

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4905356号
(P4905356)

(45) 発行日 平成24年3月28日(2012.3.28)

(24) 登録日 平成24年1月20日(2012.1.20)

(51) Int.Cl. F I
G O 2 B 21/00 (2006.01) G O 2 B 21/00

請求項の数 7 (全 12 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2007-544077 (P2007-544077) (86) (22) 出願日 平成18年10月16日(2006.10.16) (86) 国際出願番号 PCT/JP2006/320589 (87) 国際公開番号 W02007/055082 (87) 国際公開日 平成19年5月18日(2007.5.18) 審査請求日 平成21年10月14日(2009.10.14) (31) 優先権主張番号 特願2005-327343 (P2005-327343) (32) 優先日 平成17年11月11日(2005.11.11) (33) 優先権主張国 日本国(JP)</p>	<p>(73) 特許権者 000004112 株式会社ニコン 東京都千代田区有楽町1丁目12番1号 (74) 代理人 100072718 弁理士 古谷 史旺 (74) 代理人 100116001 弁理士 森 俊秀 (72) 発明者 奥川 久 東京都千代田区丸の内三丁目2番3号 株 式会社ニコン知的財産部内 審査官 堀井 康司</p>
---	--

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ライン走査型共焦点顕微鏡装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

被観察物中の被観察面上の照明領域がライン状となる照明光で前記被観察物を照明する照明光学系と、

前記被観察面から射出した光を結像する結像光学系と、

前記被観察面の共役面に配置された二次元光検出器と、

前記照明領域の長手方向と直交する方向に向けて前記照明光を前記被観察面上で移動させる走査手段と、

を備えたライン走査型顕微鏡装置であって、

前記二次元光検出器は、前記照明光が前記被観察面上の各ライン状領域を照明しているときのそれぞれにおいて、そのライン状領域と共役関係にある特定ラインの画素信号と、その特定ラインの周辺ラインの画素信号とを取得し、

前記照明光が前記被観察面上の各ライン状領域を照明しているときのそれぞれにおいて取得された特定ラインの画素信号のクロストーク成分を、それと同じときに取得された周辺ラインの画素信号に基づき補正する補正手段を更に備えた

ことを特徴とするライン走査型共焦点顕微鏡装置。

【請求項2】

請求項1に記載のライン走査型共焦点顕微鏡装置において、

前記周辺ラインには、

少なくとも前記特定ラインに隣接したラインが含まれる

ことを特徴とするライン走査型共焦点顕微鏡装置。

【請求項 3】

請求項 2 に記載のライン走査型共焦点顕微鏡装置において、

前記補正手段は、

前記特定ライン L_0 の j 番目の画素信号 $S_{(0, j)}$ のクロストーク成分を、少なくとも、その特定ライン L_0 から 1 ラインずれたライン L_1 の $(j \pm 1)$ 番目の画素信号 $S_{(1, j+1)}$, $S_{(1, j-1)}$ に基づき補正する

ことを特徴とするライン走査型共焦点顕微鏡装置。

【請求項 4】

請求項 3 に記載のライン走査型共焦点顕微鏡装置において、

前記補正手段は、

前記特定ライン L_0 の j 番目の画素信号 $S_{(0, j)}$ のクロストーク成分を、前記特定ライン L_0 から k ラインずれたライン L_k の $(j \pm k)$ 番目の画素信号 $S_{(k, j+k)}$, $S_{(k, j-k)}$ に基づき以下の式で補正する

$$S_{(0, j)} = S_{(0, j)} - (S_{(1, j+1)} + S_{(1, j-1)}) \\ - (S_{(2, j+2)} + S_{(2, j-2)}) \\ - (S_{(3, j+3)} + S_{(3, j-3)}) \dots$$

ことを特徴とするライン走査型共焦点顕微鏡装置。

【請求項 5】

請求項 1 に記載のライン走査型共焦点顕微鏡装置において、

前記周辺ラインには、

少なくとも前記特定ラインの両側に隣接した 2 つのラインが含まれる

ことを特徴とするライン走査型共焦点顕微鏡装置。

【請求項 6】

請求項 5 に記載のライン走査型共焦点顕微鏡装置において、

前記補正手段は、

前記特定ライン L_0 の j 番目の画素信号 $S_{(0, j)}$ のクロストーク成分を、少なくとも、その特定ライン L_0 から ± 1 ラインずれた 2 つのライン L_1, L_{-1} の $(j \pm 1)$ 番目の画素信号 $S_{(1, j+1)}$, $S_{(-1, j+1)}$, $S_{(1, j-1)}$, $S_{(-1, j-1)}$ に基づき補正する

