

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2011-507007

(P2011-507007A)

(43) 公表日 平成23年3月3日(2011.3.3)

(51) Int.Cl.

G02B 21/06 (2006.01)
G02B 21/36 (2006.01)
G02B 3/00 (2006.01)
G01B 11/24 (2006.01)

F 1

GO2B 21/06
GO2B 21/36
GO2B 3/00
GO1B 11/24

テーマコード(参考)

2FO65
2HO52

A
K

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 17 頁)

(21) 出願番号 特願2010-534586 (P2010-534586)
(86) (22) 出願日 平成20年11月19日 (2008.11.19)
(85) 翻訳文提出日 平成22年5月19日 (2010.5.19)
(86) 國際出願番号 PCT/IB2008/054860
(87) 國際公開番号 WO2009/066252
(87) 國際公開日 平成21年5月28日 (2009.5.28)
(31) 優先権主張番号 07301570.3
(32) 優先日 平成19年11月23日 (2007.11.23)
(33) 優先権主張国 歐州特許庁 (EP)

(71) 出願人 590000248
コーニングクレッカ フィリップス エレクトロニクス エヌ ヴィ
オランダ国 5621 ベーアー アインドーフェン フルーネヴァウツウェッハ
1
(74) 代理人 100114753
弁理士 宮崎 昭彦
(72) 発明者 ストーリング スジョエルド
オランダ国 5656 アーエー アインドーフェン ハイ テック キャンパス
44 フィリップス アイピー アンド エスーエヌエル

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】多焦点スポット生成器及び多焦点マルチ・スポット走査顕微鏡

(57) 【要約】

入射光ビームを受けるための入射面12及び光ビームを伝送するための出射面14を持つスポット生成器10を提供し、前記入射面は入口側16を規定し、前記出射面は出口側18を規定し、当該スポット生成器は、複数の別々の光スポットを出口側に生成するために入射光ビームを変調するように設計される。本発明によると、複数の光スポットは、第1の焦点面24に生成される第1の光スポット22及び第2の焦点面28に生成される第2の光スポット26を有し、第1の焦点面及び第2の焦点面は、出射光ビームの平均伝播方向に対して基本的に垂直であり、第1の光スポット22は、出射光ビームの平均伝播方向に基本的に垂直な平面上に、その位置の投射において、スポット生成器により出口側に生成される他の何れの光スポットとは異なる。好適には、別々の複数の光スポットの光スポットは同一のスペクトルを持つ。本発明は更に、マルチ・スポット走査顕微鏡及び顕微鏡サンプルのイメージを生成する方法に関係する。好適には、本方法は、サンプルの3次元画像を生成するステップを有する。

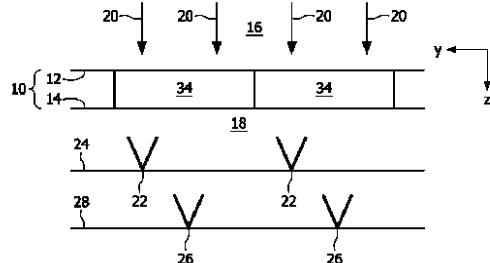


FIG. 5

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

入射光ビームを受けるための入射面及び前記入射光ビームを伝送するための出射面を持つスポット生成器であって、前記入射面は入口側を規定し、前記出射面は出口側を規定し、当該スポット生成器は、複数の別々の光スポットを前記出口側に生成するために前記入射光ビームを変調し、複数の光スポットは、第1の焦点面に生成される第1の光スポット及び第2の焦点面に生成される第2の光スポットを有し、第1の焦点面及び第2の焦点面は、出射光ビームの平均伝播方向に対して基本的に垂直であり、第1の光スポットは、前記出射光ビームの平均伝播方向に基本的に垂直な平面上に、その位置の投射において、前記スポット生成器により前記出口側に生成される他の何れの光スポットとは異なるように設計された、スポット生成器。

10

【請求項 2】

前記入射面及び前記出射面は、スポット生成器の対向し合う側にある、請求項1に記載のスポット生成器。

【請求項 3】

前記入射面及び出射面が同一である、請求項1に記載のスポット生成器。

【請求項 4】

前記複数の別々の光スポットは、第1の焦点面に位置される第1の複数の別々の光スポットと、第2の焦点面に位置される第2の複数の別々の光スポットとを有する、請求項1に記載のスポット生成器。

20

【請求項 5】

第1の複数の光スポットを生成するための第1の区域と、第2の複数の光スポットを生成するための第2の区域とを有する、請求項4に記載のスポット生成器。

【請求項 6】

第1の複数の光スポット及び第2の複数の光スポットの両方を生成するための複数の同一のユニット・セルを有する、請求項4に記載のスポット生成器。

30

【請求項 7】

前記スポット生成器により出口側に生成されるあらゆる光スポットは、前記出射光ビームの平均伝播方向に対して基本的に垂直な平面のその位置の投射において、前記スポット生成器により出口側に生成される何れの他の光スポットとも異なる、請求項1に記載のスポット生成器。

【請求項 8】

複数の別々の光スポットの光スポットは、同一のスペクトルを持つ、請求項1に記載のスポット生成器。

【請求項 9】

周期的なバイナリのフェーズ構造体を有する、請求項1に記載のスポット生成器。

【請求項 10】

請求項1に記載のスポット生成器と、前記スポット生成器を介して照明されるべきサンプルを保持するためのサンプル・アセンブリと、前記スポット生成器の第1及び第2の焦点面から光を収集するために配される撮像光学系と、前記撮像光学系により収集された光を検出するために配されるピクセル化された光検出器とを有するマルチ・スポット走査顕微鏡。

