

(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
2011 年 10 月 13 日(13.10.2011)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2011/125370 A1

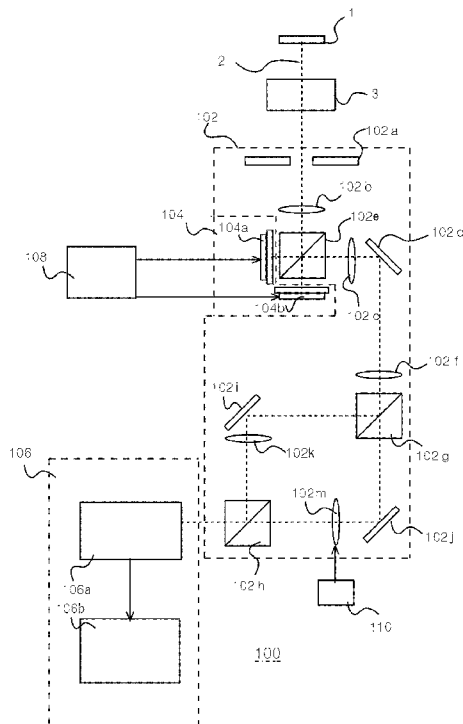
- (51) 国際特許分類:
G02B 21/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2011/052543
- (22) 国際出願日: 2011 年 2 月 7 日(07.02.2011)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2010-086945 2010 年 4 月 5 日(05.04.2010) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学法人大阪大学 (OSAKA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒5650871 大阪府吹田市山田丘 1 番 1 号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 渡邊 朋信 (WATANABE Tomonobu) [JP/JP]; 〒5650871 大阪府吹田市山田丘 1 番 1 号 国立大学法人大阪大学内 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 前井 宏之 (MAEI Hiroyuki); 〒5410046 大阪府大阪市中央区平野町 1-5-1 1 エルギャラン平野町ビル 5 階 Osaka (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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI

[続葉有]

(54) Title: OBSERVATION DEVICE AND OBSERVATION METHOD

(54) 発明の名称: 観察装置及び観察方法

[図1]



(57) Abstract: The disclosed observation device (100) observes a target object (1) on the basis of incident light (2) therefrom. Said observation device (100) is provided with a transformation unit (104) and an image information generation unit (106). The transformation unit (104) transforms the incident light (2) into first transformed light using a first pupil function and also transforms the incident light (2) into second transformed light using a second pupil function. The image information generation unit (106) generates image information pertaining to the target object (1) on the basis of the first transformed light and the second transformed light. The second pupil function is preferably different from the first pupil function.

(57) 要約: 被観察物 1 から到来する到来光 2 に基づいて被観察物 1 を観察する観察装置 100 は、到来光 2 を第 1 瞳関数で第 1 変換光に変換し、かつ到来光 2 を第 2 瞳関数で第 2 変換光に変換する変換部 104 と、到来光 2 を第 1 瞳関数によって変換した第 1 変換光と、到来光 2 を第 2 瞳関数によって変換した第 2 変換光とに基づいて、被観察物 1 に関する画像情報を生成する画像情報生成部 106 とを備える。第 2 瞳関数は第 1 瞳関数とは異なることが好ましい。

WO 2011/125370 A1



(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))

明 細 書

発明の名称：観察装置及び観察方法

技術分野

[0001] 本発明は、被観察物から到来する到来光に基づいて被観察物を観察する観察装置及び観察方法に関する。

背景技術

[0002] 光学顕微鏡を用いる場合、被観察物に光を照射し、被観察物から到来する到来光（反射光、透過光又は蛍光等）をレンズによって結像させて被観察物を観察する。到来光として蛍光を用いる蛍光顕微鏡には、非走査型と走査型とがある。非走査型蛍光顕微鏡では、特定の波長の光（励起光）だけを被観察物に照射し被観察物が発する蛍光をレンズで結像させて被観察物を観察する。被観察物が発する蛍光の波長は励起光の波長とは異なるため、フィルタなどで蛍光のみを取り出し、２次元断層画像を得ることができる。走査型蛍光顕微鏡には、２次元断層画像を取得するものとして、共焦点光学型顕微鏡がある。共焦点光学型顕微鏡では、被観察物に対し２次元断層面に沿ってレーザー走査し、被観察物から到来する点光を取得する。焦点が合致した画像からのみ構成される２次元断層画像を取得し得るため、ボケの少ない画像を生成し被観察物を観察しえる（特許文献１、２）。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献１：米国特許第５５８７８３２号公報

特許文献２：特許第３６３４３４３号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] しかし、非走査型蛍光顕微鏡によって取得した２次元断層画像では、焦点が合致した画像と焦点が合致しない画像とが重なって見える。焦点位置までの光路長と非焦点位置までの光路長とが異なるにも拘らず、同一断層面の画

像として観察するからである。従って、厚みのある被観察物を観察する場合、被観察画像を示す画像にはボケが多く含まれる。その結果、ボケを排除した鮮明な画像を得ることができない。

[0005] また、走査型蛍光顕微鏡では、被観察物に対し２次元断層面に沿ってレーザー走査し、被観察物から到来する点光を取得するため、ボケの少ない画像を生成するためには走査タイミングと点光取得タイミングとを厳格に同期させなければならない。その結果、観察装置において、高額で高精度な同期手段を必要とする。更に、被観察物に対し２次元断層面に沿ってレーザー走査するため、被観察物の２次元断層画像取得時間は走査時間に律速となる。

[0006] 本発明は、上記課題に鑑みてなされたものであり、その目的は、被観察物から到来する到来光を利用して得た２次元断層画像情報からボケを排除した鮮明な画像を得ることができる観察装置及び観察方法を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0007] 上記課題を解決するために、本発明に係る観察装置は、被観察物から到来する到来光に基づいて前記被観察物を観察する観察装置であって、前記到来光を第１瞳関数で第１変換光に変換し、かつ前記到来光を第２瞳関数で第２変換光に変換する変換部と、前記第１変換光と、前記第２変換光とに基づいて、前記被観察物に関する画像情報を生成する画像情報生成部とを備える。

[0008] 背景技術の項目で説明したように、従来の非走査型蛍光顕微鏡によって取得した２次元断層画像では、焦点が合致した画像と焦点が合致しない画像とが重なって見える。従って、厚みのある被観察物を観察する場合、被観察画像を示す画像にはボケが多く含まれる。その結果、ボケを排除した鮮明な画像を得ることができない。また、従来の走査型蛍光顕微鏡では、被観察物に対し２次元断層面に沿ってレーザー走査し、被観察物から到来する点光を取得するため、ボケの少ない画像を生成するためには走査タイミングと点光取得タイミングとを厳格に同期させなければならない。その結果、観察装置において、高額で高精度な同期手段を必要とする。更に、被観察物に対し、２

次元断層画像取得時間は走査時間に律速となる。

- [0009] 一方、本発明の観察装置によれば、被観察物から到来する到来光を第1瞳関数によって変換した第1変換光と、第2瞳関数によって変換した第2変換光とに基づいて、被観察物に関する画像情報を生成する。例えば、異なる瞳関数で変換された変換光は、異なった強度分布を有する。異なった強度分布を重ね合わせたり、異なった強度分布の差分をとったりすると、ピーク強度とその他の強度との差がより明確になり、被観察物から到来する到来光の強度分布の広がりを抑えることが出来る。その結果、被観察物から到来する到来光を利用して得た2次元断層画像情報からボケを排除した鮮明な画像を得ることができる。
- [0010] 本発明の観察装置の好適な態様によれば、前記第1瞳関数と前記第2瞳関数とのうちの少なくとも一方を変更する瞳関数変更部を更に備える。例えば、第1瞳関数と第2瞳関数との組み合わせによって、ボケが多く観察に適さない画像情報を得た場合でも、第1瞳関数と第2瞳関数とのうちの少なくとも一方を適切に変更すれば、ボケの少ない所望の分解能を有する画像を得ることができる。
- [0011] 本発明の観察装置の好適な態様によれば、前記変換部は、前記到来光を前記第1瞳関数で変換する第1変換部と、前記到来光を前記第2瞳関数で変換する第2変換部とを含む。すなわち、変換部は、別々の第1変換部と第2変換部とで構成される。その結果、到来光の第1変換光及び第2変換光への変換を同時に行うことができ、ボケの少ない画像情報を迅速且つ確実に効率よく生成し得る。
- [0012] 本発明の観察装置の好適な態様によれば、前記変換部は、反射型部材又は透過型部材を含む。反射型部材及び透過型部材は、既製品として容易に安価で入手し得る。従って、変換部として特別な構成を必要とすることなく、安価な構成で、到来光を第1変換光及び第2変換光に夫々変換することができる。
- [0013] 本発明の観察装置の好適な態様によれば、前記到来光の焦点位置を変更す

る焦点位置変更部を更に備える。例えば、到来光の焦点位置の変更は、到来光の焦点までの光路長を変化させることによって実現でき、これにより、被観察物から到来する到来光の強度分布の広がりを変更することが出来る。その結果、第1瞳関数と第2瞳関数との組み合わせのみでは十分な分解能を得難い場合でも、到来光の焦点位置を変更することによって、ボケの少ない所望の分解能を有する画像を得ることができる。

[0014] 本発明の観察装置の好適な態様によれば、前記第1瞳関数及び前記第2瞳関数は、互いに内輪と外輪とを有する二次元ドーナツ形状の関数であり、前記第1変換部及び前記第2変換部は、夫々の内輪と外輪とで囲まれる領域を前記第1瞳関数及び前記第2瞳関数の非遮蔽領域として機能させる。この場合、変換部において、ドーナツ形状の外輪よりも外側の領域に到来した到来光を遮蔽することが出来、観察装置の光学系に起因する球面収差の影響が低減され、光軸分解能を向上させることが出来る。更に、変換部において、ドーナツ形状の内輪よりも内側の領域に到来した到来光を遮蔽することが出来、ドーナツ形状の内輪よりも内側の領域に到来したノイズの多い光の影響を排除することができる。その結果、更に鮮明な画像を得ることができる。

[0015] 本発明の観察装置の好適な態様によれば、前記二次元ドーナツ形状の関数において、前記内輪の径と前記外輪の径との比の値は、 $1/6 \sim 4/5$ である。内輪の径と外輪の径との比の値がこの程度の範囲であれば、被観察物から到来する到来光の強度分布の広がりを確実に抑えることが出来る。その結果、被観察物から到来する到来光を利用して得た2次元断層画像情報からボケを排除した鮮明な画像を得ることができる。

[0016] 上記課題を解決するため、本発明に係る観察方法は、被観察物から到来する到来光に基づいて前記被観察物を観察する観察方法であって、前記到来光を第1瞳関数で第1変換光に変換し、かつ前記到来光を第2瞳関数で第2変換光に変換する変換ステップと、前記第1変換光と、前記第2変換光とに基づいて、前記被観察物に関する画像情報を生成する画像情報生成ステップとを包含する。

- [0017] 本発明に係る観察方法によれば、上述した本発明の観察装置と同様の作用効果を奏する。すなわち、本発明の観察方法によれば、被観察物から到来する到来光を第1瞳関数によって変換した第1変換光と、第2瞳関数によって変換した第2変換光とに基づいて、被観察物に関する画像情報を生成する。例えば、異なる瞳関数で変換された変換光は、異なった強度分布を有する。異なった強度分布を重ね合わせたり、異なった強度分布の差分をとったりすると、ピーク強度とその他の強度との差がより明確になり、被観察物から到来する到来光の強度分布の広がりを抑えることが出来る。その結果、被観察物から到来する到来光を利用して得た2次元断層画像情報からボケを排除した鮮明な画像を得ることができる。
- [0018] 本発明の観察方法の好適な態様によれば、前記第1瞳関数と前記第2瞳関数とのうちの少なくとも一方を変更する瞳関数変更ステップを更に包含する。例えば、第1瞳関数と第2瞳関数との組み合わせによって、ボケが多く観察に適さない画像情報を得た場合でも、第1瞳関数と第2瞳関数とのうちの少なくとも一方を適切に変更すれば、ボケの少ない所望の分解能を有する画像を得ることができる。
- [0019] 本発明の観察方法の好適な態様によれば、前記変換ステップは、前記到来光を前記第1瞳関数で変換する第1変換ステップと、前記到来光を前記第2瞳関数で変換する第2変換ステップとを含む。すなわち、変換ステップとして、別々の第1変換ステップと第2変換ステップとを実行する。その結果、到来光の第1変換光及び第2変換光への変換を同時に行うことができ、ボケの少ない画像情報を迅速且つ確実に効率よく生成し得る。
- [0020] 本発明の観察方法の好適な態様によれば、変換ステップによる前記到来光の焦点位置を変更する焦点位置変更ステップを更に包含する。到来光の焦点位置の変更は、到来光の焦点までの光路長を変化することによって実現でき、これにより、被観察物から到来する到来光の強度分布の広がりを変更することが出来る。その結果、第1瞳関数と第2瞳関数との組み合わせのみでは十分な分解能を得難い場合でも、到来光の焦点位置を変更することによって

、ボケの少ない所望の分解能を有する画像を得ることができる。

[0021] また、上記課題を解決するために、本発明に係る観察装置は、被観察物から到来する到来光に基づいて前記被観察物を観察する観察装置であって、前記到来光の強度を少なくとも１つの瞳関数で変調することによって前記到来光を変換光に変換する変換部と、前記変換光に基づいて前記被観察物に関する画像情報を生成する画像情報生成部とを備え、前記少なくとも１つの瞳関数は、遮蔽領域と、前記遮蔽領域の周囲に配置された非遮蔽領域とを有する。

[0022] また、上記課題を解決するため、本発明に係る観察方法は、被観察物から到来する到来光に基づいて前記被観察物を観察する観察方法であって、前記到来光の強度を少なくとも１つの瞳関数で変調することによって前記到来光を変換光に変換する変換ステップと、前記変換光に基づいて前記被観察物に関する画像情報を生成する画像情報生成ステップとを包含し、前記変換ステップにおいて、前記少なくとも１つの瞳関数は、遮蔽領域と、前記遮蔽領域の周囲に配置された非遮蔽領域とを有する。

[0023] 本発明の観察装置および観察方法によれば、非遮蔽領域よりも内側の遮蔽領域に到来した到来光を遮蔽し、これにより、遮蔽領域に到来するノイズの多い光の影響を排除することができる。その結果、被観察物から到来する到来光を利用して得た２次元断層画像情報からボケを排除した鮮明な画像を得ることができる。

図面の簡単な説明

[0024] [図1]本発明の実施形態１に係る観察装置の模式図である。

[図2]第２変換部においてすべての画素が光を吸収し、第１変換部においてすべての画素が光を反射するようにした観察装置において、蛍光ビーズの点像分布を示す図であり、（a）はX-Z平面の点像分布を示す図であり、（b）および（c）は、それぞれX軸方向およびZ軸方向の点像分布を示すグラフである。

[図3]第２変換部においてすべての画素が光を吸収するとともに、第１変換部

に様々なドーナツ形状の瞳関数を与えた観察装置において、蛍光ビーズの点像分布を示す図であり、(a)～(f)のそれぞれにおいて、瞳関数、X-Z平面の点像分布、X軸方向の点像分布を示すグラフ、および、Z軸方向の点像分布を示すグラフを示す。

[図4]画像情報生成部が取得する画像の概念図である。

[図5]第1変換部に外輪の直径が $1040\mu\text{m}$ 、内輪の直径が $208\mu\text{m}$ のドーナツ形状の第1瞳関数を与え、第2変換部に外輪の直径が $1040\mu\text{m}$ 、内輪の直径が $832\mu\text{m}$ のドーナツ形状の第2瞳関数を与えた観察装置において、蛍光ビーズの点像分布を示す図であり、(a)はX-Z平面の点像分布を示す図であり、(b)および(c)は、それぞれX軸方向およびZ軸方向の点像分布を示すグラフである。

[図6]図5に示した結果の得られた観察装置に対して、第2変換部の移動によって到来光の焦点距離を変更した後の蛍光ビーズの点像分布を示す図であり、(a)はX-Z平面の点像分布を示す図であり、(b)および(c)は、それぞれX軸方向およびZ軸方向の点像分布を示すグラフである。

[図7]第1変換部に外輪の直径が $1040\mu\text{m}$ 、内輪の直径が $832\mu\text{m}$ のドーナツ形状の第1瞳関数を与え、第2変換部に外輪の直径が $624\mu\text{m}$ 、内輪の直径が $208\mu\text{m}$ のドーナツ形状の第2瞳関数を与えた観察装置において、蛍光ビーズの点像分布を示す図であり、(a)はX-Z平面の点像分布を示す図であり、(b)および(c)は、それぞれX軸方向およびZ軸方向の点像分布を示すグラフである。

[図8](a)は第1瞳関数とその点像分布を示す図であり、(b)は第2瞳関数とその点像分布を示す図であり、(c)は第1瞳関数と第2瞳関数との差分およびこれらの点像分布の差分を示す図である。

[図9](a)は光が遮蔽されていないことを示す模式図であり、(b)はX-Z平面の点像分布を示す図である。

[図10](a)は第1瞳関数を示す図であり、(b)はX-Z平面の点像分布を示す図である。

[図11] (a) は第2瞳関数を示す図であり、(b) はX-Z平面の点像分布を示す図である。

[図12] (a) は、図9 (b)、図10 (b) および図11 (b) に示した場合のX軸方向の点像分布を示すグラフであり、(b) は、図9 (b)、図10 (b) および図11 (b) に示した場合のZ軸方向の点像分布を示すグラフである。

[図13] (a) は図10 (b) および図11 (b) に示した点像分布の差分を示す図であり、(b) および(c) は、それぞれ(a) のX軸方向およびZ軸方向の点像分布を示すグラフである。

[図14] (a) は図13 (a) に示した結果の得られた観察装置に対して到来光の焦点距離を変化させた後の点像分布を示す図であり、(b) および(c) は、それぞれ(a) のX軸方向およびZ軸方向の点像分布を示すグラフである。

