

Scanning Laser Optical Tomography SLOT (IQ18)

Laborpraktikum durchgeführt im Block 1
22.10.2018 – 09.11.2018



Daniel Scheiermann
3227680

Felix Springer
10002537

27. November 2018

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	2
2	Scanning Laser Optical Tomography	2
2.1	Funktionsweise	2
2.2	Radontransformation	3
3	Versuchsaufbau	3
4	Auflösungsvermögen	3
5	Aufnahmen von Heuschreckengehirnen	6

1 Einleitung

In diesem Versuch wird die Methode der Tomographie am Beispiel der **Scanning Laser Optical Tomography** - kurz SLO**T** - untersucht. Dieses ist ein spezielles dreidimensionales Tomographie-Verfahren, das mit Lasern verschiedener Wellenlängen mittels der Ausnutzung von Streuung, Absorption und Fluoreszenz ein bildgebendes Verfahren liefert.

Das dreidimensionale Präparat wird ebenenweise durch zweidimensionale Schnitte (Tomogramme) konstruiert und zu einem dreidimensionalen Bildobjekt zusammengesetzt. Das entstandene Bildobjekt ist nun vom Präparat getrennt und virtuell verfügbar. Daraus ergibt sich der Vorteil das Präparat unbeschädigt lassen zu können und dennoch die innere Struktur des Präparates zu untersuchen.

2 Scanning Laser Optical Tomography

2.1 Funktionsweise

SLOT basiert auf einem x-y-Scanner-System mit zwei Silberspiegeln, das den auf die Mitte des Präparates fokussierten Laser abläuft. Das Präparat muss Äufgeklartßein, um Streuung beim Übergang zwischen Präparat und Träger des Präparats zu verringern und eine höhere Transmission zu erreichen. Hierzu wird Wasser oder Glycerin genutzt, da dieses einen ähnlichen Brechungsindex wie organische Präparate haben. Das transmittierte Laserlicht wird von einer Photodiode hinter der Probenkammer detektiert. Um eine Rekonstruktion durchführen zu können sind Aufnahmen des Präparats von verschiedenen Richtungen aus nötig, Hintergrund ist die Radontransformation. Diese verschiedenen Aufnahmen werden durch einen Motor ermöglicht der die Kapillare und damit das Präparat dreht. Weiterhin regt das Laserlicht das Präparat zur Fluoreszenz an, welches mittels plankovexen Linsen mit dazwischen liegendem Fluoreszenz-Filter gesammelt und auf den sensitiven Photomultiplier (PMT) geleitet wird.

2.2 Radontransformation

3 Versuchsaufbau

4 Auflösungsvermögen

Der Kontrast in Abhängigkeit von der horizontalen und vertikalen Auflösung wurde für verschiedene Fokussierungen, Strahlendurchmesser und Wellenlängen des Lasers gemessen. Dadurch ergibt sich die Modulationsübertragungsfunktion.

Bei allen Messungen wurde die Dunkelaufnahme von der normalen abgezogen, um ein Rauschen herauszurechnen.

Für geringe Auflösung wurde die Modulationsübertragungsfunktion in Abhängigkeit zur horizontalen Auflösung in Abbildung 1 und zur vertikalen Auflösung in Abbildung 2 dargestellt.

Für hohe Auflösung ist diese zur horizontalen Auflösung in Abbildung 3 und zur vertikalen Auflösung in Abbildung 4 dargestellt.

Außerdem sind die Modulationsübertragungsfunktionen für hohe Auflösungen in Abbildung 5 dargestellt, um diese untereinander besser vergleichen zu können.

