

(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
2020年9月10日(10.09.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/179032 A1

- (51) 国際特許分類:
G02B 21/14 (2006.01) *G02B 21/36* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2019/008958
- (22) 国際出願日: 2019年3月6日(06.03.2019)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人: 株式会社ニコン (NIKON CORPORATION) [JP/JP]; 〒1086290 東京都港区港南二丁目15番3号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 藤掛 陽輔 (FUJIKAKE Yosuke); 〒1086290 東京都港区港南二丁目15番3号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP). 新谷 大和(NIITANI

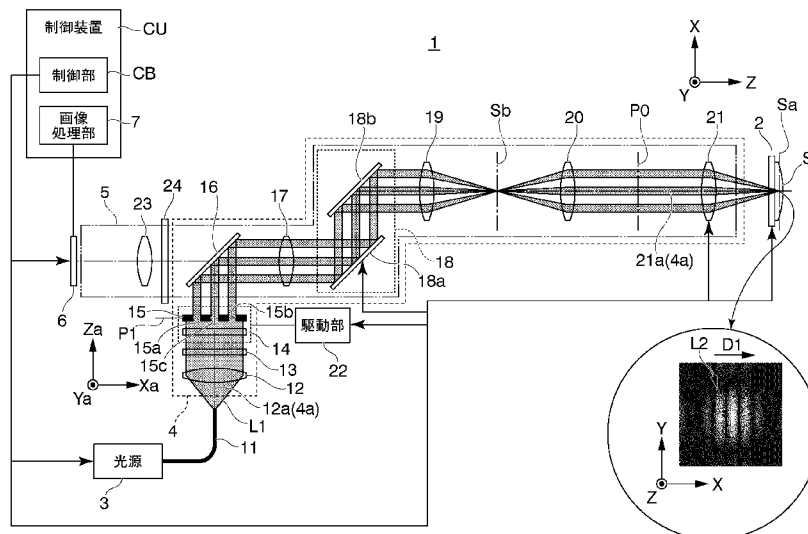
Yamato); 〒1086290 東京都港区港南二丁目15番3号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 西澤 和純, 外(NISHIZAWA Kazuyoshi et al.); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,

(54) Title: MICROSCOPE AND OBSERVATION METHOD

(54) 発明の名称: 顕微鏡および観察方法



3 Light source
7 Image processing unit
22 Drive unit
CB Control unit
CU Control device

(57) Abstract: This microscope is provided with: an illumination optical system which has a light flux splitting unit that splits light from a light source into a plurality of light fluxes, and which scans, in a plurality of directions of a sample, interference fringes generated by interference between at least three light fluxes among the plurality of light fluxes split by the light flux splitting unit; a detection optical system on which light from the sample is incident; a detection device including a plurality of detection units that detects light from the sample via the detection optical system; and an image

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, ST, 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))

processing unit that generates an image using the detection results from the two or more detecting units of the detection device.

(57) 要約: 顕微鏡は、光源からの光を複数の光束に分割する光束分割部を有し、光束分割部により分割された複数の光束の少なくとも3つ以上の光束の干渉によって形成される干渉縞を、試料の複数の方向において走査する照明光学系と、試料からの光が入射する検出光学系と、検出光学系を介して試料からの光を検出する複数の検出部を含む検出装置と、検出装置の2以上の検出部の検出結果を用いて画像を生成する画像処理部と、を備える。

明 細 書

発明の名称：顕微鏡および観察方法

技術分野

[0001] 本発明は、顕微鏡および観察方法に関する。

背景技術

[0002] 試料からの蛍光を検出する走査型顕微鏡が提案されている（例えば、下記
の非特許文献 1 参照）。

先行技術文献

非特許文献

[0003] 非特許文献 1: Confocal laser scanning microscopy with spatiotemporal structured illumination, Peng Gao, G. Ulrich Nienhaus, Optics Letters, Vol. 41, No. 6, 1193-1196, 2016. 3. 15

発明の概要

[0004] 本発明の第 1 の態様に従えば、光源からの光を複数の光束に分割する光束分割部を有し、光束分割部により分割された複数の光束の少なくとも 3 つ以上の光束の干渉によって形成される干渉縞を、試料の複数の方向において走査する照明光学系と、試料からの光が入射する検出光学系と、検出光学系を介して試料からの光を検出する複数の検出部を含む検出装置と、検出装置の 2 以上の検出部の検出結果を用いて画像を生成する画像処理部と、を備える顕微鏡が提供される。

[0005] 本発明の第 2 の態様に従えば、光源からの光を複数の光束に分割し、複数の光束の少なくとも 3 つ以上の光束の干渉によって形成される干渉縞を、試料の複数の方向において走査することと、試料からの光が入射する検出光学系を介して、複数の検出部を含む検出装置によって、試料からの光を検出することと、検出装置の 2 以上の検出部の検出結果を用いて画像を生成するこ

とと、を含む観察方法が提供される。

図面の簡単な説明

- [0006] [図1]第1実施形態に係る顕微鏡および励起光の光路を示す図である。
- [図2]第1実施形態に係るマスクおよび偏光子を示す図である。
- [図3]第1実施形態に係るマスク、偏光子、干渉縞、および励起光の偏光状態を示す図である。
- [図4]第1実施形態に係る顕微鏡および蛍光の光路を示す図である。
- [図5]第1実施形態に係る検出装置の各位置における実効PSFを示す図である。
- [図6]第1実施形態に係る本実施形態の照明形状および実効PSFの3Dシミュレーション結果と従来型蛍光顕微鏡のPSFの3Dシミュレーション結果とを示す図である。
- [図7]第1実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。
- [図8]第2実施形態に係る顕微鏡の画像処理部の処理を示す図である。
- [図9]第2実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。
- [図10]第3実施形態に係る顕微鏡の画像処理部の処理を示す図である。
- [図11]第3実施形態において、成分分離に用いる周波数空間の領域を示す図である。
- [図12]第3実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。
- [図13]第4実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。
- [図14]第5実施形態に係る成分分離に用いる周波数空間の領域を示す図である。
- [図15]第5実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。
- [図16]第6実施形態に係る顕微鏡を示す図である。
- [図17]第6実施形態に係る位相変調素子の一例を示す図である。
- [図18]第6実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。
- [図19]第7実施形態に係る顕微鏡を示す図である。
- [図20]第7実施形態に係る顕微鏡を示す図である。

[図21]第8実施形態に係る顕微鏡を示す図である。

[図22]第9実施形態に係る顕微鏡を示す図である。

[図23]第10実施形態に係る顕微鏡を示す図である。

[図24]第10実施形態に係るマスクおよび励起光の偏光状態を示す図である。

[図25]第11実施形態に係る顕微鏡を示す図である。

[図26]第11実施形態に係る励起光の偏光状態を示す図である。

[図27]第12実施形態に係る顕微鏡を示す図である。

[図28]第12実施形態に係るマスクを示す図である。

[図29]第13実施形態に係る顕微鏡を示す図である。

[図30]変形例に係る照明瞳を示す図である。

[図31]変形例に係る照明瞳を示す図である。

[図32]変形例に係る顕微鏡を示す図である。

[図33]変形例に係る偏光調整部を示す図である。

[図34]変形例に係る偏光調整部を示す図である。

発明を実施するための形態

[0007] [第1実施形態]

第1実施形態について説明する。図1は、第1実施形態に係る顕微鏡および励起光の光路を示す図である。以下の実施形態において、顕微鏡1は走査型の蛍光顕微鏡であるものとして説明するが、実施形態に係る顕微鏡は、走査型の顕微鏡あるいは蛍光顕微鏡に限定されない。顕微鏡1は、ステージ2と、光源3と、照明光学系4と、検出光学系5と、検出装置6と、制御装置CUとを備える。顕微鏡1は、概略すると以下のように動作する。

[0008] ステージ2は、観察対象の試料Sを保持する。試料Sは、予め蛍光染色された細胞などである。試料Sは、蛍光色素などの蛍光物質を含む。光源3は、試料Sに含まれる蛍光物質を励起する励起光L1を発する。照明光学系4は、試料Sに対して、励起光L1が形成する干渉縞L2を複数の方向（例えば、X方向、Y方向）に走査する。ステージ2は、照明光学系4による干渉

縞 L 2 の走査範囲よりも広範な範囲で、試料 S と照明光学系 4 との図 1 の X 方向および Y 方向の相対位置を移動させることができる。検出光学系 5 は、試料 S からの蛍光 L 3（後に図 4 に示す）が入射する位置に配置される。検出装置 6 は、検出光学系 5 を介して試料 S からの蛍光 L 3を検出する複数の検出部 $6a$ （後に図 4 に示す）を含む。制御装置 CU は、例えばコンピュータであり、制御部 CB と、画像処理部 7 とを備える。制御部 CB は、ステージ 2 、光源 3 、照明光学系 4 、検出光学系 5 、および検出装置 6 の制御を行う。画像処理部 7 は、検出装置 6 の 2 以上の検出部 $6a$ の検出結果を用いて、画像（例えば、超解像画像）を生成する。以下、顕微鏡 1 の各部について説明する。

[0009] 光源 3 は、例えばレーザー素子などの光源を含む。光源 3 は、所定の波長帯の可干渉光を発生する。所定の波長帯は、試料 S の励起波長を含む波長帯に設定される。所定の波長帯は、試料 S を多光子励起せしめる波長帯に設定されてもよい。光源 3 から出射する励起光 L 1は、例えば直線偏光である。光源 3 の出射口には、光ファイバー 11 などの導光部材が接続される。なお、顕微鏡 1 は、光源 3 を備えなくてもよく、光源 3 は、顕微鏡 1 と別に提供されてもよい。例えば、光源 3 は、顕微鏡 1 に交換可能（取り付け可能、取り外し可能）に設けられてもよい。光源 3 は、顕微鏡 1 による観察時などに、顕微鏡 1 に外付けされてもよい。

[0010] 照明光学系 4 は、光源 3 からの励起光 L 1が入射する位置に配置される。照明光学系 4 には、光源 3 から光ファイバー 11 を介して励起光 L 1が入射する。光ファイバー 11 は、照明光学系 4 の一部でもよいし、光源 3 を含む光源装置の一部でもよい。照明光学系 4 は、光源 3 側から試料 S 側へ向かう順に、コリメーターレンズ 12 、 $\lambda/4$ 波長板 13 、偏光子 14 、マスク 15 （開口部材）、ダイクロイックミラー 16 、リレー光学系 17 、走査部 18 、レンズ 19 、レンズ 20 、および対物レンズ 21 を備える。

[0011] 以下の説明において、適宜、図 1 などに示す XYZ 直交座標系を参照する。この XYZ 直交座標系において、 X 方向および Y 方向は、それぞれ、対物

レンズ 2 1 の光軸 2 1 a に垂直な方向である。また、Z 方向は、対物レンズ 2 1 の光軸 2 1 a に平行な方向である。なお、対物レンズ 2 1 の光軸 2 1 a は、照明光学系 4 の光軸 4 a に含まれる。また、X 方向、Y 方向、および Z 方向のそれぞれについて、適宜、矢印と同じ側を + 側（例えば、+ X 側）と称し、矢印と反対側を一側（例えば、- X 側）と称する。また、反射によって光路が折れ曲がる場合、X 方向、Y 方向、および Z 方向のそれぞれに対応する方向を、添え字を付けて表す。例えば、図 1 の X a 方向、Y a 方向、Z a 方向は、それぞれ、コリメーターレンズ 1 2 からダイクロイックミラー 1 6 までの光路において、X 方向、Y 方向、Z 方向に対応する方向である。

[0012] コリメーターレンズ 1 2 は、光ファイバー 1 1 から出射する励起光 L 1 を平行光に変換する。コリメーターレンズ 1 2 は、例えば、その光源 3 と同じ側の焦点が光ファイバー 1 1 の光出射口と一致するように配置される。以下の説明において、照明光学系 4 に含まれるレンズについて、適宜、光源 3 と同じ側の焦点を後側焦点と称し、試料 S と同じ側の焦点を前側焦点と称する。

[0013] $\lambda/4$ 波長板 1 3 は、励起光 L 1 の偏光状態を円偏光にする。偏光子 1 4 は、例えば偏光板であり、所定の偏光方向の直線偏光が透過する特性を有する。偏光子 1 4 は、試料 S に入射する光が S 偏光（Y 方向の直線偏光）となるように、配置されている。偏光子 1 4 は、コリメーターレンズ 1 2 の光軸 1 2 a の周りで回転可能である。コリメーターレンズ 1 2 の光軸 1 2 a は、照明光学系 4 の光軸 4 a に含まれる。

[0014] マスク 1 5 は、蛍光物質を励起する励起光を複数の光束に分割する光束分割部である。照明光学系 4 は、マスク 1 5 が分割した複数の光束のうち 3 以上の光束の干渉によって生成される干渉縞 L 2 によって、試料 S を走査する。マスク 1 5 は、対物レンズ 2 1 の瞳面 P 0 と光学的に共役な瞳共役面 P 1 の位置またはその近傍に配置される。対物レンズ 2 1 の瞳面 P 0 と光学的に共役な瞳共役面の近傍とは、瞳共役面を含む領域のうち励起光 L 1 が平行光線と見なせる範囲である。例えば、励起光 L 1 がガウスビームの場合は、ビ

ームウェストの位置からレイリー長の $1/10$ 程度の範囲であれば十分に平行光線と見なすことができる。レイリー長は励起光 $L1$ の波長を λ 、ビームウェスト半径を $w0$ としたとき、 $\pi w0^2/\lambda$ で与えられる。例えば、励起光 $L1$ の波長が $1\mu m$ 、ビームウェスト半径が $1mm$ の時、レイリー長はおおよそ $3m$ となり、マスク 15 は対物レンズ 21 の瞳面 $P0$ と光学的に共役な瞳共役面 $P1$ の近傍 $300mm$ 以内に配置されてもよい。マスク 15 は、瞳面 $P0$ またはその近傍に配置されてもよい。

[0015] マスク 15 は、励起光 $L1$ が通る開口部 $15a$ 、開口部 $15b$ 、および開口部 $15c$ を有する。開口部 $15a$ を通った励起光 $L1a$ と開口部 $15b$ を通った励起光 $L1b$ と、開口部 $15c$ を通った励起光 $L1c$ との干渉によって、干渉縞 $L2$ が形成される。マスク 15 は、コリメーターレンズ 12 の光軸 $12a$ の周りで回転可能である。マスク 15 は、例えば偏光子 14 と相対的に固定され、偏光子 14 と一体的に回転する。マスク 15 および偏光子 14 は、駆動部 22 から供給されるトルクによって回転する。マスク 15 と偏光子 14 は一体的に回転しなくてもよく、各々、独立した駆動部から供給されるトルクによって、独立して回転してもよい。

[0016] 図2(A)は、第1実施形態に係るマスクを示す図である。マスク 15 の開口部 $15a$ 、開口部 $15b$ 、および開口部 $15c$ は、コリメーターレンズ 12 (図1参照)の光軸 $12a$ に関して、例えば対称に配置されている。マスク 15 の開口部 $15a$ 、開口部 $15b$ 、および開口部 $15c$ は、コリメーターレンズ 12 (図1参照)の光軸 $12a$ に関して、例えば対称に配置されていなくてもよい。図2(A)の状態において、開口部 $15a$ 、開口部 $15b$ 、および開口部 $15c$ は、 Xa 方向に並んでいる。図2(B)は、第1実施形態に係る偏光子を示す図である。偏光子 14 の透過軸 $14a$ は、マスク 15 において開口部 $15a$ 、開口部 $15b$ 、および開口部 $15c$ が並ぶ方向(図2(A)では Xa 方向)に対して、垂直な方向(図2(B)では Ya 方向)と平行に設定される。図2(C)は、対物レンズ 21 の瞳面 $P0$ を示す図である。領域 $P0a$ 、領域 $P0b$ 、および領域 $P0c$ は、それぞれ、励起

光 L_1 が入射する領域である。図2（C）に示すパラメーターについては、後に画像処理部7の説明において参照する。

[0017] 図1の説明に戻り、ダイクロイックミラー16は、励起光 L_1 が反射し、かつ試料Sからの蛍光 L_3 （後に図4に示す）が透過する特性を有する。マスク15の開口部15a、開口部15b、および開口部15cを通った励起光 L_1 は、ダイクロイックミラー16で反射して光路が折れ曲がり、リレー光学系17に入射する。リレー光学系17は、ダイクロイックミラー16からの励起光 L_1 を走査部18へ導く。リレー光学系17は、図中1枚のレンズで表されているが、リレー光学系17に含まれるレンズの数は1枚とは限らない。また、リレー光学系17は、光学系の距離等によっては不要な場合もある。なお、各図において、リレー光学系17以外の部分についても2枚以上のレンズを1枚のレンズで表す場合がある。

[0018] 走査部18は、X方向とY方向との2方向において、試料Sを励起光 L_1 によって形成される干渉縞 L_2 を走査する。走査部18は、励起光 L_1 によって干渉縞 L_2 が形成される位置を、対物レンズ21の光軸21aに交差する2方向において変更する。走査部18は、偏向ミラー18aおよび偏向ミラー18bを含む。偏向ミラー18aおよび偏向ミラー18bは、励起光 L_1 の光路に対する傾きが可変である。偏向ミラー18aおよび偏向ミラー18bは、それぞれ、ガルバノミラー、MEMSミラー、レゾナントミラー（共振型ミラー）等である。偏向ミラー18aおよび偏向ミラー18bは、スキャナであってもよい。

[0019] 偏向ミラー18aは、試料Sにおいて励起光 L_1 が入射する位置をX方向に変化させる。偏向ミラー18bは、試料Sにおいて励起光 L_1 が入射する位置をY方向に変化させる。走査部18は、例えば、対物レンズ21の瞳面P0と共役な位置が、偏向ミラー18aの位置、偏向ミラー18bの位置、または偏向ミラー18aと偏向ミラー18bとの間の位置になるように配置されることが望ましい。もしくは、対物レンズ21の瞳面P0と共役な位置が、偏向ミラー18aの位置より光源3側、もしくは偏向ミラー18bの位

置より試料S側でもよい。なお、走査部18は、試料Sにおいて励起光L1が入射する位置を、偏向ミラー18aがY方向に変化させ、偏向ミラー18bがX方向に変化させる構成でもよい。

[0020] 走査部18からの励起光L1は、レンズ19に入射する。レンズ19は、励起光L1を対物レンズ21の試料面Saと光学的に共役な試料共役面Sbに集光する。試料面Saは、対物レンズ21の前側焦点または前側焦点近傍の位置に配置され、対物レンズ21の光軸21aに垂直な面である。試料共役面Sbには、マスク15の開口部15aを通った励起光L1aと、開口部15bを通った励起光L1bと、開口部15cを通った励起光L1cとの干渉によって、干渉縞が形成される。

[0021] 試料共役面Sbを通った励起光L1は、レンズ20に入射する。レンズ20は、励起光L1を平行光に変換する。レンズ20を通った励起光L1は、対物レンズ21の瞳面P0を通る。対物レンズ21は、励起光L1を試料面Sa上に集光する。レンズ20および対物レンズ21は、試料共役面Sbに形成される干渉縞を試料面Saに投影する。試料面Saには、局所的な干渉縞L2が形成される。

[0022] 干渉縞L2は、光強度が相対的に高い明部と、光強度が相対的に低い暗部とを含む。明部と暗部とが並ぶ方向（図1ではX方向）を、適宜、干渉縞L2の周期方向D1と称す。干渉縞L2の周期方向D1は、マスク15の開口部15aと、開口部15bと、開口部15cとが並ぶ方向（図1ではXa方向）に対応する。駆動部22がマスク15をZa方向の周りで回転させると、開口部15aと、開口部15bと、開口部15cとが並ぶ方向が回転し、干渉縞L2の周期方向D1がZ方向の周りで回転する。すなわち、駆動部22は、干渉縞L2の方向を変更する縞方向変更部に含まれる。駆動部22（縞方向変更部）は、照明光学系4の光軸4aに垂直な面（例えば、マスク15の光出射側の面）において3以上の光束が並ぶ方向（以下、光束分割方向という）を変更する。上記の光束分割方向は、例えば、開口部15aと、開口部15bと、開口部15cとが並ぶ方向であり、駆動部22は、マスク1

5を回転させることによって、光束分割方向を変更する。

[0023] また、マスク15がZa方向の周りで回転すると、試料Sに対して励起光L1が入射する方向が変化する。駆動部22は、偏光子14をマスク15と連動して回転させることによって、偏光子14の透過軸の向きを変化させ、励起光L1が、S偏光で試料Sに入射するように調整する。すなわち、偏光子14および駆動部22は、干渉縞の方向に基づいて、励起光L1の偏光状態を調整する偏光調整部に含まれる。

[0024] 図3は、第1実施形態に係るマスク、偏光子、干渉縞、および励起光の偏光状態を示す図である。図3(A)において、マスク15の開口部15a、開口部15b、および開口部15cが並ぶ方向は、Xa方向である。偏光子14の透過軸14aは、Xa方向に垂直なYa方向である。この場合、励起光L1(図1参照)は、開口部15aを通った光束と、開口部15bを通った光束と、開口部15cを通った光束とが試料Sに入射して、周期方向D1の干渉縞L2が生成される。励起光L1入射面は、XZ平面に平行である。試料Sに入射する際の励起光L1は、その偏光方向D2が入射面に垂直なY方向であり、つまり、励起光L1は、S偏光で試料Sに入射する。

[0025] 図3(B)において、マスク15の開口部15a、開口部15b、および開口部15cが並ぶ方向は、Xa方向を反時計回りに120°回転させた方向である。偏光子14の透過軸14aは、Ya方向を反時計回りに120°回転させた方向である。干渉縞L2の周期方向は、X方向に対して120°をなす方向である。励起光L1の入射面は、XZ平面をZ方向の周りで120°回転させた面である。試料Sに入射する際の励起光L1は、その偏光方向D2が入射面に垂直な方向であり、つまり、励起光L1は、S偏光で試料Sに入射する。

[0026] 図3(C)において、マスク15の開口部15a、開口部15b、および開口部15cが並ぶ方向Xa方向を反時計回りに240°回転させた方向である。偏光子14の透過軸14aは、Ya方向を反時計回りに240°回転させた方向である。干渉縞L2の周期方向D1は、X方向に対して240°

をなす方向である。励起光 L_1 の入射面は、 XZ 平面を Z 方向の周りで 240° 回転させた面である。試料 S に入射する際の励起光 L_1 は、その偏光方向 D_2 が入射面に垂直な方向であり、つまり、励起光 L_1 は、 S 偏光で試料 S に入射する。

[0027] 上述のように励起光 L_1 が試料 S に S 偏光で入射する場合、 P 偏光で入射する場合に比べて、干渉縞 L_2 のコントラストが高くなる。なお、図3では、干渉縞 L_2 の周期方向を 120° の角度刻みで3通りに変化させているが、干渉縞 L_2 の周期方向は、この例に限定されない。干渉縞 L_2 の周期方向は、後述する画像処理部7が生成する画像において、分解能を向上させることが可能な方向（超解像効果が得られる方向）に相当する。干渉縞 L_2 の周期方向は、所望の超解像効果が得られるように、適宜設定される。例えば、干渉縞 L_2 の周期方向は、互いに 90° の角度をなす2通りでもよいし、1通りでもよい。また、マスク15は、対物レンズ21の倍率および NA （開口数）、照明瞳形状に合わせて交換可能でもよい。

[0028] 図4は、第1実施形態に係る顕微鏡および蛍光の光路を示す図である。検出光学系5は、試料 S で発生した蛍光 L_3 の像を形成する。検出光学系5は、試料 S から検出装置6に向かう順に、対物レンズ21、レンズ20、レンズ19、走査部18、リレー光学系17、ダイクロイックミラー16、励起光カットフィルター（バリアフィルター）24、およびレンズ23を含む。試料 S で発生した蛍光 L_3 は、対物レンズ21、レンズ20、およびレンズ19をこの順に通って、走査部18に入射する。蛍光 L_3 は、走査部18によってデスキャンされ、リレー光学系17を通してダイクロイックミラー16に入射する。ダイクロイックミラー16は、蛍光 L_3 が透過する特性を有する。ダイクロイックミラー16を透過した蛍光 L_3 は、励起光カットフィルター（バリアフィルター）24に入射する。励起光カットフィルター（バリアフィルター）24は、励起光 L_1 を遮光し、蛍光 L_3 を透過する特性を有する。ダイクロイックミラー16によって励起光 L_1 を十分に遮光できる場合などは、励起光カットフィルター（バリアフィルター）24は設けられ

なくてもよい。励起光カットフィルター（バリアフィルター）24を透過した蛍光L3は、レンズ23に入射する。レンズ23は、蛍光L3を検出装置6に集光する。

[0029] 検出装置6は、イメージセンサであり、2次元的に配列された複数の検出部6aを含む。複数の検出部6aは、検出装置6において2方向に配列されている。複数の検出部6aは、Xb方向とYb方向との2方向に配列されている。複数の検出部6aは、それぞれ、フォトダイオードなどの光電変換素子を含むセンサセル、ピクセル、あるいは光検出器等である。複数の検出部6aは、それぞれ、蛍光L3を検出可能である。検出部6aは例えば1画素に相当するが、複数の画素を含む検出領域（受光領域）を1つの検出部6aとして用いてもよい。

[0030] 顕微鏡1は、走査部18により干渉縞L2を試料面Sa上で走査し、検出装置6は、蛍光L3を検出する。例えば、顕微鏡1は、試料面Saから選択される照明領域を干渉縞L2で照明し、検出装置6は、上記照明領域からの蛍光L3を検出する。顕微鏡は、検出装置6による検出が終了した後に、走査部18により上記照明領域を変更する。顕微鏡1は、蛍光を検出する処理と、照明領域を変更する処理とを繰り返すことで、所望の領域における蛍光強度分布（検出装置6の測定値）を取得する。

[0031] 画像処理部7は、上述のようにして得られた検出装置6の検出結果に基づいて、画像を生成する。以下、画像処理部7が実行する処理について説明する。以下の説明に用いる数式において、適宜、座標系をベクトルで記述する。試料面Saにおける座標および検出装置6における座標（以下、ディテクター座標という）をベクトル $r = (x, y)$ で表し、対応する波数座標（ r でのフーリエ変換後の座標）をベクトル $k = (k_x, k_y)$ で表す。また、走査部18による走査先の座標（以下、スキャン座標という）をベクトル $r_s = (x_s, y_s)$ で表し、その対応する波数座標（ r_s でのフーリエ変換後の座標）をベクトル $k_s = (k_{xs}, k_{ys})$ で表す。以下の説明において、波数を空間周波数もしくは周波数と称す場合がある。光学系の倍率は、説明の便宜上1

倍であるとするが、任意の倍率で構わない。

[0032] 対物レンズ 2 1 を含む光学系の開口数を NA 、励起光 $L 1$ の波長を λ_{ex} 、蛍光 $L 3$ の波長を λ_{em} とすると、励起光 $L 1$ が入射する場合の対物レンズ 2 1 の瞳半径 k_{NA}^{ex} および蛍光が入射する場合の対物レンズ 2 1 の瞳半径 k_{NA}^{em} は、下記の式 (1) で表される。よく知られているように瞳面と像面との各々の電場振幅はフーリエ変換の関係で結ばれているため、瞳位置の座標を波数座標で表現することがある。 k_{NA}^{ex} および k_{NA}^{em} は各々、瞳を波数座標で表現した場合の瞳半径の値を示している。

[0033] [数1]

$$\begin{aligned} k_{NA}^{ex} &= \frac{NA}{\lambda_{ex}} \\ k_{NA}^{em} &= \frac{NA}{\lambda_{em}} \end{aligned} \quad \dots (1)$$

[0034] ここで、図 2 (C) を参照しつつ、各種パラメーターについて説明する。図 2 (C) では、瞳面 $P 0$ を波数座標空間（周波数空間）で表している。図 2 (C) に示す点線で書かれた円の内部の領域は、対物レンズ 2 1 の瞳であり、 k_{NA}^{ex} は、対物レンズ 2 1 の瞳半径である。励起光 $L 1$ が入射する領域 $P 0 a$ 、領域 $P 0 b$ 、および領域 $P 0 c$ は、ここではそれぞれ円形であるとするが、円形に限られない。領域 $P 0 a$ 、領域 $P 0 b$ 、および領域 $P 0 c$ のそれぞれの半径は、 σk_{NA}^{ex} である。 σ は対物レンズ 2 1 の瞳半径に対する領域 $P 0 a$ 、もしくは領域 $P 0 b$ 、もしくは $P 0 c$ の半径の比である。対物レンズ 2 1 の光軸 2 1 a から領域 $P 0 a$ の中心までの距離は、 $(1 - \sigma) k_{NA}^{ex}$ であるが、この値に限らない。領域 $P 0 a$ の中心と領域 $P 0 b$ の中心との距離は、例えば $2 (1 - \sigma) k_{NA}^{ex}$ であるが、この値に限らない。領域 $P 0 c$ の中心は、例えば対物レンズ 2 1 の瞳面 $P 0$ の中心（対物レンズ 2 1 の光軸 2 1 a）と一致しているが、これに限られない。励起光 $L 1$ の電場強度は対物レンズ 2 1 の瞳面内で均一であるとするが、これに限られない。試料面 $S a$ での励起光の電場強度 $i | I | (r)$ は、下記の式 (2) で表される。

[0035]

[数2]

$$ill(\mathbf{r}) = PSF_{ill}(\mathbf{r}) \frac{3 + 4 \cos 2\pi \mathbf{k}_0 \cdot \mathbf{r} + 2 \cos 4\pi \mathbf{k}_0 \cdot \mathbf{r}}{9} \quad \dots (2)$$

[0036] ここで、ベクトル $\mathbf{k}_0 = (k_0, 0)$ は照明縞の波数ベクトルを示し、 $k_0 = (1 - \sigma) k_{NA}^{ex}$ である。 $PSF_{ill}(\mathbf{r})$ は光学系の開口数が σNA である場合の点像強度分布関数 (Point Spread Function) である。 $ill(\mathbf{r})$ の干渉縞の間隔 (明部から次の明部までの距離) は、 $1/k_0 = 1/((1 - \sigma) k_{NA}^{ex})$ である。以下の説明において、干渉縞の間隔を、適宜、縞間隔または干渉縞の周期と称する。

[0037] 実施形態において、試料 S に含まれる蛍光物質は、励起光 L1 によって励起し、励起した蛍光物質から蛍光 L3 が放射される。検出装置 6 は、蛍光 L3 を受光し、検出光学系 5 により形成された蛍光物質の像を撮像する。検出装置 6 は、蛍光物質の像を撮像して画像データを取得する。以下の説明では、検出装置 6 の検出部 6a のサイズ (検出部サイズ) は、検出装置 6 における干渉縞 L2 の周期に相当する寸法 (1 周期に相当する検出装置 6 上の長さ) に比べて十分に小さいとする。例えば、検出部 6a のサイズは、 $\lambda_{em}/4 NA$ 程度に設定されることが望ましい。検出光学系の倍率が 1 とは異なる場合は、検出光学系 5 の検出装置 6 側の開口数を NA_d として、例えば、検出部 6a のサイズは、 $\lambda_{em}/4 NA_d$ 程度に設定されることが望ましい。もしくは、検出部 6a のサイズが d である場合、検出光学系 5 の検出装置 6 側の開口数 NA_d が、 $NA_d < \lambda_{em}/4 d$ を満たすように、レンズ 23 の焦点距離が設定されてもよい。

[0038] ここで、試料 S における蛍光物質の分布を $Obj(\mathbf{r})$ で表し、検出装置 6 で得られる画像データを $I(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)$ で表す。 $I(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)$ は、下記の式 (3) で表される。

[0039] [数3]

$$I(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) = PSF_{det}(\mathbf{r})^r * \{Obj(\mathbf{r} + \mathbf{r}_s)ill(\mathbf{r})\} \quad \dots (3)$$

[0040] 式(3)における $*$ は、 r についてのコンボリューションである。ここで、 $PSF_{det}(r)$ は、対物レンズ21を含む検出光学系5および蛍光波長 λ_{em} によって定まる検出PSFである。画像データ $I(r, r_s)$ は、ディテクター座標 $r = (x, y)$ およびスキャン座標 $r_s = (x_s, y_s)$ を独立変数に持つ4次元のデータである。 $I(r, r_s)$ を変形すると、下記の式(4)が得られる。

[0041] [数4]

$$\begin{aligned} I(r, r_s) &= \{PSF_{det}(r + r_s) ill(r_s)\}^{r_s} * Obj(r_s) \\ &= PSF_{eff}(r, r_s)^{r_s} * Obj(r_s) \end{aligned} \quad \dots (4)$$

[0042] 式(4)における $*$ は r_s についてのコンボリューションである。また、 $PSF_{eff}(r, r_s)$ は、下記の式(5)で定義される実効PSFである。

[0043] [数5]

$$\begin{aligned} PSF_{eff}(r, r_s) &= PSF_{det}(r + r_s) ill(r_s) \\ &= PSF_{det}(r + r_s) \\ &\quad PSF_{ill}(r_s) \frac{3 + 4 \cos 2\pi k_0 \cdot r_s + 2 \cos 4\pi k_0 \cdot r_s}{9} \end{aligned} \quad \dots (5)$$

[0044] 上記の式(4)より、検出装置6の検出部6aごとに、 $Obj(r_s)$ の画像データが得られることが分かる。また、上記の式(5)より、検出装置6の検出部6aの位置 (r) ごとに、実効PSFの形状が異なることが分かる。

[0045] 図5は、第1実施形態に係る検出装置の各検出部における実効PSFを示す図である。図5の各グラフにおいて、横軸は検出装置6の X_b 方向である。試料面 S_a は検出装置6と光学的に共役であり、試料面 S_a の座標 X と検出装置の座標 X_b は適当な座標変換によって対応づけられる。例えば、光学系の倍率が1である場合、 $X = X_b$ となる。

[0046] 図5(A)には、 X_b 方向の座標が互いに異なる3つの検出部6aについて、各検出部6aの実効PSF(実線)を1つのグラフに表した。例えば、図5(A)の中央のグラフには、位置 X_{1a} に配置される検出部6aの実効

PSFに対応する分布Q1a（実線）を示した。また、図5（A）の左側のグラフには、位置X1bに配置される検出部6aの実効PSFに対応する分布Q1b（実線）を示した。また、図5（A）の右側のグラフには、位置X1cに配置される検出部6aの実効PSFに対応する分布Q1c（実線）を示した。

[0047] また、図5の点線に対応する分布Q2は、図2等にした干渉縞L2の強度分布に対応する分布である。分布Q2は、試料面Saでの励起光の電場強度 $i_{ll}(r)$ （上記の式（2）参照）に対応する。干渉縞L2の強度が極大となる位置、すなわち分布Q2のピーク位置X2a、ピーク位置X2b、およびピーク位置X2cは、数値シミュレーション等によって予め求めることができる。

[0048] 分布Q2は、部分的な分布である分布Q2a、分布Q2b、および分布Q2cを含む。分布Q2aは、ピーク位置X2aの前の極小位置から次の極小位置までの範囲における分布である。分布Q2bは、ピーク位置X2bの前の極小位置から次の極小位置までの範囲における分布である。分布Q2cは、ピーク位置X2cの前の極小位置から次の極小位置までの範囲における分布である。

[0049] また、図5の2点鎖線に対応する分布Q3a、分布Q3b、および分布Q3cは、対物レンズ21を含む検出光学系5および蛍光波長 λ_{em} によって定まる検出PSFに対応する分布である。検出PSFは、式（3）などの $PSF_{det}(r)$ に対応する。

[0050] 図5（A）の中央のグラフに示す分布Q3aは、複数の検出部6aのうち位置X1aに配置される検出部6aの検出PSFに対応する分布である。分布Q3aは、検出部6aが配置される位置X1a（例えば、検出部6aの受光領域の中心位置）において極大（ピーク）になる。位置X1aは、干渉縞L2の強度分布に対応する分布Q2aのピーク位置X2aとほぼ同じである。実効PSFに対応する分布Q1aは、干渉縞L2の強度分布に対応する分布Q2と、位置X1aに配置される検出部6aの検出PSFに対応する分布

Q 3 a とを掛け合わせた分布である。

[0051] 図 5 (A) の中央のグラフにおいて、検出部 6 a の位置 X 1 a すなわち検出 P S F のピーク位置 (分布 Q 3 a のピーク位置) は、干渉縞 L 2 の強度分布に対応する分布 Q 2 a のピーク位置 X 2 a とのずれ量が所定値よりも小さい (例えば、ずれ量はほぼ 0)。このような場合、実効 P S F の分布 Q 1 a は、単一の極大 (ピーク) をとる。この場合、分布 Q 1 a のピーク位置は、検出部 6 a の位置 X 1 a あるいは干渉縞 L 2 の強度分布に対応する分布 Q 2 a のピーク位置 X 2 a とほぼ同じになる。

[0052] 図 5 (A) の左側のグラフに示す分布 Q 3 b は、複数の検出部 6 a のうち位置 X 1 b に配置される検出部 6 a の検出 P S F に対応する分布である。分布 Q 3 b は、検出部 6 a が配置される位置 X 1 b (例えば、検出部 6 a の受光領域の中心位置) において極大 (ピーク) になる。位置 X 1 b は、干渉縞 L 2 の強度分布に対応する分布 Q 2 のうちで位置 X 1 b を含む部分的な分布 Q 2 b のピーク位置 X 2 b とずれている。実効 P S F に対応する分布 Q 1 b は、干渉縞 L 2 の強度分布に対応する分布 Q 2 と、位置 X 1 b に配置される検出部 6 a の検出 P S F に対応する分布 Q 3 b とを掛け合わせた分布である。

[0053] 図 5 (A) の左側のグラフにおいて、検出部 6 a の位置 X 1 b すなわち検出 P S F のピーク位置 (分布 Q 3 b のピーク位置) は、干渉縞 L 2 の強度分布に対応する分布 Q 2 b のピーク位置 X 2 b とのずれ量が所定値よりも大きい。この場合、実効 P S F の分布 Q 1 b が 2 つの極大 (ピーク) をとる。このように、検出部 6 a の位置によって実効 P S F のピークが 2 つに分かれる事があり、このような実効 P S F の形状変化を実効 P S F の形状の崩れと呼ぶ。実効 P S F の最も強いピークをメインローブ、それ以外のピークをサイドローブと呼ぶ。

[0054] 実効 P S F の分布 Q 1 b のメインローブのピーク位置は、検出装置 6 の中心位置 (位置 X 2 a) からずれている。このように、検出装置 6 の検出部 6 a の位置 (r) と干渉縞 L 2 の強度分布の位置との関係によって、実効 P S

Fのメインローブの位置もずれることが分かる。以下の説明において、適宜、実効P S Fのメインローブの位置のずれを実効P S Fの位置ずれと呼ぶ。

[0055] 図5 (A) の右側のグラフに示す分布Q 3 cは、複数の検出部6 aのうち位置X 1 cに配置される検出部6 aの検出P S Fに対応する分布である。分布Q 3 cは、検出部6 aが配置される位置X 1 c（例えば、検出部6 aの受光領域の中心位置）において極大（ピーク）になる。位置X 1 cは、干渉縞L 2の強度分布に対応する分布Q 2のうちで位置X 1 cを含む部分的な分布Q 2 cのピーク位置X 2 cとずれている。実効P S Fに対応する分布Q 1 cは、干渉縞L 2の強度分布に対応する分布Q 2と、位置X 1 cに配置される検出部6 aの検出P S Fに対応する分布Q 3 cとを掛け合わせた分布である。

