

Verbessertes Stitching von 3D-Mikroskopiedaten auf Grundlage von Simulationsergebnissen

Florian Engelke
 *Institut für Mess- und Regelungstechnik, Leibniz Universität Hannover

<mailto:florian.engelke@imr.uni-hannover.de>

Österreichische Akademie der Wissenschaften
 Österreichische Akademie der Wissenschaften
 Österreichische Akademie der Wissenschaften
 Österreichische Akademie der Wissenschaften
 Österreichische Akademie der Wissenschaften

1 Einführung

Die 3D-Mikroskopiedaten werden durch Simulationen verbessert. Die Simulationen helfen, die Qualität der Daten zu verbessern und die Genauigkeit der Messungen zu erhöhen. Die Ergebnisse der Simulationen werden zur Verbesserung der 3D-Mikroskopiedaten genutzt.

2 Simulation

Die Simulationen werden durchgeführt, um die Qualität der 3D-Mikroskopiedaten zu verbessern. Die Simulationen helfen, die Qualität der Daten zu verbessern und die Genauigkeit der Messungen zu erhöhen. Die Ergebnisse der Simulationen werden zur Verbesserung der 3D-Mikroskopiedaten genutzt.

Die Simulationen werden durchgeführt, um die Qualität der 3D-Mikroskopiedaten zu verbessern. Die Simulationen helfen, die Qualität der Daten zu verbessern und die Genauigkeit der Messungen zu erhöhen. Die Ergebnisse der Simulationen werden zur Verbesserung der 3D-Mikroskopiedaten genutzt.

Die Simulationen werden durchgeführt, um die Qualität der 3D-Mikroskopiedaten zu verbessern. Die Simulationen helfen, die Qualität der Daten zu verbessern und die Genauigkeit der Messungen zu erhöhen. Die Ergebnisse der Simulationen werden zur Verbesserung der 3D-Mikroskopiedaten genutzt.

Die Simulationen werden durchgeführt, um die Qualität der 3D-Mikroskopiedaten zu verbessern. Die Simulationen helfen, die Qualität der Daten zu verbessern und die Genauigkeit der Messungen zu erhöhen. Die Ergebnisse der Simulationen werden zur Verbesserung der 3D-Mikroskopiedaten genutzt.

Die Simulationen werden durchgeführt, um die Qualität der 3D-Mikroskopiedaten zu verbessern. Die Simulationen helfen, die Qualität der Daten zu verbessern und die Genauigkeit der Messungen zu erhöhen. Die Ergebnisse der Simulationen werden zur Verbesserung der 3D-Mikroskopiedaten genutzt.

Die Simulationen werden durchgeführt, um die Qualität der 3D-Mikroskopiedaten zu verbessern. Die Simulationen helfen, die Qualität der Daten zu verbessern und die Genauigkeit der Messungen zu erhöhen. Die Ergebnisse der Simulationen werden zur Verbesserung der 3D-Mikroskopiedaten genutzt.

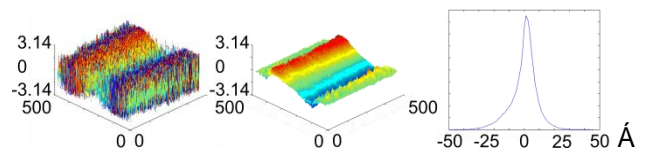


Abb. 1 Phaseninformation von zwei überlappenden Messungen (500x500 pixel, links), gefiltert (mitte), Gradienten-Histogramm zur Subpixelversatz Bestimmung (rechts, in Pixel)

Ebenfalls von der NA abhängig ist die Intensitätsreduktion in Bereichen mit hohen Gradienten.

Abschließend wurde ein Messrauschen mit einer Standardabweichung von etwa 20 nm zu den Messdaten addiert. Die Intensitätskurven des Bilderstapels wurden mittels einer Parabelanpassung ausgewertet.

3 Fourier-Phasen-Korrelation

Neben 1D-Merkmalen zur Überlappschätzung und Korrelation mittels FFT, wurde eine Subpixelregistrierungsmethode untersucht die auf der Untersuchung des Phasenfaktors des Quotienten der Fourier-Transformierten zweier Messfelder beruht. Nach dem Verschiebesatz der Fourier-Transformation gilt Zusammenhang (1).

$$-i \log \left(\frac{F\{M_1\}}{F\{M_2\}} \right) = 2\pi(t_x \omega_x + t_y \omega_y) \quad (1)$$

$F\{M_i\}$ ist hierbei die Fourier-Transformierte von Funktion M_i und t_x und t_y sind die Translationen in x- bzw. y-Richtung.

