



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110709756 A

(43)申请公布日 2020.01.17

(21)申请号 201880037486.2

奥拉夫·高特·海勒索

(22)申请日 2018.04.05

(74)专利代理机构 北京弘权知识产权代理事务

所(普通合伙) 11363

(30)优先权数据

代理人 许伟群 郭放

1705660.7 2017.04.07 GB

20170592 2017.04.07 NO

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

(51)Int.Cl.

2019.12.05

G02B 27/58(2006.01)

G02B 21/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

G01N 21/64(2006.01)

PCT/GB2018/050917 2018.04.05

G02B 21/24(2006.01)

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/185489 EN 2018.10.11

(71)申请人 特罗姆瑟大学-挪威北极圈大学

地址 挪威特罗姆瑟

(72)发明人 巴普雷特·辛格·阿卢瓦利亚

托马斯·R·休斯

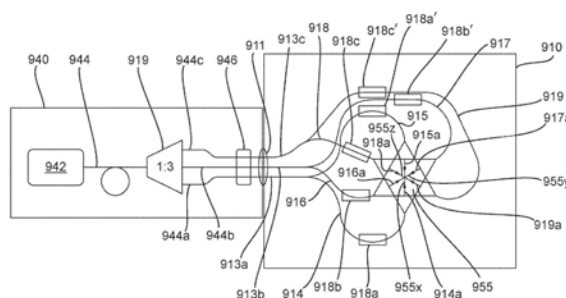
权利要求书4页 说明书30页 附图15页

(54)发明名称

用于产生周期性光图案的光学部件

(57)摘要

用于用周期性光图案照射样品区域(955)的光学部件(910),包括:第一波导(914)、另一波导(916、917、918、919)和光学分路器(913a)。光学分路器(913a)具有用于接收光的输入(911)、第一输出和第二输出。第一波导(914)被光学联接到第一输出,以在第一方向(914a)上将第一输入光引导到样品区域(955)中。第二输出被光学联接到样品区域(955),以在第二方向(915a)上将第二输入光引导到样品区域(955)中。另一波导(916、917、918、919)被布置成接收第三输入光,该第三输入光在第三方向(916a、917a、918a、919a)上被引导到样品区域中。第一方向(914a)、第二方向(915a)和第三方向(916a、917a、918a、919a)彼此不同。第一输入光和第二输入光干涉以在样品区域(955)中形成周期性图案。所述光学部件(910)可以用于结构化照明显微镜。



1. 一种用于用周期性光图案照射样品区域的光学部件,所述光学部件包括第一波导、另一波导和光学分路器,所述光学分路器具有:(i) 用于接收输入光的输入,(ii) 第一输出和(iii) 第二输出,其中,

所述光学分路器的所述第一输出被光学联接到所述第一波导,以将第一输入光引导到所述第一波导中;

所述第一波导被布置成使用全内反射将所述第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到所述样品区域中;

所述光学分路器的所述第二输出被光学联接到所述样品区域,以便在第二方向上沿第二路径将第二输入光引导到所述样品区域中;

所述另一波导被布置成接收第三输入光并使用全内反射将所述第三输入光在第三方向上沿第三路径引导到所述样品区域中;

所述第二方向不同于所述第一方向,使得在使用中,所述第一输入光与所述第二输入光干涉以在所述样品区域中形成周期性光图案;并且

所述第三方向不同于所述第一方向和所述第二方向。

2. 根据权利要求1所述的光学部件,还包括第二波导,其中所述光学分路器的所述第二输出被光学联接到所述第二波导,所述第二波导被布置成使用全内反射将所述第二输入光沿所述第二方向引导到所述样品区域中。

3. 根据权利要求1或2所述的光学部件,其中所述光学分路器是y分支分路器、渐消波导联接器或多模干涉部件。

4. 一种用于照射光学部件的样品区域的方法,所述方法包括:

提供光学部件,所述光学部件包括第一波导、另一波导和光学分路器;

在所述光学分路器处接收输入光;

从所述光学分路器的第一输出接收所述第一波导中的第一输入光;

在所述第一波导内使用全内反射将所述第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到所述样品区域中;

从所述光学分路器的第二输出在第二方向上沿第二路径将第二输入光引导到所述样品区域中,其中所述第二方向不同于所述第一方向;

在所述另一波导中接收第三输入光;

在所述另一波导内使用全内反射将所述第三输入光在第三方向上沿第三路径引导到所述样品区域中,其中所述第三方向不同于所述第一方向和所述第二方向;以及

使所述第一输入光和所述第二输入光干涉,或使所述第一输入光、所述第二输入光和所述第三输入光干涉,以一起在所述样品区域中形成周期性光图案。

5. 一种用于用周期性光图案照射样品区域的光学部件,所述光学部件包括光学光栅、第一波导、第二波导和第三波导,其中:

所述第一波导被布置成使用全内反射将第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到所述样品区域中;

所述第二波导被布置成使用全内反射将第二输入光在第二方向上沿第二路径引导到所述样品区域中;

所述第三波导被布置成接收第三输入光并且使用全内反射将所述第三输入光引导到

所述光学光栅上；

所述光学光栅被布置成将所接收的第三输入光在第三方向上沿第三路径引导到所述样品区域中；

所述第一方向和所述第二方向是包含在第一平面中的不同方向；并且

所述第三方向不同于所述第一方向和所述第二方向并且不位于所述第一平面中。

6. 一种用于照射光学部件的样品区域的方法，所述方法包括：

提供光学部件，所述光学部件包括光学光栅、第一波导、第二波导和第三波导；

在所述第一波导中接收第一输入光；

在所述第一波导内使用全内反射将所述第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到所述样品区域中；

在所述第二波导中接收第二输入光；

在所述第二波导内使用全内反射将所述第二输入光在第二方向上沿第二路径引导到所述样品区域中；

在所述第三波导中接收第三输入光；

在所述第三波导内使用全内反射将所述第三输入光引导到所述光学光栅上；以及

使用所述光学光栅将所述第三输入光在第三方向上沿第三路径引导到所述样品区域中，

其中所述第一方向和所述第二方向是包含在第一平面中的不同方向，并且其中所述第三方向不同于所述第一方向和所述第二方向并且不位于所述第一平面中。

7. 一种用于用周期性光图案照射样品区域的光学部件，所述光学部件包括：

输入接口，其被布置成接收输入光；

第一波导，其被布置成从所述输入接口接收第一输入光，并使用全内反射将所述第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到所述样品区域中；

第二波导，其被布置成从所述输入接口接收第二输入光，其中所述第二波导是具有朝向所述样品区域弯曲或成角度的弯曲或成角度部分的二维波导，并且其中所述第二波导被布置成使用全内反射将所述第二输入光沿所述弯曲或成角度部分引导，并在第二方向上沿第二路径引导到所述样品区域中；以及

另一波导，其被布置成从所述输入接口接收第三输入光，并使用全内反射将所述第三输入光在第三方向上沿第三路径引导到所述样品区域中，

其中所述第二方向不同于所述第一方向，并且所述第三方向不同于所述第一方向和所述第二方向，使得在使用中，所述第二输入光与所述第一输入光及所述第三输入光中的至少一个干涉，以在所述样品区域中形成周期性光图案。

8. 一种照射光学部件的样品区域的方法，所述方法包括：

提供光学部件，所述光学部件包括输入接口、第一波导、第二波导和第三波导，其中所述第二波导是具有朝向所述样品区域弯曲或成角度的弯曲或成角度部分的二维波导；

在所述第一波导中从所述输入接口接收第一输入光；

在所述第二波导中从所述输入接口接收第二输入光；

在所述第一波导内使用全内反射将所述第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到所述样品区域中；

在所述第二波导内使用全内反射将所述第二输入光沿所述第二波导的所述弯曲或成角度部分引导,并在第二方向上沿第二路径引导到所述样品区域中,其中所述第二方向不同于所述第一方向;

在所述第三波导中从所述输入接口接收第三输入光;

在所述第三波导内使用全内反射将所述第三输入光在第三方向上沿第三路径引导到所述样品区域中,其中所述第三方向不同于所述第一方向和所述第二方向;以及

使所述第二输入光与所述第一输入光及所述第三输入光中的至少一个干涉以在所述样品区域内形成周期性干涉图案。

9. 根据权利要求1-3、5和7中任一项所述的光学部件,其中所述光学部件是光子集成部件。

10. 根据权利要求1-3、5、7和9中的任一项所述的光学部件,其中所述第一方向平行于所述第二方向并且与所述第二方向相反。

11. 根据权利要求1-3、5、7、9和10中任一项所述的光学部件,其中所述波导中的至少一个被布置成沿相应的光学路径将所接收的光向所述样品区域引导,并且其中所述光学路径的宽度在朝向所述样品区域的方向上增加。

12. 根据权利要求1-3、5、7和9-11中任一项所述的光学部件,其中所述波导中的至少一个包括端面,所述端面被布置成将光引导到所述样品区域中。

13. 根据权利要求1-3、5、7和9-12中任一项所述的光学部件,其中所述波导中的至少一个被布置成仅将由所述波导接收的光的渐消场分量引导到所述样品区域中。

14. 根据权利要求1-3、5、7和9-13中任一项所述的光学部件,其中所述光学部件限定用于保存样品的样品槽。

15. 根据权利要求14所述的光学部件,包括芯层和光学包层,其中所述样品槽至少部分地由所述光学包层和所述芯层限定。

16. 根据权利要求1-3、5、7和9-15中任一项所述的光学部件,还包括相位调节器,其中所述波导中的一个联接到所述相位调节器,并且其中所述相位调节器被布置成在输入光被引导到所述样品区域中之前调节所述输入光的所述相位。

17. 根据权利要求4、6和8中任一项所述的方法,还包括:

在所述光学部件的第四波导中接收第四输入光;

在所述第四波导内使用全内反射将所述第四输入光在第四方向上沿第四路径引导到所述样品区域中,其中所述第四方向不同于所述第一方向、所述第二方向和所述第三方向;

使所述第一输入光与所述第二输入光干涉以在所述样品区域中形成第一周期性光图案;以及

使所述第三输入光与所述第四输入光干涉以在所述样品区域中形成第二周期性光图案。

18. 一种用于使用结构化照明显微镜对样品成像的系统,所述系统包括:

光注入装置;

根据权利要求1-3、5、7和9-16中任一项所述的光学部件,所述光学部件被布置成从所述光注入装置接收输入光,并且用周期性光图案照射所述光学部件的样品区域;

物镜,其被布置成收集从所述样品区域发出的光;以及

成像单元,其被布置成用所收集的光执行结构化照明显微镜。

19. 一种使用结构化照明显微镜对样品成像的方法,包括:

根据权利要求4、6、8和17中的任一项所述的用周期性光图案照射光学部件的样品区域;

收集从所述样品区域发出的光;以及
用所收集的光执行结构化照明显微镜。

20. 一种用于使用结构化照明显微镜对样品成像的系统,所述系统包括:

光注入装置;

光学部件,其包括波导和光学分路器,所述光学分路器具有(i)用于接收输入光的输入,(ii)第一输出和(iii)第二输出,其中:

所述光学分路器的所述第一输出被光学联接到所述波导,以将第一输入光引导到所述波导中;

所述波导被布置成使用全内反射将所述第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到所述样品区域中;

所述光学分路器的所述第二输出被光学联接到所述样品区域,以将第二输入光在第二方向上沿第二路径引导到所述样品区域中;并且

所述第二方向不同于所述第一方向,使得在使用中,所述第一输入光与所述第二输入光干涉以在所述样品区域中形成周期性光图案;

物镜,其被布置成收集从所述样品区域发出的光;以及

成像单元,其被布置成用所收集的光执行结构化照明显微镜。

21. 一种用于使用结构化照明显微镜对样品成像的系统,所述系统包括:

光注入装置;

光学部件,其包括:

-输入接口,其被布置成接收输入光;

-第一波导,其被布置成从所述输入接口接收第一输入光,并使用全内反射将所述第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到所述样品区域中;以及

-第二波导,其被布置成从所述输入接口接收第二输入光,其中所述第二波导是具有朝向所述样品区域弯曲或成角度的弯曲或成角度部分的二维波导,并且被布置成使用全内反射将所述第二输入光沿所述弯曲或成角度部分引导并且在第二方向上沿第二路径引导到所述样品区域中,其中所述第二方向不同于所述第一方向,使得在使用中,所述第一输入光与所述第二输入光干涉以在所述样品区域中形成周期性光图案;

物镜,其被布置成收集从所述样品区域发出的光;以及

成像单元,其被布置成用所收集的光执行结构化照明显微镜。

用于产生周期性光图案的光学部件

技术领域

[0001] 本发明涉及用于用周期性光图案照射样品的光学部件、系统和方法。更具体地,但非排他性地,本发明涉及使用结构化照明显微镜(SIM)对样品成像的光学部件、系统和方法。

背景技术

[0002] 光学显微镜用于组织学、细胞生物学和相关领域中,以查看生物样品,诸如细胞。然而,由于光的衍射极限,光学显微镜的分辨能力受到限制。该限制将可见光显微镜的分辨率限制在200至300nm左右。为了克服该限制,在本领域中已经开发了几种技术,称为“纳米显微镜”、“超分辨率成像”或“超分辨率显微镜”。

[0003] 这些超分辨率成像技术允许以比200nm更精细并且可能低至约20至50nm的分辨率对生物样品成像。它们通常处理从标记(诸如可光切换的荧光团或量子点)发射的光,这些标记已附着到生物样品或嵌入生物样品中。这种超分辨率技术的已知示例包括集合技术(诸如结构化照明显微镜(SIM)和受激发射损耗显微镜(STED))以及单分子定位技术(诸如光激活定位显微镜(PALM)和随机光学重建显微镜(STORM))。

[0004] 单分子定位技术通常提供更好的分辨率(例如20-50nm),但通常比集合技术慢,并且因此通常不适合对活细胞样品成像。

[0005] 通常,STED具有约30nm的实用光学分辨率。然而,因为它是基于扫描的技术(例如,基于栅格扫描的技术),所以它也遭受不太适合活细胞成像的慢成像速度(对于宽视场为约0.1Hz)。当需要宽视场时(即,需要扫描大样品区域时),该问题会更加严重。此外,STED技术通常需要大功率照射来激发发光标记(例如,荧光团),并且这是有问题的,因为它可能导致光致漂白效应和光毒性。

[0006] 在基于SIM的技术中,用不同的周期性光图案照射样品。通常,周期性光图案是使用衍射光栅产生的周期性条纹光图案。在成像处理期间,通常在一系列帧上,周期性光图案的条纹相对于样品发生偏移,并且也相对于样品旋转,从而产生并照射具有多个不同周期性光图案的样品。然后可以基于对来自不同照射图案产生的发光标记的不同发射图案的傅立叶分析,来构造样品的超分辨率图像。由于周期性照射图案引起的莫尔效应,这些发射图案揭示了超出成像系统的分辨率极限的有关样品结构的信息。

[0007] 常规的SIM设置通常具有约100-130nm的光学分辨率,并且比STED和单分子定位设置更快地获取图像(例如,对于宽视场而言,典型的SIM成像速度约为0.1-1Hz)。此外,与基于扫描的设置不同,常规的基于SIM的设置可以单次捕获样品的宽视场图像(例如50-100 μm^2 或更大)。然而,对于许多实际的活细胞实验,通常仍认为常规基于SIM的设置(尽管分辨率低于STED)所提供的成像速度的改善不够快。

[0008] 为了增加SIM设置的成像速度,可以减小拍摄图像的视场。使用这种方法,基于SIM的设置可在8 μm ×8 μm 的视场中以11Hz的速度拍摄图像。然而,减小视场通常是不期望的,因为如果需要宽视场,则样品和成像装置然后需要相对于彼此重新定位和重新对准以获得整个

样品的合成图像。这在对活细胞样品成像时尤其成问题。

[0009] 一些结构化光成像设置利用诸如可移动透镜、镜台、可移动光栅或反射镜的光机械布置来移位和/或旋转周期性光图案。这种设置的问题在于,成像速度受到这些部件移动的速度限制。

[0010] 例如,US6,255,642B1 (麻省理工学院)描述了一种系统,该系统涉及用于将条纹相对于样品移位的可移动反射镜。

[0011] 通常,SIM型设置的光学分辨率受周期性光图案中条纹的间隔(例如,条纹状照射图案中条纹之间的间隔)的限制。然而,其他因素可能会进一步限制分辨率。例如,在常规SIM设置中,其中照射图案由成像物镜形成,光学分辨率可能进一步受到物镜的衍射极限的限制。物镜的衍射极限为 $\lambda_0/(2*N.A.)$,其中 λ_0 是波长,而N.A.是物镜的数值孔径。对于给定的物镜,SIM的分辨率增强因子是原来的两倍,即 $\lambda_0/(4*N.A.)$,对于可见波长(500-650nm)通常为100-130nm。在许多应用中(例如,在活细胞成像应用中),期望增加SIM设置的光学分辨率。

[0012] 本发明旨在解决在产生适用于超分辨率显微镜的周期性光图案的已知方法中的这些缺点中的至少一些。

发明内容

[0013] 从第一方面,本发明提供了一种用于用周期性光图案照射样品区域的光学部件,该光学部件包括第一波导、另一波导和光学分路器,该光学分路器具有(i)用于接收输入光的输入、(ii)第一输出和(iii)第二输出,其中:

[0014] 光学分路器的第一输出被光学联接到第一波导,以将第一输入光引导到第一波导中;

[0015] 第一波导被布置成使用全内反射将第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到样品区域中;

[0016] 光学分路器的第二输出被光学联接到样品区域,以将第二输入光在第二方向上沿第二路径引导到样品区域中;

[0017] 另一波导被布置成接收第三输入光并使用全内反射将第三输入光在第三方向上沿第三路径引导到样品区域中;

[0018] 第二方向不同于第一方向,使得在使用中,第一输入光与第二输入光干涉,从而在样品区域中形成周期性光图案;并且

[0019] 第三方向不同于第一方向和第二方向。

[0020] 从第二方面,本发明提供一种用于照射光学部件的样品区域的方法,该光学部件包括第一波导、另一波导和光学分路器,该方法包括:

[0021] 在光学分路器处接收输入光;

[0022] 在第一波导中从光学分路器的第一输出接收第一输入光;

[0023] 在第一波导内使用全内反射将第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到样品区域中;

[0024] 从光学分路器的第二输出将第二输入光在第二方向上沿第二路径引导到样品区域中,其中第二方向不同于第一方向;

[0025] 在另一波导中接收第三输入光；

[0026] 在另一波导内使用全内反射将第三输入光在第三方向上沿第三路径引导到样品区域中，其中第三方向不同于第一方向和第二方向；以及

[0027] 将第一输入光与第二输入光干涉，或将第一输入光、第二输入光和第三输入光干涉，以在样品区域中形成周期性光图案。

[0028] 根据本发明，本领域技术人员将看到，单个光学部件（例如，光学芯片）可以同时或在不同时间将三个分开的光束沿不同方向引导到样品区域中以在样品区域中形成各种两光束干涉图案和三光束干涉图案。

[0029] 将理解的是，在样品区域内将至少两个光束直接或倾斜地朝向彼此引导将导致光束干涉。这种干涉将产生适于照射样品区域内的样品的周期性光图案（即周期性干涉图案）。用周期性光图案照射样品在诸如超分辨率显微镜（例如SIM成像）的应用中是有用的，例如，照射图案激发样品中的荧光。在一些实施例中，可以使用已知的SIM处理方法来成像和分析来自样品的发射光图案（即，荧光图案）。

