(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
2017 年 4 月 13 日(13.04.2017)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2017/061110 A1

(51) 国際特許分類:
G02B 21/14 (2006.01)　*G02B 21/34* (2006.01)
G01N 21/27 (2006.01)　*G02B 27/52* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2016/004476

(22) 国際出願日: 2016 年 10 月 5 日(05.10.2016)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2015-199061 2015 年 10 月 7 日(07.10.2015) JP

(71) 出願人: 富士フイルム株式会社(FUJIFILM CORPORATION) [JP/JP]; 〒1068620 東京都港区西麻布２丁目２６番３０号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 涌井　隆史(WAKUI, Takashi); 〒2588538 神奈川県足柄上郡開成町宮台７９８番地　富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 柳田　征史，外(YANAGIDA, Masashi et al.); 〒2220033 神奈川県横浜市港北区新横浜３－１８－３　新横浜ＫＳビル　７階　柳田国際特許事務所 Kanagawa (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, KE, KG, 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, 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.

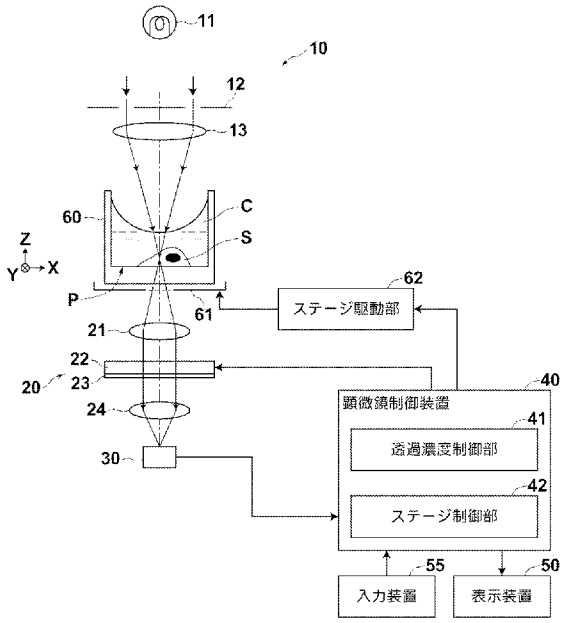
(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, 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)）

[続葉有]

(54) **Title**: MICROSCOPE DEVICE AND IMAGE-FORMING METHOD

(54) 発明の名称 : 顕微鏡装置および結像方法



40 Microscope control device
41 Transmission density control unit
42 Stage control unit
50 Display device
55 Input device
62 Stage drive unit

(57) **Abstract**: [Problem] To provide a microscope device and an image-forming method with which it is possible to capture an image in which both the color and contrast of an object under observation, such as cells or the like, are clear. [Solution] The present invention comprises: an illumination light emitting unit (10) that emits phase-difference-measuring illumination light toward an object under observation; a transmissive display unit (22) to which is incident light that has passed through the object under observation as a result of the emission of the phase-difference-measuring illumination light; and an imaging unit (30) that detects the light that has passed through the transmissive display unit (22) so as to image the object under observation. The transmissive display unit (22) displays a pattern in which the transmission densities of light of a plurality of wavelengths included in the light that has passed through the object under observation are different.

(57) 要約: 【課題】細胞などの観察対象の色とコントラストの両方が明瞭な画像を撮像することができる顕微鏡装置および結像方法を提供する。【解決手段】観察対象に位相差計測用照明光を照射する照明光照射部（１０）と、位相差計測用照明光の照射によって観察対象を透過した光が入射される透過型表示部（２２）と、透過型表示部（２２）を透過した光を検出することによって観察対象を撮像する撮像部（３０）とを備え、透過型表示部（２２）が、観察対象を透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを表示する。

WO 2017/061110 A1

— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正を受理した際には再公開される。（規則48.2(h)）

明　細　書

発明の名称 ： 顕微鏡装置および結像方法

技術分野

[0001] 本発明は、観察対象に位相差計測用照明光を照射して位相差画像を撮像する顕微鏡装置に関するものである。

背景技術

[0002] 近年、幹細胞などの培養された透明な細胞を非染色に観察する方法として位相差計測が広く使われ始めている。そして、このような位相差計測を行うものとして位相差顕微鏡が使用されている。

[0003] 一般的な位相差顕微鏡においては、リング状の照明光が観察対象に照射され、観察対象を通過した直接光と観察対象で回折した回折光が位相板に入射される。そして、直接光は位相板のリング部分によって減光されるとともに位相がずらされ、回折光は位相板の透明な部分を通過し、この直接光と回折光とが結像されることによって明暗のコントラストのついた位相差画像を撮像することができる。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開２０１２－２２２６７２号公報

特許文献2：特開２００８－１３９６１３号公報

特許文献3：特開２０１５－０８２１００号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] ここで、位相差顕微鏡によって撮像された位相差画像は、細胞の輪郭などのコントラストを強調することはできるが、細胞の色については明瞭に現れない場合がある。

[0006] たとえばｉＰＳ（induced pluripotent stem）細胞に対して多能性マーカであるアルカリホスファターゼを添加し、その色を観察することによってｉ

ＰＳ細胞の未分化状態を確認する場合がある。このような場合、位相差顕微鏡によって撮像された位相差画像だけではその色の変化が分かり難い場合がある。

[0007] すなわち、従来の位相差顕微鏡では、細胞の色の変化を観察しながら、かつ細胞の輪郭のコントラストを明確に観察できる画像を撮像することができず、その他の明視野顕微鏡などでもこのような画像を撮像することができなかった。

[0008] なお、特許文献１および特許文献２には、位相差画像を撮像することができ、かつ明視野画像も撮像することができる顕微鏡が開示されているが、色とコントラストの両方が明瞭な画像を撮像することはできない。

[0009] また、特許文献３には、偏斜照明観察を行う顕微鏡が開示されているが、この顕微鏡でも色とコントラストの両方が明瞭な画像を撮像することはできない。

[0010] 本発明は、上記の問題に鑑み、細胞などの観察対象の色とコントラストの両方が明瞭な画像を撮像することができる顕微鏡装置および結像方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0011] 本発明の顕微鏡装置は、観察対象に位相差計測用照明光を照射する照明光照射部と、位相差計測用照明光の照射によって観察対象を透過した光が入射される透過型表示部と、透過型表示部を透過した光を検出することによって観察対象を撮像する撮像部とを備え、透過型表示部が、観察対象を透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを表示することを特徴とする。

