

(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
2016年9月29日(29.09.2016)



(10) 国際公開番号
WO 2016/151665 A1

- (51) 国際特許分類:
G02B 21/06 (2006.01) **G01N 21/64** (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2015/058419
- (22) 国際出願日: 2015年3月20日(20.03.2015)
- (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: 三村 正文(MIMURA, Masafumi); 〒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). 照井 勇輝(TERUI, Yuki); 〒1086290 東京都港区港南二丁目15番3号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 西 和哉, 外(NISHI, Kazuya et al.); 〒1700013 東京都豊島区東池袋3-9-7 東池袋織本ビル6F Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,

BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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.

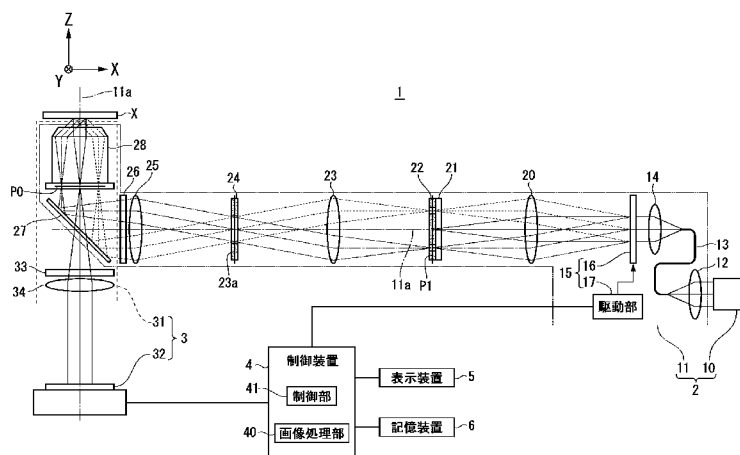
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,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

(54) Title: STRUCTURED ILLUMINATION MICROSCOPE, OBSERVATION METHOD, AND IMAGE PROCESSING PROGRAM

(54) 発明の名称: 構造化照明顕微鏡、観察方法、及び画像処理プログラム



- 4 Control device
5 Display device
6 Storage device
17 Drive unit
40 Image processing unit
41 Control unit

(57) Abstract: [Problem] To provide a structured illumination microscope that can ensure interference fringe contrast while reducing noise. [Solution] A structured illumination microscope that is provided with: an illumination optical system (11) that irradiates a sample (X) with an interference fringe of excitation light that is for exciting a fluorescent substance contained in the sample; a control unit (41) that controls the orientation and the phase of the interference fringe; an image-forming optical system (31) that forms images of the sample when the sample is irradiated with the interference fringe; an imaging element (32) that captures images of the images formed by the image-forming optical system and generates captured images; and an image processing unit (40) that uses the captured images to perform demodulation processing. The image processing unit is provided with: a noise reduction processing unit that considers information on the interference fringe to perform noise reduction processing on the captured images or on images generated from the captured images; and a demodulation unit that uses images that have undergone the noise reduction processing to generate a demodulated image.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2016/151665 A1

【課題】干渉縞のコントラストを確保しつつノイズを低減することが可能な構造化照明顕微鏡を提供する。【解決手段】試料（X）に含まれる蛍光物質を励起するための励起光を、干渉縞で試料に照射する照明光学系（11）と、干渉縞の方向および位相を制御する制御部（41）と、干渉縞が照射された試料の像を形成する結像光学系（31）と、結像光学系が形成した像を撮像して撮像画像を生成する撮像素子（32）と、撮像画像を用いて復調処理を行う画像処理部（40）と、を備える構造化照明顕微鏡であって、画像処理部は、撮像画像または撮像画像から生成された画像に対して、干渉縞の情報を考慮してノイズ低減処理を行うノイズ低減処理部と、ノイズ低減処理後の画像を用いて復調画像を生成する復調部と、を備える。

明 細 書

発明の名称：

構造化照明顕微鏡、観察方法、及び画像処理プログラム

技術分野

[0001] 本発明は、構造化照明顕微鏡、観察方法、及び画像処理プログラムに関する。

背景技術

[0002] 顕微鏡装置において、光学系の分解能を越えた観察を可能とする超解像顕微鏡がある。この超解像顕微鏡の一形態として、構造化照明により試料を照明して変調画像を取得し、その変調画像を復調することにより、試料の超解像画像を生成する構造化照明顕微鏡（S I M : Structured Illumination Microscopy）が知られている（例えば、特許文献 1 を参照）。この手法においては、光源から射出された光束を回折格子等により複数の光束に分歧し、それらの光束を試料の近傍で互いに干渉させることで形成された干渉縞で試料を照明することにより、試料の変調画像を取得している。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：米国再発行特許発明第 3 8 3 0 7 号明細書

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] ところで、変調画像、あるいは変調画像から生成される画像にノイズ低減処理を行う場合に、例えば平滑化フィルタを用いると干渉縞のコントラストが低下し、復調処理により得られる画像の品質が低下することがある。本発明は、上述の事情に鑑みなされたものであり、干渉縞のコントラストを確保しつつノイズを低減することが可能な構造化照明顕微鏡、観察方法、及び制御プログラム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

[0005] 本発明の第1の態様に従えば、試料に含まれる蛍光物質を励起するための励起光を、干渉縞で試料に照射する照明光学系と、干渉縞の方向および位相を制御する制御部と、干渉縞が照射された試料の像を形成する結像光学系と、結像光学系が形成した像を撮像して撮像画像を生成する撮像素子と、撮像画像を用いて復調処理を行う画像処理部と、を備える構造化照明顕微鏡であって、画像処理部は、撮像画像または撮像画像から生成された画像に対して、干渉縞の情報を考慮してノイズ低減処理を行うノイズ低減処理部と、ノイズ低減処理後の画像を用いて復調画像を生成する復調部と、を備えることを特徴とする構造化照明顕微鏡が提供される。

[0006] 本発明の第2の態様に従えば、試料に含まれる蛍光物質を励起するための励起光を、干渉縞で試料に照射することと、干渉縞の方向および位相を制御することと、干渉縞が照射された試料の像を形成することと、結像光学系が形成した像を撮像して撮像画像を生成することと、撮像画像を用いて復調処理を行うことと、を含む観察方法であって、撮像画像または撮像画像から生成された画像に対して、干渉縞の情報を考慮してノイズ低減処理を行うことと、ノイズ低減処理後の画像を用いて復調画像を生成することと、を含むことを特徴とする観察方法が提供される。

[0007] 本発明の第3の態様に従えば、試料に含まれる蛍光物質を励起するための励起光を干渉縞で試料に照射し、干渉縞の方向および位相を制御し、干渉縞が照射された試料の像を撮像して生成される撮像画像または撮像画像から生成される画像に対して、コンピュータに、干渉縞の情報を考慮してノイズ低減処理を行うことと、ノイズ低減処理後の画像を用いて復調画像を生成することと、を実行させることを特徴とする画像処理プログラムが提供される。

発明の効果

[0008] 本発明によれば、干渉縞のコントラストを確保しつつノイズを低減することが可能な構造化照明顕微鏡、観察方法、及び画像処理プログラムプログラムを提供することができる。

図面の簡単な説明

- [0009] [図1]実施形態に係る構造化照明顕微鏡を示す図である。
- [図2]制御装置の機能構成を示すブロック図である。
- [図3]画像処理部の各部における入出力データを示す図である。
- [図4]第1実施形態に係るノイズ低減処理を説明するための図である。
- [図5]実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。
- [図6]第2実施形態に係るノイズ低減処理を説明するための図である。
- [図7]第3実施形態に係るノイズ低減処理を説明するための図である。
- [図8]ノイズ低減処理における重み付けに用いられる式を示す図である。
- [図9]類似度を用いたノイズ低減処理の説明図である。
- [図10]第4実施形態に係るノイズ低減処理を示すフローチャートである。
- [図11]ノイズ低減処理の対象の撮像画像と参照画像を示す概念図である。
- [図12]第4実施形態に係るノイズ低減処理を示すフローチャートである。
- [図13]類似度を算出する処理を示す概念図である。
- [図14]第5実施形態に係るノイズ低減処理を示すフローチャートである。
- [図15]参照領域、参照パッチ領域を設定する処理の他の例を示す概念図である。
- [図16]候補領域の変形例、類似度を算出する処理を示す概念図である。

発明を実施するための形態

[0010] [第1実施形態]

次に、図面を参照しながら実施形態について説明する。図1は、実施形態に係る構造化照明顕微鏡1を示す図である。構造化照明顕微鏡1は、構造化照明装置2と、撮像装置3と、制御装置4と、表示装置5と、記憶装置6とを備える。構造化照明顕微鏡1は、例えば蛍光顕微鏡であり、予め蛍光染色された細胞などを含む試料Xの観察などに利用される。試料Xは、例えば、ステージ（図示せず）に保持される。

- [0011] 構造化照明顕微鏡1は、概略すると以下のように動作する。構造化照明装置2は、干渉縞を形成し、干渉縞で試料Xを照明する。撮像装置3は、干渉

縞により照明されている試料Xの蛍光像を撮像する。この蛍光像は、干渉縞により変調されたモアレ像である。制御装置4は、構造化照明顕微鏡1の各部を制御する。制御装置4は、構造化照明装置2を制御して、干渉縞を複数の状態に切り替える。制御装置4は、撮像装置3を制御して、干渉縞の複数の状態のそれぞれにおいて試料Xの像を撮像させ、複数の画像を取得する。制御装置4は、複数の画像を用いて復調処理を行うことにより、撮像装置3の光学系の解像限界を超えた超解像画像を形成することができる。制御装置4は、例えば、形成した超解像画像を表示装置5に表示させる。また、制御装置4は、例えば、形成した超解像画像（復調画像）のデータを記憶装置6に記憶させる。

[0012] 構造化照明顕微鏡1は、試料Xのうち観察対象の面（以下、試料面という）の2次元的な超解像画像を形成する2D-SIMモードと、試料面に垂直な方向の情報を含む3次元的な3次元超解像画像を形成する3D-SIMモードとを有する。以下、2D-SIMモードを中心に説明した後、3D-SIMモードについて説明する。

[0013] 構造化照明装置2は、光源部10と、照明光学系11とを備える。光源部10は、例えばレーザダイオードを含み、レーザ光などの可干渉光を発する。以下の説明において、光源部10から発せられた光を照明光という。構造化照明顕微鏡1により蛍光観察を行う場合、照明光の波長は、試料Xに含まれる蛍光物質の励起波長を含む波長帯に設定される。

[0014] なお、光源部10の少なくとも一部は、構造化照明装置2に含まれていなくてもよい。例えば、光源部10は、ユニット化されており、構造化照明装置2に交換可能（取り付け可能、取り外し可能）に設けられていてもよい。例えば、光源部10は、構造化照明顕微鏡1による観察時などに、構造化照明装置2に取り付けられてもよい。

[0015] 照明光学系11は、試料Xに含まれる蛍光物質を励起するための励起光（照明光）を、干渉縞で試料に照射する。照明光学系11は、光源部10から試料Xに向かう順に、集光レンズ12、導光部材13、及びコリメータ14

、及び分岐部 15 を備える。導光部材 13 は、例えば光ファイバーを含む。集光レンズ 12 は、光源部 10 からの照明光を、導光部材の光入射側の端面に集光する。導光部材 13 は、集光レンズ 12 からの照明光をコリメータ 14 へ導く。コリメータ 14 は、導光部材 13 からの照明光を平行光に変換する。

[0016] 照明光学系 11 は、分岐部 15 によって照明光を複数の回折光に分岐し、複数の回折光の干渉により形成される干渉縞で試料 X を照明する。図 1 には、複数の光束のうち、0 次回折光（実線で示す）、+1 次回折光（破線で示す）、及び -1 次回折光（2 点鎖線で示す）を示した。以下の説明において、回折光のうち +1 次回折光と -1 次回折光の一方または双方を指す場合に、単に 1 次回折光と表記する。また、1 次回折光が 0 次回折光に対して偏向する方向（図 1 では Z 方向）を、分岐方向という。

[0017] 照明光学系 11 は、2D-SIM モードにおいて、複数の回折光のうち +1 次回折光と -1 次回折光との干渉により形成される干渉縞によって試料を照明する。2D-SIM モードにおいて、照明光学系 11 は、例えば、+1 次回折光と -1 次回折光との干渉縞を形成し、0 次回折光および 2 次以上の回折光を干渉縞の形成に用いない。

[0018] 照明光学系 11 は、例えば、球面レンズ、非球面レンズなどの回転対称な形状のレンズ部材を含む。以下、このレンズ部材の対称軸を、照明光学系 11 の光軸 11a という。なお、照明光学系 11 は、自由曲面レンズを含んでもよい。

[0019] 分岐部 15 は、照明光を複数の回折光に分岐する。分岐部 15 は、例えば、回折格子 16 および駆動部 17 を備える。回折格子 16 は、照明光学系 11 の光軸 11a に交差する面内に、例えば 1 次元の周期構造を有する。この周期構造において単位構造が並ぶ方向は、上述の分岐方向に相当する。この周期構造は、濃度（透過率）が周期的に変化する構造であってもよいし、段差（位相差）が周期的に変化する構造であってもよい。回折格子 16 が位相型である場合、±1 次回折光の回折効率が高く、干渉縞の形成に ±1 次回折

光を用いる場合に光量のロスを低減することができる。なお、分岐部 15 は、例えば、回折格子 16 の代わりに強誘電性液晶を用いた空間光変調素子によって、照明光を複数の光束に分岐する構成でもよい。

[0020] 駆動部 17 は、回折格子 16 を照明光学系 11 の光軸 11a に交差する方向に移動させる。これにより、照明光によって形成される干渉縞の位相が変化する。制御装置 4（制御部 41）は、駆動部 17 を制御することにより、干渉縞の位相を制御する。また、駆動部 17 は、回折格子 16 を照明光学系 11 の光軸 11a と平行な軸周りに回転（回動）させる。これにより、照明光によって形成される干渉縞の方向が変化する。制御装置 4（制御部 41）は、駆動部 17 を制御することにより、干渉縞の方向を制御する。

[0021] 2D-SIMにおいて1枚の復調画像の生成には、例えば、9枚の画像が用いられる。構造化照明顕微鏡 1 は、干渉縞の方向を 3 通りに変更し、干渉縞の各方向について干渉縞の位相を 3 通りに変更し、干渉縞の方向と位相との組み合わせが異なる 9 通りの各状態で試料 X を撮像する。

[0022] 照明光学系 11 は、分岐部 15 から試料 X に向かう順に、レンズ 20、1/2 波長板 21、マスク 22、レンズ 23、視野絞り 24、レンズ 25、フィルタ 26、ダイクロイックミラー 27、及び対物レンズ 28 を含む。

[0023] 分岐部 15 で発生した回折光は、レンズ 20 に入射する。レンズ 20 は、例えば、その焦点が分岐部 15 とほぼ一致するように、配置される。レンズ 20 は、対物レンズ 28 の後側焦点面（瞳面）と共役な位置である、いわゆる瞳共役面 P1 において、分岐部 15 で分岐した複数の光束のうち同じ次数の回折光を同じ位置に集光する。例えば、レンズ 20 は、分岐部 15 で発生した 0 次回折光を、瞳共役面 P1 において照明光学系 11 の光軸 11a 上に集光する。レンズ 20 は、分岐部 15 で発生した +1 次回折光を、瞳共役面 P1 において光軸 11a から離れた位置に集光する。レンズ 20 は、分岐部 15 で発生した -1 次回折光を、光軸 11a に関して +1 次回折光と対称的な位置に集光する。

[0024] 1/2 波長板 21 は、例えばレンズ 20 とレンズ 23 との間の光路に配置

され、試料Xに入射する際の照明光の偏光状態がS偏光になるように、照明光の偏光状態を調整する。例えば、図1の状態において、試料Xに対する1次回折光の入射面はXZ平面であり、1/2波長板21は、照明光学系11から射出される照明光の偏光状態がY方向の直線偏光になるように、照明光の偏光状態を調整する。分岐部15において回折方向が変更されると試料Xに対する1次回折光の入射面がZ方向の周りで回転するため、1/2波長板21は、回折方向に応じて照明光の偏光状態を調整する。なお、1/2波長板21は、分岐部15と試料Xとの間の光路のいずれの位置に配置されていてもよい。

[0025] マスク22は、干渉縞の形成に使われる回折光を通し、干渉縞の形成に使われない回折光を遮断する。マスク22は、2D-SIMモードにおいて、1次回折光を通し、0次回折光および2次以上の回折光を遮断する。マスク22は、1次回折光の光路が0次回折光の光路から分離する位置、例えば瞳共役面P1に配置される。マスク22は、例えば開口絞りであり、試料Xに入射する光線の角度を規定する。2D-SIMモードにおいて、マスク22は、0次回折光が入射する部分が遮光部になり、1次回折光が入射する部分が開口部（透過部）になる。

