

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
17. April 2008 (17.04.2008)

PCT

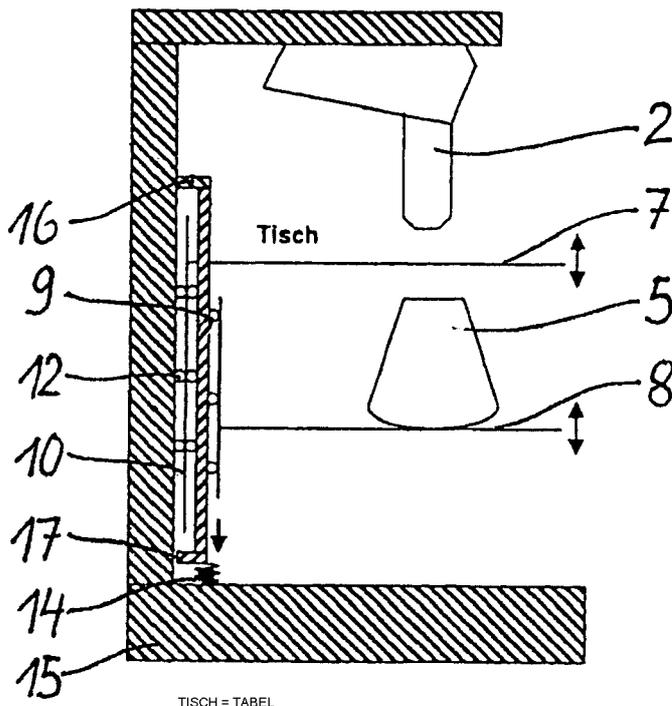
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2008/043458 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation:
G02B 21/08 (2006.01) *G02B 21/24* (2006.01)
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2007/008553
- (22) Internationales Anmeldedatum:
2. Oktober 2007 (02.10.2007)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
10 2006 048 056.2
11. Oktober 2006 (11.10.2006) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **CARL ZEISS MICROIMAGING GMBH** [DE/DE]; Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **DIETRICH, Peter** [DE/DE]; Röntgenstrasse 11, 73447 Oberkochen (DE). **BOEKER, Christian** [DE/DE]; Holunderweg 15, 37130 Gleichen (DE). **SCHRADER, Henning** [DE/DE]; Merkelstrasse 27c, 37085 Göttingen (DE).
- (74) **Anwalt: SCHOLZE, Humbert**; Carl Zeiss Jena GmbH, Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).
- (81) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD AND ASSEMBLY FOR FOCUSING OPTICS, OBJECTS AND CONDENSERS IN MICROSCOPES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND ANORDNUNG ZUM FOKUSSIEREN VON OBJEKTIVEN, OBJEKTEN UND KONDENSOREN BEI MIKROSKOPEN



(57) **Abstract:** The aim of the invention is to provide a method and an assembly for focussing optics, objects and condensers in different types of microscopes, said method and assembly achieving optimal illumination and reproduction conditions for the object planes to be analysed by the optimal tracking of the condenser when the optics or object is or are moved, in particular for analysing thick samples. This is achieved by a method, according to which the focus on an object plane (3) in the object (1) to be analysed remains constant by means of the coupled focussing movement of optics (2) and a condenser or an object (1) to be analysed and the condenser (5), thus illuminating object details on all object planes (3) of the object (1) and matching the illumination and reproduction optical path to one another. The coupled focussing movement for focussing the optics (2) and the condenser (5) or the object (1) and the condenser (5) is maintained either by the decoupling of the condenser movement from the microscope stage or by the decoupling of the condenser movement from the movement of the optics, taking into consideration refractive indices, sample thickness and focus depth in the object (1).

(57) **Zusammenfassung:** Um ein Verfahren und eine Anordnung zum Fokussieren von Objektiven, Objekten und Kondensoren bei unterschiedlichen Mikroskoparten zu schaffen, mit denen optimale Beleuchtungs- und Abbildungsbedingungen für die zu untersuchenden Objektebenen durch eine optimale Nachführung des Kondensors bei einer Bewegung eines Objektivs oder eines Objektes insbesondere für die Untersuchung dicker Proben erhalten werden, wird ein Verfahren vorgeschlagen, bei dem durch eine gekoppelte Fokussierbewegung eines Objektivs (2) und eines Kondensors (5) oder eines zu untersuchenden Objektes (1) und des Kondensors (5) stets auf eine Objektebene (3) innerhalb des

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2008/043458 A1



MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) Bestimmungsstaaten (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— *Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv)*

Veröffentlicht:

— *mit internationalem Recherchenbericht*

zu untersuchenden Objektes (1) fokussiert wird, so dass Objektdetails in allen Objektebenen (3) des Objektes (1) beleuchtet und der Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang aufeinander abgestimmt sind. Die gekoppelte Fokussierbewegung zum Fokussieren des Objektivs (2) und des Kondensors (5) oder des Objektes (1) und des Kondensors (5) wird entweder durch eine Entkopplung der Kondensorbewegung von der Objektischbewegung oder durch eine Entkopplung der Kondensorbewegung von der Objektivbewegung unter Berücksichtigung von Brechungsindices, Probendicke und Fokustiefe innerhalb des Objektes (1) erhalten.