[図15] (a) はX-Z平面の点像分布を示す図であり、(b) ~ (d) はデジタル画像処理によって得られた点像分布を示す図である。

[図16] (a) は図15 (a) と図15 (b) に示した点像分布の差分を示す図であり、(b) および(c) は、それぞれ(a) のX軸方向およびZ軸方向の点像分布を示すグラフである。

[図17] (a) は図15 (a) と図15 (d) に示した点像分布の差分を示す図であり、(b) および(c) は、それぞれ(a) のX軸方向およびZ軸方向の点像分布を示すグラフである。

[図18] (a) は図15 (a) と図15 (c) に示した点像分布の差分を示す図であり、(b) および(c) は、それぞれ(a) のX軸方向およびZ軸方向の点像分布を示すグラフである。

[図19] 本発明の実施形態2に係る観察装置の模式図である。

[図20] (a) は実施例1において観察装置100で観察された画像を示す図であり、(b) は従来の蛍光顕微鏡で観察された画像を示す図である。

[図21] 図20に点線で示した箇所の断面における蛍光強度分布を示すグラフ

であり、（a）は観察装置 100 で観察された画像の蛍光強度分布を示すグラフであり、（b）は従来の蛍光顕微鏡で観察された画像の蛍光強度分布を示すグラフである。

[図22]（a）は従来の蛍光顕微鏡で観察された画像を示す図であり、（b）は実施例 2 において観察装置 100 で観察された画像を示す図である。

[図23]図 22（a）および図 22（b）に点線で示した箇所の断面における蛍光強度分布を示すグラフである。

[図24]（a）はデジタル画像処理で得られた画像を示す図であり、（b）は（a）の破線で囲まれた領域の拡大図であり、（c）は（b）の破線で示した箇所の断面における蛍光強度分布を示すグラフである。

[図25]（a）はデジタル画像処理で得られた画像を示す図であり、（b）は（a）の破線で囲まれた領域の拡大図であり、（c）は（b）の破線で示した箇所の断面における蛍光強度分布を示すグラフである。

[図26]（a）はデジタル画像処理で得られた画像を示す図であり、（b）は（a）の破線で囲まれた領域の拡大図であり、（c）は（b）の破線で示した箇所の断面における蛍光強度分布を示すグラフである。

[図27]（a）は実施例 3 において観察装置 100 で観察された画像を示す図であり、（b）は（a）の破線で囲まれた領域の拡大図であり、（c）は（b）の破線で示した箇所の断面における蛍光強度分布を示すグラフである。

[図28]（a）～（g）は実施例 4 においてそれぞれ異なる時刻に観察装置 100 で観察された画像を示す図である。

[図29]実施例 4 における観察装置 100 で観察されたカドヘリンからの蛍光強度分布の時間変化を示す模式図である。

発明を実施するための形態

[0025] 図面を参照して、本発明の観察装置及び観察方法に関する実施形態を説明する。ただし、本発明は以下の実施形態に限定されるものではない。

[0026] [実施形態 1]

図 1 は、本発明の実施形態 1 に係る観察装置 100 の模式図である。観察

装置 100 は、被観察物 1 から到来する到来光 2 に基づいて被観察物 1 を観察する。観察装置 100 は、光学系 102 と、到来光 2 を第 1 瞳関数で第 1 変換光に変換し、かつ到来光を第 2 瞳関数で第 2 変換光に変換する変換部 104 と、画像情報生成部 106 と、瞳関数変更部 108 と、焦点位置変更部 110 とを備える。なお、本明細書において、瞳関数変更部 108 および焦点位置変更部 110 をそれぞれ、関数変更部 108 および位置変更部 110 と呼ぶことがある。

[0027] 光学系 102 は、蛍光顕微鏡 3 の結像面以降に設けられている。光学系 102 は、結像面に配置された視野を限定するためのスリット 102 a と、結像面の実像を画像情報生成部 106 にリレーするための第 1 リレーレンズ 102 b、第 2 リレーレンズ 102 c 及び第 1 ミラー 102 d と、到来光 2 を偏光成分別に二つに分けるための第 1 偏光ビームスプリッタ 102 e と、第 1 リレーレンズ 102 b 及び第 2 リレーレンズ 102 c により伝達された像を画像情報生成部 106 に伝達するための第 3 リレーレンズ 102 f、第 4 リレーレンズ 102 k、第 5 リレーレンズ 102 m、第 2 ミラー 102 i 及び第 3 ミラー 102 j と、第 1 リレーレンズ 102 b 及び第 2 リレーレンズ 102 c により伝達された像を偏光成分別に二つに分けるための第 2 偏光ビームスプリッタ 102 g と、分けられた像を再度結合させるための第 3 偏光ビームスプリッタ 102 h とを備える。

[0028] 尚、光学系 102 は、到来光 2 を変換部 104 に導き、変換光を画像情報生成部 106 に導くことができる限りは、図 1 に示された構成に限定されない。例えば、リレーレンズ、ミラー、偏光ビームスプリッタの組み合わせ、配置は任意である。本実施形態 1 では、蛍光顕微鏡 3 により取得された実像を画像情報生成部 106 へ伝達するために、2 枚のレンズ 102 b、102 c から成るリレー光学系と、102 f と 102 i あるいは 102 j から成るリレー光学系とを介する。本実施形態では、2 枚のレンズからなるリレー光学系を用いたが、1 枚のレンズによる光学系を採用し得る。なお、レンズ 102 b は、第 1 偏光ビームスプリッタ 102 e よりも上方に配置される。

- [0029] 変換部 104 は、到来光 2 を第 1 瞳関数で変換する第 1 変換部 104 a と、到来光 2 を第 2 瞳関数で変換する第 2 変換部 104 b とを含む。一般に、瞳関数は光の位相と強度のパラメータを有する関数である。なお、到来光 2 が蛍光である場合、光がインコヒーレントであるため、瞳関数は、光の強度のパラメータを有する関数となる。ここでは、瞳関数は、変換部の受光面での反射率で表される。異なる瞳関数で変換された変換光は、異なった強度分布を有する。異なった強度分布を重ね合わせたり、異なった強度分布の差分をとったりすると、ピーク強度とその他の強度との差がより明確になる。第 1 変換部 104 a と第 2 変換部 104 b とは、第 1 リレーレンズ 102 b の光学瞳の位置（即ち焦点距離の位置）に配置される。第 1 変換部 104 a と第 2 変換部 104 b とは、例えば、反射型部材を含む。ここでは、反射型部材として反射型液晶ミラーアレイが用いられている。
- [0030] 画像情報生成部 106 は、到来光 2 を第 1 瞳関数によって変換した第 1 変換光と、到来光を第 2 瞳関数によって変換した第 2 変換光とに基づいて、被観察物 1 に関する画像情報を生成する。画像情報生成部 106 は、第 1 変換光の強度分布と第 2 変換光の強度分布とに基づいて被観察物 1 に関する画像情報を取得する画像情報取得部 106 a と、取得した画像情報を処理する画像情報処理部 106 b とを備える。
- [0031] 関数変更部 108 は、第 1 変換部 104 a に与えられた第 1 瞳関数と第 2 変換部 104 b に与えられた第 2 瞳関数とのうちの少なくとも一方を変更する。関数変更部 108 は、第 1 変換部 104 a と第 2 変換部 104 b とのうちの少なくとも一方に対して、瞳関数を変更するよう信号を出力する。例えば、第 1 変換部 104 a と第 2 変換部 104 b とが反射型液晶ミラーアレイである場合は、関数変更部 108 は、第 1 変換部 104 a と第 2 変換部 104 b とに電圧を印加することで液晶分子の傾きを制御し、瞳関数を変更することが出来る。
- [0032] 位置変更部 110 は、到来光 2 の焦点位置を変更する。例えば、位置変更部 110 は到来光 2 の焦点位置を光軸方向に移動させ得る。ここでは、位置

変更部 110 は第 5 リレーレンズ 102 m を光軸方向に移動させ得る。

[0033] 以下、図 1 を参照して被観察物 1 から到来した到来光 2 の光路を説明する。スリット 102 a を通った到来光 2 は、第 1 偏光ビームスプリッタ 102 e により、縦波と横波との二つの偏光成分に分解される。縦波光は、第 1 変換部 104 a に照射され、横波光は、第 2 変換部 104 b に照射される。

[0034] 第 1 変換部 104 a に照射された縦波光には、二次元的に偏光成分に位相変調が与えられ、第 1 変換部 104 a に与えられた第 1 瞳関数によって変換された第 1 変換光として反射する。第 2 変換部 104 b に照射された横波光は、二次元的に偏光成分に位相変調が与えられ、第 2 変換部 104 b に与えられた第 2 瞳関数によって変換された第 2 変換光として反射する。即ち、第 1 偏光ビームスプリッタ 102 e により分解された縦波光と横波光のうち、第 1 変換部 104 a と第 2 変換部 104 b とにより位相変調された部分のみが、第 1 偏光ビームスプリッタ 102 e を通り、第 2 リレーレンズ 102 c 及び第 1 ミラー 102 d により、画像情報生成部 106 へと伝達される。第 1 変換部 104 a と第 2 変換部 104 b とは、光学瞳の位置に配置されているので、第 1 変換部 104 a と第 2 変換部 104 b とによって位相変調された部位の二次元分布により、第 1 リレーレンズ 102 b 及び第 2 リレーレンズ 102 c からなる光学系の瞳関数が決定される。

[0035] 蛍光顕微鏡 3 により取得された像は、第 2 リレーレンズ 102 c を通り、一旦結像し、さらに後の光学系により、画像情報生成部 106 へと伝達され、画像情報取得部 106 a の受光面にて結像される。第 3 リレーレンズ 102 f を通った光は、第 2 偏光ビームスプリッタ 102 g により、再度、偏光成分に従い 2 つに分割される。二つの光はそれぞれ、第 4 リレーレンズ 102 k、第 5 リレーレンズ 102 m を通り、第 3 偏光ビームスプリッタ 102 h により結合され、画像情報取得部 106 a へと伝達される。画像情報取得部 106 a は、例えば CCD カメラである。

[0036] ここでは、第 1 変換部 104 a と第 2 変換部 104 b として、画素の大きさが $10.4 \mu\text{m}$ で、画素数が横 1400、縦 1050 の反射型液晶ミラー

アレイを用いた。また、蛍光顕微鏡 3 として、落射型蛍光顕微鏡を用い、対物レンズとして、開口数 1.45 の 60 倍の倍率の対物レンズを選択した。第 1 リレーレンズ 102b 及び第 2 リレーレンズ 102c からなるリレー光学の倍率は 5 倍である。

[0037] 図 2 は、第 2 変換部 104b においてすべての画素が光を吸収し、第 1 変換部 104a においてすべての画素が光を反射するようにした観察装置 100 において、蛍光ビーズの点像分布を示す図である。変換部 104 における瞳関数の修飾と点像分布との相関を調べるために、第 1 変換部 104a のみを用い、第 2 変換部 104b を含む光路は用いていない。上記条件において、第 1 変換部 104a の全ての微小アレイにおいて位相を $\pi/4$ 移動させ、直径 100 nm の蛍光ビーズを計測した。

[0038] 図 2 (a) は、X-Z 平面における蛍光ビーズの点像分布を示す。横軸は水平軸 (X 軸) を示し、縦軸は光軸 (Z 軸) を示す。第 1 変換部 104a は受光面全ての位置において非遮蔽であり、このことは、第 1 変換部 104a の受光面において各画素が光を反射することを意味する。図 2 (b) は、X 軸方向の点像分布を示す。横軸は X 軸位置を示し、縦軸は光の強度を示す。X 軸方向の点像分布は、顕微鏡の水平分解能を示す。回折限界よりも小さな点から発せられた点像は、近似的にガウス分布に従う。顕微鏡の分解能は、図 2 (b) に示す点像分布の半値幅で定義される。観察装置 100 によれば、水平分解能は、225 nm であった。図 2 (c) は、Z 軸方向の点像分布を示す。横軸は Z 軸位置を示し、縦軸は光の強度を示す。Z 軸方向の点像分布は、顕微鏡の光軸分解能を示す。回折限界よりも小さな点から発せられた点像分布は、Z 軸方向においても、理論的には、近似的にガウス分布に従う。しかしながら、図 2 (c) に示すように、像を形成する光学系の球面収差により、ガウス分布から外れた分布を示す。球面収差が顕微鏡の光軸分解能の低下を引き起こす。観察装置 100 によれば、光軸分解能は、1472 nm であった。

[0039] 図 3 は、第 2 変換部 104b においてすべての画素が光を吸収し、第 1 変

換部 104 a に様々なドーナツ形状の瞳関数を与えた観察装置 100 において、蛍光ビーズの点像分布を示す図である。図 3 においては、ドーナツ形状の内輪と外輪とで囲まれる領域が瞳関数の非遮蔽領域として機能する。ここで、内輪および外輪はほぼ円周形状であり、外輪に対応する円周の直径は内輪に対応する円周の直径よりも大きい。なお、瞳関数は、内輪と外輪とで囲まれる領域の位相を変更したり、囲まれる領域の透過度、反射度を変更したりすることによって、変化させることができる。例えば、囲まれる領域の位相の変更度合いは、 $\pi/4$ である。図 3 において、瞳は、与えた瞳関数の形状を示し、PSF (Point Spread Function: 点像分布関数) は、X-Z 平面における点像分布を示す。図 2 と同様に X 軸における点像分布を示す図において、横軸は X 軸位置を示し、縦軸は光の強度を示す。図 2 と同様に Z 軸における点像分布を示す図において、横軸は Z 軸位置を示し、縦軸は光の強度を示す。

[0040] 図 3 (a) は、第 1 変換部 104 a に、内輪の直径が $208 \mu\text{m}$ 、外輪の直径が $832 \mu\text{m}$ であるドーナツ形状の瞳関数を与えた観察装置 100 において、蛍光ビーズの点像分布を示す。図 3 (b) は、第 1 変換部 104 a に、内輪の直径が $208 \mu\text{m}$ 、外輪の直径が $1040 \mu\text{m}$ であるドーナツ形状の瞳関数を与えた観察装置 100 において、蛍光ビーズの点像分布を示す。図 3 (c) は、第 1 変換部 104 a に、内輪の直径が $208 \mu\text{m}$ 、外輪の直径が $1248 \mu\text{m}$ であるドーナツ形状の瞳関数を与えた観察装置 100 において、蛍光ビーズの点像分布を示す。図 3 (d) は、第 1 変換部 104 a に、内輪の直径が $416 \mu\text{m}$ 、外輪の直径が $1040 \mu\text{m}$ であるドーナツ形状の瞳関数を与えた観察装置 100 において、蛍光ビーズの点像分布を示す。図 3 (e) は、第 1 変換部 104 a に、内輪の直径が $624 \mu\text{m}$ 、外輪の直径が $1040 \mu\text{m}$ であるドーナツ形状の瞳関数を与えた観察装置 100 において、蛍光ビーズの点像分布を示す。図 3 (f) は、第 1 変換部 104 a に、内輪の直径が $832 \mu\text{m}$ 、外輪の直径が $1040 \mu\text{m}$ であるドーナツ形状の瞳関数を与えた観察装置 100 において、蛍光ビーズの点像分布を示す。

図3 (a) ~ 図3 (f) で示す例では、ドーナツ形状の内輪の径と外輪の径との比の値は、 $1/6 \sim 4/5$ の範囲である

[0041] 変換部104にドーナツ形状の瞳関数を与えることによって、光軸分解能が向上する。ドーナツ形状の瞳関数により、球面収差の影響が軽減されるからと考えられる。ドーナツ形状の瞳関数では、内輪の内側に規定される部分（中央部分）において光が遮蔽され、外輪と内輪の間の領域で規定される部分（周囲部分）において光が実質的に遮蔽されない。例えば、瞳関数は、内輪の内側に規定される部分の反射光強度はほぼゼロであり、外輪と内輪の間の領域で規定される部分の反射光強度はほぼ1（最大値で規格化したもの）となるように設定される。なお、外輪の外側に規定される部分の光強度（ここでは、反射光強度）はゼロである。このように、変換部104が到来光2の強度を変調することによって到来光2は変換光に変換される。

[0042] なお、第1、第2変換部104a、104bとして反射型液晶ミラーアレイを用いる場合、受光面における各画素の反射率を適切に調整することにより、任意の瞳関数を実現することができる。また、点像分布は、瞳関数のフーリエ変換のパワースペクトルに対応しているといえ、上述したドーナツ形状の瞳関数における内輪の内側に対応する部分は点像分布の低周波成分に対応している。このため、この部分の光を取り除くことにより、分解能を向上させることができる。

[0043] 例えば、外輪の直径が $1040\mu\text{m}$ 、内輪の直径が $208\mu\text{m}$ のドーナツ形状の瞳関数（図3 (b) 参照）を与えた場合には、水平分解能 233nm 、光軸分解能は 942nm であった。瞳関数として適切なドーナツ形状を与えることにより、水平分解能を低下させることなく、光軸分解能を向上させることが可能である。光学顕微鏡において、光軸分解能を向上させることは、共焦点顕微鏡と同等の効果を示すことであり、従って、蛍光断層画像を取得できることを意味する。

[0044] 図4は、画像情報生成部106が取得する画像の概念図である。第1変換部104aと第2変換部104bとの各々に異なる瞳関数を与え得る。従っ

て、画像情報生成部 106 には、二つの異なる瞳関数（第 1 瞳関数と第 2 瞳関数）によって変換した変換光に基づく画像が、一つの画像として取得され得る。スリット 102a によって視野を最適に調整し、二つの光路を調整することで、画像の上下、あるいは、左右に、二つの異なる瞳関数を与えられた画像が並列に並び、一つの画像として取得され得る。

