

UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

22284

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

G02B 21/18 (2006.01)

G03H 1/24 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2011 - 23883**

(22) Přihlášeno: **02.02.2011**

(47) Zapsáno: **26.05.2011**

(73) Majitel:

Vysoké učení technické v Brně, Brno, CZ

(72) Původce:

Chmelík Radim Doc. RNDr. Ph.D., Brno, CZ

Kolman Pavel Ing., Dačice, CZ

Slabý Tomáš Ing., Písek, CZ

(74) Zástupce:

INPROCHES Patentová a známková kancelář, Mgr. Alžběta Jurtíková, Mezírka 1,
Brno, 60200

(54) Název užitého vzoru:

Multifunkční holografický mikroskop

CZ 22284 U1

Multifunkční holografický mikroskop

Oblast techniky

Technické řešení se týká multifunkčního holografického mikroskopu, který využívá pro zobrazení předmětů principů holografického záznamu a rekonstrukce a zároveň umožňuje v jednom zařízení implementaci dalších pozorovacích technik.

Dosavadní stav techniky

Zařízení využívající interference světla s oddělenou předmětovou a referenční větví lze rozdělit do dvou skupin, na interferometrické systémy a holografické systémy. U interferometrických systémů svazky interferují pod nulovým nebo téměř nulovým úhlem, takže hustota interferenčních proužků v interferogramu nesplňuje holografickou podmínku. Příkladem je komerčně známý Mirauův objektiv, publikovaný v Yamaguchi, I., Zhang, T. 1997. „Phase-shifting digital holography“. *Opt. Lett.* Vol. 22, No. 16. Výhodou těchto interferometrických systémů je možnost použít zcela nekoherentního osvětlení (žárovka, výbojka), které odstraňuje koherenční zrnitost a umožňuje docílit efektu hloubkové diskriminace zobrazení, tj. vytvoření optických řezů vzorkem. Jelikož automatizované měření OPD (Optical Path Difference) vyžaduje získání úplné informace o předmětové vlně, je nutno zaznamenat alespoň tři snímky s různým fázovým posuvem. Proto tyto interferometry obsahují fázový kompenzátor (v různých podobách) a jsou označovány jako interferometry s řízenou fází (phase-shifting). Časový interval nutný k zaznamenání tří snímků vylučuje možnost zobrazovat rychlé děje. Také proudění v okolním prostředí a vibrace zařízení negativně ovlivňují výsledné zobrazení, protože každý ze tří snímků je zaznamenán za jiných podmínek.

Holografické systémy jsou systémy s prostorovou nosnou frekvencí, které využívají interference svazků pod nenulovým úhlem (off-axis holografie). Vznikající interferogramy splňují holografickou podmínku a výsledné zobrazení lze numericky rekonstruovat z jediného digitálního záznamu (hologramu). Výhodou těchto holografických systémů je získání úplné informace o předmětové vlně z jediného snímku (off-axis holografie), jsou tudíž vhodné pro pozorování dynamických procesů. Aby interference nastala v celém obrazovém poli, je nutno použít koherentní, nebo částečně (prostorově) nekoherentní osvětlení. Technická řešení holografických mikroskopů, které využívají koherentního nebo částečně (prostorově) nekoherentního osvětlení jsou známa například z: Cuche E., Bevilacqua F., Depeursinge Ch. 1999. Digital holography for quantitative phase-contrast imaging. *Optics Letters*, Vol. 24, No. 5; Marquet P., Rappaz B., Magistretti P.J. 2005. Digital holographic microscopy: a noninvasive contrast imaging technique allowing quantitative visualization of living cells with subwavelength axial accuracy. *Optics Letters*. Vol. 30, No. 5; Kemper B., Langehanenberg P., Bally von G. 2007. Digital holographic microscopy. A new method for surface analysis and marker-free dynamic life cell imaging. *Optik & photonik*, No. 2; Leith E.N., Chien W.-Ch. Mills K.D., Athey B.D. Dilworth D.S. 2003. Optical sectioning by holographic coherence imaging: a generalized analysis. *J. Opt. Soc. Am. A*, Vol. 20, No., WO 2008092107; US 2008137933; EP 1852890 nebo jako komerčně nabízené digitální holografické mikroskopy firmy Lyncée-Tec (www.lynceetec.com).

Nevýhodou těchto holografických systémů je nutnost použití téměř koherentního osvětlení, která vede k určitému stupni koherenčního zašumění obrazu, kompromisům v oblasti volby zdroje světla a nemožnosti pozorovat vzorky vnořené v rozptýlujícím prostředí, případně vzorky objemového charakteru. Z CZ 19118 U je znám holografický mikroskop, který popisuje optické uspořádání, které odstraňuje nevýhody výše uvedených mikroskopů a interferenčních systémů a umožňuje pozorování živých buněk v roztoku v reálném čase. Technické řešení popsané v CZ 19118 U však neumožňuje kombinaci holografického mikroskopu s dalšími pozorovacími technikami v jednom zařízení.