[0012] ここで、複数の波長の光とは、異なる分光スペクトルを有する複数の光を意味する。

[0013] また、上記本発明の顕微鏡装置において、透過型表示部は、複数の波長の光毎のパターンをそれぞれ異なる位置に表示することができる。

[0014] また、上記本発明の顕微鏡装置において、透過型表示部は、複数の波長の

光毎のパターンを同心円状に表示することができる。

[0015] また、上記本発明の顕微鏡装置において、透過型表示部は、相対的に波長が短い光に対する透過濃度の方が、相対的に波長が長い光に対する透過濃度よりも高いパターンを表示することができる。

[0016] また、上記本発明の顕微鏡装置において、透過型表示部は、青色光に対する透過濃度の方が赤色光および緑色光に対する透過濃度よりも高いパターンを表示することができる。

[0017] また、上記本発明の顕微鏡装置においては、相対的に透過濃度を高くする波長の光の選択を受け付ける波長選択受付部をさらに設けることができ、透過型表示部は、波長選択受付部によって受け付けられた波長の光に応じて、上記パターンの各波長の光の透過濃度を変更することができる。

[0018] また、上記本発明の顕微鏡装置において、複数の波長の光として、赤色光、緑色光および青色光を用いることができる。

[0019] また、上記本発明の顕微鏡装置において、透過型表示部は、上記パターンを表示する位相差観察モードと上記パターンを非表示とする明視野観察モードとを切り替え可能とできる。

[0020] また、上記本発明の顕微鏡装置において、透過型表示部は、位相差観察モードの場合において、位相差計測用照明光に含まれる全ての波長の光を遮光するパターンを表示することができる。

[0021] また、上記本発明の顕微鏡装置において、パターンは、リング状のパターンとすることが好ましい。

[0022] また、上記本発明の顕微鏡装置においては、位相差計測用照明光の照射によって観察対象を透過した光が入射され、その入射された光の位相をずらす位相変更部をさらに備えることができる。

[0023] 本発明の結像方法は、観察対象に位相差計測用照明光を照射し、位相差計測用照明光の照射によって観察対象を透過した光を透過型表示部に入射させ、観察対象を透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを透過型表示部に表示させ、上記パターンが表示された透過型表示部

を透過した光を検出することによって観察対象を撮像することを特徴とする。

発明の効果

[0024] 本発明の顕微鏡装置によれば、位相差計測用照明光の照射によって観察対象を透過した光を透過型表示部に入射させ、観察対象を透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを透過型表示部に表示させ、上記パターンが表示された透過型表示部を透過した光を検出する。これにより、相対的に透過濃度が高い波長の光については、その直接光が上記パターンによって減光されるので、位相差観察における減光作用と同等の作用を得ることができる。すなわち、上記波長の光の直接光と回折光との干渉による結像光と直接光とのコントラストが強調された位相差画像を取得することができる。一方、相対的に透過濃度が低い波長の光については、上記パターンによって減光されないので一般的な明視野観察と同等の作用を得ることができ、上記波長の光を主成分とする明視野画像を取得することができる。

[0025] すなわち、透過型表示部を透過した光を検出することによって、位相差画像と明視野画像の両方の特性を有する画像を撮像することができ、細胞などの観察対象の色とコントラストの両方が明瞭な画像を撮像することができる。

[0026] なお、本発明の結像方法も、本発明の顕微鏡装置と同様の効果を得ることができる。

図面の簡単な説明

[0027] [図1]本発明の顕微鏡装置の一実施形態を用いた顕微鏡システムの概略構成を示す図

[図2]スリット板の構成の一例を示す図

[図3]透過型表示部に表示される赤色調整パターンと緑色調整パターンと青色調整パターンの一例を示す図

[図4]位相板の構成の一例を示す図

[図5I]透過型表示部に表示されるパターンの一例を示す図

[図5II]透過型表示部に表示されるパターンの一例を示す図

[図5III]透過型表示部に表示されるパターンの一例を示す図

[図5IV]透過型表示部に表示されるパターンの一例を示す図

[図5V]透過型表示部に表示されるパターンの一例を示す図

[図5VI]透過型表示部に表示されるパターンの一例を示す図

[図6]本発明の顕微鏡装置の一実施形態を用いた顕微鏡システムの作用を説明するためのフローチャート

発明を実施するための形態

[0028] 以下、本発明の顕微鏡装置の一実施形態を用いた顕微鏡システムについて、図面を参照しながら詳細に説明する。図１は、本実施形態の顕微鏡システムの概略構成を示す図である。

[0029] 本実施形態の顕微鏡システムは、図１に示すように、照明光照射部１０と、結像光学系２０と、撮像部３０と、顕微鏡制御装置４０と、表示装置５０、入力装置５５とを備えている。照明光照射部１０と結像光学系２０との間には、ステージ６１が設けられており、このステージ６１上に観察対象Ｓが収容された培養容器６０が設置される。ステージ６１は、ステージ駆動部６２によって互いに直交するＸ方向およびＹ方向に移動するものである。なお、Ｘ方向およびＹ方向は、培養容器６０の観察対象Ｓの設置面に平行な面上において互いに直交する方向である。

[0030] 本実施形態の顕微鏡システムにおいては、照明光照射部１０、結像光学系２０、撮像部３０、ステージ６１およびステージ駆動部６２から位相差顕微鏡装置が構成され、顕微鏡制御装置４０は、この位相差顕微鏡装置を制御するものである。以下、位相差顕微鏡装置の具体的な構成を説明する。

[0031] 照明光照射部１０は、培養容器６０内に収容された観察対象Ｓに対して、いわゆる位相差計測のための照明光を照射するものであり、本実施形態では、その位相差計測用照明光としてリング状照明光を照射する。具体的には、本実施形態の照明光照射部１０は、白色光を出射する白色光源１１と、リング形状のスリットを有し、白色光源１１から出射された白色光が入射されて

リング状照明光を出射するスリット板１２と、スリット板１２から射出されたリング状照明光が入射され、その入射されたリング状照明光を観察対象Ｓに対して照射する第１の対物レンズ１３とを備えている。

[0032] 図２は、スリット板１２の具体的な構成を示す図である。図２に示すように、スリット板１２は、白色光源１１から出射された白色光を遮光する遮光板１２ｂに対して白色光を透過するリング形状のスリット１２ａが設けられたものであり、白色光がスリット１２ａを通過することによってリング状照明光が形成される。

