(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12月3日(03.12.2020)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2020/240638 A1

(51) 国際特許分類:
G02B 21/00 (2006.01) *G02B 21/24* (2006.01)
G02B 21/02 (2006.01) *G02B 21/36* (2006.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2019/020786

(22) 国際出願日： 2019年5月24日(24.05.2019)

(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: 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). 浜田 啓作(**HAMADA, Keisaku**); 〒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). 吉田 典夫(**YOSHIDA, Norio**); 〒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).

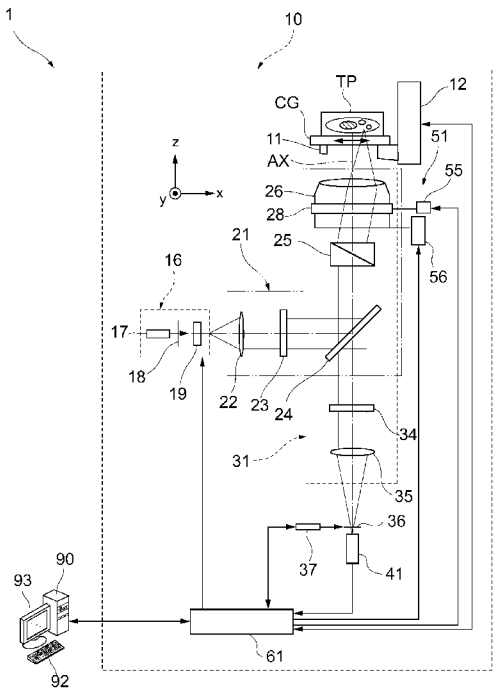
(74) 代理人: 大西 正悟，外(**OHNISHI, Shogo** et al.); 〒1700013 東京都豊島区東池袋３－２０－３、東池袋ＳＳビル１階 大西国際特許事務所 Tokyo (JP).

(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, 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,

(54) Title: MICROSCOPE DEVICE, CONTROL METHOD FOR MICROSCOPE DEVICE, AND CONTROL PROGRAM FOR MICROSCOPE DEVICE

(54) 発明の名称： 顕微鏡装置、顕微鏡装置の制御方法、および顕微鏡装置の制御プログラム



(57) Abstract: The present invention is a microscope device 1, wherein a microscope control unit (61) calculates information pertaining to the correction amount of an aberration correction unit (51) at a first position in the depth direction of a sample (TP) which is the optical axis direction of an objective lens (26), on the basis of light detected by a detecting unit (41), and calculates information pertaining to the correction amount of the aberration correction unit (51) at a second position different from the first position, on the basis of the calculated information pertaining to the correction amount of the aberration correction unit (51) at the first position and information pertaining to the refractive index of the sample (TP).

(57) 要約：顕微鏡装置１において、顕微鏡制御部（６１）は、対物レンズ（２６）の光軸方向である試料（ＴＰ）の深さ方向の第１の位置における収差補正部（５１）の補正量に関する情報を、検出部（４１）で検出された光に基づいて算出し、算出した第１の位置における収差補正部（５１）の補正量に関する情報と、試料（ＴＰ）の屈折率に関する情報とに基づいて、第１の位置と異なる第２の位置における収差補正部（５１）の補正量に関する情報を算出する。

WO 2020/240638 A1

［続葉有］

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：

一　国際調査報告（条約第21条(3)）

明　細　書

発明の名称 ：

顕微鏡装置、顕微鏡装置の制御方法、および顕微鏡装置の制御プログラム

技術分野

[0001]　本発明は、顕微鏡装置、顕微鏡装置の制御方法、および顕微鏡装置の制御プログラムに関する。

背景技術

[0002]　波面変換素子を用いて収差を補正する技術が知られている（例えば、特許文献１を参照）。顕微鏡装置においては、従来から、適切な収差補正が求められている。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開２００５－２９２５３８号公報

発明の概要

[0004]　第１の態様に係る顕微鏡装置は、試料を照明する照明光学系と、前記試料からの光を検出する検出部と、対物レンズを有し、前記試料からの光を前記検出部に導く検出光学系と、前記照明光学系および前記検出光学系の少なくとも一方の収差を補正する収差補正部と、制御部とを備え、前記制御部は、前記対物レンズの光軸方向である前記試料の深さ方向の第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を、前記検出部で検出された光に基づいて算出し、前記算出した前記第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報と、前記試料の屈折率に関する情報とに基づいて、前記第１の位置と異なる第２の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を算出する。

[0005]　第２の態様に係る顕微鏡装置の制御方法は、試料を照明する照明光学系と、前記試料からの光を検出する検出部と、対物レンズを有し、前記試料からの光を前記検出部に導く検出光学系と、前記照明光学系および前記検出光学

系の少なくとも一方の収差を補正する収差補正部と、制御部とを備える顕微鏡装置の制御方法であって、前記対物レンズの光軸方向である前記試料の深さ方向の第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を、前記検出部で検出された光に基づいて算出し、前記算出した前記第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報と、前記試料の屈折率に関する情報とに基づいて、前記第１の位置と異なる第２の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を算出する。

[0006] 第３の態様に係る顕微鏡装置の制御プログラムは、試料を照明する照明光学系と、前記試料からの光を検出する検出部と、対物レンズを有し、前記試料からの光を前記検出部に導く検出光学系と、前記照明光学系および前記検出光学系の少なくとも一方の収差を補正する収差補正部と、制御部とを備える顕微鏡装置の制御プログラムであって、コンピュータに、前記対物レンズの光軸方向である前記試料の深さ方向の第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を、前記検出部で検出された光に基づいて算出し、前記算出した前記第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報と、前記試料の屈折率に関する情報とに基づいて、前記第１の位置と異なる第２の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を算出する処理を実行させる。

[0007] 第４の態様に係る顕微鏡装置は、試料からの光を検出する検出部と、対物レンズを有し、前記試料からの光を前記検出部に導く検出光学系と、前記検出光学系の収差を補正する収差補正部と、制御部とを備え、前記制御部は、前記対物レンズの光軸方向である前記試料の深さ方向の第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を、前記検出部で検出された光に基づいて算出し、前記算出した前記第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報と、前記試料の屈折率に関する情報とに基づいて、前記第１の位置と異なる第２の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を算出する。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]顕微鏡装置の構成を示す図である。

[図2]共焦点顕微鏡における収差補正部の拡大図である。

[図3]第１実施形態に係る顕微鏡制御部と情報処理装置との間の電気的な接続を示すブロック図である。

[図4]第１実施形態に係る画像取得方法を示すフローチャートである。

[図5]（Ａ）は、観察深さと補正環の最適な回転位置との関係を示すグラフであり、（Ｂ）は、観察深さと対物レンズの位置との関係を示すグラフである。

[図6]第１実施形態に係る設定用データテーブルを示す模式図である。

[図7]対物レンズの位置の変化に対する観察深さの変化を示す説明図である。

[図8]（Ａ）は、観察深さ等を設定する際に用いられるＧＵＩの一例を示す模式図であり、（Ｂ）は、観察深さと対物レンズの位置との関係を示す説明図である。

[図9]試料の屈折率等を入力する際に用いられるＧＵＩの一例を示す図である。

[図10]（Ａ）は、観察深さと、補正環の最適な回転位置と、対物レンズの位置との関係を示す説明図であり、（Ｂ）は、第１実施形態に係るパラメータリストを示す模式図である。

[図11]第１実施形態に係る補正環位置決定処理の詳細を示すフローチャートである。

[図12]第１実施形態に係る補正環位置決定処理における評価値の一例を示すグラフである。

[図13]第１実施形態の変形例に係る画像取得方法を示すフローチャートである。

[図14]第２実施形態に係る画像取得方法を示すフローチャートである。

[図15]第２実施形態に係るパラメータリストを示す模式図である。

[図16]第２実施形態に係る補正環位置決定処理の詳細を示すフローチャートである。

[図17]第３実施形態に係る顕微鏡制御部と情報処理装置との間の電気的な接続を示すブロック図である。

[図18]第３実施形態に係る画像取得方法を示すフローチャートである。

[図19]（Ａ）は、観察深さと補正環の最適な回転位置との関係を示すグラフであり、（Ｂ）は、観察深さと対物レンズの最適な位置との関係を示すグラフであり、（Ｃ）は、補正環の回転位置が一定の場合における観察深さと対物レンズの位置との関係を示すグラフである。

[図20]第３実施形態に係る設定用データテーブルを示す模式図である。

[図21]観察深さと、補正環の最適な回転位置と、対物レンズの最適な位置との関係を示す説明図である。

[図22]観察深さと、補正環の最適な回転位置と、補正環の回転位置が一定の場合における対物レンズの位置との関係を示す説明図である。

[図23]第３実施形態に係る補正環位置決定処理の詳細を示すフローチャートである。

[図24]第３実施形態に係る補正環位置決定処理における評価値の一例を示すグラフである。

[図25]第３実施形態に係るパラメータリストを示す模式図である。

[図26]試料の画像表示を切り替えるためのＧＵＩの一例を示す模式図である。

[図27]第４実施形態に係る画像取得方法を示すフローチャートである。

[図28]屈折率の探索範囲を入力する際に用いられるＧＵＩの一例を示す図である。

[図29]相対観察深さと補正環の最適な回転位置との関係を示すグラフである。

[図30]複数の屈折率に対応する試料の画像の一例を示す模式図である。

[図31]第５実施形態に係る顕微鏡制御部と情報処理装置との間の電気的な接続を示すブロック図である。

[図32]第５実施形態に係る画像取得方法を示すフローチャートである。

[図33]屈折率探索用の評価値の一例を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0009] ［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装置１の構成を示す図である。この顕微鏡装置１は、共焦点顕微鏡１０と、情報処理装置９０とを主体に構成される。共焦点顕微鏡１０と情報処理装置９０とは、互いにデータの送受信が可能に構成されている。以降の説明において、共焦点顕微鏡１０の対物レンズ２６の光軸方向に延びる座標軸をｚ軸とする。また、このｚ軸と垂直な面内において互いに直交する方向に延びる座標軸をそれぞれｘ軸およびｙ軸とする。

[0010] 共焦点顕微鏡１０は、ステージ１１と、光源ユニット１６と、照明光学系２１と、検出光学系３１と、検出部４１と、収差補正部５１と、顕微鏡制御部６１とを備える。ステージ１１は、図２に示すように、中央に開口部を有する板状に形成される。ステージ１１は、観察対象である試料ＴＰが載置されたカバーガラスＣＧを支持する（図２を参照）。試料ＴＰの例として、例えば、生体試料（図示せず）やビーズ（図示せず）等がある。生体試料は、蛍光染色された細胞等の厚みがある試料である。ビーズは、蛍光標識されたポリスチレン製の（例えば、直径０．２μｍ程度の）微小な球体である。

[0011] 図１に示すように、ステージ１１には、ステージ駆動部１２が設けられる。ステージ駆動部１２は、ステージ１１をｚ軸（対物レンズ２６の光軸ＡＸ）と垂直な面内で移動させる。ステージ駆動部１２によりステージ１１をｚ軸と垂直な面内で移動させることで、カバーガラスＣＧを介してステージ１１に支持された、試料ＴＰにおける広範囲の画像を取得することが可能である。なお、ステージ駆動部１２は、ステージ１１をｚ軸（対物レンズ２６の光軸ＡＸ）に沿って移動させてもよい。

[0012] 光源ユニット１６は、試料ＴＰに含まれる蛍光物質を励起するための励起光を射出させる。光源ユニット１６は、光源１７と、シャッタ１８と、音響光学素子１９とを有する。光源１７として、例えば、所定の波長域のレーザ

ー光（励起光）を射出させることが可能なレーザー光源等が用いられる。

[0013] 照明光学系２１は、光源ユニット１６から射出された励起光で試料ＴＰを照明する。照明光学系２１は、光源ユニット１６側から順に、照明用レンズ２２と、励起フィルタ２３と、ダイクロイックミラー２４と、スキャナ２５と、対物レンズ２６とを有する。照明用レンズ２２は、光源ユニット１６から射出された励起光を平行光にするためのコリメーターレンズである。励起フィルタ２３は、光源ユニット１６からの励起光が透過し、他の波長の光（例、外光、迷光）の少なくとも一部を遮る特性を有する。ダイクロイックミラー２４は、光源ユニット１６から射出された励起光が反射し、ステージ１１上の試料ＴＰで発生した光のうち所定の波長帯の光（例、蛍光）が透過する特性を有する。スキャナ２５は、ｘ方向とｙ方向との２方向において、光源ユニット１６からの励起光で試料ＴＰを走査する。スキャナ２５として、例えば、ガルバノスキャナや、レゾナントスキャナ等が用いられる。

[0014] 対物レンズ２６は、ステージ１１の下方近傍に配置される。対物レンズ２６は、ステージ１１の開口部およびカバーガラスＣＧ（図２を参照）を介して、ステージ１１上の試料ＴＰと対向する。対物レンズ２６とカバーガラスＣＧとの間隙部は、浸液ＩＭ（図２を参照）で満たされるようになっている。なお、対物レンズ２６とカバーガラスＣＧとの間隙部は、浸液ＩＭに限らず、空気等の気体で満たされていてもよい。

[0015] 検出光学系３１は、試料ＴＰで発生した蛍光を集光する。検出光学系３１は、試料ＴＰ側から順に、対物レンズ２６と、スキャナ２５と、ダイクロイックミラー２４とを含む。さらに、検出光学系３１は、ダイクロイックミラー２４側から順に、蛍光フィルタ３４と、集光レンズ３５とを有する。蛍光フィルタ３４は、試料ＴＰからの光のうち所定の波長帯の光（例、蛍光）が透過する特性を有する。蛍光フィルタ３４は、例えば、試料ＴＰで反射した励起光、外光、迷光などの少なくとも一部を遮断する。集光レンズ３５は、試料ＴＰからの蛍光を集光する。検出部４１は、検出光学系３１を介して、試料ＴＰで発生した蛍光を検出する。検出部４１として、例えば、光電子増

倍管が用いられる。

[0016] 検出光学系３１と検出部４１との間における検出部４１の近傍に、ピンホール３６が設けられる。ピンホール３６は、対物レンズ２６の試料ＴＰ側の焦点位置と共役な位置に配置される。ピンホール３６は、対物レンズ２６の焦点面（対物レンズ２６の焦点位置を通る対物レンズ２６の光軸ＡＸと垂直な面）または、当該焦点面から所定のずれ許容範囲内で光軸方向にずれた面からの光のみを通過させ、他の光を遮光する。ピンホール３６には、ピンホール駆動部３７が設けられる。ピンホール駆動部３７は、ピンホール３６の大きさを拡大若しくは縮小させる。ピンホール駆動部３７により、ピンホール３６の大きさを拡大若しくは縮小させることで、上述した所定のずれ許容範囲を変えることができる。

[0017] 顕微鏡制御部６１は、ステージ駆動部１２、ピンホール駆動部３７、検出部４１等を制御する。また、顕微鏡制御部６１は、試料ＴＰの画像の取得条件として、例えば、光源ユニット１６から射出される励起光の光強度、ピンホール３６の大きさ、試料ＴＰに対する励起光の走査速度等を設定する。

[0018] 光源ユニット１６から射出された励起光は、照明光学系２１の照明用レンズ２２を透過して略平行光になる。照明用レンズ２２を透過した励起光は、励起フィルタ２３を通ってダイクロイックミラー２４に入射する。ダイクロイックミラー２４に入射した励起光は、ダイクロイックミラー２４で反射してスキャナ２５に入射する。スキャナ２５は、ｘ方向とｙ方向との２方向において、スキャナ２５に入射した励起光で試料ＴＰを走査する。スキャナ２５に入射した励起光は、スキャナ２５を通って対物レンズ２６を透過し、対物レンズ２６の焦点面に集光される。試料ＴＰにおいて励起光が集光される部分（すなわち、対物レンズ２６の焦点面と重なる部分）は、スキャナ２５によりｘ方向とｙ方向との２方向において２次元的に走査される。

[0019] 試料ＴＰにおいて励起光が集光される部分に含まれる蛍光物質から、蛍光が発光する。試料ＴＰで発した蛍光は、検出光学系３１としての対物レンズ２６に入射する。対物レンズ２６に入射した蛍光は、対物レンズ２６を透過

し、スキャナ２５を通ってダイクロイックミラー２４に入射する。ダイクロイックミラー２４に入射した蛍光は、励起光と波長が異なるため、ダイクロイックミラー２４を透過して蛍光フィルタ３４に達する。蛍光フィルタ３４に達した蛍光は、蛍光フィルタ３４を通って集光レンズ３５を透過し、対物レンズ２６の焦点位置と共役な位置に集光される。対物レンズ２６の焦点位置と共役な位置に集光された蛍光は、ピンホール３６を通過して検出部４１に入射する。

[0020] 検出部４１は、検出部４１に入射した光（蛍光）の光電変換を行い、光の検出信号として、その光の光量（明るさ）に対応するデータを生成する。検出部４１は、生成したデータを顕微鏡制御部６１へ出力する。顕微鏡制御部６１は、検出部４１から入力されたデータを１画素分のデータとして、これをスキャナ２５による２次元的な走査と同期して並べる処理を行うことで、複数画素分のデータが２次元で（２方向で）並ぶ１つの画像データを生成し、ＲＡＭなどの記憶部６８（図３を参照）に記憶させる。このようにして、顕微鏡制御部６１は、試料ＴＰの画像を取得する。

[0021] 図２は、共焦点顕微鏡１０における収差補正部５１の拡大図である。収差補正部５１は、対物レンズ２６先端からカバーガラスＣＧまでの距離、カバーガラスＣＧの厚み、及び試料中の観察深さなどに起因する球面収差を補正する。対物レンズ２６は、レボルバ（図示せず）によりステージ１１の下方近傍で保持される。対物レンズ２６は、収差補正レンズ２７と、補正環２８とを有する。収差補正レンズ２７は、対物レンズ２６の光軸ＡＸに沿って移動することで、対物レンズ２６の球面収差を変化させることが可能である。補正環２８は、対物レンズ２６の鏡筒部に、対物レンズ２６の光軸ＡＸを中心に回転自在に設けられる。補正環２８の回転に応じて、収差補正レンズ２７が対物レンズ２６の光軸ＡＸに沿って移動する。

[0022] 収差補正部５１は、対物レンズ２６の収差補正レンズ２７および補正環２８と、検出部４１とを含む。さらに、収差補正部５１は、補正環駆動部５５と、対物レンズ駆動部５６とを有する。補正環駆動部５５は、例えば電動モ

ータ（図示せず）を用いて構成される。補正環駆動部５５は、補正環２８を回転駆動し、補正環２８の回転位置Ｃを変化させ、収差補正レンズ２７を対物レンズ２６の光軸ＡＸに沿って移動させる。補正環駆動部５５は、補正環２８の回転位置■を変化させて、収差補正レンズ２７の光軸上の位置を変化させることにより、対物レンズ２６の球面収差を変化させる。

[0023] 対物レンズ駆動部５６は、例えば電動モータ（図示せず）を用いて構成される。対物レンズ駆動部５６は、レボルバ（不図示）とともに対物レンズ２６をｚ方向に上下移動させる。対物レンズ駆動部５６により対物レンズ２６がｚ方向に移動すると、試料ＴＰに対する対物レンズ２６の相対位置が変化し、試料ＴＰに対する対物レンズ２６の焦点位置ＰＦがｚ方向に変化する。対物レンズ駆動部５６により対物レンズ２６の焦点位置ＰＦをｚ方向に変位させることで、ｚ方向（対物レンズ２６の光軸方向）の位置が異なる試料ＴＰの断面（観察面ＴＡ）の画像を取得することが可能である。以降、ｚ方向の位置が異なる複数の試料ＴＰの断面の画像を、試料ＴＰのｚスタック画像と称することがある。

[0024] 図３は、第１実施形態に係る共焦点顕微鏡１０の顕微鏡制御部６１と情報処理装置９０との間の電気的な接続を示すブロック図である。共焦点顕微鏡１０の顕微鏡制御部６１は、収差の補正量算出決定部としても機能し、補正環２８の最適な回転位置を求める。顕微鏡制御部６１は、主制御部６２と、画像生成部６３と、評価値算出部６４と、補正環位置決定部６５と、リスト作成部６７と、記憶部６８とを有する。

[0025] 主制御部６２は、収差補正部５１を構成する、検出部４１、補正環駆動部５５、および対物レンズ駆動部５６と電気的に接続される。主制御部６２は、情報処理装置９０の入出力制御部９１と電気的に接続される。主制御部６２は、入出力制御部９１から入力されるデータに応じて、検出部４１、補正環駆動部５５、および対物レンズ駆動部５６を制御する。

[0026] 画像生成部６３は、検出部４１から入力された光の検出信号に基づいて、試料ＴＰの画像を生成する。画像生成部６３は、生成した試料ＴＰの画像デ

ータを、評価値算出部６４および記憶部６８のうち少なくともいずれかへ出力する。例えば、画像生成部６３は、記憶部６８で記憶される試料ＴＰの画像を生成すると、生成した試料ＴＰの画像データを記憶部６８へ出力する。画像生成部６３は、評価値算出部６４による処理で用いられる試料ＴＰの画像を生成すると、生成した試料ＴＰの画像データを評価値算出部６４へ出力する。

[0027] 評価値算出部６４は、画像生成部６３から入力された試料ＴＰの画像データに基づいて、詳細は後述する評価値ｖを求める。評価値算出部６４は、求めた評価値ｖのデータを記憶部６８へ出力する。

[0028] 補正環位置決定部６５は、記憶部６８に記憶された評価値ｖのデータに基づいて、補正環２８の最適な回転位置を求める。補正環位置決定部６５は、求めた補正環２８の最適な回転位置のデータを、主制御部６２を介して記憶部６８へ出力するとともに、情報処理装置９０の入出力制御部９１へ出力する。以降、補正環２８の最適な回転位置を最適補正環位置ＣＰと称することがある。

[0029] リスト作成部６７は、記憶部６８に記憶された設定用データテーブルと、情報処理装置９０の入出力制御部９１から入力された入力データに基づいて、共焦点顕微鏡１０の設定に関するパラメータリストを作成する。リスト作成部６７は、作成したパラメータリストを、主制御部６２へ出力する。

[0030] 記憶部６８は、ＲＡＭ等のメモリやハードディスク等を用いて構成される。顕微鏡制御部６１の各部から入力される各種データを記憶する。例えば、記憶部６８は、画像生成部６３から入力された試料ＴＰの画像データを記憶する。記憶部６８は、評価値算出部６４から入力された評価値ｖのデータを記憶する。

[0031] また、記憶部６８は、設定用データテーブルを記憶している。第１実施形態に係る設定用データテーブルＤＢ１は、図６に示すように、試料ＴＰの屈折率ｎと、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}と、Ｌ－ｄ変化比m_Lとの関係を示すデータテーブルである。

[0032] ここで、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}とは、観察深さｄの変化量と、観察深さｄの変化に伴う補正環２８の最適補正環位置ＣＰの変化量との比である。観察深さｄとは、試料ＴＰの下端部（カバーガラスＣＧと試料ＴＰとの境界部）から観察面までのｚ方向の深さ位置である（図２を参照）。補正環２８の最適補正環位置ＣＰとは、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが観察深さｄの位置にあり、かつ対物レンズ２６先端からカバーガラスＣＧまでの距離、カバーガラスＣＧの厚み、及び観察深さｄなどに起因する球面収差が最小となる、補正環２８の最適な回転位置である。例えば、図５（Ａ）に示すように、試料ＴＰの屈折率がｎ１の場合における観察深さｄと最適補正環位置ＣＰとの関係は直線ｆＣＰ$_{n1}$で表すことができる。試料ＴＰの屈折率がｎ２の場合における観察深さｄと最適補正環位置ＣＰとの関係は直線ｆＣＰ$_{n2}$で表すことができる。このとき、試料ＴＰの屈折率がｎ１の場合におけるＣＰ－ｄ変化比m_{CP}は、直線ｆＣＰ$_{n1}$の傾きとして求まる。試料ＴＰの屈折率がｎ２の場合におけるＣＰ－ｄ変化比m_{CP}は、直線ｆＣＰ$_{n1}$の傾きとは異なる直線ｆＣＰ$_{n2}$の傾きとして求まる。

[0033] Ｌ－ｄ変化比m_Lとは、観察深さｄの変化量と、観察深さｄの変化に伴う対物レンズ２６の位置Ｌの変化量との比である。対物レンズ２６の位置Ｌとは、所定の基準位置Ｌ０を原点位置とした、対物レンズ２６のｚ方向の位置である（図２を参照）。対物レンズ２６のｚ方向の位置は、例えば、対物レンズ２６をｚ方向に駆動させるギアの角度の基準位置からの変化量で検出できる。Ｌ－ｄ変化比m_Lを求める理由は、試料ＴＰと浸液ＩＭとの間では屈折率の差があるため、観察深さｄの変化量と対物レンズ２６の位置Ｌの変化量とが異なるからである。例えば図７に示すように、対物レンズ２６の位置がL_iからL_{i+1}まで変位した場合の変位量（$L_{i+1}-L_i$）は、この変位に対応して対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが観察深さd_iの位置から観察深さd_{i+1}の位置まで変位した場合の変位量（$d_{i+1}-d_i$）と異なってしまう。

[0034] 例えば、図５（Ｂ）に示すように、試料ＴＰの屈折率がｎ１の場合における観察深さｄと対物レンズ２６の位置Ｌとの関係は直線ｆＬ$_{n1}$で表すことが

できる。試料ＴＰの屈折率がｎ２の場合における観察深さｄと対物レンズ２６の位置Ｌとの関係は直線ｆL_{n2}で表すことができる。このとき、試料ＴＰの屈折率がｎ１の場合におけるＬ－ｄ変化比m_Lは、直線ｆL_{n1}の傾きとして求まる。試料ＴＰの屈折率ｎがｎ２の場合におけるＬ－ｄ変化比m_Lは、直線ｆL_{n1}の傾きとは異なる直線ｆL_{n2}の傾きとして求まる。

[0035] 予め、光学シミュレーションを行うことにより、複数の試料屈折率についてＣＰ－ｄ変化比m_{CP}およびＬ－ｄ変化比m_Lを求めることで、設定用データテーブルＤＢ１を作成することが可能である。具体的には、光学シミュレーションを行うことによりＬ－ｄ変化比m_Lを求める。このときまず、試料屈折率、浸液屈折率、カバーガラスの厚み、試料ＴＰ中の観察深さｄなどを設定し、例えば、ＰＳＦ（点像分布関数）のストレール比を算出することにより、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが観察深さｄの位置にあるときの対物レンズ２６の位置Ｌを求める。次に、複数の観察深さｄについて対物レンズ２６の位置Ｌを求めることで、観察深さｄに対する対物レンズ２６の位置Ｌのプロットを作成する。そして、作成したプロットを例えば直線でフィッティングし、Ｌ－ｄ変化比m_Lを求める。複数の試料屈折率を設定してＬ－ｄ変化比m_Lを求めることで、試料屈折率毎にＬ－ｄ変化比m_Lを求める。

[0036] 続いて、光学シミュレーションを行うことによりＣＰ－ｄ変化比m_{CP}を求める。このときまず、試料屈折率、浸液屈折率、カバーガラスの厚み、試料ＴＰ中の観察深さｄ、および対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが観察深さｄの位置にあるときの対物レンズ２６の位置Ｌなどを設定し、このときの結像状態が最良となる補正環２８の回転位置（最適補正環位置ＣＰ）を求める。なお、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが観察深さｄの位置にあるときの対物レンズ２６の位置Ｌは、Ｌ－ｄ変化比m_Lを用いて算出される。また、結像状態を表す指標として、ＰＳＦ（点像分布関数）のストレール比を用いることができる。次に、複数の観察深さｄについて補正環２８の最適補正環位置ＣＰを求めることで、観察深さｄに対する補正環２８の最適補正環位置ＣＰのプロットを作成する。そして、作成したプロットを例えば直線でフィッティン

グし、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}を求める。複数の試料屈折率を設定してＣＰ－ｄ変化比m_{CP}を求めることで、試料屈折率毎にＣＰ－ｄ変化比m_{CP}を求める。

[0037] 情報処理装置９０は、入出力制御部９１を有する。情報処理装置９０は、入力部９２および表示部９３と電気的に接続される。入力部９２は、ユーザーが操作可能な入力インターフェースである。入力部９２は、例えば、マウス、キーボード、タッチパッド、トラックボール等のうち少なくとも１つを含む。入力部９２は、ユーザーによる操作を検出し、その検出結果をユーザーが入力した入力データとして情報処理装置９０の入出力制御部９１へ出力する。表示部９３は、例えば、液晶ディスプレイ等である。情報処理装置９０の入出力制御部９１は、共焦点顕微鏡１０の操作に必要なＧＵＩ（グラフィカルユーザーインターフェース）や、共焦点顕微鏡１０の顕微鏡制御部６１から出力された、試料ＴＰの画像、補正環２８の最適補正環位置ＣＰ等を表示部９３に表示させる。入出力制御部９１は、入力部９２から入力された入力データを共焦点顕微鏡１０の顕微鏡制御部６１へ出力する。

[0038] 次に、試料ＴＰの画像を取得するための顕微鏡装置１の制御方法（以降、画像取得方法と称する）について説明する。第１実施形態に係る画像取得方法では、まず、或る一つの観察深さｄの位置に対物レンズ２６の焦点位置ＰＦがあるときの、対物レンズ２６の位置Ｌを求める。次に、当該観察深さｄにおける補正環２８の最適補正環位置ＣＰを実験的に求める。そして、他の観察深さｄにおける補正環２８の最適補正環位置ＣＰを、実験的にではなく、ユーザーの操作により入力される試料ＴＰの屈折率に基づいて求める。なお、第１実施形態に係る画像取得方法では、補正環２８を回転させて対物レンズ２６の球面収差を変化させても、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが変化しない場合について説明する。

[0039] 図４は、第１実施形態に係る画像取得方法を示すフローチャートである。なお、顕微鏡制御部６１は、例えばコンピュータシステムを含む。顕微鏡制御部６１は、記憶部６８に記憶されている制御プログラムを読み出し、この制御プログラムに従って各種の処理を実行する。ステップＳＴ１１０におい

て、設定用データテーブルＤＢ１を作成して記憶部６８に記憶させる。前述したように、予め、光学シミュレーションを行うことにより、複数の屈折率についてＣＰ－ｄ変化比m_{CP}およびＬ－ｄ変化比m_Lを求めることで、設定用データテーブルＤＢ１を作成する。

