

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 6 部門第 2 区分

【発行日】平成25年12月5日(2013.12.5)

【公開番号】特開2011-95745(P2011-95745A)

【公開日】平成23年5月12日(2011.5.12)

【年通号数】公開・登録公報2011-019

【出願番号】特願2010-237381(P2010-237381)

【国際特許分類】

G 0 2 B 21/06 (2006.01)

G 0 2 B 21/36 (2006.01)

G 0 1 N 21/64 (2006.01)

【F I】

G 0 2 B 21/06

G 0 2 B 21/36

G 0 1 N 21/64 E

【手続補正書】

【提出日】平成25年10月22日(2013.10.22)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

照明された試料 (P) を検出する際の レーザ走査顕微鏡 (L S M) の分解能を向上させる方法であって、

- 照明パターンが、試料 (P) 上に形成され、
- 照明された試料 (P) が、顕微鏡によって検出装置上に結像され、
- 照明パターンが、少なくとも 1 つの回折制限された点 (L 1) を含み、
- 検出装置が、共焦点検出器 (P O 、 P H 、 D E) またはピクセルを含む平面検出器 (D E : C C D 1 、 C C D 2) として形成され、顕微鏡の結像縮尺を考慮して、平面検出器 (D E : C C D 1 、 C C D 2) の有効ピクセルサイズが、結像の点広がり関数の半値幅の一部に過ぎないサイズであり、

- 複数のステップにおいて、照明パターンが試料 (P) に対して相対的に繰り返し変位され、該変位のステップ幅が、顕微鏡 (L S M) の光学的分解能限界より小さく、各ステップについて、検出器あるいは平面検出器の検出信号が記憶されることを特徴とする方法。

【請求項 2】

ステップ幅が、分解能限界の半分よりも小さい、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

相対的変位は、顕微鏡 (L S) の光軸に対して垂直方向、および光軸方向のうちのいずれか一つの方
向に行われ、顕微鏡 (L S) の光軸に対して垂直方向の相対的変位は、水平方向分解能を向上させるためのものであり、光軸方向の相対的変位は、垂直方向分解能を向上させるためのものである、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

- 照明パターンが、ベクトル x によって与えられた方向に沿って試料 (P) 上を移動され、
- 各像点において、検出器を用いて、信号強度 D

【数 1】

$$D(x_0) \propto \int_{-\infty}^{\infty} H(x-x_0) \cdot I(x) \cdot c(x) dx$$

が得られ、 $c(x)$ は蛍光体の濃度分布、 H は結像の「点広がり関数」、 $I(x)$ は x に依存する照明強度分布であり、

- 照明パターンのための位置 $1, 2, \dots, n$ について、および検出信号に対する指標 j について、それぞれ強度が決定されて、方程式系

【数 2】

$$\begin{aligned} D_{1,j} &= \sum_j I_{1,j} \cdot c_j \cdot H_{1,j} \\ D_{2,j} &= \sum_j I_{2,j} \cdot c_j \cdot H_{2,j} \\ &\vdots \\ D_{n,j} &= \sum_j I_{n,j} \cdot c_j \cdot H_{n,j} \end{aligned}$$

が得られ、この方程式系が、 c について少なくとも近似的に解かれる、請求項 1 乃至 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

照明パターンが、試料 (P) をラスタ走査する、請求項 1 乃至 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

試料 (P) の広視野照明が行われ、照明パターンが、光分布の投影、または有孔ディスクの投影によって生成される、請求項 1 乃至 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

相対的変位は、

試料 (P) の変位、走査野の変位、読み出される検出器 (DE) のピクセルの変位、および照明パターンの変位のうちのいずれか一つによって行われるものである、請求項 1 乃至 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

請求項 1 乃至 7 のいずれか一項に記載の方法を実施するための顕微鏡であって、

- 試料 (P) 上に照明パターンを形成するための手段と、

- 試料光を検出するための検出ユニット、および検出信号を記憶するための記憶手段と

を備え、

- 照明パターンを形成するための手段は、試料 (P) 上に少なくとも一つの回折制限された点 (L1) を含む照明パターンを形成するために設けられ、

- 検出ユニットが、共焦点検出のための検出手段 (PO、PH、DE) または平面検出器 (DE: CCD1、CCD2) を含み、顕微鏡 (LSM) の結像縮尺を考慮して、平面検出器 (DE: CCD1、CCD2) の有効ピクセルサイズが、結像の点広がり関数の半値幅の一部に過ぎないサイズであり、

- 試料 (P) および照明パターンの間で、試料 (P) 上の照明パターンの第 1 の位置から少なくとも 1 つの第 2 の位置への相対的変位を形成するための手段が設けられており、該相対的変位は、顕微鏡 (LSM) の分解能限界よりも小さく、検出ユニット内に、第 1 の位置および少なくとも 1 つの第 2 の位置において検出信号を検出し、記憶するための検出および記憶手段が形成されていることを特徴とする、顕微鏡。

【請求項 9】

好ましくは請求項 4 記載の方法に従って、記憶された検出信号を差引計算し、高分解能の像を形成するための手段、およびソフトウェアの少なくとも一方を備える、請求項 8 に

記載の顕微鏡。

【請求項 10】

照明がラスタ化されたレーザ走査顕微鏡である、請求項8または9に記載の顕微鏡。

【請求項 11】

好ましくは投影された強度分布またはニポードディスクを介して、照明が構造化された広視野顕微鏡である、請求項8乃至10のいずれか一項に記載の顕微鏡。

【請求項 12】

前記相対的変位を形成するための手段が、

試料を変位させるための手段、走査野を変位させるための手段、読み出される検出器エレメントの変位を生成するための手段、および照明パターンを変位させるための手段のうちのいずれか一つである、請求項8乃至11のいずれか一項に記載の顕微鏡。