



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102096180 B

(45) 授权公告日 2015. 10. 28

(21) 申请号 201010580742. 8

(22) 申请日 2010. 12. 09

(30) 优先权数据

2009-281179 2009. 12. 11 JP

(73) 专利权人 奥林巴斯株式会社

地址 日本东京都

(72) 发明人 池泷庆记

(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127

代理人 李辉 王凯

(51) Int. Cl.

G02B 21/00(2006. 01)

G02B 21/36(2006. 01)

(56) 对比文件

JP 特开 2003-167198 A, 2003. 06. 13, 全文.

JP 特开平 7-234382 A, 1995. 09. 05, 全文.

US 6184535 B1, 2001. 02. 06, 全文.

US 6667830 B1, 2003. 12. 23, 全文.

Yoshinori Iketaki 等. 《Investigation of the center intensity of first- and second-order Laguerre - Gaussian beams with linear and circular polarization》. 《OPTICS LETTERS》. 2007, 第 32 卷 (第 16 期), 2357-2359 页.

审查员 李飞

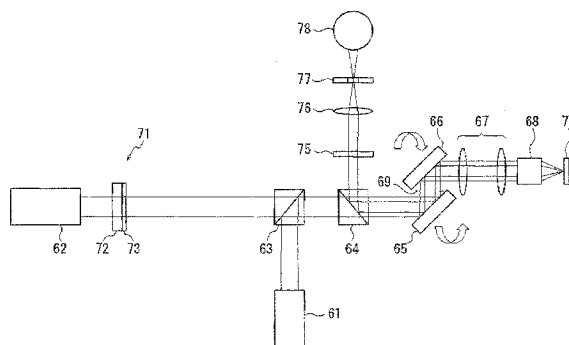
权利要求书2页 说明书19页 附图16页

(54) 发明名称

超分辨率显微镜

(57) 摘要

本发明涉及超分辨率显微镜。提供了一种用于观察包含具有至少两种或更多种量子态的物质的样本的超分辨率显微镜，该超分辨率显微镜包括：光源部，其输出用于将物质从稳定态激励为第一量子态的第一照明光、和用于进一步使物质转变到另一量子态的第二照明光；光学系统，其包括显微镜物镜并使分别从光源部输出的第一照明光和第二照明光彼此部分交叠的方式将这些光会聚到样本上；检测部，其检测响应于第一照明光和第二照明光的会聚而从样本发射的光学响应信号；以及偏光控制元件，其设置有转变第一照明光或第二照明光的偏光状态的偏光部件以及与偏光部件一体形成并对第二照明光的相位进行空间调制的相位调制部。



1. 一种用于观察包含具有至少两种量子态的物质的样本的超分辨率显微镜, 该超分辨率显微镜包括:

光源部, 其输出用于将所述物质从稳定态激励为第一量子态的第一照明光、和用于进一步使所述物质转变到另一量子态的第二照明光;

光学系统, 其包括显微镜物镜并以使分别从所述光源部输出的所述第一照明光和所述第二照明光彼此部分交叠的方式将这些光会聚到所述样本上;

检测部, 其检测响应于所述第一照明光和所述第二照明光的会聚而从所述样本发射的光学响应信号; 以及

偏光控制元件, 其设置有转变所述第一照明光或所述第二照明光的偏光状态的偏光部件以及对所述第二照明光的相位进行空间调制的相位调制部;

所述相位调制部由对所述第一照明光具有反射效果或透射型相位调制效果并对所述第二照明光具有透射型相位调制效果的多层膜形成;

所述第一照明光和所述第二照明光会聚到所述样本上, 形成圆形的由所述第一照明光构成的光斑和中空的由所述第二照明光构成的光斑;

通过调整所述多层膜的面积和光瞳面的面积之间的比例或相位差, 将所述第二照明光的焦点处的电场抵消为零。

2. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜, 其中,

所述偏光控制元件被配置成使得所述第二照明光在所述样本上的所述第二照明光与所述第一照明光部分交叠的区域中具有最小值的光强。

3. 根据权利要求 2 所述的超分辨率显微镜, 其中,

所述偏光控制元件不对所述第一照明光的相位进行空间调制, 并且所述第一照明光在所述样本上的所述区域中的光轴上具有最大值的光强。

4. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜, 其中,

所述相位调制部通过光学介质膜的层叠而形成, 使得所述第二照明光的相位在关于光轴对称的位置处反转。

5. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜, 其中,

所述偏光控制元件包括所述相位调制部和在轴向方向上观察时同心地划分的、围绕所述相位调制部的所述相位调制部以外的区域, 并且其中, 穿过所述相位调制部的所述第二照明光和穿过所述相位调制部以外的所述区域的所述第二照明光在电场幅值方面具有相反的符号。

6. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜, 其中,

所述物质是荧光物质, 并且

所述第二照明光具有抑制所述荧光物质的荧光发射的波长。

7. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜, 其中,

所述物质是荧光物质, 并且

所述第二照明光具有改变所述荧光物质的荧光的光谱的波长, 并且

所述检测部设置有波段选择部, 所述波段选择部透射响应于所述第一照明光的照射而从所述荧光物质发射的荧光的光谱, 并且阻断响应于所述第二照明光的照射而从所述荧光物质发射的荧光的光谱。

8. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜,其中,
所述偏光控制元件能够绕所述第二照明光的光轴旋转。
9. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜,其中,
所述偏光部件针对所述第二照明光用作二分之一波长板,并且
分别被会聚到所述样本上的所述第一照明光和所述第二照明光的偏光方向平行。
10. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜,其中,
所述偏光部件针对所述第二照明光用作四分之一波长板,并且
分别被会聚到所述样本上的所述第一照明光和所述第二照明光中的至少一方的偏光
方向是圆偏振光。
11. 根据权利要求 10 所述的超分辨率显微镜,其中,
分别被会聚到所述样本上的所述第一照明光和所述第二照明光是偏光旋转方向彼此
相反的圆偏振光。
12. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜,其中,
所述偏光控制元件是使所述第一照明光或所述第二照明光偏转的反射型。
13. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜,其中,
所述偏光控制元件包含液晶或光子晶体作为所述偏光部件。
14. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜,其中,
所述光学系统具有棒状镜头,所述棒状镜头具有与所述显微镜物镜的物侧连接的内窥
镜光学系统。
15. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜,其中,
所述显微镜物镜被配置成能够对所述样本进行所述第一照明光和所述第二照明光的
空间扫描。
16. 根据权利要求 1 所述的超分辨率显微镜,其中,所述相位调制部与所述偏光部件形
成为一体。

超分辨率显微镜

技术领域

[0001] 本发明涉及显微镜,更具体地,涉及一种用于通过以多个波长的光照射样本从而以高空间分辨率来观察样本的超分辨率显微镜。

背景技术

[0002] 本申请要求 2009 年 12 月 11 日提交的日本专利申请 No. 2009-281179 的优先权,此处以引证的方式并入其内容。

[0003] 常规地,光学显微镜技术已经得到长期的广泛使用,而且已经开发出各种类型的显微镜。在近几年中,随着诸如激光技术和电子图形技术的显微镜外围技术的发展,已经开发出具有更高性能的显微镜系统。

[0004] 鉴于上述背景,提出了一种高性能显微镜,其不仅能够控制将要获得的图像的对比度,而且还能够利用通过以多个波长的光照射样本而导致的双共振吸收过程来进行化学分析(例如,参见专利文献 1)。

[0005] 这种显微镜通过使用双共振吸收来选择特定分子,并且观察由于特定的光跃迁而导致的吸收和荧光发射。将参考图 14 到图 17 来描述这种理论。图 14 示出了构成样本的分子的价电子轨道的电子结构。首先,使用波长为 λ_1 的光将图 14 中例示的处于基态(S0 状态:稳定态)中的分子所拥有的价电子轨道中的电子激励为图 15 中例示的第一受激态(S1 状态)。然后,与之相似地,使用具有另一个波长 λ_2 的光来执行到图 16 中例示的第二受激态(S2 状态)的激励。凭借这种受激态,分子在发出荧光或磷光的同时返回到如图 17 所例示的基态。

[0006] 在使用双共振吸收过程的显微镜方法中,通过利用图 16 中的吸收过程或图 17 中的荧光或磷光的发射,观察到吸收图像或发光图像。使用这种显微镜方法,首先通过激光束等利用具有共振波长 λ_1 的光将构成样本的分子激励为图 15 中例示的 S1 状态,此时,单位体积中的处于 S1 状态的分子的数量随着照射光的强度增加而增加。

[0007] 给出了线性吸收系数作为每分子的吸收截面与每单位体积的分子数量的乘积,因此,在图 16 中例示的激励过程中,随后照射的共振波长 λ_2 的线性吸收系数强烈地取决于首先施加的具有波长 λ_1 的光的强度。也就是说,可以使用波长 λ_1 的光的强度来控制波长 λ_2 的线性吸收系数。这表示,通过使用波长 λ_1 和波长 λ_2 的光照射样本,可以使用波长 λ_1 的光完全控制发送图像的对比度,以获得波长 λ_2 的发送图像。

[0008] 当通过荧光或磷光而能够执行从图 16 的受激态到图 17 示出的基态的去激励过程时,发光强度与处于 S1 状态中的分子的数量成比例。这使得即使将该显微镜用作荧光显微镜时也能够控制图像对比度。

[0009] 此外,利用双共振吸收过程的这种显微镜方法不仅能够用于控制上述的图像对比度,而且还能够用于进行化学分析。也就是说,由于图 14 中例示的最外层的价电子轨道具有各个分子固有的能级,因此波长 λ_1 对于分子来说是不同的。同时,波长 λ_2 也为各个分子所固有。

[0010] 当使用常规的单一波长照射样本时,在某种程度上能够观察到特定分子的吸收图像或荧光图像。但是,总体上,由于某些分子的吸收频带的波长范围彼此交叠,因此在使用单一波长照射样本时不能准确地识别该样本的化学成分。

[0011] 另一方面,根据使用双共振吸收过程的显微镜,通过使用波长 λ_1 和波长 λ_2 这两种波长限定了吸收光或照射光的分子,使得能够比常规方法更加准确地识别出样本的化学成分。在价电子将被激励的情况下,仅集中地吸收了相对于分子轴具有特定的电场矢量的光。因而,能够在获得吸收图像或荧光图像时,即使针对同一分子也能够识别出取向方向,同时确定波长 λ_1 和波长 λ_2 的偏光方向。

[0012] 近年来,已经提出了荧光显微镜,通过使用双共振吸收过程,该荧光显微镜具有超过衍射极限的高空间分辨率(例如,参见专利文献 2)。

[0013] 图 18 是例示了分子的双共振吸收过程的概念图,在该双共振吸收过程中,使用波长 λ_1 的光将处于基态 S_0 的分子激励为第一受激态 S_1 ,并且使用波长 λ_2 的光将其进一步激励为第二受激态 S_2 。注意,图 18 例示了来自该第二受激态 S_2 的荧光对于某些类型的分子十分微弱。

[0014] 图 18 所例示的具有这种光学特性的分子经历了非常有趣的现象。图 19 是例示了与图 18 相似的双共振吸收过程的概念图,其中,横坐标的 X 轴表示空间距离的延伸,并且示出了以波长 λ_2 的光照射的空间区域 A_1 和未以波长 λ_2 的光照射的空间区域 A_0 。

[0015] 在图 19 中,通过以波长 λ_1 的光进行激励,在该空间区域 A_0 产生了大量处于 S_1 状态的分子,此时,可以观察到从空间区域 A_0 发射出的具有波长 λ_3 的荧光。但是,在空间区域 A_1 中,照射波长为 λ_2 的光在较高的水平上将处于 S_1 状态的大多数分子立即激励为 S_2 状态,使得处于 S_1 状态的分子消失。在若干分子中确认了上述现象。结果,波长 λ_3 的荧光在空间区域 A_1 中完全消失,此外,来自 S_2 状态的荧光本来并不存在,因此在空间区域 A_1 中完全地抑制了荧光本身(荧光抑制效果)。因此,荧光仅存在于空间区域 A_0 中。

[0016] 从该显微镜的应用领域方面来考虑,该结果具有非常重要的意义。也就是说,在常规的扫描型激光显微镜中,使用聚光透镜来会聚激光束以产生微光束。在这种情况下,微光束的大小由衍射极限确定,而衍射极限由聚光透镜的数值孔径和波长来确定。结果,原则上不能预期较高的空间分辨率。

[0017] 但是,在图 19 的情况下,通过在空间中使两种类型的光(波长为 λ_1 的光和波长为 λ_2 的光)部分地交叠,抑制了荧光区域,因此,通过例如注意波长 λ_1 的光的照射区域,能够使荧光区域比由聚光镜的数值孔径和波长确定的衍射极限更窄,这使得能够充分提高空间分辨率。此后,将把波长 λ_1 的光称为泵浦光,并且将把波长 λ_2 的光称为消除光。因此,通过采用这种原理,能够实现超过衍射极限且利用双共振吸收过程的超分辨率显微镜,如超分辨率荧光显微镜。

[0018] 例如,在采用 Rhodamine 6G 色素的情况下,通过照射波长为 532nm 的光(泵浦光),将 Rhodamine 6G 的分子从 S_0 状态激励为 S_1 状态,从而发射出在波长 560nm 处具有峰值的荧光。这时,当照射波长为 599nm 的光(消除光)时,发生双共振吸收过程,并且 Rhodamine 6G 的分子跃迁到不太可能发射荧光的 S_2 状态。也就是说,通过同时向 Rhodamine 6G 照射泵浦光和消除光,抑制了荧光发射。

[0019] 图 20 是例示了常规地提出的超分辨率显微镜的主要部分的配置图。这种超分辨

率显微镜基于普通的激光扫描型荧光显微镜,并且主要由三个独立的单元形成,即,光源单元 210、扫描单元 230 和显微镜单元 250。

[0020] 光源单元 210 具有用于泵浦光的光源 211 和用于消除光的光源 212。从泵浦光的光源 211 发出的泵浦光被输入到二向色棱镜 213,由二向色棱镜 213 反射,然后被发出。从消除光的光源 212 发出的消除光被偏振元件 214 偏振;由此偏振的光的相位被相位板 215 调制;调制后的光被输入并穿过二向色棱镜 213;并且,穿过的光与相同轴上的泵浦光组合,由此被发出。

[0021] 在观察被以 Rhodamine 6G 色素染色的样本的情况下,泵浦光的光源 211 被这样配置,即,采用 Nd:YAG 激光器,并且发射波长为 532nm 的光(来自激光器的光的二次谐波)作为泵浦光。此外,消除光的光源 212 被这样配置,即,采用 Nd:YAG 激光器和拉曼频移器,由拉曼频移器将 Nd:YAG 激光器的二次谐波转换成波长为 599nm 的光,并且发射经过转换的光作为消除光。

[0022] 相位板 215 被配置成使得消除光的相位差围绕光轴做出 2π 旋转。例如,如图 21 所示,相位板 215 围绕光轴具有八个独立的区域,并且相位板 215 是通过蚀刻玻璃板而形成的,使得各个相位被移位了消除光的波长的 $1/8$ 。通过将穿过相位板 215 的光会聚,可以产生其中电场在光轴处被抵消的中空形的消除光。

[0023] 在扫描单元 230 中,使相同的轴上从光源单元 210 发射出的泵浦光和消除光穿过半棱镜 231,并且,光被两个电流镜 232 和 233 在二维方向上以摆动的方式扫描,并且被输出到将稍后描述的显微镜单元 250。此外,扫描单元 230 被这样配置,即,从显微镜单元 250 到达的荧光沿着与当前路径相反的路径行进,并且被半棱镜 231 分离;分离出的荧光穿过投影透镜 234、小孔 235、以及陷波滤波器 236 和 237;并且,由光电倍增器 238 接收到光。

