

(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
2015年3月12日(12.03.2015)



(10) 国際公開番号
WO 2015/033514 A1

- (51) 国際特許分類:
G02B 21/06 (2006.01) **G01N 21/64** (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2014/004009
- (22) 国際出願日: 2014年7月30日(30.07.2014)
- (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 2013-184753 2013年9月6日(06.09.2013) JP
- (71) 出願人: 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
12番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 三宅 範夫(MIYAKE, Norio); 〒1008331 東京
都千代田区有楽町一丁目12番1号株式会社
ニコン内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 古谷 史旺, 外(FURUYA, Fumio et al.); 〒
1600023 東京都新宿区西新宿1丁目19番5号
第2明宝ビル9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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN,
IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR,
LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH,
PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW,
MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシ
ア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ
(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,
GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT,
NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

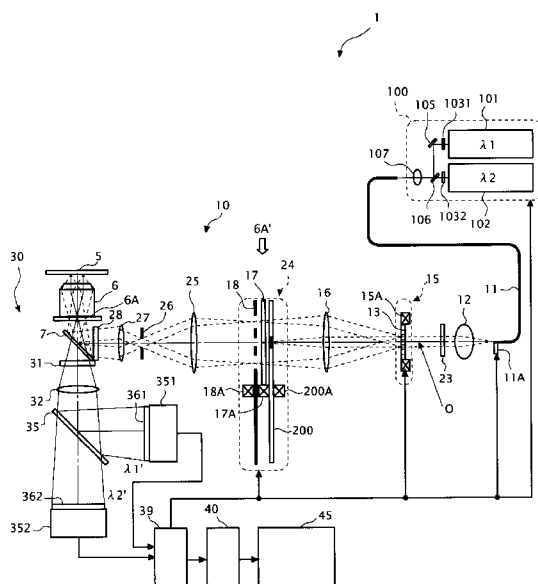
添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: ILLUMINATION DEVICE AND STRUCTURED ILLUMINATION MICROSCOPE

(54) 発明の名称: 照明装置及び構造化照明顕微鏡装置

【図1】



択部が所定の間隔で複数設けられている。

(57) Abstract: In order to improve the efficiency of acquiring a plurality of modulated images required for the generation of a super-resolved image (demodulated image), a structured illumination device according to the present invention comprises: a branch section for branching the light from a light source into multiple light beams; a light beam selection member for selecting some of the light beams among the multiple light beams; an optical system for illuminating an object with the selected light beams; and a turning mechanism for switching the illumination by turning the light beam selection member. The rotary shaft of the light beam selection member is provided at a position offset from the branching center for the plurality of light beams. Multiple selection sections for selecting light beams are provided at prescribed intervals on the circumferences of two or more circles with the rotary shaft as the center.

(57) 要約: 超解像画像(復調画像)の生成に必要な複数の変調画像の取得効率を向上させるために、本発明の構造化照明装置は、光源からの光を複数の光束に分岐する分岐部と、前記複数の光束から一部の光束を選択する光束選択部材と、選択された前記一部の光束で物体を照明する光学系と、前記光束選択部材を回転させることにより前記照明を切り換える回転機構とを有し、前記光束選択部材の回転軸は、前記複数の光束の分岐中心から外れた位置に設けられ、前記回転軸を中心とする2以上の円の各周上には、光束を選択する選

明 細 書

発明の名称：照明装置及び構造化照明顕微鏡装置

技術分野

[0001] 本発明は、照明装置及び構造化照明顕微鏡装置に関する。

背景技術

[0002] 生体標本などの被観察物を超解像観察するための手法に、被観察物の構造の空間周波数を照明光で変調する手法がある（特許文献1を参照）。

[0003] この手法では、空間変調された照明光で被観察物を照明し、被観察物の構造に含まれる解像限界を超える高い空間周波数の情報を、顕微鏡光学系の結像に寄与させる。また、空間照明のパターンを切り替え、互いに異なる照明パターンの下で得られた複数の変調像のデータ（以下、「変調画像」と称す。）へ演算を施すことにより、復調像のデータ（以下、「復調画像」又は「超解像画像」と称す。）を取得する。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：米国再発行特許発明第38307号明細書

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明は、超解像画像（復調画像）の生成に必要な複数の変調画像の取得効率を向上させることを目的とする。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明の照明装置の一例は、光源からの光を複数の光束に分岐する分岐部と、前記複数の光束から一部の光束を選択する光束選択部材と、選択された前記一部の光束で物体を照明する光学系と、前記光束選択部材を回動させることにより前記照明を切り換える回動機構とを有し、前記光束選択部材の回動軸は、前記複数の光束の分岐中心から外れた位置に設けられ、前記回動軸を中心とする2以上の円の各周上には、光束を選択する選択部が所定の間隔

で複数設けられている。

[0007] 本発明の構造化照明装置の一例は、本発明の照明装置の一例と、前記干渉縞で空間変調された前記物体の変調像を形成する結像光学系と、前記結像光学系により形成された前記変調像を撮像して変調画像を生成する撮像素子とを備える。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]構造化照明顕微鏡装置 1 の構成図である。

[図2]回折格子 13 を説明する図である。

[図3]0 次光シャッタ 200、光束選択部材 18 を説明する図である。

[図4] $\theta' = 0^\circ$ における光束選択部材 18 を説明する図である。

[図5] $\theta' = 20^\circ$ における光束選択部材 18 を説明する図である。

[図6] $\theta' = 40^\circ$ における光束選択部材 18 を説明する図である。

[図7] $\theta' = 60^\circ$ における光束選択部材 18 を説明する図である。

[図8] $\theta' = 80^\circ$ における光束選択部材 18 を説明する図である。

[図9] $\theta' = 100^\circ$ における光束選択部材 18 を説明する図である。

[図10]偏光板 23 及び 1/2 波長板 17 の機能を説明する図である。

[図11]並進機構 15A の機能を説明する図である。

[図12]従来例のタイミングチャートである。

[図13]所要時間 t_1 、 t_2 の関係を説明する図である。

発明を実施するための形態

[0009] [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。

[0010] 先ず、構造化照明顕微鏡装置の構成を説明する。

[0011] 図 1 は、構造化照明顕微鏡装置 1 の構成図である。以下では構造化照明顕微鏡装置 1 を全反射蛍光顕微鏡 (TIRFM: Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy) として使用する場合も適宜併せて説明する。TIRFM は、蛍光性を有した試料 (標本) 5 の表面の極めて薄い層を観察する顕微鏡である。

[0012] 先ず、構造化照明顕微鏡装置 1 の構成を説明する。

[0013] 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 100 と、光ファイバ 11 と、照明光学系 10 と、結像光学系 30 と、第 1 撮像素子 351 と、第 2 撮像素子 352 と、制御装置 39 と、画像記憶・演算装置 40 と、画像表示装置 45 とが備えられる。なお、照明光学系 10 は落射型であり、結像光学系 30 の対物レンズ 6 及びダイクロイックミラー 7 を利用して標本 5 の照明を行う。

[0014] レーザユニット 100 には、第 1 レーザ光源 101、第 2 レーザ光源 102、シャッタ 1031、1032、ミラー 105、ダイクロイックミラー 106、レンズ 107 が備えられる。第 1 レーザ光源 101 及び第 2 レーザ光源 102 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 101 の波長 λ_1 は、第 2 レーザ光源 102 の波長 λ_2 よりも長いと仮定する ($\lambda_1 > \lambda_2$)。これらの第 1 レーザ光源 101、第 2 レーザ光源 102、シャッタ 1031、1032 は、それぞれ制御装置 39 によって駆動・制御される。

[0015] 光ファイバ 11 は、レーザユニット 100 から射出したレーザ光を導光するために、例えば、偏波面保存型のシングルモードファイバによって構成される。光軸 O の方向における光ファイバ 11 の出射端の位置は、位置調整機構 11A によって調節可能である。この位置調整機構 11A は、制御装置 39 によって駆動・制御される。

[0016] 照明光学系 10 には、光ファイバ 11 の出射端側から順に、コレクタレンズ 12 と、偏光板 23 と、光束分岐部 15 と、集光レンズ 16 と、光束選択部 24 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、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。

[0017] なお、光ファイバ 11 として偏波面保存型のシングルモードファイバを使用した場合は、光ファイバ 11 の前後でレーザ光の偏波面が保存されるので、偏光板 23 は非必須であるが、レーザ光の偏光の品質を保つためには有効

である。一方、光ファイバ 11 としてマルチモードファイバを使用した場合、偏光板 23 は必須である。

[0018] 光束分岐部 15 には、回折光学素子（回折格子）13 と、並進機構 15A とが備えられ、光束選択部 24 には、0 次光シャッタ 200 と、 $1/2$ 波長板 17 と、光束選択部材 18 と、回動機構 200A と、回動機構 17A と、回動機構 18A とが備えられる。なお、並進機構 15A、回動機構 200A、回動機構 17A、回動機構 18A は、制御装置 39 によって駆動・制御される。

[0019] 結像光学系 30 には、標本 5 の側から順に、対物レンズ 6 と、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。

[0020] 標本 5 は、例えば、平行平板状のガラス表面に配置された蛍光性の細胞（蛍光色素で染色された細胞）や、シャーレ内に存在する蛍光性の生体細胞（蛍光色素で染色された動く細胞）などの細胞である。この細胞には、波長 λ_1 の光によって励起される第 1 蛍光領域と、波長 λ_2 の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。

[0021] なお、第 1 蛍光領域は、波長 λ_1 の光に応じて中心波長 λ_1' の第 1 蛍光を発生させ、第 2 蛍光領域は、波長 λ_2 の光に応じて中心波長 λ_2' の第 2 蛍光を発生させる。

[0022] 構造化照明顕微鏡装置 1 が TIRFM（全反射蛍光顕微鏡）として使用される場合、対物レンズ 6 は、全液浸型（油浸型）の対物レンズとして構成される。つまり、対物レンズ 6 と標本 5 のガラスとの間隙は、浸液（油）で満たされる。

[0023] 第 1 撮像素子 351、第 2 撮像素子 352 の各々は、CCD や CMOS 等からなる二次元の撮像素子である。第 1 撮像素子 351、第 2 撮像素子 352 の各々は、制御装置 39 によって駆動されると、第 1 撮像素子 351 の撮像面 361、第 2 撮像素子 352 の撮像面 362 の各々に形成された像を撮像し、画像を生成する。これら第 1 撮像素子 351、第 2 撮像素子 352 の

各々が生成した画像は、制御装置 39 を介して画像記憶・演算装置 40 へと取り込まれる。なお、第 1 撮像素子 351、第 2 撮像素子 352 の各々は、所定のフレーム周期で画像生成（撮像）を繰り返すことが可能である。第 1 撮像素子 351、第 2 撮像素子 352 の各々のフレーム周期（撮像の繰り返し周期）は、撮像素子の撮像時間（すなわち電荷蓄積及び電荷読出に要する時間）、干渉縞の方向切り換えに要する時間、その他の所要時間のうち、律速によって定められ、例えば 30 msec、60 msec などである（詳細は後述）。

[0024] 制御装置 39 は、レーザユニット 100、位置調整機構 11A、並進機構 15A、回動機構 200A、回動機構 17A、回動機構 18A、第 1 撮像素子 351、第 2 撮像素子 352 を駆動制御する。

[0025] 画像記憶・演算装置 40 は、制御装置 39 を介して与えられた画像に対して波長毎に復調演算を施し、演算後の画像（波長毎の超解像画像）を不図示の内部メモリに格納すると共に、画像表示装置 45 へ送出する。