[0045] 画像 F_1 は第 1 変換部 104a によって変換した変換光に基づく画像を示し、画像 F_2 は第 2 変換部 104b によって変換した変換光に基づく画像を示す。なお、図 4 には XY 平面の画像 F_1 、 F_2 を示しているが、画像 F_1 、 F_2 は X 軸、Y 軸方向だけでなく光軸（Z 軸）方向の成分も有している。XYZ 方向の成分を有する画像 F_1 、 F_2 は蛍光顕微鏡 3 の対物レンズを光軸（Z 軸）方向に移動させて取得される。

[0046] 画像情報処理部 106b は、画像情報取得部 106a により取得された画像 F_1 および画像 F_2 を加算、減算又は乗算し得る。例えば、第 1 変換部 104a には、外径 $1040\mu\text{m}$ 、内径 $208\mu\text{m}$ のドーナツ形状の瞳関数を与え、第 2 変換部 104b には、外径 $1040\mu\text{m}$ 、内径 $832\mu\text{m}$ のドーナツ形状の瞳関数を与える。画像 F_1 における点像分布は、図 3（b）に示す分布となり、画像 F_2 における点像分布は、図 3（f）に示す分布となる。画像情報処理部 106b が、画像情報取得部 106a から得られた一枚の画像を画像 F_1 と画像 F_2 とに分割し、画像 F_1 と画像 F_2 とを加算、減算あるいは乗算し、新しい一枚の画像を作成できる。なお、加算または減算の結果の単位は光強度を示すが、乗算の結果の単位は光強度を示さない。ただし、乗算の結果は光強度に対応している。このため、第 1 瞳関数と第 2 瞳関数が等しい場合でも、乗算の結果を利用することができる。例えば、第 2 変換部 104b を移動させて第 2 変換部 104b を通過する光学系の光路長を微小変化させて、画像 F_1 と画像 F_2 とを乗算することで、分解能の向上を図ることができる。

[0047] 本実施形態の観察装置 100 によれば、到来光 2 を第 1 瞳関数によって変換した第 1 変換光と、第 2 瞳関数によって変換した第 2 変換光とに基づいて

、被観察物 1 に関する画像情報を生成する。異なった瞳関数で反射された変換光は、異なった強度分布を有する。異なった強度分布を重ね合わせたり、異なった強度分布の差分をとったりすると、ピーク強度とその他の強度との差がより明確になり、被観察物から到来する到来光の強度分布の広がりを抑えることが出来る。その結果、被観察物から到来する到来光を利用して得た 2 次元断層画像情報からボケを排除した鮮明な画像を得ることができる。さらに、観察装置 100 によれば、変換部 104 は、第 1 変換部 104 a と第 2 変換部 104 b とを含む。すなわち、変換部 104 は、別々の第 1 変換部 104 a と第 2 変換部 104 b とで構成される。その結果、到来光 2 の第 1 変換光及び第 2 変換光への変換を同時に行うことができ、ボケの少ない画像情報を迅速且つ確実に効率よく生成し得る。

[0048] 図 5 は、第 1 変換部 104 a に外輪の直径が $1040\ \mu\text{m}$ 、内輪の直径が $208\ \mu\text{m}$ のドーナツ形状の第 1 瞳関数（図 3（b）参照）を与え、第 2 変換部 104 b に外輪の直径が $1040\ \mu\text{m}$ 、内輪の直径が $832\ \mu\text{m}$ のドーナツ形状の第 2 瞳関数（図 3（f）参照）を与えた観察装置 100 において、蛍光ビーズの点像分布を示す図である。第 1 瞳関数によって変換した第 1 変換光と、第 2 瞳関数によって変換した第 2 変換光との強度の差分（減算）に基づいて、画像情報を生成した。

[0049] 図 5（a）は、X-Z 平面における点像分布を示す。横軸は水平軸を示し、縦軸は光軸を示す。図 5（b）は、X 軸方向の点像分布を示す。横軸は X 軸位置を示し、縦軸は光の強度を示す。図 5（c）は、Z 軸方向の点像分布を示す。横軸は Z 軸位置を示し、縦軸は光の強度を示す。図 5（c）において、分布関数は、ラプラシアンフィルタ様の形状を示した。ラプラシアンフィルタは、画像処理において、画像のエッジ（境界）を際立たせる効果がある。図 5（c）は、Z 軸に沿って上下に非対称ではあるが、Z 軸方向においてエッジが際立つことを示す。

[0050] 観察装置 100 によれば、第 1 瞳関数及び第 2 瞳関数は、互いに内輪と外輪とを有するドーナツ形状の関数であり、第 1 変換部 104 a 及び第 2 変換

部 104b は、夫々の内輪と外輪とで囲まれる領域を第 1 瞳関数及び第 2 瞳関数の非遮蔽領域として機能させる。従って、変換部 104 のうち、ドーナツ形状の外輪よりも外側の領域に到来した到来光 2 の反射を妨げることが出来る。その結果、観察装置 100 の光学系に起因する球面収差の影響が低減され、光軸分解能を向上させることが出来る。更に、変換部 104 のうち、ドーナツ形状の内輪よりも内側の領域に到来した到来光の反射を妨げることが出来る。従って、ドーナツ形状の内輪よりも内側の領域に到来したノイズの多い光の影響を排除することができる。その結果、更に鮮明な画像を得ることができる。

[0051] 図 6 は、第 2 変換部 104b の移動によって到来光 2 の焦点距離を変更した後の蛍光ビーズの点像分布を示す図である。第 1 変換部 104a に外輪の直径が $1040\ \mu\text{m}$ 、内輪の直径が $208\ \mu\text{m}$ のドーナツ形状の第 1 瞳関数（図 3（b）参照）を与え、第 2 変換部 104b に外輪の直径が $1040\ \mu\text{m}$ 、内輪の直径が $832\ \mu\text{m}$ のドーナツ形状の第 2 瞳関数（図 3（f）参照）を与えている。第 2 変換部 104b を移動させて第 2 変換部 104b を通過する光学系の光路長を微小変化させて、光の焦点距離を $200\ \text{nm}$ 変更した。なお、位置変更部 110 は、第 5 リレーレンズ 102m を光軸方向に移動させることによって焦点距離を変更できる。焦点距離を移動後、第 1 瞳関数によって変換した第 1 変換光と、第 2 瞳関数によって変換した第 2 変換光との強度の差分（減算）に基づいて、画像情報を生成した。

[0052] 図 6（a）は、X-Z 平面における点像分布を示す。横軸は水平軸を示し、縦軸は光軸を示す。図 6（b）は、X 軸方向の点像分布を示す。横軸は X 軸位置を示し、縦軸は光の強度を示す。図 6（c）は、Z 軸方向の点像分布を示す。横軸は Z 軸位置を示し、縦軸は光の強度を示す。図 6（c）を図 5（c）と比較すると、Z 軸に沿って上下に対称であり、Z 軸方向においてエッジがより際立つことを示す。水平分解能は $222\ \text{nm}$ であり、光軸分解能は $702\ \text{nm}$ である。図 6 における光軸分解能は、図 2 を参照して説明した例と比べ約 2 倍向上していた。また、水平分解能に対しては、同等であった

。

[0053] 観察装置 100 では、関数変更部 109 によって第 1 瞳関数と第 2 瞳関数とのうちの少なくとも一方を変更することが出来る。例えば、第 1 瞳関数と第 2 瞳関数との組み合わせによって、ボケが多く観察に適さない画像情報を得た場合でも、第 1 瞳関数と第 2 瞳関数とのうちの少なくとも一方を適切に変更すれば、ボケの少ない所望の分解能を有する画像を得ることができる。

[0054] また、観察装置 100 では、位置変更部 110 によって到来光 2 の焦点位置を変更することが出来る。到来光 2 の焦点位置を変更することは、到来光 2 の焦点までの光路長を変化させることに対応する。従って、到来光 2 の強度分布の広がりを変更することが出来る。その結果、第 1 瞳関数と第 2 瞳関数との組み合わせのみでは十分な分解能を得難い場合でも、到来光の焦点位置を変更することによって、ボケの少ない所望の分解能を有する画像を得ることができる。

[0055] なお、観察装置 100 では、到来光 2 の焦点位置を変更し得さえすれば、位置変更部 110 によって第 5 リレーレンズ 102 m を光軸方向に移動させることに限定されない。例えば、位置変更部 110 によって第 1 変換部 104 a 又は第 2 変換部 104 b を移動することで到来光 2 の焦点位置を変更し得る。

[0056] 図 7 は、第 1 変換部 104 a に外輪の直径が $1040\ \mu\text{m}$ 、内輪の直径が $832\ \mu\text{m}$ のドーナツ形状の第 1 瞳関数を与え、第 2 変換部 104 b に外輪の直径が $624\ \mu\text{m}$ 、内輪の直径が $208\ \mu\text{m}$ のドーナツ形状の第 2 瞳関数を与えた観察装置 100 において、蛍光ビーズの点像分布を示す図である。第 2 変換部 104 b による第 2 変換光の焦点距離を変更し、光学系の光路長を微小変化させた。位置変更部 110 が第 5 リレーレンズ 102 m を光軸方向に移動させることによって第 2 変換部 104 b による第 2 変換光の焦点距離を変更した。焦点距離を移動後、第 1 瞳関数によって変換した第 1 変換光と、第 2 瞳関数によって変換した第 2 変換光との強度の差分（減算）に基づいて、画像情報を生成した。

- [0057] 図7(a)は、X-Z平面における点像分布を示す。横軸は水平軸を示し、縦軸は光軸を示す。図7(b)は、X軸方向の点像分布を示す。横軸はX軸位置を示し、縦軸は光の強度を示す。図7(c)は、Z軸方向の点像分布を示す。横軸はZ軸位置を示し、縦軸は光の強度を示す。
- [0058] 関数変更部108は、例えば第1変換部104a及び第2変換部104bに電圧を印加することによって、第1瞳関数と第2瞳関数とのうちの少なくとも一方を変更することが出来る。すなわち、画像F₁と画像F₂における点像分布を変化させることができ、かつ、画像F₁と画像F₂をそれぞれ形成する第1、第2変換光の焦点距離を変化させた上で、それぞれの画像情報の演算が可能である。従って、その組み合わせにより、様々な点像分布の画像を取得できる。
- [0059] 光軸方向に沿ったエッジ検出の効果が、Z軸に沿って上下に対称であるように、第2変換部104bによって画像F₂を得るための焦点位置を調整する。上記条件では、光軸分解能は744nmであり、図6に示した条件と比べると、光軸方向におけるエッジ検出能が低くなった。しかしながら、水平分解能は170nmとなり、回折限界を超える。光軸方向の分解能の低下を許容すれば、第1変換部104aでは、外輪の径1248μm、内輪の径832μmのドーナツ形状の瞳関数を与え、第2変換部104bでは、外輪の径624μm、内輪の径208μmのドーナツ形状の瞳関数を与え、画像F₁と画像F₂の差分画像を取得することにより、光軸分解能は962nm、水平分解能は142nmにまで向上する。観察者が、被観察物1に応じて最適になるような点像分布を指定し得る。また、対物レンズの倍率や開口数を変更することにより、点像分布を最適に指定し得る。
- [0060] ここでは、ドーナツ形状の内輪の径と外輪の径との比の値は、1/6～4/5である。ドーナツ形状の内輪の径と外輪の径との比の値がこの程度の範囲であれば、到来光2の強度分布の広がりを確実に抑えることが出来る。その結果、到来光2を利用して得た2次元断層画像情報からボケを排除した鮮明な画像を得ることができる。

[0061] 次に、図 8 を参照して、観察装置 100 による分解能の向上を説明する。

図 8 (a) に、第 1 瞳関数と点像分布を示す。第 1 瞳関数において、光が実質的に遮蔽されない領域（非遮蔽領域）を白で示している。第 1 瞳関数において非遮蔽領域はほぼ円状で表される。

[0062] 点像分布を示すグラフにおいて、横軸は、CCD カメラにおける画素の単位数を示している。グラフから理解されるように、光の強度分布はほぼガウス分布に従う。グラフにおいて半値幅は分解能に相当しており、ここでは、グラフの半値幅は 8.8 である。

[0063] 図 8 (b) に、第 2 瞳関数と点像分布を示す。第 2 瞳関数において、非遮蔽領域を白で示している。また、第 2 瞳関数においても非遮蔽領域はほぼ円状で表される。ただし、第 2 瞳関数の非遮蔽領域は、第 1 瞳関数と比べて小さい。このような第 2 瞳関数は、第 1 瞳関数をアポダイゼーション化したものといえる。図 8 (b) において非遮蔽領域の大きさが低減することにより、光のピーク強度が低減するだけでなく、光の分解能も低減することになる。ここでは、点像分布を示しグラフの半値幅は 15.7 である。

[0064] 図 8 (c) に、第 1 瞳関数と第 2 瞳関数の差分と、これらの点像分布の差分を示す。図 8 (c) において、領域 8a は、第 1 瞳関数と第 2 瞳関数の両方において非遮蔽領域となる領域を示しており、領域 8b は、第 1 瞳関数と第 2 瞳関数で光の遮蔽の異なる領域を示しており、領域 8c は、第 1 瞳関数と第 2 瞳関数の両方において遮蔽領域となる領域を示している。図 8 (c) に示した点像分布のグラフにおいて半値幅は 7.0 である。このように、異なる瞳関数の点像分布の差分により、分解能を向上させることができる。

[0065] また、観察装置 100 では、1 フレームの画像から鮮明な画像を得ることができ、観察装置 100 の時間分解能は、画像情報生成部 106 の分解能に依存する。例えば、観察装置 100 は 500 Hz の画像を取得することができる。このように、観察装置 100 は、いわゆる走査型蛍光顕微鏡の数十倍から数百倍の時間分解能を有しており、観察装置 100 は、例えば生体材料の観察に好適に用いられる。

- [0066] なお、上述した説明では、蛍光顕微鏡 3 において対物レンズとして 60 倍の対物レンズを用いていたが、対物レンズの倍率は特に限定されない。例えば、150 倍の対物レンズを用いてもよい。
- [0067] 以下、図 9 から図 14 を参照して 150 倍の対物レンズを用いた結果を説明する。図 9 (a) に、光が遮蔽されない状態の模式図を示す。このような状態は、例えば、反射型液晶ミラーアレイのすべての画素において反射率が最大値を示すように設定することによって実現される。図 9 (b) に、図 9 (a) に示したように遮蔽領域（非遮蔽領域）が設定された場合の X - Z 平面の点像分布を示す。ここでも、被観察物として、顕微鏡の回折限界よりも小さいサイズの被観察物（例えば、直径 100 nm の蛍光ビーズ）を用いた。
- [0068] 図 10 (a) に第 1 瞳関数を示す。第 1 瞳関数は内輪および外輪で規定されるドーナツ形状の関数である。第 1 瞳関数では、内輪と外輪との間の領域は光を遮蔽しないのに対して、内輪で囲まれる領域、および、外輪よりも外側の領域は光を遮蔽する。なお、内輪を規定する円周の直径は $104\ \mu\text{m}$ であり、外輪を規定する円周の直径は $312\ \mu\text{m}$ である。図 10 (b) に、第 1 瞳関数の場合の点像分布を示す。
- [0069] 図 11 (a) に第 2 瞳関数を示す。第 2 瞳関数も内輪および外輪で規定されるドーナツ形状の関数である。第 2 瞳関数でも、内輪と外輪との間の領域は光を遮蔽しないのに対して、内輪で囲まれる領域、および、外輪よりも外側の領域は光を遮蔽する。なお、内輪を規定する円周の直径は $312\ \mu\text{m}$ であり、外輪を規定する円周の直径は $624\ \mu\text{m}$ である。図 11 (b) に、第 2 瞳関数の場合の点像分布を示す。
- [0070] 図 12 (a) に、図 9 (b)、図 10 (b) および図 11 (b) の X 軸方向の点像分布をそれぞれ符号 9 b、10 b、11 b に示す。遮蔽領域がない場合、光のピーク強度は比較的高い。この場合、水平分解能は $226\ \text{nm}$ である。また、ドーナツ形状の瞳関数が設定されることによってピーク強度は低下する。

- [0071] 図12(b)に、図9(b)、図10(b)、図11(b)のZ軸方向の点像分布をそれぞれ符号9b、10b、11bに示す。遮蔽領域がない場合、光のピーク強度は比較的高い。この場合、光軸分解能は940nmである。なお、遮蔽領域が大きいほど、ピーク強度は低下する。なお、ここでは、ドーナツ形状の瞳関数の設定により、ピーク強度を示す位置がゼロからずれる。
- [0072] 図13(a)に、第1、第2瞳関数の点像分布の差分を示す。図13(a)では、横軸にX軸を示し、縦軸にZ軸を示す。図13(b)にX方向の点像分布を示し、図13(c)にZ方向の点像分布を示す。水平方向の分解能は147nmであり、光軸方向の分解能は525nmである。なお、参考のために、図13(b)および図13(c)には光が遮蔽されない場合の点像分布を符号9bで示している。このように、異なる瞳関数の点像分布の差分により、水平方向および光軸方向の分解能を向上させることができる。
- [0073] また、上述したように、到来光の焦点位置を変更することにより、水平分解能および垂直分解能をさらに向上させることができる。
- [0074] 図14(a)に、図1に示した観察装置100において第4、第5リレーレンズ102k、102mを適宜移動させることによって得られた点像分布の差分を示す。図14(b)にX方向の点像分布を示し、図14(c)にZ方向の点像分布を示す。水平方向の分解能は108nmであり、光軸方向の分解能は463nmである。参考のために、図14(b)および図14(c)には光が遮蔽されない場合の点像分布を符号9bで示している。このように、到来光の焦点位置を調整することにより、水平方向および光軸方向の分解能をさらに向上させることができる。
- [0075] なお、観察装置100における異なる瞳関数の点像分布の差分は、デジタル画像処理（デジタルハイパスフィルタ）に似ているが、観察装置100によれば、デジタル画像処理と比べて分解能（特に光軸分解能）をさらに改善することができる。以下、図15から図18を参照して、観察装置100における点像分布の差分とデジタル画像処理との違いを説明する。ここでは、

