

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4826585号
(P4826585)

(45) 発行日 平成23年11月30日 (2011.11.30)

(24) 登録日 平成23年9月22日 (2011.9.22)

(51) Int.Cl.

F 1

G 0 2 B 21/00 (2006.01)

G 0 2 B 21/00

請求項の数 7 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2007-525916 (P2007-525916)	(73) 特許権者	000004112
(86) (22) 出願日	平成18年6月20日 (2006.6.20)		株式会社ニコン
(86) 国際出願番号	PCT/JP2006/312328		東京都千代田区有楽町1丁目12番1号
(87) 国際公開番号	W02007/010697	(74) 代理人	100072718
(87) 国際公開日	平成19年1月25日 (2007.1.25)		弁理士 古谷 史旺
審査請求日	平成21年3月19日 (2009.3.19)	(74) 代理人	100116001
(31) 優先権主張番号	特願2005-211159 (P2005-211159)		弁理士 森 俊秀
(32) 優先日	平成17年7月21日 (2005.7.21)	(72) 発明者	奥川 久
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		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
		(72) 発明者	福本 研索
			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	井上 信
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 共焦点顕微鏡装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

光源と、前記光源からの光を試料に集光する照明光学系と、前記試料からの光を結像する結像光学系と、前記結像光学系に関し前記試料の集光点と略共役な位置に入射する光を、少なくとも前記試料の前記集光点の近傍領域からの光と、その周辺領域からの光とに分離し、それぞれ検出する検出手段とを備え、前記検出手段は、前記結像光学系の焦点深度内に光軸に対して傾斜して配置された光学部材と、前記光学部材において前記集光点と略共役な位置に設けられ、かつその位置に入射する光を前記近傍領域からの光と前記周辺領域からの光とに分離する光分離面と、前記近傍領域からの光と前記周辺領域からの光とを独立して検出する検出器とを有し、前記近傍領域からの光を検出した前記検出器が生成する第1のデータと、前記周辺領域からの光を検出した前記検出器が生成する第2のデータとを用いて、任意のセクションング分解能のデータを演算する演算手段を更に備えたことを特徴とする共焦点顕微鏡装置。

【請求項 2】

請求項1に記載の共焦点顕微鏡装置において、

前記演算には、

10

20

前記第 1 のデータと、前記第 2 のデータとの重み付け和の演算が含まれることを特徴とする共焦点顕微鏡装置。

【請求項 3】

請求項 2 に記載の共焦点顕微鏡装置において、

前記第 1 のデータの重み係数を 1 とすると、前記第 2 のデータの重み係数 α は、 $1 \geq \alpha$ の範囲に設定される

ことを特徴とする共焦点顕微鏡装置。

【請求項 4】

請求項 1 ～請求項 3 の何れか一項に記載の共焦点顕微鏡装置において、

前記演算には、

前記第 1 のデータを、前記第 2 のデータで除する演算が含まれる

ことを特徴とする共焦点顕微鏡装置。

【請求項 5】

請求項 1 ～請求項 4 の何れか一項に記載の共焦点顕微鏡装置において、

前記光分離面は、

前記近傍領域からの光を受ける円形の第 1 面と、前記周辺領域からの光を受ける第 2 面とを有し、

前記光学部材は、

前記周辺領域からの光の光路に対し直列の関係で複数の前記光分離面を配置しており、

前記複数の光分離面の間では、

後段に配置されたものほど前記第 1 面の径が大きく設定される

ことを特徴とする共焦点顕微鏡装置。

【請求項 6】

請求項 1 ～請求項 5 の何れか一項に記載の共焦点顕微鏡装置において、

前記検出手段は、

複数の前記検出器を備える

ことを特徴とする共焦点顕微鏡装置。

【請求項 7】

請求項 1 ～請求項 6 の何れか一項に記載の共焦点顕微鏡装置において、

前記検出手段は、

前記第 1 のデータを検出する第 1 の検出器と、前記第 2 のデータを検出する第 2 の検出器とを有する

ことを特徴とする共焦点顕微鏡装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生体試料などを観察するための共焦点顕微鏡装置に関する。

【背景技術】

【0002】

共焦点顕微鏡は、共焦点絞りをを用いて実効的な焦点深度を浅くし、観察対象を試料中の薄い層に限定（セクショニング）する顕微鏡である（特許文献 1、特許文献 2 など）。

特許文献 1 には、観察対象となる層の厚さ（セクショニング分解能）を可変にするために、共焦点絞りの径を変更する技術（1）や、ピンホール径の異なる複数種類のピンホール部材を共焦点絞り面に切り替え配置する技術（2）などが開示されている。

【0003】

また、特許文献 2 には、セクショニングの機能をオン／オフするために、共焦点絞りの内外に入射する光を分岐して個別に検出し、それらの検出信号を必要に応じて加算する技術（3）が開示されている。

【特許文献 1】

実開平 6-16927 号公報

10

20

30

40

50

【特許文献 2】

特開平 10-104522 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

仮に、(1)、(2)、(3)の技術を応用してセクショニング分解能を様々に変更しようとしたならば、共焦点絞りの径の可変ステップ数、ピンホール部材の種類数、光の分岐数をそれぞれ増やせばよいと考えられる。しかし、何れにせよ、検出に関わる部分の機構や光学系が複雑になり、コストや位置合わせ精度の面で困難の生じる可能性がある。

そこで本発明は、共焦点顕微鏡の構成をシンプルに抑えながらセクショニング分解能の変更の自由度を高め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。

