

19



LE GOUVERNEMENT
DU GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG
Ministère de l'Économie

11

N° de publication :

92846

12

BREVET D'INVENTION

B1

21

N° de dépôt: 92846

51

Int. Cl.:
G02B 21/00, G02B 21/36, G02B 27/10, G02B 27/14

22

Date de dépôt: 09/10/2015

30

Priorité:

72

Inventeur(s):
NEUGART FELIX – 68165 MANNHEIM (Allemagne)

43

Date de mise à disposition du public:

74

Mandataire(s):
BRADL Joachim - Leica Microsystems GmbH –
35578 WETZLAR (Allemagne)

47

Date de délivrance: 02/05/2017

73

Titulaire(s):
LEICA MICROSYSTEMS CMS GMBH –
35578 WETZLAR (Allemagne)

54

Verfahren und Beleuchtungsanordnung zum Beleuchten einer Probenschicht mit einem Lichtblatt.

57

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Beleuchten einer Probenschicht mit einem Lichtblatt, das sich entlang einer Lichtblattebene ausbreitet, bei der SPIM-Mikroskopie, sowie ein Verfahren zum Untersuchen einer Probe, bei dem eine Probenschicht einer Probe unter Anwendung eines solchen Verfahrens beleuchtet wird. Das Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass das Lichtblatt mittels eines Winkelspiegels mit wenigstens einer ersten und einer zweiten Spiegelfläche umgelenkt wird, wobei die erste Spiegelfläche einen ersten Teil des Lichtblattes reflektiert und die zweite Spiegelfläche einen zweiten Teil des Lichtblattes reflektiert und wobei der erste Teil des Lichtblattes und der zweite Teil des Lichtblattes nach der Umlenkung räumlich überlagern

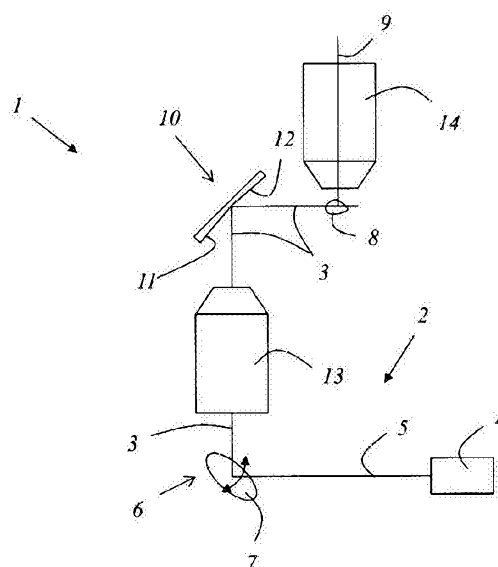


Fig. 1

Beschreibung

92846

Titel: Verfahren und Beleuchtungsanordnung zum Beleuchten einer Probenschicht mit einem Lichtblatt

5

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Beleuchten einer Probenschicht mit einem Lichtblatt, das sich entlang einer Lichtblattebene ausbreitet, bei der SPIM-Mikroskopie, sowie ein Verfahren zum Untersuchen einer Probe, bei dem eine Probenschicht einer Probe unter Anwendung eines solchen Verfahrens beleuchtet wird.

10

Die Erfindung betrifft außerdem eine Beleuchtungsanordnung für ein SPIM-Mikroskop, die eine ein Lichtblatt erzeugende Lichtblatterzeugungsanordnung aufweist, sowie ein Mikroskop mit einer solchen Beleuchtungsanordnung.

15

Die SPIM-Technik (Single Plane Illumination Microscopy), bei der eine schichtweise Beleuchtung der Probe erfolgt, erlaubt eine schnellere und probenschonendere Erfassung von Bilddaten, als beispielsweise bei einer punktwisen Abtastung einer Probe. Ein bekanntes Einsatzgebiet der SPIM-Technologie ist der Bereich der Fluoreszenz-Mikroskopie, bei der Fluorophore in der Probe mit Laserlicht angeregt werden. Bei der bekannten SPIM-Technologie findet hierbei eine Anregung in einer von einem Beleuchtungs-Lichtblatt (auch „Lichtstreifen“ genannt) beleuchteten Probenschicht statt. Zum Erzeugen einer SPIM-Abbildung wird die Probe mit dem Lichtblatt durchleuchtet, während die Beobachtung der so beleuchteten Probenschicht in senkrechter Richtung durch Detektion des Fluoreszenz- und/oder Streulichtes erfolgt. Aus den sukzessive gewonnenen Abbildungen unterschiedlicher Probenschichten, insbesondere aus einem Stapel von Abbildungen zueinander paralleler Probenschichten, kann eine dreidimensionale Darstellung der Probe erzeugt werden.

20

25

30

Ein nach dem SPIM-Verfahren arbeitendes Mikroskop ist in DE 102 57 423 A1 beschrieben. Bei diesem Mikroskop wird eine Probe mit einem dünnen Lichtstreifen beleuchtet, während die Beobachtung senkrecht zu der Ebene des beleuchtenden Lichtstreifens erfolgt. Die Beleuchtung und die Detektion erfolgen über zwei separate optische Strahlengänge mit jeweils separater Optik, insbesondere mit zwei separaten, zueinander senkrechten Objektiven. Der Lichtstreifen wird von einem

35

Beleuchtungsobjektiv und einer ihm vorgeschalteten Zylinderoptik erzeugt. Für die Bildaufnahme wird die Probe durch den bezüglich des Detektors feststehenden Lichtstreifen bewegt, um schichtweise Fluoreszenz- und/oder Streulicht mit einem flächigen Detektor aufzunehmen. Die so gewonnenen Schichtbilddaten lassen sich anschließend zu einem 3D-Datensatz zusammensetzen.

Aus DE 10 2004 034 957 A1 ist eine Anordnung zur mikroskopischen Beobachtung einer Probe über ein Mikroskopobjektiv bekannt, in dessen Gehäuse außerhalb der Linsenoptik zusätzliche Lichtführungen für das Beleuchtungslicht vorgesehen sind. Das Beleuchtungslicht verläuft dabei zunächst parallel zur optischen Achse des Objektivs innerhalb der Lichtführungen und trifft danach auf einen am Objektivgehäuse angebrachten, ringförmigen Reflektor mit geringer Apertur, die das Beleuchtungslicht mit Hilfe zusätzlicher Abbildungselemente senkrecht zur optischen Achse des Mikroskopobjektivs und damit senkrecht zur Beobachtungsrichtung in die Probe fokussieren. Auch hier erfolgt die Beleuchtung der Probe flächenartig nach dem SPIM-Prinzip. Bei diesem Mikroskop ist insbesondere problematisch, die Probe jeweils räumlich innerhalb des ringförmigen Reflektors positionieren zu müssen.

Auch aus DE 20 2011 110 077 U1 ist eine Anordnung zum Beleuchten einer Probe bei der SPIM-Mikroskopie bekannt. Die Anordnung beinhaltet eine Lichtquelle zum Erzeugen eines Lichtbündels, Mittel zum Erzeugen eines Lichtstreifens aus dem Lichtbündel, und wenigstens ein Objektiv, das eine Optik aufweist, die dazu ausgebildet und bestimmt ist, von der Probe ausgehendes Detektionslicht direkt oder indirekt einem Detektor zuzuführen. Außerdem beinhaltet die Anordnung eine der Optik des Objektivs nachgeschaltete Umlenkeinrichtung zum Umlenken des Lichtstreifens.

Aus DE 10 2012 109 577 A1 ist eine Anordnung zur Verwendung bei der Beleuchtung einer Probe bei der SPIM-Mikroskopie bekannt. Die Anordnung weist ein Beleuchtungsobjektiv auf, das einen Lichtstreifen oder einen Quasi-Lichtstreifen empfängt und fokussiert. Die Anordnung zeichnet sich dadurch aus, dass ein Umlenkmittel vorhanden ist, das den Lichtstreifen oder den Quasi-Lichtstreifen nachdem er das Beleuchtungsobjektiv durchlaufen hat derart umlenkt, dass er sich unter einem von Null Grad verschiedenen Winkel, insbesondere unter einem rechten Winkel, zur optischen Achse des Beleuchtungsobjektivs ausbreitet, wobei das Beleuchtungsobjektiv und die Umlenkvorrichtung relativ zueinander beweglich

angeordnet sind.

92846

In der wissenschaftlichen Veröffentlichung: F. O. Fahrbach, A. Rohrbach, „A line scanned light-sheet microscope with phase shaped self-reconstructing beams“, Optics Express, Bd. 18, Nr. 23, Nov. 2010, S. 24229–24244, ist ein SPIM-Mikroskop beschrieben, bei dem die Probe mit einem selbstheilenden Beleuchtungslichtstrahlenbündel beleuchtet wird. Im diesem Artikel ist erwähnt, dass zum Erzeugen solcher Beleuchtungslichtstrahlenbündel ein Axicon verwendet werden kann, was jedoch als nachteilig herausgestellt wird. Tatsächlich ist die Verwendung eines Axicons in der Praxis nachteiliger Weise mit hohem Platzbedarf und hohem Justageaufwand verbunden. Statt der Verwendung eines Axicons wird in der o.g. wissenschaftlichen Veröffentlichung eine holographische Erzeugung unter Verwendung eines räumlichen Lichtmodulators (Spatial Light Modulator) vorgeschlagen. Eine solche Anordnung ist jedoch nachteiliger Weise apparativ äußerst aufwendig, teuer in der Herstellung und störungsanfällig.

Es ist daher die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren für die SPIM-Mikroskopie zum verbesserten Beleuchten einer Probenschicht anzugeben, das einfach und wenig aufwändig ausführbar ist.

20

Die Aufgabe wird durch ein Verfahren gelöst, das dadurch gekennzeichnet ist, dass ein Lichtbündel oder Lichtblatt mittels eines Winkelspiegels mit wenigstens einer ersten und einer zweiten Spiegelfläche umgelenkt wird, wobei die erste Spiegelfläche einen ersten Teil des Lichtbündels/Lichtblattes reflektiert und die zweite Spiegelfläche einen zweiten Teil des Lichtbündels/Lichtblattes reflektiert und wobei der erste Teil des Lichtbündels/Lichtblattes und der zweite Teil des Lichtbündels/Lichtblattes nach der Umlenkung räumlich überlagern und dadurch bei Einsatz von kohärentem Licht ein Strahlenbündel mit Interferenzmuster entsteht, dessen ein oder mehrere Maxima als Lichtblätter verwendet werden können. Dieser Ansatz kann also benutzt werden, um aus einem Lichtbündel ein Lichtblatt zu generieren oder auch um ein bereits vor dem Winkelspiegel mittels einer Lichtblatterzeugungsvorrichtung (die beispielsweise eine Zylinderoptik oder eine Strahlableitvorrichtung zum Erzeugen des Lichtblattes beinhaltet) erzeugtes Lichtblatt zu optimieren und/oder zu formen.

35

Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine

Beleuchtungsanordnung für eine verbesserte Beleuchtung bei der SPIM-Mikroskopie anzugeben, die einfach herstellbar und wenig störungsanfällig ist.

92846

5 Diese Aufgabe wird durch eine Beleuchtungsanordnung gelöst, die dadurch gekennzeichnet ist, dass sie einen Winkelspiegel mit wenigstens einer ersten und einer zweiten Spiegelfläche beinhaltet, der das Lichtbündel/Lichtblatt umlenkt, wobei die erste Spiegelfläche einen ersten Teil des Lichtbündels/Lichtblattes reflektiert und die zweite Spiegelfläche einen zweiten Teil des Lichtbündels/Lichtblattes reflektiert und wobei der erste Teil des Lichtbündels/Lichtblattes und der zweite Teil des

10 Lichtbündels/Lichtblattes nach der Umlenkung räumlich überlagern und dadurch bei Einsatz von kohärentem Licht ein Strahlenbündel mit Interferenzmuster entsteht, dessen Maxima als Lichtblätter verwendet werden können. Im Falle der Verwendung eines Lichtblattes zur Bestrahlung des Winkelspiegels ist die dazugehörige Lichtblatterzeugungsanordnung dem Winkelspiegel vorgeschaltet.

