

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
16. November 2017 (16.11.2017)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2017/194742 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation:  
**G02B 21/00** (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2017/061470

(22) Internationales Anmeldedatum:  
12. Mai 2017 (12.05.2017)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
10 2016 108 987.7  
13. Mai 2016 (13.05.2016) DE

(71) Anmelder: **LEICA MICROSYSTEMS CMS GMBH**  
[DE/DE]; Ernst-Leitz-Str. 17-37, 35578 Wetzlar (DE).

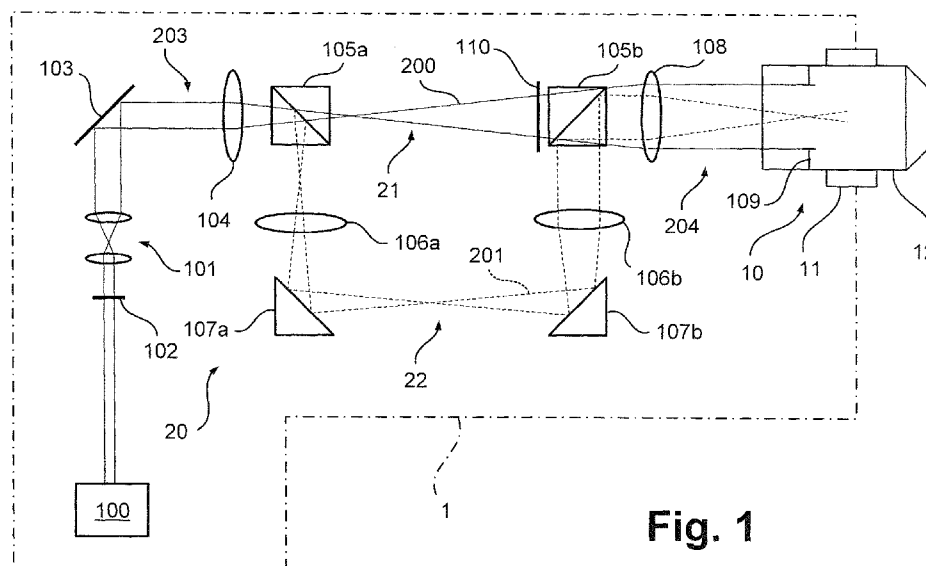
(72) Erfinder: **SCHUMANN, Christian**; Am Zollstock 24,  
35392 Gießen (DE). **WEISS, Albrecht**; Schillerstr. 18,  
35440 Linden (DE). **BAUER, Tobias**; Kronthaler Str. 28,  
61462 Königstein (DE). **GONSCHIOR, Cornell Peter**;  
Saarstr. 19, 61169 Friedberg (DE).

(74) Anwalt: **FROMMBERGER, Moritz**; Kudlek & Grunert  
Patentanwälte, 33 04 29, Postfach 33 04 29, 80064 München  
(DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,  
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,  
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM,  
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,  
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP,  
KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,  
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,

(54) Title: OPTICAL SCANNING MICROSCOPE AND EXAMINATION METHOD

(54) Bezeichnung: OPTISCHES RASTERMIKROSKOP UND UNTERSUCHungsverfahren



**Fig. 1**

(57) **Abstract:** The invention relates an optical scanning microscope (1, 2, 3), which comprises an illumination system (20) having a light source portion (100-103) emanating from a light source (100), a first polarization-dependent beam splitter (105a) and a second polarization-dependent beam splitter (105b) and a first optical channel (21) and a second optical channel (22) between the first beam splitter (105a) and the second beam splitter (105b), wherein the light source portion (100-103) is configured to emit a first illumination light beam (203) with a first main polarization direction and a second main polarization direction, the first beam splitter (105a) is configured to at least predominantly guide the light with the first main polarization direction into the first channel (21) and the light with the second main polarization direction into the second channel (22), the second beam splitter (105b) is configured form

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eingehen (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe h)

a second illumination light beam (24) from the light with the first main polarization direction from the first channel (21) and from light with the second main polarization direction from the second channel (22), and the channels (21, 22) are configured to emit the light with the first main polarization direction from the first channel (21) and the light with the second main polarization direction from the second channel (22) with different convergent angles. A corresponding method is likewise subject matter of the invention.

**(57) Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft ein optisches Rastermikroskop (1, 2, 3), das ein Beleuchtungssystem (20) mit einem von einer Lichtquelle (100) ausgehenden Lichtquellenabschnitt (100–103), einem ersten und einem zweiten polarisationsabhängigen Strahlteiler (105a, 105b) und einem ersten und einem zweiten optischen Kanal (21, 22) zwischen dem ersten und dem zweiten Strahlteiler (105a, 105b) umfasst, wobei der Lichtquellenabschnitt (100–103) dazu eingerichtet ist, einen ersten Beleuchtungslichtstrahl (203) mit Licht einer ersten und einer zweiten Hauptpolarisationsrichtung abzustrahlen, der erste Strahlteiler (105a) dazu eingerichtet ist, das Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung zumindest überwiegend in den ersten (21) und das Licht der zweiten Hauptpolarisationsrichtung zumindest überwiegend in den zweiten Kanal (22) zu führen, der zweite Strahlteiler (105b) dazu eingerichtet ist, aus Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung aus dem ersten (21) und aus Licht der zweiten Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten Kanal (22) einen zweiten Beleuchtungslichtstrahl (204) zu bilden, und die Kanäle (21, 22) dazu eingerichtet sind, das Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung aus dem ersten (21) und das Licht der zweiten Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten Kanal (22) mit unterschiedlichen Konvergenzwinkeln auszustrahlen. Ein entsprechendes Verfahren ist ebenfalls Gegenstand der Erfindung.

5

## Optisches Rastermikroskop und Untersuchungsverfahren

### Beschreibung

10 Die Erfindung betrifft ein optisches Rastermikroskop und ein entsprechendes Untersuchungsverfahren gemäß den Oberbegriffen der unabhängigen Patentansprüche.

### Stand der Technik

15 In der modernen Funktionsbiologie ist häufig die Untersuchung dynamischer Prozesse in biologischen Systemen von Interesse. Für diese ist eine räumliche und zeitliche Interaktions- bzw. Manipulationsmöglichkeit mikroskopischer Proben von zentraler Bedeutung. Hierzu sind Verfahren wie FRAP (Fluorescence Recovery after Photobleaching), FLIP (Fluorescence  
20 Loss in Photobleaching), Uncaging und Photoactivation bekannt. In derartigen Verfahren wird die zu untersuchende Probe zur Manipulation typischerweise mittels eines fokussierten Laserstrahls abgerastert, wobei eine (in einem orthoskopischen Strahlengang eingesetzte) Rastervorrichtung zum Einsatz kommt.

Gleichzeitig ist eine Detektion des Experimentverlaufs in einem Weitfeldmikroskop mit  
25 optischer Schnittmöglichkeit wünschenswert. Eine Möglichkeit dazu ist beispielsweise die TIRF-Mikroskopie (Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy), bei der ein Laserstrahl in die Eintrittspupille des Objektivs fokussiert wird, um eine flächige Ausleuchtung des Objektfelds zu erhalten. Diese Ausleuchtung erfolgt unter einem einstellbaren Winkel, der durch die Position des Laserstrahls in der Eintrittspupille bestimmt ist. Bei Beleuchtung  
30 unter einem Winkel, der nicht durch die Grenzfläche zwischen dem Probendeckglas und einer wässrigen Probe propagiert, erhält man Totalreflexion und eine dünne Ausleuchtung der Grenzfläche durch evaneszente Wellen. Zur genauen Einstellung des Beleuchtungswinkels ist ein Positionskontrollsystem des Laserstrahls in der Eintrittspupille vonnöten. Auch hierzu lässt sich eine (in einem konoskopischen Strahlengang eingesetzte)  
35 Rastervorrichtung benutzen.

Zu weiteren Details sei auf einschlägige Fachliteratur verwiesen, beispielsweise bezüglich der TIRF-Mikroskopie auf D. Axelrod, Traffic 2, 764-774 (2001) und bezüglich der

rasterbasierten Manipulation von mikroskopischen Proben mittels Rastersystemen  
konfokaler Mikroskope auf E. A. J. Reits, Nat. Cell Biol. 3, E145-E147 (2001). Zur  
Positionierung des Laserstrahls in der Eintrittspupille sei beispielsweise auf die  
DE 10 2006 033 306 A1 verwiesen.

5

Zur Umschaltung zwischen orthoskopischem und konoskopischem Strahlengang lässt sich  
beispielsweise gemäß der US 7 187 494 B2 eine Bertrandlinsenordnung in den  
Strahlengang eines orthoskopischen Rastersystems fahren, um ein konoskopisches  
Rastersystem zu verwirklichen. Dies hat jedoch den Nachteil, dass die mechanische  
10 Bewegung von Spiegeln, Prismen und Linsensystemen aufwendig und zudem inkompatibel  
mit den in der Aufgabenstellung geforderten Schaltzeiten unterhalb der relevanten  
biologischen Zeitskalen, z.B. von weniger als 10 ms ist.

