

DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

PATENTSCHRIFT

(19) **DD** (11) **253 093 A1**

4(51) G 02 B 21/00

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP G 02 B / 294 838 8

(22) 01.10.86

(44) 06.01.88

(71) Wilhelm-Pieck-Universität Rostock, Universitätsplatz 1, Rostock, 2500, DD

(72) Höhne, Frank Eckhard, Dr. rer. nat.; Kuhlmann, Fritz, Dr. rer. nat.; Schütt, Wolfgang, Dr. rer. nat., DD

(54) **Anordnung für ein hochauflösendes Lichtrastermikroskop**

(55) Lichtrastermikroskop, Auflösungssteigerung, Fourier-Optik

(57) Die Erfindung betrifft eine Anordnung für ein hochauflösendes Lichtrastermikroskop, das die Untersuchung von mikroskopischen Präparaten mit für die Lichtmikroskopie extremaler Auflösung in Durchlicht und in Auflicht gestattet. Die extremale Auflösungssteigerung wird dadurch erreicht, daß neben der Abrasterung des zu untersuchenden Objektes durch einen beugungsbegrenzten Lichtfokus das Bild des vom Lichtfokus bestrahlten Objektbereiches in einem fourieroptischen System gefiltert wird.

ISSN 0433-6461

6 Seiten

DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

PATENTSCHRIFT

(19) DD (11) 253 093 A1

4(51) G 02 B 21/00

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP G 02 B / 294 838 8

(22) 01.10.86

(44) 06.01.88

(71) Wilhelm-Pieck-Universität Rostock, Universitätsplatz 1, Rostock, 2500, DD

(72) Höhne, Frank Eckhard, Dr. rer. nat.; Kuhlmann, Fritz, Dr. rer. nat.; Schütt, Wolfgang, Dr. rer. nat., DD

(54) Anordnung für ein hochauflösendes Lichtrastermikroskop

(55) Lichtrastermikroskop, Auflösungssteigerung, Fourier-Optik

(57) Die Erfindung betrifft eine Anordnung für ein hochauflösendes Lichtrastermikroskop, das die Untersuchung von mikroskopischen Präparaten mit für die Lichtmikroskopie extremaler Auflösung in Durchlicht und in Auflicht gestattet. Die extremale Auflösungssteigerung wird dadurch erreicht, daß neben der Abrasterung des zu untersuchenden Objektes durch einen beugungsbegrenzten Lichtfokus das Bild des vom Lichtfokus bestrahlten Objektbereiches in einem fourieroptischen System gefiltert wird.

ISSN 0433-6461

6 Seiten

Zur PS Nr. 253 093...

ist eine Zweitschrift erschienen.

(Teilweise bestätigt gem. § 18 Abs.1 d. Änd.Ges.z.Pat.Ges.)

Erfindungsanspruch:

