



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 102 50 503 A1** 2004.05.19

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **102 50 503.9**
(22) Anmeldetag: **29.10.2002**
(43) Offenlegungstag: **19.05.2004**

(51) Int Cl.7: **G02B 21/00**
G01B 11/00

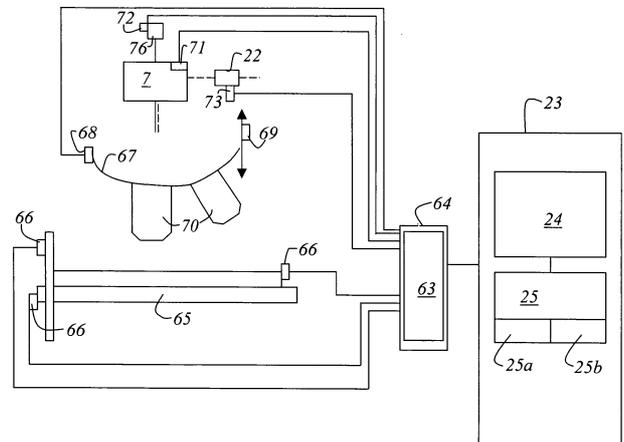
(71) Anmelder:
**Leica Microsystems Heidelberg GmbH, 68165
Mannheim, DE**

(72) Erfinder:
Olschewski, Frank, 69118 Heidelberg, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Mikroskopsystem und Verfahren zur Detektion und Kompensation von Veränderungen eines aufgenommenen Bildinhalts**

(57) Zusammenfassung: Es ist ein Mikroskopsystem zur Detektion und Kompensation von Veränderungen innerhalb eines aufgenommenen Bildinhalts eines mikroskopischen Objekts offenbart. Ein Mittel zur Berechnung von Signaturen eines aufgenommenen mehrdimensionalen Bildes (50) ist vorgesehen. Ferner ist ein Mittel zum Berechnen statistischer Signaturkenngrößen vorgesehen. Mehrere Stellmotore und/oder Aktuatoren am Mikroskop empfangen vom Softwaremodul Steuersignale, die aus den Signaturkenngrößen ermittelbar sind.



Beschreibung

- [0001] Die Erfindung betrifft ein Mikroskopsystem zur Detektion und Kompensation von Veränderungen eines aufgenommenen Bildinhalts. Im Besonderen betrifft die Erfindung ein Mikroskopsystem Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Detektion und Kompensation von Veränderungen eines aufgenommenen Bildinhalts.
- [0002] Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde ein Mikroskopsystem zu schaffen, mit dem auf schnelle und zuverlässige Weise Änderungen eines Bildinhalts überwachbar und bestimmbar sind und anhand deren das Mikroskopsystem nachregelt wird.
- [0003] Die objektive Aufgabe wird durch ein Mikroskopsystem gelöst, das die Merkmale des Patentanspruchs 1 aufweist.
- [0004] Ferner liegt der Erfindung die Aufgabe zugrunde ein Verfahren zu schaffen, mit dem mit dem auf schnelle und zuverlässige Weise Änderungen eines Bildinhalts überwacht und bestimmt werden und anhand deren Bestimmung das Mikroskopsystem nachregelt wird.
- [0005] Die obige objektive Aufgabe wird durch ein Verfahren gelöst, das die Merkmale des Patentanspruchs 7 aufweist.
- [0006] Die Erfindung hat den Vorteil, dass ein Rechnersystem vorgesehen ist, das die Berechnung von statistischen Signaturen eines aufgenommenen mehrdimensionalen Bildes bestimmt. Diese Signaturen ergeben sich durch die Projektion der Grauwerte anhand der inhärenten Achsen des Bildes (x,y,z,Lambda). Hinzu kommt, dass ein Mittel zum Berechnen statistischer Signaturkenngrößen vorgesehen ist. Es ist von besonderem Vorteil, dass mehrere Stellmotore und/oder Aktuatoren am oder im Mikroskopsystem vorgesehen sind, und dass mindestens ein Softwaremodul realisiert ist, das Steuersignale an die Stellmotore bzw. Aktuatoren liefert, die aus den Signaturkenngrößen ermittelbar sind. Dadurch kann gewährleistet werden, dass z.B. ein zu beobachtendes Element eines Objekts immer unabhängig von dessen Bewegung immer in optimalen Bildfenster ist. Hierzu erfolgt dann eine entsprechende Verstellung des XYZ-Tisches, wobei die Stellsignale aus den statistischen Signaturen und den statistischen Kenngrößen abgeleitet sind. Ebenso ist es denkbar, dass sich die Wellenlänge des von einem Element des Objekts ausgehenden Fluoreszenzlicht ändert. Hierzu wäre eine geeignete Verstellung am SP Modul des Mikroskopsystems erforderlich.
- [0007] Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung können den Unteransprüchen entnommen werden.
- [0008] In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben. Dabei zeigen:
- [0009] **Fig. 1** eine schematische Darstellung eines Scanmikroskops, wobei den Detektoren ein SP Modul vorgeschaltet ist;
- [0010] **Fig. 2** eine schematische Darstellung zum Abscannen eines Bereichs einer Probe;
- [0011] **Fig. 3** eine graphische Darstellung einer Projektion der Intensitätswerte mit jeweils gleichen Koeffizienten einer Koordinate;
- [0012] **Fig. 4** eine graphische Darstellung von zeitlich unterschiedlichen Projektionen der Intensitätswerte mit jeweils gleichen Koeffizienten einer Koordinate;
- [0013] **Fig. 5** erläutert das Prinzip der Inferenz; und
- [0014] **Fig. 6** eine schematische Darstellung der Verbindungen des Rechnersystems mit Stallelementen des Scanmikroskops.
- [0015] In **Fig. 1** ist das Ausführungsbeispiel eines konfokalen Scanmikroskops **100** schematisch gezeigt. Dies soll jedoch nicht als Beschränkung der Erfindung aufgefasst werden. Der von mindestens einem Beleuchtungssystem **1** kommende Beleuchtungslichtstrahl **3** wird von einem Strahlteiler oder einem geeigneten Umlenkmittel **5** zu einem Scanmodul **7** geleitet. Bevor der Beleuchtungslichtstrahl **3** auf das Umlenkmittel **5** trifft, passiert dieser ein Beleuchtungspinhole **6**. Das Scanmodul **7** umfasst einen kardanisch aufgehängten Scanspiegel **9**, der den Beleuchtungslichtstrahl **3** durch eine Scanoptik **12** und eine Mikroskopoptik **13** hindurch über bzw. durch ein Objekt **15** führt. Das Beleuchtungssystem **1** kann derart ausgestaltet sein, dass es aus dem Licht eines Lasers **10**, Weisslicht erzeugt. Hierzu ist ein mikrostrukturiertes Element **8** oder eine tapered Glasfaser vorgesehen. Bei biologischen Objekten **15** (Präparaten) oder transparenten Objekten kann der Beleuchtungslichtstrahl **3** auch durch das Objekt **15** geführt werden. Zu diesen Zwecken werden nichtleuchtende Präparate ggf. mit einem geeigneten Farbstoff und oftmals auch mit mehreren Farbstoffen präpariert (nicht dargestellt, da etablierter Stand der Technik). Die in dem Objekt **15** vorhandenen Farbstoffe werden durch den Beleuchtungslichtstrahl **3** angeregt und senden Licht in einem ihnen eigenen charakteristischen Bereich des Spektrums aus. Dieses vom Objekt **15** ausgehende Licht definiert einen Detektionslichtstrahl **17**. Der Detektionslichtstrahl **17** gelangt zu einem Detektormodul **22**. Der Detektionslichtstrahl **17** gelangt durch die Mikroskopoptik **13**, die Scanoptik **12** und über das Scanmodul **7** zum Umlenkmittel **5**, passiert dieses und gelangt zum Detektormodul **22**. Über ein Detektionspinhole **18** trifft dieser auf mindestens einen Detektor **36, 37**, der jeweils als Photomultiplier ausgeführt ist. Es ist dem Fachmann klar, dass auch andere Detektionskomponenten, wie z.B. Dioden, Diodenarrays, Photomultiplierarrays, CCD Chips oder CMOS Bildsensoren eingesetzt werden

