(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第3955115号
(P3955115)

(45)発行日　平成19年8月8日(2007.8.8)　(24)登録日　平成19年5月11日(2007.5.11)

(51)Int.Cl.		F I		
G02B 21/26	(2006.01)	G02B	21/26	
G02B 7/04	(2006.01)	G02B	7/04	C
G02B 7/28	(2006.01)	G02B	7/11	J
G03B 13/36	(2006.01)	G03B	3/00	A

請求項の数 5　(全 14 頁)

(21)出願番号　特願平8-303032
(22)出願日　平成8年11月14日(1996.11.14)
(65)公開番号　特開平10-142516
(43)公開日　平成10年5月29日(1998.5.29)
審査請求日　平成15年11月13日(2003.11.13)

(73)特許権者　000000376
オリンパス株式会社
東京都渋谷区幡ヶ谷２丁目４３番２号
(74)代理人　100058479
弁理士　鈴江　武彦
(74)代理人　100084618
弁理士　村松　貞男
(74)代理人　100100952
弁理士　風間　鉄也
(74)代理人　100097559
弁理士　水野　浩司
(72)発明者　鈴木　等
東京都渋谷区幡ヶ谷２丁目４３番２号　オリンパス光学工業株式会社内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】共焦点型顕微鏡の合焦装置及びその合焦方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

試料に対して光源からの光を走査し、該走査に応じた試料像の共焦点検出を可能にした共焦点光学系を有する共焦点型顕微鏡において、

前記共焦点光学系より深い焦点深度を有し前記試料像を検出可能にした検出光学系と、

この検出光学系により検出される試料像から、この試料像上の任意の位置情報と前記試料の光軸方向の移動範囲の１回ごとの移動量を設定する設定手段と、

この設定手段に設定された１回の移動量に応じた移動ごとの前記共焦点光学系により検出された試料像について前記任意の位置情報に対応する画像データを記憶する記憶手段と、

この記憶手段に記憶された画像データから最大輝度に対応する合焦位置を演算する合焦位置演算手段とを具備したことを特徴とする共焦点型顕微鏡の合焦装置。

【請求項２】

記憶手段は、

前記任意の位置情報に対応する画像データと該画像データ近傍の画像データの平均値を記憶し、

合焦位置演算手段は、前記記憶手段に記憶された平均化された画像データから最大輝度に対応する合焦位置を演算することを特徴とする請求項１記載の共焦点型顕微鏡の合焦装置。

【請求項３】

さらに、前記設定手段に設定された１回の移動量に応じた移動ごとの前記共焦点光学系により検出された試料像について前記任意の位置情報に対応する画像データとともに予め設定された所定範囲の画像データを記憶する第２の記憶手段と、

この第２の記憶手段に記憶された画像データを所定の重み付けで処理して前記任意の位置情報に対応する画像データに置換える画像データ処理手段とを有し、

この画像データ処理手段により置換えられた画像データを前記任意の位置情報に対応する画像データとして前記記憶手段に記憶し、

該記憶手段に記憶された画像データから最大輝度に対応する合焦位置を演算することを特徴とする請求項１記載の共焦点型顕微鏡の合焦装置。

【請求項４】

さらに、前記共焦点光学系により出された離散的なデータに対して、多項式演算を行う演算手段を有し、

この演算手段の演算結果から、最大輝度での合焦位置を求めることを特徴とする請求項１乃至３のいずれか１項記載の共焦点型顕微鏡の合焦装置。

【請求項５】

試料に対して光源からの光を走査し、該走査に応じた試料像の共焦点検出を可能にした共焦点光学系を有する共焦点型顕微鏡の合焦方法であって、

前記共焦点光学系より深い焦点深度を有する検出光学系により前記試料像を検出し、

この検出された試料像から、この試料像上の任意の位置情報と前記試料の光軸方向の移動範囲の１回ごとの移動量を設定し、

この設定された１回の移動量に応じた移動ごとの前記共焦点光学系により検出された試料像について前記任意の位置情報に対応する画像データを記憶し、

この記憶された画像データから最大輝度に対応する合焦位置を演算することを特徴とする共焦点型顕微鏡の合焦方法。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【発明の属する技術分野】

本発明は、共焦点型顕微鏡に適用される合焦装置及び合焦方法に関するものである。

【０００２】

【従来の技術】

従来、広く用いられている合焦装置には、画像信号の高周波成分に現れるコントラスト値をデフォーカス量として扱い、焦点検出を行うものが知られている。つまり、このような合焦装置では、試料の撮像画像をＣＣＤで取り込み、この時の画像信号の高周波成分に現れるコントラスト値が図１２に示すように合焦位置ではコントラスト値が最大となり、デフォーカス量の増大とともにコントラスト値が減少していく特性を利用して、いわゆる山登りサーボ方式により合焦制御を行うようにしている。

【０００３】

このような方法によれば、合焦位置の近傍ではコントラスト値の変化が緩やかになることから、この緩やかな範囲で合焦位置を見付けることになり、さらにこの緩やかな範囲が狭いほど合焦位置の精度が高いものになる。

【０００４】

【発明が解決しようとする課題】

ところが、実際は、コントラスト値の変化の緩やかな範囲から合焦位置を決定するのは難しく、合焦位置がある程度ばらつくことがある。これに対して、例えば、ＣＣＤカメラを用いた光学顕微鏡の場合であれば、観察光学系の焦点深度が大きいので、ＣＣＤカメラの撮像画像の合焦位置のばらつきは吸収され、ピントのあった画像が得られるが、共焦点型顕微鏡の場合には、共焦点画像の焦点深度が非常に小さいため、合焦位置のばらつきを吸収し切れず、ピントのずれた画像になってしまうことがある。

