



(10) **DE 10 2013 205 115 A1** 2014.09.25

(12) **Offenlegungsschrift**

(21) Aktenzeichen: **10 2013 205 115.8**

(22) Anmeldetag: **22.03.2013**

(43) Offenlegungstag: **25.09.2014**

(51) Int Cl.: **G02B 21/00** (2006.01)
G02B 21/06 (2006.01)

(71) Anmelder:
**Leica Microsystems CMS GmbH, 35578 Wetzlar,
DE**

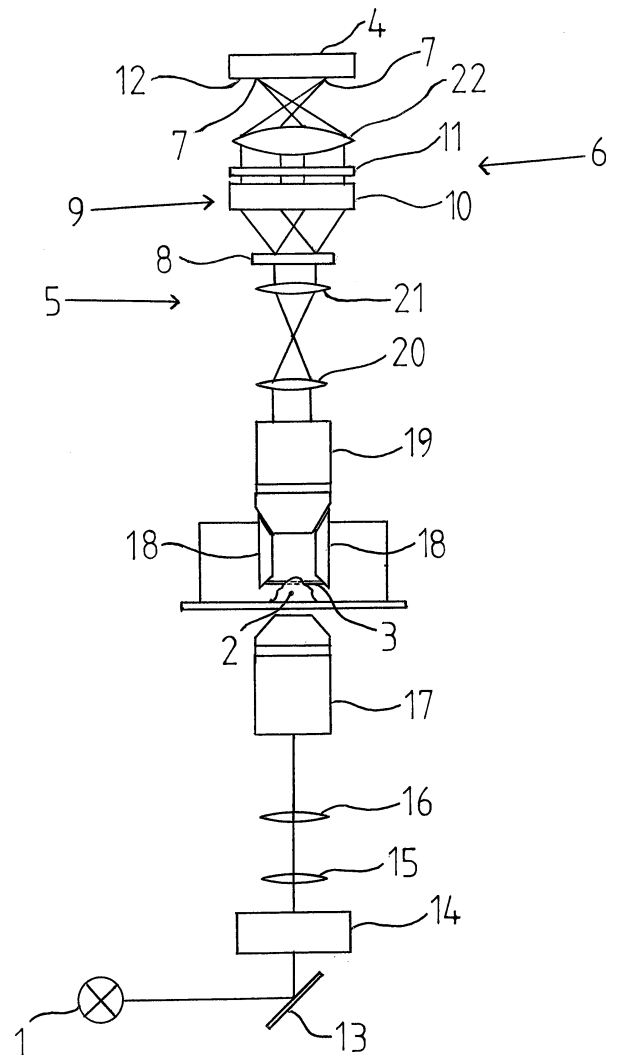
(72) Erfinder:
**Knebel, Werner, 76709 Kronau, DE;
Krishnamachari, Vishnu Vardan, 68199
Mannheim, DE**

(74) Vertreter:
Ullrich & Naumann, 69115 Heidelberg, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **SPIM-Anordnung**

(57) Zusammenfassung: Eine SPIM(Selective/Single Plane Illumination Microscopy)-Anordnung mit einer Beleuchtungseinrichtung (1) zur Erzeugung eines einer Probe (2) beleuchtenden Lichtblatts (3) und einer einen Detektor (4) aufweisenden Detektionseinrichtung (5) für von der Probe (2) ausgehendes Detektionslicht ist im Hinblick auf eine effiziente und schonende Probenuntersuchung mit konstruktiv einfachen Mitteln derart ausgestaltet und weitergebildet, dass die Detektionseinrichtung (5) eine Einrichtung (6) zur Zuordnung verschiedener Fokusebenen des Lichtblatts (3) zu verschiedenen Regionen (7) des Detektors (4) aufweist.



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine SPIM(Selective/Single Plane Illumination Microscopy)-Anordnung mit einer Beleuchtungseinrichtung zur Erzeugung eines eine Probe beleuchtenden Lichtblatts und einer einen Detektor aufweisenden Detektionseinrichtung für von der Probe ausgehendes Detektionslicht.

[0002] Eine optische Anordnung der eingangs genannten Art ist beispielsweise aus der DE 10 2007 047 464 A1 bekannt. Die bekannte optische Anordnung weist eine Beleuchtungseinrichtung zur Erzeugung eines eine Probe beleuchtenden Lichtblatts und eine einen Detektor aufweisende Detektionseinrichtung für von der Probe ausgehendes Detektionslicht auf. Zur Erzeugung des für SPIM erforderlichen Lichtblatts weist die bekannte SPIM-Anordnung im Beleuchtungsstrahlengang geeignete Linsen auf. Des Weiteren ist aus der DE 20 2011 110 077 U1 eine SPIM-Anordnung bekannt, bei der ein Lichtblatt über eine Spiegelanordnung am Detektionsobjektiv erzeugt wird.

[0003] Ein bekanntes Einsatzgebiet der SPIM-Technologie ist der Bereich der Fluoreszenz-Mikroskopie, wobei Fluorophore in der Probe mit Laserlicht angeregt werden. Bei der SPIM-Technologie findet hierbei eine Anregung nur in der Ebene des Lichtblatts statt. Eine Schädigung der Probe durch Beleuchtungslicht in andere Ebenen ist hierdurch vermieden.

[0004] Bei einer SPIM-Anordnung wird zur Erzeugung eines Lichtblatts entweder ein ausgedehnter Fokus mit Hilfe einer Scaneinrichtung zur Beleuchtung einer Ebene verwendet oder man erzeugt ein Lichtblatt durch eine Zylinderlinse. Da es üblicherweise gewünscht ist, eine große Fläche von Objekten oder große Objekte zu beleuchten, muss die Beleuchtungsapertur NA möglichst gering sein. Dies hat jedoch zur Folge, dass das Lichtblatt sehr dick ist.

[0005] Bei einem langen Lichtblatt – ca. 300 µm bei einer Beleuchtung mit einem 2,5x-Objektiv mit einer NA von 0,07 – ist die Lichtblattstärke meist größer als die Tiefenschärfe des Detektionsobjektivs. Bildinformationen aus den oberhalb und unterhalb der eigentlichen Tiefenschärfe liegenden beiden anderen Ebenen des Lichtblatts – Unschärfbereiche oberhalb und unterhalb der eigentlichen Tiefenschärfe – können nicht genutzt werden. Dies ist sehr ineffektiv und bringt den weiteren Nachteil mit sich, dass die oberhalb und unterhalb der eigentlichen Tiefenschärfe liegenden Probenbereiche völlig nutzlos beleuchtet und dadurch möglicherweise geschädigt werden.

[0006] Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine SPIM-Anordnung der eingangs genannten Art derart auszugestalten und weiterzubilden, dass eine effiziente und schonende Pro-

benuntersuchung mit konstruktiv einfachen Mitteln ermöglicht ist.

[0007] Erfindungsgemäß wird die voranstehende Aufgabe durch eine SPIM-Anordnung mit den Merkmalen des Anspruchs 1 gelöst. Danach ist die SPIM-Anordnung derart ausgestaltet und weitergebildet, dass die Detektionseinrichtung eine Einrichtung zur Zuordnung verschiedener Fokusebenen des Lichtblatts zu verschiedenen Regionen des Detektors aufweist.

