



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I824176 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：109130211

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 03 月 08 日

(51)Int. Cl. : G02B21/00 (2006.01)

G02B21/36 (2006.01)

(30)優先權：2018/03/14 美國

15/920,850

(71)申請人：美商奈米創尼克影像公司 (美國) NANOTRONICS IMAGING, INC. (US)
美國(72)發明人：普特曼 約翰 PUTMAN, JOHN B. (US)；普特曼 馬修 PUTMAN, MATTHEW C.
(US)；奧蘭朵 茱麗 ORLANDO, JULIE (US)；費許保 戴蘭 FASHBAUGH,
DYLAN (US)

(74)代理人：蔡清福；蔡駁理

(56)參考文獻：

TW 201428339A

CN 105954862A

JP 6035018B2

US 8331019B2

審查人員：蔡志明

申請專利範圍項數：32 項 圖式數：8 共 40 頁

(54)名稱

自動顯微聚焦系統、裝置及方法

(57)摘要

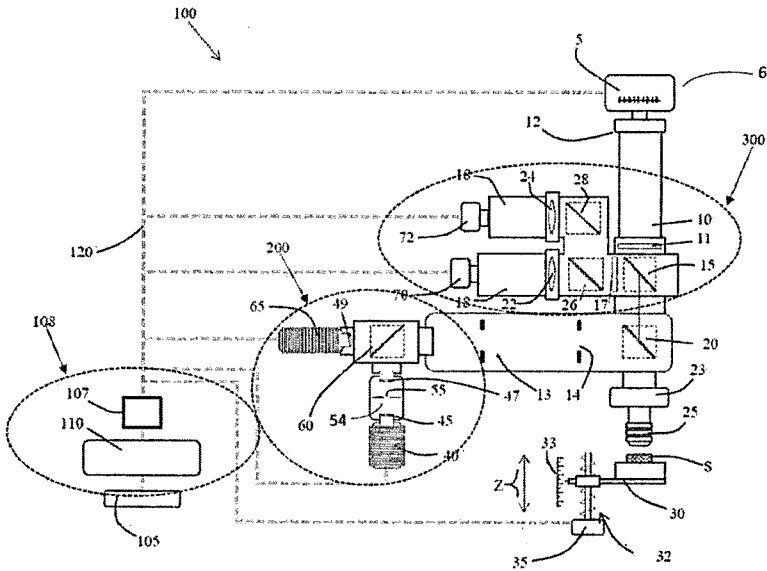
一種用於光學顯微鏡的自動聚焦系統，該光學顯微鏡藉由使用至少兩個相機來促進更快的聚焦。第一相機可以被置於第一影像成形共軛平面中並且接收來自傳輸第一波長範圍內之光的第一照明源的光。第二相機可以被置於距第一影像成形共軛平面的偏移距離處並且接收來自傳輸第二波長範圍內之光的第二照明源的光。

An automatic focus system for an optical microscope that facilitates faster focusing by using at least two cameras. The first camera can be positioned in a first image forming conjugate plane and receives light from a first illumination source that transmits light in a first wavelength range. The second camera can be positioned at an offset distance from the first image forming conjugate plane and receives light from a second illumination source that transmits light in a second wavelength range.

指定代表圖：

符號簡單說明：

- 5:成像相機
- 6:影像傳感器
- 10:顯微鏡筒透鏡
- 11:光學濾鏡
- 13:垂直照明器
- 14:視野闌(F-stop)
- 15:分色鏡
- 17:截止濾鏡
- 18:聚焦殼體
- 20:稜鏡
- 22、24、45、47、49: 聚焦透鏡
- 23:精聚焦致動器
- 25:物鏡
- 26:分束器
- 28:鏡子
- 30:平台
- 32、300:聚焦單元
- 33:定位裝置
- 35:致動器
- 40:次要照明源
- 54:共軛平面
- 55:聚焦圖案
- 60:分色鏡
- 65:主要照明源
- 70、72:聚焦相機
- 100:自動聚焦系統
- 107:控制器介面
- 108:控制系統
- 110:控制器
- 120:通信
- 200:照明單元



第1圖

I824176

【發明摘要】

【中文發明名稱】 自動顯微聚焦系統、裝置及方法

【英文發明名稱】 SYSTEMS, DEVICES AND METHODS FOR
AUTOMATIC MICROSCOPIC FOCUS

【中文】

一種用於光學顯微鏡的自動聚焦系統，該光學顯微鏡藉由使用至少兩個相機來促進更快的聚焦。第一相機可以被置於第一影像成形共軛平面中並且接收來自傳輸第一波長範圍內之光的第一照明源的光。第二相機可以被置於距第一影像成形共軛平面的偏移距離處並且接收來自傳輸第二波長範圍內之光的第二照明源的光。

【英文】

An automatic focus system for an optical microscope that facilitates faster focusing by using at least two cameras. The first camera can be positioned in a first image forming conjugate plane and receives light from a first illumination source that transmits light in a first wavelength range. The second camera can be positioned at an offset distance from the first image forming conjugate plane and receives light from a second illumination source that transmits light in a second wavelength range.

【指定代表圖】 第1圖

【代表圖之符號簡單說明】

5：成像相機	6：影像傳感器
10：顯微鏡筒透鏡	11：光學濾鏡
13：垂直照明器	14：視野闌（F-stop）
15：分色鏡	17：截止濾鏡
18：聚焦殼體	20：稜鏡
22、24、45、47、49：聚焦透鏡	
23：精聚焦致動器	25：物鏡
26：分束器	28：鏡子
30：平台	32、300：聚焦單元
33：定位裝置	35：致動器
40：次要照明源	54：共軛平面
55：聚焦圖案	60：分色鏡
65：主要照明源	70、72：聚焦相機
100：自動聚焦系統	107：控制器介面
108：控制系統	110：控制器
120：通信	200：照明單元

【發明說明書】

【中文發明名稱】 自動顯微聚焦系統、裝置及方法

【英文發明名稱】 SYSTEMS, DEVICES AND METHODS FOR
AUTOMATIC MICROSCOPIC FOCUS

【技術領域】

【0001】本揭露涉及用於自動顯微聚焦的基於影像的機構。

【先前技術】

【0002】用顯微鏡觀察的大多數樣品在橫跨其表面高度的有小的變化。雖這些變化通常對人眼為不可見，其卻可能導致由顯微鏡所捕獲的樣品的一部分的影像失焦。

【0003】顯微鏡可以建立可使用的聚焦影所在像的範圍已被知為景深。顯微鏡必須將樣品的一部分保持在其景深內以生成有用的影像。然而，當從觀察樣品的第一部分過渡到觀察樣品的第二部分時，樣品的高度的小變化可能使得該第二部分在景深之外。

【0004】像是影像對比度、解析度、熵及/或空間頻率內容等等的銳度測量可以被使用來測量由顯微鏡捕獲的影像的聚焦的品質。通常，當樣品為對焦時，所捕獲的影像將呈現最佳的銳度品質（例如，大對比度，高範圍的強度值以及銳利邊緣）。可能被使用於確定樣品何時為對焦的不同銳度測量通常需要捕獲一系列的影像並且增加或減小顯微鏡物鏡鏡片與樣品之間的距離，直到影像對焦出現。這增加了每個樣品的總顯微掃描時間，使得使用這種測量的方法對於高通量掃描應用來說過於緩慢。

【0005】因此，期望使用較少數量的影像找到合適的樣品的對焦平面。

【發明內容】

【0006】 提供了用於自動顯微焦點的系統，方法和介質。

【0007】 在一些實施例中，提供了用於自動聚焦顯微鏡的系統，該系統包括：物鏡；用於將樣品置於第一影像成形共軛平面上的平台；第一相機，配置用於聚焦，置於第二影像成形共軛平面上；第二相機，配置用於聚焦，被置於距第二影像成形共軛平面的偏移距離處；發射第一波長範圍內的光的主要照明源，其中所發射的光由第一相機接收；次要照明源，發射第二波長範圍內的光，該第二波長範圍不同於第一波長範圍並且通過被置於第三影像成形共軛平面上的聚焦圖案投射光，其中投射的光由第二相機接收；耦合到第一相機和第二相機的硬體處理器，被配置為：使用第一相機，基於銳度值確定樣品何時聚焦；當確定樣品對第一相機對焦時，使用第二相機確定樣品的銳度設定點；在樣品移動之後，使用第二相機確定樣品的第一銳度值；確定樣品的第一銳度值是高於還是低於銳度設定點；並且調整物鏡和平台之間的距離，使得使用第二相機確定的樣品的第二銳度值對應於銳度設定點。

【0008】 在一些實施例中，提供了用於自動聚焦顯微鏡的系統，該系統包括：物鏡；平台，用於將樣品置於第一影像成形共軛平面上；第一相機，被配置為當確定樣品對焦時取得樣品的影像，被置於第二影像成形共軛平面上；第二相機，被配置為用於聚焦，被置於第三影像成形共軛平面上；第三相機，被配置為用於聚焦，被置於距第三影像成形共軛平面的偏移距離處；主要照明源，發射第一波長範圍內的光，其中所發射的光由第一相機接收；次要照明源，發射第二波長範圍內的光，該第二波長範圍不同於第一波長範圍，並且其投射該光通過被置於第四影像成形共軛平面上的聚焦圖案，其中所投射的光由第二和第三相機接收；硬體處理器，被耦連到第二相機和第三相機，其被配置為：使用第二相機，基於銳度值確定樣品何時為對焦；當樣品被確定對於第二相機為