15

Das entstehende Strahlenbündel mit Interferenzmuster entspricht einem Bessel-ähnlichen Strahlenbündel (also ein einem Bessel-Strahl ähnlichen Strahlenbündel) und ist insbesondere auch auf Grund seiner selbstheilenden Eigenschaften vorteilhaft bei der Beleuchtung einer mikroskopischen Probe in der SPIM-Mikroskopie einsetzbar.

20 Es handelt sich hierbei nicht um einen Bessel-Strahl oder einen Bessel-Gauß-Strahl, wie er mittels eines Axicons erzeugt wird, da das Strahlenbündel nicht rotationssymmetrisch ausgebildet ist. Stattdessen besitzt es nur eine zweidimensionale Symmetrienausprägung.

25 In erfindungsgemäßer Weise wurde folglich erkannt, dass mit Hilfe eines Winkelspiegels unterschiedliche Anteile eines Lichtbündels oder Lichtblattes auf einfache Weise so zur Überlagerung gebracht werden können, dass auf Grund der Bessel-ähnlichen Eigenschaften des resultierenden Strahlenbündels eine höhere Homogenität der Ausleuchtung der Probenschicht und eine höhere Eindringtiefe in

30 die Probe erreicht werden kann. Letztlich resultiert daraus eine bessere Auflösung und verbessertes Ergebnis in Bezug auf die Abbildung bzw. Bilddatengewinnung bezüglich der zu untersuchenden Probenschicht. Dies, wie weiter unten noch im Detail erläutert ist, unabhängig davon, ob das Lichtblatt mittels einer Zylinderoptik oder mittels einer Strahlableitvorrichtung durch schnelles Hin-und-her-wedeln

35 geformt wurde.

Die Erfindung hat darüber hinaus den weiteren Vorteil, dass keine Aufbauten erforderlich sind, die viel Bauraum beanspruchen. Vielmehr kann die erfindungsgemäße Beleuchtungsanordnung sehr platzsparend ausgeführt werden. Sie kann daher in vorteilhafter Weise einfach und unkompliziert in unterschiedliche Mikroskopsysteme integriert werden.

Unter einem Lichtblatt wird im Sinne dieser Anmeldung ein Strahlenbündel verstanden, das im Querschnitt eine Höhe aufweist, die sehr viel kleiner ist, als seine Breite. Im Folgenden wird darauf Bezug genommen, dass sich das Lichtblatt entlang einer Lichtblattebene ausbreitet. Mit dem Begriff „Lichtblattebene“ ist die Symmetrieebene des Lichtblattes, die einerseits durch die Ausbreitungsrichtung und andererseits durch die Richtung der Breitenerstreckung des Lichtblattes definiert ist, gemeint. Bei einem Quasi-Lichtblatt wird ein beispielsweise von einem Laser erzeugtes primäres Lichtbündel in dieser Lichtblattebene schnell hin und her gewedelt, was weiter unten noch im Detail erläutert ist.

Der Bereich des Interferenzmusters (Interferenzbereich) ist der für Probenuntersuchungen vorzugsweise nutzbare Bereich (Nutzbereich). Verschiedene Platzierungen der Probe lassen hierbei verschiedene Messvarianten zu, da typischerweise die Anzahl der Maxima des Interferenzmusters abhängig ist von der Position entlang des Lichtbündels bzw. der Lichtblattebene. Je nach gewollter Untersuchungsart kann eine Probe an verschiedenen Positionen entlang des Interferenzbereiches platziert werden, so dass sie durch die gewollte Anzahl Interferenzmaxima beleuchtet wird. Die Ebenen, die den Interferenzmaxima entsprechen, können durch eine geeignete Optik separat scharf auf einen Detektor abgebildet werden (bspw. durch ein geeignetes Linsenarray oder eine geeignete Linsenanordnung). Dies ermöglicht ein zeitgleiches Erfassen unterschiedlicher Ebenen der Probe.

Bei einer besonderen Ausführung, die insbesondere auch die Erzeugung eines Bessel-ähnlichen Strahlenbündels ermöglicht, ist die Berührungslinie der ersten und der zweiten Spiegelfläche des Winkelspiegels in der Lichtblattebene angeordnet. Auf diese Weise ist gewährleistet, dass die Lichtanteile des Lichtblattes, die nach der Reflexion zur Überlagerung gebracht werden, gleich groß sind. Alternativ oder zusätzlich kann auch vorgesehen sein, dass der auf die erste Spiegelfläche treffende Teil des Lichtblattes und der auf die zweite Spiegelfläche treffende Teil des

Lichtblattes unmittelbar vor dem Auftreffen auf den Winkelspiegel auf unterschiedlichen Seiten der Lichtblattebene verlaufen.

92846

Bei einer besonderen Ausführung wird das Lichtbündel oder Lichtblatt durch ein Beleuchtungsobjektiv gelenkt, bevor es auf den Winkelspiegel trifft. Bei einer solchen Ausführung kann der Winkelspiegel vorteilhaft nicht nur dazu dienen, Teilen des Lichtbündels/Lichtblattes besondere Eigenschaften zu verleihen, sondern auch dazu, das Lichtbündel/Lichtblatt nach dem Durchlaufen des Beleuchtungsobjektivs derart umzulenken, dass es unter einem von Null Grad verschiedenen Winkel zur optischen Achse eines Detektionsobjektivs, insbesondere senkrecht zur optischen Achse eines Detektionsobjektivs verläuft, wobei die optische Achse des Detektionsobjektivs coaxial oder wenigstens parallel zu der des Beleuchtungsobjektivs angeordnet sein kann. Dies ermöglicht in sehr vorteilhafter Weise einen sehr kompakten Aufbau und insbesondere auch einen Aufbau, der dem klassischen Aufbau eines Mikroskops, bei dem ein Beleuchtungsobjektiv (Kondensor) und ein Detektionsobjektiv einander gegenüberliegend angeordnet sind, entspricht. Daraus resultiert der weitere Vorteil, dass zum Aufbau entsprechender SPIM-Mikroskope bereits für andere Mikroskope entwickelte Bauteile, insbesondere Mikroskopstative, verwendet werden können oder dass bereits existierende Mikroskop einfach um- oder nachgerüstet werden können.

Eine Ausrichtung der Lichtblattebene senkrecht zur optischen Achse des Detektionsobjektivs hat außerdem den besonderen Vorteil, dass die Probenschicht derart beleuchtet ist, dass die Lichtwege des Detektionslichts bis zum Austritt aus der Probe, zumindest weitgehend, gleich sind.

Der Winkelspiegel kann beispielsweise an dem Beleuchtungsobjektiv oder an dem Detektionsobjektiv, insbesondere geführt beweglich, befestigt sein. Ein solcher Aufbau ist besonders kompakt und robust und kommt weitestgehend ohne zusätzliches Stativmaterial aus.

Das Lichtblatt kann beispielsweise mit Hilfe einer Zylinderoptik, die insbesondere eine Zylinderlinse oder einen Zylinderspiegel beinhalten kann, aus einem primären Lichtbündel, insbesondere einem Laser-Lichtbündel, geformt werden.

Alternativ kann jedoch auch ein Quasi-Lichtblatt durch Hin-und-Her-Wedeln eines,

insbesondere im Querschnitt kreisrunden, Lichtbündels in der Lichtblattebene erzeugt werden, wobei auch andere Formen für den Querschnitt möglich sind wie beispielsweise elliptische oder auch rechteckige Querschnitte. Beispielsweise kann vorgesehen sein, dass zunächst, beispielsweise mit einer Laserlichtquelle, ein im

5 Querschnitt rundes Lichtbündel erzeugt wird, das eine hinsichtlich des Ablenkwinkels einstellbare Strahlablenkeinrichtung, die insbesondere der Scanner eines Scanmikroskops sein kann, derart schnell hin- und herwedelt, dass im Ergebnis ein Quasi-Lichtblatt gebildet ist. (Der Scanner ist Teil der Lichtblatterzeugungsvorrichtung.) Insbesondere kann vorgesehen sein, dass das

10 Lichtbündel derart schnell hin- und her gewedelt wird, dass der das Detektionslicht empfangende Detektor, zumindest weitgehend, die gleichen Detektionssignale erzeugt, wie bei einer Beleuchtung mit einem Lichtblatt, das mit einer Zylinderoptik geformt wurde, und/oder dass das Quasi-Lichtblatt für den eingesetzten Detektor von einem beispielsweise mit einer Zylinderoptik erzeugten Lichtblatt nicht zu

15 unterscheiden ist.

Allgemein und unabhängig von der Verwendung einer Lichtblatterzeugungsvorrichtung lassen sich neben der kreisrunden Form weitere beliebige Formen für den Querschnitt des Lichtbündels (wie beispielsweise

20 rechteckige, elliptische oder trapezförmige Querschnittsformen) realisieren, beispielsweise durch geeignete Blenden, die in den Strahlengang des Lichtbündels eingebracht werden und dadurch die Querschnittsform des Lichtbündels beeinflussen. Durch andere Querschnittsformen kann erreicht werden, dass das außerhalb der (zu Beleuchtungs- bzw. Detektionszwecken) benutzen

25 Interferenzmaxima liegende Licht im Vergleich zur Benutzung eines kreisrunden Lichtbündels reduziert wird, also möglichst nur der Teil des ursprünglichen Lichtbündels zur Interferenzmustererzeugung eingesetzt wird, der zur Generierung der schlussendlich benutzten Interferenzmaxima notwendig ist. Dieser Ansatz ermöglicht eine höhere Bildqualität im Vergleich zum Einsatz eines kreisförmigen Lichtbündels,

30 da hierdurch störendes Licht, dass bei der Detektion von außerhalb des Fokus stammt (sogenanntes „Out-of-focus light“), ausgeblendet bzw. minimiert wird.

Bei einer einfachen Ausführung sind die Spiegelflächen des Winkelspiegels eben ausgebildet.

35

Es ist jedoch auch möglich, dass die Spiegelflächen gewölbt sind oder dass die

Spiegelflächen als Zylinderabschnittflächen, insbesondere mit zueinander parallelen Zylinderachsen, ausgebildet sind, beispielsweise um zusätzlich für jeden Anteil des Lichtblattes eine separate Fokussierung oder Defokussierung zu erreichen. Beispielsweise können so die Fokusse der von den unterschiedlichen Spiegelflächen reflektierten Anteile des Lichtblattes im Bereich ihrer gegenseitigen Überlagerung einen Versatz zueinander aufweisen.

Es hat sich gezeigt, dass das resultierende Lichtblatt besonders vorteilhafte Beleuchtungseigenschaften aufweist, wenn die erste und die zweite Spiegelfläche zueinander einen Winkel im Bereich von 175,0 Grad bis 179,999 Grad, insbesondere im Bereich von 178,0 Grad bis 179,99 Grad, insbesondere im Bereich von 179,0 bis 179,95 Grad, insbesondere im Bereich von 179,1 bis 179,9 Grad, insbesondere im Bereich von 179,3 Grad bis 179,7 Grad, insbesondere von 179,5 Grad aufweisen. Soweit die Spiegelflächen gekrümmt sind, können sich diese Winkelangaben wenigstens auf den Berührungsbereich der Spiegelflächen oder auf die Tangentialflächen der Spiegelflächen im Berührungsbereich beziehen.

