

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

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
27. September 2018 (27.09.2018)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2018/172161 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

G02B 21/14 (2006.01) G02B 21/02 (2006.01)
G02B 27/00 (2006.01) G01M 11/02 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2018/056434

(22) Internationales Anmeldedatum:
14. März 2018 (14.03.2018)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2017 105 928.8
20. März 2017 (20.03.2017) DE

(71) Anmelder: **CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH**
[DE/DE]; Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).

(72) Erfinder: **GÖGLER, Michael**; Tannenweg 5b, 82515
Wolfratshausen (DE). **OHRT, Thomas**; Bürgelsche Str. 51,
07751 Golmsdorf (DE). **STICKER, Markus**; Luchsweg
14, 07749 Jena (DE).

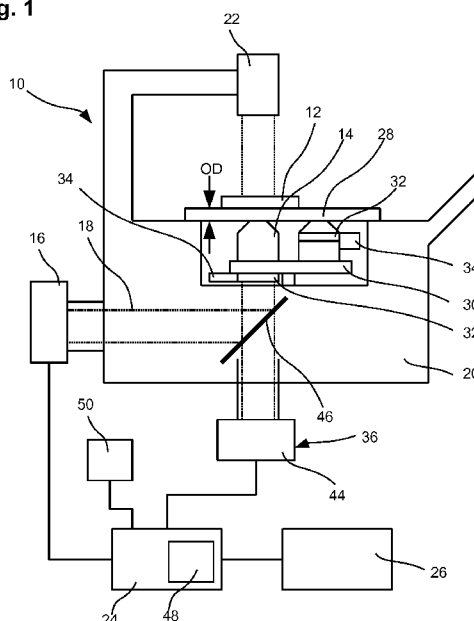
(74) Anwalt: **PATENTANWÄLTE GEYER, FEHNERS &
PARTNER MBB**; Perhamerstraße 31, 80687 München
(DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN,
KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO,
NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW,

(54) Title: MICROSCOPE AND METHOD FOR IMAGING AN OBJECT

(54) Bezeichnung: MIKROSKOP UND VERFAHREN ZUM ABBILDEN EINES OBJEKTS

Fig. 1



(57) **Abstract:** The invention relates to a method and to a microscope (10) for imaging an object (12), which comprises a lens assembly (14), which defines an optical axis and a focal plane perpendicular thereto, and correction optics (32), which are adjustable for adjustment to a depth position and which correct a spherical aberration on the lens assembly (14) which occurs during imaging of the object (12) at a specific depth position of the focal plane. The method comprises the steps: determining a phase difference of radiation from a first lateral region (40) and a second lateral region (42) of the object (12); using a previously known connection between the phase difference and a modification of the spherical aberration caused thereby in order to determine an adjustment value of the correction optics (32), such that the spherical aberration is reduced when imaging the second region (42).

SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren und ein Mikroskop (10) zum Abbilden eines Objekts (12), welches ein Objektiv (14), welches eine optische Achse und eine dazu senkrecht stehende Fokalebene definiert, und eine zur Abstimmung auf eine Tiefenlage einstellbare Korrekturoptik (32) umfasst, welche am Objektiv (14) eine sphärische Aberration korrigiert, welche bei einer Abbildung des Objekts (12) mit einer bestimmten Tiefenlage der Fokalebene auftritt. Das Verfahren umfasst die Schritte: Bestimmen einer Phasendifferenz von Strahlung aus einem ersten lateralen Bereich (40) und einem zweiten lateralen Bereich (42) des Objekts (12); Verwenden eines vorbekannten Zusammenhangs zwischen der Phasendifferenz und einer dadurch verursachten Änderung der sphärischen Aberration, um einen Einstellwert der Korrekturoptik (32) zu ermitteln, so dass die sphärische Aberration bei Abbildung des zweiten Bereichs (42) reduziert wird.

Mikroskop und Verfahren zum Abbilden eines Objekts

5 Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Abbilden eines Objekts mittels eines Mikroskops, welches ein Objektiv und eine Korrekturoptik umfasst. Das Objektiv definiert eine optische Achse und eine dazu senkrecht stehende Fokalebene. Die Korrekturoptik ist zur Abstimmung auf eine Tiefenlage einstellbar und korrigiert am Objektiv eine sphärische Aberration, welche bei einer Abbildung des Objekts mit einer bestimmten Tiefenlage der Fokalebene auftritt. Ferner
10 betrifft die Erfindung ein solches Mikroskop.

In der Forschung müssen Mikroskope häufig hohe Flexibilität besitzen, da Experimente unterschiedlichster Natur durchgeführt werden. Dabei können sowohl die zu betrachtenden Objekte als auch die Objektträger stark variieren. Bei Objektiven mit hoher numerischer Apertur
15 haben Abweichungen des Brechungsindex auf einem optischen Weg von einer Fokalebene in dem Objekt zu dem Objektiv einen starken Einfluss auf das beugungsbegrenzte Abbildungsvermögen. Eine Möglichkeit, die sphärische Aberration der Abbildung des Objekts an unterschiedliche Objektträgerdicken, wie beispielweise Deckgläserdicken von 0,15 mm bis 1,5 mm, anzupassen, ist es, einen Korrekturring am Objektiv auf den entsprechenden Wert
20 einzustellen und somit die sphärische Aberration bei der Abbildung zu reduzieren.

Solche Abbildungsfehler machen sich umso stärker bemerkbar, je tiefer eine Fokalebene im Objekt liegt. Bereits ab Tiefen von wenigen Mikrometern treten sichtbare sphärische Aberrationen auf, wenn ein Brechungsindexunterschied im Objekt gegeben ist und die
25 numerische Apertur des Objektivs entsprechend hoch ist (z. B. eine numerische Apertur von 1,2, wie sie bei konfokaler Mikroskopie üblich ist). Abbildungen in drei Dimensionen, d. h. das Abbilden in dickeren oder tieferen Objekten, gewinnen immer mehr an Bedeutung, sei es bei der Untersuchung von Zellkulturen in 3D, bei Sphäroiden oder bei dickeren Schnitten. Eine ausgezeichnete Bildqualität wird hierfür immer wichtiger, so dass Qualitätseinbußen aufgrund
30 von sphärischer Aberration nicht länger hingenommen werden.

Die Applikationen, insbesondere in der Fluoreszenzmikroskopie, und damit die Anforderung an das Mikroskop variieren stark. So kann es beispielsweise bei einem Experiment notwendig sein, nur die ersten 10 μm ab einer Deckglasoberfläche zu betrachten, in einem anderen Experiment
35 möchte man jedoch 200 μm tief in das Objekt hinein abbilden. Ähnliches gilt für die Temperatur.

Das eine Experiment läuft bei Raumtemperatur ab, wohingegen ein anderes Experiment bei 37° C durchgeführt wird. Dies hat Einfluss auf das optische Verhalten des Mikroskops und damit auf dessen Abbildungseigenschaften.

- 5 Bisher ist es mühsam, den Korrekturring des Objektivs exakt für den Objektträger bzw. das Objekt einzustellen. Der Experimentator muss verschiedene Einstellungen ausprobieren, um den optimalen Wert zu finden. Zudem ist eine Änderung der Einstellung während des Experiments nahezu ausgeschlossen.
- 10 Aus dem Stand der Technik sind verschiedene Verfahren bzw. Aufbauten für Mikroskope bekannt, die entweder automatisiert oder teilautomatisiert durchgeführt werden und ein iteratives Vorgehen zur Korrektur einer sphärischen Aberration beinhalten. Die US 2008/310016 A beschreibt eine Korrektur der sphärischen Aberration hinsichtlich der Dicke eines Deckglases. US 2005/024718 A und JP 2005/043624 A2 schlagen vor, dass der Nutzer
- 15 optische Parameter eingibt, woraus dann eine Korrektur der sphärischen Aberration abgeleitet wird. US 2011/141260 A und US 2014/233094 A beschreiben iterative Korrekturverfahren für die sphärische Aberration, welche bildanalytisch den Kontrast oder die Helligkeit auswerten.

- Phasen Aspekte bei der Mikroskopie sind auch in Humphry: „Optical transmission mode imaging with the Phase Focus Virtual Lens“, Phase Focus Limited, Nr. TB02, 22. März 2010; bei der
- 20 Phasenkontrastkamera „SID4bio“ der Phasics S.A.; in Marquet et al.: „Review of quantitative phase-digital holographic microscopy: promising novel imaging technique to resolve neuronal network activity and identify cellular biomarkers of psychiatric disorders“, Neurophotonics, Vol. 1(2), Oktober – Dezember 2014 und in Rappaz et al.: „Simultaneous cell morphometry and
- 25 refractive index measurement with dual-wavelength digital holographic microscopy and dye-enhanced dispersion of perfusion medium“, Optics Letters, Vol. 33, Nr. 7, 1. April 2008, angesprochen.

- Die DE 102014002584 A1 ermittelt zur Verbesserung der Abbildungsgüte eine geometrische
- 30 Weglängenposition eines Objektpunktes aufwändig per optischer Kohärenztomographie. Die WO 2013/130077 verwendet SLMs für Beleuchtung und Abbildung.

- Aufgabe der Erfindung ist es, ein Verfahren und ein Mikroskop zum Abbilden eines Objekts bereitzustellen, mittels welchen das Objekt aufwandsgering möglichst aberrationsfrei abgebildet
- 35 werden kann.

Die Erfindung ist in den Ansprüchen 1 und 11 definiert.

In einem Verfahren zum Abbilden eines Objekts wird ein Mikroskop verwendet, welches ein Objektiv und eine einstellbare Korrekturoptik umfasst. Das Objektiv definiert eine optische Achse und eine dazu senkrecht stehende Fokalebene. Die Korrekturoptik korrigiert am Objektiv eine sphärische Aberration, welche bei einer Abbildung des Objekts auftritt. Ein Einstellwert gilt für eine bestimmte Tiefenlage der Fokalebene. Das Verfahren umfasst die folgenden Schritte:

5 Beleuchten des Objekts mit Strahlung; Erfassen der von dem Objekt reflektierten oder transmittierten Strahlung; Durchführen einer quantitativen Phasenkontrastabbildung zum Bestimmen einer Phasendifferenz von Strahlung aus einem ersten lateralen Bereich und einem zweiten lateralen Bereich des Objekts, wobei die sphärische Aberration der Abbildung des

10 Objekts im ersten Bereich bekannt oder der hierfür nötige Korrekturbedarf ist; Verwenden eines Zusammenhangs zwischen der Phasendifferenz und einer dadurch verursachten Änderung der sphärischen Aberration, um einen Einstellwert der Korrekturoptik zu ermitteln, so dass die sphärische Aberration im zweiten Bereich reduziert wird; und Einstellen der Korrekturoptik auf den Einstellwert sowie Abbilden des Objekts im zweiten Bereich.