[0026] マスク22を通った照明光は、レンズ23に入射する。レンズ23は、分岐部15と光学的に共役な中間像面23aを形成する。視野絞り24は、例えば中間像面23aに配置される。視野絞り24は、照明光学系11の光軸11aに垂直な面内において、照明光学系11から試料Xに照明光が照射される範囲（照野、照明領域）を規定する。

[0027] 視野絞り24を通った照明光は、レンズ25に入射する。レンズ25は、例えば第2対物レンズである。レンズ25は、分岐部15上の各点からの+1次回折光を、対物レンズ28の後側焦点面（瞳面P0）に集光する。また、レンズ25は、分岐部15上の各点からの-1次回折光を、対物レンズ28の後側焦点面（瞳面P0）の他の位置に集光する。つまり、レンズ25は、分岐部15の各点からの-1次回折光を、照明光学系11の光軸に関して

+ 1 次回折光と対称的な位置に集光する。

[0028] レンズ 2 5 を通った照明光は、フィルタ 2 6 に入射する。フィルタ 2 6 は、例えば励起フィルタであり、試料 X に含まれる蛍光物質の励起波長を含む波長帯の光が選択的に通る特性を有する。フィルタ 2 6 は、例えば、照明光のうち励起波長以外の波長の少なくとも一部、迷光、外光などを遮断する。フィルタ 2 6 を通った光は、ダイクロイックミラー 2 7 に入射する。ダイクロイックミラー 2 7 は、試料 X に含まれる蛍光物質の励起波長を含む波長帯の光が反射し、試料 X からの光のうち所定の波長帯の光（例、蛍光）が通る特性を有する。フィルタ 2 6 からの光は、ダイクロイックミラー 2 7 で反射し、対物レンズ 2 8 に入射する。

[0029] 対物レンズ 2 8 は、中間像面 2 3 a と光学的に共役な面、すなわち分岐部 1 5 と光学的に共役な面を試料 X 上に形成する。つまり、対物レンズ 2 8 は、試料 X 上に、構造化照明を形成する。+ 1 次回折光は、対物レンズ 2 8 の瞳面 P O 上で光軸 1 1 a から離れたスポットを形成する。− 1 次回折光は、瞳面 P O において、光軸 1 1 a に関して + 1 次回折光と対称的な位置にスポットを形成する。1 次回折光が形成するスポットは、例えば、瞳面 P O の外周部に配置される。1 次回折光は、対物レンズ 2 8 の開口数（N A）に応じた角度で焦点面に入射する。

[0030] 試料 X は、観察時に、その観察対象の部分が対物レンズ 2 8 の前側焦点面に配置される。2 D S I M モードにおいて、試料 X に形成される干渉縞は、例えば、照明光学系 1 1 の光軸 1 1 a に垂直な方向（X Y 面内）に光強度の周期的な分布を有する。この干渉縞は、分岐部 1 5 の周期方向に応じた方向に、ライン状の明部と暗部とが周期的に並ぶパターンである。ここでは、干渉縞において、明部および暗部に平行な方向をライン方向と称し、明部と暗部とが並ぶ方向を周期方向と称する。干渉縞の方向は、例えば、ライン方向と周期方向の少なくとも一方により規定される。

[0031] 試料 X のうち干渉縞の明部に配置されている部分は、蛍光物質が励起されて、蛍光を発する。以下、試料 X の構造（例、蛍光物質）の分布を蛍光密度

分布という。試料Xの蛍光像は、照明光学系11が形成する干渉縞と、試料Xの蛍光密度分布とのモアレ像である。撮像装置3は、このモアレ像の画像を取得する。

[0032] 撮像装置3は、結像光学系31および撮像素子32を備える。結像光学系31は、対物レンズ28、ダイクロイックミラー27、フィルタ33、及びレンズ34を備える。結像光学系31は、対物レンズ28およびダイクロイックミラー27を照明光学系11と共用している。試料Xからの光（以下、観察光という）は、対物レンズ28に入射して平行化され、ダイクロイックミラー27を通してフィルタ33に入射する。

[0033] フィルタ33は、例えば蛍光フィルタである。フィルタ33は、試料Xからの観察光のうち所定の波長帯の光（例、蛍光）が選択的に通る特性を有する。フィルタ33は、例えば、試料Xで反射した照明光、外光、迷光などを遮断する。フィルタ33を通った光は、レンズ34に入射する。レンズ34は、対物レンズ28の前側焦点面（物体面）と光学的に共役な面（像面）を形成する。試料Xからの蛍光による像（モアレ像）は、この像面に形成される。

[0034] 撮像素子32は、例えばCCDイメージセンサやCMOSイメージセンサなどの二次元イメージセンサを含む。撮像素子32は、例えば、二次元的に配列された複数の画素を有し、各画素にフォトダイオードなどの光電変換素子が配置された構造である。撮像素子32は、例えば、光電変換素子への観察光の照射によって生じた電荷を、読出回路によって読み出す。撮像素子32は、読み出された電荷をデジタルデータ（例、8ビットの階調値）に変換し、画素の位置と階調値とを関連付けたデジタル形式の画像データを出力する。

[0035] 構造化照明顕微鏡1は、撮像装置3が取得した撮像画像を使って画像処理を行う画像処理部40を備える。画像処理部40は、例えば、制御装置4に設けられるが、制御装置4と別に設けられていてもよい。画像処理部40は、例えば、撮像素子32が撮像した撮像画像に対してノイズ低減処理を行い

、ノイズ低減処理後の画像（ノイズが低減された画像）を用いて復調画像を生成する。

[0036] 図2は、制御装置4の機能構成を示すブロック図である。制御装置4は、制御部41、画像処理部40、及び記憶部42を備える。制御装置4は、例えば、CPUおよびRAMを備えるコンピュータシステムを含み、記憶部42はRAMなどのワークメモリである。制御部41は、撮像素子32から撮像画像のデータを取得し、撮像画像のデータを記憶装置6に記憶させる。画像処理部40は、撮像画像のデータを記憶装置6から取得し、ノイズ低減処理を行う。画像処理部40は、ノイズ低減処理部43、及び復調部45を備える。

[0037] 図3は、画像処理部40の各部における入出力データを示す図である。ノイズ低減処理部43は、撮像画像のデータを取得する。ノイズ低減処理部43は、例えば撮像画像に対してノイズ低減処理を行い、ノイズが低減された画像を生成する。ノイズ低減処理部43は、ノイズが低減された画像のデータを出力する。復調部45は、ノイズ低減処理部43が生成したノイズが低減された画像のデータを取得し、ノイズが低減された画像を用いて復調画像を生成（構築）する。復調部45は、復調画像のデータを出力する。制御部41は、例えば、復調画像のデータを記憶装置6に記憶させる。制御部41は、例えば、復調画像のデータを表示装置5（図1参照）に供給し、表示装置5に復調画像を表示させる。

[0038] なお、画像処理部40は、図3（B）および図3（C）に示すように、中間画像生成部44を備えていてもよい。中間画像生成部44は、例えば、復調画像を生成する処理の前処理を行って、中間画像を生成する。例えば、中間画像生成部44は、図3（B）に示すように、ノイズ低減処理部43が生成したノイズが低減された画像のデータを取得し、ノイズが低減された画像を用いて中間画像を生成する。中間画像生成部44は、中間画像のデータを出力する。復調部45は、中間画像生成部44が生成した中間画像のデータを取得し、中間画像を用いて復調画像を生成（構築）する。復調部45は、

復調画像のデータを出力する。

[0039] なお、ノイズ低減処理部43は、中間画像を用いてノイズが低減された画像を生成してもよい。例えば、図3(C)に示すように、中間画像生成部44は、撮像画像のデータを取得し、撮像画像を用いて中間画像を生成する。中間画像生成部44は、中間画像のデータを出力する。ノイズ低減処理部43は、中間画像生成部44が生成した中間画像のデータを取得し、中間画像に対してノイズ低減処理を行って、ノイズが低減された画像を生成する。ノイズ低減処理部43は、ノイズが低減された画像のデータを出力する。復調部45は、ノイズ低減処理部43が生成したノイズが低減された画像のデータを取得し、ノイズが低減された画像を用いて復調画像を生成する。復調部45は、復調画像のデータを出力する。以上説明したように、ノイズ低減処理部43は、撮像画像に対してノイズ低減処理を行ってもよいし、撮像画像から生成された画像に対してノイズ低減処理を行ってもよい。

[0040] 図4は、本実施形態に係るノイズ低減処理を説明するための図である。図4(A)に示すように、撮像画像50において干渉縞は、周期的に並ぶ帯状の明部51および暗部52を含む。以下の説明において、明部51および暗部52がそれぞれ延びる方向をライン方向と称し、明部51と暗部52とが並ぶ方向を周期方向という。ライン方向は、例えば、干渉縞において光強度が極大となる位置を結ぶ線（明部51の中心線）に平行な方向である。干渉縞の周期方向は、ライン方向に垂直な方向である。以下、撮像画像50の水平走査方向と干渉縞のライン方向との角度を符号 θ で表す。

[0041] 本実施形態において、ノイズ低減処理部43は、干渉縞の方向の情報に基づいてノイズ低減処理を行う。ノイズ低減処理部43は、図4(A)に示すように、撮像画像50から、ノイズ低減の対象となる対象領域Pを選択する。対象領域Pは、例えば撮像画像50上の1画素の領域であるが、複数の画素を含む領域であってもよい。また、対象領域Pは、撮像画像50上の1画素の一部であってもよく、例えば、撮像画像50上の1点（注目点、対象点）であってもよい。

[0042] 次に、ノイズ低減処理部43は、図4（B）に示すように、対象領域Pを通り干渉縞のライン方向に平行な領域を候補領域R_p（サーチ領域）とする。次に、ノイズ低減処理部43は、図4（C）に示すように、候補領域R_pから複数の参照領域Q（符号各参照領域をQ₁、Q₂、Q₃で示す）を選択する。参照領域Qは、例えば、対象領域Pと同じ広さの領域であり、ここでは撮像画像50の1画素であるものとする。

[0043] このように、ノイズ低減処理部43は、干渉縞の方向の情報に基づいて参照領域Qを選択する。干渉縞の方向（例、ライン方向、周期方向）を示す情報は、例えば、干渉縞の設定情報として図2に示した記憶装置6に記憶されており、ノイズ低減処理部43は、記憶装置6から干渉縞の設定情報を取得し、設定情報に基づいて設定される候補領域R_pから参照領域Qを選択する。なお、画像処理部40は、例えば撮像画像50を解析することにより干渉縞の方向に関する情報を取得し、ノイズ低減処理部43は、撮像画像50から得られた干渉縞の方向の情報に基づいて、参照領域Qを選択してもよい。

[0044] 以下、対象領域Pに属する画素の位置をP（x，y）で表し、参照領域Qに属する画素の位置をQ（ξ，η）で表す。x、ξは、それぞれ、水平走査方向において端の画素の位置を基準とする画素の座標である。y、ηは、それぞれ、垂直走査方向において端の画素の位置を基準とする画素の座標である。例えば、1920列1080行の画素配列を有する画像である場合、x、ξは0以上1919以下の整数であり、y、ηは0以上1079以下の整数である。

[0045] 上述のξおよびηは、幾何的な観点で、下記の式（1）の関係を満たす。

$$\eta = (\xi - x) \tan \theta + y \quad \cdots (1)$$

ノイズ低減処理部43は、例えば、上記の式（1）のξにx+1を代入し、このξに対するηを算出する。ここで、上記の式のsinθ、tanθは無理数であり、算出されたηは無理数となる。ノイズ低減処理部43は、例えば、小数点以下の四捨五入、切り捨て、切り上げなどの丸めなどにより、算出されるηを整数に変換してもよい。また、ノイズ低減処理部43は、最

近傍補間 (Nearest neighbor) などにより、 ξ および η が整数となる参照領域 Q を選択してもよい。

[0046] ノイズ低減処理部 43 は、例えば、撮像画像 50 の範囲内で ξ を $x+2$ 、 $x+3$ 、 $\dots$ というようにインクリメントし、それぞれの ξ に対する η を算出する。また、ノイズ低減処理部 43 は、撮像画像 50 の範囲内で ξ を $x-1$ 、 $x-2$ 、 $\dots$ というようにデクリメントし、それぞれの ξ に対する η を算出する。

[0047] なお、ノイズ低減処理部 43 は、候補領域 R_p に属する全画素のそれぞれを参照領域 Q としてもよいし、候補領域 R_p に属する一部の画素を参照領域 Q に用いなくてもよい。例えば、ノイズ低減処理部 43 は、候補領域 R_p に属する画素のうち、対象領域 P までの距離が閾値以下となる画素のみを参照領域 Q に用いてもよい。また、ノイズ低減処理部 43 は、候補領域 R_p に属する全画素からランダムに選択される画素を、参照領域 Q に用いてもよい。

[0048] ノイズ低減処理部 43 は、複数の参照領域 Q の光強度情報（例、輝度値、画素値、画素強度、階調値）に基づいて、ノイズ低減処理を行う。例えば、ノイズ低減処理部 43 は、複数の参照領域 Q の輝度値を、ノイズ低減処理における対象領域 P の輝度値の算出に利用する。以下、ノイズ低減処理後の画像における対象領域 P の輝度値を、適宜、補正後の輝度値という。

[0049] ノイズ低減処理部 43 は、複数の参照領域 Q の輝度値を重み付けし（輝度値の加重平均を算出し）、その結果を対象領域 P における補正後の輝度値とする。重み付け係数は、例えば、対象領域 P の周囲と参照領域 Q の周囲との類似度（後に、第 3 実施形態で説明する）に基づいて決定されてもよい。また、重み付け係数は、類似度以外のパラメータ、例えば対象領域 P からの距離に基づいて（例、距離の逆数に比例）、決定されてもよい。また、ノイズ低減処理部 43 は、加重平均以外の手法を用いて、対象領域 P における補正後の輝度値を算出してもよく、例えば、複数の参照領域 Q の輝度値の相加平均を算出し、その結果を対象領域 P の補正後の輝度値としてもよい。

[0050] 上述のように、ノイズ低減処理部 43 は、干渉縞の情報に基づいてノイズ

低減処理を行う。そのため、例えば、複数の参照領域Qと干渉縞との位置関係が、対象領域Pと干渉縞と位置関係と同様になり、干渉縞のコントラストを確保しつつノイズを低減することができる。

[0051] ノイズ低減処理部43は、例えば、撮像画像50の全画素のそれぞれを対象領域Pに選択し、補正後の輝度値を算出することによって、ノイズが低減された画像を生成する。例えば、ノイズ低減処理部43は、撮像画像50の範囲内で $y = 0$ に対して x を0、1、・・・というようにインクリメントし、水平走査方向の一行の画素群に含まれる画素を順に対象領域Pに設定し、各画素について補正後の輝度値を算出する。また、ノイズ低減処理部43は、 y をインクリメントし、次の行の画素群に含まれる画素についても同様に補正後の輝度値を算出する。

[0052] なお、ノイズ低減処理部43は、撮像画像50の一部の領域について、補正後の輝度値を算出しなくてもよい。例えば、ノイズ低減処理部43は、撮像画像50のうちユーザが指定する一部の領域について補正後の輝度値を算出してもよく、他の領域を除いてノイズが低減された画像を生成してもよい。また、対象領域P、参照領域Qの光強度情報は、例えば、 x 、 y 、 ξ 、 η の少なくとも一つが整数でない場合、輝度値（画素値）を用いて各種の補間法によって算出される値であってもよい。各種の補間法としては、例えば、最近傍補間（Nearest neighbor）、双一次補間（Bilinear）、双三次補間（Bicubic）などが挙げられる。

[0053] 次に、上述のような構造化照明顕微鏡1の動作に基づき、本実施形態に係る観察方法について説明する。2D-SIMモードにおいて、構造化照明顕微鏡1は、例えば、干渉縞の方向を第1方向～第3方向の3通りに変更する。例えば、第1方向は、照明光学系11の光軸11aに直交する面内で任意に選択される方向であり、第2方向、第3方向は、それぞれ、第1方向と120°、240°の角度をなす方向である。また、構造化照明顕微鏡1は、干渉縞の方向が第1～第3方向の各方向に設定されている状態で、例えば、干渉縞の位相を第1～第3位相の3通りに変更する。例えば、第1位相は、

照明光学系 1 1 の光軸 1 1 a に直交する面内で任意に設定される位相であり、第 2 位相、第 3 位相は、それぞれ、第 1 位相から $2\pi/3$ 、 $4\pi/3$ ずれた位相である。このように、構造化照明顕微鏡 1 は、干渉縞の状態（方向と位相との組み合わせ）を例えば 9 通りに変更し、各状態の干渉縞によって照明されている試料 X の撮像画像を取得する。