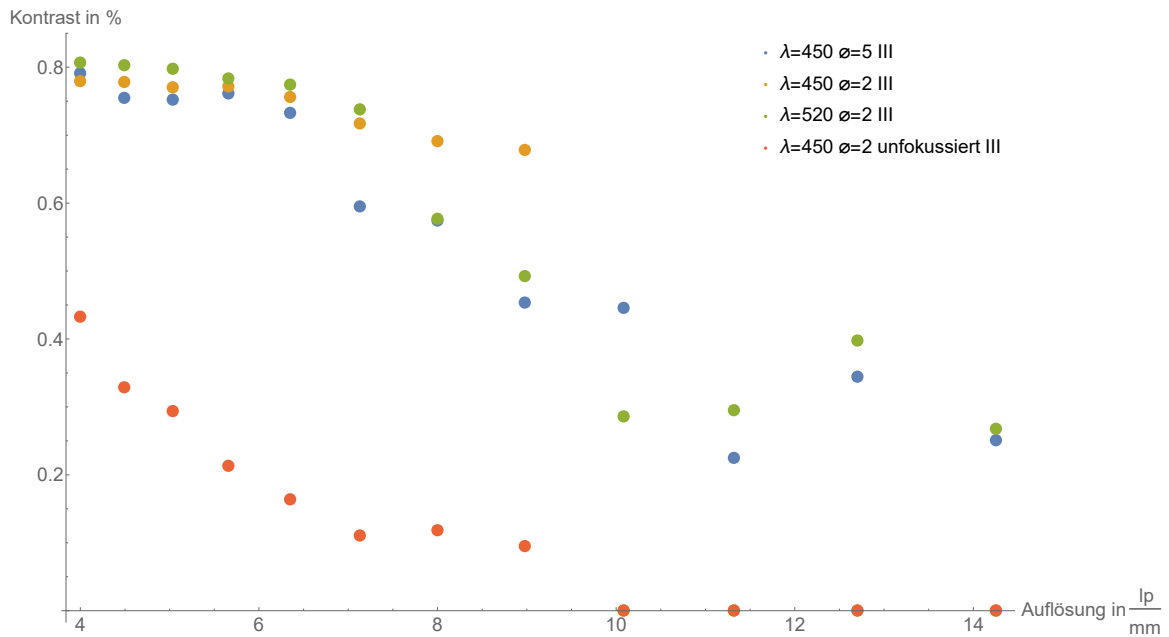


Abbildung 1: Kontrast bei geringer Auflösung (horizontal)

