

FusionOptics™ – die neue Dimension der Stereomikroskopie in Industrie und Biowissenschaften

Anja Schué und Daniel Göggel

Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland

Die geniale Natur wies den Weg

Unsere Umwelt erleben wir zu 80 Prozent über unsere visuelle Wahrnehmung. Ohne räumliches Sehen würden wir uns darin kaum zurechtfinden. Die Neurowissenschaften haben in den vergangenen Jahrzehnten viele Erkenntnisse über die komplexen Prozesse gewonnen, wie unser Gehirn im visuellen Cortex und der Großhirnrinde die faszinierende Leistung erbringt, die von den Augen ausgehenden Signale zu einem Bild zu verarbeiten. Eine Studie, die Leica Microsystems gemeinsam mit dem Institut für Neuroinformatik an der Universität und ETH Zürich durchgeführt hat, zeigt, wie flexibel und leistungsfähig unser Gehirn visuelle Signale zu einem optimalen räumlichen Bild zusammenfügt. Die Ergebnisse lieferten die Basis für eine Innovation in der Stereomikroskopie, die in puncto Auflösung und Schärfentiefe bisher unüberwindbare Grenzen sprengt.

Die Stereomikroskopie ermöglicht uns, mithilfe zweier getrennter Strahlengänge – die im Prinzip wie unsere beiden Augen funktionieren – Mikrostrukturen in 3D zu betrachten. Seit ihrer Erfindung durch Horatio S. Greenough basieren Stereomikroskope auf den optischen Grundlagen, die vor allem von Ernst Abbe erarbeitet wurden. Über ein Jahrhundert haben Optikdesigner daran gearbeitet, Vergrößerung, Auflösung und Abbildungstreue bis an die Grenze des optisch Möglichen zu führen.

Diese Grenze wurde bestimmt durch die Wechselbeziehung zwischen Auflösung, Konvergenzwinkel und Arbeitsabstand. Je höher die Auflösung eines Mikroskops, umso größer der Konvergenzwinkel zwischen dem linken und rechten Strahlengang und umso geringer der frei verfügbare Arbeitsabstand. Ein vergrößerter Abstand zwischen den optischen Achsen verzerrt allerdings das dreidimensionale Abbild. Ein Würfel erscheint dann als hoher Turm. Auch ein gesteigerter Zoombereich allein ist wenig zielführend, da bei zunehmender Vergrößerung die optische Auflösung nicht angemessen gesteigert werden kann. Es entsteht nur eine so genannte leere Vergrößerung.

Grenzen sind da, um überschritten zu werden

Aus wissenschaftlichen Studien über visuelle Wahrnehmung und Fehlsichtigkeiten ist bekannt, dass das Gehirn Informationen einzelner Augen selektiv verarbeiten kann und durchaus in der Lage ist, einseitige Sehschwächen zu kompensieren. Dies brachte die Entwicklungsingenieure bei Leica Microsystems auf eine einfache wie geniale Idee: Man könnte sich doch diese Fähigkeit des

Gehirns zunutze machen und jeden Strahlengang des Mikroskops für unterschiedliche Informationen einsetzen. Ein Bildkanal liefert hohe Auflösung, der andere Schärfentiefe. Diese zwei erheblich unterschiedlichen Bilder fusioniert das Gehirn zu einem optimalen räumlichen Bild. Dieser völlig neue optische Ansatz – der inzwischen als FusionOptics™ zum Patent angemeldet ist – bringt zwei wesentliche Vorteile mit sich: Im Vergleich zu bestehenden Stereomikroskopen kann sowohl die Auflösung massiv gesteigert als auch die Schärfentiefe erheblich verbessert werden. Zudem lässt sich die Auflösung steigern, ohne den Konvergenzwinkel zwischen den beiden Strahlengängen zu erhöhen.

Wissenschaftliche Studie bestätigt neuen Ansatz

Die Umsetzbarkeit dieses Konzepts musste jedoch zunächst neurophysiologisch überprüft werden; ob das Gehirn selbst stark abweichende Signale einzelner Augen in korrekte dreidimensionale Bilder umsetzen kann. Frühere Studien beschäftigten sich hauptsächlich mit zweidimensionalen Bildern. Dr. Daniel Kiper vom Institut für Neuroinformatik an der Universität und ETH Zürich, der sich auf die Erforschung der Signalverarbeitung in Primatengehirnen spezialisiert hat und dem Leica Microsystems die Idee vorstellte, stimmte entsprechenden Studien zu. Zusammen mit seiner Diplomandin Cornelia Schulthess und Dr. Harald Schnitzler von Leica Microsystems entwickelte Kiper ein Studiendesign.

