(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3573508号
(P3573508)
(45)発行日　平成16年10月6日(2004.10.6)　(24)登録日　平成16年7月9日(2004.7.9)

(51)Int.Cl.[7]　F I
G02B 21/00　G02B 21/00

請求項の数 3　(全 15 頁)

(21)出願番号　特願平7-2560
(22)出願日　平成7年1月11日(1995.1.11)
(65)公開番号　特開平8-190053
(43)公開日　平成8年7月23日(1996.7.23)
審査請求日　平成14年1月8日(2002.1.8)

(73)特許権者　000000376
オリンパス株式会社
東京都渋谷区幡ヶ谷２丁目４３番２号
(74)代理人　100058479
弁理士　鈴江　武彦
(72)発明者　北　信浩
東京都渋谷区幡ヶ谷２丁目４３番２号　オリンパス光学工業株式会社内

審査官　山村　浩

(56)参考文献　特開平０６－０６７０９５（ＪＰ，Ａ）
特開平０６－３０８３９３（ＪＰ，Ａ）
特開昭５９－１９２２２１（ＪＰ，Ａ）

最終頁に続く

(54)【発明の名称】共焦点走査型光学顕微鏡

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

光源からの出射光を試料に集光する対物レンズと、
前記出射光を前記試料に対して相対的に２次元走査する手段と、
前記対物レンズを介して前記試料から得られた光を検出する光検出器と、
前記対物レンズの焦点位置と試料とを相対的に光軸方向に移動する移動機構とを有する走査型顕微鏡であって、
前記移動機構による前記光軸方向の相対的な移動の上限が決定されるまでは前記対物レンズの焦点位置が前記試料から引き離される方向にのみ移動可能に制御し、前記上限が決定された後は、この上限を基準とした移動量が前記対物レンズの動作距離を越えない範囲で前記対物レンズの焦点位置と前記試料が近づく方向に移動可能に前記移動機構を制御する制御手段を備えることを特徴とする共焦点走査型光学顕微鏡。

【請求項２】

前記制御手段は、前記上限を基準とした移動量が前記対物レンズの動作距離の９０％程度になった場合に、前記移動機構を停止するように制御することを特徴とする請求項１記載の共焦点走査型光学顕微鏡。

【請求項３】

前記制御手段は、前記移動機構における前記光軸方向の相対的な移動の制限に対して反する操作が行われた場合に警報を発することを特徴とする請求項１記載の共焦点走査型光学顕微鏡。

【発明の詳細な説明】
【０００１】
【産業上の利用分野】
本発明は、走査型光学顕微鏡に係わり、特に点状光源によって観察試料を点状に照明し、照明された試料からの透過光または反射光を再び点状に結像させて、ピンホール開口を有する検出器で像の濃度情報を得る共焦点型の光学顕微鏡に関する。
【０００２】
【従来の技術】
光学顕微鏡は、ステージ上に載置したプレパラート上の試料を、対物レンズで拡大して観察する構造であり、一般に、試料の照明はランプなどの光源からの光をコンデンサレンズを用いて試料の観察領域全体に、均等になるようにしてあてる構造を採用していた。
【０００３】
しかしながら、照明系としてこのような構造を採用した場合、フレア等の問題があり、また、低コントラストの試料を観察するにあたっては大変見ずらいと云う問題があり、これを改善するものとして点状光投射型（スポット光投射型）の光学顕微鏡が提案された。この光学顕微鏡は点光源によって観察試料を点状に照射し、これにより観察試料を透過した光（透過光）を再び点状に結像し、これをピンホール開口を有する検出器で検出して像の濃度情報を得るようにしたものである。但し、これだけでは点状光源が照射された点の濃度しか得られないので、試料をＸ軸およびＹ軸の方向に移動して二次元面内で機械的に移動させるＸ‐Ｙ走査方式や光路をスキャン操作する光学系などを採用し、これらによるＸ‐Ｙ走査に同期してＣＲＴディスプレイなどの画像表示装置をＸ‐Ｙ走査させながら、前記濃度情報の信号対応に輝度表示して画像として観察できるようにしている。これは一種の走査型光学顕微鏡である。
【０００４】
ところで、試料面に対物レンズを介して点光源を導く光学系と、対物レンズを通して試料面から光をピンホールを介して検出器に導く光学系とで共焦点の関係にし、試料における対物レンズの合焦位置の像を検出器に導くものを共焦点光学顕微鏡といい、この構成の場合、焦点から外れる部分の光はピンホールの手前で光路がピンホールからずれてしまうので、検出できないようになり、合焦位置の像のみを得ることができるようになる。
【０００５】
このように、共焦点光学顕微鏡は点状光源によって観察試料を点状に照明し、この照明された試料からの透過光または反射光を再び点状に結像させて、ピンホール開口を有する検出器で像の濃度情報を得る顕微鏡であるが、その構成例を図３にて説明する。
【０００６】
図３（ａ）は従来の共焦点光学顕微鏡の概略図であって、点光源３１、ハーフミラー３２、対物レンズ３３、ピンホール板３５、光検出器３６から構成されている。点光源３１から出射した光はハーフミラー３２を通過して、点光源３１の出射光路上にある収差の良く補正された対物レンズ３３によって試料３４上に点として結像され、試料３４を照明する。そして、試料３４で反射した光は再び対物レンズ３３を通ってハーフミラー３２で反射され、集光される。
【０００７】
反射光路上の集光位置にはピンホールをここに位置させたピンホール板３５が配置され、このピンホール板３５のピンホールを通った光はピンホール板３５の背面側に設けられた光検出器３６に入射されて検出されることになる。そして試料３４に照射する点光源３１の光を、テレビのラスタ走査と同じように２次元走査することによって、試料３４の２次元画像を得ることができる。
【０００８】
ところで図３（ａ）において、実線で示す光路の光は、対物レンズ３３の焦点位置に合焦する光であり、合焦点を通る面はｆ１である。また、点線で示す光路の光は、対物レンズ３３の焦点位置からずれた位置Ａからの光を示しており、この場合、位置Ａを通る面はｆ