Ein Winkelspiegel, der genau zwei Spiegelflächen, insbesondere genau zwei ebene Spiegelflächen, aufweist, ist besonders einfach herstellbar und bietet dennoch die oben beschriebenen Vorteile. Es ist jedoch insbesondere für besondere Anwendungen möglich, dass das Lichtblatt nicht nur in zwei Anteile aufgeteilt wird, die zur Überlagerung gebracht werden, sondern in eine höhere Anzahl von Anteilen. Hierzu kann vorgesehen sein, dass der Winkelspiegel wenigstens eine weitere Spiegelfläche aufweist, die einen Teil des Lichtblattes reflektiert, der sich nach der Umlenkung mit den von der ersten und der zweiten Spiegelfläche reflektierten Teilen des Lichtblattes überlagert.

Der Winkelspiegel kann insbesondere einstückig aus einem einzigen Stück Ausgangsmaterial hergestellt sein. Beispielsweise kann der Winkelspiegel aus einem Stück Edelstahl hergestellt sein. Es ist alternativ auch möglich, den Winkelspiegel aus mehreren Einzelteilen, insbesondere mehreren Einzelspiegeln zusammenzusetzen.

Die Spiegelflächen können beispielsweise polierte Metallflächen, insbesondere Edelstahlflächen, sein. Es ist auch möglich, dass der Winkelspiegel aus einem Substrat aufgebaut ist, auf das Spiegelschichten aufgedampft sind.

Es ist auch möglich, dass der Winkelspiegel an den Grenzflächen eines durchsichtigen Festkörpers ausgebildet ist, in den das Lichtblatt eingekoppelt und nach der Umlenkung wieder ausgekoppelt wird. Die Grenzflächen können hierzu spiegelnd beschichtet sein. Es ist alternativ auch möglich, dass die Umlenkung an dem Winkelspiegel auf totaler Reflexion beruht.

Ein Winkelspiegel aus Edelstahl, insbesondere aus Edelstahl, wie er in der Medizintechnik verwendet wird, hat den ganz besonderen Vorteil, dass er gegen das Material, in das optisch zu untersuchende mikroskopische Proben üblicherweise eingebettet werden, inert ist. Dies hat den Vorteil, dass ein solcher Winkelspiegel ohne Weiteres in den mit Einbettmedium gefüllten Behälter eingetaucht werden kann, in dem sich die zu untersuchende Probe befindet.

Von besonderem Vorteil ist ein Mikroskop, das mit einer erfindungsgemäßen Beleuchtungsanordnung ausgerüstet ist. Dies insbesondere deshalb, weil mit einem solchen Mikroskop insbesondere auf Grund einer höheren Homogenität der Ausleuchtung der Probenschicht und einer größeren Eindringtiefe in die Probe bessere Abbildungsergebnisse erzielbar sind.

Ein solches Mikroskop kann vorteilhaft ein Rastermikroskop oder ein konfokales Rastermikroskop beinhalten und/oder aus einem Rastermikroskop und/oder einem konfokalen Rastermikroskop gebildet sein. Hierbei kann insbesondere die hinsichtlich des Ablenk winkels einstellbare Strahlablenkeinrichtung des Rastermikroskops beziehungsweise konfokalen Rastermikroskops dazu verwendet werden, ein Quasi-Lichtblatt zu erzeugen, wie es weiter oben beschrieben ist.

Anstelle des Winkelspiegels, also eines reflexiven Bauteils, der das Lichtblatt umlenkt, kann in äquivalenter Weise auch ein refraktives optisches Bauteil mit wenigstens einer ersten und einer zweiten Refraktorfläche verwendet werden, wobei die erste Refraktorfläche einen ersten Teil des Lichtblattes bricht und die zweite Refraktorfläche einen zweiten Teil des Lichtblattes bricht und wobei der erste Teil des Lichtblattes und der zweite Teil des Lichtblattes nach der Brechung räumlich überlagern. Für ein solches refraktives optisches Bauteil gelten die obigen Ausführungen zu besonderen Ausgestaltungen und Vorteilen in analoger Weise.

In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben, wobei gleiche oder gleich wirkende Elemente zumeist mit denselben Bezugszeichen versehen sind. Dabei zeigen:

92846

5 Fig. 1 schematisch eine Detailansicht eines Mikroskops mit einem Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Beleuchtungsanordnung,

Fig. 2 eine Detailansicht zur Illustration des Wirkprinzips des Winkelspiegels,

10 Fig. 3 ein quantitatives Beispiel der Erzeugung eines Lichtblattes mit den Eigenschaften ähnlich dem eines Bessel-Strahlenbündels,

Fig. 4 eine Detailansicht aus Figur 3 und

15 Fig. 5 Schnittdarstellungen durch den Interferenzbereich des Lichtblattes bezüglich des in Fig. 4 dargestellten Beispiels.

Fig. 1 zeigt schematisch eine Detailansicht eines SPIM-Mikroskops mit einem Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Beleuchtungsanordnung 1.

20

Die Beleuchtungsanordnung 1 weist eine Lichtblatterzeugungsvorrichtung 2 auf, die ein Lichtblatt 3 erzeugt. Die Lichtblatterzeugungsvorrichtung 2 weist einen Laser 4 auf, der ein im Querschnitt rundes Lichtbündel 5 erzeugt, wobei prinzipiell auch andere Formen für den Querschnitt möglich sind wie beispielsweise elliptische oder
25 auch rechteckige Querschnitte. Außerdem weist die Lichtblatterzeugungsvorrichtung 2 eine hinsichtlich des Ablenkwinkels einstellbare Strahlableinrichtung 6 auf, die beispielsweise einen schwenkbar aufgehängten Schwingspiegel 7 beinhalten kann. Die Strahlableinrichtung 6 wedelt das Lichtbündel 5 so schnell hin- und her, dass dieses ein Quasi-Lichtblatt bildet. Konkret wird das Lichtbündel derart schnell hin- und
30 her gewedelt, dass das erzeugte Quasi-Lichtblatt für den eingesetzten (nicht dargestellten) Detektor, der das von einer beleuchteten Probe 8 ausgehende Detektionslicht 9 empfängt, hinsichtlich der zu erzeugenden Detektionssignale von einem beispielsweise mit einer Zylinderoptik erzeugten Lichtblatt nicht zu unterscheiden ist.

35

Der Lichtblatterzeugungsvorrichtung 2 ist ein Beleuchtungsobjektiv 13, das das

Lichtblatt 3 fokussiert und ein Winkelspiegel 10 nachgeschaltet. Nach Durchlaufen des Beleuchtungsobjektivs 13 trifft das Lichtblatt 3 auf den Winkelspiegel 10, der eine erste Spiegelfläche 11 und eine zweite Spiegelfläche 12 aufweist.

92846

- 5 Der Winkelspiegel 10 lenkt das Lichtblatt 3 um, wobei die erste Spiegelfläche 11 einen ersten Teil des Lichtblattes 3 reflektiert und die zweite Spiegelfläche 12 einen zweiten Teil des Lichtblattes 3 reflektiert und wobei der erste Teil des Lichtblattes 3 und der zweite Teil des Lichtblattes 3 nach der Umlenkung räumlich überlagern und interferieren (Interferenzbereich (16) des Lichtblattes 3).

10

Das Lichtblatt 3 durchstrahlt die Probe 8 und beleuchtet so eine Probenschicht, die senkrecht zur optischen Achse eines Detektionsobjektivs 14 angeordnet ist. Das von der Probe 8 ausgehende Detektionslicht 9 wird von dem Detektionsobjektiv 14 kollimiert und anschließend zu einem (nicht dargestellten) Flächendetektor geführt.

15

Die Lichtblattebene (in dieser Figur der Übersichtlichkeit halber nicht eingezeichnet) des auf den Winkelspiegel 10 treffenden Lichtblattes 3 und die Lichtblattebene (in dieser Figur der Übersichtlichkeit halber nicht eingezeichnet) des von dem Winkelspiegel 10 umgelenkten Lichtblattes 3 stehen senkrecht zur Zeichenebene. Die Berührungslinie der ersten Spiegelfläche 11 und der zweiten Spiegelfläche 12 des Winkelspiegels 10 verläuft entlang der Schnittgeraden der Lichtblattebene des auf den Winkelspiegel 10 treffenden Lichtblattes 3 und der Lichtblattebene des von dem Winkelspiegel 10 umgelenkten Lichtblattes 3. Bezogen auf die Figur 1 steht die Berührungslinie ebenfalls senkrecht zur Zeichenebene.

25

Figur 2 zeigt eine Detailansicht zur Illustration des Wirkprinzips des Winkelspiegels 10. Der der auf die erste Spiegelfläche 11 treffende Teil des Lichtblattes 3 und der auf die zweite Spiegelfläche 12 treffende Teil des Lichtblattes 3 verlaufen unmittelbar vor dem Auftreffen auf den Winkelspiegel 10 auf unterschiedlichen Seiten der Lichtblattebene 15, die bezogen auf Figur 2 senkrecht zur Zeichenebene angeordnet ist. Nach der Umlenkung interferieren diese Anteile so, dass im Interferenzbereich 16 ein Lichtblatt 3 mit den vorteilhaften Eigenschaften ähnlich dem eines Bessel-Strahlenbündels entsteht. Der Interferenzbereich 16 des Lichtblattes 3 ist im Vergleich zum Fokus eines Lichtblatts mit Gaußform vorteilhafterweise besonders lang, so dass eine große Eindringtiefe in die Probe (8) erzielbar ist. Außerdem wird eine höhere Homogenität der Ausleuchtung der Probenschicht erreicht.

35

Die Figuren 3 und 4 zeigen ein quantitatives Beispiel der Erzeugung eines Lichtblattes 3 mit den Eigenschaften ähnlich dem eines Bessel-Strahlenbündels. Das von einer Lichtezeugungsvorrichtung (hier nicht dargestellt) kommende Lichtblatt 3, dessen Lichtblattebene 15 senkrecht zur Zeichenebene angeordnet ist, wird bei diesem Beispiel mit einer plankonvexen Linse 17 aus Borosilikat-Kronglas (N-BK7) fokussiert. Der Krümmungsradius der konvexen Fläche beträgt 18,2 mm.

Der Linse 17 ist ein Winkelspiegel 10 mit einer ersten Spiegelfläche 11 und einer zweiten Spiegelfläche 12 nachgeschaltet. Die Berührungslinie der ersten Spiegelfläche 11 und der zweiten Spiegelfläche 12 liegt in der Lichtblattebene 15. Auch bei diesem Ausführungsbeispiel ist es so, dass der auf die erste Spiegelfläche 11 treffende Teil des Lichtblattes 3 und der auf die zweite Spiegelfläche 12 treffende Teil des Lichtblattes 3 unmittelbar vor dem Auftreffen auf den Winkelspiegel 10 auf unterschiedlichen Seiten der Lichtblattebene 15 verlaufen und die beiden Teile des Lichtblattes 3 nach der Umlenkung interferieren. Der Abstand 20 der Berührungslinie der ersten Spiegelfläche 11 und der zweiten Spiegelfläche 12 von der Linse 17 beträgt bei diesem Beispiel 34 mm.

Der Winkel 18 zwischen der ersten Spiegelfläche 11 und der Lichtblattebene 15 des einfallenden Lichtblattes 3 beträgt 44,75 Grad. Der Winkel 19 zwischen der zweiten Spiegelfläche 12 und der Lichtblattebene 15 des einfallenden Lichtblattes 3 beträgt 45,25 Grad. Mithin beträgt der Winkel zwischen der ersten Spiegelfläche 11 und der zweiten Spiegelfläche 12 179,5 Grad.

Der Interferenzbereich 16 des Lichtblattes 3 beginnt ca. 1,1 mm nach dem Winkelspiegel 10 und endet ca. 2,7 mm nach dem Winkelspiegel 10, woraus sich eine Interferenzbereichslänge 21 von ca. 1,6 mm ergibt.

