

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3616999号
(P3616999)

(45) 発行日 平成17年2月2日(2005.2.2)

(24) 登録日 平成16年11月19日(2004.11.19)

(51) Int.C1.⁷

F 1

G02B 21/00

G02B 21/00

G01B 11/24

G01B 11/24

請求項の数 9 (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願2001-369958 (P2001-369958)
 (22) 出願日 平成13年12月4日 (2001.12.4)
 (65) 公開番号 特開2003-167197 (P2003-167197A)
 (43) 公開日 平成15年6月13日 (2003.6.13)
 審査請求日 平成16年7月22日 (2004.7.22)

早期審査対象出願

(73) 特許権者 000115902
 レーザーテック株式会社
 神奈川県横浜市港北区綱島東4-10-4
 (74) 代理人 100103894
 弁理士 家入 健
 (72) 発明者 楠瀬 治彦
 神奈川県横浜市港北区綱島東4-10-4
 レーザーテック株式会社内

審査官 吉野 公夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】コンフォーカル顕微鏡

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

光源と、

前記光源から発する光を複数のライン状の輝線に変換する輝線変換手段と、
 前記輝線変換手段により変換した複数の輝線を走査する輝線走査手段と、
 前記輝線変換手段と共に位置に設置された試料上に前記輝線を結像し、当該試料からの反射光又は透過光を結像面に結像する結像手段と、
 前記結像手段により結像される結像面に配置された2次元アレイ光検出器であつて、前記輝線の方向に画素が配列され、当該輝線の方向に画素のデータを出力する2次元アレイ光検出器と、
 前記2次元アレイ光検出器の画素のうち、前記輝線により照明された照明領域の画素のデータのみを使用して画像を形成する画像形成手段とを備え、
 前記輝線変換手段は、透過型液晶パネルにより構成すると共に、
 前記輝線走査手段も、当該透過型液晶パネルによって光を透過させる部分を走査することにより構成している請求項1記載のコンフォーカル顕微鏡。

【請求項 2】

光源と、

前記光源から発する光を複数のライン状の輝線に変換する輝線変換手段と、
 前記輝線変換手段により変換した複数の輝線を走査する輝線走査手段と、
 前記輝線変換手段と共に位置に設置された試料上に前記輝線を結像し、当該試料から

反射光又は透過光を結像面に結像する結像手段と、

前記結像手段により結像される結像面に配置された2次元アレイ光検出器であって、前記輝線の方向に画素が配列され、当該輝線の方向に画素のデータを出力する2次元アレイ光検出器と、

前記2次元アレイ光検出器の画素のうち、前記輝線により照明された照明領域の画素のデータのみを使用して画像を形成する画像形成手段とを備え、

前記輝線変換手段は、デジタルマイクロミラー装置により構成すると共に、

前記輝線走査手段も、当該デジタルマイクロミラー装置によりミラーのオン状態を走査することにより構成しているコンフォーカル顕微鏡。

【請求項3】

10

前記画像形成手段は、前記2次元アレイ光検出器の画素のうち、前記輝線により照明された照明領域の画素のデータのみを使用して画像を形成するコンフォーカル画像形成モードと、前記輝線により全面を照明し照明された照明領域の全ての画像データを取り込み、取り込んだ画像データに基づき画像を形成するノンコンフォーカル画像形成モードを選択する手段を備えていることを特徴とする請求項1又は2に記載のコンフォーカル顕微鏡。

【請求項4】

前記輝線変換手段において発生させる輝線の間隔を制御する輝線間隔制御手段をさらに備えたことを特徴とする請求項1又は2に記載のコンフォーカル顕微鏡。

【請求項5】

20

前記輝線走査手段は、前記2次元アレイ光検出器の画素に対して、隣接する画素間の照射の時間差が少なくなるように輝線を走査させることを特徴とする請求項1又は2に記載のコンフォーカル顕微鏡。

【請求項6】

前記光源を2次元に配列した複数の発振位相の異なるレーザダイオードにより構成したことを特徴とする請求項1又は2に記載のコンフォーカル顕微鏡。

【請求項7】

前記画像形成手段は、前記輝線による照明領域が予め定めた画素以上に亘っている場合に、基準サンプルを撮像した際のそれらの画素に対する照明の輝度に基づいて、重み付き移動平均処理又は重み付き平均処理を行い、画像形成の際に当該処理結果に基づいて補正することを特徴とする請求項1又は2に記載のコンフォーカル顕微鏡。

30

【請求項8】

前記2次元アレイ光検出器をカラー撮像素子により構成し、基準サンプルを撮像した場合に、当該カラー撮像素子の特定の色の画素により検出される照度に基づいて照明領域の位置ずれを検出する位置ずれ検出手段をさらに備えたことを特徴とする請求項1又は2に記載のコンフォーカル顕微鏡。

【請求項9】

複数の輝線の間隔と前記2次元アレイ光検出器の画素の間隔を調整するために光学系に倍率調整機能及び光軸調整機能を備えたことを特徴とする請求項1又は2に記載のコンフォーカル顕微鏡。

【発明の詳細な説明】

40

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、試料等を撮像するコンフォーカル顕微鏡に関する。

【0002】

【従来の技術】

従来のコンフォーカル顕微鏡の例は、例えば、特開平10-104523号公報に開示されている。当該公報に示される従来のコンフォーカル顕微鏡では、1本のスリットを透過した光が試料に対して照明され、試料からの反射光は、1次元CCD(Charge Coupled Device)により受光される構成を採用している。

【0003】

50

【発明が解決しようとする課題】

従来のコンフォーカル顕微鏡では、一本のスリットを透過した光のみが試料に対して照明されるため、光の使用効率が低いという問題点があった。その結果、充分な輝度信号を得るために長時間露光が必要となるので、撮像時間が長くなるという問題点もあった。

【0004】

本発明は、このような問題点を解決するためになされたもので、光の使用効率を高め、撮像時間の短縮化を達成することができるコンフォーカル顕微鏡を提供することを目的とする。

【0005】**【課題を解決するための手段】**

本発明にかかるコンフォーカル顕微鏡は、光源と、前記光源から発する光を複数のライン状の輝線に変換する輝線変換手段と、前記輝線変換手段により変換した複数の輝線を走査する輝線走査手段と、前記輝線変換手段と共に位置に設置された試料上に前記輝線を結像し、当該試料からの反射光又は透過光を結像面に結像する結像手段と、前記結像手段により結像される結像面に配置された2次元アレイ光検出器であって、前記輝線の方向に画素が配列され、当該輝線の方向に画素のデータを出力する2次元アレイ光検出器と、前記2次元アレイ光検出器の画素のうち、前記輝線により照明された照明領域の画素のデータのみを使用して画像を形成する画像形成手段を備えたものである。このような構成により、照明光の使用効率を高め、撮像時間の短縮化を達成することができる。

【0006】

ここで、望ましい実施の形態によれば、前記輝線変換手段は、複数のスリットを有するマルチスリットである。

【0007】

また、前記輝線変換手段は、透過型液晶パネルにより構成すると共に、前記輝線走査手段も、当該透過型液晶パネルによって光を透過させる部分を走査することにより構成してもよい。

【0008】

さらに、前記輝線変換手段は、デジタルマイクロミラー装置により構成すると共に、前記輝線走査手段も、当該デジタルマイクロミラー装置によりミラーのオン状態を走査することにより構成してもよい。

【0009】

また、前記画像形成手段は、前記2次元アレイ光検出器の画素のうち、前記輝線により照明された照明領域の画素のデータのみを使用して画像を形成するコンフォーカル画像形成モードと、全面を照明し、全ての画像データを取り込み、その画像データに基づき画像を形成するノンコンフォーカル画像形成モードを選択する手段を備えるようにするといよい。このような構成により、極めて容易にコンフォーカル画像とノンコンフォーカル画像を切り替えることができる。

