

(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
13. Dezember 2012 (13.12.2012)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2012/168423 A1

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

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2012/060879

(22) Internationales Anmeldedatum:
8. Juni 2012 (08.06.2012)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2011 077 327.4 9. Juni 2011 (09.06.2011) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): **CARL ZEISS AG** [DE/DE]; Carl-Zeiss-Straße
22, 73447 Oberkochen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **KRAMPERT,
Gerhard** [DE/DE]; Grietgasse 22, 07743 Jena (DE).
STUTZ, Michel [DE/DE]; Reichardtstieg 5, 07743 Jena
(DE).

(74) Anwalt: **GEYER, FEHNERS & PARTNER;**
Perhamerstraße 31, 80687 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, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW,
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, 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,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: BEAM COMBINER FOR COMBINING TWO INDEPENDENTLY SCANNED ILLUMINATING BEAMS OF A
LIGHT SCANNING MICROSCOPE

(54) Bezeichnung : STRALKOMBINIERER ZUM KOMBINIEREN VON ZWEI JEWEILS EIGENSTÄNDIG GESCANNTEN
BELEUCHTUNGSSTRAHLEN EINES LICHTRASTERMIKROSKOPS

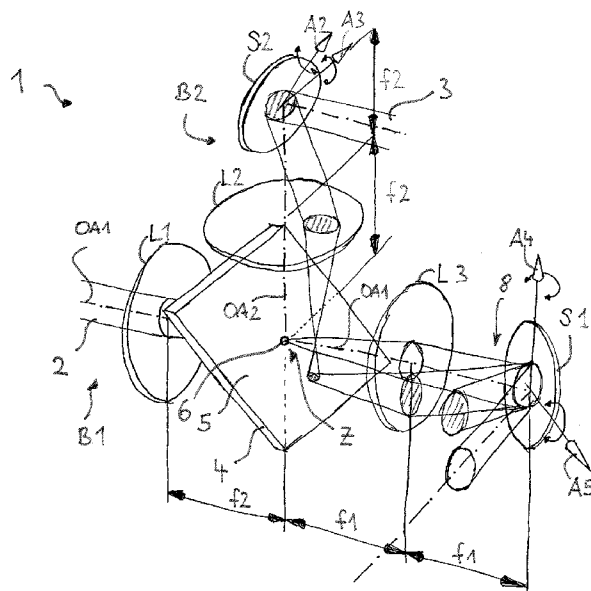


Fig. 1

(57) Abstract: The invention relates to a beam
combiner for combining two illuminating
beams of a light scanning microscope that can
be independently scanned, comprising: a first
beam path (B1), which guides a first
illuminating beam (2) along a first optical axis
(OA1) and which has a first optical device
(L1), which bundles the first illuminating
beam (2) in an intermediate image plane; a
second beam path (B2), which guides a second
illuminating beam (3) along a second optical
axis (OA2) that intersects the first optical axis
(OA1) at a point of intersection (Z) lying in
the intermediate image plane or near the
intermediate image plane and which has a
scanner (S2) for deflecting the second
illuminating beam (3), wherein the scanner
(S2) is arranged before the point of
intersection (Z) of the optical axes (OA1,
OA2) in the propagation direction of the
second illuminating beam (3); an in-coupling
unit (4), which is arranged at the point of
intersection (Z) of the optical axes (OA1,
OA2) and which either has a mirror surface (5)
having a passage opening (6; 7) at the point of
incidence of the first optical axis (OA1) or is

transparent except for a mirror element lying at the point of incidence of the first optical axis (OA1), wherein the size of the passage
opening (6; 7) or of the mirror element corresponds to the cross-section that the first illuminating beam (2) covers at the point of
incidence and thus allows the first illuminating beam to pass or reflects the first illuminating beam, wherein the first and second
illuminating beams (2, 3) propagate as a combined illuminating beam (8) after the in-coupling unit (4).

(57) Zusammenfassung:

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2012/168423 A1

LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, **Veröffentlicht:**

SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,

GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)

Ein Strahlkombinierer zum Kombinieren von zwei, jeweils eigenständig scanbaren Beleuchtungsstrahlen eines Lichttraster-Mikroskops, der aufweist: - einen ersten Strahlengang (B1), der einen ersten Beleuchtungsstrahl (2) längs einer ersten optischen Achse (OA1) führt und der eine erste Optikeinrichtung (L1) aufweist, die den ersten Beleuchtungsstrahl (2) in einer Zwischenbildebene bündelt, - einen zweiten Strahlengang (B2), der einen zweiten Beleuchtungsstrahl (3) längs einer zweiten optischen Achse (OA2) führt, die die erste optische Achse (OA1) in einem in der Zwischenbildebene gelegenen oder einem nahe der Zwischenbildebene gelegenen Schnittpunkt (Z) schneidet, und der einen Scanner (S2) zur Ablenkung des zweiten Beleuchtungsstrahls (3) aufweist, wobei der Scanner (S2) in Ausbreitungsrichtung des zweiten Beleuchtungsstrahls (3) vor dem Schnittpunkt (Z) der optischen Achsen (OA1, OA2) angeordnet ist, - eine Einkoppeleinheit (4), die am Schnittpunkt (Z) der optischen Achsen (OA1, OA2) angeordnet ist und die entweder eine Spiegelfläche (5) aufweist, die am Auftreffpunkt der ersten optischen Achse (OA1) eine Durchlaßöffnung (6; 7) hat, oder die bis auf ein Spiegelement, das am Auftreffpunkt der ersten optischen Achse (OA1) liegt, transparent ist, wobei die Größe der Durchlaßöffnung (6; 7) bzw. des Spiegelements dem Querschnitt entspricht, den der erste Beleuchtungsstrahl (2) am Auftreffpunkt überdeckt, und so diesen passieren läßt bzw. reflektiert, wobei nach der Einkoppeleinheit (4) erster und zweiter Beleuchtungsstrahl (2, 3) als kombinierter Beleuchtungsstrahl (8) propagieren.