[0040] ステップＳＴ１２０において、補正環２８の最適補正環位置ＣＰを実験的に求める観察深さd_Sおよび観察領域ＲＯＩの位置を設定する。図８（Ａ）に示すように、ユーザーは、表示部９３に表示されるＧＵＩを利用して、試料の画像ＴＩを見ながら、対物レンズ２６の位置Ｌを入力する操作を入力部９２に対して行い、観察深さd_Sを設定する。ユーザーは、表示部９３に表示されるＧＵＩを利用して、試料の画像ＴＩを見ながら、観察領域ＲＯＩ（ステージ１１）のｘ方向位置およびｙ方向位置を入力する操作を入力部９２に対して行い、観察領域ＲＯＩを設定する。ユーザーが、対物レンズ２６の位置Ｌを入力する操作や、観察領域ＲＯＩ（ステージ１１）のｘ方向位置およびｙ方向位置を入力する操作を入力部９２に対して行うと、入力部９２は、これらの操作に対応する入力データを、情報処理装置９０の入出力制御部９１を介して共焦点顕微鏡１０の顕微鏡制御部６１へ出力する。

[0041] 図８（Ｂ）は、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが、補正環２８の最適補正環位置ＣＰを実験的に求める観察深さd_Sの位置にある状態を示す。図８（Ａ）を用いて説明したように、ユーザーは、補正環２８の最適補正環位置ＣＰを実験的に求める観察深さd_Sが実際にはわからないため、観察深さd_Sは、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦがこの観察深さd_Sの位置にあるときの対物レンズ２６の位置L_Sにより設定される。なお、観察深さd_Sのときの値を０とする相対的な観察深さを、相対観察深さｄｒと称することがある。補正環２８の最適補正環位置ＣＰを実験的に求める、対物レンズ２６の位置L_Sおよび、観察領域ＲＯＩ（ステージ１１）のｘ方向位置およびｙ方向位置は、手動に限らず、画像の信号強度（輝度値）やコントラストが高いこと等を条件として自動的に設定されるようにしてもよい。

[0042] ステップＳＴ１３０において、顕微鏡制御部６１は、ステップＳＴ１２０

で設定した観察深さd_Sにおける、補正環２８の最適補正環位置CP_Sを求める。ユーザーが、図８（Ａ）に示すＧＵＩ（補正環調整画面）９５の「開始」ボタン９６を選択する操作を入力部９２に対して行うと、入力部９２は、この操作に対応する入力データを、情報処理装置９０の入出力制御部９１を介して共焦点顕微鏡１０の顕微鏡制御部６１へ出力する。そして、ステップＳＴ１２０で設定した観察深さd_S（対物レンズ２６の位置L_S）および観察領域ＲＯＩにおいて、補正環２８の最適補正環位置CP_Sを求める補正環位置決定処理が開始される。

[0043] ここで、補正環位置決定処理の詳細について説明する。図１１は、第１実施形態に係る補正環位置決定処理の詳細を示すフローチャートである。ステップＳＴ１３１において、顕微鏡制御部６１の主制御部６２は、補正環駆動部５５へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した補正環駆動部５５は、補正環２８を初期状態の回転位置（以降、初期補正環位置ＣＢと称することがある）へ回転移動させる。補正環２８の回転に応じて、収差補正レンズ２７が対物レンズ２６の光軸ＡＸに沿って移動するため、補正環２８の回転位置Ｃは、収差補正レンズ２７の対物レンズ２６における光軸ＡＸ上の位置に対応している。

[0044] ステップＳＴ１３２において、顕微鏡制御部６１は、試料ＴＰの画像を1回または複数回取得する。顕微鏡制御部６１は、光源ユニット１６からレーザー光（励起光）射出させる。また、顕微鏡制御部６１の主制御部６２は、検出部４１へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した検出部４１は、試料ＴＰからの光（蛍光）の検出信号を顕微鏡制御部６１の画像生成部６３へ出力する。画像生成部６３は、検出部４１から入力された光の検出信号（前述の１画素分のデータ）をスキャナ２５による２次元的な走査と同期して並べる処理を行うことで、試料ＴＰの画像を生成する。画像生成部６３は、生成した試料ＴＰの画像データを評価値算出部６４へ出力する。

[0045] ステップＳＴ１３３において、顕微鏡制御部６１の評価値算出部６４は、ステップＳＴ１３２で生成した試料ＴＰの画像データに基づいて、評価値ｖ

を求める。評価値算出部６４は、求めた評価値ｖのデータおよび、このときの補正環２８の回転位置Ｃ（初めてこの処理を実行する場合、初期補正環位置ＣＢ）のデータを記憶部６８に記憶させて保持する。評価値ｖとして、例えば、画像のコントラストや、画像の信号強度（輝度）の積算値、画像の信号強度をフーリエ変換して得られる周波数成分の所定の周波数領域における積算値等を用いることができる。また、同じ条件で複数回取得した画像間の相関値を用いてもよい。

[0046] ステップＳＴ１３４において、顕微鏡制御部６１の主制御部６２は、補正環２８の回転位置Ｃを規定回数変えたか否かを判定する。主制御部６２が、補正環２８の回転位置Ｃを規定回数変えていないと判定した場合（ステップＳＴ１３４：Ｎｏ）、ステップＳＴ１３５へ進む。ステップＳＴ１３５において、主制御部６２は、補正環駆動部５５へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した補正環駆動部５５は、補正環２８を所定の回転移動量だけ回転移動させ、ステップＳＴ１３２へ戻る。そして、ステップＳＴ１３２からステップＳＴ１３４までの処理を繰り返す。以上の処理により、所定の回転移動量で、補正環２８を初期補正環位置ＣＢから規定回数だけ回転移動させたときの、それぞれの補正環２８の回転位置での評価値ｖを求めることができる。

[0047] 図１２は、補正環２８の回転位置Ｃを変えて求まる評価値ｖの一例を示すグラフである。図１２に示すように、補正環２８の回転位置Ｃを変える規定回数を６とした場合、まず、顕微鏡制御部６１は、初期補正環位置ＣＢでの試料の画像ＴＩ（ＣＢ）を取得する。ここで、初期補正環位置ＣＢを回転位置C_{B0}とすると、顕微鏡制御部６１は、回転位置C_{B0}での画像ＴＩ（C_{B0}）を取得することになる。顕微鏡制御部６１は、補正環２８を初期補正環位置ＣＢから第１の回転量だけ回転移動させた回転位置C_{B1}での画像ＴＩ（C_{B1}）を取得する。顕微鏡制御部６１は、補正環２８を初期補正環位置ＣＢから第２の回転量だけ回転移動させた回転位置C_{B2}での画像ＴＩ（C_{B2}）を取得する。顕微鏡制御部６１は、補正環２８を初期補正環位置ＣＢから第３の回

転量だけ回転移動させた回転位置C_{B3}での画像ＴＩ（C_{B3}）を取得する。顕微鏡制御部６１は、補正環２８を初期補正環位置ＣＢから第４の回転量だけ回転移動させた回転位置C_{B4}での画像ＴＩ（C_{B4}）を取得する。顕微鏡制御部６１は、補正環２８を初期補正環位置ＣＢから第５の回転量だけ回転移動させた回転位置C_{B5}での画像ＴＩ（C_{B5}）を取得する。顕微鏡制御部６１は、補正環２８を初期補正環位置ＣＢから第６の回転量だけ回転移動させた回転位置C_{B6}での画像ＴＩ（C_{B6}）を取得する。つまり、顕微鏡制御部６１は、補正環２８を初期補正環位置ＣＢから６回回転移動させた各回転位置C_{B1}～C_{B6}で画像ＴＩを取得する。顕微鏡制御部６１の評価値算出部６４は、これらの画像データに基づいて、初期補正環位置ＣＢおよび、補正環２８を初期補正環位置ＣＢから第１～第６の回転量だけ回転移動させた回転位置C_{B1}～C_{B6}での評価値ｖを求めることができる。

[0048] なお、上記では、初期補正環位置ＣＢを回転位置C_{B0}とした場合を例に挙げて説明したが、これに限られるものではない。例えば、初期補正環位置ＣＢを回転位置C_{B3}としてもよい。

[0049] ステップＳＴ１３４において、主制御部６２が、補正環２８の回転位置Ｃを規定回数変えたと判定した場合（ステップＳＴ１３４：Ｙｅｓ）、ステップＳＴ１３６へ進む。ステップＳＴ１３６において、顕微鏡制御部６１の補正環位置決定部６５は、記憶部６８に記憶された補正環２８の複数の回転位置での評価値ｖを比較して、評価値ｖが最大となる補正環２８の最適な回転位置を求める。評価値ｖと補正環２８の回転位置Ｃとの関係について補間または関数近似を行った上で、評価値ｖが最大となる補正環２８の最適な回転位置を求めてもよい。補正環位置決定部６５は、求めた補正環２８の最適な回転位置のデータを、主制御部６２へ出力し、ステップＳＴ１３７へ進む。

[0050] ステップＳＴ１３７において、顕微鏡制御部６１の主制御部６２は、ステップＳＴ１３６で求めた補正環２８の最適な回転位置のデータを、実験的に求めた最適補正環位置CP_Sのデータとして、記憶部６８に記憶させて保持する。ステップＳＴ１３８において、主制御部６２は、補正環駆動部５５へ制

御信号を送信し、この制御信号を受信した補正環駆動部５５は、補正環２８をステップＳＴ１３６で求めた最適補正環位置CP_Sへ回転移動させる。そして、次の処理（図４のステップＳＴ１４０）に移行する。

[0051] ステップＳＴ１４０において、試料ＴＰの屈折率、画像取得パラメータ、画像取得範囲の入力を行う。図９に示すように、ユーザーは、表示部９３に表示されるＧＵＩ（設定入力画面）を利用して、試料ＴＰの屈折率n_{SA}として試料ＴＰの種類を選択入力する操作を入力部９２に対して行う。図９では例えば、「試料の種類」に培養細胞（１．３５）が選択入力されており、この場合、屈折率n_{SA}は１．３５となる。また、ユーザーは、「手入力」を選択して、屈折率n_{SA}の値を直接入力する操作を行うことも可能である。図９では例えば、数値「１．３６」が直接入力されており、この場合、屈折率n_{SA}は１．３６となる。なお、「手入力」が選択されている場合、「試料の種類」の選択入力は無効となる。ユーザーは、表示部９３に表示されるＧＵＩを利用して、画像取得パラメータを入力する操作を入力部９２に対して行う。画像取得パラメータを入力する操作として、レーザーパワー（光源１７のパワー）、スキャンピッチ（スキャナ２５により走査される試料ＴＰにおける走査点の間隔）、スキャン点数(スキャナ２５により走査される試料ＴＰにおける走査点の数)を入力する操作が行われる。ユーザーは、表示部９３に表示されるＧＵＩを利用して、画像取得範囲を入力する操作を入力部９２に対して行う。画像取得範囲を入力する操作として、試料ＴＰのｚスタック画像の取得枚数Ｎ、対物レンズ２６の上端位置L_{TP}、対物レンズ２６の下端位置L_{BM}を入力する操作が行われる。

[0052] ユーザーが、試料ＴＰの屈折率を入力する操作や、画像取得パラメータを入力する操作、画像取得範囲を入力する操作を入力部９２に対して行うと、入力部９２は、これらの操作に対応する入力データを、情報処理装置９０の入出力制御部９１を介して共焦点顕微鏡１０の顕微鏡制御部６１へ出力する。なお、ｚスタック画像は、対物レンズ２６の上端位置L_{TP}が設定されたときの対物レンズ２６の焦点位置ＰＦから、対物レンズの下端位置L_{BM}が設定

されたときの対物レンズ２６の焦点位置ＰＦまでの間で取得される。

[0053] ステップＳＴ１５０において、顕微鏡制御部６１のリスト作成部６７は、記憶部６８に記憶された設定用データテーブルＤＢ１（図６を参照）と、ステップＳＴ１４０で入力された屈折率n_{SA}に基づいて、屈折率n_{SA}に対応するＣＰ－ｄ変化比m_{CP}およびＬ－ｄ変化比m_Lを算出して求める。なお、屈折率n_{SA}と合致する屈折率の値が、設定用データテーブルＤＢ１にない場合、設定用データテーブルＤＢ１における屈折率n_{SA}の近傍の屈折率の値に対して補間を行うことで、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}およびＬ－ｄ変化比m_Lを求めるようにしてもよい。

[0054] 例えば、ステップＳＴ１４０で入力された屈折率n_{SA}が１．３３６であった場合、設定用データテーブルＤＢ１における屈折率が１．３３５に対応するＣＰ－ｄ変化比m_{CP}(n=1.335)およびＬ－ｄ変化比m_L(n=1.335)を用いてもよい。また、設定用データテーブルＤＢ１における屈折率が１．３３５に対応するＣＰ－ｄ変化比m_{CP}(n=1.335)と、屈折率が１．３４０に対応するＣＰ－ｄ変化比m_{CP}(n=1.340)とを補間することにより、屈折率n_{SA}が１．３３６である場合のＣＰ－ｄ変化比m_{CP}を求めてもよい。設定用データテーブルＤＢ１における屈折率が１．３３５に対応するＬ－ｄ変化比m_L(n=1.335)と、屈折率が１．３４０に対応するＬ－ｄ変化比m_L(n=1.340)とを補間することにより、屈折率n_{SA}が１．３３６である場合のＬ－ｄ変化比m_Lを求めてもよい。

[0055] ステップＳＴ１６０において、顕微鏡制御部６１のリスト作成部６７は、ステップＳＴ１２０で設定した対物レンズ２６の位置L_Sと、ステップＳＴ１３０で求めた補正環２８の最適補正環位置CP_Sと、ステップＳＴ１４０で入力された画像取得範囲（試料ＴＰのｚスタック画像の取得枚数Ｎ、対物レンズ２６の上端位置L_{TP}、対物レンズ２６の下端位置L_{BM}）と、ステップＳＴ１５０で求めたＣＰ－ｄ変化比m_{CP}およびＬ－ｄ変化比m_Lに基づいて、共焦点顕微鏡１０の設定に関するパラメータリストを作成する。第１実施形態に係るパラメータリストＬＳ１は、図１０（Ｂ）に示すように、試料ＴＰのｚ

スタック画像を取得する際の、相対観察深さｄｒと、補正環２８の最適補正環位置ＣＰと、対物レンズ２６の位置Ｌとの関係を示すリストである。リスト作成部６７は、パラメータリストＬＳ１を作成すると、作成したパラメータリストＬＳ１のデータを、主制御部６２へ出力する。

[0056] パラメータリストＬＳ１を作成するには、まず、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する際に変位させる対物レンズ２６の位置L_iを求める。ここで、ｉは、１～Ｎ（試料ＴＰのｚスタック画像の取得枚数Ｎ）までの整数である。対物レンズ２６の位置L_iは、下記の式（１）を用いて求められる。

[0057] [数1]

$$L_i = L_{BM} + \frac{L_{TP} - L_{BM}}{N-1} \times (i-1) \quad \cdots (1)$$

[0058] 次に、対物レンズ２６が位置L_iに位置するときの相対観察深さdr_iを求める。相対観察深さdr_iは、下記の式（２）を用いて求められる。

[0059] [数2]

$$dr_i = \frac{1}{m_L} \times (L_i - L_S) \quad \cdots (2)$$

[0060] 次に、各相対観察深さdr_iに対応する補正環２８の最適補正環位置CP_iを求める。補正環２８の最適補正環位置CP_iは、下記の式（３）を用いて求められる。

[0061] [数3]

$$CP_i = m_{CP} \times dr_i + CP_S \quad \cdots (3)$$

[0062] そして、上記の式（１）～（３）を用いて求めた、相対観察深さdr_iと、補正環２８の最適補正環位置CP_iと、対物レンズ２６の位置L_iとの関係を示すリストを作成する。これにより、図１０（Ｂ）に示すようなパラメータリストＬＳ１を作成することができる。図１０（Ａ）に、相対観察深さdr_i（ｉ＝１，２，３，…）と、補正環２８の最適補正環位置CP_i（ｉ＝１，２，３，…）と、対物レンズ２６の位置L_i（ｉ＝１，２，３，…）との位置関

係を模式的に示す。

[0063] ステップＳＴ１７０において、顕微鏡制御部６１は、ステップＳＴ１６０で作成したパラメータリストＬＳ１に従って、補正環２８の最適補正環位置ＣＰと、対物レンズ２６の位置Ｌとを変化させることにより、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する。

[0064] 第１実施形態によれば、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する際、ｚ方向（対物レンズ２６の光軸方向）の位置が異なる試料ＴＰの断面の画像を取得する毎に、パラメータリストＬＳ１に従って、補正環２８の最適補正環位置ＣＰと、対物レンズ２６の位置Ｌとを変化させることができる。そのため、ｚ方向（対物レンズ２６の光軸方向）の位置が異なる試料ＴＰの断面の画像を取得する毎に、最適な収差補正を行うことができる。

[0065] また、リスト作成部６７は、補正環位置決定部６５等によって或る一つの観察深さd_Sで実験的に求めた補正環２８の最適補正環位置CP_Sと、入力部９２から入力された試料ＴＰの屈折率n_{SA}と、設定用データテーブルＤＢ１とに基づいて、パラメータリストＬＳ１を構成する補正環２８の最適補正環位置CP_iを求める。これにより、補正環２８の最適補正環位置CP_iの全てを実験的に求める必要がなく、パラメータリストＬＳ１を作成する手間を低減させることができる。

[0066] なお例えば、実際に試料ＴＰのｚスタック画像を取得するときのカバーガラスＣＧの厚みは、設定用データテーブルＤＢ１を作成する際に光学シミュレーションで設定したカバーガラスＣＧの厚みと異なっている場合がある。第１実施形態では、光学シミュレーションを行うことにより作成した設定用データテーブルＤＢ１と、或る一つの観察深さd_Sで実験的に求めた補正環２８の最適補正環位置CP_Sとを用いることにより、他の観察深さ位置での補正環２８の最適補正環位置CP_iを算出するので、補正環２８の最適補正環位置CP_iを、光学シミュレーションだけを用いて算出する場合よりも精度よく算出することができる。

[0067] ［第１実施形態の変形例］

上述の第１実施形態において、試料ＴＰのｚスタック画像を取得した後、異なる観察領域で同様の試料ＴＰのｚスタック画像を取得することが可能である。この場合、例えば、ステップＳＴ１１０～ＳＴ１３０の処理を省略し、ユーザーが観察領域を変える設定を行った後、ステップＳＴ１４０の処理から開始するようにしてもよい。

[0068] また、試料ＴＰのｚスタック画像を取得した後、異なる観察領域で同様の試料ＴＰのｚスタック画像を取得することで、ｘｙ方向の位置が異なる複数の観察領域での試料ＴＰのｚスタック画像を並べるタイリングを行うことが可能である。そこで、第１実施形態に係る画像取得方法の変形例として、タイリングを行うために試料ＴＰのｚスタック画像を取得する場合について説明する。

[0069] 図１３は、第１実施形態の変形例に係る画像取得方法を示すフローチャートである。ステップＳＴ１１０～ステップＳＴ１４０の処理は、図４のステップＳＴ１１０～ステップＳＴ１４０の処理と同様であるので、その説明を省略する。ステップＳＴ１４５において、タイリングを行うための設定の入力を行う。このとき、ユーザーは、ｘ方向に並べる観察領域の数Ｍｘと、ｙ方向に並べる観察領域の数Ｍｙを入力する操作を入力部９２に対して行う。

[0070] ステップＳＴ１５０～ステップＳＴ１７０の処理は、図４のステップＳＴ１５０～ステップＳＴ１７０の処理と同様であるので、その説明を省略する。ステップＳＴ１７１において、顕微鏡制御部６１の主制御部６２は、ステップＳＴ１４５で設定した全ての観察領域について試料ＴＰのｚスタック画像を取得したか否かを判定する。主制御部６２が、全ての観察領域について試料ＴＰのｚスタック画像を取得していないと判定した場合（ステップＳＴ１７１：Ｎｏ）、ステップＳＴ１７２へ進む。

[0071] ステップＳＴ１７２において、主制御部６２は、ステージ駆動部１２へ制御信号を送信し、この制御信号を受信したステージ駆動部１２は、ステージ１１を次の観察領域に対応する位置までｘｙ方向に移動させ、ステップＳＴ１７０へ戻る。そして、ステップＳＴ１７０からステップＳＴ１７１までの

処理を繰り返す。ステップＳＴ１７１において、主制御部６２が全ての観察領域について試料ＴＰのｚスタック画像を取得したと判定した場合（ステップＳＴ１７１：Ｙｅｓ）、処理を終了する。以上の処理により、Ｍｘ×Ｍｙ個の観察領域での試料ＴＰのｚスタック画像を取得することができる。

[0072] ［第２実施形態］

第２実施形態について説明する。第２実施形態に係る顕微鏡装置は、第１実施形態に係る顕微鏡装置１と同様の構成であり、上述の第１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２実施形態において、記憶部６８（図３を参照）は、設定用データテーブルに加え、Ｌ－ＣＰ変化比m_{LC}のデータを記憶している。

[0073] 補正環２８を回転させて対物レンズ２６の球面収差を変化させると、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが光軸方向に変位する場合がある。Ｌ－ＣＰ変化比m_{LC}とは、補正環２８の回転位置の変化量ΔＣと、対物レンズ２６の補正移動量ΔＬとの比である。対物レンズ２６の補正移動量ΔＬとは、補正環２８の回転に伴って変位した対物レンズ２６の焦点位置ＰＦを観察深さｄの位置まで戻すのに必要な、対物レンズ２６の位置Ｌの変化量である。対物レンズ２６の補正移動量ΔＬは、下記の式（４）を用いて求められる。

[0074] [数4]

$$\Delta L = m_{LC} \times \Delta C \quad \cdots (4)$$

[0075] 光学シミュレーションを行うことによりＬ－ＣＰ変化比m_{LC}を求めることが可能である。この場合、まず、試料屈折率、浸液屈折率、カバーガラスの厚み、補正環２８の任意の回転位置C_Tなどを設定し、例えば、ＰＳＦ（点像分布関数）のストレール比を算出することにより、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが任意の観察深さd_Tの位置にあるときの対物レンズ２６の位置L_{T1}を求める。次に、補正環２８の回転位置を、任意の回転位置C_TからΔＣだけ変化させた状態で、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが任意の観察深さd_Tの位置にあるときの対物レンズ２６の位置L_{T2}を求める。そして、下記の式（５）

を用いてＬ－ＣＰ変化比m_{LC}を求める。

[0076] [数5]

$$m_{LC} = (L_{T2} - L_{T1}) / \Delta C \quad \cdots (5)$$

[0077] また、実験的にＬ－ＣＰ変化比m_{LC}を求めることが可能である。この場合、補正環２８の任意の回転位置C_T’と任意の観察深さd_T’における、対物レンズ２６の位置L_{T1}’を求める。次に、補正環２８の回転位置を、任意の回転位置C_T’からΔＣだけ変化させた状態で、補正環２８の回転位置を変化させる前と同じ画像が得られる対物レンズ２６の位置L_{T2}’を求める。そして、上記の式（５）を用いてＬ－ＣＰ変化比m_{LC}を求める。

[0078] 第２実施形態に係る設定用データテーブルとして、第１実施形態と同様の設定用データテーブルＤＢ１（図６を参照）が用いられる。第２実施形態においても、予め、光学シミュレーションを行うことにより、複数の屈折率についてＣＰ－ｄ変化比m_{CP}およびＬ－ｄ変化比m_Lを求めることで、設定用データテーブルＤＢ１を作成することが可能である。

[0079] なお、光学シミュレーションを行うことによりＣＰ－ｄ変化比m_{CP}を求める際、或る試料ＴＰ中の観察深さｄにおいて、補正環２８の回転位置Ｃと対物レンズ２６の位置Ｌとの２次元のパラメータ空間内で、結像状態が最良となる補正環２８の回転位置および対物レンズ２６の位置を求める。具体的には、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが観察深さｄの位置にあるときの、結像状態が最良となる補正環２８の回転位置（最適補正環位置ＣＰ）および対物レンズ２６の位置を求める。本実施形態では、補正環２８の回転位置が変化すると、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦも変化するため、補正環２８の回転位置Ｃと対物レンズ２６の位置Ｌとの２つのパラメータについて最適値を求める必要がある。結像状態を表す指標として、ＰＳＦ（点像分布関数）のストレール比を用いることができる。次に、複数の観察深さｄについて補正環２８の最適補正環位置ＣＰを求めることで、観察深さｄに対する補正環２８の最適補正環位置ＣＰのプロットを作成する。そして、作成したプロットを例えば直線でフィッティングし、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}を求める。

[0080] 次に、第２実施形態に係る画像取得方法について説明する。第２実施形態に係る画像取得方法では、第１実施形態に係る画像取得方法と異なり、補正環２８を回転させて対物レンズ２６の球面収差を変化させると、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが変化する場合について説明する。この場合、前述したように、補正環２８の回転に伴って変位した対物レンズ２６の焦点位置ＰＦを観察深さｄの位置まで戻すのに必要な、対物レンズ２６の補正移動量ΔＬを求める。

[0081] 図１４は、第２実施形態に係る画像取得方法を示すフローチャートである。ステップＳＴ２１０において、予め求めておいたＬ－ＣＰ変化比m_{LC}のデータを記憶部６８に記憶させる。前述したように、予め、光学シミュレーションを行うことにより、もしくは実験的に、Ｌ－ＣＰ変化比m_{LC}を求めることが可能である。

[0082] ステップＳＴ２２０において、設定用データテーブルＤＢ１を作成して記憶部６８に記憶させる。前述したように、予め、光学シミュレーションを行うことにより、複数の屈折率についてＣＰ－ｄ変化比m_{CP}およびＬ－ｄ変化比m_Lを求めることで、第１実施形態と同様の設定用データテーブルＤＢ１を作成する。

[0083] ステップＳＴ２３０において、補正環２８の最適補正環位置ＣＰを実験的に求める観察深さd_Sおよび観察領域ＲＯＩの位置を設定する。ステップＳＴ２３０では、第１実施形態におけるステップＳＴ１２０と同様の処理が行われる。

[0084] ステップＳＴ２４０において、顕微鏡制御部６１は、ステップＳＴ２３０で設定した観察深さd_Sにおける、補正環２８の最適補正環位置CP_Sを求める。ステップＳＴ２４０では、第１実施形態におけるステップＳＴ１３０の場合と同様の操作により、補正環２８の最適補正環位置CP_Sを求める補正環位置決定処理が開始される。

[0085] ここで、補正環位置決定処理の詳細について説明する。図１６は、第２実施形態に係る補正環位置決定処理の詳細を示すフローチャートである。ステ

ップＳＴ２４１において、顕微鏡制御部６１の主制御部６２は、補正環駆動部５５へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した補正環駆動部５５は、補正環２８を初期状態の回転位置（初期補正環位置ＣＢ）へ回転移動させる。また、主制御部６２は、上記の式（４）を用いて、このときの補正環２８の回転位置の変化量ΔＣに応じた、対物レンズ２６の補正移動量ΔＬを求める。主制御部６２は、対物レンズ駆動部５６へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した対物レンズ駆動部５６は、主制御部６２で求めた補正移動量ΔＬだけ、対物レンズ２６を移動させる。

[0086] ステップＳＴ２４２において、顕微鏡制御部６１は、試料ＴＰの画像を1回または複数回取得する。ステップＳＴ２４２では、第１実施形態におけるステップＳＴ１３２と同様の処理が行われる。

[0087] ステップＳＴ２４３において、顕微鏡制御部６１の評価値算出部６４は、ステップＳＴ２４２で生成した試料ＴＰの画像データに基づいて、評価値ｖを求める。ステップＳＴ２４３では、第１実施形態におけるステップＳＴ１３３と同様の処理が行われる。

[0088] ステップＳＴ２４４において、顕微鏡制御部６１の主制御部６２は、補正環２８の回転位置Ｃを規定回数変えたか否かを判定する。主制御部６２が、補正環２８の回転位置Ｃを規定回数変えていないと判定した場合（ステップＳＴ２４４：Ｎｏ）、ステップＳＴ２４５へ進む。ステップＳＴ２４５において、主制御部６２は、補正環駆動部５５へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した補正環駆動部５５は、補正環２８を所定の回転移動量だけ回転移動させる。また、主制御部６２は、対物レンズ駆動部５６へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した対物レンズ駆動部５６は、補正環２８の所定の回転移動量（回転位置の変化量ΔＣ）に応じた補正移動量ΔＬだけ、対物レンズ２６を移動させ、ステップＳＴ２４２へ戻る。そして、ステップＳＴ２４２からステップＳＴ２４４までの処理を繰り返す。以上の処理により、所定の回転移動量で、補正環２８を初期補正環位置ＣＢから規定回数だけ回転移動させたときの、それぞれの補正環２８の回転位置での評価値ｖを求め

ることができる。

[0089] ステップＳＴ２４４において、主制御部６２が、補正環２８の回転位置Ｃを規定回数変えたと判定した場合（ステップＳＴ２４４：Ｙｅｓ）、ステップＳＴ２４６へ進む。ステップＳＴ２４６において、顕微鏡制御部６１の補正環位置決定部６５は、記憶部６８に記憶された補正環２８の複数の回転位置での評価値ｖを比較して、評価値ｖが最大となる補正環２８の最適な回転位置を求める。補正環位置決定部６５は、求めた補正環２８の最適な回転位置のデータを、主制御部６２へ出力し、ステップＳＴ２４７へ進む。

[0090] ステップＳＴ２４７において、顕微鏡制御部６１の主制御部６２は、ステップＳＴ２４６で求めた補正環２８の最適な回転位置のデータを、実験的に求めた最適補正環位置$ＣＰ_S$のデータとして、記憶部６８に記憶させて保持する。ステップＳＴ２４８において、主制御部６２は、補正環駆動部５５へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した補正環駆動部５５は、補正環２８をステップＳＴ２４６で求めた最適補正環位置$ＣＰ_S$へ回転移動させる。また、主制御部６２は、上記の式（４）を用いて、このときの補正環２８の回転位置の変化量ΔＣに応じた、対物レンズ２６の補正移動量ΔＬを求める。主制御部６２は、対物レンズ駆動部５６へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した対物レンズ駆動部５６は、主制御部６２で求めた補正移動量ΔＬだけ、対物レンズ２６を移動させる。そして、次の処理（図１４のステップＳＴ２５０）に移行する。

[0091] ステップＳＴ２５０において、試料ＴＰの屈折率、画像取得パラメータ、画像取得範囲の入力を行う。ステップＳＴ２５０では、第１実施形態におけるステップＳＴ１４０と同様の処理が行われる。

[0092] ステップＳＴ２６０において、顕微鏡制御部６１のリスト作成部６７は、記憶部６８に記憶された設定用データテーブルＤＢ１（図６を参照）と、ステップＳＴ２５０で入力された屈折率$ｎ_{SA}$に基づいて、屈折率$ｎ_{SA}$に対応するＣＰ－ｄ変化比$ｍ_{CP}$およびＬ－ｄ変化比$ｍ_L$を算出して求める。なお、屈折率$ｎ_{SA}$と合致する屈折率の値が、設定用データテーブルＤＢ１にない場合、

設定用データテーブルＤＢ１における屈折率n_{SA}の近傍の屈折率の値に対して補間を行うことで、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}およびＬ－ｄ変化比m_Lを求めるようにしてもよい。