[0026] 次に、構造化照明顕微鏡装置 1 におけるレーザ光の振る舞いを説明する。

[0027] 第 1 レーザ光源 101 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 1031 を介してミラー 105 へ入射すると、ミラー 105 を反射し、ダイクロイックミラー 106 へ入射する。一方、第 2 レーザ光源 102 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 1032 を介してビームスプリッタ 106 へ入射し、第 1 レーザ光と統合される。ダイクロイックミラー 106 から射出した第 1 レーザ光及び第 2 レーザ光は、レンズ 107 を介して光ファイバ 11 の入射端に入射する。

[0028] なお、制御装置 39 は、レーザユニット 100 のシャッタ 1031、1032 を制御することにより、光ファイバ 11 の入射端に入射するレーザ光の波長（＝光源波長）を、長い波長 λ_1 と短い波長 λ_2 との間で切り替えたり、光源波長を長い波長 λ_1 と短い波長 λ_2 との双方に設定したりすることができる。

[0029] 光ファイバ 11 の入射端に入射したレーザ光は、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する。その点光源から射出したレーザ光は、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（以下、「回折光束群」と称す。）に分岐される。この回折光束群は、集光レンズ16に入射すると、集光レンズ16の集光作用を受けて瞳共役面6A'の各位置に集光する。

[0030] ここで、瞳共役面6A'は、集光レンズ16の焦点位置（後ろ側焦点位置）であって、フィールドレンズ27及びレンズ25に関し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）と共役な位置のことである。この瞳共役面6A'にレンズ16の焦点位置（後ろ側焦点位置）が一致するように、レンズ16は配置されている。なお、「共役な位置」の概念には、当業者が対物レンズ6、フィールドレンズ27、レンズ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ものとする。

[0031] また、光ファイバ11から射出したレーザ光は基本的に直線偏光しているので、偏光板23は、省略することも可能であるが、余分な偏光成分を確実にカットするために有効である。また、レーザ光の利用効率を高めるため、偏光板23の軸は、光ファイバ11から射出したレーザ光の偏光方向に一致していることが望ましい。

[0032] さて、瞳共役面6A'に向かった各次数の回折光束は、瞳共役面6A'の近傍に配置された光束選択部24へ入射する。

[0033] ここで、構造化照明顕微鏡装置1がTIRFM（全反射蛍光顕微鏡）として利用される場合、光束選択部24は、入射した各次数の回折光束のうち、1対の回折光束のみ（ここでは±1次回折光束のみ）を選択的に通過させる。

[0034] 光束選択部24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と共役な面を形成する。その後、±1次回折光束の各々は、フィールドレンズ27により収束光に変換され、さらに励起フィ

ルタ 28 を経てから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する。

[0035] 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 の表面で互いに干渉し、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。

[0036] また、構造化照明顕微鏡装置 1 が TIRFM（全反射蛍光顕微鏡）として利用される場合、標本 5 の表面に入射する際の入射角度は、エバネッセント場の生成条件である全反射条件（TIRF 条件）を満たす。

[0037] TIRF 条件を満たすためには、瞳面 6A における ± 1 次回折光束の集光点は、瞳面 6A の最外周に位置する所定の輪帯状領域に位置していればよい。この場合、標本 5 の表面近傍には、干渉縞によるエバネッセント場が生起する。

[0038] 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 上の蛍光領域の周期構造との差に相当するモアレ縞が現れるが、このモアレ縞においては、蛍光領域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、この構造を示す蛍光は、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、蛍光領域の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。

[0039] 標本 5 で発生した蛍光は、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、ダイクロイックミラー 7 及びバリアフィルタ 31 を透過し、第 2 ダイクロイックミラー 35 へ入射する。第 2 ダイクロイックミラー 35 へ入射した波長 $\lambda 1'$ の第 1 蛍光は、第 2 ダイクロイックミラー 35 を反射し、第 2 ダイクロイックミラー 35 へ入射した波長 $\lambda 2'$ の第 2 蛍光は、第 2 ダイクロイックミラー 35 を透過する。

[0040] 第 2 ダイクロイックミラー 35 を反射した第 1 蛍光は、第 1 撮像素子 351 の撮像面 361 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 35 を透過した第 2 蛍光は、第 2 撮像素子 352 の撮像面 362 上に

第2蛍光領域の変調像を形成する。

[0041] 撮像面361に形成された第1蛍光領域の変調像、撮像面362に形成された第2蛍光領域の変調像は、第1撮像素子351、第2撮像素子352によって個別に画像化され、第1蛍光領域の変調画像と、第2蛍光領域の変調画像とが生成される。

[0042] 第1蛍光領域の変調画像と、第2蛍光領域の変調画像とは、制御装置39を介して画像記憶・演算装置40へと取り込まれる。さらに、取り込まれた第1蛍光領域の変調画像と、第2蛍光領域の変調画像との各々には、画像記憶・演算装置40において復調演算が施され、第1蛍光領域の復調画像（超解像画像）と、第2蛍光領域の復調画像（超解像画像）とが生成される。そして、これらの超解像画像は、画像記憶・演算装置40の内部メモリ（図示せず）に記憶されるとともに、画像表示装置45へと送出される。なお、復調演算としては、例えば、米国特許8115806号明細書に開示された方法が用いられる。

[0043] 次に、回折格子13を詳しく説明する。

[0044] 図2（A）は、回折格子13を光軸Oの方向から見た図であり、図2（B）は、±1次回折光束が瞳共役面に形成する集光点の位置関係を示す図である。なお、図2（A）は模式図であるため、図2（A）に示した回折格子13の構造周期は実際の構造周期と同じとは限らない。また、ここでいう集光点とは、最大強度の8割以上の強度を有する領域の重心位置のことである。そのため、本実施形態の照明光学系10は、完全な集光点が形成されるまで光束を集光する必要はない。

[0045] 図2（A）に示すように、回折格子13は、照明光学系10の光軸Oと垂直な面内において互いに異なる複数方向にかけて周期構造を有した回折格子である。ここでは、回折格子13は、60°ずつ異なる第1方向 V_1 、第2方向 V_2 、第3方向 V_3 の各々にかけて周期構造を有した3方向回折格子であって、それら周期構造の周期は共通であると仮定する。

[0046] なお、回折格子13の材質は、例えばガラスである。また、回折格子13

の周期構造は、濃度（透過率）を利用して形成された濃度型の周期構造、または段差（位相差）を利用して形成された位相型の周期構造の何れであってもよいが、位相差型の周期構造の方が＋１次回折光の回折効率が高いという点で好ましい。

[0047] このような回折格子１３に入射した平行光束は、第１方向 V_1 にかけて分岐した第１回折光束群と、第２方向 V_2 にかけて分岐した第２回折光束群と、第３方向 V_3 にかけて分岐した第３回折光束群とに変換される。

[0048] 第１回折光束群には、０次回折光束及び±１次回折光束が含まれ、このうち互いの次数が共通である±１次回折光束は、光軸 O に関して対称な方向に進行し、０次回折光束は、光軸 O に沿って進行する。

[0049] 同様に、第２回折光束群には、０次回折光束及び±１次回折光束が含まれ、このうち互いの次数が共通である±１次回折光束は、光軸 O に関して対称な方向に進行し、０次回折光束は、光軸 O に沿って進行する。

[0050] 同様に、第３回折光束群には、０次回折光束及び±１次回折光束が含まれ、このうち互いの次数が共通である±１次回折光束は、光軸 O に関して対称な方向に進行し、０次回折光束は、光軸 O に沿って進行する。

[0051] これら第１回折光束群の±１次回折光束、第２回折光束群の±１次回折光束、第３回折光束群の±１次回折光束は、前述した集光レンズ１６により、瞳共役面６Ａ'の互いに異なる位置に集光される。

[0052] そして、図２（Ｂ）に示すように、第１回折光束群の±１次回折光束の集光点１４ｄ、１４ｇは、光軸 O に関して対称であり、集光点１４ｄ、１４ｇの配列方向は第１方向 V_1 に対応している。

[0053] また、第２回折光束群の±１次回折光束の集光点１４ｃ、１４ｆは、光軸 O に関して対称であり、集光点１４ｃ、１４ｆの配列方向は、第２方向 V_2 に対応している。なお、第２回折光束群の集光点１４ｃ、１４ｆから光軸 O までの距離は、第１回折光束群の集光点１４ｄ、１４ｇから光軸 O までの距離と同じである。

[0054] また、第３回折光束群の±１次回折光束の集光点１４ｂ、１４ｅは、光軸

〇に関して対称であり、集光点 1 4 b、1 4 e の配列方向は、第 3 方向 V_3 に対応している。なお、第 3 光束群の集光点 1 4 b、1 4 e から光軸 〇までの距離は、第 1 回折光束群の集光点 1 4 d、1 4 g から光軸 〇までの距離と同じである。

[0055] また、図 2 (B) に示すように、第 1～第 3 回折光束群の各群の 0 次回折光束の集光点 1 4 a は、光軸 〇上に位置する。

[0056] そして、以上の回折格子 1 3 は、 piezo モータ等からなる並進機構 1 5 A (図 1 参照) によって並進移動が可能である。並進機構 1 5 A による回折格子 1 3 の並進移動の方向は、照明光学系 1 〇の光軸 〇と垂直な方向であって、前述した第 1 方向 V_1 、第 2 方向 V_2 、第 3 方向 V_3 の各々に対して非垂直な方向である。この方向に回折格子 1 3 が並進移動すると、干渉縞の位相がシフトする (詳細は後述。)。

[0057] 次に、0 次光シャッタ 2 〇 〇を詳しく説明する。

[0058] 図 3 (A) は、0 次光シャッタ 2 〇 〇を説明する図である。図 3 (A) に示すとおり 0 次光シャッタ 2 〇 〇は、円形の透明基板の一部に円形の遮光部 2 〇 〇 C を形成してなる空間フィルタである。

[0059] 0 次光シャッタ 2 〇 〇の遮光部 2 〇 〇 C は、第 1～第 3 回折光束群に共通する 0 次回折光束の光路 (集光点 1 4 a) をカバーし、0 次光シャッタ 2 〇 〇の非遮光部 (透過部 2 〇 〇 B) は、第 1～第 3 回折光束群の各群の ± 1 次回折光束の光路 (集光点 1 4 b～1 4 g) をカバーする。

[0060] この 0 次光シャッタ 2 〇 〇は、回動機構 2 〇 〇 A (図 1 参照) により、照明光学系 1 〇の光軸 〇と平行、かつその光軸 〇から離れた直線 (軸 A R) の周りに回動可能である。

[0061] なお、回動機構 2 〇 〇 A には、例えば、0 次光シャッタ 2 〇 〇を保持し、かつ軸 A R の周りに回転可能な不図示の回動軸と、その回動軸へ回転力を与える不図示のモータ (回転モータ) とが備えられる。このモータが駆動されると、回転軸が回転し、0 次光シャッタ 2 〇 〇が軸 A R の周りに回転する。

[0062] 0 次光シャッタ 2 〇 〇の回動角が図 3 (A) に示した基準角度 (0°) に

設定されると、遮光部 200C が 0 次回折光束の光路に挿入され、0 次光シャッタ 200 の回動角が基準角度から外れた所定角度（例えば 30° ）に設定されると、遮光部 200C が 0 次回折光束の光路から外れる。

[0063] したがって、0 次光シャッタ 200 の回動角を 0° と 30° との間で切り換えれば、第 1 ～第 3 回折光束群の各群の ± 1 次回折光束をオンしたまま 0 次回折光束のみをオン／オフすることができる。