[0056] 図5 (A) の右側のグラフにおいて、検出部6 aの位置X 1 cすなわち検出P S Fのピーク位置（分布Q 3 cのピーク位置）は、干渉縞L 2の強度分布に対応する分布Q 2 cのピーク位置X 2 cとのずれ量が所定値よりも大きい。この場合、実効P S Fの分布Q 1 bが2つの極大（ピーク）をとり、実効P S Fの形状の崩れ、実効P S Fの位置ずれが発生している。

[0057] 図5 (B) は、検出部6 aの位置が図5 (A) と異なる。図5 (B) の左側のグラフに示す分布Q 3 dは、複数の検出部6 aのうち位置X 1 dに配置される検出部6 aに対応する分布である。分布Q 3 dは、検出部6 aが配置される位置X 1 d（例えば、検出部6 aの受光領域の中心位置）において極大（ピーク）になる。位置X 1 dは、干渉縞L 2の強度分布に対応する分布Q 2のうちで位置X 1 dを含む部分的な分布Q 2 bのピーク位置X 2 bとほぼ同じである。このような場合、実効P S Fの分布Q 1 dは、単一の極大（ピーク）をとり、分布Q 1 dのピーク位置は、検出部6 aの位置X 1 dあるいは干渉縞L 2の強度分布に対応する分布Q 2 bのピーク位置X 2 bとほぼ同じになる。すなわち、実効P S Fの形状の崩れは発生していない。

[0058] また、図5 (B) の右側のグラフに示す分布Q 3 eは、複数の検出部6 aのうち位置X 1 eに配置される検出部6 aに対応する分布である。分布Q 3

eは、検出部6aが配置される位置X1e（例えば、検出部6aの受光領域の中心位置）において極大（ピーク）になる。位置X1eは、干渉縞L2の強度分布に対応する分布Q2のうちで位置X1eを含む部分的な分布Q2cのピーク位置X2cとほぼ同じである。このような場合、実効PSFの分布Q1eは、単一の極大（ピーク）をとり、分布Q1eのピーク位置は、検出部6aの位置X1eあるいは干渉縞L2の強度分布に対応する分布Q2cのピーク位置X2cとほぼ同じになる。すなわち、実効PSFの形状の崩れは発生していない。

[0059] 本実施形態において、画像処理部7は、検出光学系5の倍率および干渉縞L2の周期（縞間隔）に基づいて、複数の検出部6aから選択される検出部6aの検出結果を用いる。画像処理部7は、干渉縞L2のピーク位置（例えば、図5のピーク位置X2a、ピーク位置X2b、およびピーク位置X2c）に基づいて検出部6aを複数の検出部6aから選択し、選択した検出部6aの検出結果を用いる。干渉縞L2のピーク位置は、例えば、干渉縞L2の強度分布において強度が極大の位置（例えば、明部の中心位置）に相当する。

[0060] 画像処理部7は、例えば、図5（B）の中央のグラフにおけるピーク位置X2aに対応する検出結果として、ピーク位置X2aと対応する位置X1aに配置される検出部6aの検出結果を用いる。例えば、ピーク位置X2a、ピーク位置X2b、およびピーク位置X2cは、数値シミュレーション等によって予め求められ、記憶部に予め記憶される。画像処理部7は、記憶されたピーク位置の情報に基づいて、複数の検出部6aのうちピーク位置X2aの最も近くに配置される検出部6aを選択し、選択した検出部6aの検出結果を用いる。

[0061] 画像処理部7は、干渉縞L2の強度分布において1つのピークを含む部分的な分布Q2aに関する検出結果として、位置X1aに配置される1つの検出部6aの検出結果のみを用いてもよいし、位置X1aに配置される検出部6aおよびこの検出部6aの周囲の少なくとも1つの検出部6aの検出結果

を用いてもよい。

- [0062] また、画像処理部 7 は、例えば、図 5 (B) の左側のグラフにおけるピーク位置 $X2b$ に対応する検出結果として、ピーク位置 $X2b$ と対応する位置 $X1d$ に配置される検出部 6 a の検出結果を用いる。画像処理部 7 は、検出光学系 5 の倍率および干渉縞 $L2$ の周期に基づいて、干渉縞 $L2$ の強度分布において 1 つのピークを含む部分的な分布 $Q2b$ と位置が整合する検出部 6 a を複数の検出部 6 a から選択する。例えば、画像処理部 7 は、記憶されたピーク位置の情報に基づいて、複数の検出部 6 a のうちピーク位置 $X2b$ の最も近くに配置される検出部 6 a (例えば、位置 $X1d$ に配置される検出部 6 a) を選択する。画像処理部 7 は、分布 $Q2b$ に関する検出結果として、選択した検出部 6 a の検出結果を用いる。
- [0063] 画像処理部 7 は、干渉縞 $L2$ の強度分布において 1 つのピークを含む部分的な分布 $Q2b$ に関する検出結果として、位置 $X1d$ に配置される 1 つの検出部 6 a の検出結果のみを用いてもよいし、位置 $X1d$ に配置される検出部 6 a およびこの検出部 6 a の周囲の少なくとも 1 つの検出部 6 a の検出結果を用いてもよい。分布 $Q1d$ に対応する実効 PSF (PSF_{eff}) は、分布 $Q2b$ のピーク位置 $X2b$ と検出部 6 a との位置 $X1d$ とが整合することで、実効 PSF の形状の崩れが低減される。
- [0064] また、画像処理部 7 は、例えば、図 5 (B) の右側のグラフにおけるピーク位置 $X2c$ に対応する検出結果として、ピーク位置 $X2c$ と対応する位置 $X1e$ に配置される検出部 6 a の検出結果を用いる。画像処理部 7 は、検出光学系 5 の倍率および干渉縞 $L2$ の周期に基づいて、干渉縞 $L2$ の強度分布において 1 つのピークを含む部分的な分布 $Q2c$ と位置が整合する検出部 6 a を複数の検出部 6 a から選択する。例えば、画像処理部 7 は、記憶されたピーク位置の情報に基づいて、複数の検出部 6 a のうちピーク位置 $X2c$ の最も近くに配置される検出部 6 a (例えば、位置 $X1e$ に配置される検出部 6 a) を選択する。画像処理部 7 は、分布 $Q2c$ に関する検出結果として、選択した検出部 6 a の検出結果を用いる。

[0065] 画像処理部 7 は、干渉縞 L 2 の強度分布において 1 つのピークを含む部分的な分布 Q 2 c に関する検出結果として、位置 X 1 e に配置される 1 つの検出部 6 a の検出結果のみを用いてもよいし、位置 X 1 e に配置される検出部 6 a およびこの検出部 6 a の周囲の少なくとも 1 つの検出部 6 a の検出結果を用いてもよい。分布 Q 1 e (PSF_{eff}) は、分布 Q 2 c のピーク位置 X 2 c と検出部 6 a との位置 X 1 e とが整合することで、実効 PSF の形状の崩れが低減される。

[0066] 画像処理部 7 は、上述のように選択した検出部 6 a の検出結果について、検出部ごとの画像の位置ずれ（実効 PSF_{eff} のピーク位置、もしくはメインローブの位置ずれ）を補正する。検出部ごとの画像の位置ずれは、各種設計値を用いた理論計算、あるいは蛍光ビーズなどの小物体を検出装置 6 によって撮影した撮像画像から取得可能である。このような位置ずれの補正を行うと、選択された検出部 6 a のそれぞれで得られる画像の実効 PSF をほぼ同一にすることができる。このようにして得られた画像の PSF_{eff} は、近似的に検出装置 6 の中心位置の検出部（光軸上に位置する検出部）の PSF_{eff} と同等と見なせる。検出装置 6 の中心位置（ $r = (0, 0)$ ）の検出部の PSF_{eff} は、下記の式（6）で表される。

[0067] [数6]

$$PSF_{\text{eff}}(\mathbf{r} = \mathbf{0}, \mathbf{r}_s) = PSF_{\text{det}}(\mathbf{r}_s) PSF_{\text{ill}}(\mathbf{r}_s) \frac{3 + 4 \cos 2\pi \mathbf{k}_0 \cdot \mathbf{r}_s + 2 \cos 2\pi \mathbf{k}_0 \cdot \mathbf{r}_s}{9} \dots (6)$$

[0068] 干渉縞 L 2 の周期方向、つまり $\mathbf{k}_0$ 方向に着目すると、式（6）より干渉縞 L 2 の周期が小さいほど PSF_{eff} の半値全幅は狭く、分解能が良くなることが分かる。つまり実施形態における干渉縞 L 2 の周期方向に含まれる縞の数（明部）が多いほど PSF_{eff} の半値全幅は狭くなり、分解能が良い。

[0069] 上記では XY 面内（試料面 S a 内）における分解能向上について説明してきたが、本実施形態では Z 方向（光軸 4 a 方向）の分解能も従来の蛍光顕微鏡と比較して向上する。本実施形態では、開口部 15 a を通った励起光 L 1

aと、開口部15bを通った励起光L1bと、開口部15cを通った励起光L1cとの干渉によって、図6(a)に示すように、X方向のみならずZ方向にも縞が形成される。Z方向の分解能はZ方向の縞の周期が小さいほど良くなり、本実施形態ではZ方向の分解能も向上する。なお、Z方向の位置毎のXY面における照明形状（干渉縞）を図6(d)に示す。

図6(b)は本実施形態の実効PSFの3Dシミュレーション結果、図6(c)は従来型蛍光顕微鏡のPSFの3Dシミュレーション結果である。図6(b)と図6(c)とを比較すると、本実施形態はXYZすべての方向において、従来型の蛍光顕微鏡より分解能が良いことが分かる。他の実施形態においても同様である。従来型蛍光顕微鏡、共焦点蛍光顕微鏡などに対する分解能の優位性を持つために、実施形態において干渉縞L2の周期方向（図6(a)ではX方向）に含まれる明部の数は3以上であることが望ましい。他の実施形態においても同様である。

[0070] 画像処理部7は、 PSF_{eff} がほぼ同一となった画像を足し合わせることで、画像を生成する。画像処理部7は、足し合わされる画像の PSF_{eff} がほぼ同一になっていることで、分解能およびS/N比が良好な画像 $I_{SR}(r_s)$ を生成可能である。なお、画像 $I_{SR}(r_s)$ の生成に用いる検出部6aの範囲を広くすると、信号量を増加させることができる。また、画像 $I_{SR}(r_s)$ の生成に用いる検出部6aの範囲を狭くすると、セクショニング能力を高くすることができる。

[0071] 上記の式(6)で説明したように、実施形態に係る顕微鏡1は、干渉縞L2の周期方向の分解能が向上する。顕微鏡1は、干渉縞L2の周期方向を変更して試料Sからの蛍光を検出することで、X方向、Y方向、およびZ方向について3次元的に分解能を向上させることも可能である。ここで、干渉縞L2の周期方向を90°変更する例を説明する。干渉縞L2の周期方向を90°変更するには、図2の状態のマスク15および偏光子14をZa方向の周りで90°回転させる。

[0072] 干渉縞L2の周期方向がX方向である場合の超解像画像を $I_{SRx}(r_s)$ と

し、干渉縞 L_2 の周期方向が Y 方向である場合の超解像画像を $I_{SR_Y}(r_s)$ とする。画像処理部7は、 $I_{SR_X}(r_s)$ と $I_{SR_Y}(r_s)$ とを足し合わせることで、3次元的に分解能が向上した超解像画像を生成してもよい。また、画像処理部7は、下記の処理によって超解像画像を生成してもよい。

[0073] 画像処理部7は、超解像画像 $I_{SR_X}(r_s)$ および超解像画像 $I_{SR_Y}(r_s)$ をそれぞれフーリエ変換する。ここで、フーリエ変換された超解像画像 $I_{SR_X}(r_s)$ を $I_{\sim SR_X}(k_s)$ で表わす。明細書中の「 $\sim$ 」は数式中のチルダである。また、フーリエ変換された超解像画像 $I_{SR_Y}(r_s)$ を $I_{\sim SR_Y}(k_s)$ で表す。 $I_{\sim SR_X}(k_s)$ は、通常の蛍光顕微鏡に比べて、 X 方向、および Z 方向に関して遮断周波数が、例えば2倍増加する。また、 $I_{\sim SR_Y}(k_s)$ は、通常の蛍光顕微鏡に比べて、 Y 方向、および Z 方向に関して遮断周波数が、例えば2倍増加する。画像処理部7は、 $I_{\sim SR_X}(k_s)$ と $I_{\sim SR_Y}(k_s)$ とを足し合わせる。これにより、3方向(X 方向、 Y 方向、および Z 方向)において、遮断周波数が増加する。

[0074] なお、足し合わされた実効OTFの形状は、干渉縞 L_2 の周期方向を変更する方向の組み合わせによっては、いびつである場合がある。この場合、画像処理部7は、実効OTFの形状を補正する周波数フィルターをかけてもよい。これにより、 $I_{SR_X}(r_s)$ と $I_{SR_Y}(r_s)$ とを足し合わせる場合よりも効果的に分解能を向上させることができる。また、図3で説明したように、照明光学系4は、干渉縞 L_2 の周期方向を 0° 、 120° 、 240° の3通りに変更し、検出装置6は、3通りの周期方向のそれぞれについて蛍光 L_3 を検出してもよい。画像処理部7は、3通りの周期方向について検出装置6が検出した3つの検出結果(例えば、3枚の画像)を用いて、超解像画像を生成してもよい。また、照明光学系4は、干渉縞 L_2 の周期方向を4通り以上変更し、検出装置6は、変更された4通り以上の周期方向のそれぞれについて蛍光 L_3 を検出して、画像処理部7は、変更された4通り以上の周期方向について検出装置6が検出した4以上の検出結果を用いて、超解像画像を生成してもよい。ここで説明した、干渉縞の周期方向を複数回変更して取得

した複数の検出結果を用いて超解像画像を生成する方法は、以降の実施形態においても利用することができる。

[0075] 次に、上述の顕微鏡 1 の構成に基づき、実施形態に係る観察方法について説明する。図 7 は、実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。顕微鏡 1 の各部については、適宜、図 1 あるいは図 4 を参照する。ステップ S 1 において、図 1 の照明光学系 4 は、走査ミラーの角度を設定する。照明光学系 4 は、ステップ S 1 で設定された走査ミラーの角度によって定まる試料上の位置に、励起光を干渉縞として照射する。ステップ S 2 において、試料の蛍光物質は、励起光の干渉縞で励起される。ステップ S 3 において、図 4 の検出装置 6 は、試料 S からの蛍光 L 3 を、検出光学系 5 を介して検出する。

[0076] ステップ S 4 において、制御部 C B は、走査ミラーの角度変更を実行するか否かを判定する。制御部 C B は、予定された観察領域の一部についてステップ S 1 からステップ S 3 の処理が終了していないと判定した場合に、ステップ S 4 において走査ミラーの角度変更を実行すると判定する（ステップ S 4 ; Y e s）。制御部 C B は、走査ミラーの角度変更を実行すると判定した場合（ステップ S 4 ; Y e s）、ステップ S 1 の処理に戻り、照明光学系 4 は、走査ミラーの角度を予定された次の角度に設定する。そして、ステップ S 2 からステップ S 4 の処理が繰り返される。このようにして、照明光学系 4 は、試料 S を励起光 L 1 の干渉縞で 2 次元的に走査する。

[0077] 制御部 C B は、ステップ S 4 において、予定された観察領域の全てについてステップ S 1 からステップ S 3 の処理が終了したと判定した場合に、走査ミラーの角度変更を実行しないと判定する（ステップ S 4 ; N o）。走査ミラーの角度変更を実行しないと制御部 C B が判定した場合（ステップ S 4 ; N o）、ステップ S 5 において、画像処理部 7 は、検出部ごとの画像の位置ずれを補正する。画像処理部 7 は、複数の検出部の少なくとも 1 つの検出部から得られるデータを、その検出部の位置に基づいて補正する。例えば、画像処理部 7 は、複数の検出部から選択される検出部から得られるデータを、

当該検出部の位置に基づいて補正する。例えば、画像処理部 7 は、複数の検出部のうちの第 1 の検出部（例えば、図 5（B）において位置 X 1 d に配置される検出部）から得られるデータを、第 1 の検出部の位置（例えば、位置 X 1 d）に基づいて補正する。また、画像処理部 7 は、2 以上の検出部の検出結果を用いて画像を生成する。例えば、ステップ S 6 において、画像処理部 7 は、ステップ S 5 の補正後の画像を足し合わせることで、画像（例えば、超解像画像）を生成する。

[0078] なお、検出装置 6 の複数の検出部 6 a の位置は、干渉縞 L 2 のピーク（もしくは極大、明点）位置と整合するように、干渉縞 L 2 の周期に基づいて設定されてもよい。検出装置 6 は、検出部 6 a の間隔と干渉縞 L 2 の縞間隔とが整合するように、予め設定されてもよい。上記の検出部 6 a の間隔は、1 つの検出部 6 a の中心と、その隣の検出部 6 a の中心との間隔である。また、上記の干渉縞 L 2 の縞間隔は、干渉縞 L 2 において、1 つの明部の中心線と、その隣の明部の中心線との間隔である。ここで、干渉縞 L 2 の縞間隔は $1/k_0$ となる。干渉縞の縞間隔が $1/k_0$ である場合、検出装置 6 の検出部 6 a の間隔は、下記の式（7）に示す P と概ね同じになるように設定される。

[0079] [数7]

$$\begin{aligned}
 P &= \frac{1}{k_0} \\
 &= \frac{1}{(1-\sigma)k_{NA}^{ex}} \\
 &= \frac{\lambda_{ex}}{(1-\sigma)NA} \quad \dots (7)
 \end{aligned}$$

[0080] 上記の式（7）において、対物レンズ 2 1 を含む検出光学系 5 の倍率は 1 倍とした。検出光学系 5 の倍率が $M_{d.e.t}$ である場合は、倍率分だけ検出部 6 a の間隔を変え、検出部 6 a の間隔を $M_{d.e.t}/k_0$ とすればよい。もしくは、検出光学系 5 の一部をズームレンズにすることで検出部 6 a の間隔を干渉縞 L 2 の周期に整合させることができる。この場合、検出光学系 5 の倍率のみを変更可能なレンズ 2 3 をズームレンズとすることが望ましい。また、干渉縞

L 2の周期は、検出装置6の複数の検出部6 aの間隔と整合するように、調整されてもよい。例えば、マスク15の開口部15 a、および開口部15 bの間隔を変更することで干渉縞L 2の周期を変更することができる。

[0081] なお、本実施形態において、顕微鏡1は、試料面S aと平行な2方向に干渉縞L 2を走査することで、干渉縞L 2を2次元的に走査してもよいし、試料面S aと平行な2方向、および試料面S aに垂直な1方向に干渉縞L 2を走査することで、干渉縞L 2を3次元的に走査してもよい。干渉縞L 2を3次元的に走査する場合、試料面S aと平行な2方向に干渉縞L 2を走査する処理（以下、2次元処理という）については、上述の実施形態で説明した処理と同様である。顕微鏡1は、2次元処理をZ方向の位置を変更して繰り返すことにより、例えば、3次元的な超解像画像を生成可能である。後述の実施形態について同様に、顕微鏡1は、干渉縞L 2を3次元的に走査してもよい。

[0082] [第2実施形態]

第2実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。本実施形態において、画像処理部7（図4参照）は、周波数空間上のデータに対してフィルタリングを行って、画像を生成する。画像処理部7は、検出装置6から得られるデータに対してデコンボリューションを実行して、画像を生成する。画像処理部7は、上記のフィルタリングとして、検出装置6の検出部6 aごとにデコンボリューションおよびアポダイゼーションを行って、画像を生成する。すなわち、画像処理部7は、周波数空間上のデータに対して、デコンボリューションを含むフィルタリングを行う。以下の説明において、適宜、デコンボリューションとアポダイゼーションの一連の処理を合わせて（総称して）、デコンボリューションと称することがある。

[0083] 図8は、第2実施形態に係る顕微鏡の画像処理部の処理を示す図である。顕微鏡の各部については、適宜、図1あるいは図4を参照する。図8（A）

は、デコンボリューション前のPSFであり、図5（A）と同様である。図8（A）において、検出装置6（図4参照）の検出部6aの間隔が干渉縞 L_2 の間隔に合っていない。この場合、上記の式（5）で説明したように、検出部6aごとに得られる画像の実効PSF（実線）は検出部6aの位置によっては形状が崩れる。検出部6aごとの実効PSFは、設計値から理論計算すること、あるいは蛍光ビーズのような小物体を撮影することにより取得可能（推定可能）である。画像処理部7は、このようにして取得した実効PSFを用いて、検出部6aごとに得られる画像の実効PSFの形状の崩れ、および位置ずれを補正するようにデコンボリューションを実行する。

[0084] 図8（B）はデコンボリューション後のPSFである。図8（B）の中央のグラフにおいて、分布Q4aは、図8（A）の中央のグラフに示す分布Q1aすなわち位置X1aに配置された検出部6aの実効PSFを、デコンボリューションして得られる実効PSFに対応する。ここでは、検出部6aの位置X1aと、分布Q2aのピーク位置X2aとのずれ量が所定値よりも小さく、デコンボリューション後の実効PSFに対応する分布Q4aは、デコンボリューション前の実効PSFに対応する分布Q1aとほぼ同じである。

[0085] また、図8（B）の左側のグラフにおいて、分布Q4bは、図8（A）の左側のグラフに示す分布Q1bすなわち位置X1bに配置された検出部6aの実効PSFを、デコンボリューションして得られる実効PSFに対応する。図8（B）の右側のグラフにおいて、分布Q4cは、図8（A）の右側のグラフに示す分布Q1cすなわち位置X1cに配置された検出部6aの実効PSFを、デコンボリューションして得られる実効PSFに対応する。このような一連の処理（デコンボリューション）によって、図8（B）の3つのグラフに示すように、検出部6aごとの実効PSFがほぼ同一となる。画像処理部7は、デコンボリューションの結果を用いて、画像を生成する。以下、画像処理部7の処理について、より詳しく説明する。

[0086] 画像処理部7は、複数の検出部6aの少なくとも一部の検出結果を周波数空間上のデータへ変換し、その変換結果を用いて画像（例えば、超解像画像

）を生成する。以下の説明において、複数の検出部 6 a の少なくとも一部の検出結果を周波数空間で表したデータを、適宜、周波数空間の成分という。画像処理部 7 は、複数の検出部 6 a の少なくとも一部の検出結果をフーリエ変換し、フーリエ変換により得られる周波数空間の成分を用いて画像を生成する。上記の式（４）を r_s についてフーリエ変換すると、下記の式（８）が得られる。

[0087] [数8]

$$\tilde{I}(\mathbf{r}, \mathbf{k}_s) = OTF_{\text{eff}}(\mathbf{r}, \mathbf{k}_s) \tilde{Obj}(\mathbf{k}_s) \quad \dots (8)$$

[0088] 式（８）の左辺の $\tilde{I}(\mathbf{r}, \mathbf{k}_s)$ は、 $I(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)$ を r_s についてフーリエ変換したものである。右辺の $OTF_{\text{eff}}(\mathbf{r}, \mathbf{k}_s)$ は、 $PSF_{\text{eff}}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)$ を r_s についてフーリエ変換したものであり、検出装置 6 の検出部 6 a ごとの実効 OTF を表す。また、右辺の $\tilde{Obj}(\mathbf{k}_s)$ は $Obj(\mathbf{r}_s)$ を r_s についてフーリエ変換したものである。

[0089] デコンボリューションには、ウィーナーフィルタやリチャードソン・ルーシー法など様々な方法が存在する。ここでは一例としてウィーナーフィルタを用いた処理を説明するが、画像処理部 7 は、その他の処理によってデコンボリューションを実行してもよい。ウィーナーフィルタによる、各検出部のデコンボリューションは、下記の式（９）で表される。

[0090] [数9]

$$\tilde{Obj}(\mathbf{r}, \mathbf{k}_s) = \frac{OTF_{\text{eff}}^*(\mathbf{r}, \mathbf{k}_s) \tilde{I}(\mathbf{r}, \mathbf{k}_s)}{|OTF_{\text{eff}}(\mathbf{r}, \mathbf{k}_s)|^2 + w^2} \quad \dots (9)$$

[0091] 式（９）において、 $\tilde{Obj}(\mathbf{r}, \mathbf{k}_s)$ は検出装置 6 の検出部 6 a ごとに推定した蛍光物質の分布（以下、推定蛍光物質分布という）である。 w はノイズを抑制するためのウィーナーパラメータである。この処理により、検出装置 6 の 2 以上の検出部 6 a において、推定蛍光物質分布 $\tilde{Obj}(\mathbf{r}, \mathbf{k}_s)$ がほぼ共通になる。すなわち、上記の処理により検出部 6 a ごとの実効 PSF の形状の崩れがおよび位置ずれが補正され、検出部 6 a ごとの実効 PSF

Fがほぼ同一となる。画像処理部7は、下記の式(10)に示す処理によって、 $O b j \sim (r, k_s)$ にアポダイゼーションを行い、検出装置6の検出部6aにおけるスペクトルを足し合わせ、超解像画像 $I_{SR}(r_s)$ を生成する。

[0092] [数10]

$$I_{SR}(r_s) = \mathcal{F}_{k_s}^{-1} \left[\sum_r \widetilde{O b j}(r, k_s) A(k_s) \right] \quad \dots (10)$$

[0093] 式(10)において、 $A(k_s)$ は画像の負値を抑制するためのアポダイゼーション関数であり、 $O b j \sim (r, k_s)$ に $A(k_s)$ を掛けることをアポダイゼーションと呼ぶ。 $A(k_s)$ の関数形は理論計算もしくはシミュレーション等により画像の負値を抑制するよう設計する。また、 $\mathcal{F}_{k_s}^{-1}$ は、 k_s に関する逆フーリエ変換である。画像処理部7は、検出部6aごとのスペクトルを足し合わせた後に逆フーリエ変換を行うが、逆フーリエ変換を行ってから画像を足し合わせてもよい。画像処理部7は、式(9)および式(10)の処理において、検出部6aごとに独立してデコンボリューションした後に、検出部6aごとに画像を足し合わせる。画像処理部7は、下記の式(11)のように、2以上の検出部6aをまとめて、デコンボリューションしてもよい。

[0094] [数11]

$$I(r_s) = \mathcal{F}_{k_s}^{-1} \left[\frac{\sum_r OTF_{\text{eff}}^*(r, k_s) \tilde{I}(r, k_s)}{\sum_r |OTF_{\text{eff}}(r, k_s)|^2 + w^2} A(k_s) \right] \quad \dots (11)$$

[0095] 図9は、第2実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。ステップS1からステップS4の処理は、図7と同様であるので、その説明を省略する。ステップS11において、画像処理部7は、各検出部の検出結果をフーリエ変換する。ステップS12において、画像処理部7は、デコンボリューションを実行する。ステップS13において、画像処理部7は、アポダイゼーションを実行する。アポダイゼーションは、デコンボリューションの一部の処理でもよい。画像処理部7は、ステップS14において、デコンボ

リューションの結果を用いて検出部 6 a ごとの画像を足し合わせる。画像処理部 7 は、ステップ S 1 5 において、ステップ S 1 4 で得られた第 1 の画像（例えば、フーリエ画像）を逆フーリエ変換することで、第 2 の画像（例えば、超解像画像）を生成する。

[0096] なお、画像処理部 7 は、第 1 実施形態で説明したように、足し合わせる検出部 6 a の範囲を変化させてもよい。また、画像処理部 7 は、第 1 実施形態で説明したように、1 次元的にまたは 2 次元的に分解能を向上させてもよい。

[0097] [第 3 実施形態]

第 3 実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。図 1 0 は、第 3 実施形態に係る顕微鏡の画像処理部の処理を示す図である。顕微鏡の各部については、適宜、図 1 あるいは図 4 を参照する。

[0098] 本実施形態において、画像処理部 7（図 4 参照）は、第 2 実施形態と異なる画像処理によって、検出部 6 a ごとの実効 P S F の形状の崩れを補正する。図 1 0（A）は、本実施形態に係る画像処理前の P S F であり、図 5（A）と同様である。図 1 0（A）において、検出装置 6（図 4 参照）の検出部 6 a の間隔が干渉縞 L 2 の間隔に合っていない。この場合、上記の式（5）で説明したように、検出部 6 a ごとの得られる画像の実効 P S F（実線）は検出部 6 a の位置によっては形状が崩れる。画像処理部 7 は、干渉縞 L 2 の強度分布の部分的な分布（例えば、図 1 0（A）左側のグラフに示す Q 2 b）のピーク位置が、検出部 6 a の位置と整合するように、干渉縞 L 2 の強度分布の位相を画像処理によって実効的にシフトさせる。この処理を適宜、画像処理位相シフトと呼び、その位相シフト量を画像処理位相シフト量と呼ぶ。

[0099] 図 1 0（B）は、画像処理位相シフト処理後の検出部 6 a ごとの実効 P S F である。図 1 0（B）の左側のグラフにおいて、分布 Q 2 f は、図 1 0（A）の分布 Q 2 b のピーク位置 X 2 b が検出部 6 a の位置 X 1 b と一致する

ように、分布Q 2の位相を画像処理位相シフトさせた分布である。分布Q 2 fのピーク位置X 2 fは、検出部6 aの位置X 1 bとほぼ一致する。分布Q 1 fは、位相を画像処理位相シフトさせた分布Q 2 fと、位置X 1 bに配置された検出部6 aの検出PSF（分布Q 3 b）とから得られる実効PSFに対応する分布である。分布Q 1 fは、実効PSFの形状の崩れが低減されている。

[0100] また、図10（B）の右側のグラフにおいて、分布Q 2 gは、図10（A）の分布Q 2 cのピーク位置X 2 cが検出部6 aの位置X 1 cと一致するように、分布Q 2の位相を画像処理位相シフトさせた分布である。分布Q 2 gのピーク位置X 2 gは、検出部6 aの位置X 1 cとほぼ一致する。分布Q 1 gは、位相を画像処理位相シフトさせた分布Q 2 gと、位置X 1 cに配置された検出部6 aの検出PSF（分布Q 3 c）とから得られる実効PSFに対応する分布である。分布Q 1 gは、実効PSFの形状の崩れが低減されている。

[0101] 上述のような画像処理処理により、検出部6 aごとの実効PSF（実線）の形状がほぼ同一となるように補正される。画像処理部7は、ほぼ同一の形状に補正された実効PSFを持つ検出部6 aごとの画像を用いて、画像を生成する。

[0102] 以下、画像処理部7の処理の流れについて、より詳しく説明する。検出装置6で得られる像 $I(r, r_s)$ は、上記の式（3）で表される。式（3）に、上記の式（2）に示した $i||l(r)$ を代入すると、下記の式（12）が得られる。

[0103] [数12]

$$\begin{aligned}
 I(r, r_s) &= \{PSF_{\text{det}}(r + r_s) PSF_{\text{ill}}(r_s) \\
 &\quad \frac{3 + 4 \cos(2\pi k_0 \cdot r_s + \phi) + 2 \cos(4\pi k_0 \cdot r_s + 2\phi)}{9}\}^{r_s} * Obj(r_s) \\
 &\quad \dots (12)
 \end{aligned}$$

[0104] 式（12）において、 ϕ は干渉縞L 2の初期位相を示す。画像処理部7は

、画像処理によって干渉縞 L_2 の位相をディテクター座標に応じて変化させ、実効 PSF の形状を揃える。顕微鏡 1 は、式 (3) で説明したように、4 次元の画像データ $I(r, r_s)$ を取得する。画像処理部 7 は、 $I(r, r_s)$ に対して 4 次元のフーリエ変換を行う。フーリエ変換によって得られる周波数空間の 4 次元のデータを $I\sim(k, k_s)$ で表す。

[0105] 式 (12) を r, r_s についてフーリエ変換することで $I\sim(k, k_s)$ は以下の式 (13) で表されることが分かる。

[0106] [数13]

$$\begin{aligned} \tilde{I}(k, k_s) &= \tilde{I}_0(k, k_s) + \tilde{I}_{+1}(k, k_s) + \tilde{I}_{-1}(k, k_s) + \tilde{I}_{+2}(k, k_s) + \tilde{I}_{-2}(k, k_s) \\ \tilde{I}_0(k, k_s) &= \frac{1}{3} OTF_{\text{det}}(k) OTF_{\text{ill}}(k - k_s) \tilde{O}bj(k_s) \\ \tilde{I}_{+1}(k, k_s) &= \frac{2}{9} e^{i\phi} OTF_{\text{det}}(k) OTF_{\text{ill}}(k - k_s - k_0) \tilde{O}bj(k_s) \\ \tilde{I}_{-1}(k, k_s) &= \frac{2}{9} e^{-i\phi} OTF_{\text{det}}(k) OTF_{\text{ill}}(k - k_s + k_0) \tilde{O}bj(k_s) \\ \tilde{I}_{+2}(k, k_s) &= \frac{1}{9} e^{i2\phi} OTF_{\text{det}}(k) OTF_{\text{ill}}(k - k_s - 2k_0) \tilde{O}bj(k_s) \\ \tilde{I}_{-2}(k, k_s) &= \frac{1}{9} e^{-i2\phi} OTF_{\text{det}}(k) OTF_{\text{ill}}(k - k_s + 2k_0) \tilde{O}bj(k_s) \\ &\dots (13) \end{aligned}$$

[0107] OTF_{det} は、 PSF_{det} のフーリエ変換であり検出光学系 5 の OTF を表す。 OTF_{ill} は PSF_{ill} のフーリエ変換であり、 $\tilde{O}bj$ は Obj のフーリエ変換である。ここで $\tilde{I}_0(k, k_s)$ 、 $\tilde{I}_{+1}(k, k_s)$ 、 $\tilde{I}_{-1}(k, k_s)$ 、 $\tilde{I}_{+2}(k, k_s)$ 、 $\tilde{I}_{-2}(k, k_s)$ は上式のように定義される。 $\tilde{I}_0(k, k_s)$ を 0 次成分、 $\tilde{I}_{+1}(k, k_s)$ を +1 次成分、 $\tilde{I}_{-1}(k, k_s)$ を -1 次成分、 $\tilde{I}_{+2}(k, k_s)$ を +2 次成分、 $\tilde{I}_{-2}(k, k_s)$ を -2 次成分と呼ぶ。

[0108] $OTF_{\text{det}}(k)$ の遮断周波数は $2k_{NA}^{\text{em}}$ で与えられる。また、 $OTF_{\text{ill}}(k)$ の遮断周波数は $2\sigma k_{NA}^{\text{ex}}$ で与えられる。したがって、 $\tilde{I}_0(k, k_s)$ は式 (14) の条件を満たす 0 次成分の領域 $AR1a$ 内でのみ値を持ち、 $\tilde{I}_{+1}(k, k_s)$ は式 (15) の条件を満たす +1 次成分の領域 $AR1b$ 内

でのみ値を持ち、 $I_{-1} \sim (k, k_s)$ は式 (16) の条件を満たす -1 次成分の領域 A R 1 c 内でのみ値を持ち、 $I_{+2} \sim (k, k_s)$ は式 (17) の条件を満たす $+2$ 次成分の領域 A R 1 d 内でのみ値を持ち、 $I_{-2} \sim (k, k_s)$ は式 (18) の条件を満たす -2 次成分の領域 A R 1 e 内でのみ値をもつ。画像処理部 7 は、 $I \sim (k, k_s)$ から、下記の式 (14) から式 (18) のいずれかの条件を満たす領域の情報を抽出し、 $I \sim (k, k_s)$ から $I_0 \sim (k, k_s)$ 、 $I_{+1} \sim (k, k_s)$ 、 $I_{-1} \sim (k, k_s)$ 、 $I_{+2} \sim (k, k_s)$ 、 $I_{-2} \sim (k, k_s)$ を得る。 $I \sim (k, k_s)$ から $I_0 \sim (k, k_s)$ 、 $I_{+1} \sim (k, k_s)$ 、 $I_{-1} \sim (k, k_s)$ 、 $I_{+2} \sim (k, k_s)$ 、 $I_{-2} \sim (k, k_s)$ を分離する処理を、適宜、成分分離と称す。

[0109] [数14]

$$|k - k_s| \leq 2\sigma k_{NA}^{ex} \text{ かつ } |k| \leq 2k_{NA}^{em} \quad \dots (14)$$

[0110] [数15]

$$|k - k_s - k_0| \leq 2\sigma k_{NA}^{ex} \text{ かつ } |k| \leq 2k_{NA}^{em} \quad \dots (15)$$

[0111] [数16]

$$|k - k_s + k_0| \leq 2\sigma k_{NA}^{ex} \text{ かつ } |k| \leq 2k_{NA}^{em} \quad \dots (16)$$

[0112] [数17]

$$|k - k_s - 2k_0| \leq 2\sigma k_{NA}^{ex} \text{ かつ } |k| \leq 2k_{NA}^{em} \quad \dots (17)$$

[0113] [数18]

$$|k - k_s + 2k_0| \leq 2\sigma k_{NA}^{ex} \text{ かつ } |k| \leq 2k_{NA}^{em} \quad \dots (18)$$

[0114] 図 11 は、第 3 実施形態において、成分分離に用いる周波数空間の領域を示す図である。ここでは、マスク 15 (図 2 参照) の開口部 15 a、開口部 15 b、および開口部 15 c が円形である場合について説明する。マスク 15 の開口は円形以外の形状でもよい。0 次成分の領域 A R 1 a、 $+1$ 次成分の領域 A R 1 b、 -1 次成分の領域 A R 1 c、 $+2$ 次成分の領域 A R 1 d、および -2 次成分の領域 A R 1 e の範囲は、マスク 15 の開口が円形である

場合、マスク 15 の開口が円形以外の形状である場合のいずれについても、顕微鏡 1 の設計値に基づいた数値シミュレーション、理論計算等で求めることができる。もしくは、各成分が値を持つ領域は、蛍光試料を実測することで求めることができる。

[0115] 図 1 1 (A) には $k_{xs} - k_{ys}$ 平面における各領域を示した。0 次成分の領域 AR 1 a、+1 次成分の領域 AR 1 b、-1 次成分の領域 AR 1 c、+2 次成分の領域 AR 1 d、および -2 次成分の領域 AR 1 e は、それぞれ円形の領域である。0 次成分の領域 AR 1 a、+1 次成分の領域 AR 1 b、-1 次成分の領域 AR 1 c、+2 次成分の領域 AR 1 d、および -2 次成分の領域 AR 1 e は、半径がいずれも同じである。0 次成分の領域 AR 1 a の半径は、 $2\sigma k_{NA}^{ex}$ である。0 次成分の領域 AR 1 a は、原点を中心とする領域である。+1 次成分の領域 AR 1 b、-1 次成分の領域 AR 1 c、+2 次成分の領域 AR 1 d、および -2 次成分の領域 AR 1 e は、それぞれ、中心が k_{xs} の軸上の領域である。-1 次成分の領域 AR 1 c の中心と原点との距離 A 1 は、 $k_0 = (1 - \sigma) k_{NA}^{ex}$ である。+1 次成分の領域 AR 1 b は、0 次成分の領域 AR 1 a に関して -1 次成分の領域 AR 1 c と対称な位置の領域である。-2 次成分の領域 AR 1 e の中心と原点との距離 A 2 は、 $2k_0$ である。+2 次成分の領域 AR 1 d は、0 次成分の領域 AR 1 a に関して -2 次成分の領域 AR 1 e と対称な位置の領域である。