**Strahlkombinierer zum Kombinieren von zwei jeweils eigenständig gescannten
Beleuchtungsstrahlen eines Lichtrastermikroskops**

Die Erfindung bezieht sich auf einen Strahlkombinierer zum Kombinieren von zwei, jeweils
5 eigenständig scanbaren Beleuchtungsstrahlen eines Lichtrastermikroskops.

In der Lichtrastermikroskopie besteht Bedarf, zwei oder mehr gescannte Beleuchtungsstrahlen
zu überlagern. Exemplarisch sei auf die Überlagerung eines Fluoreszenz-Anregungsstrahls mit
einem Manipulationsstrahl, der die Fluoreszenzeigenschaften der Probe an bestimmten Stellen
10 manipuliert (z.B. durch Bleichen der Probe) verwiesen.

Im Stand der Technik sind für Strahlkombinierer dichroitische Strahlteiler bekannt. Sie haben
die Einschränkung, daß die Wellenlängen der zu kombinierenden Beleuchtungsstrahlen sich
ausreichend unterscheiden müssen. Auch besteht nur geringe Flexibilität hinsichtlich der
15 verwendeten Wellenlängen für einen gegebenen Strahlteiler. Dies führt dazu, daß bei einer
Veränderung der Wellenlänge einer oder beider Beleuchtungsstrahlen der dichroitische
Strahlteiler ausgetauscht werden muß. Hierzu sind Wechselmechanismen bekannt, die jedoch
hohe Präzisionsanforderungen erfüllen müssen und deshalb aufwendig in der Herstellung sind.

20 Eine Alternative sind sogenannte Neutralteiler. Sie sind zwar hinsichtlich der verwendeten
Wellenlängen in keiner Weise einschränkend, führen jedoch zwingend zu Intensitätsverlusten
bei der Kombination der Beleuchtungsstrahlen.

Der Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, einen Strahlkombinierer zum Kombinieren
25 von zwei, jeweils eigenständig scanbaren Beleuchtungsstrahlen eines Lichtraster-Mikroskops
anzugeben, der volle Flexibilität bei der Wellenlänge der Beleuchtungsstrahlen liefert und keine
störende Intensitätsverluste der beiden Beleuchtungsstrahlen verursacht.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst mit einem Strahlkombinierer zum Kombinieren von
30 zwei, jeweils eigenständig scanbaren Beleuchtungsstrahlen eines Lichtraster-Mikroskops, der

aufweist: einen ersten Strahlengang, der einen ersten Beleuchtungsstrahl längs einer ersten optischen Achse führt und der eine erste Optikeinrichtung aufweist, die den ersten Beleuchtungsstrahl in einer Zwischenbildebene bündelt, einen zweiten Strahlengang, der einen zweiten Beleuchtungsstrahl längs einer zweiten optischen Achse führt, die die erste optische Achse in einem in der Zwischenbildebene gelegenen oder einem nahe der Zwischenbildebene gelegenen Schnittpunkt schneidet, und der einen Scanner zur Ablenkung des zweiten Beleuchtungsstrahls aufweist, wobei der Scanner in Ausbreitungsrichtung des zweiten Beleuchtungsstrahls vor dem Schnittpunkt der optischen Achsen angeordnet ist, eine Einkoppeleinheit, die am Schnittpunkt der optischen Achsen angeordnet ist und die entweder eine Spiegelfläche aufweist, die am Auftreffpunkt der ersten optischen Achse eine Durchlaßöffnung hat, oder die bis auf ein Spiegelement, das am Auftreffpunkt der ersten optischen Achse liegt, transparent ist, wobei die Größe der Durchlaßöffnung bzw. des Spiegelements dem Querschnitt entspricht, den der erste Beleuchtungsstrahl am Auftreffpunkt überdeckt, und so diesen passieren läßt bzw. reflektiert, wobei nach der Einkoppeleinheit erster und zweiter Beleuchtungsstrahl als kombinierter Beleuchtungsstrahl propagieren.

Der Strahlkombinierer weist eine Einkoppeleinheit aus, die eine Spiegelfläche hat. Sie liegt am Schnittpunkt der optischen Achsen der Beleuchtungsstrahlengänge, in denen die Beleuchtungsstrahlen geführt werden. Zumindest der erste Strahlengang ist dabei so ausgebildet, daß der erste Beleuchtungsstrahl in eine Zwischenbildebene gebündelt wird. Die Spiegelfläche hat am Auftreffpunkt der optischen Achse, vorzugsweise in der Zwischenbildebene eine Durchlaßöffnung, so daß der erste Beleuchtungsstrahl den Spiegel verlustfrei passieren kann. Der zweite Beleuchtungsstrahl wird hingegen am Spiegel abgelenkt. Die Ausrichtung der Spiegelfläche ist so gewählt, daß die beiden Strahlen danach als kombinierter Beleuchtungsstrahl propagieren. Da der Einkoppeleinheit im zweiten Strahlengang ein Scanner vorgeordnet ist, kann der zweite Beleuchtungsstrahl relativ zum ersten Beleuchtungsstrahl einfach abgelenkt werden. Diese Ablenkung hat zur Folge, daß der Auftreffpunkt des zweiten Beleuchtungsstrahls auf die Spiegelfläche von der Auslenkung des Scanners zur Ablenkung des zweiten Beleuchtungsstrahls abhängt. So lange dieser Auftreffpunkt nicht mit der Durchlaßöffnung vollständig oder teilweise zusammenfällt, wird auch der zweite Beleuchtungsstrahl verlustfrei eingekoppelt. Lediglich für Scannerpositionen, in denen der zweite Beleuchtungsstrahl auf die Durchlaßöffnung fällt, ist keine oder nur eine stark verlustbehaftete Einkopplung gegeben. Diese Eigenschaft ist jedoch für die Laserscanningmikroskopie äußerst vorteilhaft, wenn der zweite Beleuchtungsstrahl ein Strahl zur Probenmanipulation ist. Man möchte nämlich dann unbedingt vermeiden, daß der Probenmanipulationsstrahl auf die selbe Probenfläche fällt, wie der Anregungsstrahl. Würde eine solche Situation auftreten, könnte eine Beschädigung des Detektors des Laserscanningmikroskops eintreten.