Verfahren und Anordnung zum Fokussieren von Objektiven, Objekten und Kondensoren bei Mikroskopen

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Anordnung zum Fokussieren von Objektiven, Objekten und Kondensoren bei unterschiedlichen Mikroskoparten, bei denen entweder das Objektiv und der Kondensor fokussierbar sind, wie bei Fixed Stage-Mikroskopen und inversen Mikroskopen, bei denen das zu untersuchende Objekt auf einem festen Tisch angeordnet ist, oder das Objekt und der Kondensor fokussierbar sind, wie bei aufrechten Mikroskopen, bei denen das zu untersuchende Objekt in Z-Richtung bewegt wird.

Es ist bekannt, dass bei Mikroskopen vom Typ Fixed Stage und bei inversen Mikroskopen das Objektiv und der Kondensor getrennt auf ein zu untersuchendes Objekt fokussiert werden. Bei aufrechten Mikroskopen, bei denen das Objekt durch die Bewegung eines Objektisches in den feststehenden Objektivfokus gebracht wird, wird anschließend der Kondensor ebenfalls auf das zu untersuchende Objekt fokussiert. Die Kondensorfokussierung ist wichtig für die Beleuchtung nach den Köhlerschen Regeln zur Unterdrückung des Streulichts, um einen guten Kontrast und eine maximale Signaldetektion zu erhalten. Bei ausreichend dünnen Objekten, beispielsweise $< 50 \mu\text{m}$ ist ein Nachführen des Kondensors beim Fokussieren durch die Probe im Allgemeinen nicht erforderlich. Bei dickeren Proben dagegen, wie z.B. den mehrere $100 \mu\text{m}$ dicken Gehirnschnitten, die in der Elektrophysiologie verwendet werden, oder millimeterdicken Zebrafischembryos, die in der Entwicklungsbiologie häufig untersucht werden, lässt die Abbildungsqualität ohne ein Nachführen des Kondensors erkennbar nach. Insbesondere dann

ist ein fehlender Abgleich zwischen Objektiv und Kondensor von Nachteil, wenn die Kondensoroptik nicht nur zum Beleuchten des Objektes, sondern auch für die Signaldetektion genutzt werden soll. Ein Anwendungsbeispiel dafür ist die Multiphotonenmikroskopie mit Detektion von Fluoreszenzsignalen im Durchlicht. Dabei wird ein gepulster IR-Laser in die Probe fokussiert. Die Pulsenergie des langwelligen Lichtes ist nur im Fokuspunkt hoch genug, um durch die simultane Absorption mehrerer IR-Photonen die Entstehung von kurzweiligerem Fluoreszenzlicht zu erlauben. Um das so entstandene Fluoreszenzsignal möglichst effizient auffangen zu können, werden auch unter dem Kondensor Detektoren benutzt. Auch Abbildungen mit konventionellen Durchlichtkontrastverfahren, wie z.B. differentiellm Interferenzkontrast (DIC), lassen sich durch Benutzung des Kondensors als Abbildungsoptik erzeugen.

Insbesondere bei dicken Proben ist die Kondensorfokussierung sowohl für die Fluoreszenzdetektion als auch für die Abbildungsqualität bei Durchlichtverfahren von entscheidender Bedeutung. Das Arbeiten mit dicken Proben nach den bekannten Verfahren hat den Nachteil, dass die optimale Kondensoreinstellung nur jeweils für eine zu untersuchende Ebene innerhalb des Objektes gilt. Wenn der Kondensor bei einer Bewegung des Objektes (aufrechte Mikroskope) oder des Objektivs (Fixed Stage und inverse Mikroskope) nicht nachgeführt wird, gelten für alle weiteren Objektebenen nicht optimale Beleuchtungs- und Abbildungsbedingungen.

Ausgehend von diesem Stand der Technik besteht die Aufgabe der Erfindung darin, ein einfaches Verfahren und eine kostengünstige Anordnung zum Fokussieren von Objektiven, Objekten und Kondensoren für unterschiedliche Mikroskoparten zu schaffen, mit denen optimale

Beleuchtungs- und Abbildungsbedingungen für die zu untersuchenden Objektebenen durch eine optimale Nachführung des Kondensors bei einer Bewegung eines Objektivs oder eines Objektes insbesondere für die Untersuchung dicker Proben erhalten werden.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß mit einem Verfahren zum Fokussieren von Objektiven, Objekten und Kondensoren bei Mikroskopen durch die im kennzeichnenden Teil des Patentanspruchs 1 angegebenen Merkmale und durch eine Anordnung zum Fokussieren bei Mikroskopen durch die im kennzeichnenden Teil des Patentanspruchs 6 angegebenen Merkmale gelöst. Vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind Gegenstand der Unteransprüche.