1. Anordnung für ein hochauflösendes Lichtrastermikroskop, **dadurch gekennzeichnet**, daß das von einer kohärent strahlenden Lichtquelle (1), vorzugsweise einem Laser, ausgehende Licht mittels einer Aufweitungsoptik (2) und anschließender Sammellinse (3) auf einer Lochblende (4) fokussiert wird, daß hinter der Lochblende (4) eine Linse (5) angeordnet ist, mit der das durch die Lochblende (4) hindurchtretende Licht auf ein hinter der Linse (5) angeordnetes zu untersuchendes Objekt (6) fokussiert wird, daß das Objekt (6) mit einer elektromechanischen Rastereinheit (16) zum Zwecke der rasterförmigen Bewegung des Objektes (6) durch den Lichtfokus der Linse (5) hindurch mechanisch verbunden ist, daß hinter dem Objekt (6) eine weitere Linse (7) angeordnet ist, mit der das durch das Objekt (6) hindurchtretende Licht in die Bildebene (8) fokussiert wird, daß hinter der Bildebene (8) eine Fourier-Transformationsoptik (9) angeordnet ist, mit der das Bild des vom Lichtfokus der Linse (5) durchstrahlten Objektbereiches fouriertransformiert wird, daß sich in der Fourier-Ebene der Fourier-Transformationsoptik (9) ein Filter (10) befindet, daß eine weitere Fourier-Transformationsoptik (11) hinter dem Filter (10) zum Zwecke der Rücktransformation angeordnet ist, daß hinter der Fourier-Transformationsoptik (11) eine an sich bekannte elektronische Bildaufnahmeverrichtung (12) zum Zwecke der Aufnahme des gefilterten Bildes des vom Lichtfokus durchstrahlten Objektbereiches angeordnet ist, daß die elektronische Bildaufnahmeverrichtung (12) mit einer elektronischen Bildspeichervorrichtung (13) elektrisch verbunden ist, daß die elektronische Bildspeichervorrichtung (13) und die elektromechanische Rastereinheit (16) mit einem Steuerrechner (14) elektrisch verbunden sind und daß die Bildspeichervorrichtung (13) zum Zwecke der Bilddarstellung über den Steuerrechner (14) mit einem Monitor (15) verbunden ist.
2. Anordnung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Filter (10) ein Hochpaßfilter, vorzugsweise eine Ringblende, ist.
3. Anordnung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Filter (10) ein Vander-Lugt-Filter ist, das die reziproke Punktbildverwaschungsfunktion des optischen Systems simuliert.
4. Anordnung nach Anspruch 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die elektronische Bildaufnahmeverrichtung (12) eine CCD-Kamera ist.
5. Anordnung nach Anspruch 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die elektronische Bildaufnahmeverrichtung (12) eine Fernsehkamera ist.
6. Anordnung nach Anspruch 1 bis 3, **gekennzeichnet dadurch**, daß die elektronische Bildaufnahmeverrichtung (12) aus einer Matrix von Lichtleitfasern besteht und daß jede Lichtleitfaser mit einem Photodetektor verbunden ist.
7. Anordnung nach Anspruch 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die elektronische Bildaufnahmeverrichtung (12) aus einem mit einer Lochblende abgeblendeten Photodetektor und einem elektronisch steuerbaren Lichtablenksystem, vorzugsweise einem Drehspiegelsystem, besteht, mit dem das gefilterte Bild des vom Lichtfokus der Linse (5) durchstrahlten Objektbereiches vor der Lochblende des Photodetektor rasterförmig bewegt wird.
8. Anordnung für ein hochauflösendes Lichtrastermikroskop, **dadurch gekennzeichnet**, daß das von einer kohärent strahlenden Lichtquelle (1') vorzugsweise einem Laser, ausgehende Licht mittels einer Aufweitungsoptik (2') und anschließender Sammellinse (3') auf eine Lochblende (4') fokussiert wird, daß hinter der Lochblende (4') eine Linse (5') angeordnet ist, mit der das durch die Lochblende (4') hindurchtretende Licht auf ein hinter der Linse (5') angeordnetes zu untersuchendes Objekt (6') fokussiert wird, daß das Objekt (6') mit einer elektromechanischen Rastereinheit (16') zum Zwecke der rasterförmigen Bewegung des Objektes (6') durch den Lichtfokus der Linse (5') hindurch mechanisch verbunden ist, daß vor dem Objekt (6') ein Teilerspiegel (17) angeordnet ist, der das vom Objekt (6') remittierte Licht auf eine weitere Linse (7') ablenkt, mit der das vom Objekt (6') remittierte Licht in die Bildebene (8') fokussiert wird, daß hinter der Bildebene (8') eine Fourier-Transformationsoptik (9') angeordnet ist, mit der das Bild des vom Lichtfokus der Linse (5') bestrahlten Objektbereiches fouriertransformiert wird, daß sich in der Fourier-Ebene der Fourier-Transformationsoptik (9') ein Filter (10') befindet, daß eine weitere

Fourier-Transformationsoptik (11') hinter dem Filter (10') zum Zwecke der Rücktransformation angeordnet ist, daß hinter der Fourier-Transformationsoptik (11') eine an sich bekannte elektronische Bildaufnahmevorrichtung (12') zum Zwecke der Aufnahme des gefilterten Bildes des vom Lichtfokus bestrahlten Objektbereiches angeordnet ist, daß die elektronische Bildaufnahmevorrichtung (12') mit einer elektronischen Bildspeichervorrichtung (13') elektrisch verbunden ist, daß die elektronische Bildspeichervorrichtung (13') und die elektromechanische Rastereinheit (16') mit einem Steuerrechner (14') elektrisch verbunden sind und daß die Bildspeichervorrichtung (13') zum Zwecke der Bilddarstellung über den Steuerrechner (14') mit einem Monitor (15') verbunden ist.