對焦時，使用第三相機確定樣品的銳度設定點；在樣品的移動之後，使用第三相機確定樣品的第一銳度值；確定樣品的第一銳度值是否為高於或低於銳度設定點；以及調整物鏡和平台之間的距離，使得使用第三相機所確定的樣品的第二銳度值對應於銳度設定點。

【0009】 在一些實施例中，提供了用於自動聚焦顯微鏡的方法，該方法包括：將樣品置於在第一影像成形共軛平面上的平台上；將配置為用於聚焦的第一相機置於第二影像成形共軛平面上；將配置為用於聚焦的第二相機置於距第二影像成形共軛平面的偏移距離處；從主要照明源發射第一波長範圍內的光，其中所發射的光由第一相機接收；從次要照明源發射第二波長範圍內的光，第二波長範圍不同於第一波長範圍，其中該光被投射通過被置於第三影像成形共軛平面上的聚焦圖案，其中所投射的光由第二相機接收；由硬體處理器使用第一相機基於銳度值確定何時樣品為對焦；當樣品被確定對於第一相機為對焦時，由硬體處理器使用第二相機確定對於樣品的銳度設定點；在樣品的移動之後，由硬體處理器使用第二相機確定樣品的第一銳度值；由硬體處理器確定樣品的第一銳度值是否為高於或低於銳度設定點；以及由硬體處理器調整物鏡和平台之間的距離，使得使用第二相機所確定的樣品的第二銳度值對應於銳度設定點。

【0010】 在一些實施例中，提供了用於自動聚焦顯微鏡的方法，該方法包括：將樣品置於在第一影像成形共軛平面上的平台上；將第一相機置於第二影像成形共軛平面上，所述第一相機被配置用於當樣品被確定為對焦時取得樣品的影像；將配置用於聚焦的第二相機置於第三影像成形共軛平面上；將配置用於聚焦的第三相機置於距第三影像成形共軛平面的偏移距離處；從主要照明源發射第一波長範圍內的光，其中所發射的光由第一相機接收；從次要照明源發射第二波長範圍內的光，第二波長範圍不同於第一波長範圍，其中該光被投射

通過被置於第四影像成形共軛平面上的聚焦圖案，其中所投射的光由第二和第三相機所接收；由硬體處理器使用第二相機基於銳度值確定何時樣品為對焦；當樣品被確定對於第二相機為對焦時，由硬體處理器使用第三相機確定對於樣品的銳度設定點；在樣品的移動之後，由硬體處理器使用第三相機確定樣品的第一銳度值；由硬體處理器確定樣品的第一銳度值是否為高於或低於銳度設定點；以及由硬體處理器調整物鏡和平台之間的距離，使得使用第三相機所確定的樣品的第二銳度值對應於銳度設定點。

【圖式簡單說明】

【0011】

第1圖顯示了根據所揭露主題內容的一些實施例的自動聚焦系統的示例。

第2圖顯示了根據所揭露主題內容的一些實施例的照明單元的示例。

第3圖顯示了根據所揭露主題內容的一些實施例的聚焦單元的示例。

第4圖顯示了根據所揭露主題內容的一些實施例的光學路徑的示例。

第5圖顯示了根據所揭露主題內容的一些實施例的主要聚焦相機的銳度曲線的示例。

第6圖顯示了根據所揭露主題內容的一些實施例的偏移聚焦相機的銳度曲線的示例。

第7圖顯示了根據所揭露主題內容的一些實施例的在距影像成形共軛平面的不同距離處的偏移聚焦相機的銳度曲線的示例。

第8圖顯示了根據所揭露主題內容的一些實施例的使用自動聚焦系統（像是第1圖中所示的系統）用於執行自動聚焦的過程的流程圖的示例。

【實施方式】

【0012】根據所揭露的主題內容的一些實施例，提供了用於樣品的自動顯微聚焦的機構（其可包含系統、方法、裝置、設備等）。

【0013】第1圖示出了根據所揭露主題內容的一些實施例的自動聚焦系統的示例100。在高水準上，根據一些實施例，自動聚焦系統100的基本組件包含用於提供光的照明單元200、用於找到樣品的對焦平面的聚焦單元300、垂直照明器13、成像相機25、物鏡2、平台30以及包括硬體、軟體及/或韌體的控制系統108。

【0014】自動聚焦系統100可以被施行為任何適合類型的顯微鏡一部分。例如，在一些實施例中，系統100可以被施行為使用傳輸光(transmitted light)或反射光的光學顯微鏡的部分。更特別地，系統100可以被施行為從俄亥俄州Cuyahoga Falls的Nanotronics Imaging, Inc.可用的nSpec®光學顯微鏡的部分。雖然以下描述涉及反射光垂直照明器13，但是本文描述的機構可以是不使用反射光垂直照明器的顯微鏡的部分。

【0015】根據一些實施例，顯微鏡可以包含一個或多個物鏡25。物鏡可以具有不同的放大倍率及/或被配置為以明場/暗場顯微鏡、干涉相位差（DIC）顯微鏡術及/或任何其他合適形式的顯微鏡來操作。在一些實施例中，被使用於檢查樣品的物鏡及/或顯微鏡技術可由軟體、硬體及/或韌體來控制。

【0016】在一些實施例中，精聚焦致動器23可被使用於沿Z方向驅動物鏡25而朝向和遠離平台30。精聚焦致動器23可被設計用於物鏡25的高精度和精聚焦調整。精聚焦致動器23可以是步進馬達、伺服馬達、線性致動器、壓電馬達及/或任何其他合適的機構。例如，在一些實施例中，壓電馬達可以被使用並且可以驅動物鏡0至50微米（ μm ）、0至100 μm 、或0至200 μm 及/或任何其他合適範圍的距離。

【0017】在一些實施例中，XY平移平台可被使用於平台30。XY平移平台可由步進馬達、伺服馬達，線性馬達及/或任何其他合適的機構驅動。

【0018】在一些實施例中，包括致動器35的聚焦單元32可被使用於在Z方向調整平台30朝向和遠離物鏡25。致動器35可被使用於進行例如0至5mm、0至10mm、0至30mm及/或任何其他合適範圍的距離的粗聚焦調整。致動器35也可被使用於移動平台30上及下，以允許不同厚度的樣品被放置在平台上。在一些實施例中，致動器35也可被使用於提供例如0至50 μm 、0至100 μm 、0至200 μm 及/或任何其他合適範圍的距離的精聚焦。在一些實施例中，聚焦單元32也可以包括定位裝置33。定位裝置可以被配置為儲存平台30的絕對位置（例如，當樣品為對焦時平台的位置），即使在自動聚焦系統100的重置及/或電力循環時。在一些實施例中，定位裝置可以是線性編碼器、旋轉編碼器或任何其他合適的機構，以追蹤平台30相對於物鏡的絕對位置。

【0019】在一些實施例中，自動聚焦系統100當其被適當地聚焦和對準時，可以包含沿著經由顯微鏡的光學路徑而發生的一組共軛焦平面（例如影像成形共軛組）。影像成形共軛組內的每一平面與該組中的其他平面共軛，因為當經由顯微鏡觀察樣品時該等平面同時為聚焦並且可以彼此疊加地觀看。自動聚焦系統100中的影像成形共軛平面的組可包含主要聚焦相機72影像平面、成像相機5影像平面、聚焦圖案55影像平面、視野闌（F-stop）14影像平面以及樣品影像平面。更具體地，本文中對於主要聚焦相機72及成像相機5置於影像成形共軛平面上的所有參考涉及將傳感器置於影像成形共軛平面上的相機5和7內。

【0020】在一些實施例中，聚焦圖案55可由不透明材料形成，具有從材料中切出的圖案。材料的切口區允許光穿過樣品影像平面，而不透明材料區阻擋光穿過。在其他實施例中，聚焦圖案55可以由透明材料形成，像是透明玻璃或透明塑膠，其上具有不透明圖案，這使得影像由穿過透明玻璃或塑膠的光而被投射在樣品影像平面上。

【0021】在一些實施例中，成像相機5可包含被置於自動聚焦系統100的影像成形共軛平面上的影像傳感器6。一旦控制系統108確定樣本為對焦，成像相機5可被使用於捕獲樣品的影像。影像傳感器6可以是例如CCD、CMOS及/或允許樣品影像被捕獲和儲存的任何其他合適的電子裝置。

【0022】在一些實施例中，控制系統108，包括控制器110和控制器介面107，可以控制自動聚焦系統100的組件（例如，致動器35和23、主要照明源65、次要照明源40、聚焦相機70和72、平台30、聚焦圖案55、成像相機5和物鏡25）、及通信、操作（例如，取得影像，開啟和關閉照明源、移動平台30和物鏡25、儲存與樣品相關聯的不同的值）以及由自動聚焦系統的組件所執行的計算及在自動聚焦系統組件之間（例如，銳度計算）的任何設定。控制系統108可以包含任何合適的硬體（其可在一些實施例中執行軟體），像是例如電腦、微處理器、微控制器、特定應用積體電路（ASIC）以及數位信號處理器（其任何一者可以稱為硬體處理器）、編碼器、讀取編碼器的電路、記憶體裝置（包含一或多個EPROMS、一或多個EEPROM、動態隨機存取記憶體（“DRAM”）、靜態隨機存取記憶體（“SRAM”）及/或快閃記憶體）及/或任何其他合適的硬體元件。在一些實施例中，自動聚焦系統100內的個別組件可以包含它們自己的軟體、軟體及/或硬體，以控制個別組件並與自動聚焦系統100中的其他組件通信。

