



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112752993 B

(45) 授权公告日 2024. 07. 09

(21) 申请号 201980062968.8

(22) 申请日 2019.08.14

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112752993 A

(43) 申请公布日 2021.05.04

(30) 优先权数据
P1800286 2018.08.14 HU

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2021.03.24

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/HU2019/050039 2019.08.14

(87) PCT国际申请的公布数据
W02020/035710 EN 2020.02.20

(73) 专利权人 菲托尼克斯公司
地址 匈牙利布达佩斯

(72) 发明人 G.卡托纳 A.费赫尔 M.韦雷斯
P.马克 G.萨雷 B.奇奥维尼
Z.萨戴 L.苏尔茨-朱达克
B.J.罗兹萨

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105
专利代理师 王蕊瑞

(51) Int. Cl.
G02F 1/11 (2006.01)
G02F 1/33 (2006.01)
G02B 21/00 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 103299234 A, 2013.09.11
JP S5918933 A, 1984.01.31

审查员 刘营

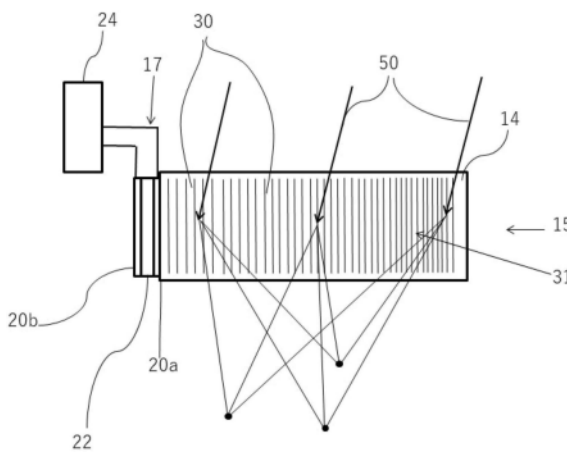
权利要求书2页 说明书10页 附图13页

(54) 发明名称

使用具有沿着Z轴的光轴和至少一个声光晶体层的第一声光偏转器用光束扫描的方法

(57) 摘要

本发明的目的涉及使用具有沿Z轴的光轴和至少一个声光晶体层(14)的第一声光偏转器(15、15')来用光束(50)扫描的方法,涉及将光束(50)指引在第一声光偏转器(15、15')中,并且通过所述第一声光偏转器(15、15')沿垂直于Z轴的X轴偏转光束(50),在此期间通过以下在声光偏转器(15、15')的至少一个声光晶体层(14)中生成多个声学啁啾信号(30):-在声光晶体层(14)中生成具有 τ 的持续时间的第一声学啁啾信号(30a),然后-在从开始生成第一声学啁啾信号(30a)起计数的时间段 τ 内在声光晶体层(14)中生成第二声学啁啾信号(30b)。



1. 一种使用具有沿着Z轴的光轴和至少一个声光晶体层(14)的第一声光偏转器(15、15')用光束(50)扫描的方法,其特征在于,将所述光束(50)指引到所述第一声光偏转器(15、15'),并通过所述第一声光偏转器(15、15')使所述光束(50)沿垂直于所述Z轴的X轴偏转,在此期间通过以下使用连接到至少一个晶体层(14)的单个电声波发生器(17)在所述第一声光偏转器(15、15')的所述至少一个声光晶体层(14)中生成多个声学啁啾信号(30):

将具有持续时间 τ 的第一电压信号施加至所述电声波发生器(17)因此生成第一声学啁啾信号(30a),然后在开始生成所述第一声学啁啾信号(30a)之后的持续时间 τ 内将第二电压信号施加至所述电声波发生器(17)因此生成第二声学啁啾信号(30b),其中,在所述晶体层(14)中所述声学啁啾信号(30a、30b)彼此部分或全部重叠。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,在开始生成所述第一声学啁啾信号(30a)之后的时刻 $\tau/5$ 与 $\tau/2$ 之间,开始生成所述第二声学啁啾信号(30b)。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于,在开始生成所述第二声学啁啾信号(30b)之后的时间段 τ 内生成第三声学啁啾信号(30c)。

4. 根据权利要求3所述的方法,其特征在于,在开始生成所述第一声学啁啾信号(30a)之后的时刻 $\tau/2$ 与 $4\tau/5$ 之间,开始生成所述第三声学啁啾信号(30c)。

5. 根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于,以各种扫动率生成声学啁啾信号(30),且将穿过所述声光晶体层(14)的所述光束(50)聚焦在沿着所述Z轴的各种深度处。

6. 根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于,使用在所述第一声光偏转器(15)之后布置的光学元件,聚焦离开所述声光晶体层(14)的所述光束,所述光束根据所述声学啁啾信号(30)的扫动率的代数符号来发散和/或会聚。

7. 根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于,沿着所述X轴,使用所述第一声学啁啾信号(30a)将所述光束(50)聚焦到具有第一坐标 X_1 的第一点,并且使用所述第二声学啁啾信号(30b)将所述光束(50)聚焦到具有第二坐标 X_2 的第二点。

8. 根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于,通过实质上与所述第一声学啁啾信号(30a)同时生成所述第二声学啁啾信号(30b)来创建叠加的声波(31),使用所述叠加的声波(31)沿着所述X轴将所述光束(50)分束成两个束,并且将它们偏转到各个方向中。

9. 根据权利要求8所述的方法,其特征在于,通过以下在所述声光晶体层(14)中连续地创建多个叠加的声波(31),

- 在所述声光晶体层(14)中以 τ' 的持续时间生成第一叠加的声波(31a),然后

- 在开始生成所述第一叠加的声波(31a)之后的时间段 τ' 内生成第二叠加的声波(31b)。

10. 根据权利要求9所述的方法,其特征在于,在开始生成所述第一叠加的声波(31a)之后的时刻 $\tau'/5$ 与 $\tau'/2$ 之间,开始生成所述第二叠加的声波(31b)。

11. 根据权利要求9所述的方法,其特征在于,在开始生成所述第二叠加的声波(31b)之后的时间段 τ' 内生成第三叠加的声波(31c)。

12. 根据权利要求11所述的方法,其特征在于,在开始生成所述第一叠加的声波(31a)之后的时刻 $\tau'/2$ 与 $4\tau'/5$ 之间,开始生成第三叠加的声波(31c)。

13. 根据权利要求9所述的方法,其特征在于,所述第一声光偏转器(15')含有第一声光晶体层(14a)和第二声光晶体层(14b),所述第一声光晶体层(14a)具有第一电声波发生器

(17a),所述第二声光晶体层(14b)具有第二电声波发生器(17b),并且使用连接到第一声光晶体层(14a)的第一电声波发生器(17a)在所述第一声光晶体层(14a)中生成第一叠加的声波(31a),以及使用连接到第二声光晶体层(14b)的第二电声波发生器(17b)在所述第二声光晶体层(14b)中生成第二叠加的声波(31b)。

14.根据权利要求12所述的方法,其特征在于,所述第一声光偏转器(15)含有第一声光晶体层(14a)和第二声光晶体层(14b),所述第一声光晶体层(14a)具有第一电声波发生器(17a),所述第二声光晶体层(14b)具有第二电声波发生器(17b),并且使用连接到第一声光晶体层(14a)的第一电声波发生器(17a)在所述第一声光晶体层(14a)中创建第一声学啁啾信号(30a),以及使用连接到第二声光晶体层(14b)的第二电声波发生器(17b)在所述第二声光晶体层(14b)中生成第二声学啁啾信号(30b)。

15.根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于,使所述光束(50)沿着垂直于所述Z轴和X轴的Y轴偏转。

16.根据权利要求1或2所述的方法,其特征在于,连接到所述声光晶体层(14)的所述电声波发生器(17)含有两个电极(20a、20b)以及在其间布置的压电板(22),并且所述两个电极(20a、20b)中的一个电极(20a)连接到所述声光晶体层(14)。

使用具有沿着Z轴的光轴和至少一个声光晶体层的第一声光偏转器用光束扫描的方法

技术领域

[0001] 本发明的目的涉及一种使用具有沿Z轴的光轴和至少一个声光晶体层的第一声光偏转器用光束扫描的方法。

背景技术

[0002] 扫描方法,特别是三维激光扫描方法在生物样品的研究中起着重要作用,在此期间,生物样品的结构、荧光标记物的分布以及细胞的表面受体等都被标出。

[0003] 已知的扫描方法通常使用三维激光扫描显微镜,其可以是共聚焦显微镜或双光子显微镜。在共聚焦显微镜技术中,针孔被放置在检测器的前面以过滤掉来自显微镜物镜的焦平面以外的平面的光。通过这种方式,可以在位于各种深度的样品(例如,生物样品)中创建平面图像。

[0004] 双光子激光扫描显微镜以较低的光子能量但较高强度的激光来操作,因此必须同时吸收两个光子才能激发荧光团。随后,可以用检测器检测发射的荧光光子。

[0005] 在前述技术的情况下,例如也可以通过用步进电机移动显微镜台来实现三维扫描,但是该方法由于其缓慢性和机械复杂性而较少用于实践中。因此,在检查生物样品时,不是移动样品,而是移动激光束的焦点使得在XY平面中偏转激光束,并且通过沿Z轴移动物镜来控制焦平面的深度。

[0006] 存在用于使激光束偏转的几种已知技术。通常将装配到振镜扫描器或声光偏转器的偏转反射镜用作偏转元件。Kaplan等人: (“具有非常快的聚焦扫描能力的声光透镜(Acoustic-optical lens with very fast focus scanning)”,《光学快报》,第26卷,第14期,2001年7月15日)呈现了由两个声光偏转器构成的系统,通过该系统不仅可以在XY平面上移动焦点的位置,而且聚焦的深度也可以沿构成Z轴的光轴变化,而无需在Z方向上移动物镜或台。根据描述,通过改变在声光偏转器中生成的、具有随时间而改变的频率的波(啁啾信号)的扫动率来改变聚焦的深度。

[0007] 在专利号US 8,559,085中公开使用上述原理的三维扫描系统,在这种情况下使用依次布置的声光偏转器来移动焦点的位置。通过调节偏转器中生成的声波的频率差来执行XY平面中焦点的移动,而随在偏转器中创建的啁啾信号的扫动率来改变Z轴方向上的焦点的位置。由此,可以实际上独立地改变焦点的X、Y和Z坐标。