[0093] ステップＳＴ２７０において、顕微鏡制御部６１のリスト作成部６７は、ステップＳＴ２３０で設定した対物レンズ２６の位置L_Sと、ステップＳＴ２４０で求めた補正環２８の最適補正環位置CP_Sと、ステップＳＴ２５０で入力された画像取得範囲（試料ＴＰのｚスタック画像の取得枚数Ｎ、対物レンズ２６の上端位置L_{TP}、対物レンズ２６の下端位置L_{BM}）と、ステップＳＴ２６０で求めたＣＰ－ｄ変化比m_{CP}およびＬ－ｄ変化比m_Lに基づいて、共焦点顕微鏡１０の設定に関するパラメータリストを作成する。第２実施形態に係るパラメータリストＬＳ２は、図１５に示すように、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する際の、相対観察深さｄｒと、補正環２８の最適補正環位置ＣＰと、補正環２８の回転に伴う対物レンズ２６の焦点位置ＰＦの変位を補正した対物レンズ２６の位置L_Cとの関係を示すリストである。リスト作成部６７は、パラメータリストＬＳ２を作成すると、作成したパラメータリストＬＳ２のデータを、主制御部６２へ出力する。

[0094] パラメータリストＬＳ２を作成するには、まず、上記の式（１）を用いて、第１実施形態で述べた対物レンズ２６の位置L_iを求める。次に、上記の式（２）を用いて、対物レンズ２６が位置L_iに位置するときの相対観察深さdr_iを求める。次に、上記の式（３）を用いて、各相対観察深さdr_iに対応する補正環２８の最適補正環位置CP_iを求める。

[0095] 次に、補正環２８の各最適補正環位置CP_iへの回転に伴う、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦの変位を補正した対物レンズ２６の位置L_{Ci}を求める。補正環２８の回転に伴う焦点位置ＰＦの変位を補正した対物レンズ２６の位置L_{Ci}は、下記の式（６）を用いて求められる。

[0096] [数6]

$$L_{Ci} = L_i + m_{LC} \times (CP_i - CP_S) \quad \cdots (6)$$

[0097] そして、上記の式（１）～（３）および式（６）を用いて求めた、相対観察深さdr_iと、補正環２８の最適補正環位置CP_iと、補正環２８の回転に伴う焦点位置ＰＦの変位を補正した対物レンズ２６の位置L_{Ci}との関係を示すリストを作成する。これにより、図１５に示すようなパラメータリストＬＳ２を作成することができる。

[0098] ステップＳＴ２８０において、顕微鏡制御部６１は、ステップＳＴ２７０で作成したパラメータリストＬＳ２に従って、補正環２８の最適補正環位置ＣＰと、補正環２８の回転に伴う焦点位置ＰＦの変位を補正した、対物レンズ２６の位置L_Cとを変化させることにより、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する。

[0099] 第２実施形態によれば、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する際、ｚ方向（対物レンズ２６の光軸方向）の位置が異なる試料ＴＰの断面の画像を取得する毎に、パラメータリストＬＳ２に従って、補正環２８の最適補正環位置ＣＰと、補正環２８の回転に伴う焦点位置ＰＦの変位を補正した、対物レンズ２６の位置L_Cとを変化させることができる。そのため、ｚ方向（対物レンズ２６の光軸方向）の位置が異なる試料ＴＰの断面の画像を取得する毎に、最適な収差補正を行うことができる。

[0100] また、リスト作成部６７は、補正環位置決定部６５等によって或る一つの観察深さd_Sで実験的に求めた補正環２８の最適補正環位置CP_Sと、入力部９２から入力された試料ＴＰの屈折率n_{SA}と、設定用データテーブルＤＢ１とに基づいて、パラメータリストＬＳ２を構成する、補正環２８の最適補正環位置CP_iと、補正環２８の回転に伴う焦点位置ＰＦの変位を補正した、対物レンズ２６の位置L_Cとを求める。これにより、補正環２８の最適補正環位置CP_iや対物レンズ２６の位置L_Cの全てを実験的に求める必要がなく、パラメータリストＬＳ２を作成する手間を低減させることができる。

[0101] なお例えば、実際に試料ＴＰのｚスタック画像を取得するときのカバーガラスＣＧの厚みは、設定用データテーブルＤＢ１を作成する際に光学シミュレーションで設定したカバーガラスＣＧの厚みと異なっている場合がある。

第２実施形態では、光学シミュレーションを行うことにより作成した設定用データテーブルＤＢ１と、或る一つの観察深さd_Sで実験的に求めた補正環２８の最適補正環位置CP_Sとを用いることにより、他の観察深さ位置での補正環２８の最適補正環位置CP_iを算出するので、補正環２８の最適補正環位置CP_iを、光学シミュレーションだけを用いて算出する場合よりも精度よく算出することができる。

[0102] 上述の第２実施形態において、試料ＴＰのｚスタック画像を取得した後、異なる観察領域で同様の試料ＴＰのｚスタック画像を取得することが可能である。この場合、例えば、ステップＳＴ２１０～ＳＴ２４０の処理を省略し、ユーザーが観察領域を変える設定を行った後、ステップＳＴ２５０の処理から開始するようにしてもよい。また、第１実施形態の変形例で述べた画像取得方法と同様にして、試料ＴＰのｚスタック画像を取得した後、異なる観察領域で同様の試料ＴＰのｚスタック画像を取得することで、ｘｙ方向の位置が異なる複数の観察領域での試料ＴＰのｚスタック画像を並べるタイリングを行うことが可能である。

[0103] ［第３実施形態］

第３実施形態について説明する。第３実施形態に係る顕微鏡装置は、第１実施形態に係る顕微鏡装置１と同様の構成であり、上述の第１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１７は、第３実施形態に係る顕微鏡制御部３６１と情報処理装置９０との間の電気的な接続を示すブロック図である。第３実施形態に係る顕微鏡制御部３６１は、収差の補正量算出決定部としても機能し、補正環２８の最適な回転位置と、対物レンズ２６の最適な位置を求める。顕微鏡制御部３６１は、主制御部６２と、画像生成部６３と、評価値算出部６４と、補正環位置決定部６５と、ｚ位置算出部３６６と、リスト作成部６７と、記憶部６８とを有する。

[0104] 画像生成部６３は、検出部４１から入力された光の検出信号に基づいて、試料ＴＰの画像を生成する。画像生成部６３は、生成した試料ＴＰの画像デ

ータを、評価値算出部６４、ｚ位置算出部３６６、記憶部６８のうち少なくともいずれかへ出力する。例えば、画像生成部６３は、記憶部６８で記憶される試料ＴＰの画像を生成すると、生成した試料ＴＰの画像データを記憶部６８へ出力する。画像生成部６３は、評価値算出部６４による処理で用いられる試料ＴＰの画像を生成すると、生成した試料ＴＰの画像データを評価値算出部６４へ出力する。画像生成部６３は、ｚ位置算出部３６６による処理で用いられる試料ＴＰの画像を生成すると、生成した試料ＴＰの画像データをｚ位置算出部３６６へ出力する。

[0105] ｚ位置算出部３６６は、画像生成部６３から入力された試料ＴＰの評価用ｚスタック画像データと、記憶部６８に記憶された試料ＴＰの基準画像データに基づいて、対物レンズ２６の最適な位置を求める。ｚ位置算出部３６６は、求めた対物レンズ２６の最適な位置のデータを、主制御部６２を介して記憶部６８へ出力する。以降、対物レンズ２６の最適な位置を最適対物レンズ位置ＬＰと称することがある。

[0106] 第３実施形態において、記憶部６８は、設定用データテーブルと、試料ＴＰの基準画像データを記憶する。試料ＴＰの基準画像データは、ｚ位置算出部３６６により対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰを求める際に用いられる。第３実施形態に係る設定用データテーブルＤＢ３は、図２０に示すように、試料ＴＰの屈折率ｎと、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}と、ＬＰ－ｄ変化比m_{LP}と、Ｌ’－ｄ変化比$m_{L'}$との関係を示すデータテーブルである。

[0107] ここで、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}とは、第１実施形態でも述べたように、観察深さｄの変化量と、観察深さｄの変化に伴う補正環２８の最適補正環位置ＣＰの変化量との比である。例えば、図１９（Ａ）に示すように、試料ＴＰの屈折率がｎ１の場合における観察深さｄと最適補正環位置ＣＰとの関係は直線fCP_{n1}で表すことができる。試料ＴＰの屈折率がｎ２の場合における観察深さｄと最適補正環位置ＣＰとの関係は直線fCP_{n2}で表すことができる。このとき、試料ＴＰの屈折率がｎ１の場合におけるＣＰ－ｄ変化比m_{CP}は、直線fCP_{n1}の傾きとして求まる。試料ＴＰの屈折率がｎ２の場合におけ

るＣＰ－ｄ変化比m_{CP}は、直線ｆＣＰ$_{n1}$の傾きとは異なる直線ｆＣＰ$_{n2}$の傾きとして求まる。

[0108] ＬＰ－ｄ変化比m_{LP}とは、観察深さｄの変化量と、観察深さｄの変化に伴う対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰの変化量との比である。対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰとは、補正環２８の回転に伴う焦点位置ＰＦの変位を補正した対物レンズ２６の最適な位置である（図２１を参照）。例えば、図１９（Ｂ）に示すように、試料ＴＰの屈折率がｎ１の場合における観察深さｄと対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰとの関係は直線ｆＬＰ$_{n1}$で表すことができる。試料ＴＰの屈折率がｎ２の場合における観察深さｄと対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰとの関係は直線ｆＬＰ$_{n2}$で表すことができる。このとき、試料ＴＰの屈折率がｎ１の場合におけるＬＰ－ｄ変化比m_{LP}は、直線ｆＬＰ$_{n1}$の傾きとして求まる。試料ＴＰの屈折率ｎがｎ２の場合におけるＬＰ－ｄ変化比m_{LP}は、直線ｆＬＰ$_{n1}$の傾きとは異なる直線ｆＬＰ$_{n2}$の傾きとして求まる。

[0109] Ｌ’－ｄ変化比$m_{L'}$とは、観察深さｄの変化量と、観察深さdの変化に伴う対物レンズ２６の位置Ｌ’の変化量との比である。対物レンズ２６の位置Ｌ’とは、補正環２８の回転位置Ｃが一定であると仮定した場合における、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが観察深さｄの位置にあるときの対物レンズ２６の位置である。例えば、図１９（Ｃ）に示すように、試料ＴＰの屈折率がｎ１の場合における観察深さｄと対物レンズ２６の位置Ｌ’との関係は直線ｆＬ’$_{n1}$で表すことができる。試料ＴＰの屈折率がｎ２の場合における観察深さｄと対物レンズ２６の位置Ｌ’との関係は直線ｆＬ’$_{n2}$で表すことができる。このとき、試料ＴＰの屈折率がｎ１の場合におけるＬ’－ｄ変化比$m_{L'}$は、直線ｆＬ’$_{n1}$の傾きとして求まる。試料ＴＰの屈折率ｎがｎ２の場合におけるＬ’－ｄ変化比$m_{L'}$は、直線ｆＬ’$_{n1}$の傾きとは異なる直線ｆＬ’$_{n2}$の傾きとして求まる。

[0110] なお、図２１に示すように、観察深さがｄ$_{i}$から観察深さｄ$_{i+1}$まで変位する際、補正環２８の回転位置をＣＰ$_{i}$からＣＰ$_{i+1}$まで変位させる場合には、

対物レンズ２６の位置をＬＰ$_{i}$からＬＰ$_{i+1}$まで変位させるものとする。図２２に示すように、観察深さがｄ$_{i}$から観察深さｄ$_{i+1}$まで変位する際、補正環２８の回転位置を一定の位置（Ｃ＝Ｃ$_{CST}$）に固定する場合には、対物レンズ２６の位置をＬ’$_{i}$からＬ’$_{i+1}$まで変位させるものとする。補正環２８の回転位置が変位する場合の対物レンズ２６の変位量（Ｌ$_{i+1}$－Ｌ$_{i}$）は、補正環２８の回転位置が一定である場合の対物レンズ２６の変位量（Ｌ’$_{i+1}$－Ｌ’$_{i}$）とは異なる。

[0111] 予め、光学シミュレーションを行うことにより、複数の屈折率について、ＣＰ－ｄ変化比ｍ$_{CP}$、ＬＰ－ｄ変化比ｍ$_{LP}$、およびＬ’－ｄ変化比ｍ$_{L'}$を求めることで、設定用データテーブルＤＢ３を作成することが可能である。具体的は、光学シミュレーションを行うことによりＣＰ－ｄ変化比ｍ$_{CP}$およびＬＰ－ｄ変化比ｍ$_{LP}$を求める。このときまず、或る試料ＴＰ中の観察深さｄにおいて、補正環２８の回転位置Ｃと対物レンズ２６の位置Ｌとの２次元のパラメータ空間内で、結像状態が最良となる補正環２８の回転位置および対物レンズ２６の位置を求める。具体的には、試料屈折率、浸液屈折率、カバーガラスの厚み、試料ＴＰ中の観察深さｄなどを設定し、結像状態が最良となる補正環２８の回転位置（最適補正環位置ＣＰ）および対物レンズ２６の位置（最適対物レンズ位置ＬＰ）を求める。結像状態を表す指標として、ＰＳＦ（点像分布関数）のストレール比を用いることができる。

[0112] 次に、複数の観察深さｄについて補正環２８の最適補正環位置ＣＰを求めることで、観察深さｄに対する補正環２８の最適補正環位置ＣＰのプロットを作成する。そして、作成したプロットを例えば直線でフィッティングし、ＣＰ－ｄ変化比ｍ$_{CP}$を求める。また、複数の観察深さｄについて対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰを求めることで、観察深さｄに対する対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰのプロットを作成する。そして、作成したプロットを例えば直線でフィッティングし、ＬＰ－ｄ変化比ｍ$_{LP}$を求める。

[0113] 続いて、光学シミュレーションを行うことによりＬ’－ｄ変化比ｍ$_{L'}$を求

める。このときまず、試料屈折率、浸液屈折率、カバーガラスの厚み、試料ＴＰ中の観察深さｄなどを設定し、補正環２８を任意の固定回転位置C_{CST}で固定し、対物レンズ２６の位置Ｌについての１次元のパラメータで、結像状態が最良となる対物レンズ２６の位置Ｌ’を求める。結像状態を表す指標として、ＰＳＦ（点像分布関数）のストレール比を用いることができる。次に、複数の観察深さｄについて対物レンズ２６の位置Ｌ’を求めることで、観察深さｄに対する対物レンズ２６の位置Ｌ’のプロットを作成する。そして、作成したプロットを例えば直線でフィッティングし、Ｌ’－ｄ変化比$m_{L'}$を求める。補正環２８の任意の固定回転位置C_{CST}には、例えば、ユーザーが最も高い頻度で観察を行うと予想される試料ＴＰ中の観察深さｄにおける、補正環２８の最適な回転位置が用いられてもよい。複数の試料屈折率を設定してＣＰ－ｄ変化比m_{CP}、ＬＰ－ｄ変化比m_{LP}、Ｌ’－ｄ変化比$m_{L'}$を求めることで、試料屈折率毎にＣＰ－ｄ変化比m_{CP}、ＬＰ－ｄ変化比m_{LP}、Ｌ’－ｄ変化比$m_{L'}$を求める。

[0114] 次に、第３実施形態に係る画像取得方法について説明する。第３実施形態に係る画像取得方法では、まず、或る一つの観察深さｄの位置に対物レンズ２６の焦点位置ＰＦがあるときの、対物レンズ２６の位置Ｌを求める。次に、当該観察深さｄにおける補正環２８の最適補正環位置ＣＰおよび対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰを実験的に求める。そして、他の観察深さｄにおける補正環２８の最適補正環位置ＣＰおよび対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰを、実験的にではなく、ユーザーの操作により入力される試料ＴＰの屈折率に基づいて求める。

[0115] 図１８は、第３実施形態に係る画像取得方法を示すフローチャートである。なお、顕微鏡制御部３６１は、例えばコンピュータシステムを含む。顕微鏡制御部３６１は、記憶部６８に記憶されている制御プログラムを読み出し、この制御プログラムに従って各種の処理を実行する。ステップＳＴ３１０において、設定用データテーブルＤＢ３を作成して記憶部６８に記憶させる。前述したように、予め、光学シミュレーションを行うことにより、複数の

屈折率について、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}、ＬＰ－ｄ変化比m_{LP}、およびＬ’－ｄ変化比$m_{L'}$を求めることで、設定用データテーブルＤＢ３を作成する。

[0116] ステップＳＴ３２０において、補正環２８の最適補正環位置ＣＰおよび対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰを実験的に求める観察深さd_Sおよび観察領域ＲＯＩの位置を設定する。ステップＳＴ３２０では、第１実施形態におけるステップＳＴ１２０と同様の処理が行われる。

[0117] ステップＳＴ３３０において、顕微鏡制御部３６１は、ステップＳＴ３２０で設定した観察深さd_Sにおける、補正環２８の最適補正環位置CP_Sと、対物レンズ２６の最適対物レンズ位置LP_Sを求める。ステップＳＴ３３０では、第１実施形態におけるステップＳＴ１３０の場合と同様の操作により、補正環２８の最適補正環位置CP_Sおよび対物レンズ２６の最適対物レンズ位置LP_Sを求める補正環位置決定処理が開始される。

[0118] ここで、補正環位置決定処理の詳細について説明する。図２３は、第３実施形態に係る補正環位置決定処理の詳細を示すフローチャートである。ステップＳＴ３３１において、顕微鏡制御部３６１は、観察深さd_Sを設定したときの補正環２８の回転位置および対物レンズ２６の位置L_Sについての試料ＴＰの画像を取得する。このステップＳＴ３３１で取得する試料ＴＰの画像を、試料ＴＰの基準画像とする。以降、観察深さd_Sを設定したときの補正環２８の回転位置を基準補正環位置ＣＡと称し、対物レンズ２６の位置L_Sを基準対物レンズ位置ＬＡと称することがある。顕微鏡制御部３６１は、光源ユニット１６からレーザー光（励起光）射出させる。また、顕微鏡制御部３６１の主制御部６２は、検出部４１へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した検出部４１は、試料ＴＰからの光（蛍光）の検出信号を顕微鏡制御部３６１の画像生成部６３へ出力する。画像生成部６３は、検出部４１から入力された光の検出信号（前述の１画素分のデータ）をスキャナ２５による２次元的な走査と同期して並べる処理を行うことで、試料ＴＰの基準画像を生成する。画像生成部６３は、生成した試料ＴＰの基準画像データを記憶部６８へ出力する。

[0119] ステップＳＴ３３２において、顕微鏡制御部３６１は、補正環２８を初期状態の回転位置へ回転移動させ、対物レンズ２６を初期状態の位置へｚ方向に移動させる。以降、初期状態の補正環２８の回転位置を初期状態の補正環位置C_{A0}と称し、初期状態の対物レンズ２６の位置を初期状態の対物レンズ位置L_{A0}と称することがある。その後、顕微鏡制御部３６１は、補正環２８の回転位置を初期状態の補正環位置C_{A0}から所定の回転移動量ずつ変化させ、対物レンズ２６の位置を初期状態の対物レンズ位置L_{A0}から所定の移動量ずつ変化させた、試料ＴＰの複数種類の評価用画像を取得する。なお、各種類の評価用画像を、１回取得してもよく、複数回取得してもよい。このとき、顕微鏡制御部３６１の主制御部６２は、補正環駆動部５５へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した補正環駆動部５５は、補正環２８を初期状態の補正環位置C_{A0}から所定の回転移動量ずつ回転移動させる。主制御部６２は、対物レンズ駆動部５６へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した対物レンズ駆動部５６は、対物レンズ２６を初期状態の対物レンズ位置L_{A0}から所定の移動量ずつｚ方向に移動させる。それぞれの補正環２８の回転位置および対物レンズ２６の位置において、顕微鏡制御部３６１は、光源ユニット１６からレーザー光（励起光）射出させる。また、顕微鏡制御部３６１の主制御部６２は、検出部４１へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した検出部４１は、試料ＴＰからの光（蛍光）の検出信号を顕微鏡制御部３６１の画像生成部６３へ出力する。画像生成部６３は、検出部４１から入力された光の検出信号（前述の１画素分のデータ）をスキャナ２５による２次元的な走査と同期して並べる処理を行うことで、試料ＴＰの評価用画像を生成する。画像生成部６３は、生成した試料ＴＰの評価用画像データを評価値算出部６４へ出力する。

[0120] ステップＳＴ３３３において、顕微鏡制御部３６１の評価値算出部６４は、記憶部６８に記憶された試料ＴＰの基準画像データと、ステップＳＴ３３２で生成した試料ＴＰの複数種類の評価用画像データとの相関値をそれぞれ求める。評価値算出部６４は、補正環２８の回転位置が同じで対物レンズ２

６の位置が異なる試料ＴＰの評価用画像のうち、相関値が最大となる対物レンズ２６の位置での評価用画像を、補正環２８の各回転位置での評価用画像として選択する。評価値算出部６４は、補正環２８の各回転位置について、選択した試料ＴＰの評価用画像データに基づいて、評価値ｖを求める。評価値算出部６４は、求めた評価値ｖのデータおよび、このときの補正環２８の回転位置Ｃのデータを記憶部６８に記憶させて保持する。評価値ｖとして、第１実施形態と同様のものを用いることができる。

[0121] 図２４は、補正環２８の回転位置Ｃを変えて求まる評価値ｖの一例を示すグラフである。図２４に示すように、補正環２８の回転位置Ｃを変える規定回数を初期状態の補正環位置C_{A0}から４回とした場合、まず、顕微鏡制御部３６１は、試料ＴＰの基準画像ＴＩ（ＣＡ）を取得する。これに加え、顕微鏡制御部３６１は、補正環２８を基準補正環位置ＣＡから所定の初期回転量だけ回転移動させた初期状態の補正環位置C_{A0}において、対物レンズ２６の位置を初期状態の対物レンズ位置L_{A0}および４つの位置L_{A1}～L_{A4}に変位させた試料ＴＰの評価用画像を取得する。評価値算出部６４は、これらの評価用画像のうち、図２４の左側から１番目の△印で示した、相関値が最大となる初期状態の対物レンズ位置L_{A0}での評価用画像を、初期状態の補正環位置C_{A0}での評価用画像ＴＩ（C_{A0}）として選択する。

[0122] 顕微鏡制御部３６１は、補正環２８を初期状態の補正環位置C_{A0}から第１の回転量だけ回転移動させた回転位置C_{A1}において、対物レンズ２６の位置を初期状態の対物レンズ位置L_{A0}および４つの位置L_{A1}～L_{A4}に変位させた試料ＴＰの評価用画像を取得する。評価値算出部６４は、これらの評価用画像のうち、図２４の左側から２番目の△印で示した、相関値が最大となる対物レンズ２６の位置L_{A1}での評価用画像を、補正環２８の回転位置C_{A1}での評価用画像ＴＩ（C_{A1}）として選択する。顕微鏡制御部３６１は、補正環２８を初期状態の補正環位置C_{A0}から第２の回転量だけ回転移動させた回転位置C_{A2}において、対物レンズ２６の位置を初期状態の対物レンズ位置L_{A0}および４つの位置L_{A1}～L_{A4}に変位させた試料ＴＰの評価用画像を取得する。

評価値算出部６４は、これらの評価用画像のうち、図２４の左側から３番目の△印で示した、相関値が最大となる対物レンズ２６の位置L_{A2}での評価用画像を、補正環２８の回転位置C_{A2}での評価用画像ＴＩ（C_{A2}）として選択する。

[0123] 顕微鏡制御部３６１は、補正環２８を初期状態の補正環位置C_{A0}から第３の回転量だけ回転移動させた回転位置C_{A3}において、対物レンズ２６の位置を初期状態の対物レンズ位置L_{A0}および４つの位置L_{A1}～L_{A4}に変位させた試料ＴＰの評価用画像を取得する。評価値算出部６４は、これらの評価用画像のうち、図２４の左側から４番目の△印で示した、相関値が最大となる対物レンズ２６の位置L_{A3}での評価用画像を、補正環２８の回転位置C_{A3}での評価用画像ＴＩ（C_{A3}）として選択する。顕微鏡制御部３６１は、補正環２８を初期状態の補正環位置C_{A0}から第４の回転量だけ回転移動させた回転位置C_{A4}において、対物レンズ２６の位置を初期状態の対物レンズ位置L_{A0}および４つの位置L_{A1}～L_{A4}に変位させた試料ＴＰの評価用画像を取得する。評価値算出部６４は、これらの評価用画像のうち、図２４の左側から５番目の△印で示した、相関値が最大となる対物レンズ２６の位置L_{A4}での評価用画像を、補正環２８の回転位置C_{A4}での評価用画像ＴＩ（C_{A4}）として選択する。評価値算出部６４は、選択した評価用画像データに基づいて、初期状態の補正環位置C_{A0}および、初期状態の補正環位置C_{A0}から１～４回だけ移動させた回転位置C_{A1}～C_{A4}での評価値ｖを求めることができる。

[0124] ステップＳＴ３３４において、顕微鏡制御部３６１の補正環位置決定部６５は、記憶部６８に記憶された補正環２８の複数の回転位置での評価値ｖに基づいて、補正環２８の最適補正環位置CP_Sを求める。具体的には、補正環位置決定部６５は、補正環２８の複数の回転位置に対する評価値ｖのプロットを作成する。そして、補正環位置決定部６５は、図２４に示すように、このプロットに対して補間または関数近似を行うことで、評価値ｖが最大となる補正環２８の最適補正環位置CP_Sを求める。補正環位置決定部６５は、求めた補正環２８の最適補正環位置CP_Sのデータを、主制御部６２へ出力する

。補間を行う方法として、例えば、補正環２８の複数の回転位置C_{A0}～C_{A4}に対する評価値ｖのプロットに対しラグランジュ補間やスプライン補間をする方法がある。関数近似を行う方法として、例えば、最小二乗法により、補正環２８の複数の回転位置C_{A0}～C_{A4}に対する評価値ｖのプロットを二次曲線やガウス関数にフィッティングする方法がある。

[0125] ステップＳＴ３３５において、顕微鏡制御部３６１の主制御部６２は、補正環駆動部５５へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した補正環駆動部５５は、補正環２８をステップＳＴ３３４で求めた最適補正環位置CP_Sへ回転移動させる。

[0126] ステップＳＴ３３６において、顕微鏡制御部３６１は、補正環２８が最適補正環位置CP_Sに回転移動した状態で、対物レンズ２６の位置Ｌを変化させた、試料ＴＰの評価用ｚスタック画像を取得する。このとき、顕微鏡制御部３６１の主制御部６２は、対物レンズ駆動部５６へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した対物レンズ駆動部５６は、対物レンズ２６をｚ方向に移動させる。それぞれの対物レンズ２６の位置において、顕微鏡制御部３６１は、光源ユニット１６からレーザー光（励起光）射出させる。また、顕微鏡制御部３６１の主制御部６２は、検出部４１へ制御信号を送信し、この制御信号を受信した検出部４１は、試料ＴＰからの光（蛍光）の検出信号を顕微鏡制御部３６１の画像生成部６３へ出力する。画像生成部６３は、検出部４１から入力された光の検出信号（前述の１画素分のデータ）をスキャナ２５による２次元的な走査と同期して並べる処理を行うことで、試料ＴＰの評価用ｚスタック画像を生成する。画像生成部６３は、生成した試料ＴＰの評価用ｚスタック画像データをｚ位置算出部３６６へ出力する。

[0127] ステップＳＴ３３７において、顕微鏡制御部３６１のｚ位置算出部３６６は、記憶部６８に記憶された試料ＴＰの基準画像データと、ステップＳＴ３３６で生成した試料ＴＰの評価用ｚスタック画像データとの相関値をそれぞれ求める。ｚ位置算出部３６６は、試料ＴＰの評価用ｚスタック画像のうち、相関値が最大となる画像が得られる対物レンズ２６の位置を、最適対物レ

ンズ位置ＬＰ$_S$として求める。なお、ｚ位置算出部３６６は、対物レンズ２６の複数の位置に対する相関値のプロットを作成してもよい。そして、ｚ位置算出部３６６は、このプロットに対して補間または関数近似を行うことで、相関値が最大となる対物レンズ２６の位置を、最適対物レンズ位置ＬＰ$_S$として求めるようにしてもよい。

[0128] ｚ位置算出部３６６は、求めた対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰ$_S$のデータを、主制御部６２へ出力する。主制御部６２は、補正環位置決定部６５から入力された最適補正環位置ＣＰ$_S$のデータおよび、ｚ位置算出部３６６から入力された最適対物レンズ位置ＬＰ$_S$のデータを、記憶部６８に記憶させて保持する。そして、次の処理（図１８のステップＳＴ３４０）に移行する。以上の処理により、補正環２８を回転させると、対物レンズ２６の焦点位置ＰＦが変化する場合でも、ステップＳＴ３２０で設定した観察深さｄ$_S$において、結像状態が最良となる補正環２８の最適補正環位置ＣＰおよび対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰを求めることができる。

[0129] ステップＳＴ３４０において、試料ＴＰの屈折率、画像取得パラメータ、画像取得範囲の入力を行う。ステップＳＴ３４０では、第１実施形態におけるステップＳＴ１４０と同様の処理が行われる。

[0130] ステップＳＴ３５０において、顕微鏡制御部３６１のリスト作成部６７は、記憶部６８に記憶された設定用データテーブルＤＢ３（図２０を参照）と、ステップＳＴ３４０で入力された屈折率ｎ$_{SA}$に基づいて、屈折率ｎ$_{SA}$に対応する、ＣＰ－ｄ変化比ｍ$_{CP}$、ＬＰ－ｄ変化比ｍ$_{LP}$、およびＬ’－ｄ変化比ｍ$_{L'}$を算出して求める。なお、屈折率ｎ$_{SA}$と合致する屈折率の値が、設定用データテーブルＤＢ３にない場合、設定用データテーブルＤＢ３における屈折率ｎ$_{SA}$の近傍の屈折率の値に対して補間を行うことで、ＣＰ－ｄ変化比ｍ$_{CP}$、ＬＰ－ｄ変化比ｍ$_{LP}$、およびＬ’－ｄ変化比ｍ$_{L'}$を求めるようにしてもよい。

[0131] ステップＳＴ３６０において、顕微鏡制御部３６１のリスト作成部６７は、ステップＳＴ３２０で設定した対物レンズ２６の位置Ｌ$_S$と、ステップＳＴ

３３０で求めた補正環２８の最適補正環位置ＣＰ$_S$および対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰ$_S$と、ステップＳＴ３４０で入力された画像取得範囲（試料ＴＰのｚスタック画像の取得枚数Ｎ、対物レンズ２６の上端位置Ｌ$_{TP}$、対物レンズ２６の下端位置Ｌ$_{BM}$）と、ステップＳＴ３５０で求めた、ＣＰ－ｄ変化比ｍ$_{CP}$、ＬＰ－ｄ変化比ｍ$_{LP}$、およびＬ’－ｄ変化比ｍ$_{L'}$に基づいて、共焦点顕微鏡１０の設定に関するパラメータリストを作成する。第３実施形態に係るパラメータリストＬＳ３は、図２５に示すように、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する際の、相対観察深さｄｒと、補正環２８の最適補正環位置ＣＰと、対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰとの関係を示すリストである。リスト作成部６７は、パラメータリストＬＳ３を作成すると、作成したパラメータリストＬＳ３のデータを、主制御部６２へ出力する。