Streng genommen gilt dies nur für unendlich ausgedehnte Funktionen M . Durch die Fensterung der Messung, sowie Messrauschen wird die Auswertung der Translation erschwert. Die Quotientenmatrix der Fourier-Transformierten wurde mittels Filterung von Rauschen befreit und anschließend wurde eine Histogramm-basierte Auswertung der Gradientenwerte durchgeführt, mit der die Translationskoordinaten subpixelgenau bestimmt werden konnten (Abb.1).

4 Simulation

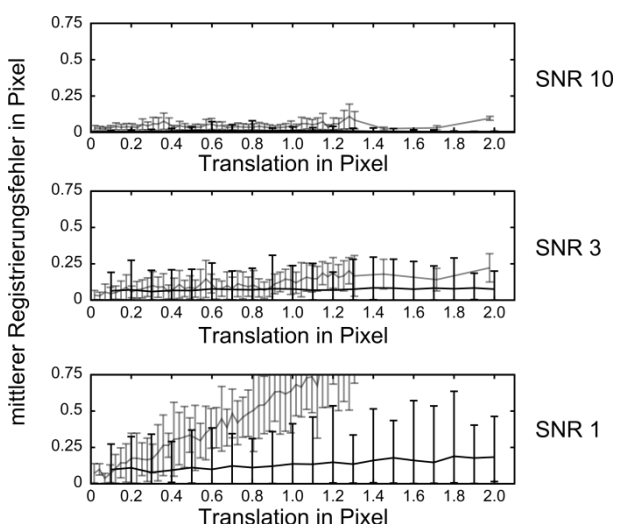


Abb. 2 Registrierungsfehler mittels Fourier-Phasen-Korrelation in Abhängigkeit vom SNR und vom Subpixelversatz (schwarz – simuliert, grau- gemessen, die Balken stellen Minimal- und Maximalabweichungen dar)

Um die Unsicherheit dieser Methode zu untersuchen wurden Messungen von rauen Oberflächen mit Subpixelversatz simuliert. Es wurden Translationen mit 1/10 Pixelbreite durchgeführt und das

Signal-Rauschverhältnis (SNR) von 10 bis 1 untersucht. Die Registrierung wurde jeweils für Messungen mit 100 verschiedenen Rauschsignalen gleicher Verteilungsbreite wiederholt. Abb. 2 zeigt, dass für große und mittlere SNR die Registrierungsfehler unterhalb von einem halben Pixel bleiben und somit eine Verbesserung der Koordinatenfindung gegenüber pixelgenauen Methoden erzielt werden kann.

5 Experimentelle Verifikation

Mittels eines Piezopositioniersystems (Wiederholgenauigkeit 36 nm) und eines Hexapoden (Wiederholgenauigkeit 300 nm) wurden bei einer lateralen Auflösung von 3,8 μm pro Pixel Messungen mit einer lateralen Translation von 100 nm bzw. 1 μm durchgeführt. Die Messdaten wiesen dabei ein SNR von 20 auf. Um einen Vergleich mit den Ergebnissen bezüglich anderer SNR's zu treffen wurden künstlich Gauß verteilte Rauschsignale auf die Messdaten addiert. Abb. 2 zeigt das für ein SNR ab 3 eine Übereinstimmung des simulierten Registrierungsfehlers mit dem gemessenen Vorliegt und somit bei bekanntem Messrauschen und mittels Abschätzung des SNR eine Qualitätsangabe bezüglich der Registrierengenauigkeit möglich ist.

6 Zusammenfassung

Wir haben eine Messdaten basierte modellhafte Simulationsmethode für 3D-Mikroskope vorgestellt und genutzt um die Unsicherheit einer Subpixelregistrierungsmethode zu untersuchen und diese mit experimentellen Daten verglichen und eine Übereinstimmung für SNR-Wert bis 3 gefunden.

7 Danksagung

Wir bedanken uns bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die Finanzierung des Forschungsprojekts „Datenfusion optisch flächenhaft erfasster Mikrotopografien mit Bezugsebene“.

Literatur

- [1] Engelke, Florian, Markus Kästner, and Eduard Reithmeier. "Measurement based simulation of microscope deviations for evaluation of stitching algorithms for the extension of Fourier-based alignment." SPIE Optical Metrology 2013. International Society for Optics and Photonics, 2013.
- [2] Lehmann P., "Vertical scanning white-light interference microscopy on curved microstructures," Opt. Lett. 35, 1768-1770 (2010)
- [3] Mauch, F., Lyda, W., Gronle, M., and Osten, W. "Improved signal model for confocal sensors accounting for object depending artifacts," Optics Express, 20(18), 19936-19945 (2012).
- [4] Szeliski, R. [Image alignment and stitching: A tutorial - Foundations and Trends® in Computer Graphics and Vision 2, no. 1], now Publishers Inc., Hanover, MA, 1-104 (2006).