

19



LE GOUVERNEMENT  
DU GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG  
Ministère de l'Économie

11

N° de publication :

**92807**

12

**BREVET D'INVENTION****B1**

21

N° de dépôt: 92807

51

Int. Cl.:

G02B 21/00, G02B 21/06, G02B 21/16, G01N 21/64

22

Date de dépôt: 27/08/2015

30

Priorité:

72

Inventeur(s):

BRADL JOACHIM –  
68519 VIERNHEIM (Allemagne)FAHRBACH FLORIAN –  
69115 HEIDELBERG (Allemagne)KNEBEL WERNER –  
76709 KRONAU (Allemagne)

43

Date de mise à disposition du public:

47

Date de délivrance: 01/03/2017

73

Titulaire(s):

LEICA MICROSYSTEMS CMS GMBH –  
35578 WETZLAR (Allemagne)

74

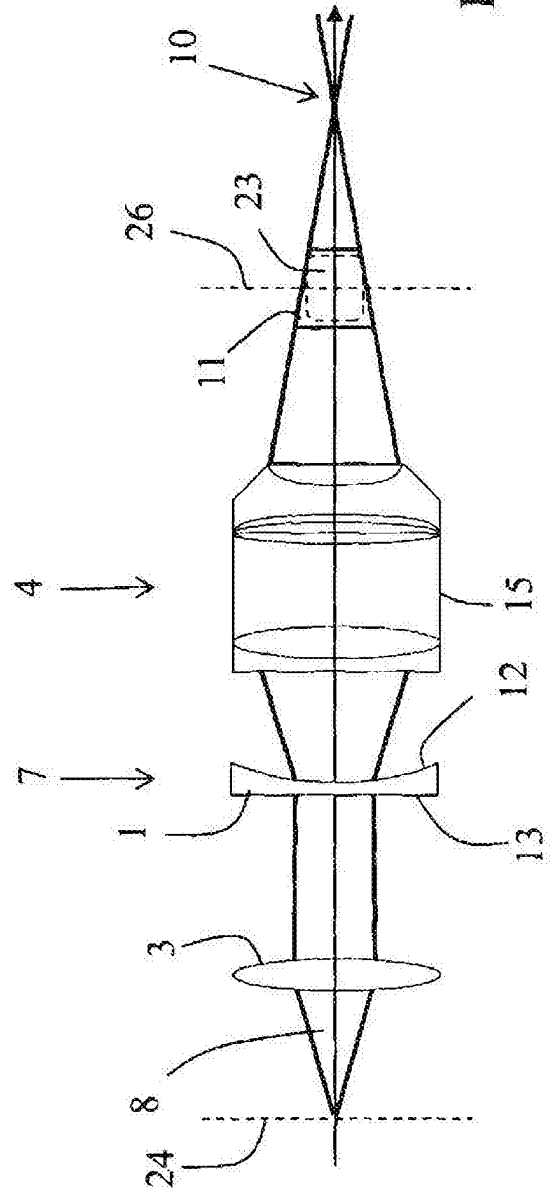
Mandataire(s):

BRADL Joachim - Leica Microsystems GmbH –  
35578 WETZLAR (Allemagne)

54

**Beleuchtungsanordnung für ein Lichtblatt-Mikroskop.**

- 57 Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Beleuchtungsanordnung für ein Lichtblatt-Mikroskop, bei dem eine Probe mit einem Beleuchtungslichtbündel (8) beleuchtet wird, das im Bereich der Probe als Lichtblatt (11) ausgebildet ist, mit einem Beleuchtungsobjektiv (4), einer Tubuslinse (3) und einer astigmatischen Optik (7). Die Beleuchtungsanordnung zeichnet sich dadurch aus, dass die astigmatische Optik (7) zwischen der Tubuslinse (3) und dem Beleuchtungsobjektiv (4) angeordnet ist und/oder keine weiteren fokussierenden oder defokussierenden Elemente zwischen der astigmatischen Optik (7) und dem Beleuchtungsobjektiv (4) angeordnet sind. Alternativ kann auch vorgesehen sein, dass die astigmatische Optik Teil des Beleuchtungsobjektivs (4) ist. Darüber hinaus betrifft die Erfindung ein Verfahren zum Beleuchten einer Probe mittels einer solchen Beleuchtungsanordnung, sowie ein Mikroskop, das eine solche Beleuchtungsanordnung beinhaltet. (Fig. 1)



**Beschreibung**No 9 2 8 0 7<sup>92807</sup>

Titel: Beleuchtungsanordnung für ein Lichtblatt-Mikroskop

- 5 Die Erfindung betrifft eine Beleuchtungsanordnung für ein Lichtblatt-Mikroskop, bei dem eine Probe mit einem Beleuchtungslichtbündel beleuchtet wird, das im Bereich der Probe als Lichtblatt ausgebildet ist, mit einem Beleuchtungsobjektiv, einer Tubuslinse und einer astigmatischen Optik.
- 10 Die Erfindung betrifft außerdem ein Verfahren zum Beleuchten einer Probe, insbesondere unter Verwendung einer solchen Beleuchtungsanordnung.

Die Erfindung betrifft darüber hinaus ein Mikroskop, das eine solche Beleuchtungsanordnung beinhaltet und ein Verfahren zum Untersuchen einer Probe

15 mittels eines solchen Mikroskops.

Die SPIM-Technik (Single Plane Illumination Microscopy), bei der eine schichtweise Beleuchtung der Probe erfolgt, erlaubt eine schnellere und probenschonendere Erfassung von Bilddaten, als beispielsweise bei einer punktwisen Abtastung einer

20 Probe. 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 einer von einem Beleuchtungslichtblatt (auch „Lichtstreifen“ genannt) beleuchteten Objektregion statt. Eine Schädigung der Probe durch Beleuchtungslicht in anderen

25 Ebenen ist hierdurch vermieden. Üblicherweise werden in einer Richtung senkrecht dazu ein oder mehrere zweidimensionale Bilder aufgenommen.

Eine nach dem SPIM-Verfahren arbeitende optische Vorrichtung ist in DE 102 57 423 A1 beschrieben. Bei diesem Mikroskop wird eine Probe mit einem

30 dünnen Lichtblatt beleuchtet, während die Beobachtung aus einer zu der Ebene des beleuchtenden Lichtblattes senkrechten Richtung erfolgt. Hierbei erfolgen die Beleuchtung und die Detektion über zwei separate optische Strahlengänge mit jeweils separater Optik. Das Lichtblatt wird von einer Zylinderlinse erzeugt. Für die Bildaufnahme wird die Probe durch das bezüglich des Detektors feststehende

35 Lichtblatt bewegt, um schichtweise Fluoreszenz- und/oder Streulicht mit einem flächigen Detektor aufzunehmen. Die so gewonnenen Schichtbilddaten lassen sich

anschließend zu einem aus einer dreidimensionalen Abbildung der Probe entsprechenden Datensatz zusammensetzen.

92807

Die Erzeugung eines Lichtblattes ausschließlich mit einer Zylinderlinse hat den  
5 Nachteil, dass die optische Qualität des Lichtblattes mit üblicherweise erhältlichen  
Linsen nicht ausreichend hoch ist, um über einen breiten räumlichen und spektralen  
Bereich ein beugungsbegrenztes Lichtblatt zu erzeugen. Selbst mit achromatischen  
Zylinderlinsen ist es nicht möglich, ein beugungsbegrenztes Lichtblatt mit einer Dicke  
von wenigen  $\mu\text{m}$  zu erzeugen.

10

Aus DE 10 2007 015 063 A1 ist eine optische Anordnung mit einer Lichtquelle zum  
Abstrahlen eines Lichtbündels und mit optischen Elementen zur Umwandlung dieses  
Lichtbündels in die Form eines Lichtblattes bekannt. Die optische Anordnung ist  
insbesondere geeignet zur Beleuchtung einzelner Ebenen einer dreidimensionalen  
15 Probe bei der Selective Plane Illumination Microscopy (SPIM). Es sind Mittel zur  
Variation des Querschnittes des Lichtblattes, zur Variation der Länge des Lichtblattes  
und/oder zur Beeinflussung der Richtung, der innerhalb des Lichtblattes verlaufenden  
Strahlungsanteile vorhanden, um die Geometrie des Lichtblattes an die  
Beleuchtungserfordernisse bei der Beobachtung ein und derselben Probenebene mit  
20 mehreren verschiedenartigen Objektiven zu ermöglichen.

Aus der Dissertation von W. Krieger, „Mapping Diffusion Properties in Living Cells“,  
Heidelberg, 2014, ist eine andere Anordnung zur Erzeugung eines Lichtblattes  
bekannt. Bei dieser Anordnung ist eine Zylinderlinse genau im Abstand ihrer  
25 Brennweite vor der Pupille des Beleuchtungsobjektivs angeordnet. In nachteiliger  
Weise ist die Breite des Lichtblatts wegen der Abhängigkeit der Breite des Lichtblatts  
von der Brennweite der an der fest vorgegebenen Position montierten Zylinderlinse  
kein freier Parameter mehr. Wird die Brennweite der Zylinderlinse so gewählt, dass sie  
dem Abstand der Position der Zylinderlinse zur Pupille des Beleuchtungsobjektivs  
30 entspricht, so ist die Breite des Lichtblatts  $w_{LS}$  schon festgelegt durch  $w_{LS} = M \cdot w_{CL}$ ,  
wobei  $w_{CL}$  die Breite des kollimierten Beleuchtungslichtbündels an der Position der CL  
ist und  $M = f_{BO}/f_{CL}$  der Quotient der Brennweiten von Zylinderlinse und  
Beleuchtungsobjektiv ist. Da üblicherweise  $w_{CL}$ ,  $f_{BO}/f_{CL}$  vorgegeben sind, hat man also  
keinen freien Parameter mehr zur Variation der Breite des Lichtblatts  $w_{LS}$ .

35

Es ist daher die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine kompakt ausbildbare

Beleuchtungsanordnung anzugeben, die die flexible Erzeugung eines beugungsbegrenzten Lichtblattes ermöglicht.

92807

5 Die Aufgabe wird durch eine Beleuchtungsanordnung der eingangs genannten Art gelöst, die dadurch gekennzeichnet ist, dass die astigmatische Optik derart ausgebildet und derart zwischen der Tubuslinse und dem Beleuchtungsobjektiv angeordnet ist, dass das aus dem Beleuchtungsobjektiv austretende Beleuchtungslichtbündel sowohl in einer Sagittalebene, als auch in einer Meridionalebene fokussiert ist.

10

Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung ein flexibel an die jeweiligen Erfordernisse anpassbares Verfahren zum Beleuchten einer mikroskopischen Probe mit einem Lichtblatt anzugeben.

15 Die weitere Aufgabe wird durch ein Verfahren gelöst, das dadurch gekennzeichnet ist, dass eine astigmatische Optik an einer beliebigen Stelle zwischen einer Tubuslinse und einem Beleuchtungsobjektiv derart angeordnet wird, dass das von dem Beleuchtungsobjektiv fokussierte Beleuchtungslichtbündel einen sagittalen und einen meridionalen Fokus aufweist, die von dem Beleuchtungsobjektiv einen unterschiedlichen Axialabstand aufweisen.

20

Die erfindungsgemäße Beleuchtungsanordnung hat, was weiter unten noch im Detail erläutert wird, den Vorteil eines äußerst kompakten Aufbaus, der es ermöglicht, bei der Realisierung eines Mikroskops Standard-Mikroskopstative verwenden zu können. Darüber hinaus besteht nach einem eigenständigen Erfindungsgedanken der ganz besondere Vorteil, dass Beleuchtungsobjektive so angefertigt werden können, dass sie in rechtwinkliger Anordnung auch zusammen mit Detektionsobjektiven hohe numerische Apertur verwendbar sind.

25

30 In erfindungsgemäßer Weise wurde insbesondere erkannt, dass die bisherigen Ansätze ein Lichtblatt zu erzeugen unter anderem deshalb wenig flexibel sind, weil stets ein Lichtblatt erzeugt wird, das in einer Ebene entlang der Ausbreitungsrichtung fokussiert ist und dass in der dazu senkrechten Ebene kollimiert ist, also keinen Fokus aufweist. Betrachtet man diese Tatsache auf der Basis der geometrischen Optik, so bedeutet dies, dass in einer Ebene ein Fokus vorliegt, während in der senkrechten Ebene kein Fokus vorhanden ist, was die Figuren 12 bis 15 illustrieren. Natürlich gibt es

35

ein ideal kollimiertes Lichtbündel nur in der geometrischen Optik und nicht in der Realität. Tatsächlich ist die Abweichung zwischen geometrischer Optik und Gaussoptik in Relation zur Größe des Lichtblattes für die vorliegende Betrachtung nicht von Relevanz. Im Sinne dieses Dokuments ist unter einem Lichtblatt insbesondere der Teil einer Lichtverteilung zu verstehen, welcher durch das Beleuchtungslichtbündel auf der Seite der Objektebene des Beleuchtungsobjektivs in einem Abschnitt entlang der Beleuchtungsachse gebildet ist und welcher eine Ausdehnung der Lichtverteilung bzw. des Lichtbündels senkrecht zur optischen Achse des Beleuchtungsobjektivs aufweist, die kleiner als ein vorgegebbarer Faktor bezogen auf die dünnste Stelle der Lichtverteilung ist, wobei der vorgebbare Faktor typischerweise Wurzel 2 beträgt. Das Lichtblatt kann im Wesentlichen rechteckförmig – wie dies beispielsweise in Figur 14 angedeutet ist – oder aber bevorzugt trapezförmig ausgebildet sein, wie dies beispielsweise in den Figuren 1, 3, 5, 7 oder 8 angedeutet ist.

