

Max-Planck-Institut für Biochemie
Abteilung für Strukturforschung I

Dreidimensionale Rekonstruktion bei kegelförmiger
Kippung im Elektronenmikroskop

Michael Radermacher

geboren in Bad Godesberg

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Physik der
Technischen Universität München zur Erlangung des akade-
mischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. H.J. Mang

1. Prüfer: apl. Prof. Dr. W. Hoppe

2. Prüfer: Prof. Dr. E. Lüscher

Die Dissertation wurde am 2.5.1980 bei der Technischen
Universität München eingereicht und durch die Fakultät für
Physik am 23.5.1980 angenommen.

Die vorliegende Arbeit wurde am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried in der Abteilung für Strukturfor- schung I durchgeführt. Ihrem Leiter, Herrn Prof. Dr. W. Hoppe danke ich für die Anregung zu diesem interessanten Thema und für die Diskussionen im Verlauf der Arbeit.

Mein Dank gilt auch allen Mitarbeitern für ihre Diskus- sionsbereitschaft und Unterstützung. Insbesondere bedanke ich mich bei Herrn Dr. R. Hegerl für die Hilfe bei der Implementierung der neu entwickelten Programme in das EM-System sowie für viele interessierte Diskussionen. Ebenso möchte ich mich bei Herrn Dr. D. Typke für die vielen Diskussionen und Anregungen im Verlauf der Arbeit bedanken.

Herrn Dr. U. Jakubowski danke ich für die Überlassung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen und Frau E. Weller für die Fotometrierung der Aufnahmen.

Ferner bedanke ich mich bei Herrn Dr. V. Knauer dafür, daß er mir die vorbereiteten Projektionen seiner Rekonstruktion von Ribosomen zur Verfügung stellte.

Der Max-Planck-Gesellschaft danke ich für ihre finanzielle Unterstützung.

1.	Einleitung	1
2.	Bildentstehung im Elektronenmikroskop	5
3.	Bedeutung der Projektionen für die dreidimensionale Rekonstruktion	11
3.1	Radon Transformation	11
3.2	Projektionstheorem	12
4.	Begrenzung des Kippwinkelbereichs in Elektronenmikroskop.	14
5.	Rekonstruktionsverfahren	18
5.1	Radontransformation	18
5.2	Fourier-Verfahren	18
5.2.1	Interpolationsverfahren	19
5.2.2	Fourier-Bessel-Verfahren	20
5.2.3	Cormack-Smith-Verfahren	20
5.3	Rückprojektion und Entfaltung	23
5.4	Iterative Verfahren	25
6.	Gewichtete Rückprojektion bei kegelförmiger Kippung	26
6.1	Verwendete Geometrie	27
6.2	Berechnung der Gewichtsfunktion	29
7.	Qualität der dreidimensionalen Rekonstruktion	40
7.1	Volumen des unbestimmten Bereichs im Fourierraum	41
7.2	Elongation des rekonstruierten Bildpunktes	45
7.3	Auflösung der dreidimensionalen Rekonstruktion bei kegelförmiger Kippung	53
7.4	Clutter der dreidimensionalen Rekonstruktion	71
8.	Korrelation kegelförmig gekippter Projektionen	80
9.	Modellrechnungen	85
9.1	Rekonstruktionen dreidimensionaler Bildpunkte.	86
9.2	Rekonstruktion eines Objektes mit vier Punkten.	90

9.3	Rekonstruktion einer rechnerisch erzeugten Kohlefolie mit zwei Ta ₆ Br ₁₂ Molekülen.	97
9.4	Rekonstruktion einer 30S Ribosomenuntereinheit aus achsengekippten Projektionen.	104
10.	Anwendung des Rekonstruktionsverfahrens auf eine Serie kegelförmig gekippter Projektionen von Hefefettsäuresynthetase.	107
11.	Zusammenfassung	112
12.	Anhang 1: Kontrollworte und Prozeduren.	115
13.	Anhang 2: Abbildung der dreidimensionalen Rekonstruktion von Hefefettsäuresynthetase.	125
14.	Literatur:	159

1. Einleitung

Die dreidimensionale Rekonstruktion eines Objekts aus einem Satz von elektronenmikroskopischen Aufnahmen, die mit unterschiedlicher Orientierung des Objektes zum abbildenden Strahlengang aufgenommen wurden, aus einer sogenannten Kippserie, gibt die Möglichkeit, die Struktur einzelner asymmetrischer biologischer Makromoleküle oder Molekülkomplexe zu bestimmen /1,2/. Auf Grund der experimentellen Bedingungen, unter welchen besonders die Schädigung der Objekte durch den abbildenden Elektronenstrahl hervorgehoben sein soll /3,4,5/, ist es zur Zeit jedoch noch nicht möglich, die atomare Struktur der Moleküle mit elektronenmikroskopischen Untersuchungen zu bestimmen. Doch kann auch eine Strukturbestimmung der Moleküle mit niedriger Auflösung wichtige Aufschlüsse über deren biochemische Funktion geben, zumal da der chemische Aufbau in vielen Fällen schon bekannt ist. Die Verbindung einer solchen Strukturbestimmung mit immunologischen Methoden, wie zum Beispiel eine Markierung mit spezifischen Antikörpern, erlaubt zusätzlich die Lokalisierung einzelner Proteine in der dreidimensional bestimmten Struktur /6/.

Das in der Elektronenmikroskopie bisher hauptsächlich angewandte Verfahren zur dreidimensionalen Rekonstruktion aus elektronenmikroskopischen Aufnahmen ist die Einachsenkipfung. Hierbei wird das Objekt im Elektronenmikroskop nach jeder Aufnahme um einen kleinen Winkel um eine waagerechte Achse senkrecht zur optischen Achse gekippt.

Auf diese Weise erhält man eine Serie von Projektionen des Objekts aus verschiedenen Richtungen. Aus diesen Aufnahmen wird dann die dreidimensionale Struktur berechnet.

Um die volle Information über die räumliche Struktur des Objekts bis zu der experimentell gegebenen Auflösungsgrenze zu erfassen, wäre es nötig, Projektionen des Objekts im gesamten Winkelbereich von 0 bis 180 Grad aufzunehmen. Aufgrund experimenteller Beschränkungen läßt sich das Präparat jedoch nur um einen Winkel von maximal ± 60 Grad kippen, und es dürfte kaum möglich sein, diesen Bereich noch wesentlich zu erweitern. Die aufgrund der Winkelbeschränkung fehlende Information äußert sich in der dreidimensionalen Rekonstruktion in einer Verzerrung des Bildpunktes sowie in einer Ausstrahlung auf seine Umgebung, dem sogenannten Clutter, der zum Untergrund der dreidimensional rekonstruierten Verteilung beiträgt.

Bessere Ergebnisse erhält man bei der Verwendung einer anderen Geometrie der Objektkippung, der kegelförmigen Kippung. Kippt man nämlich das Objekt nicht um eine waagerechte Achse sondern dreht es um eine schräg liegende Achse, was der Führung des einfallenden Strahls auf einem Kegelmantel entspricht, so läßt sich ein größerer Teil der Information über das Objekt erfassen. Diese Mehrinformation hat in der Rekonstruktion eine geringere Verzerrung des dreidimensionalen Bildpunktes sowie einen wesentlich geringeren Clutter zur Folge. Die gleiche Geometrie soll auch in einem bei uns konzipierten dreidimensional abbildenden Objektiv angewandt werden /7,8/ , bei welchem

das beleuchtende und abbildende Elektronenbündel auf einem Kegelmantel mit der Spitze im Objekt geführt wird. Wenn es gelingt, die mit diesem Objektiv verbundenen elektronenoptischen und technischen Probleme zu beherrschen, - es soll als Kryoobjektiv mit supraleitenden Abschirmlinsen /9/ aufgebaut werden - ,so dürfte es die dreidimensionale Elektronenmikroskopie einen großen Schritt weiter führen, vielleicht bis hin zur atomaren Auflösung in der dreidimensionalen Rekonstruktion.

Diese wichtigen Anwendungsgebiete machen es notwendig, ein leistungsfähiges Rekonstruktionsverfahren zur dreidimensionalen Rekonstruktion aus kegelförmig gekippten Projektionen zu entwickeln. Die bisher für diese Geometrie entwickelten iterativen Verfahren /10,11,12/ haben den Nachteil, daß sie keinen reproduzierbaren dreidimensionalen Bildpunkt liefern, sondern daß die Gestalt und der Clutter des Bildpunktes von der Struktur der Eingabedaten abhängt /13,14/. Aus diesem Grund sind Aussagen über die Qualität einer solchen Rekonstruktion sehr schwierig.

Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte gewichtete Rückprojektion für kegelförmige Geometrie liefert einen eindeutig reproduzierbaren dreidimensionalen Bildpunkt und bietet deshalb die Möglichkeit, zuverlässige Angaben über die tatsächlich erreichte Auflösung in der dreidimensionalen Rekonstruktion bei kegelförmiger Kippung zu machen. Außerdem lassen sich Artefakte in der Rekonstruktion getrennt vom Rauschen der eingegebenen Projektionen beschreiben.

Neben der Entwicklung des Rekonstruktionsverfahrens wird in dieser Arbeit die Abhängigkeit der Auflösung von der Anzahl der Projektionen für kegelförmige Geometrie berechnet. Ferner wird der Einfluß des Kegelöffnungswinkels auf die Gestalt des Bildpunktes untersucht, sowie an einer Anzahl von Modellrekonstruktionen dreidimensionaler Bildpunkte aus unterschiedlichen Anzahlen von Projektionen und für verschiedene Kegelöffnungswinkel die Größe des Clutters bestimmt. An diesen Modellrekonstruktionen werden auch die Berechnungen über die Auflösung und die Verzerrung des Bildpunktes überprüft. Weitere Modellrekonstruktionen komplexerer Objekte werden durchgeführt, sowie eine Serie konisch gekippter Projektionen im Transmissionsrastermikroskop ausgewertet. Da das Verfahren als Spezialfall auch die Rekonstruktion aus achsengekippten Projektionen enthält wurde eine Rekonstruktion aus achsengekippten Projektionen mit gewichteter Rückprojektion durchgeführt und mit einer Rekonstruktion nach dem Cormack-Smith Verfahren /15,16,17,18/ verglichen.

2. Bildentstehung im Elektronenmikroskop

Die im Elektronenmikroskop untersuchten biologischen Makromoleküle sind wegen der niedrigen Ordnungszahl ihrer Atome schwache Phasenobjekte. Dies gilt näherungsweise auch für Präparate, die mit einem Schweratomsalz negativ kontrastiert sind. Aus diesem Grund werden die Kontraste in der elektronenmikroskopischen Aufnahme als Phasenkontrast gewonnen.

Bei der Wechselwirkung mit den Atomen der untersuchten Struktur werden die Elektronen elastisch und inelastisch gestreut. Die inelastisch gestreuten Elektronen haben durch die Energieübertragung auf die Atome des Objekts ihre Monochromasie verloren und ebenso ihre feste Phasenbeziehung zum Primärstrahl. Da sie nur in kleine Winkelbereiche gestreut werden, tragen sie hauptsächlich zum Untergrund im Hellfeldbild bei /19/.

Die Intensität im Hellfeldbild ist im wesentlichen eine Projektion der Potentialverteilung des Objekts. Dies folgt daraus, daß die Streuamplitude eines Atoms in erster Bornscher Näherung bis auf Vorfaktoren die Fouriertransformierte des Potentials ist. Dies sei im folgenden noch einmal hergeleitet /20/.

Die Wellenfunktion ψ der elastisch gestreuten Elektronen ergibt sich als Lösung der zeitunabhängigen Schrödinger Gleichung /21/ :

$$(\nabla^2 + k^2)\psi(\vec{r}) = U(\vec{r})\psi(\vec{r}) \quad (2.1)$$

$$\text{mit } E = \frac{\hbar^2 k^2}{2m} \text{ und } U(\vec{r}) = \frac{2m}{\hbar^2} V(\vec{r}) . \quad (2.2)$$

(\vec{r} Ortsvektor, k Impuls)

Hierbei ist $V(\vec{r})$ das Potential des streuenden Atoms. Durch einen Ansatz mit Greenschen Funktionen läßt sich die Schrödinger Gleichung in eine Integralgleichung umformen.

$$\psi_k(\vec{r}) = \varphi_k(\vec{r}) - \frac{1}{4\pi} \int \frac{e^{ik|\vec{r}-\vec{r}'|}}{|\vec{r}-\vec{r}'|} U(\vec{r}') \psi_k(\vec{r}') d^3r' \quad (2.3)$$

$\varphi_k(\vec{r})$ in (2.3) ist die Impulseigenfunktion zum Impuls k und die Lösung von

$$(\nabla^2 + k^2) \varphi_k(\vec{r}) = 0 \quad (2.4)$$

Für $r \gg r'$ und ein begrenztes Potential U ist die asymptotische Form von (2.3)

$$\psi_k(\vec{r}) \sim \varphi_k(r) - \frac{1}{4\pi} \frac{e^{ikr}}{r} \int e^{-ik'\vec{r}'} U(\vec{r}') \psi_k(\vec{r}') d^3r' . \quad (2.5)$$

Diese Gleichung läßt sich auch umschreiben als

$$\psi_k(\vec{r}) \sim \left(\frac{1}{2\pi}\right)^{\frac{3}{2}} \left\{ e^{i\vec{k}\vec{r}} + \frac{e^{ikr}}{r} f(\vec{k}', \vec{k}) \right\} \quad (2.6)$$

mit

$$f(\vec{k}', \vec{k}) = -2\pi^2 \langle \varphi_{k'} | U | \psi_k \rangle = -\frac{4\pi^2 m}{\hbar^2} \langle \varphi_{k'} | V | \psi_k \rangle . \quad (2.7)$$

Gleichung (2.6) beschreibt die Summe aus einer ebenen einfallenden Welle und einer nach außen sich ausbreitenden Kugelwelle, der Streuwelle mit der Amplitude $f(\vec{k}', \vec{k})$. $f(\vec{k}', \vec{k})$ heißt Streuamplitude.

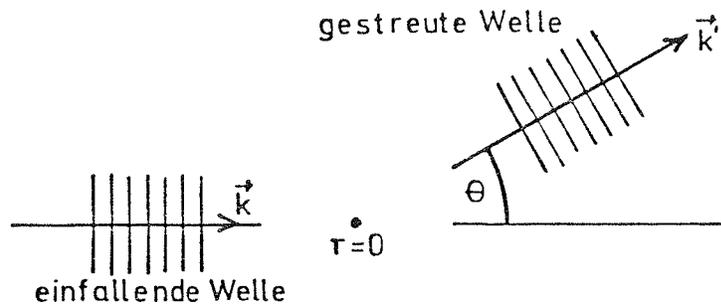


Abb. 2.1 Einfallende und gestreute Welle.

Berechnet man $f(\vec{k}', \vec{k})$ in der ersten Bornschen Näherung indem man in (2.7) $\psi_{\vec{k}}(\vec{r}) \sim \varphi_{\vec{k}}(\vec{r})$ setzt, so ergibt dies:

$$\begin{aligned}
 f(\vec{k}', \vec{k}) &= -\frac{4\pi^2 m}{\hbar^2} \langle \varphi_{\vec{k}'} | V | \varphi_{\vec{k}} \rangle = \\
 &= -\frac{m}{2\pi \hbar^2} \int e^{-i\vec{k}' \cdot \vec{r}} V(\vec{r}) e^{i\vec{k} \cdot \vec{r}} d^3 \vec{r} \\
 &= -\frac{m}{2\pi \hbar^2} \int e^{i(\vec{k} - \vec{k}') \cdot \vec{r}} V(\vec{r}) d^3 \vec{r} =: \frac{m}{2\pi \hbar^2} \tilde{V}(\vec{q}) \quad (2.8)
 \end{aligned}$$

$$\text{mit } |\vec{q}| = |\vec{k} - \vec{k}'| = 2|\vec{k}| \sin \frac{\theta}{2} \quad (2.9)$$

\vec{q} ist der Impulsübertrag, $\tilde{V}(\vec{q})$ die Fouriertransformierte des Potentials $V(\vec{r})$. Dies bedeutet, daß die Streuamplituden die Fouriertransformierten des streuenden Potentials sind. Die Streuamplitude $F(\vec{q})$ des gesamten Objekts ist dann die Superposition der Streuamplituden der einzelnen Atome. Hierbei wird Mehrfachstreuung vernachlässigt.

$$F(\vec{q}) = \sum_j f_j(\vec{q}) e^{-i\vec{q} \cdot \vec{r}_j} \quad (2.10)$$

Die Wellenfunktion der gestreuten Elektronen ist also:

$$\psi(\vec{r}) = \left(\frac{1}{2\pi}\right)^{\frac{3}{2}} \left(e^{i\vec{k} \cdot \vec{r}} + F(\vec{q}) \frac{e^{i\vec{k}' \cdot \vec{r}}}{r} \right) \quad (2.11)$$

Der Phasenkontrast im Bild entsteht durch Interferenz der Primärwelle mit der gestreuten Welle /20/. Normiert man die Primärwelle auf 1 und setzt ihre Phase gleich null, so ergibt sich für die Intensität:

$$I = \psi^* \psi = 1 + 2 \operatorname{Re} \psi_s + |\psi_s|^2. \quad (2.12)$$

Im Fall schwacher Streuung kann man $|\psi_s|^2$ gegen $\operatorname{Re} \psi_s$ vernachlässigen und erhält einen linearen Zusammenhang zwischen dem Reateil der Streuwelle und der Intensität. In Kirchhoffscher Näherung gilt für die Streuwelle:

$$\psi_s(\vec{r}) \sim -\frac{i}{\lambda} \int_{\text{Apertur}} F(\vec{q}) e^{i\vec{q}\vec{r}} d\Omega \quad (2.13)$$

Integrationsgebiet ist der Raumwinkel Ω , der durch die Apertur des Abbildungssystems freigegeben wird.

Setzt man

$$r^* = \frac{1}{2\pi} \vec{q} = \frac{1}{2\pi} (\vec{k} - \vec{k}'), \quad \text{so gilt}$$

$$|r^*| = \frac{1}{\lambda} \quad (2.14)$$

Die kartesischen Koordinaten von \vec{r}^* ausgedrückt in den Raumwinkeln θ und ϕ sind

$$x^* = \frac{1}{\lambda} \sin \theta \cos \phi$$

$$y^* = \frac{1}{\lambda} \sin \theta \sin \phi \quad (2.15)$$

$$z^* = \frac{1}{\lambda} (\cos \theta - 1)$$

Die Ausbreitungsrichtung der Welle sei die z-Achse. Da die Aperturwinkel der Abbildungssysteme im Elektronenmikros-

kop klein sind und die Krümmung der Ewaldkugel vernachlässigt werden kann, ist $\Theta \ll 1$ und deshalb $z^* \sim 0$. Das gilt allerdings nur ($V=100$ kV), wenn man mit Auflösungen $>0,3-0,5$ nm arbeitet. Bei atomarer Auflösung muß die Krümmung der Ewaldkugel berücksichtigt werden, was allerdings mit den in dieser Arbeit behandelten Verfahren nicht ohne weiteres möglich ist. Im Rahmen der bisherigen Arbeiten an diesem Institut ist aber die Vernachlässigung der Kugelkrümmung zulässig. Mit dieser Approximation ergibt (2.13) in der Fraunhoferschen Näherung:

$$\psi_s(\vec{r}) \sim \frac{i}{\lambda} \int_{\text{Apertur}} F^z(\vec{r}^*) e^{2\pi i(x^*x^* + y^*y^*)} dx^* dy^* \quad (2.16)$$

Die Streuwelle läßt sich in der Gaußschen Bildebene also als Fouriertransformierte eines x^*-y^* -Schnittes im Raum der Strukturamplituden schreiben. Nach dem Projektionstheorem (s.Kap.3.2) ist aber die Fouriertransformierte eines zweidimensionalen Zentralschnittes durch die dreidimensionale Fouriertransformierte einer dreidimensionalen skalaren Funktion gleich der Projektion dieser Funktion entlang der zu dieser Schnittebene senkrechten Richtung. Das bedeutet, daß die Intensität in der Bildebene und somit die Schwärzung der Photoplatte proportional zu der Projektion des Potentials der Objektverteilung ist.

Sei $p(x,y)$ die Projektion, so gilt:

$$p(x,y) = \int \rho(x,y,z) dz \quad (2.17)$$

Hierin ist ρ die Potentialdichteverteilung des Objekts,

die im folgenden mit Dichteverteilung bezeichnet wird, und z die Strahlrichtung.

Hier zeigt sich deutlich die Analogie der Strukturbestimmung durch eine Serie gegeneinander gekippter Aufnahmen im Elektronenmikroskop zur Röntgenstrukturanalyse, bei welcher die Fourierkoeffizienten der dreidimensionalen Struktur der Kristallmoleküle aus den Beugungsaufnahmen des Kristalls bei verschiedenen Orientierungen gewonnen werden. In diesen Beugungsreflexen ist die Information über die Phase der Fourierkoeffizienten jedoch nicht enthalten. Es läge nahe, auch in der Elektronenmikroskopie ein Beugungsbild anstelle des Hellfeldbildes zu erzeugen. Da jedoch einzelne Moleküle untersucht werden, ist der Bereich der dazu beleuchtet werden muß, sehr klein. Die Beschränkung auf einen derart kleinen Bereich auf dem Präparat ist kaum möglich, zumal da dieser Bereich während einer ganzen Kippserie der gleiche bleiben muß. Die Auswahl eines kleinen Bereichs ist jedoch im reellen Bild leicht möglich. Einer der wichtigsten Gründe zur Verwendung von reellen Bildern liegt jedoch darin, daß in den daraus berechneten Fourierkoeffizienten der Struktur die Phase enthalten ist.

3. Bedeutung der Projektionen für die dreidimensionale Rekonstruktion

Die Ausgangsdaten für die dreidimensionale Rekonstruktion sind die Projektionen der Objektdichteverteilung.

$$p_j(x'_j, y'_j) = \int \rho(x, y, z) dz'_j \quad (3.1)$$

$p_j(x'_j, y'_j)$ ist die Projektion und $\rho(x, y, z)$ die Objektdichte. Die Strahlrichtung ist parallel zur z'_j -Achse.

Die Projektion $p_j(x'_j, y'_j)$ ist also das Linienintegral durch die Dichtefunktion $\rho(x, y, z)$ entlang der Strahlrichtung z'_j . Das Rekonstruktionsproblem besteht darin, aus einer Anzahl solcher zweidimensionaler Projektionen die dreidimensionale Objektdichteverteilung $\rho(x, y, z)$ zu berechnen.

3.1 Radon Transformation

Analytisch wurde dieses Problem als Teil des Problems der Bestimmung einer skalaren Funktion durch ihre Integralwerte längs gewisser Mannigfaltigkeiten bereits 1917 von J. Radon [23] gelöst. Die Lösung ist als Radon Transformation bekannt. Der Fall eindimensionaler Projektionen bei zweidimensionaler Dichteverteilung sei hier erläutert. Unter bestimmten Stetigkeits- und Konvergenzbedingungen für eine reelle Funktion, die für hier betrachtete Funktionen in der Regel erfüllt sind, existieren Linienintegrale ent-

lang von Geraden mit der Gleichung

$$x \cdot \cos \varphi + y \cdot \sin \varphi = p \quad (3.2)$$

(p Abstand der Geraden zum Ursprung, φ Winkel zwischen p und der positiven x -Achse). Diese Linienintegrale sind gegeben durch:

$$F(p, \varphi) = F(-p, \varphi + \pi) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(p \cdot \cos \varphi - s \cdot \sin \varphi, p \cdot \sin \varphi + s \cdot \cos \varphi) ds \quad (3.3)$$

$F(p, \varphi)$ ist die eindimensionale Projektion unter dem Winkel φ der zweidimensionalen Verteilung $f(x, y)$. Der Mittelwert von $F(p, \varphi)$ für die Tangenten des Kreises mit dem Mittelpunkt $P = (x, y)$ und dem Radius q sei definiert als

$$F_P(q) = \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} F(x \cdot \cos \varphi + y \cdot \sin \varphi + q, \varphi) d\varphi \quad (3.4)$$

Dieses Integral konvergiert für alle P und q absolut. Der Wert von f am Punkt P ist durch $F_P(q)$ eindeutig definiert. Er läßt sich folgendermaßen berechnen:

$$f(P) = -\frac{1}{\pi} \int_0^{\infty} \frac{d F_P(q)}{q} \quad (3.5)$$

Die Berechnung der Projektionen für alle Winkel φ stellt also eine Transformation dar, zu der die durch (3.3) und (3.5) gegebene Umkehrtransformation existiert. Diese Umkehrtransformation ermöglicht die Berechnung der Verteilung $f(x, y)$ aus den Projektionen $F(p, \varphi)$.

3.2 Projektionstheorem

Eine zweite Erklärung der Bedeutung der Projektionen für die Dichteverteilung des Objekts ergibt sich aus dem Pro-

jektionstheorem /18, 32/, das ebenfalls Ausgangspunkt für eine Reihe von Rekonstruktionsverfahren ist.

Die dreidimensionale Objektdichte sei wieder $\rho(x, y, z)$. Die Fouriertransformierte $\tilde{\rho}(x^*, y^*, z^*)$ zu $\rho(x, y, z)$ ist:

$$\tilde{\rho}(x^*, y^*, z^*) = \int \rho(x, y, z) e^{-2\pi i(x x^* + y y^* + z z^*)} dx dy dz \quad (3.6)$$

Die Schnittebene $z^*=0$ durch $\tilde{\rho}(x^*, y^*, z^*)$ ist

$$\tilde{\rho}(x^*, y^*, 0) = \int \rho(x, y, z) e^{-2\pi i(x x^* + y y^* + z \cdot 0)} dx dy dz$$

$$\tilde{\rho}(x^*, y^*, 0) = \iiint [\int \rho(x, y, z) dz] e^{-2\pi i(x x^* + y y^*)} dx dy \quad (3.7)$$

$$= \iint p(x, y) e^{-2\pi i(x x^* + y y^*)} dx dy := P(x^*, y^*)$$

Die Schnittebene durch die dreidimensionale Fouriertransformierte der Objektdichteverteilung in der Ebene $z^*=0$ ist also die zweidimensionale Fouriertransformierte der Projektion von ρ entlang z . Die Fouriertransformierte jeder Projektion liefert also einen Zentralschnitt durch die dreidimensionale Fouriertransformierte der Objektdichte. Erzeugt man eine Serie aufeinanderfolgender Projektionen mit hinreichend kleinem Kippwinkelinkrement, so ist die gesamte Fouriertransformierte des Objekts bestimmt. Die bei gegebenen Projektionen und gegebener Objektgröße erreichbare Auflösung in der dreidimensionalen Rekonstruktion läßt sich über das Shannonsche Samplingtheorem berechnen /24, 25/. Für die Kegelförmige Kippung ist dies in Kap. 7 durchgeführt.

4. Begrenzung des Kippwinkelbereichs in Elektronenmikroskop.

Aufgrund der experimentellen Bedingungen läßt sich die Fouriertransformierte der Objektverteilung mit gekippten Projektionen nicht im vollen Raumwinkelbereich innerhalb der Auflösungskugel abtasten. Der Grund dafür ist der Aufbau der verwendeten Präparate.

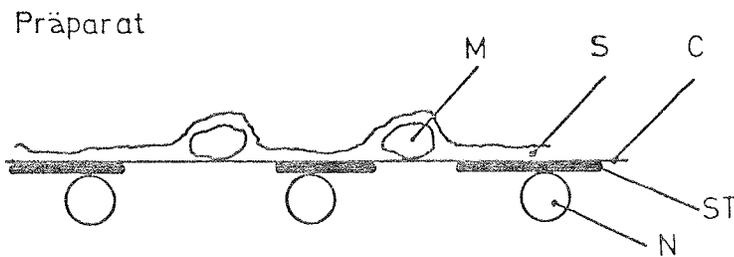


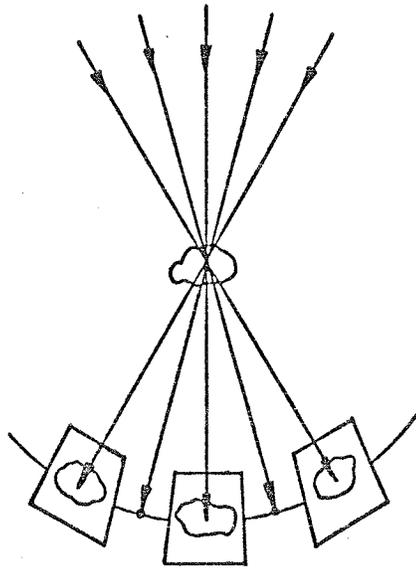
Abb. 4.1 Aufbau eines Präparates, N Kupfernetzchen, ST Stützfolie, C Kohlefolie, S Stain, M Molekül.

Als Beispiel sei der Aufbau eines Standardpräparates beschrieben /26/. Die meisten verwendeten Präparate bestehen aus einem runden Kupfernetzchen mit ca. 2mm Durchmesser und einer Maschengröße von ca. 0,1 mm. Auf diese Netzchen wird eine Kohlenstoffolie, die sogenannte Stützfolie aufgebracht. Diese hat Löcher mit einem Durchmesser von einigen zehntel μm . Auf diese Stützfolie wird eine weitere dünne Kohlefolie aufgebracht. Auf dieser Folie liegen die untersuchten Moleküle auf. Bei negativ kontrastierten Präparaten sind die Moleküle mit einem Schweratomsalz gefärbt. Dieses

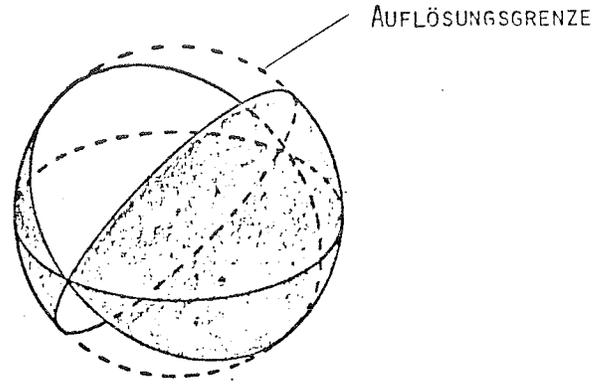
bildet eine Maske um das Molekül und dringt in dessen Hohlräume ein.

Diese Präparate werden in eine Kippatrone eingesetzt, die es erlaubt, das gesamte Präparat bei Einachsenkipfung um eine waagerechte Achse zu kippen, bei kegelförmiger Kippung um eine schräg liegende Achse zu drehen. Da das Präparat für den Elektronenstrahl nur in den Löchern der Stützfolie, die nicht von einem Steg des Kupfernetzchen verdeckt sind, durchsichtig ist, ist bei Einachsenkipfung nur ein begrenzter Kippwinkel möglich. Bei der kegelförmigen Kippung ist der Winkel zwischen der Drehachse und der optischen Achse begrenzt. Bei größeren Kippwinkeln oder größeren Auslenkungen würde das Loch in der Folie durch die Folie selbst oder die Stege des Kupfernetzchens abgeschattet. Die bei Einachsenkipfung heute erreichbaren Kippwinkel liegen bei ± 60 Grad. Der größte Auslenkungswinkel der Drehachse bei kegelförmiger Kippung liegt mit den heute verfügbaren Kippatronen bei 45 Grad. Ein Auslenkungswinkel von 60 Grad dürfte allerdings mit einer entsprechenden Kippatrone erreichbar sein.

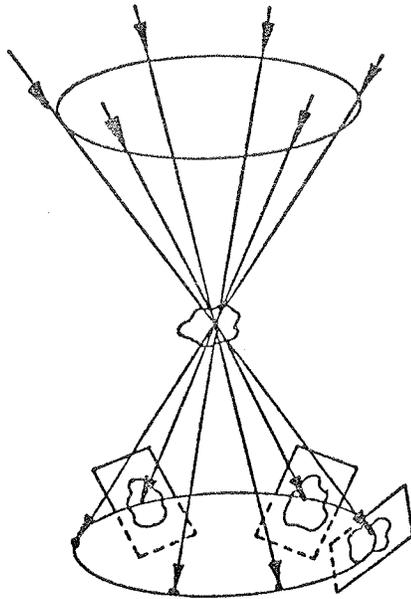
In Folge der Winkelbeschränkung fehlt ein Teil der Information über die dreidimensionale Struktur des Objekts. Abb. 4.2 zeigt die Geometrie und die daraus folgende Belegung des Fourierraumes für kegelförmige Kippung und Einachsenkipfung. Bei der Einachsenkipfung ist im Fourierraum der Zwickel A unbestimmt, bei der kegelförmigen Kippung ist der unbestimmte Bereich ein Doppelkegel mit einem Öffnungshalbwinkel von $\pi/2 - \nu_0$, wobei ν_0 der Auslen-



a) ACHSENKIPPUNG



BELEGUNG DES FOURIERRAUMES



b) KEGELFÖRMIGE KIPPUNG

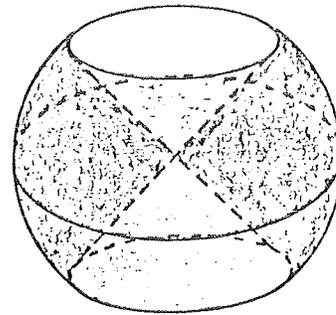


Abb. 4.2 Geometrie der Kippung im Elektronenmikroskop und die dazugehörigen Belegungen des Fourierraumes.

kungswinkel der Drehachse aus der Senkrechten ist. Diese unbestimmten Bereiche im Fourierraum äußern sich in der Rekonstruktion in einer Elongation des dreidimensionalen Bildpunktes, sowie im Clutter. Bei gleichem Kippwinkel φ_{max} und Auslenkungswinkel ϑ_0 ist das Volumen des maximalen unbestimmten Bereichs im Fourierraum bei kegelförmiger Kippung geringer als bei Einachsenkipfung. Das entspricht einer größeren Information über die dreidimensionale Struktur des Objekts. Eine genaue Analyse der Volumenverhältnisse im Fourierraum sowie der Bildpunktelongation und des Clutters ist in Kap. 7 gegeben.

5. Rekonstruktionsverfahren

Zur dreidimensionalen Rekonstruktion aus einer Serie von Projektionen existieren eine Reihe von Rekonstruktionsverfahren, die jedoch hauptsächlich zur Rekonstruktion aus achsengekippten Projektionen entwickelt wurden. Sie lassen sich in folgende vier Gruppen einteilen.

1. Radontransformation
2. Fourier-Verfahren
3. Rückprojektion und Entfaltung
4. Iterative Verfahren im direkten Raum

5.1 Radontransformation

Die Radontransformation wurde bereits im letzten Kapitel beschrieben. Zu den Schwierigkeiten, die sich durch die diskrete Anzahl von Projektionen für die praktische Anwendung ergeben sei auf die Literatur verwiesen./27, 28, 29/

5.2 Fourier-Verfahren

Die Fourier-Verfahren stützen sich in ihrem Ausgangspunkt auf das Projektionstheorem. Sei $P_i(\vec{s}^*, \theta_i)$ die Fouriertransformierte der Projektion $p_i(\vec{s}, \theta_i)$, die unter dem Kippwinkel θ_i aufgenommen wurde. \vec{s} sei der zweidimensionale Ortsvektor in der Ebene der Projektion, \vec{s}^* entsprechend im Fourierraum. Durch die Menge der Fouriertransformierten aller Projektionen $\{P_i(\vec{s}^*, \theta_i)\}$ ist die dreidimensionale Fouriertransformierte $\tilde{p}(\vec{r}^*)$ des Objekts im Prinzip

bestimmt. Die Dichteverteilung des Objekts ergibt sich aus der Rücktransformation der durch die Projektionen bestimmten Fouriertransformierten $\tilde{\varrho}(\vec{r}^*)$.

$$\varrho(\vec{r}) = FT^{-1} \tilde{\varrho}(\vec{r}^*) \quad (5.1)$$

5.2.1 Interpolationsverfahren

Da die durch die Projektionen bestimmten Fourierkoeffizienten im allgemeinen nicht auf dem zur Rücktransformation benutzten Raster liegen, ist eine Interpolation im Fourierraum notwendig /30,31,32/. Ein Satz von Interpolationsfunktionen ist durch das Whittaker-Shannonsche Samplingtheorem gegeben. Sei $\tilde{\varrho}(\vec{r}^*)$ die Fouriertransformierte der Objektverteilung $\varrho(\vec{r})$. Dann ist ein einer Projektion entsprechender Zentralschnitt durch $\tilde{\varrho}(\vec{r}^*)$ gegeben durch:

$$P(\vec{r}^{*'}) = \int I(\vec{r}^*, \vec{r}^{*'}) \tilde{\varrho}(\vec{r}^*) d\vec{r}^* \quad (5.2)$$

mit

$$I(\vec{r}^*, \vec{r}^{*'}) = \int_B e^{2\pi i (\vec{r}^* - \vec{r}^{*'}) \cdot \vec{r}^*} dr^* \quad (5.3)$$

Hierin ist B die Begrenzung des Objektbereichs. Bei einer diskreten Rasterung des Fourierraumes sowie einer Begrenzung des Objektbereichs durch einen Quader mit den Kantenlängen a, b, c ist

$$I_{hkl}(\vec{r}^{*'}) = \frac{\sin \pi (x^{*'} a - h) \sin \pi (y^{*'} b - k) \sin \pi (z^{*'} c - l)}{\pi^3 (x^{*'} a - h)(y^{*'} b - k)(z^{*'} c - l)} \quad (5.4)$$

h, k, l sind die Rasterpunktindizes im Fourierraum. Das Rekonstruktionsproblem besteht hier hauptsächlich in der Inversion der Matrix I_{hkl} . Im Fall der Achsenkippung läßt sich (5.4) in zweidimensionale Gleichungssysteme entkoppeln

entsprechend den Ebenen senkrecht zur Kippachse /33/.

5.2.2 Fourier-Bessel-Verfahren

Ist bei der Einachsenkipfung das Winkelinkrement zwischen benachbarten Projektionen konstant, so bilden die entsprechenden Schnitte im Fourierraum ein konzentrisches Raster. Dies läßt sich ausnutzen, indem man zur Rücktransformation des mit Schnitten belegten Fourierraumes die Fourier-Bessel-Transformation verwendet /32,33/. Die entsprechende Formel lautet:

$$\rho(r, \phi) = \sum_{n=-\infty}^{\infty} e^{in\phi} \int_0^{\infty} J_n(2\pi r^* r) r^* dr^* e^{in \frac{\pi}{2} \sum_{k=-K}^K P_k(r^*, \theta_k)} \cdot e^{\frac{in k \pi}{k}} \quad (5.5)$$

$\rho(r, \phi)$ ist die Objektdichteverteilung in Zylinderkoordinaten, $J_n(x)$ die Besselfunktion n-ter Ordnung und $P_k(r^*, \theta_k)$ die bezüglich r fouriertransformierte Projektion zum Winkel θ_k .

5.2.3 Cormack-Smith-Verfahren

Die Fouriertransformierte $\tilde{\rho}(r^*, \theta)$ von $\rho(r, \phi)$ in Zylinderkoordinaten ist:

$$\tilde{\rho}(r^*, \theta) = \int_0^{\infty} \int_{-\pi}^{\pi} \rho(r, \phi) e^{-2\pi i r r^* \cos(\theta - \phi)} r dr d\phi \quad (5.6)$$

Entwickelt man die Exponentialfunktion in (5.6) nach Besselfunktionen so ergibt dies:

$$\tilde{\rho}(r^*, \theta) = \sum_{n=-\infty}^{\infty} (i)^n e^{in\theta} \int_0^{\infty} J_n(2\pi r^* r) \left[\int_{-\pi}^{\pi} \rho(r, \phi) e^{-in\phi} d\phi \right] r dr \quad (5.7)$$

Der Ausdruck in der eckigen Klammer ist die azimuthale Fourierkomponente einer Entwicklung von ρ auf Kreisbögen mit Radius r .

$$\rho(r, \phi) = \sum_{n=-\infty}^{\infty} \rho_n(r) e^{in\phi} \quad (5.8)$$

Nach dem Projektionstheorem gilt:

$$\tilde{g}(r^*, \theta) = P(r^*, \theta) \quad (5.9)$$

mit

$$P(r^*, \theta) = \int_{-\infty}^{+\infty} p(r, \theta) e^{2\pi i r r^*} dr \quad (5.10)$$

Faßt man ebenfalls die Fourierkoeffizienten aller Projektionen als eine Verteilung in einem Projektionsraum auf, und entwickelt man diesen nach θ in eine azimutale Fourierreihe, so erhält man:

$$\hat{P}(r^*, \theta) = \sum_{-\infty}^{+\infty} P_n(r^*) e^{in\theta} \quad (5.11)$$

$P_n(r^*)$ sind die durch die Menge der Projektionen gegebenen Fourierkoeffizienten auf Kreisen mit Radius r^* .

Vergleicht man (5.11) und (5.8) und bezeichnet die Besseltransformation von $g_n(r)$ mit

$$B_n(r^*) = \int_0^{\infty} g_n(r) J_n(2\pi r^* r) r dr \quad (5.12)$$

so zeigt sich daß

$$B_n(r^*) = (i)^n P_n(r^*) \quad \text{gilt.} \quad (5.13)$$

Aus (5.13) ersieht man, daß den Fourierkoeffizienten $B_n(r^*)$ nicht mehr zu entnehmen ist, ob sie aus den Projektionen oder den Objektdateen berechnet wurden. Dies wird im Verfahren von Cormack und Smith ausgenutzt, bei welchem die explizite Durchführung der Fourier und der Besseltransformation umgangen wird /17,18,33/.

Hierzu wählt man drei orthogonale Funktionensysteme

$\{U_n\}$, $\{R_n\}$, $\{A_{nm}\}$ mit folgenden Eigenschaften: $P_n(x)$ läßt sich nach $U_n(x)$ entwickeln. $\rho_n(r)$ läßt sich nach $R_n(r)$ entwickeln. $R_n(r)$ geht durch Projektion in $U_n(x)$ über. $U_n(x)$ geht durch Fouriertransformation in ein System von Funktionen $A_{nm}(r^*)$ über. $R_n(r)$ geht durch Besseltransformation in dasselbe System $A_{nm}(r^*)$ über. Die Koeffizienten der Entwicklung der Projektionen nach $U_n(x)$ sind also proportional den Koeffizienten der Entwicklung von $\rho(r, \theta)$ nach $R_n(r)$. Auf diese Weise lassen sich die Entwicklungskoeffizienten der Objektdichte sofort aus den Entwicklungskoeffizienten der Projektionen bestimmen.