[0033] なお、本実施形態においては、上述したようにスリット板１２を用いてリング状照明光を形成するようにしたが、リング状照明光を形成する方法としては、これに限らず、たとえば空間光変調素子などを用いてリング状照明光を形成するようにしてもよい。

[0034] また、本実施形態においては、位相差計測用照明光としてリング状照明光を用いるようにしたが、リング状以外の構造を有する照明光でもよく、後述する位相板と共役な形状となっていれば三角形状や四角形状などその他の形状でもよい。

[0035] ステージ６１上に設置された培養容器６０は、白色光に対して透明な樹脂またはガラスなどから形成されたものであり、たとえばシャーレ、ディッシュおよびウェルプレートなどを用いることができる。そして、培養容器６０の底面に観察対象Ｓとして細胞群などが配置される。観察対象の細胞群としては、ｉＰＳ細胞およびＥＳ（embryonic stem）細胞といった多能性幹細胞、幹細胞から分化誘導された神経、皮膚、心筋および肝臓の細胞、並びに人体から取り出された皮膚、網膜、心筋、血球、神経および臓器の細胞などがある。培養容器６０内には、細胞群を培養するための培養液Ｃも収容される。

[0036] 結像光学系２０は、第２の対物レンズ２１と、透過型表示部２２と、位相板２３と、結像レンズ２４とを備えたものである。

[0037] 第２の対物レンズ２１は、図示省略したレンズ駆動部によってＺ方向に移

動するものである。この第２の対物レンズ２１のＺ方向への移動によってオートフォーカス制御が行われ、撮像部３０によって撮像される画像のコントラストが調整される。

[0038] 透過型表示部２２は、観察対象Ｓを透過し、第２の対物レンズ２１によって集光された光が入射されるものであり、具体的には、白色光を透過し、かつカラー表示が可能な透過型液晶ディスプレイから構成されるものである。そして、透過型表示部２２は、観察対象Ｓを透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを表示するものである。なお、本実施形態では、透過型表示部２２として透過型液晶ディスプレイを用いるようにしたが、透過型有機ＥＬディスプレイなどその他の透過型のディスプレイを用いるようにしてもよい。

[0039] 本実施形態の透過型表示部２２は、具体的には、図３に示すように、赤色光の透過濃度を調整する赤色調整パターン２２ａと、緑色光の透過濃度を調整する緑色調整パターン２２ｂと、青色光の透過濃度を調整する青色調整パターン２２ｃとを表示させるものである。なお、赤色調整パターン２２ａ、緑色調整パターン２２ｂおよび青色調整パターン２２ｃ以外の範囲２２ｄには何も表示されず、観察対象Ｓを透過した光に含まれる全ての波長の光に対して透明である。

[0040] 赤色調整パターン２２ａは、観察対象Ｓを透過した光のうちの赤色光の透過濃度を調整するためのパターンであり、赤色光を吸収する色で表示される。具体的には、たとえば赤色を吸収する緑色または青緑色のパターンである。

[0041] 緑色調整パターン２２ｂは、観察対象Ｓを透過した光のうちの緑色光の透過濃度を調整するためのパターンであり、緑色光を吸収する色で表示される。具体的には、たとえば緑色を吸収する赤色または赤紫色のパターンである。

[0042] 青色調整パターン２２ｃは、観察対象Ｓを透過した光のうちの青色光の透過濃度を調整するためのパターンであり、青色光を吸収する色で表示される

。具体的には、たとえば青色を吸収する黄色のパターンである。

[0043] そして、赤色調整パターン２２ａ、緑色調整パターン２２ｂおよび青色調整パターン２２ｃは、図３に示すように同心円状に表示され、一番外側に赤色調整パターン２２ａ、一番内側に青色調整パターン２２ｃが表示され、赤色調整パターン２２ａと青色調整パターン２２ｃとの間に緑色調整パターン２２ｂが表示される。

[0044] 透過型表示部２２は、上述したスリット板１２と光学的に共役な位置に配置され、赤色調整パターン２２ａ、緑色調整パターン２２ｂおよび青色調整パターン２２ｃの形状も、スリット板１２のスリット１２ａの形状に合わせたものとなっている。

[0045] 赤色調整パターン２２ａ、緑色調整パターン２２ｂおよび青色調整パターン２２ｃを上述したような配置で表示するようにしたのは、観察対象Ｓを透過した直接光には、赤色光、緑色光および青色光が含まれるが、その波長によって屈折の仕方が異なり、赤色光、緑色光および青色光の透過型表示部２２への照射位置がそれぞれ異なるからである。図３に示すような配置で各パターンを表示することによって、より適切に各色の透過濃度を調整することができる。

[0046] 図１に戻り、透過型表示部２２の観察対象Ｓ側とは反対側の面には、位相板２３が設けられている。図４は、位相板２３の具体的な構成を示す平面図である。図４に示すように、位相板２３は、リング状照明光の波長に対して透明な部材から形成されるものであり、位相リング２３ａを有するものである。

[0047] 位相リング２３ａは、入射された光の位相を１／４波長ずらす位相膜がリング状に形成されたものである。位相板２３に入射された直接光は位相リング２３ａを通過することによって位相が１／４波長ずれる。一方、観察対象Ｓによって回折された回折光は大部分が位相板２３の位相リング２３ａ以外の部分を通過し、その位相は変化しない。なお、位相リング２３ａは、赤色調整パターン２２ａ、緑色調整パターン２２ｂおよび青色調整パターン２２

ｃの表示範囲に対応する範囲に形成されており、リング状照明光の波長に対して透明である。

[0048] そして、透過型表示部２２に表示されたパターンによる光の吸収と位相板２３による光の位相ずらしの作用によって、観察対象Ｓの位相差画像を得ることができる

ここで、一般的な位相差観察の作用について説明する。一般的な位相差観察においては、上述したように直接光の位相をずらすことによって、直接光と回折光の位相を揃えるもしくは１／２波長のずれとすることができるので、回折光の強度変化をより強調することができる。さらに直接光を減光することによって、直接光と回折光との干渉による結像光と直接光の結像光とのコントラストを強調することができる。これにより観察対象の構造などが強調された位相差画像を形成することができる。しかしながら、一般的な位相差観察においては、観察対象の色については、直接光に含まれる全ての波長成分（色）の光が減光されてしまうため、位相差画像の色の変化が分かり難い場合がある。