【0023】在一些實施例中，控制系統（例如，控制器110和控制器介面107）與自動聚焦系統100的組件之間的通信120可以使用類比技術（例如，中繼邏輯）、數位技術（例如，使用RS232、乙太網路或無線）及/或任何其他合適的通信技術。

【0024】在一些實施例中，操作者輸入可使用任何合適的輸入裝置（例如，鍵盤、滑鼠或操縱桿）被傳遞至控制系統。

【0025】第2圖顯示根據所揭露主題內容的一些實施例的自動聚焦系統的照明單元的實施例的一般配置。照明單元200可以包含兩個照明源，例如主要照明源65和次要照明源40。照明源可以提供彼此在不同的波長範圍內的光束。

【0026】在一些實施例中，例如，主要照明源65提供具有在451到750奈米（nm）範圍內的波長的光束，而次要照明源40提供具有高或低於被使用於主要源的波長範圍的波長之光束。例如，主要照明源65的波長範圍可以在550到750nm的範圍內，以及次要照明源的波長範圍可以在400到450nm的範圍內。只要該範圍的值是已知的，任何波長範圍的光都可以用於主要照明源65，並且可以使用已知的濾波技術而從其他波長被分開。類似地，任何波長範圍的光可以被使用於次要照明源40，只要該光與主要照明源65不在相同的波長範圍內。

【0027】在一些實施例中，如第1圖所示，主要照明源65被置位使得其光在水平方向被傳輸朝向垂直照明器13。主要照明源65可以包含聚焦透鏡49（例如，雙凸透鏡）用於聚焦主要光束。次要照明源40可以被置於位於影像成形共軛平面54上的聚焦圖案55之下的適當距離處。聚焦圖案55的直徑（例如，5mm）可以被調整，使得聚焦圖案55的投射小於聚焦相機70和72的視野（FOV）。聚焦圖案55可以是任何合適的幾何形狀，例如圓形、矩形、三角形或六邊形。聚焦圖案55還可以包括一系列分離的開口，使得當光被傳輸經過分離的開口時，線和空間被投射跨過視野。在一些實施例中，主要照明源65和次要照明源40的位置可以被切換。

【0028】在一些實施例中，自動聚焦系統100可以被配置為使得來自次要照明源40的光連續地被傳輸通過聚焦圖案55，以便將聚焦圖案影像連續投射在可以由聚焦相機70及72所捕獲的樣品上。聚焦圖案影像的連續投射可以促進樣品的銳度聚焦，特別是對於透明樣品或缺乏任何視覺可識別特徵的樣品。為了銳度聚焦，聚焦圖案55可以代替視野闌、或者連同視野闌而被使用。例如，除了

聚焦圖案55之外，自動聚焦系統100也可以包含可以位於垂直照明器13中的視野闌（F-stop）14。視野闌14也可以被置於自動聚焦系統100的影像成形共軛平面上。在一些實施例中，視野闌14控制由照明源65和40所發射並且被傳輸至物鏡25的光的直徑。更具體地，在一些實施例中，藉由減小視野闌的尺寸，光穿過的直徑減小了。這在由聚焦相機70和72所接收的樣品的影像周圍建立暗輪廓，並且可以被使用於調整樣品的聚焦（例如，藉由移動樣品和物鏡彼此更近或者更相離）。在最大測量銳度的點，樣品被認為是對焦的，並且視野闌可以被打開至更大的尺寸，以允許藉由成像相機5之樣品的成像。然而，減小視野闌並將其回復到其原始尺寸花費時間（例如，2-5秒）並且會減慢掃描過程和通量。

【0029】 聚焦圖案55可以被置於自動聚焦系統100的任何合適的影像成形共軛平面上（例如，在次要照明源40（如第1圖所示）上方，或者在視野闌14處），當需要時，只要適當的濾鏡被使用以確定聚焦圖案55不被投射到成像相機5上。例如，如果聚焦圖案55被置於視野闌14影像成形共軛平面上（代替視野闌14），那麼濾鏡是需要的。在一些實施例中，頻帶濾鏡可以位於視野闌影像成形共軛平面上（代替視野闌14），並且以圖案切口形式的聚焦圖案可以在頻帶濾鏡中建立。更具體地，頻帶濾鏡可以被選擇，其傳輸在主要照明源65的相同波長範圍（例如，大於450nm）內的光並且阻擋在次要照明源40的相同波長範圍（例如，小於或等於450nm）內的光，除了聚焦圖案55區域中。換句話說，除了聚焦圖案55的區域中之外，在次要照明40源的相同波長範圍內的光將被阻擋，這將允許來自次要照明40的光被傳輸經過至聚焦相機70和72。如下所述並結合第4圖，光學濾鏡11確保僅來自主要照明源65的光被傳輸到成像相機5。

【0030】 注意的是，在一些實施例中，任何合適的照明源可以與照明單元200一起使用，像是用於次要照明源40的400nm紫外準直發光二極體（LED）以及用於主要照明源65的5500K白光準直LED。

【0031】在一些實施例中，聚焦透鏡45（例如，60mm聚焦長度雙凸透鏡）可以被放置在次要照明源40和聚焦圖案55之間的合適距離處。此外，另一聚焦透鏡47可以被放置在聚焦55的另一側的合適的距離處。在一些實施例中，透鏡45和47與聚焦圖案55的距離可以基於顯微鏡的光學特性，以確保光的聚焦和聚焦圖案55的置位是在共軛影像成形平面中。

【0032】在一些實施例中，在光行進至垂直照明器13之前，分色鏡(dichroic)60被放置在主要照明源65和次要照明源40兩者的光學路徑中。如本文所使用的，分色鏡可以指鏡子、光束分離器、濾鏡或光束組合器，其傳輸已知的、特定的波長的光並且將其與另一已知的、特定的波長的光組合。注意的是，前述裝置的組合可以被用於反射和傳輸所需的照明源和波長。在一些實施例中，具有特定截止波長的分色鏡被選擇，以便反射由次要照明源40發射的光的波長，並且允許從主要照明源65發射的光的波長穿過。例如，如果次要照明源40發射400-450nm的波長範圍內的光並且主要照明源65發射550-750nm的波長範圍的光，則450nm截止分色鏡（亦即，反射具有450nm及以下的波長的光並且允許大於450nm的波長的光穿過，從而組合光束的分色鏡）可以被使用於反射來自次要照明源40的光並且允許來自主要照明源65的光穿過。分色鏡60可以被設計成用於45°入射角，使得被拒絕的來自次要照明源40的光以90°的角被反射並且平行於來自主要照明源65的光路行進。

【0033】在一些實施例中，主要照明源65可以是被用於在成像相機5中的成像傳感器6上成像樣品的光源，並且次要照明源40可以是被使用於在聚焦相機70和72的聚焦傳感器71和73上成像樣品的光源。

【0034】注意的是，在一些實施例中，任何合適的分色鏡、照明器、照明源、聚焦透鏡、傳感器以及聚焦圖案可以與照明單元200一起使用。在一些實施例中，這些組件的任何合適的安排可以與照明單元200一起使用。在一些實施例

中，照明單元200的組件可以以任何合適的方式安裝到照明器13，像是藉由使用導桿以類似於如何聚焦相機72示出被安裝到第3圖中的聚焦殼體18的方式（如下面描述），以允許可變的幾何。

【0035】第3圖顯示根據所揭露主題內容的一些實施例的自動聚焦系統的聚焦單元的實施例的一般配置的示例。聚焦單元300可包含兩個相機：主要聚焦相機70和偏移聚焦相機72。這些相機可包含例如電荷耦合元件（CCD）影像傳感器、CMOS影像傳感器及/或任何其它合適的允許樣本的影像被捕獲的影像傳感器。在一些實施例中，所捕獲的影像由控制系統108儲存和分析。

【0036】聚焦單元300可以被安裝在垂直照明器13和成像相機透鏡筒10之間的區域中。該區域已知為無限空間。在一些實施例中，聚焦單元300可以使用適當的組件安裝在其他定位中，以使所選擇的定位適應系統的光學特性。

【0037】主要聚焦相機70可包含被置於自動聚焦系統100的影像成形共軛平面（例如由線80所表示者）上的傳感器71。

【0038】偏移聚焦相機72可以包含可以被置於與影像成形共軛平面80的偏移處的傳感器73。偏移可以是於正方向81或負方向79。偏移聚焦相機72可位於主要聚焦相機70之上或之下。偏移聚焦相機72為沿著導桿76或任何其他合適的結構而可移動，以便調整偏移相機72的偏移距離。偏移距離可以基於對於偏移聚焦相機72在距影像成形共軛平面80之不同距離處所計算的銳度曲線被調整，如下面結合第7圖所討論者。

【0039】聚焦單元300也可以包含兩個聚焦透鏡24和22。聚焦透鏡22可以被放置在與主要聚焦相機70相同的水平光學路徑中，並且聚焦透鏡24可以被放置在與偏移聚焦相機72相同的水平光學路徑中。在一些實施例中，聚焦透鏡22和24實現與顯微鏡筒透鏡10相同的焦距，以確保傳感器71和73每一個當它們被置於影像成形共軛平面80上時均為對焦。顯微鏡筒透鏡10可以包含用於將樣品的