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明の共焦点顕微鏡装置は、光源と、前記光源からの光を試料に集光する照明光学系と、前記試料からの光を結像する結像光学系と、前記結像光学系に関し前記試料の集光点と略共役な位置に入射する光を、少なくとも前記試料の前記集光点の近傍領域からの光と、その周辺領域からの光とに分離し、それぞれ検出する検出手段とを備え、前記検出手段は、前記結像光学系の焦点深度内に光軸に対して傾斜して配置された光学部材と、前記光学部材において前記集光点と略共役な位置に設けられ、かつその位置に入射する光を前記近傍領域からの光と前記周辺領域からの光とに分離する光分離面と、前記近傍領域からの光と前記周辺領域からの光とを独立して検出する検出器とを有し、前記近傍領域からの光を検出した前記検出器が生成する第1のデータと、前記周辺領域からの光を検出した前記検出器が生成する第2のデータとを用いて、任意のセクショニング分解能のデータを演算する演算手段を更に備えたことを特徴とする。

【0006】

また、前記演算には、前記第1のデータと、前記第2のデータとの重み付け和の演算が含まれることが望ましい。

また、前記第1のデータの重み係数を1とすると、前記第2のデータの重み係数 α は、 $1 \geq \alpha$ の範囲に設定されるとよい。

【0007】

また、前記演算には、前記第1のデータを、前記第2のデータで除する演算が含まれてもよい。

また、前記光分離面は、前記近傍領域からの光を受ける円形の第1面と、前記周辺領域からの光を受ける第2面とを有し、前記光学部材は、前記周辺領域からの光の光路に対し直列の関係で複数の前記光分離面を配置しており、前記複数の光分離面の間では、後段に配置されたもののほど前記第1面の径が大きく設定されるとよい。

また、前記検出手段は、複数の前記検出器を備えてもよい。

また、前記検出手段は、前記第1のデータを検出する第1の検出器と、前記第2のデータを検出する第2の検出器とを有してもよい。

【0008】

本発明によれば、共焦点顕微鏡の構成をシンプルに抑えながらセクショニング分解能の変更の自由度を高めることのできる共焦点顕微鏡装置が実現する。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】第1実施形態の共焦点顕微鏡システムの構成図である。

【図2】第1実施形態の検出部10を説明する図である。

【図3】回路部21及びコンピュータ22による検出信号 s_a 、 s_b の処理を説明する図である。

【図4】指定分解能、重み係数 α 、画像データDの関係を示す図である。

【図5】(A)、(B)は、 $r_b = 3r_a$ の設定下で取得された各画像データに反映され

10

20

30

40

50

ている情報を示す図である。(C)は、 $rb = 3ra$ の設定下で取得された積($Da \cdot Db$)に反映されている情報を示す図であり、(D)は、 $rb = 3ra$ の設定下で取得された商(Da / Db)に反映されている情報を示す図である。

【図6】(A)、(B)は、 $rb = 4ra$ の設定下で取得された各画像データに反映されている情報を示す図である。(C)は、 $rb = 4ra$ の設定下で取得された積($Da \cdot Db$)に反映されている情報を示す図であり、(D)は、 $rb = 4ra$ の設定下で取得された商(Da / Db)に反映されている情報を示す図である。

【図7】検出部10の変形例を示す図である。

【図8】検出部10の別の変形例を示す図である。

【図9】検出部10のさらに別の変形例を示す図である。

【図10】第2実施形態の検出部10を説明する図である。

【図11】第2実施形態において $\alpha = +0.8$ 、 $\beta = -1.6$ の設定下で取得された画像データDに反映されている情報を示す図である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0010】

〔第1実施形態〕

本発明の第1実施形態を説明する。本実施形態は、共焦点顕微鏡システムの実施形態である。

図1は、本システムの構成図である。図1に示すように、本システムには、共焦点顕微鏡の構成要素として、光源11、照明用レンズ12、フィルタ13、ダイクロイックミラー14、ガルバノミラー15、対物レンズ16、フィルタ17、集光レンズ18、検出部10などが備えられる。また、本システムには、共焦点顕微鏡を駆動制御するために、回路部21、コンピュータ22なども備えられる。なお、コンピュータ22には、モニタ23、及び入力器24が接続されると共に、本システムを動作させるために必要なプログラムが、インターネットや記録媒体を介して予めインストールされている。

【0011】

本システムにおいて、光源11から射出した照明光は、照明用レンズ12、フィルタ13、ダイクロイックミラー14、ガルバノミラー15、対物レンズ16を介して試料0上に集光する。その集光点にて発生した観察光束は、対物レンズ16、ガルバノミラー15、ダイクロイックミラー14、フィルタ17、集光レンズ18を介して検出部10へ入射する。検出部10は、入射した観察光束に基づき、試料0上の集光点の情報を取得する。

【0012】

ガルバノミラー15が駆動されると、試料0上を集光点が二次元走査するので、検出部10は、その期間に発生した観察光束に基づき、試料0の二次元情報(顕微鏡画像の情報)を取得することができる。

図2は、本実施形態の検出部10を説明する図である。図2に示すように、検出部10には、マスク部材101と、2つの光検出器102a、102bとが備えられる。

【0013】

マスク部材101は、観察光束に対し透明な基板上に、適当なパターンの反射膜等を形成したものである。このマスク部材101が配置されるのは、集光レンズ18の焦点近傍である。このマスク部材101上に、ピンホールマスク10A、反射面10R、及びピンホールマスク10Bが形成されている。

ピンホールマスク10Aは、共焦点絞り面、すなわち、集光レンズ18の焦点深度内の略中央の面に、傾斜した姿勢で配置される。ピンホールマスク10Aの入射側のマスク面は、反射面になっている。よって、ピンホールマスク10Aに入射した観察光束のうち、ピンホール10a内に集光する観察光束は、ピンホールマスク10Aを透過し、ピンホール10aの周辺に入射した観察光束は、ピンホールマスク10Aで反射する。

