

(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
16. Juli 2020 (16.07.2020)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2020/144228 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

G02B 21/14 (2006.01) G02B 21/36 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2020/050307

(22) Internationales Anmeldedatum:

08. Januar 2020 (08.01.2020)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

10 2019 100 419.5

09. Januar 2019 (09.01.2019) DE

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

(72) Erfinder: **STOPPE, Lars**; Karl-Schmid-Ring 3, 07743 Jena (DE). **DÖRING, Dirk**; Scharbergweg 14, 99094 Erfurt (DE). **MILDE, Thomas**; Dorfstraße 5b, 07616 Nausnitz (DE).

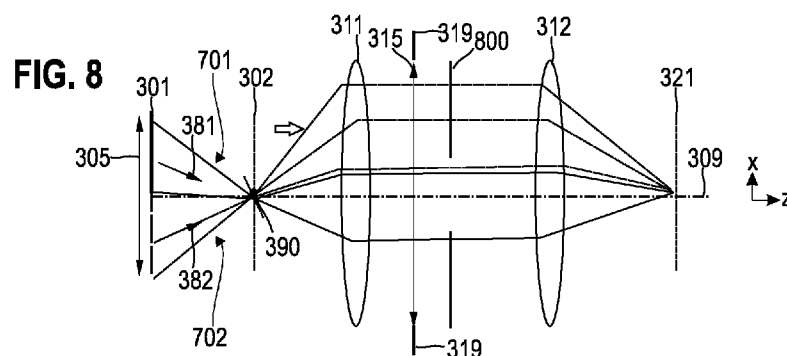
(74) Anwalt: **NEUSSER, Sebastian**; Kraus & Weisert, Patentanwälte PartGmbH, Thomas-Wimmer-Ring 15, 80539 München (DE).

(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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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,

(54) Title: ANGLE-VARIABLE ILLUMINATION FOR PHASE-CONTRAST IMAGING WITH AN ABSORPTION FILTER

(54) Bezeichnung: WINKELVARIABLE BELEUCHTUNG ZUR PHASENKONTRAST-BILDGEBUNG MIT ABSORPTIONSFILTER



(57) Abstract: The invention relates to a system (90) comprising a microscope (100) which has: an illumination module (111); a sample holder (113); a detector (114); and an imaging optical unit (112) located between the sample holder (113) and the detector (114). The system also comprises at least one computing unit (115) which is designed to control the illumination module (111) in order to illuminate a sample object (390) with light from a plurality of illumination directions (700-703, 381, 382), and to control the detector (114) in order to capture images which each correspond to one of the plurality of illumination directions (700-703, 381, 382). The system also comprises an absorption filter (800) which is located in the imaging optical unit (112) and which has an absorption rate (810) which depends on the location.

(57) Zusammenfassung: Ein System (90) umfasst ein Mikroskop (100) mit einem Beleuchtungsmodul (111), einem Probenhalter (113), einem Detektor (114) und einer zwischen dem Probenhalter (113) und dem Detektor (114) angeordneten Abbildungsoptik (112). Das System umfasst auch mindestens eine Recheneinheit (115), die eingerichtet ist, um das Beleuchtungsmodul (111) anzusteuern, um ein Probenobjekt (390) mit Licht aus mehreren Beleuchtungsrichtungen (700-703, 381, 382) zu beleuchten, und um den Detektor (114) anzusteuern, um Bilder zu erfassen, die jeweils einer der mehreren Beleuchtungsrichtungen (700-703, 381, 382) entsprechen. Das System umfasst ferner einen Absorptionsfilter (800), der in der Abbildungsoptik (112) angeordnet ist und der eine ortsabhängige Absorptionsrate (810) aufweist.

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)

Winkelvariable Beleuchtung zur Phasenkontrast-Bildgebung mit
Absorptionsfilter

TECHNISCHES GEBIET

5

Verschiedene Beispiele der Erfindung betreffen im Allgemeinen ein System umfassend ein Mikroskop und mindestens eine Recheneinheit. Dabei umfasst das Mikroskop ein Beleuchtungsmodul, welches eingerichtet ist, um ein Probenobjekt mit Licht aus mehreren Beleuchtungsrichtungen zu beleuchten. Mittels der

10 Recheneinheit kann eine digitale Nachbearbeitung durchgeführt werden, um ein Ergebnisbild mit maßgeschneidertem Kontrast zu erhalten. Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung eines Absorptionsfilters, der in einer Abbildungsoptik des Mikroskops angeordnet ist.

15 HINTERGRUND

In der optischen Bildgebung von Probenobjekten kann es häufig erstrebenswert sein, ein sogenanntes Phasenkontrastbild des Probenobjekts zu erzeugen. In einem Phasenkontrastbild ist zumindest ein Teil des Bildkontrasts durch eine

20 Phasenverschiebung des Lichts durch das abgebildete Probenobjekt bedingt. Damit können insbesondere solche Probenobjekte mit vergleichsweise hohem Kontrast abgebildet werden, die keine oder nur eine geringe Schwächung der Amplitude bewirken, jedoch eine signifikante Phasenverschiebung; solche Probenobjekte werden oftmals auch als Phasenobjekte bezeichnet. Typischerweise können

25 biologische Proben als Probenobjekt in einem Mikroskop eine vergleichsweise größere Phasenänderung als Amplitudenänderung des elektromagnetischen Felds bewirken.

Es sind verschiedene Techniken zur Phasenkontrast-Bildgebung bekannt, etwa die

30 Dunkelfeldbeleuchtung, die schiefe Beleuchtung, der differenzielle Interferenzkontrast (DIC) oder auch der Zernike-Phasenkontrast.

Solche vorgenannten Techniken weisen diverse Nachteile oder Einschränkungen auf. Oftmals kann es erforderlich sein, zusätzliche optische Elemente zwischen

Probe und Detektor im Bereich der sogenannten Abbildungsoptik bereitzustellen, um die Phasenkontrast-Bildgebung zu ermöglichen. Daraus können konstruktive Einschränkungen resultieren. Weiterhin können applikative Einschränkungen bestehen: Zum Beispiel kann die Fluoreszenz-Bildgebung durch Vorsehen der
5 zusätzlichen optischen Elemente erschwert werden.

Es sind auch Techniken bekannt, bei denen mittels sog. winkelvariabler Beleuchtung ein Phasenkontrast erzielt werden kann. Dabei soll winkelvariable Beleuchtung im Zusammenhang mit der vorliegenden Offenbarung eine Technik bezeichnen, bei der
10 das Probenobjekt vollflächig mit unterschiedlichen Beleuchtungsgeometrien beleuchtet werden kann, d.h. insbesondere aus unterschiedlichen Beleuchtungsrichtungen. Eine Beleuchtungsgeometrie wird durch ein oder mehrere Beleuchtungsrichtungen implementiert.

Ein erstes Beispiel von Techniken, die mittels winkelvariabler Beleuchtung ein Bild mit Phasenkontrast erzielen können, ist in DE 10 2014 112 242 A1 offenbart. Siehe auch: Tian, Lei, and Laura Waller. "3D intensity and phase imaging from light field measurements in an LED array microscope." *optica* 2.2 (2015): 104-111. Solche Techniken weisen jedoch bestimmte Einschränkungen auf. Beispielsweise wurde es
15 beobachtet, dass bei solchen Techniken die Stärke des Phasenkontrasts abnimmt, wenn die numerische Detektorapertur größer ist, als die numerische Beleuchtungsapertur. Andererseits kann es aber im Zusammenhang mit der hochauflösenden Bildgebung erstrebenswert sein, wenn eine größere numerische Detektorapertur verwendet wird.
20

KURZE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

Deshalb besteht ein Bedarf für verbesserte Techniken zur Phasenkontrast-Bildgebung. Insbesondere besteht ein Bedarf für Techniken zur Phasenkontrast-
30 Bildgebung, die zumindest einige der oben genannten Nachteile und Beschränkungen beheben.

Diese Aufgabe wird von den Merkmalen der unabhängigen Patentansprüche gelöst. Die Merkmale der abhängigen Patentansprüche definieren Ausführungsformen.

