



## (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107003506 B

(45)授权公告日 2020.05.05

(21)申请号 201580061544.1

(22)申请日 2015.11.11

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 107003506 A

(43)申请公布日 2017.08.01

(30)优先权数据  
102014017001.2 2014.11.12 DE

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2017.05.12

(86)PCT国际申请的申请数据  
PCT/EP2015/076338 2015.11.11

(87)PCT国际申请的公布数据  
WO2016/075195 DE 2016.05.19

(73)专利权人 卡尔蔡司显微镜有限责任公司  
地址 德国耶拿  
专利权人 卡尔蔡司股份公司

(72)发明人 D.施韦特 T.安胡特 M.沃尔德  
B.贝姆 T.考夫霍尔德

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所  
11105

代理人 王蕊瑞

(51)Int.Cl.  
G02B 21/00(2006.01)  
G02B 26/10(2006.01)

(56)对比文件  
WO 2008037346 A1, 2008.04.03, 说明书第  
2-9页, 附图1-3.  
US 2003230710 A1, 2003.12.18, 说明书第  
88, 89段.  
CN 103890633 A, 2014.06.25, 全文.  
CN 101614872 A, 2009.12.30, 全文.  
CN 101116023 A, 2008.01.30, 全文.

审查员 杜乃锋

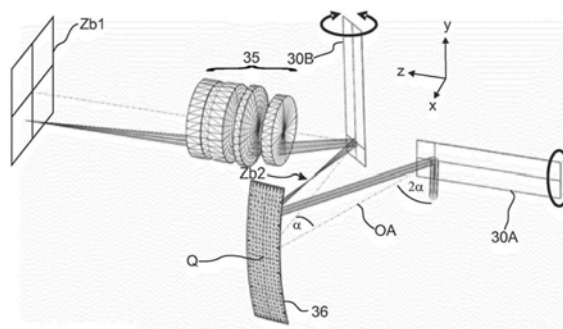
权利要求书2页 说明书11页 附图7页

### (54)发明名称

具有低畸变像差的显微镜

### (57)摘要

光扫描显微镜中的束偏转单元通常布置在与物镜光瞳共轭的平面中。产生共轭光瞳平面所需的扫描光学单元是复杂的,并且不是光高效的,因为扫描光学单元需要补偿不同的成像误差,比如场曲和横向色差。本发明解决的问题是,允许较高图像质量、较简单调整和较低光损失。该问题通过以下解决,光学系统包括凹面反射镜(36),用于将第一束偏转单元(30A)的各点和第二束偏转单元(30B)的相应点成像至彼此,其中凹面反射镜(36)和第一束偏转单元(30A)和第二束偏转单元(30B)布置为使得照明束路径在凹面反射镜(36)处精确反射一次,并且在照明束路径在凹面反射镜处反射时由凹面反射镜(36)造成的第一畸变和由第一束偏转单元和第二束偏转单元(30A, 30B)造成的图像的第二畸变至少部分彼此补偿。



1. 一种显微镜(10),包括光学系统,所述光学系统限定照明束路径并且包括以下部件:
  - 光源(22、23、24、25、26),所述光源提供光分布,
  - 显微镜物镜(21),包括光瞳平面(PE)和焦点,
  - 扫描光学器件(35),产生与所述显微镜物镜(21)的所述光瞳平面(PE)共轭的光瞳平面(PE'),
  - 至少两个可变可调的束偏转单元(30A、30B),以及
  - 凹面反射镜(36),将至少可变可调的第一束偏转单元和可变可调的第二束偏转单元(30A、30B)的各自的点成像到彼此上,

其中所述光学系统将所述光分布中的至少一个点和所述焦点的相应点成像到彼此上,其中第一中间像光学地位于所述显微镜物镜与所述扫描光学器件之间,其中所述第二束偏转单元(30B)布置在所述共轭光瞳平面(PE')中,

其特征在于,所述凹面反射镜(36)与所述第一束偏转单元(30A)和所述第二束偏转单元(30B)布置为使得所述照明束路径在所述凹面反射镜(36)处精确地反射一次,并且由所述凹面反射镜(36)造成的第一畸变和所述成像的第二畸变至少部分彼此补偿,所述第二畸变由所述第一束偏转单元和第二束偏转单元(30A、30B)造成,

其中所述凹面反射镜(36)和所述第一束偏转单元(30A)和所述第二束偏转单元(30B)布置为用于所述第一畸变和所述第二畸变的补偿,使得在所述第一束偏转单元和第二束偏转单元(30A、30B)的零位置,所述照明束路径的光轴(OA)在所述第一束偏转单元(30A)上的平面反射角的大小为所述光轴(OA)在所述凹面反射镜(36)处的平面反射角的大小的两倍。

2. 如权利要求1中所述的显微镜,其中精确的一个凹面反射镜(36)布置在所述照明束路径中,光学地在所述第一束偏转单元(30A)与所述第二束偏转单元(30B)之间。

3. 如权利要求2所述的显微镜,其中仅所述凹面反射镜(36)布置在所述照明束路径中,光学地在所述第一束偏转单元(30A)与所述第二束偏转单元(30B)之间。

4. 如前述权利要求中任一项所述的显微镜,其中所述凹面反射镜(36)的曲率半径对应于所述凹面反射镜(36)与所述第一束偏转单元(30A)之间的光学路径长度和所述凹面反射镜(36)与所述第二束偏转单元(30B)之间的光学路径长度。

5. 如权利要求4中所述的显微镜,其中所述凹面反射镜具有球形形状。

6. 如权利要求5所述的显微镜,其中所述凹面反射镜(36)的曲率中心位于所述第一束偏转单元(30A)与所述第二束偏转单元(30B)之间。

7. 如权利要求5所述的显微镜,其中所述凹面反射镜(36)的曲率中心位于围绕所述凹面反射镜(36)的中央入射点(Q)的圆弧上,所述圆弧行进穿过所述光学系统的光轴(OA)在所述第一束偏转单元和第二束偏转单元(30A、30B)上的入射点。

8. 如权利要求7所述的显微镜,其中所述凹面反射镜(36)的曲率中心位于所述圆弧的中心。

9. 如前述权利要求1至3中任一项所述的显微镜,其中所述光学系统具有补偿像散的光学器件(41),在所述光源(22、23、24、25、26)与所述第一束偏转单元(30A)之间。

10. 如权利要求9所述的显微镜,其中所述补偿像散的光学器件(41)为圆柱透镜。

11. 如权利要求1至3中任一项所述的显微镜,其中所述扫描光学器件(35)经由所述第二束偏转单元(30B)将所述第一中间像(Zb1)成像到第二中间像(Zb2),所述第二中间像

(Zb2) 空间上弯曲, 其中所述第二中间像 (Zb2) 光学地位于所述凹面反射镜 (36) 与所述第二束偏转单元 (30B) 之间, 并且所述凹面反射镜 (36) 布置为使得所述凹面反射镜 (36) 将从所述第一束偏转单元 (30A) 到达所述凹面反射镜 (36) 的准直光束聚焦到所述第二中间像 (Zb2)。

12. 如前述权利要求11中所述的显微镜, 其中所述第二中间像 (Zb2) 同心地围绕所述第二束偏转单元 (30B)。

13. 如权利要求1至3中任一项所述的显微镜, 其中所述扫描光学器件 (35) 准直来自所述第一中间像 (Zb1) 的光束, 并且随后将所述光束经由所述第二束偏转单元 (30B) 引导到所述凹面反射镜 (36) 上, 所述凹面反射镜 (36) 布置为使得所述凹面反射镜 (36) 将以此方式准直的光束聚焦到第二中间像 (Zb2), 所述第二中间像 (Zb2) 围绕所述第二束偏转单元 (30B) 同心, 并且光学地位于所述凹面反射镜 (36) 与所述第一束偏转单元 (30B) 之间。

14. 如前述权利要求1至3中任一项所述的显微镜, 其中所述第一束偏转单元 (30A) 为可旋转的, 使得所述照明束路径的所述光轴 (OA) 可偏转离开由所述第一束偏转单元 (30A) 上的所述光轴 (OA) 的入射方向和所述显微镜物镜 (21) 的光轴 (OA') 所跨越的平面。

15. 如前述权利要求1至3中任一项所述的显微镜, 包括: 第三束偏转单元, 所述第三束偏转单元可逆地可移动到所述照明束路径中; 以及可变可调第四束偏转单元, 所述第三束偏转单元和所述可变可调第四束偏转单元布置为使得在所述照明束路径中的所述第三束偏转单元的位置, 所述照明束路径经由所述第三束偏转单元行进到所述第四束偏转单元, 从该处回到所述第三束偏转单元且经由所述凹面反射镜 (36) 到所述第二束偏转单元 (30B)。