[0054] 図 5 は、本実施形態に係る観察方法を示すフローチャートである。ステップ S 1 において、構造化照明顕微鏡 1 は、干渉縞の方向を設定する。例えば、制御部 4 1 は、駆動部 1 7 を制御して回折格子 1 6 を第 1 回転位置に配置させ、干渉縞の方向を第 1 方向に設定する。ステップ S 2 において、構造化照明顕微鏡 1 は、干渉縞の位相を設定する。例えば、制御部 4 1 は、駆動部 1 7 を制御して回折格子 1 6 を所定の位置に配置させ、干渉縞の位相を第 1 位相に設定する。ステップ S 3 において、構造化照明顕微鏡 1 は、干渉縞によって照明されている試料 X の画像を取得する。例えば、制御部 4 1 は、撮像素子 3 2 を制御して試料 X を撮像させ、撮像素子 3 2 から撮像画像を取得する。

[0055] ステップ S 4 において、構造化照明顕微鏡 1（例、制御部 4 1）は、干渉縞の位相として予定されている全ての位相（第 1～第 3 位相）について、撮像が終了したか否かを判定する。制御部 4 1 は、撮像が終了していない位相があると判定した場合（ステップ S 4；No）、ステップ S 2 に戻り、駆動部 1 7 により回折格子 1 6 を移動させることによって、干渉縞の位相を次の位相に設定する。例えば、制御部 4 1 は、ステップ S 2 からステップ S 4 の処理を繰り返すことによって、干渉縞の方向が第 1 方向に設定された状態において、干渉縞の位相が異なる 3 枚の撮像画像を取得する。

[0056] 構造化照明顕微鏡 1（例、制御部 4 1）は、全ての位相が終了したと判定した場合（ステップ S 4；Yes）、ステップ S 5 において、干渉縞の方向として予定されている全ての方向（第 1～第 3 方向）について、撮像が終了したか否かを判定する。制御部 4 1 は、撮像が終了していない方向があると判定した場合（ステップ S 5；No）、ステップ S 1 に戻り、駆動部 1 7 に

より回折格子 16 を回転させることによって、干渉縞の方向を次の方向に設定する。制御部 41 は、ステップ S1 からステップ S5 の処理を繰り返すことによって、干渉縞の状態が異なる 9 枚の撮像画像を取得する。

[0057] ステップ S6 において、構造化照明顕微鏡 1 は、ステップ S3 で得られた撮像画像、または撮像画像から生成された画像に対してノイズ低減処理を行う。例えば、制御部 41 は、画像処理部 40 にノイズ低減処理を実行させる。画像処理部 40（例、ノイズ低減処理部 43）は、例えば図 4 を参照して説明した手法により、撮像画像 50 に対してノイズ低減処理を行う。

[0058] ステップ S7 において、構造化照明顕微鏡 1 は、ノイズが低減された画像のデータを用いて、復調画像（復元画像）を生成する。例えば、画像処理部 40 は、例えば、米国特許第 8115806 号明細書に開示された方法で復調処理を行う。なお、復調処理の方法は、この方法に限られない。本実施形態に係る構造化照明顕微鏡 1 は、干渉縞のコントラストを確保しつつノイズを低減することができるので、例えば、高品質な復調画像を生成することができる。

[0059] 次に、3D-SIMモードについて説明する。照明光学系 11 は、3D-SIMモードにおいて、+1 次回折光と -1 次回折光との干渉縞と、0 次回折光と -1 次回折光との干渉縞と、0 次回折光と +1 次回折光との干渉縞とが合成された合成干渉縞によって、試料 X を照明する。マスク 22 は、3D-SIMモードにおいて、0 次回折光および 1 次回折光を通し、2 次以上の回折光を遮断する。なお、マスク 22 において 0 次回折光が入射する部分は、0 次回折光の通過と遮断とを切り替え可能なシャッタ部になっていてもよい。

[0060] 3D-SIMモードにおいて、構造化照明顕微鏡 1 は、例えば、干渉縞の方向を第 1 方向～第 3 方向の 3 通りに変更する。また、構造化照明顕微鏡 1 は、干渉縞の方向が第 1～第 3 方向の各方向に設定されている状態で、例えば、干渉縞の位相を第 1～第 5 位相の 5 通りに変更する。例えば、第 1 位相は、照明光学系 11 の光軸 11a に直交する面内で任意に設定される位相で

あり、第2～第5位相は、それぞれ、第1位相から $2\pi/5$ 、 $4\pi/5$ 、 $6\pi/5$ 、 $8\pi/5$ ずれる位相である。構造化照明顕微鏡1は、干渉縞の状態（方向と位相との組み合わせ）を例えば15通りに変更し、各状態の干渉縞によって照明されている試料Xの撮像画像を取得する。3D-SIMモードにおいて1枚の復調画像の生成には、例えば、15枚の画像が用いられる。ノイズ低減処理部43は、3D-SIMモードにおいて2D-SIMモードと同様に、ノイズ低減処理を行うことができる。

[0061] 3D-SIMモードにおいて、復元処理は、例えば、米国特許第8115806号明細書に開示された方法を用いる処理であってもよいし、“Super-Resolution Video Microscopy of Live Cells by Structured Illumination”, Peter Kner, Bryant B. Chhun, Eric R. Griffis, Lukman Winoto, and Mats G. L. Gustafsson, NATURE METHODS Vol.6 NO.5, pp.339-342, (2009)に記載された方法を用いる処理であってもよい。復調処理に用いられる方法は、これらの方法に限られない。

[0062] [第2実施形態]

次に、第2実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。図6は、本実施形態に係るノイズ低減処理を説明するための図である。

[0063] 本実施形態において、画像処理部40は、干渉縞の方向の情報および干渉縞の周期（空間周波数）の情報に基づいて、ノイズ低減処理を行う。以下の説明において、周期方向における干渉縞の1周期分の長さを λ で表す。 λ は、例えば、明部51の中心線と隣の明部51の中心線との距離（ピッチ）である。ノイズ低減処理部43は、図6（A）に示すように、撮像画像50から対象領域Pを選択する。

[0064] 次に、ノイズ低減処理部43は、図6（B）に示すように、対象領域Pを通り干渉縞のライン方向に平行な第1候補領域 R_{pa} 、及び第1候補領域 R_{pa} に平行な第2候補領域 R_{pb} を含む領域を候補領域 R_p （サーチ領域）

とする。第2候補領域 R_{pb} は、第1候補領域 R_{pa} に対して λ の間隔で周期的に並ぶ帯状の領域である。

[0065] 次に、ノイズ低減処理部43は、図6(C)に示すように、候補領域 R_p から複数の参照領域 Q （各参照領域を符号 $Q_1 \sim Q_8$ で表す）を選択する。参照領域 Q の座標を $Q(\xi, \eta)$ としたときに、 ξ と η は、幾何学的に下記の式(2)を満たす。

$$\eta = (\xi + n\lambda / \sin \theta - x) \tan \theta + y \quad \cdots (2)$$

式(2)において n は、候補領域 R_p に含まれる帯状の領域（例、第1候補領域 R_{pa} など）に対応する番号である。ここでは、第1候補領域 R_{pa} に対応する n を0とした。また、第2候補領域 R_{pb} に対応する n を、第1候補領域 R_{pa} に対して水平走査方向の正方向に向かう順に、+1、+2、+3、 $\cdots$ とし、第1候補領域 R_{pa} に対して水平走査方向の負方向に向かう順に、-1、-2、-3、 $\cdots$ とした。ノイズ低減処理部43は、複数の参照領域 Q の光強度情報に基づいて、対象領域 P の光強度情報を算出する。本実施形態においては、候補領域 R_p に含まれる画素数が第1実施形態（図4参照）よりも多くなるので、例えば白色ノイズ（ランダムノイズ）を効果的に低減することができる。

[0066] なお、干渉縞の周期に関する情報（例、 λ 、空間周波数）は、例えば、干渉縞の設定情報として図2に示した記憶装置6に記憶されており、ノイズ低減処理部43は、記憶装置6から干渉縞の設定情報を取得し、候補領域 R_p を設定する。なお、画像処理部40は、例えば撮像画像50を解析することにより干渉縞の周期に関する情報を取得し、ノイズ低減処理部43は、撮像画像50から得られた干渉縞の周期の情報に基づいて設定される候補領域 R_p から、参照領域 Q を選択してもよい。

[0067] なお、ノイズ低減処理部43は、候補領域 R_p に属する全画素のそれぞれを参照領域 Q としてもよいし、候補領域 R_p に属する一部の画素を参照領域 Q に用いなくてもよい。例えば、ノイズ低減処理部43は、第1候補領域 R_{ba} から参照領域 Q を選択しなくてもよい。また、ノイズ低減処理部43は

、第2候補領域 R_{pb} に含まれる複数の帯状の領域のうち1以上の部分領域から参照領域 Q を選択しなくてもよい。

[0068] [第3実施形態]

次に、第3実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。図7は、本実施形態に係るノイズ低減処理を説明するための図である。

[0069] 本実施形態において、ノイズ低減処理部43は、対象領域 P を含む対象パッチ領域 N_p と、参照領域 Q を含む参照パッチ領域 N_q との類似度を算出する。ノイズ低減処理部43は、算出した類似度を用いて参照領域 Q の光強度情報に重み付けを行い、対象領域 P における補正後の光強度情報を算出する。

[0070] ノイズ低減処理部43は、対象領域 P を含む所定の領域を対象パッチ領域 N_p に設定し、参照領域 Q を含む所定の領域を参照パッチ領域 N_q に設定する。

[0071] 対象パッチ領域 N_p は、例えば、対象領域 P を中心とする矩形の領域であり、その一辺が水平走査方向と平行である。なお、対象パッチ領域 N_p の形状は、多角形であってもよいし、円形、楕円、長円などのように輪郭に曲線を含む形状であってもよい。また、対象パッチ領域 N_p は、その中心と対象領域 P とがずれていてもよい。

[0072] 対象パッチ領域 N_p のサイズは、干渉縞の少なくとも1周期分を含むように、設定される。ここでは説明の便宜上、干渉縞の1周期のうち任意に選択される所定位相の部分を特徴部53という。特徴部53は、例えば、干渉縞の明部の中心線（輝度値が極大になる部分）であってもよいし、干渉縞の暗部の中心線（輝度値が極小になる部分）であってもよく、干渉縞の明部の中心線と暗部の中心線の間部分であってもよい。

[0073] 水平走査方向における干渉縞の1周期の長さ p_x は、 $p_x = \lambda / \sin \theta$ で表される。対象パッチ領域 N_p が矩形である場合、その一辺の長さを p_x

以上にすると、対象パッチ領域 N_p 内に干渉縞の少なくとも 1 周期分が通ることになる。また、対象パッチ領域 N_p が円形である場合、その直径を $p \times$ 以上にすると、対象パッチ領域 N_p 内に干渉縞の少なくとも 1 周期分が通ることになる。

[0074] ノイズ低減処理部 43 は、例えば、対象領域 P の位置および対象パッチ領域 N_p の設定情報を使って、対象パッチ領域 N_p の座標を算出することで、対象パッチ領域 N_p を設定する。対象パッチ領域 N_p の設定情報は、例えば、サイズの情報、形状の情報、及び対象領域 P に対する位置関係の情報を含み、記憶装置 6 に記憶されている。ノイズ低減処理部 43 は、例えば、記憶装置 6 から設定情報を取得し、対象パッチ領域 N_p を設定する。

[0075] なお、対象パッチ領域 N_p の形状、及び対象領域 P と対象パッチ領域 N_p との位置関係の少なくとも一方は、ユーザの指定などにより変更可能であってもよい。また、対象パッチ領域 N_p のサイズは、固定値であってもよいし、可変値であってもよい。対象パッチ領域 N_p のサイズは、例えば、推奨値などがデフォルトの値として設定されており、ユーザの指定などにより変更可能であってもよい。また、対象パッチ領域 N_p のサイズは、試料 X に応じて設定されてもよい。ユーザは、ノイズ低減処理の結果に応じて、対象パッチ領域 N_p のサイズを試行錯誤して決定してもよい。

[0076] ノイズ低減処理部 43 は、例えば上述の実施形態（図 4、図 6 参照）で説明した手法により参照領域 Q を選択する。参照パッチ領域 N_q は、例えば、参照領域 Q を中心とする矩形の領域であり、その一辺が水平走査方向と平行である。ノイズ低減処理部 43 は、例えば、対象領域 P を含む周辺範囲 A_p の一部に、候補領域 R_p を設定する。周辺範囲 A_p は、例えば、対象領域 P を中心とする円形の領域であるが、多角形の領域であってもよいし、中心が対象領域 P とずれた領域（偏心した領域）であってもよい。参照領域 Q の位置 $Q(\xi, \eta)$ は、図 7 (B) に示す式 (3) を満たす。

[0077] ノイズ低減処理部 43 は、参照領域 Q の位置および参照パッチ領域 N_q の設定情報を使って、参照パッチ領域 N_q の座標を算出することで、参照パッ

チ領域 N_q を設定する。参照パッチ領域 N_q の設定情報は、例えば、サイズの情報、形状の情報、及び参照領域 Q に対する位置関係の情報を含み、記憶部 42 に記憶されている。例えば、参照パッチ領域 N_q のサイズ、形状、及び参照領域 Q に対する位置関係は、それぞれ、対象パッチ領域 N_p のサイズ、形状、及び対象領域 P に対する位置関係と同じである。ノイズ低減処理部 43 は、例えば、記憶部 42 から参照パッチ領域 N_q の設定情報を取得し、参照パッチ領域 N_q を設定する。

[0078] 図 8 は、ノイズ低減処理における重み付けに用いられる式を示す図である。ノイズ低減処理部 43 は、例えば、図 8 の式 (4) に従って類似度 w を算出する。類似度 w は、対象パッチ領域 N_p と参照パッチ領域 N_q とを引数とする関数 ($w(N_p; N_q)$) である。また、式 (4) における σ_n^2 および σ_a^2 は、例えばデフォルト値あるいはユーザの指定値などに設定されるパラメータである。式 (2) において、 $f(x, y)$ は画像の点 (x, y) の位置における輝度値を表す。 i, j は、それぞれ、点 $(x+i, y+j)$ が対象パッチ領域 N_p に属する条件を満たすように、変化する仮変数である。

[0079] ここで、対象パッチ領域 N_p が (x, y) を中心として水平走査方向に 5 画素、垂直走査方向に 5 画素の領域であるとする。この場合、 i および j は、それぞれ、 $-2, -1, 0, +1, +2$ の値をとる。 $f(x+i, y+j) - f(\xi+i, \eta+j)$ は、対象パッチ領域 N_p と参照パッチ領域 N_q とで中心を一致させた際に重なる画素間の輝度値の差を示す。例えば、 $i = -2, j = -2$ である場合、 $f(x-2, y-2)$ は、対象パッチ領域 N_p の左上の端の画素の輝度値を示し、 $f(\xi-2, \eta-2)$ は、参照パッチ領域 N_q の左上の端の画素の輝度値を示す。このように、ノイズ低減処理部 43 は、対象パッチ領域 N_p と参照パッチ領域 N_q とで各領域内の位置が同じ関係になる画素間の輝度値の差分の二乗を、対象パッチ領域 N_p 内で積算して、類似度 w を算出する。なお、類似度 w の算出に用いられるアルゴリズムは、任意に選択可能であり、例えば、対象パッチ領域 N_p と参照パッチ領域 N_q とで対応する画素間の輝度値の絶対値を用いるアルゴリズムなどであって

もよい。

[0080] ノイズ低減処理部43は、点 (ξ, η) が候補領域 R_p に属する条件を満たすように参照領域 Q の位置 (ξ, η) を変化させ、それぞれの参照領域 Q に対して設定される参照パッチ領域 N_q と対象パッチ領域 N_p との類似度 w を算出する。また、ノイズ低減処理部43は、例えば、図8の式(5)に従って、参照領域 Q の輝度値 $f(\xi, \eta)$ を重み付けする。式(5)において、 $c^{-1}(x, y)$ は正規化係数である。ノイズ低減処理部43は、類似度 w を重み付けの係数に用いて、対象領域 P における補正後の輝度値 $g(x, y)$ を算出する。補正後の輝度値 $g(x, y)$ は、ノイズが低減された画像における点 (x, y) の輝度値に相当し、ノイズ低減処理部43は、 $f(x, y)$ を $g(x, y)$ に置き換えることで、ノイズが低減された画像のデータを生成する。

[0081] なお、参照パッチ領域 N_q のサイズは、対象パッチ領域 N_p のサイズと異なってもよい。また、参照パッチ領域 N_q の形状は、対象パッチ領域 N_p の形状と異なってもよい。対象パッチ領域 N_p と参照パッチ領域 N_q とで、サイズと形状の少なくとも一方が異なる場合、例えば、参照領域 Q と対象領域 P とが一致するように、参照パッチ領域 N_q をシフトした状態において、対象パッチ領域 N_p と参照パッチ領域 N_q とで重複する領域について類似度を算出すればよい。参照パッチ領域 N_q のサイズと形状の少なくとも一方は、固定値であってもよいし、ユーザの指定などにより変更可能な可変値であってもよい。

