

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2013-3333

(P2013-3333A)

(43) 公開日 平成25年1月7日 (2013. 1. 7)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
G 0 2 B 7/28 (2006.01)	G 0 2 B 7/11 J	2 H 0 1 1
G 0 2 B 21/00 (2006.01)	G 0 2 B 21/00	2 H 0 5 2
G 0 3 B 13/36 (2006.01)	G 0 2 B 7/11 N	2 H 1 5 1
	G 0 3 B 3/00 A	

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願2011-134057 (P2011-134057)	(71) 出願人	000000376
(22) 出願日	平成23年6月16日 (2011. 6. 16)		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	100074099
			弁理士 大菅 義之
		(72) 発明者	金木 伸介
			東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オ
			リンパス株式会社内
		Fターム (参考)	2H011 AA06
			2H052 AB06 AC04 AC13 AC14 AC27
			AC34 AD09
			2H151 AA11 BA75 CC03

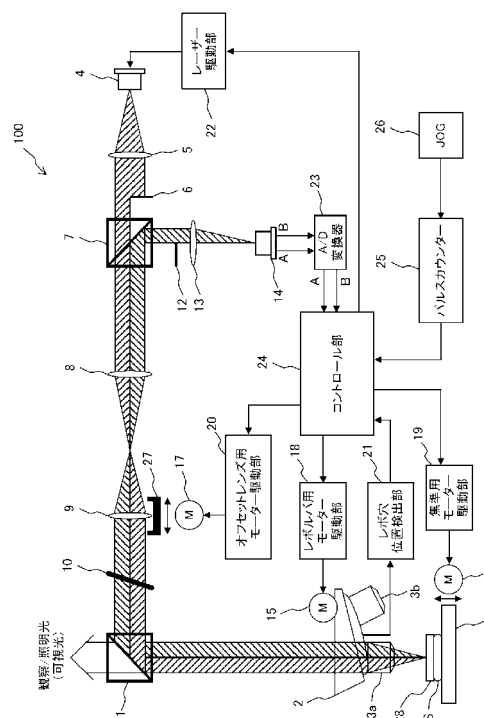
(54) 【発明の名称】 顕微鏡装置

(57) 【要約】

【課題】顕微鏡のAF制御において、安定した合焦の追従性を実現させることが可能な顕微鏡装置を提供すること。

【解決手段】2つの領域で受光した光強度信号に基づいて評価関数を算出し、評価関数の傾きが一定となるように調整する。

【選択図】図1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

光路に交換可能に設置される複数の対物レンズと、前記複数の対物レンズのうち前記光路に設置された 1 つの対物レンズを介して、照明用光源から出射された可視光を移動ステージ上に載置された試料に投光し、前記試料で反射した前記観察光を観察する観察光学系と、前記 1 つの対物レンズを介して、オートフォーカス用光源から出射された赤外光を前記試料に投光し、前記試料で反射した前記赤外光を検出する合焦光学系と、を備えた顕微鏡装置であって、

前記反射した前記赤外光を 2 つの領域でそれぞれ受光する受光手段と、

前記受光手段によって受光した前記赤外光の光強度信号に基づいて、前記試料の合焦位置を調整する合焦位置調整手段と、

前記受光手段によって受光した前記赤外光の光強度信号を用いて評価関数を算出する評価関数算出手段と、

前記合焦光学系の光路上に配置された補正レンズ群の位置に基づき、前記評価関数算出手段によって算出される評価関数の傾きが一定となるように調整する調整手段と、

を備えることを特徴とする顕微鏡装置。

【請求項 2】

前記調整手段は、前記合焦光学系の光路上に配置された補正レンズ群の位置に対応付けられた傾き補正係数に基づき調整することを特徴とする請求項 1 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 3】

前記傾き補正係数を格納するメモリ手段を更に有し、

前記傾き補正係数は、前記補正レンズ群の位置に応じて定められ、前記メモリ手段に格納されることを特徴とする請求項 2 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 4】

前記傾き補正係数は、前記複数の対物レンズ毎の倍率または開口数に応じて定められることを特徴とする請求項 2 または 3 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 5】

前記補正レンズ群の少なくとも異なる 2 つの位置における前記評価関数に基づき、前記傾き補正係数を算出する傾き補正係数算出手段、を備え、

前記調整手段は、前記傾き補正係数算出手段によって算出された前記傾き補正係数に基づき調整することを特徴とする請求項 2 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 6】

前記オートフォーカス用光源から出射された赤外光の開口径を変動させる開口絞りを備え、

前記調整手段は、前記開口絞りの開口径を変動させることを特徴とする請求項 1 に記載の顕微鏡装置。

【請求項 7】

前記評価関数算出手段は、前記受光手段の第 1 の領域で受光した前記赤外光の第 1 の光強度信号と前記受光手段の第 2 の領域で受光した前記赤外光の第 2 の光強度信号との差を、前記第 1 の強度信号と前記第 2 の強度信号との和で除算して算出することを特徴とする請求項 1 乃至 6 の何れか 1 項に記載の顕微鏡装置。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、対物レンズを用いて試料移動ステージ上の観察試料を光学的に観察する光学顕微鏡等の顕微鏡装置に関し、特に、観察試料のピント位置の調整を自動的に行うことのできる自動焦点（オートフォーカス（AF：Auto Focus））機能を有する顕微鏡装置に関する。

【背景技術】

【 0 0 0 2 】

従来、微細な試料を観察したり、観察した観察像をビデオ画像として記録したりすることのできる顕微鏡は、生物分野の研究をはじめ、工業分野の検査工程まで幅広く利用されている。このような顕微鏡は、観察試料のピント位置の調整を自動的に行うことのできる A F 機能を有している。

【 0 0 0 3 】

通常、A F を行なうためには赤外光 (A F 光) を用い、試料を観察するためには可視光 (観察光) を用いている。そのため、両光の波長差や、複数の対物レンズを使用した場合の対物レンズ毎の色収差により、自動焦点検出位置がバラついてしまう。このようなバラつきを補償するための手段として、色収差補正用オフセットレンズを合焦検出光学系に配置し、対物レンズ毎に設けた調整部で、対物レンズ毎に合焦位置からのオフセット値を設定し、色収差補正用オフセットレンズの位置を調整する事で、観察光と、A F 光の色収差をキャンセルする技術が開示されている (例えば、特許文献 1 参照。)。

10

【 0 0 0 4 】

また、A F 光は、反射率が比較的高いカバーガラスと観察試料との界面、またはカバーガラスの表面での反射光を検出しており、他方、観察光は、観察試料そのもの、例えば液体中の標本に照射される必要があり、両光の光路長が異なっている。これを補正するために、A F 光の光学系と照明光の光学系の共通の光路、またはいずれか一方の光路上に焦点調節用オフセットレンズを配設し、この焦点調節用オフセットレンズで A F 光の結像位置を調節することにより、対物レンズの焦点に観察試料の位置を合わせる技術が開示されている (例えば、特許文献 2 参照。)。

20

【 0 0 0 5 】

このような A F 機能は、例えば、光を検出するフォトダイオードの領域を反射光の光軸を中心にして 2 つの領域 (A 領域、B 領域) に分け、2 個のセンサ (センサ A、B) がそれぞれの領域の光強度を検出信号として検出する。そして、これらの差 (A - B) をこれらの和 (A + B) で除算した値 ((A - B) / (A + B)) を評価関数値 (E F 値) として算出し、その E F 値を用いて合焦判定を行なっている。すなわち、対物レンズと観察試料の距離を相対的に変化させ、E F 値が 0 となる箇所を合焦位置と判定している。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