15

Bei einer besonders vorteilhaften Ausführung wird der Abstand der astigmatischen Optik und deren Brennweite so gewählt, dass der Fokus des von der astigmatischen Optik fokussierten Beleuchtungslichtbündels nicht innerhalb des Beleuchtungsobjektivs liegt, da dies bei hohen Intensitäten zur Zerstörung des Beleuchtungsobjektivs führen könnte, insbesondere wenn der Fokus an Grenzflächen innerhalb des Objektivs liegt. Außerdem ist die optische Qualität für eine solche Abbildung sehr schlecht und es können diverse Fehler auftreten, wie z.B. Farbfehler.

20

Außerdem wird der Abstand der astigmatischen Optik und deren Brennweite vorzugsweise so gewählt, dass der Fokus nicht weit vor dem Beleuchtungsobjektiv liegt, weil sonst das divergente Strahlbündel in das Objektiv eintritt, was zu störenden Reflexen an inneren Aperturen im Beleuchtungsobjektiv und/oder zu Vignettierungseffekten führen kann.

25

Besonders flexibel einsetzbar ist eine Ausführung, bei der die Brennweite der astigmatischen Optik vom Abstand der astigmatischen Optik zu der Pupille des Beleuchtungsobjektivs verschieden ist.

30

Bei einer besonders einfach aufgebauten und dennoch sehr flexiblen Ausführung sind keine weiteren fokussierenden oder defokussierenden Elemente zwischen der astigmatischen Optik und dem Beleuchtungsobjektiv angeordnet. Alternativ oder

35

zusätzlich könnte die astigmatische Optik um eine Achse – zumindest um einen vorgebbaren Winkelbereich – verdrehbar angeordnet sein, und zwar insbesondere manuell oder motorisch bewegt. Die Drehachse könnte hierbei die optische Achse des optischen Strahlengangs der Beleuchtungsvorrichtung oder parallel versetzt dazu sein. Hierdurch kann die Ausrichtung des Lichtblatts beeinflusst werden, wobei beispielsweise ein beleuchteter Probenbereich relativ zur Objektebene des Detektionsobjektivs ausgerichtet bzw. überlagert werden kann.

Bei einer ganz besonders kompakten und robusten Ausführung ist die astigmatische Optik Teil des Beleuchtungsobjektivs, was weiter unten in weiteren Details erläutert ist.

In erfindungsgemäßer Weise wurde auch erkannt, dass die Verwendung eines geläufigen Mikroskopobjektivs in Kombination mit einer Zylinderlinse bei den aus dem Stand der Technik bekannten Beleuchtungsanordnungen wegen der üblicherweise verwendeten 4f-Anordnung den Nachteil eines insgesamt relativ langen optischen Wegs hat. Bei diesen Beleuchtungsanordnungen ist die 4f-Anordnung nötig, um die Dimensionen des Lichtblattes an die Größe des Bildfeldes anzupassen, was in den Figuren 12 und 13 dargestellt ist. Dies abgesehen davon, dass bei den dem Stand der Technik bekannten Beleuchtungsanordnungen lediglich in einer Ebene ein Fokus vorliegt, während in der dazu senkrechten Ebene der Fokus im Unendlichen liegt.

Konkret zeigen die Figuren 12 und 13 schematisch einen Aufbau, wie er beispielsweise aus Huisken, J., Swoger, J., Del Bene, F., Wittbrodt, J. & Stelzer, E. H. K., „Optical sectioning deep inside live embryos by selective plane illumination microscopy“, Science 305, 1007 (2004), bekannt ist; in Figur 12 in einer Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene und in Figur 13 in einer Ansicht parallel zur Lichtblattebene. Ein solcher Aufbau beinhaltet eine Zylinderlinse 1, eine Relaylinse 2, eine Tubuslinse 3 sowie ein Beleuchtungsobjektiv 4, wobei ein aufgeweitetes, im Querschnitt rundes Lichtbündel 6 über eine 4f-Abbildung durch die Zylinderlinse 1 in eine konjugierte Ebene 5 der Eintrittspupille des Beleuchtungsobjektivs 4 fokussiert wird. Hierbei sind sehr kurze Brennweiten nötig, um große Bildfelder auszuleuchten, also beispielsweise um ein Lichtblatt 11 zu erzeugen, das 1mm breit ist und eine Fokallänge von 1 mm aufweist. Innerhalb des Lichtblattes 11 liegt vorzugsweise das Sichtfeld 23 der (hier nicht dargestellten) Detektionsoptik.

35

Dies liegt daran, dass sich die Breite  $w_x$  des Lichtblattes aus dem Durchmesser  $w_0$  des

von der Lichtquelle emittierten Lichtbündels über die Formel  $w_x = (f_{\text{obj}}/f_{\text{tub}})(f_{\text{relay}}/f_{\text{cyl}})w_0$  ableiten lässt. Um eine gute Ausleuchtung  $w_{\text{BFP}} = (f_{\text{tub}}/f_{\text{relay}})w_0$  der Eintrittspupille des Beleuchtungsobjektivs zu gewährleisten, muss  $f_{\text{tub}} \gg f_{\text{relay}}$  sein. Daraus folgt die Forderung  $f_{\text{obj}} > f_{\text{cyl}}$  um eine ausreichend Breite  $w_x$  des Lichtblatts zu erreichen.

5 Weiterhin kann es Fälle geben, in denen die Breite  $w_x$  sehr viel größer sein soll als die Fokusslänge, beispielsweise wenn das Lichtblatt entlang der Beleuchtungsachse geschoben wird um eine große Probenebene sukzessive abzutasten. Auch in diesem Fall sind kurze Brennweiten der Zylinderlinse nötig.

10 Analog weist auch die aus W. Krieger, „Mapping Diffusion Properties in Living Cells“, Heidelberg, 2014, bekannte Anordnung diese Nachteile auf, wie die Figuren 14 und 15 illustrieren.

Eine weitere Einschränkung der aus dem Stand der Technik bekannten Anordnungen  
15 betrifft die Größe und polare Symmetrie der üblicherweise verwendeten Objektivs. Diese Symmetrie steht im Gegensatz zu den sehr asymmetrischen Abmessungen des Lichtblatts, das im Querschnitt sehr elliptisch ausgebildet ist. Legt man für eine grobe Abschätzung in paraxialer Näherung die Propagationseigenschaften Gauss'scher Strahlen zu Grunde, erreicht ein Lichtblatt mit einer Breite von  $300\mu\text{m}$  und einer Dicke  
20 von  $5\mu\text{m}$  (Fokusslänge ca.  $300\mu\text{m}$ ) erst in einer Entfernung von 9.5 mm vom Fokus ein rundes Profil (in größerer Entfernung ist dann das Seitenverhältnis des Strahls umgekehrt gegenüber der Orientierung des Lichtblatts). Dies bedeutet, dass für Objektivs mit kürzerem Arbeitsabstand eine runde Ausführung der Frontlinse unvorteilhaft ist, da ein bedeutsamer Teil der Linse nicht genutzt wird. Dieser Aspekt  
25 wird insbesondere bedeutsam, wenn das Beleuchtungsobjektiv für eine SPIM-Untersuchung im rechten Winkel zur Detektionsoptik montiert wird. Da das Detektionsobjektiv idealerweise eine hohe numerische Apertur aufweist, kommt es zur „sterischen Hinderung“ der beiden Objektivs, wenn der Arbeitsabstand des Beleuchtungsobjektivs nicht größer ist als der Radius des Detektionsobjektivs. Die  
30 beiden Objektivs nehmen dann zusammen einen zu großen Raumwinkel ein, als dass sie in einem Winkel von 90 Grad zueinander so montiert werden können, dass ihre optischen Achsen sich in den Fokusebenen schneiden. Beleuchtungsobjektivs mit großem Arbeitsabstand möchte man jedoch gerne vermeiden, da mit dem Arbeitsabstand für eine vorgegebene numerische Apertur naturgemäß der  
35 notwendige Durchmesser der Linsen steigt und größere Linsen komplizierter herzustellen, schwerer und teurer sind.



Die besondere Anordnung der astigmatischen Optik in der Nähe der Eintrittspupille des Beleuchtungsobjektivs derart, dass die astigmatische Optik zwischen der Tubuslinse und dem Beleuchtungsobjektiv positioniert ist und/oder keine weiteren  
5 fokussierenden oder defokussierenden Elemente zwischen der astigmatischen Optik und dem Beleuchtungsobjektiv vorhanden sind, erlaubt das Erzeugen eines entlang der Ausbreitungsrichtung in der Ebene des Lichtblattes divergenten oder konvergenten Lichtblattes, was letztlich die Dimensionierung des Lichtblattes, also die Anpassung der Breite des Lichtblattes für einen gegebenen Durchmesser des  
10 Beleuchtungslichtbündels an der Stelle der astigmatischen Optik erlaubt.

Eine derart angeordnete astigmatische Optik hat Auswirkungen auf bzw. verändert die Brechkraft des Beleuchtungsobjektivs entlang der Achse in der das Lichtblatt erzeugt werden soll näherungsweise gemäß der Formel  $1/f_{ges}=1/f_1+1/f_2-d/(f_1*f_2)$ ,  
15 entlang der senkrechten Achse bleibt die Brennweite und optische Abbildungsqualität des Beleuchtungsobjektivs unverändert. Auf diese Weise wird ein Astigmatismus erzeugt, wobei das von dem Beleuchtungsobjektiv fokussierte Beleuchtungslichtbündel einen sagittalen und einen meridionalen Fokus aufweist, die von dem Beleuchtungsobjektiv einen unterschiedlichen Abstand haben. Im Bildfeld  
20 ist der Strahlquerschnitt des astigmatischen Beleuchtungslichtbündels daher elliptisch. Die lange Achse des elliptischen Strahlprofils wird bei einer SPIM-Untersuchung einer Probe vorzugsweise derart angeordnet, dass sie in der Fokusebene des Detektionsobjektivs liegt. Entlang der Beleuchtungsachse weist die kürzere Halbachse ein Minimum in der Fokusebene der Beleuchtungsoptik auf, die  
25 längere Halbachse ist im Bereich des Bildfeldes monoton ansteigend (positive Brechkraft der astigmatischen Optik bzw. einer Zylinderlinse) oder abnehmend (negative Brechkraft der astigmatischen Optik bzw. einer Zylinderlinse).

Bei einer ganz besonders vorteilhaften Ausführung weist die astigmatische Optik eine  
30 negative Brechkraft auf. Insbesondere kann die astigmatische Optik vorteilhaft eine Brechkraft im Bereich von  $-1/(500\text{ mm})$  bis  $-1/(700\text{ mm})$ , insbesondere von  $-1/(600\text{ mm})$ , aufweisen. Dies insbesondere, wenn das Beleuchtungsobjektiv eine Brennweite im Bereich von 35 mm bis 45 mm, insbesondere von 40 mm aufweist.

35 Insbesondere kann vorteilhaft vorgesehen sein, dass die astigmatische Optik eine Brechkraft aufweist, die klein in Relation zur Brechkraft des Beleuchtungsobjektivs ist –

insbesondere kleiner als  $1/10$  der Brechkraft des Beleuchtungsobjektivs. Zum einen ist eine solche Ausführung sehr lichteffizient, da keine wesentliche Steigerung der Überleuchtung der Eintrittspupille des Beleuchtungsobjektivs verursacht wird. Darüber hinaus hat sich gezeigt, dass eine solche Ausführung den besonderen Vorteil einer guten optischen Abbildung ohne störende Aberrationen hat.

Die Verwendung einer astigmatischen Optik mit negativer Brechkraft hat in vorteilhafter Weise insbesondere zur Folge, dass die Brechkraft des optischen Systems bestehend aus der astigmatischen Optik und dem Beleuchtungsobjektiv für die Sagittalebene (oder die Meridionalebene) eine reduzierte Brechkraft aufweist, so dass das Beleuchtungslichtbündel, nachdem es das Beleuchtungsobjektiv durchlaufen hat, bezogen auf die Sagittalebene (beziehungsweise die Meridionalebene), weniger divergent verläuft. Dennoch ist es sehr gut möglich, ein derart erzeugtes Lichtblatt relativ zur Probe, beispielsweise unter Verwendung einer (oder mehrerer) hinsichtlich des Ablenkwinkels einstellbaren Strahlableitvorrichtung zu bewegen, beispielsweise um größere Probenareale sukzessive abzutasten oder im aufeinanderfolgenden Wechsel unterschiedliche interessierende Bereiche (ROI, region of interest) zu beleuchten. Es ist allerdings durchaus auch möglich, dass die astigmatische Optik eine positive Brechkraft aufweist, wobei das oben bezüglich der negativen Brechkraft Gesagte entsprechend für die positive Brechkraft gilt.

Die astigmatische Optik kann insbesondere als Zylinderlinse ausgebildet sein oder wenigstens eine Zylinderlinse aufweisen. Die erfindungsgemäße Beleuchtungsanordnung kann vorteilhaft insbesondere in der Weise ausgebildet sein, dass die astigmatische Optik genau eine einzige Zylinderlinse aufweist. Alternativ ist es auch möglich, dass die astigmatische Optik als Linsengruppe mehrerer unmittelbar hintereinander geschalteter und/oder miteinander in Kontakt stehender Linsen ausgebildet ist, von denen wenigstens eine als Zylinderlinse ausgebildet ist.

Insbesondere kann die astigmatische Optik als Zylinderlinse mit wenigstens einer konkav gewölbten Oberfläche ausgebildet sein oder wenigstens eine solche Zylinderlinse aufweisen. Dies insbesondere, wenn gewünscht ist, dass die astigmatische Optik eine negative Brechkraft aufweist.

Insbesondere in dem Fall, dass die astigmatische Optik eine positive Brechkraft aufweist, kann die astigmatische Optik als Zylinderlinse mit wenigstens einer konvex

gewölbten Oberfläche ausgebildet sein oder wenigsten eine solche Zylinderlinse aufweisen.