[0082] 図9は、類似度を用いたノイズ低減処理の説明図である。図9(A)は、対象領域の概念図である。対象パッチ領域 N_p は、例えば、干渉縞の明部51および暗部52と、試料 X の構造54とを含む。ここでは、対象領域 P は、明部51の中央付近に配置されているものとする。

[0083] 図9(B)は参照領域 Q_x を任意に選択した場合の参照パッチ領域 N_{q_x} および類似度を示す概念図である。参照パッチ領域 N_{q_x} は、それぞれ、干渉縞に対応する部分と、試料 X の構造に対応する部分とを含む。参照領域 Q

xを任意に（例、ランダムに、周辺範囲から網羅的に）選択する場合、干渉縞と参照領域 $Q \times$ との相対位置は、参照領域 $Q \times$ の位置に応じて変化する。例えば、図9（B）において、左から2番目の参照パッチ領域 N_q において参照領域 $Q \times 1$ は明部51と暗部52の中央に配置されているが、左から3番目の参照領域 $Q \times 2$ は、暗部52に配置されている。一方、類似度は、干渉縞の影響と試料Xの構造の影響の双方を受けるため、干渉縞と参照領域との位置関係が異なっている場合、試料Xの構造の影響に引きずられて、類似度が同程度になることがある。例えば、参照領域 $Q \times 1$ と参照領域 $Q \times 2$ とで輝度値の加重平均あるいは相加平均をとると、干渉縞の明暗が平均化され、ノイズが低減された画像上の干渉縞の情報を使いにくい場合がある。

[0084] 図9（C）は、参照領域Qを干渉縞の情報に基づいて選択した場合の参照パッチ領域 N_q および類似度を示す概念図である。この場合、複数の参照領域Qは、それぞれ、干渉縞との相対位置が、対象領域Pと干渉縞との相対位置と同等である。図9（C）において、参照領域Qは、いずれも干渉縞の明部の中央に配置されている。例えば、参照領域Qにおける輝度値において、干渉縞が与える影響が複数の参照領域Qにおいて同等でありうる。例えば、これらの参照領域Qの輝度値の加重平均あるいは相加平均を取った場合、干渉縞が与える影響が保持されるので、ノイズが低減された画像において干渉縞のコントラストの低下が抑制される。

[0085] 図108は、本実施形態に係るノイズ低減処理を示すフローチャートである。ステップS10において、ノイズ低減処理部43は、例えば9枚の撮像画像のうちの1枚の画像データを取得する。ステップS11において、ノイズ低減処理部43は、撮像画像における干渉縞の方向および位相を取得する。

[0086] ステップS12において、ノイズ低減処理部43は、ノイズ低減処理の対象の撮像画像上から対象領域Pを選択する。例えば、ノイズ低減処理部43は、ノイズ低減処理の対象の撮像画像上の点（x，y）を対象領域Pに選択する。ステップS13において、ノイズ低減処理部43は、対象領域Pに対

して候補領域 R_p （サーチ領域）を設定する（図 7 参照）。例えば、ノイズ低減処理部 43 は、対象領域 P を含む所定の領域を周辺範囲 A_p に設定し、周辺範囲 A_p 内に候補領域 R_p に設定する。また、ステップ $S14$ において、ノイズ低減処理部 43 は、対象領域 P を含む所定の領域を対象パッチ領域 N_p に設定する。なお、ステップ $S13$ の処理とステップ $S14$ の処理は、いずれを先に行ってもよいし、並行して行ってもよい。

[0087] ステップ $S15$ において、ノイズ低減処理部 43 は、候補領域 R_p から参照領域 Q を選択する。ステップ $S16$ において、ノイズ低減処理部 43 は、参照領域 Q を含む所定の領域を参照パッチ領域 N_q に設定する（図 7 参照）。ステップ $S17$ において、ノイズ低減処理部 43 は、対象パッチ領域 N_p と参照パッチ領域 N_q の類似度 w を算出する（図 8 の式（4）参照）。ステップ $S17$ において、ノイズ低減処理部 43 は、予定された全ての参照領域 Q に関して類似度 w の算出が終了したか否かを判定する。ノイズ低減処理部 43 は、類似度 w の算出が終了していない参照領域 Q があると判定した場合（ステップ $S18$; No ）、ステップ $S15$ に戻り、候補領域 R_p から次の参照領域 Q を選択し、ステップ $S15 \sim S18$ の処理を繰り返す。

[0088] ノイズ低減処理部 43 は、全ての参照領域 Q に関して類似度 w の算出が終了したと判定した場合（ステップ $S18$; Yes ）、ステップ $S19$ において、ノイズ低減処理部 43 は、参照領域 Q の輝度値を類似度 w で重み付けして、候補領域 R_p 内で積算すること等により、補正後の輝度値 $g(x, y)$ （図 8 の式（5）参照）を算出する。ノイズ低減処理部 43 は、対象領域 P の輝度値 $f(x, y)$ を輝度値 $g(x, y)$ で置き換える、ステップ $S20$ において、ノイズ低減処理部 43 は、予定された全ての対象領域 P に関して、補正後の輝度値 $g(x, y)$ を算出したか否かを判定する。ノイズ低減処理部 43 は、終了していない対象領域 P があると判定した場合（ステップ $S20$; No ）、ステップ $S12$ に戻り、ノイズ低減処理の対象の撮像画像から次の対象領域 P を選択する。例えば、ノイズ低減処理部 43 は、 x をインクリメントして、1 行の画素を順に対象領域 P に設定して 1 行の画素に対す

る処理が終了した後、 y をインクリメントして、次の行の画素を順に対象領域 P に対象領域 P に設定する。

[0089] このように、ノイズ低減処理部43は、ノイズ低減処理の対象の撮像画像の全域または一部の領域において、補正前の輝度値（例、 $f(x, y)$ ）を補正後の輝度値（例、 $g(x, y)$ ）に置き換えることで、ノイズが低減された画像のデータを生成する。ノイズ低減処理部43は、復調画像の生成に使われる例えば9枚の撮像画像を順にノイズ低減処理の対象の撮像画像とし、ノイズ低減処理の対象の各撮像画像に対してノイズ低減処理を行う。

[0090] [第4実施形態]

次に、第4実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。ノイズ低減処理部43は、上述の実施形態において、ノイズ低減処理の対象の撮像画像から参照領域 Q を選択したが、本実施形態において、対象の撮像画像と干渉縞の位相が異なる参照画像から参照領域 Q を選択する。ノイズ低減処理部43は、例えば、干渉縞の方向の情報、周期の情報、及び位相の情報に基づいて、ノイズ低減処理を行う。

[0091] 図11は、撮像画像60と参照画像65を示す概念図である。撮像画像60および参照画像65のそれぞれは、例えば、撮像素子32による撮像画像である。参照画像65は、干渉縞の位相がノイズ低減処理の対象の撮像画像60と異なる。ここでは説明の便宜上、干渉縞の位置関係を、特徴部53（例、明部の中心線）を用いて表す。なお、参照画像65には、撮像画像60における干渉縞の特徴部53の1つ（符号53xで示す）と、撮像画像60から参照領域を選択する場合の候補領域 R_p とを比較用に図示した。参照画像65は、干渉縞の方向（例、ライン方向）が撮像画像60と同じであり、干渉縞の位置が水平走査方向において撮像画像60と Δd （位相で $2\pi\Delta d \sin \theta / \lambda$ に相当）ずれている。

[0092] ノイズ低減処理部43は、参照画像65において、撮像画像60に参照領域を設定する場合（図4、図6、図7参照）の候補領域 R_p に対して、水

平走査方向に Δd だけずれた位置に候補領域 R_p を設定する。このような候補領域 R_p から参照領域 Q を選択すると、水平走査方向における参照領域 Q と特徴部53との距離が d_x となる。候補領域 R_p は、例えば、線状（帯状）の領域であり、水平走査方向との角度が θ である。ノイズ低減処理部43は、選択した参照領域 Q に対して参照パッチ領域 N_q を設定し、撮像画像60上の対象パッチ領域 N_p と参照画像65上の参照パッチ領域 N_q との類似度 w を算出する。また、ノイズ低減処理部43は、参照画像65上の参照領域 Q の輝度値を類似度 w で重み付けすることにより、ノイズ低減処理を行う。参照領域 Q と干渉縞との位置関係は、対象領域 P と干渉縞との位置関係と同等であるので、干渉縞のコントラストを確保しながらノイズを減らすことができる。

[0093] 図12は、本実施形態に係るノイズ低減処理を示すフローチャートである。画像処理部40は、ステップS21においてノイズ低減処理の対象の撮像画像60のデータを取得し、ステップS22において撮像画像60上の干渉縞の方向および位相を取得する。

[0094] 画像処理部40は、ステップS23において参照画像のデータを取得し、ステップS24において参照画像上の干渉縞の方向および位相を取得する。画像処理部40は、図6に示したように干渉縞の周期を利用してノイズ低減処理を行う場合、ステップS23において、干渉縞の周期の情報も取得する。画像処理部40は、ステップS22およびステップS24で取得した情報を用いて、ステップS25において、撮像画像60と参照画像65とで干渉縞の位相の変化量を算出する。

[0095] また、画像処理部40は、ステップS26において撮像画像60から対象領域 P を選択し、ステップS27において対象領域 P に対して対象パッチ領域 N_p を設定する。画像処理部40は、ステップS28において、ステップS25で算出した干渉縞の状態の変化量に基づいて、参照画像65に候補領域 R_p を設定する。画像処理部40は、ステップS29において、参照画像65内の候補領域 R_p から参照領域 Q を選択する。画像処理部40は、ステ

ップS 3 0において、参照画像6 5内に、参照領域Qに対して参照パッチ領域N qを設定する。

[0096] 画像処理部4 0は、ステップS 3 1において、撮像画像6 0内の対象パッチ領域N pと、参照画像6 5内の参照パッチ領域N qとの類似度wを算出する。画像処理部4 0は、ステップS 3 2において、ステップS 2 9で設定した候補領域R pのうち、予定された全ての参照領域Qに対する類似度wの算出が終了したか否かを判定する。画像処理部4 0は、類似度wの算出が終了していない参照領域Qがあると判定した場合（ステップS 3 2；N o）、ステップS 2 9に戻り、次の参照領域を選択する。画像処理部4 0は、ステップS 2 9～S 3 2の処理を繰り返すことによって、候補領域R pのうち、予定された全ての参照領域Q（例、候補領域R p内の全ての画素）について、類似度wを算出する。

[0097] 画像処理部4 0は、候補領域R p内で予定された全ての参照領域Qの処理が終了したと判定した場合（ステップS 3 2；Y e s）、ステップS 3 3において参照画像6 5内の参照領域Qの輝度値を類似度で重み付けする。画像処理部4 0は、ステップS 3 4において、予定された全ての対象領域Pについて処理が終了したか否かを判定する。画像処理部4 0は、処理が終了していない対象領域Pがあると判定した場合（ステップS 3 4；N o）、ステップS 2 6に戻り、撮像画像6 0上の次の対象領域Pを選択する。画像処理部4 0は、ステップS 2 6～S 3 4の処理を繰り返すことによって、撮像画像6 0のうち予定された全ての対象領域P（例、撮像画像6 0の全ての画素）について処理を行う。

[0098] また、画像処理部4 0は、撮像画像6 0で予定された全ての対象領域Pの処理が終了したと判定した場合（ステップS 3 4；Y e s）、ステップS 3 5において、予定された全ての参照画像の処理が終了したか否かを判定する。画像処理部4 0は、処理が終了していない参照画像があると判定した場合（ステップS 3 5；N o）、ステップS 2 3に戻り、次に参照画像を取得する。画像処理部4 0は、ステップS 2 3～S 3 5の処理を繰り返すことによ

って、予定された全ての参照画像を用いてノイズ低減処理を行う。

[0099] なお、複数の参照画像を用いる場合、ステップS 3 3において、ノイズ低減処理部4 3は、例えば、重み付け係数を参照画像の枚数に応じて調整し、重み付けされた輝度値を複数の参照画像で積算することによって、対象領域Pの輝度値を算出してもよい。例えば、参照画像の枚数が3枚である場合、ノイズ低減処理部4 3は、重み付け係数を類似度の $1/3$ に設定し、1枚目の参照画像に対するステップS 3 3の処理において、対象領域Pの仮の輝度値を算出する。また、ノイズ低減処理部4 3は、2枚目の参照画像に対するステップS 3 3の処理において、2枚目の参照画像における参照領域Qの輝度値を重み付けした値を仮の輝度値に加算して、仮の輝度値を更新する。また、3枚目の参照画像に対するステップS 3 3の処理において、3枚目の参照画像における参照領域Qの輝度値を重み付けした値を仮の輝度値に加算して、その加算値を補正後の輝度値とする。なお、ノイズ低減処理部4 3は、ステップS 3 3の処理を、ステップS 3 5の処理の後に行ってもよい。

[0100] 画像処理部4 0は、予定された全ての参照画像の処理が終了したと判定した場合（ステップS 3 5；Y e s）、一連の処理を終了する。なお、2枚以上の画像にそれぞれノイズ低減処理を行う場合、画像処理部4 0は、予定された複数の画像に対して、順に、ステップS 2 1～S 3 5の処理を行うことによって、予定された全ての画像に対してそれぞれノイズ低減処理を行う。

[0101] [第5実施形態]

次に、第5実施形態について説明する。本実施形態において、上述の実施形態と同様の構成については、適宜、同じ符号を付してその説明を省略あるいは簡略化する。ノイズ低減処理部4 3は、上述の実施形態において、ノイズ低減処理の対象の撮像画像と干渉縞の位相が異なる参照画像から参照領域Qを選択したが、本実施形態において、ノイズ低減処理の対象の撮像画像と干渉縞の方向が異なる参照画像から参照領域Qを選択する。ノイズ低減処理部4 3は、例えば、干渉縞の方向の情報、及び周期の情報に基づいて、ノイズ低減処理を行う。

[0102] 図13(A)は参照画像70を示す概念図、図13(B)は、対象パッチ領域 N_p と参照パッチ領域 N_q との類似度を算出する処理を示す概念図である。ここでは、ノイズ低減処理の対象の撮像画像が図11に示した撮像画像60と同じであるものとして、説明する。参照画像70は、例えば、撮像素子32による撮像画像である。参照画像70は、干渉縞の方向がノイズ低減処理の対象の撮像画像60と異なる。ここでは説明の便宜上、干渉縞の位置関係を、特徴部53(例、明部の中心線)を用いて表す。なお、参照画像70には、撮像画像60における干渉縞の特徴部の1つ(符号53xで示す)を比較用に図示した。

[0103] 参照画像70において、干渉縞の方向(例、特徴部53のライン方向)は、撮像画像60の干渉縞(例、特徴部53xのライン方向)から時計回りに角度 ϕ (例、 120°)だけ回転した方向である。特徴部53のライン方向は、水平走査方向と $(\theta + \Delta\phi)$ の角度をなしている。ノイズ低減処理部43は、例えば、水平走査方向から角度 ϕ だけ回転した方向D1において、特徴部53との距離が d_x になる領域を参照領域Qに設定する。例えば、ノイズ低減処理部43は、周辺範囲 A_p のうち、特徴部53と平行かつ、方向D1における特徴部53からの距離が d_x となる領域を候補領域 R_p に設定し、候補領域 R_p から参照領域Qを順に選択する。候補領域 R_p は、例えば、線状(帯状)の領域であり、水平走査方向との角度が $(\theta + \Delta\phi)$ である。

[0104] 図13(B)に示すように、ノイズ低減処理部43は、例えば、参照パッチ領域 N_q を反時計回りに角度 ϕ だけ回転させ、回転後の参照パッチ領域 N_q と対象パッチ領域 N_p との類似度を算出する。また、ノイズ低減処理部43は、参照画像70上の参照領域Qの輝度値を類似度 w で重み付けすることにより、ノイズ低減処理を行う。参照領域Qと干渉縞との位置関係は、対象領域Pと干渉縞との位置関係と同等であり、干渉縞のコントラストを確保しながらノイズを減らすことができる。

[0105] 図14は、本実施形態に係るノイズ低減処理を示すフローチャートである。図14に示すノイズ低減処理は、図12に示したノイズ低減処理と比較し

て、ステップS 4 0 の処理およびステップS 4 1 の処理が異なる。ノイズ低減処理部4 3 は、撮像画像6 0 における干渉縞の方向の情報（ステップS 2 2 参照）と、参照画像7 0 における干渉縞の方向の情報（ステップS 2 4 参照）を用いて、ステップS 4 0 において、干渉縞の方向の変化量（例、角度）を算出する。また、ノイズ低減処理部4 3 は、ステップS 4 0 で算出した干渉縞の方向の変化量に基づいて、ステップS 4 1 において、参照画像7 0 に候補領域R p を設定する（図1 3 参照）。以下、ノイズ低減処理部4 3 は、図1 2 に示した処理と同様にして、ノイズ低減処理を行う。