[0049] これに対し、本実施形態では、観察対象のコントラストだけでなく色も明瞭な画像を形成することができる。以下、透過型表部２２において赤色調整パターン２２ａを表示した場合の画像形成の作用について説明する。

[0050] 透過型表示部２２において赤色調整パターン２２ａを表示した場合、観察対象Ｓを透過した光のうち赤色成分の直接光については、赤色調整パターン２２ａによって減光されるとともに、位相リング２３ａによってその位相が１／４波長だけずらされる。一方、赤色成分の回折光については、赤色調整パターン２２ａおよび位相リング２３ａ以外の部分を通過し、その強度と位相は変化しない。したがって、赤色成分の直接光と回折光との干渉による結像光の強度を大きくすることができるとともに、結像光と直接光とのコントラストを大きくすることができ、これにより赤色成分を主成分とする位相差画像を形成することができる。

[0051] 一方、観察対象Ｓを透過した光のうち緑色成分および青色成分の直接光に

ついては、赤色調整パターン２２ａによって減光されることがないので、赤色成分の光の場合ほど結像光と直接光とのコントラストは大きくならないが、明視野観察と同等の強度を得ることができる。これにより、緑色成分および青色成分を主成分とする、すなわちみず色光を主成分とする明視野画像を形成することができる。

[0052] つまり、観察対象Ｓを透過した光が、透過型表示部２２および位相板２３を通過することによって、赤色成分を主成分とする位相差画像とみず色成分を主成分とする明視野画像の両方の特性を有する画像を形成することができる。したがって、細胞などの観察対象の色とコントラストの両方が明瞭な画像を形成することができる。

[0053] なお、本実施形態の位相板２３は、本発明の位相変更部に相当するものである。ただし、位相変更部の構成は、上記のような構成に限らず、透過型表示部２２において表示される調整パターンの色に応じて、位相板２３を切り替えるようにしてもよい。具体的には、透過型表示部２２において赤色調整パターン２２ａを表示する場合には、赤色光の位相を選択的に１／４波長ずらす位相リングを有する位相板を使用し、透過型表示部２２において緑色調整パターン２２ｂを表示する場合には、緑色光の位相を選択的に１／４波長ずらす位相リングを有する位相板を使用し、透過型表示部２２において青色調整パターン２２ｃを表示する場合には、青色光の位相を１／４波長ずらす位相リングを有する位相板を使用するようにしてもよい。

[0054] また、位相板２３の代わりに位相を変更するための透過型空間光変調素子を用いるようにしてもよい。この場合、入射した光の全波長について位相を１／４波長ずらすように透過型空間光変調素子を制御するようにしてもよいし、透過型表示部２２の表示パターンに応じて、位相を１／４波長ずらす光の波長を選択するように透過型空間光変調素子を制御してもよい。

[0055] また、本実施形態においては、位相板２３を設けるようにしたが、必ずしも位相板２３を設けなくてもよく、この場合でも、透過型表示部２２による減光によってコントラストが強調された位相差画像を得ることができる。そ

して、たとえば位相差画像のコントラストをより強調したい場合には、位相板２３を設けるようにすればよい。

[0056] また、位相板２３を設けない場合で、透過型表示部２２が透過型液晶ディスプレイから構成される場合は、透過型表示部２２を、上述した調整パターンを表示し、かつ入射した光の位相を１／４波長ずらすものとすることもできる。

[0057] 透過型表示部２２は、ユーザが所望とする画像の種類に応じてパターンの表示を切り替えるものである。

[0058] 具体的には、図５Ｉに示すように、赤色調整パターン２２ａを表示することなく、緑色調整パターン２２ｂおよび青色調整パターン２２ｃを表示した場合には、観察対象Ｓを透過した光のうち緑色光および青色光の直接光が吸収されて減光され、赤色光の直接光は透過するので、緑色光と青色光とを合わせたみず色光の位相差画像のコントラストと赤色光の明視野画像の色特性を有する画像が得られる。

[0059] また、図５ＩＩに示すように、緑色調整パターン２２ｂを表示することなく、赤色調整パターン２２ａおよび青色調整パターン２２ｃを表示した場合には、観察対象Ｓを透過した光のうち赤色光および青色光の直接光が吸収されて減光され、緑色光の直接光は透過するので、赤色光と青色光とを合わせた紫色光の位相差画像のコントラストと緑色光の明視野画像の色特性を有する画像が得られる。

[0060] また、図５ＩＩＩに示すように、青色調整パターン２２ｃを表示することなく、赤色調整パターン２２ａおよび緑色調整パターン２２ｂを表示した場合には、観察対象Ｓを透過した光のうち赤色光および緑色光の直接光が吸収されて減光され、青色光の直接光は透過するので、赤色光と緑色光とを合わせた黄色光の位相差画像のコントラストと青色光の明視野画像の色特性を有する画像が得られる。

[0061] また、図５ＩＶに示すように、赤色調整パターン２２ａおよび緑色調整パターン２２ｂを表示することなく、青色調整パターン２２ｃのみを表示した

場合には、観察対象Ｓを透過した光のうち青色光の直接光が吸収されて減光され、赤色光および緑色光の直接光は透過するので、青色光の位相差画像のコントラストと黄色光の明視野画像の色特性を有する画像が得られる。

[0062] また、図５Ｖに示すように、赤色調整パターン２２ａおよび青色調整パターン２２ｃを表示することなく、緑色調整パターン２２ｂのみを表示した場合には、観察対象Ｓを透過した光のうち緑色光の直接光が吸収されて減光され、赤色光および青色光の直接光は透過するので、緑色光の位相差画像のコントラストと紫色光の明視野画像の色特性を有する画像が得られる。

[0063] また、図５ＶＩに示すように、緑色調整パターン２２ｂおよび青色調整パターン２２ｃを表示することなく、赤色調整パターン２２ａのみを表示した場合には、観察対象Ｓを透過した光のうち赤色光の直接光が吸収されて減光され、緑色光および青色光の直接光は透過するので、上述したように赤色光の位相差画像のコントラストとみず色光の明視野画像の色特性を有する画像が得られる。

[0064] また、赤色調整パターン２２ａ、緑色調整パターン２２ｂおよび青色調整パターン２２ｃの範囲を全て黒の表示とした場合には、従来の黒色のスリットを有する位相板を用いた場合と同様の位相差画像が撮像される。