15 Im Verfahren muss die sphärische Aberration in absoluten Werten nicht bekannt sein. Das Verfahren bezieht sich auf einen ersten Bereich, für den die sphärische Aberration durch die Korrekturoptik korrigiert ist oder korrigierbar ist. Durch Bezug auf diesen ersten Bereich und die Ermittlung der Phasendifferenz und Hinzuziehung des Zusammenhangs zwischen

20 Phasendifferenz und dadurch verursachter Änderung der sphärischen Aberration kann die Korrekturoptik sehr einfach so eingestellt werden, dass das Objekt im zweiten Bereich mit möglichst geringer sphärischer Aberration abgebildet wird. In Ausführungsformen wird zuerst die Korrekturoptik so eingestellt, dass der erste Bereich mit möglichst geringer sphärischer Aberration abgebildet wird. Man kann dazu beispielsweise einen hinsichtlich Brechungsindex

25 bekannten Bereich des Objektes oder einen gut zugänglichen Bereich einer Probe verwenden. Man kann sich somit den ersten Bereich so wählen, dass aufwandsgering und schnell eine Abbildung mit geringer oder völlig ausgeglichener sphärischer Aberration gewonnen wird. Das Verfahren liefert dann ohne weiteren Aufwand eine aberrationsgeringe oder aberrationsfreie Abbildung auch des zweiten Bereichs, indem zuerst die Phasenkontrastabbildung durchgeführt

30 und dann unter Berücksichtigung des Zusammenhangs zwischen Änderung der sphärischen Aberration und Phasenkontrast die passende Einstellung der Korrekturoptik für den zweiten Bereich erhalten wird. Die Kombination aus Phasenkontrastabbildung und Verwendung eines Zusammenhangs, der die Änderung der sphärischen Aberration wiedergibt, erlaubt somit ein besonders einfaches Vorgehen. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform gibt der

35 Zusammenhang eine Einstellung der Korrekturoptik als Funktion des Phasenkontrasts an, insbesondere die Änderung der Einstellung. Die Änderung der sphärischen Aberration wird so direkt in eine Einstellung der Korrekturoptik umgesetzt.

Die Phasendifferenz wird mit einer quantitativen Phasenkontrastabbildung ermittelt. Eine Einrichtung zur quantitativen Phasenkontrastabbildung weist optional eine Lichtquelle und einen Detektor zur Bestimmung der Phasendifferenz auf. Diese Bestimmung der Phasendifferenz ist im Auflicht- und Durchlichtverfahren gleichermaßen möglich.

5

Ein Mikroskop zur Abbildung eines Objekts umfasst ein Objektiv, eine einstellbare Korrekturoptik, einen Antrieb, eine Einrichtung zur quantitativen Phasenkontrastabbildung und eine Steuereinrichtung. Das Objektiv definiert eine optische Achse und eine dazu senkrecht stehende Fokalebene. Die Korrekturoptik korrigiert am Objektiv eine sphärische Aberration, welche bei der Abbildung des Objekts auftritt. Ein Einstellwert der Korrekturoptik gilt für eine bestimmte Tiefenlage der Fokalebene. Der Antrieb stellt die Korrekturoptik ein. Die Einrichtung zur quantitativen Phasenkontrastabbildung ist ausgebildet, das Objekt mit Strahlung zu beleuchten, die von dem Objekt reflektierte oder transmittierte Strahlung zu erfassen, und eine Phasendifferenz von Strahlung aus einem ersten lateralen Bereich und einem zweiten lateralen Bereich zu bestimmen. In der Steuereinrichtung ist ein Zusammenhang zwischen der Phasendifferenz und einer dadurch verursachten Änderung der sphärischen Aberration und die sphärische Aberration der Abbildung des Objekts für die Fokalebene in dem ersten Bereich hinterlegt. Die Steuereinrichtung steuert den Antrieb auf Grundlage des Zusammenhangs derart an, dass die sphärische Aberration in der Fokalebene im zweiten Bereich reduziert wird.

20

Durch diese Maßnahmen wird die bei der Abbildung des Objekts vorhandene sphärische Aberration des Objektivs automatisch korrigiert. Dies gelingt in Ausführungsformen dadurch, dass vor oder während der Abbildung des Objekts eine durch das Objekt hervorgerufene Phasendifferenz zwischen lateralen Bereichen in dem Objekt bestimmt wird und daraus eine Korrektur der sphärischen Aberration ermittelt wird. Der Experimentator muss sich demnach keine Gedanken machen, ob die Korrekturoptik für die sphärische Aberration des jeweiligen Objekts annehmbar eingestellt ist. Darüber hinaus ist es nun möglich, dass für Objekte, die in ihrer lateralen Ausdehnung unterschiedliche Brechungsindices aufweisen, und damit unterschiedliche sphärische Aberrationen verursachen, die Korrekturoptik auch während eines Experiments passend eingestellt werden kann. Beispielsweise kann bei einer scannenden Abbildung des Objekts die Korrekturoptik je nach lateralem Bereich, an dem gerade gescannt wird, eingestellt werden, so dass die sphärische Aberration für die gesamte Abbildung minimiert ist.

Ein weiterer Vorteil ist es, dass die Bestimmung der Phasendifferenz durch die quantitative Phasenkontrastabbildung wenig bis keine Beschädigungen an dem Objekt vornimmt, da die dafür verwendete Strahlung nicht oder nur schwach mit dem Objekt wechselwirkt.

35

Das Verfahren kann beispielsweise mit Hilfe der Steuereinrichtung des Mikroskops durchgeführt werden. Die Steuereinrichtung kann beispielsweise als ein Mikroprozessor, elektrischer Schaltkreis, Computer oder jede andere programmierbare Vorrichtung ausgebildet sein.

- 5 Das für das Verfahren verwendete Mikroskop kann je nach Ausführungsform unterschiedliche Abbildungsarten durchführen. Beispielsweise kann das Mikroskop für Weitfeldabbildungen und/oder für scannende Abbildungstechniken, wie konfokale Mikroskopie, ausgebildet sein. Ferner ist es optional mit dem Mikroskop möglich, Fluoreszenzabbildungen des Objekts zu erfassen.

10

Das Objekt umfasst optional die eigentlich abzubildende Probe sowie ein die Probe umgebendes Eindeckmedium oder das Einbettmedium. Das Objekt weist beispielsweise als Probe eine abzubildende Zellkultur sowie als Medium die Lösung auf, in welche die Zellkultur eingebettet ist.

15

- Das Objektiv dient zur Abbildung des Objekts, kann aber gleichzeitig auch zur Beleuchtung verwendet werden. Das Objektiv hat eine optische Achse. Die Brennweite legt die Tiefenlage der Fokalebene fest. Das Objektiv und/oder eine Objekthalterung sind optional mit einem z-Antrieb versehen, welche die Lage der Fokalebene im Objekt festlegen. Der z-Antrieb kann mit der Steuereinrichtung verbunden sein, so dass die Steuereinrichtung die Tiefenlage der Fokalebene einstellen kann. Darüber hinaus erfasst die Steuereinrichtung optional die aktuelle Lage der Fokalebene, zum Beispiel mit Hilfe der von dem z-Antrieb eingenommenen Position.

20

- Die Korrekturoptik dient zur Korrektur der sphärischen Aberration, die bei der Abbildung des Objekts auftritt. Die Korrekturoptik kann der zuvor beschriebene Korrekturring an dem Objektiv sein, wobei es jedoch auch möglich ist, dass von dem Objektiv beabstandete optische Elemente verwendet werden, die es ermöglichen, die sphärische Aberration der Abbildung mittels des Objektivs zu verändern. Die Korrekturoptik kann beispielsweise detektorseitig angeordnet sein. Die Korrekturoptik kann optische Elemente aufweisen, welche Strahlung abhängig von ihrer Position gegenüber der optischen Achse unterschiedlich ablenken.

25

30

Die Einstellung der Korrekturoptik erfolgt mit Hilfe eines Antriebs, welcher durch Leitungen oder kabellos mit der Steuereinrichtung verbunden ist. Die Steuereinrichtung kann die Position des Antriebs erfassen und somit den momentanen Einstellwert der Korrekturoptik.

35

Die Phasendifferenz, die die Strahlung ausgehend von dem ersten Bereich und dem zweiten Bereich durch das Objekt verursacht, ist proportional zu einer optischen Weglängendifferenz, welche die Strahlung aus dem ersten Bereich und aus dem zweiten Bereich jeweils zu dem

Detektor zurücklegt. Diese optische Weglängendifferenz ist für die sphärische Aberration verantwortlich. Die Phasendifferenz erfüllt folgende Gleichung (1):

$$\Delta\varphi = \frac{2\pi}{\lambda}(n_2 - n_1)d$$

5

Dabei ist $\Delta\varphi$ die Phasendifferenz, λ die Wellenlänge der Strahlung zur Bestimmung der Phasendifferenz, n_2 der Brechungsindex in dem zweiten Bereich, n_1 der Brechungsindex in dem ersten Bereich und d eine Weglänge. Analog zur Phasendifferenz $\Delta\varphi$ ist eine Weglängendifferenz, die sich aus der Gleichung (1) jedoch ohne den Vorfaktor $2\pi/\lambda$ ergibt. Die Weglänge d ist der Bereich, z.B. die Dicke der Probe, aus dem Strahlung zur Abbildung beiträgt. Mit der oben aufgeführten Gleichung lassen sich aus der Phasendifferenzmessung die Dicke oder der Brechungsindex der Probe bestimmen. Ist der Brechungsindex konstant und bekannt, lässt sich die Probendicke aus den Phasendaten ableiten. Ist die Dicke bekannt (und konstant) lässt sich der Brechungsindex ableiten. In einigen Ausführungsformen ist hierfür der Tiefenschärfebereich des Objektivs relevant, nämlich u. a. dann, wenn die Probe sehr viel dicker ist als der Tiefenschärfebereich. In anderen Ausführungsformen, in denen die Probe dünner ist als der Tiefenschärfebereich und vollständig im Tiefenschärfebereich liegt, ist die Probendicke entscheidend für die Weglänge d . Sind die Wellenlänge und Weglänge d konstant, hängt die Phasendifferenz nur von dem Unterschied der Brechungsindices zwischen dem ersten Bereich und dem zweiten Bereich ab.