40

【請求項 11】

- サンプルの前にスポット生成器を配置するステップと、
- 前記サンプル内に複数の別々の光スポットを生成するために、光ビームを前記スポット生成器に向けるステップであって、前記複数の光スポットは、第1の焦点面に集中した第1の光スポット及び第2の焦点面に集中した第2の光スポットを有し、第1の焦点面及び第2の焦点面は前記スポット生成器を離れる光ビームの平均伝播方向に対して基本的に垂直であり、第1の光スポットは前記スポット生成器を離れる光ビームの前記平均伝播方向に対して基本的に垂直な平面のその位置の投射において、前記スポット生成器により前記

50

サンプル内に生成される他のあらゆる光スポットと異なる当該ステップと、

- 第1の光スポットから光を検出すると共に、第2の光スポットからの光を同時に検出するステップとを有する、顕微鏡サンプルのイメージを生成する方法。

【請求項12】

前記サンプルの3次元画像を生成する追加ステップを更に有する、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記サンプルのフェーズ・コントラスト画像を生成する追加ステップを更に有する、請求項11に記載の方法。

【請求項14】

電子的に合焦する追加ステップを更に有する、請求項11に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、入射光ビームを受けるための入射面及び光ビームを伝送するための出射面を持つスポット生成器に関し、前記入射面は入口側を規定し、前記出射面は出口側を規定し、当該スポット生成器は、複数の別々の光スポットを出口側に生成するために入射光ビームを変調するように設計される。

【0002】

本発明は、上記タイプのスポット生成器と、前記スポット生成器を介して照明されるべきサンプルを保持するためのサンプル・アセンブリと、前記スポット生成器の第1の焦点面及び第2の焦点面から光を収集するために配置される撮像光学系と、撮像光学系により収集される光を検出するように配されるピクセル化された光検出器とを有するマルチ・スポット走査顕微鏡にも関する。

【0003】

本発明は、更に、顕微鏡サンプルのイメージを生成する方法に関する。

【背景技術】

【0004】

光学走査顕微鏡検査は、顕微鏡サンプルの高解像度イメージを供給するための良く確立した技術である。この技術によると、明白な高輝度光源スポットが、サンプル内に生成される。サンプルが光スポットの光を変調するので、光スポットから来る光を検出し分析することで、その光スポットでのサンプルに関する情報を得る。サンプルの十分な2次元又は3次元イメージは、光スポットに関してサンプルの相対的な位置を走査することにより得られる。

【0005】

この用途の全体にわたって、光スポットは、空間領域として定義され、領域にわたって平均される強度（すなわち、ユニットW/m²の光の場の時間的に平均化されたエネルギー束）が、光スポット自身のボリュームよりも少なくとも1桁大きいボリュームを持つ周囲の領域における強度よりも少なくとも2倍大きい。好ましくは、サンプル内に生成された各光スポットは、回折限界である。好ましくは、光スポットの強度は、周囲の領域の強度よりも少なくとも1桁高い。

【0006】

複数の光スポットは、スポット生成器から特定の距離で光スポットを形成するようにスポット生成器により最適に変調される光のコリメートされたビームから通常生成される。従来技術によると、スポット生成器は、屈折又は回折タイプである。屈折スポット生成器は、国際特許公開公報WO2006/035393で提案されるバイナリのフェーズ構造体のようなフェーズ構造体、マイクロレンズアレイのようなレンズシステムを含む。これらのシステムは、よく知られている。従って、スポット生成器はその物理的な構造体により、又は同等に入射単色光の平面波から生成する光スポットによって特徴づけられる。特に、WO2006/035393において提案されるバイナリのフェーズ構造体は、生成

10

20

30

40

50

する光パターンにより、最も容易に特徴づけられる。バイナリのフェーズ構造体の物理的な構造体は概してどちらかというと複雑であるが、WO 2006 / 035393 で概説されるように、実際に、生成する特定パターンから計算できる。

【0007】

サンプル内に生成される光スポットは、何れかの方向から、その方向の光スポットから離れる光を収集することにより撮像される。特に、光スポットは、透過で、すなわち、光スポットを生成する光の平均伝播方向から見て、向こう側がサンプルの後側であるサンプルの当該向こう側で光を検出することにより撮像される。あるいは、光スポットは、反射で、すなわち、光スポットを生成する光の平均伝播方向から見て、手前側がサンプルの前側であるサンプルの当該手前側で光を検出することにより撮像される。共焦点スキャン顕微鏡検査の技術において、光スポットは、光スポットを生成する光学系を介して、すなわちスポット生成器を介して、反射で慣習的に撮像される。

【0008】

米国特許 U.S. 2,48,988 は、対象物を照明する複数の個別に焦束された光スポットのアレイと、各個別のスポットに対する対象物からの光を検出する対応のアレイ検器とを特徴としているマルチ・スポット・スキャン光学顕微鏡を提案する。スポットの行にわざかな角度で前記アレイと対象物との相対的位置を走査することによって、対象物の全体の領域が連続して照明され、ピクセルの帯に撮像できる。このために、スキャン速度は、かなり増大される。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

従来技術において、サンプルの3次元画像は一組の2次元画像から生成され、ここで、各画像はサンプルの予め定められた深度で個別に撮られる。より正確に言うと、2次元画像の各々は、単一の焦点面でサンプルを走査することにより得られ、当該焦点面はサンプル内に光スポットを生成する光の主要な伝播方向に対して垂直に定められる。(少なくともわざかに)異なる方向に進む平面波から成るので、光スポットを生成する光だけが平均伝播方向を持つことに注意されたい。サンプルが走査され、よって画像が第1の焦点面で得られたとき、第1の焦点面に平行な第2の焦点面はスポット生成器とサンプルとの間の距離(すなわち深度)を変えることにより選択され、スキャン・プロセスが繰り返される。深度のスポット位置を変えるために、通常使用する方法は、深度方向、すなわち焦点面と直角をなす方向に沿ってサンプルに関してスポット生成器(例えば対物レンズ)を移動することである。反対に、スポット生成器に関して試料ホルダーを動かすことも知られている。

【0010】

課題は、3次元画像を生成するために、サンプルが新しい焦点面に沿って走査されるべきたびに、スポット生成器とサンプルとの相互の位置が正確に調整されなければならないということである。他の課題は、生きている微生物の場合の様に、サンプルが固定しないとき、異なる焦点面間で連続してスキャンするために必要な時間である。