[0008] In erfindungsgemäßer Weise ist zunächst erkannt worden, dass auch bei Vorliegen eines dicken Lichtblatts, dessen Dicke größer ist als die Tiefenschärfe eines Detektionsobjektivs, eine Nutzung von Bildinformationen aus den oberhalb und unterhalb der eigentlichen Tiefenschärfe liegenden beleuchteten Ebenen durch geschickte Ausgestaltung der Detektionseinrichtung möglich ist. In weiter erfindungsgemäßer Weise ist dann erkannt worden, dass eine Einrichtung zur Zuordnung verschiedener Fokusebenen des Lichtblatts zu verschiedenen Regionen des Detektors die voranstehende Aufgabe auf überraschend einfache Weise löst. Im Konkreten weist die Detektionseinrichtung eine derartige Einrichtung auf, mit der es möglich ist, mehrere Fokusebenen gleichzeitig scharf abzubilden und diese Abbildungen zu verschiedenen Regionen des Detektors zu leiten, um dort eine weitere Verarbeitung zu ermöglichen. Beispielsweise können hierdurch schnelle biologische Prozesse über ein vergrößertes Volumen – Extended Focus – verfolgt werden.

[0009] Mit der erfindungsgemäßen SPIM-Anordnung kann nun die gesamte beleuchtete Region und damit ein großes Volumen und nicht nur der Tiefenschärfbereich des Detektionsobjektivs scharf abgebildet werden. Dabei ergibt sich ein deutlich höherer Kontrast und hieraus ein höheres Signal/Rausch-Verhältnis. Im Vergleich zu einem herkömmlichen SPIM-Verfahren wird die Lichtbelastung der Probe deutlich geringer, da nun eine Abrasterung der Probe mit größeren Z-Abständen als bisher möglich ist.

[0010] Folglich ist mit der erfindungsgemäßen SPIM-Anordnung eine SPIM-Anordnung angegeben, mit der aufgrund der Nutzung auch von Bildinformationen aus oberhalb und unterhalb des Tiefenschärfbereichs liegenden Ebenen eine effiziente Probenuntersuchung mit konstruktiv einfachen Mitteln ermöglicht ist. Da keine Bereiche der Probe beleuchtet werden, aus denen nicht auch Bildinformationen gewonnen werden, ermöglicht die erfindungsgemäße SPIM-Anordnung auch eine schonende Probenuntersuchung.

[0011] In besonders vorteilhafter Weise kann die Einrichtung ein MFG (Multi Focus Grating) aufweisen. Die Verwendung eines MFG erlaubt eine sichere

Zuordnung verschiedener Fokusebenen zu verschiedenen Regionen des Detektors. Die Verwendung eines derartigen MFG ist bislang lediglich im Bereich der Widefield-Mikroskopie bekannt. Der erreichbare Kontrast ist bei der Widefield-Mikroskopie relativ gering und bei dickeren Proben noch geringer. Ein derartiges MFG erzeugt eine Fokusserie, mit seitlich zueinander versetzt angeordneten Fokus.

[0012] Bei Verwendung der SPIM-Anordnung im Bereich der Fluoreszenz-Mikroskopie wird üblicherweise nicht monochromatisches Fluoreszenzlicht erzeugt. Da beispielsweise ein MFG nur für eine Wellenlänge optimal arbeitet, kann die Einrichtung in weiter vorteilhafter Weise ein Mittel zur Kompensation einer Wellenlängendispersion aufweisen.

[0013] In konstruktiv einfacher und effizienter Weise kann das Mittel ein CCG (Chromatic Correction Grating) und/oder ein Prisma aufweisen, um eine Wellenlängendispersion sicher zu kompensieren. Beispielsweise ist durch die Kombination eines MFG mit einem CCG und einem Prisma eine besonders sichere Zuordnung verschiedener Fokusebenen des Lichtblatts zu verschiedenen Regionen des Detektors bei einfacher und sicherer Kompensation einer Wellenlängendispersion mit konstruktiv einfachen Mitteln erreichbar.

[0014] In weiter konstruktiv einfacher Weise kann der Detektor einen flächigen Detektionsbereich aufweisen, der die für die Zuordnung verschiedener Fokusebenen erforderlichen verschiedenen Regionen aufweist. Dabei kann der Detektor in weiter konstruktiv einfacher Weise ein CCD, CMOS oder sCMOS aufweisen. Derartige Bauteile gewährleisten einen sicheren und zuverlässigen Betrieb einer SPIM-Anordnung.

[0015] In besonders vorteilhafter Weise kann die Einrichtung in der Pupillenebene eines Detektionsobjektivs angeordnet sein. Hierdurch ist es möglich, den Aufbau der SPIM-Anordnung durch Verzicht auf weitere Linsen und/oder weitere optische Bauteile unter Beibehalt der Funktionalität besonders einfach zu gestalten. In besonders vorteilhafter Weise kann aus der Einrichtung austretendes Detektionslicht mittels einer weiteren Linse – ohne ein CCG und/oder Prisma – direkt auf den Detektor geleitet oder abgebildet werden. Hierdurch wird der Aufbau besonders einfach und es ergeben sich neue Möglichkeiten im Hinblick auf die spektrale Detektion.

[0016] Im Hinblick auf eine besonders vielseitige Anwendung der erfindungsgemäßen SPIM-Anordnung kann die SPIM-Anordnung auf unterschiedliche Weise an verschiedene Untersuchungsmethoden angepasst sein. Dabei kann die SPIM-Anordnung zur Durchführung gleichzeitiger dreidimensionaler FCS(3D Fluorescence Correlation Spectroscop-

py)-Messungen ausgebildet sein. Alternativ hierzu kann die SPIM-Anordnung zur Durchführung von 3D-FLIM(Fluorescence Life Time Microscopy)-Messungen ausgebildet sein. Auch eine Ausbildung der SPIM-Anordnung zur Durchführung von Messungen auf der Basis von Multiphoton-Anregungen hat sich als sehr vorteilhaft gezeigt. Eine derartige Multiphoton-Anregung ist im Bereich der Widefield-Mikroskopie für dicke Proben nicht möglich. Allerdings kann die erfindungsgemäße SPIM-Anordnung in vorteilhafter Weise auch für andere Anwendungen ausgebildet sein.

[0017] Mit der erfindungsgemäßen SPIM-Anordnung ergeben sich im Vergleich mit der konfokalen Mikroskopie weitere Vorteile bei der Abtastung ausgedehnter Proben, die größer als 100µm sind. Wird eine dicke Probe mit hoher Numerischer Apertur NA punktförmig beleuchtet, so kommt es zu Aberrationen, da die Randstrahlen eine andere Wegstrecke durchlaufen und nicht an dem gleichen Ort innerhalb des Beleuchtungsfokus auftreffen. Dies führt zu einer Verschmierung des Beleuchtungsfokus und damit zu einer geringen Auflösung. Bei einer SPIM-Anwendung wird jedoch mit einer deutlich geringeren NA beleuchtet, typischerweise 0,07 bis 0,2 NA, so dass der Unterschied der optischen Weglänge bei den Randstrahlen deutlich geringer ist als bei höherer NA.