影像聚焦在傳感器6上的透鏡（未顯示），使得當傳感器6被置於自動聚焦系統100的影像成形共軛平面上時，樣品為對焦。

【0040】注意的是，在一些實施例中，透鏡22和24可以是雙凸透鏡或任何其他合適類型的透鏡。在一些實施例中，透鏡的焦距可以為基於顯微鏡的光學特性。

【0041】如第3圖所示，聚焦單元300也可以包含被置於光從樣品反射離開的光學路徑中的垂直發光器13上方的截止分色鏡15。分色鏡15被置位使得從在分色鏡的截止下方的樣品反射的光以90°角朝向主要聚焦相機70反射。具有特定截止波長的分色鏡可以被選擇，以便反射由次要照明源40（“聚焦光束”）所發射的光的波長。例如，如果聚焦光束為在400到450nm的範圍內，則450nm截止濾鏡可以與聚焦單元300一起使用，以便將聚焦光束反射到主要聚焦相機70。

【0042】在一些實施例中，聚焦單元300可以包含可以被置於分色鏡15和主要聚焦相機70之間的分束器26。分束器26可以是例如50/50分束器，其被設計為以發送50%的聚焦光束至主要聚焦相機70以及50%的聚焦光束至偏移聚焦相機72。鏡子28可以被放置在分束器26正上方一定距離處，並且可以被設計成將來自分束器26的光導向至偏移聚焦相機72。

【0043】在一些實施例中，截止濾鏡17可以被置於分色鏡15和分束器26之間，以濾除來自主要照明源65的任何光（“成像光束”）。例如，如果成像光束具有450nm及以上範圍內的波長，則450nm截止濾鏡可以被使用於濾除成像光束並避免成像光束將光傳輸到聚焦相機70和72。在其他實施例中，兩個截止濾鏡可以被使用，並且每個濾鏡可以被放置在例如透鏡22及24之前或之後。

【0044】注意的是，在一些實施例中，任何合適的分色鏡、聚焦相機、聚焦透鏡、鏡子、影像傳感器、分束器和截止濾鏡可以與聚焦單元300一起使用。在一些實施例中，這些組件的任何合適的安排可以與聚焦單元300一起使用。聚

焦單元300的組件可以被安裝至導桿或用於連接部件的任何其他合適的結構。此外，在一些實施例中，主要聚焦相機70不是必需的，並且本文所描述的用於主要聚焦相機70的聚焦操作可以替代地由成像相機5執行。

【0045】第4圖顯示根據所揭露主題內容的一些實施例的用於自動聚焦系統100的由一對虛線所表示的示例光學路徑。自動聚焦系統100可以被配置成使得從次要照明源40發射的光（“聚焦光束（FB）”，如由較短的虛線所表示）被投射到樣品S上，並且然後被反射到聚焦相機70和72。自動聚焦系統100也可以被配置成使得從主要照明源65發射的光（“成像光束（IB）”，如由較長的虛線所表示）被投射到樣品S上，並且然後被反射到成像相機5。

【0046】更具體地，在一些實施例中，聚焦光束可以從照明源40經過聚焦圖案55行進到分色鏡60。分色鏡60可以將聚焦光束反射向垂直照明器13。

【0047】成像光束可以從主要照明源65行進，穿過分色鏡60以與聚焦光束組合。

【0048】然後，組合光束可以行進經過垂直照明器13到達稜鏡20。稜鏡20可以將來自照明源的光以90°向下反射經過換鏡旋座和物鏡25至樣品S。樣品S可以反射組合光束向上經過物鏡25，其然後被傳輸經過稜鏡20朝向分色鏡15。分色鏡15可以藉由例如將聚焦光束的波長反射至聚焦相機70和72，並且藉由允許成像光束的波長通過朝向相機5而將傳輸光束分離回入至成像光束和聚焦光束。

【0049】在一些實施例中，由分色鏡15反射的聚焦光束可以穿過截止濾鏡17以去除截止波長以上的任何光。聚焦光束然後可以行進至分束器26。分束器26可以藉由將光導向經過位於聚焦殼體18中的聚焦透鏡22，將50%的聚焦光束發送朝向主要聚焦相機70。從那裡，聚焦光束可以行進到相機70中的光傳感器71（第3圖）。其餘50%的聚焦光束可以由分束器26被往上導向朝向鏡子28。鏡

子28可以將聚焦光束反射朝向位於聚焦殼體19中的聚焦透鏡24。從那裡，聚焦光束可以被導向至偏移相機72中的傳感器73（第3圖）。

【0050】在一些實施例中，穿過分色鏡鏡15的成像光束可以穿過光學濾鏡11（例如，僅傳輸來自成像光束的波長的濾鏡），向上經過筒透鏡10，並且至位於成像相機5中的相機傳感器6。

【0051】在一些實施例中，主要聚焦相機70可被使用於確定樣品的聚焦點。例如，樣品的聚焦可以藉由沿Z軸（如第1圖所示）移動物鏡和平台更靠近彼此或更遠離而調整。更特殊地，主要聚焦相機70可以被使用於在兩個或更多個Z位置獲得樣品的影像（例如，藉由在Z方向移動平台30及/或物鏡25）。從得到的影像中，相對銳度值可以藉由控制系統108對於樣品的每個Z位置而計算，以確定聚焦的品質。自動聚焦系統100可以使用任何合適的銳度方程式來計算所得到的影像的相對銳度。可以被自動聚焦系統100使用來計算相對銳度得分的一個示例方程式是影像變異數V的量度，由平均數 μ 所歸一化以解釋強度波動：

$$V = \frac{1}{\mu} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^M [s(i, j) - \mu]^2$$

其中 $s(i, j)$ 是坐標 (i, j) 處的灰度像素值，以及N和M分別表示i和j方向中的像素數。用於計算可由自動聚焦系統100使用的相對銳度值的其他示例方法是由Sivash Yazdanfar 等人，“Simple and Robust Image-Based Autofocusing for Digital Microscopy,” Optics Express Vol. 16, No.12, 8670（2008）所描述者，其全部內容藉由參引從而在本文併入。以上揭露的方法僅是示例，而非旨在限制。

【0052】第5圖顯示包括X軸以及Y軸的圖表，該X軸表示樣品在Z方向中的相對位置（“Z位置”）以及該Y軸表示相對銳度得分。相對Z位置表示平台30的頂部與物鏡25之間的距離。Z位置可以藉由調整平台30朝向或遠離物鏡25及/或藉由

調整物鏡25朝向或遠離平台30而被改變。第5圖中所顯示的銳度曲線在沿曲線的每個測量點將由主要聚焦相機70所捕獲的影像之相對銳度相對Z位置比較。如第5圖所示，樣品的銳度值在給定的相對位置（例如，Z位置130）處（可被稱為對焦位置）可以具有最大的測量銳度（例如，第5圖中的銳度得分為70）並且可以在對焦位置的每一側（例如，Z位置130）對稱地減小。在某些例子中，第5圖中在聚焦位置的曲線的斜率可以為零或接近零。應當理解，如本文所使用的術語“對焦”旨在表示何時物鏡和平台的相對置位使得銳度測量處於在或靠近銳度曲線之頂部的點。術語“對焦”並非旨在限於完美或最佳聚焦。

【0053】粗Z移動的範圍由線137（例如，在500 μm 處）和142（例如，在2500 μm ）來表示。精聚焦Z移動的範圍由線136（例如，在1400 μm ）和141（例如，在1600 μm ）來表示。注意的是，Z移動的範圍是指在物鏡25和平台30之間實現不同Z位置的實際移動範圍。Z移動的範圍也是指銳度計算可以被使用於聚焦樣品所在的Z移動的範圍。當平台30和物鏡25移動更遠離，箭頭135顯示銳度得分增加到在Z位置130處的最大點（指示影像被認為是如上所述的對焦），以及當平台30和物鏡25繼續移動更遠離，箭頭140顯示銳度得分從在Z位置130處的最大點減小。

【0054】第6圖顯示偏移聚焦相機72的示例銳度曲線。近似於第5圖，曲線圖的X軸表示相對Z位置，Y軸表示相對銳度得分，以及線130指示對於主要聚焦相機70的最大測量銳度值被找到所在的Z位置。第6圖中所示的銳度曲線，在沿曲線的每個點，將由偏移聚焦相機72所捕獲的影像的相對銳度與相對Z位置比較。在一些實施例中，自動聚焦系統100可以使用相同的方程式來計算對於主要聚焦相機70和偏移聚焦相機72的銳度曲線。

【0055】如第6圖的示例中所顯示，在使用如上所述的主要聚焦相機70結合第5圖所確定的對焦位置（例如，Z位置130），對於由偏移聚焦相機72所捕獲的影像的相對銳度值為約28（如箭頭138所指示）。該值（例如，28）可以由控制

系統108儲存作為對於該特別樣品、樣品類別及/或任何其他合適的分類組的對於偏移相機72的銳度設定點。在一些實施例中，樣品類別可以基於相似反射品質的材料所製成的樣品來定義。一些示例性樣品類別可以包含但不限於：裸矽晶片(wafer)；具有已知圖案的半導體晶片；以及用玻璃載玻片和蓋玻片一致地製備的相同已知物質的生物樣品。