92807

5 Insbesondere bei einer Ausführung der Beleuchtungsanordnung, die eine astigmatische Optik mit positiver Brechkraft aufweist, kann vorteilhaft vorgesehen sein, dass das von dem Beleuchtungsobjektiv fokussierte Beleuchtungslichtbündel einen sagittalen und einen meridionalen Fokus aufweist, die von dem Beleuchtungsobjektiv einen unterschiedlichen Axialabstand aufweisen, wobei die Probe im Bereich des Fokus mit dem größeren Axialabstand zu dem  
10 Beleuchtungsobjektiv positioniert wird. Hierbei wird vorteilhaft ausgenutzt, dass das Beleuchtungslichtbündel bezogen auf die Ebene, in der das Bildfeld liegt, weniger divergent verläuft. Mit anderen Worten: durch die astigmatische Optik wird die Brechkraft des Beleuchtungsobjektivs in einer Ebene nicht verändert. Es ist günstig dort die Probe zu positionieren, weil dort die Qualität des Beleuchtungslichtbündels  
15 besonders hoch ist, während der Fokus in der anderen, zur ersten Ebene senkrechten Ebene näher an das Beleuchtungsobjektiv heranrückt.

Allerdings ist es nicht ausgeschlossen, eine astigmatische Optik mit negativer Brechkraft zu verwenden, wobei hierbei vorzugsweise die Probe im Bereich des Fokus mit dem geringeren Axialabstand zu dem Beleuchtungsobjektiv positioniert wird. Dies  
20 deshalb, weil Qualität des Beleuchtungslichtbündels in dem Fokalebereich, der ausschließlich auf das Beleuchtungsobjektiv zurückgeht, höher ist, als in dem Fokalebereich, der durch die astigmatische Optik und das Beleuchtungsobjektiv gemeinsam erzeugt ist.

25

Wie bereits erwähnt kann die astigmatische Optik vorteilhaft in der Pupillenebene des Beleuchtungsobjektivs oder einer dazu konjugierten Ebene angeordnet sein.

Bei einer ganz besonders vorteilhaften Ausführung ist die astigmatische Optik in  
30 einem Unendlichstrahlengang zwischen der Tubuslinse und dem Beleuchtungsobjektiv angeordnet. Eine solche Ausführung hat den ganz besonderen Vorteil, dass bei Standard-Mikroskopstativen und üblichen Mikroskopen an dieser Stelle ohnehin bereits eine Wechsellvorrichtung vorhanden ist, um optische Elemente, wie Filter, Strahlteiler oder DIC-Prismen (Differenzinterferenzkontrast-Prismen)  
35 einbringen zu können, die genutzt werden kann. Die Wechsellvorrichtung kann beispielsweise als Filterrad oder als Filtereinschubvorrichtung oder als Polfiltereinschub

oder als Revolver oder als DIC-Revolver ausgebildet sein.

92807

Unabhängig davon, ob die astigmatische Optik unter Verwendung einer Wechsellinse oder auf andere Weise im Beleuchtungsstrahlengang positioniert wird, ist es von Vorteil, wenn eine Vorrichtung zum Bestimmen der Position und Ausrichtung der optischen Achse der astigmatischen Optik vorhanden ist, um die astigmatische Optik, insbesondere mit einer Justiervorrichtung zum Justieren der Position und/oder Ausrichtung der astigmatischen Optik korrekt justieren zu können. Die Vorrichtung zum Bestimmen der Position und die Justiervorrichtung können insbesondere vorteilhaft dazu verwendet werden, die Verkippung des Lichtblatts relativ zu der Fokusebene des Detektionsobjektivs einstellen zu können.

Wie bereits erwähnt, kann die astigmatische Optik, alternativ zu einer Anordnung zwischen der Tubuslinse und dem Beleuchtungsobjektiv, auch Teil des Beleuchtungsobjektivs sein. Dies kann beispielsweise in der Weise realisiert sein, dass die astigmatische Optik als Aufsatz zum Befestigen an dem Beleuchtungsobjektiv, insbesondere an einem Beleuchtungsobjektivgehäuse, ausgebildet ist. Der Aufsatz kann beispielsweise ein Gewinde aufweisen, so dass er auf ein Gegengewinde des Beleuchtungsobjektivgehäuses aufgeschraubt werden kann, wobei die astigmatische Optik vorzugsweise auf der Lichteintrittsseite des Beleuchtungsobjektivs angeordnet ist. Eine solche Ausführung hat den besonderen Vorteil, dass ein Objektiv, das nicht speziell für eine SPIM-Beleuchtung hergestellt wurde, nachträglich umgerüstet werden kann.

Es ist auch möglich, die astigmatische Optik in dem Beleuchtungsobjektiv fest zu montieren, insbesondere ohne dass diese zerstörungsfrei von den übrigen Komponenten des Beleuchtungsobjektivs gelöst werden kann. Insbesondere kann ein solches Beleuchtungsobjektiv speziell ausschließlich als SPIM-Beleuchtungsobjektiv hergestellt sein; dies insbesondere vorteilhaft auch derart, dass es sich von einer im Querschnitt senkrecht zur optischen Achse kreisförmigen Eintrittsapertur zu einer im Querschnitt senkrecht zur optischen Achse elliptischen Frontlinse hin verjüngt, um einen möglichst großen Raum zur Positionierung eines Detektionsobjektivs senkrecht zum Beleuchtungsobjektiv zu lassen.

Bevorzugt ist ein Teil des Beleuchtungsobjektivs – zumindest um einen vorgebbaren Winkelbereich – gegenüber dem Rest des Beleuchtungsobjektivs verdrehbar

ausgestaltet, wobei der verdrehbar ausgestaltete Teil des Beleuchtungsobjektivs die elliptische Frontlinse umfasst. Dies könnte mit einer Mechanik realisiert werden, welche ähnlich zu der ausgebildet ist, die bei Korrekturringen von Mikroskopobjektiven zum Einstellen von Dickenvariationen von Deckgläsern vorgesehen ist.

Wie bereits erwähnt, hat die erfindungsgemäße Beleuchtungsanordnung den ganz besonderen Vorteil eines kompakten Aufbaus, was eine SPIM-Untersuchung einer Probe unter Verwendung von Standard-Mikroskopstativen und/oder erfindungsgemäß umgerüsteter Mikroskope erlaubt. Insbesondere ermöglicht es die Erfindung, ein Mikroskop, das die erfindungsgemäße Beleuchtungsanordnung beinhaltet, auf der Basis eines bestehenden Rastermikroskops herzustellen. Insbesondere kann ein solches Rastermikroskop auch als konfokales Rastermikroskop ausgebildet sein. Hierbei kann insbesondere vorgesehen sein, dass ein existierendes Rastermikroskop mit der beschriebenen Beleuchtungsanordnung nachgerüstet wird, um das Rastermikroskop als SPIM-Mikroskop verwenden zu können. Die Erfindung hat hierbei den ganz besonderen Vorteil, dass kein zusätzlicher Bauraum benötigt wird, sondern dass vielmehr der ohnehin bei einem solchen Rastermikroskop vorhandene Bauraum ausreicht, um die oben beschriebene Beleuchtungsanordnung zu implementieren. Dies gilt nicht ausschließlich für Rastermikroskope, sondern insbesondere auch für aufrechte oder inverse Auflichtmikroskope.

Bei der Verwendung eines konventionellen Fluoreszenz-Weitfeldmikroskops als Basis kann die astigmatische Optik vorteilhaft an der Stelle positioniert werden, an der bei dem Fluoreszenz-Weitfeldmikroskop ansonsten der Hauptstrahlteiler angeordnet ist. Der Hauptstrahlteiler ist bei einem Fluoreszenz-Weitfeldmikroskop das Bauteil, das das von einer Lichtquelle kommende Beleuchtungslicht in einen Abschnitt lenkt, wo der Beleuchtungsstrahlengang und der Detektionsstrahlengang coaxial zueinander verlaufen und das von der Probe kommende Detektionslicht zu einer Detektoranordnung passieren lässt

Wie bereits erwähnt, kann das Beleuchtungsobjektiv nach einem unabhängigen Erfindungsgedanken vorteilhaft in der Weise ausgebildet sein, dass es sich von einer im Querschnitt senkrecht zur optischen Achse kreisförmigen Eintrittsapertur zu einer im Querschnitt senkrecht zur optischen Achse elliptischen Frontlinse hin verjüngt, wobei das Beleuchtungsobjektiv vorzugsweise derart orientiert wird, dass die Hochachse

der elliptischen Frontlinse in der Ebene des Lichtblattes angeordnet ist. Die spezielle Form des Beleuchtungsobjektivs erlaubt es, das Beleuchtungsobjektiv in Kombination mit Detektionsoptiken mit hoher Numerischer Apertur selbst dann zu verwenden, wenn das Beleuchtungsobjektiv einen kurzen Arbeitsabstand aufweist; insbesondere einen Arbeitsabstand der kleiner ist als der Radius des Detektionsobjektivs. Ein Objektiv mit kurzem Arbeitsabstand kann vorteilhaft, gemessen an der Größe des Bildfeldes und der Numerischen Apertur, mit vergleichsweise kleinen Linsen gebaut werden.

10 Ganz allgemein hat ein solches Beleuchtungsobjektiv den ganz besonderen Vorteil, dass es insbesondere zusammen mit hochaperturigen Detektionsobjektiven eingesetzt werden kann, ohne dass es zu einer räumlichen Kollision der Objektivs kommt. Vielmehr lässt ein solches Beleuchtungsobjektiv genügend Bauraum zur Anordnung auch hochaperturiger Detektionsobjektive, die einen geringen  
15 Arbeitsabstand aufweisen und daher relativ dicht am Lichtblatt angeordnet werden müssen.

Zur Klarstellung sei angemerkt, dass im Sinne dieser Anmeldung unter dem Begriff Objektiv, insbesondere Beleuchtungsobjektiv oder Detektionsobjektiv, insbesondere  
20 eine abbildende optische Einheit verstanden wird, die wenigstens drei Linsen beinhaltet und die achromatisch oder apochromatisch oder hinsichtlich eines planen Bildfeldes oder hinsichtlich eines Farbvergrößerungsfehlers korrigiert ist.

In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand beispielhaft und schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben, wobei gleiche  
25 oder gleich wirkende Elemente zumeist mit denselben Bezugszeichen versehen sind. Dabei zeigen:

Fig. 1 ein erstes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Beleuchtungsanordnung in einer Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene,  
30

Fig. 2 das erste Ausführungsbeispiel in einer Ansicht parallel zur Lichtblattebene,

Fig. 3 ein zweites Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Beleuchtungsanordnung in einer Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene,  
35

Fig. 4 das zweite Ausführungsbeispiel in einer Ansicht parallel zur Lichtblattebene,

Fig. 5 ein drittes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Beleuchtungsanordnung in einer Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene,

5

Fig. 6 das dritte Ausführungsbeispiel in einer Ansicht parallel zur Lichtblattebene,

Fig. 7 ein viertes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Beleuchtungsanordnung in einer Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene,

10

Fig. 8 ein fünftes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Beleuchtungsanordnung in einer Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene,

Fig. 9 ein Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Beleuchtungsobjektivs im Vergleich zu einem herkömmlichen Beleuchtungsobjektiv in einer Seitenansicht,

15

Fig. 10 das Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Beleuchtungsobjektivs im Vergleich zu einem herkömmlichen Beleuchtungsobjektiv in einer Frontalansicht in Richtung der optischen Achse des Beleuchtungsobjektivs,

20

Fig. 11 das Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Beleuchtungsobjektivs im Vergleich zu einem herkömmlichen Beleuchtungsobjektiv in einer Ansicht senkrecht auf das Bildfeld,

25

Fig. 12 eine Ausführung nach dem Stand der Technik in einer Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene,

Fig. 13 die Ausführung nach dem Stand der Technik in einer Ansicht parallel zur Lichtblattebene,

30

Fig. 14 eine andere Ausführung nach dem Stand der Technik in einer Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene, und

Fig. 15 die andere Ausführung nach dem Stand der Technik in einer Ansicht parallel zur Lichtblattebene.

35

Figur 1 zeigt ein erstes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Beleuchtungsanordnung in einer Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene (Lichtblattebene = Zeichenebene). Die Beleuchtungsanordnung weist ein Beleuchtungsobjektiv 4, eine Tubuslinse 3, sowie eine astigmatische Optik 7 auf, die eine Zylinderlinse 1 beinhaltet. Die astigmatische Optik 7 ist zwischen der Tubuslinse 3 und dem Beleuchtungslicht 4 angeordnet, wobei sich keine weiteren fokussierenden oder defokussierenden Elemente zwischen der astigmatischen Optik 7 und dem Beleuchtungsobjektiv 4 befinden und die Position der astigmatischen Optik 7 entlang der optischen Achse beliebig sein kann. Vorzugsweise wird die astigmatische Optik 7 so nah wie möglich am Objektiv 4 angeordnet. Die Zylinderlinse weist eine konkav gewölbte Oberfläche 12 und eine plane Oberfläche 13 auf.

Die astigmatische Optik 7 weist eine negative Brechkraft auf. Hierbei kann insbesondere vorgesehen sein, dass die negative Brechkraft  $-1/(600 \text{ mm})$  beträgt, während die Brennweite des Beleuchtungsobjektivs 4 40 mm beträgt.

Bezogen auf die Lichtblattebene weist das optische System, das aus der astigmatischen Optik 7 und dem Beleuchtungsobjektiv 4 gebildet ist, eine geringere Brechkraft auf als das Beleuchtungsobjektiv 4 alleine, so dass das Beleuchtungslichtbündel 8, nachdem es das Beleuchtungsobjektiv 4 durchlaufen hat bezogen auf die Lichtblattebene (insbesondere zu erkennen Figur 1) weniger divergent verläuft als in der Ebene senkrecht zur Lichtblattebene (insbesondere zu erkennen in Figur 2) dargestellt ist.