[0018] Es gibt nun verschiedene Möglichkeiten, die Lehre der vorliegenden Erfindung in vorteilhafter Weise auszugestalten und weiterzubilden. Dazu ist einerseits auf die nachgeordneten Ansprüche und andererseits auf die nachfolgende Erläuterung eines bevorzugten Ausführungsbeispiels der Erfindung anhand der Zeichnung zu verweisen. In Verbindung mit der Erläuterung des bevorzugten Ausführungsbeispiels der Erfindung anhand der Zeichnung werden auch im Allgemeinen bevorzugte Ausgestaltungen und Weiterbildungen der Lehre erläutert. In der Zeichnung zeigen

[0019] Fig. 1 in einer schematischen Seitenansicht ein Ausführungsbeispiel der erfindungsgemäßen SPIM-Anordnung,

[0020] Fig. 2 jeweils in einer schematischen Seitenansicht und schematischen Draufsicht den Detektionsbereich des Ausführungsbeispiels aus Fig. 1, wobei der Einfachheit halber die Spiegelelemente 18 weggelassen sind,

[0021] Fig. 3 in einer schematischen Seitenansicht ein Ausführungsbeispiel der erfindungsgemäßen SPIM-Anordnung, wobei ein MFG direkt in der Pupillenebene eines Detektionsobjektivs angeordnet ist,

[0022] Fig. 4 in einer schematischen Seitenansicht ein weiteres Ausführungsbeispiel der erfindungsgemäßen SPIM-Anordnung, wobei im Vergleich zu dem in Fig. 3 gezeigten Ausführungsbeispiel noch weiterhin ein CCG und ein Prisma weggelassen sind, wozu der rechte Bereich der Fig. 4 im Wesentlichen den Gesamtaufbau der SPIM-Anordnung und der linke Bereich der Fig. 4 den Aufbau nach dem Detektionsobjektiv in vergrößerter Darstellung zeigt,

[0023] Fig. 5 in einer schematischen Darstellung eine spektrale Aufspaltung bei dem Ausführungsbeispiel ohne CCG und ohne Prisma in drei Z-Ebenen und

[0024] Fig. 6 in einer schematischen Seitenansicht eine herkömmliche SPIM-Anordnung.

[0025] Fig. 1 zeigt in einer schematischen Seitenansicht ein Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen SPIM-Anordnung mit einer Beleuchtungseinrichtung 1 zur Erzeugung eines einer Probe 2 beleuchtenden Lichtblatts 3 und einer einen Detektor 4 aufweisenden Detektionsrichtung 5 für von der Probe 2 ausgehendes Detektionslicht. Im Hinblick auf eine effiziente und schonende Probenuntersuchung mit konstruktiv einfachen Mitteln weist die Detektionseinrichtung 5 eine Einrichtung 6 zur Zuordnung verschiedener Fokusebenen des Lichtblatts 3 zu verschiedenen Regionen 7 des Detektors 4 auf. Im Konkreten weist die Einrichtung 6 ein MFG 8 auf, das in einer Fourier-Ebene angeordnet ist.

[0026] Da bei der SPIM-Anordnung die Beleuchtung über ein zusätzliches Beleuchtungsobjektiv 17 erfolgt, kann man gemäß Fig. 3 direkt die Pupillenebene eines Detektionsobjektivs 19 als Ort für die Einbringung des MFG 8 verwenden. Damit verringert sich die Komplexität des optischen Aufbaus und verringern sich entsprechend auch die Kosten für den Aufbau. Des Weiteren ist durch den sehr kurzen Strahlengang auch eine höhere Stabilität zu erwarten.

[0027] Das MFG 8 kann als Einschub in unmittelbarer Nähe des Detektionsobjektivs 19 angeordnet sein. Typischerweise liegt die Eintrittspupille in der Nähe eines Einschraubgewindes des Detektionsobjektivs 19. Denkbar ist auch, das MFG 8 in das Detektionsobjektiv 19 mit einzubauen oder auf einer Linse aufzubringen, die in der Nähe der Eintrittspupille liegt.

[0028] Zur Kompensation einer Wellenlängendisersion bei nicht monochromatischem Detektionslicht weist die Einrichtung 6 ein geeignetes Mittel 9 mit einem CCG 10 und einem Prisma 11 auf. Das Detektionslicht aus verschiedenen Fokusebenen trifft nach Durchlaufen der Einrichtung 6 auf einen flächigen Detektionsbereich 12 des Detektors 4.

[0029] Das Ausführungsbeispiel aus Fig. 1 weist beleuchtungsseitig nach der Beleuchtungseinrichtung 1, die üblicherweise als Laser ausgebildet ist, einen Strahlteiler 13 auf, der das Beleuchtungslicht auf eine Scaneinrichtung 14 in Form eines X-Y-Scanners reflektiert. Anschließend durchläuft das Beleuchtungslicht eine Scanlinse 15 und eine Tubuslinse 16 und gelangt in das Beleuchtungsobjektiv 17. Zur Erzeugung des Lichtblatts 3 sind zwei Spiegelemente 18 an dem Detektionsobjektiv 19 angeordnet, die zusammen mit der Scaneinrichtung 14 das Lichtblatt 3 erzeugen. Die Spiegelemente 18 sind dabei derart angeordnet, dass ein von der Beleuchtungseinrichtung 1 erzeugter Beleuchtungsstrahl über die Scaneinrichtung 14 und durch das Beleuchtungsobjektiv 17 auf die Spiegelemente 18 führbar ist, um durch Reflexion an den Spiegelementen 18 einen im Wesentlichen horizontalen Beleuchtungsstrahl zur seitlichen Beleuchtung der Probe 2 – das Lichtblatt 3 – zu erzeugen.

[0030] Mit Hilfe der Scaneinrichtung 14 kann dabei der Beleuchtungsstrahl an den Rand des durch die Scaneinrichtung 14 gebildeten Scanfelds geführt werden, wobei der Beleuchtungsstrahl über das Beleuchtungsobjektiv 17 auf die Spiegelemente 18 geführt wird. Durch ein Bewegen des Beleuchtungsstrahls mittels der Scaneinrichtung 14 entlang einer Linie wird sequenziell das Lichtblatt 3 aufgebaut. Wird der Beleuchtungsstrahl mittels der Scaneinrichtung 14 auf die andere Seite des Scanfelds bewegt, so kann der Beleuchtungsstrahl auf das andere Spiegelement 18 treffen, das ein Lichtblatt nunmehr von dieser Seite aus aufbaut. Folglich ist eine Lichtblatt-Beleuchtung der Probe 2 von mehreren Seiten aus – in Abhängigkeit von der individuellen Anordnung der Spiegelemente 18 – ermöglicht.