[0030] 通过避免使用多个单独的光机械部件来沿不同方向在样品区域内产生和引导光束，从而在样品区域内进行干涉，该单个光学部件避免了传统SIM成像设置中涉及的许多对准复杂性。此外，通过减少或消除对此类部件的使用，光学部件可以促进SIM成像的更小、更便宜和更简单的设置。

[0031] （第一）光学分路器使得能够形成至少两个光束（例如，第一输入光和第二输入光），以从一个输入光束（例如，所述输入光）产生周期性光图案。由此，可以精确地保持光学分路器的两个输出到样品区域之间的路径长度的任何差异，因为这不依赖于外部部件的精确对准。

[0032] 在一些实施例中，可以在光学部件的单个面处接收该一个输入光束，从而使得将光学部件结合到完整的成像系统中相对容易。第三输入光也可以在光学部件的相同面处被接收。

[0033] 因此，应当理解，单个光学部件可以接收少于三个的输入光束以产生三光束干涉图案，因为波导分路器有利地将输入光分开以产生至少两个干涉光束。例如，波导分路器可以被设置成在其输入处接收输入光并产生第一输入光、第二输入光和第三输入光。在这种情况下，第三输入光可以从光学分路器的第三输出被引导到另一波导中。这使得能够在光学分路器的输入处接收的单个输入光束在样品区域内产生三光束干涉图案，从而进一步减少了仔细对准多个分立光学元件的需求。

[0034] 可选地，光学部件可以包括附加波导。为了方便起见，此附加波导在下文中将被称为“第二波导”。分路器的第二输出可以被布置成经由第二波导将第二输入光引导到样品区域中。第二波导可以被布置成使用全内反射将第二输入光在第二方向上沿第二路径引导到样品区域中。同样为了方便起见，上述“另一波导”在本文中将被称为“第三波导”，即使在一些实施例中不存在“第二波导”，例如，如果光学分路器的第二输出直接联接到样品区域。

[0035] 如果同时在第一方向、第二方向和第三方向引导光，则样品区域内产生的周期性干涉图案将是第一光束、第二光束和第三光束干涉的结果。以此方式用至少三个光束产生周期性干涉图案可以产生比两个光束干涉图案具有更多条纹的图案。在某些成像条件下（诸如，在使用散斑SIM技术时），增加条纹的数量可以有助于提高SIM成像质量。条纹位置可

以部分地由相邻的成对的光束之间的角度偏移确定。改变条纹位置可以有利于调节SIM图像质量。值得注意的是,通过由高折射率材料(例如,有效折射率为2或更大的材料)制造波导,可以使波导形成的条纹图案小于常规SIM和常规散斑SIM中通常使用的物镜产生的条纹。

[0036] 可选地,第一方向、第二方向和第三方向是共面的(当被视为无位置矢量时)。相关联的第一路径、第二路径和第三路径(具有位置以及方向)优选地位于同一平面中。替代地,第三方向可以与第一方向和第二方向不共面——例如第三方向可以与包含第一方向和第二方向的平面正交。

[0037] 第三波导可以可选地被布置成从光学分路器的第三输出接收第三输入光。以此方式,光学部件可以仅利用一个输入光束产生三光束干涉图案。本发明的实施例可以使得能够产生比使用常规远场光学器件所能实现的照射光图案更复杂的照射光图案。

[0038] 在一些实施例中,光学部件包括第四波导,该第四波导被布置成接收第四输入光并且使用全内反射将第四输入光在第四方向上沿第四路径沿引导到样品区域中,该第四方向不同于第一方向、第二方向和第三方向。

[0039] 在这种情况下,本领域技术人员将看到,单个光学部件(例如光学芯片)形成四个分开的光束,并沿不同方向将它们引导到样品区域中,尽管不必同时全部。特别地,可以形成两对不同的光束,并且沿不同的方向将其引导到样品区域中。例如,来自第一波导的第一输入光和来自光学分路器的第二输出的第二输入光可以被引导到样品区域中以形成第一对干涉光束。来自另一波导的第三输入光和来自第四波导的第四输入光可以被引导到样品区域中以形成第二对干涉光束。以此方式,可以通过在光学分路器处选择性地接收输入光或在另一波导和第四波导处分别接收第三输入光和第四输入光来在不同的时间激活不同对干涉光束。这有利于在相对于样品区域的不同取向上产生适合于SIM图像处理的至少两个不同的干涉图案。当然,通过在光学分路器处接收输入光并在另一波导和第四波导处分别接收第三输入光和第四输入光,也可以在样品区域中产生四光束干涉图案。

[0040] 因此,体现本发明的方法可以进一步包括以下步骤:

[0041] 在光学部件的第四波导中接收第四输入光;

[0042] 在第四波导内使用全内反射将第四输入光在第四方向上沿第四路径引导到样品区域中,其中第四方向不同于第一方向、第二方向和第三方向;

[0043] 将第一输入光与第二输入光干涉以在样品区域中形成第一周期性光图案;以及

[0044] 将第三输入光与第四输入光干涉以在样品区域中形成第二周期性光图案。

[0045] 可选地,第三波导可以从光学分路器的第三输出接收第三输入光。第四波导可以从光学分路器的第四输出接收第四输入光。替代地,光学部件可以包括第二光学分路器,并且第三波导可以被布置成从第二光学分路器的输出接收第三输入光。第四波导可以从第二光学分路器的不同输出接收第四输入光。

[0046] 应当理解,第一对干涉光束可以在样品区域内形成第一周期性光图案。第二对干涉光束可以在样品区域内形成第二周期性光图案。优选地,第二周期性光图案相对于样品区域的取向不同于第一周期性光图案。第一周期性光图案和第二周期性光图案可以形成线性条纹。第一周期性光图案的线性条纹可以垂直于样品区域的轴线延伸,并且第二周期性光图案的线性条纹可以垂直于样品区域的不同轴线延伸。

[0047] 在使用中,光可以被引导到光学分路器中,以同时在第一方向和第二方向上将光引导到样品区域中,从而在样品区域中形成第一周期性光图案。附加地或替代地,光可以在第三方向上被引导到样品区域中,同时光在第四方向上被引导到样品区域中,从而在样品区域中形成第二周期性光图案。替代地或附加地,光可以在第三方向上被引导到样品区域中,同时光在第一方向和第二方向上被引导到样品区域中,从而在样品区域中形成第三周期性光图案。替代地或附加地,光可以在第四方向上被引导到样品区域中,同时光在第一方向和第二方向上被引导到样品区域中,从而在样品区域中形成第四周期性光图案。替代地或附加地,光可以在第三方向和第四方向上被引导到样品区域中,同时光在第一方向和第二方向上被引导到样品区域中,从而在样品区域中形成第五周期性光图案。在最后一种情况下,产生四光束干涉图案。

[0048] 光学部件优选包括光导层(即芯层)。光学部件优选地被布置成通过将一些或全部光引导到光导层中而将一些或全部输入光与大气隔离。该光导层优选地不是空气(尽管当然,它可以与空气相邻或被空气包围);它优选是固体。以此方式,光学部件可以最小化或避免由大气中的随机波动(例如由于气流和空气成分的波动)引起的干涉图案的波动,否则可能会导致干涉光束之间的随机相移,从而导致干涉图案出现不期望的不稳定性。

[0049] 此外,将理解的是,由于由波导分路器形成的干涉光束是从相同的输入光得出的,因此,无论原因如何,输入光在进入波导分路器之前所经历的任何时间波动都可以被期望以相同的方式影响干涉光束中的每个。这样,波动不应引起干涉光束之间的相对相移。因此,由本发明的实施例产生的干涉图案可以比由使用在例如自由空间中传播的光场的替代SIM技术形成的图案更稳定。

[0050] 在一组优选的实施例中,光学部件用在包括成像单元的系统中,该成像单元使用物镜来收集从样品区域中的样品发射的光。物镜可以是成像单元的一部分或单独的部件。常规SIM技术使用相同的物镜将光引导到样品区域中,以产生干涉图案,并且还用于对样品成像。然而,本发明的实施例使用光学部件将光独立于成像透镜引导到样品上。因此,可以将成像单元的物镜优化为仅从样品收集光。特别地,与现有技术相比,可以使用数值孔径较小的透镜,因为不需要透镜非常精细地聚焦照射光,因此可以有利地提供更宽的视场以更广泛地对样品成像,而不会损失光学分辨率。在样品区域邻近光学部件的一个面的情况下,成像单元可以直接从样品区域收集光,例如,物镜可以与样品区域位于光学部件的同一侧,或者成像单元可以收集从样品区域通过光学部件的光,例如,其中物镜与样品区域位于光学部件的相对侧。

[0051] 优选地,光学部件是光子集成部件。即,例如,光学部件可以是光子集成电路(PIC)或集成光学电路。通常,PIC将包括至少两个部分,在该两个部分之间具有至少一个波导(例如,一维波导或二维波导)。

[0052] 光学部件优选是整体部件。优选地,它不包含可独立移动的部分。光学部件的元件(例如,(一个或多个)光学分路器、(一个或多个)波导和(一个或多个)样品区域)优选地直接或间接地彼此结合。它们可以生长或沉积在共同的基底上。光学部件的元件可以包括半导体材料和电介质材料(例如,二氧化硅)中的一种或多种。半导体材料和/或电介质材料可以生长在基底(例如玻璃、硅或III-IV族材料基底)上。例如,可以通过外延工艺(例如,分子束外延)或沉积工艺(例如,溅射工艺或化学气相沉积)来生长半导体材料和/或电介质材

料。光学部件的元件可以整体集成到光学部件的基底上,该基底可以是平面基底。集成元件进一步确保了由光学部件接收的输入光被遮蔽以免波动环境(例如,波动温度)的影响。因此,将认识到,本文公开的光学部件的功能是同时引导光并遮蔽光,以便减少干涉光束中的相位波动。以此方式,不需要单独的光机械部件来(i)引导光,并且(ii)遮蔽光以免温度、湿度和/或气流的变化影响。因此,有利地,与现有技术的布置相比,本文中公开的光学部件可以被制造得更小且更便宜。

[0053] 光学部件的基底可以是硅或玻璃,或者可以包括硅或玻璃。基底优选地具有小于200微米(诸如160-170微米)的最大或平均(例如,均值)厚度。在一些实施例中,基底可以是透明的,以使得能够通过基底从样品区域收集光。

[0054] 在一些实施例中,第一方向可以平行于第二方向并且与第二方向相反。因此,样品区域内的第一输入光和第二输入光可以是反向传播的光束。通过干涉两个反向传播的光束而产生的周期性干涉图案通常基本上是条纹状的。

[0055] 在一些其他实施例中,第二方向可以相对于第一方向以小于180度的角度成角度地偏移。可选地,角度偏移可以小于20度、40度、60度、80度、100度、120度、140度或160度。

[0056] 通常,由本发明的实施例产生的周期性光图案可以具有任何形式。它不限于任何特定的空间周期,或任何特定数量的周期性重复(为了建立具有周期性结构的图案,通常将最少有公共元素的三个实例,但是可能会有数百万次重复或更多)。图案可以是简单的(例如,直条纹),或更复杂的(例如,表现出规则结构的斑点图案)。图案可以仅在一个维度上是周期性的,或者在两个或三个维度上是周期性的。每个维度的周期可以不同。应当理解,任何一个维度上的周期都可以在图案上变化,例如,随着远离中心区域的距离而缓慢增加,而这不会阻止图案被视为是周期性的。

[0057] 通常,条纹周期等于 $\lambda_0/2n_{\text{eff}}\sin\theta$,其中 λ_0 是在第一方向和第二方向上引导的光的波长, n_{eff} 是导引模式的有效折射率,并且 θ 是第一方向和第二方向之间的偏移角。通过适当选择波长和偏移角度,该公式允许产生期望的条纹周期。如果成对的方向之间的偏移角不完全相同,则即使对于相同波长的输入光(尽管取向不同),也可以允许产生具有不同周期的条纹图案。在某些成像应用中,例如在使用较低放大倍率和较低数值孔径物镜(以实现宽视场)的情况下进行成像时,能够轻松改变条纹周期可能有用,其中可能需要改变照射图案的条纹周期以填充傅立叶空间。

[0058] 如前所述,在一些实施例中,光学部件可以包括第四波导,该第四波导被布置成接收第四输入光并使用全内反射将第四输入光作为第四光束在第四方向上沿第四路径引导到样品区域中,该第四方向不同于第一方向、第二方向和第三方向。

[0059] 在一些实施例中,第一方向、第二方向、第三方向和第四方向是共面的(当被视为无位置矢量时)。第一路径和第二路径可以沿穿过样品区域的第一轴线,但方向相反。第三方向和第四方向可以沿穿过样品区域的第二轴线,但方向相反。第二轴线可以与第一轴线成角度地偏移。第一轴线和第二轴线之间的角度偏移可以等于90度,但优选地以小于90度的锐角偏移,并且可以小于10度、20度、30度、40度、45度、50度、60度、70度或80度。

[0060] 在其他实施例中,第三方向可以相对于第一方向以小于180度的角度成角度地偏移。角度偏移可以小于20度、40度、60度、80度、100度、120度、140度或160度。第四方向可以相对于第三方向以小于180度的角度成角度地偏移。角度偏移可以小于20度、40度、60度、80

度、100度、120度、140度或160度。

[0061] 第四波导可以被布置成从光学分路器的第四输出接收第四输入光。以此方式，光学部件可以仅利用一个输入光束产生四光束干涉图案。

[0062] 替代地，第四波导可以被布置成从第二光学分路器的第二输出接收第四输入光。以此方式，光学部件可以在通过第一光束和第二光束干涉（例如，沿穿过样品区域的第一轴线）产生干涉图案与通过第三光束和第四光束干涉（例如沿穿过样品区域的第二轴线）产生干涉图案之间切换，这取决于是第一光学分路器还是在第二光学分路器处接收输入光。

[0063] 在一些实施例中，光学部件被布置成沿相应的路径沿五个、六个、七个、八个或更多个不同的方向将输入光引导到样品区域中。在一组实施例中，光学部件被布置成沿三个不同轴线中的每个沿相反方向将光引导到样品区域中。光学部件可以包括三个光学分路器，每个光学分路器具有联接到两个相应的波导的两个输出，两个相应的波导被布置成沿三个轴线中的相应一个在相应的相反方向上引导光。这三个轴线可以是共面的，并且可以规则地旋转间隔开，即彼此成120度。这使样品区域中的样品能够以彼此之间旋转120度的三个不同取向的条纹图案照射，这允许容易使用已知的SIM处理技术。

[0064] 在一些实施例中，光学部件可以包括光学联接到样品区域的光栅。光学光栅可以被布置成将接收的光在第三方向上沿第三路径引导到样品区域中。第三波导可以光学联接到光栅，以便经由光栅在第三方向上将第三输入光引导到样品区域中。将理解的是，第三波导可以从外部源接收第三输入光，例如在本文的系统中，光注入装置可以将第三输入光注入第三波导。优选地，在第一方向和第二方向上被引导到样品区域中的光位于第一平面中，并且第三方向不位于第一平面中。第三方向可以垂直于第一平面。

[0065] 替代地，第三波导可以光学联接到第一波导，以便接从第一波导接收至少一些光。第一波导和第三波导的光学联接布置可以形成定向连接器（例如，渐消波导连接器）。因此，进入第一波导的光可以被分开，使得接收的光的一部分将在第一波导中传播，而接收的光的另一部分将在第三波导中传播。

[0066] 在一些实施例中，布置成使用光学光栅在与第一方向和第二方向不在同一平面中的第三方向上将光引导到样品区域中，光学部件可以被布置成经由相应的第一波导和第二波导将第一输入光和第二输入光引导到样品区域中。申请人已经认识到，第一波导和第二波导从光学分路器接收光不是必须的。

[0067] 因此，从另一个方面，提供了一种用于用周期性光图案照射样品区域的光学部件，该光学部件包括光学光栅、第一波导、第二波导和第三波导，其中：

[0068] 第一波导被布置成使用全内反射将第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到样品区域中；

[0069] 第二波导被布置成使用全内反射将第二输入光在第二方向上沿第二路径引导到样品区域中；

[0070] 第三波导被布置成接收第三输入光并且使用全内反射将第三输入光引导到光学光栅上；

[0071] 光学光栅被布置成将接收的第三输入光在第三方向上沿第三路径引导到样品区域中；

[0072] 第一方向和第二方向是包含在第一平面中的不同方向；并且

[0073] 第三方向不同于第一方向和第二方向,并且不位于第一平面中。

[0074] 从另一方面,本发明提供一种用于照射光学部件的样品区域的方法,该光学部件包括光学光栅、第一波导、第二波导和第三波导,该方法包括:

[0075] 在第一波导中接收第一输入光;

[0076] 在第一波导内使用全内反射将第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到样品区域中;

[0077] 在第二波导中接收第二输入光;

[0078] 在第二波导内使用全内反射将第二输入光在第二方向的上沿二路径引导到样品区域中;

[0079] 在第三波导中接收第三输入光;

[0080] 在第三波导内使用全内反射将第三输入光引导到光学光栅上;以及

[0081] 使用光学光栅将第三输入光在第三方向上沿第三路径引导到样品区域中,

[0082] 其中第一方向和第二方向是包含在第一平面中的不同方向,并且其中第三方向不同于第一方向和第二方向并且不位于第一平面中。

[0083] 在使用中,将理解的是,第一输入光、第二输入光和第三输入光(与第一输入光和第二输入光在不同的平面中行进)在样品区域内干涉以形成三光束干涉图案。已经发现所得的三光束干涉图案对于3D SIM成像特别有用。

[0084] 结合本发明的其他方面提及的任何特征也可以是该方面的特征。

[0085] 在第一输入光和第二输入光分别从光学分路器引导到第一波导和第二波导中的任何方面的实施例中,可以仅从进入光学分路器的一个输入光束和第三输入光方便且精确地产生三光束干涉图案。在其中第三波导光学联接到第一波导以便从第一波导接收至少一些光作为第三输入光的实施例中,将看到可以从进入光学部件的光学分路器的一个输入光束方便且准确地产生三光束干涉图案。

[0086] 在优选的实施例中,光学部件包括基底,并且光学光栅布置在样品区域和光学部件的基底之间。优选地,光栅直接布置在样品区域的下方。以此方式,光栅可以将第三输入光在第三方向上从样品区域下方引导到样品区域中。优选地,第三波导被布置在样品区域和基底之间。第三波导可以定位成与光栅相邻,并且优选地在与光栅相同的平面中。

[0087] 光学部件可以是基本上平面的,或者可以包括平面基底。部件或基底因此可以限定平面。第一方向和第二方向可以(当被视为无位置矢量时)位于光学部件的平面中。第三方向也可以位于该平面中,或者可以相对于该平面成角度。

[0088] 光学部件优选地包括输入接口。输入接口可以光学联接到任何一个或多个波导,并且优选地光学联接到所有波导;并且这可以借助于光学部件上的一个或多个联接波导。输入接口可以通过联接波导联接到光学分路器。输入接口可以跨光学部件的多个面分布,但是优选地形成在光学部件的一个面上。输入接口可以由单个插座或其他连接装置提供,输入接口可以包括多个输入端口。每个输入端口可以对应于一个或多个波导的相应一组;这些组可以重叠。输入接口可以被布置成与可以向光学部件提供输入光的一根或多根光纤缆线(例如,光纤阵列或光纤适配器)联接。使用这种输入接口可以简化连接和设置过程。

[0089] 光学部件可以包括第一输入端口和第二输入端口。第一输入端口和第二输入端口都可以光学联接到第一波导,例如,光学部件可以包括光学组合器,该光学组合器具有光学

