

WO 2014/020911 A1



(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))

明 細 書

発明の名称：観察装置

技術分野

[0001] 本発明は、観察対象領域をレーザ光で照明する観察装置に関する。

背景技術

[0002] レーザ光源を使用した顕微鏡の1つに構造化照明顕微鏡がある。或る構造化照明顕微鏡では、レーザ光による干渉縞（構造化照明光）で標本を照明しながら複数枚の変調画像を取得し、それらの変調画像に対して復調演算を施すことにより、標本の超解像画像（復調画像）を生成している。この構造化照明顕微鏡では、復調演算の精度を保つために、干渉縞の強度は標本上の少なくとも観察対象領域内で均一化されている必要がある。

[0003] しかし、レーザ光の可干渉性に起因し、干渉縞にはノイズ干渉縞やスペクトルノイズの重畳される可能性がある。これが原因で変調画像内に干渉縞パターンとは異なる輝度（強度）ムラ（以下、単に「フレーム内の輝度ムラ」と称す。）が発生すると、復調演算の精度に影響を及ぼす。この輝度ムラに対する公知の解決策としては、レーザ光の光路へ回転拡散板を挿入し、レーザ光の時間的コヒーレンシーを下げる方法が挙げられる（特許文献1等を参照。）。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：米国特許発明第6925225号明細書

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] ところで、観察対象が生体標本である場合などには、撮像期間を短縮する必要があるため、変調画像1枚当たりの露光時間の短縮を図ることがある。しかし、1枚当たりの露光時間が短いと、フレーム間の輝度ムラが目立ち、それが原因で復調演算に失敗する虞のあることが判明した。

[0006] そこで本発明は、フレーム内の輝度ムラだけでなくフレーム間の輝度ムラをも軽減することのできるレーザ観察装置を提供することを目的する。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明の観察装置の一例は、レーザ光源からのレーザ光で試料を照明する照明光学系と、前記照明光学系により照明された前記試料を繰り返し撮像する撮像部とを備えた観察装置であって、前記照明光学系は、光拡散素子を含み、前記光拡散素子において前記レーザ光が照射される領域の拡散パターンを周期的に変化させる制御部を更に備え、前記制御部は、前記撮像の撮像時間中における前記拡散パターンの変化が、繰り返される複数の前記撮像の間で互いに同じになるように設定を行う。

[0008] なお、前記制御部は、前記撮像の繰り返し周期が前記拡散パターンの変化周期の整数倍になるように前記設定を行ってもよい。

[0009] また、前記制御部は、前記拡散パターンの変化周期に応じて前記撮像の繰り返し周期を調整してもよい。

[0010] また、前記制御部は、前記撮像の繰り返し周期を調整するために前記撮像部への駆動信号を調整してもよい。

[0011] また、前記制御部は、前記撮像の繰り返し周期に応じて前記拡散パターンの変化周期を調整してもよい。

[0012] また、前記光拡散素子は、回転可能な光拡散板であり、前記光拡散板は前記制御部により回転制御されてもよい。

[0013] また、前記光拡散素子は、拡散パターンが可変の光拡散素子であり、前記拡散パターンは前記制御部により制御されてもよい。

[0014] また、本発明の観察装置の一例は、前記レーザ光源と前記照明光学系との間で前記レーザ光を中継するマルチモードの光ファイバを更に備え、前記光拡散素子は、前記レーザ光源と前記光ファイバとの間に配置されてもよい。

[0015] また、前記レーザ光源は、第1レーザ光を出射する第1レーザ光源と、前記第1レーザ光とは波長の異なる第2レーザ光を出射する第2レーザ光源とを含み、前記撮像部は、前記第1レーザ光に応じて前記試料から射出した第

1 観察光を受光する第1撮像素子と、前記第2レーザ光に応じて前記試料から射出した第2観察光を受光する第2撮像素子とを含み、前記第1撮像素子の1回の露光時間と、前記第2撮像素子の1回の露光時間とは、前記制御部により個別に調整可能であってもよい。

[0016] また、前記照明光学系は、前記レーザ光により生成された干渉縞で前記試料を照明する構造化照明光学系であってもよい。

図面の簡単な説明

[0017] [図1]構造化照明顕微鏡装置1の構成図である。

[図2]図2(A)は、回転拡散板109を光軸に沿った方向から見た図であり、図2(B)は、光軸を含む平面で回転拡散板109を切断してできる断面図である。

[図3]図3(A)は、3方向回折格子131'を光軸に沿った方向から見た図であり、図3(B)は、光束選択部材18を光軸に沿った方向から見た図である。

[図4]図4(A)は、センサ109Bの生成するタイミング信号であり、図4(B)は、第1撮像素子351の露光タイミングを示す図であり、図4(C)は、第2撮像素子352の露光タイミングを示す図である（フレーム周期 T_f が回転周期 T_r の整数倍のとき。）。

[図5]図5(A)は、回転拡散板109上でレーザスポットが第1撮像素子351の露光期間中に掃引する領域を示す図であり、図5(B)は、回転拡散板109上でレーザスポットが第2撮像素子352の露光期間中に掃引する領域を示す図である（フレーム周期 T_f が回転周期 T_r の整数倍のとき。）。

[図6]図6(A)は、センサ109Bの生成するタイミング信号であり、図6(B)は、第1撮像素子351の露光タイミングを示す図であり、図6(C)は、第2撮像素子352の露光タイミングを示す図である（フレーム周期 T_f が回転周期 T_r の非整数倍のとき。）。

[図7]図7(A)は、回転拡散板109上でレーザスポットが第1撮像素子3

5 1 の露光期間中に掃引する領域を示す図であり、図 7 (B) は、回転拡散板 1 0 9 上でレーザスポットが第 2 撮像素子 3 5 2 の露光期間中に掃引する領域を示す図である (フレーム周期 T_f が回転周期 T_r の非整数倍のとき)。

発明を実施するための形態

[0018] [第 1 実施形態]

以下、本発明の第 1 実施形態として構造化照明顕微鏡装置を説明する。

[0019] 先ず、構造化照明顕微鏡装置 1 の構成を説明する。

[0020] 図 1 は、構造化照明顕微鏡装置 1 の構成図である。図 1 に示すとおり構造化照明顕微鏡装置 1 には、レーザユニット 1 0 0 と、光ファイバ 1 1 と、照明光学系 1 0 と、結像光学系 3 0 と、第 1 撮像素子 3 5 1、第 2 撮像素子 3 5 2 と、制御装置 3 9 と、画像記憶・演算装置 4 0 と、画像表示装置 4 5 とが備えられる。なお、照明光学系 1 0 は落射型であり、結像光学系 3 0 の第 1 ダイクロイックミラー 7 及び対物レンズ 6 を介して標本 5 の照明を行う。

[0021] レーザユニット 1 0 0 には、第 1 レーザ光源 1 0 1、第 2 レーザ光源 1 0 2、シャッタ 1 0 3、1 0 4、ミラー 1 0 5、ダイクロイックミラー 1 0 6、音響光学可変フィルタ (A O T F) 1 0 7、レンズ 1 0 8、回転拡散板 1 0 9、回転機構 1 0 9 A、センサ 1 0 9 B、レンズ 1 1 0、1 1 1、F C コネクタ 1 1 2 が備えられる。

[0022] 第 1 レーザ光源 1 0 1 及び第 2 レーザ光源 1 0 2 の各々は可干渉光源であって、互いの出射波長は異なる。ここでは、第 1 レーザ光源 1 0 1 の波長 λ_1 は、第 2 レーザ光源 1 0 2 の波長 λ_2 よりも長いと仮定する ($\lambda_1 > \lambda_2$)。

[0023] 第 1 レーザ光源 1 0 1 から射出した波長 λ_1 のレーザ光 (第 1 レーザ光) は、シャッタ 1 0 3、ミラー 1 0 5 を介してダイクロイックミラー 1 0 6 へ入射すると、そのダイクロイックミラー 1 0 6 を反射する。一方、第 2 レーザ光源 1 0 2 から射出した波長 λ_2 のレーザ光 (第 2 レーザ光) は、シャッタ 1 0 4 を介してビームスプリッタ 1 0 6 へ入射すると、そのダイクロイッ

クミラー 106 を透過し、第 1 レーザ光と統合される。

[0024] ダイクロイックミラー 106 から射出したレーザ光（第 1 レーザ光及び第 2 レーザ光の少なくとも一方）は、AOTF 107、レンズ 108、回転拡散板 109、レンズ 110、レンズ 111、FC コネクタ 112 を介して光ファイバ 11 の入射端に入射する。

[0025] このうちレンズ 108 には、レーザ光（第 1 レーザ光及び第 2 レーザ光の少なくとも一方）を回転拡散板 109 上に集光させる機能があり、レンズ 110、111 には、回転拡散板 109 上に形成された集光点（レーザスポット）の像を、光ファイバ 11 の入射端に適当な倍率で投影する働きがある。

[0026] ここで、回転拡散板 109 は、図 2（A）、（B）に示すとおり多数の微細な構造物（微細レンズや微細粒子など）をランダムに配列した透過型の拡散板であり、その基板の一部をレーザ光の光路（レーザスポットの近傍）へ挿入させている。この回転拡散板 109 の回転軸 109S は、レーザ光の光路に対して平行であって、レーザ光の集光点（レーザスポット）から外れている。この回転軸 109S の周りに回転拡散板 109 が回転すると、レーザスポットに作用する拡散パターンが変化し、その回転が繰り返されると、レーザスポットに作用する拡散パターンが周期変化する。よって、この回転拡散板 109 には、光ファイバ 11 に向かうレーザ光の時間的コヒーレンシーを低減し、後述する干渉縞の強度ムラを抑えるという働きがある。