30

【 0 0 0 6 】

【 特許文献 1 】 特許第 4 0 9 7 7 6 1 号公報

【 特許文献 2 】 特開 2 0 0 4 - 7 0 2 7 6 号公報

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 7 】

しかしながら、上述のような光強度の検出信号は、色収差補正オフセットレンズ、あるいは焦点調節用オフセットレンズの位置により、対物レンズの瞳位置における A F 光のビーム径が異なり、これにより対物レンズからの出射光の N A が異なるため、合焦近傍での E F 値の傾きにバラツキが発生してしまう。E F 値の傾きが急峻なもの程、合焦判定を行う際の合焦閾値の範囲が狭くなるため、色収差補正オフセットレンズ、あるいは焦点調節用オフセットレンズの位置により、E F 値の傾きが急峻になる場合には、環境温度や振動の影響により合焦の追従が収束しにくくなる、という問題点があった。

40

【 0 0 0 8 】

本発明は、上述のような実状に鑑みたものであり、顕微鏡の A F 制御において、安定した合焦の追従性を実現させることが可能な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 】

【 0 0 0 9 】

本発明は、前記課題を解決するため、下記のような構成を採用した。

すなわち、本発明の一態様によれば、本発明の顕微鏡装置は、光路に交換可能に設置さ

50

れる複数の対物レンズと、前記複数の対物レンズのうち前記光路に設置された１つの対物レンズを介して、照明用光源から出射された可視光を移動ステージ上に載置された試料に投光し、前記試料で反射した前記観察光を観察する観察光学系と、前記１つの対物レンズを介して、オートフォーカス用光源から出射された赤外光を前記試料に投光し、前記試料で反射した前記赤外光を検出する合焦光学系とを備えた顕微鏡装置であって、前記反射した前記赤外光を２つの領域でそれぞれ受光する受光手段と、前記受光手段によって受光した前記赤外光の光強度信号に基づいて、前記試料の合焦位置を調整する合焦位置調整手段と、前記受光手段によって受光した前記赤外光の光強度信号を用いて評価関数を算出する評価関数算出手段と、前記合焦光学系の光路上に配置された補正レンズ群の位置に基づき、前記評価関数算出手段によって算出される評価関数の傾きが一定となるように調整する調整手段とを備えることを特徴とする。

10

【００１０】

また、本発明の顕微鏡装置は、前記調整手段が、前記合焦光学系の光路上に配置された補正レンズ群の位置に対応付けられた傾き補正係数に基づき調整することが望ましい。

また、本発明の顕微鏡装置は、前記傾き補正係数を格納するメモリ手段を更に有し、前記傾き補正係数が、前記補正レンズ群の位置に応じて定められ、前記メモリ手段に格納されることが望ましい。

【００１１】

また、本発明の顕微鏡装置は、前記傾き補正係数が、前記複数の対物レンズ毎の倍率または開口数に応じて定められることが望ましい。

20

また、本発明の顕微鏡装置は、前記補正レンズ群の少なくとも異なる２つの位置における前記評価関数に基づき、前記傾き補正係数を算出する傾き補正係数算出手段を更に備え、前記調整手段が、前記傾き補正係数算出手段によって算出された前記傾き補正係数に基づき調整することが望ましい。

【００１２】

また、本発明の顕微鏡装置は、前記オートフォーカス用光源から出射された赤外光の開口径を変動させる開口絞りを更に備え、前記調整手段が、前記開口絞りの開口径を変動させることが望ましい。

【００１３】

また、本発明の顕微鏡装置は、前記評価関数算出手段が、前記受光手段の第１の領域で受光した前記赤外光の第１の光強度信号と前記受光手段の第２の領域で受光した前記赤外光の第２の光強度信号との差を、前記第１の強度信号と前記第２の強度信号との和で除算して算出することが望ましい。

30

【発明の効果】

【００１４】

本発明は、色収差補正オフセットレンズ、あるいは焦点調節用オフセットレンズの位置に関わらず、合焦近傍のＥＦ値の傾きが一定となるため、合焦判定の際の合焦閾値の範囲が安定し、結果として合焦の追従が安定する、という効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【００１５】

40

【図１】本発明を適用した顕微鏡装置の全体構成を示す図である。

【図２】２分割ＰＤ１４への結像の様子を説明するための図である。

【図３】２分割ＰＤ１４の検出信号の強度をおよびＥＦ値をグラフにして示した図である。

【図４】低ＮＡ、中ＮＡ、高ＮＡの対物レンズの合焦近傍でのＥＦ値を示す図である。

【図５】第１の実施の形態におけるコントロール部２４の内部構成を示す図である。

【図６】第１の実施の形態におけるＡＦ処理の流れを示すフローチャートである。

【図７】ＥＦ傾き補正係数記憶部２０９に格納された対物レンズ毎のＥＦ値と傾き補正係数との対応例を示す図である。

【図８】焦準位置とＥＦ値との関係を示す図である。

50

【図 9】第 2 の実施の形態におけるコントロール部 2 4 B の内部構成を示す図である。

【図 1 0】第 2 の実施の形態における A F 処理の流れを示すフローチャートである。

【図 1 1】第 3 の実施の形態における顕微鏡装置の全体構成を示す図である。

【図 1 2】第 3 の実施の形態におけるコントロール部 2 4 C の内部構成を示す図である。

【図 1 3】第 3 の実施の形態における A F 処理の流れを示すフローチャートである。

【図 1 4】A S 開口径記憶部 2 1 2 に格納されたオフセットレンズ位置毎の開口径データの対応例を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0 0 1 6】

以下、本発明の実施の形態について、図面を参照しながら詳細に説明する。

10

(第 1 の実施の形態)

図 1 は、本発明を適用した顕微鏡装置の全体構成を示す図である。

【0 0 1 7】

図 1 において、顕微鏡装置 1 0 0 は、複数の対物レンズ 3 a および 3 b を取付可能なレボルバ本体 2、レボルバ本体 2 を回転させて任意の対物レンズ 3 a または 3 b を光路中に挿入させるために電氣的な駆動を行なうレボルバ用モーター 1 5、並びにレボルバ本体 2 のどの対物レンズ取付け位置が現在光路中に挿入されているかを検出するためのレボ穴位置検出部 2 1 から構成される電動レボルバを備える。

【0 0 1 8】

このような電動レボルバにおいて、コントロール部 2 4 からの信号を受けるレボルバ用モーター駆動部 1 8 の駆動制御により前記レボルバ用モーター 1 5 が回転駆動され、レボルバ本体 2 のどの穴位置に対物レンズ 3 a または 3 b が装着されているかを検出するレボ穴位置検出部 2 1 で検出された情報がコントロール部 2 4 へ送られる。

20

【0 0 1 9】

コントロール部 2 4 は、周知の C P U 回路であり、C P U 本体、制御プログラムを格納した R O M、制御に必要なデータを随時格納する揮発性メモリである R A M、制御信号の入出力を行なう I / O ポート、およびこれらの各部を接続するデータバス、発振器、アドレスデコード等の周知の周辺回路から構成され、データバスおよび I / O ポートを介して周辺装置の制御を行なう。