联接到第一输入端口的第一输入、光学联接到第二输入端口的第二输入,和光学联接到第一波导的输出。光学组合器可以包括y分支波导结。光学组合器可以位于光学分路器的下游。第一输入端口和第二输入端口也可以都光学联接到第二波导或第三波导。对于输入光的至少一些波长,光学部件可以被布置成使得将输入光提供给第一输入端口在样品区域中产生第一干涉图案,而替代地将输入光提供给第二输入端口在样品区域中产生第二干涉图案,第一干涉图案和第二干涉图案具有共同的取向,但是第二干涉图案从第一干涉图案偏移(即相移)。

[0090] 在本文公开的方法的一些实施例中,第一波导、第二波导(当存在时)或第三波导中的任何一个或多个附加地接收相应的第一辅助输入光、第二辅助输入光或第三辅助输入光,优选地其波长与第一输入光、第二输入光和第三输入光的波长相同。第一波导可以将第一辅助输入光在第一方向上沿第一路径引导到样品区域中。类似地,当存在第二波导时,第二波导可以将第二辅助输入光在第二方向上沿第二路径引导到样品区域中。第三波导可以将第三辅助输入光在第三方向上沿第三路径引导到样品区域中。因此,将理解的是,可以用辅助输入光在样品区域内产生两光束干涉图案或三光束干涉图案。相对于样品区域内的第一输入光,样品区域内的第一辅助输入光可以具有非零相位偏移。这可以通过在第一输入光和第一辅助输入光之间具有从输入到光学部件和样品区域的光学路径长度的差异的光学芯片来实现。相对于样品区域内的第二输入光,样品区域内的第二辅助输入光可以具有非零相位偏移。相对于样品区域内的第三输入光,样品区域内的第三辅助输入光可以具有非零相位偏移。以此方式,通过针对第一波导、第二波导和第三波导中的一个或多个选择性地输入辅助光来代替输入光,可以获得干涉图案的侧向移位。

[0091] 光学芯片可以包括第一辅助波导和/或第二辅助波导和/或第三辅助波导。第一波导、第二波导和第三波导中的任何一个或多个可以例如经由光学组合器光学联接到相应的第一辅助波导、第二辅助波导和第三辅助波导。第一辅助波导、第二辅助波导和第三辅助波导可以分别被布置成将第一辅助输入光、第二辅助输入光和第三辅助输入光引导到第一波导、第二波导和第三波导中。优选地,第一波导、第二波导和第三波导中的任何一个或多个被布置成分别从一或多个辅助波导分路器接收第一辅助输入光、第二辅助输入光和第三辅助输入光。一或多个辅助波导分路器优选地是光学部件的一部分。

[0092] 当然,将认识到,用辅助波导来偏移辅助输入光的相位不是必需的,并且在一些实施例中,由光学部件的一个或多个元件接收的辅助输入光可以固有地相对于输入光具有零相位偏移。

[0093] 应当理解,使样品区域内的一个或多个干涉辅助输入光束的相位偏移可以产生与通过将两个或更多个输入光束在样品区域内进行干涉而产生的任何一种干涉图案不同的干涉图案。例如,通过将第一辅助输入光在第一方向上引导到样品区域中并且将第二辅助输入光在第二方向上引导到第二区域中而产生的辅助干涉图案将不同于通过将第一输入光在第一方向上引导到样品区域中并且将第二输入光在第二方向上引导到样品区域中而产生的干涉图案不同。特别地,将理解,在该辅助干涉图案中的干涉条纹的位置将是不同的。

[0094] 在包括第四波导的实施例中,第四波导可以被布置成接收第四辅助输入光并将第四辅助输入光在第四方向上沿第四路径引导到样品区域中。在这种情况下,第四波导可以

与第四辅助波导光学联接。第四辅助波导可以将第四辅助输入光引导到第四波导中。第四辅助波导可以从辅助波导分路器接收第四辅助输入光。

[0095] 因此,有利地,可以通过选择干涉辅助输入光或输入光来轴向移位样品区域内产生的周期性光图案中的条纹。

[0096] 在一些实施例中,第一波导、第二波导(当存在时)、第三波导或第四波导(当存在时)中的任何一个都可以从相应的辅助波导分路器的输出接收辅助输入光。在这种情况下,从辅助波导分路器的输出到样品区域的光学路径可以比从第一光学分路器或另一个辅助波导分路器的输出到样品区域的光学路径长。将理解的是,较长的路径长度将偏移辅助输入光相对于输入光的相位。

[0097] 优选地,第一光学分路器可以是y分支分路器、渐消波导联接器(在本文中也称为定向联接器)或多模干涉(MMI)部件。使用MMI的一个优点是它提供了低损耗分路,并且可以提供两个以上的输出。

[0098] 在一些实施例中,波导中的至少一个(例如,至少第一波导)被布置成沿相应的光学路径将接收的光向样品区域引导,其中,所述光学路径的宽度在朝着样品区域的方向上增加。这对于用接收的光照射较大区域的样品区域从而产生较大的干涉图案有用。宽度优选地是绝热地增加,使得可以保持波导的单模状态;这对于某些SIM成像技术可能有用。

[0099] 样品区域优选地至少部分地位于光学部件内或与光学部件相邻。样品区域可以至少部分地由光学部件的一个或多个表面限定。这些一个或多个表面可以涂覆有生物相容性层,例如,包含BSA(牛血清白蛋白)、PEG(聚乙二醇)或PLL(聚-L-赖氨酸)分子的层。光学部件可以限定具有一个或多个壁(例如,四个或多个平面侧壁)的样品槽。样品区域可以在样品槽中。样品区域或样品槽优选地包括基底,该基底优选是平面的。样品槽可以至少部分地由光学部件的包层或区域限定。样品槽可以至少部分地由邻接光学部件或从光学部件突出的一个或多个构件(例如,聚二甲基硅氧烷的构件)限定;这些构件可以限定开放或封闭的室。

[0100] 在一些实施例中,样品区域的面(例如,基底)可以由光学部件的光导层(即,芯层)的表面限定。光导层的表面至少在邻近样品区域(至少,当不存在样品时)处可以暴露(例如,暴露于空气或水中)。例如,在一些实施例中,诸如空气或水的流体用作(一个或多个)波导的上包层,在这种情况下,样品区域的基部可以由(一个或多个)波导的光导层的上表面限定。以此方式,可以将样品直接放置在波导上,以与波导内的导引的光的渐消场相互作用。在这样的布置中,可能不一定总是需要样品槽,并且可以通过将样品直接放置在波导上并在波导内导引两个反向传播的光束来用干涉图案照射样品;然而,在某些情况下,可以例如通过放置在波导表面上的样品室来提供样品槽,以容纳样品。

[0101] 在一组实施例中,至少第一波导包括端面,第一波导接收的光(例如,第一输入光)从该端面被引导到样品区域中。优选地,第二波导(当存在时)包括端面,第二波导接收的输入光(即,第二输入光)从该端面被引导到样品区域中。优选地,第三波导包括端面,第三波导接收的输入光(即第三输入光)从该端面导入样品区域。在这样的布置中,将理解的是,至少第一波导和第三波导的端面可以限定样品槽的相应侧壁。因此,至少第一波导和第二波导的端面可以被定位为在样品区域中样品可定位在其上的表面区域的侧面。此外,这些侧壁中的至少一个可以包括至少一个波导层。样品区域可以邻接端面。替代地,在端面与样品

或样品区域之间可以存在诸如气隙和/或细胞缓冲溶液(例如,磷酸盐缓冲盐水、PBS)的介质。边缘面可以涂覆有生物相容层,例如,其包含BSA(牛血清白蛋白)、PEG(聚乙二醇)或PLL(聚-L-赖氨酸)分子。

[0102] 这样的布置有利地使荧光团(或嵌入样品中的其他此类发光标记)被激发超过样品的表面区域,例如,比波导的渐消场穿透到样品更深地进入样品,这通常是几百纳米。

[0103] 与已知的基于渐消场的照射技术(其激发功率相对低——通常小于总输入光功率的约10%)相比,这样的布置还允许对于给定的光源(例如激光)以相对高的功率有效地激发荧光团(或其他这样的发光标记)。

[0104] 来自至少第一波导的端面的光优选地成形为光片。光片优选地在基本平行于光学部件的主平面的平面(例如,光学部件的平面基底的平面)中进入样品区域。通过产生光片,优选地可以照射样品区域的整个横截面。因此,周期性干涉图案可以照射样品区域的整个横截面。

[0105] 从至少第一波导的端面发出的光束或光片的厚度优选地小于500纳米、1000纳米或2000纳米。为了促进这一点,可以将至少第一波导的波导层沉积为透明材料的透光薄膜。该薄膜可以具有小于1微米的厚度。

[0106] 在另一组实施例中,至少第一波导被布置成仅将其接收的光的渐消场分量引导到样品区域中。在这样的实施例中,样品区域优选地至少与第一波导接触。

[0107] 波导中的任何一个或多个可以包括相应的第一芯区域和与第一芯区域接触的第一包层区域,第一芯区域的折射率比第一包层区域的折射率高,并且被布置成使用全内反射沿波导导引接收的光。优选地,两个或更多个波导(例如,第一波导和第二波导)包括相同的芯区域和包层区域。多个光学分路器中的一个(例如,第一光学分路器)可以包括相同的芯区域和包层区域。(一个或多个)波导和/或(一个或多个)光学分路器的第一包层区域(例如下光学包层区域)可以被布置在第一芯区域和光学部件的基底之间。在一些实施例中,第一芯区域可以被布置在第一包层区域和第二包层区域(例如,上光学包层区域)之间。第二包层区域优选地具有比第一芯区域低的折射率。在一些实施例中,空气或水可以用作第二包层区域;在这种情况下,可以将空气或水的区域视为构成第二包层区域并形成光学部件的一部分,或者将空气或水视为与光学部件分开,使得光学部件本身不包括上包层。

[0108] 本文所使用的诸如“上”、“下”、“孔”和“基部”的术语不应理解为必须将光学部件限制为以任何特定的倾斜角度使用。然而,在一些实施例中,重力可以用于将样品保持在样品区域中,并且光学部件然后可以具有自然的使用角度或可用角度范围。

[0109] 在照射图案由成像物镜形成的常规SIM设置中,SIM的光学分辨率约为 $\lambda_0/4 \cdot N.A.$,其中N.A.是物镜的数值孔径。通常,在这种常规技术中使用的最高N.A.为1.49,并且在某些情况下,将样品浸入折射率接近于水(即约1.33)的溶液中。

[0110] 本文公开的至少一些布置的光学分辨率为 $\lambda_0/2(N.A.+n_{eff})$,其中 n_{eff} 是波导内部的导引模式的有效折射率,并且N.A.是成像物镜的数值孔径。这样允许通过使用高于N.A.的 n_{eff} 来改善分辨率。这可以通过在光学部件中使用适当高折射率的元件来引导光在样品区域内产生干涉。例如,使用五氧化二钽或氮化硅波导可以实现约1.9到2的 n_{eff} 。

[0111] 光图案中条纹之间的间距通常与 $\lambda_0/2n_{eff}$ 成比例,其中 λ_0 是干涉光束在真空中的波长, n_{eff} 是波导内导引模式的有效折射率。在一些现有技术的布置中,由于在干涉区域中的

大部分或全部干涉光束的能量都位于基于空气或水的介质中,因此 n_{eff} 通常约为1至1.33。

[0112] 在本发明的实施例中(例如,渐消光形成周期性光图案的实施例),其中,通过在一个或多个光引导元件内(例如,在将光引导到样品区域中的波导,或将光引导到样品区域中的光学分路器)将具有大部分光能的光束干涉来形成光图案,将理解,干涉光所经历的有效折射率将取决于光引导元件的折射率成分,而不是主要取决于空气或水,因此可以使 n_{eff} 高于1.33,因为光引导元件可以由折射率高于1.33的材料制成。例如,在包括五氧化钽或氮化硅芯层和硅包层的波导中,可以获得约1.7至2的 n_{eff} 值。

[0113] 较高的 n_{eff} 值减小干涉图案中条纹之间的间距,这是期望的,因为它可以增加SIM图像的分辨率。因此,优选地,在一些实施例中,优选地在芯层中,波导中的至少一个包括五氧化钽或氮化硅。优选地波导中的至少一个具有包含硅的包层。优选地,光学部件使得在样品区域中的 n_{eff} 大于1.33,并且优选地至少为2——例如2.5、3、3.5或更大。

[0114] 在样品区域包括用于保存样品的样品槽的实施例中,样品槽可以至少部分地由第一包层区域和第一芯区域中的一个或两个来限定。

[0115] 第一波导(并且优选地第二波导(当存在时))的第一包层区域可以被成形为至少部分地限定用于保存样品的样品区域(例如,样品槽)。特别地,第一包层区域和第一芯区域中的一个或两个可以成形为限定样品槽或样品区域(例如,为样品区域或样品槽提供基部平面)。

[0116] 在一组实施例中,至少第一波导是一维波导或是二维波导。在一些实施例中,波导中的一个或多个是单模波导。在一些实施例中,波导中的一个或多个是二维肋状波导,或二维条状波导,或一维平板状波导。

[0117] 在肋状波导中,将理解的是,横向光导(即,在垂直于芯和包层/区域的平面的方向上)由芯层和包层之间的折射率对比提供。通过在上包层中具有脊来提供侧向光导。肋状波导结构中的侧向光导增加传播到芯层外部的渐消光(即,渐消场)的强度。因此,与使用常规的平板状波导结构(不具有脊)相比,可以增加与样品区域重叠的渐消光的强度。因此,通过使用肋状波导,可以增加从肋状波导引导到样品区域中的渐消光的强度,从而产生更强的周期性光图案。

[0118] 与平板状波导(仅提供横向光导)相比,使用肋状波导的另一个好处是它们允许以较少的光泄露实现较锐利的弯曲和弯折。这样,波导中较锐利的弯曲和弯折可以用于提供占地面积更小的更紧凑的光学部件。特别的,波导中的较锐利的弯曲和弯折可以用于将输入光从光学部件的一侧(例如从输入面)引导到样品区域的不同侧,并沿不同方向引导到样品区域内,以产生不同的周期性光图案。

[0119] 为了进一步减少波导中的弯曲损耗,从而实现更锐利的弯曲和弯折以使光学部件更加紧凑,本文实施例中的波导中的一个或多个可以包括条状波导。条状波导还具有提供侧向光导的脊。然而,与肋状波导不同,脊延伸穿过上包层并穿过(或至少部分穿过)波导的芯层。

[0120] 使用条状波导的另一个好处是,提供了在芯层外部传播的强渐消场。因此,在仅渐消场(即渐消光)被引导到样品区域中的实施例中,可以通过使用条状波导将光引导到样品区域中来增加照射样品的周期性光图案的强度。

[0121] 在一些实施例中,波导中的一个或多个可以是平板状波导,特别是在不需要高功

率和锐利的弯曲/弯折的情况下。还将意识到,在某些情况下平板状波导可能是优选的,因为它们可以比肋状和平板状波导更容易制造。

[0122] 平板状波导结构的宽度可以是100 μm 至500 μm ,或100 μm 至150 μm ,或100 μm 至200 μm ,或100 μm 至300 μm ,或100 μm 至400 μm ,然而它可能位于这些范围之外。肋状波导或条状波导中的脊的宽度 r_w 可以是:1 μm $\leq r_w < 100\mu\text{m}$;或1 μm $\leq r_w \leq 10\mu\text{m}$;或10 μm $\leq r_w \leq 30\mu\text{m}$;或10 μm $\leq r_w \leq 50\mu\text{m}$;或10 μm $\leq r_w < 100\mu\text{m}$,然而它可能在这些范围之外。

[0123] 可选地,波导中的至少一个(例如,第一波导或第二波导)联接到相应的相位调节器,该相位调节器被布置成在接收的光被引导到样品区域中之前调节接收的光的至少一部分(例如,第一输入光)的相位。光学部件可以包括所述相位调节器中的一个或多个。

[0124] 优选地,一个或多个相位调节器是有源相位调节器,诸如热相位调节器或电光相位调节器。然而,一个或多个相位调节器可以是无源相位调节器。无源相位调节器可以例如包括在与该相位调节器联接的相应波导的上包层中的可填充间隙,该可填充间隙可以适合于选择性地填充不同折射率的一种或多种材料(例如二氧化硅、PMMA或SU8),以改变波导的有效折射率。

[0125] 当前有源相位调节器的速度超过1GHz,这比通常具有kHz范围内调制速度的当前光机械部件的速度要快得多。因此,相位调节器可以使周期性光图案相对于样品区域移位的速率比现有技术的光机械设置快得多。

[0126] 波导中的任何一个或多个可以是具有朝向样品区域弯曲或成角度的弯曲或成角度部分的二维波导,并且被布置成使用全内反射将相应的输入光沿弯曲或成角度部分引导并引导到样品区域中。

[0127] 即使当光学部件不一定包括光学分路器时,也认为使用这种二维波导是新颖性和创造性的。

[0128] 因此,根据另一方面,本发明提供了一种用于用周期性光图案照射样品区域的光学部件,该光学部件包括:

[0129] 输入接口,其被布置成接收输入光;

[0130] 第一波导,其布置成从输入接口接收第一输入光并使用全内反射将第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到样品区域中;

[0131] 第二波导,其被布置成从输入接口接收第二输入光,其中第二波导是具有朝向样品区域弯曲或成角度的弯曲或成角度部分的二维波导,并且其中第二波导被布置成使用全内反射将第二输入光沿弯曲或成角度部分引导并在第二方向上沿第二路径引导到样品区域中;以及

[0132] 另一波导,其被布置成从输入接口接收第三输入光,并使用全内反射将第三输入光在第三方向上沿第三路径引导到样品区域中,

[0133] 其中第二方向不同于第一方向,并且第三方向不同于第一方向和第二方向,使得在使用中,第二输入光与第一输入光和第三输入中的至少一个干涉以在样品区域中形成周期性光图案。

[0134] 根据另一方面,本发明提供了一种用于照射光学部件的样品区域的方法,该光学部件包括输入接口、第一波导、第二波导和第三波导,其中第二波导是具有朝向样品区域弯曲或成角度的弯曲或成角度部分的二维波导,该方法包括:

[0135] 在第一波导中从输入接口接收第一输入光；

[0136] 在第二波导中从输入接口接收第二输入光；

[0137] 在第一波导内使用全内反射将第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到样品区域中；

[0138] 在第二波导内使用全内反射将第二输入光沿第二波导的弯曲或成角度部分引导，并在第二方向上沿第二路径引导到样品区域中，其中第二方向不同于第一方向；

[0139] 在第三波导中从输入接口接收第三输入光；

[0140] 在第三波导内使用全内反射将第三输入光在第三方向上沿第三路径引导到样品区域中，其中第三方向不同于第一方向和第二方向；以及

[0141] 使第二输入光与第一输入光及第三输入光中的至少一个干涉，以在样品区域内形成周期性干涉图案。

[0142] 在适当的情况下，以上关于根据前述方面的光学部件和方法及其波导描述的特征和优点(包括优选和可选的特征和优点)可以等同地应用于该光学部件和方法的实施例。

[0143] 本领域技术人员将看到，单个光学部件(例如，光学芯片)形成三个分开的光束，并使用三个波导将它们沿不同方向引导到样品区域中(尽管不必全部同时)。具体地，将看到，第一波导将来自输入接口的接收的第一输入光作为第一光束在第一方向上引导到样品区域中。第二波导是二维波导，并且具有朝向样品区域弯曲或成角度的弯曲或成角度部分，以便将来自输入接口的接收的第二输入光作为第二光束在第二方向上引导到第二区域中，该第二方向趋向第一光束。第三波导(在本文中也称为另一波导)将来自输入接口的接收的第三输入光作为第三光束在第三方向上引导到的样品区域中。