デジタル画像処理としてガウシアンフィルタ処理を行っている。

[0076] 図15(a)に、X-Z平面の点像分布を示し、図15(b)～図15(d)は、デジタル画像処理を行った後の点像分布を示す。図15(b)は標準偏差が2画素のガウシアンフィルタ処理を行った結果であり、図15(c)は標準偏差が2画素のガウシアンフィルタ処理の点像分布の強度を半分にしたものであり、図15(d)は標準偏差が5画素のガウシアンフィルタ処理を行った結果である。

[0077] 図16(a)は、図15(a)に示した点像分布と図15(b)に示した点像分布との差分を示す図であり、図16(b)および図16(c)は、それぞれ図16(a)のX軸およびZ軸の点像分布を示す。水平方向の分解能は104nmであり、光軸方向の分解能は613nmである。なお、図16(b)および図16(c)において、比較のために、デジタル画像処理の行われてない点像分布を符号15aに示している。比較的小さい標準偏差でデジタル画像処理を行うことにより、水平軸および光軸の両方の分解能が向上している。

[0078] 図17(a)は、図15(a)に示した点像分布と図15(d)に示した点像分布との差分を示す図であり、図17(b)および図17(c)は、それぞれ図17(a)のX軸およびZ軸の点像分布を示す。水平方向の分解能は157nmであり、光軸方向の分解能は809nmである。図17(b)および図17(c)でも、比較のために、デジタル画像処理の行われてない点像分布を符号15aに示している。比較的高い標準偏差でデジタル画像処理を行う場合でも、水平軸および光軸の両方の分解能の向上を図ることができる。

[0079] 図18(a)は、図15(a)に示した点像分布と図15(c)に示した点像分布との差分を示す図であり、図18(b)および図18(c)は、それぞれ図18(a)のX軸およびZ軸の点像分布を示す。水平方向の分解能は181nmであり、光軸方向の分解能は730nmである。図18(b)および図18(c)でも、比較のために、デジタル画像処理の行われてない

点像分布を符号 15 a に示している。このように、元の点像分布からの減算する光の強度を低減させることにより、減算によって得られた点像分布の裾が負になることを抑制することができる。

[0080] 以上のように、デジタル画像処理によっても、点像分布の分解能を向上させることができる。なお、理論的には、観察装置 100 による点像分布の差分はこのようなデジタル画像処理と同一であるが、実際には、同一ではない。これは、デジタル画像処理では 2 次元的な処理が行われるのに対して、観察装置 100 では 3 次元的な処理が行われること、および、実際の光学系には収差が存在しており、必ずしも線形を示さないことが理由と考えられる。図 16 ～ 図 18 と、図 12 および図 13 との比較から理解されるように、観察装置 100 によれば、分解能（特に光軸方向の分解能）をさらに改善することができる。

[0081] [実施形態 2]

図 19 は、本発明の実施形態 2 に係る観察装置 200 の模式図である。観察装置 200 は、被観察物 1 から到来する到来光 2 に基づいて被観察物 1 を観察する。観察装置 200 は、光学系 202 と、到来光 2 を第 1 瞳関数で第 1 変換光に変換し、かつ到来光を第 2 瞳関数で第 2 変換光に変換する変換部 204 と、画像情報生成部 106 と、関数変更部 108 と、位置変更部 110 とを備える。光学系 202 は、蛍光顕微鏡 3 の結像面以降に設けられている。光学系 202 は、スリット 102 a と、第 1 リレーレンズ 102 b、第 2 リレーレンズ 102 c 及び第 1 ミラー 102 d と、第 1 偏光ビームスプリッタ 102 e と、第 5 リレーレンズ 102 m と、ミラー 102 j と、ビームスプリッタ 202 h とを備える。

[0082] 光学系 202 に備えられるビームスプリッタ 202 h と、変換部 204 以外の各構成要素は、実施形態 1 で説明した観察装置 100 に含まれた対応する各構成要素と同様の機能を有するので、これらの説明を省略する。

[0083] 偏光ビームスプリッタ 202 h は、偏光ビームスプリッタ 102 e により分割された光路を一つの光路に戻す。尚、光学系 202 は、到来光 2 を変換

部 204 に導き、変換光を画像情報生成部 106 に導くことができる限りは、図 19 に示された構成に限定されない。例えば、リレーレンズ、ミラー、偏光ビームスプリッタの組み合わせ、配置は任意である。ここでは、蛍光顕微鏡 3 により取得された実像を画像情報生成部 106 へ伝達するためのリレー系として、2 枚のレンズ 102b、102c あるいは 102m から成るリレー光学系を用いたが、1 枚のレンズによる光学系を採用し得る。

[0084] 変換部 204 は、到来光 2 を第 1 瞳関数で変換する第 3 変換部 204a と、到来光 2 を第 2 瞳関数で変換する第 4 変換部 204b とを含む。第 3 変換部 204a と第 4 変換部 204b とは、第 1 リレーレンズ 102b の光学瞳の位置（即ち焦点距離の位置）に配置される。変換部 204 において、第 3 変換部 204a と第 4 変換部 204b として透過型部材が用いられている。ここでは、透過型部材は透過型液晶アレイである。

[0085] 観察装置 200 によれば、到来光 2 を第 1 瞳関数によって変換した第 1 変換光と、第 2 瞳関数によって変換した第 2 変換光とに基づいて、被観察物 1 に関する画像情報を生成する。従って、到来光 2 の強度分布の広がりを抑えることができる。その結果、到来光 2 を利用して得た 2 次元断層画像情報からボケを排除した鮮明な画像を得ることができる。

[0086] 以上、図 1 から図 19 を参照して、観察装置 100、観察装置 200 を説明した。到来光 2 を第 1 瞳関数で第 1 変換光に変換し、かつ到来光 2 を第 2 瞳関数で第 2 変換光に変換する部材として、反射型部材ではなく、透過型部材を用いてもよい。反射型部材及び透過型部材は、既製品として容易に安価で入手し得る。従って、変換部として特別な構成を必要とすることなく、安価な構成で到来光を第 1 変換光及び第 2 変換光に夫々変換することができる。また、変換部は、DMD (Digital Micromirror Device) で有り得る。DMD は、マイクロサイズのミラーを敷き詰めた素子である。ミラーを on/off の 2 状態で制御することで光の反射方向を調節し、明暗の差を生じさせることができる。各ミラーの状態を高速に切り替えることにより時分割で階調性を実現し得る。

- [0087] なお、上述した説明では、到来光を変換光に変換する変換部は2つ設けられたが、変換部は2つに限定されない。変換部は3つ以上あってもよい。例えば、変換部が3つ（第1変換部、第2変換部、第3変換部）の場合、第1変換部は到来光2を第1瞳関数で第1変換光に変換し、第2変換部は到来光2を第2瞳関数で第2変換光に変換し、第3変換部は到来光2を第3瞳関数で第3変換光に変換する。この場合、画像情報生成部は、第1変換光、第2変換光及び第3変換光に基づいて、被観察物に関する画像情報を生成する。
- [0088] あるいは、変換部は1つであってもよい。この場合、変換部は到来光2を第1瞳関数で第1変換光に変換した後、関数変更部によって変換部に与えられた瞳関数を第2瞳関数に変更する。関数変更部が第2瞳関数に変更した後、変換部は到来光2を第2瞳関数で第2変換光に変換する。画像情報生成部は、第1変換光及び第2変換光に基づいて、被観察物に関する画像情報を生成する。

実施例 1

- [0089] 生体被観察物の観察に対する観察装置100の有効性を確認するため、以下の実験を行った。本実施例では、HeLa細胞株をホルマリンによりスライドガラスに固定した被観察物を観察した。蛍光色素（アレクサ488を架橋したファロイジン）を被観察物に加えた。ファロイジンは、アクチン繊維に結合し、細胞内のアクチン繊維はファロイジンに架橋された蛍光色素により染色される。被観察物を波長488nmの光で照射し、被観察物から到来する510nm以上の蛍光を観察した。対物レンズとして、開口数1.45の150倍の倍率の対物レンズを選択した。第1リレーレンズ102bと第2リレーレンズ102cとからなるリレー光学の倍率は2倍である。第1変換部104aには、外輪の直径728 μ m、内輪の直径104 μ mのドーナツ形状の第1瞳関数を与え、第2変換部104bには、外輪の直径520 μ m、内輪の直径104 μ mのドーナツ形状の第2瞳関数を与え、画像F₁と画像F₂の差分画像を取得した。
- [0090] 図20は、本実施例により観察された画像と従来の蛍光顕微鏡により観察

された画像とを示す図である。細胞内におけるアクチン繊維を観察装置 100 により観察した画像である。図 20 (a) は、本実施例により観察された画像 F_1 と画像 F_2 の差分画像を示す。図 20 (b) は、従来の蛍光顕微鏡で観察された画像を示す。双方ともに、アレクサ 488 により蛍光標識されたアクチン繊維が確認される。図 20 (a) および図 20 (b) を比較すると、図 20 (a) の画像の背景光が低減されており、アクチン繊維がより鮮明に観察できる事が確認できる。

- [0091] 図 21 は、図 20 に点線で示した断面部分における蛍光強度分布を示すグラフである。図 21 (a) は、本実施例により観察された画像 F_1 と画像 F_2 の差分画像 (図 20 (a) 参照) から得られた断面部分の強度分布を示す。図 21 (b) は、従来の蛍光顕微鏡で観察された画像 (図 20 (b) 参照) から得られた断面部分の強度分布を示す。本実施例により、蛍光顕微鏡像のコントラストが向上していることが確認できる。

実施例 2

- [0092] 瞳関数を除いて実施例 1 と同様に、HeLa 細胞株をホルマリンによりスライドガラスに固定した被観察物を観察した。ここでは、第 1 変換部 104 a には、外輪の直径 $416\ \mu\text{m}$ 、内輪の直径 $104\ \mu\text{m}$ のドーナツ形状の第 1 瞳関数を与え、第 2 変換部 104 b には、外輪の直径 $624\ \mu\text{m}$ 、内輪の直径 $312\ \mu\text{m}$ のドーナツ形状の第 2 瞳関数を与え、画像 F_1 と画像 F_2 の差分画像を取得した。

- [0093] 図 22 は、本実施例により観察された画像と従来の蛍光顕微鏡により観察された画像とを示す図である。細胞内におけるアクチン繊維を観察装置 100 により観察した画像である。図 22 (a) に従来の蛍光顕微鏡で観察された画像を示し、図 22 (b) に本実施例において観察された画像 F_1 と画像 F_2 の差分画像を示す。双方ともに、アレクサ 488 により蛍光標識されたアクチン繊維が確認される。図 22 (a) および図 22 (b) を比較すると、図 22 (b) の画像の背景光が低減されており、アクチン繊維がより鮮明に観察できる事が確認できる。

[0094] 図23に、図22(a)、図22(b)に点線で示した断面部分における蛍光強度分布を示す。本実施例により、蛍光顕微鏡像のコントラストが向上していることが確認できる。

実施例 3

[0095] 従来の蛍光顕微鏡で観察された画像、デジタル画像処理によって得られた画像および観察装置100で観察された画像の比較を行った。ここでも、被観察物および観察装置100は実施例1、2と同様であった。

[0096] 図24(a)に、従来の蛍光顕微鏡で観察された画像を示す。図24(b)に、図24(a)の破線で囲まれた領域の拡大図を示し、図24(c)に、図24(b)の破線部分の蛍光強度分布を示す。

[0097] 図25(a)に、従来の蛍光顕微鏡で観察された画像に対してデジタル画像処理を行うことによって得られた画像を示す。この画像は、元の画像と、標準偏差が2画素のガウシアンフィルタによって得られた画像との差分によって得られた。図25(b)に、図25(a)の破線で囲まれた領域の拡大図を示し、図25(c)に、図25(b)の破線部分の蛍光強度分布を示す。図25(c)には、図24(c)に示した蛍光強度分布を符号24cとして併せて示している。ガウシアンフィルタにより、コントラスト比が向上した。

[0098] 図26(a)に、従来の蛍光顕微鏡で観察された画像に対してデジタル画像処理を行うことによって得られた画像を示す。この画像は、元の画像と、標準偏差が5画素のガウシアンフィルタによって得られた画像との差分によって得られた。図26(b)に図26(a)の破線で囲まれた領域の拡大図を示し、図26(c)に図26(b)の破線部分の蛍光強度分布を示す。なお、図26(c)には、図24(c)に示した蛍光強度分布を符号24cとして併せて示している。ガウシアンフィルタにより、コントラスト比が向上した。

[0099] 図27(a)に、観察装置100で観察された画像を示す。図27(b)に図27(a)の破線で囲まれた領域の拡大図を示し、図27(c)に図2

7 (b) の破線部分の蛍光強度分布を示す。図 27 (c) にも、図 24 (c) に示した蛍光強度分布を符号 24 c として併せて示している。観察装置 100 により、コントラスト比が向上した。なお、図 27 (c) と図 25 (c)、図 26 (c) との比較から理解されるように、観察装置 100 により、デジタル画像処理と比べてコントラスト比をさらに改善することができた。

実施例 4

[0100] 観察装置 100 を用いて、細胞膜上の量子ドットで染色されたカドヘリンの乖離を観察した。図 28 (a) に、ある時刻において観察装置 100 で観察されたカドヘリンの画像を示す。図 28 (b)、図 28 (c)、図 28 (d)、図 28 (e)、図 28 (f)、図 28 (g) に、それぞれ図 28 (a) を基準として、20ms、40ms、60ms、80ms、120ms、240ms 後の画像を示す。図 28 (a) ~ 図 28 (f) に示すように、カドヘリンの乖離が観察された。

[0101] 図 29 に、図 28 (a) の破線で示した部分における光強度分布の時間変化を示す。図 29 において、0ms、40ms、50ms、54ms、56ms、58ms、60ms、120ms、240ms はそれぞれ、0ms を基準時刻とした蛍光強度分布を示す。蛍光強度分布の時間変化からも、カドヘリンの乖離を把握することができた。

産業上の利用可能性

[0102] 本発明による観察装置及び観察方法は、光学顕微鏡を用いた画像生成の分野において、広く利用可能である。又、本発明による観察装置及び観察方法を光学顕微鏡に組み込むことによって、光学顕微鏡そのものの付加価値を高めることになり、光学顕微鏡分野に広く利用可能である。

符号の説明

[0103] 1 被観察物
 2 到来光
 100 観察装置
 104 変換部

- 1 0 4 a 第 1 変換部
- 1 0 4 b 第 2 変換部
- 1 0 6 画像情報生成部
- 1 0 8 瞳関数変更部
- 1 1 0 焦点位置変更部
- 2 0 0 観察装置
- 2 0 4 変換部
- 2 0 4 a 第 3 変換部
- 2 0 4 b 第 4 変換部

請求の範囲

- [請求項1] 被観察物から到来する到来光に基づいて前記被観察物を観察する観察装置であって、
- 前記到来光を第1瞳関数で第1変換光に変換し、かつ前記到来光を第2瞳関数で第2変換光に変換する変換部と、
- 前記第1変換光と、前記第2変換光とに基づいて、前記被観察物に関する画像情報を生成する画像情報生成部と
- を備えた観察装置。
- [請求項2] 前記第1瞳関数と前記第2瞳関数とのうちの少なくとも一方を変更する瞳関数変更部を更に備えた、請求項1に記載の観察装置。
- [請求項3] 前記変換部は、反射型部材又は透過型部材を含む、請求項1または2に記載の観察装置。
- [請求項4] 前記第2瞳関数は、前記第1瞳関数とは異なる、請求項1から3の何れか一項に記載の観察装置。
- [請求項5] 前記到来光の焦点位置を変更する焦点位置変更部を更に備えた、請求項1から4の何れか一項に記載の観察装置。
- [請求項6] 前記変換部は、
- 前記到来光を前記第1瞳関数で変換する第1変換部と、
- 前記到来光を前記第2瞳関数で変換する第2変換部と
- を含む、
- 請求項1から5の何れか一項に記載の観察装置。
- [請求項7] 前記第1瞳関数及び前記第2瞳関数は、互いに内輪と外輪とを有する二次元ドーナツ形状の関数であり、
- 前記第1変換部及び前記第2変換部は、夫々の内輪と外輪とで囲まれる領域を、前記第1瞳関数及び前記第2瞳関数の非遮蔽領域として機能させる、請求項6に記載の観察装置。
- [請求項8] 前記二次元ドーナツ形状の関数において、前記内輪の径と前記外輪の径との比の値は、 $1/6 \sim 4/5$ である、請求項7に記載の観察装

置。

[請求項9] 前記変換部は、前記到来光の強度を変調することによって前記到来光を前記第1変換光および前記第2変換光に変換する、請求項1から8の何れか一項に記載の観察装置。