Der Zusammenhang verknüpft den Unterschied zwischen dem Brechungsindex und einer dadurch verursachten sphärischen Aberration mit der Phasendifferenz bzw. der optischen Weglängendifferenz. Der Zusammenhang kann eine Formel sein oder eine Tabelle. Optional wird der Zusammenhang einmalig durch Bestimmen verschiedenster Brechungsindices für das Objekt erfasst und als Tabelle hinterlegt; diese Kalibration kann für das Mikroskop auch regelmäßig wiederholt werden. Durch Interpolation können die verschiedensten Werte der Phasendifferenz in sehr guter Näherung ermittelt werden.

Die Weglänge d geht in Ausführungsformen als konstanter Faktor in den Zusammenhang ein. Für die Durchführung des Mikroskopieverfahrens bzw. im Mikroskop wird deshalb in Ausführungsformen eine Angabe über diese (konstante) Weglänge d verwendet. Die Angabe kann für verschiedene Ausführungsformen unterschiedlich gewonnen werden. In einigen Ausführungsformen ist die Weglänge d gleich der Probendicke, wenn der Tiefenschärfebereich des verwendeten Objektivs größer als die Probendicke ist, und die Probendicke vollständig im Tiefenschärfebereich liegt. In anderen Ausführungsformen, in denen die Verhältnisse quasi invers sind und die Probe sehr viel dicker als der Tiefenschärfebereich ist, gilt dies nicht. In

solchen Ausführungsformen variiert die Probendicke jedoch über dem Objektfeld. Die Dicke d kann z.B. bei histologischen Schnitten oder durch die Abmessungen eines Mikrofluidikkanals definiert sein oder über andere Verfahren bestimmt werden. Hier ist möglich, einen "mittleren" Brechungsindex der Probe bspw. mit einem niedrig vergrößernden Objektiv zu ermitteln und diesen Parameter dann später für eine Fluoreszenzmessung mit einem hochauflösenden
5 Objektiv für die Korrektur der sphärischen Aberration zu verwenden. Auch kann näherungsweise der Tiefenschärfebereich als Wert für d angenommen werden.

In Ausführungsformen ist es auch möglich, im Mikroskop eine Phasendifferenz- oder Weglängendifferenzmessung an einer Grenzfläche zwischen einer zu mikroskopierenden, biologischen Probe und einem sie umgebenden Medium, beispielsweise Nährmedium durchzuführen. Phasendifferenzmessungen bzw. Weglängendifferenzmessungen sind in der Mikroskopie bekannt (vgl. die später genannten Publikationen), und es ist für einen Fachmann unproblematisch möglich, ein Mikroskop für eine solche Messung einzurichten. Für die
10 Bestimmung der Weglänge d wird dabei die Phasendifferenz zwischen Probe und umgebendem Medium ermittelt (die Ermittlung der Weglängendifferenz ist dazu äquivalent). Es werden zwei Messungen durchgeführt, bei denen sich die Phasendifferenz (oder Weglängendifferenz) dadurch unterscheidet, dass der Brechungsindex des umgebenden Mediums unterschiedlich ist. In einer ersten Variante geschieht dies dadurch, dass das
15 umgebende Medium dispersiv ist, also eine Wellenlängenabhängigkeit des Brechungsindex zeigt, und die zwei Messungen bei unterschiedlichen Wellenlängen durchgeführt werden. In einer zweiten Variante wird das Medium zwischen den beiden Messungen gegen ein Medium mit anderem Brechungsindex ausgetauscht. In beiden Varianten ergibt sich bei jeder der beiden Messungen die Weglängendifferenz (oder Phasendifferenz) aus dem Produkt aus Weglänge d und Brechzahldifferenz zwischen Medium und Probe. Man erhält somit zwei Gleichungen mit
20 zwei Unbekannten; dieses Gleichungssystem ist unproblematisch lösbar und es kann sowohl die Weglängendifferenz als auch der (a priori unbekannte) Brechungsindex der Probe ermittelt werden. Die Kenntnis der Weglänge d erlaubt es nun, ohne Interpolation die verschiedenen Werte der Phasendifferenz in sehr guter Näherung auch außerhalb der für die Ermittlung von d
25 herangezogenen Grenzfläche zwischen Probe und Medium zu verwenden bzw. festzustellen.
30

Aufgrund des Zusammenhangs ermittelt die Steuereinrichtung einen Einstellwert, um die Korrekturoptik entsprechend einzustellen. Der Einstellwert hängt optional von der aktuellen Position der Korrekturoptik sowie der gewünschten aus dem Zusammenhang ermittelten
35 Position ab. Der aktuelle Einstellwert der Korrekturoptik ist beispielsweise aus der Kenntnis der sphärischen Aberration in dem ersten Bereich bekannt. Ferner kann der Einstellwert auch eine absolute Position der Korrekturoptik angeben. Nach dem Einstellen der Korrekturoptik wird das Objekt im zweiten Bereich abgebildet.

Es ist in einer Weiterbildung bevorzugt, dass der Zusammenhang hinsichtlich einer Eindringtiefe modifiziert wird. Bei der Eindringtiefe handelt es sich um die Tiefe, in der die Fokalebene in Abbildungsrichtung gesehen unter der Probenoberfläche liegt. Sie ist besonders dann relevant, wenn eine hohe Eindringtiefe verwendet wird und der Tiefenschärfebereich des Objektivs gering ist (hohe numerische Apertur), da die sphärische Aberration mit der Eindringtiefe steigt. Es ist deshalb bevorzugt, die Eindringtiefe zu messen, wobei optional das Messen der Eindringtiefe ein Detektieren einer Grenzfläche zwischen einem Objektträger und dem Objekt sowie ein Erfassen einer Lage der Fokalebene umfasst. Die Eindringtiefe ist in Ausführungsformen relevant für den Weg der Strahlung von der Grenzfläche zum Objektiv. Zur Bestimmung der Eindringtiefe sind verschiedene Möglichkeiten denkbar. Sind beispielsweise der Abstand des Objektträgers zu dem Objektiv und die Brennweite des Objektivs bekannt, lässt sich die Eindringtiefe aus dieser Differenz ermitteln. Darüber hinaus ist es möglich, die Eindringtiefe anhand des Objekts zu bestimmen. Besonders bevorzugt ist es jedoch, dass die Grenzfläche zwischen dem Objekt und dem Objektträger bestimmt wird, beispielsweise dadurch, dass die an der Grenzfläche hervorgerufene Reflexion von Strahlung, falls die Fokalebene des Objektivs mit der Grenzfläche zusammenfällt, erfasst wird. Da vorzugsweise die Steuerreinrichtung die Brennweite des Objektivs über den z-Antrieb erfassen kann, ist die Position der Grenzfläche detektierbar. Die Eindringtiefe wird dann dadurch erfasst, dass die Verstellung der Brennweite des Objektivs mittels des z-Antriebs aufgezeichnet wird und somit die momentane Fokalebene bekannt ist. Die Eindringtiefe ist dann die Differenz zwischen der momentanen Fokalebene und der Grenzfläche. Es ist ferner möglich ein tomografisches Phasenbild zu gewinnen, indem bspw. die Phasendifferenzen in verschiedenen z-Ebenen (Fokalebene) gemessen werden. Somit erhält man einen xyz Phasenzusammenhang der Probe. Daraus lässt sich nun für jede Eindringtiefe ein über z gemittelter Brechungsindex bestimmen. Will man bspw. eine Fluoreszenzmessung bei 20 µm Eindringtiefe machen, können die Brechungsindizes über die ersten 20 µm gemittelt werden und in die Korrektur der sphärischen Aberration einfließen. Befindet man sich 100 µm tief in der Probe muss man über 100 µm mitteln.

Wird das Objekt in verschiedenen Tiefenlagen abgebildet, ist es bevorzugt, dass mehrere Phasendifferenzen in mehreren, zueinander beabstandeten Objektebenen bestimmt werden. Eine dicke Probe wird z. B. in mehreren z-Lagen durch einen sogenannten z-Stapel erfasst. Die Aufnahme der Phasendifferenzen in mehreren Objektebenen, also per z-Stapel, ist insbesondere hilfreich, wenn bei der Bestimmung der Einstellwerte die genauen Lagen der Fokalebene zur Abbildung des Objekts noch nicht bekannt sind. Es ist jedoch auch möglich, dass für jede abzubildende Fokalebene in dem Objekt zuerst die Phasendifferenz gemessen wird, dann die sphärische Aberration korrigiert wird und anschließend diese Fokalebene

abgebildet wird. Im Anschluss daran wird die Fokalebene verschoben, die Phasendifferenz erneut gemessen, die sphärische Aberration ggf. korrigiert und im Anschluss daran das Objekt in der veränderten Fokalebene abgebildet.

- 5 Zur Bestimmung der Phasendifferenz wird in Ausführungsformen ein holografisches quantitatives Phasenkontrastabbildungsverfahren verwendet, das als Digital Holographic Microscopy bekannt ist. Für die Phasenkontrastabbildung kann kohärente oder teilkohärente Strahlung verwendet werden. Ferner ist es möglich, für die quantitative Phasenkontrastabbildung mindestens zwei Wellenlängen zu verwenden, für die das Objekt, insbesondere das Medium, einen deutlichen und vorbekannten Brechungsindexunterschied aufweist. Optional ist die quantitative Phasenkontrastabbildung ein ptychographisches Verfahren. Für die quantitative Phasenkontrastabbildung wird in einer Weiterbildung des Mikroskops ein Wellenfrontsensor verwendet. Auch kann für die quantitative Phasenkontrastabbildung ein interferometrischer Aufbau verwendet werden. Die Lichtquelle für die quantitative Phasenkontrastabbildung kann einen Spatial Light Modulator aufweisen oder die Phase der Strahlung, die für die quantitative Phasenkontrastabbildung verwendet wird, wird optional variiert. Ferner kann die Strahlung für die quantitative Phasenkontrastabbildung aus verschiedenen Beleuchtungswinkeln erzeugt werden. Beispiele für eine Einrichtung zur quantitative Phasenkontrastabbildung oder damit durchgeführte Verfahren werden in
- 10 US 7948632 B2, Wang et al.: „Spatial light interference tomography (SLIT)“, Optics Express, Vol. 19, Nr. 21, 10. Oktober 2011, und Tian et al.: „Quantitative differential phase contrast imaging in an LED array microscope“, Optics Express, Vol. 23, Nr. 9, 4. Mai 2015, beschrieben.