Das Verfahren zum Fokussieren von Objektiven, Objekten und Kondensoren für unterschiedliche Mikroskoparten ist dadurch gekennzeichnet, dass durch eine gekoppelte Fokussierbewegung eines Objektivs und eines Kondensors oder eines zu untersuchenden Objektes und des Kondensors auf eine Objektebene innerhalb des zu untersuchenden Objektes, dessen axiale Ausdehnung ein Vielfaches der Tiefenschärfe des Objektivs beträgt, ein Fokus des Objektivs und ein Fokus des Kondensors stets in der zu betrachtenden Objektebene des zu untersuchenden Objektes liegen, so dass Objektdetails in allen Ebenen des Objektes beleuchtet und gleichzeitig der Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang aufeinander abgestimmt sind.

Vorteilhaft ist vorgesehen, dass die gekoppelte Bewegung von Objektiv und Kondensoren synchron so erfolgt, dass mit jeweils gleichen Fokussierhüben eine vorgegebene Objektebene erreicht wird, oder die gekoppelte Bewegung von Objekt und Kondensoren erfolgt entgegengesetzt synchron so, dass mit jeweils gleich großen aber entgegengesetzt

gerichteten Fokussierhüben eine vorgegebene Objektebene unter Beibehaltung eines einstellbaren Abstands von Objektiv und Kondensor erreicht wird.

Ebenso ist bevorzugt vorgesehen, dass die gekoppelte Bewegung von Objektiv und Kondensor oder Objekt und Kondensor unter Berücksichtigung unterschiedlicher Brechungsmedien zwischen Objekt und Objektiv einerseits und Objekt und Kondensor andererseits mit unterschiedlichen Fokussierhüben erfolgt. Das ist beispielsweise dann vorgesehen, wenn sich das Objektiv oberhalb des Objekts in wässriger Lösung befindet, und der Kondensor unterhalb durch Luftabstand und Glasboden vom Objekt getrennt ist. Es müssen dann die Fokussierkennlinien von Objektiv und Kondensor mit in die Kopplung einbezogen werden.

Alternativ ist vorgesehen, dass die gekoppelte Bewegung von Objektiv und Kondensor oder Objekt und Kondensor bei gleichen Brechungswerten unter- und oberhalb des Objektes so erfolgt, dass die unterschiedlichen Fokustiefen des Kondensors und des Objektivs innerhalb des Objektes berücksichtigt werden.

Zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Erzeugung einer gekoppelte Fokussierbewegung des Objektivs und des Kondensors oder des zu untersuchenden Objektes und des Kondensors auf beliebige Objektebenen innerhalb des zu untersuchenden Objektes wird eine Anordnung vorgeschlagen, mittels der unter Berücksichtigung von Brechungsindices, Probendicke und Fokustiefe innerhalb des Objektes die gekoppelte Fokussierbewegung zum Fokussieren des Objektivs und des Kondensors oder des Objektes und des Kondensors jederzeit optimale Bedingungen für die Beleuchtung und

Detektion gewährleistet sind, wobei ein ausreichender und konstanter Abstand zwischen Objektiv und Kondensor beim Fokussieren durch dicke Proben durch eine Entkopplung der Kondensorbewegung von der Objektischbewegung oder durch eine Entkopplung der Kondensorbewegung von der Objektivbewegung vorgesehen ist.

Diese Entkopplung betrifft vor allem aufrechte Mikroskope, bei denen das Objekt allgemein durch Anheben und Absenken des Objektisches durch den Fokus des Objektivs bewegt wird. Der Objektisch mit dem zu untersuchenden Objekt und der Kondensor können in der Regel separat eingestellt werden. Sie bewegen sich bei diesen Mikroskopen dann aber normalerweise gleichsinnig, da die Kondensorträgermechanik am Tischträger angebracht ist. Die Entkopplung der Kondensorbewegung von der Objektischbewegung gewährleistet, dass der Kondensor und das Objektiv jeweils auf dieselbe Objektebene innerhalb des Objektes fokussiert werden.