16. 如前述权利要求1至3中任一项所述的显微镜, 其中所述光学系统包括中继光学器件, 所述中继光学器件用于产生其他共轭光瞳平面。

17. 如权利要求16所述的显微镜, 其中所述中继光学器件包括用于产生光的预定和/或可变光瞳分布的装置, 或包括用于产生傅里叶变换平面中的预定和/或可变场分布的装置。

18. 如前述权利要求1至3中任一项所述的显微镜, 其中所述第一束偏转单元 (30A) 的旋转轴与所述第二束偏转单元 (30B) 的旋转轴正交或至少近似正交。

## 具有低畸变像差的显微镜

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种包括光学系统的显微镜,该光学系统限定照明束路径并且包括以下部件:光源,其提供(空间上定界的)光分布;包括光瞳平面和(物侧)焦点的显微镜物镜;产生与显微镜物镜的光瞳平面共轭的光瞳平面的扫描光学器件;至少两个可变可调的(相对于各自的偏转方向)束偏转单元;以及将第一束偏转单元和第二束偏转单元的(至少一个)相应点成像到彼此上的凹面反射镜,其中光学系统将光分布中的至少一个点和(显微镜物镜的)焦点的相应点成像到彼此上,其中(平面的或至少实质上平面的)第一中间像光学地位于显微镜物镜与扫描光学器件之间,其中第二束偏转单元布置在共轭光瞳平面中。由凹面反射镜的成像提供其他共轭光瞳平面,其他共轭光瞳平面中布置第一束偏转单元。

### 背景技术

[0002] 在本发明的含义内,光是由光学装置可操纵的任意形式的电磁辐射,尤其包含红外和紫外辐射。为了提供光分布,光源可以特别包括光学波导和/或束成形器。光源可以还包括强度调节器。光源的光分布可以为二维或三维的且在此具有不同形状,例如单独的例如点状或线性区域,或单独的例如球形或棒状体积,或多个分开的例如点状或线性区域或相应的例如球形或棒状体积。束偏转单元也称为扫描仪。

[0003] 例如在T.R.Corle和G.S.Kino的“Confocal Scanning Optical Microscopy and Related Imaging Systems”(Academic Press,1996年,214页)中描述了用于显微镜中的扫描光的束偏转单元的已知布置的综述。扫描光学器件在该文中称为“扫描物镜”(背离“扫描透镜”,本来惯用的术语)。其提供了束偏转单元的位置处的准直的共轭光瞳平面。扫描光学器件与管透镜的组合称为传输光学器件。

[0004] 将(一个或多个)偏转单元布置在(各自的)共轭物镜光瞳中有利地使得可以在其他共轭光瞳中提供静止的(resting)束截面。因此,可以高精度操纵波前,像US 2003/230710 A1中或W0 2008/037346 A1中一样。此外,以此方式,通过光学器件处的渐晕(vignetting)的边缘光线截止(stop down)是最小的。

[0005] 然而,所描述的显微镜的缺点是产生共轭光瞳平面所需的扫描光学器件是复杂的且不是光高效的,因为其需要补偿不同图像像差,比如像场曲和横向色差,以允许高成像质量。此外,由于共轭光瞳平面与扫描光学器件之间的小的距离,对于偏转单元有很小的可用安装空间。

[0006] 在现有技术中,介绍中所提及且包括两个环面(toric)凹面反射镜的类型的显微镜例如以名称“BIO-RAD Radiance2100”和从W0 90/00755 A1已知。其主要缺点是受限的图像质量、调整的高敏感度以及制造环面反射镜的高成本。具有偏转单元的微电子机械驱动器的对应的布置从例如US 2013/107338 A1已知。

[0007] US 2010/0208319 A1中所描述的布置仅部分地解决此问题,并且其缺点是中间焦点位于凸面反射镜上,使得所述反射镜的像差直接成像到样品中。

[0008] 由于两个凹面反射镜或单独的凹面反射镜处的双重反射,上面所提及的两种方案

仍具有相对高的光损失。

## 发明内容

[0009] 本发明基于改善介绍中所提及的类型的显微镜的目标,使得可以获得较高图像质量、较简单的调整和较低的光损失。此外,在特定的配置中,意图是在必要的成本方面的较低花费。

[0010] 通过具有权利要求1中指定的特征的显微镜实现该目标。在从属权利要求中指定了有利配置。

[0011] 根据本发明,提供凹面反射镜和第一束偏转单元和第二束偏转单元,其布置为使得照明束路径在凹面反射镜处精确反射一次,并且由凹面反射镜造成的第一畸变和成像(光分布-焦点)的第二畸变至少部分地彼此补偿,所述第二畸变由第一束偏转单元和第二束偏转单元造成。

[0012] 凹面反射镜具有消色差效应。以此方式,能够在很少光学支出的情况下,尤其是界面的数目小的情况下,提供其他共轭光瞳平面。畸变的相互补偿使得能够仅用一个成像元件在几乎没有像差的情况下将具有束偏转单元的共轭光瞳成像到彼此上。以此方式,可以不仅有成本效益地且以光高效的方式,而且可以在简单调整的情况下,实现照明(并且在显微成像的相反方向上,用耦合的检测束路径)的较高图像质量。可以很大程度上省去附加的校正光学器件,其使得允许较简单的调整和较低的光损失。此外,两个共轭光瞳同等有效。这意味着能够以单独可限定的角速度驱动两个束偏转单元,因此任意期望的像场角度是可调的。即,可以继续实施像场旋转,比如没有成像的情况下此前在布置中的已经可以的。在此情况下,方便地将恰好一个凹面反射镜布置在照明束路径中,光学地在所述两个束偏转单元之间。如果仅将凹面反射镜(而没有其他光学有效表面)布置为光学地在所述两个束偏转单元之间,则是尤其有利的。在这些实施例中,由于光学界面的数目小,光损失尤其低。

[0013] 优选地,布置凹面反射镜以及第一束偏转单元和第二束偏转单元,用于第一畸变和第二畸变的补偿,使得处于第一束偏转单元和第二束偏转单元的零位置的第一束偏转单元上的照明束路径(静态,来自光源)的光轴的平面反射角的大小为凹面反射镜处的光轴的平面反射角的大小的两倍。当两个束偏转单元将来自光源的静态照明束路径的光轴关于显微镜物镜的光轴同轴地引导到显微镜物镜中时,两个束偏转单元在零位置。换言之:在凹面反射镜与第一束偏转单元共同的坐标系中,第一束偏转单元的旋转轴与凹面反射镜在其主轴上的或(光分布与第一束偏转单元之间的)光学系统的光轴上的表面法线之间的角度为 $90^\circ + \alpha/2$ ,其中 $\alpha$ 是凹面反射镜处的入射光线与反射光线之间的角度。因为作为由反射镜成像的结果和作为扫描过程的结果产生的具有相反符号的几乎相同的场畸变,此配置允许畸变的特别广泛的相互补偿。

[0014] 在此情况下,特别优选的实施例中,凹面反射镜的曲率半径对应于(球形凹面反射镜情况下的曲率半径)凹面反射镜与第一束偏转单元之间的光学路径长度和凹面反射镜与第二束偏转单元之间的光学路径长度。对于第一束偏转单元处的任意偏转角度,此配置允许畸变的特别广泛的相互补偿和最小的成像像差。

[0015] 有利地,凹面反射镜可以具有球形形状,并且凹面反射镜的曲率中心可以位于第一束偏转单元与第二束偏转单元之间,尤其是在围绕凹面反射镜的中央入射点(由在第一

束偏转单元和第二束偏转单元的零位置,凹面反射镜上的光轴的位置限定)的圆弧上,圆弧行进穿过光学系统的光轴在第一束偏转单元和第二束偏转单元(在其零位置)上的入射点,尤其是在所述圆弧的中心。在关于成本的尤其很少的花销的情况下,球形凹面反射镜是可用的。通过特定布置和对准实现最大畸变补偿。

[0016] 由于凹面反射镜上的照明束路径的倾斜入射,在球形凹面反射镜的情况下产生像散。为降低或避免所述像散,凹面反射镜可以具有环面形状(圆环(torus)片段的表面形状)。在此,凹面反射镜优选地具有第一曲率半径和第二曲率半径,第一曲率半径小于中间像的曲率半径乘以因子 $\cos$ (入射角)的二倍,第二曲率半径大于中间像的曲率半径乘以因子 $\cos$ (入射角)的二倍。优选地,属于第一曲率半径的第一曲率围绕平行于第一束偏转单元的旋转轴的轴延伸,并且属于第二曲率半径的曲率正交于第一曲率延伸。较低成本的实施例中,光学系统(尤其是在凹面反射镜具有球形形状的情况下)具有用于补偿像散的光学器件,例如圆柱透镜,在光源与第一束偏转单元之间。