【0014】

反射面10Rは、ピンホールマスク10Aで反射した観察光束を受ける位置に、ピンホールマスク10Aの反射面と平行に配置されており、その観察光束を反射する働きをする

10

20

30

40

50

。

ピンホールマスク10Bは、反射面10Rで反射された観察光束を受ける位置に、ピンホールマスク10Aと中心が一致するように配置される。集光レンズ10の焦点深度は十分に深く、ピンホールマスク10Aからピンホールマスク10Bまでの光路に比して十分長いため、このピンホールマスク10Bの配置箇所も、集光レンズ10の焦点深度内に収まっている。ピンホールマスク10Bのピンホール10bの径 r_b は、ピンホールマスク10Aのピンホール10aの径 r_a よりも大きく、径 r_a の2倍($r_b = 2r_a$)に設定される。ピンホールマスク10Bに入射した観察光束のうち、ピンホール10b内に入射する観察光束は、そのピンホールマスク10Bを透過し、ピンホール10bの周辺に入射した観察光束は、そのピンホールマスク10Bでカットされる。

10

【0015】

なお、図2の左部には、観察光束の断面、ピンホール10a、ピンホール10bの大凡の大小関係を示した。

以上のマスク部材101によれば、集光レンズ18からの観察光束が、「ピンホール10aに入射した観察光束」と、「ピンホール10aには入射せずにピンホール10bに入射した観察光束」との2種類に分離される。つまり、「共焦点絞り面の中央の円形領域に入射した観察光束」と、「前記円形領域の周りのドーナツ状領域に入射した観察光束」との2種類に分離される。そして、前者の光量は、光検出器102aによって検出され、後者の光量は、光検出器102bによって検出される。つまり、2種類の観察光束は、同時かつ個別に検出される。

20

【0016】

これらの光検出器102a、102bは、上述した二次元走査中に連続的に駆動され、検出信号 s_a 、 s_b を繰り返し生成する。それらの検出信号 s_a 、 s_b は、本システムの回路部21へ逐次取り込まれる。

図3は、回路部21及びコンピュータ22による検出信号 s_a 、 s_b の処理を説明する図である。図3に示すとおり、回路部21には、検出信号 s_a 、 s_b を並列処理するために、2つのI/V変換器21a、21bと、2つのA/D変換器21a'、21b'とが備えられる。また、コンピュータ22には、CPU221、記憶部(RAM、ハードディスク等)222、画像ボード223、I/F回路224などが備えられる。このうち、画像ボード223には、少なくとも2つのフレームメモリ M_a 、 M_b が備えられる。

30

【0017】

さて、一方の検出信号 s_a は、I/V変換器21a、A/D変換器21a'を順に介してフレームメモリ M_a へ逐次取り込まれる。CPU221は、フレームメモリ M_a 上の1フレーム分の検出信号 s_a に基づき、試料0の顕微鏡画像を示す画像データ D_a を作成し、記憶部222に格納する。この画像データ D_a の基となったのは、共焦点顕微鏡の小さい方のピンホールに集光した観察光束である。よって、画像データ D_a は、図3の上部に示すとおり、試料0中のピント位置近傍の層(特定層)の情報を多く含む。

【0018】

また、他方の検出信号 s_b は、I/V変換器21b、A/D変換器21b'を順に介してフレームメモリ M_b へ逐次取り込まれる。CPU221は、フレームメモリ M_b 上の1フレーム分の検出信号 s_b に基づき、試料0の顕微鏡画像を示す画像データ D_b を作成し、記憶部222に格納する。この画像データ D_b の基となったのは、共焦点顕微鏡の小さい方のピンホールに集光せずに大きい方のピンホールに入射した観察光束である。よって、画像データ D_b は、図3の上部に示すとおり、試料0中の特定層の周辺の層(周辺層)の情報を多く含む。

40

【0019】

ここで、本システムのオペレータは、画像データ D_a 、 D_b の取得前や取得後の所望のタイミングで、コンピュータ22に対しセクショニング分解能を指定することができる。その分解能の指定は、入力器24を介して行われる。

オペレータが指定できるのは、例えば、「高」から「低」までの範囲内の任意の分解能

50

である。その指定内容（指定分解能）は、I/F回路224を経由してCPU221によって認識される。CPU221は、指定分解能に応じた演算を画像データDa, Dbに施して画像データDを作成し、それをモニタ23へ表示させる。

【0020】

その作成のための演算は、画像データDa, Dbのピクセル毎の重み付け和であり、例えば、次式(1)で表される。

$$D = D_a + \alpha \cdot D_b \quad \dots (1)$$

そして、式(1)中の重み係数 α は、指定分解能に応じた値に設定される。重み係数 α の採り得る範囲は、例えば、 $+1 \geq \alpha \geq -1$ である。指定分解能が高いほど重み係数 α は -1 に近い値に設定され、指定分解能が低いほど重み係数 α は $+1$ に近い値に設定される。

10

【0021】

但し、重み係数 α が負に設定されたときには、作成された画像データDの一部のピクセル値が負になる可能性がある。その場合、負となったピクセル値は「0」に置き換えられるとよい。また、作成された画像データDは、表示画像のダイナミックレンジを超過する可能性があるので、ダイナミックレンジに適合するよう、その表示前に変換される必要がある。

【0022】

例えば、CPU221は、画像データDのうち、ダイナミックレンジを超過するピクセルについては、そのピクセル値を無視してダイナミックレンジの最大値(16ビットなら

20

65535)に置換する。
或いは、CPU221は、画像データDの全体を、ダイナミックレンジに適合するように、規格化する。因みに、その場合は、画像データDを作成するときに、上式(1)に代えて下式(2)を用いればよい。下式(2)は、重み付け平均の式である。

