃至中間変倍レンズ１２２－３とが設けられている。

[0031] ここで、対物レンズ１２１－１および中間変倍レンズ１２２－１は、受精胚を２倍の倍率で観察するとき、第１照明部１０１からの照明光の光路（以下、位相差観察光路と称する）上に配置される。また、対物レンズ１２１－２および中間変倍レンズ１２２－２は、受精胚を４倍の倍率で観察するとき、位相差観察光路上に配置され、対物レンズ１２１－３および中間変倍レンズ１２２－３は、受精胚を１０倍の倍率で観察するとき、位相差観察光路上に配置される。

[0032] つまり、受精胚を位相差観察する場合、観察倍率に応じて、対物レンズ１２１－１および中間変倍レンズ１２２－１、対物レンズ１２１－２および中間変倍レンズ１２２－２、または対物レンズ１２１－３および中間変倍レンズ１２２－３の何れかの組み合わせが、位相差観察光路上に配置されることになる。

[0033] なお、以下、対物レンズ１２１－１乃至対物レンズ１２１－３を個々に区別する必要のない場合、単に対物レンズ１２１とも称し、中間変倍レンズ１２２－１乃至中間変倍レンズ１２２－３を個々に区別する必要のない場合、単に中間変倍レンズ１２２とも称する。

[0034] また、顕微観察部１０３における対物レンズ１２１および中間変倍レンズ１２２の図中、下側には、結像光学系１２３およびカメラ１２４が設けられている。結像光学系１２３は、中間変倍レンズ１２２から入射した照明光を集光してカメラ１２４に入射させ、カメラ１２４は、結像光学系１２３から入射した照明光を受光して光電変換することで、受精胚を被写体とする観察画像を撮像する。

- [0035] したがって、受精胚を位相差観察する場合には、第1照明部101からの照明光がステージ62上の培養容器61に照射され、さらに培養容器61を透過した照明光が対物レンズ121乃至結像光学系123を通過して、カメラ124により受光されることになる。
- [0036] また、本体91の第2照明部104は、照明光を射出する光源、光源からの照明光をステージ62上の培養容器61に照射する照明光学系などからなり、第2照明部104は、受精胚の培養容器61全体を明視野観察する場合に用いられる。すなわち、受精胚の培養容器61全体を明視野観察する場合には、第2照明部104からの照明光がステージ62上の培養容器61に照射され、さらに培養容器61を透過した照明光が容器観察部102により受光されることになる。
- [0037] 次に、図4は、培養観察装置11の機能的な構成例を示す図である。なお、図4において、図2または図3における場合と対応する部分には同一の符号を付してあり、その説明は適宜省略する。
- [0038] 図4の例では、制御ユニット38に、ステージ62、第1照明部101乃至第2照明部104、表示部36、容器搬送機構35、およびタッチパネル151が接続されている。タッチパネル151は、表示部36の表示画面に重畳して設けられ、観察者の表示部36の表示画面、より詳細にはタッチパネル151への接触を検出し、その接触位置を示す信号を制御ユニット38に供給する。例えば、観察者は、タッチパネル151に触れることで入力操作を行うことができ、この入力操作により、各種の処理の実行を指示することができる。
- [0039] 制御ユニット38は、タッチパネル151から供給される信号に基づいて、表示部36に観察画像を表示させたり、観察ユニット37や容器搬送機構35の動作を制御したりする。制御ユニット38は、領域設定部161、観察制御部162、焦点位置検出部163、マクロ画像生成部164、および記録部165を備えている。
- [0040] 領域設定部161は、観察対象の対象物に合焦する対物レンズ121の合

焦位置、つまり対物レンズ 1 2 1 の焦点位置が対象物に位置するときの対物レンズ 1 2 1 の位置を検出するための A F (Auto Focus) 領域を設定する。

[0041] すなわち、A F 領域は、培養容器 6 1 上の領域のうち、オートフォーカス制御による合焦位置の検出に用いられる領域をいい、A F 領域は、対物レンズ 1 2 1 の観察視野と同じ大きさ、かつ同じ形状の領域とされてもよく、対物レンズ 1 2 1 の観察視野よりも小さい領域とされてもよい。例えば、A F 領域が対物レンズ 1 2 1 の観察視野と同形状かつ同面積である場合には、撮像された観察画像全体が A F 領域とされ、A F 領域が対物レンズ 1 2 1 の観察視野よりも小さい場合には、観察画像のうちの所定の領域が A F 領域とされる。

[0042] 観察制御部 1 6 2 は、観察ユニット 3 7 の各部、および容器搬送機構 3 5 の動作を制御する。焦点位置検出部 1 6 3 は、領域設定部 1 6 1 により設定された A F 領域と、撮像された観察画像とから、対物レンズ 1 2 1 の対象物への合焦位置を検出する。

[0043] ここで、対物レンズ 1 2 1 の対象物への合焦位置とは、対物レンズ 1 2 1 の焦点（焦点面）が対象物（例えば、受精卵）に位置するときの、対物レンズ 1 2 1 のステージ 6 2 に対する z 方向（対物レンズ 1 2 1 の光軸方向）の相対的な位置をいう。培養観察装置 1 1 では、対物レンズ 1 2 1 は固定されたままとされ、ステージ 6 2 が z 方向に移動するので、対物レンズ 1 2 1 の合焦位置は、例えば、対物レンズ 1 2 1 の焦点が対象物に位置するときのステージ 6 2 の z 方向の位置（z 座標）により表すことができる。

[0044] なお、培養観察装置 1 1 が、対物レンズ 1 2 1 が固定されたステージ 6 2 に対して移動するような構成とされている場合には、対物レンズ 1 2 1 の合焦位置は、対物レンズ 1 2 1 そのものの z 方向の位置とすることができる。

[0045] マクロ画像生成部 1 6 4 は、培養容器 6 1 の異なる位置を撮像して得られた複数の観察画像から、培養容器 6 1 全体が表示される 1 つの画像をマクロ画像として生成する。記録部 1 6 5 は、例えば不揮発性のメモリからなり、制御ユニット 3 8 が実行するプログラムや、各種のデータ、観察画像などを

記録する。なお、記録部 165 には、マクロ画像も記録されるが、マクロ画像ではなく、培養容器 61 の異なる位置を撮像して得られた複数の観察画像のそれぞれが、そのまま記録部 165 に記録されるようにしてもよい。つまり、マクロ画像を構成する複数の観察画像のそれぞれが、記録されてもよい。

[0046] [培養観察装置の動作]

ところで、観察者がタッチパネル 151 を操作して、ストッカ 34 の所定の棚に収納されている培養容器 61 内の受精胚の観察の開始を指示すると、制御ユニット 38 は、観察者の操作により指定された培養容器 61 をステージ 62 上に移動させる。すなわち、観察制御部 162 は、タッチパネル 151 からの信号に応じて、容器搬送機構 35 を制御し、容器搬送機構 35 は、その制御に従ってストッカ 34 に収納されている培養容器 61 を搬送して、ステージ 62 上に載置する。

[0047] 観察者により指定された培養容器 61 がステージ 62 上に載置されると、培養観察装置 11 は、培養容器 61 内の受精胚を観察する観察処理を開始する。以下、図 5 のフローチャートを参照して、観察処理について説明する。

[0048] ステップ S 11 において、容器観察部 102 は、ステージ 62 上の培養容器 61 全体の画像を撮像する。

[0049] すなわち、観察制御部 162 は、ステージ 62 を制御して、ステージ 62 上の培養容器 61 が、第 2 照明部 104 からの照明光の光路上に配置されるように、ステージ 62 を移動させる。そして、観察制御部 162 は第 2 照明部 104 に照明光を照射させるとともに、容器観察部 102 に、培養容器 61 全体を被写体とする観察画像を撮像させる。観察画像が撮像されると、制御ユニット 38 は容器観察部 102 から観察画像を取得して表示部 36 に供給し、観察画像を表示させる。

[0050] ステップ S 12 において、制御ユニット 38 は、表示部 36 に表示された観察画像において、観察の対象とすべき対象物が含まれている検出領域の指定を受け付ける。

- [0051] すなわち、表示部 36 に観察画像が表示されると、観察者は表示部 36 の表示画面に対する入力操作を行って、表示されている観察画像上の領域であって、観察対象とすべき対象物が含まれている領域を検出領域として指定する。制御ユニット 38 は、タッチパネル 151 からの信号に基づいて、観察者により指定された領域を検出領域として選択する。
- [0052] 例えば、培養容器 61 の底に、観察対象とされる受精胚が含まれるいくつかの培地ドロップが配置され、培養容器 61 内が無色透明のミネラルオイルで満たされているものとする。そして、そのような場合に、容器観察部 102 により撮像された観察画像として、図 6 に示す観察画像が表示部 36 に表示されたとする。
- [0053] 図 6 の例では、観察画像の中央に円形の培養容器 61 が表示されており、矢印 C11 により示される位置は、培養容器 61 の底の中心位置（以下、中心位置 C11 と称する）を示している。また、培養容器 61 内には、2 つの培地ドロップ D11-1 および培地ドロップ D11-2 が形成されている。
- [0054] 培地ドロップ D11-1 は中心位置 C11 から見て図中、右上方向に位置し、培地ドロップ D11-2 は中心位置 C11 から見て図中、左下方向に位置している。そして、例えば観察者により、培地ドロップ D11-1 全体を含む、培地ドロップ D11-1 近傍の領域 R11-1 と、培地ドロップ D11-2 全体を含む、培地ドロップ D11-2 近傍の領域 R11-2 とが、検出領域として指定される。
- [0055] なお、以下、培地ドロップ D11-1 および培地ドロップ D11-2 を個々に区別する必要のない場合、単に培地ドロップ D11 とも称し、領域 R11-1 および領域 R11-2 を個々に区別する必要のない場合、単に領域 R11 とも称する。
- [0056] 培養容器 61 内に形成された培地ドロップ D11 は、例えば図 7 に示すように、z 方向にある程度の厚みを有している。なお、図 7 において、縦方向は z 方向、つまり容器観察部 102 内の対物レンズおよび対物レンズ 121 の光軸方向を示している。