[0144] 例如，将理解，第三输入光可以与第一输入光和第二输入光干涉，从而形成三光束干涉图案。三光束干涉图案对于产生“斑点”或“半斑点”照射图案有用。斑点状照射图案对于某些类型的SIM成像有用。替代地，第二输入光可以与第一输入光或第三输入光干涉以形成两个不同的干涉图案。有利地，可以形成两个不同的干涉图案而不必重新对准光学部件。可以通过将第一输入光与第三输入光干涉来产生第三干涉图案。

[0145] 因此，与第一方面一样，将看到体现该方面的光学部件可以避免对多个光机械部件的需求，并且可以为SIM成像提供更小、更便宜和更简单的设置，相比于当前已知的系统，这更容易对准。

[0146] 此外，通过使用二维波导，可以通过使弯曲(即弯曲或成角度部分)被用于将第二输入光沿第二方向引导到样品区域中，来使光学部件的占地面积小得多。应当理解，由于弯曲，第二波导的占地面积可以被制成比现有技术的替代方案的占地面积小得多。

[0147] 另外，本领域技术人员将看到，根据该方面的光学部件还可以遮蔽输入光以免大气中的波动的影响，从而使干涉图案的波动最小化。

[0148] 在一些实施例中，输入接口可以包括光学分路器，该光学分路器具有(i)用于从输入接口接收输入光的输入，(ii)第一输出，以及(iii)第二输出，并且其中第一输出被光学联接到第一波导，以将第一输入光引导到第一波导中，第二输出被光学联接到第二波导，以将第二输入光引导到第二波导中。以此方式，光学部件可以仅从一个输入光束产生周期性光图案，并且在一些实施例中，仅需要在光学部件的一个面上接收该输入光束。与第一方面一样，这导致了更简单的SIM成像设置。

[0149] 优选地,光学分路器可以是y分支分路器,渐进衰减联接联接器或多模干涉(MMI)部件。使用MMI的一个优点是它提供了低损耗分配,并且可以提供两个以上的输出。

[0150] 可选地,光学分路器可以包括第三输出。第三输出可以光学联接到第三波导,以便将第三输入光引导到第三波导中。以此方式,光学部件可以仅利用一个输入光束产生三光束干涉图案。

[0151] 在一些实施例中,输入接口包括第一输入、第二输入和第三输入中的一个或多个。第一输入可以光学联接到第一波导,以便将第一输入光引导到第一波导中。第二输入可以光学联接到第二波导,以便将第二输入光引导到第二波导中。第三输入可以光学联接到第三波导,以便将第三输入光引导到第三波导中。

[0152] 优选地,至少第一输入和第二输入被定位在光学部件的共同外围边缘或面上。这确保了来自光源的输入光仅需要被引导到光学部件的一侧。

[0153] 可选地,第一波导和/或第三波导中的每一个可以是二维波导。第一波导和/或第三波导可以包括朝向样品区域弯曲或成角度的弯曲或成角度部分。第一波导可以被布置成使用全内反射将第一输入光沿弯曲或成角度部分引导并沿第一方向引导到样品区域中。因此,第一波导可以使用更锐利的弯曲来以很少的光损失引导光,并且以此方式可以使光学部件更小。附加地或替代地,第三波导可以被布置成使用全内反射将第三输入光沿弯曲或成角度部分引导并沿第三方向引导到样品区域中。

[0154] 第一方向、第二方向和/或第三方向可以如上所述。

[0155] 可选地,第一方向、第二方向和第三方向位于同一平面。替代地,如前所述,第三方向可以与第一方向和/或第二方向在不同的平面内,例如在正交平面内。在后一种情况下,如前所述,可以为3D SIM成像产生三光束干涉图案。

[0156] 可选地,第三波导可以被布置成从输入接口的第三输入接收第三输入光。以此方式,光学部件可以根据在输入接口的两个或更多个输入处是否接收到输入光来选择性地在两光束干涉图案和三光束干涉图案之间切换。

[0157] 在一些实施例中,光学部件可以包括第四波导,该第四波导被布置成接收第四输入光并且使用全内反射将第四输入光在第四方向上沿第四路径引导到样品区域中,该第四方向与第一方向、第二方向和第三方向不同。

[0158] 这四个方向可以具有与先前描述的相同的特征和优点。

[0159] 在输入接口包括光学分路器的前述实施例中,第四波导可选地可以被布置成从光学分路器的第四输出接收第四输入光。替代地,第四波导可以可选地被布置成从输入接口的另一个光学分路器的输出接收第四输入光。

[0160] 替代地,第四波导可以被布置成从输入接口的第四输入接收第四输入光。以此方式,光学部件可以根据输入光在输入接口处注入的位置来选择性地在不同的干涉图案之间切换。例如,在从输入接口的相应输入端口接收第一输入光束、第二输入光束、第三输入光束和第四输入光束的实施例中,可以通过将光选择性地注入输入接口的第一输入和第二输入以将第一光束和第二光束干涉(例如,沿样品区域的第一轴线)来产生干涉图案。此外,例如,可以通过将光选择性地注入输入接口的第三输入和第四输入以将第三光束和第四光束干涉(例如,沿样品区域的第二轴线)来产生干涉图案。

[0161] 在一些示例中,光学部件可以包括光学联接到样品区域的光栅。光学光栅可以被

布置成将接收的光在第三方向上沿第三路径引导到样品区域中。第三波导可以光学联接到光栅,以便经由光栅将第三输入光在第三方向上引导到样品区域中。优选地,在第一方向和第二方向上被引导到样品区域中的光位于第一平面中,并且第三方向不位于第一平面中。

[0162] 与先前的方面一样,波导中的至少一个可以被布置成附加地接收辅助输入光。例如,第一波导可以被布置成接收第一辅助输入光。如在第一方面的实施例中,第一辅助输入光优选地具有相对于第一输入光的非零相位偏移。至少第一波导可以光学联接以从相应的辅助波导接收相应的辅助输入光。

[0163] 优选地,(一个或多个)辅助波导可以从输入接口(例如,从一个或多个波导分路器或输入接口的输入)接收辅助光。例如,分别联接到第一波导和第二波导的第一辅助波导和第二辅助波导可以从输入接口的辅助光学分路器的输出接收辅助光。优选地,辅助波导的光学路径长度不是第一输入光、第二输入光、第三输入光或第四输入光中的任何一个的周期的整数倍。

[0164] 如前所述,通过选择在样品区域内将输入光或辅助输入光干涉,(一个或多个)辅助波导可以使样品区域内产生的周期性光图案中的条纹轴向移位。例如,通过在样品区域内分开地将第一辅助输入光束与第二辅助输入光束干涉,可以通过在样品区域内将第一输入光束与第二输入光束干涉而产生的干涉图案中的条纹轴向移位。

[0165] 如所提及的,至少第一辅助波导可以从输入接口的辅助波导分路器的输出接收辅助输入光。优选地,该波导分路器的输出具有比将第一输入光引导到第一波导中的输入接口的第一光学分路器的输出(如果存在的话)长的光学路径长度。将理解的是,较长的路径长度将相对于第一输入光偏移第一辅助输入光的相位。这样,并且与以前一样,将第一输入光或第一辅助输入光提供到第一波导中的布置提供了用于调节干涉光束之间的相对相位差的相位调节器。

[0166] 根据本文描述的任何方面,体现本发明的某些方法还包括使用一个或多个周期性光图案来执行结构化照明显微镜(SIM)。可以使用已知的SIM技术来执行分析。优选地,在成像期间,使用本文描述的机构的一个或多个线性地(例如轴向地)和/或成角度地调节光图案。该调节可以通过成像单元或单独的控制单元来完成。

[0167] 因此,从另一方面,本发明提供一种用于使用结构化照明显微镜(SIM)对样品成像的系统,该系统包括:

[0168] 光注入装置;

[0169] 根据本文公开的任何方面的光学部件,其被布置成接从光注入装置接收输入光并用周期性光图案照射样品区域;

[0170] 物镜,其被布置成收集样品区域发出的光;以及

[0171] 成像单元,其被布置成用收集的光执行结构化照明显微镜(SIM)。

[0172] 从另一方面,本发明提供一种使用结构化照明显微镜(SIM)对样品成像的方法,包括:

[0173] 通过本文公开的任何方法用周期性光图案照射光学部件的样品区域;

[0174] 收集样品区域发出的光;以及

[0175] 用收集的光执行结构化照明显微镜(SIM)。

[0176] 样品区域优选地包含样品,例如生物样品。样品优选地包含荧光标记,然而这不是

必需的。

[0177] 申请人认为,即使当光学部件具有比上述更少的特征时,这样的成像系统及其在SIM中的用途也是新颖性的创造性的。

[0178] 因此,从另一方面,本发明提供一种用于使用结构化照明显微镜(SIM)对样品成像的系统,该系统包括:

[0179] 光注入装置;

[0180] 光学部件,其包括波导和光学分路器,光学分路器具有(i)用于接收输入光的输入,(ii)第一输出和(iii)第二输出,其中:

[0181] 光学分路器的第一输出被光学联接到波导,以将第一输入光引导到波导中;

[0182] 波导被布置成使用全内反射将第一输入光在第一方向上沿第一路径引导到样品区域中;

[0183] 光学分路器的第二输出被光学联接到样品区域,以将第二输入光在第二方向上沿第二路径引导到样品区域中;并且

[0184] 第二方向不同于第一方向,使得在使用中,第一输入光与第二输入光干涉以在样品区域中形成周期性光图案;

[0185] 物镜,其被布置成收集样品区域发出的光;以及

[0186] 成像单元,其被布置成用收集的光执行结构化照明显微镜(SIM)。

[0187] 从又一方面,本发明提供一种用于使用结构化照明显微镜(SIM)对样品成像的系统,该系统包括:

[0188] 光注入装置;

[0189] 光学部件,其包括:

[0190] 输入接口,其被布置成接收输入光;

[0191] 第一波导,其被布置成从输入接口接收第一输入光并使用全内反射将第一输入光在第一方向沿第一路径引导到样品区域中;以及

[0192] 第二波导,其被布置成从输入接口接收第二输入光,其中第二波导是具有朝向样品区域弯曲或成角度的弯曲或成角度部分的二维波导,并且被布置成使用全内反射将第二输入光沿弯曲或成角度部分引导并且在第二方向上沿第二路径引导到样品区域中,其中第二方向不同于第一方向,使得在使用中,第一输入光与第二输入光干涉以在样品区域中形成周期性光图案;

[0193] 物镜,其被布置成收集样品区域发出的光;以及

[0194] 成像单元,其被布置成用收集的光执行结构化照明显微镜(SIM)。

[0195] 其它方面提供了使用结构化照明显微镜对样品成像的方法,包括使用根据前两个段落中的任一个的系统。

[0196] 在这些方面中的任何一个中,光注入装置可以包括透镜,该透镜用于将来自光源的输入光聚焦到光学部件中。光源可以形成光注入装置的一部分。光源优选地是激光器或用于产生周期性光图案的任何其他相干光源。例如,光源可以是诸如固态激光器、光纤激光器或二极管激光器的激光源。输入光的波长可以在可见光谱(例如,大约400纳米至大约800纳米)或近红外(例如,大约800纳米至大约1500纳米)内。第一输入光、第二输入光、第三输入光和第四输入光(如果存在的话)优选地具有共同的波长。

[0197] 在其他实施例中,光注入装置可以包括光纤,该光纤将来自光源的光引导到光学部件中,例如在光学部件的输入接口处。替代地,光纤可以将来自光源的光引导到透镜。

[0198] 该系统可以包括光学多路复用器,诸如光学开关,其可以被布置成沿多个路径中的一个或多个选择性地引导来自光源的光。每个路径可以通过透镜或一个或多个光纤将光注入光学部件中(例如,注入输入接口的一个或多个不同的输入端口中)。通过控制输出哪些光束,光学多路复用器允许选择性地控制哪个输入或哪个输入组合来接收输入光。这样,可以改变样品区域中的干涉图案。

[0199] 光学多路复用器优选地是远程通信网络中使用的类型(例如40G光学开关)。这是有利的,因为周期性光图案的产生仅受光学多路复用器的速度限制,而不是像现有技术中的设置那样受光机械部件(例如,可移动反射镜)的移动限制。确实,当前的光学多路复用器(诸如远程通信中的那些)具有超过1GHz的调制速度,并且这比通常具有KHz范围内的调制速度的当前光机械部件要快得多。

[0200] 此外,光注入装置可以包括一个或多个振幅调制器,以调节被注入光学部件中的输入光的每个光束的振幅。振幅调制器使得周期性光图案中的干涉条纹的强度能够被控制。

[0201] 可选地,光注入装置可以被布置成将具有一个或多个不同波长的输入光注入光学部件中。不同波长的输入光可以由可调谐激光器或包括针对每个波长的光源的一组光源产生。可以选择输入光的一个或多个波长,以便使发光标记发光。不同波长的输入光可以用于改变条纹的数量并改变条纹相对于样品的位置。

[0202] 在一些实施例中,成像单元还被布置成控制第一输入光和第二输入光之间的相位偏移。

[0203] 成像单元可以包括以下一项或多项:图像传感器、处理器、存储器、ASIC、FPGA、DSP、输入和输出。它可以包括存储器,该存储器存储用于指示成像单元执行SIM成像中的一个或多个步骤的软件指令。

[0204] 成像单元可以被布置成用从样品区域中的多个周期性光图案收集的光执行SIM成像。其可以被布置成用收集的光执行频率分析,诸如傅立叶分析。

[0205] 在一些实施例中,第一方向和第二方向位于第一平面中,并且物镜还被布置成接收来自光注入装置的输入光并且将输入光沿第四方向引导到样品区域中,其中第四方向与第一方向及第二方向不在同一平面内。

[0206] 在所有方面,干涉光可以具有相同的偏振。光学部件的元件(例如,至少第一波导和/或至少第一光学分路器)可以被布置成将具有其偏振的光引导到芯层的平面中或光学部件的平面中(例如,光学部件的基底的平面)。使具有相同偏振的干涉光增加条纹的可见性,从而提供更好的SIM图像。当使芯层的平面或光学部件的平面(例如,光学部件的基底的平面)中具有其偏振的光干涉时,可见性达到最大。

[0207] 在适当的情况下,本文描述的任何方面或实施例的特征可以应用于本文描述的任何其他方面或实施例。在参考不同的实施例或不同组实施例时,应当理解,这些不一定是不同的,而是可以重叠。

附图说明

- [0208] 现在将参考附图仅以示例的方式描述本发明的某些优选实施例,其中:
- [0209] 图1是根据本发明的包括光学部件的SIM成像装置的示意图;
- [0210] 图2是图1的光学部件的平面图;
- [0211] 图3是跨样品区域的图1的光学部件的侧视图。
- [0212] 图4a-图4h是均根据本发明的三种替代类型的波导的横截面图;
- [0213] 图5是在图1的光学部件的样品区域中产生的周期性干涉图案的平面图;
- [0214] 图6是根据本发明的光学部件的侧视图;
- [0215] 图7是根据本发明的光注入布置和光学部件的平面图;
- [0216] 图8a、图8b和图8c示出了可以通过改变图7的光学部件的样品区域内的周期性光图案的角度而产生的三种不同的照射图案的平面图;
- [0217] 图9是根据本发明的光注入布置和光学部件的平面图;
- [0218] 图10是根据本发明的光注入布置和光学部件的平面图;
- [0219] 图10b是变型的光注入布置和光学部件的示意图;
- [0220] 图11是根据本发明的用于产生3D SIM图像的光学部件的侧视图;
- [0221] 图12是在图11的光学部件的样品区域中产生的周期性干涉图案的侧视图;并且
- [0222] 图13是根据本发明的包括光学部件的用于3D SIM成像的SIM成像设置的示意图。

具体实施方式

- [0223] 图1示出了用于执行荧光显微镜的装置100,该装置100包括物镜30,诸如Plan N20 \times /0.40lympusTM物镜,其具有面向光学部件10的样品区域55的前向视场32。其还包括与光学部件10的输入接口11光学联接的光注入装置40。样品50放置在样品区域55中。装置100还包括成像单元60,该成像单元60被配置成接收和处理由物镜30在前向视场32内收集的光。
- [0224] 在该示例中的样品50是嵌入有诸如荧光团或量子点的发光标记的生物细胞,然而当然可以使用其他类型的样品。例如,样品可以是具有弹性和非弹性散射的生物细胞。
- [0225] 光注入装置40包括透镜46和光源42,在该示例中,光源42是可见波长激光源。透镜46被布置成接收来自光源42的光44并将其聚焦到光学部件10的输入接口11中。该注入的光形成用于光学部件10的输入光。
- [0226] 如图2最佳所示,光学部件10的输入接口11包括输入波导12,该输入波导12接收来自光注入装置40的输入光。输入波导12被布置成将输入光引导到光学分路器13中,在该示例中光学分路器13是y分支波导分路器,但是应当理解,它可以是任何其他类型的光学分路器,诸如多模干涉联接器(MMI)或渐消波导联接器。
- [0227] y分支分路器12的两个输出各自光学联接到相应的第一波导14和第二波导15。第一波导14和第二波导15朝向样品区域55的相应的相对侧55a、55b弯曲并光学联接到该相应的相对侧55a、55b,以便将两个反向传播的输入光束沿平行且相反的方向14 \times 、15 \times 引导到样品区域55中。方向14 \times 和15 \times 两者都沿样品区域55的轴线55 \times 。
- [0228] 应当理解,在样品区域55内(沿不同方向,例如14 \times 、15 \times)将两个或更多个光束朝向彼此引导将使光束干涉并产生周期性干涉图案。周期性干涉图案将照射样品50并使样品50内的发光粒子发光。成像单元60可以使用发射的光图案来执行样品50的结构化照明显微

镜(SIM)。

[0229] 图5示出了通过将两个反向传播的输入光束从图2中的波导14和15引导到样品区域中而产生的周期性光图案的示例。如下文将进一步描述的,周期性干涉图案的条纹可以通过调节干涉光束之间的相对相位差而沿轴线55×移位。

[0230] 光学部件中的波导12、14、15是二维肋状波导(如图4b所示),然而,如下面进一步解释的,该波导可以替代地是二维通道波导或条状波导(例如,如图4c所示)或一维平板状波导(例如,如图4a所示)。如何制造这种一维和二维波导结构在本领域中是已知的。波导的层结构可以在图1、图3和图4b中看到。如图所示,波导12、14、15中的每一个形成在基底201上并且包括夹在上包层204和下包层202之间的光导层203(有时在本文中称为芯层203)。下包层202被布置在基底201和芯层203的第一面208之间。上包层204被布置在芯层203的第二面209上,该第二面209与芯层203的第一面208相对。芯层203具有比包层202、204高的折射率,并且使用全内反射沿波导12、14、15导引输入光。

[0231] 在一些实施例中,可以通过使用诸如空气或水的流体作为上包层来形成一维或二维波导。图4d-图4f示出了波导的这种替代形式。具体地,图4d示出了一维平板状波导,图4e示出了二维肋状波导,并且图4f示出了二维通道条状波导。这些波导中的每一个分别包括布置在基底201'上的下包层202'和布置在下包层202'上的芯层203'。每个波导中的芯层203'的上表面205'暴露于诸如空气或水的流体。平板状波导(图4d)中的芯层的宽度可以为100μm至500μm、或100μm至150μm、或100μm至200μm、或100μm至300μm、或100μm至400μm或更宽。

[0232] 图4e的肋状波导的芯层203'的上表面205'被成形(例如,使用诸如反应性离子蚀刻或湿法蚀刻的合适蚀刻工艺)以限定从芯层203'的大部分突出的脊206。脊206的侧壁207从芯层203'升起。

