

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6096814号
(P6096814)

(45) 発行日 平成29年3月15日 (2017. 3. 15)

(24) 登録日 平成29年2月24日 (2017. 2. 24)

(51) Int. Cl.		F I	
GO 2 B 21/00	(2006. 01)	GO 2 B	21/00
GO 2 B 21/06	(2006. 01)	GO 2 B	21/06
GO 1 N 21/64	(2006. 01)	GO 1 N	21/64 E

請求項の数 17 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2014-560312 (P2014-560312)	(73) 特許権者	506151659
(86) (22) 出願日	平成25年2月28日 (2013. 2. 28)		カール ツァイス マイクロスコピー ゲーエムペーハー
(65) 公表番号	特表2015-511028 (P2015-511028A)		CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH
(43) 公表日	平成27年4月13日 (2015. 4. 13)		ドイツ連邦共和国 07745 イェナ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2013/054075		カール-ツァイス-プロメナーデ 10
(87) 国際公開番号	W02013/131808	(74) 代理人	100105957
(87) 国際公開日	平成25年9月12日 (2013. 9. 12)		弁理士 恩田 誠
審査請求日	平成28年2月17日 (2016. 2. 17)	(74) 代理人	100068755
(31) 優先権主張番号	102012203736.5		弁理士 恩田 博宣
(32) 優先日	平成24年3月9日 (2012. 3. 9)	(74) 代理人	100142907
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)		弁理士 本田 淳

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 スペクトル検出を伴う光走査型顕微鏡

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

m個のスポットによる照明（mは1以上の整数）と、n個のスポットによる照明（nはmより大きい整数）との間で切替え可能であり、試料の所定領域内で試料放射を励起する照明モジュール（2）と、

m個またはn個の該スポットを前記所定領域内で移動させる偏向ユニット（5）と、

前記試料放射を共焦点でスペクトル分解して検出する検出モジュール（7）とを備えた光走査型顕微鏡であって、

前記検出モジュール（7）は、

共焦点絞りユニット（9）と、

前記共焦点絞りユニット（9）の後ろに配置され、前記試料放射を部分ビームへとスペクトル分岐する分割ユニットと、

検出器（11）と、

前記部分ビームを空間的に離して前記検出器（11）上に結像する結像ユニット（46）とを含み、

前記共焦点絞りユニット（9）が、m個のスポットによる照明での前記試料放射用の正確にm個の開口部を有する共焦点絞りと、n個のスポットによる照明での該試料放射用のn個の開口部を有する共焦点絞りとの間で切替え可能であり、

前記分割ユニットが、前記共焦点絞りユニット（9）から前記結像ユニット（46）まで、m個のスポットによる照明での前記試料放射用の第1のビーム路と、n個のスポット

による照明での前記試料放射用の第2のビーム路とを有し、前記分割ユニットが両方のビーム路の間で切替え可能である、光走査型顕微鏡。

【請求項2】

前記共焦点絞りユニット(9)が、m個の開口部とn個の開口部の間で切替え可能な共焦点絞り(29)を含む、請求項1に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項3】

前記共焦点絞りユニットが、正確にm個の開口部を有する第1の共焦点絞りと、n個の開口部を有する第2の共焦点絞りとを含み、

前記第1の共焦点絞りと前記第2の共焦点絞りの間の切替えが、前記ビーム路の切替えによって行われる、請求項1に記載の光走査型顕微鏡。

10

【請求項4】

前記m個の開口部のサイズおよび前記n個の開口部のサイズのうちの少なくとも一方が変更可能である、請求項1乃至3のいずれか1項に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項5】

同じ検出器(11)が、m個およびn個のスポットによる照明での前記試料放射を検出するように用いられている、請求項1乃至4のいずれか1項に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項6】

前記分割ユニットが、n個のスポットによる照明での前記試料放射を、スペクトルおよび位置が互いに直交するように分割する、請求項1乃至5のいずれか1項に記載の光走査型顕微鏡。

20

【請求項7】

前記分割ユニットが、n個のスポットによる照明の際に、異なるスポットが、スペクトル分割されて並んで配置されるように、スポットのスペクトルおよび位置を同じ方向に分割する、請求項1乃至5のいずれか1項に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項8】

前記分割ユニットが、n個のスポットによる照明の際に、スポットの同じ波長の部分が直接並ぶように、スポットのスペクトルおよび位置を同じ方向に分割する、請求項1乃至5のいずれか1項に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項9】

前記分割ユニットは、拡大光学系(38、39、40)と、光学結像倍率を変化させることなく、前記部分ビームの互いに対する角度を拡大する光学系ユニット(43)とを含む、請求項1乃至8のいずれか1項に記載の光走査型顕微鏡。

30

【請求項10】

角度を拡大する前記光学系ユニット(43)が、セグメントに分かれた光学系要素(43)を含む、請求項9に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項11】

前記分割ユニットは、拡大光学系(38、39、40)と、前記部分ビームの開口数を局所的に大きくする光学系ユニットとを含む、請求項1乃至8のいずれか1項に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項12】

40

前記分割ユニットは、第1および第2の部分光学系(38；39、40)を備えた拡大光学系(38、39、40)ならびに導波構造を含み、

前記第1の部分光学系(38)は、両方の部分光学系(38；39、40)の間にある第1のフォーカス面を有し、

前記第2の部分光学系(39、40)は、前記第1のフォーカス面から離隔され、かつ両方の部分光学系(38；39、40)の間にある第2のフォーカス面を有し、

前記導波構造は、前記共焦点絞りユニットのm個またはn個の前記開口部の各々に対して1つの導波体を含み、

前記導波体の入口が該第1のフォーカス面にあり、前記導波体の出口が前記第2のフォーカス面にあり、前記導波体の出口の間隔が、前記導波体の入口の間隔より大きい、請求

50

項 1 乃至 8 のいずれか 1 項に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項 1 3】

前記分割ユニットの前記両方のビーム路の各々に、別個のスペクトル分岐ユニットが配置されている、請求項 1 乃至 1 2 のいずれか 1 項に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項 1 4】

$m = 1$ である、請求項 1 乃至 1 3 のいずれか 1 項に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項 1 5】

前記偏向ユニット (5) が、前記試料放射をデスクラン試料放射として前記検出モジュール (7) に送る、請求項 1 乃至 1 4 のいずれか 1 項に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項 1 6】

前記共焦点絞りユニット (9) が、 k 種の異なる数の開口部を有する k 種の共焦点絞りの間で切替え可能であり、 k が 2 より大きい整数である、請求項 1 乃至 1 5 のいずれか 1 項に記載の光走査型顕微鏡。

【請求項 1 7】

試料放射を励起する試料の所定領域の照明が、 m 個のスポットによる照明 (m は 1 以上の整数) と、 n 個のスポットによる照明 (n は m より大きい整数) との間で切替え可能であり、

照明のための m 個または n 個の該スポットを前記所定領域内で動かし、

前記試料放射を検出モジュールにより共焦点でスペクトル分解して検出する光走査型顕微鏡検査方法であって、

前記検出モジュールは、

共焦点絞りユニットと、

前記共焦点絞りユニットの後ろに配置され、前記試料放射を部分ビームへとスペクトル分岐する分割ユニットと、

検出器と、

前記部分ビームを空間的に離して前記検出器上に結像する結像ユニットとを含み、

前記共焦点絞りユニットが、 m 個のスポットによる照明での前記試料放射用の正確に m 個の開口部を有する共焦点絞りと、 n 個のスポットによる照明での前記試料放射用の n 個の開口部を有する共焦点絞りとの間で切り替えられ、