Der Aufbau kann auch invertiert werden, indem die Einkoppeleinheit transparent ist, bis auf ein im Bereich des Auftreffpunktes der optischen Achse liegendes Spiegelement, das den ersten Beleuchtungsstrahl umlenkt. Der zweite Beleuchtungsstrahl wird dann transmittiert, soweit er
5 nicht auf die Rückseite des Spiegelementes fällt.

Durch den erfindungsgemäßen Strahlkombinierer werden also aufwendige Sicherheitsmaßnahmen, die verhindern sollen, daß der zweite Beleuchtungsstrahl an die selbe Stelle in der Probe gerichtet ist, wie der erste Beleuchtungsstrahl, unnötig. Solche
10 Sicherheitsmaßnahmen sind beispielsweise aus der EP 1953579 A1 bekannt.

Unter dem Gesichtspunkt, daß zum einen verhindert werden soll, daß im kombinierten Beleuchtungsstrahl der erste Beleuchtungsstrahl absolut identisch mit dem zweiten Beleuchtungsstrahl propagiert, zum anderen aber für bereits geringe Abweichungen möglichst
15 keine Abschwächung des zweiten Beleuchtungsstrahles auftreten soll, ist es zu bevorzugen, daß der zweite Beleuchtungsstrahlengang eine zweite Optikeinheit aufweist, welche den zweiten Beleuchtungsstrahl auf einen Fokus bündelt, der am Schnittpunkt der beiden optischen Achsen liegt, wenn der Scanner zur Ablenkung des zweiten Beleuchtungsstrahls nicht ausgelenkt ist.

20 Für die meisten Anwendungen ist angestrebt, daß der zweite Beleuchtungsstrahl im kombinierten Beleuchtungsstrahl längs der gleichen optischen Achse propagiert, wie der erste Beleuchtungsstrahl, auf den der zweite eingekoppelt wurde. Dies ist besonders einfach dann zu erreichen, wenn die Spiegelfläche plan ist und senkrecht zu einer Geraden liegt, die durch den
25 Schnittpunkt der beiden optischen Achsen läuft und einen Winkel zwischen der optischen Achse halbiert. Die ebene Spiegelfläche liegt also senkrecht zur Winkelhalbierenden der beiden optischen Achsen durch den Schnittpunkt.

Für Lichtrastermikroskopie ist es zweckmäßig, den kombinierten Beleuchtungsstrahl
30 abzulenken. Hierzu ist vorzugsweise ein Scanner zur Ablenkung des kombinierten Beleuchtungsstrahls der Einkoppeleinheit nachgeordnet.

Der erste Beleuchtungsstrahl ist zweckmäßigerweise in der Zwischenbildebene auf einen punktförmigen Spot fokussiert. Die Durchlaßöffnung kann als Pinhole, insbesondere als rundes
35 Pinhole ausgebildet sein. Die Fläche der Durchlaßöffnung ist gegenüber der Spiegelfläche dann besonders klein.

Möchte man eine schnelle Ablenkung des ersten Beleuchtungsstrahls, ist es zweckmäßig, der Einkoppeleinheit einen Scanner zur einachsigen Ablenkung des ersten Beleuchtungsstrahls vorzuordnen. Fokussiert die erste Optikeinrichtung weiter den ersten Beleuchtungsstrahl auf einen punktförmigen Spot in der Zwischenbildebene, ist die Durchlaßöffnung als Schlitz
5 ausgebildet, der an die einachsige Ablenkung angepaßt ist. Darunter ist zu verstehen, daß bei jeder Auslenkung des Scanners zur einachsigen Ablenkung des ersten Beleuchtungsstrahls der Fokus des ersten Beleuchtungsstrahls auf den Schlitz fällt. Zweckmäßigerweise wird man die Ablenkachse des Scanners zur einachsigen Ablenkung des ersten Beleuchtungsstrahls parallel zur zweiten optischen Achse und insbesondere in die Ebene legen, die von erster optischer
10 Achse und zweiter optischer Achse aufgespannt ist. Dann kann die als Schlitz ausgebildete Durchlaßöffnung ein gerader Spalt sein. Auch diese Bauweise kann invertiert werden. Dann ist der Schlitz durch ein längliches Spiegelelement ersetzt.