[0116] 図 1 1 (B) には $k_{xs} - k_x$ 平面における各領域を示した。0 次成分の領域 AR 1 a、+1 次成分の領域 AR 1 b、-1 次成分の領域 AR 1 c、+2 次成分の領域 AR 1 d、および -2 次成分の領域 AR 1 e は、それぞれ平行四辺形の領域である。

[0117] 画像処理部 7 は、試料 S における励起光の光強度分布に基づいて、成分分離における周波数空間の領域を設定する。例えば、画像処理部 7 は、試料 S における励起光の光強度分布として試料面 S a での励起光の電場強度 $i | |$ (r) に基づいて、互いに重複しない複数の領域を設定する。上記の複数の領域は、互いに重複しない 5 以上の領域を含む。例えば、上記の複数の領域

は、第1領域として図11の領域AR1a、第2領域として図11の領域AR1b、第3領域として図11の領域AR1c、第4領域として図11の領域AR1d、および第5領域として図11の領域AR1eを含む。画像処理部7は、周波数空間上のデータから、第1領域（領域AR1a）に属するデータ、第2領域（領域AR1b）に属するデータ、第3領域（領域AR1c）、および第4領域（領域AR1d）、および第5領域（領域AR1e）に属するデータのそれぞれを抽出することで、成分分離を行う。

[0118] 画像処理部7は、 $I_0 \sim (k, k_s)$ 、 $I_{+1} \sim (k, k_s)$ 、 $I_{-1} \sim (k, k_s)$ 、 $I_{+2} \sim (k, k_s)$ 、 $I_{-2} \sim (k, k_s)$ をそれぞれ、4次元の逆フーリエ変換を行うことによって、実空間の画像データを算出する。以下、 $I_0 \sim (k, k_s)$ を逆フーリエ変換して得られる画像データを $I_0(r, r_s)$ で表す。また、 $I_{+1} \sim (k, k_s)$ を逆フーリエ変換して得られる画像データを $I_{+1}(r, r_s)$ で表す。また、 $I_{-1} \sim (k, k_s)$ を逆フーリエ変換して得られる画像データを $I_{-1}(r, r_s)$ で表す。また、 $I_{+2} \sim (k, k_s)$ を逆フーリエ変換して得られる画像データを $I_{+2}(r, r_s)$ で表す。また、 $I_{-2} \sim (k, k_s)$ を逆フーリエ変換して得られる画像データを $I_{-2}(r, r_s)$ で表す。画像処理部7は、 $I_0(r, r_s)$ 、 $I_{+1}(r, r_s)$ 、 $I_{-1}(r, r_s)$ 、 $I_{+2}(r, r_s)$ 、および $I_{-2}(r, r_s)$ のそれぞれに対して、下記の式(19)に示す演算を行う。

[0119] [数19]

$$\begin{aligned} I'_0(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) &= I_0(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) \\ I'_{+1}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) &= I_{+1}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)e^{i\psi(\mathbf{r})} \\ I'_{-1}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) &= I_{-1}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)e^{-i\psi(\mathbf{r})} \\ I'_{+2}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) &= I_{+2}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)e^{i2\psi(\mathbf{r})} \\ I'_{-2}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) &= I_{-2}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)e^{-i2\psi(\mathbf{r})} \end{aligned} \quad \dots (19)$$

[0120] 式(19)において、 $\psi(r)$ は検出装置6の検出部6aの位置 r ごとの画像処理位相シフト量を表す。画像処理位相シフト量 $\psi(r)$ は、例えば、下記のように決定される。画像処理部7は、ディテクター座標 r で検出した信号の位置ずれ量を算出する。画像処理部7は、例えば、予めシミュレーシ

ョンにより、 $PSF_{det}(r+r_s)$ と $PSF_{ill}(r_s)$ の積によって得られる関数のピーク位置を求めることで、上記の位置ずれ量を算出する。ここで実効 PSF の位置ずれはディテクター座標 r に比例すると考えてよく、位置ずれの度合いを表すパラメーターを β とし、位置ずれ量を r/β で表す。 β の値は、 $PSF_{det}(r+r_s)$ と $PSF_{ill}(r_s)$ との積によって得られる関数のピーク位置から算出されてもよいし、他の数値シミュレーションによって算出されてもよい。また検出装置 6 の検出部 6 a ごとに異なる β が用いられてもよい。 β が決まると、ディテクター座標に応じた画像処理位相シフト量が決まる。干渉縞 L 2 の画像処理位相シフト量 $\phi(r)$ は $PSF_{det}(r+r_s)$ と $PSF_{ill}(r_s)$ との積によって得られる関数のピーク位置と、干渉縞のピーク位置とが一致するように決定される。このような処理によって、画像処理位相シフト量は、例えば、 $\phi(r) = -2\pi k_0 \cdot r/\beta - \phi$ となる。初期位相 ϕ の値は、蛍光ビーズを用いて予め測定された値でもよいし、観察画像から推定される値でもよい。画像処理部 7 は、試料 S における励起光の光強度分布に基づいて、位相を変換する量（画像処理位相シフト量）を決定する。

画像処理部 7 は、上記の式 (19) の 5 式の演算結果について、下記の式 (20) に示すように和を算出する。

[0121] [数20]

$$\begin{aligned} I'(r, r_s) \\ = I'_0(r, r_s) + I'_{+1}(r, r_s) + I'_{-1}(r, r_s) + I'_{+2}(r, r_s) + I'_{-2}(r, r_s) \\ \dots (20) \end{aligned}$$

[0122] 上記の式 (20) の演算から得られる $I'(r, r_s)$ は、検出部 6 a の位置 r ごとの実効 PSF の形状の崩れが補正され、実効 PSF の形状がほぼ同一となった画像となる。

[0123] 画像処理部 7 は、 $I'(r, r_s)$ に対して、検出装置 6 の検出部 6 a ごとの実効 PSF の位置ずれを補正する。これにより、検出装置 6 の 2 以上の検出部 6 a で実効 PSF をほぼ同一とすることができる。画像処理部 7 は、実

効PSFがほぼ同一に補正された検出部6aごとの画像を足し合わせることで、超解像画像 $I_{SR}(r_s)$ を生成する。この一連の処理は式(21)に基づいて行われる。

[0124] [数21]

$$I_{SR}(r_s) = \int_{-\infty}^{\infty} PH(r) I' \left(r, r_s - \frac{r}{\beta} \right) dr \quad \dots (21)$$

[0125] ここでPH(r)は式(22)で定義されるピンホール関数である。

[0126] [数22]

$$PH(r) = \begin{cases} 1, & x^2 + y^2 \leq r_{PH}^2 \\ 0, & x^2 + y^2 > r_{PH}^2 \end{cases} \quad \dots (22)$$

[0127] r_{PH} の値を大きくすると信号量を増加させることができ、 r_{PH} の値を小さくするとセクショニング能力を高めることができる。

[0128] 本実施形態において、スキャン間隔、検出装置6の検出部6aの間隔は、遮断周波数およびナイキストの定理に基づいて設定されてもよい。スキャン間隔は、干渉縞の周期方向において $\lambda_{ex}/8NA$ 以下に設定されてもよい。また、スキャン間隔は、干渉縞の周期方向と垂直な方向において $\lambda_{ex}/4NA$ 以下に設定されてもよい。また、検出装置6の検出部6aの間隔は、 $\lambda_{em}/4NA$ 以下に設定されてもよい。検出光学系の倍率が1とは異なる場合は、検出光学系5の検出装置6側の開口数を NA_d として、例えば、検出部6aのサイズは、 $\lambda_{em}/4NA_d$ 程度に設定されることが望ましい。もしくは、検出部6aのサイズがdである時、検出光学系5の検出装置6側の開口数 NA_d が、 $NA_d < \lambda_{em}/4d$ を満たすように、レンズ23の焦点距離が設定されてもよい。

[0129] 図12は、第3実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。ステップS1からステップS4の処理は図7と同様であり、その説明を省略する。ステップS21において、画像処理部7は、複数の検出部6aの少なくとも一部の検出結果をフーリエ変換する。ステップS21において、画像処理部7は、 $I(r, r_s)$ に対して4次元のフーリエ変換を行う。ステップS

22において、画像処理部7は、周波数空間において成分分離する。画像処理部7は、フーリエ変換により得られる周波数空間の成分を周波数空間の領域ごとに分離する。ステップS23において、画像処理部7は、分離された成分を逆フーリエ変換する。ステップS24において、画像処理部7は、画像処理位相シフト処理を実行する。画像処理部7は、ステップS25において、実効PSFの位置ずれを補正する。ステップS26において、画像処理部7は、ステップS25で位置ずれを補正して得られる画像を足し合わせることで、画像（例えば、超解像画像）生成する。

[0130] このように、本実施形態に係る画像処理部7は、成分分離によって得られるデータの少なくとも一部の位相を変換して画像を生成する。上述の説明において、画像処理部7は、実空間上のデータに対して位相シフト処理を実行する。すなわち、画像処理部7は、成分分離によって得られるデータとして、成分分離したデータ（周波数空間上のデータ）を逆フーリエ変換によって実空間上のデータに変換したデータ（実空間上のデータ）を用いる。なお、画像処理部7は、成分分離した周波数空間上のデータに対して、周波数空間において位相シフト処理を実行してもよい。

[0131] [第4実施形態]

第4実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。本実施形態において、画像処理部7（図4参照）は、第3実施形態で説明した成分分離を行った後、分離された成分についてデコンボリューションを行って画像を生成する。

[0132] 式（13）を書き換え、下記の式（23）が得られる。

[0133] [数23]

$$\begin{aligned} \tilde{I}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s) &= \tilde{I}_0(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s) + \tilde{I}_{+1}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s) + \tilde{I}_{-1}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s) + \tilde{I}_{+2}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s) + \tilde{I}_{-2}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s) \\ &= (OTF_0(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s) + OTF_{+1}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s) + OTF_{-1}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s) + OTF_{+2}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s) \\ &\quad + OTF_{-2}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s)) \tilde{O} \tilde{b}_j(\mathbf{k}_s) \end{aligned} \quad \dots (23)$$

[0134] 式（23）において、 $OTF_0(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s)$ 、 $OTF_{+1}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s)$ 、 $OTF_{-1}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s)$ 、 $OTF_{+2}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s)$ 、 $OTF_{-2}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s)$ は、それぞれ、

$OTF_{-1}(k, k_s)$ 、 $OTF_{+2}(k, k_s)$ 、および $OTF_{-2}(k, k_s)$ は、下記の式(24)で表される。

[0135] [数24]

$$\begin{aligned} OTF_0(k, k_s) &= \frac{1}{3} OTF_{\text{det}}(k) OTF_{\text{ill}}(k - k_s) \\ OTF_{+1}(k, k_s) &= \frac{2}{9} e^{i\phi} OTF_{\text{det}}(k) OTF_{\text{ill}}(k - k_s - k_0) \\ OTF_{-1}(k, k_s) &= \frac{2}{9} e^{-i\phi} OTF_{\text{det}}(k) OTF_{\text{ill}}(k - k_s + k_0) \\ OTF_{+2}(k, k_s) &= \frac{1}{9} e^{i2\phi} OTF_{\text{det}}(k) OTF_{\text{ill}}(k - k_s - 2k_0) \\ OTF_{-2}(k, k_s) &= \frac{1}{9} e^{-i2\phi} OTF_{\text{det}}(k) OTF_{\text{ill}}(k - k_s + 2k_0) \end{aligned} \quad \dots (24)$$

[0136] 画像処理部7は、 $OTF_0(k, k_s)$ 、 $OTF_{+1}(k, k_s)$ 、 $OTF_{-1}(k, k_s)$ 、 $OTF_{+2}(k, k_s)$ 、および $OTF_{-2}(k, k_s)$ のそれぞれの推定値を用いて、デコンボリューションを行う。デコンボリューションには、ウィーナーフィルタやリチャードソン・ルーシー法など様々な方法がある。ここでは、デコンボリューションの一例としてウィーナーフィルタを用いた処理を説明するが、他の方法を用いたデコンボリューションでもよい。上記の式(23)について、ウィーナーフィルタによるデコンボリューションは、下記の式(25)で表される。

[0137] [数25]

$$\begin{aligned} \widetilde{O}bj(k_s) &= \frac{\sum_{i=0,\pm1,\pm2} \sum_k OTF_i^*(k, k_s) \tilde{I}_i(k, k_s)}{\sum_{i=0,\pm1,\pm2} \sum_k |OTF_i(k, k_s)|^2 + w^2} \\ I_{SR}(r_s) &= \mathcal{F}_{k_s}^{-1} [\widetilde{O}bj(k_s) A(k_s)] \end{aligned} \quad \dots (25)$$

[0138] 式(25)において、 $A(k_s)$ は画像の負値を抑制するためのアポダイゼーション関数である。また、 w は、ノイズを抑制するためのウィーナーパラメータである。 $\mathcal{F}_{k_s}^{-1}$ は k_s に関する逆フーリエ変換である。画像処理部7は、上述のデコンボリューションの結果を用いて画像を生成する。

[0139] 図13は、第4実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。ステップS1からステップS4の処理は、図7と同様であり、その説明を省略

する。ステップS 3 1において、画像処理部7は、検出結果をフーリエ変換する。また、ステップS 3 2において、画像処理部7は、周波数空間で成分を分離する。ステップS 3 3において、画像処理部7は、ステップS 3 2の処理によって分離された成分を用いて、デコンボリューションを行う。ステップS 3 4において、画像処理部7は、アポダイゼーションを行う。ステップS 3 5において、画像処理部7は、デコンボリューションおよびアポダイゼーションによって得られたデータに対して逆フーリエ変換を行う。画像処理部7は、逆フーリエ変換によって得られたデータを用いて画像を生成する。

[0140] 以上のように、本実施形態に係る画像処理部7は、周波数空間において成分分離、デコンボリューション、およびアポダイゼーションを実行し、これらの処理によって得られたデータを実空間におけるデータに変換して画像を生成する。本実施形態において、画像処理部7は、検出装置6の検出部6 aごとの実効P S Fをほぼ一致させて位置ずれを補正する処理によらずに、画像を生成してもよい。

[0141] 本実施形態において、スキャン間隔、および検出装置6の検出部6 aの間隔は、遮断周波数およびナイキストの定理に基づいて設定されてもよい。スキャン間隔は、干渉縞の周期方向において $\lambda_{ex}/8NA$ 以下に設定されてもよい。また、スキャン間隔は、干渉縞の周期方向と垂直な方向において $\lambda_{ex}/4NA$ 以下に設定されてもよい。また、検出装置6の検出部6 aの間隔は、 $\lambda_{em}/4NA$ 以下に設定されてもよい。検出光学系の倍率が1とは異なる場合は、検出光学系5の検出装置6側の開口数を NA_d として、例えば、検出部6 aのサイズは、 $\lambda_{em}/4NA_d$ 程度に設定されることが望ましい。もしくは、検出部6 aのサイズが d である時、検出光学系5の検出装置6側の開口数 NA_d が、 $NA_d < \lambda_{em}/4d$ を満たすように、レンズ2 3の焦点距離を設定してもよい。

[0142] なお、画像処理部7は、上記の k に関して積算の対象とする範囲を、全空間の範囲に設定してもよいし、全空間の一部の範囲に設定してもよい。また

、画像処理部7は、フーリエ変換によって $I_0 \sim (k, k_s)$ 、 $I_{+1} \sim (k, k_s)$ 、 $I_{-1} \sim (k, k_s)$ 、 $I_{+2} \sim (k, k_s)$ 、および $I_{-2} \sim (k, k_s)$ を演算する際に、 r の範囲を限定してもよい。また、画像処理部7は、 $OTF_0(k, k_s)$ 、 $OTF_{+1}(k, k_s)$ 、 $OTF_{-1}(k, k_s)$ 、 $OTF_{+2}(k, k_s)$ 、および $OTF_{-2}(k, k_s)$ として、蛍光ビーズを用いた測定あるいは顕微鏡1の設計値を用いた数値シミュレーション等によって予め得られるデータを用いてもよいし、試料Sからの蛍光を検出装置6が検出した結果から得られるデータ（例えば、推定値）を用いてもよい。

[0143] [第5実施形態]

第5実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。上述の実施形態において、顕微鏡1は、試料面Saと平行な2方向に干渉縞L2を走査することで、干渉縞L2を2次元的に走査し、試料Sの2次元画像を生成する。本実施形態において、顕微鏡1は、試料面Saと平行な2方向に干渉縞L2を走査することおよび、試料面Saと垂直な1方向に干渉縞L2を走査することで、試料Sの3次元画像を生成する。

[0144] 第5実施形態は、第3実施形態にて記載した画像処理位相シフト処理による検出部6aごとの実効PSFの形状の崩れを補正する方法を、3次元走査で得られた画像データに対して拡張した方法を用いる。第3実施形態にて解説した処理方法のうち、第5実施形態でも共通して用いることのできる処理は、その説明を省略する。第5実施形態は、試料Sを励起光L1の干渉縞で3次元的に走査した画像データを取得し、取得した画像データをフーリエ変換することで波数空間上のデータに変換し、波数空間上のデータから成分分離を行い、成分分離を行ったデータを逆フーリエ変換することで実空間上のデータに変換し、画像処理位相シフト処理を実行し、検出部ごとの画像の位置ずれを補正し、位置ずれ補正後の画像を足し合わせることで、試料Sの3次元画像を生成する。

[0145] ステージ2は、観察対象の試料Sを保持し、試料Sと照明光学系4との図

1のX方向、Y方向およびZ方向の相対位置を移動させることができる。試料S内の観察したい領域が試料面S_a（局所的な干渉縞L₂が形成される領域）に配置されるように、ステージ2と照明光学系4との相対位置を所定の位置に設定する。つづいて、第1実施形態の図7のフローチャートにおけるステップS1～S4の動作を実施し、試料Sを励起光L₁の干渉縞で2次元的に走査する。これにより、試料Sの特定の領域について、2次元走査した画像データを取得することができる。つづいて、ステージ2と照明光学系4との相対位置をZ方向に所定の量だけ移動し、試料S内の観察したい領域をZ方向に変更する。試料Sを励起光L₁の干渉縞で2次元的に走査する。この動作を繰り返すことにより、試料Sを励起光L₁の干渉縞で3次元的に走査した画像データを取得することができる。これは、いわゆるZ-stack画像の取得である。

[0146] 試料Sを励起光L₁の干渉縞で3次元的に走査した時に得られる画像データ $I(r, r_s, z_s)$ は、以下の式(26)で与えられる。

[0147] [数26]

$$I(r, r_s, z_s) = \int_{-\infty}^{\infty} dz \left[\{ill(r, z) Obj(r + r_s, z + z_s)\} * PSF_{det}(r, z) \right] \quad \dots (26)$$

[0148] ここで、ステージ2と照明光学系4とのZ方向の相対位置を z_s で表し、その対応する波数座標（ z_s でのフーリエ変換後の座標）を k_{z_s} で表す。 r 、および r_s は第1実施形態で説明したとおりである。 $PSF_{det}(r, z)$ は、検出PSFのXYZ方向3次元の分布を示す。ここで検出PSFは、対物レンズ21を含む検出光学系5および蛍光波長 λ_m によって定まる。 $ill(r, z)$ は試料面S_a近傍における、励起光のXYZ方向3次元の電場強度分布を表す。 $ill(r, z)$ のZX断面は図6(a)に示した通りである。 $Obj(r, z)$ は試料Sにおける蛍光物質のXYZ方向3次元の分布を表す。式(26)における $*$ は、 r についてのコンボリューションである。これらは、第1実施形態にて説明した式(3)の3次元走査への拡張になっ

ている。画像データ $I(r, r_s, z_s)$ は5次元の画像データになっている。

[0149] 画像処理部7は式(26)に対して r 、 r_s 、および z_s についての5次元のフーリエ変換を行う。フーリエ変換によって得られる周波数空間の5次元のデータを $I\sim(k, k_s, k_{zs})$ で表す。 $I\sim(k, k_s, k_{zs})$ は以下の式(27)で表される。

[0150] [数27]

$$I\sim(k, k_s, k_{zs}) = \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dk_z \tilde{I}(k - k_s, k_z - k_{zs}) OTF_{\text{det}}(k, -k_z) \right\} \widetilde{Obj}(k_s, k_{zs}) \quad \dots (27)$$

[0151] $\tilde{I}$ は I のフーリエ変換、 OTF_{det} は PSF_{det} のフーリエ変換、および $\widetilde{Obj}$ は Obj のフーリエ変換をそれぞれ表す。

[0152] $\tilde{I}(k, k_z)$ を図14(A)に示す。これは、図6(a)で示した照明形状をフーリエ変換したものである。図14(A)は第3実施形態にて説明した図11(A)の3次元への拡張になっており、図11(A)同様、 $\tilde{I}(k, k_z)$ が値を持つ領域が複数に分かれている。図14(B)に示すように、 $\tilde{I}(k, k_z)$ が値を持つ領域を AR_0 、 $AR_{+1x, +1z}$ 、 $AR_{+1x, -1z}$ 、 $AR_{-1x, +1z}$ 、 $AR_{-1x, -1z}$ 、 AR_{+2x} 、および AR_{-2x} とする。

$\tilde{I}(k, k_z)$ のうち領域 AR_0 に値を持つ成分を $\tilde{I}_0(k, k_z)$ とし、領域 $AR_{+1x, +1z}$ に値を持つ成分を $\tilde{I}_{+1x, +1z}(k, k_z)$ とし、領域 $AR_{+1x, -1z}$ に値を持つ成分を $\tilde{I}_{+1x, -1z}(k, k_z)$ とし、領域 $AR_{-1x, +1z}$ に値を持つ成分を $\tilde{I}_{-1x, +1z}(k, k_z)$ とし、領域 $AR_{-1x, -1z}$ に値を持つ成分を $\tilde{I}_{-1x, -1z}(k, k_z)$ とし、領域 AR_{+2x} に値を持つ成分を $\tilde{I}_{+2x}(k, k_z)$ とし、領域 AR_{-2x} に値を持つ成分を $\tilde{I}_{-2x}(k, k_z)$ とする。

[0153] 上述の定義より、 $\tilde{I}(k, k_z)$ は以下の式(28)のように書ける

。

[0154] [数28]

$$\begin{aligned}
 & \tilde{ill}(\mathbf{k}, k_z) \\
 &= \tilde{ill}_0(\mathbf{k}, k_z) + e^{i(\phi_x + \phi_z)} \tilde{ill}_{+1x, +1z}(\mathbf{k}, k_z) \\
 & \quad + e^{i(\phi_x - \phi_z)} \tilde{ill}_{+1x, -1z}(\mathbf{k}, k_z) \\
 & \quad + e^{i(-\phi_x + \phi_z)} \tilde{ill}_{-1x, +1z}(\mathbf{k}, k_z) + e^{-i(\phi_x + \phi_z)} \tilde{ill}_{-1x, -1z}(\mathbf{k}, k_z) \\
 & \quad + e^{i2\phi_x} \tilde{ill}_{+2x}(\mathbf{k}, k_z) + e^{-i2\phi_x} \tilde{ill}_{-2x}(\mathbf{k}, k_z) \quad \dots (28)
 \end{aligned}$$

[0155] ここで、 ϕ_x および ϕ_z は照明光の初期位相である。

[0156] 式(28)を式(27)に代入することで、式(29)を得る。

[0157]

[数29]

$$\begin{aligned}
& \check{I}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
&= \check{I}_0(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) + \check{I}_{+1x, +1z}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) + \check{I}_{+1x, -1z}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
&+ \check{I}_{-1x, +1z}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) + \check{I}_{-1x, -1z}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) + \check{I}_{+2x}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
&+ \check{I}_{-2x}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
& \check{I}_0(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
&= \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dk_z \tilde{I}l_0(\mathbf{k} - \mathbf{k}_s, k_z - k_{zs}) OTF_{\det}(\mathbf{k}, -k_z) \right\} \widetilde{Obj}(\mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
& \check{I}_{+1x, +1z}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
&= e^{i(\phi_x + \phi_z)} \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dk_z \tilde{I}l_{+1x, +1z}(\mathbf{k} - \mathbf{k}_s, k_z - k_{zs}) OTF_{\det}(\mathbf{k}, -k_z) \right\} \widetilde{Obj}(\mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
& \check{I}_{+1x, -1z}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
&= e^{i(\phi_x - \phi_z)} \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dk_z \tilde{I}l_{+1x, -1z}(\mathbf{k} - \mathbf{k}_s, k_z - k_{zs}) OTF_{\det}(\mathbf{k}, -k_z) \right\} \widetilde{Obj}(\mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
& \check{I}_{-1x, +1z}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
&= e^{i(-\phi_x + \phi_z)} \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dk_z \tilde{I}l_{-1x, +1z}(\mathbf{k} - \mathbf{k}_s, k_z - k_{zs}) OTF_{\det}(\mathbf{k}, -k_z) \right\} \widetilde{Obj}(\mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
& \check{I}_{-1x, -1z}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
&= e^{-i(\phi_x + \phi_z)} \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dk_z \tilde{I}l_{-1x, -1z}(\mathbf{k} - \mathbf{k}_s, k_z - k_{zs}) OTF_{\det}(\mathbf{k}, -k_z) \right\} \widetilde{Obj}(\mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
& \check{I}_{+2x}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
&= e^{i2\phi_x} \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dk_z \tilde{I}l_{+2x}(\mathbf{k} - \mathbf{k}_s, k_z - k_{zs}) OTF_{\det}(\mathbf{k}, -k_z) \right\} \widetilde{Obj}(\mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
& \check{I}_{-2x}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
&= e^{-i2\phi_x} \left\{ \int_{-\infty}^{\infty} dk_z \tilde{I}l_{-2x}(\mathbf{k} - \mathbf{k}_s, k_z - k_{zs}) OTF_{\det}(\mathbf{k}, -k_z) \right\} \widetilde{Obj}(\mathbf{k}_s, k_{zs}) \\
& \dots (29)
\end{aligned}$$

[0158] $\check{I}_0(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs})$ を0次成分、 $\check{I}_{+1x, +1z}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs})$ を+1x+1z成分、 $\check{I}_{+1x, -1z}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs})$ を+1x-1z成分、 $\check{I}_{-1x, +1z}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs})$ を-1x+1z成分、 $\check{I}_{-1x, -1z}(\mathbf{k}, \mathbf{k}_s, k_{zs})$ を

$-1x-1z$ 成分、 $I_{+2x}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ を $+2$ 次成分、および $I_{-2x}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ を -2 次成分とそれぞれ呼ぶ。

[0159] $i \mid I^{\sim}(k, k_z)$ が値を持つ領域が AR_0 、 $AR_{+1x, +1z}$ 、 $AR_{+1x, -1z}$ 、 $AR_{-1x, +1z}$ 、 $AR_{-1x, -1z}$ 、 AR_{+2x} 、および AR_{-2x} に限定されることを反映して、各成分 $I_0^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{+1x, +1z}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{+1x, -1z}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{-1x, +1z}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{-1x, -1z}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{+2x}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、および $I_{-2x}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ が値を持つ領域も限定される。各成分が5次元の周波数空間で値を持つ領域は、マスク15の開口が円形である場合、マスク15の開口が円形以外の形状である場合、マスク15の開口部の数が3以上の場合のいずれについても、顕微鏡1の設計値に基づいた数値シミュレーション、理論計算等で求めることができる。もしくは、各成分が値を持つ領域は、蛍光試料を実測することで求めることができる。

[0160] 画像処理部7は $I^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ から、各成分が値を持ち得る領域より情報を抽出し、 $I_0^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{+1x, +1z}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{+1x, -1z}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{-1x, +1z}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{-1x, -1z}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{+2x}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、および $I_{-2x}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ を得る。第3実施形態にて説明したように、この処理を成分分離と称す。成分分離を実行する際、各成分を抽出する領域は、数値シミュレーション、理論計算等で求めた各成分が値を持ち得る領域より広い領域から抽出してもよいし、狭い領域から抽出してもよい。また、各成分間の領域に重なりがある場合においても、その重なりが小さい場合には画像処理結果への影響が小さいため、各成分が重なった領域の情報を抽出してもよい。

[0161] 成分分離を行って抽出した $I_0^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{+1x, +1z}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{+1x, -1z}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{-1x, +1z}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{-1x, -1z}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、 $I_{+2x}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ 、および $I_{-2x}^{\sim}(k, k_s, k_{zs})$ のそれぞれについて、 k 、 k_s 、および k_{zs} に関する5次元の逆フーリエ変換を行うことで、5次元の実空間データを算出する。

$I_{\sim 0}(k, k_s, k_{zs})$ の逆フーリエ変換結果を $I_0(r, r_s, z_s)$ 、 $I_{\sim +1x, +1z}(k, k_s, k_{zs})$ の逆フーリエ変換結果を $I_{+1x, +1z}(r, r_s, z_s)$ 、 $I_{\sim +1x, -1z}(k, k_s, k_{zs})$ の逆フーリエ変換結果を $I_{+1x, -1z}(r, r_s, z_s)$ 、 $I_{\sim -1x, +1z}(k, k_s, k_{zs})$ の逆フーリエ変換結果を $I_{-1x, +1z}(r, r_s, z_s)$ 、 $I_{\sim -1x, -1z}(k, k_s, k_{zs})$ の逆フーリエ変換結果を $I_{-1x, -1z}(r, r_s, z_s)$ 、 $I_{\sim +2x}(k, k_s, k_{zs})$ の逆フーリエ変換結果を $I_{+2x}(r, r_s, z_s)$ 、および $I_{\sim -2x}(k, k_s, k_{zs})$ の逆フーリエ変換結果を $I_{-2x}(r, r_s, z_s)$ とする。

$I_0(r, r_s, z_s)$ 、 $I_{+1x, +1z}(r, r_s, z_s)$ 、 $I_{+1x, -1z}(r, r_s, z_s)$ 、 $I_{-1x, +1z}(r, r_s, z_s)$ 、 $I_{-1x, -1z}(r, r_s, z_s)$ 、 $I_{+2x}(r, r_s, z_s)$ 、および $I_{-2x}(r, r_s, z_s)$ のそれぞれに対して、式 (30) に示す演算を行う。

[0162] [数30]

$$\begin{aligned}
 I'_0(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) &= I_0(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) \\
 I'_{+1x, +1z}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) &= I_{+1x, +1z}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) e^{i(\psi(\mathbf{r}) - \phi_z)} \\
 I'_{+1x, -1z}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) &= I_{+1x, -1z}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) e^{i(\psi(\mathbf{r}) + \phi_z)} \\
 I'_{-1x, +1z}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) &= I_{-1x, +1z}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) e^{i(-\psi(\mathbf{r}) - \phi_z)} \\
 I'_{-1x, -1z}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) &= I_{-1x, -1z}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) e^{i(-\psi(\mathbf{r}) + \phi_z)} \\
 I'_{+2x}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) &= I_{+2x}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) e^{i2\psi(\mathbf{r})} \\
 I'_{-2x}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) &= I_{-2x}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, z_s) e^{-i2\psi(\mathbf{r})} \quad \dots (30)
 \end{aligned}$$

[0163] 式 (30) において、 $\phi(r)$ は、第3実施形態で説明したのと同様に検出装置6の検出部6aの位置 r ごとの画像処理位相シフト量を表す。画像処理位相シフト量 $\phi(r)$ は例えば、下記のように決定される。

画像処理部7は、ディテクター座標 r で検出した信号の位置ずれ量を算出する。画像処理部7は、例えば、予めシミュレーションにより、 $PSF_{det}(r+r_s, z_s)$ と $ill(r_s, z_s)$ のエンベロープを表す分布との積によって得られる分布のピーク位置を求めることで、上記の位置ずれ量を算出する。ここで実効PSFの位置ずれはディテクター座標 r に比例すると考えてよく、位置ずれの度合いを表すパラメーターを β とし、位置ずれ量を r/β

β で表す。 β の値は、 $\text{PSFdet}(r+r_s, z_s)$ と $|\text{ill}(r_s, z_s)|$ のエンベロープを表す分布との積によって得られる分布のピーク位置から算出されてもよいし、他の数値シミュレーションによって算出されてもよいし、観察画像から推定してもよい。また検出装置6の検出部6aごとに異なる β を用いてもよい。 β が決まると、ディテクター座標に応じた画像処理位相シフト量が決まる。干渉縞L2の画像処理位相シフト量 $\phi(r)$ は $\text{PSFdet}(r+r_s, z_s)$ と $|\text{ill}(r_s, z_s)|$ のエンベロープを表す分布との積によって得られる関数のピーク位置と、干渉縞のピーク位置とが一致するように決定される。

このような処理によって、画像処理位相シフト量は、例えば、 $\phi(r) = -2\pi k_0 \cdot r / \beta - \phi_x$ となる。初期位相 ϕ_x 、および初期位相 ϕ_z の値は、蛍光ビーズを用いて予め測定された値でもよいし、観察画像から推定される値でもよい。画像処理部7は、試料Sにおける励起光の光強度分布に基づいて、位相を変換する量（画像処理位相シフト量）を決定する。

[0164] 画像処理部7は、上記の式(30)の7つの式の演算結果について、下記の式(31)に示すように和を算出する。

[0165] [数31]

$$\begin{aligned} I'(r, r_s, z_s) &= I'_0(r, r_s, z_s) + I'_{+1x, +1z}(r, r_s, z_s) + I'_{+1x, -1z}(r, r_s, z_s) \\ &+ I'_{-1x, +1z}(r, r_s, z_s) + I'_{-1x, -1z}(r, r_s, z_s) + I'_{+2x}(r, r_s, z_s) \\ &+ I'_{-2x}(r, r_s, z_s) \end{aligned} \quad \cdots (31)$$

[0166] 上記の式(31)の演算から得られる $I'(r, r_s, z_s)$ は、検出部6aの位置 r ごとの実効PSFの形状の崩れが補正され、実効PSFの形状がほぼ同一となった画像となる。本実施形態では干渉縞L2のX方向の初期位相 ϕ_x のみならず、Z方向の初期位相 ϕ_z も補正することが可能である。これにより、例えば光学系の収差や、装置の誤差によって発生する干渉縞L2の位相誤差を、X方向、およびZ方向共に補正することが可能である。

[0167] 画像処理部7は、 $I'(r, r_s, z_s)$ に対して、検出装置6の検出部6aごとの実効PSFの位置ずれを補正する。これにより、検出装置6の2以

上の検出部 6 a で実効 P S F をほぼ同一とすることができる。画像処理部 7 は、実効 P S F がほぼ同一に補正された検出部 6 a ごとの画像を足し合わせることによって、3次元の超解像画像 $I_{SR}(r_s, z_s)$ を生成する。この一連の処理は式 (32) に基づいて行われる。

[0168] [数32]

$$I_{SR}(r_s, z_s) = \int_{-\infty}^{\infty} PH(r) I' \left(r, r_s - \frac{r}{\beta}, z_s \right) dr \quad \dots (32)$$

[0169] ここで $PH(r)$ は式 (22) で定義されるピンホール関数である。式 (22) の r_{PH} の値を大きくすると信号量を増加させることができ、 r_{PH} の値を小さくするとセクショニング能力を高めることができる。

[0170] 本実施形態において、スキャン間隔、および検出装置 6 の検出部 6 a の間隔は、遮断周波数およびナイキストの定理に基づいて設定されてもよい。スキャン間隔は、光軸に直交する方向の干渉縞の周期方向において $\lambda_{ex}/8NA$ 以下に設定されてもよい。また、スキャン間隔は、光軸に直交する方向の干渉縞の周期方向と垂直な方向において $\lambda_{ex}/4NA$ 以下に設定されてもよい。また、スキャン間隔は、光軸方向の干渉縞の周期方向において $\lambda_{ex}/(8(n - \sqrt{n^2 - NA^2}))$ 以下に設定されてもよい。ここで、 n は対物レンズ 21 の浸液の屈折率である。また、検出装置 6 の検出部 6 a の間隔は、 $\lambda_{em}/4NA$ 以下に設定されてもよい。検出光学系の倍率が 1 とは異なる場合は、検出光学系 5 の検出装置 6 側の開口数を NA_d として、例えば、検出部 6 a のサイズは、 $\lambda_{em}/4NA_d$ 程度に設定されることが望ましい。もしくは、検出部 6 a のサイズが d である時、検出光学系 5 の検出装置 6 側の開口数 NA_d が、 $NA_d < \lambda_{em}/4d$ を満たすように、レンズ 23 の焦点距離が設定されてもよい。

[0171] 図 15 は、第 5 実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。ステップ S1 からステップ S4 の処理は図 7 と同様であり、その説明を省略する。ステップ S24 からステップ S26 の処理は図 12 と同様であり、その説明を省略する。ステップ S41 において、制御部 CB は、ステージ 2 によ

って干渉縞L 2と試料SとのZ方向の相対位置を設定する。ステップS 4 2において、制御部C Bは、干渉縞L 2と試料SのZ方向の相対位置を変更するか否かを判定する。制御部C Bは、予定された観察領域の一部についてステップS 4 1からステップS 4の処理が終了していないと判定した場合に、干渉縞L 2と試料SのZ方向の相対位置を変更すると判定する（ステップS 4 2；Y e s）。制御部C Bは、干渉縞L 2と試料SのZ方向の相対位置を変更すると判定した場合（ステップS 4 1；Y e s）、ステップS 4 1の処理に戻り、ステージ2によって干渉縞L 2と試料SとのZ方向の相対位置を設定する。そして、ステップS 1からステップS 4の処理が繰り返される。このようにして、顕微鏡1は、ステージ2によって干渉縞L 2と試料SとのZ方向の相対位置を設定し、設定したそれぞれの相対位置について照明光学系4によって試料Sを励起光L 1の干渉縞で2次元的に走査することによって、試料Sを3次元的に走査する。

[0172] 制御部C Bは、予定された観察領域の全てについてステップS 4 1からステップS 4の処理が終了したと判定した場合に、干渉縞L 2と試料SのZ方向の相対位置を変更しないと判定する（ステップS 4 2；N o）。干渉縞L 2と試料SのZ方向の相対位置を変更しないと制御部C Bが判定した場合（ステップS 4 2；N o）、ステップS 4 3において、画像処理部7は、複数の検出部6 aの少なくとも一部の検出結果に対して、ディテクター座標 r （2次元）、スキャン座標 r_s （2次元）、および z_s についての5次元のフーリエ変換を行う。ステップS 4 4において、画像処理部7は、周波数空間において成分分離する。画像処理部7は、5次元のフーリエ変換により得られる5次元の周波数空間の成分を周波数空間の領域ごとに分離する。ステップS 4 5において、画像処理部7は、分離された成分に対してディテクター座標 r （2次元）、スキャン座標 r_s （2次元）、および z_s についての5次元の逆フーリエ変換を行う。