Probanden mit normaler Sehleistung durchliefen psychophysikalische Tests, in denen die binokulare Kombination visueller Signale untersucht wurde. Insbesondere interessierte, ob eine interokulare Signalunterdrückung auftritt, wenn beide Augen unterschiedlichen Stimuli ausgesetzt sind. Dies würde dazu führen, dass das Bild des unterdrückten Auges nur teilweise oder gar nicht wahrgenommen wird. Während der Experimente betrachteten die Probanden um einen zentralen Fixierungspunkt angeordnete Felder. Die Felder wiesen entweder eine Gitterstruktur auf oder waren einfarbig.

Um Abweichungen in der räumlichen Wahrnehmung beider Augen zu testen, muss eine binokulare Disparität vorliegen; beide Augen müssen also unterschiedlichen Stimuli ausgesetzt werden. Dies wird erreicht über eine spezielle Stereobrille, mit der sich für jedes Auge separate Testbilder projizieren lassen. In mehreren Durchläufen sahen die Probanden wechselnde Anordnungen der Gitterfelder in unterschiedlichen Tiefenebenen. Nach jedem 1000 msec lang sichtbaren Bild gaben sie an, wo sie die Gitterfelder sahen und ob sie vor oder hinter dem zentralen Fixierungspunkt erscheinen.

Die Auswertung der richtigen/falschen Antworten zur Position der Gitterfelder und der Schärfenwahrnehmung in verschiedenen räumlichen Ebenen zeigte keine signifikanten Unterschiede. In keinem der Tests wurden Anzeichen von Signalunterdrückung beobachtet. Dies bedeutet, dass das menschliche Gehirn in der Lage ist, die besten Informationen aus beiden Augen zu nutzen, um ein optimales räumliches Bild zusammensetzen. Und dies unabhängig

davon, ob die Signale über beide Augen aufgenommen werden oder ob jedes Auge völlig unterschiedliche Informationen liefert. Die Ergebnisse bewiesen einmal mehr, wie anpassungsfähig und leistungsfähig unser Gehirn in der Verarbeitung visueller Eindrücke ist.