9. Anordnung nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Filter (10') ein Hochpaßfilter, vorzugsweise eine Ringblende, ist.
10. Anordnung nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Filter (10') ein Vander-Lugt-Filter ist, das die reziproke Punktbildverwaschungsfunktion des optischen Systems simuliert.
11. Anordnung nach Anspruch 8 bis 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß die elektronische Bildaufnahmevorrichtung (12') eine CCD-Kamera ist.
12. Anordnung nach Anspruch 8 bis 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß die elektronische Bildaufnahmevorrichtung (12') eine Fernsehkamera ist.
13. Anordnung nach Anspruch 8 bis 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß die elektronische Bildaufnahmevorrichtung (12') aus einer Matrix von Lichtleitfasern besteht und daß jede Lichtleitfaser mit einem Photodetektor verbunden ist.
14. Anordnung nach Anspruch 8 bis 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß die elektronische Bildaufnahmevorrichtung (12') aus einem mit einer Lochblende abgeblendeten Photodetektor und einem elektronisch steuerbaren Lichtablenksystem, vorzugsweise einem Drehspiegelsystem, besteht, mit dem das gefilterte Bild des vom Lichtfokus der Linse (5') durchstrahlten Objektbereiches vor der Lochblende des Photodetektor rasterförmig bewegt wird.

Hierzu 2 Seiten Zeichnungen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft eine Anordnung für ein hochauflösendes Lichtrastermikroskop, das die Untersuchung von mikroskopischen Präparaten mit extrem hoher Auflösung gestattet.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

In der GB-PS 1595422 (G 02 B 21/00) ist ein Lichtrastermikroskop beschrieben, bei dem das zu untersuchende Objekt rasterförmig durch einen feststehenden Lichtfokus hindurch bewegt wird. Die vom Objekt ausgehende Strahlung wird dabei mittels einer Optik auf einen Punktdetektor fokussiert. Mit einer solchen konfokalen Anordnung läßt sich dabei eine höhere Auflösung als in der herkömmlichen Lichtmikroskopie erreichen.

Der Nachteil dieses Verfahrens besteht darin, daß zwei Objektpunkte, die dichter als ein Abstand liegen, bei dem die Lichtverteilung in der Bildebene, die Punktbildverwaschungsfunktion, nur noch ein gemeinsames Maximum hat, nicht mehr aufgelöst werden können.

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, eine Anordnung für ein hochauflösendes Lichtrastermikroskop zu entwickeln, mit der noch zwei Objektpunkte aufgelöst werden können, deren Abstand unter dem liegt, bei dem die Lichtverteilung in der Bildebene nur noch ein gemeinsames Maximum hat.

Wesen der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Anordnung für ein hochauflösendes Lichtrastermikroskop zu entwickeln, die eine für die Lichtrastermikroskopie extremale Auflösung gestattet.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß das von einer kohärent strahlenden Lichtquelle ausgehende Licht mittels eines optischen Systems zur punktweisen Abrasterung auf ein zu untersuchendes Objekt fokussiert wird.

Durch ein weiteres optisches System wird der annähernd punktförmig bestrahlte Objektbereich in die durch den Abstand des optischen Systems zum Objekt bestimmte Bildebene dieses optischen Systems abgebildet. Die Lichtverteilung in der Bildebene wird dabei im wesentlichen durch das Faltungsintegral der Objektfunktion mit der Punktbildverwaschungsfunktion des Gesamtsystems bestimmt. Bei weiter auseinanderliegenden Objektpunkten läßt sich die Lichtverteilung der zentralen Maxima in der Bildebene durch zwei weit auseinanderliegende Gaußfunktionen approximieren. Unterhalb eines gewissen Abstandes der Objektpunkte überlagern sich die Gaußfunktionen zu einer Funktion, die nur noch ein zentrales Maximum hat. Bei diesem Abstand sind die Objektpunkte nur noch auflösbar, wenn die Lichtverteilung in der Bildebene entfaltet wird.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß weiterhin dadurch gelöst, daß zum Zwecke der Entfaltung der Lichtverteilung in der Bildebene eine Fourier-Optik in das optische System eingebracht wird, in deren Fourier-Ebene das fouriertransformierte Bild des punktförmig bestrahlten Objektbereichs multipliziert mit der fouriertransformierten Punktbildverwaschungsfunktion entsteht. Erfindungsgemäß wird in diese Fourierebene ein geeignetes Filter angebracht, das im wesentlichen die reziproke Punktbildverwaschungsfunktion simuliert. Nach anschließender Rücktransformation mittels einer weiteren Fourier-Optik wird das gefilterte Bild des punktförmig beleuchteten Objektbereichs mit einer an sich bekannten Bildaufnahmeverrichtung aufgenommen.