【0010】

さらに、前記輝線変換手段において発生させる輝線の間隔を制御する輝線間隔制御手段を備えるようにするとよい。このような構成により、簡単にゴーストを抑制することができる。

【0011】

また、前記輝線走査手段は、前記2次元アレイ光検出器の画素に対して、隣接する画素間の照射の時間差が少なくなるように輝線を走査させることができ。これにより、3次元の鮮明な画像を得ることができる。

【0012】

前記光源を2次元に配列した複数の発振位相の異なるレーザダイオードにより構成するといよい。このような構成により、スペックル（小さな斑点）の発生を抑制することができる。

【0013】

10

20

30

40

50

ここで、前記画像形成手段は、前記輝線による照明領域が予め定めた画素以上に亘っている場合に、基準サンプルを撮像した際のそれらの画素に対する照明の輝度に基づいて、重み付き移動平均処理又は重み付き平均処理を行い、画像形成の際に当該処理結果に基づいて補正するとよい。このような構成により、光学系を調整することなく、位置ずれを容易に調整することができる。また、画面の輝度が一定になるように重み係数を調整することによりシェーディングを補正することができる。

【0014】

また、前記2次元アレイ光検出器をカラー撮像素子により構成し、基準サンプルを撮像した場合に、当該カラー撮像素子の特定の色の画素により検出される照度に基づいて照明領域の位置ずれを検出する位置ずれ検出手段をさらに備えるようにしてもよい。このような構成により、位置ずれを容易に検出することができる。10

さらに、複数の輝線の間隔と前記2次元アレイ光検出器の画素の間隔を調整するために光学系に倍率調整機能及び光軸調整機能を備えるようにしてもよい。これにより、容易に調整が可能となる。

【0015】

【発明の実施の形態】

以下、複数の発明の実施の形態を用いて本発明について説明する。

【0016】

発明の実施の形態1.

本実施の形態1にかかるコンフォーカル顕微鏡の構成例を図1に示す。図に示されるように当該コンフォーカル顕微鏡は、ランプ1、マルチスリット2、対物レンズ31、32、33、34、35、ガルバノメータ4、ビームスプリッタ5、2次元アレイ光検出器7を備え、試料6を撮像する。尚、この例では、理解の容易化のため構成を簡略化しているが、さらに他の構成を備えていてもよいことは言うまでもない。20

【0017】

ランプ1は、例えば白色光源、蛍光励起光源等であり、さらに具体的には、水銀ランプ、ハロゲンランプ等種々の光源を用いることができる。また、発振位相の異なるレーザダイオードを2次元に配列して光源を構成してもよい。発振位相の異なるレーザダイオードを発振させることにより、スペクル(小さな斑点)の発生を抑制することができる。

【0018】

マルチスリット2は、ランプ1の近傍に設けられ、ランプ1から発する照明光を透過させるスリットを複数有している。具体的な構成例を図2に示す。図において、21はスリットであり、22は照明光の透過を遮る遮光部分である。複数のスリット21は、それぞれ平行にマルチスリット2のH方向の全辺に亘って設けられた開口である。スリット21の間隔については、試料6の反射光が2次元アレイ光検出器7に入射された際に、各スリット21に対応する反射光間で互いに干渉しないか又は干渉が問題とならない所定値以下となるように決定される。30

【0019】

レンズ31は、マルチスリット2を透過した光、即ち輝線が入射する位置に設けられる。

【0020】

ガルバノメータ4は、ランプ1より放射され、マルチスリット2を透過した光が試料7上を走査するように、入射光を反射させる機能を有する。このガルバノメータ4は、少なくとも、ミラーと、このミラーの角度を変えるアクチュエータと、アクチュエータの動作を制御する制御部を備え、ミラーの角度を変えることによって走査を実現する。40

【0021】

リレーレンズ32及び33は、対物レンズ34のひとみをガルバノメータ4にリレーする。

【0022】

ビームスプリッタ5は、リレーレンズ33の下方であって、当該対物レンズ33より出射した光が入射する位置に設けられている。50

【 0 0 2 3 】

対物レンズ 3 4 は、ビームスプリッタ 5 と試料 6 の間に設けられ、当該ビームスプリッタ 5 を透過した光が入射する位置であって、試料 6 を反射した光が入射する位置に設けられている。

【 0 0 2 4 】

結像レンズ 3 5 は、ビームスプリッタ 5 を反射した試料 6 からの反射光が入射する位置に設けられている。

【 0 0 2 5 】

試料 6 は、マルチスリット 2 と共に位置に配置される。

【 0 0 2 6 】

2 次元アレイ光検出器 7 は、2 次元マルチ受光素子アレイであって、例えば、エリア C C D である。この 2 次元アレイ光検出器 7 の受光面の例を図 3 に示す。このように受光面は、多数の受光素子が配置されている。この図では簡略化しているが、実際には、例えば 150 万画素の受光素子が配置されている。図 3 に示す 2 次元アレイ光検出器 7 は、マルチスリット 2 に設けられたスリット 2 1 に対応した位置の領域 7 1 (図上の白抜き部分) に光が照明される。この照明領域 7 1 は、ガルバノメータ 4 の動作に応じて V 方向に移動し、スリット 2 1 に対応する間隔分だけスキャンされる。この領域 7 1 は、照明領域と共に位置する部分である。

【 0 0 2 7 】

本発明では、照明光が当っている照明領域 7 1 の画素のデータだけを読み取り、照明光が当っていない非照明領域 7 2 の画素のデータは捨て、利用しない。このようにすることにより、コンフォーカル画像を取得することができる。照明領域 7 1 を走査することにより 2 次元アレイ光検出器 7 上の画素の全てのデータの取り込みが完了した場合には、図示しない画像形成手段により、これらのデータを合成し、2 次元画像を形成する。この 2 次元画像は、所定の記憶手段に格納されるとともに、ディスプレイに表示される。

【 0 0 2 8 】

ここで、2 次元アレイ光検出器 7 の原理的構成図を図 4 に示す。この 2 次元アレイ光検出器 7 は、インターライン型の C C D 固体撮像装置である。図に示されるように、2 次元アレイ光検出器 7 は、水平及び垂直方向に所定ピッチで配列した画素となる複数の受光部 7 0 1 と、各列の受光部 7 0 1 の一側に設けた垂直方向に延びる C C D 構造の垂直転送レジスタ 7 0 2 と、各垂直転送レジスタ 7 0 2 の一端に設けた C C D 構造の水平転送レジスタ 7 0 3 とを有している。そして、各受光部 7 0 1 にその受光量に応じて生じた信号電荷を各々対応する垂直転送レジスタ 7 0 2 に転送し、これら各垂直転送レジスタ 7 0 2 の信号電荷を水平転送レジスタ 7 0 3 へと転送し、1 水平ライン毎の信号電荷を読み出すように構成される。

【 0 0 2 9 】

特に、本発明では、照明領域 7 1 のみデータを読み取り、非照明領域 7 2 のデータは捨てている。このような処理は、例えば、次のようにして電気的な処理により実行される。照明領域 7 1 に位置する画素のデータと同様に非照明領域 7 2 に位置する画素のデータも一旦垂直転送レジスタ 7 0 2 に送られるが、その垂直転送レジスタ 7 0 2 上のデータを一画素ずつ水平転送レジスタ 7 0 3 に送り出す際、非照明領域 7 2 の画素のデータは、水平転送レジスタ 7 0 3 上に蓄積し出力せずに、照明領域 7 1 の画素のデータのみ出力する。また、2 次元アレイ光検出器 7 の出力データに対して、ゲート回路を付加し、非照明領域 7 2 の画素のデータの出力を制限し、照明領域 7 1 の画素のデータのみ出力するようにしてもよい。さらには、一旦フレームメモリに格納し、照明領域 7 1 のデータのみアドレス指定して読み出すようにしてもよい。また、2 次元アレイ光検出器 7 を画素毎に読み出しを制御する回路を有する C I D (C h a r g e I n j e c t i o n D e v i c e) により構成した場合には、非照明領域 7 2 の画素から垂直転送レジスタ 7 0 2 への出力を停止し、照明領域 7 1 の画素のみ垂直転送レジスタ 7 0 2 へ出力するようにすればよい。