In der US7573635B2 ist die Umschaltung mit Hilfe des Rastersystems selbst beschrieben.

15

Das beschriebene Verfahren erfordert jedoch ein aufwendiges Spiegelsystem, weil die  
Rasterspiegeleinheit im konoskopischen Strahlengang mit mehreren Reflexionen genutzt  
wird, was ein entsprechendes System kompliziert und aufwendig in der Handhabung macht.

Aus der EP 1 752 809 B2 ist ein Vereinigungssystem für orthoskopische und konoskopische  
20 Beleuchtungsstrahlengänge bekannt, das jedoch den Nachteil besitzt, dass für eine  
konoskopische Beleuchtung immer nur ein Teil der Objektivpupille zugänglich ist.

Aus der DE 10 2013 222 562 A1 ist eine Beleuchtungseinrichtung bekannt, mittels derer sich  
ein orthoskopischer und ein konoskopischer Strahlengang bereitstellen lässt. Hierbei wird ein  
25 Ringspiegel eingesetzt. Ein zentral durch den Ringspiegel, d.h. dessen unverspiegelten  
Bereich oder eine entsprechende Aussparung, tretender Beleuchtungslichtstrahl wird zur  
Erzeugung des orthoskopischen Strahlengangs genutzt. Ein peripher auf den Ringspiegel,  
d.h. dessen verspiegelten Bereich, treffender Beleuchtungslichtstrahl wird zur Erzeugung des  
konoskopischen Strahlengangs genutzt. Es kann also auch hier jeweils nur ein Teil des  
30 Strahlengangquerschnitts zur Erzeugung des orthoskopischen Strahlengangs bzw. des  
konoskopischen Strahlengangs genutzt werden.

Aufgabenstellung der vorliegenden Erfindung ist vor diesem Hintergrund unter anderem,  
sowohl die Kontrolle eines Laserstrahls in der Pupille als auch das Abrastern eines  
35 Laserstrahls im Objektfeld eines Mikroskops durch ein und dieselbe Rastereinheit zu  
bewerkstelligen. Weiterhin soll die Umschaltung zwischen beiden Verwendungen der

Rastereinheit schnell von stattem gehen, so dass bei typischen Bildaufnahmeraten von ca. 100 Hz in mikroskopischen Lebendzelleexperimenten keine Unterbrechungen entstehen.

#### Offenbarung der Erfindung

5

Erfindungsgemäß werden ein optisches Rastermikroskop und ein Verfahren zum Untersuchen einer Probe unter Verwendung eines derartigen Rastermikroskops mit den Merkmalen der unabhängigen Patentansprüche vorgeschlagen. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind Gegenstand der Unteransprüche sowie der nachfolgenden Beschreibung.

10

Der vorliegenden Erfindung liegt die grundsätzliche Idee zugrunde, in einem Rastermikroskop zu jedem Zeitpunkt sowohl einen orthoskopischen als auch einen konoskopischen Strahlengang verfügbar zu halten und die Umschaltung zwischen diesen beiden Strahlengängen mittels polarisierender Strahlteilungen zu realisieren. Auch die Kombination beider Strahlengänge wird mittels polarisationsoptischer Mittel bewerkstelligt.

15

Die vorliegende Erfindung schlägt vor diesem Hintergrund ein optisches Rastermikroskop vor, das ein Beleuchtungssystem mit einem von einer Lichtquelle ausgehenden Lichtquellenabschnitt, einem ersten und einem zweiten polarisationsabhängigen Strahlteiler und einem ersten und einem zweiten optischen Kanal zwischen dem ersten und dem zweiten Strahlteiler umfasst. In den Lichtquellenabschnitt des optischen Rastermikroskops ist eine Rastereinheit bekannter Art integriert, wie sie grundsätzlich bekannt ist und auch nachfolgend noch erläutert wird.

20

25

Ist hier von einem „polarisationsabhängigen Strahlteiler“ (engl. Polarizing Beam Splitter, PBS; in bestimmten Bauformen landläufig auch als „Polwürfel“ bezeichnet) die Rede, sei hierunter ein optisches Element verstanden, das Licht unterschiedlicher Polarisationsrichtungen unterschiedlich ablenkt. Beispielsweise kann ein polarisierender Strahlteiler Licht einer ersten Polarisationsrichtung unabgelenkt passieren lassen, Licht einer zweiten, unterschiedlichen Polarisationsrichtung hingegen in einem durch die Bauform und die optischen Materialien definierten Winkel ablenken. Hinsichtlich des fachmännischen Wissens zu polarisierenden Strahlteilern und die hierbei zugrunde liegenden physikalischen Grundlagen sei der Einfachheit halber auf einschlägige Fachliteratur, z.B. Bennett, J.M.: Polarizers, Kapitel 3 in: Bass, M.E. et al. (Hrsg.): Handbook of Optics. Fundamentals, Techniques & Design, Band 2, New York: McGraw-Hill, 2. Auflage 1995, verwiesen.

30

35

In dem vorgeschlagenen optischen Rastermikroskop ist der Lichtquellenabschnitt dazu eingerichtet, einen ersten Beleuchtungslichtstrahl mit Licht einer ersten und einer zweiten Hauptpolarisationsrichtung abzustrahlen.

- 5 Unter „Licht einer ersten Hauptpolarisationsrichtung“ bzw. „Licht einer zweiten Hauptpolarisationsrichtung“ wird dabei im Rahmen der vorliegenden Erfindung Licht verstanden, das überwiegend oder ausschließlich Lichtwellen umfasst, die in einer ersten Polarisationsrichtung bzw. einer zweiten Polarisationsrichtung vorliegen oder deren Polarisationsrichtungen jeweils in einem eng begrenzten Winkelbereich von beispielsweise  $\pm$   
10  $10^\circ$ ,  $\pm 5^\circ$  oder  $\pm 1^\circ$  liegen. Durch eine unvollständige Polarisierung können geringere Anteile auch in einer oder mehreren anderen Polarisationsrichtungen vorliegen. Die Formulierung, wonach entsprechendes Licht „überwiegend oder ausschließlich“ Lichtwellen umfasst, die in der ersten Polarisationsrichtung bzw. der zweiten Polarisationsrichtung vorliegen, gibt dabei beispielsweise an, dass weniger als 25%, 10%, 5% oder 1% in einer abweichenden  
15 Polarisationsrichtung vorliegen. Die erste und die zweite Polarisationsrichtung sind orthogonal zueinander ausgerichtet. Hierbei schließt die orthogonale Ausrichtung sowohl zirkular polarisiertes Licht ein als auch linear polarisiertes Licht, das in zwei Polarisationsrichtungen vorliegt
- 20 Das Licht der ersten und der zweiten Hauptpolarisationsrichtung kann dabei gemäß der vorliegenden Erfindung gleichzeitig, d.h. zu einem Zeitpunkt in ein und demselben Beleuchtungslichtstrahl, bereitgestellt werden. Ist dies der Fall, umfasst der Beleuchtungslichtstrahl entsprechendes Beleuchtungslicht eines Polarisationszustands, der einer Linearkombination orthogonaler Hauptpolarisationsrichtungen entspricht. Der  
25 Beleuchtungslichtstrahl kann jedoch auch nacheinander mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung und dann mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung abgestrahlt werden, wie auch nachfolgend erläutert. In letzterem Fall umfasst der Beleuchtungslichtstrahl in einem ersten Zeitraum Licht mit überwiegend oder ausschließlich der ersten Hauptpolarisationsrichtung und in einem zweiten Zeitraum Licht mit überwiegend oder  
30 ausschließlich der zweiten Hauptpolarisationsrichtung. Das Licht muss aber auch hier nicht notwendigerweise vollständig polarisiert sein; zur Ausblendung von Restlicht einer abweichenden Polarisationsrichtung kann beispielsweise eine unten erläuterte Anordnung mit optischen Verschlüssen verwendet werden.
- 35 Die grundsätzliche erfinderische Idee, nämlich den orthoskopischen und den konoskopischen Strahlengang gleichzeitig bereitzuhalten, wird durch die Verwendung der unterschiedlichen optischen Kanäle zwischen dem ersten und dem zweiten Strahlteiler

umgesetzt. Hierzu ist vorgesehen, dass der erste Strahlteiler in dem erfindungsgemäßen Rastermikroskop dazu eingerichtet ist, das Licht des ersten Beleuchtungslichtstrahls mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung zumindest überwiegend in den ersten Kanal und das Licht des ersten Beleuchtungslichtstrahls mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung zumindest  
5 überwiegend in den zweiten Kanal zu führen. An dem ersten Strahlteiler erfolgt also eine unterschiedliche „Behandlung“ des Lichts mit der ersten bzw. der zweiten Hauptpolarisationsrichtung.

