

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2010年12月16日(16.12.2010)

PCT

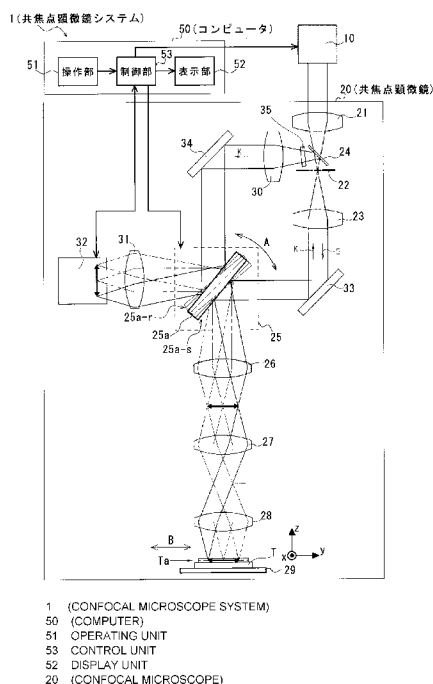
(10) 国際公開番号
WO 2010/143375 A1

- (51) 国際特許分類:
G02B 21/06 (2006.01) G02B 21/36 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/003681
- (22) 国際出願日: 2010年6月2日(02.06.2010)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2009-139233 2009年6月10日(10.06.2009) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社ニコン(NIKON CORPORATION) [JP/JP]; 〒1008331 東京都千代田区有楽町一丁目12番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 福田陽子(FUKUDA, Yoko) [JP/JP]; 〒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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告 (条約第21条(3))

(54) Title: MICROSCOPE DEVICE AND CONTROL PROGRAM

(54) 発明の名称: 顕微鏡装置および制御プログラム

[図1]



(57) Abstract: Disclosed is a microscope device which is provided with: an objective lens; a stage on which a subject to be inspected is placed; an image capturing unit which captures an image of the subject to be inspected; a moving unit which changes the relative positions of the objective lens and the stage in the optical axis direction of the objective lens; a calculating unit which obtains a luminance adjusting parameter for each of at least two surfaces at different positions in the optical axis direction in the subject; and a determining unit which, based on at least the two luminance adjusting parameters, determines luminance adjusting parameters to be used at the time of capturing images of the surfaces at different positions in the optical axis direction in the subject by means of the image capturing unit. Thus, at the time of generating the plurality of images at the different positions in the optical axis direction of the objective lens, variance in brightness of the plurality of generated images is suppressed.

(57) 要約: 対物レンズと、被検物を載置するステージと、被検物の像を撮像する撮像部と、対物レンズの光軸方向において、対物レンズとステージとの相対的な位置を変更する移動部と、光軸方向における位置が異なる少なくとも2つの被検物内の面のそれぞれについて、輝度調整パラメータを求める算出部と、少なくとも2つの輝度調整パラメータに基づいて、光軸方向における位置が異なる複数の被検物内の面のそれぞれにおいて、撮像部による撮像を行う際の輝度調整パラメータを決定する決定部とを備えることにより、対物レンズの光軸方向における位置が異なる複数の画像を生成する際に、生成される複数の画像における明るさのバラツキを抑える。

明 細 書

発明の名称：顕微鏡装置および制御プログラム

技術分野

[0001] 本発明は、顕微鏡装置および制御プログラムに関する。

背景技術

[0002] 従来より、対物レンズの光軸方向（いわゆるZ方向）における位置が異なる複数の画像を生成する顕微鏡装置が知られている。例えば、特許文献1の発明では、Z方向の位置が異なる複数の画像（スライス画像）から立体像を構築し、水平、垂直方向に射影した像の展開図を構築している。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開2005-326601号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] ところで、Z方向における対物レンズからの距離が長くなるほど、生成される画像は暗くなる傾向がある。このような問題に対処するためには、照明条件や撮影条件などをスライスごとに適宜指定する必要がある。このような指定は手間がかかるとともに経験が要求され、安定した観察を妨げる要因にもなる。

[0005] 本発明は上記問題に鑑みてなされたものであり、対物レンズの光軸方向における位置が異なる複数の画像を生成する際に、生成される複数の画像における明るさのバラツキを抑えることを目的とする。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明の顕微鏡装置は、対物レンズと、被検物を載置するステージと、前記被検物の像を撮像する撮像部と、前記対物レンズの光軸方向において、前記対物レンズと前記ステージとの相対的な位置を変更する移動部と、前記光軸方向における位置が異なる少なくとも2つの前記被検物内の面のそれぞれ

について、輝度調整パラメータを求める算出部と、少なくとも2つの前記輝度調整パラメータに基づいて、前記光軸方向における位置が異なる複数の前記被検物内の面のそれぞれにおいて、前記撮像部による撮像を行う際の輝度調整パラメータを決定する決定部とを備える。

[0007] なお、前記輝度調整パラメータは、前記被検物を照明する際の照明強度と、前記ステージの移動速度と、前記撮像部による撮像の時間間隔との少なくとも1つを含んでも良い。

[0008] また、前記被検物にレーザー光を照射する照明部を備え、前記輝度調整パラメータは、前記照明強度として、前記レーザー光の強度と、前記レーザー光を光源から発生させる際のゲインとの少なくとも一方を含んでも良い。