[0173] [第6実施形態]

第6実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と

同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。図16は第6実施形態に係る顕微鏡を示す図である。本実施形態に係る顕微鏡1は、照明光学系4に位相変調素子25を備える。位相変調素子25は位相変調素子駆動機構（駆動部26）によって駆動され、干渉縞L2の明暗の位相を変更することができる。本実施形態において、画像処理部7（図4参照）は、干渉縞L2の位相が複数回変更された画像を取得し、干渉縞L2の位相が異なる複数枚の画像を用いて成分分離を行った後、分離された成分について第3実施形態で説明した画像処理位相シフト処理に続く一連の処理を行って画像を生成する。

[0174] 位相変調素子25は、一例として、略円板形状のガラス板であり、位相変調素子駆動部（駆動部26）から供給されるトルクによって光軸4aの周りで回転可能である。図17は、位相変調素子25の一例を示す図である。図17（A）～図17（F）は位相変調素子25を図16のZa方向から見た図であり、1つの位相変調素子が中心Cnを中心として相互に異なる角度だけ回転した状態を表している。位相変調素子25は、中心Cnが図16の照明光学系4の光軸4aに略一致するように配置されている。

[0175] 略円板形状の位相変調素子25の厚さは領域Ph0、Ph+1、Ph+2、Ph+3、Ph+4、Ph-1、Ph-2、Ph-3、およびPh-4とで異なり、各領域を透過する光束の間に位相差を与える。位相変調素子25は各領域を透過する光束の間に位相差を与え、干渉縞L2の明暗の位相を変更する。

[0176] 図17（B）に示す回転角度の位相変調素子25の場合、開口部15aを通った励起光L1aと開口部15bを通った励起光L1bと開口部15cを通った励起光L1cとは、共に領域Ph0を透過するため、励起光L1aと励起光L1bと励起光L1cとの間には位相差は付加されない。

[0177] しかし、図17（C）に示す回転角度の位相変調素子25の場合、励起光L1aは領域Ph+1を透過し、励起光L1bは領域Ph-1を透過し、励起光L1cは領域Ph0を透過するため、励起光L1aと励起光L1bと励

起光 L_{1c} との間には所定の第1の位相差がそれぞれ付加される。例えば、図17(C)に示す回転角度の位相変調素子25の場合、励起光 L_{1a} は励起光 L_{1c} に対して ϕ_1 の位相差、励起光 L_{1b} は励起光 L_{1c} に対して $-\phi_1$ の位相差が付加されるようにしてもよい。ここで、例えば、 ϕ_1 の値として $\pi/5$ [rad]が選択されてもよい。

[0178] 同様に、図17(D)に示す回転角度の位相変調素子25の場合、励起光 L_{1a} は領域 P_{h+2} を透過し、励起光 L_{1b} は領域 P_{h-2} を透過し、励起光 L_{1c} は領域 P_{h0} を透過するため、励起光 L_{1a} と励起光 L_{1b} と励起光 L_{1c} との間には所定の第2の位相差がそれぞれ付加される。例えば、図17(D)に示す回転角度の位相変調素子25の場合、励起光 L_{1a} は励起光 L_{1c} に対して ϕ_2 の位相差、励起光 L_{1b} は励起光 L_{1c} に対して $-\phi_2$ の位相差が付加されるようにしてもよい。ここで、例えば、 ϕ_2 の値として $2\pi/5$ [rad]が選択されてもよい。

[0179] 同様に、図17(E)に示す回転角度の位相変調素子25の場合、励起光 L_{1a} は領域 P_{h+3} を透過し、励起光 L_{1b} は領域 P_{h-3} を透過し、励起光 L_{1c} は領域 P_{h0} を透過するため、励起光 L_{1a} と励起光 L_{1b} と励起光 L_{1c} との間には所定の第3の位相差がそれぞれ付加される。例えば、図17(E)に示す回転角度の位相変調素子25の場合、励起光 L_{1a} は励起光 L_{1c} に対して ϕ_3 の位相差、励起光 L_{1b} は励起光 L_{1c} に対して $-\phi_3$ の位相差が付加されるようにしてもよい。ここで、例えば、 ϕ_3 の値として $3\pi/5$ [rad]が選択されてもよい。

[0180] 同様に、図17(F)に示す回転角度の位相変調素子25の場合、励起光 L_{1a} は領域 P_{h+4} を透過し、励起光 L_{1b} は領域 P_{h-4} を透過し、励起光 L_{1c} は領域 P_{h0} を透過するため、励起光 L_{1a} と励起光 L_{1b} と励起光 L_{1c} との間には所定の第4の位相差がそれぞれ付加される。例えば、図17(F)に示す回転角度の位相変調素子25の場合、励起光 L_{1a} は励起光 L_{1c} に対して ϕ_4 の位相差、励起光 L_{1b} は励起光 L_{1c} に対して $-\phi_4$ の位相差が付加されるようにしてもよい。ここで、例えば、 ϕ_4 の値と

して $4\pi/5$ [rad] が選択されてもよい。

[0181] 従って、位相変調素子 25 の回転角度を、図 17 (B) の状態から順次変更することによって、励起光 L1a と励起光 L1b と励起光 L1c との間の位相差をそれぞれ順次変更することができ、干渉縞 L2 の明暗の位相を変更することができる。

[0182] なお、励起光 L1c が透過する領域は位相変調素子 25 の回転角度によらず領域 Ph0 であるとして実施形態を説明するが、励起光 L1c の位相が変更されるように位相変調素子 25 を構成してもよい。また、位相差 $\phi_1 \sim \phi_4$ の値は上記にて説明した値以外でもよい。後述するように、位相差の値および位相差変更回数は成分分離が可能ないように設定すればよい。

[0183] また、位相変調素子 25 の各領域 Ph0、Ph+1～Ph+4、Ph-1～Ph-4 は、上述のように位相変調素子 25 自体の厚さを領域毎に異ならせたものに限られるわけではなく、均一な厚さのガラス円板の少なくとも 9 カ所の領域に所定の厚さの薄膜を形成したものであってもよい。領域ごとに厚みが異なるガラス円板を複数枚配置し、複数枚のガラス円板をそれぞれ駆動してもよい。また、液晶 SLM や MEMS ミラーなどの素子を位相変調素子として利用してもよい。種類の異なる位相変調素子を組み合わせて用いてもよい。

[0184] 位相変調素子 25 によって、励起光 L1a には励起光 L1c に対して Φ の位相差が付加され、励起光 L1b には励起光 L1c に対して $-\Phi$ の位相差が付加された場合、試料面 Sa での励起光の電場強度 $i_{ll}(r)$ は、下記の式 (33) で表される。

[0185] [数33]

$$i_{ll}(r) = PSF_{ill}(r) \frac{3 + 4 \cos(2\pi k_0 \cdot r + \Phi) + 2 \cos(4\pi k_0 \cdot r + 2\Phi)}{9} \dots (33)$$

[0186] 位相変調素子 25 の回転角度が図 17 (B) に示す状態の場合には $\Phi = 0$ であり、図 17 (C) に示す状態の場合には $\Phi = \phi_1$ であり、図 17 (D) に示す状態の場合には $\Phi = \phi_2$ であり、図 17 (E) に示す状態の場合には

$\Phi = \phi 3$ であり、図17 (F) に示す状態の場合には $\Phi = \phi 4$ である。また、位相変調素子25によって干渉縞L2の位相を変化させるということは、式(33)の右辺において、 $PSF_{ill}(r)$ を変化させることなく位相 Φ を変化させることに相当する。 $PSF_{ill}(r)$ が変化しないことは、干渉縞L2の強度分布のエンベロープ（包絡線）が変化しないことを意味する。したがって、位相変調素子25は干渉縞L2の強度分布のエンベロープ（包絡線）を移動させることなく、干渉縞L2の強度分布の明暗の位相を変化させる。

[0187] 顕微鏡1は位相変調素子25の回転角度が図17 (B) ~ (F) のいずれかの状態において、走査部18により干渉縞L2を試料面Sa上で走査し、検出装置6は、蛍光L3を検出する。例えば、顕微鏡1は、試料面Saから選択される照明領域を干渉縞L2で照明し、検出装置6は、上記照明領域からの蛍光L3を検出する。顕微鏡1は、検出装置6による検出が終了した後に、走査部18により上記照明領域を変更する。顕微鏡1は、蛍光を検出する処理と、照明領域を変更する処理とを繰り返すことで、所望の領域における蛍光強度分布（検出装置6の測定値）を取得する。

[0188] 第3実施形態の式(12)に関して説明したのと同様に、式(33)を式(3)に代入することで、画像データ $I(r, r_s; \Phi)$ は以下の式(34)で与えられる。

[0189] [数34]

$$\begin{aligned}
 I(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s; \Phi) &= \{PSF_{det}(\mathbf{r} + \mathbf{r}_s) PSF_{ill}(\mathbf{r}_s) \\
 &\cdot \frac{3 + 4 \cos(2\pi \mathbf{k}_0 \cdot \mathbf{r}_s + \Phi) + 2 \cos(4\pi \mathbf{k}_0 \cdot \mathbf{r}_s + 2\Phi)}{9}\} * Obj(\mathbf{r}_s) \\
 &\dots (34)
 \end{aligned}$$

[0190] 式(34)では、干渉縞L2の位相 Φ の依存性を明確にするために引数に Φ を明示して $I(r, r_s; \Phi)$ と書いている。

[0191] 所定の位相 Φ での干渉縞L2の走査により得られた画像データ $I(r, r_s$

; Φ) に対して、スキャン座標 r_s (2次元) について2次元フーリエ変換 (2D-FFT) を行う。このフーリエ変換により得られるデータは、式 (34) をスキャン座標 r_s についてフーリエ変換することで得られる下記の式 (35) と等価である。

[0192] [数35]

$$\begin{aligned} \tilde{I}(r, k_s; \Phi) &= \left\{ OTF'_{\text{det}}(r, k_s) \overset{k_s}{*} \left(\frac{1}{3} OTF_{\text{ill}}(k_s) + \frac{2}{9} e^{i\Phi} OTF_{\text{ill}}(k_s - k_0) \right. \right. \\ &\quad + \frac{2}{9} e^{-i\Phi} OTF_{\text{ill}}(k_s + k_0) + \frac{1}{9} e^{i2\Phi} OTF_{\text{ill}}(k_s - 2k_0) \\ &\quad \left. \left. + \frac{1}{9} e^{-i2\Phi} OTF_{\text{ill}}(k_s + 2k_0) \right) \right\} \widetilde{O}b_j(k_s) \end{aligned} \quad \dots (35)$$

[0193] 式 (35) において、 $OTF'_{\text{det}}(r, k_s) = e^{i2\pi k_s r} OTF_{\text{det}}(k_s)$ である。式 (35) は5つの項の和になっており、以下の式 (36) で示すように、それぞれの項を、0次成分 $\tilde{I}_0(r, k_s)$ 、+1次成分 $\tilde{I}_{+1}(r, k_s)$ 、-1次成分 $\tilde{I}_{-1}(r, k_s)$ 、+2次成分 $\tilde{I}_{+2}(r, k_s)$ 、および-2次成分 $\tilde{I}_{-2}(r, k_s)$ と呼ぶ。これらの成分は、第3実施形態で説明した成分と本質的に同等である。

[0194] [数36]

$$\begin{aligned} \tilde{I}(r, k_s; \Phi) &= \tilde{I}_0(r, k_s) + e^{i\Phi} \tilde{I}_{+1}(r, k_s) + e^{-i\Phi} \tilde{I}_{-1}(r, k_s) + e^{i2\Phi} \tilde{I}_{+2}(r, k_s) \\ &\quad + e^{-i2\Phi} \tilde{I}_{-2}(r, k_s) \\ \tilde{I}_0(r, k_s) &= \frac{1}{3} \left\{ OTF'_{\text{det}}(r, k_s) \overset{k_s}{*} OTF_{\text{ill}}(k_s) \right\} \widetilde{O}b_j(k_s) \\ \tilde{I}_{+1}(r, k_s) &= \frac{2}{9} \left\{ OTF'_{\text{det}}(r, k_s) \overset{k_s}{*} OTF_{\text{ill}}(k_s - k_0) \right\} \widetilde{O}b_j(k_s) \\ \tilde{I}_{-1}(r, k_s) &= \frac{2}{9} \left\{ OTF'_{\text{det}}(r, k_s) \overset{k_s}{*} OTF_{\text{ill}}(k_s + k_0) \right\} \widetilde{O}b_j(k_s) \\ \tilde{I}_{+2}(r, k_s) &= \frac{1}{9} \left\{ OTF'_{\text{det}}(r, k_s) \overset{k_s}{*} OTF_{\text{ill}}(k_s - 2k_0) \right\} \widetilde{O}b_j(k_s) \\ \tilde{I}_{-2}(r, k_s) &= \frac{1}{9} \left\{ OTF'_{\text{det}}(r, k_s) \overset{k_s}{*} OTF_{\text{ill}}(k_s + 2k_0) \right\} \widetilde{O}b_j(k_s) \end{aligned} \quad \dots (36)$$

[0195] 本実施形態では第3実施形態同様に、式 (36) の中の±1次成分および

±2次成分に対して、所定の位相シフト量 ϕ を掛け合わせることで、検出部6aの座標に合わせて干渉縞L2の位相を画像処理的にシフトする補正処理を行う。

[0196] ただし本実施形態では、第3実施形態とは異なり、ディテクター座標 r に関してフーリエ変換を行っていないため、干渉縞L2の走査により得られた画像データ $I(r, r_s; \phi)$ のスキャン座標 r_s に関する2次元フーリエ変換の結果得られる0次成分 $I_{\sim 0}(r, k_s)$ 、+1次成分 $I_{\sim +1}(r, k_s)$ 、-1次成分 $I_{\sim -1}(r, k_s)$ 、+2次成分 $I_{\sim +2}(r, k_s)$ 、および-2次成分 $I_{\sim -2}(r, k_s)$ は、周波数空間上においてそれぞれ広がり、相互にオーバーラップしているため、データ上で明確に分離することは困難である。

[0197] 本実施形態では、干渉縞L2の異なる複数の位相において走査を行い、画像データを取得する。これらの複数の画像データをそれぞれスキャン座標に対してフーリエ変換したデータに基づいて、0次成分 $I_{\sim 0}(r, k_s)$ 、+1次成分 $I_{\sim +1}(r, k_s)$ 、-1次成分 $I_{\sim -1}(r, k_s)$ 、+2次成分 $I_{\sim +2}(r, k_s)$ 、および-2次成分 $I_{\sim -2}(r, k_s)$ を相互に分離することができる。

[0198] ここで、干渉縞L2の位相 ϕ について、0、 ϕ_1 、 ϕ_2 、 ϕ_3 、および ϕ_4 の5位相分の画像を取得したとする。すると、各々の位相に対して得られる画像 $I(r, r_s; \phi)$ のスキャン座標 r_s に対するフーリエ変換は、以下の式(37)のように示される。

[0199]

[数37]

$$\begin{aligned}
& \tilde{I}(r, k_s; \Phi = 0) \\
&= \tilde{I}_0(r, k_s) + \tilde{I}_{+1}(r, k_s) + \tilde{I}_{-1}(r, k_s) + \tilde{I}_{+2}(r, k_s) + \tilde{I}_{-2}(r, k_s) \\
& \tilde{I}(r, k_s; \phi_1) \\
&= \tilde{I}_0(r, k_s) + e^{i\phi_1} \tilde{I}_{+1}(r, k_s) + e^{-i\phi_1} \tilde{I}_{-1}(r, k_s) + e^{i2\phi_1} \tilde{I}_{+2}(r, k_s) \\
&+ e^{-i2\phi_1} \tilde{I}_{-2}(r, k_s) \\
& \tilde{I}(r, k_s; \phi_2) \\
&= \tilde{I}_0(r, k_s) + e^{i\phi_2} \tilde{I}_{+1}(r, k_s) + e^{-i\phi_2} \tilde{I}_{-1}(r, k_s) + e^{i2\phi_2} \tilde{I}_{+2}(r, k_s) \\
&+ e^{-i2\phi_2} \tilde{I}_{-2}(r, k_s) \\
& \tilde{I}(r, k_s; \phi_3) \\
&= \tilde{I}_0(r, k_s) + e^{i\phi_3} \tilde{I}_{+1}(r, k_s) + e^{-i\phi_3} \tilde{I}_{-1}(r, k_s) + e^{i2\phi_3} \tilde{I}_{+2}(r, k_s) \\
&+ e^{-i2\phi_3} \tilde{I}_{-2}(r, k_s) \\
& \tilde{I}(r, k_s; \phi_4) \\
&= \tilde{I}_0(r, k_s) + e^{i\phi_4} \tilde{I}_{+1}(r, k_s) + e^{-i\phi_4} \tilde{I}_{-1}(r, k_s) + e^{i2\phi_4} \tilde{I}_{+2}(r, k_s) \\
&+ e^{-i2\phi_4} \tilde{I}_{-2}(r, k_s) \\
& \dots (37)
\end{aligned}$$

[0200] 式(37)を行列形式で書くと式(38)となる。

[0201] [数38]

$$\begin{pmatrix} \tilde{I}(r, k_s; \Phi = 0) \\ \tilde{I}(r, k_s; \phi_1) \\ \tilde{I}(r, k_s; \phi_2) \\ \tilde{I}(r, k_s; \phi_3) \\ \tilde{I}(r, k_s; \phi_4) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & e^{i\phi_1} & e^{-i\phi_1} & e^{i2\phi_1} & e^{-i2\phi_1} \\ 1 & e^{i\phi_2} & e^{-i\phi_2} & e^{i2\phi_2} & e^{-i2\phi_2} \\ 1 & e^{i\phi_3} & e^{-i\phi_3} & e^{i2\phi_3} & e^{-i2\phi_3} \\ 1 & e^{i\phi_4} & e^{-i\phi_4} & e^{i2\phi_4} & e^{-i2\phi_4} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \tilde{I}_0(r, k_s) \\ \tilde{I}_{+1}(r, k_s) \\ \tilde{I}_{-1}(r, k_s) \\ \tilde{I}_{+2}(r, k_s) \\ \tilde{I}_{-2}(r, k_s) \end{pmatrix} \\
\dots (38)$$

[0202] したがって、式(38)から0次成分 $\tilde{I}_0(r, k_s)$ 、+1次成分 $\tilde{I}_{+1}(r, k_s)$ 、-1次成分 $\tilde{I}_{-1}(r, k_s)$ 、+2次成分 $\tilde{I}_{+2}(r, k_s)$ 、および-2次成分 $\tilde{I}_{-2}(r, k_s)$ を、以下の式(39)を用いて求めることができる。

[0203] [数39]

$$\begin{pmatrix} \tilde{I}_0(r, k_s) \\ \tilde{I}_{+1}(r, k_s) \\ \tilde{I}_{-1}(r, k_s) \\ \tilde{I}_{+2}(r, k_s) \\ \tilde{I}_{-2}(r, k_s) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & 1 & 1 & 1 & 1 \\ 1 & e^{i\phi_1} & e^{-i\phi_1} & e^{i2\phi_1} & e^{-i2\phi_1} \\ 1 & e^{i\phi_2} & e^{-i\phi_2} & e^{i2\phi_2} & e^{-i2\phi_2} \\ 1 & e^{i\phi_3} & e^{-i\phi_3} & e^{i2\phi_3} & e^{-i2\phi_3} \\ 1 & e^{i\phi_4} & e^{-i\phi_4} & e^{i2\phi_4} & e^{-i2\phi_4} \end{pmatrix}^{-1} \begin{pmatrix} \tilde{I}(r, k_s; \Phi = 0) \\ \tilde{I}(r, k_s; \phi_1) \\ \tilde{I}(r, k_s; \phi_2) \\ \tilde{I}(r, k_s; \phi_3) \\ \tilde{I}(r, k_s; \phi_4) \end{pmatrix} \\
\dots (39)$$

- [0204] 上記から、0次成分 $l_{\sim 0}(r, k_s)$ 、+1次成分 $l_{\sim +1}(r, k_s)$ 、-1次成分 $l_{\sim -1}(r, k_s)$ 、+2次成分 $l_{\sim +2}(r, k_s)$ 、および-2次成分 $l_{\sim -2}(r, k_s)$ を求める(成分分離する)ためには、 $\phi 1$ 、 $\phi 2$ 、 $\phi 3$ 、および $\phi 4$ を、式(39)中の逆行列が存在するように設定すればよいことが分かる。その一例としては、例えば上述の通り、 $\phi 1$ 、 $\phi 2$ 、 $\phi 3$ 、および $\phi 4$ を、それぞれ、 $\pi/5$ 、 $2\pi/5$ 、 $3\pi/5$ 、および $4\pi/5$ [rad]と設定すればよい。
- [0205] このように、複数通り(一例として5通り)の干渉縞L2の位相Φの下で、走査部18により試料面Sa上で干渉縞L2を走査させて取得した複数通りの画像に対して、それぞれの画像をスキャン座標 r_s でフーリエ変換し、そのフーリエ変換の結果から、式(39)に基づいて、0次成分 $l_{\sim 0}(r, k_s)$ 、+1次成分 $l_{\sim +1}(r, k_s)$ 、-1次成分 $l_{\sim -1}(r, k_s)$ 、+2次成分 $l_{\sim +2}(r, k_s)$ 、および-2次成分 $l_{\sim -2}(r, k_s)$ を求める(抽出する)ことができ、これも成分分離と呼ぶ。
- [0206] 次に、成分分離によって得られた0次成分 $l_{\sim 0}(r, k_s)$ 、+1次成分 $l_{\sim +1}(r, k_s)$ 、-1次成分 $l_{\sim -1}(r, k_s)$ 、+2次成分 $l_{\sim +2}(r, k_s)$ 、および-2次成分 $l_{\sim -2}(r, k_s)$ のそれぞれについて、波数座標 k_s (スキャン座標 r_s でのフーリエ変換後の波数座標)についての逆フーリエ変換(2D-逆FFT)を行う。
- [0207] $l_{\sim 0}(r, k_s)$ に対して逆フーリエ変換を行って得られる画像データを $I_0(r, r_s)$ で表す。 $l_{\sim +1}(r, k_s)$ に対して逆フーリエ変換を行って得られる画像データを $I_{+1}(r, r_s)$ で表す。 $l_{\sim -1}(r, k_s)$ に対して逆フーリエ変換を行って得られる画像データを $I_{-1}(r, r_s)$ で表す。 $l_{\sim +2}(r, k_s)$ に対して逆フーリエ変換を行って得られる画像データを $I_{+2}(r, r_s)$ で表す。 $l_{\sim -2}(r, k_s)$ に対して逆フーリエ変換を行って得られる画像データを $I_{-2}(r, r_s)$ で表す。
- [0208] このようにして得られた $I_0(r, r_s)$ 、 $I_{+1}(r, r_s)$ 、 $I_{-1}(r, r_s)$ 、 $I_{+2}(r, r_s)$ 、および $I_{-2}(r, r_s)$ は、第3実施形態にて説明した

$I_0(r, r_s)$ 、 $I_{+1}(r, r_s)$ 、 $I_{-1}(r, r_s)$ 、 $I_{+2}(r, r_s)$ 、および $I_{-2}(r, r_s)$ と同等である。したがって、第3実施形態にて説明した、画像処理的位相シフト処理、検出装置6の検出部6aごとの実効PSFの位置ずれを補正する処理、および実効PSFがほぼ同一に補正された検出部6aごとの画像を足し合わせる処理を適用することができる。

[0209] $I_0(r, r_s)$ 、 $I_{+1}(r, r_s)$ 、 $I_{-1}(r, r_s)$ 、 $I_{+2}(r, r_s)$ 、および $I_{-2}(r, r_s)$ に対して、式(19)の演算を行う。式(19)の演算結果に対して、式(20)の演算を行う。式(20)の演算から得られる $I'(r, r_s)$ は、検出部6aの位置 r ごとの実効PSFの形状の崩れが補正され、実効PSFの形状がほぼ同一となった画像となる。

[0210] 画像処理部7は、 $I'(r, r_s)$ に対して、検出装置6の検出部6aごとの実効PSFの位置ずれを補正する。これにより、検出装置6の2以上の検出部6aで実効PSFをほぼ同一とすることができる。画像処理部7は、実効PSFがほぼ同一に補正された検出部6aごとの画像を足し合わせることで、超解像画像 $I_{SR}(r_s)$ を生成する。この一連の処理は式(21)に基づいて行われる。

[0211] このようにして、本実施形態では複数通り（一例として5通り）の干渉縞L2の位相Φの下で、走査部18により試料面Sa上で干渉縞L2を走査させて取得した複数通りの画像を用いて成分分離を実行し、検出装置6の検出部6aごとの画像処理位相シフト処理、検出装置6の検出部6aごとの実効PSFの位置ずれ補正処理、および実効PSFがほぼ同一に補正された検出部6aごとの画像を足し合わせる処理を行う。

[0212] 図18は、第6実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。ステップS1からステップS4の処理は図7と同様であり、その説明を省略する。ステップS24からステップS26の処理は図12と同様であり、その説明を省略する。ステップS51において、制御部CBは、干渉縞L2の位相を設定する。ステップS52において、制御部CBは、干渉縞L2の位相を変更するか否かを判定する。制御部CBは、予定された観察領域の一部に

ついてステップS 5 1 からステップS 4 の処理が終了していないと判定した場合に、干渉縞L 2 の位相を変更すると判定する（ステップS 5 2 ; Y e s）。制御部C Bは、干渉縞L 2 の位相を変更すると判定した場合（ステップS 5 2 ; Y e s）、ステップS 5 1 の処理に戻り、再び干渉縞L 2 の位相を設定する。そして、ステップS 1 からステップS 4 の処理が繰り返される。このようにして、顕微鏡1では、照明光学系4が、試料Sを励起光L 1 の複数通りの干渉縞L 2 で2次元的に走査する。

[0213] 制御部C Bは、予定された観察領域の全てについてステップS 5 1 からステップS 4 の処理が終了したと判定した場合に、干渉縞L 2 の位相を変更しないと判定する（ステップS 5 2 ; N o）。干渉縞L 2 の位相を変更しないと制御部C Bが判定した場合（ステップS 5 2 ; N o）、ステップS 5 3 において、画像処理部7は、複数の検出部6 aの少なくとも一部の検出結果に対して、スキャン座標 r_s （2次元）についての2次元のフーリエ変換を行う。ステップS 5 4 において、画像処理部7は、例えば、式（39）で示される連立方程式を解くことによって、周波数空間において成分分離する。ステップS 5 5 において、画像処理部7は、分離された成分に対して、スキャン座標 r_s （2次元）についての2次元の逆フーリエ変換を行う。

[0214] なお、本実施形態において、顕微鏡1は、試料面S aと平行な2方向に干渉縞L 2 を走査することで、干渉縞L 2 を2次元的に走査してもよいし、試料面S aと平行な2方向、および試料面S aに垂直な1方向に干渉縞L 2 を走査することで、干渉縞L 2 を3次元的に走査してもよい。干渉縞L 2 を3次元的に走査する場合、試料面S aと平行な2方向に干渉縞L 2 を走査する処理（以下、2次元処理という）については、上述の実施形態で説明した処理と同様である。顕微鏡1は、2次元処理をZ方向の位置を変更して繰り返すことにより、例えば、3次元的な超解像画像を生成可能である。後述の実施形態について同様に、顕微鏡1は、干渉縞L 2 を3次元的に走査してもよい。

[0215] 実施形態に係る顕微鏡1は、干渉縞L 2 の周期方向（図16ではX方向）

の分解能が向上する。顕微鏡 1 は、干渉縞 L 2 の周期方向を変更して試料 S からの蛍光を検出することで、XYZ の 3 次元的に分解能を向上させることも可能である。干渉縞 L 2 の周期方向はマスク 15 を所望の方向に回転させることで変更することが可能である。この場合、位相変調素子 25 の回転角度もマスク 15 の回転角度に合わせて変更してもよい。

[0216] 本実施形態では複数通り（一例として 5 通り）の干渉縞 L 2 の位相 Φ の下で、走査部 18 により試料面 S a 上で干渉縞 L 2 を走査させて取得した複数通りの画像を用いて成分分離を実行した。これは、0 次成分 $I \sim_0(r, k_s)$ 、+1 次成分 $I \sim_{+1}(r, k_s)$ 、-1 次成分 $I \sim_{-1}(r, k_s)$ 、+2 次成分 $I \sim_{+2}(r, k_s)$ 、および -2 次成分 $I \sim_{-2}(r, k_s)$ の周波数空間上におけるそれぞれのオーバーラップが大きいためである。しかしながら、例えば、+2 次成分 $I \sim_{+2}(r, k_s)$ 、-2 次成分 $I \sim_{-2}(r, k_s)$ の周波数空間上におけるそれぞれのオーバーラップは十分に小さい場合があり、波数空間上の +2 次成分が値を持つ領域、および -2 次成分が値を持つ領域からデータを抽出することで成分分離できる場合がある。このような場合、干渉縞 L 2 の位相 Φ の変更回数を削減してもすべての成分を分離することが可能である。

[0217] また、成分分離を行うにあたって、本実施形態で説明した成分分離方法と第 3 実施形態で説明した成分分離方法とを適宜組み合わせてもよい。この場合、干渉縞 L 2 の位相 Φ を変更する回数は、分離したい成分の数に合わせて決定してもよい。

[0218] 例えば、第 5 実施形態で説明した +1 x +1 z 成分、+1 x -1 z 成分を 3 次元的な走査によって画像を取得することなく分離したい場合、+1 x +1 z 成分と +1 x -1 z 成分の混合成分を他の成分から分離するために第 3 実施形態で説明した成分分離を用い、+1 x +1 z 成分と +1 x -1 z 成分との混合成分から +1 x +1 z 成分と +1 x -1 z 成分とを分離するために本実施形態で説明した成分分離を用いてもよい。この場合、第 1 の位相差で取得した画像データと、第 2 の位相差で取得した画像データとの、2 つの画

像データを用いて $+1x+1z$ 成分と $+1x-1z$ 成分との混合成分から $+1x+1z$ 成分と $+1x-1z$ 成分とを分離することができる。ここで第1の位相差は、励起光L1aと励起光L1bと励起光L1cとの間に位相差が付加されない位相差である。第2の位相差は、励起光L1aは励起光L1cに対して π [rad]の位相差が付加され、励起光L1bは励起光L1cに対して π [rad]の位相差が付加された位相差である。このような方法によって、2次元的な走査によって得られた画像データに対しても、実施形態5で説明したz方向の初期位相補正が可能となる。

[0219] [第7実施形態]

第7実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。図19は、第7実施形態に係る顕微鏡を示す図である。本実施形態において、検出装置6は、複数の検出部6aが1次元的に配列されたラインセンサ（ラインディテクター）を含む。複数の検出部6aは、検出装置6において1方向に配列されている。検出装置6は、試料面Saと光学的に共役な位置に配置される。複数の検出部6aが並ぶ方向（以下、配列方向という）は、干渉縞L2の周期方向と対応する方向に設定される。例えば、図19において、干渉縞の周期方向はX方向であり、複数の検出部6aの配列方向は、X方向に対応するXb方向に設定される。

[0220] 本実施形態に係る顕微鏡1は、 $\lambda/2$ 波長板30と、光軸の周りで光路を回転させる光路回転部31とを備える。 $\lambda/2$ 波長板30は、光路回転部31による光路の回転角に基づいて、光路回転部31を通る偏光を回転させる。光路回転部31は、照明光学系4においてマスク15から試料Sまでの間の光路に配置される。光路回転部31は、例えば、照明光学系4の光路において励起光L1がほぼ平行光になる位置に配置される。光路回転部31は、例えば、照明光学系4において励起光L1が通り且つ検出光学系5において蛍光L3が通る位置に配置される。光路回転部31は、例えば、ダイクロイックミラー16と試料Sとの間の光路に配置される。 $\lambda/2$ 波長板30は、光路回

転部 3 1 に対して試料 S と同じ側に配置されてもよいし、光路回転部 3 1 に対して試料 S と反対側（例えば、励起光の光源と同じ側）に配置されてもよい。

[0221] 光路回転部 3 1 は、例えば、ダブリズムなどのイメージローテーターである。光路回転部 3 1 は、照明光学系 4 の光軸の周りで回転可能に設けられる。光路回転部 3 1 は、駆動部 3 2 によって駆動されて回転する。光路回転部 3 1 としてダブリズムを用いる場合、ダブリズムを照明光学系 4 の光軸の周りで θ° 回転させると、ダブリズムからの光出射側（試料 S 側）における光路は、ダブリズムへの光入射側（光源 3 側）における光路に対して、照明光学系 4 の光軸の周りで $2 \times \theta^\circ$ 回転する。これにより、試料 S に対する励起光 L 1 の入射面は、Z 方向の周りで $2 \times \theta^\circ$ 回転し、干渉縞 L 2 の周期方向は、Z 方向の周りで $2 \times \theta^\circ$ 回転する。例えば、干渉縞 L 2 の周期方向を 90° 変更する場合、駆動部 3 2 は、光路回転部 3 1 を照明光学系 4 の光軸の周りで 45° 回転させる。このように、光路回転部 3 1 は、試料に対する干渉縞の方向を変更する縞方向変更部に含まれる。

[0222] $\lambda/2$ 波長板 3 0 は、照明光学系 4 の光軸の周りで回転可能に設けられる。 $\lambda/2$ 波長板 3 0 は、光路回転部 3 1 と連動して回転する。 $\lambda/2$ 波長板 3 0 は、光路回転部 3 1 の回転角に基づいて定められる角度だけ回転する。例えば、 $\lambda/2$ 波長板 3 0 は、光路回転部 3 1 と固定（例えば、一体化）され、光路回転部 3 1 とともに回転する。この場合、 $\lambda/2$ 波長板 3 0 は、光路回転部 3 1 の回転角と同じ角度だけ回転する。

[0223] $\lambda/2$ 波長板 3 0 を照明光学系 4 の光軸の周りで θ° 回転させると、励起光 L 1 の偏光方向は、光入射側（光源 3 側）における偏光方向に対して、照明光学系 4 の光軸の周りで $2 \times \theta^\circ$ 回転する。これにより、試料 S に入射する際の励起光 L 1 の偏光状態は、S 偏光になる。

[0224] また、図 1 9 の光路回転部 3 1 は、像回転部にも含まれる。像回転部は、試料 S の像（例えば、試料 S からの蛍光の像）を複数の検出部 6 a に対して、検出光学系 5 の光軸の周りで回転させる。すなわち、縞方向変更部と像回

転部とは、同一の部材（光学部材）として光路回転部 3 1 を含む。光路回転部 3 1 は、照明光学系 4 の光路のうち蛍光が入射する位置に配置される。像回転部は、光路回転部 3 1 によって蛍光の像を回転させる。光路回転部 3 1 は、検出装置 6 における複数の検出部 6 a の配列方向に対する干渉縞 L 2 の周期方向を調整する。光路回転部 3 1 としてダブリズムを用いる場合、ダブリズムを照明光学系 4 の光軸の周りで θ° 回転させると、干渉縞 L 2 の周期方向が Z 方向の周りで $2 \times \theta^\circ$ 回転する。そして、試料 S からの蛍光 L 3 の光路は、ダブリズムへの光入射側（試料 S 側）に対して、光出射側（検出装置 6 側）において $-2 \times \theta^\circ$ 回転する。

[0225] ダブリズムを回転させると、ダブリズムを介して試料 S へ向かう光の光路が回転し、試料 S に対する干渉縞 L 2 の周期方向が変化する。また、試料 S からダブリズムを介して検出装置 6 へ向かう光の光路は、試料 S へ向かう光の光路と反対向きに同じ角度だけ回転する。したがって、検出装置 6 における複数の検出部 6 a（例えば、ラインディテクター）の像を、検出光学系 5 を介して試料面 S a に投影した場合、複数の検出部 6 a が並ぶ方向と干渉縞の周期方向とは、ダブリズムによって干渉縞の周期方向を変更した場合でも常に一致する。よって、検出装置 6 は、干渉縞 L 2 の周期方向の変更前と変更後とで同じように、蛍光 L 3 を検出可能である。

[0226] 第 6 実施形態にて説明したように、照明光学系 4 に位相変調素子 2 5 を備えていてもよい。

得られる画像データ $I(x, r_s)$ は、例えば、ディテクター座標 x およびスキャン座標 $r_s = (x_s, y_s)$ を独立変数に持つ 3 次元のデータである（2 D スキャンの場合）。もしくは、得られる画像データ $I(x, r_s, z_s)$ は、例えば、ディテクター座標 x 、スキャン座標 $r_s = (x_s, y_s)$ 、および z 方向のスキャン座標 z_s を独立変数に持つ 4 次元のデータである（3 D スキャンの場合）。第 1 実施形態から第 6 実施形態においては、検出装置 6 が 2 次元的に配列された複数の検出部 6 a を含むため、ディテクター座標が 2 次元であったが、第 7 実施形態においては検出装置 6 が 1 次元的に配列された複

数の検出部 6 a を含むため、ディテクター座標が 1 次元となる。第 1 実施形態から第 6 実施形態で説明した画像処理は、ディテクター座標が 1 次元の場合においても、ディテクター座標に関する処理を 1 次元にする（例えば、第 3 実施形態におけるディテクター座標に対するフーリエ変換を、1 次元フーリエ変換として行う）ことで、第 7 実施形態にも適用可能である。このように、画像処理部 7 は、検出装置 6 の検出結果に基づいて、第 1 実施形態から第 6 実施形態で説明した処理によって画像を生成する。

[0227] なお、第 1 実施形態において、顕微鏡 1 は、駆動部 2 2 がマスク 1 5 を回転させることで干渉縞 L 2 の周期方向を変更するが、上記の光路回転部 3 1（例えば、ダブリズム）によって干渉縞 L 2 の周期方向を変更してもよい。また、干渉縞 L 2 の周期方向を変更する縞方向変更部は、駆動部 2 2 および光路回転部 3 1 のいずれとも異なる形態でもよい。例えば、ステージ 2 は、Z 方向の周りで回転可能に設けられ、その回転によって試料 S に対する干渉縞 L 2 の方向を変更してもよい。この場合、ステージ 2 は、試料 S に対する干渉縞 L 2 の方向を変更する縞方向変更部に含まれる。

[0228] 図 20 に示す顕微鏡 1 は、光路回転部 3 1 が設けられる位置が図 19 と異なる。図 20 において、縞方向変更部は、第 1 実施形態と同様であり、マスク 1 5 および駆動部 2 2 を含む。光路回転部 3 1 は、図 19 において縞方向変更部と像回転部とを兼ねているが、図 20 において縞方向変更部と別に設けられる。図 20 において、光路回転部 3 1 は、検出光学系 5 の光路のうち照明光学系 4 の光路と重複しない位置に配置される。光路回転部 3 1 は、励起光 L 1 が入射せず、蛍光 L 3 が入射する位置に配置される。光路回転部 3 1 は、ダイクロイックミラー 1 6 と検出装置 6 との間の光路に配置される。