[0027] なお、回転拡散板 109 を回転させる回転機構 109A（図 1）のモータとしては、振動の少ないブラシレスモータなどが適している。ブラシレスモータは、10000rpm～40000rpm の回転数で回転拡散板 109 を回転させることが可能であり、現状では、10000rpm 程度であれば回転拡散板 109 の回転速度を安定させることができる。よって、以下では回転拡散板 109 の回転数は 10000rpm に設定されたと仮定する。因みにこの回転数 10000rpm を回転周期に換算すると、6ms である。ここで、回転周期とは、回転拡散板 109 が 1 回転するのに要する時間のことである。

[0028] また、回転拡散板 109 の外周側の所定位置には、非透過性のマーク 109A が形成されており、マーク 109A の軌跡上の所定箇所には、センサ 109B が非接触の状態では配置される。このセンサ 109B はフォトインタラプタなどで構成されており、センサ 109B にマーク 109A が正対しているときには、センサ 109B の検出信号の値は小さくなり、センサ 109B にマーク 109A が正対していないときには、センサ 109B の検出信号の値は大きくなる。よって、センサ 109B の検出信号は、回転拡散板 109 の回転タイミングを示す信号（タイミング信号）として使用可能である。

[0029] 図 1 に戻り、光ファイバ 11 は、レーザ光を導光するマルチモード光ファイバであり、回転拡散板 109 によるコヒーレンシー低減効果を維持したままレーザ光を導光することができる。この光ファイバ 11 の入射端に入射したレーザ光（第 1 レーザ光及び第 2 レーザ光の少なくとも一方）は、光ファイバ 11 の内部を伝搬して光ファイバ 11 の出射端に点光源を生成し、照明光学系 10 へ入射する。

[0030] 照明光学系 10 には、点光源の側から順に、コレクタレンズ 12 と、偏光板 23 と、回折光学素子（回折格子）13 と、集光レンズ 16 と、0 次光カットマスク 14 と、レンズ 25 と、視野絞り 26 と、フィールドレンズ 27 と、励起フィルタ 28 と、第 1 ダイクロイックミラー 7 と、対物レンズ 6 とが配置される。

[0031] 点光源から射出したレーザ光（第 1 レーザ光及び第 2 レーザ光の少なくとも一方）は、コレクタレンズ 12 によって平行光束に変換され、偏光板 23 を介して回折格子 13 へ入射すると、各次数の回折光束に分岐される。これら各次数の回折光束は、集光レンズ 16 によって瞳共役面 6A' の互いに異なる位置に集光される。

[0032] ここで、瞳共役面 6A' とは、レンズ 16 の焦点位置（後ろ側焦点位置）であって、後述する対物レンズ 6 の瞳 6A（±1 次回折光が集光する位置）に対してレンズ 27、レンズ 25 を介して共役な位置のことである（これらの位置の概念には、当業者が対物レンズ 6、レンズ 27、25 の収差、ビネ

ッティング等の設計上必要な事項を考慮して決定した位置も含まれる。) 。

また、回折格子 1 3 は、照明光学系 1 0 の光軸と垂直な方向にかけて周期構造を有した 1 方向回折格子であり、偏光板 2 3 は、レーザ光の偏光方向を回折格子 1 3 の格子線と同じ方向に整える偏光板である。

[0033] このうち回折格子 1 3 は、 piezo モータ等からなる並進機構 1 5 A によって回折光束の分岐方向 (= 瞳共役面 6 A' における ± 1 次回折光束の集光点の配列方向) にかけて並進移動が可能である。なお、並進移動の方向は、分岐方向に一致していなくとも、分岐方向と同方向の成分を有した方向であればよい。この方向に回折格子 1 3 が並進移動すると、後述する干渉縞の位相がシフトする。

[0034] また、回折格子 1 3 及び偏光板 2 3 及び並進機構 1 5 A の双方は、電気モータ等からなる回転機構 1 5 B によって光軸の周りに 120° のピッチで回転可能である。回折格子 1 3 が回転すると、後述する干渉縞の方向が 0° 、 120° 、 240° の間で切り替わり、回折格子 1 3 と共に偏光板 2 3 が回転すれば、干渉縞の方向と偏光方向との関係は維持される。

[0035] なお、並進機構 1 5 A による並進移動の方向は、回折格子 1 3 の回転位置が 0° 、 120° 、 240° の何れであった場合にも干渉縞の位相をシフトできるように所定方向に設定されるものとする。但し、この場合、並進移動量と位相シフト量との関係は回折格子 1 3 の回転位置によって異なるので、回折格子 1 3 の回転位置に依らず位相シフト量が等しくなるよう、並進移動のピッチは回折格子 1 3 の回転位置毎に設定されるものとする。

[0036] 回折格子 1 3 から射出し、瞳共役面 6 A' に向かった各次数の回折光束は、瞳共役面 6 A' の近傍に配置された 0 次光カットマスク 1 4 へ入射する。0 次光カットマスク 1 4 は、入射した各次数の回折光束のうち必要な回折光束のみ (ここでは ± 1 次回折光束のみとする。) を選択的に通過させるマスクである。なお、0 次光カットマスク 1 4 は、マスク用の基板に複数の開口部又は透過部を形成したものであり、基板において開口部又は透過部の形成される位置は、瞳共役面 6 A' において ± 1 次回折光束が入射する位置に対

応する。

[0037] この0次光カットマスク14を通過した±1次回折光束は、レンズ25によって視野絞り26付近で回折格子13と共役な面を形成した後に、フィールドレンズ27により平行光に変換され、さらに励起フィルタ28を経てから第1ダイクロイックミラー7で反射し、対物レンズ6の瞳面6A上の互いに異なる位置に集光される。

[0038] 瞳面6A上に集光した±1次回折光束の各々は、対物レンズ6の先端から射出される際には平行光束となり、標本5の表面で互いに重なり合い、干渉縞を形成する。この干渉縞が、構造化照明光として使用される。

[0039] このような干渉縞により標本5を照明すると、干渉縞の周期構造と標本5の（蛍光領域の）周期構造とがモアレ縞を生成するが、このモアレ縞においては、標本5の高周波数の構造が元の周波数より低周波数側にシフトしているため、この構造に応じて発生した光は、元の角度よりも小さい角度で対物レンズ6へ向かうことになる。よって、干渉縞により標本5を照明すると、標本5の有する高周波数の構造情報までもが対物レンズ6によって伝達される。

[0040] ここで、標本5は、例えば、平行平板状のガラス表面に滴下された培養液であって、その培養液におけるガラス界面の近傍には、蛍光性を有した細胞（蛍光色素で染色された細胞）が存在している。この細胞には、波長 λ_1 の第1レーザ光によって励起される第1蛍光領域と、波長 λ_2 の第2レーザ光によって励起される第2蛍光領域との双方が発現している。第1蛍光領域では、第1レーザ光に応じて中心波長 λ_1' の第1蛍光が発生し、第2蛍光領域では、第2レーザ光に応じて中心波長 λ_2' の第2蛍光が発生する。

[0041] 標本5で発生した蛍光（第1蛍光及び第2蛍光の少なくとも一方）は、結像光学系30へ入射する。結像光学系30には、標本5の側から順に、対物レンズ6と、第1ダイクロイックミラー7と、バリアフィルタ31と、第2対物レンズ32と、第2ダイクロイックミラー35とが配置される。

[0042] 標本5で発生した蛍光（第1蛍光及び第2蛍光の少なくとも一方）は、対

物レンズ 6 に入射すると、対物レンズ 6 で平行光に変換された後、第 1 ダイクロイックミラー 7、バリアフィルタ 3 1、第 2 対物レンズ 3 2 を介して第 2 ダイクロイックミラー 3 5 へ入射する。第 2 ダイクロイックミラー 3 5 へ入射した第 1 蛍光は、第 2 ダイクロイックミラー 3 5 を反射し、第 2 ダイクロイックミラー 3 5 へ入射した第 2 蛍光は、第 2 ダイクロイックミラー 3 5 を透過する。

[0043] 第 2 ダイクロイックミラー 3 5 を反射した第 1 蛍光は、第 1 撮像素子 3 5 1 の撮像面 3 6 1 上に第 1 蛍光領域の変調像を形成し、第 2 ダイクロイックミラー 3 5 を透過した第 2 蛍光は、第 2 撮像素子 3 5 2 の撮像面 3 6 2 上に第 2 蛍光領域の変調像を形成する。

[0044] 第 1 撮像素子 3 5 1、第 2 撮像素子 3 5 2 の各々は、CCD、CMOS 等の電荷蓄積型の二次元撮像素子である。第 1 撮像素子 3 5 1 は、第 1 蛍光領域の変調像を撮像することで第 1 変調画像を生成して制御装置 3 9 へ送出し、第 2 撮像素子 3 5 2 は、第 2 蛍光領域の変調像を撮像することで第 2 変調画像を生成して制御装置 3 9 へ送出する。

[0045] 制御装置 3 9 は、第 1 レーザ光源 1 0 1、第 2 レーザ光源 1 0 2、シャッタ 1 0 3、1 0 4、AOTF 1 0 7、回転機構 1 0 9 A、センサ 1 0 9 B、並進機構 1 5 A、回動機構 1 5 B、第 1 撮像素子 3 5 1、第 2 撮像素子 3 5 2 の各々を制御することで一連の第 1 変調画像及び一連の第 2 変調画像を取得すると、それら一連の第 1 変調画像及び一連の第 2 変調画像を画像記憶・演算装置 4 0 へ与える。