Ein zwischen dem Lichtquellenabschnitt und dem ersten Strahlteiler in einem gemeinsamen  
10 Strahlengangabschnitt verlaufender Beleuchtungslichtstrahl wird also polarisationsabhängig in den ersten bzw. den zweiten Kanal überführt. Auf diese Weise lässt sich das Licht des ersten Kanals unterschiedlich zu dem Licht des zweiten Kanals beeinflussen, beispielsweise bereits alleine durch unterschiedliche optische Längen der beiden Kanäle und/oder durch unterschiedliche optische Elemente in den beiden Kanälen.

15 Das erfindungsgemäß in die zwei Kanäle geführte Licht mit der ersten bzw. der zweiten Hauptpolarisationsrichtung wird anschließend wieder in einen gemeinsamen Strahlengangabschnitt geführt. Hierzu ist der zweite Strahlteiler erfindungsgemäß dazu eingerichtet, aus Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung aus dem ersten Kanal und  
20 aus Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten Kanal einen zweiten Beleuchtungslichtstrahl zu bilden.

Wird hierbei beispielsweise mittels des Lichtquellenabschnitts in einem ersten Zeitraum der Beleuchtungslichtstrahl überwiegend oder ausschließlich mit Licht der ersten  
25 Hauptpolarisationsrichtung abgestrahlt, tritt dieses Licht überwiegend oder ausschließlich in den ersten Kanal und aus diesem in den zweiten Strahlteiler ein. Der zweite Strahlteiler bildet dann den zweiten Beleuchtungslichtstrahl überwiegend oder ausschließlich aus dem Licht aus dem ersten Kanal. Der zweite Beleuchtungslichtstrahl umfasst auf diese Weise überwiegend oder ausschließlich das Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung. In  
30 einem zweiten Zeitraum, in dem mittels des Lichtquellenabschnitts der Beleuchtungslichtstrahl überwiegend oder ausschließlich mit Licht der zweiten Hauptpolarisationsrichtung abgestrahlt wird, tritt dieses Licht über den ersten Strahlteiler überwiegend oder ausschließlich in den zweiten Kanal und aus diesem in den zweiten Strahlteiler ein. Der zweite Strahlteiler bildet auf diese Weise den zweiten  
35 Beleuchtungslichtstrahl überwiegend oder ausschließlich aus dem Licht der zweiten Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten Kanal.

Wird durch den Lichtquellenabschnitt hingegen der Beleuchtungslichtstrahl derart abgestrahlt, dass er gleichzeitig Licht der ersten und der zweiten Hauptpolarisationsrichtung umfasst, tritt das Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung über den ersten Strahlteiler überwiegend oder ausschließlich in den ersten und das Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung überwiegend oder ausschließlich in den zweiten Kanal über. Um zu vermeiden, dass sowohl das Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung als auch das Licht der zweiten Hauptpolarisationsrichtung gleichzeitig aus dem ersten und dem zweiten Kanal in den Strahlteiler eintritt und der zweite Beleuchtungslichtstrahl auf diese Weise mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung und der zweiten Hauptpolarisationsrichtung gleichzeitig gebildet wird, was ggf. nicht erwünscht ist, können in dem ersten Kanal und/oder dem zweiten Kanal jeweils geeignete optische Verschlüsse ausgebildet sein, die jeweils entweder den ersten Kanal oder den zweiten Kanal optisch blockieren. Auch auf diese Weise kann sichergestellt werden, dass mittels des zweiten Strahlteilers der zweite Beleuchtungslichtstrahl immer lediglich aus Licht einer der beiden Hauptpolarisationsrichtungen gebildet wird.

Wie bereits angesprochen, sind erfindungsgemäß die beiden genannten optischen Kanäle dazu eingerichtet, das Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung aus dem ersten Kanal und das Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten Kanal mit unterschiedlichen Konvergenzwinkeln auszustrahlen.

Beispielsweise kann der erste Kanal dazu eingerichtet sein, das Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung in Form eines divergenten Lichtstrahls bzw. Lichtbündels auszustrahlen und der zweite Kanal kann dafür eingerichtet sein, das Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten Kanal in Form eines kollimierten Lichtstrahls auszustrahlen. Hierzu sind, wie bereits erwähnt, unterschiedliche optische Weglängen und/oder optische Elemente in den beiden Kanälen vorgesehen. Grundsätzlich kann eine parallele Bereithaltung eines orthoskopischen und eines konoskopischen Strahlengangs jedoch auch auf andere Weise als hier und nachfolgend erläutert erfolgen.

Vorteilhafterweise ist in einem entsprechenden Rastermikroskop der Lichtquellenabschnitt dazu eingerichtet, den ersten Beleuchtungslichtstrahl in Form eines kollimierten Lichtbündels bereitzustellen, d.h. eine Lichtquelle wird ins Unendliche abgebildet. Durch die beiden unterschiedlichen Kanäle kann eine Rastereinheit jedoch später entweder entlang des orthoskopischen Strahlengangs in die Objektvupille und von dort durch ein objektseitig telezentrisches Objektiv ins Unendliche abgebildet werden, wobei die Lichtquelle in die Probe (vordere Brennebene des Objektivs) abgebildet wird, oder die Rastereinheit wird



entlang des konoskopischen Strahlengangs in die Probe abgebildet, wobei dann wiederum die Lichtquelle im Unendlichen bleibt.

Vorteilhafterweise ist dem ersten Strahlteiler ein erstes optisches Element vorgeschaltet, das  
5 dazu eingerichtet ist, den in Form des kollimierten Lichtbündels bereitgestellten  
Beleuchtungslichtstrahl in Form eines konvergenten Lichtbündels in den ersten Strahlteiler  
einzustrahlen. Da dieser im Rahmen der vorliegenden Erfindung vorteilhafterweise keine  
konvergenzbeeinflussenden Eigenschaften aufweist, wird das in Form des konvergenten  
10 Lichtbündels in den ersten Strahlteiler eingestrahlte Licht aus diesem auch konvergent in die  
bereits angesprochenen Kanäle geführt. Das erste optische Element kann im einfachsten  
Fall beispielsweise in Form einer Sammellinse, gegebenenfalls mit geeigneten optischen  
Korrekturmitteln, ausgebildet sein. Es fokussiert das kollimierte Lichtbündel des  
Beleuchtungslichtstrahls in eine bildseitige Ebene des ersten optischen Elements. Auf diese  
15 Weise divergiert das unter Verwendung des ersten optischen Elements fokussierte Licht  
jenseits des Brennpunkts des ersten optischen Elements und kann auf diese Weise ohne  
weitere optische Beeinflussung beispielsweise aus dem ersten Kanal in Form eines  
divergenten Lichtbündels aus- und in den zweiten Strahlteiler eingestrahlt werden. In dem  
zweiten optischen Kanal kann ein entsprechendes, jenseits des Brennpunkts divergierendes  
20 Lichtbündel durch geeignete optische Elemente und Umlenkeinrichtungen umgelenkt,  
kollimiert, und kollimiert aus dem zweiten Kanal aus- und in den zweiten Strahlteiler  
eingestrahlt werden. Insbesondere kann in dem zweiten Kanal hierzu ein Teil eines  
Bertrandlinsensystems vorgesehen sein, wie aus der DE 10 2013 222 562 A1 bekannt. Der  
Rest des Bertrandlinsensystems wird vorteilhafterweise durch ein zweites, unten erläutertes  
25 optisches Element gebildet, das sich jenseits des zweiten Strahlteilers befindet,  
beispielsweise eine Tubuslinse.

Wie bereits erwähnt, ist vorteilhafterweise der erste Kanal dazu eingerichtet, Licht zumindest  
überwiegend divergent in den zweiten Strahlteiler einzustrahlen, und der zweite Kanal ist  
vorteilhafterweise dazu eingerichtet, Licht zumindest überwiegend kollimiert in den zweiten  
30 Strahlteiler einzustrahlen. Weil der erste Kanal überwiegend oder ausschließlich Licht mit der  
ersten Hauptpolarisationsrichtung führt, wird dieses aus dem ersten Kanal in Form eines  
divergenten Lichtbündels aus- und in den zweiten Strahlteiler eingestrahlt. Das Licht mit der  
zweiten Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten Kanal wird hingegen in Form eines  
kollimierten Lichtbündels in den zweiten Strahlteiler eingestrahlt. Entsprechendes Licht kann  
35 nach dem Passieren des zweiten Strahlteilers in jeglicher gewünschter Weise optisch  
beeinflusst werden.

Vorteilhafterweise ist insbesondere dem zweiten Strahlteiler ein bereits erwähntes zweites optisches Element nachgeschaltet, das dazu eingerichtet ist, divergent aus dem zweiten Strahlteiler ausgestrahltes Licht (mit überwiegend oder ausschließlich der ersten Hauptpolarisationsrichtung) zu kollimieren, und divergent aus dem zweiten Strahlteiler  
5 ausgestrahltes Licht (mit überwiegend oder ausschließlich der zweiten Hauptpolarisationsrichtung) zu fokussieren. Insbesondere kann es sich bei diesem zweiten optischen Element um die Tubuslinse des Rastermikroskops handeln.