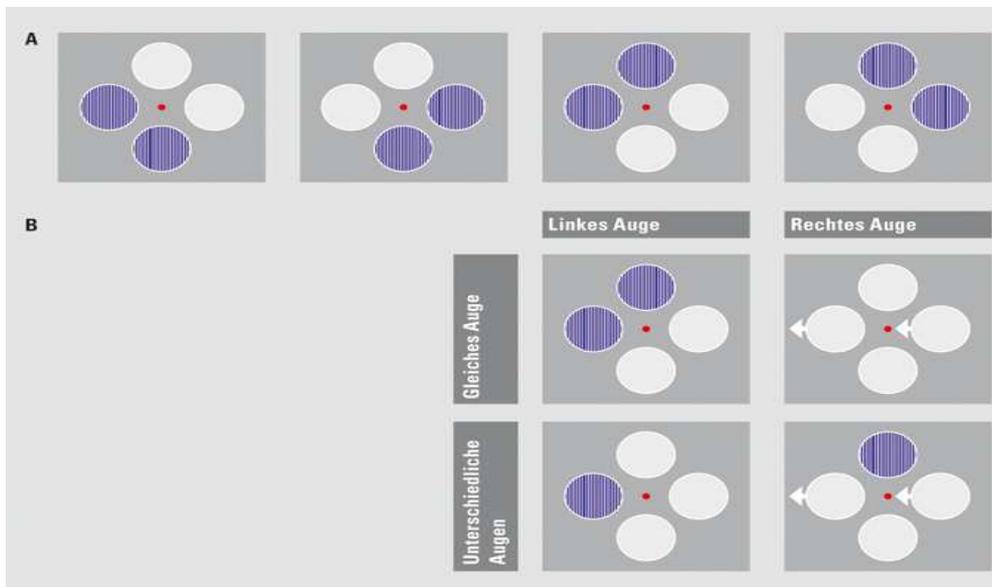


Abbildung 1: Schematische Darstellung der visuellen Stimuli

- A: Die vier möglichen Wahrnehmungen der Testbilder. Die Probanden gaben an, an welcher Stelle sich die Gitter befinden und ob sie diese vor oder hinter dem Fixierungspunkt wahrnehmen.
- B: Ein Beispiel aus den Testreihen für binokular unterschiedliche Stimulation (entspricht dem Wahrnehmungsbild 3 aus A). Die Gitter wurden entweder demselben Auge oder unterschiedlichen Augen präsentiert. Einige Felder wurden zusätzlich in einem Auge verschoben dargestellt (weiße Pfeile).

Einzigartige 3D-Bilder

Auf der theoretischen Grundlage der Studie konnte Leica Microsystems das Konzept der FusionOptics™ in ein völlig neues Stereomikroskop umsetzen: Die apochromatisch korrigierten Stereomikroskope Leica M205 C und Leica M205 A sind die ersten Geräte der Welt, die mit einem Zoombereich von 20.5:1 und einer Auflösung bis zu 525 Lp/mm aufwarten. Das entspricht einer aufgelösten Strukturgröße von 952 nm. Dies kann bei entsprechender Konfiguration auf bis zu 1050 Lp/mm (Strukturgröße von 476 nm) gesteigert werden. Bisher bekannte Optikansätze erreichen einen Zoombereich von maximal 16:1 oder einen Vergrößerungszuwachs ohne Auflösungssteigerung (leere Vergrößerung). Der signifikante Leistungszuwachs aufgrund der FusionOptics™ ist für die tägliche Arbeit am Mikroskop von großem Wert. Proben können dank des großen Arbeitsabstandes der neuen Objektivgeneration mit komfortabler Bewegungsfreiheit auf dem Mikroskoptisch untersucht werden. Ob in der Halbleitertechnologie, Kunststoffentwicklung, Werkstoffprüfung, Kriminalistik, Erd- oder Biowissenschaften – mit FusionOptics™ öffnen sich Grenzbereiche, die der herkömmlichen Stereomikroskopie bisher verschlossen blieben.

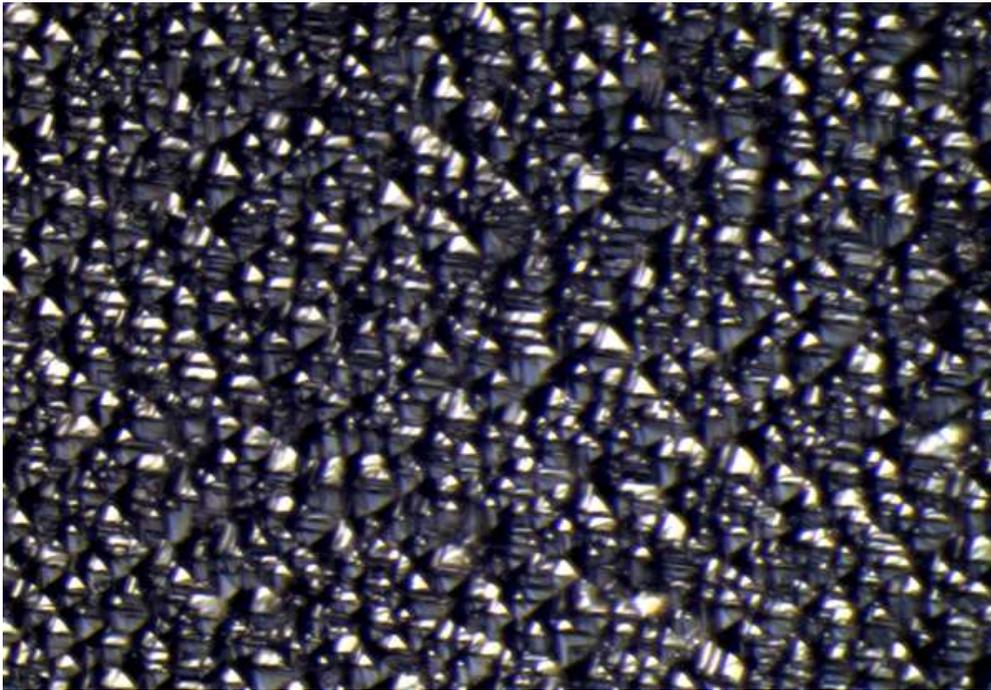


Abb. 2: Siliziumoberfläche mit wenige, Mikrometer hohen, nasschemisch geätzten Pyramiden (Foto: Fraunhofer-Institut für Solar Energietechnik, Freiburg)