Eine besonders einfache Ausführung der erfindungsgemäßen Anordnung insbesondere beim Fokussieren durch dicke Proben besteht darin, dass bei aufrechten Mikroskopen ohne Motorisierung zur Entkopplung der Kondensorbewegung von der Objektischbewegung bzw. der Objektivbewegung bei Mikroskopen vom Typ Fixed Stage eine in die Objektischführung bzw. in den Objektivträger bei Fixed Stage-Stativen integrierte Führung für den Kondensor vorgesehen ist, wobei die Führung mittels Federkraft gegen einen Anlagepunkt gedrückt und beim Absenken des Objektisches mittels eines mechanischen Mitnehmers nach unten verschiebbar ist. Durch diese integrierte Führung wird die feste Verbindung zwischen Objektisch und Kondensor aufgehoben, so dass das Objektiv und der Kondensor beim Fokussieren durch dicke Proben immer den

gleichen Abstand zueinander besitzen und gleichzeitig das Objekt durch die Feder geschützt ist.

Bevorzugt vorgesehen ist eine mechanische oder elektronische Kopplung der Fokussierbewegung von Objektiv und Kondensor oder Objektisch und Kondensor. Die Kondensorfokussierung kann aber auch separat über die Bewegung des Kondensortriebs erfolgen.

Zweckmäßigerweise erfolgt das Fokussieren motorisch. Kondensor- und Objektivträger werden dazu motorisch angetrieben.

Weiterhin ist es zweckmäßig, einen Kondensor zu verwenden, bei dem das Leuchtfeldblendenbild im Unendlichen liegt. Dadurch ist gewährleistet, dass der Durchmesser der Leuchtfeldblende unabhängig von der fokussierten Ebene immer gleich ist und nicht angepasst werden muss. Kondensor und Objektiv sollten dazu über einen ausreichenden Arbeitsabstand verfügen, um sicher jede Ebene innerhalb eines dicken Objekts anzufahren.

Werden in der Multiphotonenmikroskopie die Signale unterhalb des Kondensors über eine Photonensammeloptik auf einen Detektor ausgekoppelt, ist es vorteilhaft, eine Auskoppelinrichtung vorzusehen und sie fest mit dem beweglichen Kondensorträger zu verbinden, um verlustfreie Signale in jeder Kondensorposition zu erhalten, so dass damit unabhängig von der Kondensorfokussierung die gleichen optischen Bedingungen hinsichtlich der Signalausbeute vorliegen.

Die Erfindung wird nachfolgend anhand eines schematisch in Zeichnungen dargestellten Ausführungsbeispieles näher erläutert.

Es zeigen:

- Fig. 1 ein Ausführungsbeispiel für Fixed Stage-Mikroskope;
- Fig. 2 ein Ausführungsbeispiel für aufrechte Mikroskope;
- Fig. 3 eine Verlagerung der Objektebene bei Fixed Stage-Mikroskopen;
- Fig. 4 eine Verlagerung der Objektebene bei aufrechten Mikroskopen;
- Fig. 5 ein Ausführungsbeispiel einer Einrichtung zum Nachführen des Kondensors bei aufrechten Mikroskopen;
- Fig. 6 eine Führung zur Bewegung des Kondensors in Vorderansicht;
- Fig. 7 die Führung zur Bewegung des Kondensors in Draufsicht.

Die vorliegende Erfindung beinhaltet ein Verfahren und eine Anordnung zum Fokussieren von Objektiven 2, Objekten 1 und Kondensoren 5 für unterschiedliche Mikroskoparten, bei denen entweder das Objektiv 2 und der Kondensor 5 fokussierbar sind, wobei das zu untersuchende Objekt 1 auf einem festen Objektisch 7 angeordnet ist (Fixed Stage-Mikroskope und inverse Mikroskope) oder das Objekt 1 und der Kondensor 5 fokussierbar sind (aufrechte Mikroskope) und das Objekt 1 in Z-Richtung bewegt wird.

Im ersten Fall liegt das Objekt 1 auf einem festen Objektisch 7, wie das bei Fixed Stage-Mikroskopen und inversen Mikroskopen der Fall ist, im zweiten Fall wird das Objekt 1, wie bei aufrechten Mikroskopen, in Z-Richtung bewegt.

In den Figuren 1 und 2 ist die Situation bei Fixed Stage-Mikroskopen schematisch dargestellt. Das Objekt 1, ein Präparat, liegt auf dem festen, nicht näher dargestellten, bekannten Objektisch 7 und wird durch das Objektiv 2 abgebildet. Dazu wird das Objektiv 2 auf eine jeweils zu betrachtende Objektebene 3 fokussiert, d.h. die Objektebene 3 wird in einen Fokus 4 des Objektivs 2 eingebracht. Der Kondensor 5 wird mit seinem Fokus 6 zur Optimierung der Beleuchtung ebenfalls auf die zu betrachtende Objektebene 3 fokussiert. Die gleiche Situation gilt auch für inverse Mikroskope. Bei inversen Mikroskopen sind lediglich die Positionen von Objektiv 2 und Kondensor 5 vertauscht.

In den Figuren 3 und 4 ist die Situation bei aufrechten Mikroskopen schematisch dargestellt. Das Objekt 1 wird bei aufrechten Mikroskopen in Z-Richtung bewegt.