[0017] 在两个可替代实施例中的第一个中,扫描光学器件经由第二束偏转单元(其反射表面)将第一中间像成像到第二中间像中,其为空间上弯曲的,其中第二中间像光学地位于凹面反射镜与第二束偏转单元之间,并且凹面反射镜布置为使得将到达凹面反射镜的准直的光束从第一束偏转单元聚焦到第二中间像中。这允许束偏转单元和扫描光学器件的紧凑布置。优选地通过将凹面反射镜布置在与第一共轭光瞳的距离为凹面反射镜的曲率半径处,可以在相同距离处提供(经由弯曲第二中间像)高度精确的图像,与场角度无关。在此情况下,扫描光学器件方便地免于像场曲校正,使得其实现为相似于目镜。这降低关于显微镜总体的成本的花费。

[0018] 因此,与现有技术对比,偏转单元(的反射表面)不再布置在检测束路径的准直的区段中,而是相反地布置在会聚区段中。传输光学器件实施为使得如果移除第二束偏转单元,将产生第一中间像平面的实弯曲像。中间像的空间曲率允许通过扫描光学器件提供共轭光瞳平面,扫描光学器件与常规准直扫描物镜相比已经显著简化,尤其是没有像场曲的校正,然而具有总体光学系统的相同成像质量。在此情况下,特别地,可以省略此前为了平面化目的已经惯用的具有负焦距/折射力的(近场)透镜(W.J.Smith:“Modern Lens design”,McGraw-Hill,1992,22章,411页)。就其光学性质和质量而言,这样的扫描光学器件仅需要对应于目镜而非常规扫描物镜。那么,第二中间像的曲率半径优选地对应于偏转单元与第一中间像的焦位置之间的距离。此外,也可以将横向色差的校正在补偿系统含义之内的扫描光学器件与管透镜之间分配,意味着扫描光学器件的进一步简化。方便地,显微镜可以具有这样的实施例,扫描光学器件和管透镜关于横向色差彼此补偿。

[0019] 在激发辐射与样品的非线性相互作用的情况下,此布置尤其有利。在此,各自的光瞳中的多个束偏转单元的常规布置的情况下,样品中的光发射与强度的二次相关性(双光子激发的情况下)或三次相关性(在三次谐波激发或三光子激发的情况下),使得不成像在彼此上的偏转单元导致像场照明中的问题。扫描物镜的上游的偏转单元的物理距离将被成像到物镜光瞳中,且轴向放大率随着横向放大率二次地增长。这导致非静态光瞳,其导致依赖于场的激发强度。非线性光学器件(NLO)中的这些问题可以通过将束偏转单元布置在非准直的光瞳中来避免,因为这允许偏转单元以光高效布置成像在彼此上。典型地,在此情况下不通过束偏转单元提供荧光检测,而是已经在上游在所谓的“非退扫描”束路径区段中提

供。然而,由于布置在激发方向上与在检测方向上等同有效,在此情况下也可以获得光瞳的干净的成像。

[0020] 优选地,第二中间像为球形弯曲或至少实质上球形弯曲,尤其是具有扫描光学器件的单倍焦距与两倍焦距之间的曲率半径。优选地,中间像的曲率半径与偏转单元(的反射表面的中点)与第二中间像之间的距离相同。

[0021] 优选地,在此第一实施例中,弯曲的第二中间像同心围绕第二束偏转单元。因此,在球形弯曲的中间像的情况下,与第二束偏转单元的位置无关,焦点位于由中间像形成的球形表面上。以此方式,不需要用于校正像场曲的任何光学器件,尤其是作为扫描光学器件的一部分。

[0022] 有利地,凹面反射镜的曲率半径 $R_H$ 可以为第二中间像的曲率半径 $R_{ZB}$ 的尺寸的两倍,使得平面波前存在于凹面反射镜的下游(在换能器侧上)。以此方式,第二共轭光瞳位于准直的束路径区段中,并且两个共轭光瞳中的束直径相同。方便地,那么凹面反射镜布置为使得来自显微镜物镜的焦点的光线(穿过第二中间像)彼此平行延伸在凹面反射镜的下游,优选地也平行于其中第一偏转单元能够偏转进入光的平面,并且关于凹面反射镜的中心轴倾斜。凹面反射镜与弯曲的中间像之间的距离 $A$ 则等于中间像的半径, $R_H:R_H=2 \cdot R_{ZB}=2 \cdot A$ 。从而,协同弯曲的第二中间像,能够以很少的花销实现光学系统的尤其高的成像质量。然而,如果凹面反射镜曲率半径 $R_H$ 以差 $D$ 偏离中间像半径 $R_{ZB}$ 的两倍,在凹面反射镜的下游也可能存在不为零的波前曲率。对于凹面反射镜半径 $R_H=2 \cdot R_{ZB}+D$ ,凹面反射镜与中间像之间的距离 $A$ 为 $A=R_{ZB}+D$ 。此外,第一束偏转单元上的和第二束偏转单元上的束直径可能不同,例如在成像比例不等于1:1的情况下。

[0023] 然而,凹面反射镜的曲率半径 $R_H$ 也可能偏离中间像的曲率半径 $R_{ZB}$ 的两倍。将具有曲率半径 $R_H=A$ 的凹面反射镜布置在例如距弯曲的中间像距离 $A/2$ 处,使得光轴上的光是准直的(当束偏转单元在它们的中间位置时)。

[0024] 在第二可替代实施例中,扫描光学器件将来自第一中间像的光束准直,并且后续将它们经由第二束偏转单元(其反射表面)引导到凹面反射镜上,该凹面反射镜布置为使得凹面反射镜将以此方式准直的光束聚焦到第二中间像中,第二中间像尤其是围绕第二束偏转单元同心,并且光学地位于凹面反射镜与第一束偏转单元之间。此实施例使得可用常规扫描光学器件使用根据本发明的畸变补偿。

[0025] 方便地,显微镜可以包括照明光学器件和/或检测光学器件,照明光学器件用于将光分布成像到中间像中,尤其是成像到第二中间像中或成像到第三或其他中间像中,检测光学器件用于将中间像(尤其是第二中间像或第三或其他中间像)成像到光电换能器上。

[0026] 特别地,光学系统可以包括分束器,将分束器布置在照明束路径中和检测束路径中,使得来自焦点的光从照明束路径分离到光电换能器。

[0027] 方便地,光学系统可以包括准直光学器件(在照明束路径中或在检测束路径中),准直光学器件在束偏转单元远离扫描光学器件的一侧上。以此方式,可以很少的花销进行对束的进一步操纵和最终检测。

[0028] 方便地,第一束偏转单元为可旋转的,使得照明束路径的光轴可偏转离开由第一束偏转单元上的光轴的入射方向与显微镜物镜的光轴所跨越的平面。

[0029] 本发明还包含包括第三束偏转单元和可变可调的第四束偏转单元的显微镜,第三

束偏转单元可逆地可移动到照明束路径中,第三束偏转单元和第四束偏转单元布置为使得在位于照明束路径中的第三束偏转单元的位置,照明束路径经由第三束偏转单元行进到第四束偏转单元,从该处回到第三束偏转单元且经由凹面反射镜到第二束偏转单元。如果第三束偏转单元设置在照明束路径之外,如上所述的,照明束路径行进经由第一束偏转单元,凹面反射镜和第二束偏转单元。以此方式,可以很少的花销在不同扫描模式之间改变。第四束偏转单元可以为例如共振振荡反射镜,而第一束偏转单元为检流计反射镜,或反之亦然。这允许固定细胞、活体细胞或细胞群以及小动物的研究中或在筛选应用中的灵活用途。在操纵实验(比如FRAP)中,从而允许从样品的操纵(漂白)到在高图像更新率下的成像的快速切换,以测量漂白过程终止之后的荧光信号的快速升高。为此,第三束偏转单元可以是关于偏转方向可变可调的;然而,第三束偏转单元也可以反之具有静态取向。通过平移和/或旋转运动,第三束偏转单元可移动到照明束路径中,为平移和/或旋转运动的目的,第三束偏转单元可以具有对应的驱动器。

[0030] 优选地,仅第一配置具有根据本发明的畸变补偿,第一配置中,凹面反射镜和第二束偏转单元并入到照明束路径中。第四束偏转单元可以包括例如以共振振荡可操作的反射镜(“共振扫描仪”),但也可以涉及检流计反射镜。

