



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104956249 A

(43) 申请公布日 2015. 09. 30

(21) 申请号 201480005722. 4

地址 德国耶拿

(22) 申请日 2014. 01. 23

(72) 发明人 W. 巴思 R. 内茨

(30) 优先权数据

102013001238. 4 2013. 01. 25 DE

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 07. 22

代理人 侯宇 张建锋

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2014/051301 2014. 01. 23

(51) Int. Cl.

G02B 21/00(2006. 01)

G02B 27/58(2006. 01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/114702 DE 2014. 07. 31

(71) 申请人 卡尔蔡司显微镜有限责任公司

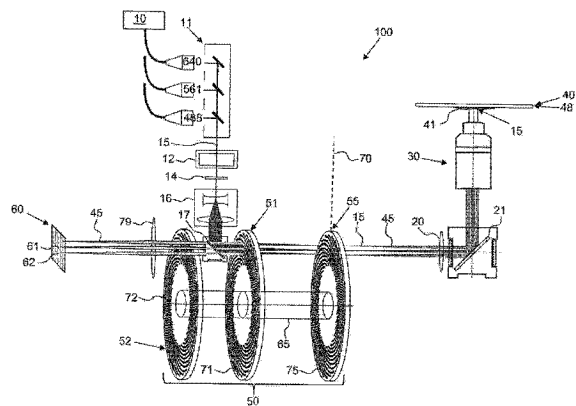
权利要求书3页 说明书13页 附图7页

(54) 发明名称

光学显微镜和显微术方法

(57) 摘要

本发明涉及一种具有样本平面的光学显微镜,待研究的样本能够定位在所述样本平面上,所述光学显微镜具有用于发出照明光线的光源、用于将照明光线导入样本平面中的光学成像器件和探测器装置,所述探测器装置具有多个探测器元件来检测来自样本的样本光线。在此,相邻的探测器元件彼此之间的距离小于样本平面的点在探测器装置上产生的埃里斑。按照本发明的光学显微镜的特征在于,设有带至少一个第一和第二光学装置的扫描装置,所述扫描装置的光学装置能够同时沿共同的方向运动,以便产生彼此方向相反的照明扫描运动和探测扫描运动,第一和第二光学装置分别具有多个并排布置的光学元件,通过所述光学元件能够同时研究相互间隔的样本区域,第一和第二光学装置布置为,使得从样本平面向探测器装置的样本光线的光路以及从光源朝向样本平面的照明光线的光路均经过第一光学装置并且这两条光路中只有一条经过第二光学装置,并且为了实现与照明扫描运动的方向相反的探测扫描运动的方向,能够通过扫描装置使样本光线非倒立地并且以小于1的成像比例成像。



1. 一种光学显微镜，
具有样本平面 (40)，待研究的样本 (41) 能够定位在所述样本平面上，
具有用于发出照明光线 (15) 的光源 (10)，
具有用于将照明光线 (15) 导入样本平面 (40) 中的光学成像器件 (16、17、20、21、30)
并且
具有探测器装置 (60)，所述探测器装置具有多个探测器元件 (61-64) 来检测来自样本 (41) 的样本光线 (45)，
其中，相邻的探测器元件 (63、64) 彼此之间的距离小于样本平面 (40) 的点在探测器装置 (60) 上产生的埃里斑，
其特征在于，
设有带至少一个第一和第二光学装置 (51、52) 的扫描装置 (50)，
所述扫描装置 (50) 的光学装置 (51、52) 能够同时沿共同的方向运动，以便产生彼此方向相反的照明扫描运动 (81) 和探测扫描运动 (82)，
其中，照明扫描运动 (81) 是照明光线 (15) 在样本平面 (40) 上的扫描运动并且
其中，作为探测扫描运动 (82)，探测器元件 (61-64) 的接收区域能够在样本平面 (40) 上运动，
第一和第二光学装置 (51、52) 分别具有多个并排布置的光学元件 (71、72)，通过所述光学元件能够同时研究相互间隔的样本区域，
第一和第二光学装置 (51、52) 布置为，使得从样本平面 (40) 照向探测器装置 (60) 的样本光线 (45) 的光路以及从光源 (10) 照向样本平面 (40) 的照明光线 (15) 的光路均经过第一光学装置 (51) 并且这两条光路中只有一条经过第二光学装置 (52)，并且
为了实现与照明扫描运动 (81) 的方向相反的探测扫描运动 (82) 的方向，能够通过扫描装置 (50) 使样本光线 (45) 非倒立地并且以小于 1 的成像比例成像。
2. 按权利要求 1 所述的光学显微镜，其特征在于，所述成像比例是 1:2。
3. 按权利要求 1 或 2 所述的光学显微镜，其特征在于，为了非倒立地成像，第一或第二光学装置 (51 ;52) 的光学元件 (71 ;72) 各自具有会聚光线的作用并且另一光学装置 (52 ; 51) 的光学元件 (72 ;71) 各自具有发散光线的作用。
4. 按权利要求 1 或 2 所述的光学显微镜，其特征在于，
所述扫描装置 (50) 具有第三光学装置，所述第三光学装置包括一个或多个成像区域旋转器并且布置在样本光线 (45) 的光路中，
通过第一光学装置 (51) 或者通过第一和第二光学装置 (51、52) 能够产生倒立的像，通过所述一个或多个成像区域旋转器的成像区域旋转能够将所述倒立的像转变为非倒立的像。
5. 按权利要求 4 所述的光学显微镜，其特征在于，所述扫描装置 (50) 具有第三和第四光学装置作为成像区域旋转器，所述第三和第四光学装置分别具有用于第一光学装置 (51) 的每个光学元件 (71) 的光学元件 (73、74)。
6. 按权利要求 4 或 5 所述的光学显微镜，其特征在于，
从样本平面 (40) 朝向探测器装置 (60) 的样本光线 (45) 的光路经过第一和第二光学装置 (51、52) 并且

第一和第二光学装置 (51、52) 的光学元件 (71、72) 分别具有会聚光线的作用。

7. 按权利要求 1 至 6 之一所述的光学显微镜,其特征在於,

为了在第一光学装置 (51) 与样本平面 (40) 之间产生共焦的样本成像,设有孔光圈装置 (55),所述孔光圈装置能够与第一和第二光学装置 (51、52) 共同运动,并且

所述孔光圈装置 (55) 针对第一光学装置 (51) 的每个光学元件 (71) 分别具有孔光圈 (75)。

8. 按权利要求 1 至 7 之一所述的光学显微镜,其特征在於,所述扫描装置 (50) 的光学装置 (51、52) 分别通过可旋转的盘 (51、52) 实现。

9. 按权利要求 8 所述的光学显微镜,其特征在於,所述可旋转的盘 (51、52) 支承在共同的驱动轴 (65) 上。

10. 按权利要求 1 至 9 之一所述的光学显微镜,其特征在於,设有用于使扫描装置 (50) 的光学装置 (51、52) 线性移动的调节装置。

11. 按权利要求 1 至 10 之一所述的光学显微镜,其特征在於,

第一光学装置 (51) 的光学元件 (71) 分别由至少一个透镜 (71)、镜面或者使光发生衍射的元件构成并且

第二光学装置 (52) 的光学元件 (72) 分别由至少一个透镜 (72)、镜面或者使光发生衍射的元件构成。

12. 按权利要求 1 至 11 之一所述的光学显微镜,其特征在於,所述扫描装置 (50) 具有缩放光学装置,所述缩放光学装置能够与第一光学装置 (51) 共同运动并且布置为,使得所述缩放光学装置在运行中只由样本光线 (45) 通过。

13. 按权利要求 1 至 12 之一所述的光学显微镜,其特征在於,在照明光路中设有作为回复反射器的镜面或者棱镜,其中,所述照明光线穿过回复反射器到达微型镜面的方向,所述微型镜面具有用于使部分照明光线朝样本的方向穿过的孔光圈。

14. 一种用于研究样本 (41) 的显微术方法,所述样本定位在光学显微镜的样本平面 (40) 内,

其中,将照明光线 (15) 导入样本平面 (40) 内,

其中,作为照明扫描运动 (81),使照明光线 (15) 在样本平面 (40) 上移动并且

其中,通过探测器装置 (60) 检测来自样本 (41) 的样本光线 (45),所述探测器装置具有多个探测器元件 (61-64),

其中,相邻的探测器元件 (63、64) 彼此之间的距离小于样本平面 (40) 的点在探测器装置 (60) 上产生的埃里斑,

其特征在於,

扫描装置 (50) 的光学装置 (51、52) 能够同时沿共同的方向运动,以便产生彼此方向相反的照明扫描运动 (81) 和探测扫描运动 (82),

其中,作为探测扫描运动 (82),使探测器元件 (61-64) 的接收区域在样本平面 (40) 上运动,

通过分别具有多个并排布置的光学元件 (71、72) 的第一和第二光学装置 (51、52) 同时研究相互间隔的样本区域,

其中,第一和第二光学装置 (51、52) 布置为,使得通过第一光学装置 (51) 引导照明光

线 (15) 和样本光线 (45) 并且通过第二光学装置 (52) 只要么将照明光线 (15) 导向样本平面 (40) 要么将样本光线 (45) 导向探测器装置 (60),

为了实现与照明扫描运动 (81) 的方向相反的探测扫描运动 (82) 的方向, 通过扫描装置 (50) 使样本光线 (45) 非倒立地并且以小于 1 的成像比例成像。

15. 按权利要求 14 所述的显微术方法, 其特征在于, 照明扫描运动 (81) 和探测扫描运动 (82) 在探测器装置 (60) 的探测器元件 (61-64) 的整合时间内被实施。

光学显微镜和显微术方法

[0001] 本发明涉及一种按照权利要求 1 的前序部分所述的光学显微镜。本发明还涉及一种按照权利要求 13 的前序部分所述的显微术方法。

[0002] 按照本发明所述类型的光学显微镜具有样本平面,待研究的样本能够定位在所述样本平面上,所述光学显微镜具有用于发出照明光线的光源、用于将照明光线导入样本平面中的光学成像器件和探测器装置,所述探测器装置用于检测来自样本的样本光线,其中,相邻的探测器元件彼此之间的距离小于样本平面中的点在探测器装置上产生的埃里斑。电子器件可以根据检测到的样本光线确定样本的图像。

[0003] 在按照本发明所述类型的显微术方法中,为了研究定位在光学显微镜的样本平面上的样本规定,将照明光线导入样本平面内,作为照明扫描运动,使照明光线经过样本平面并且通过探测器装置检测来自样本的样本光线,所述探测器装置具有多个探测器元件,其中,相邻的探测器元件彼此之间的距离小于样本平面中的点在探测器装置上产生的埃里斑。电子器件可以根据检测到的样本光线确定样本的图像。