Möchte man die Richtung der einachsigen Ablenkung des ersten Beleuchtungsstrahls
15 verstellen, ist es zweckmäßig, die Einkoppeleinheit und den Scanner mit einer Rotationseinrichtung zu koppeln, welche diese beiden Elemente synchron verstellt. Unter „synchroner Verstellung“ ist dabei zu verstehen, daß die Auffächerungsfläche, in welcher der Scanner zur einachsigen Ablenkung den ersten Beleuchtungsstrahl verstellt, immer mit der als Schlitz ausgebildeten Durchlaßöffnung zusammenfällt.

20

Der optische Aufbau ist vorzugsweise als sogenannte 4f-Anordnung ausgebildet, indem die erste und die zweite Optikeinrichtung die gleiche Brennweite haben und zwischen Einkoppeleinheit und dem Scanner zur Ablenkung des kombinierten Beleuchtungsstrahls eine dritte Optikeinrichtung angeordnet ist, die eine Brennweite hat, wobei der Scanner zur
25 Ablenkung des kombinierten Beleuchtungsstrahls im Abstand der zweifachen Brennweite vom Schnittpunkt liegt und die dritte Optikeinrichtung sich in der Mitte zwischen dem Schnittpunkt und dem der Scanner zur Ablenkung des kombinierten Beleuchtungsstrahls befindet.

Der erfindungsgemäße Strahlkombinierer ist grundsätzlich dafür ausgebildet, daß ihm der erste
30 Beleuchtungsstrahl und der zweite Beleuchtungsstrahl als paralleles Strahlbündel bereitgestellt sind. Er kann zweckmäßigerweise in einem Lichtrastermikroskop eingesetzt sein, das entsprechende Quellen zum Bereitstellen von erstem und zweitem Beleuchtungsstrahl aufweist. Dabei kann die erste Quelle, welche den ersten Beleuchtungsstrahl bereitstellt zur Fluoreszenzanregung einer Probe und die zweite Probe zur Manipulation von
35 Fluoreszenzeigenschaften der Probe geeignet ausgebildet sein.

Es versteht sich, daß die vorstehend genannten und die nachstehend noch zu erläuternden Merkmale nicht nur in den angegebenen Kombinationen, sondern auch in anderen

Kombinationen oder in Alleinstellung einsetzbar sind, ohne den Rahmen der vorliegenden Erfindung zu verlassen.

Nachfolgend wird die Erfindung beispielsweise anhand der beigefügten Zeichnungen, die auch
5 erfindungswesentliche Merkmale offenbaren, noch näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 eine Schemadarstellung eines Strahlkombinierers zum Einsatz in einem Laserscanningmikroskop und

10 Fig. 2 eine weitere Ausführungsform eines Strahlkombinierers ähnlich dem der Fig. 1.

Fig. 1 zeigt schematisch einen Strahlkombinierer 1, der zur Anwendung in einem Lichtrastermikroskop ausgebildet ist. Der Strahlkombinierer 1 kombiniert einen ersten Beleuchtungsstrahl, der einen Anregungsstrahl 2 darstellen kann, mit einem zweiten
15 Beleuchtungsstrahl, der in der beschriebenen Ausführungsform ein Manipulationsstrahl 3 sein kann. Zur besseren Unterscheidung ist in der Darstellung der Fig. 1 der Querschnitt des Manipulationsstrahles 3 schraffiert eingezeichnet. Der Strahlkombinierer 1 ist daraufhin ausgestaltet, daß erster und zweiter Beleuchtungsstrahl als parallele Strahlbündel bereitgestellt sind. Der Anregungsstrahl 2 wird in einem ersten Strahlengang B1 geführt. Der
20 Manipulationsstrahl 3 in einem zweiten Strahlengang B2.

Dem Anregungsstrahl 2 wird der Manipulationsstrahl 3 hinzukombiniert, so daß die beiden dann als kombinierter Strahl vorliegen. Hierfür ist ein Spiegel 4 vorgesehen, der eine Spiegelfläche 5 aufweist. Die Spiegelfläche 5 hat ein Loch 6. Dieses ist genau an der Stelle angeordnet, an der
25 eine Linse L1 den Anregungsstrahl 2 in einem Fokus bündelt. Der Anregungsstrahl 2 kann deshalb durch den Spiegel 4 hindurchtreten. Er wird dann von einer Linse L3 wieder in ein paralleles Strahlbündel umgesetzt.

Die Linse L1 bewirkt eine Zwischenbildebene für die spotförmige Beleuchtung, welche mit dem
30 Anregungsstrahl 2 bewirkt wird. Das Zwischenbild befindet sich genau im Loch 6. Die Spiegelfläche 5 schneidet die Zwischenbildebene im Loch 6. Der Anregungsstrahl 2 propagiert somit längs einer optischen Achse OA1, und das Loch 6 des Spiegels 4 liegt exakt am Durchstoßpunkt der optischen Achse OA1 durch die Spiegelfläche 5.

35 Der Manipulationsstrahl 3 wird ebenfalls auf den Spiegel eingestrahlt – längs einer optischen Achse OA2, welche die optische Achse OA1 in einem Schnittpunkt Z schneidet. In der in Fig. 1 gezeigten Ausführungsform schneiden sich die optischen Achsen OA1 und OA2 rechtwinklig. Das ist aber optional. Der Spiegel 4 ist jedoch immer so ausgebildet, daß die Spiegelfläche 5

senkrecht zur Winkelhalbierenden zwischen den optischen Achsen OA1 und OA2 im Schnittpunkt Z steht.