ことを特徴とするライン走査型共焦点顕微鏡装置。

【請求項 7】

請求項 6 に記載のライン走査型共焦点顕微鏡装置において、

前記補正手段は、

前記特定ライン L_0 の j 番目の画素信号 $S_{(0, j)}$ のクロストーク成分を、前記特定ライン L_0 から $\pm k$ ラインずれたライン L_{+k}, L_{-k} の $(j \pm k)$ 番目の画素信号 $S_{(k, j+k)}$, $S_{(-k, j+k)}$, $S_{(k, j-k)}$, $S_{(-k, j-k)}$ に基づき以下の式で補正する

$$S_{(0, j)} = S_{(0, j)} \\ - [(S_{(1, j+1)} + S_{(-1, j+1)}) / 2 + (S_{(1, j-1)} + S_{(-1, j-1)}) / 2] \\ - [(S_{(2, j+2)} + S_{(-2, j+2)}) / 2 + (S_{(2, j-2)} + S_{(-2, j-2)}) / 2] \\ - [(S_{(3, j+3)} + S_{(-3, j+3)}) / 2 + (S_{(3, j-3)} + S_{(-3, j-3)}) / 2] \\ - \dots$$

ことを特徴とするライン走査型共焦点顕微鏡装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

10

20

30

40

50

本発明は、被観察物の像をライン毎に検出するライン走査型共焦点顕微鏡装置に関する。

【背景技術】

【0002】

一般に、ライン走査型の共焦点顕微鏡装置は、ライン状に集光された照明光で標本を照明し、標本上の照明領域で生じた光を一次元CCDなどの光検出器で検出するものである（特許文献1など）。二次元の画像を取得するには、照明領域で標本上を走査しながら検出を繰り返せばよい。このように検出をライン毎に行えば、それをポイント毎に行う通常の共焦点顕微鏡装置よりも二次元の画像情報を取得するまでの時間を短縮することができる。

10

【特許文献1】特開2000-275027号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

しかし、ライン走査型の共焦点顕微鏡装置では、照明領域の短手方向に関するクロストークは抑えられるものの、その長手方向に関するクロストークは抑えられないので、その長手方向に分布した標本の観察では、共焦点効果（光軸方向のセクショニング分解能や平面方向のコントラスト）が得られない。

そこで本発明は、被観察物の像をライン毎に検出しながらも高い共焦点効果を得ることのできる共焦点顕微鏡装置を提供することを目的とする。

20

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明のライン走査型共焦点顕微鏡装置は、被観察物中の被観察面上の照明領域がライン状となる照明光で前記被観察物を照明する照明光学系と、前記被観察面から射出した光を結像する結像光学系と、前記被観察面の共役面に配置された二次元光検出器と、前記照明領域の長手方向と直交する方向に向けて前記照明光を前記被観察面上で移動させる走査手段とを備えたライン走査型顕微鏡装置であって、前記二次元光検出器は、前記照明光が前記被観察面上の各ライン状領域を照明しているときのそれぞれにおいて、そのライン状領域と共役関係にある特定ラインの画素信号と、その特定ラインの周辺ラインの画素信号とを取得し、前記照明光が前記被観察面上の各ライン状領域を照明しているときのそれぞれにおいて取得された特定ラインの画素信号のクロストーク成分を、それと同じときに取得された周辺ラインの画素信号に基づき補正する補正手段を更に備えたことを特徴とする。

30

【0005】

なお、前記周辺ラインには、少なくとも前記特定ラインに隣接したラインが含まれることが望ましい。

また、前記補正手段は、前記特定ライン L_0 の j 番目の画素信号 $S_{(0,j)}$ のクロストーク成分を、少なくとも、その特定ライン L_0 から1ラインずれたライン L_1 の $(j \pm 1)$ 番目の画素信号 $S_{(1,j+1)}$ 、 $S_{(1,j-1)}$ に基づき補正するとよい。

【0006】

また、前記補正手段は、前記特定ライン L_0 の j 番目の画素信号 $S_{(0,j)}$ のクロストーク成分を、前記特定ライン L_0 から k ラインずれたライン L_k の $(j \pm k)$ 番目の画素信号 $S_{(k,j+k)}$ 、 $S_{(k,j-k)}$ に基づき以下の式で補正してもよい。