Das Beleuchtungslichtbündel 8 ist nach Durchlaufen des Beleuchtungsobjektivs 4 astigmatisch und weist daher in der Ebene senkrecht zur Lichtblattebene einen ersten Fokus 9 und in der Lichtblattebene einen zweiten Fokus 10 auf, die zum Beleuchtungsobjektiv 4 einen unterschiedlichen Axialabstand aufweisen. Vorzugsweise wird bei negativer Brechkraft der Zylinderlinse 1 der erste Fokus 9 als Lichtblatt 11 verwendet, um eine Probe bei einer SPIM-Untersuchung schichtweise zu beleuchten. Innerhalb des Lichtblattes 11 liegt vorzugsweise das Sichtfeld 23 einer (hier nicht dargestellten) Detektionsoptik. Die in Fig. 2 eingezeichneten beiden gestrichelten Linien links und rechts neben der Fokalebene 26 des Beleuchtungsobjektivs 4 deuten den Schärfentiefenbereich des Lichtblatts an.



Figur 3 zeigt ein zweites Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Beleuchtungsanordnung für ein Lichtblatt-Mikroskop in einer Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene, während Figur 4 dieses Ausführungsbeispiel in einer Ansicht parallel zur Lichtblattebene zeigt.

5

Auch bei diesem Ausführungsbeispiel ist eine astigmatische Optik 7 zwischen einer Tubuslinse 3 und einem Beleuchtungsobjektiv 4 angeordnet, wobei sich keine weiteren fokussierenden oder defokussierenden Elemente zwischen der astigmatischen Optik 7 und dem Beleuchtungsobjektiv 4 befinden. Allerdings unterscheidet sich die in den Figuren 3 und 4 dargestellte Ausführung von der in den Figuren 1 und 2 dargestellten Ausführung dadurch, dass die astigmatische Optik 7 eine positive Brechkraft aufweist. Die astigmatische Optik 7 beinhaltet eine Zylinderlinse 1 mit einer konvex gewölbten Oberfläche 14 und einer planen Oberfläche 13.

10

Das optische System, das aus der astigmatischen Optik 7 und dem Beleuchtungsobjektiv 4 gebildet ist, weist in Bezug auf die Lichtblattebene (Figur 3) eine größere Brechkraft auf, als das Beleuchtungsobjektiv 4 alleine. Das nach dem Durchlaufen des Beleuchtungsobjektivs 4 astigmatische Beleuchtungslichtbündel 8 weist daher bezogen auf die Lichtblattebene (Figur 3) einen ersten Fokus 9 und bezogen auf die Ebene senkrecht zur Lichtblattebene einen zweiten Fokus 10 auf, wobei der erste Fokus 9 dem Beleuchtungsobjektiv 4 axial näher liegt, als der zweite Fokus 10. Vorzugsweise wird der zweite Fokus 10 als Lichtblatt 11 verwendet, um eine Probe bei einer SPIM-Untersuchung schichtweise zu beleuchten. Hierbei wird vorteilhaft ausgenutzt, dass der zweite Fokus 10 ausschließlich durch die Brechkraft des Beleuchtungsobjektivs 4 erzeugt wurde und daher sämtliche optischen Korrekturen des Beleuchtungsobjektivs 4 voll wirksam sind, während der erste Fokus 9 durch die gemeinsame Wirkung von astigmatischer Optik 7 und Beleuchtungsobjektiv 4 entsteht, so dass für den ersten Fokus 9 die Korrektur von Abbildungsfehlern schlechter ist. Außerdem hat diese Ausführung den besonderen Vorteil, dass durch die Verwendung des zweiten Fokus 10 mehr Raum für ein senkrecht zu dem Beleuchtungsobjektiv 4 anzuordnendes Detektionsobjektiv zur Verfügung gestellt ist. Innerhalb des Lichtblattes 11 liegt vorzugsweise das Sichtfeld 23 einer (hier nicht dargestellten) Detektionsoptik.

15

Die Figuren 5 und 6 zeigen ein drittes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen

Beleuchtungsanordnung für ein SPIM-Mikroskop, wobei Figur 5 eine Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene (=Zeichenebene) zeigt, während Figur 6 eine Ansicht aus einer Richtung parallel zur Lichtblattebene (die Lichtblattebene steht senkrecht zur Zeichenebene) darstellt.

5

Die Beleuchtungsanordnung beinhaltet ein Beleuchtungsobjektiv 4 und eine Tubuslinse 3, sowie eine astigmatische Optik 7, die bei diesem Ausführungsbeispiel als Zylinderlinse 1 mit negativer ist. Dies kann beispielsweise dadurch realisiert sein, dass die astigmatische Optik 7 als schraubbarer Aufsatz zum Befestigen an dem Beleuchtungsobjektiv 4, insbesondere an einem Beleuchtungsobjektivgehäuse 15 des Beleuchtungsobjektivs 4, ausgebildet ist. Die astigmatische Optik 7 kann jedoch auch in das Beleuchtungsobjektivgehäuse bzw. fest an einer vorgebbaren Stelle des Beleuchtungsobjektivgehäuses 15 oder an einer beliebigen Position innerhalb des Beleuchtungsobjektivgehäuses 15 montiert sein.

15

Das Beleuchtungslichtbündel 8 wird bei diesem Ausführungsbeispiel im Wesentlichen ähnlich fokussiert, wie bei dem Ausführungsbeispiel, das in den Figuren 1 und 2 gezeigt ist. Innerhalb des Lichtblattes 11 liegt vorzugsweise das Sichtfeld 23 einer (hier nicht dargestellten) Detektionsoptik.

20

Das Beleuchtungslichtbündel 8 weist in einer konjugierten Ebene 24 zur Fokalebene 26 des Beleuchtungsobjektivs 4 einen Fokus auf und wird anschließend von einer Tubuslinse 3 kollimiert, so dass es als kollimiertes Beleuchtungslichtbündel die Pupillenebene des Beleuchtungsobjektivs 4 durchläuft.

25

In Bezug auf die Ebene, die in Fig. 5 gezeigt ist, ändert die astigmatische Optik 7 die Brechkraft des Beleuchtungsobjektivs 4 nicht. Der zweite Fokus 10 befindet sich daher in der Fokalebene 26 des Beleuchtungsobjektivs 4. In Bezug auf die Ebene, die in Fig. 6 gezeigt ist wirkt die negative Brechkraft der astigmatischen Optik 7 zusätzlich zur die Brechkraft des Beleuchtungsobjektivs 4, so dass die insgesamt geringere Brechkraft bewirkt, dass der zweite Fokus 10 weiter vom Beleuchtungsobjektiv 4 entfernt liegt, als der erste Fokus 9. Hierbei wird vorteilhaft ausgenutzt, dass der erste Fokus 9 ausschließlich durch die Brechkraft des Beleuchtungsobjektivs 4 erzeugt wurde und daher sämtliche optischen Korrekturen des Beleuchtungsobjektivs voll wirksam sind, während der zweite Fokus 10 durch die gemeinsame Wirkung von astigmatischer Optik 7 und Beleuchtungsobjektiv 4 entsteht, so dass für den zweiten Fokus 10 die

35

Korrektur von Abbildungsfehlern schlechter ist.

92807

Fig. 7 zeigt ein viertes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Beleuchtungsanordnung in einer Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene (Lichtblattebene= Zeichenebene), das eine (nur sehr schematisch dargestellte) hinsichtlich des Ablenkungswinkels einstellbare Strahlableitrichtung 16, nämlich einen um eine Drehachse 17 drehbaren Spiegel 18 aufweist. Die Drehachse 17 ist senkrecht zur Lichtblattebene ausgerichtet.

Dem Spiegel 18 ist eine Scanlinse 19 nachgeschaltet. Außerdem weist die Beleuchtungsanordnung ein Beleuchtungsobjektiv 4, eine Tubuslinse 3, sowie eine astigmatische Optik 7 auf, die eine Zylinderlinse 1 beinhaltet. Die astigmatische Optik 7 ist zwischen der Tubuslinse 3 und dem Beleuchtungsobjektiv 4 angeordnet, wobei sich keine weiteren fokussierenden oder defokussierenden Elemente zwischen der astigmatischen Optik 7 und dem Beleuchtungsobjektiv 4 befinden. Die Zylinderlinse weist eine konkav gewölbte Oberfläche 12 und eine plane Oberfläche 13 auf. Das Beleuchtungslichtbündel 8 wird bei diesem Ausführungsbeispiel vom Beleuchtungsobjektiv 4 im Wesentlichen ähnlich fokussiert, wie bei dem Ausführungsbeispiel, das in den Figuren 1 und 2 gezeigt ist.

Durch Drehen des Spiegels 18 um die Drehachse 17 kann der von der Scanlinse 19 erzeugte Fokus in der zur Fokalebene 26 des Beleuchtungsobjektivs 4 konjugierten Ebene 24 quer zur optischen Achse bewegt werden (siehe Doppelpfeil), wodurch das Lichtblatt senkrecht zur optischen Achse des Beleuchtungsobjektivs 4 verschoben werden kann, beispielsweise um einen Probenbereich 27 über die Breite des Bildfeldes sukzessive mit dem Lichtblatt 11 zu beleuchten. Hierdurch kann zeitsequentiell ein – ggf. sogar noch größer als in Fig. 7 bzw. 8 eingezeichneter – Probenbereich 27 scannend beleuchtet werden. Es ist auch möglich, das Lichtblatt in Lichtausbreitungsrichtung zu verschieben, wenn eine Probenschicht in zwei Dimensionen sukzessive mit dem Lichtblatt 11 beleuchtet werden soll.

Fig. 8 zeigt ein fünftes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Beleuchtungsanordnung in einer Ansicht senkrecht auf die Lichtblattebene (Lichtblattebene = Zeichenebene). Die Beleuchtungsanordnung beinhaltet ein Beleuchtungsobjektiv 4 und eine Tubuslinse 3, sowie eine astigmatische Optik 7, die als Zylinderlinse 1 mit negativer Brechkraft Teil des Beleuchtungsobjektivs 4 ist.

Die Beleuchtungsanordnung beinhaltet außerdem zwischen der Tubuslinse 3 und dem Beleuchtungsobjektiv 4 eine schematisch angedeutete, hinsichtlich des Ablenkungswinkels einstellbare Strahlableitvorrichtung 16, die es erlaubt, das Lichtblatt 11, das einen Probenbereich 27 beleuchtet, senkrecht zur optischen Achse des Beleuchtungsobjektivs 4 zu verschieben.

Die Fig. 9 bis 11 zeigen ein Ausführungsbeispiel eines erfindungsgemäßen Beleuchtungsobjektivs 4 und dessen Anordnung relativ zu einem Detektionsobjektiv 20 im Vergleich einer Anordnung mit herkömmlichem Beleuchtungsobjektiv 4, wobei in der jeweils linken Abbildung die Anordnung nach dem Stand der Technik und in der jeweils rechten Abbildung die Anordnung mit dem erfindungsgemäßen Beleuchtungsobjektiv 4 gezeigt ist. Der freie Arbeitsabstand X, also der Abstand zwischen Fokusebene 26 und Frontlinse des Beleuchtungsobjektivs 4 kann erfindungsgemäß deutlich gegenüber dem freien Arbeitsabstand der aus dem Stand der Technik bekannten Anordnungen reduziert werden.

Das erfindungsgemäße Beleuchtungsobjektiv 4 verjüngt sich von einer im Querschnitt senkrecht zur optischen Achse kreisförmigen Eintrittsapertur 28 zu einer im Querschnitt senkrecht zur optischen Achse elliptischen Frontlinse 21 hin, wobei das Beleuchtungsobjektiv 4 vorzugsweise derart orientiert wird, dass die Hochachse der elliptischen Frontlinse 21 in der Ebene des Lichtblattes 11 angeordnet ist. Die spezielle Form des Beleuchtungsobjektivs 4 erlaubt es, das Beleuchtungsobjektiv 4 in Kombination mit einem Detektionsobjektiv 20, das eine Frontlinse 22 aufweist, mit hoher Numerischer Apertur selbst dann zu verwenden, wenn das Beleuchtungsobjektiv 4 einen kurzen Arbeitsabstand aufweist; insbesondere einen Arbeitsabstand, der kleiner ist als der Radius des Detektionsobjektivs 21, insbesondere einen Arbeitsabstand, der nur etwas größer ist, als das Bildfeld des Detektionsobjektivs 21.

