

(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
24. Juli 2003 (24.07.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/060610 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: G03F 7/00,
G02F 1/35

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP03/00335

(22) Internationales Anmeldedatum:
15. Januar 2003 (15.01.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 01 388.8 16. Januar 2002 (16.01.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): CARL ZEISS JENA GMBH [DE/DE]; Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE). TRUSTEES OF BOSTON UNIVERSITY A MASSACHUSETTS CORPORATION [DE/DE]; 147 Bay State Road, Boston, MA 02115 (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WOLLESCHENSKY, Ralf [DE/DE]; An der Promenade 3, 99510 Schöten (DE). KEMPE, Michael [DE/DE]; Am Moenchberge

8, 07751 Kunitz (DE). NASR, Magued, B. [EG/US]; 84 Gardner Street, Allston, MA 02134 (US). ABOURADDY, Ayman, F. [UG/US]; 867 Beacon Street, #4, Boston, MA 02215 (US). BOOTH, Mark, C. [GB/US]; 7 Hawthorne Park, Cambridge, MA 02138 (US). SALEH, Bahaa, E., A. [US/US]; 7 Butterfield Road, Lexington, MA 02420 (US). TEICH, Malvin, C. [US/US]; 70 Montgomery Street, Boston, MA 02116 (US). SERGIENKO, Alexander, V. [RU/US]; 221 Massachusetts Ave., #817, Boston, MA 02115 (US).

(74) Anwälte: NIESTROY, Manfred; Geyer, Fehners & Partner (G.b.R.), Sellierstrasse 1, 07745 Jena usw. (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): JP, US.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHODS AND SYSTEMS FOR MICROSCOPIC IMAGING

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND ANORDNUNGEN ZUR MIKROSKOPISCHEN ABBILDUNG

(57) Abstract: The invention relates to methods and systems that are based on multi-photon absorption with improved spatial resolution and which outstrip the lateral and also the axial resolution of known optical systems. The invention is inter alia used in lithography and for writing on and reading static optical memories. The aim of the invention is to provide an improved spatial resolution as compared to the prior art, especially for use in laser scan microscopy and spectroscopy. According to the invention, microscopic images are produced on the basis of the non-linear absorption of light. Correlated pairs of N-fold photons, N = 2, 3 n, such as pairs, groups of three, groups of four etc. are focused onto a point of a sample. The N-fold photons may be correlated in time and space.

(57) Zusammenfassung: Die hier vorgestellte Erfindung bezieht sich auf Verfahren und Anordnungen, die auf der Mehrphotonenabsorption mit verbesserter räumlicher Auflösung beruhen und mit denen die laterale und auch die axiale Auflösung bekannter optischer Anordnungen übertroffen werden kann. Die Erfindung ist unter anderem in der Lithographie und zur Beschreiben und Lesen optischer Speicher nutzbar. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, insbesondere im Zusammenhang mit der Laser Scan Mikroskopie und der Spektroskopie eine im Vergleich zum Stand der Technik verbesserte räumliche Auflösung zu erzielen. Erfindungsgemäss ist vorgesehen, mikroskopische Abbildungen auf der Grundlage nichtlinearer Absorption von Licht zu erzeugen, wobei korrelierte Paare N-facher Photonen, N = 2,3,---n, wie Paare, Dreiergruppen, Vierergruppen usw. auf einen Punkt auf der Probe fokussiert werden. Dabei können die N-fachen Photonen zeitlich und räumlich korreliert sein.



WO 03/060610 A1

5

10 Titel

Verfahren und Anordnungen zur mikroskopischen Abbildung

Gebiet der Erfindung

15 Die hier vorgestellte Erfindung bezieht sich auf Verfahren und Anordnungen, die auf der Mehrphotonenabsorption mit verbesserter räumlicher Auflösung beruhen und mit denen die laterale und auch die axiale Auflösung bekannter optischer Anordnungen übertroffen wird. Die Erfindung ist unter anderem in der Lithographie und zum Beschreiben und Lesen optischer Speicher nutzbar.

20

Stand der Technik

Die Laser Scan Mikroskopie und die Spektroskopie zielen auf das Erhalten von drei-dimensionalen Informationen über ein Objekt mit hoher räumlicher Auflösung.
25 Unter den angewandten Abbildungsverfahren ist die Fluoreszenzabbildung in der Biowissenschaft am weitesten verbreitet. Ein klassisches Werkzeug dafür ist das konfokale Laserscanning-Mikroskop (CLSM) [Veröffentlichung dazu: *J.B. Pawley, Handbook of Biological Confocal Microscopy, Plenum Press, New York and London, 1995*]. Für die Anregung kann entweder klassisches Laserlicht oder Licht von einer
30 Glühlichtquelle verwendet werden.

Bei Anwendungen zum Beispiel in der Lithographie wird Laserlicht genutzt, um die chemische Struktur eines Materials (des Photoresists) zu modifizieren. Aufgrund der hohen räumlichen Selektivität dieses Prozesses können zweidimensionale Strukturen im Photoresist erzeugt werden. Bei Anwendung chemischer Ätztechniken kann
35 das Material in den Regionen, wo die chemische Struktur des Photoresists verändert

wurde, modifiziert werden [Veröffentlichung dazu: *T. Tanaka und S. Kawata, "Three-dimensional fabrication and three-dimensional observation by two-photon-absorption for micro-structure," Proc. SPIE, vol. 3937, pp. 92-96, 2000*].

5 Bei einer anderen Anwendung wird Licht genutzt, um die Eigenschaften eines Materials, das zum Speichern von Informationen in einem optischen Speicher verwendet wird, wieder lokal zu verändern [Veröffentlichung dazu: *Y. Kawata, H. Ishitobi, and S. Kawata, "Use of two-photon absorption in a photorefractive crystal for three-dimensional optical memory," Opt. Lett., Band. 23, Nr.10, Seiten 756-758, 1998*].

10

Die Anregung der endogenen oder exogenen Fluorophore innerhalb des Objektes oder die Modifizierung des Objektes durch Licht (d.h. die chemische Struktur des Photoresists) erfolgt gewöhnlich durch die Absorption von Photonen in einem einzigen Schritt (pro angeregtem Molekül ist ein Photon erforderlich) - der linearen Absorption; oder in einem mehrstufigen Prozeß (die quasi-simultane Absorption von mindestens zwei Photonen pro angeregtem Molekül ist erforderlich) - der nichtlinearen Absorption.

15

Damit eine nichtlineare Absorption im Objekt stattfinden kann, ist eine Spitzenintensität des Anregungslichtes am Ort der Interaktion erforderlich, um einen ausreichenden Absorptionsgrad zu erreichen. Oft können solch hohe Spitzenintensitäten nur durch die Verwendung von Kurzpuls-Laserstrahlung zur Anregung, kombiniert mit einer starken Fokussierung des Lichtes, erreicht werden. Aufgrund der hohen Spitzenwerte sind das Ausbleichen und Schäden an empfindlichen Objekten (z.B. wegen der lichtelektrischen Dissoziation oder Plasmaerzeugung) ein häufiges Problem in der Mehrphotonen-Fluoreszenzmikroskopie. Dieser Nachteil liegt letzten Endes am Zufallscharakter des Auftreffens von Photonen klassischer Lichtquellen (z.B. Glühlampen oder Laser), so daß es wenig wahrscheinlich ist, daß zwei oder mehr Photonen innerhalb des Absorptionsquerschnittes des Mediums, das angeregt werden soll, gleichzeitig ankommen.

25

30

Für die Laser Scan Mikroskopie mit Einphotonenanregung ergeben sich dreidimensionale Abbildungsmöglichkeiten durch eine konfokale Anordnung, wobei die aus einem kleinen Punkt im Anregungsvolumen austretende Fluoreszenz konfokal auf einen Punktdetektor abgebildet wird. Im allgemeinen befindet sich eine Lochblende (Pinhole) vor einem Standard-Photoempfänger. In einem Mehrphotonen-

35

Fluoreszenzmikroskop (MPFM) sorgt der nichtlineare Charakter der Anregung (d.h. die nichtlineare Abhängigkeit des Absorptionsgrades von der unmittelbaren Laserintensität) für eine Lokalisierung der Anregung, die vergleichbar (für ein Zweiphotonen-Fluoreszenzmikroskop - TPFM) oder sogar besser ist als die konfokale Auflösung ohne Verwendung einer konfokalen Empfängeranordnung.

Beschreibung der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, Verfahren der eingangs beschriebenen Art, insbesondere Verfahren im Zusammenhang mit der Laser Scan Mikroskopie und der Spektroskopie, so weiterzuentwickeln, daß eine im Vergleich zum Stand der Technik verbesserte räumliche Auflösung erzielt wird. Des weiteren ist es Aufgabe der Erfindung, zur Ausübung dieser Verfahren geeignete Anordnungen zu schaffen.

Davon ausgehend ist erfindungsgemäß vorgesehen, mikroskopische Abbildungen auf der Grundlage nichtlinearer Absorption von Licht zu erzeugen, wobei korrelierte Paare N-facher Photonen, $N = 2, 3, \dots, n$, wie Paare, Dreiergruppen, Vierergruppen usw. auf einen Punkt auf der Probe fokussiert werden.

Dabei können die N-fachen Photonen zeitlich und räumlich korreliert sein.

Vorteilhaft werden Lichtquellen genutzt, die verschränkte Photonen oder gequetschte Photonen erzeugen.

Bevorzugt kann die erfindungsgemäße Anordnung eine mikroskopische Anordnung sein, die aus einem Laserscanning-Mikroskop mit Objekt- oder Strahlrasterung besteht.

Die Erfindung schließt weiterhin Verfahren und Anordnungen ein, bei denen sich eine Quelle nichtklassisch erzeugter, kollinear emittierter Photonen in oder nahe einer telezentrischen Ebene des Beleuchtungsstrahlenganges des Mikroskops befindet.

Bei der Absorption kann es sich um eine Mehrphotonenabsorption handeln, die die Absorption von mindestens zwei Photonen pro Molekül des anzuregenden Fluorophors umfaßt.

Die Erfindung umfaßt weiterhin auch die Anwendung der vorgeschlagenen neuen Verfahren und Anordnungen in der Lithographie, bei der die Mehrphotonenabsorption in einem Photoresist stattfindet und die Struktur des Materials verändert.

5

Insbesondere ist darin die Anwendung der Mehrphotonenabsorption zum Beschreiben eines optischen Speichers eingeschlossen.

10

Die Erfindung schließt auch solche Verfahren und Anordnungen ein, bei denen die Lichtquelle mindestens aus einem nichtlinearen Kristall besteht, in dem eine Frequenzkonversion von gepumpten Photonen in verschränkte Photonen stattfindet.

Zum Gegenstand der Erfindung gehören weiterhin Ausgestaltungen, bei denen

15

- Mehrfachdurchgänge durch den/die Kristall/e genutzt werden,
- eine Verstärkung der durch den Kristall erzeugten Paare genutzt wird,
- die Verstärkung der beim ersten Durchgang durch den Kristall erzeugten Paare durch Fokussieren des Strahls auf den zweiten Durchgang durch den Kristall erfolgt,
- sich eine Quelle nichtklassisch erzeugter, kollinear emittierter Photonen in oder nahe der Pupillenebene der Objektivlinse, die auf die Probe abbildet, befindet,
- diese Ebene mit der primären telezentrischen Ebene des Beleuchtungsstrahlenganges zusammenfällt,
- sich die Lichtquelle innerhalb des Gehäuses der Objektivlinsen befindet,
- sich die Lichtquelle in einer anderen telezentrischen Ebene als der primären telezentrischen Ebene befindet,
- sich die Lichtquelle in einer telezentrischen Ebene vor den optischen Elementen, die für das Abrastern der Probe durch den Strahl zuständig sind, befindet,
- eine spektroskopische Untersuchung von Proben mit hoher räumlicher Auflösung auf der Grundlage der Fluoreszenzanregung durch nichtklassisches Licht vorgenommen wird und sich eine Quelle nichtklassisch erzeugter, kollinear emittierter Photonen in oder nahe einer telezentrischen Ebene des Beleuchtungsstrahlenganges befindet,
- sich hinter der Quelle nichtklassischen Lichts, innerhalb des Beleuchtungsstrahlenganges, ein Element zur Trennung der paarweisen Photonen, ein Element zur optischen Verzögerung der Photonen des Paares zueinander und ein

30

35

Element zur erneuten Zusammenführung der Photonen des Paares nach der Verzögerung befinden.