【0011】

同様の課題は、フェーズ・イメージングの状況において起こる。概して、サンプルは、入射光のフェーズ(光路=屈折率*厚みによる)及び振幅(吸収及び散乱による)両方を修正する。逐次の振幅及びフェーズの変調の変化は、サンプルの顕微鏡的なイメージにコントラストを生成する。従来の透過顕微鏡検査は、振幅変調だけに影響される。しかしながら、フェーズ変調は例えば生物学的サンプルについて非常に関連した情報を提供するので、フェーズ映像技術はしばしば有利である。斯様な技術、例えばゼルニケのフェーズ・コントラスト技術が存在する。焦点がずれた光がフェーズ情報を提供することがずっと前から知られていた(C.J.R.シェパードによる、「フェーズ検索に対するパーシャルコヒーレント顕微鏡及びアプリケーションのための焦点ずれ伝達関数」、アメリカAの光学会ジャーナル、第21巻、pp. 828-831, 2004)。この洞察を使用する最

近の試みは、いわゆる定量的フェーズ映像技術であり、これは I A T I A (<http://www.iatia.com.au>) により商業化されている。この技術 (WO 00 / 26622 を参照)によると、2つの近くの焦点面（通常は数 mm 間隔）の（透過）顕微鏡画像 I₁ 及び I₂ が撮られて、2つの撮像された平面の中間に位置する平面に関するフェーズ・マップを作るように処理される。前記処理の部分は、強度の差 I₂ - I₁ をとるステップ(1)と、(I₂ - I₁) / (I₂ + I₁) により振幅変調からのファクタに対して和で正規化するステップ(2)と、カットオフ周波数まで空間周波数にわたって反応を等化するために電気的フィルタを付与するステップ(3)とを必要とし、前記フィルタがこの周波数領域の反応をブーストするために低い空間周波数でいわゆる逆ラプラシアンの特徴を持つ。処理ステップ(2)及び(3)は、フェーズ情報の質的な視覚化が要求される場合には必要でないが、フェーズに関する定量的情報（暗に屈折率）が所望される場合には必要である。明らかに、続けてというよりはむしろ同時に、画像 I₁ 及び I₂ を得ることが望ましいだろう。

10

【0012】

本発明により取り上げられる従来技術の他の課題は、薄いサンプルの焦点位置が機械的手段により連続的に調整されることを必要とするということである。電子的焦点合せ、すなわちサンプルのベスト焦点イメージを得るために異なる焦点面での画像のセットの間を内挿することが望ましい。

20

【0013】

従って、種々異なる焦点面で顕微鏡サンプルを光学的に探索するための改良手段を提供することが、本発明の目的である。特に、本発明は、より単純及びより安価な 3D 撮像顕微鏡を提供することを意図する。

【課題を解決するための手段】

【0014】

この目的は、独立請求項の特徴により達成される。他の仕様及び好ましい実施例は、従属請求項に説明されている。

【0015】

本発明は、入射光ビームを受けるための入射面及び光ビームを伝送するための出射面を持つスポット生成器を提供し、前記入射面は入口側を規定し、前記出射面は出口側を規定し、当該スポット生成器は、複数の別々の光スポットを出口側に生成するために入射光ビームを変調するように設計される。本発明によると、複数の光スポットは、第1の焦点面に生成される第1の光スポット及び第2の焦点面に生成される第2の光スポットを有し、第1の焦点面及び第2の焦点面は、出射光ビームの平均伝播方向に対して基本的に垂直であり、第1の光スポットは、出射光ビームの平均伝播方向に基本的に垂直な平面上に、その位置の投射において、スポット生成器により出口側に生成される他の何れの光スポットとは異なる。出射光ビームの平均伝播方向を z 方向と呼ぶことは、便利である。このとき、出射光ビームの平均伝播方向に対して垂直な平面は、x y 方向を定める。よって、スポット生成器により生成されるすべての光スポットの中で、第1の光スポットは、その x y 位置において固有である。従って、複数の光スポットが撮像されるとき、第1の光スポットは、その x y 位置により容易且つ明白に識別でき、光検出器の出力を分析するために非常に有利である。入射光ビームは、好ましくは单色光の平面波である。好ましくは、波は、出射波の平均伝播方向が入射平面波の伝播方向と一致するように、スポット生成器により変形される。しかしながら、スポット生成器が入射光ビームに関して十分に非対称である場合、出射光ビームの平均伝播方向は入射光ビームの伝播方向と異なるだろう。第1の焦点面及び第2の焦点面は、第2の焦点面内の第1の光スポットの光度が第1の焦点面内のその光度の多くても 1 / 3 を計測し、第1の焦点面内の第2の光スポットの光度が第2の焦点面のその光度の多くても 1 / 3 を計測するような距離により離隔されるべきであると理解される。用途によっては、特定のフェーズ・イメージングで、2つより多くの焦点面を生成することは要求されない。しかしながら、3次元イメージングのために、各光スポットがその x y 座標において固有である、多くの異なる焦点面にわたって分散

30

y 位置において固有である。従って、複数の光スポットが撮像されるとき、第1の光スポットは、その x y 位置により容易且つ明白に識別でき、光検出器の出力を分析するために非常に有利である。入射光ビームは、好ましくは单色光の平面波である。好ましくは、波は、出射波の平均伝播方向が入射平面波の伝播方向と一致するように、スポット生成器により変形される。しかしながら、スポット生成器が入射光ビームに関して十分に非対称である場合、出射光ビームの平均伝播方向は入射光ビームの伝播方向と異なるだろう。第1の焦点面及び第2の焦点面は、第2の焦点面内の第1の光スポットの光度が第1の焦点面内のその光度の多くても 1 / 3 を計測し、第1の焦点面内の第2の光スポットの光度が第2の焦点面のその光度の多くても 1 / 3 を計測するような距離により離隔されるべきであると理解される。用途によっては、特定のフェーズ・イメージングで、2つより多くの焦点面を生成することは要求されない。しかしながら、3次元イメージングのために、各光スポットがその x y 座標において固有である、多くの異なる焦点面にわたって分散