- [0057] 図7の例では、培養容器61の底B11に半球状の培地ドロップD11が形成されており、培地ドロップD11の内部には、観察対象とされる1つの受精胚H11が浮遊している。培地ドロップD11は底B11に対して移動しないが、受精胚H11は培地ドロップD11内の任意の位置に移動する。
- [0058] そのため培養観察装置11では、対物レンズ121の受精胚H11への合焦位置を検出するにあたり、まずオートフォーカス制御によって、対物レンズ121の培地ドロップD11への合焦位置が検出される。つまり対物レンズ121の焦点のz方向の位置が、矢印A11に示される、培地ドロップD11の境界部分（エッジ部分）と、培養容器61の底B11との境界の位置となるような、ステージ62のz方向の位置が検出される。
- [0059] そして、培地ドロップD11への合焦位置を基準としたオートフォーカス制御により、対物レンズ121の受精胚H11への合焦位置、つまり対物レンズ121の焦点のz方向の位置が、矢印A12に示される受精胚H11の中心の位置となるような、ステージ62のz方向の位置が検出される。
- [0060] これは、移動する受精胚H11への合焦位置に比べて、移動のない培地ドロップD11への合焦位置を検出することは比較的容易であり、さらに培地ドロップD11への合焦位置を基準として、受精胚H11への合焦位置を検出すれば、より確実に受精胚H11への合焦位置を検出できるからである。
- [0061] 受精胚H11は、培地ドロップD11内を浮遊するが、培地ドロップD11内における培養容器61の底B11付近に位置することが多い。そこで、培地ドロップD11への合焦位置、つまり底B11を基準として、底B11から図中、上方向に所定の距離の範囲内を検出対象とすれば、従来のように、何ら基準位置を設けずに受精胚H11への合焦位置を検出する場合と比べて、より確実に合焦位置を検出することができる。
- [0062] なお、以下において、培地ドロップD11の境界（表面）部分と、培養容器61の底B11との境界部分、つまり図7において、培地ドロップD11の半球状の表面と底B11とが交わる部分を、培地ドロップD11のエッジ部分と称することとする。

- [0063] 図5のフローチャートの説明に戻り、観察者により、観察画像上のいくつかの領域R 1 1が検出領域として指定されると、制御ユニット38は、指定された検出領域のうちの1つを、処理対象とする検出領域として選択する。
- [0064] そして、ステップS 13において、制御ユニット38の領域設定部161は、処理対象とされた検出領域内の培地ドロップに対して、AF領域を設定する。
- [0065] 例えば、領域設定部161は、図6において、処理対象とされた検出領域内の培地ドロップD 1 1が中心位置C 1 1よりも図中、右側に位置する場合、検出領域とされた矩形の領域R 1 1の左側の辺の中心の位置を中心とする、所定の大きさの領域をAF領域とする。
- [0066] なお、AF領域の大きさは、AF領域に培地ドロップD 1 1のエッジ部分が含まれるような大きさとされる。ここで、AF領域に培地ドロップD 1 1のエッジ部分が含まれるようにするのは、そのエッジ部分のコントラスト強度に基づいて合焦位置を検出するからである。
- [0067] 具体的には、図6の領域R 1 1-1が処理対象の検出領域とされた場合、図8に示すように、領域R 1 1-1の図中、左側の辺の中心の位置C 2 1-1を中心とする、所定の大きさの領域R 2 1-1がAF領域として選択される。領域R 2 1-1には、培地ドロップD 1 1-1の図中、左側のエッジ部分が含まれている。
- [0068] また、例えば、領域設定部161は、図6において、処理対象とされた検出領域内の培地ドロップD 1 1が中心位置C 1 1よりも図中、左側に位置する場合、検出領域とされた矩形の領域R 1 1の右側の辺の中心の位置を中心とする、所定の大きさの領域をAF領域とする。なお、AF領域の大きさは、AF領域に培地ドロップD 1 1のエッジ部分が含まれるような大きさとされる。
- [0069] 具体的には、図6の領域R 1 1-2が処理対象の検出領域とされた場合、図9に示すように、領域R 1 1-2の図中、右側の辺の中心の位置C 2 1-2を中心とする、所定の大きさの領域R 2 1-2がAF領域として選択され

る。領域 R 2 1 - 2 には、培地ドロップ D 1 1 - 2 の図中、右側のエッジ部分が含まれている。

[0070] なお、以下、位置 C 2 1 - 1 および位置 C 2 1 - 2 を個々に区別する必要のない場合、単に位置 C 2 1 とも称し、領域 R 2 1 - 1 および領域 R 2 1 - 2 を個々に区別する必要のない場合、単に領域 R 2 1 とも称する。

[0071] このように、検出領域とされた領域 R 1 1 の中心位置 C 1 1 側の境界上の位置 C 2 1 を中心とし、培地ドロップ D 1 1 のエッジ部分を含む領域 R 2 1 を A F 領域として選択することで、より簡単かつ確実に培地ドロップ D 1 1 への合焦位置を検出することができる。

[0072] 例えば、通常、合焦位置の検出は、対物レンズ 1 2 1 からステージ 6 2 までの距離を変化させながら複数の観察画像を撮像し、それらの観察画像のうち、コントラスト強度が最大となる観察画像を検出することにより行われる。つまり、コントラスト強度が最大である観察画像が撮像されたときの対物レンズ 1 2 1 の位置が、対物レンズ 1 2 1 の対象物への合焦位置であるとされる。

[0073] また、培養容器 6 1 の端近傍、つまり培養容器 6 1 の側壁面近傍においては、培養容器 6 1 に照射された照明光が側壁面でけられて照明のむら、つまり明るさにむらが生じる。このような照明むらが生じると、照明むらによりコントラストが変化するので、照明のむらを含む領域を A F 領域として用いると、対物レンズ 1 2 1 の対象物への合焦位置の誤検出が生じ、合焦位置の検出精度が低下してしまう。

[0074] そこで、培養観察装置 1 1 は、誤検出の要因となる領域が A F 領域に含まれないように、培地ドロップ D 1 1 から見て、培養容器 6 1 の中心位置 C 1 1 側の領域を A F 領域として選択する。これにより、より簡単かつ確実に対象物（培地ドロップ D 1 1）への合焦位置を検出することができる。

[0075] なお、A F 領域とされる領域は、培地ドロップ D 1 1 のエッジ部分を含み、かつ照明むらの生じない領域であればよい。

[0076] したがって、例えば、培養容器 6 1 の側壁面から所定の距離 L 以内の領域

にのみ照明むらが生じる場合には、培養容器 6 1 の側壁面から距離 L 以内にある領域が含まれず、かつ培地ドロップ D 1 1 のエッジ部分が含まれる領域を、A F 領域とすればよい。

[0077] 図 5 のフローチャートの説明に戻り、A F 領域が設定されると、観察制御部 1 6 2 は顕微観察部 1 0 3 を制御し、対物レンズ 1 2 1 - 1 および中間変倍レンズ 1 2 2 - 1 が位相差観察光路上に配置されるように、対物レンズ 1 2 1 - 1 および中間変倍レンズ 1 2 2 - 1 を移動させる。

[0078] また、観察制御部 1 6 2 はステージ 6 2 を制御し、ステージ 6 2 上の培養容器 6 1 が位相差観察光路上に配置されるように、ステージ 6 2 を移動させる。より詳細には、観察制御部 1 6 2 は、処理対象とされている検出領域に対して定められた A F 領域の中心位置が、位相差観察光路上に位置するように、ステージ 6 2 を移動させる。この場合、例えば、対物レンズ 1 2 1 の観察視野全体が A F 領域となるようにされる。つまり、観察画像全体が A F 領域とされる。

[0079] さらに、観察制御部 1 6 2 は第 1 照明部 1 0 1 を制御して、照明光を培養容器 6 1 に照射させる。これにより、培養容器 6 1 の光学倍率 2 倍での位相差観察が可能となる。

[0080] ステップ S 1 4 において、観察制御部 1 6 2 は、ステージ 6 2 を z 方向に移動させながら、カメラ 1 2 4 にステージ 6 2 の各位置での観察画像を撮像させる。すなわち、第 1 照明部 1 0 1 から培養容器 6 1 の A F 領域に照射された照明光は、A F 領域（例えば、培地ドロップ等）を透過して対物レンズ 1 2 1 - 1 に入射する。

[0081] そして、対物レンズ 1 2 1 - 1 に入射した照明光は、対物レンズ 1 2 1 - 1 により集光され、さらに中間変倍レンズ 1 2 2 - 1 および結像光学系 1 2 3 を通って、カメラ 1 2 4 に入射する。カメラ 1 2 4 は、ステージ 6 2 の移動に合わせて、結像光学系 1 2 3 から入射した照明光を光電変換することで、A F 領域を含む領域の観察画像を撮像する。

