

Lichtmodulatorbasierte Multifunktionsmikroskopie

Malte Hasler, Michael Warber, Tobias Haist, Wolfgang Osten

Institut für technische Optik, Universität Stuttgart

<mailto:hasler@ito.uni-stuttgart.de>

Durch die Anwendung von räumlichen Lichtmodulatoren (SLM) in der Mikroskopie wird es möglich, gängige lichtmikroskopische Verfahren wie z.B. die Phasenkontrastmikroskopie oder die Stereomikroskopie bewegungsfrei zu implementieren. Gleichzeitig wird eine Flexibilität gewonnen, welche die Eliminierung von Bildfehlerquellen vereinfacht. Es wird ein Aufbau vorgestellt der einen räumlichen Lichtmodulator sowohl in der Abbildungs- als auch in der Beleuchtungspupille nutzt.

1 Einleitung

Die Anwendung von räumlichen Lichtmodulatoren (SLM) in der Mikroskopie ermöglicht eine Reihe von neuen Vorgehensweisen. Durch Verwendung von computergenerierten Hologrammen (CGH) wird es z.B. möglich, gängige Verfahren wie die Phasenkontrastmikroskopie oder die Stereomikroskopie softwarebasiert zu implementieren und somit Flexibilität zu gewinnen und Fehlerquellen auszuschalten. Um diese Möglichkeiten optimal zu nutzen wird ein optisches System vorgestellt, bei dem Abbildungs- und Beleuchtungspupille frei programmierbar sind.

2 Aufbau

Die zentrale Idee eines SLM-basierten Mikroskops [1, 2, 3] liegt darin, den SLM in der Abbildungs-, oder Beleuchtungspupille des Mikroskops zu platzieren. Hierzu werden die entsprechenden Pupillenebenen unter Zuhilfenahme von Teleskopen abgebildet, und gegebenenfalls vergrößert bzw. verkleinert.

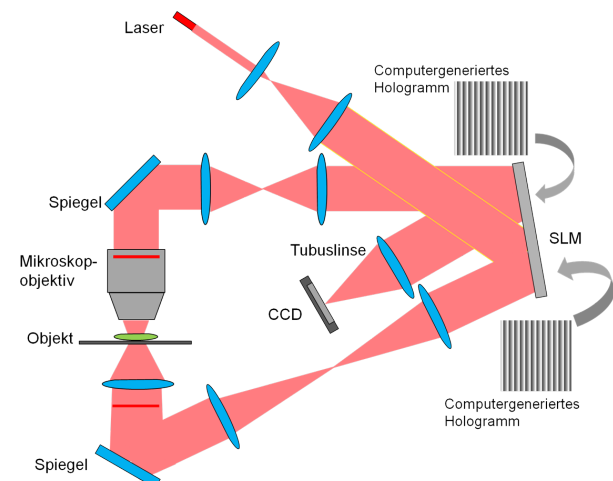


Abbildung 1 Der schematische Aufbau für ein Durchlichtmikroskop mit manipulierbarer Beleuchtungs- und Abbildungspupille

Aus Kostengründen wurden für Beleuchtung und

Abbildung die zwei Hälften eines einzelnen SLMs (Holoeye Pluto mit 1920x1080 Pixeln) genutzt. Ein kompletter Strahlengang mit Manipulationsmöglichkeiten in Abbildungs- und Beleuchtungspupille ist in Abbildung 1 dargestellt.

Zur Beleuchtung wird ein frequenzverdoppelter Nd:YAG Laser ($\lambda = 532\text{nm}$, 50mW) verwendet. Die Abbildung erfolgt mittels eines Olympus UM-PlanFI ($NA = 0,8$, 50x) Objektivs und passender Tubuslinse. Zur Aufnahme wird eine eco204 CCD-Kamera (1/3" Bilddiagonale, 1024x768 Pixel) verwendet. Ausserdem wurde der Aufbau um zwei LED-basierte Beleuchtungen in Auf- bzw. Durchlicht ergänzt, die ohne SLM arbeiten (Osram Diamond Dragon LEDs $\lambda = 532\text{nm}, 632\text{nm}$). Die spektrale Aufspaltung wurde eingeführt, um am unteren Einkoppelpunkt dichroitische Spiegel verwenden zu können und somit Lichtverlust zu minimieren.

Aufgrund der Beugungsordnungen die von der Pixelierung des SLMs herrühren, kann das System nicht in einer Ebene aufgebaut werden.