前記分割ユニットが、

前記共焦点絞りユニットから前記結像ユニットまで設けられ、 m 個のスポットによる照明での前記試料放射用の第 1 のビーム路と、

前記共焦点絞りユニットから前記結像ユニットまで設けられ、 n 個のスポットによる照明での前記試料放射用の第 2 のビーム路との間で切り替えられる、光走査型顕微鏡検査方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

スペクトル検出を伴う光走査型顕微鏡は、例えば、生物試料を非常に高い空間分解能で調査し得るための、生物試料の蛍光顕微鏡検査に用いられる。このような生物試料は、しばしば 1 種または複数の蛍光色素 (または蛍光タンパク質) によって標識されており、例えば、動的効果を調査すべき生きた細胞である。したがって、実験の光毒性を最小限にするため、できるだけ低い励起出力の場合の、一方ではスペクトル感度および他方では画像撮影速度が重要である。それと共に、例えばスペクトル的に高分解のイメージングが望ましいのか、スペクトル分解能を比較的制限した比較的高速のイメージングが望ましいのかは、それぞれ個別の試料および調査目的に左右される。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0002】

したがってこれに基づき本発明の課題は、スペクトル検出用の光走査型顕微鏡を、試料

10

20

30

40

50

調査のための様々な所望の基本条件に容易に適合させ得るようにさらに発展させることである。

【課題を解決するための手段】

【0003】

この課題は、 m 個のスポットによる照明（ m は1以上の整数）と、 n 個のスポットによる照明（ n は m より大きい整数）との間で切替え可能であり、試料の所定領域内で試料放射を励起する照明モジュールと、 m 個または n 個のスポットを所定領域内で移動させる偏向ユニットと、試料放射を共焦点でスペクトル分解して検出する検出モジュールとを備えた光走査型顕微鏡であって、この検出モジュールが、共焦点絞りユニットと、この共焦点絞りユニットの後ろに配置されており、試料放射を部分ビームへとスペクトル分岐する分割ユニットと、検出器と、部分ビームを空間的に離して検出器上に結像する結像ユニットとを備えており、この共焦点絞りユニットが、 m 個のスポットによる照明での試料放射用の正確に m 個の開口部を有する共焦点絞りと、 n 個のスポットによる照明での試料放射用の n 個の開口部を有する共焦点絞りとの間で切替え可能であり、分割ユニットが、共焦点絞りユニットから結像ユニットまで、 m 個のスポットによる照明での試料放射用の第1のビーム路と、 n 個のスポットによる照明での試料放射用の第2のビーム路とを有しており、分割ユニットが両方のビーム路の間で切替え可能である、光走査型顕微鏡によって解決される。

10

【0004】

共焦点絞りユニットを、切替え可能なビーム路を有する分割ユニットと組み合わせることにより、可能な照明の各々に対し、最適に共焦点でスペクトル分解された検出を提供することができる。

20

【0005】

共焦点絞りユニットは、 m 個の開口部と n 個の開口部の間で切替え可能な共焦点絞りを備えることができる。その代わりに共焦点絞りユニットは、正確に m 個の開口部を有する第1の共焦点絞りと、 n 個の開口部を有する第2の共焦点絞りを備えることができ、この第1の共焦点絞りと第2の共焦点絞りの間の切替えは、ビーム路の切替えによってもたらされる。とりわけ、 n 個の開口部を有する共焦点絞りが正確に n 個の開口部を有することができる。

【0006】

m 個の開口部と n 個の開口部の間で切替え可能であることにより、光走査型顕微鏡の $k = 2$ 種の異なる動作モードが可能である。 k 種の異なる並列化段階とも言える。もちろん k は2より大きくてもよい。その場合、共焦点絞りは、 k 種の異なる開口部による k 種の異なる状態の間で切り替えることができる。さらに照明モジュールは、 k 種すべての状態に対し、それぞれ対応する数の照明スポットを提供できることが好ましい。

30

【0007】

共焦点絞りの開口部は、一方では実際に絞り内の開口部または透明な領域であることができる。他方では共焦点絞りの開口部を反射域によってもたすことができ、つまり反射域に落ちる光だけが分割ユニットに達する。鏡面反射域は、いわば「反転した」開口部である。ここでは、一般的に開口部と言うが、この開口部の概念には、従来の意味における絞りの開口部または透明な領域も、前述のように共焦点絞りとして作用する反射域も含まれるものとする。

40

【0008】

m 個および/または n 個の開口部は、例えば互いに依存してサイズ調節することができる。とりわけ、 n 個すべての絞り開口部または m 個すべての絞り開口部が常に同じサイズであるように調節することができる。 m 個および n 個の絞り開口部のサイズを互いに独立に調節することができる。また、 m 個および n 個の絞り開口部のサイズを互いに独立に調節することができる。

【0009】

とりわけ、1つまたは複数の共焦点絞りは、 m 個または n 個の開口部のサイズが無段階に調節できるように形成されている。

50

さらに共焦点絞りユニットを、 m 個の開口部または n 個の開口部の数を変更できるように形成することができる。

【0010】

さらに、 $m = 1$ であることが好ましい。この場合、正確に1個の開口部を有する共焦点絞りは、単焦点絞りと呼ぶこともできる。 n が1より大きい場合、この絞りは多焦点絞りと呼ぶことができる。 n 個の開口部を有する共焦点絞りは、少なくとも2個の開口部を有するので、常に多焦点絞りである。

【0011】

多焦点絞りの m 個または n 個の絞り開口部は1本のライン上に存在することができる。他の配置も可能であり、したがって m 個または n 個の絞り開口部を2次元マトリクスで配置することができる。多焦点絞りの1個の絞り開口部は、試料を1個のスポットで照明する場合の単焦点検出の際の主ビーム軸上に存在することができる。

10

【0012】

共焦点絞りユニットは2つの絞り要素を備えることができ、これらの絞り要素は、互いに相対的に変位可能であり、これにより、共焦点絞りの m 個または n 個の開口部が変化し、かつ/または両方の共焦点絞りの間で切り替わる。両方の絞り要素の移動には、弾性ヒンジ、圧電アクチュエータ、および/またはサーボモータを使用することができる。変位をもたらすためのその他の調節手段も可能である。

【0013】

正確に m 個の開口部を有する共焦点絞りによる検出では、検出器は、直線状に配置された多数の検出要素を備えた検出器、または2次元に配置された多数の検出要素を備えた検出器であることができる。同じことが、 n 個の開口部を有する共焦点絞りによる検出の際の検出器に当てはまる。とりわけ、正確に m 個の開口部を有する共焦点絞りによる検出の際および n 個の開口部を有する共焦点絞りによる検出の際に同じ検出器を使用することができる。検出器は、とりわけ検出ユニット、多要素からなる検出器、1次元もしくは2次元に配置された検出要素を備えた検出器、マルチアノード光電子増倍管であることができ、または例えば1次元もしくは2次元のアバランシェ・フォトダイオード・アレイであることができる。

20

【0014】

さらに、とりわけ第1のビーム路から出ているか第2のビーム路から出ているかに関係なく、同じ結像ユニットが部分ビームを検出器上に結像することができる。したがってこの場合、結像ユニットから検出器まで、部分ビームのための共通ビーム路が存在している。