[0004] 对于这种光学显微镜和显微术方法来说,基本的目的是一尽可能高的分辨率和良好的信噪比产生样本图像。

[0005] 为此,在按照本发明所述类型的光学显微镜和显微术方法中使用了探测器元件,它们小于样本平面中的点在探测器装置上产生的埃里斑。

[0006] 埃里通过衍射限定的亮斑的旋转对称的光分布的第一零点位置被定义。埃里因此是成像平面内的衍射小斑的延伸长度,所述衍射小斑由样本平面内的点产生。所述延伸长度可以定义为衍射小斑的第一零点位置之间的路程。衍射限定的大小为 1 埃里的光分布具有 $0.61 \lambda / \text{NA}$ 的半径。在此, λ 是光波长并且 NA 是数字孔径。

[0007] 相宜地,相邻的探测器元件之间的距离可以小于埃里斑的二分之一或者三分之一。样本平面的点由此总是在多个相邻的探测器元件上成像。

[0008] 通过哪些措施能够实现分辨率提高的认知来源于 C. Sheppard 并且在 Colin Sheppard 等的文章“Super-resolution in Confocal Imaging”中描述,出版在 Optik 80, No. 2, 45(1988)。在此,为了提高样本图像中的分辨率,在拍摄图像之后,借助特殊的算法进行再分类和计算,这也称为移动的次埃里探测值的累加。

[0009] 参照图 1 阐述这种方法。在图 1 中示意性地示出了沿样本平面的 x 轴的样本。所述样本包括样本点 42 或者荧光物体 42。此外显示了照明点 44。所述照明点的强度 I 显示在坐标上。照明点 44 的尺寸是衍射受限的并且在 x 方向上大于物体 42。如果照明点 44 到达物体 42,则所述物体被激励发荧光并且发出样本光线,所述样本光线可由探测器装置检测。

[0010] 在图 1 中还示出了这种探测器装置 60 在样本平面中的、在此无限清晰的像。探测器装置 60 包括多个探测器元件 63、64。所述探测器元件不只接收从样本平面的点发出的样本光线。在每个探测器元件上还形成延伸的接收区域,其通过像的 PSF (Point Spread Function, 点扩散函数) 确定。用于探测器元件 64 的 PSF 作为虚线曲线 46 示出。照明点 44 的尺寸同样可以通过点光源的 PSF 确定。

[0011] 确定的探测器元件 64 的测量到的光强度通过总 PSF 确定,其是关于照明点 44 的 PSF 和关于探测器元件 64 的 PSF46 的乘积。总 PSF 的最大值大约居中地处于相应的探测器元件 64 的 PSF46 和照明点 44 之间。因此在所示的例子中,探测器元件 64 主要从居中地处于照明点 44 与 PSF46 之间的位置 61A 接收光线。而探测器元件 64 基本上不测量位置 61D 的光线,即使在该处对应的 PSF46 达到其最大值。

[0012] 为了扫描样本,将照明点从位置 44D 移动到例如 44B。这在此称为照明扫描运动。探测器元件 64 的总 PSF 由此移动。探测器元件 64 不再主要测量位置 61A,而是测量 61B。

[0013] 这可以用于提高分辨率。为此,针对照明点 44 的每个位置读取探测器元件。在此测量的样本光信号根据照明点 44 的位置配置给不同的样本区域。也就是说,由同一个探测器元件测量的样本光信号根据照明点 44 的位置被再分类。

[0014] 所述再分类通过弯曲的箭头显示。因此,如果照明点处于位置 44D,则将探测器元件 64 的信号配置给物体 42 的位置 61A。类似地,当照明点处于位置 44C 时,将位置 61C 处的探测器元件的信号配置给对象 42 的位置。当照明点处于位置 44B 时,将位置 61B 的信号配置给对象 42 的位置。

[0015] 以此方式可以改善分辨率。然而,为了实现这种再分类,在设备上的耗费较高。此外,用于计算再分类所需的时间相对较长。

[0016] 分辨率的改善也可以被描述为单点系统的光学传递光谱中的更高空间频率的更大的加权。因为为了成像使用 1 埃里小孔直径内的光分布,所以能够检测到更多光子。由此改善了信噪比。

[0017] 利用具有亚埃里分辨率的探测器装置的可比照的显微镜在 EP 2 520 965A1 和 York 等人的 Nature Methods Vol. 9, 749-754 (2012) 中描述。此外利用多点照明。在此,每个光点或者光斑依次经过不同的样本区域进行扫描。然而在扫描中,需要针对不同的扫描位置分别读取由探测器装置拍摄的图像并且如前所述地计算,例如参见 York 等人的文章“Supplementary Note 1”。由此降低了图像拍摄速度,这尤其对于活体细胞的成像是不良的。此外,可能在图像中形成计算和 / 或运动假象。

[0018] 为了以提高的分辨率研究样本,还设置了具有结构化照明 (SIM) 的显微镜。在此,结构化的照明可以例如通过线条栅格产生。

[0019] 在激光扫描显微镜 (LSM) 中,使用照明点作为结构化照明。在此,通过共焦的成像实现提高的分辨率,为此将小孔,也就是孔光圈定位在图像平面之内或之上。然而在 LSM 中,信噪比相对较低,因为只利用了相对较少的一部分光。

[0020] 为了同时研究多个样本区域,可以使用具有尼普科夫盘的显微镜。所述尼普科夫盘包括多个布置为阿基米德螺旋线的小孔。这种显微镜在 US 5, 428, 475A 和 US 2008/0218849 A1 中描述。

[0021] 通过将尼普科夫盘布置在共同的照明和探测光路中,过滤掉了焦点之外的光。利用这种相对简单的结构通过旋转尼普科夫盘可以实现迅速的图像拍摄。因此,尼普科夫盘也称为旋流片。尼普科夫盘的多个小孔的同时照明,即所谓的多点研究,可以进一步加快样本研究的速度。具有这种结构的显微镜在 EP 1 359 452 A1 中描述。为了将更大部分的照明光线引导通过尼普科夫盘的小孔,在此使用微型对焦透镜盘。它与尼普科夫盘共同旋转。样本光线同样被引导穿过该微型对焦透镜盘并且接着通过另一微型对焦透镜盘朝探测器

的方向引导。

[0022] 在这些已知的旋流片显微镜中,只能以较差的信噪比达到光学极限分辨率的范围。

[0023] 本发明所要解决的技术问题在于,提供一种光学显微镜和一种显微术方法,其中能够在较短的测量时间内以成本低廉的方式实现尽可能高的测量分辨率。

[0024] 该技术问题按本发明通过一种具有权利要求 1 所述特征的光学显微镜和一种具有权利要求 13 所述特征的显微术方法解决。

[0025] 按照本发明的方法和按照本发明的光学显微镜的优选实施变型方案是从属权利要求的技术内容并且尤其结合附图在以下的说明书中阐述。

[0026] 上述类型的光学显微镜按照本发明的特征在于,设有带至少一个第一和第二光学装置的扫描装置。所述扫描装置的光学装置能够同时沿共同的方向运动,以便产生彼此方向相反的照明扫描运动和探测扫描运动。在此,照明扫描运动是照明光线在样本平面上的扫描运动,并且作为探测扫描运动,探测器元件的接收区域能够在样本平面上运动。第一和第二光学装置分别具有多个并排布置的光学元件,通过所述光学元件能够同时研究相互间隔的样本区域。在此,第一和第二光学装置布置为,使得从样本平面照向探测器装置的样本光线的光路以及从光源照向样本平面的照明光线的光路均经过第一光学装置并且这两条光路中只有一条经过第二光学装置。为了实现与照明扫描运动的方向相反的探测扫描运动的方向,能够通过扫描装置的光学装置使样本光线非倒立地并且以小于 1 的成像比例成像。

[0027] 前述类型的显微术方法按照本发明的特征在于,扫描装置的光学装置能够同时沿共同的方向运动,以便产生彼此方向相反的照明扫描运动和探测扫描运动。作为探测扫描运动,使探测器元件的接收区域在样本平面上运动。通过分别具有多个并排布置的光学元件的第一和第二光学装置同时研究相互间隔的样本区域,其中,第一和第二光学装置布置为,使得通过第一光学装置引导照明光线和样本光线并且通过第二光学装置只将照明光线导向样本平面或者将样本光线导向探测器装置。为了实现与照明扫描运动的方向相反的探测扫描运动的方向,通过扫描装置的光学装置使样本光线非倒立地并且以小于 1 的成像比例成像。

[0028] 按照本发明的显微术方法优选通过按照本发明的显微镜实施。

[0029] 在此,为了同时研究不同的样本区域,由第一和 / 或第二光学装置的光学元件将照明光线分为部分光束,所述部分光束被引导至彼此间隔的样本区域。由被照明的样本区域发出样本光线。所述样本光线作为部分光束从第一和 / 或第二光学装置进一步向探测器单元引导。

[0030] 样本区域(确定的探测器元件从该样本区域接收到最大光量)与照明图案或照明点在样本上的位置有关。这已经参照图 1 进行了详细阐述。通过照明扫描运动,照明图案在样本上移动。由此,总 PSF 并且因此确定的探测器元件从此接收到最大光量的样本区域也移动。

[0031] 通过探测扫描运动可以实现的显著优点是,确定的探测器元件接收主要总是来自相同样本区域的光线。也就是总 PSF 的最大值的位置几乎不因为照明和探测扫描运动而改变。为此,探测扫描运动必须与照明扫描运动的方向相反并且必须与之同时进行。

[0032] 参照图 1 阐述探测扫描运动和照明扫描运动之间方向相反的运动的效果。在所示情况下,探测器元件 64 主要接收来自区域 61A 的光线。在此,总 PSF 达到其最大值。作为照明扫描运动,照明点 44 沿箭头 81 运动,例如直至其最大值处于位置 44C。同时,作为探测扫描运动,探测器元件 64 的接收区域沿相反的方向,即沿箭头方向 82 运动。探测器元件 64 的接收区域可以视为从其 PSF46 至 PSF46 的第一最小值的延伸范围。如果其沿箭头方向 82 运动至其最大值处于位置 61C,则探测器元件 64 的总 PSF 的最大值还是处于位置 61A。由此能够有利地避免在现有技术中描述的再分类,在再分类中,将确定的探测器元件的接收信号根据照明点的位置配置给不同的样本位置。