【 0 0 3 0 】

10

20

30

40

50

続いて、本実施の形態 1 にかかるコンフォーカル顕微鏡の撮像動作について、説明する。

【 0 0 3 1 】

まず、ランプ 1 から発した光は、マルチスリット 2 に入射する。マルチスリット 2 は、スリット 2 1 と非透過部分 2 2 を有するため、スリット 2 1 のみ入射光が通過する。マルチスリット 2 を通過した光、即ちライン状の輝線は、レンズ 3 1 により屈折し、ガルバノメータ 4 に入射する。ガルバノメータ 4 は、制御信号に応じて自身の角度を設定し、入射光を反射させる。ガルバノメータ 5 を反射した光は、リレーレンズ 3 2 により屈折する。リレーレンズ 3 2 により屈折した光は、リレーレンズ 3 3 により屈折した後、ビームスプリッタ 5 を通過し、対物レンズ 3 4 により試料 6 上に結像する。

【 0 0 3 2 】

試料 6 の反射光は、再度、対物レンズ 3 4 により屈折した後、ビームスプリッタ 5 を反射する。ビームスプリッタ 5 により反射された光は、結像レンズ 3 5 により屈折した後、2 次元アレイ光検出器 7 上に結像する。2 次元アレイ光検出器 7 に対しては、マルチスリット 2 のスリット 2 1 の位置を通過した光のみが照明される。2 次元アレイ光検出器 7 は、照明領域 7 1 の画素のみデータを読み取り、非照明領域 7 2 の画素のデータは捨てる。続いて、ガルバノメータ 4 を走査し、同様にして 2 次元アレイ光検出器 7 によって照明領域 7 1 の画素のデータのみ読み取る。このような処理を試料 6 の全領域が照明され撮影されるまで繰り返す。そして、2 次元アレイ光検出器 7 より出力されたデータを合成し、2 次元画像を形成する。この2次元画像は、所定の記憶手段に格納されるとともに、ディスプレイに表示される。

10

【 0 0 3 3 】

以上、説明した通り、本実施の形態 1 にかかるコンフォーカル顕微鏡によれば、照明光の利用効率が高いので、照度の高い照明が可能となり、短時間で S/N 比の高いコンフォーカル画像を取り込むことができる。また、ガルバノメータのスキャン角がわずかで済むので、小型のガルバノメータを使用することができる。

【 0 0 3 4 】

他方、従来の 1 次元 C C D を用いる方法では、V 方向の位置精度がガルバノメータの角度設定精度で決定されたのに対し、本方式では受光素子アレイ上の各受光素子の位置精度でほぼ決定されるため、取り込んだ画像の位置精度、あるいは寸法測長精度が高い。

【 0 0 3 5 】

尚、ランプ 1 を白色光源を用いて照明し、2 次元アレイ光検出器 7 としてカラー C C D を用いればカラー画像を取り込むことができる。このとき、カラー C C D 上では、R G B が 2 列に亘って配置されているので照明領域 7 1 を 2 列以上に亘るようにするとよい。特に、試料 6 の全領域に亘って照明を走査しない場合、即ち粗い画像を出力するような場合には、このようにすることで簡単に画像処理を行なうことができるというメリットがある。

30

【 0 0 3 6 】

また、照明領域 7 1 の画素より得られたデータのみならず、共役でない非照明領域 7 2 の画素からもデータを得た上で積分し、合成すれば、ノンコンフォーカル画像が得られる。具体的には、2 次元アレイ光検出器 7 の画素のうち、照明領域 7 1 の画素のデータのみを使用して画像を形成するコンフォーカル画像形成モードと、非照明領域 7 2 の画素のデータの双方に基づき画像を形成するノンコンフォーカル画像形成モードを選択する手段を設ける。2 次元アレイ光検出器 7 におけるデータの読み出しを制御することによって、極めて容易に、かつ瞬時にコンフォーカル画像とノンコンフォーカル画像を切り替えることが可能となる。ノンコンフォーカル画像を得る場合には、光が試料の全領域に照射されるようにマルチスリット 2 を光路上から外してもよい。

40

【 0 0 3 7 】

発明の実施の形態 2 。

本実施の形態 2 にかかるコンフォーカル顕微鏡では、光源として、白色光源を用い、照明側に切り替え式のカラーフィルタを使用し、順次 R G B を切り替えて照明してそれぞれの色の画像を取り込むことによってカラー画像を構成する方式を採用している。

50

【0038】

図5に当該コンフォーカル顕微鏡の構成を示す。図に示されるように、白色光源1とマルチスリット2の間にカラーフィルタ8と当該カラーフィルタ8を回転駆動させるモータ9を設けている。カラーフィルタ8は、図に示されるように透過領域81、赤色着色領域82、緑色着色領域83、青色着色領域84を有する。このカラーフィルタ8がモータ9により回転することにより、順次RGBが切り替わる。そして、それぞれの色の画像を適宜2次元アレイ光検出器7により読み取ることによってカラー画像を得ることができる。他の構成については、基本的に発明の実施の形態1にかかるコンフォーカル顕微鏡と同じであるため説明を省略する。

【0039】

10

発明の実施の形態3。

本実施の形態3にかかるコンフォーカル顕微鏡では、マルチスリット2の代わりに透過型液晶パネル10を用いている。

【0040】

20

図6に当該コンフォーカル顕微鏡の構成を示す。透過型液晶パネル10は、図2に示すマルチスリット2と同様に、透過領域となるスリット21を複数設けている。発明の実施の形態1では、ガルバノメータ4によって走査したが、本実施の形態3では、透過型液晶パネル10の透過領域を順次移動させることによって走査することができる。そのため、走査手段としてガルバノメータ4を設ける必要はない。他の構成については、基本的に発明の実施の形態1にかかるコンフォーカル顕微鏡と同じであるため説明を省略する。

【0041】

20

発明の実施の形態4。

本実施の形態4にかかるコンフォーカル顕微鏡では、マルチスリット2の代わりにデジタルマイクロミラー装置11を用いている。

【0042】

30

図7に当該コンフォーカル顕微鏡の構成を示す。デジタルマイクロミラー装置11は、DMD(登録商標)とも呼ばれ、微小なミラーを多数有し、それぞれのミラーを約±10度傾かせることができるように構成されている。そして、各ミラーを+10度傾かせるとオン状態に、-10度傾かせるとオフ状態となる。ミラーは、1秒間に千回以上の速度で電子的に傾く。

【0043】

このデジタルマイクロミラー装置11を、図2に示すマルチスリット2のスリット21に相当する部分をオン状態にするよう制御する。発明の実施の形態1では、ガルバノメータ4によって走査したが、本実施の形態4では、デジタルマイクロミラー装置11のオン状態、即ち反射領域を順次シフトさせることによって走査することができる。そのため、走査手段としてガルバノメータ4を設ける必要はない。他の構成については、基本的に発明の実施の形態1にかかるコンフォーカル顕微鏡と同じであるため説明を省略する。