40

50

される多くの別々の光スポットを生成することは便利である。

【0016】

好ましくは、入射面及び出射面は、スポット生成器の対向側にある。本発明の本態様によると、スポット生成器は透過態様で機能するように設計され、すなわち、入射光の全運動量を著しく変えない。この目的のために、スポット生成器は、好ましくは少なくとも部分的に透明である。

【0017】

あるいは、入射面及び出射面が同一である。この設計は、反射モードで光スポットを生成するように設計されたスポット生成器に適用し、すなわち、入射光の全運動量が基本的に反対になる。この目的のために、スポット生成器は、好ましくは少なくとも部分的に非透明である。従って、入射光ビームは、入射面にスポット生成器、例えば透明でないフェーズ構造体に当たり、反射により変調されて、同じ入射面からスポット生成器を離れる。それゆえに、前記入射面は、出射面としても働く。

10

【0018】

好ましくは、複数の別々の光スポットは、第1の焦点面に位置される第1の複数の別々の光スポットと、第2の焦点面に位置される第2の複数の別々の光スポットとを有する。複数のスポットを供給することは、サンプル内により大きなボリュームに関する情報を同時に集めるために有利である。好ましくは、第1及び第2の複数のスポットは、それぞれ第1の格子及び第2の規則的な格子を形成する。格子は、特に矩形の格子である。

20

【0019】

第1の実施例において、スポット生成器は、第1の複数の光スポットを生成するための第1の区域と、第2の複数の光スポットを生成するための第2の区域とを有する。この実施例によると、入射光の第1の部分は、第1の区域により修正され、入射光の第2の部分は、第2の区域により修正され、第1の部分は第1の焦点面に合焦され、第2の部分は第2の焦点面に合焦される。

20

【0020】

あるいは、第2の実施例において、スポット生成器は、第1の複数の光スポット及び第2の複数の光スポットの両方を生成するための複数の同一のユニット・セルを有する。各ユニット・セルは、例えば、第1のマイクロレンズ及び第2のマイクロレンズを有し、第1のマイクロレンズは第1の光スポットを生成し、第2のマイクロレンズは第2の光スポットを生成する。好ましくは、第1の複数の光スポット及び第2の複数の光スポットは、 $x-y$ 平面の共有の領域にわたって均一且つ等しく分散され、換言すれば、これらはインターレースされ、ここで、結合された複数のポイントが少なくとも2つの同一のユニット・セルのアレイに分解される場合、本質的に2つの複数のポイントはインターレースされる。

30

【0021】

好ましくは、スポット生成器により出口側に生成されるあらゆる光スポットは、出射光ビームの平均伝播方向に対して基本的に垂直な平面のその位置の投射において、スポット生成器により出口側に生成される何れの他の光スポットとも異なる。換言すれば、スポット生成器により出口側に生成されるあらゆる光スポットは、 $x-y$ 平面のその位置の投射において固有である。光スポットを検出するとき、各光スポットは、単にその $x-y$ 座標により容易に識別される。

40

【0022】

好ましくは、複数の別々の光スポットの光スポットは、同一のスペクトルを持つ。単色光のスポットのためのスポット生成器の設計は、色収差の欠如のためより単純である。

【0023】

好ましくは、スポット生成器は、周期的なバイナリのフェーズ構造体を有する。より好ましくは、スポット生成器は、WO 2006 / 035393 で提案されるタイプのバイナリのフェーズ構造体である。その構造体は、サイズ $p_x * p_y$ のユニット・セルの周期的なセットから成り、ここで p_x は x 方向のピッチであり、 p_y は y 方向のピッチである。

50

各ユニット・セルはバイナリ高さのプロフィールを持ち、すなわち、セルの任意のポイントにユニット・セルの高さに対する2つの可能な値だけがあり、製造を単純化する。バイナリのフェーズ構造体は、入射ビームを多数のオーダーに回析させる。これらのオーダーはコリメートされたビームレットであり、各ビームレットは特定の方向に進む。焦点面で、すべてのこれらのオーダーは、光スポットのアレイを生じるために、コピーレントに加算する。これらのオーダーの振幅及び相対的なフェーズは、光スポットの所望のタイプを作るために、正しく選択されなければならない。斯様な構造体の設計は、主に回折オーダーの正しい振幅及びフェーズを生成するユニット・セルのパターンを見つけることにある。好ましくは、フェーズ構造体は透明であるが、第1及び第2の複数の光スポットが、透明でなく反射のフェーズ構造体によっても生成でき、ここで、光スポットはフェーズ構造体から反射される光から生成される。あるいは、スポット生成器はマイクロレンズアレイを有し、当該アレイの各レンズは単一の光スポットを生成するように設計されている。