- In einem Beispiel umfasst ein System ein Mikroskop. Das Mikroskop weist ein Beleuchtungsmodul, einen Probenhalter und einen Detektor auf. Das Mikroskop weist auch eine Abbildungsoptik auf, die zwischen dem Detektor und dem
- 5 Probenhalter angeordnet ist. Außerdem umfasst das System auch mindestens eine Recheneinheit. Dabei ist die mindestens eine Recheneinheit eingerichtet, um das Beleuchtungsmodul anzusteuern, um ein Probenobjekt mit Licht aus mehreren Beleuchtungsrichtungen zu beleuchten. Außerdem ist die mindestens eine
- 10 Recheneinheit auch eingerichtet, um den Detektor anzusteuern, um Bilder zu erfassen. Dabei entsprechen die Bilder jeweils einer der mehreren Beleuchtungsrichtungen. Das System umfasst ferner einen Absorptionsfilter. Dieser ist in der Abbildungsoptik angeordnet. Der Absorptionsfilter weist eine ortsabhängige Absorptionsrate auf.
- 15 Es ist möglich, dass die Beleuchtungsrichtungen unterschiedliche Beleuchtungsgeometrien implementieren. Dabei kann eine Beleuchtungsgeometrie jeweils durch ein oder mehrere Beleuchtungsrichtungen ausgebildet sein.
- Solche Techniken können entsprechend auch als winkelvariable Beleuchtung
- 20 bezeichnet werden, weil jeweils unterschiedliche Beleuchtungsgeometrien zur vollflächigen Beleuchtung des Probenobjekts bzw. des Probenhalters eingesetzt werden.
- Durch die Verwendung unterschiedlicher Beleuchtungsrichtungen bzw.
- 25 unterschiedlicher Beleuchtungsgeometrien können die entsprechenden Bilder unterschiedliche Kontraste aufweisen. Insbesondere können bei Phasenobjekten die Bilder unterschiedliche Kontraste aufweisen. Dann ist es möglich, durch Kombination der Bilder ein Ergebnisbild mit einem Phasenkontrast zu erzeugen.
- 30 Beispielsweise könnte in diesem Zusammenhang die mindestens eine Recheneinheit weiterhin eingerichtet sein, um die Bilder zum Erhalten des Ergebnisbilds miteinander zu kombinieren. Das Ergebnisbild kann einen Phasenkontrast aufweisen. Dabei können – je nach Art der Kombination – unterschiedliche Phasenkontraste erzielt werden, z.B. nicht-quantitative Phasenkontraste oder ein

Phasengradientenkontrast aufweisen. Entsprechende Techniken sind unter anderem offenbart in: DE 10 2014 112 242 A1 und DE 10 2017 108 873 A1.

5 Durch die Verwendung des Absorptionsfilters kann eine besonders hohe Bildqualität erzielt werden. Zum Beispiel kann in manchen Beispielen der Phasenkontrast, wie beispielsweise der Phasengradienten-Kontrast, besonders stark ausgebildet werden. Dies bedeutet, dass auch ein kleiner Phasenversatz durch das Probenobjekt einen großen Wert für den Phasenkontrast im Ergebnisbild bewirken kann. Durch die Verwendung des Absorptionsfilters kann es außerdem möglich sein, eine
10 numerische Detektorapertur der Abbildungsoptik flexibel zu dimensionieren. Insbesondere können vergleichsweise große numerische Detektoraperturen verwendet werden. Insbesondere könnte die numerische Detektorapertur größer gewählt werden als eine numerische Beleuchtungsapertur des Beleuchtungsmoduls. Dabei kann die Verwendung einer großen numerischen Detektorapertur eine hohe
15 Qualität für die erfassten Bilder und damit auch für das Ergebnisbild bewirken.

Ein Verfahren umfasst das Ansteuern eines Beleuchtungsmodulseines Mikroskops, um ein Probenobjekt auf einem Probenhalter des Mikroskops mit Licht aus mehreren Beleuchtungsrichtungen zu beleuchten. Das Verfahren umfasst außerdem das
20 Ansteuern eines Detektors des Mikroskops, um Bilder zu erfassen, die jeweils einer der mehreren Beleuchtungsrichtungen entsprechen. Ein Absorptionsfilter mit einer ortsabhängigen Absorptionsrate ist in einer Abbildungsoptik des Mikroskops angeordnet.

25 Ein Computer-Programm oder ein Computer-Programmprodukt oder ein computerlesbares Speichermedium umfasst Programmcode. Der Programmcode kann von einer Recheneinheit ausgeführt werden, um ein Verfahren auszuführen. Das Verfahren umfasst das Ansteuern eines Beleuchtungsmodulseines Mikroskops, um ein Probenobjekt auf einem Probenhalter des Mikroskops mit Licht aus mehreren
30 Beleuchtungsrichtungen zu beleuchten. Das Verfahren umfasst außerdem das Ansteuern eines Detektors des Mikroskops, um Bilder zu erfassen, die jeweils einer der mehreren Beleuchtungsrichtungen entsprechen. Ein Absorptionsfilter mit einer ortsabhängigen Absorptionsrate ist in einer Abbildungsoptik des Mikroskops angeordnet.

KURZE BESCHREIBUNG DER FIGUREN

FIG. 1 illustriert schematisch ein System gemäß verschiedener Beispiele, welches ein Mikroskop sowie eine Recheneinheit umfasst.

FIG. 2 ist ein Flussdiagramm eines beispielhaften Verfahrens.

FIG. 3 illustriert schematisch ein beispielhaftes Beleuchtungsmodul des Mikroskops, welches für die winkelvariable Beleuchtung eingerichtet ist.

FIG. 4 illustriert schematisch eine Beleuchtungsgeometrie, die gemäß verschiedener Beispiele im Zusammenhang mit der winkelvariablen Beleuchtung verwendet werden kann.

15

FIG. 5 illustriert schematisch die winkelvariable Beleuchtung eines Probenobjekts, welches keinen Phasenversatz bewirkt, gemäß verschiedener Beispiele.

FIG. 6 illustriert schematisch die winkelvariable Beleuchtung eines Probenobjekts, welches einen Phasenversatz bewirkt, gemäß verschiedener Beispiele.

20

FIG. 7 illustriert schematisch die winkelvariable Beleuchtung eines Probenobjekts, welches einen Phasenversatz bewirkt, gemäß verschiedener Beispiele, wobei in FIG. 7 eine numerische Detektorapertur größer ist als eine numerische

25

Beleuchtungsapertur.

FIG. 8 illustriert schematisch die winkelvariable Beleuchtung eines Probenobjekts, welches einen Phasenversatz bewirkt, gemäß verschiedener Beispiele, wobei in FIG. 8 eine numerische Detektorapertur größer ist als eine numerische

30

Beleuchtungsapertur und wobei ein Absorptionsfilter in der Abbildungsoptik des Mikroskops verwendet wird.

FIG. 9 illustriert schematisch den Verlauf einer Absorptionsrate des Absorptionsfilters gemäß verschiedener Beispiele.

FIG. 10 illustriert schematisch den Verlauf einer Absorptionsrate des Absorptionsfilters gemäß verschiedener Beispiele.

5 DETAILLIERTE BESCHREIBUNG VON AUSFÜHRUNGSFORMEN

Die oben beschriebenen Eigenschaften, Merkmale und Vorteile dieser Erfindung sowie die Art und Weise, wie diese erreicht werden, werden klarer und deutlicher verständlich im Zusammenhang mit der folgenden Beschreibung der

10 Ausführungsbeispiele, die im Zusammenhang mit den Zeichnungen näher erläutert werden.

In den Figuren bezeichnen gleiche Bezugszeichen gleiche oder ähnliche Elemente.

Die Figuren sind schematische Repräsentationen verschiedener Ausführungsformen
15 der Erfindung. In den Figuren dargestellte Elemente sind nicht notwendigerweise maßstabsgetreu dargestellt. Vielmehr sind die verschiedenen in den Figuren dargestellten Elemente derart wiedergegeben, dass ihre Funktion und genereller Zweck dem Fachmann verständlich wird. In den Figuren dargestellte Verbindungen und Kopplungen zwischen funktionellen Einheiten und Elementen können auch als
20 indirekte Verbindung oder Kopplung implementiert werden. Eine Verbindung oder Kopplung kann drahtgebunden oder drahtlos implementiert sein. Funktionale Einheiten können als Hardware, Software oder eine Kombination aus Hardware und Software implementiert werden.

25 Nachfolgend werden Techniken beschrieben, um Bilder mittels eines Mikroskops zu erfassen. Dabei umfasst das Mikroskop ein Beleuchtungsmodul, einen Probenhalter, eine Abbildungsoptik sowie einen Detektor.

Nachfolgend werden Techniken beschrieben, um ein Ergebnisbild mit
30 maßgeschneidertem Kontrast zu bestimmen. Beispielsweise kann das Ergebnisbild ein Phasenobjekt mit einem Phasenkontrast abbilden. Dabei muss der Phasenkontrast nicht notwendigerweise quantitativ ausgebildet sein, sondern kann im Allgemeinen auch qualitativ ausgebildet sein. Dies bedeutet, dass der Kontrast nicht eins zu eins die Phase des Probenobjekts wiedergeben muss. In manchen

Beispielen könnte zum Beispiel ein Phasengradientenkontrast verwendet werden, d. h. der Kontrast könnte die Änderung der Phase indizieren.

Die hierin beschriebenen Techniken ermöglichen es, das Ergebnisbild durch digitale
5 Nachbearbeitung von ein oder mehreren Bildern eines Probenobjekts zu bestimmen. Beispielsweise wäre es möglich, dass das eine oder die mehreren Bilder des Probenobjekts Intensitätsbilder sind, die selbst keinen Phasenkontrast aufweisen.

Das eine oder die mehreren Bilder des Probenobjekts können mit unterschiedlichen
10 Beleuchtungsgeometrien assoziiert sein. Dies bedeutet, dass das eine oder die mehreren Bilder jeweils bei gleichzeitiger Beleuchtung des Probenobjekts mittels einer entsprechenden Beleuchtungsgeometrie durch einen Detektor erfasst werden können. Dies wird auch als winkelvariable Beleuchtung bezeichnet.