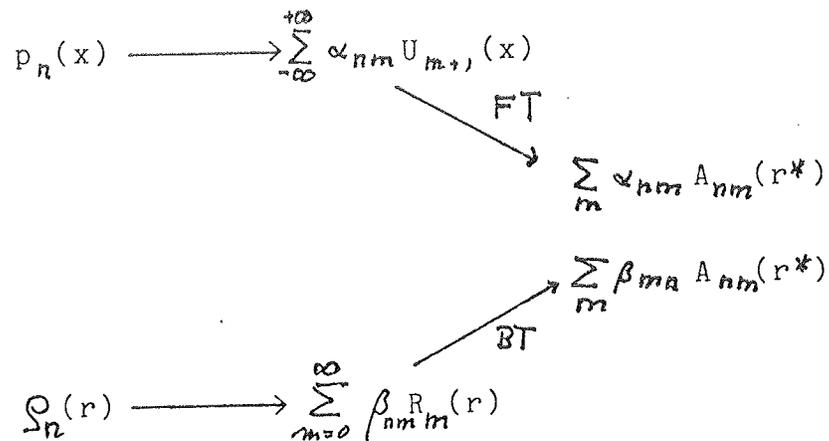
Ein solches System von Orthogonalfunktionen ist:

$U_n(x)$ Tschebyscheff Polynome 2. Art

$R_n(r)$ Zernike Polynome

$A_{nm}(r^*)$ verallgemeinerte Airyfunktionen

Das folgende Schema zeigt noch einmal ein Übersicht über das Verfahren:



Eine Rekonstruktion nach dem Smith-Cormack-Verfahren läßt sich im Rechner schnell durchführen. Bei kegelförmiger Kippung ist dieses Verfahren jedoch nicht anwendbar, da entsprechende Funktionensysteme für diese Geometrie nicht gefunden wurden.

5.3 Rückprojektion und Entfaltung

Die Rückprojektion ist eines der einfachsten Rekonstruktionsverfahren /34/. Das Prinzip beruht darauf, daß aus den Projektionen sogenannte Rückprojektionskörper gebildet werden, indem durch jeden Punkt der Projektion senkrecht zu dieser eine Gerade gelegt wird, die konstant mit dem Wert dieser eine Gerade belegt wird, die konstant mit dem Wert der Projektion im Schnittpunkt mit der Geraden belegt ist. Dies entspricht einer Faltung der zweidimensionalen Projektionen mit der dreidimensionalen konstanten Funktion mit dem Wert 1, im Fourierraum einer Multiplikation mit einer δ -Funktion. Zur Durchführung der Rekonstruktion werden diese dreidimensionalen Rückprojektionskörper aufsummiert. In Bild 5.1 ist das Verfahren für drei

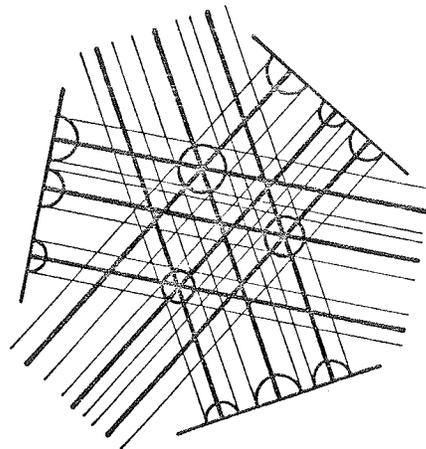


Abb. 5.1 Rückprojektion aus drei Projektionen.

Projektionen veranschaulicht.

Die einfache Rückprojektion zeigt im dreidimensionalen Bild einen hohen Anteil an Artefakten, insbesondere treten Strahlen um solche Punkte des Objekts auf, die sich stark von ihrer Umgebung unterscheiden. Außerdem werden die niedrigen Ortsfrequenzen zu stark bewertet. Das Verfahren hat allerdings den Vorzug, daß es sehr einfach auf jede Geometrie anwendbar ist. Die Nachteile des Verfahrens lassen sich durch die 'gewichtete Rückprojektion' vermeiden, auf die in Kap. 6 für den Fall kegelförmiger Kippung ausführlich eingegangen wird.

Da die Rückprojektion ferner ein wohldefiniertes Verfahren ist, sowohl im direkten Raum als auch im Fourierraum, läßt sich die Bildpunktfunktion des Verfahrens unabhängig von der Qualität der eingegebenen Projektionen berechnen. Die rekonstruierte Dichteverteilung ist mit dieser Bildpunktfunktion gefaltet. Entfaltet man die Rückprojektion mit dieser Bildpunktfunktion, so ergibt sich eine mit der vorliegenden Information bestmögliche Rekonstruktion.

Im Fourierraum bedeutet die Faltung mit der Bildpunktfunktion der einfachen Rückprojektion, daß die Fouriertransformierte der so rekonstruierten Objektdichte mit der Modulationsübertragungsfunktion des Verfahrens multipliziert ist. Die Entfaltung läßt sich dann durch Multiplikation der Fouriertransformierten dieser Objektdichte mit dem Kehrwert der Modulationsübertragungsfunktion durchführen. Dieser Kehrwert heißt auch Gewichtsfunktion, womit die Bezeichnung 'gewichtete Rückprojektion' erklärt ist.

5.4 Iterative Verfahren

Die wichtigsten iterativen Verfahren sind /11,37.38/:

ART Arithmetic Reconstruction Technique

SIRT Simultaneous Iterative Reconstruction Technique

ILST Iterative Least Square Technique

Der gemeinsame Ausgangspunkt dieser Verfahren ist eine der Objektgröße entsprechende Anfangsverteilung, die konstant sein kann oder auch eine einfache Rückprojektion. Aus dieser nullten Näherung werden die Projektionen zurückberechnet. Die Differenzen zwischen den zurückberechneten und den gemessenen Projektionen ergeben Korrekturen, mit welchen dann die im vorhergehenden Schritt berechnete Objektdichteverteilung korrigiert wird.

Bei ART werden die Differenzen zwischen den berechneten und gemessenen Projektionen nacheinander für jede einzelne Projektion berechnet und additiv oder multiplikativ zur Korrektur der Rekonstruktion verwandt. Dies hat zur Folge, daß eine genaue Übereinstimmung nur mit der jeweils zuletzt berücksichtigten Projektion besteht.

SIRT berücksichtigt gleichzeitig die Differenzen aller Projektionen. Auch hier werden diese Korrekturen additiv oder multiplikativ zur Verbesserung der Rekonstruktion berücksichtigt.

Bei ILST wird die mittlere quadratische Abweichung zwischen den berechneten und gemessenen Projektionen minimiert.

6. Gewichtete Rückprojektion bei kegelförmiger Kippung

Als Rekonstruktionsverfahren für die dreidimensionale Rekonstruktion bei kegelförmiger Kippgeometrie wurde im Rahmen dieser Arbeit eine gewichtete Rückprojektion entwickelt /48/. Dieses Verfahren hat den Vorzug, daß es sowohl im direkten Raum als auch im Fourierraum wohldefiniert ist. Es liefert eine definierte Bildpunktfunktion unabhängig von den Eingabedaten und gestattet daher eine Berechnung der Auflösung und des Clutters allein aufgrund der gewählten Geometrie und der Projektionsanzahl. Hier ist vorausgesetzt, daß die Auflösung in den Projektionen hinreichend groß ist, sodaß von daher keine Begrenzung der Auflösung in der dreidimensionalen Rekonstruktion eintritt. Ein reines Fourierverfahren wurde nicht gewählt, da dies eine dreidimensionale Interpolation im Fourierraum mit entsprechend hohem Rechenaufwand erfordern würde, denn bei kegelförmiger Kippung läßt sich das Interpolationsproblem nicht, wie bei der Einachsenkipfung, auf eine Interpolation in Ebenen reduzieren.

Ein Verfahren ähnlich dem von Cormack und Smith war, wie schon in 5.2.3 erwähnt, nicht durchführbar, da entsprechende orthogonale Funktionensysteme für kegelförmige Geometrie bisher nicht gefunden wurden.

6.1 Verwendete Geometrie

Zunächst soll die zur Rekonstruktion verwendete Geometrie mit der Bezeichnung der Koordinaten und Winkel erklärt werden. Abb 6.1 zeigt die im Mikroskop verwendete Geometrie, Abb 6.2 die Geometrie, die den Programmen zur Rekonstruktion zugrunde liegt. Die Winkelbezeichnungen in Abb.6.1 entsprechen den Bezeichnungen in Abb.6.2. ϑ_0 ist der Öffnungshalbwinkel des Kegels, der durch die Strahlrichtungen gebildet wird, φ_j der Azimutwinkel, um den das Präparat bei der jeweiligen Aufnahme gedreht wird.

Die Transformation zwischen dem objektfesten Koordinatensystem S und dem zur Projektion $p_j(\varphi_j)$ gehörenden Koordinatensystem S_j' ist:

$$\begin{pmatrix} x'_j \\ y'_j \\ z'_j \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \cos \vartheta_0 & 0 & -\sin \vartheta_0 \\ 0 & 1 & 0 \\ \sin \vartheta_0 & 0 & \cos \vartheta_0 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} \cos \varphi_j & \sin \varphi_j & 0 \\ -\sin \varphi_j & \cos \varphi_j & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} x \\ y \\ z \end{pmatrix} \quad (6.1)$$

Diese Transformation entspricht zunächst einer Drehung um z mit dem Azimutwinkel φ_j und anschließend einer Kippung um die neue y'_j -Achse mit dem Winkel ϑ_0 . Die j -te Projektion ist:

$$p_j(x'_j, y'_j) = \int \rho(x, y, z) dz'_j \quad (6.2)$$

$\rho(x, y, z)$ ist die Objektdichte und z'_j die zum Winkel φ_j gehörende Strahlrichtung. Zur Rückprojektion wird aus jeder Projektion $p_j(x'_j, y'_j)$ ein Rückprojektionskörper gebildet, wozu durch jeden Punkt der Projektion eine Gerade gelegt

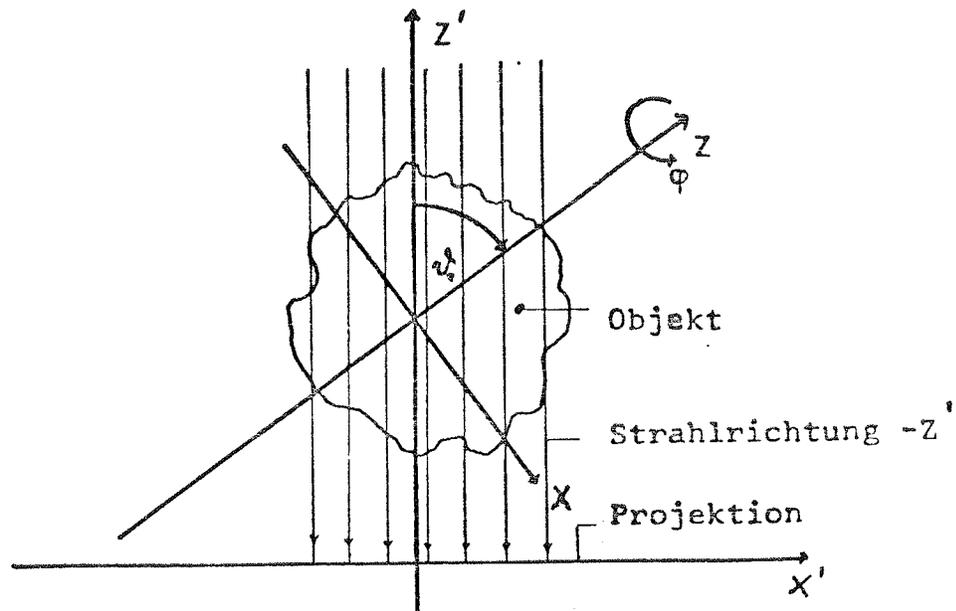


Abb. 6.1 Geometrie der kegelförmigen Objektkippung im Elektronenmikroskop. y-Achse (senkrecht zur Zeichenebene) Kippachse des Präparats, z-Achse Drehachse des Präparats, z' Strahlrichtung.

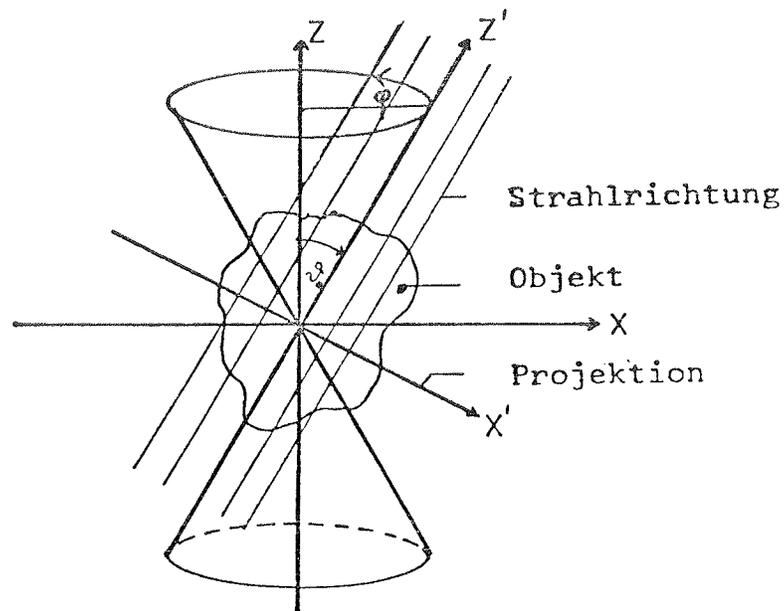


Abb. 6.2 Entsprechende Geometrie zum Rekonstruktionsverfahren bei kegelförmiger Kippung. Achsen und Winkelbezeichnungen wie in Abb 6.1 .

wird, die konstant mit dem Wert der Projektion im Schnittpunkt belegt ist. (s. Kap.5) Diese Rückprojektionskörper werden anschließend aufaddiert. Ist $p_j(x'_j, y'_j)$ die Projektion, so ist der zugehörige Rückprojektionskörper:

$$\hat{p}_j(x'_j, y'_j, z'_j) = p_j(x'_j, y'_j) \quad (6.3)$$

Die aus der Rückprojektion sich ergebende Objektdichte ist:

$$\hat{\rho}(x, y, z) = \sum_j \hat{p}_j(x'_j, y'_j, z'_j) \quad (6.4)$$

Wählt man für $p_j(x'_j, y'_j)$ die Projektion eines Bildpunktes, so ist (6.4) die Bildpunktfunktion der Rückprojektion.

6.2 Berechnung der Gewichtsfunktion

Die Fouriertransformation der dreidimensionalen Bildpunktfunktion liefert die zugehörige Modulationsübertragungsfunktion. Diese Modulationsübertragungsfunktion ist nichts anderes, als die Dichte der Abtastung im Fourierraum, die sich definieren läßt als die Anzahl der Abtastpunkte pro Volumeneinheit im Fourierraum. Da die einfache Rückprojektion eine Summation der Projektionskörper im direkten Raum ist, werden auch die Schnitte im Fourierraum aufsummiert. Dies hat zur Folge, daß die Ortsfrequenzen im Fourierraum gewichtet mit der Anzahl der Abtastpunkte im dazugehörigen Volumenelement berücksichtigt werden.

Zur Veranschaulichung der Belegung im Fourierraum ist in Abb. 6.3 eine Schnittebene durch die dreidimensionale Fouriertransformierte des rückprojizierten Bildpunktes senkrecht zur z^* -Achse gezeigt. x^* , y^* , z^* sind die

Koordinaten im Fourierraum. Die Rückprojektionskörper

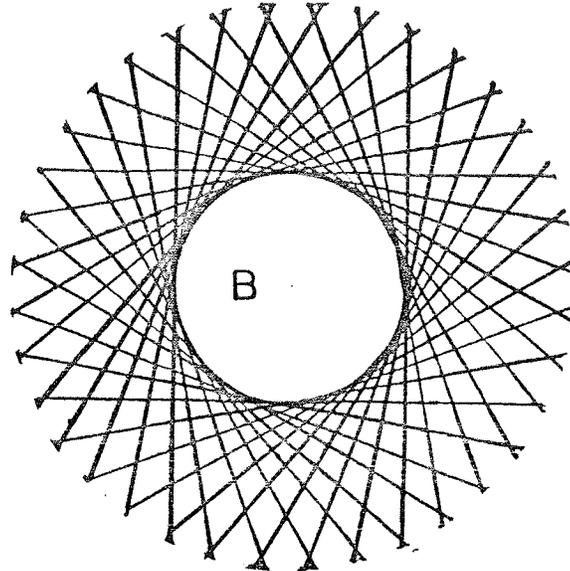


Abb. 6.3 Schnitt durch die dreidimensionale Fouriertransformierte eines rückprojizierten Bildpunktes bei kegelförmiger Kippung in einer Ebene $z^* = \text{konst.}$ B nicht abgetasteter Bereich.

entsprechen im Fourierraum Schnittebenen durch den Ursprung der dreidimensionalen Fouriertransformierten des Objekts. Der Bereich B in Abb. 6.3 ist der Schnitt durch den nicht bestimmten Doppelkegel im Fourierraum. Aus Abb. 6.3 sieht man deutlich, daß die Belegungsdichte des Fourierraumes nach außen hin abnimmt. Dies entspricht einer zu hohen Ortsfrequenzen hin abfallenden Modulationsübertragungsfunktion. Bei der einfachen Rückprojektion werden also die niedrigen Ortsfrequenzen relativ zu den hohen Ortsfrequenzen angehoben. Ferner sieht man aus Abb. 6.3, daß die Modulationsübertragungsfunktion, bei konstantem Winkelinkrement $\Delta\varphi = \varphi_{j+1} - \varphi_j$ zwischen den Projektionen, achsensymmetrisch zur z^* -Achse ist.

Durch Fouriertransformation erhält man aus (6.4):

$$\begin{aligned} \text{FT}(\hat{\rho}(x,y,z)) &= \text{FT}\left(\sum_j \hat{p}_j(x'_j, y'_j, z'_j)\right) \\ &= \sum_j P_j(x^*_j, y^*_j) \delta(z^*_j) \end{aligned} \quad (6.5)$$

$P_j(x^*_j, y^*_j)$ ist die zweidimensionale Fouriertransformierte der Projektion $p_j(x'_j, y'_j)$

Seien im Folgenden die $p_j(x'_j, y'_j)$ Projektionen eines Bildpunktes. Die Fouriertransformierten dieser Projektionen sind konstant belegte Ebenen im Fourierraum. Sei ferner

$\Delta\varphi = \varphi_{j+1} - \varphi_j := d\varphi$ infinitesimal klein, dann läßt sich die Summe in (6.5) durch ein Integral ersetzen. Die Modulationsübertragungsfunktion $M(x^*, y^*, z^*)$ ist dann:

$$M(x^*, y^*, z^*) = \text{FT}(\hat{\rho}(x,y,z)) = \int_0^{2\pi} \delta(z^*(\varphi)) d\varphi \quad (6.6)$$

Mit der in (6.1) angegebenen Transformation ergibt dies:

$$M(x^*, y^*, z^*) = \int_0^{2\pi} \delta(x^* \sin\vartheta_0 \cos\varphi + y^* \sin\vartheta_0 \sin\varphi + z^* \cos\vartheta_0) d\varphi \quad (6.7)$$

führt man Zylinderkoordinaten r^*, ϕ, z^* ein, so ergibt (6.7)

$$M(r^*, \phi, z^*) = \int_0^{2\pi} \delta(r^* \sin\vartheta_0 \cos(\phi - \varphi) + z^* \cos\vartheta_0) d\varphi \quad (6.8)$$

Dies läßt sich lösen unter Berücksichtigung der Beziehung für δ -Funktionen:

$$\delta(f(x)) = \sum_n \frac{1}{|f'(x_n)|} \delta(x - x_n) \quad (6.9)$$

wobei x_n die Nullstellen der Funktion $f(x)$ sind und $f'(x_n)$ ungleich null sein muß, also

$$f(x_n) = 0$$

und

$$f'(x_n) = \left. \frac{\partial f(x)}{\partial x} \right|_{x_n} \neq 0. \quad (6.10)$$

Die Nullstellen von $z^*(\varphi)$ im Intervall $(0, 2\pi]$ sind:

$$\cos(\phi - \varphi) = \frac{-z^* \cos \vartheta_0}{r^* \sin \vartheta_0} = \frac{-z^* \cot \vartheta_0}{r^*}$$

woraus folgt:

$$\varphi_{1,2} = \pm(\arccos(\frac{-z^* \cot \vartheta_0}{r^*}) - \phi) \quad (6.11)$$

Die Ableitung von z^* nach φ ist:

$$\frac{dz^*(\varphi)}{d\varphi} = r^* \sin \vartheta_0 \sin(\phi - \varphi) \quad (6.12)$$

Dies ist ungleich null für φ_1 und φ_2 aus (6.11). Einsetzen von (6.11) und (6.12) in (6.9) ergibt:

$$\delta(z^*(\varphi)) = \frac{1}{|r^* \sin \vartheta_0 \sin(\arccos(\frac{-z^* \cot \vartheta_0}{r^*}))|} (\delta(\varphi - \varphi_1) + \delta(\varphi - \varphi_2)) \quad (6.13)$$

Damit ergibt (6.8):

$$M(r^*, \phi, z^*) = \frac{2}{|r^* \sin \vartheta_0 \sin(\alpha + \arccos(\frac{-z^* \cot \vartheta_0}{r^*}))|} \quad (6.14)$$

für $r^* > z^* \cot \vartheta_0$

Die Funktion $M(r^*, \phi, z^*)$ ist nur definiert im Bereich $r^* > z^* \cot \vartheta_0$. Dies ist der Bereich außerhalb des unbestimmten Doppelkegels, in welchem die Fourierkoeffizienten bei kegelförmiger Kippung nicht bekannt sind.

Die Gewichtsfunktion $G(r^*, \phi, z^*)$, mit der die Fouriertransformierte der Dichteverteilung der einfachen Rückprojektion zur Entfaltung multipliziert werden muß, ist der Kehrwert von $M(r^*, \phi, z^*)$, also

$$G(r^*, \phi, z^*) = \frac{1}{2} \left| r^* \sin \nu_0 \sin \left(\arccos \left(\frac{-z^* \cot \nu_0}{r^*} \right) \right) \right|. \quad (6.15)$$

Da $0 < \nu_0 < \frac{\pi}{2}$ ist, lässt sich (6.15) vereinfachen zu:

$$\begin{aligned} G(r^*, \phi, z^*) &= \frac{1}{2} \left| r^* \sin \nu_0 \sin \left(\arcsin \left(\sqrt{1 - \frac{z^{*2} \cot^2 \nu_0}{r^{*2}}} \right) \right) \right| \\ &= \frac{1}{2} \sqrt{r^{*2} \sin^2 \nu_0 - z^{*2} \cos^2 \nu_0} \end{aligned} \quad (6.16)$$

Abb. 6.4 zeigt einen Schnitt durch eine r^*-z^* Ebene der dreidimensionalen Gewichtsfunktion. Sie hat den Wert null

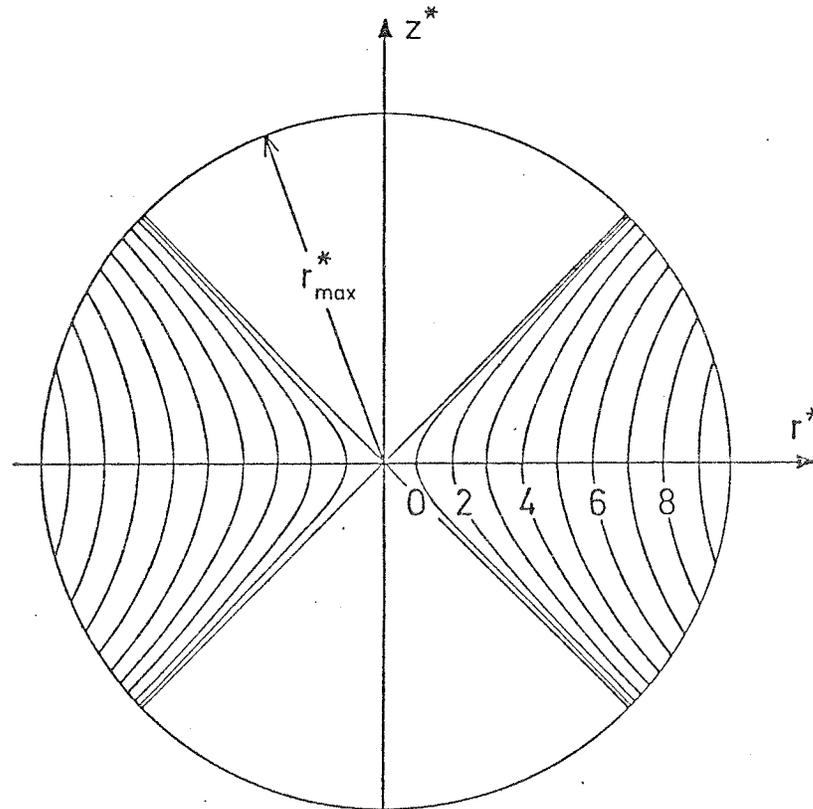


Abb. 6.4 Schnitt durch die dreidimensionale Gewichtsfunktion $G(x^*, y^*, z^*)$ entlang der z^* -Achse. Zahlenangaben in frei gewählten Einheiten.

auf der Oberfläche des Kegelmantels, der den unbestimmten Bereich im Fourierraum begrenzt und nimmt nach außen hin zu. Dies entspricht einer Abschwächung der niedrigen Ortsfrequenzen und relativ dazu einer Verstärkung der hohen Ortsfrequenzen. Die in Abb. 6.4 angegebenen Zahlenwerte sind in willkürlichen Einheiten angegeben, da sie nur den

Verlauf der Funktion kennzeichnen sollen.

Für $\psi_0 = \frac{\pi}{2}$, was dem in der kegelförmigen Kippung enthaltenen Spezialfall der Achsenkipfung entspricht, reduziert sich (6.16) auf

$$G(r^*, \phi, z^*) = \frac{1}{2} r^* \quad (6.17)$$

(6.17) ist bis auf den Faktor $\frac{1}{2}$ die bekannte Gewichtsfunktion für die gewichtete Rückprojektion aus achsengekippten Projektionen/33,39/. Der Faktor $\frac{1}{2}$ rührt daher, daß bei der kegelförmigen Kippung der Azimutalwinkel ϕ einen Bereich von 0 bis 2π überstreicht. Für $\psi_0 = \frac{\pi}{2}$ entspricht aber jede Projektion derjenigen, die um π gegen diese gekippt ist. In diesem Spezialfall wird also jeder Schnitt im Fourierraum durch zwei Projektionen bestimmt, und die entsprechenden Fourierkoeffizienten sind nach der Aufsummation der Projektionen doppelt so groß wie die durch nur eine Projektion bestimmten. An der relativen Wichtung der Ortsfrequenzen ändert sich aber durch diesen Faktor nichts.

Mit der in (6.16) gegebenen Gewichtsfunktion läßt sich die Rekonstruktion nach folgendem Verfahren durchführen:

$$p(x'_j, y'_j) \xrightarrow{\text{RP}} \hat{\mathcal{G}}(x, y, z) = \sum_j \hat{p}_j(x'_j, y'_j, z'_j) \xrightarrow{\text{FT}} \quad (6.18)$$

$$\sum_j P_j(x^*_j, y^*_j) \delta(z^*_j) \xrightarrow{W}$$

$$W(x^*, y^*, z^*) \sum_j P_j(x^*_j, y^*_j) \delta(z^*_j) \xrightarrow{\text{FT}^{-1}}$$

$$\mathcal{G}(x, y, z)$$

Hierin ist FT die Operation Fouriertransformation, RP die Rückprojektion, W die Wichtung und FT^{-1} die inverse Fouriertransformation.

Die Summation und die Fouriertransformation in (6.18) lassen sich vertauschen und aufgrund der Gleichung (6.5) lassen sich die dreidimensionalen Fouriertransformationen durch zweidimensionale Transformationen ersetzen. Die Gewichtsfunktion wird nur in der der Projektion entsprechenden Schnittebene im Fourierraum berechnet und auf die Fouriertransformierte jeder Projektion angewandt. Da bei gleichem azimuthalen Winkelabstand der Projektionen und aufgrund des konstanten Kegelöffnungswinkel während einer Serie von Aufnahmen die Gewichtsfunktion rotationssymmetrisch zur z^* -Achse ist, ist die Gewichtsfunktion in allen den Projektionen entsprechenden Schnittebenen im Fourierraum die gleiche.

Setzt man die Koordinatentransformation (6.1) in (6.16) ein, so erhält man als Gewichtsfunktion für die Fouriertransformierte einer Projektion:

$$W(x_j^*, y_j^*) = y_j^* \sin \nu_0^h \quad (6.19)$$

Diese zweidimensionale Gewichtsfunktion läßt sich dann auf die Fouriertransformierte jeder Projektion anwenden. Anschließend wird jede so gewichtete Fouriertransformierte zurücktransformiert und die Rückprojektion mit diesen gewichteten Projektionen durchgeführt. Als Rekonstruktionschema ergibt sich dann:

$$p_j(x'_j, y'_j) \xrightarrow{\text{FT}}$$

$$P_j(x_j^*, y_j^*) \xrightarrow{W}$$

$$W(x_j^*, y_j^*) P_j(x_j^*, y_j^*) := \tilde{P}_j(x_j^*, y_j^*) \xrightarrow{\text{FT}^{-1}}$$

$$\tilde{p}_j(x'_j, y'_j) \xrightarrow{\text{RP}}$$

$$\mathcal{P}(x, y, z) = \sum_j \hat{p}_j(x'_j, y'_j, z'_j) \quad (6.20)$$

$\hat{p}_j(x'_j, y'_j, z'_j)$ sind die aus den gewichteten Projektionen $\tilde{p}_j(x'_j, y'_j)$ gebildeten Rückprojektionskörper.

Zur Durchführung des Rekonstruktionsverfahrens sind nur zweidimensionale Berechnungen notwendig, zumal da sich die Rückprojektion ebenenweise oder auch punktweise durchführen läßt.

Bei der in dieser Arbeit angewandten Rückprojektion wird so vorgegangen, daß für jeden Punkt einer Ebene des Objekts der entsprechende Punkt auf jeweils einer Projektion berechnet wird, dessen Wert dann auf der Projektion interpoliert wird. Dieser Wert wird zu dem Wert am Punkt der Objektebene addiert. Das Verfahren wird jeweils für eine Ebene senkrecht zu einer der drei Achsen mit allen Projektionen durchgeführt und die dreidimensionale Rekonstruktion ebenenweise berechnet.

Abb. 6.5 zeigt eine einzelne Projektion des Bildpunktes nach der Wichtung im Fourierraum und Rücktransformation. Durch die Wichtung ergeben sich in y' -Richtung negative Werte neben den weiter positiven Werten an der Stelle des projizierten Bildpunktes. Anschaulich läßt sich dies so

interpretieren, daß diese negativen Bereiche dazu dienen, die Strahlen, die in der Rückprojektion durch die Nachbarprojektion auftreten, zu kompensieren. Zur Erläuterung ist

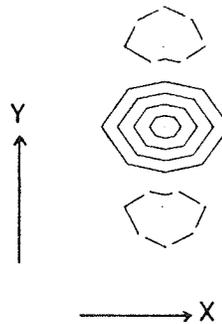


Abb. 6.5 Gewichtete Projektion eines Punktes. Schichtlinienabstand 20% vom Maximum der Projektion.
 - - - <0, ——— >0.

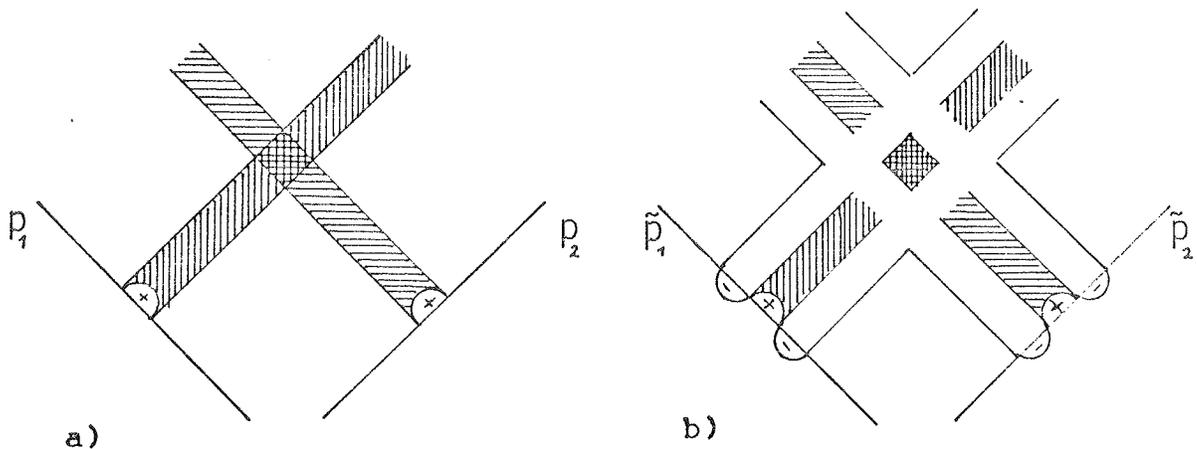


Abb. 6.6 Rückprojektion mit zwei Projektionen. a) mit nicht gewichteten Projektionen. b) mit gewichteten Projektionen.

in Abb. 6.6 eine einfache Rückprojektion mit zwei Projektionen und daneben eine Rückprojektion mit gewichteten Projektionen skizziert. In Abb. 6.6a sind die Strahlen der Projektionen zum Bildpunkt hin zu sehen, Abb 6.6b zeigt, daß diese Strahlen in der Umgebung des Bildpunktes durch

die Nachbarprojektionen nahezu zu null kompensiert werden. Die Größe dieser Umgebung hängt von der Anzahl der Projektionen ab. Abb. 6.7 zeigt einen Schnitt durch die x-z-Ebene eines dreidimensionalen Bildpunktes. Die Rekonstruktion wurde aus 25 Projektionen bei einem Kegelwinkel von 45 Grad berechnet. Abb 6.7a zeigt den Bildpunkt den man bei einfacher Rückprojektion erhält, Abb. 6.7b den Bildpunkt der sich bei gewichteter Rückprojektion ergibt. Es sei besonders auf die im Gegensatz zur Rekonstruktion bei Einachsenkipfung sehr niedrigen negativen Minima in der Umgebung des Bildpunktes hingewiesen, die nur ca. 5% des Maximums ausmachen, während bei der Einachsenkipfung negative Bereiche auftreten, die bis zu ca.30% des Bildpunktmaximums betragen (s.auch Kap.7.4).

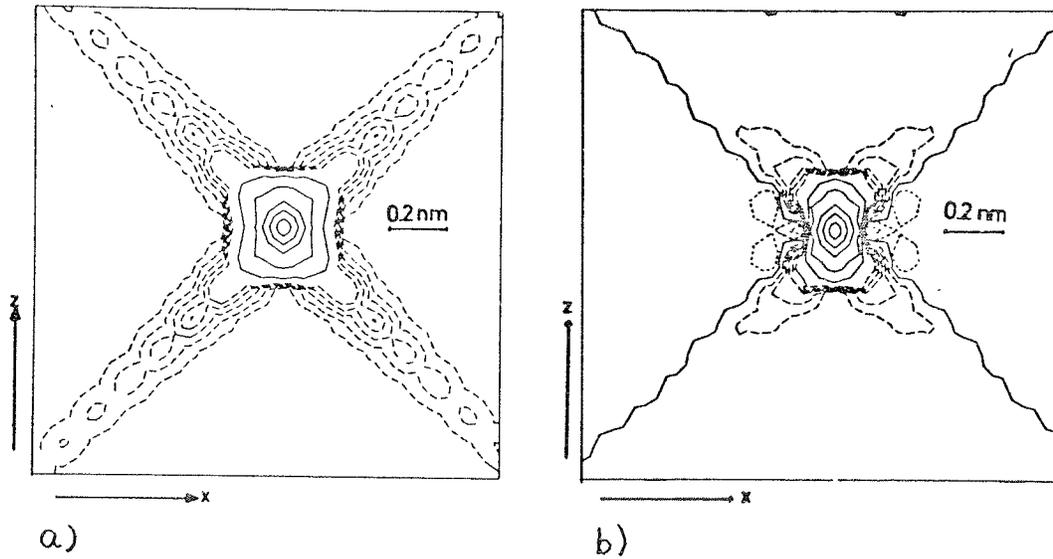


Abb. 6.7 Schnitt durch den dreidimensionalen Bildpunkt. Rekonstruiert aus 25 Projektionen bei einem Kegelwinkel von 45 Grad. a) einfache Rückprojektion, b) gewichtete Rückprojektion. Schichtlinien: 1% < 0, ---- 1% > 0 ≤ 5%, ——— 0, 10%, 20%, 40%, ... 100%; jeweils bezogen auf das Maximum des Bildpunktes.

7. Qualität der dreidimensionalen Rekonstruktion

Die Qualität der dreidimensionalen Rekonstruktion läßt sich durch drei Größen beschreiben, durch die Elongation des Bildpunktes, die Artefakte um den Bildpunkt, den sogenannten Clutter, und das Verhältnis des Auflösungselements zum Durchmesser des Rekonstruktionsvolumens. Alle drei Größen lassen sich aus der Belegung des Fourierraumes berechnen. Die Auflösung ist durch den Radius des vollständig abgetasteten Bereichs im Fourierraum im Sinne des Shannonschen Samplingtheorems /24,25/ gegeben, das besagt, daß der Abstand zweier Abtastpunkte den Wert $1/D$ nicht überschreiten darf, wobei D der Durchmesser des Rekonstruktionsvolumens ist. Hierdurch ist der Radius der Auflösungskugel im Fourierraum festgelegt. Die Elongation des Bildpunktes wird durch die ungleichmäßige Belegung des Fourierraumes verursacht. Bei der Einachsenkipfung fehlt durch den begrenzten Kippwinkelbereich ein Zwickel innerhalb der Auflösungskugel, bei der kegelförmigen Kippung ein Doppelkegel. Diese fehlenden Bereiche sind ebenfalls die Ursache für den Untergrund des Bildpunkts, den Clutter, der bei entsprechenden Rekonstruktionsmethoden zwar für jeden Bildpunkt gleich ist, sich jedoch durch keine Berechnungsmethoden, wie z. B. eine Entfaltung der rekonstruierten Struktur beheben läßt. Der unbestimmte Bereich im Fourierraum bedeutet eine fehlende Information über das Objekt.

Das Volumen des unbestimmten Bereichs im Fourierraum ist

bei der Einachsenkipfung größer als bei der kegelförmigen Kippung. Die Auswirkung der fehlenden Information auf die dreidimensionale Rekonstruktion ist jedoch wegen der unterschiedlichen Geometrie der Lage der gemessenen Projektionen verschieden. Eine Rekonstruktion aus achsengekippten Projektionen ergibt eine relativ gute Auflösung, jedoch wird dieser Vorteil weitgehend dadurch wieder aufgehoben, daß der Bildpunkt eine größere Elongation zeigt und vor allen Dingen einen hohen Anteil an Artefakten. Dagegen ergibt eine Rekonstruktion aus kegelförmig gekippten Projektionen bei gleicher Anzahl der Projektionen zwar eine schlechtere Auflösung, jedoch zeigt der Bildpunkt eine geringere Elongation und der Clutter des Bildpunktes ist wesentlich geringer als bei Rekonstruktionen aus achsengekippten Projektionen.

7.1 Volumen des unbestimmten Bereichs im Fourierraum

Einachsenkipfung:

Betrachtet werde im Fourierraum eine Kugel mit Radius R^* . Durch R^* ist die Auflösung der Rekonstruktion festgelegt. Der Fourierraum sei bis auf den unbestimmten Zwickel innerhalb dieser Auflösungskugel vollständig bestimmt. Das Volumen der Auflösungskugel ist

$$V_k = \frac{4}{3}\pi R^{*3}$$

Sei φ_{max} der maximale Kippwinkel. Dann ist das Volumen des unbestimmten Zwickels innerhalb der Kugel

$$V_{zw} = \frac{8}{3} R^{*3} \left(\frac{\pi}{2} - \varphi_{max} \right) \quad (7.1)$$

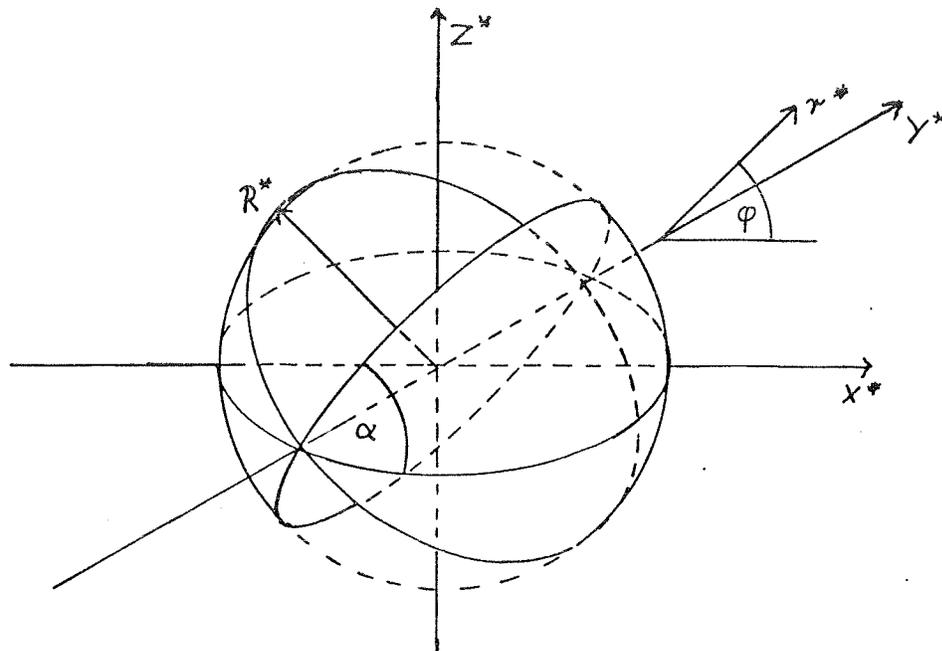


Abb. 7.1 Belegung des Fourierraumes bei Achsenkipfung. Kugelförmige Begrenzung des Fourierraumes. x^* , y^* , z^* kartesische Koordinaten, r^* , φ , y^* , Zylinderkoordinaten. $\alpha = \varphi_{max}$ maximaler Kippwinkel, R^* Radius der Auflösungskugel.