[0229] 顕微鏡 1 は、駆動部 2 2 がマスク 1 5 および偏光子 1 4 を回転させることで、干渉縞 L 2 の周期方向を変更する。駆動部 3 2 は、マスク 1 5 および偏光子 1 4 の少なくとも一方の回転角に基づいて定まる角度だけ、光路回転部 3 1 を回転させる。顕微鏡 1 は、駆動部 3 2 が光路回転部 3 1 を回転させる

ことで、検出装置 6 に投影される像の方向を複数の検出部 6 a が並ぶ方向に対して整合させる。

[0230] [第 8 実施形態]

第 8 実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。図 21 は、第 8 実施形態に係る顕微鏡を示す図である。本実施形態において、顕微鏡 1 は、遮光部材 33 を備える。遮光部材 33 は、試料面 S a と光学的に共役な位置またはその近傍に配置される。図 21 において、検出装置 6 は、試料面 S a と光学的に共役な位置に配置され、遮光部材 33 は、検出装置 6 の近傍に配置される。遮光部材 33 は、試料面 S a と共役な位置またはその近傍に配置されてもよい。

[0231] 遮光部材 33 は、蛍光 L 3 が通る開口部 33 a を有し、開口部 33 a の周囲において蛍光 L 3 を遮光する。開口部 33 a は、検出装置 6 における複数の検出部 6 a の配列方向 (X b 方向) に延びている。開口部 33 a は、例えば矩形状のスリットである。遮光部材 33 は、開口部 33 a の長辺が複数の検出部 6 a の配列方向とほぼ平行になるように、配置される。遮光部材 33 は、開口部 33 a の寸法と、形状の一方または双方とが可変でもよい。例えば、遮光部材 33 は、光を遮る領域を可変な機械式の絞り、あるいは空間光変調器 (SLM) などでもよい。なお、開口部 33 a の寸法と、形状の一方または双方とが固定でもよい。

第 6 実施形態にて説明したように、照明光学系 4 に位相変調素子 25 が備えられていてもよい。

[0232] 検出装置 6 は、遮光部材 33 の開口部 33 a を通った蛍光 L 3 を検出する。画像処理部 7 は、検出装置 6 の検出結果に基づいて、画像を生成する。画像処理部 7 が行う処理は、第 7 実施形態にて説明したのと同様に、第 1 実施形態から第 6 実施形態で説明した処理のいずれでもよい。

[0233] [第 9 実施形態]

第 9 実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と

同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。図22は、第9実施形態に係る顕微鏡を示す図である。本実施形態において、顕微鏡1は、駆動部22および駆動部34を備える。駆動部22は、第1実施形態と同様である。駆動部22は、マスク15を回転させ、干渉縞L2の周期方向を変更する。駆動部22は、試料Sに対する干渉縞L2の方向を変更する縞方向変更部に含まれる。

[0234] 本実施形態において、検出装置6は、Zb方向の周りで回転可能である。駆動部34は、Zb方向の周りで検出装置6を回転させる。駆動部34は、検出装置6における検出部6aの配列方向が干渉縞L2の周期方向と対応するように、検出装置6を回転させる。例えば、駆動部22がマスク15を90°回転させる場合、干渉縞L2の周期方向が90°変化するので、駆動部34は、検出装置6を90°回転させる。

[0235] また、駆動部34は、検出装置6と遮光部材33との相対位置が維持されるように、遮光部材33を回転させる。例えば、遮光部材33と検出装置6とは一体化されており、駆動部34は、遮光部材33と検出装置6とを一体的に回転させる。

[0236] なお、顕微鏡1は、検出装置6を回転させる代わりに、図20に示した光路回転部31を備えてもよい。また、顕微鏡1は、図20に示したように遮光部材33を備えなくてもよい。

[0237] [第10実施形態]

第10実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。図23は、第10実施形態に係る顕微鏡を示す図である。上述の実施形態において、瞳面P0（図2（C）参照）上で照明瞳が3極（3つの領域）に分かれる例を説明したが、照明瞳はその他の形態でもよい。ここでは、照明瞳が瞳面上で5極（5つの領域）に分かれる形態について説明する。

[0238] 本実施形態に係る照明光学系4は、光ファイバー11の光出射側に、コリ

メーターレンズ 12、 $\lambda/2$ 波長板 35、偏光分離素子 36、ミラー 37、マスク 38（開口部材）、ミラー 39、マスク 40（開口部材）、および偏光分離素子 41 を備える。照明光学系 4 は、ダイクロイックミラー 16 から対物レンズ 21 までの構成について、第 1 実施形態と同様である。

[0239] 光ファイバー 11 から出射した励起光 L1 は、コリメーターレンズ 12 によってほぼ平行光に変換され、 $\lambda/2$ 波長板 35 に入射する。 $\lambda/2$ 波長板 35 を通った励起光 L1 は、第 1 方向の直線偏光である励起光 L1 d、および第 2 方向の直線偏光である励起光 L1 e を含む。 $\lambda/2$ 波長板 35 は、励起光 L1 d の光量と励起光 L1 e の光量とが所定の比率になるように、その光学軸（進相軸、遅相軸）の方向が設定される。

[0240] $\lambda/2$ 波長板 35 を通った励起光 L1（励起光 L1 d および励起光 L1 e）は、偏光分離素子 36 に入射する。偏光分離素子 36 は、コリメーターレンズ 12 の光軸 12 a に対して傾いた偏光分離膜 36 a を有する。偏光分離膜 36 a は、第 1 方向の直線偏光が反射し、第 2 方向の直線偏光が透過する特性を有する。偏光分離素子 36 は、例えば、偏光ビームスプリッタプリズム（PBS プリズム）である。上記の第 1 方向の直線偏光は、偏光分離膜 36 a に対する S 偏光である。上記の第 2 方向の直線偏光は、偏光分離膜 36 a に対する P 偏光である。

[0241] 偏光分離膜 36 a に対する S 偏光である励起光 L1 d は、偏光分離膜 36 a で反射し、ミラー 37 を介してマスク 38 に入射する。偏光分離膜 36 a に対する P 偏光である励起光 L1 e は、偏光分離膜 36 a を透過し、ミラー 39 を介してマスク 40 に入射する。マスク 38 およびマスク 40 は、蛍光物質を励起する励起光を複数の光束に分割する光束分割部である。マスク 38 およびマスク 40 については、後に図 24 を参照して説明する。

[0242] マスク 38 を通った励起光 L1 d およびマスク 40 を通った励起光 L1 e は、それぞれ、偏光分離素子 41 に入射する。偏光分離素子 41 は、励起光 L1 d の光路および励起光 L1 e の光路に対して傾いた偏光分離膜 41 a を有する。偏光分離膜 41 a は、第 1 方向の直線偏光が反射し、第 2 方向の直

線偏光が透過する特性を有する。偏光分離素子41は、例えば、偏光ビームスプリッタプリズム（PBSプリズム）である。上記の第1方向の直線偏光は、偏光分離膜41aに対するS偏光である。上記の第2方向の直線偏光は、偏光分離膜41aに対するP偏光である。

[0243] 励起光L1dは、偏光分離膜41aに対してS偏光になっており、偏光分離膜41aで反射してダイクロイックミラー16に入射する。励起光L1eは、偏光分離膜41aに対するP偏光になっており、偏光分離膜41aを透過してダイクロイックミラー16に入射する。なお、偏光分離素子36および偏光分離素子41の一方または双方は、PBSプリズムでなくてもよい。偏光分離素子36および偏光分離素子41の一方または双方は、TE偏光とTM偏光とで反射、透過が異なるフォトリソグラフィ結晶などでもよい。

[0244] 図24は、第10実施形態に係るマスクおよび励起光の偏光状態を示す図である。図24（A）において、Xc方向、Yc方向、およびZc方向は、それぞれ、試料面Sa（図23参照）におけるX方向、Y方向、およびZ方向に対応する方向である。マスク38は、開口38a、開口38b、および開口38cを有する。マスク38は、瞳面共役面またはその近傍に配置される。開口38a、開口38b、および開口38cは、Xc方向に並んでいる。開口38a、開口38b、および開口38cは、例えば円形であるが、円形以外の形状でもよい。

[0245] 図24（B）において、Xd方向、Yd方向、およびZd方向は、それぞれ、試料面Sa（図23参照）におけるX方向、Y方向、およびZ方向に対応する方向である。マスク40は、瞳面共役面またはその近傍に配置される。マスク38またはマスク40は、瞳面またはその近傍に配置されてもよい。マスク40は、開口40a、開口40b、および開口40cを有する。開口40a、開口40b、および開口40cは、Yd方向に並んでいる。開口40a、開口40b、および開口40cは、例えば円形であるが、円形以外の形状でもよい。

[0246] 図24（C）において、領域AR2aは、対物レンズ21の瞳面P0にお

いて、マスク38の開口38aを通った励起光L1dが入射する領域である。領域AR2bは、瞳面P0において、マスク38の開口38bを通った励起光L1dが入射する領域である。領域AR2eは、瞳面P0において、マスク38の開口38cを通った励起光L1dが入射する領域である。領域AR2a、領域AR2b、および領域AR2eにおける矢印は、入射する励起光L1dの偏光方向を示す。領域AR2aと領域AR2bと領域AR2eとは、X方向に並んでいる。

[0247] 領域AR2aに入射する励起光L1d、領域AR2bに入射する励起光L1d、および領域AR2eに入射する励起光L1dは、それぞれ、Y方向の直線偏光である。領域AR2aに入射する励起光L1dと領域AR2bに入射する励起光L1dと領域AR2eに入射する励起光L1dとは、偏光方向が同じであり、試料面Sa（図23参照）において互いに干渉する。この干渉によって、試料面Saには、周期方向がX方向の干渉縞が形成される。試料面Saに対する励起光L1dの入射面は、XZ面であり、励起光L1dは、試料SにS偏光で入射する。

[0248] また、図24（C）において、領域AR2cは、瞳面P0において、マスク40の開口40bを通った励起光L1eが入射する領域である。領域AR2dは、瞳面P0において、マスク40の開口40aを通った励起光L1eが入射する領域である。領域AR2fは、瞳面P0において、マスク40の開口40cを通った励起光L1eが入射する領域である。領域AR2c、領域AR2d、および領域AR2fにおける矢印は、入射する励起光L1eの偏光方向を示す。領域AR2cと、領域AR2dと、領域AR2fとは、Y方向に並んでいる。また、領域AR2eと領域AR2fとは重なっていてもよく、例えば、図24（C）において領域AR2eと領域AR2fとは同じ領域である。

[0249] 領域AR2cに入射する励起光L1e、領域AR2dに入射する励起光L1e、および領域AR2fに入射する励起光L1eは、それぞれ、X方向の直線偏光である。領域AR2cに入射する励起光L1eと領域AR2dに入

射する励起光 $L1e$ と領域 $AR2f$ に入射する励起光 $L1e$ とは、偏光方向が同じであり、試料面 Sa （図23参照）において互いに干渉する。この干渉によって、試料面 Sa には、周期方向が Y 方向の干渉縞が形成される。試料面 Sa に対する励起光 $L1e$ の入射面は、 YZ 面であり、励起光 $L1e$ は、試料 S に S 偏光で入射する。

[0250] 図23の説明に戻り、試料面 Sa には、励起光 $L1d$ の干渉による干渉縞と、励起光 $L1e$ の干渉による干渉縞とを合成した干渉縞 $L2$ が形成される。なお、励起光 $L1d$ と励起光 $L1e$ とで偏光方向が互いにほぼ直交するので、励起光 $L1d$ と励起光 $L1e$ との干渉が抑制される。

第6実施形態にて説明したように、照明光学系4に位相変調素子25が備えられていてもよい。

[0251] 検出装置6は、試料 S からの蛍光 $L3$ を、検出光学系5を介して検出する。検出装置6は、第1実施形態で説明したように、 Xb 方向と Yb 方向との2方向に複数の検出部6aが配列されたイメージセンサである。画像処理部7は、検出装置6の検出結果に基づいて、第1実施形態から第6実施形態で説明したいずれかの処理によって画像を生成する。

[0252] 本実施形態では照明瞳が瞳面上で5極（5つの領域）に分かれる形態であることを反映して、試料面 Sa には X 方向の干渉縞と Y 方向の干渉縞とが同時に生じる。第3実施形態、第4実施形態、および第6実施形態で説明した画像処理を本実施形態に適用する場合、本実施形態では、0次成分、 X 方向の+1次成分、 X 方向の-1次成分、 X 方向の+2次成分、 X 方向の-2次成分、 Y 方向の+1次成分、 Y 方向の-1次成分、 Y 方向の+2次成分、および Y 方向の-2次成分の9成分を成分分離することで、画像処理位相シフト処理もしくはデコンボリューション処理を行うことが可能となる。

[0253] 第5実施形態で説明した画像処理を本実施形態に適用する場合、本実施形態では、0次成分、 X 方向の+1次 Z 方向の+1次成分、 X 方向の+1次 Z 方向の-1次成分、 X 方向の-1次 Z 方向の+1次成分、 X 方向の-1次 Z 方向の-1次成分、 X 方向の+2次成分、 X 方向の-2次成分、 Y 方向の+

1 次 Z 方向の + 1 次成分、Y 方向の + 1 次 Z 方向の - 1 次成分、Y 方向の - 1 次 Z 方向の + 1 次成分、Y 方向の - 1 次 Z 方向の - 1 次成分、Y 方向の + 2 次成分、および Y 方向の - 2 次成分の 1 3 成分を成分分離することで、画像処理位相シフト処理もしくはデコンボリューション処理を行うことができる。

いずれの場合も、各成分が値を持つ領域は、第 3 実施形態、および第 5 実施形態で説明したのと同様に顕微鏡 1 の設計値を用いた理論計算もしくは数値シミュレーションで決定することができる。もしくは、各成分が値を持つ領域は、蛍光試料を実測することで求められてもよい。もしくは、第 6 実施形態で説明したのと同様に、干渉縞 L 2 の位相を複数回変更して試料 S の画像を取得し、干渉縞 L 2 の位相の異なる複数枚の画像から連立方程式を解くことで成分を分離してもよい。干渉縞 L 2 の位相を変更する回数は、分離したい成分の数に合わせて決定してもよい。

[0254] [第 1 1 実施形態]

第 1 1 実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。図 2 5 は、第 1 1 実施形態に係る顕微鏡を示す図である。本実施形態において、顕微鏡 1 は、図 1 9 で説明した $\lambda/2$ 波長板 3 0 および光路回転部 3 1 を備える。光路回転部 3 1 は、駆動部 3 2 によって駆動され、照明光学系 4 の光軸の周りで回転する。光路回転部 3 1 が回転すると、励起光 L 1 d の光路および励起光 L 1 e の光路は、それぞれ、照明光学系 4 の光軸の周りで回転する。その結果、試料面 S a に形成される干渉縞 L 2 の周期方向は、Z 方向の周りで回転する。

[0255] 図 2 6 は、第 1 1 実施形態に係る励起光の偏光状態を示す図である。図 2 6 (A) において、瞳面 P 0 上で励起光 L 1 d が入射する領域 A R 4 a は、X 方向に並んでいる。また、瞳面 P 0 上で励起光 L 1 e が入射する領域 A R 4 b は、Y 方向に並んでいる。

[0256] 図 2 6 (B) は、図 2 6 (A) の状態から、ダブルプリズム (図 2 5 の光路

回転部 31) および $\lambda/2$ 波長板 30 が 22.5° 回転した状態に相当する。図 26 (B) において、瞳面 P0 上で励起光 L1d が入射する領域 AR4a は、X 方向から 45° 回転した方向に並んでいる。この状態において、試料面 Sa における励起光 L1d の干渉縞の周期方向は、X 方向から 45° 回転した方向になる。また、瞳面 P0 上で励起光 L1e が入射する領域 AR4b は、Y 方向から 45° 回転した方向に並んでいる。この状態において、試料面 Sa における励起光 L1e の干渉縞の周期方向は、Y 方向から 45° 回転した方向になる。

[0257] 図 25 の説明に戻り、本実施形態において、検出装置 6 は、干渉縞 L2 の周期方向が変更される前後のそれぞれにおいて、試料 S からの蛍光 L3 を検出する。画像処理部 7 は、干渉縞 L2 の周期方向の変更前における検出装置 6 の検出結果と、干渉縞 L2 の周期方向の変更後における検出装置 6 の検出結果とに基づいて、画像を生成する。なお、光路回転部 31 は、図 20 で説明したように、ダイクロイックミラー 16 と検出装置 6 との間の光路に配置されてもよい。第 6 実施形態にて説明したように、照明光学系 4 に位相変調素子 25 が備えられていてもよい。

[0258] [第 12 実施形態]

第 12 実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。第 11 実施形態において、顕微鏡 1 は、光路回転部 31 によって干渉縞 L2 の周期方向を変更するが、干渉縞 L2 の周期方向を変更する縞方向変更部は、光路回転部 31 と別の態様でもよい。

[0259] 図 27 は、第 12 実施形態に係る顕微鏡を示す図である。図 28 は、第 12 実施形態に係るマスクを示す図である。本実施形態において、顕微鏡 1 は、駆動部 45 および駆動部 46 を備える。マスク 38 は、照明光学系 4 の光軸の周りで回転可能である。マスク 38 は、駆動部 45 に駆動されて、回転する (図 28 (A) 参照)。図 28 (A) において、マスク 38 は、反時計周りに 45° 回転している。

[0260] また、マスク40は、照明光学系4の光軸の周りで回転可能である。マスク40は、駆動部46に駆動されて、回転する（図28（B）参照）。駆動部46は、駆動部45がマスク38を回転させる角度と同じ角度だけ、マスク40を回転させる。図28（B）において、マスク40は、反時計周りに45°回転している。これにより、試料面Saにおける干渉縞L2の周期方向は、Z方向の周りで45°回転する。

[0261] 偏光分離素子41とダイクロイックミラー16との間の光路には、 $\lambda/2$ 波長板48が設けられる。 $\lambda/2$ 波長板48は、駆動部49によって駆動され、照明光学系4の光軸の周りで回転する。 $\lambda/2$ 波長板48および駆動部49は、励起光L1dおよび励起光L1eのそれぞれについて、S偏光で試料Sに入射するように調整する。第6実施形態にて説明したように、照明光学系4に位相変調素子25が備えられていてもよい。

[0262] [第13実施形態]

第13実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。図29は、第13実施形態に係る顕微鏡を示す図である。本実施形態において、顕微鏡1は、リレー光学系47を備える。リレー光学系47は、照明光学系4の一部であり、かつ検出光学系5の一部である。リレー光学系47は、走査部18において、偏向ミラー18aと偏向ミラー18bとの間の光路に配置される。偏向ミラー18bは、対物レンズ21の瞳面P0と光学的に共役な第1瞳共役面とほぼ同じ位置に配置される。リレー光学系47は、リレー光学系47とリレー光学系17との間に上記の第1瞳共役面と光学的に共役な第2瞳共役面が形成されるように設けられる。偏向ミラー18aは、上記の第2瞳共役面とほぼ同じ位置に配置される。

[0263] なお、走査部18は、上述の形態に限定されない。例えば、ステージ2は、対物レンズ21に対してY方向に移動するYステージを含み、走査部18は、偏向ミラー18bの代わりにYステージを含んでもよい。この場合、走査部18は、偏向ミラー18aによって試料Sを励起光L1でX方向に走査

し、Yステージの移動によって試料Sを励起光L1でY方向に走査してもよい。この場合、偏向ミラー18aは、対物レンズ21の瞳面P0と光学的に共役な瞳共役面とほぼ同じ位置に配置されてもよい。

[0264] また、ステージ2は、対物レンズ21に対してX方向に移動するXステージを含み、走査部18は、偏向ミラー18aの代わりにXステージを含んでもよい。この場合、走査部18は、上記のXステージの移動によって試料Sを励起光L1でX方向に走査し、偏向ミラー18bによって試料Sを励起光L1でY方向に走査してもよい。この場合、偏向ミラー18bは、対物レンズ21の瞳面P0と光学的に共役な瞳共役面とほぼ同じ位置に配置されてもよい。

[0265] また、ステージ2は、対物レンズ21に対してX方向に移動するXステージと、対物レンズ21に対してY方向に移動するYステージとを含み、走査部18は、上記のXステージおよびYステージを含んでもよい。この場合、走査部18は、上記のXステージの移動によって試料Sを励起光L1でX方向に走査し、上記のYステージの移動によって試料Sを励起光L1でY方向に走査してもよい。

[0266] 上述の実施形態においては、試料Sを干渉縞で走査する走査方向がX方向およびY方向の2方向であってもよいしX方向、Y方向、およびZ方向の3方向でもよい。例えば、顕微鏡1は、試料Sを干渉縞でX方向およびY方向に走査して2D画像を取得する2D処理を実行し、例えば、対物レンズ21およびステージ2の少なくとも一方を移動させて、干渉縞が生成されるZ方向の位置を変更して2D処理を繰り返すことで、試料Sを干渉縞で3次的に走査してもよい。顕微鏡1は、試料Sを干渉縞で3次的に走査することで、Z方向の位置が異なる複数の2D画像を取得し、3D画像（例えば、Z-stack）を生成してもよい。試料Sを干渉縞で3次的に走査する場合、照明光学系4がX方向およびY方向に走査し、対物レンズ21およびステージ2の少なくとも一方の移動によってZ方向に走査してもよい。また、照明光学系4が試料Sを干渉縞で3次的に走査してもよい。

[0267] [変形例]

以下、変形例について説明する。上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。図30および図31は、変形例に係る照明瞳を示す図である。

[0268] 照明瞳は、図2(C)において3極であり、図24(C)において5極であるが、図30(A)において4極である。領域AR5aから領域AR5dは、それぞれ、瞳面P0において励起光が入射する領域である。この場合、領域AR5aに入射した励起光と領域AR5bに入射した励起光との第1干渉縞と、領域AR5bに入射した励起光と領域AR5cに入射した励起光との第2干渉縞と、領域AR5cに入射した励起光と領域AR5aに入射した励起光との第3干渉縞と、領域AR5aに入射した励起光と領域AR5dに入射した励起光との第4干渉縞と、領域AR5bに入射した励起光と領域AR5dに入射した励起光との第5干渉縞と、領域AR5cに入射した励起光と領域AR5dに入射した励起光との第6干渉縞とが形成される。試料面Saには、上記の第1干渉縞と第2干渉縞と第3干渉縞と第4干渉縞と第5干渉縞と第6干渉縞とを合成した干渉縞が形成される。この干渉縞は、第1干渉縞の周期方向と、第2干渉縞の周期方向と、第3干渉縞の周期方向と、第4干渉縞の周期方向と、第5干渉縞の周期方向と、第6干渉縞の周期方向とがそれぞれ周期方向であり、一度の画像取得においてXYZ方向の超解像効果を得ることができる。なお、照明瞳は、6以上の極を有してもよい。また、励起光の偏光方向は図30(A)に図示した方向以外の偏光方向でもよく、もしくは円偏光でもよい。

[0269] また、照明瞳は、図2などにおいて円形であるが、その他の形状でもよい。図30(B)において、領域AR6は、励起光が入射する領域である。図30(B)の領域AR6は、対物レンズ21の光軸21aを中心とする円の一部である円弧と、円弧AR6aと対称な曲線AR6cとに囲まれる領域である。

[0270] 図30(B)の形状の照明瞳である場合、円形の照明瞳である場合と比較

して、干渉縞が形成されない方向の分解能が良くなり、セクショニングも良くなる。

[0271] 図31において、照明瞳は、図30(B)に示した形状の照明瞳を5極にした形態である。円形以外の形状の照明瞳である場合についても、励起光が入射する複数の領域の数（極の数）は、2以上の任意の数に設定される。また、瞳面P0において励起光が入射する複数の領域のうち、1つの領域の形状が他の領域の形状と異なってもよい。また、瞳面P0において励起光が入射する複数の領域のうち、1つの領域の寸法が他の領域の寸法と異なってもよい。また、瞳面P0において励起光が入射する複数の領域は、対物レンズ21の光軸21aに関して非対称に配置されてもよい。また、瞳面P0における励起光の偏光方向は、励起光が入射する複数の領域ごとに異なってもよく、同じでもよい。

[0272] 照明瞳の各極の形状、寸法、および配置は、例えば、図2に示したマスク15の開口の形状、寸法、および配置を設計することで実現可能である。また、マスク15は、光を遮る領域が可変な機械式の絞り、あるいは空間光変調器（SLM）、あるいはDigital Mirror Deviceなどでもよい。

[0273] 図32は、変形例に係る顕微鏡を示す図である。図32において、照明光学系4は、光ファイバー11からダイクロイックミラー16へ向かう順に、コリメーターレンズ50、 $\lambda/2$ 波長板51、レンズ52、回折格子53、レンズ54、およびマスク15を備える。コリメーターレンズ50は、光ファイバー11からの励起光L1をほぼ平行光に変換する。 $\lambda/2$ 波長板51は、試料Sに入射する際の励起光L1の偏光状態を調整する。レンズ52は、励起光L1を回折格子53に集光する。

[0274] 回折格子53は、励起光L1を回折によって複数の光束に分岐させる。回折格子53は、蛍光物質を励起する励起光を複数の光束に分割する光束分割部である。回折格子53はレンズ52の焦点もしくは焦点近傍の位置に配置される。つまり、回折格子53は試料面Saと共役な面もしくはその近傍に

配置される。焦点近傍とは、レンズ52で集光される光の焦点深度程度の範囲内のことである。例えば、レンズ52によって集光される光の波長が1 μ m、NAが0.03の場合、焦点深度は1 mm程度となるため、回折格子53はレンズ52の焦点近傍1 mm以内に配置されればよい。上記の複数の光束は、0次回折光、+1次回折光、および-1次回折光を含む。レンズ54は、0次回折光、+1次回折光、および-1次回折光をそれぞれほぼ平行光に変換する。マスク15は、0次回折光の少なくとも一部と、+1次回折光の少なくとも一部と-1次回折光の少なくとも一部とが通るように設けられる。このような形態においては、マスク15を透過する励起光L1の光量を増やすことができる。また、マスク15を設けないような構成をとってもよい。また、回折格子53が光軸に垂直方向に移動可能なように構成され、励起光L1により形成される干渉縞L2の位相が変調されてもよい。この場合、第6実施形態にて説明した画像処理を用いて超解像画像を生成してもよい。

[0275] 図33および図34は、それぞれ、変形例に係る偏光調整部を示す図である。照明光学系4は、図1に示したダイクロイックミラー16などの反射部材によって光路が折れ曲がるが、図33、図34においては、照明光学系4を、光軸4aが直線になるように展開して示した。図33、図34において、Z方向は光軸4aと平行な方向であり、X方向およびY方向は、それぞれ、光軸4aと垂直な方向である。

[0276] 図33において、照明光学系4は、 $\lambda/4$ 波長板61、マスク15、および $\lambda/4$ 波長板62を含む。光ファイバー11から出射した励起光L1は、ほぼX方向の直線偏光であり、 $\lambda/4$ 波長板61に入射する。なお、光ファイバー11と $\lambda/4$ 波長板61との間の光路に、透過軸がX方向の偏光子（例えば、偏光板）が設けられてもよい。

[0277] $\lambda/4$ 波長板61の進相軸は、+Z側から見た場合にX方向を反時計回りに45°回転させた方向に設定される。 $\lambda/4$ 波長板61を通った励起光L1は、円偏光となりマスク15に入射する。マスク15の開口部15a、お

よび開口部 15 b を通った励起光 L 1 は、円偏光であり、 $\lambda/4$ 波長板 6 2 に入射する。 $\lambda/4$ 波長板 6 2 の進相軸は、+Z 側から見た場合に X 方向を時計回りに 45° 回転させた方向に設定される。 $\lambda/4$ 波長板 6 2 を通った励起光 L 1 は、X 方向の直線偏光となり、試料に照射される。

[0278] マスク 15 は、第 1 実施形態で説明したように、光軸 4 a の周りで回転可能に設けられる。マスク 15 が回転すると、干渉縞の周期方向が変化する。例えば、図 3 3 の状態において、マスク 15 の開口部 15 a と開口部 15 b とは Y 方向に並んでおり、干渉縞の周期方向は Y 方向になる。図 3 3 の状態からマスク 15 が 90° 回転すると、干渉縞の周期方向は 90° 回転して、X 方向になる。

[0279] $\lambda/4$ 波長板 6 2 は、光軸 4 a の周りで回転可能である。 $\lambda/4$ 波長板 6 2 は、マスク 15 と同じ角度だけ回転するように、設けられる。例えば、 $\lambda/4$ 波長板 6 2 は、マスク 15 と一体化され、マスク 15 と一体的に回転する。例えばマスク 15 が 90° 回転すると、 $\lambda/4$ 波長板 6 2 は、 90° 回転して、その進相軸が $\lambda/4$ 波長板 6 1 の進相軸と平行になる。この場合、 $\lambda/4$ 波長板 6 2 を通った励起光 L 1 は、Y 方向の直線偏光になる。試料面に対する励起光 L 1 の入射面は、干渉縞の周期方向と平行であり、試料面に入射する際の励起光 L 1 が干渉縞の周期方向と垂直な直線偏光であるので、励起光 L 1 は、S 偏光の状態です試料面に照射される。

[0280] このように、 $\lambda/4$ 波長板 6 2 は、試料に入射する際の励起光の偏光状態を調整する偏光調整部に含まれる。このような偏光調整部は、図 1 で説明した態様に比べて、励起光 L 1 の光量のロスを低減することができる。

[0281] 図 3 4 において、照明光学系 4 は、偏光子 6 5、マスク 15、および $\lambda/2$ 波長板 6 6 を含む。光ファイバー 1 1 から出射した励起光 L 1 は、ほぼ X 方向の直線偏光であり、偏光子 6 5 に入射する。偏光子 6 5 は、透過軸が X 方向に設定される。偏光子 6 5 を通った励起光 L 1 は、X 方向の直線偏光であり、マスク 15 に入射する。マスク 15 の開口部 15 a、開口部 15 b を通った励起光 L 1 は、X 方向の直線偏光であり、 $\lambda/2$ 波長板 6 6 に入射する。

$\lambda/2$ 波長板 66 の進相軸は、+Z 側から見た場合に X 方向を時計回りに 45° 回転させた方向に設定される。 $\lambda/2$ 波長板 66 を通った励起光 L1 は、Y 方向の直線偏光となり、試料に照射される。

[0282] マスク 15 は、第 1 実施形態で説明したように、光軸 4a の周りで回転可能に設けられる。マスク 15 が回転すると、干渉縞の周期方向が変化する。例えば、図 34 の状態において、マスク 15 の開口部 15a と開口部 15b とは X 方向に並んでおり、干渉縞の周期方向は X 方向になる。図 33 の状態からマスク 15 が 90° 回転すると、干渉縞の周期方向は 90° 回転して、Y 方向になる。

[0283] $\lambda/2$ 波長板 66 は、光軸 4a の周りで回転可能である。 $\lambda/2$ 波長板 66 は、マスク 15 の回転角の半分の角度だけ回転するように、設けられる。例えばマスク 15 が 90° 回転すると、 $\lambda/2$ 波長板 66 は、 45° 回転する。この場合、 $\lambda/2$ 波長板 66 を通った励起光 L1 は、X 方向の直線偏光になる。試料面に対する励起光 L1 の入射面は、干渉縞の周期方向と平行であり、試料面に入射する際の励起光 L1 が干渉縞の周期方向と垂直な直線偏光であるので、励起光 L1 は、S 偏光の状態です試料面に照射される。このように、 $\lambda/2$ 波長板 66 は、試料に入射する際の励起光の偏光状態を調整する偏光調整部に含まれる。このような偏光調整部は、図 1 で説明した態様に比べて、励起光 L1 の光量のロスを低減することができる。

[0284] 上記の実施形態および変形例で説明した偏光調整部では、照明光が偏光調整部を通過した直後に直線偏光となるように構成されているが、完全な直線偏光でなくてもよい。また、途中の光学系で発生する偏光状態の変化を補正するための、 $\lambda/2$ 波長板、 $\lambda/4$ 波長板などの追加の偏光素子が偏光調整部に加えられてもよい。

[0285] なお、実施形態に係る顕微鏡 1 は、検出装置 6 がイメージセンサを含み、検出光学系 5 の光軸の周りで試料 S の像を回転させる像回転部を備えてよい。縞方向を回転した場合に、試料 S の像を回転することによって縞周期と検出部の位置を整合させることができる。

[0286] 上述の実施形態において、画像処理部 7 は、例えばコンピュータシステムを含む。画像処理部 7 は、記憶部に記憶されている画像処理プログラムを読み出し、この画像処理プログラムに従って各種の処理を実行する。この画像処理プログラムは、コンピュータに、検出装置 6 の検出結果に基づいて画像を生成することを実行させる。上記の検出装置 6 の検出結果は、光源からの光を複数の光束に分割し、複数の光束の少なくとも 3 つ以上の光束の干渉によって生成される干渉縞を、試料の複数の方向において走査し、試料からの光が入射する検出光学系を介して、複数の検出部を含む検出装置によって、試料からの光を検出して得られる。

[0287] なお、本発明の技術範囲は、上述の実施形態などで説明した態様に限定されるものではない。上述の実施形態などで説明した要件の 1 つ以上は、省略されることがある。また、上述の実施形態などで説明した要件は、適宜組み合わせることができる。また、法令で許容される限りにおいて、上述の実施形態などで引用した全ての文献の開示を援用して本文の記載の一部とする。

符号の説明

[0288] 1 . . . 顕微鏡、 3 . . . 光源、 4 . . . 照明光学系、 5 . . . 検出光学系、 6 . . . 検出装置、 6 a . . . 複数の検出部、 7 . . . 画像処理部、 L 2 . . . 干渉縞

請求の範囲

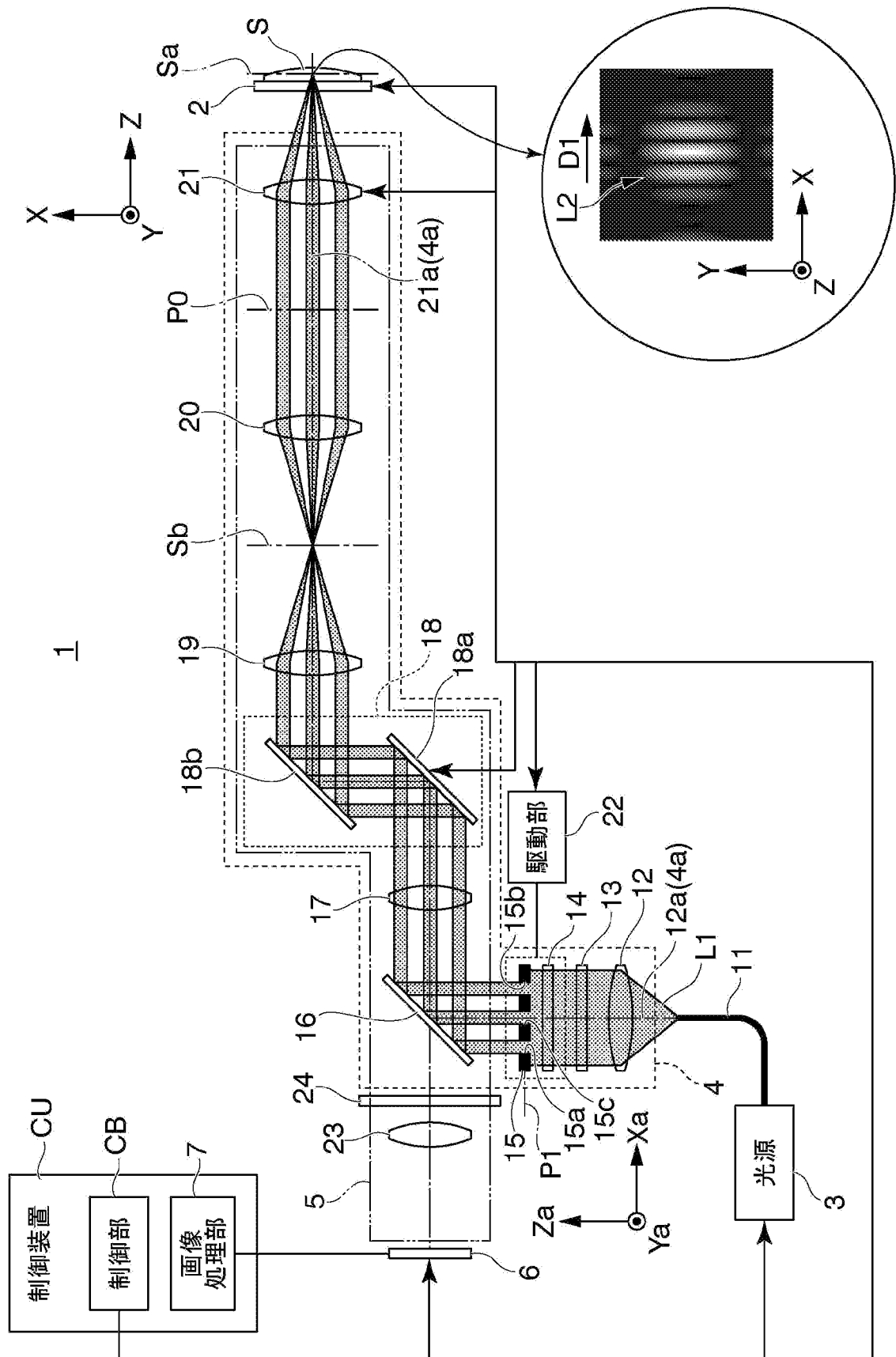
- [請求項1] 光源からの光を複数の光束に分割する光束分割部を有し、前記光束分割部により分割された前記複数の光束の少なくとも3つ以上の光束の干渉によって形成される干渉縞を、試料の複数の方向において走査する照明光学系と、
- 前記試料からの光が入射する検出光学系と、
- 前記検出光学系を介して前記試料からの光を検出する複数の検出部を含む検出装置と、
- 前記検出装置の2以上の検出部の検出結果を用いて画像を生成する画像処理部と、を備える顕微鏡。
- [請求項2] 前記干渉縞は、前記干渉縞の周期方向において3以上の明部を有する、
- 請求項1に記載の顕微鏡。
- [請求項3] 前記照明光学系は、対物レンズを有し、
- 前記光束分割部は、複数の開口部を有する開口部材を含み、
- 前記開口部材は、前記対物レンズの瞳面、前記瞳面の近傍、瞳共役面、又は前記瞳共役面の近傍に配置される、
- 請求項1又は請求項2に記載の顕微鏡。
- [請求項4] 前記光束分割部は、回折格子を含み、
- 前記回折格子は、前記試料と共役な位置又はその近傍に配置される、
- 請求項1又は請求項2に記載の顕微鏡。
- [請求項5] 前記検出装置は、前記複数の検出部が1方向に配列されたラインセンサを含む、
- 請求項1から請求項4のいずれか1項に記載の顕微鏡。
- [請求項6] 前記検出装置は、前記複数の検出部が2方向に配列されたイメージセンサを含む、
- 請求項1から請求項4のいずれか1項に記載の顕微鏡。