[0009] また、前記決定部は、少なくとも2つの前記輝度調整パラメータに基づいて、補間演算を行い、前記光軸方向における位置が異なる複数の面のそれぞれにおいて前記撮像部による撮像を行う際の輝度調整パラメータを決定しても良い。

[0010] また、前記移動部により前記ステージを所定の速度で移動しつつ、前記撮像部による撮像を所定の時間間隔で行い、複数のプレスキャン画像を生成する制御部を備え、前記算出部は、複数の前記プレスキャン画像に基づいて、前記被検物の前記光軸方向における両端に対応する面を推測し、前記両端に対応する面を含む複数の面のそれぞれについて、前記輝度調整パラメータを求めても良い。

[0011] また、前記制御部は、前記決定部により決定した前記輝度パラメータに基づいて、前記移動部により前記ステージを移動しつつ、前記撮像部による撮像を行い、複数の観察画像を生成しても良い。

[0012] また、複数の前記観察画像に基づいて、前記被検物の3次元画像を生成する3次元画像生成部を備えても良い。

[0013] また、上記発明に関する構成を、顕微鏡装置の制御をコンピュータで実現するための制御プログラムに変換して表現したものも本発明の具体的態様として有効である。

図面の簡単な説明

- [0014] [図1]本実施形態の共焦点顕微鏡システム1の構成を示す図である。
- [図2]観察画像を取得する際の制御部53の動作を示すフローチャートである。
- [図3]観察画像を取得する際の制御部53の動作を説明するタイミング図である。

発明を実施するための形態

- [0015] 以下、図面を用いて本発明の実施形態について説明する。
- [0016] 本実施形態では、図1に示す共焦点顕微鏡システム1を例に挙げて説明する。
- [0017] 共焦点顕微鏡システム1は、図1に示すように、光源部10と共焦点顕微鏡20とコンピュータ50とからなる。
- [0018] 光源部10は、共焦点顕微鏡20に対して照明光を射出する光源を備える。光源には、レーザーの他に、白色光である超高圧水銀ランプ、キセノンランプ、メタルハライドランプ等が用いられる。なお、光源として白色光を用いる場合には、光源と後述するビーム整形光学系との間に励起フィルタが設置される。以下では、レーザー光源を備える場合を例に挙げて説明する。
- [0019] 共焦点顕微鏡20は、ビーム整形光学系21、共焦点スリット絞り22、照明系コリメートレンズ23、ビームスプリッタ24、スキャナ25、スキャナレンズ26、第2対物レンズ27、対物レンズ28、ステージ29、結像系コリメートレンズ30、集光レンズ31、撮像部32、反射ミラー33・34、フィルタ35の各部を備える。ビーム整形光学系21は、例えばシリンドリカルマイクロレンズ等であり、ビームスプリッタ24は、例えばダイクロイックミラーである。また、フィルタ35は、例えばバリアフィルタである。スキャナ25は、両面が反射面であるスキャンミラー25aを備える。スキャンミラー25aは、図1中の矢印Aの方向に回動可能であり、回動することにより照射光を矢印Bの方向に走査する（詳細は後述する）。ステージ29には、例えば生体試料等の標本Tが静置される。また、ステージ

29は、不図示の駆動部により、3次元方向(図1中x y z方向)に移動可能である。撮像部32は、例えば、CCD等の撮像素子や受光素子等を備え、後述する結像光から2次元の輝度分布データ(観察画像)を生成する。

[0020] コンピュータ50は、マウスやキーボード等の操作部51、LCD等を備える表示部52、操作部51への操作を検知するとともに表示部52への画像等の表示を行う制御部53を備える。また、制御部53は、光源部10、スキャナ25、撮像部32を制御するとともに、撮像部32から2次元の観察画像を取得する(詳細は後述する)。

[0021] 次に、図1を参照して、共焦点顕微鏡システム1における導光について簡単に説明する。

[0022] 光源部10から射出した照明光は、ビーム整形光学系21により、一方方向に長いライン状の光束に形成される。このライン状の光束(以下「光束S」と称する)は、標本Tの観察面Taと光学的に共役な位置に集光する。そして、この位置には、複数本のスリット状の開口を有する共焦点スリット絞り22が設置される。

[0023] ビーム整形光学系21によりライン状に形成された光束Sは、共焦点スリット絞り22の開口に入射する。光束Sは、開口によって、所定の幅のライン状の光束に形成される。

[0024] 共焦点スリット絞り22を通過した光束Sは、照明系コリメートレンズ23により平行光に変換され、反射ミラー33によりスキャナ25の方向に反射される。そして、スキャンミラー25aの第1の面25a-sで反射された光束Sは、スキャナレンズ26の方向へ反射される。スキャナレンズ26を通過した光束Sは、第2対物レンズ27および対物レンズ28を順に通過して、標本Tの観察面Taにライン状の照明領域として集光される。

[0025] 標本T上に光束Sが照射されることにより、標本Tは蛍光を発したり光束Sを反射したりする。この蛍光もしくは反射光(以下「光束K」と称する)は、照明光である光束Sと逆の経路をたどって共焦点スリット絞り22へ導光される。すなわち、光束Kは、対物レンズ28、第2対物レンズ27、ス