Insbesondere kann entsprechend kollimiertes Licht in ein Objektiv eingestrahlt werden,  
10 wobei der Winkel, unter dem dieses kollimierte Licht in eine hintere Objektivpupille trifft, mittels einer Rastereinheit verändert werden kann. Auf diese Weise kann eine Rasterbeleuchtung und Probenmanipulation durchgeführt werden. Durch die Fokussierung des kollimierten Lichtbündels aus dem zweiten Strahlteiler in die hintere Objektivpupille kann beispielsweise eine evaneszente Beleuchtung realisiert werden, indem durch die  
15 Rastereinheit die laterale Fokuslage in der hinteren Objektivpupille beeinflusst wird. Dadurch wird der Austrittswinkel des durch das Objektiv wiederum kollimierten Lichtbündels beeinflusst, und damit der Auftreffwinkel des Lichtbündels auf die Probe bzw. die Grenzfläche zwischen Immersionsmedium bzw. Deckglas und Probe.

Besonders vorteilhaft ist die vorliegende Erfindung also im Zusammenhang mit einem optischen Rastermikroskop mit einem in einer Objektivaufnahme anbringbaren und in einer Objektivposition positionierbaren Objektiv mit einer hinteren Objektivpupille, wobei das  
20 zweite optische Element dazu eingerichtet ist, das Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung in eine Ebene der hinteren Objektivpupille zu fokussieren. Das  
25 Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung, das durch das zweite optische Element kollimiert wird, tritt hingegen in kollimierter Form durch die hintere Objektivpupille.

Wie ebenfalls bereits erwähnt, kann durch den Lichtquellenabschnitt eine gleichzeitige Bereitstellung von Licht mit der ersten und der zweiten Hauptpolarisationsrichtung oder eine  
30 Bereitstellung von Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung in einem ersten Zeitraum und Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung mit einem zweiten Zeitraum vorgenommen werden. In letzterem Fall erfolgt vorzugsweise eine schnelle Umschaltung zwischen Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung und Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung durch den verwendeten Lichtquellenabschnitt.

35 Für eine entsprechende schnelle Umschaltung zwischen Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung und Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung wird

vorteilhafterweise ein umschaltbares Verzögerungselement eingesetzt. Dieses umschaltbare Verzögerungselement kann beispielsweise eine in den Strahlengang des Lichtquellenabschnitts einschwenkbare oder im Strahlengang rotierbar angeordnete Verzögerungsplatte, beispielsweise eine  $\lambda/2$ -Platte oder mehrere entsprechender Platten, umfassen. Mit besonderem Vorteil können als Verzögerungselemente jedoch auch elektrooptische Systeme und/oder akustooptische Systeme und/oder Systeme, die auf Flüssigkristallbasis realisiert sind, zum Einsatz kommen. Entsprechende Elemente zur Bereitstellung polarisierten Lichts sind aus dem Stand der Technik grundsätzlich bekannt, so dass hierzu auf einschlägige Fachliteratur verwiesen werden kann.

Wird hingegen, wie es grundsätzlich ebenfalls möglich ist, durch den Lichtquellenabschnitt zeitgleich Licht mit zwei unterschiedlichen Hauptpolarisationsrichtungen abgestrahlt, beispielsweise indem Licht zweier unterschiedlich polarisierter Laser verwendet und in dem ersten Beleuchtungslichtstrahl zusammengeführt wird oder durch unzureichende Polarisation des Lichts entlang einer Hauptpolarisationsrichtung z. B. durch Unzulänglichkeiten der polarisationsoptischen Bauelemente, kann anstelle eines entsprechenden Verzögerungselements oder auch zusätzlich dazu ein schneller Verschluss in einem oder beiden der Kanäle vorgesehen sein. Immer dann, wenn Licht mit einer ersten Hauptpolarisationsrichtung aus dem ersten Kanal benötigt wird, wird in diesem Fall der zweite Kanal mit einem entsprechenden Verschluss gesperrt und umgekehrt. Entsprechende schnelle Verschlüsse können beispielsweise in Form von synchronisiert rotierenden Blenden oder Blendensegmente, Irisblenden, schnellen LCD-Einrichtungen, elektrooptischen Elementen und/oder akustooptischen Elementen ausgebildet sein.

In einem optischen Rastermikroskop gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind entlang des ersten Kanals optische Elemente bereitgestellt, die derart ausgebildet und angeordnet sind, dass sie ein Galilei-Fernrohr bilden, das einen oder mehrere reelle oder virtuelle Ablenkpunkte der Rastereinrichtung in die oder nahe an die Objektivpupille abbildet. Unter einem „reellen oder virtuellen Ablenkpunkt“, wird dabei ein Punkt bezeichnet, der auf einer entsprechenden Rastereinheit Licht einer Lichtquelle räumlich begrenzt („punktförmig“) ablenkt und damit einen Rasterlichtstrahl bereitstellt. Reell sind entsprechende Ablenkpunkte, wenn sie durch tatsächlich vorhandene Elemente, beispielsweise Spiegel, gebildet werden, „virtuelle“ Ablenkpunkte sind Abbildungen entsprechender Elemente im Raum.

Mit besonderem Vorteil ist das Beleuchtungssystem der vorliegenden Erfindung entnehmbar ausgebildet, wobei insbesondere der erste und der zweite Strahlteiler und der erste und der

zweite Kanal, der zwischen dem ersten und dem zweiten Strahlteiler ausgebildet ist, auf einem aus dem Rastermikroskop entnehmbaren Einschub angeordnet sind.

Vorteilhafterweise weist das optische Rastermikroskop Mittel zur Adaption als Teilmodul an ein Weitfeldmikroskop aufweist.

5

Die vorliegende Erfindung erstreckt sich auch auf ein Verfahren zur Untersuchung einer Probe mittels eines optischen Rastermikroskops, das ein Beleuchtungssystem mit einem Lichtquellenabschnitt, einem ersten und einem zweiten polarisationsabhängigen Strahlteiler und einem ersten und einem zweiten optischen Kanal zwischen dem ersten und dem

10

Das erfindungsgemäße Verfahren sieht vor, unter Verwendung des Lichtquellenabschnitts einen ersten Beleuchtungslichtstrahl mit Licht einer ersten und einer zweiten Hauptpolarisationsrichtung abzustrahlen, unter Verwendung des ersten Strahlteilers das

15 Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung zumindest überwiegend in den ersten und das Licht der zweiten Hauptpolarisationsrichtung zumindest überwiegend in den zweiten Kanal zu führen, unter Verwendung des zweiten Strahlteilers aus Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung aus dem ersten und aus Licht der zweiten Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten Kanal einen zweiten Beleuchtungslichtstrahl zu

20 bilden, und das Licht mit der ersten Polarisierung aus unter Verwendung des ersten Kanals und das Licht mit der zweiten Polarisierung unter Verwendung des zweiten Kanal mit unterschiedlichen Konvergenzwinkeln auszustrahlen.

20

Insbesondere kann in einem entsprechenden Verfahren ein Rastermikroskop eingesetzt werden, wie es zuvor beschrieben und ausführlich erläutert wurde. Zu Merkmalen und Vorteilen eines entsprechenden Verfahrens sei auf die obigen Erläuterungen ausdrücklich verwiesen.

25

Weitere Vorteile und Ausgestaltungen der Erfindung ergeben sich aus der Beschreibung und der beiliegenden Zeichnung.

30

Es versteht sich, dass die vorstehend genannten und die nachstehend noch zu erläuternden Merkmale nicht nur in der jeweils angegebenen Kombination, sondern auch in anderen Kombinationen oder in Alleinstellung verwendbar sind, ohne den Rahmen der vorliegenden

35 Erfindung zu verlassen.

35

Die Erfindung ist anhand eines Ausführungsbeispiels in der Zeichnung schematisch dargestellt und wird im Folgenden unter Bezugnahme auf die Zeichnung beschrieben.

#### Figurenbeschreibung

5

Figur 1 zeigt einen Strahlengang eines Rastermikroskops mit einem Beleuchtungssystem gemäß einer Ausführungsform der Erfindung in vereinfachter, schematischer Darstellung.

10

Figur 2 zeigt einen Strahlengang eines Rastermikroskops mit einem Beleuchtungssystem gemäß einer Ausführungsform der Erfindung in vereinfachter, schematischer Darstellung.

15

Figur 3 zeigt einen Strahlengang eines Rastermikroskops mit einem Beleuchtungssystem gemäß einer Ausführungsform der Erfindung in vereinfachter, schematischer Darstellung.

In den Figuren sind einander entsprechende Elemente mit identischen Bezugszeichen angegeben. Auf eine wiederholte Erläuterung wird der Übersichtlichkeit halber verzichtet.