30

**Bezugszeichenliste:**

92807

	1	Zylinderlinse
	2	Relaylinse
5	3	Tubuslinse
	4	Beleuchtungsobjektiv
	5	zur Pupille des Beleuchtungsobjektivs konjugierte Ebene
	6	Lichtbündel
	7	astigmatische Optik
10	8	Beleuchtungslichtbündel
	9	erster Fokus
	10	zweiter Fokus
	11	Lichtblatt
	12	Konkav gewölbte Oberfläche
15	13	plane Oberfläche
	14	konvex gewölbten Oberfläche
	15	Beleuchtungsobjektivgehäuse
	16	Strahlableitvorrichtung
	17	Drehachse
20	18	Spiegel
	19	Scanlinse
	20	Detektionsobjektiv
	21	elliptische Frontlinse von (4)
	22	Frontlinse des Detektionsobjektivs
25	23	Sichtfeld Detektionsoptik
	24	konjugierte Ebene zu(26) von (4)
	25	Pupillenebene von (4)
	26	Fokalebene von (4)
	27	Probenbereich
30	28	Eintrittsapertur von (4)
	X	freier Arbeitsabstand von (4)

**Patentansprüche**

92807

1. Beleuchtungsanordnung für ein Lichtblatt-Mikroskop, bei dem eine Probe mit einem Beleuchtungslichtbündel (8) beleuchtet wird, das im Bereich der Probe als Lichtblatt (11) ausgebildet ist, mit einem Beleuchtungsobjektiv (4), einer Tubuslinse (3) und einer astigmatischen Optik (7), dadurch gekennzeichnet, dass die astigmatische Optik (7) derart ausgebildet und derart zwischen der Tubuslinse und dem Beleuchtungsobjektiv (4) angeordnet ist, dass das aus dem Beleuchtungsobjektiv (4) austretende Beleuchtungslichtbündel (8) sowohl in einer Sagittalebene, als auch in einer Meridionalebene fokussiert ist.
2. Beleuchtungsanordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Brennweite der astigmatischen Optik vom Abstand der astigmatischen Optik zu der Pupille des Beleuchtungsobjektivs (4) verschieden ist.
3. Beleuchtungsanordnung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass keine weiteren fokussierenden oder defokussierenden Elemente zwischen der astigmatischen Optik (7) und dem Beleuchtungsobjektiv (4) angeordnet sind und/oder dass die astigmatische Optik (7) – zumindest um einen vorgebbaren Winkelbereich – um eine Achse verdrehbar angeordnet ist.
4. Beleuchtungsanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die astigmatische Optik (7) Teil des Beleuchtungsobjektivs (4) ist.
5. Beleuchtungsanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass
  - a. die astigmatische Optik (7) eine negative Brechkraft aufweist, und/oder dass
  - b. die astigmatische Optik (7) eine Brechkraft im Bereich von  $-1/(500\text{mm})$  bis  $-1/(700\text{mm})$ , insbesondere von  $-1/(600\text{mm})$  aufweist, und/oder dass
  - c. die astigmatische Optik (7) eine Brechkraft aufweist, die kleiner ist, als  $1/10$  der Brechkraft des Beleuchtungsobjektivs, und/oder dass

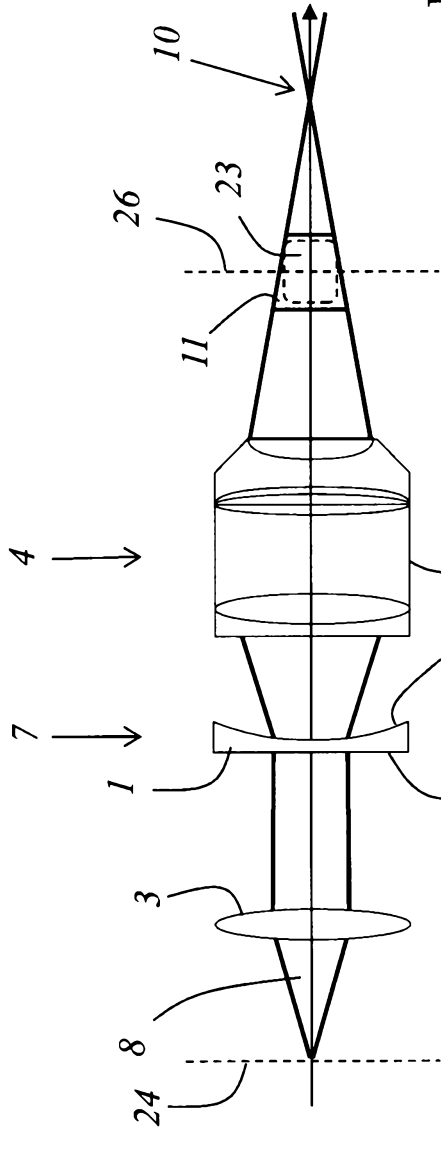
- d. die astigmatische Optik (7) wenigstens bezogen auf die Sagittalebene eine negative Brechkraft aufweist, und/oder dass 92807
- e. die astigmatische Optik (7) wenigstens bezogen auf die Meridionalebene eine negative Brechkraft aufweist.
- 5 6. Beleuchtungsanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass
- a. die astigmatische Optik (7) eine positive Brechkraft aufweist, und/oder dass
- 10 b. die astigmatische Optik (7) wenigstens bezogen auf die Sagittalebene eine positive Brechkraft aufweist, und/oder dass
- c. die astigmatische Optik (7) wenigstens bezogen auf die Meridionalebene eine positive Brechkraft aufweist.
7. Beleuchtungsanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass
- 15 a. die astigmatische Optik (7) als Zylinderlinse (1) ausgebildet ist oder eine Zylinderlinse (1) aufweist oder dass
- b. die astigmatische Optik (7) als Zylinderlinse (1) mit wenigstens einer konkav gewölbten Oberfläche (12) ausgebildet ist oder eine Zylinderlinse (1) mit wenigstens einer konkav gewölbten Oberfläche (12) aufweist oder dass
- 20 c. die astigmatische Optik (7) als Zylinderlinse (1) mit wenigstens einer konvex gewölbten Oberfläche (14) ausgebildet ist oder eine Zylinderlinse (1) mit wenigstens einer konvex gewölbten Oberfläche (14) aufweist.
8. Beleuchtungsanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass
- 25 a. die astigmatische Optik (7) in der Pupille (5) des Beleuchtungsobjektivs (4) angeordnet ist, und/oder dass
- b. die astigmatische Optik (7) in einem Unendlichstrahlengang zwischen der Tubuslinse (3) und dem Beleuchtungsobjektiv (4) angeordnet ist.

9. Beleuchtungsanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass 92807
- 5 a. sich das Beleuchtungsobjektiv (4) von einer im Querschnitt senkrecht zur optischen Achse kreisförmigen Eintrittsapertur zu einer im Querschnitt senkrecht zur optischen Achse elliptischen Frontlinse (21) hin verjüngt, und/oder dass
- 10 b. sich das Beleuchtungsobjektiv (4) von einer im Querschnitt senkrecht zur optischen Achse kreisförmigen Eintrittsapertur zu einer im Querschnitt senkrecht zur optischen Achse elliptischen Frontlinse (21) hin verjüngt, wobei die Hochachse der Frontlinse (21) in der Ebene des Lichtblattes angeordnet ist.
10. Beleuchtungsanordnung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass ein Teil des Beleuchtungsobjektivs (4) – zumindest um einen vorgebbaren Winkelbereich – gegenüber dem Rest des Beleuchtungsobjektivs (4)
- 15 verdrehbar ausgestaltet ist, wobei der verdrehbar ausgestaltete Teil des Beleuchtungsobjektivs (4) die elliptischen Frontlinse (21) umfasst.
11. Beleuchtungsanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, gekennzeichnet durch
- 20 a. eine Justiervorrichtung zum Justieren der Position und/oder der Ausrichtung der astigmatischen Optik (7), und/oder durch
- b. eine Vorrichtung zum Bestimmen der Position und Ausrichtung optischen Achse der astigmatischen Optik (7), und/oder durch
- c. eine Vorrichtung zum Justieren der Position und Ausrichtung der optischen Achse der astigmatischen Optik (7).
- 25 12. Beleuchtungsanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, gekennzeichnet durch
- a. eine Fokusschiebevorrichtung zum Verändern der Position des Lichtblattes (11) entlang der Lichtausbreitungsrichtung, und/oder durch
- 30 b. eine Fokusschiebevorrichtung zum Verändern der Position des Lichtblattes (11) senkrecht zur optischen Achse des Beleuchtungsobjektivs (4).

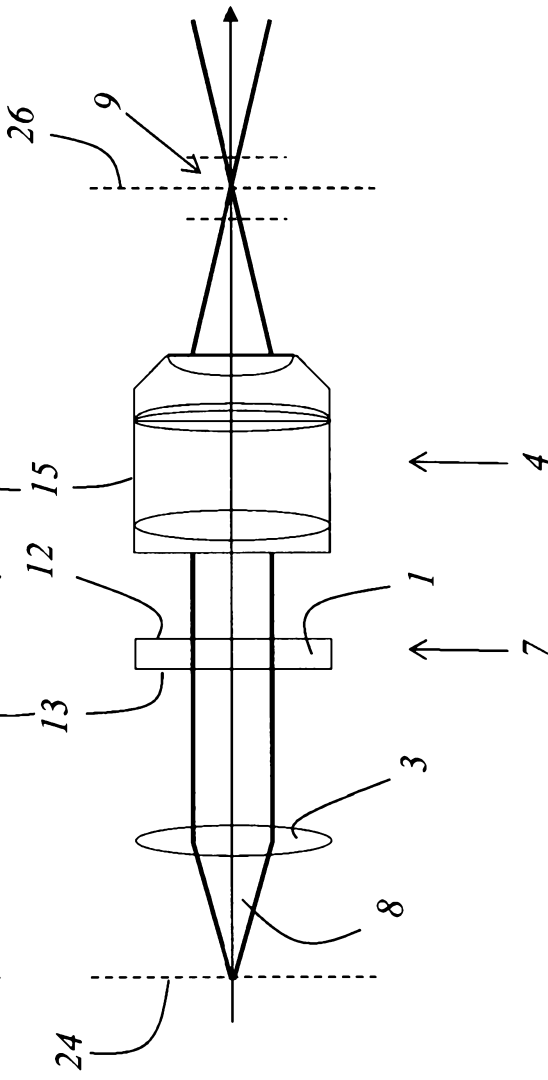


13. Beleuchtungsanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die astigmatische Optik (7) als Aufsatz zum Befestigen an dem Beleuchtungsobjektiv (4) oder einem Beleuchtungsobjektivgehäuse (15) ausgebildet ist. 92807
- 5 14. Mikroskop beinhaltend eine Beleuchtungsanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 13.
- 10 15. Mikroskop nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass die astigmatische Optik (7) mittels einer Wechsellvorrichtung zum Einbringen von optischen Bauteilen in den Strahlengang des Beleuchtungslichtbündels (8) wahlweise in den Strahlengang des Beleuchtungslichtbündels (8) eingefügt oder aus dem Strahlengang des Beleuchtungslichtbündels entfernt werden kann.
- 15 16. Mikroskop nach Anspruch 14 oder 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Wechsellvorrichtung als Filterrad oder als Filtereinschubvorrichtung oder als Polfiltereinschub oder als Revolver oder als DIC-Revolver ausgebildet ist.
- 20 17. Mikroskop nach einem der Ansprüche 14 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass das Mikroskop als Rastermikroskop, insbesondere als konfokales Rastermikroskop ausgebildet ist, oder dass das Mikroskop aus einem Rastermikroskop, insbesondere einem konfokalen Rastermikroskop, hergestellt ist.
- 25 18. Mikroskop nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass die astigmatische Optik (7) an der Stelle positioniert ist oder positionierbar ist, an der bei dem Rastermikroskop ansonsten der Hauptstrahlteiler angeordnet ist.
- 30 19. Beleuchtungsobjektiv (4), insbesondere für eine Beleuchtungsanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 13 und/oder für ein Mikroskop nach einem der Ansprüche 14 bis 18, das eine astigmatische Optik (7) zum Erzeugen eines Lichtblattes (11) für die SPIM-Untersuchung einer Probe beinhaltet und/oder das sich von einer im Querschnitt senkrecht zur optischen Achse kreisförmigen Eintrittsapertur zu einer im Querschnitt senkrecht zur optischen Achse elliptischen Frontlinse (21) hin verjüngt.
20. Verfahren zum Beleuchten einer mikroskopischen Probe mit einem Lichtblatt, dadurch gekennzeichnet, dass eine astigmatische Optik (7) zwischen einer

- 5 Tubuslinse (3) und einem Beleuchtungsobjektiv (4) derart angeordnet wird, dass das von dem Beleuchtungsobjektiv (4) fokussierte Beleuchtungslichtbündel (8) einen sagittalen und einen meridionalen Fokus (9, 10) aufweist, die von dem Beleuchtungsobjektiv (4) einen unterschiedlichen Axialabstand aufweisen.
21. Verfahren nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass,
- 10 a. die Probe im Bereich des Fokus mit dem geringeren Axialabstand zu dem Beleuchtungsobjektiv (4) positioniert wird, wenn die astigmatische Optik eine negative Brechkraft aufweist und/oder dass
- 10 b. die Probe im Bereich des Fokus mit dem größeren Axialabstand zu dem Beleuchtungsobjektiv (4) positioniert wird, wenn die astigmatische Optik eine positive Brechkraft aufweist.
22. Verfahren zum Beleuchten einer Probe mittels einer Beleuchtungsanordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 13 und/oder zum Beleuchten einer Probe mittels eines Beleuchtungsobjektivs (4) nach Anspruch 19 und/oder zum Untersuchen einer Probe mittels eines Mikroskops nach einem der Ansprüche 14 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass das von dem Beleuchtungsobjektiv (4) fokussierte Beleuchtungslichtbündel (8) einen sagittalen und einen meridionalen Fokus (9, 10) aufweist, die von dem Beleuchtungsobjektiv (4) einen unterschiedlichen Axialabstand aufweisen, wobei
- 15 a. die Probe im Bereich des Fokus mit dem geringeren Axialabstand zu dem Beleuchtungsobjektiv (4) positioniert wird, wenn die astigmatische Optik eine negative Brechkraft aufweist und/oder dass
- 20 b. die Probe im Bereich des Fokus mit dem größeren Axialabstand zu dem Beleuchtungsobjektiv (4) positioniert wird, wenn die astigmatische Optik eine positive Brechkraft aufweist.
- 25