15 Die unterschiedlichen Beleuchtungsgeometrien können beispielsweise mit unterschiedlichen Beleuchtungsrichtungen assoziiert sein. Die unterschiedlichen Beleuchtungsgeometrien bzw. assoziierte unterschiedliche Bilder können durch Zeit-Multiplexen oder Frequenz-Multiplexen voneinander getrennt werden. Es wäre auch eine Trennung mittels unterschiedlicher Polarisationen möglich. Die
20 Beleuchtungsgeometrien können eine Richtungsabhängigkeit aufweisen. Beispielsweise können die Beleuchtungsgeometrien einen Gradienten der Beleuchtungsstärke entlang einer oder mehrerer Raumrichtungen aufweisen. Zum Beispiel könnte die Beleuchtungsstärke stufenförmig entlang einer Raumrichtung variieren, etwa zwischen Null und einem endlichen Wert oder zwischen zwei
25 unterschiedlichen endlichen Werten.

Beispielsweise kann das Probenobjekt ein Phasenobjekt umfassen, beispielsweise eine Zelle oder eine Zellkultur, etc. Das Probenobjekt kann a-priori unbekannt sein, d.h. es können unterschiedliche Probenobjekte durch den Probenhalter fixiert
30 werden. Das Probenobjekt könnte auch für das verwendete Licht nicht-lichtdurchlässig sein. Je nach Art des Probenobjekts kann es erstrebenswert sein, das Beleuchtungsmodul und den Detektor in Auflichtgeometrie oder Durchlichtgeometrie zu betreiben.

Gemäß verschiedener Beispiele wird zur Steigerung der Stärke des Phasenkontrasts ein Absorptionsfilter verwendet, der in der Abbildungsoptik des Mikroskops angeordnet ist. Der Absorptionsfilter weist dazu eine ortsabhängige Absorptionsrate auf, die als Funktion der lateralen Positionen senkrecht zur optischen Achse des Mikroskops variiert.

FIG. 1 illustriert ein beispielhaftes optisches System 90. Beispielsweise könnte das optische System 90 ein Mikroskop 100 umfassen, zum Beispiel ein Lichtmikroskop in Durchlichtgeometrie oder aber in Auflichtgeometrie.

Mittels des Mikroskops 100 kann es möglich sein, kleine Strukturen eines auf einem Probenhalter 113 fixierten Messobjekts bzw. Probenobjekts vergrößert darzustellen.

Das Mikroskop 100 umfasst dazu ein Beleuchtungsmodul 111. Das

Beleuchtungsmodul 111 kann eingerichtet sein, um einen Probenhalter 113 vollflächig zu beleuchten, jeweils mit unterschiedlichen Beleuchtungsgeometrien.

Die vollflächige Beleuchtung kann bedeuten, dass die Beleuchtungsstärke im Bereich des Probenobjekts bzw. der Probenhalter 113 nicht signifikant variiert. Dies unterscheidet die hierin beschriebenen Techniken von einer strukturierten Beleuchtung mit einem Beleuchtungsmuster.

Das Beleuchtungsmodul 111 weist eine numerische Beleuchtungsapertur auf. Die numerische Beleuchtungsapertur definiert denjenigen Bereich, aus welchem Licht auf ein Probenobjekt eingestrahlt werden kann.

Außerdem umfasst das Mikroskop 100 eine Abbildungsoptik 112 (manchmal auch als Objektiv oder Detektoroptik bezeichnet), die eingerichtet ist, um ein Abbild des Messobjekts auf einer Detektorfläche eines Detektors 114 zu erzeugen. Eine numerische Detektorapertur der Abbildungsoptik 112 kann eine Hellfeld-Bildgebung und/oder eine Dunkelfeld-Bildgebung ermöglichen, zum Beispiel je nach verwendeter Beleuchtungsgeometrie.

Im Beispiel der FIG. 1 ist das Beleuchtungsmodul 111 eingerichtet, um eine winkelvariable Beleuchtung des Messobjekts zu ermöglichen. Dies bedeutet, dass mittels des Beleuchtungsmoduls 111 unterschiedliche Beleuchtungsgeometrien des zur Beleuchtung des Messobjekts verwendeten Lichts implementiert werden können.

- 5 Die unterschiedlichen Beleuchtungsgeometrien können jeweils eine oder mehrere Rückbeleuchtungsrichtungen bzw. Beleuchtungswinkel umfassen.

Dabei sind in den verschiedenen hierin beschriebenen Beispielen unterschiedliche Hardware-Implementierungen möglich, um die unterschiedlichen

- 10 Beleuchtungsgeometrien bereitzustellen. Beispielsweise könnte das Beleuchtungsmodul 111 mehrere einstellbare Lichtquellen umfassen, die eingerichtet sind, um lokal Licht zu modifizieren und/oder zu erzeugen (in FIG. 1 sind die Lichtquellen nicht dargestellt).

- 15 Eine Recheneinheit 115 des optischen Systems 90 kann das Beleuchtungsmodul 111 bzw. die Lichtquellen ansteuern. Beispielsweise könnte die Recheneinheit 115 als Mikroprozessor oder Mikrocontroller implementiert sein. Alternativ oder zusätzlich könnte die Recheneinheit 115 beispielsweise einen FPGA oder ASIC umfassen. Die Recheneinheit 115 kann alternativ oder zusätzlich auch der Probenhalter 113, die
- 20 Abbildungsoptik 112 und/oder den Detektor 114 ansteuern bzw. auslesen. Die Recheneinheit 115 kann auch Rechenoperationen im Zusammenhang mit der digitalen Nachbearbeitung von mittels des Detektors 114 erfassten Bildern durchführen.

- 25 In manchen Beispielen ist es möglich, dass die Recheneinheit 115 in ein Gehäuse des Mikroskops 100 integriert ist. In anderen Beispielen wäre es aber auch möglich, dass die Recheneinheit 115 extern vom Mikroskop 100 vorgesehen ist. Beispielsweise könnte die Recheneinheit 115 durch ein entsprechendes Computerprogramm, das auf einem PC ausgeführt wird, implementiert sein.

30

FIG. 2 ist ein Flussdiagramm eines beispielhaften Verfahrens. Beispielsweise könnte das Verfahren gemäß FIG. 2 von der Recheneinheit 115 aus FIG. 1 ausgeführt werden. Das Verfahren nach FIG. 2 ermöglicht es, ein Ergebnisbild mit

Phasenkontrast zu erzeugen, indem eine winkelvariable Beleuchtung verwendet wird.

5 Zunächst wird in Block 9001 das Beleuchtungsmodul 111 angesteuert, sodass mehrere Beleuchtungsgeometrien erzeugt werden. Dies bedeutet, dass zum Beispiel nacheinander unterschiedliche Leuchtdioden einer Leuchtdioden-Matrix an- und ausgeschaltet werden können. Es können auch mehrere Leuchtdioden der Leuchtdioden-Matrix gleichzeitig angeschaltet werden, um derart eine Beleuchtungsgeometrie mittels gleichzeitiger Beleuchtung aus mehreren
10 Beleuchtungsrichtungen zu implementieren. Beispielweise könnte eine Halbraum-Beleuchtung umgesetzt werden, bei der alle Leuchtdioden eines Halbraums an- bzw. ausgeschaltet werden.

Dann erfolgt in Block 9002 das Ansteuern des Detektors 114, um mehrere Bilder zu
15 erfassen. Dabei erfolgen das Ansteuern des Beleuchtungsmoduls 111 in Block 9001 und das Ansteuern des Detektors 114 in Block 9002 synchronisiert, sodass die verschiedenen erfassten Bilder jeweils einer entsprechenden Beleuchtungsgeometrie bzw. ein oder mehreren entsprechenden Beleuchtungsrichtungen, die die jeweilige Beleuchtungsgeometrie ausbilden, zugeordnet sind. Zeit- oder Wellenlängen- oder
20 Polarisations-Multiplexen kann verwendet werden.

Im optionalen Block 9003 werden dann die in Block 9002 erfassten Bilder miteinander kombiniert, um derart ein Ergebnisbild zu erhalten. Dieses Ergebnisbild weist einen verbesserten Kontrast auf, zum Beispiel einen Phasenkontrast.

25

Es können in Block 9003 ganz unterschiedliche Techniken zur Kombination der erfassten Bilder miteinander eingesetzt werden. Je nach Kombination, zum Beispiel mit oder ohne Normierung oder mit oder ohne Betragsbildung usw., kann der Phasenkontrast variieren. Entsprechende Techniken sind zum Beispiel beschrieben
30 in: DE 10 2014 112 242 A1 und DE 10 2017 108 873 A1.

Optional können in Block 9003 auch bildverarbeitende Techniken angewendet werden, z.B. auf die einzelnen erfassten Bilder und/oder das Ergebnisbild. Beispiele

für bildverarbeitende Techniken umfassen: Hintergrund-Normalisierung; Entrauschung; Frequenzfilterung; Frequenzmanipulation; etc..