【0023】

$$D = (D_a + \alpha \cdot D_b) / (1 + \alpha) \quad \dots (2)$$

図4は、指定分解能、重み係数 α 、画像データDの関係を示す図である。図4では、「高」, 「中」, 「低」を含む7種類の指定分解能に関するデータを代表して示した。また、図4では、そのデータと共に、本システムに設定された仮想的な共焦点絞りの径の概念を示した。

30

【0024】

まず、指定分解能が「中」であるときには、重み係数 α は「0」に設定される。その場合、画像データDは、特定層の情報を多く含む画像データDaと同じになる。したがって、画像データDのセクショニング分解能は、特定層の厚さ程度になる。これは、本システムの仮想的な共焦点絞りの径を、「ra」(=小さい方のピンホールの径)に設定したことに相当する。

【0025】

また、指定分解能が「高」であるときには、重み係数 α は「-1」に設定される。その場合、画像データDは、特定層の情報を多く含む画像データDaから、周辺層の情報を多く含む画像データDbを減算したものとなる。その減算により、周辺層の情報(顕微鏡画像上でボケとなって現れる成分)を、データのS/Nを保ったまま差し引くことができ、画像データDのセクショニング分解能は、特定層よりも薄くなる。

40

【0026】

また、指定分解能が「低」であるときには、重み係数 α は「+1」に設定される。その場合、画像データDは、特定層の情報を多く含む画像データDaと、周辺層の情報を多く含む画像データDbとを加算したものとなる。したがって、画像データDのセクショニング分解能は、特定層と周辺層との合計の厚さになる。これは、本システムの仮想的な共焦点絞りの径を、「rb」(=大きい方のピンホールの径)に設定したことに相当する。

【0027】

また、指定分解能が「高」と「中」との間であるときには、重み係数 α は「-1」と「

50

0」との間の値（ -0.75 ， -0.5 など）に設定される。このとき、画像データDのセクショニング分解能は、指定分解能が「高」のときと指定分解能が「中」のときとの間の分解能になる。

また、指定分解能が「中」と「低」との間であるときには、重み係数 α は「0」と「1」との間の値（ $+0.5$ ， $+0.75$ など）に設定される。このとき、画像データDのセクショニング分解能は、指定分解能が「中」のときと、指定分解能が「低」のときとの間の分解能になる。これは、本システムの仮想的な共焦点絞りの径を、 r_a と r_b との間に設定した場合と類似の分解能に相当する。

【0028】

すなわち、本システムは、オペレータからの指示に従い、仮想的な共焦点絞りの径を、 $r_a' \sim r_b$ の範囲内で自在に変化させることと類似の操作ができる。

（第1実施形態の効果）

以上説明したとおり、本システムでは、共焦点顕微鏡が実測した画像データは、セクショニングの異なる画像データ D_a ， D_b の2種類のみである。したがって、検出部10に必要なピンホールマスクの数は「2」であり、その構成はシンプルである（図2参照）。

【0029】

このように、セクショニングの異なる2つの観察光束、すなわち「共焦点絞り面の中央の円形領域に入射した観察光束」と、「この円形領域の周りのドーナツ状領域（或いはその円形領域を包含する広い円形領域）に入射した観察光束」とをもとにすれば、演算によりセクショニング分解能の異なる画像データを求めることができる。

したがって、本システムでは、セクショニング分解能を変化させる際、共焦点顕微鏡は何ら動作することなく、コンピュータ22の演算上で仮想的な共焦点絞りの径を変化させるだけである。したがって、オペレータは、セクショニング分解能を任意のタイミングで任意に変化させることができる。また、セクショニング分解能の変更の際、試料0に対し照明光を改めて照射する必要がないので、試料0にダメージを与えることはない。

【0030】

しかも、2種類の画像データ D_a ， D_b は、並行して取得されるので、試料0に対する照明光の照射量は必要最小限に抑えられ、試料0のダメージも必要最小限に抑えることができる。

また、本システムの仮想的な共焦点絞りの径の可変範囲は $r_a' \sim r_b$ であり、その下限値 r_a' は、共焦点顕微鏡に実際に備えられた小さい方のピンホールの径 r_a よりも小さい（図4参照）。これは、演算式（式（1）又は式（2））中の重み係数 α の採り得る範囲に、負の範囲（ $\alpha < 0$ ）を含めたからである。したがって、共焦点顕微鏡の単体が保有している能力よりも高いセクショニング分解能が実現する。

【0031】

また、演算式（式（1）又は式（2））は、単純な重み付け和の式又は重み付け平均の式なので、コンピュータ22は、仮想的な共焦点絞りの径を極めて短時間のうちに変化させることができる。したがって、本システムでは、モニタ23上に顕微鏡画像を表示させながら、そのセクショニング分解能をリアルタイムで変化させることも可能である。

（ピンホール径の変形例）

本実施形態では、大きい方のピンホールの径 r_b を、小さい方のピンホールの径 r_a の2倍に設定したが、他の倍率に設定してもよい。但し、径 r_b は径 r_a の4倍よりも小さいことが望ましい。以下、3倍であるときと4倍であるときとの相違を説明する。

【0032】

図5（A），（B）は、 $r_b = 3r_a$ の設定下で取得された各画像データに反映されている情報を示す図（試料の深さ位置－反映光量の相対値）である。カーブの幅が狭いほどセクショニング分解能が高く、カーブの高さが高いほど明るいことを示している。図5（A）の $D(\alpha: +1)$ ， $D(\alpha: +0.5)$ は、 $\alpha = +1$ ， $\alpha = +0.5$ のときの画像データDのカーブであり、図5（B）の $D(\alpha: -1)$ ， $D(\alpha: -0.5)$ は、 $\alpha = -1$ ， $\alpha = -0.5$ のときの画像データDのカーブである。