[0008] 在扫描样品时,聚焦的光束扫描样品的二维或三维范围以进行检查。尽管声光偏转器是非常快速的装置,使用该声光偏转器可以非常快速(甚至在10至20微秒以下)地将焦斑定位到期望的位置,但是在小焦斑和大量样品的情况下用单个焦斑扫描是费时的过程。

[0009] 其他问题由以下事实呈现:声光偏转器仅能够在给定频率范围内生成啁啾信号,因此聚焦到给定深度所需的给定扫动率啁啾信号只可能必须保持有限的时间段。图1描绘了用根据现有技术的方法生成的啁啾信号的频率的时间依赖性。在典型的布置中,生成的啁啾信号的持续时间 τ 近似为30微秒。在连续啁啾信号的边界上创建的焦点的强度和大小

不足以创建可以易于检测到的荧光激发。当相关联的声波实质上填充偏转器的照明孔径时,每个啁啾信号都适当地偏转光束。公认的是,具有 τ 的持续时间的啁啾信号能够偏转光束以产生适当的荧光信号达近似 $\tau/3$ 的持续时间,换言之,在图1所示的方式,在等于 $2\tau/3$ 的持续时间内在两个相继(依次)发射的啁啾信号之间光束的偏转是不适当。该“空闲时间”显著增加扫描所需的时间。

发明内容

[0010] 本发明的目的是提供没有根据现有技术的解决方案的缺点的声光扫描方法,特别是提供能够比迄今为止已知的解决方案更快地扫描的声光扫描方法。

[0011] 本发明基于以下认识:通过在声光偏转器中创建还在时间上重叠的若干相继的声学啁啾信号,可以在样品中生成具有适当强度而不会中断穿过声光偏转器的光束的荧光信号。

[0012] 本发明还基于以下认识:通过在声光偏转器中创建若干声学啁啾信号以实质上同时地形成生成的叠加的声波,穿过偏转器的光束可以被分束成若干束,并被偏转到各个方向上,从而可以减少扫描时间。

[0013] 在本发明的含义内,该任务通过根据下文所述的方法来解决。

[0014] 本发明提供了一种使用具有沿着Z轴的光轴和至少一个声光晶体层的第一声光偏转器用光束扫描的方法。在所述方法中,将所述光束指引到所述第一声光偏转器,并通过所述第一声光偏转器使所述光束沿垂直于所述Z轴的X轴偏转,在此期间通过以下使用连接到至少一个晶体层的单个电声波发生器在所述第一声光偏转器的所述至少一个声光晶体层中生成多个声学啁啾信号:将具有持续时间 τ 的第一电压信号施加至所述电声波发生器因此生成第一声学啁啾信号,然后在开始生成所述第一声学啁啾信号之后的持续时间 τ 内将第二电压信号施加至所述电声波发生器因此生成第二声学啁啾信号,其中,在所述晶体层中所述声学啁啾信号彼此部分或全部重叠。

[0015] 在下文中确定本发明的其他优选实施例。

附图说明

[0016] 将参考附图通过示例性实施例来解释本发明的更多细节,其中:

[0017] 图1是呈现使用根据现有技术的方法相继生成的啁啾信号的频率的时间依赖性的示意图,

[0018] 图2是呈现使用根据本发明的方法相继生成的啁啾信号的频率的时间依赖性的示意图,

[0019] 图3a描绘了在操作期间根据本发明的声光偏转器的示意性横截面视图,该声光偏转器含有单个声光晶体层和单个电声波发生器,

[0020] 图3b描绘了在操作期间根据本发明的声光偏转器的优选实施例的示意性横截面视图,该声光偏转器含有若干声光晶体层和每声光晶体层的单个电声波发生器,

[0021] 图3c描绘了在操作期间根据本发明的声光偏转器的另一优选实施例的示意性横截面视图,该声光偏转器含有若干声光晶体层和每声光晶体层的单个电声波发生器,

[0022] 图4a描绘了在操作期间根据本发明的声光偏转器的示意性横截面视图,该声光偏

转器含有单个声光晶体层和每声光晶体层的若干电声波发生器，

[0023] 图4b描绘了在操作期间根据本发明的声光偏转器的优选实施例的示意性横截面视图，该声光偏转器含有若干声光晶体层和每声光晶体层的若干电声波发生器，

[0024] 图4c描绘了在操作期间根据本发明的声光偏转器的另一优选实施例的示意性横截面视图，该声光偏转器含有若干声光晶体层和每声光晶体层的若干电声波发生器，

[0025] 图5a描绘了在图3a和4a所描绘的声光偏转器中生成的声波的频率的距离依赖性，

[0026] 图5b描绘了在图3b和4b所描绘的声光偏转器中生成的声波的频率-距离函数，

[0027] 图5c描述了在图3c和4c所描绘的声光偏转器中生成的声波的频率-距离函数，

[0028] 图6描绘了适配于实施根据本发明的方法的扫描系统的主要元件的示意图，

[0029] 图7描绘了使用根据本发明的扫描方法扫描的样品的示意图，

[0030] 图8描绘了使用根据本发明的扫描方法的优选实施例创建的点网格，其中已经补偿焦点在X轴和Y轴方向上的漂移，

[0031] 图9描绘了由使用根据本发明的扫描方法的另一优选实施例创建的Y轴方向上的部分构成的网格，其中焦点在Y轴方向上漂移。

具体实施方式

[0032] 在根据本发明的方法期间，光束被偏转为使得在具有Z轴光轴和至少一个声光晶体层14的第一声光偏转器15中生成声学啁啾信号30，并且光束50被指引到偏转器15中。

[0033] 在优选实施例中，光束50含有离散的激光脉冲，该脉冲的脉冲宽度在飞秒范围内，并且重复频率优选地在MHz范围内。对于本领域技术人员显而易见的是，这样的激光脉冲可以使用飞秒激光脉冲源来产生，例如，优选地使用Ti-S激光器来产生。

[0034] 图3a描绘了根据本发明的含有单个声光晶体层14的声光偏转器15的实施例的示意性横截面视图。在该实施例的情况下，将适配于生成声学啁啾信号30的单个电声波发生器17连接到晶体层14，该晶体层14从信号发生器24接收生成声学啁啾信号30所需的电压信号。

[0035] 在本发明的上下文中，声学啁啾信号30应被理解为意味着可变频率的周期性声波信号，其频率随时间连续增加或减少。啁啾信号是线性的或是非线性的，这取决于啁啾信号的频率随时间的变化是线性的还是非线性的。通常在声光偏转器15中使用线性啁啾信号30，以便产生固定的焦斑。例如，在专利文献号W02013/102771A1中处理了在声光偏转器中非线性啁啾信号的使用。

[0036] 由波发生器17生成的声学啁啾信号30穿过声光晶体层14，由于声光晶体层的效应沿传播的方向创建不断变化的折射率分布。穿过填充有声学啁啾信号30的声光晶体层14的初始准直光束50的偏转的部分（该部分与啁啾信号30的传播方向成一角度）将在离开声光晶体层14时是会聚的（被聚焦）或是发散的，这取决于啁啾信号30的频率是随时间增加或是减少。更精确地，在晶体层14中创建的啁啾信号30的频率随时间增加的情况下，换言之扫频率为正，穿过晶体层14的光束50的偏转的部分将是会聚的，换言之，它将聚焦。然而，当在晶体层14中生创建的啁啾信号30的频率随时间减少时，换言之扫频率为负，则穿过晶体层14的光束50的偏转的部分变得发散，并且在没有其他聚焦光学元件的干预的情况下不形成焦斑。如果啁啾信号30的扫频率为零（其对应于恒定频率谐波），则穿过晶体层14的光束的偏

转的部分保持准直,并且仅是被偏转的。如本领域技术人员显而易见的,光束50的偏转程度,换言之偏转方向的轴线,取决于在光学孔径内可测量的啁啾信号30的最大频率与最小频率(即中心频率)之间的差。

[0037] 晶体层14优选地由单晶体(例如 TeO_2 、 LiNbO_3)制成,其中由于机械应力的效应而出现折射率改变。在优选实施例中,连接到声光晶体层14的电声波发生器17含有两个电极20a、20b及在其间布置的压电板22。在两个电极20a、20b中,一个电极20a连接到声光晶体层14,而电极20a、20b连接到信号发生器24。如本领域技术人员已知的,在正在由信号发生器24周期性地改变连接到电极20a、20b的电压的情况下,使压电板22振动。压电板22将其振动传递到连接到电极20a的声光晶体层14,并且由于该作用,在与传递的振动对应的声光晶体层14中生成和传播声学啁啾信号30。

[0038] 电声波发生器17的效率通常在由最小频率 f_{\min} 和最大频率 f_{\max} 所确定的频率范围内是最优的,换言之在该范围内最适合生成声学啁啾信号30。随着由电声波发生器17创建的啁啾信号30的频率不断改变,在一段时间之后,它们的频率将必然达到频率范围的下限 f_{\min} 或上限 f_{\max} ,并且生成给定啁啾信号30将被中断。可以以落入可实现的频率范围内的频率重启生成,以创建新的声学啁啾信号30。在中断生成啁啾信号30的情况下,当生成的啁啾信号30的最后部分离开照明的光学孔径时,穿过声光晶体层14的光束50向由啁啾信号30限定的方向的偏转被终止。

[0039] 在下文中,在开始生成啁啾信号30与完成生成之间流逝的时间的长度将被称为啁啾信号30的持续时间。

[0040] 频率 f_{\min} 和 f_{\max} 可以优选地确定为使得在频率 f_{\min} 和 f_{\max} 处由波发生器17发射的声学输出下降至可以由波发生器17发射的最大声学输出的一半。换言之在频率 f_{\min} 和 f_{\max} 之间由波发生器17发射的声学输出改变为小于最大输出的50%。

[0041] 啁啾信号30的持续时间优选地长于声光偏转器15的时间孔径(time aperture),换言之长于啁啾信号30的给定相位点(诸如波前)在偏转器15的孔径之上通过的时间长度。只要由波发生器17生成的啁啾信号30的一部分完全填充偏转器15的孔径,光束50的偏转就是合适的。根据经验,具有持续时间 τ 的啁啾信号30在完全填充之前和之后在与偏转器的时间孔径相同的时间量内不会偏转整个孔径,换言之它不会适当地偏转光束。在短的啁啾信号30的情况下,时间孔径甚至可以比 $\tau/3$ 更长,换言之在这样的情况下,偏转器适当地偏转光束的持续时间小于 $\tau/3$ 。在剩余的大于 $2\tau/3$ 的时间内,换言之,当啁啾信号30刚开始在晶体层14中传播时或者当啁啾信号30从晶体层14中几乎完全消失时,偏转将无法适当地工作。