Durch die Verwendung eines Absorptionsfilter im Strahlengang kann insbesondere ein besonders homogen ausgebildeter Phasenkontrast mit allen relevanten Raumfrequenzen der Phase erzielt werden. Dies wird nachfolgend näher erläutert.

FIG. 3 illustriert eine beispielhafte Implementierung des Beleuchtungsmoduls 111. FIG. 3 ist eine Darstellung des Beleuchtungsmoduls 111, das sich senkrecht zur optischen Achse 309 in der durch die X- und Y-Achse aufgespannten lateralen Ebene erstreckt.

Aus FIG. 3 ist ersichtlich, dass das Beleuchtungsmodul 111 eine Matrix aus Leuchtdioden 121-1, 121-2 aufweist (wobei aber auch andere Implementierungen möglich wären). Dabei sind die Leuchtdioden 121-1 innerhalb der numerischen Detektorapertur 319 der Abbildungsoptik 112 angeordnet, während die Leuchtdioden 121-2 außerhalb der numerischen Detektorapertur 319 der Abbildungsoptik 112 angeordnet sind. Dies bedeutet, dass mittels des Beleuchtungsmoduls 111 insbesondere eine Hellfeld-Bildgebung, wie auch eine Dunkelfeld-Bildgebung erfolgen kann.

In verschiedenen hierin beschriebenen Beispielen ist es möglich, dass die numerische Detektorapertur 319 so groß ist, dass alle Leuchtdioden innerhalb der numerischen Detektorapertur 319 der Abbildungsoptik 112 angeordnet sind. In diesem Fall ist keine Dunkelfeld-Bildgebung möglich.

FIG. 4 illustriert Aspekte im Zusammenhang mit dem individuellen Betreiben der verschiedenen Leuchtdioden 121-1, 121-2 des Beleuchtungsmoduls 111. FIG. 4 ist eine Schnittansicht entlang der Achse X-X' aus FIG. 3.

In dem Beispiel der FIG. 4 wird eine Beleuchtungsgeometrie 700 durch das isolierte Anschalten der mit dem Pfeil markierten Leuchtdiode 121-1 erreicht. Dadurch wird das Probenobjekt vollflächig aus einer bestimmten Beleuchtungsrichtung beleuchtet, die der relativen Anordnung der markierten Leuchtdiode 121-1 zur optischen Achse

309 entspricht. Im Allgemeinen wäre es aber auch möglich, dass pro Beleuchtungsgeometrie mehr als eine Leuchtdiode 121-1, 121-2 angeschaltet wird, sodass sich eine entsprechende Beleuchtungsgeometrie aus mehreren Beleuchtungsrichtungen zusammensetzt. Es wäre auch möglich, eine ausgedehnte Leuchtfläche zu verwenden. Unterschiedliche Beleuchtungsgeometrien können dabei zumindest teilweise verschiedene Beleuchtungsrichtungen aufweisen.

Im Zusammenhang mit den FIG. 5 – 7 wird nachfolgend die Funktionsweise der winkelvariablen Beleuchtung zur Erzeugung eines Ergebnisbilds mit Phasenkontrast beschrieben.

FIG. 5 illustriert dabei Aspekte der Beleuchtung eines Probenobjekts 390, das in einer Probenebene 302 angeordnet ist, wobei das Probenobjekt 390 keinen Phasenversatz des einfallenden Lichts bewirkt.

In FIG. 5 ist eine numerische Beleuchtungsapertur 301 des Beleuchtungsmoduls 111 schematisch als Feldblende dargestellt (außerdem bestimmt eine Brennweite die numerische Beleuchtungsapertur; die Brennweite ist aber aus Gründen der Einfachheit in FIG. 5 nicht gesondert beschriftet). Der Durchmesser 305 einer die Beleuchtungsapertur 301 definierenden Austrittspupille ist auch dargestellt. Der Durchmesser 305 definiert, zusammen mit der Brennweite, die numerische Apertur.

In FIG. 5 werden zwei Beleuchtungsgeometrien 701 (durchgezogene Linien) und 702 (gestrichelte Linien) verwendet. Die entsprechenden mittleren Beleuchtungsrichtungen 381, 382 sind auch dargestellt. Das Licht der Beleuchtungsgeometrie 701 fällt aus dem oberen Halbraum auf das Probenobjekt 390 ein; und das Licht der Beleuchtungsgeometrie 702 fällt aus dem unteren Halbraum auf das Probenobjekt 390 ein. Eine beispielhafte Implementierung der Beleuchtungsgeometrien 701, 702 könnte zum Beispiel durch ein Beleuchtungsmodul 111 mit einer Matrix aus Leuchtdioden 121-1, 121-2 erreicht werden, wobei im Zusammenhang mit der Beleuchtungsgeometrie 701 alle Leuchtdioden 121-1, 121-2 oberhalb einer Mittellinie eingeschaltet werden und wobei im Zusammenhang mit der Beleuchtungsgeometrie 702 alle Leuchtdioden 121-1,

121-2 unterhalb von der Mittellinie eingeschaltet werden (vergleiche auch FIG. 3, wo die entsprechende Mittellinie mit einer gestrichelt-gepunkteten Linie dargestellt ist).

Die Abbildungsoptik 112 umfasst im Beispiel der FIG. 5 ein Linsenpaar 311, 312, wobei zwischen den Linsen 311, 312 eine konjugierte Ebene (Pupillenebene) definiert ist. Der Durchmesser 315 einer die numerische Detektorapertur 319 definierende Eintrittspupille der Abbildungsoptik 112 ist in FIG. 5 auch dargestellt (die numerische Detektorapertur 319 wird außerdem noch durch die Brennweite der Abbildungsoptik 112 bestimmt, wobei aber die Brennweite aus Gründen der Einfachheit in FIG. 5 nicht dargestellt ist).

Die Detektorebene 321, auf welche das Licht fokussiert wird, ist in FIG. 5 ganz rechts illustriert. Außerdem ist in FIG. 5 auch noch die optische Achse 309 (Hauptstrahl) dargestellt (gestrichelt-gepunktete Linie in FIG. 5).

15

Weil das Probenobjekt 390 in FIG. 5 ein Amplitudenobjekt ist und keinen Phasenversatz des einfallenden Lichts bewirkt, erfolgt beim Durchlaufen des Probenobjekts 390 auch keine Richtungsänderung des Lichts. Dies ist im Szenario der FIG. 6 anders.

20

FIG. 6 illustriert Aspekte der Beleuchtung des Probenobjekts 390. Dabei entspricht das Beispiel der FIG. 6 grundsätzlich dem Beispiel der FIG. 5. Im Beispiel der FIG. 6 wird aber ein Phasenobjekt als Probenobjekt 390 verwendet. Dieses bewirkt eine Ablenkung des Lichts weg von der optischen Achse 309, im Beispiel der FIG. 6 nach oben. Deshalb kann nicht alles Licht durch die numerische Detektorapertur 319 hindurch treten. Insbesondere wird ein Teil des Lichts (mit dem Pfeil markiert), welches mit der Beleuchtungsgeometrie 702 assoziiert ist, nicht auf die Detektorebene 321 abgebildet, weil es nicht innerhalb der numerischen Detektorapertur 319 liegt. Hingegen kann alles Licht, welches mit der Beleuchtungsgeometrie 701 assoziiert ist, auf die Detektorebene 321 fokussiert werden.

25

30

Deshalb liegt eine Asymmetrie zwischen den mit den Beleuchtungsgeometrien 701, 702 assoziierten Bildern vor. Dieses Modell plausibilisiert qualitativ das Vorliegen

eines Phasenkontrasts in einem Ergebnisbild, welches durch Kombination der Bilder, die den Beleuchtungsgeometrien 701, 702 entsprechen, erhalten wird. Die Kombination kann durch Addition oder Differenzbildung erfolgen.

- 5 Für kleine Phasengradienten ist die Differenz der Bilder, die den Beleuchtungsgeometrien 701, 702, gleich oder in etwa gleich Null: dies ist der Fall, da das Licht aus beiden Beleuchtungshälften (oben und unten in FIG. 6) trotz der Verschiebung durch den (kleinen) Phasengradienten ungehindert das System durchlaufen kann und auf den Detektor trifft. Dies trifft insbesondere zu, wenn die
- 10 numerische Detektorapertur 319 vergleichsweise groß ist und daher das Licht aus beiden Beleuchtungshälften innerhalb der numerischen Detektorapertur 319 liegt. Dieser Befund wird im Zusammenhang mit FIG. 7 erläutert.

- FIG. 7 illustriert Aspekte der Beleuchtung des Probenobjekts 390. Dabei entspricht
- 15 das Beispiel der FIG. 7 grundsätzlich dem Beispiel der FIG. 6. Im Beispiel der FIG. 7 wird aber eine vergrößerte numerische Detektorapertur 319 verwendet, im Vergleich zu dem Beispiel der FIG. 6. Insbesondere ist dem Beispiel der FIG. 7 die numerische Detektorapertur 319 größer als die numerische Beleuchtungsapertur 301 (was schematisch durch einen größeren Durchmesser 315, im Vergleich zum
- 20 Durchmesser 305, illustriert ist).