【0 0 2 0】

観察対象となる観察試料 S を載置する試料移動ステージ 1 は、焦準用モーター 1 6 によって電氣的に、光軸方向に移動することが可能である。この焦準用モーター 1 6 は、コントロール部 2 4 によって焦準用モーター駆動部 1 9 が制御されることにより駆動する。

30

【0 0 2 1】

A F に用いられる基準光源 4 としては、赤外線等の可視外光波長領域の光源が使用される。この基準光源 4 は、光源のパルス点灯等を行ない、光源の強弱をコントロールするレーザー駆動部 2 2 より制御される。基準光源 4 から発せられた A F 光としての赤外レーザー光は、平行光を保つためのコリメートレンズ 5 を通り、光束の半分をカットする投光側ストッパー 6 を介して観察試料 S 側に導かれる。すなわち、集光レンズ群 8 により一旦集光された光束は、オフセットレンズ群 9 を通り、 / 4 板 1 0 を通過する時に 4 5 度偏光され、ダイクロックミラー 1 1 により反射される。

40

【0 0 2 2】

前記オフセットレンズ群 9 は、オフセットレンズ用モーター 1 7 により焦点距離を変更するズーム機構と、光軸方向への移動を行なう機構の両方を兼ね備えた構成になっており、オフセットレンズ用モーター駆動部 2 0 によって駆動される。また、オフセットレンズ群 9 の光軸方向における所定の範囲の両端には、リミット検出部 2 7 が設けられており、前記オフセットレンズ群 9 の光軸方向の移動範囲を制限している。

【0 0 2 3】

前記ダイクロックミラー 1 1 は、赤外域のみが反射され、可視域は通過する性質をもっている。これにより、A F 光は、ダイクロックミラー 1 1 で反射されるが、観察試料 S を

50

視察するための可視光、すなわち観察光および照明光は、光路中に挿入された対物レンズ 3 a または 3 b を介して、不図示の接眼レンズに至り、観察試料 S を観察することが可能になる。

【0024】

ダイクロックミラー 1 1 により反射された A F 光は、対物レンズ 3 a または 3 b により観察試料 S にスポット状の像を形成する。そして、観察試料 S により反射された A F 光は、今度は逆に対物レンズ 3 a または 3 b、ダイクロックミラー 1 1 を介し、 / 4 板 1 0 を再び通過する時に 4 5 度偏光される。その後、オフセットレンズ群 9、集光レンズ群 8 を戻り、偏光ビームスプリッター (P B S : Polarization Beam Splitter) 7 へ入射する。 P B S 7 で反射された A F 光の偏光成分は、受光側ストッパー 1 2、集光レンズ群 1 3 を通過した後に 2 分割フォトダイオード (P D) 1 4 に結像される。

10

【0025】

2 分割 P D 1 4 は、光軸を中心に 2 個のフォトダイオード (センサ A および B) が並ぶ光検出器である。2 分割 P D 1 4 で結像されたスポットの光強度に応じた電流信号は、電流 / 電圧変換された後に所定の増幅率をもって増幅され、その後 A / D 変換器 2 3 にてデジタル値に変換されてからコントロール部 2 4 で演算処理される。

【0026】

フォトダイオードの領域は、反射光の光軸を中心にして 2 つの領域 (A 領域、B 領域) に分けられ、2 個のセンサ (センサ A、B) がそれぞれの領域の光強度を検出信号として検出する。そして、これらの差 (A - B) をこれらの和 (A + B) で除算した値 ((A - B) / (A + B)) を E F 値として算出し、その E F 値を用いて合焦判定を行なう。すなわち、対物レンズ 3 a または 3 b と観察試料 S との距離を相対的に変化させ、E F 値が 0 となる箇所を合焦位置と判定している。

20

【0027】

また、観察者が直接操作する不図示操作部として、レボルバ本体 2 を回転させて対物レンズ 3 a または 3 b を変更するための対物レンズ変換 S W、A F 動作の設定 / 解除を行なう A F スイッチ、並びに試料移動ステージ 1 の上下動およびオフセットレンズ群 9 の移動を指示するための J O G エンコーダ 2 6 が設けられている。J O G エンコーダ 2 6 からのエンコーダ信号は、パルスカウンタ 2 5 にてパルス数に変換されてコントロール部 2 4 に送られる。コントロール部 2 4 は、このパルスカウンタ 2 5 からのパルス数を讀込むことで前記 J O G エンコーダ 2 6 がどちらの方向にどれだけ回転されたかを判断し、J O G エンコーダ 2 6 の回転量に応じて各々の駆動部を動かすようになっている。

30

【0028】

次に、顕微鏡装置 1 0 0 によって実行される A F 処理について説明する。

A F 動作の設定 / 解除を行なう A F スイッチが押下されると、コントロール部 2 4 は、A F 用の赤外光のスポットを観察試料 S に照射させるためにレーザー駆動部 2 2 に信号を与え、基準光源 4 の発振を開始する。

【0029】

基準光源 4 からの光束により観察試料 S にスポットが照射され、その反射光が 2 分割 P D 1 4 に投影される。そして、この投影されたスポットの位置により A F 制御が行なわれる。

40

【0030】

図 2 は、2 分割 P D 1 4 への結像の様子を説明するための図であり、(a) が中 N A の対物レンズ 3 a を用いた場合、(b) が高 N A の対物レンズ 3 b を用いた場合、(c) が低 N A の対物レンズを用いた場合である。

【0031】

まず、カバーガラス 2 8 の位置が合焦位置より上の場合、すなわちカバーガラス 2 8 が対物レンズ 3 a から近い位置の場合を考える。この場合、A F 光は、カバーガラス 2 8 から早く反射されるので、図 2 (a) に示したように、2 分割 P D 1 4 に結像されるスポット像 2 0 1 (a) は、中心位置からセンサ B 寄りに結像される。他方、カバーガラス 2 8

50

が合焦位置より下にある場合、すなわちカバーガラス 28 が対物レンズ 3a から遠い位置の場合には、2 分割 PD 14 に結像されるスポット像 202 (a) は、センサ A 寄りに結像される。

【0032】

また、カバーガラス 28 が正確に合焦位置にある場合のスポット像 203 (a) は、センサ A、B が共に均等な範囲でほぼ光軸の中心に結像する。さらに、この場合は焦点位置にあるために中心の光強度は最も高くなっている。

【0033】

焦点深度が小さい高 NA の対物レンズの場合は、図 2 (b) に示したように、合焦位置より上、下のスポットの形状 201 (b)、202 (b) は、中 NA の対物レンズのスポット像 201 (a)、202 (a) に比べて大きくなる。焦点深度が大きい低倍対物レンズの場合は、図 2 (c) に示したように、合焦位置より上、下のスポットの形状 201 (c)、202 (c) は、中 NA の対物レンズのスポット像 201 (a)、202 (a) に比べて小さくなる。

10

【0034】

このように、2 分割 PD 14 のフォトダイオードに形成されるスポットは、中 NA、高 NA、低 NA の対物レンズによって異なる。

上述したように 2 分割 PD 14 は、フォトダイオードの領域を反射光の光軸を中心にして 2 つの領域 (A 領域、B 領域) に分け、2 個のセンサ (センサ A、B) でそれぞれの領域の光強度を検出信号として検出する。コントロール部 24 は、EF 値を算出して合焦判定を行なう。