[請求項10] 被観察物から到来する到来光に基づいて前記被観察物を観察する観察方法であって、

前記到来光を第1瞳関数で第1変換光に変換し、かつ前記到来光を第2瞳関数で第2変換光に変換する変換ステップと、

前記第1変換光と、前記第2変換光とに基づいて、前記被観察物に関する画像情報を生成する画像情報生成ステップと

を包含する観察方法。

[請求項11] 前記第1瞳関数と前記第2瞳関数とのうちの少なくとも一方を変更する瞳関数変更ステップを更に包含する、請求項10に記載の観察方法。

[請求項12] 前記変換ステップは、

前記到来光を前記第1瞳関数で変換する第1変換ステップと、

前記到来光を前記第2瞳関数で変換する第2変換ステップと

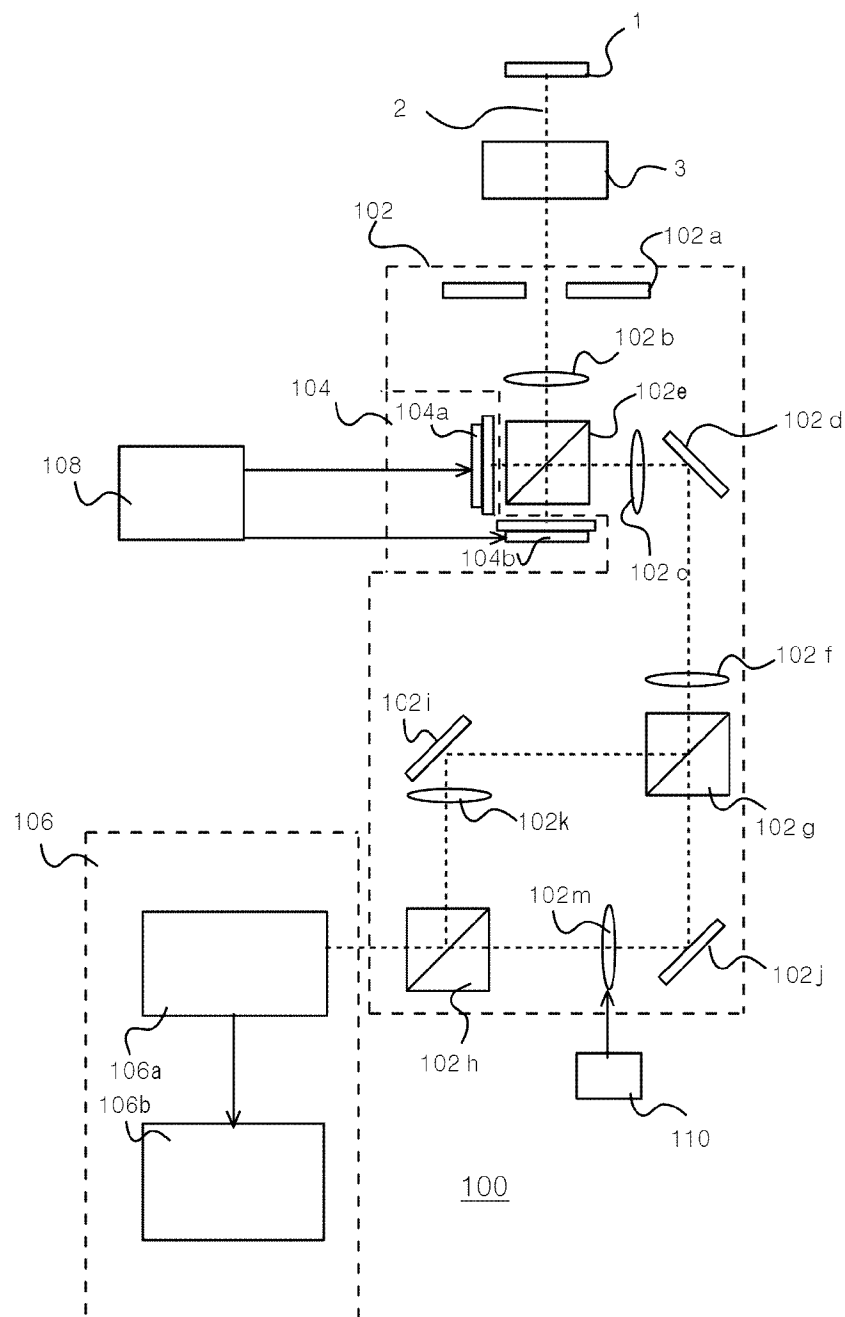
を含む、請求項10又は請求項11に記載の観察方法。

[請求項13] 前記変換ステップにおいて、前記第2瞳関数は、前記第1瞳関数とは異なる、請求項10から12の何れか一項に記載の観察装置。

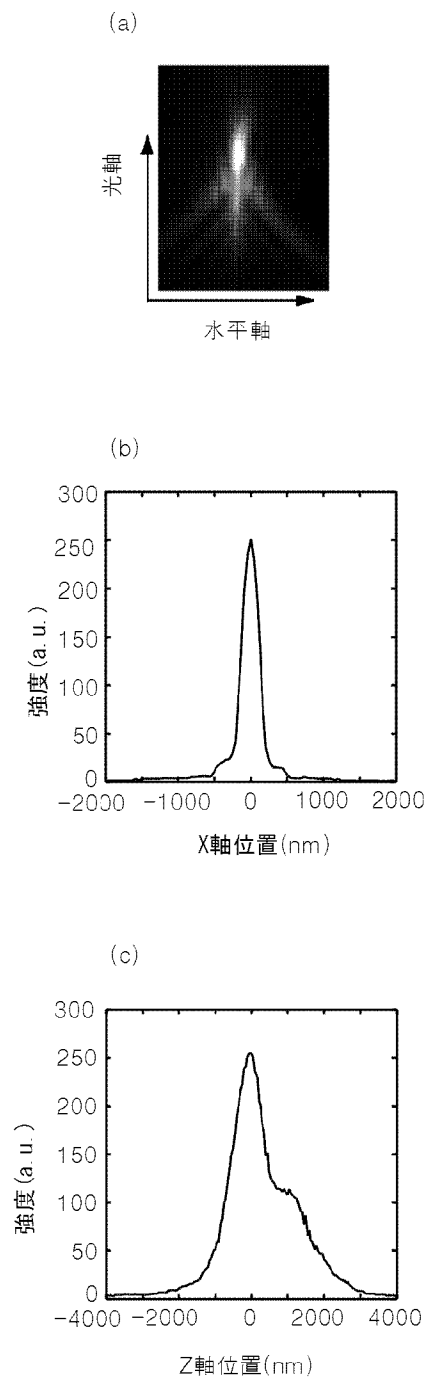
[請求項14] 前記到来光の焦点位置を変更する焦点位置変更ステップを更に包含する、請求項10から請求項13の何れか一項に記載の観察方法。

[請求項15] 前記変換ステップにおいて、前記到来光の強度を変調することによって前記到来光を前記第1変換光および前記第2変換光に変換する、請求項10から14の何れか一項に記載の観察装置。

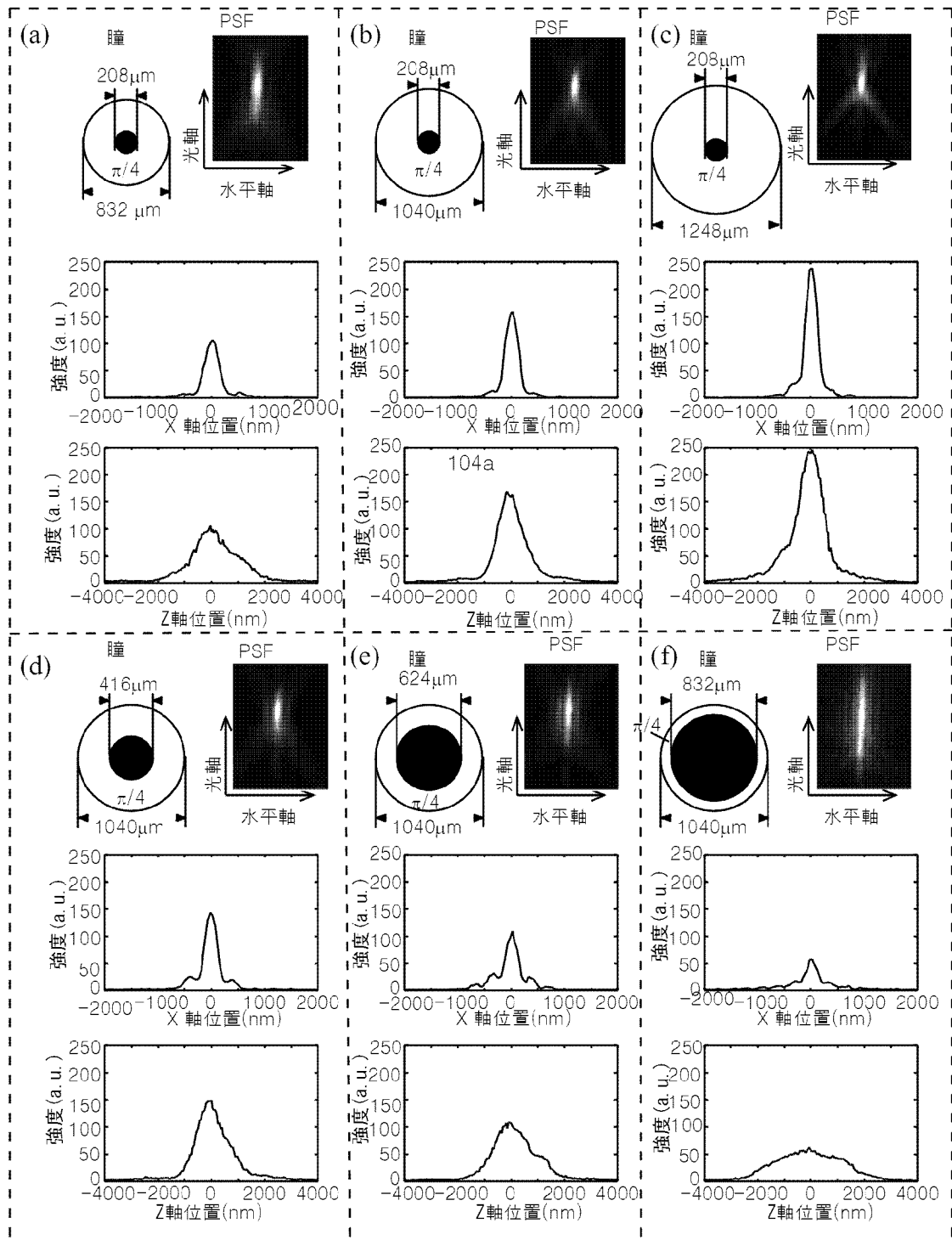
[図1]



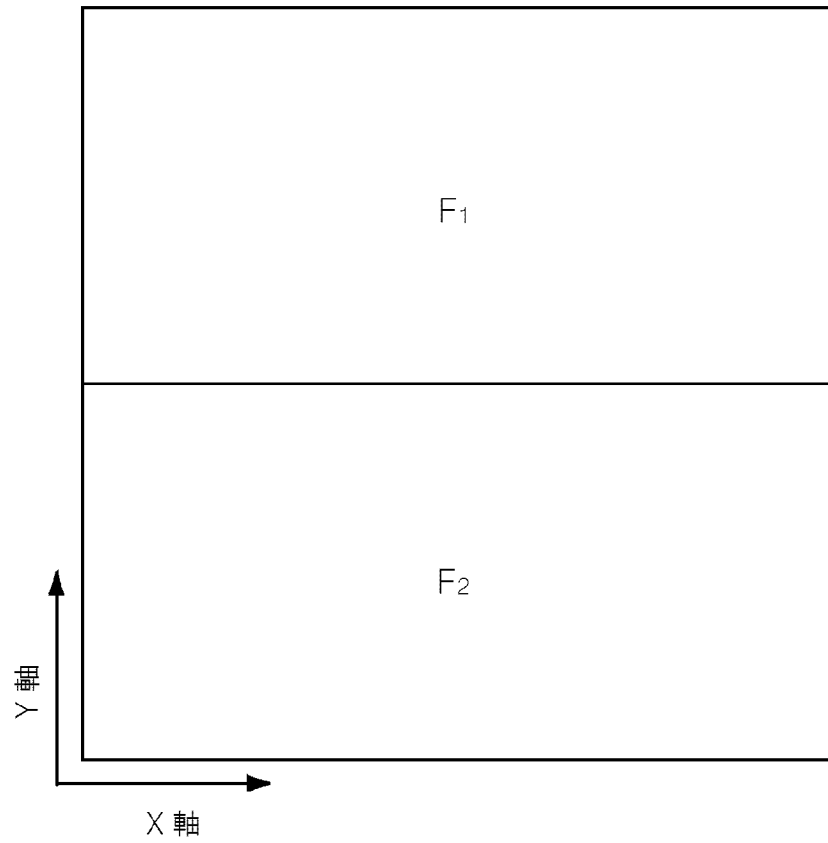
[図2]



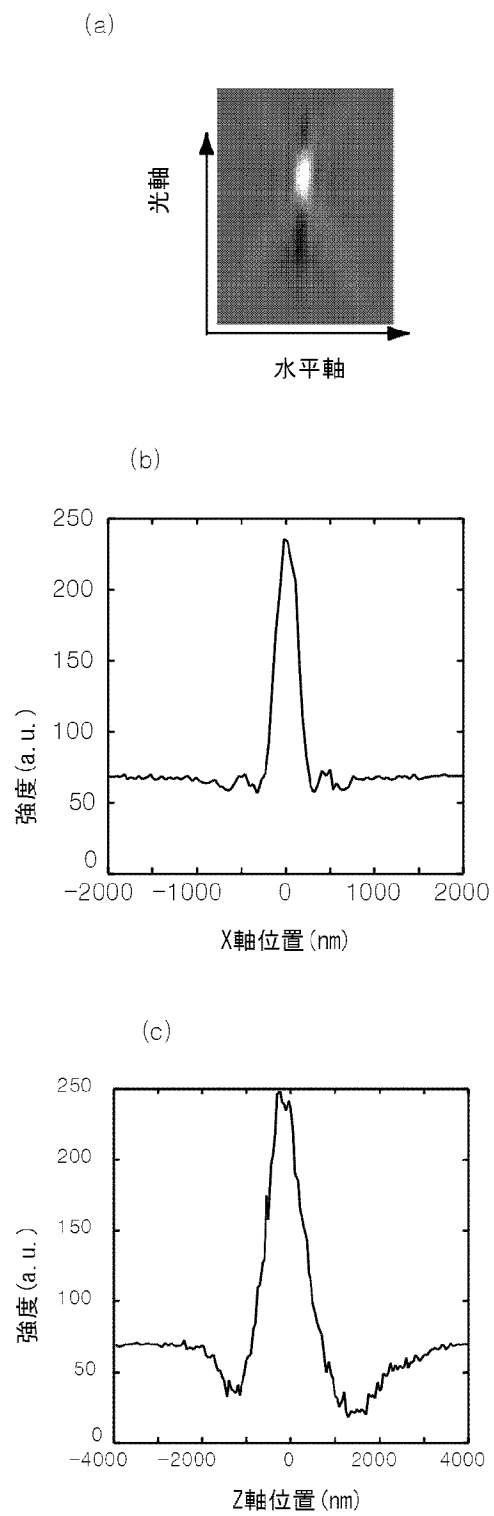
[図3]



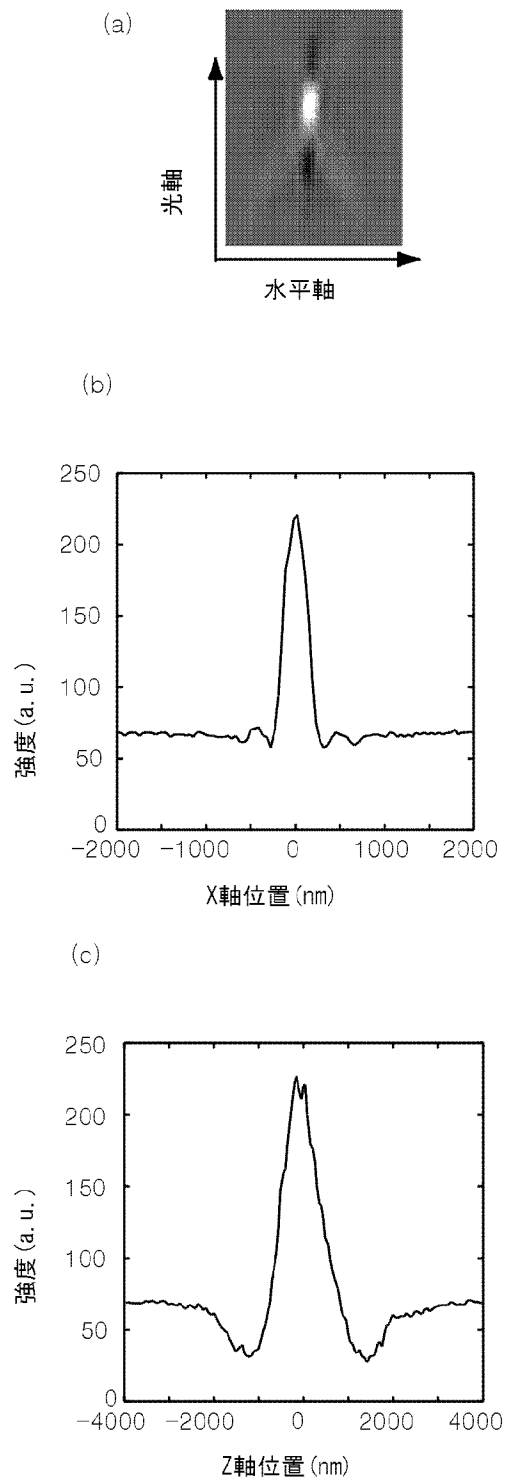
[図4]