30

【0015】

このために、例えば切替え可能または移動可能なミラー（例えば中空ミラー）を設けることができ、このミラーが、それぞれ第1または第2のビーム路から、共通ビーム路へと方向転換する。さらに、共焦点絞りユニットの後ろに配置されており、第1のビーム路と第2のビーム路の間で切り替える移動可能または切替え可能なミラーを設けることができる。ビーム路を切り替えるためのミラーの代わりに、例えばプリズムのようなその他の適切な光学要素を設けてもよい。これらの要素は、可能であればスペクトル分岐に利用してもよい。

40

【0016】

本発明による光走査型顕微鏡では、両方のビーム路の各々に、別個の試料放射スペクトル分岐ユニットを配置することができる。

この別個のユニットは、それぞれ分散プリズム、反射型格子、透過型格子、および/または1つもしくは複数のフィルタを備えることができる。少なくとも1つのフィルタおよび/または少なくとも1つのプリズムにより、一方の方向での前分光を実施し、かつ格子により、もう一方の方向でのさらなる分光を実施してもよい。

【0017】

このやり方により、複数のスポット（例えば n 個のスポット）による照明での試料放射

50

を、スペクトルおよび場所が互いに直交するように分光することができ、この場合、その後、2次元検出器上への結像を実施することが好ましい。

【0018】

複数のスポット（例えばn個のスポット）による照明での試料放射を、スポットのスペクトルおよび場所が同じ方向に分割されるように分割することも可能であり、この場合、異なるスポットが、スペクトル分割されて並んで配置される。この場合、検出器は例えばリニアセンサとして構成することができる。

【0019】

分割は、分散プリズム、反射型格子、透過型格子、および/または1つもしくは複数のフィルタによって実施することができる。

スポット間隔は、予め拡大光学系（例えば望遠鏡光学系）により検出器サイズに適合されているのが好ましい。スポットまたは束が空間的に離れて存在する平面内では、セグメントに分かれた光学系により、光学結像倍率を大きくすることなく、角度拡大を行うことができる。このために例えば、互いに対する角度関係が固定された多数のファセットを備えたミラーを用いることができる。互いに対する角度関係を調整可能な多数のファセットを備えたミラーも調整することができる。セグメントに分かれたミラーのファセットの数は、スポットの数と同じであることが好ましい。

【0020】

セグメントに分かれたミラーの前の瞳面には、共焦点絞りのところで回折した光成分をブロックする絞りを位置決めすることができる。

セグメントに分かれた光学系は、マイクロレンズからなるマトリクスとして形成することができる。このマイクロレンズはそれぞれ負屈折力を有することができる。マイクロレンズを共焦点絞りの後ろに配置することができ、またはマイクロレンズを望遠鏡光学系の中間像の後ろに位置決めすることができる。とりわけ、間隔は数ミリメートルであり得る。

【0021】

さらに、セグメントに分かれた光学系を導波構造として形成することができ、その際、各々のスポットまたは束に少なくとも1つの導波体が割り当てられる。導波構造の入口は、好ましくは、望遠鏡光学系の入口レンズの焦点面に位置決めされている。導波構造の出口は、望遠鏡光学系の出口線の焦点面に位置決めすることができる。

【0022】

導波構造の出口は、互いに対する間隔が入口より大きい。導波構造は、とりわけ光ファイバからなる束として選択することができる。

とりわけ、本発明による光走査型顕微鏡での分割ユニットは、拡大光学系と、部分ビームの開口数を局所的に大きくする光学系ユニットとを備えることができる。このような開口数を局所的に大きくする光学系ユニットは、例えば、個々のレンズがそれぞれ負屈折力を有するマイクロレンズアレイによって実現することができる。マイクロレンズアレイは、共焦点絞りの後ろに配置することができ、または拡大光学系の中間像の後ろに位置決めすることができる。とりわけ、間隔は数ミリメートルであり得る。開口数を局所的に大きくする光学系ユニットにより、検出面でのより小さな焦点が得られ、したがって拡大光学系の拡大率を上げ得ることが有利である。

【0023】

好ましくは、開口数を局所的に大きくする光学系ユニットは拡大光学系の前に配置されており、したがって部分ビームでは最初に開口数を大きくし、その後、拡大光学系により光学的拡大が行われる。

【0024】

さらに、分割ユニットは追加的にまたは代替策として、第1および第2の部分光学系を備えた拡大光学系ならびに導波構造を備えることができ、この第1の部分光学系は、両方の部分光学系の間にある第1のフォーカス面を、および第2の部分光学系は、第1のフォーカス面から離隔され、かつ両方の部分光学系の間にある第2のフォーカス面を有してお

10

20

30

40

50

り、導波構造は、共焦点絞りユニットの m 個または n 個の開口部の各々に対して1つの導波体を備えており、この導波体の入口は第1のフォーカス面に、および導波体の出口は第2のフォーカス面にあり、この導波体の出口の間隔は、導波体の入口の間隔より大きい。したがって導波体は、スポットの点像を第1のフォーカス面から第2のフォーカス面へと変位する。

【0025】

この拡大光学系は、例えば、中間像面を有する望遠鏡光学系をベースとすることで製造され得る。この望遠鏡光学系は2つの部分光学系を備えており、この部分光学系の互いの間隔を広げ、これによりフォーカス面が引き離される。その後、両方の引き離されたフォーカス面の間隔を導波体によって橋絡し、この導波体が、点像の前述の互いに対する変位を生成する。導波体は、例えばガラス繊維束として、または導波構造として実現することができる。

10

【0026】

スポットのスペクトルおよび場所が同じ方向に分割され、異なるスポットが、スペクトル分割されて並んで配置されるような、複数のスポット（例えば n 個のスポット）による照明での試料放射のスペクトル分割は、複数のフィルタが多数のスペクトルチャンネルを生成し、このスペクトルチャンネルが、フィルタの向きに基づき異なるセンサ要素上に結像されることによって達成することができる。とりわけ、調整可能なエッジフィルタを用いることができる。この種類の分割では、フィルタに対応するスペクトルチャンネルが並んでおり、各々のスペクトルチャンネル内でそれぞれスポットが並んでいる。

20

【0027】

とりわけ、分割ユニットは n 個のスポットによる照明の際に、スポットの同じ波長の部分が直接並ぶように、スポットのスペクトルおよび場所を同じ方向に分割することができる。

【0028】

多数のスペクトルチャンネルは、スポットごとの部分束をまとめた束の状態フィルタ構成から出ていく。これらの束は、互いに少なくとも1つのセンサ要素だけ離隔しているように、検出器上で結像されるのが好ましい。各々の束、つまり各々のスペクトルチャンネルは、さらなる透過フィルタにより、この透過フィルタの帯域幅内に制限することができる。この透過フィルタは、例えばエッジフィルタまたはバンドパスフィルタであることができる。

30

【0029】

これらの束、つまり各々のスペクトルチャンネルは、互いに少なくとも1つのセンサ要素だけ離隔しているように、検出器上で結像されることが好ましい。

リニア検出器上へのスペクトルチャンネルの結像だけでなく、2次元検出器上への結像も可能である。

【0030】

本発明による光走査型顕微鏡では、偏向ユニットが、試料放射をデスクャン試料放射として検出モジュールに送ることができる。これはとりわけ、照明放射の方向とは反対に走って偏向ユニットに当たる励起された試料放射が、偏向ユニットの後ろでは不動の試料放射として存在するということである。

40

【0031】

この光走査型顕微鏡は、とりわけレーザー走査型顕微鏡として形成することができる。この場合、試料の照明にはレーザー放射が用いられる。しかしながら試料の照明にレーザー放射とは違う放射を使用することも可能である。