5 Mit der Erfindung wird eine dreidimensionale Auflösung erreicht, die besser ist als die, die bisher bei Verwendung eines Laserscanning-Mikroskops mit Mehrphotonenabsorption erzielt wird.

10 Bei einem N-Photonenabsorptionsprozeß, bei dem Licht der Wellenlänge λ verwendet wird, entspricht nach der hier vorgestellten Erfindung die Auflösung bei einer konfokalen Anordnung einem CLSM mit linearer Absorption von Licht der Wellenlänge λ geteilt durch N. Im Unterschied dazu ist bei einer N-Photonenabsorption unter Verwendung bekannter mikroskopischer Anordnungen die Wellenlänge λ entscheidend für die Auflösung. Die Vorteile der nichtlinearen Absorption von Licht der Wellenlänge λ gegenüber der linearen Absorption von Licht mit einer Wellenlänge von λ/N bei Verwendung des CLSM liegen in einer höheren Eindringtiefe, einer geringeren Streuung und einer vereinfachten Optik.

20 Bei der Absorption von nichtklassischem Licht gemäß dieser Erfindung hängt der Absorptionsgrad linear von der Lichtintensität ab, also genügt eine kontinuierliche Lichtquelle mittlerer Leistung (Strahlungsleistung) für eine effektive Mehrphotonenabsorption. Diese Tatsache reduziert die Komplexität und die Kosten der erforderlichen Lichtquelle. Außerdem können die Nachteile, die hohe Spitzenintensitäten für die Probe mit sich bringen, vermieden werden. Dies erweitert die Anwendung des MPFM auch auf Proben, die empfindlich gegenüber Schäden und Ausbleichen sind.

25 Darüber hinaus macht die Verwendung von nichtklassischem Licht, wie verschränkte Photonen, neuartige spektroskopische Verfahren möglich, die es in Verbindung mit der in dieser Erfindung beschriebenen optischen Anordnung erlauben, detaillierte Informationen über die Probe bei hoher räumlicher Auflösung zu erhalten.

30 Im Rahmen dieser Erfindung bedeutet nichtklassisches Licht Licht mit besonderer Photonenstatistik. Solch eine nichtklassische Lichtquelle erzeugt N Photonen, die zeitlich und räumlich korreliert sind. Eines der Ziele dieser Erfindung ist es, Methoden und Anordnungen aufzuzeigen, nach denen der Weg von N Photonen zur Probe so gestaltet ist, daß sie sich in einem Punkt in der Probe vereinigen und gleichzeitig über einen N-Photonenabsorptionsprozeß aufeinander einwirken. Nichtklassisches Licht kann über den Prozeß der spontanen parametrischen Frequenzkonversion

35

(SPDC) in einem nichtlinearen Kristall wie β -Bariumborat (BBO) oder Lithiumniobat (LN) erzeugt werden. Wenn solch ein nichtlinearer Kristall zweiter Ordnung mit einem stark kohärenten Pumplaser gepumpt wird, werden Paare aus verschränkten Photonen (Photonenpaarstrahlen) erzeugt. Das nichtlineare Material kann auch
5 periodisch gepolt werden (z.B. PPLN), um eine höhere Wirksamkeit bei der Erzeugung verschränkter Photonen zu erzielen. Nichtklassisches Licht kann auch durch Quetschen in einem optischen parametrischen Verstärker (OPA) oder Oszillator (OPO) erzeugt werden. Die Prinzipien der Mikroskopie und Spektroskopie mit verschränkten Photonen wurden im Patent US 5, 796, 477 [M.C. Teich and B.E.A. Saleh,
10 "Entangled-photon microscopy, spectroscopy, and imaging"] beschrieben. Ein Überblick über die Erzeugung und das Verhalten von gequetschtem Licht kann in M.I. Kolobov, "The spatial behavior of nonclassical light," *Reviews of Modern Physics*, Band 71, Nr. 5, Seiten 1539–1589 (1999) gefunden werden.

15 Die folgende Diskussion der Erfindung betrifft die Fluoreszenzanregung mit verschränkten Photonen, die in einem nichtlinearen Kristall durch spontane parametrische Abwärtskonversion erzeugt werden, ohne den Umfang der Erfindung darauf zu beschränken.

20 Die Schlüsselaufgabe der optischen Anordnung für die Anregung der Probe besteht darin abzusichern, daß die N korrelierten Photonen der nichtklassischen Lichtquelle bei voller numerischer Apertur der Objektivlinse auf einem beugungsbegrenzten Punkt der Probe ankommen. Oft werden einige oder alle N Photonen der nichtklassischen Lichtquelle kollinear emittiert. In diesem Falle, und in einer der Aufbauvari-
25 anten für die optische Konfiguration, liegt die Quelle des nichtklassischen Lichtes nahe der hinteren Brennebene der Objektivlinse, die in die Probe fokussiert. Diese Ebene fällt mit der primären telezentrischen Ebene des Beleuchtungsstrahlenganges des Mikroskops zusammen. Die infolge der Absorption von Photonenpaaren emittierte Fluoreszenz wird auf einem Detektor abgebildet, dessen Signal elektronisch
30 verarbeitet wird. Die Empfängereinrichtung könnte eine konfokale Anordnung unter Verwendung eines Punktdetektors sein. Alternativ dazu ist die nichtkonfokale Messung mittels eines Großflächendetektors möglich (d.h., die Empfängerfläche ist viel größer als die Punktverwaschungsfunktion in der Empfängerebene). Um ein Bild zu erhalten, wird die Probe durch den Anregungsstrahl gerastert, dann folgt die Verarbeitung und Darstellung des Empfängersignals, wie in der Laser Scan Mikroskopie
35 bekannt.

Bei einer anderen in dieser Erfindung vorgestellten Konfiguration wird die Quelle der verschränkten Photonen nahe einer Ebene angebracht, die zur primären telezentrischen Ebene des Beleuchtungsstrahlenganges des Mikroskops konjugiert ist. In diesem Falle können komplexere Konfigurationen der Quelle realisiert werden. Solch eine Quelle verschränkter Photonen kann zum Beispiel in einer konjugierten telezentrischen Ebene eines Standard-CLSM liegen.

Eine andere Aufbauvariante enthält Elemente zur Schaffung einer optischen Verzögerung zwischen den Photonen, die ein Paar bilden. Solch eine optische Verzögerung kann sich zwischen der Quelle und der Objektivlinse befinden und ermöglicht die Untersuchung spektroskopischer Eigenschaften einer Probe mit hoher räumlicher Auflösung.

15

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

Die Erfindung soll nachfolgend anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert werden. In den zugehörigen Zeichnungen zeigen:

- 20 Fig.1a die statistischen Eigenschaften über die Zeit, d.h. die Anzahl der Photonen, die in einem Zeitintervall ΔT ankommen, bei Verwendung einer nichtklassischen Lichtquelle mit N-fachen (in diesem Falle 4-fachen) Photonen, im Vergleich zu einer klassischen Lichtquelle,
- Fig.1b die schematische Darstellung eines N-Photonenabsorptionsprozesses durch S reale oder virtuelle Zustände von Energiestufe E_1 nach E_2 ,
- 25 Fig.2 die schematische Darstellung der Fluoreszenzanregung, die entsprechend der Erfindung auf der klassischen Zweiphotonenabsorption (links) bzw. auf der Absorption verschränkter Photonen (rechts) basiert,
- 30 Fig.3 ein Diagramm der grundlegenden optischen Fokussierungskonfiguration gemäß der Erfindung unter Verwendung der in der Beschreibung verwendeten Notation,
- Fig.4 ein Diagramm, das den axialen Verlauf der Anregung der verschränkten Photonen (nichtklassisch) im Vergleich zur Zweiphotonen- (TP) anregung (klassisch) zeigt,
- 35

- Fig.5 ein Diagramm, das den lateralen Verlauf der Anregung der verschränkten Photonen (nichtklassisch) im Vergleich zur Zweiphotonen- (TP) Anregung (klassisch) zeigt,
- Fig.6 ein Diagramm, das die Tiefendiskriminierung des Mikroskops verschränkter Photonen mit konfokalem Empfang im Vergleich zu einem TPFM zeigt,
- Fig.7 ein Diagramm, in dem eine Vorzugskonfiguration des Mikroskops verschränkter Photonen dargestellt ist,
- Fig.8 ein Diagramm, in dem eine weitere Vorzugskonfiguration des Mikroskops verschränkter Photonen dargestellt ist,
- Fig.9 ein Diagramm, in dem eine Vorzugsvariante des Mikroskops verschränkter Photonen mit Elementen für die Nutzung spektroskopischer Kontrastinformationen dargestellt ist.

Ausführliche Beschreibung der Zeichnungen

Die vorliegende Erfindung nutzt den Unterschied zwischen der Absorption bei einer klassischen Lichtquelle und der bei einer nichtklassischen Lichtquelle, wie z.B. verschränkte Photonen in einem fokussierten Strahl. Fig.1a zeigt die zeitlichen statistischen Eigenschaften einer nichtklassischen Lichtquelle, die korrelierte Photonen erzeugt, im Vergleich zu einer klassischen Lichtquelle. Innerhalb jedes Zeitintervalls ΔT emittiert eine klassische Lichtquelle eine willkürliche Anzahl von Photonen, die einer lichtquellenabhängigen statistischen Verteilung folgen, während eine nichtklassische Lichtquelle eine N-fache Anzahl zu willkürlichen Zeiten emittiert.

Fig.1b zeigt einen N-Photonenabsorptionsprozeß zwischen den Energiestufen E_1 und E_2 . Die dazwischen liegenden Zustände S können virtuelle Energiezustände oder reale Zustände sein.

Die Auswirkungen dieses Unterschieds auf die Abhängigkeit der Absorptionsrate und die Probenwechselwirkung sind bekannt. Die nachfolgenden Ausführungen dazu konzentrieren sich auf die Bedeutung für die Auflösung und beschreiben Konfigurationen, bei denen dieser Unterschied für die hochauflösende Abbildung genutzt wird. Die spätere Bedeutung ist höchst einfach erklärt für den Fall einer Zweiphotonenabsorption, obwohl klar ist, daß die hier dargestellte Erfindung genauso für Mehrphotonenprozesse gilt. Außerdem wird die Diskussion der Einfachheit halber

auf eine Dimension in transversaler Richtung beschränkt. Die Erweiterung auf ein zweidimensionales System mit Rotationssymmetrie zur optischen Achse ist einfach und die Schlußfolgerungen sind unverändert.