[0065] 図１に戻り、結像レンズ２４は、透過型表示部２２および位相板２３を通過した直接光および回折光が入射され、これらの光を撮像部３０に結像するものである。

[0066] 撮像部３０は、結像レンズ２４によって結像された画像を撮像する撮像素子を備えたものである。撮像素子としては、ＣＣＤ（charge-coupled device）イメージセンサやＣＭＯＳ（Complementary Metal-Oxide Semiconductor）イメージセンサなどが用いられる。なお、本実施形態では、上述したように透過型表示部２２において赤色光、緑色光および青色光の透過濃度を調整するようにしているので、撮像素子としては、赤色フィルタ、緑色フィルタおよび青色フィルタからなるカラーフィルタを備えた撮像素子が用いられる。

[0067] 顕微鏡制御装置４０は、ＣＰＵ（Central Processing Unit）やストレージ

デバイスを備えたコンピュータから構成されるものである。

[0068] 顕微鏡制御装置４０は、具体的には、図１に示すように、透過型表示部２２の各パターンの表示を制御することによって、各色の光の透過濃度を制御する透過濃度制御部４１と、ステージ駆動部６２を制御するステージ制御部４２とを備えている。

[0069] 透過濃度制御部４１は、ユーザが入力装置５５を用いて設定入力した所望の位相差画像の種類の情報を受け付け、その情報に基づいて、透過型表示部２２の各パターンの表示を制御するものである。具体的には、たとえばユーザは、入力装置５５を用いて位相差画像のベースとなる色の設定入力を行う。位相差画像のベースとなる色とは、透過型表示部２２における透過濃度を相対的に高くする色のことである。たとえば位相差画像のベースとなる色を赤色としたい場合には、その情報がユーザによって設定入力される。透過濃度制御部４１は、ユーザによって設定入力された色の情報に基づいて、赤色の透過濃度が相対的に高くなるように透過型表示部２２を制御する。具体的には、緑色調整パターン２２ｂおよび青色調整パターン２２ｃを表示することなく、赤色調整パターン２２ａのみを表示するように制御する。このように、透過濃度制御部４１は、ユーザによって設定入力された位相差画像のベースとなる色の情報に応じて、透過型表示部２２における各パターンの表示を制御する。

[0070] また、顕微鏡制御装置４０は、撮像部３０の撮像素子を駆動制御し、撮像素子から出力された画像信号を取得し、その画像信号に基づいて表示装置５０に画像を表示させるものである。

[0071] 顕微鏡制御装置４０には、入力装置５５と表示装置５０とが接続されている。入力装置５５は、キーボードやマウスなどの入力デバイスを備えたものであり、ユーザによる設定入力を受け付けるものである。特に、本実施形態における入力装置５５は、上述したように透過型表示部２２において相対的に透過濃度を高くする色の情報の設定入力を受け付けるものである。本実施形態においては、入力装置５５が、本発明の波長選択受付部に相当するもの

である。

[0072] 表示装置５０は、液晶ディスプレイなどの表示デバイスから構成されるものであり、撮像部３０において撮像された画像などを表示するものである。なお、表示装置５０と入力装置５５とをタッチパネルによって構成することにより兼用するようにしてもよい。

[0073] 次に、本実施形態の顕微鏡システムの作用について、図６に示すフローチャートを参照しながら説明する。

[0074] まず、観察対象Ｓおよび培養液Ｃが収容された培養容器６０がステージ６１上に設置される（Ｓ１０）。次に、ユーザが、入力装置５５を用いて位相差画像のベースとなる色を選択して設定入力する（Ｓ１２）。

[0075] ユーザによって設定入力された位相差画像のベースとなる色の情報は透過濃度制御部４１に入力され、透過濃度制御部４１は、入力された色の情報に基づいて、透過型表示部２２に各色の調整パターンを表示させる（Ｓ１４）。

[0076] そして、照明光照射部１０からリング状照明光が出射され、培養容器６０の観察対象Ｓに照射される（Ｓ１６）。

[0077] 観察対象Ｓを透過した光は、第２の対物レンズ２１によって集光されて透過型表示部２２および位相板２３に入射される。

[0078] 透過型表示部２２に表示された調整パターンの色と位相板２３の作用によって観察対象Ｓの位相差画像が形成され、さらにその位相差画像を形成する波長以外の波長の色の明視野画像が形成される。そして、これらの画像が結像レンズ２４によって撮像部３０に結像されることによって、位相差画像のコントラストと明視野画像の色特性を有する観察対象Ｓの画像が撮像部３０によって撮像される（Ｓ１８）。

[0079] 撮像部３０によって撮像された画像信号は、顕微鏡制御装置４０に出力され、顕微鏡制御装置４０は、入力された画像信号に基づいて、表示装置５０に観察対象Ｓの画像を表示させる（Ｓ２０）。

[0080] 上記実施形態の顕微鏡システムによれば、位相差計測用照明光の照射によ

って観察対象Ｓを透過した光を透過型表示部２２に入射させ、観察対象Ｓを透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを透過型表示部２２に表示させ、上記パターンが表示された透過型表示部２２を透過した光を検出することによって観察対象Ｓを撮像する。これにより、相対的に透過濃度が高い波長の光については、上記パターンによって減光されるので位相差観察と同等の効果を得ることができ、相対的に透過濃度が低い波長の光については、上記パターンによって減光されないので明視野観察と同等の効果を得ることができる。すなわち、透過型表示部２２を透過した光を検出することによって、観察対象Ｓの色とコントラストの両方が明瞭な画像を撮像することができる。

[0081] なお、上記実施形態においては、図５Ｉ～図５VIに示したような種々のパターンを透過型表示部２２に表示可能としたが、必ずしもこれらの全てのパターンを表示可能としなくてもよく、いずれかのパターンの表示に固定するようにしてもよい。その場合、相対的に波長が短い光に対する透過濃度の方が、相対的に波長が長い光に対する透過濃度よりも高いパターンを表示することが望ましい。波長が短い光の方が回折角が小さく、コントラストをより明確にすることができるので、この光の透過濃度を高くし、位相差画像に対する寄与度を大きくすることが望ましい。

[0082] 具体的には、青色光に対する透過濃度の方が赤色光および緑色光に対する透過濃度よりも高いパターンを表示することが望ましい。すなわち、図５IVに示すように、赤色調整パターン２２ａおよび緑色調整パターン２２ｂを表示することなく、青色調整パターン２２ｃのみを表示させることが望ましい。