[0132] パラメータリストＬＳ３を作成するには、まず、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する際の、相対観察深さの下端深さｄｒ$_{BM}$および相対観察深さの上端深さｄｒ$_{TP}$を求める。相対観察深さの下端深さｄｒ$_{BM}$は、下記の式（７）を用いて求められる。式（７）では、ステップＳＴ３４０で設定した対物レンズ２６の下端位置Ｌ$_{BM}$を相対観察深さの下端深さｄｒ$_{BM}$へ変換するため、対物レンズ２６の下端位置Ｌ$_{BM}$から基準となる相対観察深さ（ｄｒ＝０）での対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰ$_S$を引いた上で、補正環２８の回転位置が一定の場合のＬ’－ｄ変化比ｍ$_{L'}$で割る。Ｌ’－ｄ変化比ｍ$_{L'}$を用いる理由は、対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰ$_S$および対物レンズ２６の下端位置Ｌ$_{BM}$がそれぞれ、ステップＳＴ３３０およびステップＳＴ３４０において同じ最適補正環位置ＣＰ$_S$で設定されたためである。

[0133] [数7]

$$dr_{BM} = \frac{1}{m_{Lr}} \times (L_{BM} - LP_S) \quad \cdots (7)$$

[0134] 相対観察深さの上端深さｄｒ$_{TP}$は、上記の式（７）と同様に、下記の式（８）を用いて求められる。

[0135]

[数8]

$$dr_{TP} = \frac{1}{m_{L'}} \times (L_{TP} - LP_S) \quad \cdots (8)$$

[0136] 次に、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する際に変化させる相対観察深さdr_iを求める。ここで、ｉは、１～Ｎ（試料ＴＰのｚスタック画像の取得枚数Ｎ）までの整数である。相対観察深さdr_i（ｉ番目に取得される画像の相対観察深さ位置）は、下記の式（９）を用いて求められる。式（９）では、ｉ番目の相対観察深さを求めるため、相対観察深さの下端深さdr_{BM}に、ｚスタック画像の取得ステップ幅と画像取得インデックス（ｉ－１）とを掛けたものを加える。

[0137] [数9]

$$dr_i = dr_{BM} + \frac{dr_{TP} - dr_{BM}}{N - 1} \times (i - 1) \quad \cdots (9)$$

[0138] 次に、各相対観察深さdr_iに対応する補正環２８の最適補正環位置CP_iおよび対物レンズ２６の最適対物レンズ位置LP_iを求める。補正環２８の最適補正環位置CP_iは、下記の式（１０）を用いて求められる。式（１０）を用いる理由は、相対観察深さdr_iと、その深さでの補正環２８の最適補正環位置CP_iとの関係が、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}と、基準となる相対観察深さ（ｄｒ＝０）での補正環２８の最適補正環位置CP_Sで決まるためである。

[0139] [数10]

$$CP_i = m_{CP} \times dr_i + CP_S \quad \cdots (10)$$

[0140] 対物レンズ２６の最適対物レンズ位置LP_iは、下記の式（１１）を用いて求められる。式（１１）を用いる理由は、相対観察深さdr_iと、その深さでの対物レンズ２６の最適対物レンズ位置LP_iとの関係が、ＬＰ－ｄ変化比m_{LP}と、基準となる相対観察深さ（ｄｒ＝０）での対物レンズ２６の最適対物レンズ位置LP_Sで決まるためである。

[0141]

[数11]

$$LP_i = m_{LP} \times dr_i + LP_S \quad \cdots (11)$$

[0142] そして、上記の式（７）～（１１）を用いて求めた、相対観察深さｄｒ$_i$と、補正環２８の最適補正環位置ＣＰ$_i$と、対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰ$_i$との関係を示すリストを作成する。これにより、図２５に示すようなパラメータリストＬＳ３を作成することができる。

[0143] ステップＳＴ３７０において、顕微鏡制御部３６１は、ステップＳＴ３６０で作成したパラメータリストＬＳ３に従って、補正環２８の最適補正環位置ＣＰと、対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰとを変化させることにより、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する。

[0144] ステップＳＴ３８０において、顕微鏡制御部３６１は、ステップＳＴ３７０で取得した試料ＴＰのｚスタック画像データを情報処理装置９０の入出力制御部９１へ出力する。入出力制御部９１は、顕微鏡制御部３６１から入力されたｚスタック画像データに基づいて、試料ＴＰの３次元的な画像を生成し、表示部９３に表示させる。以降、表示部９３に表示される試料ＴＰの３次元的な画像を、単に３次元画像Ｔ$_{3D}$１～Ｔ$_{3D}$３（図２６を参照）と称することがある。図２６に示すように、入出力制御部９１は、３種類の３次元画像Ｔ$_{3D}$１～Ｔ$_{3D}$３のうちいずれか一つに選択的に切り替えて、表示部９３に表示させることが可能である。

[0145] 第１の３次元画像Ｔ$_{3D}$１は、ｚ方向の座標軸を相対観察深さｄｒ$_i$に対応する座標軸とした試料ＴＰの３次元的な画像である。ユーザーが、図２６に示すＧＵＩ（画像選択画面）を利用して、表示ｚスケールとして「観察深さ」を選択する操作を入力部９２に対して行うと、入力部９２は、この操作に対応する入力データを、情報処理装置９０の入出力制御部９１へ出力する。そして、入出力制御部９１は、第１の３次元画像Ｔ$_{3D}$１を表示部９３に表示させる。

[0146] 第２の３次元画像Ｔ$_{3D}$２は、ｚ方向の座標軸を対物レンズ２６の最適対物

レンズ位置ＬＰ$_i$に対応する座標軸とした試料ＴＰの３次元的な画像である。ユーザーが、図２６に示すＧＵＩを利用して、表示ｚスケールとして「対物レンズの位置」を選択する操作を入力部９２に対して行うと、入力部９２は、この操作に対応する入力データを、情報処理装置９０の入出力制御部９１へ出力する。そして、入出力制御部９１は、第２の３次元画像Ｔ$_{3D}$２を表示部９３に表示させる。

[0147] 第３の３次元画像Ｔ$_{3D}$３は、ｚ方向の座標軸を対物レンズ２６の位置Ｌ’$_i$に対応する座標軸とした試料ＴＰの３次元的な画像である。ユーザーが、図２６に示すＧＵＩを利用して、表示ｚスケールとして「補正環固定時の対物レンズの位置」を選択する操作を入力部９２に対して行うと、入力部９２は、この操作に対応する入力データを、情報処理装置９０の入出力制御部９１へ出力する。そして、入出力制御部９１は、第３の３次元画像Ｔ$_{3D}$３を表示部９３に表示させる。対物レンズ２６の位置Ｌ’$_i$は、例えば、下記の式（１２）を用いて求められる。式（１２）では、相対観察深さｄｒ$_i$を、補正環２８の回転位置が一定の場合の対物レンズ２６の位置Ｌ’$_i$へ変換するため、補正環２８の回転位置が一定の場合のＬ’－ｄ変化比ｍ$_{L'}$と相対観察深さｄｒ$_i$とを掛けた上で、基準となる相対観察深さ（ｄｒ＝０）での対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰ$_S$を加える。

[0148] [数12]

$$L'_i = m_{L'} \times dr_i + LP_S \quad \cdots (12)$$

[0149] 第３実施形態によれば、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する際、ｚ方向（対物レンズ２６の光軸方向）の位置が異なる試料ＴＰの断面の画像を取得する毎に、パラメータリストＬＳ３に従って、補正環２８の最適補正環位置ＣＰと、補正環２８の回転に伴う焦点位置ＰＦの変位を補正した、対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰとを変化させることができる。そのため、ｚ方向（対物レンズ２６の光軸方向）の位置が異なる試料ＴＰの断面の画像を取得する毎に、最適な収差補正を行うことができる。

[0150] また、リスト作成部６７は、補正環位置決定部６５等によって或る一つの観察深さd_Sで実験的に求めた補正環２８の最適補正環位置CP_Sおよび対物レンズ２６の最適対物レンズ位置LP_Sと、入力部９２から入力された試料ＴＰの屈折率n_{SA}と、設定用データテーブルＤＢ３とに基づいて、パラメータリストＬＳ３を構成する、補正環２８の最適補正環位置CP_iと、補正環２８の回転に伴う焦点位置ＰＦの変位を補正した、対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰとを求める。これにより、補正環２８の最適補正環位置CP_iや対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰの全てを実験的に求める必要がなく、パラメータリストＬＳ３を作成する手間を低減させることができる。

[0151] なお例えば、実際に試料ＴＰのｚスタック画像を取得するときのカバーガラスＣＧの厚みは、設定用データテーブルＤＢ３を作成する際に光学シミュレーションで設定したカバーガラスＣＧの厚みと異なっている場合がある。第３実施形態では、光学シミュレーションを行うことにより作成した設定用データテーブルＤＢ３と、或る一つの観察深さd_Sで実験的に求めた補正環２８の最適補正環位置CP_Sとを用いることにより、他の観察深さ位置での補正環２８の最適補正環位置CP_iを算出するので、補正環２８の最適補正環位置CP_iを、光学シミュレーションだけを用いて算出する場合よりも精度よく算出することができる。

[0152] 上述の第３実施形態において、試料ＴＰのｚスタック画像を取得した後、異なる観察領域で同様の試料ＴＰのｚスタック画像を取得することが可能である。この場合、例えば、ステップＳＴ３１０～ＳＴ３３０の処理を省略し、ユーザーが観察領域を変える設定を行った後、ステップＳＴ３４０の処理から開始するようにしてもよい。また、第１実施形態の変形例で述べた画像取得方法と同様にして、試料ＴＰのｚスタック画像を取得した後、異なる観察領域で同様の試料ＴＰのｚスタック画像を取得することで、ｘｙ方向の位置が異なる複数の観察領域での試料ＴＰのｚスタック画像を並べるタイリングを行うことが可能である。

[0153] 上述の第３実施形態において、情報処理装置９０の入出力制御部９１は、

３種類の３次元画像T_{3D}１～T_{3D}３のうちいずれか一つに選択的に切り替えて、表示部９３に表示させることが可能であるが、これに限られるものではない。例えば、入出力制御部９１は、第３の３次元画像T_{3D}３を用いずに、２種類の３次元画像T_{3D}１～T_{3D}２のうちいずれか一つに選択的に切り替えて、表示部９３に表示させるようにしてもよい。

[0154] 上述の第３実施形態に係る補正環位置決定処理において、顕微鏡制御部３６１の評価値算出部６４は、補正環２８の回転位置が同じで対物レンズ２６の位置が異なる試料ＴＰの評価用画像のうち、相関値が最大となる対物レンズ２６の位置での評価用画像を、補正環２８の各回転位置での評価用画像として選択する。そして、評価値算出部６４は、補正環２８の各回転位置について、選択した試料ＴＰの評価用画像データに基づいて、評価値ｖを求める。第２実施形態に係る補正環位置決定処理においても、上述の第３実施形態と同様にして、補正環２８の複数の回転位置での評価用画像を選択し、選択した評価用画像データに基づいて、評価値ｖを求めることが可能である。

[0155] ［第４実施形態］

第４実施形態について説明する。第４実施形態に係る顕微鏡装置は、第３実施形態に係る顕微鏡装置と同様の構成であり、上述の第１実施形態および第３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。

[0156] 第４実施形態に係る画像取得方法について説明する。図２７は、第４実施形態に係る画像取得方法を示すフローチャートである。ステップＳＴ４０１において、設定用データテーブルＤＢ３を作成して記憶部６８に記憶させる。ステップＳＴ４０１では、第３実施形態におけるステップＳＴ３１０と同様の処理が行われる。

[0157] ステップＳＴ４０２において、補正環２８の最適補正環位置ＣＰおよび対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰを実験的に求める観察深さd_Sおよび観察領域ＲＯＩの位置を設定する。ステップＳＴ４０２では、第３実施形態におけるステップＳＴ３２０、すなわち、第１実施形態におけるステップＳ

Ｔ１２０と同様の処理が行われる。

[0158] ステップＳＴ４０３において、顕微鏡制御部３６１は、ステップＳＴ４０２で設定した観察深さd_Sにおける、補正環２８の最適補正環位置CP_Sと、対物レンズ２６の最適対物レンズ位置LP_Sを求める。ステップＳＴ４０３では、第３実施形態におけるステップＳＴ３３０の場合と同様の補正環位置決定処理が行われる。

[0159] ステップＳＴ４０４において、試料ＴＰの屈折率の探索範囲、画像取得パラメータ、画像取得範囲の入力を行う。画像取得パラメータおよび画像取得範囲については、第１実施形態におけるステップＳＴ１４０の場合と同様の入力操作が行われる。試料ＴＰの屈折率の探索範囲についても、図２８に示すように、ユーザーは、表示部９３に表示されるＧＵＩ（設定入力画面）を利用して、試料ＴＰの屈折率の探索範囲を入力する操作を入力部９２に対して行う。図２８では例えば、「試料屈折率探索範囲」として、最小値「１．３４」および最大値「１．４０」が直接入力されており、この場合、探索を行う屈折率の最小値は１．３４となり、探索を行う屈折率の最大値は１．４０となる。ユーザーが、試料ＴＰの屈折率の探索範囲を入力する操作や、画像取得パラメータを入力する操作、画像取得範囲を入力する操作を入力部９２に対して行うと、入力部９２は、これらの操作に対応する入力データを、情報処理装置９０の入出力制御部９１を介して共焦点顕微鏡１０の顕微鏡制御部３６１へ出力する。

[0160] ステップＳＴ４０５において、顕微鏡制御部３６１の主制御部６２は、ステップＳＴ４０４で入力された試料ＴＰの屈折率の探索範囲の中から、探索を行う屈折率の値を設定する。探索を行う最初の屈折率の値を、探索範囲における最小の屈折率の値に設定し、探索を行う最後の屈折率の値を、探索範囲における最大の屈折率の値に設定してもよい。探索を行う最初の屈折率の値を、探索範囲における最大の屈折率の値に設定し、探索を行う最後の屈折率の値を、探索範囲における最小の屈折率の値に設定してもよい。

[0161] ステップＳＴ４０６において、顕微鏡制御部３６１のリスト作成部６７は

、第３実施形態と同様に、記憶部６８に記憶された設定用データテーブルＤＢ３と、ステップＳＴ４０５で設定した屈折率に基づいて、探索を行う屈折率に対応する、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}、ＬＰ－ｄ変化比m_{LP}、およびＬ’－ｄ変化比$m_{L'}$を算出して求める。

[0162] ステップＳＴ４０７において、顕微鏡制御部３６１のリスト作成部６７は、ステップＳＴ４０２で設定した対物レンズ２６の位置L_Sと、ステップＳＴ４０３で求めた補正環２８の最適補正環位置CP_Sおよび対物レンズ２６の最適対物レンズ位置LP_Sと、ステップＳＴ４０４で入力された画像取得範囲（試料ＴＰのｚスタック画像の取得枚数Ｎ、対物レンズ２６の上端位置L_{TP}、対物レンズ２６の下端位置L_{BM}）と、ステップＳＴ４０６で求めた、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}、ＬＰ－ｄ変化比m_{LP}、およびＬ’－ｄ変化比$m_{L'}$に基づいて、屈折率探索用のパラメータリストを作成する。屈折率探索用のパラメータリストは、第３実施形態と同様のパラメータリストである。リスト作成部６７は、屈折率探索用のパラメータリストを作成すると、作成した屈折率探索用のパラメータリストのデータを、主制御部６２へ出力する。

[0163] ステップＳＴ４０８において、顕微鏡制御部３６１の主制御部６２は、ステップＳＴ４０７で求めた相対観察深さの下端深さdr_{BM}および相対観察深さの上端深さdr_{TP}のうち、ステップＳＴ４０２で設定した観察深さd_S（相対観察深さｄｒ＝０）から遠い方を、屈折率探索用の観察深さとして設定する。この理由は、屈折率探索用の観察深さが基準となる相対観察深さ（ｄｒ＝０）から遠いほど、異なる試料屈折率を設定して取得した試料ＴＰの画像間での差異が明確に表れるからである。例えば、実際の試料屈折率が１．３７であったとすると、観察深さｄと最適補正環位置ＣＰとの関係は、図２９の実線で示す直線のようになる。一方、試料屈折率を実際の試料屈折率である１．３７からずれた値に設定すると、観察深さｄと最適補正環位置ＣＰとの関係として、図２９の破線や一点鎖線で示す直線が設定される。相対観察深さの上端深さdr_{TP}が基準となる相対観察深さ（ｄｒ＝０）から最も遠いとき、実際の試料屈折率に対応する最適補正環位置と、実際の試料屈折率か

らずれた値に設定された試料屈折率に対応する最適補正環位置との差は、相対観察深さの上端深さｄｒ$_{TP}$において最大となる。そのため、設定屈折率を変えたときの画質の変化も相対観察深さの上端深さｄｒ$_{TP}$において最大となるので、ユーザーは、最も画質が良いと感じる試料ＴＰの画像をより正確に選択することができる。

[0164] ステップＳＴ４０９において、顕微鏡制御部３６１は、ステップＳＴ４０７で作成した屈折率探索用のパラメータリストに従って、ステップＳＴ４０８で設定した屈折率探索用の観察深さにおける試料ＴＰの画像を取得する。

[0165] ステップＳＴ４１０において、顕微鏡制御部３６１の主制御部６２は、ステップＳＴ４０５で設定される探索範囲内の全ての屈折率について、試料ＴＰの画像を取得したか否かを判定する。主制御部６２が、探索範囲内の全ての屈折率について試料ＴＰの画像を取得していないと判定した場合（ステップＳＴ４１０：Ｎｏ）、ステップＳＴ４０５へ戻る。そして、ステップＳＴ４０５からステップＳＴ４１０までの処理を繰り返す。以上の処理により、探索範囲内の複数の屈折率に対応する試料ＴＰの画像を取得することができる。

[0166] ステップＳＴ４１０において、主制御部６２が、探索範囲内の全ての屈折率について試料ＴＰの画像を取得したと判定した場合（ステップＳＴ４１０：Ｙｅｓ）、ステップＳＴ４１１へ進む。ステップＳＴ４１１において、ステップＳＴ４０９で取得した、探索範囲内の複数の屈折率に対応する試料ＴＰの画像に基づいて、ｚスタック画像を取得する試料ＴＰの屈折率が選択入力される。このとき、顕微鏡制御部３６１は、ステップＳＴ４０９で取得した試料ＴＰの画像データを情報処理装置９０の入出力制御部９１へ出力する。入出力制御部９１は、顕微鏡制御部３６１から入力された画像データに基づいて、探索範囲内の複数の屈折率に対応する試料ＴＰの画像を生成し、表示部９３に表示させる。図３０に示すように、ユーザーは、表示部９３に表示された複数の屈折率に対応する試料ＴＰの画像を比較する。ユーザーは、最も画質が良いと感じる試料ＴＰの画像が得られる屈折率を、試料ＴＰの屈

折率として選択する操作を入力部９２に対して行う。図３０では例えば、試料屈折率「１．３７」に対応する試料ＴＰの画像が選択入力されており、この場合、入力される試料ＴＰの屈折率n_{SA}は１．３７となる。ユーザーが屈折率を選択する操作を入力部９２に対して行うと、入力部９２は、この操作に対応する入力データを、入出力制御部９１を介して顕微鏡制御部３６１へ出力する。

[0167] ステップＳＴ４１２において、顕微鏡制御部３６１のリスト作成部６７は、第３実施形態におけるステップＳＴ３５０と同様に、記憶部６８に記憶された設定用データテーブルＤＢ３と、ステップＳＴ４１１で入力された屈折率n_{SA}に基づいて、屈折率n_{SA}に対応する、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}、ＬＰ－ｄ変化比m_{LP}、およびＬ’－ｄ変化比$m_{L'}$を算出して求める。

[0168] ステップＳＴ４１３において、顕微鏡制御部３６１のリスト作成部６７は、共焦点顕微鏡１０の設定に関するパラメータリストＬＳ３を作成する。ステップＳＴ４１３では、第３実施形態におけるステップＳＴ３６０と同様の処理が行われる。

[0169] ステップＳＴ４１４において、顕微鏡制御部３６１は、ステップＳＴ４１３で作成したパラメータリストＬＳ３に従って、補正環２８の最適補正環位置ＣＰと、対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰとを変化させることにより、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する。

[0170] ステップＳＴ４１５において、顕微鏡制御部３６１は、ステップＳＴ４１４で取得した試料ＴＰのｚスタック画像データを情報処理装置９０の入出力制御部９１へ出力する。入出力制御部９１は、顕微鏡制御部３６１から入力されたｚスタック画像データに基づいて、試料ＴＰの３次元的な画像を生成し、表示部９３に表示させる。ステップＳＴ４１５では、第３実施形態におけるステップＳＴ３８０と同様の処理が行われる。

[0171] 第４実施形態によれば、第３実施形態と同様の効果を得ることができる。また、第４実施形態によれば、試料ＴＰの屈折率が未知の場合であっても、複数の屈折率に対応する試料ＴＰの画像に基づいて、ｚスタック画像を取得

する試料ＴＰの屈折率を選択して入力することができる。

[0172] 上述の第４実施形態において、試料ＴＰのｚスタック画像を取得した後、異なる観察領域で同様の試料ＴＰのｚスタック画像を取得することが可能である。この場合、例えば、ステップＳＴ４０１～ＳＴ４０３の処理を省略し、ユーザーが観察領域を変える設定を行った後、ステップＳＴ４０４の処理から開始するようにしてもよい。また、第１実施形態の変形例で述べた画像取得方法と同様にして、試料ＴＰのｚスタック画像を取得した後、異なる観察領域で同様の試料ＴＰのｚスタック画像を取得することで、ｘｙ方向の位置が異なる複数の観察領域での試料ＴＰのｚスタック画像を並べるタイリングを行うことが可能である。

[0173] 上述の第４実施形態では、屈折率の探索を行う処理を、第３実施形態に組み込んだ例について説明したが、これに限られるものではなく、第１実施形態や第２実施形態に組み込むことが可能である。

[0174] ［第５実施形態］

第５実施形態について説明する。第５実施形態に係る顕微鏡装置は、第３実施形態に係る顕微鏡装置と同様の構成であり、上述の第１実施形態および第３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３１は、第５実施形態に係る顕微鏡制御部５６１と情報処理装置９０との間の電気的な接続を示すブロック図である。第５実施形態に係る顕微鏡制御部５６１は、第３実施形態に係る顕微鏡制御部３６１と同様に構成される。第５実施形態に係る顕微鏡制御部５６１は、第３実施形態に係る顕微鏡制御部３６１と比較して、屈折率決定部５６９をさらに有する。

[0175] 第５実施形態において、評価値算出部６４は、画像生成部６３から入力された屈折率探索用の試料ＴＰのｚスタック画像データに基づいて、屈折率探索用の評価値ｗを求めることが可能である。評価値算出部６４は、求めた評価値ｗのデータを記憶部６８へ出力する。

[0176] 屈折率決定部５６９は、記憶部６８に記憶された屈折率探索用の評価値ｗ

のデータに基づいて、試料ＴＰの屈折率を求める。屈折率決定部５６９は、求めた試料ＴＰの屈折率のデータを、主制御部６２を介して記憶部６８へ出力するとともに、情報処理装置９０の入出力制御部９１へ出力する。

[0177] 第５実施形態に係る画像取得方法について説明する。図３２は、第５実施形態に係る画像取得方法を示すフローチャートである。なお、顕微鏡制御部５６１は、例えばコンピュータシステムを含む。顕微鏡制御部５６１は、記憶部６８に記憶されている制御プログラムを読み出し、この制御プログラムに従って各種の処理を実行する。ステップＳＴ５０１において、設定用データテーブルＤＢ３を作成して記憶部６８に記憶させる。ステップＳＴ５０１では、第３実施形態におけるステップＳＴ３１０と同様の処理が行われる。

[0178] ステップＳＴ５０２において、補正環２８の最適補正環位置ＣＰおよび対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰを実験的に求める観察深さd_Sおよび観察領域ＲＯＩの位置を設定する。ステップＳＴ５０２では、第３実施形態におけるステップＳＴ３２０、すなわち、第１実施形態におけるステップＳＴ１２０と同様の処理が行われる。

[0179] ステップＳＴ５０３において、顕微鏡制御部５６１は、ステップＳＴ５０２で設定した観察深さd_Sにおける、補正環２８の最適補正環位置CP_Sと、対物レンズ２６の最適対物レンズ位置LP_Sを求める。ステップＳＴ５０３では、第３実施形態におけるステップＳＴ３３０の場合と同様の補正環位置決定処理が行われる。

[0180] ステップＳＴ５０４において、試料ＴＰの屈折率の探索範囲、画像取得パラメータ、画像取得範囲の入力を行う。ステップＳＴ５０４では、第４実施形態におけるステップＳＴ４０４と同様の処理が行われる。

[0181] ステップＳＴ５０５において、顕微鏡制御部５６１の主制御部６２は、ステップＳＴ５０４で入力された試料ＴＰの屈折率の探索範囲の中から、探索を行う屈折率の値を設定する。ステップＳＴ５０５では、第４実施形態におけるステップＳＴ４０５と同様の処理が行われる。

[0182] ステップＳＴ５０６において、顕微鏡制御部５６１のリスト作成部６７は

、探索を行う屈折率に対応する、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}、ＬＰ－ｄ変化比m_{LP}、およびＬ’－ｄ変化比$m_{L'}$を算出して求める。ステップＳＴ５０６では、第４実施形態におけるステップＳＴ４０６と同様の処理が行われる。

[0183] ステップＳＴ５０７において、顕微鏡制御部５６１のリスト作成部６７は、屈折率探索用のパラメータリストを作成する。ステップＳＴ５０７では、第４実施形態におけるステップＳＴ４０７と同様の処理が行われる。

[0184] ステップＳＴ５０８において、顕微鏡制御部５６１は、ステップＳＴ５０７で作成した屈折率探索用のパラメータリストに従って、補正環２８の最適補正環位置ＣＰと、対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰとを変化させることにより、屈折率探索用の試料ＴＰのｚスタック画像を取得する。

[0185] ステップＳＴ５０９において、顕微鏡制御部５６１の評価値算出部６４は、ステップＳＴ５０８で取得した屈折率探索用の試料ＴＰのｚスタック画像データに基づいて、屈折率探索用の評価値ｗを求める。評価値算出部６４は、求めた評価値ｗのデータおよび、このときの屈折率のデータを記憶部６８に記憶させて保持する。屈折率探索用の評価値ｗとして、例えば、ｚスタック画像の全体、ｚスタック画像のｘｚ断面、ｚスタック画像のｙｚ断面における、画像のコントラストや、画像の信号強度（輝度）の積算値等を用いることができる。また、図３３の破線で示すように、ｚスタック画像の信号強度が最大となる断面における、画像のコントラストや、画像の信号強度（輝度）の積算値等を用いることができる。

[0186] ステップＳＴ５１０において、顕微鏡制御部５６１の主制御部６２は、ステップＳＴ５０５で設定される探索範囲内の全ての屈折率について、試料ＴＰのｚスタック画像を取得したか否かを判定する。主制御部６２が、探索範囲内の全ての屈折率について試料ＴＰのｚスタック画像を取得していないと判定した場合（ステップＳＴ５１０：Ｎｏ）、ステップＳＴ５０５へ戻る。そして、ステップＳＴ５０５からステップＳＴ５１０までの処理を繰り返す。以上の処理により、探索範囲内の複数の屈折率に対応する試料ＴＰのｚスタック画像を取得することができる。

[0187] 図３３は、屈折率を変えて求まる評価値ｗの一例を示すグラフである。図３３に示すように、屈折率の探索範囲をn_{A1}～n_{A5}に設定した場合、屈折率n_{A1}に対応する試料ＴＰのｚスタック画像ＴＩ（n_{A1}）、屈折率n_{A2}に対応する試料ＴＰのｚスタック画像ＴＩ（n_{A2}）、屈折率n_{A3}に対応する試料ＴＰのｚスタック画像ＴＩ（n_{A3}）、屈折率n_{A4}に対応する試料ＴＰのｚスタック画像ＴＩ（n_{A4}）、および屈折率n_{A5}に対応する試料ＴＰのｚスタック画像ＴＩ（n_{A5}）を取得することができる。そして、各屈折率n_{A1}～n_{A5}に対応する試料ＴＰのｚスタック画像ＴＩ（n_{A1}）～ＴＩ（n_{A5}）に基づいて、各屈折率n_{A1}～n_{A5}についての評価値ｗを求めることができる。

[0188] ステップＳＴ５１０において、主制御部６２が、探索範囲内の全ての屈折率について試料ＴＰのｚスタック画像を取得したと判定した場合（ステップＳＴ５１０：Ｙｅｓ）、ステップＳＴ５１１へ進む。ステップＳＴ５１１において、顕微鏡制御部５６１の屈折率決定部５６９は、記憶部６８に記憶された複数の屈折率に対応する評価値ｗのデータに基づいて、試料ＴＰの屈折率n_{SA}を求める。具体的には、複数の屈折率に対応する評価値ｗのプロットを作成する。そして、このプロットに対して図３３に示すように補間または関数近似を行うことで、評価値ｗが最大となる屈折率n_{SA}を求める。補間を行う方法として、例えば、複数の屈折率n_{A1}～n_{A5}に対する評価値ｗのプロットに対しラグランジュ補間やスプライン補間をする方法がある。関数近似を行う方法として、例えば、最小二乗法により、複数の屈折率n_{A1}～n_{A5}に対する評価値ｗのプロットを二次曲線やガウス関数にフィッティングする方法がある。

[0189] ステップＳＴ５１２において、顕微鏡制御部５６１の屈折率決定部５６９は、求めた試料ＴＰの屈折率n_{SA}のデータを、主制御部６２を介して記憶部６８へ出力するとともに、情報処理装置９０の入出力制御部９１へ出力する。入出力制御部９１は、顕微鏡制御部５６１（屈折率決定部５６９）から入力された試料ＴＰの屈折率n_{SA}を表示部９３に表示させる。

[0190] ステップＳＴ５１３において、顕微鏡制御部５６１のリスト作成部６７は

、第３実施形態におけるステップＳＴ３５０と同様に、記憶部６８に記憶された設定用データテーブルＤＢ３と、ステップＳＴ５１１で求めた屈折率n_{SA}に基づいて、屈折率n_{SA}に対応する、ＣＰ－ｄ変化比m_{CP}、ＬＰ－ｄ変化比m_{LP}、およびＬ’－ｄ変化比$m_{L'}$を算出して求める。

[0191] ステップＳＴ５１４において、顕微鏡制御部５６１のリスト作成部６７は、共焦点顕微鏡１０の設定に関するパラメータリストＬＳ３を作成する。ステップＳＴ５１４では、第３実施形態におけるステップＳＴ３６０と同様の処理が行われる。