【0044】

40

このような構成を有するコンフォーカル顕微鏡では、ランプ1から出射された光は、デジタルマイクロミラー装置11に入射する。そして、デジタルマイクロミラー装置11は、スリット21に相当する部分のミラーがオン状態になっているため、そのオン状態のミラーのみランプ1から出射された光を対物レンズ33方向に反射させる。その反射光は、リレーレンズ33、対物レンズ34を経て試料6に照射された後、対物レンズ34、ビームスプリッタ5、結像レンズ35を経て2次元アレイ光検出器7の受光面で結像する。その後、デジタルマイクロミラー装置11は、オン状態とするミラーを順次シフトさせる。このようにして試料6の全領域の照射が完了すると、画像データが合成され、図示しないディスプレイに出力される。

【0045】

発明の実施の形態5。

次に、2次元アレイ光検出器7にカラーCCDを用いた場合について説明する。この例で

50

は、カラーCCDの画素2列に対して同時に光が照射されるように制御されている。図8に受光面での照明光の強度分布及び点像強度分布を示す。図に示されるように、照明光の強度分布は、点像強度分布の重ね合わせとなっている。また、隣接する照明領域間の照明光強度分布をみると、照明領域の画素に十分な強度の光が照射されていることが判る。

【0046】

続いて、図9、図10、図11、図12を用いて、カラーCCD上の照明領域の移動制御について説明する。図9に示す照明領域から順次図10、図11、図12と照明領域が移動している。図面上で一番上に位置する照明領域について着目すると、図9では、1番目、2番目の列の画素が照射されている。次に図10では、5番目、6番目の列の画素が照射されている。さらに、図11では、3番目、4番目の列の画素が照射されている。最後に、図12では、7番目、8番目の列の画素が照射されている。即ち、次のように照明領域がシフトしている。

第1、2列 第5、6列 第3、4列 第7、8列

【0047】

このように照明領域をシフトさせると、第1、2列から2列ずつシフトさせた場合と比較して、隣接する画素間の時間差が少なくなることにより鮮明な3次元画像を得ることができるという効果がある。

【0048】

尚、高いコントラストを持つ試料の画像を取り込む際にゴーストを低減するためには、図13及び図14に示すように、照明領域の間隔を十分に離すようにするとい。照明領域が近いと隣接する照明の光が入り込み、ゴーストが発生するため、そのような場合に、照明領域の間隔を広げることによりゴーストの発生を抑制できる。例えば、4ラインに1本の照明領域を8ラインに1本の照明領域に変更する。特に、デジタルマイクロミラー装置11を用いた場合には、このような制御が容易にできる。

【0049】

また、このようにカラーCCDを用いた場合には、基準サンプルを撮影することにより得られた特定の色の画素のデータ、即ち照度のデータに基づいて照明領域と画素との位置ずれを検出することができる。例えば、図9に示すカラーCCDにおいては、各照明領域から出力される緑(G)の画素データが等しくなるような構成を有しているが、等しくなければ、かかる位置ずれが生じていると判断することができる。逆に各照明領域から出力される特定の色の画素のデータが等しくなるように照明領域の位置を調節すれば、位置ずれをなくすことができる。

【0050】

また、このようなカラーCCDにおいて、RGBのホワイトバランスを、照明光と結像素子との位置関係を変え、照明領域の位置を変えることにより調整することも可能である。

【0051】

発明の実施の形態6.

次に、図15を用いてコンフォーカル顕微鏡の具体的な構成例について説明する。この例では、照明手段として水銀ランプ1が設けられている。そして、水銀ランプ1から出射した光は、コーンレンズ12に入射する。コーンレンズ12は、ファーフィールドパターンの中抜けを防止するように入射光を屈折させる。コーンレンズ12により屈折した光は、ハンドルファイバー13の入射端に入射する。そして、ハンドルファイバー13の出射端から光が射出され、ミラー14により所定角度反射する。ミラー14を反射した光は、対物レンズ32に入射する。

【0052】

対物レンズ32に入射した光は、屈性し、デジタルマイクロミラー装置11に入射する。このとき、デジタルマイクロミラー装置11は、図2に示されるようなマルチスリット2のスリット21に相当する場所のミラーがオン状態になるよう制御される。デジタルマイクロミラー装置11は、オン状態にあるミラーによって入射光をレンズ33に出射する。他方、デジタルマイクロミラー装置11においてオフ状態にあるミラーは、入射光を光ト

ラップ 1 5 に反射させる。デジタルマイクロミラー装置 1 1 から出射される光は、図 2 に示されるようなマルチスリット 2 を透過した光と同等になる。出射光は、レンズ 3 3 により屈折され、ビームスプリッタ 5 を透過する。ビームスプリッタ 5 を透過した光は、対物レンズ 3 4 により屈折され試料 6 上に集光する。

【 0 0 5 3 】

試料 6 の反射光は、再度対物レンズ 3 4 により屈折し、ビームスプリッタ 5 に入射する。そして、ビームスプリッタ 5 に入射した光は、当該ビームスプリッタ 5 を反射し、結像レンズ 3 5 に入射する。結像レンズ 3 5 に入射した光は、屈折し、カラー C C D 7 に入射する。カラー C C D 7 に対しては、デジタルマイクロミラーデバイス 1 1 のオン状態にあるミラーにより反射された光のみが照明される。カラー C C D 7 は、照明領域 7 1 の画素のみデータを読み取り、非照明領域 7 2 の画素のデータは捨てる。そして、順次、デジタルマイクロミラーデバイス 1 1 によって反射光を走査し、試料 6 の所定領域を全て撮像する。カラー C C D 7 より出力されたデータを合成することにより、2 次元画像を形成する。この2次元画像は、所定の記憶手段に格納されるとともに、ディスプレイに表示される。

【 0 0 5 4 】

以上、説明した通り、本実施の形態 6 にかかるコンフォーカル顕微鏡によれば、照明光の利用効率が高いので、照度の高い照明が可能となり、短時間で S N 比の高いコンフォーカル画像を取り込むことができる。

【 0 0 5 5 】

発明の実施の形態 7 .
20 本実施の形態 7 にかかるコンフォーカル顕微鏡の構成を図 1 6 に示す。図に示されるように、このコンフォーカル顕微鏡では、パーソナルコンピュータ 2 0 0 及びプロジェクタ 1 0 0 を組み合わせて構成している。パーソナルコンピュータ 2 0 0 のビデオボード 2 0 1 の S - V G A ラインは、プロジェクタ 1 0 0 に接続されている。また、フレームグラバの R S 4 2 2 ラインは、C C D ドライバ 7 3 に接続されている。そして、D A C のラインは、微動ステージドライバ 1 8 に接続されている。従って、パーソナルコンピュータ 2 0 0 のビデオボード 2 0 1 からの出力信号によってデジタルマイクロミラー装置 1 1 を制御することができる。また、フレームグラバ 2 0 2 からの出力信号によって C C D ドライバ 7 3 を制御することができる。そして、D A C からの出力信号によって微動ステージドライバ 1 8 を制御することができる。微動ステージドライバ 1 8 は、微動ステージ 1 7 の動作を駆動することができる。このパーソナルコンピュータ 2 0 0 は、当該コンフォーカル顕微鏡を制御するための制御プログラムをメモリに記憶している。この制御プログラムには、例えば、マルチライン照明、マルチライン画像取り込み、アライメント空間フィルタ関数作成、アライメント / 空間フィルタリング処理、ノンインターレース画像形成、Z 軸駆動、無限焦点深度画像形成、表面形状画像形成、カラー画像取り込み / 表示を実現する制御プログラムが含まれる。