20

【0035】

具体的には、対物レンズ 3a または 3b と観察試料 S との距離を相対的に変化させ、EF 値が 0 となるように試料移動ステージ 1 を移動することにより AF 動作を行なう。すなわち、センサ A の出力が大きい場合は試料移動ステージ 1 を上に駆動し、センサ B の出力が大きい場合は下に移動する。これにより、観察試料 S に正確に合焦できることになる。

【0036】

このような補正移動量は、対物レンズ 3a または 3b の特性、基準光源 4 の使用波長により異なることから、予め対物レンズ 3a および 3b 毎の補正移動値を ROM あるいはその他の記憶媒体、例えば不揮発性メモリである EEPROM 等に格納しておく。

30

【0037】

コントロール部 24 が上述のようにして合焦したと判断しても、AF 動作を行なう基準光源 4 が出射するのは赤外光であり、可視光とは波長が異なるため、色収差により可視光領域ではピントがずれるという事態も生ずる。これを補正するのがオフセットレンズ群 9 である。

【0038】

コントロール部 24 は、オフセットレンズ用モーター駆動部 20 に駆動指示を与え、オフセットレンズ用モーター 17 を駆動してオフセットレンズ群 9 の光軸方向に対する移動量を調整し、2 分割 PD 14 の結像位置の補正を行なう。

【0039】

図 3 は、2 分割 PD 14 の検出信号の強度をおよび EF 値をグラフにして示した図であり、(a) が低 NA、中 NA、高 NA の対物レンズを用いて検出した場合の A、B 信号を示し、(b) がこれらの A、B 信号から算出した EF 値 $((A - B) / (A + B))$ を示す。

40

【0040】

コントローラ 24 は、A、B 信号の和 $(A + B)$ 、および EF 値 $((A - B) / (A + B))$ を用いて以下のように合焦位置の判定を行う。

まず、対物レンズ 3a および 3b 毎に設定されているノイズ判定閾値 (NTH) を不図示の不揮発性メモリから読み出し、 $(A + B)$ の値と比較する。その結果、 $(A + B)$ の値が所定のノイズ判定閾値 NTH より小さければ、すなわち、 $(A + B) < NTH$ であれ

50

ば、コントロール部 24 は、カバーガラス 28 を補足していないと判定し、 $(A + B)$ の値がノイズ判定閾値 NTH 以上になるように、すなわち $(A + B) - NTH$ が成立するように、試料移動ステージ 1 を駆動する。

【0041】

カバーガラス 28 を補足する範囲は、図 3 (a) に示す通り、低 NA の対物レンズの場合が範囲 301 であり、同様に中 NA の対物レンズ 3a が範囲 302、高 NA の対物レンズ 3b が範囲 303 であり、高 NA 対物レンズ 3b が最も狭く、対物レンズの倍率が小さくなるほどこの範囲は広くなる。

【0042】

そして、 $(A + B) - NTH$ が成立すると、コントロール部 24 は、 EF 値が所定の合焦範囲内に入るように、試料移動ステージ 1 を駆動する。すなわち、下記の不等式 (1) が成立するように、コントロール部 24 は試料移動ステージ 1 を移動させ、成立したところで試料移動ステージ 1 の動作を止める。

【0043】

$$- FTH < (A - B) / (A + B) < + FTH \quad \cdots (1)$$

ここで、 FTH は合焦判定閾値であり、試料移動ステージ 1 の位置が各対物レンズ 3a または 3b の焦点深度の範囲内に必ず移動されるように決められており、対物レンズレンズ 3a または 3b 毎に設定されている値である。

【0044】

上記不等式 (1) が成立する位置が合焦位置となり、合焦判定閾値 FTH は各対物レンズ 3a または 3b の焦点深度以下になる値に決められている。

図 3 (b) に示したように、色収差補正オフセットレンズ、あるいは焦点調節用オフセットレンズの位置に起因して、また、対物レンズの倍率に起因して、低 NA 、中 NA 、高 NA の対物レンズ毎に合焦近傍での EF 値の傾きが異なってしまう。

【0045】

図 4 は、低 NA 、中 NA 、高 NA の対物レンズの合焦近傍での EF 値を示す図である。

図 4 に示したように、 EF 値の傾きが急峻なもの程、合焦判定を行う際の合焦判定閾値 FTH の範囲が狭くなり、環境温度や振動の影響により合焦の追従が収束し難くなる。

【0046】

そこで、本発明を適用した顕微鏡装置 100 は、対物レンズ 3a および 3b 毎にオフセットレンズ群 9 の位置に対応付けした傾き補正係数を設定し、常に、合焦近傍での EF 値の傾きが一定となるようにする。

【0047】

図 5 は、第 1 の実施の形態におけるコントロール部 24 の内部構成を示す図である。

図 5 において、コントロール部 24 は、入出力部 200、検出信号記憶部 201、 EF 値演算部 202、 AF 処理部 203、 EF 値補正部 204、オフセットレンズ駆動指示部 205、焦準部駆動指示部 206、レボルバ駆動指示部 207、レーザー駆動指示部 208、および EF 傾き補正係数記憶部 209 を備える。

【0048】

入出力部 200 は、 A/D 変換器 23 にてデジタル値に変換された 2 分割 $PD14$ の検出値、パルスカウンタ 25 にてパルス数に変換された JOG エンコーダ 26 からのエンコーダ信号、または現在光路中に挿入されているレボルバ本体 2 の対物レンズ取付け位置を入力したり、レボルバ用モーター駆動部 18、焦準用モーター駆動部 19、オフセットレンズ用モーター駆動部 20、およびレーザー駆動部 22 を駆動するための駆動信号を各駆動部に対して出力したりする。

【0049】

検出信号記憶部 201 は、 A/D 変換器 23 にてデジタル値に変換された 2 分割 $PD14$ の検出値を格納し、 EF 値演算部 202 は、検出信号記憶部 201 に格納された 2 分割 $PD14$ の検出値に基づいて、 EF 値を算出する。

【0050】

10

20

30

40

50

A F 処理部 2 0 3 は、E F 値演算部 2 0 2 で算出した E F 値を用いて、上述の A F 処理を実行する。

E F 値補正部 2 0 4 は、対物レンズ 3 a および 3 b 毎にオフセットレンズ群 9 の位置に対応付けた傾き補正係数に基づき、E F 値の傾きが一定となるようにする。

【 0 0 5 1 】

オフセットレンズ駆動指示部 2 0 5 は、オフセットレンズ群 9 の駆動を指示し、焦準部駆動指示部 2 0 6 は、焦準用モーター駆動部 1 9 の駆動を指示し、レボルバ駆動指示部 2 0 7 は、電動レボルバの駆動を指示し、レーザー駆動指示部 2 0 8 は、レーザー駆動部 2 2 の駆動を指示する。