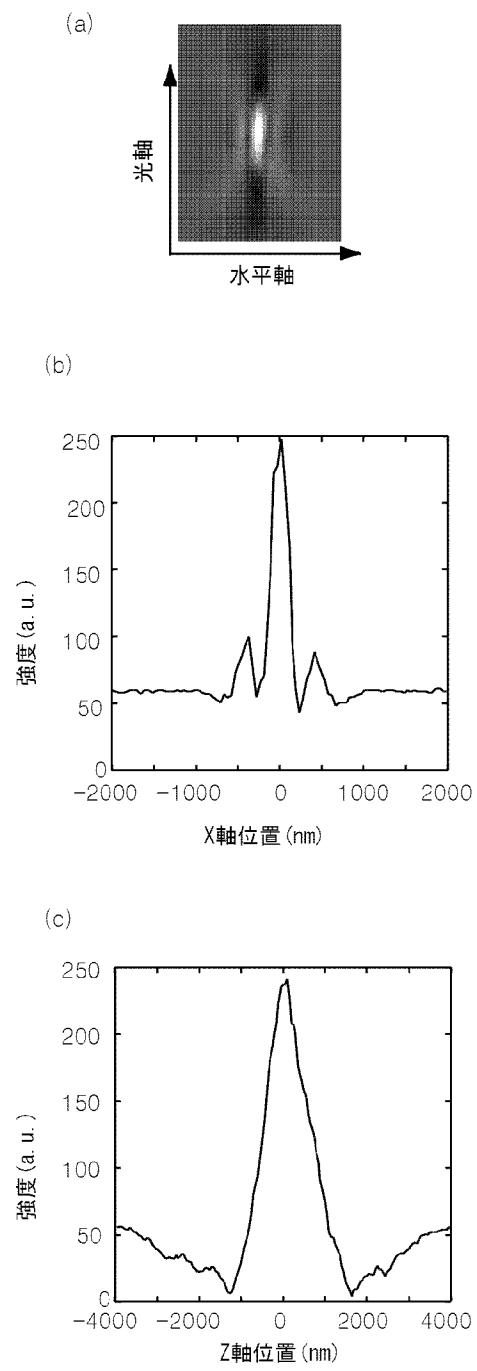
[図5]



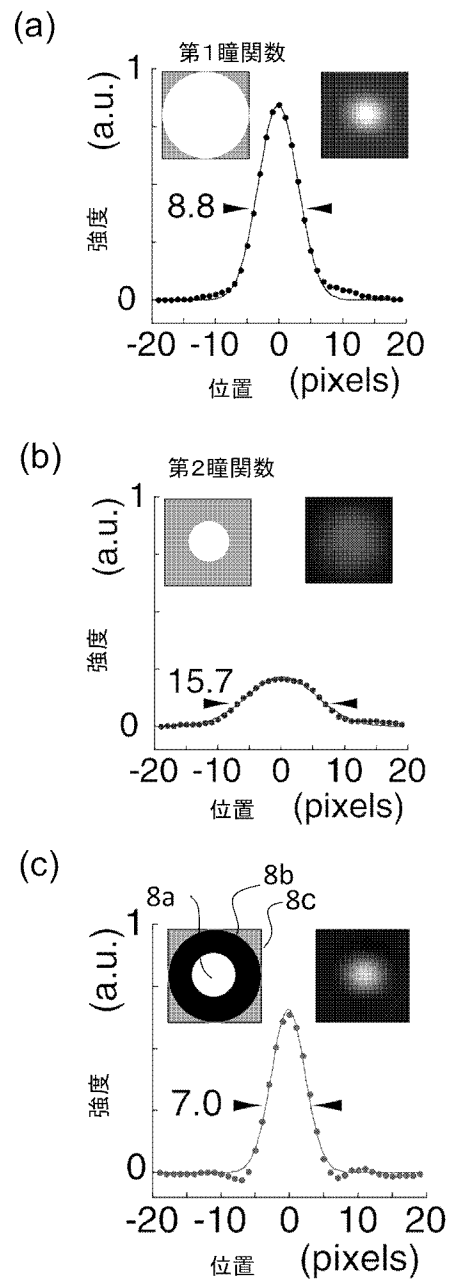
[図6]



[図7]



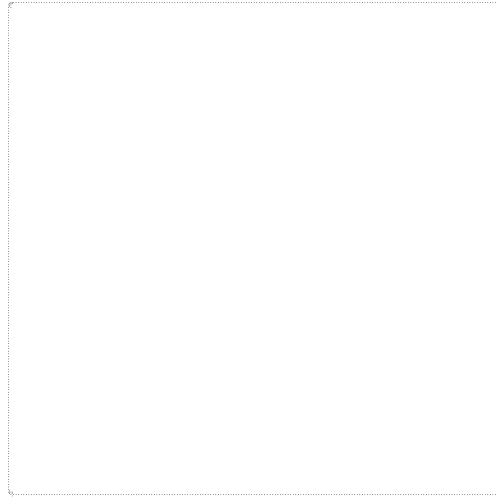
[図8]



[図9]

(a)

遮蔽領域

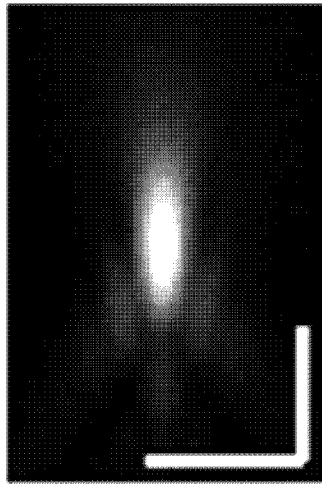


(b)

点像分布関数

Z 軸

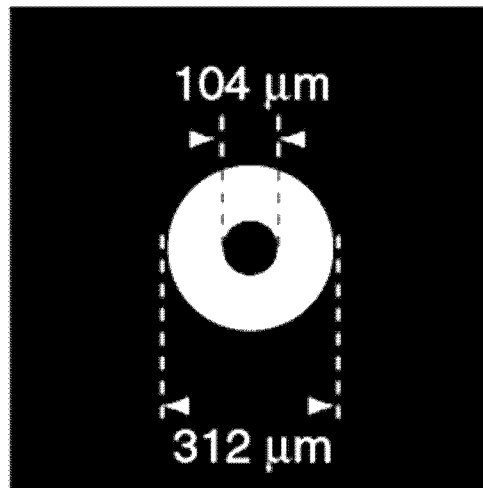
X 軸



[図10]

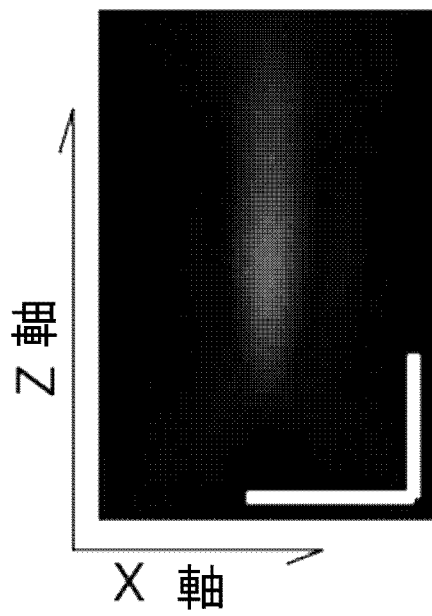
(a)

瞳関数



(b)

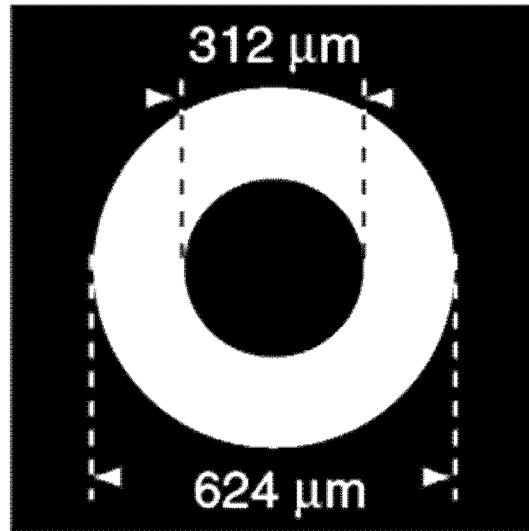
点像分布関数



[図11]

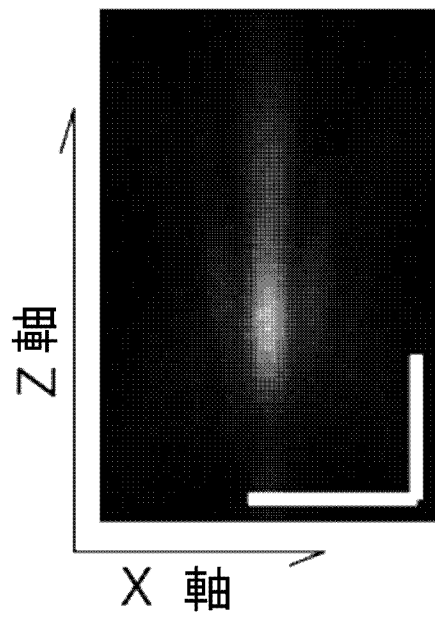
(a)

瞳関数

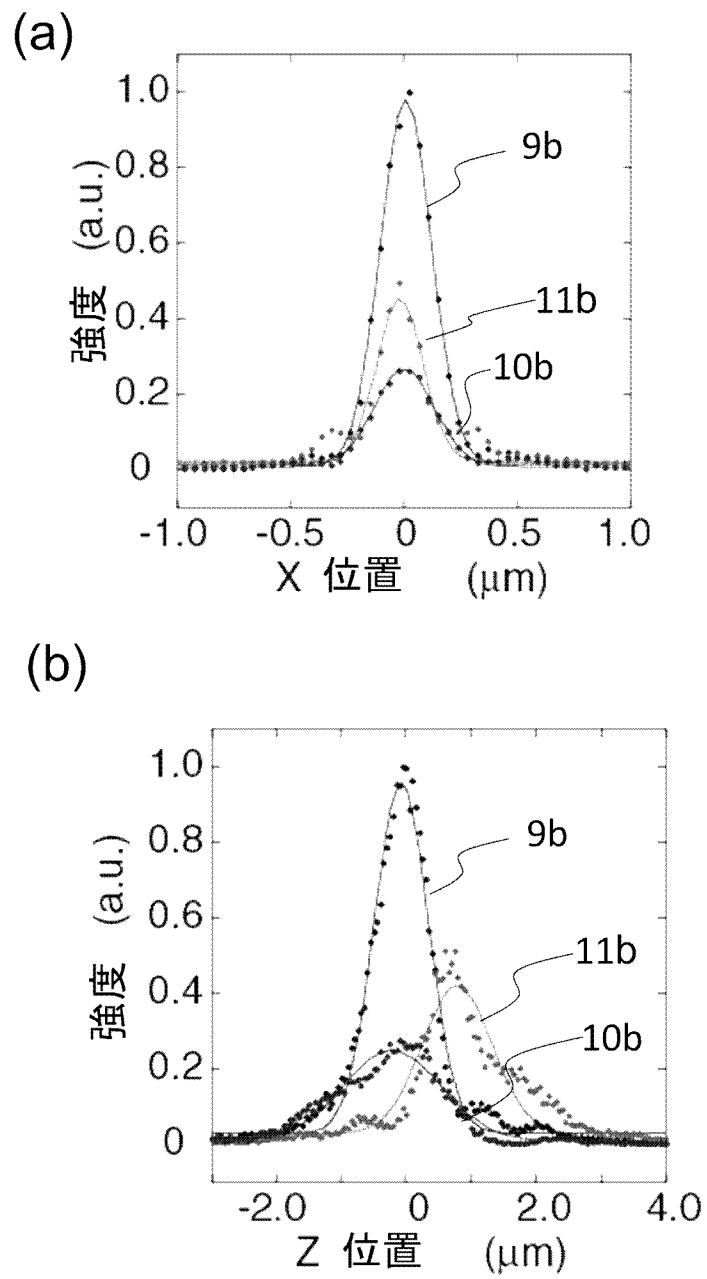


(b)

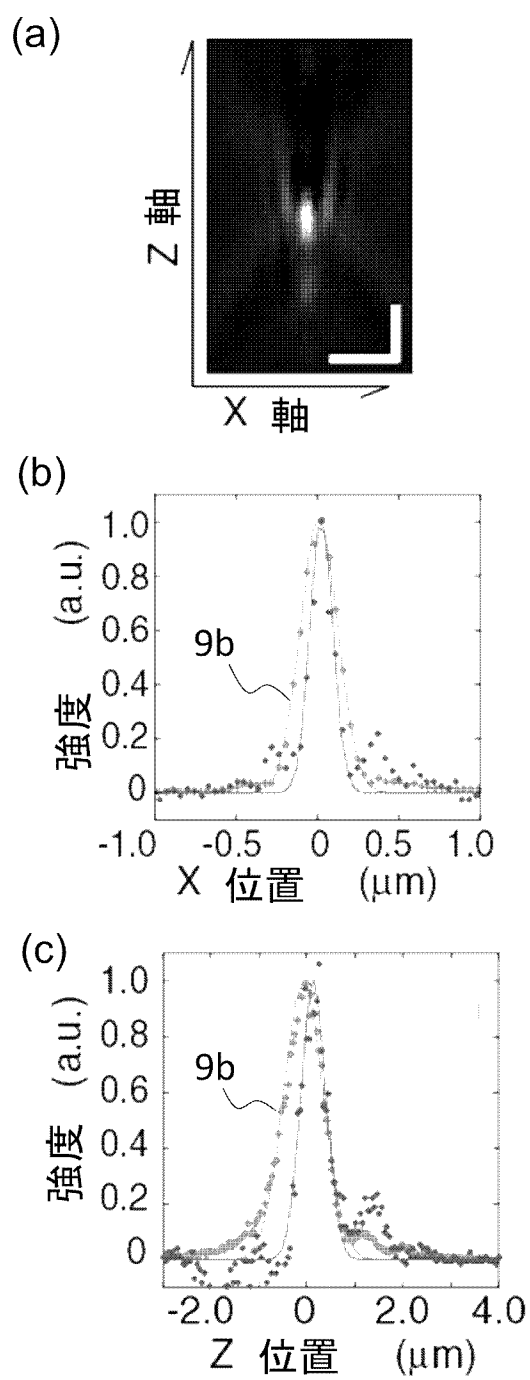
点像分布関数



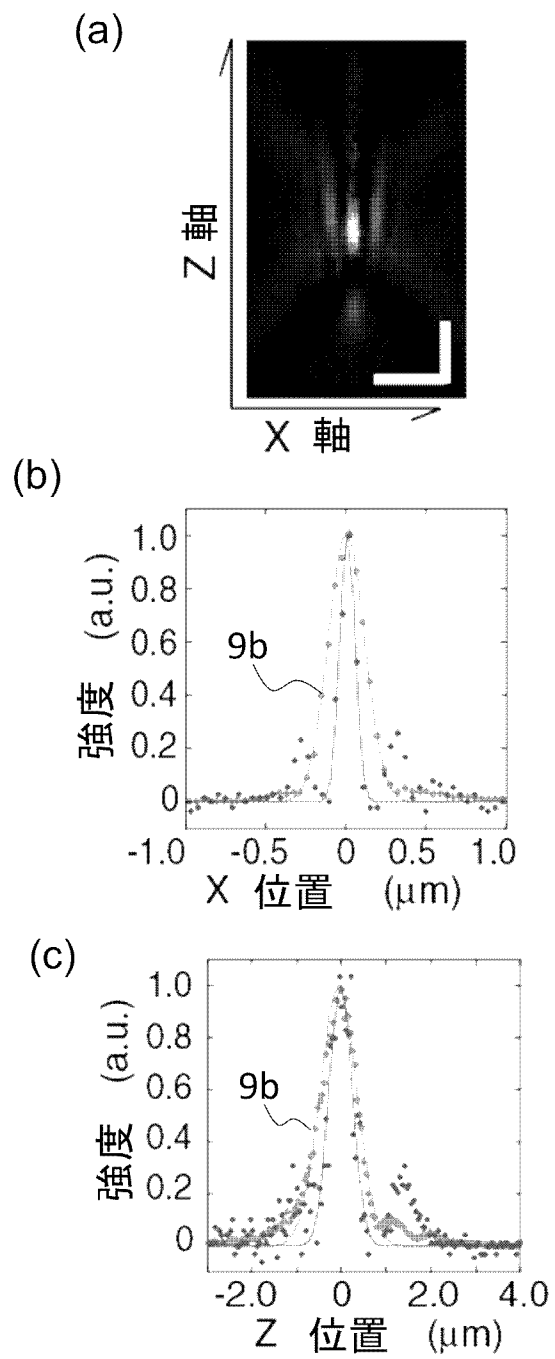
[図12]



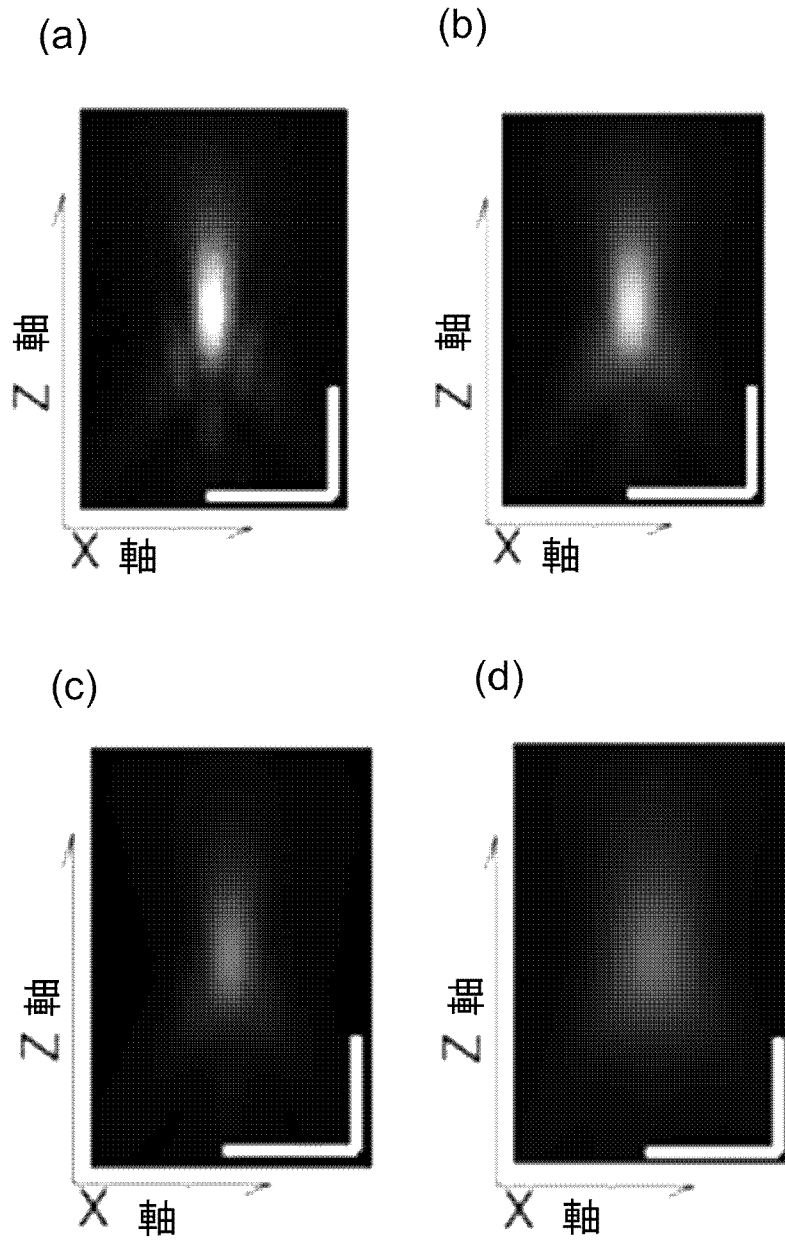
[図13]