können. Der vom Objekt **15** ausgehende bzw. definierte Detektionslichtstrahl **17** ist in **Fig. 1** als gestrichelte Linie dargestellt. In den Detektoren **36, 37** werden elektrische, zur Leistung des vom Objekt **15** ausgehenden Lichtes, proportionale Detektionssignale erzeugt. Da, wie bereits oben erwähnt, vom Objekt **15** Licht nicht nur einer Wellenlänge ausgesandt wird, ist es sinnvoll vor dem mindestens einen Detektor **36, 37** ein SP-Modul **20** vorzusehen. Die von dem mindestens einen Detektor **36, 37** erzeugten Daten werden an ein Rechnersystem **23** weitergegeben. Dem Rechnersystem **23** ist mindestens ein Peripheriegerät **27** zugeordnet. Das Peripheriegerät **27** kann z.B. ein Display sein, auf dem der Benutzer Hinweise zur Einstellung des Scanmikroskops **100** erhält oder den aktuellen Setup und auch die Bilddaten in graphischer Form entnehmen kann. Ferner ist mit dem Rechnersystem **23** ein Eingabemittel **28** zugeordnet, das z.B. aus einer Tastatur, einer Einstellvorrichtung für die Komponenten des Mikroskopsystems und/oder einer Maus **30** besteht. Ebenso ist dem Rechnersystem **23** ein Speicher **24** zugeordnet in dem die Signaturen als Datensätze abgelegt werden. Ferner ist im Rechnersystem **23** eine Software **25** implementiert, mit der die geeigneten Berechnungen für das erfinderische Verfahren durchgeführt werden. Hinzu kommt, dass zusätzlich auf dem Display **27** auch Einstellelemente **40, 41** für die Bildaufnahme dargestellt werden. In der hier gezeigten Ausführungsform sind die Einstellelemente **40, 41** als Schieber dargestellt. Ebenso können die Einstellelemente **40, 41** als Checkboxes ausgebildet sein, über die ein Ja/Nein Aktivierung für bestimmte Parameter möglich ist. Jede andere Ausgestaltung liegt im handwerklichen Können eines Fachmanns.

[0016] Der Detektionslichtstrahl **17** wird mit einem Prisma **31** räumlich spektral aufgespalten. Eine weitere Möglichkeit der spektralen Aufspaltung ist die Verwendung eines Reflexions-, oder Transmissionsgitters. Der spektral aufgespaltene Lichtfächer **32** wird mit der Fokussieroptik **33** fokussiert und trifft anschließend auf eine Spiegelblendenanordnung **34, 35**. Die Spiegelblendenanordnung **34, 35**, die Mittel zur spektralen, räumlichen Aufspaltung, die Fokussieroptik **33** und die Detektoren **36** und **37** werden zusammen als SP-Modul **20** (oder Mutibanddetektor) bezeichnet.

[0017] Mit dem in **Fig. 1** beschriebenen Mikroskopsystem können Bilder 50 von Objekten **15** aufgenommen werden. Die Bilder 50 sind in der Regel aus einer 2-dimensionalen Matrix von an einander gereihten Bildpunkten **54** aufgebaut. Auch höherdimensionale Bilder können durch eine vom Kontrollrechner entsprechend koordinierten Aktion erfasst werden. **Fig. 2** zeigt eine schematische Darstellung der Bildaufnahme. Die Bildaufnahme bei dem Mikroskopsystem ist in der Regel so, dass eine Ebene in Objekt **15** mit einem Laserstrahl **51** punkt- bzw. pixelweise beleuchtet wird. Ebenso punkt- bzw. pixelweise erfolgt die Detektion des vom Objekt **15** ausgehenden Detektionslichts **52**. Der Bereich des Objekts **15**, der als Bild aufgenommen werden soll, bzw. dessen Daten registriert werden sollen, kann von dem Benutzer in geeigneter Weise verändert werden. So kann der Benutzer z.B. die Größe auf bestimmte interessierende Bereiche des Objekts **15** beschränken. Die Probe bzw. das Objekt wird durch den Laserstrahl **51** in der Regel meanderförmig abgescannt. Der Laserstrahl 51 wird dabei entlang der in **Fig. 2** angedeuteten Pfeile **53** abgescannt. Der in **Fig. 2** eingezeichnete und grau gefüllte Kreis stellt den flächigen Bildpunkt **54** dar, mit dem die gesamte Probe abgescannt wird. In dem in **Fig. 2** gezeigten Ausführungsbeispiel ist eine Non-Descan Anordnung dargestellt, so dass das vom Objekt transmittierte und vom Objekt ausgehende Licht detektiert wird. Dabei kann je nach der Einstellung des Mikroskopsystems oder nach Benutzervorgaben die Wellenlänge, Intensität usw. für jeden abgescannten Bildpunkt bestimmt werden. Somit ergibt sich je nach der Anzahl der bestimmten Werte die Dimensionalität des von der Probe aufgezeichneten Bildes. Für eine bestimmte vom Benutzer wählbare Auswertung werden die aufgenommenen Daten an das Rechnersystem **23** übertragen.