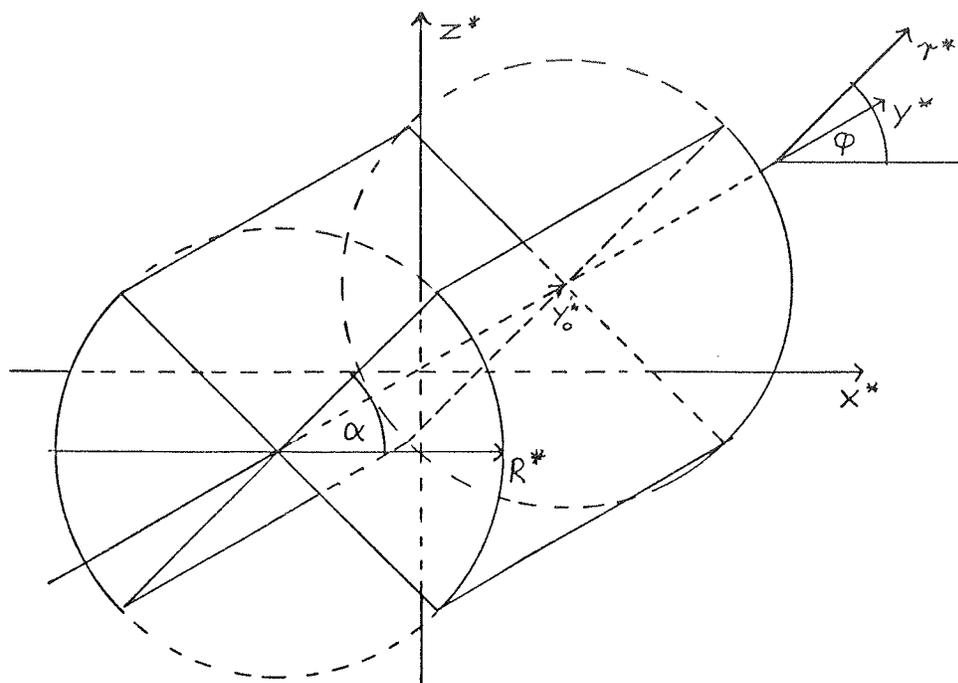


Abb. 7.2 Belegung des Fourierraumes bei Achsenkipfung. Zylinderförmige Begrenzung des Fourierraumes. x^* , y^* , z^* kartesische Koordinaten. r^* , φ , y^* Zylinderkoordinaten. $\alpha = \varphi_{max}$ maximaler Kippwinkel, R^* Radius des Auflösungszyllinders, $2y^*$ Höhe des Auflösungszyllinders.

Das ergibt für $\varphi = \frac{\pi}{4}$, also einen maximalen Kippwinkel von 45 Grad einen unbestimmten Bereich, dessen Volumen 50% des Volumens der Auflösungskugel ausmacht. Für einen Maximalwinkel von 60 Grad oder $\varphi_{max} = \frac{\pi}{3}$ immer noch ein unbestimmtes Volumen von 33% des Gesamtvolumens. Nimmt man eine zylinderförmige Begrenzung des Fourierraumes an, wobei die Kippachse gleich der Zylinderachse ist, so ergeben sich die gleichen Volumenverhältnisse.

Kegelförmige Kippung:

Gegeben sei wieder die Auflösungskugel mit Radius R^* und somit einem Volumen von

$$V_k = \frac{4}{3} \pi R^{*3} \quad (7.2)$$

Der unbestimmte Teil des Fourierraumes setzt sich zusammen aus dem Volumen des fehlenden Doppelkegels, sowie dem Volumen der durch die Schnittlinie des Doppelkegels mit der Auflösungskugel gegebenen Kugelsegmente.

$$\begin{aligned} V_{DK} &= \frac{2}{3} \pi R^{*3} \cos^2 \nu_0^k \sin \nu_0^k + \frac{2}{3} \pi R^{*3} (2 - 3 \sin \nu_0^k + \sin^3 \nu_0^k) \\ &= \frac{4}{3} \pi R^{*3} (1 - \sin \nu_0^k) \end{aligned} \quad (7.3)$$

Das ergibt für $\nu_0^k = 45$ Grad ein unbestimmtes Volumen von 29,29% des Gesamtvolumens und für $\nu_0^k = 60$ Grad ein Volumen von 13,4% des Gesamtvolumens.

Bei zylinderförmiger Begrenzung im Fourierraum mit der Zylinderachse in Richtung der Kegelachse ist das unbestimmte Volumen immer $\frac{1}{3}$ des Gesamtvolumens, unter der Voraussetzung, daß die Kegelgrundfläche mit der Zylindergrund-

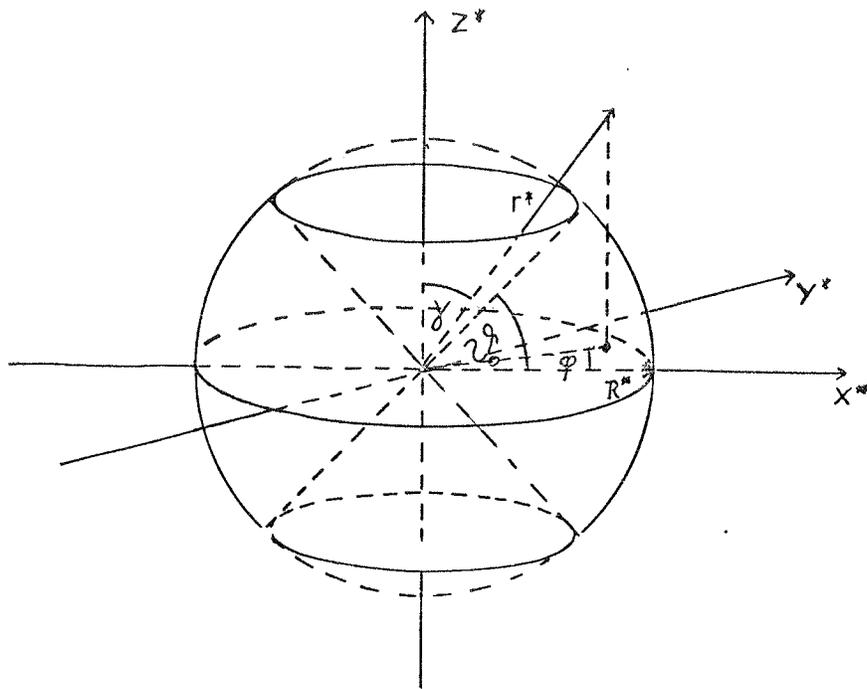


Abb. 7.3 Belegung des Fourierraumes bei kegelförmiger Kippung. Kugelförmige Begrenzung des Fourierraumes. x^* , y^* , z^* kartesische Koordinaten, r^* , γ , φ Polarkoordinaten. γ_0 Kegelwinkel R^* Radius der Auflösungskugel.

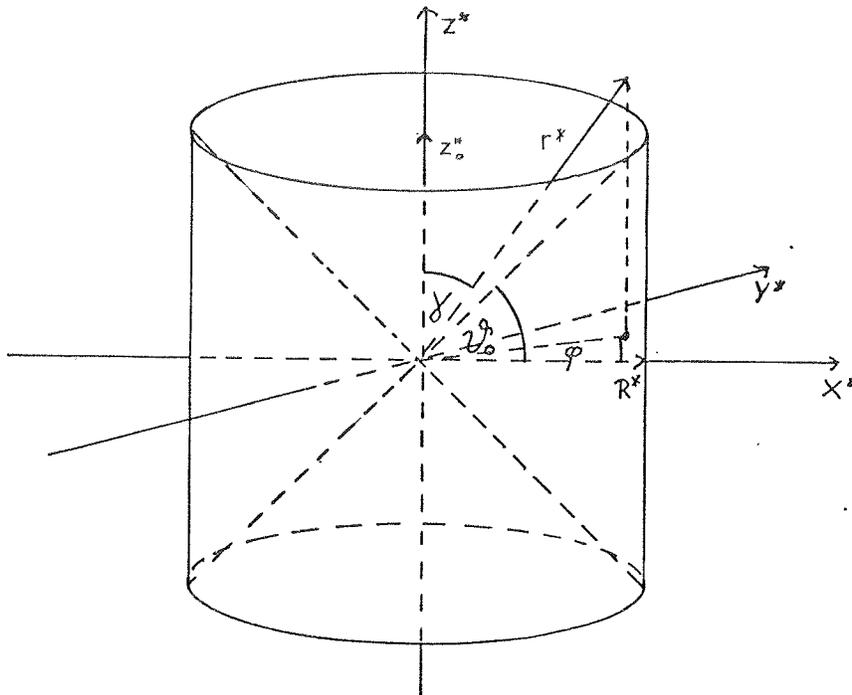


Abb. 7.4 Belegung des Fourierraumes bei kegelförmiger Kippung. Zylinderförmige Begrenzung des Fourierraumes. x^* , y^* , z^* kartesische Koordinaten, r^* , γ , φ Polarkoordinaten. γ_0 Kegelwinkel, R Radius des Auflösungszyllinders, $2z^*$ Höhe des Auflösungszyllinders.

fläche übereinstimmt. Eine zylinderförmige Begrenzung des Fourierraumes bedeutet jedoch einen Informationsverlust, da das Zylindervolumen vollständig innerhalb der Auflösungskugel liegen muß und deshalb Teile des mit der vorliegenden Information doch bestimmten Fourierraums nicht berücksichtigt werden.

7.2 Elongation des rekonstruierten Bildpunktes

Der fehlende Bereich des Fourierraums äußert sich im direkten Raum im Clutter und einer Elongation des dreidimensionalen Bildpunktes. Mit Hilfe einer quadratischen Näherung der Bildpunktfunction läßt sich diese Elongation in Abhängigkeit vom maximalen Kippwinkel bei Einachsenkipfung, bzw. des Kegelöffnungswinkels bei kegelförmiger Kippung berechnen /49/.

Sei $f(\vec{r})$ die Bildpunktfunction des dreidimensional rekonstruierten Bildpunktes um den Punkt $\vec{r}=\vec{0}$. Die Näherung der Bildpunktfunction durch eine Parabel ist:

$$f(\vec{r})=f(\vec{0})+\frac{1}{2}f_{xx}(\vec{0})\cdot x^2+\frac{1}{2}f_{yy}(\vec{0})\cdot y^2+\frac{1}{2}f_{zz}(\vec{0})\cdot z^2 \quad (7.4)$$

mit

$$f_{uu}(\vec{0})=\left.\frac{\partial^2 f}{\partial u^2}\right|_{\vec{r}=\vec{0}} \quad (7.5)$$

Die Verhältnisse der x, y und z Koordinaten der Nullstellen von $f(\vec{r})$ geben ein Maß für die Elongation des Bildpunktes.

Sei $f(x_0, 0, 0)=0$, $f(0, y_0, 0)=0$, $f(0, 0, z_0)=0$, Die Elongation des Bildpunktes in den einzelnen Richtungen ist dann:

$$e_{xy} := \frac{y_0}{x_0} ; \quad e_{yz} := \frac{z_0}{y_0} ; \quad e_{xz} = \frac{z_0}{x_0} \quad (7.6)$$

Seien u, v allgemeine Koordinaten, wahlweise x, y oder z . Dann gilt mit der quadratischen Näherung in (7.4):

$$u_0 = \sqrt{\frac{2f(\vec{0})}{f_{uu}(\vec{0})}} ; \quad \text{und} \quad e_{uv} = \frac{v_0}{u_0} = \sqrt{\frac{f_{uv}(\vec{0})}{f_{vv}(\vec{0})}} \quad (7.7)$$

Die zweiten Ableitungen der Bildpunktfunktion lassen sich leicht berechnen aus der Fouriertransformierten des Bildpunktes.

$$\left. \frac{\partial^n f(\vec{r})}{\partial x^n} \right|_{\vec{r}=\vec{0}} = i^n 2\pi^n \int x^n F(\vec{r}^*) d\vec{r}^* \quad (7.8)$$

Worin $F(\vec{r}^*)$ die Fouriertransformierte von $f(\vec{r})$ ist.

Achsenkippung:

Sei die Fouriertransformierte der dreidimensionalen Struktur kugelförmig begrenzt durch die Auflösungskugel mit Radius R^* . Sei ferner y^* die Koordinate entlang der Kippachse. Der Radius R_Y^* einer Kreisscheibe in einer Ebene $y^* = \text{konst}$ ist

$$R_Y^* = \sqrt{R^{*2} - y^{*2}} \quad (7.9)$$

Führt man weiter im Fourierraum die Zylinderkoordinaten r^*, φ, y^* ein (s. Abb. 7.1, 7.2) und setzt diese in (7.8) ein, so ergibt dies:

$$-4(2\pi)^2 \int_0^{\alpha} \int_0^{\sqrt{R^{*2} - y^{*2}}} \int_{-\alpha}^{\alpha} x^{*2} r^* d\varphi dr^* dy^* = f_{xx}(\vec{0}) \quad (7.10)$$

Mit $\alpha = \varphi_{\max}$, dem maximalen Kippwinkel. Mit

$$x^* = r^* \cos \varphi \quad \text{und} \quad z^* = r^* \sin \varphi \quad (7.11)$$

wird (7.10)

$$\begin{aligned}
f_{xx} &= -4(2\pi)^2 \int_0^{R^*} \int_0^{\sqrt{R^{*2}-y^{*2}}} \int_{-\alpha}^{\alpha} r^{*2} \cos^2 \varphi r^* d\varphi dr^* dy^* \\
&= -4(2\pi)^2 \int_0^{R^*} \int_0^{\sqrt{R^{*2}-y^{*2}}} (\sin \alpha \cos \alpha + \alpha) r^{*3} dr^* dy^* \\
&= -4(2\pi)^2 \int_0^{R^*} \frac{1}{4} (R^{*2} - y^{*2})^2 (\sin \alpha \cos \alpha + \alpha) dy^* \\
&= -\frac{32\pi^2}{15} R^{*5} (\alpha + \sin \alpha \cos \alpha) \tag{7.12}
\end{aligned}$$

Die zweite Ableitung der Bildpunktfunktion in z-Richtung ist:

$$\begin{aligned}
f_{zz}(\vec{0}) &= -4(2\pi)^2 \int_0^{R^*} \int_0^{\sqrt{R^{*2}-y^{*2}}} \int_{-\alpha}^{\alpha} r^{*3} \sin^2 \varphi d\varphi dr^* dy^* \\
&= -4(2\pi)^2 \int_0^{R^*} \int_0^{\sqrt{R^{*2}-y^{*2}}} (\alpha - \sin \alpha \cos \alpha) r^{*3} dr^* dy^* \\
&= -\frac{32\pi^2}{15} R^{*5} (\alpha - \sin \alpha \cos \alpha) \tag{7.13}
\end{aligned}$$

und

$$\begin{aligned}
f_{yy}(\vec{0}) &= -4(2\pi)^2 \int_0^{R^*} \int_0^{\sqrt{R^{*2}-y^{*2}}} \int_{-\alpha}^{\alpha} y^{*2} r^* dr^* d\varphi dy^* \\
&= -4(2\pi)^2 2\alpha \int_0^{R^*} \frac{1}{2} (R^{*2} - y^{*2}) y^{*2} dy^* \\
&= -\frac{32\pi^2}{15} R^{*5} \alpha \tag{7.14}
\end{aligned}$$

Bezogen auf die x-Richtung ergeben sich somit folgende Bildpunktelongationen:

$$\begin{aligned}
e_{xy} &= \sqrt{\frac{\alpha + \sin \alpha \cos \alpha}{\alpha}} \\
e_{xz} &= \sqrt{\frac{\alpha + \sin \alpha \cos \alpha}{\alpha - \sin \alpha \cos \alpha}} \tag{7.15}
\end{aligned}$$

Abb. 7.5 zeigt die Abhängigkeit der Elongation vom maximalen Kippwinkel. Für $\alpha = \frac{\pi}{4}$ ergibt sich:

$$e_{xy} = \sqrt{1,6366} = 1,28$$

$$\begin{aligned}
 f_{yy}(0) &= -4 \cdot (2\pi)^2 \int_0^{y_0^*} \int_0^{R^*} \int_{-\alpha}^{\alpha} y^{*2} r^* d\varphi dr^* dy^* \\
 &= -\frac{16}{3} \pi^2 R^{*2} y_0^{*3} \cdot \alpha
 \end{aligned} \tag{7.18}$$

Die Elongationen bezogen auf die x-Richtungen sind dann:

$$e_{xy} = \sqrt{\frac{R^{*2}(\sin\alpha \cos\alpha + \alpha)}{\frac{4}{3} y_0^{*2} \alpha}} \tag{7.19}$$

$$e_{xz} = \sqrt{\frac{\alpha + \sin\alpha \cos\alpha}{\alpha - \sin\alpha \cos\alpha}}$$

Die Elongation e_{xz} bei zylinderförmiger Fourierraumbegrenzung ist die gleiche wie bei kugelförmiger Begrenzung des Fourierraumes. Die Ausdehnung des Bildpunktes in y-Richtung ist bei zylinderförmiger Begrenzung geringer und beträgt im Fall, daß die Höhe des Zylinders gleich dem Durchmesser der Grundfläche ist $\sqrt{\frac{3}{4}} \sim 87\%$ der Ausdehnung bei kugelförmiger Begrenzung. Da die Bestimmbarkeit der Fourierkoeffizienten in y^* -Richtung nur von der Auflösung der Projektionen abhängt, läßt sich bei zylinderförmiger Begrenzung in der y-Richtung eine der Auflösung in den Projektionen gleiche Auflösung erreichen.

Kegelförmige Kippung:

Die zur Berechnung der Elongation bei kegelförmiger Kippung verwendete Geometrie ist in Abb. 7.3, 7.4 dargestellt. Der Fourierraum sei wieder durch die Auflösungskugel mit Radius R^* begrenzt. $\frac{\Pi}{2} - \vartheta_0$ ist der Öffnungshalbwinkel des unbestimmten Kegels im Fourierraum. ϑ_0 wird im Folgenden mit Kegelminkel bezeichnet. Die Berechnung der Elongation bei kegelförmiger Kippung erfolgt analog den Berechnungen bei Achsenkippung. Zur Berechnung der Integrale werden

folgende Polarkoordinaten verwendet (s. Abb. 7.3, 7.4):

$$x^* = r^* \sin \gamma \cos \varphi ; \quad y^* = r^* \sin \gamma \sin \varphi ; \quad z^* = r^* \cos \gamma \quad (7.20)$$

Wegen der Achsensymmetrie des Kegels und da die Kegelachse mit der z^* -Achse zusammenfällt, ist $f_{x_x}(\vec{0}) = f_{y_y}(\vec{0})$.

$$\begin{aligned} f_{x_x}(\vec{0}) &= -8(2\pi)^2 \int_0^{\pi/2} \int_{\pi/2}^{\pi/2 - \gamma_0^0} \int_0^{R^*} r^{*4} \sin^3 \gamma \cos^2 \varphi \, dr^* \, d\gamma \, d\varphi \\ &= -8 \pi^3 \frac{R^{*5}}{5} \left(\frac{1}{3} \sin^3 \gamma_0^0 - \sin \gamma_0^0 \right) \end{aligned} \quad (7.20)$$

$$\begin{aligned} f_{z_z}(\vec{0}) &= -8(2\pi)^2 \int_0^{\pi/2} \int_{\pi/2}^{\pi/2 - \gamma_0^0} \int_0^{R^*} r^{*4} \cos^2 \gamma \sin \gamma \, dr^* \, d\gamma \, d\varphi \\ &= -16 \pi^3 \frac{R^{*5}}{15} \sin^3 \gamma_0^0 \end{aligned} \quad (7.21)$$

Daraus ergibt sich die Elongation des Bildpunktes zu:

$$e_{x_z} = e_{y_z} = \frac{z_0}{x_0} = \sqrt{\frac{3 - 5 \sin^2 \gamma_0^0}{2 \sin^2 \gamma_0^0}} \quad (7.22)$$

Als Ergebnis ist in Abb. 7.6 die Abhängigkeit der Elongation vom Kegelwinkel dargestellt. Zwei Spezialfälle seien angegeben:

Die Elongation bei $\gamma_0^0 = \frac{\pi}{4}$ beträgt:

$$e_{x_z} = \sqrt{2,5} = 1,58$$

Und bei $\gamma_0^0 = \frac{\pi}{3}$

$$e_{x_z} = \sqrt{\frac{2,25}{1,5}} = 1,23 \quad (7.23)$$

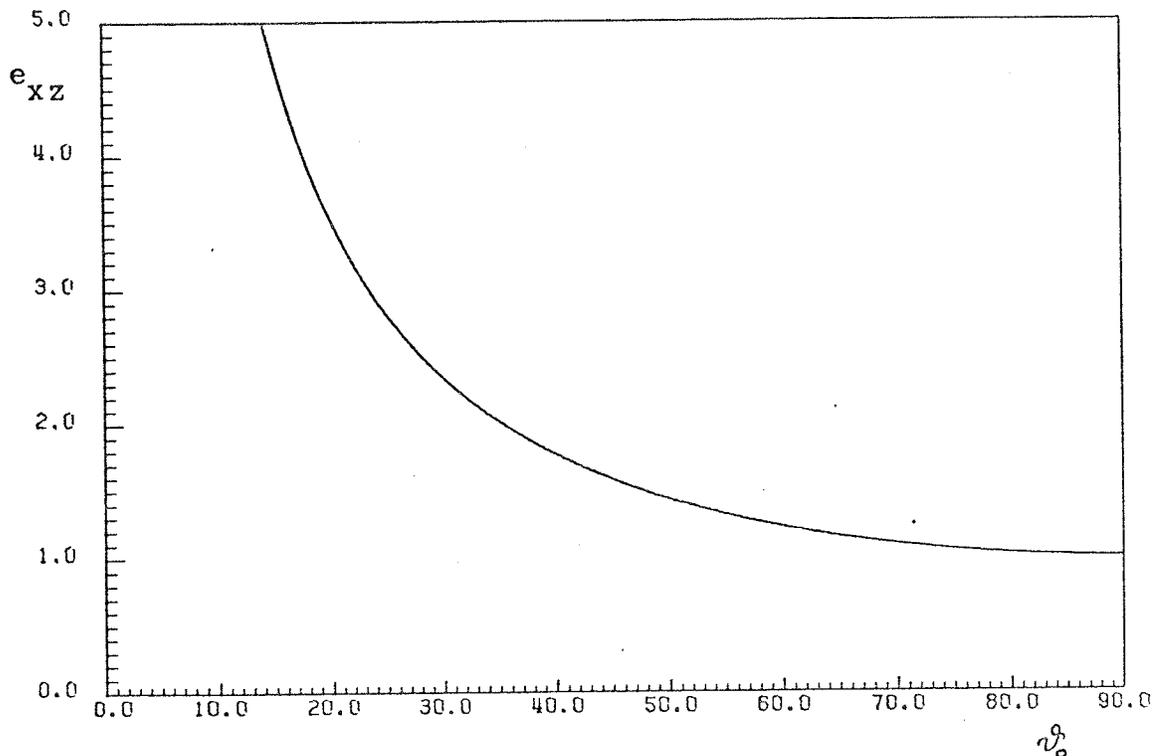


Abb. 7.6 Elongation des Bildpunktes bei kegelförmiger Kippung in z-Richtung bezogen auf die x-Richtung in Abhängigkeit vom Kegelwinkel. Kugelförmige Begrenzung des Fourierraumes.

Im folgenden sei der Fourierraum bei kegelförmiger Kippung zylinderförmig begrenzt. Die Zylinderachse stimme mit der z -Achse überein. Dann gilt:

$$\begin{aligned}
 f_{xx}(\vec{0}) &= -8(2\pi)^2 \int_0^{R^* \tan \alpha_0} \int_0^{\pi/2} \int_{z^* \cot \alpha_0}^{R^*} r^{*3} \cos^2 \varphi \, dr^* d\varphi dz^* \\
 &= -8(2\pi)^2 \int_0^{R^* \tan \alpha_0} \frac{\pi}{16} (R^{*4} - z^{*4} \cot^2 \alpha_0) \, dz^* \\
 &= -\frac{8\pi^3}{5} R^{*5} \tan \alpha_0
 \end{aligned} \tag{7.24}$$

Und

$$\begin{aligned}
 f_{zz}(\vec{0}) &= -8(2\pi)^2 \int_0^{R^* \tan \alpha_0} \int_0^{\pi/2} \int_{z^* \cot \alpha_0}^{R^*} z^{*2} r^* \, dr^* d\varphi dz^* \\
 &= -8(2\pi)^2 \int_0^{R^* \tan \alpha_0} \frac{\pi}{4} z^{*2} (R^{*2} - z^{*2} \cot^2 \alpha_0) \, dz^* \\
 &= -\frac{16}{15} \pi^3 R^{*5} \tan^3 \alpha_0
 \end{aligned} \tag{7.25}$$

Daraus folgt für die Elongation:

$$e_{xz} = \sqrt{\frac{3}{2 + \tan^2 \vartheta_0}} = \sqrt{\frac{3}{2}} \cot \vartheta_0 \quad (7.26)$$

und für $\vartheta_0 = \frac{\pi}{6}$ ergibt sich: $e_{xz} = 1,612$

für $\vartheta_0 = \frac{\pi}{4}$: $e_{xz} = 1,225$

und für $\vartheta_0 = \frac{\pi}{3}$: $e_{xz} = 0,931$

Wenn dies zunächst günstiger aussieht als bei kugelförmiger Begrenzung des Fourierraums, so ist doch zu beachten, daß die geringere Elongation in diesem Fall auf einer Verschlechterung der Auflösung in x-Richtung beruht. Zur Erläuterung zeigt Abb. 7.7 einen Schnitt durch die dreidimen-

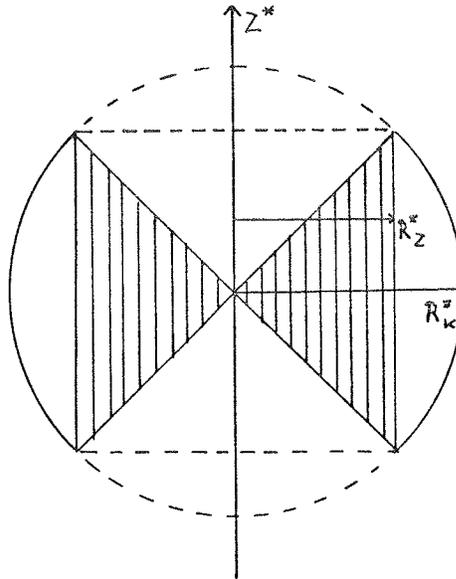


Abb. 7.7 Schnitt durch den Fourierraum bei kegelförmiger Kippung. Schraffierter Teil: zylinderförmige Begrenzung des Fourierraumes. R_k^* Radius der Auflösungskugel, R_z^* Radius des Auflösungszyllinders.

sionale Fouriertransformierte des Bildpunktes entlang der z^* -Achse. Bei zylinderförmiger Begrenzung des Fourierraumes wird nur der schraffierte Teil in der Rekonstruktion

berücksichtigt, während bei kugelförmiger Begrenzung des Fourierraumes in r^* -Richtung alle Fourierkomponenten innerhalb der Auflösungskugel K verwendet werden.

7.3 Auflösung der dreidimensionalen Rekonstruktion bei kegelförmiger Kippung

Die Auflösung der dreidimensionalen Rekonstruktion ist bei gegebener Objektgröße durch die Anzahl der verwendeten Projektionen sowie deren geometrische Anordnung festgelegt. Hierbei ist vorausgesetzt, daß die Auflösung der Projektionen selbst hinreichend gut ist, sodaß von daher keine Auflösungsbegrenzung eintritt. Da jede Projektion nach dem Projektionstheorem einen Zentralschnitt durch die Fouriertransformierte der Objektdichteverteilung bestimmt, läßt sich die Auflösung nach dem Shannonschen Samplingtheorem berechnen. Hierbei wird folgendes Kriterium angewandt:

Das Rekonstruktionsvolumen sei eine Kugel mit dem Durchmesser D . Der Fourierraum der Objektverteilung sei durch die Auflösungskugel mit Radius R^* begrenzt. Die Auflösung von $\frac{1}{R^*}$ in der Rekonstruktion liegt dann vor, wenn der Abstand zweier Samplingpunkte im Fourierraum nicht größer als $\frac{1}{D}$ ist. Sei d^* der Abstand eines Punktes \vec{r}^* zum nächsten Samplingpunkt, so muß gelten

$$d^* \leq \frac{1}{2D} \quad \text{für} \quad |\vec{r}^*| \leq |R^*| \quad (7.26)$$

Diese Berechnungen werden im folgenden durchgeführt. Die Geometrie entspricht der in Kap. 6 verwendeten und ist in

Abb.7.8 noch einmal dargestellt.

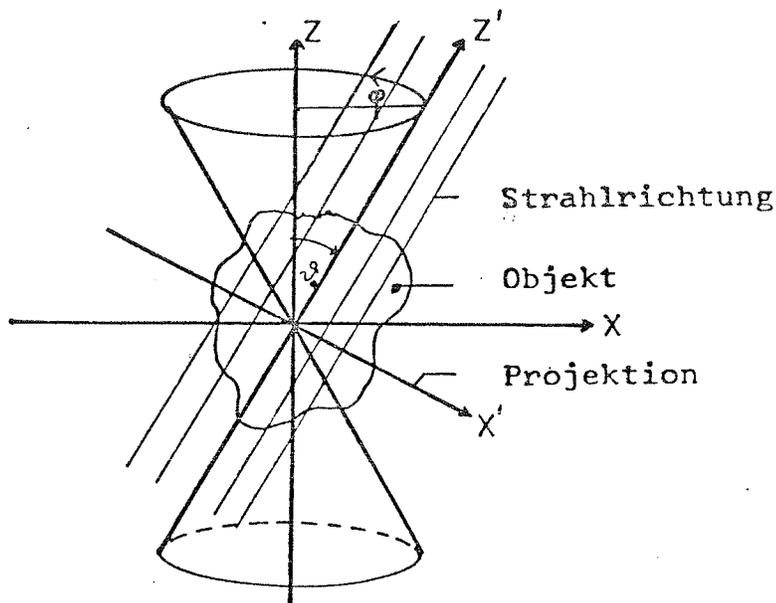


Abb. 7.8 Geometrie der kegelförmigen Kippung. z Drehachse des Präparats, z' Strahlrichtung. y -Achse senkrecht zur Zeichenebene. y' -Achse nicht eingezeichnet.

Es wird zwischen zwei Fällen unterschieden: Im ersten Fall wird eine gerade Anzahl von Projektionen angenommen, im zweiten Fall eine ungerade Anzahl von Projektionen. Das Winkelinkrement soll in beiden Fällen konstant sein.

Folgende Überlegungen führen zu einer Vereinfachung der Berechnungen:

Die Samplingpunkte im Fourierraum mit maximalem Abstand zueinander liegen auf der Oberfläche der Auflösungskugel. Jede Schnittlinie einer fouriertransformierten Projektion mit der Auflösungskugel bildet einen Großkreis. Sei der azimutale Winkelabstand zweier Projektionen $\Delta\varphi = \frac{2\pi}{N}$ (N Anzahl der Projektionen). Betrachtet werden die vier Projektionen p_i, p_j, p_k, p_e , von welchen jeweils zwei einander benachbart, und die anderen beiden im Fall gerader Projektionszahl um den Winkel $(N/2) \cdot \Delta\varphi$ dazu gedreht seien, im Fall

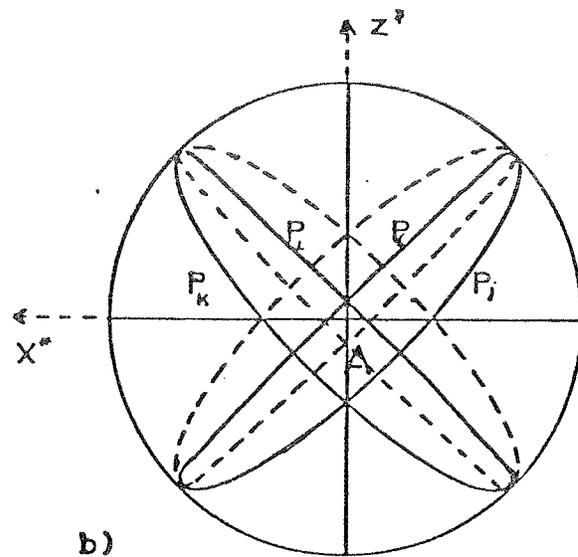
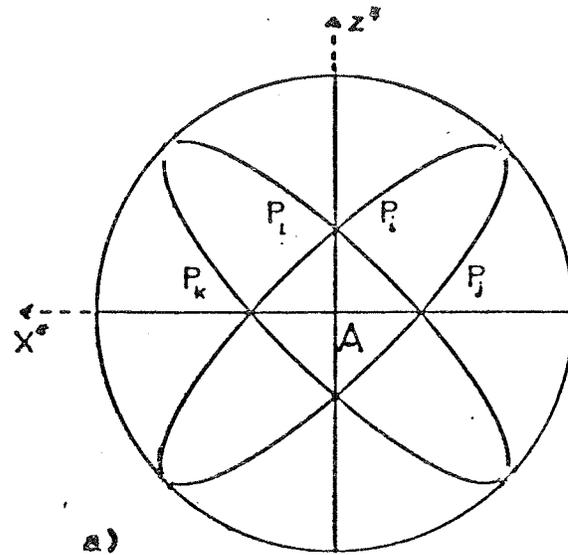


Abb 7.9 Zur Abtastung des Fourierraumes bei kegelförmiger Kippung. Schnittlinien der Fouriertransformierten der Projektionen p_i , p_j , p_k , p_l mit der Auflösungskugel. A sphärisches Viereck, gebildet aus den Großkreisen der Schnittlinien. Abb. 7.9a gerade Anzahl von Projektionen; Abb. 7.9b ungerade Anzahl von Projektionen.

ungerader Projektionsanzahlen um den Winkel $\frac{N-1}{2} \Delta\varphi$.

Im ersten Fall seien dies die Projektionen mit den Azimutwinkeln

$$\varphi_i = -\frac{\Delta\varphi}{2}, \quad \varphi_j = +\frac{\Delta\varphi}{2}, \quad \varphi_k = \pi - \frac{\Delta\varphi}{2}, \quad \varphi_l = \pi + \frac{\Delta\varphi}{2}. \quad (7.26a)$$

Die durch die Schnittlinien dieser Projektionen mit der Auflösungskugel gegebenen Großkreise bilden das sphärische Viereck A (Abb. 7.9). Die Diagonale des Vierecks ist Symmetrieachse und fällt in z^* -Richtung mit dem Längengrad $\varphi = \frac{\pi}{2}$ auf der Kugeloberfläche zusammen. Die oben angegebene Auflösungsbedingung bedeutet, daß kein Punkt innerhalb dieses Vierecks zur nächsten Projektion einen größeren Abstand als $\frac{1}{2D}$ haben darf. Im Grenzfall also, daß der maximale Abstand eines Punktes im sphärischen Viereck gleich $\frac{1}{2D}$ ist.

Im Fall gerader Projektionsanzahl ist der Äquator der Auflösungskugel die zweite Symmetrieachse des Vierecks. Der Punkt \vec{r}^* mit maximalem Abstand zu den Projektionen ist also der Mittelpunkt des Vierecks.

$$\vec{r}^* = \begin{pmatrix} 0 \\ R^* \\ 0 \end{pmatrix}. \quad (7.27)$$

Der Abstand dieses Punktes zum nächsten Samplingpunkt ist:

$$d^* = R^* \sin \vartheta_0^* \sin \frac{\Delta\varphi}{2}. \quad (7.28)$$

ϑ_0^* Kegelwinkel, $\Delta\varphi$ azimutales Winkelinkrement

Einsetzen der Auflösungsbedingung ergibt:

$$\frac{1}{2D} = \frac{1}{A} \sin \psi_0 \sin \frac{\Delta \varphi}{2} \quad (7.29)$$

(D Objektdurchmesser, A Auflösung)

Sei $V = \frac{A}{D}$ das Verhältnis von Auflösung zu Objektdurchmesser.

(7.29) ergibt dann:

$$V = 2 \cdot \sin \psi_0 \sin \frac{\Delta \varphi}{2} \quad (7.30)$$

Mit der Näherung $\sin \frac{\Delta \varphi}{2} = \frac{\Delta \varphi}{2}$ und mit $\Delta \varphi = \frac{2\pi}{N}$ ergibt sich für die Projektionsanzahl bei gerader Anzahl von Projektionen:

$$N = \frac{2\pi \sin \psi_0}{V} = \frac{2\pi D}{A} \sin \psi_0 \quad (7.31)$$

Im Spezialfall $\psi_0 = \frac{\pi}{2}$, der Achsenkippung ergibt dies:

$$N = 2\pi \frac{D}{A} \quad \psi_0 = \frac{\pi}{2} \quad (7.32)$$

Dies ist doppelt soviel wie die in /30, 2/ für die Einachsenkippung angegebene Zahl. Der Grund liegt wieder darin, daß bei Einachsenkippung und einer geraden Anzahl von Projektionen jede Projektion die gleiche Information enthält, wie die um 180 Grad dazu gedrehte, sodaß der Fourierraum in diesem Fall zweimal abgetastet wird.

Etwas günstiger sind die Verhältnisse im zweiten Fall, bei einer ungeraden Anzahl von Projektionen. Sei $\delta = \frac{\Delta \varphi}{4}$. Die in diesem Fall betrachteten Projektionen p_i, p_j, p_k, p_e haben die Azimutwinkel $\varphi_i = -\delta$, $\varphi_j = 3\delta$, $\varphi_k = \pi - 3\delta$, $\varphi_e = \pi + \delta$. Der Äquator der Auflösungskugel ist in diesem Fall nicht mehr Diagonale im sphärischen Viereck. Der Punkt des sphärischen Vierecks mit maximalem Abstand zum nächsten Samplingpunkt liegt hier nur noch in den Grenzfällen $\psi_0 \rightarrow 0$ und $\psi_0 \rightarrow \frac{\pi}{2}$ auf dem Äquator der Auflösungskugel. Bezüglich

der Lage dieses Punktes sind wiederum zwei Fälle zu unterscheiden.

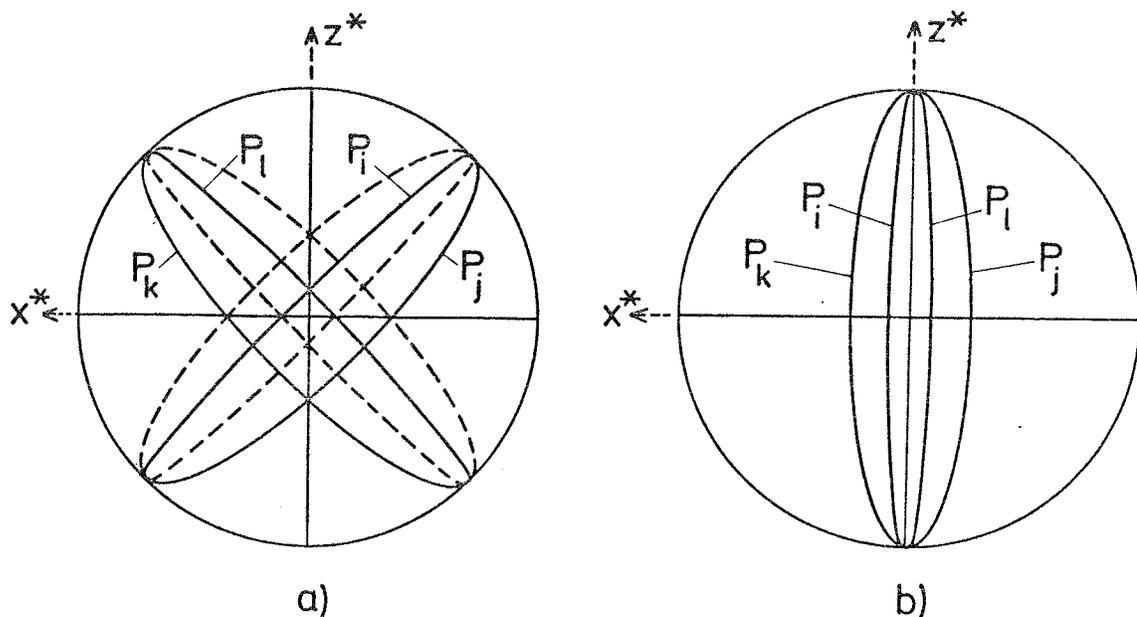


Abb 7.10 Lage der Großkreise bei ungerader Projektionsanzahl. a) $\nu_0^0 < \frac{\pi}{2} - \delta$, b) $\nu_0^0 > \frac{\pi}{2} - \delta$.

Im üblichen Bereich für Kegelminkel $\nu_0^0 < \frac{\pi}{2} - \delta$ stimmt dieser Punkt mit dem Mittelpunkt M des Inkreises des sphärischen Vierecks überein. Für $\frac{\pi}{2} - \delta < \nu_0^0 < \frac{\pi}{2}$ hat jedoch der Mittelpunkt M' des durch P_i und P_l gebildeten Zweiecks einen größeren Abstand zu P_i und P_e als M. Der erste Fall ist der im allgemeinen zutreffende Fall, wie ein Beispiel zeigt. Sei $\Delta \varphi = 24$ Grad, dann trifft der erste Fall zu, solange $\nu_0^0 < 84,0$ Grad. In der Praxis dürften Kegelminkel größer als 60 Grad kaum erreichbar sein. Der zweite Fall ist jedoch von Bedeutung, um den Übergang zur Achsenkipfung durchführen zu können.

Der Abstand eines Punktes auf der Auflösungskugel zu einer den Projektionen entsprechenden Schnittebene ist gegeben durch das Lot von diesem Punkt auf die

jeweilige Ebene. Dieser Abstand ist gleich dem Betrag der z_{μ}^* Koordinate dieses Punktes im Koordinatensystem, dessen $x_{\mu}^* - y_{\mu}^*$ Ebene der entsprechende Schnitt im Fourierraum ist. Sei z_{μ}^* die z^* -Koordinate im Koordinatensystem von P_{μ} . Mit der in (6.1) angegebenen Transformation sind die z_{μ}^* -Koordinaten des Punktes $\vec{r}^* = (x^*, y^*, z^*)$:

$$z_i^* = x^* \sin \vartheta_0 \cos \delta - y^* \sin \vartheta_0 \sin \delta + z^* \cos \vartheta_0$$

$$z_j^* = x^* \sin \vartheta_0 \cos 3\delta + y^* \sin \vartheta_0 \sin 3\delta + z^* \cos \vartheta_0$$

(7.33)

$$z_k^* = -x^* \sin \vartheta_0 \cos 3\delta + y^* \sin \vartheta_0 \sin 3\delta + z^* \cos \vartheta_0$$

$$z_l^* = -x^* \sin \vartheta_0 \cos \delta - y^* \sin \vartheta_0 \sin \delta + z^* \cos \vartheta_0$$

Der Punkt \vec{r}^* sei in Polarkoordinaten gegeben. α ist der

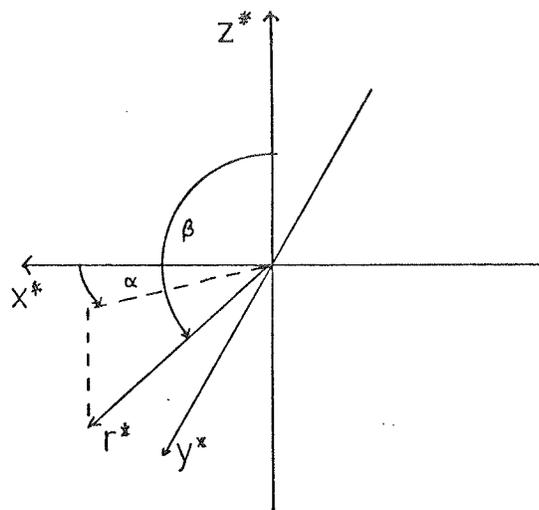


Abb 7.11 Definition der Polarkoordinaten.