[0042] 在根据图1所示的现有技术的解决方案的情况下,在偏转器15中以一定间隔 τ 生成具有相同持续时间 τ 的啁啾信号30,换言之仅在生成先前啁啾信号30已经被中断之后才开始生成下一个啁啾信号30。以这种方式,在相继生成的啁啾信号30之间创建等于两个时间孔径的“空闲时间”,在此期间光束50的偏转将是不适当的。

[0043] 为了减少或消除上述“空闲时间”,在根据本发明的方法期间,在声光偏转器15的至少一个声光晶体层14中创建若干声学啁啾信号30,使得在声光晶体层14中生成具有 τ 的持续时间的第一声学啁啾信号30a,然后在从开始生成第一声学啁啾信号30a起计数的持续时间 τ 内,在声光晶体层14中生成第二声学啁啾信号30b。在本发明的上下文中,持续时间 τ

内的生成还包括当第二声学啁啾信号30b与第一声学啁啾信号30a实质同时生成时的情况,并且还包括当在开始生成第一声学啁啾信号30a之后的持续时间 τ 内创建第二声学啁啾信号30b时的情况。换言之,在偏转器15中生成在时间上彼此部分或全部重叠的啁啾信号30,从而在任何时候都可以在偏转器15中找到至少两个声学啁啾信号30。

[0044] 在开始生成第一声学啁啾信号30a之后的时刻 $\tau/5$ 和 $\tau/2$ 之间优选地开始生成第二声学啁啾信号30b。在图2所示的优选实施例的情况下,在时间间隔 $\tau/3$ 处生成具有相同扫动率、具有持续时间 τ 的声学啁啾信号30,以该方式,啁啾信号30在时间上彼此部分重叠。具有持续时间 τ 的第一声学啁啾信号30a在其的生成之后的时刻 $5\tau/6$ 与 $7\tau/6$ 之间(换言之对于 $\tau/3$ 的持续时间)适当地偏转光束50。在开始生成第一声学啁啾信号30a之后的时刻 $\tau/3$ 处生成第二声学啁啾信号30b,第二声学啁啾信号30b等到当通过第一声学啁啾信号30a的偏转停止时才开始适当地偏转光束50,因此将总是存在偏转器15中的啁啾信号30,该啁啾信号30充分填充偏转器15的孔径并且适当地偏转光束50。

[0045] 在优选实施例中,依次生成多于两个的啁啾信号30,使得在开始生成第二声学啁啾信号30b之后的持续时间 τ 内生成第三声学啁啾信号30c,使得在开始生成第一声学啁啾信号30a之后的时刻 $\tau/2$ 与 $4\tau/5$ 之间,优选地在时刻 $2\tau/3$ 时,开始生成第三声学啁啾信号30c。

[0046] 可选地,可想到以下情况的实施例,连续生成的啁啾信号30的持续时间彼此不同。在这种情况下,在先前生成的啁啾信号30的生成完成之前,开始生成下一个啁啾信号30。

[0047] 在优选实施例中,使用单个电声波发生器17在偏转器15中创建声学啁啾信号30,使得具有 τ 的持续时间的第一电压信号被连接到波发生器17,通过该波发生器17在晶体层14中创建第一声学啁啾信号30a,然后在开始生成第一声学啁啾信号30a之后的 τ 的间隔内,换言之当仍在处理生成第一声学啁啾信号30a时,第二电压信号被连接到电声波发生器17,通过该电声波发生器17创建第二声学啁啾信号30b。

[0048] 可选地,可想到以下情况的实施例,使用连接到晶体层14的若干电声波发生器17a、17b创建声学啁啾信号30,使得具有 τ 的持续时间的第一电压信号被连接到第一电声波发生器17a,通过该第一电声波发生器17a生成第一声学啁啾信号,然后,在开始生成第一声学啁啾信号30a之后的间隔 τ 内,第二电压信号被连接到第二电声波发生器17b,通过该第二电声波发生器17b生成第二声学啁啾信号30b。

[0049] 在完成生成先前啁啾信号30之前开始生成下一个啁啾信号时,在每个时刻,至少两个声学啁啾信号30在偏转器15的晶体层14中传播。

[0050] 在晶体层14中传播的啁啾信号30的中间频率、扫动率和持续时间也可以可选地彼此不同。在优选实施例中,以持续时间 τ 生成具有相同的正扫动率的啁啾信号30,该啁啾信号的中间频率被选择为使得沿X轴使用第一声学啁啾信号30a将光束50聚焦在具有第一坐标X1的第一点处,并且使用第二声学啁啾信号30b将光束50聚焦具有第二坐标X2的第二点处。

[0051] 在另一优选实施例中,生成各种不同的正扫动率啁啾信号30,并且穿过声光晶体层的光束50沿Z轴被聚焦到各种深度。在另一实施例的情况下,不仅啁啾信号30的正扫动率不同,而且它们的中间频率也不同。在这种情况下,光束50不仅沿Z轴被聚焦在各个点处,而且还在沿X轴的各个点处。

[0052] 如本领域技术人员已知,含有正扫动率啁啾信号30的、用作柱面透镜的晶体层14本身能够聚焦光束50的偏转的部分,然而由此可以实现的聚焦范围是有限的。

[0053] 可选地,可想到在啁啾信号的扫动率为零或负的情况下的实施例。在优选实施例中,其他光学元件可以参与光束50的聚焦(诸如在偏转器15之后布置的物镜)。在这样的情况下,根据声学啁啾信号30的扫动率的代数符号而发散和/或会聚(或可选地平行)的离开晶体层14的光束50的偏转的部分使用在偏转器15之后布置的光学元件,优选地通过物镜来聚焦。应注意,在这些实施例的情况下,也使用偏转器15,换言之通过啁啾信号30的扫动率来控制焦点的深度,以这种方式实质上与偏转器15一起发生光束50的聚焦。

[0054] 在特别优选实施例中,生成具有持续时间 τ' 的叠加的声波31,使得生成具有 τ 的持续时间的第二声学啁啾信号30b实质上与生成具有 τ 的持续时间的第一声学啁啾信号30a同时开始。在本发明的上下文中,叠加的声波31意味着由若干声学啁啾信号30构成的声波,其中啁啾信号30在时间和空间上完全重叠,换言之它们的持续时间、时域和空域端点是相同的。为了清楚起见,应注意,叠加的声波31的持续时间 τ' 与构成它的啁啾信号30的持续时间 τ 相同。这样的叠加的声波31可以通过单个波发生器17以以下方式来创建:单独地创建形成叠加的声波31的啁啾信号30的电压信号被同时施加到电极20a、20b。

[0055] 在另一实施例的情况下,使用若干波发生器17生成叠加的声波31,所有的波发生器都连接到晶体层14(见图3b和3c)。在该实施例的情况下,通过晶体层14中的每个波发生器17同时创建啁啾信号30,从而创建叠加的声波31。

[0056] 形成叠加的声波31的啁啾信号30根据它们的频率轮廓(扫动率和中间频率)同时偏转光束50。偏转还包括光束50的单独部分的偏转,换言之意味着光束50的聚焦,或者可选地创建发散或准直的光束。

[0057] 在图3a所示的实施例的情况下,生成含有正扫动率啁啾信号30的叠加的声波31,通过该啁啾信号30,光束50沿X轴被分成至少两个光束并在不同方向上偏转。

[0058] 图5a示出了在根据图3a的声光晶体层14中创建的形成叠加的声波31的啁啾信号30的频率的空间分布。在本实施例的情况下,对于每个创建的啁啾信号30适用的是,在彼此相等距离处的任意两个点之间的频率差是恒定的,换言之可以将恒定的线性函数拟合到距离-频率函数。自然地,可以使用另一种类型的控制来创建非线性频率函数(例如,以便沿着给定的轨迹移动焦点)。

[0059] 在优选实施例中,在声光偏转器15的至少一个声光晶体层14中连续地创建若干叠加的声波31,使得在声光晶体层14中生成具有持续时间 τ' 的第一叠加的声波31a,然后在从开始生成第一叠加的声波31a开始计数的持续时间 τ' 内,在声光晶体层14中生成第二叠加的声波31b。

[0060] 在开始生成第一叠加的声波31a之后的时刻 $\tau'/5$ 与 $\tau'/2$ 之间优选地开始生成第二叠加的声波31c。在特别优选实施例中,以间隔 $\tau'/3$ 生成持续时间 τ' 叠加的声波31,以该方式叠加的声波31在时间上彼此部分重叠。

[0061] 在优选实施例的情况下,连续生成多于两个的叠加的声波31,使得在开始生成第二叠加的声波31b之后的持续时间 τ' 内生成第三叠加的声波31c,使得在开始生成第一叠加的声波31a之后的时刻 $\tau'/2$ 与 $4\tau'/5$ 之间,优选地在时刻 $2\tau'/3$ 处,开始生成第三叠加的声波31c。

[0062] 在特别优选实施例的情况下,声光偏转器15'含有至少两个声光晶体层14a、14b,并且至少一个声光发生器17a、17b连接到它们中的每一个,并且邻近的晶体层14a、14b由声学隔离器18隔开(参见图3b、3c、4b、4c)。在声光晶体层14之间布置的电声波发生器17的厚度优选地小于 $100\mu\text{m}$,以便尽可能少地遮挡穿过光束50,但是,自然地,可想到在晶体层14之间布置的波发生器17的厚度大于 $100\mu\text{m}$ 的实施例。隐含地,声学隔离器18被设计成具有最小的厚度。可选地,可想到在偏转器15'含有N个相等厚度的晶体层14的情况下的实施例。然后,在适当的信号生成的情况下,在与在声光偏转器15含有具有相同孔径大小的单个(未分割)声光晶体层14的情况下的时间相比较的 $1/N$ 的时间内,可以在声光偏转器15的整个孔径之上在声光偏转器15'生成声学啁啾信号30。

[0063] 声学隔离器18的功能是防止连接到邻近晶体层14的波发生器17在另一晶体层14中生成声波。在优选实施例的情况下,声学隔离器18含有气隙或吸声材料。由波发生器17生成的啁啾信号30不能在填充有稀薄气体(诸如空气)的气隙中或在吸收性材料中传播,由此可以防止在声光晶体层14中传播的啁啾信号30通行到由声学隔离器18分隔开的邻近声光晶体层14中。应注意,尽管偏转器15'的波发生器17和声学隔离器18遮挡光束50的它们的相应部分,但是这种遮挡将仅会导致在确定穿过偏转器15'的光束50的亮度分布的点扩散函数(PSF)中略微减少最大强度以及出现低强度、辅助的焦点。最大强度的减少导致略微的激励减少,换言之在投射到给定聚平面上的、穿过声光偏转器15'的光束50的强度分布中,几乎不会出现模糊效果(obscuring effects)。