- 5 Der axiale und transversale Verlauf der Zweiphotonenanregung einer Probe, der für die Auflösung der Anordnung entscheidend ist, soll für zwei Fälle bestimmt werden:
- *Klassische Zweiphotonenanregung.* In diesem Fall wird für die Anregung der Probe eine Lichtquelle mit der Wellenlänge $2\lambda_p$ verwendet.
 - *Anregung durch verschränkte Photonen.* Verwendet werden verschränkte
- 10 Photonen, die zur Anregung der Probe in einem nichtlinearen optischen Kristall (NLC) über einen Frequenzkonversionsprozeß erzeugt werden. In diesem Fall emittiert die Pumpe Licht der Wellenlänge λ_p und die entarteten frequenzkonvertierten Photonen haben jeweils die Wellenlänge $2\lambda_p$. Die Beschränkung auf entartete Photonen geschieht um der Argumentation willen und grenzt
- 15 den Umfang der Erfindung keineswegs ein.

Die beiden Fälle sind in Fig.2 dargestellt. $G^{(2)}(x_1, z_1, t_1; x_2, z_2, t_2)$ ist die Wahrscheinlichkeit der Messung eines Photonenpaares an Raum-Zeit-Punkten (x_1, z_1, t_1) und (x_2, z_2, t_2) . Für die Fluoreszenzanregung über einen Zweiphotonenprozeß interessieren in

20 diesem Zusammenhang gleiche Ankunftszeiten $t_1 = t_2 = t$, und da die Funktion $G^{(2)}(x_1, z_1, t; x_2, z_2, t)$ für eine monochromatische Lichtquelle zeitkonstant ist, verschwindet die Zeitvariable und es bleibt $G^{(2)}(x_1, z_1; x_2, z_2)$.

Die Übertragungsfunktion vom Objekt zum Bild für ein lineares monochromatisches

25 optisches System ist gegeben durch

$$E_i(x_i; \omega) = \int_{-\infty}^{\infty} dx_o E_o(x_o; \omega) h(x_i, x_o; \omega) \quad (1)$$

wobei alle Felder dieselbe Polarisation haben. Hier sind $E_o(x_o; \omega)$ und $E_i(x_i; \omega)$ die skalaren elektrischen Felder in der *Objekt-* bzw. *Bildebene*, und $h(x_i, x_o; \omega)$ ist die Amplitudenpunktverwaschungsfunktion des Systems zwischen der *Bild-* und *Objektebene*.

30 Das in Fig.3 gezeigte optische System wird für die Fokussierung in beiden Fällen - der klassischen Anregung und der Anregung mit verschränkten Photonen - verwendet. Das Schema illustriert gemäß der Erfindung eine einfache Beleuchtungsanordnung mit einer nichtklassischen Lichtquelle in einer telezentrischen Ebene.

35

Für eine Ebene im Abstand z von der Brennebene lautet die Amplitudenpunktverwaschungsfunktion [Veröffentlichung dazu: *J. W. Goodman, Introduction to Fourier Optics, Kapitel 6, McGraw-Hill, New York, 1968*]

$$5 \quad h_z(x_i, x_o) = \frac{1}{\lambda \sqrt{dfV}} \exp\left(j \frac{\pi x_i^2}{\lambda fV}\right) \exp\left(j \frac{\pi x_o^2}{\lambda d}\right) \tilde{P}_g\left(\frac{1}{\lambda} \left[\frac{x_o}{d} + \frac{x_i}{fV}\right]\right) \quad (2)$$

wobei

$$V = 1 + \frac{z}{f} \quad \text{und} \quad \tilde{P}_g\left(\frac{1}{\lambda} \left[\frac{x_o}{d} + \frac{x_i}{fV}\right]\right) = \int_{-\infty}^{\infty} dx p_g(x) \exp\left(-j \frac{2\pi}{\lambda} \left[\frac{x_o}{d} + \frac{x_i}{fV}\right] x\right) \quad \text{die Fourier-}$$

Transformierte der verallgemeinerten Pupillenfunktion $p_g(x) = p(x) \exp\left(j \frac{\pi x^2}{\lambda fV}\right)$

ist [Veröffentlichung dazu: *B.E.A. Saleh and M.C. Teich, Fundamentals of Photonics, chap. 4, Wiley-Interscience, New York, 1991*].

Hier ist λ die Wellenlänge des monochromatischen, skalaren elektrischen Feldes, f ist die Brennweite der Linse und d ist der Abstand zwischen der telezentrischen (Objekt-) Ebene und der Linse. In diesen Berechnungen wird die Pupillenfunktion der
 15 Linsenapertur $p(x)$ als rechteckig und mit der Weite A angenommen. Es soll darauf hingewiesen werden, daß dies die Amplitudenpunktverwaschungsfunktion für ein eindimensionales optisches System (in transversaler Richtung) ist, deshalb wurde die Proportionalitätskonstante von

$$20 \quad \frac{1}{\lambda^2 dfV} \quad \text{in} \quad \frac{1}{\lambda \sqrt{dfV}} \quad \text{abgeändert.}$$

Für die nächste Diskussion wird von der folgenden Annahme über die Anordnung in Fig.2a (klassische Lichtquelle) ausgegangen:

- das Pumplicht ist eine monochromatische ebene Welle,
- 25 – Näherung dünner Linsen,
- Probe reagiert auf die Ankunft eines Photonenpaares nur an einem einzigen Raum-Zeit-Punkt.

Für die klassische Zweiphotonenanregung ist die Absorptionsrate der Probe (des
 30 Fluorophors) proportional zu $G^{(2)}(x_i, z; x_i, z) \propto I^2(x_i, z)$.

Der axiale Verlauf der Anregung entlang der z-Achse, d.h. bei $x_i = 0$, ist gegeben durch

$$I^2(x'_i = 0, z') \propto \frac{1}{V^2} Q^2(z') \quad (3)$$

wobei

$$Q(\alpha) = \left| \int_{-0.5}^{0.5} d\beta \exp(-j\pi \alpha \beta^2) \right|^2, \quad (4)$$

und der transversale Verlauf in der Brennebene ($z = 0$) ist, gegeben durch

$$I^2(x'_i, z' = 0) \propto \text{sinc}^4(x'_i). \quad (5)$$

- 10 Die Menge $z' = \frac{z}{z_c V}$ ist die normierte Länge in axialer Richtung, gemessen von der Brennebene, wobei $z_c = 2\lambda_p F_{\#}^2$ und typischerweise $f \gg z_c$ und $V \approx 1$, so daß $z' \approx \frac{z}{z_c}$.

Die Menge x'_i ist die normierte Länge x_i in der Bildebene, so daß $x'_i = \frac{x_i}{x_c}$, wobei $x_c = 2\lambda_p F_{\#}$ (siehe Fig.2).

15

Hier ist $F_{\#}$ die Linsenanzahl F , definiert als $F_{\#} = \frac{f}{A}$, wobei f und A die Brennweite bzw. die Apertur der Linse und $2\lambda_p$ die Wellenlänge der Lichtquelle ist. Es wird darauf hingewiesen, daß x_c und z_c die charakteristischen Längen in transversaler bzw. axialer Richtung sind. Die Breite des Anregungsverlaufs in transversaler und axialer

20 Richtung ist proportional zu diesen Werten.

Für die Diskussion der Anregung durch verschränkte Photonen wird von folgender Annahme der experimentellen Bedingungen der Anordnung im Fig.2b (nichtklassische Lichtquelle) ausgegangen:

- 25
- Das Pumplicht ist eine monochromatische ebene Welle,
 - Näherung dünner Linsen,
 - Probe reagiert auf die Ankunft eines Photonenpaares nur an einem einzigen Raum-Zeit-Punkt,

- ein Spektralfilter sehr schmaler Bandbreite, dessen Mittenfrequenz mit der Frequenz der entarteten Photonen zusammenfällt, wird hinter dem Kristall angebracht, so daß nur entartete Photonen zur Anregung der Probe beitragen.

5 Für die Anregung durch verschränkte Photonen wird $G^{(2)}(x_i, z; x_i, z)$, der Einfachheit halber als $G^{(2)}(x_i, z)$ abgekürzt, berechnet mit

$$G^{(2)}(x_i', z') \propto \left| \int_{-0.5}^{0.5} \int_{-0.5}^{0.5} d\alpha d\beta \exp(-j\pi(\alpha^2 + \beta^2)z') \exp(-j2\pi(\alpha + \beta)x_i') g(\alpha - \beta) \right|^2 \quad (6)$$

wobei

$$g(\alpha - \beta) = \int d\rho \operatorname{sinc}(\mu_1 \rho^2) \exp(-j2\pi\mu_2 \rho^2) \exp(j2\pi(\alpha - \beta)\rho) \quad (7)$$

$$10 \quad \mu_1 = \frac{\ell_{eq}}{f} \frac{1}{N_f}, \quad \mu_2 = \frac{\frac{\ell_{eq}}{2} + d}{f} \frac{1}{N_f}, \quad N_f = \frac{A^2}{\lambda_o f} \quad \text{ist eine Fresnelsche Zahl,}$$

$\ell_{eq} = \frac{\ell}{n_o(2\lambda_p)}$ ist eine äquivalente Kristalldicke; ℓ ist die Kristalldicke und $n_o(2\lambda_p)$ ist

die Brechzahl des ordentlichen Strahles im NLC für die entartete Wellenlänge. Da $\mu_1 \ll 1$ und $\mu_2 \ll 1$ für alle praktischen Werte von ℓ und Abstände d , vereinfacht sich die Gleichung (7) zu $g(\alpha - \beta) = \delta(\alpha - \beta)$. Als Ergebnis der Gleichung (6) ist der axiale

15 Verlauf der Anregung gegeben durch

$$G^{(2)}(x_i' = 0, z') \propto \frac{1}{V^2} Q(2z'), \quad (8)$$

was mit dem klassischen Fall in Gleichung (3) verglichen werden sollte. Der transversale Verlauf der Anregung ist gegeben durch

$$20 \quad G^{(2)}(x_i', z' = 0) \propto \operatorname{sinc}^2(2x_i') \quad (9)$$

was mit Gleichung (5) verglichen werden sollte. Zu beachten ist, daß für den axialen und für den transversalen Anregungsverlauf die Argumente das Zweifache und die Potenz der funktionalen Abhängigkeit die Hälfte derer der klassischen Ergebnisse betragen.

Fig.4 zeigt den normierten axialen Verlauf für die klassische Zweiphotonenanregung (durchgehende Linie) und Anregung durch verschränkte Photonen (punktierte Linie).

30

In Fig.5 sind die gleichen Kurven jeweils für den transversalen Verlauf dargestellt.

So wird gezeigt, daß das Fokussieren entarteter Photonen, die zum Beispiel durch den Frequenzkonversionsprozeß in einem nichtlinearen Kristall erzeugt wurden, die Größe (sowohl axial als auch transversal) des Verlaufs der Anregung um 31 % im Vergleich zur klassischen Zweiphotonenanregung (d.h. 1/e Weite des verschränkten Photons = 0,69 1/e Weite der klassischen) verringert.