- Die Phasendifferenz, die durch das Objekt verursacht wird, wird, wie bereits erwähnt, zwischen zwei lateralen Bereichen gemessen, die in einer Objektebene voneinander beabstandet sind. Die Objektebene ist zur Fokalebene identisch oder parallel dazu. Die Korrektur der sphärischen Aberration ist umso präziser, je näher die Objektebene an der Fokalebene für die Abbildung des Objekts liegt. Beispielsweise werden Bestimmung der Phasendifferenz und nachfolgende Abbildung des Objekts durch dasselbe Objektiv durchgeführt, wobei die Objektebene in der Fokalebene liegt. Allerdings ist es auch möglich, dass die Phasendifferenz einmalig in einer bestimmten Objektebene bestimmt wird und im Anschluss daran das Objekt in verschiedenen Fokalebenen abgebildet wird. Die einmalige Bestimmung der Phasendifferenz in einer Objektebene stellt dennoch eine sehr gute Näherung für Phasendifferenz in der Fokalebene dar. Die lateralen Bereiche, zwischen welchen die Phasendifferenz bestimmt wird, können annähernd punktförmig sein, insbesondere dann, wenn das Mikroskop ein scannendes Abbildungsverfahren ausführt. Wird ein bildgebendes Verfahren zur quantitativen Phasenkontrastabbildung verwendet, können nicht nur zwei laterale Bereiche, sondern viele laterale Bereiche gleichzeitig erfasst werden.
- 25
- 30
- 35

Der erste Bereich wird in Ausführungsformen so gewählt, dass für ihn die sphärische Aberration bekannt oder ausgeglichen ist. Dies umfasst beispielsweise, dass die sphärische Aberration für die Abbildung des Objekts aus der Fokalebene in dem ersten Bereich bereits minimiert wurde.

5 Dies ist beispielsweise dann der Fall, wenn die Korrekturoptik für einen Bereich des Objekts mit einem bestimmten Brechungsindex als Standardwert eingestellt ist, was unter anderem automatisch erfolgen kann. Ein solcher Standardwert kann beispielsweise für Wasser oder eine wässrige Lösung, die abzubildende Proben, wie eine Zelle oder andere biologische Proben, umgibt, passend sein. Die Kenntnis der Einstellung zum Ausgleich der sphärischen Aberration
10 in dem ersten Bereich umfasst optional die Kenntnis des Einstellwerts für die Korrekturoptik, für den die sphärische Aberration beispielsweise minimiert ist. Um den ersten Bereich zu ermitteln, wird optional das Objekt zuerst ohne weitere Korrektur der sphärischen Aberration abgebildet, um zu erkennen, wo Bereiche mit bekanntem Brechungsindex vorhanden sind. Ferner ist es möglich, dass die sphärische Aberration manuell – auch mithilfe der Steuereinrichtung und des
15 Antrieb – korrigiert wird, bis die Abbildung des Objekts in dem ersten Bereich optimal ist. Darüber hinaus kann der erste Bereich auch ein solcher Bereich sein, in welchem die abzubildende Probe im Objekt nicht vorhanden ist, und der erste Bereich dann für Luft gemessen wird. Das Objekt umfasst somit optional die abzubildende Probe als auch dessen Umgebung.

20

Der zweite Bereich ist insbesondere der Bereich des Objekts, welcher für die durchzuführende Untersuchung interessant ist. Der zweite Bereich weist i.d.R. einen Brechungsindex auf, der sich vom Brechungsindex im ersten Bereich unterscheidet, da ansonsten eine Korrektur der sphärischen Aberration ja gar nicht notwendig wäre. Der Brechungsindex ist im zweiten Bereich
25 meist nicht bekannt, so dass allein schon die Bestimmung der Phasendifferenz zwischen dem ersten Bereich und dem zweiten Bereich hilft, die sphärische Aberration für die Abbildung des gesamten Objekts zu optimieren.

Um die Korrektur der sphärischen Aberration zu vereinfachen und/oder zu beschleunigen, ist es
30 in einer Weiterbildung bevorzugt, dass ein dritter lateraler Bereich des Objekts verwendet wird, für den innerhalb eines Toleranzbereichs der gleiche Brechungsindex wie für den zweiten Bereich vorliegt, wobei der Einstellwert für den zweiten Bereich auch zur Abbildung des dritten Bereichs verwendet wird. Der dritte laterale Bereich kann beispielsweise ein Bereich in der Fokalebene des Objekts sein, für den erwartet wird, dass der Brechungsindex nahezu identisch
35 mit dem Brechungsindex im zweiten Bereich ist. Beispielsweise können der zweite Bereich und der dritte Bereich innerhalb einer Zelle sein, so dass der Brechungsindex für beide Bereiche und damit auch die sphärische Aberration für deren Abbildung ungefähr gleich sind. Die Brechungsindizes der verschiedenen relevanten Probenbereiche können beispielsweise

gemittelt werden, um eine sphärische Aberration für den Probenbereich zu korrigieren. Somit ist es möglich, mit einer verminderten Anzahl der bestimmenden Phasendifferenzen eine annehmbare Korrektur der sphärischen Aberration bereitzustellen. Ferner lässt sich auf diese Weise auch die Messgeschwindigkeit für die Abbildung des Objekts erhöhen, da, wenn für den dritten Bereich der gleiche Einstellwert wie für den zweiten Bereich verwendet wird, eine Zeit in Anspruch nehmende Verstellung der Korrekturoptik während der Abbildung des Objekts entfällt.

5 Ähnliches gilt für z-Stapel-Aufnahmen. Wenn man in verschiedenen z-Ebenen genügend ähnliche Phasendifferenzwerte bzw. Brechungsindizes erhält (im Vergleich zur darunter liegenden z-Ebene), muss nicht in jeder z-Ebene die sphärische Aberration korrigiert werden.

10 Bei der z-stapelweisen Ermittlung der Phasendifferenz eines Objektes gilt ähnliches. Das bedeutet, wenn man in verschiedenen z-Ebenen ähnliche Phasendifferenzwerte bzw. Brechungsindizes erhält, muss nicht in jeder z-Ebene die sphärische Aberration korrigiert werden. Optional erfolgt eine zusätzliche Korrektur erst, wenn eine Maximalabweichung überschritten wird.

15 Um den Zusammenhang noch präziser zu gestalten und damit eine noch genauere Korrektur der sphärischen Aberration zu ermöglichen, ist es in einer Weiterbildung bevorzugt, dass mindestens ein Parameter erfasst wird, welcher eine Temperatur des Objekts, ein Material eines Objektträgers, eine Objektträgerdicke, ein Immersionsmedium für das Objektiv oder eine Wellenlänge von Strahlung zur Abbildung des Objekts umfasst, wobei der Zusammenhang hinsichtlich des mindestens einen Parameters modifiziert wird. Bekanntlich hängt der Brechungsindex eines Materials von dessen Temperatur ab. Somit ist auch die sphärische Aberration bei der Abbildung mittels des Objektivs temperaturabhängig. Durch Erfassen der Temperatur des Objekts, beispielsweise mittels eines Sensors oder durch Eingabe, z. B. wenn

20 die Temperatur des Experiments fest vorgegeben ist, kann der Zusammenhang modifiziert werden, so dass sich bei unterschiedlichen Temperaturen ein unterschiedlicher Einstellwert ergibt. Die Einstellung der Korrekturoptik erfolgt somit temperaturabhängig. Auch hier kann der Zusammenhang durch Kalibration hinsichtlich der Temperaturabhängigkeit bestimmt werden. In einer Weiterbildung wird die Temperatur des Objekts durch Erfassen eines Energieparameters einer Strahlung zur Beleuchtung des Objekts und durch Ermitteln der Temperatur des Objekts aus dem Energieparameter bestimmt. Der Energieparameter kann beispielsweise die Intensität oder die Leistung der Beleuchtungsstrahlung sein. Diese kann in dem Objekt selbst oder durch Auskoppeln eines Messanteils der Beleuchtungsstrahlung aus dem Beleuchtungsstrahlengang ermittelt werden. Dazu kann ein Leistungsdetektor oder ein Intensitätsdetektor verwendet

30 werden. Aufgrund des Energieparameters und der erwarteten oder bekannten Absorption der Beleuchtungsstrahlung durch das Objekt kann die Temperatur in dem Objekt errechnet werden. Zum Berechnen der Temperatur kann auch die Art des Objekts verwendet werden, nämlich

35

dahingehend, wie stark das Absorptionsverhalten des jeweiligen Objekts ist. Auf diese Weise lässt sich der Zusammenhang hinsichtlich der Temperatur automatisch modifizieren.

Auf dem Weg, den die Strahlung von der Fokalebene bis zum Objektiv zurücklegt, passiert die
5 Strahlung sowohl einen Objektträger oder ein Deckglas als auch u. U. ein Immersionsmedium.
Diese Strukturen haben einen Brechungsindex, der zu der sphärischen Aberration der
Abbildung des Objekts beiträgt. Durch Erfassen einer Objektträgerdicke oder Deckglasdicke
und/oder des Brechungsindex des Objektträgers und/oder des Immersionsmediums, jeweils
beispielsweise durch Eingabe einer zugehörigen Angabe, lässt sich der Zusammenhang
10 hinsichtlich der durch diese Aspekte veränderten sphärischen Aberration verbessern und
modifizieren.

Da die sphärische Aberration vom Brechungsindex bei dispersiven Materialien von der
Wellenlänge abhängt, ist die sphärische Aberration dann ebenfalls wellenlängenabhängig. Die
15 Wellenlänge der Strahlung für die Abbildung des Objekts ist somit ein weiterer Parameter,
hinsichtlich dessen der Zusammenhang modifiziert werden kann, um die Einstellung der
sphärischen Aberration zu verbessern. Die Wellenlänge kann manuell eingegeben werden;
insbesondere bei Fluoreszenzabbildungen ist die Wellenlänge der induzierten
Fluoreszenzstrahlung dem Steuergerät und/oder dem Benutzer bekannt. Darüber hinaus ist es
20 möglich, dass das Mikroskop mit einem Wellenlängensensor versehen ist, mittels welchem die
Wellenlänge der Abbildungsstrahlung automatisch bestimmt werden kann. Optional können
Beleuchtungswellenlänge und/oder Filtereinstellungen berücksichtigt werden.