[0064] 在优选实施例的情况下,通过在第一声光晶体层14a中使用连接到其的第一电声波发生器17a生成第一声学啁啾信号30a,并且通过在第二声光晶体层14b中使用连接到其的第二电声波发生器17b生成第二声学啁啾信号30b,在声光偏转器的声光晶体层14a、14b中创建声学啁啾信号30。在特别优选实施例的情况下,通过在声光晶体层14a中使用连接到其的第一电声波发生器17a生成含有若干啁啾信号30的第一叠加的声波,并且通过在第二声光晶体层14b中使用连接到其的第二电声波发生器17b生成含有若干啁啾信号30的第二叠加的声波。

[0065] 在另一实施例的情况下,第一电声波发生器17a含有若干电声波发生器单元17a'并且第二声波发生器17b也含有若干电声波发生器单元17b'。在本发明的上下文中,波发生器单元17a'、17b'应理解为意味着连接到晶体层的、起波发生器17作用的装置,换言之能够在晶体层14中生成声学啁啾信号30的装置。

[0066] 在该实施例的情况下,使用单独电声波发生器单元17a'、17b'创建形成叠加的声波31的单独啁啾信号30。

[0067] 在图3b和图4b呈现的实施例的情况下,在含有多个声光晶体层14的声光偏转器15'中创建叠加的声波,该声光晶体层14填充声光偏转器15'的整个孔径,使得使用属于给定声光晶体层14a、14b的电声波发生器17a、17b,在声光晶体层14a、14b中创建落在给定声光晶体层14a、14b上的叠加的声波31的空间部分。这适用于形成以这种方式创建的叠加的声波31的所有啁啾信号30,使得在彼此相同距离处的任意两个点之间的频率差是恒定的,换言之可以将恒定的线性函数拟合到距离-频率函数(在波发生器17和声学隔离器18的位置上具有间断)(参见图5b)。因此,在该实施例中,在具有若干晶体层14a、14b的偏转器15'中,除了由电声波发生器17和声学隔离器18在邻近晶体层14之间引起的间断以外,具有 τ 持

续时间的叠加的声波31——类似于在含有单个晶体层14的偏转器15中生成的、填充整个孔径的叠加的声波31——可以生成且可以上述呈现方式使它们在时间上彼此重叠。

[0068] 在图3c和图4c所呈现的实施例的情况下,使用属于单独声光晶体层14a、14b的电声波发生器17a、17b在偏转器15' 的各种声光晶体层14中创建彼此独立的叠加的声波信号31,换言之,叠加的声波31一起不形成填充偏转器15' 的整个孔径的叠加的声波31。因此,在该实施例的情况下,可选地,在各个晶体层14a、14b中生成的叠加的声波31甚至可以含有不同数量的啁啾信号30(见图5c)。

[0069] 在图3a、3b和3c所呈现的实施例的情况下,使用连接到每个晶体层14a、14b的单独电声波发生器17a、17b来以以下方式创建叠加的声波31:分离叠加的电压信号连接到电声波发生器17a、17b,换言之创建形成叠加的声波31的啁啾信号30的电压信号分量实质上同时连接到电声波发生器17a、17b。在图4b和4c所呈现的实施例的情况下,连接到晶体层14a、14b的电声波发生器17a、17b含有若干波发生器单元17a'、17b',并且使用单独电声波发生器17a'、17b' 来创建形成叠加的声波31的单独啁啾信号30。

[0070] 根据本发明的方法适用于以非常短的持续时间照明生物样品40,特别是神经细胞,这涉及将光束50聚焦在样品40上的一个或若干点上,从而诱导双光子发射。然后通过移动一个或多个焦点来完全扫描样品40。

[0071] 图6示出了适配于执行根据本发明的方法的、具有沿Z轴的光轴的声光扫描系统10的主要元件的示意图。声光扫描系统10优选地含有适配于创建光束50的光源,适配于使光束50沿着垂直于Z轴的X轴偏转的偏转元件12以及具有至少一个声光晶体层14的声光偏转器15,该声光晶体层14适配于使光束50沿垂直于Z轴和Y轴的X轴偏转。适配于产生创建声学啁啾信号30的电压信号的信号发生器24被连接到偏转器15的波发生器17。

[0072] 偏转元件12优选地含有振镜扫描反射镜和/或一个或两个声光偏转器35,如本领域技术人员已知(例如专利号US 8,559,085),由此穿过偏转元件12的光束50可以沿着Y轴偏转。在优选实施例的情况下,还通过信号发生器24来控制偏转器35。

[0073] 在根据本发明的方法的示例性实施例的第一步骤中,产生光束50,优选地激光束,并用光源52发射光束,然后将发射的光束50传输到偏转元件12。可选地,可以将改善光束50的特性的光学元件放置在光源52和偏转元件12之间,例如法拉第隔离器、色散补偿元件、激光束稳定模块、束展宽装置、角度色散补偿装置等,如对于本领域技术人员显而易见的。

[0074] 光束50沿着垂直于光束50的光轴的Y轴偏转。在优选实施例中,在偏转器35中生成具有以下频率轮廓的啁啾信号30:

$$[0075] \quad U(t) = U(0) \cos \left(2\pi \left(f(0)t + \frac{f(t) - f(0)}{f(\tau)} t^2 \right) \right)$$

[0076] 其中t表示时间,U是电压振幅,f(t)是瞬时频率。在以下公式中

$$[0077] \quad f(t) = f(0) + \frac{f(\tau) - f(0)}{\tau} t$$

[0078] 其中τ是信号重复周期——即啁啾脉冲的长度,f(0)是初始值,f(T)是最终啁啾频率,如本领域技术人员已知的。在特定实施例的情况下,例如,具有四个输出通道,一个触发输入和一个触发输出以及功率放大器的DA4300-12-4M-PCI信号发生器可以用作信号发生器24,但是自然也可以想到其他类型的信号发生器。

[0079] 在该方法的下一个示例性步骤中,从偏转元件12出射的光束50进入偏转器15,光束50通过偏转器15偏转。在特别优选实施例的情况下,使用由信号发生器24控制且连接到声光晶体层14的一个或多个电声波发生器17,在声光晶体层14中创建含有优选具有相同扫动率的至少两个啁啾信号30的叠加的声波31,以该方式,光束50被分束成至少两个束,并且沿X轴在不同的方向上被偏转。

[0080] 形成叠加的声波31的啁啾信号30根据其频率轮廓使光束50的分离的部分分别偏转。正扫动率啁啾信号30将光束50的部分聚焦在XZ平面内的各个点处。负扫动率啁啾信号30使初始平行光束50发散,换言之,不创建焦点。

[0081] 在优选实施例的情况下,在将光束50的部分聚焦在至少两个点时,离开声光偏转器15的发散或会聚光束用在声光偏转器15之后的光学元件——优选地物镜——来聚焦。焦点的X轴坐标可以随着啁啾信号30的中间频率而改变,并且焦点的Z轴坐标可以随着啁啾信号的扫动率(sweep rate)而改变(参见图5a、5b、5c)。

[0082] 在根据本发明的方法的下一个步骤中,使用偏转元件12使进入声光偏转器15的光束50沿垂直于X轴和Z轴的Y轴移位,因此焦点同时沿彼此平行的直线移动。使用以该方式创建的平行线,可以扫描样品40的二维表面或可选切片(平面横截面)(参见图7)。沿Y轴的位移可以是连续的或间歇的。在前者的情况下,焦点在位移期间描述了连续的直线,而在后者的情况下,焦点创建了可以拟合直线的一系列点。

[0083] 如本领域技术人员已知的,由偏转器15在一个或多个方向上偏转的光束50沿X轴连续移位(漂移)。由于漂移的作用,焦点将以与X轴和Y轴成一角度沿直线移动,这优选地在扫描期间被考虑。可以例如通过使用至少两个依次布置的声光偏转器15来消除上述漂移,以便将光束50的部分聚焦在若干点处,其中生成具有相同频率轮廓但优选地不同中间频率且沿相反方向移动的叠加的声波31。

[0084] 在特别优选实施例的情况下,以根据本发明的方法以三维执行扫描,使得通过适当地选择形成叠加的声波31的啁啾脉冲信号30的扫动率,将穿过声光偏转器15的光束50沿Z轴聚焦在不同深度处。在该实施例的情况下,通过沿Y轴移动光束50,焦点将沿三维表面移动。在优选实施例的情况下,通过适当地选择啁啾信号30的中间频率和扫动率来控制沿X轴和Y轴的焦点的坐标,使得焦点沿Y轴的偏转,换言之在扫描期间,落在样品40的三维表面上。在特别优选实施例的情况下,沿着Z轴的焦点的坐标在扫描期间连续变化以对应于待检查的样品40的表面。

[0085] 在另一优选实施例的情况下,扫描系统10的偏转元件12含有沿Y轴偏转的两个声光偏转器Y1、Y2,以及沿X轴偏转的两个声光偏转器X1、X2。具有相同扫动率的啁啾信号30连接到偏转元件12的每个偏转器Y1、Y2,并且连接到沿X轴偏转的偏转器X1。在偏转器X2中创建含有若干啁啾信号30的叠加的声波,在这种情况下啁啾信号30的扫动率与在偏转器Y1、Y2、X1中创建的叠加的声波31的啁啾信号30的扫动率相同。在沿同一轴线偏转的声光偏转器中生成优选地在相反方向上行进的啁啾信号30,换言之,例如,偏转器Y1和Y2的啁啾信号30在彼此相反的方向上行进。由于在偏转器X1、X2、Y1、Y2中生成的啁啾信号30的扫动率相同,并且在沿Y轴偏转的偏转器对Y1和Y2中以及在沿X轴偏转的偏转器对X1和X2中生成沿相反方向行进的啁啾信号30,所以创建的焦点既不会沿X轴也不会沿Y轴漂移。焦点沿着Y轴被聚焦到根据在偏转器对Y1和Y2中创建的啁啾信号30的中间频率差确定的位置,因此在扫描