[0031] Das von der Probe 2 ausgehende Detektionslicht gelangt durch das Detektionsobjektiv 19 zu einer Tubuslinse 20 und einer weiteren Linse 21, um die Fourier-Ebene zu erzeugen, in der das MFG 8 positioniert ist. Nach Durchlaufen des CCG 10 und des Prismas 11 durchläuft das Detektionslicht eine weitere Linse 22, um das Detektionslicht zu den Regionen 7 auf dem flächigen Detektionsbereich 12 zu fokussieren.

[0032] Die Erzeugung des Lichtblatts 3 kann über Beleuchtungsobjektive erfolgen, die im Winkel von 90 Grad zu einer optischen Achse angeordnet sind. Alternativ hierzu kann das Lichtblatt 3 über die Spiegelemente 18 erzeugt werden, die von dem Beleuchtungsobjektiv 17 bedient werden, wobei der Beleuchtungsstrahlengang parallel zum Detektionsstrahlengang angeordnet ist. Die Erzeugung des Lichtblatts 3 kann weiterhin über die Scaneinrichtung 14 oder über eine Zylinderlinsenanordnung erfolgen. Erzeugt man das Lichtblatt 3 über die Scaneinrichtung 14, kann man die Farbdispersion vorteilhaft ausnutzen.

Erzeugt man das Lichtblatt **3** über eine Zylinderlin-senanordnung, muss man die Farbdispersion durch eine Farbkorrekturvorrichtung wie beispielsweise das CCG **10** kompensieren.

[0033] Bei einer Beleuchtung über die Scaneinrichtung **14** ergibt sich die folgende Situation:

Der Beleuchtungsfokus erstreckt sich über eine gewisse Länge und Breite und bildet das Anregungsvolumen. Hiervon wird im Detektionsobjektiv **19** in X-Richtung ein Betrag ΔX und in Y-Richtung ein Betrag ΔY abgebildet. Je nach Ausdehnung des Beleuchtungsfokus in Z-Richtung kann das Volumen mehrere Abbildungstiefen des Detektionsobjektivs **19** umfassen. Im Folgenden werden drei Ebenen Z1, Z0 und Z-1 angenommen. Diese Situation ist in **Fig. 2** dargestellt, wobei der obere Teil der **Fig. 2** eine Seitenansicht und der untere Teil der **Fig. 2** eine Draufsicht bei Blickrichtung durch das Detektionsobjektiv **19** auf die Probe **1** ist.

[0034] Wird das Lichtblatt **3** über die Scaneinrichtung **14** erzeugt, wird nur ein schmaler Bereich innerhalb der Probe **2** zum Zeitpunkt t_0 beleuchtet. Nimmt eine Kamera bzw. der Detektor **4** zum Zeitpunkt t_0 ein Bild auf, so ist auf dem Kamerachip oder dem Detektor **4** nur ein schmaler Bereich – wenige Zeilen – belichtet. Versetzt man nun die unterschiedlichen Fokusebenen seitlich auf dem Kamerachip, so sind zu dem Zeitpunkt t_0 je nach Anzahl der Aufspaltungen n entsprechend viele schmale Bereiche n gleichzeitig abgebildet. In dem Ausführungsbeispiel sind drei Ebenen dargestellt. Wird die Kamera bzw. der Detektor **4** synchron mit der Bewegung der Scaneinrichtung **14** ausgelesen, beispielsweise zu jedem beleuchteten Bereich ein Kamerabild, kann anschließend hieraus ein Gesamtbild erstellt werden.

[0035] Wird die Dispersionskompensation aus CCG **10** und Prisma **11** gemäß **Fig. 4** herausgenommen, wird zu jeder Zeile ein Spektrum auf dem Kamerachip bzw. Detektor **4** erzeugt. Über eine Software kann dieses Spektrum analysiert werden. Zeitliche Veränderungen im Spektrum im Bereich von Mikrosekunden bis Millisekunden können entsprechend der Aufnahmezeit der Kamera bzw. des Detektors **4** und Überstreichzeit der Scaneinrichtung **14** detektiert werden, was für biologische Prozesse sehr informativ sein kann.

[0036] Der Aufbau ist deutlich einfacher gestaltet, wenn das MFG **8** direkt in der Pupillenebene des Detektionsobjektivs **19** angeordnet ist. Durch Weglassen der Einheit aus CCG **10** und Prisma **11** kann die Dispersion des MFG **8** genutzt werden, indem man die Farbaufspaltung als n seitliche Versätze auf dem Detektor **4** detektiert.

[0037] Da durch das Weglassen des CCG **10** und Prisma **11** ein Spektrum auf dem Flächendetektor

oder Detektor **4** entsteht, wird es auf einfache Weise möglich, dieses Spektrum orts aufgelöst zu analysieren.

[0038] Ein sehr großer Vorteil des erfindungsgemäßen Aufbaus bildet das Anbringen des MFG **8** in der Pupillenebene des Detektionsobjektivs **19**, wobei zusätzliche Linsen, wie sie im Stand der Technik erforderlich sind, weggelassen werden können. Ebenso wird durch ein weiteres Weglassen des CCG **10** und Prismas **11** der Aufbau noch einfacher und es entstehen neue Möglichkeiten, beispielsweise bezüglich der spektralen Detektion.

[0039] **Fig. 5** zeigt in einer schematischen Darstellung die spektrale Aufspaltung des Detektionslichts in den oberen und unteren Z-Ebenen im Bereich des Detektors **4** bei dem Ausführungsbeispiel ohne CCG **10** und Prisma **11**. Dabei nehmen die Wellenlängen von λ_1 bis λ_5 zu. In der mittleren Ebene Z_0 findet keine derartige Aufspaltung statt.

[0040] Das MFG **8** kann unterschiedlich ausgestaltet sein. Dabei gibt es Typen, die auf Reflexion (Reflection Grating), Transmission (Transmission Grating) oder einer prismatischen Ausbildung (Grating Prisms) beruhen.

[0041] **Fig. 6** zeigt in einer schematischen Seitenansicht eine herkömmliche SPIM-Anordnung, bei der ein von der Probe **2** ausgehendes Detektionslicht durch das Detektionsobjektiv **19** und die Tubuslinse **20** direkt auf den Detektor **4** geleitet wird. Ansonsten entspricht der herkömmliche Aufbau der SPIM-Anordnung gemäß **Fig. 6** dem Ausführungsbeispiel gemäß **Fig. 1**, wobei gleiche Bezugszeichen gleiche Elemente bezeichnen.

[0042] Hinsichtlich weiterer vorteilhafter Ausgestaltungen der erfindungsgemäßen SPIM-Anordnung wird zur Vermeidung von Wiederholungen auf den allgemeinen Teil der Beschreibung sowie auf die beige-fügten Ansprüche verwiesen.

[0043] Schließlich sei ausdrücklich darauf hingewiesen, dass das voranstehend beschriebene Ausführungsbeispiel lediglich zur Erörterung der beanspruchten Lehre dient, diese jedoch nicht auf das Ausführungsbeispiel einschränkt.