Podstata technického řešení

Výše uvedené nevýhody odstraňuje interferometrický systém, využívající pro zobrazení předmětů principů holografického záznamu a rekonstrukce.

Podstatou technického řešení je multifunkční holografický mikroskop, který je tvořen optickou sestavou dvousvazkového interferometru osazeného dvěma opticky shodnými mikroskopovými soustavami, kde děličem svazku je dopadající světlo rozděleno do dvou svazků (referenčního a předmětového) procházejících dvěma pozorovacími optickými soustavami a oba svazky interferometru jsou sjednoceny na společnou osu pomocí soustavy zrcadel. Každá z pozorovacích optických soustav je tvořena jedním mikroskopovým objektivem korigovaným na nekonečnou vzdálenost a jednou tubusovou čočkou, přičemž mezi výstupní rovinou a pozorovacími optickými soustavami jsou v referenčním svazku interferometru umístěny dvě difrakční mřížky DM1 a DM2 a v předmětovém svazku interferometru umístěny dvě difrakční mřížky DM3 a DM4. Difrakční mřížky DM1 a DM3 jsou umístěny ve vzdálenost d od výstupní roviny a difrakční mřížky DM2, DM4 jsou umístěny ve vzdálenosti $d/2$ od výstupní roviny. Prostorová frekvence vrypů difrakčních mřížek DM1 a DM3 je rovna f a prostorová frekvence vrypů difrakčních mřížek DM2 a DM4 je rovna $2f$.

Při průchodu světla mřížkami dochází k disperzi dle vztahu $\sin(\alpha) - \sin(\beta) = \lambda f_G$, kde λ je vlnová délka světla, f_G je prostorová frekvence vrypů difrakční mřížky, β je úhel dopadu světelného paprsku na difrakční mřížku a α je úhel paprsku odchýleného mřížkou. Využitím +1. difrakčního řádu mřížek DM1 a DM2 referenčního svazku a -1. difrakčního řádu mřížek DM3 a DM4 předmětového svazku dojde k dopadu paprsků do výstupní roviny pod takovým úhlem α , že ve výstupní rovině vznikají interferenční proužky stejné frekvence pro všechny vlnové délky λ . Obrazové roviny mikroskopových sestav jsou tak sdruženy a v jejich společné rovině vzniká interferencí obou svazků hologram pozorovaného předmětu. Tato rovina je sdružena pomocí výstupního objektivu s rovinou digitální kamery, na kterou je hologram zaznamenán. Primárním zobrazením je digitální holografický záznam části pozorovaného předmětu, z nějž lze numericky zrekonstruovat intenzitu i fázi předmětové vlny. Je možný paralelní holografický záznam obrazu v mnoha barvách v jediném okamžiku. V některých případech lze tímto způsobem překonat destruktivní interferenci světla ve vzorku na některé vlnové délce a zachovat tím fázovou informaci z tohoto pozorovaného místa. Konstrukce interferometru je achromatická a systém lze tedy použít i ve zcela nekoherentním osvětlení (v bílém světle plošného zdroje), což umožňuje zobrazení předmětů vnořených v rozptýlujícím prostředí.

Skupina výměnných aperturních clon slouží k nastavení míry prostorové koherence zdroje. Soustava výměnných barevných filtrů slouží k nastavení míry časové koherence zdroje. Zrcadla Z4 a Z6 lze natáčet ve dvou navzájem kolmých směrech. Tento pohyb slouží k justáži interferometru, konkrétně k nastavení úhlů, pod kterými dopadá světlo do výstupní roviny a také pro seřízení optické dráhy obou svazků interferometru.

Holografický mikroskop podle technického řešení může být také osazený mikroskopovými objektivy korigovanými na konečnou vzdálenost. Výhodou předkládaného technického řešení je však to, že každá z pozorovacích optických soustav O1 a O2 je tvořena vždy jedním mikroskopovým objektivem korigovaným na nekonečnou vzdálenost a jednou tubusovou čočkou. V případě využití objektivů korigovaných na nekonečnou vzdálenost vznikne mezi objektivem a tubusovou čočkou prostor, který lze využít pro implementaci pozorovacích technik jako je např. epifluorescence, fázový kontrast atd. Tímto způsobem zařízení umožňuje kombinovat techniky holografické mikroskopie s jinými v mikroskopii běžnými pozorovacími technikami.