[0106] 図1 5 は、参照画像7 0 に参照領域Qおよび参照パッチ領域N q を設定する処理の他の例を示す概念図である。ノイズ低減処理部4 3 は、例えば、参照画像7 0 の少なくとも一部（例、周辺範囲A p ）を反時計回りに角度 ϕ だけ回転させ、回転後の周辺範囲A p における干渉縞の方向を、撮像画像6 0 における干渉縞の方向と一致させる。ノイズ低減処理部4 3 は、回転後の周辺範囲A p のうち、対象領域Pに相当する位置を通り水平走査方向に対して θ の角度をなす帯状の領域を、候補領域R p に設定する。ノイズ低減処理部4 3 は、候補領域R p から参照領域Qを順に選択し、参照領域Qに対して参照パッチ領域N q を設定する。このような処理によっても、参照領域Qと干渉縞との位置関係を対象領域Pと干渉縞との位置関係と同等にすることができる。

[0107] なお、参照画像は、ノイズ低減処理の対象の撮像画像と干渉縞の位相がずれており、かつ干渉縞の方向がずれている画像でもよい。この場合、例えば、干渉縞の方向を揃えた状態で、参照領域Qと干渉縞との距離が、対象領域Pと干渉縞との距離と同等になるように、参照領域Qを設定すればよい。

[0108] ノイズ低減処理部4 3 は、例えば、復調画像の生成に使われる複数の画像のうち1枚をノイズ低減処理の対象の画像とし、ノイズ低減処理の対象の画像以外の画像の少なくとも1枚の画像を参照画像としてノイズ低減処理を行う。また、例えば第1実施形態のように、ノイズ低減処理の対象の画像をノイズ低減処理に使うこともできる。例えば、2D-SIMモードにおいて9

枚の画像を取得する場合、9枚の画像のうち参照領域Qが設定される画像は、ノイズ低減処理の対象の画像のみの1枚であってもよいし、ノイズ低減処理の対象の画像と、8枚の参照画像の少なくとも1枚とを含む2枚以上であってもよく、ノイズ低減処理の対象の画像を含まず8枚の参照画像の少なくとも1枚を含む1枚以上であってもよい。また、構造化照明顕微鏡1は、干渉縞の方向および位相が同じ複数の撮像画像を取得し、ノイズ低減処理部43は、干渉縞の方向および位相が同じ複数の撮像画像を用いてノイズ低減処理を行ってもよい。

[0109] ノイズ低減処理部43は、例えば、復調画像の生成に使われる複数の画像（例、9枚の撮像画像）から順にノイズ低減処理の対象の画像を選択し、複数の画像のうち2枚以上に対してノイズ低減処理を行う。例えば、2D-SIMモードにおいて9枚の画像を取得する場合、ノイズ低減処理部43は、9枚の画像のそれぞれに対してノイズ低減処理を行う。

[0110] なお、図11、図13、図15において、候補領域 R_p は、複数の帯状の領域を含むが、これら複数の帯状の領域の少なくとも1つを含んでいればよい。候補領域 R_p が1つの帯状の領域のみを含む場合、ノイズ低減処理に干渉縞の周期に関する情報を用いなくてもよい。

[0111] 次に、上述の各実施形態に係る候補領域 R_p の変形例について説明する。図16(A)は、候補領域 R_p の変形例を示す図であり、図16(B)は、類似度 w を算出する処理を示す概念図である。干渉縞の1周期の間に設定される候補領域 R_p の数は、上述の実施形態において1つ（図6参照）であるが、本変形例においては2つである。候補領域 R_p は、上述の実施形態と同様の候補領域 R_{pc} と、候補領域 R_{pd} とを含む。候補領域 R_{pd} は、候補領域 R_{pc} と平行な領域であり、水平走査方向の位置が候補領域 R_{pc} と異なる。候補領域 R_{pc} は、例えば特徴部53から水平走査方向の正方向に距離 d_x だけ離れた位置に配置される。候補領域 R_{pd} は、例えば特徴部53から水平走査方向の負方向に距離 d_x だけ離れた位置に配置される。ノイズ低減処理部43は、例えば、干渉縞の方向の情報、干渉縞の周期の情報、及

び干渉縞の位相の情報に基づいて、候補領域 R_b を設定する。

[0112] ノイズ低減処理部 43 は、図 16 (B) に示すように、候補領域 R_{pc} から選択される参照領域 Q (以下、参照領域 Q_a という) に対して設定された参照パッチ領域 N_q (以下、参照パッチ領域 N_{qa} という) については、上述の実施形態と同様にして、対象領域 P との類似度 w を算出する。ノイズ低減処理部 43 は、候補領域 R_{pd} から選択される参照領域 Q (以下、参照領域 Q_b) に対して設定される参照パッチ領域 N_q (以下、参照パッチ領域 N_{qb} という) を 180° 回転させる。これにより、回転後の参照パッチ領域 N_{qb} は、干渉縞 (例、特徴部 53) との位置関係が参照パッチ領域 N_{qa} と同じになる。ノイズ低減処理部 43 は、対象パッチ領域 N_p と、回転後の参照パッチ領域 N_{qb} との類似度を算出し、参照領域 Q_b の輝度値を類似度で重み付けする。

[0113] なお、上述の実施形態において、画像処理部 40 は、例えば図 3 に示したように撮像素子 32 による撮像画像に対してノイズ低減処理を行うが、撮像画像から生成される中間画像に対してノイズ低減処理を行ってもよい。画像処理部 40 は、ノイズ低減処理により得られる情報を、復調画像の生成に用いてもよい。

[0114] なお、上述の実施形態においては、対象領域 P に対して候補領域 R_p を設定しているが、候補領域 R_p を先に設定し、候補領域 R_p から対象領域 P を選択してもよい。例えば、ノイズ低減処理部 43 は、図 4 (B) に示したように、水平走査方向に対して θ の角度をなす領域を候補領域 R_p に設定し、候補領域 R_p に含まれる画素から対象領域 P を選択してもよい。また、ノイズ低減処理部 43 は、候補領域 R_p に含まれる画素から対象領域 P を順に選択し、各対象領域 P について補正後の輝度値を算出してもよい。ノイズ低減処理部 43 は、候補領域 R_p において予定されている対象領域 P について補正後の輝度値の算出が終了した後、候補領域 R_p を水平走査方向にスライド (例、1 画素分) させて次の候補領域 R_p として補正後の輝度値を算出する処理を繰り返すことによって、ノイズ低減処理を行ってもよい。

[0115] 上述の実施形態において、ノイズ低減処理部43は、例えば図10に示したように、候補領域 R_p 内の全ての参照領域 Q について類似度を算出した後に、類似度により輝度値を重み付けする。なお、ノイズ低減処理部43は、ステップS17において類似度 w を算出するたびに、類似度 w により重み付けした輝度値を積算し、全ての参照領域 Q について類似度 w の算出が終了した後に、重み付けした輝度値の積算値を正規化してもよい。

[0116] 上述の実施形態において、制御装置4は、例えば記憶装置6に記憶されているプログラムを読み出し、このプログラムに従って各種の処理を実行する。このプログラムは、例えば、コンピュータに、試料に含まれる蛍光物質を励起するための励起光を、干渉縞で試料に照射することと、干渉縞の方向および位相を制御することと、干渉縞が照射された試料の像を形成することと、結像光学系が形成した像を撮像して撮像画像を生成することと、撮像画像を用いて復調処理を行うことと、撮像画像または撮像画像から生成された画像に対して、干渉縞の情報を考慮してノイズ低減処理を行うことと、ノイズ低減処理後の画像を用いて復調画像を生成することと、を含む制御を実行させる制御プログラムである。

[0117] なお、画像処理部40は、例えば記憶装置6に記憶されているプログラムを読み出し、このプログラムに従って各種の画像処理を実行してもよい。例えば、このプログラムは、試料に含まれる蛍光物質を励起するための励起光を干渉縞で試料に照射し、干渉縞の方向および位相を制御し、干渉縞が照射された試料の像を撮像して生成される撮像画像または撮像画像から生成される画像に対して、コンピュータに、干渉縞の情報を考慮してノイズ低減処理を行うことを実行させる画像処理プログラムである。このプログラムは、コンピュータに、ノイズ低減処理後の画像を用いて復調画像を生成することを実行させてもよい。

[0118] なお、本発明の技術範囲は、上述の実施形態などで説明した態様に限定されるものではない。上述の実施形態などで説明した要件の1つ以上は、省略されることがある。また、上述の実施形態などで説明した要件は、適宜組み

合わせることができる。また、法令で許容される限りにおいて、上述の実施形態などで引用した全ての文献の開示を援用して本文の記載の一部とする。

符号の説明

[0119] 1・・・構造化照明顕微鏡、11・・・照明光学系、31・・・結像光学系、32・・・撮像素子、40・・・画像処理部、41・・・制御部、60・・・撮像画像、65、70・・・参照画像、P・・・対象領域、N_p・・・対象パッチ領域、Q・・・参照領域、N_q・・・参照パッチ領域、R_p・・・サーチ領域、X・・・試料

請求の範囲

- [請求項1] 試料に含まれる蛍光物質を励起するための励起光を、干渉縞で前記試料に照射する照明光学系と、
前記干渉縞の方向および位相を制御する制御部と、
前記干渉縞が照射された前記試料の像を形成する結像光学系と、
前記結像光学系が形成した前記像を撮像して撮像画像を生成する撮像素子と、
前記撮像画像を用いて復調処理を行う画像処理部と、
を備える構造化照明顕微鏡であって、
前記画像処理部は、
前記撮像画像または前記撮像画像から生成された画像に対して、前記干渉縞の情報を考慮してノイズ低減処理を行うノイズ低減処理部と、
、
前記ノイズ低減処理後の画像を用いて復調画像を生成する復調部と、
、
を備えることを特徴とする構造化照明顕微鏡。
- [請求項2] 前記ノイズ低減処理部は、前記ノイズ低減処理の対象となる画像における対象領域と、
当該画像または当該画像と異なる画像における複数の参照領域とに基づいて、前記ノイズ低減処理を行う
ことを特徴とする請求項1に記載の構造化照明顕微鏡。
- [請求項3] 前記ノイズ低減処理部は、前記干渉縞の情報を考慮して前記参照領域を選択する
ことを特徴とする請求項2に記載の構造化照明顕微鏡。
- [請求項4] 前記ノイズ低減処理部は、前記対象領域の位置と、前記干渉縞の情報とを考慮して定められた候補領域から、前記参照領域を選択する
ことを特徴とする請求項2または3に記載の構造化照明装置。
- [請求項5] 前記候補領域は、所定のサイズの領域内に設定され、

前記所定のサイズは、前記試料の構造に基づいて決定されることを特徴とする請求項 4 に記載の構造化照明顕微鏡。

[請求項6] 前記ノイズ低減処理部は、前記対象領域の光強度情報および前記複数の参照領域の光強度情報に基づいて、前記対象領域の光強度情報を算出する

ことを特徴とする請求項 2 ～ 5 のいずれか一項に記載の構造化照明顕微鏡。

[請求項7] 前記干渉縞の情報は、前記干渉縞の方向を含む

ことを特徴とする請求項 2 ～ 6 のいずれか一項に記載の構造化照明顕微鏡。

[請求項8] 前記ノイズ低減処理部は、

前記対象領域を含む画像における前記干渉縞の方向と、前記参照領域を含む画像における前記干渉縞の方向とに基づいて、前記参照領域を選択する

ことを特徴とする請求項 7 に記載の構造化照明顕微鏡。

[請求項9] 前記干渉縞の情報は、前記干渉縞の周期に関する情報を含む

ことを特徴とする請求項 7 または 8 に記載の構造化照明顕微鏡。

[請求項10] 前記ノイズ低減処理部は、前記干渉縞と同じ周期で並ぶ複数の領域から前記参照領域を選択する

ことを特徴とする請求項 9 に記載の構造化照明顕微鏡。

[請求項11] 前記干渉縞の情報は、前記干渉縞の位相を含む

ことを特徴とする請求項 7 ～ 10 のいずれか一項に記載の構造化照明顕微鏡。

[請求項12] 前記ノイズ低減処理部は、

前記対象領域を含む画像における前記干渉縞の位相と、前記参照領域を含む画像における前記干渉縞の位相とに基づいて、前記参照領域を選択する

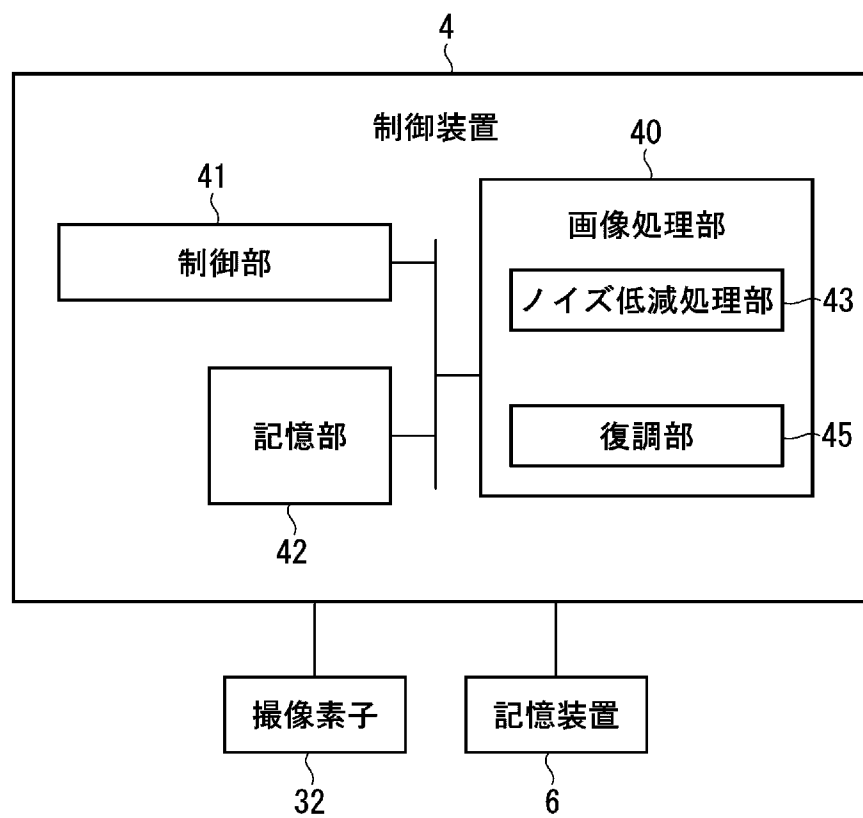
ことを特徴とする請求項 11 に記載の構造化照明顕微鏡。

- [請求項13] 前記ノイズ低減処理部は、
前記対象領域を含む対象パッチ領域と、前記参照領域を含む参照パッチ領域との類似度を算出する
ことを特徴とする請求項2～12のいずれか一項に記載の構造化照明顕微鏡。
- [請求項14] 前記ノイズ低減処理部は、
前記類似度を用いて前記参照領域の光強度情報に重み付けを行い、
前記対象領域の光強度情報を算出する
ことを特徴とする請求項13に記載の構造化照明顕微鏡。
- [請求項15] 前記参照パッチ領域における前記干渉縞の位相は、前記対象パッチ領域における前記干渉縞の位相と同じである
ことを特徴とする請求項13または請求項14に記載の構造化照明顕微鏡。
- [請求項16] 前記対象パッチ領域のサイズおよび前記参照パッチ領域のサイズは、
前記試料の構造に基づいて決定される
ことを特徴とする請求項13～15のいずれか一項に記載の構造化照明顕微鏡。
- [請求項17] 試料に含まれる蛍光物質を励起するための励起光を、干渉縞で前記試料に照射することと、
前記干渉縞の方向および位相を制御することと、
前記干渉縞が照射された前記試料の像を形成することと、
前記結像光学系が形成した前記像を撮像して撮像画像を生成することと、
前記撮像画像を用いて復調処理を行うことと、
を含む観察方法であって、
前記撮像画像または前記撮像画像から生成された画像に対して、前記干渉縞の情報を考慮してノイズ低減処理を行うことと、
前記ノイズ低減処理後の画像を用いて復調画像を生成することと、