[0024] 在图 20 中,出于将附图简化的目的,将电流镜 232、233 示为可在同一平面中摆动。注意,陷波滤波器 236 和 237 用于消除包含在荧光中的泵浦光和消除光。小孔 235 是用作共焦光学系统的重要光学元件,其只允许在存在于目标样本中的特定的断层面处发射的荧光穿过。

[0025] 显微镜单元 250 是所谓的普通荧光显微镜,其中从扫描单元 230 到达的泵浦光和消除光由半棱镜 251 反射,并且由显微镜物镜 252 会聚在包含有处于至少包括基态的三种电子状态的分子的目标样本 253 上。此外,从目标样本 253 发射的荧光由显微镜物镜 252 再次校直,由半棱镜 251 反射,并且再次返回到扫描单元 230,荧光的穿过了半棱镜 251 的部分被引导到目镜透镜 254 以使视觉观察能够成为荧光图像。

[0026] 根据上述的超分辨率显微镜,能够在目标样本 253 的聚光点处抑制除了消除光的强度为零的光轴附近的光以外的荧光,结果,仅测量在比泵浦光的范围窄的区域中存在的荧光标记物分子。因此,通过利用计算机以二维方式来不知各个测量点的荧光信号,能够形成具有比衍射极限的空间分辨率更高的分辨率的显微镜图像。

[0027] 另外,利用上述的具有两色照明的光学响应的超分辨率显微镜强烈地依赖于偏振,并且在不满足预定的偏振条件时不能获得预期的光学特性。例如,已经知道,上述荧光抑制效果很大程度上在两色照明光的偏光方向相同时出现,并且该效果在偏光方向彼此正交时减弱(例如,参见非专利文献 1)。

[0028] 此外,偏光状态极大地影响了消除光的光束形状。也就是说,在采用图 21 中示出

的相位板 215 的情况下,光束形状根据偏光状态而变化。例如,已经知道,在通过偏振元件 214 将消除光转换成圆偏振光并且随后使用具有高数值孔径的透镜将其会聚的情况下,光轴方向上的偏光成分根据圆偏振光中的电场的旋转方向而出现,并且中心处的强度并不变成零,因此不能获得具有中空结构的光束形状(例如,参见非专利文献 2)。这是由于,在会聚在平面中具有正交电场矢量的光时,相互独立地产生了与光轴方向平行的电场矢量成分;并且,尽管中心处的强度在这些成分反平行时变为零,但是在这些成分平行时则接连地增加这些成分。

[0029] 如上所述,当消除光在焦平面上不具有中空形状的光束时,泵浦光的荧光在中心部分被抑制,导致空间分辨率的恶化。因此,需要优化泵浦光和消除光的偏光状态以获得期望的超分辨率效果。

[0030] 此外,为了获得足够的超分辨率效果,已经知道,消除光的中空部分与泵浦光的峰值点需要在焦平面上以大约 30nm 的精度彼此重合(例如,参见非专利文献 3)。

[0031] 另外,在采用图 21 中示出的相位板 215 的情况下,在相位板 215 的中心部分与消除光的中心部分不完全匹配时,即,在消除光的相位在关于光轴对称的位置处不完全反转时,在焦平面上不能取消光轴上的电场,并且不能获得理想的中空点。结果,不能获得超分辨率效果。

[0032] 因此,常规地,偏振元件 214 与相位板 215 被配置成可以独立地调整,以便于获得超分辨率效果。

[0033] 常规技术参考

[0034] 专利文献

[0035] 专利文献 1:日本专利申请特开 No. 8-184552。

[0036] 专利文献 2:日本专利申请特开 No. 2001-100102。

[0037] 非专利文献

[0038] 非专利文献 1:N. Bokor、Y. Iketaki、T. Watanabe、K. Daigoku、N. Davidson 和 M. Fujii, *Opt. Comm.*, 272(1), (2007) 263-269。

[0039] 非专利文献 2:Y. Iketaki、T. Watanabe、N. Bokor 和 M. Fujii, *Opt Lett.*, 32(2007) 2357-2359。

[0040] 非专利文献 3:Y. Iketaki、T. Watanabe、N. Bokor 和 M. Fujii, *e-Journal of SurfaceScience and Nanotechnology*, 6(2008) 175-179。

发明内容

[0041] 但是,根据其中如上所述地对偏振元件和相位板进行独立调整的常规设备,已知独立地执行偏振元件的旋转调整和相位板的定中心,因此,光轴例如由于棱镜效果的出现而倾斜或偏移。因此,为了使消除光的中空部分与泵浦光的峰值点以大约 30nm 的精度在焦平面上相互重合,需要复杂且耗时的操作,这引起了加重用户负担的顾虑。

[0042] 鉴于上述情形,本发明的目的是提供一种超分辨率显微镜,该超分辨率显微镜无需复杂的调整操作就能够很容易地实现超分辨率效果。

[0043] 本发明的用于实现上述目的的第一方面是一种用于观察包含具有至少两种或更多种量子态的物质的样本的超分辨率显微镜,该超分辨率显微镜包括:光源部,其输出用于

将所述物质从稳定态激励为第一量子态的第一照明光、和用于进一步使所述物质转变到另一量子态的第二照明光；光学系统，其包括显微镜物镜并以使分别从所述光源部输出的所述第一照明光和所述第二照明光彼此部分交叠的方式将这些光会聚到所述样本上；检测部，其检测响应于所述第一照明光和所述第二照明光的会聚而从所述样本发射的光学响应信号；以及偏光控制元件，其设置有转变所述第一照明光或所述第二照明光的偏光状态的偏光部件以及与所述偏光部件一体形成并对所述第二照明光的相位进行空间调制的相位调制部。

[0044] 本发明的第二方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中，其中，所述偏光控制元件被配置成使得所述第二照明光在所述样本上的所述第二照明光与所述第一照明光部分交叠的区域中具有最小值的光强。

[0045] 本发明的第三方面存在于根据第二方面的所述超分辨率显微镜中，其中，所述偏光控制元件不对所述第一照明光的相位进行空间调制，并且所述第一照明光在所述样本上的所述区域中的光轴上具有最大值的光强。

[0046] 本发明的第四方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中，其中，所述相位调制部包括通过光学介质膜的层叠或通过蚀刻处理而被形成为具有台阶的多个区域，使得所述第二照明光的相位在关于光轴对称的位置处反转。

[0047] 本发明的第五方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中，其中，所述偏光控制元件包括所述相位调制部和在轴向方向上观察时同心地划分的、围绕所述相位调制部的所述相位调制部以外的区域，并且其中，穿过所述相位调制部的所述第二照明光和穿过所述相位调制部以外的所述区域的所述第二照明光在电场幅值方面具有相反的符号。

[0048] 本发明的第六方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中，其中，所述相位调制部由对所述第一照明光具有反射效果或透射型相位调制效果并对所述第二照明光具有透射型相位调制效果的多层膜形成。

[0049] 本发明的第七方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中，其中，所述物质是荧光物质，并且所述第二照明光具有抑制所述荧光物质的荧光发射的波长。

[0050] 本发明的第八方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中，其中，所述物质是荧光物质，并且所述第二照明光具有改变所述荧光物质的荧光的光谱的波长，并且所述检测部设置有波段选择部，所述波段选择部透射响应于所述第一照明光的照射而从所述荧光物质发射的荧光的光谱，并且阻断响应于所述第二照明光的照射而从所述荧光物质发射的荧光的光谱。

[0051] 本发明的第九方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中，其中，所述偏光控制元件能够绕所述第二照明光的光轴旋转。

[0052] 本发明的第十方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中，其中，所述偏光部件针对所述第二照明光用作二分之一波长板，并且分别被会聚到所述样本上的所述第一照明光和所述第二照明光的偏光方向平行。

[0053] 本发明的第十一方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中，其中，所述偏光部件针对所述第二照明光用作四分之一波长板，并且分别被会聚到所述样本上的所述第一照明光和所述第二照明光中的至少一方的偏光方向是圆偏振光。

[0054] 本发明的第十二方面存在于根据第十一方面的所述超分辨率显微镜中，其中，分

别被会聚到所述样本上的所述第一照明光和所述第二照明光是偏光旋转方向彼此相反的圆偏振光。

[0055] 本发明的第十三方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中,其中,所述偏光控制元件是使所述第一照明光或所述第二照明光偏转的反射型。

[0056] 本发明的第十四方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中,其中,所述偏光控制元件包含液晶或光子晶体作为所述偏光部件。

[0057] 本发明的第十五方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中,其中,所述光学系统具有棒状镜头,所述棒状镜头具有与所述显微镜物镜的物侧连接的内窥镜光学系统。

[0058] 本发明的第十六方面存在于根据第一方面的所述超分辨率显微镜中,其中,所述显微镜物镜被配置成能够对所述样本进行所述第一照明光和所述第二照明光的空间扫描。

[0059] 根据本发明的超分辨率显微镜,由于提供了其中一体形成了转变第一照明光或第二照明光的偏光状态的偏光部件和空间调制第二照明光的相位的相位调制部的偏光控制元件,因此无需复杂的调整操作就能够容易地实现超分辨率效果。

附图说明

[0060] 图 1A 和图 1B 分别是示意性地例示了能够用于根据本发明的超分辨率显微镜的偏光控制元件的第一示例的配置的截面图和平面图;

[0061] 图 2A 和图 2B 分别是示意性地例示了能够用于根据本发明的超分辨率显微镜的偏光控制元件的第二示例的配置的截面图和平面图;

[0062] 图 3 是例示了图 2A 和图 2B 中的偏光控制元件的光学特性的图;

[0063] 图 4 是例示了能够用于根据本发明的超分辨率显微镜的偏光控制元件的第三示例的光学特性的图;

[0064] 图 5A 和图 5B 分别是例示了关于能够用于根据本发明的超分辨率显微镜的偏光控制元件的第四示例的示意性配置的截面图和光学特性的图;

[0065] 图 6 是例示了能够用于根据本发明的超分辨率显微镜的偏光控制元件的第五示例的示意性配置的截面图;

[0066] 图 7 是例示了根据本发明第一实施方式的超分辨率显微镜的光学系统的主要部分的示意性配置的图;

[0067] 图 8 是例示了根据本发明第二实施方式的超分辨率显微镜的光学系统的主要部分的示意性配置的图;

[0068] 图 9 是例示了根据本发明第三实施方式的超分辨率显微镜的光学系统的主要部分的示意性配置的图;

[0069] 图 10A 和图 10B 是分别例示了紫外光照射前后荧光蛋白质色素“Kaede”的色散光谱的图;

[0070] 图 11 是例示了根据本发明第五实施方式的超分辨率显微镜的光学系统的主要部分的示意性配置的图;

[0071] 图 12 是例示了根据本发明第六实施方式的超分辨率显微镜的主要部分的示意性配置的图;

[0072] 图 13 是例示了根据本发明第七实施方式的超分辨率显微镜的主要部分的示意性配置的图；

[0073] 图 14 是例示了构成样本的分子的价电子轨道的电子结构的示意图；

[0074] 图 15 是例示了图 14 中示出的分子的第一受激态的概念图；

[0075] 图 16 是例示了图 14 中示出的分子的第二受激态的概念图；

[0076] 图 17 是例示了图 14 所示的分子从第二受激态返回到基态的情况的概念图；

[0077] 图 18 是阐释分子的双共振吸收过程的概念图；

[0078] 图 19 是阐释分子的双共振吸收过程的概念图；

[0079] 图 20 是例示了常规的超分辨率显微镜的主要部分的配置图；以及

[0080] 图 21 是例示了图 20 所示的相位板的配置的放大平面图。

具体实施方式

[0081] 首先,将描述能够用于根据本发明的超分辨率显微镜的偏光控制元件的概述。

[0082] 图 1A 和图 1B 分别是示意性地例示了偏光控制元件的第一示例的配置的截面图和平面图。偏光控制元件 11 设置在刺激光的独立光路上,并且包括透射型偏光部件 12 和在偏光部件 12 的发射侧上形成的相位调制部 13。偏光部件 12 由双折射材料制成。在采用例如晶体的情况下,将晶体切割成关于晶轴具有相位差和角度,并且将晶体的表面抛光。

[0083] 相对于入射光的波长具有 $1/2$ 波长的相位差的偏光部件 12 例如能够将入射光的线偏振光转变成被旋转了给定角度的线偏振光,并且发射该线偏振光。此外,相对于入射光的波长具有 $1/4$ 波长的相位差的偏光部件 12 例如能够将入射光的线偏振光转变成圆偏振光,并且发射该圆偏振光。此外,通过关于入射光的偏振面来恰当地设置晶轴的方向,能够转变成介于前者 and 后者之间的椭圆偏振光。注意,偏光部件 12 并不局限于晶体,而且能够使用诸如液晶或光子晶体的其它双折射材料来制作偏光部件 12。此外,还能够采用 Gran 棱镜等作为偏光控制元件,当然,能够采用电光晶体,电光晶体能够通过法拉第效应对偏光方向进行电控。

[0084] 按照如下方式将相位调制部 13 形成为具有台阶:将上述的偏光部件 12 的发射侧上的表面划分为例如类似于图 21 的围绕光轴对称的八个区域;并且,通过涂敷厚度阶梯式改变的光学薄膜或通过以阶梯方式进行蚀刻以具有不同的深度,各个轴对称区域的相位相差刺激光的波长 λ_2 的 $1/8$ 。

[0085] 当如上所述地将线偏振刺激光输入到偏光控制元件 11 中时,偏光部件 12 转变刺激光的偏光状态;相位调制部 13 对其波前进行空间调制以使其具有轴对称的相位分布;并且进行发射。例如,在将线偏振刺激光透过具有由四分之一波长板形成的偏光部件 12 的偏光控制元件 11 时,偏光状态转变为圆偏振光,同时,其波前具有轴对称的相位分布。

[0086] 因此,通过以如在非专利文献 2 中公开的具有高数值孔径的显微镜物镜来会聚透过偏光控制元件 11 的刺激光,能够在电场强度被完全抵消的中心处形成理想的环带光束 (ring-zone beam)。此外,在通过旋转偏光控制元件 11 以使用偏光部件 12 调整偏光状态时,相位调制部 13 一体地旋转,因此,刺激光的轴并不偏移,并且总是穿过轴对称的相位调制部 13 的中心。这使得能够会聚环带刺激光以具有对于超分辨率显微镜来说理想的轴对称的强度分布。

[0087] 图 2A 和图 2B 分别是示意性地例示了偏光控制元件的第二示例的配置的截面图和平面图。偏光控制元件 21 设置在激励光 (excited light) 和刺激光 (stimulus light) 所共有的光路上, 并且包括透射型偏光部件 22 和形成在偏光部件 22 的入射表面侧的表面上相位调制部 23。例如与图 1 中的偏光部件 12 相类似地形成偏光部件 22, 以转变刺激光的偏光状态。相位调制部 23 被形成为使得在激励光和刺激光的圆形光瞳面中将偏光部件 22 的入射侧上的表面例如以同心圆的方式划分成两个区域; 与该圆形光瞳面的中心部分相对应的区域是调制区域 23a; 并且, 在调制区域 23a 上涂敷了多层膜 24。在该实施方式中, 多层膜 24 用作对激励光具有反射功能的光学反射膜。