[0082] これにより、ステージ 6 2 が z 方向の各位置のそれぞれにある状態におけ

る観察画像のそれぞれが得られるので、制御ユニット 38 は、カメラ 124 から撮像された複数の観察画像を取得する。

- [0083] ステップ S 15 において、焦点位置検出部 163 は、カメラ 124 から取得された複数の観察画像に基づいて、対物レンズ 121-1 の培地ドロップへの合焦位置（以下、特に境界合焦位置と称することとする）を検出する。すなわち、焦点位置検出部 163 は、複数の観察画像のそれぞれのコントラスト強度を求め、コントラスト強度が最大である観察画像が撮像されたときのステージ 62 の z 方向の位置を、境界合焦位置とする。
- [0084] このようにして検出された境界合焦位置は、対物レンズ 121-1 の焦点位置が、培地ドロップのエッジ部分と、培養容器 61 の底との境界位置となるときのステージ 62 の位置である。
- [0085] なお、境界合焦位置を検出するための観察画像の撮像時には、培地ドロップのエッジ部分をより正確に検出できるように、焦点深度が狭い高 NA（Numerical Aperture）の光学系が用いられることが好ましい。
- [0086] ステップ S 16 において、観察制御部 162 はタイリングを行う。すなわち、観察制御部 162 は、顕微観察部 103 を制御し、対物レンズ 121-2 および中間変倍レンズ 122-2 が位相差観察光路上に配置されるように、対物レンズ 121-2 および中間変倍レンズ 122-2 を移動させる。これにより、培養容器 61 の光学倍率 4 倍での位相差観察が可能となる。
- [0087] なお、より詳細には、対物レンズ 121 の切り替えに合わせて、切り替え後の対物レンズ 121-2 の焦点位置が、培地ドロップのエッジ部分と、培養容器 61 の底との境界位置となるように、観察制御部 162 の制御によりステージ 62 が移動される。
- [0088] さらに、観察制御部 162 は、ステージ 62 を x y 方向に移動させながら、複数回の撮像により、処理対象となっている検出領域の全ての領域が撮像されるように、カメラ 124 にステージ 62 の各位置での観察画像を撮像させる。
- [0089] これにより、例えば、図 10 に示すように、検出領域とされた領域 R 11

の全体が複数回に分けて撮像される。なお、図 10 において、1つの四角形、例えば領域 R S 1 1 は、1回の撮像により得られた観察画像に含まれる領域を示している。

[0090] 図 10 の例では、縦方向に 5 回、横方向に 5 回の合計 25 回の撮像により、領域 R 1 1 全体が撮像されている。また、各観察画像は、隣接する観察画像と重なる部分を有している。すなわち、検出領域において、観察画像として撮像される 1 つの領域の端近傍の領域は、他の観察画像として撮像される領域にも含まれる。

[0091] このようにして検出領域内の各領域の観察画像が撮像されると、制御ユニット 3 8 は、これらの複数の観察画像をカメラ 1 2 4 から取得する。

[0092] ステップ S 1 7 において、マクロ画像生成部 1 6 4 は、タイリングにより得られた検出領域の各領域の観察画像に基づいて、検出領域内の受精胚の位置（以下、受精胚位置と称する）を特定する。例えば、マクロ画像生成部 1 6 4 は、各観察画像について、観察画像に含まれる物体の形状と大きさを求めて、その物体が受精胚であるか否かを判定することで、検出領域内の受精胚位置を特定する。

[0093] 例えば、図 10 の例では、検出領域とされた領域 R 1 1 内における領域 R S 1 1 内に受精胚 H 1 1 が位置しているので、領域 R S 1 1 の観察画像から受精胚 H 1 1 が検出され、その受精胚 H 1 1 の位置が受精胚位置とされる。

[0094] ステップ S 1 8 において、マクロ画像生成部 1 6 4 は、タイリングにより得られた複数の観察画像のそれぞれを、それらの観察画像の被写体となった領域と同じ位置関係となるように並べて 1 つの画像を生成し、その画像をマクロ画像とする。すなわち、マクロ画像は、複数の観察画像を並べて合成することにより得られた、検出領域全体の画像となる。

[0095] なお、マクロ画像を得るための観察画像の撮像時には、検出領域全体、特に受精胚への焦点ずれをより小さくするために、焦点深度が広い低 N A の光学系が用いられることが好ましい。

[0096] ステップ S 1 9 において、培養観察装置 1 1 は、粗スキャン処理を行い、

処理対象の検出領域内の受精胚へのおおよその合焦位置を検出する。例えば、粗スキャン処理では、受精胚位置を中心とする領域がAF領域とされ、かつ培地ドロップへの合焦位置が基準とされて、オートフォーカス制御が行われる。なお、粗スキャン処理の詳細は後述する。

[0097] ステップS20において、培養観察装置11は本スキャン処理を行い、処理対象の検出領域内の受精胚へのより正確な合焦位置を検出する。例えば、本スキャン処理では、受精胚位置を中心とする領域がAF領域とされ、かつ粗スキャン処理で得られた合焦位置が基準とされてオートフォーカス制御が行われる。また、本スキャン処理では、ステージ62のz方向の各位置での観察画像が撮像され、それらの観察画像、受精胚位置、対物レンズ121の受精胚への合焦位置、およびマクロ画像が記録部165に記録される。なお、本スキャン処理の詳細は後述する。

[0098] ステップS21において、制御ユニット38は、最終的に得られた対物レンズ121の受精胚への合焦位置に、ステージ62（対物レンズ121）が位置する状態で撮像された観察画像を表示部36に供給し、表示部36に観察画像を表示させる。

[0099] ステップS22において、制御ユニット38は、処理を終了するか否かを判定する。例えば、観察者により指定された複数の検出領域の全てが処理対象とされて合焦位置が検出された場合、処理は終了すると判定される。

[0100] ステップS22において、処理を終了しないと判定された場合、まだ選択されていない次の検出領域が処理対象とされて、処理はステップS13に戻り、上述した処理が繰り返される。

[0101] これに対して、ステップS22において、処理を終了すると判定された場合、容器搬送機構35は観察制御部162の制御に従って、ステージ62上の培養容器61をストッカ34の棚内に搬送し、観察処理は終了する。

[0102] 以上のように、培養観察装置11は、培養容器61内の培地ドロップのエッジ部分を含み、かつ照明むらのない領域をAF領域として選択し、AF領域を対象として培地ドロップの境界合焦位置を検出する。そして、培養観察

装置 11 は、境界合焦位置を基準として、さらに受精胚への合焦位置を検出する。

[0103] このように、培地ドロップのエッジ部分を含み、かつ照明むらのない領域を AF 領域として境界合焦位置を検出することで、より簡単かつ確実に対物レンズ 121 の培地ドロップへの境界合焦位置を検出することができる。さらに、この境界合焦位置を基準として、受精胚への合焦位置の検出を行えば、最終的に得たい受精胚への合焦位置を、より簡単かつ確実に検出することができる。

[0104] 次に、図 11 のフローチャートを参照して、図 5 のステップ S19 の処理に対応する粗スキャン処理について説明する。

[0105] ステップ S51 において、観察制御部 162 は、観察ユニット 37 における培養容器 61 の観察時の光学倍率を変更する。

[0106] すなわち、観察制御部 162 は顕微観察部 103 を制御し、対物レンズ 121-3 および中間変倍レンズ 122-3 が位相差観察光路上に配置されるように、対物レンズ 121-3 および中間変倍レンズ 122-3 を移動させる。

[0107] また、観察制御部 162 は、ビニングにより観察画像の解像度が低くなるようにカメラ 124 の設定を変更するとともに、第 1 照明部 101 を制御して、照明光を培養容器 61 に照射させる。これにより、培養容器 61 の光学倍率 10 倍での位相差観察が可能となる。なお、光学倍率は、受精胚が観察画像全体に収まれば 10 倍でなくてもよく、例えば観察者により予め指定された倍率とされてもよい。

[0108] さらに、観察制御部 162 はステージ 62 を制御し、図 5 のステップ S17 において特定された受精胚位置が、位相差観察光路上に位置するように、ステージ 62 を x y 方向に移動させる。同時に、観察制御部 162 はステージ 62 を制御し、ステージ 62 の z 方向の位置が、図 5 のステップ S15 において検出された境界合焦位置となるように、ステージ 62 を移動させる。

[0109] これにより、対物レンズ 121 の焦点位置は、x y 方向の位置が受精胚と

同じであり、 z 方向の位置が培地ドロップと培養容器61の底との境界面の位置となる。したがって、この状態からステージ62（対物レンズ121）を z 方向に移動させていけば、受精胚に合焦させることができる。

[0110] さらに、領域設定部161は、例えば、図12に示すように、受精胚位置を中心とし、培地ドロップD11全体が含まれる、培地ドロップD11近傍の領域RF11をAF領域として設定する。この領域RF11は、その境界が培地ドロップD11の境界と近接した位置となるようにされており、培地ドロップD11が領域RF11の殆どの領域を占めるように決定される。

[0111] このように、培地ドロップD11全体を含む、培地ドロップD11近傍の領域RF11をAF領域として選択することで、より確実に受精胚への合焦位置を検出できるようになる。すなわち、培養容器61には、培地ドロップD11の他に異物が混入しているため、AF領域が広過ぎるとAF領域に多くの異物が含まれ、合焦位置の検出精度が低下してしまう。そこで、培地ドロップD11近傍の領域をAF領域とすることで、AF領域に含まれる異物を少なくし、合焦位置をより精度よく検出できるようになる。

[0112] 図11のフローチャートの説明に戻り、ステップS52において、観察制御部162は、ステージ62を境界合焦位置から z 方向に移動させながら、カメラ124にステージ62の各位置での観察画像を撮像させる。すなわち、第1照明部101からの照明光は、培養容器61、ステージ62、対物レンズ121-3、中間変倍レンズ122-3、および結像光学系123を通してカメラ124に入射し、カメラ124により観察画像が撮像される。

[0113] 例えば、対物レンズ121の z 方向の焦点位置が、図7の矢印A11に示される位置に位置する状態（ステージ62が境界合焦位置にある状態）から、矢印A12に示される位置よりも図中、上側の予め定められた位置（例えば、培地ドロップD11の上側の端付近）まで移動される。そして、対物レンズ121が z 方向の各位置に位置する状態のそれぞれにおいて、観察画像が撮像される。