Figur 5 zeigt Schnittdarstellungen durch den Interferenzbereich 16 des Lichtblattes 3 bezüglich des in Fig. 4 dargestellten Beispiels. Die beiden unteren Darstellungen repräsentieren Schnitte in Ausbreitungsrichtung des Lichtblattes 3, nämlich einen x-z-Schnitt und einen y-z-Schnitt. In den beiden oberen Reihen sind die x-y-Schnitte an unterschiedlichen z-Positionen, die durch die gestrichelten Linien markiert sind, abgebildet. Der Interferenzbereich 16 ist der für Probenuntersuchungen vorzugsweise nutzbare Bereich (Nutzbereich). Verschiedene Platzierungen der Probe lassen hierbei

verschiedene Messvarianten zu. Je nach gewollter Untersuchungsart kann eine Probe an verschiedenen Positionen des Interferenzbereiches 16 platziert werden. So kann die Probe derartig im Interferenzbereich 16 platziert werden, dass sie beispielsweise durch zwei oder drei Interferenzmaxima beleuchtet wird. Die Ebenen, die den Interferenzmaxima entsprechen können durch eine geeignete Optik separat scharf auf einen Detektor abgebildet werden (bspw. durch ein geeignetes Linsenarray oder eine geeignete Linsenordnung). Dies ermöglicht das zeitgleiche Erfassen unterschiedlicher Ebenen der Probe.

92846

Bezugszeichenliste:

92846

	1	Beleuchtungsanordnung
	2	Lichtblatterzeugungsvorrichtung
5	3	Lichtblatt
	4	Laser
	5	Lichtbündel
	6	Strahlableitvorrichtung
	7	Schwingspiegel
10	8	Probe
	9	Detektionslicht
	10	Winkelspiegel
	11	erste Spiegelfläche
	12	zweite Spiegelfläche
15	13	Beleuchtungsobjektiv
	14	Detektionsobjektiv
	15	Lichtblattebene
	16	Interferenzbereich
	17	Linse
20	18	Winkel
	19	Winkel
	20	Abstand
	21	Interferenzbereichslänge
25		

Patentansprüche

92846

1. Verfahren zum Beleuchten einer Probenschicht mit einem Lichtbündel oder Lichtblatt (3) bei der SPIM-Mikroskopie, dadurch gekennzeichnet, dass das
5 Lichtbündel oder Lichtblatt (3) mittels eines Winkelspiegels (10) mit wenigstens einer ersten und einer zweiten Spiegelfläche (11, 12) umgelenkt wird, wobei die erste Spiegelfläche (11) einen ersten Teil des Lichtbündels oder Lichtblattes (3) reflektiert und die zweite Spiegelfläche (12) einen zweiten Teil des Lichtbündels oder Lichtblattes (3) reflektiert und wobei der erste Teil des
10 Lichtbündels oder Lichtblattes (3) und der zweite Teil des Lichtbündels oder Lichtblattes (3) nach der Umlenkung räumlich überlagern.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass
 - a. sich das Lichtblatt (3) entlang einer Lichtblattebene (15) ausbreitet und die
15 Berührungslinie der ersten und der zweiten Spiegelfläche (11, 12) in der Lichtblattebene (15) angeordnet ist, und/oder dass
 - b. sich das Lichtblatt (3) entlang einer Lichtblattebene (15) ausbreitet und dass der auf die erste Spiegelfläche (11) treffende Teil des Lichtblattes (3) und der auf die zweite Spiegelfläche (12) treffende Teil des Lichtblattes (3) unmittelbar vor dem Auftreffen auf den Winkelspiegel (10) auf
20 unterschiedlichen Seiten der Lichtblattebene (15) verlaufen.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Lichtblatt (3) durch ein Beleuchtungsobjektiv (13) gelenkt wird, bevor es auf den Winkelspiegel trifft.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass
25
 - a. das Lichtblatt (3) mittels einer Zylinderoptik erzeugt wird oder dass
 - b. das Lichtblatt (3) als Quasi-Lichtblatt ausgebildet ist, das durch Hin-und-Her-Wedeln eines, insbesondere im Querschnitt runden, Lichtbündels (5) erzeugt wird.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass
30
 - a. die Spiegelflächen (11, 12) eben ausgebildet sind oder dass

- b. die Spiegelflächen (11, 12) gewölbt sind oder dass
- c. die Spiegelflächen (11, 12) als Zylinderhohlspiegel ausgebildet sind oder dass
- d. die Spiegelflächen (11, 12) als Zylinderabschnittflächen ausgebildet sind oder dass
- e. die Spiegelflächen (11, 12) als Zylinderabschnittflächen mit zueinander parallelen Zylinderachsen ausgebildet sind.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass
- a. die erste und die zweite Spiegelfläche (11, 12) - zumindest im Berührungsbereich - zueinander einen Winkel im Bereich von 175,0 Grad bis 179,999 Grad, insbesondere im Bereich von 178,0 Grad bis 179,99 Grad, insbesondere im Bereich von 179,0 bis 179,95 Grad, insbesondere im Bereich von 179,1 bis 179,9 Grad, insbesondere im Bereich von 179,3 Grad bis 179,7 Grad, insbesondere von 179,5 Grad aufweisen, und/oder dass
- b. sich berührende Spiegelflächen (11, 12) - zumindest im Berührungsbereich - zueinander einen Winkel im Bereich von 175,0 Grad bis 179,999 Grad, insbesondere im Bereich von 178,0 Grad bis 179,99 Grad, insbesondere im Bereich von 179,0 bis 179,95 Grad, insbesondere im Bereich von 179,1 bis 179,9 Grad, insbesondere im Bereich von 179,3 Grad bis 179,7 Grad, insbesondere von 179,5 Grad aufweisen.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass der Winkelspiegel (10) wenigstens eine weitere Spiegelfläche aufweist, die einen Teil des Lichtblattes (3) reflektiert, der sich nach der Umlenkung mit den von der ersten und der zweiten Spiegelfläche (11, 12) reflektierten Teilen des Lichtblattes (3) überlagert.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass anstelle des Winkelspiegels (10) ein refraktives optisches Bauteil mit wenigstens einer ersten und einer zweiten Refraktorfläche verwendet wird, wobei die erste Refraktorfläche einen ersten Teil des Lichtblattes (3) bricht und die zweite Refraktorfläche einen zweiten Teil des Lichtblattes (3) bricht und wobei der

erste Teil des Lichtblattes (3) und der zweite Teil des Lichtblattes (3) nach der Brechung räumlich überlagern.

92846

- 5 9. Verfahren zum Untersuchen einer Probe (8), bei dem eine Probenschicht einer Probe (8) unter Anwendung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 8 beleuchtet wird.
10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass
- 10 a. die Beleuchtung derart erfolgt, dass das die Probenschicht beleuchtende Lichtblatt (3) senkrecht zur optischen Achse eines Detektionsobjektivs (14) ausgerichtet ist, und/oder dass
- 15 b. die Beleuchtung derart erfolgt, dass das die Probenschicht beleuchtende Lichtblatt (3) in einem von Null Grad verschiedenen Winkel zur optischen Achse des Detektionsobjektivs (14) auf die Probe (8) trifft, und/oder dass
- 15 c. das Lichtblatt (3) mittels eines Beleuchtungsobjektivs (13) fokussiert wird und das von der Probenschicht ausgehende Detektionslicht (9) durch ein Detektionsobjektiv (14) verläuft, wobei die optischen Achsen des Beleuchtungsobjektivs (13) und des Detektionsobjektivs (14) koaxial oder parallel zueinander ausgerichtet sind.
- 20 11. Beleuchtungsanordnung (1) für ein SPIM-Mikroskop, die eine ein Lichtblatt (3) erzeugende Lichtblatterzeugungsvorrichtung (2) aufweist, dadurch gekennzeichnet, dass der Lichtblatterzeugungsvorrichtung (2) ein Winkelspiegel (10) mit wenigstens einer ersten und einer zweiten Spiegelfläche (11, 12) nachgeschaltet ist, der das Lichtblatt (3) umlenkt, wobei die erste Spiegelfläche (11) einen ersten Teil des Lichtblattes (3) reflektiert und die zweite Spiegelfläche (12) einen zweiten Teil des Lichtblattes (3) reflektiert und
- 25 wobei der erste Teil des Lichtblattes (3) und der zweite Teil des Lichtblattes (3) nach der Umlenkung räumlich überlagern.
12. Beleuchtungsanordnung (1) nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass
- 30 a. sich das Lichtblatt (3) entlang einer Lichtblattebene (15) ausbreitet und die Berührungslinie der ersten und der zweiten Spiegelfläche (11, 12) in der Lichtblattebene (15) angeordnet ist, und/oder dass

- b. sich das Lichtblatt (3) entlang einer Lichtblattebene (15) ausbreitet und dass der auf die erste Spiegelfläche (11) treffende Teil des Lichtblattes (3) und der auf die zweite Spiegelfläche (12) treffende Teil des Lichtblattes (3) unmittelbar vor dem Auftreffen auf den Winkelspiegel (10) auf unterschiedlichen Seiten der Lichtblattebene (15) verlaufen.
- 5
13. Beleuchtungsanordnung (1) nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Beleuchtungsanordnung (1) ein Beleuchtungsobjektiv (13) aufweist, durch das das Lichtblatt (3) verläuft, bevor es auf den Winkelspiegel (10) trifft.
- 10
14. Beleuchtungsanordnung (1) nach einem der Ansprüche 11 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Lichtblatterzeugungsvorrichtung (2) eine Zylinderoptik aufweist und/oder dass die Lichtblatterzeugungsvorrichtung eine hinsichtlich des Ablenkwinkels einstellbare Strahlablenkeinrichtung (6) aufweist.
- 15
15. Beleuchtungsanordnung (1) nach einem der Ansprüche 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass
- a. die Spiegelflächen (11, 12) eben ausgebildet sind oder dass
- b. die Spiegelflächen (11, 12) gewölbt sind oder dass
- c. die Spiegelflächen (11, 12) als Zylinderhohlspiegel ausgebildet sind oder dass
- 20
- d. die Spiegelflächen (11, 12) als Zylinderabschnittflächen ausgebildet sind oder dass
- e. die Spiegelflächen (11, 12) als Zylinderabschnittflächen mit zueinander parallelen Zylinderachsen ausgebildet sind.
- 25
16. Beleuchtungsanordnung (1) nach einem der Ansprüche 11 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Winkelspiegel (10) aus Edelstahl oder aus medizinischen Edelstahl hergestellt ist.
17. Beleuchtungsanordnung (1) nach einem der Ansprüche 11 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass der Winkelspiegel (10) wenigstens eine weitere Spiegelfläche aufweist, die einen Teil des Lichtblattes (3) reflektiert, der sich

nach der Umlenkung mit den von der ersten und der zweiten Spiegelfläche (11, 12) reflektierten Teilen des Lichtblattes (3) überlagert.

92846

18. Beleuchtungsanordnung (1) nach einem der Ansprüche 11 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass

5 a. die erste und die zweite Spiegelfläche (11, 12) - zumindest im Berührungsbereich - zueinander einen Winkel im Bereich von 175,0 Grad bis 179,999 Grad, insbesondere im Bereich von 178,0 Grad bis 179,99 Grad, insbesondere im Bereich von 179,0 bis 179,95 Grad, insbesondere im Bereich von 179,1 bis 179,9 Grad, insbesondere im Bereich von 179,3 Grad
10 bis 179,7 Grad, insbesondere von 179,5 Grad aufweisen, und/oder dass

b. sich berührende Spiegelflächen (11, 12) - zumindest im Berührungsbereich - zueinander einen Winkel im Bereich von 175,0 Grad bis 179,999 Grad, insbesondere im Bereich von 178,0 Grad bis 179,99 Grad, insbesondere im Bereich von 179,0 bis 179,95 Grad, insbesondere im Bereich von 179,1 bis
15 179,9 Grad, insbesondere im Bereich von 179,3 Grad bis 179,7 Grad, insbesondere von 179,5 Grad aufweisen.