[0088] 如图 2A 所示, 多层膜 24 被这样配置, 即, 在偏光部件 22 上经由缓冲层 27 通过沉积而交替地层叠对激励光具有不同反射率的第一物质 25 (折射率 $n_a(\lambda)$) 和第二物质 26 (折射率 $n_b(\lambda)$)。已知第一物质 25 与第二物质 26 分别具有膜厚度 d_a 和 d_b , 为了使这些物质用作激励光的光学反射膜, 光路的长度是例如激励光的长度 λ_1 的四分之一, 而且该长度只需要满足以下的表达式 (1)。

$$[0089] \quad d_a n_a(\lambda_1) = \lambda_1/4, d_b n_b(\lambda_1) = \lambda_1/4(1)$$

[0090] 在上述条件下设计出的多层膜 24 并不与波长与激励光的波长不同的刺激光的干涉条件相匹配, 因此, 刺激光没有被反射而是被透射。此时, 刺激光经受了相位延迟。也就是说, 多层膜 24 具有对刺激光的相位进行空间调制的操作, 并且用作相位板。因此, 在此情况下, 当对穿过多层膜 24 的刺激光与不穿过多层膜 24 的刺激光进行比较时, 在同一光瞳面中出现了由以下表达式 (2) 表示的相位差 δ 。注意, 在表达式 (2) 中, λ_2 表示刺激光的波长, 并且 m 表示由第一物质 25 与第二物质 26 形成的各对的对数。

$$[0091] \quad \delta = m \{d_a n_a(\lambda_2) + d_b n_b(\lambda_2)\} - m(d_a + d_b)(2)$$

[0092] 在相位差 δ 满足以下表达式 (3) 的情况下, 在对穿过多层膜 24 的刺激光的波前与穿过其它区域的刺激光的波前进行比较时, 电场幅值方面的幅值完全相同, 但是符号相反, 如图 3 所示。注意, 在表达式 (3) 中, L 代表整数。

$$[0093] \quad \delta = (2L+1) \lambda_2/2(3)$$

[0094] 因此, 在光瞳面中, 在不穿过多层膜 24 的刺激光和穿过多层膜 24 的刺激光的光强相同的情况下, 通过会聚穿过光瞳面的刺激光, 在焦点处完全抵消了电场强度。也就是说, 在焦平面处, 能够获得面包圈形状的会聚光束, 其由于干涉而不具有任何光强 (即, 具有光强的最小值)。例如, 这意味着能够获得与日本专利 No. 3993553 中公开的环形相位板相等的功能。

[0095] 另一方面, 激励光被具有多层膜 24 的区域反射, 并且穿过除了多层膜 24 以外的区域。在该情况下, 例如能够如在 Opt. Lett., 19(1994) 1804-1806 (Y. Iketaki 等人) 中公开的那样获得具有光强的最大值的普通会聚光束。

[0096] 因此, 通过向图 2 中示出的偏光控制元件 21 输入在相同的轴上具有相同光瞳直径的激励光和刺激光、并且会聚穿过的光, 能够将刺激光会聚成为至少在包括聚光点的相邻区域中在光轴方向上具有中空部分的中空图案形状 (面包圈形状) 的光束, 更具体地说, 胶囊形状 (三维黑洞形状) 或管形 (通心粉形状)。此外, 可以将激励光会聚在普通形状的会聚光束中。此外, 由于将激励光和刺激光会聚在同一空间点处, 因此能够略去对激励光和刺激光的光学调整, 对激励光和刺激光的光学调整是超分辨率显微镜的最大问题。

[0097] 应当注意,为了将激励光和刺激光输入到偏光控制元件 21 中,优选地这样来配置照明光学系统,即,从同一单模式光纤得到激励光和刺激光,并且由不具有色像差的透镜进行校直,并由此使得激励光和刺激光被输入。通过如上所述地配置照明光学系统,可以预期以下效果。

[0098] (1) 由于激励光和刺激光是从单模式光纤得到的,因而能够使这些光具有完美的球面波。因此,通过以不具有色像差的透镜来对光进行校直,可以得到不具有波像差的完美的平面波,从而能够更加可靠地进行偏光控制元件 21 的相位调制。

[0099] (2) 由于激励光和刺激光是从单模式光纤中得到且被不具有色像差的透镜校直,因而即使在以稍稍倾斜的方式设置偏光控制元件 21 时,也能够利用无色像差的光学系统来校直光,否则偏光控制元件 21 中的偏光部件 22 的平行安放程度下降。因此,能够使图像形成在样本上的同一空间点处并解决光束的偏移。

[0100] (3) 由于单模式光纤的发射端口被以机械方式固定,因此能够建立在机械方面非常稳定的照明光学系统,其中,激励光和刺激光的聚光点在空间上没有变化。

[0101] 注意,相位调制部 23 并不限于其中多层膜 24 同心地形成在两个区域中的中心部分处的配置,并且能够形成具有多层膜 24 的调制区域 23a 以具有更加环形的区域,即,如使用相位型菲涅耳波带片情况下那样的两个或更多个区域。

[0102] 另外,如上所述,当穿过偏光控制元件 21 的多层膜 24 的刺激光和穿过多层膜 24 以外的区域的刺激光具有在电场幅值方面完全相同但符号相反的幅值时,为了在焦平面处获得面包圈形状是会聚光,不穿过多层膜 24 的刺激光和穿过多层膜 24 的刺激光具有相同的光强是必要的条件。更具体地说,在入射到光瞳面的刺激光的强度均匀时,需要满足以下表达式 (4),其中, S_A 是多层膜 24 的面积,并且 S_0 是整个光瞳面的面积。

$$[0103] \quad S_A = S_0/2 \quad (4)$$

[0104] 具体地说,在图 2B 中,当光瞳的形状是具有半径 R 的圆形且形成多层膜 24 的调制区域 23a 的形状是具有半径 ρ 的圆形时,根据表达式 (4), R/ρ 是 $2^{1/2}$ 。这是有限制的最佳条件。也就是说,当光瞳和调制区域 23a 的形状或大小可以调整时,“穿过调制区域 23a 的刺激光和穿过调制区域 23a 以外的区域的刺激光在电场幅值方面具有完全相同但符号相反的幅值”这一条件并不一定是绝对的,而是可以给出“穿过调制区域 23a 的刺激光和穿过调制区域 23a 以外的区域的刺激光的符号相反”这一非常宽泛的最佳条件。

[0105] 这里,刺激光的电场的最大幅值是 E_e ,并且多层膜 24 的相位延迟角度是 δ_e 。在此情况下,当在幅值方面在同一光瞳面上检验穿过多层膜 24 的刺激光和穿过多层膜 24 以外的区域的刺激光时,穿过多层膜 24 的刺激光的幅值强度 E_{in} 由以下的表达式 (5) 表示。注意,在以下表达式 (5) 中, ω_e 代表刺激光的频率,并且其上部具有向右箭头的 k_e 和 r_e 分别代表波数矢量和位置矢量。

$$[0106] \quad E_{in} = E_e \sin(\omega_e t + \vec{k}_e \vec{r}_e + \delta_e) \quad (5)$$

[0107] 另一方面,穿过调制区域 23a 以外的区域的刺激光的幅值强度 E_{out} 由以下的表达式 (6) 表示。

$$[0108] \quad E_{out} = E_e \sin(\omega_e t + \vec{k}_e \vec{r}_e) \quad (6)$$

[0109] 当对上述的表达式 (5) 和表达式 (6) 进行比较时,发现相位偏移了 δ_e 。因此,由

于 E_{in} 和 E_{out} 取 E_e 和 $-E_e$ 之间的任意值,因此 E_{in} 和 E_{out} 可以根据 δ_e 的值来取具有不同符号的值。具体地说,上述的表达式 (3) 的情况是其中幅值的绝对值也取相同值的特殊情况。

[0110] 如上所述,当具有不同符号时,不管上述的表达式 (4) 的条件如何, E_{in} 和 E_{out} 是由以下表达式 (7) 表示的更宽的条件。

$$[0111] \quad (S_0 - S_A)E_{out} + S_A E_{in} = 0 \quad (7)$$

[0112] 也就是说,在表达式 (7) 中,通过调整 S_0 和 S_A 之间的比例或相位差 δ_e ,可以将激光的焦点处的电场抵消为零。

[0113] 因此,当 E_{in} 和 E_{out} 具有彼此不同的符号时,即使表达式 (3) 的条件不满足,但通过调整 S_0 和 S_A 之间的比例,也能够实现表达式 (7) 的条件。更具体地说,由于多层膜 24 的面积 S_A 可调整并且整个光瞳直径的面积 S_0 也可用光圈调整,因此与常规方法相比,通过更宽松的调整就可以实现超分辨率。

[0114] 如上所述,已经描述了偏光控制元件 21 针对激光的条件。另一方面,对于激励光来说,能够展现出更加宽广的应用条件。

[0115] 图 4 是例示了偏光控制元件的光学特性的第三个示例的图。在图 2 中示出的配置中,偏光控制元件 31 被配置成使得偏光部件 22 上的多层膜 24 对激励光发挥透射型相位板的作用。

[0116] 在图 4 中, E_p 表示激励光的电场的最大幅值,并且 δ_p 表示多层膜 24 的相位延迟角度。在此情况下,当在同一光瞳面上在幅值方面检验穿过多层膜 24 的激励光和穿过多层膜 24 以外的区域的激励光时,穿过多层膜 24 的激励光的幅值强度 E_{in} 由表达式 (8) 表示。注意, ω_p 代表激励光的频率,并且其上部具有向右箭头的 k_p 和 r_p 分别代表波数矢量和位置矢量。

$$[0117] \quad E_{in} = E_p \sin(\omega_p t + \vec{k}_p \vec{r}_p + \delta_p) \quad (8)$$

[0118] 另一方面,穿过多层膜 24 以外的区域的激励光的幅值强度 E_{out} 由以下的表达式 (9) 表示。

$$[0119] \quad E_{out} = E_p \sin(\omega_p t + \vec{k}_p \vec{r}_p) \quad (8)$$

[0120] 当对上述的表达式 (8) 和表达式 (9) 进行比较时,与激光的情况相似,发现相位偏移了 δ_p 。因此,由于 E_{in} 和 E_{out} 在激励光的情况下取 E_p 和 $-E_p$ 之间的任意值,通过调整 δ_p 的值, E_{in} 和 E_{out} 的值可以被设置成具有相同的符号。

[0121] 在此情况下,如图 4 所示,由于穿过多层膜 24 的激励光和穿过多层膜 24 以外的区域的激励光具有相同的极性,因此与激光的情况不同,它们的电场没有被抵消,而是在会聚激励光时被彼此相加。结果,在此情况下,能够在焦点处获得具有强度的高斯型聚光点。也就是说,在设计多层膜 24 时,对 δ_p 和 δ_e 进行调整,使得它们的极性在激励光的情况下相同,而在激光的情况下彼此不同。更具体地说,由于激励光和激光具有不同的波长,因此它们在多层膜 24 处的折射率也不同。因此,通过利用折射率的差异,可以优化多层膜 24 的层数或厚度。例如,通过使用其中激励光和激光之间的折射率的差异在异常散射很强的吸收端附近的波长区域中足够大的透明物质,仅使用单层就能够构成具有与上述效果相同的效果的最简单的偏光控制元件而不需要多个分层。

[0122] 图 5A 和图 5B 是用于阐释偏光控制元件的第四个示例的图；图 5A 是例示了该偏光控制元件的示意性配置的平面图；并且图 5B 是用于阐释该偏光控制元件的光学特性的图。基于图 4 中示出的配置，偏光控制元件 41 被这样形成：偏光部件 22 上的入射光通量的整个区域是调制区域 23a；在图 5A 中，围绕光轴将调制区域 23a 划分成多个区域—八个区域（与图 1 的情况相类似）；并且，在划分出的八个区域上形成多层膜 24，使得这八个区域中的每一个的相位都相差激励光的波长 λ_2 的 $\lambda_2/8$ 。这里，如示意性地例示了激励光和激励光的相位分布的图 5B 所示，多层膜 24 被配置成透射激励光，同时激励光的相位与图 4 的情况相类似地保持不变，并且按照对整个激励光执行相位调制以使其变成相位分布在 2π 处旋转的拉盖尔高斯 (Laguerre-Gaussian) 光束的方式来透射激励光。

[0123] 与第三个示例的情况相似，通过利用图 5 所示的偏光控制元件 41 以显微镜物镜将穿过该偏光控制元件 41 的激励光和激励光会聚到样本上，在不损失光强的情况下，能够在焦平面上形成激励光在光轴上具有光强的最大值的光斑、和激励光在光轴上具有光强的最小值的中空形状的光斑。

[0124] 图 6 是例示了偏光控制元件的第五示例的示意性配置的截面图。该偏光控制元件 51 是反射型，并且与第二到第四示例的情况相似，偏光控制元件 51 设置在激励光和激励光共有的光路上。图 6 中示出的偏光控制元件 51 具有：棱镜部件 52a；形成在入射表面 52a 上的用于相位调制的多层膜 53；形成在发射表面 52b 上的偏光部件 54；以及形成在反射表面 52c 上的反射膜 55。棱镜部件 52 例如由玻璃制成。偏光部件 54 和多层膜 53 是通过适当地将第二到第四示例中示出的偏光部件和多层膜组合起来形成的。此外，反射膜 55 例如由铝膜形成。

[0125] 图 6 中示出的偏光控制元件 51 反射从棱镜部件 52 的入射表面 52a 进入的激励光（波长 λ_1 ）和激励光（波长 λ_2 ），将其偏转 90 度，并且使偏转后的光从发射表面 52b 发射。此时，以设置在入射表面 52a 上的多层膜 53 对激励光进行相位调制，以在焦平面处获得面包圈形状的会聚光束，并且以设置在发射表面 52b 上的偏光部件 54 将激励光的偏光状态转变成期望的偏光状态。

[0126] 通过使用如上所述的反射型偏光控制元件 51，能够提高构成超分辨率显微镜的部件的布局自由度。注意，在图 6 中，偏光部件 54 可以设置在棱镜部件 52 的反射表面 52c 上。此外，能够通过使用诸如晶体、液晶或光子晶体的双折射材料来形成棱镜部件 52 本身，使得棱镜部件 52 具有转变激励光的偏光状态的偏振功能和将激励光和激励光的光路偏转 90 度的偏转功能。

[0127] 如上所述，通过将偏光控制元件配置为在偏光控制元件中将偏光部件和相位调制部组合起来并且在超分辨率显微镜中构建该偏光控制元件，能够容易地以大约 30nm 的精度使激励光的中空部分与激励光的峰值点在焦平面上重合并同时抑制光轴的倾斜或偏移的发生，并且通过执行只针对偏光控制元件的旋转调整或定中心，很容易实现超分辨率效果。此外，能够很容易地和低成本地将偏光部件和相位调制部形成作为一种类型的光学部件的偏光控制元件。注意，在上述的第一示例中，相位调制部 13 可以形成在偏光部件 12 的入射表面侧上。此外，在第三到第五示例中，多层膜可以形成在发射表面侧，除了在图 6 的第五示例中，在多层膜 53 反射激励光的情况下，多层膜 53 形成在棱镜部件 52 的入射表面 52a 上，如图 6 所示。此外，在第二到第五示例中，可以将偏光部件配置成转变激励光的

偏光状态。此外,第二到第五示例的偏光控制元件可以设置在刺激光的单一光路上。在此情况下,自然不需要刺激光的条件。

[0128] 下面,将参考附图来描述根据本发明的使用如上所述的偏光控制元件的超分辨率显微镜的实施方式。

[0129] (第一实施方式)