Im zweiten Strahlengang B2 befindet sich ein Scanner S2, welcher den Manipulationsstrahl 3
5 gegenüber der optischen Achse OA2 des zweiten Strahlengangs B2 um zwei Ablenkachsen A2, A3 auslenkt. Der zweite Strahlengang B2 weist weiter nach dem Scanner S2 eine Linse L2 auf, die den Manipulationsstrahl 3 auf einen Fokus bündelt, der ebenfalls am Schnittpunkt Z liegt, wenn der Scanner S2 nicht ausgelenkt ist. Somit bewirkt die Auslenkung durch den Scanner S2, daß der Manipulationsstrahl 3 je nach Scannerstellung auf unterschiedliche Stellen der
10 Spiegelfläche 5 trifft. Dort wird er reflektiert und dann von der Linse L3 in analoger Weise wie der Anregungsstrahl 2 parallelisiert.

Der Aufbau gemäß Fig. 1 kann auch invertiert werden, indem der Spiegel 4 durch ein transparentes Element ersetzt wird, wobei anstelle des Loches 6 ein Spiegelement rückt.
15 Dann wird die optische Achse OA1 an diesem Spiegelement senkrecht nach unten umgelenkt, und die Linse L3 sowie der Scanner S1 sind gegenüber der Darstellung der Fig. 1 senkrecht nach unten verschwenkt. Die Wirkung ist die gleiche. Der Anregungsstrahl 2 wird am Spiegelement, das an der Stelle des Loches 6 sitzt, reflektiert. Der Manipulationsstrahl 3 wird immer dann durch das Einkoppelement transmittiert, wenn es nicht auf die Rückseite des
20 Spiegelementes gerichtet ist. Abgesehen von der Tatsache, daß der kombinierte Strahlengang 8 dann gegenüber der Darstellung der Figur 1 senkrecht nach unten geschwenkt ist, ergibt sich kein wesentlicher Unterschied.

Der Linse L3 ist ein Scanner S1 nachgeordnet, der den kombinierten Strahl 8 zweiachsig
25 ablenkt, um zwei Ablenkachsen A4 und A5.

Die Linsen L1 und L2 haben jeweils eine Brennweite f_2 . Die Linse L3 hat eine Brennweite f_1 . Diese 4-f-Abbildung sorgt dafür, daß der kombinierte Strahl 8 auf dem Spiegel S1 einen einzigen Spot bildet, in dem sich der wieder parallelisierte Anregungsstrahl 2 mit dem wieder
30 parallelisierten Manipulationsstrahl 3 überlagert. Durch die 4-f-Abbildung wird weiter der Scanner S2 auf den Scanner S1 abgebildet, der in der Austrittspupille des Strahlkombinierers 1 sitzt. Mit dieser Anordnung kann der kombinierte Strahl durch den Scanner S1 abgelenkt werden. Im kombinierten Strahl 8 wird der Manipulationsstrahl 3 relativ zum Anregungsstrahl 2 durch den Scanner S2 abgelenkt.

35

Der Strahlkombinierer 1 sorgt automatisch dafür, daß im kombinierten Strahl 8 der Anregungsstrahl 2 und der Manipulationsstrahl 3 nicht vollständig zusammenfallen können, da dies nur dann möglich wäre, wenn der Scanner S2 den Manipulationsstrahl 3 exakt auf den

Schnittpunkt Z der optischen Achsen OA1 und OA2 richten würde. Hier befindet sich jedoch das Loch 6, so daß dort der Manipulationsstrahl 3 nicht gespiegelt werden kann. Durch diese Eigenschaft ist sichergestellt, daß Strahlung des Manipulationsstrahles 3 nicht auf den selben Fleck in einer Probe fallen kann, wie Strahlung des Anregungsstrahls 2. Somit kann der Manipulationsstrahl 3 nicht unerwünscht bei einer konfokalen Detektion im Mikroskop, in dem der Strahlkombinierer eingebaut ist, detektiert werden. Ein Detektor kann somit nicht versehentlich beschädigt werden.

Fig. 2 zeigt eine Weiterbildung des Strahlkombinierers 1 der Fig. 1. Einander funktionell oder identisch entsprechende Elemente sind in beiden Figuren mit den selben Bezugszeichen versehen. Der Aufbau der Fig. 2 entspricht im wesentlichen dem der Fig. 1, ist allerdings um einen im ersten Strahlengang B1 angeordneten Scanner zur einachsigen Ablenkung des Anregungsstrahls 2 ergänzt. Der Scanner S3 lenkt den Anregungsstrahl 2 um eine Ablenkachse A1 ab. Somit wird der von der Linse L1 erzeugte Fokus in der Zwischenbildebene senkrecht zur optischen Achse OA1 gescannt. Die Durchlaßöffnung in der Spiegelfläche 5 ist deshalb durch einen Schlitz 7 ersetzt. Dieser Schlitz 7 ist, wie in der Darstellung der Fig. 2 erläutert, gerade, da die Ablenkachse A1 parallel zur optischen Achse OA2 und damit in der Ebene liegt, die von den optischen Achsen OA1 und OA2 aufgespannt wird. Bei anderen Geometrien kann der Schlitz 7 passend gekrümmt ausgebildet sein.

Die anhand der Fig. 1 erläuterte Invertierung, bei der der Spiegel 5 durch ein transparentes Element ersetzt wird, kann natürlich auch in Fig. 2 zur Anwendung kommen. Der Schlitz 7 ist dann als längliches Spiegelement auszubilden. Ansonsten gilt das für die oben erwähnte Abwandlung Gesagte auch analog hinsichtlich der Abwandlung der Fig. 2.

Der Spiegel S3 kann vorzugsweise als resonanter Schwingspiegel ausgebildet werden, um eine besonders schnelle Ablenkung zu erreichen.

