

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 6 部門第 2 区分

【発行日】平成 29 年 1 月 12 日 (2017.1.12)

【公開番号】特開 2016-197260 (P2016-197260A)

【公開日】平成 28 年 11 月 24 日 (2016.11.24)

【年通号数】公開・登録公報 2016-065

【出願番号】特願 2016-147913 (P2016-147913)

【国際特許分類】

G 0 2 B 21/00 (2006.01)

G 0 1 N 21/64 (2006.01)

G 0 6 T 1/00 (2006.01)

G 0 6 T 7/00 (2017.01)

【F I】

G 0 2 B 21/00

G 0 1 N 21/64 E

G 0 1 N 21/64 A

G 0 1 N 21/64 B

G 0 6 T 1/00 3 1 5

G 0 6 T 7/00 C

【手続補正書】

【提出日】平成 28 年 11 月 28 日 (2016.11.28)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 6】

図 1 を参照すると、蛍光顕微鏡が、キセノンアーク燈若しくは水銀蒸気燈又はレーザー励起等の光源 7 と、励起フィルター 8 と、二色性ミラー 6 又は二色性ビームスプリッターと、放射フィルター（図示せず）を含む。各フィルター及び二色性のものは、標本を標識付けるのに用いられる蛍光物質（複数の場合もある）のスペクトル励起特性及び放射特性に合致するように選択される。顕微鏡は対象物 1 を支持しており、励起後に、蛍光物質からの光が対物レンズ 2 を通過して撮像平面に達する。これは、例えば、カメラ 3（又は他の撮像装置）において光の焦点を撮像平面 3 に合わせるチューブレンズ 4 を介してなされる。蛍光顕微鏡は、任意の既知の形態又は適した形態とすることができる。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

3 D 局在顕微鏡法システムであって、

前記 3 D 局在顕微鏡法システムは、対物レンズの一部分へ又は前記対物レンズの前記一部分から進む光と、前記対物レンズの別の部分へ又は前記対物レンズの前記別の部分から進む光との間の位相差を発生させて、分離軸に沿って分離された 2 つの画像ローブを含む点放射体画像を生成するように構成され、

前記分離軸は、対物レンズに対する放射体の位置に焦点が合っている時に、撮像平面に

において前記 2 つの画像ローブを結ぶ軸であり、

正の焦点外れを発生させる前記対物レンズに対する放射体の位置において、前記 2 つの画像ローブが、前記撮像平面において、互いに対向する方向に前記分離軸から離れ、

負の焦点外れを発生させる前記対物レンズに対する放射体の位置において、前記 2 つの画像ローブが、前記撮像平面において、それぞれ前記互いに対向する方向とは反対の方向に前記分離軸から離れ、

前記対物レンズの後焦点面 / フーリエ平面に位相変更装置が設けられる、

3 D 局在顕微鏡法システム。

【請求項 2】

前記画像の更なる特性、又は前記対物レンズへの若しくは前記対物レンズからの前記光の更なる特性は、前記放射体の別のロケーション非依存特性に関連する、

請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 3】

未加工画像を捕捉するステップと、

前記未加工画像の背景が減算された推定値及び前記未加工画像の信号対雑音比 (S N R) 推定値を得るステップと、

前記未加工画像の前記背景が減算された推定値及び前記 S N R 推定値における対象物コントラストを最大にするステップと、

しきい値処理された画像及び前記しきい値処理された画像上の開始位置のリストを得るステップと、

前記リスト内の誤検出された開始位置を破棄するステップと、

前記撮像システムの点拡がり関数、前記未加工画像の S N R 推定値及び背景推定値を用いて、前記開始位置のリストに対し最適化あてはめプロセスを実行するステップと、

あてはめられた開始位置を前記未加工画像の 3 D 画像に組み立てるステップと、を含む複数のステップによって、未加工放射体画像の 3 D 放射体画像を生成するよう構成された画像処理システムをさらに備える、請求項 1 に記載のシステム。

【請求項 4】

画像処理システムを備え、

前記画像処理システムは、

前記未加工画像のオフセットを補正し、

光電子数の観点から前記画像を校正し、

現在の未加工画像に系列内で先行する複数の画像の平均を減算する

ことによって、前記背景が減算された推定値を捕捉するように構成される、請求項 3 に記載のシステム。

【請求項 5】

前記画像処理システムは、前記未加工画像の各ピクセル内の光電子数の平方根を計算することによって前記 S N R 推定値を得るように構成される、請求項 3 に記載のシステム。

【請求項 6】

前記画像処理システムは、

ウィナーフィルタリング、

前記撮像システムの点拡がり関数を用いた相関、又は

最尤デコンボリューション

のうちの任意の 1 つ又は複数によって、前記背景が減算された推定値における対象物コントラストを最大にするように構成される、請求項 3 に記載のシステム。

【請求項 7】

前記しきい値処理された画像は、前記背景が減算されコントラストが強化された推定値が、前記 S N R 推定値に一定の係数を乗算したものよりも明るいエリアを示すマスクである、請求項 3 に記載のシステム。

【請求項 8】

開始位置のリストは、

前記画像内の連続エリアを取り出すために二値標識付けを実行するステップと、
前記二値標識付けがなされた画像内の各標識付けられた領域の輝度中心を計算するとともに、これを前記標識付けられた領域の前記開始位置として用いるステップと、
によって、前記しきい値処理された画像から計算される、請求項3に記載のシステム。

【請求項 9】

前記画像処理システムは、
開始位置の選択された範囲内の近傍点の情報を抽出するステップと、
前記開始位置及び前記選択された近傍点の輝度を計算するステップと、
前記開始位置及び前記近傍点の前記輝度を比較するステップと、
前記開始位置の輝度が近傍点の輝度よりも大きくない場合、前記開始位置を破棄するステップと、
を含む複数のステップによって、誤検出された開始位置を破棄するように構成される、請求項3に記載のシステム。

【請求項 10】

前記画像処理システムは、
「データROI」及び「SNR ROI」を得るために、背景補正された画像内の各開始位置の周りの関心領域（ROI）及びSNR推定値から情報を抽出するステップと、
これらの領域からの前記データを用いて開始パラメータを計算するステップと、
前記撮像システムの前記点拡がり関数から導出された補間モデルと、
開始パラメータと、
前記SNR ROIと
を用いて前記データROIをあてはめることによって、最適化プロセスを実行するステップと、
を含む複数のステップによって、背景補正された画像における関心領域に対する最適化あてはめプロセスを、各開始位置について実行するように構成される、請求項3に記載のシステム。

【請求項 11】

近傍点の前記選択された範囲は、前記撮像システムの点拡がり関数よりも大きなサイズである、請求項3に記載のシステム。