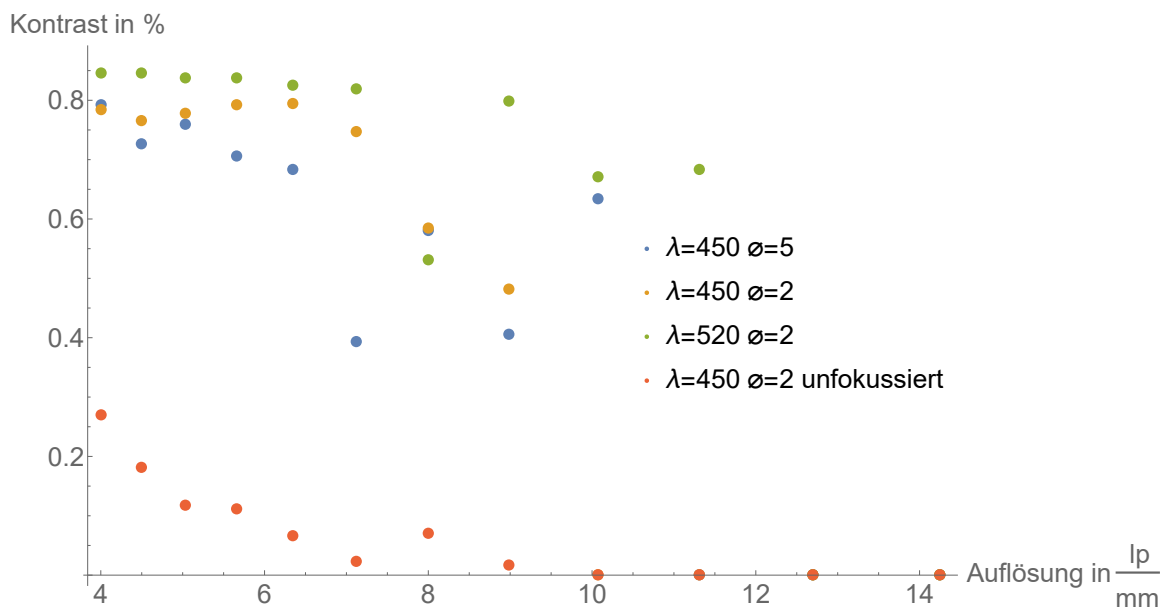


Abbildung 2: Kontrast bei geringer Auflösung (vertikal)

Ein erhöhter Strahlendurchmesser verbessert den Kontrast.
Bei geringer Auflösung ist der Kontrast für eine höhere Wellenlänge höher.
Der Kontrast ist in horizontaler und vertikaler Richtung von vergleichbarer Höhe.
Weiterhin sinkt der Kontrast rapide, falls ohne Fokussierung gemessen wird.

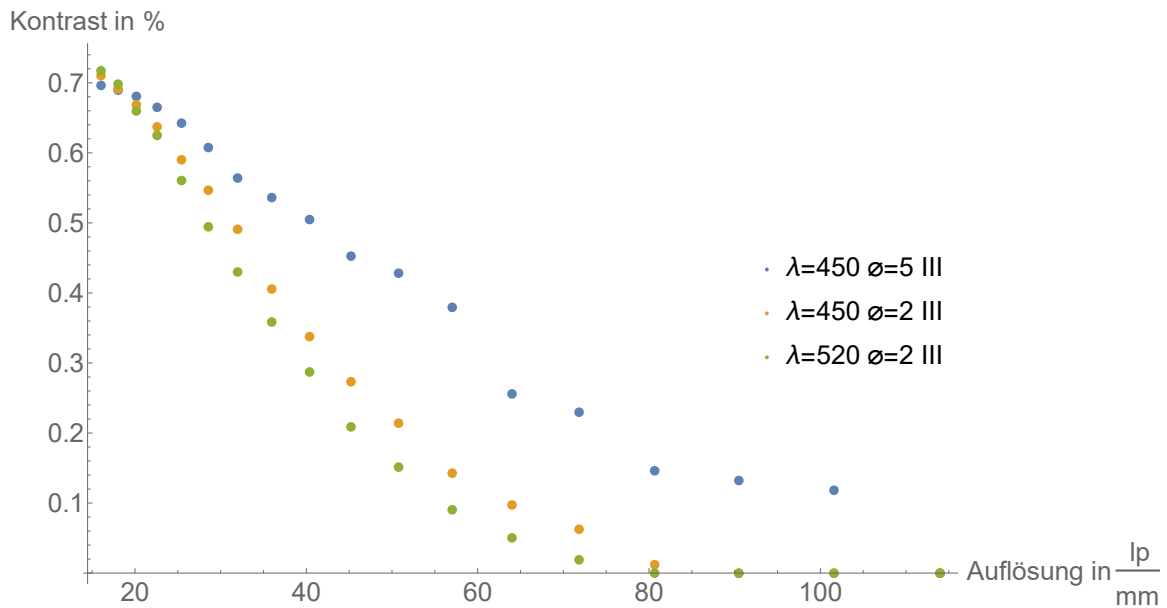


Abbildung 3: Kontrast bei hoher Auflösung (horizontal)