【0056】如第6圖所示，對於由偏移聚焦相機72取得的影像的銳度曲線在線137和142之間（表示Z移動的範圍）不斷地增加（如箭頭150所示）。一旦樣品或樣品的類別的銳度設定點被找到，則偏移聚焦相機72可以被使用於確定是否將平台30和物鏡25移動得更近彼此還是更遠離。例如，如果樣品的銳度設定點被確定為28，並且平台30在垂直於Z軸的X / Y平面中平移，使得樣品不再為對焦，則由偏移聚焦相機72所捕獲的影像的銳度值，連同銳度設定點和銳度曲線，可以被使用，使樣品重回對焦。例如，如果對於樣品的影像的銳度設定點如上所述為28，如由偏移聚焦相機72所捕獲的，並且樣品的影像的相對銳度值在平台平移後，如由偏移聚焦相機72所捕獲的為52（例如），然後，從如第6圖中的銳度曲線所顯見的，平台和物鏡之間的距離必須減小（例如，從2000 μm 到1500 μm ）以使樣品重回對焦。另一方面，如果對於由偏移聚焦相機72所捕獲的樣品的影像的相對銳度值小於28（例如，在20），則從第6圖中的銳度曲線作為證據，平台和物鏡之間的距離必須被增加（例如，從1000 μm 到1500 μm ）以使樣品重回對焦。由於偏移聚焦相機72的相對銳度曲線連同銳度設定點指示是否平台和物鏡之間的距離必須減小或增加，較少的樣品影像可以被取得而使樣品重回聚焦。

【0057】關於是否將平台和物鏡移動彼此更近或更遠離的相同資訊不能從第5圖中所顯示的銳度曲線中來收集。例如，如第5圖所示，如果如由主要聚焦相機70所捕獲的樣品的最大測量銳度值是70，並且樣品的實際銳度值被測量為

51，則銳度曲線顯示相對Z位置可以是在Z位置130的對焦點的右側或左側。因為相對Z位置可以在Z位置130的對焦點的右側或左側，所以銳度曲線不能被使用於確定是否將平台和物鏡移動彼此更近或更遠離。

【0058】第7圖顯示對於偏移聚焦相機72的不同示例銳度曲線（即，銳度曲線A、B和C）（當其被置於距影像成形共軛平面80不同距離處時（如第3圖所示））。類似於第6圖，第7圖中的曲線圖的X軸表示相對的Z位置，Y軸表示相對銳度得分，以及線130指示對於主要聚焦相機70的最大測量銳度值被找到所在的Z位置。銳度曲線A、B和C在沿曲線的每個點處比較由偏移聚焦相機72所捕獲的影像的相對銳度與相對Z位置。銳度曲線D在沿曲線的每個點處比較由主要聚焦相機70所捕獲的影像的相對銳度與相對Z位置。在一些實施例中，自動聚焦系統100使用相同的銳度方程來計算銳度曲線A、B、C和D。注意的是，偏移聚焦相機72的置位於本文是指在聚焦相機72中傳感器73的置位。

【0059】在三條銳度曲線中，曲線C表示對於偏移聚焦相機72當其最接近影像成形共軛平面80時的銳度曲線。曲線B表示對於偏移聚焦相機72當偏移相機處於比對於曲線C的其偏移距離更遠的距離、但是比對於曲線A的其偏移距離更近的距離時的銳度曲線。曲線A表示對於偏移聚焦相機72當偏移相機距影像成形共軛平面80最遠離時的銳度曲線。偏移距離是指偏移聚焦相機72的傳感器73與影像成形共軛平面80之間的距離。

【0060】線A'、B'和C'表示在Z位置（例如，線130）處的分別曲線A、B和C的斜率，其中樣品被認為對於主要聚焦相機70為對焦（如上結合第5圖所述）。當偏移聚焦相機72移更近至影像成形共軛平面80時，曲線的斜率變得更陡。更陡的斜率表示銳度的較大變化對上Z高度的較小變化（也被稱為更高的解析度）。更陡的斜率是期望的，因為它允許更精細的焦點的調整和控制。

第 10 頁 共 10 頁 (第 10 頁)

【0061】在一些實施例中，使樣品對焦所需的Z移動的範圍可以確定偏移距離。Z移動的範圍可以基於，例如：樣品的厚度及/或任何其他合適的特性；樣品類別及/或任何其他合適的樣品分組；及/或顯微鏡的光學特性（例如，物鏡的放大率）。Z移動的範圍也可以被選擇以涵蓋廣範圍的樣品類型，以避免必須不斷地調整偏移距離。

【0062】在一些實施例中，為了確定對於自動聚焦系統100的適當偏移距離，偏移聚焦相機72可以被置於不同的偏移距離處。銳度曲線可以在每個偏移距離被計算。產生銳度曲線的偏移距離可以被選擇，該銳度曲線表示Z運動的期望範圍並且在該範圍內不斷地增加（由正斜率表示）或減小（由負斜率表示）。

【0063】更具體地，如果Z移動的範圍大（例如，第7圖中所顯示的線137和142之間的距離），則偏移聚焦相機72可以被置於更遠離於影像成形共軛平面80（如由曲線A所表示）。例如，如果期望的Z移動範圍在 $500\mu\text{m}$ 和 $2500\mu\text{m}$ 之間（如線137和142所表示），則偏移相機不應被置於產生曲線B或曲線C的偏移距離處，因為曲線B和曲線C兩者在所期望的Z運動範圍內增加和減少，並且不能被使用於確定是否將樣品和物鏡彼此移動更近或更遠離。

【0064】在一些實施例中，偏移距離也可以是基於在對於主要聚焦相機70該樣品在最佳對焦的位置的銳度曲線的陡度（例如，如線A'、B'和C'所表示）。例如，如果需要使樣品對焦的Z移動範圍為小（例如，在 $1300\mu\text{m}$ - $1700\mu\text{m}$ 之間），則偏移聚焦相機72可以被放置於更靠近影像成形共軛平面80（例如，在產生曲線C的偏移距離處）。即使較大的偏移距離可以產生可接受的銳度曲線（例如，曲線B和A），產生曲線C的偏移聚焦相機72的位置也可以被選擇，因為該位置具有最陡的斜率以及最大的解析度（與在最遠離於影像成形共軛平面80的偏移距離相比）。在一些實施例中，距影像成形共軛平面80更遠離的位置可以被選擇以

顧及對於自動聚焦系統100的最大Z移動範圍，使得偏移聚焦相機72不必要對於變化的厚度的樣品不斷地重置位。

【0065】注意的是，偏移聚焦相機72可以被置於影像成形共軛平面80的右側或左側的偏移距離處。當被置於右或左側時，於Z移動範圍上的銳度斜率將朝一個方向移動並且彼此相反。例如，如果偏移聚焦相機72被置於影像成形共軛平面80的右側並且銳度斜率在增加的Z值的範圍內增加，則如果偏移聚焦相機72被置於影像成形共軛平面80的左側，銳度斜率將是相反的（即，在增加的Z值的範圍上減少）。換句話說，銳度斜率的符號（亦即，是否斜率為正或負）取決於是否偏移聚焦相機是在影像成形共軛平面的右或左側。因此，如果偏移聚焦相機的相對位置（即，是否偏移聚焦相機在影像成形共軛平面的右側或左側），銳度設定以及銳度值為已知的，則是否增加還是減少物鏡和平台的相對置位以實現更好的聚焦可以被推斷。

【0066】在一些實施例中，偏移聚焦相機72的偏移距離對於自動聚焦系統100可以被設定一次。在其他實施例中，偏移距離可以變化以顧及不同的物鏡、不同的樣品厚度、不同的樣品類別或任何其他合適的標準。例如，為了更高放大率的物鏡偏移相機72可以被移動到更近於影像成形共軛平面，以顧及更小的景深（焦點）以及更小的Z移動範圍。在一些實施例中，偏移距離可以由控制系統108保存為偏移距離設定點。偏移距離設定點可以關聯於例如樣品的厚度及/或任何其他合適的特性、樣品類別及/或樣品的任何其他合適的分組、及/或顯微鏡的光學特性（例如，物鏡的放大率）。偏移距離設定點可被使用於自動地置位偏移聚焦相機72。

【0067】第8圖，進一步參考第1圖至第7圖，以高水準顯示根據所揭露主題內容的一些實施例的自動聚焦系統100的自動聚焦操作的示例。自動對焦過程800可以使用自動聚焦系統100。

【0068】在810處，樣品可以被放置在平台30上。

【0069】如果自動聚焦系統100不知對於樣品的銳度設定點（例如，該值可以藉由使用者輸入或者由控制系統108儲存且關聯於特別樣品相、特別樣品類別及/或對於樣品的任何其他合適的分類組的先前值而被獲得），則在820處，控制系統108（如上面結合第5圖所討論）移動平台30和物鏡25彼此更近及/或更遠離，直到控制系統使用適合的銳度演算法確定由主要聚焦相機70所捕獲的影像為對焦為止（例如，控制系統108確定對焦位置（例如，在Z位置130處，亦即，當樣品被認為對於主要聚焦相機70為聚焦時的Z位置，如第5圖所示）。在一些實施例中，成像相機5可以被使用代替主要聚焦相機70來確定對於樣品的最大所測量的銳度值。在一些實施例中，銳利曲線可以基於在聚焦處理期間在平台和物鏡的各個Z位置處由偏移聚焦相機72所捕獲的影像對於偏移聚焦相機72來計算。對於偏移聚焦相機72的銳度曲線可以被儲存作為銳度曲線設定點並且相關於特別樣品、特別樣品類別及/或對於樣品的任何其他合適的分類組。