Winkel zur x^* -Achse und $\beta \geq \frac{\pi}{2}$ der Winkel zur positiven z^* -Achse. \vec{r}^* läßt sich dann darstellen als:

$$\vec{r}^* = R^* \begin{pmatrix} 0 \\ \sin \beta \\ \cos \beta \end{pmatrix} \quad (7.34)$$

Für die hier betrachteten Punkte gilt $\frac{\pi}{2} \leq \beta \leq \pi$. Damit sind die z^{*i} -Koordinaten von \vec{r}^* :

$$\begin{aligned} z_i^* &= R^* (-\sin \beta \sin \vartheta_0 \sin \delta + \cos \beta \cos \vartheta_0) \\ z_j^* &= R^* (\sin \beta \sin \vartheta_0 \sin 3\delta + \cos \beta \cos \vartheta_0) \\ z_k^* &= R^* (\sin \beta \sin \vartheta_0 \sin 3\delta + \cos \beta \cos \vartheta_0) \\ z_l^* &= R^* (-\sin \beta \sin \vartheta_0 \sin \delta + \cos \beta \cos \vartheta_0) \end{aligned} \quad (7.35)$$

Zunächst sei der Fall $\vartheta_0 > \pi/2 - \delta$ betrachtet. Wegen der symmetrischen Lage des Punktes sind die Abstände zu P_i und P_e gleich. Es genügt also, den Abstand d_i^* zu P_i zu berechnen.

$$d_i^* = |z_i^*| = R^* (\sin \beta \sin \vartheta_0 \sin \delta - \cos \beta \cos \vartheta_0) \quad \beta \geq \frac{\pi}{2} \quad (7.36)$$

Die β -Koordinate des Punktes mit maximalem Abstand ergibt sich aus der ersten Ableitung von d_i^* nach β .

$$\begin{aligned} \frac{\partial d_i^*}{\partial \beta} &= \cos \beta \sin \vartheta_0 \sin \delta + \sin \beta \cos \vartheta_0 = 0 \\ \tan \beta &= -\tan \vartheta_0 \sin \delta \end{aligned} \quad (7.37)$$

Damit ergibt sich für $\sin \beta$ und $\cos \beta$:

$$\sin \beta = \frac{\sin \vartheta_0 \sin \delta}{\sqrt{\cos^2 \vartheta_0 + \sin^2 \vartheta_0 \sin^2 \delta}} \quad (7.38)$$

und

$$\cos \beta = \frac{-\cos \vartheta_0}{\sqrt{\cos^2 \vartheta_0 + \sin^2 \vartheta_0 \sin^2 \delta}} \quad (7.39)$$

Die Koordinaten des Punktes auf der Auflösungskugel mit maximalem Abstand zu P_i sind also:

$$\vec{r}^* = R^* \begin{pmatrix} 0 \\ \frac{\sin \vartheta_0 \sin \delta}{\sqrt{\cos^2 \vartheta_0 + \sin^2 \vartheta_0 \sin^2 \delta}} \\ \frac{-\cos \vartheta_0}{\sqrt{\cos^2 \vartheta_0 + \sin^2 \vartheta_0 \sin^2 \delta}} \end{pmatrix} \quad (7.40)$$

d_i^* ergibt sich durch Einsetzen von (7.38) und (7.39) in (7.36) zu:

$$\begin{aligned} d_i^* &= R^* \left(\frac{\sin^2 \vartheta_0 \sin^2 \delta}{\sqrt{\cos^2 \vartheta_0 + \sin^2 \vartheta_0 \sin^2 \delta}} + \frac{\cos^2 \vartheta_0}{\sqrt{\cos^2 \vartheta_0 + \sin^2 \vartheta_0 \sin^2 \delta}} \right) \\ &= R^* \sqrt{\cos^2 \vartheta_0 + \sin^2 \vartheta_0 \sin^2 \delta} \end{aligned} \quad (7.41)$$

Sei A wieder die Größe des Auflösungselements im direkten Raum und D der Durchmesser des Rekonstruktionsvolumens. Die Auflösungsbedingung lautet dann: $d_i^* \leq \frac{1}{2D}$ im Grenzfall also $d_i^* = \frac{1}{2D}$. Mit $R^* = \frac{1}{A}$ ergibt (7.41):

$$\frac{1}{2D} = \frac{1}{A} \sqrt{\cos^2 \vartheta_0 + \sin^2 \vartheta_0 \sin^2 \delta} \quad (7.42)$$

Setzt man $V = \frac{A}{D}$ so wird (7.42):

$$V = 2 \sqrt{\cos^2 \vartheta_0 + \sin^2 \vartheta_0 \sin^2 \delta} \quad (7.43)$$

und damit

$$\sin \delta = \frac{\sqrt{V^2 - 4 \cos^2 \vartheta_0}}{2 \sin \vartheta_0} \quad (7.44)$$

Der Zusammenhang zwischen δ und N , der Anzahl der Projektionen, ist:

$$\delta = \frac{\Delta\varphi}{4} = \frac{2\pi}{4N} = \frac{\pi}{2N} \quad (7.45)$$

Mit der Näherung $\sin \delta = \delta$ für große N läßt sich (7.44) nach N auflösen

$$N = \frac{\pi \sin \nu_0^{\delta}}{\sqrt{V^2 - 4 \cos^2 \nu_0^{\delta}}} \quad (7.46)$$

Hierin ist der Spezialfall der Achsenkipfung enthalten. Für

$$\nu_0^{\delta} = \frac{\pi}{2} \text{ gilt:}$$

$$N = \frac{\pi}{V} = \frac{\pi \cdot D}{A} \quad (7.47)$$

Dies entspricht der in der Literatur /30, 2/ angegebenen Anzahl der Projektionen für Achsenkipfung.

Die oben durchgeführten Berechnungen gelten nur für $\nu_0^{\delta} > \frac{\pi}{2} - \delta$. Der wichtigere Fall ist, daß der Punkt mit maximalem Abstand zum nächsten Samplingpunkt der Mittelpunkt des Inkreises des sphärischen Vierecks ist, der durch die Schnittlinien der vier fouriertransformierten Projektionen mit der Auflösungskugel gebildet wird.

Im Folgenden sei zunächst der Grenzfall berechnet, daß der Punkt mit dem maximalen Abstand zu P_i gleichzeitig Mittelpunkt des Inkreises ist.

Der Punkt mit maximalem Abstand zu P_i ist dann für die Auflösung maßgeblich, wenn er erstens nicht im unbestimmten Bereich des Fourierraumes liegt, zweitens keinen kleineren Abstand zu irgend einem anderen Schnitt im Fourierraum hat. Aus der ersten Bedingung folgt, daß der Punkt innerhalb des sphärischen Vierecks liegen muß, worin auch der Fall der Entartung des Vierecks für $\nu_0^{\delta} = \frac{\pi}{2}$ eingeschlossen ist.

Sei der Punkt auf der Auflösungskugel wieder gegeben durch:

$$\vec{r}^* = R^* \begin{pmatrix} 0 \\ \sin\beta \\ \cos\beta \end{pmatrix} \quad (7.48)$$

Sei ferner $\vec{r}_M^* = R^*(0, \sin\beta_M, \cos\beta_M)$ der Mittelpunkt des Inkreises. Dieser Punkt hat zu allen Projektionen wegen seiner symmetrischen Lage gleichen Abstand. Eine Verschiebung dieses Punktes in eine Richtung, die die Vergrößerung des Abstandes zu P_i zur Folge hat, ergibt eine Verkleinerung des Abstandes zu P_k .

Sei $d_M^*(\beta_M)$ der Abstand zu P_M in Abhängigkeit von β_M . Die obige Überlegung läßt sich folgendermaßen beschreiben:

$$d_i^*(\beta_M \pm \varepsilon) > d_i^*(\beta_M) \implies d_k^*(\beta_M \pm \varepsilon) < d_k^*(\beta_M) \quad (7.49)$$

Die Bedingung dafür, daß der Mittelpunkt des Inkreises die Auflösung bestimmt, ist nach (7.49) gleichbedeutend damit, daß die ersten Ableitungen von $d_i^*(\beta_M)$ und $d_k^*(\beta_M)$ entgegengesetztes Vorzeichen haben.

Zunächst sei der Mittelpunkt des Inkreises berechnet. Für den Mittelpunkt gilt $d_i^* = d_k^*$.

$$\begin{aligned} d_i^* &= R^*(\sin\beta_M \sin\vartheta_0 \sin\delta - \cos\beta_M \cos\vartheta_0) \\ d_k^* &= R^*(\sin\beta_M \sin\vartheta_0 \sin 3\delta + \cos\beta_M \cos\vartheta_0) \end{aligned} \quad (7.50)$$

daraus folgt:

$$\tan\beta_M = \frac{2 \cos\vartheta_0}{\sin\vartheta_0 (\sin\delta - \sin 3\delta)} \quad (7.51)$$

und

$$\cos \beta_M = \frac{-\sin \vartheta_0 (\sin 3\delta - \sin \delta)}{\sqrt{\sin^2 \vartheta_0 (\sin 3\delta - \sin \delta)^2 + 4 \cos^2 \vartheta_0}} \quad (7.52)$$

$$\sin \beta_M = \frac{2 \cos \vartheta_0}{\sqrt{\sin^2 \vartheta_0 (\sin 3\delta - \sin \delta)^2 + 4 \cos^2 \vartheta_0}} \quad (7.53)$$

Zur Berechnung der Bedingung (7.49) werden die Ableitungen von d_{μ}^* nach β berechnet.

$$\frac{\partial d_i^*}{\partial \beta} = R^* (\cos \beta \sin \vartheta_0 \sin \delta + \sin \beta \cos \vartheta_0) = d_i^{*'} \quad (7.54)$$

$$\frac{\partial d_k^*}{\partial \beta} = R^* (\cos \beta \sin \vartheta_0 \sin 3\delta - \sin \beta \cos \vartheta_0) = d_k^{*'} \quad (7.55)$$

Die Bedingung, daß $d_i^{*'}$ und $d_k^{*'}$ entgegengesetztes Vorzeichen haben, ist gleichbedeutend mit:

$$d_i^{*' } d_k^{*' } < 0 \quad (7.56)$$

Für $\delta \ll 1$ ist $d_k^{*' } < 0$, sodaß nur $d_i^{*'}$ in (7.56) das Vorzeichen wechselt. Deshalb wird nur die Nullstelle von $d_i^{*'}$ bestimmt.

$$d_i^{*' } = R^* (\cos \beta \sin \vartheta_0 \sin \delta + \sin \beta \cos \vartheta_0) = 0 \quad (7.57)$$

$$\implies \tan \vartheta_0 \sin \delta + \tan \beta = 0$$

einsetzen von (7.51) ergibt

$$\tan \vartheta_0 \sin \delta + \frac{2 \cot \vartheta_0}{\sin \delta - \sin 3\delta} = 0 \quad (7.58)$$

daraus folgt

$$\tan^2 \vartheta_0 = \frac{2}{\sin \delta (\sin 3\delta - \sin \delta)} \quad (7.59)$$

Mit der Näherung $\sin 3\delta = 3\delta$ und $\sin \delta = \delta$ ergibt dies

$$\tan \vartheta_0 \sim \frac{1}{\delta} \quad \vartheta_0 \sim \frac{\pi}{2} - \delta \quad (7.60)$$

Für $\vartheta_0 < \frac{\pi}{2} - \delta$ ist $d_i^* \cdot d_k^*$ negativ und für $\vartheta_0 > \frac{\pi}{2} - \delta$ ist $d_i^* \cdot d_k^*$ positiv. Daraus folgt, daß der Punkt mit maximalem Abstand zum nächsten Samplingpunkt für $\vartheta_0 < \frac{\pi}{2} - \delta$ der Mittelpunkt des Inkreises im sphärischen Viereck auf der Auflösungskugel ist.

Aus dem Abstand zum nächsten Samplingpunkt soll im folgenden die erreichbare Auflösung im Fall $\vartheta_0 < \frac{\pi}{2} - \delta$ berechnet werden. Der Mittelpunkt des Inkreises ist:

$$\vec{r}^* = R^* \cdot \begin{pmatrix} 0 \\ \sin \beta_M \\ \cos \beta_M \end{pmatrix}$$

Mit (7.35), (7.52) und (7.53) ergibt sich für den Abstand dieses Punktes zum nächsten Samplingpunkt:

$$\begin{aligned} d_i^* &= R^* \left(\frac{2 \cos \vartheta_0 \sin \vartheta_0 \sin \delta}{\sqrt{\sin^2 \vartheta_0 (\sin 3\delta - \sin \delta)^2 + 4 \cos^2 \vartheta_0}} + \frac{\sin \vartheta_0 (\sin 3\delta - \sin \delta) \cos \vartheta_0}{\sqrt{\sin^2 \vartheta_0 (\sin 3\delta - \sin \delta)^2 + 4 \cos^2 \vartheta_0}} \right) \\ &= R^* \frac{\sin \vartheta_0 \cos \vartheta_0 (\sin 3\delta + \sin \delta)}{\sqrt{\sin^2 \vartheta_0 (\sin 3\delta - \sin \delta)^2 + 4 \cos^2 \vartheta_0}} \end{aligned} \quad (7.61)$$

Mit der Näherung $\sin \delta = \delta$ und $\sin 3\delta = 3\delta$ wird (7.61):

$$d_i^* = R^* \frac{4 \sin \vartheta_0 \cos \vartheta_0 \delta}{\sqrt{4 \sin^2 \vartheta_0 \delta^2 + 4 \cos^2 \vartheta_0}} \quad (7.62)$$

Setzt man $d_i^* = \frac{1}{2D}$ und $R^* = \frac{1}{A}$, wobei A wieder die kristallographische Auflösung und D der Objektdurchmesser ist und führt wieder das Verhältnis $V = \frac{A}{D}$ ein, so ist dieses Auflösungsverhältnis in Abhängigkeit von der Anzahl der Projektionen:

$$V = \frac{2 \pi \sin \vartheta_0 \cos \vartheta_0}{N \sqrt{\sin^2 \vartheta_0 \frac{\pi^2}{4N^2} + \cos^2 \vartheta_0}} \quad (7.63)$$

Hierin ist wieder δ durch $\frac{\pi}{2N}$ ersetzt worden. Nach einigen

Umformungen erhält man für d :

$$d = \frac{V \cot \vartheta_0}{\sqrt{16 \cos^2 \vartheta_0 - V^2}} \quad (7.64)$$

und für N :

$$N = \frac{\pi}{2V} \tan \vartheta_0 \sqrt{16 \cos^2 \vartheta_0 - V^2} \quad (7.65)$$

Abb. 7.12 zeigt die Abhängigkeit der Projektionsanzahl vom Kegelwinkel ϑ_0 bei verschiedenen Auflösungen, berechnet nach (7.65) Abb. 7.13 zeigt die Projektionsanzahl abhängig von der Auflösung bei verschiedenen Kegelwinkeln. Testrechnungen an je 25 Bildpunktreakonstruktionen für verschiedene Anzahlen von Projektionen zwischen 11 und 95, sowie Kegelwinkel von 45 Grad und 60 Grad bestätigen die Berechnungen.

Einer dieser Bildpunkte ist in Abb. 7.14 gezeigt. Der Kreis K bildet die Grenze des Rekonstruktionsbereichs, der vollständig bestimmt ist, wie sie nach (7.63) berechnet wurde. A ist die Auflösung des Bildpunktes. Ferner zeigt Abb. 7.15 noch einmal die Abhängigkeit der Projektionsanzahl vom Kegelwinkel, wobei aber als Auflösungselement unter Berücksichtigung der Elongation nach (7.22) die schlechte Auflösung in z -Richtung angenommen wurde.

Da die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte gewichtete Rückprojektion keine spezielle Begrenzung des Rekonstruktionsvolumens impliziert, lassen sich bei Kegelwinkeln die kleiner als $\pi/2$ sind auch in Folienebene beliebig ausge dehnte Objekte rekonstruieren. Die Auflösung dieser Rekonstruktionen ist dann nur von der Höhe des Rekonstruktions-

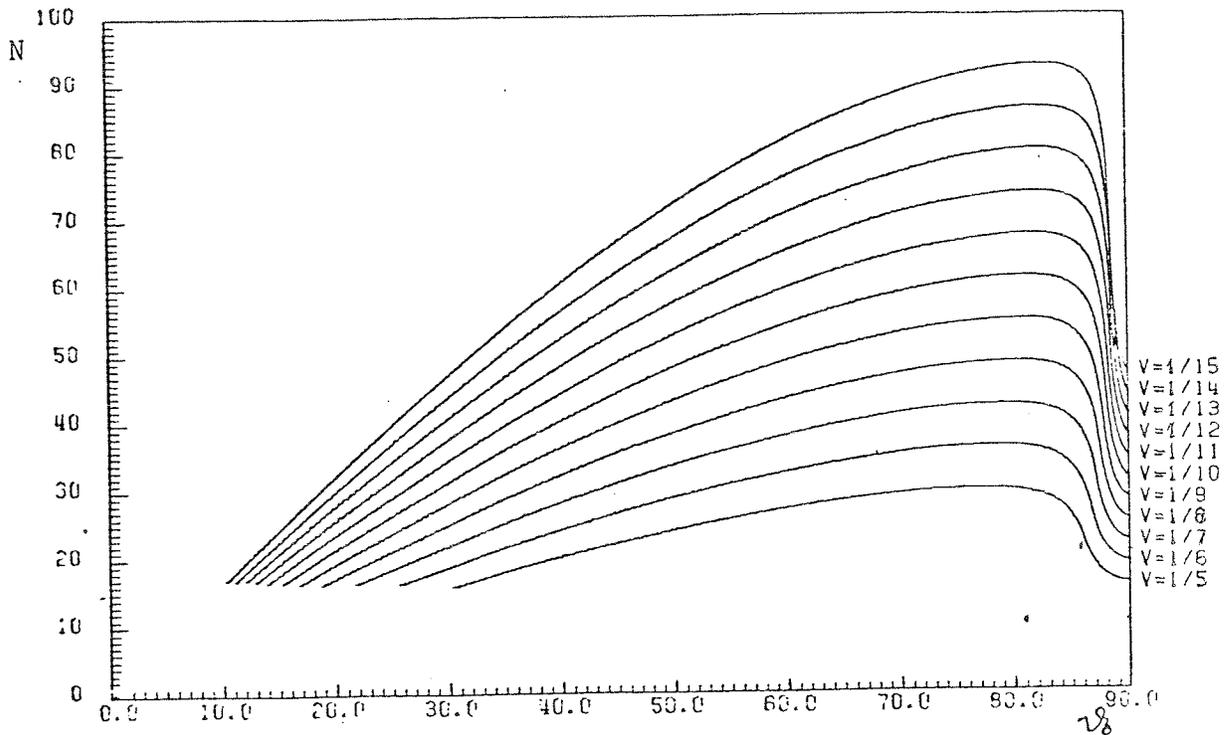


Abb 7.12 Notwendige Projektionsanzahl in Abhängigkeit vom Kegelwinkel α_0 bei verschiedenen Auflösungsverhältnissen $V=A/D$, (D Durchmesser des Rekonstruktionsvolumens, A Auflösung)

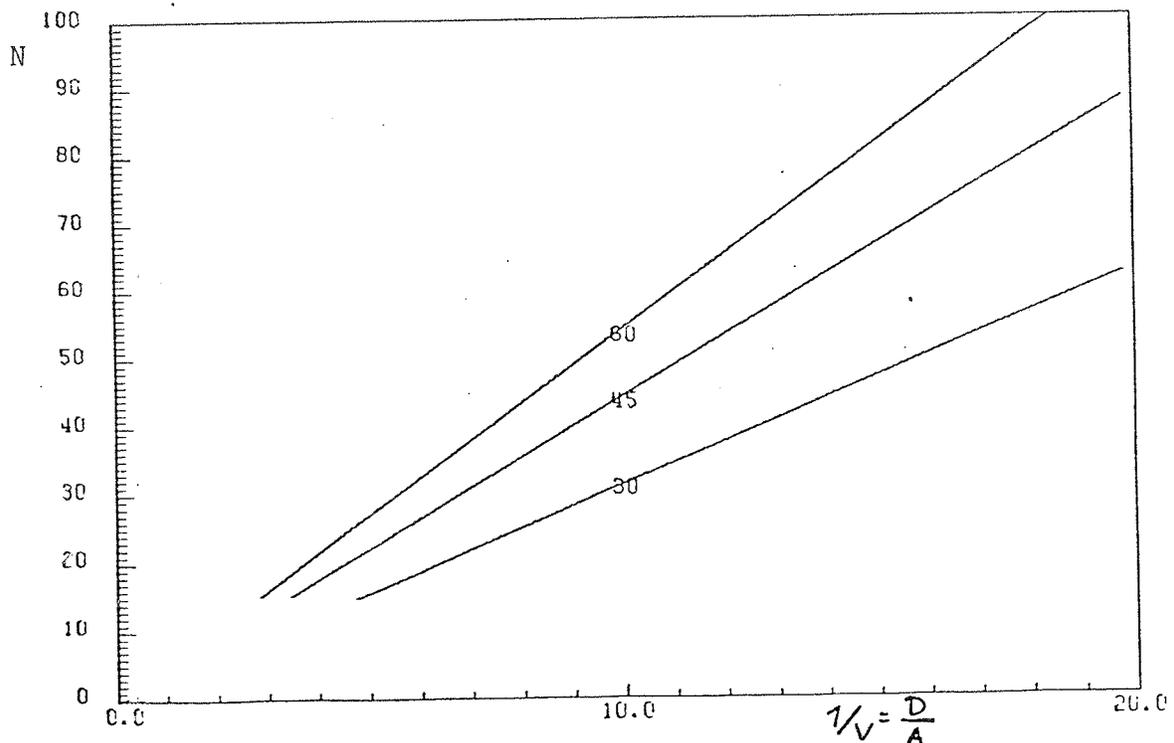


Abb. 7.13 Projektionsanzahl in Abhängigkeit von $1/V$. Dies entspricht der Anzahl der Bildpunkte auf dem Durchmesser des Rekonstruktionsvolumens. Gezeichnet sind die Kurven für Kegelwinkel $\alpha_0 = 30, 45$ und 60 Grad.

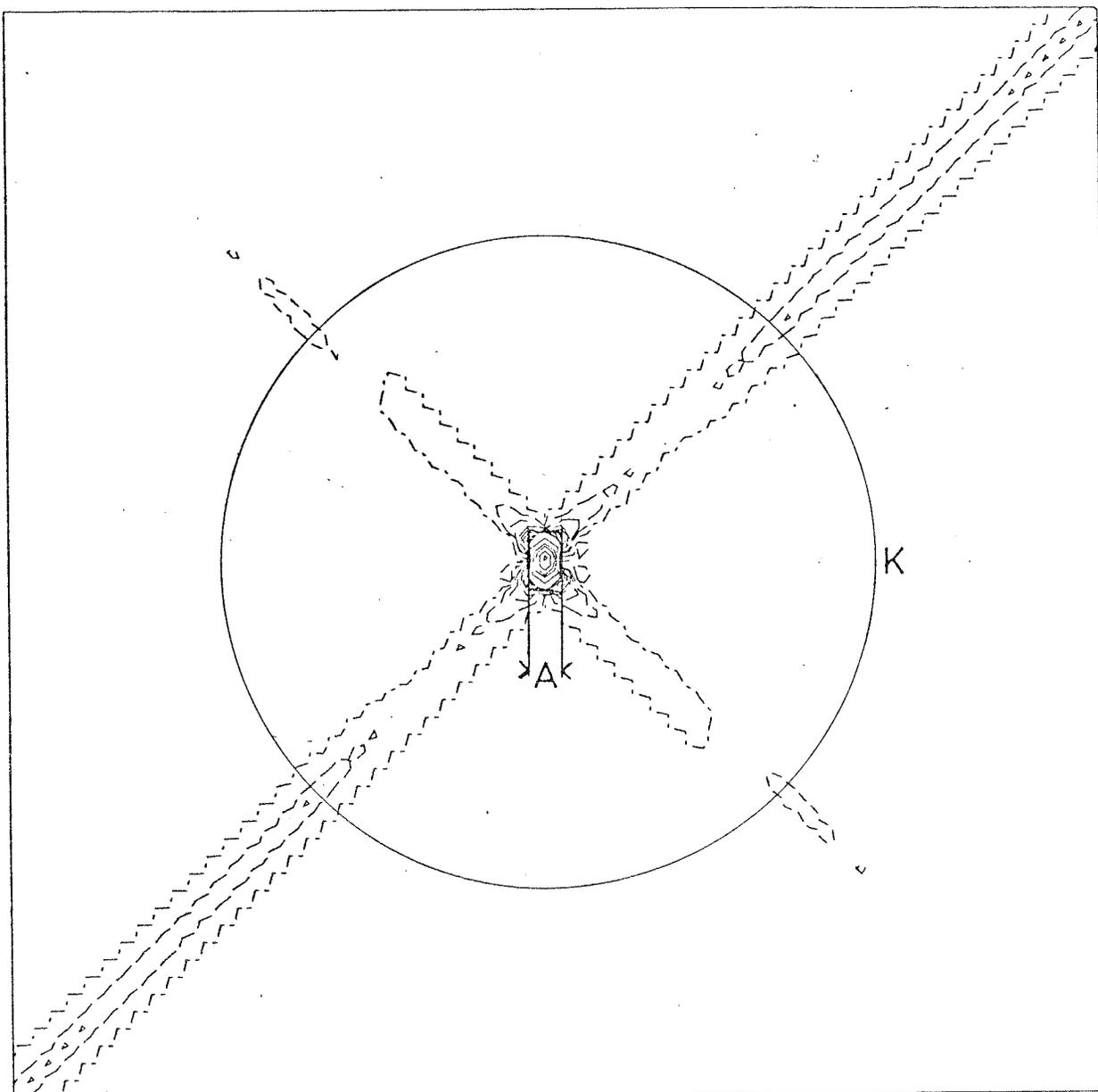


Abb. 7.14 Schnitt durch einen dreidimensionalen Bildpunkt. Rekonstruiert bei einem Kegelwinkel α_1 von 45 Grad aus 43 Projektionen. Der Schnitt durch den Bildpunkt ist unsymmetrisch wegen der ungeraden Anzahl der zur Rekonstruktion verwandten Projektionen. K Grenze des abgetasteten Bereichs, A Auflösungselement. Schichtlinien: - - - - 1% < 0, - - - - 1% > 0 < 10%, - - - - 0-Linie, - - - - 10%, 20%, 40%, ... 100%; jeweils bezogen auf das Maximum des Bildpunktes.

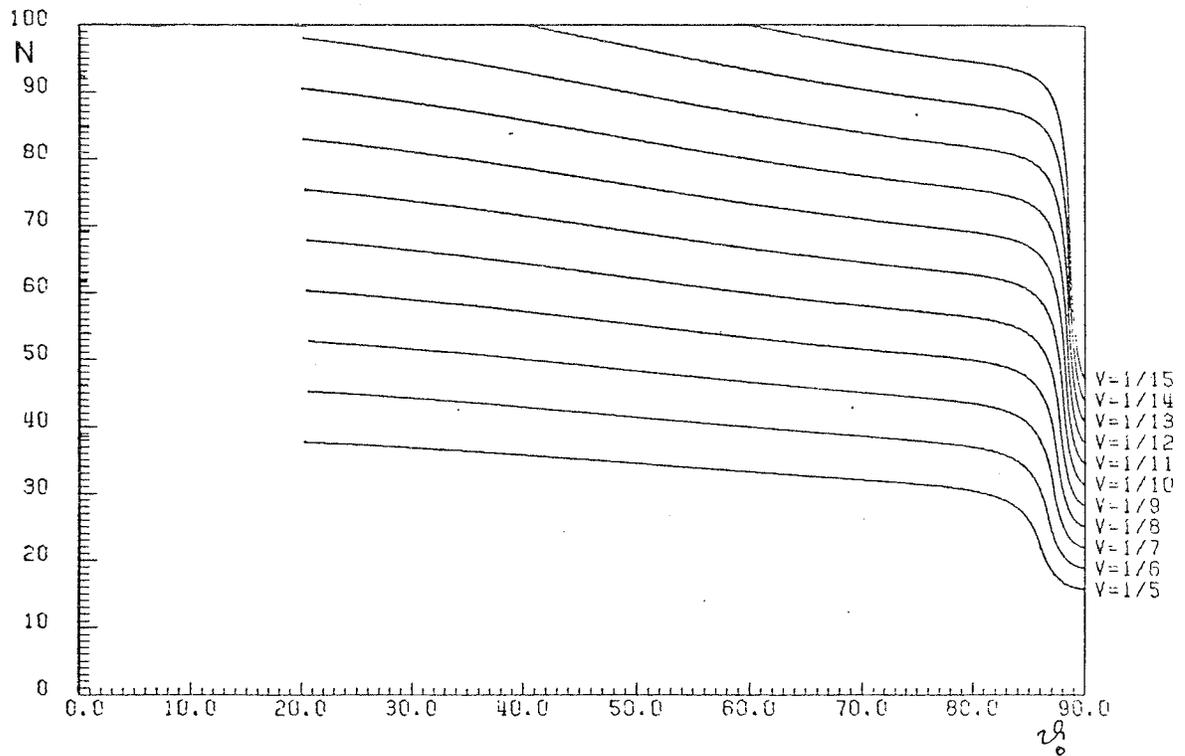


Abb. 7.15 Projektionsanzahl in Abhängigkeit vom Kegelwinkel α_0 bei verschiedenen Auflösungsverhältnissen $V=A/D$ in in z-Richtung.

volumens und dem Kegelwinkel abhängig. Bei gleicher Auflösung ist die Höhe des bestimmaren Rekonstruktionsvolumens geringer als der Durchmesser des kugelförmig begrenzten Rekonstruktionsvolumens, das den vorhergehenden Berechnungen zugrunde liegt. Die Bedingung aus der sich die Höhe berechnen läßt, ist, daß der Clutter außerhalb des vollständig bestimmten kugelförmigen Rekonstruktionsvolumens an keiner Stelle in das seitlich ausgedehnte Volumen eintritt. Da der Clutter nur in einem Winkelbereich von $\pm \vartheta_0$ gemessen zur z-Achse auftritt, ist die mögliche Höhe H des flachen Rekonstruktionvolumens

$$H = D \cdot \cos \vartheta_0 \quad (7.66)$$

Wobei D der Durchmesser des kugelförmigen Rekonstruktionsvolumens ist. Die gleiche Bedingung gilt für die Anwendung der gewichteten Rückprojektion bei Einachsenkipfung mit begrenztem Winkelbereich.

7.4 Clutter der dreidimensionalen Rekonstruktion

Unter Clutter versteht man die Bildpunktunruhe, die Artefakte um den dreidimensionalen Bildpunkt, die durch das Verfahren zur Bestimmung der dreidimensionalen Struktur hervorgerufen werden, im Gegensatz zu dem Untergrund, der durch Rauschen in den Projektionen verursacht wird.

Der Clutter bei kegelförmiger Kippung wurde aus Modellrechnungen bestimmt, ebenfalls, zum Vergleich, der Clutter bei Achsenkipfung. Hierzu wurden Bildpunkte rekonstruiert aus verschiedenen Anzahlen von Projektionen mit entsprechend unterschiedlichen Auflösungsverhältnissen $V = \frac{A}{D}$ (A Auflösung, B Durchmesser des Rekonstruktionsvolumens). Die Felder, in welchen die Bildpunkte berechnet wurden, hatten eine Kantenlänge von 64 Rasterpunkten. Die Auflösung der Bildpunkte in x-Richtung betrug 2 Rasterpunkte. Zur Bestimmung des Clutters wurde in der Rekonstruktion der Bereich des Bildpunktes ellipsoidförmig, entsprechend der Bildpunktelongation, ausgeschnitten, ebenso der Bereich außerhalb des vollständig abgetasteten Rekonstruktionsvolumens. Die Werte der Punkte im übrig bleibenden Bereich seien mit Q_c bezeichnet. Die Werte der Rasterpunkte innerhalb des Bildpunktes mit Q_B . Die Größe des Clutters wurde definiert als:

$$c = \sqrt{\frac{\sum Q_c^2}{\sum Q_B^2}} \quad (7.67)$$

c ist die auf den Bildpunkt normierte quadratische Abweichung des Clutters von Null. Abb. 7.16 -7.21 zeigen

jeweils einen Schnitt durch den dreidimensional rekonstruierten Bildpunkt. Abb. 7.16-7.18 zeigen den Bildpunkt bei Achsenkipfung, Abb. 7.19-7.21 den Bildpunkt bei kegelförmiger Kippung. Der Bereich B ist der Bildpunktbereich, C der Bereich, in welchem der Clutter berechnet wird. Dies ist der vollständig abgetastete Bereich und in Abb. 7.16 ff. durch den Kreis K begrenzt. Sein Radius wurde nach (7.46) bei Einachsenkipfung und nach (7.62) bei kegelförmiger Kippung berechnet. Um rasterbedingte Interpolationsfehler zu begrenzen, wurde von den Werten aus (7.46) und (7.62) 10% abgezogen. Ebenfalls wurden die Hauptachsen der Ellipsoiden um einen Rasterpunkt größer angenommen, als der Auflösung entspricht. Trotz dieser Maßnahmen wiesen die so berechneten Werte des Clutters Schwankungen in der Größenordnung von ca. 10% auf. Mit der verwendeten Auflösung von zwei Rasterabständen lag der Clutter für Achsenkipfung nur in der Schnittebene durch den Bildpunkt senkrecht zur Kippachse, während er bei der kegelförmigen Kippung auf das gesamte Volumen verteilt ist. Um bei kegelförmiger Kippung nicht für alle Bildpunktberechnungen das gesamte dreidimensionale Volumen berechnen zu müssen, wurde nur in drei Fällen der Schnitt durch den Bildpunkt und das gesamte dreidimensionale Volumen berechnet. Hieraus wurde ein Faktor bestimmt, der multipliziert mit dem Clutter der Schnittebene den Clutter im gesamten dreidimensionalen Bereich ergibt. Dieser Faktor errechnete sich zu $3 \pm 10\%$. Mit den angegebenen Berechnungsmethoden war der Clutter weitgehend unabhängig von dem in der Rekonstruktion verwendeten Auflösungsverhältnis. Tabelle 7.1 zeigt die so

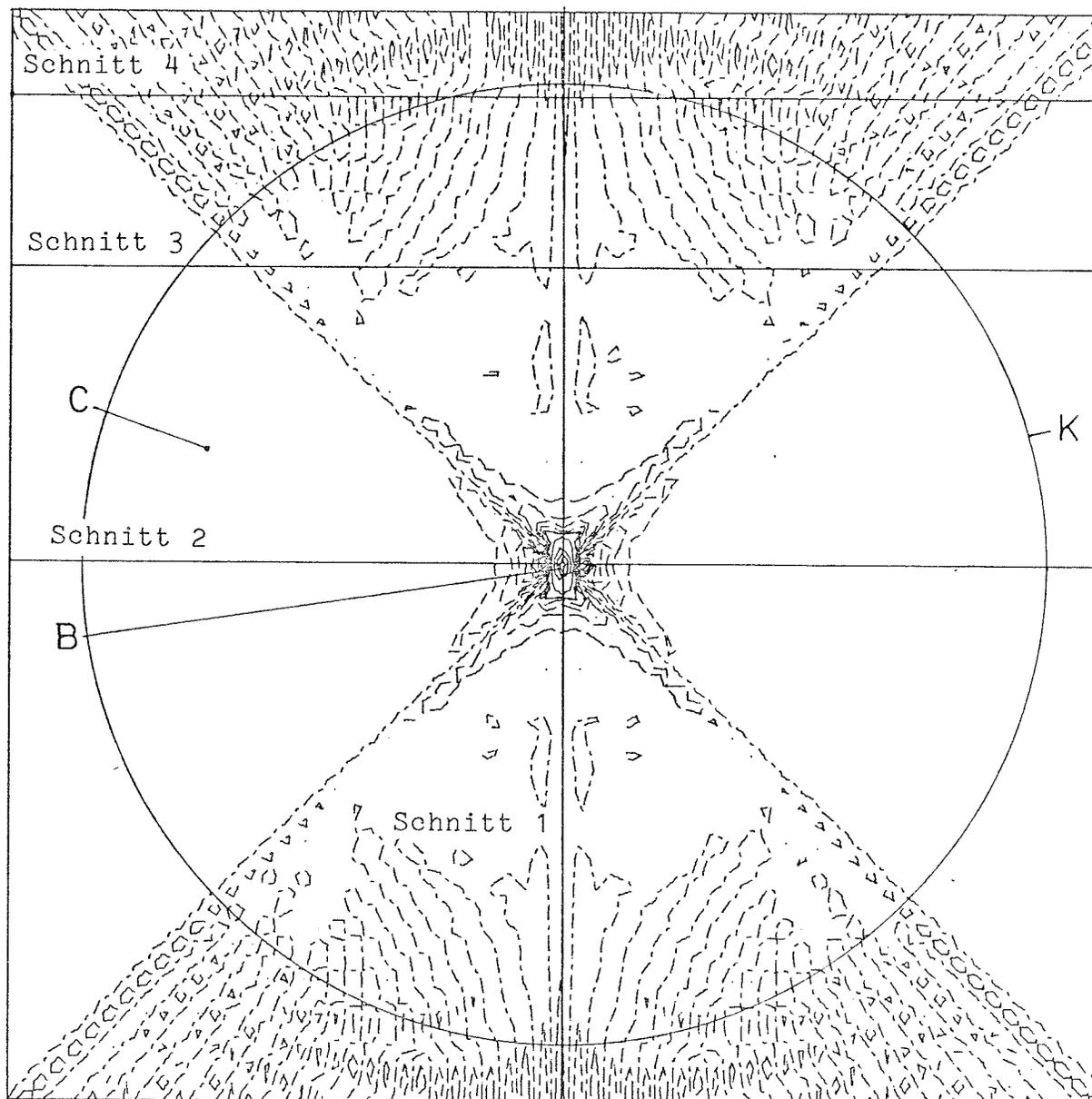
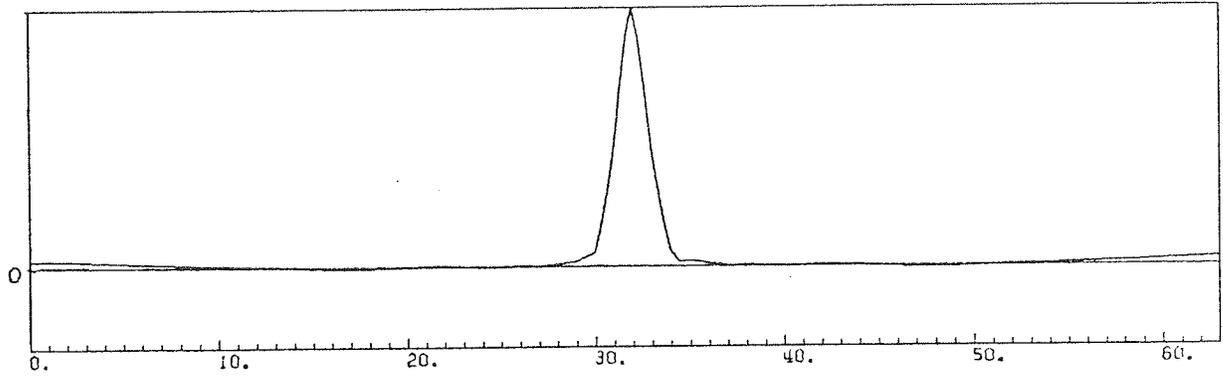
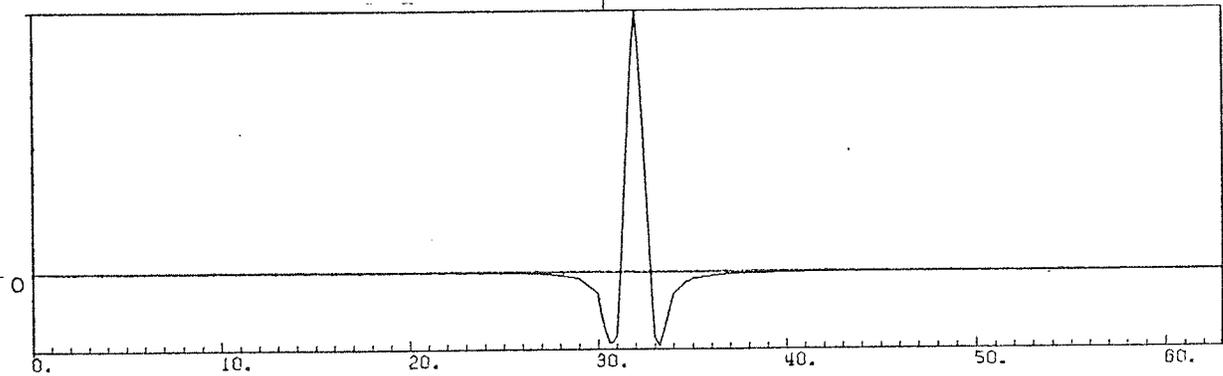


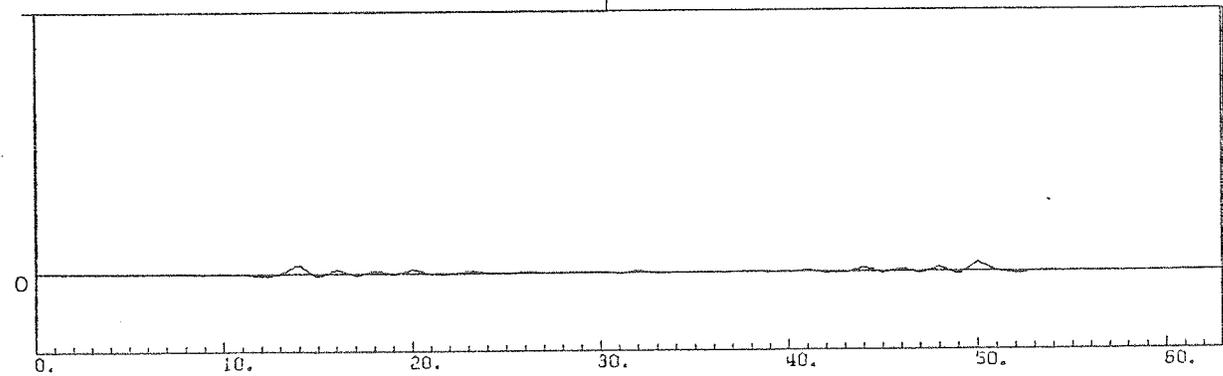
Abb. 7.16 Schnitt durch den dreidimensionalen Bildpunkt bei einer Rekonstruktion aus 25 Projektionen. Einachsenkipfung mit einem maximalen Kippwinkel von 45 Grad. Die eingezeichneten Schnitte sind in Abb. 7.17 dargestellt. Schichtlinien: - - - - - 2% < 0, - - - - - 0-Linie, - - - - - 2% > 0 < 10% ——— 10%, 20%, 40%, ... 100%. Jeweils bezogen auf das Maximum des Bildpunktes.