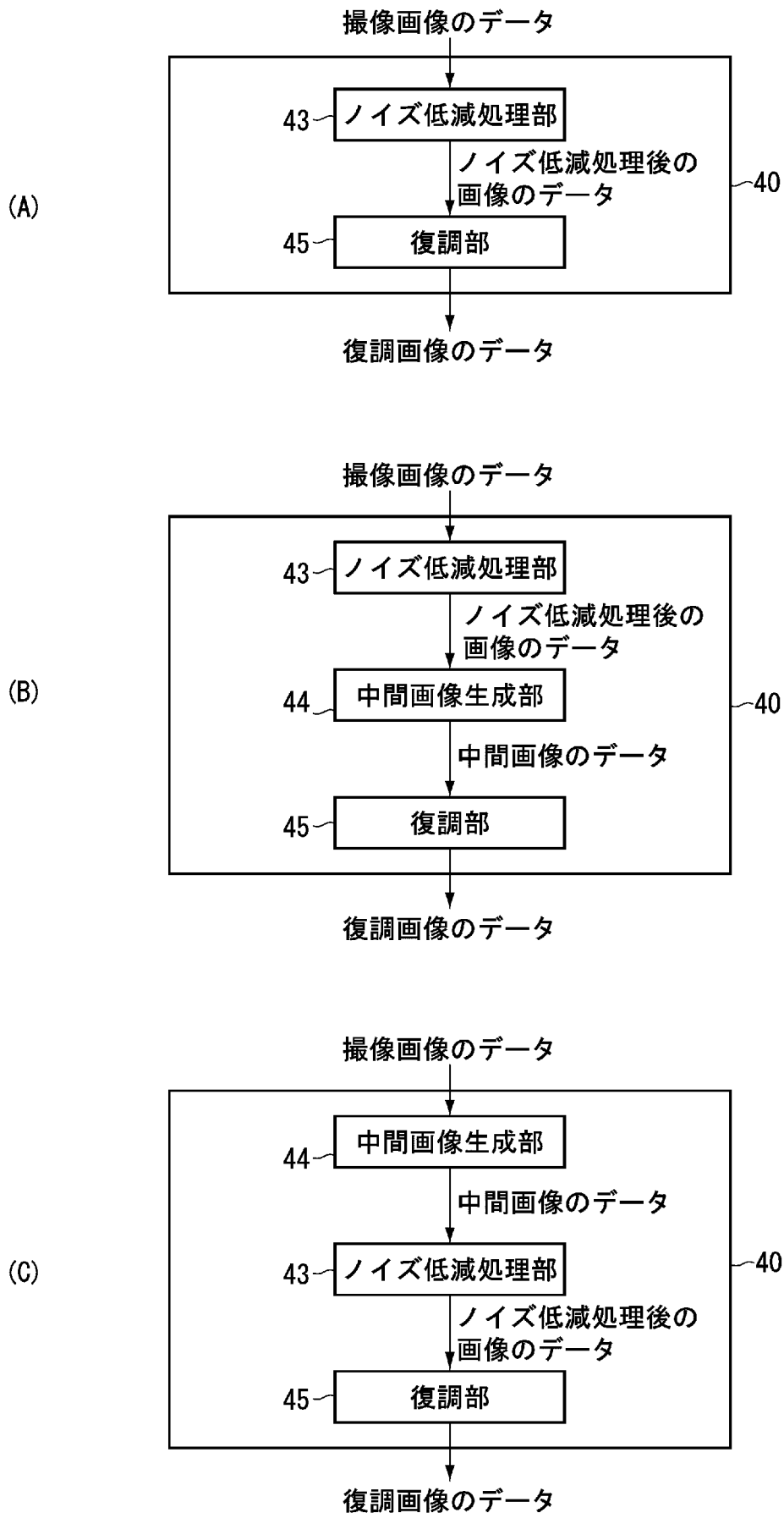
を含むことを特徴とする観察方法。

- [請求項18] 試料に含まれる蛍光物質を励起するための励起光を干渉縞で前記試料に照射し、前記干渉縞の方向および位相を制御し、前記干渉縞が照射された前記試料の像を撮像して生成される撮像画像または前記撮像画像から生成される画像に対して、コンピュータに、
- 前記干渉縞の情報を考慮してノイズ低減処理を行うことと、
- 前記ノイズ低減処理後の画像を用いて復調画像を生成することと、
- を実行させることを特徴とする画像処理プログラム。

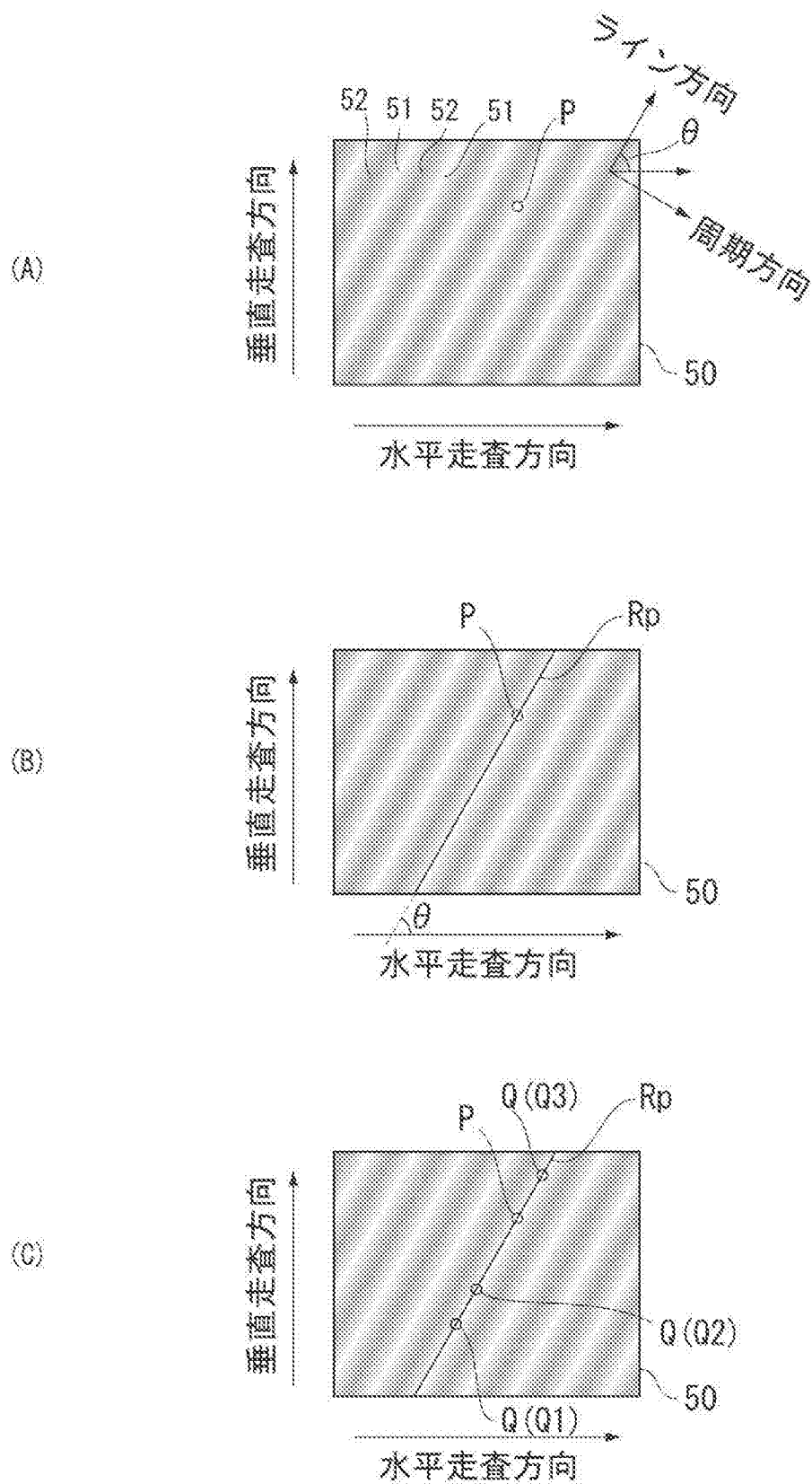
[図2]



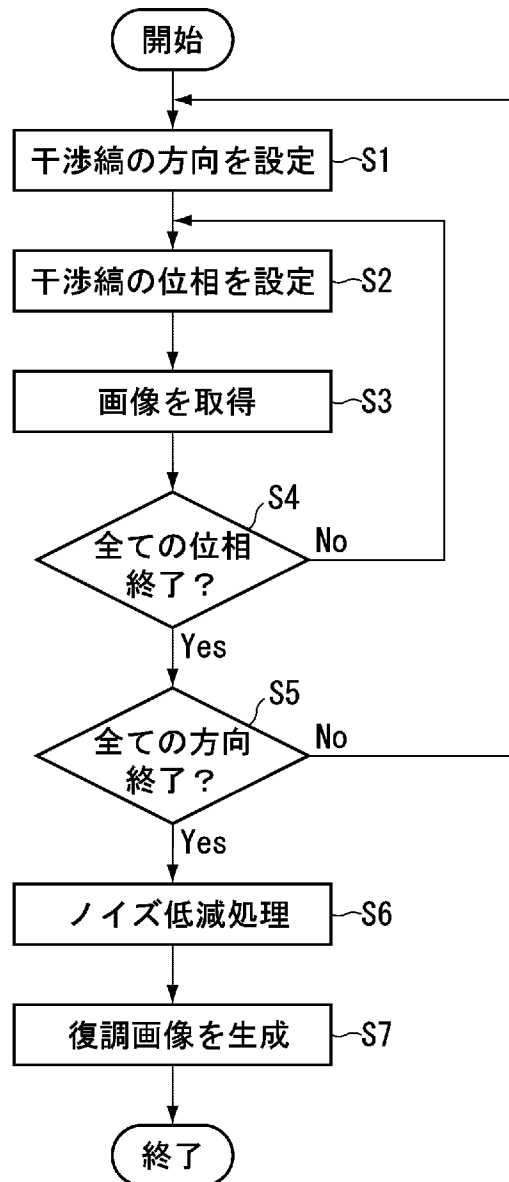
[図3]



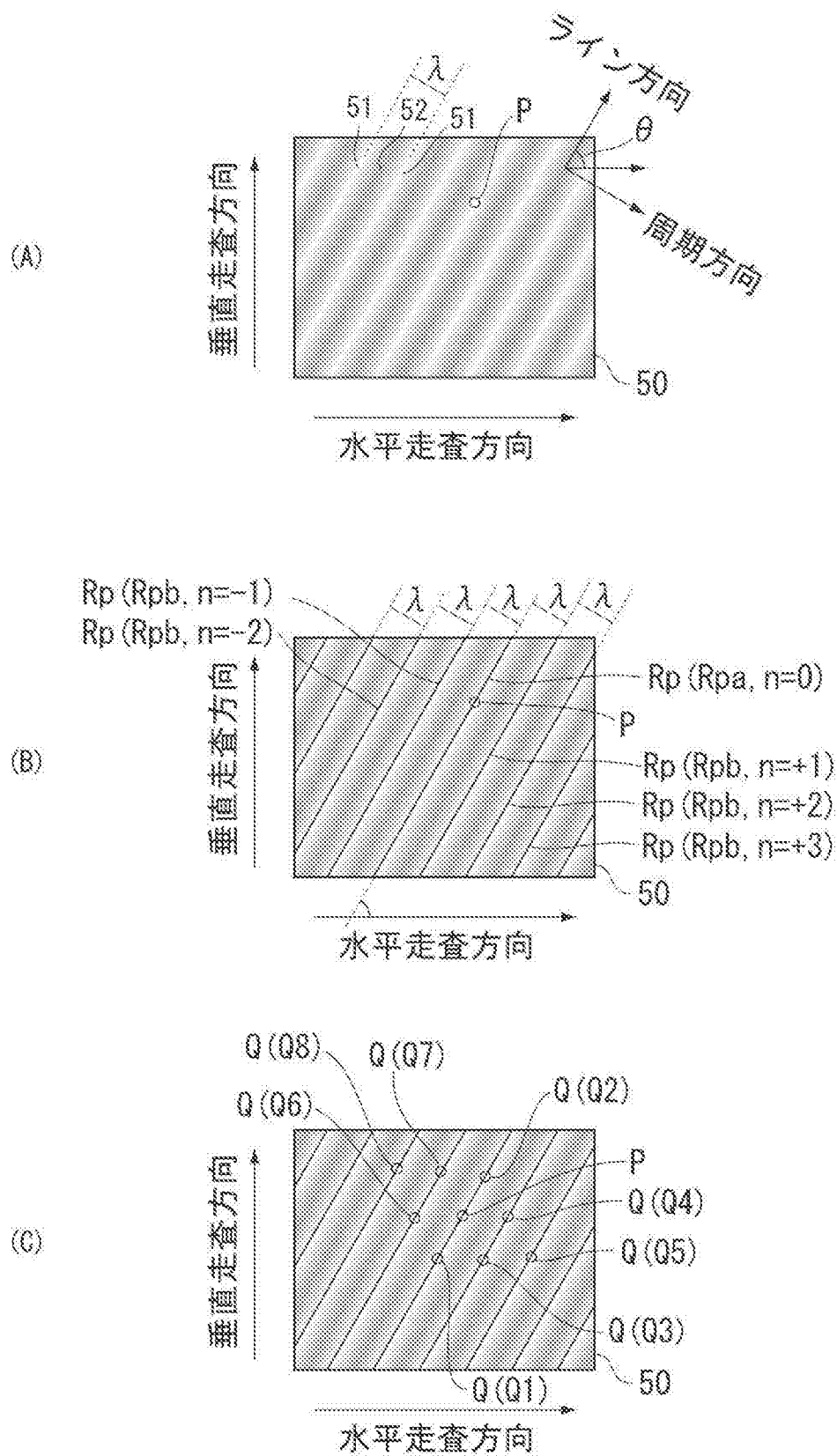
[図4]



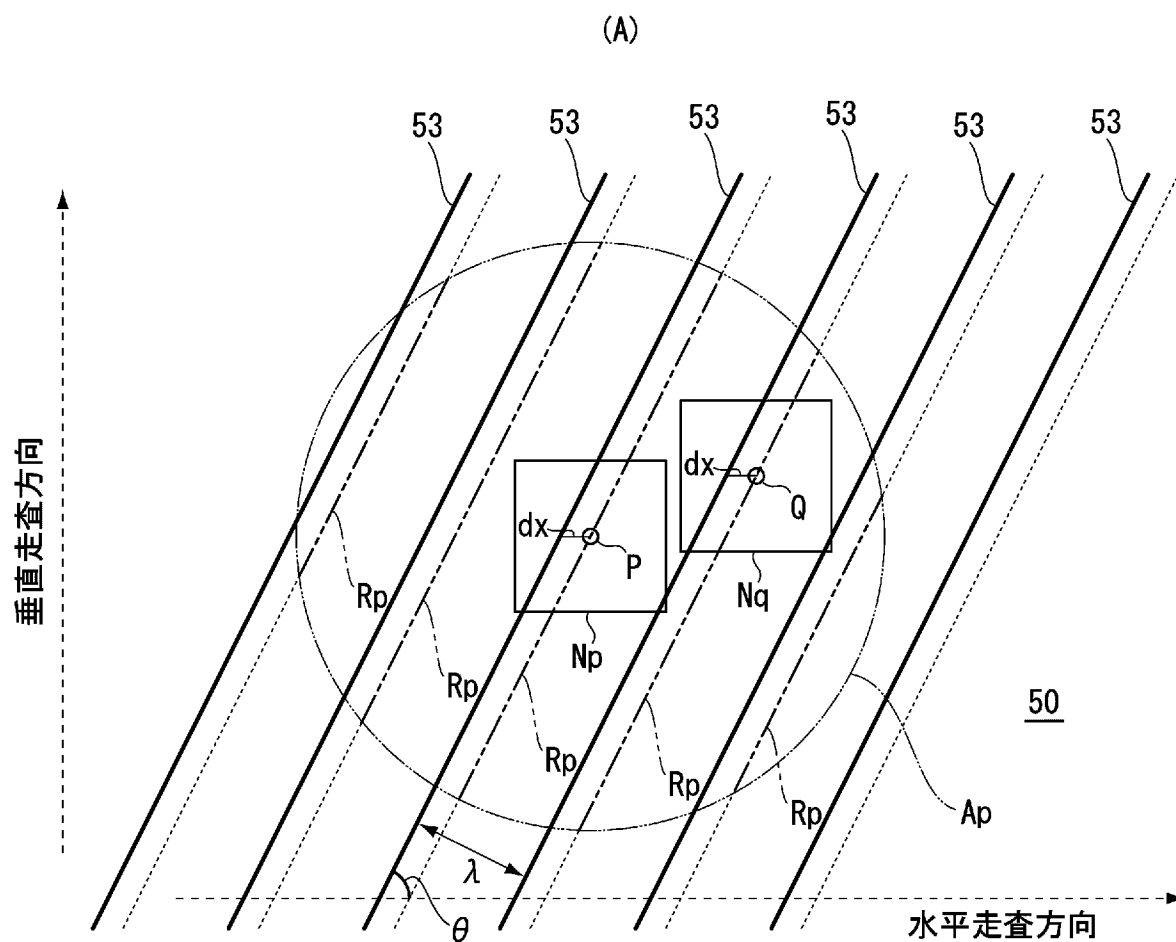
[図5]



[図6]



[図7]