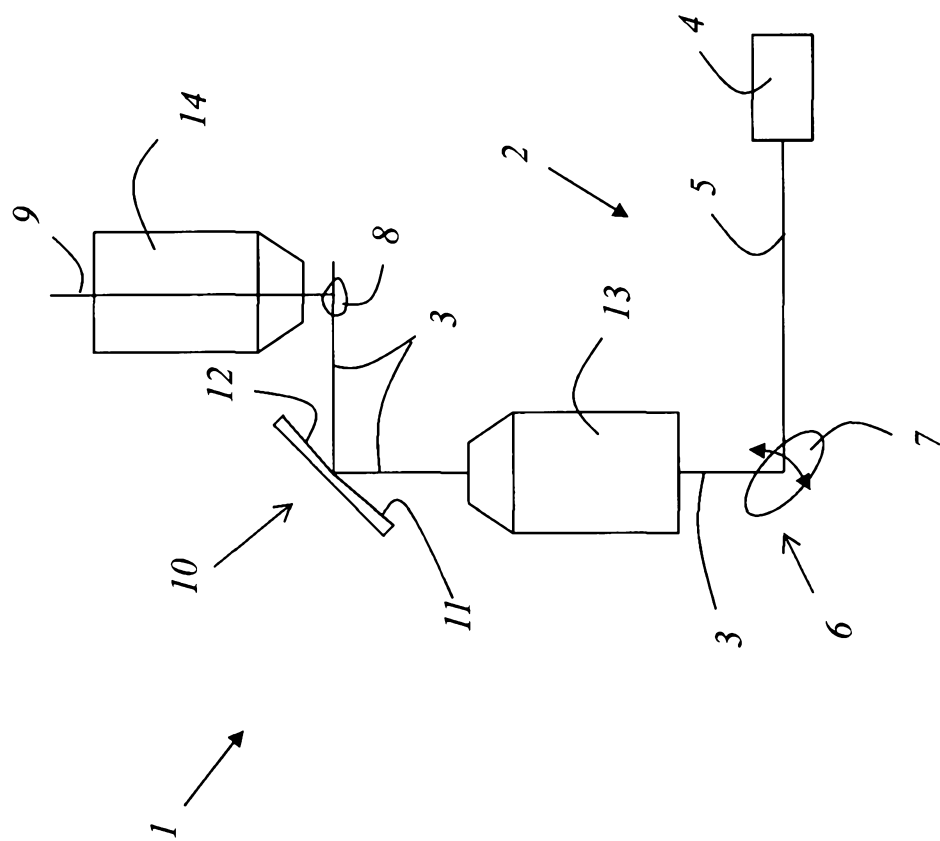
19. Beleuchtungsanordnung (1) nach einem der Ansprüche 11 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Beleuchtungsanordnung (1) anstelle des Winkelspiegels (10) ein refraktives optisches Bauteil mit wenigstens einer ersten
20 und einer zweiten Refraktorfläche aufweist, wobei die erste Refraktorfläche einen ersten Teil des Lichtblattes (3) bricht und die zweite Refraktorfläche einen zweiten Teil des Lichtblattes (3) bricht und wobei der erste Teil des Lichtblattes (3) und der zweite Teil des Lichtblattes (3) nach der Brechung räumlich überlagern.

25 20. Mikroskop mit einer Beleuchtungsanordnung (1) nach einem der Ansprüche 11 bis 19.

21. Mikroskop nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass

a. die Beleuchtungsanordnung (1) die Probe (8) derart beleuchtet, dass das die Probenschicht beleuchtende Lichtblatt (3) senkrecht zur optischen
30 Achse eines Detektionsobjektivs (14) ausgerichtet ist, und/oder dass

- b. die Beleuchtungsanordnung (1) die Probe (8) derart beleuchtet, dass das die Probenschicht beleuchtende Lichtblatt (3) in einem von Null Grad verschiedenen Winkel zur optischen Achse des Detektionsobjektivs (14) auf die Probe trifft, und/oder dass
- 5 c. ein Beleuchtungsobjektiv (13) das Lichtblatt (3) fokussiert und dass das von der Probenschicht ausgehende Detektionslicht (9) durch ein Detektionsobjektiv (14) verläuft, wobei die optischen Achsen des Beleuchtungsobjektivs (13) und des Detektionsobjektivs (14) koaxial oder parallel zueinander ausgerichtet sind.
- 10 22. Mikroskop nach Anspruch 20 oder 21 , dadurch gekennzeichnet, dass das Mikroskop ein Rastermikroskop und/oder ein konfokales Rastermikroskop beinhaltet und/oder aus einem Rastermikroskop und/oder einem konfokalen Rastermikroskop gebildet ist.
- 15 23. Verwendung eines Winkelspiegels (10) mit wenigstens einer ersten und einer zweiten Spiegelfläche (11, 12) oder eines refraktiven optischen Bauteils mit wenigstens einer ersten und einer zweiten Refraktorfläche zum Formen des Fokus eines Lichtblattes (3) durch Überlagern unterschiedlicher Anteile eines Lichtblattes (3) bei der SPIM-Mikroskopie und/oder zum Erzeugen eines Bessel-ähnlichen Strahlenbündels für die Beleuchtung einer mikroskopischen Probe
- 20 (8) bei der SPIM-Mikroskopie.

**Fig. 1**

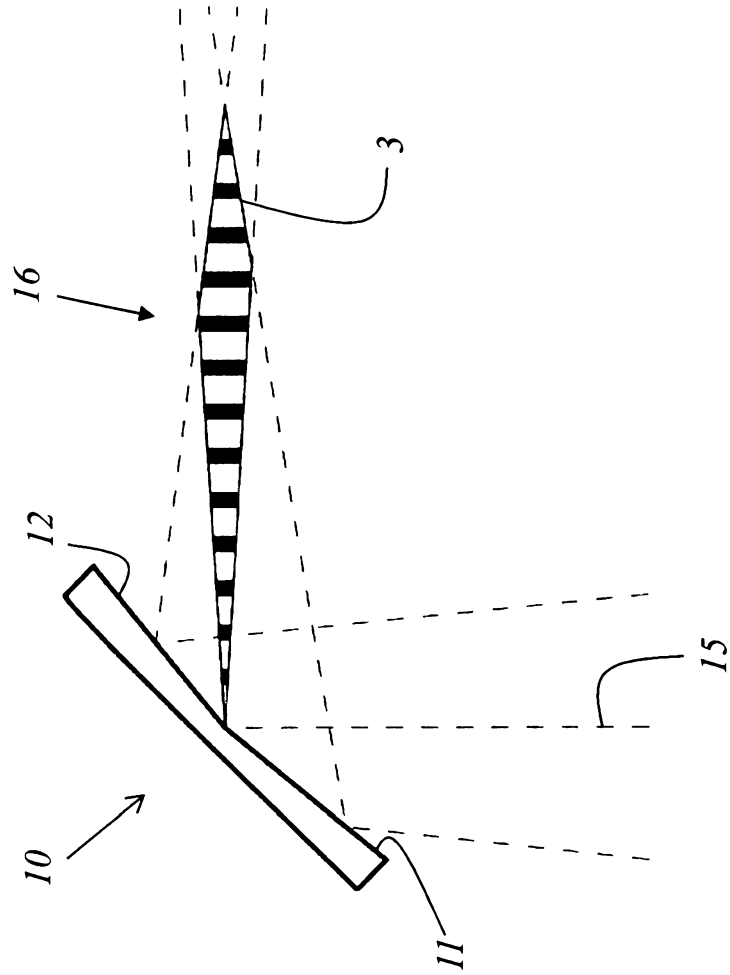
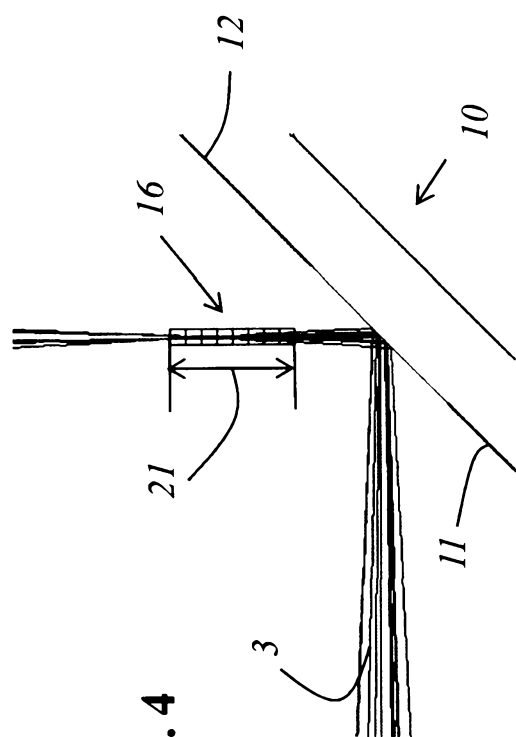
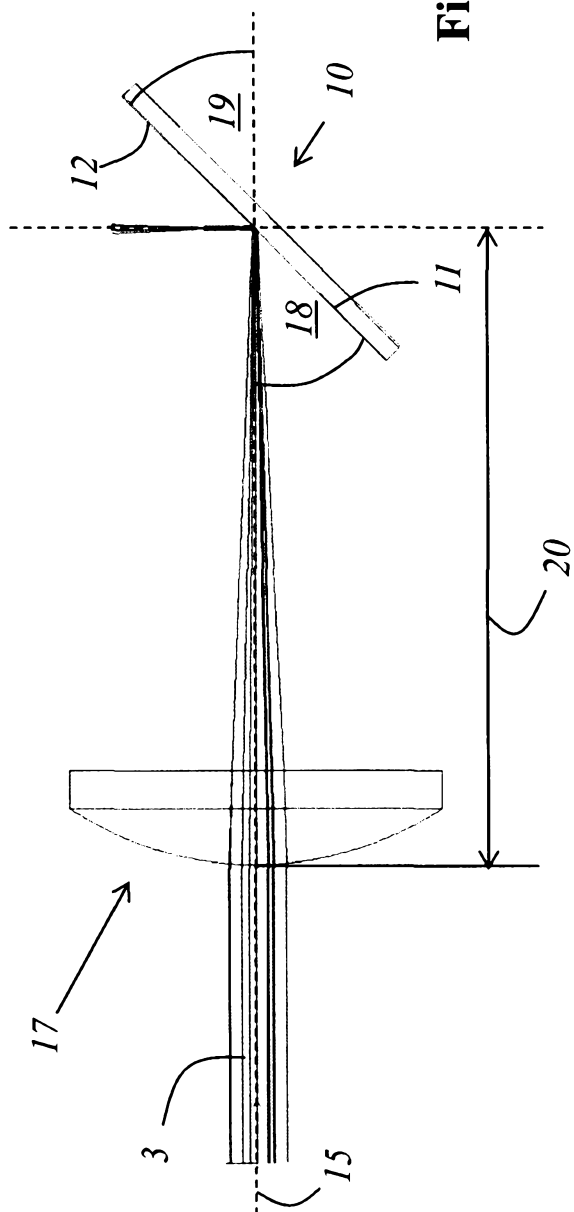