[0046] ここで、制御装置 3 9 は、AOTF 1 0 7 の波長 λ_1 に対する透過率を制御することにより、標本 5 に対する第 1 レーザ光の照射強度を制御することができる。これによって、第 1 蛍光領域の変調像の明るさを適正にし、撮像素子 3 5 1 のダイナミックレンジを有効利用することができる。

[0047] また、制御装置 3 9 は、AOTF 1 0 7 の波長 λ_2 に対する透過率を制御することにより、標本 5 に対する第 2 レーザ光の照射強度を制御することができる。これによって、第 2 蛍光領域の変調像の明るさを適正にし、撮像素

子352のダイナミックレンジを有効利用することができる。

[0048] また、制御装置39は、第1レーザ光源101のオン／オフタイミング、シャッタ103の開／閉タイミング、AOTF107の波長 λ_1 に対するオン／オフタイミングの組み合わせを制御することにより、標本5に対する第1レーザ光の照射タイミングを制御することができる。

[0049] また、制御装置39は、第2レーザ光源102のオン／オフタイミング、シャッタ104の開／閉タイミング、AOTF107の波長 λ_2 に対するオン／オフタイミングの組み合わせを制御することにより、標本5に対する第2レーザ光の照射タイミングを制御することができる。

[0050] また、制御装置39は、第1撮像素子351の電荷蓄積タイミング及び電荷読出タイミングを制御することにより、第1撮像素子351のフレーム周期を制御することができる。

[0051] また、制御装置39は、第2撮像素子352の電荷蓄積タイミング及び電荷読出タイミングを制御することにより、第2撮像素子352のフレーム周期を制御することができる。

ここで、フレーム周期とは、撮像素子による、ある画像の撮像開始から次の画像の撮像開始までの時間のことである。

[0052] また、制御装置39は、第1撮像素子351のフレーム周期内の電荷蓄積期間と、第1撮像素子351と標本5との間に配置されたメカシャッタ（不図示）のフレーム周期内の開放期間との組み合わせを制御することにより、第1撮像素子351のフレーム周期内の露光時間（蛍光の受光時間）を制御することができる。

[0053] また、制御装置39は、第2撮像素子352のフレーム周期内の電荷蓄積期間と、第2撮像素子352と標本5との間に配置されたメカシャッタ（不図示）のフレーム周期内の開放期間と組み合わせを制御することにより、第2撮像素子352のフレーム周期内の露光時間（蛍光の受光時間）を制御することができる。

[0054] なお、第1撮像素子351の露光時間の制御は、第1レーザ光の照射期間

の制御により行うことも可能だが、第1レーザ光の照射期間と第1蛍光の発光期間とは完全に一致するとは限らず、制御の応答性を維持するのが難しい。よって、本実施形態では、第1撮像素子351の露光時間の制御は、上記したとおり、第1レーザ光の照射期間以外のパラメータの制御により行われるものとする。この場合、第1レーザ光の照射波形は連続波（CW）に設定される。

[0055] 同様に、第2撮像素子352の露光時間の制御は、第2レーザ光の照射期間の制御により行うことも可能だが、第2レーザ光の照射期間と第2蛍光の発光期間とは完全に一致するとは限らず、制御の応答性を維持するのが難しい。よって、本実施形態では、第2撮像素子352の露光時間の制御は、上記したとおり、第2レーザ光の照射期間以外のパラメータの制御により行われるものとする。この場合、第2レーザ光の照射波形は連続波（CW）に設定される。

[0056] また、本実施形態では、第1撮像素子351のフレーム周期内の露光時間 T_{e1} と、第2撮像素子352のフレーム周期内の露光時間 T_{e2} とが個別に設定されるのに対して、第1撮像素子351のフレーム周期と第2撮像素子352のフレーム周期とは、共通の値 T_f に設定されるものとする。また、本実施形態では簡単のため、第1撮像素子351の電荷読出時間と、第2撮像素子532の電荷読出時間とは、共通の値 T_o （例えば10ms）であると仮定する。

[0057] 画像記憶・演算装置40は、制御装置39から与えられた一連の第1変調画像に対して公知の復調演算を施し、第1復調画像（第1超解像画像）を生成すると共に、制御装置39から与えられた一連の第2変調画像に対して公知の復調演算を施し、第2復調画像（第2超解像画像）を生成する。なお、公知の復調演算としては、例えば、米国特許8115806に開示された方法を用いることができる。画像記憶・演算装置40は、それらの第1超解像画像及び第2超解像画像を画像記憶・演算装置40の内部メモリ（図示せず）に記憶するとともに、画像表示装置45へと送出する。

[0058] 次に、制御装置 39 の動作を詳しく説明する。制御装置 39 は、復調演算に必要な一連の第 1 変調画像と、復調演算に必要な一連の第 2 変調画像とを、以下の手順 (1) ~ (7) で取得する。

[0059] (1) 制御装置 39 は、回動機構 15 B を駆動することにより、回折格子 13 (及び偏光板 23) の回動位置を 0° (第 1 方向) に設定する。また、制御装置 39 は、回転機構 109 A を駆動することにより、回転拡散板 109 の回転を開始する。

[0060] (2) 制御装置 39 は、回転拡散板 109 の回転数が安定した時点で、並進機構 15 A の駆動を開始することにより、回折格子 13 の並進移動を開始する。

[0061] (3) 制御装置 39 は、回折格子 13 の並進移動中に第 1 撮像素子 351、第 2 撮像素子 352 の双方の露光 (撮像) を複数枚に亘って繰り返す。

[0062] ここで、標本 5 が生体標本である場合には、複数枚に亘る撮像期間中に標本 5 が変化する可能性があり、その場合は、変調画像上に疑似モアレが発生し、復調画像上にアーティファクトノイズの重畳する虞がある。このため、標本 5 が生体標本である場合は、フレーム周期内の第 1 撮像素子 351 の露光時間 T_{e1} と、フレーム周期内の第 2 撮像素子 352 の露光時間 T_{e2} とをそれぞれ最小限 (例えば 1 ms 未満) に抑え、このうち長い方の露光時間 (例えば $T_{e2} = 1 \text{ ms}$) と電荷読出時間 T_o (例えば 10 ms) との和によって表される最短フレーム周期 $T_s = 11 \text{ ms}$ に、第 1 撮像素子 351 及び第 2 撮像素子 352 のフレーム周期 T_f を設定することが考えられる。

[0063] しかしながら、第 1 撮像素子 351 及び第 2 撮像素子 352 のフレーム周期 T_f を最短フレーム周期 $T_s = 11 \text{ ms}$ に設定すると、一連の第 1 変調画像のフレーム間及び一連の第 2 変調画像のフレーム間に輝度ムラの発生することが判明した。そこで、本実施形態の制御装置 39 は、複数枚に亘る撮像期間中に以下の手順 (4) を実行する。

[0064] (4) 制御装置 39 は、複数枚に亘る撮像期間中、センサ 109 B を駆動することで回転拡散板 109 の回転周期 T_r (回転拡散板 109 が 1 回転す

るのに要する時間)を検知し、第1撮像素子351及び第2撮像素子352のフレーム周期 T_f を、図4(A)、(B)、(C)に示すとおり、その回転周期 T_r の整数倍に設定する。

[0065] 具体的に、制御装置39は、第1撮像素子351の露光時間 T_{e1} と第2撮像素子352の露光時間 T_{e2} とのうち長い方の露光時間(例えば $T_{e2} = 1 \text{ ms}$)と電荷読出時間 $T_o = 10 \text{ ms}$ との和からなる最短フレーム周期 $T_s = 11 \text{ ms}$ を算出し、回転周期 $T_r = 6 \text{ ms}$ の整数倍($T_r = 6 \text{ ms}$ 、 $2T_r = 12 \text{ ms}$ 、 $3T_r = 18 \text{ ms}$ 、 $4T_r = 24 \text{ ms}$ 、...)のうち、最短フレーム周期 $T_s = 11 \text{ ms}$ 以上であって、その最短フレーム周期 $T_s = 11 \text{ ms}$ に最も近い値(12 ms)に、フレーム周期 T_f を設定する。

[0066] 但し、複数枚に亘る撮像期間中には回転周期 T_r が揺らぐ虞もある。そこで、この手順(4)における制御装置39は、センサ109Bの生成するタイミング信号をトリガーとして各フレームの露光を行う。つまり、フレーム周期 T_f が $T_f = n \times T_r$ で表される場合、制御装置39は、タイミング信号が n 回生成される毎に第1撮像素子351及び第2撮像素子352を駆動する。このようにすれば、回転周期 T_r の揺らぎに対処することができる。

[0067] 因みに、タイミング信号の生成から第1撮像素子352及び第2撮像素子352の露光開始までに多少のディレイ時間が発生するが、複数枚に亘る撮像期間中にディレイ時間が変動しないのであれば、ディレイ時間が発生すること自体には何ら問題が無い。

[0068] このように、第1撮像素子351のフレーム周期 T_f を回転周期 T_r の整数倍に制御すれば、図5(A)に示すとおり、回転拡散板109上でレーザースポットが第1撮像素子351の露光期間中に掃引する領域(掃引領域)をフレーム間で共通化することができるので、回転拡散板109の透過率にムラがあったとしても、一連の第1変調画像のフレーム間に輝度ムラが発生することは無い。このことは、第2撮像素子352(つまり第2変調画像)についても同様に当てはまる(図5(B)参照。)

