

(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.Cl.⁷

GO 2 B 21/00

GO 1 B 11/24

F I

GO 2 B 21/00

GO 1 B 11/24

請求項の数 9 (全 18 頁)

(21) 出願番号	特願2001-369958 (P2001-369958)	(73) 特許権者	000115902
(22) 出願日	平成13年12月4日 (2001.12.4)		レーザーテック株式会社
(65) 公開番号	特開2003-167197 (P2003-167197A)		神奈川県横浜市港北区綱島東4-10-4
(43) 公開日	平成15年6月13日 (2003.6.13)	(74) 代理人	100103894
審査請求日	平成16年7月22日 (2004.7.22)		弁理士 冢入 健
早期審査対象出願		(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役な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、前記輝線の方に画素が配列され、当該輝線の方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役な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、前記輝線の方に画素が配列され、当該輝線の方に画素のデータを入力する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】

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。

20

【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、十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役な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、前記輝線の方に画素が配列され、当該輝線の方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好ましい。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

【0023】

対物レンズ34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。

【0024】

結像レンズ35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。

【0025】

試料6は、マルチスリット2と共役な位置に配置される。

【0026】

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CCD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21に対応した位置の領域71（図上の白抜き部分）に光が照明される。この照明領域71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21に対応する間隔分だけスキャンされる。この領域71は、照明領域と共役な部分である。

10

【0027】

本発明では、照明光が当たっている照明領域71の画素のデータだけを読み取り、照明光が当たっていない非照明領域72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71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。

20

【0028】

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CCD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701と、各列の受光部701の一側に設けた垂直方向に延びるCCD構造の垂直転送レジスタ702と、各垂直転送レジスタ702の一端に設けたCCD構造の水平転送レジスタ703とを有している。そして、各受光部701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702に転送し、これら各垂直転送レジスタ702の信号電荷を水平転送レジスタ703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。

30

【0029】

特に、本発明では、照明領域71のみデータを読み取り、非照明領域72のデータは捨てている。このような処理は、例えば、次のようにして電氣的な処理により実行される。照明領域71に位置する画素のデータと同様に非照明領域72に位置する画素のデータも一旦垂直転送レジスタ702に送られるが、その垂直転送レジスタ702上のデータを一画素ずつ水平転送レジスタ703に送り出す際、非照明領域72の画素のデータは、水平転送レジスタ703上に蓄積し出力せずに、照明領域71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72の画素のデータの出力を制限し、照明領域71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71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CID（Charge Injection Device）により構成した場合には、非照明領域72の画素から垂直転送レジスタ702への出力を停止し、照明領域71の画素のみ垂直転送レジスタ702へ出力するようにすればよい。

40

【0030】

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。

【0031】

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。

【0032】

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。

【0033】

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ため、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。

【0034】

他方、従来の 1 次元 CCD 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。

【0035】

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 CCD 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 CCD 上では、RGB 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。

【0036】

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。

【0037】

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 RGB 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。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 8 】

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 8 1、赤色着色領域 8 2、緑色着色領域 8 3、青色着色領域 8 4 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 R G B 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。

【 0 0 3 9 】

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 1 0 を用いている。

【 0 0 4 0 】

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 1 0 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 2 1 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 1 0 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。

20

【 0 0 4 1 】

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 1 1 を用いている。

【 0 0 4 2 】

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 1 1 は、D M D (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 ± 1 0 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 + 1 0 度傾かせるとオン状態に、- 1 0 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。

30

【 0 0 4 3 】

このデジタルマイクロミラー装置 1 1 を、図 2 に示すマルチスリット 2 のスリット 2 1 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 1 1 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。

【 0 0 4 4 】

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 1 1 に入射する。そして、デジタルマイクロミラー装置 1 1 は、スリット 2 1 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 3 3 方向に反射させる。その反射光は、リレーレンズ 3 3、対物レンズ 3 4 を経て試料 6 に照射された後、対物レンズ 3 4、ビームスプリッタ 5、結像レンズ 3 5 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 1 1 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。

40

【 0 0 4 5 】

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 C C D 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

10

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ふ効果がある。

【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させるためには、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よい。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。

20

【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。

30

【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、バンドルファイバー１３の入射端に入射する。そして、バンドルファイバー１３の出射端から光が出射され、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。

40

【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

50

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 CCD 7 に入射する。カラー CCD 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 CCD 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 CCD 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 .