- In einem solchen Szenario, wie es in FIG. 7 dargestellt ist, erreicht auch alles Licht der Beleuchtungsgeometrie 702 die Detektorebene 321 (siehe insbesondere den Lichtstrahl, der mit einem Pfeil in FIG. 7 markiert ist und vergleiche mit FIG. 6).

25

- FIG. 7 motiviert qualitativ, wieso gemäß Referenzimplementierungen die numerische Detektorapertur 319 vergleichsweise klein dimensioniert werden muss, insbesondere in Bezug auf die numerische Beleuchtungsapertur 301. Nachfolgend werden
- Techniken beschrieben, welche es ermöglichen, eine große numerische
- 30 Detektorapertur 319 zu verwenden, ohne die Möglichkeit zu verlieren, auch ein Ergebnisbild ein Phasenkontrast zu erhalten. Die Verwendung einer großen numerischen Detektorapertur 319 ermöglicht es grundsätzlich, Bilder mit einer großen Auflösung zu erfassen.

FIG. 8 illustriert Aspekte der Beleuchtung des Probenobjekts 390. Dabei entspricht das Beispiel der FIG. 8 grundsätzlich dem Beispiel der FIG. 7. Insbesondere ist auch im Beispiel der FIG. 8 – wie schon voranstehend im Zusammenhang mit FIG. 7 erläutert – der Durchmesser 315 der Eintrittspupille, der mit der Detektorapertur 319
5 assoziiert ist, größer als der Durchmesser 305 der Austrittspupille, der mit der Beleuchtungsapertur 301 assoziiert ist. Dies soll schematisch illustrieren, dass die numerische Detektorapertur 319 größer sein kann, als die numerische Beleuchtungsapertur 301 (wobei bei dieser Betrachtung die Brennweiten der Beleuchtung und der Detektoroptik berücksichtigt werden, die in FIG. 8 aus Gründen
10 der Einfachheit nicht beschriftet sind).

Im Beispiel der FIG. 8 ist ein Absorptionsfilter 800 vorgesehen, der in der Abbildungsoptik 112 angeordnet ist und der eine ortsabhängige Absorptionsrate aufweist (die ortsabhängige Absorptionsrate ist in FIG. 8 durch die in X-Richtung
15 orientierten, nicht durchgezogenen Linien des Absorptionsfilters 800 illustriert).

Durch die Verwendung eines solchen Absorptionsfilters 800 mit einer Ortsabhängigkeit der Absorptionsrate kann erreicht werden, dass Licht, welches aufgrund des Phasenversatzes des Probenobjekts 390 im Bereich der Pupillenebene
20 der Abbildungsoptik 112 einen großen lateralen Abstand zur optischen Achse 309 aufweist, stärker absorbiert wird. Dadurch kann wiederum, durch Kombination der verschiedenen Bilder, die den unterschiedlichen Beleuchtungsgeometrien 701, 702 entsprechen, ein Ergebnisbild mit Phasenkontrast erzielt werden – obwohl eine große numerische Detektorapertur 319 verwendet wird.

25

Durch geeignete Dimensionierung der Ortsabhängigkeit der Absorptionsrate kann gleichermaßen erreicht werden, dass auch für weniger verschiedene Beleuchtungsgeometrien – zum Beispiel durch Verwendung von nah
30 beieinanderliegenden Leuchtdioden 121-1, 121-2 zur Implementierung der Beleuchtungsgeometrien – ein verstärkter Phasenkontrast erzielt wird.

Details im Zusammenhang mit der Ortsabhängigkeit der Absorptionsrate des Absorptionsfilter 800 sind nachfolgend im Zusammenhang mit den FIG. 9 und 10 beschrieben.

FIG. 9 und FIG. 10 illustrierten Aspekte im Zusammenhang mit dem Absorptionsfilter 800. Insbesondere illustrieren FIG. 9 und FIG. 10 die Ortsabhängigkeit der Absorptionsrate 810 des Absorptionsfilters.

5

In den Beispielen der FIG. 9 und FIG. 10 nimmt die Absorptionsrate 810 für größere Abstände zur optischen Achse 309 (d. h. in lateraler Richtung, in FIG. 5-8 in X-Richtung) größere Werte an. Dabei weist die Absorptionsrate 810 in der beispielhaften Implementierung der FIG. 9 einen stufenförmigen radialen Verlauf auf; und in der Implementierung der FIG. 10 einen graduellen radialen Verlauf.

10

Die Ortsabhängigkeit der Absorptionsrate 810 könnte rotationssymmetrisch in Bezug auf die optische Achse 390 in der lateralen Ebene (durch X-Achse und Y-Achse aufgespannt) ausgebildet sein. Es wäre aber auch eine nicht rotationssymmetrische Ausbildung möglich: In den Beispielen der FIG. 9 und FIG. 10 sind nämlich monotone Verläufe der Absorptionsrate 810 dargestellt. In manchen Beispielen kann die Absorptionsrate 810 auch lokal nicht-monoton ausgebildet sein (z.B. entlang der X-Achse oder entlang der Y-Achse), sofern das Integral über die Fläche monoton verbleibt. Hier soll gelten, dass das Integral des Lichts über die Fläche (in der XY-Ebene, senkrecht zur optischen Achse 309) der Beleuchtungsgeometrie für größere Abstände zur optischen Achse 309 monoton abnimmt.

15

20

Die Absorptionsrate 810 könnte als Funktion des Abstands zur optischen Achse 309 monoton zunehmen.

25

Durch eine solche Ausbildung der Ortsabhängigkeit der Absorptionsrate 810 kann der im Zusammenhang mit den FIG. 5-8 voranstehend beschriebene Effekt der stärkeren Abschwächung von Lichtstrahlen, die einen größeren lateralen Abstand zur optischen Achse 309 aufweisen, erzielt werden – und damit die Verstärkung des Phasenkontrasts im Ergebnisbild erreicht werden.

30

In den Beispielen der FIG. 9 und FIG. 10 ist außerdem noch ein innerer Bereich 801 angrenzend an die optische Achse 309 und ein äußerer Bereich 802, der den inneren Bereich 801 in lateraler Richtung versetzt umgibt, dargestellt. Die

Absorptionsrate 810 ist im äußeren Bereich 802 größer als im inneren Bereich 801. Dabei wurde in verschiedenen Tests beobachtet, dass ein vergleichsweise großer Unterschied zwischen der Absorptionsrate 810 im äußeren Bereich 802 und der Absorptionsrate 810 im inneren Bereich 801 erstrebenswert sein kann. Zum Beispiel

5 wäre es möglich, dass die Absorptionsrate 810 im inneren Bereich 801 nicht größer als 10 % ist, und die Absorptionsrate im äußeren Bereich >50 % ist. Dadurch kann erreicht werden, dass Licht, welches nahe der optischen Achse 309 durch die Abbildungsoptik 112 und insbesondere die Pupillenebene verläuft, nicht oder nicht

10 signifikant abgeschwächt wird, sodass die Bilder ein starkes Signal aufweisen. Andererseits kann durch die Dimensionierung der Absorptionsrate 810 im äußeren Bereich 802 von größer 0 %, zum Beispiel im Bereich von 10 % bis 50 %, erreicht werden, dass das Ergebnisbild einen Phasenkontrast aufweist, gleichzeitig, aber auch eine hohe Auflösung.

15 Beispielsweise könnte bei einer Dimensionierung der Absorptionsrate 810 im äußeren Bereich 802 im Bereich von 10% bis 20% auch eine Kombination mit Fluoreszenz-Bildgebung ermöglicht werden (wo typischerweise vergleichsweise geringe Lichtintensität vorliegt). Bei zu großen Absorptionsraten besteht eine Tendenz hin zu sinkenden Auflösungen.

20 In der Pupillenebene entsprechen Lichtstrahlen, die einen großen Abstand zur optischen Achse 309 aufweisen, hohen Ortsfrequenzen. Durch die begrenzte Dämpfung der hohen Ortsfrequenzen durch die wie oben stehend dimensionierte Absorptionsrate 810 wird die Gesamtqualität der verschiedenen erfassten Bilder

25 nicht oder nicht signifikant eingeschränkt.

In den FIG. 9 und 10 ist außerdem auch noch der Durchmesser 305 bzw. der Durchmesser 315 dargestellt. Dies ermöglicht, eine relative quantitative Dimensionierung der Ortsabhängigkeit der Absorptionsrate 810 anzugeben. Aus FIG.

30 9 und FIG. 10 ist beispielsweise ersichtlich, dass der innere Bereich 801 einen Durchmesser aufweist, der etwa gleich groß ist, wie der Durchmesser 305. Im Allgemeinen wäre es möglich, dass der innere Bereich 801 einen Durchmesser aufweist, der im Bereich von 80 % bis 120 % des Durchmessers 305 des Beleuchtungsmoduls 111 liegt, optional im Bereich von 80 % bis 100 %. Außerdem

ist im Zusammenhang mit den FIG. 9 und 10 auch ersichtlich, dass sowohl der innere Bereich 801, als auch der äußere Bereich 802 jeweils einen Durchmesser aufweisen, der kleiner ist als der Durchmesser 315.