【0070】在830處，在一些實施例中，一旦樣品被確定為對焦，對焦影像可以由成像相機5捕獲。

【0071】在840處，一旦樣品由主要聚焦相機70（或成像相機5）確定為對焦，樣品的影像可以由偏移聚焦相機72捕獲。對於被捕獲的成像的銳度值可以被計算（例如，使用被使用於主要聚焦相機70之相同的銳度方程式）並由控制系統108儲存。被儲存的值可以被儲存作為對焦銳度設定點並且關聯於特別樣品、特別樣品類別及/或任何其他合適的對於樣本之分類組。在一些實施例中，當樣品對於主要相機70或成像相機5對焦時，絕對位置為：平台30；物鏡25；平台30上樣本的頂部；及/或平台30和物鏡25的頂部之間的距離可以由控制系統108儲存為位置設定點。位置設定點可以與特別樣品，特別樣品類別及/或對於樣品的任何其他合適的分類組關聯。

【0072】在850處，平台30可以在垂直於Z軸的X/Y平面中移動。

【0073】在860處，在一些實施例中，偏移相機72可以被使用於在平台30的新X、Y位置處捕獲樣品的影像，以及控制系統108可以計算對於該影像的銳度值。基於與對焦銳度設定點相比較的影像的銳度值，控制系統108可以確定是否樣品在平台30的新X、Y坐標為對焦或Z高度需要被調整，使得樣品重回對焦。例如，基於如第6圖中所顯示的銳度曲線，如果所計算的銳度值大於所儲存的對焦銳度設定點，則平台30和物鏡25可以在Z方向上更靠近彼此，直到由偏移相機72所捕獲的影像的銳度值被計算為與所儲存的銳度設定點相同。反之，如果所計算的銳度值小於儲存的對焦銳度設定點，則使平台和物鏡在Z方向上可以更遠離，直到由偏移相機72所捕獲的影像的銳度值被計算為與所儲存的對焦銳度設定點相同為止。調整Z位置的方向可以從聚焦處理過程中在820處對於偏移相機72所捕獲的銳度曲線、或者基於相對於影像成形共軛平面72之偏移聚焦相機72的位置來確定。用於計算由偏移聚焦相機所得的影像的銳度值以及將其與所儲存的對焦銳度設定點進行比較的方法可以於每次平台30之該X、Y坐標改變時重複。

【0074】在870處，新樣品可以被放置在平台30上。如果控制系統108確定已經具有關聯於樣品、樣品類別及/或對於樣品的任何其他合適分類組的銳度設定點，則控制系統可以使用由偏移聚焦相機72所捕獲的影像，如在840處所描述，以確定新樣品何時為對焦。例如，新樣品的影像可以由偏移聚焦相機72捕獲，並且銳度值可以與關聯於新樣品的銳度設定點比較。可以使得平台和物鏡在Z方向上更靠近彼此或更遠離，直到由偏移相機72所捕獲的影像的銳度值被計算為與所儲存的銳度設定點相同。

【0075】在一些實施例中，一旦使用偏移聚焦相機72之對於樣品所計算的銳度值對應於銳度設定點，主要聚焦相機70可以被使用於微調樣品的聚焦以及

偏移聚焦相機72的銳度設定點。例如，使用主要聚焦相機70，銳度值可以針對平台和物鏡的至少兩個相對Z位置來計算，以確定是否估計的最大銳度已經被實現、或者是否需要將相對Z位置調整為實現估計的最大銳度（亦即，在斜率為0或接近0所在之銳度曲線上的點）。一旦估計的最大銳度被實現，使用偏移聚焦相機，樣品的銳度值就可以被計算並被儲存作為新的銳度設定點。

【0076】在一些實施例中，控制系統108也可以確定是否具有關聯於新樣品、樣品類別及/或對於樣品的任何其他合適的分類組的位置設定點，並且可以在其開始上述聚焦過程之前將自動聚焦系統100置位於該位置設定點處。知道相對Z位置，減小了聚焦樣品所需的相對Z距離，以及允許偏移相機被置位於更接近影像成形共軛平面。如上面結合第7圖而討論，當偏移聚焦相機72移動更接近影像成形共軛平面時，銳度曲線的斜率可以變得更陡。更陡的斜率表示更高的解析度或更大的銳度變化對上Z高度的較小變化。較陡的斜率可以允許更精細的焦點調整和控制。

【0077】何時過程800的特別部分可以被執行的劃分可以改變，並且沒有劃分或不同的劃分在本文揭露的主題內容的範圍內。注意的是，在一些實施例中，過程800的方塊可以在任何合適的時間被執行。應當理解，在一些實施例中，本文描述的過程800的至少一些部分可以以不限於第8圖中所示和所述的次序和順序的任何次序或順序來執行。而且，在一些實施例中，在適當或并行的情況下，本文描述的過程800的一些部分可以為或實質上同時執行。附加地或替代地，在一些實施例中過程800的一些部分可以被省略。

【0078】過程800可以以任何合適的硬體及/或軟體來實現。例如，在一些實施例中，過程800可以在控制系統108中實現。

【0079】自動顯微鏡聚焦系統和方法已經特定參考於這些示出的實施例而被詳細地描述。然而，顯然的是，各種修改和改變可以在如前面的說明書中所

描述的本揭露的精神和範圍內進行，並且此等修改和改變被認為是等同物以及本揭露的一部分。本發明的範圍僅由以下申請專利範圍所限制。

【符號說明】

【0080】

5：成像相機	6：影像傳感器
10：顯微鏡筒透鏡	11：光學濾鏡
13：垂直照明器	14：視野闌（F-stop）
15：分色鏡	17：截止濾鏡
18：聚焦殼體	20：稜鏡
22、24、45、47、49：聚焦透鏡	
23：精聚焦致動器	25：物鏡
26：分束器	28：鏡子
30：平台	32、300：聚焦單元
33：定位裝置	35：致動器
40：次要照明源	54、80：共軛平面
55：聚焦圖案	60：分色鏡
65：主要照明源	70、72：聚焦相機
71、73：傳感器	76：導桿
79：負方向	81：正方向
100：自動聚焦系統	107：控制器介面
108：控制系統	110：控制器