[0018] Wie bereits vorstehend erwähnt, kann das aufgenommene Bild je nach dem eingestellten Messverfahren 2-dimensional, 3-dimensional, 4-dimensional usw. sein. Ein 3-dimensionales Bild besteht z.B. aus der X-Koordinate x_M , der Y-Koordinate y_N und einer Intensität I_{MN} für die bei dem jeweiligen Pixel gemessenen Intensität. Es ist selbstverständlich, dass sich das Bild des Objekts **15** aus mehreren Freiheitsgraden des Systems zusammengesetzt werden kann (z.B. x, y, z , Wellenlänge, Intensität,...). Die Freiheitsgrade werden als Achsen des Bildes bezeichnet. In **Fig. 3** ist ein 3-dimensionales Bild dargestellt, das die X-Achse x , Y-Achse y und die Intensität 1 am jedem Pixel x_M, y_N wiedergibt. Für die schematische Darstellung des Bildes aus **Fig. 3** lässt sich eine Projektion berechnen, d.h. z.B. für alle diskreten Koordinaten der x-Achse werden alle Pixel des Bildes zusammengezählt, die den gleichen Koeffizienten für dieses Coordinate haben. Es wird somit die Summe aller Intensitäten gebildet. Heraus kommt eine Verteilungsfunktion **60**, die etwas über die Kompaktheit der Bildszene aussagt. Diesen Berechnungsschritt kann man zum Beispiel mittels FPGAs oder DSPs effizient realisieren. Diese Verteilungsfunktion **60** lässt sich relativ einfach durch beschreibende statistische Kennwerte beschreiben, wie z.B. Mittelwert, Varianz, höheren statistischen Momenten, Minimum und Maximum, Median, oder statistische Quartile. Alle Parameter zur Beschreibung statistischer Verteilungen und Verteilungsdichtefunktionen kann in diesem Sinne zur Quantifizierung von Veränderungen nutzen kann. Verändert sich auf der X-Achse x die Varianz zwischen Bildern so bedeutet dies bei kleiner werdender Varianz eine Konzentration von Pixeln, was ein Anzeichen dafür ist das Bildformat zu verkleinern, wächst sie ist dies ein Anzeichen das Bildformat zu vergrößern. Verändert sich der Mittelwert oder eines der Randquartile, so ist dies ein Anzeichen dafür, dass ein bewegliches Objekt vorliegt. Bei gleich bleibender Varianz (in gewissen Grenzen) liegt oft ein be-

wegliches Objekt vor. Das selbe Verfahren bzw. Klassifikation kann ebenfalls für die Y-Achse und die Z-Achse angewendet werden. Dabei ist zu bemerken, dass man aus unterschiedlichen statistischen Kennwerten sehr viele unterschiedliche Argumentationen und Steuervorschriften aufstellen kann. Diesen Punkt werden wir weiter unten unter dem Punkt Inferenz wieder aufnehmen.

[0019] Im spektralen Fall ist die Interpretation eine etwas andere, da sich spektrale Veränderungen auf der Basis chemischer und physikalischer Parameter ergibt, die sich etwas schwieriger mental erfassen lassen. Im Prinzip ist die Erhöhung und Reduktion des Bildformats (spektrale Abtastpunkte) aber identisch.

[0020] **Fig. 4** zeigt eine graphische Darstellung von zeitlich unterschiedlichen Projektionen der Intensitätswerte mit jeweils gleichen Koeffizienten einer Koordinate. Zu einer Zeit T_1 wird das Bild 50, Objekts **15** aufgenommen und die Verteilungsfunktion **60**, bezüglich der x-Achse x und eine Verteilungsfunktion **61**, bezüglich der y-Achse ermittelt. Im Objekt **15** ist z. B. ein erstes und ein zweites Element **58, 59** vorhanden. In der Verteilungsfunktion **60**, bezüglich der x-Achse werden die Lagen **74, 75** des ersten und des zweiten Elements **58, 59** ermittelt. In der Verteilungsfunktion **61**, bezüglich der y-Achse werden ebenfalls die Lagen **77, 78** des ersten und des zweiten Elements **58, 59** ermittelt. Zu einer Zeit T_2 wird das Bild 50₂ Objekts **15** aufgenommen und die Verteilungsfunktion **60₂** bezüglich der x-Achse x und eine Verteilungsfunktion **61₂** bezüglich der y-Achse ermittelt. Für das im Objekt **15** vorhandene erste und zweite Element **58, 59** werden aus der Verteilungsfunktion **60₂** werden die Lagen **74, 75** des ersten und des zweiten Elements **58, 59** bezüglich der x-Achse ermittelt. Ebenso werden das erste und zweite Element **58, 59** werden aus der Verteilungsfunktion **61₂** werden die Lagen **78, 79** des ersten und des zweiten Elements **58, 59** bezüglich der y-Achse ermittelt. Aus dem Vergleich der Lagen **74, 75, 78** und **79** können Rückschlüsse auf die Veränderungen des ersten und zweiten Elements **58, 59** bestimmt werden. In dem in **Fig. 4** dargestellten Beispiel handelt es sich bei dem ersten Element **58** um eine Größenzunahme bei unverändertem Ort. Bei dem zweiten Element **59** wird eine Ortsveränderung bestimmt. Das Scanmikroskop **100** kann nun für das zweite Element **59** entsprechend verstellt werden, damit das Element **59** immer in zentrum eines Bildfensters (nicht dargestellt) ist.

[0021] In **Fig. 5** ist das Prinzip der Inferenz illustriert. Die Inferenz ist ein Mechanismus um systematisch aus einem Satz Regeln Schlussfolgerungen abzuleiten. Das Prinzip der Inferenz über Faktenwissen ist seit langem Standard in der KI (Künstlichen Intelligenz), in der eine Folge von Fakten und Regeln der Form

A

B

WENN A DANN B

WENN C DANN E

...

WENN A UND C DANN D ODER F

[0022] Verarbeitet werden. In diesen Regeln sind Variablen und Fakten (hier A,B,C,D, F) logische Aussagen die sich überprüfen lassen. Alle Regeln sind in einer Datenbank im Speicher des Rechners angeordnet und werden über Backtracking Algorithmen bearbeitet. Die Fakten werden in einer Liste geführt (z.B. A ist wahr) und alle Regeln durchgeprüft, neue Fakten über die Regelmenge generiert, bis bei einem neueren Durchlauf keine weiteren Fakten mehr erzeugt werden. Als Beispiel: Die Regel (Wenn XX DANN YY) ist wahr wenn die Prämisse XX eintritt und wird somit zu einem neuen Fakt. Dieses Konzept lässt sich direkt anwenden, wenn die geeignete Menge an Merkmalen geeignet kodiert vorliegt. Zu diesem Zweck werden die erfassten Signaturkenngrößen in eine Fakten und Regelbasis eingebettet, was ungefähr so aussehen kann:

VARIANZ_STABIL = (abs(var1-var2) < epsilon)

MITTELWERT_STABIL = (abs(mean1-mean2)<epsilon)