２であるとする。
【０００９】
これらのうち、実線で示す光路の光はピンホール板３５のピンホール位置上で集光するが、上記位置Ａからの光はピンホール板３５のピンホール位置上では集光しない。従って、上記位置Ａからの光はピンホール板３５におけるピンホールを通過できず、光検出器３６には到達しない。
【００１０】
このような光学系では、対物レンズの集光位置、すなわち、合焦位置のみの画像を得ることが可能になる。つまり共焦点光学系は、光軸方向に分解能をもつ光学系といえる。そのため、図３（ｂ）に示すように、Ａ，Ｂ，Ｃ異なる高さを持つ試料３４について、例えば、高さＡの面に合焦位置を持たせた場合には高さＡの面の像のみが得られ、また、高さＢの面に合焦位置を持たせた場合には高さＢの面の像のみが得られ、また、高さＣの面に合焦位置を持たせた場合には高さＣの面の像のみが得られることになる。
【００１１】
ここで一般的に、ピンホールの径が小さければ光軸方向の分解能が向上していくという傾向がある。
ここで、図３（ｂ）のように、高さの異なる試料３４を、対物レンズと接眼レンズからなる従来の一般的な光学顕微鏡で観察する場合を考えてみる。一般的な光学顕微鏡では倍率の高い対物レンズ程、焦点深度が浅く、しかもその焦点位置に観察面を合わせるので、Ａ面に合焦した場合、これと高さが異なるＢ面やＣ面はぼけてしまう。同様にＢ面に合焦した場合にはＡ面やＣ面がぼけてしまい、Ｃ面に合焦した場合にはＡ面やＢ面がぼけてしまうといった具合に、ある高さ位置に合焦させれば、その位置と同じ高さの部分は鮮明な顕微鏡像として観察できるものの、他の高さ位置の像はぼけて観察できない不具合がある。従って、一般的な光学顕微鏡ではＡ，Ｂ，Ｃの全部の面に合焦した画像を得ることは不可能であった。
【００１２】
しかしながら、共焦点光学系を持つ走査型の顕微鏡の場合、Ａ面にピントを合わせた画像を取得してこれを保存し、Ｂ面にピントを合わせた画像を取得してこれを保存し、さらにＣ面にピントを合わせた画像を取得してこれを保存した後、これら保存した画像を足し合わせると、高さの異なるこれらＡ，Ｂ，Ｃ面を持つ試料３４であっても、これらＡ，Ｂ，Ｃ面全面それぞれに合焦した画像が容易に得られることになり、凹凸の高低差の大きい試料についてその表面を鮮明な顕微鏡画像として観察することができる。
【００１３】
そして、使用にあたり、試料の一点にビームを集光し、その点についてビームの光軸方向（Ｚ軸方向）に合焦位置を変えるようにした走査を行い（Ｚ軸方向走査）、それが終わればつぎに試料の別の位置にビームを移動させてＺ軸方向走査を行うことで画素データを取得し、その際、各画素について明るさの最大値を示した時の高さ情報（Ｚ軸情報）を保持させれば、試料の表面形状を測定することができる。これについては「ＴＨＥＯＲＴ　ＡＮＤ　ＰＲＡＣＴＩＣＥ　ＯＦ　ＳＣＡＮＮＩＮＧ　ＯＰＴＩＣＡＬ　ＭＩＣＲＯＳＣＯＰＹ」（Ｐ１２６～Ｐ１３０）に開示されている。
【００１４】
すなわち、試料の一点にビームを集光し、その点について光軸方向（Ｚ軸方向）に走査を行い、走査中に輝度が最高になるＺ位置を検出し、その情報を記憶する。次に集光した光をＸ方向に移動させ、その点でＺ軸方向に走査を行い、走査中に輝度が最高になるＺ方向位置を検出し、その情報を記憶する。このように、一点についてＺ軸走査を行い、それを終えるとＸ軸方向およびＹ軸方向に位置を移動してつぎの別なＸ軸およびＹ軸位置においてＺ軸走査を行うといったことを繰り返し、各Ｘ，Ｙ位置における最大の輝度を示したＺ軸位置情報を記憶して行くと、共焦点光学系では対物レンズの合焦位置から外れる高さ位置からの反射光は検出されにくいので、最大の輝度を示したＺ軸位置が対物レンズの合焦位置であることがわかり、従って、その時のＺ軸位置を保存すると各画素における保存デ

ータは試料のその画素位置での高さ情報を示すこととなり、これより試料の表面形状を測定することができることになる。

【００１５】

【発明が解決しようとする課題】

共焦点光学顕微鏡は点状光源によって観察試料を点状に照明し、照明された試料からの透過光または反射光を再び点状に結像させて、ピンホール開口を有する検出器で像の濃度情報を得る顕微鏡であり、この共焦点光学顕微鏡を用いると凹凸の高さの大きい試料について、その表面画像を鮮明に捕らえた顕微鏡像を得ることができ、また、試料の高さ方向の情報も取得できて試料の凹凸状態の高さ測定もできるようになる。

【００１６】

このように、共焦点光学顕微鏡においては試料の一点に集光しその点について光軸方向（Ｚ方向）に走査を行い、走査中に輝度が最高になるＺ位置を検出し記憶し、次に集光した光をＸ方向に移動させ、その点でＺ方向に走査を行い走査中に輝度が最高になるＺ位置を検出し記憶するといった走査を繰り返し、Ｘ方向およびＹ方向に行うことで、試料の表面形状を測定する。

【００１７】

そのため、Ｚ方向の情報、すなわち、高さ情報を得るには、対物レンズの焦点位置と試料を相対的に移動させなければならない。しかしながら対物レンズ３３には図４に示すように、対物レンズ３３の先端から焦点位置ｆまでの距離（動作距離）ＷＤが決まっているので、測定しようとする試料３４の形状によっては、測定範囲の設定時に対物レンズ３３と試料３４が衝突してしまう可能性がある。

【００１８】

たとえば試料３４の位置は固定しておき、対物レンズ３３を上下動させる構成を考える。前述のように画像が消える位置が測定範囲の上限または下限になる。このため、図５（ａ）の［　Ｉ］のように試料３４の最も高い場所ＰＨと最も低い場所ＰＬの差ｄｌが対物レンズ３３の動作距離ＷＤよりも小さい場合は、ＰＨの位置に対物レンズ３３の焦点ｆを位置させて走査した後（図５（ａ）の［ＩＩ］）、ＰＬの位置に対物レンズ３３の焦点ｆを位置させて走査させようとしても（図５（ａ）の［　ＩＩＩ］）、対物レンズ３３は試料３４のＰＨの位置にぶつかることがなく、観察や測定を実施できることになり、支障なく測定範囲の上限位置と下限位置の設定ができる。