[0064] 但し、0 次光シャッタ 200 の回動角が基準角度（ 0° ）、所定角度（ 30° ）の何れである場合にも、0 次光シャッタ 200 の遮光部 200C は、第 1 ～第 3 回折光束群の各群の ± 1 次回折光束の光路を遮ることは無いものとする。

[0065] また、ここでは 0 次光シャッタ 200 を回動可能な空間フィルタとしたが、スライド可能な空間フィルタや、固定配置された液晶素子などで 0 次光シャッタ 200 を構成してもよい。なお、液晶素子の配向を電氣的に制御すれば、液晶素子の屈折率異方性を制御することができるので、液晶素子を 0 次光シャッタ 200 として機能させることができる。

[0066] 次に、光束選択部材 18 を詳しく説明する。

[0067] 図 3（B）は、光束選択部材 18 を説明する図である。図 3（B）に示すとおり光束選択部材 18 は、円形の不透明基板（マスク用基板）に、複数の円形開口部 18a、複数の円形開口部 18b、複数の円形開口部 18c、複数の円形開口部 18d、複数の円形開口部 18e、複数の円形開口部 18f、複数の円形開口部 18g を形成してなる空間フィルタである。

[0068] この光束選択部材 18 は、回動機構 18A（図 1 参照）によって回動可能であり、光束選択部材 18 の回動軸は、照明光学系 10 の光軸 O と平行であって、その光軸 O から外れている。因みに、光束選択部材 18 の回動軸は、0 次光シャッタ 200 の軸 AR と一致している必要はないが、ここでは簡単のため軸 AR と一致していると仮定する。

[0069] なお、回動機構 18A には、例えば、光束選択部材 18 を保持し、かつ軸 AR の周りに回転可能な回動軸と、その回動軸へ回動力を与える不図示のモ

ータ（回転モータ）とが備えられる。このモータが駆動されると回転軸が回転し、光束選択部材18が軸ARの周りに回転する。

[0070] また、このように光束選択部材18の軸ARを照明光学系10の光軸Oから外しておけば、第1方向 V_1 に分岐した ± 1 次回折光束（集光点14d、14g）から軸ARまでの距離と、第2方向 V_2 に分岐した ± 1 次回折光束（集光点14c、14f）から軸ARまでの距離と、第3方向 V_3 に分岐した ± 1 次回折光束（集光点14b、14e）から軸ARまでの距離とを、互いにずらすことができる。

[0071] このようにすれば、第1方向 V_1 に分岐した ± 1 次回折光束（集光点14d、14g）が光束選択部材18に描く掃引軌道と、第2方向 V_2 に分岐した ± 1 次回折光束（集光点14c、14f）が光束選択部材18に描く掃引軌道と、第3方向 V_3 に分岐した ± 1 次回折光束（集光点14b、14e）が光束選択部材18に描く掃引軌道とを、互いに分離することができる。

[0072] ここでは、軸ARまでの距離が全ての回折光束（全ての集光点14a～14d）の間でずれていると仮定する。この場合、全ての回折光束（全ての集光点14a～14d）の間で軌道が分離される。

[0073] 図3（B）に示した軌道Oaは集光点14aの軌道であり、軌道Obは集光点14bの軌道であり、軌道Ocは集光点14cの軌道であり、軌道Odは集光点14dの軌道であり、軌道Oeは集光点14eの軌道であり、軌道Ofは集光点14fの軌道であり、軌道Ogは集光点14gの軌道である。

[0074] 光束選択部材18の軌道Oa上には、18個の開口部18aが 20° の角度周期で等間隔に配置されている。これら18個の開口部18aは、光束選択部材18が 20° 回転する度に集光点14aを開放する。なお、この集光点14aは、光束選択部材18の回転角に拘らず、前述した0次光シャッタ200によって適宜に遮光することが可能であるが、図3（B）では0次光シャッタ200によって遮光されていない状態を想定した。

[0075] 光束選択部材18の軌道Ob上には、6個の開口部18bが 60° の角度周期で等間隔に配置されている。これら6個の開口部18bは、光束選択部

材 1 8 が 60° 回転する度に集光点 1 4 b を開放する。

[0076] 光束選択部材 1 8 の軌道 O c 上には、6 個の開口部 1 8 c が 60° の角度周期で等間隔に配置されている。これら 6 個の開口部 1 8 c は、光束選択部材 1 8 が 60° 回転する度に集光点 1 4 c を開放する。

[0077] 光束選択部材 1 8 の軌道 O d 上には、6 個の開口部 1 8 d が 60° の角度周期で等間隔に配置されている。これら 6 個の開口部 1 8 d は、光束選択部材 1 8 が 60° 回転する度に集光点 1 4 d を開放する。

[0078] 光束選択部材 1 8 の軌道 O e 上には、6 個の開口部 1 8 e が 60° の角度周期で等間隔に配置されている。これら 6 個の開口部 1 8 e は、光束選択部材 1 8 が 60° 回転する度に集光点 1 4 e を開放する。

[0079] 光束選択部材 1 8 の軌道 O f 上には、6 個の開口部 1 8 f が 60° の角度周期で等間隔に配置されている。これら 6 個の開口部 1 8 f は、光束選択部材 1 8 が 60° 回転する度に集光点 1 4 f を開放する。

[0080] 光束選択部材 1 8 の軌道 O g 上には、6 個の開口部 1 8 g が 60° の角度周期で等間隔に配置されている。これら 6 個の開口部 1 8 g は、光束選択部材 1 8 が 60° 回転する度に集光点 1 4 g を開放する。

[0081] また、個々の開口部 1 8 a ~ 1 8 g のサイズは、個々の集光点（図 3 の符号 1 4 a ~ 1 4 g）のスポット相当のサイズに設定される。

[0082] 但し、少なくとも ± 1 次回折光束に関係する開口部（開口部 1 8 b ~ 1 8 g）の各々のサイズは、光源波長の切り換え又は光源の多波長化に対処できるよう十分な大きさを有しているものとする。なぜなら、回折格子 1 3 における ± 1 次回折光束の回折角度は光源波長に依存するので、照明光学系 1 0 の光軸 O から集光点 1 4 b、1 4 c、1 4 d、1 4 e、1 4 f、1 4 g までの高さは光源波長に依存する。因みに、光源波長を λ とおき、回折格子 1 3 の構造周期を P とおき、レンズ 1 6 の焦点距離を f_c とおくと、照明光学系 1 0 の光軸 O から集光点 1 4 b、1 4 c、1 4 d、1 4 e、1 4 f、1 4 g までの高さ D は、 $D \propto 2 f_c \lambda / P$ で表される。

[0083] また、軸 A R の周りにおける 1 8 個の開口部 1 8 a の全体の形成位置と、

軸A Rの周りにおける6個の開口部1 8 bの全体の形成位置と、軸A Rの周りにおける6個の開口部1 8 cの全体の形成位置と、回転軸A Rの周りにおける6個の開口部1 8 dの全体の形成位置と、軸A Rの周りにおける6個の開口部1 8 eの全体の形成位置と、軸A Rの周りにおける6個の開口部1 8 fの全体の形成位置と、軸A Rの周りにおける6個の開口部1 8 gの全体の形成位置との関係は、光束選択部材1 8によって同時に開放される集光点が、第1方向 V_1 、第2方向 V_2 、第3方向 V_3 の何れか1方向に配列された集光点のみに制限されるように設定されている。図3 (B)に示したのは、第1方向 V_1 に配列した集光点1 4 d、1 4 a、1 4 gのみが開放された様子である。

[0084] 以下、軸A Rの周りにおける光束選択部材1 8の回動角を θ' とおき、図4に示すような回動角 θ' を $\theta' = 0^\circ$ とおく。また、光束選択部材1 8によって開放される集光点の配列方向を光軸O周りの角度で表し、それを「光束選択角度 θ 」と称すると共に、図4に示すような光束選択角度 θ を $\theta = 0^\circ$ とおく。

[0085] 先ず、図4に示すとおり、光束選択部材1 8の回動角 θ' が 0° であるとき、光束選択角度 θ は 0° となる（集光点の配列方向は第1方向 V_1 ）。

[0086] 次に、図5に示すとおり、光束選択部材1 8の回動角 θ' が 20° であるとき、光束選択角度 θ は 60° となる（集光点の配列方向は第2方向 V_2 ）。

[0087] 次に、図6に示すとおり、光束選択部材1 8の回動角 θ' が 40° であるとき、光束選択角度 θ は 120° となる（集光点の配列方向は第3方向 V_3 ）。

[0088] 次に、図7に示すとおり、光束選択部材1 8の回動角 θ' が 60° であるとき、光束選択角度 θ は 180° となる（集光点の配列方向は第1方向 V_1 ）。

[0089] 次に、図8に示すとおり、光束選択部材1 8の回動角 θ' が 80° であるとき、光束選択角度 θ は 240° となる（集光点の配列方向は第2方向 V_2 ）。

[0090] 次に、図9に示すとおり、光束選択部材18の回動角 θ' が 100° であるとき、光束選択角度 θ は 300° となる（集光点の配列方向は第3方向 V_3 ）。

[0091] したがって、本実施形態では、光束選択部材18を軸ARの周りに 20° の角度周期で回動させるだけで、選択される回折光束の分岐方向を 60° の角度周期で回動させること（つまり干渉縞の方向を 60° の角度周期で回動させること）ができる。

[0092] ここで、比較のために従来例を説明する。従来例では、回折格子として、単一方向にかけて周期構造を有する1方向回折格子を用い、干渉縞の方向を 60° の角度周期で切り換えるために、その回折格子を 60° の角度周期で回動させていた。図12に示すとおり、干渉縞の方向を 60° だけ回動させるための所要時間 t_1 は約 80ms と長いのに対して、撮像素子の電荷蓄積時間は例えば約 5ms 、撮像素子の電荷読出時間は例えば約 $10\sim 35\text{ms}$ と短い。このため従来例では、撮像素子のフレーム周期を定める際に、干渉縞の方向を 60° だけ回動させるための所要時間 t_1 が律速となり、フレーム周期を短くすることが難しかった。

[0093] しかしながら、本実施形態では、干渉縞の方向を切り換えるための部材（ここでは光束選択部材181）の回動角度周期が 20° に抑えられるので、干渉縞の方向を 60° だけ回動させるための所要時間 t_2 は、従来例の所要時間 t_1 よりも大幅に短くなる。図13に示した三角形OAt₁の面積は、従来例における回折格子の回動量（ 60° ）に相当し、三角形OA't₂の面積は、本実施形態における光束選択部材18の回動量（ 20° ）に相当する。本実施形態の所要時間 t_2 は、三角形OA't₂の面積が三角形OAt₁の面積の $1/3$ になるような時間である（但し、従来例の回折格子の光軸周りの慣性モーメントと本実施形態の光束選択部材18の軸ARの周りの慣性モーメントとは等しいと仮定した。）。よって、本実施形態の所要時間 t_2 は、従来例の所要時間 t_1 の $1/3$ よりは長いものの、従来例の所要時間 t_1 より格段に短い（例えば、 $t_2 = 5\text{ms}$ である。）。したがって、