Bezugszeichenliste

1	Beleuchtungseinrichtung
2	Probe
3	Lichtblatt
4	Detektor
5	Detektionseinrichtung
6	Einrichtung
7	Region
8	MFG

- 9 Mittel zur Kompensation einer Wellenlängendispersion
- 10 CCG
- 11 Prisma
- 12 Detektionsbereich
- 13 Strahlteiler
- 14 Scaneinrichtung
- 15 Scanlinse
- 16 Tubuslinse
- 17 Beleuchtungsobjektiv
- 18 Spiegelement
- 19 Detektionsobjektiv
- 20 Tubuslinse
- 21 Linse
- 22 Linse

ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

Zitierte Patentliteratur

- DE 102007047464 A1 [0002]
- DE 202011110077 U1 [0002]

Patentansprüche

1. SPIM(Selective/Single Plane Illumination Microscopy)-Anordnung mit einer Beleuchtungseinrichtung (1) zur Erzeugung eines eine Probe (2) beleuchtenden Lichtblatts (3) und einer einen Detektor (4) aufweisenden Detektionseinrichtung (5) für von der Probe (2) ausgehendes Detektionslicht, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Detektionseinrichtung (5) eine Einrichtung (6) zur Zuordnung verschiedener Fokusebenen des Lichtblatts (3) zu verschiedenen Regionen (7) des Detektors (4) aufweist.

2. SPIM-Anordnung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Einrichtung (6) ein MFG (8) (Multi Focus Grating) aufweist.

3. SPIM-Anordnung nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Einrichtung (6) ein Mittel (9) zur Kompensation einer Wellenlängendispersion aufweist.

4. SPIM-Anordnung nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Mittel (9) ein CCG (10) (Chromatic Correction Grating) und/oder ein Prisma (11) aufweist.

5. SPIM-Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Detektor (4) einen flächigen Detektionsbereich (12) aufweist. SPIM-Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Detektor (4) ein CCD, CMOS oder sCMOS aufweist.

6. SPIM-Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Einrichtung (6) in der Pupillenebene eines Detektionsobjektivs (19) angeordnet ist.

7. SPIM-Anordnung nach Anspruch 7, **dadurch gekennzeichnet**, dass aus der Einrichtung (6) austretendes Detektionslicht mittels einer weiteren Linse (22) – ohne ein CCG (10) und/oder Prisma (11) – direkt auf den Detektor (4) geleitet wird.

8. SPIM-Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, **dadurch gekennzeichnet**, dass die SPIM-Anordnung zur Durchführung gleichzeitiger dreidimensionaler FCS(3D Fluorescence Correlation Spectroscopy)-Messungen oder zur Durchführung von 3D-FLIM(Fluorescence Life Time Microscopy)-Messungen ausgebildet ist.

9. SPIM-Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, **dadurch gekennzeichnet**, dass die SPIM-Anordnung zur Durchführung von Messungen auf der Basis von Multiphoton-Anregungen ausgebildet ist.