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、CCD 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 CCD 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 】

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、X Y Z 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、C C D 7 に集光する。C C D 7 は、照明光が当たっている照明領域 7 1 の画素のデータだけを読み取り、照明光が当た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。

【 0 0 5 9 】

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。

【 0 0 6 0 】

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 C C D 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。

【 0 0 6 1 】

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 X Y Z 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、入射した光を一樣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 C C D 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)。

【 0 0 6 2 】

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、C C D 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、C C D 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 C C D 7 の画素の一行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、C C D 7 の端部付近では、照明領域 7 1 が C C D 7 の画素の一行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、C C D 7 の画素の一行に当該照明領域 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。

【 0 0 6 3 】

図 1 7 の上方の白抜き部分では、C C D 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、C C D 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。

【 0 0 6 4 】

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 C C D 7 との画素の位置ずれを補正する。V 方向の画素数を C C D 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 l_n は次のように表すことができる。

$$l_n = a l_{n-1} + b l_n \quad \text{ここで } a + b = 1 \text{ である。}$$

【0066】

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

$$l_n = a l_{2n-1} + b l_{2n} \quad \text{ここで } a + b = 1 \text{ である。}$$

【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、画素列毎に輝度に乗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 l_n の式において、 $a + b$ を 1 とはせず、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ーでの光量の損失を最低にすることができる。

【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は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 3 6 1 及び 3 6 2 を設けている。

【 0 0 7 6 】

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 1 6 1 及び 1 6 2 を設けている。

【 0 0 7 7 】

発明の実施の形態 1 0 .

本実施の形態 1 0 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 2 1 に当該コンフォーカル顕微鏡の構成例を示す。

【 0 0 7 8 】

ビームスプリッター 5 2 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 3 4 の上に 1 / 4 波長板 1 7 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 3 0 %、反射率が約 3 0 %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 5 2 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 1 7 で円偏光となり、対物レンズ 3 4 に入射する。試料 6 からの反射光は 1 / 4 波長板 1 7 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 5 2 で結像レンズ 3 5 側に反射する。よって約 5 0 %の光を利用できる。

【 0 0 7 9 】

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。

【 0 0 8 0 】

【 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 1 0 】 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 1 1 】 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 1 2 】 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 1 3 】 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 1 4 】 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 1 5 】 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 1 6 】 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。

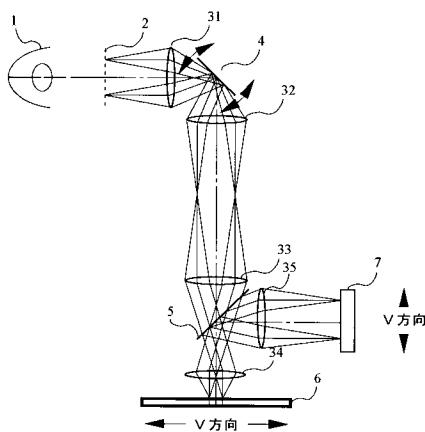
【図 21】本発明の実施の形態 10 にかかるコンフォーカル顕微鏡の構成を示す図である。

【符号の説明】

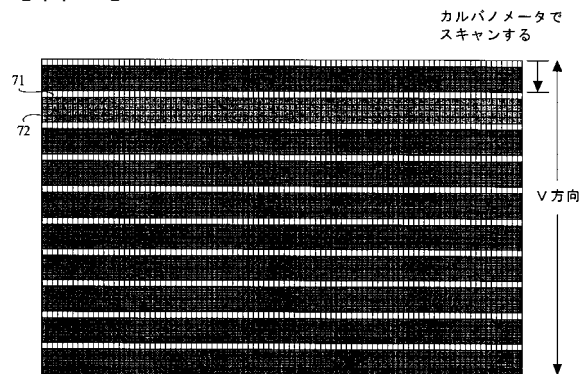
- 1 ランプ 2 マルチスリット 3 対物レンズ 4 ガルバノメータ
5 ビームスプリッタ 7 2次元アレイ光検出器 8 カラーフィルタ
10 透過型液晶パネル 11 デジタルマイクロミラー装置