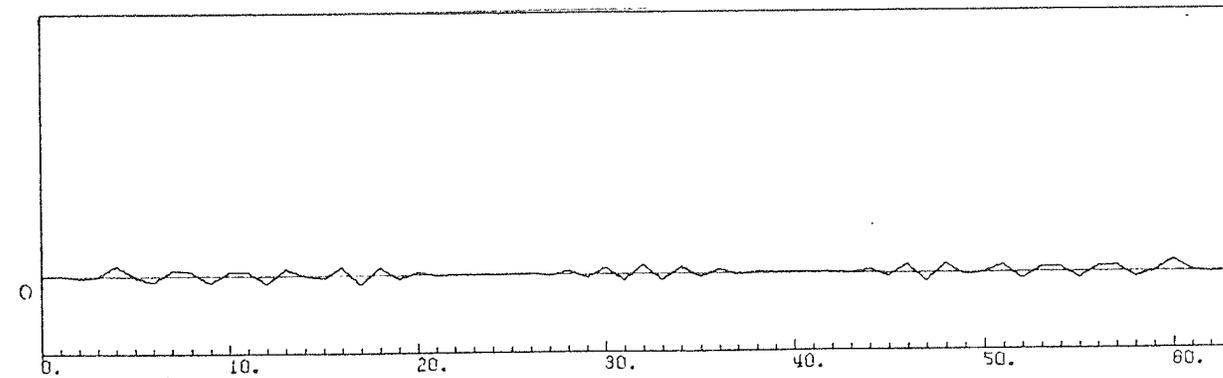
Schnitt 1



Schnitt 2



Schnitt 3



Schnitt 4

Abb. 7.17 Schnitte durch den in Abb. 7.16 dargestellten Bildpunkt. Ordinate in frei gewählten Einheiten, Abszisseneinheiten in Rasterpunkten.

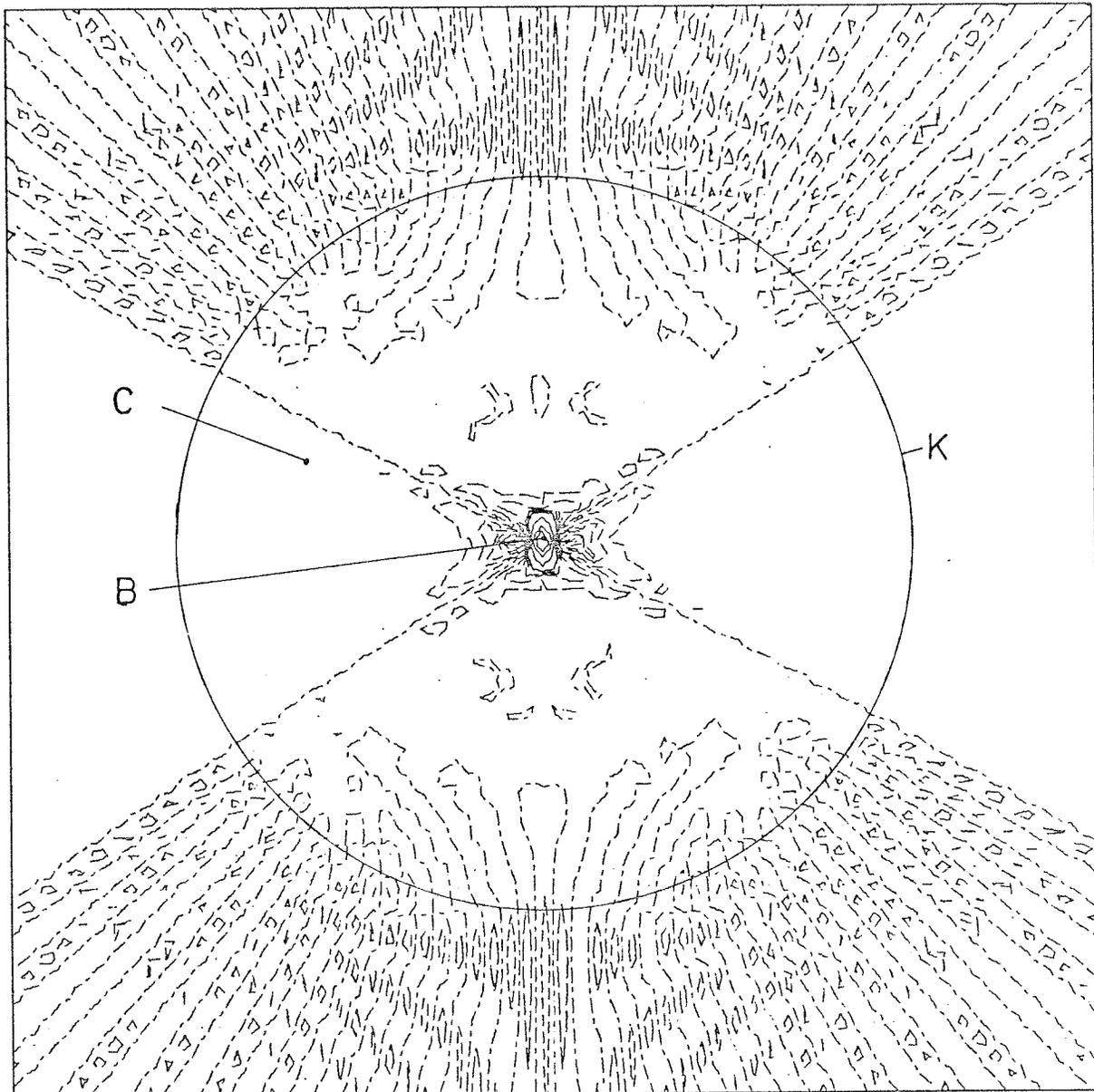


Abb. 7.18 Schnitt durch den dreidimensionalen Bildpunkt. Rekonstruiert aus 25 Projektionen mit gewichteter Rückprojektion bei Einachsenkipfung und einem maximalen Kippwinkel von 60 Grad. (B Bildpunktbereich, C Bereich, in welchem der Clutter berechnet wird, K Grenze dieses Bereichs. s.Text) Schichtlinien: - - - - - 2% < 0, - · - · - · - 0-Linie, - - - - - 2% > 0 < 10% ———— 10%, 20%, 40%, ... 100%. Jeweils bezogen auf das Maximum des Bildpunktes.

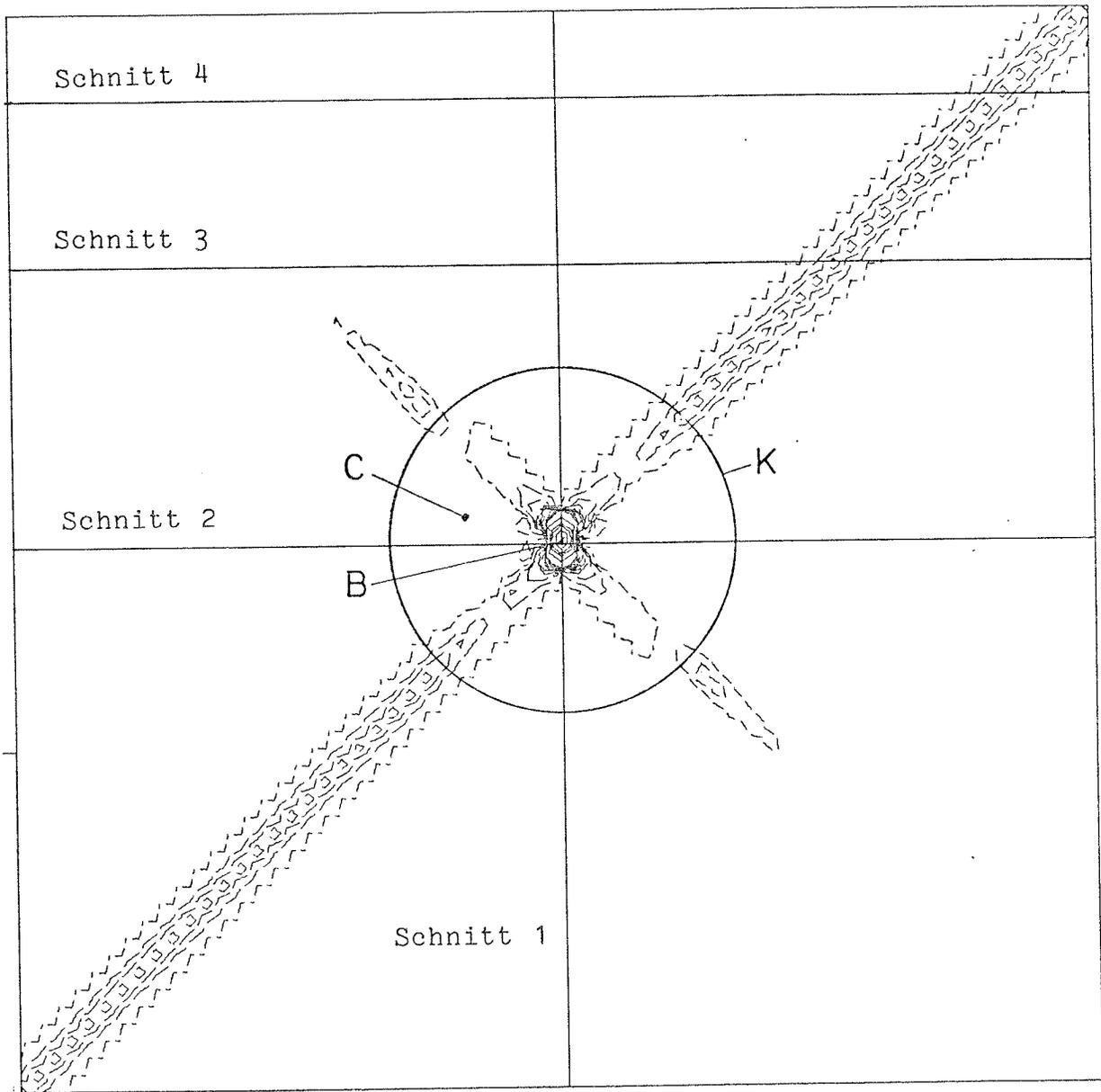
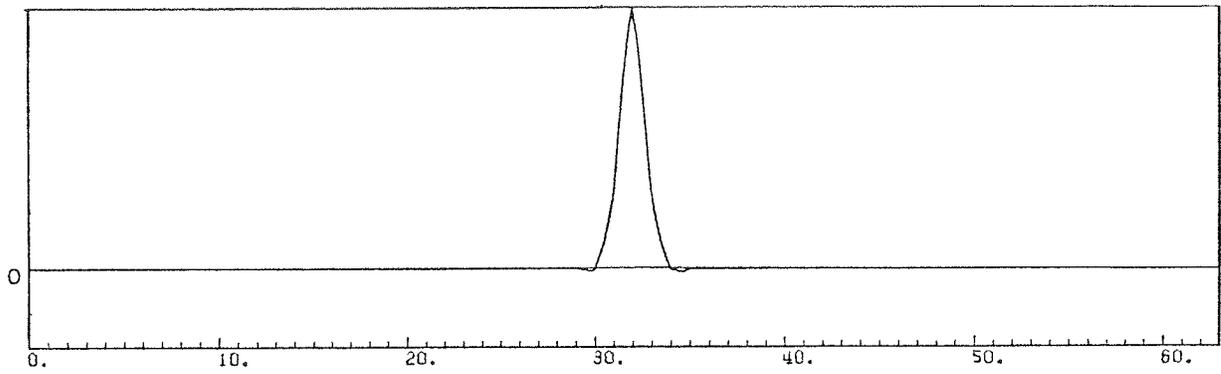
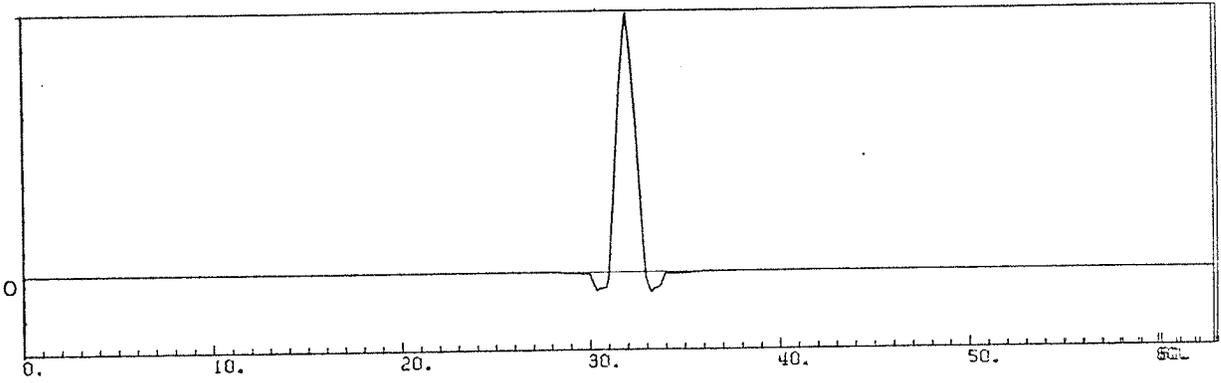


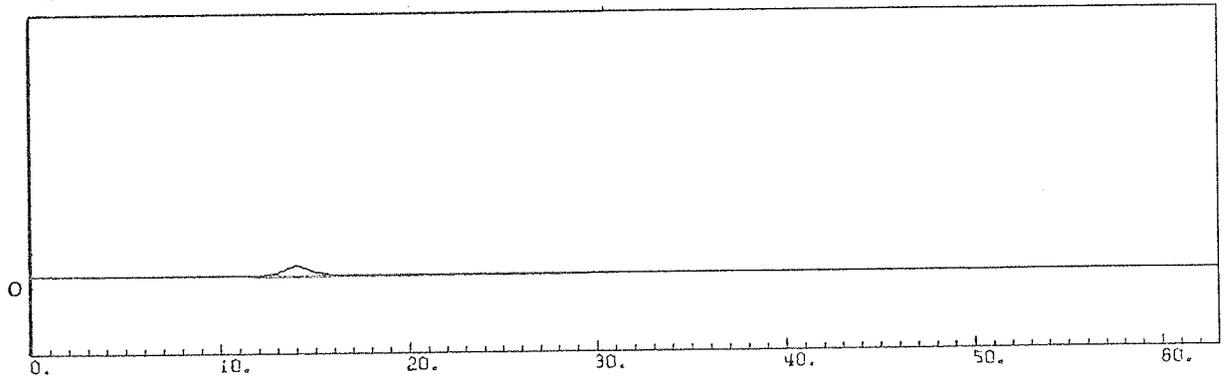
Abb. 7.19 Schnitt durch den dreidimensionalen Bildpunkt bei kegelförmiger Kippung. Rekonstruktion aus 25 Projektionen bei einem Kegelwinkel von 45 Grad. Der Schnitt durch den Bildpunkt ist unsymmetrisch zur z-Achse wegen der ungeraden Anzahl der zur Rekonstruktion verwendeten Projektionen. Die eingezeichneten Schnitte sind in Abb. 7.20 dargestellt. (K Grenze des Bereichs C, der zur Clutterberechnung berücksichtigt wird, B Bildpunktbereich) Schichtlinien (zum Teil enger als in Abb. 7.16 und 7.18):----- 1% < 0, - - - - - 0-Linie, - - - - - 1% > 0 < 10% ———— 10%, 20%, 40%, ... 100%. Jeweils bezogen auf das Maximum des Bildpunktes.



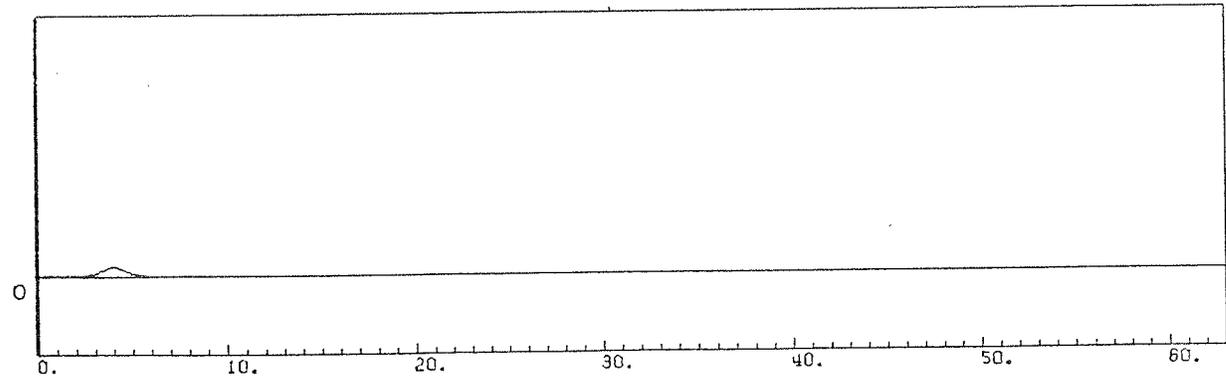
Schnitt 1



Schnitt 2



Schnitt 3



Schnitt 4

Abb. 7.20 Schnitte durch den in Abb. 7.19 dargestellten Bildpunkt. Ordinate in frei gewählten Einheiten. Abszisseneinheit in Rasterpunkten.

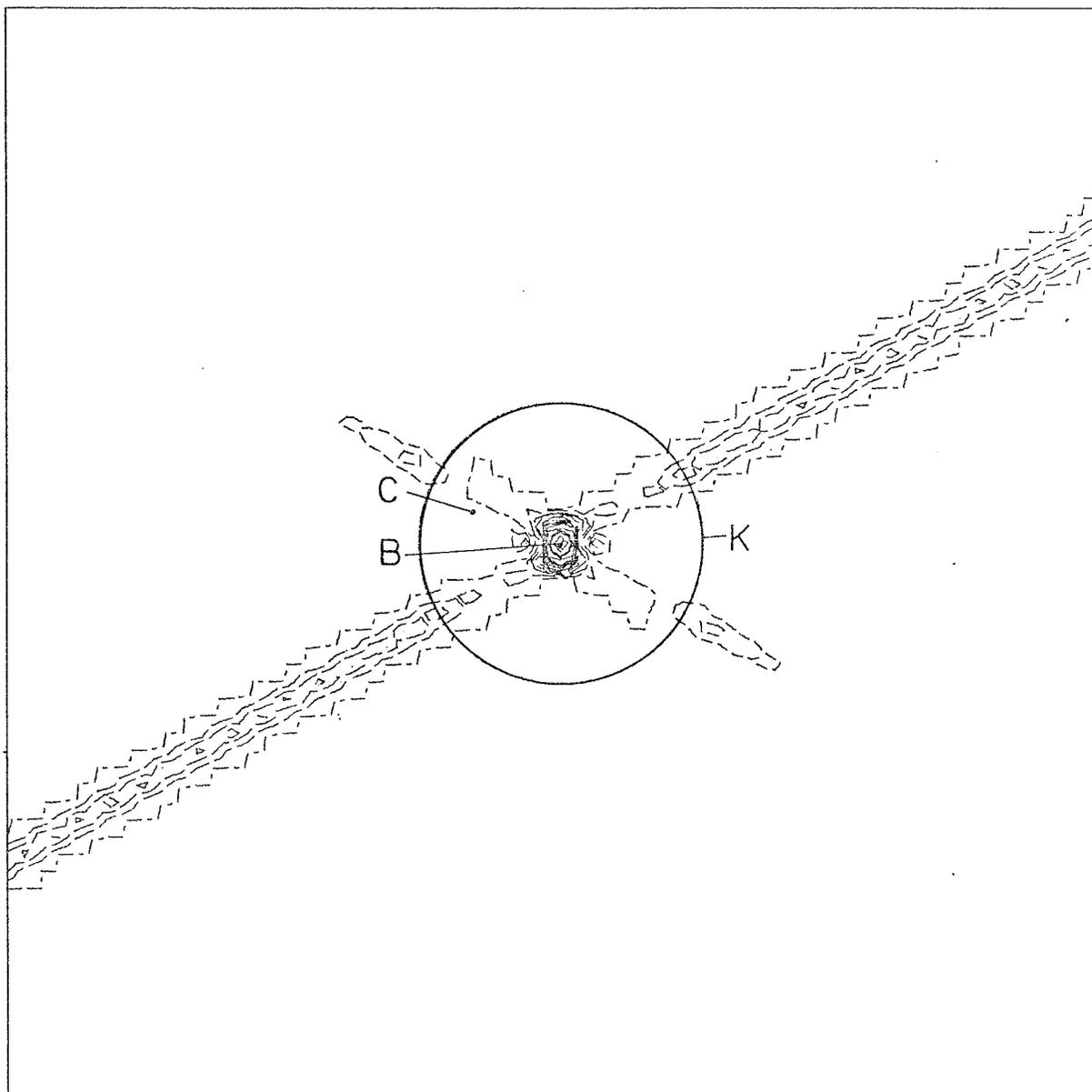


Abb. 7.21 Schnitt durch den dreidimensionalen Bildpunkt bei kegelförmiger Kippung. Rekonstruktion aus 25 Projektionen bei einem Kegelwinkel von 45 Grad. Der Schnitt durch den Bildpunkt ist unsymmetrisch zur z-Achse wegen der ungeraden Anzahl der zur Rekonstruktion verwendeten Projektionen. (K Grenze des Bereichs C, der zur Clutterberechnung berücksichtigt wird, B Bildpunktbereich) Schichtlinien (zum Teil enger als in Abb. 7.16 und 7.18):-----
 $1\% < 0$, --- 0-Linie, --- $1\% > 0 < 10\%$ -----
 10%, 20%, 40%, ...100%. Jeweils bezogen auf das Maximum des Bildpunktes.

Einachsenkipfung. Maximaler Kippwinkel:

45 Grad			60 Grad		
N	D	c	N	D	c
13	14,9	0,498	15	12,9	0,416
15	17,2	0,493	17	14,6	0,414
17	19,5	0,487	19	16,3	0,418
19	21,8	0,472	21	18,1	0,413
21	24,1	0,468	23	19,8	0,415
23	26,4	0,468	25	21,5	0,418
25	28,7	0,464	27	23,2	0,413
			29	24,9	0,413
			31	26,6	0,416
			33	28,4	0,418
			35	30,1	0,418
			37	31,8	0,416
$c_M :=$		0,478			0,416

Kegelförmige Kippung mit Kegelwinkel:

45 Grad			60 Grad		
N	D	c	N	D	c
31	12,6	0,110	37	12,3	0,0693
33	13,4	0,107	39	12,9	0,0694
35	14,2	0,109	41	13,6	0,0675
37	15,0	0,105	43	14,2	0,0704
39	15,8	0,107	45	14,9	0,0692
41	16,6	0,104	47	15,6	0,0678
43	17,4	0,105	49	16,2	0,0699
45	18,2	0,102			
47	19,0	0,103			
49	19,8	0,104			
55	22,3	0,101			
65	26,3	0,100			
75	30,4	0,099			
$c_M :=$		0,104			0,0689

Tab. 7.1 Berechnung des Clutters der dreidimensionalen Rekonstruktion. N = Anzahl der zur Rekonstruktion verwendeten Projektionen. D = Durchmesser des kugelförmigen Rekonstruktionsvolumens um 10% vermindert. D entspricht dem Radius des zur Clutterberechnung verwandten Volumens um den einzelnen Bildpunkt. Zahlenangaben in Rasterabständen bei einer Auflösung des Bildpunktes in x-Richtung von 2 Rasterabständen. c = Clutter in der Schnittebene durch den Bildpunkt. c_M mittlerer Clutter.

berechneten Werte des Clutters. Aus diesen Werten wurden aus allen Modellrechnungen Mittelwerte gebildet. Tab. 7.2 gibt die Ergebnisse wieder. In der zweiten Spalte ist die Anzahl n der bei der Mittelwertbildung berücksichtigten Bildpunkte angegeben, in der dritten Spalte der mittlere Clutter c_E in der Schnittebene durch den Bildpunkt, in der vierten Spalte der mittlere Clutter c_{3D} im dreidimensionalen Volumen. In der letzten Spalte ist angegeben, um welchen Faktor der Clutter bei Achsenkipfung größer als bei kegelförmiger Kippung ist.

	n	c_E	c_{3D}	
45 Grad Achsenkipfung	7	0,478	0,478	$1,517c_{45}; 2,31c_{60}$
60 Grad Achsenkipfung	12	0,416	0,416	$1,33 c_{45}; 2,013c_{60}$
45 Grad Kegelkipfung	13	0,104	0,312	$:=c_{45}$
60 Grad Kegelkipfung	7	0,0689	0,2067	$:=c_{60}$

Tab 7.2 Mittlerer Clutter der dreidimensionalen Rekonstruktion.

n Anzahl der berücksichtigten Bildpunkte, c_E mittlerer Clutter in der Schnittebene durch den Bildpunkt, c_{3D} mittlerer Clutter im dreidimensionalen Volumen.

Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß der Clutter bei kegelförmiger Kippung wesentlich geringer ist als bei Achsenkipfung. Insbesondere ist die Verteilung des Clutters auf ein größeres Volumen bei der kegelförmigen Kippung

besser, da Störungen um einen Punkt mit großer Dichte im Verhältnis zu seiner Umgebung sich wesentlich geringer auf die Nachbarpunkte auswirken.

Um einen Überblick über die Qualität der Rekonstruktion zu geben, seien hier noch einmal die wichtigsten Ergebnisse des vorangehenden Kapitels in einer Tabelle zusammengefasst.

	Elongation exz	Projektions- anzahl bezogen auf 60 Grad Achsenkippung	Clutter im 3D Vol.	Clutter in der Bildpkt.- ebene
45 Grad Achsenk.	2,12	0,65 ¹⁾ *)	1,15	1,15
60 Grad Achsenk.	1,55	1	1	1
45 Grad Kegelk.	1,58	1,6 ²⁾ *)	0,75	0,25
60 Grad Kegelk.	1,22	2,0 ³⁾ *)	0,496	0,17

*) Bei der Zusammenstellung der Tabelle ist ein Fehler aufgetreten. Die richtigen Werte, die sich aus den Gleichungen (7.47) und (7.65) ergeben, lauten:

¹⁾ 0,75; ²⁾ 2,12; ³⁾ 2,60 .

8. Korrelation kegelförmig gekippter Projektionen

Um eine Rekonstruktion durchführen zu können ist es notwendig die Koordinaten der Projektionen einer Serie konsistent festzulegen. Verschiebungen der Lage des Moleküls relativ zum Ursprung der photometrierten Aufnahme müssen dazu korrigiert werden.

Bekanntlich /33,52/ läßt sich die Verschiebung zweier Aufnahmen gegeneinander aus der Lage des Maximums ihrer Kreuzkorrelationsfunktion bestimmen. Zur Erläuterung sei dies für den eindimensionalen Fall gezeigt. Dabei wird ausgenutzt, daß eine Korrelation der Funktionen f_1 und f_2 im direkten Raum einer Multiplikation der entsprechenden Fouriertransformierten F_1 und $\overline{F_2}$ im Fourierraum entspricht. (\overline{F} konjugiert komplex zu F)

$$f_1 * f_2 = FT^{-1}(F_1 \cdot \overline{F_2}) \quad (8.1)$$

Seien $f_1 = \delta(x_1 - x)$

und $f_2 = \delta(x_2 - x) \quad (8.2)$

Die Verschiebung dieser beiden Funktionen gegeneinander beträgt $(x_1 - x_2)$. Die Fouriertransformierten von f_1 und f_2 sind:

$$F_1(x^*) = e^{-2\pi i x_1 x^*}$$

$$F_2(x^*) = e^{-2\pi i x_2 x^*} \quad (8.3)$$

Die Fouriertransformierte der Kreuzkorrelationsfunktion ist:

$$K_{f_1, f_2}(x^*) = F_1(x^*) \overline{F_2(x^*)} = e^{-2\pi i(x_1 - x_2)x^*} \quad (8.4)$$

Die Korrelationsfunktion ist die Rücktransformierte von $K_{f_1, f_2}(x^*)$.

$$k_{f_1, f_2}(x) = \text{FT}^{-1}(K_{f_1, f_2}(x^*)) = \int e^{-2\pi i(x_1 - x_2)x^*} e^{2\pi i x x^*} dx^* \quad (8.5)$$

$$= \delta(x - (x_1 - x_2)) \quad (8.6)$$

$k_{f_1, f_2}(x)$ ist also eine Funktion, bei der die Lage des Maximums der Verschiebung der Funktionen f_1 und f_2 entspricht.

Bei der Korrelation von aufeinanderfolgenden Aufnahmen einer Serie geht man davon aus, daß bei einem kleinen Winkelinkrement zwischen den einzelnen Aufnahmen die Unterschiede im Strukturgehalt der Bilder gering sind. Da die Winkel zwischen zwei benachbarten Projektionen bekannt sind und der Öffnungswinkel des Kegels, den die Projektionsrichtungen bilden, konstant bleibt, ist es möglich, beide benachbarte Projektionen durch Entzerren in eine gemeinsame Ebene zu projizieren und durch eine Drehung gleich auszurichten. Die Verschiebung dieser beiden Projektionen in dieser Ebene läßt sich dann aus dem Maximum der Kreuzkorrelationsfunktion bestimmen. Aus dem sich dabei ergebenden Verschiebungsvektor läßt sich die Verschiebung der zweiten Projektion in ihrer ursprünglichen Ebene bestimmen. Diese Verschiebung wird durchgeführt. Bei einer Kippserie werden sequentiell je eine Projektion mit ihrer vorhergehenden Projektion korreliert.

Die Projektion der Aufnahmen in eine gemeinsame Ebene geschieht durch eine Verkleinerung des Rasterabstandes in Richtung der x-Achse entsprechend dem Cosinus des Kegelöffnungswinkels. Dies entspricht einer Streckung des Bildes um $1/\cos \nu_0$. Zur genauen Bestimmung des Maximums der Korrelationsfunktion wird mittels einer quadratischen Ausgleichsrechnung ein Rotationsparaboloid an das Maximum angepaßt und daraus dessen exakte Lage interpoliert.

Der Ablauf einer Korrelation kegelförmig gekippter Projektionen ist im folgenden Schema dargestellt. Der Kegelwinkel sei ν_0 , die Koordinaten auf der Projektion x' und y' , die Kippung um den Winkel ν_0 sei um die y -Achse. Das Winkelinkrement zwischen zwei Projektionen sei $\Delta\varphi$.

Einlesen der Projektionen p_i und p_{i+1}

Verkleinerung des Rasterabstandes in x-Richtung bei beiden

Projektionen

$$x'_{neu} = x'_{alt} / \cos \nu_0$$

Drehung von p_{i+1} um $-\Delta\varphi$

Fouriertransformation von p_i und p_{i+1}

Multiplikation von P_i und $\overline{P_{i+1}} \rightarrow K_{i,i+1}$

Rücktransformation von $K_{i,i+1}$

Interpolation des Maximums der Kreuzkorrelationsfunktion

ergibt den Verschiebungsvektor \vec{r}

Stauchung und Rückdrehung von $\vec{r} \rightarrow \vec{r}'$

Verschiebung der Projektion p_{i+1} um \vec{r}'

In Abb.8.1 ist eine Korrelation kegelförmig gekippter Projektionen zu sehen. Abb. 8.1a zeigt die erste Projek-

tion, auf welche die in Abb. 8.1b gezeigte korreliert wird. Abb.8.1c zeigt die Korrelationsfunktion $k_{1,2}(\vec{r})$. Man sieht deutlich das Maximum der Korrelationsfunktion, das gegen die Mitte des Feldes verschoben ist. Abb. 8.1d schließlich zeigt die zweite Projektion nach der Verschiebung, die aus der Lage des Maximums der Korrelationsfunktion nach dem oben angegebenen Schema bestimmt wurde. Bei den Bildern handelt es sich um Aufnahmen aus einer Serie kegelförmig gekippter Projektionen von Hefefettsäuresynthetase, die in einem Transmissionsrastermikroskop aufgenommen wurde.

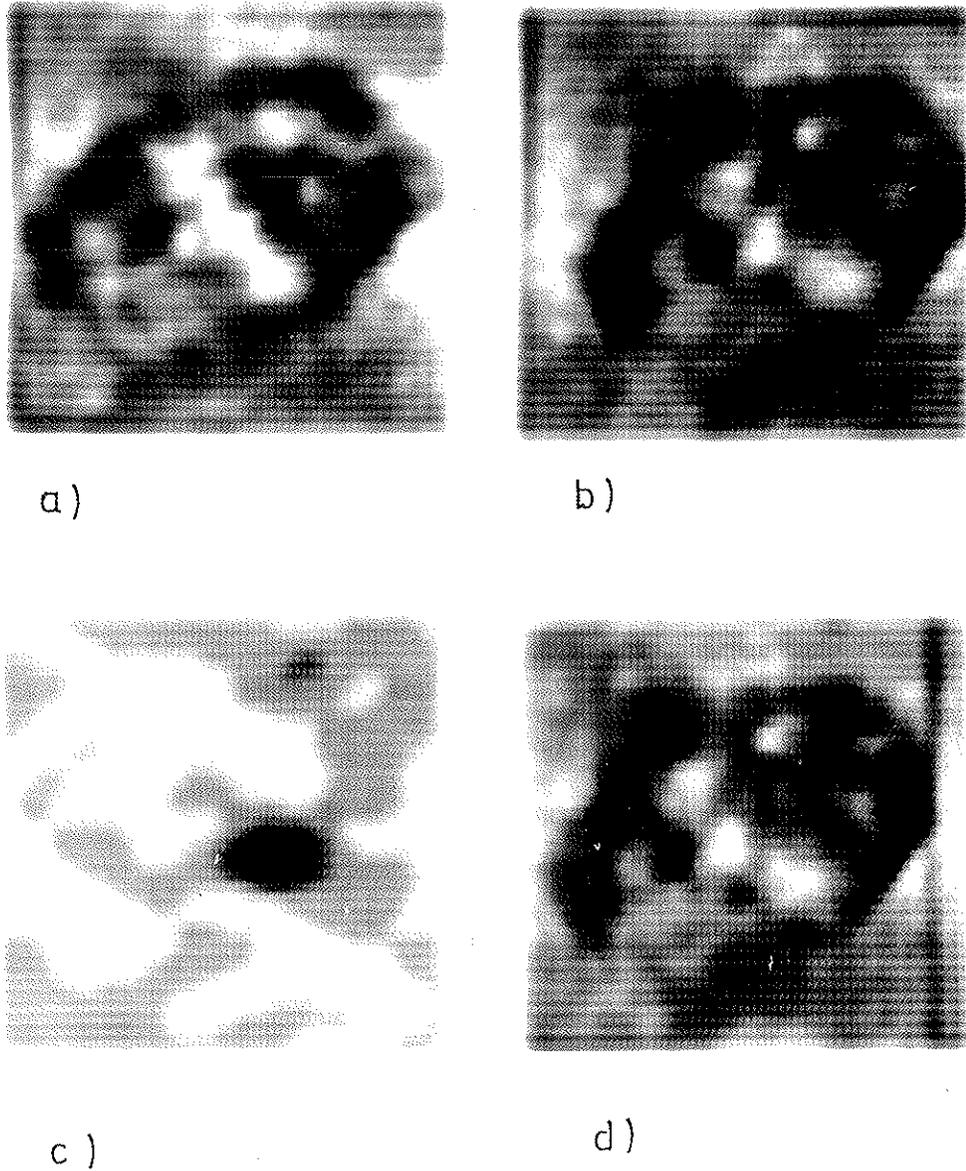


Abb. 8.1 Korrelation zweier kegelförmig gekippter Projektionen. a) Projektion 1, b) Projektion 2 vor der Verschiebung, c) Korrelationsfunktion der Korrelation von p_1 mit p_2 . d) Verschobene Projektion p_2 nach der Korrelation.

9. Modellrechnungen

Folgende Modellrechnungen wurden durchgeführt:

1. Rekonstruktionen dreidimensionaler Bildpunkte
2. Rekonstruktion eines Objektes mit vier "Punkten"
3. Rekonstruktion einer rechnerisch erzeugten Kohlefolie mit zwei $\text{Ta}_6\text{Br}_{12}$ -Molekülen
4. Rekonstruktion einer 30S Ribosomen Untereinheit aus achsengekippten Projektionen als Spezialfall der neu entwickelten gewichteten Rückprojektion für kegelförmige Kippung zum Vergleich mit einer bereits existierenden Rekonstruktion /16/ aus den selben Projektionen mit dem Cormack-Smith Verfahren.

Wie in Kap. 6 seien die Koordinatenbezeichnungen im folgenden x, y, z für das objekt feste Koordinatensystem und x', y' für die Koordinatensysteme der Projektionen.

9.1 Rekonstruktionen dreidimensionaler Bildpunkte.

Zusätzlich zu den Bildpunkten, die in Kap. 6 dargestellt sind, wurden weitere dreidimensionale Bildpunkte rekonstruiert, von welchen einige im folgenden abgebildet sind. Die Bildpunkte wurden berechnet bei einem Kegelwinkel von 45 Grad. Die gezeigten Bildpunkte wurden aus 35, 45 und 55 Projektionen rekonstruiert. Diese Bildpunkte zeigen deutlich die Abhängigkeit des Bereichs, in welchem die von den Projektionen ausgehenden Strahlen außerhalb des eigentlichen Bildpunktes kompensiert sind, von der Anzahl der Projektionen. Dieser Bereich stimmt gut überein mit dem nach (7.63) vollständig abgetasteten Rekonstruktionsbereich. Die Bildpunkte der Modellrekonstruktionen zeigen in x und y -Richtung in sehr guter Näherung die Auflösungen, die sich nach Gleichung (7.63) und Gleichung (7.22) ergeben.

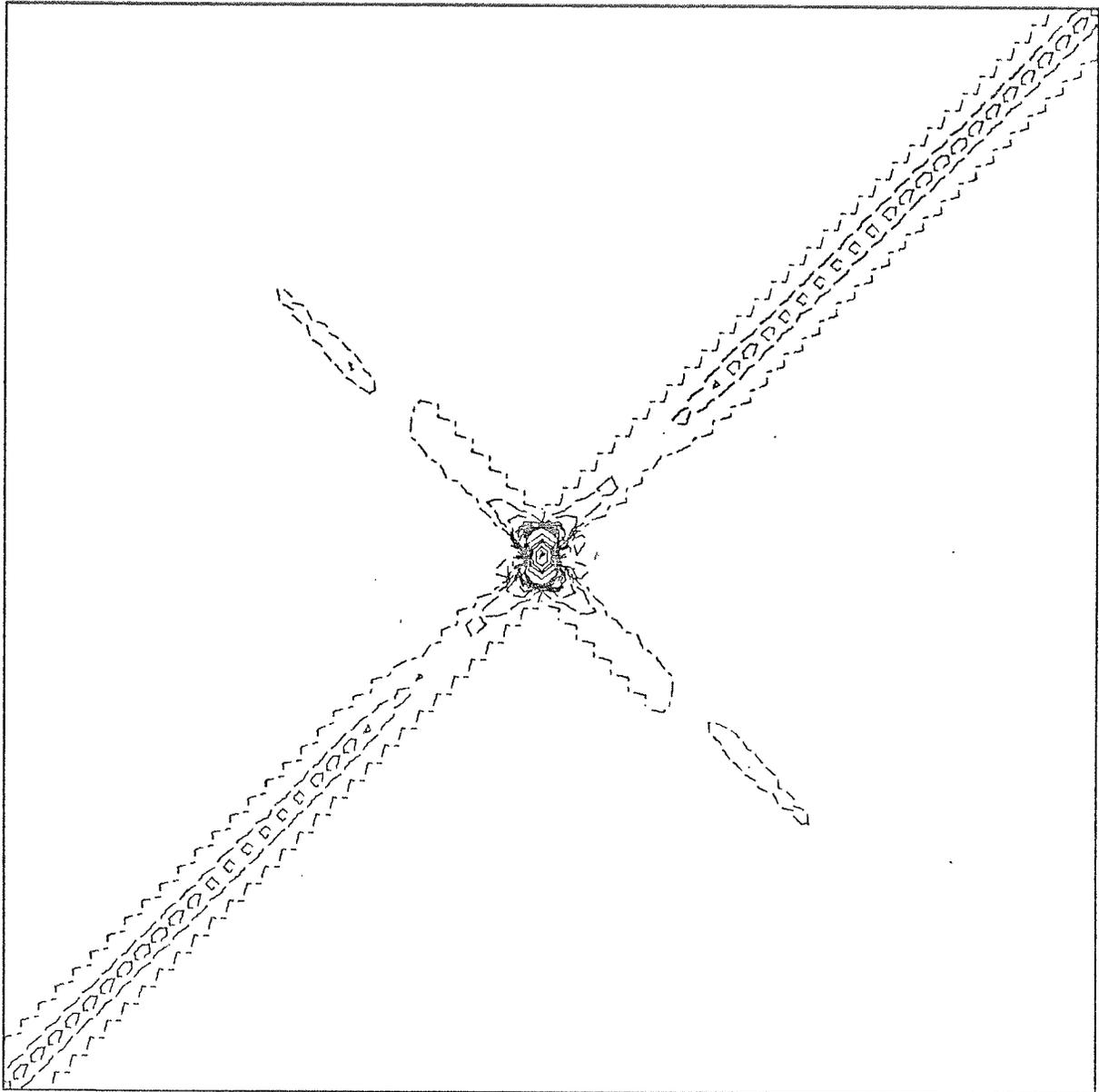


Abb. 9.1 Rekonstruktion eines Bildpunktes bei kegelförmiger Kippung, rekonstruiert aus 35 Projektionen bei einem Kegelwinkel von 45 Grad. Der Schnitt durch den Bildpunkt ist unsymmetrisch zur z-Achse wegen der ungeraden Anzahl der zur Rekonstruktion verwendeten Projektionen. Schichtlinien:----- 1%<0, - - - - - 0-Linie, - - - - - 1%>0 <10% ———— 10%, 20%, 40%, ...100%. Jeweils bezogen auf das Maximum des Bildpunktes.