[0192] ステップＳＴ５１５において、顕微鏡制御部５６１は、ステップＳＴ５１４で作成したパラメータリストＬＳ３に従って、補正環２８の最適補正環位置ＣＰと、対物レンズ２６の最適対物レンズ位置ＬＰとを変化させることにより、試料ＴＰのｚスタック画像を取得する。

[0193] ステップＳＴ５１６において、顕微鏡制御部３６１は、ステップＳＴ４１４で取得した試料ＴＰのｚスタック画像データを情報処理装置９０の入出力制御部９１へ出力する。入出力制御部９１は、顕微鏡制御部３６１から入力されたｚスタック画像データに基づいて、試料ＴＰの３次元的な画像を生成し、表示部９３に表示させる。ステップＳＴ５１６では、第３実施形態におけるステップＳＴ３８０と同様の処理が行われる。

[0194] 第５実施形態によれば、第３実施形態と同様の効果を得ることができる。また、第５実施形態によれば、試料ＴＰの屈折率が未知の場合であっても、ユーザーの操作によって入力部９２から入力される屈折率の探索範囲に基づいて、試料ＴＰの屈折率を求めることができる。

[0195] 上述の第５実施形態において、試料ＴＰのｚスタック画像を取得した後、異なる観察領域で同様の試料ＴＰのｚスタック画像を取得することが可能である。この場合、例えば、ステップＳＴ５０１～ＳＴ５０３の処理を省略し、ユーザーが観察領域を変える設定を行った後、ステップＳＴ５０４の処理から開始するようにしてもよい。また、第１実施形態の変形例で述べた画像取得方法と同様にして、試料ＴＰのｚスタック画像を取得した後、異なる観

察領域で同様の試料ＴＰのｚスタック画像を取得することで、ｘｙ方向の位置が異なる複数の観察領域での試料ＴＰのｚスタック画像を並べるタイリングを行うことが可能である。

[0196] 上述の第５実施形態では、屈折率の探索を行う処理を、第３実施形態に組み込んだ例について説明したが、これに限られるものではなく、第１実施形態や第２実施形態に組み込むことが可能である。

[0197] 上述の各実施形態において、１種類の設定用データテーブルを作成しているが、これに限られるものではない。例えば、照明光の波長や温度、対物レンズごとに異なる複数種類の設定用データテーブルを作成し、照明光の波長や温度、対物レンズに応じて使い分けるようにしてもよい。

[0198] 上述の各実施形態において、試料ＴＰの屈折率に関するデータ、画像取得パラメータ、および画像取得範囲は、ユーザーの入力操作によって設定されるが、これに限られるものではない。例えば、これらのデータのうち少なくともいずれかは、記憶部６８等に記憶された、以前に試料ＴＰのｚスタック画像を取得したときのデータを参照して、自動的に設定されるようにしてもよい。

[0199] 上述の各実施形態において、補正環２８の回転に応じて、収差補正レンズ２７が対物レンズ２６の光軸ＡＸに沿って移動するように構成されている。例えば、カム構造を利用して、収差補正レンズ２７が対物レンズ２６の光軸ＡＸに沿って移動するように構成されてもよい。

[0200] 上述の各実施形態において、対物レンズ２６先端からカバーガラスＣＧまでの距離、カバーガラスＣＧの厚み、及び観察深さｄなどに起因する収差を補正する収差補正素子として、収差補正レンズ２７が用いられているが、これに限られるものではない。例えば、収差補正素子として、液体レンズ、デフォーマブルミラーおよび液晶素子等の他の位相変調素子が用いられてもよい。液体レンズは、照明光学系２１または検出光学系３１、または対物レンズ２６内部に配置され、レンズの形状を変化させることにより、収差を補正する。デフォーマブルミラーおよび液晶素子等の位相変調素子は、照明光学

系２１または検出光学系３１に配置され、試料ＴＰに対する照明光（励起光）および、試料ＴＰからの検出光（蛍光）のうち、少なくとも一方の位相を変調することにより、収差を補正する。

[0201] 位相変調素子には、収差の補正量を変更もしくは調整することが可能な調整部が設けられる。例えば、液体レンズに設けられる調整部は、液体レンズに印加される電圧値を制御することで、レンズの形状を変化させる。これにより、液体レンズによる収差の補正量を変更もしくは調整することができる。デフォーマブルミラーに設けられる調整部は、デフォーマブルミラーに印加される電圧値を制御することで、ミラーの形状を変化させる。これにより、デフォーマブルミラーによる、収差の補正量を変更もしくは調整することができる。液晶素子に設けられる調整部は、液晶素子に印加される電圧値を制御することで、液晶の分布を変化させる。これにより、液晶素子による収差の補正量を変更もしくは調整することができる。

[0202] 上述の各実施形態において、入力部９２および表示部９３は、情報処理装置９０と別体に設けられた装置であるが、これに限られるものではない。例えば、入力部９２は、情報処理装置９０と一体的に設けられた装置（例えば、内蔵型のタッチパッド等）であってもよい。入力部９２は、表示部９３と一体的に設けられた装置（例えば、タッチパネル）であってもよい。表示部９３は、情報処理装置９０と一体的に設けられた装置であってもよい。

[0203] 上述の各実施形態において、顕微鏡装置１に共焦点顕微鏡１０が設けられているが、これに限られるのではない。例えば、顕微鏡装置に設けられる顕微鏡は、微分干渉顕微鏡、位相差顕微鏡、多光子励起顕微鏡、落射蛍光顕微鏡、超解像顕微鏡、暗視野顕微鏡、熱レンズ顕微鏡等であってもよい。また、顕微鏡装置に設けられる顕微鏡は、倒立顕微鏡に限らず、正立顕微鏡であってもよい。

符号の説明

[0204] １　顕微鏡装置

１０　共焦点顕微鏡

１１　ステージ　１２　ステージ駆動部

１６　光源ユニット

２１　照明光学系

２６　対物レンズ

２７　収差補正レンズ　２８　補正環

３１　検出光学系

４１　検出部

５１　収差補正部

５５　補正環駆動部　５６　対物レンズ駆動部

６１　顕微鏡制御部

６２　主制御部　６３　画像生成部

６５　補正環位置決定部　６７　リスト作成部

６８　記憶部

９０　情報処理装置

３６１　顕微鏡制御部（第３実施形態）

５６１　顕微鏡制御部（第５実施形態）

ＴＰ　試料

ＤＢ１，ＤＢ３　設定用データテーブル

ＬＳ１～ＬＳ３　パラメータリスト

請求の範囲

[請求項1] 試料を照明する照明光学系と、

前記試料からの光を検出する検出部と、

対物レンズを有し、前記試料からの光を前記検出部に導く検出光学系と、

前記照明光学系および前記検出光学系の少なくとも一方の収差を補正する収差補正部と、

制御部とを備え、

前記制御部は、

前記対物レンズの光軸方向である前記試料の深さ方向の第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を、前記検出部で検出された光に基づいて算出し、

前記算出した前記第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報と、前記試料の屈折率に関する情報とに基づいて、前記第１の位置と異なる第２の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を算出する顕微鏡装置。

[請求項2] 前記制御部は、

前記第１の位置における前記対物レンズの位置に関する情報を、前記検出部で検出された光に基づいて算出し、

前記算出した前記第１の位置における前記対物レンズの位置に関する情報と、前記試料の屈折率に関する情報とに基づいて、前記第２の位置における前記対物レンズの位置に関する情報を算出する請求項１に記載の顕微鏡装置。

[請求項3] 前記制御部は、

前記試料の屈折率毎に、前記試料の深さ方向の位置の変化量と前記収差補正部の補正量の変化量との比を示す情報を予めシミュレーションにより算出して記憶し、

前記記憶した情報と、前記算出した前記第１の位置における前記収

差補正部の補正量に関する情報と、前記試料の屈折率に関する情報とに基づいて、前記第２の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を算出する請求項１または２に記載の顕微鏡装置。

[請求項4] 前記制御部は、

前記試料の屈折率毎に、前記試料の深さ方向の位置の変化量と前記対物レンズの変化量との比を示す情報を予めシミュレーションにより算出して記憶し、

前記第１の位置における前記対物レンズの位置に関する情報を、前記検出部で検出された光に基づいて算出し、

前記記憶した情報と、前記算出した前記第１の位置における前記対物レンズの位置に関する情報と、前記試料の屈折率に関する情報とに基づいて、前記第２の位置における前記対物レンズの位置に関する情報を算出する請求項１～３のいずれか一項に記載の顕微鏡装置。

[請求項5] 前記試料と前記対物レンズとを前記対物レンズの光軸に沿って相対移動させることが可能な駆動部を備え、

前記制御部は、

前記算出した前記第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報と、前記試料の屈折率に関する情報とに基づいて、前記試料の深さ方向の複数の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を算出し、

前記算出した補正量に基づいて前記収差補正部を制御し、前記駆動部を制御して、前記試料の深さ方向の複数の位置で、前記検出部で検出された光に基づいて前記試料の画像を生成し、表示部に表示させる請求項１～４のいずれか一項に記載の顕微鏡装置。

[請求項6] 前記制御部は、前記試料の深さ方向の複数の位置で生成した画像を用いて前記試料の３次元画像を生成し、前記表示部に表示させる請求項５に記載の顕微鏡装置。

[請求項7] 前記制御部は、前記試料の３次元画像を前記試料の深さ方向の位置

に関連付けて前記表示部に表示させる請求項６に記載の顕微鏡装置。

[請求項8] 前記試料と前記対物レンズとを前記対物レンズの光軸に沿って相対移動させることが可能な駆動部を備え、

前記制御部は、

前記算出した前記第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報と、前記試料の第１の屈折率に関する情報とに基づいて、前記試料の第１の屈折率に関する情報に対応する前記試料の深さ方向の複数の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を算出し、

前記算出した前記第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報と、前記試料の第２の屈折率に関する情報とに基づいて、前記試料の第２の屈折率に関する情報に対応する前記試料の深さ方向の複数の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を算出し、

前記算出した前記試料の第１の屈折率に関する情報に対応する補正量に基づいて前記収差補正部を制御し、前記駆動部を制御して、前記試料の深さ方向の１以上の位置で前記検出部で検出された光に基づいて前記試料の画像を生成する処理を行い、

前記算出した前記試料の第２の屈折率に関する情報に対応する補正量に基づいて前記収差補正部を制御し、前記駆動部を制御して、前記試料の深さ方向の１以上の位置で前記検出部で検出された光に基づいて前記試料の画像を生成する処理を行い、

前記生成した複数の画像に基づいて前記試料の屈折率を算出する請求項１～４のいずれか一項に記載の顕微鏡装置。

[請求項9] 前記収差補正部は、補正環を有する請求項１～８のいずれか一項に記載の顕微鏡装置。

[請求項10] 前記収差補正部の補正量に関する情報は、前記補正環の最適位置に関する情報である請求項９に記載の顕微鏡装置。

[請求項11] 前記収差補正部は、位相変調素子を有する請求項１～８のいずれか一項に記載の顕微鏡装置。

[請求項12] 前記位相変調素子は、液体レンズ、デフォーマブルミラー、および液晶素子の少なくとも１つを有する請求項１１に記載の顕微鏡装置。

[請求項13] 前記収差補正部の補正量に関する情報は、前記位相変調素子に印加される電圧値に関する情報である請求項１１または１２に記載の顕微鏡装置。

[請求項14] 試料を照明する照明光学系と、前記試料からの光を検出する検出部と、対物レンズを有し、前記試料からの光を前記検出部に導く検出光学系と、前記照明光学系および前記検出光学系の少なくとも一方の収差を補正する収差補正部と、制御部とを備える顕微鏡装置の制御方法であって、

前記対物レンズの光軸方向である前記試料の深さ方向の第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を、前記検出部で検出された光に基づいて算出し、前記算出した前記第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報と、前記試料の屈折率に関する情報とに基づいて、前記第１の位置と異なる第２の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を算出する顕微鏡装置の制御方法。

[請求項15] 試料を照明する照明光学系と、前記試料からの光を検出する検出部と、対物レンズを有し、前記試料からの光を前記検出部に導く検出光学系と、前記照明光学系および前記検出光学系の少なくとも一方の収差を補正する収差補正部と、制御部とを備える顕微鏡装置の制御プログラムであって、

コンピュータに、前記対物レンズの光軸方向である前記試料の深さ方向の第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を、前記検出部で検出された光に基づいて算出し、前記算出した前記第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報と、前記試料の屈折率に関する情報とに基づいて、前記第１の位置と異なる第２の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を算出する処理を実行させる顕微鏡装置の制御プログラム。

[請求項16] 試料からの光を検出する検出部と、

対物レンズを有し、前記試料からの光を前記検出部に導く検出光学系と、

前記検出光学系の収差を補正する収差補正部と、

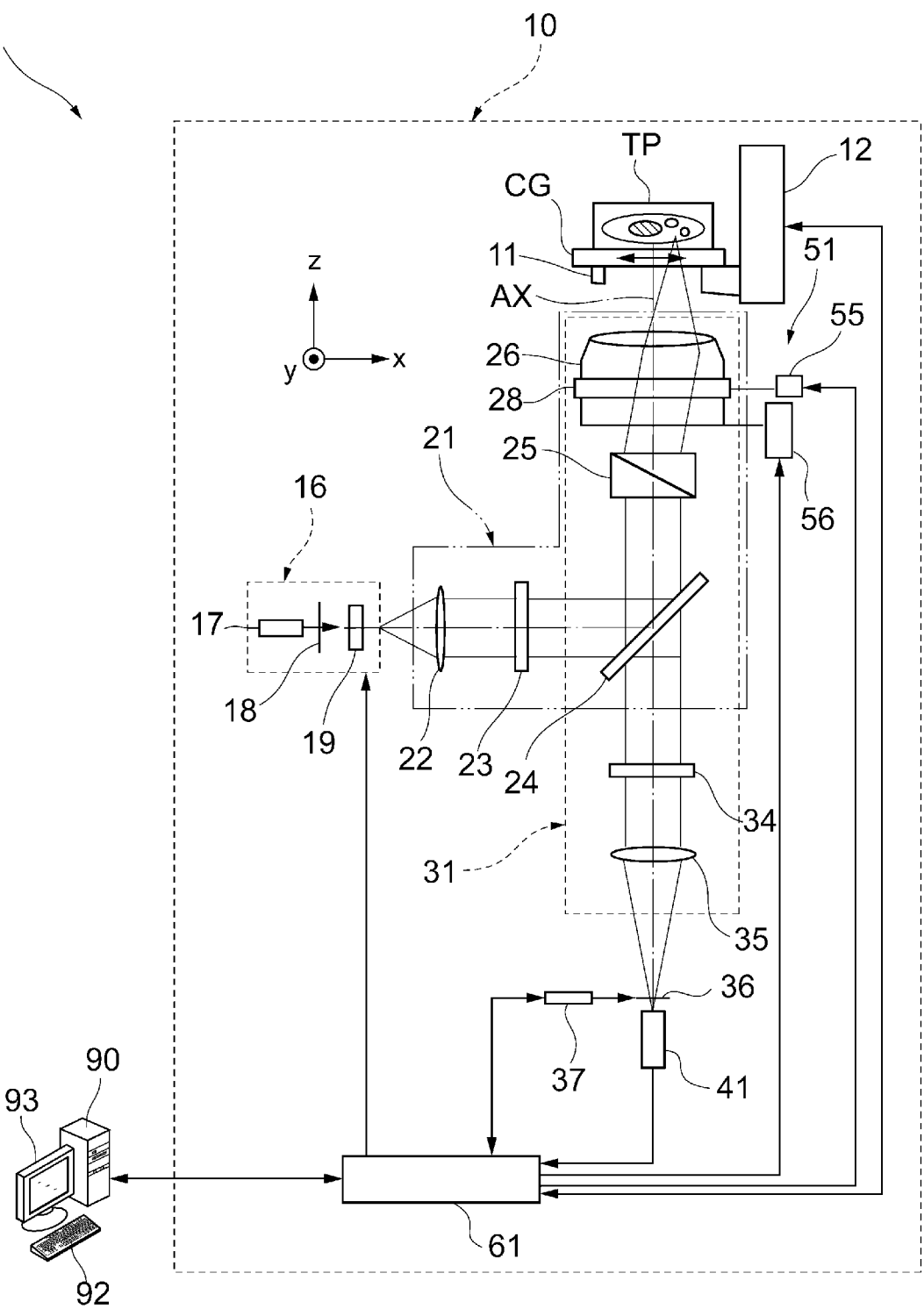
制御部とを備え、

前記制御部は、

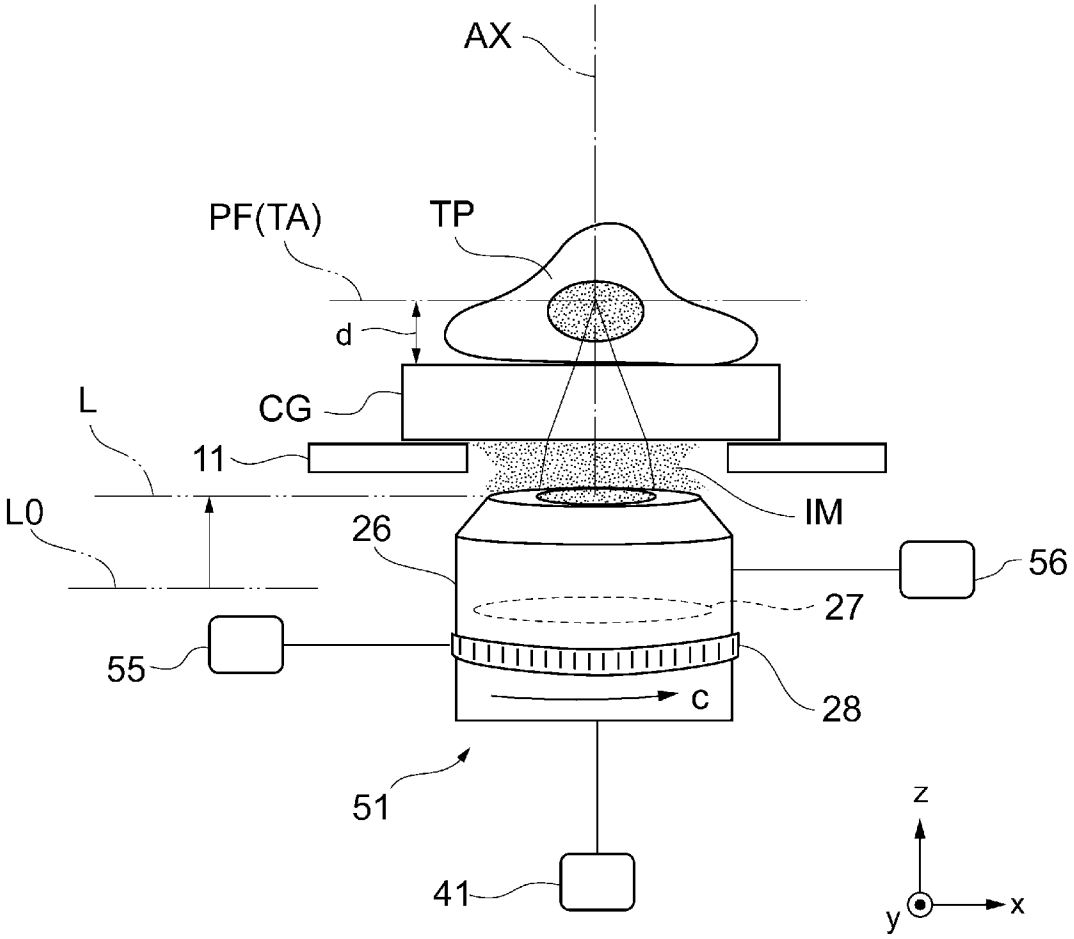
前記対物レンズの光軸方向である前記試料の深さ方向の第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を、前記検出部で検出された光に基づいて算出し、

前記算出した前記第１の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報と、前記試料の屈折率に関する情報とに基づいて、前記第１の位置と異なる第２の位置における前記収差補正部の補正量に関する情報を算出する顕微鏡装置。

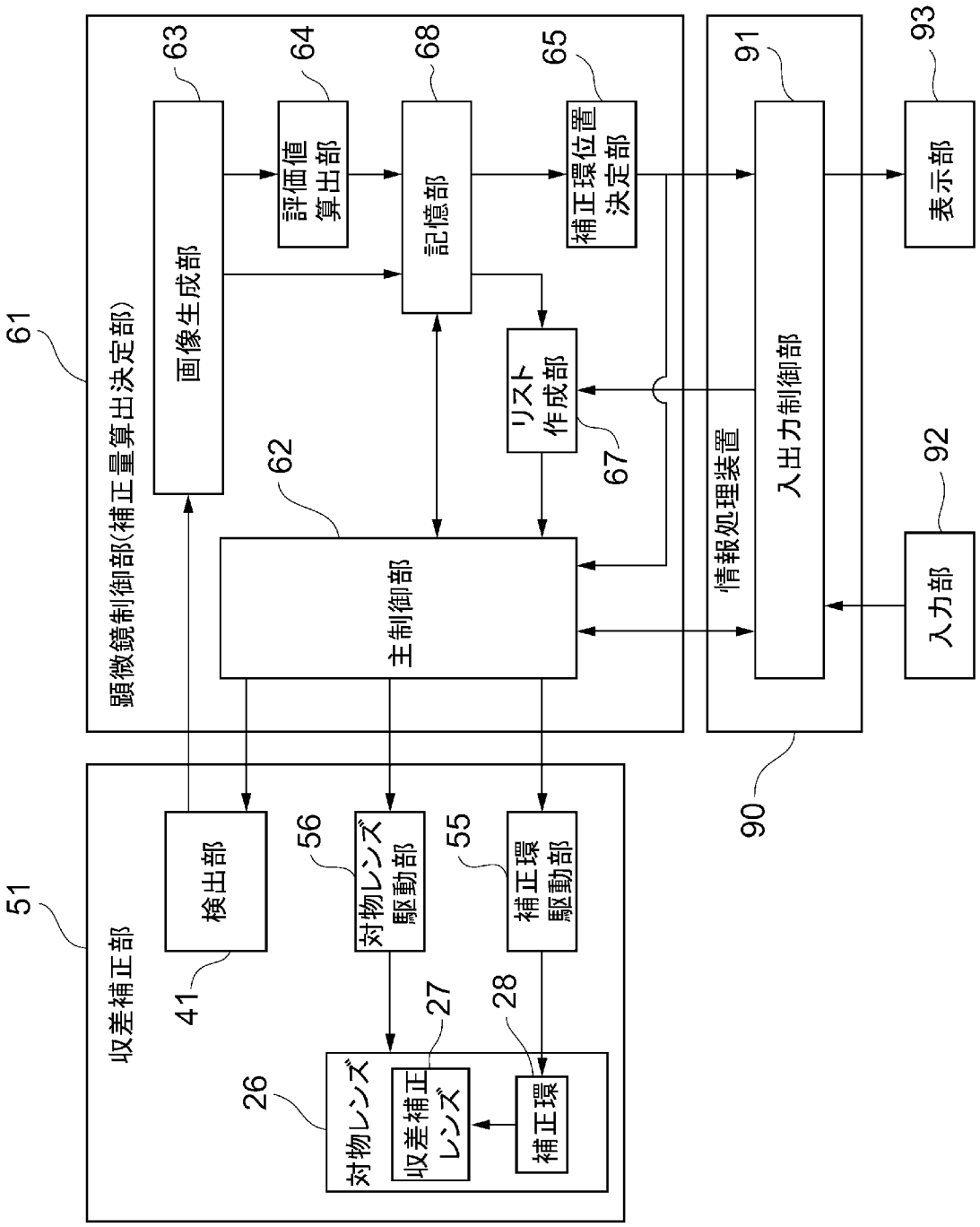
[図1]


1
10
TP
12
CG
11
51
AX
55
z
y
x
26
28
21
25
56
16
17
18
19
22
23
24
34
31
35
36
37
41
90
93
92
61

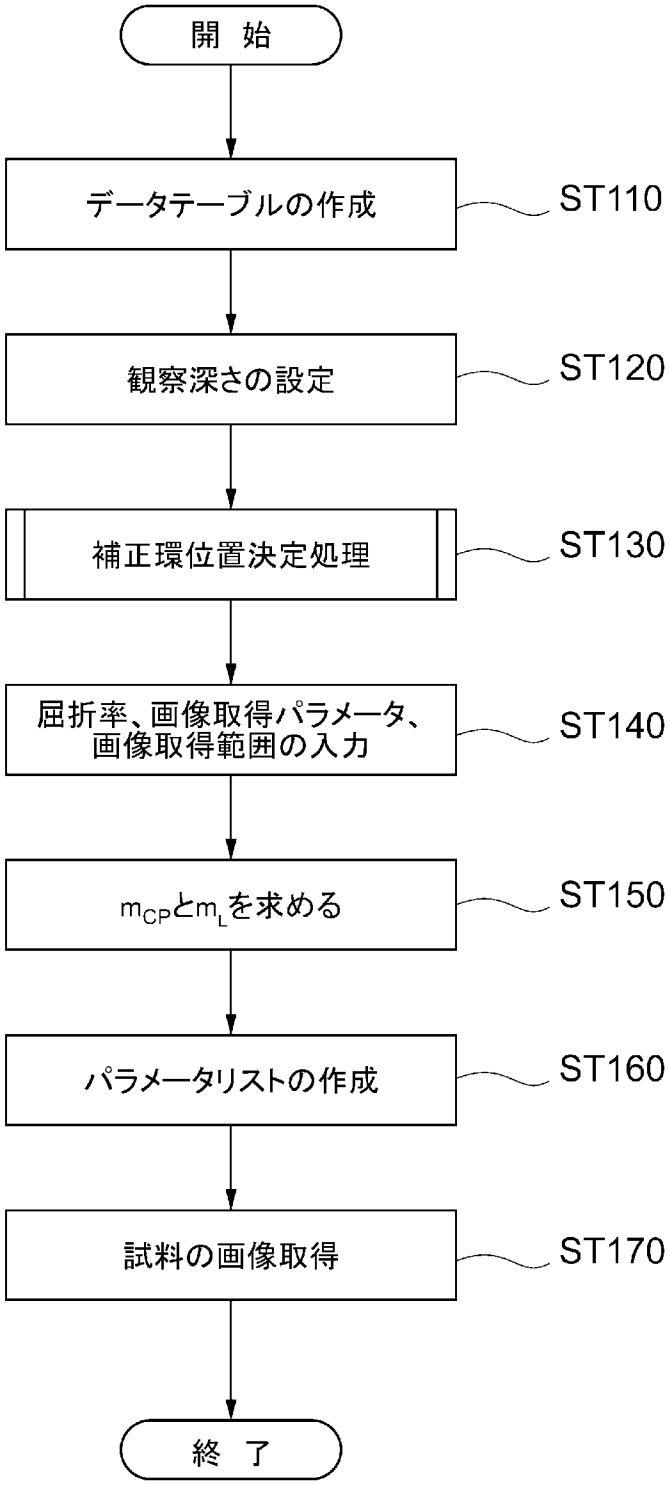
[図2]



[図3]

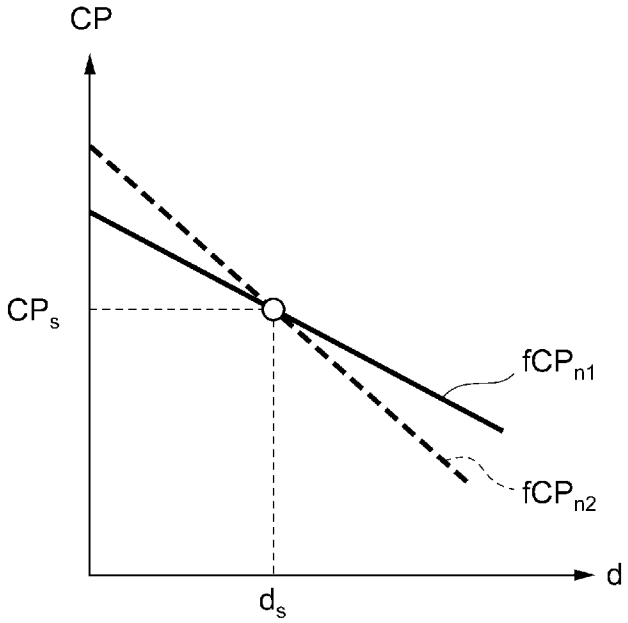

61
顕微鏡制御部(補正量算出決定部)
63
画像生成部
64
評価値算出部
68
記憶部
65
補正環位置決定部
62
主制御部
67
リスト作成部
91
情報処理装置
入出力制御部
93
表示部
92
入力部
90
51
収差補正部
41
検出部
56
対物レンズ駆動部
55
補正環駆動部
26
対物レンズ
27
収差補正レンズ
28
補正環

[図4]

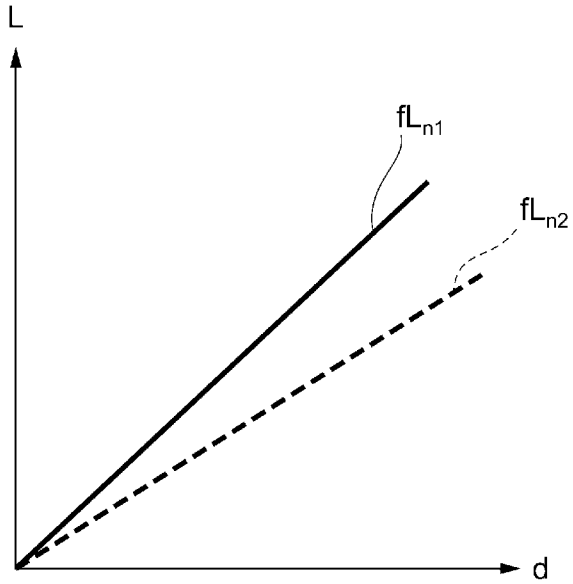

開 始
データテーブルの作成
ST110
観察深さの設定
ST120
補正環位置決定処理
ST130
屈折率、画像取得パラメータ、
画像取得範囲の入力
ST140
m_{CP}とm_Lを求める
ST150
パラメータリストの作成
ST160
試料の画像取得
ST170
終 了

[図5]

(A)



(B)