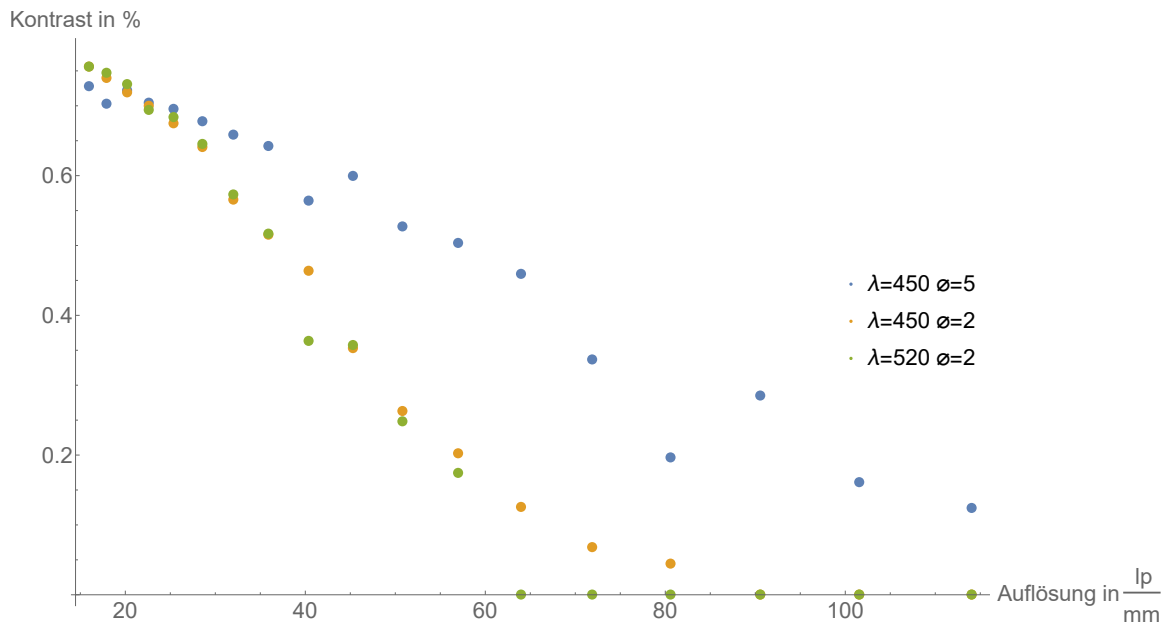


Abbildung 4: Kontrast bei hoher Auflösung (vertikal)

Auch bei hoher Auflösung ist verbessert ein erhöhter Strahlendurchmesser den Kontrast. Zwar ist der Kontrast bei einer geringen Auflösung bei einer höheren Wellenlänge höher, aber ab etwa einer Auflösung von $20 \frac{lp}{mm}$ erhöht eine kleine Wellenlänge den Kontrast.