【０００５】

また、従来では、コントラスト値を利用しているので、観察範囲の中でコントラストの

高い領域に合焦してしまい、これは観察したい場所に合焦するとは限らないという問題もあった。本発明は、上記事情に鑑みてなされたもので、安定した自動合焦を実現できる共焦点型顕微鏡の合焦装置及び合焦方法を提供することを目的とする。

【０００６】

【課題を解決するための手段】

請求項１記載の発明は、試料に対して光源からの光を走査し、該走査に応じた試料像の共焦点検出を可能にした共焦点光学系を有する共焦点型顕微鏡において、

前記共焦点光学系より深い焦点深度を有し前記試料像を検出可能にした検出光学系と、

この検出光学系により検出される試料像から、この試料像上の任意の位置情報と前記試料の光軸方向の移動範囲の１回ごとの移動量を設定する設定手段と、

この設定手段に設定された１回の移動量に応じた移動ごとの前記共焦点光学系により検出された試料像について前記任意の位置情報に対応する画像データを記憶する記憶手段と、

この記憶手段に記憶された画像データから最大輝度に対応する合焦位置を演算する合焦位置演算手段とにより構成している。

【０００７】

請求項２記載の発明は、請求項１記載において、記憶手段は、前記任意の位置情報に対応する画像データと該画像データ近傍の画像データの平均値を記憶し、合焦位置演算手段は、前記記憶手段に記憶された平均化された画像データから最大輝度に対応する合焦位置を演算するようにしている。

【０００８】

請求項３記載の発明は、請求項１記載において、さらに、前記設定手段に設定された１回の移動量に応じた移動ごとの前記共焦点光学系により検出された試料像について前記任意の位置情報に対応する画像データとともに予め設定された所定範囲の画像データを記憶する第２の記憶手段と、この第２の記憶手段に記憶された画像データを所定の重み付けで処理して前記任意の位置情報に対応する画像データに置換える画像データ処理手段とを有し、

この画像データ処理手段により置換えられた画像データを前記任意の位置情報に対応する画像データとして前記記憶手段に記憶し、該記憶手段に記憶された画像データから最大輝度に対応する合焦位置を演算するようにしている。

請求項４記載の発明は、請求項１乃至３のいずれか１項において、さらに、前記共焦点光学系により出された離散的なデータに対して、多項式演算を行う演算手段を有し、この演算手段の演算結果から、最大輝度での合焦位置を求めるようにしている。

請求項５記載の発明は、試料に対して光源からの光を走査し、該走査に応じた試料像の共焦点検出を可能にした共焦点光学系を有する共焦点型顕微鏡の合焦方法であって、前記共焦点光学系より深い焦点深度を有する検出光学系により前記試料像を検出し、この検出された試料像から、この試料像上の任意の位置情報と前記試料の光軸方向の移動範囲の１回ごとの移動量を設定し、この設定された１回の移動量に応じた移動ごとの前記共焦点光学系により検出された試料像について前記任意の位置情報に対応する画像データを記憶し、この記憶された画像データから最大輝度に対応する合焦位置を演算するようにしている。

【０００９】

この結果、請求項１記載の発明によれば、予め共焦点光学系より深い焦点深度を有する検出光学系を用い、この検出光学系にて得られた試料像により、この試料像上の任意の位置情報と試料の光軸方向の移動範囲の１回ごとの移動量が設定され、この設定された１回の移動量に応じた移動ごとの共焦点光学系により検出された試料像について任意の位置情報に対応する画像データを記憶手段に記憶し、この記憶された画像データから最大輝度に対応する合焦位置を演算するようにしているので、合焦したい位置の画像データに複数点のデータを合焦候補として取り込むようになり、始めから１点の画像データのみを採用するのに比べ、合焦したい位置に対して精度の高い自動合焦を実現できる。