キャナレンズ 26 を順に通過してスキャナ 25 に導かれる。そして、スキャンミラー 25 a の第 1 の面 25 a - s で反射された光束 K は、反射ミラー 33 の方向へ反射され、さらに、反射ミラー 33 により照明系コリメートレンズ 23 の方向に反射される。照明系コリメートレンズ 23 により集光された光束 K は、共焦点スリット絞り 22 に入射する。このとき、共焦点スリット絞り 22 は、結像光学系の共焦点絞りとして機能し、焦点から外れた余分な光をカットする。

[0026] 共焦点スリット絞り 22 を通過した光束 K は、ビームスプリッタ 24 により結像系コリメートレンズ 30 の方向へ反射される。そして、結像系コリメートレンズ 30 により平行光に変換された光束 K は、反射ミラー 34 によりスキャナ 25 の方向に反射される。そして、光束 K は、スキャンミラー 25 a の第 2 の面 25 a - r により集光レンズ 31 の方向へ反射され、集光レンズ 31 により 2 次元の輝度分布として撮像部 32 の検出面上に結像される。なお、撮像部 32 の検出面上に結像された輝度分布は、観察面 T a 上の輝度分布に対応する。

[0027] 以上説明した構成の共焦点顕微鏡システム 1 において、標本 T の観察画像を取得する際の制御部 53 の基本的な動作について図 1 を参照して説明する。操作部 51 を介して観察画像の取得が指示されると、制御部 53 はこれを検知し、光源部 10 を制御して標本 T に対する照明光の照射を開始する。また、制御部 53 は、スキャナ 25 を制御して、スキャンミラー 25 a を回動する。そして、スキャンミラー 25 a の振幅角を変化させることにより、標本 T への光束 S の照射領域をその短軸方向（矢印 B の方向）に移動させる。矢印 B の方向はスキャナ 25 による走査方向に相当し、スキャナ 25 は光束 S をスキャンして標本 T 上を走査する。さらに、スキャナ 25 は、標本 T において反射された光束 K をデスキャンして撮像部 32 に導く。

[0028] 次に、標本 T の観察画像を取得する際の制御部 53 の動作の詳細について図 2 のフローチャートおよび図 3 のタイミング図を参照して説明する。

[0029] なお、観察開始の指示に先だって、ユーザは、操作部 51 を操作して、ス

ステージ 29 を移動し、標本 T のうち、観察対象となる部分に対物レンズ 28 の視野中心に配置する。また、Z 方向についてもステージ 29 を移動し、観察対象となる部分に対して、おおよその焦点合わせを行う。なお、ユーザは、これらの調整を、撮像部 32 により取得され、表示部 52 に表示される観察画像を目視して行うことができる。また、共焦点顕微鏡システム 1 が、位相差観察可能な構成を有する場合には、ユーザは、この位相差画像を目視して、上述した調整を行っても良い。

[0030] ステップ S1 において、制御部 53 は、観察開始指示が行われたか否かを判定する。制御部 53 は、観察開始指示が行われたと判定するまで待機し、観察開始指示が行われたと判定するとステップ S2 に進む。観察開始指示は、操作部 51 を介したユーザ操作により行われる。また、共焦点顕微鏡システム 1 が、タイマーなどを有する場合には、このタイマーに基づいて制御部 53 自身が観察開始指示を行っても良い。

[0031] ステップ S2 において、制御部 53 は、各部を制御し、プレスキャンを行う。このプレスキャンは、後述するステップ S3 において、Top スライスおよび Bottom スライスを検出することを目的としたスキャンである。制御部 53 は、ステージ 29 を Z 方向に移動しつつ、撮像部 29 による撮像を行い、複数のプレスキャン画像を取得する。

[0032] なお、プレスキャンは、所定の照明条件、撮像条件で行われる。例えば、撮像条件については、実際の観察（以下、「本観察」と称する）を行う際よりも、低解像度であっても良い。また、プレスキャンにおける Z 方向の開始点および終了点は、例えば、観察開始指示が行われた時点の Z 方向の位置を基準とし、上下に所定の幅だけ移動した位置とする。また、プレスキャンの間隔（ステージ 29 の移動速度および撮像部 32 による撮像間隔）は、操作部 51 を介したユーザ操作などにより予め指定されても良いし、制御部 53 により自動で指定しても良い。

[0033] ステップ S3 において、制御部 53 は、ステップ S2 で行ったプレスキャンにより得られた複数のプレスキャン画像に基づいて、Top スライスおよ

びBottomスライスを検出する。

[0034] 制御部53は、まず、ステップS2で得られた複数のプレスキャン画像のそれぞれについて、輝度分布のヒストグラムを求め、対象物（例えば、細胞など）の有無を判断する。対象物の有無は、プレスキャン実行時の照明条件および撮像条件に基づいて予め定められる閾値と、各プレスキャン画像の輝度値との比較により判断することができる。なお、上述した閾値は、操作部51を介したユーザ操作などにより指定可能としても良い。

[0035] 制御部53は、例えば、対物レンズ28に近い方から順に、Z方向に沿って対象物の有無を判断し、最初に「対象物がある」と判断したプレスキャン画像をTopスライスとする。さらに、制御部53は、Z方向に沿って対象物の有無を判断し、「対象物がある」から「対象物がない」に変化したプレスキャン画像をBottomスライスとする。