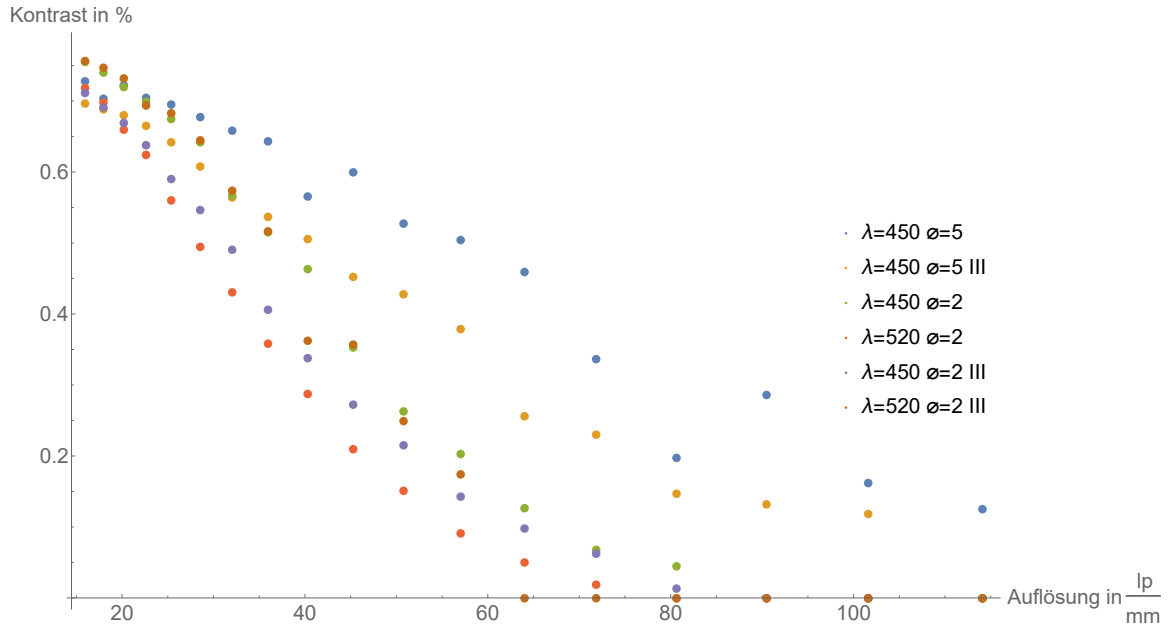


Abbildung 5: Kontrast bei hoher Auflösung (horizontal & vertikal)

5 Aufnahmen von Heuschreckengehirnen

In diesem Versuchsabschnitt haben wir als Probe ein präpariertes Heuschreckengehirn in den SLOT-Aufbau gestellt. Die Probe war in einer Küvette und hat sich mit dieser um die z -Achse gedreht. Mit einer 360° -Drehung um die z -Achse haben wir also unsere Aufnahmen unter verschiedenen Einstellungen aufgenommen. Interessant war bei dieser Messung, dass wir die Fluoreszenz mit dem Photomultiplier (PMT) darstellen konnten, da es sich hier, im Gegensatz zum USAF-Target, um eine 3-dimensionale Probe handelt.

Wichtig für die Auswertung dieser Messung war, dass die Drehachse der Probe nicht präzisiert, was wir leider durch ausprobieren am Aufbau nicht ganz vermeiden konnten. Die Achse wandert also ca. 4 Pixel von links nach rechts.

Die durchschnittliche Schiefelage α konnten wir bei der Auswertung jedoch ausgleichen. Dazu haben wir den Drehachsendurchlauf am oberen und unteren Bildrand gemessen und den Winkel α mit

$$\alpha = \arcsin \left(\frac{\Delta x_{\text{oben}} - \Delta x_{\text{unten}}}{y_{\text{max}}} \right)$$

berechnet. Hier entspricht y_{max} der Anzahl an Pixel auf der y -Achse im Bild.

Um Δx_{oben} und Δx_{unten} messen zu können haben wir die jeweilige Ebene mit 100 verschiedenen x -Achsenverschiebungen mit „tilt“ rekonstruiert und anschließend das beste Bild herausgesucht (möglichst keine Ringartefakte).

Dann haben wir die Aufnahme mit „ImageJ“ um den jeweiligen Winkel gedreht und das Ergebnis wieder mit „tilt“ aber dieses mal für alle Ebenen rekonstruiert. Dabei haben wir auch die mittlere x -Achsenverschiebung

$$\Delta x = \frac{\Delta x_{\text{oben}} - \Delta x_{\text{unten}}}{2}$$

beachtet.

Eine Verlängerung der Integrationszeit Δt von 1s zu 2s hatte nur eine Aufhellung des PMT-Bildes zu Folge. Da wir bei dieser Aufnahme jedoch einen unpassenden Filter verwendeten, zeigt das PMT-Bild auch nur das gestreute Licht. Das Ergebnis ist in Abbildung 6 zu sehen.