【００１０】
また、請求項２記載の発明によれば、試料表面に凹凸があっても安定した光軸方向の輝度分布が得られ、安定した自動合焦を実現できる。
また、請求項３記載の発明によれば、段差のある試料の段部の境界部を指示したような場合でも、段差の上段または下段を安定的に検出できるようになり、安定した自動合焦を実現できる。
また、請求項４記載の発明によれば、共焦点光学系により検出された離散的なデータに対して、多項式演算を行う演算手段を有し、この演算手段の演算結果から、最大輝度での合焦位置を求めることができるようになり、安定した自動合焦を実現できる。
また、請求項５記載の発明によれば、試料に対して光源からの光を走査し、該走査に応じた試料像の共焦点検出を可能にした共焦点検出光学系を有する共焦点型顕微鏡の合焦方法であって、前記共焦点光学系より深い焦点深度の前記試料像を検出し、この検出された試料像により、この試料像上の任意の位置情報と前記試料の光軸方向の移動範囲の１回ごとの移動量を設定し、この設定された１回の移動量に応じた移動ごとの前記共焦点光学系により検出された試料像について前記任意の位置情報に対応する画像データを記憶し、この記憶された画像データから最大輝度に対応する合焦位置を演算するようにしているので、合焦したい位置の画像データに複数点のデータを合焦候補として取り込むようになり、始めから１点の画像データのみを採用するのに比べ、合焦したい位置に対して精度の高い自動合焦を実現できる。
【００１１】
【発明の実施の形態】
以下、本発明の実施の形態を図面に従い説明する。
（第１の実施の形態）
図１は、本発明が適用される共焦点型顕微鏡の合焦装置の概略構成を示している。図において、１は共焦点型顕微鏡本体で、この共焦点型顕微鏡本体１は、レーザ光源２、走査光学系３、対物レンズ４、ビームスプリッタ５、ミラー６、共焦点光学系７、非共焦点光学系８、ステージ１０を有している。
【００１２】
そして、レーザ光源２から出力されたレーザ光をビームスプリッタ５を介して走査光学系３に入射し、対物レンズ４を通ってステージ１０上の試料９に照射するようにしている。
【００１３】
ここで、走査光学系３は、レーザビームを２次元走査するためのもので、２つの光偏向器を有し、第１の光偏向器でレーザ光をＸ方向に偏向し、第２の光偏向器によりＹ方向に偏向することにより、レーザ光を光軸に垂直な面に沿って２次元に偏向するようにしている。なお、走査光学系３に対する走査の制御は、後述するコントローラボックス１１を介してコンピュータ１６からの指示により行われる。これにより、対物レンズ４を通してステージ１０の試料９上に集光されるレーザ光を、微小なスポットとして、走査光学系３の走査制御に合わせて試料９上をＴＶのラスター走査と同じようにして２次元に移動するようにしている。
【００１４】
一方、試料９上から反射したレーザ光を、入射した光路と逆に戻して、ビームスプリッタ５で反射してミラー６に入射するようにしている。このミラー６は、光路に対して出し入れ自在になっていて、ミラー６を光路に挿入した場合、反射光を共焦点光学系７に入射して共焦点画像を得、ミラー６を光路から外した場合、反射光を非共焦点光学系８に入射して非共焦点画像を得られるようにしている。
【００１５】
このように構成した共焦点型顕微鏡本体１には、コントロールボックス１１を接続し、このコントロールボックス１１にコンピュータ１６を接続している。コントロールボックス１１は、画像用メモリ１２、ラインメモリ１３、演算回路１４を有している。
【００１６】

画像用メモリ１２は、共焦点光学系７および非共焦点光学系８からの画像信号を輝度データとして保存するものである。この場合の輝度画像は、上述したＸＹ走査が行われる度に毎回更新される。そして、画像用メモリ１２の出力データを、コンピュータ１６に送って、ディスプレイ１７に試料９の輝度信号として表示し、また、この出力データの一部を、ラインメモリ１３に送るようにしている。

【００１７】

ラインメモリ１３は、試料９が光軸方向に移動する度に、画像用メモリ１２から輝度データを取り込み、これを保存するものである。ここでの試料９の光軸方向の移動は、コンピュータ１６の指示によりＺ駆動回路１５によってステージ１０を光軸方向に移動することで実現している。また、自動合焦時におけるステージ１０の駆動は、一定の処理にしたがって自動的に行うようにしている。

【００１８】

演算回路１４は、ラインメモリ１３の輝度データとコンピュータ１６からの光軸方向の移動データをもとに合焦位置を演算するもので、この演算結果をコンピュータ１６に送り、Ｚ駆動回路１５に対し駆動信号を出力することで、ステージ１０を合焦位置に移動させるようにしている。

【００１９】

ここで、自動合焦時以外では、ステージ１０は、コンピュータ１６より観察者が自由に制御できるようになっている。

なお、１８は、コンピュータ１６に接続したマウスである。

【００２０】

次に、このように構成した実施の形態の動作を説明する。

まず、最初にステージ１０に試料９を載置し、コンピュータ１６よりレーザ走査の指示を行う。この場合、予めミラー６を光路より外し試料９からの反射光を非共焦点光学系８に入射させて、この非共焦点光学系８からの画像をディスプレイ１７に表示するように設定しておく。これは、非共焦点光学系８の方が、共焦点光学系７の画像に比べ焦点深度の深い画像が得られるためで、自動合焦を行いたい試料９上の位置設定を簡単に行うためにも必要である。

【００２１】

この状態から、レーザ走査開始によりレーザ光源２からのレーザ光をビームスプリッタ５、走査光学系３および対物レンズ４を通してステージ１０上の試料９に照射すると、試料９からの反射光が、入射した光路と逆に戻って、ビームスプリッタ５を介して非共焦点光学系８に入射される。これにより、非共焦点光学系８からの画像信号が画像用メモリ１２に記憶され、さらに画像用メモリ１２の出力データがコンピュータ１６よりディスプレイ１７に送られる。

【００２２】

しかし、ここで、試料９が合焦位置から大きく外れているものとすると、画像用メモリ１２の出力データは、ほとんどゼロに近い値になるので、ディスプレイ１７には何も表示されない。

【００２３】

そこで、観察者がコンピュータ１６に指示を与えてステージ１０を動かすか、図示しないステージ１０の粗動ハンドルを回転させて試料９を大まかな合焦位置まで移動させる。

【００２４】

この状態で、例えば、試料９面が図２に示すように高さの異なるＡ、Ｂ、Ｃ面を有するものとし、このうちのＢ面がほぼ合焦する位置に一致したとすると、ディスプレイ１７に表示される試料９の画像は、図３に示すようにＢ面ではほぼピントの合った状態で、図示斜線部分のＡ面とＣ面ではピントの合っていない状態で表示されるようになる。