Objasnění výkresu

Obrázek 1: Schéma optické soustavy multifunkčního holografického mikroskopu.

Technické řešení je dále vysvětleno pomocí příkladu provedení, který však není omezující v rozsahu nároků na ochranu.

Příkladné uskutečnění technického řešení

Příklad 1

- 5 Multifunkční holografický mikroskop je tvořen dvousvazkovým interferometrem se dvěma pozorovacími optickými soustavami O1 a O2 a kondenzory K1 a K2. Každá ze soustav O1 a O2 je tvořena vždy jedním mikroskopovým objektivem korigovaným na nekonečnou vzdálenost a jednou tubusovou čočkou.

- 10 Optická soustava multifunkčního holografického mikroskopu (obrázek 1) je tvořena plošným zdrojem Z světla, který může být současně prostorově i časově nekoherentní, dále skupinou výměnných aperturních clon A, soustavou výměnných barevných filtrů F, kolektorovou čočkou KČ, děličem svazku DS, soustavou zrcadel Z1, Z2, Z3 a kondenzory K1, K2. Osvětlovací svazek je přiveden na dělič svazku DS, který přichází světlo rozděljuje do dvou svazků - předmětového a referenčního. Vzhledem k použití nekoherentního světla jsou svazky interferometru navrženy jako opticky ekvivalentní. Kolektorová čočka KČ přenáší rovinu zdroje Z do zadních ohniskových rovin kondenzorů K1, K2, čímž je zajištěno tzv. Köhlerovo osvětlení referenčního objektu R a pozorovaného objektu P.

- 20 Roviny referenčního a pozorovaného objektu jsou pozorovány optickými soustavami O1 a O2, které mohou být s výhodou kombinovány s dalšími pozorovacími technikami jako je například epi-fluorescence a fázový kontrast. Oba svazky interferometru jsou pomocí soustav zrcadel Z4, Z5 a Z6, Z7 sjednoceny na společnou osu. Obrazové roviny objektivů se tak překrývají ve společné výstupní rovině VR interferometru. Mezi výstupní rovinou VR a objektivy jsou v každém svazku interferometru umístěny dvě difrakční mřížky DM1, DM2 a DM3, DM4. Ve vzdálenosti d od výstupní roviny VR jsou umístěny mřížky s prostorovou frekvencí vrypů f - DM1 a DM3.
25 Ve vzdálenosti $d/2$ od výstupní roviny VR jsou umístěny mřížky DM2 a DM4 s prostorovou frekvencí vrypů $2f$. Při průchodu světla mřížkami dochází k disperzi dle vztahu $\sin(\alpha) - \sin(\beta) = \lambda f_G$, kde λ je vlnová délka světla, f_G je prostorová frekvence vrypů difrakční mřížky, β je úhel dopadu světelného paprsku na difrakční mřížku a α je úhel paprsku odchýleného mřížkou. Využitím +1. difrakčního řádu mřížek DM1 a DM2 referenčního svazku a -1. difrakčního řádu mřížek DM3 a DM4 předmětového svazku dochází k dopadu paprsků do výstupní roviny VR pod takovým úhlem α , že ve výstupní rovině vznikají interferenční proužky stejné frekvence pro všechny vlnové délky λ . V předmětových rovinách mikroskopových objektivů je umístěný referenční objekt R a pozorovaný objekt P. Ve výstupní rovině VR vzniká nekoherentní obrazový hologram pozorovaného objektu. Tento hologram je pomocí výstupního objektivu VO zvětšen do roviny čipu digitální kamery DK. Snímek hologramu je tak digitálně zaznamenán a dále numericky zpracováván.

Průmyslová využitelnost

- Interferometrický systém multifunkčního holografického mikroskopu je vhodný pro *in vitro* pozorování živých buněk, případně vnořených v suspenzi a jejich reakci na vnější podněty. Základními aplikačními oblastmi multifunkčního holografického mikroskopu jsou, při použití mikroskopových soustav jako zobrazovacích systémů, biologie, medicína, mikro- (a nano-) technologie. Interferometrický systém potom umožňuje pozorování fixovaných i živých buněk a mikroorganismů a jejich reakci na vnější podněty. Buňky jsou zviditelněny fázovým zobrazením a není tedy třeba využívat barvení buněk umělými barvivy, která jsou toxická a potlačují přirozené buněčné reakce. Velkou aplikační oblastí je zkoumání cytokinematiky a metastatického potenciálu rakovinných buněk. Otevírá se možnost pozorovat živé buňky v suspenzi (rozptylujícím prostředím). Multifunkčnost zařízení umožňuje kombinovat techniky holografické mikroskopie s dalšími v mikroskopii běžně používanými technikami.