[0031] 凹面反射镜(尤其是它的反射表面)具有环面形状(圆环(torus)区段的表面形状),本发明还包含其他形状。因此,可以降低由倾斜入射产生的像散。在此,凹面反射镜优选地具有第一曲率半径和第二曲率半径,第一曲率半径小于中间像的曲率半径乘以因子 $\cos$ (入射角)的两倍,第二曲率半径大于中间像的曲率半径乘以因子 $\cos$ (入射角)的两倍。优选地,属于第一曲率半径的第一曲率围绕平行于第一束偏转单元的旋转轴的轴延伸,并且属于第二曲率半径的曲率正交于第一曲率延伸。

[0032] 其中扫描光学器件中的一些或全部沿着照明束路径的光轴可位移的配置是尤其优选的。特别地,它们可以包括电驱动器,用于位移扫描光学器件的可位移部分或整体。因为轴向位移,能够以很少的支出设置共轭光瞳相对于第二偏转单元的位置(距离),而之前,仅在束偏转单元上设置和固定一次扫描光学器件的位置,用于调整焦点位置且从而调整准直。因此,尤其是可以补偿例如当互换显微镜物镜时发生的光瞳漂移。在此,共轭光瞳的轴向位置随着第一偏转单元与物镜光瞳之间的成像比例的平方变化。在此,很大程度上保持了中间像平面中的焦点位置,以及从而还在物体平面中的焦点位置。

[0033] 优选地,实施扫描光学器件,使得其成像(从第一中间像到第二中间像中)具有0.8与1.2之间,尤其是在0.9与1.1之间,尤其是精确地为1的放大率因子。以此方式,第一中间像的位置以及因此样品侧焦平面以高精度保持不变。在扫描光学器件的从虚物体到第一中间像1:1成像的情况下(焦点偏移的抛物线范围),最佳地保持焦点。

[0034] 其中显微镜物镜以沿着光轴可位移的方式布置和/或布置在物镜更换器中,尤其是包括用于位移显微镜物镜和/或用于互换显微镜物镜的电驱动器的实施例是有利的。因此,当以不变的高成像质量测量时的高灵活性与不同物镜的不同光瞳位置的适应性结合是可能的。

[0035] 优选地,第一束偏转单元和/或第二束偏转单元具有微电子机械系统,用于设置束偏转。相似于US 7,295,726 B1中的,这可以提供围绕两个不同轴的旋转能力,尤其是这些轴的(静态)交叉点的位置在反射表面(偏转来自扫描光学器件的束)中,尤其是此交叉点的



布置在检测束路径的光轴上。基于MEMS的扫描仪具有显著较低的反射镜质量,并且因此具有能够快速以任何方式并以高精度倾斜的优点。作为示例,束偏转单元中的一个可以为基于MEMS的反射镜,其仅围绕恰好一个旋转轴可调,并且另一束偏转单元可以为检流计扫描仪。在此,检流计扫描仪也可以共振操作。

[0036] 方便地,光源为激光器。作为示例,其可以为可调谐激光器。

[0037] 光学系统可以有利地包括中继光学器件,用于产生其他(第三)共轭光瞳平面。用于产生预定且优选地可变的光的光瞳分布的装置可以布置在所述光学器件中。因此,振幅和/或相位的修改可以传到显微镜物镜的光瞳平面中。可替换地,光学系统可以包括用于在傅里叶变换平面中产生场分布的装置,场分布能够经由凹面反射镜以及第一束偏转单元和第二束偏转单元的成像布置传到样品中。相对于中间像,在此可以有上至近似扫描光学器件与管光学器件之间的未校正的中间像中的标称像场尺寸的1/3的大数值。这样的装置使得不仅可以1至N个分开的光束,还可以将其他一维或二维光分布(比如图像或激发图案)传到样品中。

[0038] 在优选的实施例中,可变可调的波前调节器布置在其他(第三)共轭光瞳平面中,例如WO 2008/037346 A1中的。从而可以执行照明束的相位操纵,因为在扫描过程期间,发光点在光瞳平面中是静态的。作为示例,可以通过波前调节器在因此提供的最大调节摆程内,进行样品侧焦平面沿着光轴(z方向上的)的调整和因此样品在深度中的扫描。协同二维可变的第一束偏转单元,这允许测量位置的三维位移和因此样品的三维扫描。

[0039] 作为焦点沿着光轴位移的替代方案,空间解析的可调波前调节器也可以用来补偿位置相关的成像像差,成像像差由例如一个或多个样品性质的局部变化产生。为此,显微镜可以包括控制单元,控制单元记录样品的至少一个图像,并且基于样品的影响图像的至少一个预定性质,尤其是样品中的性质的实际分布,以及基于图像,建立用于波前调节器的操纵变量(并且相应地设定波前调节器)。特别地,控制单元可以基于图像建立样品性质的测量的分布,并且建立操纵变量,使得例如通过曲线拟合使测量的分布与实际分布之间的偏差最小。

[0040] 优选地,第一束偏转单元(30A)的旋转轴正交或至少近似正交于第二束偏转单元(30B)的旋转轴。

[0041] 显微镜优选地为光扫描显微镜,尤其是共焦光扫描显微镜,或光片显微镜,例如US 7,787,179 中所描述的。在光扫描显微镜的情况下和在光片显微镜的情况下,检测束路径可以行进穿过相同的显微镜物镜(例如在通过分束器从照明束路径分离的情况下),或穿过分开的检测物镜。

## 附图说明

[0042] 在下面基于示例性实施例更详细解释了本发明。

[0043] 在附图中:

[0044] 图1示出了根据本发明的具有传输光学器件的光扫描显微镜,

[0045] 图2和图3示出了传输光学器件的细节,

[0046] 图4示出了传输光学器件内的角度条件,

[0047] 图5示出了待补偿的凹面反射镜畸变和补偿的效果,

- [0048] 图6示出了传输光学器件的其他细节，
- [0049] 图7示出了具有第三共轭光瞳的延伸的传输光学器件，以及
- [0050] 图8示出了具有常规扫描光学器件的替代的光扫描显微镜。
- [0051] 在全部附图中，一致的部件带有相同的附图标记。

### 具体实施方式

[0052] 图1是光扫描显微镜10 (“LSM”) 的示意图，其通过控制单元34控制。LSM 10从两个照明模块L、扫描模块S、检测模块D和显微镜单元M以模块化方式装配，照明模块L具有激光器23，并且显微镜单元M具有显微镜物镜21。显微镜单元M包括例如物镜旋转器，用于转动至不同显微镜物镜21。

[0053] 通过控制单元34，可以在通过光纤22和耦合光学器件20 (例如具有准直光学器件的形式) 将其馈入到扫描单元S且在之中统一之前，由光门24和衰减器25 (例如实施为AOTF) 影响来自激光器23的光。每个激光器23与直到各自的光纤22的光学器件的组合可以认为是各光源，其提供共焦、点状的光分布，该光分布沿着照明束路径在相关光纤22的端部处被成像到样品P中。经由主分束器33、弱圆柱光学器件41、第一束偏转单元30A (其在X方向上可变可调)，例如球形凹面反射镜36以及第二束偏转单元30B (其在Y方向 (正交于X方向) 上可变可调)，激发光传到显微镜物镜21，显微镜物镜21将样品P中的光聚焦到测量位置。

[0054] 凹面反射镜36将两个束偏转单元30A和30B成像到彼此上。布置凹面反射镜36和束偏转单元30A、30B，使得照明束路径凹面反射镜36处精确反射一次，并且由凹面反射镜36造成的第一畸变和成像的第二畸变彼此补偿，所述第二畸变由第一束偏转单元30A和第二束偏转单元30B造成。圆柱光学器件41补偿作为凹面反射镜36上的离轴入射的结果产生的像散。

[0055] 从样品P反向散射的激发光和发射的荧光穿过显微镜物镜21、管透镜27以及扫描光学器件35，经由束偏转单元30A和30B以及凹面反射镜36穿过圆柱光学器件41和主分束器33到检测模块D中。

[0056] 显微镜物镜21具有无穷大后焦距，使得准直的束路径呈现直至管透镜27。位于显微镜物镜21内的是其 (出射) 光瞳平面PE。管光学器件27产生第一中间像Zb1，通过扫描光学器件35将第一中间像Zb1成像到第二中间像Zb2中。因此，第二束偏转单元30B位于检测束路径的会聚区段中。在此情况下，共轭于光瞳平面PE的光瞳平面PE' 位于第二束偏转单元30B上。第一束偏转单元30A为可旋转的，使得照明束路径的光轴可偏转离开由第一束偏转单元30A上的光轴的入射方向和显微镜物镜的光轴所跨越的平面。