[0069] 因みに、図6(A)、(B)、(C)に示すとおり、第1撮像素子351

のフレーム周期 T_f を回転周期 T_r の非整数倍にした場合は、図 7 (A) に示すとおり、回転拡散板 109 上でレーザスポットが第 1 撮像素子 351 の露光期間中に掃引する領域（掃引領域）をフレーム間で共通化することはできないので、回転拡散板 109 の透過率にムラがあったならば、一連の第 1 変調画像のフレーム間に輝度ムラが発生する。このことは、第 2 撮像素子 352（つまり第 2 変調画像）についても同様に当てはまる（図 7 (B) 参照。）。）。。

[0070] また、第 1 変調画像のフレーム間の輝度ムラは、図 7 (A) に示す掃引領域が短いときほど、つまり露光時間 T_{e1} が回転周期 T_r と比較して短いときほど、発生しやすいので、この手順 (4) を実行する意義は大きいと考えられる。このことは、第 2 変調画像（つまり第 2 撮像素子 352）についても同様に当てはまる。

[0071] (5) 制御装置 39 は、複数枚に亘る撮像期間中、回折格子 13 の並進移動のピッチを、前述したフレーム周期 T_f に応じたピッチに設定することで、一連の第 1 変調画像の隣接フレーム間の干渉縞の位相差と、一連の第 2 変調画像の隣接フレーム間の干渉縞の位相差との各々を、 2π 未満の所定値 $\Delta\phi$ に設定する。

[0072] (6) 制御装置 39 は、回動機構 15B を駆動することにより、回折格子 13（及び偏光板 23）の回動位置を 120° （第 2 方向）に設定し、その状態で手順 (2) ～ (5) を実行する。

[0073] (7) 制御装置 39 は、回転機構 15B を駆動することにより、回折格子 13（及び偏光板 23）の回動位置を 240° （第 3 方向）に設定し、その状態で手順 (2) ～ (5) を実行する。

[0074] 以上の手順 (1) ～ (7) により、制御装置 39 は、干渉縞の方向が第 1 方向であって干渉縞の位相が $\Delta\phi$ ずつずれた少なくとも 3 枚の第 1 変調画像と、干渉縞の方向が第 2 方向であって干渉縞の位相が $\Delta\phi$ ずつずれた少なくとも 3 枚の第 1 変調画像と、干渉縞の方向が第 3 方向であって干渉縞の位相が $\Delta\phi$ ずつずれた少なくとも 3 枚の第 1 変調画像とを順に取得する。これら

の少なくとも9枚の第1変調画像が、第1超解像画像の生成に必要な一連の第1変調画像である。

[0075] それと並行して、以上の手順(1)～(7)により、制御装置39は、干渉縞の方向が第1方向であって干渉縞の位相が $\Delta\phi$ ずつずれた少なくとも3枚の第2変調画像と、干渉縞の方向が第2方向であって干渉縞の位相が $\Delta\phi$ ずつずれた少なくとも3枚の第2変調画像と、干渉縞の方向が第3方向であって干渉縞の位相が $\Delta\phi$ ずつずれた少なくとも3枚の第2変調画像とを順に取得する。これらの少なくとも9枚の第2変調画像が、第2超解像画像の生成に必要な一連の第2変調画像である。

[0076] 以上、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置1は、レーザ光源(101、102)からのレーザ光で試料(標本5)を照明する照明光学系(10)と、前記照明光学系(10)により照明された前記試料(標本5)を繰り返し撮像する撮像部(撮像素子351、352)とを備え、前記照明光学系(10)は、光拡散素子(回転拡散板109)を含み、前記光拡散素子(回転拡散板109)において前記レーザ光が照射される領域の拡散パターンを周期的に変化させる制御部(回転機構109A、制御装置39)を更に備え、前記制御部(回転機構109A、制御装置39)は、前記撮像の撮像時間中における前記拡散パターンの変化が、繰り返される複数の前記撮像の間で互いに同じになるように設定を行う。

[0077] また、前記制御部(回転機構109A、制御装置39)は、前記撮像の繰り返し周期(T_f)が拡散パターンの変化周期(T_r)の整数倍になるように前記設定を行う。

[0078] なお、撮像の繰り返し周期(T_f)とは、フレーム周期と同様に、前記試料(標本5)の像(変調像)の撮像開始から次の標本の像(変調像)の撮像開始までの時間のことである。

[0079] また、拡散パターンの変化周期(T_r)とは、一連の拡散パターンの(1セット分の)変化に要する時間のことである。

[0080] また、ここでは、拡散パターンの変化が複数の前記撮像の間で互いに同じ

とみなす範囲を、次のとおりとする。すなわち、撮像される実視野内が一般的な明るさである試料（標本5）を共通の照明条件及び共通の撮像条件で繰り返し撮像することにより複数の画像（画像セット）を取得したと仮定し、その画像セットのうち、画像を構成する全画素の輝度値の平均値が最も低い画像を基準画像とおく。このとき、基準画像以外の画像の各画素の輝度値と基準画像の対応画素の輝度値との差が $\pm 7\%$ 以下（好ましくは $\pm 5\%$ 以下）である場合に、繰り返された複数の前記撮像の間で、拡散パターンの変化が同じであったとみなす。これを実現するためには、前記光拡散素子（回転拡散板109）のうち撮像開始タイミングで光束が通過する位置と、拡散パターンの回転基準位置とのズレが、撮像時間に光束が掃引する弧の長さに対して $\pm 7\%$ 以下（好ましくは $\pm 5\%$ 以下）であればよい。整数倍の条件についても上記範囲内であれば整数倍とみなす。

[0081] したがって、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置1は、フレーム内の輝度ムラとフレーム間の輝度ムラとの双方を抑えることができる。

[0082] 具体的に、上述した手順（4）において、フレーム周期 T_f を 11ms （つまり回転周期 T_r の非整数倍）に設定した場合は、フレーム間の輝度変動量がフレーム間の平均輝度の 18% もあったのに対し、フレーム周期 T_f を 12ms （つまり回転周期 T_r の整数倍）に設定した場合は、フレーム間の輝度変動量がフレーム間の平均輝度の 0.6% にまで抑えることができた。

[0083] また、フレーム間の輝度ムラを抑える別の方法として、回転拡散板の枚数を複数化する方法もあるが、この方法で本実施形態と同様の効果を得るためには、回転拡散板の枚数を3以上にする必要があり、これではレーザ光の光量ロスが大きい。したがって、本実施形態の方法は、レーザ光の光量ロスが抑えられるという点においても有効である。

[0084] また、前記制御部（回転機構109A、制御装置39）は、前記拡散パターンの変化周期（ T_r ）に応じて前記撮像の繰り返し周期（ T_f ）を調整する。

[0085] また、前記制御部（回転機構109A、制御装置39）は、前記撮像の繰

り返し周期 (T_f) を調整するために前記撮像部 (撮像素子 351、352) への駆動信号を調整する。

[0086] したがって、前記制御部 (回転機構 109A、制御装置 39) は、拡散パターンの変化周期 (T_r) に揺らぎが生じたとしても、それに対処することができる。

[0087] また、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置 1 において、前記光拡散素子 (回転拡散板 109) は、回転可能な光拡散板である。

[0088] したがって、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置 1 は、拡散パターンの変化周期 (T_r) を安定させることが容易であり、その結果、撮像の繰り返し周期 (T_f) を拡散パターンの変化周期 (T_r) の整数倍に維持することも容易である。

[0089] また、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置 1 では、前記レーザ光源 (101、102) と前記照明光学系 (10) との間でレーザ光を中継するマルチモードの光ファイバ (11) を更に備え、前記光拡散素子 (回転拡散板 109) の挿入箇所は、レーザ光源 (101、102) と光ファイバ (11) との間である。

[0090] したがって、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置 1 では、振動の発生源となりうる前記光拡散素子 (回転拡散板 109) の挿入箇所を照明光学系 (10) から隔離することと、前記光拡散素子 (回転拡散板 109) によるコヒーレンシーの低減効果を維持することとの双方が可能である。

[0091] また、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置 1 において、前記レーザ光源 (101、102) には、第 1 レーザ光を出射する第 1 レーザ光源 (101) と、第 1 レーザ光とは波長の異なる第 2 レーザ光を出射する第 2 レーザ光源 (102) とがあり、前記撮像部 (531、532) には、第 1 レーザ光に応じて前記試料 (標本 5) から射出した第 1 観察光 (第 1 蛍光) を受光する第 1 撮像素子 (531) と、第 2 レーザ光に応じて前記試料 (標本 5) から射出した第 2 観察光 (第 2 蛍光) を受光する第 2 撮像素子 (352) とがあり、第 1 撮像素子 (351) の 1 回の撮像の露光時間 (T_{e1}) と、第 2 撮像

素子（３５２）の１回の撮像の露光時間（ T_{e2} ）とは、前記制御部（制御装置３９）により個別に調整可能である。

[0092] したがって、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置１は、波長の異なる２つの像を並行して撮像することができ、しかも、それら２つの像の明るさの相違にも対処することができる。

[0093] また、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置１は、レーザ光による干渉縞で前記試料（標本５）を構造化照明するものであって、前記撮像部（撮像素子３５１、３５２）が取得した一連の変調画像は、超解像画像を生成するための復調演算に使用される。