[0083] また、上記実施形態においては、ユーザが位相差画像のベースとなる色の情報を設定入力するようにしたが、これに限らず、観察対象Ｓの種類の情報と透過型表示部２２に表示させるパターンの種類の情報とを対応づけたテーブルを透過濃度制御部４１に予め設定しておき、ユーザによって設定入力された観察対象Ｓの種類の情報に基づいて、透過型表示部２２に表示させるパ

ターンを制御するようにしてもよい。なお、観察対象Ｓの種類の情報としては、細胞の種類の情報やアルカリホスファターゼのような試薬の種類の情報などがある。

[0084] また、細胞の種類によって細胞内での光の散乱の程度が異なる場合があるので、細胞の種類の情報に応じて透過型表示部２２に表示される各色のパターンの大きさを変更するようにしてもよい。具体的には、散乱が大きい細胞の場合ほど各色のパターンの径を大きくすればよい。

[0085] また、上記実施形態においては、赤色調整パターン２２ａと緑色調整パターン２２ｂと青色調整パターン２２ｃとを同心円状にそれぞれ異なる位置に表示させるようにしたが、これらのパターンの表示位置を同じ位置とし、ユーザにより設定入力された色の情報に基づいて、これらのパターンを切り替えて表示させるようにしてもよい。

[0086] また、上記実施形態において、ユーザによる位相差観察モードと明視野観察モードの設定入力を可能とし、位相差観察モードが設定入力された場合には、上述したように透過濃度制御部４１が透過型表示部２２に所望のパターンを表示させ、観察対象Ｓの位相差画像を撮像部３０によって撮像するようにし、明視野観察モードが設定された場合には、透過濃度制御部４１が透過型表示部２２には何も表示せず、観察対象Ｓの明視野画像を撮像部３０によって撮像するようにしてもよい。

[0087] また、上記実施形態においては、赤色調整パターン２２ａ、緑色調整パターン２２ｂおよび青色調整パターン２２ｃを透過型表示部２２に表示させるようにしたが、すなわちＲＧＢ（Ｒｅｄ、Ｇｒｅｅｎ、Ｂｌｕｅ）の光を吸収するパターンを表示させるようにしたが、シアン、マゼンダおよびイエローの光を吸収するパターンを表示させるようにしてもよい。その場合、撮像素子としては、シアン、マゼンダおよびイエローのカラーフィルタを有する補色系の撮像素子を用いるようにすればよい。

[0088] また、上記実施形態においては、観察対象に対して白色光からなる位相差計測用照明光を照射するようにしたが、これに限らず、たとえば細胞などの

観察対象に対して励起光からなる位相差計測用照明光を照射し、細胞から発生せられる蛍光や試薬から発せられる蛍光などを検出して観察対象の蛍光画像を撮像するようにしてもよい。

符号の説明

[0089] １０　照明光照射部
１１　白色光源
１２　スリット板
１２ａ スリット
１２ｂ 遮光板
１３　第１の対物レンズ
２０　結像光学系
２１　第２の対物レンズ
２２　透過型表示部
２２ａ 赤色調整パターン
２２ｂ 緑色調整パターン
２２ｃ 青色調整パターン
２３　位相板
２３ａ 位相リング
２４　結像レンズ
３０　撮像部
４０　顕微鏡制御装置
４１　透過濃度制御部
４２　ステージ制御部
５０　表示装置
５５　入力装置
６０　培養容器
６１　ステージ
６２　ステージ駆動部

請求の範囲

[請求項1] 観察対象に位相差計測用照明光を照射する照明光照射部と、

前記位相差計測用照明光の照射によって前記観察対象を透過した光が入射される透過型表示部とを備え、

前記透過型表示部が、前記観察対象を透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを表示することを特徴とする顕微鏡装置。

[請求項2] 前記透過型表示部が、前記複数の波長の光毎のパターンをそれぞれ異なる位置に表示する請求項１記載の顕微鏡装置。

[請求項3] 前記透過型表示部が、前記複数の波長の光毎のパターンを同心円状に表示する請求項２記載の顕微鏡装置。

[請求項4] 前記透過型表示部が、相対的に波長が短い光に対する透過濃度の方が、相対的に波長が長い光に対する透過濃度よりも高いパターンを表示する請求項１から３いずれか１項記載の顕微鏡装置。

[請求項5] 前記透過型表示部が、青色光に対する透過濃度の方が赤色光および緑色光に対する透過濃度よりも高いパターンを表示する請求項４記載の顕微鏡装置。

[請求項6] 相対的に透過濃度を高くする波長の光の選択を受け付ける波長選択受付部を備え、

前記透過型表示部が、前記波長選択受付部によって受け付けられた波長の光に応じて、前記パターンの各波長の光の透過濃度を変更する請求項１から５いずれか１項記載の顕微鏡装置。

[請求項7] 前記複数の波長の光が、赤色光、緑色光および青色光である請求項１から６いずれか１項記載の顕微鏡装置。

[請求項8] 前記透過型表示部が、前記パターンを表示する位相差観察モードと前記パターンを非表示とする明視野観察モードとを有する請求項１から７いずれか１項記載の顕微鏡装置。

[請求項9] 前記透過型表示部が、前記位相差観察モードの場合において、前記

位相差計測用照明光に含まれる全ての波長の光を遮光するパターンを表示する請求項８記載の顕微鏡装置。

[請求項10] 前記パターンが、リング状のパターンである請求項１から９いずれか１項記載の顕微鏡装置。

[請求項11] 前記位相差計測用照明光の照射によって前記観察対象を透過した光が入射され、該入射された光の位相をずらす位相変更部をさらに備えた請求項１から１０いずれか１項記載の顕微鏡装置。