40

$$S_{(0,j)} = S_{(0,j)} - (S_{(1,j+1)} + S_{(1,j-1)}) \\ - (S_{(2,j+2)} + S_{(2,j-2)}) \\ - (S_{(3,j+3)} + S_{(3,j-3)}) \dots$$

さらに、前記周辺ラインには、少なくとも前記特定ラインの両側に隣接した2つのラインが含まれることが望ましい。

【0007】

また、前記補正手段は、前記特定ライン L_0 の j 番目の画素信号 $S_{(0,j)}$ のクロストーク

50

ク成分を、少なくとも、その特定ライン L_0 から ± 1 ラインずれた 2 つのライン L_1, L_{-1} の $(j \pm 1)$ 番目の画素信号 $S_{(1, j+1)}, S_{(-1, j+1)}, S_{(1, j-1)}, S_{(-1, j-1)}$ に基づき補正してもよい。

また、前記補正手段は、前記特定ライン L_0 の j 番目の画素信号 $S_{(0, j)}$ のクロストーク成分を、前記特定ライン L_0 から $\pm k$ ラインずれたライン L_k, L_{-k} の $(j \pm k)$ 番目の画素信号 $S_{(k, j+k)}, S_{(-k, j+k)}, S_{(k, j-k)}, S_{(-k, j-k)}$ に基づき以下の式で補正してもよい。

【0008】

$$\begin{aligned}
 S_{(0, j)} = & S_{(0, j)} \\
 & - [(S_{(1, j+1)} + S_{(-1, j+1)}) / 2 + (S_{(1, j-1)} + S_{(-1, j-1)}) / 2] \\
 & - [(S_{(2, j+2)} + S_{(-2, j+2)}) / 2 + (S_{(2, j-2)} + S_{(-2, j-2)}) / 2] \\
 & - [(S_{(3, j+3)} + S_{(-3, j+3)}) / 2 + (S_{(3, j-3)} + S_{(-3, j-3)}) / 2] \\
 & - \dots
 \end{aligned}
 \tag{10}$$

【発明の効果】

【0009】

本発明によれば、被観察物の像をライン毎に検出しながらも高い共焦点効果を得ることのできるライン走査型共焦点顕微鏡装置が実現する。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】本顕微鏡装置の全体構成図である。

【図2】標本8が照明される様子を拡大して示す図である。

【図3】標本8から撮像面10aまでの光路を模式的に描いたものである。

【図4】撮像面10aを正面から見た模式図である。

【図5】特定ライン L_0 内の画素間で生じるクロストークを説明する図である。

【図6】特定ライン L_0 上の或る画素 $P_{(0,0)}$ に対し影響を及ぼす像を示す図である。

【図7】特定ライン L_0 上の一般の画素 $P_{(0,j)}$ と、その画素信号のクロストーク成分を表す画素とを示す図である。

【図8】コンピュータ11の動作フローチャートである。

【発明を実施するための最良の形態】

【0011】

[第1実施形態]

以下、図面を参照して本発明の実施形態を説明する。本実施形態は、共焦点顕微鏡装置の実施形態である。

先ず、本顕微鏡装置の全体構成を説明する。

図1は、本顕微鏡装置の全体構成図である。図1に示すように、本顕微鏡装置には、レーザー光源1、シリンダリカルレンズ3、ビームスプリッタ4、レンズ5、スキャナ6、対物レンズ7、標本(生体標本など)8、二次元CCD10、コンピュータ11、モニター12などが配置される。

【0012】

レーザー光源1から射出したレーザー光2は、シリンダリカルレンズ3によりライン状に集光される。そのレーザー光2は、ビームスプリッタ4を通過した後、レンズ5によって平行光に変換され、スキャナ6内のスキャンミラー6aで反射して、対物レンズ7を介して標本8上のライン状の領域(照明領域)Eに集光する。

照明領域Eで発生した光は、対物レンズ7、スキャンミラー6a、レンズ5を介してビームスプリッタ4へ戻る。その光は、ビームスプリッタ4で反射し、二次元CCD10の撮像面10a上の特定ライン L_0 に照明領域Eの像を形成する。二次元CCD10は、その撮像面10aの輝度分布を検出し、輝度分布データを生成してコンピュータ11へ送出する。

【0013】

なお、スキャナ6は、スキャンミラー6aの配置角度を変化させ、標本8上の照明領域

10

20

30

40

50

Eをその短手方向(走査方向)DSへ移動させることができる。このように照明領域Eが標本8上を移動すると、二次元CCD10の特定ライン L_0 には、標本8上の異なるラインの像が投影されることになる。