【 0 0 5 6 】

プロジェクタ 1 0 0 は、水銀ランプ 1 、カラーフィルタ 8 、モータ 9 、対物レンズ 3 1 及びデジタルマイクロミラー装置 1 1 を備えている。

【 0 0 5 7 】

このような構成のコンフォーカル顕微鏡の撮像動作について簡単に説明する。水銀ランプ 1 の照明光は、カラーフィルタ 8 によって着色された後、ミラー 1 4 によってデジタルマイクロミラー装置 1 1 に入射する。このとき、デジタルマイクロミラー装置 1 1 は、図 2 に示されるようなマルチスリット 2 のスリット 2 1 に相当する場所のミラーがオン状態になるよう制御される。デジタルマイクロミラー装置 1 1 は、オン状態にあるミラーによって入射光をプロジェクタ 1 0 0 の外部に設置された対物レンズ 3 2 に出射する。他方、デジタルマイクロミラー装置 1 1 においてオフ状態にあるミラーは、入射光を図示しない光トラップに反射させる。デジタルマイクロミラー装置 1 1 から出射される光は、図 2 に示されるようなマルチスリット 2 を透過した光と同等になる。

【 0 0 5 8 】

10

20

30

40

50

レンズ 3 2 に入射した光は、屈折し、ビームスプリッタ 5 に入射する。また、ビームスプリッタ 5 に入射した光の一部は、このビームスプリッタ 5 を透過し、対物レンズ 3 3 により屈折した後、XYZステージ 1 6 上の試料に集光する。試料より反射した光は、対物レンズ 3 3 により屈折し、ビームスプリッタ 5 により反射される。この反射光は、結像レンズ 3 5 により屈折し、CCD 7 に集光する。CCD 7 は、照明光が当っている照明領域 7 1 の画素のデータだけを読み取り、照明光が当っていない非照明領域 7 2 の画素のデータは捨て、利用しない。このようにすることにより、コンフォーカル画像を取得することができる。

【0059】

さらにデジタルマイクロミラー装置 1 1 を制御し、照明領域 7 1 を走査する。2次元アレイ光検出器 7 上の画素の全てのデータの取り込みが完了した場合には、これらのデータを合成し、2次元画像を形成する。この2次元画像は、所定の記憶手段に格納されるとともに、ディスプレイに表示される。

【0060】

さらに、本実施の形態 7 にかかるコンフォーカル顕微鏡は、デジタルマイクロミラー装置 1 1 と CCD 7 の画素の位置ずれを補正する機能を有している。位置ずれの補正処理は、レンズ交換時に行なっても良く、また、新規に画像を撮影する度に行なうようにしてもよい。この機能について、以下に詳細に説明する。

【0061】

図 1 7 は、当該位置ずれ補正機能を実現する上で必要なアライメント空間フィルタ関数の作成処理を示すフローチャートである。まず、コンフォーカル顕微鏡のXYZステージ 1 6 上に基準サンプルを取り付ける (S 1 0 1)。この基準サンプルは、入射した光を一様かつ均一に反射させる反射体であり、例えば、鏡やシリコンウエハである。次に、プロジェクタ 1 0 0 のデジタルマイクロミラー装置 1 1 を制御して、マルチライン照明を行なう (S 1 0 2)。そして、このマルチライン照明に対応する基準サンプルからの反射光を CCD 7 により読み取り、マルチライン画像を取り込む (S 1 0 3)。最後に取り込んだマルチライン画像に基づき、アライメント空間フィルタ関数を作成する (S 1 0 4)。

【0062】

さらに、図 1 8 を用いて、当該アライメント空間フィルタ関数の作成について説明する。図 1 8 では、CCD 7 の画素とともに、受光面での点像強度分布が示されている。通常、デジタルマイクロミラー装置 1 1 を制御することにより、CCD 7 に照射される光は、複数のライン状の輝線を構成し、輝線からなる照明領域 7 1 が CCD 7 の画素の一列に一致するように光学系が設計されている。しかしながら、CCD 7 の端部付近では、照明領域 7 1 が CCD 7 の画素の一列に一致しない場合が発生してしまう。図 1 7 の下方の白抜き部分は、CCD 7 の画素の一列に当該照明領域 7 1 が一致した場合を示している。この場合には、照明領域 7 1 が一致した画素のみからデータを読み取ることによってコンフォーカル画像を最終的に得ることができる。

【0063】

図 1 7 の上方の白抜き部分では、CCD 7 の画素の2列に当該照明領域が亘っている。この場合、これら2列の画素列よりデータを読み取るとともに、それぞれの輝度に対する重み付けのための係数を決定する。この図に示す例では、CCD 7 の画素の2列のほぼ中間位置に光のラインが位置しているため、2列の画素のデータに対する重み付けを均等にしている。そして、かかる重み付け係数を加味して、重み付け移動平均処理又は重み付け平均処理を行い輝度を算出する。

【0064】

このような処理を実行するためには、基準平面を観察し、照明領域 7 1 のうち照明が一画素列のみならず複数画素列に及ぶ場合、V方向の局所的な輝度の重心を求める。そして、重心に近い2列の画素列に対して重み付き移動平均処理又は重み付き平均処理により、デジタルマイクロミラー装置 1 1 と CCD 7 との画素の位置ずれを補正する。V方向の画素数を CCD 7 の画素数で処理する場合は、重み付き移動平均処理とし、デジタルマイクロ

10

20

30

40

50

ミラー装置 11 の画素数に合わせる場合は、重み付き平均処理とする。尚、照明領域 71 以外の画素については輝度は 0 とする。

【0065】

ここで、n 番目と n + 1 番目の画素列について重み付き移動平均処理を行なうとすると、輝度 1n は次のように表すことができる。

$$1n = a1n + b1(n + 1) \quad \text{ここで } a + b = 1 \text{ である。}$$

【0066】

他方、重み付き平均処理を行なう場合には、輝度 1n は次のように表すことができる。

$$1n = a12n + b1(2n + 1) \quad \text{ここで } a + b = 1 \text{ である。}$$

【0067】

また、照明領域 71 が画素列に V 方向に一様にずれる場合のみならず、光学系の歪みによって斜めにずれる場合もある。この場合にも、画素毎に輝度の重心を求めて、重み付き移動平均処理又は重み付き平均処理を行なう。このため、例えば、ある画素では、n 番目と n + 1 番目の画素列について処理をし、他の画素では、n 番目と n - 1 番目の画素列について処理を行なうというように、異なる画素列について処理を行なうことになる。

【0068】

さらに、シェーディングと呼ばれる、全体的な輝度のばらつきを修正するために、画素列毎に輝度に乘ずる係数を変えるようにしてもよい。具体的には、上記輝度 1n の式において、a + b を 1 とはせずに、暗く輝度の小さい画素列では $a + b > 1$ の任意の値とし、明るく輝度の大きい画素列では $a + b < 1$ の任意の値とする。

【0069】

尚、この実施の形態にかかるコンフォーカル顕微鏡では、照明領域 71 を CCD 7 の画素一列に一致させているが、これに限らず、複数列に一致させるような場合であっても、同様にして位置ずれを補正することができる。例えば、2 列に一致させるような場合には、V 方向の局所的な輝度の重心を求め、重心に近い 3 列に対して重み付き移動平均処理又は重み付き平均処理を行なう。

【0070】

このようにして、補正処理をした後は、求められたアライメント空間フィルタ関数に従って、試料 6 の画像を撮影する。

【0071】

発明の実施の形態 8.

本実施の形態 8 にかかるコンフォーカル顕微鏡では、特に蛍光観察に適した構成を有している。

【0072】

まず、蛍光を観察する場合、撮像素子にイメージインテンシファイヤ付の CCD を利用するとよい。また、ビームスプリッターをダイクロイックミラーとし、短波長である励起光は透過し、励起光よりも長波長である蛍光は反射させてイメージインテンシファイヤに入射させる。これによってビームスプリッタでの光量の損失を最低にできる。

【0073】

さらに、図 19 に示す構成のように、カラーの蛍光画像を得るために切り替え式のダイクロイックフィルタ 8 (カラーフィルタ) を CCD カメラ 7 の前に配置するようにしてもよい。ここで、励起光源 1 として水銀ランプは、405 nm の発振波長のレーザーダイオード等を使用することが好ましい。

【0074】

発明の実施の形態 9.