In einer Weiterbildung kann das Verfahren dazu verwendet werden, den Brechungsindex des
25 Objekts im zweiten Bereich zu bestimmen. Dies wurde oben mit Bezug auf Gleichung (1)
bereits erläutert. Somit ist es in dieser Weiterbildung möglich, den Brechungsindex in der Probe
zu bestimmen, beispielsweise ist es somit bei Kenntnis des Brechungsindex eines wässrigen
Mediums, welches eine Zellkultur umgibt, möglich, den Brechungsindex in der Zellkultur selbst
zu bestimmen. Er kann dann zur Einstellung der Korrekturoptik verwendet werden.

30

Um die Probe vor Strahlungsschäden zu schützen, ist es bevorzugt, dass die Phasendifferenz
mittels quantitativer Phasenkontrastabbildung bestimmt wird, wobei optional die Strahlung für
die quantitative Phasenkontrastabbildung im Infrarotbereich liegt. Die quantitative
Phasenkontrastabbildung ist bekannt dafür, dass sie wenige Strahlungsschäden in dem Objekt
35 hervorruft. Dies gelingt besonders gut, wenn Infrarotstrahlung verwendet wird. Ferner hat die
Verwendung von Infrarotstrahlung den Vorteil, dass eine Wechselwirkung mit manchen
fluoreszierten Substanzen bei Fluoreszenzabbildungen vermieden werden kann.

Es versteht sich, dass die vorstehend genannten und die nachstehend noch zu erläuternden Merkmale nicht nur in den angegebenen Kombinationen, sondern auch in anderen Kombinationen oder in Alleinstellung einsetzbar sind, ohne den Rahmen der vorliegenden Erfindung zu verlassen.

5

Nachfolgend wird die Erfindung beispielsweise anhand der beigefügten Zeichnungen, die auch erfindungswesentliche Merkmale offenbaren, noch näher erläutert. Es zeigen:

- Fig. 1 eine schematische Ansicht des Mikroskops;
- 10 Fig. 2 ein Objektiv und einen Objektträger mit darauf angeordneten Objekt des Mikroskops von Fig. 1;
- Fig. 3 eine vergrößerte Darstellung einer Ausführungsform des Objektträgers mit dem Objekt;
- Fig. 4 eine Schemadarstellung des Objektes; und
- 15 Fig. 5 ein Blockdiagramm zur Illustration eines Verfahrens zur Abbildung des Objekts.

Ein Mikroskop 10 ermöglicht eine Abbildung eines Objekts 12. Die von dem Objekt 12 reflektierte oder transmittierte Strahlung wird von einem Objektiv 14 gesammelt und auf einen Abbildungsdetektor 16 mittels eines Abbildungsstrahlengangs 18 abgebildet. Das Objektiv 14, der Abbildungsdetektor 16 und/oder der Abbildungsstrahlengang 18 sind im Gehäuse 20 des Mikroskops 10 angeordnet. Der Abbildungsstrahlengang 18 kann für verschiedene Arten der Abbildung des Objekts 12 ausgebildet sein. Beispielsweise kann das Objekt 12 im Weitfeld aufgenommen werden oder mittels eines scannenden Abbildungsverfahrens. Ferner kann das Mikroskop 10 für Fluoreszenzmessungen ausgebildet sein. Je nach Art der verwendeten Abbildung weist der Abbildungsstrahlengang 18 verschiedene optische Elemente und/oder weitere Bauteile, wie beispielsweise eine Scaneinrichtung zur Ablenkung von Strahlung, auf. Diese Bauteile sind in Fig. 1 nicht dargestellt. Das Objekt 12 kann beleuchtet werden, beispielsweise mit einer Auflicht-Lichtquelle oder mit der in Fig. 1 dargestellten Durchlicht-Lichtquelle 22. Die Lichtquelle 22 kann beispielsweise Weißlicht erzeugen oder Strahlung mit einem bestimmten Wellenlängenbereich emittieren, der für Fluoreszenzmikroskopie geeignet ist.

Der Abbildungsdetektor 16 ist ausgebildet, ein mittels des Abbildungsstrahlengangs 18 auf ihm erzeugtes optisches Bild des Objekts 12 in elektrische Signale umzuwandeln, welche über eine Leitung an eine Steuereinrichtung 24 übermittelt werden. Die Steuereinrichtung 24 erzeugt aus den von dem Abbildungsdetektor 16 zur Verfügung gestellten elektrischen Signalen ein elektronisches Bild, das beispielsweise auf einer mit der Steuereinrichtung 24 verbundenen Anzeigeeinrichtung 26, wie einem Monitor, dem Experimentator, dargestellt wird.

Das Objekt 12 ist auf einem Objektträger 28 angeordnet, welcher eine gewisse Objektträgerdicke OD aufweist. Der Objektträger 28 kann beispielsweise eine Glasscheibe sein. Ferner kann der Objektträger 28 der Boden einer Petrischale aus Glas oder Kunststoff sein. Der
5 Objektträger 28 kann beweglich gegenüber dem Gehäuse 20 gelagert sein, so dass das Objekt 12 gegenüber dem Objektiv 14 verschiebbar gelagert ist.

Das Mikroskop 10 weist optional mehrere Objektive 14 auf, die auf einem Revolver 30 angeordnet sind. Mittels des Revolvers 30 kann das Objektiv 14, das zur Abbildung verwendet
10 werden soll, eingeschwenkt werden. Der Revolver 30 kann manuell verstellt oder über einen Revolverantrieb bewegt werden, der mit der Steuereinrichtung 24 verbunden ist. Der Revolverantrieb sowie die Verbindung mit der Steuereinrichtung 24 sind in Fig. 1 nicht dargestellt. Mindestens eines der Objektive 14 ist mit einer Korrekturoptik 32 versehen. Die
15 Korrekturoptik 32 ist einstellbar und dient zur Veränderung einer sphärischen Aberration der Abbildung des Objekts 12. Je nach Tiefenlage einer Fokalebene im Objekt ändert sich die sphärische Aberration, so dass durch Verstellen der Korrekturoptik 32 die sphärische Aberration bei der Abbildung des Objekts 12 minimiert werden kann. Das in Fig. 1 rechts dargestellte
Objektiv 14 und das in Fig. 2 dargestellte Objektiv 14 weisen als Korrekturoptik 32 einen
20 Korrekturring auf. Er ist fest mit dem Objektiv 14 verbunden und über einen Antrieb 34 verdrehbar. Der Antrieb 34 ist mit der Steuereinrichtung 24 mittels einer Leitung oder über Funk verbunden, wobei in Fig. 1 und 2 die Verbindung nicht dargestellt ist. Somit ist die
Steuereinrichtung 24 in der Lage, den Antrieb 34 anzusteuern und die sphärische Aberration der Abbildung des Objekts 12 zu beeinflussen. Optional kann die Steuereinrichtung 24 die
momentane Einstellung der Korrekturoptik 32 mittels des Antriebs 34 erfassen.

25 Alternativ kann die Korrekturoptik 32 von dem Objektiv 14 losgelöst angeordnet sein. Bei dem in Fig. 1 links dargestellten Objektiv 14 ist die Korrekturoptik 32 im Abbildungsstrahlengang 18 angeordnet. Auch sie ist mit einem Antrieb 34 versehen.

30 Das Mikroskop 10 umfasst ferner eine Einrichtung zur quantitativen Phasenkontrastabbildung 36. Die Einrichtung zur quantitativen Phasenkontrastabbildung 36 kann die verschiedensten Typen umfassen, mittels welchen quantitative Phasenkontrastabbildung durchgeführt werden kann. Beispielsweise sei hier auf die weiter oben genannten Literaturstellen beschriebenen Verfahren verwiesen.

35 Die Einrichtung zur quantitativen Phasenkontrastabbildung 36 ist ausgebildet, eine Phasendifferenz zwischen einem ersten lateralen Bereich 40 und einem zweiten lateralen Bereich 42 zu bestimmen, die in der Regel innerhalb eines gemeinsamen Objektfeldes 54 des

Objektives 14 liegen. Dies ist unter anderem in Fig. 2 dargestellt. Die Einrichtung zur quantitativen Phasenkontrastabbildung 36 umfasst eine optionale Beleuchtungseinrichtung und einen Phasendetektor oder Phasenkamera 44. Die Beleuchtungseinrichtung erzeugt beispielsweise Weißlicht oder Infrarotlicht, welches mittels des Objektivs 14 und der

5 Korrekturoptik 32 auf den Phasendetektor 44 abgebildet wird. Um zur Detektion der Phasendifferenz Strahlung aus dem Abbildungsstrahlengang 18 zum Phasendetektor 44 auszukoppeln, ist ein Strahlteiler 46 vorgesehen. Der Phasendetektor 44 detektiert die Phasendifferenz zwischen Strahlung aus dem ersten Bereich 40 und dem zweiten Bereich 42. Vorzugsweise ist die Einrichtung zur quantitativen Phasenkontrastabbildung 36 ausgebildet,

10 Phasendifferenzen zwischen dem ersten Bereich 40 und mehreren zweiten Bereichen zu bestimmen.

Die Steuereinrichtung 24 ist mit einer Speichereinrichtung 48 verbunden, in welcher ein Zusammenhang zwischen der Phasendifferenz und einer dadurch verursachten Änderung der

15 sphärischen Aberration hinterlegt ist. Dieser Zusammenhang kann durch eine vorherige Kalibration bestimmt worden sein und stellt beispielsweise eine Tabelle dar. Die Speichereinrichtung 48 kann als Teil der Steuereinrichtung 24 ausgebildet sein, welche einen Mikroprozessor, einen Computer oder dergleichen umfassen kann; die Speichereinrichtung 48 kann ein beschreibbarer Speicher, wie ein RAM (random access memory) sein. Die

20 Steuereinrichtung 24 ruft den Zusammenhang aus der Speichereinrichtung 48 ab und bestimmt so einen Einstellwert für die Korrekturoptik 32, mit dem die sphärische Aberration für die Abbildung des Objekts 12 im zweiten Bereich 42 reduziert ist. Der Zusammenhang kann beispielsweise die Änderung der sphärischen Aberration in Form einer Einstellung der Korrekturoptik, beispielsweise des Korrekturrings enthalten. Dabei kann es sich um die Angabe

25 einer Änderung handeln. Der Zusammenhang kann insbesondere durch vorherige Experimente an einer Probe mit bekannter Brechungsindexverteilung ermittelt worden sein. Alternativ lässt er sich rechnerisch aus dem Aufbau der Korrekturoptik gewinnen. Die Steuereinrichtung 24 steuert dann den Antrieb 34 gemäß dem Einstellwert an, so dass die sphärische Aberration der Abbildung des Objekts 12 im zweiten Bereich 42 reduziert, vorzugsweise minimiert oder

30 vollständig ausgeglichen, wird. Dann wird das Objekt 12 im zweiten Bereich 42 abgebildet.