Es folgen 6 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

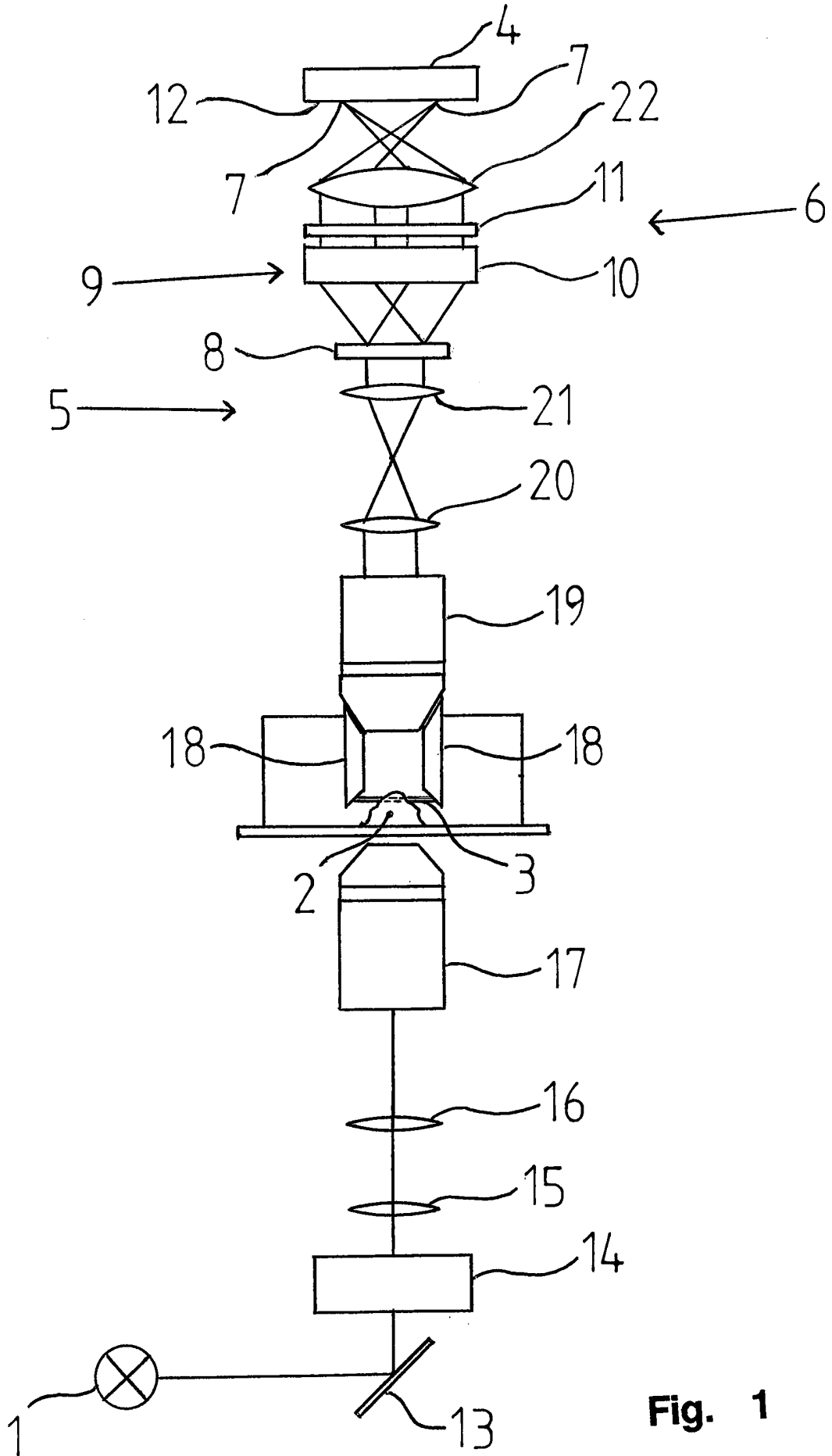


Fig. 1

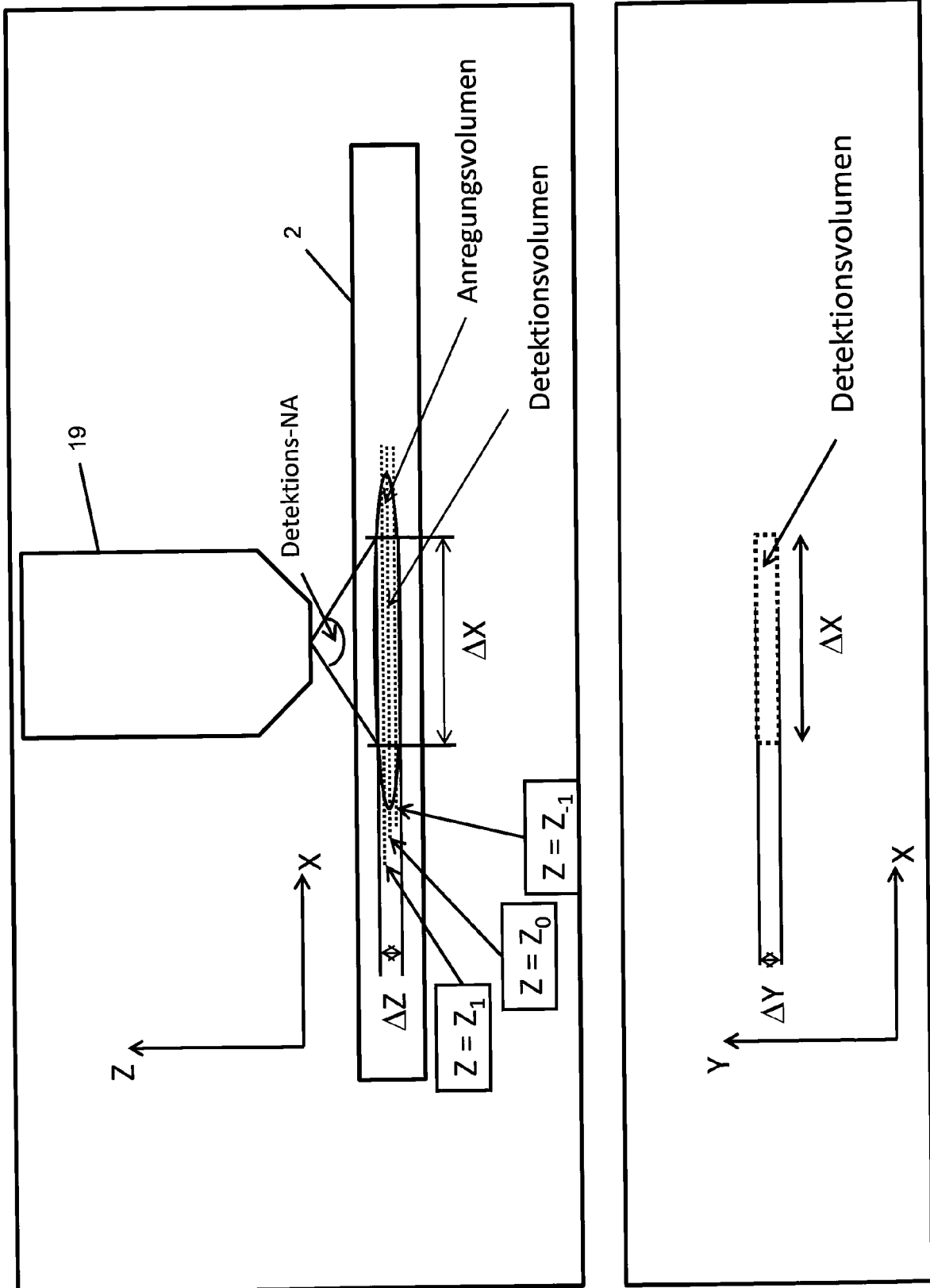


Fig. 2

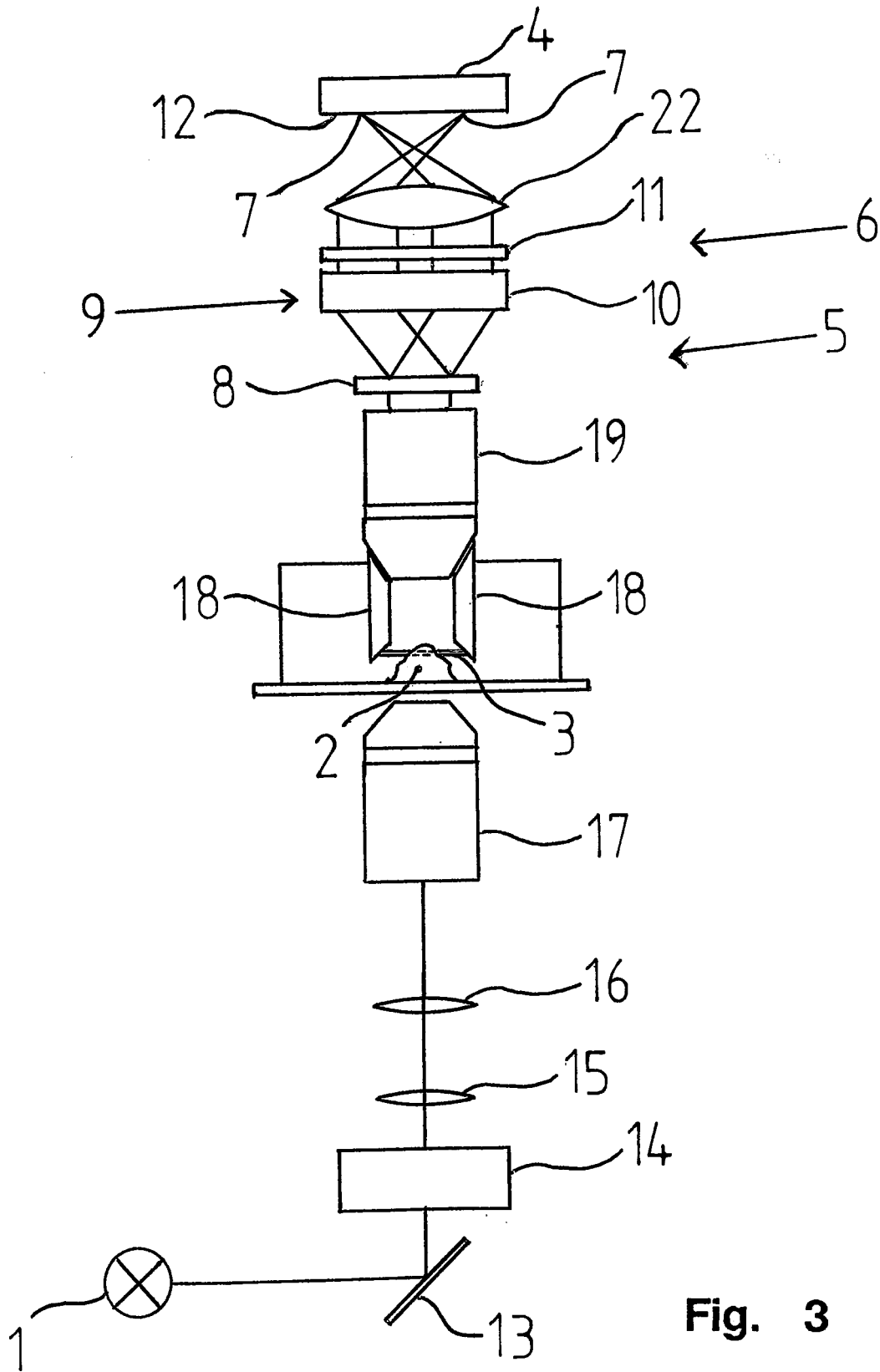


Fig. 3

Multifocus SPIM im scannenden Verfahren, konjugierte Pupillenebene

- Der Aufbau kann deutlich einfacher gestaltet werden wenn man direkt in die Pupillenebene des Detektionsobjektiv geht.
- Durch Weglassen der CCG / Prisma Einheit kann die Dispersion des Multifocus Grating positiv genutzt werden in dem man die Farbausplattung als seitliche n Versatz auf dem CCD/CMOS Detektor detektiert.