[0130] 图 7 是例示了根据本发明第一实施方式的超分辨率显微镜的光学系统的主要部分的示意性配置的图。该超分辨率显微镜用于观察以荧光色素染色的样本,并且具有构成光源部的用于激励光的光源 61 和用于刺激光的光源 62。从用于激励光的光源 61 输出的激励光被二向色镜 63 反射,然后穿过偏振分光器 64。之后,光被两个电流镜 65 和 66 在二维方向上以摆动的方式扫描,穿过光瞳投影透镜系统 67,并且被显微镜物镜 68 会聚在目标样本 70 上。注意,在图 1 中,出于简化附图的目的,电流镜 65 和 66 被安排为可在同一平面中摆动。

[0131] 另一方面,从用于刺激光的光源 62 输出的刺激光穿过偏光控制元件 71,并且输入到二向色镜 63 中。该光穿过二向色镜 63,并且在大体相同的轴上与来自用于激励光的光源 61 的激励光组合起来。然后,光穿过偏振分光器 64,由电流镜 65 和 66 在二维方向上以摆动的方式扫描,穿过光瞳投影透镜系统 67,并且被显微镜物镜 68 会聚在目标样本 70 上。

[0132] 另一方面,来自目标样本 70 的光被显微镜物镜 68 校直,穿过光瞳投影透镜系统 67、电流镜 66、65,并且被输入到偏振分光器 64 中。然后,在由偏振分光器 64 反射了期望的光的偏光成分后,通过荧光分离滤波器 75 得到(透射)荧光,并且所透射的荧光穿过聚光透镜 76 和共焦小孔 77,并且被构成检测部的由光电倍增器形成的光检测单元 78 接收。

[0133] 在图 7 所示的超分辨率显微镜中,由光瞳投影透镜系统 67 将显微镜物镜 68 的光瞳面投影到电流镜 65、66 之间,以形成共轭光瞳面 69。根据这种配置,以光瞳面 69 为轴来执行对电流镜 65、66 的照明光的空间扫描。

[0134] 在该实施方式中,为了说明的方便起见,对以如 Rhodamine 6G 的基于叶黄素的色素染色的样本进行观察。因此,例如,使用了 Nd:YVO4 固态激光器作为激励光的光源 61,并且使用了在其 1064nm 的振荡波长的二次谐波(532nm 的波长)从该激光器输出的光作为激励光(泵浦光)。此外,例如,使用了 Kr 激光器作为刺激光的光源 62,并且使用了在其 647.1nm 的振荡波长从该激光器输出的光作为刺激光(消除光)。

[0135] 此外,偏光控制元件 71 例如具有在图 1 中示例性示出的第一示例配置。这里,偏光控制元件 71 的偏光部件 72 被配置成针对消除光发挥四分之一波长板的作用。根据这种配置,从刺激光的光源 62 到达的线偏振消除光在预定偏光旋转方向被转变成圆偏振光,并且由相位调制部 73 对被转变成圆偏振光的消除光进行相位调制。在此情况下,偏光部件 72 具有大约 2mm 的厚度,而另一方面,由光学薄膜或蚀刻形成的构成相位调制部 73 的台阶的高度为大约 1 μ m 那么小。因此,相位调制部 73 对偏光部件 72 的偏振功能不具有任何不利影响。

[0136] 注意,尽管理想地将偏光控制元件 71 设置在位于两个电流镜 65、66 之间的共轭光瞳面 69 处,但是两个电流镜 65、66 之间的空间在现实中是大约 5mm,并且很难如上所述地设置偏光控制元件 71。但是,在实践中,假设将偏光控制元件 71 的位置设置在入射侧上的消除光的光路上和电流镜 65 前面,即使将偏光控制元件 71 设置在任何位置,图像形成性能的

恶化也是可以忽略的。

[0137] 此外,从激励光的光源 61 输出的泵浦光被转变为线偏振光,或者,被未示出的偏光部件转变为具有与由偏光控制元件 71 做出的消除光的偏光旋转方向相反的方向的圆偏振光,并且由显微镜物镜 68 会聚。

[0138] 根据该实施方式,由于使用了由偏光部件 72 和相位调制部 73 一体形成的偏光控制元件 71,因此例如在将偏光控制元件 71 定中心以将相位调制部 73 的中心与消除光的光轴重合的状态下,以在与光轴垂直的平面中执行旋转调整这样简单的操作,能够在预定偏光旋转方向上将消除光转变成圆偏振光。根据这种配置,在通过具有高数值孔径的显微镜物镜 68 来会聚泵浦光和消除光时,能够使消除光在光轴中的电场成分被抵消的焦平面上具有对称的面包圈光束。此外,能够很容易地以大约 30nm 的精度使消除光的中空部分与泵浦光的峰值点重合,并且很容易地实现超分辨率效果而无需使消除光的光轴倾斜或偏移。此外,具体地说,当泵浦光的偏光状态是具有与消除光的偏光旋转方向相反的方向的圆偏振光时,能够获得这样的效果,即,能够平均地检测到随机散射的分子的荧光。

[0139] (第二实施方式)

[0140] 图 8 是例示了根据本发明第二实施方式的超分辨率显微镜的主要部分的示意性配置的图。该超分辨率显微镜主要具有三个独立的单元,即,光源单元 80、扫描单元 90 和显微镜单元 100。扫描单元 90 和显微镜单元 100 通过光瞳投影透镜系统 110 光学地组合起来。

[0141] 构成光源部的光源单元 80 包括:激励光的光源 81;刺激光的光源 82;由二向色棱镜和偏光棱镜形成的光束组合器 83;光纤聚光透镜 84;单模式光纤 85;以及光纤校直透镜 86;在由光束组合器 83 在大体相同的轴上将从激励光的光源 81 输出的激励光(泵浦光)和从刺激光的光源 82 输出的刺激光(消除光)组合起来之后,组合光穿过光纤聚光透镜 84,并且被输入到大体相同轴上的同一单模式光纤 85 中,从而作为发射立体角被对准的完美球面波而从单模式光纤 85 的发射端口发射出去。从单模式光纤 85 发出的泵浦光和消除光由无色像差光纤校直透镜 86 转变成平面波,并且被输入到扫描单元 90 中。

[0142] 在该实施方式中,为了观察被以 Rhodamine 6G 色素染色的样本,例如采用输出连续波的氦氖激光器作为激励光的光源 81,并且采用了在 543nm 的波长从该激光器输出的振荡线作为泵浦光。此外,采用了输出连续波的氦氖激光器作为刺激光的光源 82,并且使用在 633nm 波长从该激光器输出的振荡线作为消除光。因此,基于这些波长,优化了包括稍后将描述的偏光控制元件的光学系统。

[0143] 在扫描单元 90 中,从光源 80 发出的泵浦光和消除光穿过偏振分光器 91;由两个电流镜 92 和 93 在二维方向上以摆动的方式扫描;穿过光瞳投影透镜系统 110;并且被发射到显微镜单元 100。

[0144] 在显微镜单元 100 中,通过光瞳投影透镜系统 110 而从扫描单元 90 到达的泵浦光和消除光被半棱镜 101 反射,并且被显微镜物镜 102 会聚到被以 Rhodamine 6G 色素染色的目标样本 103 上。此外,在目标样本 103 处发射的荧光被显微镜物镜 102 校直,并且被半棱镜 101 反射。然后,荧光穿过光瞳投影透镜系统 110,并且返回到扫描单元 90。同时,穿过半棱镜 101 的荧光的部分被引导向目镜 104,以能够作为荧光图像而被可视地观察。注意,显微镜物镜 102 被示为包括其透镜镜筒。

[0145] 此外,在扫描单元 90 中,使通过光瞳投影透镜系统 110 而从显微镜单元 100 到达的荧光的期望的偏光成分沿着与当前路径相反的路径行进,并且由偏振分光器 91 分离。分离的荧光穿过投影透镜 94、小孔 95 以及陷波滤波器 96 和 97,并且被构成检测部的由光电倍增器形成的光检测单元 98 接收。

[0146] 应当注意,小孔 95 只允许在目标样本中的特定断层面处发射的荧光穿过,并且陷波滤波器 96、97 将包含在荧光中的泵浦光和消除光去除。

[0147] 与图 7 相似,在图 8 所示出的超分辨率显微镜中,由光瞳投影透镜系统 110 将显微镜物镜 102 的光瞳面投影到电流镜 92、93 之间,以形成共轭光瞳面。根据这种配置,以光瞳面为轴执行电流镜 92、93 对照明光的空间扫描。

[0148] 在该实施方式中,在泵浦光和消除光共有的光路上,在显微镜单元 100 中将具有图 4 中示例性示出的配置的偏光控制元件 105 和调节光束直径的光圈(可变光圈)108 设置在光瞳面处或光瞳面附近。

[0149] 偏光控制元件 105 被这样配置成使得偏光部件 106 针对消除光发挥四分之一波长板的作用。多层膜 107 被这样配置:以 532.7nm 的厚度涂敷在波长为 532nm 处折射率为 1.52 的 SiO_2 作为如图 2 所示的缓冲层 27;并且,通过沉积,在缓冲层 27 上交替地层叠 11 层在波长为 532nm 处折射率为 2.16 的 TaO_5 和在波长为 532nm 处折射率为 1.52 的 SiO_2 , TaO_5 的厚度是 62.8nm,而 SiO_2 的厚度是 89.9nm。多层膜 107 发挥用于泵浦光的透明部件的作用,并且发挥将消除光的相位延迟 $1/2$ 波长(π)的相位调制元件的作用。

[0150] 此外,通过旋转调整在与光轴垂直的平面中沉积偏光控制元件 105,在预定的偏光旋转方向上将消除光束转变成圆偏振光,对消除光的相位进行空间调制,并且经过空间调制的消除光与未经过空间调制的泵浦光穿过光圈 108,并且由无色像差显微镜物镜 102 会聚在样本 103 上。

[0151] 光圈 108 对穿过偏光控制元件 105 的泵浦光和消除光的光束直径进行调节,使消除光在焦平面处具有完美的中空光束。也就是说,假定光瞳面处的强度分布是均匀的,在如图 2 所示的光瞳的形状是半径为 R 的圆且调制区域 23a 的形状是半径为 ρ 的圆的情况下, R/ρ 是 $2^{1/2}$ 以便于满足表达式(4)。但是,根据一般的激光扫描显微镜,光束的强度分布并不均匀,并且具有高斯形状分布。因此,为了形成完美的中空光束,需要根据上述表达式(7)来调整 R/ρ 。因此,由紧接着设置在光瞳面之后的光圈 108 来调整光束的外径以优化 R/ρ 。此外,光圈 108 可以对透过偏光控制元件 105 的多层膜 107 的消除光的相位延迟的误差进行调整。

[0152] 应当注意,从激励光的光源 82 输出的泵浦光被转变成线偏振光,或者,被偏光控制元件 105 的未示出的偏光部件转变成具有与消除光的偏光旋转方向相反的方向的圆偏振光,并且被输入到光束组合器 83 中。

[0153] 如上所述,根据该实施方式,当在相同的轴上被组合之后,消除光和泵浦光被输入到偏光控制元件 105 中。因此,通过使用偏光控制元件 105 的偏光部件 106 在预定偏光旋转方向上将消除光转变成圆偏振光,并且然后在例如将偏光控制元件 105 定中心为其中心与光轴重合的情况下,利用在与光轴垂直的平面中进行旋转调整的简单操作,将相对地介于穿过多层膜 107 的消除光与不穿过多层膜 107 的消除光之间的相位延迟大约 π ,能够在与泵浦光相同的轴上形成消除光的中空光束,而没有造成消除光的光轴倾斜或偏移。此外,

由于在偏光控制元件 105 中没有出现消除光的光量的损失,因此能够以从刺激光的光源 82 输出的消除光的最小必要能量来实现显著的超分辨率效果。此外,当由于偏光控制元件 105 泵浦光的偏光状态是具有与消除光的偏光旋转方向相反的方向的圆偏振光时,可以获得能够平均地检测到随机散射的分子的荧光的效果。

[0154] 在显微镜单元 100 中,偏光控制元件 105 与光圈 108 设置在光瞳表面上或设置在光瞳表面附近;电流镜 92、93 设置在显微镜单元 100 的共轭光瞳面上或其附近;并且对泵浦光和消除光进行空间扫描,由此能够通过扫描来抑制波像差的出现。因此,在不干扰消除光的影响超分辨率显微镜的性能的会聚形状的情况下,能够一直在相同的轴上将泵浦光和消除光会聚在目标样本 103 上,同时保持具有宽视野的高图像形成性能,由此可以实现显著的超分辨率效果。

[0155] 此外,在光源单元 80 中,从激励光的光源 81 输出的泵浦光和从刺激光的光源 82 输出的消除光被光束组合器 83 组合,然后通过相同的光学系统输出(即,通过光纤聚光透镜 84 和单模式光纤 85)而没有射出任何光。此外,各具有完美的球面波并从单模式光纤 85 发出的泵浦光和消除光在相同的条件下被光纤校直透镜 86 校直。因此,泵浦光和消除光被显微镜物镜 102 在相同的发散(光束扩展)下会聚在目标样本 103 上完全相同的图像形成点处,而没有引起波像差且不需要任何复杂的光学调整。

[0156] (第三实施方式)

[0157] 图 9 是例示了根据本发明第三实施方式的超分辨率显微镜的光学系统的主要部分的示意性配置的图。该超分辨率显微镜基于图 8 中示出的超分辨率显微镜。在光源 80 中,采用了一个激光光源 87,并且从激光光源 87 输出的激光穿过光纤聚光透镜 84、单模式光纤 85 和光纤校直透镜 86,并且被输入到扫描单元 90。

[0158] 例如,采用了多线振荡的氦氖激光器作为激光光源 87;采用了波长 543nm 处的振荡线作为泵浦光;并且采用波长 633nm 处的振荡线作为消除光。由于其它的配置和操作与在第二实施方式中的配置和操作相似,因此略去了对它们的说明。

[0159] 根据该实施方式,由于同时从氦氖激光器得到泵浦光和消除光,因此与第二实施方式相比,可以将配置简化。此外,由于能够略去在第二实施方式中所必须的调整泵浦光和消除光的光轴并将其引导到单模式光纤 85 中的操作,因此可以进一步简化调整。由于其它操作和效果与第二实施方式中的操作和效果相同,因此略去了对它们的说明。

[0160] (第四实施方式)

[0161] 根据本发明第四实施方式的超分辨率显微镜基于上述第一到第三实施方式中任一个的配置。在该超分辨率显微镜中,偏光控制元件的偏光部件针对消除光发挥二分之一波长板的作用。此外,会聚到目标样本上的消除光是线偏振光,并且该线偏振光的方向由偏光控制元件的偏光部件调整。也就是说,在图 7 所示出的配置中,偏光控制元件 71 的偏光部件 72 由二分之一波长板形成,而在图 8 和图 9 中的每一个图所示出的配置中,偏光控制元件 105 的偏光部件 106 由二分之一波长板形成。

[0162] 泵浦光作为线偏振光被会聚到目标样本上。同时,偏光控制元件在与光轴垂直的平面上旋转和调整以使线偏振消除光与线偏振泵浦光的方向相匹配,并且被会聚到目标样本上。

