

(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2013-97380

(P2013-97380A)

(43) 公開日 平成25年5月20日 (2013.5.20)

(51) Int.Cl.
G02B 21/06 (2006.01)

F I
G02B 21/06

テーマコード (参考)
2H052

審査請求 未請求 請求項の数 31 O L 外国語出願 (全 20 頁)

(21) 出願番号 特願2012-224045 (P2012-224045)
 (22) 出願日 平成24年10月9日 (2012.10.9)
 (31) 優先権主張番号 10 2011 054 914.5
 (32) 優先日 平成23年10月28日 (2011.10.28)
 (33) 優先権主張国 ドイツ (DE)

(71) 出願人 500178876
 ライカ マイクロシステムズ ツェーエム
 エス ゲーエムペーハー
 ドイツ連邦共和国 デー・35578 ヴ
 ェツラー エルンスト・ライツ・シュトラ
 ーセ 17-37

(74) 代理人 100091867
 弁理士 藤田 アキラ

(74) 代理人 100154612
 弁理士 今井 秀樹

(72) 発明者 ヴェルナー クネーベル
 ドイツ連邦共和国 デー・76709 ク
 ローンアウ ハーベルシュトラーセ 71
 /1

最終頁に続く

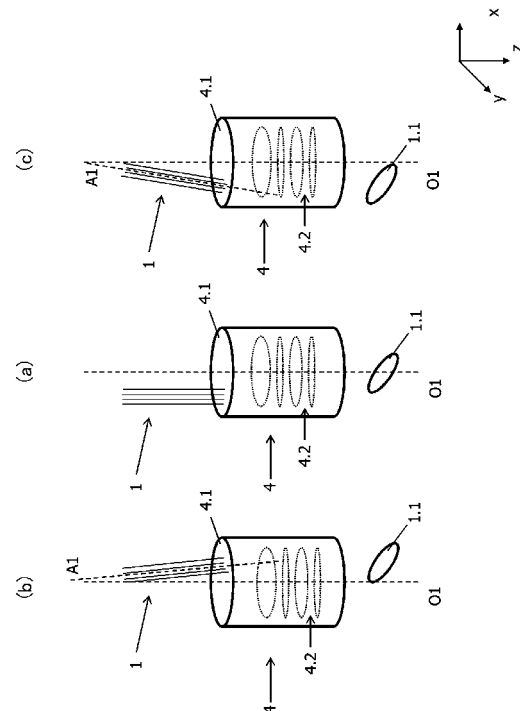
(54) 【発明の名称】 試料を照明する方法及びシステム

(57) 【要約】

【課題】 試料を照明する方法及びシステムの提供

【解決手段】 S P I M顕微鏡法で試料を照明するシステムであって、光線を生成する光源と、光線から光ストリップを形成し、特に、少なくとも1つの方向からの照明平面において試料を実質的に平面照明する手段と、試料から発せられた検出光を検出器に直接又は間接的に送るよう設計され意図された光学系を有する少なくとも1つの対物レンズであって、対物レンズ光学系は光ストリップと相互作用する、少なくとも1つの対物レンズと、を含むとともに、対物レンズ光学系の下流に配置されて、試料を照明するために、光ストリップが、偏向後、対物レンズの光軸に対してゼロ度以外の角度、特に直角に伝播し、且つ/又は対物レンズの光軸に平行しない平面に配置されるように、光ストリップを偏向する光リダイレクト装置をさらに含む、システム。S P I M顕微鏡法で試料を照明する方法にも関する。

【選択図】 図3



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

S P I M 顕微鏡法で少なくとも 1 つの試料を照明する方法であって、

- a . 光線を生成するステップと、
 - b . 前記光線と相互作用する光学手段により、前記光線から光ストリップを形成するステップと、
 - c . 前記試料から発せられた検出光を検出器に直接又は間接的に送るよう設計され意図され、且つ前記光ストリップと相互作用する光学系を有する少なくとも 1 つの対物レンズに前記光ストリップを通すステップと、
 - d . 前記試料を照明するために、前記光ストリップが、偏向後、前記対物レンズの光軸に対してゼロ度以外の角度、特に直角で伝播し、好ましくは、前記試料に集束するように、前記対物レンズの光学系の下流にある光リダイレクト装置により前記光ストリップを偏向するステップと、
- を有する、方法。

10

【請求項 2】

少なくとも下記 a , b , c のいずれかの条件、すなわち、

- a . 前記光ストリップを形成する光学手段が、少なくとも 1 つのビーム偏向器を有するか、
 - b . 前記光ストリップを形成する光学手段が、走査型顕微鏡又は共焦点走査型顕微鏡のビーム偏向器の形態をした少なくとも 1 つのビーム偏向器を有するか、
 - c . 前記ビーム偏向器が、少なくとも 1 つの回転ミラー、及び / 又は傾斜ミラー、好ましくはガルバノメータミラー、及び / 又は回転プリズム、及び / 又は可動式レンズ、及び / 又は音響光学偏向器を有する、
- 請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 3】

前記光ストリップを形成する光学手段が、少なくとも 1 つの円柱形光学要素を有する、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

- a . 前記光ストリップの形状、位置及び向き of 少なくともいずれかが調整され、及び / 又は
- b . 前記光ストリップの形状、位置及び向き of 少なくともいずれかが、前記光ストリップを形成する光学手段、前記対物レンズ、及び前記光リダイレクト装置の少なくともいずれかにより調整される、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 5】

- a . 前記対物レンズが浸漬対物レンズであるか、
- b . 前記対物レンズが浸漬対物レンズであり、前記試料を囲む光学媒質が充填された試料チャンバ又は試料ベッセル内に浸漬されるか、
- c . 照明されるべき試料が、前記試料を囲む光学媒質が充填された試料チャンバ又は試料ベッセル内に浸漬され、前記光リダイレクト装置が、前記媒質に浸漬されるか又は前記媒質内に配置される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 6】

- a . 前記対物レンズを使用して、前記試料を照明するか、前記試料から発せられた前記検出光を前記検出器に直接又は間接的に送り、及び / 又は
 - b . 追加の対物レンズ及び / 又は集光光学系を使用して、前記試料から発せられた前記検出光を前記検出器に直接又は間接的に送る、
- 請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

- a . 前記光リダイレクト装置が、前記対物レンズ及び / 又は前記追加の対物レンズ及び / 又は前記集光光学系に固定して取り付けられ、及び / 又は
- b . 前記光リダイレクト装置が、前記対物レンズの前記光軸に対して 90 度以外の角度で

50

弾性部材、特にばねの力に抗して移動可能であるように、前記対物レンズ及び／又は前記追加の対物レンズ及び／又は前記集光光学系に保持され、及び／又は

c．前記光リダイレクト装置に、少なくとも1つの接続手段が設けられ、それにより、前記光リダイレクト装置が、前記対物レンズ及び／又は前記他の対物レンズ及び／又は前記集光装置への後付け部分として固定して取り付けられ、及び／又は固定して取り付け可能である、

請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

前記光リダイレクト装置の少なくとも1つの構成要素が、前記対物レンズの構成要素、又は前記追加の対物レンズの構成要素、又は前記集光光学系の構成要素と一体的に形成される、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項9】

a．前記光ストリップを偏向する前記光リダイレクト装置が、少なくとも1つの少なくとも部分的に反射性の表面を有し、及び／又は

b．前記光ストリップを偏向する前記光リダイレクト装置が、少なくとも1つの少なくとも部分的に反射性の表面を有し、前記反射面が、平面ミラーの部分として形成されるか、又は錐体の内側に少なくとも部分的に形成される、

請求項1～8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

a．前記試料が、前記光ストリップにより少なくとも2つの方向から照明され、前記光ストリップが、好ましくは、前記少なくとも2つの各方向から、前記試料の1つの焦点領域に集束し、及び／又は