[0036] なお、より正確にTopスライスおよびBottomスライスを検出する場合には、「対象物がない」から「対象物がある」に変化した時点、および、「対象物がある」から「対象物がない」に変化した時点で、1枚前のプレスキャン画像に関する対象物の有無の判断を、閾値に関する条件を狭く変更して再び行っても良い。このような構成とすれば、山登りAFのように、より正確にTopスライスおよびBottomスライスを検出することができる。

[0037] また、検出したTopスライスおよびBottomスライスは、後述する本観察の際のZ方向の移動範囲に反映される。そのため、この移動範囲に、対象物の存在する部分を確実に含ませるために、Topスライスは対物レンズ28により近い位置とし、Bottomスライスは対物レンズ28からより遠い位置としても良い。例えば、Topスライスについては、最初に「対象物がある」と判断したプレスキャン画像よりも、対物レンズ28側に近いプレスキャン画像をTopスライスとし、Bottomスライスについては、「対象物がある」から「対象物がない」に変化したプレスキャン画像よりも、対物レンズ28から遠いプレスキャン画像をBottomスライスとし

ても良い。

[0038] なお、ステップS 2で説明したプレスキャンとステップS 3で説明したT o pスライスおよびB o t t o mスライスの検出とを同時に行っても良い。すなわち、制御部5 3は、プレスキャン画像を取得するたびに対象物の有無を判断する。このような構成とすることにより、T o pスライスを検出するまではプレスキャンの間隔を狭くし、T o pスライスを検出した後はプレスキャンの間隔を広くするなど、より適切かつ無駄の無いプレスキャンを行うことも可能である。

[0039] ステップS 4において、制御部5 3は、ステップS 3で検出したT o pスライスおよびB o t t o mスライスを基準として、基準スライスを選択する。基準スライスは、後述するステップS 5において、輝度調整パラメータの調整を行う対象となるスライスである。T o pスライスおよびB o t t o mスライスを基準としてどのようなスライスを基準スライスとして選択するかは、予め定められていても良いし、操作部5 1を介したユーザ操作などにより指定可能としても良い。ここでは、T o pスライスおよびB o t t o mスライスに加えて、T o pスライスおよびB o t t o mスライスの1 / 3および2 / 3に該当するスライスの計4スライスを基準スライスとして選択するものとして説明する。

[0040] ステップS 5において、制御部5 3は、ステップS 4において選択した基準スライスに対して輝度調整パラメータの調整を行う。ここでは、輝度調整パラメータとして、光源部1 0におけるレーザー光源のレーザー強度を例にあげて説明する。

[0041] 制御部5 3は、ステップS 4において選択した基準スライスのそれぞれについて、レーザー強度を調節しつつ、撮像部3 2による撮像を行う。そして、撮像により得られた画像から指標値を求めて、閾値と比較することにより最適な輝度調整パラメータを決定する。指標値は、輝度のヒストグラムや輝度飽和ピクセル数などである。例えば、輝度値が0 ~ 4 0 9 5であって、輝度値が4 0 9 5である画素（輝度飽和ピクセル）の比率が0 . 0 5 ~ 0 . 0

6%である場合には、その時のレーザー強度が最適な輝度調整パラメータであると判断することができる。

[0042] なお、輝度調整パラメータは、予めリニアリティ補正されているものとする。また、レーザー強度を調節しつつ、撮像部32による撮像を行って得られた画像を表示部52に表示しても良い。

[0043] さらに、所定回数の調節を行っても最適な輝度調整パラメータを求められない場合には、指標値と比較する閾値を変更し、条件を緩くして再度最適な輝度調整パラメータを求めても良い。また、表示部52などを利用して、最適な輝度調整パラメータを求められないことをユーザに報知しても良い。

[0044] このようにして求めた基準スライスごとの輝度調整パラメータは、スライスごとに異なる値となる。輝度調整パラメータがレーザー強度である場合には、対物レンズ28から遠いスライスほど、レーザー強度の値は大きくなる。

[0045] ステップS6において、制御部53は、ステップS5で行った輝度調整パラメータの調整結果に基づいて、本観察のスライスごとに輝度調整パラメータを決定する。

[0046] 制御部53は、後述するステップS7における本観察のスライスごとの輝度調整パラメータを求める。本観察の対象となるスライスは、予め定められていても良いし、操作部51を介したユーザ操作などにより指定可能としても良い。ここでは、ステップS3で検出したTopスライスからBottomスライスの間で、ステップS2で行ったプレスキャンと同じ間隔のスライスを本観察の対象とする。

[0047] 制御部53は、例えば、ステップS5で求めた基準スライスの輝度調整パラメータを用いてスプライン補間を行い、各スライスの輝度調整パラメータを決定する。なお、直線補間など、スプライン補間以外の補間方法を用いても良い。また、ステップS4で選択した基準スライスの数に応じて補間方法を決定しても良い。