また、レーザ光源1、スキャナ6、二次元CCD10などは、コンピュータ11によって制御される。例えば、コンピュータ11は、スキャナ6を制御して標本8上を照明領域Eで走査しながら、二次元CCD10を制御して輝度分布データを取得する制御処理を行う(詳細は後述)。また、コンピュータ11は、取得した輝度分布データを処理して標本8の二次元の画像を生成する演算処理を行う(詳細は後述)。また、コンピュータ11は、その画像をモニタ12へ表示するための変換処理なども行う。

【0014】

10

図2は、標本8が照明される様子を拡大して示す図である。照明光は、標本8中の被観察面8a上に集光し、被観察面8aの上下層では広がりを持つ。よって、以下では、被観察面8a上の照明領域Eのことを、特に「照明ラインE」と称す。

図3は、標本8から撮像面10aまでの光路を模式的に描いたものである。図3(A)、(B)には、90°異なる角度から光路を見た様子を示した。

【0015】

図3(A)、(B)に示すとおり、被観察面8aの共役面に撮像面10aが位置しており、撮像面10aの特定ライン L_0 が照明ラインEと共焦点関係にある。照明ラインE上の或る1点で発生した光は、特定ライン L_0 上に集光し、その特定ライン L_0 の1つの画素上にその点の像を形成する。つまり、特定ライン L_0 の各画素には、照明ラインE上の各点の像が形成される。

20

【0016】

但し、実際には、照明ラインEの上下層のラインE'でも光(フレア)が発生している。そのラインE'上の或る1点で発生したフレアは、特定ライン L_0 よりも手前又は奥に集光するので、特定ライン L_0 の複数の画素上にその点のボケた像を形成する。つまり、特定ライン L_0 の各画素には、ラインE'上の各点のボケた像が重なって形成される。

その結果、特定ライン L_0 の各画素には、走査方向DSに関するクロストークは生じないものの、ライン方向DLに関するクロストークは発生する。

【0017】

次に、ライン方向DLに関するクロストークを詳細に説明する。

30

図4は、撮像面10aを正面から見た模式図である。図4に示すとおり、特定ライン L_0 は、撮像面10aの中央の辺りに位置している。図4の下部には、特定ライン L_0 及びその周辺ラインの一部を拡大して示した。以下、図4に示すように、特定ライン L_0 からiラインだけずれたラインを「ライン L_i 」と称す。

【0018】

図5の左側に示すのは、標本8の一部の断面の模式図であり、右側に示すのは撮像面10aの模式図である。図5中、符号Zで示すのは光軸方向であり、符号DLで示すのは照明ラインE及び特定ライン L_0 のライン方向である。

図5(A)に示すとおり、照明ラインE上の或る点 A_{00} が撮像面10aの特定ライン L_0 上の微小な円形領域に像 A_{00}' を形成するときには、点 A_{00} の上下層の点 A_{01} は、像 A_{00}' と同じ点を中心としてボケた像 A_{01}' を形成し、その形成範囲内の画素に対しクロストークを及ぼす。また、点 A_{01} の上下層の点 A_{02} は、像 A_{00}' と同じ点を中心としてさらに大きくボケた像 A_{02}' を形成し、その形成範囲内の画素に対しクロストークを及ぼす。

40

【0019】

つまり、点 A_{00} の上下層の点 A_{01} 、 A_{02} 、...は、像 A_{00}' と同じ点を中心としてボケた像 A_{01}' 、 A_{02}' 、...を形成し、その形成範囲内の画素に対しクロストークを及ぼす。なお、ボケの大きい像ほど、1つの画素に与えるクロストーク量は小さい。

これと同じことが、照明ラインE上の別の点やその上下層の点についても当てはまる(図5(B)、(C)参照)。図5(B)、(C)では、図5(A)と同様、標本8中の点A及び撮像面10a上の像A'の互いに対応するもの同士には同じ添え字を付した。

50

【 0 0 2 0 】

次に、特定ライン L_0 の画素信号に生じるクロストーク成分を説明する。

図 6 では、特定ライン L_0 上の或る画素 $P_{(0,0)}$ に着目し、その画素 $P_{(0,0)}$ に対し影響を及ぼす像のみを示した。なお、 $P_{(i,j)}$ は、ライン L_i の j 番目の画素である。