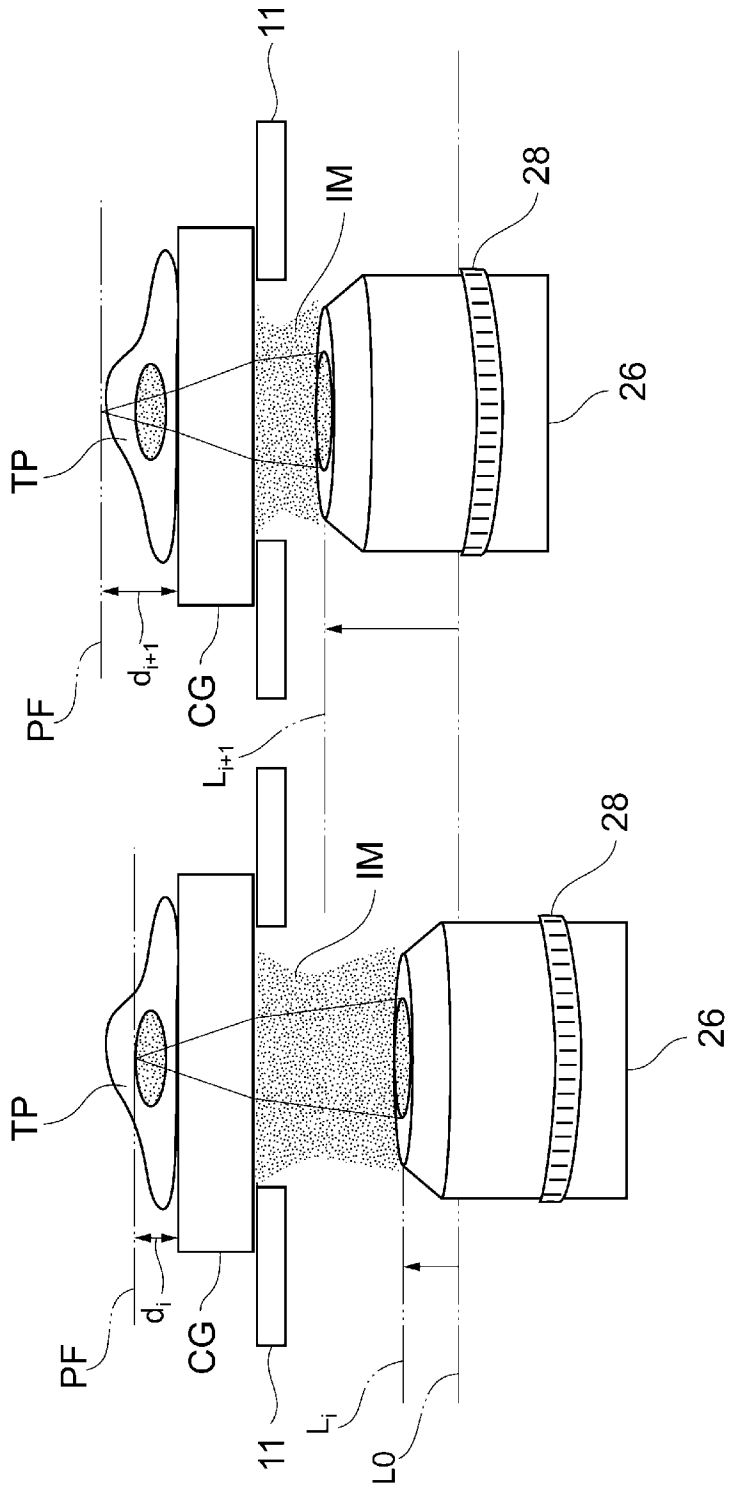


[図6]

DB1

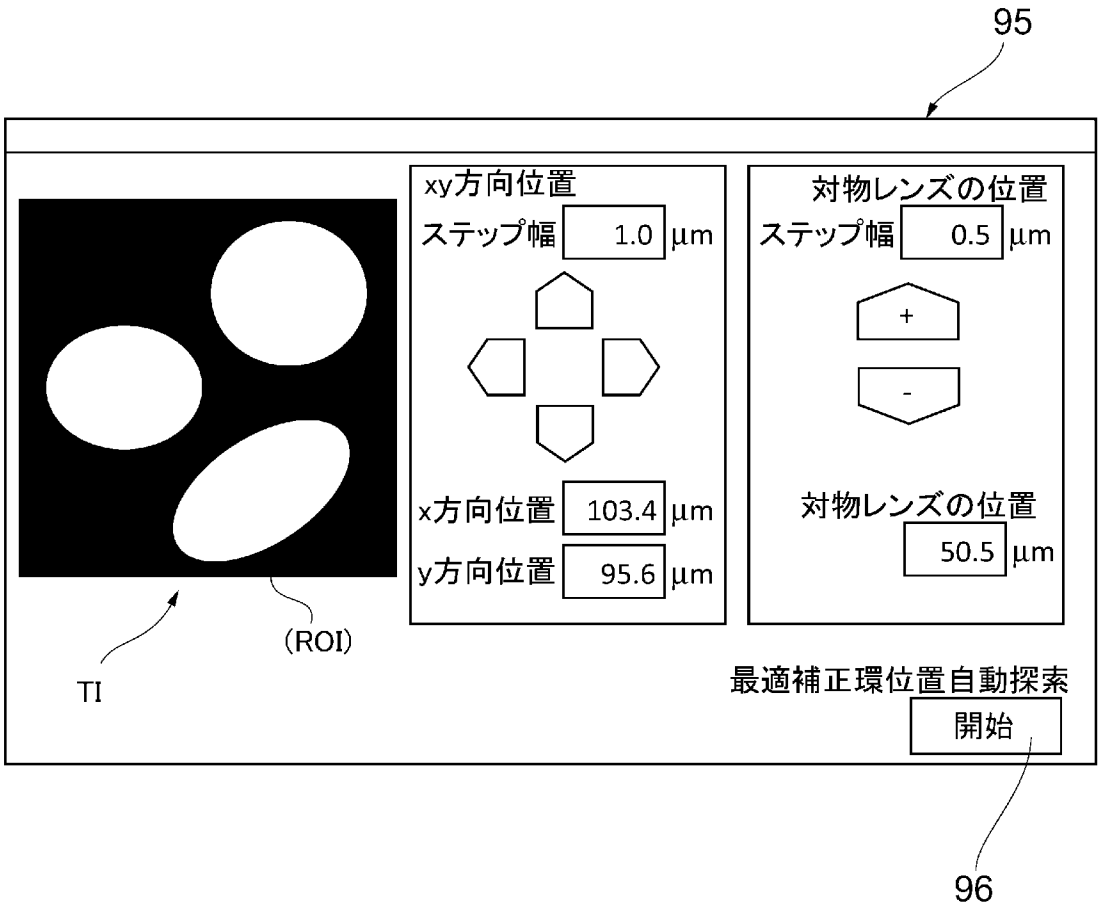
n	m_{CP}	m_L
1.335	m_{CP}(n=1.335)	m_L(n=1.335)
1.340	m_{CP}(n=1.340)	m_L(n=1.340)
1.345	m_{CP}(n=1.345)	m_L(n=1.345)
1.350	m_{CP}(n=1.350)	m_L(n=1.350)
⋮	⋮	⋮

[図7]

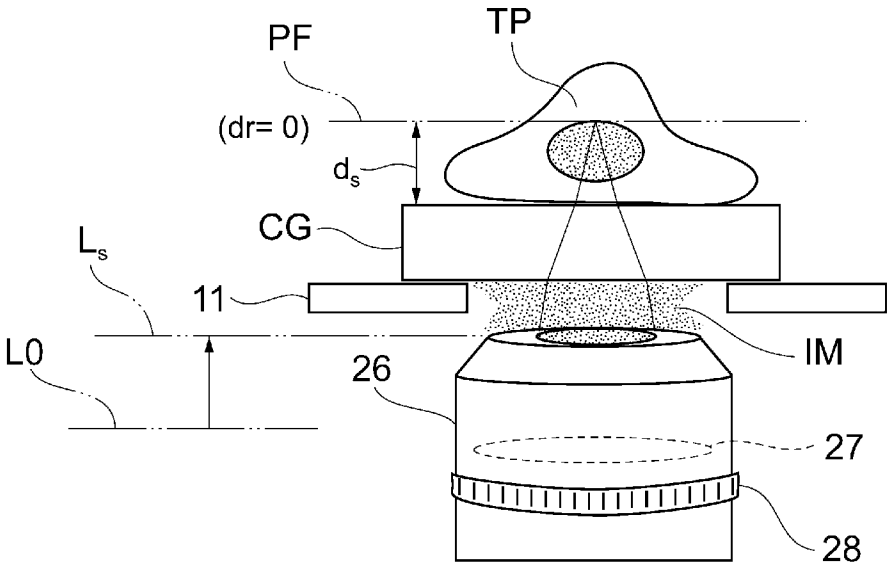


[図8]

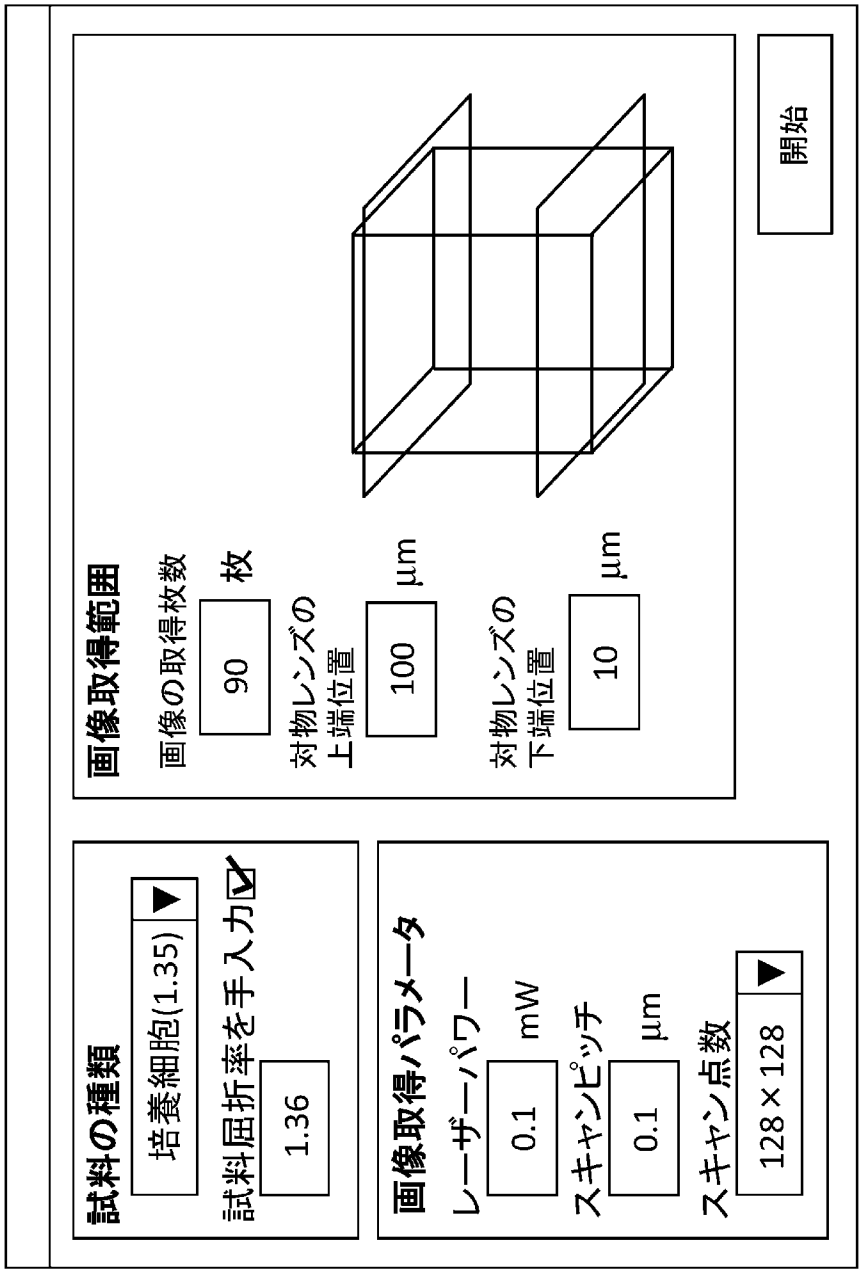
(A)


95
xy方向位置
ステップ幅
1.0
μm
x方向位置
103.4
μm
y方向位置
95.6
μm
対物レンズの位置
ステップ幅
0.5
μm
+
-
対物レンズの位置
50.5
μm
TI
(ROI)
最適補正環位置自動探索
開始
96

(B)

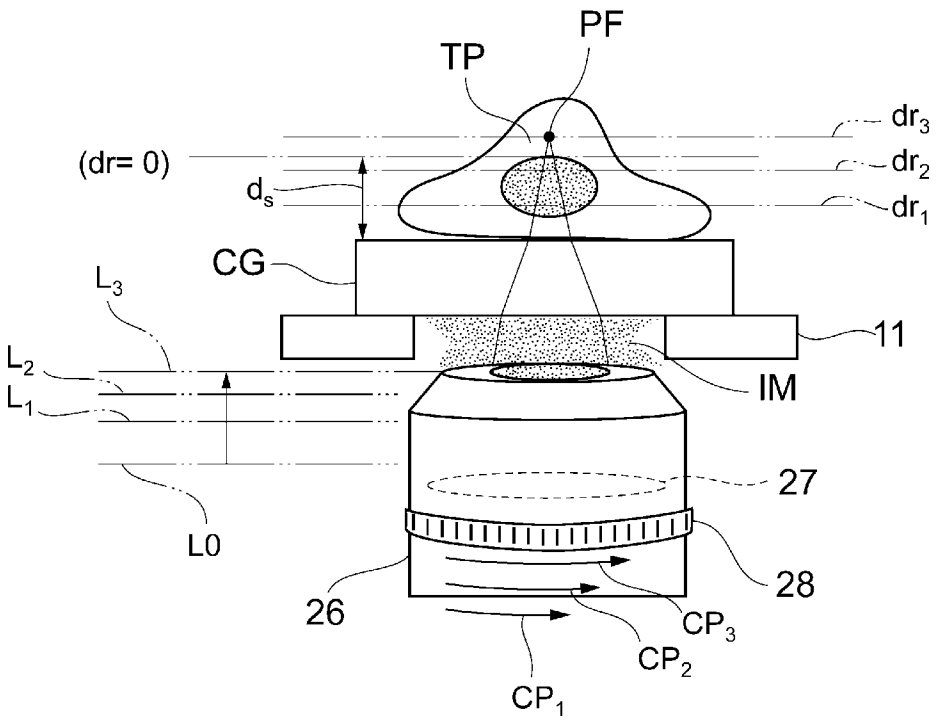

PF
TP
(dr= 0)
d_s
CG
L_s
11
L0
26
IM
27
28

[図9]


試料の種類
培養細胞(1.35)
試料屈折率を手入力
1.36
画像取得範囲
画像の取得枚数
90
枚
対物レンズの
上端位置
100
μm
対物レンズの
下端位置
10
μm
画像取得パラメータ
レーザーパワー
0.1
mW
スキャンピッチ
0.1
μm
スキャン点数
128×128
開始

[図10]

(A)

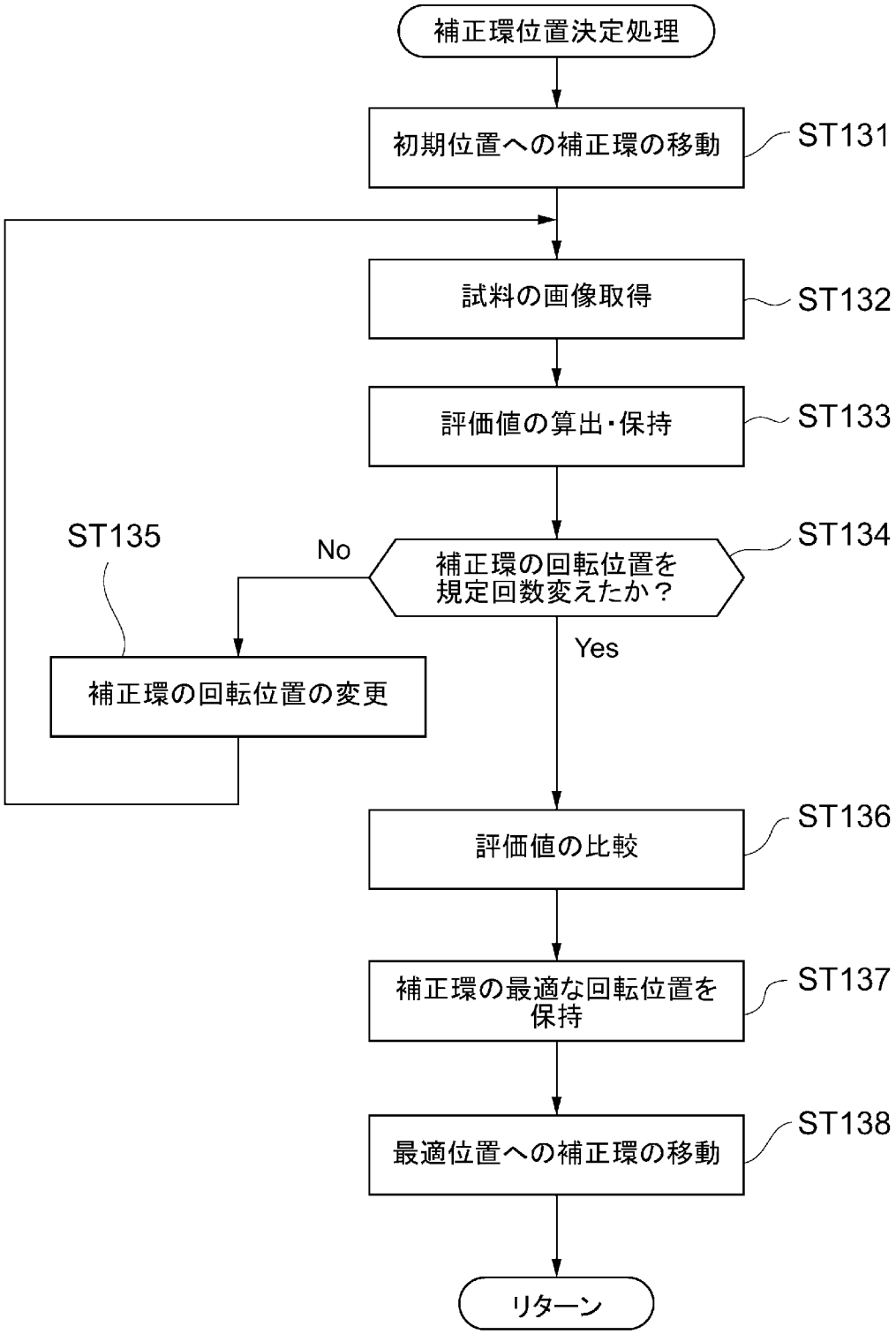


(B)

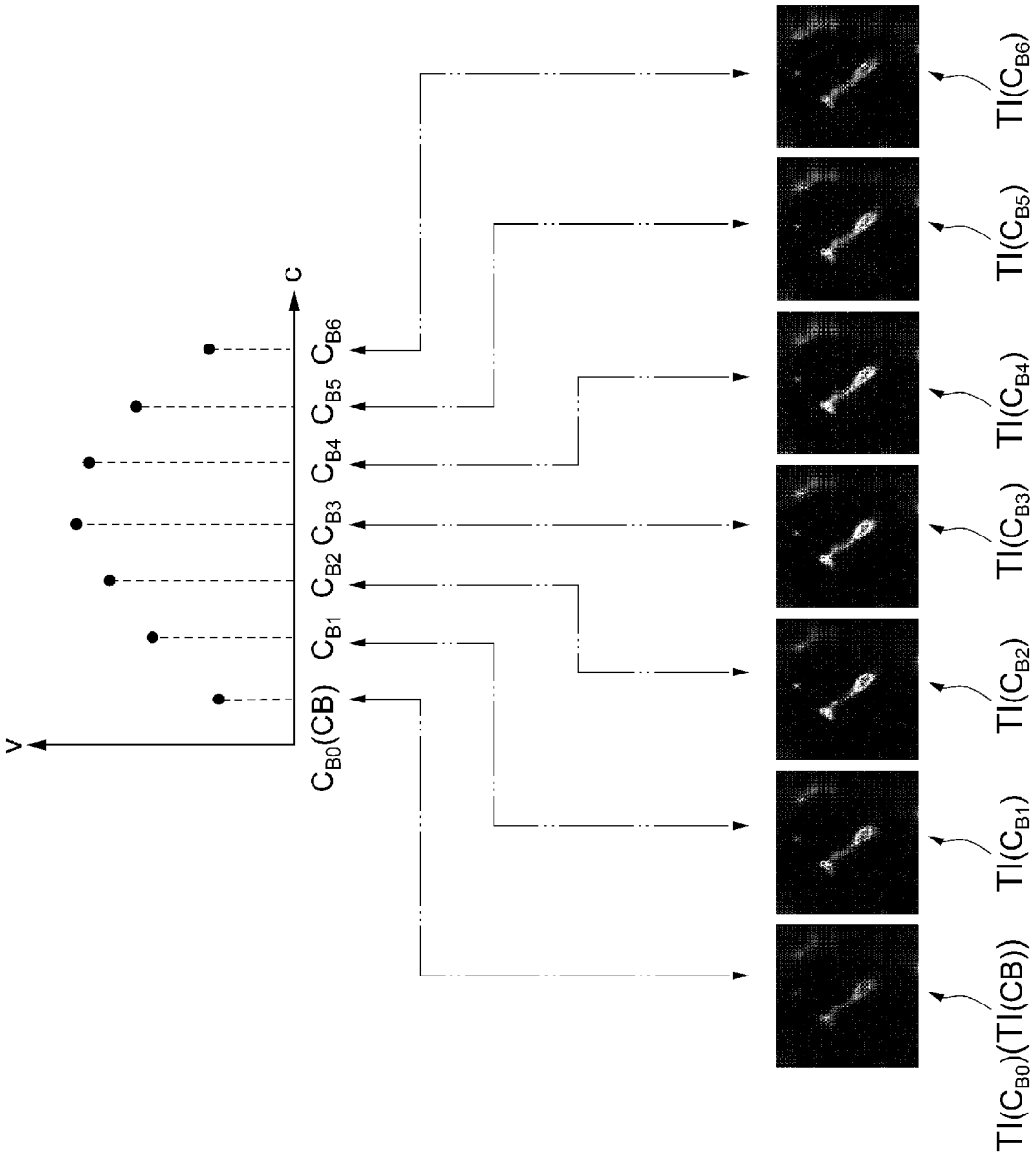
LS1

dr	CP	L
dr_1	CP_1	L_1
dr_2	CP_2	L_2
dr_3	CP_3	L_3
⋮	⋮	⋮
dr_N	CP_N	L_N

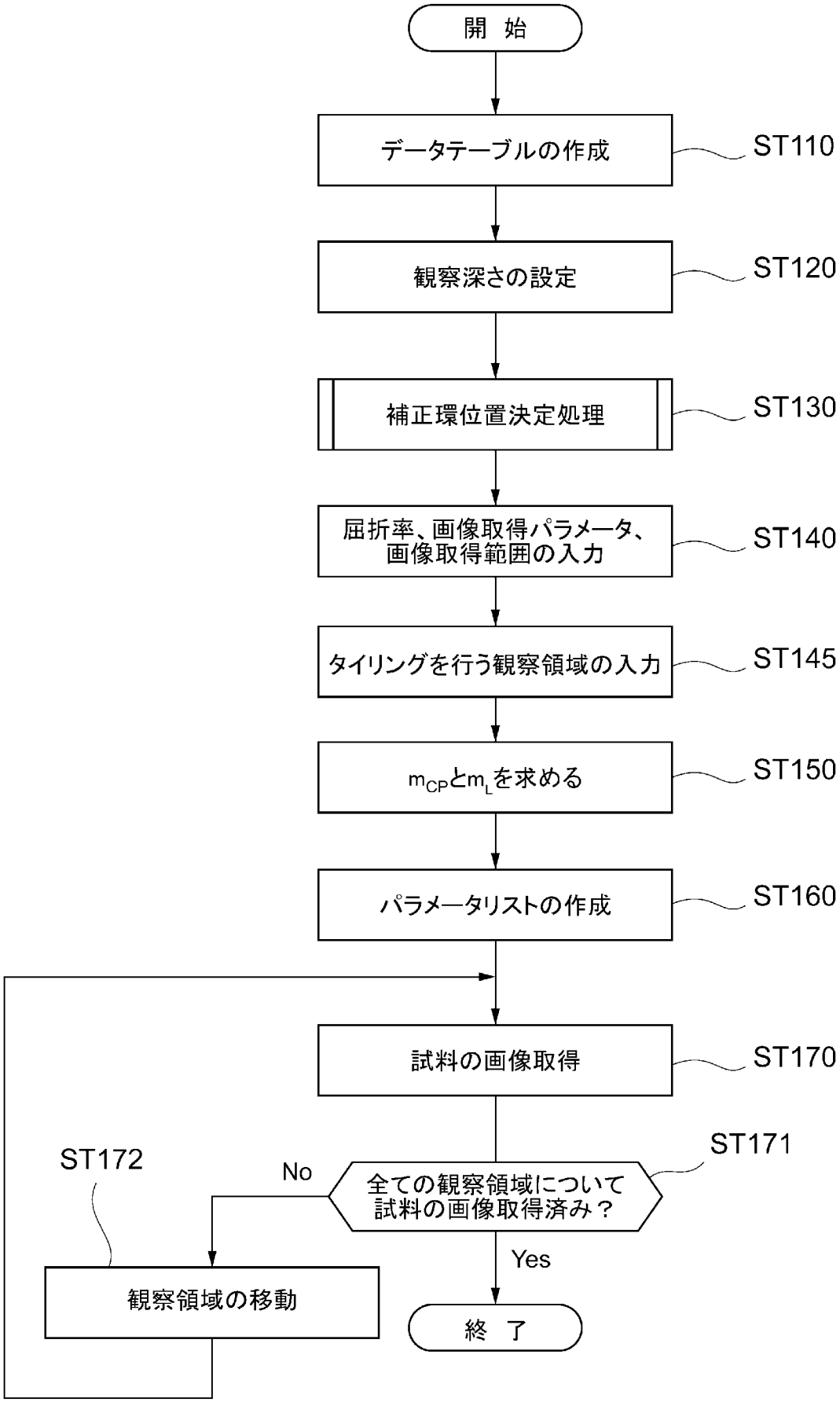
[図11]


補正環位置決定処理
初期位置への補正環の移動
ST131
試料の画像取得
ST132
評価値の算出・保持
ST133
ST135
No
補正環の回転位置を
規定回数変えたか？
ST134
Yes
補正環の回転位置の変更
評価値の比較
ST136
補正環の最適な回転位置を
保持
ST137
最適位置への補正環の移動
ST138
リターン

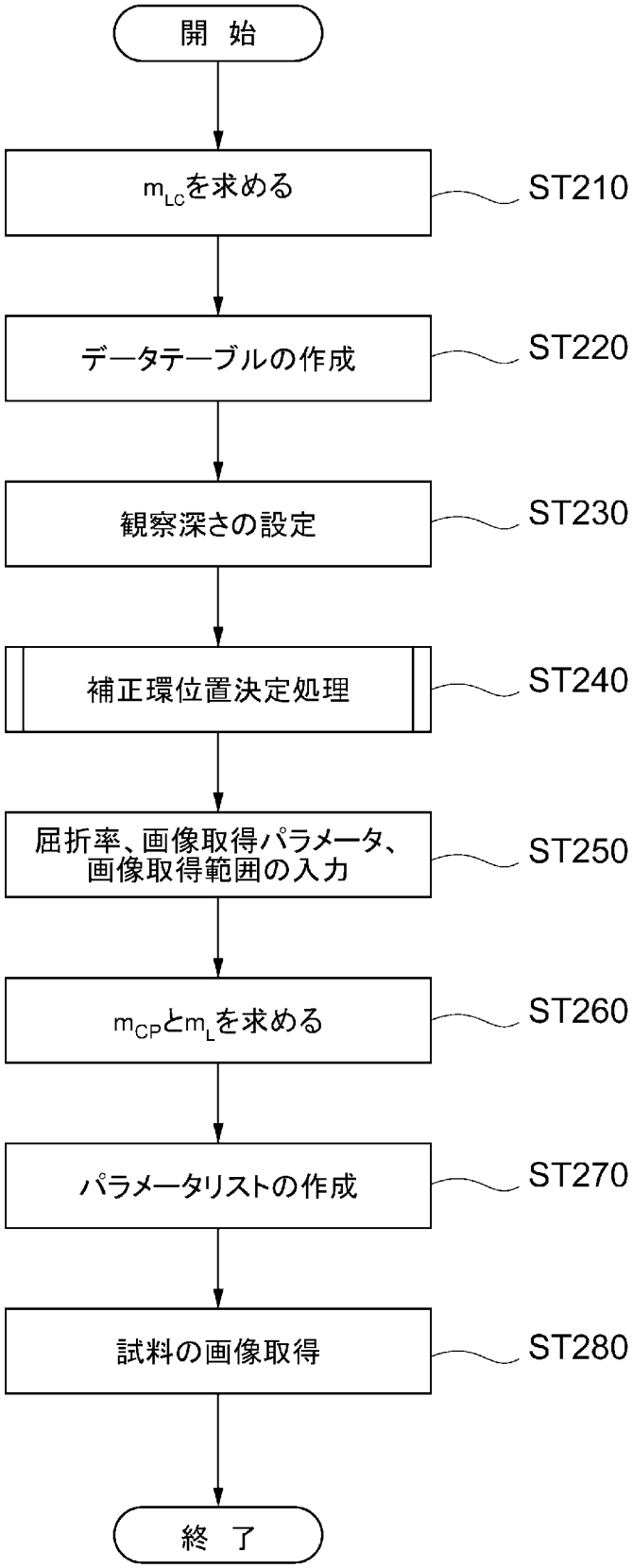
[図12]


V
C
C_{B0}(CB)
C_{B1}
C_{B2}
C_{B3}
C_{B4}
C_{B5}
C_{B6}
TI(C_{B0})(TI(CB))
TI(C_{B1})
TI(C_{B2})
TI(C_{B3})
TI(C_{B4})
TI(C_{B5})
TI(C_{B6})

[図13]


開 始
データテーブルの作成
ST110
観察深さの設定
ST120
補正環位置決定処理
ST130
屈折率、画像取得パラメータ、
画像取得範囲の入力
ST140
タイリングを行う観察領域の入力
ST145
m_{CP}とm_Lを求める
ST150
パラメータリストの作成
ST160
試料の画像取得
ST170
ST171
全ての観察領域について
試料の画像取得済み？
No
ST172
観察領域の移動
Yes
終 了

[図14]