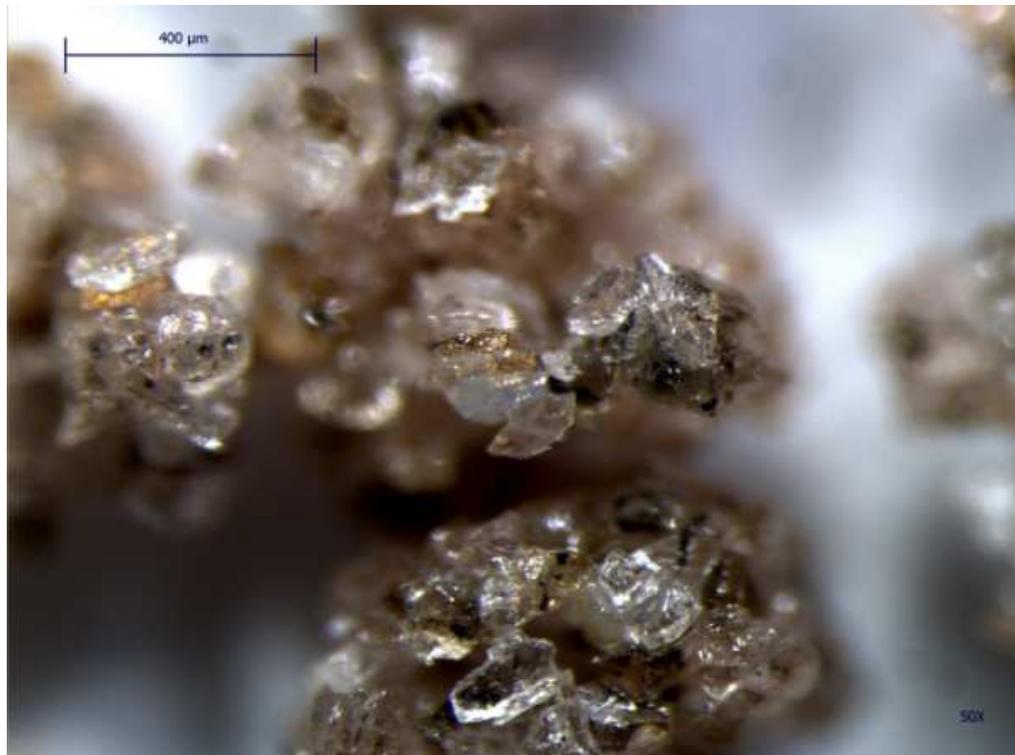


Abb. 3: Aggregierte Aluminiumoxidkristalle von Schleifstoffen. Die Kristallgrößen bestimmen die unterschiedlichen Schleifeigenschaften

FusionOptics™ für Fluoreszenzanwendungen

Für die Fluoreszenzmikroskopie in Naturwissenschaften und Medizin sind die Vorteile der FusionOptics™-Technologie ebenfalls bedeutend – insbesondere für Präparations- und Manipulationsaufgaben über Screening und Evaluation gentechnischer Mutanten bis hin zur hochauflösenden Dokumentation und Langzeitstudien an lebenden Modellen. Für diese Anwendungen wurde das vollautomatisierte Leica M205 FA entwickelt. Es kombiniert FusionOptics™ mit dem bewährten TripleBeam™-Prinzip und liefert damit Fluoreszenzbilder von außergewöhnlicher Güte. Der patentierte dritte Strahlengang des TripleBeam™-Prinzips, der ausschließlich für die Fluoreszenzbeleuchtung reserviert ist, liefert in jeder Zoom-Stellung gleichmäßig ausgeleuchtete, reflexfreie Gesichtsfelder.



Abb. 4: Fluoreszenzaufnahme des peripheren und zentralen Nervensystems eines Embryos der Fruchtfliege (*Drosophila melanogaster*)



Abb. 5: Zebrafisch-Embryos