(B)

$$\eta = \left(\xi + \frac{n\lambda}{\sin \theta} - x \right) \tan \theta + y$$

ただし、

… (3)

$$\xi, \eta \in A_p$$

$$n = \dots - 1, 0, +1, \dots$$

[図8]

$$w(N_p; N_q) = \exp\left(-\frac{S(N_p, N_q)}{\sigma_h^2}\right)$$

ただし、

$$S(N_p, N_q) = \sum_{(x+i, y+j) \in N_p} \exp\left(-\frac{i^2 + j^2}{\sigma_a^2}\right) (f(x+i, y+j) - f(\xi+i, \eta+j))^2$$

... (4)

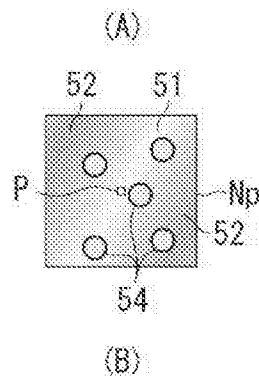
$$g(x, y) = c^{-1}(x, y) \sum_{(\xi, \eta) \in R_p} w(N_p; N_q) f(\xi, \eta)$$

ただし、

$$c^{-1}(x, y) = 1 / \sum_{(\xi, \eta) \in R_p} w(N_p; N_q)$$

... (5)

[図9]

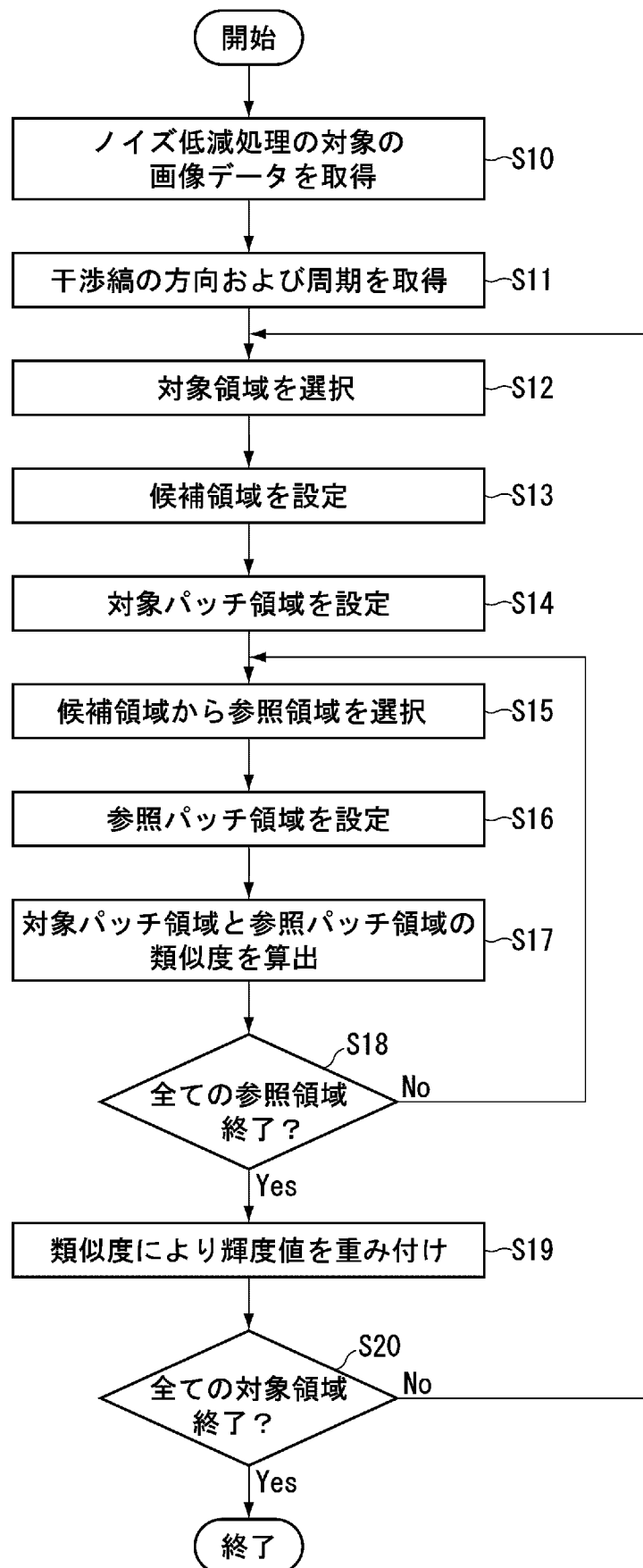


類似度	大	中	中	小
参照パッチ領域	Qx Nqx	Qx Nqx (Qx1)	Qx Nqx (Qx2)	Qx Nqx

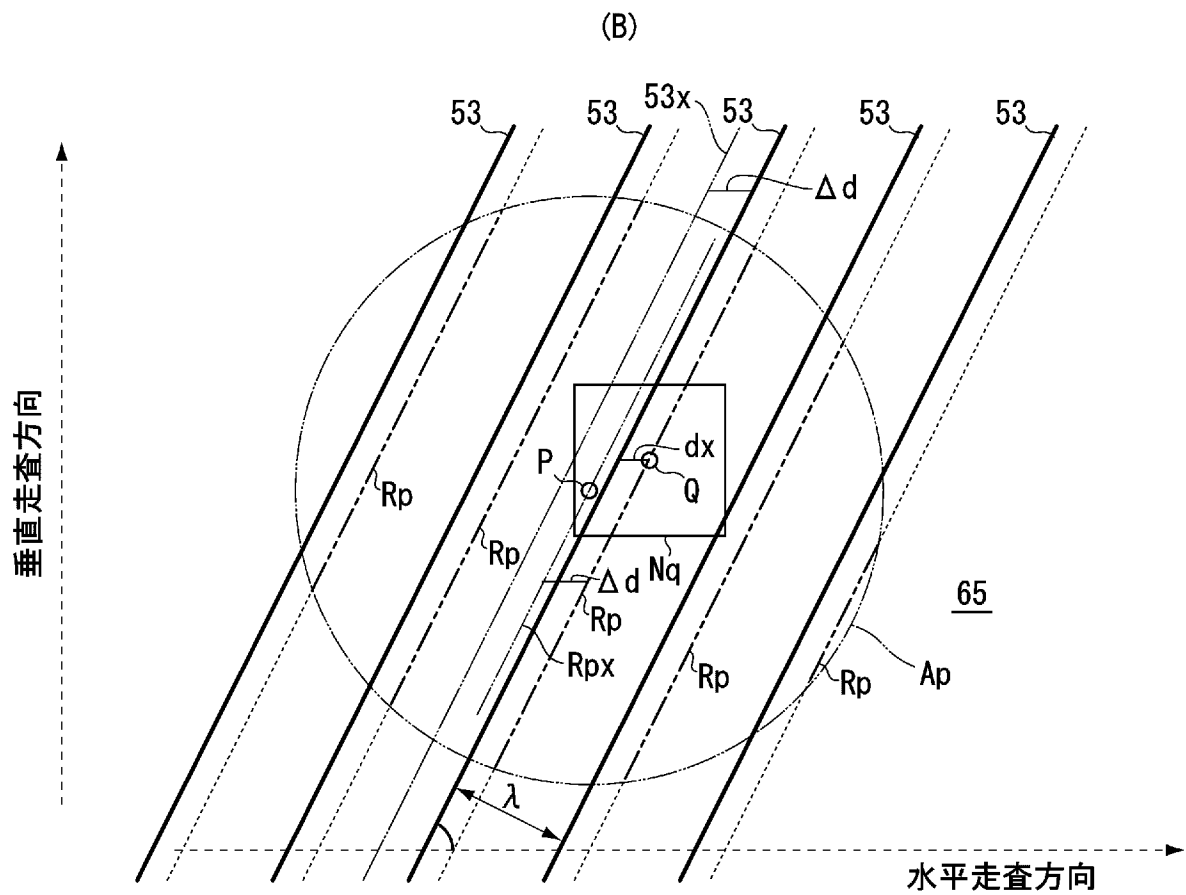
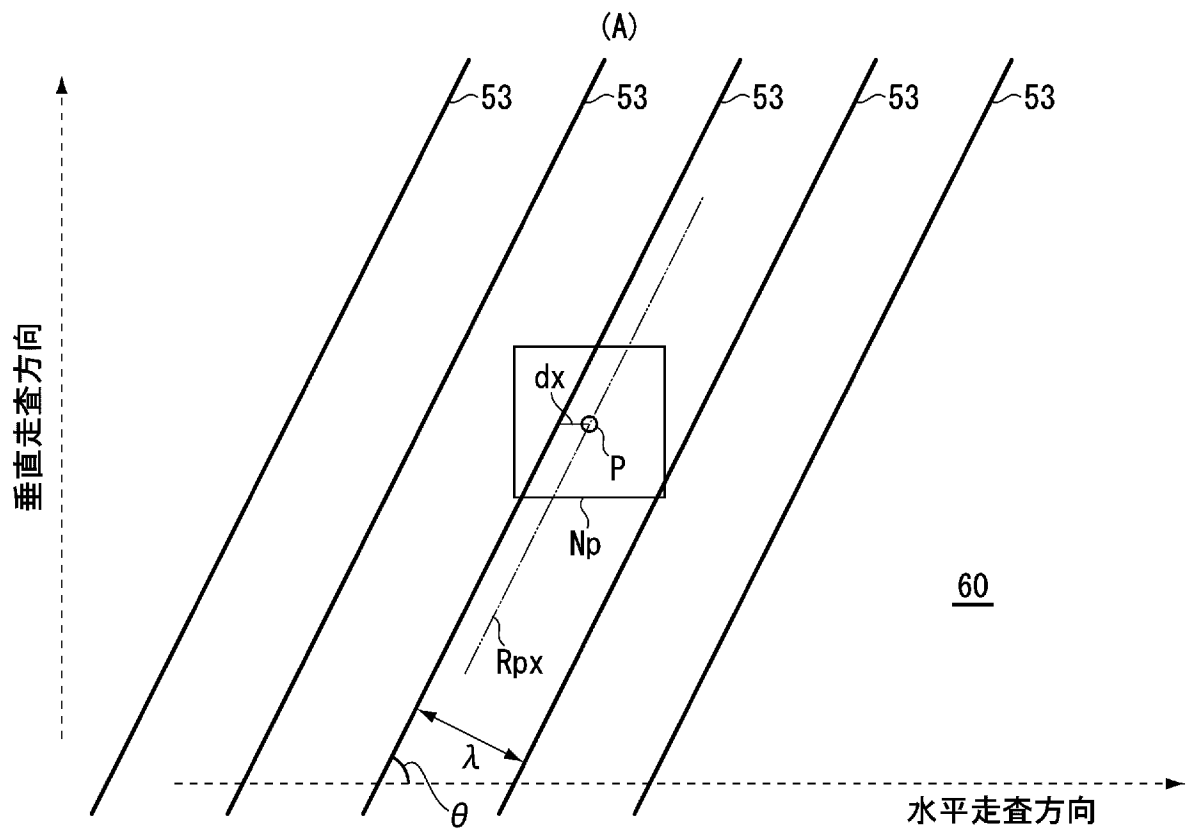
(C)

類似度	大	中	中	小
参照パッチ領域	Q Nq	Q Nq	Q Nq	Q Nq

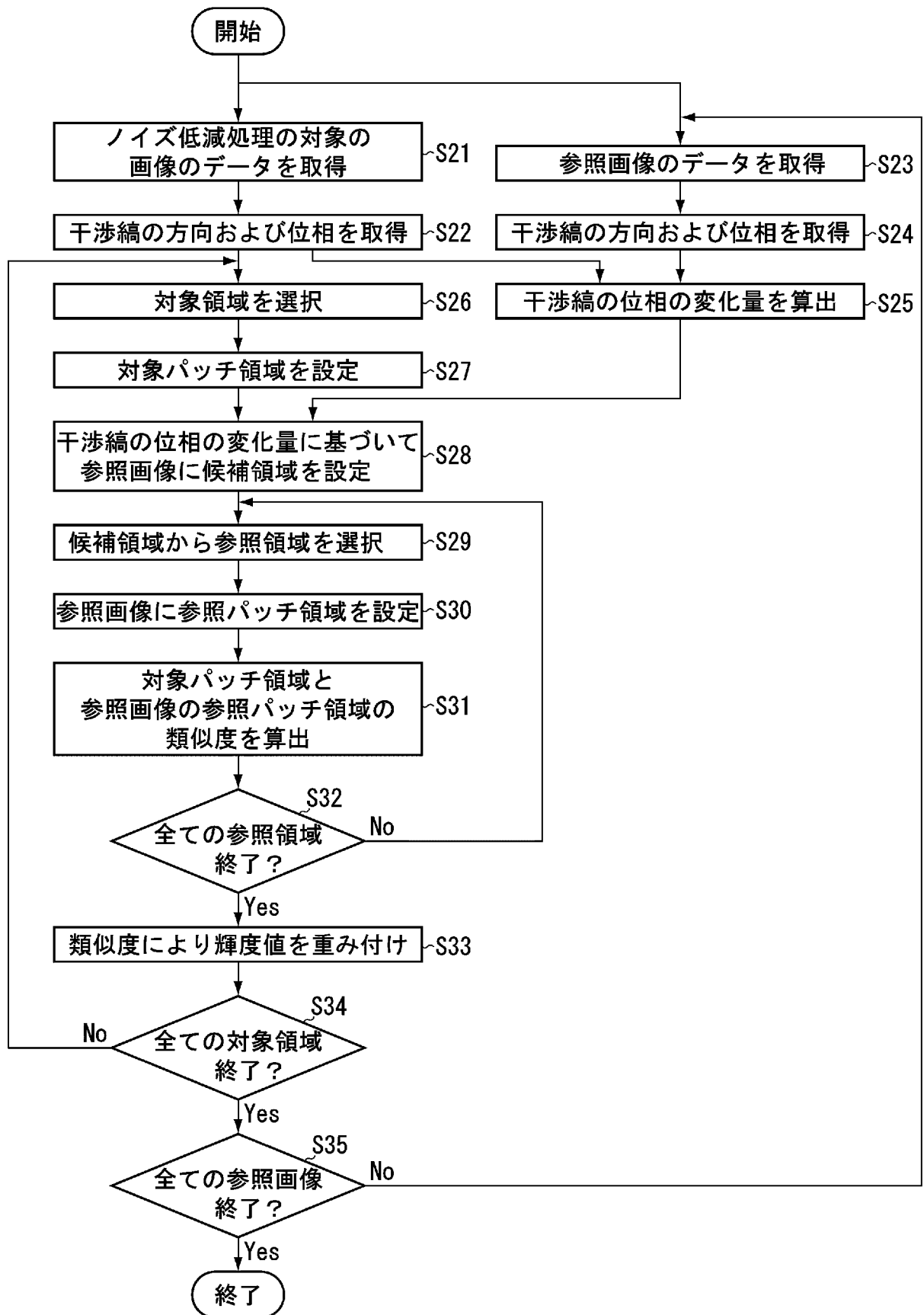
[図10]