- 5 Dadurch wird, wie obenstehend bereits beschrieben, ermöglicht, dass die numerische Beleuchtungsapertur 301 des Beleuchtungsmoduls 111 kleiner dimensioniert ist, als die numerische Detektorapertur 319 der Abbildungsoptik 112; gleichzeitig kann trotzdem ein Ergebnisbild mit Phasenkontrast erhalten werden.
- 10 Zusammenfassend wurden voranstehend Techniken beschrieben, die es ermöglichen, auch kleine Phaseninformation (beispielsweise Phasengradienteninformation) bei der Beleuchtung mittels winkelvariabler Beleuchtung zu übertragen. Dadurch kann ein Ergebnisbild mit besonders großem Phasenkontrast durch Kombination der Einzelbilder erhalten werden. In den
- 15 verschiedenen hierin beschriebenen Techniken wird dies dadurch erreicht, dass die Differenz zwischen zwei Bildern, die unterschiedlichen Beleuchtungsgeometrien entsprechen, bereits bei kleinen Ablenkungen durch einen Phasengradienten ungleich Null maximiert werden. Dies wird insbesondere durch die Abschwächung eines Lichtstrahls erreicht, der durch das Phasenobjekt von der optischen Achse
- 20 weggelenkt wird. Dazu wird ein Absorptionsfilter verwendet, der die Lichtintensität dieses Lichtstrahls reduziert. Der Absorptionsfilter kann z.B. ein Verlaufsfilter sein oder ein stufenartig ausgeführter Absorptionsfilter. Durch die Verwendung des Absorptionsfilters ergeben sich Differenzen ungleich 0 auch für einen kleinen Phasenversatz. Diese Differenzen sind (mindestens stückweise) proportional zum
- 25 Gradienten der Phase.

Selbstverständlich können die Merkmale der vorab beschriebenen Ausführungsformen und Aspekte der Erfindung miteinander kombiniert werden. Insbesondere können die Merkmale nicht nur in den beschriebenen Kombinationen,

30 sondern auch in anderen Kombinationen oder für sich genommen verwendet werden, ohne das Gebiet der Erfindung zu verlassen.

Beispielsweise wurden voranstehend Techniken beschrieben, in denen die erfassten (Roh-)Bilder kombiniert werden, um das Ergebnisbild zu erhalten. Dabei ist es im

Allgemeinen möglich, dass die erfassten Bilder nachbearbeitet werden, beispielsweise durch Anwendung von Filtern im Frequenzraum. Diese digitalen Filter können in Abhängigkeit vom verwendeten Absorptionsfilter ausgewählt werden. Dies beruht auf der Erkenntnis, dass bei schwachen Absorptionsraten des Filters die

5 niedrigen Ortsfrequenzen bzw. die kleinen Phasengradienten nur schwach übertragen werden. Es ist dann möglich, (digitale) Frequenzfilter zu verwenden, die den Frequenzbereich der ein oder mehreren Roh-bildes und/oder des Ergebnisbildes, der der Zone der Abschwächung entspricht, verstärkt. Z.B. kann der Bereich der Frequenzen mit einem Faktor multipliziert werden, während alle

10 Frequenzen außerhalb des Bereichs unverändert bleiben.

Es wären auch andere klassische Bildverarbeitungstechniken anwendbar.

PATENTANSPRÜCHE

1. System (90), das umfasst:
 - ein Mikroskop (100) mit einem Beleuchtungsmodul (111), einem
 - 5 Probenhalter (113), einem Detektor (114) und einer zwischen dem Probenhalter (113) und dem Detektor (114) angeordneten Abbildungsoptik (112),
 - mindestens eine Recheneinheit (115), die eingerichtet ist, um das Beleuchtungsmodul (111) anzusteuern, um ein Probenobjekt (390) auf dem Probenhalter (113) mit Licht aus mehreren Beleuchtungsrichtungen (700-703, 381,
 - 10 382) zu beleuchten, und um den Detektor (114) anzusteuern, um Bilder zu erfassen, die jeweils einer der mehreren Beleuchtungsrichtungen (700-703, 381, 382) entsprechen,
 - einen Absorptionsfilter (800), der in der Abbildungsoptik (112) angeordnet ist und der eine ortsabhängige Absorptionsrate (810) aufweist.
- 15 2. System (90) nach Anspruch 1, wobei die Absorptionsrate (810) für größere Abstände zu einer optischen Achse (309) des Mikroskops (100) größere Werte annimmt.
- 20 3. System (90) nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Absorptionsrate (810) einen radialen Verlauf aufweist, der graduell oder stufenförmig ist.
4. System (90) nach einem der voranstehenden Ansprüche,
- 25 wobei der Absorptionsfilter (800) einen inneren Bereich (801) aufweist, der eine erste Absorptionsrate (810) aufweist, wobei der Absorptionsfilter (800) einen den inneren Bereich umgebenden äußeren Bereich (802) aufweist, der eine zweite Absorptionsrate (810) aufweist, wobei die zweite Absorptionsrate (810) größer ist, als die erste
- 30 Absorptionsrate (810).
5. System (90) nach Anspruch 4, wobei die Absorptionsrate (810) des inneren Bereichs (801) nicht größer als 10 % ist, und/oder

wobei die Absorptionsrate (810) des äußeren Bereichs (802) größer als 50 % ist.

6. System (90) nach Anspruch 4 oder 5,

5 wobei der innere Bereich (801) einen Durchmesser aufweist, der im Bereich von 80 % bis 120 % eines Durchmessers (305) einer Austrittspupille liegt, wobei die Austrittspupille mit einer Beleuchtungsapertur (301) des Beleuchtungsmoduls (111) assoziiert ist.

10 7. System (90) nach einem der Ansprüche 4 bis 6,

wobei der innere Bereich (801) und der äußere Bereich (802) jeweils einen Durchmesser aufweisen, der kleiner ist als ein Durchmesser (315) einer Eintrittspupille, die mit einer Detektorapertur (319) der Abbildungsoptik (112) assoziiert ist.

15 8. System (90) nach einem der voranstehenden Ansprüche,

wobei eine numerische Beleuchtungsapertur (301) des Beleuchtungsmoduls (111) kleiner ist als eine numerische Detektorapertur (319) der Abbildungsoptik (112).

20 9. System (90) nach einem der voranstehenden Ansprüche,

wobei der Absorptionsfilter (800) in einer Pupillenebene der Abbildungsoptik (112) angeordnet ist.

25 10. System (90) nach einem der voranstehenden Ansprüche,

wobei die mindestens eine Recheneinheit (115) weiterhin eingerichtet ist, um die Bilder zum Erhalten eines Ergebnisbilds miteinander zu kombinieren, wobei das Ergebnisbild einen Phasenkontrast aufweist.

30 11. Verfahren, das umfasst:

- Ansteuern eines Beleuchtungsmoduls (111) eines Mikroskops (100), um ein Probenobjekt (390) auf einem Probenhalter (113) des Mikroskops (100) mit Licht aus mehreren Beleuchtungsrichtungen (700-703, 381, 382) zu beleuchten,

- Ansteuern eines Detektors (114) des Mikroskops (100), um Bilder zu erfassen, die jeweils einer der mehreren Beleuchtungsrichtungen (700-703, 381, 382) entsprechen,

5 wobei ein Absorptionsfilter (800) mit einer ortsabhängigen Absorptionsrate (810) in einer Abbildungsoptik (112) des Mikroskops angeordnet ist.

12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei das Verfahren von der Recheneinheit (115) des Systems (90) nach einem der Ansprüche 1 bis 10 ausgeführt wird.