本実施の形態 9 にかかるコンフォーカル顕微鏡では、特に画素ずれ合わせの機能を有している。図 20 に当該コンフォーカル顕微鏡の構成例を示す。

【0075】

画素ずれ合わせのために、照明スリット像と受光素子のピッチを合わせるために照明側または結像側のいずれかのレンズを倍率調整レンズとしている。この例では、倍率調整レン

10

20

30

40

50

ズ361及び362を設けている。

【0076】

また、照明スリット像と受光素子の位置ずれを調整するために、照明側、結像側のいずれか一方の光軸上に光軸調整機構（ビームポジショナー）を設けている。この例では、ビームポジショナー161及び162を設けている。

【0077】

発明の実施の形態10。

本実施の形態10にかかるコンフォーカル顕微鏡では、特に光の利用効率が高い顕微鏡である。図21に当該コンフォーカル顕微鏡の構成例を示す。

【0078】

ビームスプリッター52に偏光ビームスプリッターを使用することができ、その場合は対物レンズ34の上に1/4波長板17を配置する。これによって光量の損失を最低に出来る。つまり金属薄膜を利用したビームスプリッタの場合は透過率が約30%、反射率が約30%なので往復で9%の光しか利用出来ない。一方偏光ビームスプリッタ52を使用すると、ランプ1からの光のP偏光成分のみが透過し、1/4波長板17で円偏光となり、対物レンズ34に入射する。試料6からの反射光は1/4波長板17を再び逆方向から透過してS偏光となるので、偏光ビームスプリッタ52で結像レンズ35側に反射する。よって約50%の光を利用できる。

【0079】

その他の実施の形態。

上述の例では、反射型顕微鏡を例に挙げたが、透過型顕微鏡に対しても本発明を適用できる。

【0080】

【発明の効果】

本発明によれば、光の使用効率を高め、撮像時間の短縮化を達成することができるコンフォーカル顕微鏡を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の実施の形態1にかかるコンフォーカル顕微鏡の構成を示す図である。