10

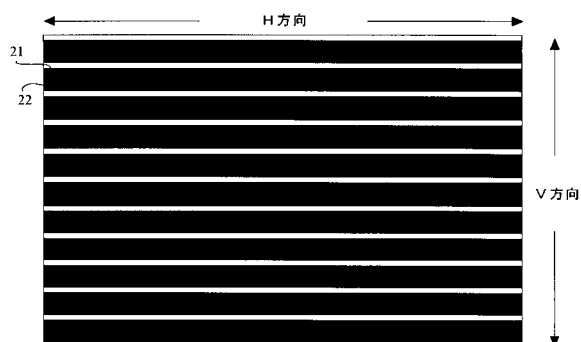
【図 1】



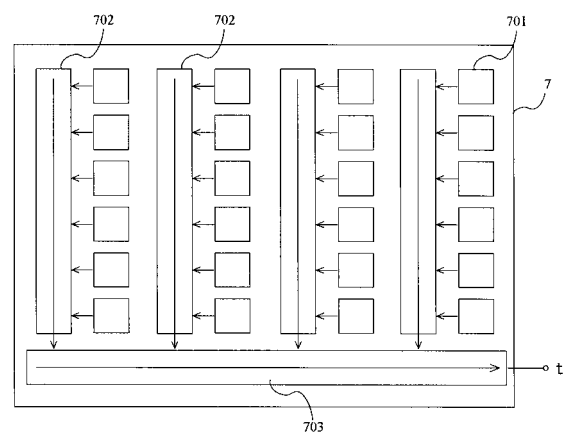
【図 3】



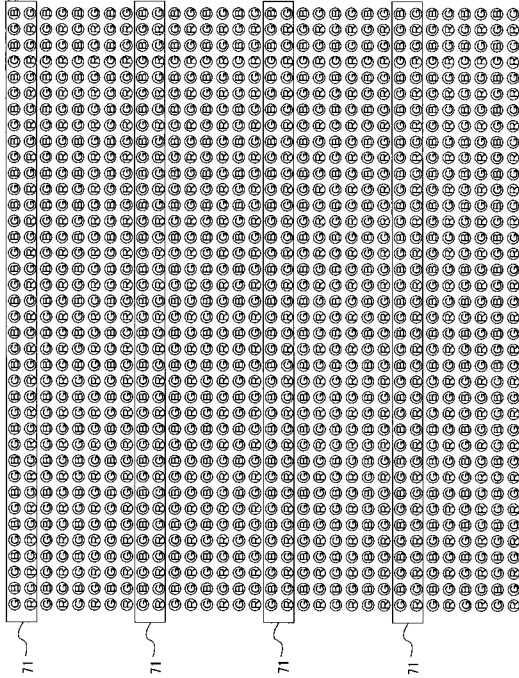
【図 2】



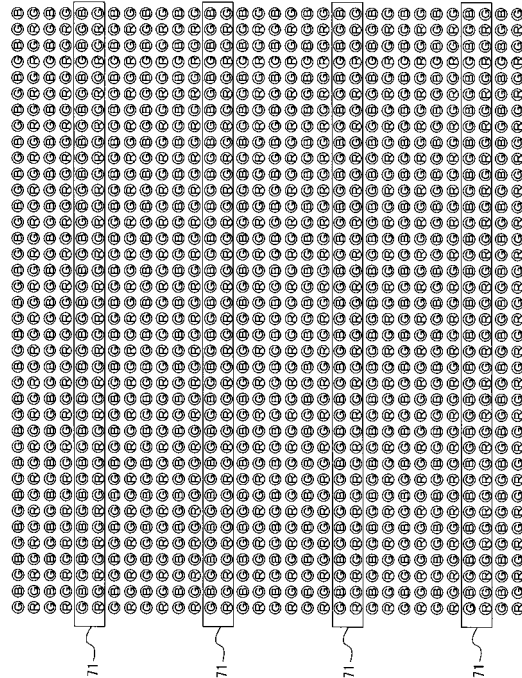
【図 4】



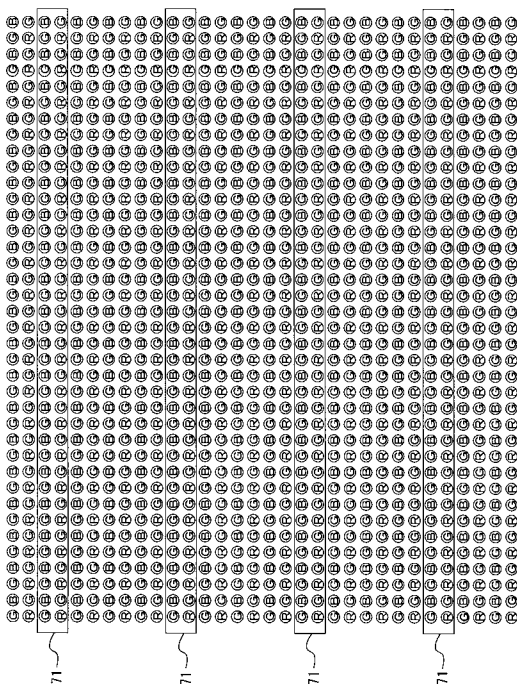
【図 9】



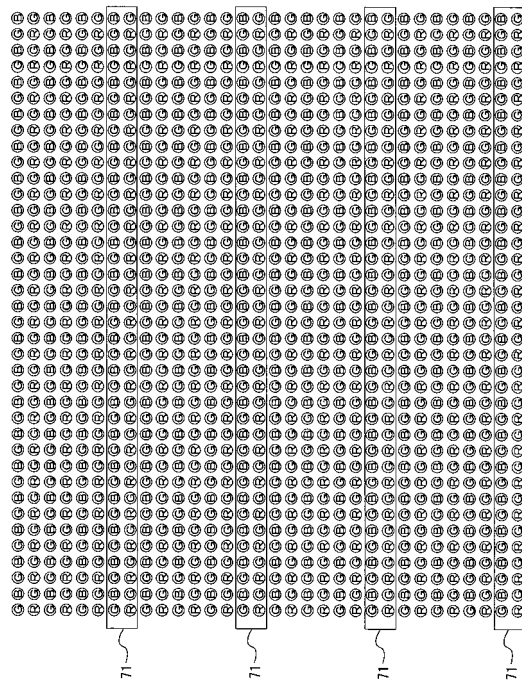