本実施形態では、その所要時間が短くなった分だけ撮像素子のフレーム周期を短くすることもできる。

[0094] 次に、偏光板 23 及び 1/2 波長板 17 の機能を詳しく説明する。

[0095] 図 10 は、偏光板 23 及び 1/2 波長板 17 の機能を説明する図である。

[0096] 偏光板 23 及び 1/2 波長板 17 は、標本 5 へ入射する回折光束の偏光状態を S 偏光に制御するために使用される。標本 5 へ入射する回折光束を S 偏光に制御すれば、干渉縞のコントラストを高く維持することができるからである。

[0097] 先ず、図 10 (A) に示すとおり、光束選択部材 18 で選択される回折光束群の分岐方向が第 1 方向 V_1 であるときには、その回折光束群の偏光方向は、図 10 (A) に点線矢印で示した方向 V_1' とされるべきである。方向 V_1' は、方向 V_1 を光軸 O 周りに 90° だけ回転させた方向である。

[0098] 次に、図 10 (B) に示すとおり、光束選択部材 18 で選択される回折光束群の分岐方向が第 2 方向 V_2 であるときには、その回折光束群の偏光方向は、図 10 (B) に点線矢印で示した方向 V_2' とされるべきである。方向 V_2' は、方向 V_2 を光軸 O 周りに 90° だけ回転させた方向である。

[0099] 次に、図 10 (C) に示すとおり、光束選択部材 18 で選択される回折光束群の分岐方向が第 3 方向 V_3 であるときには、その回折光束群の偏光方向は、図 10 (C) に点線矢印で示した方向 V_3' とされるべきである。この方向 V_3' は、方向 V_3 を光軸 O 周りに 90° だけ回転させた方向である。

[0100] そこで、本実施形態では、偏光板 23 の軸方向を、予め決められた方向に固定し、1/2 波長板 17 を回動機構 17A (図 1 参照) によって光軸 O の周りに回動させる。

[0101] なお、回動機構 17A には、例えば、1/2 波長板 17 を保持し、かつ光軸 O の周りに回転可能な不図示の保持部材と、その保持部材の周りに形成された不図示の第 1 の歯車と、第 1 の歯車に噛み合う不図示の第 2 の歯車と、第 2 の歯車に連結された不図示のモータ (回転モータ) とが備えられる。このモータが駆動されると第 2 の歯車が回転し、その回転力が第 1 の歯車へと

伝達され、1/2波長板17が光軸Oの周りに回転する。

[0102] ここでは、偏光板23の軸方向を、白抜き矢印で示すとおり方向 V_2' と同じに固定する。この場合、1/2波長板17へ入射する時点における回折光束群の偏光方向は、方向 V_2' と同じになる。

[0103] よって、図10(A)に示すとおり、選択される回折光束群の分岐方向が第1方向 V_1 であるときには、1/2波長板17の進相軸の方向は、図10(A)に実線矢印で示すとおり、方向 V_2' と方向 V_1' とを二等分する方向に設定されればよい。なお、1/2波長板17の進相軸とは、その軸の方向に偏光した光が1/2波長板17を通過するときの位相遅延量が最小となるような方向のことである。

[0104] また、図10(B)に示すとおり、選択される回折光束群の分岐方向が第2方向 V_2 であるときには、1/2波長板17の進相軸の方向は、図10(B)に実線矢印で示すとおり、方向 V_2' と同じに設定されればよい。

[0105] また、図10(C)に示すとおり、選択される回折光束群の分岐方向が第3方向 V_3 であるときには、1/2波長板17の進相軸の方向は、図10(C)に実線矢印で示すとおり、方向 V_1' と方向 V_3' とを二等分する方向に設定されればよい。

[0106] したがって、光軸O周りにおける1/2波長板17の回転角を θ'' とおき、分岐方向が第1方向 V_1 であるときにおける回転角 θ'' を $\theta'' = -30^\circ$ とおくと、分岐方向が第2方向第1方向 V_2 であるとき(図10(B))には回転角 θ'' を 0° に設定し、分岐方向が第3方向 V_3 であるとき(図10(C))には回転角 θ'' を $+30^\circ$ に設定すればよい。

[0107] すなわち、本実施形態では、回動機構18Aが光束選択部材18の回転角 θ' を 20° の角度周期で「 0° 」→「 20° 」→「 40° 」と切り換える際に、回動機構17Aは1/2波長板17の回転角 θ'' を 30° の角度周期で「 -30° 」→「 0° 」→「 $+30^\circ$ 」と切り換えればよい。

[0108] なお、本実施形態では、1/2波長板17の回転角 θ'' を1角度周期(ここでは 30°)だけ切り換えるために必要な時間は5 msec未満と仮定す

る。この時間は、光束選択部材 18 を 1 角度周期（ここでは 20° ）だけ切り換えるために必要な時間とほぼ同等である。

[0109] 上述したとおり本実施形態では、干渉縞の方向を切り換えるために必要な時間（ここでは光束選択部材 18 を 1 角度周期だけ切り換えるために必要な時間）を抑えたので、 $1/2$ 波長板の進相軸の回動角を 1 角度周期だけ切り換えるために必要な時間も、それと同等以下に抑えられることが望ましい。

[0110] そのために例えば、回動可能な $1/2$ 波長板 17 の代わりに、固定配置された液晶素子を使用し、その液晶素子を $1/2$ 波長板 17 として機能させてもよい。液晶素子の配向を電氣的に制御すれば、液晶素子の屈折率異方性を高速に制御することができるので、 $1/2$ 波長板としての進相軸を高速に回転させることができる。因みに、標本 5 に入射する回折光束群を S 偏光に保つための方法は他にもある（後述）。

[0111] 次に、並進機構 15 A（図 1 参照）の機能を詳しく説明する。

[0112] 図 11 は、並進機構 15 A の機能を説明する図である。

[0113] 先ず、上述した復調演算には、例えば、同一の標本 5 かつ同一方向の干渉縞に関する変調画像であって、干渉縞の位相の異なる 2 枚以上の変調画像が使用される可能性がある。なぜなら、構造化照明顕微鏡装置 1 が生成する変調画像には、標本 5 の蛍光領域の構造のうち、干渉縞により空間周波数の変調された構造情報である 0 次変調成分、+1 次変調成分、-1 次変調成分が含まれており、それら 3 つの未知パラメータを復調演算で既知とする必要があるからである。

[0114] そこで、並進機構 15 A は、干渉縞の位相をシフトするために、図 11（A）に示すように、照明光学系 10 の光軸 O と垂直な方向であって、前述した第 1 方向 V_1 、第 2 方向 V_2 、第 3 方向 V_3 の全てに対して非垂直な方向（ $\times$ 方向）にかけて回折格子 13 をシフトさせる。

[0115] 但し、干渉縞の位相を所望のシフト量 ϕ だけシフトさせるのに必要な回折格子 13 のシフト量 L は、光束選択部 24 による光束選択方向（＝選択される回折光束群の分岐方向）が第 1 方向 V_1 であるときと、第 2 方向 V_2 である

ときと、第3方向 V_3 であるときとは限らない。

[0116] 図11(B)に示すとおり、回折格子13の第1方向 V_1 、第2方向 V_2 、第3方向 V_3 の各々の構造周期を P とおき、回折格子13のシフト方向(x 方向)と第1方向 V_1 とのなす角を θ_1 とおき、回折格子13のシフト方向(x 方向)と第2方向 V_2 とのなす角を θ_2 とおき、回折格子13のシフト方向(x 方向)と第3方向 V_3 とのなす角を θ_3 とおくと、光束選択方向が第1方向 V_1 であるときに必要な回折格子13の x 方向のシフト量 L_1 は、 $L_1 = \phi \times P / (a \times 4\pi \times |\cos \theta_1|)$ で表され、光束選択方向が第2方向 V_2 であるときに必要な回折格子13の x 方向のシフト量 L_2 は、 $L_2 = \phi \times P / (a \times 4\pi \times |\cos \theta_2|)$ で表され、光束選択方向が第3方向 V_3 であるときに必要な回折格子13の x 方向のシフト量 L_3 は、 $L_3 = \phi \times P / (a \times 4\pi \times |\cos \theta_3|)$ で表される。

[0117] すなわち、干渉縞の位相シフト量を所望の値 ϕ とするために必要な回折格子13の x 方向のシフト量 L は、光束選択方向(第1方向 V_1 、第2方向 V_2 、第3方向 V_3 の何れか)と x 方向とのなす角 θ により式(1)のとおり表される。

$$[0118] \quad L = \phi \times P / (a \times 4\pi \times |\cos \theta|) \quad \dots (1)$$

因みに、干渉縞の位相シフト量 ϕ を 2π とするために必要な回折格子13の x 方向のシフト量 L は、 $P / (a \times 2 \times |\cos \theta|)$ となる。これは、回折格子13の半周期に相当する量である。つまり、回折格子13を半周期分シフトさせるだけで、構造化照明光の位相を1周期分シフトできる(なぜなら、 ± 1 次回折光からなる構造化照明光の縞周期は、回折格子13の構造周期の2倍に相当する。)

[0119] 但し、 $a = 1$ ($M = 1, 2$ のとき)、 $a = 2$ ($M = 3$ のとき)である。 M は、回折格子13が有する周期構造の方向数である。

[0120] 次に、制御装置39の動作手順を説明する。

[0121] 制御装置39は、以下の手順(1)～(5)を実行することにより、超解像画像を生成するのに必要なデータを取得する。

- [0122] (1) 制御装置 39 は、レーザユニット 100 の出射波長（光源波長）を、2 種類の波長 λ_1 、 λ_2 の双方に設定する。また、回動機構 200 A を駆動することにより、0 次回折光束をオフする。
- [0123] (2) 制御装置 39 は、回動機構 18 A、17 A を駆動することにより、光束選択部材 18 の回動角 θ' を 0° に設定すると共に、1/2 波長板 17 の回動角 θ'' を -30° に設定する。
- [0124] (3) 制御装置 39 は、並進機構 15 A を駆動することにより、干渉縞の位相を複数段階にシフトさせると共に、それら位相の各々の下で、レーザユニット 100、第 1 撮像素子 351、第 2 撮像素子 352 を駆動することにより、複数枚の画像を波長毎に取得する。
- [0125] (4) 制御装置 39 は、回動機構 18 A、17 A を駆動することにより、光束選択部材 18 の回動角 θ' を $+20^\circ$ だけ変化させると共に、1/2 波長板 17 の回動角 θ'' を $+30^\circ$ だけ変化させる。そして制御装置 39 は、その設定下で手順 (3) を実行する。
- [0126] (5) 回動機構 18 A、17 A を駆動することにより、光束選択部材 18 の回動角 θ' を $+20^\circ$ だけ変化させると共に、1/2 波長板 17 の回動角 θ'' を $+30^\circ$ だけ変化させる。そして制御装置 39 は、その設定下で手順 (3) を実行する（以上、手順 (5)）。
- [0127] 上述したとおり本実施形態では、干渉縞の方向切り換えを高速化できるので、手順 (4)、(5) を高速化することができる。したがって、本実施形態では、超解像に必要なデータの取得速度を高めることができる。
- [0128] なお、本実施形態の制御装置 39 は、手順 (1) ~ (5) からなる一連の処理を繰り返し、本実施形態の画像記憶・演算装置 40 は、その一連の処理が完了する度に超解像画像の生成（更新）を行ってもよい。上述したとおり本実施形態では一連の処理が高速化されるので、超解像画像の更新頻度も高まる。
- [0129] 但し、一連の処理を繰り返す場合、2 回目以降の処理では、制御装置 39 は上述した手順 (1)、(2) の代わりに以下の手順 (1') を実行すれば