【図2】本発明にかかるマルチスリットの構成を示す図である。

【図3】本発明にかかる2次元アレイ光検出器の受光面を示す図である。

【図4】本発明にかかる2次元アレイ光検出器のブロック図である。

【図5】本発明の実施の形態2にかかるコンフォーカル顕微鏡の構成を示す図である。

【図6】本発明の実施の形態3にかかるコンフォーカル顕微鏡の構成を示す図である。

【図7】本発明の実施の形態4にかかるコンフォーカル顕微鏡の構成を示す図である。

【図8】本発明の実施の形態5における受光面での照明光の強度分布及び点像強度分布を示す図である。

【図9】本発明の実施の形態5におけるカラーCCD上の照明領域の移動制御を説明するための図である。

【図10】本発明の実施の形態5におけるカラーCCD上の照明領域の移動制御を説明するための図である。

【図11】本発明の実施の形態5におけるカラーCCD上の照明領域の移動制御を説明するための図である。

【図12】本発明の実施の形態5におけるカラーCCD上の照明領域の移動制御を説明するための図である。

【図13】本発明の実施の形態5におけるカラーCCD上の照明領域の移動制御を説明するための図である。

【図14】本発明の実施の形態5におけるカラーCCD上の照明領域の移動制御を説明するための図である。

【図15】本発明の実施の形態6にかかるコンフォーカル顕微鏡の構成を示す図である。

【図16】本発明の実施の形態7にかかるコンフォーカル顕微鏡の構成を示す図である。

10

20

30

40

50

【図17】本発明の実施の形態7におけるアライメント空間フィルタ関数の作成処理を示すフローチャートである。

【図18】本発明の実施の形態7における受光面での照明光の強度分布を示す図である。

【図19】本発明の実施の形態8にかかるコンフォーカル顕微鏡の構成を示す図である。

【図20】本発明の実施の形態9にかかるコンフォーカル顕微鏡の構成を示す図である。

【図21】本発明の実施の形態10にかかるコンフォーカル顕微鏡の構成を示す図である。

。

【符号の説明】

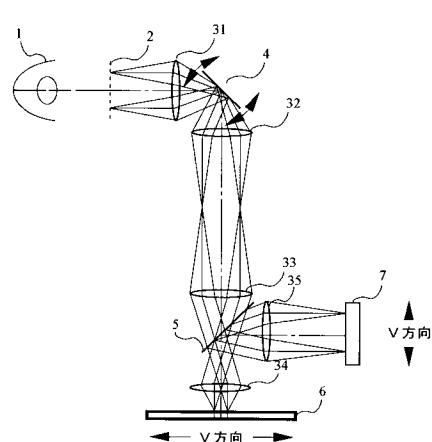
1 ランプ 2 マルチスリット 3 対物レンズ 4 ガルバノメータ

5 ビームスプリッタ 7 2次元アレイ光検出器 8 カラーフィルタ

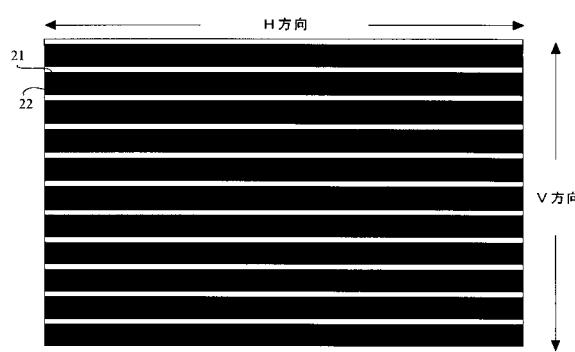
10 10 透過型液晶パネル 11 デジタルマイクロミラー装置

10

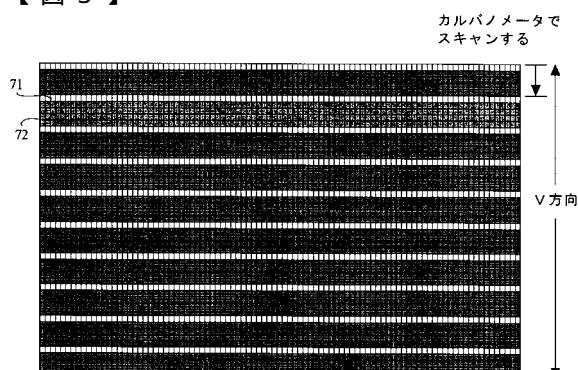