- [請求項7] 前記試料に対する前記干渉縞の方向を変更する縞方向変更部を備える、
請求項1から請求項6のいずれか1項に記載の顕微鏡。
- [請求項8] 前記試料の像を前記複数の検出部に対して、前記検出光学系の光軸の周りで回転させる像回転部を備える、
請求項1から請求項7のいずれか1項に記載の顕微鏡。
- [請求項9] 前記像回転部は、前記検出光学系のうち前記照明光学系と重複しない光路に配置される、
請求項8に記載の顕微鏡。
- [請求項10] 前記試料に対する前記干渉縞の方向を変更する縞方向変更部と、
前記試料の像を前記複数の検出部に対して、前記検出光学系の光軸の周りで回転させる像回転部とを備え、
前記縞方向変更部と前記像回転部とは同一の部材により構成される、
請求項1から請求項6のいずれか1項に記載の顕微鏡。
- [請求項11] 前記試料に入射する際の前記光の偏光状態を調整する偏光調整部を備える、
請求項1から請求項10のいずれか1項に記載の顕微鏡。
- [請求項12] 前記複数の検出部の位置は、前記検出光学系の倍率および前記干渉縞の周期に基づいて設定される、
請求項1から請求項11のいずれか1項に記載の顕微鏡。
- [請求項13] 前記画像処理部は、前記検出光学系の倍率および前記干渉縞の周期に基づいて、前記複数の検出部から選択される検出部の検出結果を用いて前記画像を生成する、
請求項1から請求項12のいずれか1項に記載の顕微鏡。
- [請求項14] 前記画像処理部は、前記複数の検出部の少なくとも1つの検出部から得られるデータを、その検出部の位置に基づいて補正する、
請求項1から請求項13のいずれか1項に記載の顕微鏡。

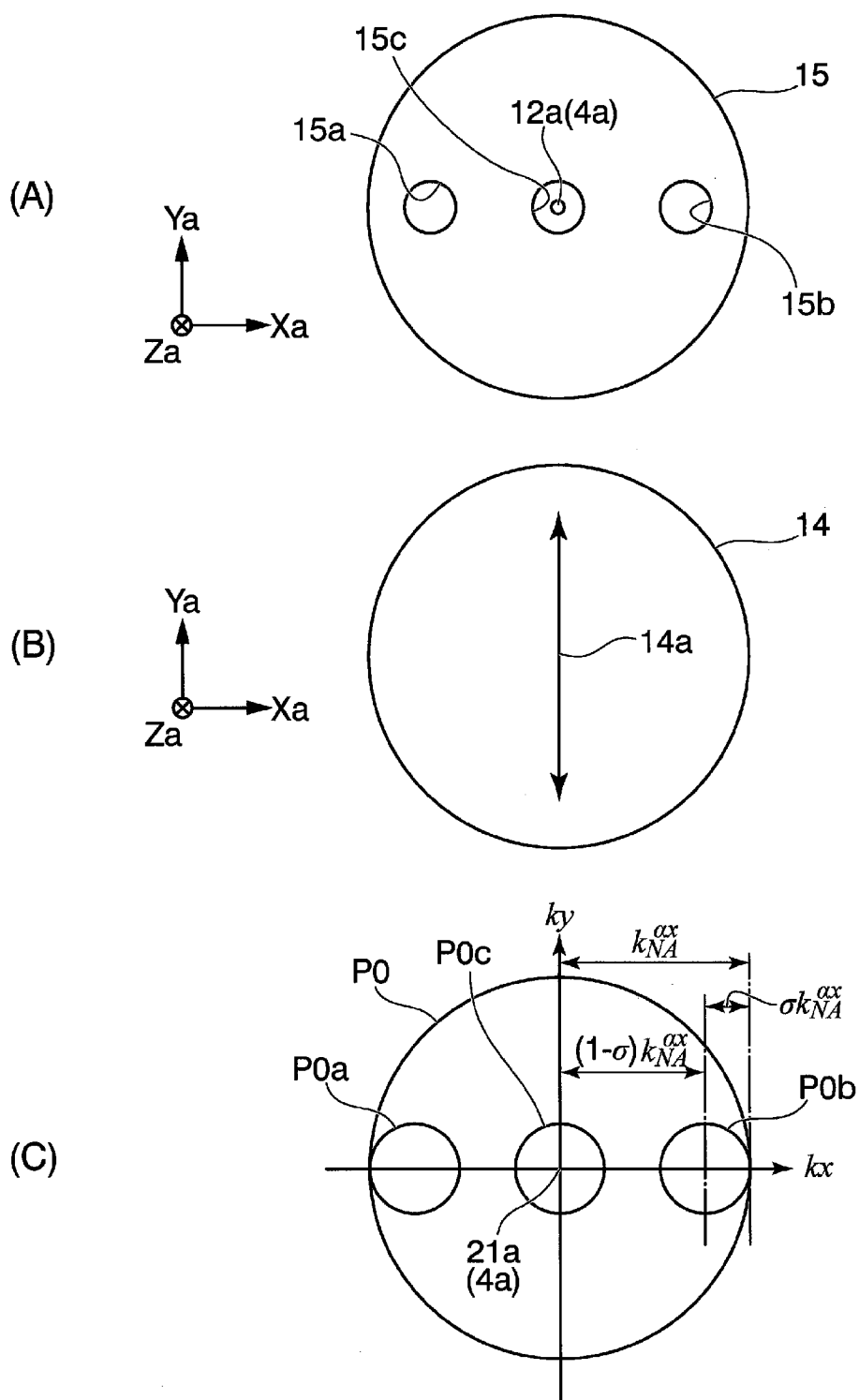
- [請求項15] 前記画像処理部は、前記複数の検出部の少なくとも一部の検出結果を周波数空間上のデータへ変換する
請求項1から請求項11のいずれか1項に記載の顕微鏡。
- [請求項16] 前記画像処理部は、前記複数の検出部の少なくとも一部の検出結果を、フーリエ変換によって前記周波数空間上のデータへ変換する、
請求項15に記載の顕微鏡。
- [請求項17] 前記画像処理部は、前記周波数空間上のデータに対してフィルタリングを行って、前記画像を生成する、
請求項15又は請求項16に記載の顕微鏡。
- [請求項18] 前記画像処理部は、前記周波数空間上のデータを前記周波数空間の複数の領域に分離することにより複数の成分に分離して、前記画像を生成する、
請求項15から請求項17のいずれか1項に記載の顕微鏡。
- [請求項19] 前記画像処理部は、前記干渉縞の光強度分布に基づいて、前記周波数空間上のデータを前記周波数空間の複数の領域に分離する、
請求項18に記載の顕微鏡。
- [請求項20] 前記複数の領域は、互いに重複しないように設定される、
請求項18または請求項19に記載の顕微鏡。
- [請求項21] 前記画像処理部は、前記複数の検出部の少なくとも一部の検出結果を、前記照明光学系の光軸方向の走査座標についてフーリエ変換することにより前記周波数空間上のデータへ変換する、
請求項16から20のいずれか1項に記載の顕微鏡。
- [請求項22] 前記照明光学系は、前記干渉縞の位相を変更する位相変調素子を含み、
前記画像処理部は、前記干渉縞が複数の位相状態の各状態にあるときに前記検出部により検出された検出結果の前記周波数空間上のデータを複数の成分に分離して、前記画像を生成する、
請求項15から請求項17のいずれか1項に記載の顕微鏡。

- [請求項23] 前記画像処理部は、前記複数の成分に分離することにより得られるデータの少なくとも一部の位相を変換して前記画像を生成する、
請求項18から請求項22のいずれか1項に記載の顕微鏡。
- [請求項24] 前記画像処理部は、前記干渉縞の光強度分布および前記検出部の位置に基づいて、前記位相を変換する量を決定する、
請求項23に記載の顕微鏡。
- [請求項25] 前記画像処理部は、前記位相を変換したデータを検出部の位置に基づいて補正して前記画像を生成する
請求項23または24に記載の顕微鏡。
- [請求項26] 前記画像処理部は、前記検出装置から得られるデータに対してデコンボリューションを実行して、前記画像を生成する、
請求項15から22のいずれか1項に記載の顕微鏡。
- [請求項27] 前記画像処理部は、前記複数の検出部の少なくとも1つの検出部から得られるデータに対して、その検出部の位置、および前記干渉縞の光強度分布に基づいて前記デコンボリューションを実行する、
請求項26に記載の顕微鏡。
- [請求項28] 光源からの光を複数の光束に分割し、前記複数の光束の少なくとも3つ以上の光束の干渉によって形成される干渉縞を、試料の複数の方向において走査することと、
前記試料からの光が入射する検出光学系を介して、複数の検出部を含む検出装置によって、前記試料からの光を検出することと、
前記検出装置の2以上の検出部の検出結果を用いて画像を生成することと、を含む観察方法。

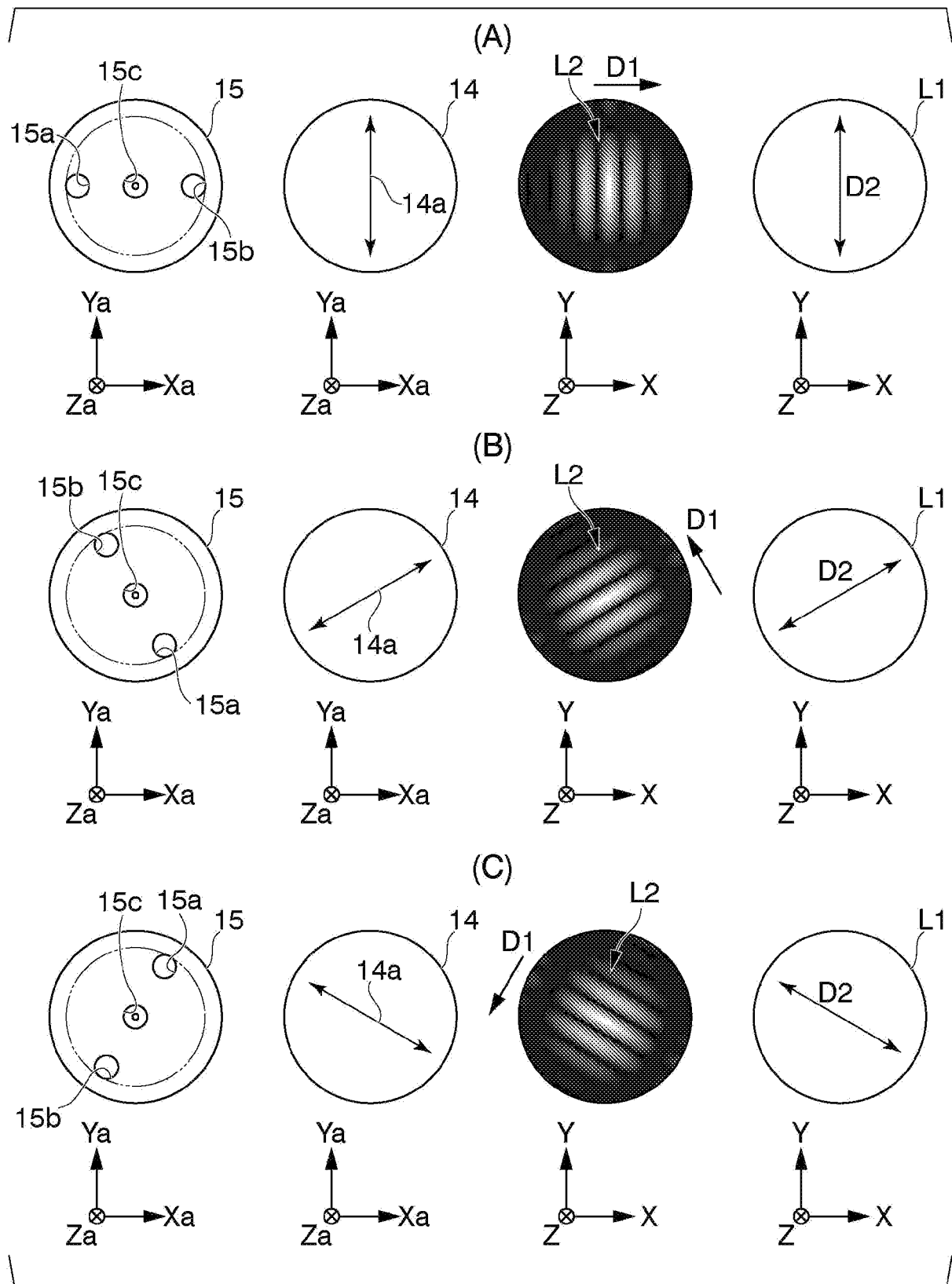
[図1]



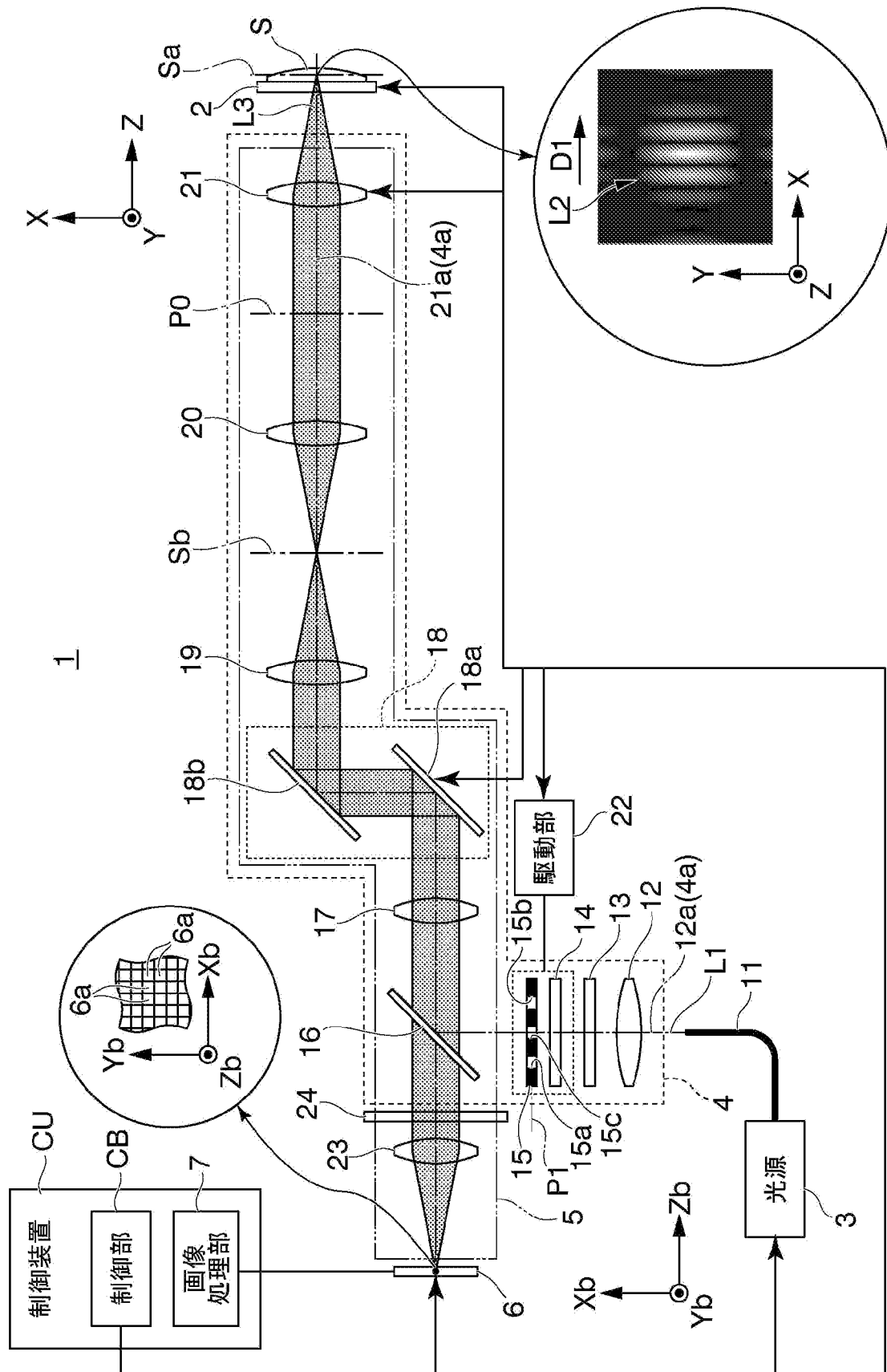
[図2]



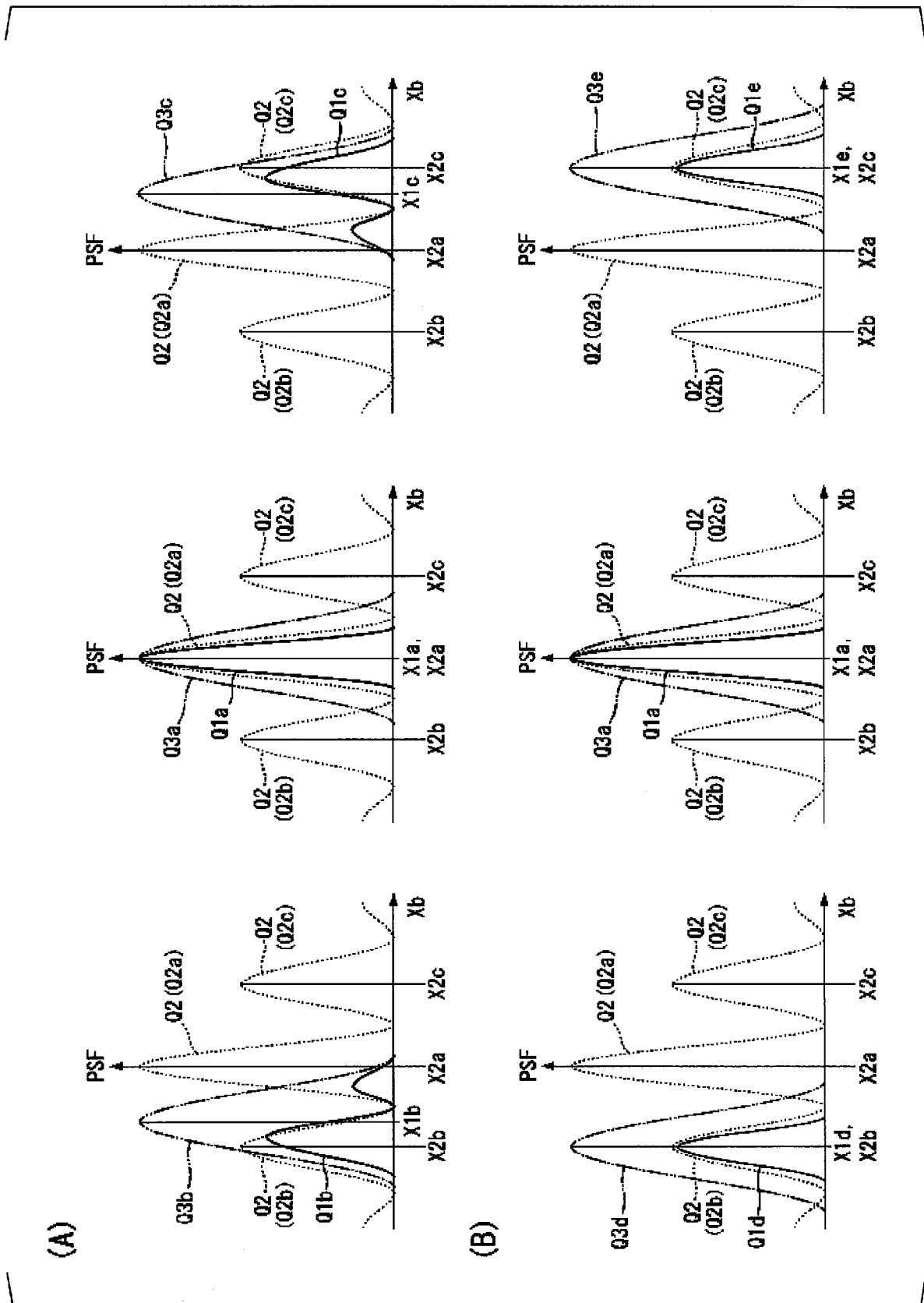
[図3]



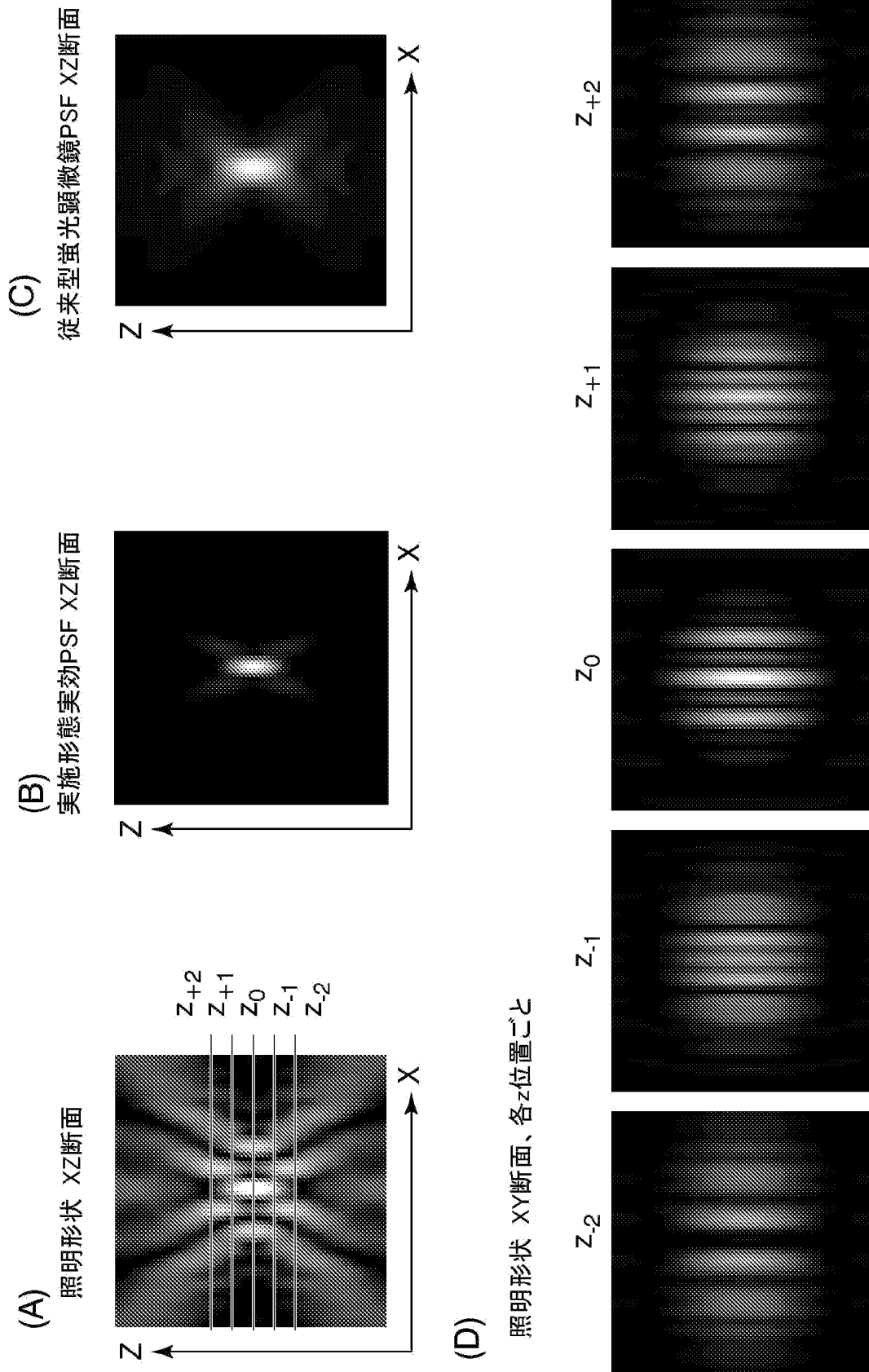
[図4]



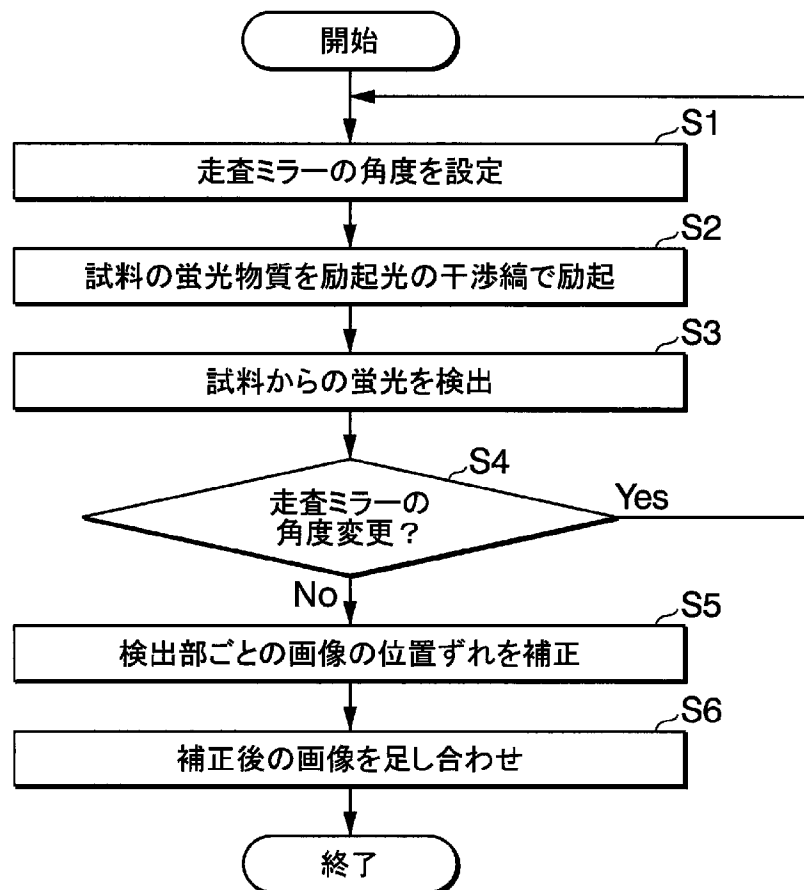
[図5]



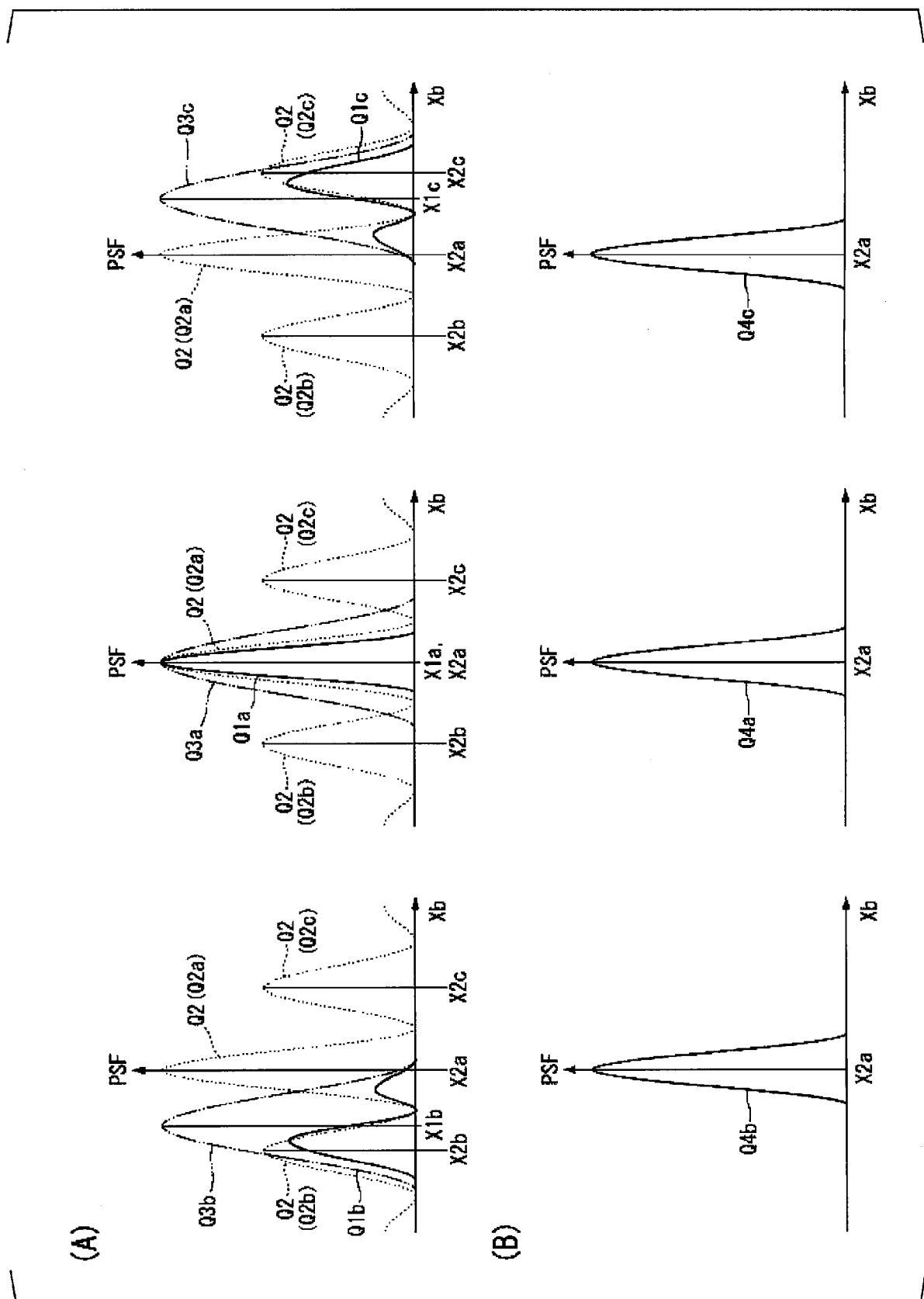
[図6]



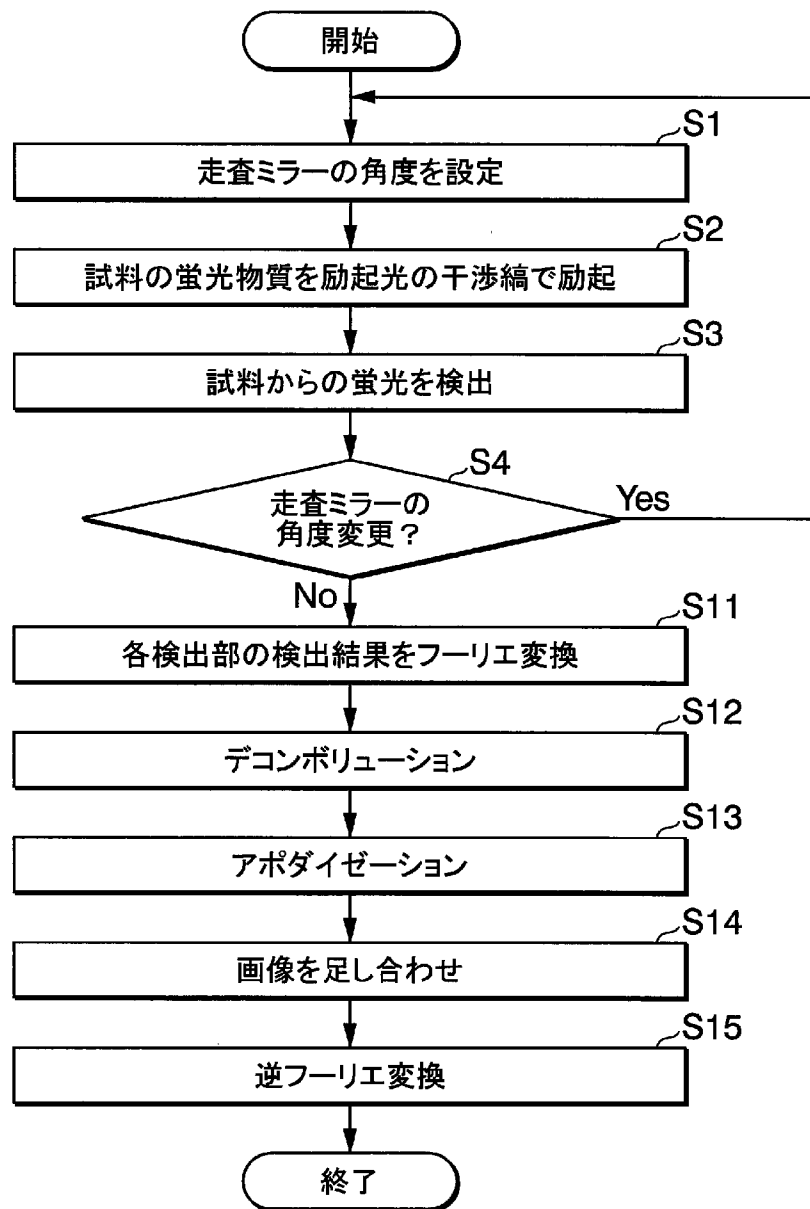
[図7]



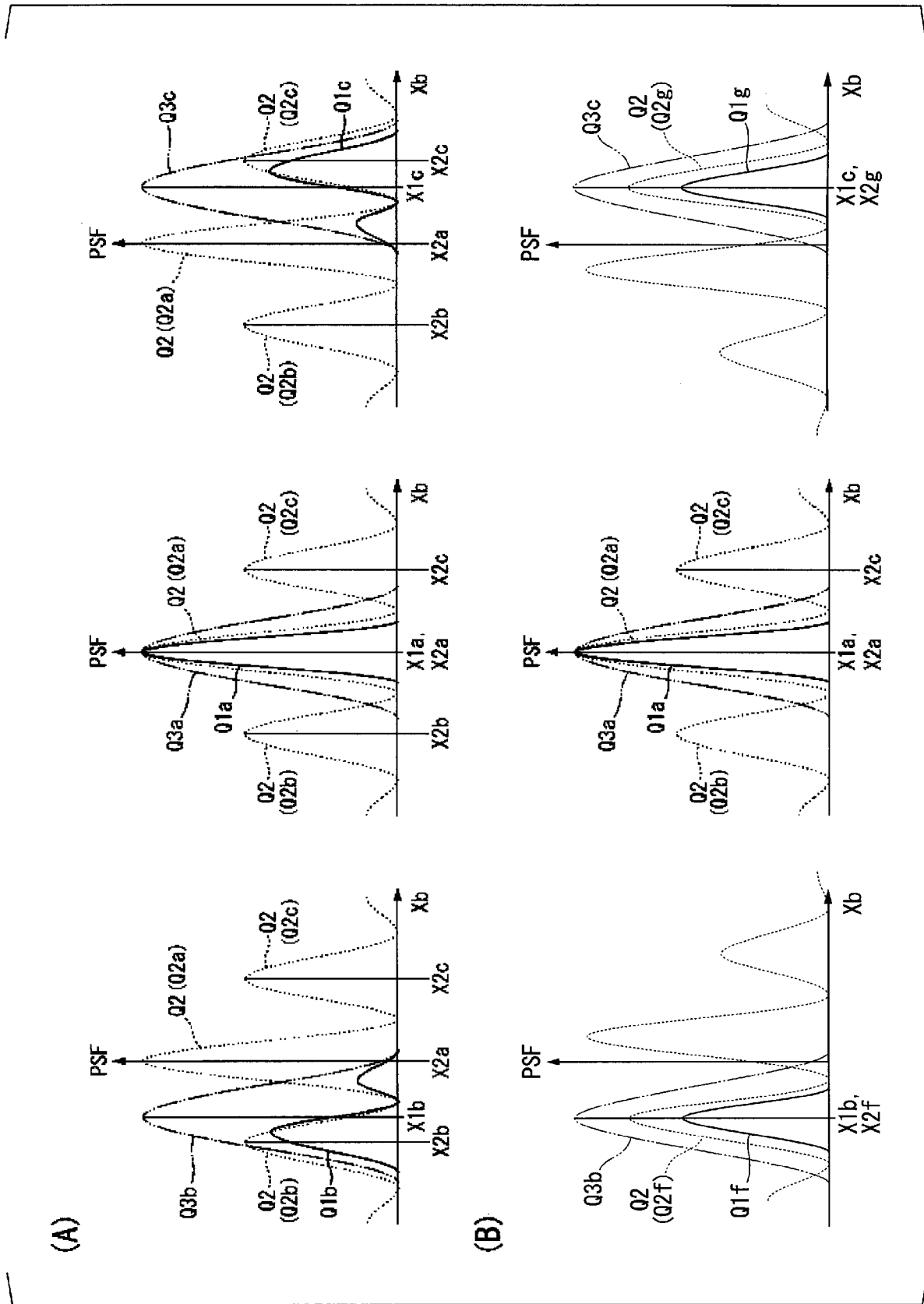
[図8]



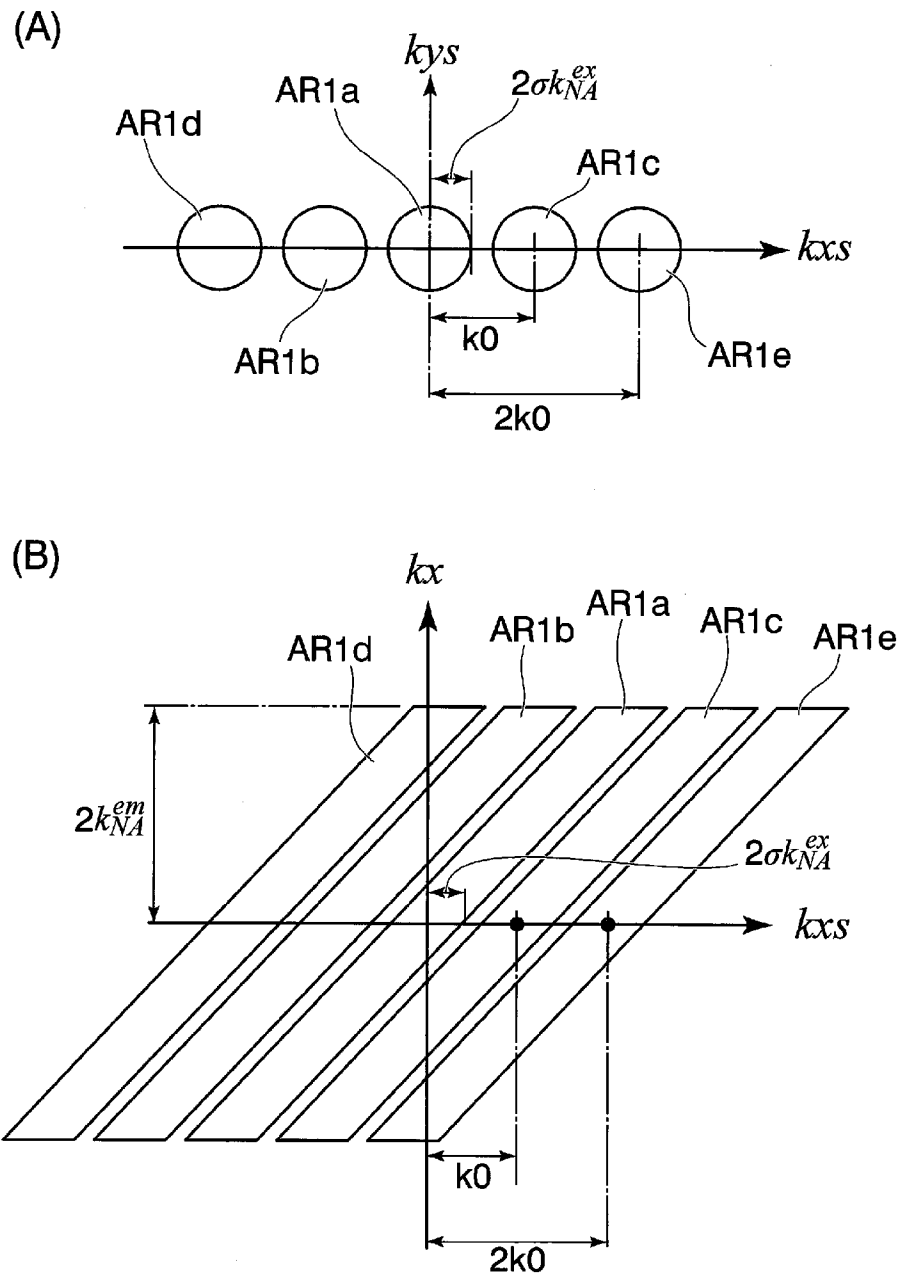
[図9]