よい。

[0130] (1') 制御装置 39 は、回動機構 18A、17A を駆動することにより、光束選択部材 18 の回動角 θ' を $+20^\circ$ だけ変化させると共に、1/2 波長板 17 の回動角 θ'' を -30° に設定する。

[0131] [第 1 実施形態の補足]

なお、上述した実施形態では、光軸 O 周りに 60° の角度周期で複数の分岐光路（複数の集光点）が形成されるように回折光束の分岐パターン（回折格子の構造）を設定し、光束選択部材 18 を 20° の角度周期で回動させることにより標本 5 へ入射する回折光束の分岐方向を切り換えた。

[0132] しかし、光軸 O 周りにおける分岐光路の形成角度周期（集光点の形成角度周期）と、回動軸周りにおける光束選択部材 18 の回動角度周期との組み合わせは、前者の角度周期よりも後者の回動角度周期の方が小さいのであれば、他の組み合わせに設定されてもよい。例えば、光軸 O 周りにおける分岐光路の形成角度周期を 60° 、光束選択部材 18 の回動角度周期を 30° としてもよく、光軸 O 周りにおける分岐光路の形成角度周期を 90° 、光束選択部材 18 の回動角度周期を 45° としてもよい。

[0133] また、上述した実施形態では、複数の光束から一部の光束を選択する部材（光束選択部材）として、透過型のマスク部材（つまり、透過部からなる開口部と遮光部からなる非開口部とを有したマスク部材）を使用したが、反射型のマスク部材（つまり、反射部からなる開口部と遮光部からなる非開口部とを有したマスク部材）を使用してもよい。

[0134] また、透過型のマスク部材において、開口部の透過率、非開口部の透過率は、それぞれ 100% 、 0% であることが望ましいが、開口部の透過率の方が非開口部の透過率よりも高ければ、それぞれ 100% 、 0% から外れていてもよい。

[0135] また、反射型のマスク部材において、開口部の反射率、非開口部の反射率は、それぞれ 100% 、 0% であることが望ましいが、開口部の反射率の方が非開口部の反射率よりも高ければ、それぞれ 100% 、 0% から外れてい

てもよい。

[0136] また、上述した実施形態では、光軸Oから集光点までの高さを、TIRFMに適した高さ、SIMに適した高さとの間で切り替えるために、光路に挿入される回折格子13を、TIRF-SIMモード用の回折格子と、SIMモード用の回折格子との間で切り替えてもよい。TIRF-SIMモード用の回折格子と、SIMモード用の回折格子の間では、互いの構造周期が異なる。

[0137] また、上述した実施形態では、0次光回折光束をオフして標本5へ投影する干渉縞を2光束干渉縞とした（すなわち、構造化照明顕微鏡装置1を2D-SIMモードで使用する例を説明した）が、0次光回折光束をオンすれば、標本5へ投影する干渉縞を3光束干渉縞とすること（すなわち、構造化照明顕微鏡装置1を3D-SIMモードで使用する）も可能である。

[0138] 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2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の深さ方向にも超解像効果を得ることができる。

[0139] 但し、構造化照明顕微鏡装置1を3D-SIMモードで使用する場合には、0次回折光束と±1次回折光束との間の強度バランスを調整するために、例えば0次回折光束の単独光路へ減光フィルタ（NDフィルタ）を配置することが望ましい。これを実現するためには、例えば、光束選択部材18における18個の開口部18aの各々に減光膜を設けてもよい。

[0140] また、2D-SIMモードと3D-SIMモードの間では、画像記憶・演算装置40が実行すべき復調演算の内容が異なる。なぜなら、2D-SIMモードで生成される変調画像には、蛍光の0次変調成分、蛍光の+1次変調成分、蛍光の-1次変調成分の3成分が重畳されているのに対して、3D-SIMモードで生成される変調画像には、蛍光の0次変調成分、蛍光の+1次変調成分、蛍光の-1次変調成分、蛍光の+2次変調成分、蛍光の-2次変調成分の5成分が重畳されているからである。

- [0141] また、2D-SIMモードと3D-SIMモードとの間では、変調画像に重畳する変調成分の数が異なるので、制御装置43が取得すべき変調画像のフレーム数なども異なる。
- [0142] また、上述した実施形態では、干渉縞の位相をシフトさせるために回折格子13をシフトさせたが、回折格子13をシフトさせる代わりに、±1次回折光束の光路長差を変化させてもよい。その場合は、例えば、+1次回折光束の光路と-1次回折光束の光路との少なくとも一方に対して位相板を挿脱させてもよい。
- [0143] 但し、位相板の厚さと位相シフト量との関係は、使用波長によって異なるので、厚さの異なる複数の位相板をターゲットに装着し、それらの位相板を光源波長に応じて選択的に光路へ挿入してもよい。
- [0144] また、上述した実施形態では、光源波長の数を2としたが、1としてもよく、また、2以上に拡張してもよい。
- [0145] また、上述した実施形態では、標本5に入射する±1次回折光束をS偏光に保つために、光軸Oの周りを回動可能な1/2波長板17を使用したか、固定配置された1/4波長板と光軸Oの周りを回動可能な1/4波長板との組み合わせを使用してもよい。
- [0146] その場合、固定配置された1/4波長板の進相軸の方向は、その1/4波長板に入射する回折光束の偏光方向に対して45°の角度を成すように設定され、回動可能な1/4波長板の進相軸の方向は、その1/4波長板を射出する回折光束が有すべき偏光方向に対して45°の角度を成すように設定される。
- [0147] 但し、回動可能な1/4波長板を使用する場合、その1/4波長板を60°の角度周期で回動させる必要があるため、干渉縞の方向切り換え速度をより高めるためには、回動可能な1/4波長板よりも回動可能な1/2波長板（回動角度周期は30°）を使用するか、或いは、波長板の代わりに固定配置された液晶素子（進相軸の方向は電気制御）を使用することが望ましい。
- [0148] また、上述した実施形態では、干渉縞（2D-SIMモードの2光束干渉

縞又は3D-SIMモードの3光束干渉縞)を形成するための回折光として、 ± 1 次回折光及び0次回折光の組み合わせを用いたが、他の組み合わせを用いてもよい。3光束干渉縞を形成するためには、回折次数の間隔が等間隔な3つの回折光による3光束干渉を生起させればよいので、例えば、0次回折光、1次回折光、2次回折光の組み合わせ、 ± 2 次回折光及び0次回折光の組み合わせ、 ± 3 次回折光及び0次回折光の組み合わせ、などを用いることが可能である。

[0149] なお、上述した何れかの例の照明光学系10は、対物レンズ6による落射照明光学系で構成されたが、これに限られず、対物レンズ6に代えてコンデンサレンズによる透過・反射照明光学系で構成されてもよい。その場合、集光点が形成されるのは、コンデンサレンズの瞳面である。

[0150] [実施形態のまとめ]

以上、本実施形態の構造化照明装置(照明光学系10)は、光源(レーザユニット100)からの射出光束を所定の軸(光軸O)の周りで分岐方向が異なる複数の分岐光束(集光点14a~14gなど)に分岐する分岐部(回折格子13)と、複数の分岐光束のうち、所定の分岐方向の所定数の分岐光束(集光点14d、14gなど)のみを選択する所定数の選択部(開口部)からなる組を少なくとも1組有した光束選択部材(18)と、選択された所定数の分岐光束による干渉縞を標本(5)に形成する光学系(集光レンズ25、フィールドレンズ27、対物レンズ6)と、光学系の光軸から外れた軸(AR)の周りに光束選択部材(18)を回動させ、選択される所定数の分岐光束の組み合わせを切り換えることにより、干渉縞の方向を切り換える回動機構(18A)とを備え、光束選択部材(18)の回動に伴って光束選択部材(18)上を移動する分岐光束であって、干渉縞の形成に寄与する分岐光束(集光点14a~14gなど)の各軌跡(掃引軌道Oa~Ogなど)上には、1以上の選択部(開口部)が形成されている。

[0151] したがって、本実施形態の構造化照明装置(照明光学系10)は、干渉縞の方向切り換えに必要な光束選択部材(18)の回動角度周期を、小さく抑

えることが可能である。

[0152] また、本実施形態の構造化照明装置（照明光学系 10）では、光束選択部材（18）の回動に伴って光束選択部材（18）上を移動する分岐光束であって、干渉縞の形成に寄与する分岐光束の各軌跡（掃引軌道 $Oa \sim Og$ など）上には、2 以上の選択部（開口部）が形成されている。

[0153] したがって、本実施形態の構造化照明装置（照明光学系 10）は、干渉縞の方向切り換えに必要な光束選択部材（18）の回動角度周期を、更に小さく抑えることが可能である。

[0154] また、本実施形態の構造化照明装置（照明光学系 10）では、切り換え前に選択される所定数の分岐光束のうち少なくとも 2 つ（ ± 1 次回折光束）と、切り換え後に選択される所定数の分岐光束のうち少なくとも 2 つ（ ± 1 次回折光束）との間では、軌跡が互いに分離されている。

[0155] また、本実施形態の構造化照明装置（照明光学系 10）では、複数の分岐光束（集光点 $14b \sim 14g$ ）の間で軌跡が互いに分離されるように設定されている。

[0156] したがって、光束選択部材（18）に形成すべき選択部（開口部）の配置自由度が高められ、光束選択部材（18）の回動角度周期を小さく抑えることが容易になる。

[0157] また、本実施形態の構造化照明装置（照明光学系 10）では、複数の分岐光束（集光点 $14a \sim 14g$ ）には、光軸（O）周りに第 1 角度周期で分岐した複数の分岐光束（集光点 $14b \sim 14g$ ）が含まれ、回動の角度周期は、第 1 角度周期よりも小さい第 2 角度周期である。

[0158] したがって、光束選択部材（18）の回動角度周期は、複数の分岐光束（集光点 $14b \sim 14g$ ）の分岐角度周期より小さい。

[0159] 例えば、本実施形態の構造化照明装置（照明光学系 10）において、第 1 の角度周期が 60° であり、第 2 の角度周期が 20° であるならば、光束選択部材（18）の回動角度周期は、複数の分岐光束（集光点 $14b \sim 14g$ ）の分岐角度周期の $1/3$ となる。

[0160] また、本実施形態の構造化照明装置（照明光学系 10）は、干渉縞の位相をシフトさせる位相シフト部（並進機構 15A）を更に備える。

[0161] また、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置（1）は、本実施形態の照明装置（照明光学系 10）と、干渉縞で空間変調された標本の画像である変調画像を撮像する撮像素子（351、352）とを備える。

[0162] また、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置（1）は、変調画像に基づき標本の復調画像を生成する演算手部（画像記憶・演算装置 40）を更に備える。

[0163] したがって、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置（1）は、復調画像の生成を効率的に行うことができる。

[0164] [第2のまとめ]

以下、別の視点で本実施形態を説明する。

[0165] 本実施形態の照明装置（照明光学系 10）は、光源（レーザユニット 100）からの光を複数の光束（集光点 14a～14g など）に分岐する分岐部（回折格子 13 など）と、複数の光束から一部の光束（集光点 14d、14g など）を選択する光束選択部材（18）と、選択された一部の光束で物体（標本 5）を照明する光学系（集光レンズ 25、フィールドレンズ 27、対物レンズ 6 など）と、光束選択部材を回動させることにより照明を切り換える回動機構（18A）とを有し、光束選択部材の回動軸（軸 AR）は、複数の光束の分岐中心（光軸 O）から外れた位置に設けられ、回動軸を中心とする 2 以上の円（掃引軌道 Ob、Oc など）の各周上には、光束を選択する選択部（開口部）が所定の間隔で複数設けられる。