Das Mikroskop 10 weist ferner eine Schnittstelle 50 auf, mittels der mehrere Parameter des Experiments eingegeben werden können und somit der Steuereinrichtung 24 zur Verfügung gestellt werden. Die Schnittstelle 50 ist beispielsweise eine Tastatur oder eine Maus und mit der

35 Steuereinrichtung 24 verbunden.

Fig. 4 zeigt schematisch das Objekt 12, welches hier aus einer biologischen Probe 52 in einem Einbettmedium 53 besteht. Weiter sind die Bereiche 40 und 42 schematisch eingetragen, in

denen die Phasenkontrastmessung erfolgt. F1 und F2 bezeichnen zwei verschiedene Fokalebenen, auf die das Objektiv 14 eingestellt werden kann. Die Dicke der gestrichelten Fokalebenen veranschaulicht den Tiefenschärfebereich. Nimmt man einen homogenen Brechungsindex der Probe 52 an, gilt es für den lateralen Bereich 40 anders zu korrigieren, als für den lateralen Bereich 41, wenn die Fokalebene F2 vorliegt, da dort der laterale Bereich 40 vollständig von der Probe und deren Brechungsindex ausgefüllt wird, der laterale Bereich 42 hingegen nicht. Diese Situation kann immer eintreten, wenn eine Probe 52 mikroskopiert werden soll, deren Höhe H sehr viel größer ist, als der Tiefenschärfebereich und die zugleich über ihre laterale Ausdehnung keine konstante Dicke hat. Es ist deshalb in Ausführungsformen vorgesehen, dass die Phasendifferenzen in verschiedenen Ebenen zwischen Objektiv und gewünschter Objektebene, beispielsweise entsprechend F1, ermittelt wird und die dadurch erfassten dazwischenliegenden Schichten zwischen dem Deckglas 28 und der eigentlich im Objekt gewünschten Fokalebene F1 für die Korrektur berücksichtigt werden. Betrachtet man nur die Fokalebene F1, zeigt sich, dass in den lateralen Bereichen 40 und 42 sich durch die Geometrie der Probe 52 keine Phasendifferenzen ergeben (homogener Brechungsindex der Probe 52 unterstellt). In der Fokalebene F2 erhält man hingegen eine Phasendifferenz. Es ist deshalb in Ausführungsformen vorgesehen, die Geometrie des Objektes 12, die z.B. eine kugelförmige Probe 52 mit einem Durchmesser von beispielsweise 150 μm umfasst, zu berücksichtigen und unter Kenntnis und Ermessung des Brechungsindex der Probe 52 eine Korrektur abhängig von der lateralen Lage (40, 42) und der Lage der Fokalebene (F1, F2) vorzunehmen.

Ein Verfahren zur Abbildung des Objekts 12 ist in Fig. 5 in einem Blockdiagramm gezeigt. In einem optionalen Schritt S1 wird eine Objektträgerdicke OD, beispielsweise mithilfe der Schnittstelle 50, eingegeben. In einem Schritt S2 wird die sphärische Aberration der Abbildung des Objekts 12 im ersten Bereich 40 optimiert. Dazu ist in der Steuereinrichtung 24 ein entsprechender Algorithmus hinterlegt. Dieser Algorithmus kann den Brechungsindex im ersten Bereich 40 des Objekts 12 verwenden. Beispielsweise ist der erste Bereich 40 in einem Abschnitt des Objekts 12 angeordnet, in dem sich ein bekanntes Medium, z. B. Wasser oder eine wässrige Lösung, befindet. Dies kann z. B. das Medium einer Zellkultur oder einer anderen biologischen Probe sein. Der Brechungsindex des Mediums ist bekannt. Mithilfe der optionalen Objektträgerdicke OD und dem Brechungsindex des Objekts 12 im ersten Bereich 40 erfolgt in Ausführungsformen eine automatische Einstellung der Korrekturoptik 32 zur Minimierung der sphärischen Aberration. Alternativ kann die Optimierung der sphärischen Aberration der Abbildung des Objekts 12 in dem ersten Bereich 40 manuell erfolgen, beispielsweise durch Verstellen der Korrekturoptik 32. Diese Minimierung bezieht sich nach diesen Schritten aber nur auf Aberration, die durch den ersten Bereich 40, also das Medium verursacht wird.

In einem Schritt S3 wird eine Objektebene festgelegt, in welcher eine Phasendifferenz zwischen dem ersten Bereich 40 und dem zweiten Bereich 42 ermittelt werden soll. Dies legt auch einen Abstand zwischen der Objektebene und dem Objektträger 28 fest. In der Regel fällt die Objektebene mit der Fokalebene zusammen.

5

In einem Schritt S4 wird der zweite Bereich 42 des Objekts festgelegt. Es handelt sich um den Bereich, der später mittels des Mikroskops 10 abgebildet werden soll, also z. B. eine Probe, die sich in dem Medium befindet. Dazu kann beispielsweise in einem optional vorangegangenen Zwischenschritt das Objekt 12 mit nicht-korrigierter sphärischer Aberration abgebildet werden, um zu erkennen, wo sich der interessante zweite Bereich 42 des Objekts 12 befindet.

10

In einem Schritt S5 wird die Phasendifferenz zwischen dem ersten Bereich 40 und dem zweiten Bereich 42 aufgenommen. Optional kann die Phasendifferenz in mehreren entlang der optischen Achse beabstandeten Objektebenen bestimmt werden.

15

In einem optionalen Schritt S6 werden zusätzliche Parameter hinsichtlich des Objekts 12 erfasst. Diese können beispielsweise mittels einer Schnittstelle 50 der Steuereinrichtung 24 zur Verfügung gestellt werden. Beispielsweise wird die Temperatur des Objekts 12, die zuvor optional eingegebene Objektträgerdicke OD, eine Dicke des Objekts 12, ein Material des Objektträgers 28 und/oder der Brechungsindex in dem ersten Bereich 40 oder dem zweiten Bereich 42 eingegeben. Die Temperatur kann beispielsweise mit einem nicht dargestellten Sensor erfasst werden oder kann für das Experiment bekannt sein, beispielsweise 37°C. Die Dicke des Objekts 12 kann beispielsweise vor dem Experiment ausgemessen werden oder ist bekannt, wie dies z. B. bei Objekten 12 in Form von Schnitten üblich ist. Der Brechungsindex für den ersten Bereich 40 kann ebenfalls bekannt sein, da es sich beispielsweise um eine wässrige Lösung handelt. Ferner kann auch der Brechungsindex des Objekts 12 im zweiten Bereich 42 bekannt sein. Darüber hinaus kann im Schritt S6 auch eine Eindringtiefe gemessen werden, welche den Abstand der Fokalebene von einer Grenzfläche des Objektträgers 28 angibt. Dazu kann beispielsweise die Tiefenlage der Fokalebene so lange verstellt werden, bis eine Reflexion an der Grenzfläche zwischen dem Objektträger 28 und dem Objekt 12 sichtbar ist. Hierdurch wird für eine gegebene Tiefenlage der Fokalebene der Abstand zum Objektträger 28 erfasst, so dass die Eindringtiefe bekannt ist. Ferner kann das Immersionsmedium zwischen dem Objektiv 14 und dem Objektträger 28 als Parameter berücksichtigt werden.

20

25

30

35

In einem optionalen Schritt S7 wird aus der Phasendifferenz, wie oben im allgemeinen Teil der Beschreibung bereits erläutert, die Weglänge und/oder der Brechungsindex im zweiten Bereich 42 bestimmt.

Alternativ kann für d die Dicke der Probe, wenn sie geringer ist als ein Tiefenschärfebereich des Objekts, oder die gegebenenfalls um einen Korrekturfaktor korrigierte Tiefenschärfebereichsgröße, verwendet werden, wenn die Probe den Tiefenschärfebereich vollständig abdeckt. d kann auch zur Bestimmung des Brechungsindex des Objekts 12 im zweiten Bereich 42 herangezogen werden. Auf dieser Basis kann gleichermaßen der Einstellwert ermittelt werden.

In Schritt S8 wird der Einstellwert für die Korrekturoptik 32 aufgrund des Zusammenhangs ermittelt. Der Zusammenhang kann mit der Eindringtiefe, die zuvor ermittelt wurde, modifiziert werden, so dass der Einstellwert noch präziser ist. Die Modifizierung des Zusammenhangs hinsichtlich der Eindringtiefe erfolgt insbesondere dann, wenn die Objektebene, in welcher die Phasendifferenz bestimmt wurde, nicht mit der Fokalebene, die abgebildet werden soll, zusammenfällt. Dazu kann unter anderem die Bestimmung der Brechungsindizes aus verschiedenen Objektebenen unterhalb der Fokalebene (bei inversem Mikroskop) einfließen, z.B. über eine Mittelung der Brechungsindizes entlang der optischen Achse. Es wird dann nicht nur der Brechungsindex in der Fokalebene berücksichtigt, sondern auch die Information aus weiteren Ebenen.

In einem Schritt S9 wird die Korrekturoptik 32 gemäß dem Einstellwert eingestellt. Dadurch wird die sphärische Aberration für die Abbildung des Objekts 12 im zweiten Bereich 42 minimiert. In einem anschließenden Schritt S10 wird das Objekt 12 im zweiten Bereich 42 abgebildet.