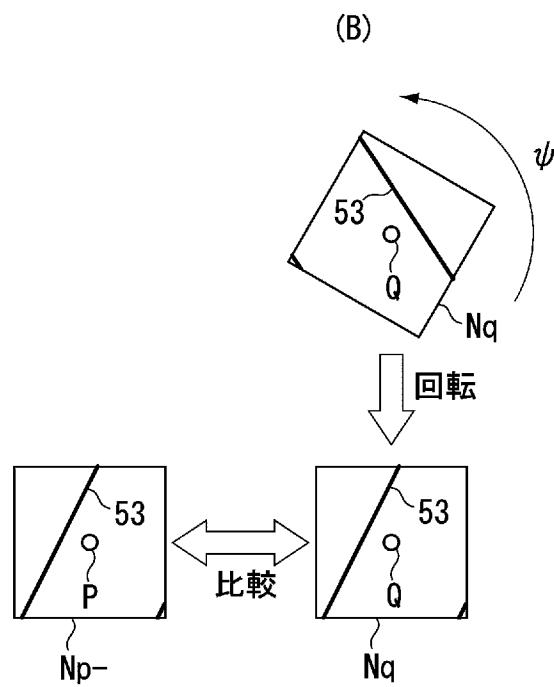
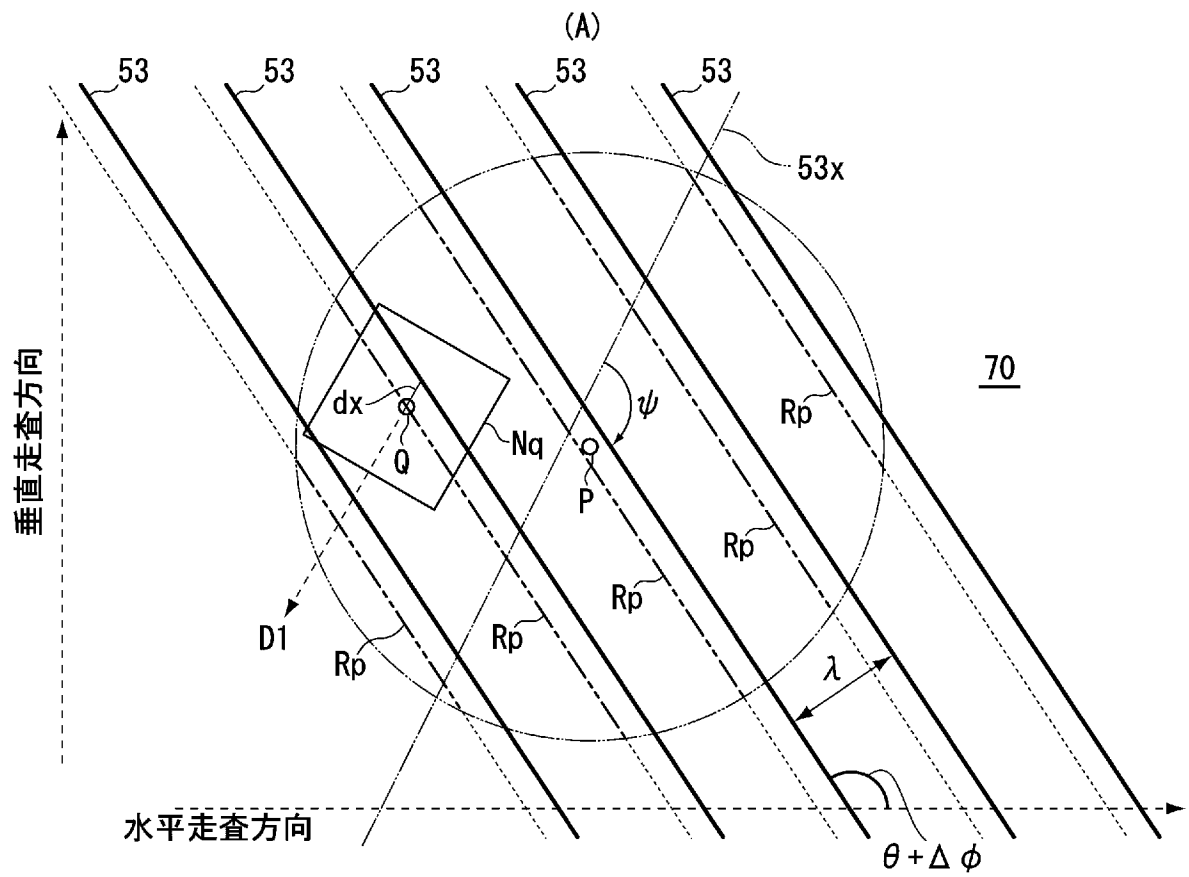
[図11]



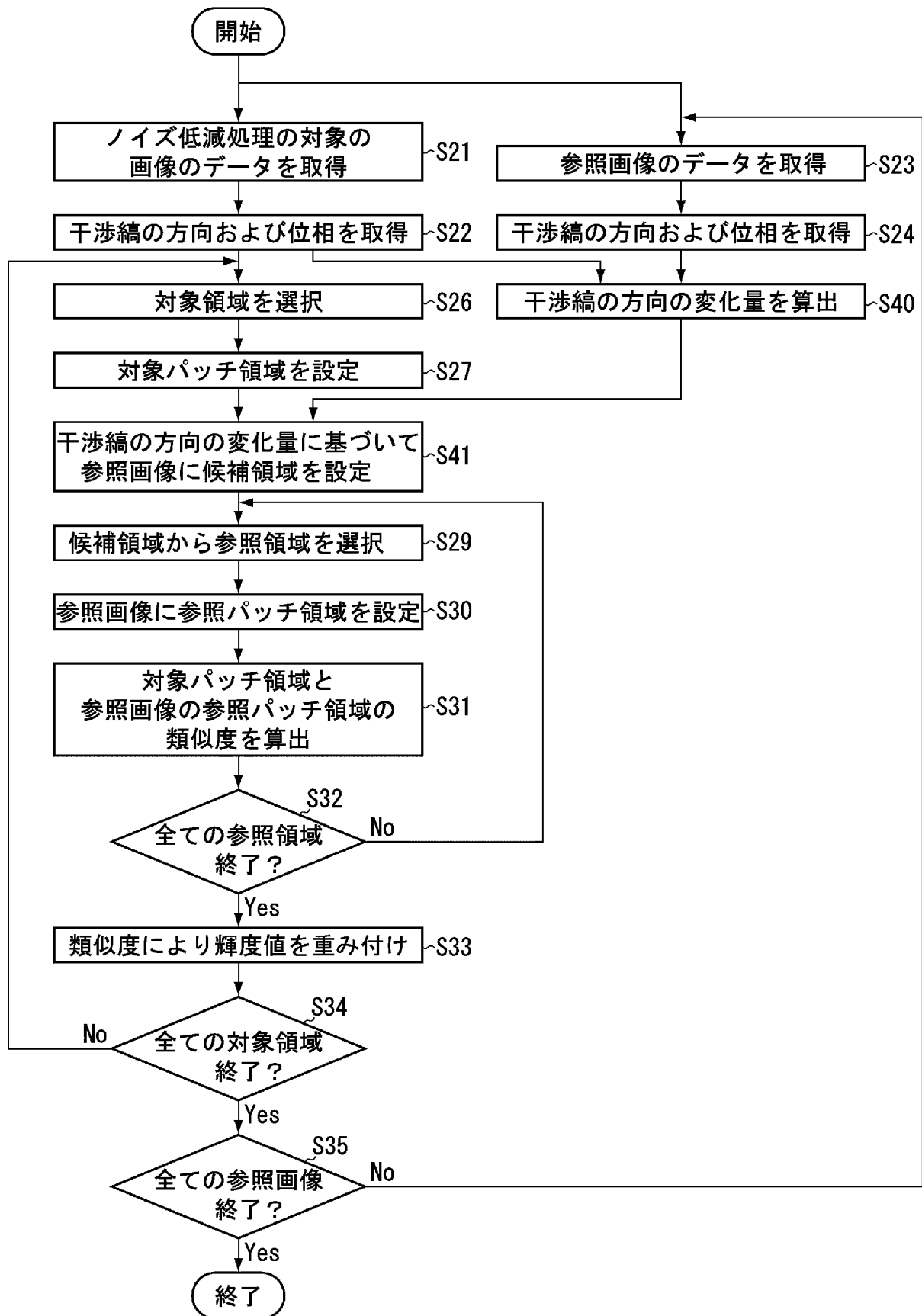
[図12]



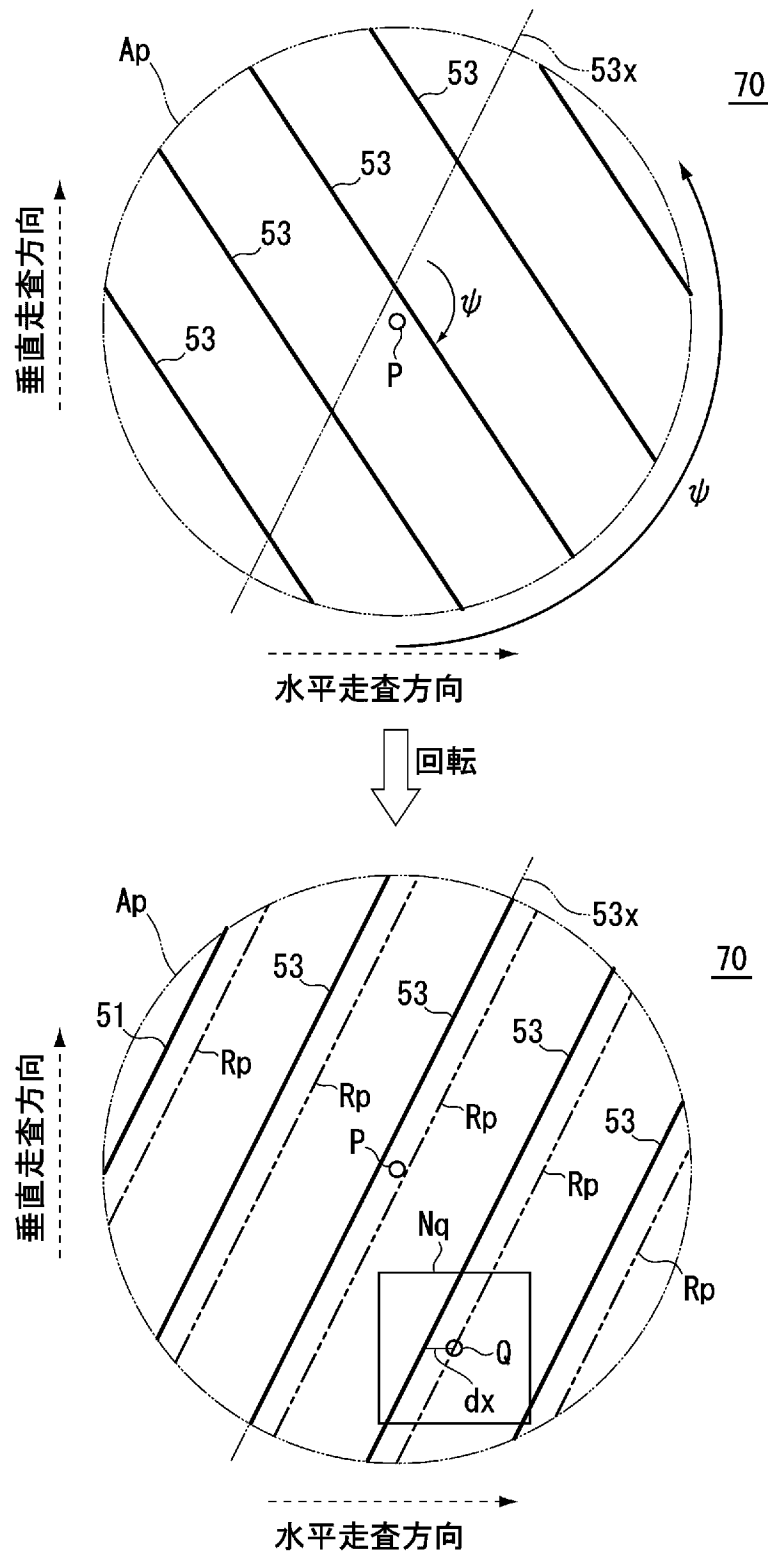
[図13]



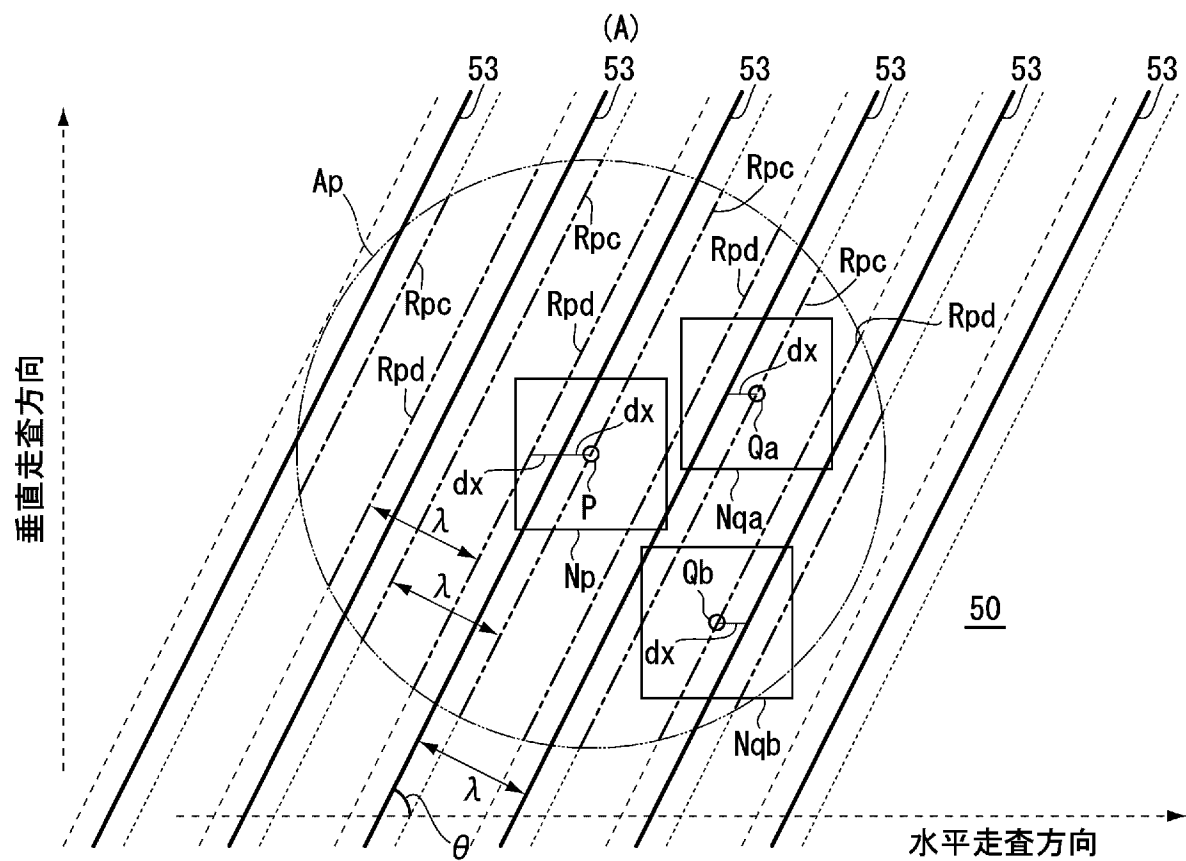
[図14]



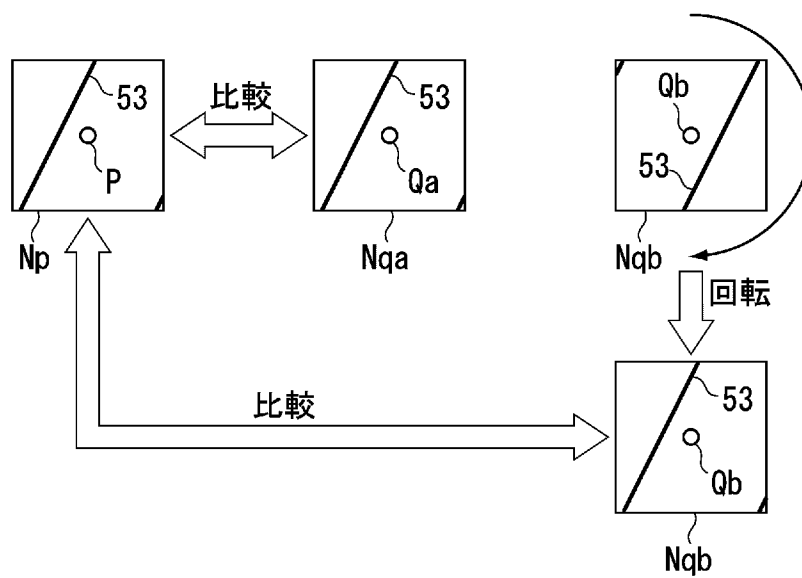
[図15]



[図16]



(B)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/058419

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

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

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G02B21/06, G01N21/64

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2015
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2015	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2015

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	JP 2013-076867 A (Olympus Corp.), 25 April 2013 (25.04.2013), paragraphs [0037] to [0057]; fig. 3 to 8 & US 2013/0083186 A1	1-7, 9, 11, 17-18 8, 10, 12-16
A	JP 2012-078827 A (Carl Zeiss MicroImaging GmbH), 19 April 2012 (19.04.2012), paragraphs [0042] to [0062]; fig. 2, 6 & US 2012/0081536 A1 & EP 2437097 A2 & DE 102010041794 A	1-18
A	WO 2006/109448 A1 (Nikon Corp.), 19 October 2006 (19.10.2006), entire text; all drawings & US 2010/0141750 A1 & EP 1865355 A1	1-18

☐ 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
09 June 2015 (09.06.15)

Date of mailing of the international search report
16 June 2015 (16.06.15)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. G02B21/06(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. G02B21/06, G01N21/64			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2015年 日本国実用新案登録公報 1996-2015年 日本国登録実用新案公報 1994-2015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 A A	JP 2013-076867 A（オリンパス株式会社）2013.04.25, 段落 [0037] - [0057]、図3-8 & US 2013/0083186 A1 JP 2012-078827 A（カール ツァイス マイクロイメージング ゲーエムベーハー）2012.04.19, 段落 [0042] - [0062]、図2、図6 & US 2012/0081536 A1 & EP 2437097 A2 & DE 102010041794 A	1-7, 9, 11, 17-18 8, 10, 12-16 1-18	
☒ 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 09.06.2015		国際調査報告の発送日 16.06.2015	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（I S A / J P） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官（権限のある職員） 殿岡 雅仁 電話番号 03-3581-1101 内線 3271	2 V 4748

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
A	WO 2006/109448 A1 (株式会社ニコン) 2006.10.19, 全文、全図 & US 2010/0141750 A1 & EP 1865355 A1	1-18