Möchte man die Ablenkachse A1 des Spiegels S3 erstellen, ist eine Weiterbildung geeignet, die ebenfalls in Fig. 2 bereits eingetragen ist. Sie umfaßt eine Rotationseinrichtung 9, die über geeignete Wirkverbindungen 10 und 11 mit dem Scanner S3 sowie dem Spiegel 4 verbunden sind. Die rotiert die optische Achse A1 um die optische Achse OA1 und synchron dazu den Spiegel 4 um seine Flächennormale, d.h. die Winkelhalbierende zwischen der optischen Achse OA1 und OA2. Die Drehung erfolgt synchron, d.h. die jeweiligen Drehwinkel sind gleich. Dies stellt sicher, daß die Auffächerung des Anregungsstrahls 2 durch den Scanner S3 immer mit dem Schlitz 7 bzw. bei der geschilderten invertierten Version mit dem Spiegelement zusammenfällt.

Die hier beschriebenen Scanner können zweiachsig ablenkende Scanner sein. Es ist aber auch eine Kombination zweier einachsiger ablenkender Scanner, vorzugsweise mit geeigneter Pupillenabbildung dazwischen möglich.

Patentansprüche

1. Strahlkombinierer zum Kombinieren von zwei, jeweils eigenständig scanbaren
5 Beleuchtungsstrahlen eines Lichttraster-Mikroskops, der aufweist:
- einen ersten Strahlengang (B1), der einen ersten Beleuchtungsstrahl (2) längs einer ersten optischen Achse (OA1) führt und der eine erste Optikeinrichtung (L1) aufweist, die den ersten Beleuchtungsstrahl (2) in einer Zwischenbildebene bündelt,
 - einen zweiten Strahlengang (B2), der einen zweiten Beleuchtungsstrahl (3) längs einer
10 zweiten optischen Achse (OA2) führt, die die erste optische Achse (OA1) in einem in der Zwischenbildebene gelegenen oder einem nahe der Zwischenbildebene gelegenen Schnittpunkt (Z) schneidet, und der einen Scanner (S2) zur Ablenkung des zweiten Beleuchtungsstrahls (3) aufweist, wobei der Scanner (S2) in Ausbreitungsrichtung des zweiten Beleuchtungsstrahls (3) vor dem Schnittpunkt (Z) der optischen Achsen (OA1, OA2) angeordnet
15 ist,
 - eine Einkoppeleinheit (4), die am Schnittpunkt (Z) der optischen Achsen (OA1, OA2) angeordnet ist und die entweder eine Spiegelfläche (5) aufweist, die am Auftreffpunkt der ersten optischen Achse (OA1) eine Durchlaßöffnung (6; 7) hat, oder die bis auf ein Spiegelement, das am Auftreffpunkt der ersten optischen Achse (OA1) liegt, transparent ist, wobei die Größe
20 der Durchlaßöffnung (6; 7) bzw. des Spiegelements dem Querschnitt entspricht, den der erste Beleuchtungsstrahl (2) am Auftreffpunkt überdeckt, und so diesen passieren läßt bzw. reflektiert, wobei nach der Einkoppeleinheit (4) erster und zweiter Beleuchtungsstrahl (2, 3) als kombinierter Beleuchtungsstrahl (8) propagieren.
- 25 2. Strahlkombinierer nach Anspruch 1, wobei die Spiegelfläche (5) plan ist und senkrecht zu einer Geraden liegt, die durch den Schnittpunkt (Z) der beiden optischen Achsen (OA1, OA2) läuft und einen Winkel zwischen den optischen Achsen (OA1, OA2) halbiert.

3. Strahlkombinierer nach Anspruch 1 oder 2, mit einem Scanner (S1) zur Ablenkung des kombinierten Beleuchtungsstrahls (8), wobei der Scanner (S1) der Einkoppeleinheit (4) nachgeordnet ist.
- 5 4. Strahlkombinierer nach Anspruch 1, 2 oder 3, wobei die erste Optikeinrichtung (L1) den ersten Beleuchtungsstrahl (2) in der Zwischenbildebene auf einen punktförmigen Spot fokussiert, und wobei die Durchlaßöffnung als Pinhole (6) oder das Spiegelelement kreisförmig ausgebildet ist.
- 10 5. Strahlkombinierer nach Anspruch 1, 2 oder 3, wobei die erste Optikeinrichtung (L1) den ersten Beleuchtungsstrahl (2) in der Zwischenbildebene auf einen punktförmigen Spot fokussiert, und wobei der Strahlkombinierer einen Scanner (S3) zur einachsigen Ablenkung des ersten Beleuchtungsstrahls (2) aufweist, der im ersten Strahlengang (B1) angeordnet und der Einkoppeleinheit (4) vorgeordnet ist, und wobei die Durchlaßöffnung (7) bzw. das
15 Spiegelelement entsprechend der einachsigen Ablenkung länglich ausgebildet ist.
6. Strahlkombinierer nach Anspruch 5, die eine Rotationseinrichtung (9) aufweist, die mit der Einkoppeleinheit (4) und dem Scanner (S3) zur einachsigen Ablenkung des ersten Beleuchtungsstrahls (2) verbunden ist und dazu ausgebildet ist, die Einkoppeleinheit (4) und
20 den Scanner (S3) zur einachsigen Ablenkung des ersten Beleuchtungsstrahls (2) synchron zu rotieren, wobei die Rotationseinrichtung (9) die Einkoppeleinheit (4) um eine Flächennormale der Spiegelfläche (5) oder des Spiegelelementes und den Scanner (S3) um die erste optische Achse (OA1) rotiert.
- 25 7. Strahlkombinierer nach einem der obigen Ansprüche, der eine zweite Optikeinrichtung (L2) aufweist, die im zweiten Strahlengang (B2) angeordnet ist und den zweiten Beleuchtungsstrahl (3) auf den Schnittpunkt (Z) der optischen Achsen (OA1, OA2) bündelt, wenn der Scanner (S2) zur Ablenkung des zweiten Beleuchtungsstrahls (3) nicht ausgelenkt ist.
- 30 8. Strahlkombinierer nach einer Kombination der Ansprüche 3 und 6, wobei die erste und die zweite Optikeinrichtung (L1, L2) die gleiche Brennweite (f2) haben und zwischen Einkoppeleinheit (4) und dem Scanner (S1) zur Ablenkung des kombinierten Beleuchtungsstrahls (8) eine dritte Optikeinrichtung (L3) angeordnet ist, die eine Brennweite (f1) hat, wobei der Scanner (S1) zur Ablenkung des kombinierten Beleuchtungsstrahls (8) im
35 Abstand der zweifachen Brennweite (f1) vom Schnittpunkt (Z) liegt und die dritte Optikeinrichtung (L3) sich in der Mitte zwischen dem Schnittpunkt (Z) und dem der Scanner (S1) zur Ablenkung des kombinierten Beleuchtungsstrahls (8) befindet.