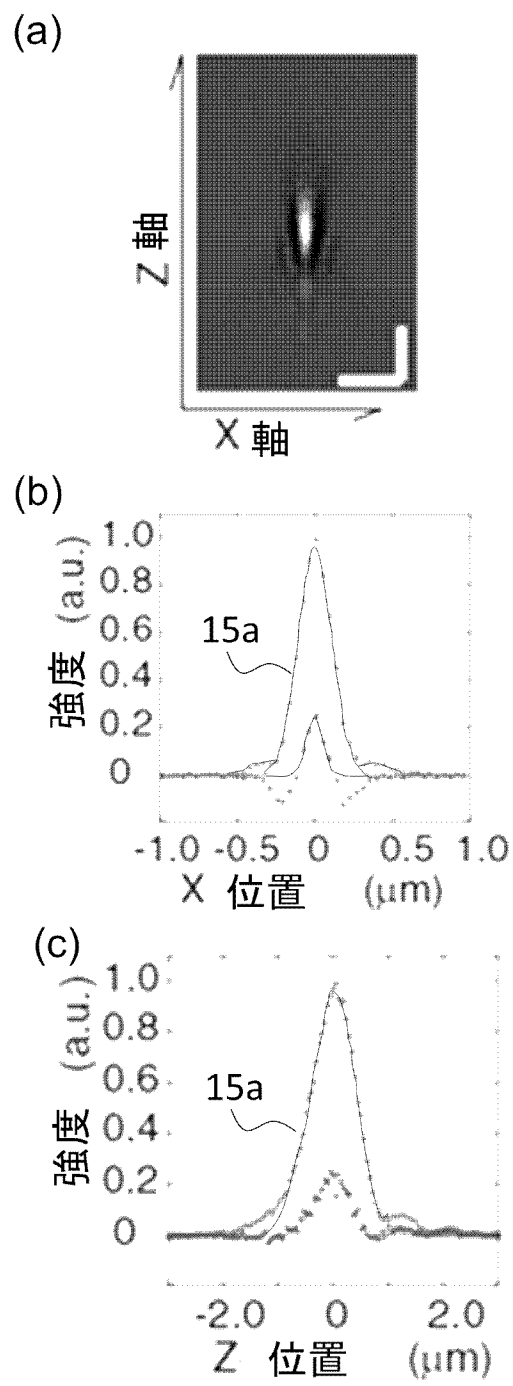
[図14]



[図15]

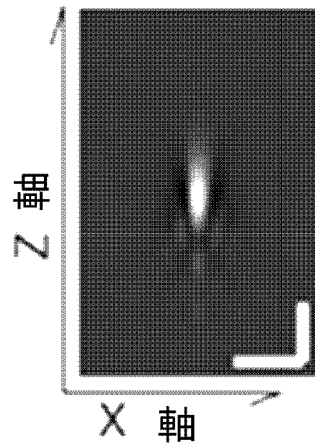


[図16]

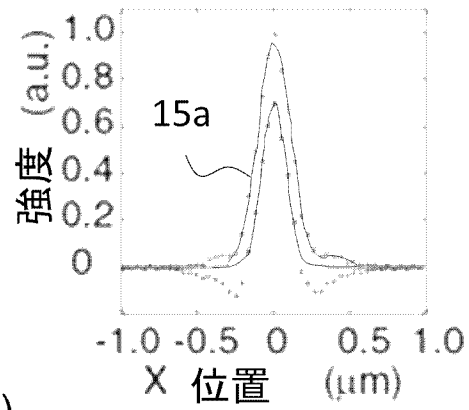


[図17]

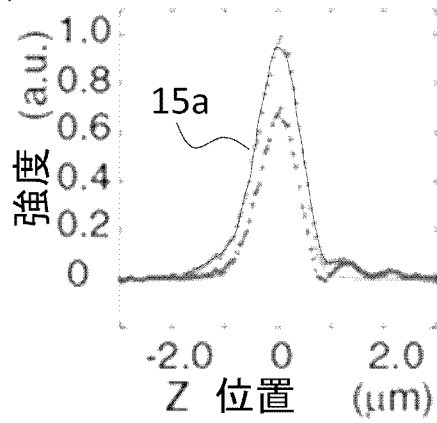
(a)



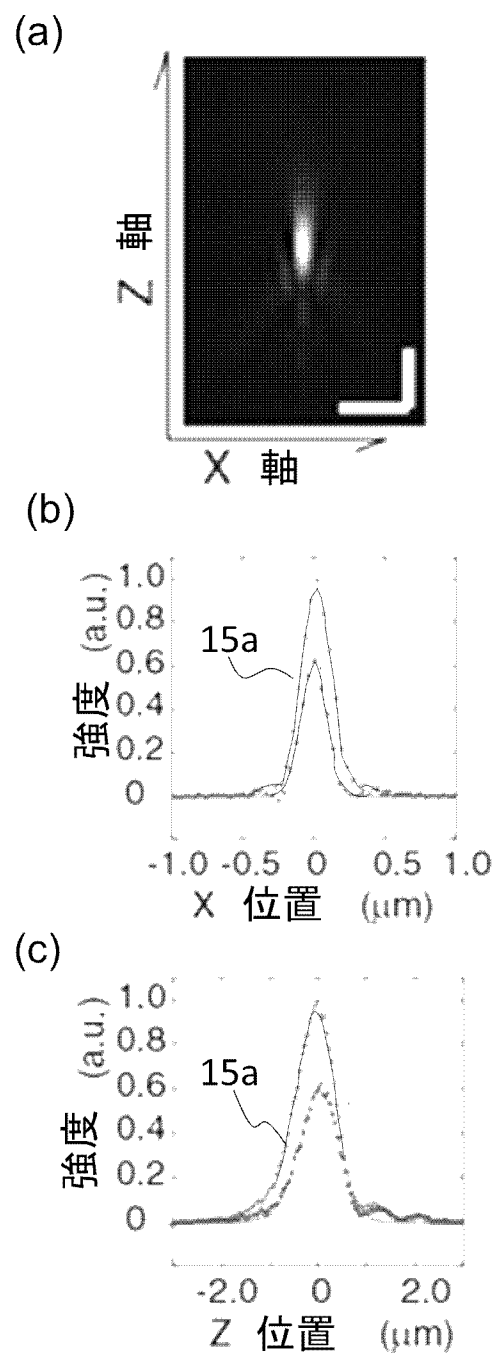
(b)



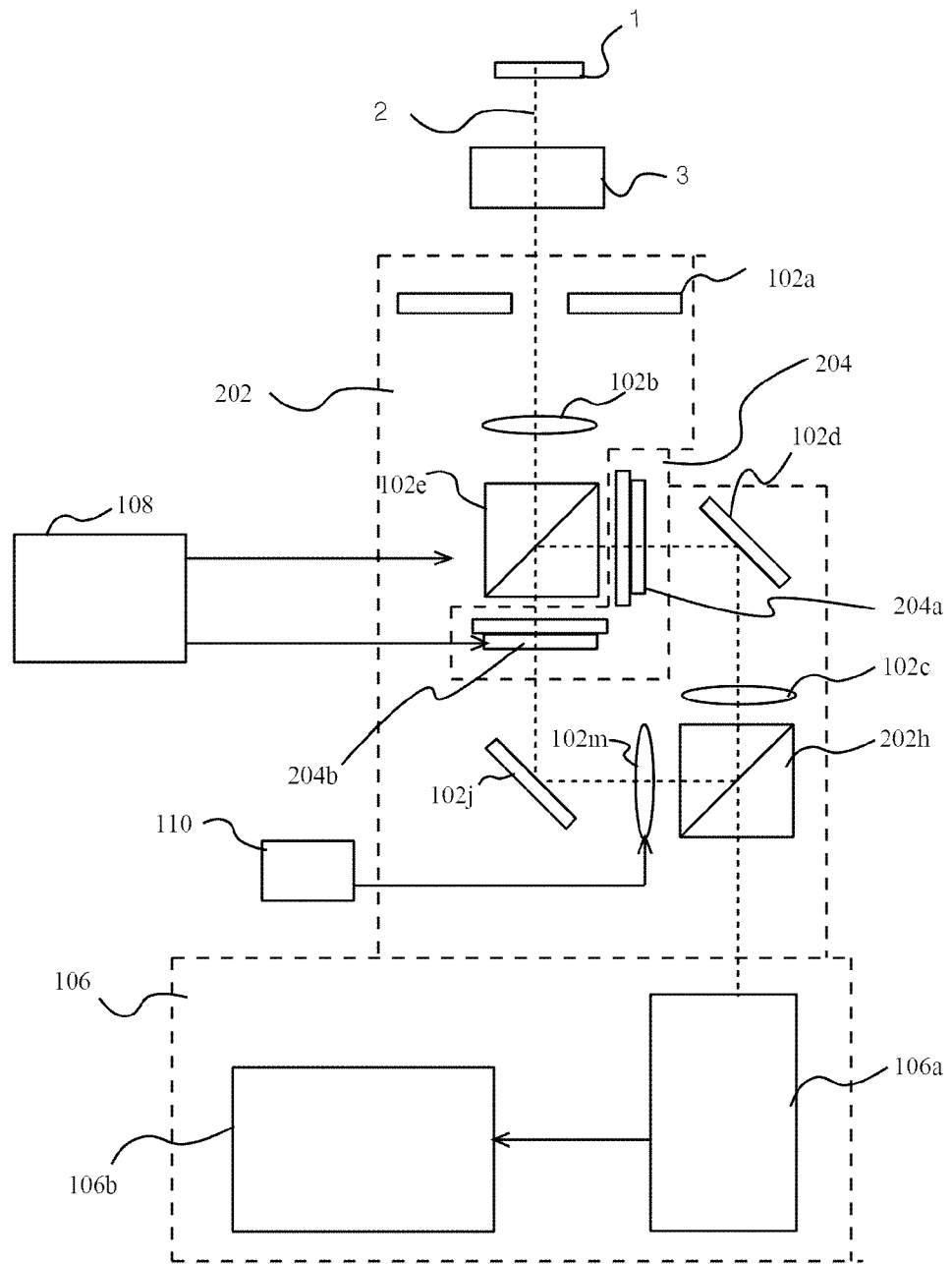
(c)



[図18]

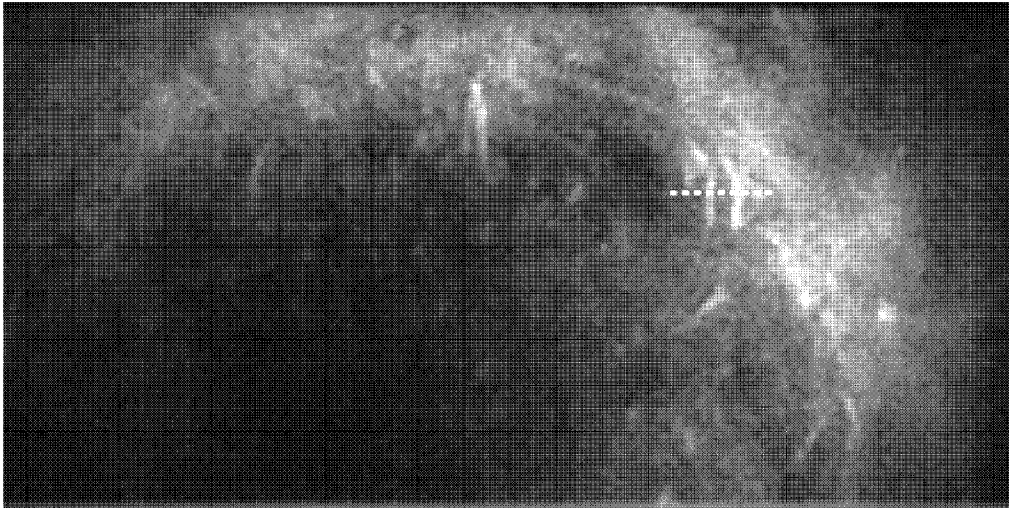


[図19]

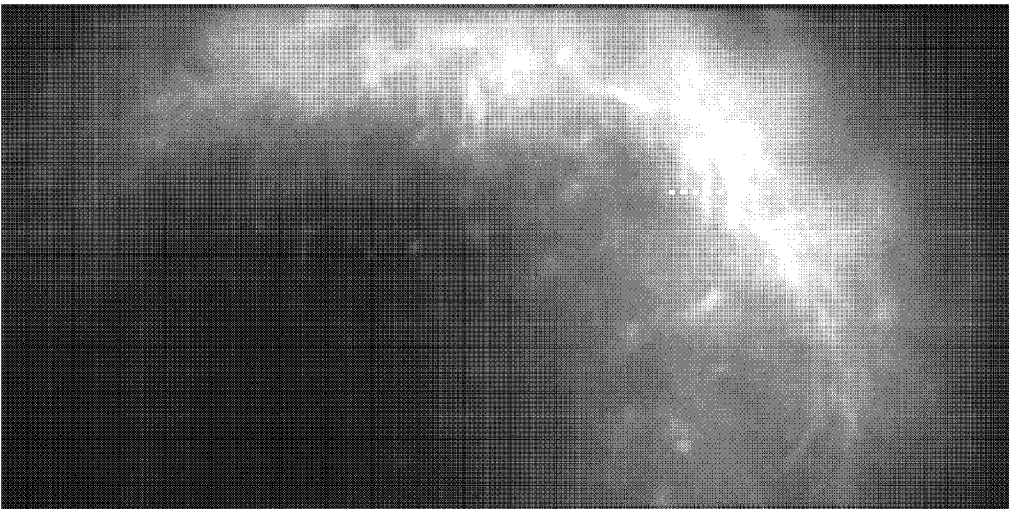
200

[図20]

(a)

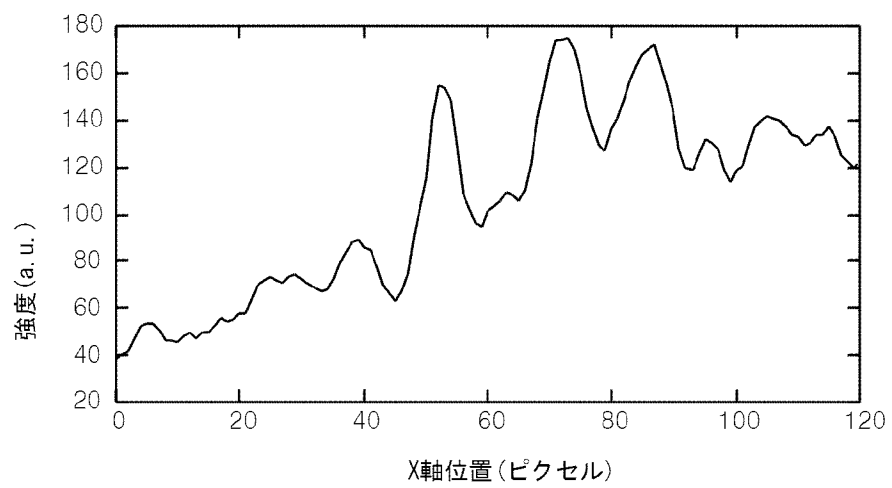


(b)

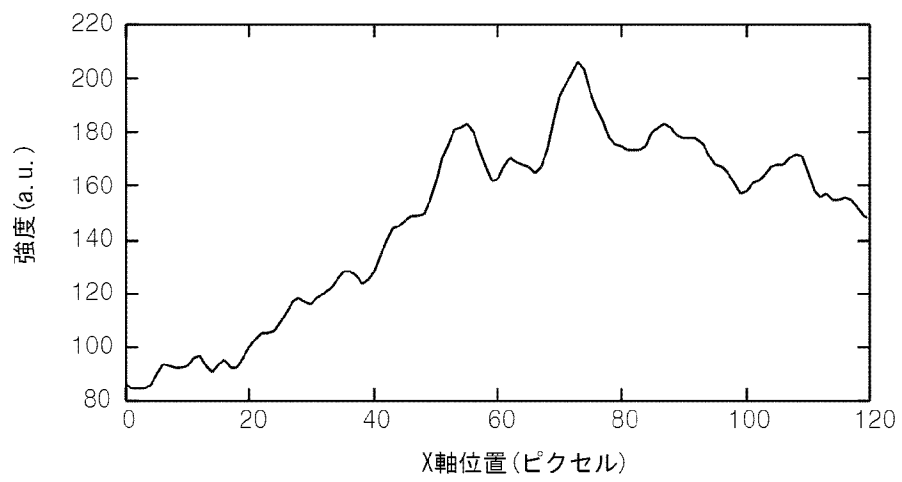


[図21]

(a)