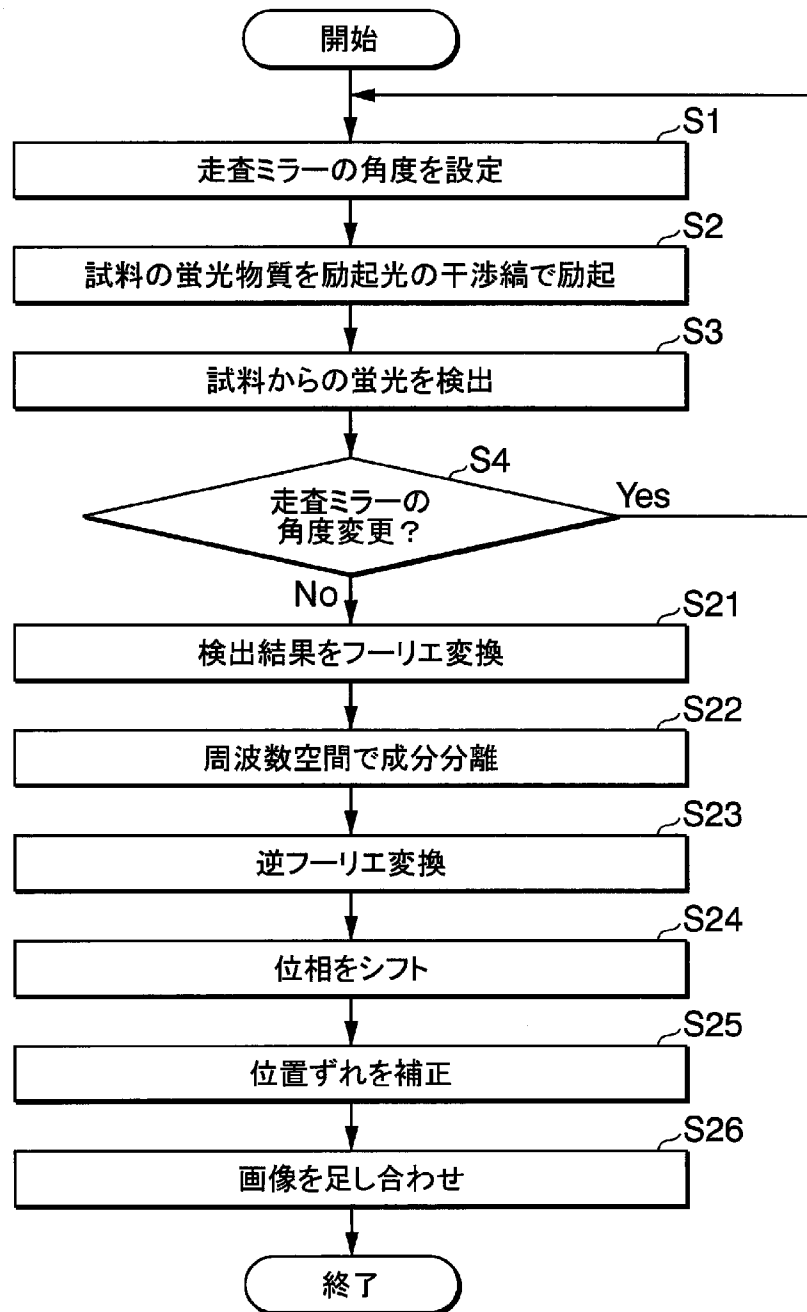
[図10]



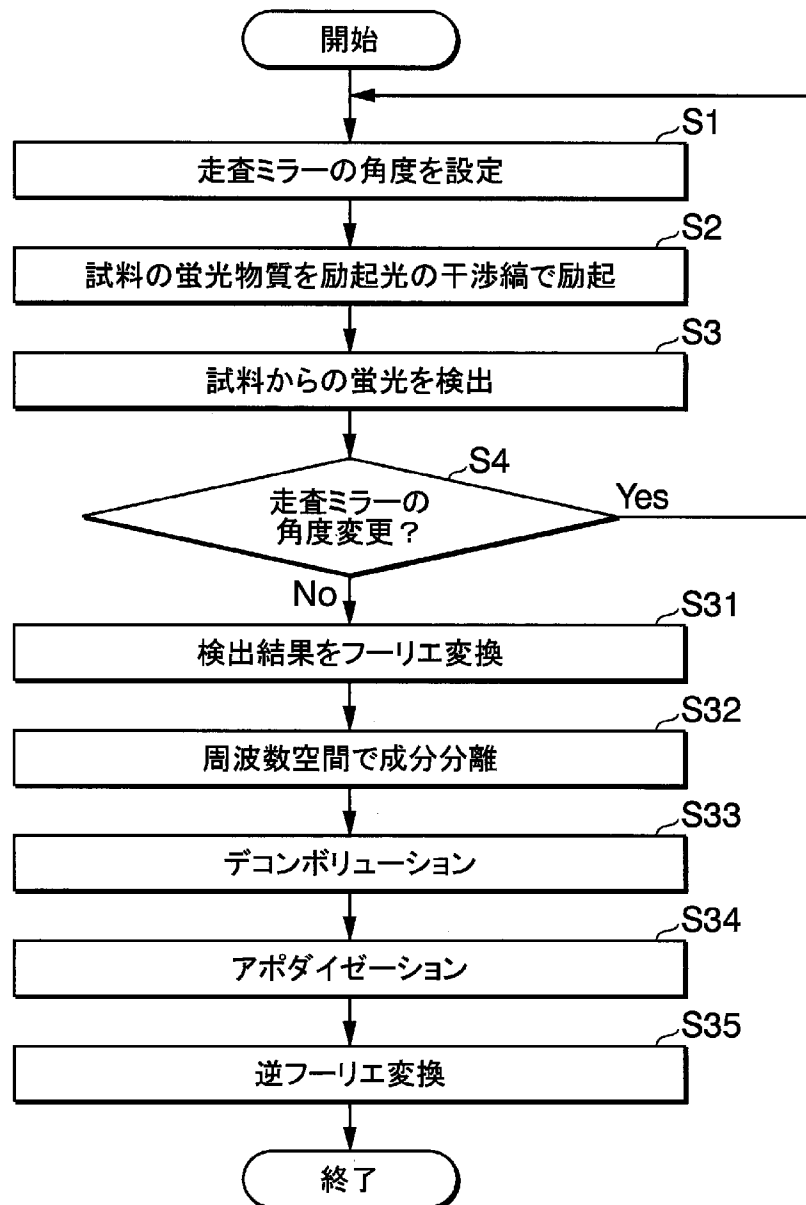
[図11]



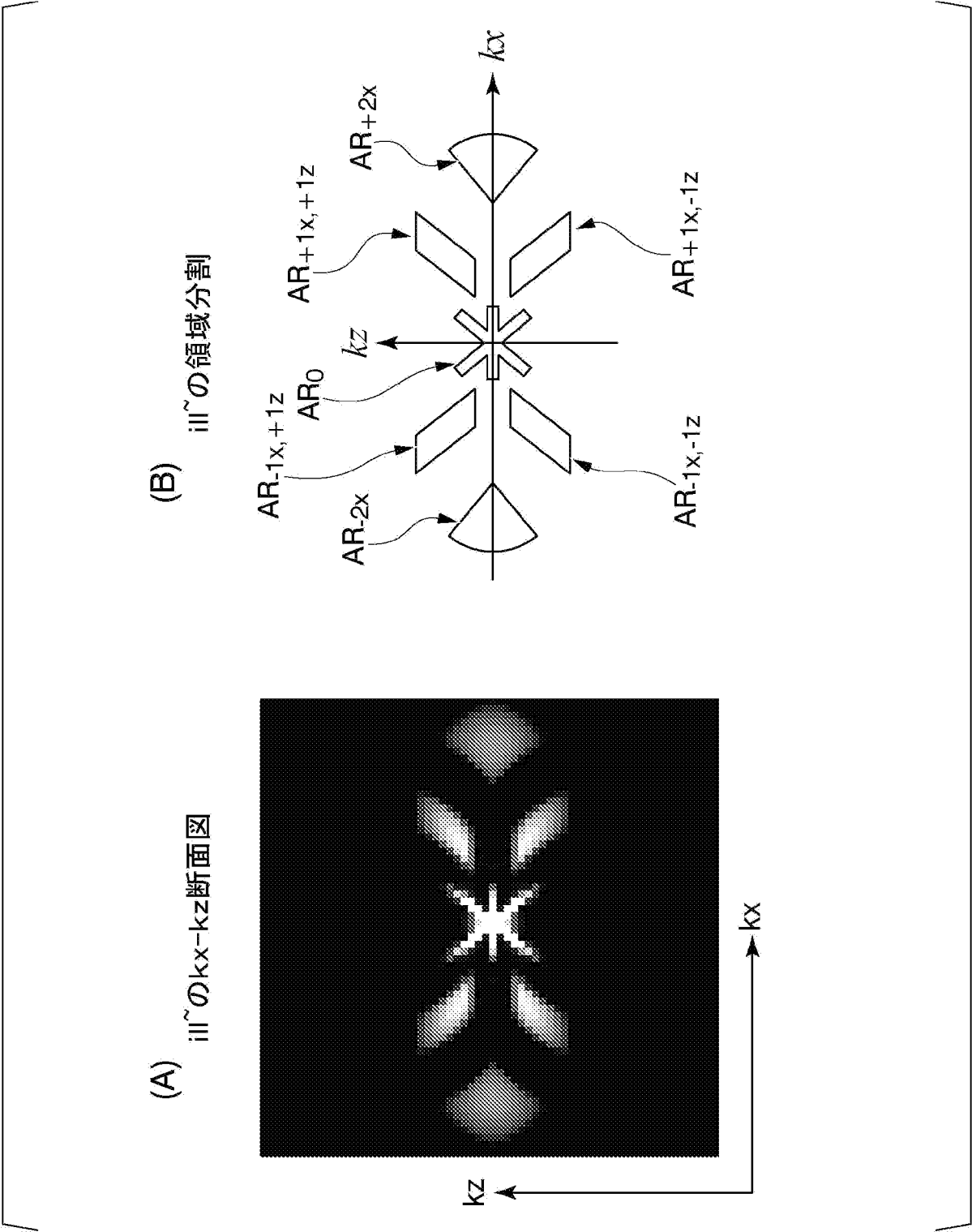
[図12]



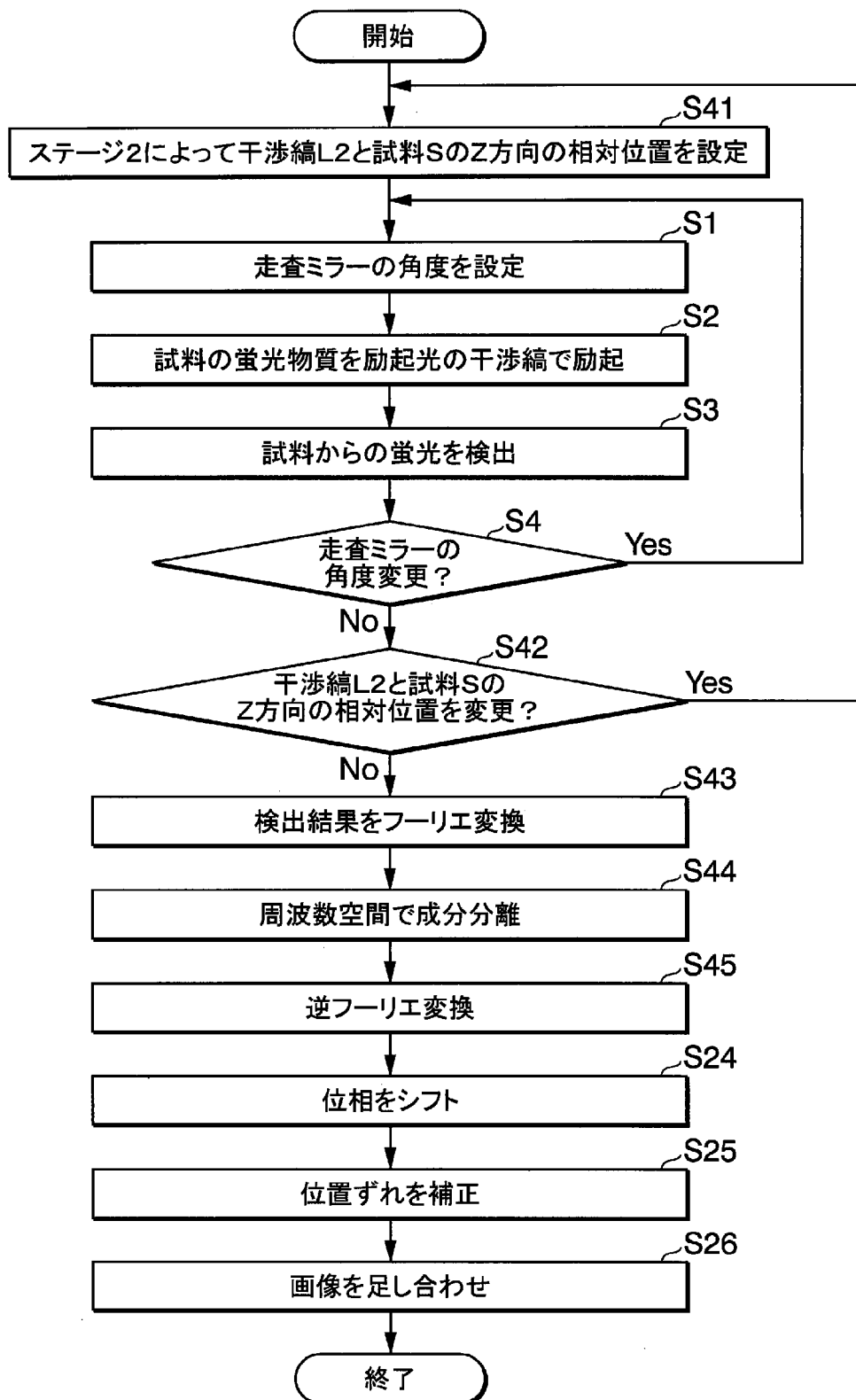
[図13]



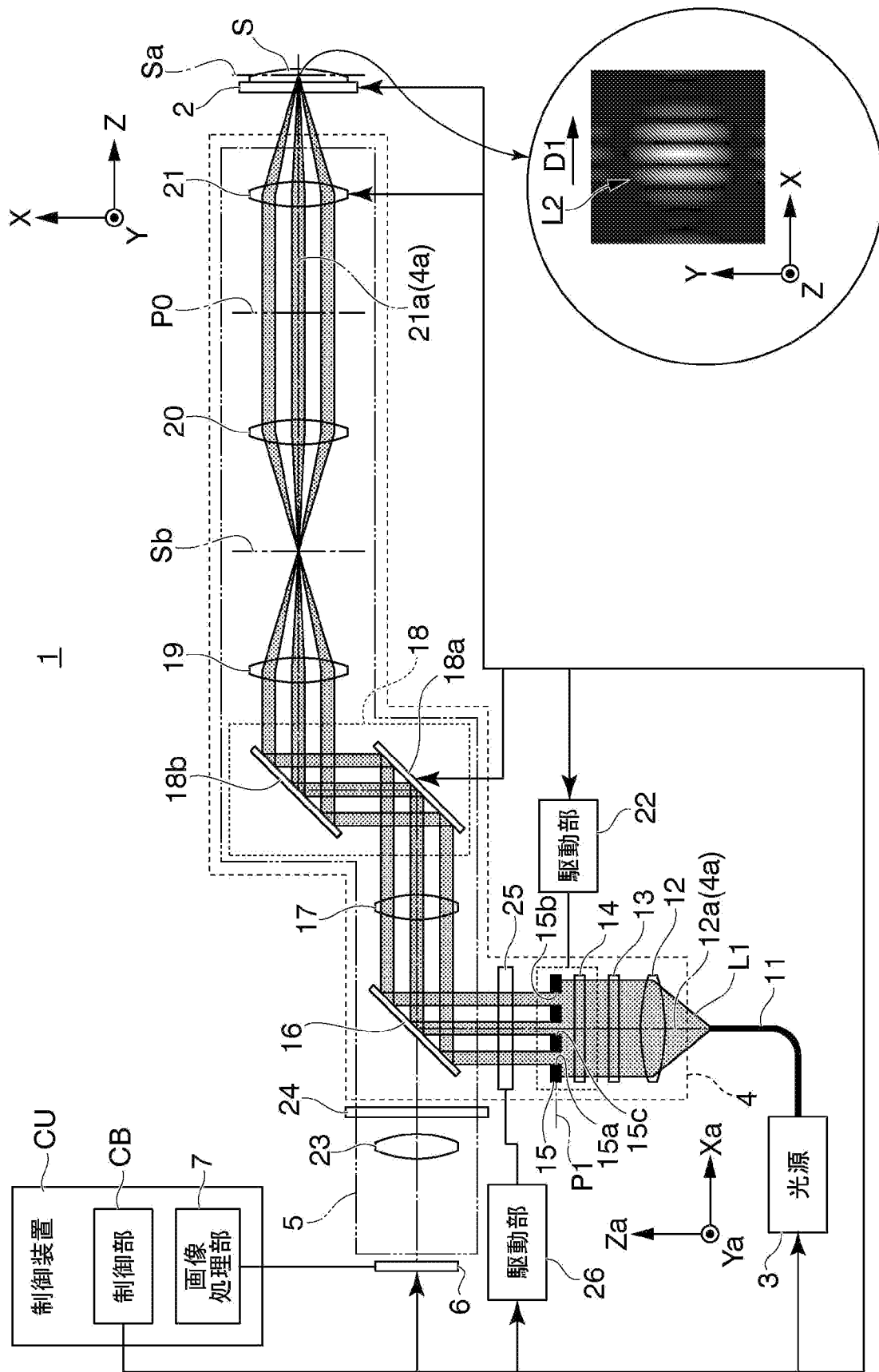
[図14]



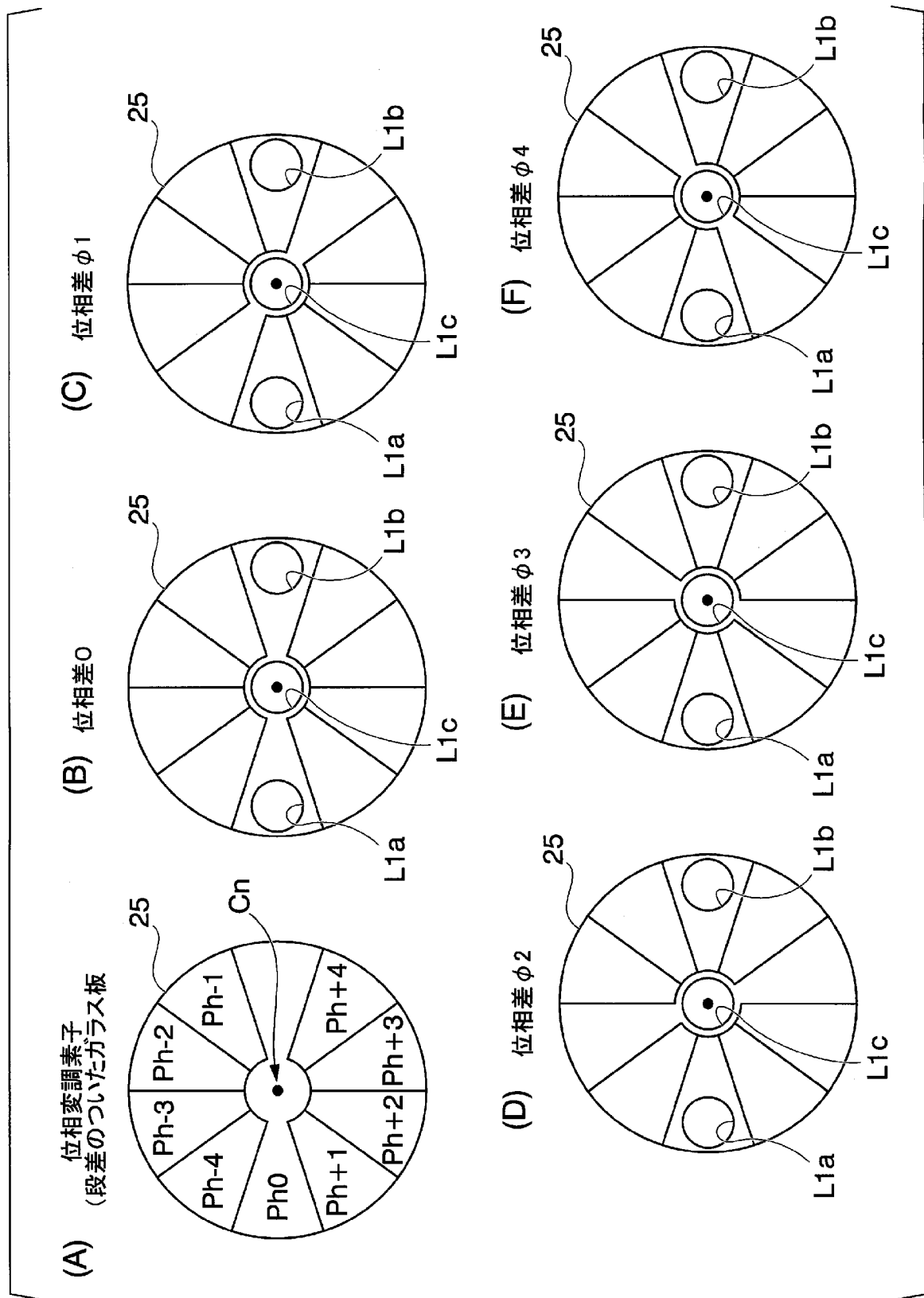
[図15]



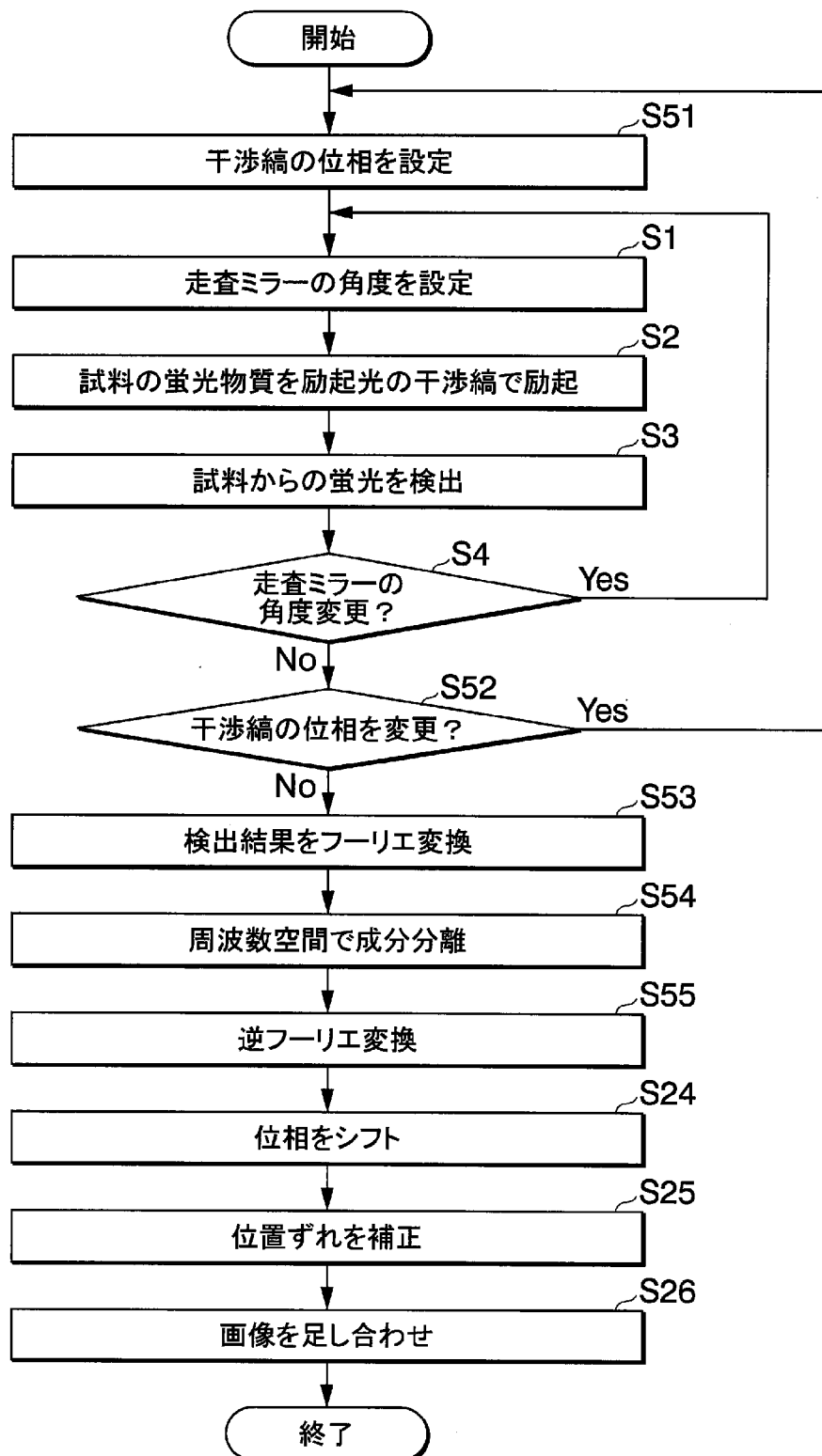
[図16]



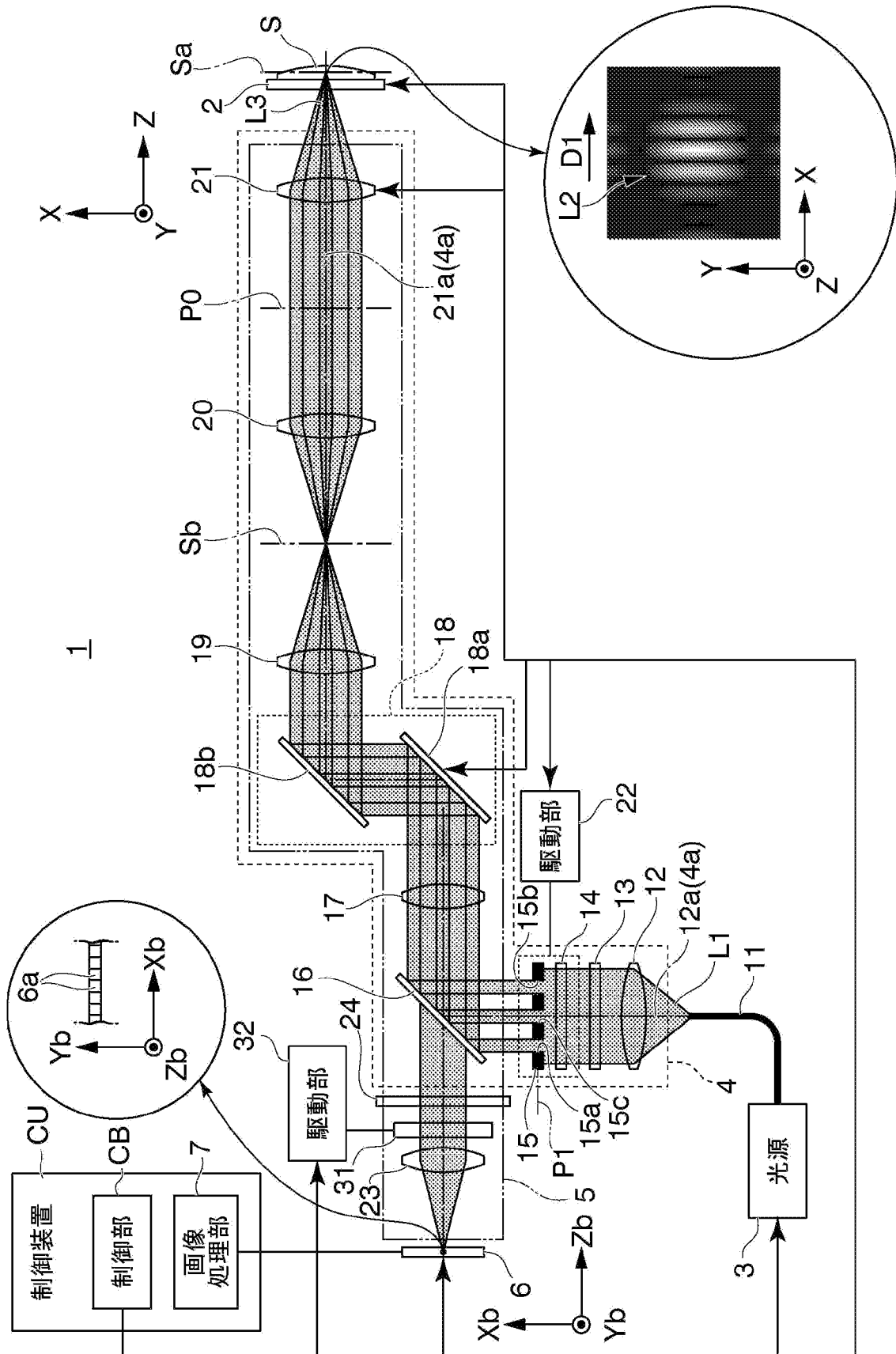
[図17]



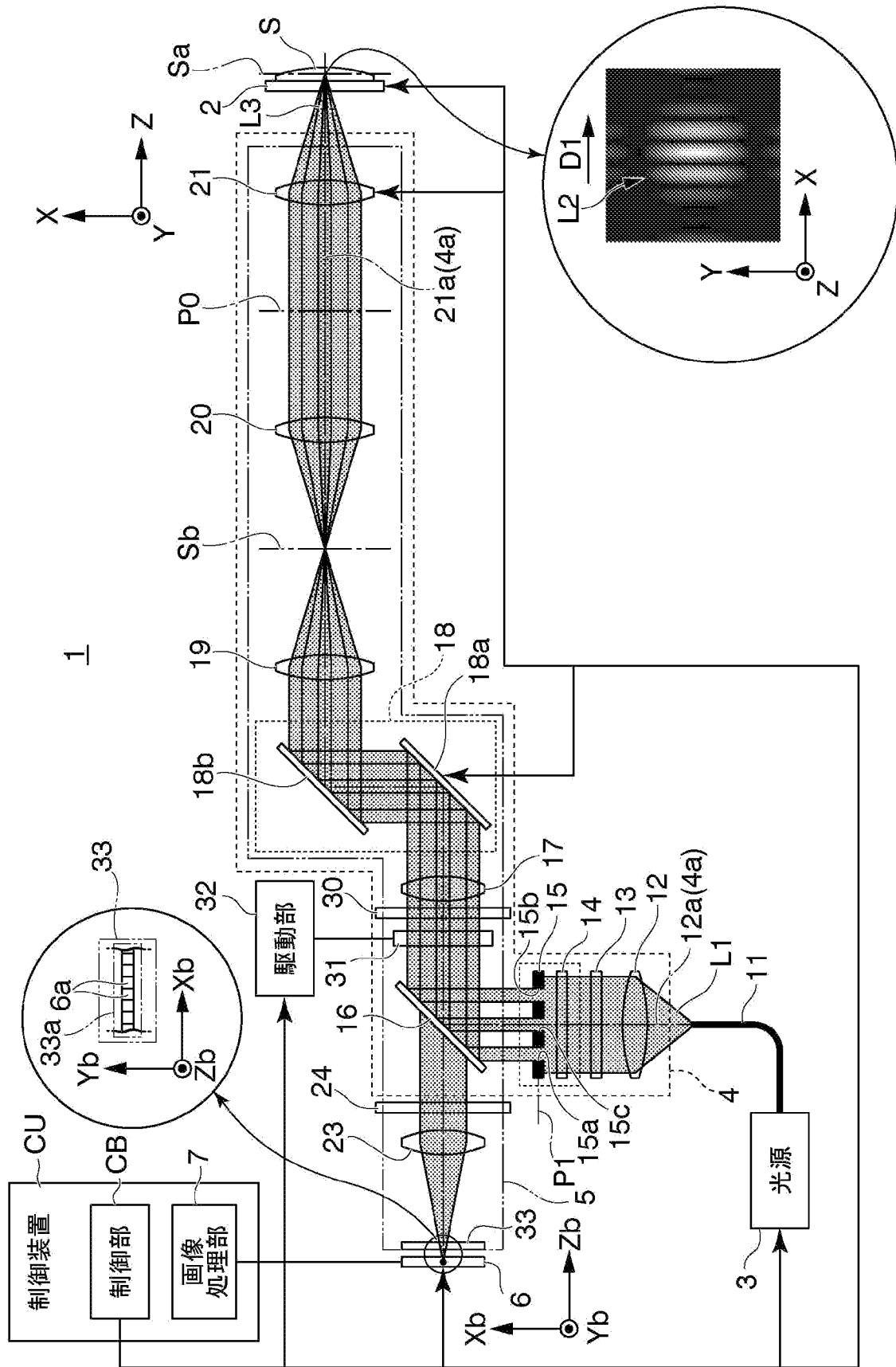
[図18]



[図20]



[図21]



[図22]