図 6 に示すように、画素 $P_{(0,0)}$ に影響を及ぼすのは、画素 $P_{(0,0)}$ 上に形成される像 A_{00}' と、画素 $P_{(0,0)}$ からライン方向 DL へずれた位置 (×印) に中心を持ち、かつそのずれ量の分だけボケた像 A_{11}' 、 A_{-11}' 、 A_{22}' 、 A_{-22}' 、... である。

【 0 0 2 1 】

このうち、像 A_{00}' は、画素 $P_{(0,0)}$ によって検出されるべき像であって、画素 $P_{(0,0)}$ に対し信号成分を発生させる像である。それ以外の像 A_{11}' 、 A_{22}' 、 A_{-11}' 、 A_{-22}' 、... が、画素 $P_{(0,0)}$ に対しクロストーク成分を発生させる。

ここで、像 A_{11}' が画素 $P_{(0,0)}$ に及ぼすクロストーク量は、画素 $P_{(0,0)}$ と斜め方向に並ぶ画素 $P_{(1,1)}$ 又は画素 $P_{(-1,1)}$ の画素信号に現れるとみなせる。

【 0 0 2 2 】

なぜなら、第 1 に、画素 $P_{(1,1)}$ 、 $P_{(-1,1)}$ は、像 A_{11}' から受けるクロストーク量が画素 $P_{(0,0)}$ のそれと同じである。第 2 に、画素 $P_{(1,1)}$ 、 $P_{(-1,1)}$ は、特定ライン L_0 から外れたライン上に存在するので、信号成分を持たない。

同様に考えると、像 A_{-11}' が画素 $P_{(0,0)}$ に及ぼすクロストーク量は、画素 $P_{(1,-1)}$ 又は画素 $P_{(-1,-1)}$ の画素信号に現れるとみなせる。

【 0 0 2 3 】

また、像 A_{22}' が画素 $P_{(0,0)}$ に及ぼすクロストーク量は、画素 $P_{(2,2)}$ 又は画素 $P_{(-2,2)}$ からの画素信号に現れるとみなせる。

また、像 A_{-22}' が画素 $P_{(0,0)}$ に及ぼすクロストーク量は、画素 $P_{(2,-2)}$ 又は画素 $P_{(-2,-2)}$ の画素信号に現れるとみなせる。

したがって、画素 $P_{(1,1)}$ 、 $P_{(-1,1)}$ 、 $P_{(1,-1)}$ 、 $P_{(-1,-1)}$ 、 $P_{(2,2)}$ 、 $P_{(-2,2)}$ 、 $P_{(2,-2)}$ 、 $P_{(-2,-2)}$ 、... の画素信号 $S_{(1,1)}$ 、 $S_{(-1,1)}$ 、 $S_{(1,-1)}$ 、 $S_{(-1,-1)}$ 、 $S_{(2,2)}$ 、 $S_{(-2,2)}$ 、 $S_{(2,-2)}$ 、 $S_{(-2,-2)}$ 、... が、画素 $P_{(0,0)}$ の画素信号 $S_{(0,0)}$ に含まれるクロストーク成分を表す。

【 0 0 2 4 】

なお、画素 $P_{(1,1)}$ と画素 $P_{(-1,1)}$ 、画素 $P_{(1,-1)}$ と画素 $P_{(-1,-1)}$ などは、特定ライン L_0 に関し対称の関係にあるので、原理的には同じ画素信号を出力するはずである。両者の画素信号に差異が生じたら、それはノイズの影響である。したがって、両者の画素信号の平均値 (平均画素信号) が、クロストーク成分をより正確に表す。

また、1つの像 A' のボケ量が大きいほど、その画素 A' が1つの画素に及ぼすクロストーク量は小さくなるので、画素 $P_{(1,1)}$ 、 $P_{(-1,1)}$ 、 $P_{(1,-1)}$ 、 $P_{(-1,-1)}$ 、 $P_{(2,2)}$ 、 $P_{(-2,2)}$ 、 $P_{(2,-2)}$ 、 $P_{(-2,-2)}$ 、... のうち、特定ライン L_0 に近接したラインの画素ほど、画素 $P_{(0,0)}$ に対しより支配的なクロストーク成分を表す。