[0163] 如上所述,通过把将要被会聚到目标样本上的泵浦光和消除光转变成具有相同偏

光方向的线偏振光,能够使荧光抑制效果最大化并实现有利的超分辨率效果,尤其是在检测如 Rhodamine 6G 的色素的荧光时。

[0164] 在上述实施方式中,泵浦光与消除光组合并会聚到目标样本上以在目标样本上形成圆形的泵浦光光斑和中空的消除光光斑。根据这种配置,抑制了消除光的照射区中的荧光的强度,使荧光抑制效果显现出来,并且光检测单元检测从只照射了泵浦光的超分辨率区域发射出的荧光。也就是说,可以检测出通过照射泵浦光和消除光而发出的荧光的总量。

[0165] 但是,用于实现超分辨率效果的荧光抑制效果并不限于上述情况,并且能够通过引入分光镜方法来实现荧光抑制效果。近来,作为适用于该方法的色素,已经知道一种在照射具有特定波长的光时改变其荧光光谱的所谓光激活色素(light-activated dye)。具体地说,作为著名的光激活色素,存在被称为“Kaede”的荧光蛋白质。

[0166] 当把紫外光照射到这种“Kaede”上时,其荧光波长向着较长的波长一侧红移。图 10A 和图 10B 是例示了在紫外光照射前后“Kaede”的色散光谱的图。图 10A 是在紫外光照射前的色散光谱,并且图 10B 是在照射具有 355nm 波长的紫外光后的色散光谱。此外,在图 10A 和图 10B 中的每一个图中,实线表示发射光谱,虚线表示吸收光谱。

[0167] 从图 10A 和图 10B 可以理解,“Kaede”的发射光谱带在照射紫外光前延伸到 500nm 到 550nm 的波长区域,并且其荧光波长的中心在照射了 355nm 波长的紫外光后红移到 580nm 附近。值得注意的是,较短波长侧上的 500nm 到 550nm 的波段的荧光成分消失。因此,在此情况下,例如,当采用波长为 488nm 的可见光作为激励光并采用波长为 355nm 的紫外光作为刺激光时,能够通过如下操作类似地实现超分辨率效果:使用与上述示例的配置相似的配置将这些光照射到目标样本上;并且,通过光谱仪或滤光器来测量较短波长侧上从只发射激励光的区域产生的荧光。此种情况下的一个示例配置将在下面作为本发明的第五实施方式参考图 11 来进行描述。

[0168] (第五实施方式)

[0169] 图 11 是例示了根据本发明第五实施方式的超分辨率显微镜的 optical 系统的主要部分的示意性配置的图。该超分辨率显微镜具有激励光的光源 121 和刺激光的光源 122,其中每一个都构成了光源部。与图 7 的情况相似,在经过二向色镜 123 反射后,从激励光的光源 121 输出的激励光透过偏振分光器 124。然后,光被两个电流镜 125、126 在二维方向上以摆动的方式扫描,穿过光瞳投影透镜系统 127 和显微镜物镜 128,并且会聚到以“Kaede”染色的目标样本 130 上。

[0170] 另一方面,从刺激光的光源 122 输出的刺激光透射过偏光控制元件 131,并且被输入到二向色镜 123 中。然后,光透过二向色镜 123,并且在大体相同的光轴上与从激励光的光源 121 输出的激励光组合起来。经过组合的光被两个电流镜 125、126 在二维方向上以摆动的方式扫描,穿过光瞳投影透镜系统 127,并且被显微镜的物镜 128 会聚到目标样本 130 上。

[0171] 来自目标样本 130 的光被显微镜物镜 128 校直,穿过光瞳投影透镜系统 127 和两个电流镜 125、126,并且被输入到偏振分光器 124 中。然后,在偏振分光器 124 反射了期望的偏光成分后,通过荧光分离滤波器 135 得到(透射过)荧光,并且透射的荧光穿过聚光透镜 135 和光谱仪 137,并且被构成检测部的由光电倍增器形成的光检测单元 138 接收。

[0172] 光谱仪 137 构成了波段选择部,并且具有入射侧上的共焦小孔 141、发射侧上的小

孔 142、两个反射镜 143、144、以及反射型衍射光栅 145。在该光谱仪 137 中,从共焦小孔 141 进入的荧光穿过反射镜 143,并且被衍射光栅 145 反射和衍射,并且被衍射的光穿过反射镜 144,并且从发射侧上的小孔 142 发出。通过恰当地调整在衍射光栅 145 上入射的光的入射角度和发射侧上的小孔 142 的直径,能够得到具有期望的波段的荧光。

[0173] 在该实施方式中,为了观察从“Kaede”发出的荧光,例如采用 Ar 激光器作为激励光的光源 121,并且使用来自该激光器的振荡波长为 488nm 的光作为激励光。此外,例如,采用 Nd:YAG 激光器作为刺激光的光源 122,并且使用来自该激光器的振荡波长为 1064nm 的三次谐波(波长为 355nm)的光作为刺激光。

[0174] 偏光控制元件 131 具有例如在图 1 中示例性示出的第一示例配置。在该实施方式中,偏光控制元件 131 的偏光部件 132 被配置成针对刺激光发挥四分之一波长板的作用。此外,通过旋转调整将偏光控制元件 131 设置在与光轴垂直的平面中,在预定偏光旋转方向上将从刺激光的光源 132 到达的线偏振光的刺激光转变成圆偏振光,通过相位调制部 133 来调制被转变成圆偏振光的刺激光的相位,并且在目标样本 130 上形成在与激励光相同的轴上的中空刺激光光斑。

[0175] 此外,光谱仪 137 恰当地调整相对于衍射光栅 145 上的入射光的角度和发射侧上的小孔 142 的直径,以使波段为 500nm 到 550nm 的荧光能够穿过该小孔。注意,从激励光的光源 121 输出的激励光被转变成线偏振光,或者通过偏光控制元件 131 被未示出的偏光部件转变成具有与消除光的偏光旋转方向相反的方向的圆偏振光,并且被显微镜的物镜 128 会聚。

[0176] 根据该实施方式,由于荧光在刺激光的中空光斑被照射到目标样本 130 上的区域中红移,因此在光谱仪 137 处将该光阻断。另一方面,由于仅在刺激光的中空光斑的中心区域中照射激励光,因此在该中心区域中产生的具有 500nm 到 550nm 的波长的荧光被光谱仪 137 散射,并且被光检测单元 138 接收,这实现了荧光抑制效果。此外,由于刺激光的中空光斑的中心区域小于激励光的会聚尺寸,因此能够获得超分辨率效果。因此,与上述实施方式相似,例如在将偏光控制元件 131 定中心为其中心与光轴重合的状态下,使用在与光轴垂直的平面中进行旋转调整的简单操作,能够很容易地实现超分辨率效果,而不需要复杂的调整操作。

[0177] 应当注意,在图 11 中,通过使用光谱仪 137 构成了波段选择部,以选择具有 500nm 到 550nm 的波段的荧光,但是可以使用带通滤波器来代替光谱仪 137。此外,偏光控制元件 131 的偏光部件 132 并不限于四分之一波长板。偏光部件 132 可以由二分之一波长板形成,并且可以将其配置成使得在预定方向上将刺激光调整为线偏振光并发射到目标样本 130 上。也就是说,如“Kaede”的分子具有该分子特有的取向特性,并且尤其在输入了关于分子轴的特定方向上线偏振的紫外光时发生有效的红移。如上所述,当荧光色素分子具有异常强的偏振相关性时,能够实现更加显著的超分辨率效果,其中,通过向分子各向异性分配比刺激光的形状对称性更高的优先级并会聚在特定方向上线偏振的刺激光,将荧光抑制效果最大化。

[0178] (第六实施方式)

[0179] 图 12 是例示了根据本发明第六实施方式的超分辨率显微镜的主要部分的示意性配置的图。该超分辨率显微镜具有棒状镜头 153,其中,内窥镜光学系统 152 与显微镜物镜

151 的物侧（顶端）连接。通过将棒状镜头 153 的内窥镜光学系统 152 的顶端部分直接插入，在活体内观察生物样本 155 的生物现象。在相同的轴上组合起来的激励光和刺激光被电流镜 156、157 以二维方式扫描，穿过光瞳投影透镜 158，并且被输入到显微镜物镜 151 中。

[0180] 在该实施方式中，具有例如图 4 或图 5 中示例性示出的配置的偏光控制元件 161 设置在电流镜 157 和显微镜物镜 151 之间激励光与刺激光共有的光路上。注意，与上述实施方式的情况相似，偏光控制元件 161 的偏光部件被配置成针对刺激光发挥四分之一波长板或二分之一波长板的作用。

[0181] 根据该实施方式的如上所述地配置的超分辨率显微镜，与上述实施方式相似，例如在将偏光控制元件 161 定中心为其中心与光轴重合的状态下，使用在与光轴垂直的平面中进行旋转调整的简单操作，可以很容易地实现超分辨率效果。这使得即使棒状镜头 153 的数值孔径由于光学设计的限制而不能更高时也能够创新性地提高空间分辨率。

[0182] （第七实施方式）

[0183] 图 13 是例示了根据本发明第七实施方式的超分辨率显微镜的主要部分的示意性配置的图。在该超分辨率显微镜中，显微镜物镜 171 在彼此垂直的 X 方向和 Y 方向上可以在与光轴垂直的平面中移动，并且可以由显微镜物镜 171 自身在目标样本 172 上空间地扫描光通量。照射目标样本 172 的激励光和刺激光与图 8 相似地在相同的轴上组合起来并输入到光纤 173 中，并且各具有球面波并从光纤 173 的发射端口发出的泵浦光和消除光被校直透镜 174 转变成平面波，并且输入到显微镜物镜 171 中。

[0184] 在该实施方式中，例如具有如图 4 或图 5 示例性示出的配置的偏光控制元件 175 设置在校直透镜 174 和显微镜的物镜 171 之间激励光和刺激光共有的光路上。注意，与上述实施方式的情况相似，偏光控制元件 175 的偏光部件被配置成针对刺激光发挥四分之一波长板或二分之一波长板的作用。

[0185] 根据该实施方式的超分辨率显微镜，与上述实施方式相似，例如在将偏光控制元件 175 定中心为其中心与光轴重合，使用在与光轴垂直的平面中进行旋转调整的简单操作，可以很容易地实现超分辨率效果。这使得即使显微镜物镜 171 的数值孔径由于光纤 173 的使用而不能更高时也能够获得足够的空间分辨率。

[0186] 注意，本发明并不限于上述实施方式，并且各种修改或变化都是可能的。例如，在将偏光控制元件设置在激励光和刺激光所共有的光路上的情况下，可以将偏光控制元件的偏光部件配置成为对激励光具有偏振功能，或者将其配置成对激励光和刺激光二者都具有偏振功能。具体地说，在后一种情况下，通过使用菲涅耳菱形镜 (Fresnelrhomb) 作为偏光部件，能够使偏光部件对激励光和刺激光二者都发挥二分之一波长板或四分之一波长板的作用。此外，在第二实施方式中，尽管通过使用光束组合器 83 和单模式光纤 85 在相同的轴上将泵浦光和消除光组合起来，但是能够通过使用具有两个输入端和一个输出端的光合作用光纤在相同的轴上将泵浦光和消除光组合起来。

[0187] 标号说明

[0188] 61 激励光的光源

[0189] 62 刺激光的光源

[0190] 63 二向色镜

[0191] 64 偏振分光器

- [0192] 68 显微镜物镜
- [0193] 70 目标样本
- [0194] 71 偏光控制元件
- [0195] 72 偏光部件
- [0196] 73 相位调制部
- [0197] 78 光检测单元
- [0198] 80 光源单元
- [0199] 81 激励光的光源
- [0200] 82 刺激光的光源
- [0201] 83 光束组合器
- [0202] 87 激光源
- [0203] 90 扫描单元
- [0204] 98 光检测单元
- [0205] 100 显微镜单元
- [0206] 102 显微镜物镜
- [0207] 103 目标样本
- [0208] 105 偏光控制元件
- [0209] 106 偏光部件
- [0210] 107 多层膜
- [0211] 121 激励光的光源
- [0212] 122 刺激光的光源
- [0213] 123 二向色镜
- [0214] 128 显微镜物镜
- [0215] 130 目标样本
- [0216] 131 偏光控制元件
- [0217] 132 偏光部件
- [0218] 133 相位调制部
- [0219] 137 光谱仪
- [0220] 138 光检测单元
- [0221] 151 显微镜物镜
- [0222] 152 内窥镜光学系统
- [0223] 153 棒状镜头
- [0224] 155 生物样本
- [0225] 161 偏光控制元件
- [0226] 171 显微镜物镜
- [0227] 172 目标样本
- [0228] 173 光纤
- [0229] 175 偏光控制元件