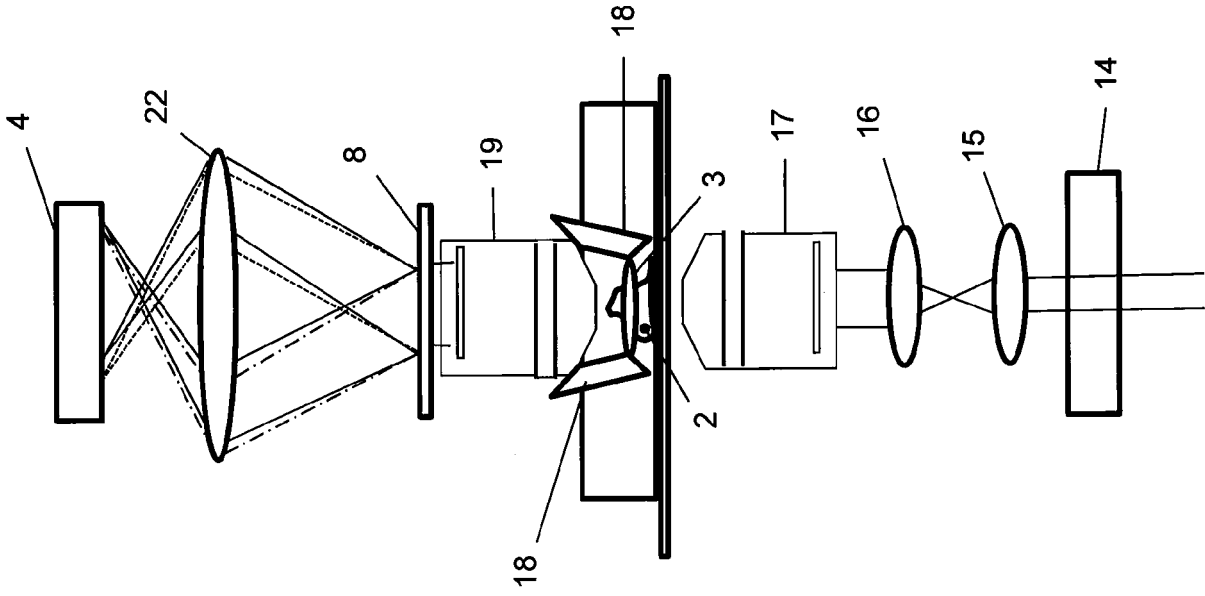
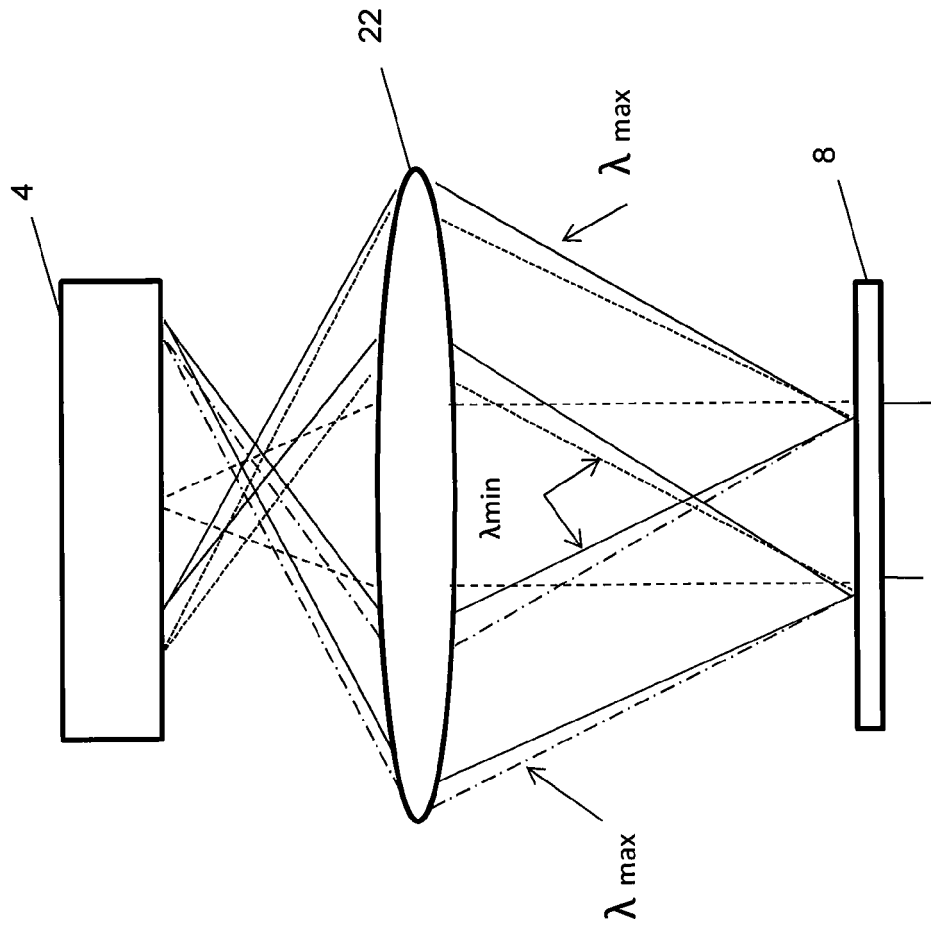