120：通信

130：Z位置

135、138、140、150：箭頭

136、137、141、142：線

200：照明單元

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種用於自動聚焦一顯微鏡的系統，包括：

一第一相機，被配置用於聚焦、被置於一影像成形共軛平面上；以及
一第二相機，被配置用於聚焦、被置於距該影像成形共軛平面的一偏移距離處；以及

一硬體處理器，被耦接至該第一相機以及該第二相機，該硬體處理器被配置為：

使用該第一相機以基於一銳度值確定何時一樣品為對焦；

當該樣品被確定對於該第一相機為對焦時，使用該第二相機確定該樣品的一銳度設定點；

在該樣品的移動之後，使用該第二相機確定該樣品的一第一銳度值；

確定該樣品的該第一銳度值是高於還是低於該銳度設定點；以及
調整該顯微鏡，使得使用該第二相機確定的該樣品的一第二銳度值對應於該銳度設定點。

【請求項2】如請求項1所述的系統，其中該硬體處理器更被配置為：

使用該第二相機確定對於該樣品的一銳度曲線；以及

基於該銳度曲線調整該顯微鏡，使得使用該第二相機確定的該樣品的該第二銳度值對應於該銳度設定點。

【請求項3】如請求項1所述的系統，更包括：

一第一濾鏡，被置於一第二照明源與該第一相機之間的一光路中，以避免來自該第二照明源的光到達該第一相機；以及

一第二濾鏡，被置於一第一照明源與該第二相機之間的一光路中，以避免來自該第一照明源的光到達該第二相機。

【請求項4】如請求項1所述的系統，其中該第一相機也被配置用於在該樣品被確定為對焦時取得該樣品的影像。

【請求項5】如請求項1所述的系統，更包括被置於一主要照明源與一物鏡之間的一光路中的一視野闌。

【請求項6】如請求項1所述的系統，其中該硬體處理器更被配置為調整該顯微鏡以實現一粗聚焦以及一精聚焦。

【請求項7】如請求項1所述的系統，其中調整該顯微鏡以使得使用該第二相機確定的該樣品的該第二銳度值對應於該銳度設定點包括重複地：

調整該顯微鏡；

使用該第二相機確定該第二銳度值；以及

比較該第二銳度值與該銳度設定點。

【請求項8】如請求項1所述的系統，其中該硬體處理器更被配置為保存該顯微鏡的一調整設定。

【請求項9】如請求項8所述的系統，其中該保存的調整設定用於確定該第二相機相對於一第二影像成形共軛平面的一位置。

【請求項10】一種用於自動聚焦一顯微鏡的系統，包括：

一第一相機，被配置用於在一樣品被確定為對焦時取得該樣品的影像、被置於一影像成形共軛平面上；

一第二相機，被配置用於聚焦、被置於一第二影像成形共軛平面上；

一第三相機，被配置用於聚焦、被置於距該第二影像成形共軛平面的一偏移距離處；

一硬體處理器，被耦接至該第二相機以及該第三相機，該硬體處理器被配置為：

使用該第二相機以基於一銳度值確定何時該樣品為對焦；

當該樣品被確定對於該第二相機為對焦時，使用該第三相機確定該樣品的一銳度設定點；

在該樣品的移動之後，使用該第三相機確定該樣品的一第一銳度值；

確定該樣品的該第一銳度值是高於還是低於該銳度設定點；以及調整該顯微鏡，使得使用該第三相機確定的該樣品的一第二銳度值對應於該銳度設定點。

【請求項11】如請求項10所述的系統，其中該硬體處理器更被配置為：

使用該第三相機確定對於該樣品的一銳度曲線；以及

基於該銳度曲線調整該顯微鏡，使得使用該第三相機確定的該樣品的該第二銳度值對應於該銳度設定點。

【請求項12】如請求項10所述的系統，更包括：

一第一濾鏡，被置於一第二照明源與該第一相機之間的一光路中，以避免來自該第二照明源的光到達該第一相機；以及

一第二濾鏡，被置於一第一照明源與該第二及第三相機之間的一光路中，以避免來自該第一照明源的光到達該第二及第三相機。

【請求項13】如請求項10所述的系統，更包括被置於一第一照明源與一物鏡之間的一光路中的一視野闌。

【請求項14】如請求項10所述的系統，其中該硬體處理器更被配置為調整該顯微鏡以實現一粗聚焦以及一精聚焦。

【請求項15】如請求項10所述的系統，其中調整該顯微鏡以使得使用該第三相機確定的該樣品的該第二銳度值對應於該銳度設定點包括重複地：

調整該顯微鏡；

使用該第三相機確定該第二銳度值；以及

比較該第二銳度值與該銳度設定點。

【請求項16】如請求項10所述的系統，其中該硬體處理器被配置為保存該顯微鏡的一調整設定。

【請求項17】如請求項16所述的系統，其中該保存的調整設定用於確定該第三相機相對於一第三影像成形共軛平面的一位置。