WENN VARIANZ_STABIL UND MITTELWERT_STABIL

DANN KEINE_BEWEGUNG

WENN (var2>var1 UND MITTELWERT_STABIL DANN EXPANSION

WENN (Mean2>Mean1 UND VARIANZ_STABIL) DANN BEWEGUNG

[0023] Durch eine Handvoll regeln lassen sich den Daten so schon eine relativ einfache Interpretation wie

„Bewegung“, „Kontraktion“ oder „Expansion“ geben. Die Regelbasis muss hierfür natürlich für den Mehrdimensionalen Fall aufgebaut werden, was den Rahmen dieser Präsentation sprengen würde. Die Inferenzmaschine kann dann durch iterative Konstruktion einer Erklärung immer detailliertere Auswertungen vornehmen, wobei die Art der Auswertung explizit durch das hinterlegte Regelwerk hinterlegt werden, das bei hinreichend feinen Aussagen schon großes Ausmaß annehmen kann. Die Leistungsfähigkeit des Systems hängt nur von der Anzahl an Regeln, der Qualität der Regeln, den bereitgestellten initialen Fakten und der Messgenauigkeit dieser Fakten ab und lässt so sehr viele Freiheitsgrade zur Implementierung. Es bleibt zu bemerken, dass dies ein höchst mächtiger Rechenapparat ist, der in der Theorie der Informatik alles Berechenbare berechnen kann. Die Einfachheit dieser Beispiele dient nur den eigentlichen Vorgang transparent zu machen. Bei einer geeigneten Realisierung, werden sich weit größere Inferenzketten ergeben, die aber den Rahmen der Darstellung hier sprengen würden. Aus der durch die Inferenz herbeigeführte Situationsklassifikation lassen sich dann unter Hinzunahme weiterer Fakten wie

BEWEGUNG_STEUERSIGNAL_X = a*(mean2-mean1)

und Regeln wie

WENN BEWEGUNG_X

DANN SetzeX BEWEGUNGS_STEUERSIGNAL_X

[0024] Der Regelkreis effektiv schließen.

[0025] Es bleibt zu bemerken, dass auch neuere Abwandlungen des Inferenz Kerngedankens wie Fuzzy Regeln, Neuro-Fuzzy Regeln, Bayes Netzwerke nichts am Prinzip ändern, sondern nur anstatt den harten Entscheidungsgrenzen die durch boolesche Logik vorgegeben ist, weiche und stetige Aussagen über die Regelbasis generieren. In diesen Ansätzen werden die althergebrachten Logikelemente UND, ODER, NICHT, WENN, DANN ... durch weichere Äquivalente explizit oder implizit ersetzt. Im Falle wahrscheinlichkeitstheoretischer Ansätze wird für die Regeln nach dem Bayes Ansatz eine Wahrscheinlichkeit durch das Regelwerk zugewiesen, wobei die Regeln mit maximaler Wahrscheinlichkeit ausgewählt werden. Dies ist dem Fachmann hinreichend bekannt und kann im Falle einer Implementierung vorteilhaft sein ohne der Lehre dieser Erfindung zu widersprechen. Es bleibt auch die Möglichkeit die Inferenzmaschine direkt als Computerprogramm in Code zu verfassen. Im System werden aus der Menge aller Regeln und Fakten **80**, werden iterativ einzelne Regeln **81** herausgegriffen und Ihre Prämissen geprüft. Durch die Iterative Ausführung wird so zur Laufzeit dieses Verfahrens der Baum von Regeln mit erfüllter Prämisse **82** erzeugt, den man als Argumentation oder Beweis interpretieren kann. Der Prozess geht weiter bis keine weiteren Regeln mehr bewiesen werden kann und ableitbare Steuersignale vorliegen.

[0026] **Fig. 6** zeigt eine schematische Darstellung eines Teilbereichs des Mikroskopsystems, der die Verbindung des Rechnersystems **23** mit den verschiedenen Stellelementen des Scanmikroskops **100**. In einer Ausführungsform, kann z.B. ein FPGA **63** vorgesehen sein, der die Berechnung der spektralen Signaturen für jede Achse ausführt. Das FPGA **63** kann in Mikroskop selbst angeordnet sein, oder in einer separat dafür vorgesehenen Elektronikbox **64** untergebracht werden oder als Einschub im Rechner selbst ausgebildet sein. Im dem in **Fig. 4** dargestellten Ausführungsbeispiel ist das FPGA **63** in einer Elektronikbox **64** untergebracht. Ebenso ist es denkbar, dass eine in Software realisierte Berechnung spektraler Signaturen für jede Achse durchgeführt wird. Dabei können sowohl die Software **25** und/oder das FPGA **63** in entsprechender Weise zusammenarbeiten. Eine in Software 25/FPGA 63 realisierte Berechnung statistischer Signaturkenngrößen ist realisiert. Ferner ist ein Softwaremodul **25a** vorgesehen, das zum Tracking der Veränderungen der Signaturen dient. Ein weiteres Softwaremodul **25b** dient zur Interpretation der Veränderung und Umsetzung in entsprechende Aktuator-signale. So ist z.B. das Scanmikroskop **100** mit einem XYZ-Tisch **65** versehen, der in allen drei Raumrichtungen verstellbar ausgestaltet ist. Für jede Achse ist ein Stellmotor **66** vorgesehen, über den eine geeignete Verstellung des XYZ-Tisches **65** durchgeführt wird. Die Signale für die Verstellung werden von dem weiteren Softwaremodul **25b** erzeugt. Ebenso erzeugt das weitere Softwaremodul **25b** Signale zum Verstellen eines Objektivrevolvers **67** des Scanmikroskops **100**. Der Objektivrevolver **67** umfasst einen ersten Stellmotor **68** zum Drehen des Objektivrevolvers **67**, so dass eines der mehreren Objektive **70** in die Arbeitsposition verbracht wird. Ferner kann ein zweiter Stellmotor oder Aktuator **69** (Piezo) vorgesehen sein, der den eine Relativbewegung zwischen dem Objektivrevolver **67** und dem XYZ-Tische **65** erzeugt. Das auswählen eines anderen Objektivs **70** wird z.B. dann angeregt, wenn das Ergebnis der Berechnungen durch die Softwaremodule **25a** und **25b** die Auswahl eines neuen Bildfensters erforderlich machen. Ebenso werden an die Galvos **71** des Scanmoduls **7** entsprechende Steuersignale geliefert. Ein Detektormodul **22** ist ebenfalls über mindestens ein geeignetes Stellelement **73** entsprechend der Vorgaben durch den Benutzer und/oder mindestes eines der Softwaremodule **25a** oder **25b** einstellbar. Eine weitere Möglichkeit der Verstellung ist durch eine geeignete Einstellung des Beleuchtungslichts gegeben. Hierzu ist ein Stellmittel **72** vorgesehen, das ein Auswahlmittel **76** betätigt, um