[0094] したがって、上述したとおりフレーム間の輝度ムラを抑えれば、復調演算の精度を向上させ、超解像効果を高めることができる。

[0095] [第１実施形態の変形例]

なお、第１実施形態の制御装置３９は、拡散パターンの変化周期（ T_r ）に応じて撮像の繰り返し周期（ T_f ）を調整したが、その反対に、撮像の繰り返し周期（ T_f ）に応じて拡散パターンの変化周期（ T_r ）を調整してもよい。

[0096] 具体的に、制御装置３９は、第１撮像素子３５１の露光時間 T_{e1} と第２撮像素子３５２の露光時間 T_{e2} とのうち長い方の露光時間と電荷読出時間との和によって表される最短フレーム周期 T_s に第１撮像素子３５１及び第２撮像素子３５２のフレーム周期 T_f を一致させ、フレーム周期 T_f が回転周期 T_r の整数倍となるよう、そのフレーム周期 T_f に応じて回転周期 T_r を設定する。よって、例えば、フレーム周期 T_f が１１ｍｓである場合は、回転周期 T_r は５．５ｍｓなどに設定される。この回転周期を回転数に換算すると、１０９０９ｒｐｍである。

[0097] このように、フレーム周期 T_f に応じて回転周期 T_r の方を調節すれば、フレーム周期 T_f を最短フレーム周期 T_s に一致させることができるので、動きの速い標本５を観察する場合に好適である。

[0098] 但し、回転周期 T_r の調整をするためには、回転機構１０９Ａのモータの

回転速度を調整する必要がある、その回転速度が設定速度に安定するまでには時間が掛かるので、撮像期間の前に一定の準備期間が必要となる。

[0099] また、第1実施形態の構造化照明顕微鏡装置1では、光拡散素子として回転可能な光拡散板を使用した、拡散パターンが可変の光拡散素子（例えば、液晶素子など）を使用し、その拡散パターンを電気制御によって周期変化させてもよい。

[0100] また、第1実施形態の構造化照明顕微鏡装置1では、励起フィルタ28、第1ダイクロイックミラー7、バリアフィルタ31の各々をデュアルバンド対応型（2種類のレーザ光又は2種類の蛍光に作用するタイプ）としたが、このうち励起フィルタ28、バリアフィルタ31については、デュアルバンド対応型でなくても構わない。また、励起フィルタ28は省略することが可能であり、バリアフィルタ31の配置先は、第2ダイクロイックミラー35の前段ではなく後段（第1撮像素子351、第2撮像素子352の各々の直前）であっても構わない。

[0101] また、第1実施形態の構造化照明顕微鏡装置1では、波長の異なる2つの変調像を2つの撮像素子（第1撮像素子351、第2撮像素子352）で並行に撮像したが、波長の異なる2つの変調像を2つの撮像素子（第1撮像素子351、第2撮像素子352）で順次に撮像してもよい。その場合、制御装置39は、第1撮像素子351のフレーム周期 T_{f1} と第2撮像素子352のフレーム周期 T_{f2} とを個別に設定することができる。

[0102] 例えば、制御装置39は、第1撮像素子351の露光時間 T_{e1} と電荷読出時間 T_o との和からなる最短フレーム周期 T_{s1} を算出し、回転周期 T_r の整数倍（ T_r 、 $2T_r$ 、 $3T_r$ 、 $4T_r$ 、…）のうち、その最短フレーム周期 T_{s1} 以上であって、その最短フレーム周期 T_{s1} に最も近い値に、第1撮像素子351のフレーム周期 T_{f1} を設定すればよい。また、制御装置39は、第2撮像素子352の露光時間 T_{e2} と電荷読出時間 T_o との和からなる最短フレーム周期 T_{s2} を算出し、回転周期 T_r の整数倍（ T_r 、 $2T_r$ 、 $3T_r$ 、 $4T_r$ 、…）のうち、その最短フレーム周期 T_{s2} 以上であって、その最短

フレーム周期 T_{s_2} に最も近い値に、第2撮像素子351のフレーム周期 T_{f_2} を設定すればよい。

[0103] また、第1実施形態の構造化照明顕微鏡装置1では、光源波長の数の切り替え数を2としたが、3以上としてもよい。また、その場合、撮像素子の数を3以上としてもよい。

[0104] また、第1実施形態の構造化照明顕微鏡装置1では、波長の異なる複数の変調像を並行して撮像するために、撮像素子の個数を複数としたが、複数の変調像を順次に撮像する場合は、撮像素子の個数を1としてもよい。

[0105] その場合は、第2ダイクロイックミラー35及び撮像素子351を省略すると共に、励起フィルタ28、第1ダイクロイックミラー7、バリアフィルタ31からなるユニット（キューブ）を複数個用意し、光路に配置されるユニットをそれら複数のユニットの間で切り替えながら、撮像素子352を繰り返し駆動すればよい。

[0106] また、第1実施形態の構造化照明顕微鏡1では、干渉縞の方向を切り替えるために、回動可能な回折格子を使用したか、電気信号に応じて格子方向を切り替えることが可能な回折格子（空間光変調素子）などを使用してもよい。

[0107] また、第1実施形態では、干渉縞の方向を 120° のピッチで切り替えるために、 120° のピッチで回動可能な1方向回折格子13と、（非回転の）0次光カットマスク14との組み合わせを使用したか、 120° ずつ異なる3方向にかけて周期構造を有した（非回転の）3方向回折格子131'（図3（A））と、 120° のピッチで回動可能な光束選択部材18（図3（B））との組み合わせを使用してもよい。

[0108] 図3（A）に示すとおり回折格子131'は、 0° の方向 V_0 、 120° の方向 V_{120} 、 240° の方向 V_{240} の各々にかけて周期構造を有しており、それら各方向の周期構造（格子線）の周期（格子ピッチ）は共通である。 0° の方向 V_0 にかけて配列された複数の格子線は、入射光束を 0° の方向 V_0 に分岐するための格子線であり、 120° の方向 V_{120} にかけて配列された複数

の格子線は、入射光束を 120° の方向 V_{120} にかけて分岐するための格子線であり、 240° の方向 V_{240} にかけて配列された複数の格子線は、入射光束を 240° の方向 V_{240} にかけて分岐するための格子線である。よって、回折格子 $131'$ は、方向 V_0 にかけて分岐した ± 1 次回折光束と、方向 V_{120} にかけて分岐した ± 1 次回折光束と、方向 V_{240} にかけて分岐した ± 1 次回折光束とを、同時に生成することができる。

[0109] 図3 (B) に示すとおり光束選択部材 18 の開口パターンは、これら 3 対の ± 1 次回折光束のうち何れか 1 対の ± 1 次回折光束のみを通過させる第 1 の開口部 19 及び第 2 の開口部 20 からなる。この光束選択部材 18 は、上述した偏光板 23 に連動して、光軸の周りに 120° のピッチで回転し、干渉縞の方向を 3 つの方向 V_0 、 V_{120} 、 V_{240} の間で切り替える。因みに、これら第 1 の開口部 19 と第 2 の開口部 20 との各々の光軸周りの長さは、直線偏光した ± 1 次回折光束が通過できるような長さに設定されている。つまり、第 1 の開口部 19 及び第 2 の開口部 20 の各々の形状は、部分輪帯状に近い形状である。

[0110] また、光束選択部材 18 の外周部には、図3 (B) に示すように複数の (図3 (B) に示す例では 6 個の) 切り欠き 21 が形成されており、光束選択部材 18 の近傍において切り欠き 21 の軌跡に正対する位置には、これらの切り欠き 21 の有無を検出するためのセンサ 22 が配置される。このセンサ 22 は、フォトインタラプタなどで構成され、センサ 22 に切り欠き 21 が正対しているときには、センサ 22 の検出信号の値は大きくなり、センサ 22 に切り欠き 21 が正対していないときには、センサ 22 の検出信号の値は小さくなる。よって、センサ 22 の検出信号は、光束選択部材 18 の回転位置を示す信号 (角度信号) として使用可能である。

[0111] また、干渉縞の位相をシフトさせるための回折格子 $131'$ (図3 (A)) の並進方向は、干渉縞の方向 (= 選択された ± 1 次回折光束の分岐方向) が 0° 、 120° 、 240° の何れであった場合にも干渉縞の位相をシフトできるような所定方向に設定されるものとする。但し、この場合、並進移動量

と位相シフト量との関係は3つの方向 V_0 、 V_{120} 、 V_{240} の間で異なるので、干渉縞の方向に依らず位相シフト量が等しくなるよう、並進移動のピッチは干渉縞の方向毎に設定されるものとする。

[0112] また、第1実施形態の構造化照明顕微鏡1では、干渉縞の位相をシフトさせるために、並進移動可能な回折格子を使用した。電気信号に応じて格子位置をシフトさせることが可能な回折格子（空間光変調素子）などを使用してもよい。

[0113] また、第1実施形態では、干渉縞の方向が同一であり干渉縞の位相のみが異なる一連の第1変調画像の枚数を「少なくとも3」と説明したが、例えば、3枚、又は5枚などと設定される。その場合、第1超解像画像の生成に使用される一連の第1変調画像の枚数は、9枚又は15枚となる。

[0114] 同様に、第1実施形態では、干渉縞の方向が同一であり干渉縞の位相のみが異なる一連の第2変調画像の枚数を「少なくとも3」と説明したが、例えば、3枚、又は5枚などと設定される。その場合、第2超解像画像の生成に使用される一連の第2変調画像の枚数は、9枚又は15枚となる。