【0024】

本発明はまた、上記のタイプのスポット生成器と、スポット生成器を介して照明されるべきサンプルを保持するためのサンプル・アセンブリと、前記スポット生成器の第1及び第2の焦点面から光を収集するために配される撮像光学系と、撮像光学系により収集された光を検出するために配されるピクセル化された光検出器とを有するマルチ・スポット走査顕微鏡を提供する。スポット生成器が異なる焦点面を供給するので、z方向に沿ってサンプルを走査するためのニーズは低減されるか、又は除去されさえする。結果として、本発明の顕微鏡は、同時に検出されるとき、3次元画像を生成するために使用できるスポットのアレイを生じる。本発明のマルチ・スポット走査顕微鏡は、フェーズ・イメージングのため、特に前述の定量的フェーズ映像技術のために好適に使用できる。好ましくは、撮像光学系の領域の深度は、第1の焦点面に位置される第1の光スポットと第2の焦点面に位置される第2の光スポットとを同時に撮像するために十分大きく、ピクセル化された光検出器のピクセルのサイズのオーダーの解像度がより高い。小さなNAは、より小さな解像度を意味するが（回折限界 = 照明及び撮像NAの合計により割られた波長）、これは比較的小さな数の開口を持つ画像処理システムを選択することにより達成できる。それで、領域の大きい深度と高解像度との間のトレードオフがある。より好ましくは、撮像光学系は、多数の焦点面においてスポット生成器により生成したすべての光スポットを同時に撮像するために設計される。このことにより、撮像光学系を異なる焦点面に合わせるニーズが回避される。このように、提案された多焦点マルチ・スポット走査顕微鏡は、異なる焦点面から経時的な画像取得というよりはむしろ同時取得を可能にし、これは焦点面の間に本質的に良好な配列の効果を持つ。好ましい実施例において、撮像光学系は、サンプル・アセンブリに置かれるスポット生成器及びサンプルの方へ伝送される光を収集するために、サンプル・アセンブリの後に位置される。斯様な配置は、透過顕微鏡に適している。本発明の多焦点マルチ・スポット走査顕微鏡は、サンプルのベスト焦点イメージを見つけるために、それぞれの深度で撮られる画像の間を補間することにより、充分な電子合焦のためにも好適に使用できる。

【0025】

本発明は更に、

- サンプルの前にスポット生成器を配置するステップと、
- 前記サンプル内の複数の別々の光スポットを生成するために、光ビームを前記スポット生成器に向けるステップと、前記複数の光スポットは、第1の焦点面に集中した第1の光スポット及び第2の焦点面に集中した第2の光スポットを有し、第1の焦点面及び第2の焦点面は前記スポット生成器を離れる光ビームの平均方向に対して基本的に垂直であり、第1の光スポットは前記スポット生成器を離れる光ビームの平均伝播方向に対して基本的に垂直な平面のその位置の投射において、前記スポット生成器により前記サンプル内に生成される他のあらゆる光スポットと異なり、
- 前記サンプルの向こう側に、第1の光スポットから光を検出すると共に、第2の光スポットから光を同時に検出するステップとを有する、顕微鏡サンプルのイメージを生成する

10

20

30

40

50

方法を提供する。

【0026】

好ましくは、光は、サンプルの向こう側で検出される。好ましくは、光はピクセル化された光検出器を使用して検出され、光検出器の出力はコンピュータ、好ましくはPCに接続された集積回路を使用して処理される。

【0027】

本発明によると、当該方法は、前記サンプルの3次元画像を生成する追加ステップを更に有する。サンプルが異なる焦点面で同時に測定されたデータを使用して生成されるので、配列エラーの欠如のため、従来技術と比較して改良された特性が期待される。

【0028】

当該方法は、前記サンプルのフェーズ・コントラスト画像を生成する追加ステップを更に有する。

【0029】

当該方法は、電子的に合焦する追加ステップを更に有する。

【0030】

本発明の他の態様、目的及び効果は、非限定的な例及び添付の図面を参照して、以下の好ましい実施例の詳細な説明を読んで明らかになるだろう。

【図面の簡単な説明】

【0031】

【図1】図1は、マルチ・スポット走査顕微鏡の概略図である。

【図2】図2は、マルチ・スポット走査顕微鏡の従来技術のスポット生成器の光スポットの平面アレイを図式的に示す。

【図3】図3は、異なる焦点面に位置される2つのインターレース・アレイを有する光スポットのアレイの概略図である。

【図4】図4は、異なる焦点面に位置される2つの隣接するアレイを有する光スポットのアレイの概略図である。

【図5】図5は、図3のインターレース・アレイの概略側面図である。

【図6】図6は、図4の隣り合うアレイの概略側面図である。

【図7】図7は、図3の光スポットを生成するために用いられるスポット生成器の概略底面図である。

【図8】図8は、図4の光スポットを生成するために用いられるスポット生成器の概略底面図である。

【図9】図9は、光スポットの4つのインターレース・アレイを生成するスポット生成器の概略側面図である。

【図10】図10は、光スポットの4つの隣接するアレイを生成するスポット生成器の概略側面図である。

【図11】図11は、異なる焦点面の光スポットを生成するためのバイナリフェーズ構造のユニットセル上の概略底面図である。

【発明を実施するための形態】

【0032】

図1は、レーザー44、コリメーターレンズ46、ビーム・スプリッタ48、前方感知光検出器50、スポット生成器10、サンプル・アセンブリ38、撮像光学系40、ピクセル化された光検出器42、ビデオ処理集積回路(I C)64及びパーソナル・コンピュータ(PC)66を有するマルチ・スポット走査顕微鏡を図式的に示す。サンプル・アセンブリ38は、カバー・スリップ52、試料層54、顕微鏡スライド56、及び走査ステージ58を有する。カバー・スリップ52、試料層54及び前記顕微鏡スライドからなるアセンブリは、走査ステージ58に配置される。撮像光学系40は、第1のレンズ60と第2のレンズ62とを有する。レーザー44は、コリメーターレンズ46によりコリメートされビーム・スプリッタ48により分割される光ビーム(図示せず)を放射する。光ビームの透過部分は、光出力を測定するための前方感知光検出器50により捕えられる。光