20

b．前記試料が、前記光ストリップにより平面の全方向から放射状に照明され、前記光ストリップが、好ましくは、前記平面の各方向から前記試料の1つの焦点領域に集束し、及び／又は

c．前記試料が、特に前記光リダイレクト装置及び／又は前記光ストリップを形成する光学手段により、入射方向を変更することで少なくとも2つの方向から照明され、及び／又は

d．前記試料が、特に前記光リダイレクト装置及び／又は前記光ストリップを形成する光学手段により、前記入射方向を回転させることで平面の全方向から前記光ストリップで放射状に照明される、

30

請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

S P I M顕微鏡法の場合、特にS P I M顕微鏡法で試料の異なる層を撮像する場合、前記試料が、

a．前記対物レンズ及び前記光リダイレクト装置に対して移動及び／又は回転し、及び／又は

b．光学媒質、特に浸漬媒質内に配置され、及び／又は

c．試料チャンバ内に配置され、及び／又は

d．毛細管内に配置され、及び／又は

40

e．台に配置され、及び／又は

f．前記試料を囲む光学媒質が充填した試料チャンバ内に配置される、

請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

【請求項12】

前記光線及び／又は前記光ストリップ及び／又は前記検出光の光路は、前記光ストリップが観測されるべき前記試料の位置に焦点を有し、前記試料のその位置から発せられる検出光が前記検出器に検出焦点を有するように、互いに合わせられる、請求項1～11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

特に、前記光線の光路と前記検出光の光路との路長の差を補償するために、

50

- a . 前記光線が、発散光線として前記対物レンズに向けられ、及び / 又は
- b . 前記光線が、前記光線のみ作用し前記検出光には作用しない追加の光学系による影響を受け、及び / 又は
- c . 前記検出光路を長くする、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 4】

- a . 前記対物レンズ及び / 又は前記光リダイレクト装置が、前記試料チャンバ及び / 又は前記光学媒質内に浸漬し、及び / 又は
- b . 前記対物レンズ及び / 又は前記光リダイレクト装置が、前記試料チャンバ及び / 又は前記光学媒質内に配置される、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 1 5】

- a . 像を生成するために検出されるべき光が発せられる試料領域が、前記光ストリップにより照明される試料領域よりも小さくなるように、前記光ストリップには、少なくとも 1 つの刺激光線及び / 又は刺激光ストリップが重ねられて、誘導放射抑制 (S T E D) 顕微鏡法の原理に従って光学分解能を増大させ、
- b . 前記光ストリップには、少なくとも 1 つの刺激光ストリップが重ねられて、誘導放射抑制 (S T E D) 顕微鏡法の原理に従って光学分解能を増大させ、前記光ストリップ及び前記刺激光ストリップが部分的に互いに重なり、互いに平行の向きを有する、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 1 6】

- 顕微鏡検査方法であって、
- a . 1 つの試料が、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の方法に従って照明され、及び / 又は
- b . 複数の試料と一緒に、特に行列の形態にて顕微鏡ステージ及び / 又はスライド上に配置され、順次、顕微鏡法で検査され、各試料は、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の方法に従って照明される、方法。

【請求項 1 7】

- S P I M 顕微鏡法で試料を照明し、特に、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の方法を実行するシステムであって、
 - a . 光線を生成する光源と、
 - b . 前記光線から光ストリップを形成し、特に、少なくとも 1 つの方向からの照明平面にて試料を実質的に平坦に照明する手段と、
 - c . 前記試料から発せられた検出光を検出器に直接又は間接的に送るよう設計され意図された光学系を有する少なくとも 1 つの対物レンズであって、前記対物レンズの光学系が前記光ストリップと相互作用する、少なくとも 1 つの対物レンズと、
 - d . 前記対物レンズの光学系の下流に配置されて、前記光ストリップが、偏向後、前記対物レンズの光軸に対してゼロ度以外の角度、特に直角に伝播し、及び / 又は前記対物レンズの光軸に平行しない平面に配置されるように、前記光ストリップを偏向する光リダイレクト装置と、
- を備えて構成される、システム。

30

40

【請求項 1 8】

- a . 前記光ストリップを形成する光学手段が、少なくとも 1 つのビーム偏向器を有し、及び / 又は
- b . 前記光ストリップを形成する光学手段が、走査型顕微鏡又は共焦点走査型顕微鏡のビーム偏向器の形態をした少なくとも 1 つのビーム偏向器を有し、及び / 又は
- c . 前記光ストリップを形成する光学手段が、少なくとも 1 つの回転ミラー及び / 又は傾斜ミラー、好ましくはガルバノメータミラー及び / 又は回転プリズム及び / 又は可動式レンズ及び / 又は音響光学偏向器を有する少なくとも 1 つのビーム偏向器を有する、請求項 1 7 に記載のシステム。

50

【請求項 19】

前記光ストリップを形成する光学手段が、少なくとも1つの円柱形光学要素を有する、請求項17又は18に記載のシステム。

【請求項 20】

a. 前記光ストリップの形状及び/又は位置及び/又は向きが調整可能であり、及び/又は

b. 前記光ストリップの形状及び/又は位置及び/又は向きが、前記光ストリップを形成する光学手段により、及び/又は前記対物レンズにより、及び/又は前記光リダイレクト装置により、調整可能である、

請求項17～19のいずれか一項に記載のシステム。

10

【請求項 21】

a. 前記対物レンズが浸漬対物レンズであり、及び/又は

b. 前記対物レンズが浸漬対物レンズであり、前記対物レンズが、照明されるべき試料を囲む光学媒質が充填された試料チャンバ又は試料ベッセル内に、特に前記光リダイレクト装置と一緒に浸漬するように設計され意図される、

請求項17～20のいずれか一項に記載のシステム。

【請求項 22】

前記試料から発せられた前記検出光を前記検出器に直接又は間接的に送る追加の対物レンズ及び/又は集光光学系が設けられる、請求項17～21のいずれか一項に記載のシステム。

20

【請求項 23】

a. 前記光リダイレクト装置が、前記対物レンズ及び/又は前記追加の対物レンズ及び/又は前記集光光学系に固定して取り付け可能であり、及び/又は固定して取り付けられ、及び/又は

b. 前記光リダイレクト装置が、前記対物レンズの光軸に対して90度以外の角度で弾性部材、特にばねの力に抗して移動可能であるように、前記対物レンズ及び/又は前記追加の対物レンズ及び/又は前記集光光学系に保持され、及び/又は

c. 前記光リダイレクト装置に接続手段が設けられ、それにより、後付け部分として前記光リダイレクト装置を前記対物レンズ及び/又は別の対物レンズへ固定して取り付け可能である、

請求項17～22のいずれか一項に記載のシステム。

30

【請求項 24】

前記光リダイレクト装置の少なくとも1つの構成要素が、前記対物レンズの構成要素、又は前記追加の対物レンズの構成要素、又は前記集光光学系の構成要素と一体的に形成される、請求項17～23のいずれか一項に記載のシステム。

【請求項 25】

a. 前記光ストリップを偏向する前記光リダイレクト装置が、少なくとも1つの少なくとも部分的に反射性の表面を有し、及び/又は

b. 前記光ストリップを偏向する前記光リダイレクト装置が、少なくとも1つの少なくとも部分的に反射性の表面を有し、前記反射性の表面が平面ミラーの部分として形成され、及び/又は

c. 前記光ストリップを偏向する前記光リダイレクト装置が、少なくとも1つの少なくとも部分的に反射性の表面を有し、前記反射性の面が、錐体の内側に少なくとも部分的に形成される、

請求項17～24のいずれか一項に記載のシステム。

40

【請求項 26】

試料が、

a. 前記光ストリップにより少なくとも2つの方向から照明可能であり、前記光ストリップが、好ましくは、前記少なくとも2つの方向のそれぞれから、前記試料における1つの焦点領域に集束可能であり、及び/又は