20

#### Ausführliche Beschreibung der Zeichnungen

In den Figuren 1 bis 3 sind jeweils Strahlengänge eines Rastermikroskops mit einem Beleuchtungssystem gemäß einer Ausführungsform der Erfindung in vereinfachter schematischer Darstellung gezeigt. Die in den Figuren 1 bis 3 veranschaulichten Ausführungsformen umfassen dabei eine Vielzahl gemeinsamer Elemente, die nachfolgend zunächst unter Bezugnahme auf die Figur 1 erläutert werden. Die Erläuterungen gelten auch für die übrigen Figuren.

30

Ein in Figur 1 veranschaulichtes Rastermikroskop, das hier insgesamt stark schematisiert veranschaulicht, strichpunktiert umfasst, und mit 1 bezeichnet ist, umfasst ein in einer Objektivaufnahme 11 aufgenommenes Objektiv 12 an einer Objektivposition 10. Objektivaufnahmen unterschiedlicher Art können vorgesehen sein, beispielsweise Objektivrevolver, lineare Objektivwechselmechanismen und dergleichen. Eine Objektivpupille des Objektivs 12 ist mit 109 bezeichnet.

35

Ein Beleuchtungssystem eines entsprechenden Rastermikroskops ist insgesamt mit 20 bezeichnet. Ein orthoskopischer Strahlengang ist mit 200, ein konoskopischer Strahlengang mit 201 (gestrichelt) veranschaulicht. Der orthoskopische Strahlengang 200 und der konoskopische Strahlengang 201 verlaufen dabei über bestimmte Strecken des

5 Beleuchtungssystems 20 bzw. eines darin realisierten Strahlengangs gemeinsam, in einem ersten optischen Kanal 21 und einem zweiten optischen Kanal 22 hingegen getrennt voneinander. Der erste Kanal 21 und der zweite Kanal 22 sind dabei jeweils zwischen einem ersten polarisationsabhängigen Strahlteiler 105a und einem zweiten polarisationsabhängigen Strahlteiler 105b ausgebildet.

10 Zur Umschaltung zwischen dem orthoskopischen und dem konoskopischen Strahlengang 201 werden zwei, beispielsweise zueinander orthogonale, Hauptpolarisationsrichtungen eines durch eine Lichtquelle 100 bereitgestellten Beleuchtungslichtstrahls genutzt. Hierzu kann eine entsprechende Lichtquelle 100 genutzt werden, die bereits entsprechend

15 polarisiertes Beleuchtungslicht bereitstellt. Bei der Lichtquelle 100 kann es sich beispielsweise um eine Laserlichtquelle, eine polarisationserhaltende Lichtleitfaser oder ein geeignetes Polarisationselement, oder eine Lichtquelle für unpolarisiertes Licht mit einem entsprechenden Polarisationselement handeln.

20 Eine Umschaltung der Hauptpolarisationsrichtung eines durch eine entsprechende Lichtquelle 100 bereitgestellten Beleuchtungslichtstrahls kann durch unterschiedliche Anordnungen, die hier stark vereinfacht mit 102 veranschaulicht sind, realisiert werden. Beispielsweise kann eine entsprechende Anordnung 102 ein schnell mechanisch schaltbares Verzögerungselement (beispielsweise eine  $\lambda/2$ -Platte) umfassen, das vorzugsweise an einer

25 Stelle des Strahlengangs bzw. des Beleuchtungslichtstrahls mit geringem Strahldurchmesser und konstanter Strahlposition angeordnet ist. Beispielsweise kann ein entsprechendes Verzögerungselement bzw. eine entsprechende Anordnung 102 zwischen einem Faserkollimator und vor einem Strahlaufweitungssystem, wie hier vereinfacht mit 101 veranschaulicht, angeordnet sein.

30 Weitere Möglichkeiten zur Umschaltung zwischen den Hauptpolarisationsrichtungen mittels einer entsprechenden Anordnung 102 sind beispielsweise akustooptische, elektrooptische oder Flüssigkristallelemente, wie sie aus dem Stand der Technik grundsätzlich bekannt sind.

35 In der in Figur 1 veranschaulichten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung stellt ein aus der Lichtquelle 100, der Anordnung 102, dem Strahlaufweitungssystem 101 und einer Scaneinrichtung 103 gebildeter Lichtquellenabschnitt stets entweder Licht einer ersten oder

einer zweiten Hauptpolarisationsrichtung zur Verfügung. Abweichende Ausführungsformen sind beispielsweise unter Bezugnahme auf die Figur 3 erläutert.

5 Eine Scaneinrichtung bzw. Rastereinheit 103 ist in an sich bekannter Weise ausgebildet, diese umfasst beispielsweise verkippbare Spiegel, rotierbare Prismen und/oder akustooptische Mittel wie sie grundsätzlich ebenfalls aus dem Stand der Technik bekannt sind. Insgesamt wird durch den Lichtquellenabschnitt 100 bis 103 damit ein Beleuchtungslichtstrahl, hier mit 203 veranschaulicht, bereitgestellt, der wahlweise eine erste Hauptpolarisationsrichtung oder eine zweite Hauptpolarisationsrichtung aufweist und im  
10 dargestellten Beispiel in kollimierter Form von der Rastereinheit 103 abgestrahlt wird.

Der Beleuchtungslichtstrahl 203 durchtritt anschließend ein erstes optisches Element 104 aus einer oder mehreren Linsen und wird auf diese Weise fokussiert. Der Beleuchtungslichtstrahl 203 mit der ersten oder der zweiten Hauptpolarisationsrichtung tritt  
15 fokussiert bzw. konvergent in den ersten polarisationsabhängigen Strahlteiler 105a ein. An einer Grenzschicht des ersten polarisationsabhängigen Strahlteilers 105a wird das Licht der zweiten Hauptpolarisationsrichtung, wie hier in Form des gestrichelten konoskopischen Strahlengangs 201 veranschaulicht reflektiert, Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung durchtritt hingegen die Grenzschicht unabgelenkt.

20

Auf diese Weise führt der erste polarisationsabhängige Strahlteiler 105a das Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung in den ersten optischen Kanal 21 und das Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung in den zweiten Kanal 22. Jenseits eines jeweiligen Brennpunkts in dem ersten Kanal 21 bzw. dem zweiten Kanal 22 verläuft das Licht mit der  
25 ersten bzw. der zweiten Polarisierung jeweils divergent. Im dargestellten Beispiel tritt das Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung in dem ersten Kanal 21, wie hier mit dem orthoskopischen Strahlengang 200 veranschaulicht, divergent aus dem ersten Kanal aus und in den zweiten polarisationsabhängigen Strahlteiler 105b ein. Durch einen Verschluss 110 kann dabei verhindert werden, dass Fehllicht in den zweiten polarisationsabhängigen  
30 Strahlteiler eintritt.

In dem ersten Kanal 21 sind in der in Figur 1 veranschaulichten Ausführungsform keine weiteren optischen Elemente vorgesehen. In dem zweiten optischen Kanal 22 sind hingegen weitere optische Elemente 106a und 106b vorgesehen. Das in dem zweiten Kanal 22  
35 verlaufende Licht mit der zweiten Polarisierung wird ferner über Umlenkelemente 107a und 107b umgelenkt. Mittels der optischen Elemente 106a und 106b wird das Licht mit der

zweiten Hauptpolarisationsrichtung in dem zweiten Kanal 22 kollimiert und tritt in kollimierter Form in den zweiten polarisationsabhängigen Strahlteiler 105b ein.

5 Entsprechend tritt das Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung aus dem ersten Kanal 21 nach dem Durchlaufen des zweiten polarisationsabhängigen Strahlteilers 105b divergent aus diesem aus, das Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten Kanal 22 tritt nach dem Durchlaufen des zweiten Kanals und des zweiten polarisationsabhängigen Strahlteilers 105b hingegen kollimiert aus diesem aus. Unter Verwendung eines zweiten optischen Elements 108, beispielsweise einer Tubuslinse, kann 10 das kollimierte Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten optischen Kanal fokussiert, das Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung aus dem ersten optischen Kanal hingegen kollimiert werden. Das zweite optische Element 108 bildet mit den bereits erläuterten optischen Elementen 106a und 106b eine Bertrandlinse. Durch die Ausbildung des ersten optischen Kanals 21 und des zweiten optischen Kanals 22 und die 15 Anordnung der erläuterten Linsen kann das Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung in kollimierter Form in die hintere Objektivpupille 109 des Objektivs 12 eintreten, das Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung kann hingegen in die hintere Objektivpupille 109 des Objektivs 12 fokussiert werden. Das zweite optische Element 108 bildet zusammen mit dem ersten optischen Element 104 ein Galilei-Fernrohr, das den oder die durch die 20 Scaneinrichtung 103 bedingten reellen oder virtuellen Ablenkpunkte des Beleuchtungslichtstrahls in die oder nahe der Objektivpupille 109 abbildet.