【 0 0 5 2 】

そして、E F 傾き補正係数記憶部 2 0 9 は、対物レンズ 3 a および 3 b 毎にオフセットレンズ群 9 の位置に対応した傾き補正係数を格納する。

図 6 は、第 1 の実施の形態における A F 処理の流れを示すフローチャートである。

【 0 0 5 3 】

まず、ステップ S 6 0 1 において、コントロール部 2 4 が、A F 用の赤外光のスポットを観察試料 S に照射させるためにレーザー駆動部 2 2 に信号を与え、基準光源 4 の発振を開始すると、ステップ S 6 0 2 において、2 分割 P D 1 4 が、反射光の光軸を中心に分けたフォトダイオードの 2 つの領域 (A 領域、B 領域) それぞれの光強度を検出信号として検出する。

【 0 0 5 4 】

そして、ステップ S 6 0 3 において、2 分割 P D 1 4 の検出値に基づいて、E F 値を算出する。

次に、ステップ S 6 0 4 において、合焦近傍であるか否かを判断し、未だ合焦近傍でない場合 (ステップ S 6 0 4 : N o) は、ステップ S 6 0 5 において、焦準用モーター 1 6 を駆動することにより、合焦するように試料移動ステージ 1 が光軸方向に上下動する。

【 0 0 5 5 】

他方、ステップ S 6 0 4 で合焦近傍であると判断した場合 (ステップ S 6 0 4 : Y e s)、ステップ S 6 0 6 において、E F 傾き補正係数記憶部 2 0 9 に格納された傾き補正係数を読み出す。なお、このステップ S 6 0 6 は、例えば、同一の対物レンズを用いている場合には、1 度実行すれば 2 度目以降は 1 度目に読み出したデータを用いることができるので、スキップすることもできる。

【 0 0 5 6 】

図 7 は、E F 傾き補正係数記憶部 2 0 9 に格納された対物レンズ毎の E F 値と傾き補正係数との対応例を示す図である。

図 7 に示した例では、オフセットレンズ群 9 の光軸方向の位置が「 - 4 mm 以上 0 mm 未満」を基準にして、「 0 mm 以上 5 mm 未満」「 5 mm 以上 1 0 mm 未満」「 1 0 mm 以上 1 5 mm 未満」「 1 5 mm 以上 2 0 mm 未満」「 2 0 mm 以上 2 2 mm 以下」の場合に、それぞれの傾き補正係数が「 1 . 0」「 1 . 1」「 1 . 2」「 1 . 3」「 1 . 4」「 1 . 5」となっている。

【 0 0 5 7 】

これらの傾き補正係数は、次のようにして決定する。

図 8 は、焦準位置と E F 値との関係を示す図である。

図 8 に示す実線および破線は、計測値から求めた近似式である。図 8 中の実線は、6 0 倍の対物レンズにおける、オフセットレンズ群 9 の位置が光軸方向に - 4 mm の場合の、焦準位置と E F 値との関係を示し、破線は、オフセットレンズ群 9 の位置が 2 2 mm の場合を示す。

【 0 0 5 8 】

図 8 に示したように、6 0 倍の対物レンズにおいて、オフセットレンズ群 9 の位置が - 4 mm と 2 2 mm との E F 値の傾きを比較すると、対物レンズから遠い方向にある - 4 mm の位置の傾きの方が急である。なお、- 4 mm の時の傾きは、2 2 mm の時の傾きに対

10

20

30

40

50

して 1.5 倍である。

【0059】

この時の EF 値が -1000 から 1000 までにおける閾値範囲は、-4 mm の時で 174 nm であり、22 mm の位置では、261 nm となっており、その差は約 100 マイクロメートルとなる。すなわち、-4 mm の位置の方が、振動の影響を受け易い事が分る。ここで、-4 mm 時の EF 値に対して 1.5 の逆数を掛けるとこの差は無くなる。

【0060】

そこで、図 6 のステップ S607 において、EF 値に傾き補正係数を乗算した値に算出する。これにより、オフセットレンズ群 9 に位置に関係なく、合焦近傍の EF 値の傾きは一定となる。

10

【0061】

そして、ステップ S608 において、ステップ S607 で算出した値と、対物レンズ 3a および 3b 毎に設定されているノイズ判定閾値 NTH とを用いて焦点深度内か否かを判断し、焦点深度内であれば（ステップ S608：Yes）、ステップ S602 に戻る。他方、環境温度の変化や振動等により焦点深度内でなくなるような場合は（ステップ S608：No）、ステップ S605 に進む。

【0062】

以上により、対物レンズ 3a および 3b 毎にオフセットレンズ群 9 の位置に対応した傾き補正係数により EF 値を補正することで、オフセットレンズ群 9 の位置に関係なく、合焦近傍の EF 値の傾きは一定になり、振動等の外乱による影響が軽減される。

20

【0063】

（第 2 の実施の形態）

次に、本発明の第 2 の実施の形態について説明する。

本発明の第 2 の実施の形態は、上述の第 1 の実施の形態が EF 値を補正するための傾き補正係数を予め格納しているのに対して、AF 処理の中で傾き補正係数を求めることを特徴としている。

【0064】

顕微鏡装置の全体構成は、コントロール部 24 の代わりにコントロール部 24B を備えることを除き、図 1 に示した第 1 の実施の形態と同様であるので、その説明を省略する。

図 9 は、第 2 の実施の形態におけるコントロール部 24B の内部構成を示す図である。

30

【0065】

図 9 において、コントロール部 24B は、入出力部 200、検出信号記憶部 201、EF 値演算部 202、AF 処理部 203、EF 値補正部 204、オフセットレンズ駆動指示部 205、焦準部駆動指示部 206、レボルバ駆動指示部 207、レーザー駆動指示部 208、および EF 傾き補正係数演算部 210 を備える。

【0066】

EF 傾き補正係数演算部 210 は、予め決められた間隔で EF 値をサンプリングし、傾きが一定となるように EF 値の傾き補正係数を算出する。例えば、上述したように、60 倍の対物レンズにおいて、オフセットレンズ群 9 の位置が -4 mm と 22 mm との EF 値をそれぞれ算出し、それらの EF 値の傾きを求める。

40

【0067】

なお、コントロール部 24B において、コントロール部 24 と同様の構成については、その説明を省略する。

図 10 は、第 2 の実施の形態における AF 処理の流れを示すフローチャートである。

【0068】

図 10 のフローチャートは、図 6 のフローチャートのステップ S606 の代わりに、ステップ S1001 乃至 S1005 を実行する。

すなわち、図 10 のステップ S604 で合焦近傍であると判断した場合（ステップ S604：Yes）、ステップ S1001 および S1002 において、サンプリングの回数 n が規定の回数に達するまで、ステップ S603 の EF 値を算出する。

50

【0069】

ステップS1001で所定回数に達したら（ステップS1001：Yes）、ステップS1003において、現在のEF値を一時的にメモリに保持した後、ステップS1004でnを0にする。

【0070】

そして、ステップS1005において、目標とする傾きになるようなEF値の傾き補正係数を算出し、ステップS607に進む。

これにより、第1の実施の形態では必要であった、図7に例示したようなテーブルを格納しておくメモリが不要となるとともに、合焦近傍のEF値の傾きは一定になり、振動等の外乱による影響も軽減される。

【0071】

なお、コントロール部24Bが第1の実施の形態と同様のEF傾き補正係数記憶部209を備え、ステップS1005で傾き補正係数を算出後、算出した傾き補正係数をEF傾き補正係数記憶部209に格納するようにすれば、ステップS1005での算出を毎回実行する必要がなくなり、その後はその格納した傾き補正係数を用いるようにしてもよい。