【００１９】

しかしながら、図５（ｂ）の［　Ｉ］のように試料３４の最も高い場所ＰＨと最も低い場所ＰＬの差ｄｌ′が対物レンズ３３の動作距離ＷＤよりも大きい場合、ＰＨの位置に対物レンズ３３の焦点ｆを位置させて走査した後（図５（ｂ）の［ＩＩ］）、ＰＬの位置に対物レンズ３３の焦点ｆを位置させて走査させようとすると（図５（ｂ）の［　ＩＩＩ］）、対物レンズ３３は試料３４のＰＨの位置にぶつかってしまうことになり、試料３４の最も下の面を検出する前に対物レンズ３３が試料３４の高い場所ＰＨに衝突して対物レンズ３３や試料３４を損傷してしまうという問題が生じる。

【００２０】

また、対物レンズ３３を試料３４に対して位置決めするにあたり、上記上限位置もしくは下限位置について、どちらを先に決めるかは特に決まっていないため、最初に下限位置を設定するよな場合も、誤って対物レンズ３３が試料３４に衝突してしまうということも生じる。

【００２１】

そこで、この発明の目的とするところは、測定範囲の領域設定をするに際して試料と対物レンズの衝突を防止することができるようにして、試料や対物レンズの損傷を未然に防止できるようにした共焦点走査型光学顕微鏡を提供することにある。

【００２２】

【課題を解決するための手段】

上記問題点を解決し、上記目的を達成するために本発明の共焦点走査型光学顕微鏡はつぎ

のように構成する。すなわち、光源からの出射光を試料に集光する対物レンズと、前記出射光を前記試料に対して相対的に２次元走査する手段と、前記対物レンズを介して前記試料から得られた光を検出する光検出器と、前記対物レンズの焦点位置と試料とを相対的に光軸方向に移動する移動機構とを有する走査型顕微鏡であって、前記移動機構による前記光軸方向の相対的な移動の上限が決定されるまでは前記対物レンズの焦点位置が前記試料から引き離される方向にのみ移動可能に制御し、前記上限が決定された後は、この上限を基準とした移動量が前記対物レンズの動作距離を越えない範囲で前記対物レンズの焦点位置と前記試料が近づく方向に移動可能に前記移動機構を制御する制御手段を備えることを特徴としている。

【００２３】

これにおいて、前記制御手段は、前記上限を基準とした移動量が前記対物レンズの動作距離の９０％程度になった場合に、前記移動機構を停止するように制御するものとしてもよい。また、前記移動機構における前記光軸方向の相対的な移動の制限に対して反する操作が行われた場合に警報を発するようにしてもよい。

【００２４】

【作用】

このように本装置は、対物レンズのピントを試料の一番上の面に合わせるべく対物レンズと試料との距離を近付ける方向にのみ移動を許可し、対物レンズのピントが試料の一番上の面に合ったならば、つぎにそれを上限に対物レンズの動作距離（焦点距離）の範囲内で該対物レンズと試料とが接離する方向に対しての移動を許可するようにしたので、対物レンズと試料との間の接離方向に対する移動可能な距離を対物レンズの動作距離（焦点距離）以内にすることができるようになり、対物レンズと試料の衝突を防止することができるようになる。

【００２５】

【実施例】

以下、本発明の実施例について、図面を参照して説明する。

本発明による第１実施例のシステムを図１に示す。

図１において、１は共焦点走査型光学顕微鏡であり、２はレーザ光源、３はミラー、４はハーフミラー、５は２次元走査機構、６はレボルバ、７は対物レンズ、８は試料、９はステージ、１０は粗動ステージ、１１はレンズ、１２はピンホール板、１３は光検出器、１４はミラー、１５はレンズ、１６はハーフミラー、１７は白色光源、１８は撮像装置としてのＴＶカメラ、１９はコンピュータ、２０はディスプレイ、２２は画像処理ユニット、２２Ａ，２２Ｂは画像メモリ、２３はＺ移動駆動制御回路、２４はモニタ、２５は操作部である。

【００２６】

操作部２５はコンピュータ１９に対して各種コマンドや操作指令を与えたり、モード設定したりするためのものであり、キーボードなどの他、トラックボールやジョイスティック、あるいはマウスなどのポインティングデバイスなどを含んでいる。

【００２７】

ステージ９は試料８を載置し、これをＸＹ軸方向位置合わせとＺ軸方向位置合わせとを可能にしたものであり、粗動ステージ１０はステージ９を保持してこれをＺ軸方向に移動操作することができるものである。

【００２８】

レーザ光源２は試料８の表面を走査するスポット光としてのレーザ光を発生するためのレーザ光源であり、ミラー３はこのレーザ光源２からのレーザ光を２次元走査機構５に導くための反射鏡である。２次元走査機構５はミラー３を介して得たレーザ光源２からのレーザ光を２次元走査（ＸＹ走査）するための機構であり、レボルバ６に取り付けられた対物レンズ７を介してステージ９上の試料８にレーザ光を２次元走査しながら照射することができる。

【００２９】

ハーフミラー４は２次元走査機構５に対するレーザ光源２の出射光路上に設けられ、２次元走査機構５を介して得られる試料８からの反射光を検出系に導くための鏡であって、半透明鏡である。レンズ１１はこのハーフミラー４を介して得た２次元走査機構５からの反射光を集光するレンズであり、ピンホール板１２は所要の径のピンホールを開けたもので、光検出器１３の受光面の前面におけるレンズ１１の焦点位置にそのピンホールを位置させて配される。光検出器１３はピンホールを介して得られる光をその光量対応の電気信号に変換する光検出素子である。

【００３０】

上記画像メモリ２２Ａ，２２Ｂはそれぞれ１フレーム分の容量を持つ画像メモリであり、例えば、５１２画素×５１２画素×８ビット構成で１フレーム分としたメモリである。

【００３１】

画像処理ユニット２２はこの１フレーム分の容量を持つ２つの画像メモリ２２Ａ，２２Ｂを内蔵し、前記光検出器１２からの出力信号を受けてこれら画像メモリ２２Ａ，２２Ｂのうち、例えば、画像メモリ２２Ａに対し、スポット光の現在のＸＹ走査位置対応の画素位置にその信号の値を８ビットデータで記憶する処理を行うと共に、Ｚ移動駆動制御回路２３から与えられるＺ軸方向の現在の走査情報を受けてその値を８ビットデータで画像メモリ２２Ｂにおける上記現在のスポット光のＸＹ走査位置対応の画素位置に記憶する処理を行う他、これら画像メモリ２２Ａ，２２Ｂの記憶データを読出してコンピュータ１９に与えると云った処理を行うものである。また、画像処理ユニット２２に対してのスポット光の現在のＸＹ走査位置情報はコンピュータ１９を介して与えられる。