[0115] また、第1実施形態では、構造化照明顕微鏡装置1を2次元構造化照明顕微鏡装置として使用される場合を説明したが、構造化照明顕微鏡装置1を3次元構造化照明顕微鏡装置（3D-SIM：3D-Structured Illumination Microscopy）として利用することもできる。

[0116] その場合は、0次光カットマスク14又は光束選択部材18には、0次回折光束を通過するための開口部が更に設けられる。なお、この開口部の形成先は、光軸の近傍であって、この開口部の形状は、例えば円形である。このような0次光カットマスク14又は光束選択部材18によると、±1次回折光束だけでなく0次回折光束をも干渉縞に寄与させることができる。

[0117] このように、3つの回折光束の干渉（3光束干渉）によって生成される干渉縞は、標本5の表面方向だけでなく、標本5の深さ方向にも空間変調されている。よって、この干渉縞によると、標本5の3次元超解像画像を生成することが可能となる。

[0118] また、第1実施形態では、構造化照明顕微鏡装置1を2次元構造化照明顕微鏡装置として使用する際に、干渉縞に寄与する回折光束として、+1次回折光束と-1次回折光束との組み合わせを使用した。他の組み合わせを使用してもよいことは言うまでもない。

[0119] また、第1実施形態では、構造化照明顕微鏡装置1を3次元構造化照明顕微鏡装置として使用する際に、干渉縞に寄与する回折光束として、+1次回折光束と-1次回折光束と0次回折光束との組み合わせを使用した。他の組み合わせを使用してもよいことは言うまでもない。

[0120] また、第1実施形態では、被観察物（試料）の例として生物標本を説明したが、これに限られることはなく、工業製品の部品等を被観察物（試料）とした場合にも本発明は適用可能である。

符号の説明

[0121] 1…構造化照明顕微鏡装置、100…レーザユニット、109…回転拡散板、109A…回転機構、109B…センサ、11…光ファイバ、10…照明光学系、30…結像光学系、35…撮像素子、39…制御装置、40…画像記憶・演算装置、45…画像表示装置、12…コレクタレンズ、23…偏光板、13…1方向回折格子、14…0次光カットマスク、131'…3方向回折格子、18…光束選択部材、16…集光レンズ、25…レンズ、26…視野絞り、27…フィールドレンズ、28…励起フィルタ、7…ダイクロイックミラー、6…対物レンズ、5…標本

請求の範囲

- [請求項1] レーザ光源からのレーザ光で試料を照明する照明光学系と、
前記照明光学系により照明された前記試料を繰り返し撮像する撮像部とを備えた観察装置であって、
前記照明光学系は、光拡散素子を含み、
前記光拡散素子において前記レーザ光が照射される領域の拡散パターンを周期的に変化させる制御部を更に備え、
前記制御部は、
前記撮像の撮像時間中における前記拡散パターンの変化が、繰り返される複数の前記撮像の間で互いに同じになるように設定を行うことを特徴とする観察装置。
- [請求項2] 請求項1に記載の観察装置において、
前記制御部は、
前記撮像の繰り返し周期が前記拡散パターンの変化周期の整数倍になるように前記設定を行うことを特徴とする観察装置。
- [請求項3] 請求項2に記載の観察装置において、
前記制御部は、
前記拡散パターンの変化周期に応じて前記撮像の繰り返し周期を調整することを特徴とする観察装置。
- [請求項4] 請求項3に記載の観察装置において、
前記制御部は、
前記撮像の繰り返し周期を調整するために前記撮像部への駆動信号を調整することを特徴とする観察装置。
- [請求項5] 請求項2に記載の観察装置において、
前記制御部は、

前記撮像の繰り返し周期に応じて前記拡散パターンの変化周期を調整する

ことを特徴とする観察装置。

[請求項6] 請求項1～請求項5の何れか一項に記載の観察装置において、
前記光拡散素子は、回転可能な光拡散板であり、
前記光拡散板は前記制御部により回転制御される
ことを特徴とする観察装置。

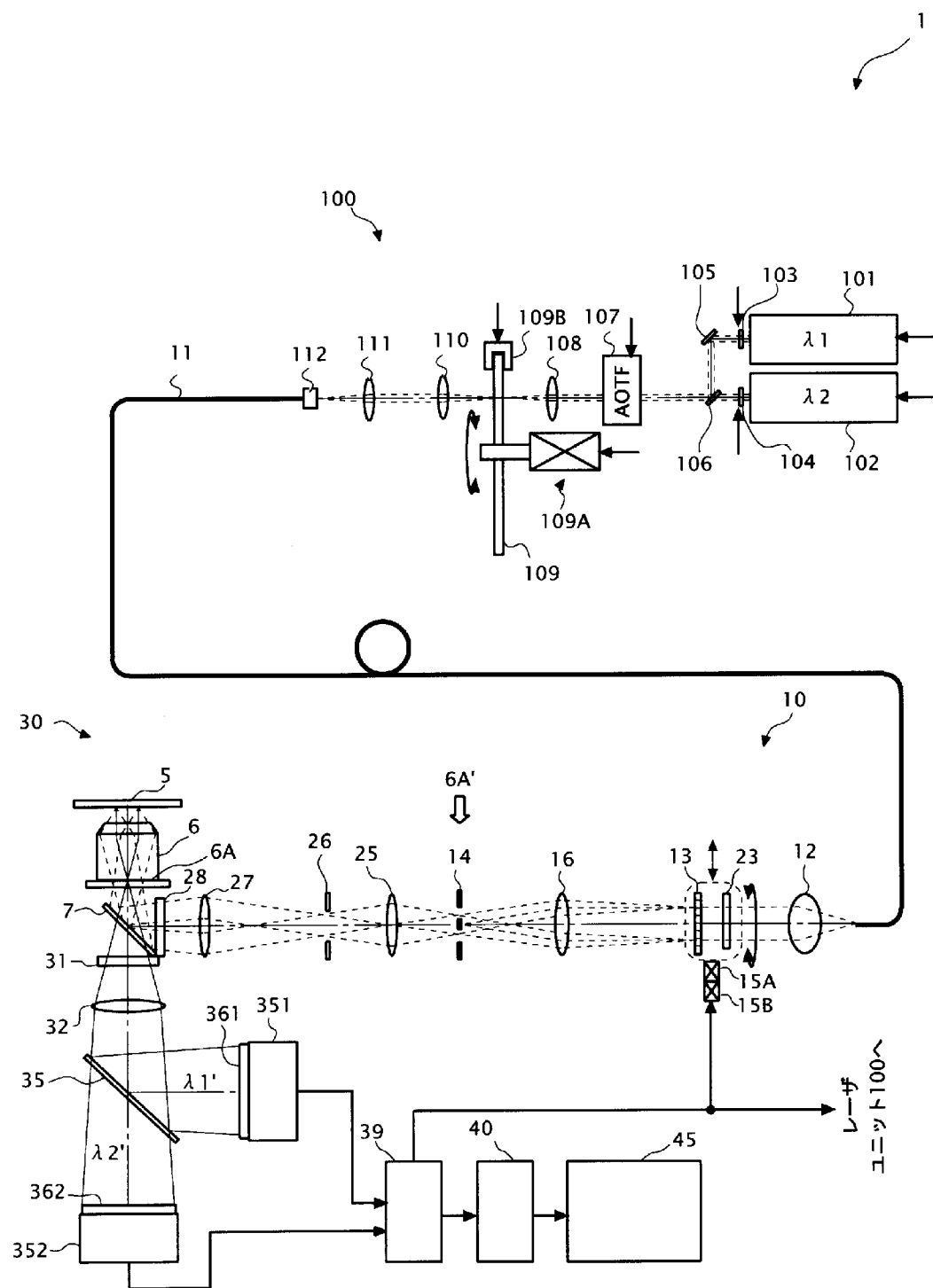
[請求項7] 請求項1～請求項6の何れか一項に記載の観察装置において、
前記光拡散素子は、拡散パターンが可変の光拡散素子であり、
前記拡散パターンは前記制御部により制御される
ことを特徴とする観察装置。

[請求項8] 請求項1～請求項7の何れか一項に記載の観察装置において、
前記レーザ光源と前記照明光学系との間で前記レーザ光を中継する
マルチモードの光ファイバを更に備え、
前記光拡散素子は、前記レーザ光源と前記光ファイバとの間に配置
される
ことを特徴とする観察装置。