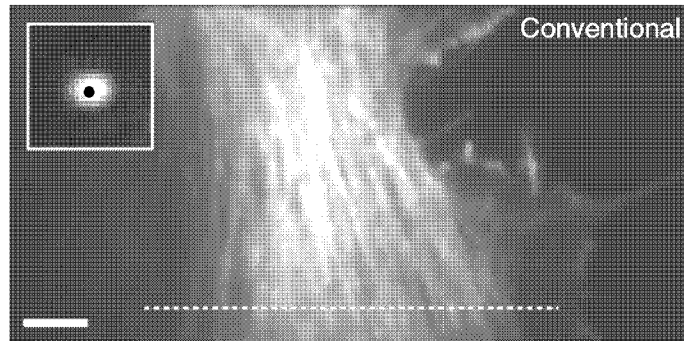


(b)

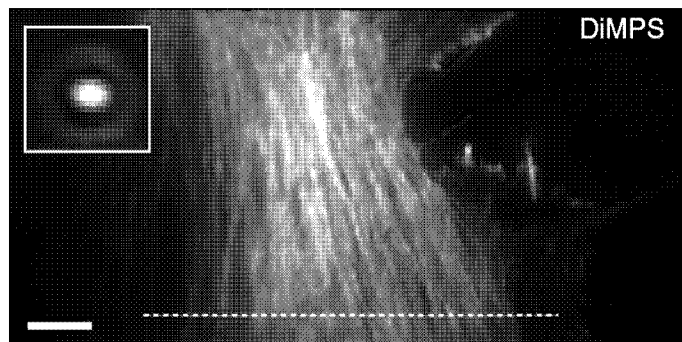


[図22]

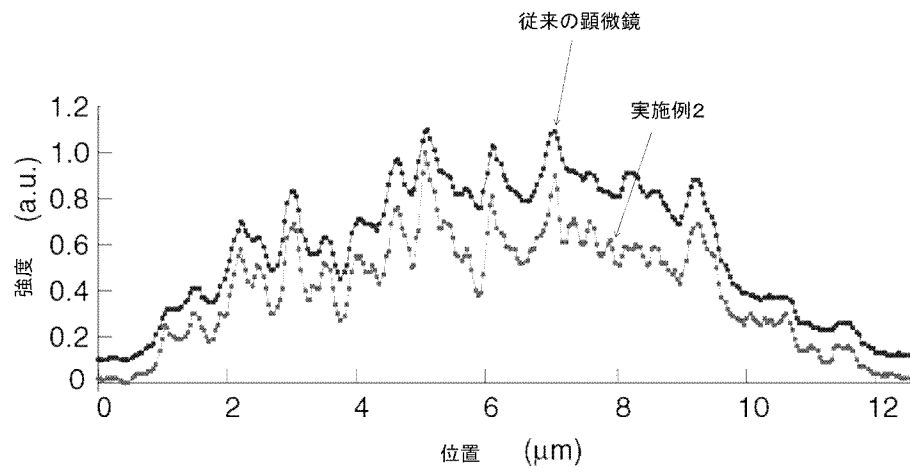
(a)



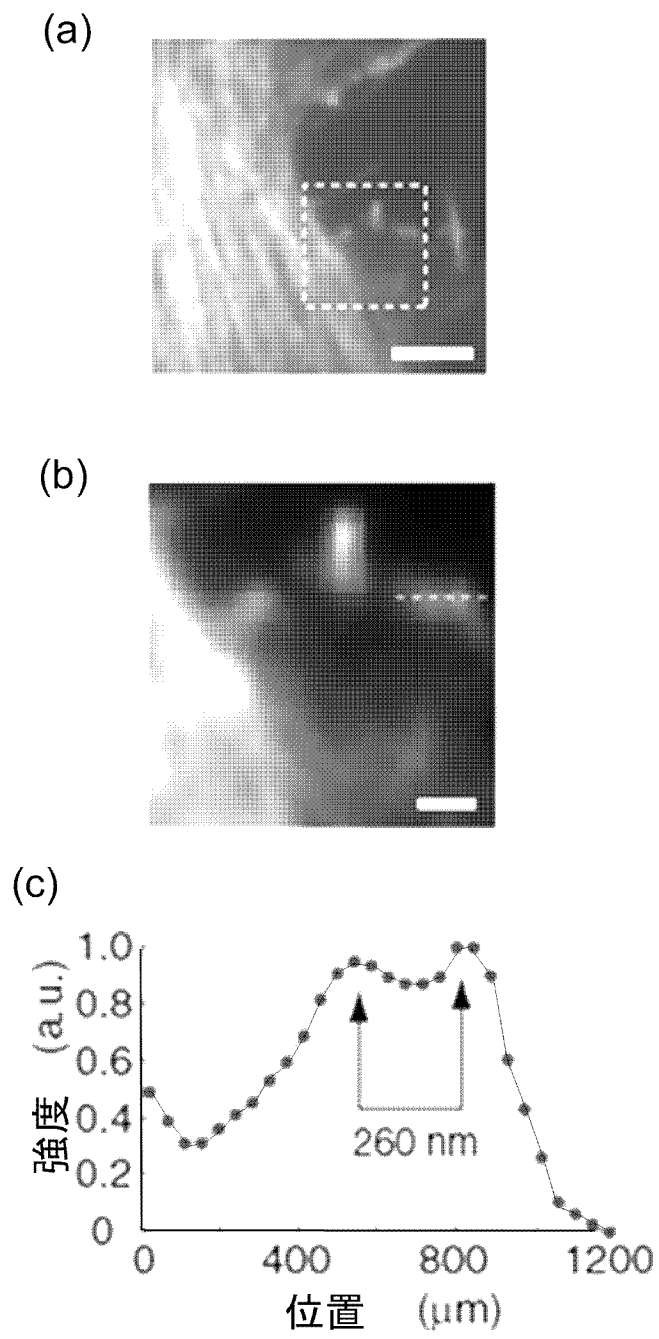
(b)



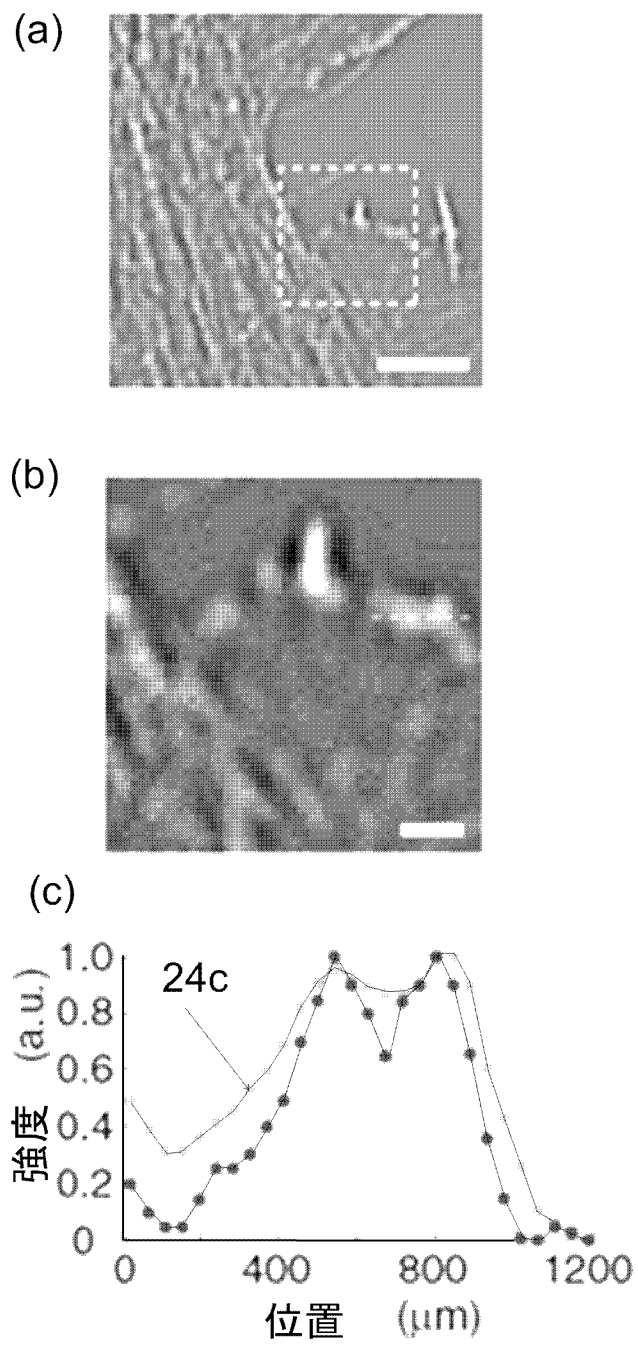
[図23]



[図24]

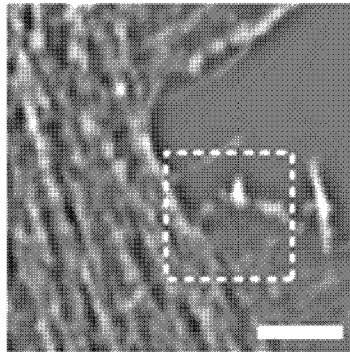


[図25]

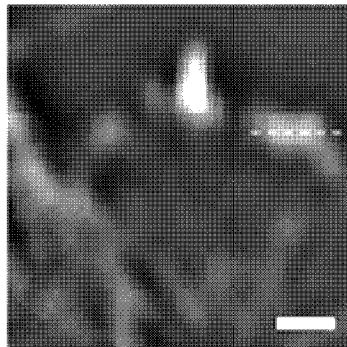


[図26]

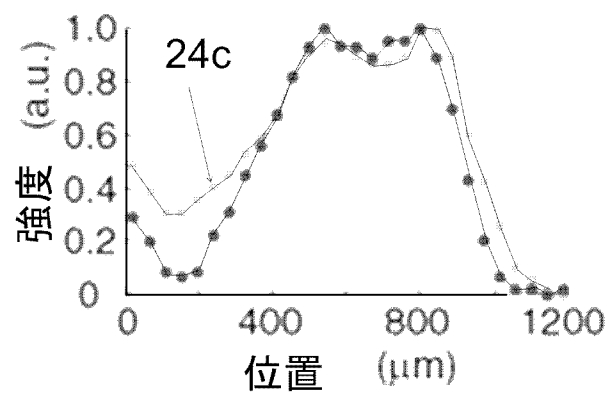
(a)



(b)

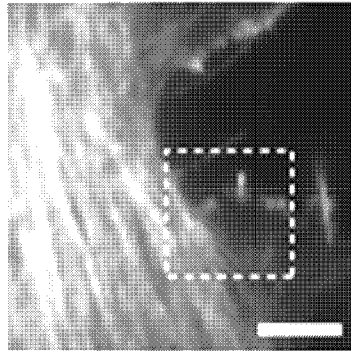


(c)

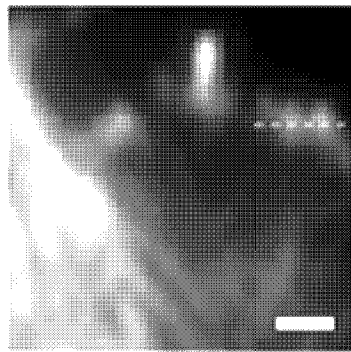


[図27]

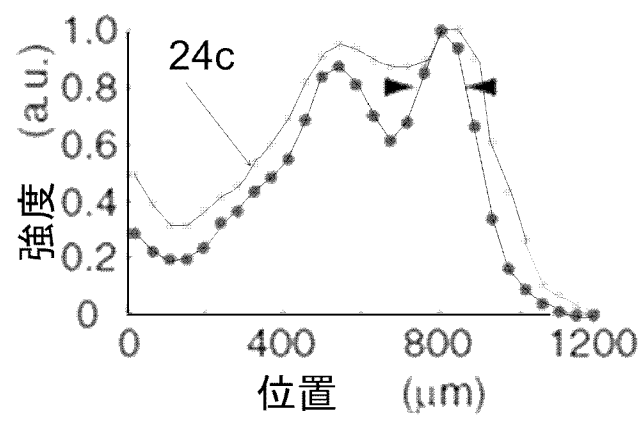
(a)



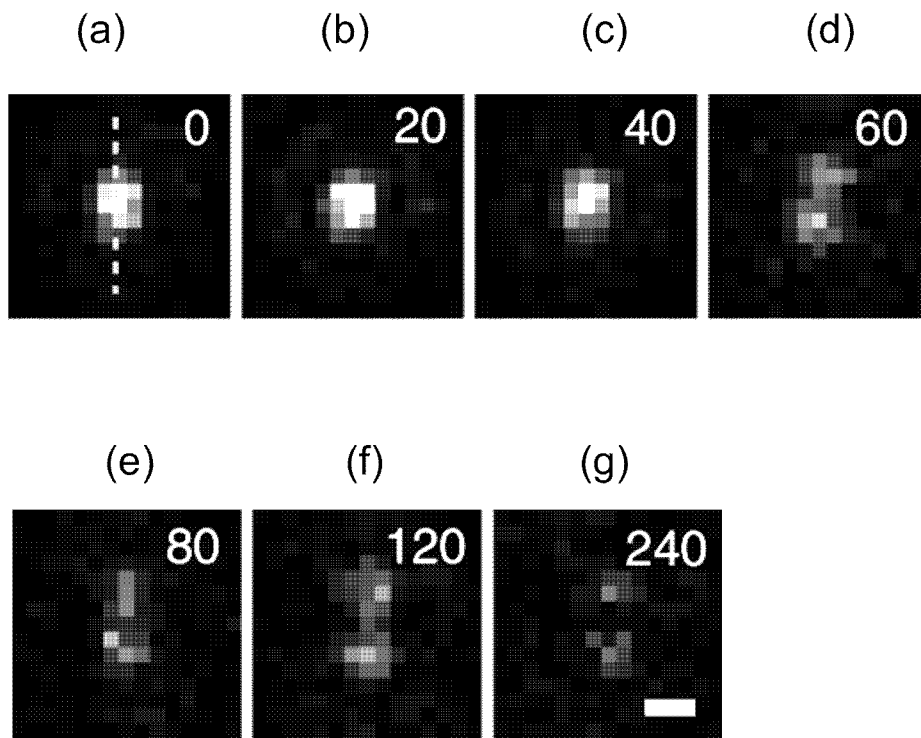
(b)



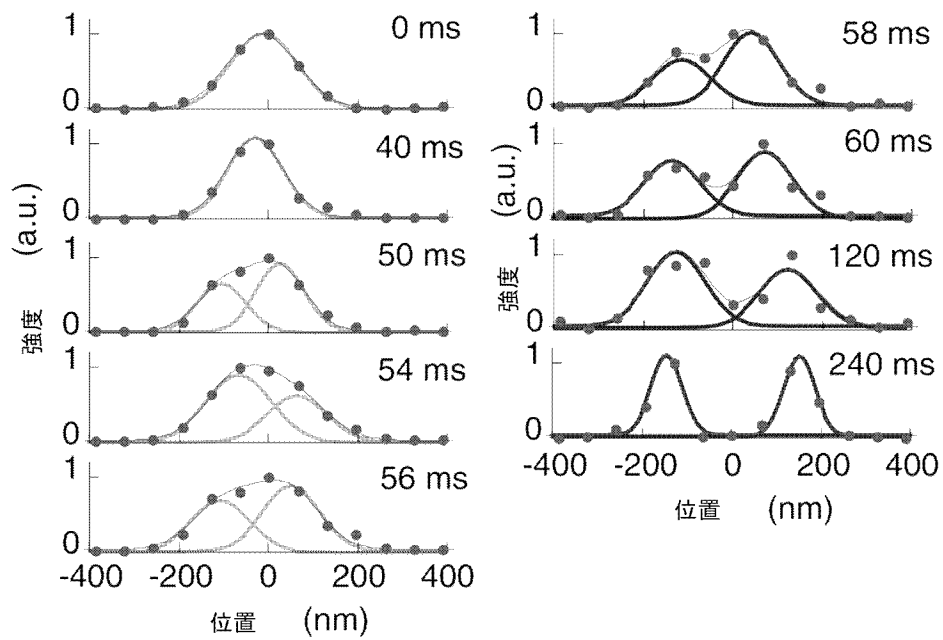
(c)



[図28]



[図29]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/052543

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

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)

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	1996-2011
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2011	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2011

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 11-101942 A (Carl Zeiss Jena GmbH), 13 April 1999 (13.04.1999), paragraphs [0011] to [0016], [0021]; fig. 1b, 4 to 6 & US 2002/0154398 A1 & US 6771417 B1 & EP 929826 A & EP 1253457 A1 & WO 1999/006856 A2 & DE 19733193 A & DE 59806811 D & DE 59813436 D & AU 9256698 A & CA 2267431 A & HK 1023622 A & CA 2267431 A1	1-15
A	JP 56-137324 A (Victor B.Kley), 27 October 1981 (27.10.1981), fig. 14 & US 4404848 A & US 4561731 A & US 4806776 A & DE 3108389 A	1-15

☐ 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
24 March, 2011 (24.03.11)

Date of mailing of the international search report
05 April, 2011 (05.04.11)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. 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. 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 1 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 1 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 1 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 11-101942 A (カール ツァイス イエナ ゲゼルシャフト ミ ット ベシュレンクテル ハフツング) 1999.04.13, 段落【001 1】 - 【0016】、【0021】、図1b、図4 - 図6 & US 2002/0154398 A1 & US 6771417 B1 & EP 929826 A & EP 1253457 A1 & WO 1999/006856 A2 & DE 19733193 A & DE 59806811 D & DE 59813436 D & AU 9256698 A & CA 2267431 A & HK 1023622 A & CA 2267431 A1	1-15
A	JP 56-137324 A (ビクター・バイ・クレイ) 1981.10.27, 図14 & US 4404848 A & US 4561731 A & US 4806776 A & DE 3108389 A	1-15

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

2 4 . 0 3 . 2 0 1 1

国際調査報告の発送日

0 5 . 0 4 . 2 0 1 1

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)

下村 一石

2 V

4 7 4 8

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