10

20

30

40

50

出力に関する測定されたデータは、レーザーにより光出力を制御するためのレーザードライバ(図示せず)により用いられる。光ビームの反射された部分は、スポット生成器10に入射される。スポット生成器10は、入射面12及び出射面14を持つ。入射面12は入口側16を定める一方、出射面14は出口側18を定める。本発明に従って、スポット生成器10は出口側18に一組の明白な焦点面(図示せず)を定め、各焦点面は出口側18上の光の平均伝播方向に垂直である。スポット生成器10は、WO2006/035393に説明されたタイプの周期的なバイナリフェーズの構造体であり、特にレーザー源44の波長のために、及びビーム・スプリッタ48により反射されるレーザー光の垂直な入射のために設計されている。あるいは、スポット生成器10は、マイクロレンズのアレイでありえる。入口側16に、スポット生成器10の前で、入射レーザー光は、波面がスポット生成器10に平行に延在する、平面波によりよく近似される。スポット生成器10は、出口側18上の各焦点面に別々の光スポットのアレイを生成するために、入射光ビームを変調する。スポット生成器10と試料層54との間の距離は、出口側18に生成される全ての又は少なくとも幾つかの光スポットが試料層54内に来るよう選択される。試料層54は、走査ステージ56に結合される電気モータ(図示せず)を介して、光スポットに対して移動できる。スポット生成器10により試料層54に生成される光スポットからの光は、撮像光学系40により収集され、ピクセル化された光検出器42へ伝えられる。本発明に従って、スポット生成器10により生成された光スポットは、固有のx-y位置を持ち、すなわち、出口側18に生成されるあらゆるスポットは、焦点面のうちの1つの焦点面のその位置の投射において、出口側18に生成される他のすべてのスポットとは異なる。これは、あらゆる光スポットがそのx-y位置により明解に識別可能であるという効果を持つ。ピクセル化された光検出器42により捕えられる画像は、表示される画像へとビデオ処理IC64により処理され、PC66により分析されるか更に処理され得る。

【0033】

ここで図2に戻ると、従来のスポット生成器により生成される光スポットのアレイが示される。前記アレイはx-y平面を定め、当該平面は光スポットが生成される光の伝播方向に対して垂直である。前記アレイを構成する光スポット全ては、x-y平面内にある。前記アレイは、格子ピッチpを持つ二次格子を形成する。光スポットは(I,J)でラベルをつけられ、ここで、I及びJはそれぞれx及びy座標を示す。光スポットは、光スポットのアレイにより定められたx軸に対して角度θを持つ走査方向に、サンプルに関して走査される。よって、各光スポットは、明白な直線ライン(K=1,2,3)に沿ってサンプルを走査し、2つの隣接する軌跡(例えば、K=1及びK=2)の間の距離は格子ピッチPより著しく短い。

【0034】

ここで図3に戻ると、本発明によるスポット生成器により生成される光スポットのアレイが示される。前記アレイは、第1の焦点面に位置する光スポット22(黒丸ドット)の第1のサブアレイと、異なる第2の焦点面に位置する光スポット26(白丸ドット)の第2のサブアレイとを有する。x-y平面上のアレイの投射が示され、当該x-y平面は光スポット22、26を生成する光の平均伝播方向に対して垂直に定められる。よって、第1の焦点面に位置する光スポット22は、デカルト座標(x,y,z1)を持つ一方、第2の焦点面に位置する光スポット26は、デカルト座標(x,y,z2)を持ち、ここでz1及びz2は異なる。光スポット22、26は、基本的に同じスペクトルを持ち、3次元位置だけが異なる。光スポット22(黒丸ドット)の第1のアレイ及び光スポット26(白丸ドット)の第2のアレイは、複合アレイ22、26(黒丸及び白丸ドット)が一組の同一のユニット・セル35に分解されるという意味で、インターレースされる。あらゆるユニット・セル35(1つだけが示され、他は同じである)は、第1の焦点面に位置される2つの光スポット22と第2の焦点面に位置される2つの光スポット26とを有する。スポット生成器(図示せず)は、当該スポット生成器のユニット・セルと光スポット(22、26)のアレイのユニット・セル35との間に1対1の対応関係を持って、同様に同一のユニット・セルから構成される。

10

20

30

40

50

【0035】

ここで図4に戻ると、本発明（図示せず）によるスポット生成器の他の実施例により生成される光スポットのアレイが示される。光スポットのアレイは、光スポット22（黒丸ドット）の第1のアレイ及び光スポット26（白丸ドット）の第2のアレイから成る。第1のアレイ及び第2のアレイ両方は、x-y平面と平行にあり、z軸は光スポット22、26を生成するためにスポット生成器から離れる光の平均伝播方向として定められる。第1のアレイ（黒丸ドット）及び第2のアレイ（白丸ドット）は、二次格子を形成する。第1のアレイ（黒丸ドット）及び第2のアレイ（白丸ドット）がインターレースではないが隣接することに注意されたい。

【0036】

ここで図5に戻って、図3を参照して説明された光スポット22、26のアレイを生成するため入射光20を変調するスポット生成器10の概略側面図が示される。入口側16上の光20は、基本的に単色光の平面波である。z方向は、出口側18上の光20の平均伝播方向として規定される。第1の複数の光スポットの光スポット22は、第1の焦点面24内にある一方、第2の複数の光スポットの光スポット26は、第2の焦点面28内にある。スポット生成器10は、同一のユニット・セル34から成る周期的なバイナリのフェーズ構造体である。スポット生成器10の各ユニット・セル34と光スポットのアレイ（図3を参照）の各ユニット・セル35との間に1対1の相関関係があることに留意されたい。簡略画像において、スポット生成器10の各ユニット・セル34は、図3に示される光スポットのアレイの1つのユニット・セル35を正確に生成する。しかしながら、実際には、スポット生成器10のすべてのユニット・セル34は、光スポットのアレイの特定のユニット・セル35を生成することに寄与する。2つのユニット・セル34だけが当該図には完全に示されているが、実際には、スポット生成器は、かなりの数の第1の光スポット22及び第2の光スポット26を生成する、より多くのユニット・セルを有する。

【0037】

ここで図6に戻って、図4を参照して上述された光スポット22、26の隣接するアレイを生成するため入射光ビーム20を変調するスポット生成器10が示される。第1の複数の光スポット22は第1の焦点面24内に位置され、第2の複数の光スポット26は第2の焦点面28内に位置されている。スポット生成器10は、第1のタイプのユニット・セル31から成る第1の区域と第2のタイプのユニット・セル33から成る第2の区域とを有する。第1のタイプの各ユニット・セル31と第1の焦点面24内に生成される各光スポット22との間に1対1の相関関係がある。さらにまた、第2のタイプの各ユニット・セル33と第2の焦点面28内に生成される各光スポット26との間に1対1の相関関係がある。各焦点面で、光強度は、焦点面が光スポット22、26のうちの一方をカットする部分を除いて無視できる点に留意されるべきである（同じことが図5を参照して上述された光スポットに当てはまる）。さらにまた、第1の焦点面24で、第2の焦点面28内に中心がある光スポット26の強度は無視できる。同様に、第2の焦点面28で、第1の焦点面24内に位置される光スポット22の強度は無視できる。