[0114] このように、境界合焦位置を含む所定の z 方向の範囲内の各位置にステー

ジ 6 2 を移動させ、ステージ 6 2 が各位置にある状態で観察画像を撮像して、受精胚への合焦位置を検出すれば、検出精度を向上させることができる。なお、ステージ 6 2（対物レンズ 1 2 1）を z 方向に移動させる範囲は、確実に受精胚に合焦されるように、ある程度広い範囲とされる。

[0115] z 方向の各位置での観察画像が撮像されると、制御ユニット 3 8 は、カメラ 1 2 4 から撮像された複数の観察画像を取得する。なお、撮像された観察画像は、A F 領域が含まれる画像であればよく、対物レンズ 1 2 1 - 3 の観察視野と、A F 領域とが一致している必要はない。

[0116] 図 1 1 のフローチャートの説明に戻り、ステップ S 5 3 において、焦点位置検出部 1 6 3 は、カメラ 1 2 4 から取得された複数の観察画像に基づいて、対物レンズ 1 2 1 - 3 の受精胚への合焦位置（以下、特に仮受精胚合焦位置と称することとする）を検出する。

[0117] すなわち、焦点位置検出部 1 6 3 は、複数の観察画像のそれぞれの A F 領域内におけるコントラスト強度を求め、コントラスト強度が最大である観察画像が撮像されたときのステージ 6 2 の z 方向の位置を、仮受精胚合焦位置とする。

[0118] このようにして検出された仮受精胚合焦位置は、対物レンズ 1 2 1 - 3 の焦点位置が、受精胚の位置となるときのステージ 6 2 の z 方向の位置である。但し、粗スキャン処理においては、解像度の低い観察画像を用いての検出であるため、ある程度の検出精度しか得ることはできない。

[0119] ステップ S 5 4 において、観察制御部 1 6 2 は、ステージ 6 2 が仮受精胚合焦位置に位置する状態で撮像された観察画像を用いて、本スキャン処理の実行時に設定すべき、カメラ 1 2 4 の露光時間を算出する。例えば、観察制御部 1 6 2 は、観察画像全体の各画素の輝度値を求め、それらの輝度値の平均値に予め定められた係数を乗算することにより、露光時間を算出する。

[0120] このようにして算出された露光時間は、受精胚を被写体として撮像するときに適したものである。すなわち、受精胚が培地ドロップ内のどの位置にあるかによって、観察画像の撮像時における受精胚近傍の明るさが大きく変化

するため、露光時間を適切に設定する必要がある。

[0121] ここで、ステージ 6 2 が仮受精胚合焦位置に位置する状態は、受精胚に大まかにピントが合っている状態であり、この状態で撮像される観察画像では、被写体とすべき受精胚が画像の中央に位置している。つまり、この状態で撮像された観察画像は、本スキャン処理において、より正確に受精胚にピントが合った状態で撮像される観察画像とほぼ同じ環境で撮像される画像である。そこで、受精胚に大まかにピントが合っている状態で撮像された観察画像を用いて、その撮像環境に適した露光時間を算出し、本スキャン処理において、算出された露光時間で撮像を行えば、より適切な明るさの観察画像を得ることができる。

[0122] このようにして露光時間が算出されると、粗スキャン処理は終了し、処理は図 5 のステップ S 2 0 に進む。

[0123] このように、粗スキャン処理では、培地ドロップへの合焦位置を基準として、受精胚への合焦位置を検出することで、受精胚への大まかな合焦位置をより確実に得ることができる。しかも、受精胚近傍の領域のみを A F 領域として用いるので、さらに合焦位置の検出精度を向上させることができる。

[0124] 次に、図 1 3 のフローチャートを参照して、図 5 のステップ S 2 0 の処理に対応する本スキャン処理について説明する。

[0125] ステップ S 8 1 において、観察制御部 1 6 2 は、観察ユニット 3 7 における培養容器 6 1 の観察時の設定を変更する。すなわち、観察制御部 1 6 2 は、カメラ 1 2 4 の露光時間が、図 1 1 のステップ S 5 4 の処理で算出した露光時間に変更され、かつ観察画像の解像度が粗スキャン処理時よりも高くなるようにカメラ 1 2 4 の設定を変更する。

[0126] また、観察制御部 1 6 2 は、第 1 照明部 1 0 1 を制御して、照明光を培養容器 6 1 に照射させる。これにより、培養容器 6 1 の光学倍率 1 0 倍での位相差観察が可能となる。

[0127] さらに、観察制御部 1 6 2 はステージ 6 2 を制御し、図 5 のステップ S 1 7 において特定された受精胚位置が、位相差観察光路上に位置するように、

ステージ 6 2 を x y 方向に移動させる。同時に、観察制御部 1 6 2 はステージ 6 2 を制御し、ステージ 6 2 の z 方向の位置が、図 1 1 のステップ S 5 3 において検出された仮受精胚合焦位置となるように、ステージ 6 2 を移動させる。

[0128] これにより、対物レンズ 1 2 1 の焦点位置はほぼ受精胚と同じ位置となる。したがって、この状態からステージ 6 2 を、仮受精胚合焦位置を中心とする比較的狭い z 方向の範囲内で移動させていけば、より正確に受精胚に合焦させることができる。

[0129] さらに、領域設定部 1 6 1 は、粗スキャン処理時と同様に、受精胚位置を中心とし、培地ドロップ全体が含まれる、培地ドロップ近傍の領域を A F 領域として設定する。この A F 領域は、粗スキャン処理時の A F 領域と同じ領域である。

[0130] ステップ S 8 2 において、観察制御部 1 6 2 は、ステージ 6 2 を仮受精胚合焦位置から z 方向に移動させながら、カメラ 1 2 4 にステージ 6 2 の各位置での観察画像を撮像させる。すなわち、第 1 照明部 1 0 1 からの照明光は、培養容器 6 1、ステージ 6 2、対物レンズ 1 2 1-3、中間変倍レンズ 1 2 2-3、および結像光学系 1 2 3 を通ってカメラ 1 2 4 に入射し、カメラ 1 2 4 により観察画像が撮像される。

[0131] 例えば、対物レンズ 1 2 1 の z 方向の焦点位置が、図 7 の矢印 A 1 2 に示される位置にある状態から、その位置を中心とする予め定められた範囲内の各位置に移動される。そして、対物レンズ 1 2 1 が z 方向の各位置に位置する状態のそれぞれにおいて、観察画像が撮像される。換言すれば、ステージ 6 2 が仮受精胚合焦位置を中心とする所定の範囲内の各位置に移動されて、観察画像が撮像される。

[0132] このように、仮受精胚合焦位置を中心とする所定の z 方向の範囲内の各位置にステージ 6 2 を移動させ、ステージ 6 2 が各位置にある状態で観察画像を撮像して、受精胚への合焦位置を検出すれば、より正確な合焦位置を検出することができる。

- [0133] なお、本スキャン処理において対物レンズ 1 2 1（ステージ 6 2）を移動させる z 方向の範囲は、粗スキャン処理において対物レンズ 1 2 1 を移動させる範囲よりも狭い範囲とされる。これは、粗スキャン処理により、既に受精胚への大まかな合焦位置が検出されているため、その合焦位置近傍を検出対象とすればよいからである。
- [0134] z 方向の各位置での観察画像が撮像されると、制御ユニット 3 8 は、カメラ 1 2 4 から撮像された複数の観察画像を取得する。なお、撮像された観察画像は、A F 領域が含まれる画像であればよい。
- [0135] 図 1 3 のフローチャートの説明に戻り、ステップ S 8 3 において、焦点位置検出部 1 6 3 は、カメラ 1 2 4 から取得された複数の観察画像に基づいて、対物レンズ 1 2 1 - 3 の受精胚への合焦位置（以下、特に最終受精胚合焦位置と称することとする）を検出する。
- [0136] すなわち、焦点位置検出部 1 6 3 は、複数の観察画像のそれぞれの A F 領域内におけるコントラスト強度を求め、コントラスト強度が最大である観察画像が撮像されたときのステージ 6 2 の z 方向の位置を、最終受精胚合焦位置とする。
- [0137] このようにして検出された最終受精胚合焦位置は、対物レンズ 1 2 1 - 3 の焦点位置が、受精胚の位置となるときのステージ 6 2 の位置である。本スキャン処理は、粗スキャン処理よりも、より解像度の高い観察画像を用いての検出であるため、最終受精胚合焦位置は、仮受精胚合焦位置よりも、より正確な合焦位置を示しているはずである。
- [0138] ステップ S 8 4 において、制御ユニット 3 8 は、本スキャン処理において撮像された複数の観察画像、最終受精胚合焦位置、受精胚位置、およびマクロ画像を記録部 1 6 5 に記録させる。なお、より詳細には、各観察画像と関連付けられて、その観察画像が撮像されたときの x, y, z 方向のステージ 6 2 の位置も記録される。
- [0139] このようにして記録された観察画像のうち、最終受精胚合焦位置で撮像された観察画像が、図 5 のステップ S 2 1 において、表示部 3 6 に表示される

ことになる。観察画像等が記録部 165 に記録されると、本スキャン処理は終了し、その後、処理は図 5 のステップ S 21 に進む。

[0140] このように、本スキャン処理では、受精胚への仮受精胚合焦位置を基準として、受精胚への合焦位置を検出することで、受精胚へのより正確な合焦位置を、より簡単かつ確実に得ることができる。しかも、受精胚近傍の領域のみを AF 領域として用いるので、さらに合焦位置の検出精度を向上させることができる。

[0141] なお、以上においては、観察者により培養容器 61 と、その培養容器 61 の観察が指示されたときに観察処理が行われると説明したが、一度、観察者により検出領域が指定された後は、観察者の指示によらず、一定の時間間隔で観察処理が行われる。そのような場合、先に指定された各検出領域が順番に処理対象とされて、観察画像が撮像される。