【図 10】



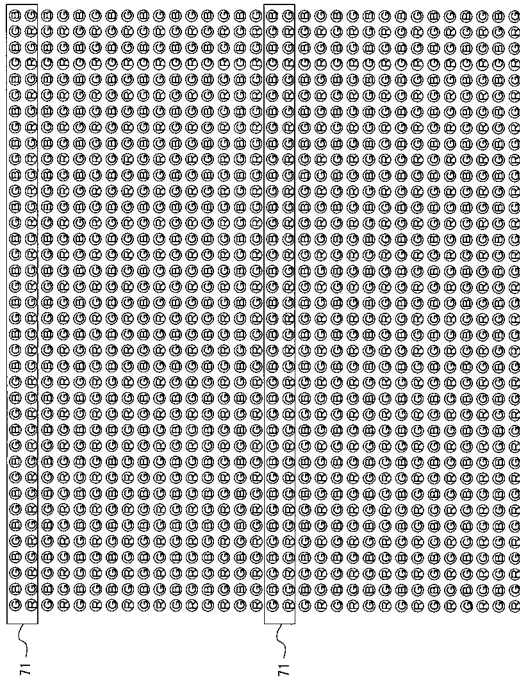
【図 11】



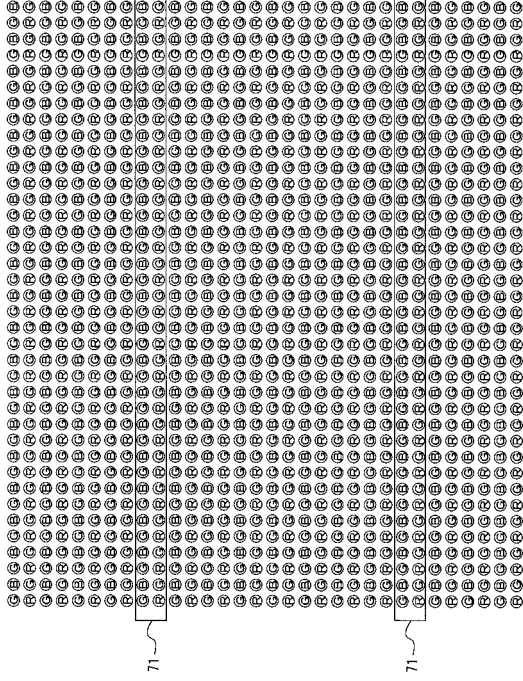
【図 12】



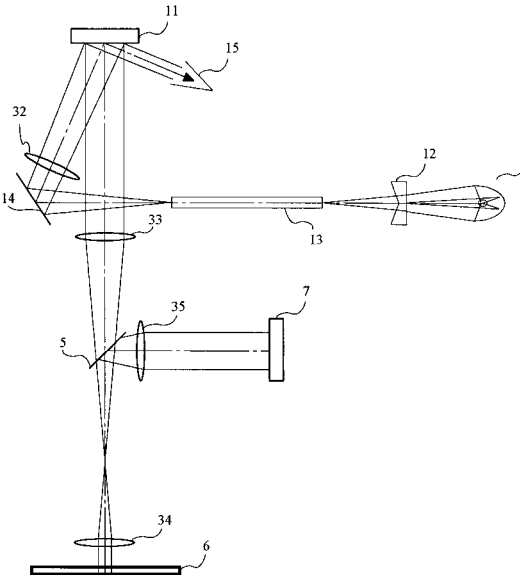
【 図 1 3 】



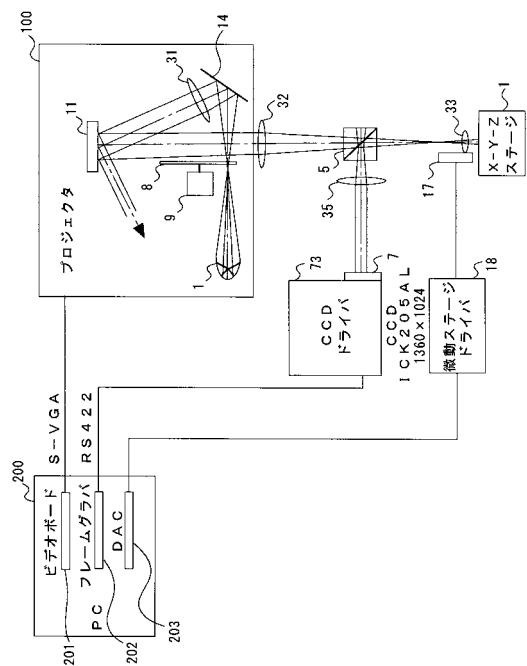
【 図 1 4 】



【 図 1 5 】

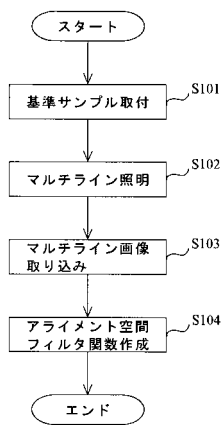