【００２５】

ここから、ピントの合っていないＣ面に合焦させるには、まず、新たな合焦位置を指示するため、図３に示すように矢印Ｍにより合焦させたいＣ面を指示する。具体的には、観察

者は、コンピュータ１６に接続されているマウス１８を操作し、矢印ＭをＣ面上の合焦させたい位置Ｘに移動させ、目的とする位置に矢印Ｍが移動したところでマウス１８でクリック操作し、この位置Ｘの情報をコンピュータ１６に記憶させる。

【００２６】

この場合、ディスプレイ１７に表示されている画像の位置は、コントロールボックス１１の画像用メモリ１２の画素と１対１で対応するので、マウス１８のクリック操作で入力された位置Ｘの情報がコントロールボックス１１に送られ、この位置Ｘに対応した画像用メモリ１２の画素のデータがラインメモリ１３に出力される。

【００２７】

次に、位置Ｘの光軸方向の輝度分布を得るため、試料９を光軸方向に移動させる。この場合、上述したように輝度分布のデータは、試料９の移動ごとにラインメモリ１３に記憶されるので、試料９の移動は離散的に行われることになる。ここで、一回当りの試料９の移動量を細かくすれば、情報量が多くなるので、後の合焦位置の計算結果の精度が上がるが、データ収集に時間がかかり速やかな合焦動作が望めない。したがって、観察者は、この点を考慮しながら、移動範囲と１回の光軸方向の移動量の設定を行う。

【００２８】

その後、試料９の移動範囲と１回の光軸方向の移動量の設定が完了すると、観察者はコンピュータ１６に自動合焦の命令を与える。

この場合、コンピュータ１６により、図４に示すフローが実行される。まず、ステップ４０１で、ラインメモリ１３の内容をクリアする。次いで、ステップ４０２で、ミラー６を光路に挿入し、試料９からの反射光を共焦点光学系７に入射させることで共焦点光学系７を選択する。この場合、共焦点光学系７は、非共焦点光学系８と共通の光学系により画像が得られるので、非共焦点光学系８の際に設定した位置Ｘは、共焦点光学系７でもまったく同位置となる。

【００２９】

次に、ステップ４０３で、試料９を移動範囲の上限位置もしくは下限位置に移動する。ここでは上限位置に移動するものとする。

この状態から、ステップ４０４で、レーザ走査を開始する。すると、試料９からの反射光が、ビームスプリッタ５、ミラー６を介して，今度は共焦点光学系７に入射される。この場合、共焦点光学系７では、試料９が合焦位置にないと、反射光がピンホールによって遮光されるため、画像用メモリ１２には、ほとんどゼロに近い値のデータが保存される。

【００３０】

その後、ステップ４０５で、１回のレーザ走査を終了すると、ステップ４０６で、画像用メモリ１２のうち位置Ｘに対応した画素データがラインメモリ１３に出力され記憶される。そして、ステップ４０８で、予め設定された移動量でステージ１０を光軸に沿って下限方向に移動させ、この移動が終了すると、ステップ４０４に戻って、再びレーザ走査を行う。このような動作は、ステップ４０７で、ステージ１０が下限位置に到達するのを検出されるまで繰り返し実行される。

【００３１】

そして、ステージ１０が下限位置に達すると、すべての動作を一旦停止し、ラインメモリ１３のデータに基づく合焦位置の演算を行う。

この場合、共焦点光学系７は、焦点深度が非常に浅いため、合焦位置の近傍で輝度強度が急激に変化する。従って、輝度強度が最大の位置を求めれば、合焦位置を検出できることになる。

【００３２】

図５は、横軸にステージ１０の光軸方向の移動距離を取った場合のラインメモリ１３での輝度データの変化の一例を示したものである。この場合、図からも明らかなように、ラインメモリ１３の輝度データは、離散的なため、このデータをそのまま使用すると、例えば輝度データａと輝度データｂの間に本当の最大輝度データがあるような場合も、輝度データａを最大輝度と判断してしまう。つまり、ラインメモリ１３の輝度データだけから合焦

位置を求めようとすると、真の合焦位置からずれを生じることがある。

【００３３】

そこで、本発明では、真の合焦位置を求めるため、ステップ４０９で、ラインメモリ１３の離散的なデータに対してさらに演算回路１４で、２次もしくは３次の多項式近似を演算し、この演算結果から、ステップ４１０で、最大輝度でのステージ位置（合焦位置）を求めるようになる。

【００３４】

この場合、演算回路１４の演算結果は、図６に示すようになり、同図から明らかなように真の最大輝度が求められるとともに、真の合焦位置が判明する。ここで、演算回路１４により演算される多項式のアルゴリズムは、周知のスプライン補間による適正化手法などにより一般化された方法が用いられる。これにより、演算回路１４は、１チップマイコンにより実現が可能である。

【００３５】

そして、演算回路１４で求められた真の合焦位置情報は、コンピュータ１６に送られ、コンピュータ１６は、送られてきた情報に基づいて、ステップ４１１で、移動指令をＺ駆動回路１５に出力する。これにより、ステージ１０は、合焦位置に移動し、試料９に対して正確な合焦が行われるようになる。