Unterschiedliche Brechungsindices von Objekt 1 und den umgebenden Medien sind nicht berücksichtigt, so dass die tatsächliche Situation noch erheblich ungünstiger ist. Wenn bei Fixed Stage-Mikroskopen oder bei inversen Mikroskopen das Objektiv 1 bewegt und damit der Fokus 4 des Objektivs 2 innerhalb des Objektes 1 verschoben wird, ohne dass der Kondensor 5 nachgeführt und damit auf die Objektebene 3 fokussiert wird, sind Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang nicht mehr optimal aufeinander abgestimmt (Figur 2). Vergleichbares gilt bei aufrechten Mikroskopen (Figur 4). Durch Bewegung des Objektes 1 verschiebt sich die Lage des Fokus 4 innerhalb des Objektes

1. Ohne gegenläufige Bewegungen des Kondensors 5 sind der Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang nicht mehr optimal aufeinander abgestimmt.

Die Figuren 5, 6 und 7 zeigen ein Ausführungsbeispiel einer Anordnung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens, bei dem für aufrechte Mikroskope ohne Motorisierung sichergestellt wird, dass das Objektiv 2 und der Kondensor 5 auch beim Fokussieren durch dicke Objekte 1 immer den gleichen Abstand zueinander besitzen. Diese Anordnung ist für die wachsende Zahl von Anwendungen gedacht, bei denen Durchlichtbildstapel einer Deconvolution unterzogen werden sollen. Hierfür sind eine definierte Position des Kondensors 5 und damit eine konstante Beleuchtungsapertur erforderlich.

Um den Abstand zwischen Kondensor 5 und Objektiv 2 konstant zu halten, wird die feste Verbindung zwischen Objektisch 7 und Kondensor 5 aufgehoben. Der Kondensor 5 ist an einem Kondensorträger 8 befestigt, der mittels einer Führung 9, vorzugsweise einer Wälzführung, an einem Tischträger 10 auf und ab bewegt wird, vorzugsweise durch ein Zahnstangengetriebe 11. Die Führung 9 für den Kondensor 5 ist dabei so in die den Tischträger 10 integriert, dass sich ein geführtes Teil 13 auf Wälzkörpern 12 entlang des Tischträgers 10 bewegt. Die Führung 9 wird durch eine Feder 14, die sich an einer Grundplatte 15 des Mikroskops abstützt, gegen eine definierte Anlage 16 nach oben gedrückt. Entlang der Führung 9 bleibt der Kondensor 5 nach wie vor durch das Zahnstangengetriebe 11 fokussierbar. Bei Fokussierung des Objektisches 7 bewegt sich der Kondensor 5 aber nicht mit, so dass der Abstand zum Objektiv 2 und Kondensor 5 erhalten bleibt. Durch die Feder 14 wird das Objekt 1 geschützt. Wenn der Objektisch 7 so weit abgesenkt wird, dass die Optik des Kondensors 5 gegen das

Objekt 1 drückt, wird der Kondensator 5 gegen den Druck der Feder 14 durch einen mechanischen Mitnehmer 17 nach unten gedrückt.

Die Erfindung beschränkt sich nicht auf das Ausführungsbeispiel, die Anordnung zur Durchführung des Verfahrens ist variabel und kann durch unterschiedliche Bewegungsmechanismen realisiert werden.

Bezugszeichenliste

- 1 Objekt
- 2 Objektiv
- 3 Objektebene
- 4 Fokus des Objektivs
- 5 Kondensator
- 6 Fokus des Kondensators
- 7 Objektisch
- 8 Kondensorträger
- 9 Führung für Kondensator
- 10 Tischträger
- 11 Zahnstangengetriebe
- 12 Wälzkörper
- 13 geführtes Teil
- 14 Feder
- 15 Grundplatte
- 16 Anlage
- 17 Mitnehmer

Patentansprüche

1. Verfahren zum Fokussieren von Objektiven, Objekten und Kondensoren bei unterschiedlichen Mikroskoparten, bei denen entweder das Objektiv und der Kondensor fokussierbar sind und das zu untersuchende Objekt auf einem festen Objektisch angeordnet ist, oder das zu untersuchende Objekt und der Kondensor fokussierbar sind und das zu untersuchende Objekt in Z-Richtung bewegt wird, **dadurch gekennzeichnet**, dass durch eine gekoppelte Fokussierbewegung eines Objektivs (2) und eines Kondensor (5) oder eines zu untersuchenden Objektes (1) und des Kondensors (5) auf eine Objektebene (3) innerhalb des zu untersuchenden Objektes (1), dessen axiale Ausdehnung ein Vielfaches der Tiefenschärfe des Objektivs (2) beträgt, ein Fokus (4) des Objektivs (2) und ein Fokus (6) des Kondensors (5) stets in der zu betrachtenden Objektebene (3) des zu untersuchenden Objektes (1) liegen, so dass Objektdetails in allen Objektebenen (3) des Objektes (1) beleuchtet und gleichzeitig der Beleuchtungs- und Abbildungsstrahlengang aufeinander abgestimmt sind.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die gekoppelte Bewegung von Objektiv (2) und Kondensor (5) synchron so erfolgt, dass mit jeweils gleichen Fokussierhüben eine vorgegebene Objektebene (3) erreicht wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die gekoppelte Bewegung von Objekt (1) und Kondensor (5) entgegengesetzt synchron so erfolgt, dass mit jeweils gleich großen aber entgegengesetzt