[0048] ステップS7において、制御部53は、各部を制御し、本観察（Zスタック

ク観察）を行う。制御部 53 は、ステージ 29 を Z 方向に移動しつつ、撮像部 29 による撮像を行い、複数の観察画像を取得する。

[0049] なお、本観察は、ステップ S 6 で決定したスライスごとの輝度調整パラメータを用いて行われる。すなわち、制御部 53 は、ステージ 29 を Z 方向に移動するたびに、そのスライスの輝度調整パラメータを用いて撮像部 29 による撮像を行う。なお、本観察の際には、撮像により得られた複数の観察画像から 3 次元画像を生成しても良い。

[0050] ステップ S 8 において、制御部 53 は、ステップ S 7 で行った本観察により生成した複数の観察画像を記録部（不図示）に記録し、一連の処理を終了する。なお、ステップ S 7 において 3 次元画像を生成した際には、制御部 53 は、3 次元画像のみを記録しても良いし、3 次元画像とともに複数の観察画像を記録しても良い。さらに、画像を記録する際に、ステップ S 6 で決定したスライスごとの輝度調整パラメータを画像と関連付けて記録しても良い。

[0051] <実施形態の追加>

ステップ S 2 およびステップ S 3 を行わずに、所定の条件にしたがってステップ S 4 で説明した基準スライスを選択しても良い。例えば、観察開始指示が行われた時点の Z 方向の位置を基準とし、上下に所定の幅だけ移動した位置を基準スライスとしても良い。

[0052] ステップ S 5 以降において、輝度調整パラメータとして、光源部 10 におけるレーザー光源のレーザー強度を例にあげて説明したが、最終的に撮像部 32 に入射する入射光の強度（輝度）を調整可能な他のパラメータを用いても良い。例えば、スキャン速度（1 ラインにレーザー光を照射する時間など）を輝度調整パラメータとしても良いし、電圧調整による光源部 10 のゲインを輝度調整パラメータとしても良い。また、2 つ以上のパラメータを組み合わせ用いても良い。それぞれのパラメータは、照明光の強度、観察に要する時間、撮像部 32 により得られる画像の画質、標本 T に与える影響等が異なる。そのため、標本 T の種類や観察の目的などに合わせて適宜輝度調整

パラメータを選択可能な構成としても良い。さらに、上記した以外の輝度調整パラメータを用いても良い。

[0053] 図3の例では、プレスキャン時のスライスの何れかを基準スライスとして選択する場合を例示したが、プレスキャン時のスライスの中に相当するスライスを基準スライスとして選択しても良い。また、図3の例では、プレスキャン時のスライスの間隔と、本観察時のスライスの間隔とが一致している場合を例示したが、これらは必ずしも一致していなくても良い。いずれの場合も、補間演算などにより対処することができる。

[0054] 図2のフローで説明した一連の処理を自動で行わずに、ユーザの認証を受けて次のステップに進んでも良い。例えば、ステップS3のTopスライスおよびBottomスライスの検出後、ステップS4の基準スライス選択後、ステップS6の輝度調整パラメータ決定後などに、ユーザによる確認ステップを設けても良い。

[0055] ステップS4で選択した基準スライスや、ステップS6で決定した輝度調整パラメータなどをデータベース化して記録しておき、以降の観察時に利用しても良い。例えば、標本Tの種類（Topスライス、Bottomスライス等を含む）や観察の条件（プレスキャン時のスライスの間隔、本観察時のスライスの間隔など）が異なる観察を行う際に、制御部53は、データベースから、以前行った観察時に記録した基準スライスや輝度調整パラメータなどを読み出し、条件に応じて適宜演算を行って微調整する。このようにすれば、改めて図2のフローのステップS2からステップS6で説明した処理を行うことなく、適切な本観察を行うことができる。

[0056] 以上説明したように、本実施形態によれば、対物レンズと、被検物を載置するステージと、被検物の像を撮像する撮像部と、対物レンズの光軸方向において、対物レンズとステージとの相対的な位置を変更する移動部とを備え、光軸方向における位置が異なる少なくとも2つの被検物内の面のそれぞれについて、輝度調整パラメータを求め、少なくとも2つの輝度調整パラメータに基づいて、光軸方向における位置が異なる複数の被検物内の面のそれぞれ

れにおいて、撮像部による撮像を行う際の輝度調整パラメータを決定する。したがって、対物レンズからの距離に関係なく略同様の明るさの画像を取得することができる。このとき、ユーザは、照明条件や撮影条件などをスライスごとに指定する必要がない。そのため、対物レンズの光軸方向における位置が異なる複数の画像を生成する際に、生成される複数の画像における明るさのバラツキを抑えることができる。

[0057] なお、本実施形態の図 1 で説明した以外の構成を有する顕微鏡装置にも、本発明を同様に適用することができる。例えば、従来から共焦点顕微鏡において一般的であるピンホール式の共焦点絞りを組み合わせても良い。すなわち、上述したスリット状の開口部を有する共焦点スリット絞りとピンホール式の共焦点絞りとを備え、使用する対物レンズの種類や観察対象である試料の種類等に応じて、適宜交換して使用する構成としても良い。