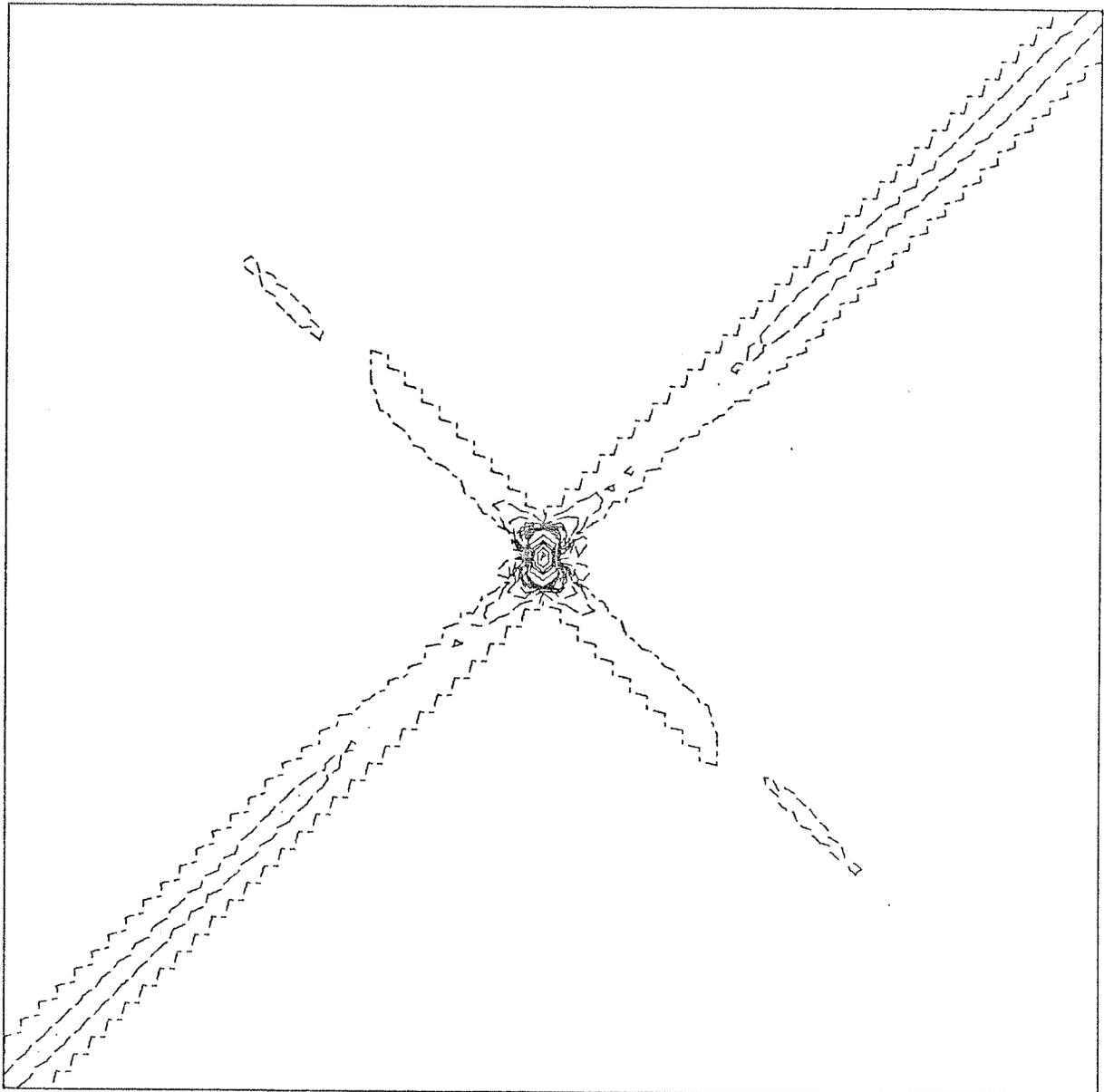


Abb. 9.2 Rekonstruktion eines Bildpunktes, rekonstruiert aus 45 Projektionen bei einem Kegelwinkel von 45 Grad. Der Schnitt durch den Bildpunkt ist unsymmetrisch zur z-Achse wegen der ungeraden Anzahl der zur Rekonstruktion verwendeten Projektionen. Schichtlinien: ----- 1% < 0, - - - - - 0-Linie, - - - - - 1% > 0 < 10% ———— 10%, 20%, 40%, ... 100%. Jeweils bezogen auf das Maximum des Bildpunktes.

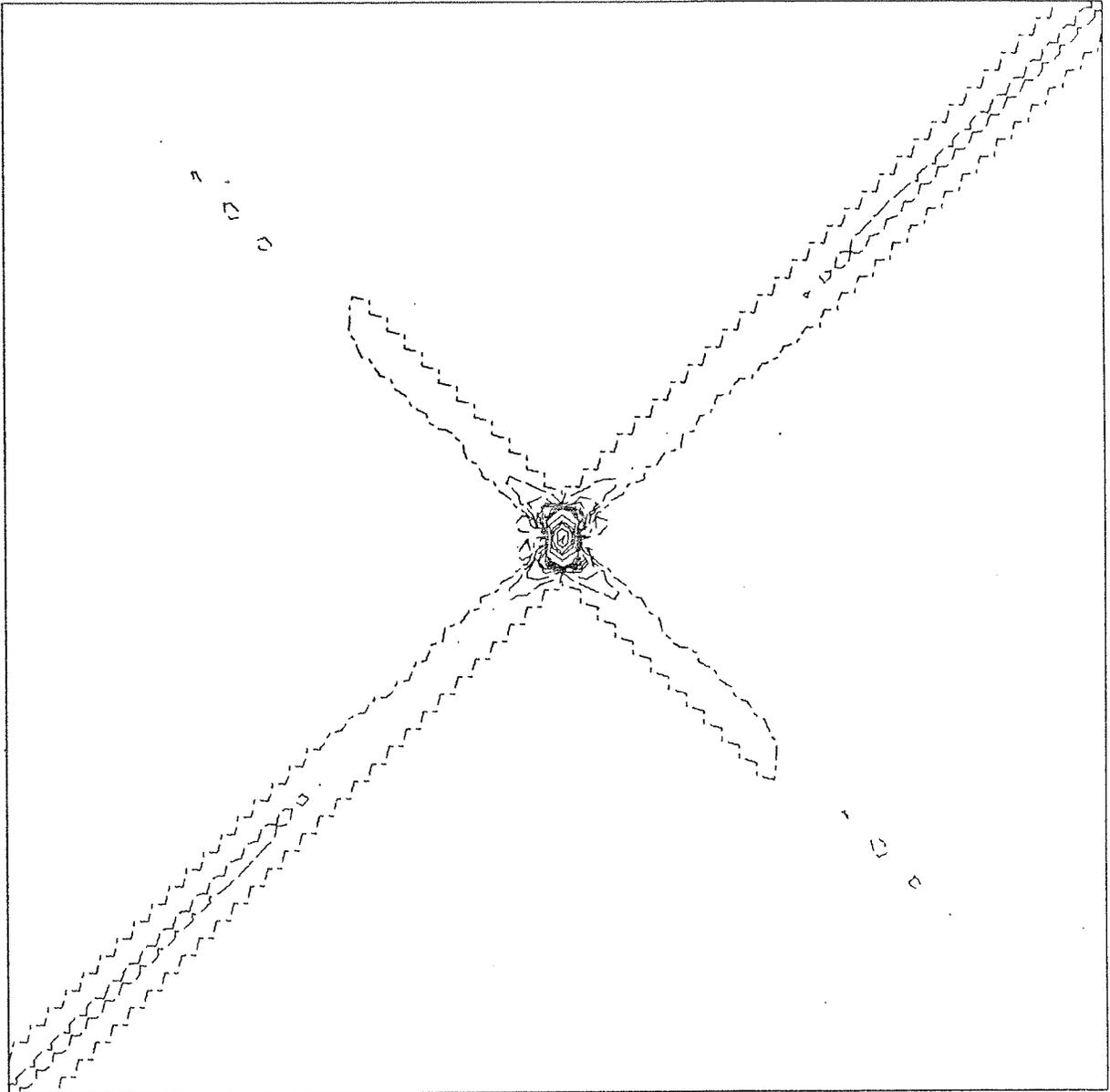


Abb. 9.3 Rekonstruktion eines Bildpunktes, rekonstruiert aus 55 Projektionen bei einem Kegelwinkel von 45 Grad. Der Schnitt durch den Bildpunkt ist unsymmetrisch zur z-Achse wegen der ungeraden Anzahl der zur Rekonstruktion verwendeten Projektionen. Schichtlinien:----- 1%<0,----- 0-Linie,----- 1%>0 <10% ----- 10%, 20%, 40%, ...100%. Jeweils bezogen auf das Maximum des Bildpunktes.

9.2 Rekonstruktion eines Objektes mit vier Punkten.

Als weiteres Testobjekt wurde ein Objekt rekonstruiert, das aus vier Punkten besteht. Diese Punkte wurden so definiert, daß der Mittelpunkt den Wert 1 hatte und alle benachbarten Rasterpunkte in x , y , und z Richtung den Wert 0,5. Abb 9.2 zeigt das Originalobjekt. Die Projektionen wurden für einen Kegelwinkel von 45 Grad berechnet. Die Rekonstruktion wurde mit 25 Projektionen durchgeführt. In Abb. 9.3a ist eine Projektion des Objekts zu sehen und in Abb. 9.3b die gleiche Projektion nach der Wichtung im Fourierraum. Die durch die Wichtung erzeugten negativen Bereiche in der Nachbarschaft der Projektionspunkte in y^L -Richtung sind deutlich erkennbar. Abb. 9.4 zeigt die Rekonstruktion des Objekts mit einfacher Rückprojektion. Man sieht, daß bei der einfachen Rückprojektion die Punkte verbreitert sind, was in der relativen Verstärkung der niedrigen Ortsfrequenzen durch die Rückprojektion seine Ursache hat. Abb. 9.5 zeigt noch einmal das Originalobjekt, das jedoch in der Weise modifiziert wurde, daß in der Fouriertransformierten des Objekts der bei Kegelkipfung nicht bestimmbare Doppelkegel explizit mit 0 belegt wurde. Dieses modifizierte Objekt stellt also die optimal erreichbare Rekonstruktion dar.

In Abb. 9.6 ist die Rekonstruktion dieses Objektes durch gewichtete Rückprojektion gezeigt. Die Bildpunkte zeigen eine weit geringere Ausdehnung als in Abb. 9.4, der einfachen Rückprojektion, was auf die Anhebung der hohen

Ortsfrequenzen durch die Wichtung zurückzuführen ist. Die Auflösung der Rekonstruktion wurde nach (7.63) berechnet und beträgt das 1,4-fache der Auflösung des Originalobjektes. Sowohl im modifizierten Objekt wie in der Rekonstruktion ist deutlich die Auswirkung der Elongation der Bildpunkte in z-Richtung zu sehen, die sich in einer Ausdehnung der vier Punkte über eine größere Anzahl von Ebenen zeigt.

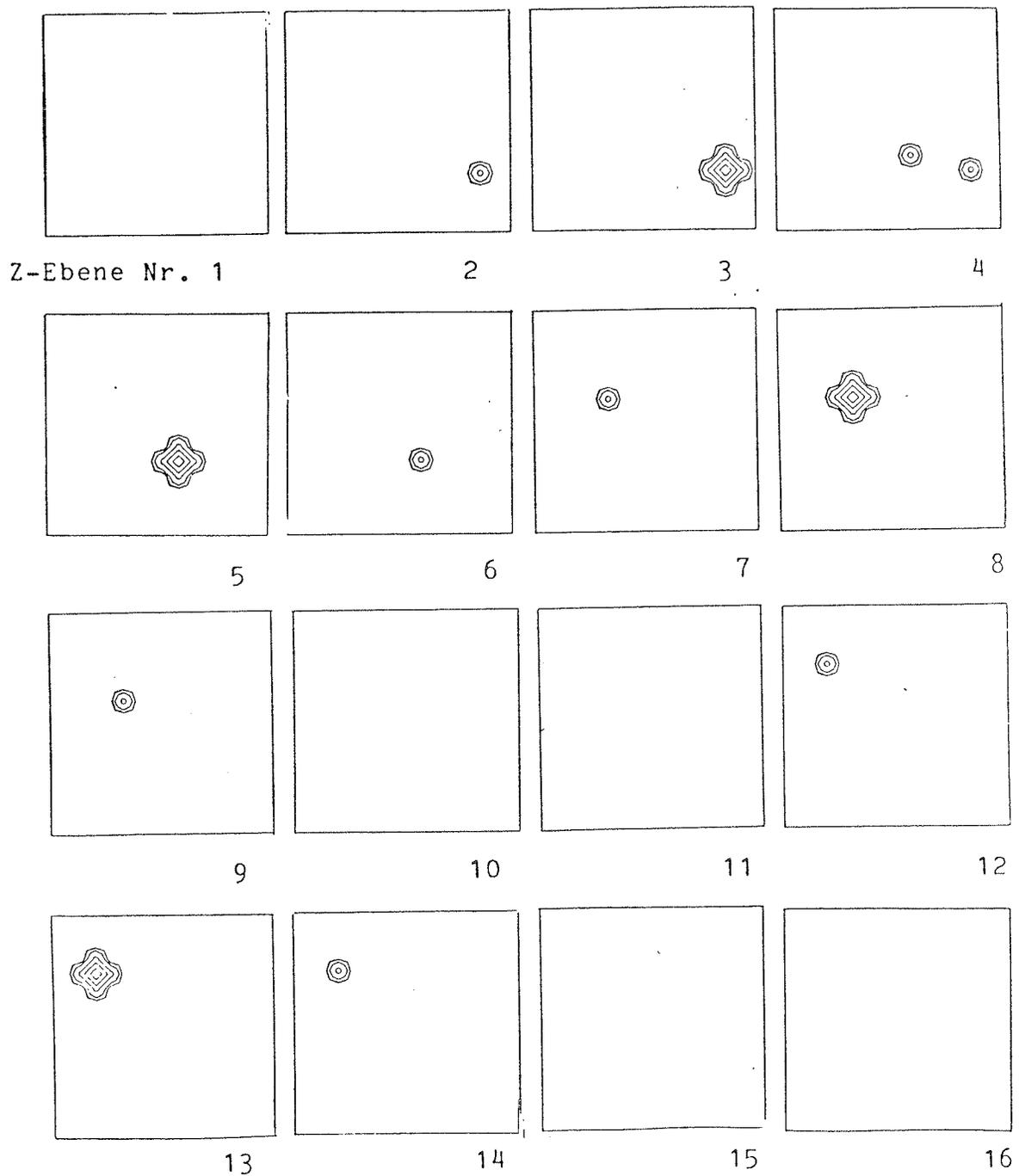


Abb. 9.4 Objekt mit vier Punktbereichen. 16 Schichten in z-Richtung. Die Punkte liegen in der 3., 5., 8. und 13. Ebene. Höhenlinien: ----- -10%, -20%, -30%..., ———— 10%, 20%, 40%, ..100% bezogen auf das Maximum des dreidimensionalen Objekts. Nulllinie nicht eingezeichnet.

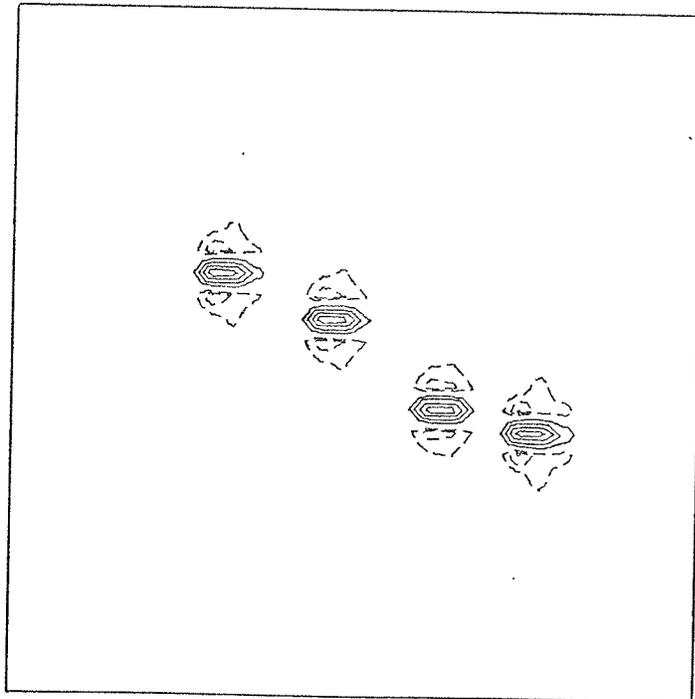
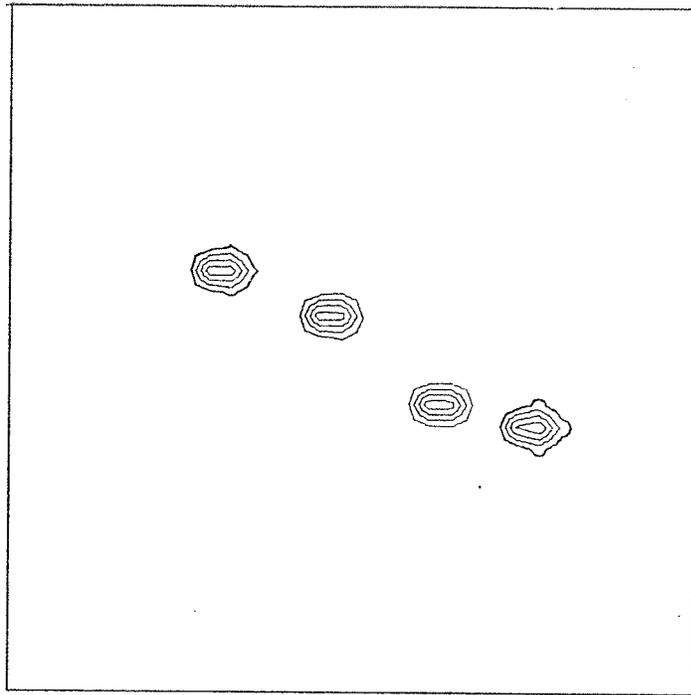


Abb. 9.5 Projektion des '4-Punkt Objekts'. a) Projektion ohne Wichtung. b) gewichtete Projektion. Kegelwinkel 45 Grad, Azimutwinkel 0 Grad. Höhenlinien: -10%, -20%, -30%..., ————— 20%, 40%, ..100% bezogen auf das Maximum der Projektion. Nulllinie nicht eingezeichnet.

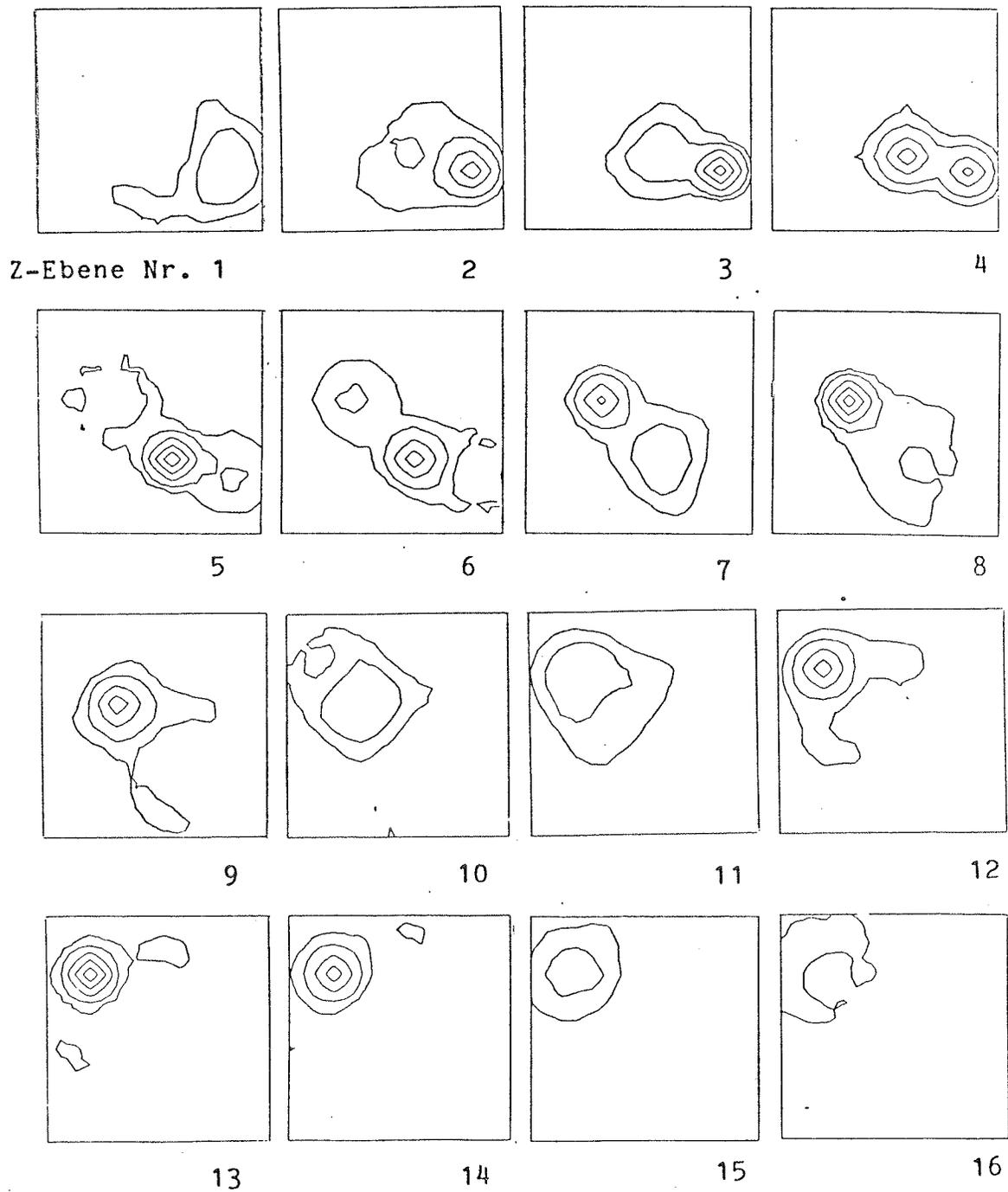


Abb. 9.6 Einfache Rückprojektion des '4-Punkt Objekts'.
 Höhenlinien: - - - - -10%, -20%, -30%..., ———
 10%, 20%, 40%, ..100% bezogen auf das Maximum der
 dreidimensionalen Verteilung. Nulllinie nicht
 eingezeichnet.

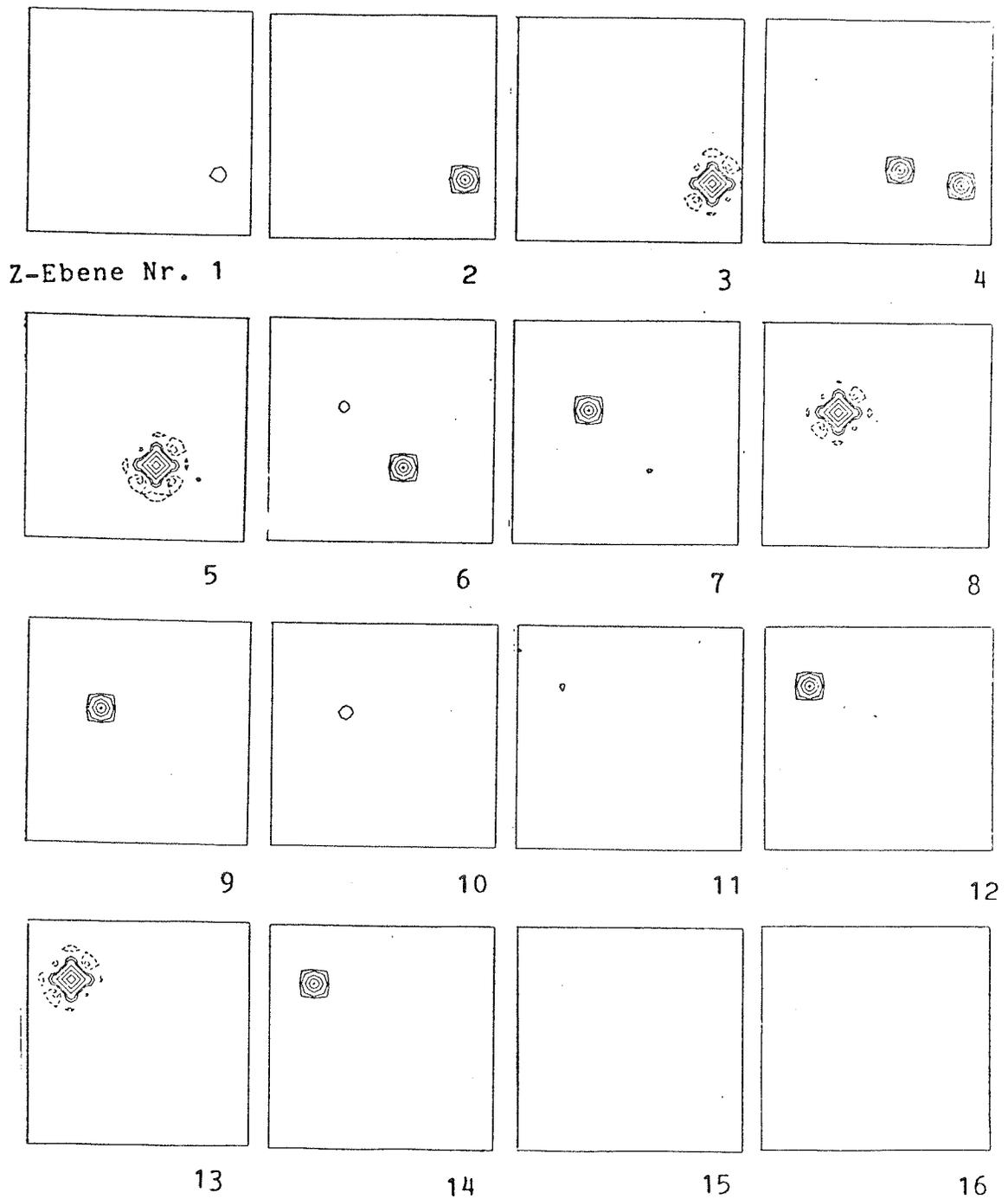


Abb. 9.7 Modifiziertes '4-Punkt Objekt'. Höhenlinien: - - - - -10%, -20%, -30% . . . 10%, 20%, 40%, ..100% bezogen auf das Maximum der dreidimensionalen Verteilung. Nulllinie nicht eingezeichnet.

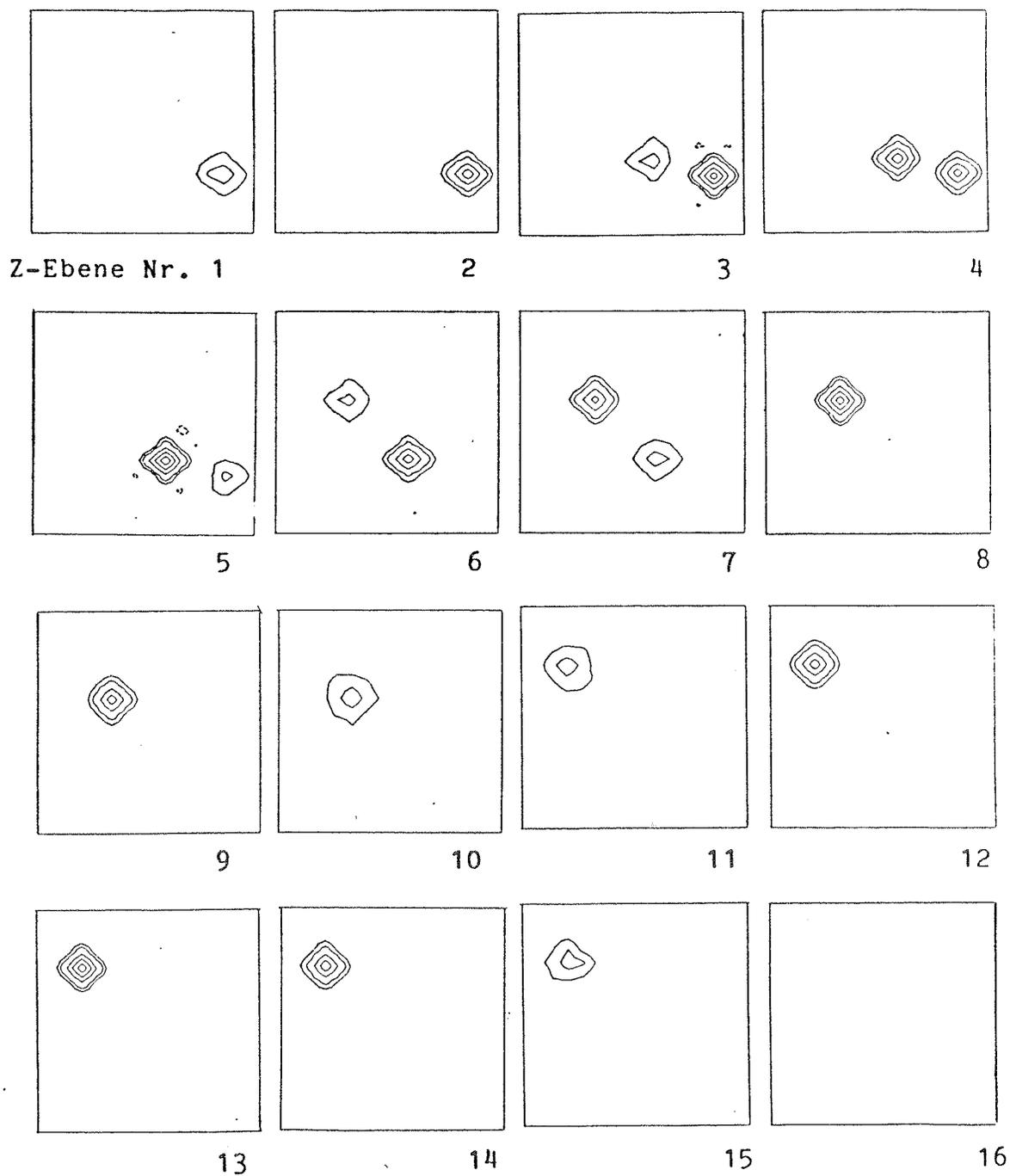


Abb. 9.8 Gewichtete Rückprojektion des '4-Punkt Objekts'
 Höhenlinien: ----- -10%, -20%, -30%...,
 ——— 10%, 20%, 40%, ..100% bezogen auf das
 Maximum der dreidimensionalen Verteilung. Nulllinie
 nicht eingezeichnet.

9.3 Rekonstruktion einer rechnerisch erzeugten Kohlefolie mit zwei Ta_6Br_{12} Molekülen.

Als komplexeres Objekt wurde ferner eine rechnerisch erzeugte Kohlefolie mit zwei Tantalbromidmolekülen verwandt. Diese Folie wurde mit Hilfe der Streuamplituden nach Haase berechnet / 33 / und dient hier am Institut als Standardobjekt zum Test dreidimensionaler Rekonstruktionsverfahren. Die Folie besteht aus einem Quader mit 32 Rasterpunkten in x- und y-Richtung und 16 Schichten in z-Richtung. Dies entspricht einer Ausdehnung von 5nm in x-y-Richtung und einer Größe von 2,5nm in z-Richtung. Abb. 9.7 zeigt das Originalobjekt. In Abb. 9.8 ist wieder eine Projektion der Folie zu sehen und daneben die entsprechende gewichtete Projektion. Der Kegelöffnungshalbwinkel betrug 45 Grad. Es wurden 45 Projektionen zur Rekonstruktion verwandt. Abb. 9.9 zeigt die Rekonstruktion der Folie durch einfache Rückprojektion. Abb. 9.10 das modifizierte Objekt, bei welchem wieder wie in Abb 9.5 der nicht bestimmbare Doppelkegel in der Fouriertransformierten des Objekts auf null gesetzt wurde. Abb. 9.11 schließlich zeigt die Rekonstruktion der Ta_6Br_{12} -Folie mit Hilfe der gewichteten Rückprojektion. Wieder zeigt ein Vergleich von Abb. 9.9 mit Abb. 9.11, daß die hohen Ortsfrequenzen in der gewichteten Rückprojektion wesentlich besser berücksichtigt werden als in der einfachen Rückprojektion.

Vergleicht man die gewichtete Rückprojektion in Abb. 9.11 mit dem modifizierten Objekt in Abb. 9.10, so

sieht man, daß die gewichtete Rückprojektion sehr gut mit dem modifizierten Objekt übereinstimmt. Es hat eher den Anschein, als ob die gewichtete Rückprojektion eine bessere Übereinstimmung mit dem Originalobjekt zeigt, als das modifizierte Objekt. Dies kann darin begründet sein, daß die Bedingung, daß alle im unbestimmten Doppelkegel liegenden Fourierkoeffizienten den Wert null haben, zu streng ist, da die Fourierkoeffizienten am Rand des Doppelkegels wegen des begrenzten Objektvolumens durchaus noch in den unbestimmten Bereich hineinwirken.

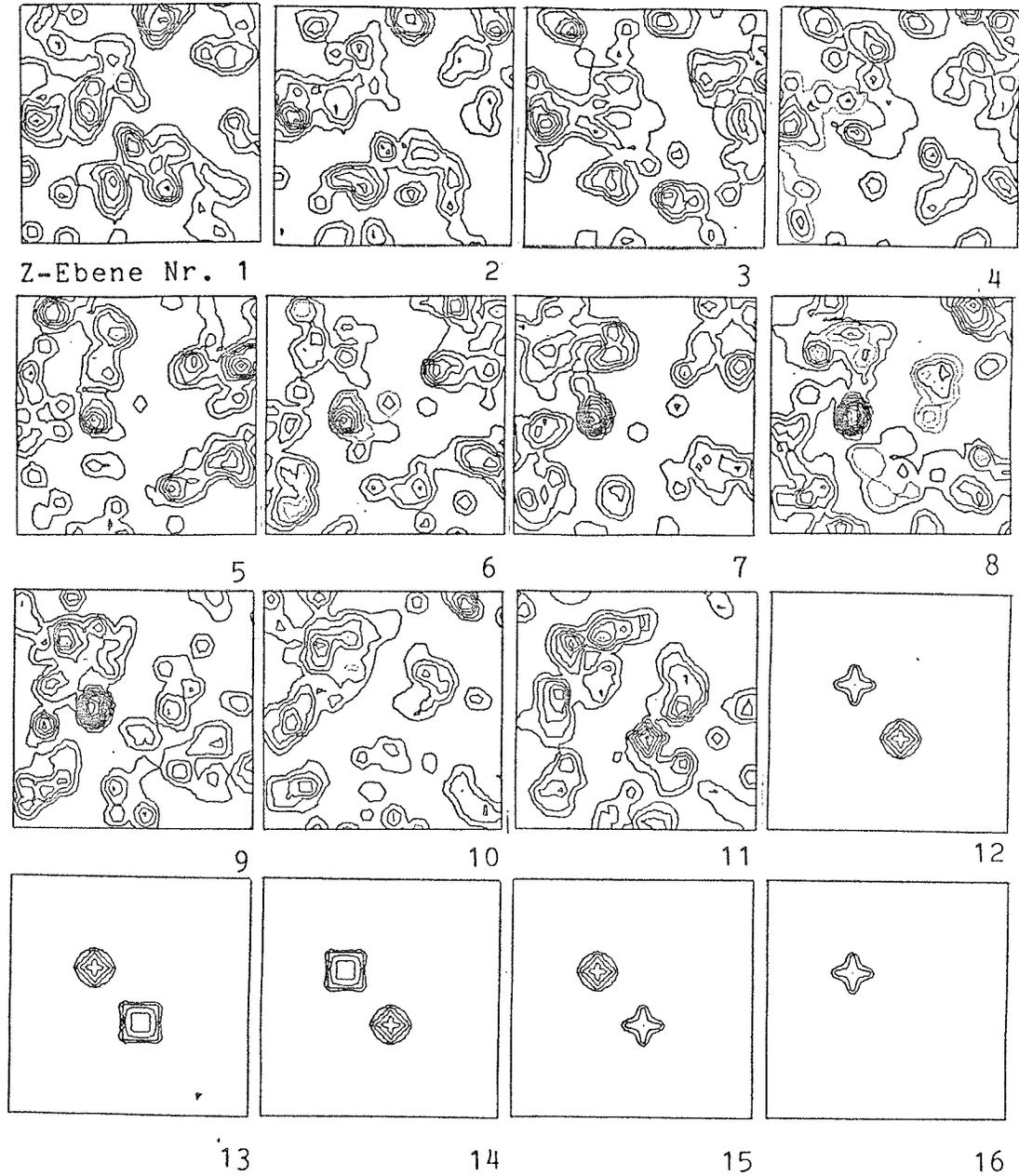
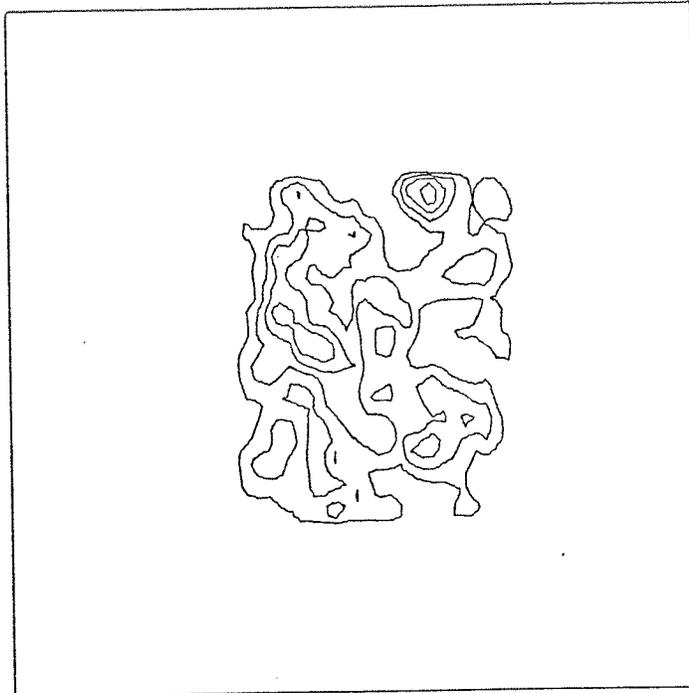
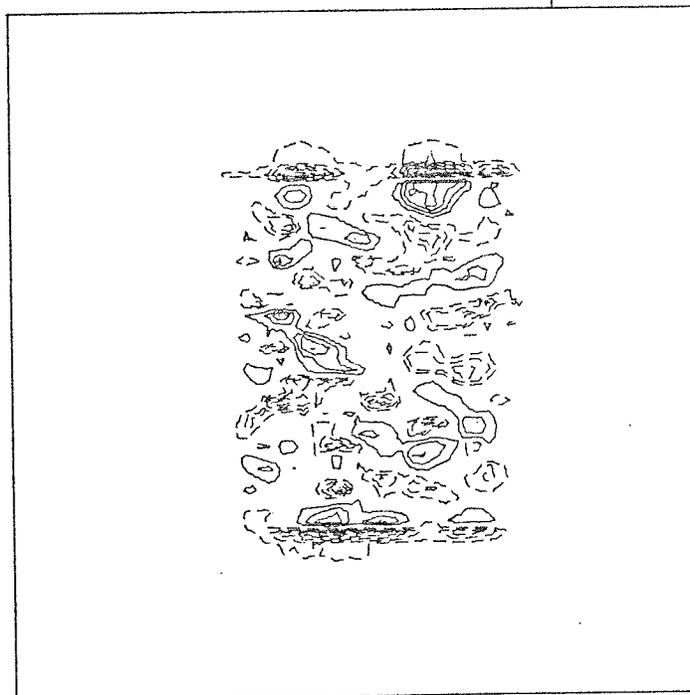


Abb. 9.9 Rechnerisch erzeugte Kohlefolie mit zwei Ta_6Br_{12} Molekülen. Schichtlinienabstand 10% des Maximums der dreidimensionalen Dichteverteilung. - - - - - <0 , ———— >0 . Nulllinie nicht eingezeichnet.



a)



b)

Abb. 9.10 Projektion der Tantalbromid-Folie. Kegelwinkel 45 Grad, Azimutwinkel 0 Grad. a) Projektion ohne Wichtung. b) Projektion nach der Wichtung. Schichtlinienabstand ----- 10% <0, _____ 20%, 40% ...100%; bezogen auf das Maximum der Projektion. Nulllinie nicht eingezeichnet.



Abb. 9.11 Einfache Rückprojektion der Tantalbromid-Folie.
 Schichtlinien 10% des Maximums. - - - - - <0 , ——— >0 . Nulllinie nicht eingezeichnet.

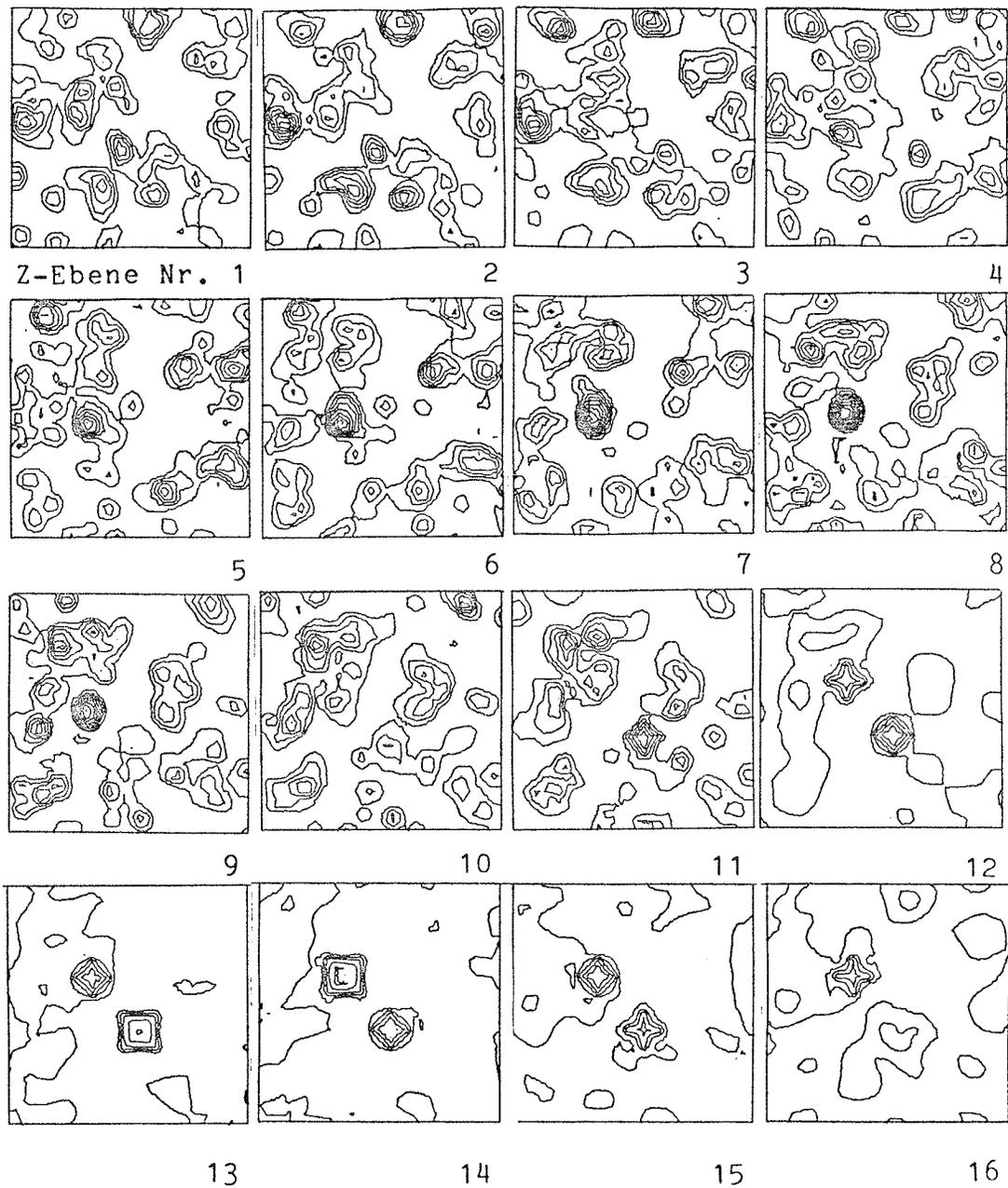


Abb. 9.12 Modifizierte Tantalbromid-Folie. Schichtlinien 10% des Maximums. --- <0, ——— >0. Nulllinie nicht eingezeichnet.