【００３６】

従って、このようにすれば、予め共焦点光学系７より深い焦点深度を有する非共焦点光学系８を用意し、この非共焦点光学系８にて得られた試料像から合焦させたい位置Ｘと試料９の光軸方向の移動範囲の１回ごとの移動量を設定し、次に、共焦点光学系７に切換えて、予め設定された１回の移動量に応じた移動ごとの試料像について位置Ｘに対応する画像データをラインメモリ１３に記憶し、この記憶された画像データから演算回路１４により最大輝度に対応する合焦位置を演算するようしたので、合焦したい位置Ｘに対して複数点のデータを合焦候補として取り込むことができるようになり、始めから１点の画像データのみを採用するのに比べ、合焦したい位置に対して精度の高い自動合焦が可能になり、これにより顕微鏡観察においてピントずれによる影響をなくして常に精度の高い観察が可能になる。

（第２の実施の形態）

図７は、第２の実施の形態の概略構成を示すもので、図１と同一部分には同符号を付している。

【００３７】

この場合、共焦点型顕微鏡本体１には、最初の合焦位置を求めるのに、ＴＶ画像を用いている。ここでは、ＴＶ画像を得るため、非共焦点光学系８に代えて、白色光源６０、ハーフミラー６１、切換えミラー６２および撮像素子６３を有している。白色光源６０は、ハロゲンランプなどの従来の光学顕微鏡で用いられているものと同一である。そして、白色光源６０からの照明光をハーフミラー６１を通し、走査光学系３と対物レンズ４の間に挿入される切換えミラー６２で反射させ、対物レンズ４を介して試料９を照明するようにしている。また、試料９からの反射光を切換えミラー６２で反射させ、さらにハーフミラー６１で反射させて撮像素子６３に集光するようにしている。ここで、切換えミラー６２は、自動合焦が開始されると、光路から退避するようになっている。

【００３８】

撮像素子６３には、ＣＣＤが用いられ、試料９の画像を撮像する。そして、撮像素子６３からの信号をコントロールボックス１１を経由してコンピュータ１６に取り込み、ディスプレイ１７に表示する。

【００３９】

しかして、撮像素子６３で得られる画像は、第１の実施の形態における非共焦点光学系８と同じで、共焦点光学系７に比べて焦点深度の深い画像であることから、非共焦点光学系８の説明で述べたように、最初の合焦位置を決定する際の画像として使用することができる。この場合、撮像素子６３としてカラーＣＣＤを用いれば、試料９の色情報も得られる

ので、さらに位置設定が容易になる。

【００４０】

なお、第２の実施の形態の場合、合焦位置の設定をＴＶ画像で行い、合焦処理は、共焦点光学系７で行うようになっていて、異なる２つの光学系を用いているので、それぞれの位置関係については、予め調整する必要がある。これには、例えば画像処理によってスケールなどの試料をＴＶ画像と共焦点光学系７の画像を重ねて表示し、共焦点光学系７の画像がＴＶ画像と一致するように、走査光学系の振り幅を調整するようにすればよい。

【００４１】

従って、このようにしても第１の実施の形態で述べたと同様な効果が期待できる。

また、この第２の実施の形態では、さらに、画像用メモリ１２とラインメモリ１３の間に平均処理回路６４を配置している。

【００４２】

つまり、第１の実施の形態では、画像上の１点の情報をラインメモリ１３に記憶している。この場合、試料９の表面が鏡面であれば１点の情報でも問題ないが表面全体に細かい凹凸があるような場合は、試料表面の状態によっては、反射光の光量が不安定になることがあり、このような状態では、図５に示すような輝度分布のデータが得られなくなってしまう。

【００４３】

そこで、第２の実施の形態では、図３で指定した位置Ｘでの輝度データとともに、その周辺の画像の輝度データを平均処理回路６４で平均化したものを使用している。これにより、試料表面に凹凸があるような場合でも、安定した反射光量が確保できることから、正確な輝度データが確保できることになる。

【００４４】

なお、平均化を行うための位置Ｘの周辺の範囲は、コンピュータ１６により観察者が自由に設定できるようになっている。

従って、このようにすれば、さらに、試料９の表面に凹凸があっても安定した光軸方向の輝度分布が得られるようになり、安定した自動合焦を実現できる。

（第３の実施の形態）

第１の実施の形態では、マウス１８により入力されて指示された位置Ｘの１点の画像データをラインメモリ１３に順次格納するようになっており、また、第２の実施の形態では、微小領域の画像信号の平均値をラインメモリ１３に格納するもので、反射光の光量が不安定の場合にも安定した輝度データを得られるようになっているが、例えば、試料９上に段差があるような場合で、指示した試料上り位置が段差の境界部であったような場合、段差の上段、下段のいずれの位置を輝度ピークとして検出するかが不安定になることがある。

【００４５】

そこで、この第３の実施の形態では、段差のある試料の境界部を指示した場合でも段差の上段または下段を安定的に検出できるようにしている。

この場合、図８は、第３の実施の形態の要部を示すもので、画像メモリ１２とラインメモリ１３の間に空間メモリ７０およびフィルタ演算機構７１を挿入している。その他は、図１と同様である。

【００４６】

つまり、かかる第３の実施の形態では、上述した第１の実施の形態のラインメモリ１３は、指示位置である１点の画像データの内容を観察高さの順に格納する１次元的なものであったが、このラインメモリ１３の他に図９に示すように３次元の空間メモリ７０を用いている。