【0032】

さらに照明モジュール内にも、切替え可能な m 個または n 個のスポットによる照明を実現するため、共焦点絞りユニットを設けることができる。照明モジュールの共焦点絞りユニットは、とりわけ検出モジュールの共焦点絞りユニットと同じやり方で形成することができる。

50

【 0 0 3 3 】

さらにこの光走査型顕微鏡は、光走査型顕微鏡の動作に必要な、当業者に既知のさらなるモジュールを備えることができる。

さらに、試料放射を励起するための試料の所定領域の照明が、 m 個のスポットによる照明 (m は1以上の整数)と、 n 個のスポットによる照明 (n は m より大きい整数)との間で切替え可能であり、照明のための m 個または n 個のスポットを所定領域内で動かし、試料放射を検出モジュールにより共焦点でスペクトル分解して検出する光走査型顕微鏡検査方法であって、この検出モジュールが、共焦点絞りユニットと、この共焦点絞りユニットの後ろに配置されており、試料放射を部分ビームへとスペクトル分岐する分割ユニットと、検出器と、部分ビームを空間的に離して検出器上に結像する結像ユニットとを備えており、この共焦点絞りユニットが、 m 個のスポットによる照明での試料放射用の正確に m 個の開口部を有する共焦点絞りと、 n 個のスポットによる照明での試料放射用の n 個の開口部を有する共焦点絞りとの間で切り替えられ、分割ユニットが、共焦点絞りユニットから結像ユニットまで設けられ、かつ m 個のスポットによる照明での試料放射用の第1のビーム路と、共焦点絞りユニットから結像ユニットまで設けられ、かつ n 個のスポットによる照明での試料放射用の第2のビーム路との間で切り替えられる、光走査型顕微鏡検査方法を提供する。

10

【 0 0 3 4 】

本発明による光走査型顕微鏡検査方法は、本発明による光走査型顕微鏡と同じやり方でさらに発展させることができる。とりわけ、本発明による光走査型顕微鏡およびその変形形態に関連して説明した方法ステップを有することができる。

20

【 0 0 3 5 】

上述の、そして以下にさらに解説する特徴は、提示した組合せにおいてだけでなく、他の組合せにおいて、または単独でも、本発明の枠を超えることなく用い得ることは自明である。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 3 6 】

【 図 1 】 本発明による光走査型顕微鏡の第1の実施形態の概略図。

【 図 2 】 図1の光走査型顕微鏡の照明モジュール2の概略図。

【 図 3 】 図1の共焦点絞りユニット9の共焦点絞りの2つの絞り要素の概略図。

30

【 図 4 A 】 単一のピンホールのサイズを変えるための、両方の絞り要素の互いに対する位置を示す図。

【 図 4 B 】 単一のピンホールのサイズを変えるための、両方の絞り要素の互いに対する位置を示す図。

【 図 4 C 】 単一のピンホールのサイズを変えるための、両方の絞り要素の互いに対する位置を示す図。

【 図 5 A 】 4個のピンホールのサイズを変えるための、絞り要素の互いに対する位置を示す図。

【 図 5 B 】 4個のピンホールのサイズを変えるための、絞り要素の互いに対する位置を示す図。

40

【 図 5 C 】 4個のピンホールのサイズを変えるための、絞り要素の互いに対する位置を示す図。

【 図 6 】 さらに絞り要素を示す図。

【 図 7 】 検出器11の概略図。

【 図 8 】 図1の検出モジュール7の概略図。

【 図 9 】 図8のセグメントミラー43の拡大図。

【 図 10 】 図1の検出モジュール7のさらなる1実施形態を示す図。

【 図 11 】 図10の細部Aの拡大図。

【 図 12 】 検出器11のさらなる図。

【 発明を実施するための形態 】

50

【 0 0 3 7 】

以下では、例えば、本発明の本質をなす特徴も開示している添付の図面に基づいて、本発明をさらに詳しく解説する。

図 1 に示した実施形態では、とりわけレーザ走査型顕微鏡として形成することができる本発明による光走査型顕微鏡 1 が、照明放射 3 を発する照明モジュール 2 と、照明放射 3 の少なくとも一部を透過する主スプリッタ 4 と、偏向ユニット 5 と、対物レンズ 6 と、検出モジュール 7 とを含んでいる。

【 0 0 3 8 】

照明モジュール 2 は、シングルスポット照明とマルチスポット照明の間で切替え可能であるように構成されている。照明のシングルスポットまたはマルチスポットは、例えば 1 つまたは 2 つのガルバノメータミラーを備えた偏向ユニット 5 により、調査すべき試料 8 の所定領域内を、概略的に破線で示唆したように動かされる。これに関しては、シングルスポットまたはマルチスポットが所定領域内でスキャン移動を実施しているとも言える。これにより、所定領域をシングルスポットまたはマルチスポットによって走査することができる。それゆえ偏向ユニット 5 はしばしばスキャナと呼ばれる。

【 0 0 3 9 】

シングルスポットは、例えば、試料 8 の所定領域内で点状に合焦された 1 つのレーザビームであり、このレーザビームは偏向ユニット 5 により、レーザビームの伝播方向 (z 方向) を横切る少なくとも 1 つの方向 (x 方向および / または y 方向) に動かされ、これにより、スキャン移動が達成される。マルチスポットは、例えば、所定領域内で点状に合焦された複数のレーザビームであり、これらのレーザビームは、所定領域内で互いに離隔しており、スキャン移動を生成するため偏向ユニット 5 によって同時に x 方向および / または y 方向に動かされる。もちろん、シングルスポットおよびマルチスポットは、試料 8 の所定領域内での点状の合焦に制限されない。例えば線焦点のような他の種類の合焦も可能である。ただし以下の説明では、点状の合焦を前提とする。

【 0 0 4 0 】

シングルスポット照明またはマルチスポット照明により、試料 8 内で試料放射 S (例えば蛍光放射) が生成され、この試料放射 S は照明放射 3 とは反対に、対物レンズ 6 を介して偏向ユニット 5 へ到達し、この偏向ユニット 5 によってデスキャンされ (偏向ユニット 5 の後ろでは試料放射 S はもう伝播方向を横切って移動しない不動の放射として存在する)、その後、主スプリッタ 4 で検出モジュール 7 に向かって方向転換される。

【 0 0 4 1 】

検出モジュール 7 は、試料放射 S の共焦点でスペクトル分解された検出を実施し、このために検出モジュール 7 は、以下でさらに詳しく説明するように共焦点絞りユニット 9 と、その後ろに配置された結像光学系 10 と、検出器 11 とを備えている。もちろん光走査型顕微鏡 1 は、照明モジュール 2 が主スプリッタ 4 を反射において利用し、かつ試料放射 S が主スプリッタ 4 により検出モジュール 7 へと透過において案内されるように構成されてもよい。最初に図 2 を参照しながら照明モジュールをより詳しく説明する。

【 0 0 4 2 】

照明モジュールは、レーザ 12 と、レーザ 12 の後ろに配置された切替えユニット 13 と、ビームスプリットユニット 14 と、第 1 の偏光光学ビームスプリッタ 15 と、照明モジュール光学系 16 とを含んでいる。

【 0 0 4 3 】

レーザ 12 から発せられたレーザ放射は切替えユニット 13 へと案内され、この切替えユニット 13 は、2 つの光路の間で切り替えることができる。このために切替えユニット 13 は、回転可能に配置された半波長板 17 を備えており、この半波長板 17 により、レーザ放射の偏光状態を変更することができる。選択された偏光状態に応じ、レーザ放射は第 2 の偏光光学ビームスプリッタ 18 により、ビームスプリットユニット 14 に案内されるか、または切替えユニット 13 の方向転換ミラー 19 へと案内される。