N Á R O K Y N A O C H R A N U

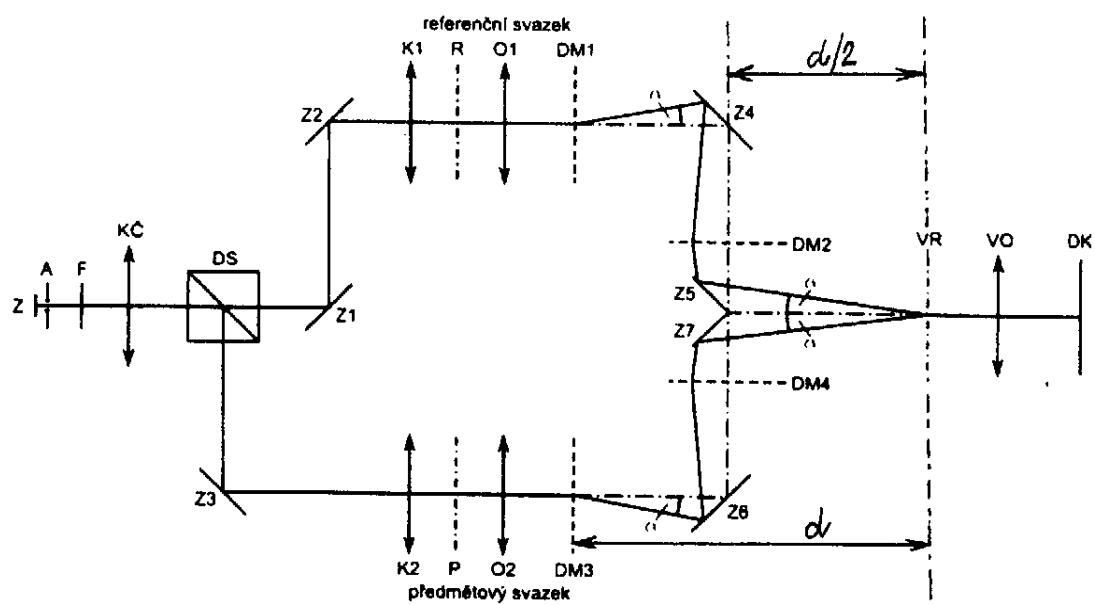
1. Multifunkční holografický mikroskop tvořený optickou sestavou dvousvazkového interferometru osazeného dvěma opticky shodnými mikroskopovými soustavami, kde děličem svazku (DS) je dopadající světlo rozděleno do referenčního a předmětového svazku procházejícího pozorovacími optickými soustavami (O1), (O2) a oba svazky interferometru jsou sjednoceny na společnou osu pomocí zrcadel (Z4), (Z5), (Z6) a (Z7), **vyznačující se tím**, že každá z pozorovacích optických soustav (O1) a (O2) je tvořena vždy jedním mikroskopovým objektivem korigovaným na nekonečnou vzdálenost a jednou tubusovou čočkou, přičemž mezi výstupní rovinou (VR) a pozorovacími optickými soustavami (O1), (O2) jsou v referenčním svazku interferometru umístěny dvě difrakční mřížky (DM1) a (DM2) a v předmětovém svazku interferometru jsou umístěny dvě difrakční mřížky (DM3) a (DM4), kde difrakční mřížky (DM1) a (DM3) leží ve vzdálenosti (d) od výstupní roviny (VR) a difrakční mřížky (DM2, DM4) leží ve vzdálenosti ($d/2$) od výstupní roviny (VR) a kde prostorová frekvence vrypů difrakčních mřížek (DM1) a (DM3) je rovna f a prostorová frekvence vrypů difrakčních mřížek (DM2) a (DM4) je rovna $2f$.
2. Multifunkční holografický mikroskop podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že každá z pozorovacích optických soustav (O1) a (O2) je tvořena mikroskopovým objektivem korigovaným na konečnou vzdálenost.

1 výkres

20

Seznam vztahových značek:

- Z - plošný zdroj světla
- A - aperturní clony
- F - barevné filtry
- 25 KČ - kolektorová čočka
- DS - dělič světla
- Z1, Z2, Z3, Z4, Z5, Z6, Z7 - zrcadla
- K1, K2 - kondenzory
- R - referenční objekt
- 30 P - předmětný objekt
- O1, O2 - pozorovací optické soustavy
- DM1, DM2, DM3, DM4 - difrakční mřížky
- VR - výstupní rovina
- VO - výstupní objektiv
- 35 DK - digitální kamera
- d - vzdálenost mezi výstupní rovinou a DM1 a DM3
- $d/2$ - vzdálenost mezi výstupní rovinou a DM2 a DM4.



Obr. 1

Konec dokumentu