50

- b . 平面の全方向から前記光ストリップにより放射状に照明され、前記光ストリップが、前記平面の各方向から前記試料における 1 つの焦点領域に集束可能であり、及び / 又は
- c . 前記試料が、特に前記光リダイレクト装置及び / 又は前記光ストリップを形成する光学手段により、入射方向を変更することにより少なくとも 2 つの方向から照明可能であり、及び / 又は
- d . 前記試料が、特に前記光リダイレクト装置及び / 又は前記光ストリップを形成する光学手段により、入射方向を回転させることで、平面の全方向から前記光ストリップにより放射状に照明可能である、請求項 17 ~ 25 のいずれか一項に記載のシステム。

【請求項 27】

前記光線及び / 又は前記光ストリップ及び / 又は前記検出光の光路は、前記光ストリップが、観測されるべき試料の位置に焦点を有し、前記試料におけるその位置から発せられる検出光が、前記検出器に検出焦点を有するように、互いに合わせられる、請求項 17 ~ 26 のいずれか一項に記載のシステム。

10

【請求項 28】

特に、前記光線の光路と前記検出光の光路との路長の差を補償するために、

a . 前記光線が、発散光線として前記対物レンズに入射し、及び / 又は

b . 前記光線が、前記光線のみ作用し前記検出光には作用しない追加の光学系を通り、及び / 又は

c . 前記システムが、長検出光路を有する、

請求項 17 ~ 27 のいずれか一項に記載のシステム。

20

【請求項 29】

a . 像を生成するために検出されるべき光が発せられる試料領域が、前記光ストリップにより照明される試料領域よりも小さくなるように、前記光ストリップには、少なくとも 1 つの刺激光線及び / 又は刺激光ストリップが重ねられて、誘導放射抑制 (STEED) 顕微鏡法の原理に従って光学分解能を増大させ、及び / 又は

b . 前記光ストリップには、少なくとも 1 つの刺激光ストリップが重ねられて、誘導放射抑制 (STEED) 顕微鏡法の原理に従って光学分解能を増大させ、前記光ストリップ及び前記刺激光ストリップが部分的に互いに重なり、互いに平行の向きを有する、

請求項 17 ~ 28 のいずれか一項に記載のシステム。

30

【請求項 30】

顕微鏡、特に、走査型顕微鏡及び / 又は共焦点走査型顕微鏡、並びに / 或いは試料を顕微鏡撮像する実験セットアップであって、請求項 17 ~ 29 のいずれか一項に記載の照明システムを有し、及び / 又は請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の方法を実行する、顕微鏡並びに / 或いは実験セットアップ。

【請求項 31】

特に S P I M 顕微鏡法のために、

a . 対物レンズ及び光リダイレクト装置に対して試料を移動させ、及び / 又は回転させる装置が設けられ、及び / 又は

b . 前記試料が、光学媒質、特に浸漬媒質内に配置可能であり、及び / 又は

c . 1 つ以上の試料のための試料チャンバ又は毛細管又は試料カップが設けられ、及び / 又は

d . 少なくとも 1 つの台が設けられ、前記台に試料を配置可能であり、及び / 又は台に前記試料が配置される、

請求項 30 に記載の顕微鏡及び / 又は実験セットアップ。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、S P I M 顕微鏡法で試料を照明する方法及びシステムに関する。

【背景技術】

50

【 0 0 0 2 】

本発明は、顕微鏡、特に、走査型顕微鏡及び / 又は共焦点走査型顕微鏡に関するとともに、そのようなシステムを使用し、そのような方法を実行して試料を顕微鏡撮像する実験セットアップにも関する。

【 0 0 0 3 】

本発明の基礎をなす上記選択的平面照明顕微鏡 (S P I M) 技法は、当分野で既知であり、例えば、非特許文献 1 に記載されている。

【 0 0 0 4 】

S P I M 法に従って動作する顕微鏡は、特許文献 1 に記載されている。この顕微鏡では、試料は、薄い光ストリップで照明され、その間、照明光ストリップの平面に垂直に閲覧が行われる。ここで、照明及び検出は、別個の光学系、特に、互いに垂直に向けられた 2 つの別個の対物レンズを有する 2 つの別個の光学列を介して実行される。光ストリップは、照明対物レンズ及び上流円柱光学要素により生成される。画像取得のために、試料は、光ストリップを通して移動し、光ストリップは検出器に対して静止して、面積検出器を使用して層毎に蛍光及び / 又は散乱光を捕捉する。次に、そうして得られた断層像データを組み立てて、試料の三次元像を表すデータセットにすることができる。可能な限り薄い光ストリップを生成するために、照明対物レンズはそれに対応して高い開口数を有さなければならない。さらに、照明対物レンズの自由作業距離は、観測対物レンズとの衝突を回避するのに十分な大きさでなければならない。2 つの対物レンズの直交構成は、特定の試料、特に生物学的試料の撮像で欠点であり得る。例えば、球形物体を衝突のないように対物レンズの直角構成に配置することは不可能なことが多い。試料セットアップに課される極端な要件に加えて、往々にして不要な陰影が試料に生じる。

【 0 0 0 5 】

特許文献 2 に記載の修正 S P I M 技法では、照明及び検出は、同じ対物レンズを使用して実行される。このために、対物レンズの入射瞳は、偏心位置で完全未満に照明される。すなわち、照明ビームは、光軸から横にずれた入射瞳の部分を透過する。対物レンズの上流にある円柱レンズは、試料内に光シートを生成し、光シートは、対物レンズの光軸に対して傾斜する。この光シートにより照明される試料領域は、次に、対物レンズにより検出器に撮像される。しかし、この装置は、光シートにより試料を斜めに照明するように専ら設計され、異なる使用ができず、特に、試料の点毎の共焦点走査又は光シートの空間光強度分布の変動が可能ではなく、特に、対物レンズの光軸に垂直に向けられた光ストリップによる照明が可能ではない。

【 0 0 0 6 】

特許文献 3 には、顕微鏡対物レンズを通して顕微鏡観測する装置が記載されており、試料を照明する光の光ガイドが、レンズ光学系外部の対物レンズ筐体内に提供される。照明光はまず、光ガイド内で対物レンズの光軸に平行して伝播し、次に、小型アパーチャの反射器に衝突し、反射器は、対物レンズ筐体に搭載され、追加の撮像要素を使用して、照明光を試料に、顕微鏡対物レンズの光軸に直交する方向、ひいては閲覧方向に直交する方向で集束させる。ここでも、試料の平面照明は、S P I M 原理に従って提供される。このようにして構成される顕微鏡対物レンズの使用は、実際には、照明光の追加の対物レンズの必要性をなくすが、追加の光ガイド及び反射器を有するこの特別な対物レンズの特別な設計は、技術的に非常に複雑であり、高価である。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 0 7 】

【 特許文献 1 】 D E 1 0 2 5 7 4 2 3 A 1

【 特許文献 2 】 W O 2 0 1 0 / 0 1 2 9 8 0 A 1

【 特許文献 3 】 D E 1 0 2 0 0 4 0 3 4 9 5 7 A 1

【 非特許文献 】

【 0 0 0 8 】

10

20

30

40

50

【非特許文献1】Lindekら；Journal of modern optics，1999，vol.46，no.5，843-858

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明の目的は、平面試料照明、特に、閲覧方向に直交する平面試料照明を可能にするように、SPIM顕微鏡法で試料を照明する上述した方法及びシステムを改良することであり、平面試料照明は、好ましくは、顕微鏡、特に走査型顕微鏡にどのみち存在する構成要素の多くが使用可能でありながら、高速で調整可能であるとともに、使用の信頼性が高く、且つ使用の多様性も有する。