[0058] また、本実施形態では、光源部 10 と共焦点顕微鏡 20 とコンピュータ 50 とからなる共焦点顕微鏡システム 1 を例に挙げて説明したが、本発明はこの例に限定されない。例えば、本実施形態では、スキャナ 25 が照明系のスキャナと結像系のスキャナとを兼用する例を示したが、照明系のスキャナと結像系のスキャナとを独立に設ける構成でも良い。また、撮像部（単純な光検出器や電子カメラなどを含む）を交換可能な共焦点顕微鏡にも本発明を同様に適用することができる。さらに、本実施形態で説明した光源部やコンピュータを内蔵した共焦点顕微鏡にも本発明を同様に適用することができる。

符号の説明

[0059] 1…共焦点顕微鏡システム, 10…光源部, 20…共焦点顕微鏡, 29…ステージ, 32…撮像部, 50…コンピュータ, 53…制御部

請求の範囲

- [請求項1] 対物レンズと、
被検物を載置するステージと、
前記被検物の像を撮像する撮像部と、
前記対物レンズの光軸方向において、前記対物レンズと前記ステージとの相対的な位置を変更する移動部と、
前記光軸方向における位置が異なる少なくとも2つの前記被検物内の面のそれぞれについて、輝度調整パラメータを求める算出部と、
少なくとも2つの前記輝度調整パラメータに基づいて、前記光軸方向における位置が異なる複数の前記被検物内の面のそれぞれにおいて、前記撮像部による撮像を行う際の輝度調整パラメータを決定する決定部と
を備えたことを特徴とする顕微鏡装置。
- [請求項2] 請求項1に記載の顕微鏡装置において、
前記輝度調整パラメータは、前記被検物を照明する際の照明強度と、
前記ステージの移動速度と、前記撮像部による撮像の時間間隔との少なくとも1つを含む
ことを特徴とする顕微鏡装置。
- [請求項3] 請求項2に記載の顕微鏡装置において、
前記被検物にレーザー光を照射する照明部を備え、
前記輝度調整パラメータは、前記照明強度として、前記レーザー光の強度と、前記レーザー光を光源から発生させる際のゲインとの少なくとも一方を含む
ことを特徴とする顕微鏡装置。
- [請求項4] 請求項1から請求項3の何れか1項に記載の顕微鏡装置において、
前記決定部は、少なくとも2つの前記輝度調整パラメータに基づいて、補間演算を行い、前記光軸方向における位置が異なる複数の面のそれぞれにおいて前記撮像部による撮像を行う際の輝度調整パラメータ

タを決定する

ことを特徴とする顕微鏡装置。

[請求項5]

請求項 1 から請求項 4 の何れか 1 項に記載の顕微鏡装置において、
前記移動部により前記ステージを所定の速度で移動しつつ、前記撮像部による撮像を所定の時間間隔で行い、複数のプレスキャン画像を生成する制御部を備え、

前記算出部は、複数の前記プレスキャン画像に基づいて、前記被検物の前記光軸方向における基準面を推測し、前記基準面を含む複数の面のそれぞれについて、前記輝度調整パラメータを求める

ことを特徴とする顕微鏡装置。

[請求項6]

請求項 1 から請求項 5 の何れか 1 項に記載の顕微鏡装置において、
前記制御部は、前記決定部により決定した前記輝度パラメータに基づいて、前記移動部により前記ステージを移動しつつ、前記撮像部による撮像を行い、複数の観察画像を生成する

ことを特徴とする顕微鏡装置。

[請求項7]

請求項 6 に記載の顕微鏡装置において、
複数の前記観察画像に基づいて、前記被検物の 3 次元画像を生成する 3 次元画像生成部を備える

ことを特徴とする顕微鏡装置。

[請求項8]

対物レンズと、被検物を載置するステージと、前記被検物の像を撮像する撮像部と、前記対物レンズの光軸方向において、前記対物レンズと前記ステージとの相対的な位置を変更する移動部とを備えた顕微鏡装置の制御をコンピュータで実現するための制御プログラムであって、