[0057] 随后，凹面反射镜36将第二中间像Zb2成像至无限远，使得仅准直的束呈现在主分束器33处。在可替代实施例 (在此未示出) 中，会聚的或发散的束可以呈现在主分束器33处。那么，应适当地适配扫描模块S中的耦合光学器件20和检测光学器件29。

[0058] 作为示例，通过驱动器，扫描光学器件35沿着统一的检测和照明束路径的光轴可位移。因此，即使在显微镜物镜21的互换或轴向位移情况下光瞳平面PE改变的情况下，共轭光瞳平面PE' 的位置可以轴向保持在束偏转单元30上。

[0059] 为了荧光检测的目的，主分束器33可以实施为例如二向色分束器 (“主分色器”)，使得反向散射的激发光在激光器23的方向上被反射出去。

[0060] 在检测光学器件38(例如会聚透镜)的下游,检测模块D包括多个检测通道,每个通道具有针孔31、滤波器28以及作为光电换能器的光电倍增器32,它们由分色器29(“次分色器”)光谱分开。也可以使用狭缝光圈(在此未示出)取代针孔31,例如在线形照明的情况下。检测光学器件38将之前准直的束聚焦到共焦针孔31上。共焦针孔或狭缝光圈31用于区分不源自于测量位置处的焦点体积的样品光。因此,光电倍增器32仅检测来自焦点体积的光,并且从而限定样品P中的测量位置,由其在光电倍增器32的相应光敏层中的检测位置处记录和检测光。可替换地,也可以使用从现有技术已知的其他光敏传感器,比如雪崩式二极管(avalanche diode)。

[0061] 通过束偏转单元30A和30B,能够将记录和共焦照明的样品P的测量体积在样品P之上移动,以通过以有目标的方式旋转束偏转单元30A/B的反射镜来逐像素记录图像。这些照明通过光门24或衰减器25的移动和切换两者都直接由控制单元34控制。同样由控制单元34实现记录来自光电倍增器32的数据。

[0062] 在激发情况下的非线性相互作用之后,用于检测荧光的模块N(“NLO检测模块”)连接到由分束器39(也称为“NLO分束器”)提供的附加的输出端。可以连接NLO检测模块N,并且将后者用于测量作为检测模块D的替代或附加。在可替代实施例(在此未示出),具有专用显微镜物镜的独立NLO检测模块可以布置在样品的相反侧上,并且用于检测,作为NLO检测模块N的替代或附加。

[0063] 图2详细地针对束偏转单元30的三个不同位置描绘了扫描光学器件35周围的束路径,通过将第一中间像Zb1成像到空间上弯曲的第二中间像Zb2中,扫描光学器件35取代常规的、复杂的扫描物镜。扫描光学器件35例如免于像场曲校正,并且具有1:1的成像比例。参考间断方式绘示的线,可以识别的是,扫描光学器件实施为使得如果移除第二束偏转单元30B,将产生第一中间像平面的实弯曲像。反之,第二中间像Zb2为空间上弯曲的,且第二束偏转单元30B布置在共轭光瞳PE'中。

[0064] 图3示出了传输光学器件的延伸部分,其除来自图2的扫描光学器件35、凹面反射镜36(此处未示出)以及束偏转单元30A(此处未示出)和30B之外还包括管光学器件27。对于第二偏转单元30B的三个不同位置,再次描绘了从显微镜物镜(在此未示出)的光瞳平面PE到第二中间像Zb2的束路径。管光学器件27将来自光瞳PE的准直的束聚焦到第一中间像Zb1中,第一中间像Zb1经由布置在共轭光瞳PE'中的第二束偏转单元30B由扫描光学器件35成像到空间上弯曲的第二中间像Zb2中。

[0065] 图4在两个不同示意图中(图4A中的伪透视图和图4B中的平面图)图示了束偏转单元30A和30B以及扫描光学器件35和凹面反射镜36。凹面反射镜具有球形形状。凹面反射镜的曲率中心位于围绕凹面反射镜36的中央入射点Q(主轴的出口点)的圆上,其含有两个束偏转单元30A和30B(在其零位置)的旋转轴上的光轴的两个入射点。在此情况下,曲率中心平分两个旋转轴上的入射点之间的圆弧。

[0066] 布置凹面反射镜36和束偏转单元30A、30B,使得处于第一束偏转单元30A和第二束偏转单元30B的零位置的第一束偏转单元30A上的照明束路径的光轴OA的平面反射角的大小为凹面反射镜36处的光轴OA的平面反射角的两倍。当束偏转单元30A和30B在零位置时,第一束偏转单元30A的旋转轴与凹面反射镜36在系统光轴上的中央入射点处的凹面反射镜36的表面法线之间的角度为 $90^{\circ}+0.5\alpha$ 。

[0067] 第二中间像Zb2同心地围绕第二束偏转单元30B。此外，凹面反射镜36的曲率半径对应于凹面反射镜36与第一束偏转单元30A之间的光学路径长度和凹面反射镜36与第二束偏转单元30B之间的光学路径长度。因此，凹面反射镜36和两个束偏转单元30A、30B的畸变彼此补偿至最大可能程度。

[0068] 对于来自图5的环面凹面反射镜36的示例性情况，凹面反射镜36的畸变及其补偿是明确的。在夸大的图示中，图5A示出了凹面反射镜畸变（十字从平行于y方向的线的偏差），并且图5B示出了根据束偏转单元的本发明的布置相关联的残余畸变，使得第一束偏转单元30A处的反射角的大小为凹面反射镜36处的反射角的两倍。

[0069] 图6在三个不同视图中（图6A、6B、6C）示出了完整传输光学器件。所述传输光学器件替代例如根据Kessler从例如US 2010/0208319 A1或WO 90/00755 A1所描述的文献中已知的无焦点（afocal）中继光学器件。

[0070] 作为示例，第二束偏转单元30B为具有MEMS驱动器的单个反射镜，其围绕两个相互正交的静态轴可旋转。这两个旋转轴中的一个平行于y轴。反射镜的旋转的静态点位于传输光学器件35的光轴上的反射镜的反射表面中。作为示例，第一束偏转单元30A为具有检流计驱动器的单个反射镜，即，其仅具有恰好一个旋转轴，旋转轴位于x-z平面中。作为示例，其可以共振振荡操作。可替换地，也可以插入检流计束偏转单元，其中一个可将样品中的光在x方向上移动，并且另一个可以将其在y方向上移动，到共轭光瞳平面PE'和PE''两者中。

[0071] 由例如环面凹面反射镜提供附加光瞳平面PE''，环面凹面反射镜布置为光学地在第一束偏转单元30A与第二束偏转单元30B之间。凹面反射镜36的第一曲率中心位于第一束偏转单元30A的反射表面上的第一共轭光瞳平面PE'的距离（凹面反射镜与共轭光瞳PE'之间的距离R）处，并且凹面反射镜的相关曲率半径为第二中间像Zb2的曲率半径的尺寸的两倍。因此，首先，与相应的场角度无关，在第二共轭光瞳PE''中存在第一共轭光瞳PE'的完美的平面图像（在相同距离R处），并且其次，准直第二共轭光瞳PE''中的光线，使得该处存在平面波前。因此，易于在检测束路径的其他路线中处理光线。在可替代实施例（在此未示出）中，凹面反射镜和第二中间像的曲率半径可以彼此偏离，使得第二光瞳PE''中存在非平面波前。

[0072] 由于在法向入射的情况下，凹面反射镜36将把第一共轭光瞳PE'成像到自身上，将其垂直于平面旋转，该平面中第二束偏转单元30B围绕平行于y穿过凹面反射镜的中央入射点的轴行动，如上所述。由于凹面反射镜上的倾斜入射，后者产生像散，其通过环面形状得到最大补偿。为此，关于第二中间像Zb2的曲率半径，沿着y轴的曲率半径以因子cos（入射角）减小，并且关于第二中间像Zb2的曲率半径，沿着x轴的曲率半径以相同因子增加。在此不需要附加的圆柱光学器件。

[0073] 作为环面形状的替代方案，凹面反射镜36可以具有球形形状，其中第一曲率中心和第二曲率中心，以及从而还有对应的曲率半径是相同的。那么，圆柱光学器件41（例如弱圆柱透镜的形式）可以布置在凹面反射镜36远离扫描光学器件35的一侧上，以便补偿由凹面反射镜36上的倾斜入射造成的像散。优选地，圆柱光学器件41可以布置在第一束偏转单元30A远离扫描光学器件35的一侧上，即，在所谓的“退扫描（de-scanned）”束路径区段中。凹面反射镜36的曲率中心位于围绕凹面反射镜36的中央入射点的圆弧的中心，其包括在其零位置的第一束偏转单元30A和第二束偏转单元30B上的光轴的入射点。