[0142] また、本発明の実施の形態は、上述した実施の形態に限定されるものではなく、本発明の要旨を逸脱しない範囲において種々の変更が可能である。

符号の説明

[0143] 11 培養観察装置, 37 観察ユニット, 38 制御ユニット,
62 ステージ, 101 第1照明部, 102 容器観察部, 103
顕微観察部, 104 第2照明部, 151 タッチパネル, 161
領域設定部, 162 観察制御部, 163 焦点位置検出部, 16
4 マクロ画像生成部, 165 記録部

請求の範囲

- [請求項1] 対物レンズの対象物への合焦位置を検出するフォーカス制御装置であって、
- 前記合焦位置の検出の対象となる第1の対象領域として、ステージに載置された容器の端から所定距離内にある領域が含まれず、かつ前記容器内の前記対象物の境界部分が含まれる領域を選択する領域設定手段と、
- 前記対物レンズと前記ステージとの前記対物レンズの光軸方向への距離を変化させながら、前記距離が異なる状態で、複数の前記第1の対象領域の観察画像を撮像させる撮像制御手段と、
- 複数の前記観察画像に基づいて、前記合焦位置を検出する合焦位置検出手段と
- を備えることを特徴とするフォーカス制御装置。
- [請求項2] 前記対象物は、内部に受精胚が含まれた培地ドロップとされ、
- 前記領域設定手段は、前記合焦位置の検出後、さらに前記培地ドロップ全体が含まれる、前記培地ドロップ近傍の領域を、前記受精胚への合焦位置の検出の対象となる第2の対象領域として選択し、
- 前記撮像制御手段は、前記対物レンズが前記対象物への前記合焦位置にある状態から前記距離を変化させながら、前記距離が異なる状態で、複数の前記第2の対象領域の観察画像を撮像させ、
- 前記合焦位置検出手段は、前記複数の前記第2の対象領域の観察画像に基づいて、前記対物レンズの前記受精胚への合焦位置を検出することを特徴とする請求項1に記載のフォーカス制御装置。
- [請求項3] 前記第1の対象領域は、前記対象物における前記容器の中心側の境界部分が含まれる領域とされる
- ことを特徴とする請求項1に記載のフォーカス制御装置。
- [請求項4] 前記領域設定手段は、前記対象物を含む予め指定された検出領域の境界上の点を中心とする、所定の大きさの領域を前記第1の対象領域

として選択する

ことを特徴とする請求項 1 に記載のフォーカス制御装置。

[請求項5] 前記合焦位置検出手段は、前記複数の前記観察画像のうち、コントラスト強度が最も大きい観察画像を検出し、検出された前記観察画像が撮像されたときの、前記対物レンズの前記ステージに対する相対的な位置を前記合焦位置とする

ことを特徴とする請求項 1 に記載のフォーカス制御装置。

[請求項6] 培地ドロップ内の受精胚を観察し、前記受精胚を培養する培養観察装置において、

培養容器内の前記培地ドロップのエッジを含む領域を検出領域に設定する領域設定手段と、

前記検出領域において合焦位置を検出する合焦位置検出手段と、

前記合焦位置検出手段によって検出された合焦位置に基づいて、前記培地ドロップを撮像して観察画像を取得し、前記観察画像に基づき、前記培地ドロップ内の受精胚の位置を特定する特定手段と、

前記受精胚の位置に基づき、前記受精胚を観察する観察制御手段とを備えることを特徴とする培養観察装置。

[請求項7] 前記領域設定手段により設定される前記検出領域は、前記培地ドロップのエッジの一部のみを含む領域に制限され、前記培養容器の側壁から遠い位置にある前記エッジの一部領域に設定される

ことを特徴とする請求項 6 に記載の培養観察装置。

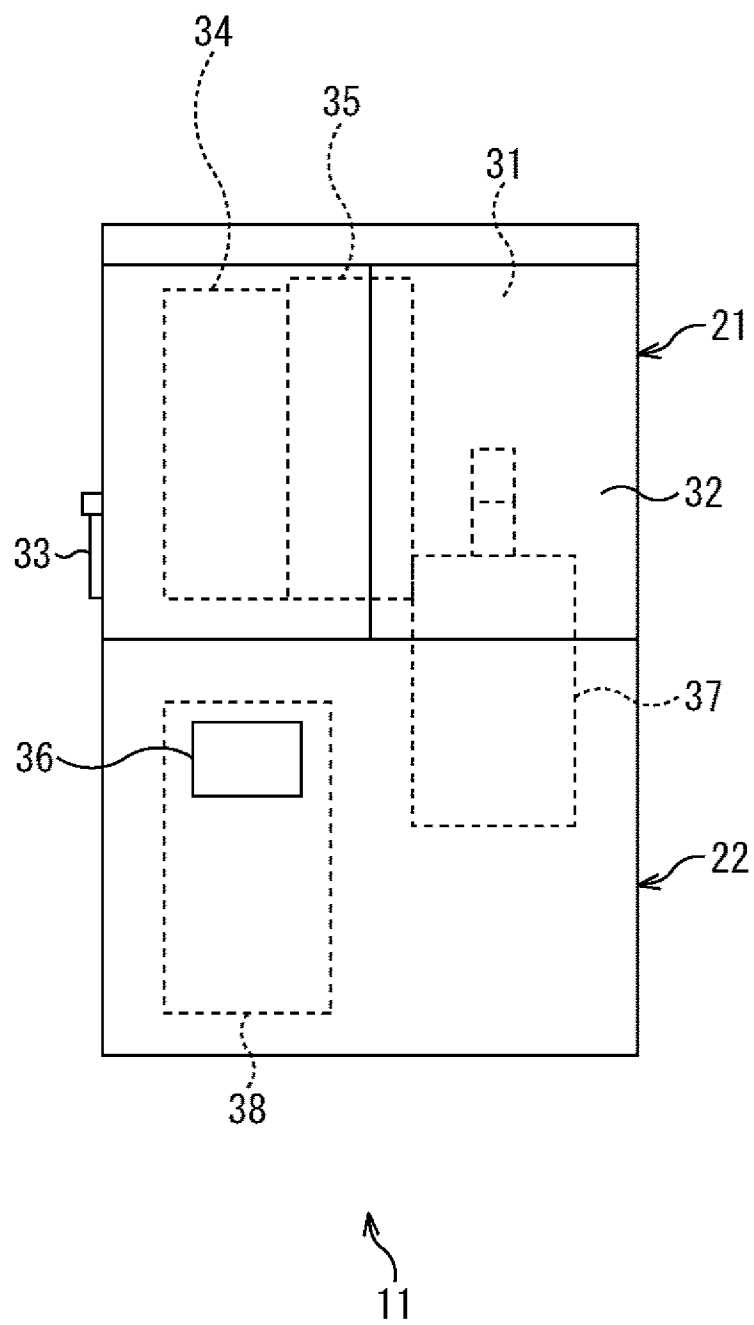
[請求項8] 前記観察制御手段は、前記受精胚を観察する際に、前記特定手段によって撮像された倍率より高い倍率となるように撮影倍率を制御することを特徴とする請求項 6 に記載の培養観察装置。

[請求項9] 前記特定手段は、前記培地ドロップを複数の分割して撮像し、複数の前記観察画像を合成して 1 つの観察画像を作成する

ことを特徴とする請求項 6 に記載の培養観察装置。

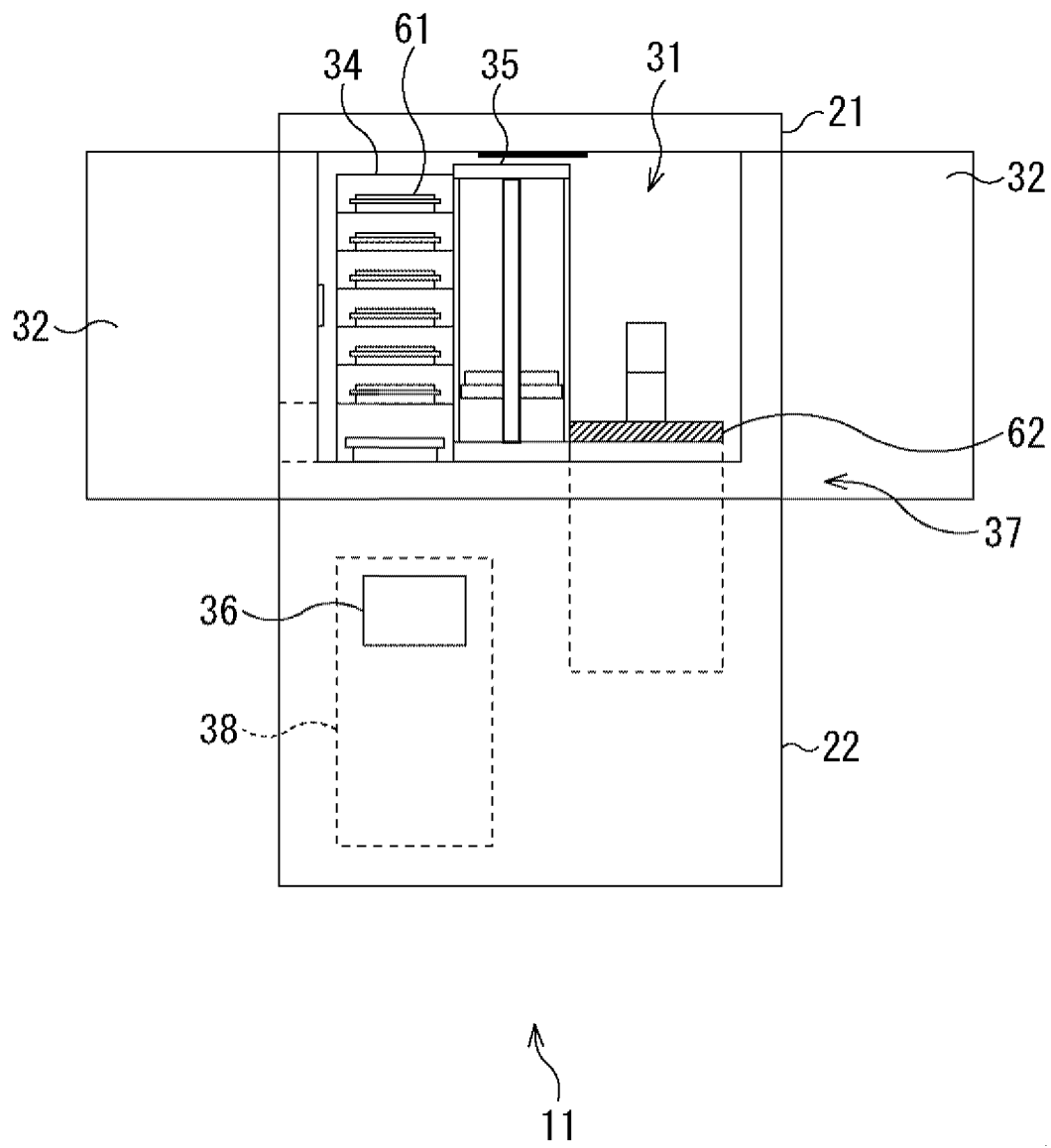
[図1]