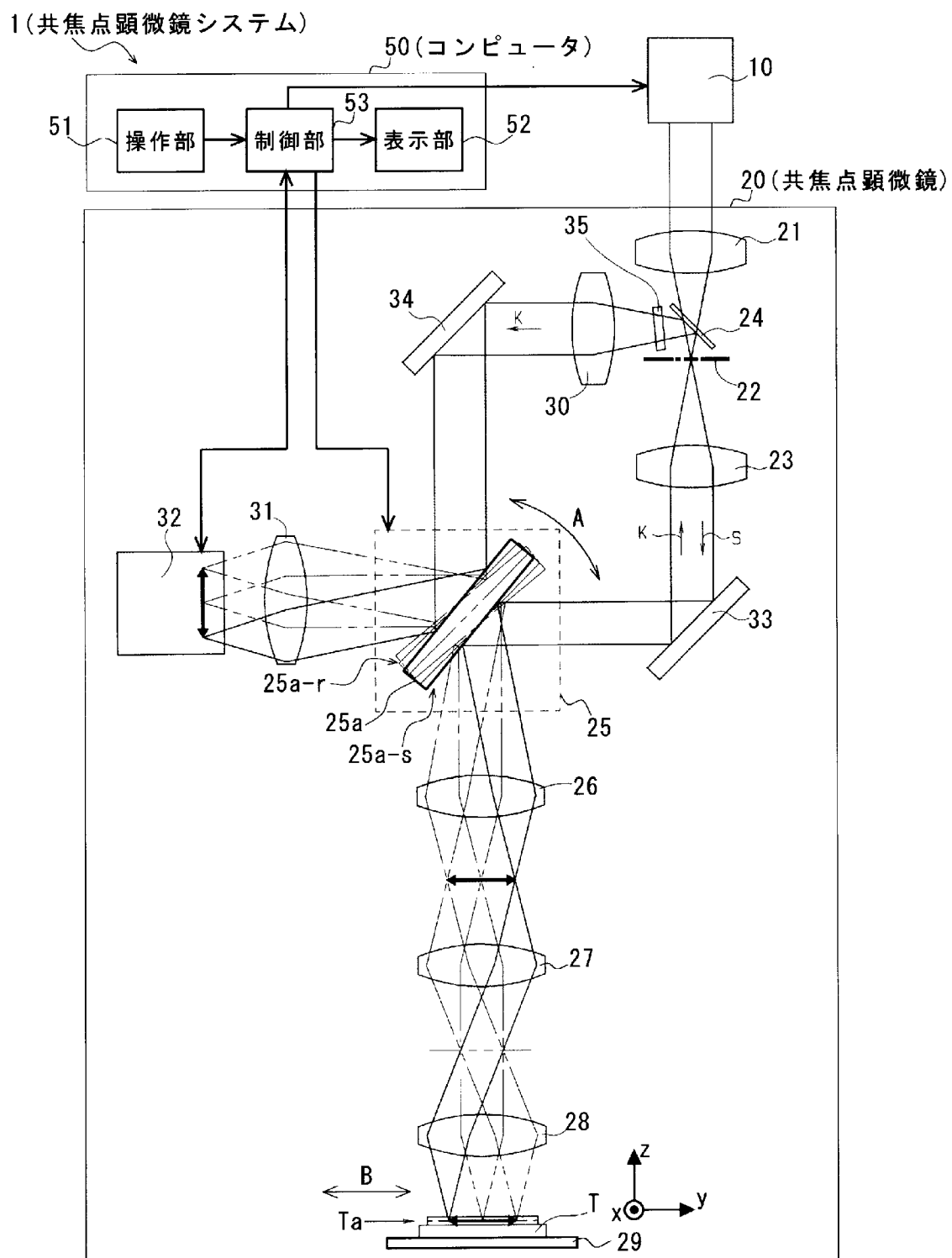
前記光軸方向における位置が異なる少なくとも 2 つの前記被検物内の面のそれぞれについて、輝度調整パラメータを求める算出ステップと、

少なくとも 2 つの前記輝度調整パラメータに基づいて、前記光軸方

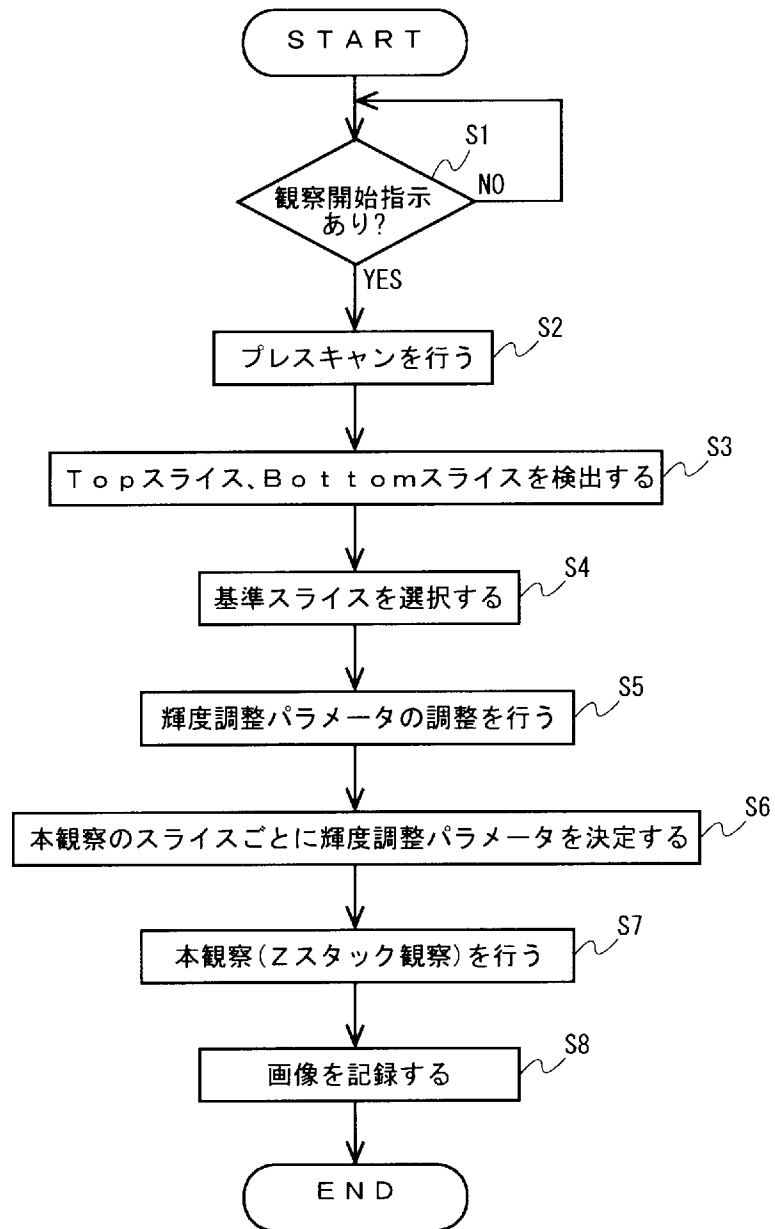
向における位置が異なる複数の前記被検物内の面のそれぞれにおいて、前記撮像部による撮像を行う際の輝度調整パラメータを決定する決定ステップと