【００３２】

ＸＹ走査駆動制御ユニット２１は２次元走査機構５の走査制御を行うためのものであり、コンピュータ１９は操作部２５からのコマンドや操作指令を受けてこれらＸＹ走査駆動制御ユニット２１および画像処理ユニット２２の制御を行うと共に、画像データの保存、再生、編集等を行う等制御や処理の中枢を担うものである。

【００３３】

また、コンピュータ１９は測定範囲の設定モードのとき、観察者による操作部２５の操作に基づいてステージ９を上方向または下方向に移動すべく操作するが、この操作を行っても上限位置決定がなされるまでは、ステージ９を対物レンズ７から遠ざかる方向にしか移動しないような制限をかけて制御を行い、観察者がこれに反した操作を行うと警報を発し、観察者による操作部２５の操作に基づいて上限位置決定がなされると、その位置でのステージ９位置を上限位置として登録し、観察者による操作部２５の操作に基づいてステージ９を対物レンズ７に近付く方向に操作することができるように制御する他、観察者による操作部２５の操作に基づいて下限位置決定がなされると、その位置でのステージ９位置を下限位置として登録し、共焦点画像の収集時に上記上限位置から下限位置までの間を所定ピッチでステージ９をＺ軸方向に移動すべく制御する構成としてある。　モニタ２０はコンピュータ１９の画像表示端末であり、必要な情報の表示や画像の表示等に使用される。

【００３４】

レボルバ６は、倍率の異なる複数の対物レンズ７を保持したものであり、ステージ９は試料８を保持するものであり、複数の対物レンズ７のうちの所望の倍率を持つものをレボルバ６の切り替えにより、顕微鏡の観察光路中に位置設定することで、この位置設定された対物レンズ７を介して２次元走査機構５からのスポット光をステージ９上の試料８に照射することができる。また、試料８からの反射光は対物レンズ７を通り、２次元走査機構５に戻り、２次元走査機構５からハーフミラー４へと戻される構成である。

【００３５】

また、本装置では対物レンズ７と２次元走査機構５の間の光路に対して進退操作可能なミラー１４が設けられている。白色光源７は白色光を発生する光源であり、ハーフミラー１６はミラー１４に対向して配されると共に白色光源７からの光をミラー１４への光路に反射させて出射させるためのものである。

【００３６】
従って、共焦点画像の観察時には、対物レンズ７と２次元走査機構５の間の光路中からミラー１４を退避させ、光路中にミラー１４を挿入してあるときは、共焦点画像が得られない仕組みである。光路中にミラー１４を挿入してあるときは、白色光源７からの光をハーフミラー１６にてミラー１４へ反射させて導き、対物レンズ７方向へと送ることができ、また、対物レンズ７を介して入射された試料８からの反射光をミラー１４で反射させてハーフミラー１６へと導くことができる。
【００３７】
ＴＶカメラ１８はハーフミラー１６を介してミラー１４に対向して配されており、試料８の像をＴＶ画像信号に変換するものであって、ミラー１４で反射されて導かれた試料８からの反射光がハーフミラー１６を透過してＴＶカメラ１８へと導かれる構成である。ミラー１４はＴＶカメラ１８による画像を観察する場合に対物レンズ７と２次元走査機構５の間の光路中に挿入され、共焦点画像を観察、測定する際には対物レンズ７と２次元走査機構５の間の光路中から外される。
【００３８】
モニタ２４はＴＶカメラ１８で撮像されて得られたＴＶ画像信号を映像として表示するＴＶモニタである。
２次元走査機構５は走査駆動制御ユニット２１の制御のもとにスポット光をＸＹ走査するものであり、例えば、Ｘ軸方向走査用のガルバノミラーと、Ｙ軸方向走査用のガルバノミラーとを有していて、これらガルバノミラーをＸ軸方向、Ｙ軸方向に回動することで対物レンズ７に対するスポット光の光路をＸＹ方向に振らせることができる。
【００３９】
Ｚ移動駆動制御回路２３はコンピュータ１９により制御され、ステージ９をその高さ方向、すなわち、Ｚ軸方向に基準幅単位で駆動移動させるべく制御を行う回路である。また、Ｚ移動駆動制御回路２３はステージ９をＺ軸方向に基準幅分、駆動移動制御する毎に、カウントを１づつ進める機能と、このカウント値を画像処理ユニット２２に与える機能をも有する。
【００４０】
また、画像処理ユニット２２には画像メモリ２２Ａ，２２Ｂとして例えば、５１２画素×５１２画素×８ビット（２５６階調）のものがそれぞれ１枚ずつ用意されている。このうちの画像メモリ２２Ａには、反射光の電気信号（輝度信号）が保存されることになり、光検出器１３より検出された電気信号は画像メモリ２２Ａに対して、スポット光の現在のＸＹ走査位置対応の画素位置に、データとして記憶保存させるように制御する。この記憶はその画素位置の記憶情報と加算して得た値である。このようにすることで高さ位置の異なる画像の足し込みができることになる。
【００４１】
本装置においては、試料８の画像を得るのに２通りの選択が可能である。一つは白色光源１７からの光を使用して試料８を照明し、その反射光を対物レンズ７、ミラー１４、レンズ１５、ハーフミラー１６を通してＴＶカメラ１８でとらえた画像を利用する方式であり、もう一つはレーザ光源２からのレーザ光を２次元走査機構５により２次元走査して試料８に与え、その反射光を対物レンズ７、２次元走査機構５、ハーフミラー４、レンズ１１、ピンホール板１２を介して、光検出器１３に入射させて、光検出器１３からの出力を画像処理ユニット２２に与えて画像として得、これをディスプレイ２０に表示して観察する方式である。
【００４２】
つぎに、このような構成の共焦点走査型光学顕微鏡１における作用を説明する。レーザ２から出射したレーザ光はミラー３で反射され、ハーフミラー４を通過して２次元走査機構５に入射する。２次元走査機構５はコンピュータ１９からの命令に基づき走査制御ユニット２１から発生した走査制御信号によって動作を開始する。よって、ここでレーザ光はＴＶのラスタ走査と同様に、ＸおよびＹ方向に偏向される。

【００４３】
レーザ光はレボルバ６、対物レンズ７を通過してステージ９上の試料８に、微小なスポットに集光するとともに、そのスポットが試料８上を移動していく。試料８から反射した光は入射した光路を逆に辿り、ハーフミラー４で反射されてレンズ１１で集光される。レンズ１１の集光位置にはここにピンホールを位置させたピンホール板１２が配置されている。