【0072】

（第3の実施の形態）

次に、本発明の第3の実施の形態について説明する。

図11は、第3の実施の形態における顕微鏡装置の全体構成を示す図である。

【0073】

本発明の第3の実施の形態の顕微鏡装置100Cは、上述した第1の実施の形態の顕微鏡装置100の構成に加え、開口絞り（AS：Aperture Stop）29、AS用モーター30およびAS用モーター駆動部31を備えることを特徴とする。図1に示した顕微鏡装置100と同様の構成に関しては、その説明を省略する。

【0074】

開口絞り29は、対物レンズ3aまたは3bの瞳位置におけるAF光のビーム径を調整するために、基準光源4とコリメートレンズ5の間に設ける。そして、コントロール部24Cの制御の下、AS用モーター駆動部31によってAS用モーター30が駆動され、開口絞り29の開口径を変動させる。

【0075】

基準光源4から発せられたAF光は、開口絞り29で絞られるので、開口絞り29の開口径に応じて2分割PD14の検出信号の電位が変化する。したがって、その電位を調整する必要がある。例えば、2分割PD14で結像されたスポットの光強度に応じた電流信号を、A/D変換器23Cで所定の増幅率をもって増幅させることにより調整する。あるいは、コントロール部24で、光源の強弱をコントロールするレーザー駆動部22を制御して調整する。

【0076】

図12は、第3の実施の形態におけるコントロール部24Cの内部構成を示す図である。

図12において、コントロール部24Cは、入出力部200、検出信号記憶部201、EF値演算部202、AF処理部203、オフセットレンズ駆動指示部205、焦準部駆動指示部206、レボルバ駆動指示部207、レーザー駆動指示部208、AS駆動指示部211、およびAS開口径記憶部212を備える。

【0077】

AS開口径記憶部212は、レボルバ駆動指示部207によって光路内へ移動される対物レンズ3aまたは3bの種類情報と、オフセットレンズ駆動指示部205によって移動されるオフセットレンズ群9の位置情報に従って、予め定められた開口絞り29の開口径を格納する。

【0078】

AS駆動指示部211は、AS開口径記憶部212に格納された開口径になるように、

10

20

30

40

50

開口絞り 29 を変動させる。なお、AF の追従動作中にオフセットレンズ群 9 の位置が移動された場合であっても、AS 駆動指示部 211 は、それに追従して開口絞り 29 を変動させてもよい。

【0079】

なお、コントロール部 24C において、コントロール部 24 と同様の構成については、その説明を省略する。

図 13 は、第 3 の実施の形態における AF 処理の流れを示すフローチャートである。

【0080】

まず、ステップ S1301 において、AS 開口径記憶部 212 に格納された開口径データを読み出す。

10

図 14 は、AS 開口径記憶部 212 に格納されたオフセットレンズ位置毎の開口径データの対応例を示す図である。

【0081】

図 14 に示した例では、オフセットレンズ群 9 の光軸方向の位置が「-4mm 以上 0mm 未満」を基準にして、「0mm 以上 5mm 未満」「5mm 以上 10mm 未満」「10mm 以上 15mm 未満」「15mm 以上 20mm 未満」「20mm 以上 22mm 以下」の場合に、それぞれの開口径が「3.4mm」「3.5mm」「3.6mm」「3.7mm」「3.8mm」「3.9mm」となっている。

【0082】

そして、ステップ S1302 において、対物レンズ 3a または 3b の種類情報とオフセットレンズ群 9 の位置情報に対応した開口絞り 29 の開口径になるように、AS 用モーター 30 を駆動して開口絞り 29 を変動させる。

20

【0083】

次に、ステップ S601 において、コントロール部 24C が、AF 用の赤外光のスポットを観察試料 S に照射させるためにレーザー駆動部 22 に信号を与え、基準光源 4 の発振を開始すると、ステップ S602 において、2分割 PD14 が、反射光の光軸を中心に分けたフォトダイオードの 2つの領域（A 領域、B 領域）それぞれの光強度を検出信号として検出する。

【0084】

そして、ステップ S603 において、2分割 PD14 の検出値に基づいて、EF 値を算出する。

30

そして、ステップ S608 において、対物レンズ 3a および 3b 毎に設定されているノイズ判定閾値 NTH を用いて焦点深度内か否かを判断し、焦点深度内であれば（ステップ S608：Yes）、ステップ S602 に戻る。

【0085】

他方、環境温度の変化や振動等により焦点深度内でなくなるような場合は（ステップ S608：No）、ステップ S605 に進み、焦準用モーター 16 を駆動することにより、合焦するように試料移動ステージ 1 が光軸方向に上下動する。

【0086】

このように、オフセットレンズ群 9 の位置毎に、開口絞り 29 の開口径を可変にすることで、対物レンズ 3a または 3b の瞳位置における AF 光の光束径が可変となり、合焦付近での EF 値が常に一定となるため、振動等の外乱による影響が軽減される。

40

【0087】

以上本発明を適用した各実施の形態を説明してきたが、本発明は、以上に述べた各実施の形態等に限定されるものではなく、本発明の要旨を逸脱しない範囲内で種々の構成または形状を取ることができる。