【0038】

ここで図7に戻って、図3及び図5を参照して上述されたスポット生成器10が、ここでz方向に見て例示される。スポット生成器10は、隣接する同一のユニット・セル34から成る。総量6つのユニット・セル34が示されているが、実際には、スポット生成器10はより多くのユニット・セル34を有する。前述のように、スポット生成器10の各ユニット・セル34と生成された光スポットのアレイの各ユニット・セル35との間に1対1の対応関係があるにもかかわらず（図3及び図5参照）、実際に、各光スポット22、26（図示せず）は、スポット生成器10の異なるユニット・セル34から来る光から生じる。スポット生成器10により生成される光スポットのアレイは、二次対称である。しかしながら、他の二次周期的な対称が、本発明の範囲から離れることなく可能である。

【0039】

ここで図8に戻って、図4及び図6を参照して上述されたスポット生成器10が、ここ

10

20

30

40

50

で z 方向に見て例示される。スポット生成器10は、第1の周期的なバイナリのフェーズ構造体30と第2の周期的なバイナリのフェーズ構造体32とを有し、2つのバイナリのフェーズ構造体30、32は隣接している。第1のバイナリのフェーズ構造体30は同一のユニット・セル31から成る一方、第2のバイナリのフェーズ構造体32は基本のユニット・セル33から成る。第1のバイナリのフェーズ構造体30は第1の焦点面24内に位置される第1の複数の光スポット22を生成する一方、第2のバイナリのフェーズ構造体32は第2の焦点面28(図4及び図6を参照)内に位置される第2の複数の光スポット26を生成する。

【0040】

ここで図9に戻って、図5及び図7を参照して上述された実施例の趣旨と同様であるスポット生成器10の概略側面図が示される。スポット生成器10は光スポットの4つのアレイを生成し、各アレイが $x-y$ 平面に平行な別々の焦点面に位置され、当該 $x-y$ 平面は変調光の平均方向に対して垂直である。前記スポット生成器は、同一のユニット・セル34から成る。各ユニット・セルは、周期的なバイナリのフェーズ構造体のユニットセル、又は異なる焦点距離を持つ4つの異なるレンズを有するユニット・セルの何れかであり、各レンズが正確に1つの光スポットを生成する。

【0041】

図4、6及び8を参照して説明される実施例の趣旨と同様に、ここで図10を参照して、スポット生成器10の他の実施例が示される。スポット生成器10は $x-y$ 平面と平行な4つの別々の焦点面に位置される光スポットの4つのアレイを生成し、ここで、 z 方向は変調光の平均伝播方向と一致する。スポット生成器10は、それぞれ当該図に示される光スポットの4つのアレイを生成する隣接する異なる区域30、32、68及び70から成る。

【0042】

ここで図11を参照して、例えば、3つの異なる焦点面に位置される光スポットを生成するための周期的なバイナリのフェーズ構造体のユニットセル34が示される。ユニット・セル34は基本的に平面であり、2次元の透明なプレートが2つの異なる高さ値を持つ。第1の高さ値を持つエリアは黒として示され、第2の高さ値を持つエリアは白として示される。ユニット・セルは、 x 方向に19マイクロメートル、 y 方向に9.5マイクロメートルの拡張部を持つ。パターンが x 及び y の周期的境界条件を満たす、すなわち、左の縁($x=0$)のパターンは右側の縁($x=19$)でのパターンと同一であり、底部縁($y=0$)のパターンは一番上の縁($y=9.5$)でのパターンと同一であることに注意されたい。ユニット・セル34は波長=655nmに対して設計され、自由な作業距離(すなわちスポット生成器からサンプル・アセンブリのカバープレートまでの距離)は518μmである。655nmの正しい波長を持つ光により垂直に照明されるとき、同一のユニット・セル34の周期的なアセンブリはユニット・セル34当たり3つの光スポットを生成し、各光スポットは開口数NA=0.65を持ち、インターフェース空気カバープレートの後に(すなわちカバープレート及び数ミクロンの試料層を通って)142.5μm、145.0μm及び147.5μmの距離にある。ユニットセル内部のこれらのスポットの横方向の位置は、それぞれ(- $p_x/3, 0$)、(0, 0)、及び(+ $p_x/3, 0$)である。

【0043】

速くて単純で廉価に次元のイメージングを実行できる上述の全ての実施例は、異なる焦点面内の多数の光スポットの効率的な分布のおかげである。

【0044】

本発明が特定の実施例を参照して上述のように説明されたが、ここで説明された特定の形式に限定する意図はない。むしろ、本発明は、添付の請求の範囲だけにより制限され、特定の上記実施例以外の実施例はこれらの添付の請求の範囲内で等しく可能である。

【0045】

請求項において、用語「有する」は、他の要素又はステップの存在を除外しない。さら

10

20

30

40

50

にまた、個別にリストされているにもかかわらず、複数の手段、要素又は方法のステップは例えば単一のユニット又はプロセッサにより実行されてもよい。加えて、個々の特徴が異なる請求項に含まれるにもかかわらず、これらは好適に組み合わせら可能であり、異なる請求項への包含は、特徴の組合せが可能でない及び／又は有利でないことを意味しない。加えて、単一の参照符号は、複数を除外しない。用語「a」、「a n」等は、複数を排除しない。請求項内の参照符号は、例を単に明瞭にするために提供されていて、いかなる態様であれ請求項の範囲を制限するものとして解釈されない。