gerichteten Fokussierhüben eine vorgegebene Objektebene (3) unter Beibehaltung eines einstellbaren Abstands von Objektiv (2) und Kondensator (5) erreicht wird.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die gekoppelte Bewegung von Objektiv (2) und Kondensator (5) oder Objekt (1) und Kondensator (5) unter Berücksichtigung unterschiedlicher Brechungsmedien zwischen Objektiv (2) und Kondensator (5) einerseits und Objekt (1) und Kondensator (5) andererseits mit unterschiedlichen Fokussierhüben erfolgt.
5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die gekoppelte Bewegung von Objektiv (2) und Kondensator (5) oder Objekt (1) und Kondensator (5) bei gleichen Brechungswerten unter- und oberhalb des Objektes (1) so erfolgt, dass die unterschiedlichen Fokustiefen des Kondensators (5) und des Objektivs (2) innerhalb des Objektes (1) berücksichtigt werden.
6. Anordnung zur Durchführung des Verfahrens zum Fokussieren des Objektivs (2) und des Kondensators (5) oder des Objektes (1) und des Kondensators (5) auf beliebige Objektebenen (3) innerhalb eines zu untersuchenden Objektes (1), **dadurch gekennzeichnet**, dass die gekoppelten Fokussierbewegung zum Fokussieren des Objektivs (2) und des Kondensators (5) oder des Objektes (1) und des Kondensators (5) bei unterschiedlichen Mikroskoparten entweder durch eine Entkopplung der Kondensatorbewegung von der Objektbewegung oder durch eine Entkopplung der Kondensatorbewegung von der Objektivbewegung vorgesehen

ist, unter Berücksichtigung von Brechungsindices, Probendicke und Fokustiefe innerhalb des Objektes (1), und wobei für das Objektiv (2) und den Kondensator (5) beim Fokussieren durch dicke Proben immer ein konstanter Abstand zueinander bei gleichzeitigem Schutz des Objektes (1) vorgesehen ist.

7. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die gekoppelte Fokussierbewegung zum Fokussieren des Objektivs (2) und des Kondensators (5) oder des Objektes (1) und des Kondensators (5) elektronisch erfolgt.
8. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die gekoppelte Fokussierbewegung zum Fokussieren des Objektivs (2) und des Kondensators (5) oder Objektes (1) und des Kondensators (5) motorisch erfolgt.
9. Anordnung nach Anspruch 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Fokussierung des Kondensators (5) über eine Bewegung des Kondensortriebs erfolgt.
10. Anordnung nach einem der Ansprüche 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass bei Mikroskopen ohne Motorisierung beim Fokussieren durch dicke Proben zur Entkopplung der Kondensatorbewegung von der Objektstischbewegung oder der Entkopplung der Kondensatorbewegung von der Objektivbewegung eine integrierte Führung (9) für den Kondensator (5) zur Aufhebung der festen Verbindung zwischen einem Objektstisch (7) und dem Kondensator (5) vorgesehen ist.

11. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die integrierte Führung (9) für den Kondensator (5) mit einem Tischträger (10) eines Mikroskops verbunden ist, wobei die Führung (9) mittels eines Federelements (14) gegen eine Anlage (16) nach oben drückt und beim Absenken des Objektisches (7) mittels eines mechanischen Mitnehmers (17) nach unten verschiebbar ist.

12. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass vorzugsweise ein Kondensator (5) vorgesehen ist, dessen Leuchtfeldblendenbild im Unendlichen liegt.

13. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass für die Multiphotonenmikroskopie eine Auskoppelinrichtung fest mit einem beweglichen Kondensorträger (8) verbunden ist, wobei unabhängig von der Fokussierung des Kondensators (5) die gleichen optischen Bedingungen bezüglich der Signalausbeute vorliegen.