过程中创建图8所示的点网格。创建的点网格的点(焦点)位于同一深度Z处,因此在恒定平面Z上进行扫描。在完全扫描给定平面(即用点网格覆盖)之后,偏转器X1、X2、Y1、Y2中的每一个中的啁啾信号30的扫动率被改变,并且在与先前平面平行的不同深度的平面中再次执行扫描。这样允许跨平面完全扫描三维样品。

[0086] 另一优选实施例与上述实施例的不同之处仅在于,啁啾信号30以与连接到偏转器X1、X2、Y1的啁啾信号30的扫动率不同的扫动率连接到偏转器Y2,由于其作用,焦点将沿Y轴漂移。在这种情况下,将绘制一个由Y方向上的部分组成的网格,而不是点网格(参见图9)。

[0087] 可选地,在上述所有实施例的情况下,可以使用声光偏转器15,该声光偏转器含有优选地由声学隔离器18分离的至少两个声光晶体层14a、14b。在这种情况下,使用连接到第一声光晶体层14a的第一电声波发生器17a在第一声光晶体层14a中创建含有若干啁啾信号30的第一叠加的声波31a,并且使用第二电声波发生器17b在第二声光晶体层14b中创建含有若干啁啾信号30的第二叠加的声波31b,该第二声光发生器17b连接到第二声光晶体层14b且布置在第一声光晶体层14a与第二声光晶体层14b之间。