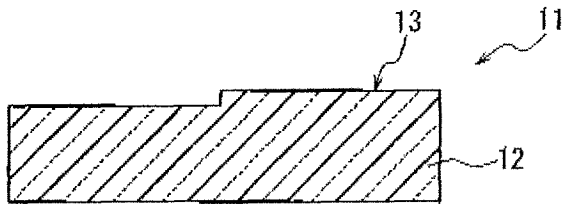


图 1A

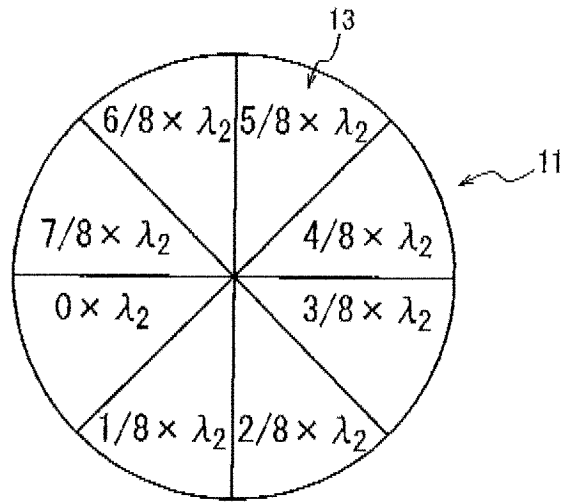


图 1B

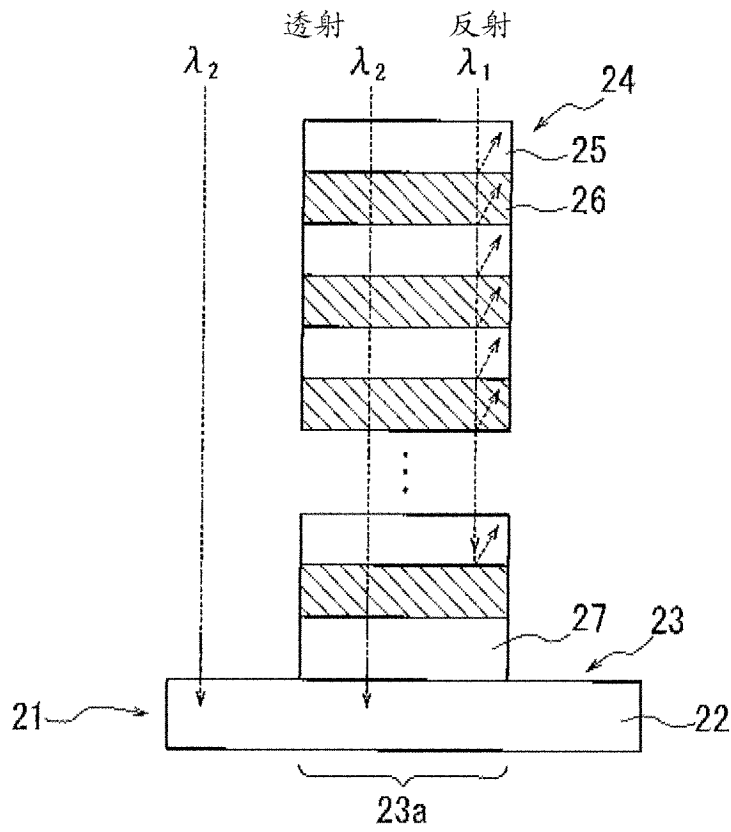


图 2A

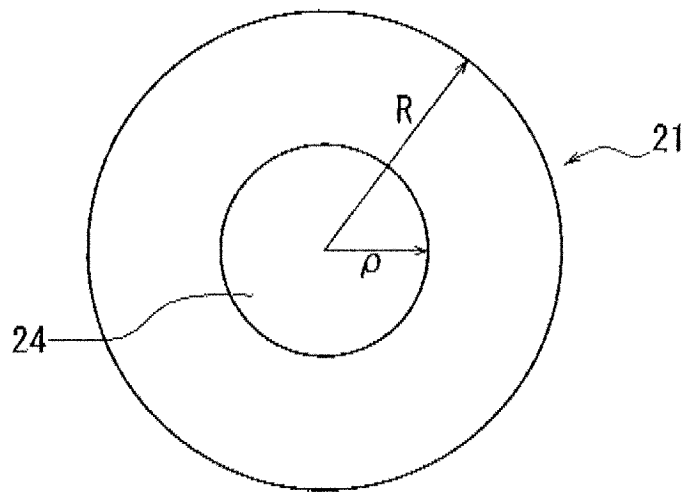


图 2B

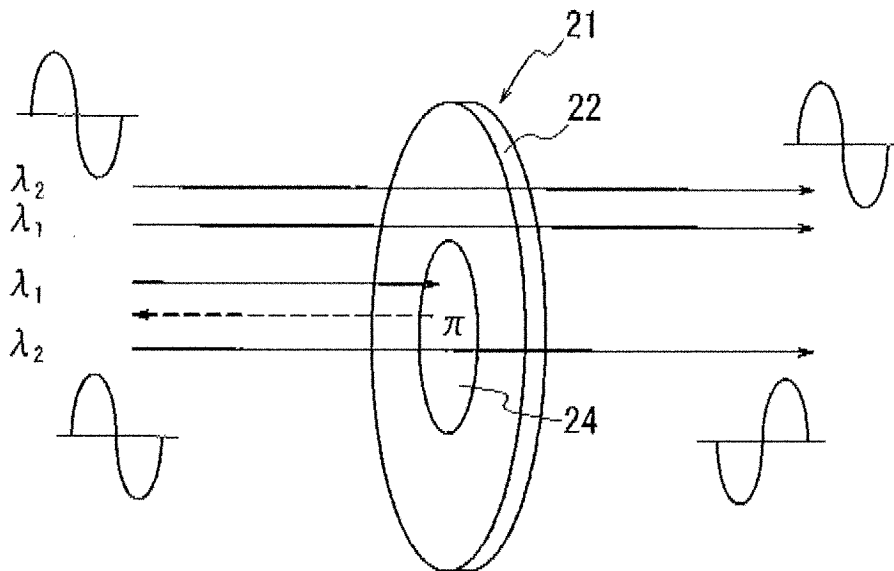


图 3

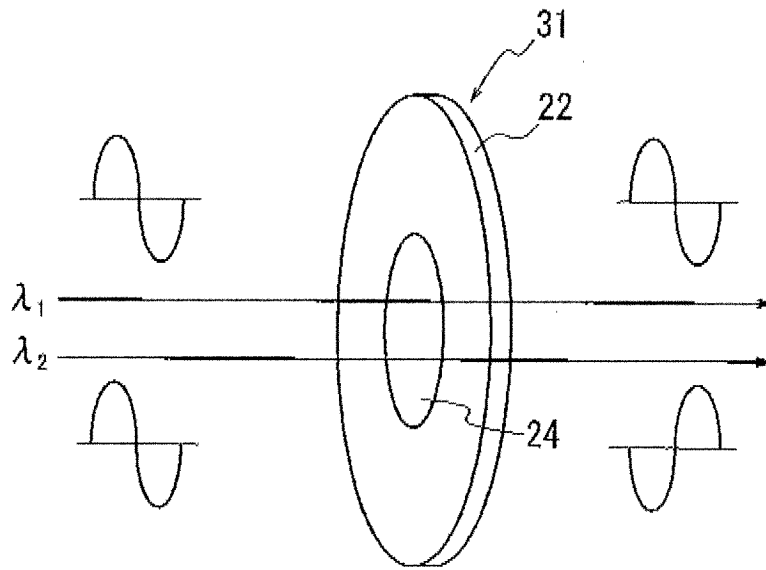


图 4

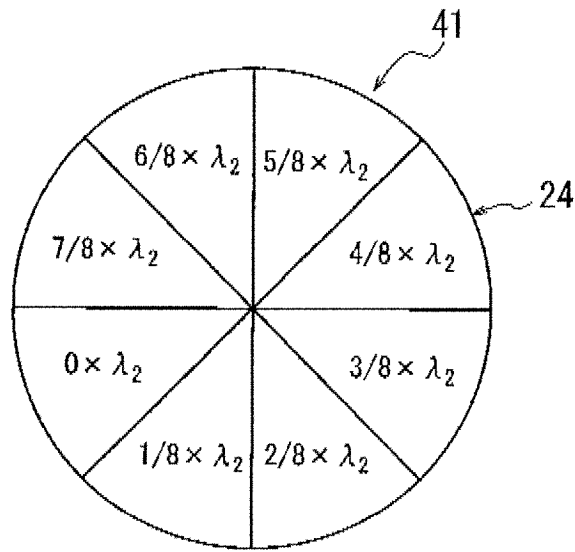


图 5A

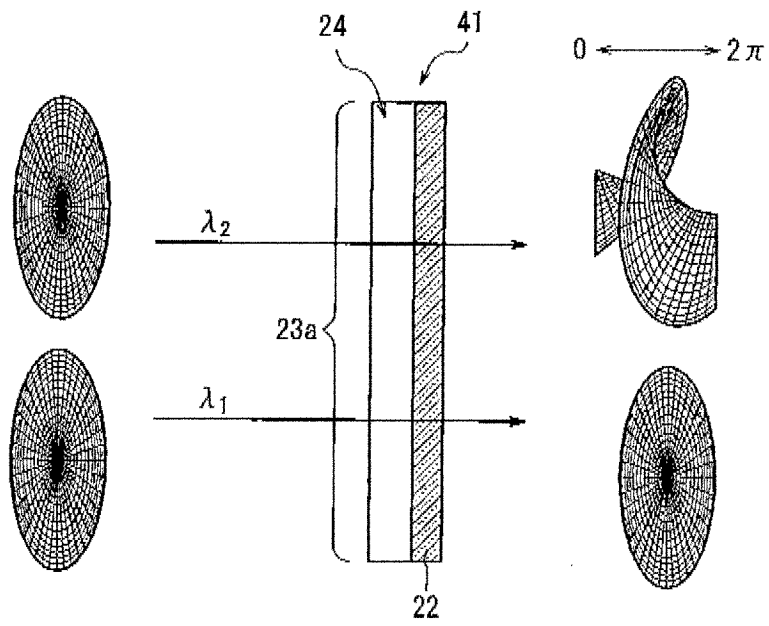


图 5B