【符号の説明】

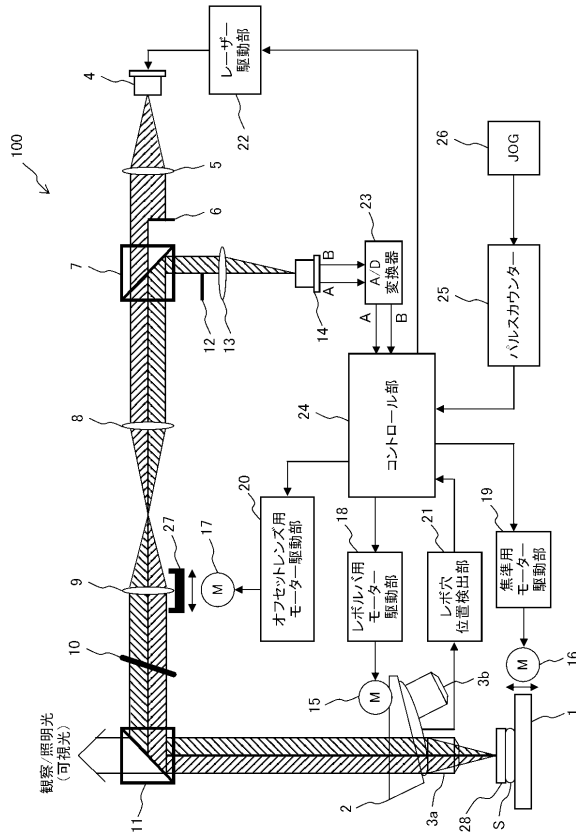
【0088】

- 1 試料移動ステージ
- 2 レボルバ本体

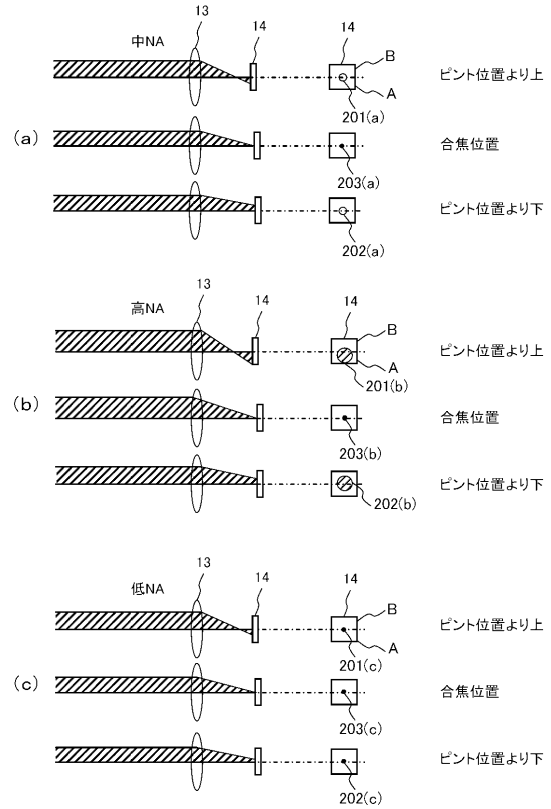
50

3 a、3 b	対物レンズ	
4	基準光源	
5	コリメートレンズ	
6	投光側ストッパー	
7	偏光ビームスプリッター (P B S)	
8	集光レンズ群	
9	オフセットレンズ群	
1 0	/ 4 板	
1 1	ダイクロックミラー	
1 2	受光側ストッパー	10
1 3	集光レンズ群	
1 4	2 分割フォトダイオード (P D)	
1 5	レボルバ用モーター	
1 6	焦準用モーター	
1 7	オフセットレンズ用モーター	
1 8	レボルバ用モーター駆動部	
1 9	焦準用モーター駆動部	
2 0	オフセットレンズ用モーター駆動部	
2 1	レボ穴位置検出部	
2 2	レーザー駆動部	20
2 3、2 3 C	A / D 変換器	
2 4、2 4 B、2 4 C	コントロール部	
2 5	パルスカウンタ	
2 6	J O G エンコーダ	
2 7	リミット検出部	
2 8	カバーガラス	
2 9	開口絞り	
3 0	A S 用モーター	
3 1	A S 用モーター駆動部	
1 0 0、1 0 0 C	顕微鏡装置	30
2 0 0	入出力部	
2 0 1	検出信号記憶部	
2 0 2	E F 値演算部	
2 0 3	A F 処理部	
2 0 4	E F 値補正部	
2 0 5	オフセットレンズ駆動指示部	
2 0 6	焦準部駆動指示部	
2 0 7	レボルバ駆動指示部	
2 0 8	レーザー駆動指示部	
2 0 9	E F 傾き補正係数記憶部	40
2 1 0	E F 傾き補正係数演算部	
2 1 1	A S 駆動指示部	
2 1 2	A S 開口径記憶部	
S	観察試料	

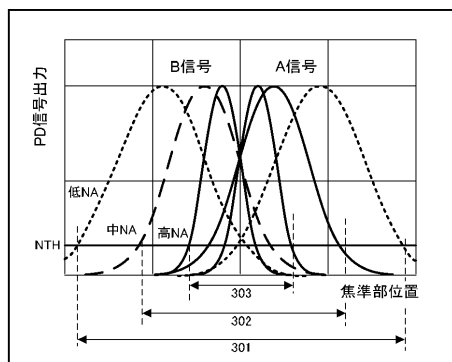
【図 1】



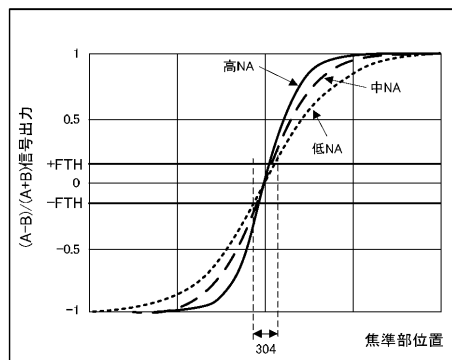
【図 2】



【図 3】

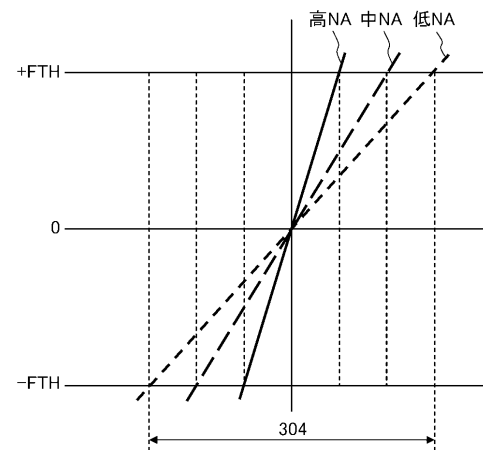


(a)

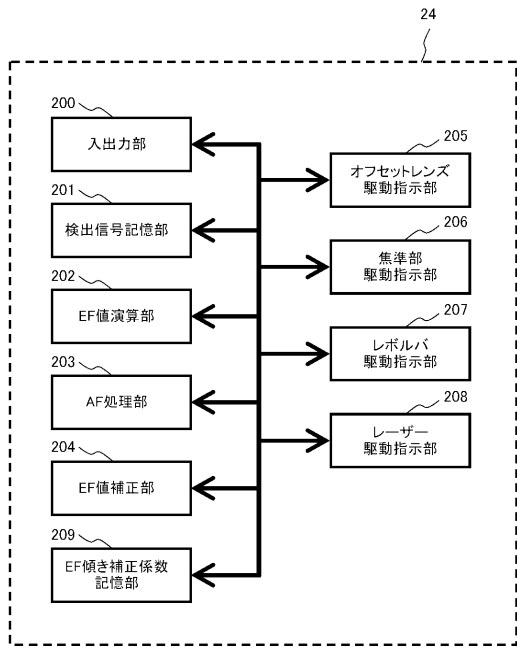


(b)