[0033] 照明扫描运动的方向显示与照明光线的部分光束在样本上运动的方向一致。

[0034] 探测扫描运动是确定的探测器元件的接收区域在样本平面内的运动。探测器元件的接收区域是样本平面中的探测器元件接收光的区域。接收区域通过样本平面和成像平面之间的成像的 PSF 以及通过所属的探测器元件的尺寸确定。接收区域也可以理解为所属的探测器元件在样本平面内的像。

[0035] 如果在样本平面内,探测器元件的接收区域与照明光线的部分光束方向相反地运动,则照明扫描运动和探测扫描运动方向相反。

[0036] 由于不再需要对所接收的信号进行再分类,由探测器装置输出的唯一图像就已经具有提高的分辨率和良好的信噪比。此外减少了焦点之外的样本光线。

[0037] 作为本发明的重要理念,可以考虑提供光学装置,它们在沿共同方向共同运动中产生照明扫描运动和与之方向相反的探测扫描运动。为此首先要求不是所有光学装置既用于照明样本也用于检测样本光线。只有光学装置其中之一既朝探测器装置的方向引导样本光线,也朝样本平面的方向引导照明光线。相宜地,该光学装置可以是第一光学装置,其在光路中比第二光学装置布置得更靠近样本平面。而在一种实施形式中,第二光学装置只用于将照明光线引导至第一光学装置并且进一步向样本平面引导。而样本光线在此不到达第二光学装置或者无论如何导向探测器装置的样本光线不到达第二光学装置。

[0038] 在另一种实施形式中,第二光学装置只用于将样本光线引导至探测器装置,而照明光线在照向样本平面的光路中不引导至第二光学装置。

[0039] 此外要求通过光学装置使样本光线非倒立地并且以小于 1 的成像比例成像。由此有利地不再需要在照明扫描运动与探测扫描运动之间进行耗费的协调适配。

[0040] 显著的速度优点在本发明中也通过以下方式实现,即可以同时研究多个在空间上彼此分开的样本区域。为此,光学装置分别具有多个光学元件。照明光线同时照射到第一光学装置的多个光学元件上。每个被照射的光学元件进一步引导部分光束。不同的部分光束被引导至彼此不重叠的样本区域上。由此提供了多点照明。通过用于照明光线的光学装置的运动,部分光束移动,由此产生照明扫描运动。

[0041] 通过用于样本光线的光学装置的光学元件,使多个彼此不重叠的样本区域在探测器装置的不同区域上成像。同时研究的样本区域的数量在此恰恰相当于第一光学装置的光学元件的数量,所述第一光学装置同时由照明光线照射。

[0042] 探测扫描运动和照明扫描运动的速度值优选相等。这通过光学装置使样本光线成像的成像比例确定。为了速度相等,成像比例为 1:2。

[0043] 扫描装置的所有光学装置共同产生非倒立的像,样本光线朝向探测器装置经过所

述光学装置。尤其是如果正好为样本光线使用了两个光学装置,则为了非倒立地成像,第一或第二光学装置的光学元件可以各自具有会聚光线的作用并且另一光学装置的光学元件可以各自具有发散光线的作用。如果样本光线经过两个光学装置引导至探测器装置,则第一光学装置的光学元件可以分别具有会聚光线的作用并且第二光学装置的光学元件分别具有发散光线的作用。因此,第一光学装置的光学元件可以与第二光学装置的对应光学元件分别形成伽利略望远镜。不同光学装置的所属光学元件理解为分别进一步引导样本光线的相同的部分光束的光学元件。

[0044] 如果样本光线只经过第一光学装置引导至探测器装置,则第一光学装置的光学元件可以具有发散光线的作用。因此可以实现样本光线的非倒立的虚像。在这种情况下,照明光线可以作为平行的光束引导至第二光学装置的光学元件并且进一步引导至第一光学装置。第二光学装置的光学元件可以具有会聚光线的作用并且具有比第一光学装置的发散光线的光学元件更短的焦距。由此照明光线在中间像平面内聚焦。

[0045] 扫描装置可以具有其它光学装置,它们布置在样本光线的光路中并且可同时沿共同方向运动。因此,作为第三光学装置可以设置一个或多个成像区域旋转器,例如 **Abbe-König** 棱镜。在这种情况下,可以通过第一光学装置或者通过第一和第二光学装置产生倒立的像,其通过成像区域旋转器的成像区域旋转转换为非倒立的像。

[0046] 此外,所述扫描装置可以具有第三和第四光学装置作为成像区域旋转器,所述第三和第四光学装置分别具有用于第一光学装置的每个光学元件的光学元件。例如,第三光学装置的光学元件可以分别与第四光学装置的对应光学元件构成开普勒望远镜。它们产生倒立的像并且因此用作成像区域旋转器。如果样本光线的光路从样本平面朝向探测器装置经过第一和第二光学装置,则第一光学装置的光学元件同样可以与第二光学装置的对应光学元件共同分别设计为开普勒望远镜。尤其在这种情况下,第一和第二光学装置的光学元件分别具有会聚光线的作用。

[0047] 通过第一光学装置的光学元件的会聚光线的作用,可以将照明光线的部分光束聚焦在中间像平面内。在此可以设置设有孔光圈装置。因此,为了在第一光学装置与样本平面之间产生共焦的样本像,设置空光圈装置,所述孔光圈能够与第一和第二光学装置共同运动。在此,所述孔光圈装置优选针对第一光学装置的每个光学元件分别具有孔光圈。

[0048] 扫描装置的光学装置原则上可以具有任意的形状。光学装置的光学元件原则上也可以彼此任意地定位并且光学装置的运动可沿任意的共同方向进行。

[0049] 但光学装置优选分别通过可旋转的盘实现。照明光线被引导至可旋转的盘的一部分上。照明扫描运动由此沿圆弧段在旋转方向上进行。探测扫描运动与旋转方向相反地沿圆弧段进行。

[0050] 为了确保可旋转的盘同步地旋转,所述可旋转的盘优选支承在共同的驱动轴上。也可以设置彼此不同的驱动轴,它们由共同的电动机驱动。

[0051] 光学元件可以呈螺旋线形地布置在可旋转的盘上,尤其布置为阿基米德螺旋线。

[0052] 在一种备选实施形式中,设有用于使扫描装置线性移动的调节装置。为此,例如可以使用压电促动器。在这种情况下,光学装置的光学元件也可以棋盘形地定位。

[0053] 光学装置的光学元件原则上可以是任何类型,只要它们具有会聚光线或者发散光线的作用。不同的光学装置的光学元件可以例如分别由至少一个透镜、镜面 (Spiegel) 或

者光衍射元件构成。作为光衍射元件使用菲涅尔透镜。

[0054] 如果所有的光学元件均由透镜构成,则实现了相对简单的光路。在这种情况下,可以在第一和第二光学装置之间布置光束分配器。所述光束分配器引导照明光线通过第一光学装置,而照明光线之前没有经过第二光学装置。同时,光束分配器允许来自第一光学装置的样本光线至少部分透射至第二光学装置。

[0055] 透镜可以设计为消色差镜头或者“*Ashpären*”透镜,并且原则上也可以分别由一个或多个透镜组构成。

[0056] 作为备选,第一光学装置的光学元件也可以是透镜,并且第二光学装置的光学元件是镜面。由第二光学装置反射的样本光线的部分光束可以经过另一光束分配器朝向探测器装置引导。

[0057] 如果例如设有另一光束分配器,则第一光学装置的光学元件也可以使用镜面。

[0058] 光学装置的前述成像比例的优选值是 0.5。当点状光源在样本平面内成像的 PSF 与样本点成像的 PSF 具有相同宽度时,所述值是特别合适的。图 1 中的曲线 44 和 46 例如就是这种情况。由此,照明扫描运动和探测扫描运动的步距或者速度的值相等。这正好在扫描装置的光学装置的成像比例为 0.5 时实现。但如果两个 PSF 具有不同的宽度或者形状,则另一成像比例是优选的。这尤其出现在以下情况,即样本光线和照明光线的波长例如在荧光测量中彼此不同。因此一般而言,选择 0.3 至 0.7 之间的成像比例。对于特别精确的测量,成像比例也可以可变地调节。为此,所述扫描装置可以具有缩放光学装置。所述缩放光学装置能够与第一光学装置共同运动并且布置为,使得所述缩放光学装置在运行中只由样本光线经过。缩放光学装置可以针对第一光学装置的每个光学元件分别具有缩放光学器件。

[0059] 在按照本发明的显微术方法的一种优选变型方案中,在探测器元件的整合时间(Integrationszeit)或者叫积分时间内进行照明扫描运动和探测扫描运动。也就是不是针对不同的光学装置位置单独地读取探测器元件,如为了按照现有技术进行再分类所需的那样。为了拍摄样本图像,探测器元件可以在扫描装置的光学装置运动期间连续地整合所接收的样本光线信号。

[0060] 按照本发明的方法的有利变型方案还通过运行按照本发明的光学显微镜的设计方案得出。在此,电子器件优选设计用于自动地实施上述方法变型方案。

[0061] 以下参照示意性附图描述本发明的其它特征和优点。在附图中:

[0062] 图 1 示出在彼此的间距小于 1 埃里的探测器元件中的信号形成原理;

[0063] 图 2 示出按照本发明的光学显微镜的一个实施例;

[0064] 图 3 示出按照本发明的光学显微镜的一个实施形式的部件,其中,扫描装置处于某一位置上;

[0065] 图 4 示出图 3 中的部件,其中,扫描装置处于与图 3 不同的另一位置上;

[0066] 图 5 示出按照本发明的光学显微镜的另一实施形式的部件,其中,扫描装置处于某一位置上;

[0067] 图 6 示出图 5 中的部件,其中,扫描装置处于与图 5 不同的另一位置上;

[0068] 图 7 示出按照本发明的光学显微镜的另一实施形式的部件,其中,扫描装置处于某一位置上;

[0069] 图 8 示出图 7 中的部件,其中,扫描装置处于与图 7 不同的另一位置上;

[0070] 图 9 和图 10 示出另一有利的实施形式。

[0071] 相同和作用相同的部件在附图中通常配设有相同的附图标记。

[0072] 图 2 示意性地示出按照本发明的光学显微镜 100 的一个实施例。作为主要的部件,所述光学显微镜包括用于发出照明光线 15 的光源 10、样本平面 40、用于检测样本光线 45 的探测器装置 60 以及扫描装置 50,待研究的样本 41 可定位在样本平面中。