In einem optionalen Schritt S11 wird die Phasendifferenz, die zwischen dem ersten Bereich 40 und dem zweiten Bereich 42 ermittelt wurde, auch als die Phasendifferenz zwischen einem dritten Bereich und dem ersten Bereich 40 verwendet. Dies erfolgt insbesondere dann, wenn erwartet wird, dass der Brechungsindex für den zweiten Bereich 42 und den dritten Bereich identisch oder nahezu gleich ist. Somit kann in einem nachfolgenden Abbildungsschritt das Objekt 12 nicht nur im zweiten Bereich 42, sondern auch im dritten Bereich mit korrigierter sphärischer Aberration abgebildet werden. Ähnliches gilt für Aufnahmen in verschiedenen Fokalebenen, in denen der Brechungsindexunterschied (entlang der optischen Achse) ähnlich genug ist. Dies kann bspw. über einen Schwellwert festgelegt sein.

Carl Zeiss Microscopy GmbH
Anwaltsakte: PAT 4024/238-PCT

Patentansprüche

- 5 1. Verfahren zum Abbilden eines Objekts (12), wobei ein Mikroskop (10) verwendet wird, welches ein Objektiv (14), welches eine optische Achse und eine dazu senkrecht stehende Fokalebene definiert, und eine zur Abstimmung auf eine Tiefenlage einstellbare Korrekturoptik (32) umfasst, welche am Objektiv (14) eine sphärische Aberration korrigiert, wobei die Einstellung der Korrekturoptik (32) für eine bestimmte Tiefenlage der Fokalebene gilt und wobei
- 10 das Verfahren die Schritte umfasst:
- Beleuchten des Objekts (12) mit Strahlung,
 - Erfassen der von dem Objekt (12) reflektierten oder transmittierten Strahlung,
 - Durchführen einer quantitativen Phasenkontrastabbildung in einem ersten lateralen Bereich (40) und einem zweiten lateralen Bereich (42) des Objekts (12) und Bestimmen einer
- 15 Phasendifferenz von Strahlung aus dem ersten lateralen Bereich (40) und dem zweiten lateralen Bereich (42) des Objekts (12), wobei die sphärische Aberration der Abbildung des Objekts (12) für die Fokalebene im ersten Bereich (40) oder der Brechungsindex des Objektes (12) im ersten Bereich (40) oder die zur Korrektur der sphärischen Aberration nötige Einstellung der Korrekturoptik (32) bekannt ist,
- 20 - Verwenden eines vorbekannten Zusammenhangs zwischen der Phasendifferenz und einer dadurch verursachten Änderung der sphärischen Aberration, um einen Einstellwert der Korrekturoptik (32) zu ermitteln, so dass die sphärische Aberration im zweiten Bereich (42) reduziert wird, und
- 25 - Einstellen der Korrekturoptik (32) auf den Einstellwert und Abbilden des Objekts (12) im zweiten Bereich (42).
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Zusammenhang ermittelt wird, wobei eine Weglänge (d) ermittelt wird, die ein Objektiefenbereich ist, aus dem Strahlung vom Objekt zur Abbildung beiträgt.
- 30 3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass zur Ermittlung der Weglänge (d) ein wirksamer Brechungsindex des Objekts (12) im ersten Bereich (40) variiert wird und die Phasendifferenz für mindestens zwei Werte des Brechungsindex des Objekts (12) im ersten Bereich (40) gemessen und daraus die Weglänge (d) bestimmt wird.

4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass der wirksame Brechungsindex durch Verwenden eines dispersiven Mediums im ersten Bereich (40) variiert wird und die Messung der Phasendifferenz bei zwei Wellenlängen erfolgt.
5. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Weglänge (d) näherungsweise durch die Dicke des Objekts (12) angegeben wird.
6. Verfahren nach einem der obigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass mehrere Phasendifferenzen in mehreren, zueinander beabstandeten Objektebenen bestimmt werden.
7. Verfahren nach einem der obigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass ein dritter lateraler Bereich des Objekts (12) bestimmt wird, wobei der Einstellwert für den zweiten Bereich (42) auch zur Abbildung des dritten Bereichs verwendet wird.
8. Verfahren nach einem der obigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein Parameter erfasst wird, welcher eine Temperatur des Objekts (12), ein Material eines Objektträgers (28), eine Objektträgerdicke (OD), ein Immersionsmedium für das Objektiv (14) oder eine Wellenlänge von Strahlung zur Abbildung des Objekts (12) umfasst, wobei der Zusammenhang hinsichtlich des mindestens einen Parameters modifiziert wird.
9. Verfahren nach einem der obigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Phasendifferenz mittels quantitativer Phasenkontrastabbildung, im Infrarotbereich bestimmt wird.
10. Verfahren nach einem der obigen Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Phasendifferenz in einer mindestens einer ersten Objektebene (F1) bestimmt wird und das Objekt (12) unter Verwendung des Einstellwertes in einer anderen, zweiten Objektebene (F2) abgebildet wird.
11. Mikroskop zur Abbildung eines Objekts (12), umfassend
- ein Objektiv (14), welches eine optische Achse und eine dazu senkrecht stehende Fokalebene definiert,
 - eine einstellbare Korrekturoptik (32), welche am Objektiv (14) eine sphärische Aberration korrigiert, die bei der Abbildung des Objekts (12) auftritt, wobei die Einstellung für eine bestimmte Tiefenlage der Fokalebene gilt,
 - einen Antrieb (34), welcher die Korrekturoptik (32) einstellt,
 - eine Einrichtung zur quantitativen Phasenkontrastabbildung (36), welche ausgebildet ist, das Objekt (12) mit Strahlung zu beleuchten, die von dem Objekt (12) reflektierte oder

- transmittierte Strahlung zu erfassen, und eine Phasendifferenz von Strahlung aus einem ersten lateralen Bereich (40) und einem zweiten lateralen Bereich (42) zu bestimmen,
- eine Steuereinrichtung (24), in welcher ein Zusammenhang zwischen der Phasendifferenz und einer dadurch verursachten Änderung der sphärischen Aberration und
- 5 welche zur Ausführung eines der Verfahren nach Anspruch 1 bis 10 ausgebildet ist.