**Fig. 1**



**Fig. 2**

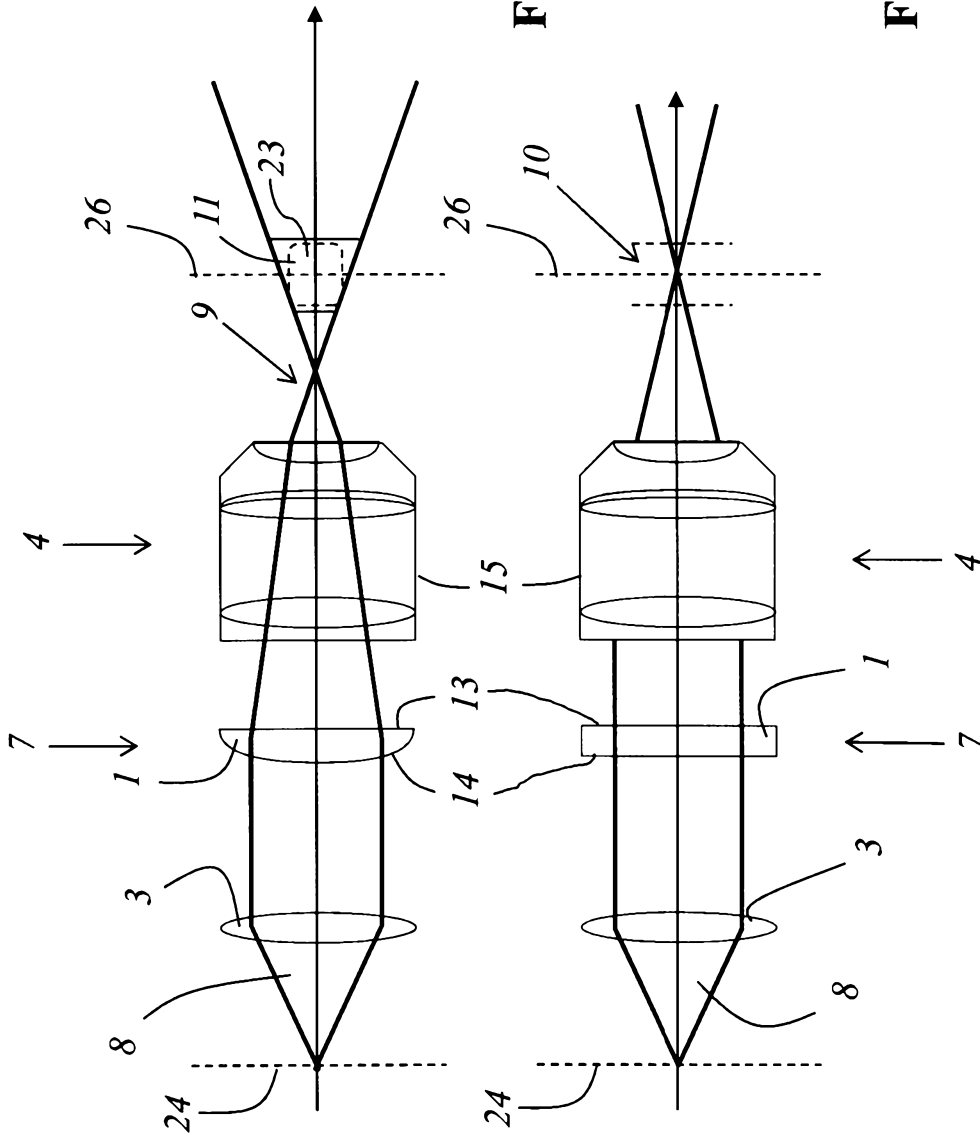


Fig. 3

Fig. 4

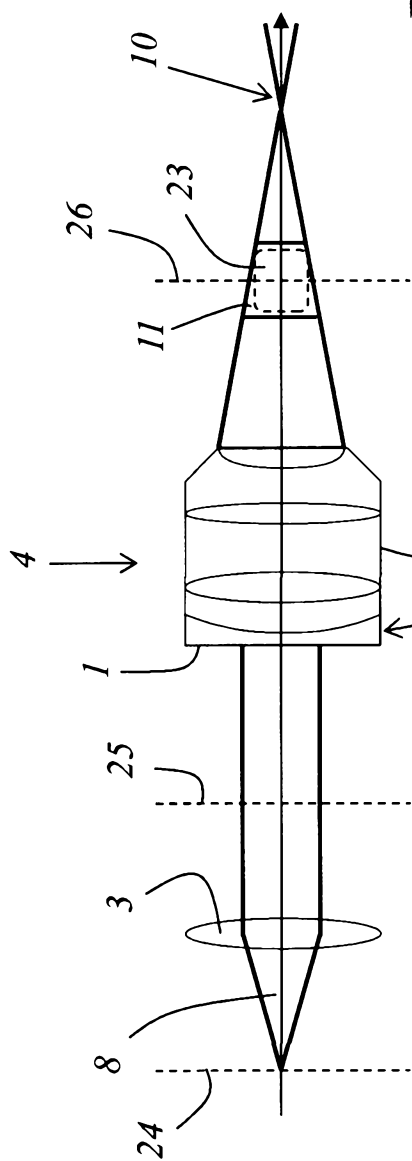


Fig. 5

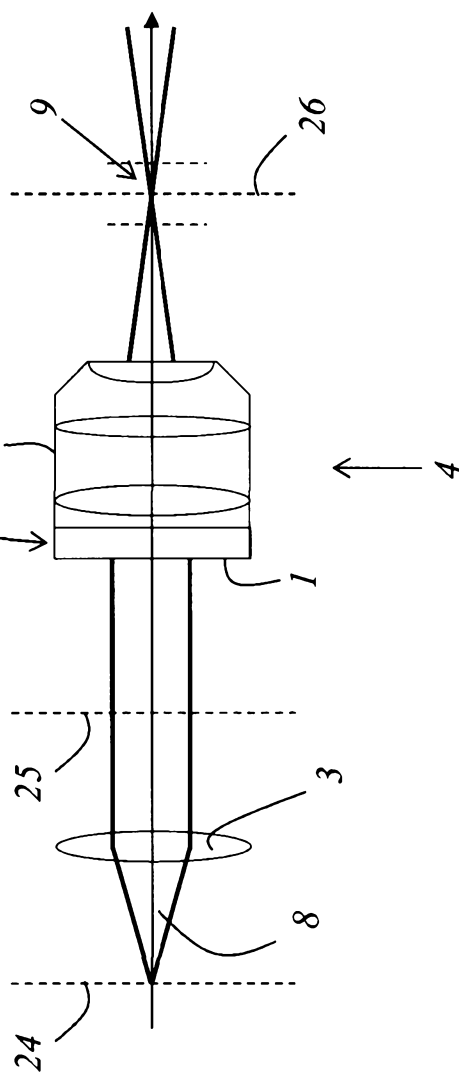


Fig. 6

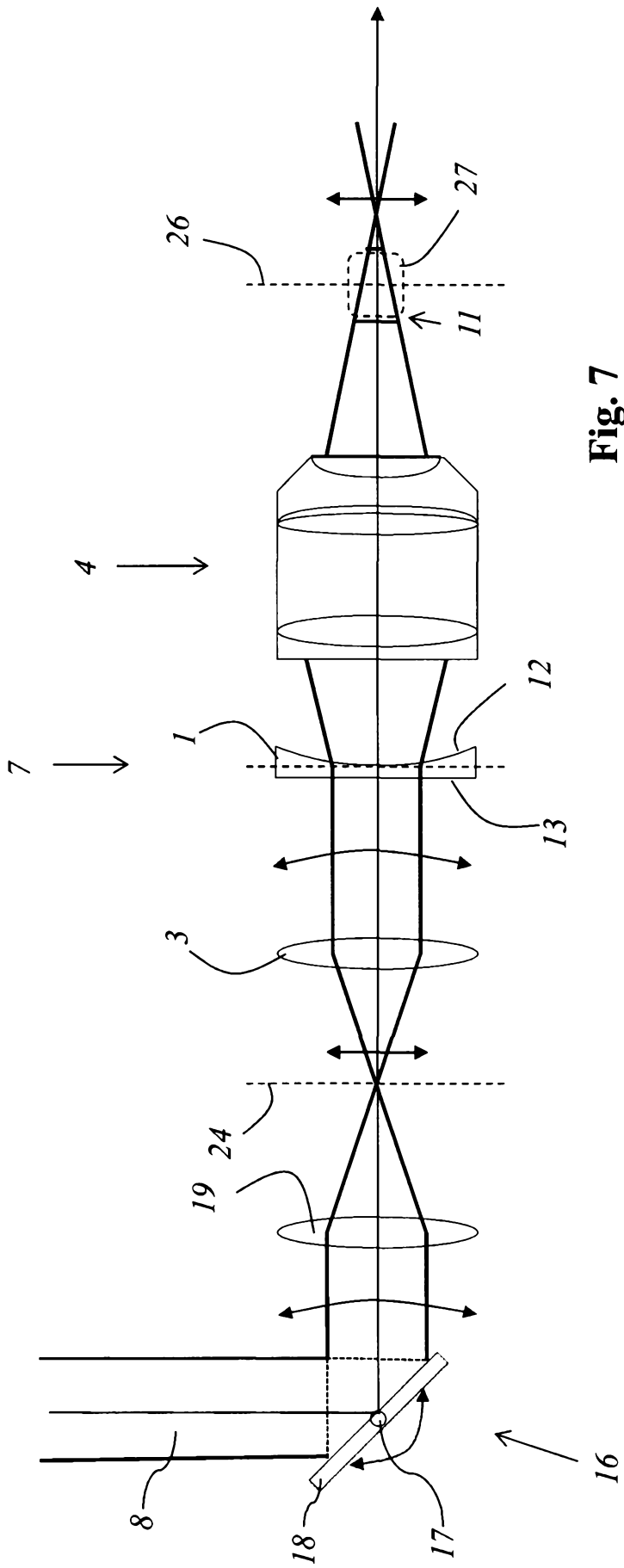


Fig. 7

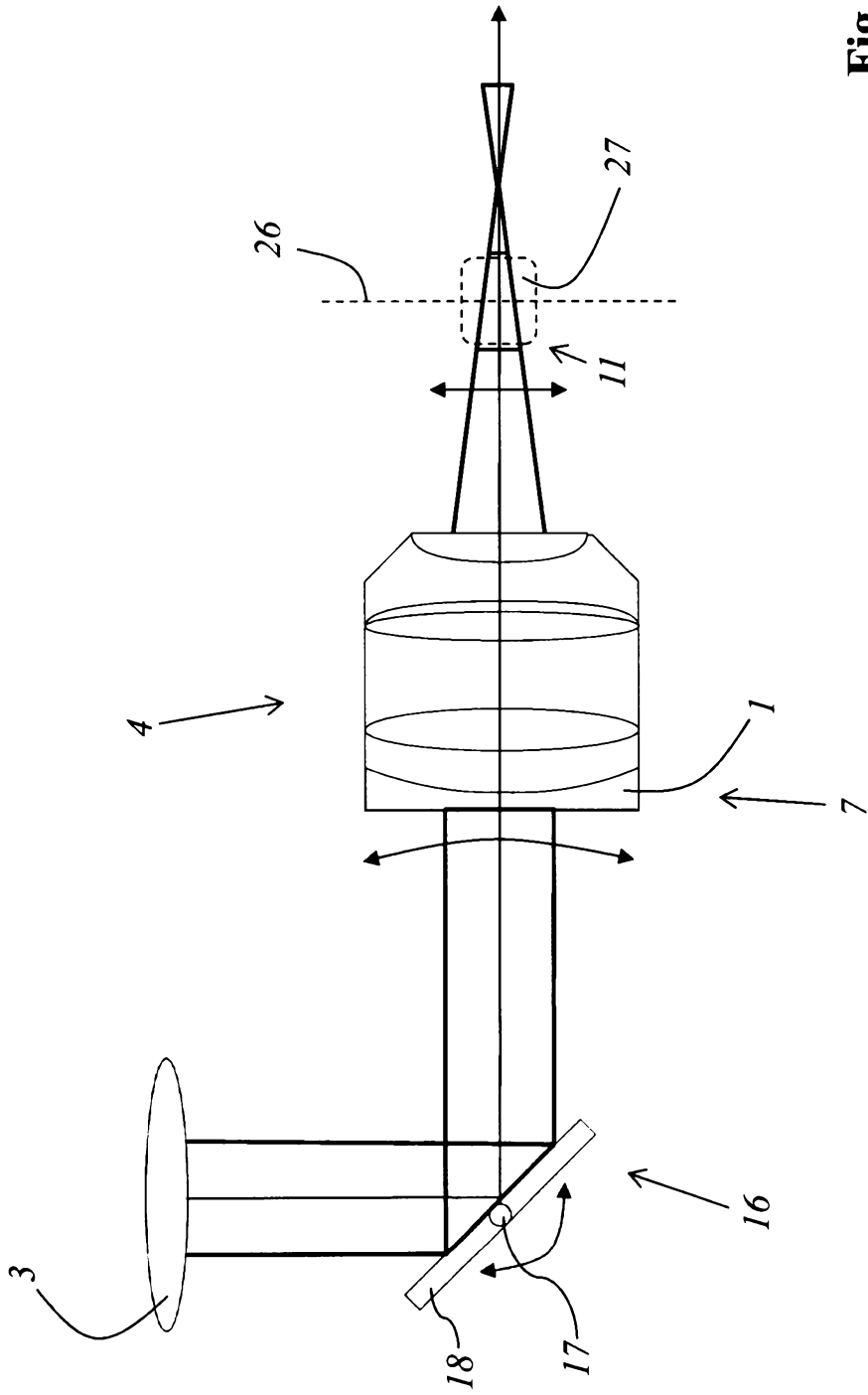
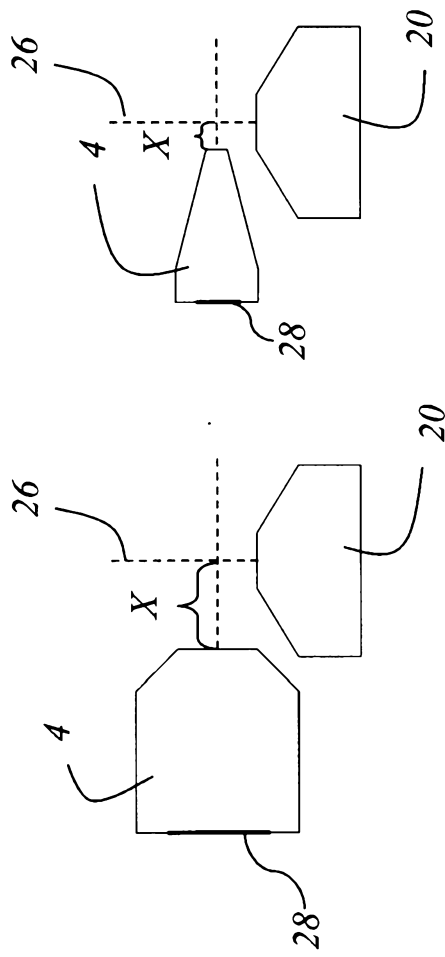