【0033】

図5 (A), (B) を参照すると、画像データ D_a には試料0の特定層の情報が多く含まれており、画像データ D_b にはその周辺層の情報が多く含まれていることがわかる。そして、画像データ $D(\alpha: +1)$, $D(\alpha: +0.5)$, $D(\alpha: -1)$, $D(\alpha: -0.5)$ のカーブは、何れも或る程度の幅と高さを持っていることがわかる。また、これらのカーブ $D(\alpha: +1)$, $D(\alpha: +0.5)$, $D(\alpha: -1)$, $D(\alpha: -0.5)$ の幅を比較すると、明確な差異が生じていることもわかる。

【0034】

したがって、 $rb = 3ra$ の設定は、セクショニング分解能を各種に変更するのに適していることがわかる。

10

一方、図6 (A), (B) は、 $rb = 4ra$ の設定下で取得された各画像データに反映されている情報を示す図である。図6 (A), (B) の表示方法は、図5 (A), (B) におけるそれと同じである。

【0035】

図6 (A), (B) を参照すると、画像データ $D(\alpha: +0.5)$ のカーブは、中央部が他の部分と比較して尖り過ぎていることがわかる。また、画像データ $D(\alpha: -1)$, $D(\alpha: -0.5)$ のカーブは、急峻過ぎると共に、両者の幅を比較しても明確な差異が生じていないことがわかる。

したがって、 $rb = 4ra$ の設定は、セクショニング分解能を各種に変更するのにあまり適さないことがわかる。

20

【0036】

すなわち、セクショニング分解能を様々に変更するためには、 $rb < 4ra$ と設定する必要がある。特に、本実施形態のように $rb = 2ra$ と設定すれば、指定分解能と重み係数 α との関係がシンプルになる（すなわち、指定分解能に応じて重み係数 α を $-1 \sim +1$ の範囲でシフトすればよい）という利点もある。

（演算内容の変形例）

本実施形態 ($rb = 2ra$ の場合) では、重み係数 α の採り得る範囲の上限を「 $+1$ 」としたが、 $+1$ よりも大きくして範囲を拡大してもよい。

【0037】

因みに、仮想的な共焦点絞りに設定される径のサイズと、重み係数 α との関係は、径 ra , rb の間の関係によって異なるので、指定分解能と重み係数 α との関係は、径 ra , rb の間の関係に応じて適切に設定される必要がある。

30

また、本実施形態では、画像データ D を作成するに当たり、画像データ D_a , D_b の重み付き和を求めたが（式 (1), (2) 参照）、画像データ D_a , D_b の積 ($D_a \cdot D_b$) や、画像データ D_a , D_b の商 (D_a / D_b) を求め、それらを画像データ D の作成に使用してもよい。

【0038】

図5 (C) は、 $rb = 3ra$ の設定下で取得された積 ($D_a \cdot D_b$) に反映されている情報を示す図であり、図5 (D) は、 $rb = 3ra$ の設定下で取得された商 (D_a / D_b) に反映されている情報を示す図である。

40

このうち、特に、商 (D_a / D_b) のカーブ（図5 (D)）は、図5 (B) に示した画像データ $D(\alpha: -1)$ のカーブと似ている。よって、本実施形態では、画像データ $D(\alpha: -1)$ の代わりに、商 (D_a / D_b) を使用することも可能である。

【0039】

但し、商 (D_a / D_b) をそのまま画像データ D として使用すると、画像データ D の一部のピクセル値が異常値になる可能性がある。それを防ぐため、画像データ D_b において特に値の小さかったピクセル（例えば、最大値の10分の1未満）に限り、商 (D_a / D_b) の代わりに、画像データ D_a のピクセル値をそのまま用いることにすればよい。

因みに、図6 (C) は、 $rb = 4ra$ の設定下で取得された積 ($D_a \cdot D_b$) に反映されている情報を示す図であり、図6 (D) は、 $rb = 4ra$ の設定下で取得された商 (D

50

a/D b) に反映されている情報を示す図である。このうち、図 6 (D) を参照すると、 $r b = 4 r a$ の設定下であっても、商 (D a/D b) のカーブは、形状が良好であることがわかる。よって、 $r b = 4 r a$ の設定下であっても、商 (D a/D b) については、セクショニング分解能の高い画像データ D として利用できる可能性がある。

【0040】

また、本実施形態においては、コンピュータ 22 内で行われた演算の一部又は全部を、回路部 21 に行わせてもよい（その場合、回路部 21 内に加算器や乗算器が備えられる）。但し、何れも場合も、実測した画像データ D a, D b を演算処理前に個別に記憶しておき、それを必要なときにのみ演算処理する方が、演算内容を自由に変更できるという利点がある。

10

【0041】

（検出部 10 の変形例）

検出部 10 は、図 7 に示すとおり変形されてもよい。図 7 は、本変形例の検出部 10 を説明する図である。この検出部 10 にも、径の小さいピンホールマスク 10 A と、径の大きいピンホールマスク 10 B と、2 つの光検出器 102 a, 102 b が備えられる。

ピンホールマスク 10 A は、第 1 実施形態のそれと同様に、集光レンズ 18 の焦点深度内の略中央の面に傾斜した姿勢で配置される。また、ピンホールマスク 10 A の入射側のマスク面は、第 1 実施形態のそれと同様に、反射面になっている。