[0073] 通过扫描装置 50 进行照明光线 15 经过样本平面 40 的照明扫描运动。此外,通过扫描装置 50 使接收区域在样本平面 40 中移动,探测器装置的确定探测器元件 61、62 从接收区域中接收样本光线。这种运动称为探测扫描运动。通过特殊地设计扫描装置 50,照明扫描运动和探测扫描运动的方向总是彼此相反的。

[0074] 光源 10 可以包括多个激光模块。由激光模块发出的照明光线通过光纤导向镜面阶梯 11。通过所述镜面阶梯将激光模块的光路统一为共同的光路。照明光线 15 随即经过声光的可连续调谐的滤波器 (AOTF) 12、极化聚束栅 14 和用于扩宽光束的望远镜 16 导向光束分配器 17。

[0075] 尤其对于具有非常大的数字孔径的物镜来说,分辨率受到照明光线的极化的影响。在线性极化时,垂直于极化方向可以实现比平行于极化方向更高的分辨率。在环形极化时,侧面的分辨率与方向无关并且中等大小。通过极化聚束栅 14 能够以期望的方式调节极化。例如,能够依次沿不同的极化方向拍摄样本的多个图像。接下来可以将这些图像计算为一个唯一的图像,其在每个侧面方向上均具有提高的分辨率。

[0076] 通过光束分配器 17 在样本平面 40 与光束分配器 17 之间产生用于照明和样本光线的共同的光轴。样本光线 15 在光束分配器 17 处至少部分地朝向样本平面 40 反射。样本光线 45 在光束分配器 17 处至少部分地朝向探测器装置 60 透射。为此,光束分配器 17 可以设计为中性分配器。为了避免不必要地削弱强度较弱的样本光线,光束分配器 17 优选使大于 60% 的入射光线透射。

[0077] 为了进行荧光测量,光束分配器 17 也可以设计为颜色分配器,其与波长相关地使光透射或者反射。作为备选,光束分配器 17 也可以根据极化使光透射或者反射,由此同样可以使大部分样本光线 45 透射并且使大部分照明光线 15 反射。为了能够通过不同极化的照明光线 15 进行测量,与极化有关的光束分配器 17 也可以是可旋转的。

[0078] 通过光束分配器 17 将样本光线 15 引导至扫描装置 50 的第一光学装置 51。所述第一光学装置 51 在此设计为旋转盘并且包括多个光学元件 71。所述光学元件 71 在所实施实施例中是透镜,它们将照明光线 15 聚焦在中间像平面 70 内。由于照明光线 15 入射到多个光学元件 71 上,所以照明光线 15 以多个相互间隔的部分光束的形式被进一步引导。

[0079] 在中间像平面 70 内具有孔光圈装置 55。所述孔光圈装置同样设计为可旋转的盘并且包括多个孔光圈 75,照明光线 15 的部分光束被引导穿过所述孔光圈。孔光圈的尺寸这样选择,使得照明光线 15 的被聚焦的部分光束能够完全穿透或者在边缘处被切边。

[0080] 照明光线 15 在中间像平面 70 中的图案由此成像在样本平面 40 中。为此,在所实施实施例中,具有管式透镜 20、光束偏转器件 21 和物镜 30。由管式透镜 20 和物镜 30 的焦距确定的比例系数原则上可以与意图进行的研究相应地任意选择。

[0081] 通过样本移动单元 48 可以使样本 41 在样本平面 40 内和 / 或垂直于样本平面移

动。

[0082] 样本 41 通过照明光线 15 的部分光束照明并且由此发出样本光线 45。所述样本光线可以是散射的照明光线或者是冷光光线,也就是荧光或者磷光光线。样本光线由物镜 30 和管式透镜 20 成像在中间像平面 70 内。处于该处的孔光圈 75 使得来自样本 41 的焦平面的样本光线 45 能在很大程度上穿过,而孔光圈在很大程度上过滤掉了不是来自焦平面的样本光线 45。这种抑制的程度取决于孔直径。

[0083] 样本光线 45 同样包括多个部分光束,所述部分光束从样本 41 被照明的不同区域出发。样本光线 45 的穿过孔光圈 55 的部分光束份额通过第一光学装置 51 的透镜 71 准直。它们尤其可以作为平行光束穿过光束分配器 17 透射并且被引导至扫描装置 50 的第二光学装置 52 的光学元件 72。所述光学元件 72 在所示实施例中是透镜并且这样定位,使得样本光线 45 的每个部分光束均到达另一光学元件 72。

[0084] 光学元件 72 的特性对于照明和探测扫描运动的相反方向是至关重要的。这将在之后详细描述。

[0085] 朝向第二光学装置 52 设有聚焦光学器件 79,通过所述聚焦光学器件在探测装置 60 上产生样本 41 的像。

[0086] 探测装置 60 包括多个探测器元件 61、62,其中,样本光线 45 的每个部分光束均到达多个探测器元件。一些探测器装置 60 要求在读取探测器元件时处于黑暗中。因此,可以控制 AOTF12 用于在读取探测器元件时减小照明光线 15 的强度或者将其设置为零。

[0087] 为了将照明光线 15 依次引导至样本 41 的不同区域,第一光学装置 51 和孔光圈装置 55 共同旋转。以此方式使得来自光学元件 71 的部分光束移动,这称为照明扫描运动。

[0088] 第二光学装置 52 与第一光学装置 51 和孔光圈装置 55 共同沿同一方向旋转。为此,这三个可旋转的盘 51、52、55 机械刚性地相互耦连在同一驱动轴 65 上。

[0089] 通过盘 51、52、55 的旋转以及通过光学元件 71、72 的特殊设计实现了探测扫描运动,所述探测扫描运动基于光学元件 71、72 的设计与照明扫描运动的方向相反。

[0090] 这将参照图 3 和图 4 详细阐述。

[0091] 图 3 示意性地示出图 2 中的光学显微镜的部件。示出了照明光线 15 从光束分配器 17 向中间像平面 70 的光路以及样本光线 45 从中间像平面 70 向探测器装置 60 的光路。

[0092] 如图 2 所示,两个光学装置 51、52 具有多个光学元件 71 和 72,而图 3 只示出了用于照明光线 15 和样本光线 45 的部分光束的光路。所示光路以相同方式适用于如图 2 所示被照明的其余光学元件 71、72。

[0093] 需要注意的是,图 3 没有按照比例示出。因此光束分配器 17 足够大到使得被反射的照明光线 15 可以从光束分配器 17 到达多个并排布置的光学元件 71。聚焦光学器件 79 也足够大到使得照明光线 45 的多个部分光束可以通过所述聚焦光学器件引导至探测器装置 60。

[0094] 在所示的实施形式中,光学元件 71 包括会聚透镜并且光学元件 72 包括发散透镜。透镜 71、72 产生中间像平面 70 的非倒立的虚像,聚焦光学器件 79 由所述虚像在探测器装置 60 上形成实像。在此,聚焦光学器件 79 可以非倒立地或者倒立地成像。

[0095] 通过会聚透镜 71 将作为平行光束入射到会聚透镜 71 上的照明光线 15 聚焦到中间像平面 70 上。照明光线在中间像平面 70 中的强度变化显示为曲线 44。此外,显示了样

本点 42 在中间像平面 70 中的像。在所示情况下,照明光线 15 的强度曲线 44 的最大值正好处于样本点 42 上。此外在中间像平面 70 中显示了探测器装置 60 的无限清晰的像 160。探测器元件 61、64 在中间像平面 70 内成像在位置 161 和 164 处。因此在这种情况下,探测器元件 61 主要接收来自样本点的光线。

[0096] 图 4 示出图 3 中的部件在另一时间点的情形。在此,扫描装置的光学元件 71、72 沿共同的方向运动。其余的部件是位置固定的。

[0097] 由于透镜 71 从图 3 至图 4 向上运动,所以照明光线 15 在中间像平面 70 内的强度分布 44 也向上移动。因此,强度分布 44 的最大值不再处于样本点 42 处,而是处于该样本点之上。强度分布 44 在中间像平面 70 中的移动路程等于透镜 71 的运动路程,因为通过所述透镜 71 将首先作为平行光束的照明光线 15 聚焦在处于透镜 71 的中心轴或光轴 77 上的区域内。

[0098] 通过透镜 71、72 的移动也实现了探测器元件的像的移动。因此,位置固定的探测器元件 61 在图 4 中处于在中央穿过透镜 71、72 的中心轴或光轴 77 之下。因为透镜 71、72 非倒立地成像,所以探测器元件 61 的像 161 同样处于光轴 77 之下。像 161 或者位置 161 也可以理解为探测器元件 61 的接收区域的中点。因为像不是无限清晰地产生的,所以探测器元件 61 也接收来自位置 161 周围的延伸区域的光线。所述接收区域定义为埃里盘 (Airy-Scheibe),探测器元件 61 在中间像平面 70 内成像在所述埃里盘上。

[0099] 如果透镜 71、72 以值为 1 的成像比例成像,则探测器元件 61 在图 4 中也成像在中间像平面 70 内的样本点 42 上。然而,透镜 71、72 的成像比例小于 1。由此,在图 4 中,探测器元件 61 的像 161 比探测器元件 61 处于光轴 77 的更下方。为此,发散透镜 72 的焦距的值可以是会聚透镜 71 的焦距值的一半。两个透镜 71、72 也可以称为伽利略望远镜。

[0100] 如果透镜 71、72 向上运动,则确定的探测器元件在中间像平面 70 内的接收区域向下移动。

[0101] 探测器元件的像 161 的移动也可以称为探测扫描运动,所述移动也可以看作是探测器元件 61 的接收区域的中心的移动。相对于位置固定的样本点 42,从图 3 至图 4 进行了向下的探测扫描运动,参见像 161 的位置。而照明扫描运动,也就是强度曲线 44 的移动向上进行。

[0102] 如参照图 1 阐述的那样,由探测器元件 61 接收的光强度通过总点扩散函数确定,其最大值处于照明光线 15 的强度曲线 44 与像 161 的位置之间。照明扫描运动中的总点扩散函数的最大值应通过同时的探测扫描运动尽可能是位置固定的。为此,透镜 71、72 优选以 1:2 的比例成像。由此,照明扫描运动和探测扫描运动在中间像平面 70 内的速度和最经过的路程的值相等。

[0103] 光学元件 71、72 以 1:2 的成像比例成像,但由探测器装置 60 在进行照明和探测扫描运动期间拍摄的样本图像的大小并不是约为中间像平面 70 内的样本图像的一半,而是相等大小的,只要可能存在的聚焦光学器件以 1:1 的比例成像。这种情况的原因在于,中间像平面 70 并不是均匀地被照明光线照明。确定的探测器元件接收到最大照度的中间像平面 70 区域也与照明斑 44 在中间像平面 70 内的位置有关。因此,通过照明和探测扫描运动,在成像比例为 1:2 时,由探测器装置 60 描绘的样本图像具有与中间像平面 70 内的样本图像相同的大小。