Ein weiteres wichtiges Merkmal für die dreidimensionale Abbildung ist die Möglichkeit der Herstellung optischer Schnitte, auch Tiefendiskriminierung genannt. Sie kann als Reaktion des Systems auf das Abtasten einer dünnen, lateral homogenen, fluoreszierenden Schicht durch den Fokus beschrieben werden. Im Unterschied zur klassischen Zweiphotonenanregung liefert die Anregung, die nichtklassisches Licht nutzt, keine optischen Schnitte.

$$G^{(2)}(z') \propto \int_{-\infty}^{\infty} dx'_i G^{(2)}(x'_i, z') = \text{const.} \quad (10)$$

Dies ist eine Folge der linearen Abhängigkeit des Absorptionsgrades vom Anregungsphotonenfluß. Durch Hinzufügung einer konfokalen Empfängereinheit analog zur Einphotonenanregung in einem CLSM kann die Tiefenunterscheidung erreicht werden. Das Verhalten ist

$$G_c^{(2)}(z') \propto \int_{-\infty}^{\infty} dx'_i G^{(2)}(x'_i, z') I_c(x'_i 2\lambda_p / \lambda_f, z'_i 2\lambda_p / \lambda_f) \quad (11)$$

wobei $2\lambda_p$ und λ_f die Wellenlänge des Anregungslichtes und die Fluoreszenz sind bzw. I_c die Intensitäts-Punktverwaschungsfunktion für die konfokale Empfängeranordnung ist. Dieses Verhalten wäre zu vergleichen mit dem Verhalten im Falle der Zweiphotonenanregung mit einer nichtkonfokalen Empfängeranordnung

$$G_{\text{class}}^{(2)}(z') \propto \int_{-\infty}^{\infty} dx'_i I^2(x'_i, z') \quad (12)$$

bzw. mit einer konfokalen Empfängeranordnung

$$G_{\text{classc}}^{(2)}(z') \propto \int_{-\infty}^{\infty} dx'_i I^2(x'_i, z') I_c(x'_i 2\lambda_p / \lambda_f, z'_i 2\lambda_p / \lambda_f), \quad (13)$$

Fig.6 zeigt diese Verläufe unter der vereinfachten Annahme, daß $\lambda_p = \lambda_f$. Es sollte beachtet werden, daß der Verlauf der nichtklassischen Anregung bei Wellenlänge $2\lambda_p$ mit konfokaler Empfängeranordnung gleich der Verteilung der Einphotonenanregung bei Wellenlänge λ_p in einem CLSM ist.

5

Zusammengefaßt verhält sich ein System, das als Anregung nichtklassisches Licht der Wellenlänge $2\lambda_p$ über eine Fokussierungsanordnung gemäß der hier beschriebenen Erfindung verwendet, hinsichtlich der Auflösung wie ein System mit Einphotonen-Fluoreszenzanregung der halben Wellenlänge (d.h. λ_p). Das erstgenannte System liefert eine höhere Auflösung als ein nichtkonfokales MPFM-System, das eine klassische Lichtquelle der Wellenlänge $2\lambda_p$ verwendet.

10

Nachstehend werden Vorzugskonfigurationen der Erfindung diskutiert.

15

In einer Vorzugskonfiguration, wie in Fig.7a schematisch dargestellt, ist die nichtklassische Lichtquelle Teil der Objektivlinse. Aufgrund der Bedingung der Phasenübereinstimmung im nichtlinearen Kristall hat ein veränderter Einfallswinkel des Pumpasers auf den Kristall einen unerwünschten Effekt auf die Eigenschaften der erzeugten Photonen. Deshalb kann solch eine Anordnung nur in Verbindung mit dem Objektscanning verwendet werden.

20

In einer anderen Version, in Fig.7b dargestellt, befindet sich der nichtlineare Kristall außerhalb der Objektivlinse mit der Möglichkeit eines doppelten Durchgangs des Pumplichtes durch den Kristall, um die Leistung der nichtklassischen Lichtquelle zu erhöhen. Bei beiden Varianten muß der nichtlineare Kristall nahe der hinteren Brennebene der Objektivlinse angebracht werden, die auch die primäre telezentrische Ebene ist.

25

In Fig.7a beleuchtet das kollimierte Licht des Pumpasers L die Probe Sa und passiert dabei einen dichroitischen Strahlteiler MDB, eine Scanningoptik SO, die Mikroskoptubuslinse TL sowie ein speziell entwickeltes Objektiv für verschränkte Photonen EPO, das auf der rechten Seite im Detail dargestellt ist. Das EPO besteht aus einem lichtlinearen Kristall NLC in oder in der Nähe der Pupillenebene PP des Mikroskopobjektivs O, die mit der primären telezentrischen Ebene PTP der Beleuchtung zusammenfällt. Zwischen EPO und O befindet sich ein Filter HPF, der die Wellenlän-

35

ge des Pumpasers ausblendet, längere Wellenlängen jedoch hindurchläßt (Frequenzkonversions-Anordnung, wie in der Literatur beschrieben). Die EPO-Elemente können günstigerweise in ein Objektivgehäuse eines herkömmlichen Standardmikroskopes eingebaut werden. Die in der Probe angeregte Fluoreszenz geht durch
5 EPO, TL und SO hindurch, wird durch den Strahlteiler MDB reflektiert und mittels der Lochblendenoptik PO durch eine Lochblende PH hindurch auf den Detektor DE abgebildet.

Im Fig.7b ist im Unterschied zur Anordnung in Fig.7a die nichtlineare Optik NLC
10 außerhalb des Gehäuses der Objektivlinse angebracht, das ankommende Licht wird durch einen Polarisations-Strahlteiler PBS oder einen dichroitischen Strahlteiler dorthin gelenkt. Die Rückseite des NLC ist reflektierend, so daß das Pumplicht und das frequenzkonvertierte Licht in Richtung PBS zurückreflektiert werden. Der PBS lenkt das Pumplicht zurück in Richtung des Lasers L und richtet das frequenzkonvertierte Licht, das rechtwinklig zum Pumplicht polarisiert wird, über das Objektiv O
15 auf die Probe Sa. In dieser Anordnung befindet sich der Detektor auf der rechten Seite, und das von der Probe kommende fluoreszierende Licht wird durch den MDB reflektiert. Die in den Abbildungen 7a und 7b gezeigten Anordnungen sind für eine Probe bestimmt, die von einem Scanningtisch (nicht dargestellt) in mindestens zwei
20 Richtungen bewegt wird (Objektscanning). Weiterhin kann das optische System bei beiden Anordnungen die Scanningoptik SO und die Tubuslinse TL beinhalten, wie in Fig.7a gezeigt, oder auch nicht, wie in Fig.7b gezeigt.

In Fig.7c wird das Pumplicht L und das frequenzkonvertierte Licht, nachdem es
25 einmal durch den nichtlinearen Kristall NLC hindurchgegangen ist, durch einen sphärischen Spiegel M zurück in den nichtlinearen Kristall NLC fokussiert. Nach Passieren des PBS wird das frequenzkonvertierte Licht durch die Linse L kollimiert und zur Probe gelenkt, wie in Fig.7b beschrieben. Diese Konfiguration hat den Vorteil, daß die Lichtintensität L innerhalb des Kristalls aufgrund der Fokussierung
30 viel höher ist, so daß eine Verstärkung der frequenzkonvertierten Photonen zur Erhöhung der Strahlungsleistung der Paare verschränkter Photonen ermöglicht wird.

Der Nachteil der Beschränkung auf das Objektscanning wird bei einer Konfiguration
entsprechend Fig.8 vermieden, wo die Quelle der verschränkten Photonen in einer
35 konjugierten telezentrischen Ebene des Mikroskops angebracht ist. Diese Anordnung der Quelle, wiederum unter der Annahme, daß korrelierte Photonen kollinear

erzeugt werden, sichert ein beugungsbegrenztes Fokussieren des nichtklassischen Lichts. Ein Vorteil dieser Konfiguration besteht darin, daß mehr Platz für die Quelle zur Verfügung steht, so daß zum Beispiel mit der resonanzverstärkten Herstellung verschränkter Photonen gearbeitet werden kann.

5

Fig.8 zeigt eine standardmäßige konfokale Scanninganordnung mit Laser L, XY-Scanner für zwei senkrecht zueinander stehende Abtastrichtungen, optisches Übertragungssystem RL, Übersichtsobjektiv SO, Tubuslinse TL, Objektiv O, Probe Sa, dichroitischen Strahlteiler MDB, Lochblendenoptik PO, Lochblende PH und Detektor DE. Hinter dem Laser befindet sich in einer telezentrischen Ebene des Beleuchtungsstrahlenganges eine nichtklassische Lichtquelle EPS (vorzugsweise basiert auf der Frequenzkonvertierung in einem nichtlinearen Kristall) mit Filter HPF zur Beseitigung des Pumplichts, sowie die telezentrische Optik CL1, CL2. Somit wird die Lichtquelle eines Standard-LSM ersetzt bzw. mit einer nichtklassischen Lichtquelle in einer telezentrischen Ebene des Beleuchtungsstrahlenganges kombiniert, womit man sich die Methode für die Mehrphotonen-Fluoreszenzanregung, die in dieser Erfindung beschrieben ist, zunutze macht.

10

15

Wenn die nichtklassische Lichtquelle (d.h. verschränkte Photonen) in der Pupillenebene des Mikroskops angebracht wird, können die paarweisen Photonen voneinander getrennt und zueinander verzögert werden, wie in Fig.9 gezeigt, um spektroskopische Untersuchungen zu ermöglichen, wie sie bereits bekannt sind. Zum Beispiel kann die Trennung im nichtentarteten Fall, bei unterschiedlichen Wellenlängen der Photonen des Paares, durch Verwendung eines geeigneten dichroitischen Strahlteilers erreicht werden, wobei der Transmissionskante zwischen den Wellenlängen der verschränkten Photonen liegt. Unterscheiden sich die Photonen des Paares durch ihre Polarisation, können alternativ dazu Polarisations-Strahlteiler verwendet werden. Schließlich kann sogar bei nicht unterscheidbaren Photonen eines Paares eine unvollständige Trennung erreicht werden, und zwar durch Verwendung eines 50:50-Strahlteilers (die Hälfte der Paare pro Strahlteiler wird getrennt). Die Verzögerung kann durch Bewegen einer Verzögerungseinheit in einem Strang der Anordnung erreicht werden.

20

25

30

Fig.9 zeigt teilweise die in Fig.8 beschriebene Anordnung, aber zwischen CL1 und CL2 befinden sich die Linsen CL3 und CL4 sowie ein dichroitischer Spiegel DC1, der die Photonen des Paares in die zwei verschiedenen Richtungen d1 und d2 lenkt. Die

35

beiden Strahlen werden dann durch den Spiegel DC2 wieder zusammengeführt. M1 ist ein Ablenkspiegel für den Lichtstrahl d1. Der Spiegel M2 lenkt den Lichtstrahl d2 auf einen Rückstrahler RR um, der zur Einstellung der Verzögerung in der Weglänge zwischen d1 und d2 verschoben werden kann.

5

Patentansprüche

- 5 1. Verfahren und Anordnungen zur mikroskopischen Abbildung auf der Grundlage nichtlinearer Absorption von Licht, wobei korrelierte Paare N-facher Photonen, $N = 2, 3, \dots, n$, wie Paare, Dreiergruppen, Vierergruppen usw. auf einen Punkt auf der Probe fokussiert werden.
- 10 2. Verfahren und Anordnungen zur mikroskopischen Abbildung gemäß Anspruch 1, bei denen die N-fachen Photonen zeitlich und räumlich korreliert sind.
3. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen die Lichtquelle verschränkte Photonen erzeugt.
- 15 4. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen die Lichtquelle gequetschte Photonen erzeugt.
5. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen die mikroskopische Anordnung aus einem Laserscanning-Mikroskop mit Objekt- oder Strahlrasterung besteht.
- 20 6. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen sich eine Quelle nichtklassisch erzeugter, kollinear emittierter Photonen in oder nahe einer telezentrischen Ebene des Beleuchtungsstrahlenganges des Mikroskops befindet.
- 25 7. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, wobei es sich bei der Absorption um eine Mehrphotonenabsorption handelt, die die Absorption von mindestens zwei Photonen pro Molekül des anzuregenden Fluorophors umfaßt.
- 30 8. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche zur Anwendung in der Lithographie, bei der die Mehrphotonenabsorption in einem Photoresist stattfindet und die Struktur des Materials verändert.
- 35

9. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen die Mehrphotonenabsorption zum Beschreiben eines optischen Speichers angewandt wird.
- 5 10. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen die Lichtquelle mindestens aus einem nichtlinearen Kristall besteht, in dem eine Frequenzkonversion von gepumpten Photonen in verschränkte Photonen stattfindet.
- 10 11. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen Mehrfachdurchgänge durch mindestens einen Kristall genutzt werden.
12. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen eine Verstärkung der Paare genutzt wird.
- 15 13. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen die Verstärkung der beim ersten Durchgang durch den Kristall erzeugten Paare durch Fokussieren des Strahls auf den zweiten Durchgang durch den Kristall erfolgt.
- 20 14. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen sich eine Quelle nichtklassisch erzeugter, kollinear emittierter Photonen in oder nahe der Pupillenebene der Objektivlinse, die auf die Probe abbildet, befindet.
- 25 15. Verfahren und Anordnungen gemäß Anspruch 14, bei denen diese Ebene mit der primären telezentrischen Ebene des Beleuchtungsstrahlenganges zusammenfällt.
- 30 16. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen sich die Lichtquelle innerhalb des Gehäuses der Objektivlinsen befindet.
- 35 17. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen sich die Lichtquelle in einer anderen telezentrischen Ebene als der primären telezentrischen Ebene befindet.