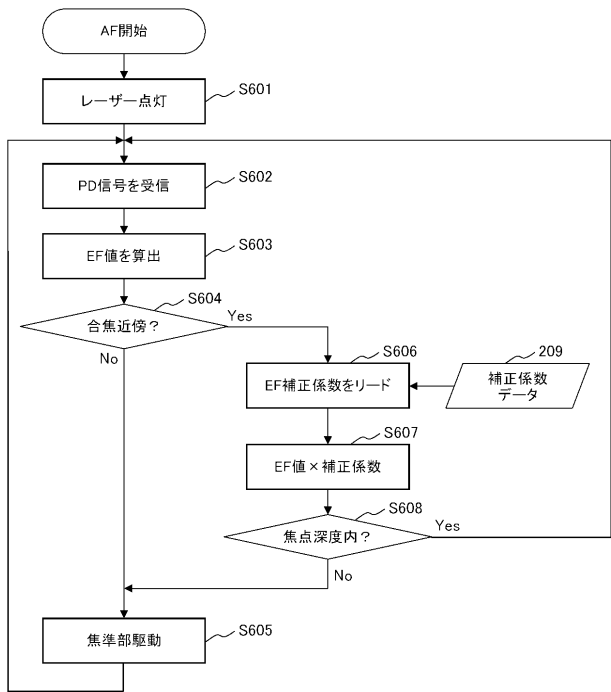
【図 4】



【 図 5 】



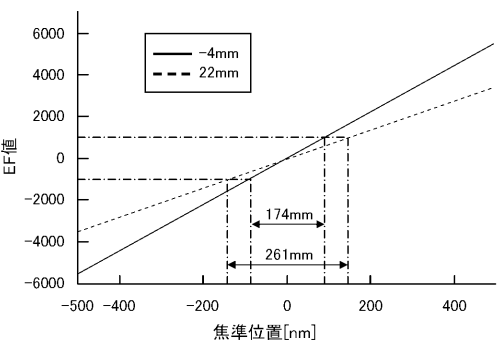
【 図 6 】



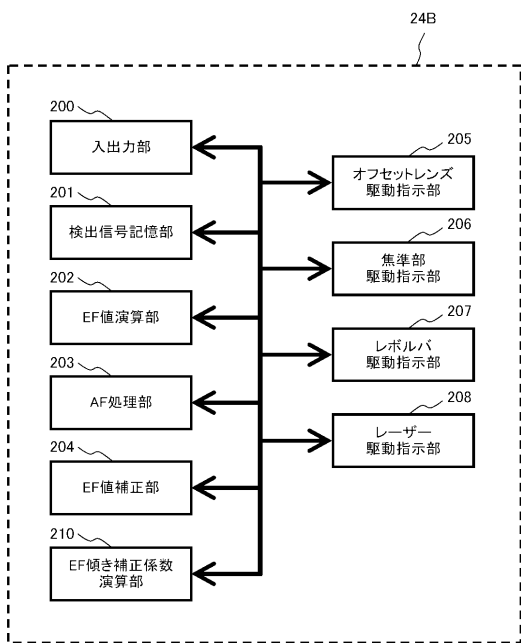
【 図 7 】

オフセット レンズ位置	-4～0mm	0～5mm	5～10mm	10～15mm	15～20mm	20～22mm
補正係数	1	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5

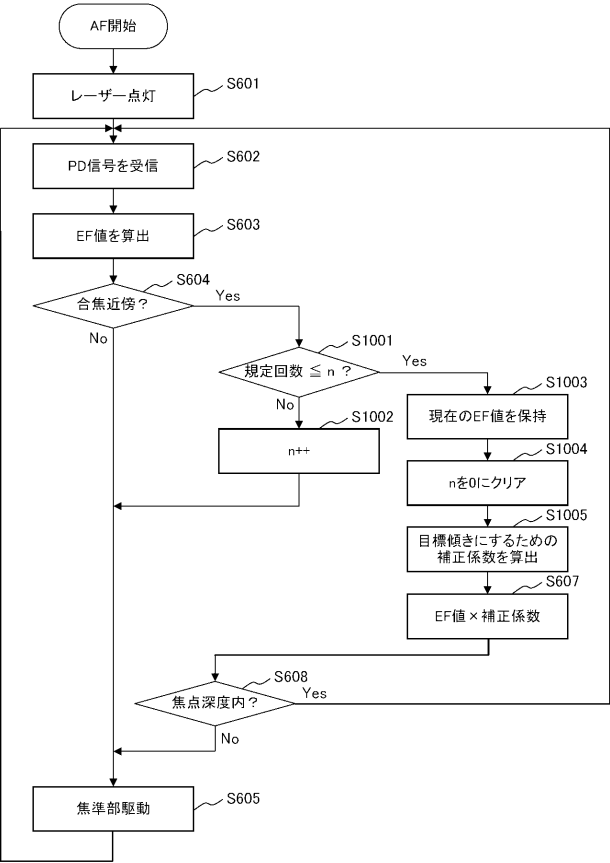
【 図 8 】



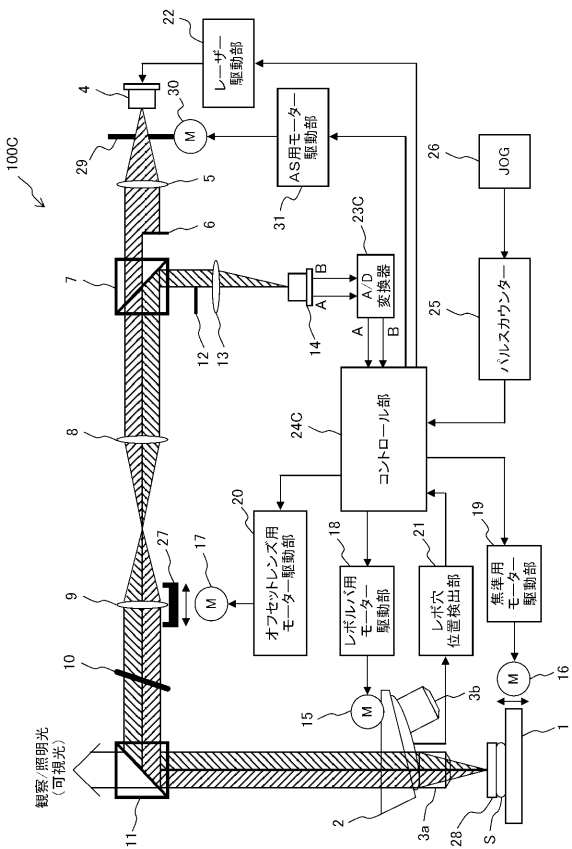
【 図 9 】



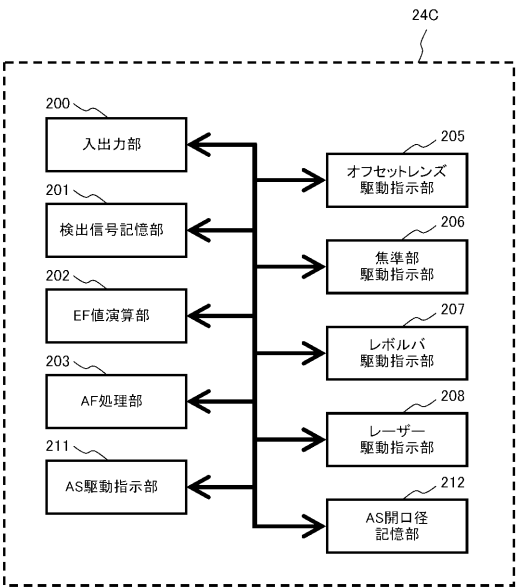
【 図 1 0 】



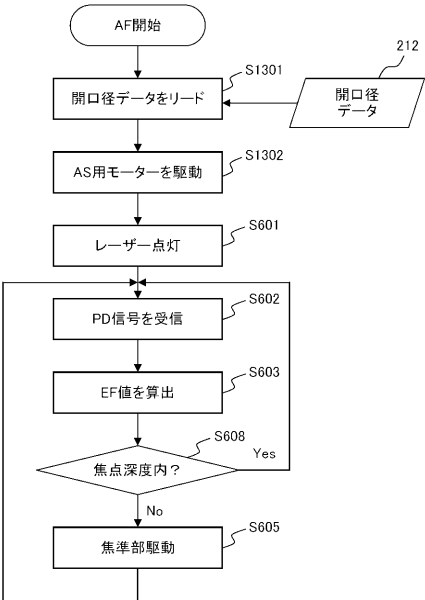
【 図 1 1 】



【 図 1 2 】



【 図 1 3 】



【 図 1 4 】

オフセット レンズの位置	-4～0mm	0～5mm	5～10mm	10～15mm	15～20mm	20～22mm
開口径Φ	3.4mm	3.5mm	3.6mm	3.7mm	3.8mm	3.9mm