【 0 0 2 5 】

さらに、以上の説明は、特定ライン L_0 上の各画素についてそれぞれ当てはまる。図 7 には、特定ライン L_0 上の一般の画素 $P_{(0,j)}$ と、その画素 $P_{(0,j)}$ の画素信号 $S_{(0,j)}$ に含まれるクロストーク成分を表す画素とを、一般の画素番号「 j 」を用いて示した。これらの画素のうち、特定ライン L_0 に関し対称な2つの画素の平均画素信号は、クロストーク成分をより正確に表す。また、特定ライン L_0 に近接したラインの画素ほど、画素 $P_{(0,j)}$ に対しより支配的なクロストーク成分を表す。

【 0 0 2 6 】

次に、以上のことを踏まえて本顕微鏡装置のコンピュータ 11 の動作を詳細に説明する。

図 8 は、コンピュータ 11 の動作フローチャートである。各ステップを順に説明する。
(ステップ S1)

コンピュータ 11 は、図 1 に示したスキャナ 6 及び二次元 CCD 10 を同期制御し、標

10

20

30

40

50

【 0 0 3 2 】

同様に、コンピュータ 11 は、輝度分布データ I_2 の画素信号列 S_0 を、その周辺の画素信号列 $S_1, S_{-1}, S_2, S_{-2}, \dots$ に基づき補正する。同様に、コンピュータ 11 は、輝度データ $I_3, I_4, I_5, I_6, \dots, I_N$ の画素信号列 S_0 も補正する。

なお、以上の本ステップにおいて輝度データ I_1 から得られた補正後の画素信号列 S_0 を S_{10} 、輝度データ I_2 から得られた補正後の画素信号列 S_0 を S_{20} 、...、輝度データ I_N から得られた補正後の画素信号列 S_0 を S_{N0} と置き換える。

【 0 0 3 3 】

(ステップ S3)

コンピュータ 11 は、補正後の画素信号列 $S_{10}, S_{20}, S_{30}, \dots, S_{N0}$ をこの順で並べて合成し、1枚の画像データ I を作成する。この画像データ I が、標本 8 の二次元の画像を表す。

10

以上、本顕微鏡装置は、ライン走査型の共焦点顕微鏡装置であるので、走査方向 DS に関するクロストークは生じないものの、ライン方向 DL に関するクロストークは生じる。しかし、本顕微鏡装置では、照明ライン E に対応する特定ライン L_0 だけでなくその周辺ラインを含む二次元の輝度分布を検出し、前者の画素信号を後者の画素信号に基づき補正する。この補正により、ライン方向 DL に関するクロストークが抑えられる。したがって、本顕微鏡装置は、ライン走査型でありながらも高い共焦点効果を得ることができる。

【 0 0 3 4 】

しかも、本顕微鏡装置のコンピュータ 11 は、補正に当たり、特定ライン L_0 に対し対称な 2 つの画素の平均画素信号を用いるので (式 (1) 参照)、その補正精度を高めることができる。

20

(その他)

また、ステップ S2 における補正では、式 (1) の代わりに式 (2) を用いてもよい。

【 0 0 3 5 】

$$\begin{aligned}
 S_{(0,j)} = & S_{(0,j)} \\
 & - (S_{(1,j+1)} + S_{(1,j-1)}) \\
 & - (S_{(2,j+2)} + S_{(2,j-2)}) \\
 & - (S_{(3,j+3)} + S_{(3,j-3)}) \\
 & - \dots \dots (2)
 \end{aligned}$$

30

この式 (2) の右辺において、括弧で括った各項が補正項である。

【 0 0 3 6 】

式 (2) の 1 番目の補正項は、特定ライン L_0 から 1 ラインずれた L_1 上の 2 つの画素 $P_{(1,j+1)}, P_{(1,j-1)}$ による補正を意味している (図 7 参照)。

式 (2) の 2 番目の補正項は、特定ライン L_0 から 2 ラインずれたライン L_2 上の 2 つの画素 $P_{(2,j+2)}, P_{(2,j-2)}$ による補正を意味している (図 7 参照)。

同様に、式 (2) の k 番目の補正項は、特定ライン L_0 から k ラインずれたライン L_k 上の 2 つの画素 $P_{(k,j+k)}, P_{(k,j-k)}$ による補正を意味している。

【 0 0 3 7 】

つまり、式 (2) は、式 (1) において、補正に用いるラインの本数を半分にしたものに相当する。この式 (2) には平均画素信号を算出するための演算が含まれないので、補正演算の速度を高めることができる。