Eine Detektion von Fluoreszenzlicht einer Probe, die vor dem Objektiv 12 angeordnet ist, kann durch ein konventionelles Weitfeldfluoreszenzmikroskop erfolgen. Das 25 Beleuchtungssystem 20 der hier erläuterten Ausführungsformen kann in einem solchen Weitfeldfluoreszenzmikroskop in den Fluoreszenzbeleuchtungsstrahlengang an einer geeigneten Stelle eingekoppelt werden und entferntbar ausgebildet sein. Besonders vorteilhaft ist es, wenn das aus den optischen Elementen 106a, 106b und 108 gebildete Bertrandlinsensystem eine variable Fokussierung aufweist, das an unterschiedliche 30 mechanische Positionen der Objektivpupille 109 eine Fokussierung erlaubt, beispielsweise bei Nutzung unterschiedlicher Objektive oder einer Revolverfokussierung. Besonders vorteilhaft ist es, dass das zweite optische Element 108, das, wie erwähnt, beispielsweise in Form einer Tubuslinse ausgebildet sein kann, in einem entsprechenden fokussierbaren Bertrandlinsensystem konstant gehalten werden kann und daher auch bei einem Wechsel 35 des Beleuchtungssystems 20 nicht entfernt werden muss, sowie die Afokalität des Galilei-Fernrohrs bestehend aus den Elementen 104 und 108 gewahrt bleibt.



Die in Figur 2 veranschaulichte Ausführungsform des Rastermikroskops 2 unterscheidet sich von der in Figur 1 veranschaulichten Ausführungsform durch das Fehlen des Verschlusses 110. Dieser erlaubt, wie erwähnt, in der in Figur 1 veranschaulichten Ausführungsform des Rastermikroskops 1 eine Ausblendung von Falschlicht aufgrund nicht idealer

5 Lichtpolarisation. Ist dies nicht erforderlich, weil durch einen Lichtquellenabschnitt 100 bis 103 bereits ausreichend polarisiertes Licht bereitgestellt wird, kann auf diesen zusätzlichen Verschluss 110 verzichtet werden, wodurch eine einfachere mechanische Ausbildung des Mikroskops 2 möglich wird.

10 In der in Figur 3 veranschaulichten Ausführungsform des Rastermikroskops 3 ist kein variables Verzögerungselement bzw. eine entsprechende Anordnung 102, wie sie in den in Figur 1 und 2 veranschaulichten Ausführungsformen vorhanden ist, vorgesehen. Stattdessen sind sowohl in dem ersten Kanal 21 als auch in dem zweiten Kanal 22 schnelle Verschlusselemente 110 und 111 vorgesehen. Der Lichtquellenabschnitt 100 bis 103 bzw. die

15 Lichtquelle 100 stellt in diesem Fall beispielsweise Beleuchtungslicht eines fixen Polarisationszustands bereit, der eine Lichtlinearkombination zweier orthogonaler Hauptpolarisationsrichtungen darstellt. Daher wird auch mittels des ersten polarisationsabhängigen Strahlteilers 105a Beleuchtungslicht in beide Kanäle 21 und 22 gelenkt. Durch die alternierende Nutzung der Verschlüsse 110 und 111 der beiden Kanäle 21

20 und 22 lässt sich nun selektiv ein Strahlengang blockieren und auf diese Weise Licht durch den jeweils nur einen Kanal zum Objektiv 12 führen. Selbstverständlich ist es auch möglich, durch entsprechende Ansteuerung der Verschlüsse 110 und 111 Licht durch keinen oder durch beide Kanäle 21 und 22 bereitzustellen.

**Bezugszeichenliste**

	1, 2, 3	Rastermikroskop
	10	Objektivposition
5	11	Objektivaufnahme
	12	Objektiv
	20	Beleuchtungssystem
	21	erster optischer Kanal
	22	zweiter optischer Kanal
10	100	Lichtquelle
	101	Strahlaufweitungssystem
	102	Verzögerungselement
	103	Rastereinheit
	104	erstes optisches Element
15	105a, 105b	polarisationsabhängiger Strahlteiler
	106a, 106b	weitere optische Elemente
	107a, 107b	Strahlumlenkelemente
	108	zweites optisches Element
	109	Eintrittspupille Objektiv
20	110	Verschluss
	111	Verschluss
	200	orthoskopischer Strahlengang
	201	konoskopischer Strahlengang
	203	erster Beleuchtungslichtstrahl
25	204	zweiter Beleuchtungslichtstrahl

5

**Patentansprüche**

1. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3), das ein Beleuchtungssystem (20) mit einem von  
einer Lichtquelle (100) ausgehenden Lichtquellenabschnitt (100–103), einem ersten  
10 polarisationsabhängigen Strahlteiler (105a) und einem zweiten polarisationsabhängigen  
Strahlteiler (105a, 105b) und einem ersten und einem zweiten optischen Kanal (21, 22)  
zwischen dem ersten und dem zweiten polarisationsabhängigen Strahlteiler (105a,  
105b) umfasst, wobei
- 15 – der Lichtquellenabschnitt (100–103) dazu eingerichtet ist, einen ersten  
Beleuchtungslichtstrahl (203) mit Licht einer ersten und einer zweiten  
Hauptpolarisationsrichtung abzustrahlen,
- der erste Strahlteiler (105a) dazu eingerichtet ist, das Licht der ersten  
20 Hauptpolarisationsrichtung zumindest überwiegend in den ersten (21) und das Licht  
der zweiten Hauptpolarisationsrichtung zumindest überwiegend in den zweiten  
Kanal (22) zu führen,
- der zweite Strahlteiler (105b) dazu eingerichtet ist, aus Licht der ersten  
25 Hauptpolarisationsrichtung aus dem ersten (21) und aus Licht der zweiten  
Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten Kanal (22) einen zweiten  
Beleuchtungslichtstrahl (204) zu bilden, und
- die Kanäle (21, 22) dazu eingerichtet sind, das Licht der ersten  
30 Hauptpolarisationsrichtung aus dem ersten (21) und das Licht der zweiten  
Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten Kanal (22) mit unterschiedlichen  
Konvergenzwinkeln auszustrahlen.
2. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach Anspruch 1, bei dem der  
35 Lichtquellenabschnitt (100–103) dazu eingerichtet ist, den ersten Beleuchtungslichtstrahl  
(203) kollimiert abzustrahlen.

3. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach Anspruch 2, bei dem dem ersten Strahlteiler (105a) ein erstes optisches Element (104) vorgeschaltet ist, das dazu eingerichtet ist, den Beleuchtungslichtstrahl (203) zu fokussieren und konvergent in den ersten Strahlteiler (105a) einzustrahlen.

5

4. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach Anspruch 3, bei dem der erste Kanal (21) dazu eingerichtet ist, Licht zumindest überwiegend divergent in den zweiten Strahlteiler (105b) einzustrahlen, und bei dem der zweite Kanal (22) dazu eingerichtet ist, Licht zumindest überwiegend kollimiert in den zweiten Strahlteiler (105b) einzustrahlen.

10

5. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach Anspruch 4, bei dem dem zweiten Strahlteiler (105b) ein zweites optisches Element (108) nachgeschaltet ist, das dazu eingerichtet ist, divergent von dem zweiten Strahlteiler (105b) abgestrahltes Licht zu kollimieren und kollimiert von dem zweiten Strahlteiler (105b) abgestrahltes Licht zu fokussieren.

15

6. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach Anspruch 5, mit einem in einer Objektivaufnahme (11) anbringbaren und in einer Objektivposition (10) positionierbaren Objektiv (12) mit einer hinteren Objektivpupille (109), wobei das zweite optische Element (104) dazu eingerichtet ist, das kollimiert aus dem zweiten Strahlteiler (105b) austretende Licht in eine Ebene der hinteren Objektivpupille (109) zu fokussieren.

20

7. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach einem der vorstehenden Ansprüche, bei dem in dem zweiten Kanal (22) zumindest ein Teil eines Bertrandlinsensystems (106a, 106b) bereitgestellt ist.

25

8. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach einem der vorstehenden Ansprüche, bei dem durch das Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung ein orthoskopischer Strahlengang (200) und durch das Licht der zweiten Hauptpolarisationsrichtung ein konoskopischer Strahlengang (201) in dem Beleuchtungssystem (20) ausgebildet wird.

30

9. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach einem der vorstehenden Ansprüche, bei dem der Lichtquellenabschnitt (100–103) dazu eingerichtet ist, den ersten Beleuchtungslichtstrahl (203) in einem ersten Zeitraum mit Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung und in einem zweiten Zeitraum mit Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung abzustrahlen.

35

10. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach Anspruch 9, bei dem zum Abstrahlen des Beleuchtungslichtstrahls (203) mit Licht mit der ersten Hauptpolarisationsrichtung in dem ersten Zeitraum und mit Licht mit der zweiten Hauptpolarisationsrichtung in einem zweiten Zeitraum ein umschaltbares Verzögerungselement (102) bereitgestellt ist.