図1



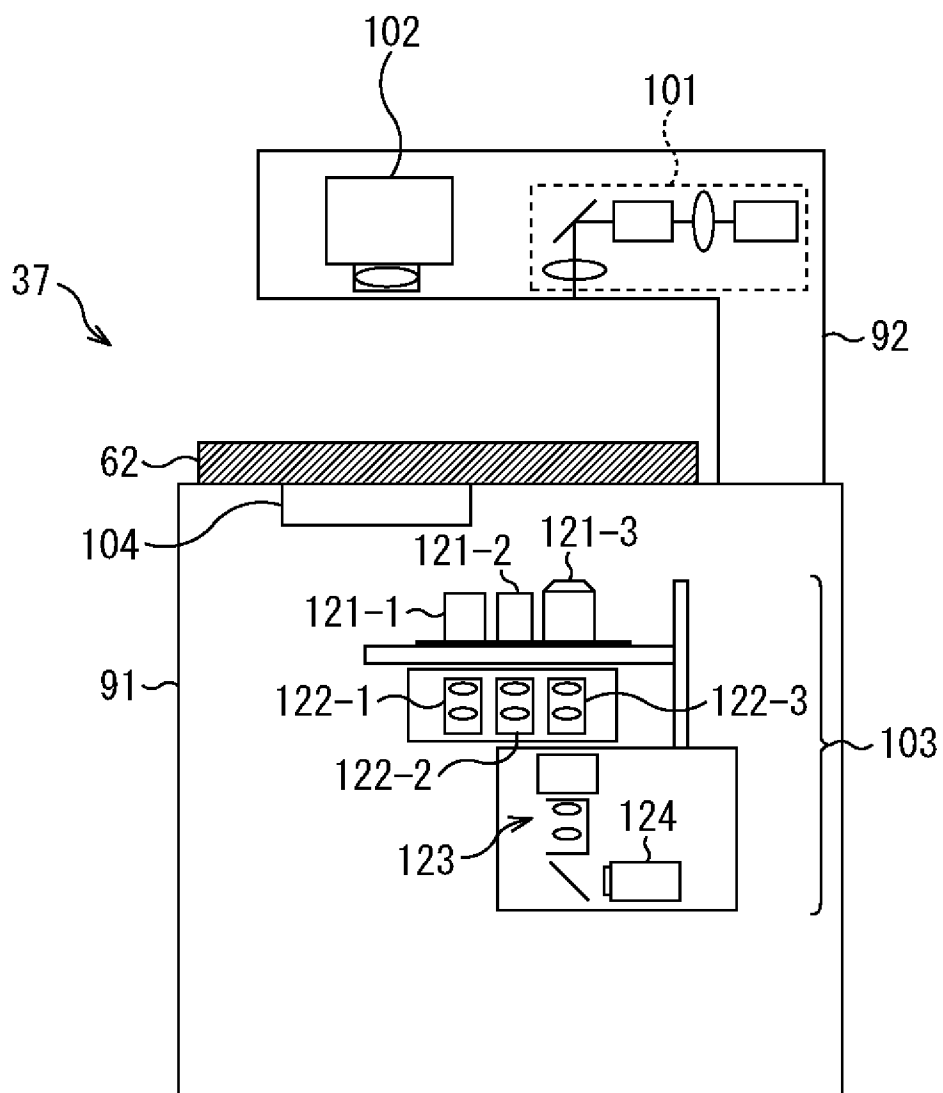
[図2]

図2



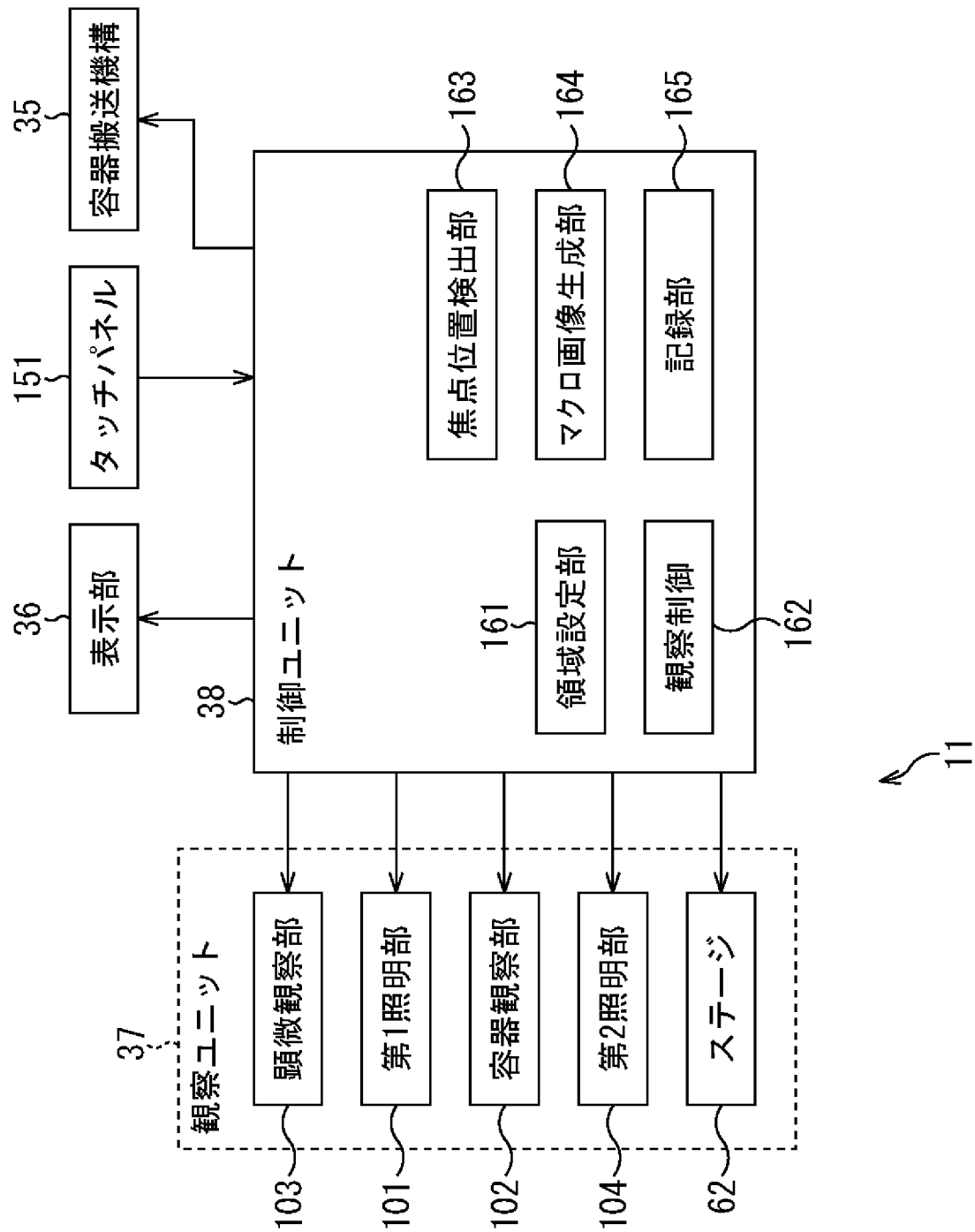
[図3]