FIG. 1

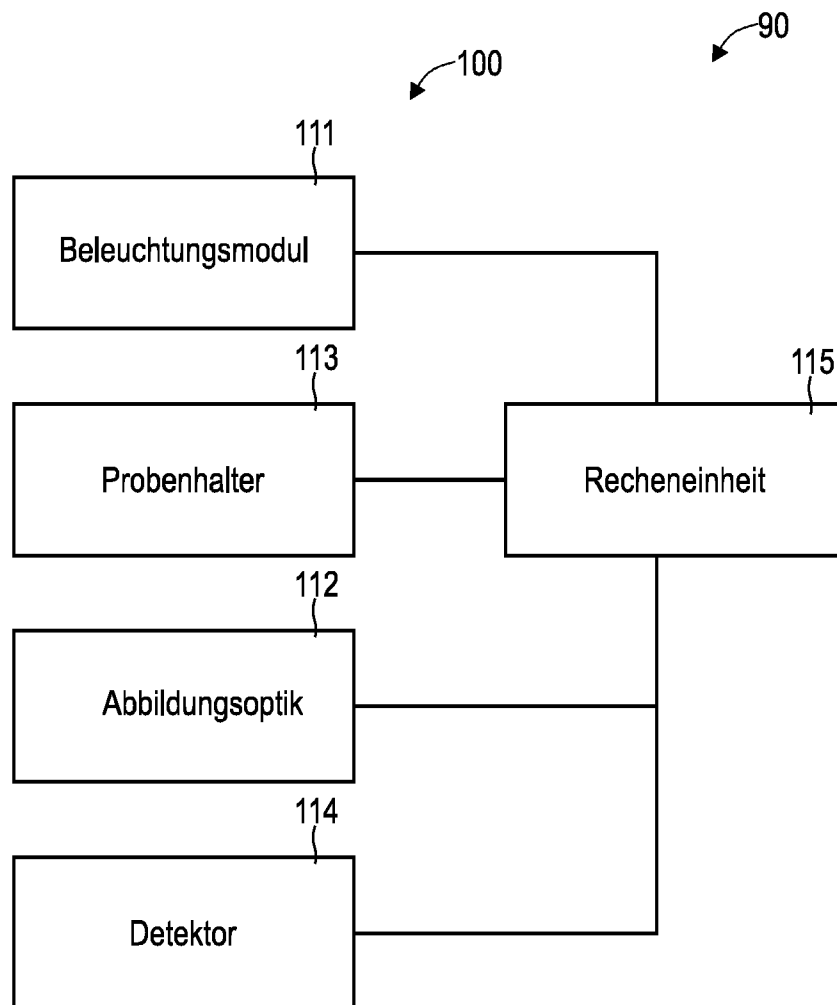
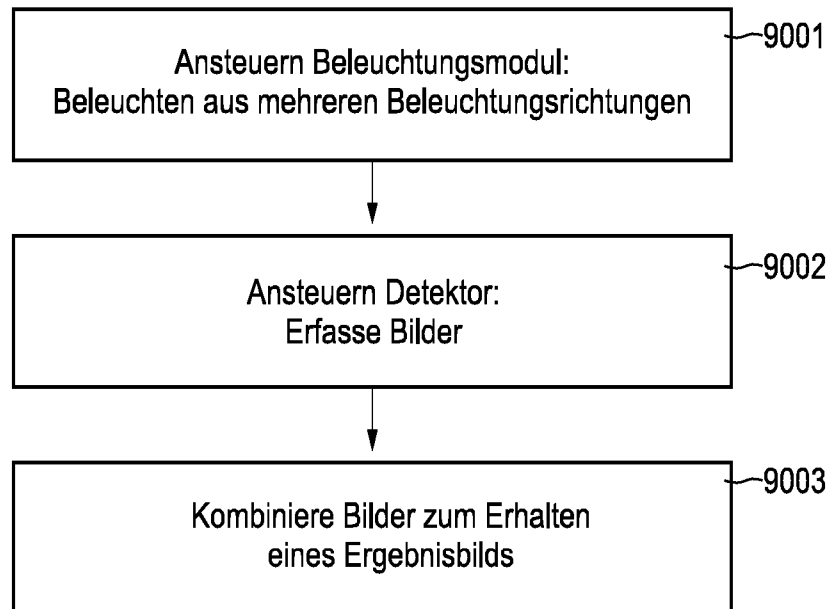