5

11. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach einem der Ansprüche 1 bis 8, bei dem der Lichtquellenabschnitt (100–103) dazu eingerichtet ist, den ersten Beleuchtungslichtstrahl (203) zeitgleich mit Licht der ersten und der zweiten Hauptpolarisationsrichtung abzustrahlen.

10

12. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach einem der vorstehenden Ansprüche, bei dem die Beleuchtungseinheit (20) eine Rastereinheit (103) umfasst.

15

13. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei entlang des ersten Kanals (21) optische Elemente (104, 108) bereitgestellt sind, die derart ausgebildet und angeordnet sind, dass sie ein Galilei-Fernrohr bilden, das einen oder mehrere reelle oder virtuelle Ablenkpunkte der Rastereinrichtung (103) in die oder nahe an die Objektivpupille (109) abbildet.

20

14. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach einem der vorstehenden Ansprüche, bei dem in dem ersten Kanal (21) ein und/oder in dem zweiten Kanal (22) ein optischer Verschluss angeordnet ist.

25

15. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach einem der vorstehenden Ansprüche, bei dem der erste und der zweite Strahlteiler (105a, 105b) und der erste und der zweite Kanal (21, 22) auf einem aus dem Rastermikroskop (1, 2, 3) entnehmbaren Einschub angeordnet sind.

30

16. Optisches Rastermikroskop (1, 2, 3) nach einem der vorstehenden Ansprüche, das Mittel zur Adaption als Teilmodul an ein Weitfeldmikroskop aufweist.

35

17. Verfahren zum Untersuchen einer Probe mittels eines optischen Rastermikroskops (1, 2, 3), das ein Beleuchtungssystem (20) mit einem Lichtquellenabschnitt (100–103), einem ersten und einem zweiten polarisationsabhängigen Strahlteiler (105a, 105b) und einem ersten und einem zweiten optischen Kanal (21, 22) zwischen dem ersten und dem zweiten Strahlteiler (105a, 105b) umfasst, wobei

- unter Verwendung des Lichtquellenabschnitts (100–103) ein erster Beleuchtungslichtstrahl (203) mit Licht einer ersten und einer zweiten Hauptpolarisationsrichtung abgestrahlt wird,  
5
  - unter Verwendung des ersten Strahlteilers (105a) das Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung zumindest überwiegend in den ersten (21) und das Licht der zweiten Hauptpolarisationsrichtung zumindest überwiegend in den zweiten Kanal (22) geführt wird,  
10
  - unter Verwendung des zweiten Strahlteilers (105b) aus Licht der ersten Hauptpolarisationsrichtung aus dem ersten (21) und aus Licht der zweiten Hauptpolarisationsrichtung aus dem zweiten Kanal (22) ein zweiter Beleuchtungslichtstrahl (204) gebildet wird, und  
15
  - das Licht mit der ersten Polarisierung aus unter Verwendung des ersten Kanals (21) und das Licht mit der zweiten Polarisierung unter Verwendung des zweiten Kanal (22) mit unterschiedlichen Konvergenzwinkeln ausgestrahlt wird.
- 20 18. Verfahren nach Anspruch 17, bei dem ein Rastermikroskop (1, 2, 3) nach einem der Ansprüche 1 bis 16 eingesetzt wird.