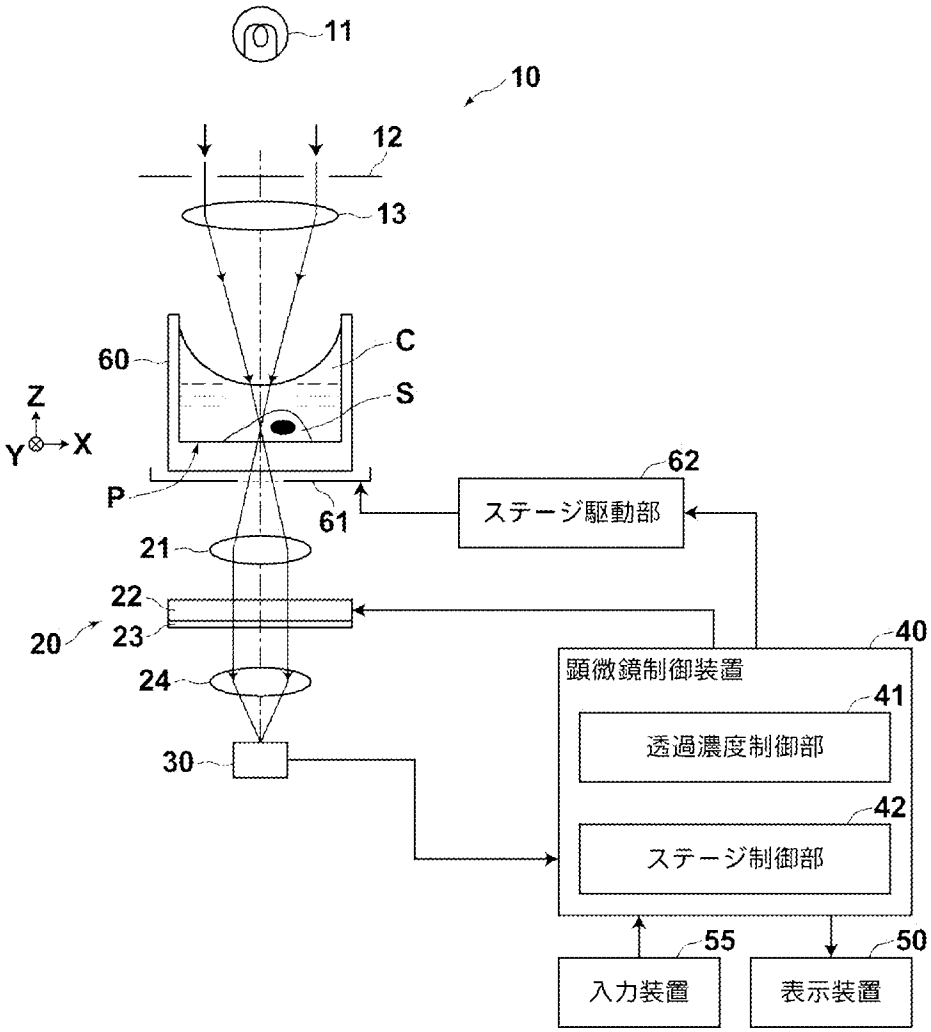
[請求項12] 観察対象に位相差計測用照明光を照射し、

該位相差計測用照明光の照射によって前記観察対象を透過した光を透過型表示部に入射させ、

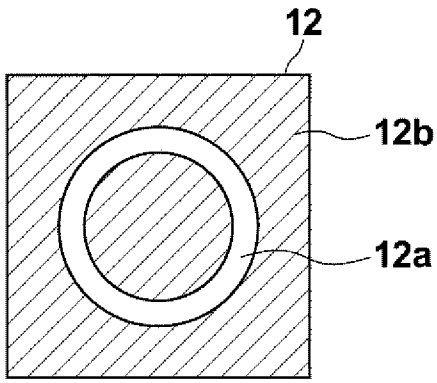
前記観察対象を透過した光に含まれる複数の波長の光毎に透過濃度が異なるパターンを前記透過型表示部に表示させ、

前記パターンが表示された透過型表示部を透過した光を結像することを特徴とする結像方法。

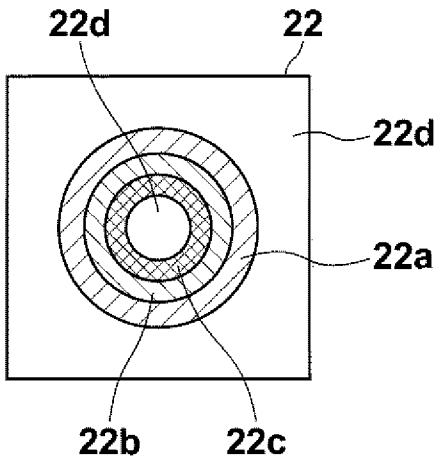
[図1]


11
10
12
13
60
C
S
Z
Y
X
P
61
62
ステージ駆動部
21
22
20
23
24
30
40
顕微鏡制御装置
41
透過濃度制御部
42
ステージ制御部
55
50
入力装置
表示装置

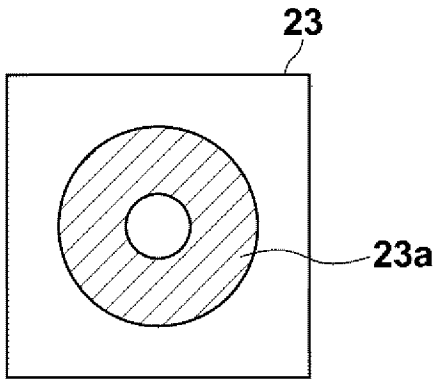
[図2]


12
12b
12a

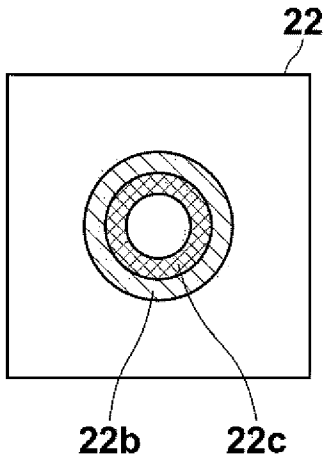
[図3]



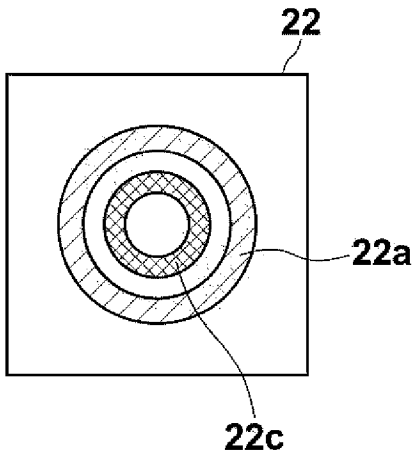
[図4]



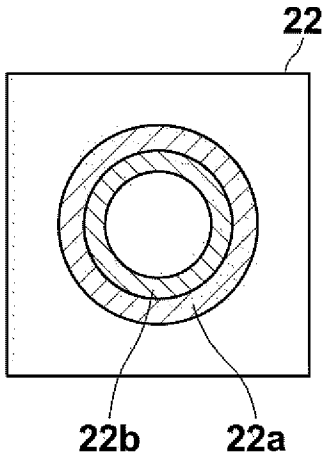
[図5I]