- 5 18. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen sich die Lichtquelle in einer telezentrischen Ebene vor den optischen Elementen, die für das Abrastern der Probe durch den Strahl zuständig sind, befindet.
- 10 19. Verfahren und Anordnungen zur spektroskopische Untersuchung von Proben mit hoher räumlicher Auflösung, vorzugsweise gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, auf der Grundlage der Fluoreszenzanregung durch nichtklassisches Licht, bei der sich eine Quelle nichtklassisch erzeugter, kollinear emittierter Photonen in oder nahe einer telezentrischen Ebene des Beleuchtungsstrahlenganges befindet.
- 15 20. Verfahren und Anordnungen gemäß einem der vorgenannten Ansprüche, bei denen sich hinter der Quelle nichtklassischen Lichts, innerhalb des Beleuchtungsstrahlenganges, ein Element zur Trennung der paarweisen Photonen, ein Element zur optischen Verzögerung der Photonen des Paares zueinander und ein Element zur erneuten Zusammenführung der Photonen des Paares nach der Verzögerung befinden.

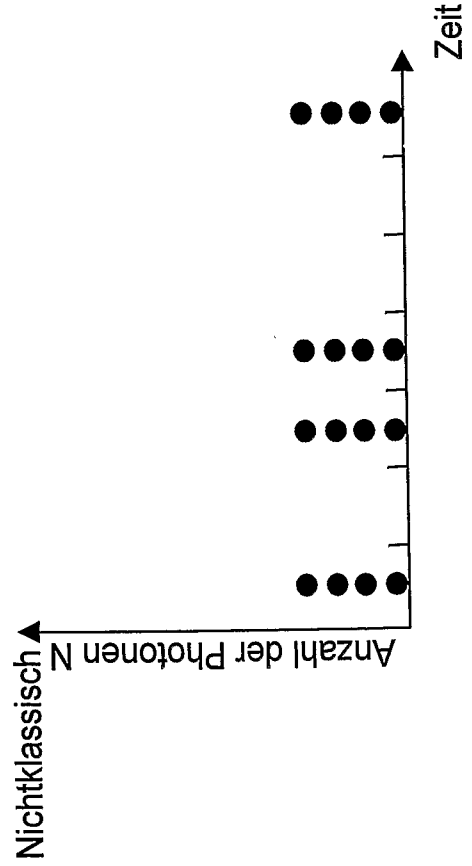
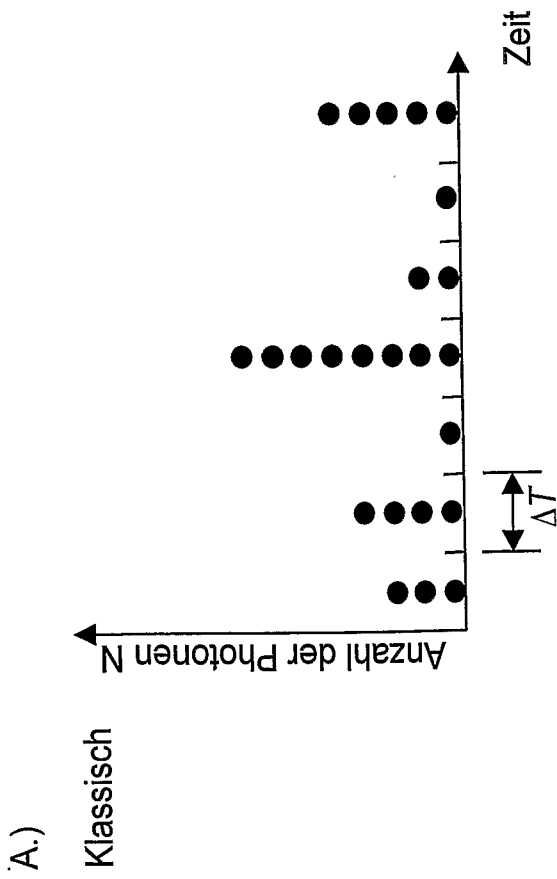
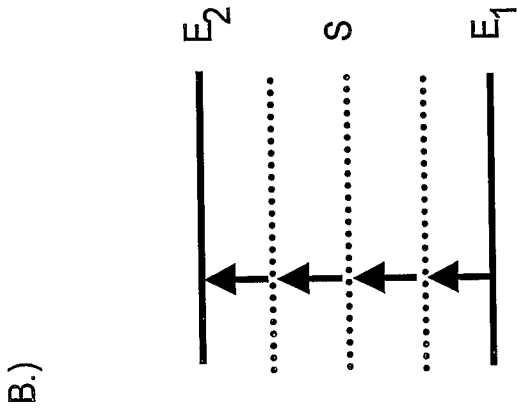