Der Vorteil einer solchen Anordnung gegenüber den bisher bekannten Lichstrastermikroskopen besteht darin, hiermit submikroskopische Strukturen auflösen zu können.

Ausführungsbeispiel

Anhand von zwei Ausführungsbeispielen wird die Erfindung näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1: eine schematische Darstellung einer möglichen Ausführungsanordnung für das Lichtrastermikroskop in Durchlicht

Fig. 2: eine schematische Darstellung einer weiteren Ausführungsform für das Lichtrastermikroskop in Auflicht.

Im Ausführungsbeispiel nach Fig. 1 wird das von einer Lichtquelle 1, vorzugsweise einem Laser, erzeugte Licht von einer Aufweitungsoptik 2 und einer anschließenden Sammellinse 3 auf eine Lochblende 4 fokussiert. Mit der Linse 5 wird das durch die Lochblende 4 hindurchgelassene Licht auf das zu untersuchende Objekt 6 fokussiert. Das Objekt 6 ist mit einer elektromechanischen Rastereinheit 16 derart mechanisch verbunden, daß das Objekt, von einem Steuerrechner 14 elektronisch gesteuert, rasterförmig durch den Lichtfokus der Linse 5 hindurch bewegt werden kann. Mit einer weiteren Linse 7 wird das Bild des mit dem Lichtfokus durchstrahlten Objektes in die Bildebene 8 abgebildet. Hinter der Bildebene 8 ist zum Zwecke der Fouriertransformation eine Fourier-Transformationsoptik 9 angeordnet, in deren Fourier-Ebene ein Filter 10, vorzugsweise ein Vander-Lugt-Filter, angebracht ist.

Hinter dem Filter 10 ist eine weitere Fourier-Transformationsoptik 11 angeordnet, in deren Fourier-Ebene das rücktransformierte Bild des vom Lichtfokus durchstrahlten Objektbereiches entsteht. Mit einer an sich bekannten elektronischen Bildaufnahmeverrichtung 12 wird das gefilterte Bild in eine Bildspeichervorrichtung 13 abgespeichert. Zum Zwecke der Weiterverarbeitung des Bildes ist die Bildspeichervorrichtung 13 mit dem Steuerrechner 14 und zur Darstellung des gesamten abgerasterten Objektes mit dem Monitor 15 verbunden. Im Ausführungsbeispiel nach Fig. 2 wird das von einer Lichtquelle 1', vorzugsweise einem Laser, erzeugte Licht von einer Aufweitungsoptik 2' und einer anschließenden Sammellinse 3' auf eine Lochblende 4' fokussiert. Mit der Linse 5' wird das durch die Lochblende 4' hindurchgelassene Licht auf das zu untersuchende Objekt 6' fokussiert. Das Objekt ist mit einer elektromechanischen Rastereinheit 16' derart mechanisch verbunden, daß das Objekt, von einem Steuerrechner 14' elektronisch gesteuert, rasterförmig durch den Lichtfokus der Linse 5' hindurch bewegt werden kann.

Vor dem Objekt 6' ist ein Teilerspiegel 17 angeordnet, mit dem das vom Objekt remittierte Licht auf eine Linse 7' abgelenkt wird. Mit der Linse 7' wird das Bild des mit dem Lichtfokus bestrahlten Objektes in die Bildebene 8' abgebildet. Hinter der Bildebene 8' ist zum Zwecke der Fouriertransformation eine Fourier-Transformationsoptik 9' angeordnet, in deren Fourier-Ebene ein Filter 10', vorzugsweise ein Vander-Lugt-Filter, angebracht ist.