[0104] 在按照本发明的光学显微镜中,有利地不需要光学部件沿相反的方向运动以实现照明扫描运动和探测扫描运动的相反方向,而是光学元件 71、72 以相同的速度沿共同的方向运动就已经足够了。因此,能够以设备上简单的器件实现较高的扫描运动速度。

[0105] 在图 3 和图 4 的实施形式的一种变型方案中,光学元件 71、72 不是由透镜构成,而是由镜面或者光衍射元件构成。例如,光学元件 71 可以是透镜并且光学元件 72 可以是镜面。在这种情况下,由镜面 72 反射的样本光线能够通过另一光束分配器朝向探测器装置 60 引导。

[0106] 光学元件 71 也可以是镜面。在此,首先使用第一光束分配器,以便将由镜面 71 反射的照明光线朝向样本引导。样本光线可以通过第一光束分配器向镜面 71 引导并且通过第二光束分配器朝向光学元件 72 引导。

[0107] 镜面 71 也可以在中心配设孔,由此可以取代孔光圈装置。

[0108] 此外,图 3 和图 4 所示的部件也可以与没有设计为可旋转的盘的光学装置共同使用。光学元件可以具有其它任意的一维或二维布置结构。这些结构不需要旋转,而是能以任意方式共同运动,例如线性地或者折线形地运动。

[0109] 参照图 5 和图 6 描述按照本发明的光学显微镜 100 的另一实施例。光学显微镜可以与图 2 的光学显微镜一致,其中,在光学装置 52 与探测器装置 60 之间具有另外两个光学装置,它们分别具有多个光学元件。在此可以省去聚焦光学器件 79。这两个另外的光学装置可以与第一和第二光学装置 51、52 一样设计为盘,它们同样可以通过驱动轴 65 旋转。

[0110] 图 5 示出照明光线 15 的部分光束的光路和样本光线 45 的部分光束的光路。与图 3 和图 4 相同,照明光线 15 在此也通过会聚透镜 71 焦距。然而,样本光线 45 在此通过透镜 71 至 74 成像在探测器装置 60 上。透镜 71 至 74 分别具有会聚光线的作用。由此,透镜 71、72 构成第一开普勒望远镜并且透镜 73、74 构成第二开普勒望远镜。第一开普勒望远镜产生倒立的像,其由第二开普勒望远镜再次倒立地成像。因此扫描装置的光学元件 71 至 74 产生非倒立的像。

[0111] 在此与已知的使用两个具有微型透镜矩阵的盘的显微镜存在根本区别。EP 1 359 452 A1 中的两个盘具有会聚光线的微型透镜。可运动的部件由此产生倒立的像。成像比例也不小于 1。与之相对,在本发明中,可运动的部件非倒立地并且以小于 1 的成像比例成像。

[0112] 图 6 示出扫描装置的透镜 71 至 74 向上运动之后的情况。由此在中间像平面 70 内产生照明扫描运动和探测扫描运动。在此,关于在图 3 和图 4 之间的照明和探测扫描运动的描述相应地适用于图 5 和图 6 的实施例。

[0113] 图 7 和图 8 示出一个实施例,其中,照明光线 15 通过第二光学装置的光学元件 72 导向第一光学装置的光学元件 71 并且进一步导向中间像平面 70。光学元件 72 是会聚透镜并且光学元件 71 是发散透镜。所述发散透镜以样本光线 45 产生非倒立的虚像。通过光束分配器 17 将样本光线 45 导向探测器装置 60,而不到达会聚透镜。通过位置固定的聚焦光学器件 79,使样本光线 45,也就是样本光线 45 的通过不同的发散透镜 71 引导的部分光束成像在探测器装置 60 上。

[0114] 相对图 7,透镜 71、72 在图 8 中向下运动。因此,照明扫描运动在中间像平面 70 内同样向下进行。而可以看出探测扫描运动相反地向上进行。

[0115] 如实施形式所示,光学元件 71 至 74 并且因此光学装置 51、52 的具体数量并不重要。重要的是扫描装置 50 的将样本光线 45 导向探测器装置 60 的可移动光学元件 71 至 74 产生非倒立的像。这些像可以如图 3 和图 4 以及图 7 和图 8 所示是虚像,或者可以如图 5 和图 6 所示是实像。可能随之通过聚焦光学器件 79 进行的成像可以是倒立的或者非倒立的。

[0116] 此外,针对样本光线的通过扫描装置的光学元件 71 至 74 产生的整个像的成像比例必须小于 1。在成像比例大于 1 时,照明和探测扫描运动可能以不同的速度沿相同的方向进行。从成像比例小于 1 起,方向才是相反的。成像比例优选为 0.5,由此使照明扫描运动和探测扫描运动方向相反并且速度值相等。

[0117] 由此,探测器元件可以在扫描装置的光学元件运动期间进一步整合所接收的信号。与现有技术相反,不再需要针对扫描装置的光学元件的每个测量位置单独地读取探测器元件。探测器元件尤其可以连续地整合,直至通过光学装置的所有光学元件完成扫描。接下来读取的图像或者原图具有特别高的分辨率,而不需要其它计算手段。

[0118] 因此,可以有利地省去对所接收的信号进行参照现有技术描述过的再分类的过程。因此,能够在特别短的时间内拍摄高分辨率的样本图像。

[0119] 在按照图 9 和图 10 的另一实施形式中,通过(未示出的)光学器件集中在一点上的照明光线 15 通过回复反射器棱镜 78 的削平的尖部入射到装置中。由入射点发出的发散的光线由光束分配器 17 在准直之后通过 79 偏转。在盘的在旋转时被照明区域扫过的径向区域上具有聚焦的微型镜面装置(示意性示出),它们的中心分别具有光能穿过的开口 81。入射到每个微型镜面上的光线的一小部分(相当于通孔的面积与各空心镜面的总面积之比)在第一次入射时已经通过该开口穿过镜面并且从该处通过显微镜光路到达样本(未示出)。然而,光线的大部分通过微型空心镜面 80 被往回反射,其中,在微型空心镜面的焦平面内形成随着盘旋转的焦点图案。因为焦点图案处于光学器件 79 的(前部)焦平面之中或者附近,所以焦点图案由光学器件成像到无穷远处并且到达棱镜 78,焦点图案在该处再次被反射。棱镜 78 的不反射的削平的尖部在此相当于每个微型空心镜面 80 的中央开口的映像。

[0120] 如果棱镜 78 的削平的尖部准确地处于光学器件 79 的(后部)焦平面内,则以相同路径经过光束分配器 17 和光学器件 79 又返回微型镜面 80 的光束在该处被再次准直并且又一次地被往回反射。然而如果棱镜 78 以适当方式略微偏离出光学器件 79 的焦平面,则远心的焦点分别落到微型空心镜面 80 中心内的透明通孔中,穿过那里并且通过显微镜光路作为旋转的点图案被引导至样本上。由样本(通过反射或者荧光)往回发出的光线在空间上被光束分配器 26 过滤地通过开口 81 并且之后通过另一光学装置成像在探测器上。棱镜 78 的作用也可以由镜面承担,然而镜面不能定位在光学器件 79 的焦平面内(这表示微型镜面和其图像可能点状镜面反射地相对彼此旋转),而是在另一投影之后才在平面镜的平面之内或者附近产生旋转的微型镜面焦点图案的像。在此,镜面也必须略微从光学装置的焦平面中移出,由此使微型镜面 80 的焦点图案的像处于通孔中。此外,需要提供类似于棱镜 78 的削平尖部的位置,在此只有点状大小的照明光束可以通过该位置入射。与透镜 71、72 在图 3 和图 4 中的运动类似,按照图 9 和图 10,照明光线的强度分布的移动通过微型镜面 80 和微型发散透镜 72 的位置垂直于光轴的共同错移实现,以便实现在探测器元件与

照明光线的像之间的直径移动。

[0121] 在按照图 9 和图 10 的另一实施形式中,通过(未示出的)光学器件集中在一点上的照明光线 15 通过回复反射器棱镜 78 的削平的尖部入射到装置中。由入射点发出的发散的光线由光束分配器 17 在准直之后通过 79 偏转。在盘的在旋转时被照明区域扫过的径向区域上具有聚焦的微型镜面装置(示意性示出),它们的中心分别具有光能穿过的开口 81。入射到每个微型镜面上的光线的一小部分(相当于通孔的面积与各空心镜面的总面积之比)在第一次入射时已经通过该开口穿过镜面并且从该处通过显微镜光路到达样本(未示出)。然而,光线的大部分通过微型空心镜面 80 被往回反射,其中,在微型空心镜面的焦平面内形成随着盘旋转的焦点图案。因为焦点图案处于光学器件 79 的(前部)焦平面之中或者附近,所以焦点图案由光学器件成像到无穷远处并且到达棱镜 78,焦点图案在该处再次被反射。棱镜 78 的不反射的削平的尖部在此对应每个微型空心镜面 80 的中央开口的像。

[0122] 如果棱镜 78 的削平的尖部准确地处于光学器件 79 的(后部)焦平面内,则以相同路径经过光束分配器 17 和光学器件 79 又返回微型镜面 80 的光束在该处被再次准直并且又一次地被往回反射。然而如果棱镜 78 以适当方式略微偏离出光学器件 79 的焦平面,则远心的焦点分别落到微型空心镜面 80 中心内的透明通孔中,穿透该处并且通过显微镜光路作为旋转的点图案被引导至样本上。由样本(通过反射或者荧光)往回发出的光线在空间上被光束分配器 26 过滤地通过开口 81 并且之后通过另一光学装置成像在探测器上。棱镜 78 的作用也可以由镜面承担,然而镜面不能定位在光学器件 79 的焦平面内(这表示微型镜面和其图像可能点状镜面反射地相对彼此旋转),而是在另一投影之后才在平面镜的平面之内或者附近产生旋转的微型镜面焦点图案的像。在此,镜面也必须略微从光学装置的焦平面中移动出,由此使微型镜面 80 的焦点图案的像处于通孔中。

[0123] 此外,需要提供类似于棱镜 78 的削平尖部的位置,在此只有点状大小的照明光束可以通过该位置入射。

[0124] 与透镜 71、72 在图 3 和图 4 中的运动类似,按照图 9 和图 10,照明光线的强度分布的移动通过微型镜面 80 和微型发散透镜 72 的位置垂直于光轴的共同错移实现,以便实现在探测器元件与照明光线的像之间的直径移动。