【００４４】
ピンホール板１２のピンホールを通過した光は光検出器１３に入射する。光検出器１３は試料の反射光を電気信号に変換する。電気信号は画像処理ユニット２２に入力する。画像処理ユニット２２には画像メモリ２２Ａ，２２Ｂが用意されており、このうちの１枚の画像メモリ２２Ａには、反射光の電気信号が保存される。ステージ８の光軸方向（Ｚ方向）への移動は、コンピュータ１９から移動命令がＺ移動駆動制御回路２３に出されて行われる。画像メモリ２２ＢにはＺ移動駆動制御回路２３から、ステージが何回移動したかを数えた回数の値が保存される。

【００４５】
レーザ走査による画像は画像処理ユニット２２からコンピュータ１９に送られ、コンピュータ１９のディスプレイ２０に表示される。このほかに、測定範囲の設定、測定範囲での移動量の設定、画像の表示、及びシステムの制御はコンピュータ１９のディスプレイ２０で行われる。

【００４６】
このように本装置では顕微鏡画像（輝度信号）の取得と、高さ情報の取得を同時に行われる。すなわち、試料８に対するレーザ光のＸＹ走査を、試料８の凹凸に対する高さ位置毎に行って、輝度情報を集める動作を行うと共に、得られた上記高さ別の輝度情報を同一ＸＹ走査位置毎に足し合わせて１枚の画像を作成し、表示する処理を同時に行う。また、高さ位置を変える毎に、１ずつカウントを進め、同一ＸＹ走査位置での輝度信号の値が前回よりも高い時はそのカウント値をそのＸＹ走査位置対応に更新記録する。つまり、例をあげると、高さ位置Ｚ１（カウント値“１”）のときに、Ｘ１，Ｙ１位置での輝度信号が“０”であり、高さ位置Ｚ２（カウント値“２”）のときに、Ｘ１，Ｙ１位置での輝度信号が“０”であり、高さ位置Ｚ３（カウント値“３”）のときに、Ｘ１，Ｙ１位置での輝度信号が“１”であったとすると、高さ位置Ｚ３（カウント値“３”）をＸ１，Ｙ１位置においての高さ位置Ｚ３として記憶するといった具合である。

【００４７】
スポット光のＸＹ走査はつぎのようにしてなされ、画像の取得と高さ情報の取得が行われる。すなわち、本装置では使用開始にあたり、電源を投入するが、これによりレーザ光源２はレーザ光を発振する。このレーザ光はミラー３で反射され、ハーフミラー４を通過し、２次元走査機構５に入射する。２次元走査機構５はコンピュータ１９からの指令に基づき、ＸＹ走査制御ユニット２１から発生したＸＹ走査制御信号によって動作を開始する。よって、ここでレーザ光はＴＶのラスタ走査と同様に、ＸおよびＹ軸方向に偏向される。

【００４８】
レーザ光はレボルバ６、対物レンズ７を通過してステージ８上の試料９に微小なスポットに集光するとともに、そのスポット光は上記ＸＹ走査が行われることにより、試料８上を移動していくことができる。試料８からの反射光は入射した光路を逆に辿り、ハーフミラー４で反射され、レンズ１１で集光される。レンズ１１による集光位置にはピンホール板１２が配置されており、その後に光検出器１３が設けてある。そのため、このピンホール板１３におけるピンホールを通過した光が光検出器１３に入射することになり、光検出器１３はこのピンホールを通過した光を試料の反射光として電気信号に変換することになる。

【００４９】
ここで、本装置は共焦点型の顕微鏡であるからピンホール径が十分小さい場合には試料８から反射光は、対物レンズ７の合焦位置からのもののみについてピンホールを通過するこ

とになり、従って、対物レンズ７の合焦位置にある試料面の反射光のみが光検出器１３より検出されることなる。

【００５０】

光検出器１３より検出された電気信号は画像処理ユニット２２に入力される。この画像処理ユニット２２には本実施例の場合、画像メモリとして５１２画素×５１２画素×８ビット（２５６階調）が２枚用意されている。このうちの１枚の画像メモリ２２Ａには、反射光の電気信号が保存されることになり、光検出器１３より検出された電気信号は画像メモリ２２Ａに対して、スポット光の現在のＸＹ走査位置対応の画素位置に、データとして記憶保存させる。この記憶はその画素位置の記憶情報と加算して得た値である。このようにすることで高さ位置の異なる画像の足し込みができることになる。

【００５１】

また、別の画像メモリ２２ＢにはＺ軸走査方向の情報、具体的にはＺ移動駆動制御回路２３から、ステージを何回移動させたかを数えた回数の値が与えられ、画像処理ユニット２２は前回のこの位置での輝度信号より今回の輝度信号のレベルが高い場合に、画像メモリ２２Ｂに対して、スポット光の現在のＸＹ走査位置対応の画素位置に、上記回数の値をデータとして更新記憶保存させる。

【００５２】

一方、ステージ９の光軸方向（Ｚ軸方向）への移動は、コンピュータ１９からの指令に基づいてＸＹ走査完了毎に基準幅単位で行われる。そして、コンピュータ１９から指令を受ける毎にＺ移動駆動制御回路２３は基準幅単位分のＺ軸方向駆動制御信号を発生して図示しないステージＺ軸方向駆動操作機構を駆動させ、基準幅単位分、ステージ９をＺ軸方向に移動させる。

【００５３】

ステージ９の移動量はこのように１指令毎に基準幅単位分であり、移動させる必要が生じる毎に、コンピュータ１９から指令が出されることになる。

測定範囲の設定、及び各測定範囲でのステージ移動量の基準幅の設定、画像の表示およびシステムの制御は顕微鏡の観察者がコンピュータ１９によりそのキーボード操作、あるいはマウスやジョイステック、トラックボールなどのポインテングデバイスを操作しつつ、ディスプレイ２０を見ながら、あるいは、ミラー１４を対物レンズ７と５との間のレーザ光路に挿入することにより、モニタ２４に表示された画像を見ながら粗動ステージ１０を粗調整操作することで、つぎのようにして行う。

【００５４】

このシステムでは、観察者は試料８をステージ９に載せ、コンピュータ１９を操作してコンピュータ１９より制御指令を発生させることにより、スポット光のＸＹ走査を開始させて観察と測定に入ることになるが、最初は試料９にピントを合わせる必要があるため、ステージ９もコンピュータ１９を使って上下に移動させ、試料８の所望高さ位置に対物レンズ７の焦点が来るように調整することができる。