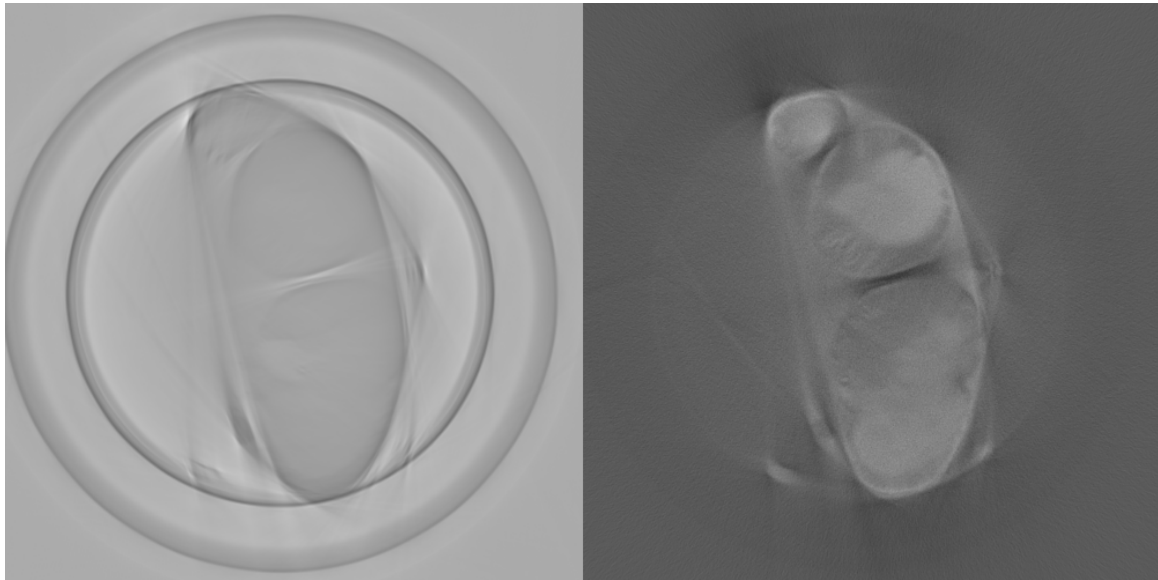


Abbildung 6: Rekonstruktion: Photodiode links, PMT rechts; $\lambda = 450\text{nm}$, $\Delta t = 2\text{s}$,
 $\lambda_{\text{Filter}} = (520 \pm 36)\text{nm}$, $d_{\text{Strahl}} = 5\text{mm}$

Mit der Photodiode lassen sich die äußeren Umrisse gut erkennen, mit dem PMT auch die Dichte im Inneren.

In Abbildung 7 sind 2 Rekonstruktionen der Bilder der Photodiode dargestellt. Man erkennt, dass das Bild mit der längeren Wellenlänge feinere Strukturen im Heuschreckengehirn darstellt.

In Abbildung 8 wurden Bilder des PMT vom jeweiligen Fluoreszenzlicht der Laser rekonstruiert. Im Vergleich stellt man fest, dass man bei $\lambda = 520\text{nm}$ mehr erkennt.