【００４７】

この空間メモリ７０は、指示位置の画像データの内容とともに、その近傍の画像データの内容も同時に記憶できるようにしたものである。つまり、最初の観察高さ位置での指示位置の画像データの値を空間メモリ７０の１階層目のｅに格納するとともに、その近傍の画像データをａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｆ、ｇ、ｈ、ｉにそれぞれの位置に対応して格納するように

している。

【００４８】

そして、ラインメモリ１３の場合と同様に、観察位置を順に変更し、それぞれの高さの位置での画像データを空間メモリ７０の２階層目、３階層目と順に格納していく。この時、格納位置は、１階層目と同様に指示位置の画像データがｅに格納し、その近傍の画像データをａ、ｂ、ｃ、ｄ、ｆ、ｇ、ｈ、ｉの位置に格納するようにしている。

【００４９】

そして、このような空間メモリ７０の各階層での代表値を決めるための演算処理をフィルタ演算機構７１により行うようにしている。このフィルタ演算機構７１は、ワンチップマイコンの組み込みにより容易に実現可能である他、演算回路を使って演算処理することで実現することも可能である。

【００５０】

つまり、空間メモリ７０に格納された指示位置およびその近傍の観察高さ位置に対応した画像データについてフィルタ演算機構７１により演算処理を実行して、図１０に示すようなフィルタ処理後の値として各階層の代表値を求め、これら各階層の代表値をラインメモリ１３に格納し、第１の実施の形態で説明したと同様な処理によって段差の上段、下段を選択的に検出するようにしている。

【００５１】

図１０では、７２が空間メモリ７０に格納された各階層の画像データを示し、これをフィルタ演算機構７１のフィルタ７３の画像フィルタ係数により処理することで、各階層の出力代表値７４を求めるようにしている。

【００５２】

ここでのフィルタ７３での各画像フィルタ係数は、Ｘ方向のソーベルフィルタと呼ばれるもので、Ｘ方向の左から右に輝度が高く変化すると出力代表値が大きくなり、逆に左から右に輝度が低く変化すると出力代表値が負の方向に大きくなるようなものである。

【００５３】

しかして、いま、図１１に示すような段差を有する試料９の場合で、試料９のＺ方向の各位置（１）（２）（３）を観察した場合の、それぞれの観察画像を像（１）、像（２）、像（３）とすると、これらの画像データに対しフィルタ７３の画像フィルタ係数を用いて求められた代表値は、図示右端に示すものとなる。

【００５４】

ここでの画像データの値は、画像用メモリ１２の１画素が８ｂｉｔの場合で計算しており、（１）（３）の明部が２５６、暗部が０の場合の結果を示し、また、（２）の中間の場合は、画像データがすべて１２８として計算している。

【００５５】

これにより、左から暗から明に変化する場合に最大値１０２４となり、逆に明から暗に変化する場合は最小値－１０２４となる。

この性質を用いて右側の上段に焦点を合わせる場合は、代表値が最大となる位置を検出すればよく、左側の下段に焦点を合わせる場合は代表値の符号を反転させた値が最大となる位置を検出すればよい。

【００５６】

なお、フィルタ７３の画像フィルタ係数は、画像データの輝度変化に応じて、Ｙ方向の輝度変化を検出するようにフィルタ係数の値を変えて使うことも可能である。また、ここまでは、空間メモリ７０の各階層での処理対象とするデータ範囲を３×３の９データとしてきたが、より広い領域の情報に基づいてピーク位置を検出するには、５×５、７×７としても前述の効果は同様に得られる。

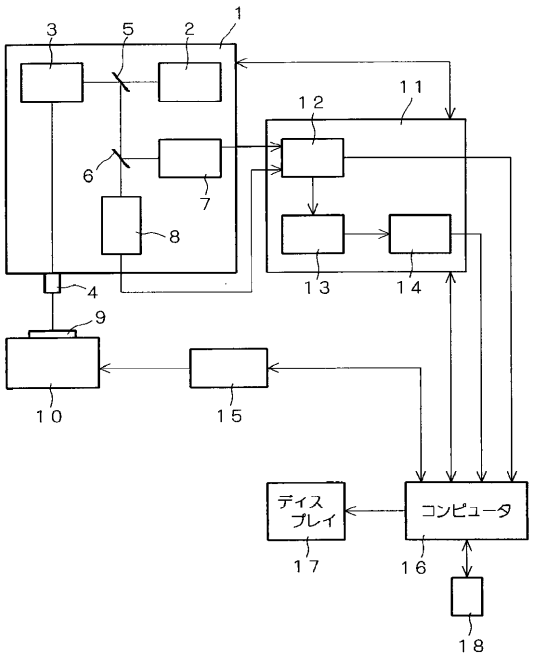
【００５７】

従って、このようにすれば、さらに段差のある試料の段部の境界部を指示した場合でも、段差の上段または下段を安定的に検出できるようになり、安定した自動合焦を実現できる。