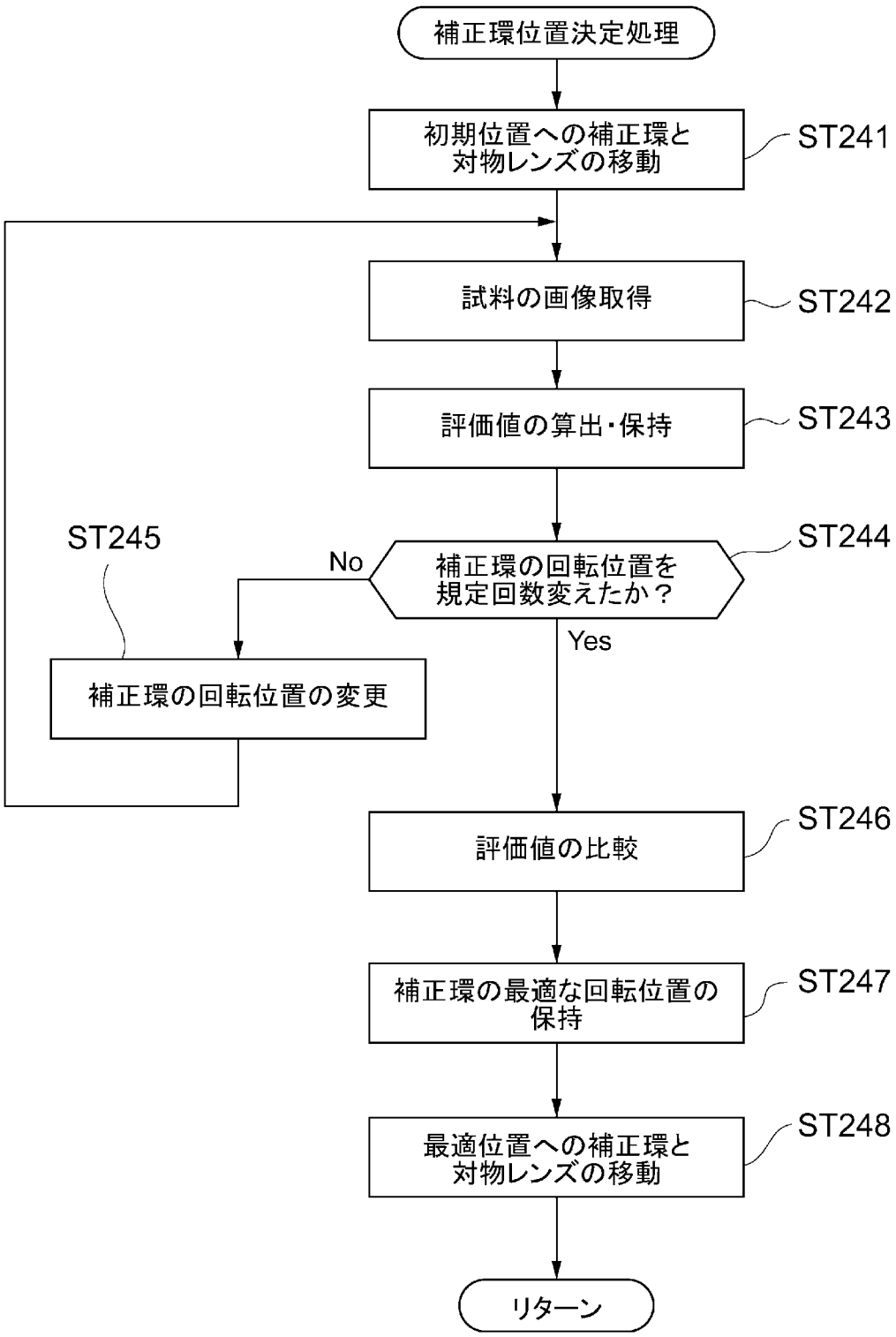

開 始
m_{LC}を求める
ST210
データテーブルの作成
ST220
観察深さの設定
ST230
補正環位置決定処理
ST240
屈折率、画像取得パラメータ、画像取得範囲の入力
ST250
m_{CP}とm_Lを求める
ST260
パラメータリストの作成
ST270
試料の画像取得
ST280
終 了

[図15]

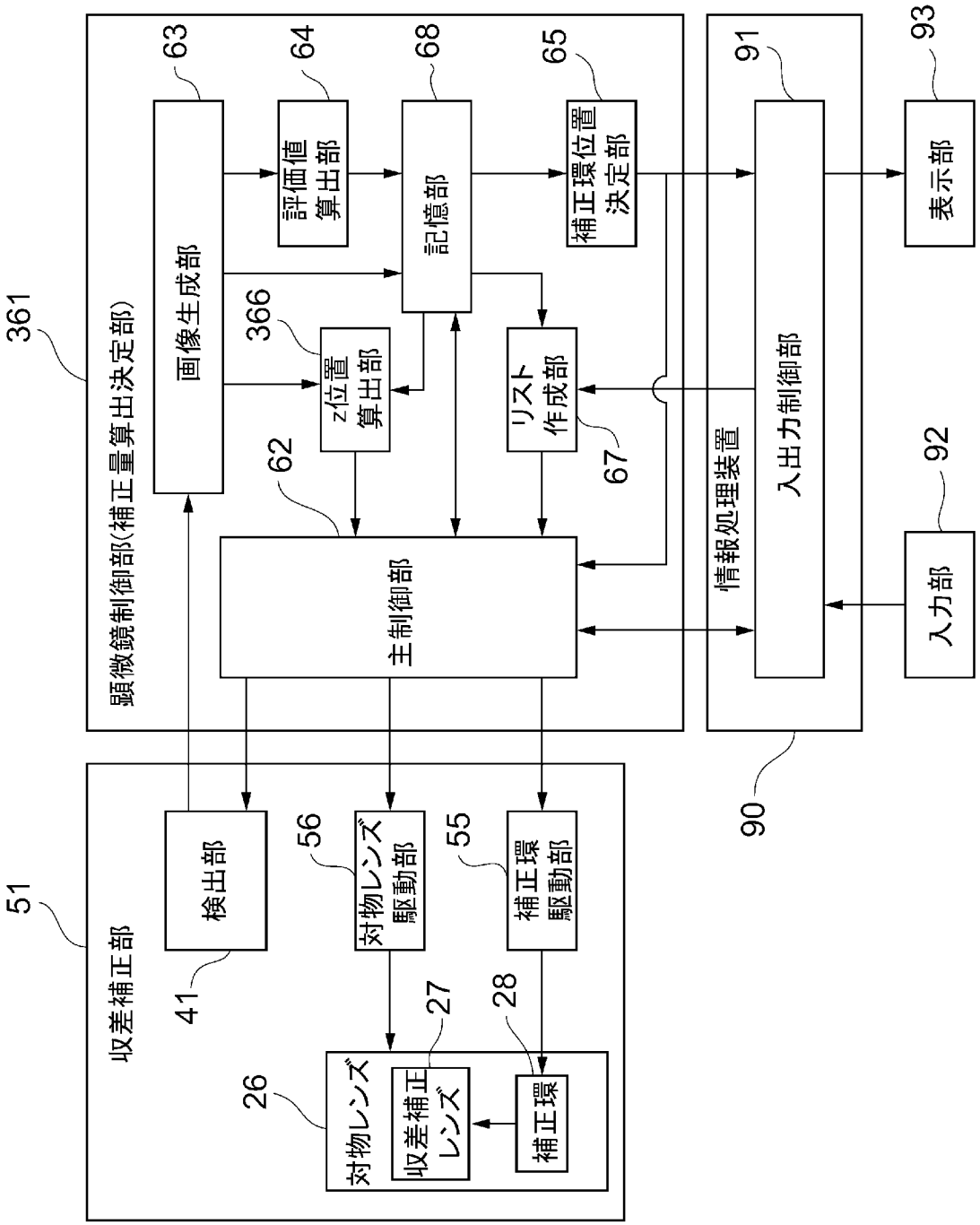
LS2

dr	CP	L_C
dr_1	CP_1	L_{C1}
dr_2	CP_2	L_{C2}
dr_3	CP_3	L_{C3}
⋮	⋮	⋮
dr_N	CP_N	L_{CN}

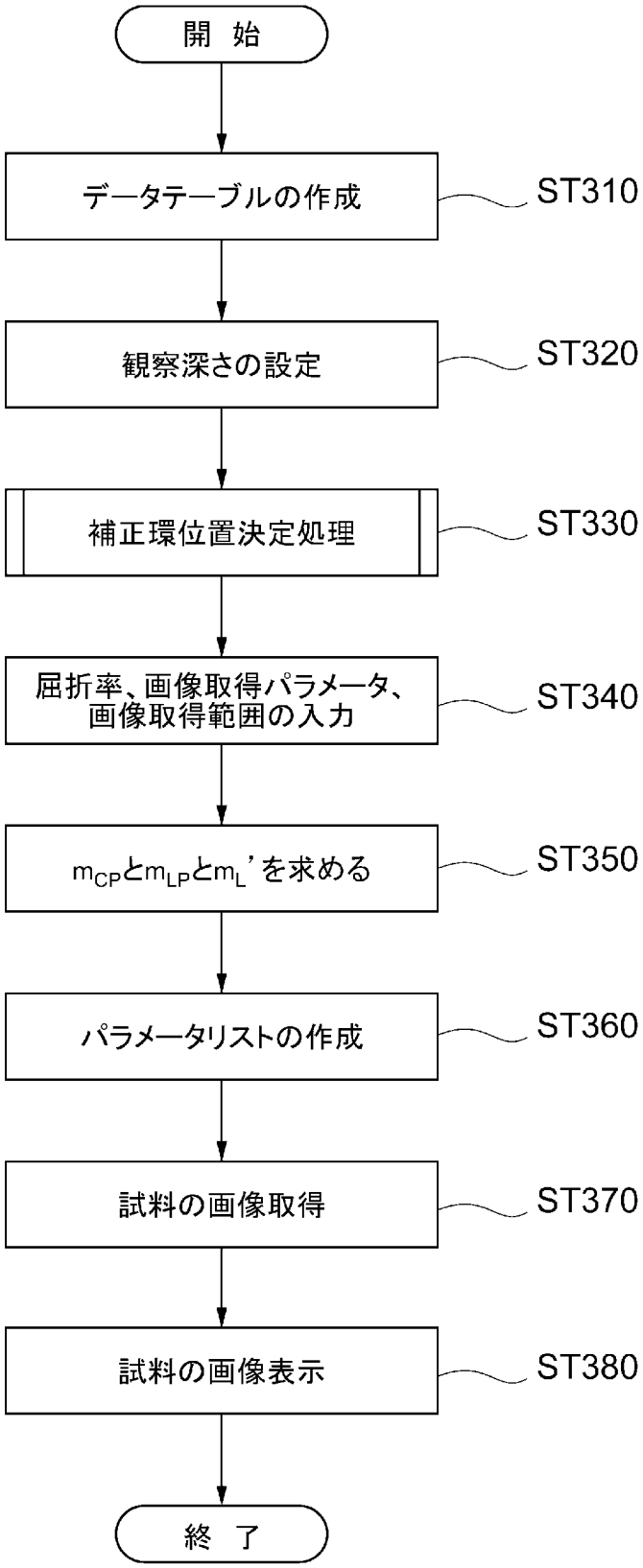
[図16]


補正環位置決定処理
初期位置への補正環と対物レンズの移動
ST241
試料の画像取得
ST242
評価値の算出・保持
ST243
ST245
No
補正環の回転位置を規定回数変えたか？
ST244
Yes
補正環の回転位置の変更
評価値の比較
ST246
補正環の最適な回転位置の保持
ST247
最適位置への補正環と対物レンズの移動
ST248
リターン

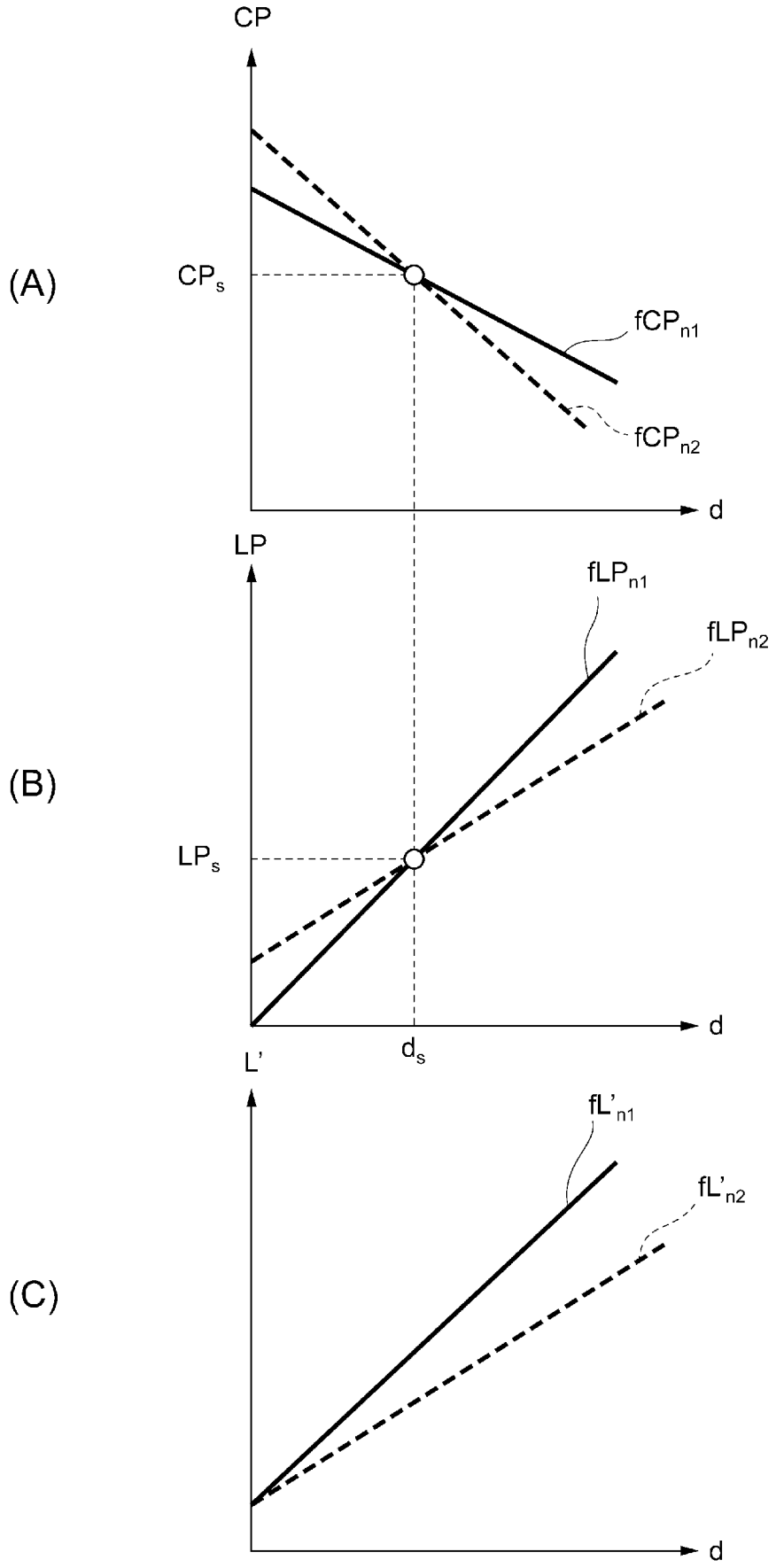
[図17]


361
顕微鏡制御部(補正量算出決定部)
画像生成部
63
評価値算出部
64
記憶部
68
補正環位置決定部
65
366
z位置算出部
リスト作成部
67
62
主制御部
情報処理装置
入出力制御部
91
90
表示部
93
入力部
92
51
収差補正部
検出部
41
対物レンズ駆動部
56
補正環駆動部
55
対物レンズ
26
収差補正レンズ
27
補正環
28

[図18]


開 始
データテーブルの作成
ST310
観察深さの設定
ST320
補正環位置決定処理
ST330
屈折率、画像取得パラメータ、画像取得範囲の入力
ST340
m_{CP}とm_{LP}とm_L'を求める
ST350
パラメータリストの作成
ST360
試料の画像取得
ST370
試料の画像表示
ST380
終 了

[図19]

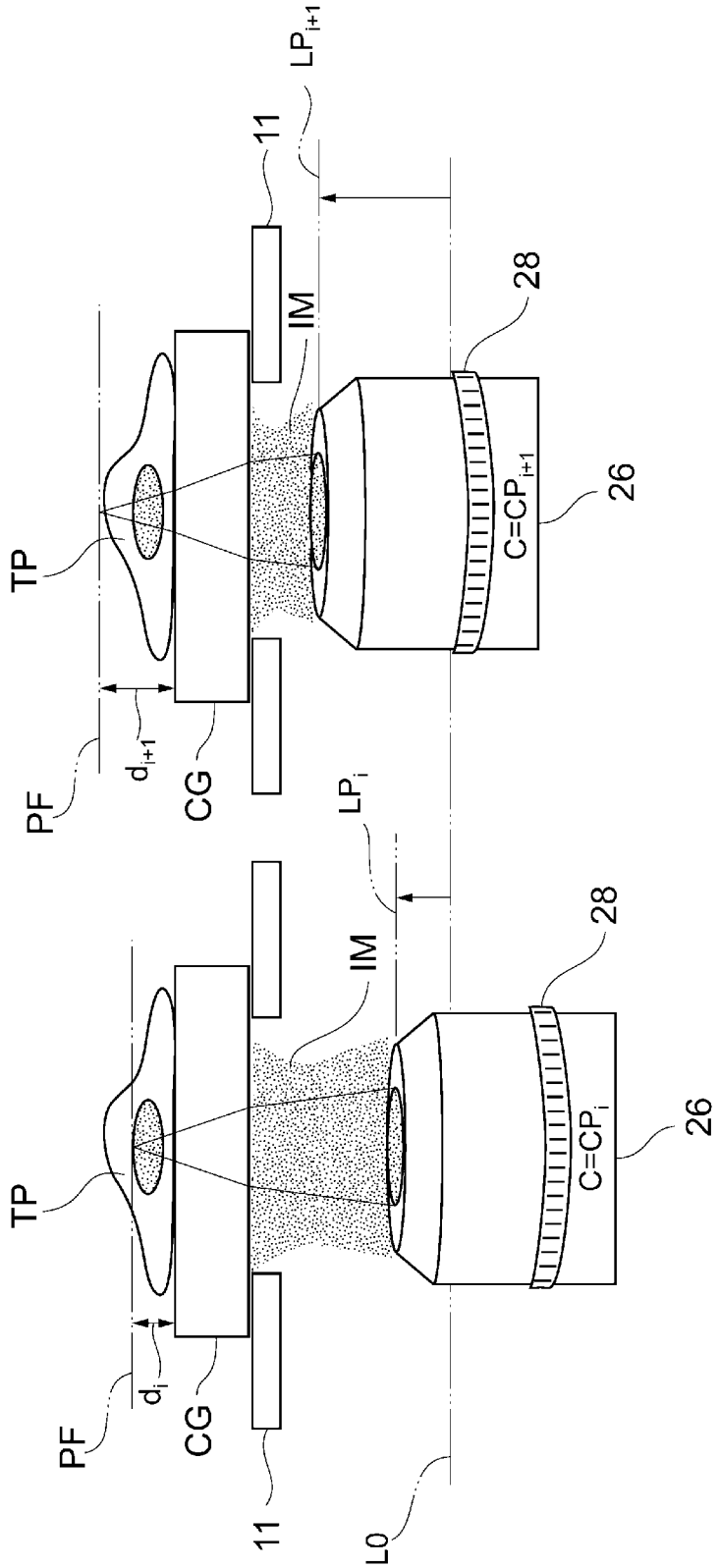


[図20]

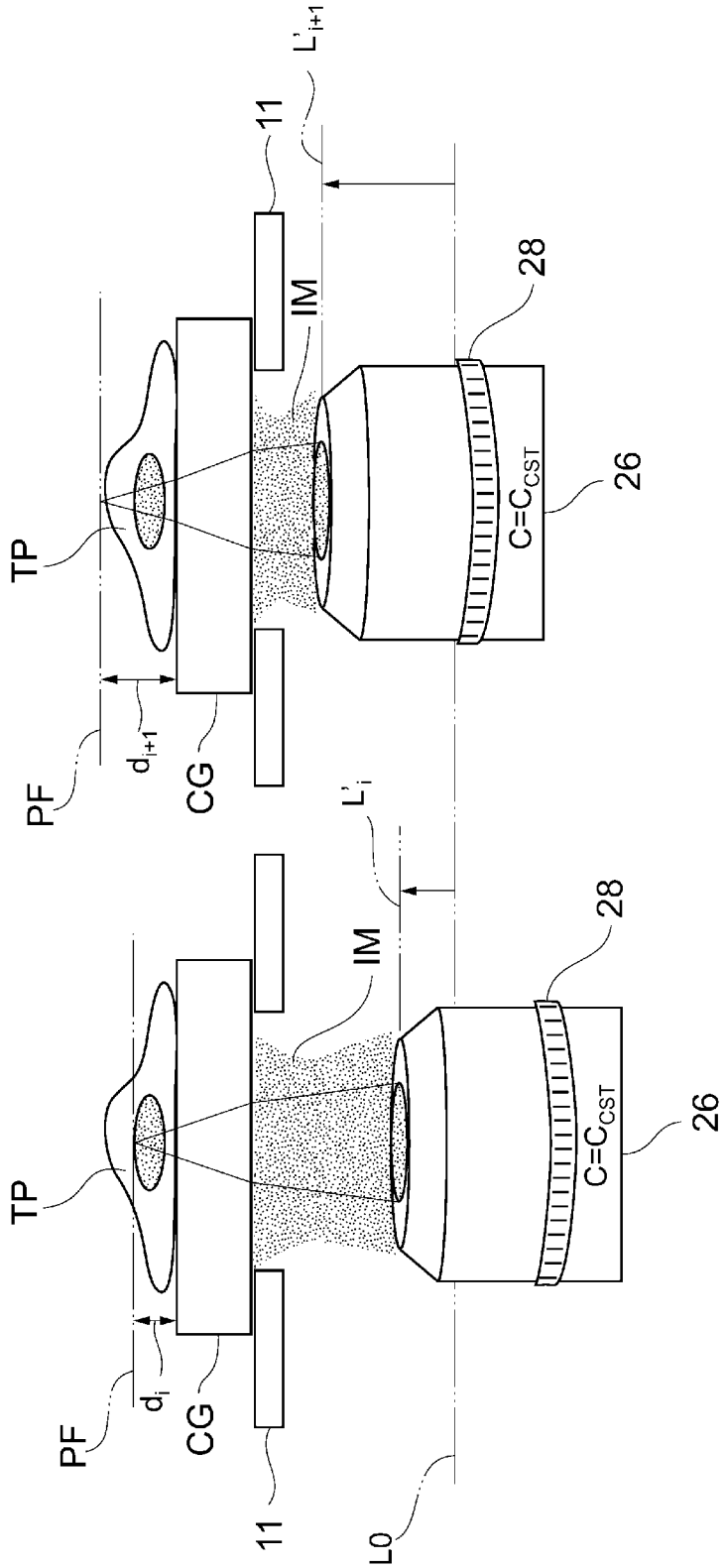
DB3

n	m_{CP}	m_{LP}	m_L'
1.335	$m_{CP}(n=1.335)$	$m_{LP}(n=1.335)$	$m_L'(n=1.335)$
1.340	$m_{CP}(n=1.340)$	$m_{LP}(n=1.340)$	$m_L'(n=1.340)$
1.345	$m_{CP}(n=1.345)$	$m_{LP}(n=1.345)$	$m_L'(n=1.345)$
1.350	$m_{CP}(n=1.350)$	$m_{LP}(n=1.350)$	$m_L'(n=1.350)$
⋮	⋮	⋮	⋮

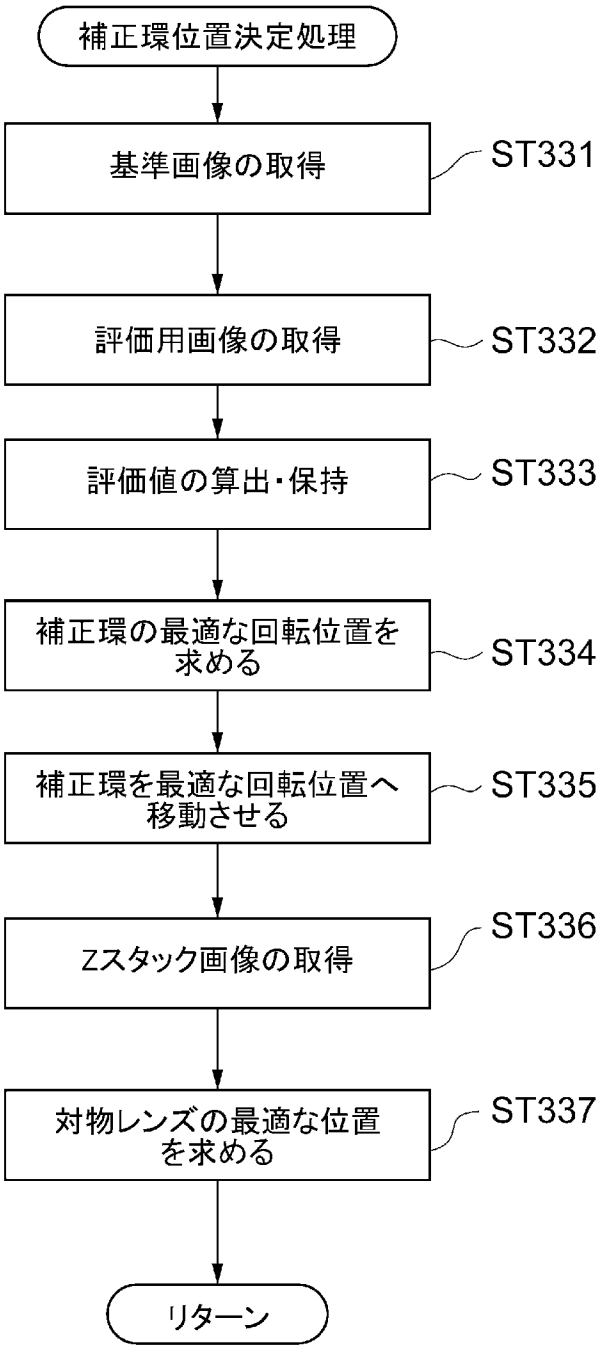
[図21]


TP
PF
d_{i+1}
CG
11
IM
LP_{i+1}
28
$C=CP_{i+1}$
26
TP
PF
d_i
CG
11
IM
LP_i
28
$C=CP_i$
26
L0

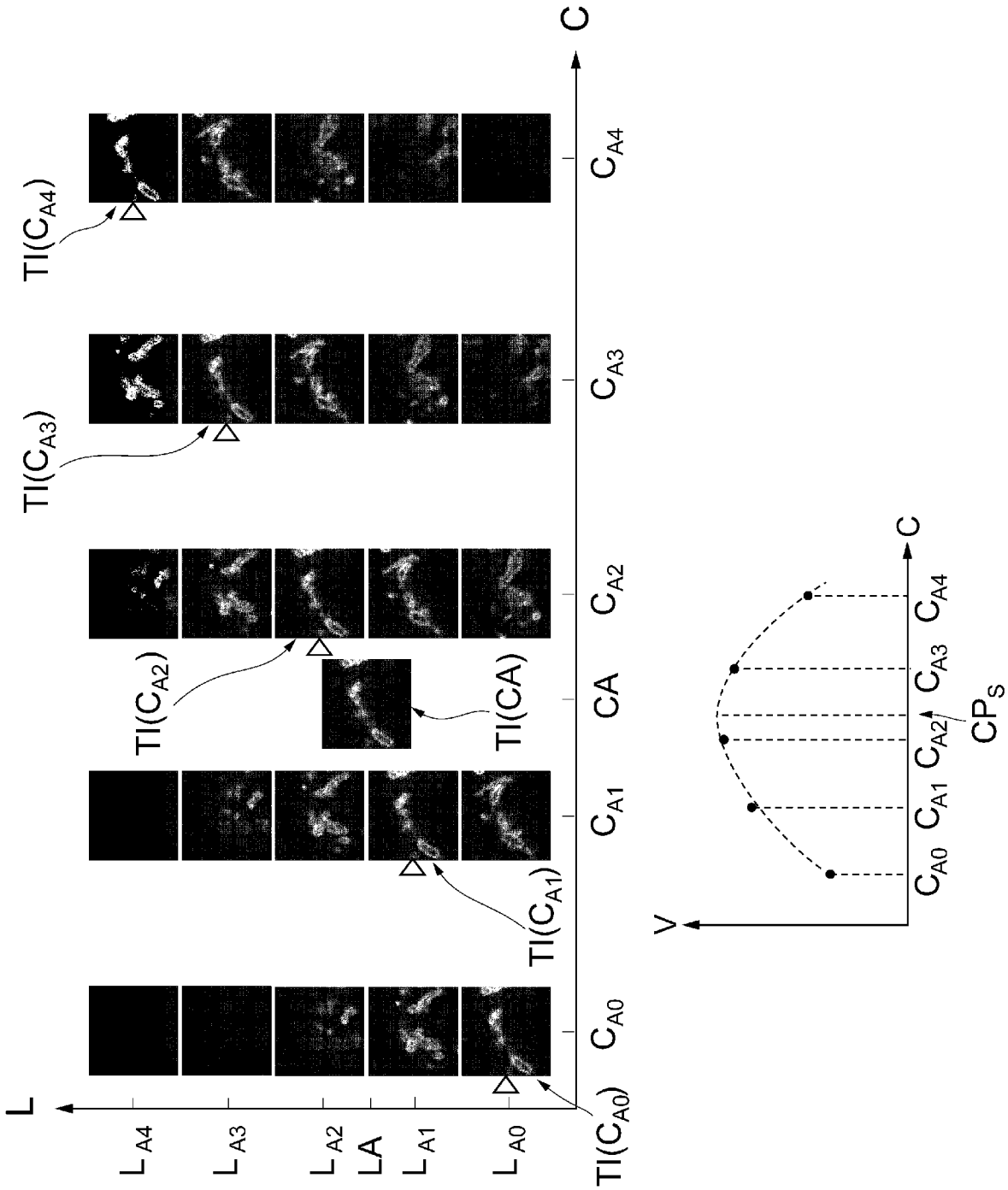
[図22]


TP
PF
d_{i+1}
CG
11
IM
L'_{i+1}
28
26
$C=C_{CST}$
TP
PF
d_i
CG
11
IM
L'_i
28
26
$C=C_{CST}$
L0

[図23]


補正環位置決定処理
基準画像の取得
ST331
評価用画像の取得
ST332
評価値の算出・保持
ST333
補正環の最適な回転位置を求める
ST334
補正環を最適な回転位置へ移動させる
ST335
Zスタック画像の取得
ST336
対物レンズの最適な位置を求める
ST337
リターン

[図24]