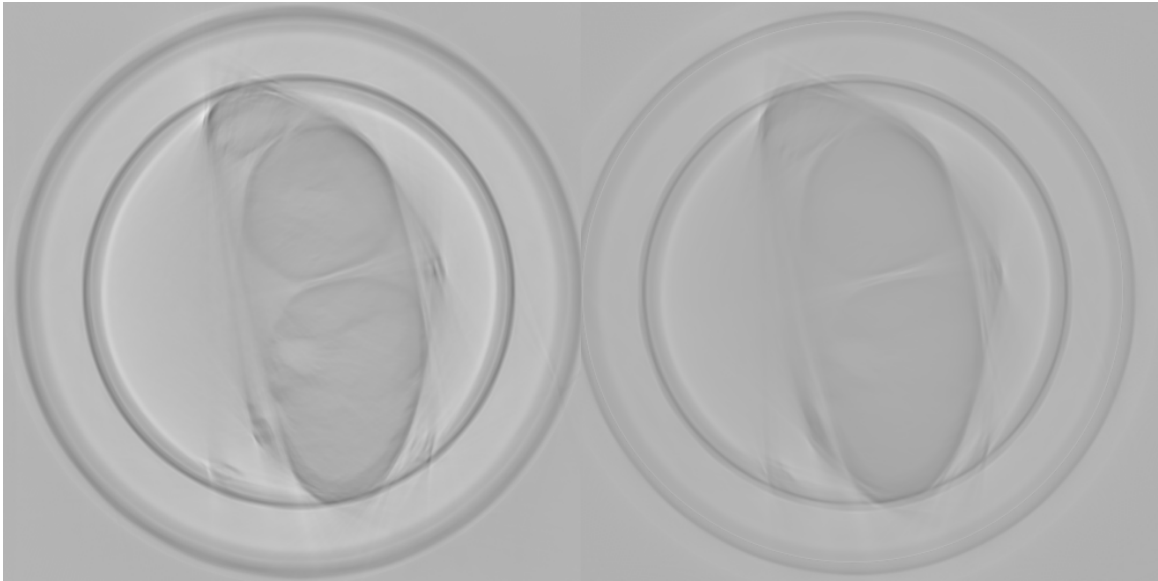


Abbildung 7: Rekonstruktion: $\lambda = 520\text{nm}$ links, $\lambda = 450\text{nm}$ rechts; Photodiode, $\Delta t = 1\text{s}$, $\lambda_{\text{Filter}} = (520 \pm 36)\text{nm}$, $d_{\text{Strahl}} = 5\text{mm}$

Mit dem ImageJ-Plugin „Volume Viewer“ ist es nach der Rekonstruktion möglich verschiedene Ansichten auf das Heuschreckengehirn zu generieren. Ein anschauliches Beispiel ist in Abbildung 9 zu finden.

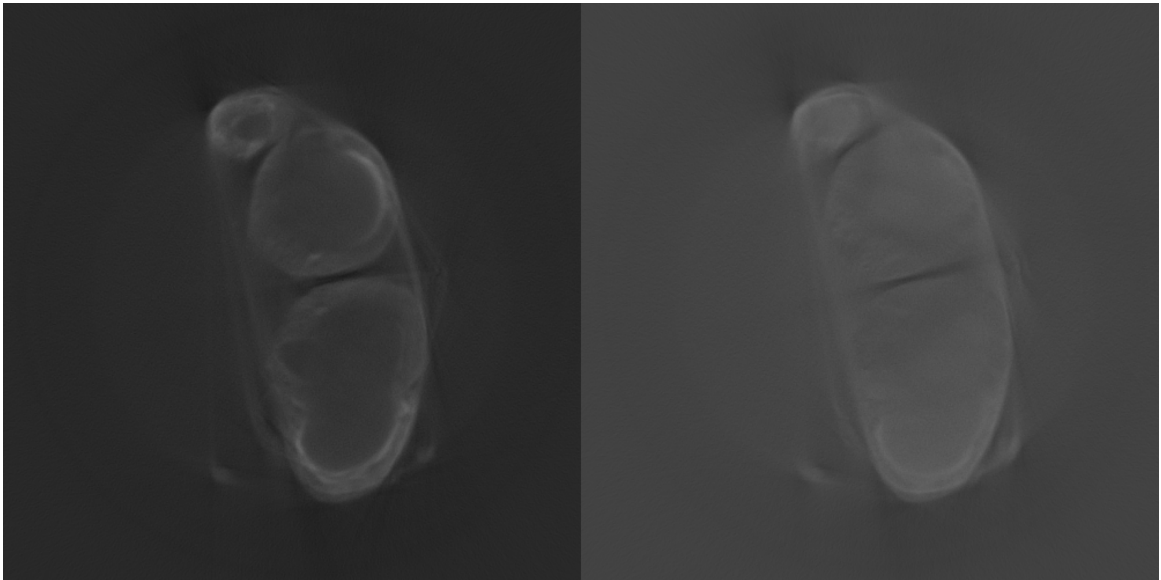


Abbildung 8: Rekonstruktion: $\lambda = 520\text{nm}$ links mit $\lambda_{\text{Filter}} = (676 \pm 29)\text{nm}$ links, $\lambda = 450\text{nm}$ mit $\lambda_{\text{Filter}} \geq 570\text{nm}$ rechts; Photodiode, $\Delta t = 1\text{s}$, $d_{\text{Strahl}} = 5\text{mm}$