【図1】

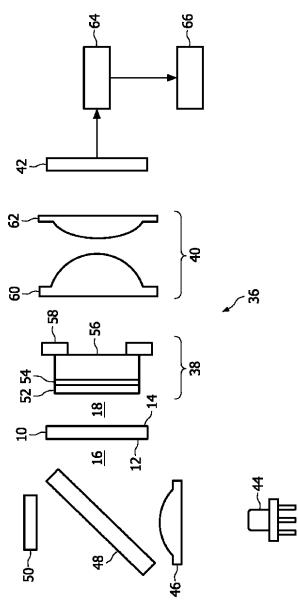
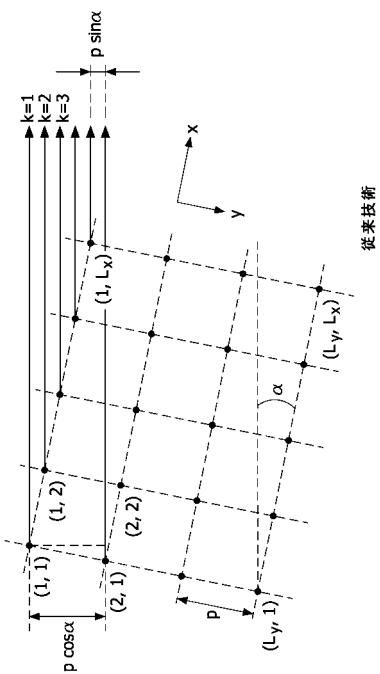


FIG. 1

【図2】



【図3】

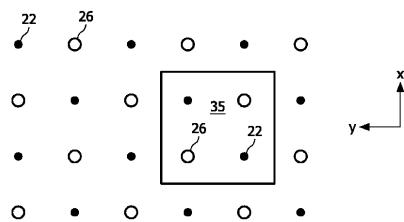


FIG. 3

【図4】

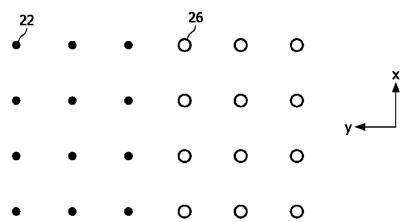


FIG. 4

【図5】

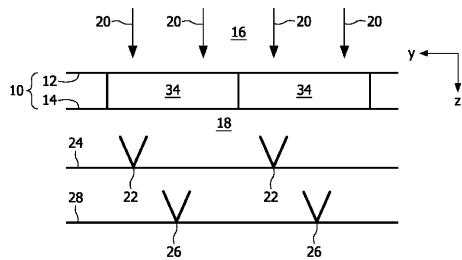


FIG. 5

【図6】

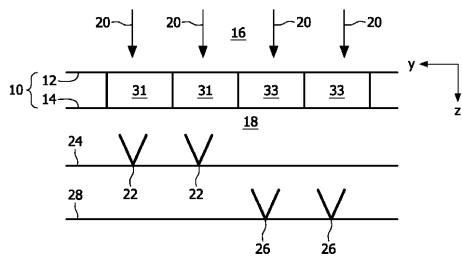


FIG. 6

【図7】

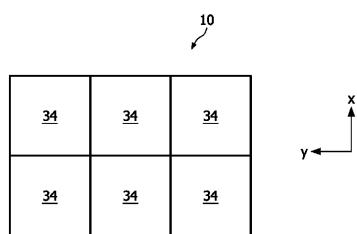


FIG. 7

【図8】

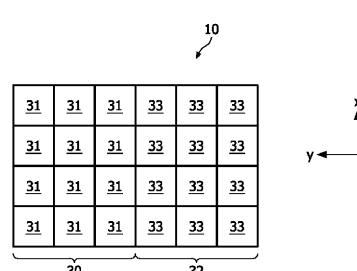


FIG. 8

【図9】



FIG. 9

【図10】

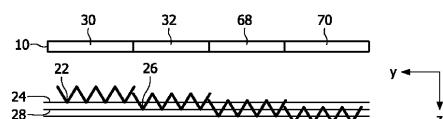


FIG. 10

【図 11】

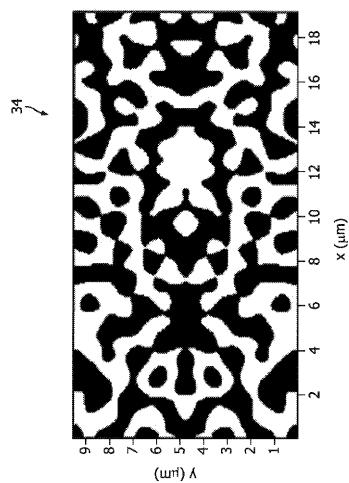


FIG. 11

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2008/054860

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G02B3/00 G02B27/00 G02B21/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/37025 A (AGILENT TECHNOLOGIES INC [US]; TOH PENG SENG [SG]) 25 May 2001 (2001-05-25) pages 6-9; figures 3-6	1-14

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the International filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

29 April 2009

08/05/2009

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stemmer, Michael

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2008/054860

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0137025 A	25-05-2001 AU US	2421101 A 6838650 B1	30-05-2001 04-01-2005

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MT,NL,NO,PL,PT,RO,SE,SI,SK,T
R),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,
BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,D0,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,K
G,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT
,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 バッカー レビナス ピー

オランダ国 5656 アーエー アインドーフェン ハイ テック キャンバス 44 フィリ
ップス アイピー アンド エス - エヌエル

(72)発明者 ボッセン ダーク エル ジェイ

オランダ国 5656 アーエー アインドーフェン ハイ テック キャンバス 44 フィリ
ップス アイピー アンド エス - エヌエル

F ターム(参考) 2F065 AA04 AA53 FF04 FF10 GG04 GG12 GG22 HH03 HH04 HH13

LL46 LL59 MM01 MM12 PP12 PP24 QQ31 RR08
2H052 AA07 AC15 AC18 AF14