40

なお、式 (2) を用いる場合も補正項の数を、2, 1 などの小さい数に設定してもよい。なぜなら、 k の大きい補正項 (つまり特定ライン L_0 から離れたライン) ほど補正効果が弱いからである。補正項の数が抑えられれば、ステップ S2 においてコンピュータ 11 が参照すべき画素信号列の数、及びコンピュータ 11 の演算負荷を減らすことができる。一方、補正項の数を多くするほど原理的には精度を高めることが可能だが、実際には、 k の大きい補正項 (つまり特定ライン L_0 から離れたライン) ほど S/N が悪いので、補正項の数が多すぎると補正精度が逆に悪化する可能性もある。このため、補正項の数は、予めの実験やシミュレーションなどにより最適な値に選定されることが望ましい。

50

【0038】

また、本実施形態では、撮像面10aのサイズについて言及しなかったが、補正に用いられるラインの本数が少ない場合は、それに応じて二次元CCDの撮像面10aのサイズを小さくしてもよい。

例えば、補正式として式(1)を用いると共に、その補正項の数が2であるときには、補正に4ラインしか用いないので、撮像面10aは、特定ライン L_0 、ライン L_1 、 L_{-1} 、 L_2 、 L_{-2} の5ラインさえ有していれば十分である。

【0039】

また、補正式として式(2)を用いると共に、その補正項の数が2であるときには、補正に2ラインしか用いないので、撮像面10aは、特定ライン L_0 、ライン L_1 、 L_2 の3

10

また、本顕微鏡装置では、二次元光検出器として二次元CCDが用いられたが、特定ライン及びその周辺ラインに同時に形成される輝度分布を検出することができるのであれば、他のタイプの二次元光検出器が用いられてもよい。

【0040】

また、本顕微鏡装置は、ライン走査型の共焦点顕微鏡に本発明を適用したものであるが、スポット走査型の共焦点顕微鏡であっても、場合によっては本発明の適用が有効となる。それは、スポット走査を高速化し、CCDなどの電荷蓄積型の光検出器で標本の像をライン毎に検出するような場合である。電荷蓄積型の光検出器は、有限期間内に入射した光強度の時間積分を検出するものなので、CCD上のずれた位置にずれたタイミングで入射した光同士であっても、それらの入射タイミングがCCDの電荷蓄積期間内に収まっているときには、互いの信号にクロストークを及ぼす。しかし、本発明を適用すれば、このクロストークを抑えることができる。

20

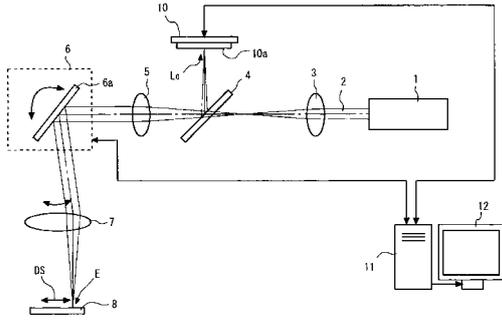
【0041】

また、本顕微鏡装置を利用して蛍光観察を行ってもよい。因みに、蛍光観察の際には、標本8として蛍光物質で標識された標本を配置し、ビームスプリッタ4としてダイクロイックミラーを配置し、そのダイクロイックミラーの周辺の適当な位置に必要な応じてフィルタを配置すればよい。

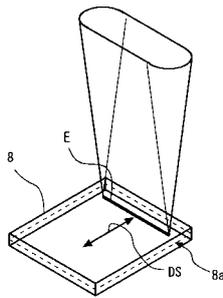
また、本顕微鏡装置のコンピュータ11による処理の一部又は全部を、コンピュータ11の代わりに回路に実行させてもよい。回路を利用すれば、共焦点画像を表示するまでの時間を短縮することも可能である。

