

Superauflösende Mikroskopie mit sehr großem Arbeitsabstand durch verteilte Aperturbeleuchtung mit Laserlichtquellen

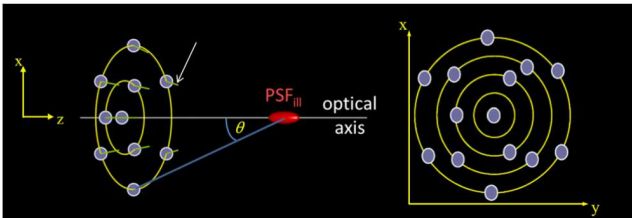


Abb 1: Diskretisierung der kontinuierlichen Wellenfront (©2017 CC-BY [5,6]) zur Annäherung der Beleuchtungs-Punktspreizfunktion (PSF_{ill})

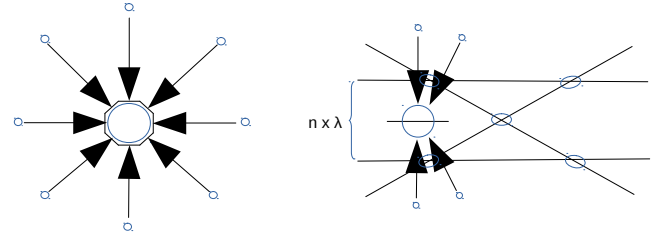


Abb 3: Zusammensetzung der Beleuchtungsmuster

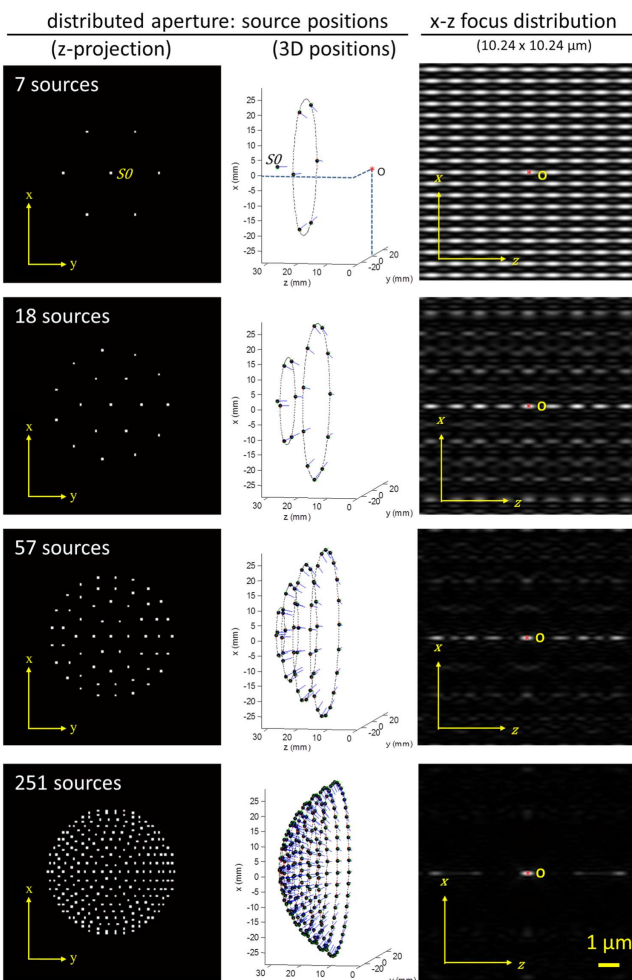


Abb 2: Diskretisierung der Wellenfront und resultierende Beleuchtungsmuster (©2017 CC-BY [5,6])