【請求項18】一種用於自動聚焦一顯微鏡的方法，包括：

將被配置用於聚焦的一第一相機置於一影像成形共軛平面上；以及

將被配置用於聚焦的一第二相機置於距該影像成形共軛平面的一偏移距離處；

由一硬體處理器使用該第一相機以基於一銳度值確定何時一樣品為對焦；

當該樣品被確定對於該第一相機為對焦時，由該硬體處理器使用該第二相機確定該樣品的一銳度設定點；

在該樣品的移動之後，由該硬體處理器使用該第二相機確定該樣品的一第一銳度值；

由該硬體處理器確定該樣品的該第一銳度值是高於還是低於該銳度設定點；以及

由該硬體處理器調整該顯微鏡，使得使用該第二相機確定的該樣品的一第二銳度值對應於該銳度設定點。

【請求項19】如請求項18所述的方法，更包括：

使用該第二相機確定該樣品的一銳度曲線；以及

基於該銳度曲線調整該顯微鏡，使得使用該第二相機確定的該樣品的該第二銳度值對應於該銳度設定點。

【請求項20】如請求項18所述的方法，更包括：

避免來自一第二照明源的光到達該第一相機；以及

避免來自一第一照明源的光到達該第二相機。

【請求項21】如請求項18所述的方法，其中該第一相機也被配置用於在該樣品被確定為對焦時取得該樣品的影像。

【請求項22】如請求項18所述的方法，更包括調整該顯微鏡以實現一粗聚焦以及一精聚焦。

【請求項23】如請求項18所述的方法，其中調整該顯微鏡以使得使用該第二相機確定的該樣品的該第二銳度值對應於該銳度設定點包括重複地：

調整該顯微鏡；

使用該第二相機確定該第二銳度值；以及

比較該第二銳度值與該銳度設定點。

【請求項24】如請求項18項所述的方法，更包括保存該顯微鏡的一調整設定。

【請求項25】如請求項24所述的方法，其中該保存的調整設定用於確定該第二相機相對於該第二影像成形共軛平面的一位置。

【請求項26】一種用於自動聚焦一顯微鏡的方法，包括：

將被配置用於在一樣品被確定為對焦時取得該樣品的影像的一第一相機置於一第一影像成形共軛平面上；

將被配置用於聚焦的一第二相機置於一第二影像成形共軛平面上；

將被配置用於聚焦的一第三相機置於距該第二影像成形共軛平面的一偏移距離處；

由一硬體處理器使用該第二相機以基於一銳度值確定何時該樣品為對焦；

當該樣品被確定對於該第二相機為對焦時，由該硬體處理器使用該第三相機確定該樣品的一銳度設定點；

在該樣品的移動之後，由該硬體處理器使用該第三相機確定該樣品的一第一銳度值；

由該硬體處理器確定該樣品的該第一銳度值是高於還是低於該銳度設定點；以及

由該硬體處理器調整該顯微鏡，使得使用該第三相機確定的該樣品的一第二銳度值對應於該銳度設定點。

【請求項27】如請求項26所述的方法，更包括：

使用該第三相機確定對於該樣品的一銳度曲線；以及

基於該銳度曲線調整該顯微鏡，使得使用該第三相機確定的該樣品的該第二銳度值對應於該銳度設定點。

【請求項28】如請求項26所述的方法，更包括：

避免來自一第二照明源的光到達該第一相機；以及

避免來自一第一照明源的光到達該第二及第三相機。

【請求項29】如請求項26所述的方法，更包括調整該顯微鏡以實現一粗聚焦以及一精聚焦。

【請求項30】如請求項26所述的方法，其中調整該顯微鏡以使得使用該第三相機確定的該樣品的該第二銳度值對應於該銳度設定點包括重複地：

調整該顯微鏡；

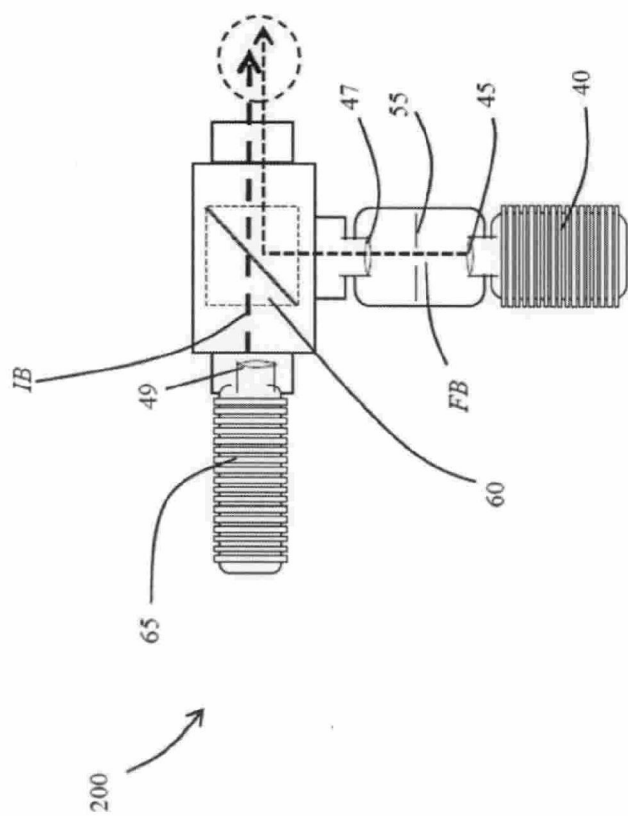
使用該第三相機確定該第二銳度值；以及

比較該第二銳度值與該銳度設定點。

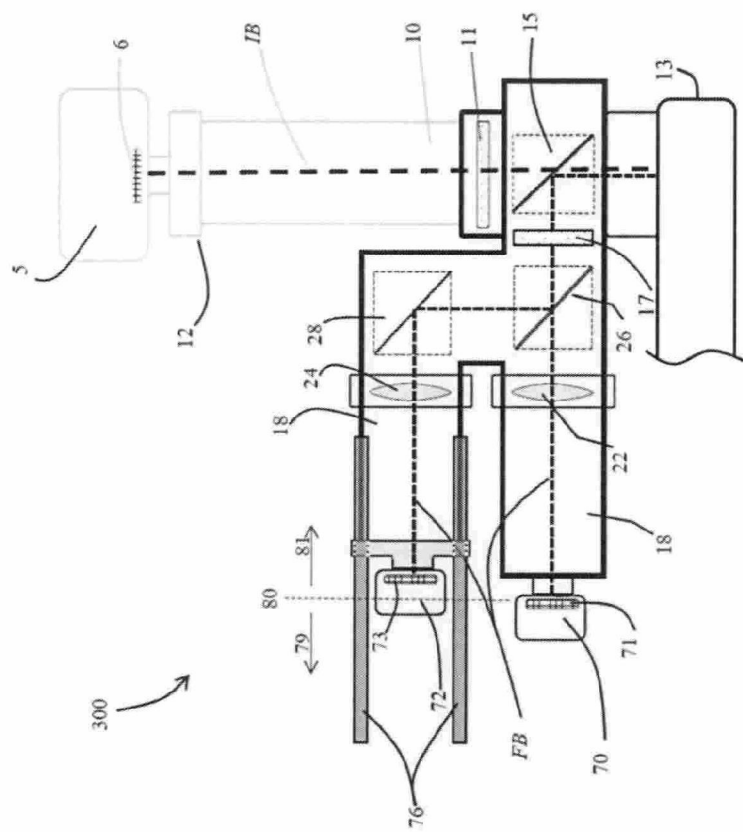
【請求項31】如請求項26所述的方法，更包括保存該顯微鏡的一調整設定。

【請求項32】如請求項31項所述的方法，其中該保存的調整設定用於確定該第三相機相對於一第三影像成形共軛平面的一位置。

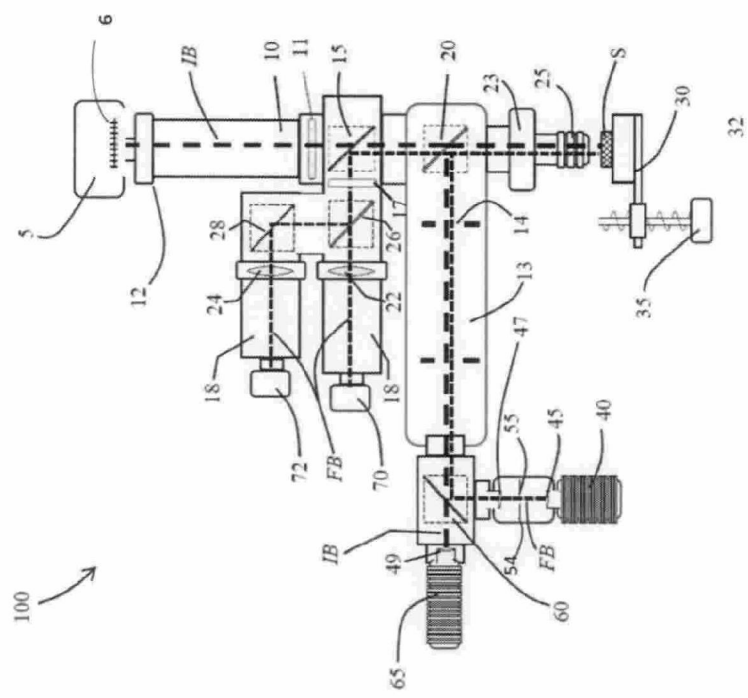




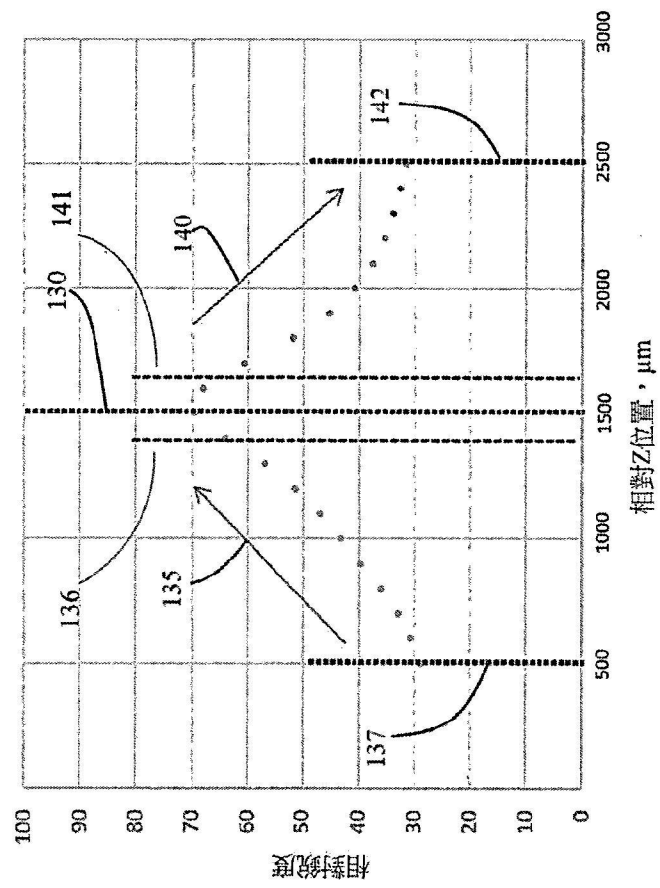
第2圖



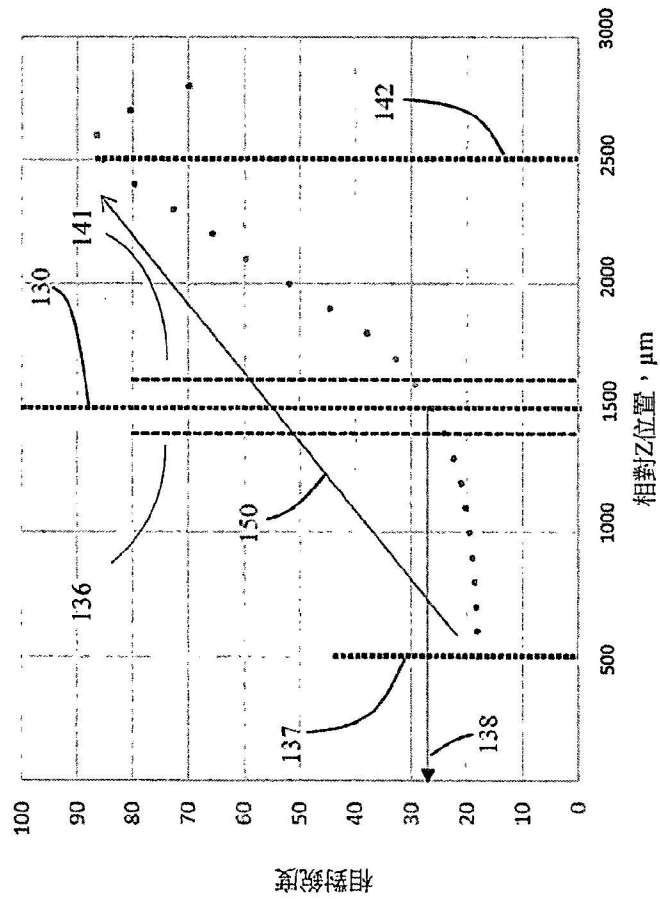
第3圖



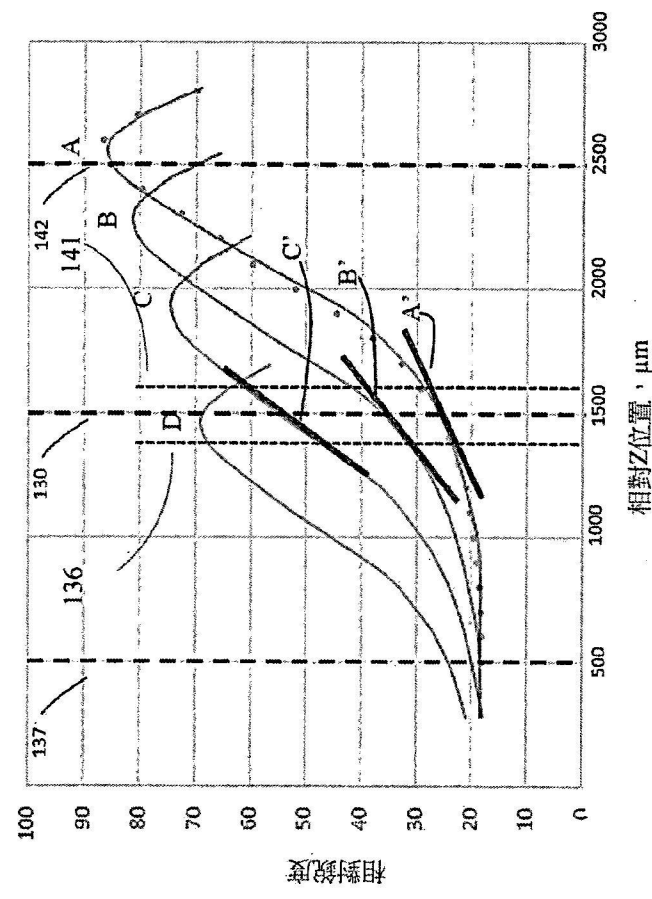
第4圖



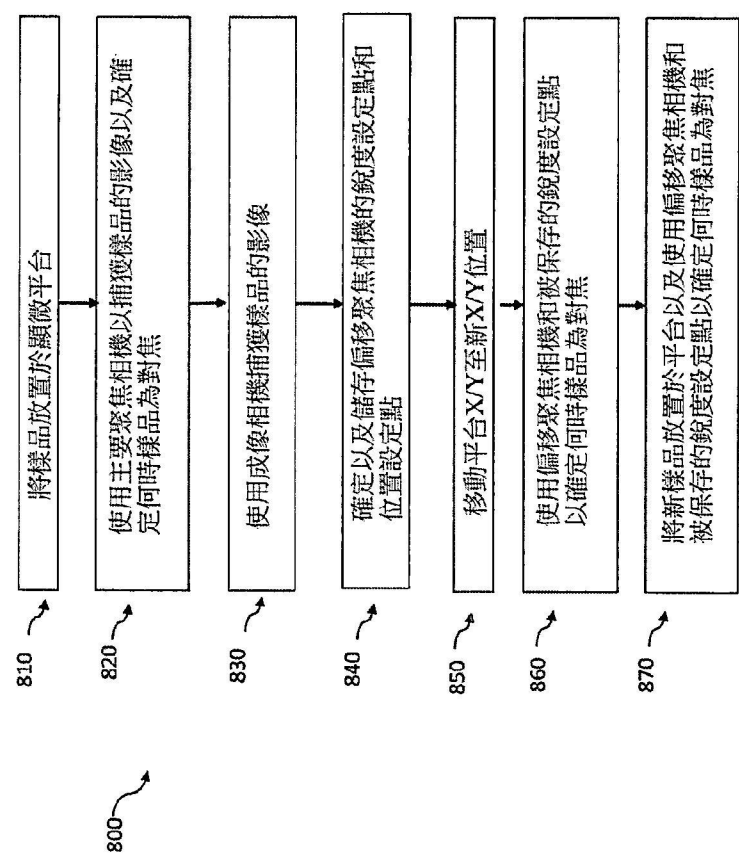
第5圖



第6圖



第7圖



第8圖