3 Ergebnisse

Die ersten Ergebnisse wurden mittels Durchlichtmikroskopie unter einer LED-Beleuchtung erstellt. In Abbildung 2 sieht man Bilder von Kieselalgen. Hieraus kann man im Vergleich mit den

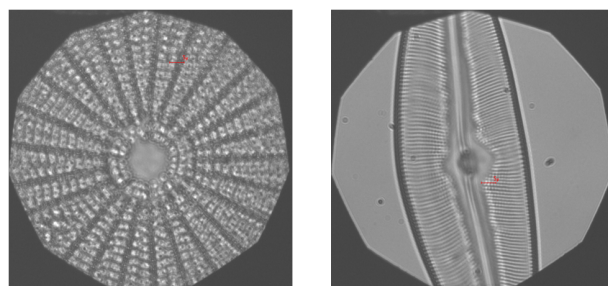


Abbildung 2 Aufnahmen von Kieselalgen jeweils mit kleinem Größenmaßstab ($5\mu\text{m}$)

kleinsten aufgelösten Strukturen eine laterale Auflösung von ungefähr $0,5\mu\text{m}$ abschätzen. Die Umsetzung der verschiedenen Phasenkontrast-

verfahren war gleichermaßen erfolgreich wobei wir uns hier auf einige ausgewählte Beispielbilder beschränken (Abb. 3). Neben klassischen Verfahren wurden auch neue Methoden untersucht. Ein Beispiel ist das in Abb. 4 dargestellte V-DIC Verfahren, bei dem ein axialer Shear zur Bildgebung verwendet wird [4].

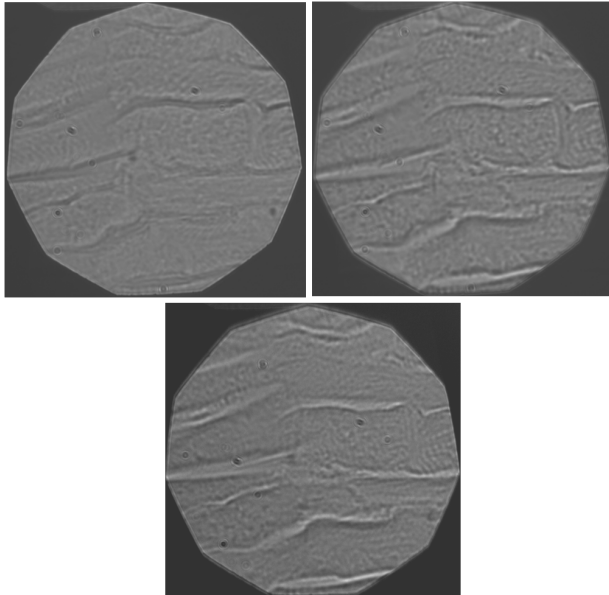


Abbildung 3 Im Vergleich eine Aufnahme in herkömmlichem Durchlicht(l) mit Zernike Phasenkontrast(r) und einem modifizierten DIC Verfahren(u)

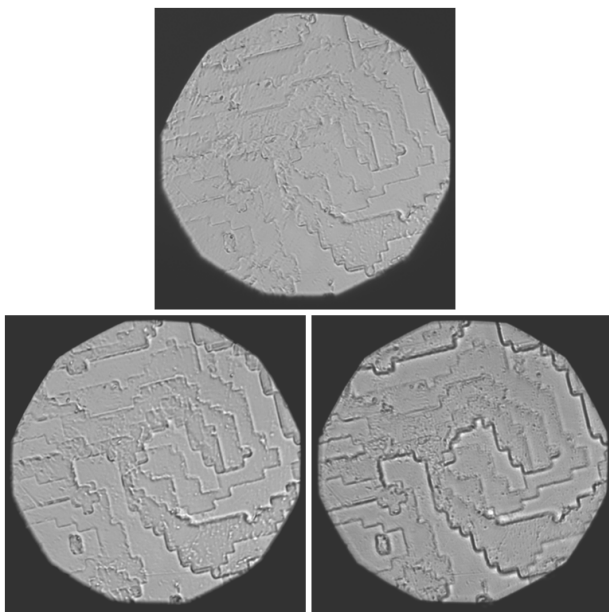


Abbildung 4 Im Vergleich eine Aufnahme in herkömmlichem Durchlicht(o) und zwei Aufnahmen im V-DIC ohne(l) und mit Phasenschiebungsterm(r).

Zukünftig sollen durch das System weitere Bildgebungsverfahren softwarebasiert implementiert werden. Insbesondere sind Verfahren zur strukturierten Beleuchtung, zur konfokalen Mikroskopie sowie zur Stereomikroskopie geplant.

Wir danken der deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung.

Literatur

- [1] M. Warber, S. Zwick, M. Hasler, T. Haist, and W. Osten, "SLM-based phase-contrast filtering for single and multiple image acquisition," in *Proceedings of SPIE*, vol. 7442, pp. 74,420E–74,420E–12 (SPIE, 2009).
- [2] T. J. McIntyre, C. Maurer, S. Fassel, S. Khan, S. Bernet, and M. Ritsch-Marte, "Quantitative SLM-based Differential Interference Contrast imaging." *Optics Express* **18**(13), 14,063–78 (2010). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20588538>.
- [3] C. Maurer, A. Jesacher, S. Bernet, and M. Ritsch-Marte, "Phase contrast microscopy with full numerical aperture illumination." *Optics express* **16**(24), 19,821–9 (2008). URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19030068>.
- [4] M. Warber, M. Hasler, T. Haist, and W. Osten, "Vertical Differential Interference Contrast using SLMs," *Proc. SPIE 2011* () **8086**, 80,861E (2011).