[0125] 附图标记清单

[0126] 10 光源

[0127] 11 具有半透光的镜面或者颜色部件的镜面阶梯

[0128] 12 声光的可连续调谐的滤波器(AOTF)

[0129] 14 极化聚束栅

[0130] 15 照明光线

[0131] 16 用于扩宽光束的望远镜

[0132] 17 光束或颜色分配器

[0133] 20 管式透镜

[0134] 21 偏转器件

[0135] 30 物镜

[0136] 40 样本平面

- [0137] 41 样本
- [0138] 42 样本点, 样本的荧光物体
- [0139] 44 照明斑点的强度分布
- [0140] 44A-44D 照明光线的强度分布 44 的不同位置
- [0141] 45 样本光线
- [0142] 46 探测器元件的接收敏感度曲线
- [0143] 48 样本移动单元
- [0144] 50 扫描装置
- [0145] 51 第一光学装置
- [0146] 52 第二光学装置
- [0147] 55 孔光圈装置
- [0148] 60 探测器装置
- [0149] 61-64 探测器元件
- [0150] 61A-61D 在样本平面中成像的探测器元件的位置
- [0151] 65 驱动轴
- [0152] 70 中间像平面
- [0153] 71 第一光学装置的光学元件
- [0154] 72 第二光学装置的光学元件
- [0155] 73 第三光学装置的光学元件
- [0156] 74 第四光学装置的光学元件
- [0157] 75 孔光圈
- [0158] 77 扫描装置的光学元件的光轴
- [0159] 78 回复发射器 - 棱镜
- [0160] 79 聚焦光学器件
- [0161] 80 微型镜面装置
- [0162] 81 微型镜面中的开口
- [0163] 100 光学显微镜
- [0164] 160 探测器装置 60 的像
- [0165] 161 探测器元件 61 的像
- [0166] 164 探测器元件 64 的像