[0074] 图7以对应于图4A稍微旋转的视图示出了,从由中继光学器件42延伸的传输光学器件的部分。中继光学器件42用于提供第三共轭光瞳平面 $PE'''$ 。作为示例,可变可调波前调节器(未示出)可以布置在其中。

[0075] 最终,图8示出了光扫描显微镜10,其大体上对应于图1中所示的。然而,在可替代实施例中存在传输光学器件。扫描光学器件35以具有像场曲校正的常规方式将第一中间像 $Zb1$ 成像至无限远。从而在第一共轭光瞳 $PE'$ 的布置第二束偏转单元30B的区域中准直照明束路径。凹面反射镜36将其聚焦到第二中间像 $Zb2$ 中,第二中间像 $Zb2$ 在此实施例中位于凹面反射镜36与第一束偏转单元30A之间且为平面的。凹面反射镜36将两个束偏转单元30A和30B成像到彼此上,如图1中。

[0076] 然后,准直光学器件37经由主分束器33将第二中间像 $Zb2$ 成像至无限远。

[0077] 凹面反射镜具有球形形状。其曲率中心位于围绕凹面反射镜36的中央入射点的圆弧的中心,其包括在其零位置的第一束偏转单元30A和第二束偏转单元30B上的光轴的入射点。

[0078] 进而布置凹面反射镜36和束偏转单元30A、30B,使得在第一束偏转单元30A和第二束偏转单元30B的零位置处,第一束偏转单元30A上的照明束路径的光轴OA的平面反射角的大小为凹面反射镜36处的光轴OA的平面反射角的两倍。此外,凹面反射镜36的曲率半径对应于凹面反射镜36与第一束偏转单元30A之间的光学路径长度和凹面反射镜36与第二束偏转单元30B之间的光学路径长度。因此,凹面反射镜36和两个束偏转单元30A、30B的畸变彼此补偿至最大可能程度。

[0079] 附图标记列表

- [0080] 10 光扫描显微镜
- [0081] 20 耦合光学器件
- [0082] 21 显微镜物镜
- [0083] 22 光纤
- [0084] 23 激光器
- [0085] 24 光门
- [0086] 25 衰减器
- [0087] 26 光纤耦合器
- [0088] 27 管透镜
- [0089] 28 滤波器
- [0090] 29 分色器
- [0091] 30A/B/C 第一/第二/第三束偏转单元
- [0092] 31 停止
- [0093] 32 光电倍增器
- [0094] 33 主分束器
- [0095] 34 控制单元
- [0096] 35 扫描光学器件
- [0097] 36 凹面反射镜
- [0098] 37 准直光学器件

[0099]	38	检测光学器件
[0100]	39	NLO分束器
[0101]	40	NLO检测器
[0102]	41	圆柱光学器件
[0103]	42	中继光学器件
[0104]	D	检测模块
[0105]	L	照明模块
[0106]	M	显微镜单元
[0107]	N	NLO检测模块
[0108]	P	样品
[0109]	PE ( ‘ / “ / “ ’ )	(共轭) 光瞳平面
[0110]	R	距离
[0111]	S	扫描模块
[0112]	V	虚物体
[0113]	Zb1/2	中间像平面