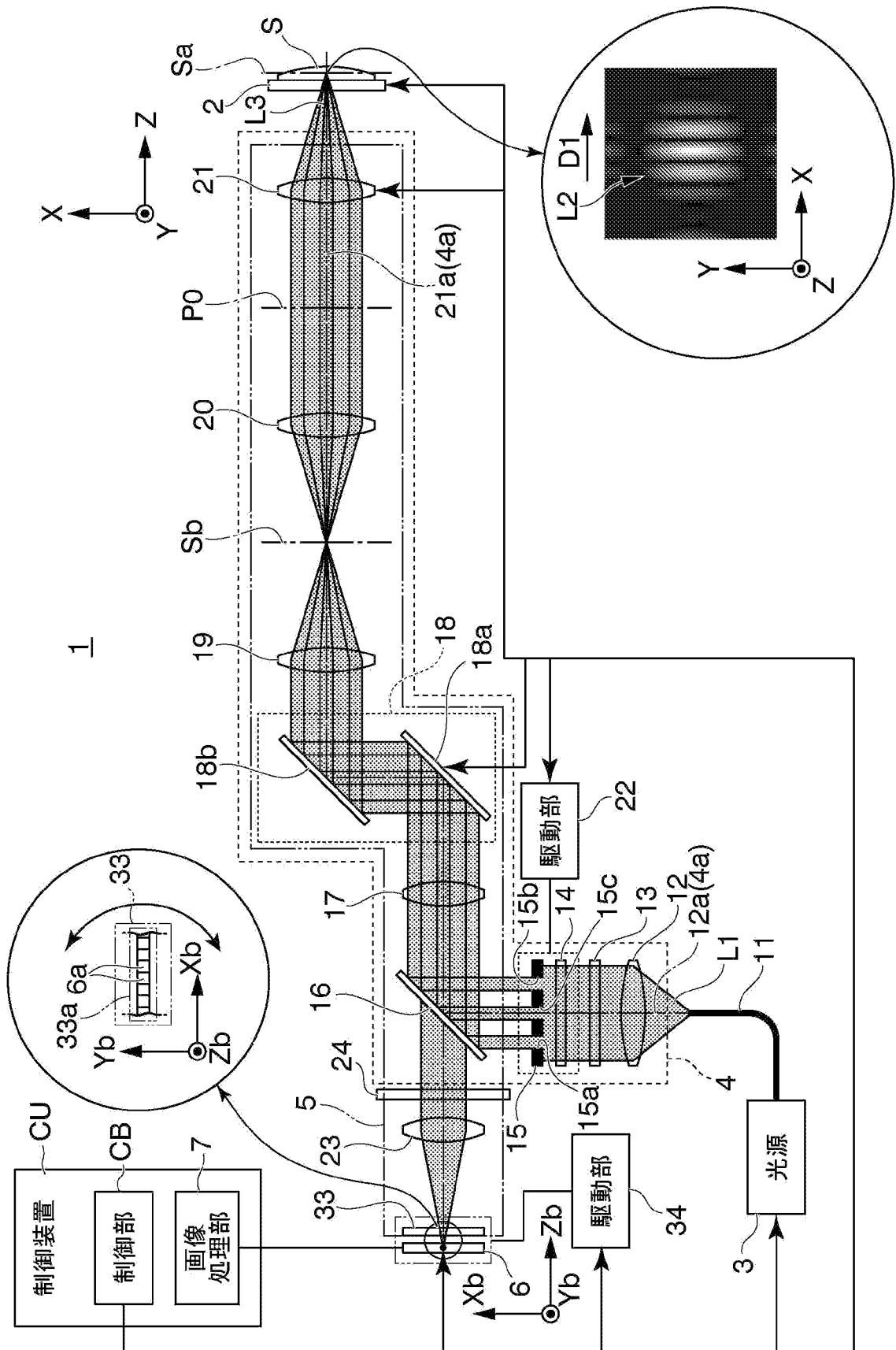
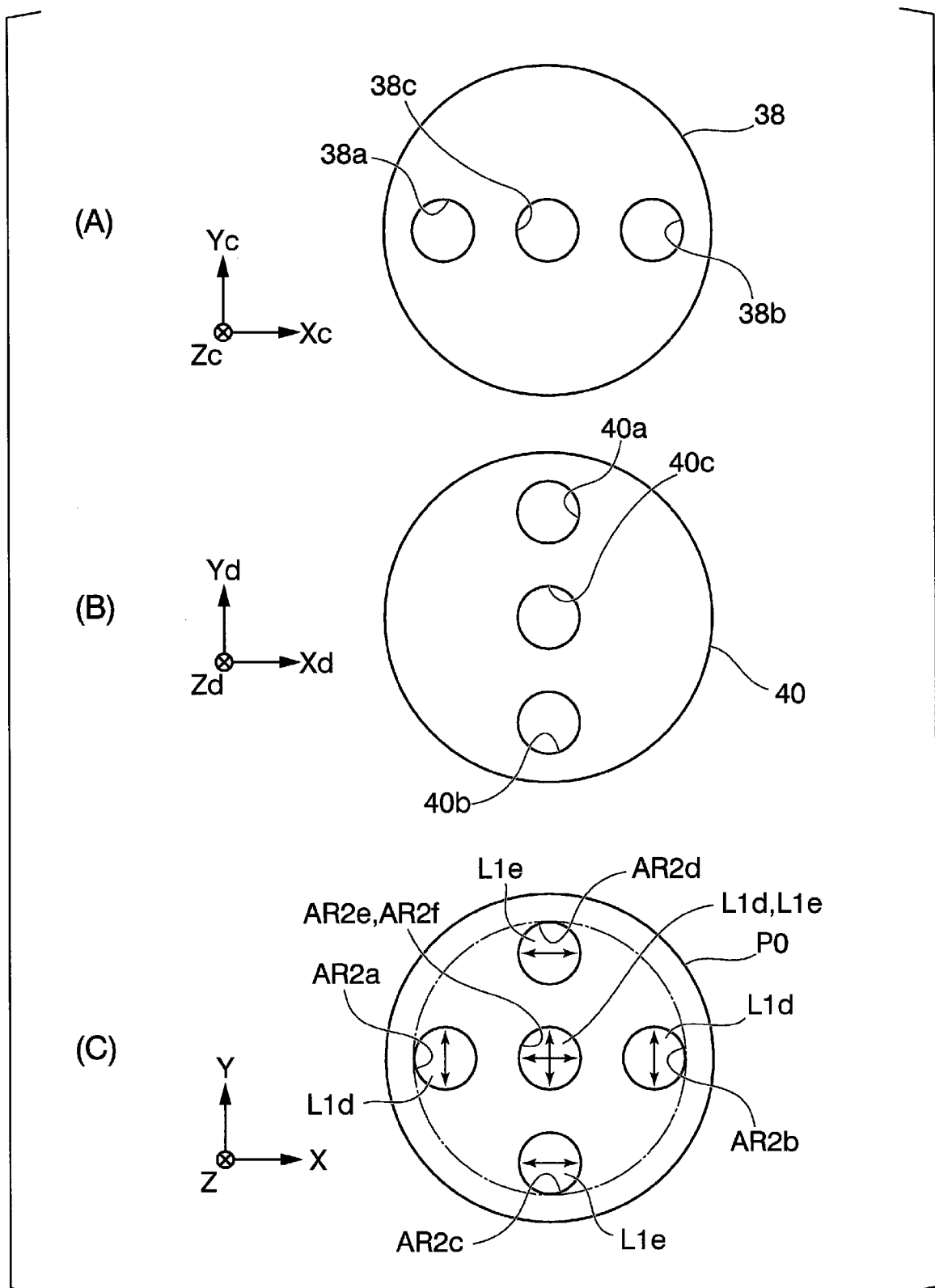
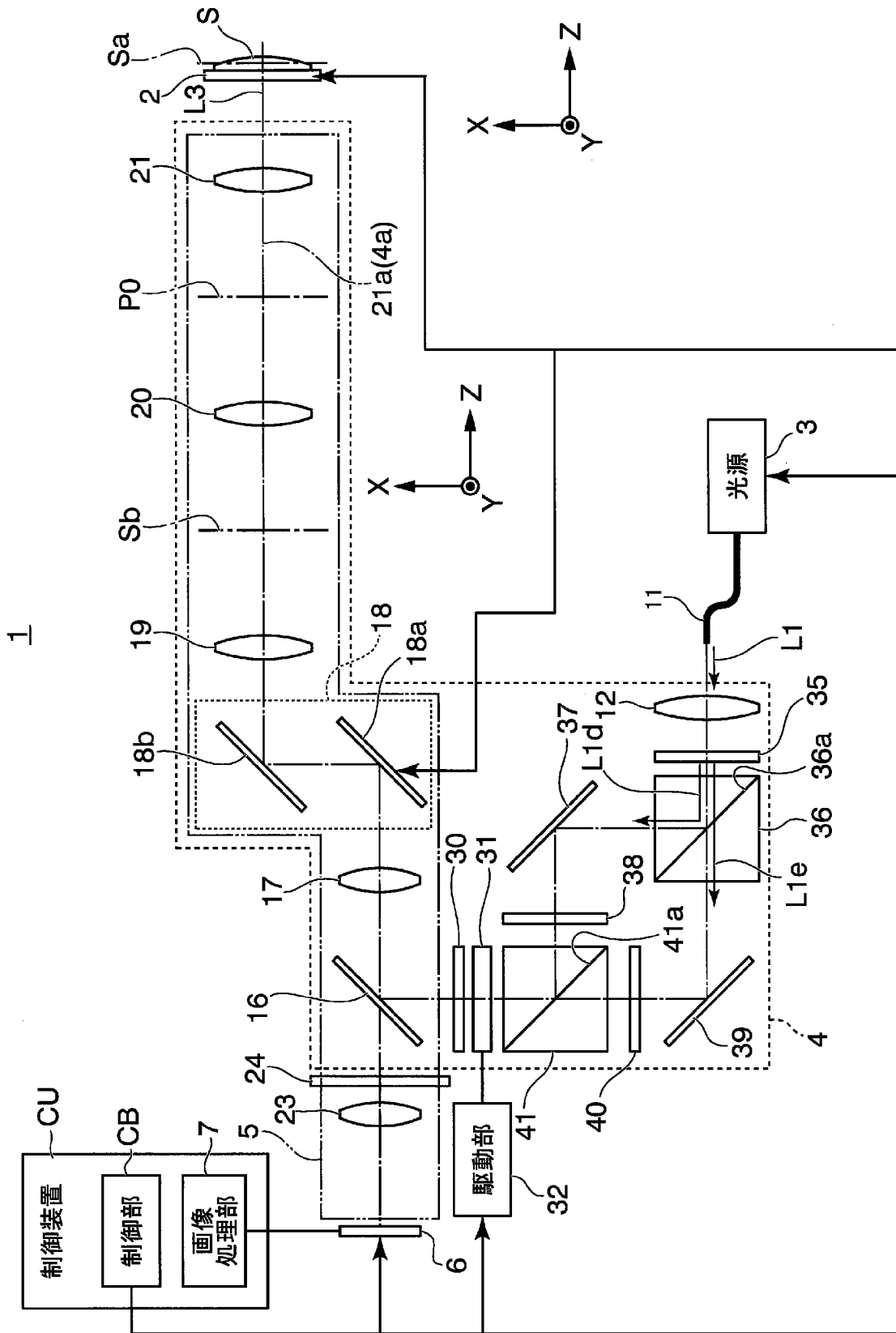


Figure 1 is a schematic diagram of an optical system 1. The system includes a control device (CU), a control unit (CB), and an image processing unit (7). Light from a source (3) passes through a series of lenses (L1, L2, L3), mirrors (18a, 18b, 37, 39), and prisms (36, 41) to form an image on a sensor (S). The sensor is connected to the image processing unit (7). The system is divided into two main sections: 21a(4a) and 21b(4b). The image processing unit (7) is connected to the control unit (CB) and the control device (CU). The diagram also shows coordinate systems (X, Y, Z) and (Xb, Yb, Zb) for the light paths.

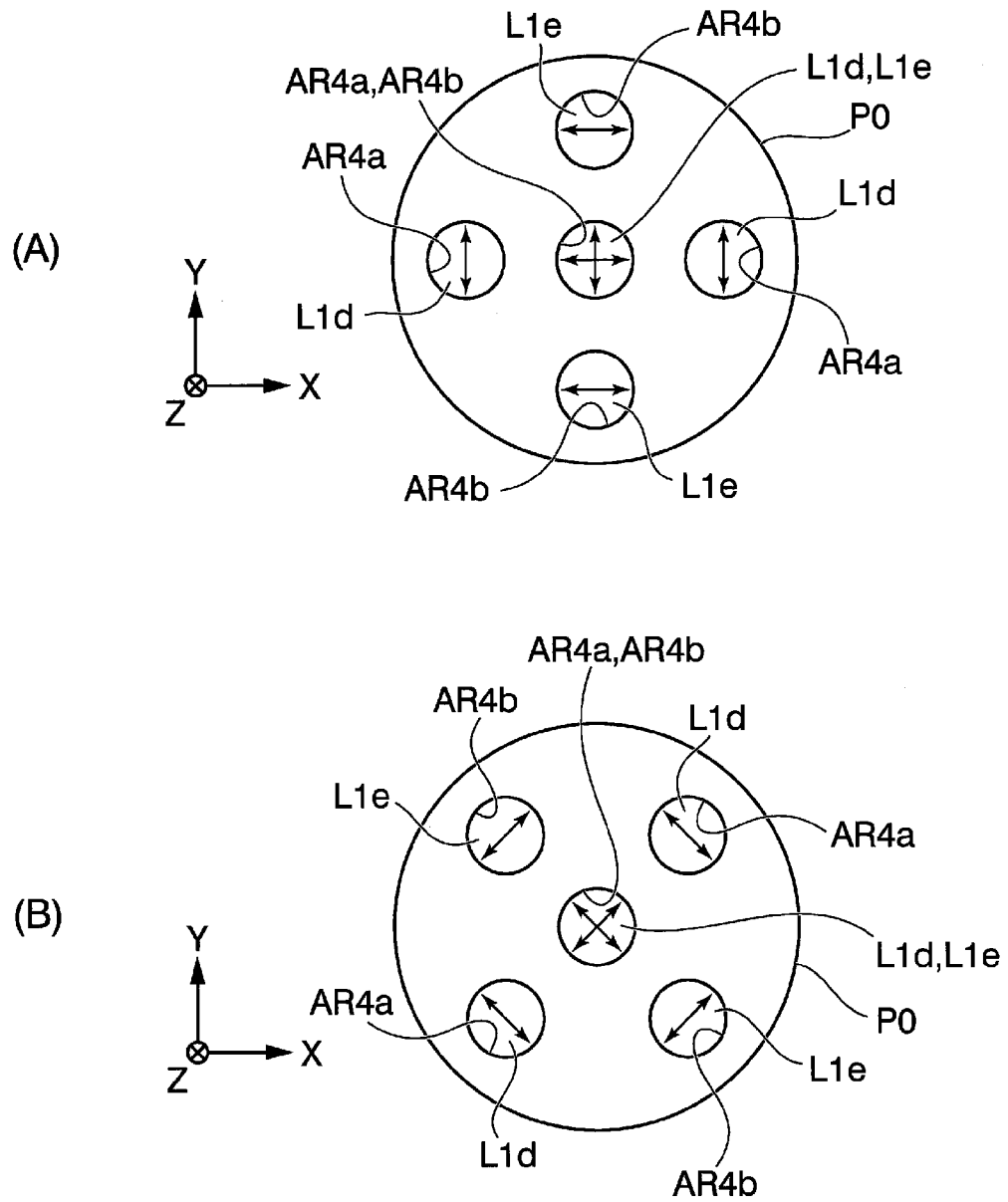
[図24]



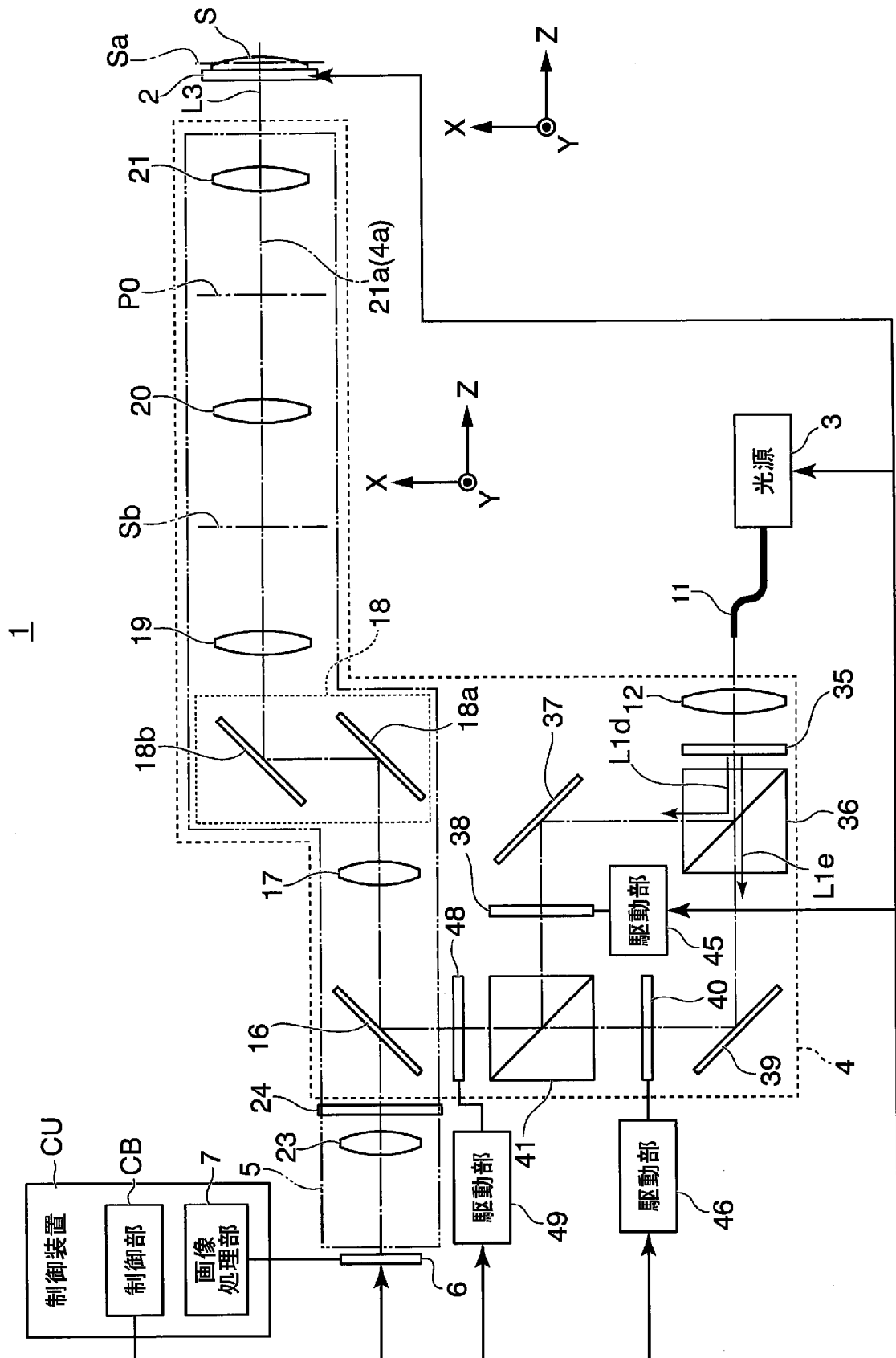
[図25]



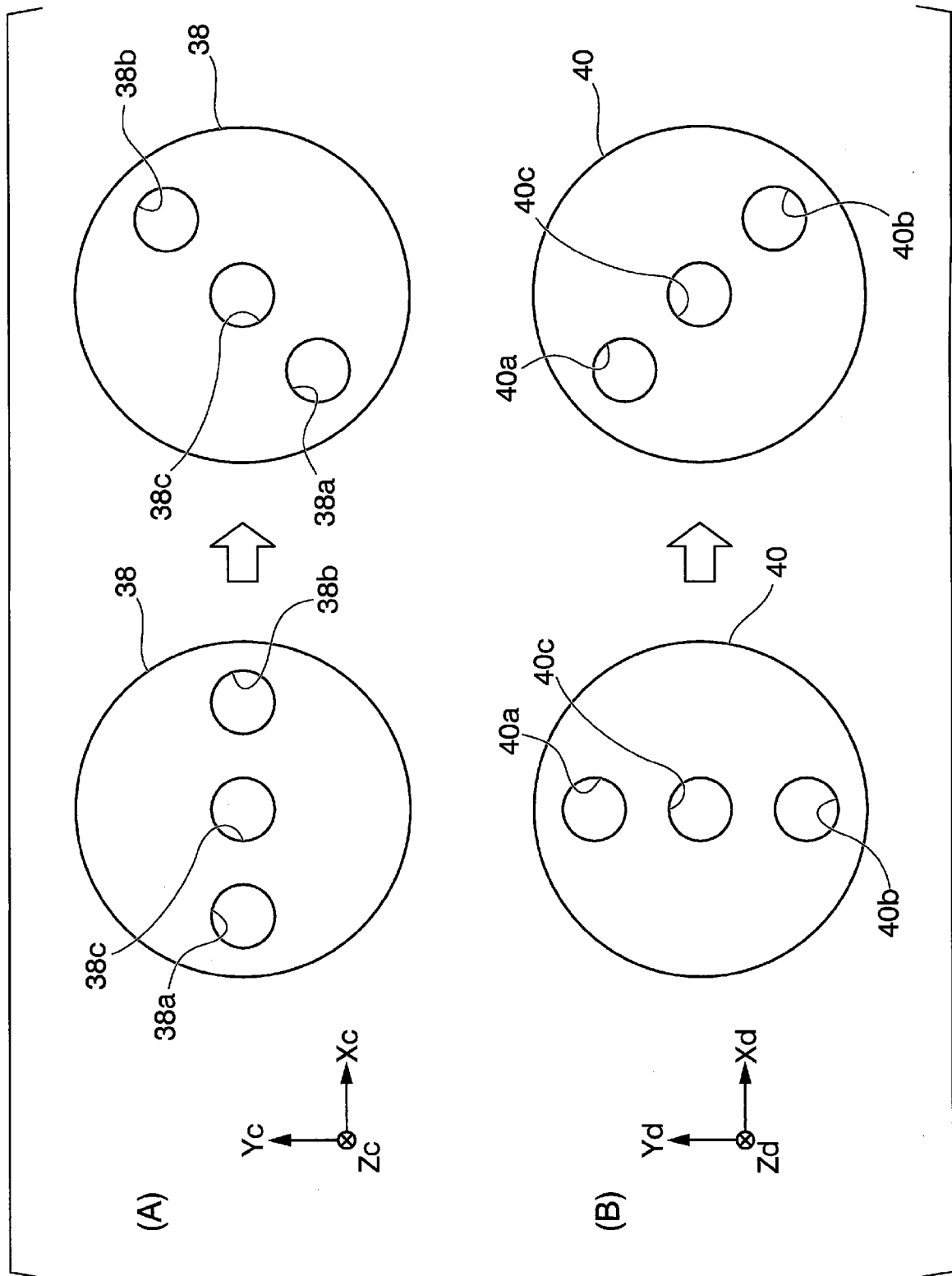
[図26]



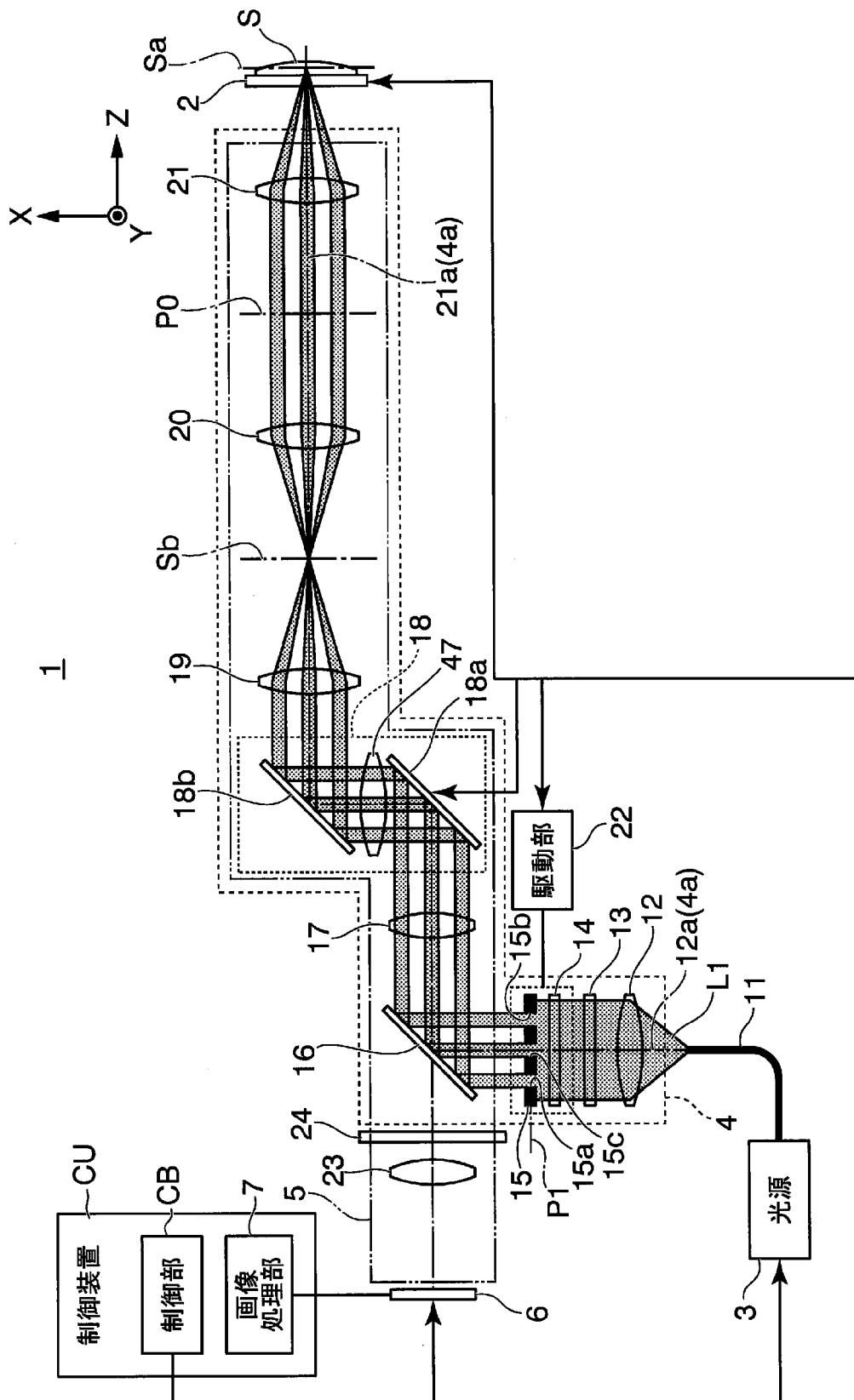
[図27]



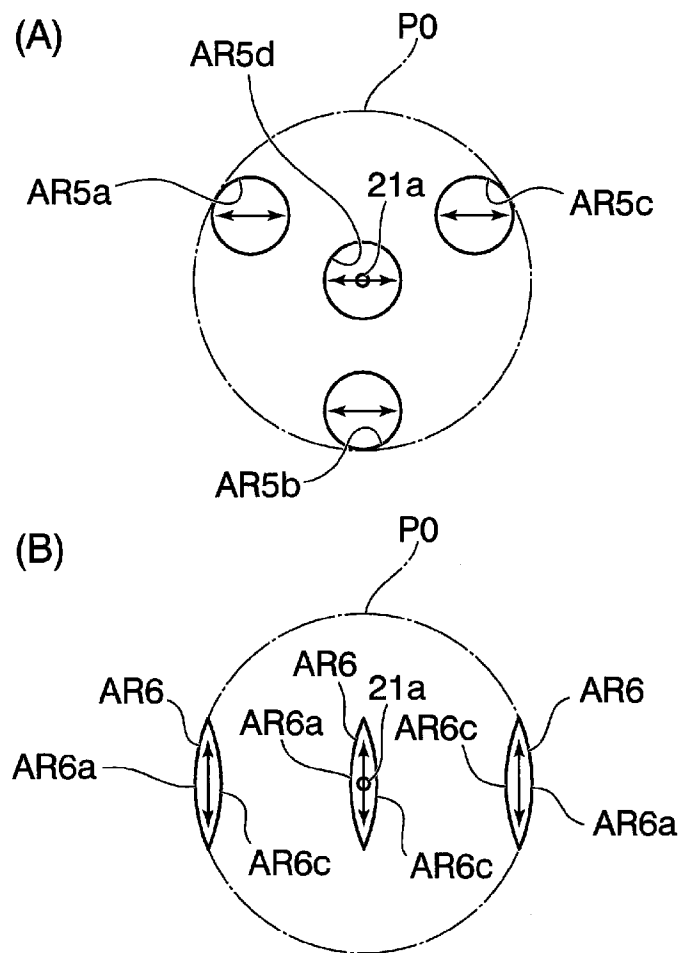
[図28]



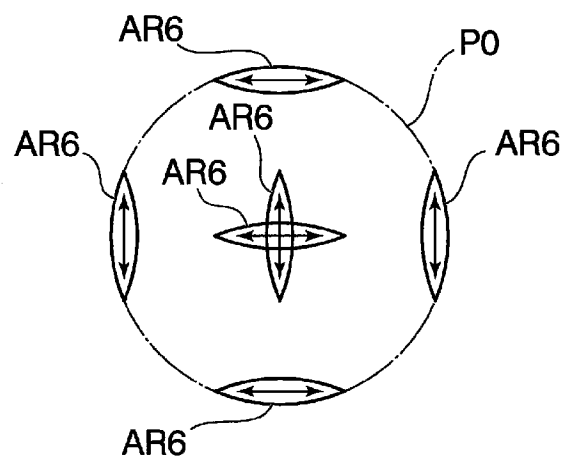
[図29]



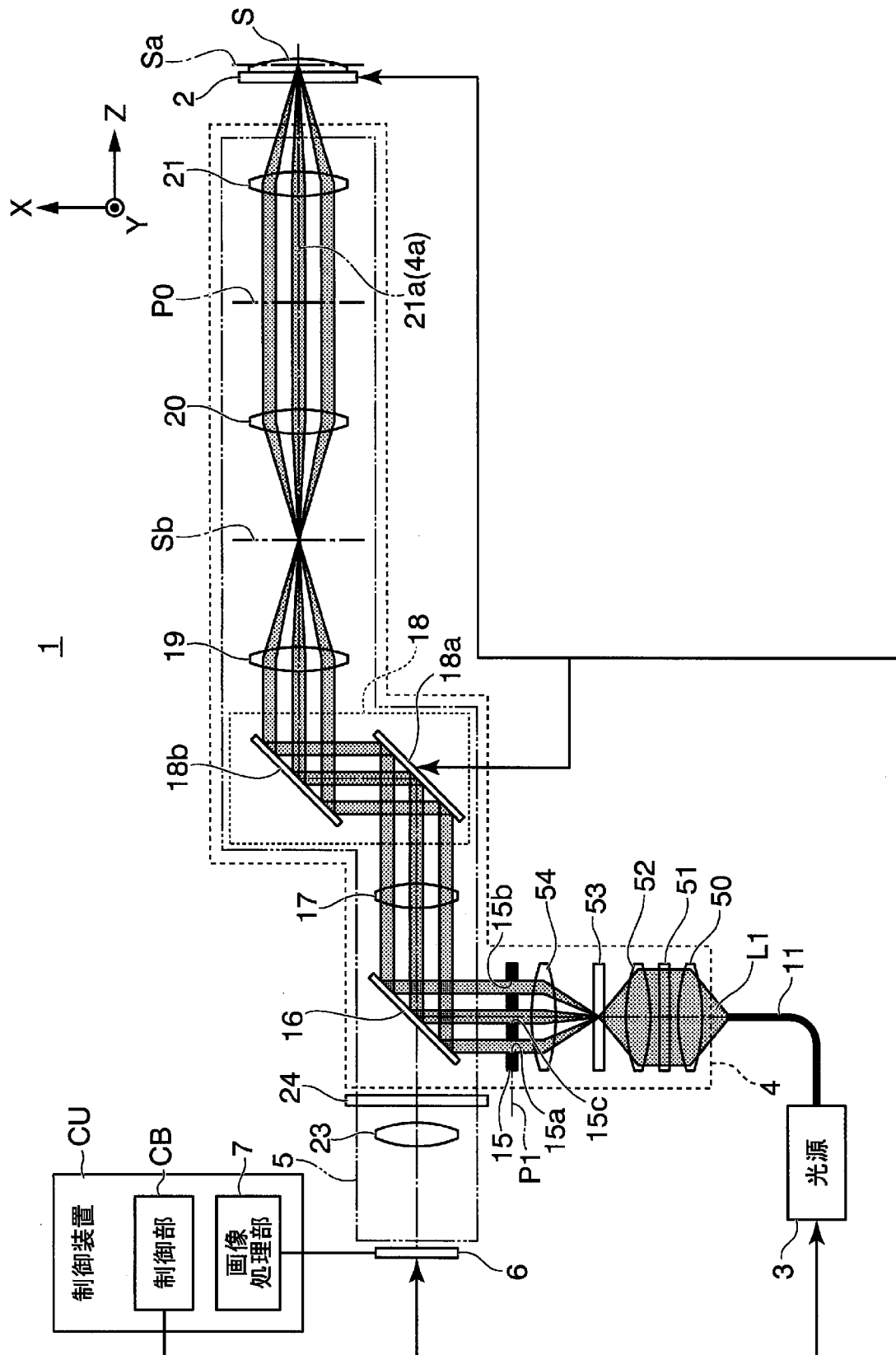
[図30]



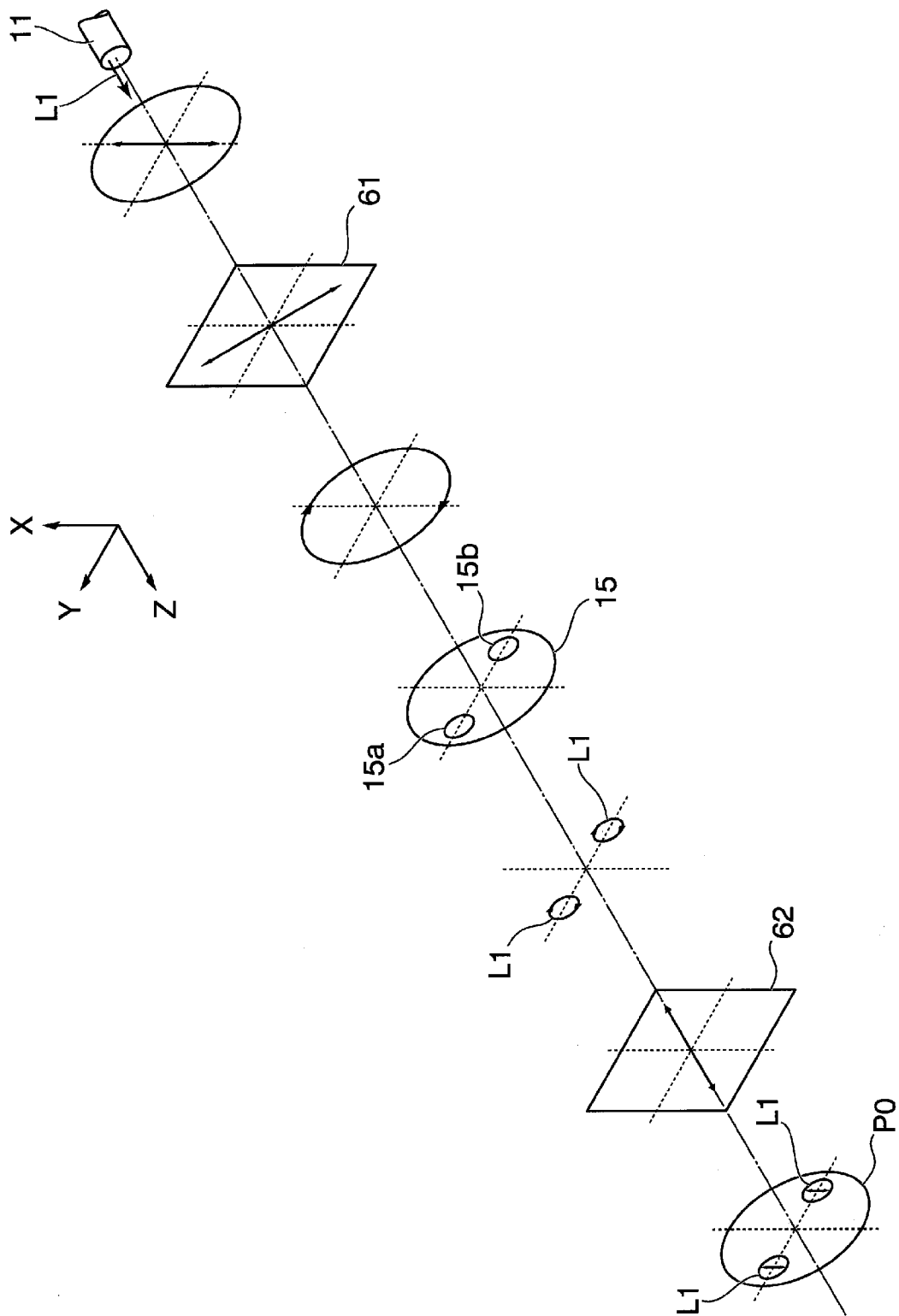
[図31]



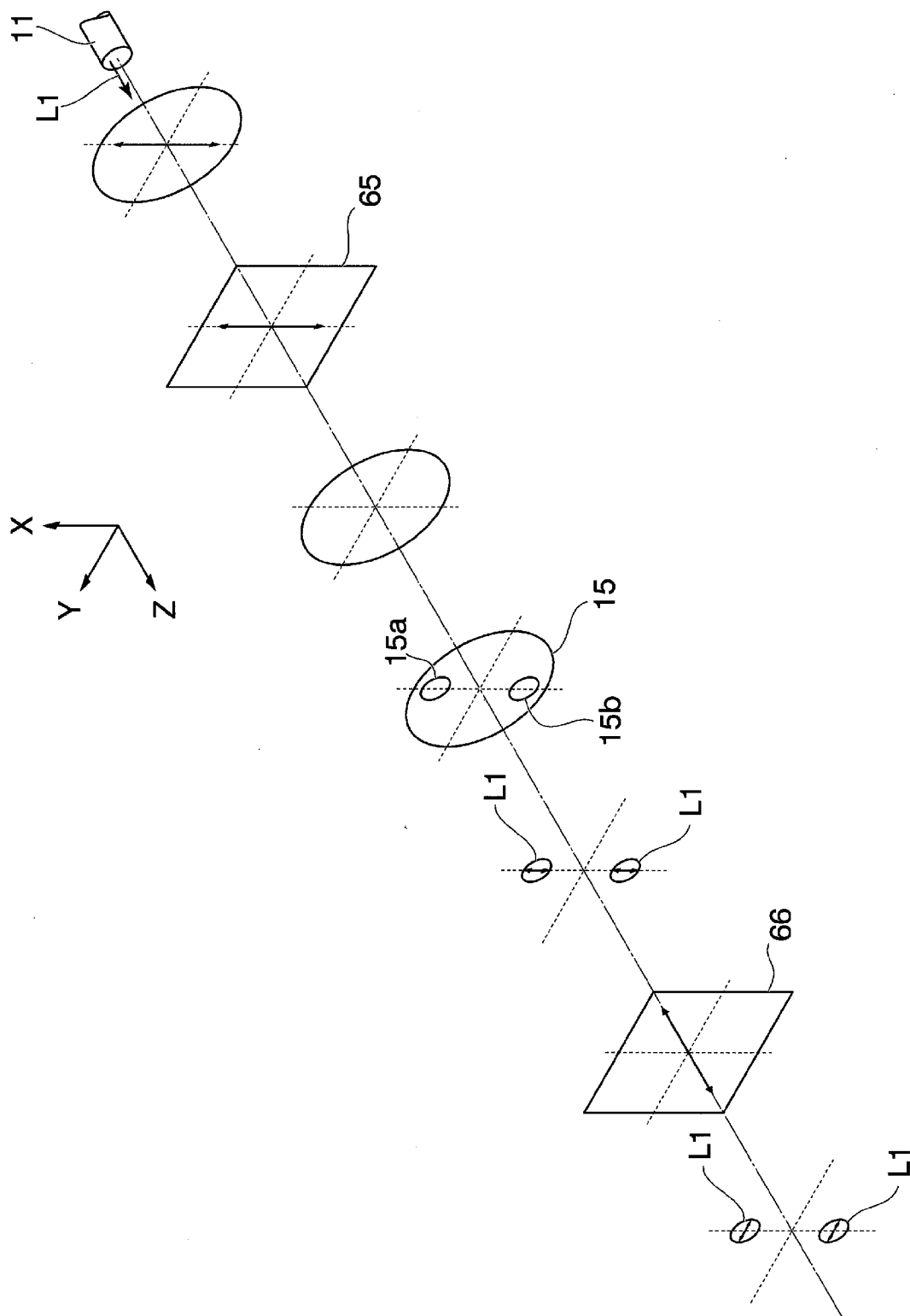
[図32]



[図33]



[図34]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/008958

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. G02B21/14(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)

Int.Cl. G02B21/14, G02B21/36

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996

Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2019

Registered utility model specifications of Japan 1996-2019

Published registered utility model applications of Japan 1994-2019

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	WO 2017/094184 A1 (OLYMPUS CORPORATION) 08 June 2017, paragraphs [0024]-[0038], [0051]-[0053], [0064], [0068], [0069], fig. 1, 5B, 9, 10	1-3, 5-10, 12-17, 22-28
Y		1-20, 22-28
A	(Family: none)	21
Y	WO 2015/118634 A1 (NIKON CORPORATION) 13 August 2015, paragraphs [0027], [0104]	1-20, 22-28
A	(Family: none)	21



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

29.03.2019

Date of mailing of the international search report

09.04.2019

Name and mailing address of the ISA/

Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/008958

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2015/052936 A1 (NIKON CORPORATION) 16 April 2015, paragraphs [0095]-[0098] & US 2016/0216505 A1, paragraphs [0124]-[0127]	18-20
A	JP 2016-105126 A (YOKOGAWA ELECTRIC CORPORATION) 09 June 2016, entire text, all drawings (Family: none)	1-28
A	JP 2010-271522 A (NIKON CORPORATION) 02 December 2010, entire text, all drawings (Family: none)	1-28
A	WO 2010/088418 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 05 August 2010, entire text, all drawings & US 2012/0069344 A1	1-28

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. G02B21/14(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（IPC））

Int.Cl. G02B21/14, 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	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2019年
日本国実用新案登録公報	1996-2019年
日本国登録実用新案公報	1994-2019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	W0 2017/094184 A1（オリンパス株式会社）2017.06.08, 段落 [0024] - [0038], [0051] - [0053], [0064], [0068] - [0069], [図1], [図5B], [図9] - [図10]（ファミリーなし）	1-3, 5-10, 12-17, 22-28
Y		1-20, 22-28
A		21
Y	W0 2015/118634 A1（株式会社ニコン）2015.08.13, 段落 [0027], [0104]（ファミリーなし）	1-20, 22-28
A		21

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

29.03.2019

国際調査報告の発送日

09.04.2019

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（ISA/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）

下村 一石

2 V

3810

電話番号 03-3581-1101 内線 3271

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	WO 2015/052936 A1 (株式会社ニコン) 2015.04.16, 段落 [0095] – [0098] & US 2016/0216505 A1, 段落[0124]-[0127]	18-20
A	JP 2016-105126 A (横河電機株式会社) 2016.06.09, 全文、全図 (ファミリーなし)	1-28
A	JP 2010-271522 A (株式会社ニコン) 2010.12.02, 全文、全図 (ファミリーなし)	1-28
A	WO 2010/088418 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 2010.08.05, 全文、全図 & US 2012/0069344 A1	1-28