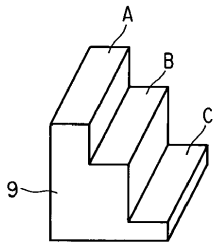
【００５８】
【発明の効果】
以上述べたように本発明によれば、合焦したい位置に対して精度の高い自動合焦を実現でき、共焦点顕微鏡観察においてピントずれによる影響をなくして精度の高い観察が実現できる。また、試料表面に凹凸があっても安定した光軸方向の輝度分布が得られ、安定した自動合焦を実現できる。さらに、段差のある試料の段部の境界部を指示したような場合でも、段差の上段または下段を安定的に検出できるようになり、安定した自動合焦を実現できる。
【図面の簡単な説明】
【図１】　本発明の第１の実施の形態の共焦点型顕微鏡の合焦装置の概略構成を示す図。
【図２】　第１の実施の形態に用いられる試料面を説明するための図。
【図３】　第１の実施の形態に用いられる試料面でのピントの状態を説明するための図。
【図４】　第１の実施の形態の動作を説明するためのフローチャート。
【図５】　第１の実施の形態に用いられるラインメモリでの輝度データの変化の一例を示す図。
【図６】　第１の実施の形態に用いられる演算回路での演算結果を示す図。
【図７】　本発明の第２の実施の形態の概略構成を示す図。
【図８】　本発明の第３の実施の形態の要部のみの概略構成を示す図。
【図９】　第３の実施の形態に用いられる空間メモリを説明するための図。
【図１０】　第３の実施の形態での代表値の決定方法を説明するための図。
【図１１】　第３の実施の形態での段差のある試料を説明するための図。
【図１２】　従来の自動合焦の方法の一例を説明するための図。
【符号の説明】
１…共焦点型顕微鏡本体、
２…レーザ光源、
３…走査光学系、
４…対物レンズ、
５…ビームスプリッタ、
６…ミラー、
７…共焦点光学系、
８…非共焦点光学系、
９…試料、
１０…ステージ、
１１…コントローラボックス、
１２…画像用メモリ、
１３…ラインメモリ、
１４…演算回路、
１５…Ｚ駆動回路、
１６…コンピュータ、
１７…ディスプレイ、
１８…マウス、
６０…白色光源、
６１…ハーフミラー、
６２…切換えミラー、
６３…撮像素子、
６４…平均処理回路、
７０…空間メモリ、
７１…フィルタ演算機構、
７２…各階層の画像データ、
７３…フィルタ、

７４…各階層の出力代表値。

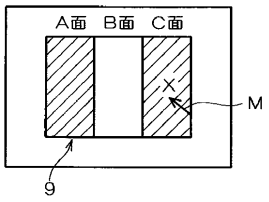
【図１】



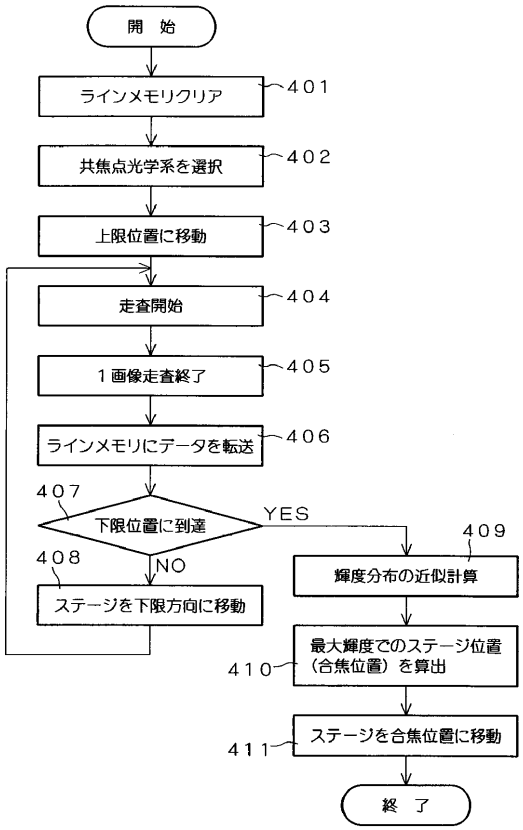
【図２】



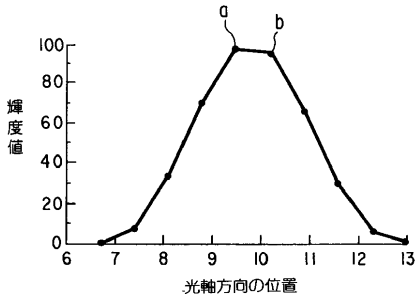
【図３】



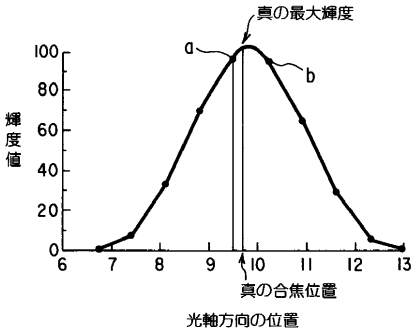
【図４】


開　始
ラインメモリクリア
401
共焦点光学系を選択
402
上限位置に移動
403
走査開始
404
１画像走査終了
405
ラインメモリにデータを転送
406
407
下限位置に到達
YES
409
408
NO
ステージを下限方向に移動
輝度分布の近似計算
最大輝度でのステージ位置
（合焦位置）を算出
410
ステージを合焦位置に移動
411
終　了