[0233] 图4f的条状波导的芯层203'完全形成(例如,使用诸如反应性离子蚀刻或湿法蚀刻的适当蚀刻工艺)为脊208,其位于较宽的下包层202'的顶部。脊208的侧壁209在芯层203'的整个高度上延伸。

[0234] 应当理解,肋波导和条状波导中的脊206、208提供了与周围流体介质的侧向折射率对比。该侧向折射率对比用于在侧向平面(即,在平行于基底201'的平面的平面中)中导引光。

[0235] 肋状波导中的脊206的宽度 r_w 和条状波导中的脊207的宽度可以是: $1\mu\text{m} \leq r_w < 100\mu\text{m}$;或 $1\mu\text{m} \leq r_w \leq 10\mu\text{m}$;或 $10\mu\text{m} \leq r_w \leq 30\mu\text{m}$;或 $10\mu\text{m} \leq r_w \leq 50\mu\text{m}$;或 $10\mu\text{m} \leq r_w < 100\mu\text{m}$,然而它们可以更宽。例如,脊206、207可以为25至500μm宽,并且为150至220nm厚。

[0236] 在替代布置中,图4e的肋状波导或图4f的条状波导可以分别包括如图4g和图4h所示的固体上包层204'。在图4g中,固体上包层204'覆盖了肋状波导的脊206。在图4h中,固体上包层204'覆盖条状波导的脊208。

[0237] 应当理解,本文所述的一维波导中的每一个可以是根据图4a和图4d所示的任何波导的一维平板状波导。本文所述的二维波导中的每一个可以是根据图4b、图4c、图4e、图4f或图4g所示的任何波导的二维的肋状或条状波导。

[0238] 将理解的是,肋状波导和其他这样的二维波导将导引的输入光的光学场限制在横向方向(即,芯层的法线方向)和侧向方向(即,在跨过芯层的平面的方向)。相反,一维波导

仅在横向方向(即芯层的法线方向)上限制导引的输入光的光学场。

[0239] 还应当理解,在任何波导中(即一维或二维),在其中被导引的输入光的一部分行进到波导芯区域203的外部。这部分光在本领域中被称为渐消场。通常,渐消场将在上包层和下包层中传播。

[0240] 在该示例中,如在图3中的样品区域55的侧视图最佳所示,样品区域55呈样品槽的形式。样品槽55位于波导14与波导15相交的位置,并由穿过波导14、15的上包层204的槽限定。将样品槽55定位在该区域中的结果是仅在波导14、15的上包层204中传播的渐消光(而不是在芯层203中传播的光)从每个波导14、15引导到样品槽55中。因此,在该示例中,将理解的是,在样品槽55(即样品区域55)内产生的周期性光图案(例如图5中的510)是由从波导14和15引导到样品槽中的渐消光的干涉引起的。本文中将引导到样品区域55中的光称为激发光,并将所产生的周期性光图案称为照射图案或激发图案。激发光从中被引导到样品50中的波导的面在本文中被称为输出面。

[0241] 成像单元60包括用于检测来自样品50的光的荧光检测设备62,诸如CCD或sCMOS传感器;以及电子控制单元64,电子控制单元64控制荧光检测设备62和光注入装置40,并且用已知的SIM成像技术对检测的光进行处理以产生样品50的SIM图像。

[0242] 波导14还包括有源相位调节器18(见图2),诸如热相位调节器、光流体或电光相位调节器。相位调节器18调节波导14的折射率,以使来自波导14的样品区域55中的光束的相位相对于来自波导16的样品区域55中的光束的相位移。改变这些干涉光束之间的相对相位差使所得干涉图案中的条纹得位置相对于样品区域55轴向移位。可选地,波导16也可以包括相位调节器。

[0243] 成像单元60通过例如调节提供给相位调节器18的电流和/或电压来控制条纹移位。

[0244] 例如,为了获取样品区域内的样品的SIM图像,光注入装置40将输入光注入输入接口11的输入波导12中。输入波导12将输入光引导到光学分路器13,然后光学分路器13将输入光分成第一输入光和第二输入光。第一输入光通过第一波导14从光学分路器13的第一输出接收,并且第二输入光通过第二波导15从光学分路器13的第二输出接收。第一波导14和第二波导15朝向样品区域弯曲,以分别将第一输入光沿第一方向 $14\times$ 引导到样品区域55中,并且将第二输入光沿第二方向 $15\times$ 引导到样品区域55中。第一方向 $14\times$ 和第二方向 $15\times$ 趋向于彼此,以便产生用于激发样品50的第一周期性光图案。优选地,第一方向 $14a$ 和第二方向 $15\times$ 平行且相反。如下所述,由第一周期性光图案510产生的从样品50发出的荧光图案(即第一激发图案)被成像单元60记录和处理。

[0245] 在用第一周期性光图案(即第一激发图案)激发样品50之后,成像单元60调节相位调节器18的相位,以使第一周期性光图案的条纹沿轴线 $55\times$ 移位另一相移(例如, $2\pi/3$)。移位的周期性光图案形成第二周期性光图案(即第二激发图案)。当然,在其他实施例中,可以通过将条纹移位0到 2π 之间的任何量来形成第二周期性光图案。

[0246] 接下来,条纹进一步沿轴线 $55\times$ 移位 $2\pi/5$ (或替代地任何量),以形成第三周期性光图案(即第三激发图案)并用第三周期性光图案照射样品。

[0247] 条纹当然可以移位另外的次数以用另一数量的激发图案照射样品。

[0248] 每个激发图案将导致样品50中的荧光团发荧光并发光。物镜30针对每个激发图案

收集从荧光团发射的光。由物镜30收集的光被引导到荧光检测设备62。荧光检测设备62将所接收的光检测为电信号,并且针对每个激发图案将电信号传输到电子控制单元64。电子控制单元64使用已知的SIM处理方法来处理与所有激发图案相关联的电信号,以产生样品的图像。

[0249] 电子控制单元64可以包括任何适当的处理装置,诸如微处理器、微控制器、ASIC、FPGA、DSP、存储器和包含软件指令的存储器中的一个或多个;它可以包含单个设备,诸如台式机,或者它可以是分布式的,诸如远程服务器或服务器云。

[0250] 可选地,成像单元60还可以包括一个或多个滤光器,诸如带滤光器,以滤除由物镜4收集的光。例如,滤光器可以被配置成阻挡与激发光相对应的光并透射与荧光团发射的光相对应的光。

[0251] 将理解的是,在以上示例和本文所述的其他实施例中,通过在光学部件10的一个面上接收来自光注入装置40的光来产生周期性光图案(即激发图案)。这导致比常规设置更简单更紧凑的布置以用于用周期性光图案照射样品50,因为,例如,不需要附加的光机械部件将两个反向传播的光束从光学部件10的两个不同面引导到样品区域55内。此外,不需要诸如可移动反射镜的光机械部件来相对于样品移位干涉图案的条纹。

[0252] 在肋状波导中,将理解的是,通过芯层203与包层202、204之间的折射率对比来提供横向光导(即,在垂直于层的平面的方向上)。通过使脊部分地延伸穿过上包层204而不是穿过波导的芯层203来提供侧向光导。脊状波导400b结构中的侧向光导增加了在芯层203外部传播的渐消光(即,渐消场)的强度。因此,与使用常规平板状波导结构400a(不具有脊)相比,与样品区域55重叠的渐消光的强度增加。因此,通过使用肋状波导结构,与样品50相互作用的激发光的强度增加,并且因此产生更强的荧光。与平板状波导(仅提供横向光导)相比,使用肋状波导的另一个好处是它们允许以较少的光泄露实现较锐利的弯曲和弯折。以此方式,波导中的较锐利的弯曲和弯折可以用于提供具有减小的占地面积的更紧凑的光学部件10。特别地,波导中的较锐利的弯曲和弯折可以用于将来自光学部件的一侧(例如,来自输入接口)的输入光引导到样品区域55的不同侧,并沿不同方向在样品区域55内引导以产生不同的周期性光图案。

[0253] 为了进一步减少波导中的弯曲损耗,从而实现甚至更尖锐的弯曲和弯折,以使光学部件更加紧凑,本文实施例中的波导可以是条状波导的形式。如图4c所示,条状波导400c还具有提供侧向光导的脊。然而,与肋状波导不同,脊延伸穿过上包层204并穿过(或至少部分穿过)波导的芯层203。使用条状波导400c的另一个好处是,它们增加了传播到芯层外部的渐消场的强度。因此,在仅将渐消场引导到样品区域中的实施例中,可以通过使用条状波导400c将光引导到样品区域中来增加照射样品的周期性光图案的强度。因此,例如,图2中的波导14和15可以是条状波导。

[0254] 在替代实施例中,本示例中的波导可以是平板状波导,尤其是在不需要高功率和锐利弯曲/弯折的情况下。还应当理解,在某些情况下,平板状波导可以是优选的,因为与肋状和平板状波导相比,平板状波导的制造更容易且更便宜,并且可以涉及更少或没有光刻步骤。

[0255] 通常,对于本文所述的波长范围和波导,对于超过20微米的脊宽度,侧向光导可以忽略不计。

[0256] 在本文的实施例中,肋状波导、条状波导和平板状波导优选地形成在硅或透明基底201上,并且包括五氧化钽Ta₂O₅或氮化硅Si₃N₄的薄芯层203(优选地小于500nm,理想地为100-200nm)、二氧化硅SiO₂的下包层202和二氧化硅SiO₂的上包层204。上包层204和下包层202可以替代地由具有与样品50的折射率紧密匹配的折射率(例如,n=1.38)的材料制成。然而,在其他实施例中,光学部件的基底可以由玻璃制成。附加地或替代地,波导的上包层可以是空气。在波导的上包层是空气的实施例中,通过将样品直接放置在波导相交的区域中的波导的顶部上以使其相应的光束干涉,从而用通过使渐消光束干涉而形成的激发图案来照射样品。在这种情况下,样品区域是通过干涉光束照射样品的区域,并且样品区域可以不包含样品槽。

[0257] 可以通过适当的蚀刻工艺来限定肋状波导200b和条状波导200c的脊。例如,离子束研磨或反应性离子蚀刻可以用于蚀刻上包层204以限定脊。优选地将上包层204蚀刻到芯层203上方200nm的深度。已经发现离子束研磨有利地减小了波导的侧壁粗糙度。以此方式,可以减少波导结构内的光学传播损耗。

[0258] 在本文的实施例中,样品区域内的干涉光束中的一个或多个的方向可以相对于样品区域内的另一个干涉光束的方向成角度地偏移。角度偏移可以在0度和180度之间的范围内。例如,参考图2,波导16可以朝向样品区域的非相对侧(例如,图2中的侧面55c)弯曲并与该非相对侧光学联接,以便以相对于第一方向14×成0到180度之间的角度将输入光引导到样品区域55(即,样品槽)中。作为另一示例,样品区域55可以直接联接至光学分路器13的第二输出,以便将第二输入光从侧面55c沿相对于第一方向14×成角度偏移的方向引导到样品区域55中。

[0259] 在本文的实施例中,相位调节器优选地是有源相位调节器,诸如热相位调节器或电光相位调节器。然而,在替代实施例中,相位调节器可以是无源相位调节器。无源相位调节器可以是例如该相位调节器联接到的相应波导的上包层中的可填充间隙,其中选择性地用不同折射率的材料(例如二氧化硅、PMMA或SU8)填充该间隙改变波导的有效折射率。

[0260] 可选地,本文的实施例中的光注入装置可以包括将来自光源的光引导到光学部件的输入接口中的光纤。进一步可选地,透镜可以将来自光纤的光学联接输入接口中。

[0261] 进一步可选地,诸如光学开关的光学多路复用器可以被布置成沿一个或多个不同的路径选择性地引导来自光源的光,其中每个路径被透镜和/或光纤注入输入接口的一个或多个不同的输入中。在其他实施例中,光注入装置可以将具有一个或多个不同波长的输入光注入光学部件的输入接口中。不同波长的输入光可以由可调谐激光器或包括针对每个波长的光源的一组光源产生。选择输入光的一个或多个波长,以使发光标记发光,例如,输入光的一个或多个波长可以在可见光谱(400至800纳米)或近红外(800至1500纳米)中。此外,每个光源可以是诸如固态激光器、光纤激光器或二极管激光器的激光源。附加地或替代地,每个光源可以是LED光源或适合于SIM的任何其他光源。在图7、图9、图10和图13中示出了这种替代的光注入装置布置的示例。

[0262] 可选地,本文的实施例的(一个或多个)波导、(一个或多个)光学分路器、相位调节器和样品区域55可以整体集成在光学部件10的基底201上。

[0263] 可选地,波导可以包括如图2所示的喇叭形末端区域15、17。喇叭形末端区域15、17沿其长度加宽以增加样品槽55的宽度。增加波导的宽度加宽了沿波导传播的光学光场的宽

度,并允许用于保存样品50的较大的样品槽55。较大的样品槽55与较宽的激发光场相结合有利地允许对较大的样品区域进行成像以用于SIM成像。

[0264] 可以通过使用光刻和蚀刻技术(例如,湿蚀刻或离子束研磨)形成样品槽55,以在相应的波导的上包层204中限定间隙。例如,湿蚀刻可以用于在肋状波导400b或条状波导400c的脊中限定样品槽55。

[0265] 在本文的实施例中,可以仅在一个波导(例如,波导14)的上包层204中限定样品槽55。

[0266] 在将样品放入样品区域之前,可以通过将光学部件10浸入70℃的5%(v/v) Hellmanex™(来自Sigma Aldrich™)中10分钟来清洁光学部件。随后,可以通过首先将光学部件浸入去离子水中,其次浸入异丙醇(来自Sigma Aldrich™)中,再次浸入去离子水中来除去Hellmanex™。

[0267] 如图3所示,本文所述实施例中的样品槽可以包含布置在波导芯层203上的生物层205。生物层防止样品中的荧光团与波导芯层203的非特异性结合,并且可以包含BSA或PEG。另外,生物层205促进直接在样品槽内培养样品。生物层205是优选的但不是强制性的。同样,选择生物层205的厚度,以确保通过涉渐消场产生的周期性光图案仍然与样品槽中的样品重叠,并且通常小于20nm。

[0268] 可选的,可以按照标准方案,诸如用于将细胞附着于玻璃盖玻片的已知方案,直接在样品槽中制备样品。

[0269] 图6示出了另一种布置,其中第一波导614和第二波导616的端面614'、616'限定了样品槽655(即样品区域655)。可以通过将每个波导向下延伸到基底层201或穿过基底层201来限定样品槽655。通常,可以通过蚀刻或切割波导来终止波导。将理解的是,术语“端面”在本文中具有本领域中的通用含义,并且因此是波导的输出面,芯层中的基本上整个被导引的光学模式从该输出面输出。在图3所示的示例中,将理解的是,波导14和15没有端面,因为波导连接在一起以在样品槽55下方形成连续的芯层203。

[0270] 在图6所示的示例中,沿波导614导引的第一输入光从波导的端面614'引导到样品槽655中。类似地,沿波导616导引的第二输入光从波导的端面616'沿第二方向引导到样品槽655中。由于第二方向趋向于第一方向,因此来自波导614的第一光束与来自波导616的第二光束干涉以形成用于照射样品的周期性干涉图案。

[0271] 图7-图10示出了光学部件包括附加波导的实施例,并且在一些情况下,光学部件还包括附加光学分路器,以将输入光沿不同方向引导到样品区域中。如下所述,多个输入方向使光学部件能够相对于样品区域的轴线旋转给定的周期性光图案(即,改变激发图案相对于样品的取向)。另外,多个输入方向使得能够利用多于两个的输入光束来产生周期性干涉图案。此外,它使得光束能够沿与另一光束的方向不平行的方向被引导到样品区域中。以此方式,本发明的光学部件不限于仅使反向传播的光束在样品区域内干涉。

[0272] 图7示出了包括六个波导714-719的光学部件710,该六个波导714-719优选地是二维肋状波导400b。波导714-719不彼此连接并且终止于光学部件710的公共面处。终止的端部光学联接到光注入装置740,并因此限定了光学部件710的输入接口711。波导中的每个朝向样品区域的不同侧弯曲并且光学联接到样品区域的不同侧,以将来自光注入装置740的输入光沿六个不同方向714a-719a引导到样品区域755中。

[0273] 具体地,波导714和715被布置成分别沿方向714a和715a将输入光引导到样品区域755中。方向714a和715a是沿样品区域755的第一轴线755x的相反方向。波导716和717被布置成分别沿方向716a和717a将输入光引导到样品区域755中。方向716a和717a是沿样品区域755的第二轴线755y的相反方向。第二轴线755y与第一轴线755x成角度地偏移60度,并且因此方向716a和717a与方向714a和715a偏移60度。波导718和719被布置成分别沿方向718a和719a将输入光引导到样品区域755中。方向718a和719a是相反的方向并且沿样品区域755的第三轴线755z。第二轴线755y与第一轴线755x和第二轴线755y成角度地偏移60度。因此,方向718a和719a与方向714a和715a偏移60度,并且与方向716a和717a偏移60度。

[0274] 为了照射较大面积的样品区域755,每个波导714-719优选地包括喇叭形末端区域714b-719b,以在将其相应的输入光引导到样品区域755中之前扩大该相应的输入光的光学场。

[0275] 光注入装置740包括光源742(例如可见光或近红外激光光源)、光束分路器745、两个振幅调制器718a、718b、两个光学多路复用器719a、719b和透镜746。光注入装置740产生六个可能的光束744a-744f,光束744a-744f各自由透镜746光学联接到相应的波导714-719中。以下面的方式产生六个可能的光束。首先,使用光束分路器745将来自激光器742的光分成两个光束。然后,将这两个光束引导到相应的振幅调节器718a、718b,然后将这两个光束发送至相应的光学多路复用器719a、719b。振幅调节器719a、719b通过调节注入波导714-719中的光的振幅来控制周期性光图案中的干涉条纹的可见性。光学多路复用器719a、719b优选地是远程通信网络(例如40G光学开关)中使用的类型,并且被设置为选择性地输出光束744a、744b、744c、744d、744e和744f中的任何一个或组合。通过控制输出哪些光束,光学多路复用器719a、719b选择性地控制输入光被注入波导714-719中的哪一个或波导714-179中的哪个组合。

[0276] 应当理解,在该示例中,光可以被注入波导714-719中的任何两个或更多个中以产生周期性光图案。此外,可以通过将光注入波导的不同组合(例如,使用波导714、715和718将光分别沿方向714a、715a和718a引导到样品区域755中)中来产生用于照射样品的不同的周期性光图案。此外,将理解的是,通过从波导的适当组合选择性地光引导到样品区域755中,给定的周期性光图案中的条纹的取向可以相对于样品区域旋转。例如,如图8所示,通过将光从不同成对的相对波导(例如714和715、716和717、以及718和719)引导到波导区域755中,可以在相对于样品区域755的不同取向上产生“光栅状”周期性光图案800a-800c(通过将两个反向传播的光束从相对的波导(例如714和715)引导到样品区域755中产生)。

[0277] 为了使用图8所示的“光栅状”周期性光图案800a-800c获得位于样品区域755内的样品的SIM图像,可以采取以下步骤。

[0278] 首先,输入光被注入波导714和715中,以沿轴线755x将反向传播的光束引导到样品区域中。两个反向传播光束的干涉产生了用于激发样品的第一周期性光图案800b。根据上述实施例,由第一周期性光图案800b产生的从样品发出的荧光图案(即第一激发图案)由物镜30收集,并由成像单元60记录和处理。