【0042】

一方、ピンホールマスク 10 B は、ピンホールマスク 10 A の反射光路上、かつピンホールマスク 10 A から離れた位置に配置されている。但し、ピンホールマスク 10 B は、レンズ 19 により、ピンホールマスク 10 A と略共役な関係に結ばれている。

20

そして、ピンホールマスク 10 A を透過した観察光束の光量は、光検出器 102 a によって検出され、ピンホールマスク 10 B を透過した観察光束の光量は、光検出器 102 b によって検出される。

【0043】

（検出部 10 の変形例）

検出部 10 は、図 8 に示すとおり変形されてもよい。図 8 は、本変形例の検出部 10 を説明する図である。この検出部 10 にも、マスク部材 101 と、2 つの光検出器 102 a, 102 b とが備えられる。

30

マスク部材 101 は、観察光束に対し透明な基体上に、適当なパターンの反射膜等を形成したものである。このマスク部材が配置されるのは、集光レンズ 18 の焦点近傍である。

【0044】

マスク部材 101 には、径の小さいピンホールマスク 10 A と、径の大きいピンホールマスク 10 B とが形成されている。

ピンホールマスク 10 A は、集光レンズ 18 の焦点深度内の略中央の面に傾斜した姿勢で配置される。ピンホールマスク 10 A の入射側のマスク面は、反射面になっている。ピンホールマスク 10 B は、ピンホールマスク 10 A で反射した観察光束を受ける位置に配置されている。ピンホールマスク 10 B の配置箇所も、集光レンズ 18 の焦点深度内に収められている。

40

【0045】

そして、ピンホールマスク 10 A を透過した観察光束の光量は、光検出器 102 a によって検出され、ピンホールマスク 10 B を透過した観察光束の光量は、光検出器 102 b によって検出される。

（検出部 10 の変形例）

検出部 10 は、図 9 に示すとおりに変形されてもよい。図 9 は、本変形例の検出部 10 を説明する図である。この検出部 10 は、図 2 に示した検出部においてピンホールマスク 10 B を省略したものである。但し、この検出部 10 においては、 $r b \geq 4 r a$ なので、セクショニング分解能の変更よりも、共焦点モードと非共焦点モードとの切り替えが主な

50

働きとなる。因みに、その切り替えは、重み係数 α を 0 と 1 との間で切り替えることで実現する。

【0046】

(検出部 10 のその他の変形例)

さらに、検出部 10 には、2 種類の観察光束の光量を個別に検出できるのであれば、図 7, 図 8, 図 9 に示したものの以外の検出部を適用することもできる。例えば、2 種類の観察光束の検出に 1 つの光検出器を共用するタイプの検出部なども適用可能である。

さらには、径が可変の共焦点絞りをを用いた検出部や、複数種類のピンホール部材を切り替え配置する検出部なども適用可能である。但し、これらの検出部では、2 種類の観察光束を同時検出することはできないので、試料 0 に対する照明光の照射量は増える。

10

【0047】

また、径が可変の共焦点絞りをを用いた場合や、径の異なるピンホール部材を切り替え配置する場合(つまり、共焦点絞りの径を変化させる場合)は、直接の検出対象となる 2 光束が、上述した実施形態や変形例における 2 光束とは若干異なる。

すなわち、上述した実施形態や変形例では、検出対象が、「共焦点絞り面の中央の円形領域に入射した観察光束」と、「前記円形領域の周りのドーナツ状領域に入射した観察光束」との 2 光束であったのに対し、共焦点絞りの径を変化させる場合は、光量の検出対象が、「共焦点絞り面の中央の円形領域に入射した観察光束」と、「その円形領域を包含する広い円形領域に入射した観察光束」との 2 光束になる。

【0048】

20

したがって、演算内容もそれに対応したものとなる。例えば、共焦点絞りの径を r_a と r_b ($r_b = 2r_a$) とに変化させた場合、径を r_a に設定して取得した画像データを D_a とおき、径を r_b に設定して取得した画像データを D_b' とおくと、 $2D_a - D_b'$ により、 r_a より小さな径の仮想的な共焦点絞りでの共焦点画像を得ることができる。

[第 2 実施形態]

本発明の第 2 実施形態を説明する。本実施形態も、共焦点顕微鏡システムの実施形態である。ここでは、第 1 実施形態との相違点のみ説明する。相違点は、実測される画像データの数が「2」から「3」に拡張された点にある。

【0049】

図 10 は、本実施形態の検出部 10 を説明する図である。図 2 に示した検出部との主な相違点は、ピンホールマスク 10C 及び光検出器 102c が追加された点にある。

30

マスク部材 101 において、ピンホールマスク 10B の入射側のマスク面は、反射面になっている。また、ピンホールマスク 10C とピンホールマスク 10B との配置関係は、ピンホールマスク 10B とピンホールマスク 10A との配置関係と同じである。また、ピンホールマスク 10C の配置箇所は、ピンホールマスク 10A, 10B と共に、集光レンズ 18 の焦点深度内に収まっている。

【0050】

ピンホールマスク 10B のピンホール 10b の周辺に入射した観察光束は、ピンホールマスク 10B で反射し、反射面 10R を介してピンホールマスク 10C へ向かう。ピンホールマスク 10C のピンホール 10c の径 r_c は、ピンホール 10b の径 r_b よりも大きく、例えば $r_c = 2r_b$ である。

40

したがって、ピンホールマスク 10C に入射した観察光束のうち、ピンホール 10c 内に入射する観察光束は、そのピンホールマスク 10C を透過し、ピンホール 10c の周辺に入射した観察光束は、そのピンホールマスク 10C でカットされる。