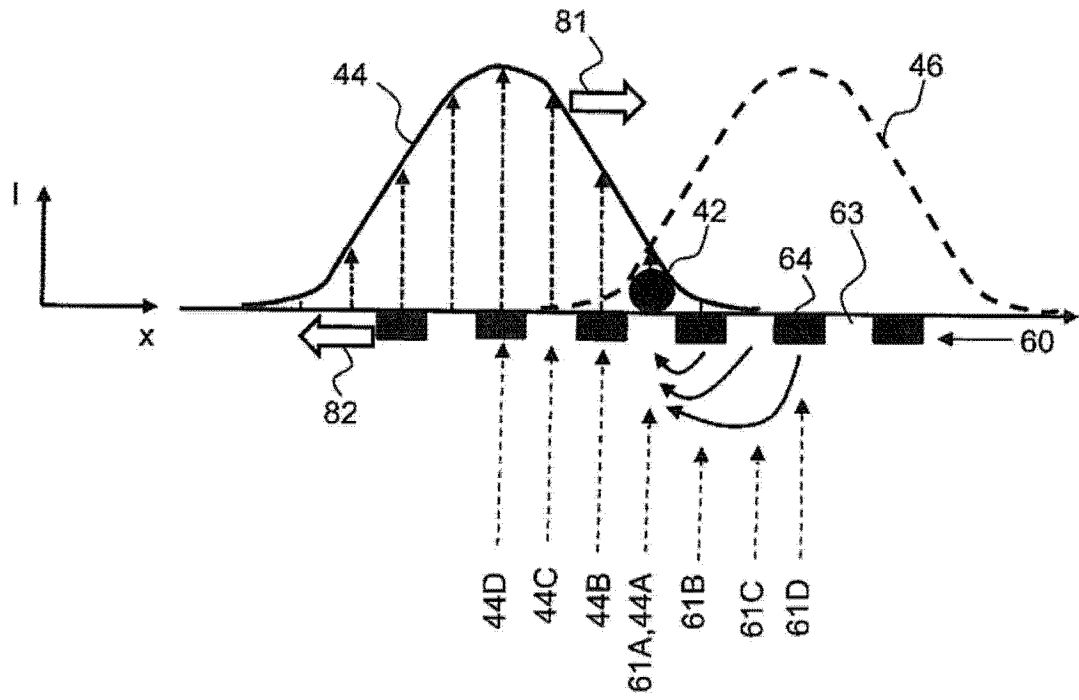


图 1

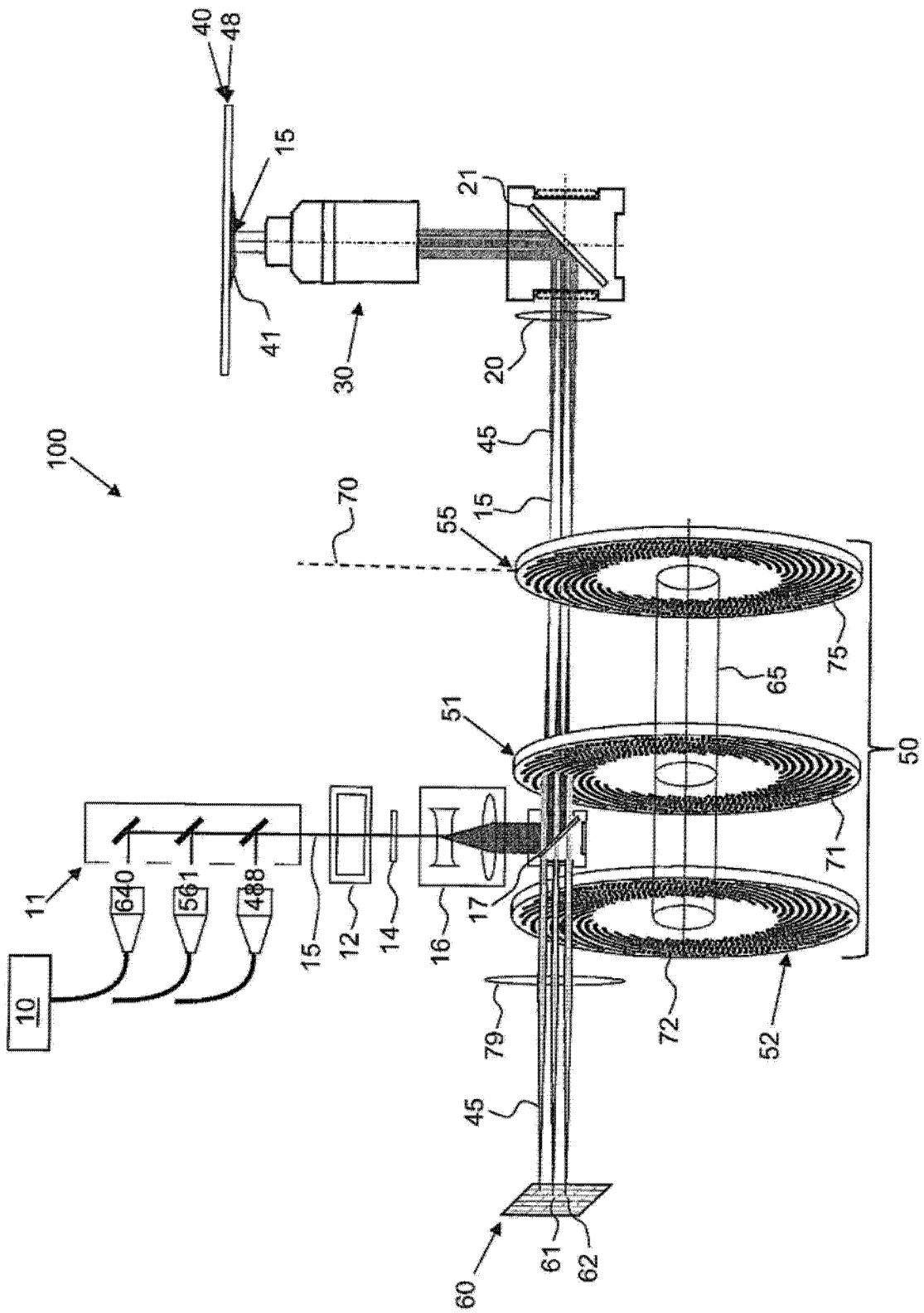


图 2

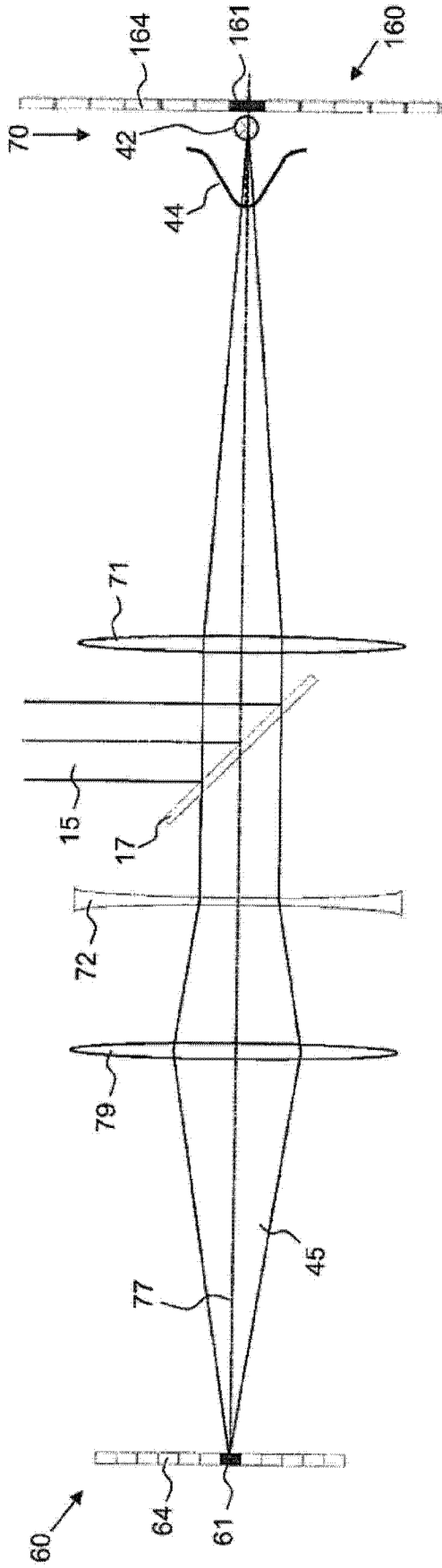


图 3

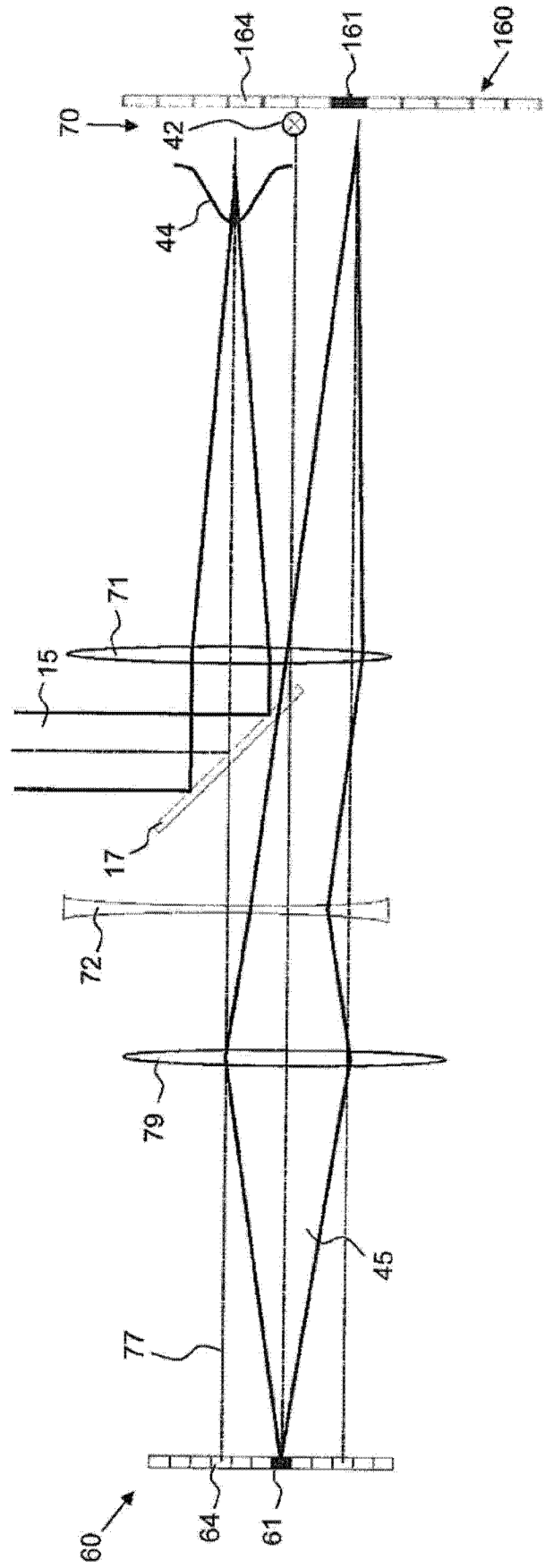


图 4

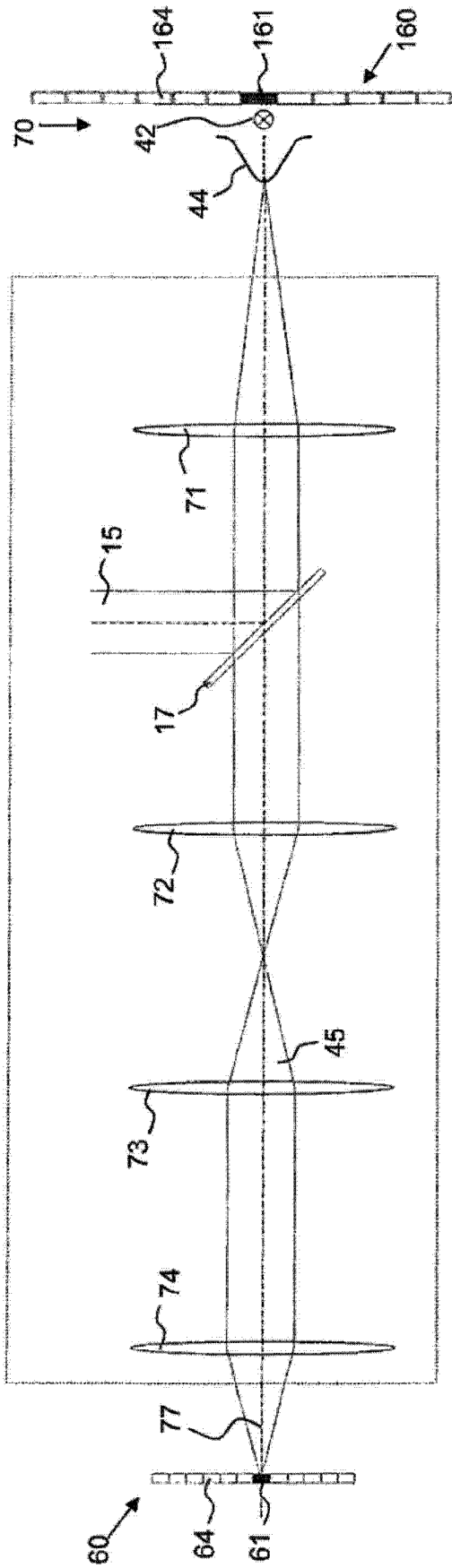


图 5