【 0 0 4 4 】

図2では、切替えユニット13の第1の光路に沿った放射がビームスプリットユニット14内に案内される場合をより詳しく示しており、ビームスプリットユニット14は、4つの高反射性ミラー20~23と、一方の側にスプリッタ層を備えており、もう一方の側には反射軽減層を備えた2つの50:50スプリッタ24および25とを含んでいる。ミラー20~23は、好ましくは反射率99.5%超の誘電性ミラーであり、これによりビーム路依存性の損失が最小限に低減される。その背景は、部分ビームがビームスプリットユニット14内で異なる数のミラー面に当たり、したがってミラー20~23は特に高い反射性を有することが好ましく、これにより損失が不均一に加算されないということである。ミラー20~23ならびにスプリッタ24および25は、4つのビームが1平面内で展開しており、隣接するビームがそれぞれ互いに一定の角度を挟み合うように、

10

【0045】

ビームスプリットユニット14内でのミラー20~23ならびにスプリッタ24および25は、部分ビームが共通の1平面内で一定の角度で分岐するように配置することもできる。この場合、後方に延ばされたビームが仮想の瞳内で交差し、この瞳をその後、スキャナ5上に、および対物レンズ6の瞳内に結像しなければならない。この配位は、特に設置スペースの節約になる。

20

【0046】

4つの部分ビームに分けるといえるのは、単なる例として理解すべきである。もちろんより大きな数の部分ビームに分けてもよい。この場合、相応の数のスプリッタ24、25およびミラー20~23を設ければよいだけである。1つまたは複数の部分ビームをブロックすることも可能であり、これにより、照明放射としての部分ビームの相応に適切な数が生成される。

【0047】

その代わりに、半波長板17が適切な位置にあれば、レーザ12の放射をビームスプリットユニット14内に案内し得るのではなく、切替えユニット13の第2の光路に沿って、方向転換ミラー19により直接的に第1の偏光光学ビームスプリッタ15に案内することができる。この場合、中間像面27内には単一の合焦されたスポットが存在する。

30

【0048】

つまり前述の実施形態では、照明モジュール2により、シングルスポット照明の際は単一のレーザスポットを生成することができ、このレーザスポットがスキャナ5により、試料8の表面に沿って案内される。マルチスポット照明では、1本のラインに並んでいる4個のレーザスポットが生成され、これらレーザスポットもまた、スキャナ5により試料8の表面に沿って案内される。

【0049】

レーザ12のレーザ放射は、自由放射区間を介し、または光ファイバを介し、切替えユニット13に案内することができる。切替えユニット13は、別個の機器、すなわち光走査型顕微鏡1のビーム経路に組み込まれたアセンブリとして、またはレーザ12の一部として(例えばファイバスイッチまたは内蔵光学スイッチとして)実現することができる。

40

【0050】

前述の例示の実施形態では、ビームスプリットおよびビームカップリングは偏光光学ビームスプリッタ15、18によって行われ、照明モジュール2の光路、つまり動作モードの選択は半波長板17によって行われる。ただし他の構成も可能であり、したがって例えば、ビーム路の切替えを、切替え可能なミラー(例えばフラップミラー、ガルボミラー、またはMOEMS=光マイクロシステム)によって実現することができる。さらに、一方

50

では切替えユニット13内のビームスプリットのために、他方ではビームカップリングのために様々な作用原理を利用することができ、例えばビーム路を切り替えるための切替え可能なミラーおよびビームカップリングのための偏光光学ビームスプリッタを利用することができる。

【0051】

つまり、この切替え可能な照明モジュール2により、シングルスポット照明と（ここでは4個のスポットによる）マルチスポット照明の間で切替えが可能である。シングルスポット照明のためにもマルチスポット照明のためにも共焦点検出を実施できるように、ここで説明されている実施形態での共焦点絞りユニット9は、図3に概略的に示している第1および第2の絞り要素31、31'を備えている。絞り要素31、31'は、それぞれ1つの長方形の主開口部32、32'ならびにそれに隣接する長方形の副開口部33、33'、34、34'ならびに35および35'を有している。

10

【0052】

図4A～図4Cの図に概略的に示しているように、絞り要素31および31'は、相対して変位可能であり、調整可能な共焦点絞り29を構成している。図4Aでは、両方の主開口部32および32'が合同に前後しており、これにより辺の長さが約400μmのピンホールが提供されている。

【0053】

両方の絞り要素31および31'の図4Bに示した位置では、両方の主開口部32および32'はもう部分的に覆い合っているにすぎず、したがって提供されているピンホールは、この場合は辺の長さが約200μmである。

20

【0054】

図4Cでは、主開口部32および32'がまったく覆い合っておらず、したがってピンホールが閉じている場合を示している。図4A～図4Cから読み取れるように、両方の絞り要素31および31'により、シングルスポット照明のためのピンホールを提供することができ、このピンホールのサイズはいわば無段階で調整可能である。これにより、シングルスポット照明用のピンホールを、それぞれの測定課題に対して最適に適合することができる。小さなピンホールでは、優れた空間分解およびスペクトル分解を達成することができる。大きなピンホールは、例えば多光子顕微鏡検査の場合のように、いわゆる光学セクショニングが既に励起側で実現されている場合に利用することができる。また焦点変調顕微鏡検査では、最適なピンホール直径が共焦点顕微鏡検査より大きい可能性があり、一般的にはピンホール直径を照明および用途に応じて調整することができる。

30

【0055】

図5A～図5Cでは、マルチスポット照明のための両方の絞り要素31、31'の位置を示している。図5Aに基づく表示では、辺の長さが約240μmの4個のピンホールが提供されている。両方の絞り要素31および31'の図5Bに示した位置では、4個のピンホールは、辺の長さが約120μmである。図5Cに示した位置では、4個すべてのピンホールが閉じられている。ここでもまた、4個のピンホールのサイズをいわば無段階で変更することができ、その際、個々のピンホールは好ましくはそれぞれ同じサイズである。

40

【0056】

代替策として、両方の絞り要素31および31'を、図4A～図4Cおよび図5A～図5Cに示したように開口部32～35、32'～35'の配列を横切って変位させるだけでなく、開口部32～35、32'～35'の配列方向に、したがって図4A～図4Cおよび図5A～図5Cに基づく表示では下から上に変位させることができる。これにより例えば、4個のピンホールを有する共焦点絞りと3個のピンホールを有する共焦点絞りとの間で共焦点絞り9を切り替えることができ、さらに3個または4個のピンホールのサイズを変えることができる。

【0057】

ここで説明した実施形態では、共焦点で検出すべき4個のスポットまたは領域が1本の

50

ライン上にあり、この4個のうちの1個が、単焦点の顕微鏡検査に利用される光学的な主ビームに対応している。ただしこれは必ずしも必要ではない有利な1形態にすぎない。他の配置も可能である。したがって4個のピンホール（または包括的な場合にはn個のピンホール、その際nは1より大きい整数である）を、マトリクスで（および1本のラインに沿わずに）配置することができる。その際、1個のピンホールが、シングルスポット照明用のピンホールに対応することができる。その代わりに別個のピンホールをシングルスポット照明用に設けることができる。