FIG. 2

3/5

FIG. 3

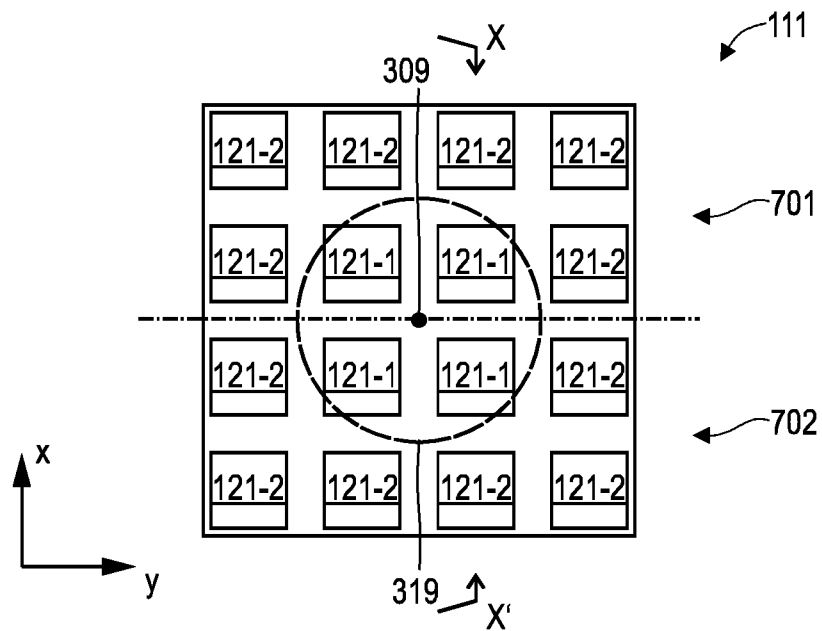


FIG. 4

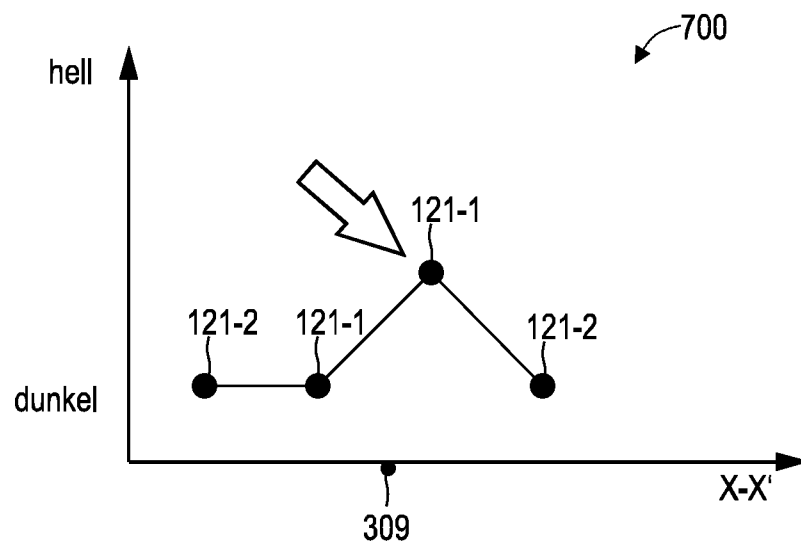


FIG. 5

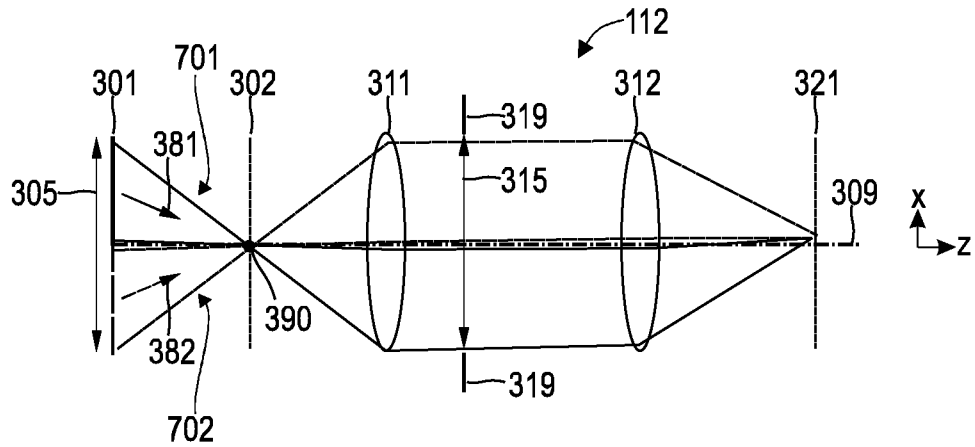


FIG. 6

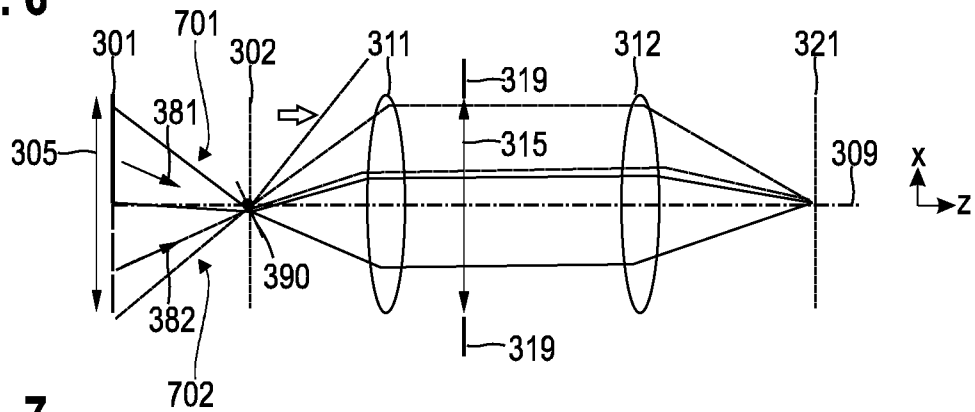


FIG. 7

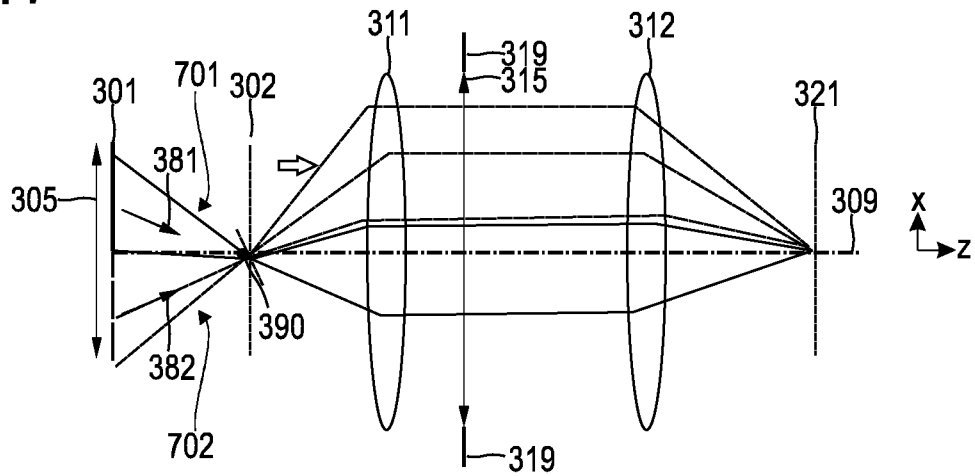


FIG. 8

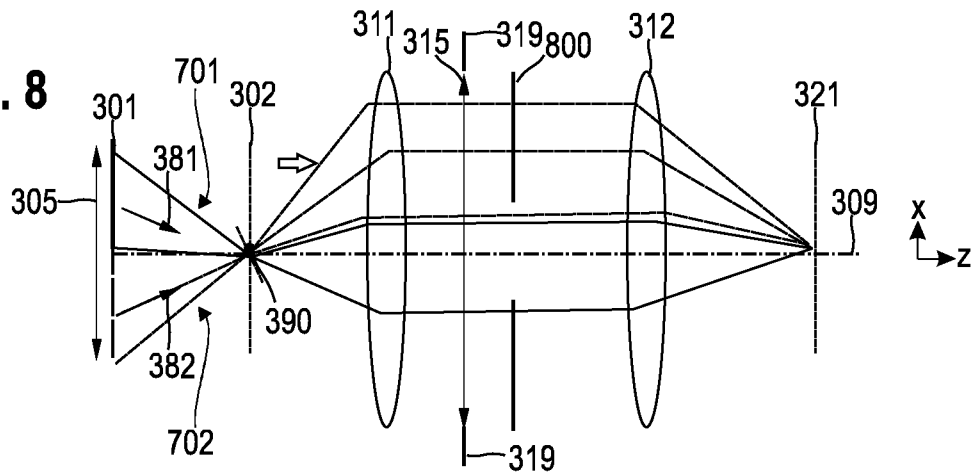


FIG. 9

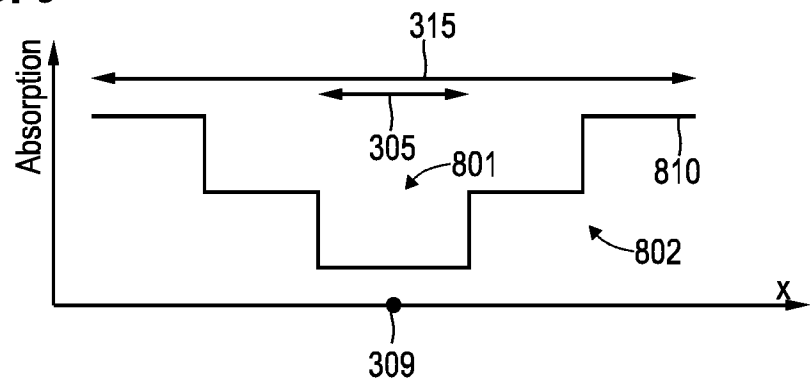
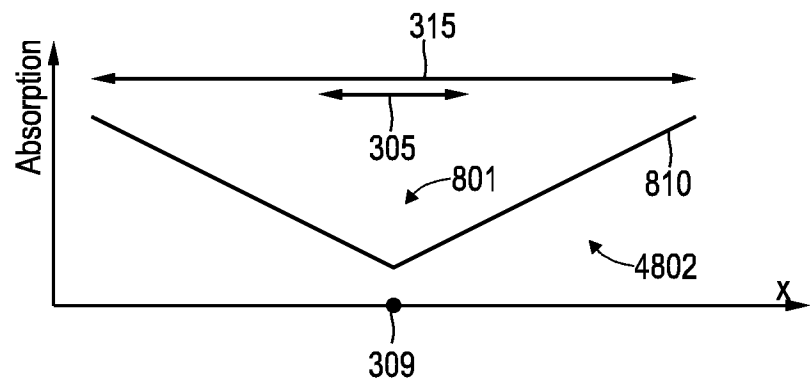


FIG. 10



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2020/050307

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**G02B 21/14**(2006.01)i; **G02B 21/36**(2006.01)i

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

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.
X	DE 102014102215 A1 (ZEISS CARL MICROSCOPY GMBH [DE]) 20 August 2015 (2015-08-20) figures 2,4-6 paragraph [0034]	1-9,11,12
X	US 5751475 A (ISHIWATA HIROSHI [JP] ET AL) 12 May 1998 (1998-05-12) the whole document	1,10-12
X	Lei Tian ET AL. "Multiplexed coded illumination for Fourier Ptychography with an LED array microscope" <i>Biomedical optics express</i> , United States, 01 July 2014 (2014-07-01), pages 2376-3989, Retrieved from the Internet: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4102371/pdf/2376.pdf DOI: 10.1364/BOE.5.002376 XP055431308 the whole document	1-5,10-12
X	US 2015331228 A1 (HORSTMAYER ROARKE W [US] ET AL) 19 November 2015 (2015-11-19) paragraph [0038]; figure 3	1,11

☒ 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

16 April 2020

Date of mailing of the international search report

24 April 2020

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

Windecker, Robert

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2020/050307

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 102016108079 A1 (ZEISS CARL MICROSCOPY GMBH [DE]) 02 November 2017 (2017-11-02) the whole document	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/EP2020/050307

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
DE	102014102215	A1	20 August 2015	DE	102014102215	A1	20 August 2015
				EP	3108281	A1	28 December 2016
				EP	3489735	A1	29 May 2019
				JP	6553631	B2	31 July 2019
				JP	2017507361	A	16 March 2017
				US	2017068080	A1	09 March 2017
				WO	2015124648	A1	27 August 2015
US	5751475	A	12 May 1998	NONE			
US	2015331228	A1	19 November 2015	US	2015331228	A1	19 November 2015
				US	2019056578	A1	21 February 2019
DE	102016108079	A1	02 November 2017	CN	109416464	A	01 March 2019
				DE	102016108079	A1	02 November 2017
				EP	3452858	A2	13 March 2019
				JP	2019515348	A	06 June 2019
				US	2019155012	A1	23 May 2019
				WO	2017191011	A2	09 November 2017

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 INV. G02B21/14 G02B21/36
 ADD.

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 G02B

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.
X	DE 10 2014 102215 A1 (ZEISS CARL MICROSCOPY GMBH [DE]) 20. August 2015 (2015-08-20) Abbildungen 2,4-6 Absatz [0034]	1-9,11, 12
X	US 5 751 475 A (ISHIWATA HIROSHI [JP] ET AL) 12. Mai 1998 (1998-05-12) das ganze Dokument ----- -/-	1,10-12



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

16. April 2020

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

24/04/2020

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

Windecker, Robert

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	Lei Tian ET AL: "Multiplexed coded illumination for Fourier Ptychography with an LED array microscope", Biomedical optics express, 1. Juli 2014 (2014-07-01), Seiten 2376-3989, XP055431308, United States DOI: 10.1364/BOE.5.002376 Gefunden im Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4102371/pdf/2376.pdf das ganze Dokument -----	1-5, 10-12
X	US 2015/331228 A1 (HORSTMAYER ROARKE W [US] ET AL) 19. November 2015 (2015-11-19) Absatz [0038]; Abbildung 3 -----	1,11
X	DE 10 2016 108079 A1 (ZEISS CARL MICROSCOPY GMBH [DE]) 2. November 2017 (2017-11-02) das ganze Dokument -----	1-12

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2020/050307

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 102014102215 A1	20-08-2015	DE 102014102215 A1	20-08-2015
		EP 3108281 A1	28-12-2016
		EP 3489735 A1	29-05-2019
		JP 6553631 B2	31-07-2019
		JP 2017507361 A	16-03-2017
		US 2017068080 A1	09-03-2017
		WO 2015124648 A1	27-08-2015

US 5751475 A	12-05-1998	KEINE	

US 2015331228 A1	19-11-2015	US 2015331228 A1	19-11-2015
		US 2019056578 A1	21-02-2019

DE 102016108079 A1	02-11-2017	CN 109416464 A	01-03-2019
		DE 102016108079 A1	02-11-2017
		EP 3452858 A2	13-03-2019
		JP 2019515348 A	06-06-2019
		US 2019155012 A1	23-05-2019
		WO 2017191011 A2	09-11-2017