[0279] 接下来,为了改变第一周期性光图案相对于样品区域755的取向,设置光学多路复用器以将输入光注入波导716和717中,以便沿轴线755y将反向传播的光束引导到样品区域755中。产生的干涉图案形成第二周期性光图案(即第二激发图案)。由第二周期性光图案

800b产生的从样品发出的荧光图案被物镜30收集,并被成像单元60记录和处理。

[0280] 随后,为了进一步改变第一周期性光图案相对于样品区域755的取向,设置光学多路复用器以将输入光注入波导718和719中,以便沿轴线755z反向传播的光束引导到样品区域755中。产生的干涉图案形成第三周期性光图案(即第三激发图案)。由第三周期性光图案800c产生的从样品发出的荧光图案被物镜30收集,并被成像单元60记录和处理。

[0281] 当然,可以将第一周期性光图案的取向改变另一次数,以用另一数量的激发图案来照射样品。将理解的是,在一些示例中,输入光的波长可以在不同的取向之间变化,使得图案不必全部具有相同的周期。

[0282] 最后,与前述实施例一样,成像单元60的电子控制单元64使用已知的SIM处理方法来处理与所有激发图案相关联的电信号,以产生样品的SIM图像。

[0283] 优选地,相对的波导对(例如714和715)可以各自包括联接到波导中的一个(例如714)的相位调节器。相位调节器可以用于针对每个取向移位周期性光图案的条纹间隔,以产生另外的激发图案。成像单元60可以使用由这些另外的激发图案产生的发射图案来产生SIM图像。

[0284] 可选地,可以调节振幅调节器(例如可变光吸收器)以增加各种周期光图案(即激发图案)中的干涉条纹之间的对比度。

[0285] 图9示出了一种布置的示例,其中通过使用光学分路器913a-913c将来自光注入装置940的输入光学联接到一个或多个波导914-919中以用于将输入光沿一个或多个不同方向914a-919a引导到样品区域955中来减少输入接口911处的输入数量。

[0286] 如图所示,光学部件910的输入接口911包括三个y分支光学分路器913a-913c。每个光学分路器913a-913c的输入在光学部件910的左面处终止,并布置成接收从光注入装置940注入光学部件940中的输入光。每个光学分路的两个输出913a-913c分别光学联接到相应的波导914-919。波导914-919优选地是肋状波导,并且每个波导朝向样品区域955的不同侧弯曲并且光学联接到该样品区域955的不同侧,以便沿六个不同方向914a-919a将来自光注入装置940的输入光引导到样品区域955中。

[0287] 具体地,波导914和915被布置成分别沿方向914a和915a将输入光引导到样品区域955中。方向914a和915a是沿样品区域955的第一轴线955x的相反方向。波导916和917被布置成分别沿方向916a和917a将输入光引导到样品区域955中。方向916a和917a是沿样品区域955的第二轴线955y的相反方向。第二轴线955y与第一轴线955x成角度地偏移60度。因此,将理解的是,方向916a和917a与方向914a和915a偏移60度。波导918和919被布置成分别沿方向918a和919a将输入光引导到样品区域955中。方向918a和919a是沿样品区域955的第三轴线955z的相反方向。第二轴线955y与第一轴线955x和第二轴线955y成角度地偏移60度。因此,方向918a和919a与方向914a和915a偏移60度,并且与方向916a和917a偏移60度。

[0288] 为了照射较大面积的样品区域955,每个波导914-919优选地包括喇叭形末端区域,以在将其相应的输入光引导到样品区域955中之前扩大该相应的输入光的光学场。

[0289] 光注入装置940包括光源942(例如可见光或近红外激光光源)、光纤944、光学多路复用器919和透镜946。来自光源942的光通过光纤942引导到光学多路复用器919中。如在本文的其他实施例中一样,光学多路复用器919优选地是远程通信网络中使用的类型,并且其被布置成控制输入光被注入哪个波导或哪些波导。优选地,光学多路复用器针对本文中公

开的波长(例如在400-700nm的区域中的可见光波长)进行优化。

[0290] 在该示例中,将理解的是,将输入光注入光学分路器913a中将导致反向传播的光束沿轴线955 \times 从波导对914和915注入样品区域955中。来自这些波导914、915的输入光将分别沿方向914a和915a行进到样品区域955中,并且干涉以产生第一周期性光图案800b。注入光学分路器913b中的输入光将导致输入光通过波导对916和917沿方向916a和917b注入样品区域955中。在样品区域955内沿方向916a和917b行进的输入光将干涉以产生第二周期性光图案800c。可以通过将输入光注入光学分路器913c中以便使用波导918和919将输入光沿方向918a和919a引导到样品区域955中来产生第三周期性光图案。

[0291] 因此,将理解的是,输入光可以被注入光学分路器中的任何两个或更多个中以产生不同的周期性光图案。此外,可以通过改变哪个光学分路器注入输入光来使周期性光图案的取向相对于样品区域旋转。

[0292] 因此,例如,为了获得具有这种布置的样品的SIM图像,光注入装置940可以通过依次将输入光注入光学分路器913a、913b和913c中用第一周期性光图案、第二周期性光图案和第三周期性光图案依次照射样品区域955内的样品。根据本文的其他实施例,由不同的周期性光图案产生的从样品发射的光图案可以由透镜收集并由成像单元60处理以使用已知的SIM处理技术来产生样品的SIM图像。

[0293] 优选地,波导914-919可以各自包括相位调节器918a-918c、918a'-918c'。如与先前的实施例一样,相位调节器可以用于针对每个取向来移位周期性光图案的条纹间隔,以产生另外的激发图案。成像单元60可以使用由这些另外的激发图案产生的发射图案来产生SIM图像。

[0294] 在以上布置中,将理解的是,可以相对于样品区域改变周期性光图案的条纹的取向和位置,而不必移动光注入装置和/或光学部件。此外,光注入装置940将输入光仅注入光学部件955的一个面,与常规设置相比,这导致更紧凑的SIM成像设置。此外,在包括光学多路复用器的实施例中,第一周期性光图案、第二周期性光图案和第三周期性光图案的产生仅受光学多路复用器的速度限制,而不受如常规设置中的光机械部件(例如,可移动反射镜)的运动的限制。这是有利的,因为当前的光学多路复用器(诸如远程通信中的那些)具有超过1GHz的调制速度,并且比通常具有KHz范围内的调制速度的当前光机械部件快得多。

[0295] 在替代布置中,可以通过缩短或加长干涉光束中的至少一个的光学路径长度来轴向移位给定周期性干涉图案的条纹。在以上示例中,这优选地通过使用诸如热相位调节器的相位调节器(即918a-c)来实现。然而,在变体中,这是通过将光选择性地从具有两个不同的光程长度的两个不同的光学分路器引导到波导中来实现的。不同的光学路径长度可以通过例如用不同的折射率材料制成光学分路器来实现,或者优选地,通过具有更长的输出长度(例如,更长的y分支输出)来实现。

[0296] 图10示出了一种布置,其中每个波导1014-1019经联接以接收来自两个不同的y分支光学分路器1013a-1013f的输入光。因此,例如,波导1014联接到光学分路器1013a的输出中的一个并且联接到光学分路器1013b的输出中的一个。由于来自光学分路器1013a的输出具有比来自光学分路器1013b的输出相对较短的光学路径长度,因此从波导1014引导到样品区域1055中的光束的相位(相对于另一个干涉光束)可以取决于是使用光学分路器1013a还是使用光学分路器1013b将光注入第一波导1014中而改变。选择使用哪个光学分路器

1013a-1013f当然取决于输入光从光注入装置1040注入哪个光学分路器1013a-1013f中。例如,光注入装置1040可以使用光学多路复用器1046来控制将来自光源1042的光注入哪个光学分路器1013a-1013f中。

[0297] 在该示例中,光学部件1055的波导1014-1019中的每一个被布置成从两个不同的光学分路器的输出接收输入光,其中该输出具有不同的光学路径长度。因此,通过选择波导从哪个光学分路器接收输入光,来调节从给定的波导1014-1019引导到样品区域1055中的输入光的相对相位。

[0298] 因此,例如,为了获得位于样品区域1055内的样品的SIM图像,可以首先将输入光注入光学分路器1013a中,以使用第一周期性干涉图案照射样品。接下来,为了使第一周期性干涉图案的条纹的位置轴向移位(例如,使条纹沿样品区域1055的轴线1055×线性移位 $\pi/3$),可以将输入光注入光学分路器1013b中。

[0299] 为了改变(例如旋转)第一周期性干涉图案中的条纹相对于样品区域1055的取向(即,从而用第二周期性干涉图案照射样品区域1055),可以将输入光注入光学分路器1013c中。通过将输入光注入光学分路器1013d中,可以使第二周期光图案的条纹轴向移位。

[0300] 为了进一步改变第一周期性干涉图案中的条纹相对于样品区域1055的取向(从而用第三周期干涉光照射样品区域1055),可以将输入光注入光学分路器1013e中。通过将输入光注入光学分路器1013f中,可以使第三周期光图案的条纹轴向位移。

[0301] 与其他实施例一样,可以使用已知的SIM处理方法收集并处理响应于不同的照射周期性光图案(即与不同的取向和条纹位移相关联的不同的照射图案)的来自样品的光,以产生样品的SIM图像。

[0302] 在替代实施例中,类似于图10中所示的光学部件的光学部件可以包括附加的三个y分支光学分路器,从而形成总共九个y分支光学分路器,由在输入接口1011处的九个相应的输入进行馈送,如图10b所示。六个波导1014-1019中的每一个经联接以接收来自三个不同的y分支分路器的输入光。

[0303] 在其他布置中,可以在图10的光学部件中添加三个附加y分支光学分路器。当然,也可以有六个以上的波导将光输出到样品区域中。

[0304] 为了产生3D SIM图像,还需要将输入光沿相对于光学部件芯区域的平面倾斜的方向引导到样品区域中。在本文的实施例中,这可以通过使用如图11所示的光栅和波导联接器布置或通过使用图13所示的物镜将光引导到样品区域中来实现。

[0305] 在图11中,渐消波导联接器1120被放置在光学部件1155的波导1114的下方并与光学部件1155的波导1114光学联接(例如,这可以是光学部件的上述波导中的一个,或者是用于经由波导联接器1120将光引导到样品区域1155中的单独的专用波导),以接收波导1114中的一些输入光。优选地,渐消波导联接器1120被布置在光学部件1155的基底和波导1114的芯层之间,以便与波导1114中的输入光的渐消场重叠。这种重叠的结果是,波导1114中的一些输入光将被联接到渐消波导联接器1120中。波导联接器1120被布置成将接收的光引导到位于样品区域1155下方的光栅1121上。通常,渐消波导联接器1120可以包括芯层,该芯层用于沿其长度以与上述波导相同的方式导引接收的光。芯层可以被夹在上包层和下包层之间,并且光栅1121可以被蚀刻到上包层中,以便与渐消波导联接器1120中的导光的渐消场重叠。可以使用已知技术来布置光栅1121,以将一些重叠的光朝向上方的样品区域1155引

导。该向上引导的光1122当然将相对于样品区域1155的平面成角度。此外,该向上引导的光1122也将相对于方向1114a、1115a成角度,输入光沿该方向1114a、1115a从波导1114、1115注入样品区域1155中。将理解的是,此处的“向上”的使用并不限制这些实施例用于其他取向。

[0306] 图12示出了通过下列项而产生的3D周期性光图案的模拟:(i)将来自光栅1121的输入光在相对于样品区域1155的平面的正交方向上引导到样品区域1155中,并且(ii)将输入光沿波导1114、1115的平面中的相反且平行的方向1114a、1115a引导(例如利用上述相对的波导中的任一个)到样品区域1155中。

[0307] 作为示例,可以采取以下步骤以获得样品的3D SIM图像。首先,输入光1122可以从光栅1121向上引导到样品区域1155中,以便与图8的第一周期性光图案800b干涉。接下来,来自光栅1121的输入光1122可以与图8的第二周期性光图案800c干涉。随后,来自光栅1121的输入光1122可以与图8的第三周期性光图案800a干涉。

[0308] 可选地,根据先前的实施例,可以使用相位调节器来移位第一周期性光图案、第二周期性光图案和第三周期性光图案的条纹。

[0309] 可以使用已知的SIM处理方法来收集和处理响应于不同的照射周期性光图案(即与不同的取向和条纹位移相关联的不同的照射图案)而从样品发射的光,以产生样品的3D SIM图像。

[0310] 图13示出了用于执行荧光显微镜的装置1300,该装置1300包括物镜1330,诸如Plan N 20×/0.40lympus™物镜,其具有面向光学部件1310的样品区域1355的前向视场1332。其还包括与光学部件1310的输入接口1311光学联接的光注入装置1340。样品1350位于样品区域1355中。装置1300还包括成像单元1360,成像单元1360被配置成接收和处理由物镜1330在前向视场1332内收集的光。成像单元1360可以包括与图1的成像单元60相同的部件。

[0311] 光注入装置40包括透镜1346和光源1342,在该示例中,光源1342是可见波长激光源。来自光源的光被外部分路器1333(例如,光纤多路复用器分路器)分成两个光束。分路器1333的输出光束中的一个被第一光纤1344a引导到第一透镜1346a。分路器1333的另一个输出光束被第二光纤1344b引导到第二透镜1346b。第一透镜1346a被布置成将来自第一光纤1344a的光聚焦到光学部件1310的输入接口1311中。根据本文公开的任何方法和布置,光学部件1310可以用接收的光形成第一输入光束和第二输入光束,并且将这些光束引导到样品区域中(例如经由2D波导)。

[0312] 第二透镜1346b被布置成将来自第二光纤1344b的光聚焦到反射镜1347上。反射镜1347将接收的光引导到物镜1330。物镜1330以相对于样品区域1355的平面成90度角将来自反射镜1347的光聚焦到样品区域1355中作为第三入射光1348。然而,在一些实施例中,物镜1330可以被布置成以相对于样品区域1355的平面成任何角度将第三输入光引导到样品区域1355中。优选地,物镜1330的视场面向样品区域1355,并且物镜1330被布置成收集来自样品区域1355内的样品1350的光。

[0313] 为了产生3D图像,图13的装置可以用于使用物镜1330将输入光引导到样品区域中,以便与由光学部件1310产生的第一周期性光图案干涉。例如,第一周期性光图案可以是图8b的周期性光图案800b。来自物镜1330的第三输入光可随后与由光学部件1310产生的其

他周期性光图案干涉(例如,第三输入光可以与图8c的周期性光图案800c干涉,并且随后与图8a的周期性光图案800a干涉)。

[0314] 可选地,根据先前的实施例,可以使用相位调节器来移位第一周期性光图案、第二周期性光图案和第三周期性光图案的条纹。

[0315] 可以使用已知的SIM处理方法来收集和响应于不同的照射周期性光图案(即与不同的取向和条纹位移相关联的不同的照射图案)而从样品发射的光,以产生样品的3D SIM图像。

[0316] 在引导到样品上的激发光从波导的边缘面发出的布置中,波导的上包层可以是空气。即,波导的层可以包括布置在光学部件的基底上的下包层区域和布置在下包层区域上的芯区域203。

[0317] 在将空气用作(一个或多个)波导的上包层的替代实施例中,将理解的是,可以将样品直接放置在波导上以与波导内的导引的光的渐消场相互作用。因此,在这种布置中,不需要样品槽,并且可以通过将样品直接放置在波导上并在波导内导引两个反向传播的光束而用干涉图案照射样品。

[0318] 在以上实施例中,光学分路器是y分支波导分路器,但是应当理解,它们可以替代地是任何其他类型的光学分路器,诸如多模干涉联接器(MMI)或渐消波导联接器。

[0319] 本领域技术人员将认识到,已经通过描述本发明的若干具体实施例对本发明进行了说明,但是本发明不限于这些实施例;在所附权利要求的范围内,许多变化和修改是可能的。