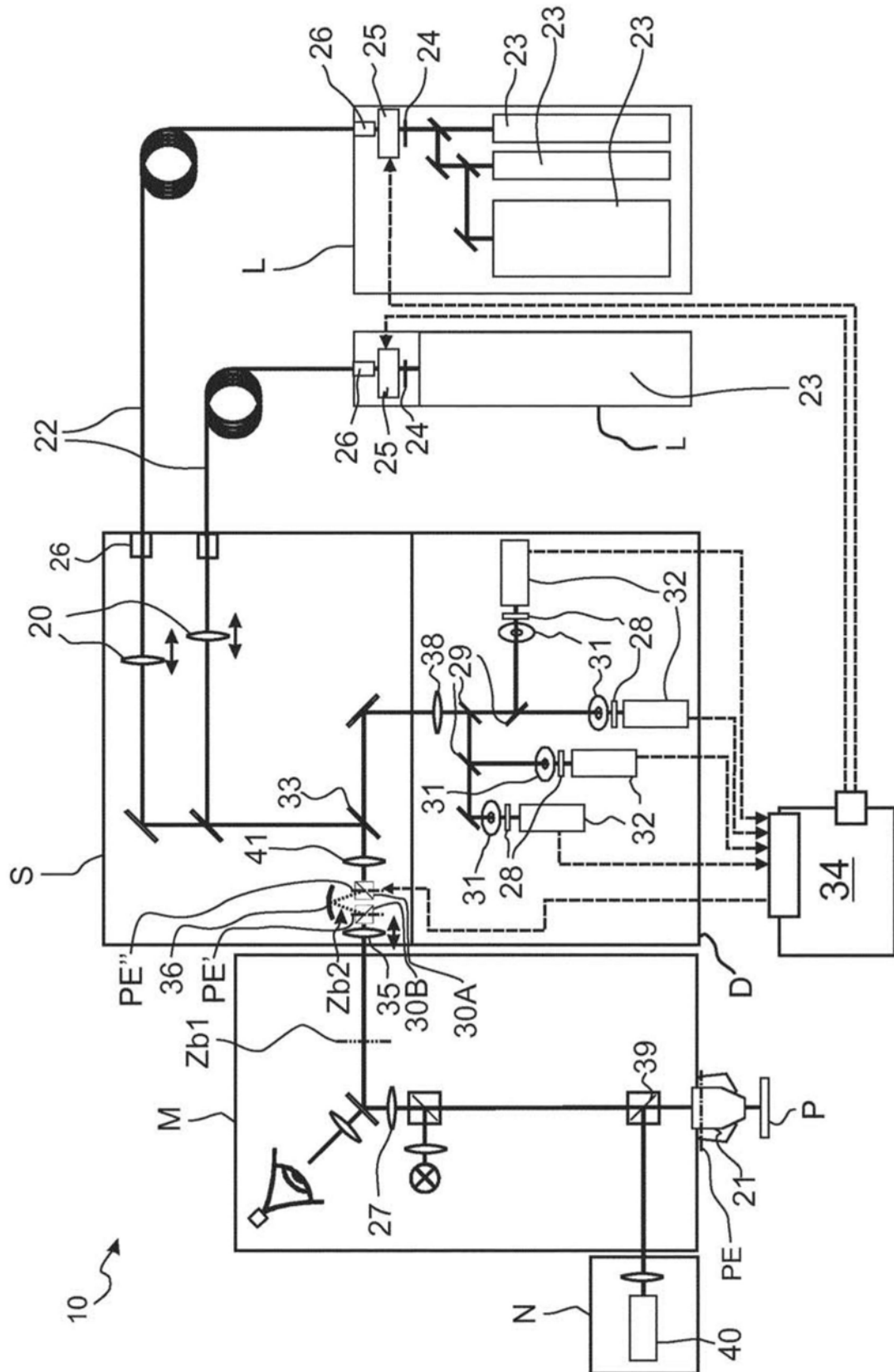


图1





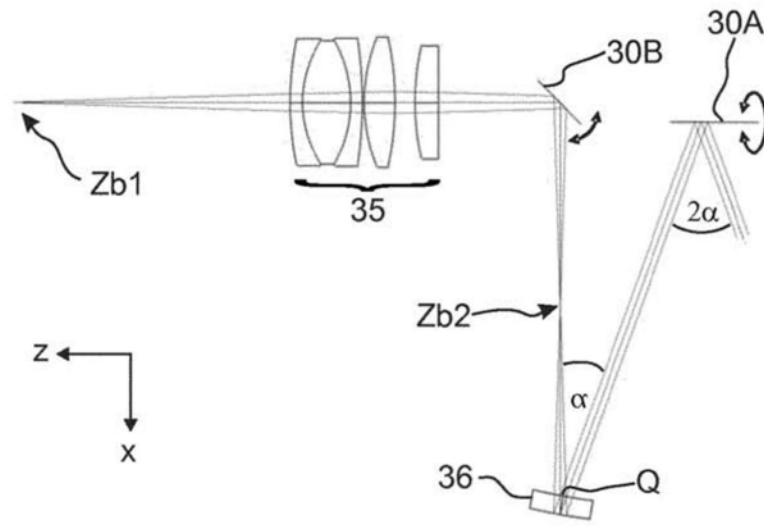


图4B

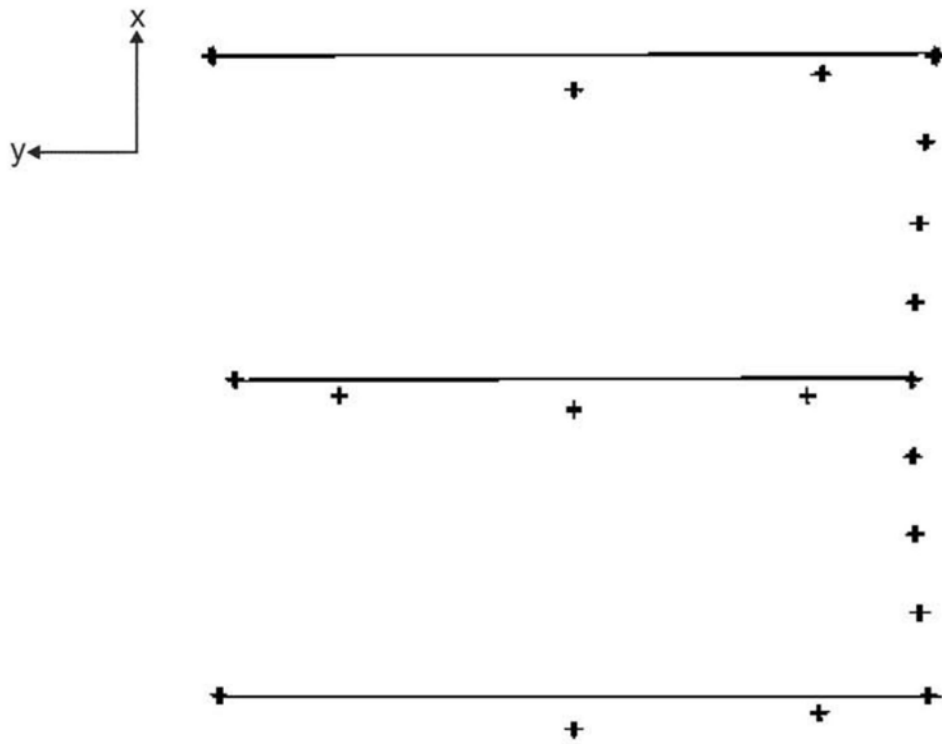


图5A

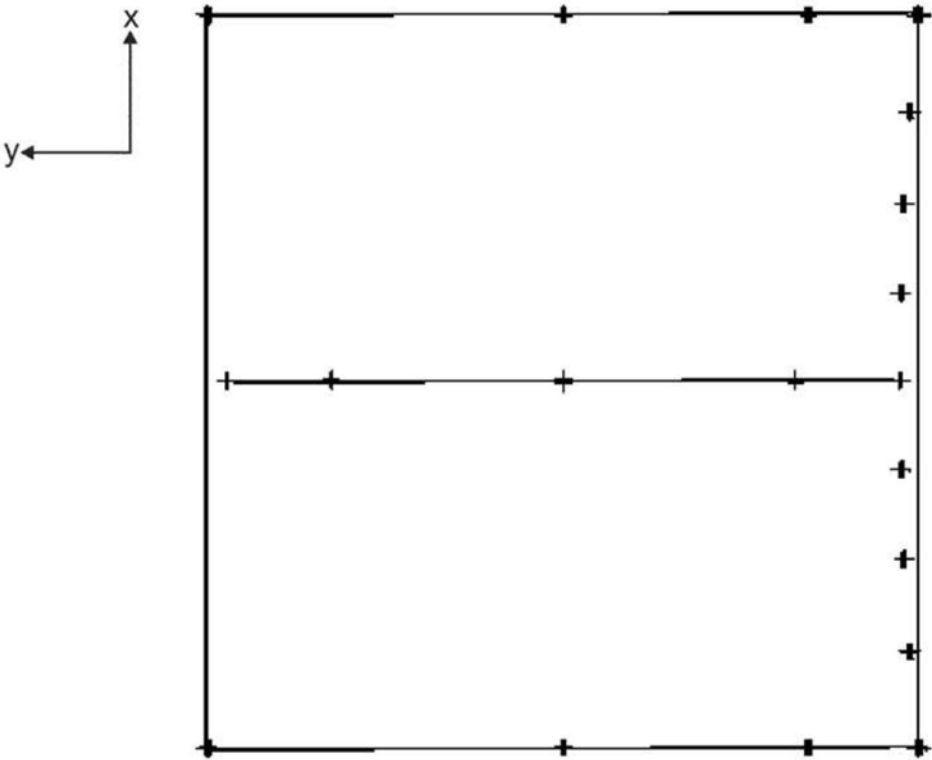


图5B