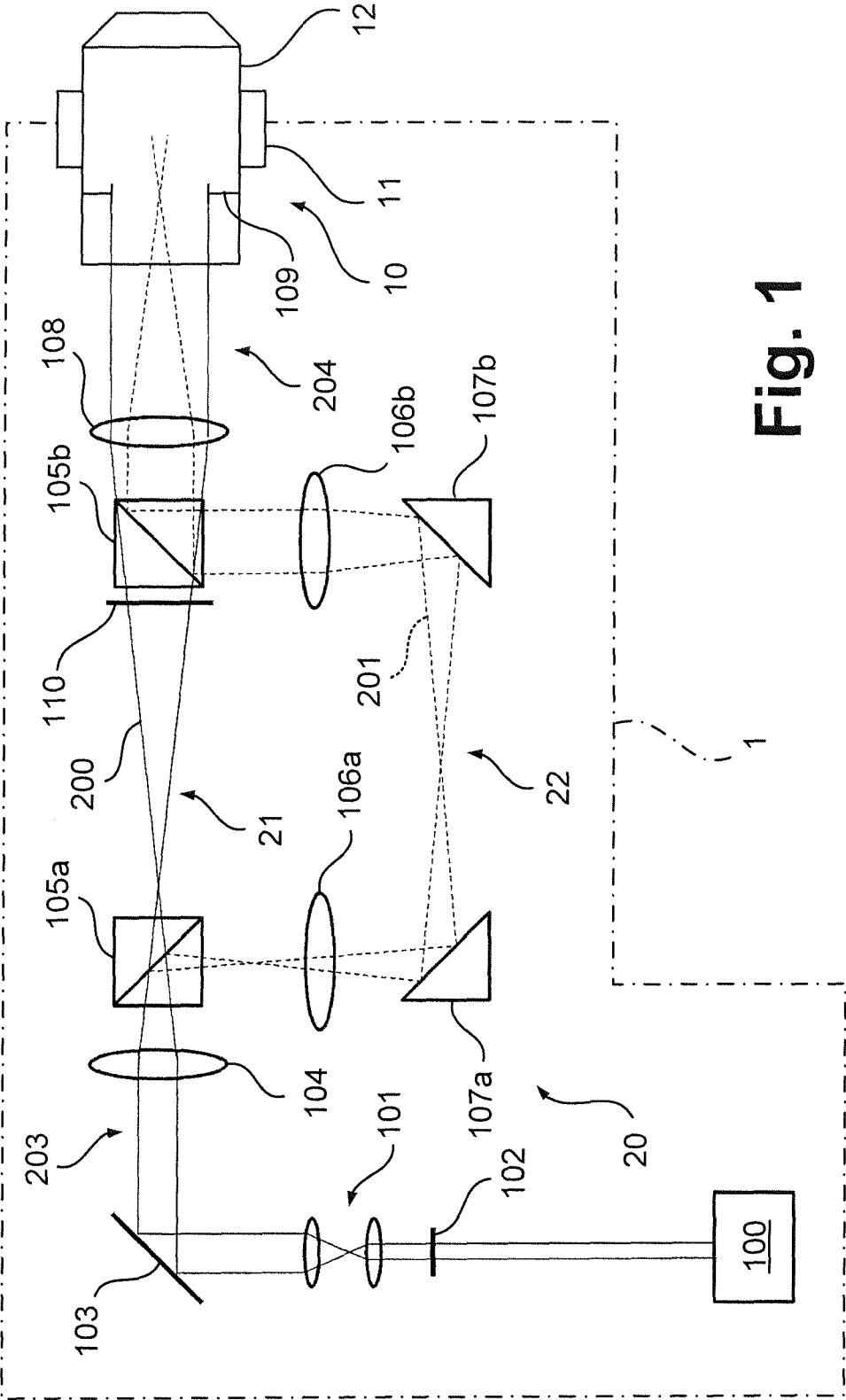


Fig. 1

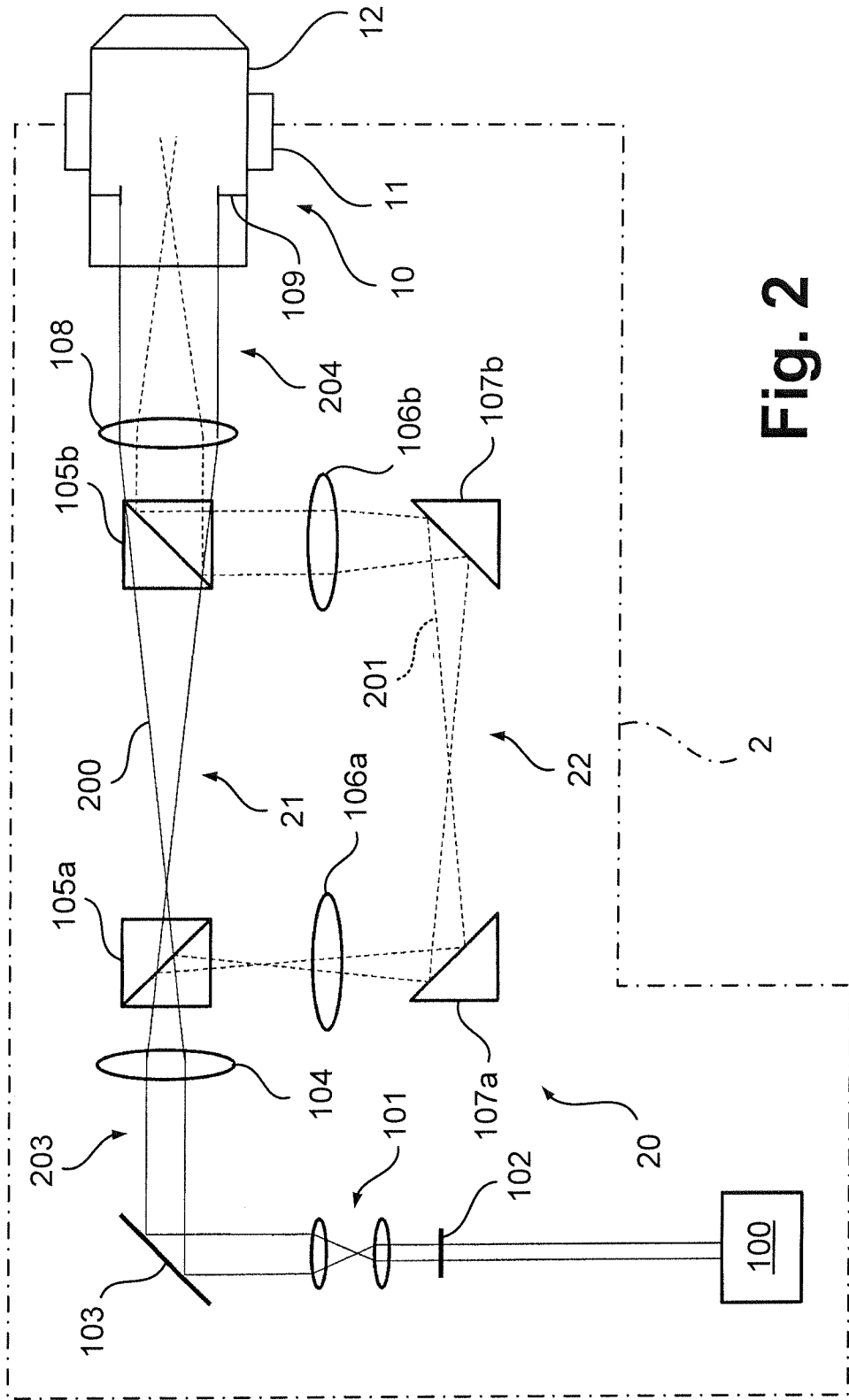


Fig. 2



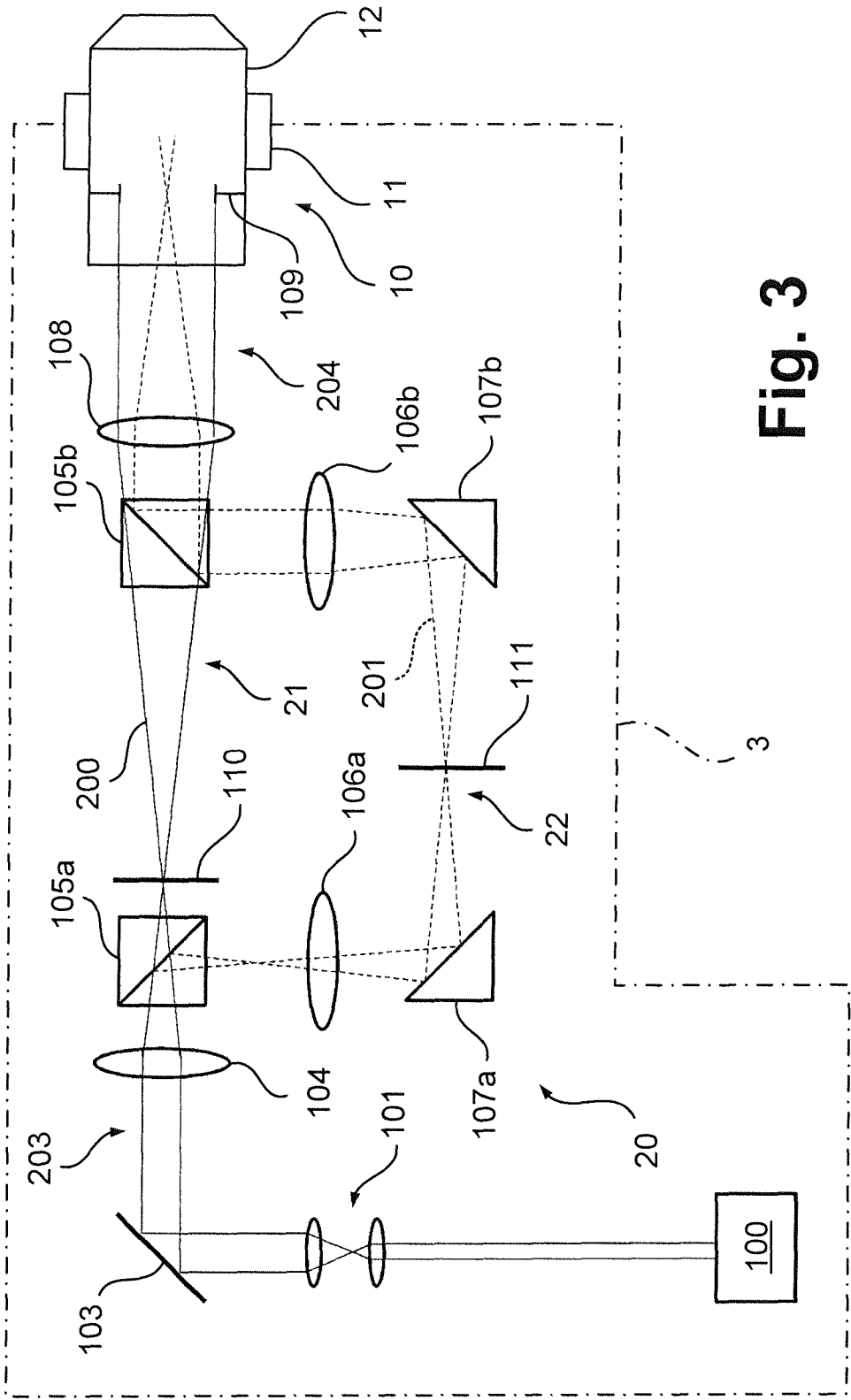


Fig. 3

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2017/061470

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. G02B21/00  
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DE 10 2013 222562 A1 (LEICA MICROSYSTEMS [DE]) 7 May 2015 (2015-05-07) cited in the application abstract paragraph [0043] - paragraph [0049] figure 1	1-18
Y	DE 10 2012 010207 A1 (ZEISS CARL MICROSCOPY GMBH [DE]) 21 November 2013 (2013-11-21) abstract paragraph [0022] - paragraph [0042] figure 5  ----- -/--	1-18



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 September 2017

Date of mailing of the international search report

21/09/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Schenke, Cordt

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2017/061470

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2016/185170 A1 (UNIV COURT OF THE UNIV OF ST ANDREWS [GB]) 24 November 2016 (2016-11-24) abstract page 5, line 13 - page 6, line 15 figure 1 -----	1,2,7,8, 11-14, 17,18

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2017/061470

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 102013222562 A1	07-05-2015	CN 105849615 A	10-08-2016
		DE 102013222562 A1	07-05-2015
		EP 3066511 A1	14-09-2016
		JP 2016537674 A	01-12-2016
		US 2016266364 A1	15-09-2016
		WO 2015067521 A1	14-05-2015
-----			
DE 102012010207 A1	21-11-2013	DE 102012010207 A1	21-11-2013
		JP 2015517687 A	22-06-2015
		US 2015116807 A1	30-04-2015
		WO 2013170940 A1	21-11-2013
-----			
WO 2016185170 A1	24-11-2016	NONE	
-----			

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

INV. G02B21/00

ADD.

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

G02B

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	DE 10 2013 222562 A1 (LEICA MICROSYSTEMS [DE]) 7. Mai 2015 (2015-05-07) in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung Absatz [0043] - Absatz [0049] Abbildung 1	1-18
Y	DE 10 2012 010207 A1 (ZEISS CARL MICROSCOPY GMBH [DE]) 21. November 2013 (2013-11-21) Zusammenfassung Absatz [0022] - Absatz [0042] Abbildung 5	1-18
	----- -/-	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&amp;" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

13. September 2017

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

21/09/2017

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Schenke, Cordt

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X,P	WO 2016/185170 A1 (UNIV COURT OF THE UNIV OF ST ANDREWS [GB]) 24. November 2016 (2016-11-24) Zusammenfassung Seite 5, Zeile 13 - Seite 6, Zeile 15 Abbildung 1 -----	1,2,7,8, 11-14, 17,18

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2017/061470

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 102013222562 A1	07-05-2015	CN 105849615 A	10-08-2016
		DE 102013222562 A1	07-05-2015
		EP 3066511 A1	14-09-2016
		JP 2016537674 A	01-12-2016
		US 2016266364 A1	15-09-2016
		WO 2015067521 A1	14-05-2015
-----			
DE 102012010207 A1	21-11-2013	DE 102012010207 A1	21-11-2013
		JP 2015517687 A	22-06-2015
		US 2015116807 A1	30-04-2015
		WO 2013170940 A1	21-11-2013
-----			
WO 2016185170 A1	24-11-2016	KEINE	
-----			