【００５５】

この場合は、ピントが合ったか否かは、ディスプレイ２０に表示された画像を見ながら判断する。すなわち、レーザ光源２を励振させてレーザ光を発生させ、これをＸＹ走査させることで試料８に対するスポット光のＸＹ走査を行い、これにより得られた反射光を光検出器１３で検出することにより反射光による画像データを得、これを画素位置対応に画像メモリ２２Ａに記憶し、これを読出してディスプレイ２０に画像表示することで、現在のピント状態における画像を観察することができるので、これを見ながらステージ９の高さ位置を調整することで試料８の目的の高さ位置にピント合わせを行うことができる。

【００５６】

共焦点画像を使用して測定範囲を決めるにはつぎのようにする。画像を観察しながらコンピュータ１９を操作し、ピントの合った位置からステージ９を下に移動させる。

【００５７】

試料８がピント位置を横切る限り画像は表示されるが、試料８の最上面がピント位置より

も下に来ると画像が表示されなくなる。ここで、測定範囲の片側（上限位置）が決定される。今度は逆にステージ９を上に移動させて、同様に画像が表示されなくなる位置（下限位置）を決定する。

【００５８】

以上のようにして共焦点画像を使用したＺ軸方向の測定範囲の決定をすることができるが、しかし、共焦点画像では焦点深度が極端に浅いため、やや使いづらい点がある。このため、本システムではＴＶ画像を使用したピント合わせを行うことができるようにしてある。

【００５９】

ＴＶ画像を使用して測定範囲を決めるには、まず観察者はミラー１４を対物レンズ７と５との間を繋ぐ光路上にミラー１４を挿入し、ＴＶカメラ１８が使用できるようにする。そして、白熱光源１７を点灯し、その光をハーフミラー１６、レンズ１５、ミラー１４を介して対物レンズ７へと送り、ステージ９側に照射する。ステージ９側からの反射光はこれと逆の経路を辿り、ハーフミラー１６を透過し、ＴＶカメラ１８にとらえられ、映像信号化され、この映像信号がモニタ２４に与えられて画像として表示される。なお、レンズ１５はＴＶカメラ１８上に像を結像する機能をも果たす。

【００６０】

従って、試料８をステージ９に載せることで試料８の画像がＴＶカメラ１８で撮像されることになり、この撮像された試料画像はモニタ２４に表示されるので、観察者はこのモニタ画像を見ながら粗動ステージ１０のＺ軸位置を粗調整して大まかなピント合わせを行う。

【００６１】

大まかなピント合わせが終了したならば、つぎにミラー１４を対物レンズ７と５とを繋ぐレーザ光路から外す。これにより、ミラー１４により遮られていたレーザ光路は光路が確保されることになり、試料８に対してのレーザ走査が開始できる。従って、観察者の指令操作により、あるいはミラー１４をレーザ光路から退避させることにより発生されるコンピュータ１９からの命令によって、レーザビームのＸＹ走査が開始される。レーザ走査が開始されると、レーザ走査による画像が２２の画像メモリ２２Ａ上に得られるので、この画像メモリ２２Ａ上の画像をディスプレイ２０に表示させることで共焦点画像を観察できる。

【００６２】

共焦点画像が表示されると観察者はこの表示画像を見ながら操作部２５を操作して測定範囲の設定を行う。測定範囲の設定は操作部２５の操作により、ステージ９を上下に移動させながら、画像が完全に見えなくなる位置を捜すことで行う。

【００６３】

すなわち、操作部２５を操作してコンピュータ１９に対して測定範囲の設定モードを設定し、さらに操作部２５の操作によりステージ９を上方向または下方向に移動すべく操作するが、この操作を行っても上限位置決定がなされるまでは、ステージ９は対物レンズ７から遠ざかる方向にしか移動しないような制限をかけてコンピュータ１９が制御を行うものとする（図２のＳ２）。

【００６４】

この結果、大まかにピントを合わせた最初の位置からステージ９を下に移動させることはできるが、ステージ９を上に移動させようとした場合は、ステージ９は移動せず、コンピュータ１９から警告メッセージが出力されることになる（図２のＳ９）。

【００６５】

このようにして観察者が操作部２５を操作して測定範囲の設定モードを設定し、測定範囲設定操作を行うと、ＸＹ方向に対するレーザ走査を行いつつ、コンピュータ１９はこの操作に対応してステージ９を対物レンズ７から遠ざかる方向に制御する。そして、観察者はディスプレイ２０上の試料画像を観察しながら程よいところで操作部２５を操作して上限位置設定完了指令を出し、コンピュータ１９に与える。