10

【課題を解決するための手段】

【0010】

この目的は、請求項1に記載の試料を照明する方法及び請求項15に記載の試料を照明するシステムにより達成される。本発明の有利な実施形態は、従属クレームの主題である。

【0011】

したがって、本発明は、SPIM顕微鏡法で試料を照明する方法を提供し、この方法は、

- a. 光線を生成するステップと、
 - b. 光線と相互作用する光学手段により、光線から光ストリップを形成するステップと、
 - c. 試料から発せられた検出光を検出器に直接又は間接的に送るよう設計され意図された光学系を有する少なくとも1つの対物レンズに光ストリップを通すステップであって、対物レンズ光学系は光ストリップと相互作用する、通すステップと、
 - d. 試料を照明するために、光ストリップが、偏向後、対物レンズの光軸に対してゼロ度以外の角度、特に直角で伝播し、好ましくは、試料に集束するように、対物レンズ光学系の下流にある光リダイレクト装置により光ストリップを偏向するステップと、
- を含む。

20

【0012】

さらに、本発明は、

- a. 光線を生成する光源と、
 - b. 光線から光ストリップを形成し、特に、少なくとも1つの方向からの照明平面において試料を実質的に平面照明する手段と、
 - c. 試料から発せられた検出光を検出器に直接又は間接的に送るよう設計され意図された光学系を有する少なくとも1つの対物レンズであって、対物レンズ光学系は光ストリップと相互作用する、少なくとも1つの対物レンズと、
 - d. 対物レンズ光学系の下流に配置されて、光ストリップが、偏向後、対物レンズの光軸に対してゼロ度以外の角度、特に直角に伝播し、且つ/又は対物レンズの光軸に平行しない平面に配置されるように、光ストリップを偏向する光リダイレクト装置と、
- を含むシステムを提供する。

30

【0013】

本発明によれば、SPIM法による単純な照明、特に、閲覧方向に直交する平面での平面照明を、顕微鏡筐体内部の追加の光学系なしで、本質的に従来の顕微鏡対物レンズを使用して達成できることが発見され、照明光は、対物レンズ光学系を通り、続けて光リダイレクト装置により対物レンズの光軸に対してゼロ度以外の角度で、特に直角で試料に集束可能である。

40

【0014】

本発明によれば、試料を照明する光線は、例えば、CWレーザ又はパルスレーザ等の顕微鏡法分野で慣習となっているか、又は周知の光源を使用して生成される。

【0015】

本発明の有利な実施形態によれば、本発明の方法及びシステムにより光ストリップを形

50

成する光学手段は、好ましくは、事実上、照明平面に光ストリップが存在し、且つ/又は試料から発せられる光を検出するために提供される検出器及び顕微鏡の下流にある解析器が、この照明を連続光ストリップから区別できず、且つ/又は取得像データが、連続光ストリップによる照明の場合に得られるデータと変わらないか、若しくは実質的に変わらないような速度で、光線を照明平面において移動させることができるビーム偏向器を有し得る。

【0016】

ビーム偏向器により生成される光線の巡回移動を使用して、特に、試料内の焦点を移動させ、したがって、特定の方向からの試料の平面照明の集束光ストリップを生成し得る。これは、例えば、ビーム偏向器が、結果得られる集束光線の衝突が、時間平均して、試料内の照明平面に板状又は平坦な光の分布を生じさせるように十分な速度で、対物レンズの上流で光線を前後に傾斜させることにより達成することができる。

10

【0017】

ビーム偏向器は、好ましくは、対物レンズの入射瞳の領域の傾斜点でほぼ静止したままであるように、光線を偏向させ、ビーム偏向器の方向において入射瞳からの距離がある間、光線は、光軸に平行する基準方向に対して巡回移動を実行する。光線のこの巡回移動は、対物レンズ及び下流光リダイレクト装置により光線の対応する集束移動に変換され、この集束は、とりわけ、対物レンズにより生み出される。顕微鏡法では、試料は、好ましくは、この集束下に配置される。試料の集束の実際のサイズ及び集束移動の振幅は、対物レンズ光学系の特定の設計に依存するとともに、恐らくは、光路に使用し得る追加の光学要素に依存する。

20

【0018】

特に適し、技術的に実施しやすい実施形態では、ビーム偏向器は、少なくとも1つの回転ミラー、及び/又は傾斜ミラー、好ましくはガルバノメータミラー、及び/又は回転プリズム、及び/又は可動式レンズ、及び/又は音響光学偏向器を有し得る。ビーム偏向器は、特に、利用し得る走査型顕微鏡又は共焦点走査型顕微鏡のビーム偏向器であり得る。

【0019】

本発明の別の実施形態では、光ストリップを形成する光学手段として、ビーム偏向器への追加又は代替として円柱形光学要素を提供し得る。

【0020】

本発明の別の有利な実施形態では、光ストリップの形状、及び/又は位置、及び/又は向きは、上述した光学手段、及び/又は対物レンズ、及び/又は光リダイレクト装置により調整され、又は調整可能である。

30

【0021】

光ストリップの位置及び/又は向きは、ビーム偏向器による巡回移動により調整することができる。光ストリップの形状、特に幅は、例えば、巡回移動に異なる振動振幅を選択することにより調整することができる。

【0022】

特定の実施形態では、光線、及び/又は光ストリップ、及び/又は検出光の光路は、光ストリップが観測すべき試料の位置で集束し、試料のその位置から発せられる検出光が検出器に検出焦点を有するように、互いに合わせられる。

40

【0023】

検出器は、好ましくは、検出平面に対応する平面に配置される。検出平面の位置及び向きは実質的に、物体の種類、向き、及び位置、検出器及び検出器と対物レンズとの間に存在し得る追加の光学構成要素の位置に依存する。光ストリップは、好ましくは、偏向後、検出平面に配置されるように位置決めされ、そのような向きを有する。

【0024】

照明及び検出の両方が対物レンズを通して行われる場合、対物レンズの瞳から焦点への光ストリップの光路が一般に、光ストリップの焦点により照明される試料領域から発せられる検出光の光路よりも長く、対物レンズを直接通り、対物レンズの瞳に直接達することに留意されたい。これは特に、偏向によるものである。路長のこの差は、例えば、光線が

50

、平行光線ではなく、発散光線として対物レンズに達する場合に補償することができる。発散は、光線には作用するが、検出光には作用しない追加の光学系により達成することができる。或いは、路長の差は、もちろん、それに対応して検出光路を長くすることによって補償することもできる。もちろん、両手段の組み合わせも可能である。

【 0 0 2 5 】

光ストリップから独立した別個の本発明の概念によれば、特に、光線がいかなる巡回移動も実行しない場合、試料をストリップのように照明せず、線のように照明することを提供し得る。この場合、ビーム偏向器を使用して、言わば走査式方法のように、集束光線により試料を順次照明することもできる。しかし、従来の走査型顕微鏡又は共焦点走査型顕微鏡以外では、光線は、対物レンズの光軸に対してゼロ度以外の角度を有することができる。

10

【 0 0 2 6 】

さらに、光ストリップの形状は、有利なことに、光線に対物レンズの入射瞳を完全未満に照明することにより変更可能である。このために、光線は、入射瞳の全域は通過せず、したがって、対物レンズの全開アパーチャを使用しない。この完全未満の照明は、光線の焦点を縦方向及び横方向の両方で広げさせる。

【 0 0 2 7 】

さらに、ビーム偏向器を使用して、例えば、光線を入射瞳の異なる位置、特に、偏心位置に向け得る。本発明の有利な実施形態によれば、このようにして、対物レンズの下流での光ストリップのそれぞれの集束光線の向き、ひいては試料内の光ストリップのそれぞれの光線の向きの変更が達成される。

20

【 0 0 2 8 】

本発明にとって、対物レンズ光学系が、光ストリップのそれぞれの光線と相互作用し、対物レンズ光学系が、試料から発せられた検出光をCCDカメラ（電荷結合素子）等の検出器に直接又は間接的に送るようさらに設計され意図されることは極めて重要である。