【0051】

図 10 の左部には、観察光束の断面、ピンホール 10a、ピンホール 10b、ピンホール 10c の大凡の大小関係を示した。

このマスク部材 101 によれば、集光レンズ 18 からの観察光束が、「ピンホール 10a に入射した観察光束」と、「ピンホール 10a には入射せずにピンホール 10b に入射した観察光束」と、「ピンホール 10a, 10b には入射せずにピンホール 10c に入射

50

した観察光束」との3種類に分離される。そして、それら3種類の観察光束の光量は、光検出器102a, 102b, 102cによって同時かつ個別に検出される。

【0052】

これらの光検出器102a, 102b, 102cが個別に生成する検出信号sa, sb, scは、回路部へ逐次取り込まれる。図示省略したが、本実施形態では、検出信号の種類数が「2」から「3」に拡張されたので、回路部内のI/V変換器、A/D変換器、及びコンピュータ内のフレームメモリの数も、「2」から「3」に拡張される。そして、本実施形態のコンピュータは、検出信号sa, sbに基づき画像データDa, Dbを作成したのと同様に、検出信号scに基づき画像データDcを作成する。

【0053】

ここで、本システムのオペレータは、画像データDa, Db, Dcの取得前や取得後の所望のタイミングで、本システムのコンピュータに対し、セクショニング分解能と明るさを指定することができる。

コンピュータは、指定された分解能及び明るさに応じた演算を、3種類の画像データDa, Db, Dcに施して画像データDを作成し、それをモニタへ表示させる。

【0054】

ここで、画像データDを作成するための演算は、画像データDa, Db, Dcのピクセル毎の重み付け和であり、例えば、次式(3)で表される。

$$D = Da + \alpha \cdot Db + \beta \cdot Dc \quad \cdots (3)$$

そして、式(3)中の重み係数 α , β の組み合わせは、指定された分解能及び明るさに応じて設定される。例えば、重み係数 α を正の値、重み係数 β を負の値に設定し、かつ、それらの大きさを適切に設定すると、セクショニング分解能を高くし、しかもピント位置(特定層)を明るく表現することが可能である。

【0055】

図11は、本実施形態において $\alpha = +0.8$, $\beta = -1.6$ の設定下で取得された画像データに反映されている情報を示す図である。図11の表記方法は図5のそれと同じである。

図11を参照すると、画像データDのカーブの幅は、画像データDaのそれよりも狭く、画像データDのカーブの高さは、画像データDaのそれと同等であることがわかる。したがって、画像データDは、セクショニング分解能が画像データDaのそれよりも高く、しかも、特定層が画像データDaにおけるそれと同程度に明るく表現されることがわかる。

【0056】

このように、本実施形態では、実測する画像データが1つ増えたので、画像データDを作成するときのパラメータ(重み係数)が1つ増える。その結果、画像データDのセクショニング分解能と特定層の明るさとの双方を、演算で制御することが可能になった。

(演算内容の変形例)

本実施形態のコンピュータは、オペレータからの指示に応じて重み係数 α , β の組み合わせを設定したが、セクショニング分解能や明るさの変更の自由度を高くする必要が無い場合は、その自由度を意図的に制限してもよい。自由度を制限する場合の例は、以下のとおりである。

【0057】

< $\alpha = +1$ に固定する>

この場合、式(3)は、 $D = (Da + Db) + \beta \cdot Dc$ となり、第1項は不変、第2項のみが可変となる。これは、第1実施形態において2つのピンホールの径をrb, rcに設定した場合に相当する。すなわち、仮想的な共焦点絞りの径は、rb, rcの周辺で可変となる。

【0058】

< $\beta = 0$ に固定する>

この場合、式(3)は、 $D = Da + \alpha \cdot Db$ となる。これは、第1実施形態と同じ場合

10

20

30

40

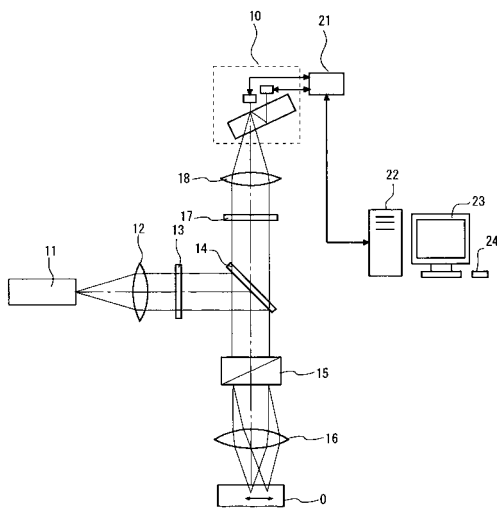
50

に相当する。すなわち、仮想的な共焦点絞りの径は、 r_a 、 r_b の周辺で可変となる。

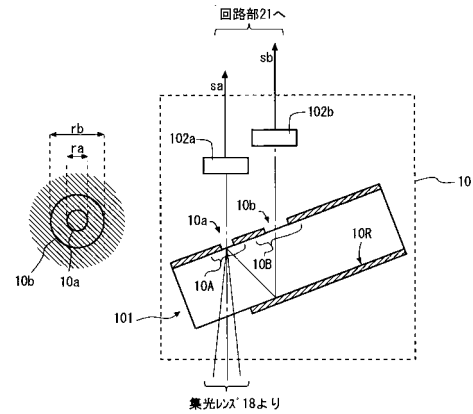
< $\alpha = \beta$ とする>

この場合、式(3)は、 $D = D_a + \alpha \cdot (D_b + D_c)$ となり、第1項は不変、第2項のみが可変となる。これは、第1実施形態において2つのピンホールの径を r_a 、 r_c に設定した場合に相当する。すなわち、仮想的な共焦点絞りの径は、 r_a 、 r_c の周辺で可変となる。