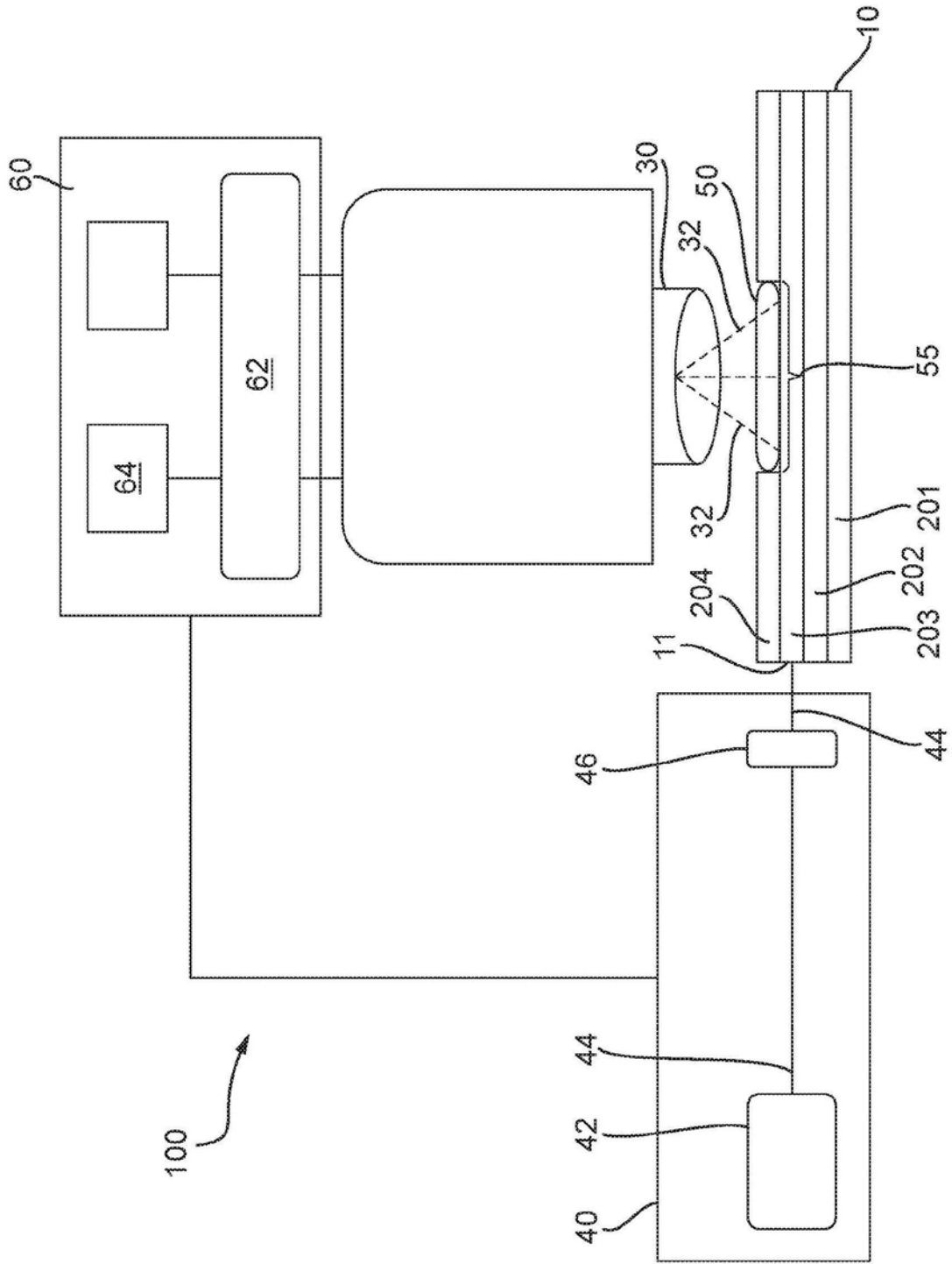


图1

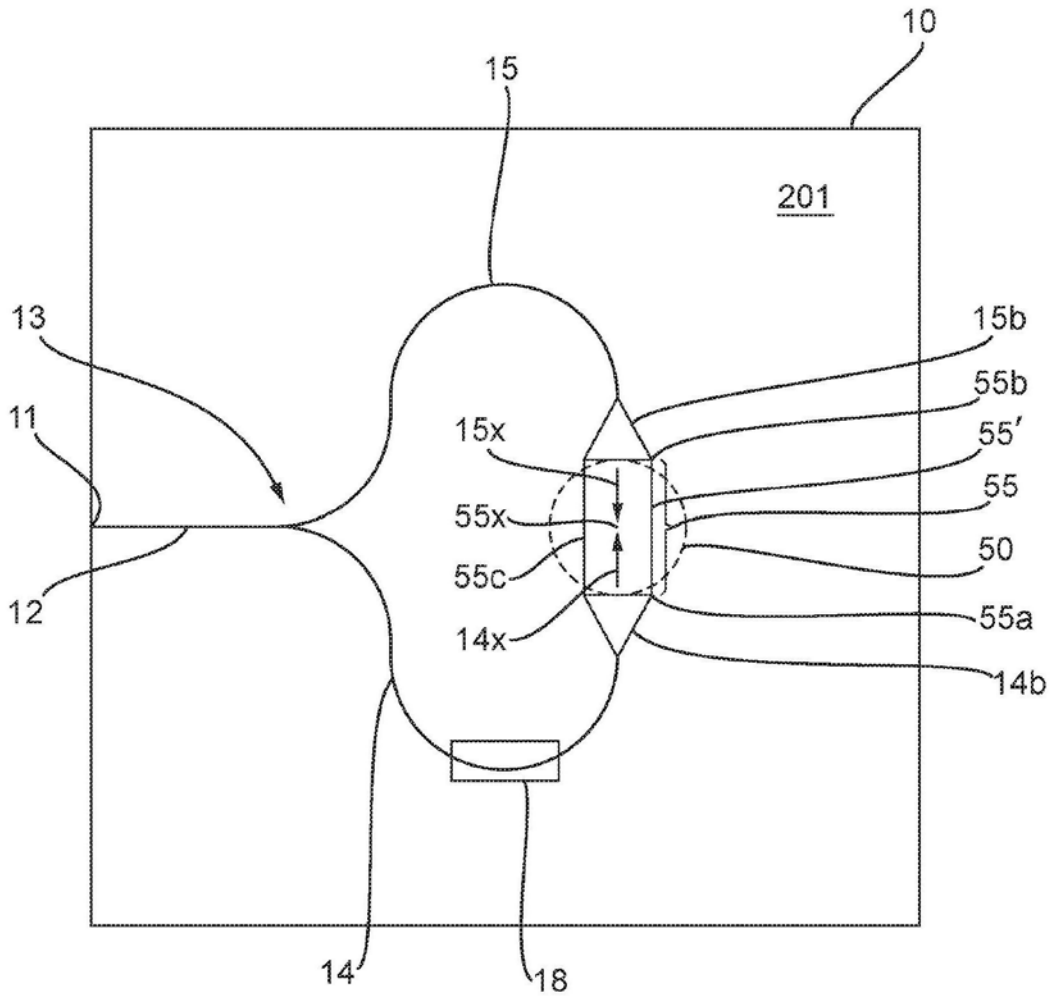


图2

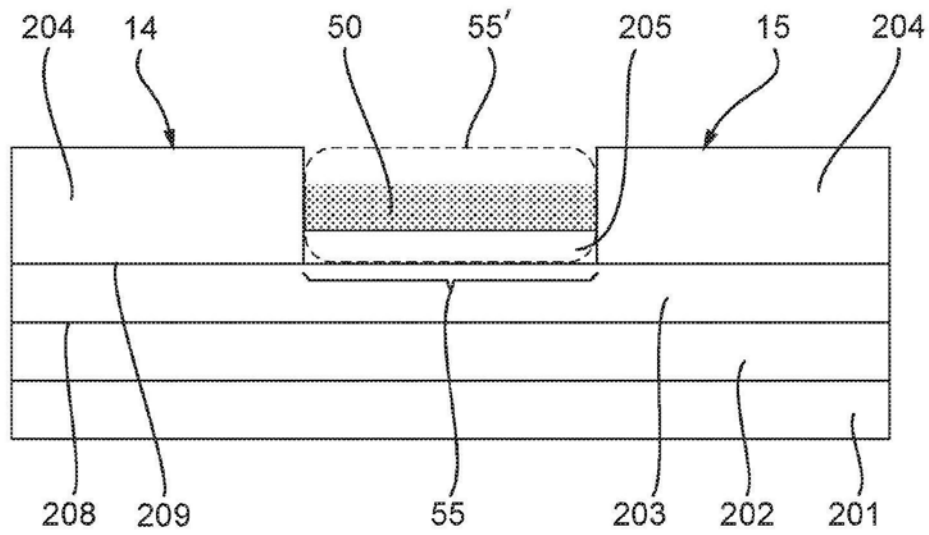


图3

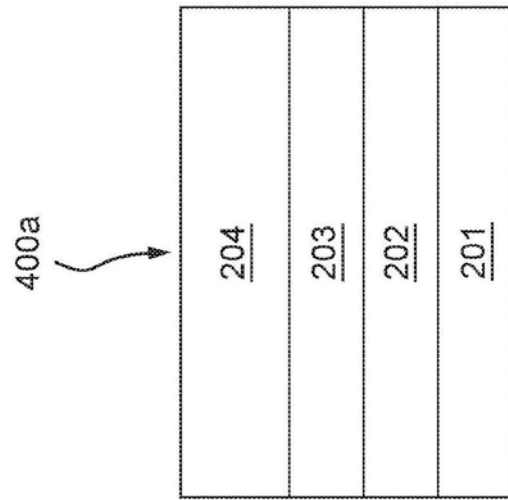


图4a

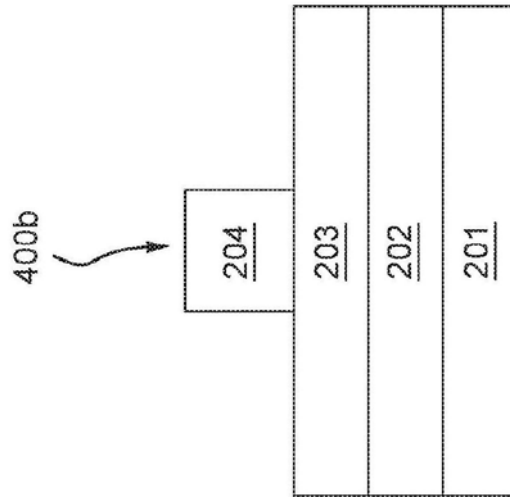


图4b

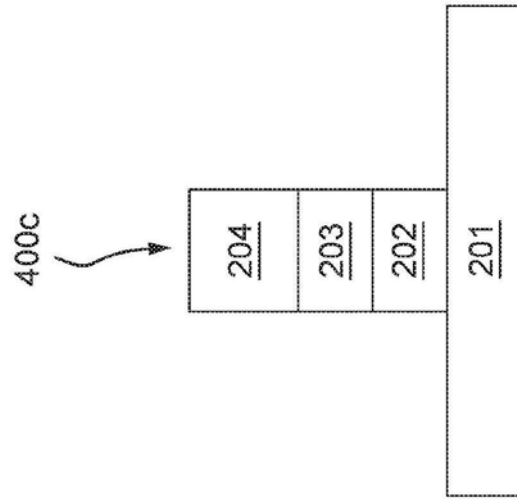


图4c

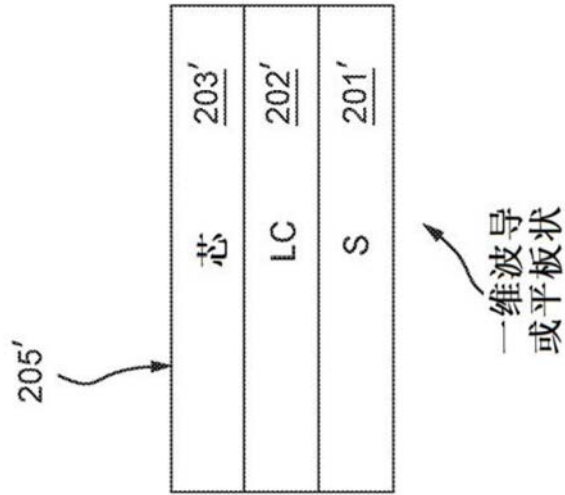


图4d

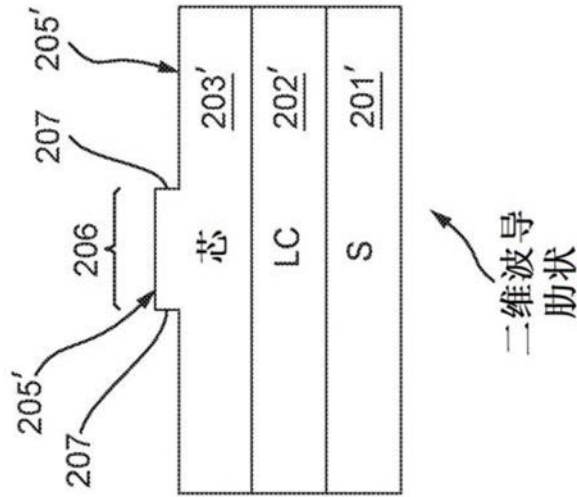


图4e

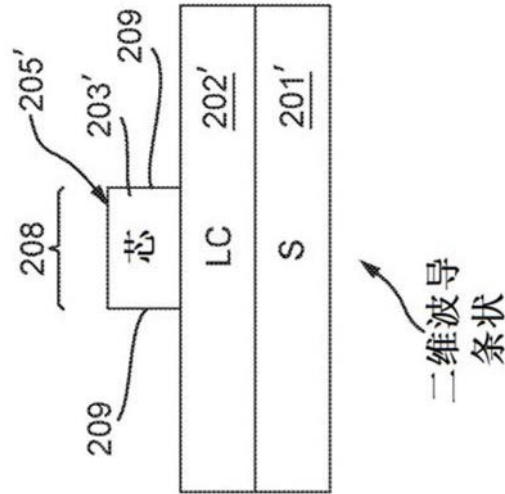
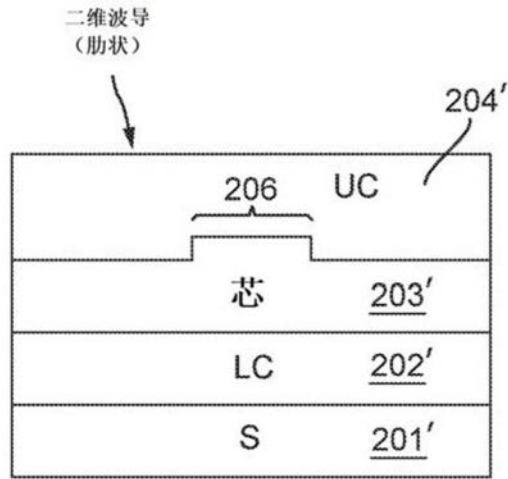
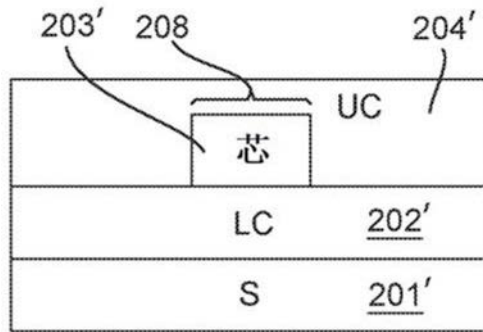