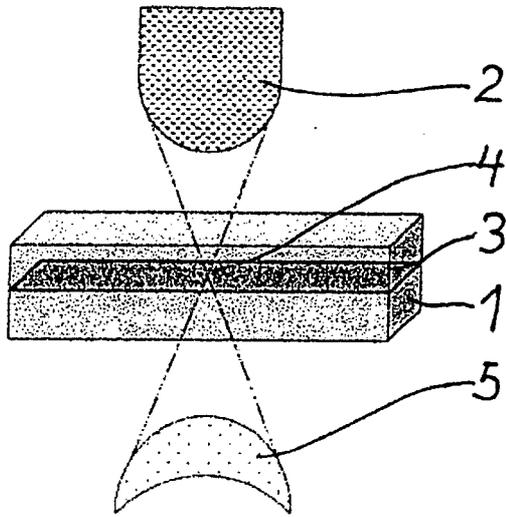


Fig. 1

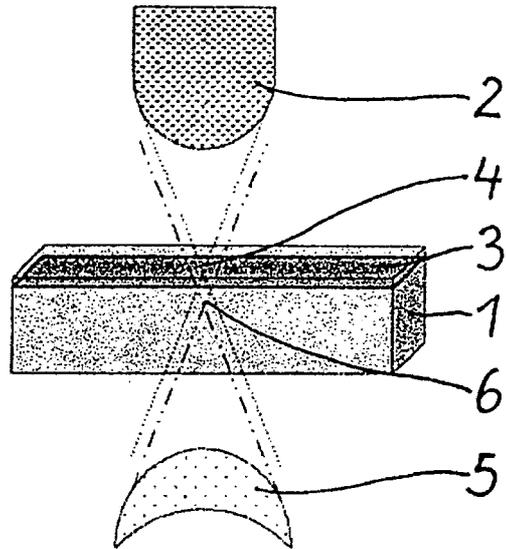


Fig. 2

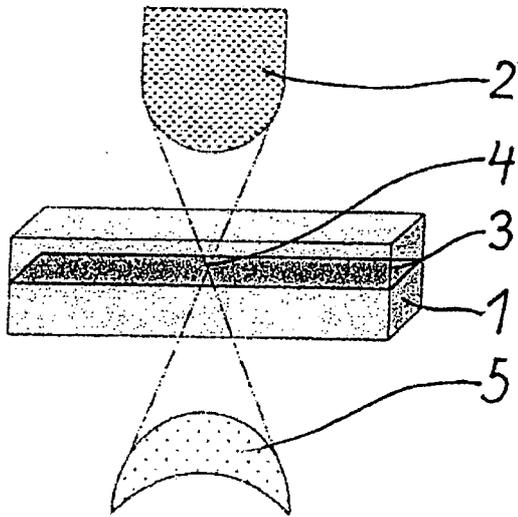


Fig. 3

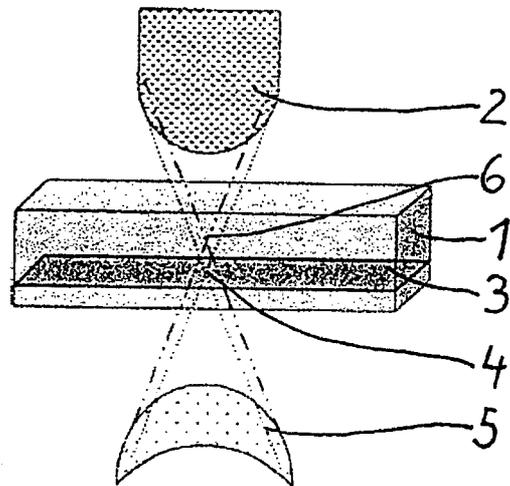


Fig. 4

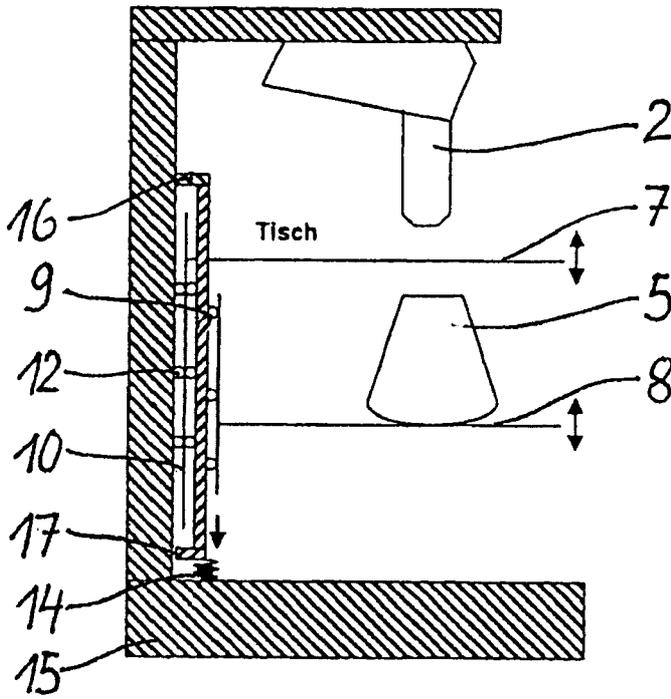


Fig. 5

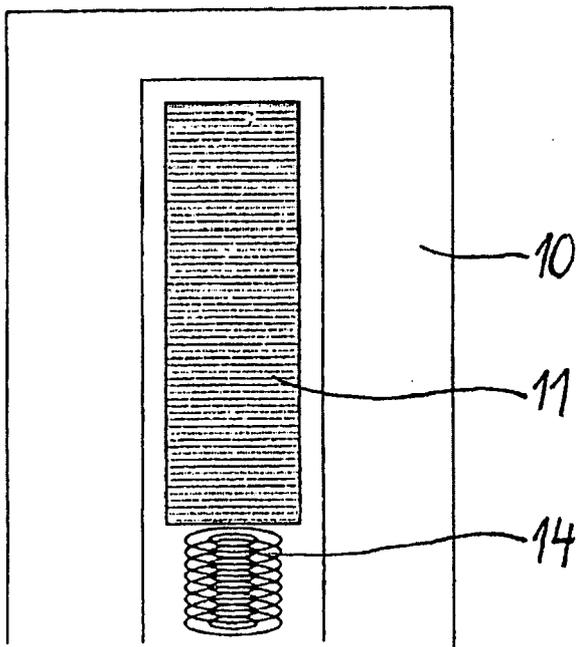


Fig. 6

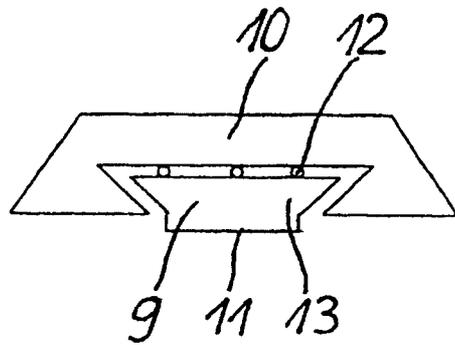


Fig. 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2007/008553

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. G02B21/08 G02B21/24

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 6 650 357 B1 (RICHARDSON TIMOTHY M [CA]) 18 November 2003 (2003-11-18) figure 3 column 13, line 62 - column 14, line 22	1, 2, 5-8, 12
X Y	US 5 870 222 A (YAMAMOTO SOJI [JP] ET AL) 9 February 1999 (1999-02-09) figures abstract column 6, line 20 - line 64	1, 6, 9, 10, 12, 13 4, 5
X Y	JP 07 174977 A (OLYMPUS OPTICAL CO) 14 July 1995 (1995-07-14) abstract; figures	1, 6 4, 5
	-/--	

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 Dezember 2007

Date of mailing of the international search report

28/12/2007

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Windecker, Robert

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2007/008553

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 57 133426 A (NIPPON KOGAKU KK) 18 August 1982 (1982-08-18) abstract; figures -----	4,5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2007/008553

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6650357	B1	18-11-2003	US 2004114219 A1	17-06-2004
US 5870222	A	09-02-1999	JP 3537194 B2	14-06-2004
			JP 8114751 A	07-05-1996