【００６６】
すなわち、ディスプレイ２０上には、試料８が対物レンズ７のピント位置を横切る部分がある限り、画像は表示されるが、試料８の最上面が対物レンズ７のピント位置よりも下に来ると、ディスプレイ２０上には画像が表示されなくなるので、この画像が表示されなくなった時点で、測定範囲の片側（上限位置）が決定されることになるから、この時点で観察者は操作部２５を操作して上限位置設定完了指令を出し、コンピュータ１９に知らせる（図２のＳ３）。これにより、コンピュータ１９はこれ以上のステージ９の下降を停止させて、この時点でのステージ９の高さ位置の情報を保持する（ステージ９の高さ位置の値を登録する）（図２のＳ４）。
【００６７】
測定範囲の片側が決定されたならば、次に、観察者は操作部２５を操作して下限位置設定の作業に入る。これは操作部２５よりステージ９の上下方向への移動操作指令を与えることで、これを受けたコンピュータ１９は今度は上記高さ位置を上限に、ステージ８を上下方向いずれにも移動を可能にするように規制を変え、操作指令対応に上下方向に移動制御することで行われる（図２のＳ５）。
【００６８】
すなわち、上限位置設定の段階ではステージ９を下方にのみ移動させたので、今度は逆にステージ９を上記設定した上限位置を上限に、上方にも移動可能にさせる。そして、観察者はディスプレイ２０を観察しながらステージ９を上下方向に移動させるべく操作しつつ、前と同様に画像が表示されなくなる位置（下限位置）を捜す。
【００６９】
ここで、コンピュータ１９は下限方向への移動制御においては、上記設定した上限位置を基準にしたステージ９の移動量と現在使用している対物レンズ７の動作距離（焦点距離）ＷＤとの比較を行い、ステージ９の移動量が動作距離（焦点距離）ＷＤの範囲を越えない範囲で操作部２５からの操作対応にステージ９を上下方向に移動操作させるように制御する（図２のＳ６）。
【００７０】
コンピュータ１９はＷＤを基準とする上記の比較の結果、ステージ９の移動量が対物レンズ７の動作距離内であり、操作部２５よりステージ９の上下方向への移動操作指令が引き続き与えられていれば、それに応じて引き続きステージ９の上下方向への移動を許可する。しかしながら、ステージ９の移動量が対物レンズ７の動作距離と等しくなった場合には、それ以上、ステージ９を下方へ移動させると対物レンズ７と試料８が衝突することになるため、コンピュータ１９は操作部２５よりステージ９の下方向への移動操作指令が与えられていたとしても、ステージ９の移動を停止させるべくＺ移動駆動制御回路２３を制御する（図２のＳ１０）。これにより、無理に操作して対物レンズ７と試料８が衝突することを未然に防ぐことができる。
【００７１】
また、ステージ９の移動量が対物レンズ７の動作距離と等しくなる前に、ディスプレイ２０の試料画像が表示されなくなれば、その時点で下限位置到達であることを観察者は知り、操作部２５の操作によるステージ９の上方移動操作を止める。ディスプレイ２０上には、試料８が対物レンズ７のピント位置を横切る部分がある限り、画像は表示されるが、試料８の最上面が対物レンズ７のピント位置よりも下に来ると、ディスプレイ２０上には画像が表示されなくなるので、この画像が表示されなくなった時点で、測定範囲のもう片方の側（下限位置）が決定されることになるから、この時点で観察者は操作部２５によるステージ上方移動操作を中止し、また、操作部２５を操作して下限位置設定完了指令を出し、コンピュータ１９に知らせる（図２のＳ７）。これにより、コンピュータ１９はこれ以上のステージ９の上昇を停止させて、この時点でのステージ９の高さ位置の情報を保持する（ステージ９の高さ位置の値を登録する）（図２のＳ８）。
【００７２】
このようにして、ステージ９の移動が可能な範囲で下限位置を検出することができれば、

その段階で測定範囲の設定を終了することで下限位置の設定をすることができる。

【００７３】

以上、本装置は光源からの出射光を対物レンズを介して試料に集光し、この集光した光と前記試料を相対的に２次元走査して得られるこの試料からの光を光検出手段により検出し、前記２次元走査の走査位置に対応させて画像メモリに保持して画像を得る共焦点走査型の光学顕微鏡であって、前記対物レンズの焦点位置と試料の位置を相対的に光軸方向に走査する移動機構により、所要のピッチで移動させ、前記画像メモリの保持情報と前記光検出手段の検出出力を参照して前記試料からの光がより高く検出されたときの前記対物レンズ焦点位置と試料位置の関係を記憶手段に保存することにより前記試料の前記光軸方向に対する変化を測定する機能を備えた共焦点走査型光学顕微鏡において、対物レンズを介して前記試料に照明光を与える光源を設ける共に、この光源からの光による前記試料の像を撮像する撮像手段と、この撮像手段により得られた画像を表示するモニタ装置とを設け、また、前記移動機構により、前記対物レンズの焦点位置と試料の位置を相対的に光軸方向に走査するにあたり、走査範囲を決めるに際して、試料に対する前記対物レンズのピントを粗調整し、その後、試料から離れる方向に前記対物レンズを遠ざける方向にのみ移動可能に移動方向を規制制御しつつ、撮像手段による画像観察しながら像が消える時点で、その位置を対物レンズに対する移動上限として登録し、つぎに試料と対物レンズを互いが接離する方向に操作してその移動範囲が上記上限を越えず、かつ、対物レンズの動作距離内であり、撮像手段による画像が消える時点でその位置を対物レンズに対する移動下限として登録し、この移動上限と移動下限の範囲でＺ方向移動走査して共焦点画像を得るようにした。

【００７４】

このように、走査範囲を決めるに際して、試料に対する前記対物レンズのピントを粗調整した後、試料に対して前記対物レンズを遠ざける方向にのみ移動方向を規制制御しつつ両者を引き離し、対物レンズと試料との移動上限を求め、その後、試料と対物レンズを互いに近付ける方向に操作してその移動範囲が対物レンズの動作距離内で対物レンズに対する移動下限を求め、この移動上限と移動下限の範囲でＺ方向移動走査して共焦点画像を得るようにしたことから、試料と対物レンズがぶつかることが無くなり、試料と対物レンズの損傷を防ぐことができるようになる。また、試料と対物レンズの損傷を防ぐことから、装置としての信頼性も飛躍的に向上する。

【００７５】

なお上記実施例では、ステージ９を移動させる場合を説明したが、Ｚ方向移動ステージによってレボルバ６を支持し、Ｚ方向駆動制御回路２３を介してコンピュータ１９により制御される対物レンズ７を上下に移動させる構成でも同様な考え方で、衝突防止制御が可能である。

【００７６】

また上記例では、ステージの移動量が対物レンズ動作距離に一致したときにステージの移動を禁止している。しかしながら、対物レンズの動作距離には選択する対物レンズに応じてばらつきがあるため、安全を考えてステージの移動可能範囲を対物レンズの動作距離の９０％などのように制限するようにしてもよい。

【００７７】

また、画像メモリ２２Ａの画像データを利用すると、共焦点から外れているか否かをコンピュータ処理により行うことはできるから、観察者の手動操作に基づく状下限位置の決定を、コンピュータ１９により自動的に行うようにした装置とすることも可能である。