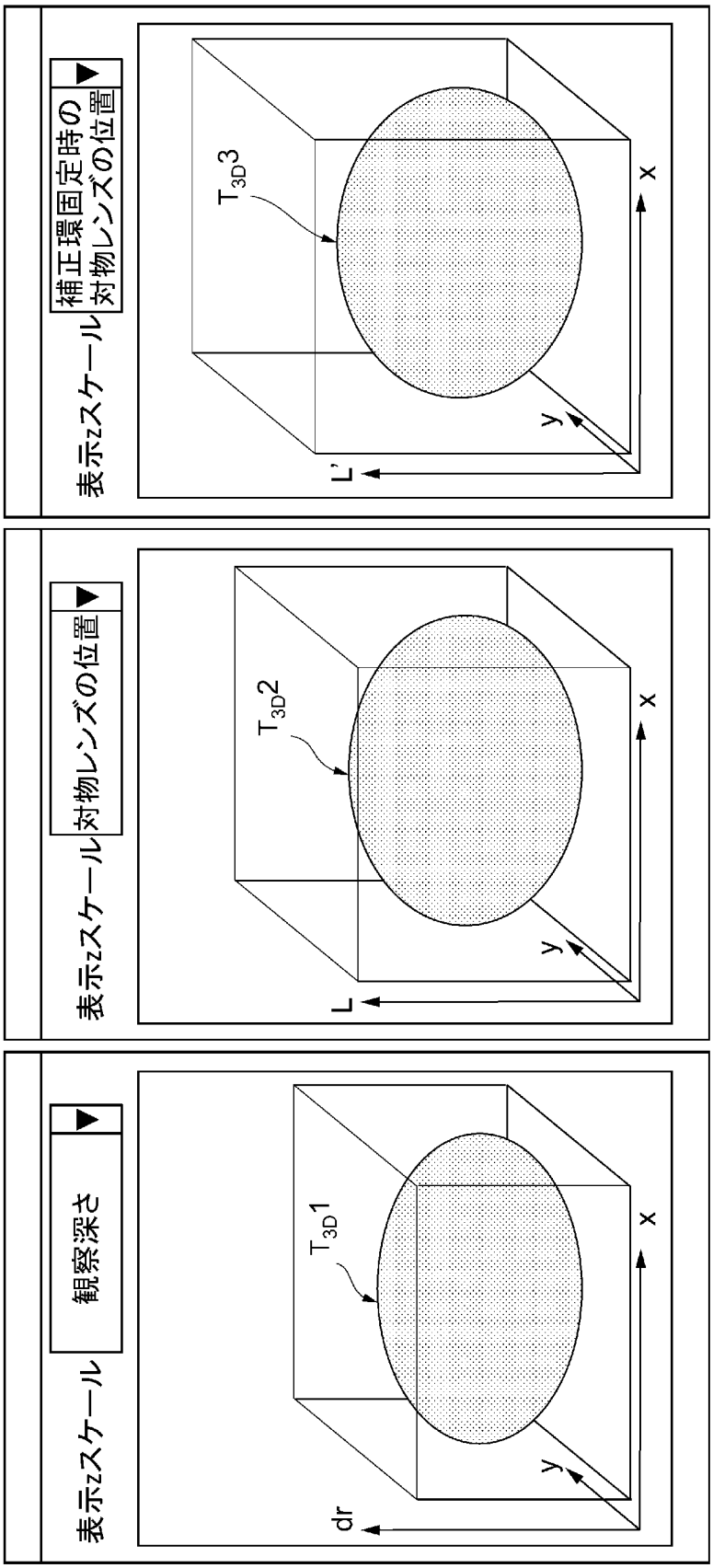

L
LA4
LA3
LA2
LA
LA1
LA0
TI(CA0)
TI(CA1)
TI(CA2)
TI(CA3)
TI(CA4)
TI(CA)
CA0
CA1
CA
CA2
CA3
CA4
C
V
CPS

[図25]

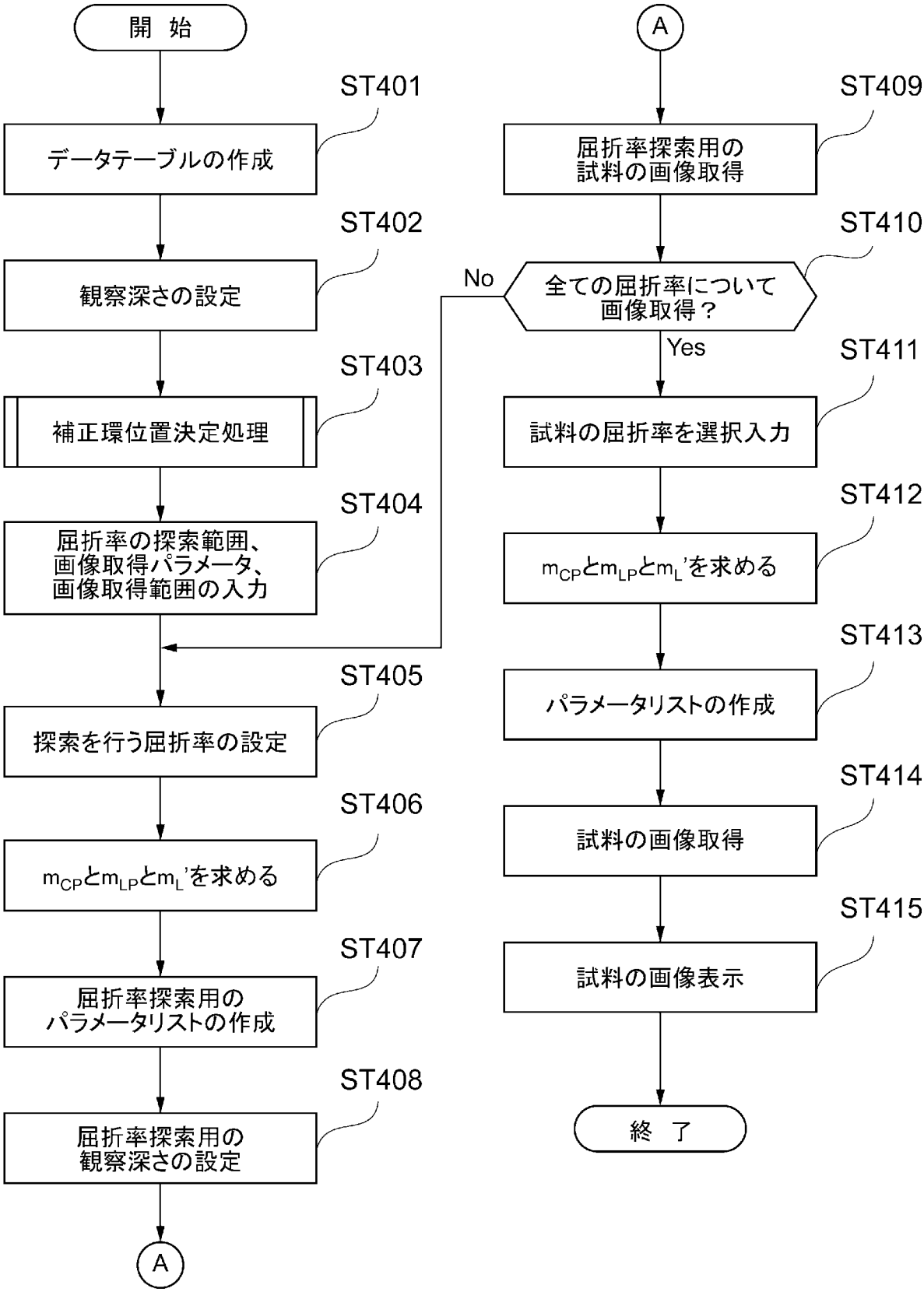
LS3

dr	CP	LP
dr_1	CP_1	LP_1
dr_2	CP_2	LP_2
dr_3	CP_3	LP_3
⋮	⋮	⋮
dr_N	CP_N	LP_N

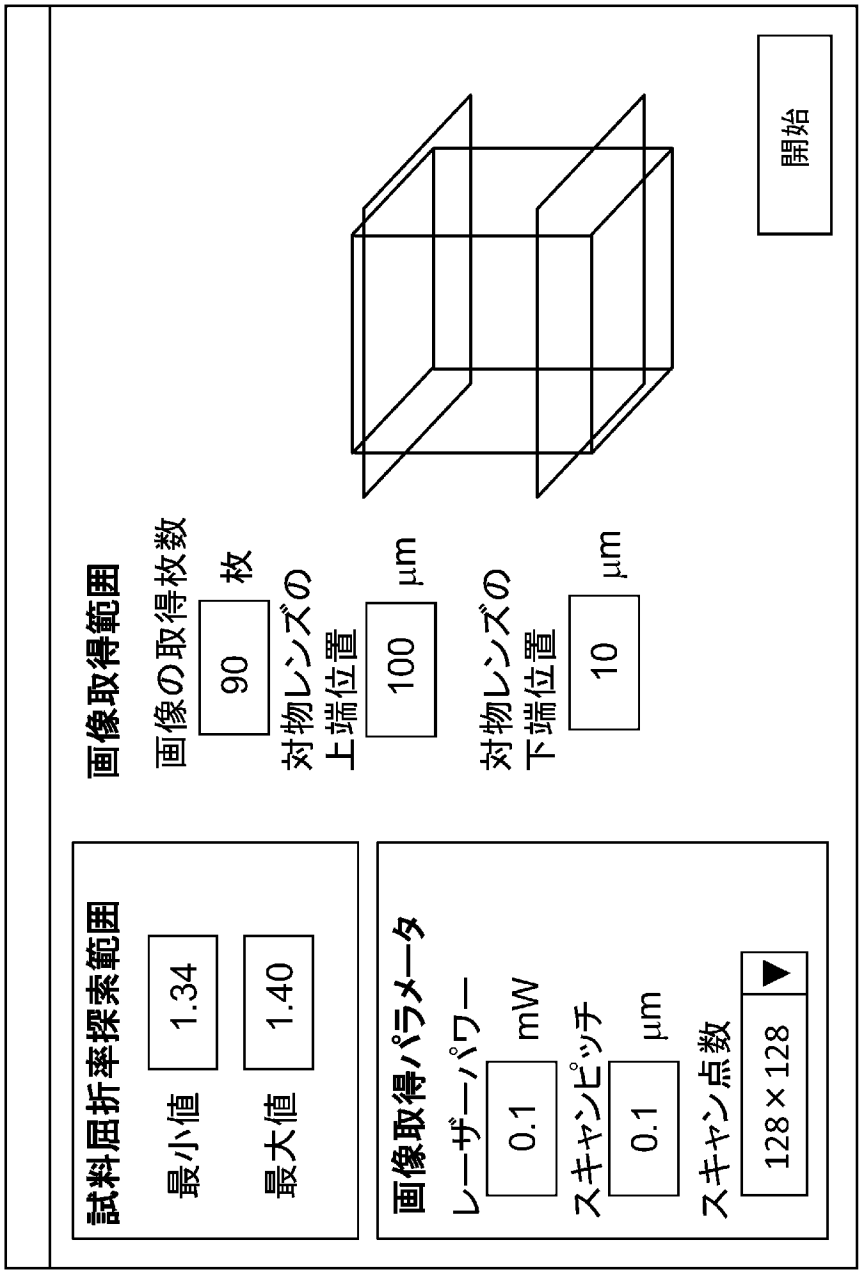
[図26]


表示zスケール
観察深さ
dr
y
x
$T_{3D}1$
表示zスケール
対物レンズの位置
L
y
x
$T_{3D}2$
表示zスケール
補正環固定時の対物レンズの位置
L'
y
x
$T_{3D}3$

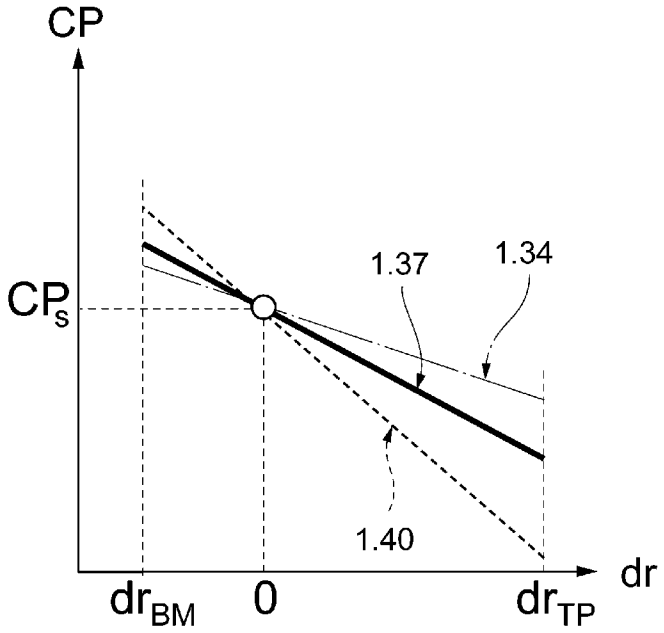
[図27]


開 始
ST401
データテーブルの作成
ST402
観察深さの設定
ST403
補正環位置決定処理
ST404
屈折率の探索範囲、
画像取得パラメータ、
画像取得範囲の入力
ST405
探索を行う屈折率の設定
ST406
m_{CP}とm_{LP}とm_L'を求める
ST407
屈折率探索用の
パラメータリストの作成
ST408
屈折率探索用の
観察深さの設定
A
A
ST409
屈折率探索用の
試料の画像取得
ST410
全ての屈折率について
画像取得？
No
Yes
ST411
試料の屈折率を選択入力
ST412
m_{CP}とm_{LP}とm_L'を求める
ST413
パラメータリストの作成
ST414
試料の画像取得
ST415
試料の画像表示
終 了

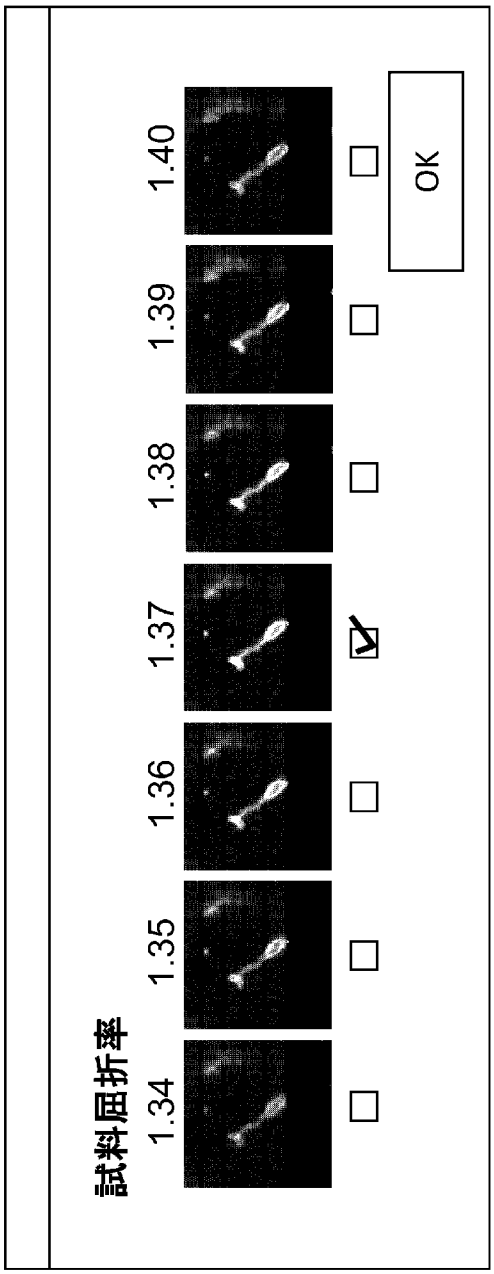
[図28]


試料屈折率探索範囲
最小値
1.34
最大値
1.40
画像取得範囲
画像の取得枚数
90
枚
対物レンズの
上端位置
100
μm
対物レンズの
下端位置
10
μm
画像取得パラメータ
レーザーパワー
0.1
mW
スキャンピッチ
0.1
μm
スキャン点数
128×128
開始

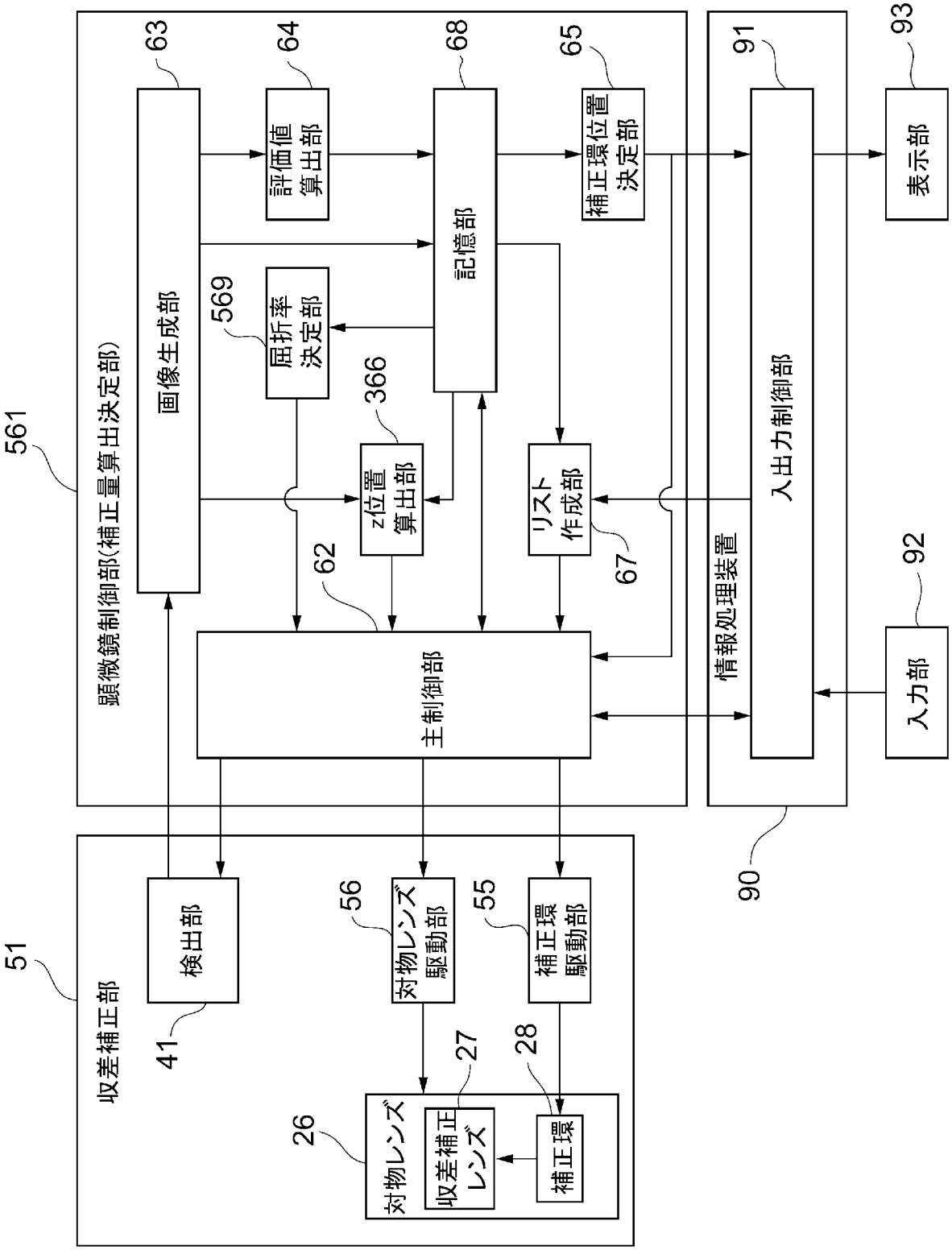
[図29]



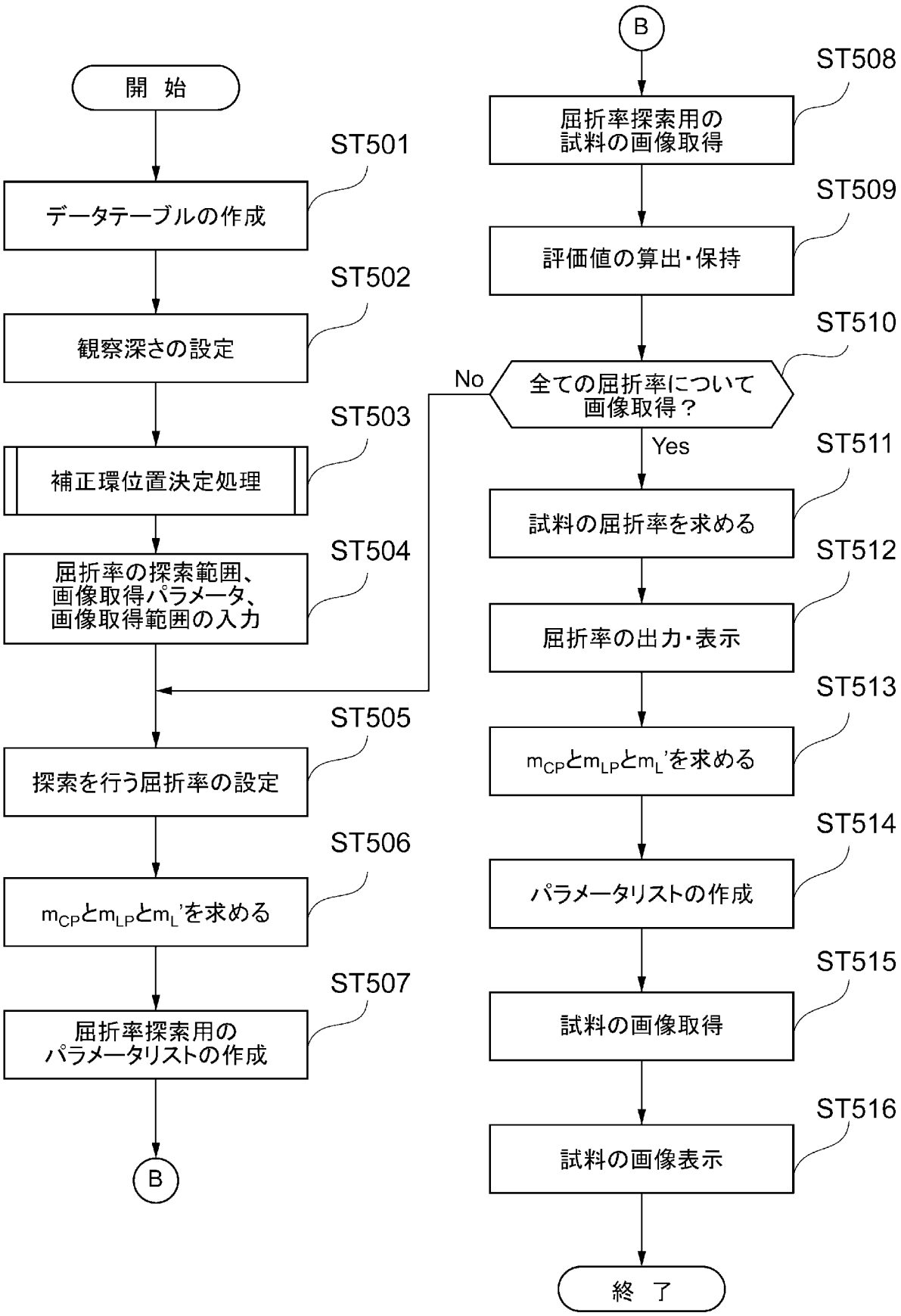
[図30]



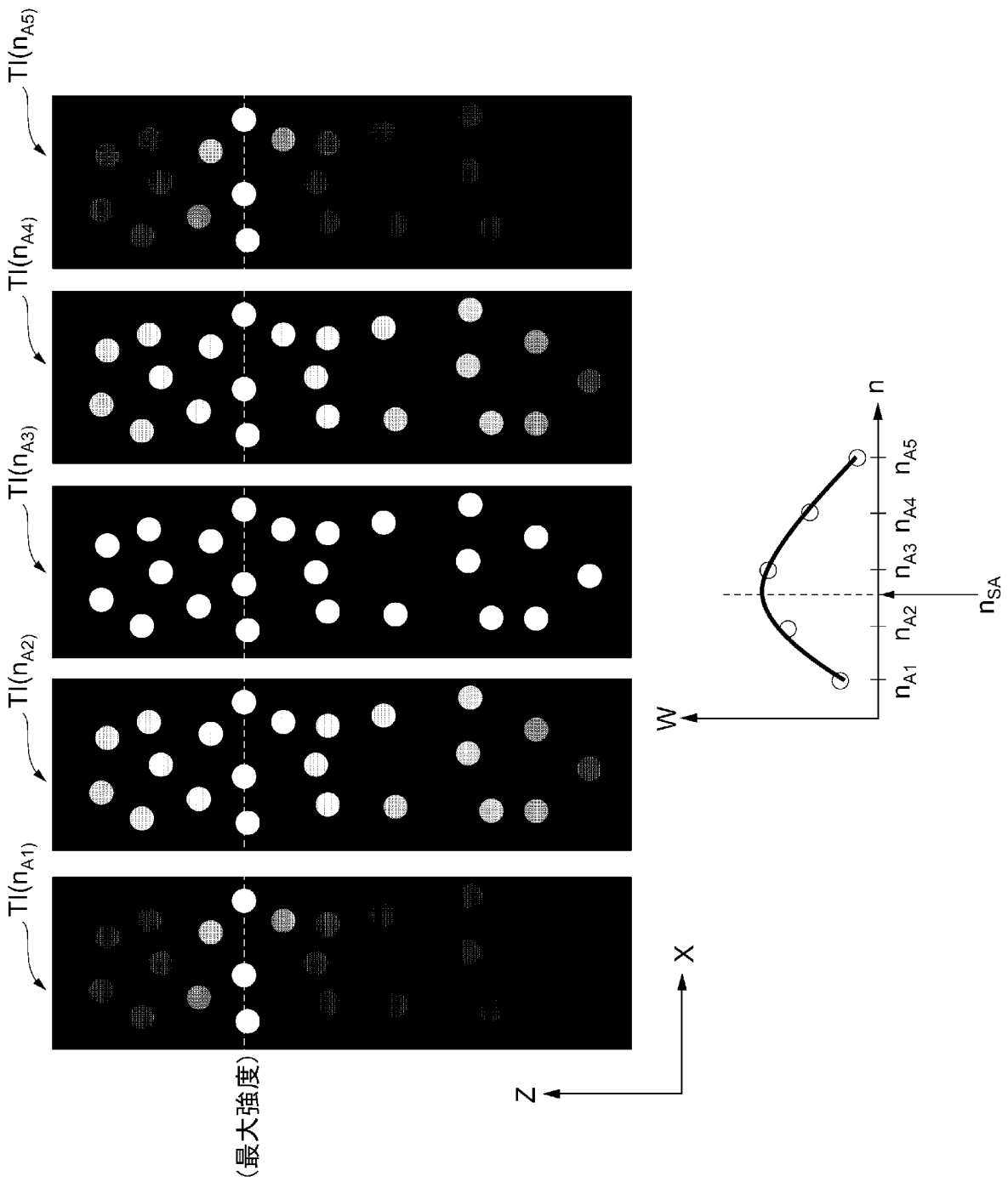
[図31]


561
顕微鏡制御部(補正量算出決定部)
63
画像生成部
64
評価値算出部
68
記憶部
65
補正環位置決定部
569
屈折率決定部
366
z位置算出部
62
主制御部
リスト作成部
67
91
情報処理装置
入出力制御部
93
表示部
92
入力部
90
51
収差補正部
検出部
41
56
対物レンズ駆動部
55
補正環駆動部
26
対物レンズ
27
収差補正レンズ
28
補正環

[図32]


開 始
ST501
データテーブルの作成
ST502
観察深さの設定
ST503
補正環位置決定処理
ST504
屈折率の探索範囲、
画像取得パラメータ、
画像取得範囲の入力
ST505
探索を行う屈折率の設定
ST506
m_{CP}とm_{LP}とm_L'を求める
ST507
屈折率探索用の
パラメータリストの作成
B
B
ST508
屈折率探索用の
試料の画像取得
ST509
評価値の算出・保持
ST510
全ての屈折率について
画像取得？
No
Yes
ST511
試料の屈折率を求める
ST512
屈折率の出力・表示
ST513
m_{CP}とm_{LP}とm_L'を求める
ST514
パラメータリストの作成
ST515
試料の画像取得
ST516
試料の画像表示
終 了

[図33]


TI(n_{A1})
TI(n_{A2})
TI(n_{A3})
TI(n_{A4})
TI(n_{A5})
(最大強度)
Z
X
W
n
n_{A1}
n_{A2}
n_{A3}
n_{A4}
n_{A5}
n_{SA}

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2019/020786

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int. Cl. G02B21/00(2006.01)i, G02B21/02(2006.01)i, G02B21/24(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. G02B21/00-21/36

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 Y	JP 2017-26666 A (OLYMPUS CORP.) 02 February 2017, paragraphs [0013]-[0065], [0098]-[0105], [0136]-[0143], [0166], fig. 1-8, 17, 29-32 & US 2017/0017070 A1, paragraphs [0056]-[0108], [0146]-[0148], [0180]-[0187], [0210], fig. 1-8, 17, 29-32 & US 1028877 B2	1-3, 5-16 3-4, 6-7
X Y	JP 2005-31507 A (OLYMPUS CORP.) 03 February 2005, paragraphs [0028]-[0077], fig. 1-7 & JP 4554174 B2	1-2, 5, 8-16 3-4, 6-7
Y	JP 2018-205069 A (HITACHI, LTD.) 27 December 2018, paragraphs [0013]-[0095], fig. 1-32, in particular, paragraphs [0031]-[0043], [0047]-[0078], fig. 8-23 (Family: none)	4

☒ 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
13.08.2019	20.08.2019
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/JP2019/020786

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2017-505924 A (LEICA MICROSYSTEMS CMS GMBH) 23 February 2017, paragraphs [0027]-[0055], fig. 1-10 & US 2017/0168280 A1, paragraphs [0019]-[0067], fig. 1-10 & US 10365466 B2 & WO 2015/121190 A1 & DE 102014101762 A1 & CN 105980909 A	4

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１９／０２０７８６

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G02B21/00(2006.01)i, G02B21/02(2006.01)i, G02B21/24(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.　G02B21/00-21/36

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 Y	JP 2017-26666 A (オリンパス株式会社) 2017.02.02, 段落 [0013]-[0065],[0098]-[0105],[0136]-[0143],[0166]、図 1-8,17,29-32 & US 2017/0017070 A1、段落 [0056]-[0108],[0146]-[0148],[0180]-[0187],[0210]、図 1-8,17,29-32 & US 1028877 B2	1-3,5-16 3-4,6-7
X Y	JP 2005-31507 A (オリンパス株式会社) 2005.02.03, 段落 [0028]-[0077]、図 1-7 & JP 4554174 B2	1-2,5,8-16 3-4,6-7

☑　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
１３．０８．２０１９	２０．０８．２０１９

国際調査機関の名称及びあて先	特許庁審査官（権限のある職員）	２Ｖ	９２２２
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	森内　正明 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	JP 2018-205069 A (株式会社日立製作所) 2018.12.27, 段落[0013]-[0095]、図 1-32、特に、段落[0031]-[0043],[0047]-[0078]、図 8-23 (ファミリーなし)	4
Y	JP 2017-505924 A (ライカ　マイクロシステムズ　シーエムエス　ゲゼルシャフト　ミット　ベシュレンクテル　ハフツング) 2017.02.23, 段落[0027]-[0055]、図 1-10 & US 2017/0168280 A1、段落[0019]-[0067]、図 1-10 & US 10365466 B2 & WO 2015/121190 A1 & DE 102014101762 A1 & CN 105980909 A	4