【 0 0 2 9 】

本発明の別の有利な実施形態によれば、追加の対物レンズ及び/又は集光光学系が、代替として、試料から発せられた検出光を検出器に直接又は間接的に送るために使用し得る。このために、追加の対物レンズ及び/又は集光光学系を、光軸に沿って対物レンズに対向して配置し得、試料はそれらの間に配置される。

30

【 0 0 3 0 】

本発明によれば、光リダイレクト装置が対物レンズ光学系の下流に提供されて、試料を照明するために、光ストリップが、偏向後、対物レンズの光軸に対してゼロ度以外の角度、特に直角に伝播し、好ましくは試料で集束するように、光ストリップを偏向する。

【 0 0 3 1 】

本発明の別の有利な実施形態によれば、光リダイレクト装置は、対物レンズ、及び/又は追加の対物レンズ、及び/又は集光光学系に固定して取り付けられるか、又は固定して取り付け可能である。特に、光リダイレクト装置は、対物レンズの光軸に対して90度以外の角度で弾性部材、特に、ばねの力に対抗して移動可能なように、上記構成要素に保持し得る。

40

【 0 0 3 2 】

光リダイレクト装置の固定に使用される接続は、技術的に特に実施しやすいネジ接続であり得る。このために、対物レンズのヘッド、すなわち、試料に面する対物レンズの端部は、対物レンズの光軸と同軸に形成され、光リダイレクト装置の対応する雌ねじに係合可能な雄ねじを有し得る。

【 0 0 3 3 】

これらの線に沿って、ここでも、光リダイレクト装置を後付け部分として対物レンズ及び/又は別の従来の対物レンズに固定して取り付け得るように、光リダイレクト装置に、脱着可能、好ましくは手動で脱着可能な接続手段が設けられるさらに有利な実施形態が考えられる。これにより、異なる設計の光リダイレクト装置の置換も可能である。

50

【0034】

或いは、光リダイレクト装置の少なくとも1つの構成要素は、対物レンズの構成要素、又は追加の対物レンズの構成要素、又は集光光学系の構成要素と一体的に形成し得る。

【0035】

本発明の有利な実施形態では、光ストリップを偏向する光リダイレクト装置は、少なくとも1つの少なくとも部分的に反射性の表面を有する。このために、反射面は、例えば、平面ミラーの部分として形成し得る。

【0036】

さらに、試料での陰影の発生を回避するために、光リダイレクト装置により、且つ/又は光ストリップを形成する光学手段により、少なくとも2つの方向からの光ストリップで放射状に試料を照明することが有利であり得、少なくとも2つの方向のそれぞれからの光ストリップを試料の1つの焦点領域で集束させることが好ましい。これは、例えば、光リダイレクト装置が2つの対向ミラーを有し、ビーム偏向器が、2つの異なる角度、特に、例えば約1kHzの周波数で交互に、対物レンズの軸を対称として光ストリップを傾斜させ、それにより、試料が2つの対向する側から2つのミラーを介して照明されるということで、達成することができる。プロセスでは、光ストリップを形成する振動周波数は、移動方向を変更する周波数よりもはるかに高い。

【0037】

本発明の別の実施形態では、試料は、平面の全方向からの光ストリップで照明し得、又は照明可能であり得る。ここでも、光ストリップは、平面の各方向から試料の1つの焦点領域に集束する。このために、光リダイレクト装置は、反射面が少なくとも部分的に、錐体の内側に形成されるように構成し得る。さらに、光ストリップは、対物レンズの光軸を中心として円形路に沿ってビーム偏向器によりガイドされ、それにより、時間平均して、すべての側からの試料の放射状照明が得られる。

【0038】

最初に説明したSPIM法は、有利なことに、空間的に広がった試料を三次元撮像することができる。この撮像方法は、二次断層像からの三次元形状の再構築が続く断層試料検出に基づく。個々の像を捕捉するために、試料を対物レンズ及び光リダイレクト装置に対して、特に、対物レンズの光軸に沿って移動させるか、又は移動可能であることが特に有利である。さらに、対物レンズ及び光リダイレクト装置に対して、特に対物レンズの光軸を中心として試料が回転すること、又は回転可能なことを提供し得る。試料の回転により、多方向からの照明を達成することも可能になる。

【0039】

さらに、試料を光学媒質、特に、浸漬媒質内に配置すること、又は配置可能なことを提供し得る。これは、光学分解能を増大させ、水溶液で囲まれた生きた細胞又は組織を観測し、且つ/又は屈折率の変化を回避することにより、コントラストを低減させる反射を抑制するように機能し得る。可能な浸漬媒質の例としては、水、シリコン油、又はグリセリンが挙げられる。

【0040】

特に、そのような光学媒質を使用する場合、試料チャンバ内に試料を配置すること、又は配置可能なことが有利であり得る。或いは、試料の位置決めに、毛細管を提供し得る。

【0041】

試料及び/又は試料を保持する装置が光リダイレクト装置及び/又は対物レンズに衝突しないように、試料は、有利なことに、台に配置し得るか、又は配置可能であり得る。台の使用により、特に、本明細書において上述したように、光リダイレクト装置が試料を側方から囲むように構成される場合、試料を対物レンズ光学系の特に近くに位置決めして、光学分解能を増大させることができる。

【0042】

光学媒質、特に、浸漬媒質が使用される場合、本発明の別の実施形態は、対物レンズが浸漬対物レンズとして設計され、さらに、対物レンズ及び/又は光リダイレクト装置が試

10

20

30

40

50

料チャンバ及び／又は光学媒質内に浸漬することを提供し得る。

【0043】

本発明のさらなる実施形態は、複数の試料が行列の形態に配置され、これらの試料が連続又は循環して繰り返して、本発明の照明システム及び／又は本発明の方法を使用する顕微鏡検査を受けることを提供し得る。このために、例えば、試料を、例えば寒天又は水内に埋め込まれたスライドに配置し、連続して走査し得る。この点に関して、対物レンズ及び／又は光リダイレクト装置に対する位置を変更すべき場合、試料支持装置を下げることを準備し得る。新しい位置に移動すると、試料は、対物レンズ及び光リダイレクト装置の近傍に戻される。

【0044】

本発明の特に有利な実施形態では、STED顕微鏡法の原理により、光学分解能を増大させるために、光ストリップに、刺激光線及び／又は刺激光ストリップを重ね得、又は重ねることが可能であり得る。誘導放射抑制(STED)顕微鏡法の原理は、例えば、S. Hellら; Stimulated Emission Depletion Fluorescence Microscopy, Optics Letters, 19, No. 11, 1994, pp. 780 - 782に説明されており、一般に、回折限界を超えて光学顕微鏡像の空間分解能を増大させるために使用される。このプロセスでは、試料の個々の領域を標識するために使用される蛍光染料が、刺激光線又は刺激光ストリップにより選択的に抑制され、ひいては、言わばオフにされ、それにより、検出中にいかなる蛍光も発しない。したがって、刺激光線は「オフ光線」と呼ぶこともでき、刺激光ストリップは「オフ光ストリップ」と呼ぶこともできる。

【0045】

試料を照明する方法及びシステムでは、STED法は、蛍光を発する試料領域が、光ストリップにより照明される試料領域よりも小さいように利用することができる。有利な実施形態では、達成される効果は、結果として生成される光ストリップがより薄く又はより平坦に形成されることである。

【0046】

分解能を増大させる別の方法は、RESOLFT技術を使用することによる。この技術は、適した光への露出により、もはや検出光を放出することができない状態に選択的に変換することができる特殊な染料を使用する。光ストリップで照明される試料領域の部分を適した光に選択的に露出することを通して、検出光を発する領域を低減し、ひいては分解能を増大させることが可能である。