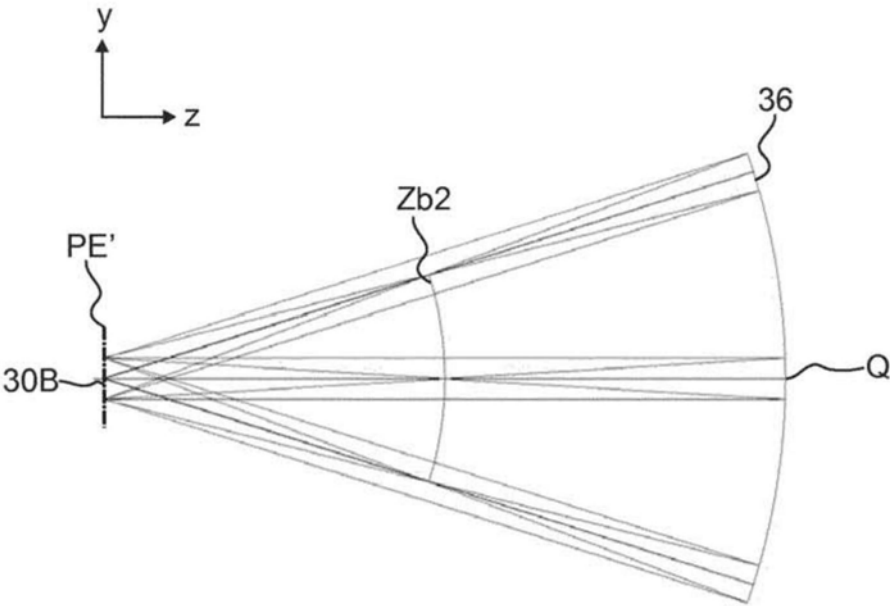


图6A

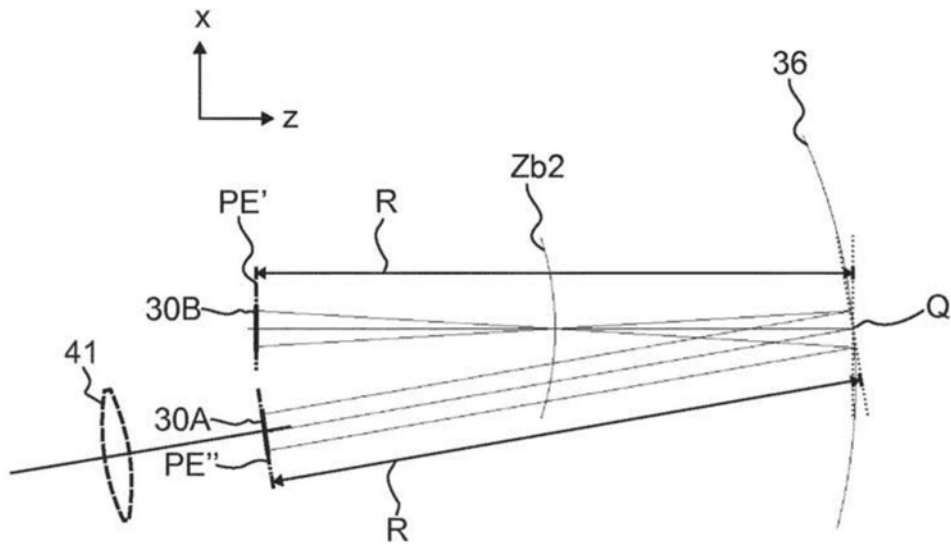


图6B

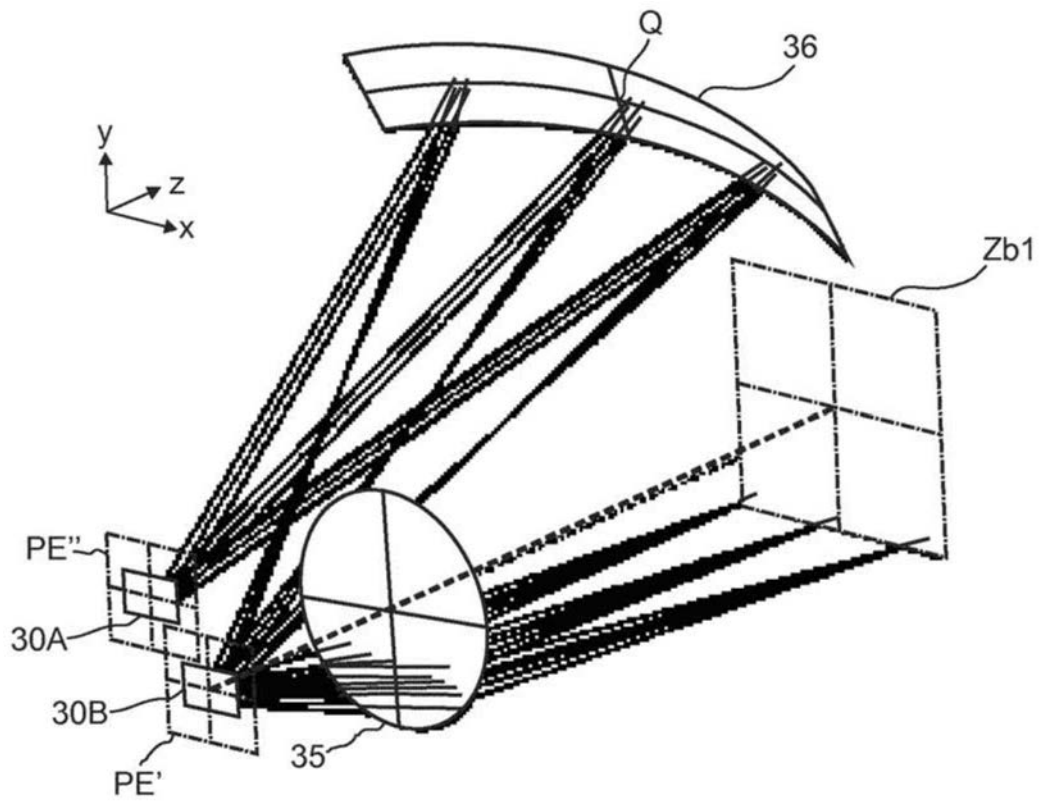


图6C

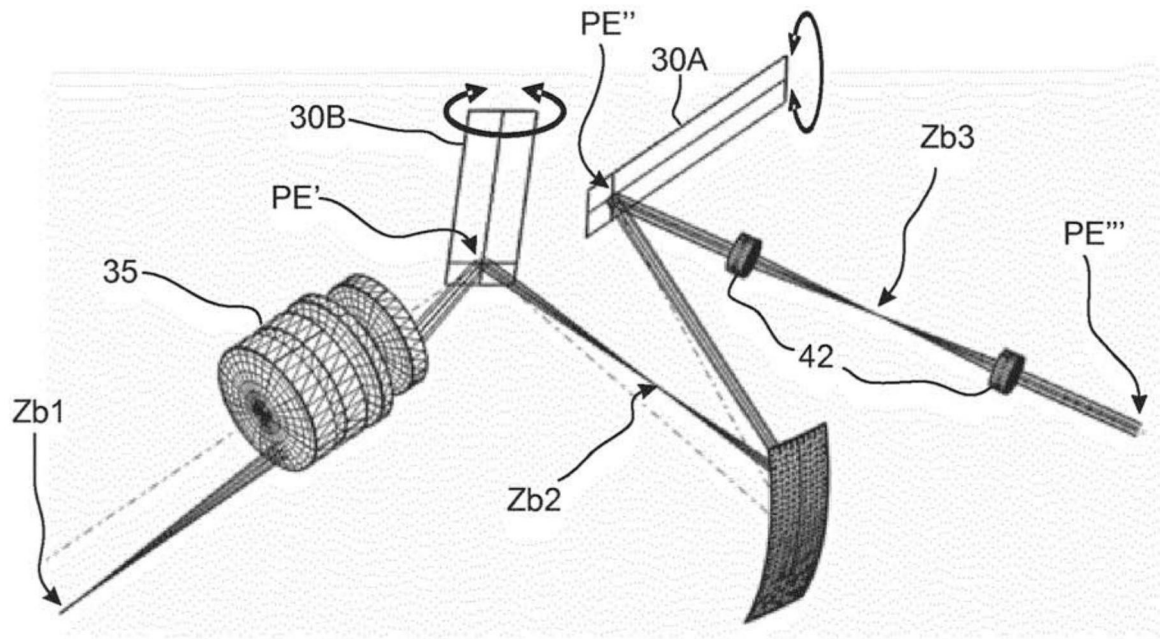


图7

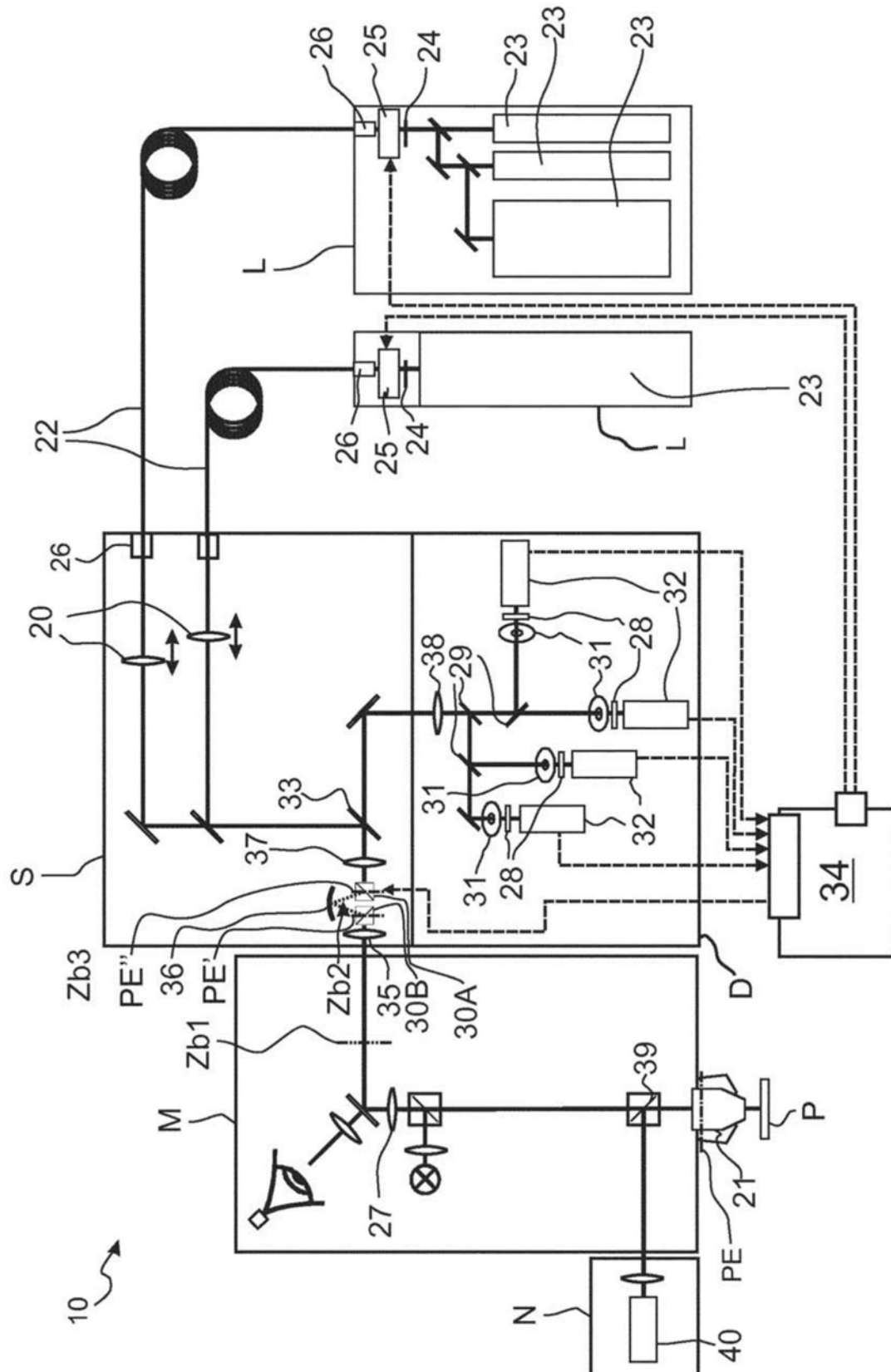


图8