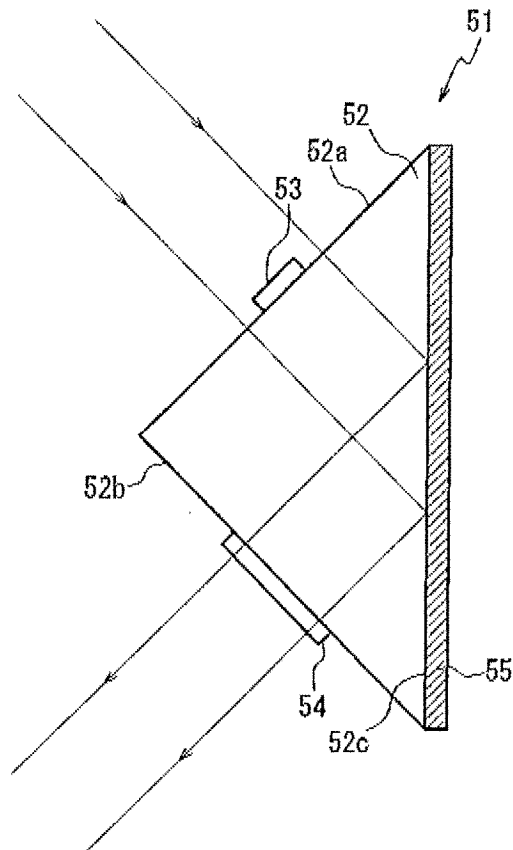


图 6

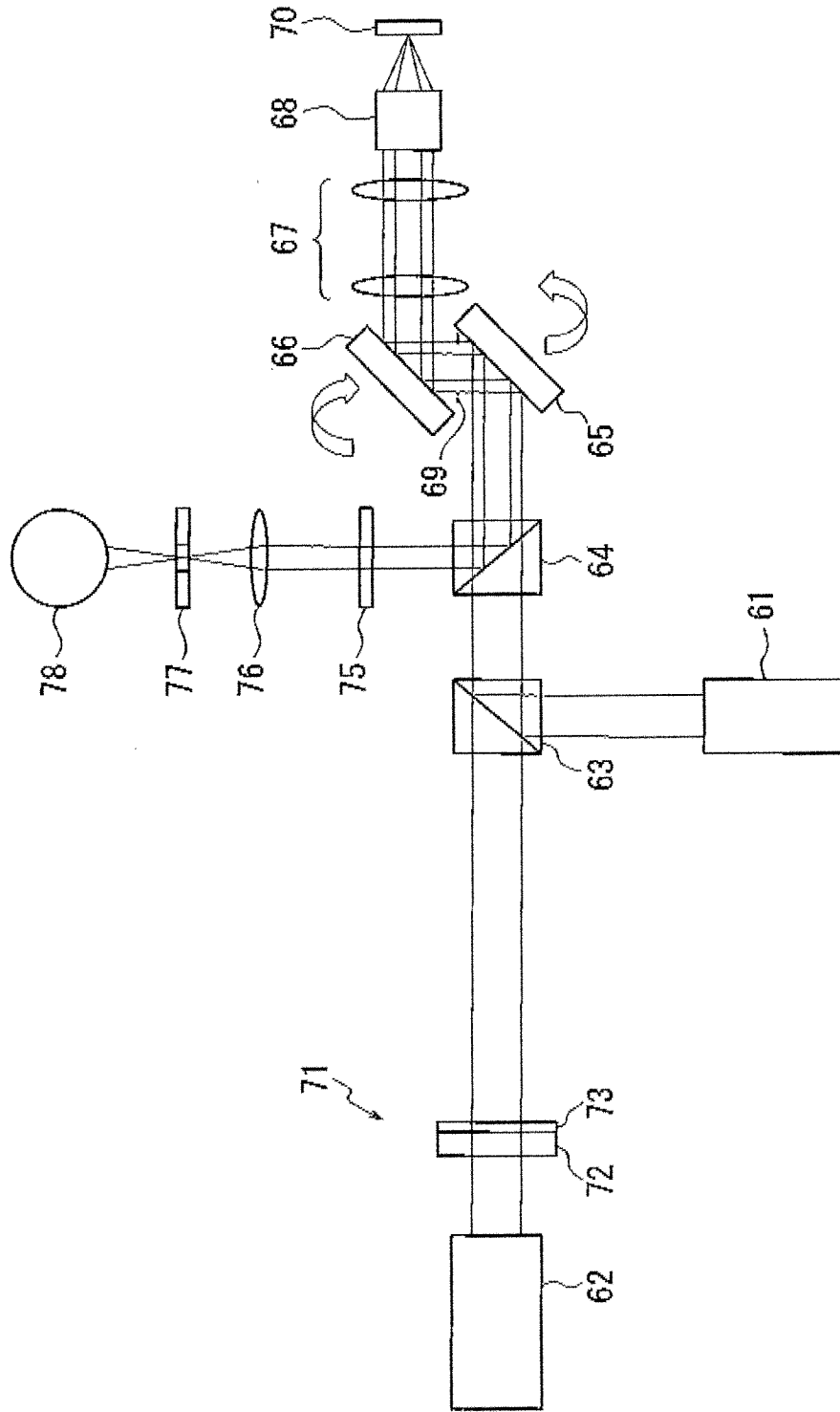


图 7

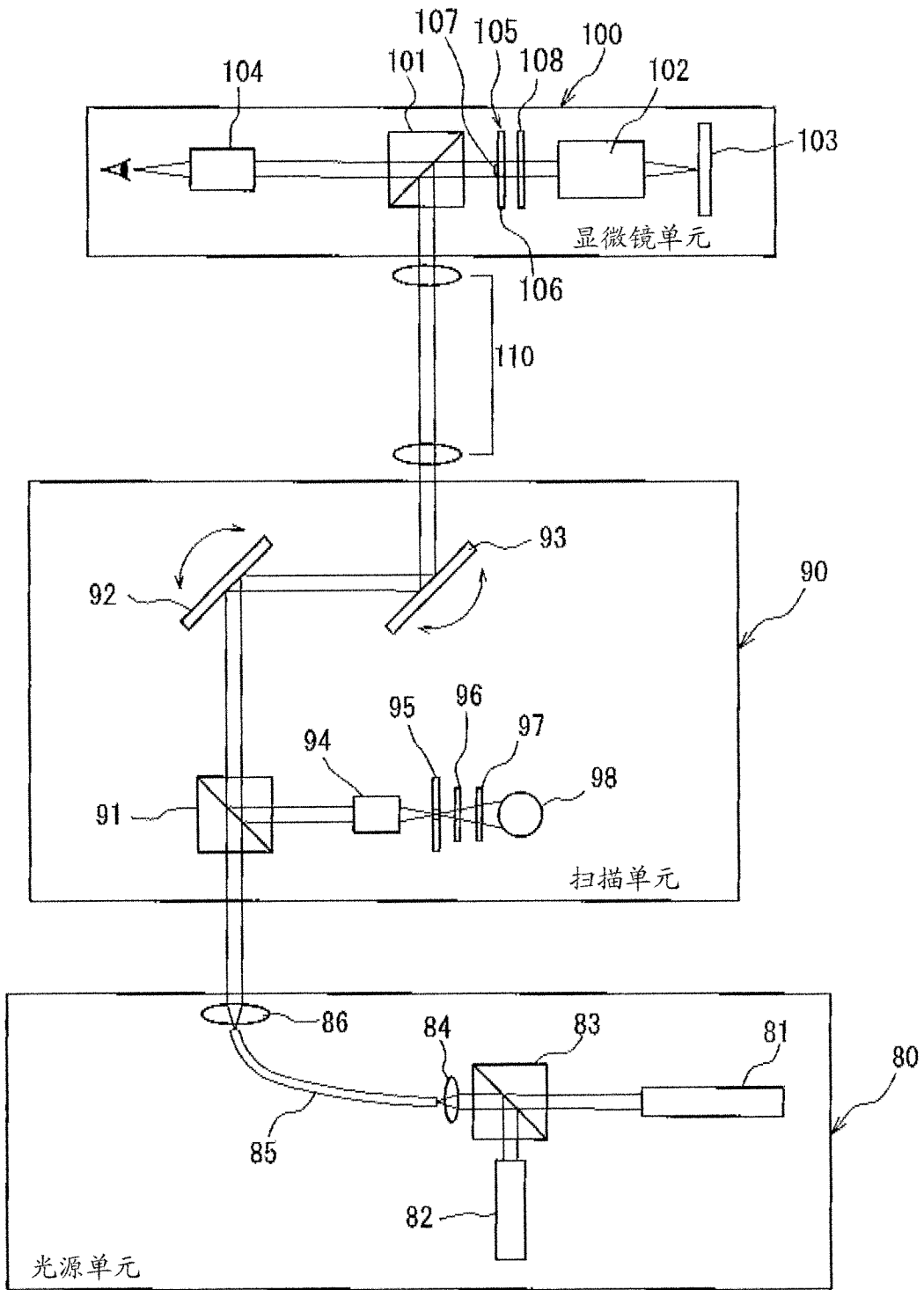


图 8

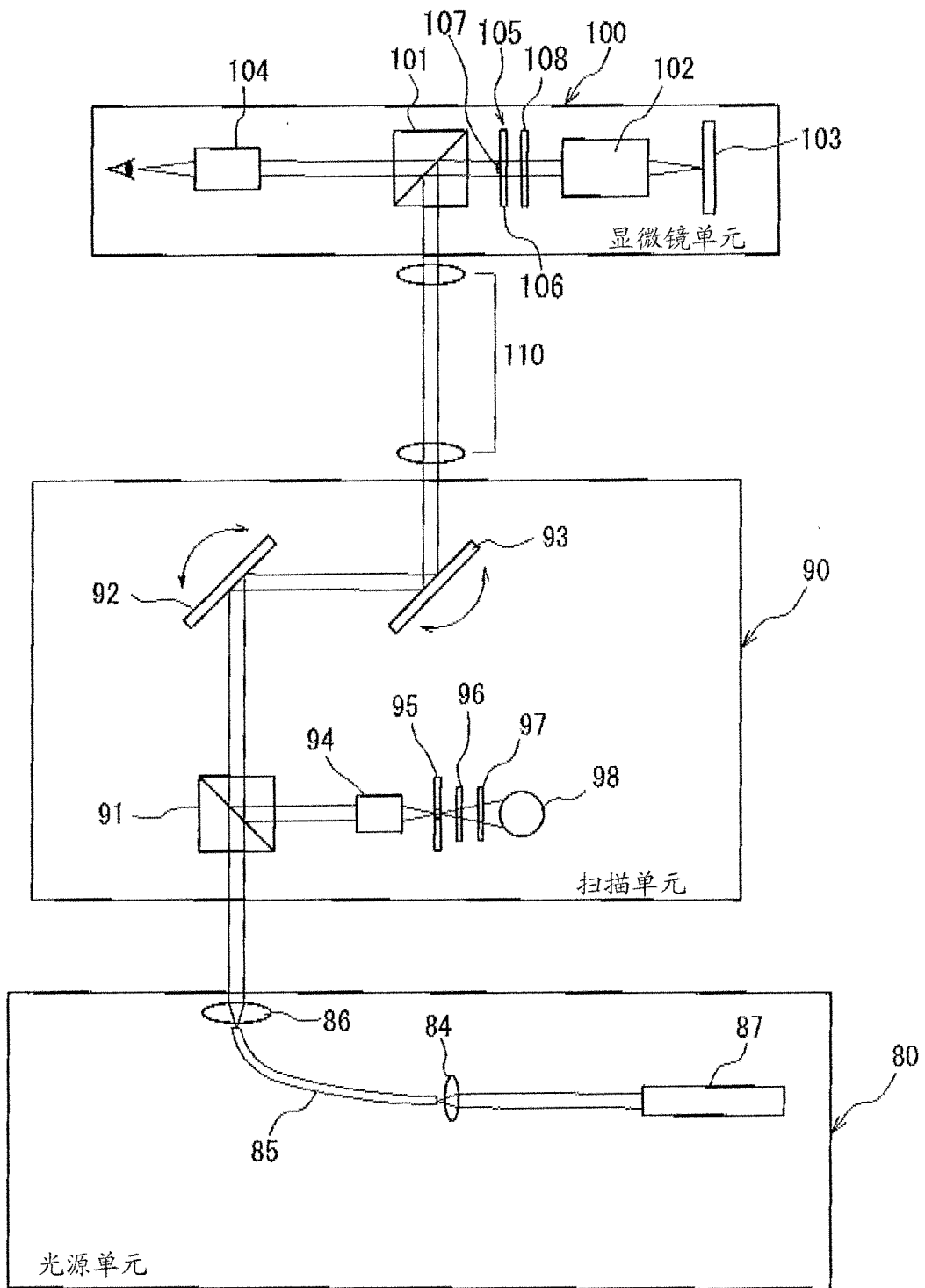


图 9

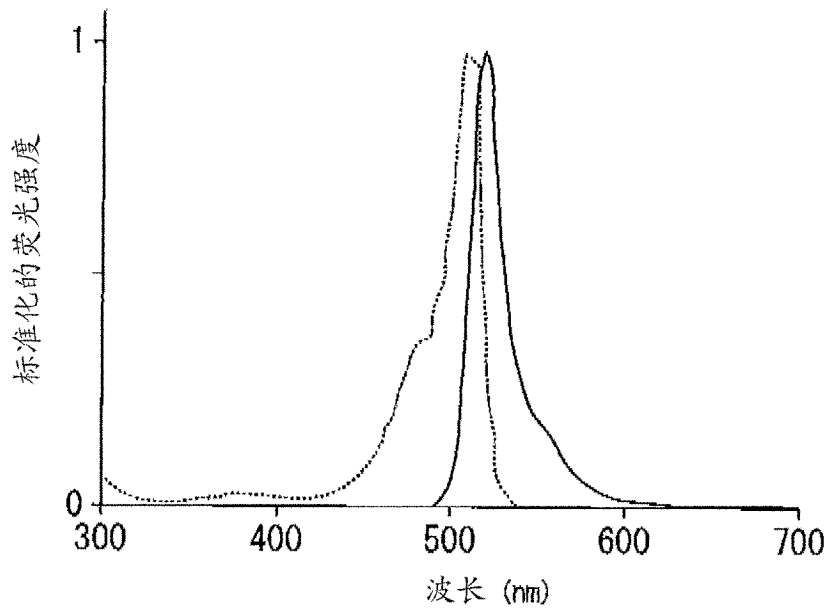


图 10A

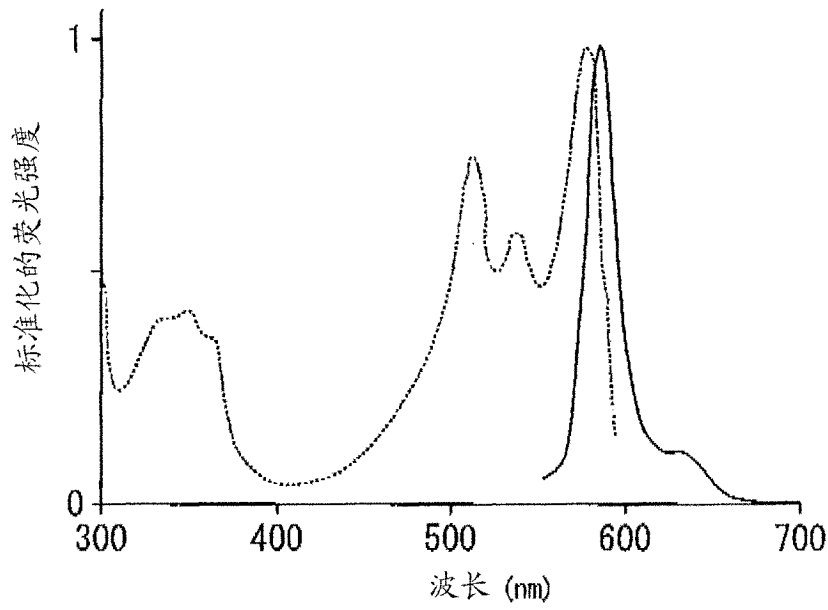


图 10B

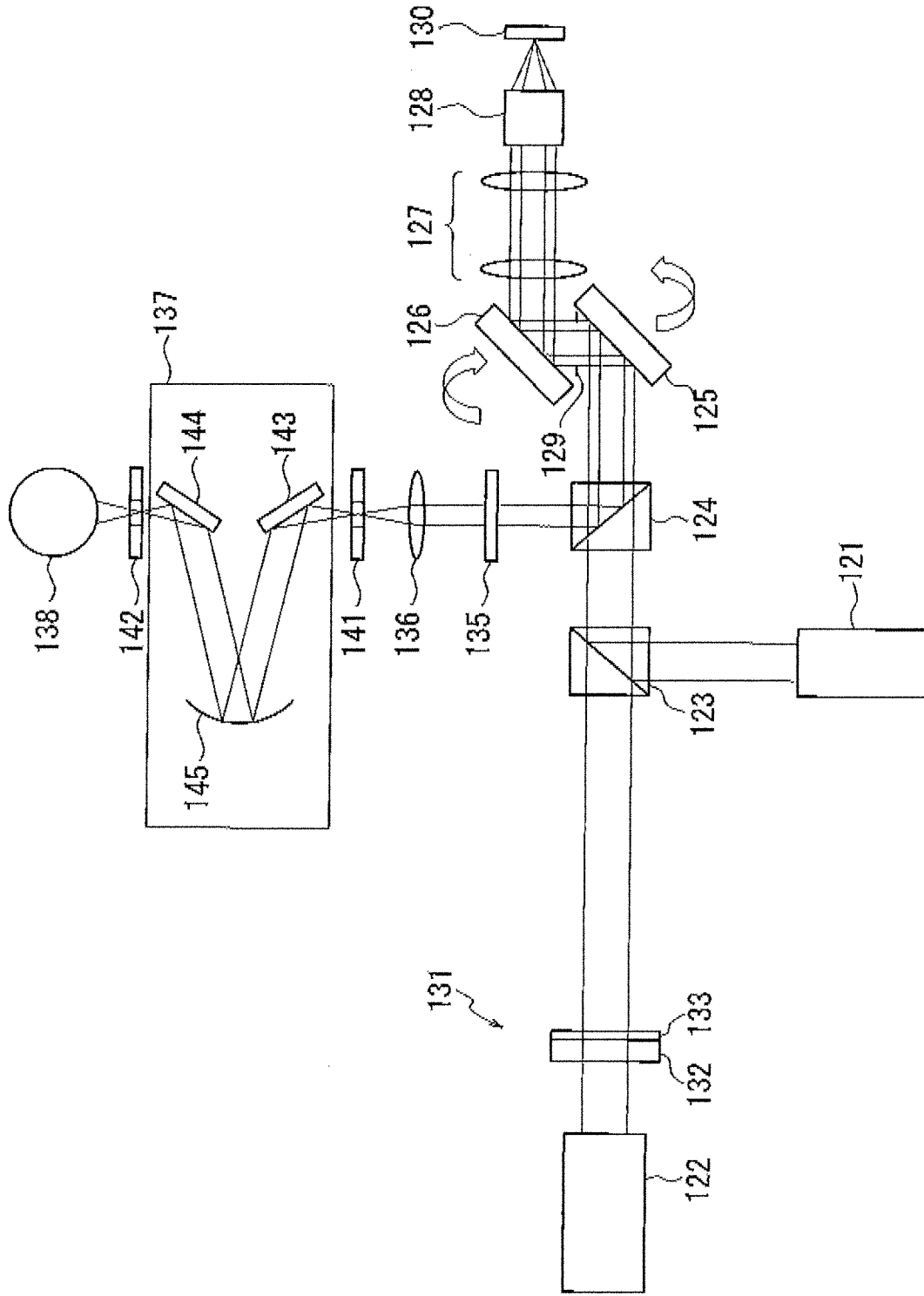


图 11

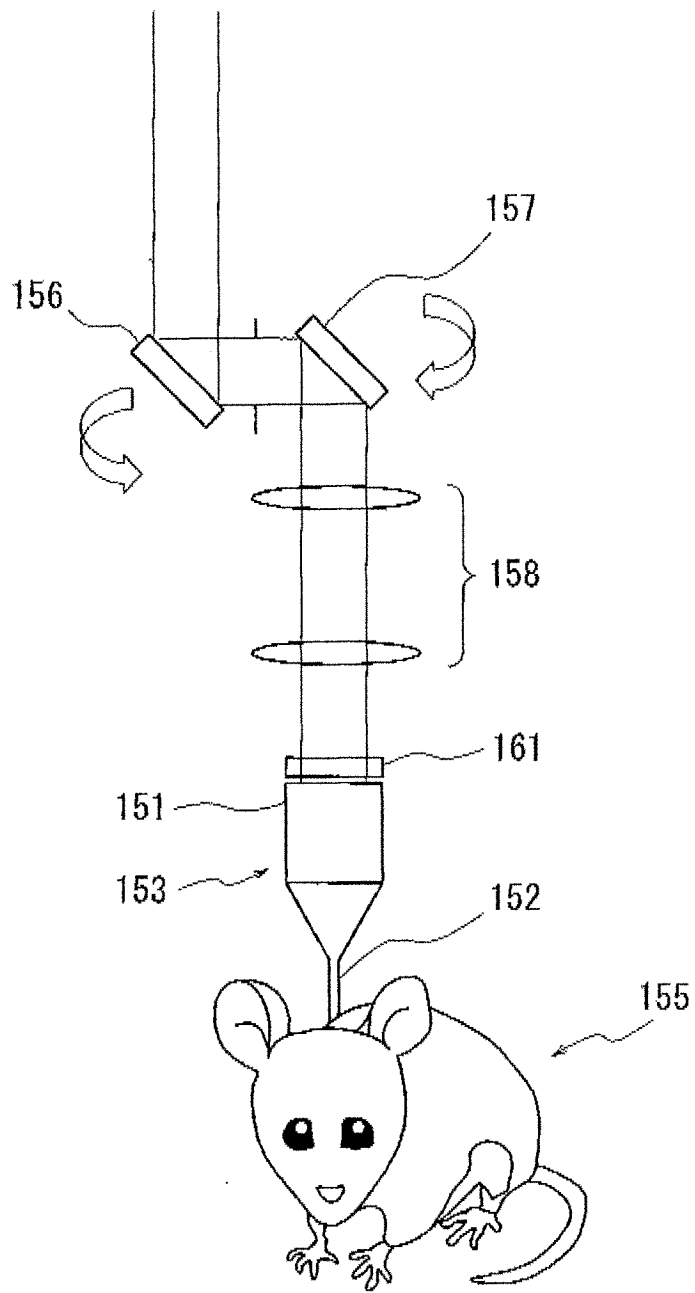


图 12

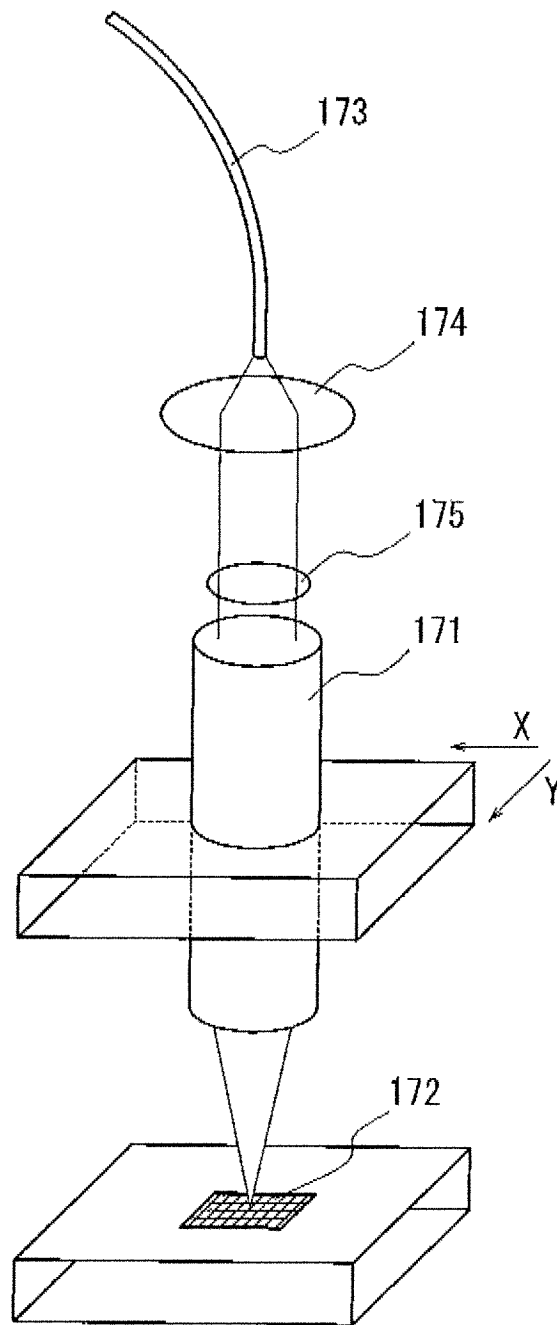