Fig. 2

**Fig. 4****Fig. 3**

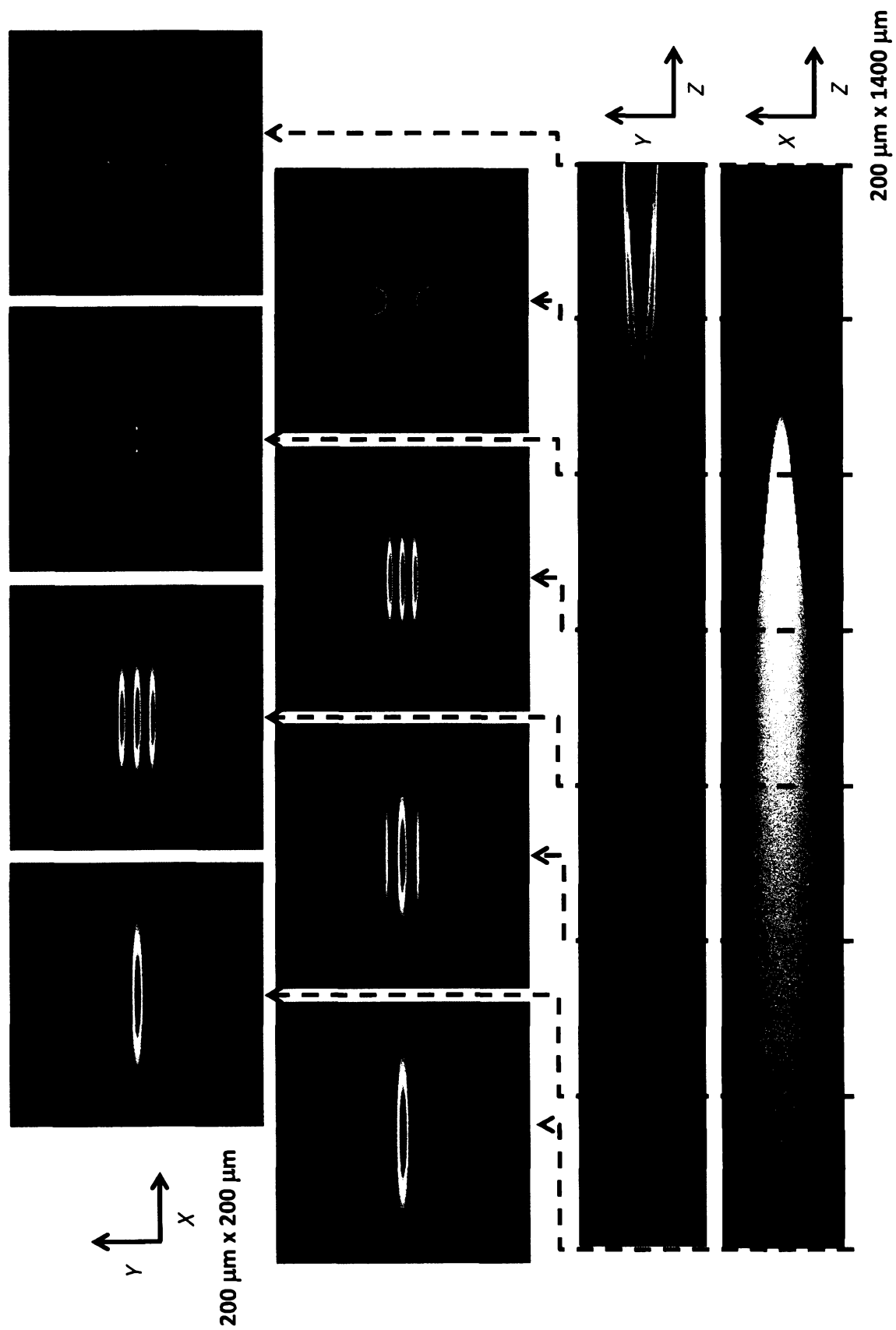


Fig. 5

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Beleuchten einer Probenschicht mit einem
5 Lichtblatt, das sich entlang einer Lichtblattebene ausbreitet, bei der SPIM-
Mikroskopie, sowie ein Verfahren zum Untersuchen einer Probe, bei dem eine
Probenschicht einer Probe unter Anwendung eines solchen Verfahrens beleuchtet
wird. Das Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass das Lichtblatt mittels eines
10 Winkelspiegels mit wenigstens einer ersten und einer zweiten Spiegelfläche
umgelenkt wird, wobei die erste Spiegelfläche einen ersten Teil des Lichtblattes
reflektiert und die zweite Spiegelfläche einen zweiten Teil des Lichtblattes reflektiert
und wobei der erste Teil des Lichtblattes und der zweite Teil des Lichtblattes nach der
Umlenkung räumlich überlagern.

15 (Fig. 1)



RECHERCHENBERICHT

nach Artikel 35.1 a)

des luxemburgischen Gesetzes über Erfindungspatente
vom 20. Juli 1992

LO 1223
LU 92846

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG Siehe Ergänzungsblatt B ----- SANJIV KUMAR TIWARI ET AL: "Generation of a Bessel beam of variable spot size", APPLIED OPTICS, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC; US, Bd. 51, Nr. 17, 10. Juni 2012 (2012-06-10), Seiten 3718-3725, XP001575748, ISSN: 0003-6935, DOI: 10.1364/AO.51.003718 [gefunden am 2012-06-04]	1-7,9-18	INV. G02B21/00 G02B21/36 G02B27/10 G02B27/14
Y	* Chapter 2. Experimental Setup * * Abbildung Figure 1 *	4,14	
X	US 8 238 042 B2 (DEWITT FRANK [US] ET AL) 7. August 2012 (2012-08-07) * Abbildungen 2,3 * * Spalte 5, Zeile 36 - Spalte 7, Zeile 31 *	1,2,5,7, 11,12, 15,17	
X	SATYA RAM MISHRA ET AL: "Generation of hollow conic beams using a metal axicon mirror", OPTICAL ENGINEERING, Bd. 46, Nr. 8, August 2007 (2007-08), Seite 084002, XP055022333, ISSN: 0091-3286, DOI: 10.1117/1.2771155 * Chapter 2. Method Chapter 4. Focusing the Hollow Beam * * Abbildung 5 * ----- -/-	2-7, 9-18, 20-23	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC) G02B
Abschlußdatum der Recherche		Prüfer	
6. Juni 2016		von Hentig, Roger	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

1
EOB FORM 02.83 (P04C53)



RECHERCHENBERICHT

nach Artikel 35.1 a)

des luxemburgischen Gesetzes über Erfindungspatente

vom 20. Juli 1992

LO 1223
LU 92846

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
Y	KELLER P J ET AL: "The zebrafish digital embryo: in toto reconstruction of zebrafish early embryonic development with digital scanned laser light sheet fluorescence microscopy", SPIE, PO BOX 10 BELLINGHAM WA 98227-0010 USA, 14. Juni 2009 (2009-06-14), XP040498058, * Abbildung 1 * * Chapter 2. DSLM * -----	4,14	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)
Abschlußdatum der Recherche		Prüfer	
6. Juni 2016		von Hentig, Roger	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			

1

EOB FORM 02.83 (P04C53)

**MANGELNDE EINHEITLICHKEIT
DER ERFINDUNG
ERGÄNZUNGSBLATT B**

Nummer der Anmeldung

LO 1223
LU 92846

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung und enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

1. Ansprüche: 1-7, 11-18(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)

beziehen sich auf einen Winkelspiegel mit einer ersten und zweiten Spiegelfläche. Soweit sich die abhängigen Ansprüche 9, 10 und 20-23 auf einen Winkelspiegel gemäß Anspruch 1 oder Anspruch 11 beziehen sind diese ebenfalls dieser Gruppe zuzuordnen.

2. Ansprüche: 8, 19(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)

beziehen sich auf ein refraktives optisches Bauteil mit einer ersten und zweiten Refraktorfläche. Soweit sich die abhängigen Ansprüche 9, 10 und 20-23 auf ein refraktives optisches Bauteil gemäß Anspruch 8 oder Anspruch 19 beziehen sind diese ebenfalls dieser Gruppe zuzuordnen.

Die Recherche wurde auf die erste Erfindung beschränkt.

**ANHANG ZUM RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE LUXEMBURGISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

LO 1223
LU 92846

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten Recherchenbericht angeführten Patendokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

06-06-2016

Im Recherchenbericht angeführtes Patendokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 8238042	B2	07-08-2012	CN	102667572 A	12-09-2012
			CN	105589185 A	18-05-2016
			JP	5678354 B2	04-03-2015
			JP	2012529075 A	15-11-2012
			US	2010309566 A1	09-12-2010
			WO	2010141092 A2	09-12-2010



RECHERCHENBERICHT

nach Artikel 35.1 a)

des luxemburgischen Gesetzes über Erfindungspatente
vom 20. Juli 1992

LO 1223
LU 92846

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG Siehe Ergänzungsblatt B ----- SANJIV KUMAR TIWARI ET AL: "Generation of a Bessel beam of variable spot size", APPLIED OPTICS, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC; US, Bd. 51, Nr. 17, 10. Juni 2012 (2012-06-10), Seiten 3718-3725, XP001575748, ISSN: 0003-6935, DOI: 10.1364/AO.51.003718 [gefunden am 2012-06-04]	1-7,9-18	INV. G02B21/00 G02B21/36 G02B27/10 G02B27/14
Y	* Chapter 2. Experimental Setup * * Abbildung Figure 1 *	4,14	
X	US 8 238 042 B2 (DEWITT FRANK [US] ET AL) 7. August 2012 (2012-08-07) * Abbildungen 2,3 * * Spalte 5, Zeile 36 - Spalte 7, Zeile 31 *	1,2,5,7, 11,12, 15,17	
X	SATYA RAM MISHRA ET AL: "Generation of hollow conic beams using a metal axicon mirror", OPTICAL ENGINEERING, Bd. 46, Nr. 8, August 2007 (2007-08), Seite 084002, XP055022333, ISSN: 0091-3286, DOI: 10.1117/1.2771155 * Chapter 2. Method Chapter 4. Focusing the Hollow Beam * * Abbildung 5 *	2-7, 9-18, 20-23	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC) G02B
		-/--	
Abschlußdatum der Recherche		Prüfer	
6. Juni 2016		von Hentig, Roger	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	



RECHERCHENBERICHT

nach Artikel 35.1 a)

des luxemburgischen Gesetzes über Erfindungspatente

vom 20. Juli 1992

LO 1223
LU 92846

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
Y	KELLER P J ET AL: "The zebrafish digital embryo: in toto reconstruction of zebrafish early embryonic development with digital scanned laser light sheet fluorescence microscopy", SPIE, PO BOX 10 BELLINGHAM WA 98227-0010 USA, 14. Juni 2009 (2009-06-14), XP040498058, * Abbildung 1 * * Chapter 2. DSLM * -----	4,14	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)
Abschlußdatum der Recherche		Prüfer	
6. Juni 2016		von Hentig, Roger	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	

1

EOB FORM 02.83 (P04C53)

**MANGELNDE EINHEITLICHKEIT
DER ERFINDUNG
ERGÄNZUNGSBLATT B**

Nummer der Anmeldung

LO 1223

LU 92846

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung und enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

1. Ansprüche: 1-7, 11-18(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)

beziehen sich auf einen Winkelspiegel mit einer ersten und zweiten Spiegelfläche. Soweit sich die abhängigen Ansprüche 9, 10 und 20-23 auf einen Winkelspiegel gemäß Anspruch 1 oder Anspruch 11 beziehen sind diese ebenfalls dieser Gruppe zuzuordnen.

2. Ansprüche: 8, 19(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)

beziehen sich auf ein refraktives optisches Bauteil mit einer ersten und zweiten Refraktorfläche. Soweit sich die abhängigen Ansprüche 9, 10 und 20-23 auf einen refraktives optisches Bauteil gemäß Anspruch 8 oder Anspruch 19 beziehen sind diese ebenfalls dieser Gruppe zuzuordnen.

Die Recherche wurde auf die erste Erfindung beschränkt.