Fig. 1

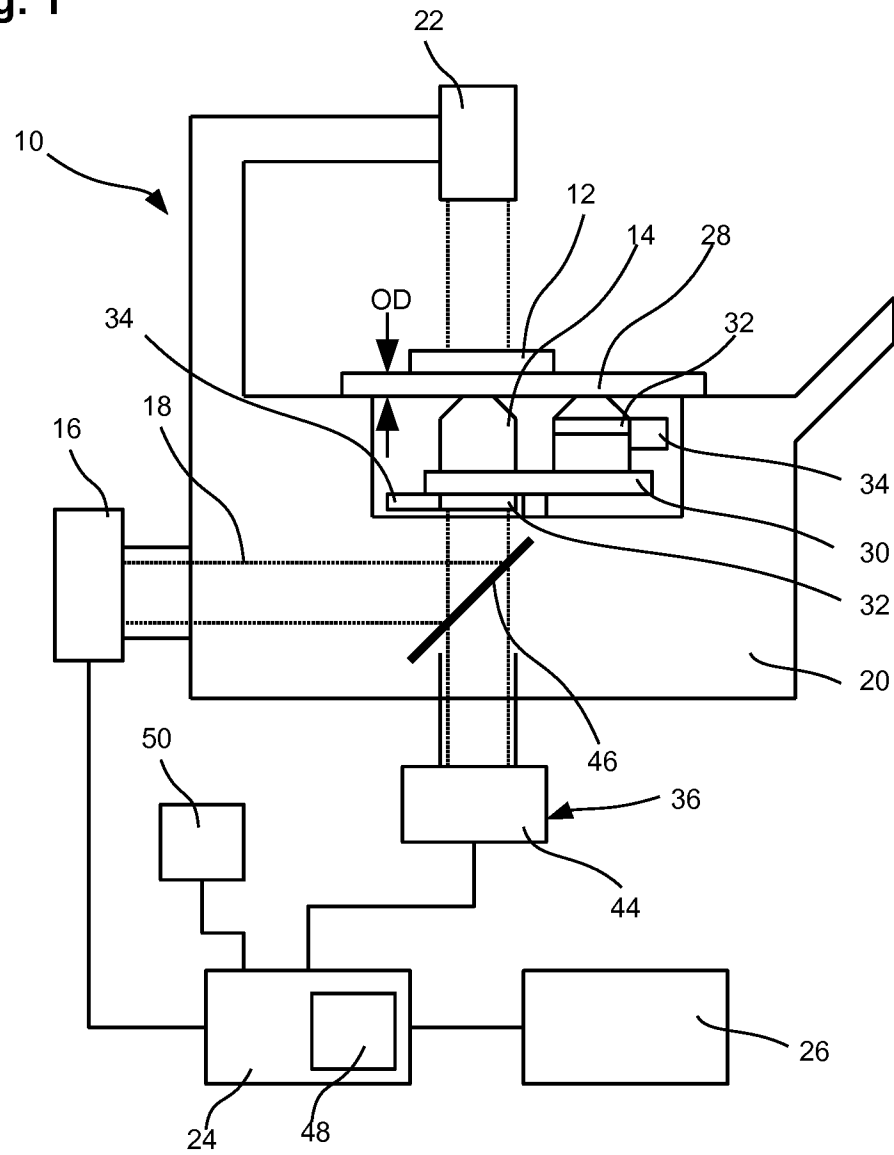


Fig. 2

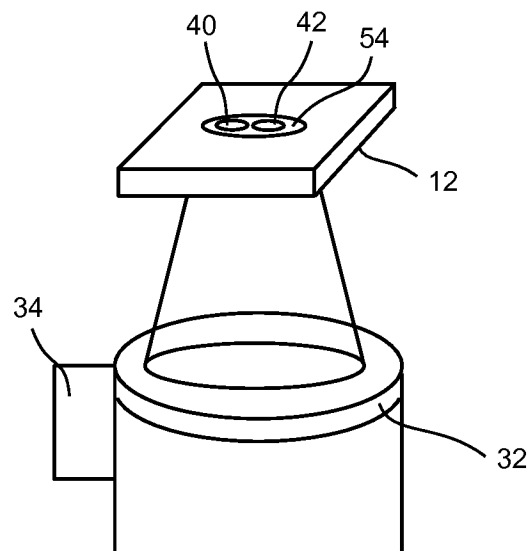


Fig. 3

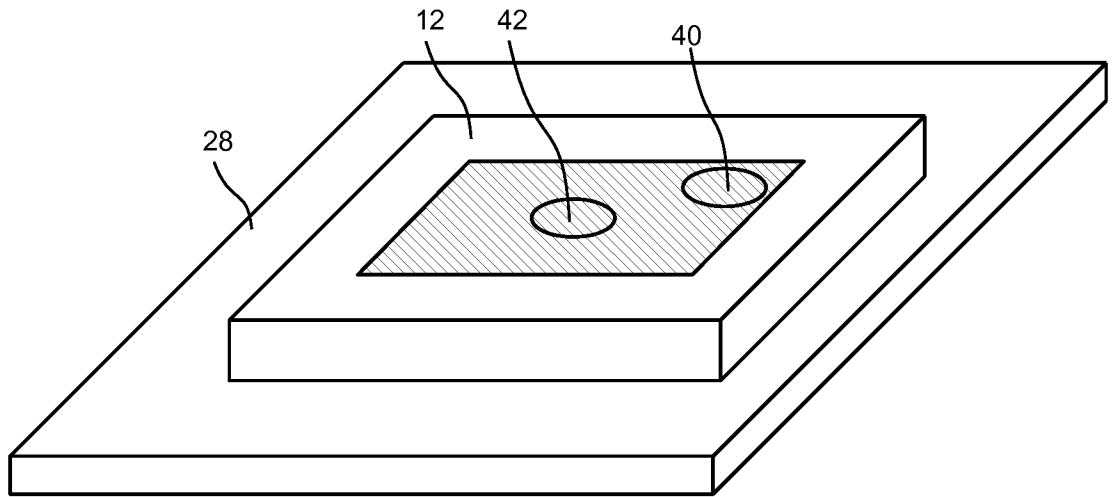


Fig. 4

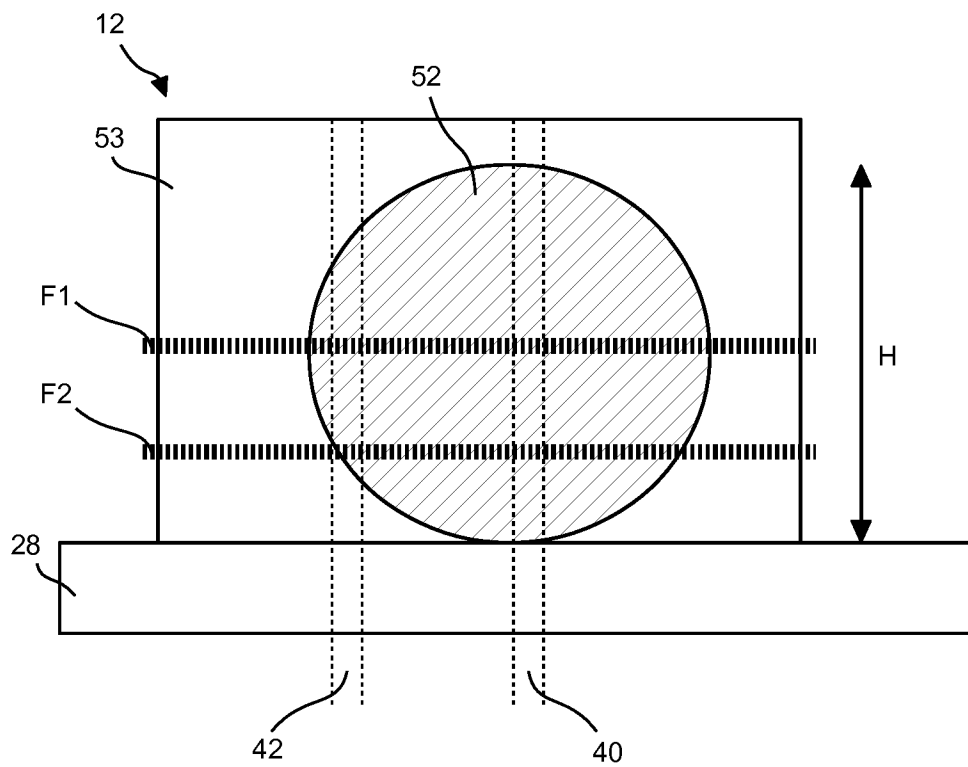
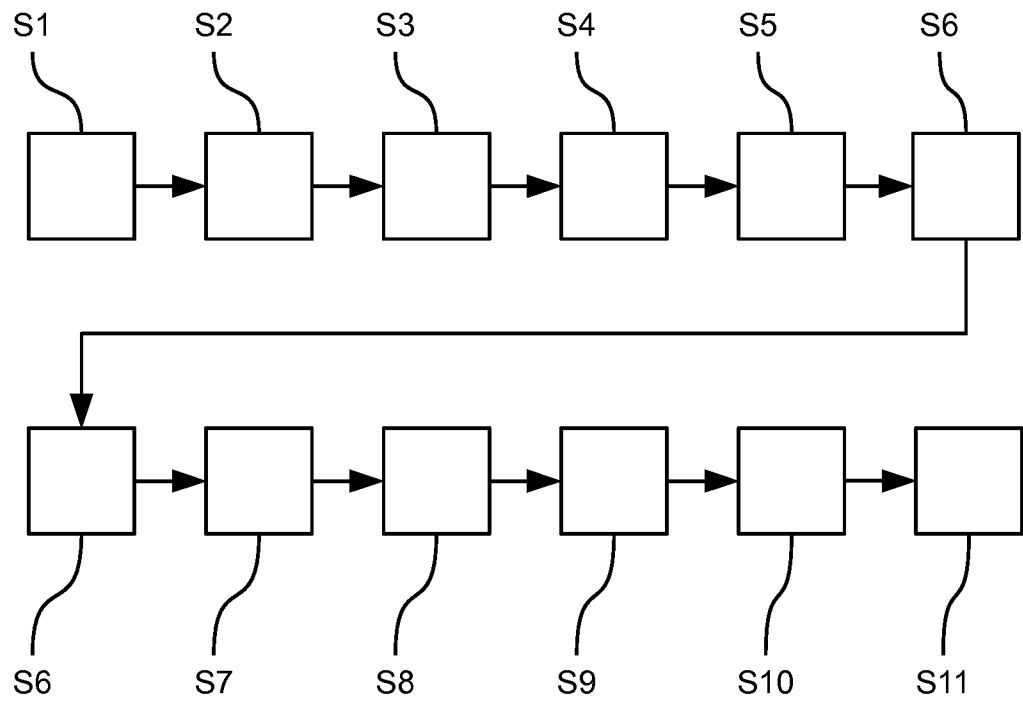


Fig. 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2018/056434**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****G02B 21/14**(2006.01)i; **G02B 27/00**(2006.01)i; **G02B 21/02**(2006.01)n; **G01M 11/02**(2006.01)n

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G02B; G01M

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

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

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DE 102014002584 A1 (EUROIMMUN MEDIZINISCHE LABORDIAGNOSTIKA AG [DE]) 23 July 2015 (2015-07-23) figures 1-7,13-15 paragraph [0001] - paragraph [0005] paragraph [0042] - paragraph [0044] paragraph [0082] - paragraph [0127]	1-11
Y	US 2002075458 A1 (MATSUURA SEIJI [JP]) 20 June 2002 (2002-06-20) figures 1-7 paragraph [0002] paragraph [0031] paragraph [0045] - paragraph [0065]	1-11
A	US 2005024718 A1 (SASE ICHIRO [JP] ET AL) 03 February 2005 (2005-02-03) paragraph [0008] paragraph [0052] - paragraph [0060]	3,4
A	US 2013130307 A1 (SUGIYAMA NORIKAZU [JP] ET AL) 23 May 2013 (2013-05-23) paragraph [0089]	9

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

* Special categories of cited documents:

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

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

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

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

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

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

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

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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 June 2018

Date of mailing of the international search report

05 July 2018

Name and mailing address of the ISA/EP

European Patent Office
p.b. 5818, Patentlaan 2, 2280 HV Rijswijk
Netherlands

Telephone No. (+31-70)340-2040

Facsimile No. (+31-70)340-3016

Authorized officer

Beutter, Matthias

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/EP2018/056434

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
DE	102014002584	A1	23 July 2015	DE	102014002584	A1	23 July 2015
				WO	2015110250	A2	30 July 2015
US	2002075458	A1	20 June 2002	JP	2002184675	A	28 June 2002
				US	2002075458	A1	20 June 2002
US	2005024718	A1	03 February 2005	JP	2005043624	A	17 February 2005
				US	2005024718	A1	03 February 2005
US	2013130307	A1	23 May 2013	EP	2562245	A1	27 February 2013
				JP	5775068	B2	09 September 2015
				JP	WO2011132586	A1	18 July 2013
				US	2013130307	A1	23 May 2013
				WO	2011132586	A1	27 October 2011

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

INV. G02B21/14 G02B27/00
ADD. G02B21/02 G01M11/02

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

G02B G01M

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	DE 10 2014 002584 A1 (EUROIMMUN MEDIZINISCHE LABORDIAGNOSTIKA AG [DE]) 23. Juli 2015 (2015-07-23) Abbildungen 1-7, 13-15 Absatz [0001] - Absatz [0005] Absatz [0042] - Absatz [0044] Absatz [0082] - Absatz [0127] -----	1-11
Y	US 2002/075458 A1 (MATSUURA SEIJI [JP]) 20. Juni 2002 (2002-06-20) Abbildungen 1-7 Absatz [0002] Absatz [0031] Absatz [0045] - Absatz [0065] ----- -/-	1-11



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

20. Juni 2018

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

05/07/2018

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Beutter, Matthias

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 2005/024718 A1 (SASE ICHIRO [JP] ET AL) 3. Februar 2005 (2005-02-03) Absatz [0008] Absatz [0052] - Absatz [0060] -----	3,4
A	US 2013/130307 A1 (SUGIYAMA NORIKAZU [JP] ET AL) 23. Mai 2013 (2013-05-23) Absatz [0089] -----	9

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2018/056434

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 102014002584 A1	23-07-2015	DE 102014002584 A1	23-07-2015
		WO 2015110250 A2	30-07-2015

US 2002075458 A1	20-06-2002	JP 2002184675 A	28-06-2002
		US 2002075458 A1	20-06-2002

US 2005024718 A1	03-02-2005	JP 2005043624 A	17-02-2005
		US 2005024718 A1	03-02-2005

US 2013130307 A1	23-05-2013	EP 2562245 A1	27-02-2013
		JP 5775068 B2	09-09-2015
		JP WO2011132586 A1	18-07-2013
		US 2013130307 A1	23-05-2013
		WO 2011132586 A1	27-10-2011