Fig.1

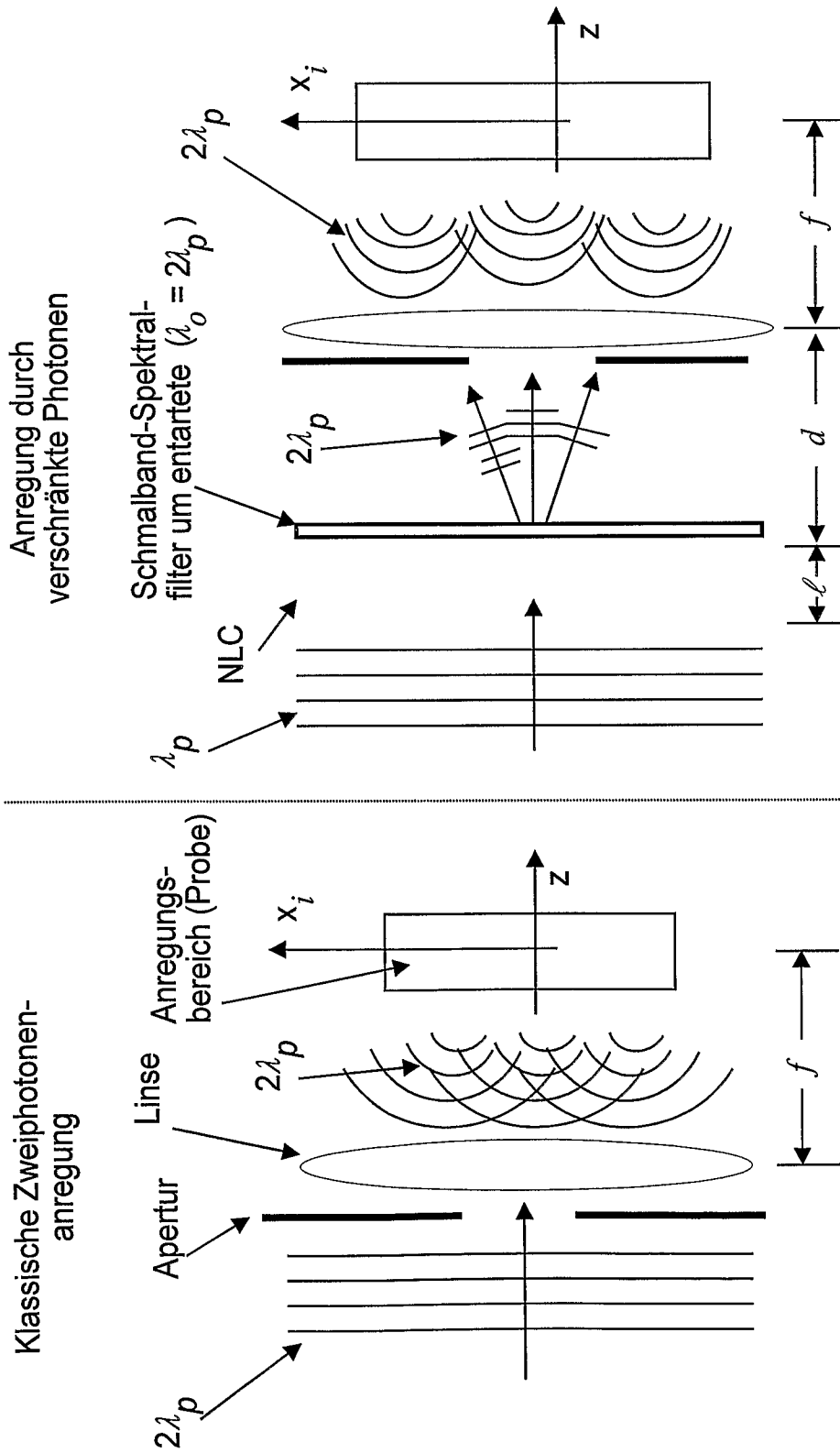


Fig.2

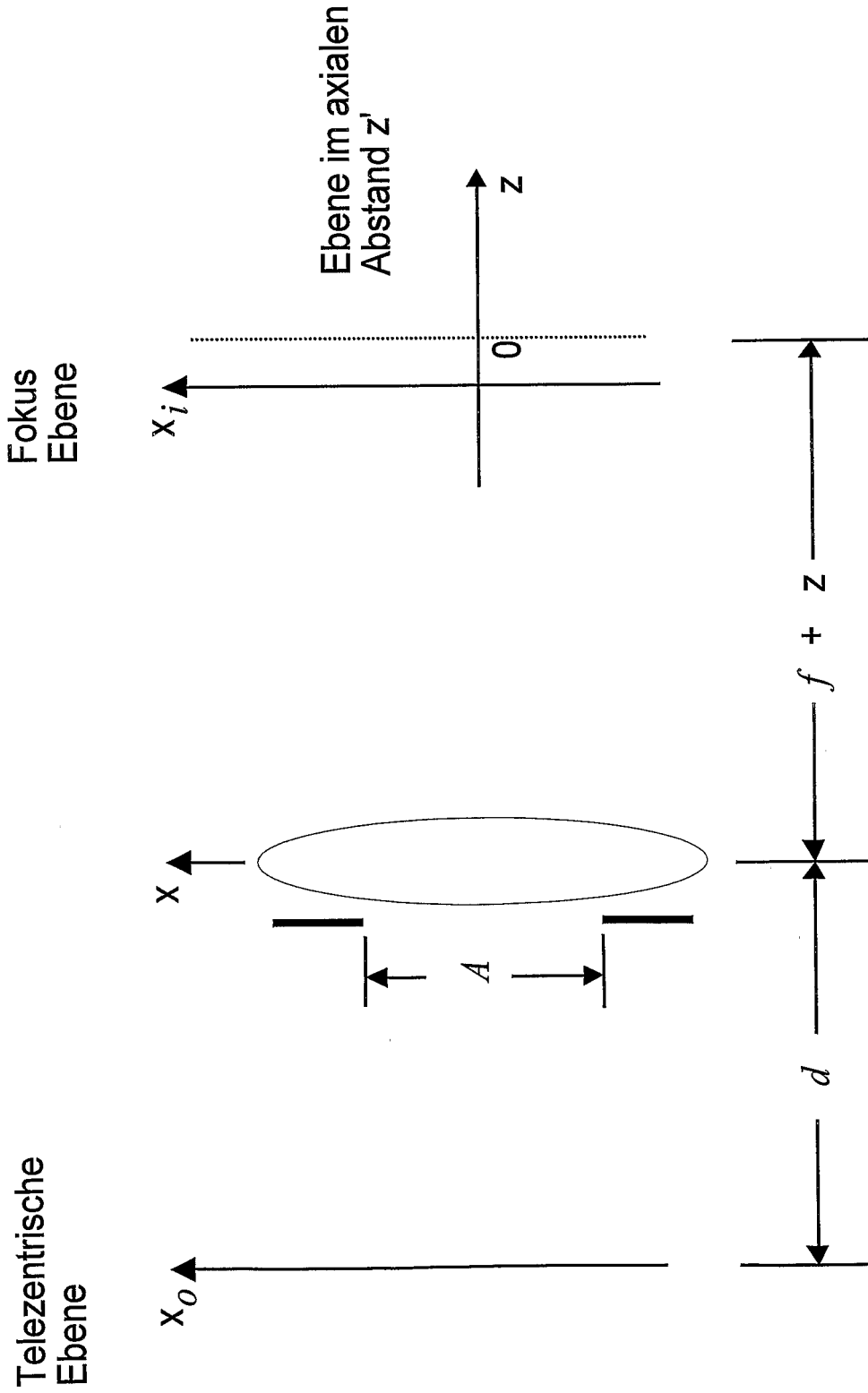


Fig.3

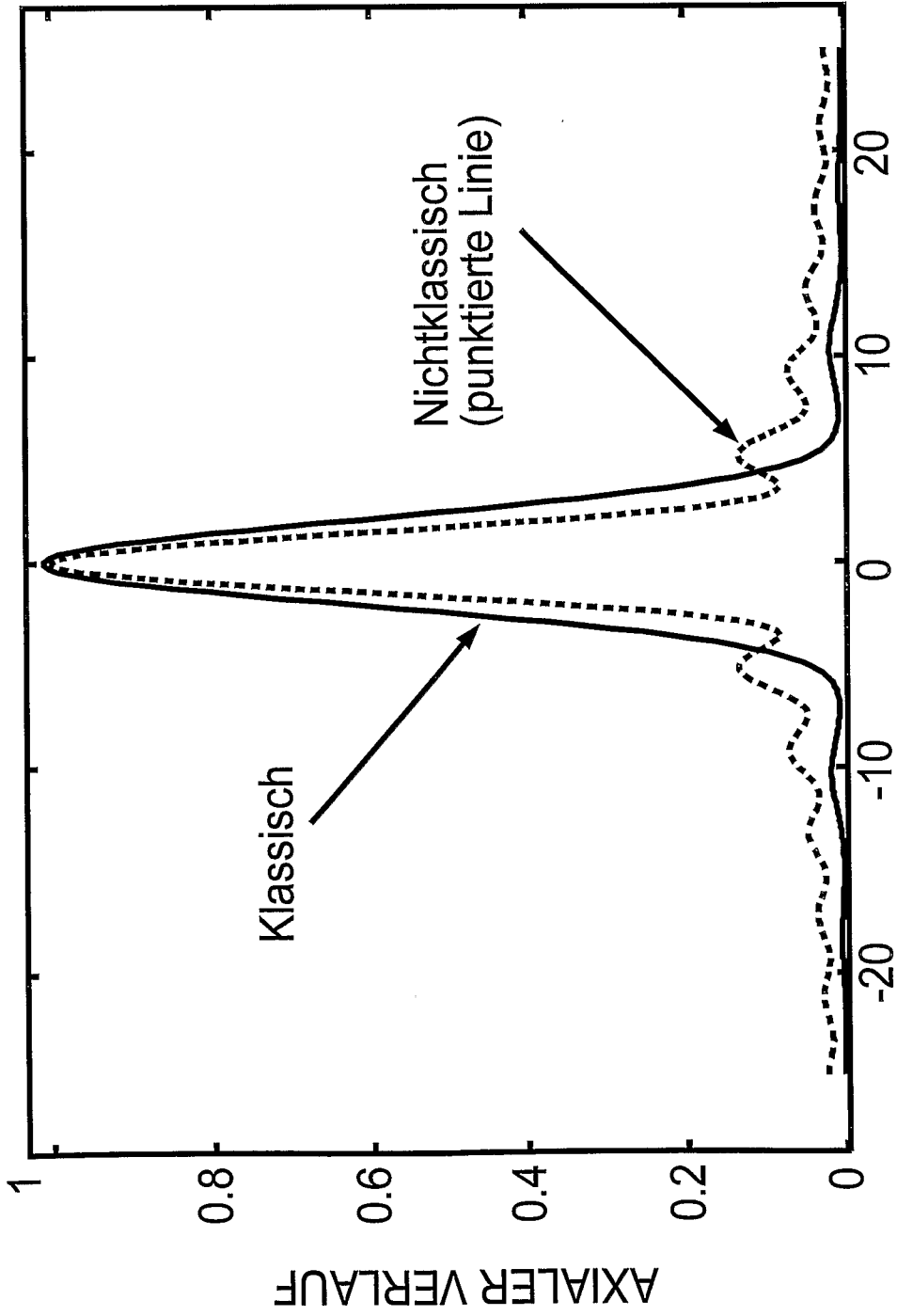
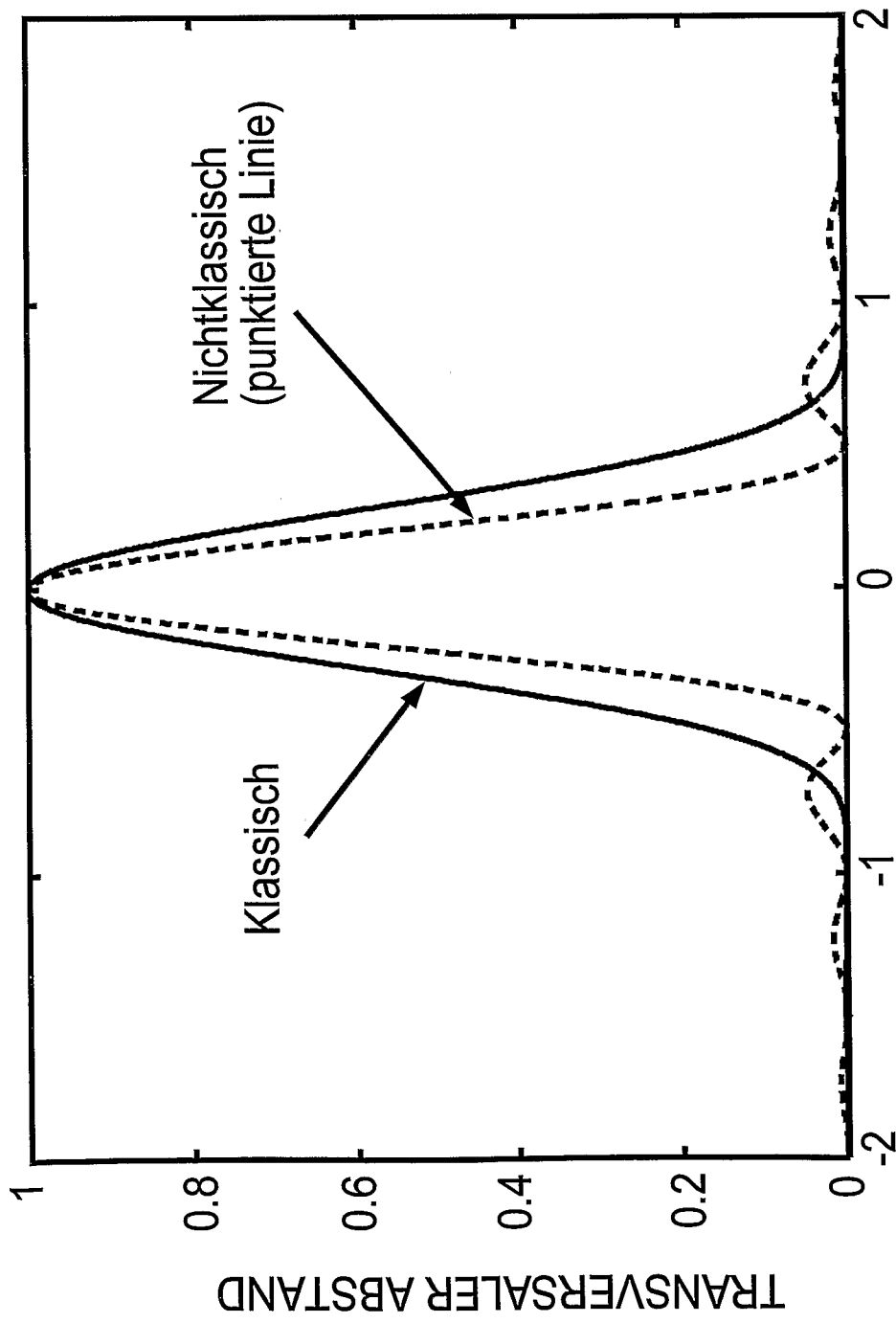


Fig.4
NOMINIRTER AXIALER ABSTAND z'



NORMIERTER TRANSVERSALER ABSTAND x'