**ANHANG ZUM RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE LUXEMBURGISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

LO 1223
LU 92846

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

06-06-2016

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 8238042	B2	07-08-2012	CN	102667572 A	12-09-2012
			CN	105589185 A	18-05-2016
			JP	5678354 B2	04-03-2015
			JP	2012529075 A	15-11-2012
			US	2010309566 A1	09-12-2010
			WO	2010141092 A2	09-12-2010



SCHRIFTLICHER BESCHEID

Dossier Nr. LO1223	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 09.10.2015	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen Nr. LU92846
Internationale Patentklassifikation (IPK) INV. G02B21/00 G02B21/36 G02B27/10 G02B27/14			
Anmelder Leica Microsystems CMS GmbH			

Dieser Bescheid enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- ☒ Feld Nr. I Grundlage des Bescheids
- ☐ Feld Nr. II Priorität
- ☒ Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- ☒ Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- ☒ Feld Nr. V Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- ☐ Feld Nr. VI Bestimmte angeführte Unterlagen
- ☐ Feld Nr. VII Bestimmte Mängel der Anmeldung
- ☒ Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur Anmeldung



SCHRIFTLICHER BESCHEID

Dossier Nr. LO1223	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 09.10.2015	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen Nr. LU92846
Internationale Patentklassifikation (IPK) INV. G02B21/00 G02B21/36 G02B27/10 G02B27/14			
Anmelder Leica Microsystems CMS GmbH			

Dieser Bescheid enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- ☒ Feld Nr. I Grundlage des Bescheids
- ☐ Feld Nr. II Priorität
- ☒ Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- ☒ Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- ☒ Feld Nr. V Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- ☐ Feld Nr. VI Bestimmte angeführte Unterlagen
- ☐ Feld Nr. VII Bestimmte Mängel der Anmeldung
- ☒ Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur Anmeldung

SCHRIFTLICHER BESCHEID

Aktenzeichen Nr.

LU92846

Feld Nr. I Grundlage des Bescheids

1. Dieser Bescheid wurde auf der Grundlage des letzten vor dem Beginn der Recherche eingereichten Satzes von Ansprüchen erstellt.
2. Hinsichtlich der **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz**, die in der Anmeldung offenbart wurde und für die beanspruchte Erfindung erforderlich ist, ist der Bescheid auf folgender Grundlage erstellt worden:
 - a. Art des Materials
 - ☐ Sequenzprotokoll
 - ☐ Tabelle(n) zum Sequenzprotokoll
 - b. Form des Materials
 - ☐ in Papierform
 - ☐ in elektronischer Form
 - c. Zeitpunkt der Einreichung
 - ☐ in der eingereichten Anmeldung enthalten
 - ☐ zusammen mit der Anmeldung in elektronischer Form eingereicht
 - ☐ nachträglich eingereicht
3. ☐ Wurden mehr als eine Version oder Kopie eines Sequenzprotokolls und/oder einer dazugehörigen Tabelle eingereicht, so sind zusätzlich die erforderlichen Erklärungen, dass die Information in den nachgereichten oder zusätzlichen Kopien mit der Information in der Anmeldung in der eingereichten Fassung übereinstimmt bzw. nicht über sie hinausgeht, vorgelegt worden.
4. Zusätzliche Bemerkungen:

SCHRIFTLICHER BESCHEID

Aktenzeichen Nr.

LU92846

Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte Anmeldung
- ☒ die Ansprüche Nr. 8, 19(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)

Begründung:

- ☐ Die gesamte Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine Recherche durchgeführt zu werden braucht (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Ansprüche, die Beschreibung oder die Zeichnungen, oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, dass kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, dass kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- ☒ für die gesamte Anmeldung oder für die obengenannten Ansprüche Nr. 8, 19(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise) wurde kein Recherchenbericht erstellt.
- ☐ es konnte kein sinnvolles Gutachten erstellt werden, da das Sequenzprotokoll entweder nicht verfügbar war, oder nicht im internationalen Format (WIPO ST.25) eingereicht wurde.
- ☐ Ohne die Tabellen zu den Sequenzprotokollen konnte kein sinnvolles Gutachten erstellt werden, oder diese Tabellen waren nicht in elektronischer Form entsprechend der internationalen Norm (WIPO ST.25) verfügbar.
- ☐ Siehe Zusatzfeld für weitere Angaben.

Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

1. Das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung ist aus folgen Gründen nicht erfüllt:

siehe Beiblatt

2. Dieser Bescheid ist für die folgenden Teile der Anmeldung erstellt worden:

- ☐ alle Teile
- ☒ die Teile, die sich auf die Ansprüche mit folgenden Nummern beziehen: (siehe Recherchebericht)

Feld Nr. V Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit Ja: Ansprüche 2-7, 11-18(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)
Nein: Ansprüche 1

Erfinderische Tätigkeit Ja: Ansprüche
 Nein: Ansprüche 1-7, 11-18(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)

Gewerbliche Anwendbarkeit Ja: Ansprüche: 1-7, 11-18(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)
Nein: Ansprüche:

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur Anmeldung

siehe Beiblatt

SCHRIFTLICHER BESCHEID

Aktenzeichen Nr.

LU92846

Feld Nr. I Grundlage des Bescheids

1. Dieser Bescheid wurde auf der Grundlage des letzten vor dem Beginn der Recherche eingereichten Satzes von Ansprüchen erstellt.
2. Hinsichtlich der **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz**, die in der Anmeldung offenbart wurde und für die beanspruchte Erfindung erforderlich ist, ist der Bescheid auf folgender Grundlage erstellt worden:
 - a. Art des Materials
 - ☐ Sequenzprotokoll
 - ☐ Tabelle(n) zum Sequenzprotokoll
 - b. Form des Materials
 - ☐ in Papierform
 - ☐ in elektronischer Form
 - c. Zeitpunkt der Einreichung
 - ☐ in der eingereichten Anmeldung enthalten
 - ☐ zusammen mit der Anmeldung in elektronischer Form eingereicht
 - ☐ nachträglich eingereicht
3. ☐ Wurden mehr als eine Version oder Kopie eines Sequenzprotokolls und/oder einer dazugehörigen Tabelle eingereicht, so sind zusätzlich die erforderlichen Erklärungen, dass die Information in den nachgereichten oder zusätzlichen Kopien mit der Information in der Anmeldung in der eingereichten Fassung übereinstimmt bzw. nicht über sie hinausgeht, vorgelegt worden.
4. Zusätzliche Bemerkungen:

SCHRIFTLICHER BESCHEID

Aktenzeichen Nr.

LU92846

Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte Anmeldung
- ☒ die Ansprüche Nr. 8, 19(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)

Begründung:

- ☐ Die gesamte Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine Recherche durchgeführt zu werden braucht (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Ansprüche, die Beschreibung oder die Zeichnungen, oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, dass kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- ☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, dass kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- ☒ für die gesamte Anmeldung oder für die obengenannten Ansprüche Nr. 8, 19(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise) wurde kein Recherchenbericht erstellt.
- ☐ es konnte kein sinnvolles Gutachten erstellt werden, da das Sequenzprotokoll entweder nicht verfügbar war, oder nicht im internationalen Format (WIPO ST.25) eingereicht wurde.
- ☐ Ohne die Tabellen zu den Sequenzprotokollen konnte kein sinnvolles Gutachten erstellt werden, oder diese Tabellen waren nicht in elektronischer Form entsprechend der internationalen Norm (WIPO ST.25) verfügbar.
- ☐ Siehe Zusatzfeld für weitere Angaben.

Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

1. Das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung ist aus folgen Gründen nicht erfüllt:

siehe Beiblatt

2. Dieser Bescheid ist für die folgenden Teile der Anmeldung erstellt worden:

- ☐ alle Teile
- ☒ die Teile, die sich auf die Ansprüche mit folgenden Nummern beziehen: (siehe Recherchebericht)

Feld Nr. V Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit Ja: Ansprüche 2-7, 11-18(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)
Nein: Ansprüche 1

Erfinderische Tätigkeit Ja: Ansprüche
 Nein: Ansprüche 1-7, 11-18(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)

Gewerbliche Anwendbarkeit Ja: Ansprüche: 1-7, 11-18(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)
Nein: Ansprüche:

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur Anmeldung

siehe Beiblatt

1 Es wird auf folgende Dokumente verwiesen:

- D1 SANJIV KUMAR TIWARI ET AL: "Generation of a Bessel beam of variable spot size",
APPLIED OPTICS, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC; US,
Bd. 51, Nr. 17, 10. Juni 2012 (2012-06-10), Seiten 3718-3725, XP001575748,
ISSN: 0003-6935, DOI: 10.1364/AO.51.003718
- D2 US 8 238 042 B2 (DEWITT FRANK [US] ET AL) 7. August 2012 (2012-08-07)
- D3 SATYA RAM MISHRA ET AL: "Generation of hollow conic beams using a metal axicon mirror",
OPTICAL ENGINEERING,
Bd. 46, Nr. 8, August 2007 (2007-08), Seite 084002, XP055022333,
ISSN: 0091-3286, DOI: 10.1117/1.2771155
- D4 KELLER P J ET AL: "The zebrafish digital embryo: in toto reconstruction of zebrafish early embryonic development with digital scanned laser light sheet fluorescence microscopy",
SPIE, PO BOX 10 BELLINGHAM WA 98227-0010 USA, 14. Juni 2009 (2009-06-14), XP040498058,

Zu Punkt IV

Die Ansprüche umfassen zwei Erfindungen, nämlich:

Ansprüche: 1-7, 11-18(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)

beziehen sich auf einen Winkelspiegel mit einer ersten und zweiten Spiegelfläche. Soweit sich die abhängigen Ansprüche 9, 10 und 20-23 auf einen Winkelspiegel gemäß Anspruch 1 oder Anspruch 11 beziehen sind diese ebenfalls dieser Gruppe zuzuordnen.

Ansprüche: 8, 19(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)

beziehen sich auf ein refraktives optisches Bauteil mit einer ersten und zweiten Refraktorfläche. Soweit sich die abhängigen Ansprüche 9, 10 und 20-23 auf einen refraktives optisches Bauteil gemäß Anspruch 8 oder Anspruch 19 beziehen sind diese ebenfalls dieser Gruppe zuzuordnen.

Die Erfindungen sind aus den folgenden Gründen nicht durch eine einzige allgemeine erfinderische Idee verbunden:

Der Anspruchsatz Anspruch 8 ist in Verbindung mit Anspruch 1 bzw. Vorrichtungsanspruch 19 in Verbindung mit Anspruch 11, auf den sich diese Ansprüche jeweils rückbeziehen, als unabhängige Anspruch zu interpretieren, da das Merkmal "Winkelspiegel" durch ein anderes Merkmal, nämlich durch ein refraktives optisches Bauteil ersetzt wird. Damit hat auch die in Anspruch 19 definierte Vorrichtung und die in Anspruch 11 definierten Vorrichtung kein Merkmal gemeinsam, so dass kein gemeinsames erfinderisches Konzept zu erkennen ist, das die Einheitlichkeit zwischen Anspruch 8 und Anspruch 1 bzw. Anspruch 19 und Anspruch 11 herstellen könnte. Auch die in Ansprüchen 1, 8 bzw. 11, 19 angegebene technische Wirkung des Winkelspiegels bzw. des refraktiven optischen Elements kann die Einheitlichkeit zwischen den beiden genannten Gruppen nicht herstellen, da die technische Wirkung der Überlagerung eines ersten und zweiten Lichtbündels schon aus Druckschrift D1, Abbildung 1 bekannt ist.

Zu Punkt VIII

Die Anmeldung ist aus folgenden Gründen nicht klar:

In Ansprüchen 1 und 11 wird auf SPI-Mikroskopie Bezug genommen, die jedoch selbst nicht Gegenstand der jeweiligen Ansprüche ist. Es bleibt daher unklar welche konkreten Merkmale der Beleuchtungsverfahrens bzw. der Beleuchtungsvorrichtung mittels dieser Angabe definiert werden sollen.