[0166] また、本実施形態の照明装置（照明光学系 10）では、2 以上の円（掃引軌道 Ob、Oc など）の各周上には、光束を選択する選択部（開口部）と光束を選択しない非選択部（遮光部）とが交互に設けられている。

[0167] また、本実施形態の照明装置（照明光学系 10）では、複数の光束（集光点 14a～14g）それぞれに対応して円（掃引軌道 Oa～Og）が設けられている。

- [0168] また、複数の光束には、互いに異なる方向（方向 V_1 、 V_2 、 V_3 など）に分歧した複数の光束群が含まれ、複数の光束群のうち一部の光束として選択されるのは1方向の光束群のみであり、物体は、1方向の光束群による干渉縞で照明される。
- [0169] また、複数の光束群の少なくとも2方向（方向 V_1 、 V_2 など）それぞれに対応して円（掃引軌道）が設けられている。
- [0170] また、複数の光束群の各方向（方向 V_1 、 V_2 、 V_3 ）それぞれに対応して円（掃引軌道）が設けられている。
- [0171] また、光学系の光軸を中心とした複数の光束群の方向角度周期は、第1の角度周期であり、回動軸を中心とした複数の選択部の形成角度周期は、第1の角度周期よりも小さい第2の角度周期である。
- [0172] また、第1の角度周期は 60° であり、第2の角度周期は 20° である
また、分歧部は、回折光学素子である。
- [0173] また、本実施形態の照明装置（照明光学系10）は、干渉縞の位相をシフトさせる位相シフト部（並進機構15A）を更に備える。
- [0174] また、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置（1）は、本実施形態の照明装置（照明光学系10）と、干渉縞で空間変調された物体の変調像を形成する結像光学系（30）と、結像光学系により形成された変調像を撮像して変調画像を生成する撮像素子（撮像素子351など）とを備える。
- [0175] また、本実施形態の構造化照明顕微鏡装置（1）は、撮像素子により生成された変調画像に基づき物体の復調画像を生成する演算部（画像記憶・演算装置40）を更に備える。

[0176] [その他]

なお、上述の各実施形態の要件は、適宜組み合わせることができる。また、一部の構成要素を用いない場合もある。また、法令で許容される限りにおいて、上述の各実施形態及び変形例で引用した装置などに関する全ての公開公報及び米国特許の開示を援用して本文の記載の一部とする。

符号の説明

[0177] 1…構造化照明顕微鏡装置、100…レーザユニット、11…光ファイバ、10…照明光学系、30…結像光学系、351…第1撮像素子、352…第2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、15…光束分岐部、16…集光レンズ、24…光束選択部、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、17…1/2波長板、18…光束選択部材、17A…回動機構、18A…回動機構、200…0次光シャッタ、200A…回動機構、15A…並進機構

請求の範囲

- [請求項1] 光源からの光を複数の光束に分岐する分岐部と、
前記複数の光束から一部の光束を選択する光束選択部材と、
選択された前記一部の光束で物体を照明する光学系と、
前記光束選択部材を回転させることにより前記照明を切り換える回転機構とを有し、
前記光束選択部材の回転軸は、前記複数の光束の分岐中心から外れた位置に設けられ、
前記回転軸を中心とする2以上の円の各周上には、光束を選択する選択部が所定の間隔で複数設けられている
ことを特徴とする照明装置。
- [請求項2] 請求項1に記載の照明装置において、
前記複数の光束それぞれに対応して前記円が設けられている
ことを特徴とする照明装置。
- [請求項3] 請求項2に記載の照明装置において、
前記2以上の円の各周上には、光束を選択する選択部と光束を選択しない非選択部とが交互に設けられている
ことを特徴とする照明装置。
- [請求項4] 請求項1に記載の照明装置において、
前記複数の光束には、互いに異なる方向に分岐した複数の光束群が含まれ、
前記複数の光束群のうち前記一部の光束として選択されるのは1方向の光束群のみであり、
前記物体は、前記1方向の光束群による干渉縞で照明される
ことを特徴とする照明装置。
- [請求項5] 請求項4に記載の照明装置において、
前記複数の光束群の少なくとも2方向それぞれに対応して前記円が設けられている

ことを特徴とする照明装置。

[請求項6]

請求項4に記載の照明装置において、

前記複数の光束群の各方向それぞれに対応して前記円が設けられている

ことを特徴とする照明装置。

[請求項7]

請求項4～請求項6の何れか一項に記載の照明装置において、

前記光学系の光軸を中心とした前記複数の光束群の方向角度周期は、第1の角度周期であり、

前記回転軸を中心とした複数の前記選択部の形成角度周期は、前記第1の角度周期よりも小さい第2の角度周期である

ことを特徴とする照明装置。

[請求項8]

請求項7に記載の照明装置において、

前記第1の角度周期は 60° であり、

前記第2の角度周期は 20° である

ことを特徴とする照明装置。

[請求項9]

請求項4～請求項8の何れか一項に記載の照明装置において、

前記分岐部は、

回折光学素子である

ことを特徴とする照明装置。

[請求項10]

請求項4～請求項9の何れか一項に記載の照明装置において、

前記干渉縞の位相をシフトさせる位相シフト部を更に備える

ことを特徴とする照明装置。

[請求項11]

請求項4～請求項10の何れか一項に記載の照明装置と、

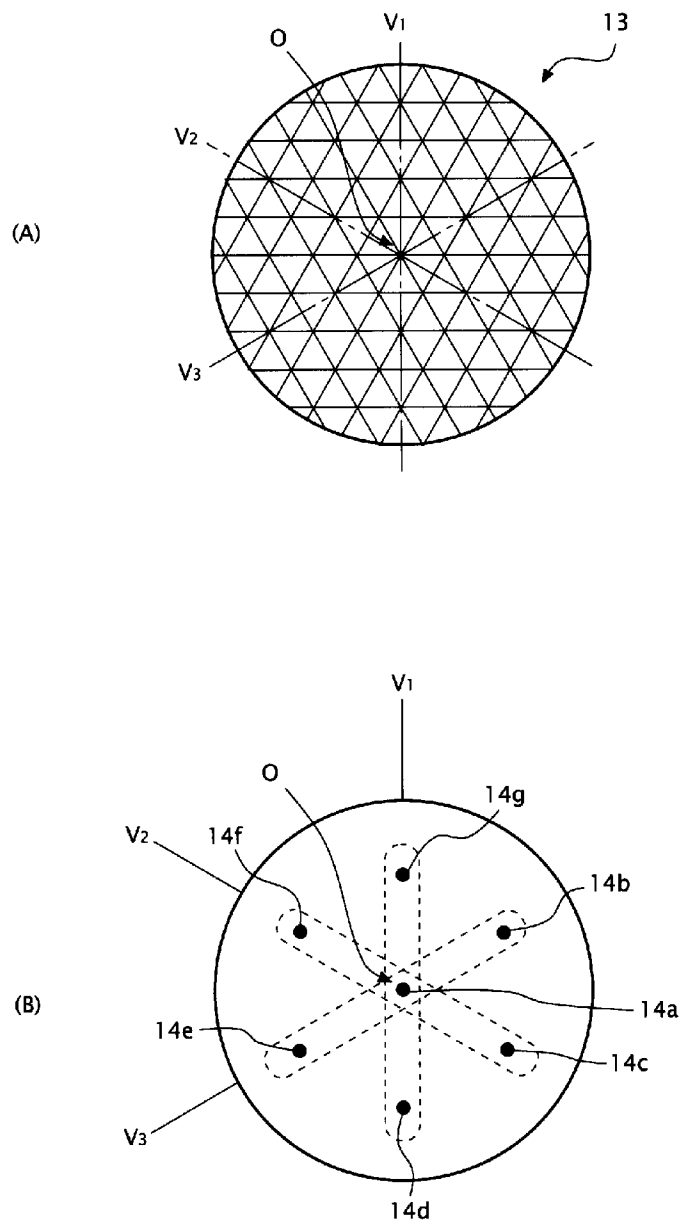
前記干渉縞で空間変調された前記物体の変調像を形成する結像光学系と、

前記結像光学系により形成された前記変調像を撮像して変調画像を生成する撮像素子と、

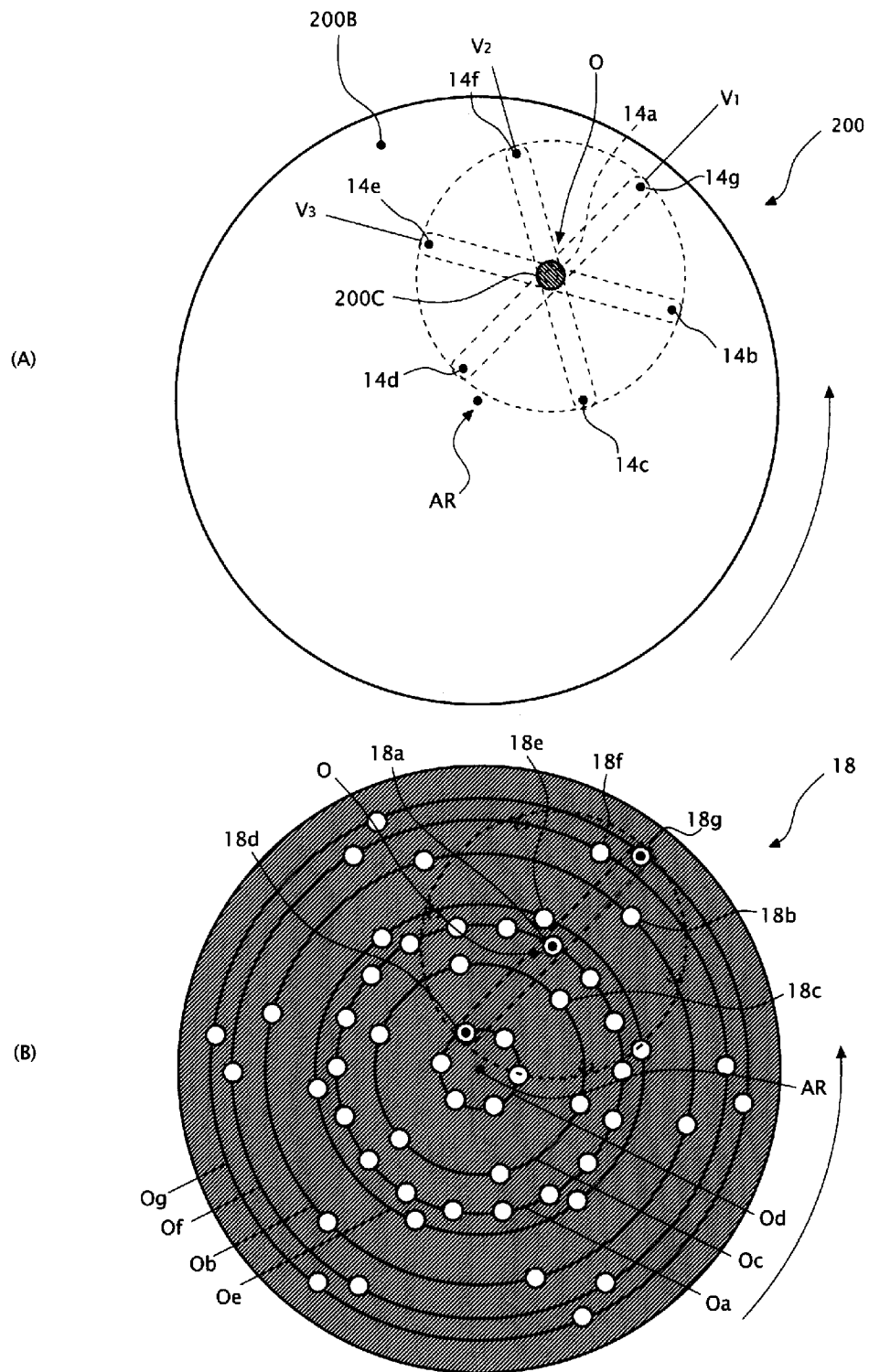
を備えたことを特徴とする構造化照明顕微鏡装置。

[請求項12] 請求項11に記載の構造化照明顕微鏡装置において、
前記撮像素子により生成された前記変調画像に基づき前記物体の復
調画像を生成する演算部を更に備える
ことを特徴とする構造化照明顕微鏡装置。