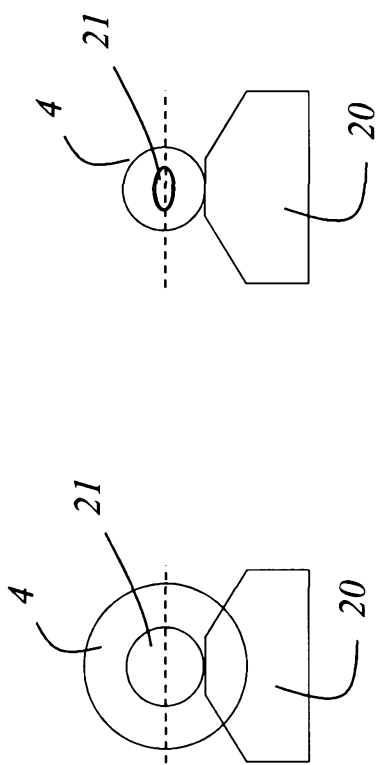
Fig. 8



Stand der Technik

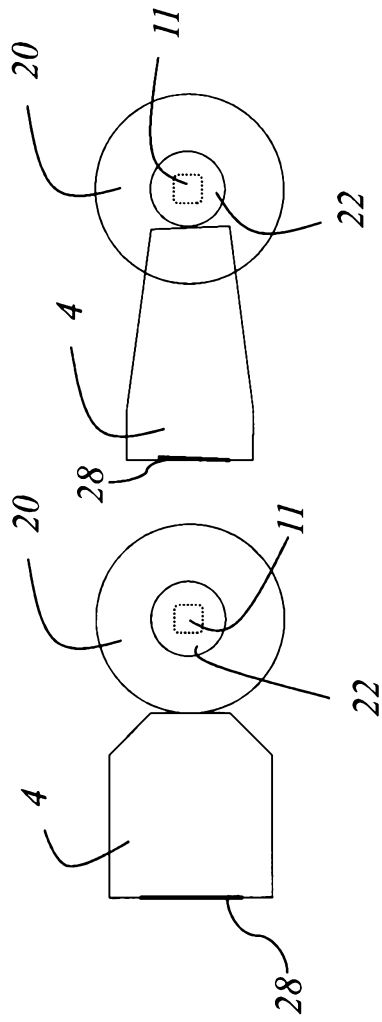
Fig. 9





Stand der Technik

Fig. 10



Stand der Technik

Fig. 11

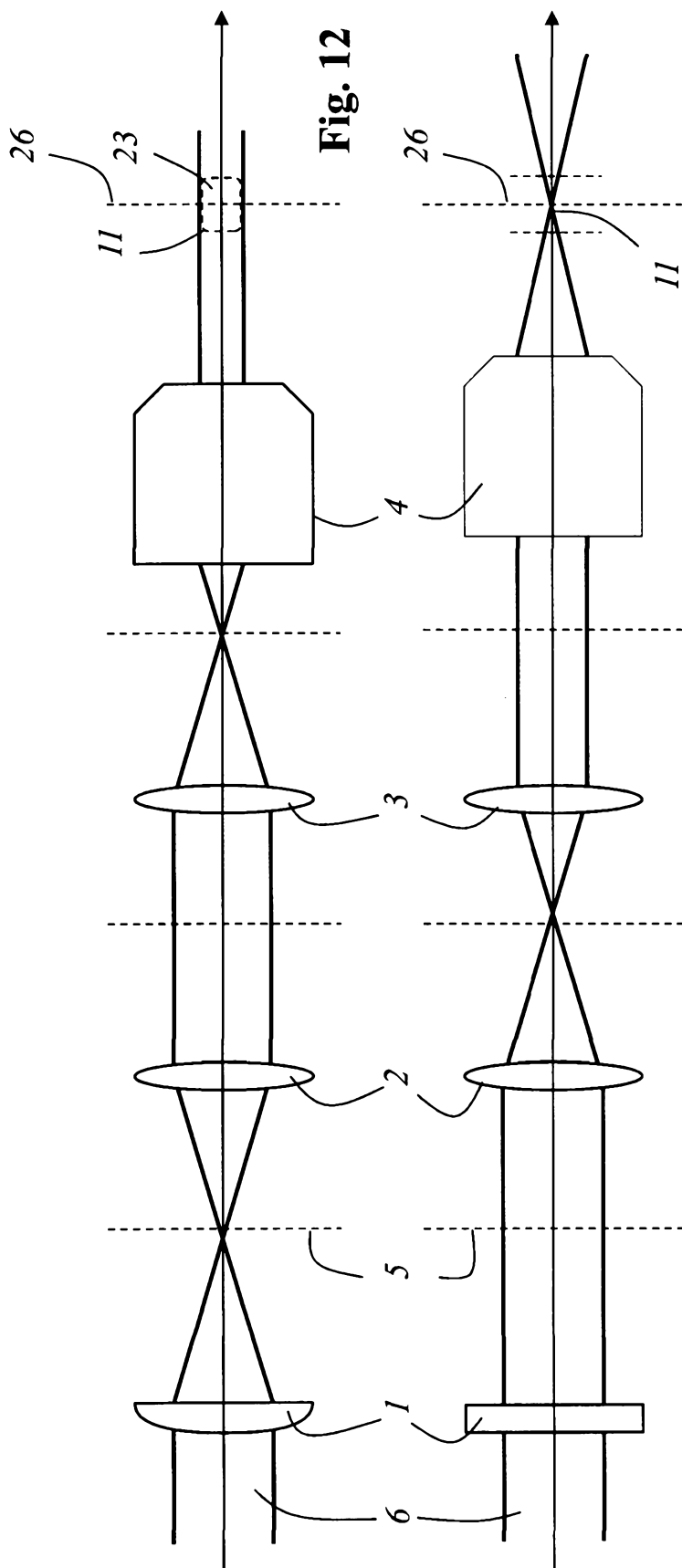
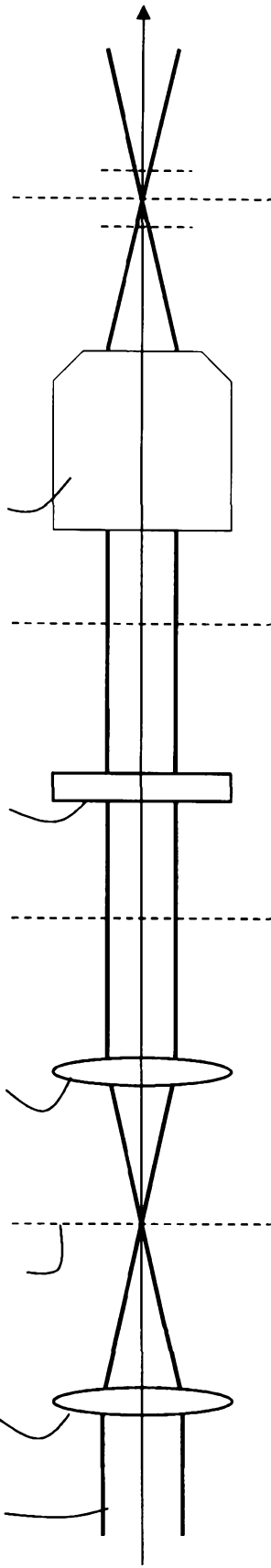
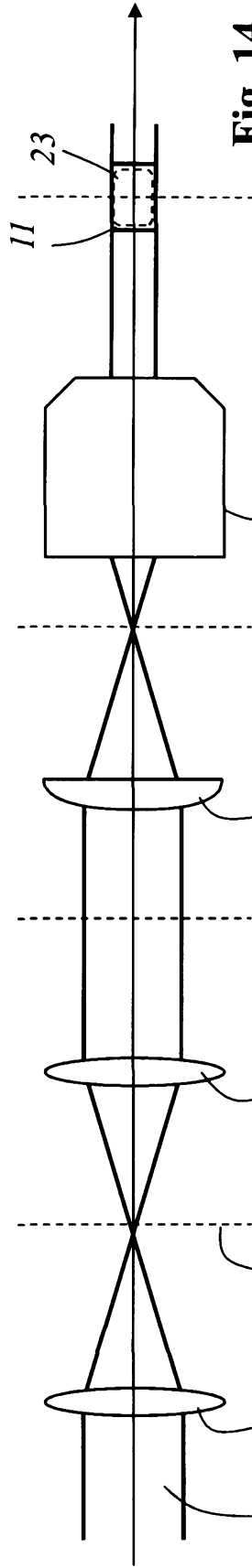


Fig. 12

Fig. 13

Stand der Technik



Stand der Technik

### Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Beleuchtungsanordnung für ein Lichtblatt-Mikroskop, bei dem eine Probe mit einem Beleuchtungslichtbündel (8) beleuchtet wird, das im Bereich der Probe als Lichtblatt (11) ausgebildet ist, mit einem Beleuchtungsobjektiv (4), einer Tubuslinse (3) und einer astigmatischen Optik (7). Die Beleuchtungsanordnung zeichnet sich dadurch aus, dass die astigmatische Optik (7) zwischen der Tubuslinse (3) und dem Beleuchtungsobjektiv (4) angeordnet ist und/oder keine weiteren fokussierenden oder defokussierenden Elemente zwischen der astigmatischen Optik (7) und dem Beleuchtungsobjektiv (4) angeordnet sind. Alternativ kann auch vorgesehen sein, dass die astigmatische Optik Teil des Beleuchtungsobjektivs (4) ist. Darüber hinaus betrifft die Erfindung ein Verfahren zum Beleuchten einer Probe mittels einer solchen Beleuchtungsanordnung, sowie ein Mikroskop, das eine solche Beleuchtungsanordnung beinhaltet.

(Fig. 1)



**RECHERCHENBERICHT**

nach Artikel 35.1 a)  
des luxemburgischen Gesetzes über Erfindungspatente  
vom 20. Juli 1992

LO 1176  
LU 92807

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)
X	MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG Siehe Ergänzungsblatt B ----- DE 10 2013 213781 A1 (LEICA MICROSYSTEMS [DE]) 25. September 2014 (2014-09-25)  * Absätze [0034], [0068]; Abbildung 1 *	1-3,5-8, 11,12, 14-18, 20-22	INV. G02B21/00 G01N21/64 G02B21/16 G02B21/06
A	DE 10 2010 013223 A1 (LAVISION BIOTEC GMBH [DE]) 29. September 2011 (2011-09-29)  * Abbildungen 1,2 *	1-3,5-8, 11,12, 14-18, 20-22	
A	JÖRG G RITTER ET AL: "A cylindrical zoom lens unit for adjustable optical sectioning in light sheet microscopy References and links", BIOMEDICAL OPTICS EXPRESS 185, Bd. 170, Nr. 347, 1. Januar 2012 (2012-01-01), Seiten 211-219, XP055137860, * Absatz [02.1]; Abbildungen 1,2 *	1-3,5-8, 11,12, 14-18, 20-22	
A	HUISKEN J ET AL: "EVEN FLUORESCENCE EXCITATION BY MULTIDIRECTIONAL SELECTIVE PLANE ILLUMINATION MICROSCOPY (MSPIM)", OPTICS LETTERS, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, US, Bd. 32, Nr. 17, 1. September 2007 (2007-09-01), Seiten 2608-2610, XP001507615, ISSN: 0146-9592, DOI: 10.1364/OL.32.002608 * Abbildung 2 *	1-3,5-8, 11,12, 14-18, 20-22	
		Abschlußdatum der Recherche	Prüfer
		11. März 2016	Rödig, Christoph
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
<p>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur</p>		<p>T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument ----- &amp; : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</p>	

1

**MANGELNDE EINHEITLICHKEIT  
DER ERFINDUNG  
ERGÄNZUNGSBLATT B**

Nummer der Anmeldung

LO 1176  
LU 92807

Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende Patentanmeldung nicht den Anforderungen an die Einheitlichkeit der Erfindung und enthält mehrere Erfindungen oder Gruppen von Erfindungen, nämlich:

1. Ansprüche: 1-3, 5-8, 11, 12, 14-18, 20, 21(vollständig);  
22(teilweise)

Details der astigmatischen Optik

---

2. Ansprüche: 4, 13(vollständig); 19, 22(teilweise)

Beleuchtungsobjektiv mit astigmatischer Optik

---

3. Ansprüche: 9, 10, 13(vollständig); 19, 22(teilweise)

Beleuchtungsobjektiv mit elliptischer Frontlinse

---

Die Recherche wurde auf die erste Erfindung beschränkt.

**ANHANG ZUM RECHERCHENBERICHT  
 ÜBER DIE LUXEMBURGISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

LO 1176  
 LU 92807

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am  
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

11-03-2016

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 102013213781 A1	25-09-2014	CN 105283792 A	27-01-2016
		DE 102013213781 A1	25-09-2014
		EP 2976669 A1	27-01-2016
		US 2016048012 A1	18-02-2016
		WO 2014147207 A1	25-09-2014
-----			
DE 102010013223 A1	29-09-2011	DE 102010013223 A1	29-09-2011
		WO 2011120629 A1	06-10-2011
-----			





## SCHRIFTLICHER BESCHEID

Dossier Nr. LO1176	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 27.08.2015	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 24.08.2015	Aktenzeichen Nr. LU92807
Internationale Patentklassifikation (IPK) INV. G02B21/00 G01N21/64 G02B21/16 G02B21/06			
Anmelder Leica Microsystems CMS GmbH			

Dieser Bescheid enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- Feld Nr. I Grundlage des Bescheids
- Feld Nr. II Priorität
- Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- Feld Nr. V Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- Feld Nr. VI Bestimmte angeführte Unterlagen
- Feld Nr. VII Bestimmte Mängel der Anmeldung
- Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur Anmeldung

Formblatt LU237A (Deckblatt) (January 2007)	Prüfer Rödig, Christoph
---	----------------------------

## SCHRIFTLICHER BESCHEID

Aktenzeichen Nr.