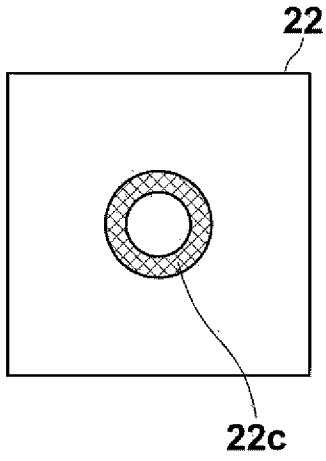
[図5II]



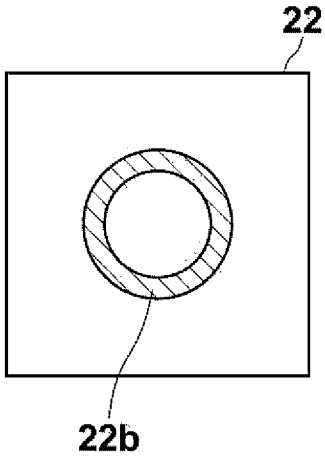
[図5III]



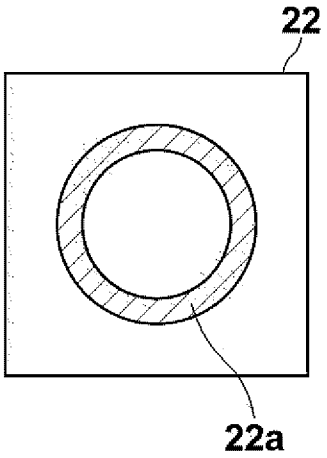
[図5IV]



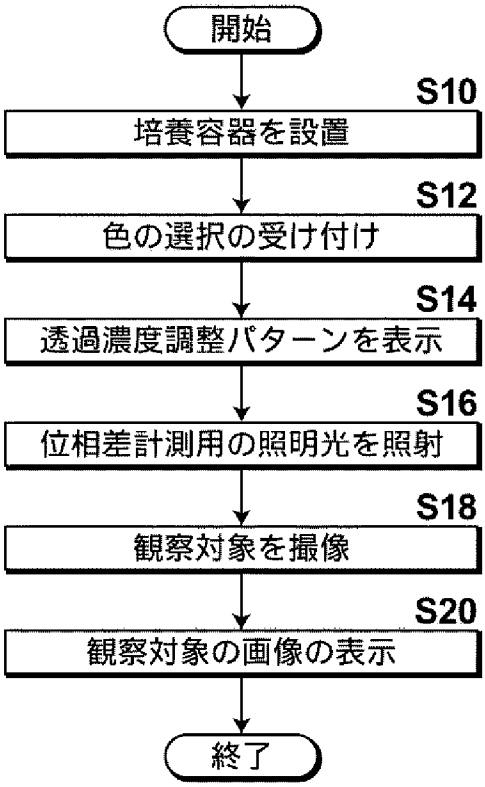
[図5V]



[図5VI]



[図6]


開始
S10
培養容器を設置
S12
色の選択の受け付け
S14
透過濃度調整パターンを表示
S16
位相差計測用の照明光を照射
S18
観察対象を撮像
S20
観察対象の画像の表示
終了

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/004476

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G02B21/14(2006.01)i, *G01N21/27*(2006.01)i, *G02B21/34*(2006.01)i, *G02B27/52*(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G02B21/14, G01N21/27, G02B21/34, G02B27/52

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2017	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2017

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 4-254815 A (Fuji Photo Film Co., Ltd.), 10 September 1992 (10.09.1992), 3rd to 5th examples & US 5241364 A 3rd to 5th examples	1-8,10-12 9
Y A	JP 2006-512620 A (Applied Precision LLC), 13 April 2006 (13.04.2006), paragraphs [0015] to [0036]; fig. 2 to 5 & WO 2004/061514 A2 page 4, line 9 to page 10, line 22; fig. 2 to 5 & US 2004/0184144 A1	1-8,10-12 9
Y A	JP 2011-007598 A (Nikon Corp.), 13 January 2011 (13.01.2011), paragraph [0027]; fig. 2 (Family: none)	1-8,10-12 9

☒ 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	Date of mailing of the international search report
01 February 2017 (01.02.17)	14 February 2017 (14.02.17)
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/JP2016/004476

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 2003-121749 A (Olympus Optical Co., Ltd.), 23 April 2003 (23.04.2003), paragraph [0060] & US 2003/0030902 A1 paragraph [0148]	1-8,10-12 9
Y A	JP 10-206740 A (Yokogawa Electric Corp.), 07 August 1998 (07.08.1998), paragraph [0089]; fig. 8 & US 6031661 A column 6, lines 37 to 40; fig. 10 & US 6111690 A & GB 2321517 A	1-8,10-12 9

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１６／００４４７６

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, G01N21/27(2006.01)i, G02B21/34(2006.01)i, G02B27/52(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, G01N21/27, G02B21/34, G02B27/52

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	１９７１－２０１７年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１７年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１７年

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

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y A	JP 4-254815 A（富士写真フイルム株式会社）1992.09.10, 第３－５実施例等 & US 5241364 A, 第３－５実施例等	1-8,10-12 9
Y A	JP 2006-512620 A（アプライド プリシジョン，エルエルシー）2006.04.13, 段落［００１５］－［００３６］、図２－図５等 & WO 2004/061514 A2, 第４頁第９行－第１０頁第２２行、図２－図５等 & US 2004/0184144 A1	1-8,10-12 9

☑　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	国際調査報告の発送日
０１．０２．２０１７	１４．０２．２０１７

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
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）　２Ｖ　４７４８
殿岡　雅仁
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 A	JP 2011-007598 A (株式会社ニコン) 2011.01.13, 段落［００２７］、図２等（ファミリーなし）	1-8,10-12 9
Y A	JP 2003-121749 A (オリンパス光学工業株式会社) 2003.04.23, 段落［００６０］等 & US 2003/0030902 A1, 段落［０１４８］等	1-8,10-12 9
Y A	JP 10-206740 A (横河電機株式会社) 1998.08.07, 段落［００８９］、図８等 & US 6031661 A, 第６欄第３７行－第４０行、図１０等 & US 6111690 A & GB 2321517 A	1-8,10-12 9