Fig.5

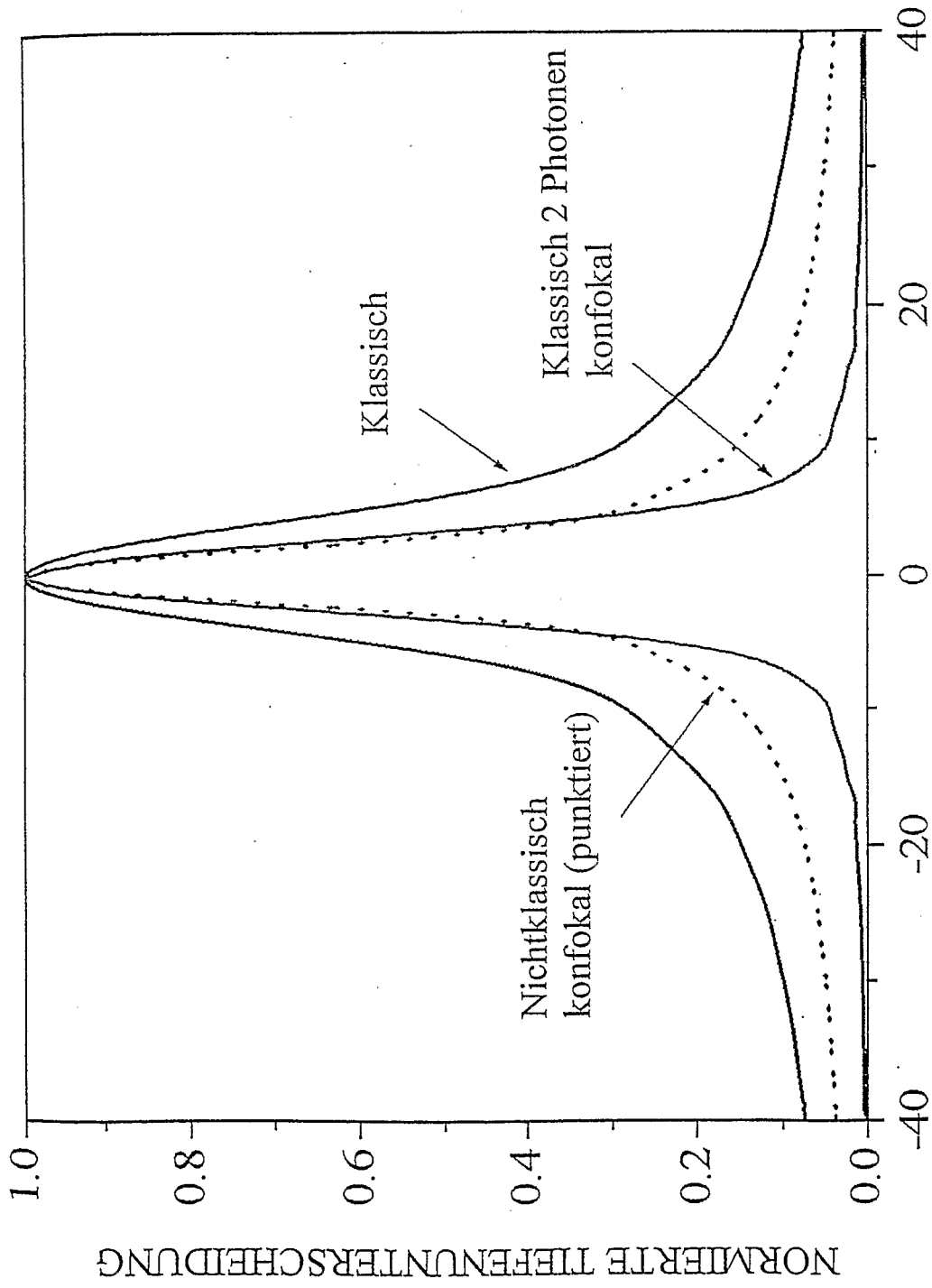


Fig.6

NORMIERTER AXIALER ABSTAND Z'

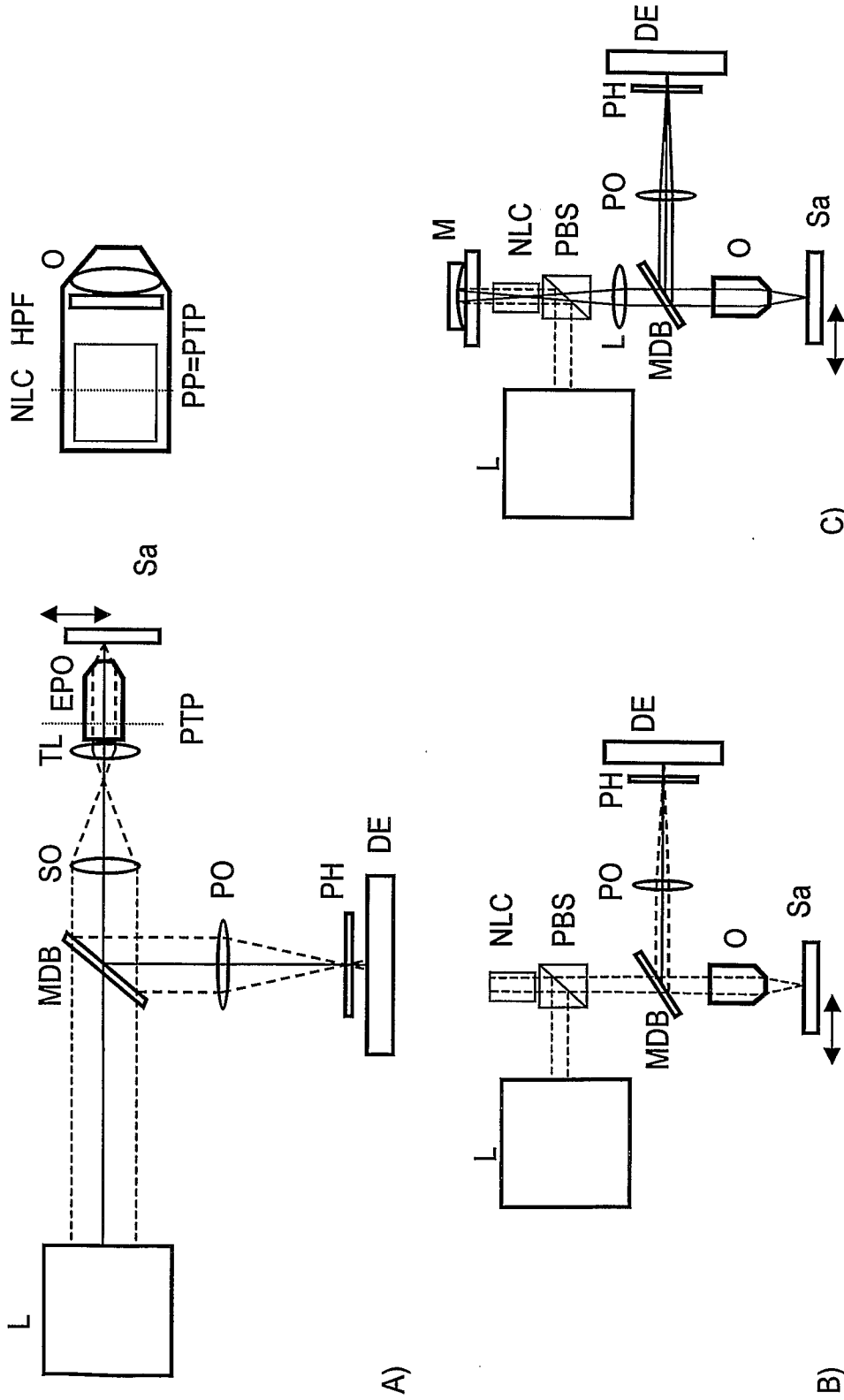


Fig.7

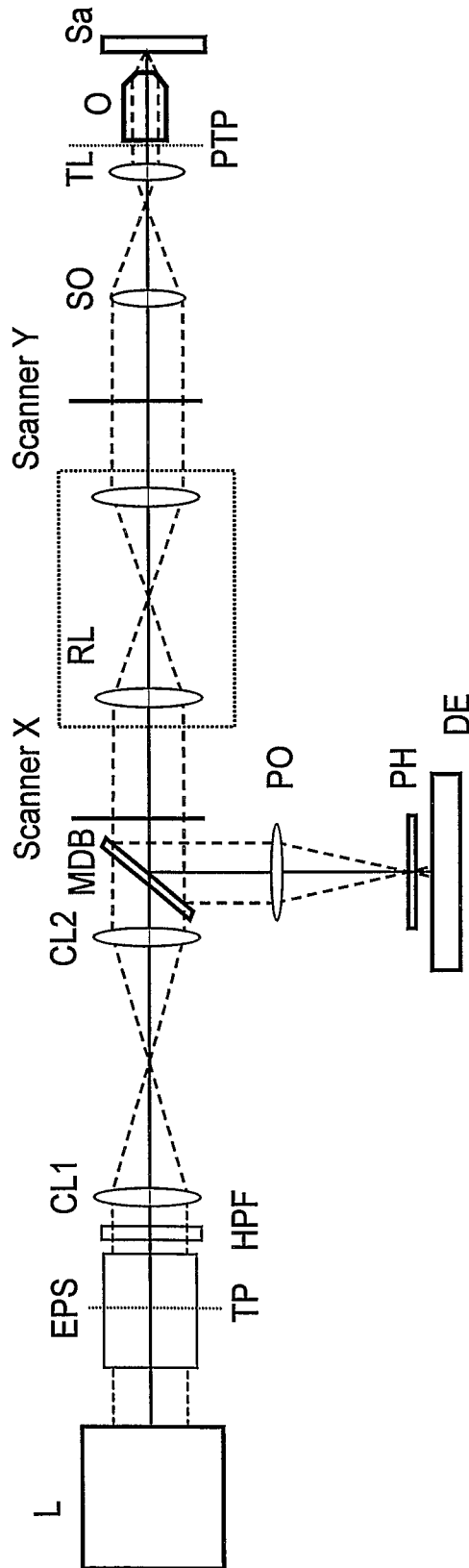


Fig.8

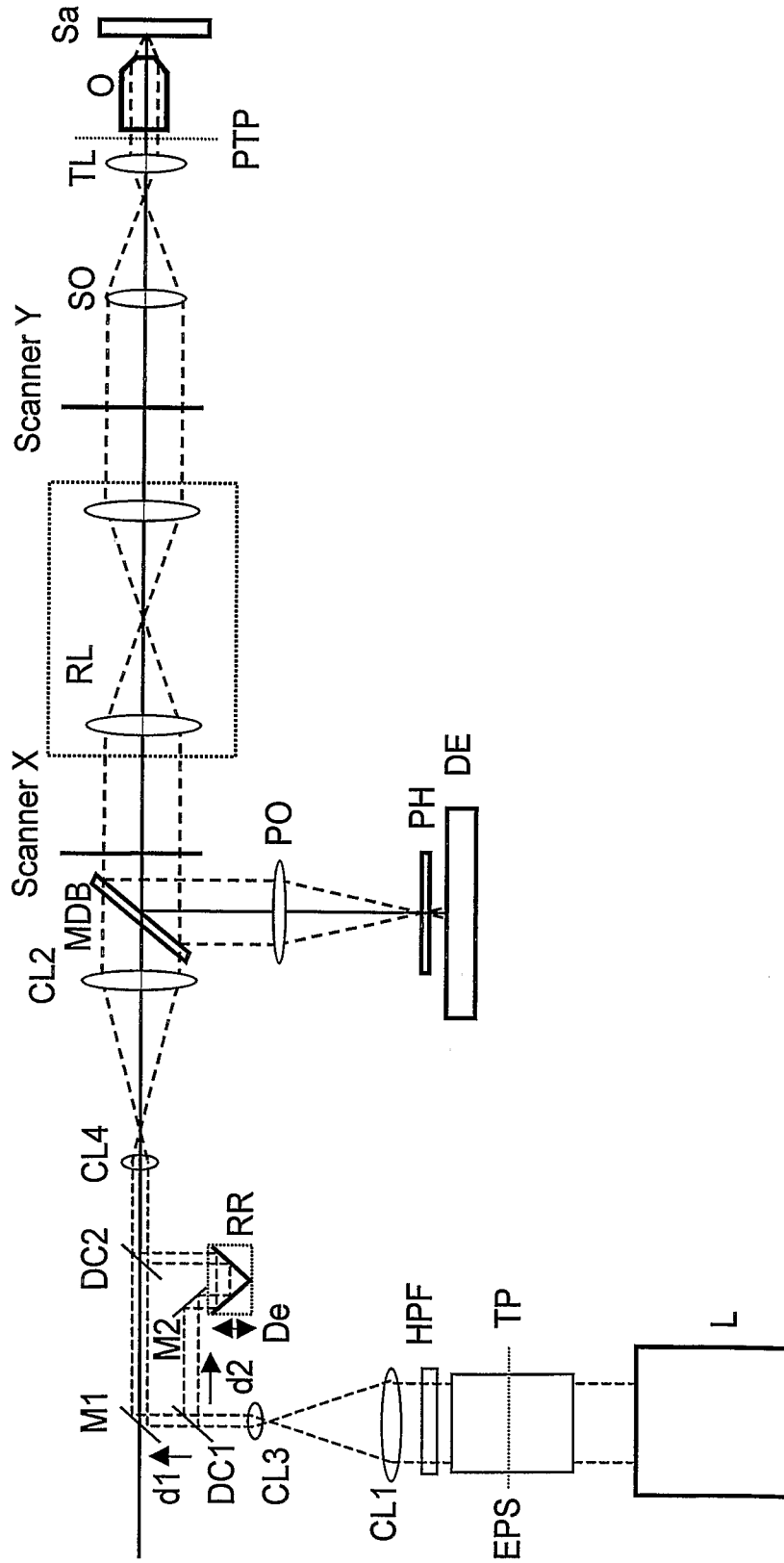


Fig.9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/00335

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G03F7/00 G02F1/35		
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) IPC 7 G03F G02F		
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, INSPEC, WPI Data, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	D'ANGELO M ET AL: "Two-photon diffraction and quantum lithography" PHYSICAL REVIEW LETTERS, 2 JULY 2001, APS, USA, vol. 87, no. 1, pages 013602/1-4, XP002236752 ISSN: 0031-9007 page 1, column 1 page 4, column 2	1-20
Y	DE 199 08 883 A (HEINTZMANN RAINER) 7 September 2000 (2000-09-07) figures 3,4 --- -/--	1-20
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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 2 April 2003	Date of mailing of the international search report 16/04/2003	
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 Consalvo, D	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/00335