Zu Punkt V

Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

Die vorliegende Anmeldung erfüllt nicht die Erfordernisse der Patentierbarkeit, weil der Gegenstand des Anspruchs 1 nicht neu ist, da Dokument D1 eine Vorrichtung offenbart, die sämtliche Merkmalen des Anspruchs 1 impliziert. Im Wortlaut des Anspruchs 1 offenbart Dokument D1 ein (Passagen in Klammern beziehen sich auf dieses Dokument):

Verfahren (D1, Abbildung 1,) zum Beleuchten einer Probenschicht mit einem Lichtbündel (Abbildung 1, Bessel beam BB) oder Lichtblatt bei der SPIM-Mikroskopie, wobei das Lichtbündel (Abbildung 1, Bessel beam BB) oder Lichtblatt mittels eines Winkelspiegels mit wenigstens einer ersten und einer zweiten Spiegelfläche (D1, Abbildung 1: AX1, AX2) umgelenkt wird, wobei die erste Spiegelfläche (D1, Abbildung 1: AX1) einen ersten Teil des Lichtbündels oder Lichtblattes (D1, Abbildung 1: BB) reflektiert und die zweite Spiegelfläche (D1, Abbildung 1: AX2) einen zweiten Teil des Lichtbündels oder Lichtblattes (D1, Abbildung 1: BB) reflektiert und wobei der erste Teil des Lichtbündels oder Lichtblattes und der zweite Teil des Lichtbündels oder Lichtblattes nach der Umlenkung räumlich überlagern.

Selbst, wenn man Anspruch 1 bzw. Vorrichtungsanspruch 11 in dem Sinne interpretiert, dass die erste und zweite Spiegelfläche aneinandergrenzende Facetten eines einzelnen Spiegelkörpers sind, würde der Gegenstand des Anspruchs 1 bzw. der des Vorrichtungsanspruchs 11 keine erfinderische Tätigkeit involvieren, da dieser in naheliegender Weise aus der von Druckschrift D1 offenbarten Vorrichtung und deren fachüblichen Gebrauch hervorgeht.

So kann der Unterschied zwischen dieser engen Interpretation des Anspruchs 1 oder 11 und der in Abbildung 1 von Druckschrift D1 offenbarten Vorrichtung und deren Gebrauch darin gesehen werden, dass nicht etwa ein rotationssymmetrisch punktförmiges Strahlprofil im Überlappungsbereich der Teilstrahlen, sondern vielmehr ein linienförmiges Strahlprofil erzeugt wird. Es ist jedoch im Licht des allgemeinen Fachwissens als naheliegend anzusehen, dass sich die Fokussierung des Lichts auf eine Ebene begrenzen lässt, indem optische Komponenten so gestaltet werden, dass diese lediglich in einer Achse eine optische Wirkung aufweisen. Zudem muss der Fachmann, der mit dem Entwurf optischer Systeme betraut ist, nicht erfinderisch tätig werden, um eine Vorrichtung bzw. ein Verfahren anzugeben wie die in D1, Abbildung

1 offenbarte Vorrichtung zu modifizieren ist, um ein linienförmiges Strahlprofil zu erzeugen, da dies schon aus dem in Abbildung 1 gezeigten Schnittbild hervorgeht, die für jede parallele Schnittebene eines solch modifizierten Systems ihre Gültigkeit behält.

Die abhängigen Ansprüche 2-7, 12-18, 9,10, 20-23 enthalten keine Merkmale, die in Kombination mit den Merkmalen eines Anspruchs, auf den sie rückbezogen sind, die Erfordernisse in Bezug auf erfinderische Tätigkeit erfüllen, siehe (D1, Chapter 2. Experimental Setup; Abbildung Figure 1; D2, Abbildungen 2,3; Spalte 5, Zeile 36 - Spalte 7, Zeile 31; D3, Chapter 2. MethodChapter 4. Focusing the Hollow Beam; Abbildung 5; D4, Abbildung 1; Chapter 2. DSLM)

1 Es wird auf folgende Dokumente verwiesen:

- D1 SANJIV KUMAR TIWARI ET AL: "Generation of a Bessel beam of variable spot size",
APPLIED OPTICS, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, WASHINGTON, DC; US,
Bd. 51, Nr. 17, 10. Juni 2012 (2012-06-10), Seiten 3718-3725,
XP001575748,
ISSN: 0003-6935, DOI: 10.1364/AO.51.003718
- D2 US 8 238 042 B2 (DEWITT FRANK [US] ET AL) 7. August 2012
(2012-08-07)
- D3 SATYA RAM MISHRA ET AL: "Generation of hollow conic beams using a metal axicon mirror",
OPTICAL ENGINEERING,
Bd. 46, Nr. 8, August 2007 (2007-08), Seite 084002, XP055022333,
ISSN: 0091-3286, DOI: 10.1117/1.2771155
- D4 KELLER P J ET AL: "The zebrafish digital embryo: in toto reconstruction of zebrafish early embryonic development with digital scanned laser light sheet fluorescence microscopy",
SPIE, PO BOX 10 BELLINGHAM WA 98227-0010 USA, 14. Juni 2009
(2009-06-14), XP040498058,

Zu Punkt IV

Die Ansprüche umfassen zwei Erfindungen, nämlich:

Ansprüche: 1-7, 11-18(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)

beziehen sich auf einen Winkelspiegel mit einer ersten und zweiten Spiegelfläche. Soweit sich die abhängigen Ansprüche 9, 10 und 20-23 auf einen Winkelspiegel gemäß Anspruch 1 oder Anspruch 11 beziehen sind diese ebenfalls dieser Gruppe zuzuordnen.

Ansprüche: 8, 19(vollständig); 9, 10, 20-23(teilweise)

beziehen sich auf ein refraktives optisches Bauteil mit einer ersten und zweiten Refraktorfläche. Soweit sich die abhängigen Ansprüche 9, 10 und 20-23 auf einen refraktives optisches Bauteil gemäß Anspruch 8 oder Anspruch 19 beziehen sind diese ebenfalls dieser Gruppe zuzuordnen.

Die Erfindungen sind aus den folgenden Gründen nicht durch eine einzige allgemeine erfinderische Idee verbunden:

Der Anspruchsatz Anspruch 8 ist in Verbindung mit Anspruch 1 bzw. Vorrichtungsanspruch 19 in Verbindung mit Anspruch 11, auf den sich diese Ansprüche jeweils rückbeziehen, als unabhängige Anspruch zu interpretieren, da das Merkmal "Winkelspiegel" durch ein anderes Merkmal, nämlich durch ein refraktives optisches Bauteil ersetzt wird. Damit hat auch die in Anspruch 19 definierte Vorrichtung und die in Anspruch 11 definierten Vorrichtung kein Merkmal gemeinsam, so dass kein gemeinsames erfinderisches Konzept zu erkennen ist, das die Einheitlichkeit zwischen Anspruch 8 und Anspruch 1 bzw. Anspruch 19 und Anspruch 11 herstellen könnte. Auch die in Ansprüchen 1, 8 bzw. 11, 19 angegebene technische Wirkung des Winkelspiegels bzw. des refraktiven optischen Elements kann die Einheitlichkeit zwischen den beiden genannten Gruppen nicht herstellen, da die technische Wirkung der Überlagerung eines ersten und zweiten Lichtbündels schon aus Druckschrift D1, Abbildung 1 bekannt ist.

Zu Punkt VIII

Die Anmeldung ist aus folgenden Gründen nicht klar:

In Ansprüchen 1 und 11 wird auf SPI-Mikroskopie Bezug genommen, die jedoch selbst nicht Gegenstand der jeweiligen Ansprüche ist. Es bleibt daher unklar welche konkreten Merkmale der Beleuchtungsverfahrens bzw. der Beleuchtungsvorrichtung mittels dieser Angabe definiert werden sollen.

Zu Punkt V

Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

Die vorliegende Anmeldung erfüllt nicht die Erfordernisse der Patentierbarkeit, weil der Gegenstand des Anspruchs 1 nicht neu ist, da Dokument D1 eine Vorrichtung offenbart, die sämtliche Merkmalen des Anspruchs 1 impliziert. Im Wortlaut des Anspruchs 1 offenbart Dokument D1 ein (Passagen in Klammern beziehen sich auf dieses Dokument):

Verfahren (D1, Abbildung 1,) zum Beleuchten einer Probenschicht mit einem Lichtbündel (Abbildung 1, Bessel beam BB) oder Lichtblatt bei der SPIM-Mikroskopie, wobei das Lichtbündel (Abbildung 1, Bessel beam BB) oder Lichtblatt mittels eines Winkelspiegels mit wenigstens einer ersten und einer zweiten Spiegelfläche (D1, Abbildung 1: AX1, AX2) umgelenkt wird, wobei die erste Spiegelfläche (D1, Abbildung 1: AX1) einen ersten Teil des Lichtbündels oder Lichtblattes (D1, Abbildung 1: BB) reflektiert und die zweite Spiegelfläche (D1, Abbildung 1: AX2) einen zweiten Teil des Lichtbündels oder Lichtblattes (D1, Abbildung 1: BB) reflektiert und wobei der erste Teil des Lichtbündels oder Lichtblattes und der zweite Teil des Lichtbündels oder Lichtblattes nach der Umlenkung räumlich überlagern.

Selbst, wenn man Anspruch 1 bzw. Vorrichtungsanspruch 11 in dem Sinne interpretiert, dass die erste und zweite Spiegelfläche aneinandergrenzende Facetten eines einzelnen Spiegelkörpers sind, würde der Gegenstand des Anspruchs 1 bzw. der des Vorrichtungsanspruchs 11 keine erfinderische Tätigkeit involvieren, da dieser in naheliegender Weise aus der von Druckschrift D1 offenbarten Vorrichtung und deren fachüblichen Gebrauch hervorgeht.

So kann der Unterschied zwischen dieser engen Interpretation des Anspruchs 1 oder 11 und der in Abbildung 1 von Druckschrift D1 offenbarten Vorrichtung und deren Gebrauch darin gesehen werden, dass nicht etwa ein rotationssymmetrisch punktförmiges Strahlprofil im Überlappungsbereich der Teilstrahlen, sondern vielmehr ein linienförmiges Strahlprofil erzeugt wird. Es ist jedoch im Licht des allgemeinen Fachwissens als naheliegend anzusehen, dass sich die Fokussierung des Lichts auf eine Ebene begrenzen lässt, indem optische Komponenten so gestaltet werden, dass diese lediglich in einer Achse eine optische Wirkung aufweisen. Zudem muss der Fachmann, der mit dem Entwurf optischer Systeme betraut ist, nicht erfinderisch tätig werden, um eine Vorrichtung bzw. ein Verfahren anzugeben wie die in D1, Abbildung

1 offenbarte Vorrichtung zu modifizieren ist, um ein linienförmiges Strahlprofil zu erzeugen, da dies schon aus dem in Abbildung 1 gezeigten Schnittbild hervorgeht, die für jede parallele Schnittebene eines solch modifizierten Systems ihre Gültigkeit behält.

Die abhängigen Ansprüche 2-7, 12-18, 9,10, 20-23 enthalten keine Merkmale, die in Kombination mit den Merkmalen eines Anspruchs, auf den sie rückbezogen sind, die Erfordernisse in Bezug auf erfinderische Tätigkeit erfüllen, siehe (D1, Chapter 2. Experimental Setup; Abbildung Figure 1; D2, Abbildungen 2,3; Spalte 5, Zeile 36 - Spalte 7, Zeile 31; D3, Chapter 2. MethodChapter 4. Focusing the Hollow Beam; Abbildung 5; D4, Abbildung 1; Chapter 2. DSLM)