Fig. 4

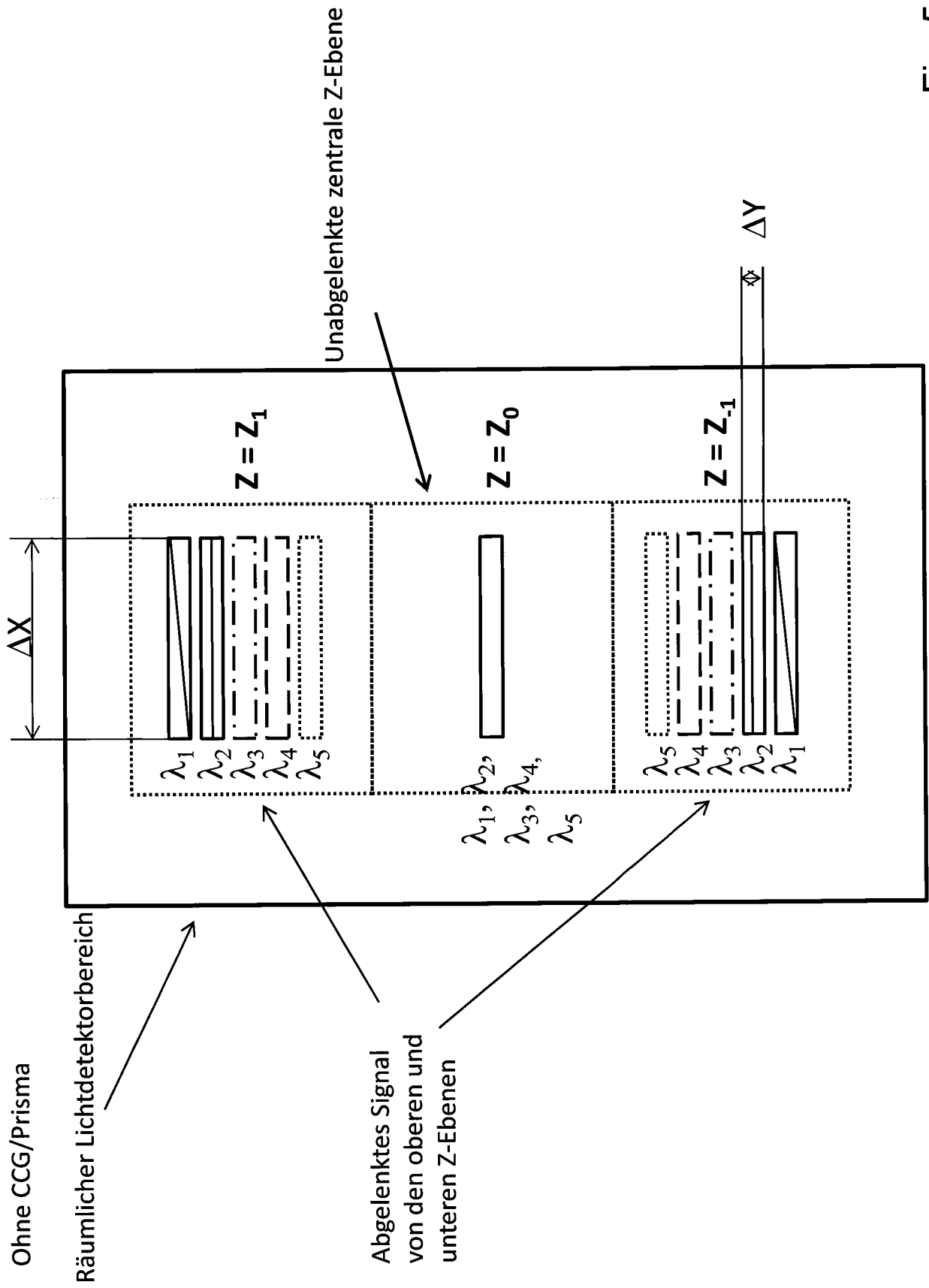


Fig. 5

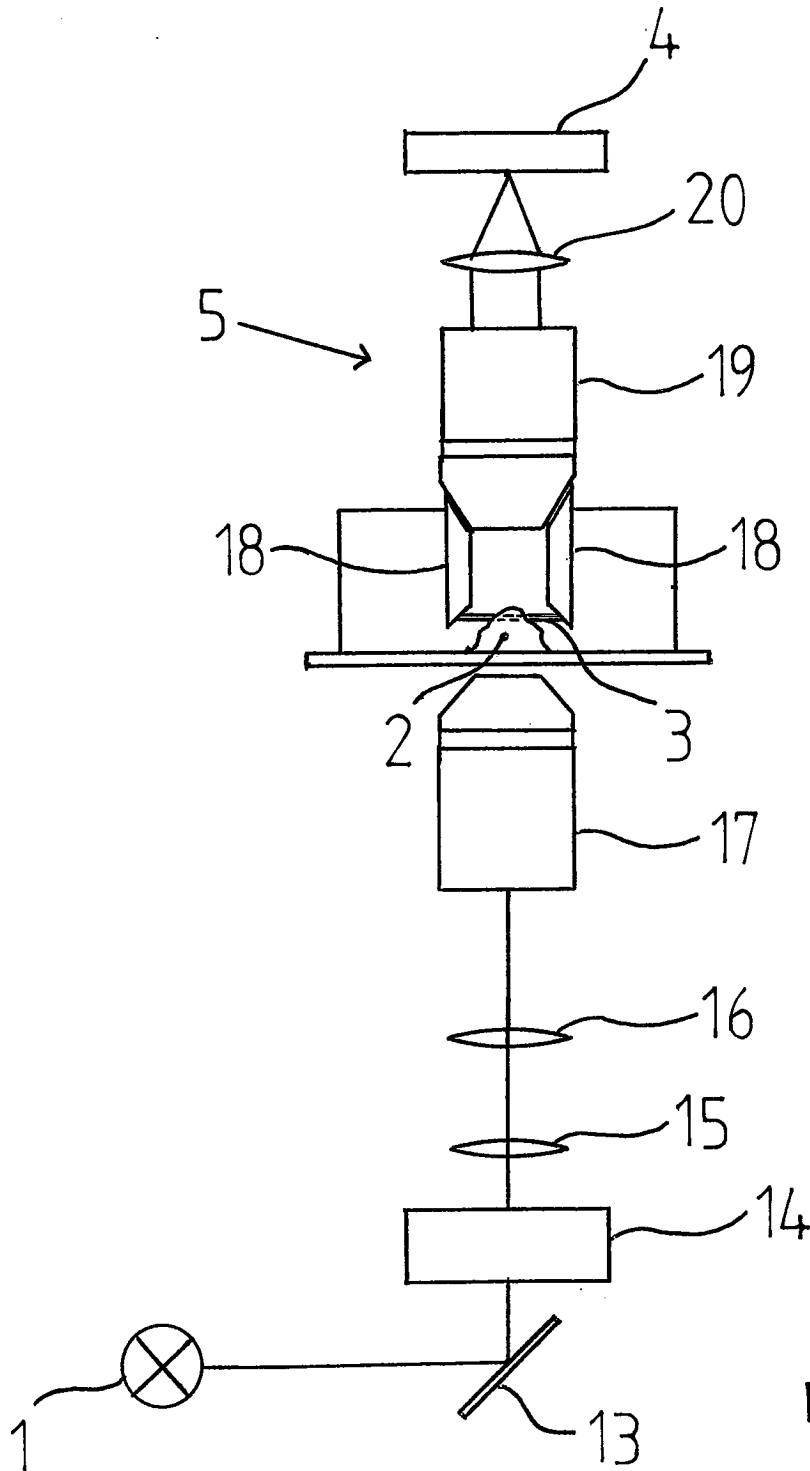


Fig. 6