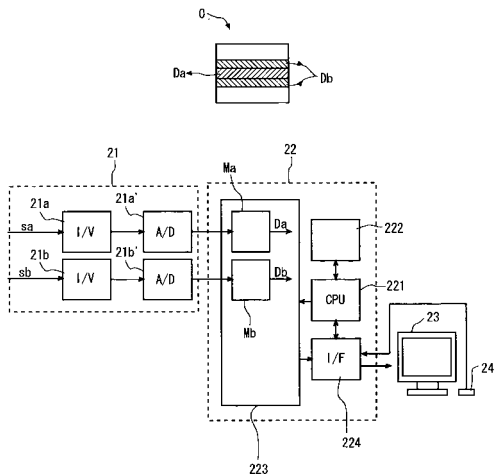
【図1】



【図2】



【図 3】

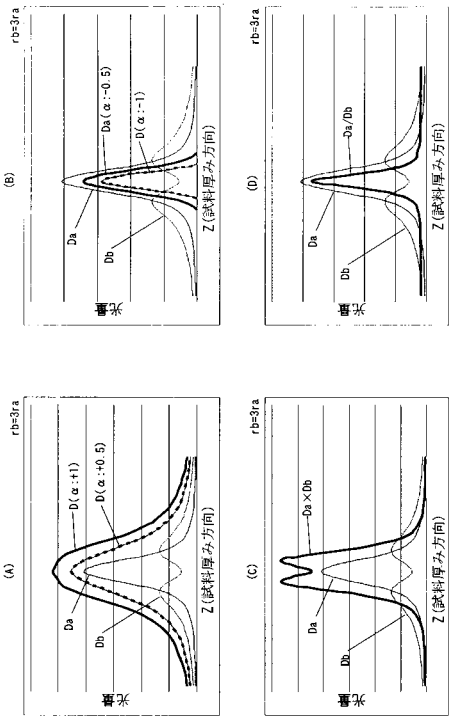


【図 4】

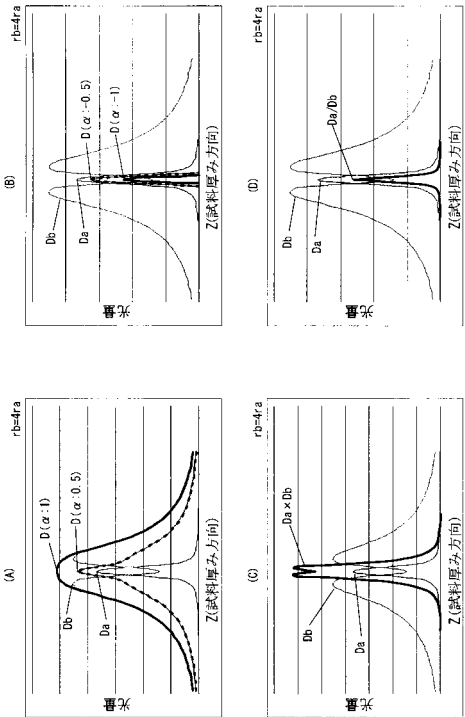
指定分解能	高	...	中	...	...	低
重み係数 α	-1	-0.75	-0.5	+0.5	+0.75	+1
作成画像 $D = Da + \alpha Db$						
仮想共焦点 絞り径	ra					rb

演算式: $D = Da + \alpha Db$

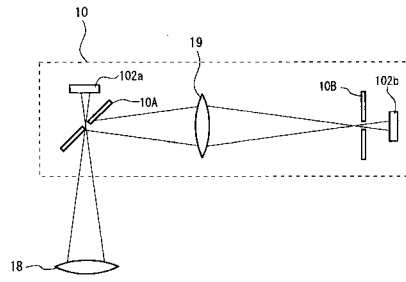
【図 5】



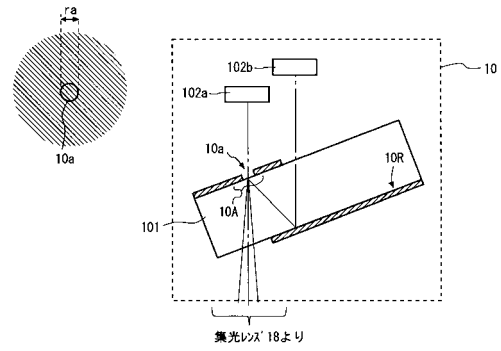
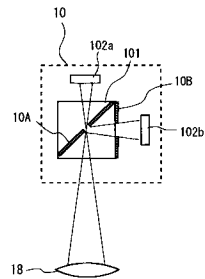
【図 6】



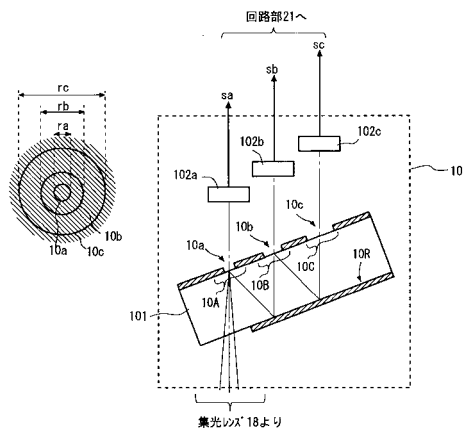
【图 9】



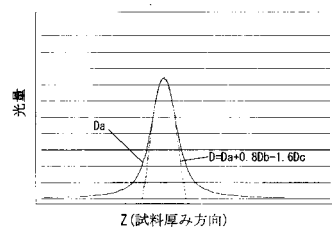
【図 8】



【図 10】



【例 1 1】



フロントページの続き

(56)参考文献 特表2002-517774 (JP, A)
特表2001-526792 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G02B 21/00