[0088] 在不脱离由所附权利要求确定的保护范围的情况下,对以上公开的实施例的各种修改对于本领域技术人员将是显而易见的。

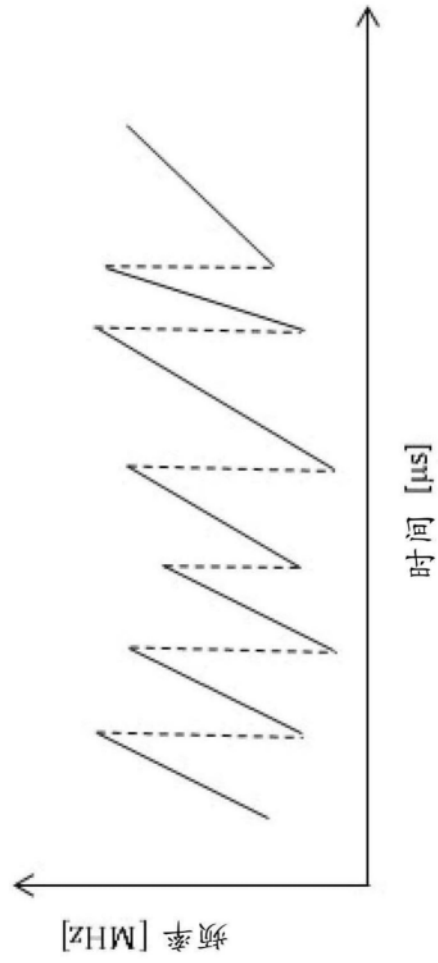


图1

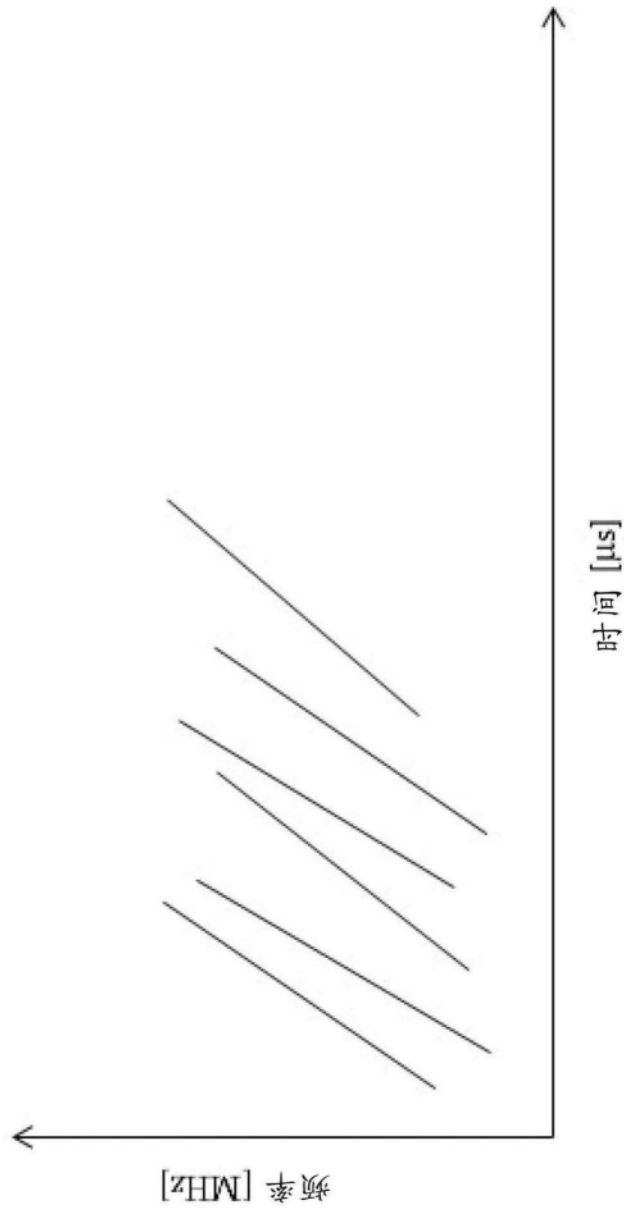


图2

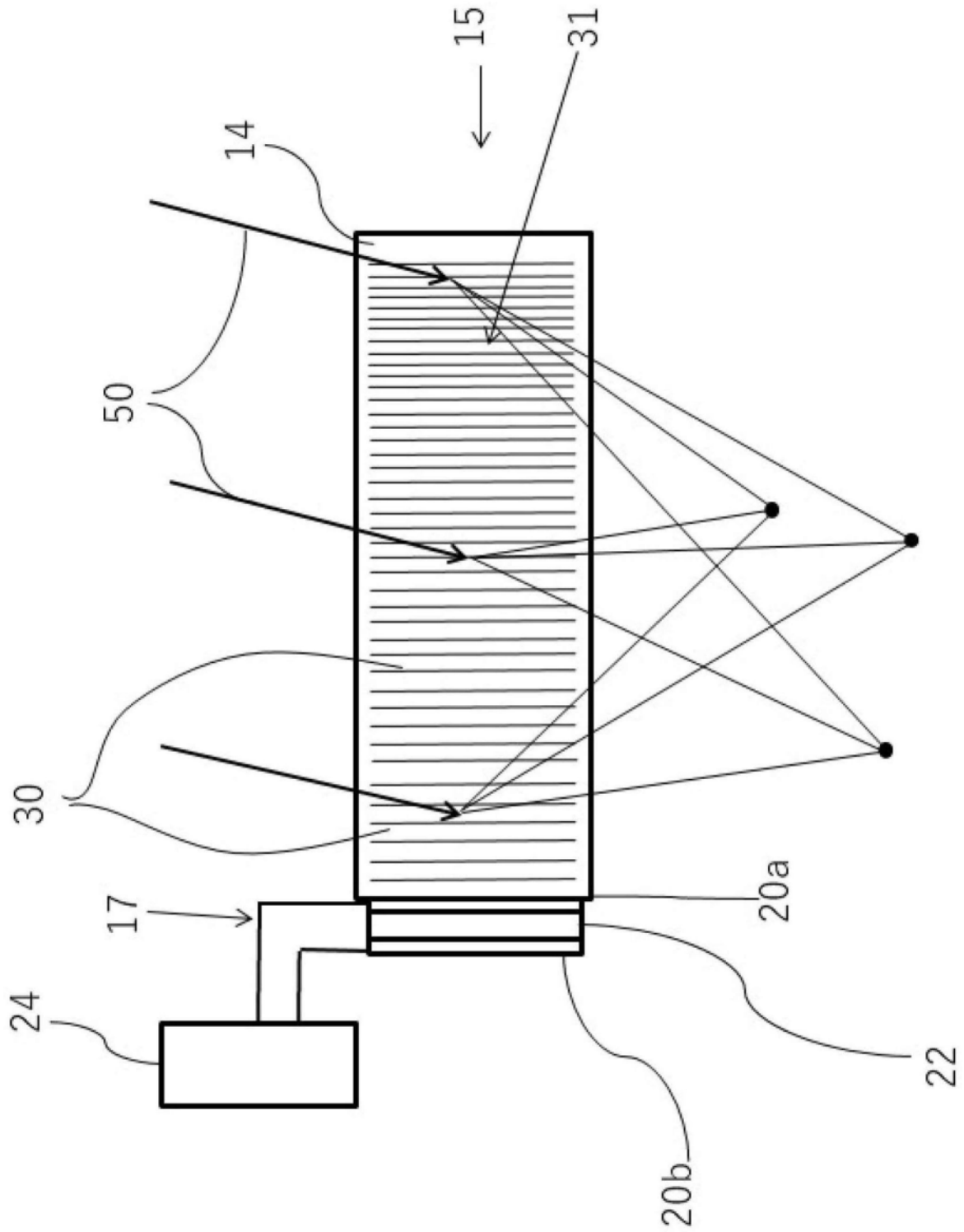


图3a

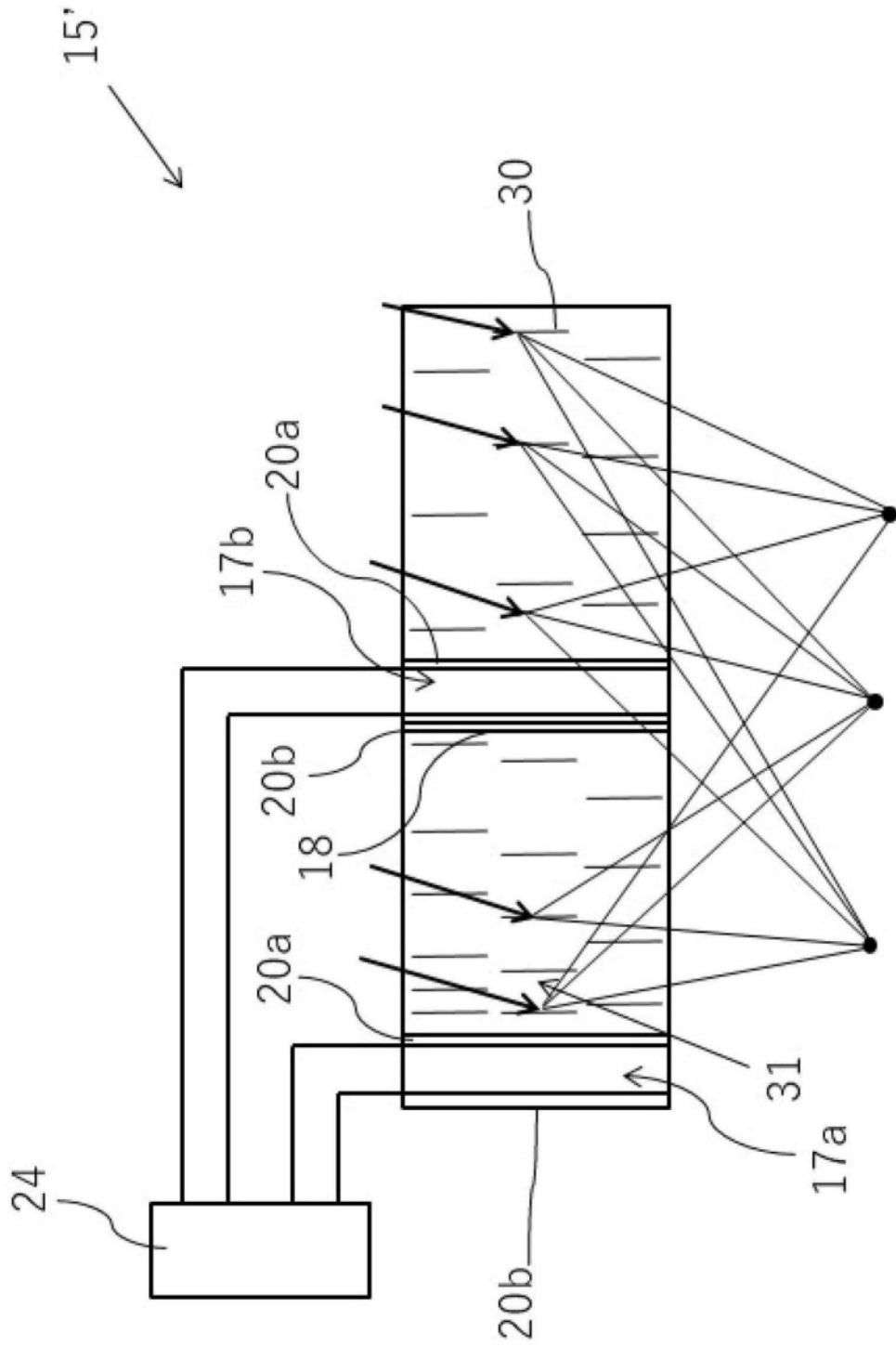


图3b