图 13

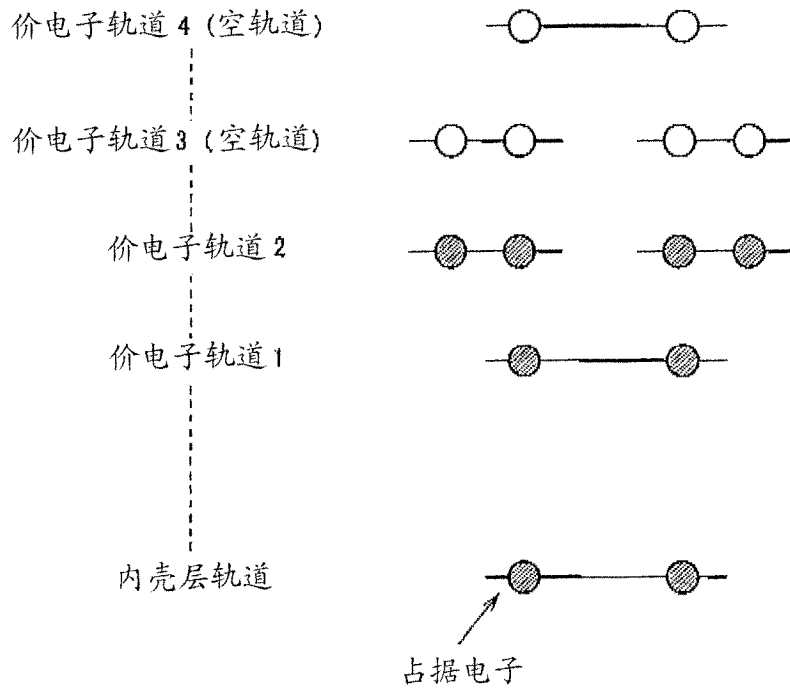


图 14

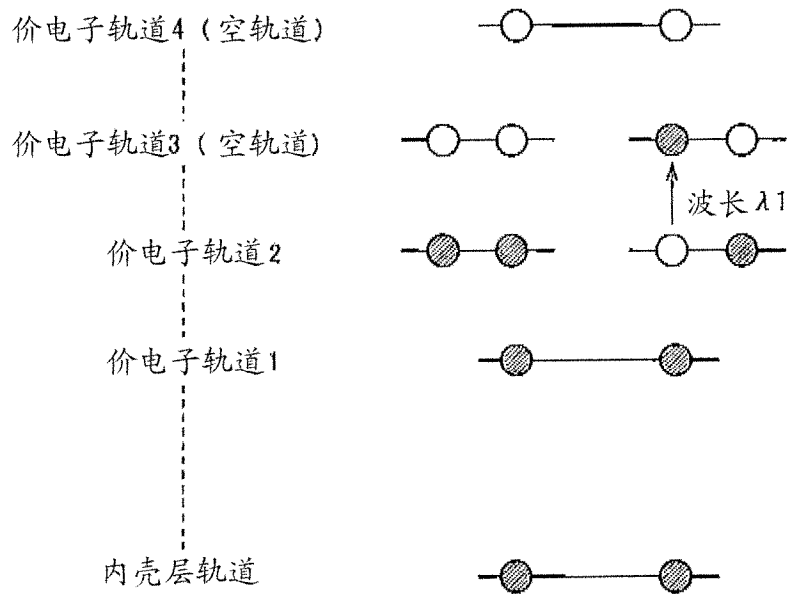


图 15

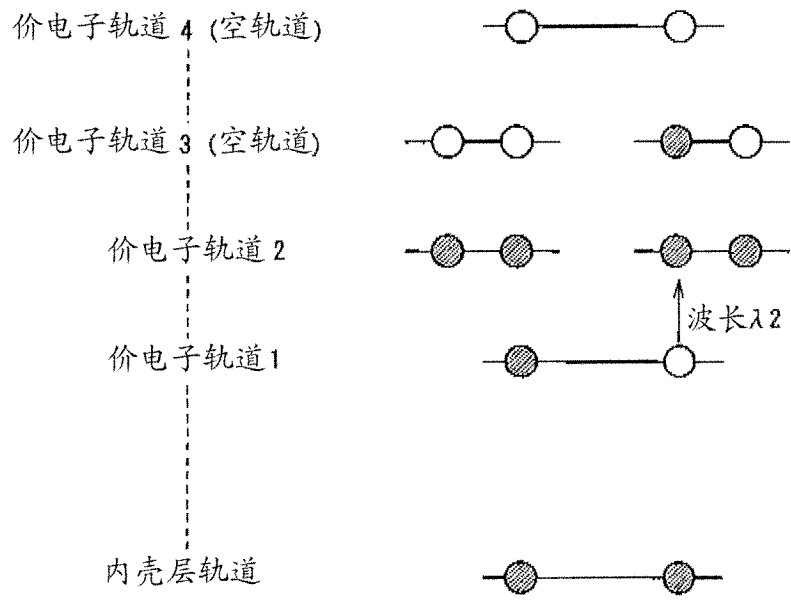


图 16

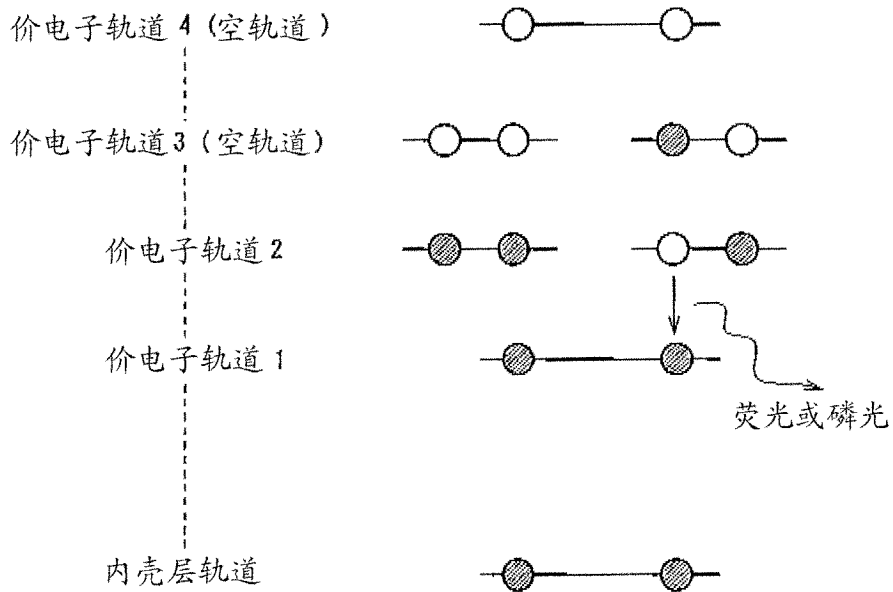


图 17

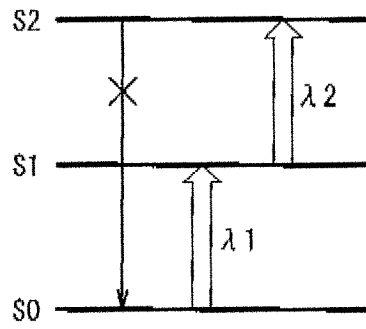


图 18

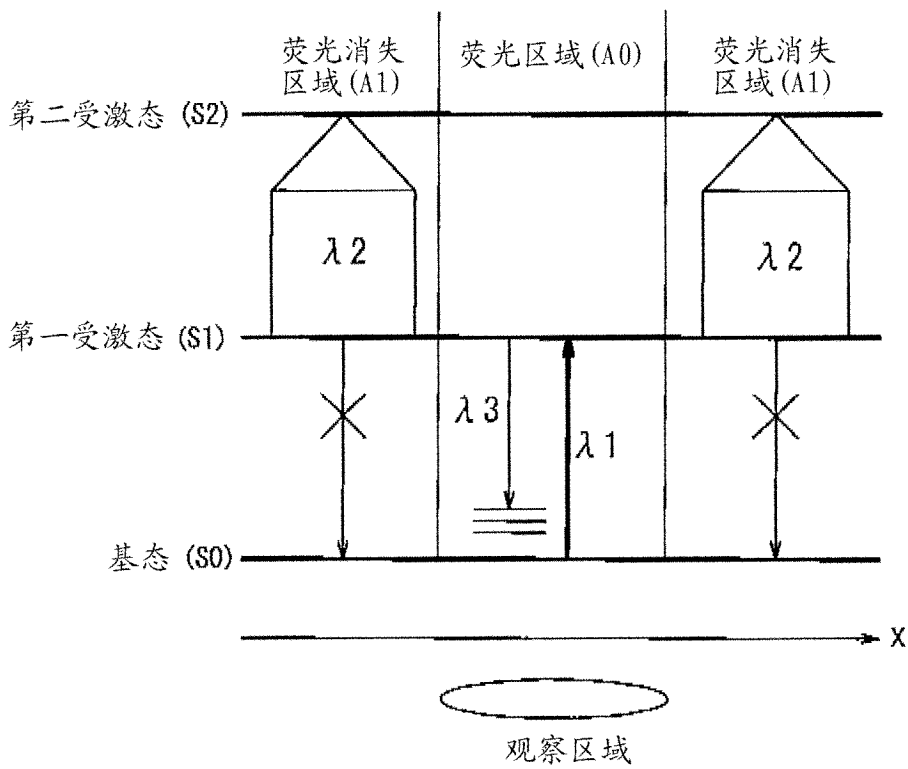


图 19

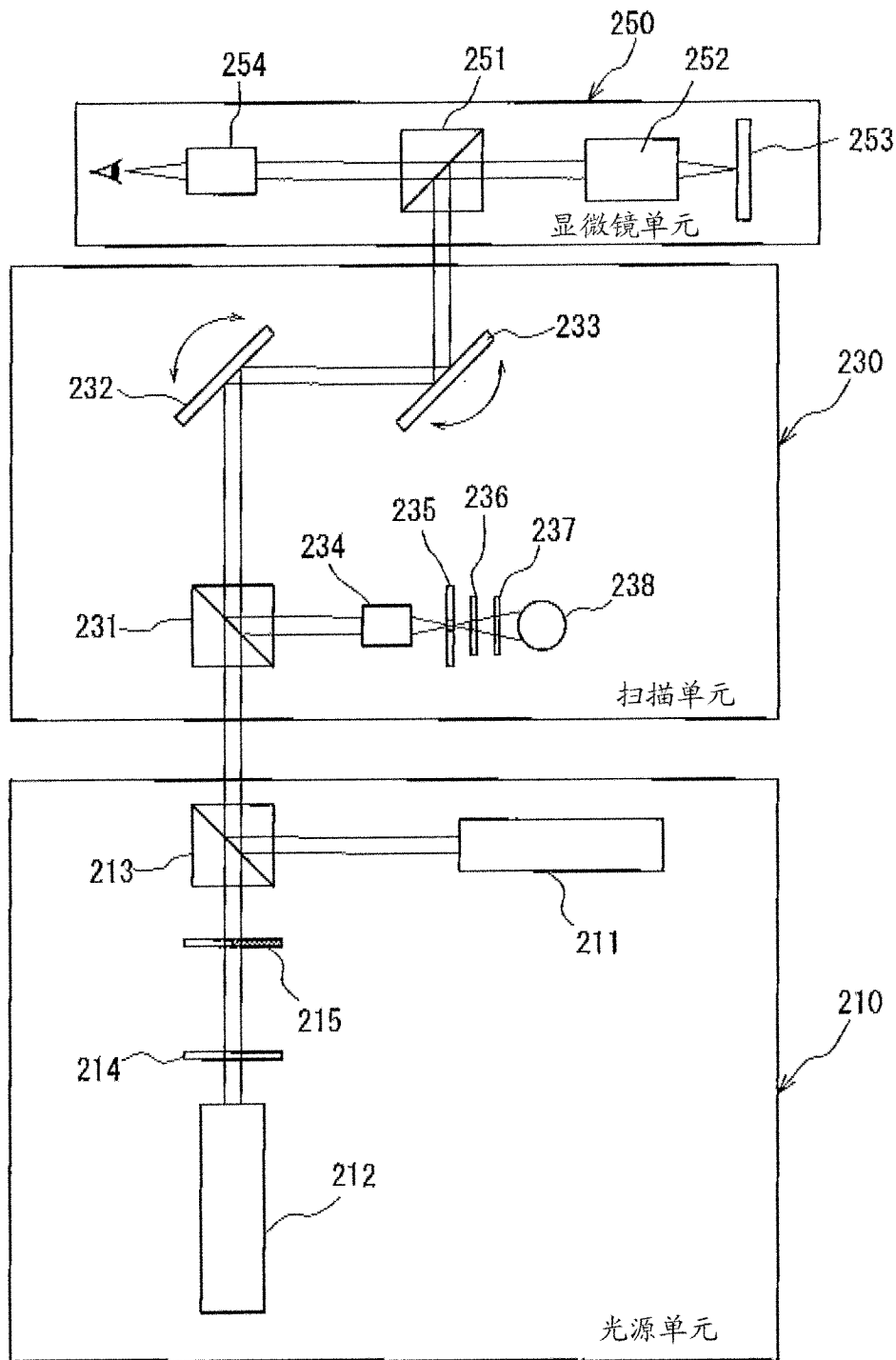


图 20

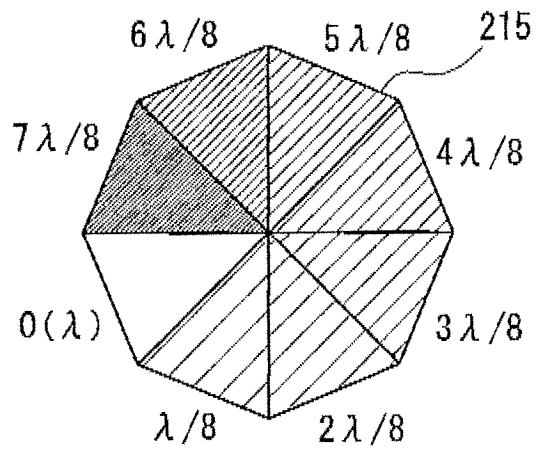


图 21