einen bestimmten spektralen Bereich einer spektralen Beleuchtung auszuwählen. Die Anzahl der Stellmöglichkeiten hängen im wesentlichen von der Ausstattung des Mikroskopsystems ab. Eine Standard Konfiguration eines Scanmikroskops hat zum Beispiel neben einer Galvanometersteuerung in XYZ für die Steuerung des Abtastpunkts häufig noch einen XY Tisch und einen groben z-Aktor womit sich für XYZ jeweils 2 Sätze Aktoren ergeben die zur Steuerung genutzt werden können. Die genaue Ausgestaltung wann welcher Aktor gesteuert wird bleibt dem Können des Fachmanns überlassen, der die Regelbasis so wählt, dass große Verfahwege mit dem groben Aktor kompensiert werden und kleine Verfahwege mit dem feinen Aktor. Es bleibt zu bemerken dass eine Kompensation spektraler Veränderungen nur auf einem System Sinn macht, dass mit einem einstellbaren Spektraldetektor ausgestattet ist. Generell lassen sich so alle Freiheitsgerade in XYZ-Lambda kompensieren so lange die Mikroskopkonfiguration für diese Freiheitsgerade Aktorik aufweist.

[0027] Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

Bezugszeichenliste

1	Beleuchtungssystem
3	Beleuchtungslichtstrahl
5	Umlenkmittel
6	Beleuchtungspinhole
7	Scanmodul
8	mikrostrukturiertes Element
9	Scanspiegel
10	Laser
12	Scanoptik
13	Mikroskopoptik
15	Objekt
17	Detektionslichtstrahl
18	Detektionspinhole
20	SP-Modul
22	Detektormodul
23	Rechnersystem
24	Speicher
25	Software
25a	Softwaremodul
25b	Softwaremodul
27	Peripheriegerät
29	Einstellvorrichtung
30	Maus
31	Prisma
32	aufgespaltener Lichtfächer
33	Fokussieroptik
34	Spiegelblendenanordnung
35	Spiegelblendenanordnung
36	Detektor
37	Detektor
38	Detektor
40	Einstellelement
41	Einstellelement
50	Bild vom Objekt
50₁	Bild des Objekts zu T ₁
50₂	Bild des Objekts zu T ₂
51	Laserstrahl
52	Detektionslicht
53	Pfeile
54	Bildpunkt
58	erstes Element
59	zweites Element
60	Verteilungsfunktion
60₁	Verteilungsfunktion bezüglich der x-Achse zu T ₁

60 ₂	Verteilungsfunktion bezüglich der x-Achse zu T ₂
61 ₁	Verteilungsfunktion bezüglich der y-Achse T ₁
61 ₂	Verteilungsfunktion bezüglich der y-Achse T ₂
63	FPGA
64	Elektronikbox
65	XYZ-Tisch
66	Stellmotor
67	Objektivrevolver
68	erster Stellmotor
69	Stellmotor oder Aktuator
70	Objektive
71	Galvos
72	Stellmittel
73	Stellelement
74	Lage
75	Lage
76	Auswahlmittel
78	Lage
79	Lage
80	Fakten
81	Regeln
82	Prämisse
100	Scanmikroskop

Patentansprüche

1. Mikroskopsystem zur Detektion und Kompensation von Veränderungen innerhalb eines aufgenommenen Bildinhaltes eines mikroskopischen Objekts (**15**), mit einem Mikroskop, das einen Beleuchtungslichtstrahl (**3**) und einen Detektionslichtstrahl (**17**) definiert, mindestens ein Objektiv, einen XYZ-Tisch, ein Scanmodul (**7**), ein Detektormodul (**22**) mit mindestens einem Detektor (**36**, **37**), und ein Rechnersystem (**23**), umfasst **dadurch gekennzeichnet**, dass ein Mittel zur Berechnung von Signaturen eines aufgenommenen mehrdimensionalen Bildes (**50**) vorgesehen ist, dass ein Mittel zum Berechnen statistischer Signaturkenngrößen vorgesehen ist, dass mehrere Stellmotore und Aktuatoren am Mikroskop vorgesehen sind, und dass mindestens ein Softwaremodul realisiert ist, das Steuersignale an die Stellmotore bzw. Aktuatoren liefert, die aus den Signaturkenngrößen ermittelbar sind.

2. Mikroskopsystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass ein Softwaremodul (**25a**) vorgesehen ist, das Veränderungen der Signaturen registriert, beobachtet, Signaturkenngrößen ableitet und Steuersignale auf der Basis eines Inferenzverfahrens aus den Signaturkenngrößen ermittelt.

3. Mikroskopsystem nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass aus den ermittelten Signaturkenngrößen Veränderungen von Scan-Parametern bestimmbar sind, und dass die Scan-Parameter, Bildformat, Position des XYZ-Tisches, elektronischer Zoom, Objektivwechsel, Galvo-Positionen und spektrale Abtastbänder umfassen.

4. Mikroskopsystem nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Mikroskop ein Scanmikroskop (**100**) ist.

5. Mikroskopsystem nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Scanmikroskop (**100**) ein konfokales Scanmikroskop ist.

6. Mikroskopsystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die das die Signaturkenngrößen mindestens eine statistische Kenngröße von der Signatur, interpretiert als Verteilungsfunktion, umfasst wobei Beispiele Mittelwert, Varianz, Momente, Quartile, Schiefe, Median, Maximum und Minimum sind.

7. Verfahren zur Detektion und Kompensation von Veränderungen innerhalb eines aufgenommenen Bildinhaltes eines mikroskopischen Objekts (**15**), mit einem Mikroskop, gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:

a) Abscannen eines Objekts (**15**) mit einem Beleuchtungslichtstrahl und dabei Aufnahmen von mehreren Bildpunkten (**54**) zur Erzeugung eines mehrdimensionalen Bildes (**50**);

- b) Berechnen von Signaturen des aufgenommenen mehrdimensionalen Bildes;
- c) Berechnen statistischer Signaturkenngrößen aus den aufgenommenen Signaturen;
- d) Beobachten und Ermitteln der Veränderungen der statistischen Signaturkenngrößen; und
- e) Interpretieren der Veränderungen der Signaturen und Umsetzen in Signale für Stellmotore oder Aktuatoren, die im Mikroskopsystem vorgesehen sind.

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Interpretieren der Veränderungen der Signaturen und das Umsetzen in Signale für Stellmotore oder Aktuatoren mittels eines Softwaremoduls erfolgt das Veränderungen der Signaturen registriert, beobachtet, Signaturkenngrößen ableitet und Steuersignale auf der Basis eines Inferenzverfahrens aus den Signaturkenngrößen ermittelt.

9. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass aus den ermittelten Signaturkenngrößen Veränderungen von Scan-Parametern bestimmbar sind, und dass die Scan-Parameter, Bildformat, Position des XYZ-Tisches, elektronischer Zoom, Objektivwechsel, Galvo-Positionen und spektrale Abtastbänder umfassen.

10. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die die Signaturkenngrößen mindestens eine statistische Kenngröße von der Signatur, interpretiert als Verteilungsfunktion, umfasst wobei Beispiele Mittelwert, Varianz, Momente, Quartile, Schiefe, Median, Maximum und Minimum sind.

Es folgen 6 Blatt Zeichnungen

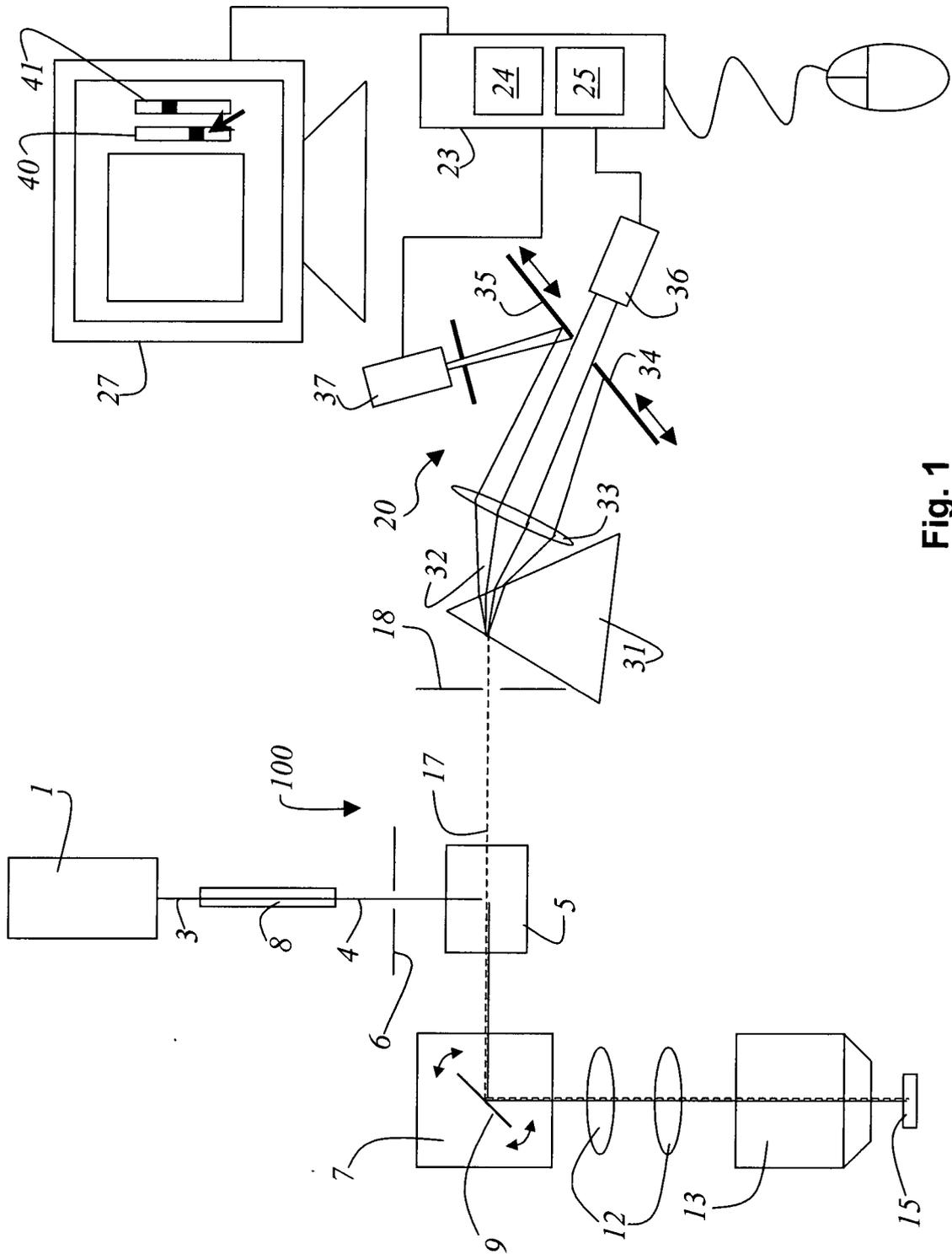


Fig. 1

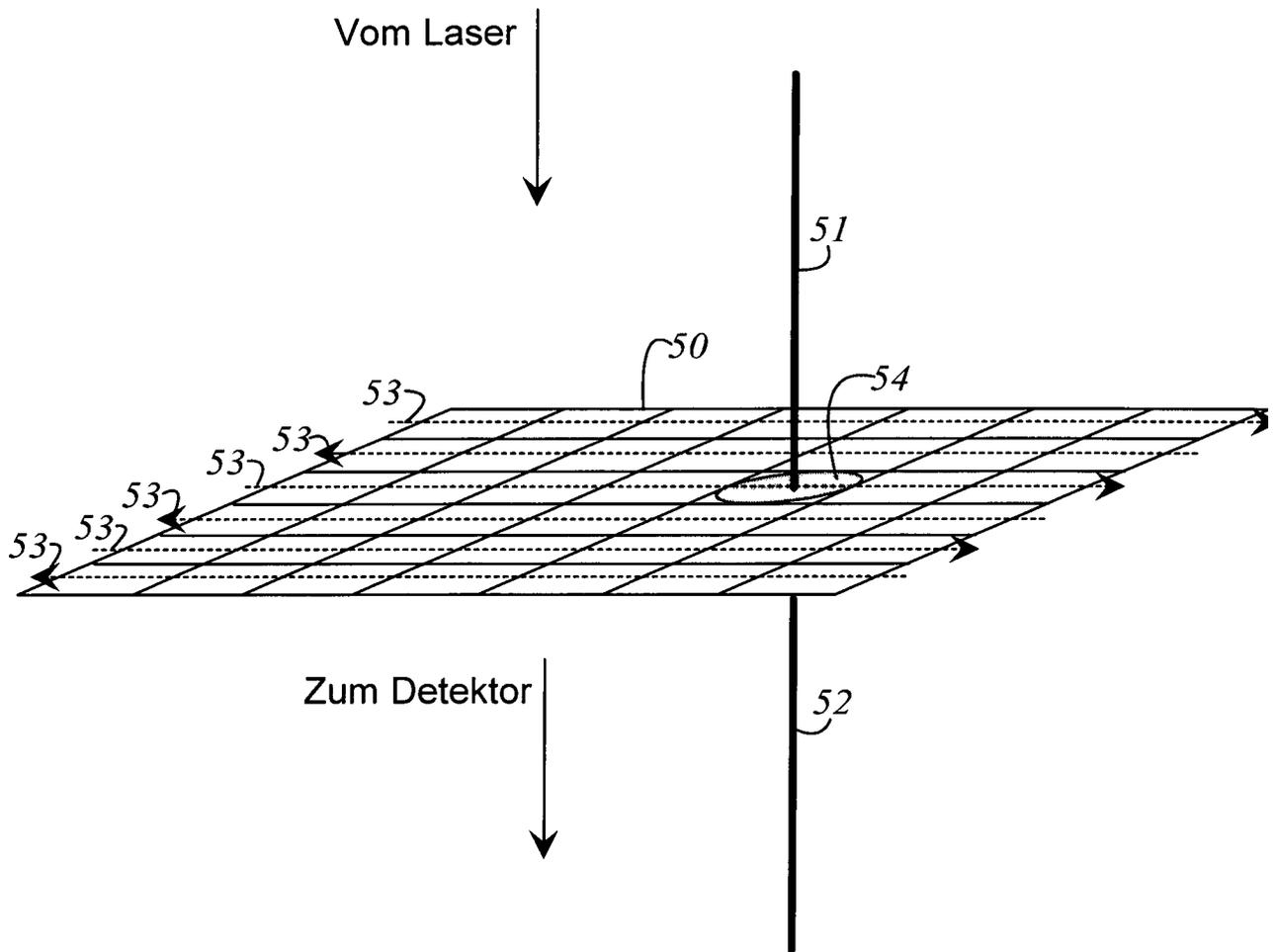