图4f



Lc = 下包层芯

图4g



UC = 上包层

图4h

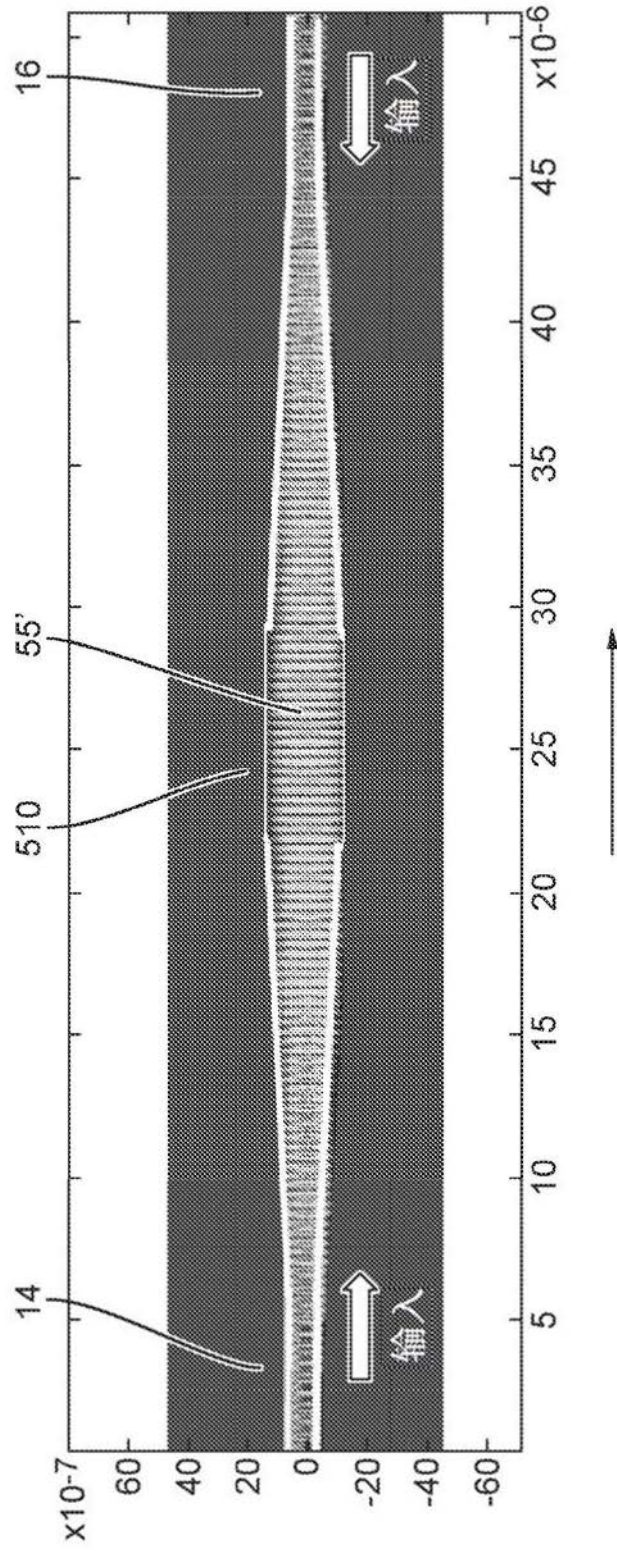


图5

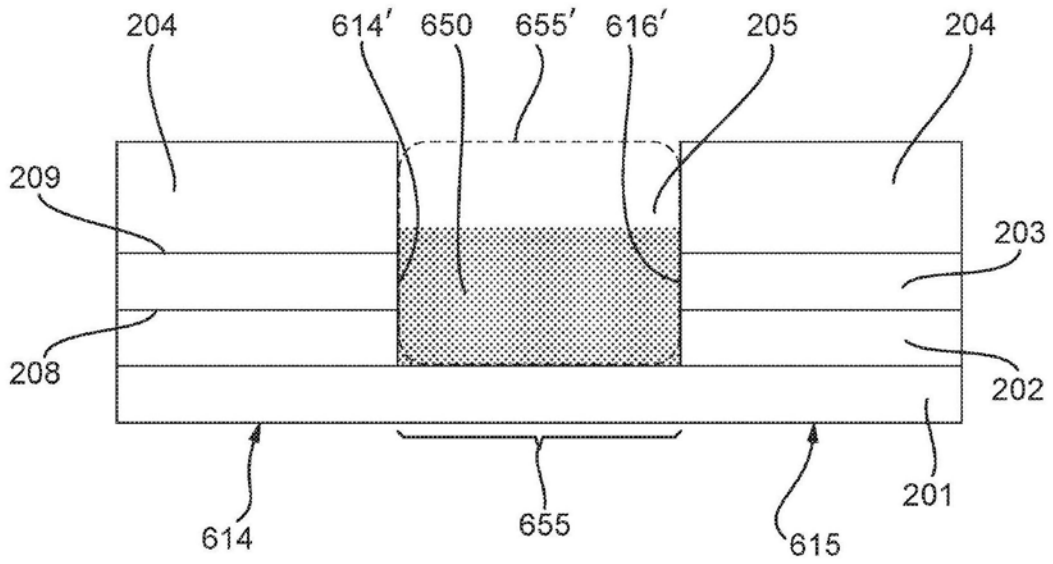


图6

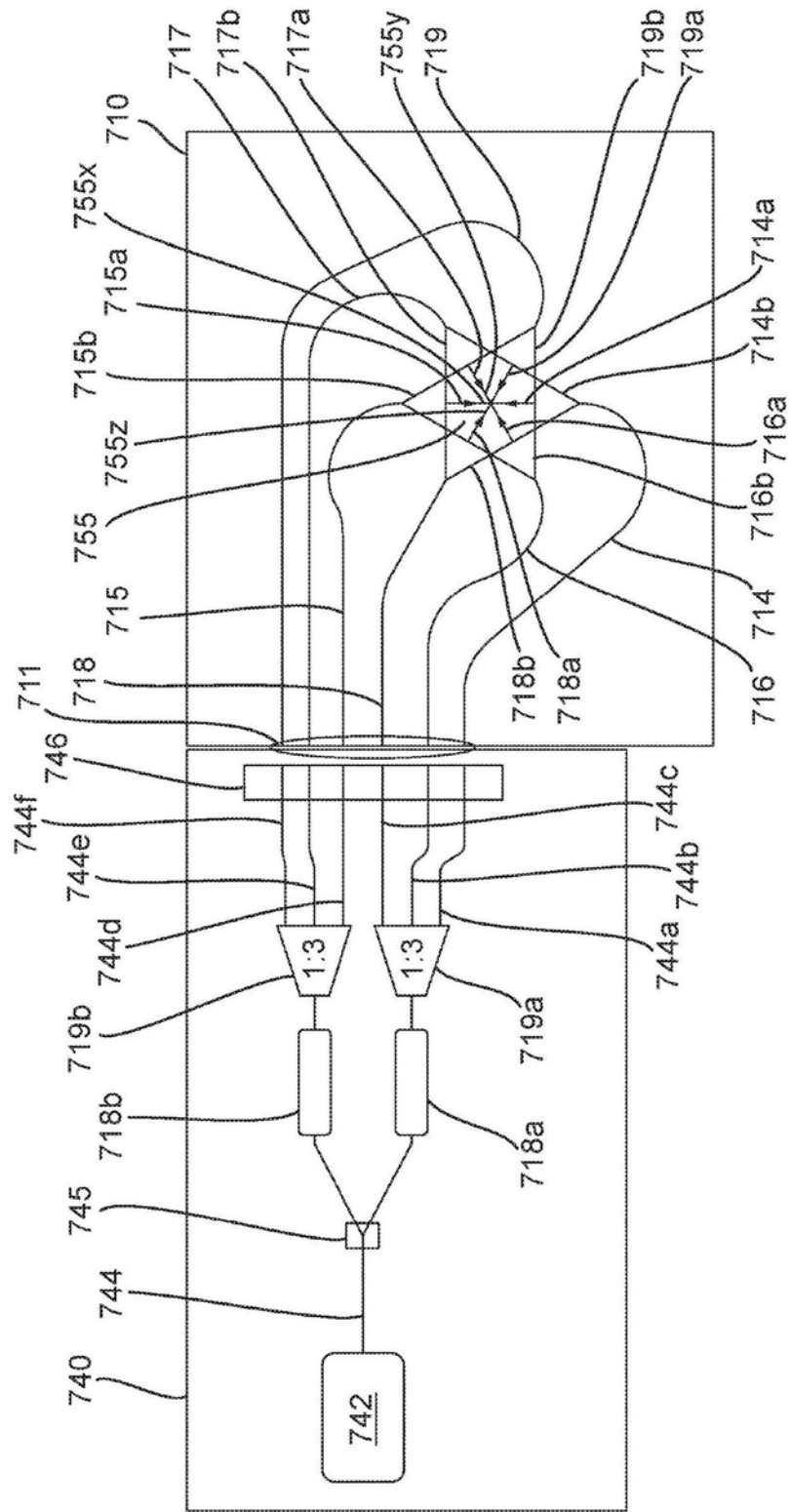


图7

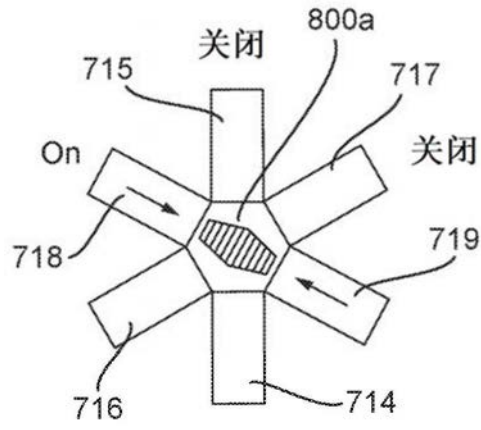


图8a

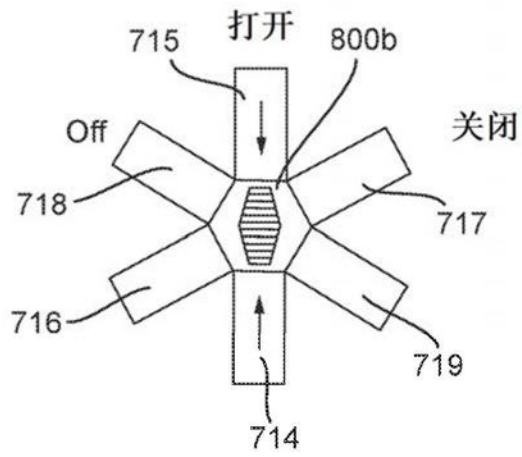


图8b

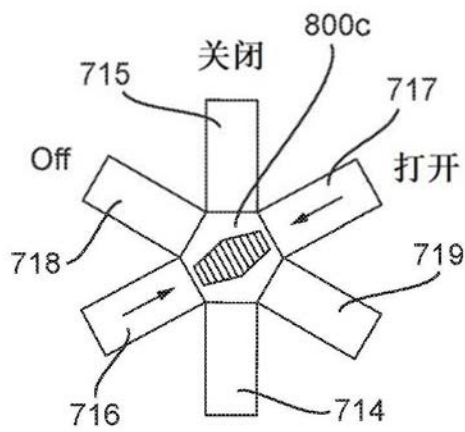


图8c

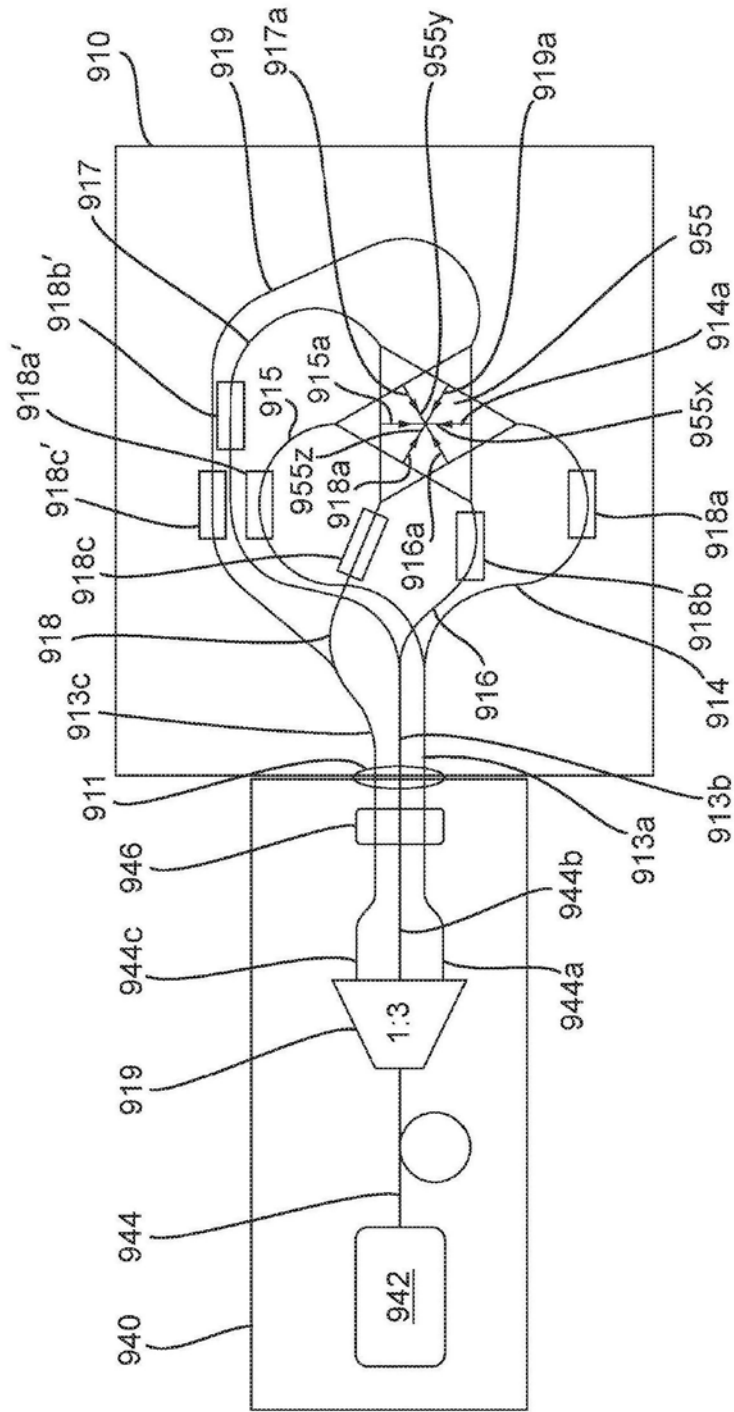


图9

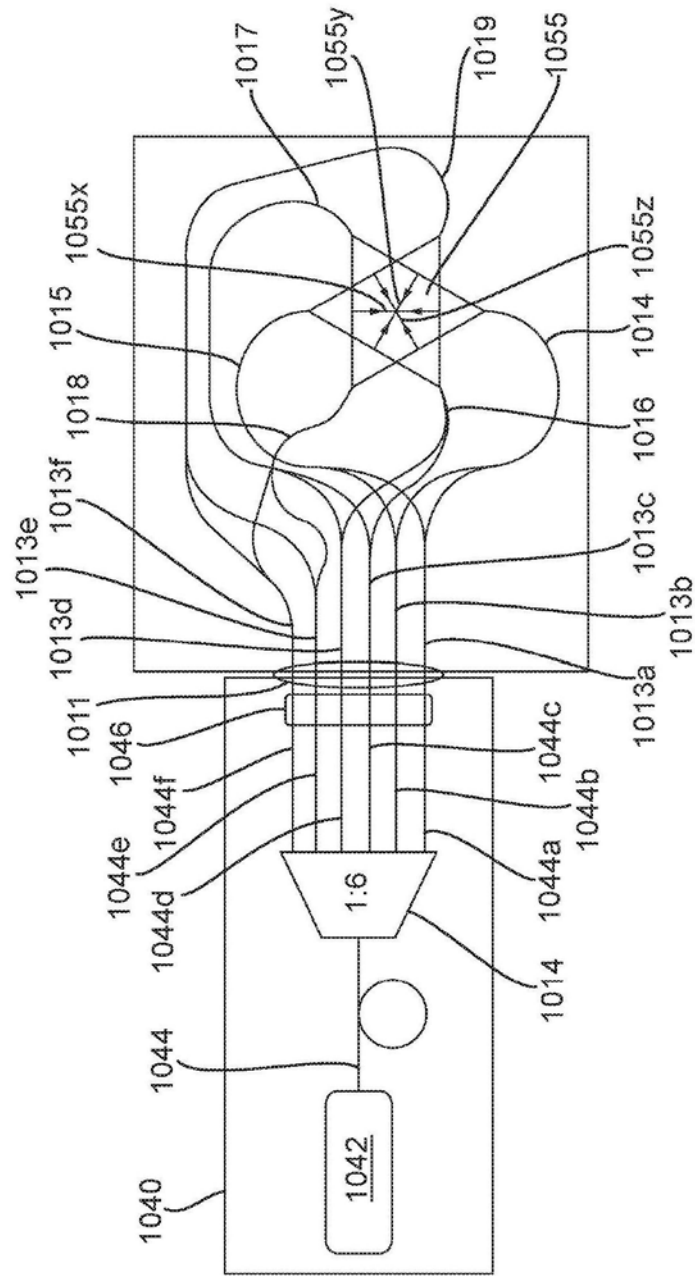


图10

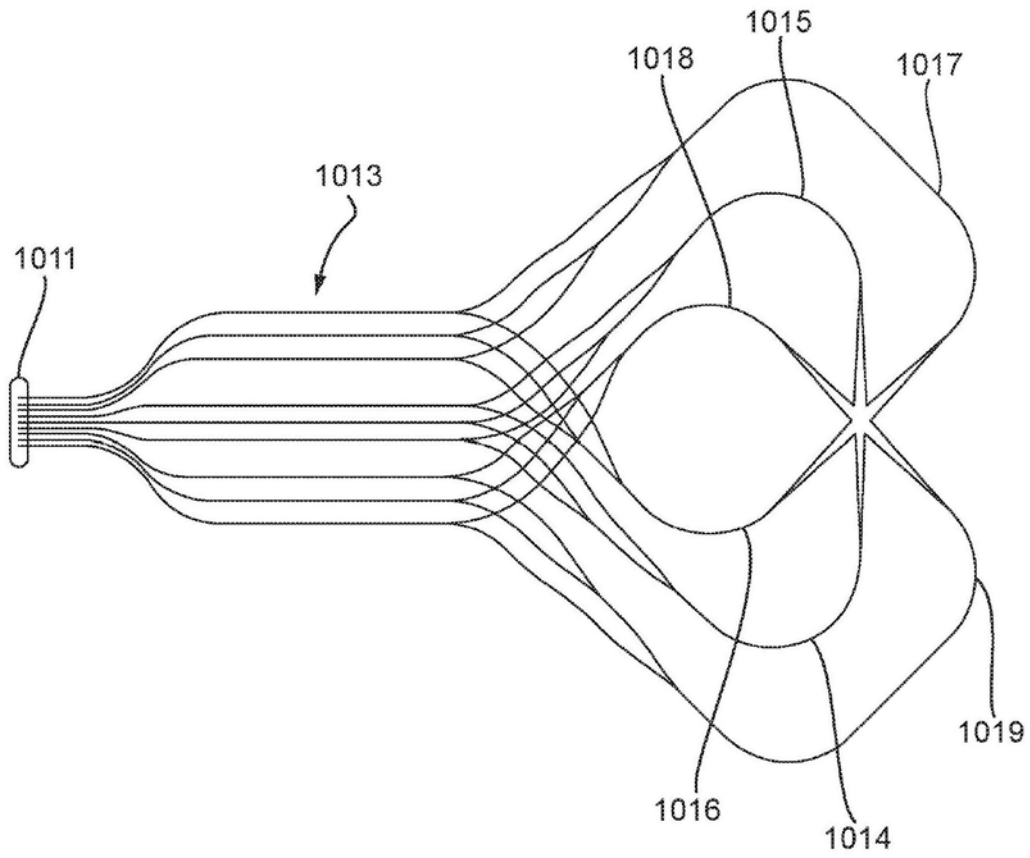


图10b

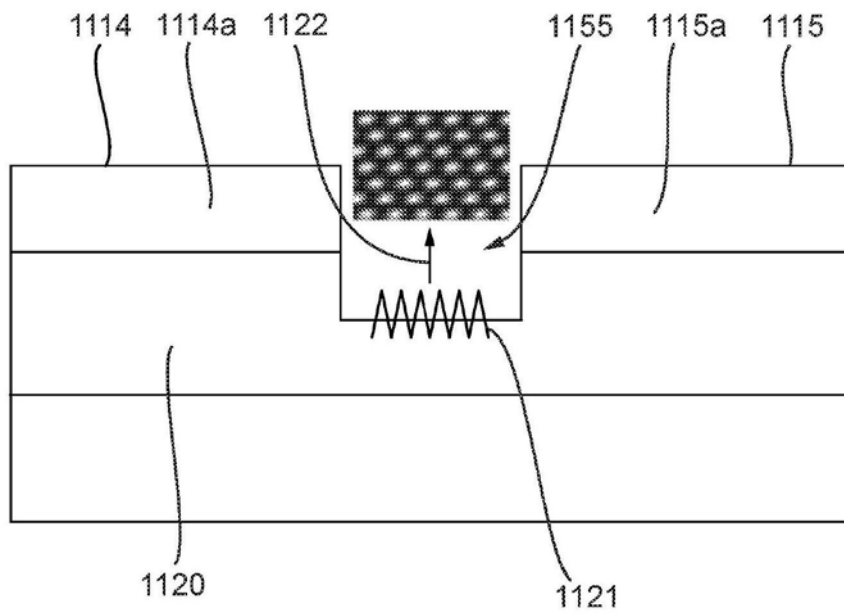


图11

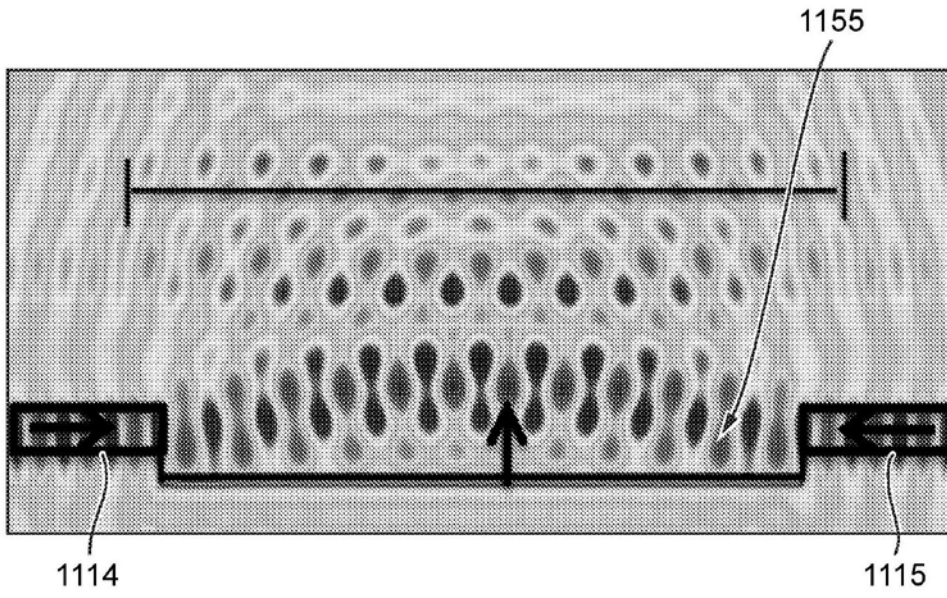


图12

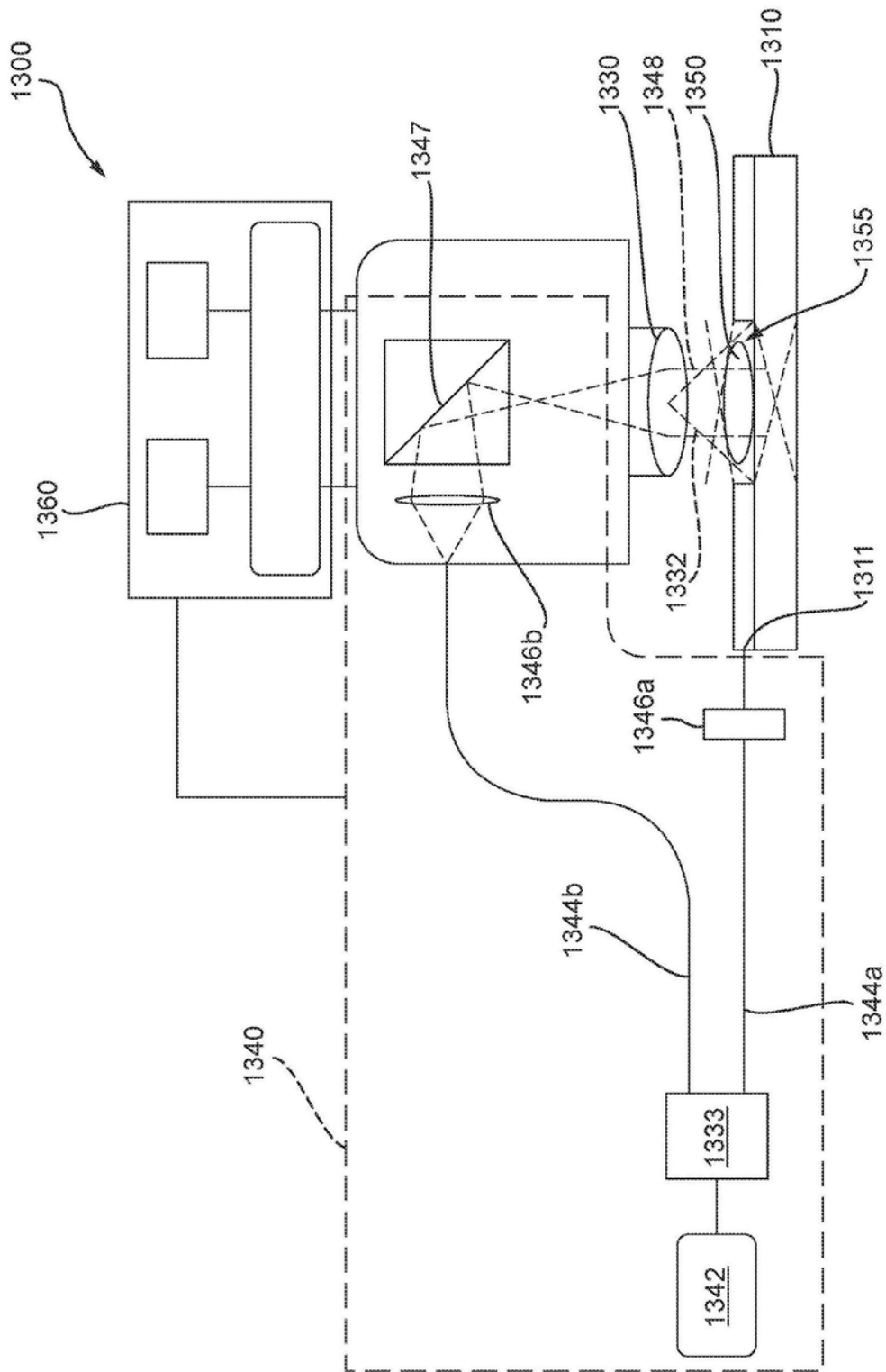


图13