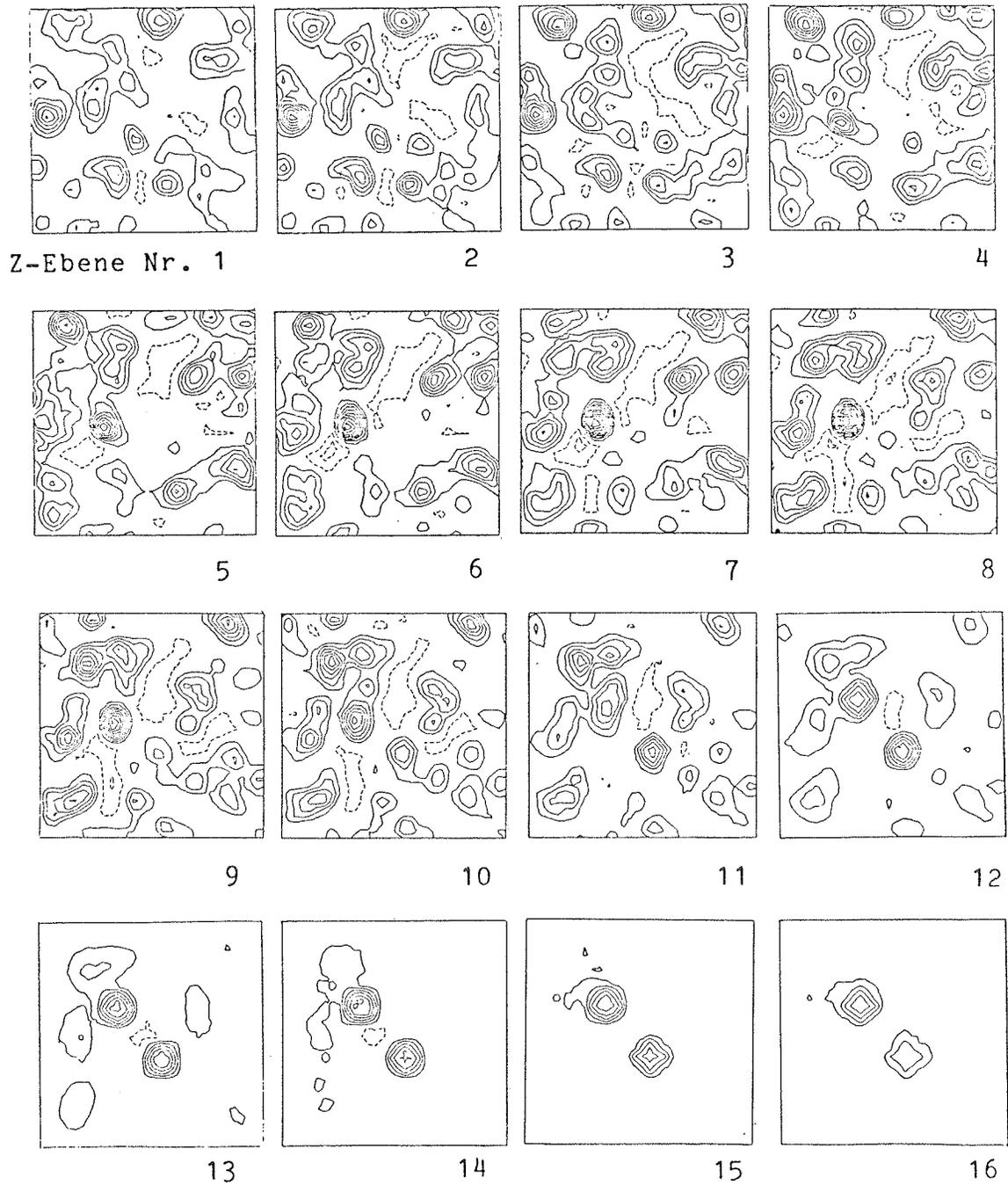
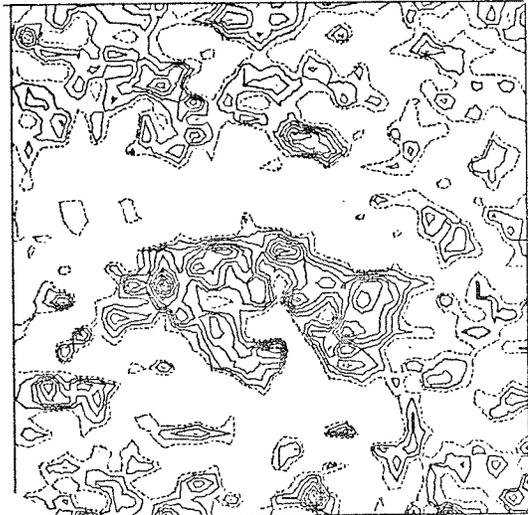
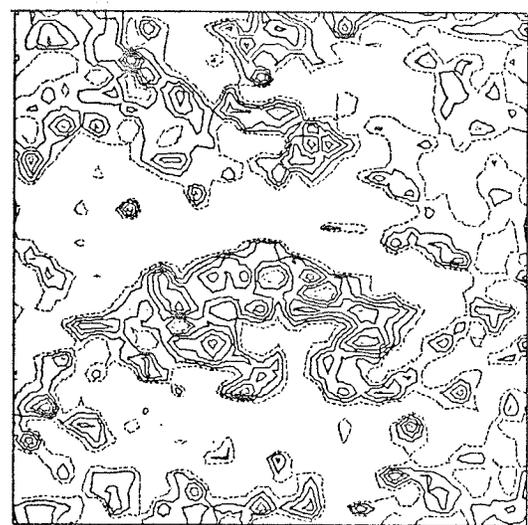
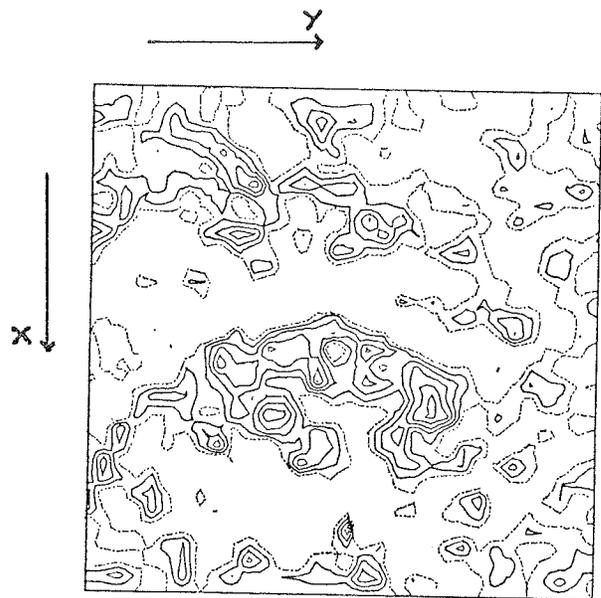


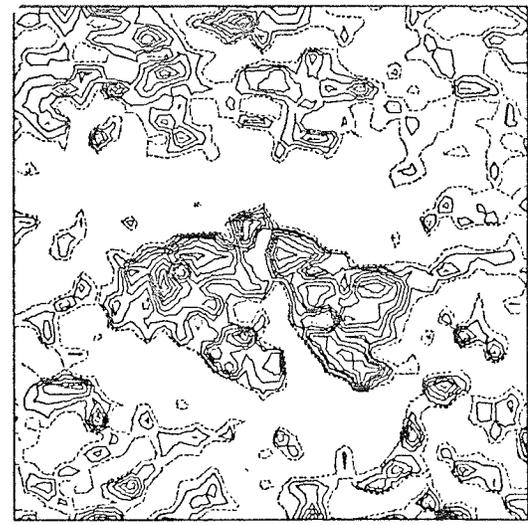
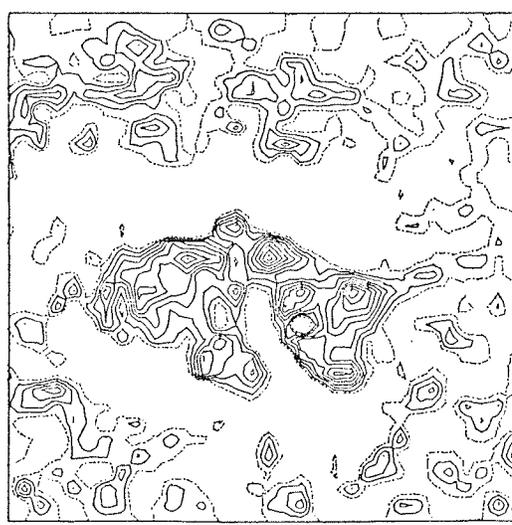
Abb. 9.13 Gewichtete Rückprojektion der Tantalbromid-Folie.
 Schichtlinien 10% des Maximums. - - - - - <0 , ———— >0 . Nulllinie nicht eingezeichnet.

9.4 Rekonstruktion einer 30S Ribosomenuntereinheit aus achsengekippten Projektionen.

Da die Einachsenkipfung einen Spezialfall der kegelförmigen Kippung darstellt, wurde zum Test des Verfahrens auch eine Rekonstruktion mit achsengekippten Projektionen einer 30S Untereinheit von Ribosomen durchgeführt, von welchen schon eine Rekonstruktion nach dem Verfahren von Cormack und Smith an unserem Institut durchgeführt wurde /15,16/. Abb. 9.12a zeigt einige Schichten der Rekonstruktion nach dem Cormack-Smith Verfahren. Abb. 9.12b die Rekonstruktion aus den gleichen Projektionen mit der gewichteten Rückprojektion. Die Auflösung wurde in Abb. 9.12b durch zylinderförmige Begrenzung des Fourierraumes auf 1.6 nm begrenzt, was der nach (7.63) erreichbaren Auflösung entspricht. Bei der Rekonstruktion nach dem Cormack-Smith Verfahren wird diese durch die Anzahl der Projektionen bedingte Auflösungsbegrenzung implizit durchgeführt. Bei der gewichteten Rückprojektion muß diese Auflösungsbegrenzung durch eine entsprechende Filterung der rekonstruierten Objektdichte explizit berücksichtigt werden. Der nullte Fourierkoeffizient wurde in der Fouriertransformierten der Projektionen auf null gesetzt, sodaß der Mittelwert der Projektionen und der Rekonstruktion 0 ist.



2 mm
└───┘



a)

b)

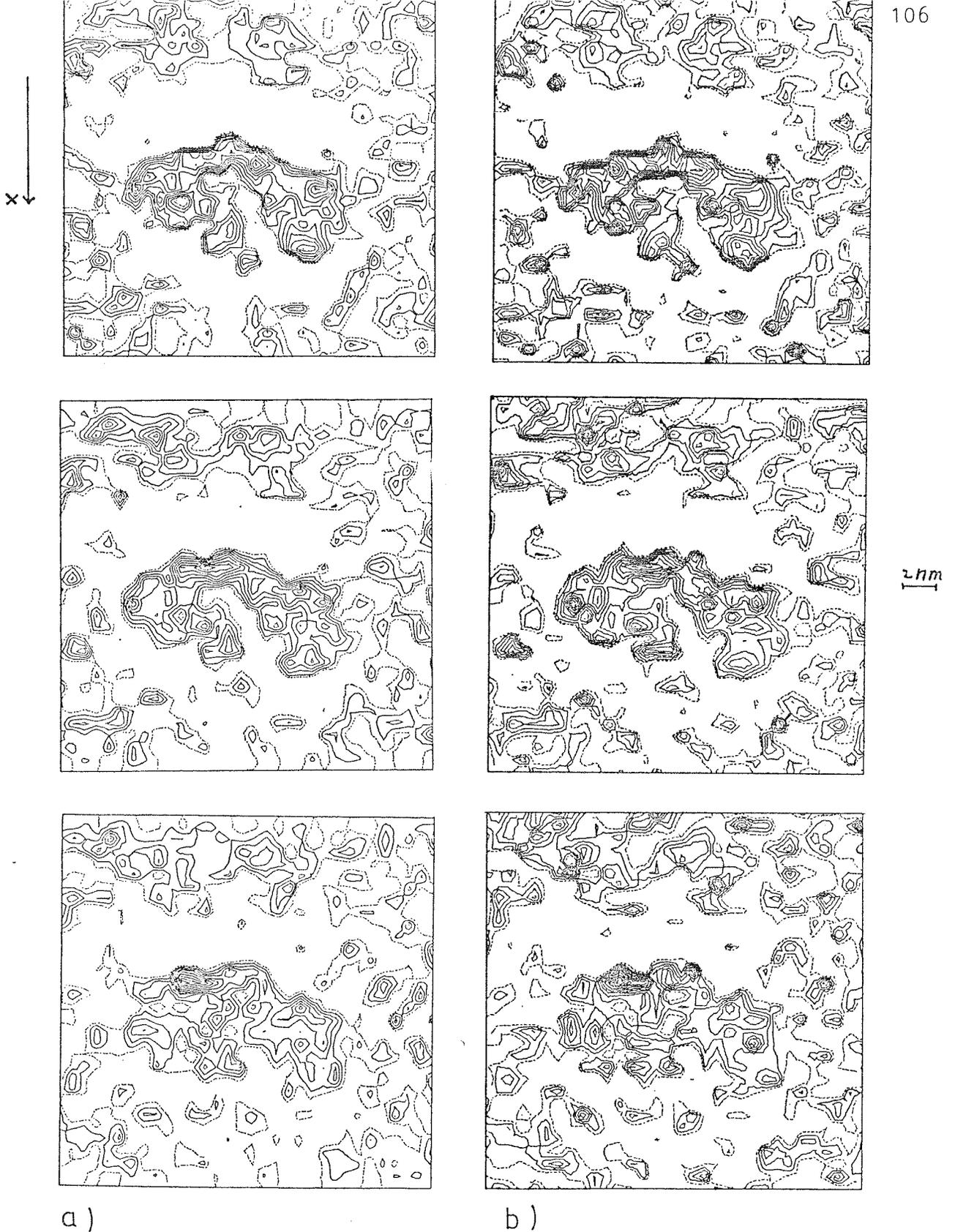


Abb. 9.14 Rekonstruktion einer 30s Ribosomenuntereinheit aus einachsengekippten Projektionen. Gezeigt sind die 6 mittleren Schichten. Durchmesser des zylinderförmigen Rekonstruktionsvolumens 22 nm a) rekonstruiert nach dem Cormack-Smith Verfahren. b) rekonstruiert mit der gewichteten Rückprojektion. Schichtlinienabstand: 10% $\langle 0$ des Minimums der dreidimensionalen Verteilung. ----- Nulllinie. Geringe Unterschiede in den absoluten Höhen der Schichtlinien in a) und b) sind möglich.

10. Anwendung des Rekonstruktionsverfahrens auf eine Serie kegelförmig gekippter Projektionen von Hefefettsäuresynthetase.

Mit dem in Kap. 6 beschriebenen Rekonstruktionsverfahren wurde eine Serie kegelförmig gekippter Projektionen von Hefefettsäuresynthetase ausgewertet, die von Herrn U. Jakubowski mit einem Transmissionselektronenrastermikroskop aufgenommen wurde. Die Serie bestand aus 36 Projektionen mit einem Winkelabstand $\Delta\varphi$ von 10 Grad und einem Kegelwinkel von 45 Grad. Daraus ergibt sich nach (7.63) eine erreichbare Auflösung in der Rekonstruktion in x-y-Richtung von $1/8$ der Kantenlänge des Rekonstruktionsvolumens. Die erreichbare Auflösung in z-Richtung beträgt nach (7.22) $1/6$ der Kantenlänge. Der rekonstruierte Bereich war ein Würfel mit Kantenlänge 27nm, die Auflösung beträgt somit 3,38nm bzw. 4,5nm. Die Aufnahmeserie, die der Rekonstruktion zugrunde liegt, ist eine der ersten Serien, die bei kegelförmiger Kippung im Transmissionrastermikroskop aufgenommen wurde, sodaß die experimentelle Technik bei der Aufnahme der Projektionen noch unvollkommen war. Die Gesamtelektronendosis der Serie beträgt $2,4 \times 10^6$ e/nm², was eine so hohe Dosis ist, daß außer der Zerstörung des Moleküls auch Veränderungen im stabilisierenden Stain auftreten. Die Auswertung dieser Serie ist somit hauptsächlich als ein Test des Rekonstruktionsverfahrens zu werten. Eine der Projektionen ist in Abb. 10.1 zu sehen. Zwei Projektionen der Serie waren nicht verwertbar und wurden

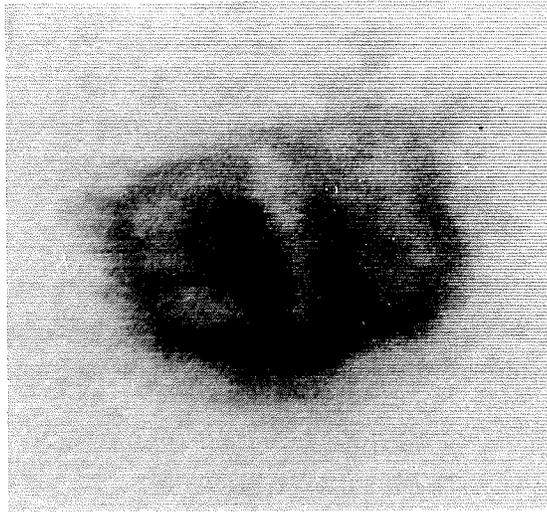


Abb. 10.1 Aufnahme der Hefefettsäuresynthetase bei kegelförmiger Kippung. Kegelwinkel 45 Grad, Azimutalwinkel 180 Grad. Die Aufnahme wurde im Transmissionrasterelektronenmikroskop gemacht.

durch Nullprojektionen ersetzt. Bei der Berechnung der Auflösung der Rekonstruktion ist das Fehlen dieser beiden Aufnahmen nicht berücksichtigt.

Die Projektionen wurden nach dem in Kap. 8 angegebenen Schema sequentiell aufeinander korreliert. Da außer der Null Grad Projektion auch die 360 Grad Projektion vorlag, wurde zum Test der Güte der Korrelation auch die letzte Projektion auf die erste korreliert. Hierbei zeigte sich ein Fehler in der Bestimmung der Lage des Nullpunktes von weniger als 0,2nm. Dieser Betrag liegt weit unterhalb der Auflösung in der Rekonstruktion, sodaß der dadurch verursachte Fehler vernachlässigbar ist.

Sowohl in der Fouriertransformierten der Projektion wie in der Rekonstruktion wurde der nullte Fourierkoeffizient null gesetzt, sodaß der Mittelwert der Projektionen wie der der Rekonstruktion den Wert null hat.

Zwei mittlere Schichten der Rekonstruktion sind in Abb. 10.2 und 10.3 zu sehen. Die vollständige Rekonstruktion ist im Anhang 2 abgebildet. Abb. 10.2 zeigt x-y Schichten parallel zur Trägerfolie, Abb. 10.3 zeigt y-z Schichten mit einer Kantenlänge von 27nm. Das Raster der Rekonstruktion ist ein Würfel mit 32 Rasterpunkten. Der Schichtlinienabstand in der folgenden Abbildung beträgt 10% des Minimums der dreidimensionalen Rekonstruktion. Die Auflösung wurde durch Ausschneiden einer Kugel im Fourierraum nach der Rekonstruktion auf 1,5nm begrenzt, was ungefähr dem doppelten Betrag der tatsächlich in der dreidimensionalen Rekonstruktion erreichten Auflösung entspricht. Trotz der relativ schlechten Auflösung und der ungünstigen Aufnahmebedingungen zeigt die Rekonstruktion eine gute Übereinstimmung mit früheren Rekonstruktionen der Hefefettsäuresynthetase, die an unserem Institut mit Einachsenkipfung durchgeführt wurde /53,54/. So ist deutlich der ovale Hohlkörper mit der inneren Trennwand zu erkennen.

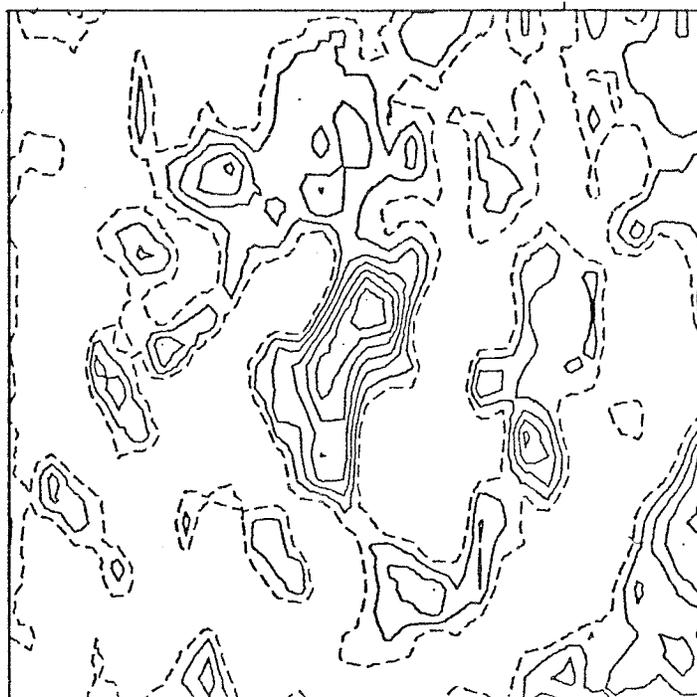


Schicht Nr. 17

3.0 nm

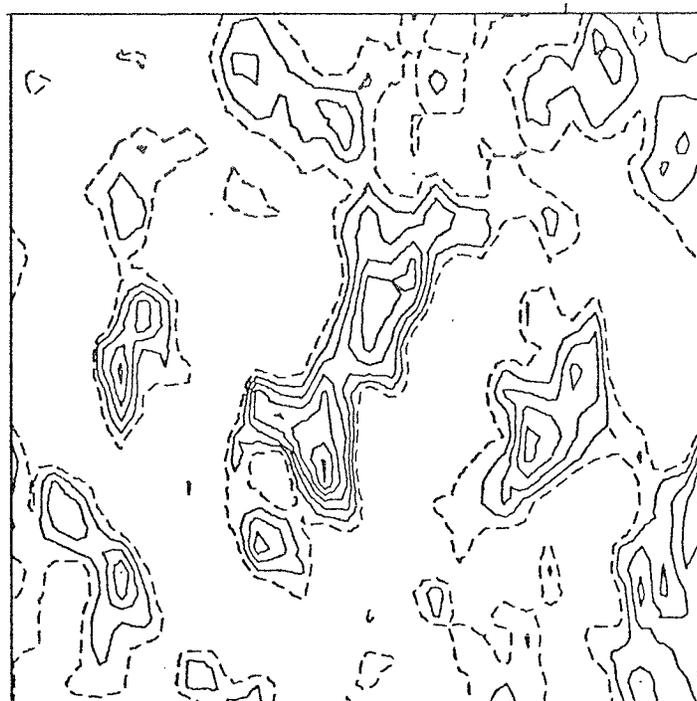

Schicht Nr. 18

Abb. 10.2 Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase bei kegelförmiger Kippung. Darstellung in x-y Ebenen senkrecht zur Trägerfolie. Schichtlinienabstand 10% < 0 des Minimums der dreidimensionalen Objektdichteverteilung. - - - - - Nulllinie.



Schicht Nr. 17

3.0 nm



Schicht Nr. 18

Abb. 10.3 Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase bei kegelförmiger Kippung in y-z Ebenen. Rekonstruktion aus 35 Projektionen bei einem Kegelwinkel von 45 Grad. 10% Linien <0. - - - - - Nulllinie.

11. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein neues Rekonstruktionsverfahren zur dreidimensionalen Rekonstruktion aus kegelförmig gekippten Projektionen entwickelt. Als Verfahren wurde eine gewichtete Rückprojektion gewählt, da diese einen wohldefinierten Bildpunkt liefert, über dessen Ausdehnung und Artefakte sich exakte Aussagen machen lassen. Die für dieses Verfahren notwendige Gewichtsfunktion wurde aus der Belegungsdichte der Fouriertransformierten eines mit einfacher Rückprojektion dreidimensional rekonstruierbaren Bildpunktes berechnet. Die Auswirkung der Wichtung mit dieser Gewichtsfunktion ist eine Verstärkung der hohen Ortsfrequenzen im Vergleich zu einer einfachen Rückprojektion und entsprechend eine Abschwächung der niedrigen Ortsfrequenzen. Es wurde gezeigt, daß diese Gewichtsfunktion im Grenzfall der Kippung um eine waagerechte Achse senkrecht zur z-Achse in die bereits bekannte Gewichtsfunktion /39/ für Einachsenkipfung übergeht.

Ferner wurde eine ausführliche Analyse der Qualität der dreidimensionalen Rekonstruktion bei kegelförmiger Kippung durchgeführt und mit den entsprechenden Werten für Achsenkipfung verglichen. So wurde für kegelförmige Kippung die Abhängigkeit der in der Rekonstruktion erreichbaren Auflösung von der Anzahl der Projektionen und dem Kegelwinkel berechnet und der Clutter des dreidimensionalen Bildpunktes anhand von Testrechnungen untersucht. Ferner wurde die Elongation des Bildpunktes in Abhängigkeit vom

Kegelwinkel berechnet.

Ein Vergleich der kegelförmigen Kippung mit der Einachsenkippung zeigt, daß bei gleicher Auflösung des dreidimensionalen Bildpunktes, bei der Einachsenkippung senkrecht zur Kippachse und zur Strahlrichtung, bei der kegelförmigen Kippung senkrecht zur Strahlrichtung, bei kegelförmiger Kippung mehr Projektionen erforderlich sind als bei Einachsenkippung. Diese Mehrinformation durch die größere Projektionsanzahl hat zum einen eine geringere Verzerrung des dreidimensionalen Bildpunktes und eine wesentliche Verringerung des Clutters zur Folge. Der mittlere Clutter eines Punktes im vollständig bestimmten Rekonstruktionsvolumen beträgt bei kegelförmiger Kippung nur etwa die Hälfte des Clutters bei Einachsenkippung. Noch günstiger ist der Vergleich einer Schnittebene durch den Bildpunkt, bei Achsenkippung senkrecht zur Kippachse, mit einer beliebigen Ebene parallel zur z-Achse bei kegelförmiger Kippung. Hier verringert sich der Clutter bei Kegelkippung auf nur 10-20% des bei Einachsenkippung ermittelten Wertes.

Mit dem Rekonstruktionsverfahren wurde eine Reihe von Testrechnungen durchgeführt. Als komplexeres Objekt wurde eine rechnerisch erzeugte Kohlefolie mit zwei Ta Br -Molekülen rekonstruiert. Die erhaltenen Ergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung mit dem Originalobjekt und eine sehr gute Übereinstimmung mit dem "modifizierten Objekt", bei welchem der bei kegelförmiger Kippung unbestimmbare Bereich in der Fouriertransformierten des Ausgangsobjekts explizit

null gesetzt wurde. Die gute Übereinstimmung des rekonstruierten Objektes mit dem modifizierten Objekt ist ein Beweis für die Leistungsfähigkeit des Rekonstruktionsverfahrens.

Ferner wurde das neu entwickelte Rekonstruktionsverfahren auf eine Serie kegelförmig gekippter Projektionen von Hefefettsäuresynthetase, die im Transmissionsrastermikroskop aufgenommen wurden, angewandt. Hierbei wurde gleichzeitig das in Kap. 8 angegebene Korrelationsverfahren zur Bestimmung des gemeinsamen Nullpunktes der Projektionen angewandt, welches nach einer sequentiellen Korrelation von 36 Aufnahmen einen Verschiebungsfehler von weniger als 0,2nm aufwies, was unterhalb der Auflösung in den Projektionen lag. Es existieren Rekonstruktionen der Hefefettsäuresynthetase die schon früher an unserem Institut bei Einachsenkipfung durchgeführt wurden /53,54/. Deshalb war dies ein geeignetes Objekt, um das neue Rekonstruktionsverfahren zu überprüfen. Die Rekonstruktion zeigt bei kegelförmiger Kippung eine gute Übereinstimmung mit den früheren Rekonstruktionen. Es ist deutlich der ovale Hohlkörper des Moleküls und die innere Trennwand zu sehen.

12. Anhang 1: Kontrollworte und Prozeduren.

Die Programme zur Durchführung der Berechnungen im Zusammenhang mit der dreidimensionalen Rekonstruktion aus kegelförmig gekippten Projektionen wurden in das am Institut existierende EM-System zur Bildverarbeitung elektronenmikroskopischer Aufnahmen implementiert. In diesem System sind Kontrollworte definiert, mit welchen der Benutzer bestimmte Programmteile anwenden kann. Als Beispiel sei das Kontrollwort FOUR A -1 angegeben. Dieser Aufruf bewirkt die Fouriertransformation des zwei oder dreidimensionalen Feldes A vom direkten Raum in den Fourierram. FOUR A 1 bewirkt entsprechend die Rücktransformation von A. Weiter gibt es Kontrollworte der sogenannten zweiten Ebene, die in Klammern hinter einem Kontrollwort angegeben werden. Als Beispiel sei CUT A n1 (IN n2) genannt. Hier wird durch den Aufruf von CUT das kreisförmige Abschneiden des äußeren Randes eines komplexen Feldes bewirkt. Mit dem zusätzlichen Aufruf IN wird auch noch ein kreisförmiger Bereich um den Nullpunkt ausgeschnitten. Das EM-System gestattet ferner die Definition von Prozeduren durch den Benutzer, in welchen die bei Kontrollworten fest anzugebenden Eingabedaten durch Variable der Form ?1, ?2... oder ?a ?b... angegeben werden. Diese Prozeduren erhalten einen frei wählbaren Namen. Durch diese Möglichkeiten läßt sich das System als höhere Programmiersprache auffassen, in der auch Laufschleifen durch mehrmaligen Aufruf von Prozeduren, sowie die Schachtelung von Prozeduren möglich

sind. Da das System bisher auf einer Siemens 4004 mit einem Kernspeicher von ca 1 Megabyte implementiert war, werden in vielen Programmen die Felder sukzessiv verarbeitet, indem nur immer ein Teil der Daten im Kernspeicher vorhanden ist und andere Teile auf Platte oder Band zwischengespeichert werden. Da die sukzessive Bearbeitung der Felder zeitaufwendig ist und bei nicht zu großen Feldern oft nicht notwendig ist, läßt sich bei den meisten Kontrollworten vom Benutzer angeben, ob die Programme sukzessiv arbeiten sollen oder nicht. Ferner gehört zu jedem Feld A, B, C... ein Datensatz, der sogenannte EM-Vektor, der ständig mit diesen Feldern gespeichert wird und feldspezifische Daten, wie die Vergrößerung, Feldgröße und Kippwinkel enthält. Für weitere Einzelheiten zum Programmsystem sei auf das EM-Manual verwiesen /64/.

Neu eingeführte Kontrollworte im EM-System:

Die neu in das EM-System eingefügten Programme werden über das Hauptkontrollwort MIREC aufgerufen. Die jeweilige Funktion wird durch ein zweites Kontrollwort der zweiten Ebene aufgerufen. Die Form der Aufrufe ist:

MIREC A /B/ /C/ (Kontrollwort2 n1 n2 n3...)

Die Anzahl der anzugebenden Felder A B C hängt vom zweiten Kontrollwort ab. Die in Schrägstrichen angegebenen Größen sind nur bei Bedarf anzugeben.

MIREC A (WTP)

WTP berechnet im Feld A den Realteil der Gewichtsfunktion zur Wichtung der Projektionen bei kegelförmiger Kippung. Der Kegelwinkel wird dem EM-Vektor entnommen.

MIREC A B (BPX /Q/ n1 n2 n3 n4 n5)

BPX berechnet die Rückprojektion der Projektion A in eine zweidimensionale x-y Ebene B der dreidimensionalen Bildverteilung. Die Rückprojektion des gesamten Objektes wird in einer Prozedur durchgeführt. Bedeutung der Eingabegrößen:

A Projektion

B Objektebene

Q Wird Q angegeben, so läßt sich das Programm nicht sukzessiv anwenden, arbeitet aber wesentlich schneller.

n1 z-Dimension des dreidimensionalen Objekts

n2, n3, n4 Rastereinheiten der dreidimensionalen Rekonstruktion in x-, y-, und z-Richtung.

n5 z-Koordinate der Objektebene B

Der Kegelwinkel sowie der Azimutwinkel der jeweiligen Projektion A wird dem EM-Vektor entnommen.

MIREC A B (BPZ /Q/ n1 n2 n3 n4 n5)

BPZ führt die Rückprojektion in y-z Ebenen aus. Entsprechend sind dann n1 und n5 Eingabegrößen für die x-Richtung.

MIREC A (CUT n1)

CUT n1 begrenzt ein zweidimensionales Feld kreisförmig und ein dreidimensionales Feld kugelförmig mit dem Radius von n1 Rasterpunkten. Der Aufruf läßt sich auf reelle und komplexe Felder anwenden.

MIREC A (MAX /V/ :?A :?B :?C :?D :?E :?F)

MAX bestimmt das Maximum des zweidimensionalen Feldes A. Bei mehrmaligem Aufruf von MAX wird das Maximum aller hintereinander aufgerufenen Felder bestimmt. Wird V

angegeben, so wird in der Umgebung des Maximums in einem Quadrat mit der Kantenlänge von 7 Rasterpunkten ein Paraboloid an das Maximum angepaßt und daraus die Lage des Maximums bestimmt. Das Programm hat nur Ausgabegrößen, die sich in einer Prozedur weiter verwenden lassen.

Bedeutung der Ausgabegrößen:

?A Höhe des Maximums aller bis dahin untersuchten Felder.

?B Höhe des Maximums des letzten Feldes.

?C Höhe des Minimums aller Felder.

?D Höhe des Minimums des letzten Feldes.

?E x-Koordinate des Maximums.

?F y-Koordinate des Maximums.

MIREC A (VDR n1 n2 n3 n4 n5 n6)

VDR dreht einen zweidimensionalen Vektor und staucht ihn in x-Richtung.

Bedeutung der Ein- und Ausgabegrößen:

n1 Drehwinkel. Falls $n1=0$ wird der Drehwinkel dem EM-Vektor des Feldes A entnommen.

n2 Ein und Ausgabe der x-Koordinate des Vektors.

n3 Ein und Ausgabe der y-Koordinate des Vektors.

n4 Faktor, mit welchem die x-Koordinate zur Stauchung multipliziert wird.

n5, n6 Ausgabe der Bruchteile einer Rastereinheit der x- und y-Koordinate des Vektors. Diese letzte Ausgabe ist dazu gedacht, bei einer Korrelation ein Feld A um den Rasterpunkt (n2,n3) mit REDUCE auszuschneiden und mit (n5,n6) anschließend eine Feinverschiebung durchführen zu können.

MIREC A B (WIDE n1 n2)

Das Feld A wird in die Mitte des Feldes B übertragen. B muß vorher durch READ Z bereitgestellt werden. Die Dimensionen des Ausgabefeldes müssen beide größer als die Dimensionen des Eingabefeldes sein. Das Kontrollwort ist für sukzessives Lesen und Schreiben geeignet.

Bedeutung der Eingabegrößen:

n1, n2 x und y-Dimension des Ergebnisfeldes. n1 und n2 können auch kleiner sein als die Dimensionen des mit READ Z bereitgestellten Feldes.

MIREC (VAR n1 n2 n3)

VAR dient zur Kontrolle von Variablen in Prozeduren. Es können bis zu 10 Variable angegeben werden, deren Werte durch den Aufruf von VAR ausgedruckt werden.

MIREC A (CLUT /V/ /U/ n1 n2 n3 n4 n5 n6 n7)

Clut dient zur Berechnung des Clutters um einen Bildpunkt. Der Bildpunkt wird durch eine Ellipse oder im dreidimensionalen Fall durch einen Ellipsoiden begrenzt. Ist Q_c der Wert der Punkte im Clutterbereich außerhalb des Bildpunktes und Q_B der Wert der Punkte im Ellipsoiden der den Bildpunkt begrenzt N_c die Anzahl der Rasterpunkte im Bereich des Clutters, N_B die Anzahl der Rasterpunkte im Bildpunkt, so berechnet das Programm folgende Größen:

$$\frac{\sum Q_c^2}{N_c} \quad \frac{\sqrt{\sum Q_c^2}}{N_c} \quad \frac{\sum |Q_c|}{N_c} \quad \frac{\sum Q_B^2}{N_B} \quad \frac{\sqrt{\sum Q_B^2}}{N_B} \quad \frac{\sum |Q_B|}{N_B}$$

$$\frac{\sum Q_c^2}{\sum Q_B^2} \quad \frac{\sqrt{\sum Q_c^2}}{\sqrt{\sum Q_B^2}} = C \quad \frac{\sum |Q_c|}{\sum |Q_B|}$$

Bedeutung der Eingabegrößen:

- n1, n2 Koordinaten des Bildpunktes.
- n3, n4 Hauptachsenlängen der Ellipse bzw. des Ellipsoiden, der die Grenze des Bildpunktes angibt.
- n5 Radius des Kreises in Rasterpunkten, innerhalb dessen die oben angegebenen Größen berechnet werden.
- n6 z-Koordinate des Bildpunktes.
- n7 z-Koordinate der untersuchten Schicht bei dreidimensionalen Berechnungen.
- V gibt an, daß die Berechnungen im Dreidimensionalen durchgeführt werden sollen.
- U ist U angegeben, so wird der Ausdruck der Eingabegrößen unterdrückt.

MIREC (TAB Z), MIREC (TAB 8)

TAB 8 druckt eine Tabelle der durch mehrmaligen Aufruf von CLUT berechneten Größen. Vor dem Aufruf von CLUT muß diese Tabelle durch TAB Z initialisiert werden.

MIREC A (FL n1 n2)

FL zählt in einem Bereich der Kantenlänge n1 um den Nullpunkt des Feldes A alle Rasterpunkte, die einen Wert größer als n2 haben.

MIREC A (ZWD n1 n2 n3 n4)

ZWD ist auf zwei und dreidimensionale Felder anwendbar. Die Funktion ergibt sich aus der Beschreibung der Eingabegrößen:

n1=1 Alle Werte des Feldes A, die größer als n2 sind ,
werden 0 gesetzt.

n1=-1 Alle Werte des Feldes A, die kleiner als n2 sind,
werden 0 gesetzt.

n2 Schwelle

n3=1 Alle positiven Werte in A ungleich 0 erhalten den Wert n4, alle negativen Werte den Wert -n4.

MIREC A (VT n1)

VT vertauscht im EM-Vektor Kippwinkel KW und Azimutwinkel KR. Bei Angabe von n1 wird KW nach der Vertauschung durch n1 ersetzt.

Anwendung der Kontrollworte und Prozeduren

Berechnung der Gewichtsfunktion mit WTP für ein Feld mit einer Kantenlänge von 64 Rasterpunkten:

```
READ Z A (DIM 33 64) EMDATA A (U ...,VE...,L...,KW...)
```

```
MIREC A (WTP) REAL A 1 CROSS A WRITE A n1 n2
```

Die angegebene Kontrollwortfolge dient dazu, den Realteil der Gewichtsfunktion, der mit WTP berechnet wird, auf ein vollständiges komplexes Feld zu erweitern, dessen Nullpunkt mit der EM-Konvention übereinstimmt.

Prozedur zur Wichtung der Projektionen:

```
PROC
```

```
M:WICHT READ A ?1 :?2 FOUR A 1 MULT A B =A FOUR A 1
```

```
COMMENT A 0 0 10 'G' WRITE A ?3 :?4
```

Zunächst wird die Gewichtsfunktion auf B mit READ B nfile nseg eingelesen. Anschließend können mit der angegebenen Prozedur die Projektionen gewichtet werden. Das folgende Beispiel zeigt den Aufruf zur Wichtung von 18 Projektionen:

```
M:WICHT*18 nf1 ns1 nf2 ns2
```

nf1,ns1 File und Segmentnummer der Eingabeprojektionen

nf2,ns2 File und Segmentnummer zum Wegschreiben der

Ergebnisse.

Prozedur zur Rückprojektion:

PROC

M:BP READ A ?1 :?2 EMDATA A (U 100 DG 1 KW 45 KR ?A)

SET 10 '+' ?A :?A MIREC A B (BPZ Q 64 1 1 1 ?B)

PROC

M:SLICE READ Z B (DIM ?1 ?2) SET 0 :?A M:BP*?4 ?5 ?6

M:BP*?7 ?8 ?9 COMMENT B 'SCHICHT NR' SET B 0 0 ?B 12

SET ?3 '+' ?B :?B WRITE B ?10 :?11 PURGE B

Der Aufruf von M.SLICE bewirkt die Rekonstruktion einer Ebene des dreidimensionalen Objekts. Durch mehrmaligen Aufruf von M:SLICE läßt sich das gesamte dreidimensionale Objekt berechnen, wobei M:SLICE die x-Koordinate bei jedem Durchlauf erhöht. Die oben angegebene Prozedur ist geschrieben für den Fall eines Kegelwinkels von 45 Grad (s.: EMDATA) und eines azimuthalen Winkelinkrements von 10 Grad (s.: SET 10 '+' ?A :?A), ferner werden durch die Prozedur y-z Ebenen berechnet (s.: BPZ).

Anwendungsbeispiel:

Seien die Projektionen gespeichert auf dem Subfile 1001 und 1101, und zwar je 18 Stück. Zunächst wird die Größe B besetzt, die die aktuelle Schichtnummer enthält. SET 1 :?B. Die Rekonstruktion der ersten 18 Schichten des Objekts läßt sich dann durchführen mit dem Aufruf:

```
M:SLICE*18 64 64 1 18 1001 1 18 1101 1 5940 1
           ?1 ?2 ?3 ?4 ?5 ?6 ?7 ?8 ?9 ?10 ?11
```

?1, ?2 y und z-Dimension der zu rekonstruierenden Ebenen.

?3 Inkrement der x-Koordinate (es ist zum Beispiel

möglich, nur jede dritte Schicht zu berechnen.)

?4 Anzahl der Projektionen im ersten Subfile

?5 ?6 Subfile und Segmentnummer des ersten Satzes von Projektionen.

?7 Anzahl der Projektionen im zweiten Subfile.

?8 ?9 Subfile und Segmentnummer des zweiten Projektions-satzes.