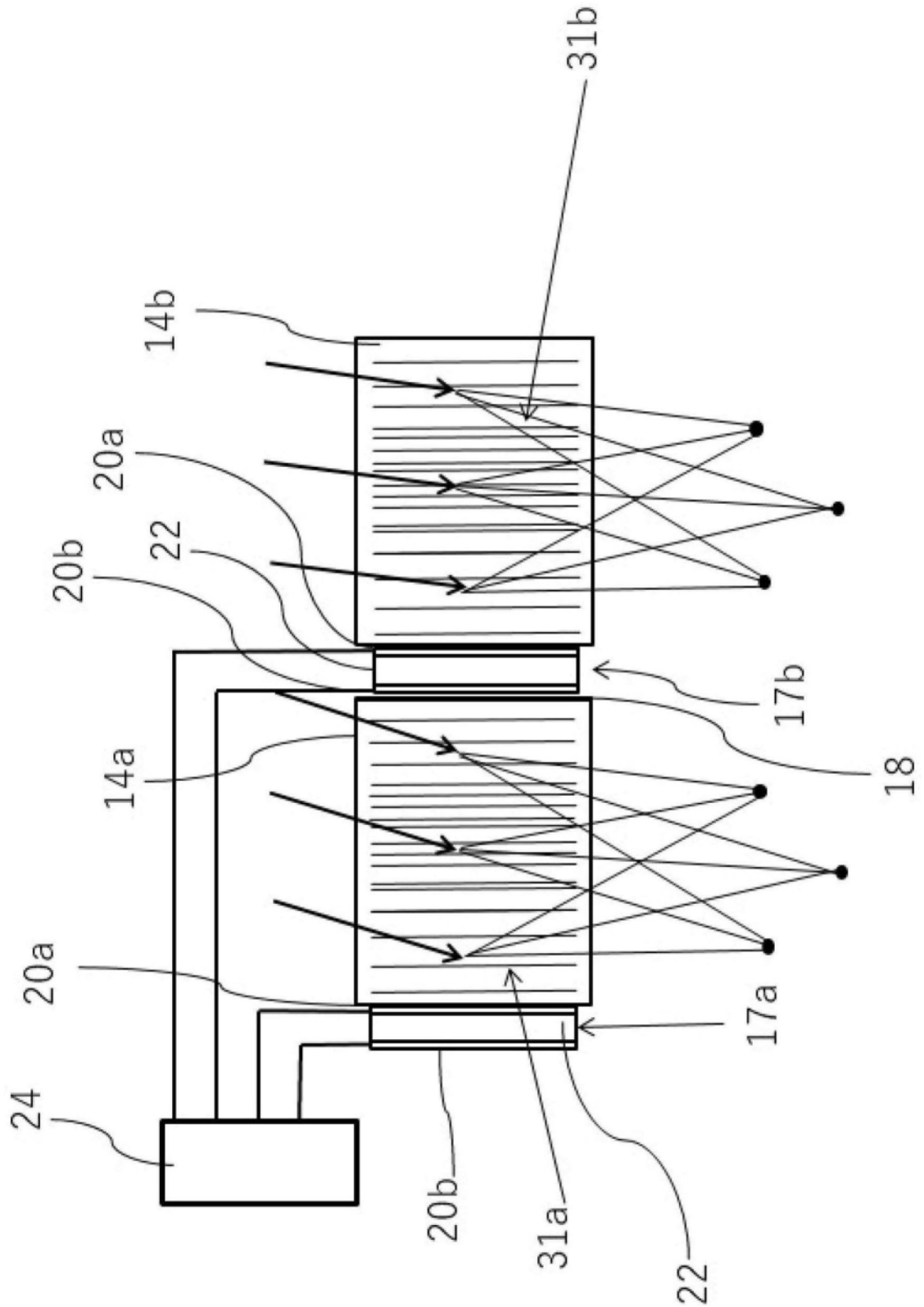


图3c

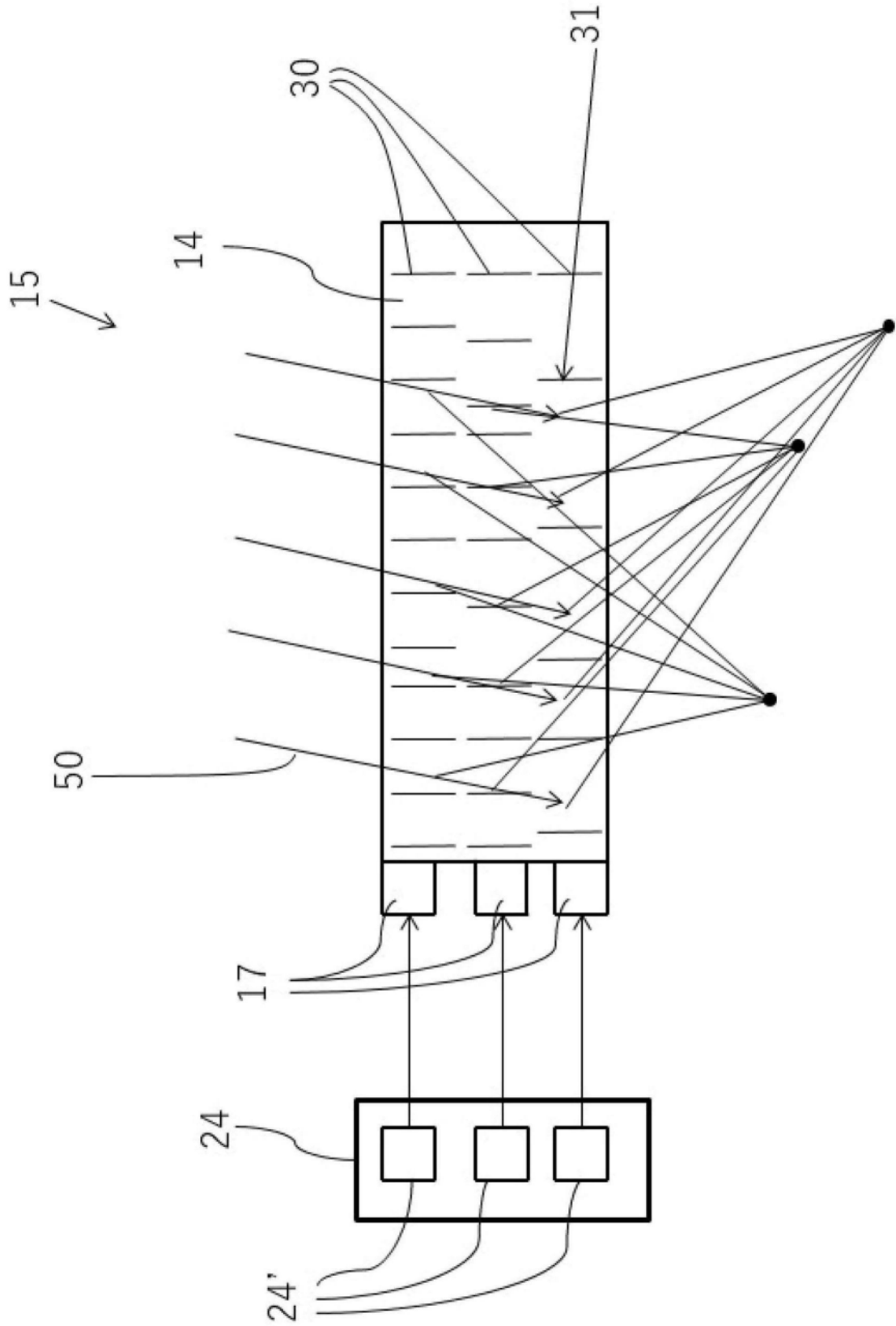


图4a

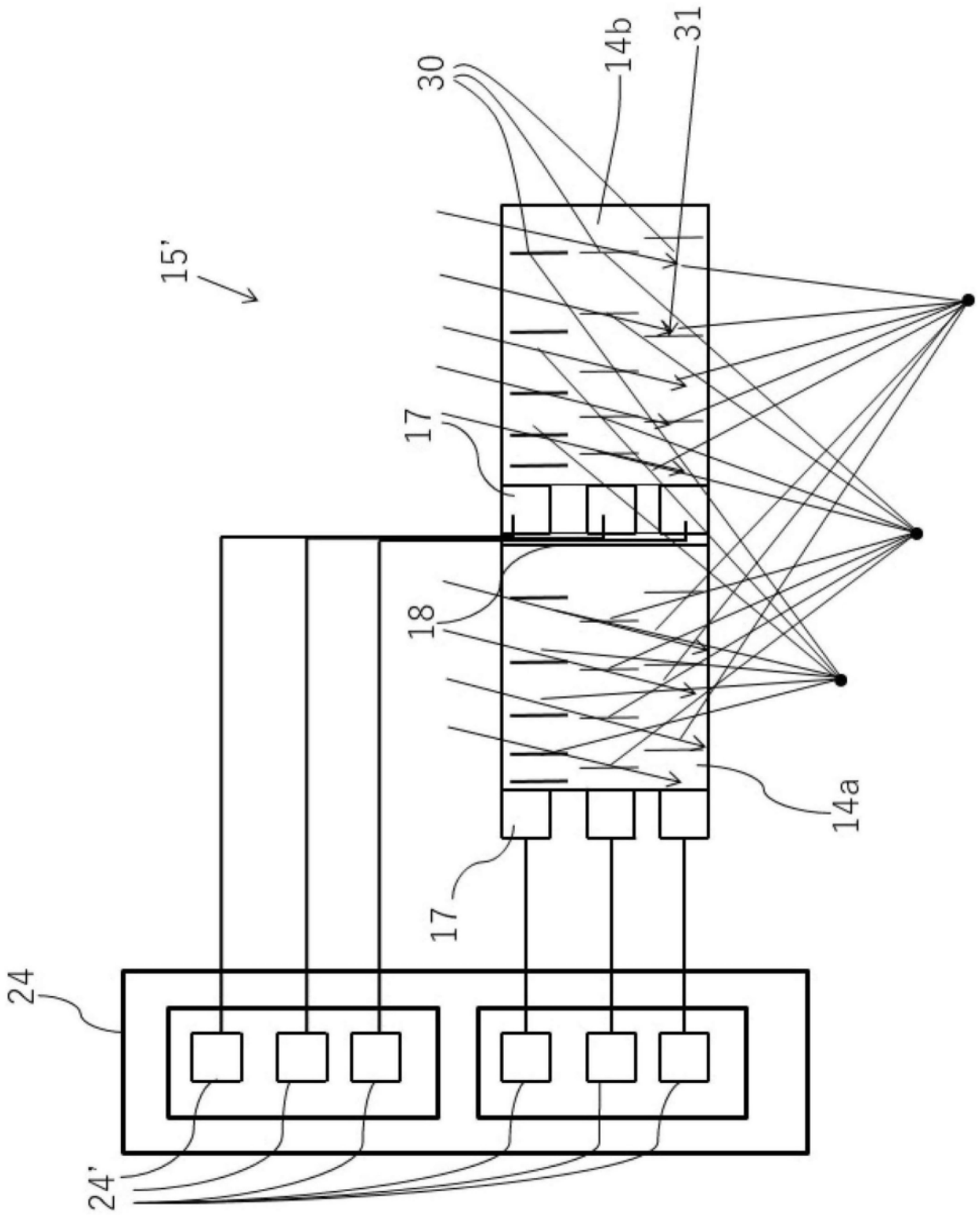


图4b

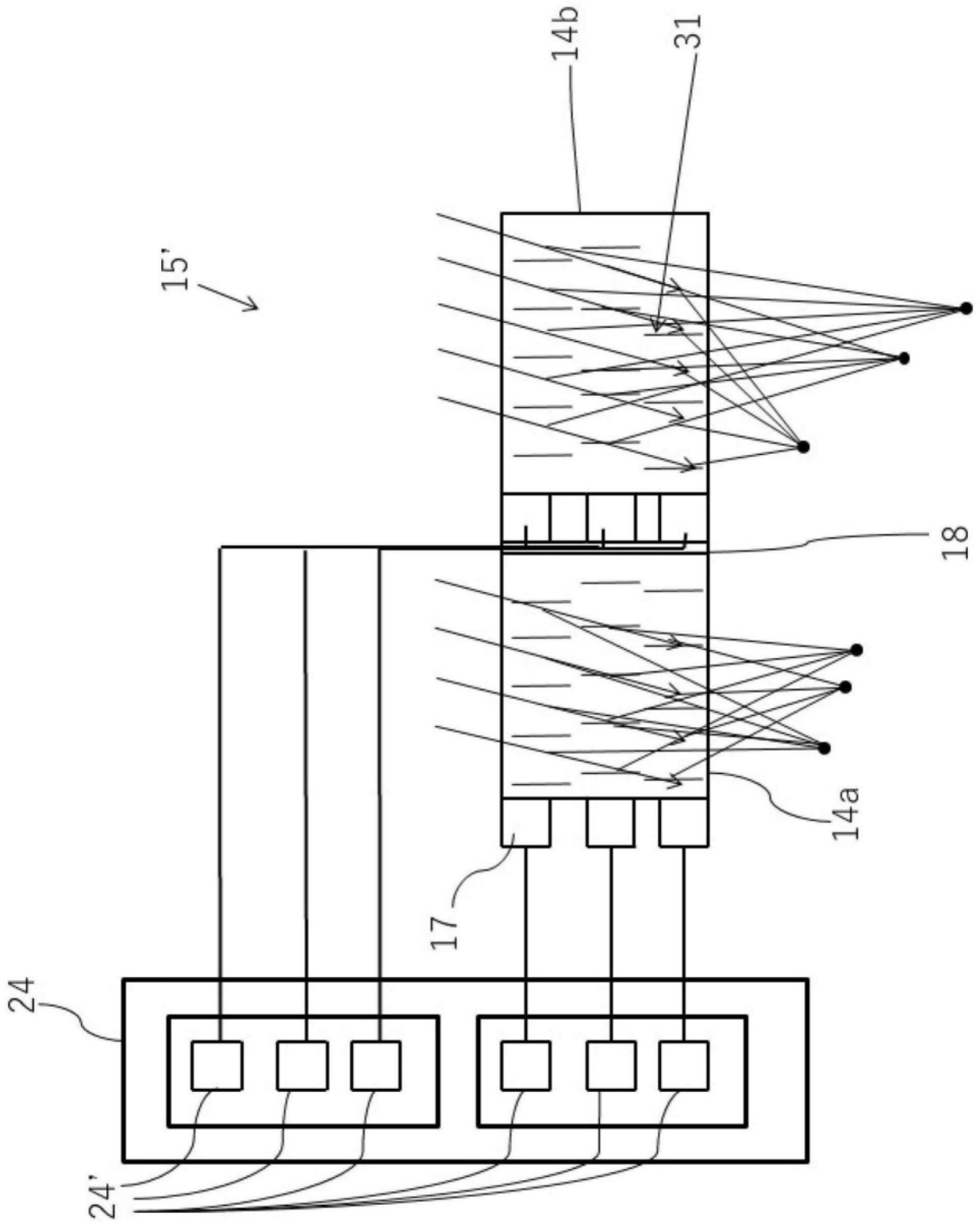


图4c

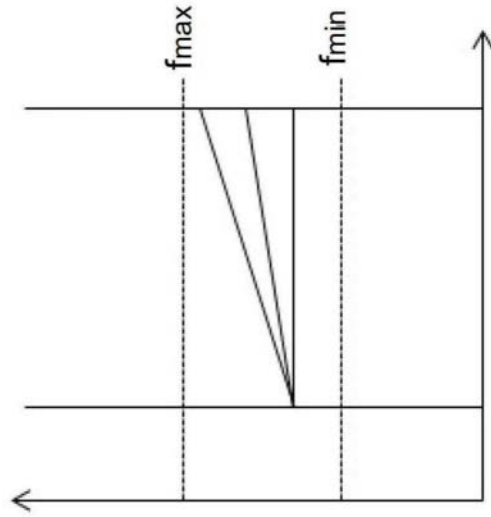


图5a

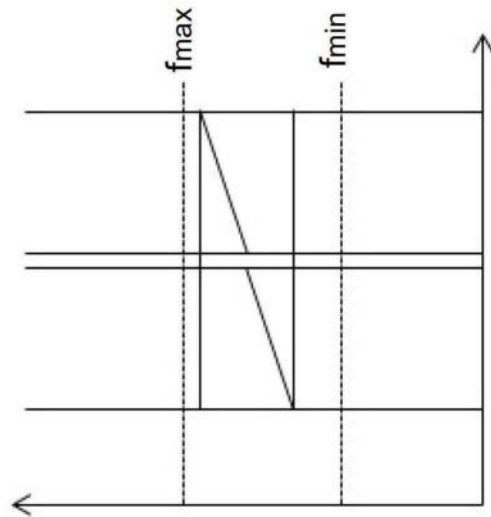