30

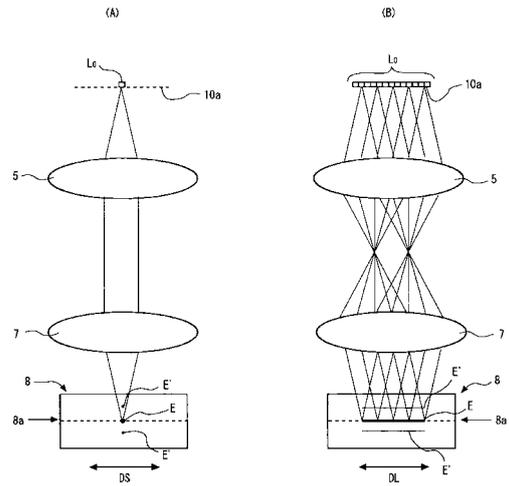
【 図 1 】



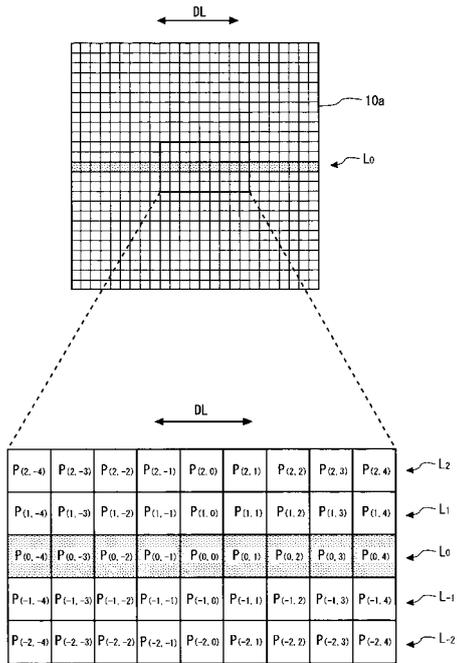
【 図 2 】



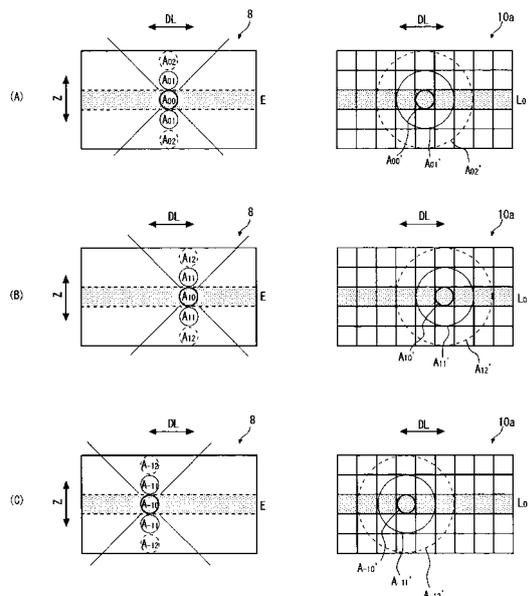
【 図 3 】



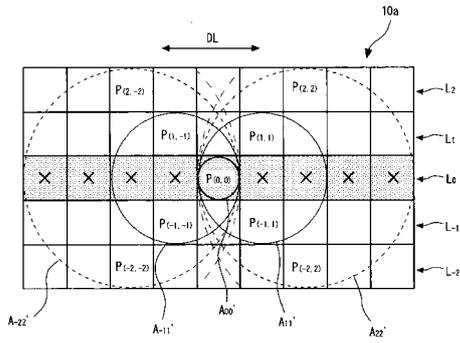
【 図 4 】



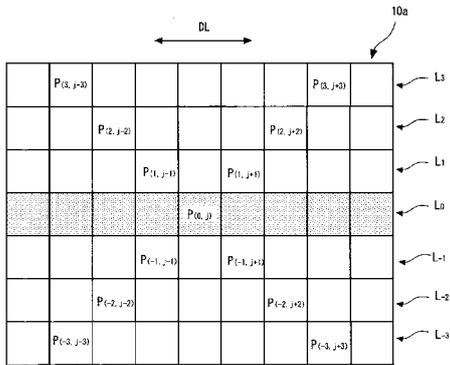
【 図 5 】



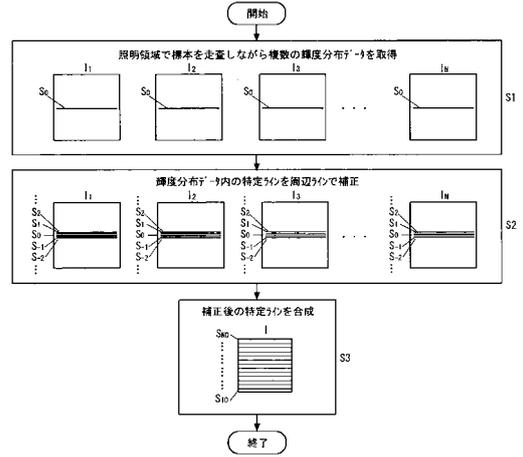
【図6】



【図7】



【図8】



フロントページの続き

(56)参考文献 特開2000-275027(JP,A)
特開平10-268201(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G02B 21/00