Hinter dem Filter 10' ist eine weitere Fourier-Transformationsoptik 11' angeordnet, in deren Fourier-Ebene das rücktransformierte Bild des vom Lichtfokus bestrahlten Objektbereiches entsteht. Mit einer an sich bekannten elektronischen Bildaufnahmeverrichtung 12' wird das gefilterte Bild in eine Bildspeichervorrichtung 13' abgespeichert. Zum Zwecke der Weiterverarbeitung des Bildes ist die Bildspeichervorrichtung 13' mit dem Steuerrechner 14' und zur Darstellung des gesamten abgerasterten Objektes mit dem Monitor 15' verbunden.

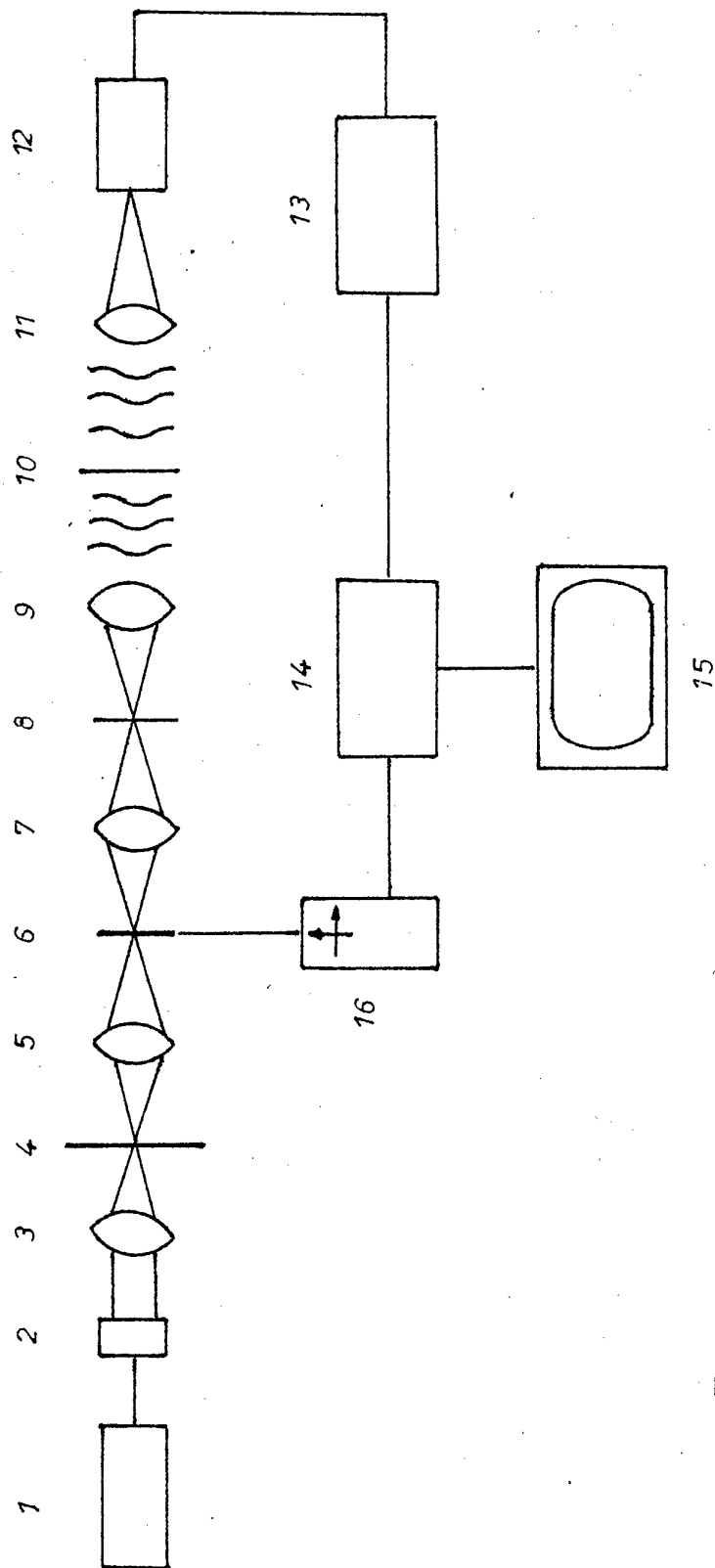


Fig. 1

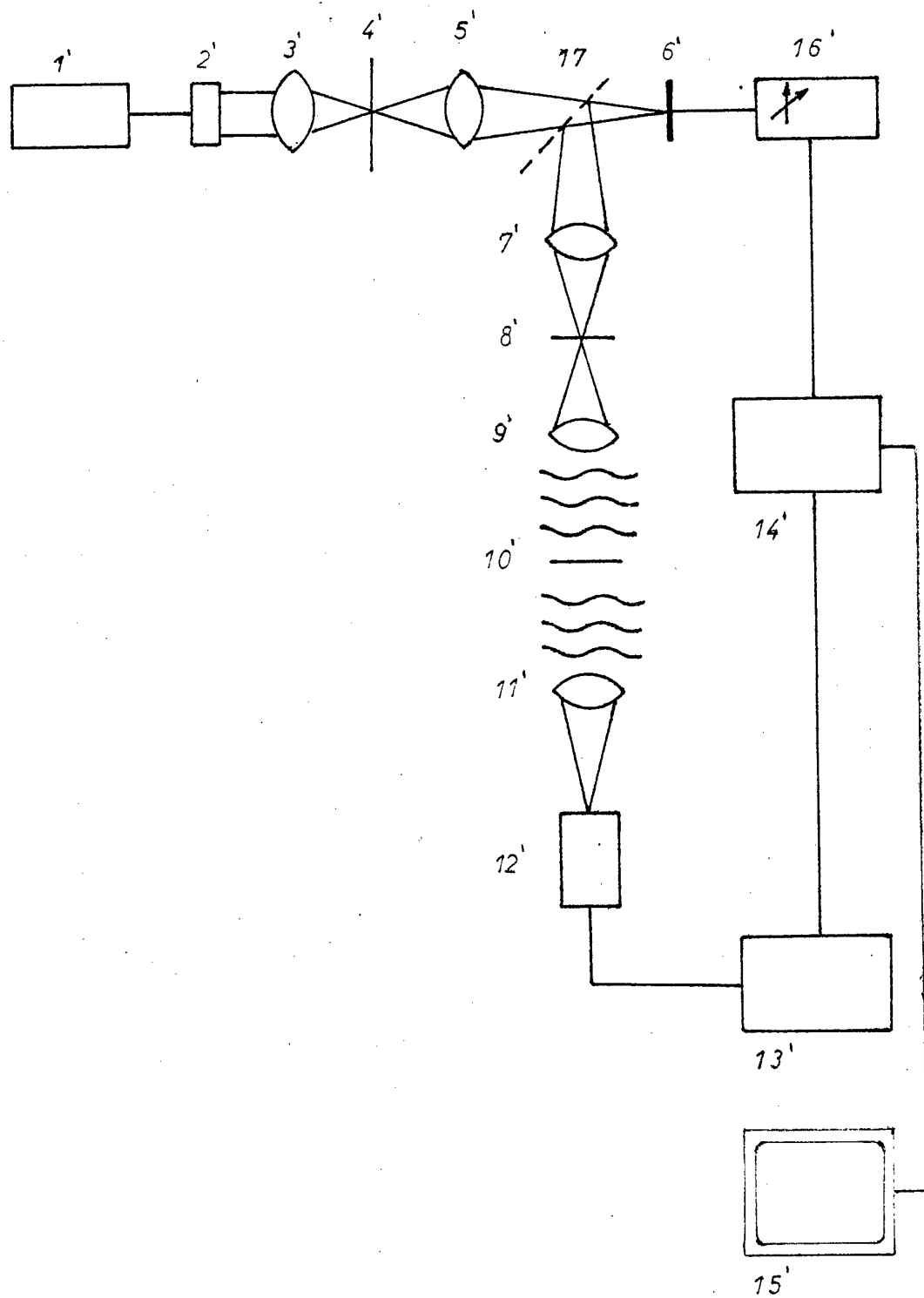


Fig. 2