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>BOTO A N ET AL: "QUANTUM INTERFEROMETRIC OPTICAL LITHOGRAPHY: EXPLOITING ENTANGLEMENT TO BEAT THE DIFFRACTION LIMIT"</p> <p>PHYSICAL REVIEW LETTERS, NEW YORK, NY, US, vol. 85, no. 13, 25 September 2000 (2000-09-25), pages 2733-2736, XP001029914 ISSN: 0031-9007 page 2736, column 1, line 3 -column 2, line 2; figure 1</p> <p>---</p>	1-20
Y	<p>DE 44 14 940 A (HELL STEFAN ;HAENNINEN PEKKA (FI)) 2 November 1995 (1995-11-02) abstract; figure 1</p> <p>---</p>	1-20
Y	<p>BJORK G ET AL: "Subwavelength lithography over extended areas"</p> <p>PHYSICAL REVIEW A (ATOMIC, MOLECULAR, AND OPTICAL PHYSICS), JULY 2001, APS THROUGH AIP, USA, vol. 64, no. 1, pages 013811/1-8, XP002236753 ISSN: 1050-2947 page 1, column 2, line 26 -page 2, column 1, line 7 page 7, column 2, line 24 -page 8, column 1, line 9</p> <p>---</p>	1-20
Y	<p>US 6 252 665 B1 (WILLIAMS COLIN ET AL) 26 June 2001 (2001-06-26) column 1, line 46 -column 2, line 53 column 6, line 37 -column 7, line 59</p> <p>---</p>	1-20
Y	<p>US 2001/021487 A1 (WILLIAMS COLIN ET AL) 13 September 2001 (2001-09-13) claims 1-9</p> <p>---</p>	1-20
A	<p>DE 101 15 486 A (LEICA MICROSYS HEIDELBERG GMBH) 20 December 2001 (2001-12-20) column 4, line 23 - line 50; figure 1</p> <p>---</p>	1-20
A	<p>DE 44 16 558 A (HELL STEFAN) 3 August 1995 (1995-08-03) abstract; figure 1</p> <p>---</p>	1-20
E	<p>DE 102 01 388 A (ZEISS CARL JENA GMBH) 13 March 2003 (2003-03-13) the whole document</p> <p>-----</p>	1-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/00335

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 19908883	A	07-09-2000	DE 19908883 A1	07-09-2000
			AT 227434 T	15-11-2002
			DE 50000729 D1	12-12-2002
			WO 0052512 A1	08-09-2000
			EP 1157297 A1	28-11-2001
DE 4414940	A	02-11-1995	DE 4414940 A1	02-11-1995
			WO 9530166 A1	09-11-1995
			EP 0706671 A1	17-04-1996
			US 5777732 A	07-07-1998
US 6252665	B1	26-06-2001	AU 7328800 A	28-12-2000
			EP 1203265 A1	08-05-2002
			WO 0075730 A1	14-12-2000
			US 6480283 B1	12-11-2002
			US 2001021487 A1	13-09-2001
			US 2001053608 A1	20-12-2001
US 2001021487	A1	13-09-2001	US 6480283 B1	12-11-2002
			US 2001053608 A1	20-12-2001
			AU 7328800 A	28-12-2000
			EP 1203265 A1	08-05-2002
			WO 0075730 A1	14-12-2000
			US 6252665 B1	26-06-2001
DE 10115486	A	20-12-2001	DE 10115486 A1	20-12-2001
			EP 1164401 A1	19-12-2001
			JP 2002062262 A	28-02-2002
			US 2002018290 A1	14-02-2002
			US 2002028044 A1	07-03-2002
			DE 10115487 A1	20-12-2001
			DE 10115488 A1	20-12-2001
			DE 10115509 A1	20-12-2001
			DE 10115577 A1	20-12-2001
			DE 10115589 A1	20-12-2001
			DE 10115590 A1	20-12-2001
			EP 1164400 A1	19-12-2001
			EP 1164402 A1	19-12-2001
			EP 1186929 A2	13-03-2002
			EP 1164406 A2	19-12-2001
			EP 1164403 A1	19-12-2001
			EP 1184701 A1	06-03-2002
			JP 2002055283 A	20-02-2002
			JP 2002055284 A	20-02-2002
			JP 2002098896 A	05-04-2002
			JP 2002048979 A	15-02-2002
			JP 2002082286 A	22-03-2002
			JP 2002048980 A	15-02-2002
			US 2002009260 A1	24-01-2002
			US 2002050564 A1	02-05-2002
			US 2002043622 A1	18-04-2002
			US 2002006264 A1	17-01-2002
			US 2002018293 A1	14-02-2002
DE 4416558	A	03-08-1995	DE 4416558 A1	03-08-1995
			AT 204086 T	15-08-2001
			WO 9521393 A2	10-08-1995
			EP 0801759 A2	22-10-1997

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/00335

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4416558 A		US 5731588 A	24-03-1998
DE 10201388 A	13-03-2003	DE 10201388 A1	13-03-2003

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/00335

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 7 G03F7/00 G02F1/35

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 IPK 7 G03F G02F

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, INSPEC, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^o	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	D'ANGELO M ET AL: "Two-photon diffraction and quantum lithography" PHYSICAL REVIEW LETTERS, 2 JULY 2001, APS, USA, Bd. 87, Nr. 1, Seiten 013602/1-4, XP002236752 ISSN: 0031-9007 Seite 1, Spalte 1 Seite 4, Spalte 2	1-20
Y	DE 199 08 883 A (HEINTZMANN RAINER) 7. September 2000 (2000-09-07) Abbildungen 3,4	1-20
	--- -/--	

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

^o 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
- *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

2. April 2003

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

16/04/2003

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

Consalvo, D

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	BOTO A N ET AL: "QUANTUM INTERFEROMETRIC OPTICAL LITHOGRAPHY: EXPLOITING ENTANGLEMENT TO BEAT THE DIFFRACTION LIMIT" PHYSICAL REVIEW LETTERS, NEW YORK, NY, US, Bd. 85, Nr. 13, 25. September 2000 (2000-09-25), Seiten 2733-2736, XP001029914 ISSN: 0031-9007 Seite 2736, Spalte 1, Zeile 3 -Spalte 2, Zeile 2; Abbildung 1 ---	1-20
Y	DE 44 14 940 A (HELL STEFAN ;HAENNINEN PEKKA (FI)) 2. November 1995 (1995-11-02) Zusammenfassung; Abbildung 1 ---	1-20
Y	BJORK G ET AL: "Subwavelength lithography over extended areas" PHYSICAL REVIEW A (ATOMIC, MOLECULAR, AND OPTICAL PHYSICS), JULY 2001, APS THROUGH AIP, USA, Bd. 64, Nr. 1, Seiten 013811/1-8, XP002236753 ISSN: 1050-2947 Seite 1, Spalte 2, Zeile 26 -Seite 2, Spalte 1, Zeile 7 Seite 7, Spalte 2, Zeile 24 -Seite 8, Spalte 1, Zeile 9 ---	1-20
Y	US 6 252 665 B1 (WILLIAMS COLIN ET AL) 26. Juni 2001 (2001-06-26) Spalte 1, Zeile 46 -Spalte 2, Zeile 53 Spalte 6, Zeile 37 -Spalte 7, Zeile 59 ---	1-20
Y	US 2001/021487 A1 (WILLIAMS COLIN ET AL) 13. September 2001 (2001-09-13) Ansprüche 1-9 ---	1-20
A	DE 101 15 486 A (LEICA MICROSYS HEIDELBERG GMBH) 20. Dezember 2001 (2001-12-20) Spalte 4, Zeile 23 - Zeile 50; Abbildung 1 ---	1-20
A	DE 44 16 558 A (HELL STEFAN) 3. August 1995 (1995-08-03) Zusammenfassung; Abbildung 1 ---	1-20
E	DE 102 01 388 A (ZEISS CARL JENA GMBH) 13. März 2003 (2003-03-13) das ganze Dokument -----	1-20

INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/00335

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 19908883	A	07-09-2000	DE 19908883 A1	07-09-2000
			AT 227434 T	15-11-2002
			DE 50000729 D1	12-12-2002
			WO 0052512 A1	08-09-2000
			EP 1157297 A1	28-11-2001
DE 4414940	A	02-11-1995	DE 4414940 A1	02-11-1995
			WO 9530166 A1	09-11-1995
			EP 0706671 A1	17-04-1996
			US 5777732 A	07-07-1998
US 6252665	B1	26-06-2001	AU 7328800 A	28-12-2000
			EP 1203265 A1	08-05-2002
			WO 0075730 A1	14-12-2000
			US 6480283 B1	12-11-2002
			US 2001021487 A1	13-09-2001
			US 2001053608 A1	20-12-2001
US 2001021487	A1	13-09-2001	US 6480283 B1	12-11-2002
			US 2001053608 A1	20-12-2001
			AU 7328800 A	28-12-2000
			EP 1203265 A1	08-05-2002
			WO 0075730 A1	14-12-2000
			US 6252665 B1	26-06-2001
DE 10115486	A	20-12-2001	DE 10115486 A1	20-12-2001
			EP 1164401 A1	19-12-2001
			JP 2002062262 A	28-02-2002
			US 2002018290 A1	14-02-2002
			US 2002028044 A1	07-03-2002
			DE 10115487 A1	20-12-2001
			DE 10115488 A1	20-12-2001
			DE 10115509 A1	20-12-2001
			DE 10115577 A1	20-12-2001
			DE 10115589 A1	20-12-2001
			DE 10115590 A1	20-12-2001
			EP 1164400 A1	19-12-2001
			EP 1164402 A1	19-12-2001
			EP 1186929 A2	13-03-2002
			EP 1164406 A2	19-12-2001
			EP 1164403 A1	19-12-2001
			EP 1184701 A1	06-03-2002
			JP 2002055283 A	20-02-2002
			JP 2002055284 A	20-02-2002
			JP 2002098896 A	05-04-2002
			JP 2002048979 A	15-02-2002
			JP 2002082286 A	22-03-2002
			JP 2002048980 A	15-02-2002
			US 2002009260 A1	24-01-2002
			US 2002050564 A1	02-05-2002
			US 2002043622 A1	18-04-2002
			US 2002006264 A1	17-01-2002
			US 2002018293 A1	14-02-2002
DE 4416558	A	03-08-1995	DE 4416558 A1	03-08-1995
			AT 204086 T	15-08-2001
			WO 9521393 A2	10-08-1995
			EP 0801759 A2	22-10-1997

INTERNATIONAL RESEARCH REPORT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/00335

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 4416558 A		US 5731588 A	24-03-1998
DE 10201388 A	13-03-2003	DE 10201388 A1	13-03-2003