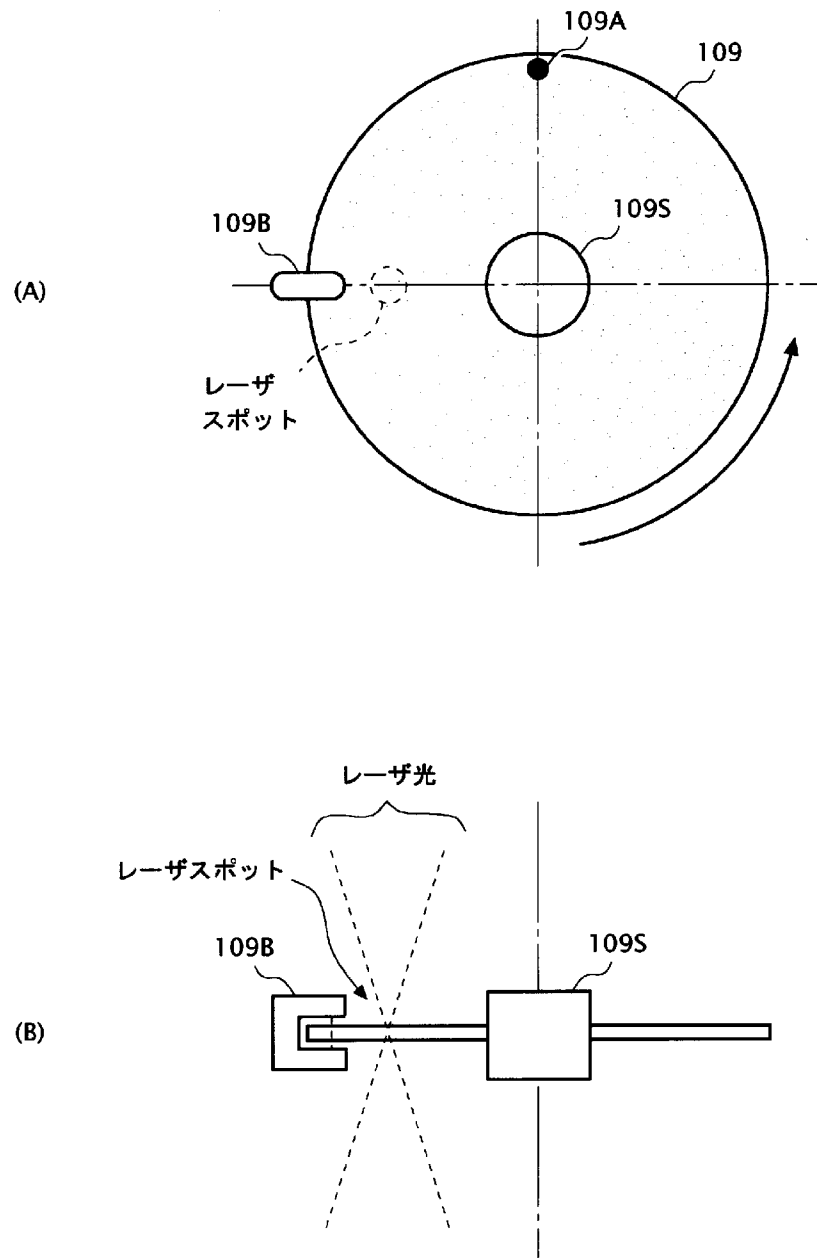
[請求項9] 請求項1～請求項8の何れか一項に記載の観察装置において、
前記レーザ光源は、
第1レーザ光を出射する第1レーザ光源と、前記第1レーザ光とは
波長の異なる第2レーザ光を出射する第2レーザ光源とを含み、
前記撮像部は、
前記第1レーザ光に応じて前記試料から射出した第1観察光を受光
する第1撮像素子と、前記第2レーザ光に応じて前記試料から射出し
た第2観察光を受光する第2撮像素子とを含み、
前記第1撮像素子の1回の露光時間と、前記第2撮像素子の1回の
露光時間とは、前記制御部により個別に調整可能である
ことを特徴とする観察装置。

- [請求項10] 請求項1～請求項9の何れか一項に記載の観察装置において、
前記照明光学系は、
前記レーザ光により生成された干渉縞で前記試料を照明する構造化
照明光学系である
ことを特徴とする観察装置。

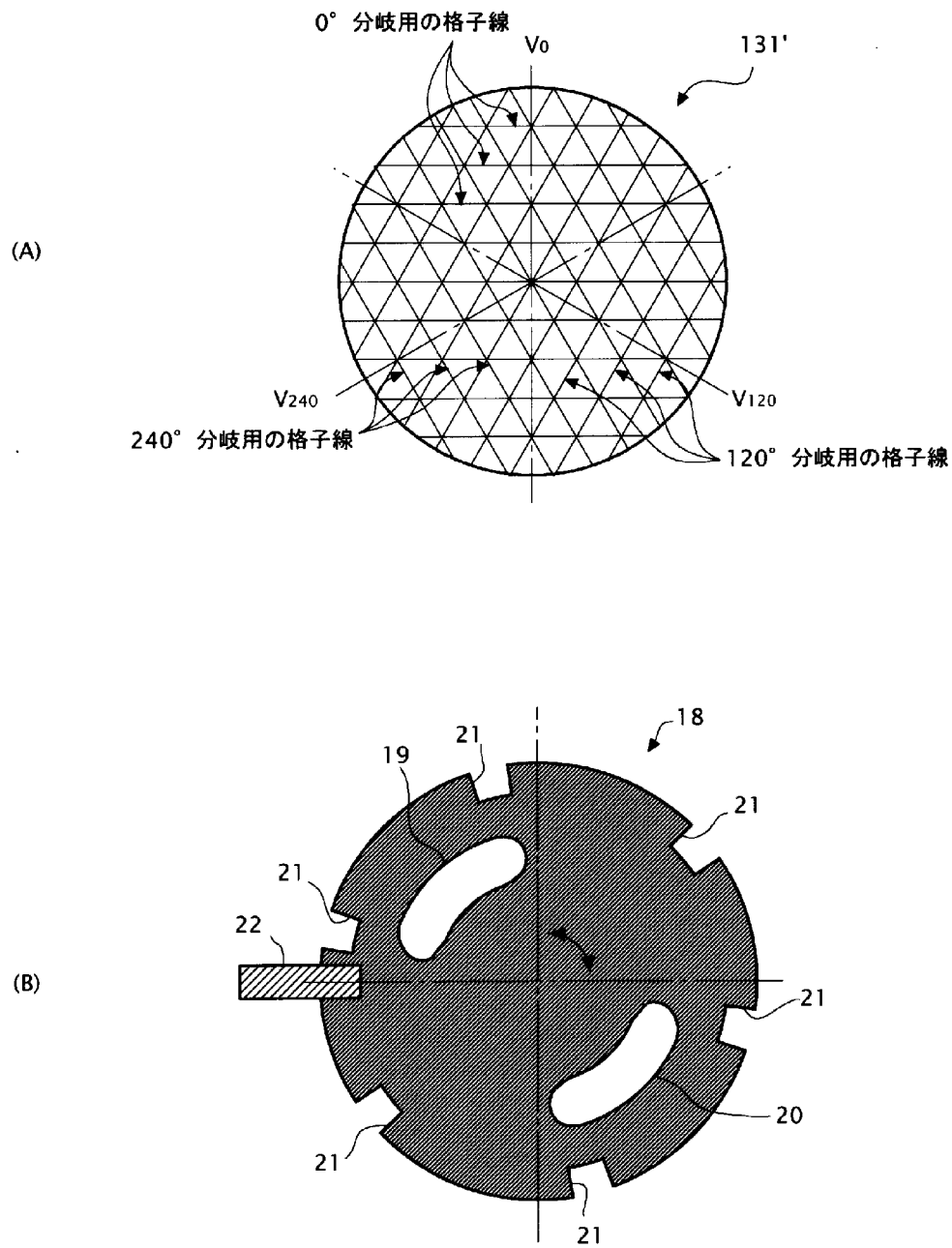
[図1]



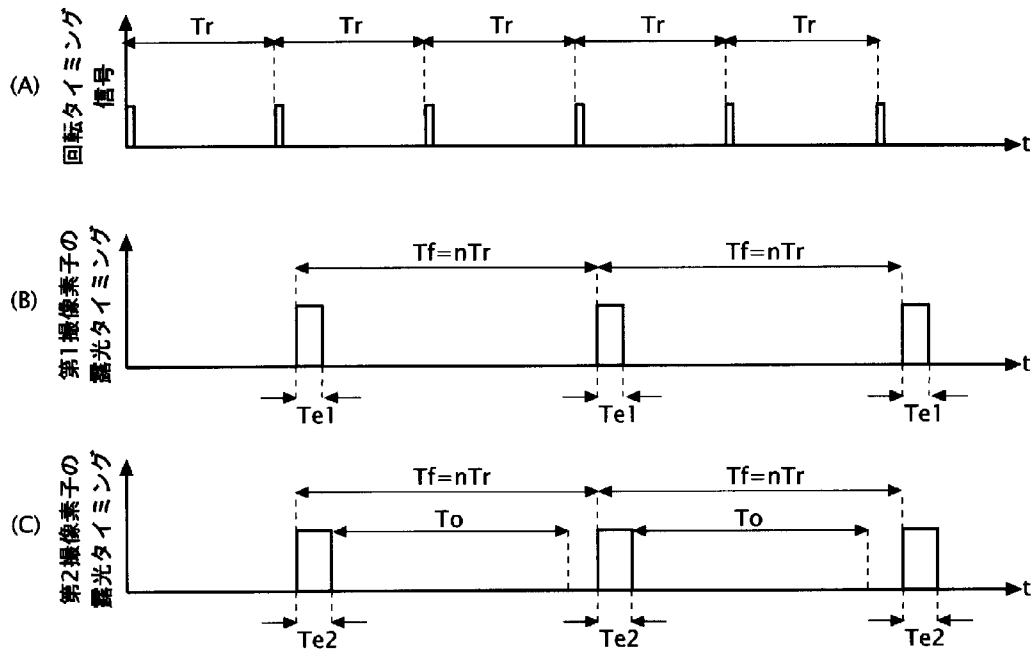
[図2]