【図1】



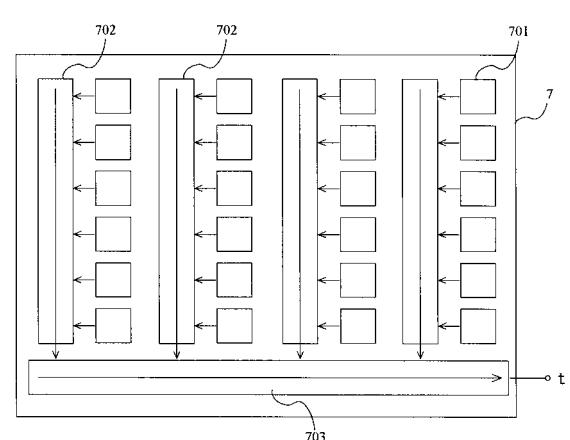
【図2】



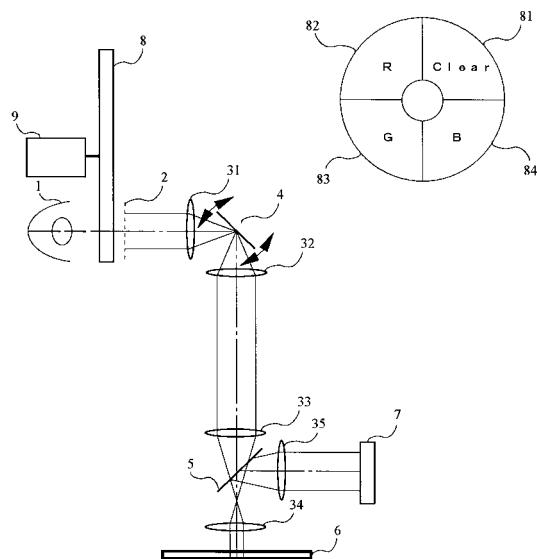
【図3】



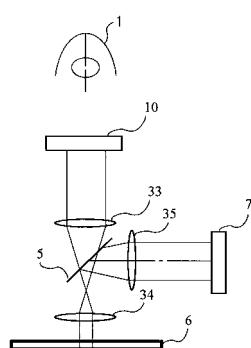
【図4】



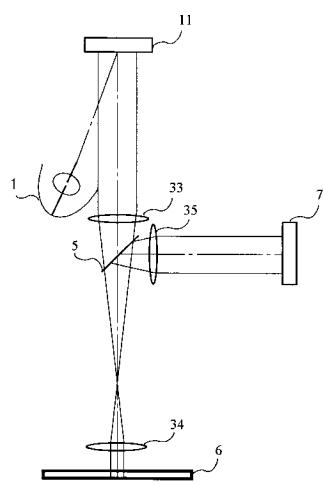
【図5】



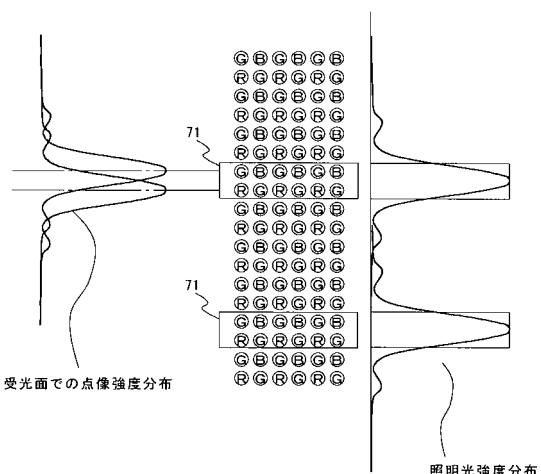
【図6】



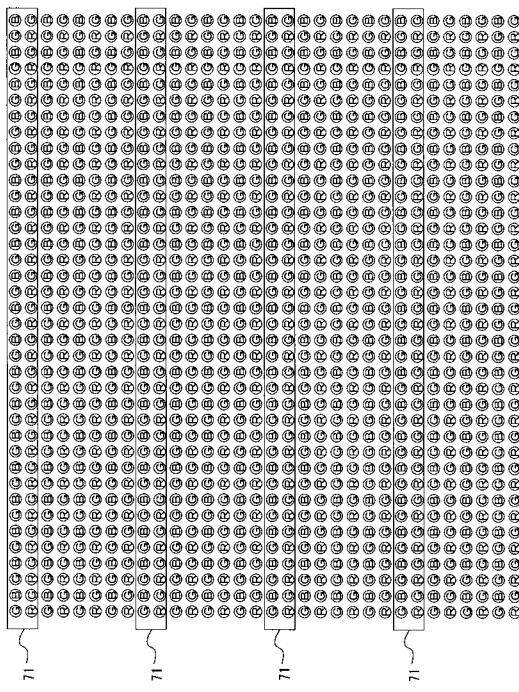
【図7】



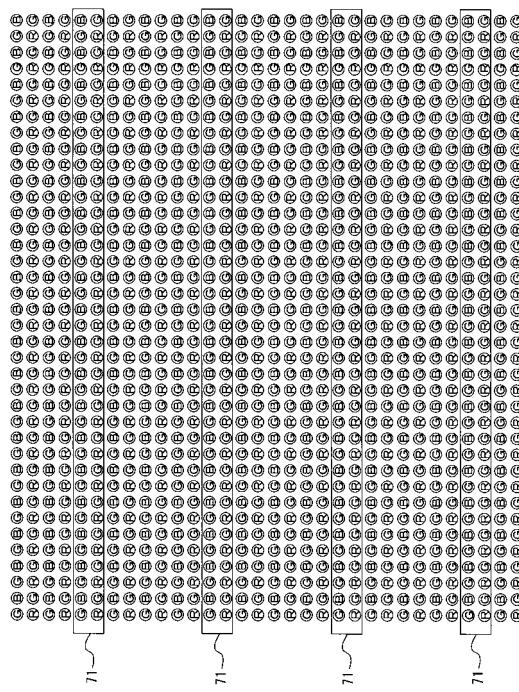
【図8】



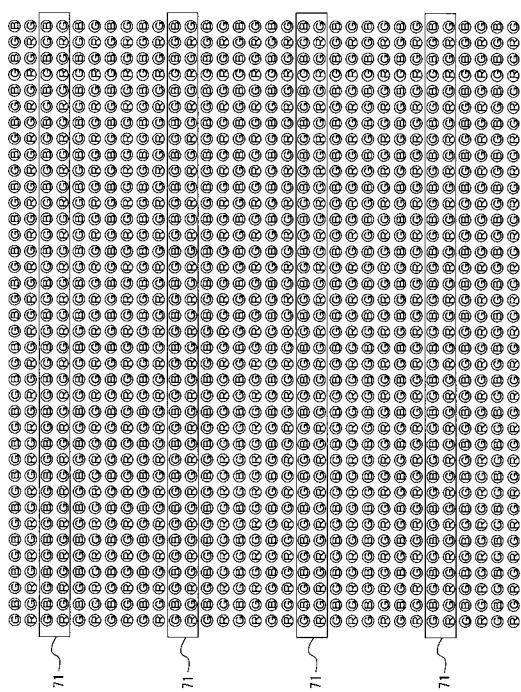
【図9】



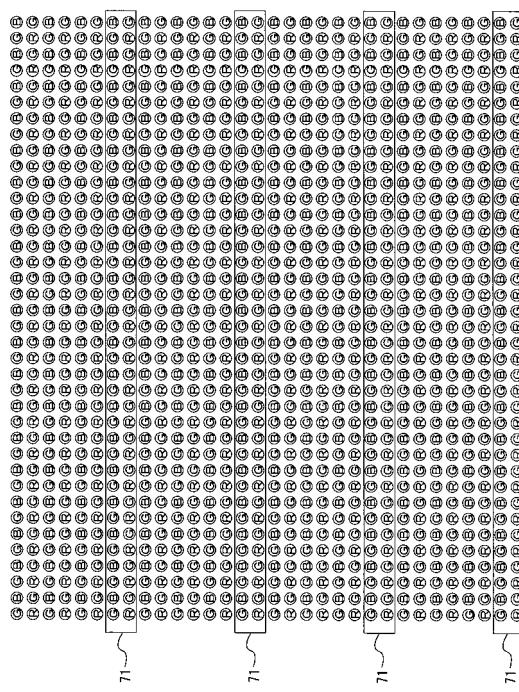
【図10】



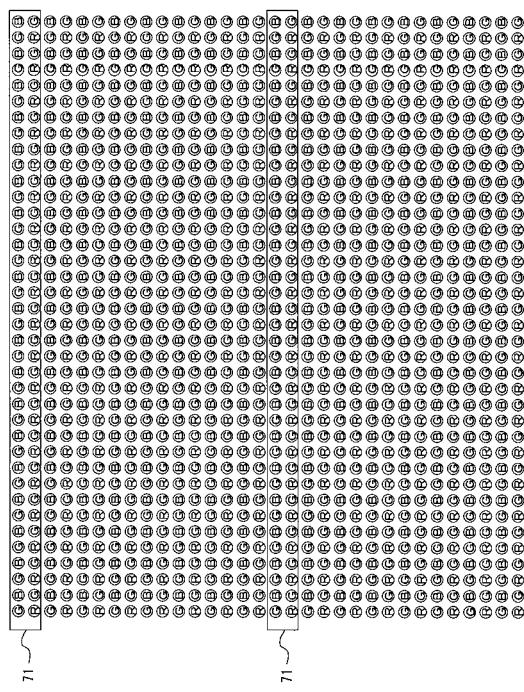
【図11】



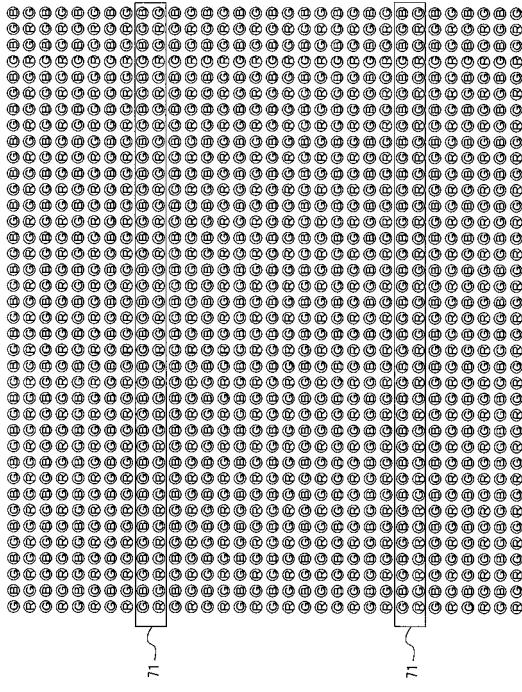
【図12】



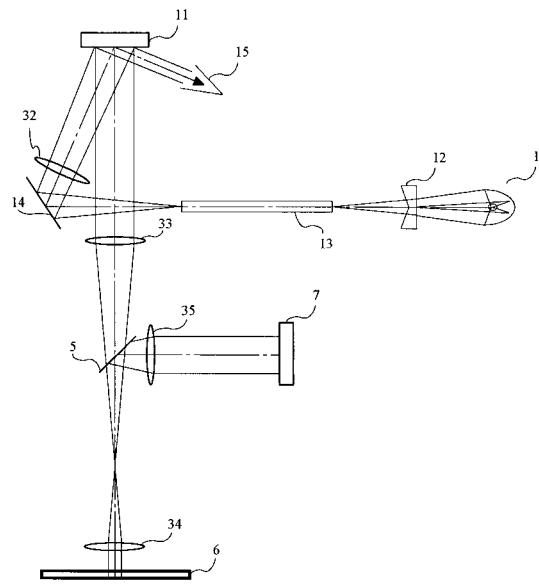
【図13】



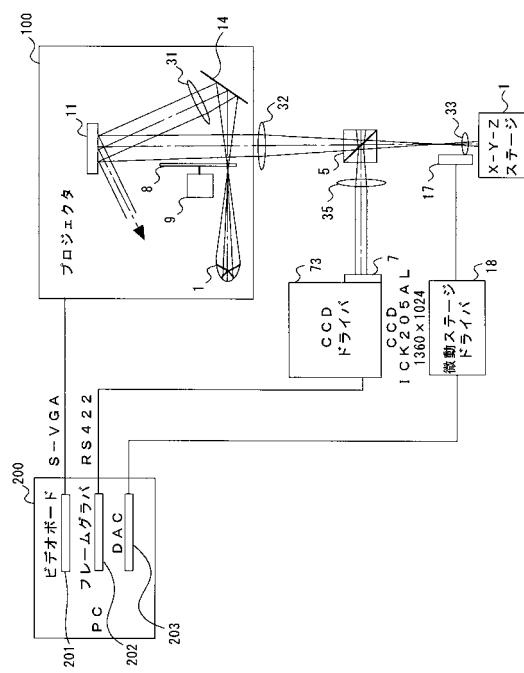
【図14】



【図15】

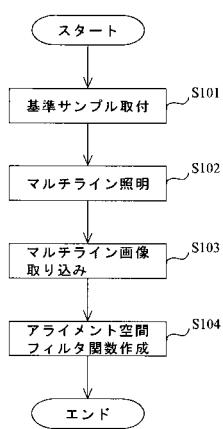


【図16】

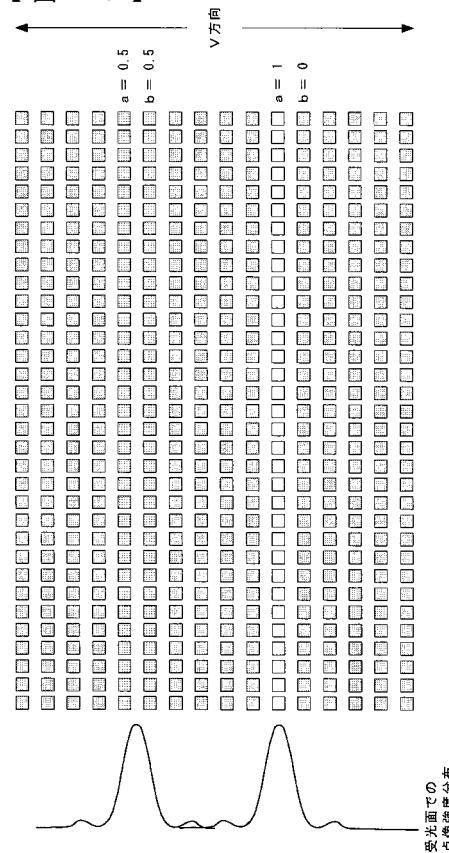


【図17】

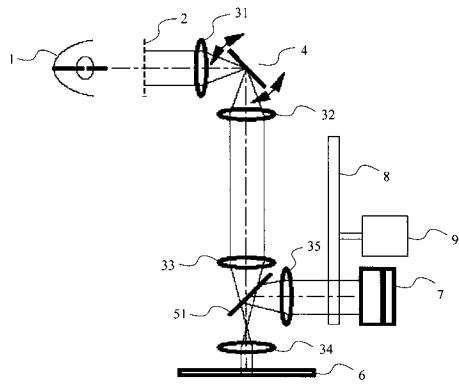
アライメント空間フィルタ関数の作成処理



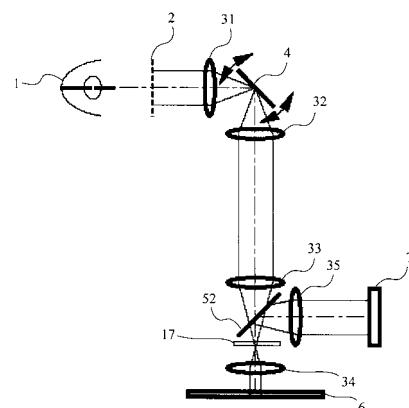
【図18】



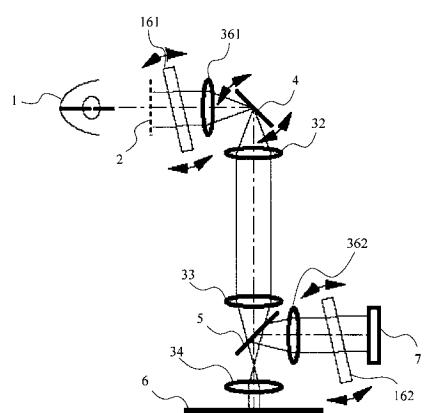
【図19】



【図21】



【図20】



フロントページの続き

(56)参考文献 特開平05-332733 (JP, A)
特開平04-142410 (JP, A)
特開2001-027726 (JP, A)
特開2001-330557 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)

G02B 21/00

G01B 11/24