JP 7174977	A	14-07-1995	NONE	
JP 57133426	A	18-08-1982	JP 1424544 C	15-02-1988
			JP 62032769 B	16-07-1987

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2007/008553

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV. G02B21/08 G02B21/24		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) G02B		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 6 650 357 B1 (RICHARDSON TIMOTHY M [CA]) 18. November 2003 (2003-11-18) Abbildung 3 Spalte 13, Zeile 62 - Spalte 14, Zeile 22	1, 2, 5-8, 12
X	US 5 870 222 A (YAMAMOTO SOJI [JP] ET AL) 9. Februar 1999 (1999-02-09)	1, 6, 9, 10, 12, 13
Y	Abbildungen Zusammenfassung Spalte 6, Zeile 20 - Zeile 64	4, 5
X	JP 07 174977 A (OLYMPUS OPTICAL CO) 14. Juli 1995 (1995-07-14)	1, 6
Y	Zusammenfassung; Abbildungen	4, 5
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *G* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 17. Dezember 2007		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts 28/12/2007
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Windecker, Robert

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2007/008553

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	JP 57 133426 A (NIPPON KOGAKU KK) 18. August 1982 (1982-08-18) Zusammenfassung; Abbildungen -----	4,5

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2007/008553

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 6650357	B1	18-11-2003	US 2004114219 A1	17-06-2004
US 5870222	A	09-02-1999	JP 3537194 B2	14-06-2004
			JP 8114751 A	07-05-1996
JP 7174977	A	14-07-1995	KEINE	
JP 57133426	A	18-08-1982	JP 1424544 C	15-02-1988
			JP 62032769 B	16-07-1987