【0047】

このために、光ストリップを刺激光線又は刺激光ストリップのそれぞれに、両方が試料の共通領域に集束するように重ねることが特に好ましい。STED法が従来通りに使用される場合、刺激光線の焦点は、言わばTEM_{0,1}*ラゲールガウスモードと同様に、断面が環状である。それとは対照的に、本明細書に記載される本発明の実施形態は、有利なことに、刺激光線の焦点が、断面で、光ストリップにより生み出される照明平面の上下に対照的に配置された2つの強度最大と、上記最大の間の光ストリップの焦点に配置された最小とを有する形状を有することを提供する。この最小は、言わばTEM_{0,1}*エルミートガウスモードと同様である。そのような光モードは、例えば、位相板を使用して生成することができる。このようにして、光ストリップが、照明平面に直交する焦点の横に広がる方向でのみ低減され、集束の縦に広がる方向では低減されないことが達成される。全体的に、これにより、表面積の大きな非常に薄い光ストリップが生成され、これにより、高い空間分解能で試料の断面撮像を行うことが可能になる。

【0048】

本発明の他の目的、利点、特徴、及び可能な応用を、図面を参照する例示的な実施形態の以下の説明から導き出し得る。この文脈の中で、説明され、且つ／又は示されるすべての特徴は、単独で、又は任意の有用な組み合わせで、請求項又は請求項の前文で組み合わせられる様式に関係なく、本発明の主題をなす。

【図面の簡単な説明】

10

20

30

40

50

【 0 0 4 9 】

【図 1】図 1 a は焦点を生成する対物レンズの入射瞳が完全に照明される概略図で、図 1 b は対物レンズの入射瞳に入る光線が傾斜する場合に得られる効果を示す概略図で、図 1 c は対物レンズの入射瞳に入る光線が傾斜する場合に得られる効果を示す概略図である。

【図 2】図 2 a は焦点を生成する対物レンズの入射瞳が完全未満に照明される概略図で、図 2 b は対物レンズの入射瞳を完全未満に照明する光線が傾斜する場合に得られる効果を示す概略図で、図 2 c は対物レンズの入射瞳を完全未満に照明する光線が傾斜する場合に得られる効果を示す概略図である。

【図 3】図 3 a は焦点を生成する対物レンズの入射瞳の偏心完全未満照明を示す概略図で、図 3 b は偏心位置で対物レンズの入射瞳を完全未満に照明する光線が傾斜する場合に得られる効果を示す概略図で、図 3 c は偏心位置で対物レンズの入射瞳を完全未満に照明する光線が傾斜する場合に得られる効果を示す概略図である。

【図 4】S P I M 顕微鏡法で試料を照明する本発明の方法を実行する本発明のシステムの可能な実施形態の概略図である。

【図 5】S P I M 顕微鏡法で試料を照明する本発明の方法を実行する本発明のシステムの可能なさらなる実施形態の概略図であり、この実施形態は、図 4 に示される実施形態に加えて、円柱形光学要素を有する。

【図 6】本発明の方法を実行する本発明のシステムの第 3 の実施形態による光リダイレクト装置及び対物レンズを示す概略図である。

【図 7】S P I M 顕微鏡法で試料を照明する本発明の方法を実行する本発明のシステムの第 4 の実施形態の概略図であり、この実施形態は、好ましくは、特に追加の対物レンズを使用する。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 5 0 】

異なる瞳照明選択枝の原理についてまず、図 1 a ~ 1 c、図 2 a ~ 2 c、及び図 3 a ~ 3 c を参照して説明する。ここで、これらの図が純粹に概略的であり、単に本発明の理解を容易にすることを目的とすることに留意されたい。以下の説明では、y 軸が紙の平面から出るほうを指す間、x 軸が紙の平面において水平に向けられ、z 軸が紙の平面において垂直に向けられる座標系を参照する。

【 0 0 5 1 】

図 1 a は、対物レンズ 4 の入射瞳 4 . 1 が光線 1 で完全に照明される場合を示す。光線 1 は、対物レンズ 4 の光軸 O 1 (z 軸) に平行して伝播し、対物レンズ 4 の入射瞳 4 . 1 (x - y 平面) に垂直に入る。対物レンズ 4 は、光線の焦点 1 . 1 の形態の集束光分布を生成し、この焦点は、光軸 O 1 の横よりも光軸 O 1 に沿って大きな広がりを持つ。

【 0 0 5 2 】

図 1 b 及び図 1 c は、光線 1 が光軸 O 1 に対して対物レンズ 4 の入射瞳 4 . 1 で傾斜するが、それでもなお十分に入射瞳 4 . 1 を照明する場合に、焦点 1 . 1 の位置がどのように変化するかを示す。傾斜に起因する光線 1 の入射方向 A 1 の変化は、対物レンズ 4 の光学系 4 . 2 により光軸 O 1 に対する焦点 1 . 1 の横移動に変換される。光線 1 は対物レンズ 4 の入射瞳 4 . 1 を通過するため、焦点 1 . 1 は、縦方向の広がりが光軸 O 1 に平行するような向きを保つ。

【 0 0 5 3 】

図 2 a は、対物レンズ 4 の入射瞳 4 . 1 の完全未満の照明を示す。分かるように、光線 1 は、対物レンズ 4 の入射瞳 4 . 1 の一部分のみを通過する。入射瞳 4 . 1 の完全未満の照明は、焦点 1 . 1 を広げることになる。すなわち、焦点 1 . 1 は、完全な入射瞳 4 . 1 を照明する場合よりも全体的に大きくなる。

【 0 0 5 4 】

図 2 b 及び図 2 c は、入射瞳 4 . 1 を完全未満に照明する光線 1 が、入射瞳 4 . 1 の中央を通過し、入射瞳 4 . 1 内で傾斜する場合を示す。前図を参照して与えられた説明を考慮すると、全体的な結果は、広域化した焦点 1 . 1 が外側にシフトするというものである

10

20

30

40

50

。これに関連して、光軸 O 1 からの距離がさらに大きくなるほど、光線 1 が光軸 O 1 に対して傾斜する程度が大きくなる。

【 0 0 5 5 】

図 3 a ~ 図 3 c では、対物レンズ 4 の入射瞳 4 . 1 を完全未満に照明する光線 1 は、さらに、偏心して、すなわち、光軸 O 1 から横にずれて配置される。入射瞳 4 . 1 への光線 1 のこの偏心位置は、焦点 1 . 1 を光軸 O 1 に対して傾斜させる。これは、例えば、光ストリップ 2 を光軸 O 1 に対して異なる角度で試料に向けるために有用であり得る。

【 0 0 5 6 】

図 4 は、S P I M 顕微鏡法で試料を照明する本発明の方法を実行する本発明のシステムの可能な実施形態を概略的な形態で示す。このために、システムは、光線 1 を生成する光源 8 を有する。ここに示される例示的な実施形態では、光源は、例えば、532 nm の波長を有する CW レーザビームを発する固体状態レーザである。

10

【 0 0 5 7 】

システムはビーム偏向器 6 をさらに有し、ビーム偏向器 6 は、最初に説明したように光線 1 から光ストリップ 2 を形成し、さらに、光線 1、形成された各光ストリップ 2 を光軸 O 1 に対して対物レンズ 4 の入射瞳 4 . 1 内で傾斜させる。例示的な本実施形態では、これは、ビーム偏向器 6 の重要な部分として 2 つの傾斜ミラー 6 . 1 を使用して達成される。これらの傾斜ミラー 6 . 1 のそれぞれは、最大角度範囲 20 度を通して傾斜可能である。両空間方向に沿った傾斜移動は、上記方向のそれぞれに 1 つずつの電磁アクチュエータにより生み出される。例示的な本実施形態では、特に、アクチュエータにより、傾斜ミラー 6 . 1 は、最大帯域幅 12 kHz で両方向に沿って振動傾斜移動を実行することができる。全体的に、これにより、第 1 に、光ストリップ 2 を形成することが可能になり、第 2 に、光ストリップ 2 又は光線 1 を異なる角度及び異なる位置で対物レンズ 4 の入射瞳 4 . 1 に向けることが可能になる。