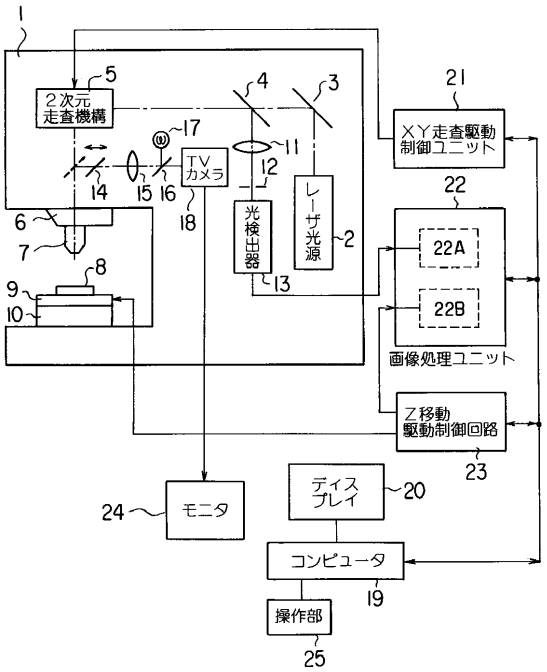
【００７８】

【発明の効果】

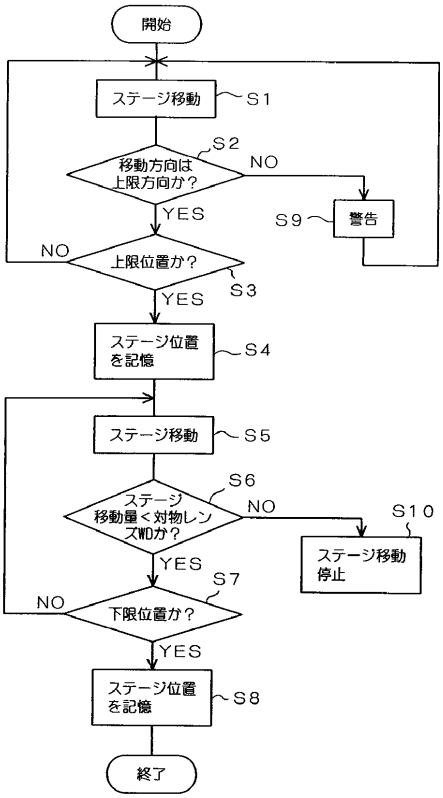
以上詳述したように、共焦点光学顕微鏡において、共焦点画像を得るにあたり試料と対物レンズの相対的な移動走査範囲を決めるに際して、移動方向の規制と移動量の制限を行うことにより、試料と対物レンズの衝突を防止することができるようになり、試料と対物レンズの損傷を防ぐと同時に、信頼性の高い共焦点光学顕微鏡が得られるようになる。

【図面の簡単な説明】
【図１】本発明の一実施例の全体構成を示す概略的なブロック図。
【図２】本発明の作用を説明するためのフローチャート。
【図３】従来技術を説明するための図。
【図４】従来技術を説明するための図。
【図５】従来技術を説明するための図。
【符号の説明】
１…共焦点走査型光学顕微鏡
２…レーザ光源
３…ミラー
４…ハーフミラー
５…２次元走査機構
６…レボルバ
７…対物レンズ
８…試料
９…ステージ
１０…粗動ステージ
１１，１４，１５…レンズ
１２…ピンホール板
１３…光検出器
１６…ハーフミラー
１７…白色光源
１８…ＴＶカメラ
１９…コンピュータ
２０…ディスプレイ
２２…画像処理ユニット
２２Ａ，２２Ｂ…画像メモリ
２３…Ｚ移動駆動制御回路
２４…モニタ
２５…操作部

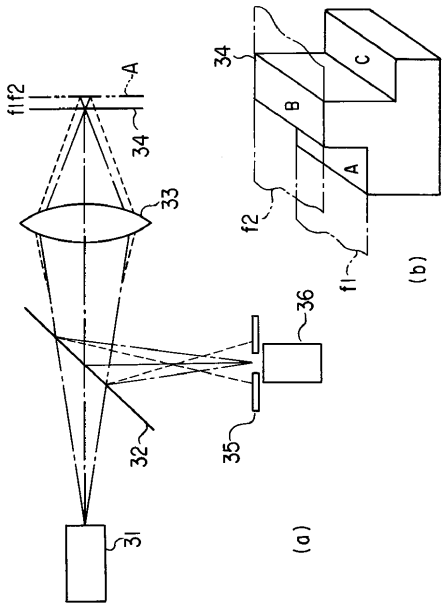
【図１】


1
2次元走査機構
5
4
3
21
XY走査駆動制御ユニット
17
TVカメラ
11
12
14
15
16
18
光検出器
13
レーザ光源
2
22
22A
22B
画像処理ユニット
6
7
8
9
10
Z移動駆動制御回路
23
24
モニタ
ディスプレイ
20
コンピュータ
19
操作部
25

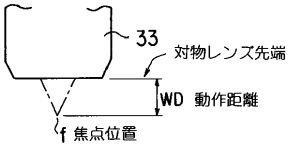
【図２】


開始
ステージ移動
S1
S2
移動方向は上限方向か？
NO
YES
S9
警告
NO
上限位置か？
S3
YES
ステージ位置を記憶
S4
ステージ移動
S5
S6
ステージ移動量＜対物レンズWDか？
NO
S10
ステージ移動停止
YES
S7
NO
下限位置か？
YES
ステージ位置を記憶
S8
終了

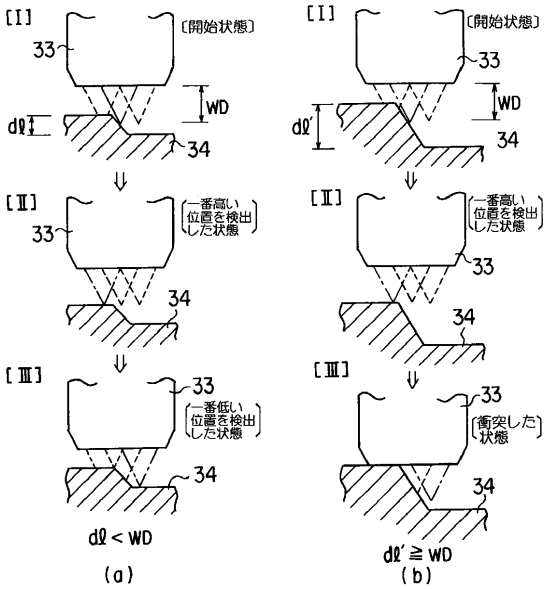
【図３】


f1 f2
A
34
33
34
C
B
A
f2
f1
(b)
36
32
35
31
(a)

【図４】


33
対物レンズ先端
WD 動作距離
f 焦点位置

【図５】


[I]
〔開始状態〕
33
WD
dℓ
34
[II]
〔一番高い位置を検出した状態〕
33
34
[III]
〔一番低い位置を検出した状態〕
33
34
dℓ < WD
(a)
[I]
〔開始状態〕
33
WD
dℓ'
34
[II]
〔一番高い位置を検出した状態〕
33
34
[III]
〔衝突した状態〕
33
34
dℓ' ≧ WD
(b)

フロントページの続き

(58)調査した分野(Int.Cl.[7], ＤＢ名)
G02B 21/00-21/36