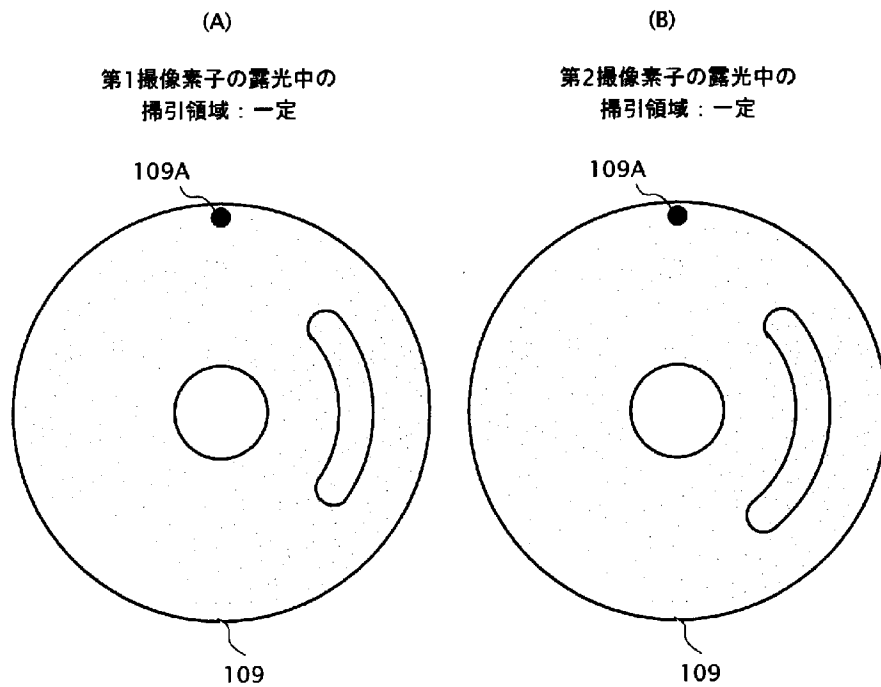
[図3]



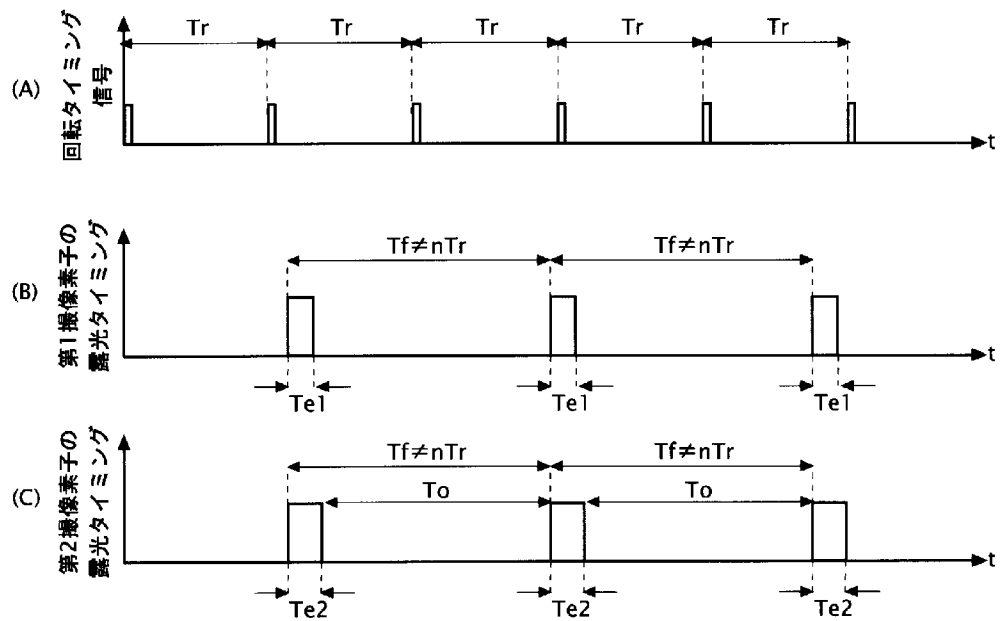
[図4]



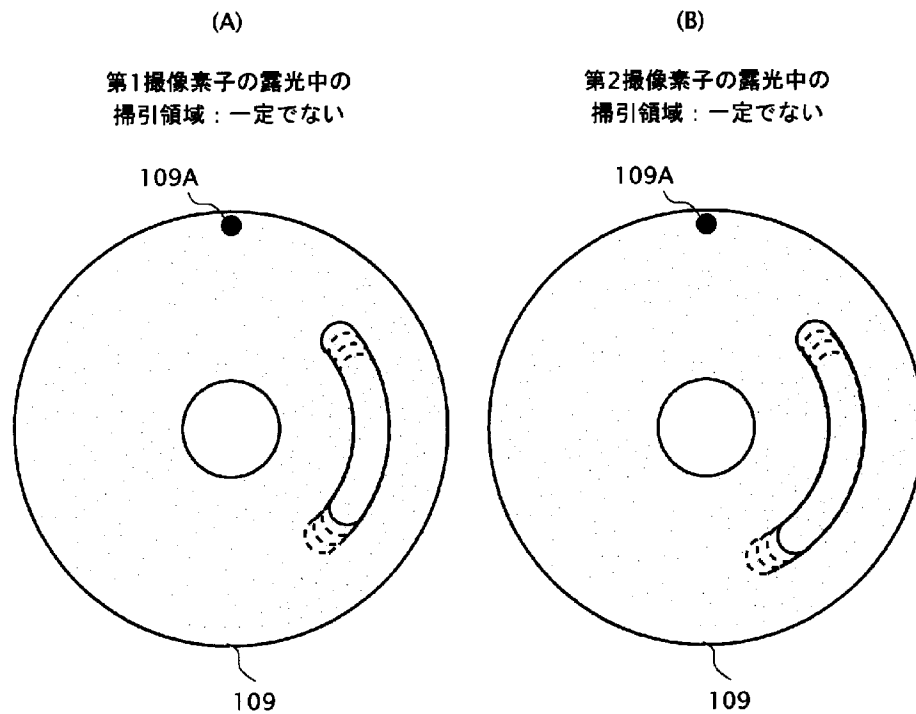
[図5]



[図6]



[図7]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/004640

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G02B21/06(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i, H04N5/225(2006.01)i, H04N5/232(2006.01)i, H04N5/238(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) G02B21/06, G01N21/64, H04N5/225, H04N5/232, H04N5/238 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 1996-2013 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2013 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2013 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	WO 2008/072597 A1 (Nikon Corp.), 19 June 2008 (19.06.2008), particularly, paragraphs [0046], [0059]; fig. 6 & US 2009/0225407 A1 & EP 2093601 A1	1-10
Y	JP 3107388 U (Cadent Ltd.), 03 February 2005 (03.02.2005), particularly, paragraphs [0044] to [0048] & US 2005/0207160 A1 & EP 1510851 A1	1-10
Y	JP 8-233544 A (Komatsu Ltd.), 13 September 1996 (13.09.1996), particularly, paragraphs [0028], [0029]; fig. 2 (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 08 October, 2013 (08.10.13)		Date of mailing of the international search report 22 October, 2013 (22.10.13)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/004640

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2000-275534 A (Olympus Optical Co., Ltd.), 06 October 2000 (06.10.2000), particularly, 1st, 3rd carrying-out modes & US 2002/0097490 A1 & DE 10014331 A1	2-10
Y	WO 2009/069675 A1 (Nikon Corp.), 04 June 2009 (04.06.2009), particularly, page 3, line 19 to page 6, line 4; fig. 1 & US 2011/0043907 A1	9-10
P, A	JP 2013-088808 A (National Synchrotron Radiation Research Center), 13 May 2013 (13.05.2013), entire text; all drawings & US 2013/0100525 A1 & DE 102012103459 A	1-10

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. G02B21/06(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i, H04N5/225(2006.01)i, H04N5/232(2006.01)i, H04N5/238(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. G02B21/06, G01N21/64, H04N5/225, H04N5/232, H04N5/238			
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 3 年 日本国実用新案登録公報 1 9 9 6 - 2 0 1 3 年 日本国登録実用新案公報 1 9 9 4 - 2 0 1 3 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	WO 2008/072597 A1（株式会社ニコン）2008.06.19, 特に、段落 [0 0 4 6]、[0 0 5 9]、図6等 & US 2009/0225407 A1 & EP 2093601 A1	1-10	
Y	JP 3107388 U（カデント・リミテツド）2005.02.03, 特に、段落【0 0 4 4】－【0 0 4 8】等 & US 2005/0207160 A1 & EP 1510851 A1	1-10	
Y	JP 8-233544 A（株式会社小松製作所）1996.09.13, 特に、段落【0 0 2 8】、【0 0 2 9】、図2等（ファミリーなし）	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 「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 8 . 1 0 . 2 0 1 3		国際調査報告の発送日 2 2 . 1 0 . 2 0 1 3	
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1 0 0 - 8 9 1 5 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） 殿岡 雅仁 電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 7 1	2 V 4 7 4 8

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	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	JP 2000-275534 A (オリンパス光学工業株式会社) 2000.10.06, 特に、第1, 3の実施の形態等 & US 2002/0097490 A1 & DE 10014331 A1	2-10
Y	WO 2009/069675 A1 (株式会社ニコン) 2009.06.04, 特に、第3頁第19行―第6頁第4行、図1等 & US 2011/0043907 A1	9-10
P, A	JP 2013-088808 A (ナショナル シンクロトロン ラディエイション リサーチ センター) 2013.05.13, 全文、全図 & US 2013/0100525 A1 & DE 102012103459 A	1-10