【 図 1 6 】

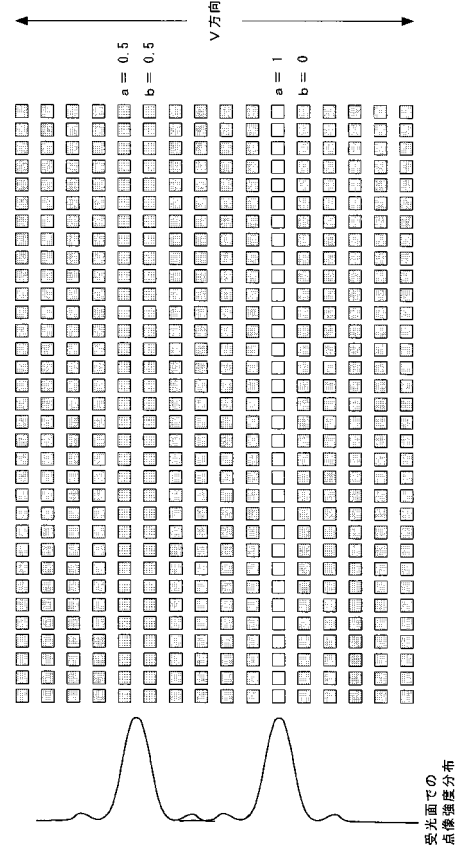


【図 17】

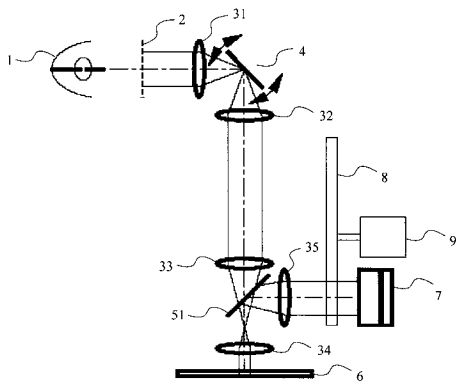
アライメント空間フィルタ関数の作成処理



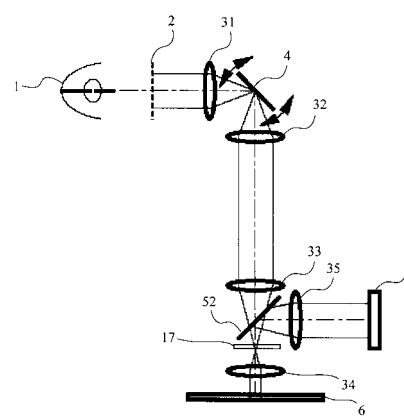
【図 18】



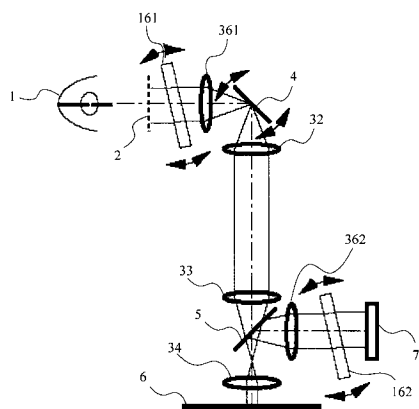
【図 19】



【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