图5b

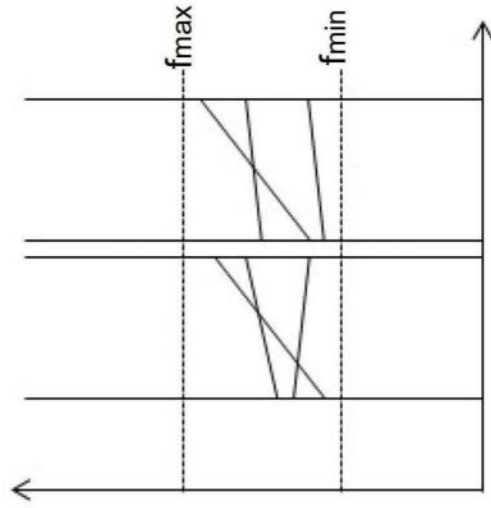


图5c

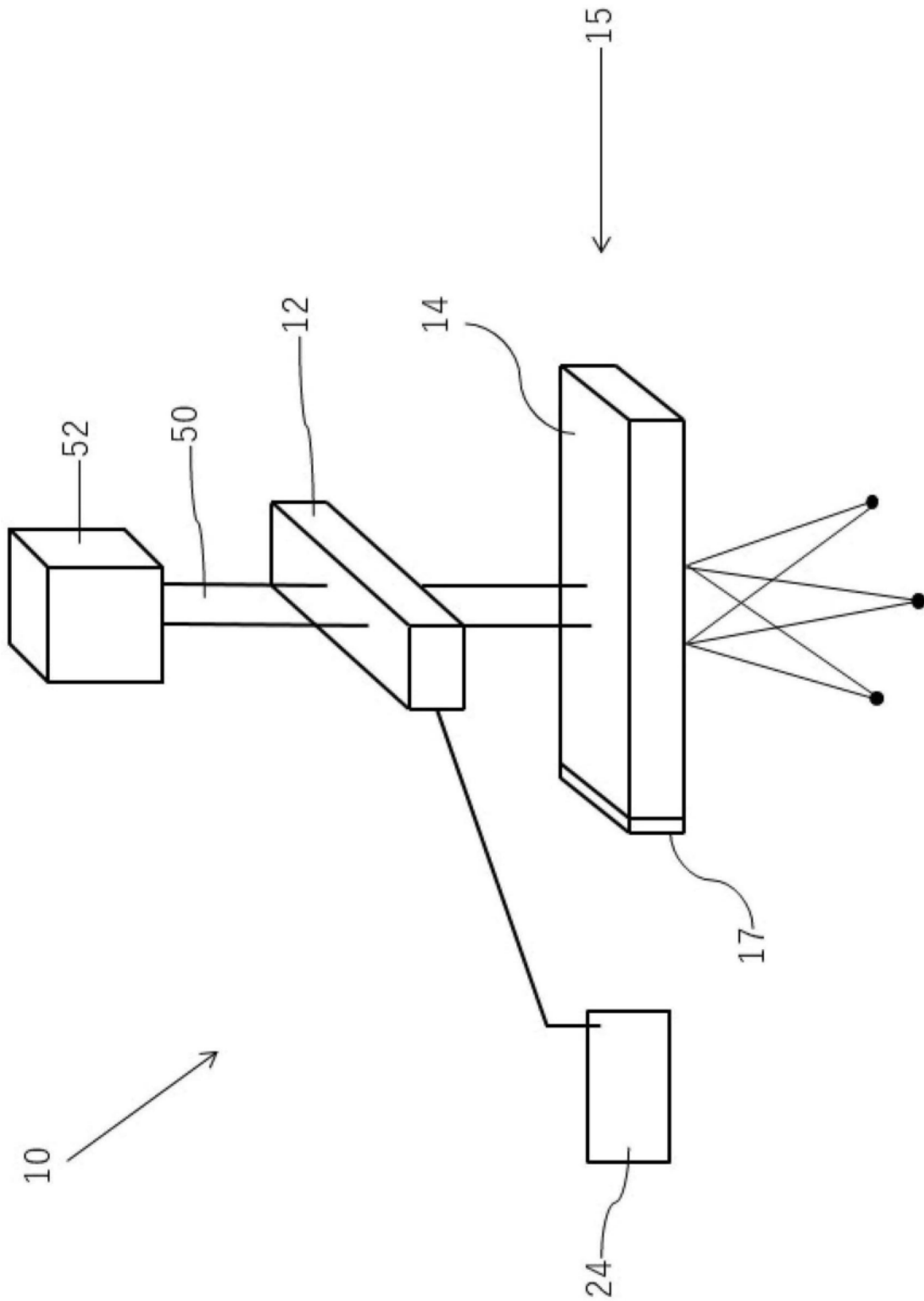


图6

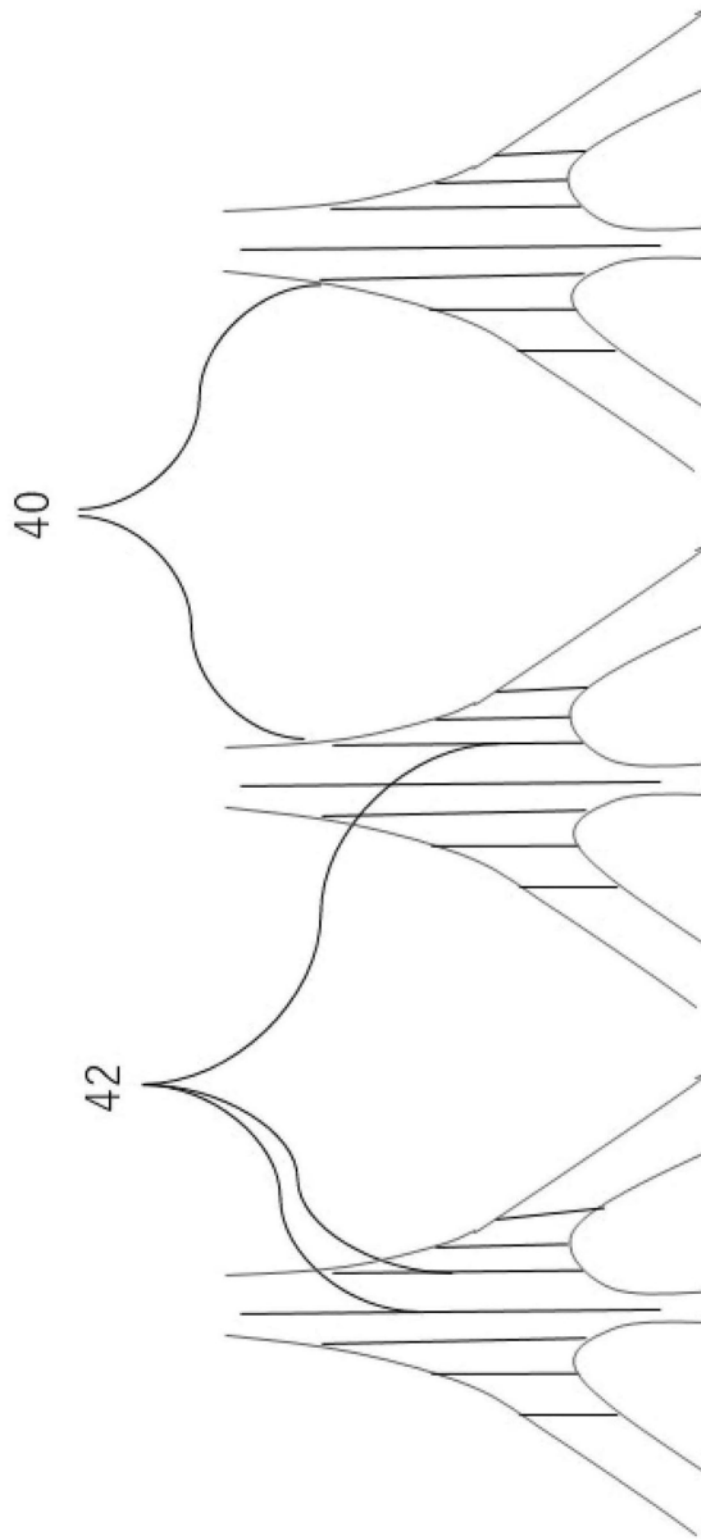


图7

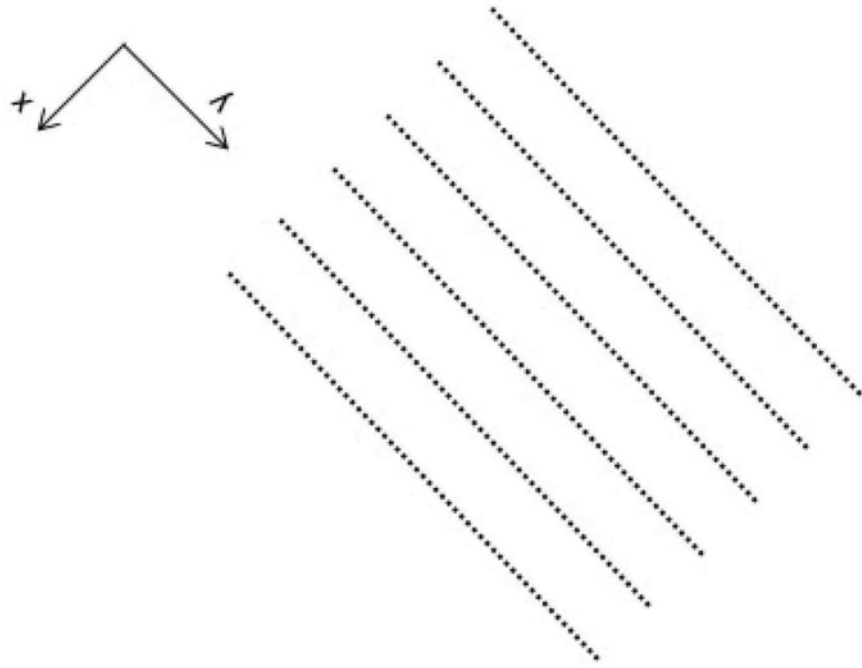


图8

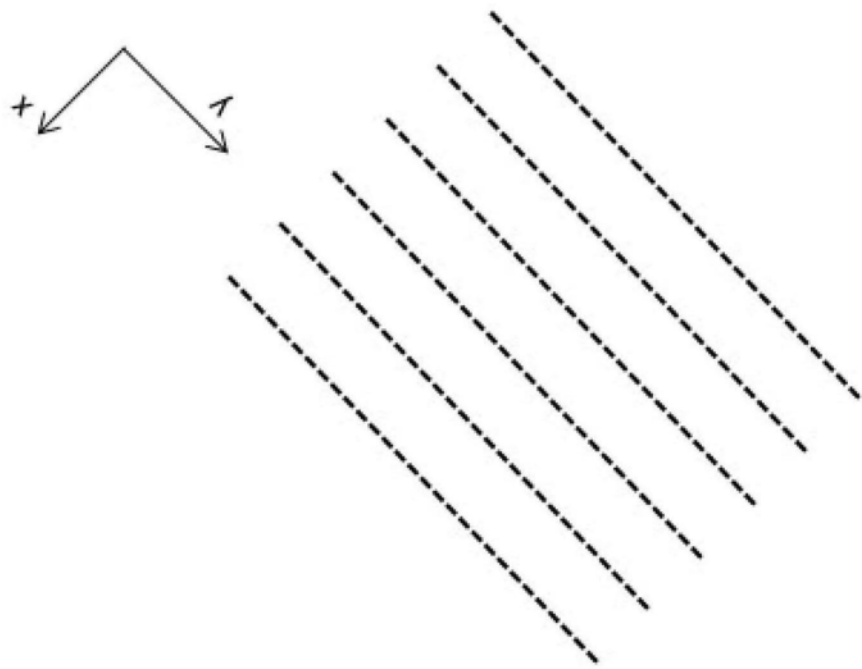


图9