20

【 0 0 5 8 】

ビーム偏向器 6 の代替又は追加として、システムは、光ストリップ 2 を形成する円柱形光学要素 13 を有することもできる。図 5 は、ビーム偏向器 6 の上流に配置されたそのような円柱形光学要素 13 を有する本発明の実施形態を示す。円柱形光学要素が使用される場合、ビーム偏向器の全体又は少なくとも部分を省くことを考えることもできる。

【 0 0 5 9 】

図 4 及び図 5 に示される 2 つの実施形態では、追加のレンズ光学系 9 が、対物レンズ 4 の上流のさらなる光路に配置される。追加のレンズ光学系 9 は、対物レンズ 4 の光学系 4 . 2 と併せて、光ストリップ 2 の焦点 2 . 1 を形成し、焦点 2 . 1 は続けて、光リダイレクト装置により試料 7 に偏向される。この偏向は、試料 7 を照明するために、光ストリップ 2 が、偏向後、対物レンズの光軸 O 1 に対してゼロ度以外の角度、特に、ここで示されるように、直角に伝播し、試料 7 に集束するように実行される。ここで、光ストリップ 2 が対物レンズ 4 の光学系 4 . 2 と相互作用することが本発明にとって重要である。さらに、対物レンズ 4 の光学系 4 . 2 は、試料 7 から発せられた検出光を検出器 11 に直接又は間接的に送るようにも設計され、そのように意図される。このために、例示的な本実施形態では、ビームスプリッタ 12 が光路に提供されて、試料 7 から発せられた検出光 10 を、ここで示されるように CCD カメラ等の検出器 11 に向ける。

30

40

【 0 0 6 0 】

図 4 及び図 5 から、光リダイレクト装置 5 が、直角矢印 5 . 2 でここに示されるように、光ストリップを偏向する 2 つの平面ミラー 5 . 1 を有することをさらに見ることができ、2 つのミラーは、対物レンズ 4 の光軸 O 1 に対して互いに対称的に対向して配置され、両方とも使用すべき波長を反射する。2 つの対向するミラー 5 . 1 を使用することにより、有利なことに、2 つの方向から試料 7 を照明することができ、陰影が回避される。このために、最初に説明したように、ビーム偏向器 6 は、試料 7 の平面照明のために、2 つのミラー 5 . 1 を介して光ストリップ 2 を交互に試料 7 に向ける。ミラー 5 . 1 は、光ストリップ 2 が両方向から 1 つの焦点領域 2 . 1 に集束するか、又は集束可能なように配置

50

される。

【0061】

或いは、平面の全方向から試料を放射状に照明し得る。このために、本発明の別の実施形態では、光リダイレクト装置5は、図6に示されるように、錐体5.4の内側に提供される反射面5.3を有する。ビーム偏向器6が、光ストリップ2を対物レンズ4の入射瞳4.1内で光軸O1を中心とした円形路に沿ってガイドする場合、時間平均して、照明平面の全方向からの試料の平面照明が得られる。

【0062】

手動で脱着可能な接続5.5により、光リダイレクト装置5を対物レンズ4の筐体4.3に固定して取り付けることができることが特に有利である。このために、図6に示される本発明の実施形態では、円錐形光リダイレクト装置5に雌ねじ5.6が設けられ、雌ねじ5.6は光リダイレクト装置5を、対物レンズ4の筐体4.3の対応する雄ねじ5.7を介して対物レンズ4にねじ込めるようにする。この特定の利点は、光リダイレクト装置5を異なる設計の光リダイレクト装置5で置換し得ることである。或いは、対物レンズ4は、このようにして、SPIM法向けに適宜構成された光リダイレクト装置5に非常に容易に後付けすることができる。

【0063】

図7は、試料7が、光学媒質15が充填された試料チャンバ14内に配置され、さらに、試料7が台16に配置され、それにより、試料7を対物レンズ4の高分解能光学系4.2に近づけることができる本発明のさらなる実施形態を示す。特に、これにより、試料7を、図7に示される光リダイレクト装置5の2つのミラー5.1の間に衝突しないように位置決めすることができる。ここでは、浸漬対物レンズの形態である対物レンズ4及び光リダイレクト装置5の両方が、光学媒質15内で、ひいては試料チャンバ14内でも浸漬される。本例では、グリセリンが光学媒質15として使用される。しかし、水、シリコン油、又は他の浸漬媒質を使用してもよい。

【0064】

図7から、対物レンズ4の他に、追加の対物レンズ17又は集光光学系18を検出目的で、すなわち、試料7から発せられた検出光10を検出器11に直接又は間接的に送るために使用し得ることがさらに分かる。ここに示される例示的な実施形態では、追加の対物レンズ17は、対物レンズ4の逆に試料7の下に配置され、対物レンズ4の光軸O1に沿って向けられる。さらに、図7に示されるように、カバースリップ19を試料7と追加の光学系17との間に配置し得、対物レンズ17の光学系4.2が、カバースリップ19を通しての観測のために補正される。

【符号の説明】

【0065】

- 1 光線
- 1.1 光線の焦点
- 2 光ストリップ
- 2.1 光ストリップの焦点
- 3 光学手段(光ストリップを形成する)
- 4 対物レンズ
- 4.1 入射瞳(対物レンズの)
- 4.2 光学系(対物レンズの)
- 5 光リダイレクト装置
- 5.1 平面ミラー
- 5.2 直角矢印(光ストリップの偏向を示す)
- 5.3 反射面
- 5.4 錐体の内側
- 5.5 脱着可能な接続
- 5.6 雌ねじ