Fig. 2

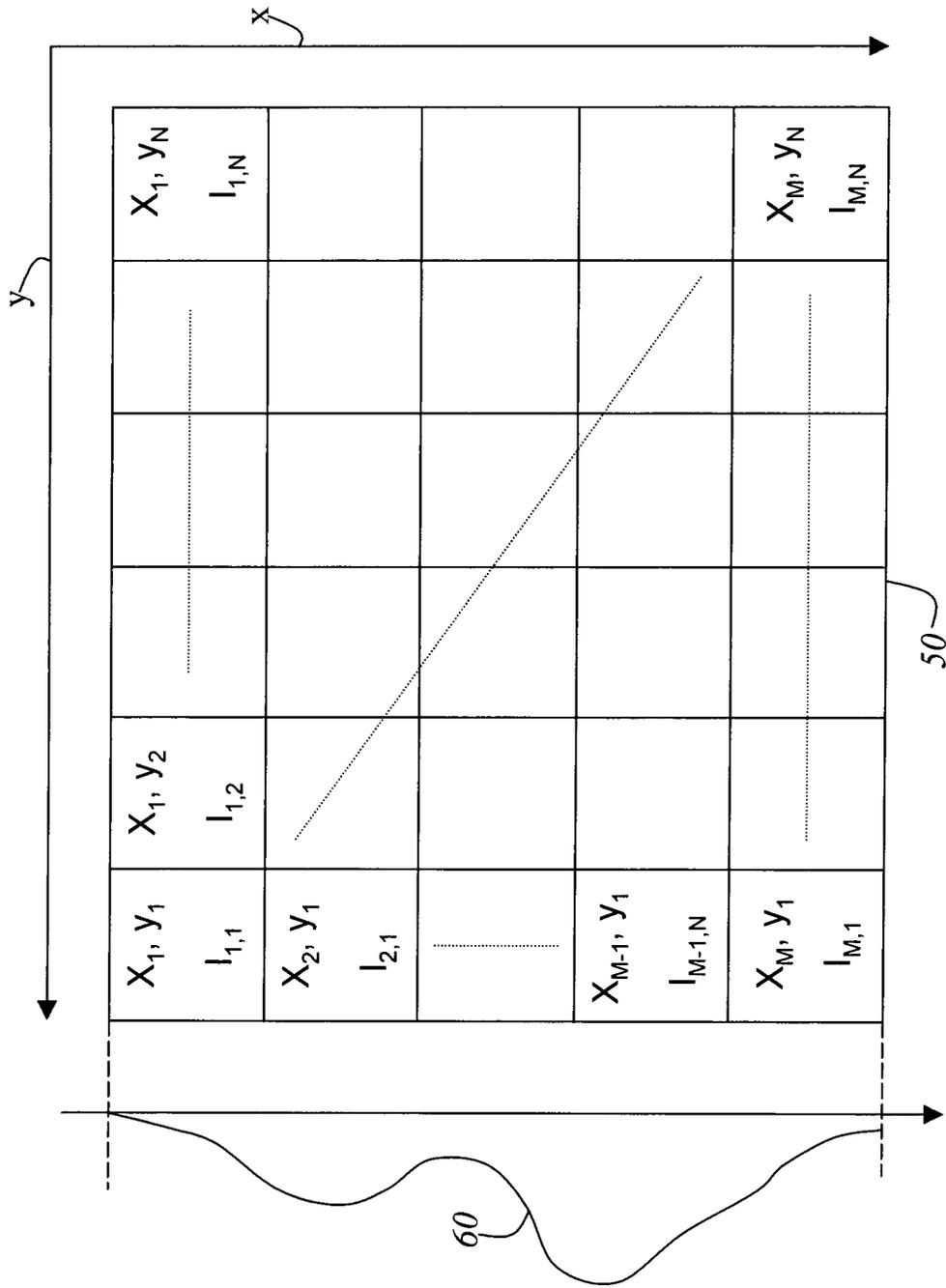


Fig. 3

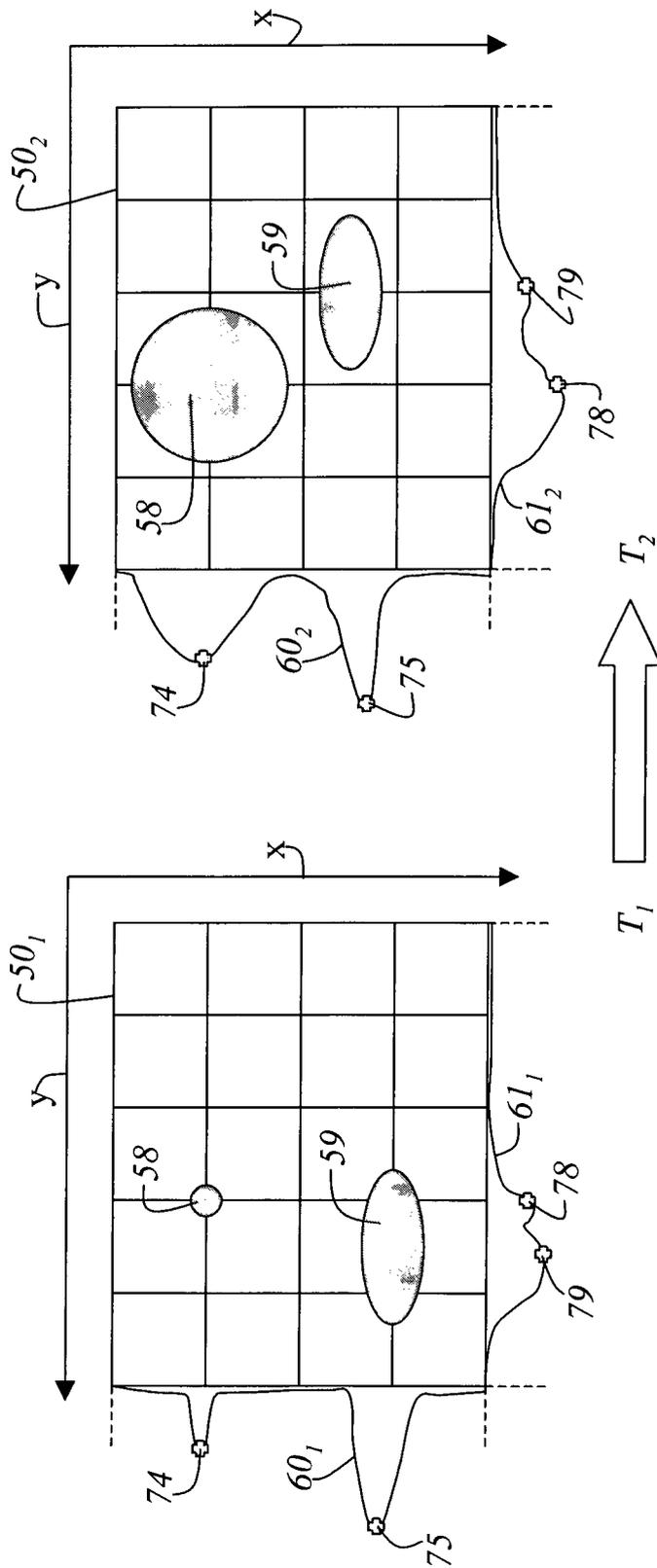


Fig. 4

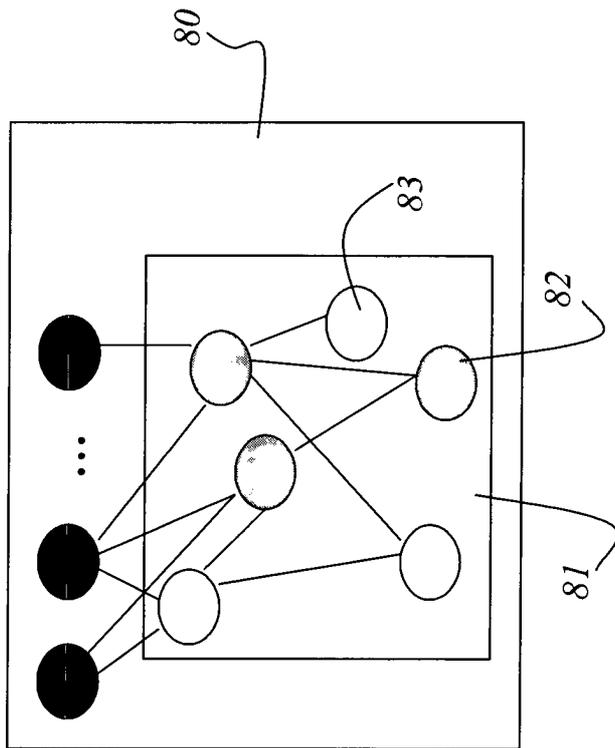


Fig. 5

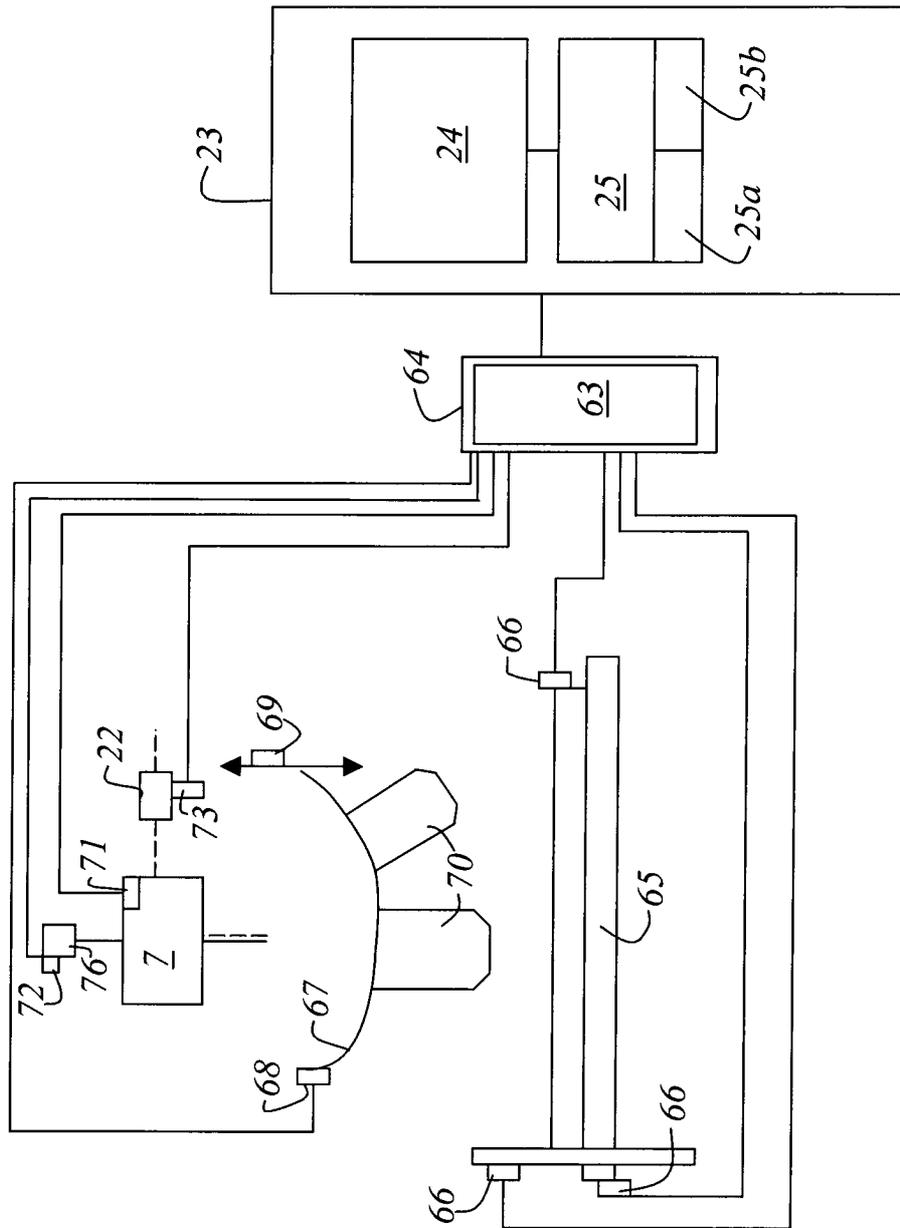


Fig. 6