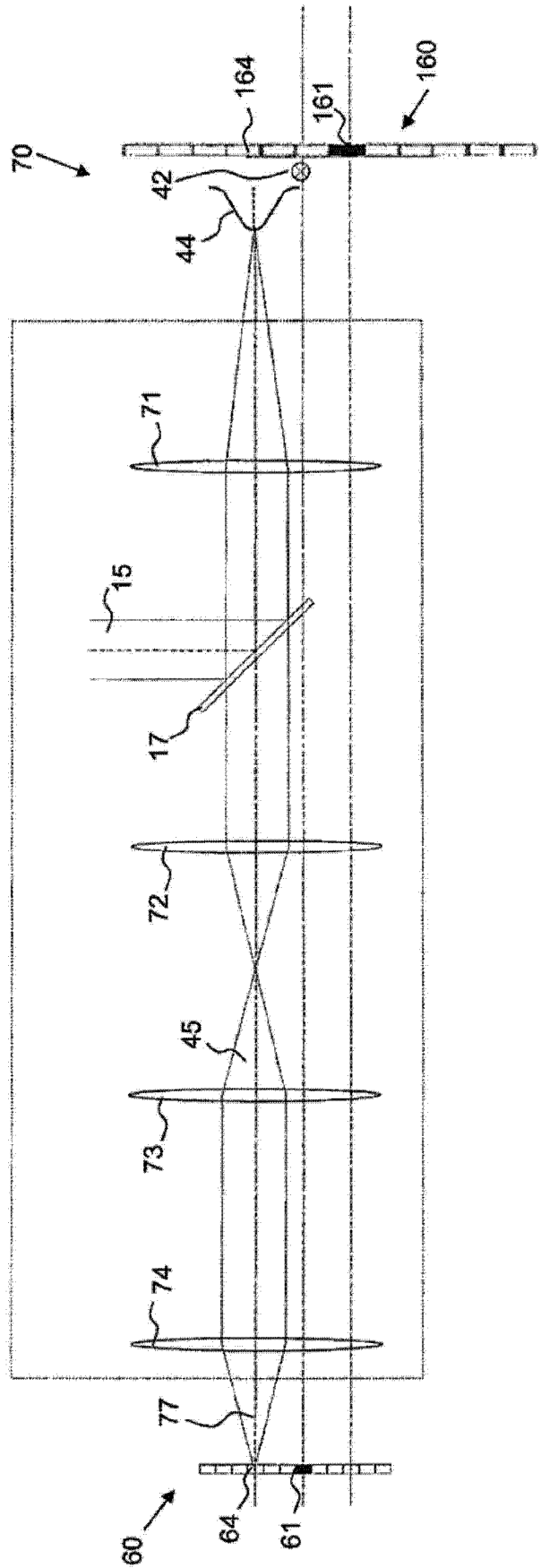


图 6

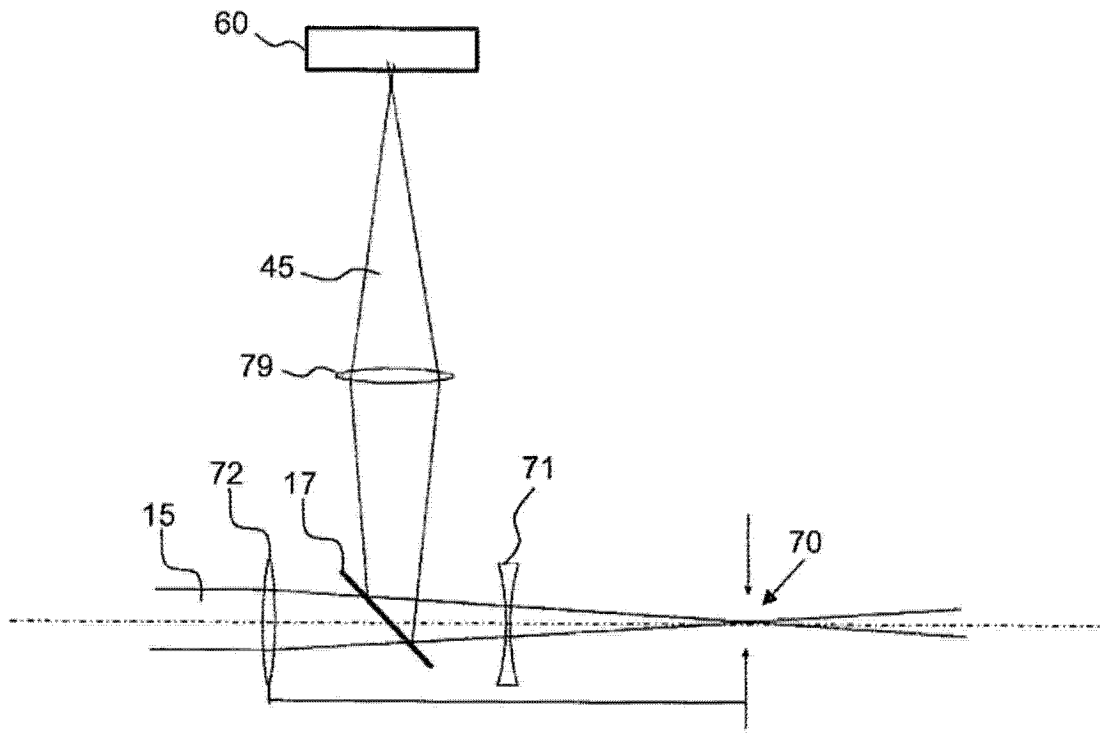


图 7

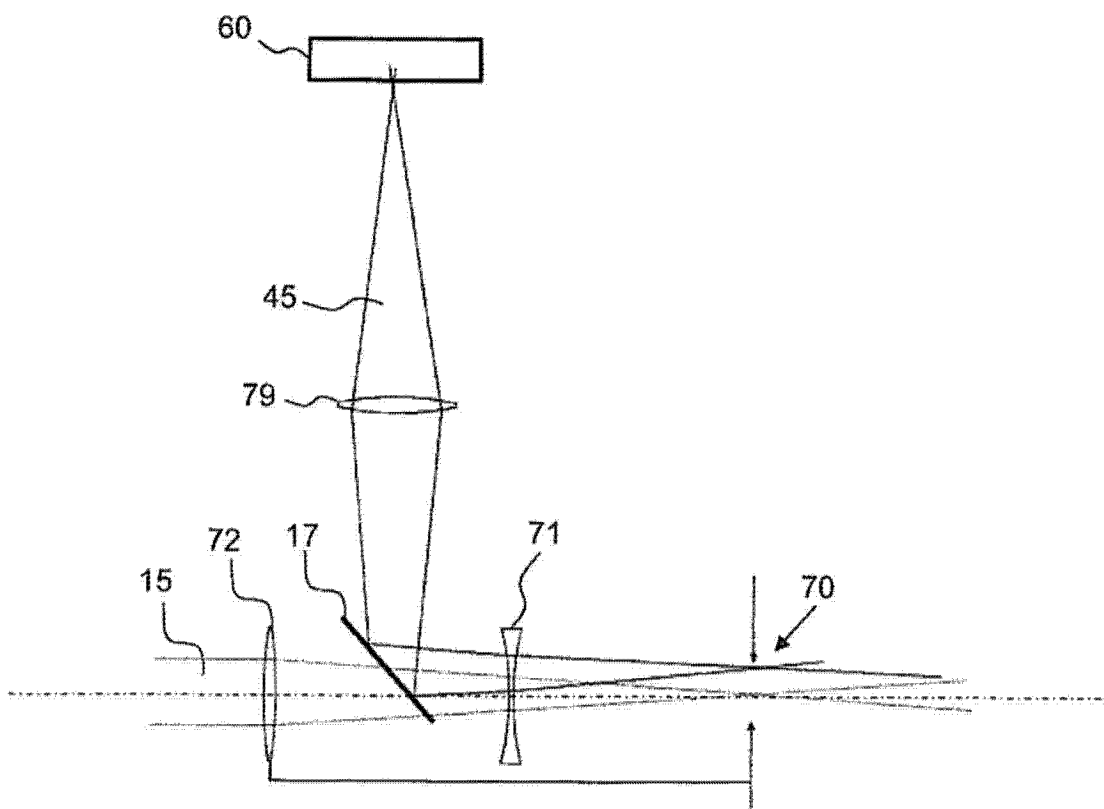


图 8

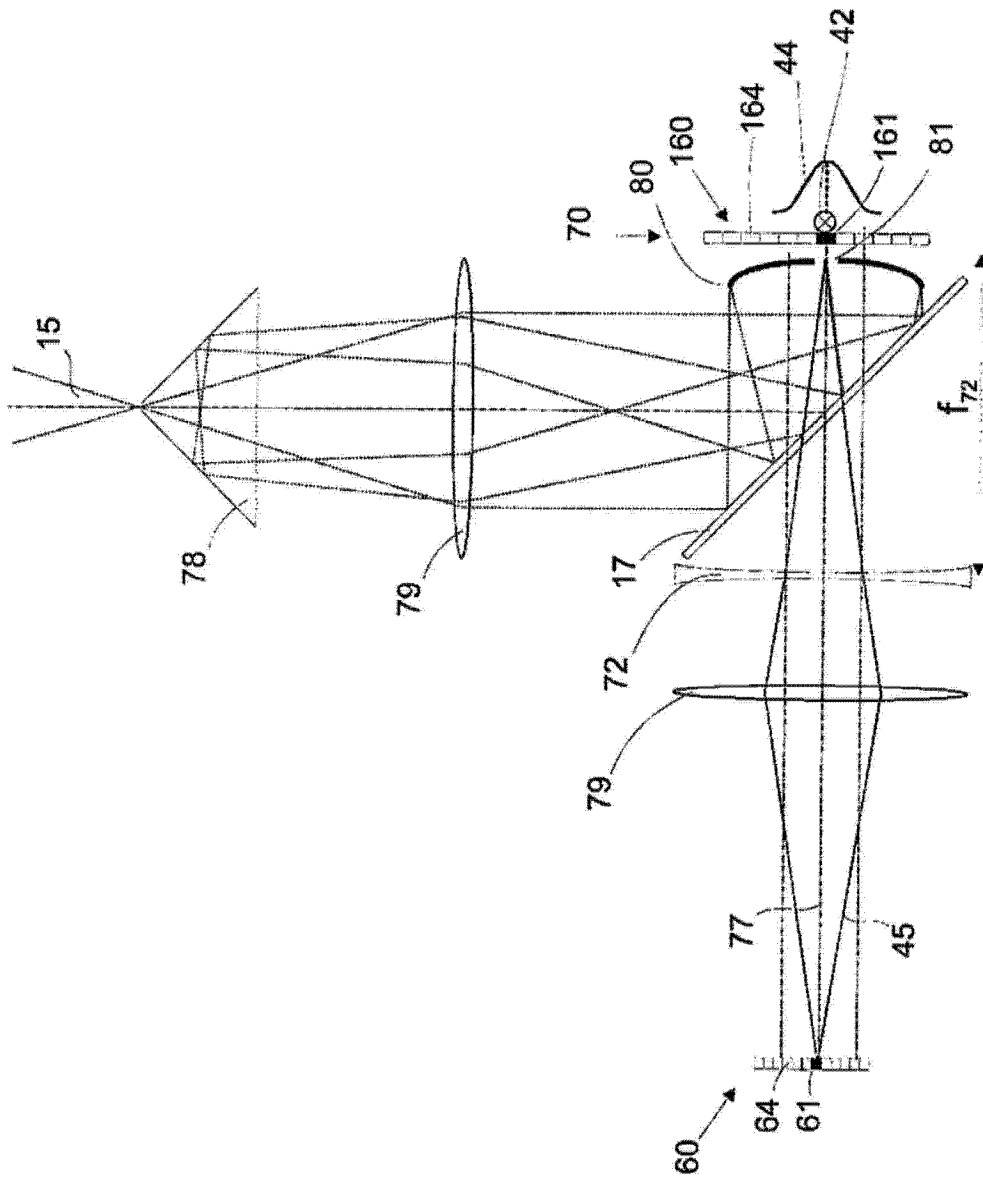


图 9

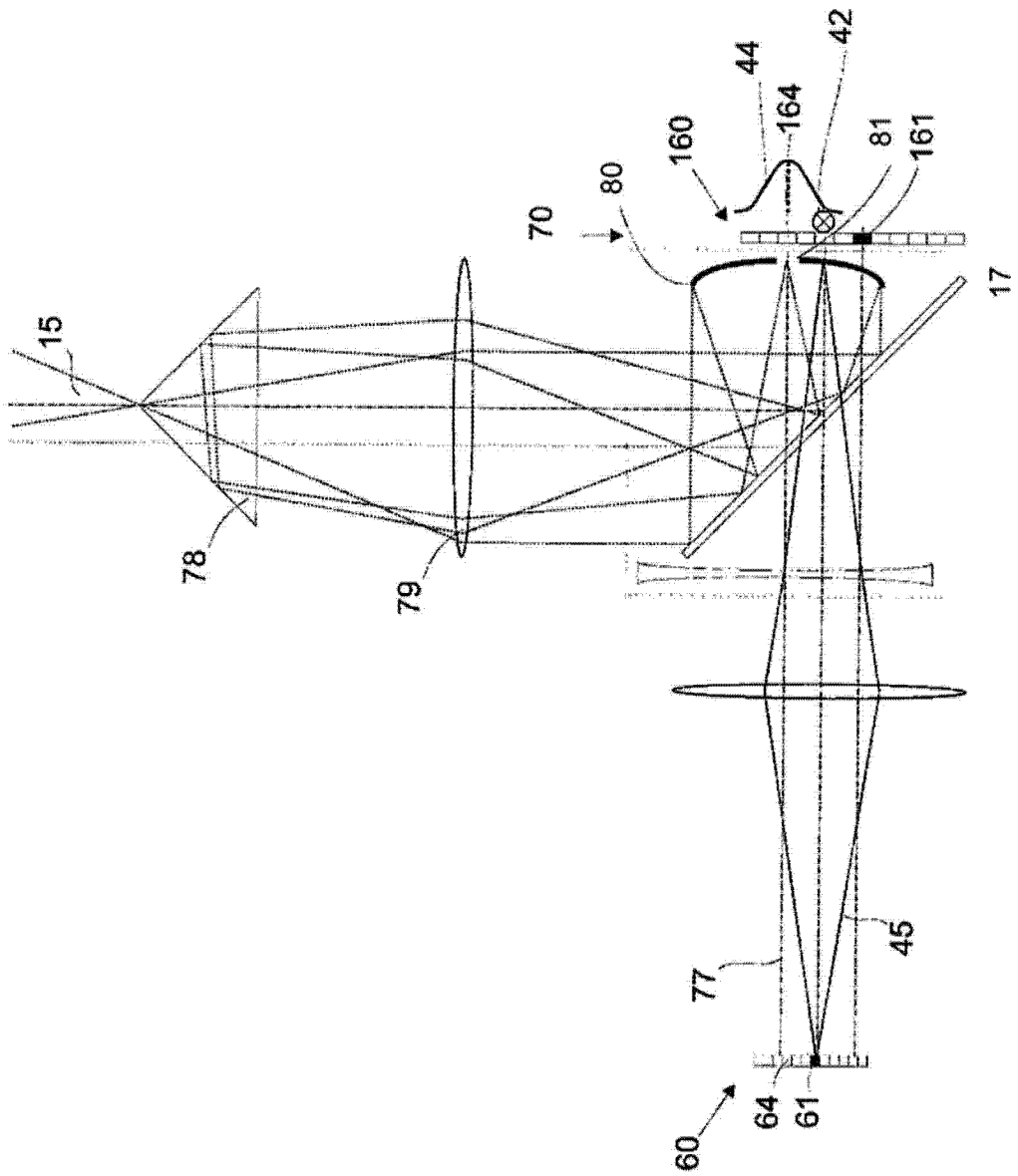


图 10