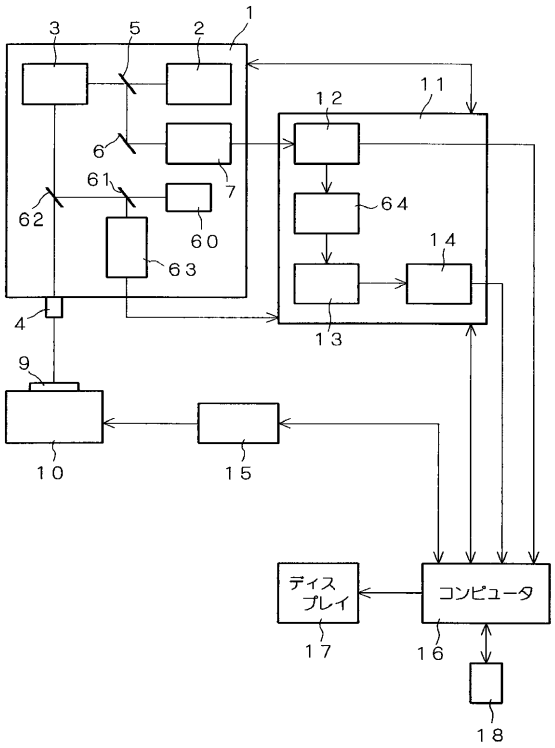
【図５】


a
b
100
80
60
40
20
0
輝度値
6
7
8
9
10
11
12
13
光軸方向の位置

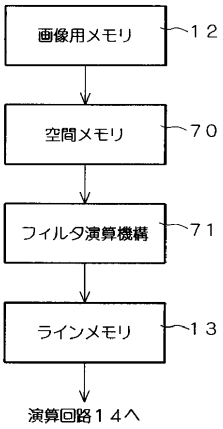
【図６】


真の最大輝度
a
b
100
80
60
40
20
0
輝度値
6
7
8
9
10
11
12
13
真の合焦位置
光軸方向の位置

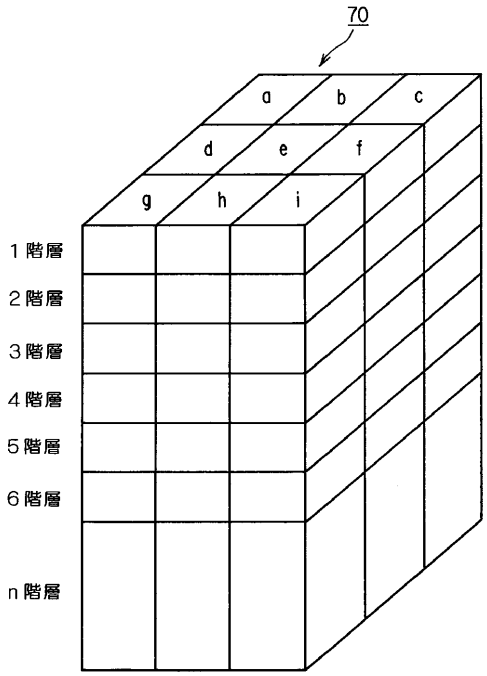
【図７】


1
2
3
4
5
6
7
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
60
61
62
63
64
ディスプレイ
コンピュータ

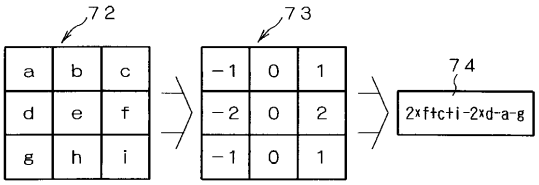
【図８】


画像用メモリ
12
空間メモリ
70
フィルタ演算機構
71
ラインメモリ
13
演算回路１４へ

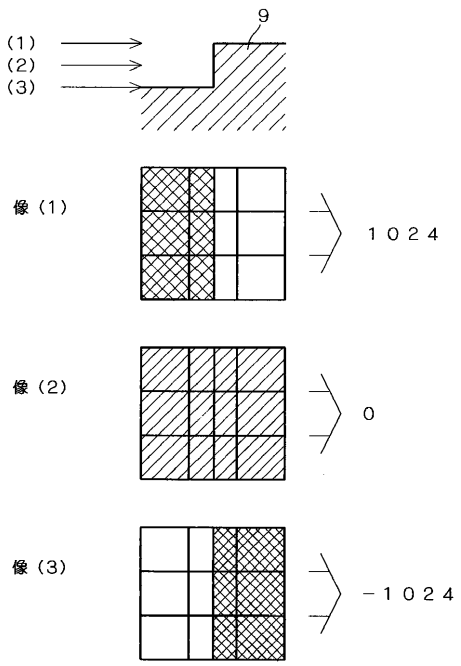
【図９】



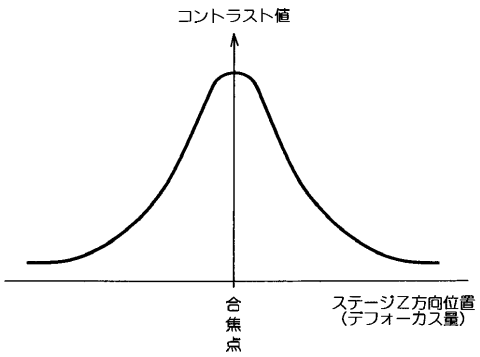
【図１０】



【図１１】



【図１２】



フロントページの続き

審査官　鈴野　幹夫

(56)参考文献　特開平０８－１６０３０６（ＪＰ，Ａ）
実開平０６－０５５１１２（ＪＰ，Ｕ）
特開平０６－３１７７３９（ＪＰ，Ａ）
特開平０４－３１４０１２（ＪＰ，Ａ）
特開平０８－０４３７１７（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
G02B 21/26
G02B 7/04
G02B 7/28
G03B 13/36