図3



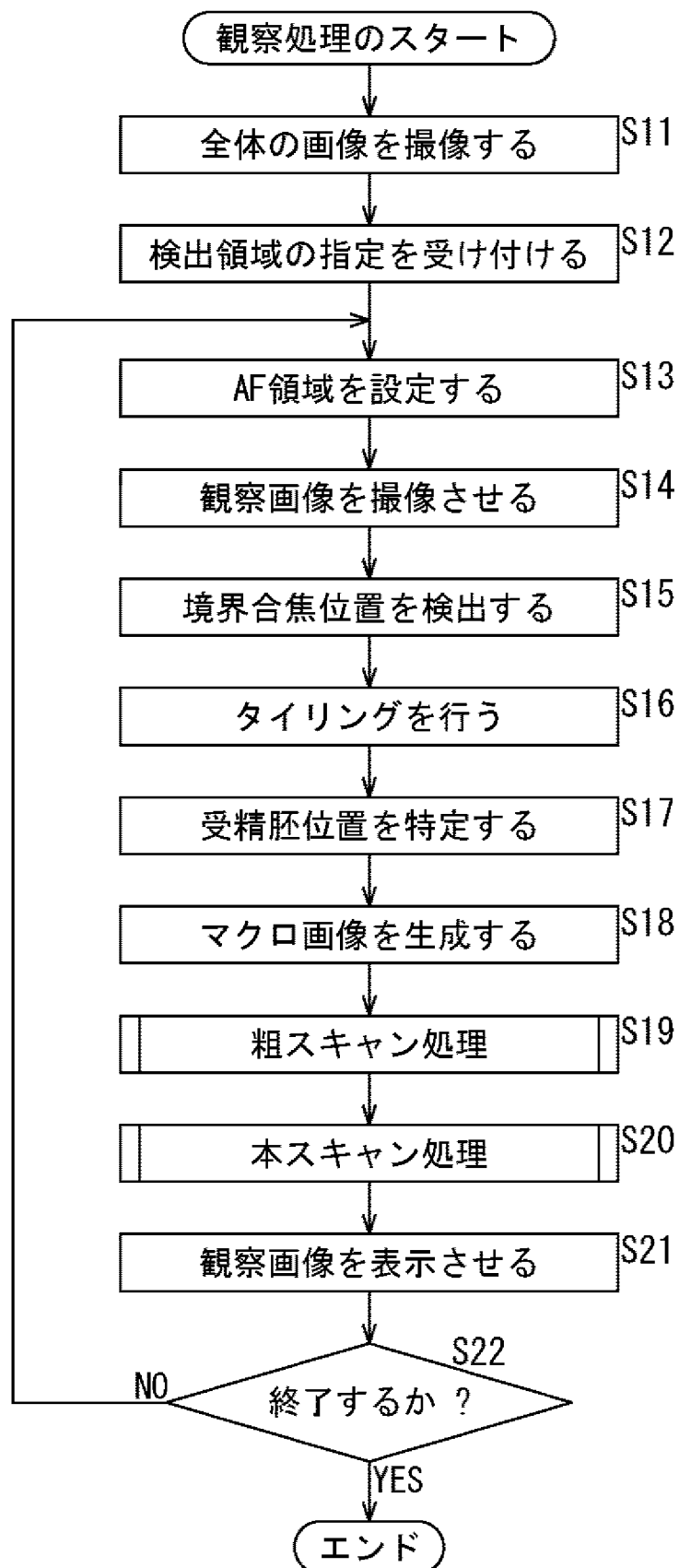
[図4]

図4



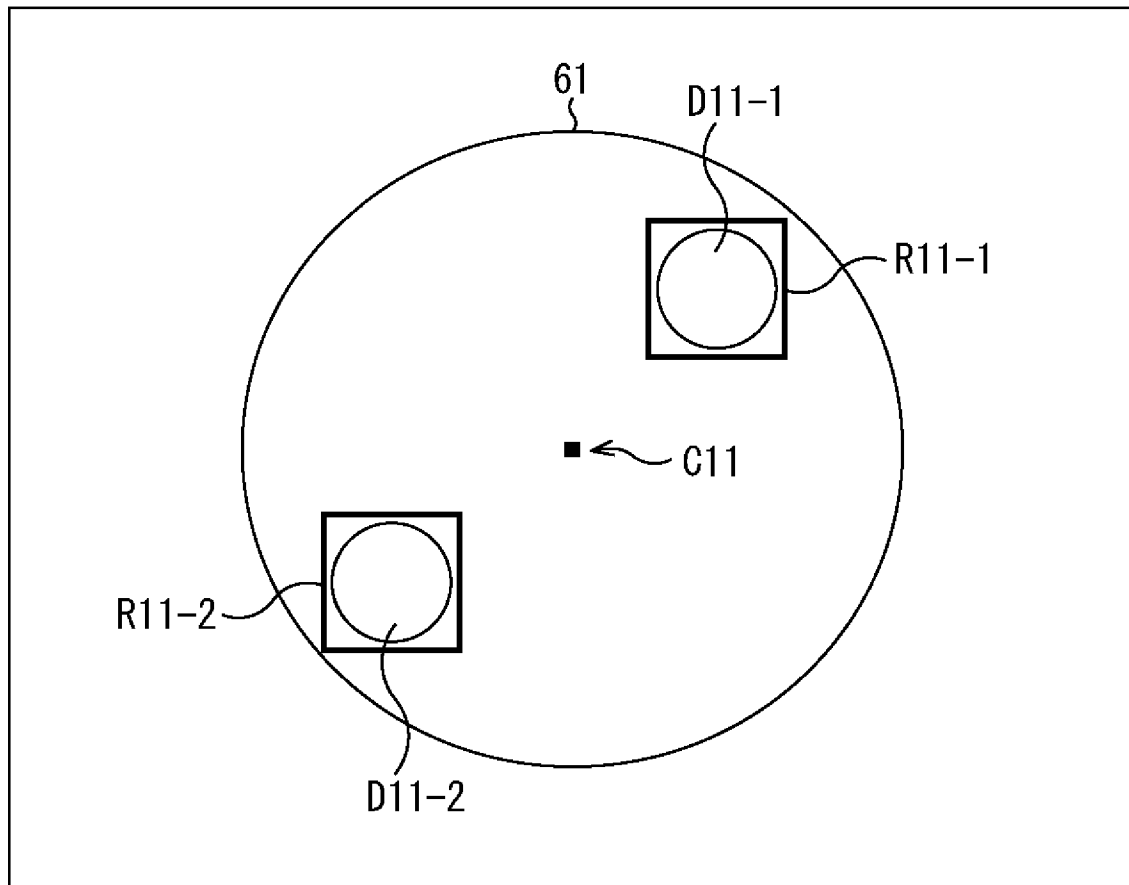
[図5]

図5



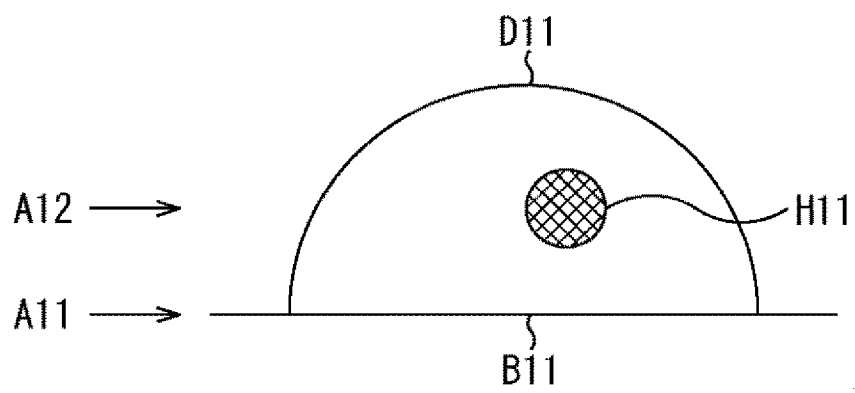
[図6]

図6



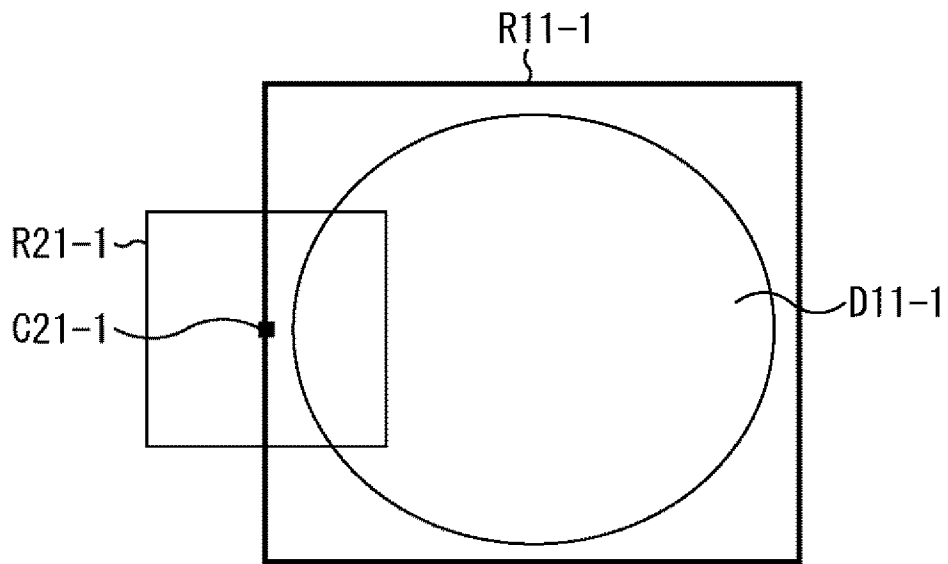
[図7]

図7



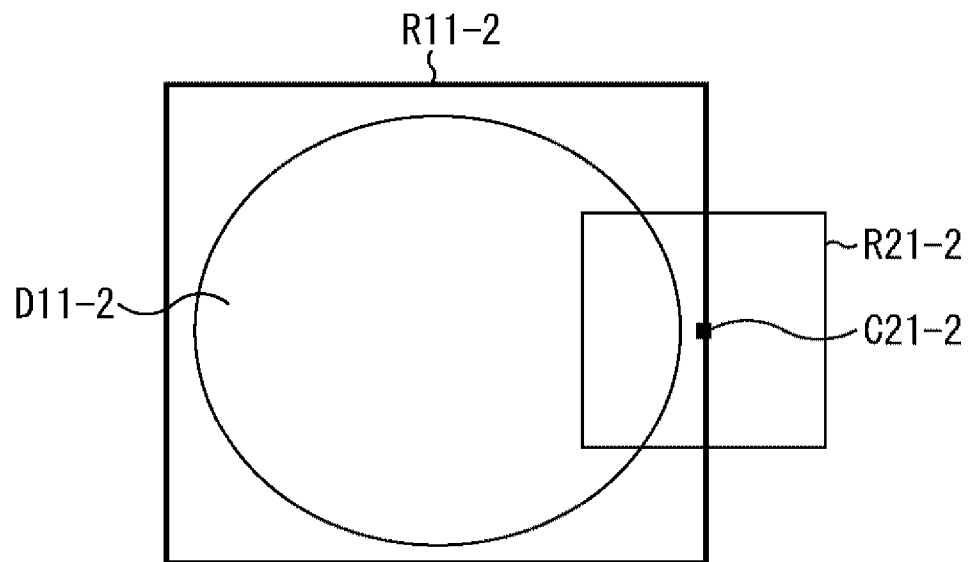
[図8]