【0058】

両方の絞り要素31および31'はこのままで、従来の検出モジュールに、1チャンネル共焦点絞りの代わりに配置することができる。その際、一方では主スプリッタ4と他方では両方の絞り要素31および31'との間に配置されており、かつ共焦点絞りユニット9の構成要素であるピンホール光学系が、光照射野全体を高い光学品質で伝送することが望ましい。このピンホール光学系はズーム光学系として形成してもよい。これにより、光学的サイズと絞り要素31、31'の機械的開口部の組合せから、様々なピンホールサイズを調整することができる。これによりさらに、試料8でのスポット間隔が可変の場合に同一のピンホール絞りアレイを使用可能なシステムを実現することができる。この場合、もう一方の方向でのスポット間隔の変化は、対応するズーム調整により再び補整するか、またはズーム光学系をスキャナ5の直前に配置する。その際、絞り直径を、共焦点特性が維持され続けるように、一緒に変化させることが有利である。

【0059】

両方の絞り要素31および31'は、例えば弾性ヒンジ、圧電アクチュエータ、リニアガイドを備えたサーボモータもしくはステッピングモータ、または別の手段のような、1つまたは複数の適切なアクチュエータによって移動させることができる。

【0060】

図6には、例としてさらなる絞り要素31、31'を示している。2つのこのような要素の互いに対する相応の配置、ならびに図4A～図4Cおよび図5A～図5Cに関連して説明したような変位により、シングルスポット動作およびマルチスポット動作の間で切り替えることができ、同時に、1つまたは複数のピンホールのサイズを調整することができる。図3および図6に基づく前述の絞り要素31、31'の異なる形態は、ケイ素ベースの絞りを製造する際の異なるエッチング技術または異なるウエハの利用によって結果として生じる。もちろんその他の材料から類似の幾何形状を有する絞りを製造することができ、例えば薄くした金属フィルムのレーザ切断によって製造することができる。

【0061】

シングルスポットおよび/またはマルチスポットが、線状に合焦された1つまたは複数のレーザビームとして存在する場合には、もちろん共焦点絞りのピンホール形状を相応に適合させる。

【0062】

ここで説明したシングルスポット絞りとマルチスポット絞りの間の切替えの原理を、切替え可能な要素によって実現することも可能である。このために、例えば反射性MEMSミラー（MEMS = micro electro mechanical systems = マイクロシステム技術）を実現することができる。この場合、ピンホールは反射性要素によって実現される。したがって本来の意味における開口部が提供されるのではなく、ピンホールとして作用する非常に小さな反射面が提供される。なぜなら1つまたは複数のこの小さな面に当たる光だけが反射され、検出器11内で分析されるからである。

【0063】

検出器11は、ここでは概略的に図7に示しているように、32個の要素28を備えたセンサ列（例えばマルチアノード光電子増倍管）として形成されており、シングルスポット照明では、共焦点に検出された試料放射が、検出器11の32個すべての要素28上にスペクトル分岐されるように利用される。4個のスポットによるマルチスポット照明では、スペクトル検出された4個のスポットがスペクトル分岐され、4個の検出されたスポッ

10

20

30

40

50

トの1個のスポットの領域K1～K4の各々においてスペクトル分岐されるように並んで配置される。つまり、スペクトル検出のための4個のチャンネルK1～K4の1個に対し、それぞれ、検出器11の最大8個の要素28が提供される。

【0064】

この検出を実施できるよう、検出モジュール7内でビーム路を切り替えることができる。図8には両方のビーム路が記入されており、これに関しマルチスポット照明用のビーム路は実線で、シングルスポット照明用のビーム路は主に破線で記入されている。

【0065】

検出モジュール7は、既に述べた共焦点絞り29とピンホール光学系36、共焦点絞り29の後ろに配置されたコリメータ37、望遠鏡光学系を構成する3つのレンズ38、39および40、ビーム経路を折り畳むための2つの方向転換ミラー41、42、セグメントミラー43、直視プリズム44、中空ミラー45、検出光学系46、ならびに検出器11を含んでいる。

【0066】

ここで説明される実施形態では、特定波長に対応するスポット信号を、センサ11のそれぞれ割り当てられた1つの要素28に当てるためには、検出器11上へのマルチスポット照明用のピンホールの結像は18倍の拡大を必要とする。ただし、例えば望遠鏡によって行えるような純粋に光学的な拡大では、検出器11上での結像PSF (Point Spread Function = 点応答) が、同じ率でスケールされる。これは、条件によっては、スペクトルのエッジ急峻度がもう所望のようにもたらされないという結果を生じさせる。これに対処するため、結像が多段階で実施され、その際、第1の段階は例えば古典的な望遠鏡拡大であり、第2の段階は、純粋に幾何的に、n個の束(ここでは4つの束)の間の角度間隔を、これらの束を互いに独立に偏向することによって調整する。これには、束が空間的に離れて存在している軸方向の位置が適切である。これにより、n個の束の間の角度は変化するが、検出器11上での結像品質(例えばPSFサイズ、スペクトルのエッジ急峻度などのような)は変化しないことが望ましい。

【0067】

望遠鏡拡大の第1の段階は、ここでは3つのレンズ38～40によって実施され、その際、レンズ38の焦点距離は88mmであり、レンズ39および40の焦点距離はそれぞれ30.7mmである。これにより束は、直径0.5mmおよび間隔1.0mmで、図9に拡大して示したセグメントミラー43に当たる。セグメントミラー43は、傾斜角度が138'、43'、-43'、および-123'の4つの反射性セグメントまたはファセット50、51、52、53を備えている。ファセット50～53によって反射された個々のビーム束は、例えばアミチプリズムとして形成し得る直視プリズム44を通過し、これにより、束の間の空いている角度間隔がスペクトル情報で満たされ、このスペクトル情報が、中空ミラー45および検出光学系46に基づき、検出器上で結像される。つまり、プリズム44によってスペクトル分岐が実施され、これにより、4個のチャンネルK1～K4の各々に関し、検出器11の8個の要素28にそれぞれスペクトル情報が当たり、この4個のチャンネルK1～K4は並んで配置されており、したがって検出器11の32個すべての要素28が検出に利用される。

【0068】

シングルスポット照明のために、コリメータ37と方向転換ミラー41の間のビーム経路に位置決めし得る方向転換ミラー47が設けられている。この位置は図8に破線で示している。したがって検出された放射はさらなる方向転換ミラー48へと方向転換され、この方向転換ミラー48により、所望のスペクトル分割を実施する格子49へと方向転換される。格子49により、中空ミラー45の方向への方向転換が行われ、これによりその後、ここでも検出光学系46による検出器11上での結像を行うことができる。

【0069】

中空ミラー45は、多焦点および単焦点のビーム路の間で切り替えられるよう、中空ミラー45の視線方向を調整することができる。

セグメントミラー 43 だけでなく、幾何的な角度拡大のための他の手段も可能である。例えば、共焦点絞り 29 の数ミリメートル後にマイクロレンズアレイを配置することができ、この場合、各々のピンホールに、不屈折力を有する 1 つのマイクロレンズが割り当てられる。これによりスポットごとに開口数を拡大することができ、したがって検出面ではより小さなスポットプロファイルが生じる。これに関し、マイクロレンズアレイの軸方向の位置は、レンズ口径のできるだけ少ない過放射（共焦点絞りに対してできるだけ小さい間隔）と、開口数の拡大の効果（より大きな間隔、ビームウエストがピンホールの後ろに引っ張られる）との間の折合い点によって決定される。