10

20

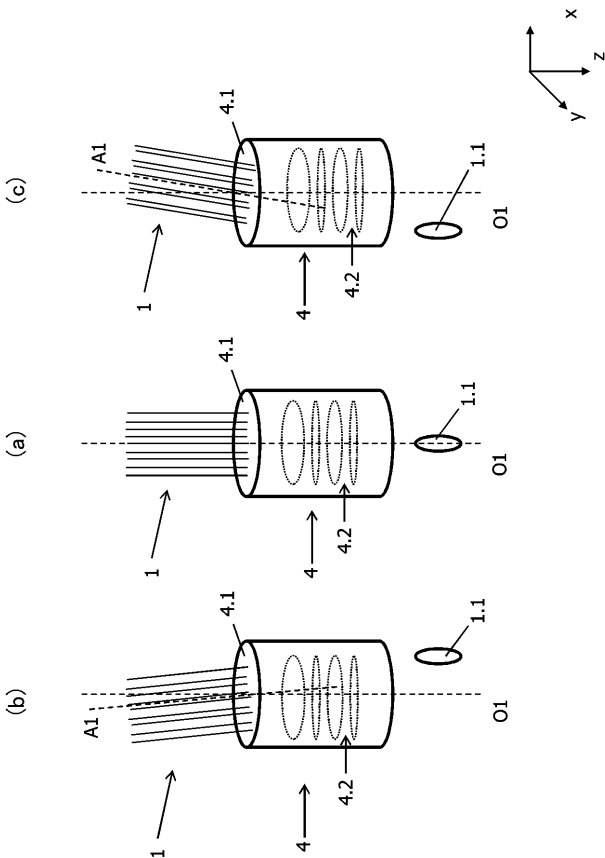
30

40

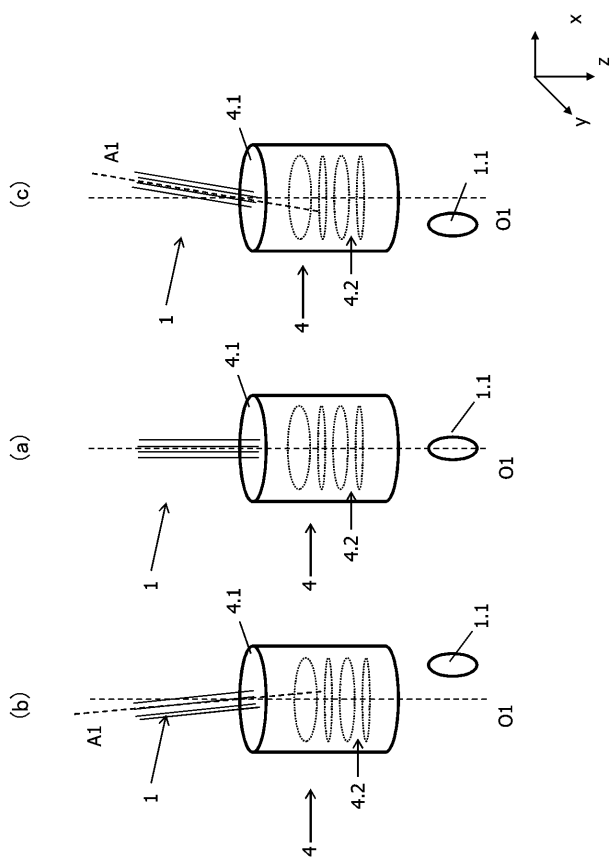
50

- 5 . 7 雄ねじ
- 6 ビーム偏向器
- 6 . 1 傾斜ミラー
- 7 試料
- 8 光源
- 9 追加のレンズ光学系
- 10 検出光
- 11 検出器
- 12 ビームスプリッタ
- 13 円柱形光学要素
- 14 試料チャンバ
- 15 光学媒質
- 16 台
- 17 追加の対物レンズ
- 18 集光光学系
- 19 カバースリップ
- O 1 対物レンズの光軸
- A 1 対物レンズへの入射方向

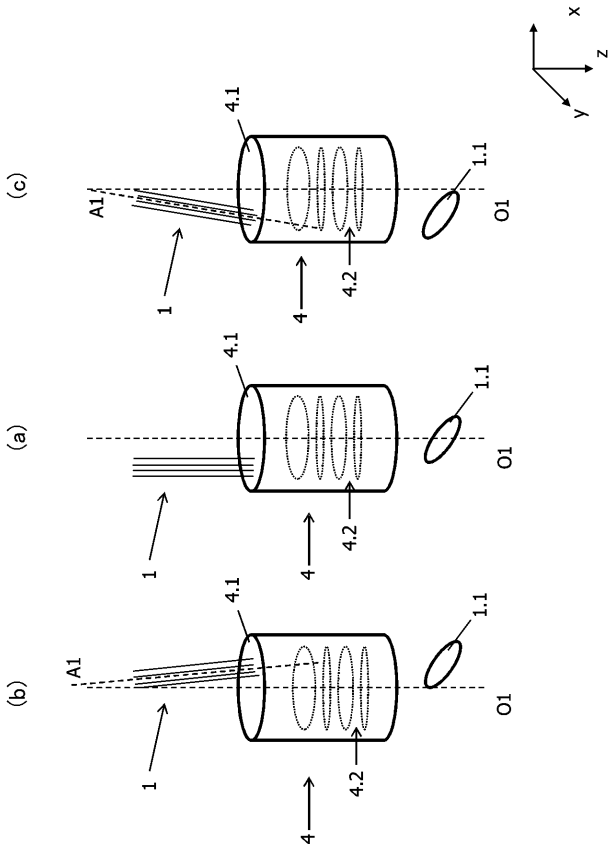
【 図 1 】



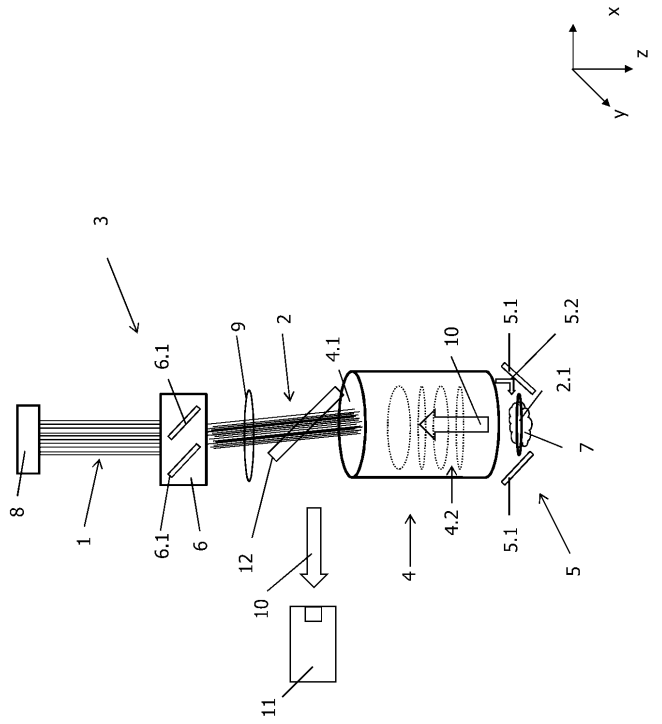
【 図 2 】



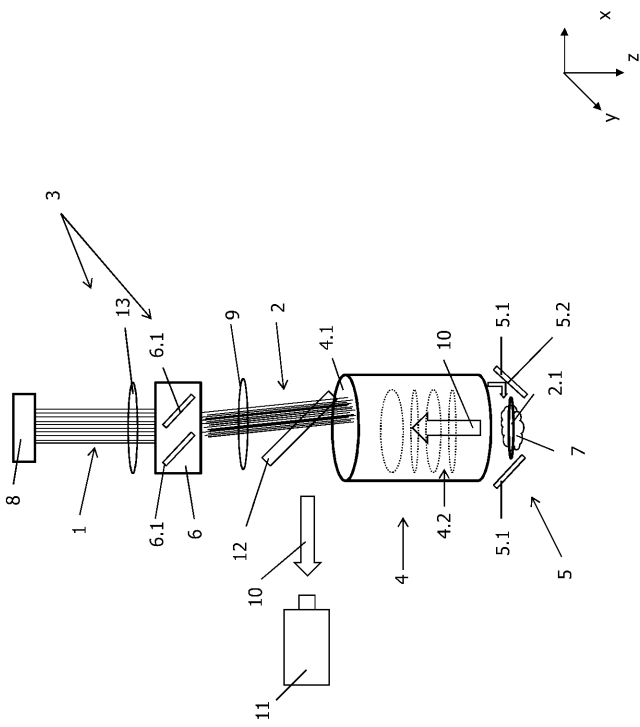
【 図 3 】



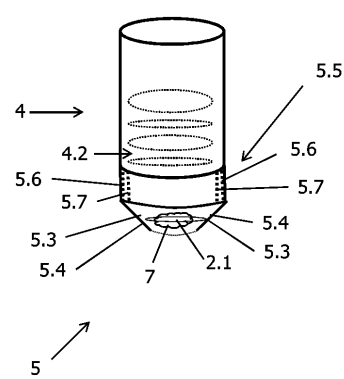
【 図 4 】



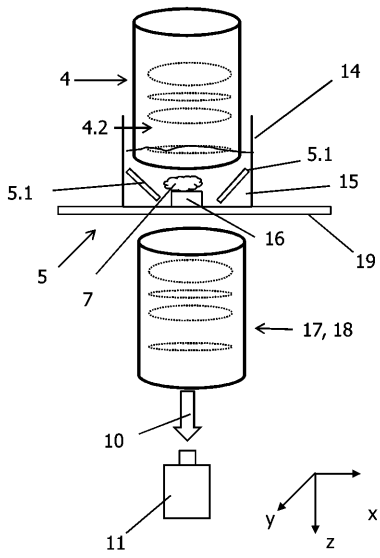
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



フロントページの続き

(72)発明者 フランク ジークマン

ドイツ連邦共和国 デー・4 4 8 7 9 ボーフム ヘルスターホルツ 1 d

Fターム(参考) 2H052 AA07 AB24 AC04 AC15 AC27 AC34 AF06 AF14

【外国語明細書】

2013097380000001.pdf

2013097380000002.pdf

2013097380000003.pdf

2013097380000004.pdf