LU92807

---

### Feld Nr. I Grundlage des Bescheids

---

1. Dieser Bescheid wurde auf der Grundlage des letzten vor dem Beginn der Recherche eingereichten Satzes von Ansprüchen erstellt.
2. Hinsichtlich der **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz**, die in der Anmeldung offenbart wurde und für die beanspruchte Erfindung erforderlich ist, ist der Bescheid auf folgender Grundlage erstellt worden:
  - a. Art des Materials
    - Sequenzprotokoll
    - Tabelle(n) zum Sequenzprotokoll
  - b. Form des Materials
    - in Papierform
    - in elektronischer Form
  - c. Zeitpunkt der Einreichung
    - in der eingereichten Anmeldung enthalten
    - zusammen mit der Anmeldung in elektronischer Form eingereicht
    - nachträglich eingereicht
3.  Wurden mehr als eine Version oder Kopie eines Sequenzprotokolls und/oder einer dazugehörigen Tabelle eingereicht, so sind zusätzlich die erforderlichen Erklärungen, dass die Information in den nachgereichten oder zusätzlichen Kopien mit der Information in der Anmeldung in der eingereichten Fassung übereinstimmt bzw. nicht über sie hinausgeht, vorgelegt worden.
4. Zusätzliche Bemerkungen:

---

**Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit**

---

Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- die gesamte Anmeldung
- die Ansprüche Nr. 4, 9, 10, 13, 19(vollständig); 22(teilweise)

Begründung:

- Die gesamte Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr.     beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine Recherche durchgeführt zu werden braucht (*genaue Angaben*):
- Die Ansprüche, die Beschreibung oder die Zeichnungen, oder die obengenannten Ansprüche Nr.     sind so unklar, dass kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, dass kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- für die gesamte Anmeldung oder für die obengenannten Ansprüche Nr. 4, 9, 10, 13, 19(vollständig); 22(teilweise) wurde kein Recherchenbericht erstellt.
- es konnte kein sinnvolles Gutachten erstellt werden, da das Sequenzprotokoll entweder nicht verfügbar war, oder nicht im internationalen Format (WIPO ST.25) eingereicht wurde.
- Ohne die Tabellen zu den Sequenzprotokollen konnte kein sinnvolles Gutachten erstellt werden, oder diese Tabellen waren nicht in elektronischer Form entsprechend der internationalen Norm (WIPO ST.25) verfügbar.
- Siehe Zusatzfeld für weitere Angaben.

---

**Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

---

1. Das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung ist aus folgen Gründen nicht erfüllt:

**siehe Beiblatt**

2. Dieser Bescheid ist für die folgenden Teile der Anmeldung erstellt worden:

- alle Teile
- die Teile, die sich auf die Ansprüche mit folgenden Nummern beziehen: (siehe Recherchebericht)

# SCHRIFTLICHER BESCHEID

Aktenzeichen Nr.

LU92807

---

## Feld Nr. V Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

---

### 1. Feststellung

Neuheit	Ja: Ansprüche 1-3, 5-8, 11, 12, 14-18, 20, 21(vollständig); 22(teilweise) Nein: Ansprüche
Erfinderische Tätigkeit	Ja: Ansprüche Nein: Ansprüche 1-3, 5-8, 11, 12, 14-18, 20, 21(vollständig); 22(teilweise)
Gewerbliche Anwendbarkeit	Ja: Ansprüche: 1-3, 5-8, 11, 12, 14-18, 20, 21(vollständig); 22(teilweise) Nein: Ansprüche:

### 2. Unterlagen und Erklärungen:

**siehe Beiblatt**

---

## Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur Anmeldung

---

**siehe Beiblatt**

### **Zu Punkt IV**

#### **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

Die Anmeldung enthält mehrere Gruppen von Ansprüchen, die nicht durch eine einzige allgemeine erfinderische Idee verbunden sind.

Die Gründe dafür sind die folgenden:

Die unabhängigen Ansprüche 1, 19 und 20 haben keine gemeinsamen/korrespondierenden Merkmale. Darüber hinaus basiert der Gegenstand von Anspruch 1 zumindest nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit (siehe unten).

Die Merkmale der Ansprüche 2, 3, 5-8, 11, 12, 14-18 beziehen sich auf Details der astigmatischen Optik.

Das dadurch zu lösende Problem kann darin gesehen werden, eine flexible Erzeugung eines Lichtblatts zu ermöglichen.

Die Merkmale von Anspruch 19 (Alternative I) beziehen sich auf ein Beleuchtungsobjektiv mit astigmatischer Optik.

Das dadurch zu lösende Problem kann darin gesehen werden, ein für die SPIM Mikroskopie angepasstes Beleuchtungsobjektiv bereitzustellen.

Die Merkmale von Anspruch 19 (Alternative II) beziehen sich auf ein Beleuchtungsobjektiv mit elliptischer Frontlinse.

Das dadurch zu lösende Problem kann darin gesehen werden, ein Beleuchtungsobjektiv bereitzustellen, das mit Detektionsobjektiven mit hoher numerischer Apertur verwendet werden kann.

Drei Gruppen von Ansprüchen, nämlich Ansprüche 1-3, 5-8, 11, 12, 14-18, 20, 21, 22 (insofern abhängig von den Ansprüchen 1-18), Ansprüche 13, 19 (Alternative I) und 22 (wenn abhängig von Anspruch 19) und Ansprüche 9, 10, 19 (Alternative II) und 22 (wenn abhängig von Anspruch 19) lösen demnach unterschiedliche Probleme mit unterschiedlichen Mitteln. Somit liegt weder hinsichtlich der besonderen technischen Merkmale noch hinsichtlich der gelösten Probleme zwischen den genannten Gruppen von Ansprüchen Einheitlichkeit der Erfindung vor.

### **Zu Punkt VIII**

### **Bestimmte Bemerkungen zur Anmeldung**

- 1 Die Anmeldung ist aus folgenden Gründen nicht klar:
  - 1.1 Der Ausdruck "Beleuchtungsanordnung" in Anspruch 1 (und im gesamten Anspruchssatz) ist insofern unklar, als er sowohl eine abstrakte, gedankliche Anordnung definiert, die von der Patentierung ausgeschlossen ist, als auch einen konkreten physischen Gegenstand. Eine Klarstellung könnte beispielsweise durch den Begriff "Beleuchtungseinrichtung" erfolgen.
  - 1.2 Darüber hinaus wird in Anspruch 1 auf ein Mikroskop und dessen Funktion Bezug genommen, das nicht explizit als Teil der beanspruchten "Anordnung" definiert wird.

Der Ausdruck "für ein Lichtblatt-Mikroskop", das nicht zum beanspruchten Gegenstand gehört, impliziert nicht notwendigerweise, dass die "Beleuchtungsanordnung" ein Lichtblatt erzeugt. Darüber hinaus beinhaltet die beanspruchte Beleuchtungseinrichtung (insofern der Anspruch in diesem Sinne interpretiert wird) keine Lichtquelle und definiert keine Eigenschaften des eingehenden Lichts. Die Bezugnahme auf ein Lichtbündel ist daher unklar.

- 1.3 In Anspruch 1 ist zusätzlich nicht klar welche konkreten Einschränkungen bezüglich der astigmatischen Optik bzw. deren "Anordnung" durch den Bezugnahme auf die Fokussierung eines nicht näher definierten Lichtbündels definiert werden sollen, wobei weder die Lage der Fokuspunkte, noch strukturelle Merkmale der Optik und, des Objektivs, noch die geometrischen Eigenschaften des Lichtbündels definiert sind, und der beanspruchte Gegenstand keine Lichtquelle aufweist.
- 1.4 Die unabhängigen Ansprüche 1 und 20 sind nicht konsistent, da Anspruch 1 nicht alle Merkmale aufweist, die den in Anspruch 20 definierten Verfahrensschritten entsprechen (siehe Merkmale von Anspruch 2).
- 1.5 Die Ansprüche 5, 17, 19 sind nicht knapp gefasst, da sie ein oder mehrere rein optionale, also nicht einschränkende Merkmale aufweisen ("insbesondere"). Zur Klarstellung könnten diese Merkmale entweder als nicht-optionale Merkmale in den Anspruch aufgenommen oder gelöscht (und ggf. als separate abhängige Ansprüche formuliert) werden.

Es wird angemerkt, dass die optionalen Abhängigkeiten des Anspruchs 19 ebenfalls nicht einschränkend sind, so dass die beiden Alternativen des Anspruchs 19 als zwei unabhängige Ansprüche angesehen werden müssen.

- 1.6 Eine Vielzahl von Ansprüchen (Ansprüche 3, 5-12, 17, 19, 21, 22) weist eine Vielzahl von alternativen Merkmalen ("oder", "und/oder") auf, die zudem teilweise nicht miteinander in Verbindung stehen, Dadurch wird es dem Leser in unzumutbarer Weise erschwert, die hohe Anzahl von beanspruchten Merkmalskombination zu identifizieren. Die Ansprüche sind daher nicht klar.

### **Zu Punkt V**

#### **Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

- 1 Es wird auf folgende Dokumente verwiesen:

D1: DE 10 2013 213781 A1

D2: DE 10 2010 013223 A1

D3: Jörg G Ritter ET AL: "A cylindrical zoom lens unit for adjustable optical sectioning in light sheet microscopy References and links / BIOMEDICAL OPTICS EXPRESS 185", , Bd. 170, Nr. 347, 1. Januar 2012, Seiten 211-219, **XP055137860**

D4: HUISKEN J ET AL: "EVEN FLUORESCENCE EXCITATION BY MULTIDIRECTIONAL SELECTIVE PLANE ILLUMINATION MICROSCOPY (MSPIM)", OPTICS LETTERS, OPTICAL SOCIETY OF AMERICA, US, Bd. 32, Nr. 17, 1. September 2007, Seiten 2608-2610, **XP001507615**

- 2 Die vorliegende Anmeldung erfüllt nicht die Erfordernisse der Patentierbarkeit, weil der Gegenstand der Ansprüche 1 und 20 nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruht.
- 2.1 Im Hinblick auf die schwerwiegenden Klarheitsmängel kann die Anordnung einer nicht näher definierten Tubuslinse mit undefinierter Funktion, einer nicht näher definierten astigmatischen Optik und einem nicht näher definierten Objektiv nicht als Lösung eines speziellen technischen Problems angesehen werden.

- 2.2 Selbst wenn man annimmt, dass eine Lichtquelle und die Erzeugung eines Lichtblatts im Anspruch definiert wären, fragt sich, welches spezielle technische Problem durch die Fokussierung des Lichtblatts in zwei unterschiedlichen Richtungen gelöst werden soll.

Einerseits ist ein solches Merkmal ohnehin bekannt (siehe D1, Par. 34) bzw. implizit (siehe Anmeldung S. 4, Z.1), andererseits ist ein solches Merkmal ohne Definition weiterer wesentlicher Merkmale nicht ausreichend, um das der vorliegenden Anmeldung zugrundeliegende Problem (S. 3, Z. 1-2) zu lösen. Insbesondere ist nicht erkennbar, durch welche Merkmale eine erhöhte Flexibilität gegeben ist.

- 2.3 Selbst wenn man Anspruch 1 im Sinne eines klagestellten Anspruchs interpretiert, ist dessen Gegenstand naheliegend.

Dokument D1 offenbart (Abb. 1) eine Beleuchtungsvorrichtung mit einer Tubuslinse 12 und einem Beleuchtungsobjektiv 9. In D1 wird offenbart, ein Lichtblatt mittels astigmatischer Optik zu erzeugen (Par. 68), wobei das Lichtbündel in zwei Richtungen unterschiedlich stark fokussiert wird (Par. 34). Die Anordnung der astigmatischen Optik wird in D1 nicht im Detail offenbart, ist jedoch für den Fachmann in naheliegend. Dabei stellt sich lediglich die Frage, ob sie vor oder nach der Tubuslinse angeordnet wird. Je nach Art der Lichtquelle und Funktion der Tubuslinse würde der Fachmann dies Auswahl aus zwei Möglichkeiten ohne erfinderisches Zutun treffen.

Daher kann die in Anspruch 1 der vorliegenden Anmeldung vorgeschlagene Lösung nicht als erfinderisch betrachtet werden.

- 2.4 Entsprechende Einwände gelten gegenüber Anspruch 20.

- 3 Die abhängigen Ansprüche 2-8,11,12,14-18 enthalten keine Merkmale, die in Kombination mit den Merkmalen eines Anspruchs, auf den er/sie rückbezogen ist/sind, die Erfordernisse in Bezug auf Neuheit bzw. erfinderische Tätigkeit erfüllen.

Anspruch 2: die Einwände bezüglich Anspruch 1 und 20 gelten analog;

Anspruch 3, 11, 12: die spezifizierten Justiermöglichkeiten sind nicht mit unerwarteten technischen Effekten verbunden;

Ansprüche 5-8, 21,22: die Details der astigmatischen Optik sind naheliegende Gestaltungsoptionen, die ein Fachmann im Rahmen einer normalen Gestaltungsprozedur ohne erfinderische Tätigkeit bestimmen würde;



Ansprüche 14-18: normale Gestaltungsoptionen.