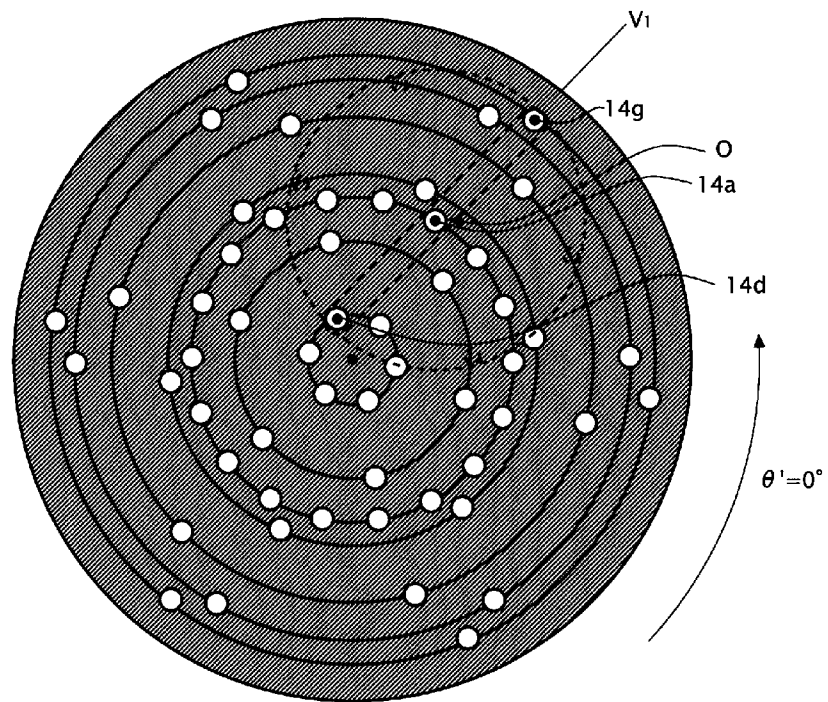
[図2]



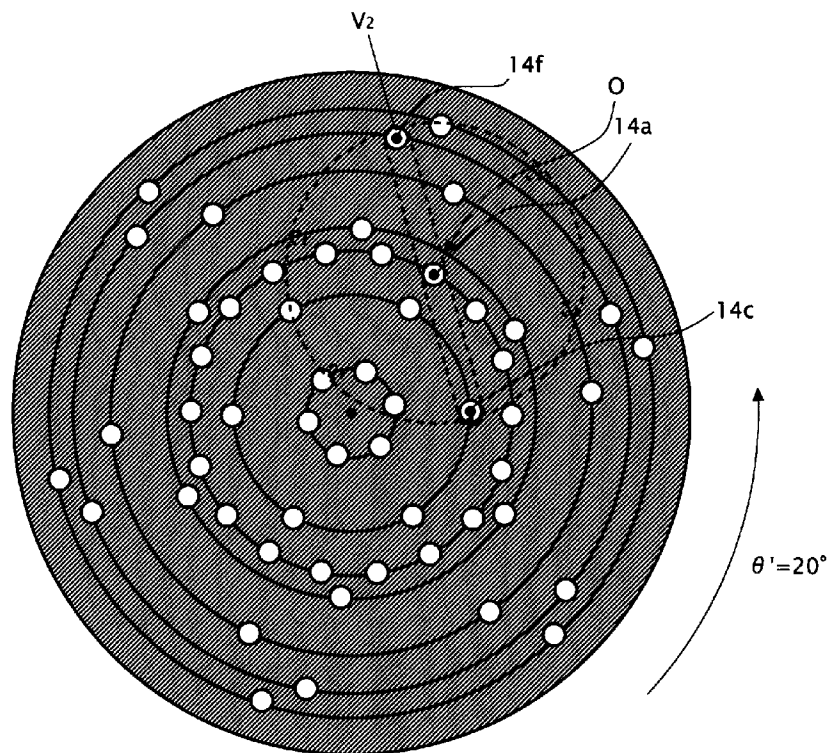
[図3]



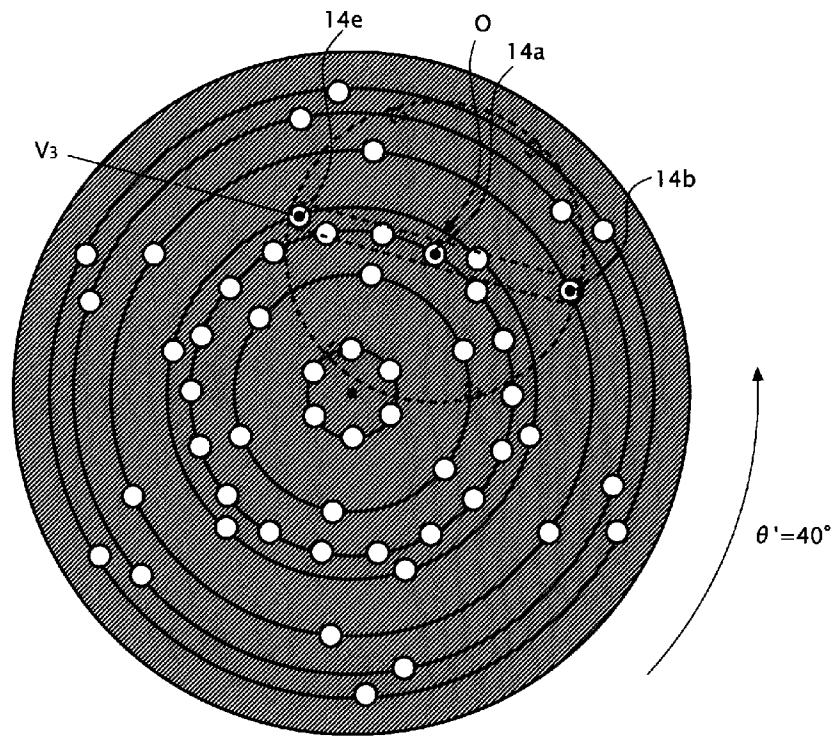
[図4]



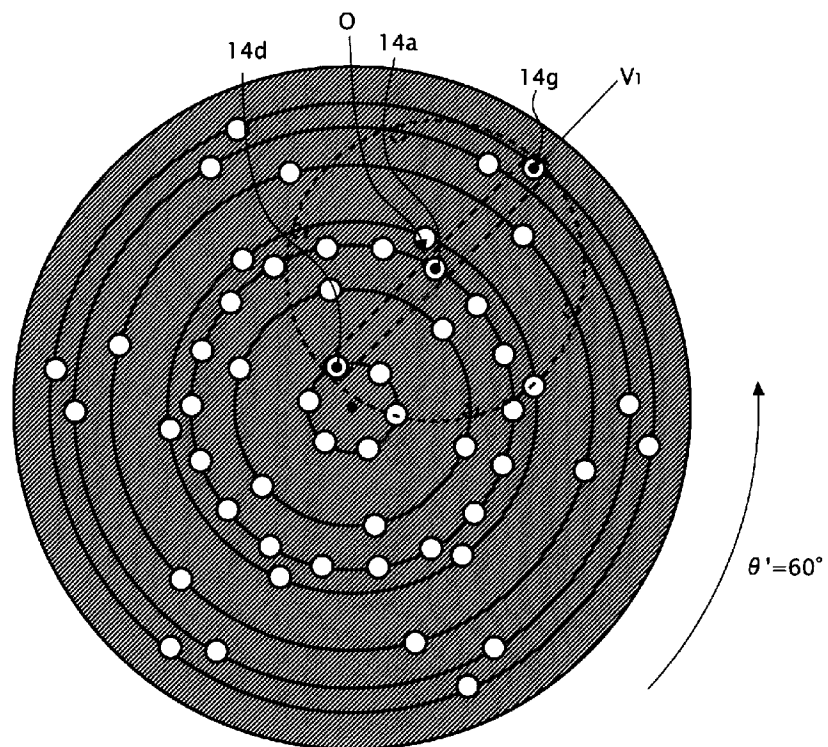
[図5]



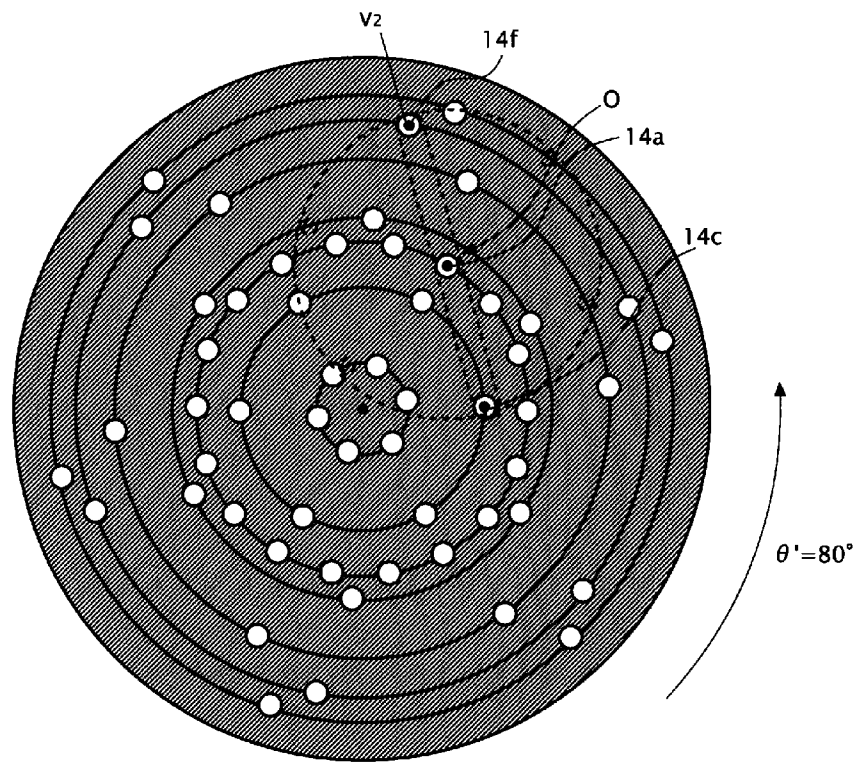
[図6]