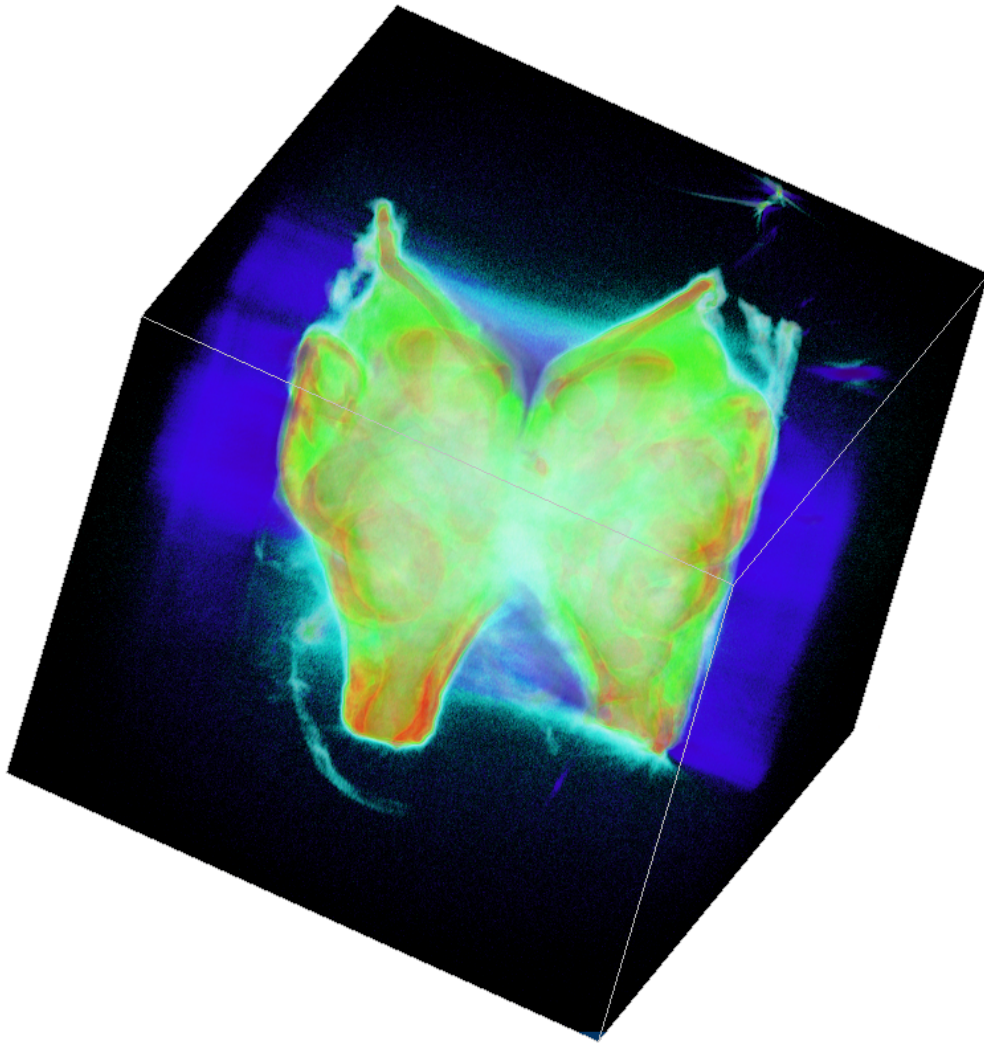


Abbildung 9: 3-dimensionale Ansicht einer PMT-Aufnahme: $\lambda = 520\text{nm}$ mit $\lambda_{\text{Filter}} = (676 \pm 29)\text{nm}$, $\Delta t = 1\text{s}$, $d_{\text{Strahl}} = 5\text{mm}$