【0070】

同様に純粋に幾何的に拡大するよう作用するのが、望遠鏡内の中間像におけるスポットの配置替えである。ここでは望遠鏡（レンズ 38 ~ 40）が、検出器 11 上への共焦点絞りの拡大結像のために提供されており、これに関し、第 1 のレンズ 38 からレンズ 39 の間隔が広げられ、これにより、もうこれまでのようにレンズ 38（第 1 の部分光学系）のフォーカス面が、レンズ 39、40（第 2 の部分光学系）のフォーカス面と重なり合わなくなる。その後、ガラス繊維束または導波構造によってこの配置替えを行うことができる。その際の条件は、第 2 の部分光学系のフォーカス面にあるガラス繊維束または導波構造の繊維の出口が、第 1 の部分光学系のフォーカス面にあるガラス繊維束または導波構造の入口より大きく離隔していることである。

【0071】

図 8 に基づく構造では、例えばセグメントミラー 43 のファセット 50 ~ 53 の過放射により、個々のスポットの信号が光学的に互いに混信する可能性がある。これは、例えばピンホールでの回折効果によって引き起こされる可能性があり、または赤く発光する色素の長波のみ出たスペクトルによって引き起こされる可能性があり、このみ出たスペクトルは、その場合、既に次のスポットの青のチャンネルをも照明している。このスペクトル的に引き起こされる混信は、ビーム経路内にショートパスフィルタ 54 を挿入することにより、または既に設けられている光学要素上での相応に適合された反射防止層および鏡面反射層により、最小限にすることができる。ファセット過放射によって引き起こされた混信は、多焦点のビーム経路のうち、すべてのビームが交差する瞳面に、回折されて予定のビーム路から出た光成分をブロックする絞り 55 を挿入することにより、最小限にすることができる。

【0072】

導波構造の使用も、隣接するピンホールからの回折された光が導波されないように、導波材料の選択により、導波のための受光角を選択することによって、回折に基づく混信を抑制することができる。

【0073】

上で、可能な代替策として説明したようにマルチスポット照明で少なくとも 1 つの部分ビームをブロックする場合、最も簡単な場合では、重要なセンサ要素 28 だけを読み取ることができる。例えば、励起された試料放射が検出器 11 の領域 K4 内で検出される部分ビームをブロックする場合には、領域 K4 のセンサ要素を読み取らず、かつ / または評価しない。

【0074】

図 10 では、検出モジュール 7 の 1 形態が示されており、この形態では、フィルタにより 3 つの異なるスペクトルチャンネルへの分割が行われ、このうち少なくとも 2 つは、そのスペクトル反射特性およびスペクトル透過特性を調整することができる。これは例えば、互いに独立に変位可能で、フィルタエッジのスペクトル位置が移動するエッジフィルタによって実現することができる。第 3 のフィルタは、一定のフィルタ機能を有する定置の要素として、場合によっては広帯域ミラーとしても実施することができる。なぜなら第 3 のフィルタは、スペクトル領域の赤または青の枠外での残りのスペクトル放出だけを反射すればよいからである。

【0075】

10

20

30

40

50

図10に示した例示的实施形態では、両方の調整可能なフィルタ機能が基体60上で実現され、これに関しては図11での図10の細部Aの拡大図で最もよく分かるように、一方のフィルタ機能が基体60の表側61に、第2のフィルタ機能が裏側62に施されている。フィルタ基体60はくさび形の角度を有しており、したがって両方の生成されたスペクトル画像は、最終的に検出器11の異なるセンサ要素上に結像される。フィルタ基体60は、例えば、ビーム軸に対して側方で、2つの直交する方向に変位することができる。この場合、表側61でのフィルタエッジのスペクトル位置の変化は、一方の方向でのフィルタ60の変位によって変化し、フィルタ裏側62でのスペクトルのフィルタエッジは、これに直交する方向での変位の際に変化する。定置の第3のフィルタは、図11では符号63で表されている。

10

【0076】

シングルスポット用のビーム路は、図10および図11では記入されていないが、図8に基づく実施形態の場合と同じやり方で形成することができる。

こうして、3つのフィルタ面によって反射された光は、異なる角度で、それぞれ4つの束(これらの束は4個のピンホールに対応する)からなる3つのスペクトル帯B1、B2、およびB3において、以下のようにフィルタカスケードを出ていく。すなわち後に続く光学系45、46が、検出器11上に、1つのスペクトル帯内で4個のスポット(K1~K4)を1つのセンサ要素28の安全間隔をあけて結像するように出ていく(つまりこの1つの要素は事情によっては読み取られず、図12ではハッチングで示している)。したがって、各々のピンホールの試料放射が3つのスペクトル帯B1~B3に分けられており、図12ではK1、K2、K3、またはK4と称している。スペクトル帯B1、B2、およびB3の互いの間隔は、少なくとも1つの要素である(図12ではハッチングで示している)。それゆえ図12に基づく検出器11は、35個のセンサ要素28を備えている。もちろんスペクトル帯B1~B3の互いの間隔は複数のセンサ要素28であってよい。好ましいのは、少なくとも4~5個の要素28の間隔である。この場合、検出器11はもちろん対応する数のセンサ要素28を備えている。したがって、スポット間での、およびスペクトルチャンネルB1~B3の間での、光学的および電子的な混信は事実上あり得ない。

20

【0077】

フィルタに基づく実施形態は、もちろん、例えば図7に示しているような32区画のマルチアノード光電子増倍管11を利用できるようにも構成することができる。各々のスポットのために、スペクトル帯B1~B3につき1つのセンサ要素だけを割り当てれば、スペクトルチャンネルの間隔も設けることができ、すなわち最少のピクセル化としては、 $4 \times (3色) \times 2 (1要素の安全間隔のため) = 24$ 個のセンサ要素28である。これには、Hamamatsuの市販のマルチアノード光電子増倍管(H7260-200)を用い得るという利点がある。もちろん、残った8個のセンサ要素($32 - 24 = 8$)をさらに、利用しているセンサ要素28の間隔として利用してもよい。

30

【0078】

スペクトル帯B1~B3の束が明らかに互いから分離した後のところに、透過フィルタ64、65、66(例えばスペクトル帯B1~B3ごとに1つずつの透過フィルタ64、65、66)を取り付けることができ、これらの透過フィルタのフィルタ特性は、エッジフィルタ(好ましくはショートパスフィルタ)としてか、またはバンドパスフィルタとして設計されている。透過フィルタ64~66は、例えば、図10に記入しているように中空ミラー45と検出光学系46の間の位置に配置することができる。透過フィルタ64~66はさらに、一方では透過フィルタをビーム経路の外に完全に回転させ得るために、好ましくは基体のエッジを中心に回転可能に(矢印P1によって示唆した)配置されている。この場合、透過フィルタ64~66は単焦点動作を邪魔しない。他方ではこれにより、それぞれのスペクトル領域の赤のフランク面のスペクトル位置が調整可能になる。これには、とりわけSemrock Inc.社のVersaChromeフィルタの使用が有利である。なぜならこれらのフィルタは、非常に大きな角度範囲にわたってp偏光とs偏光の間隔を示さず、したがって蛍光を、両方の偏光方向に対して均一に、高感度で、

40

50

かつ正確な帯域幅で検出することができるからである。これにより、チャンネルフランク面の80~100nmの変位を実現することができる。したがってこの検出チャンネルの帯域幅をほぼ無段階に調整することができ、これにより例えば自己蛍光を効率的にブロックすることができる。