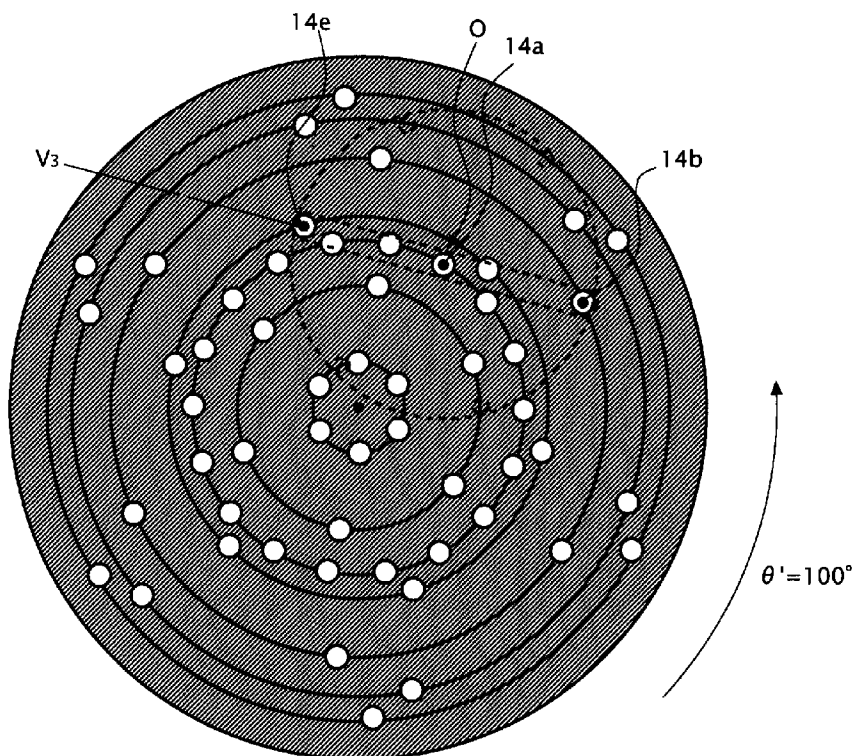
[図7]



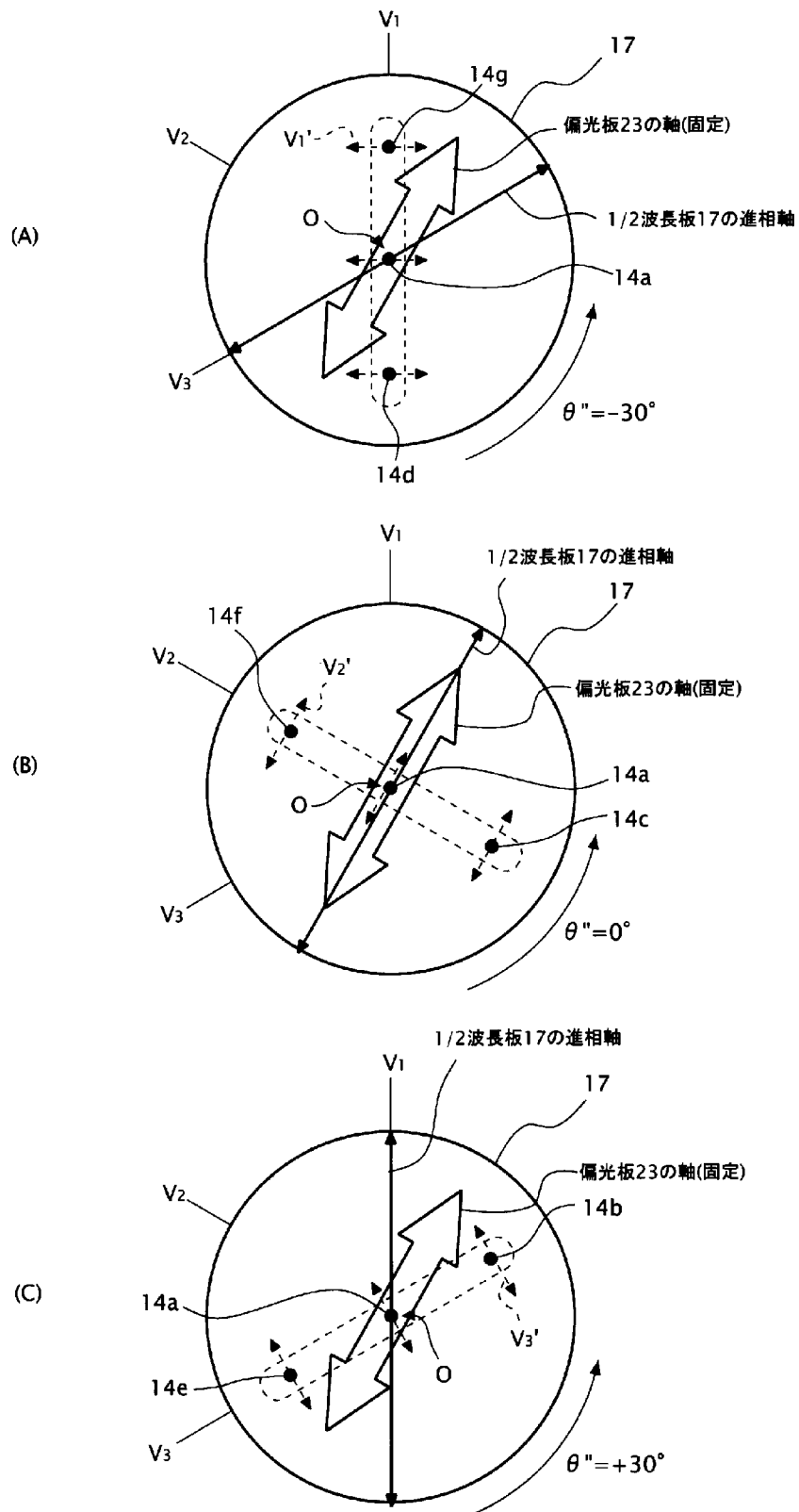
[図8]



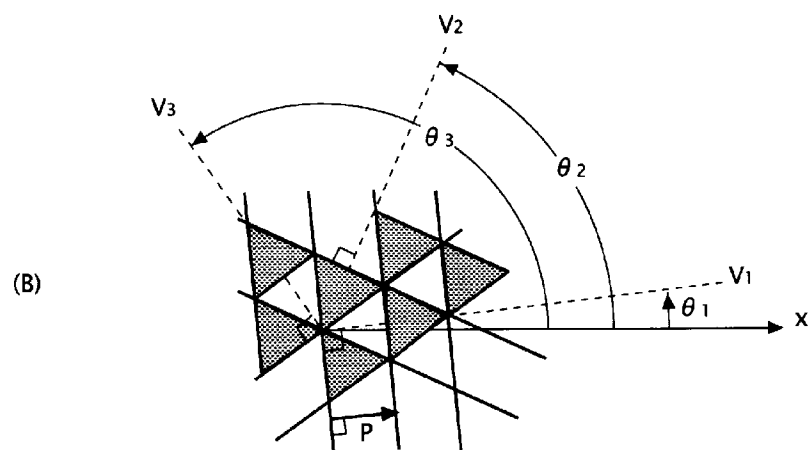
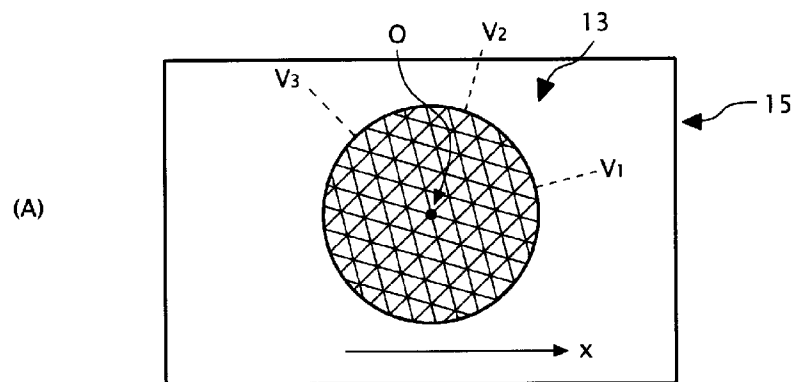
[図9]



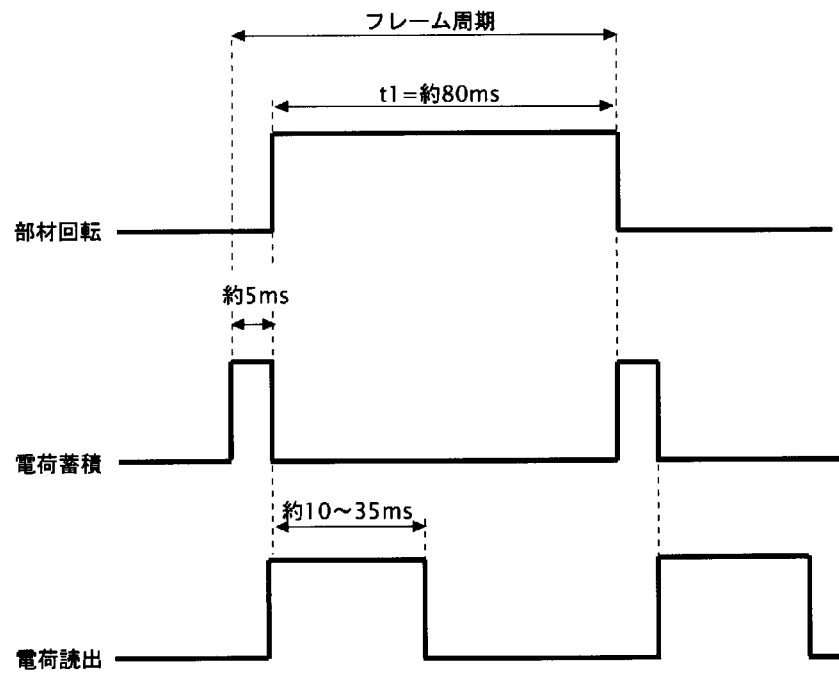
[図10]



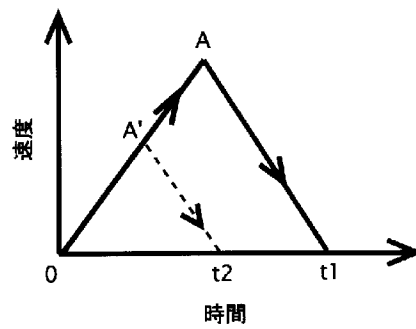
[図11]



[図12]



[図13]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/004009

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G02B21/06(2006.01) i, G01N21/64(2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G02B21/06, G01N21/64

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

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	WO 2013/108626 A1 (Nikon Corp.), 25 July 2013 (25.07.2013), paragraphs [0001] to [0339] (Family: none)	1-12
A	JP 2010-266406 A (Hitachi Kokusai Electric Inc.), 25 November 2010 (25.11.2010), paragraphs [0001] to [0025] (Family: none)	1-12
A	JP 2001-272603 A (Olympus Optical Co., Ltd.), 05 October 2001 (05.10.2001), paragraphs [0001] to [0026] (Family: none)	1-12

☐ 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
03 September, 2014 (03.09.14)

Date of mailing of the international search report
16 September, 2014 (16.09.14)

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. G02B21/06(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G02B21/06, G01N21/64

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	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 4 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 4 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 4 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	WO 2013/108626 A1（株式会社ニコン）2013.07.25, [0001]-[0339] （ファミリーなし）	1-12
A	JP 2010-266406 A（株式会社日立国際電気）2010.11.25, [0001]-[0025]（ファミリーなし）	1-12
A	JP 2001-272603 A（オリンパス光学工業株式会社）2001.10.05, [0001]-[0026]（ファミリーなし）	1-12

☐ 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 3 . 0 9 . 2 0 1 4

国際調査報告の発送日

1 6 . 0 9 . 2 0 1 4

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）

森内 正明

2 V

5 3 6 2

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