図8



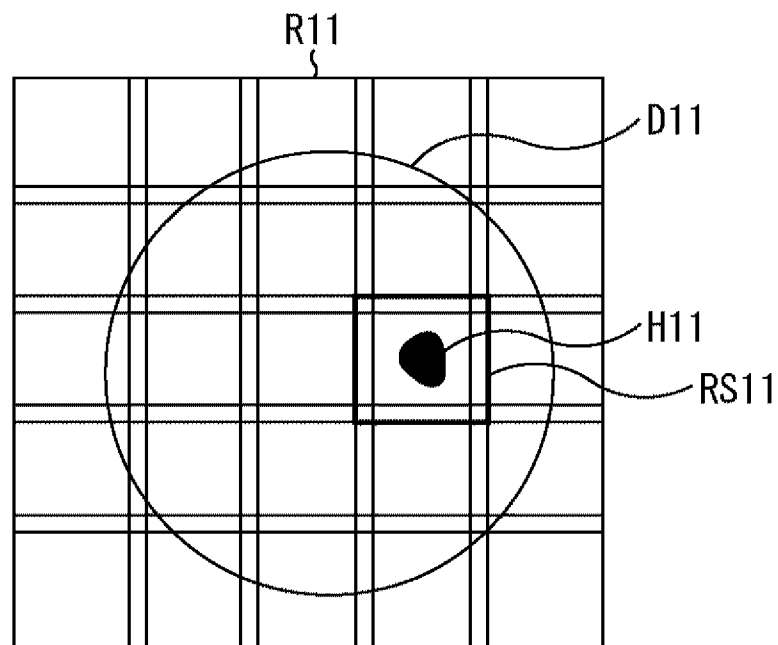
[図9]

図9



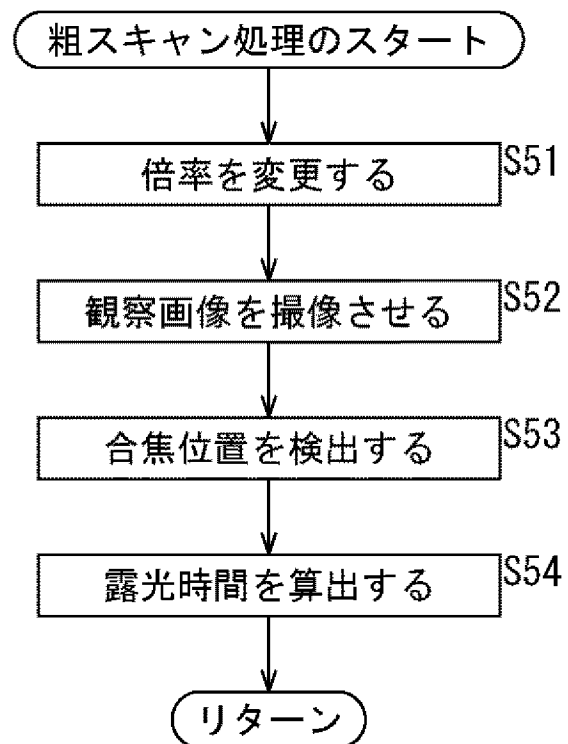
[図10]

図10



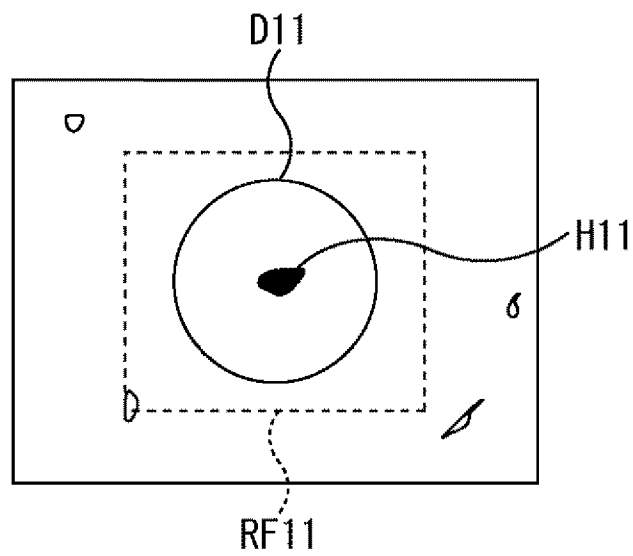
[図11]

図11



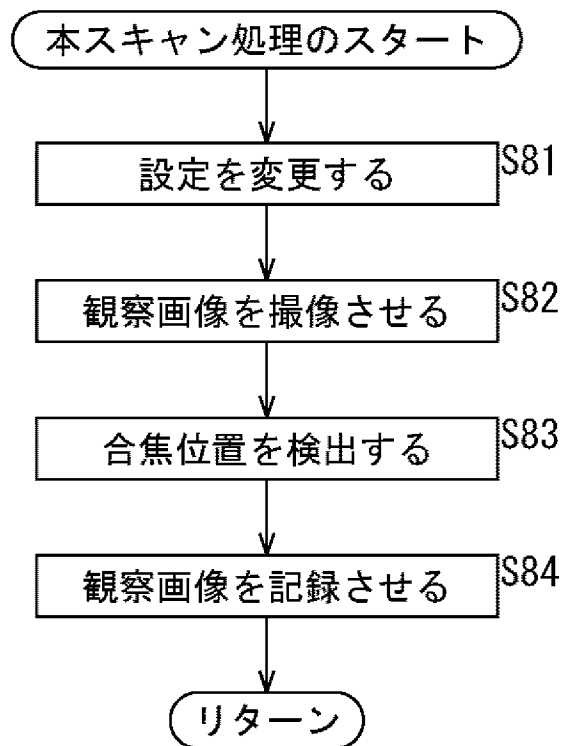
[図12]

図12



[図13]

図13



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/057789

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G02B7/28(2006.01)i, G02B7/36(2006.01)i, G02B21/00(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)

G02B7/28, G02B7/36, G02B21/00

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 1996-2010

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2010 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2010

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.
Y A	JP 2005-207986 A (Nikon Corp.), 04 August 2005 (04.08.2005), paragraphs [0045], [0046]; fig. 1, 18 to 21 (Family: none)	1, 3-5 2, 6-9
Y A	JP 6-98232 A (Canon Inc.), 08 April 1994 (08.04.1994), paragraph [0024]; fig. 15 (Family: none)	1, 3-5 6, 7
Y A	JP 56-2565 A (Olympus Optical Co., Ltd.), 12 January 1981 (12.01.1981), page 5, lower right column, lines 4 to 8; fig. 5 (Family: none)	1, 3-5 6, 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
02 July, 2010 (02.07.10)Date of mailing of the international search report
13 July, 2010 (13.07.10)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/057789

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 2006-309088 A (Inter-University Research Institute Corporation Research Organization of Information and Systems), 09 November 2006 (09.11.2006), paragraph [0044] (Family: none)	2, 6
A	JP 2008-257004 A (Canon Inc.), 23 October 2008 (23.10.2008), paragraph [0003] & US 2008/0247742 A1 & EP 1978392 A1	2, 6
Y A	JP 5-346537 A (Minolta Camera Co., Ltd.), 27 December 1993 (27.12.1993), paragraph [0021]; fig. 9 & US 5398096 A	4 7
A	JP 2008-139579 A (Nikon Corp.), 19 June 2008 (19.06.2008), paragraph [0020] & US 2009/0226061 A & EP 2088460 A1 & WO 2008/068891 A1 & CN 101542353 A	9

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G02B7/28(2006.01)i, G02B7/36(2006.01)i, G02B21/00(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（I P C））

Int.Cl. G02B7/28, G02B7/36, G02B21/00

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 0 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 0 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 0 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
Y A	JP 2005-207986 A（株式会社ニコン） 2005.08.04, 【0045】、【0046】、図1、図18-21 (ファミリーなし)	1、3-5 2、6-9
Y A	JP 6-98232 A（キヤノン株式会社） 1994.04.08, 【0024】、図15 (ファミリーなし)	1、3-5 6、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
「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
「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）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「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

「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

「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

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

0 2 . 0 7 . 2 0 1 0

国際調査報告の発送日

1 3 . 0 7 . 2 0 1 0

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / 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）

菊岡 智代

2 V

4 6 3 7

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 7 1

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
Y A	JP 56-2565 A (オリンパス光学工業株式会社) 1981.01.12, 第5頁右下欄第4-8行目、第5図 (ファミリーなし)	1、3-5 6、7
A	JP 2006-309088 A (大学共同利用機関法人情報・システム研究機構) 2006.11.09, 【0044】 (ファミリーなし)	2、6
A	JP 2008-257004 A (キヤノン株式会社) 2008.10.23, 【0003】 & US 2008/0247742 A1 & EP 1978392 A1	2、6
Y A	JP 5-346537 A (ミノルタカメラ株式会社) 1993.12.27, 【0021】、図9 & US 5398096 A	4 7
A	JP 2008-139579 A (株式会社ニコン) 2008.06.19, 【0020】 & US 2009/0226061 A & EP 2088460 A1 & WO 2008/068891 A1 & CN 101542353 A	9