9. Lichtrastermikroskop mit einem Strahlkombinierer nach einem der obigen Ansprüche, wobei das Lichtrastermikroskop (1) eine erste Quelle zum Bereitstellen des ersten Beleuchtungsstrahls (2) und eine zweite Quelle zum Bereitstellen des zweiten Beleuchtungsstrahls (3) aufweist.

5

10. Lichtrastermikroskop nach Anspruch 9, wobei erste Quelle zur Fluoreszenzanregung einer Probe und die zweite Quelle zur Manipulation von Fluoreszenzeigenschaften der Probe ausgebildet ist.

10

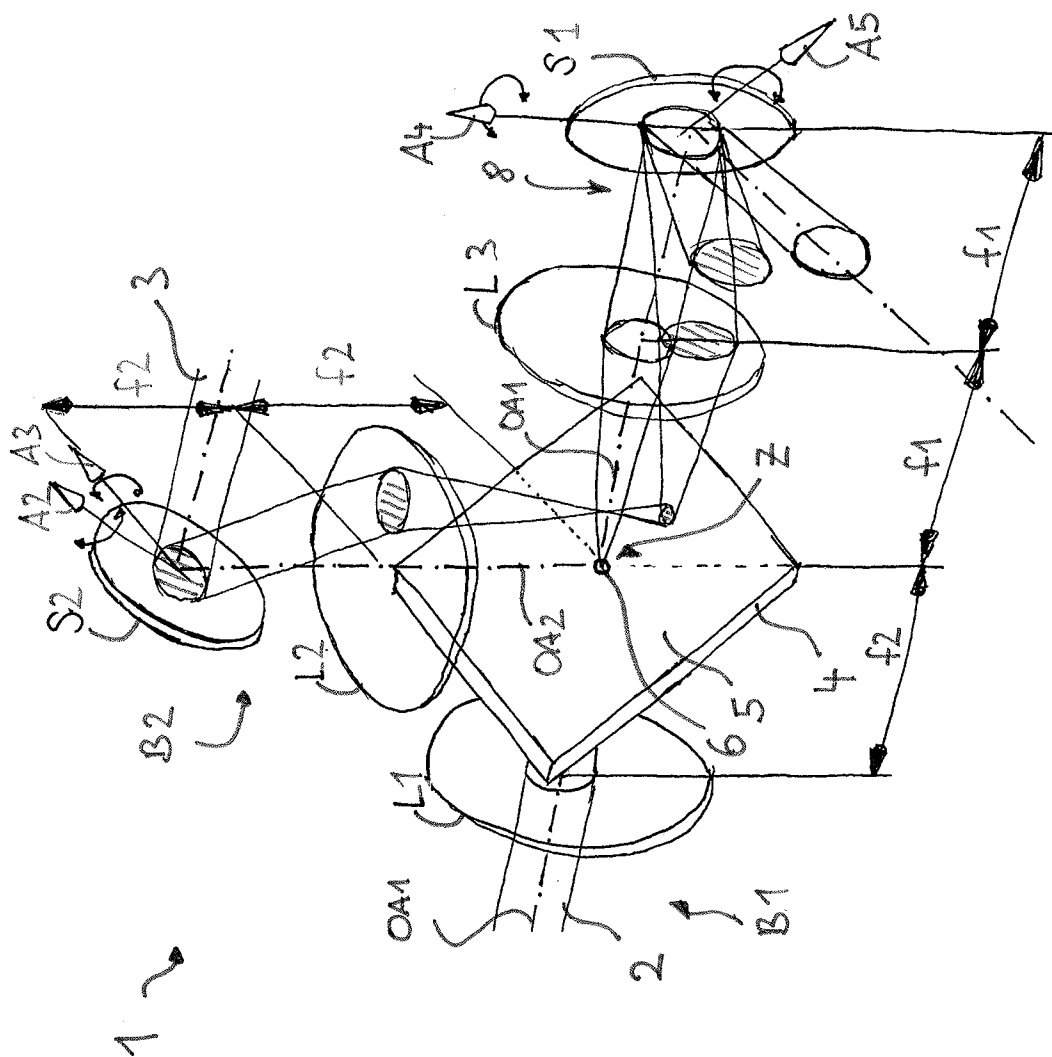


Fig. 1

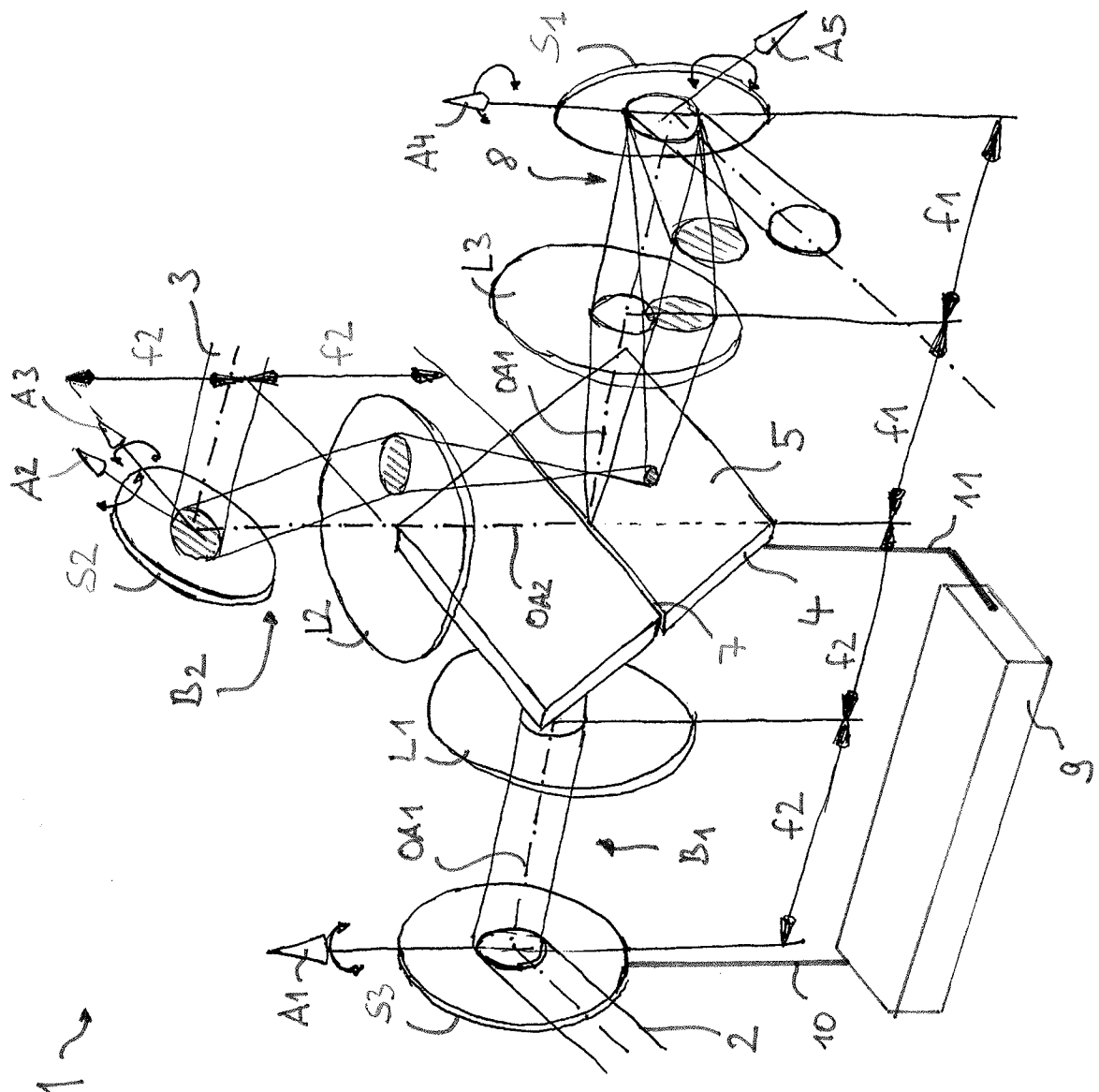


Fig. 2.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/060879

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.
X	US 2003/044967 A1 (HEFFELFINGER DAVID M [US] ET AL) 6 March 2003 (2003-03-06) figure 1	1-10
A	DE 10 2004 016253 A1 (LEICA MICROSYSTEMS [DE]) 10 November 2005 (2005-11-10) figure 4	1,6



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 August 2012

Date of mailing of the international search report

22/08/2012

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

Rödig, Christoph

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2012/060879

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2003044967 A1	06-03-2003	EP 1430278 A1	23-06-2004
		US 2003044967 A1	06-03-2003
		WO 03021209 A1	13-03-2003

DE 102004016253 A1	10-11-2005	DE 102004016253 A1	10-11-2005
		US 2007051869 A1	08-03-2007
		WO 2005096058 A1	13-10-2005

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.
X	US 2003/044967 A1 (HEFFELFINGER DAVID M [US] ET AL) 6. März 2003 (2003-03-06) Abbildung 1	1-10
A	DE 10 2004 016253 A1 (LEICA MICROSYSTEMS [DE]) 10. November 2005 (2005-11-10) Abbildung 4	1,6



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

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

13. August 2012

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

22/08/2012

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

Rödig, Christoph

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2012/060879

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 2003044967 A1	06-03-2003	EP 1430278 A1	23-06-2004
		US 2003044967 A1	06-03-2003
		WO 03021209 A1	13-03-2003

DE 102004016253 A1	10-11-2005	DE 102004016253 A1	10-11-2005
		US 2007051869 A1	08-03-2007
		WO 2005096058 A1	13-10-2005