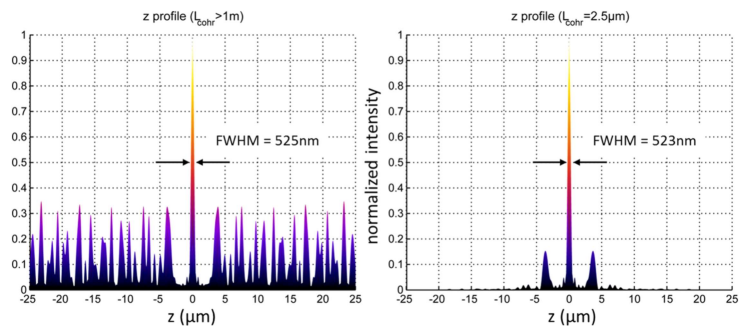


Abb 4: Axiales (z) Intensitätsprofil bei 251 gleichmäßig verteilten Laserquellen (©2017 CC-BY [5,6])

Zusammenfassung:

Gegenwärtig verwenden Superauflösungs-Fluoreszenz-Mikroskopieverfahren (SRM-Verfahren) [1] typischerweise Objektivlinsen mit hoher numerischer Apertur (NA), d.h. geringen Arbeitsabständen (WD) im Bereich von 0.2 μm, um z.B. die Zellkernorganisation zu untersuchen [2,3]. Die Grenzen der konventionellen Lichtmikroskopie („Abbe-Limit“) hängen entscheidend von der numerischen Apertur (NA) der Objektivlinse ab. Die Bildgebung bei großen Arbeitsabständen oder einem großen Sichtfeld erfordert üblicherweise Objektive mit niedriger NA, wodurch die optische Auflösung auf den Bereich von mehreren Mikrometern reduziert wird: $FWHM(x,y) \approx 0.51 \lambda / NA$ [4] und $FWHM(z) \approx 1.77 n \lambda / NA^2$ für kleine bis mittlere NA ($NA \leq 0.5$) [4]. Basierend auf numerischen Simulationen der Intensitätsfeldverteilung [5] stellen wir ein Beleuchtungssystem für ein hochauflösendes Mikroskop vor, das eine dreidimensionale (3D) optische Auflösung um 150 nm für Arbeitsabstände bis zum Zentimeter-Bereich ermöglicht. Grundsätzlich erlaubt das System eine große Flexibilität, da das Beleuchtungskonzept zur Annäherung an die Punktspreizfunktion herkömmlicher Mikroskopoptiken mit dem zusätzlichen Vorteil einer anpassbaren Pupillenfunktion kombiniert werden kann. Verglichen mit dem Abbe-Limit unter Verwendung einer Objektivlinse mit einem so großen Arbeitsabstand wird ein Verbesserungspotenzial der Volumenauflösung in der Größenordnung von 10^4 erwartet.

Referenzen

- U. Birk, " Super-Resolution Microscopy: A Practical Guide", Wiley VCH (2017).
- C. Cremer, A. Szczurek, F. Schock, A. Gourram, U. Birk, "Super-resolution microscopy approaches to nuclear nanostructure imaging", Methods 123, 11–32 (2017).
- A. Szczurek, U. Birk, H. Knecht, J. Dobrucki, S. Mai, C. Cremer, "Super-resolution binding activated localization microscopy through reversible change of DNA conformation", Nucleus 9(1), 182-189 (2018).
- B. Amos, G. McConnell, T. Wilson: Confocal microscopy. In: E. Egelman (Hrsg.): Biophysical Techniques for Characterization of Cells (= Comprehensive Biophysics). Band 2. Elsevier, Academic Press, Amsterdam 2012, ISBN 978-0-12-374920-8, Kapitel 2, S. 3–23, doi:10.1016/B978-0-12-374920-8.00203-4.
- U. Birk, J. v. Hase, C. Cremer, "Super-resolution microscopy with very large working distance by means of distributed aperture illumination". Sci. Reports 7: 3685 (2017).
- Creative Commons — Attribution 4.0 International — CC BY 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Autors: Udo Birk, Johann v. Hase, Christoph Cremer
udo.birk@htwchur.ch jovoha@gmail.com c.cremer@imb-mainz.de