を備えたことを特徴とする制御プログラム。

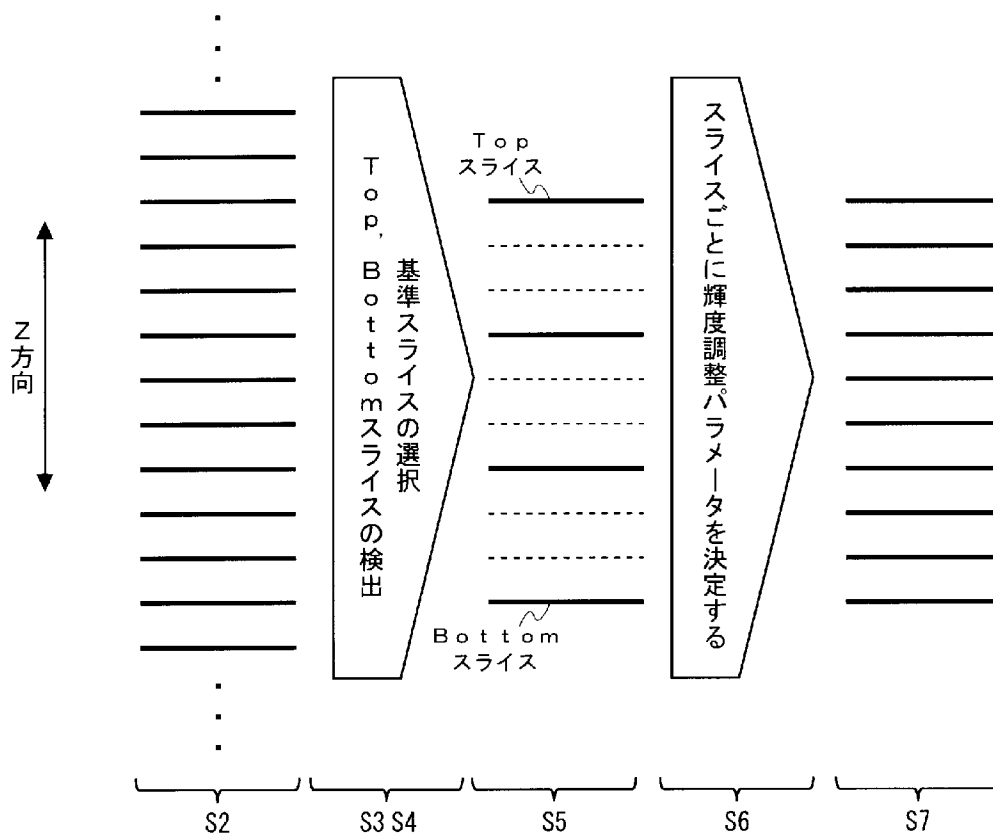
[図1]



[図2]



[図3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/003681

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G02B21/06(2006.01) i, G02B21/36(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, G02B21/36

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2010
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2010	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2010

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 11-183803 A (Yokogawa Electric Corp.), 09 July 1999 (09.07.1999), entire text (particularly, claims 1 to 5; carrying-out mode) (Family: none)	1-3, 5-8 4
X	JP 7-12525 A (Ishikawajima-Harima Heavy Industries Co., Ltd.), 17 January 1995 (17.01.1995), entire text (particularly, claim 1; paragraph [0010]; examples) (Family: none)	1, 2, 4-6, 8

☒ 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
23 August, 2010 (23.08.10)

Date of mailing of the international search report
31 August, 2010 (31.08.10)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/003681

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 6-308390 A (Yokogawa Electric Corp.), 04 November 1994 (04.11.1994), entire text (particularly, claims 1, 2; examples) (Family: none)	1, 4-8

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, G02B21/36(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, G02B21/36

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 0 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 0 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 0 年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	JP 11-183803 A（横河電機株式会社）1999.07.09, 全文（特に請求項1-5、発明の実施の形態参照）（ファミリーなし）	1-3, 5-8 4
X	JP 7-12525 A（石川島播磨重工業株式会社）1995.01.17, 全文（特に請求項1、段落【0010】、実施例参照）（ファミリーなし）	1, 2, 4-6, 8
X	JP 6-308390 A（横河電機株式会社）1994.11.04, 全文（特に請求項1、2、実施例参照）（ファミリーなし）	1, 4-8

☐ 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 3 . 0 8 . 2 0 1 0

国際調査報告の発送日

3 1 . 0 8 . 2 0 1 0

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

原田 英信

電話番号 03-3581-1101 内線 3271

2 V

3 7 0 2