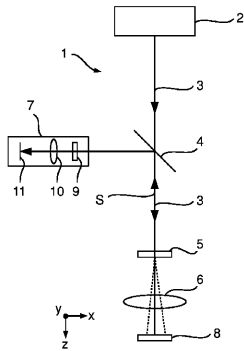
【0079】

フィルタリングの可変性を達成するさらなる可能性は、直線状の蛍光励起のための共焦点顕微鏡の90%強がそうあるように、光走査型顕微鏡1が、ことに固定波長のレーザを装備している場合に提供される。この場合、そもそも可能なレーザ組合せだけの組合せ方に適合したフィルタエッジの組合せを、表側および裏側61、62に施すことができ、これに基づき、可算個のフィルタ組合せが生じる。フィルタ機能は、好ましくはロングパスフィルタとして実施されている。ただしショートパスフィルタも用い得ることが有利である。

10

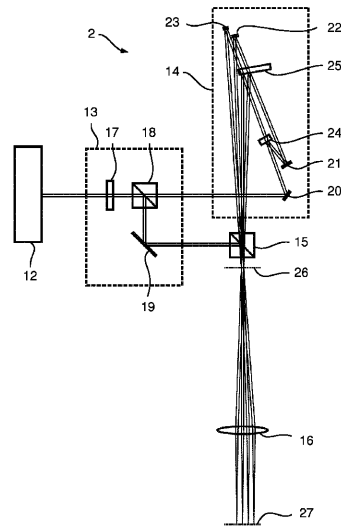
【図1】

Fig. 1



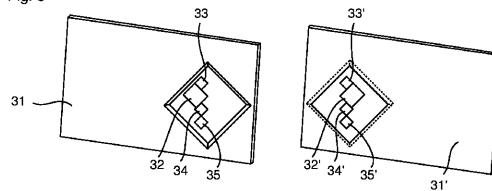
【図2】

Fig. 2

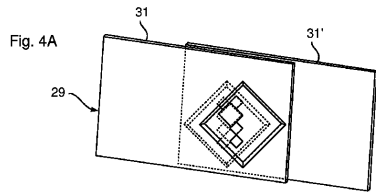


【図3】

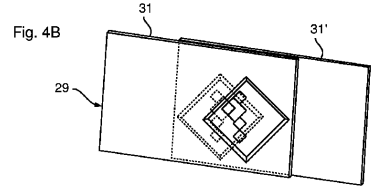
Fig. 3



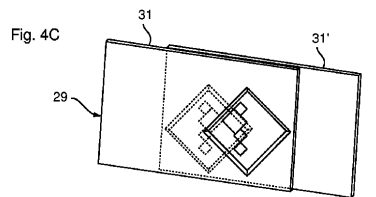
【 4 A 】



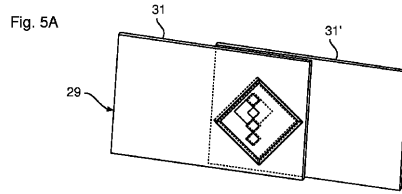
【 4 B 】



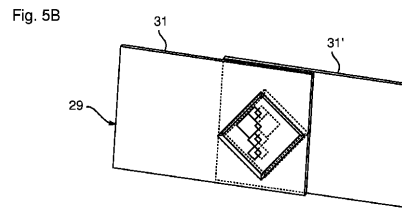
【 4 C 】



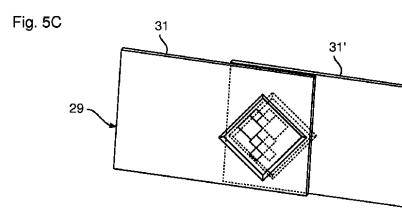
【 5 A 】



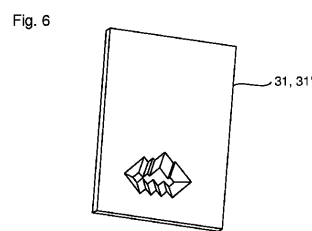
【 5 B 】



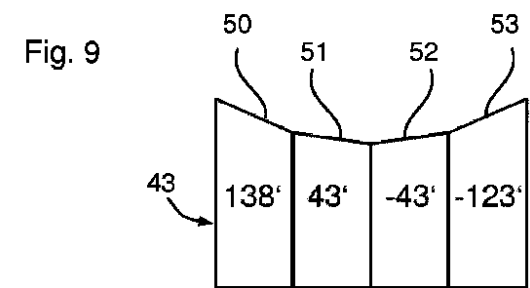
【 5 C 】



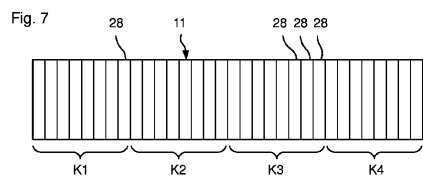
【 6 】



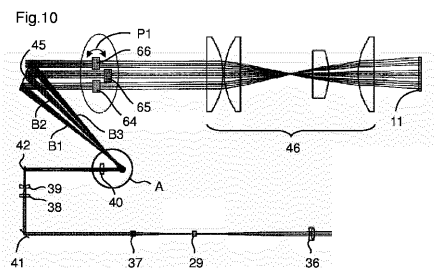
【 9 】



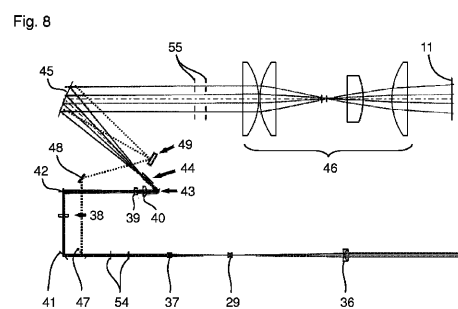
【 7 】



【 10 】

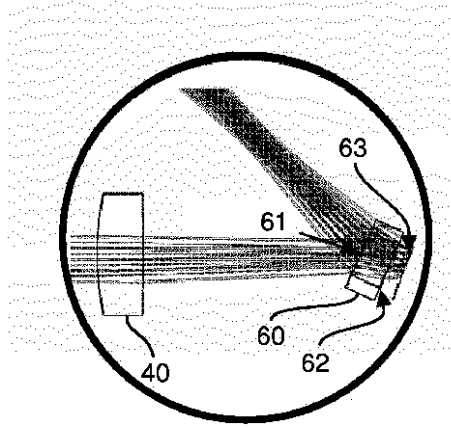


【 8 】



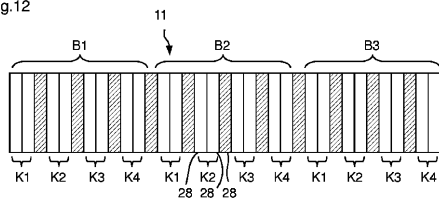
【 図 1 1 】

Fig.11



【 図 1 2 】

Fig.12



フロントページの続き

- (72)発明者 アンフォート、ティーム
ドイツ連邦共和国 07743 イェナ フォン-ハーゼ-ヴェーク 10
- (72)発明者 シュヴェート、ダニエル
ドイツ連邦共和国 99423 ヴァイマル プレラー-シュトラッセ 9
- (72)発明者 ヴォレシエンスキー、ラルフ
ドイツ連邦共和国 07743 イェナ リカルダ-フッフ-ヴェーク 26
- (72)発明者 ウィッティヒ、ラーズ-クリスティアン
ドイツ連邦共和国 07745 イェナ アム ヒルシュベルゲ 3
- (72)発明者 プライサー、ウルリッヒ
ドイツ連邦共和国 07745 イェナ フィヒテプラッツ 1

審査官 堀井 康司

- (56)参考文献 米国特許出願公開第2002/0141051(US, A1)
米国特許出願公開第2011/0261367(US, A1)
特開2008-286624(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G02B 19/00 - 21/00
G02B 21/06 - 21/36