?10 ?11 Subfile und Segmentnummer zum Wegschreiben der Ergebnisse.

Prozedur zur Korrelation kegelförmig gekippter Projektio-
nen:

PROC

```
M:CC READ A ?1 :?2 SGREC A B ?5 ?6 ?7
WRITE B 1001 1
READ B ?8 ?9 SGREC B A ?5 ?6 ?7 READ Z B (DIM ?3 ?4)
MIREC A B (ROT V ?10) WRITE B 1001 2
READ A 1001 1 READ B 1001 2 NORM Z A 100 NORM Z B 100
FOUR A -1 FOUR B -1 MULT B A =A FOUR A 1 CROSS A
LIST A (DENS -3) MIREC A (MAX V :?A :?B :?C :?D :?E :?F)
MIREC A (VDR ?10 :?E :?F ?5 )
SET ?11 '+' ?E :?E SET ?11 '+' ?F :?F READ A ?8 :?9
FOUR A -1 SHIFT A B ?E ?F FOUR B 1 COMMENT B 0 0 10 'C'
WRITE B ?12 ?13
```

Beispiel: Zunächst wird die erste Projektion eingelesen und, da diese nicht verschoben wird, in das Ergebnisfile geschrieben.

```
READ A 6241 1 WRITE A 1101 1
```

Dann folgt der Aufruf von M:CC :

M:CC*17 1101 1 64 64 .707 33 33 6241 2 10 -33 1101 2

?1 ?2 ?3 ?4 ?5 ?6 ?7 ?8 ?9 ?10 ?11 ?12 ?13

?1 ?2 Subfile und Segmentnummer der ersten Projektion

?3 ?4 Dimensionen der Projektionen

?5 Faktor mit welchem die Rastereinheit in x-Richtung zur Entzerrung der Projektionen multipliziert wird. (s. SGREC)

?6 ?7 Mittelpunkt der Projektionen.

?8 ?9 Subfile und Segmentnummer der zweiten noch nicht korrelierten Projektion.

?10 Azimuthales Winkelinkrement zwischen den Projektionen.

?11 Verschiebung des Nullpunktes gegenüber dem Mittelpunkt des Feldes. (Meist negative Mittelpunktkoordinate)

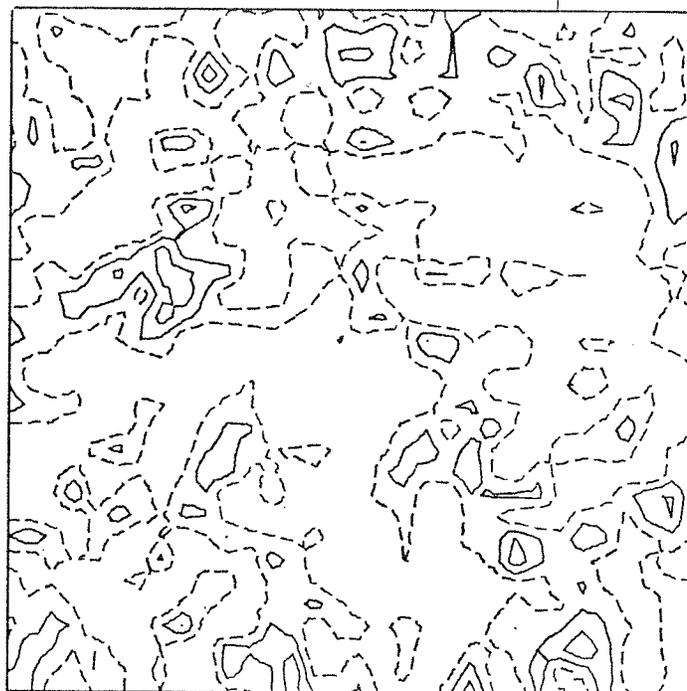
?12 ?13 Subfile und Segmentnummer zum Wegschreiben der korrelierten Projektionen. Die Subfilenummer muß mit ?1 übereinstimmen.

Zu den Prozeduren ist anzumerken, daß sich bei häufiger Anwendung sicherlich eine Reihe von Änderungen als sinnvoll erweisen werden, insbesondere eine Zusammenfassung einzelner Eingabegrößen. Auf diese Optimierungen wurde in diesem Anhang verzichtet, da nur solche Prozeduren angegeben werden sollen, die auch schon mehrfach in der vorliegenden Form angewandt wurden. Die Auflistung dieser Prozeduren ist insbesondere als Hilfe für den Benutzer der neuen Kontrollworte gedacht und als Grundlage zum Aufbau weiterer, speziellerer oder auch allgemeiner anwendbarer Prozeduren.

13. Anhang 2: Abbildung der dreidimensionalen Rekonstruktion von Hefefettsäuresynthetase.

In den folgenden Abbildungen sind die Schichten der in Kap.10 beschriebenen Rekonstruktion aus kegelförmig gekippten Projektionen von Hefefettsäuresynthetase wiedergegeben. Die dreidimensionale Rekonstruktion besteht aus einem Würfel mit einer Kantenlänge von 32 Rasterpunkten, entsprechend 27nm. In Abb.A1 sind x-y Schichten dargestellt, in Abb.A2 y-z Schichten. Die negativen Schichtlinien sind gezeichnet, der Schichtlinienabstand beträgt 10% des Minimums der dreidimensionalen Verteilung. Die Null-Linie ist gestrichelt eingezeichnet.

Abb. A1



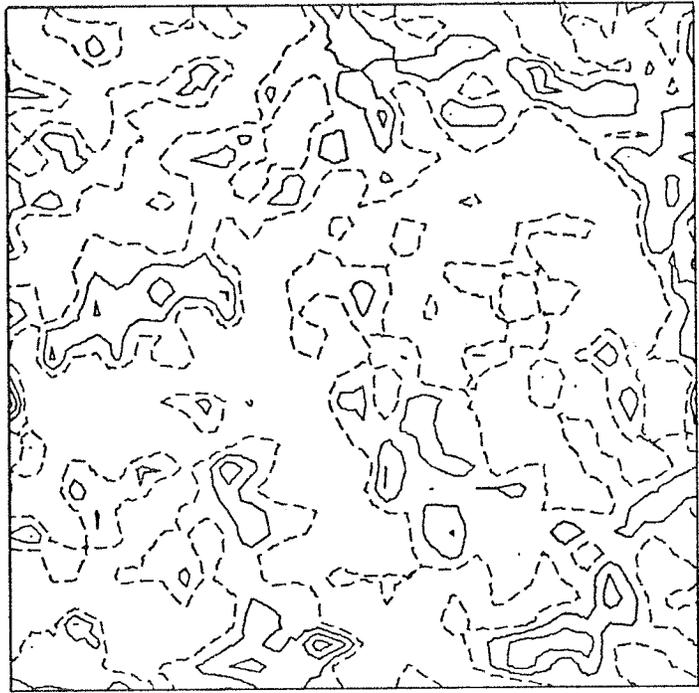
Schicht Nr. 1

3.0 nm
|-----|

Schicht Nr. 2

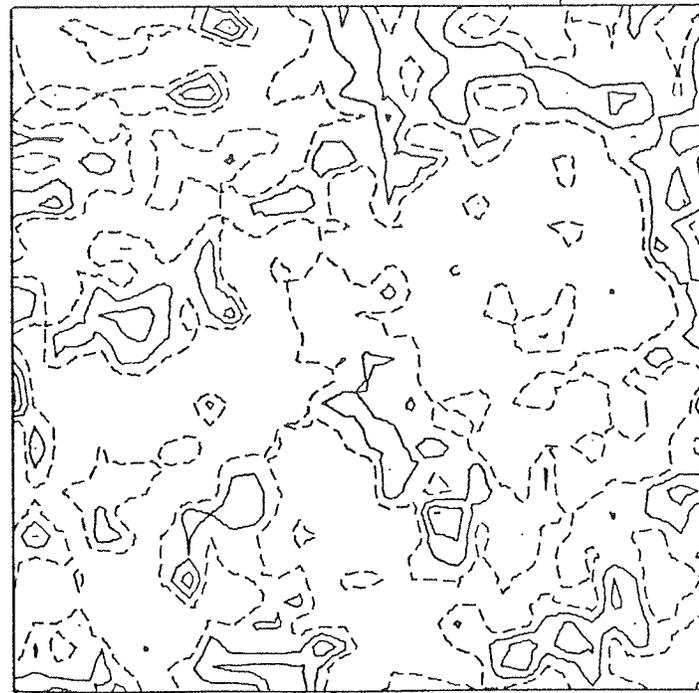
Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



Schicht Nr. 3

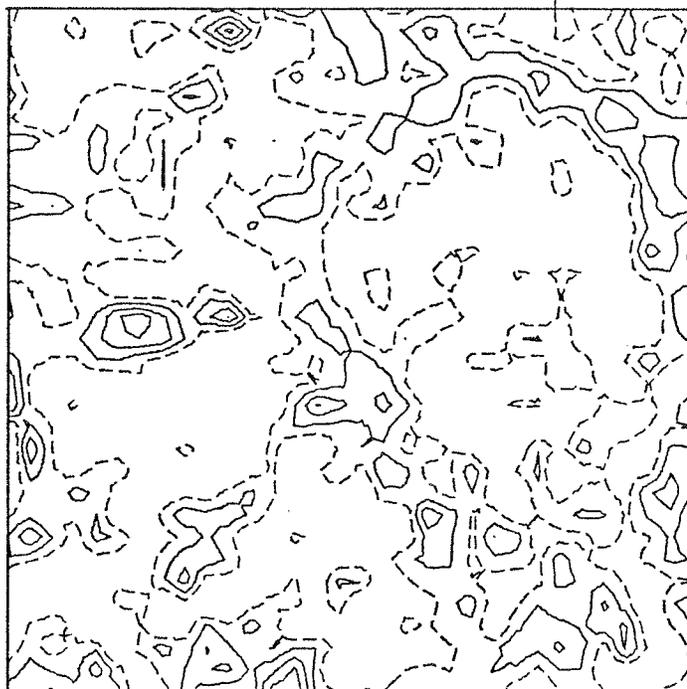
3.0 nm
|-----|



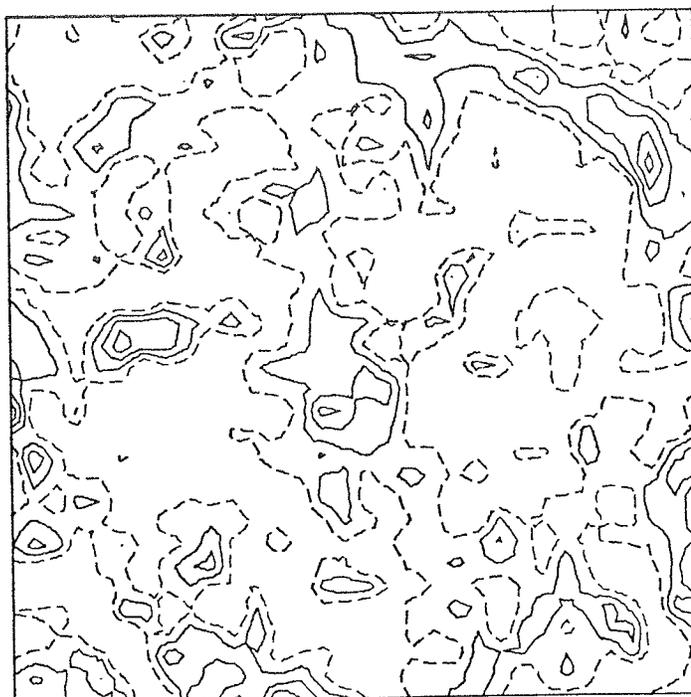
Schicht Nr. 4

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



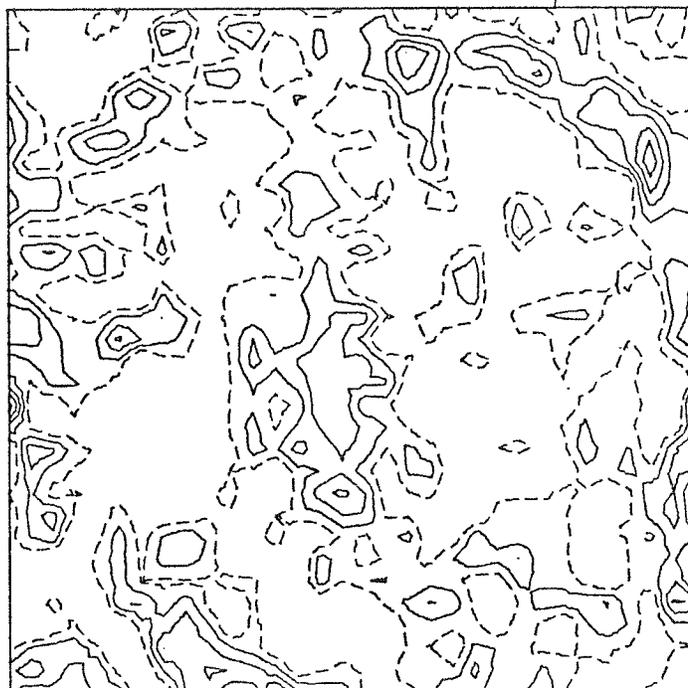
Schicht Nr. 5

3.0 nm
|-----|

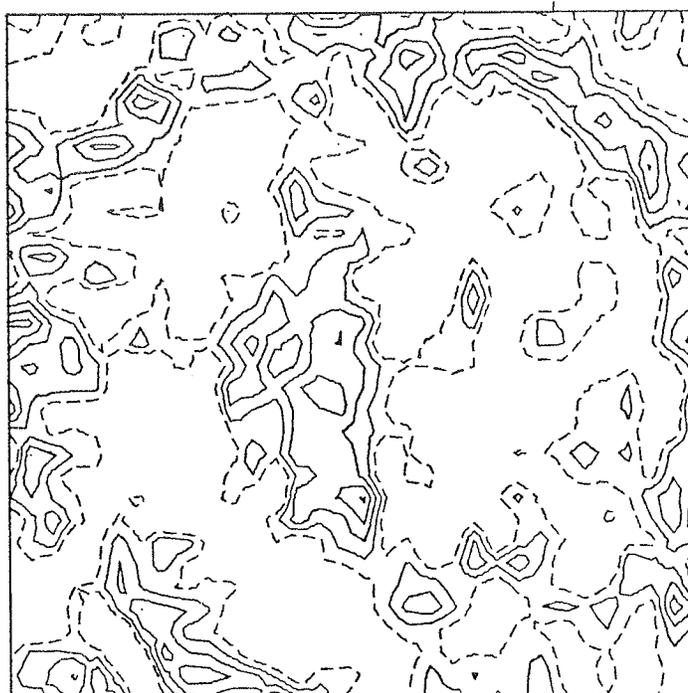
Schicht Nr. 6

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



Schicht Nr. 7

3.0 nm
┌───┐

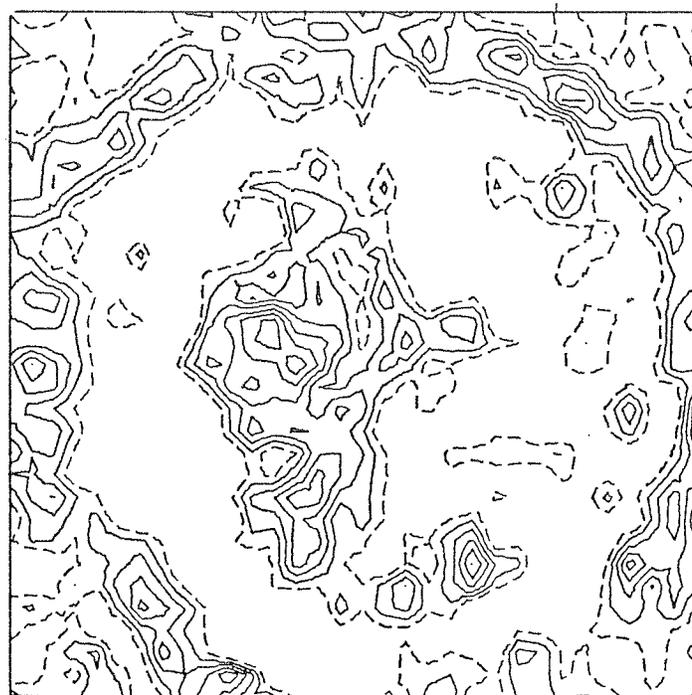
Schicht Nr. 8

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



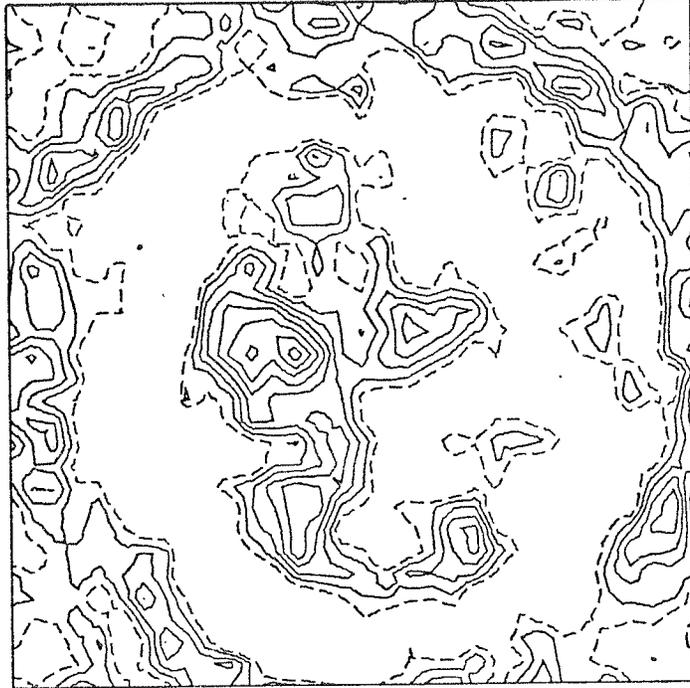
Schicht Nr. 9

3.0 nm
|-----|

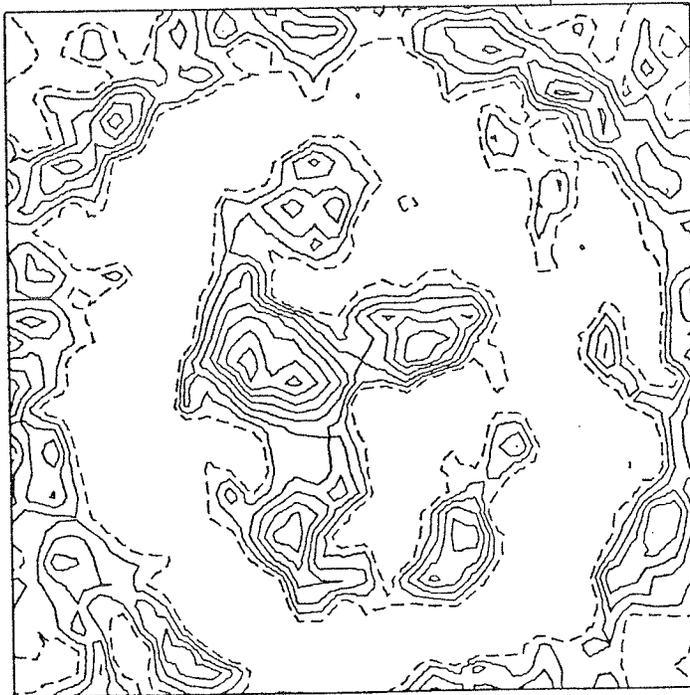
Schicht Nr. 10

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



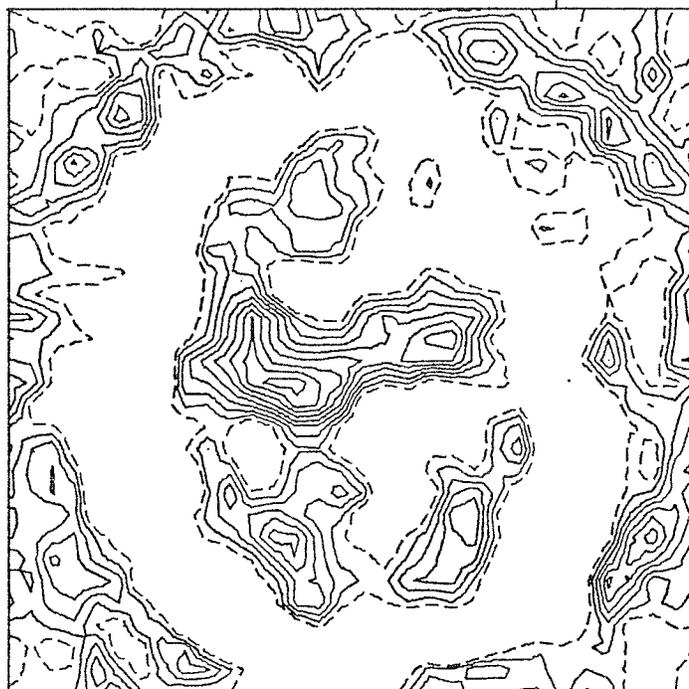
Schicht Nr. 11

3.0 nm
|—|

Schicht Nr. 12

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



Schicht Nr. 13

3.0 mm
|-----|

Schicht Nr. 14

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



Schicht Nr. 15

3.0 nm
|-----|

Schicht Nr. 16

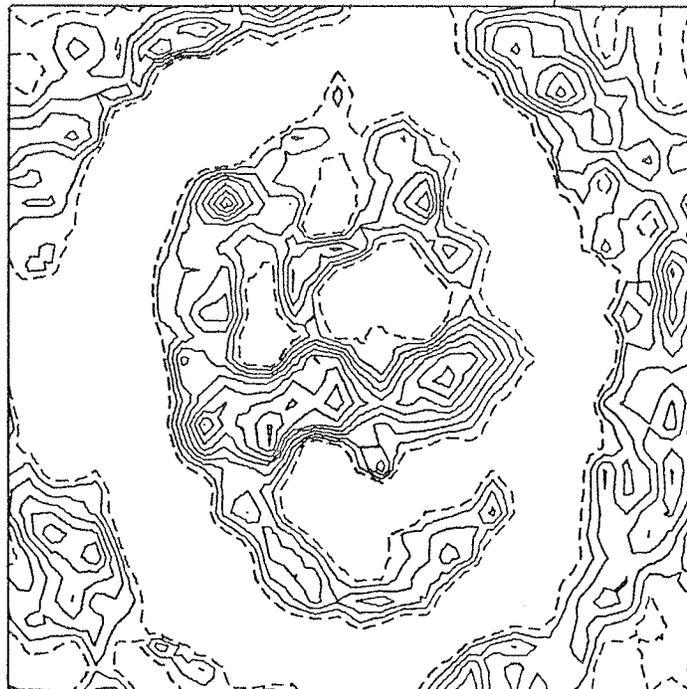
Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



Schicht Nr. 17

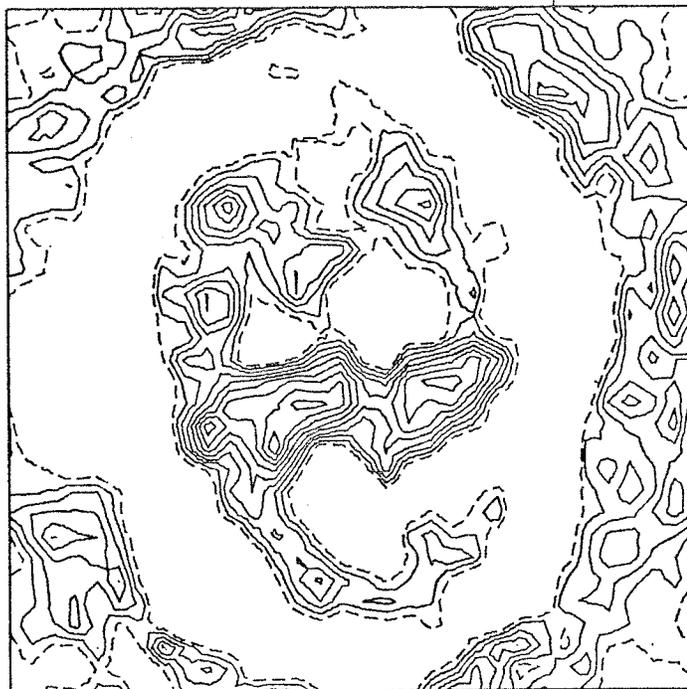
3.0 nm



Schicht Nr. 18

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



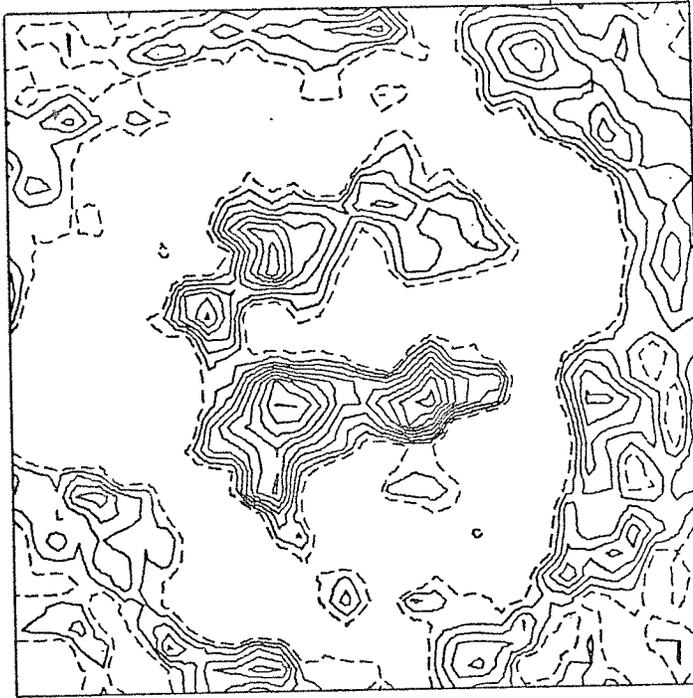
Schicht Nr. 19

3.0 nm
|-----|

Schicht Nr. 20

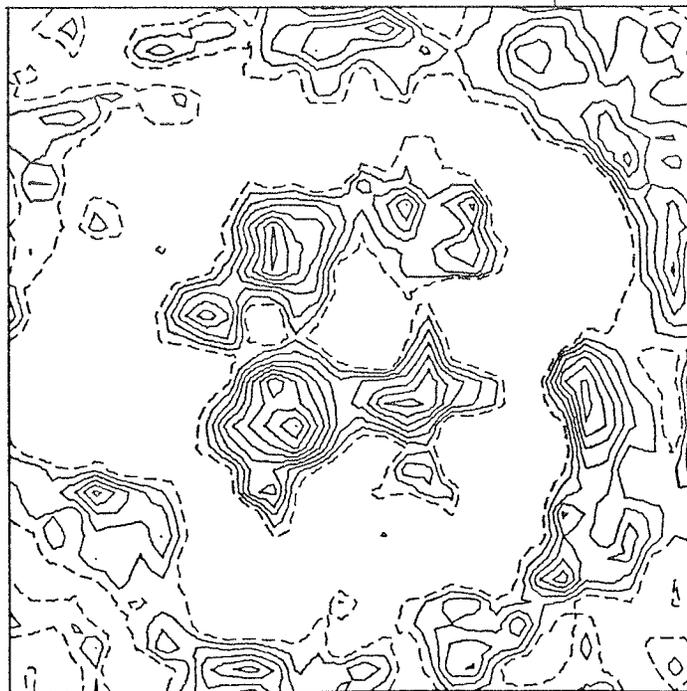
Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



Schicht Nr. 21

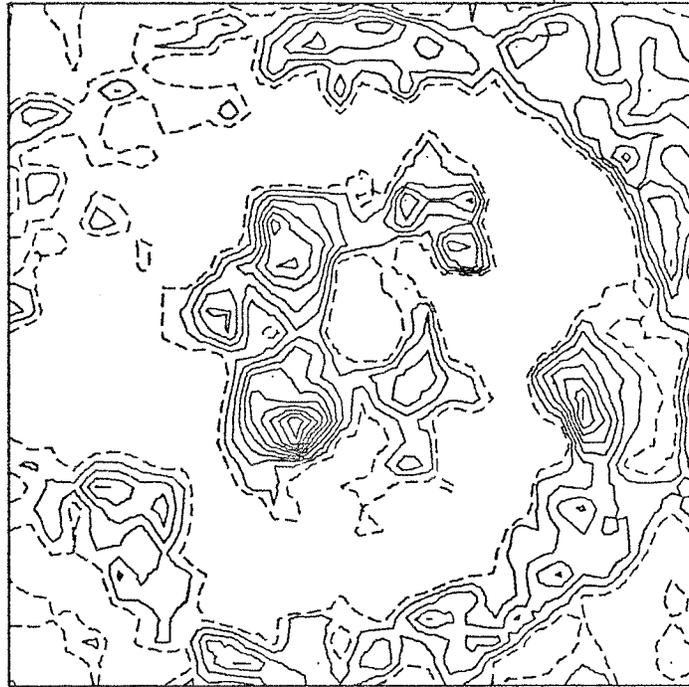
3.0 mm



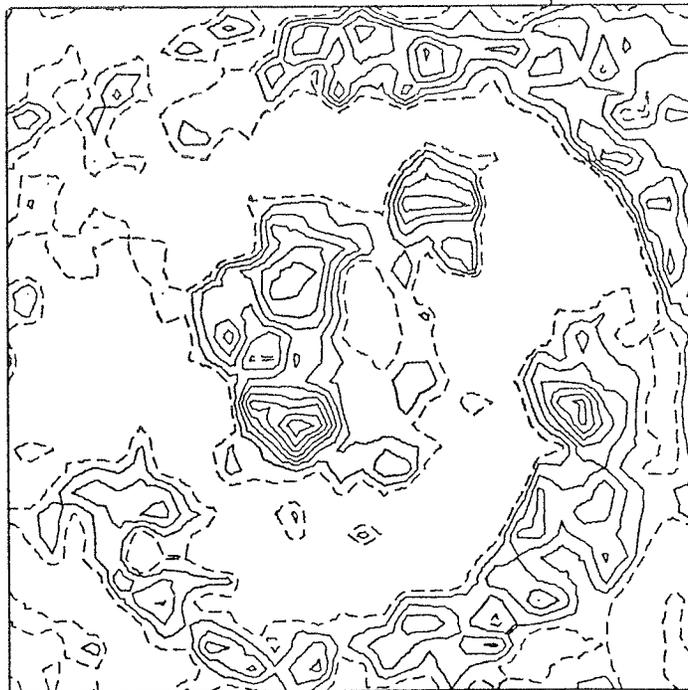
Schicht Nr. 22

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



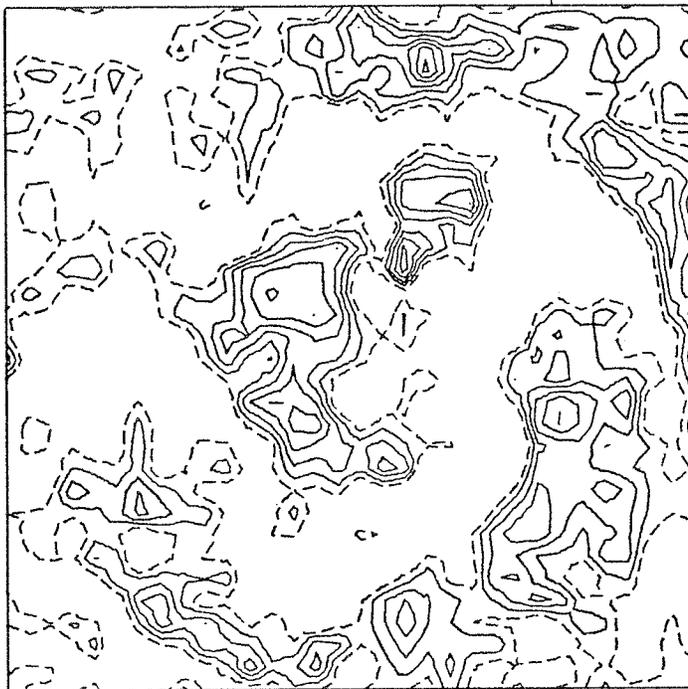
Schicht Nr. 23

3.0 nm
|-----|

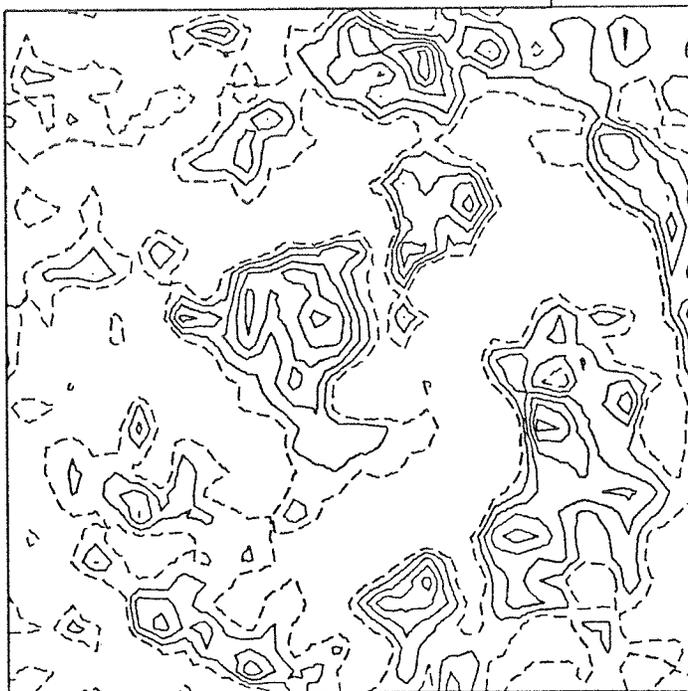
Schicht Nr. 24

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



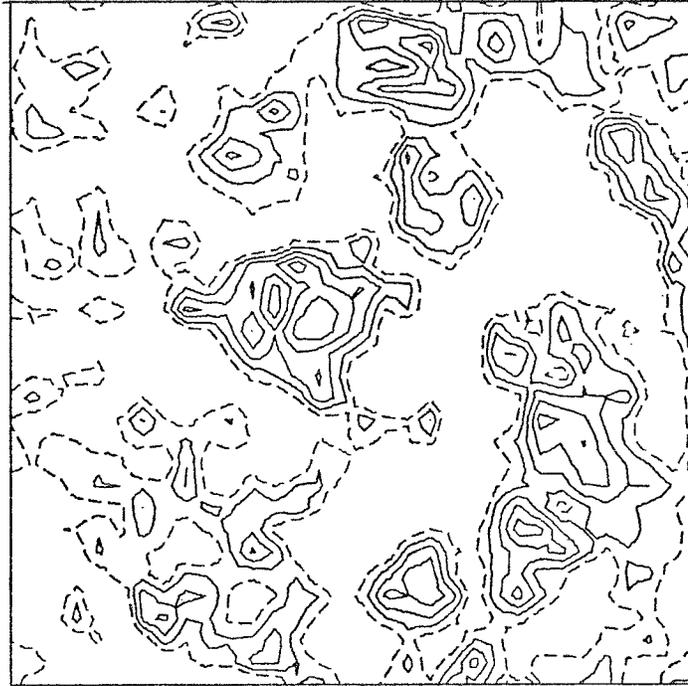
Schicht Nr. 25

3.0 nm
|-----|

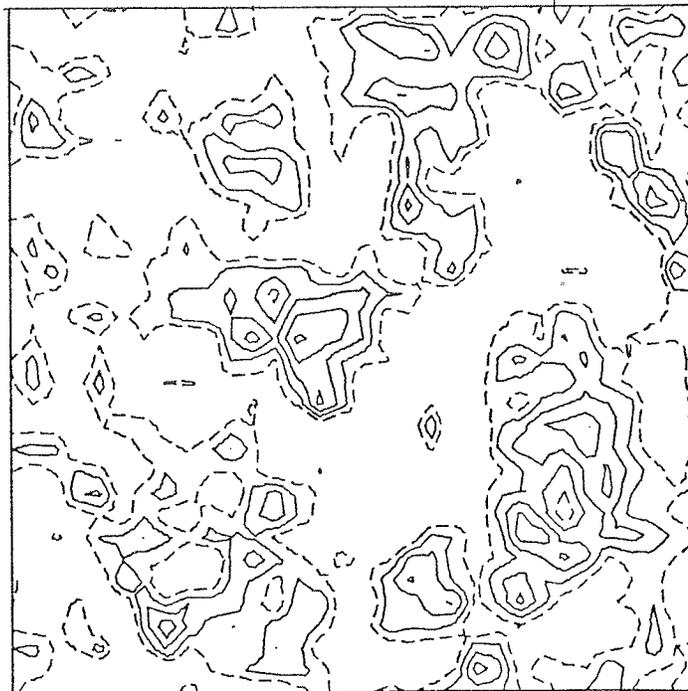
Schicht Nr. 26

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



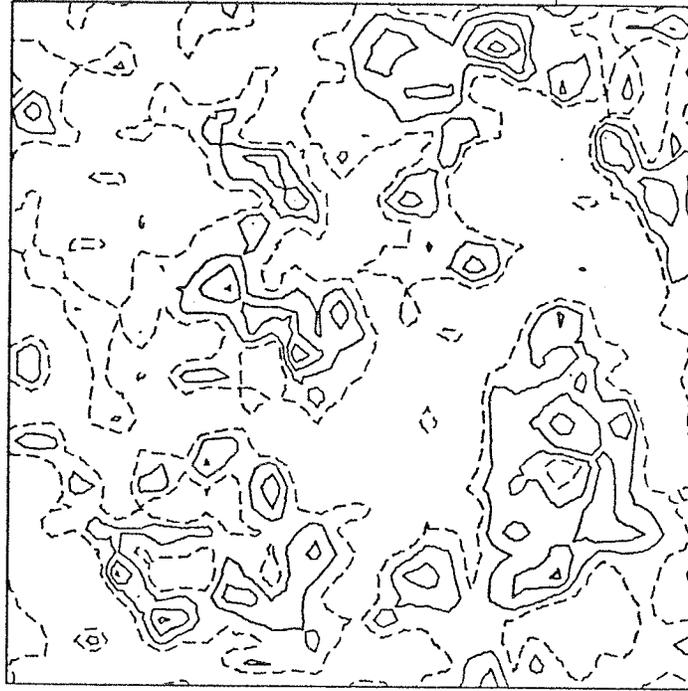
Schicht Nr. 27

3.0 nm
|-----|

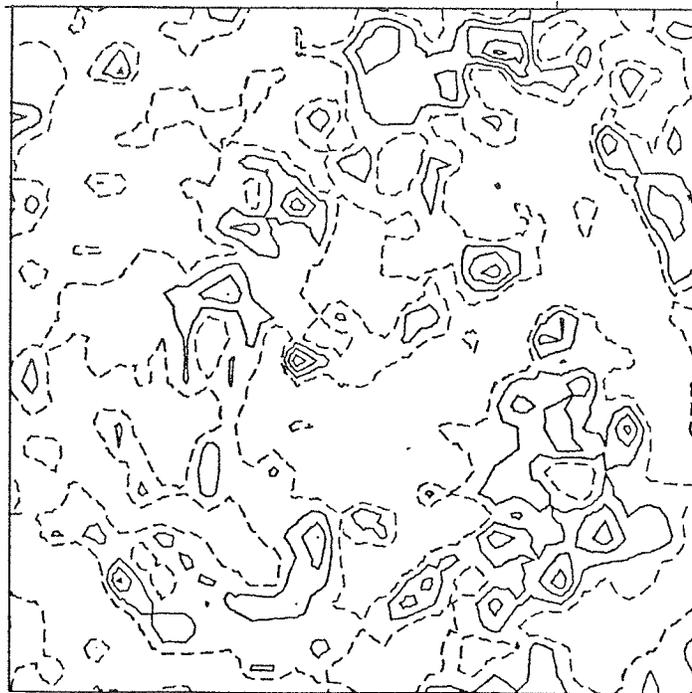
Schicht Nr. 28

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



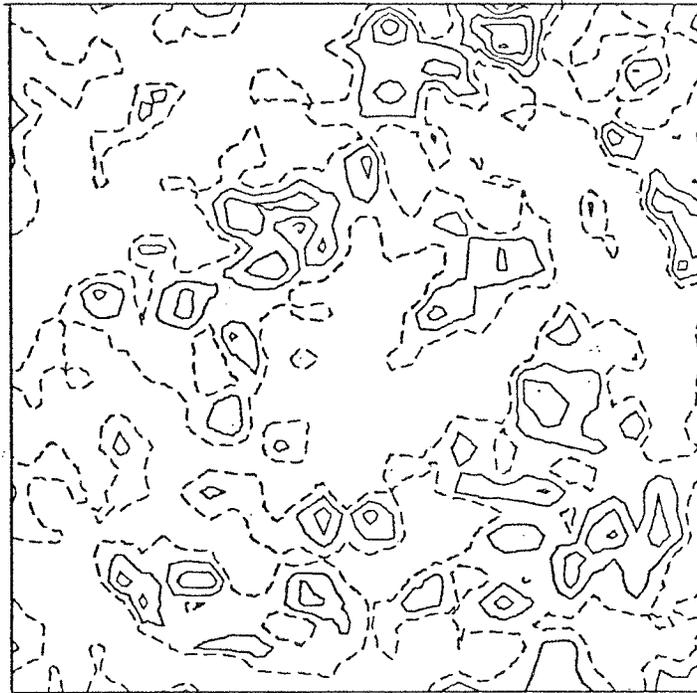
Schicht Nr. 29

3.0 nm
|-----|

Schicht Nr. 30

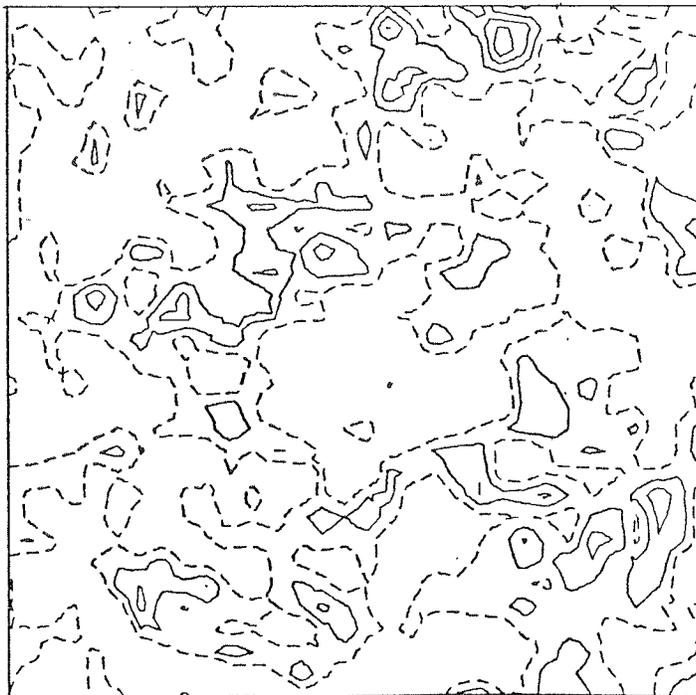
Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A1



Schicht Nr. 31

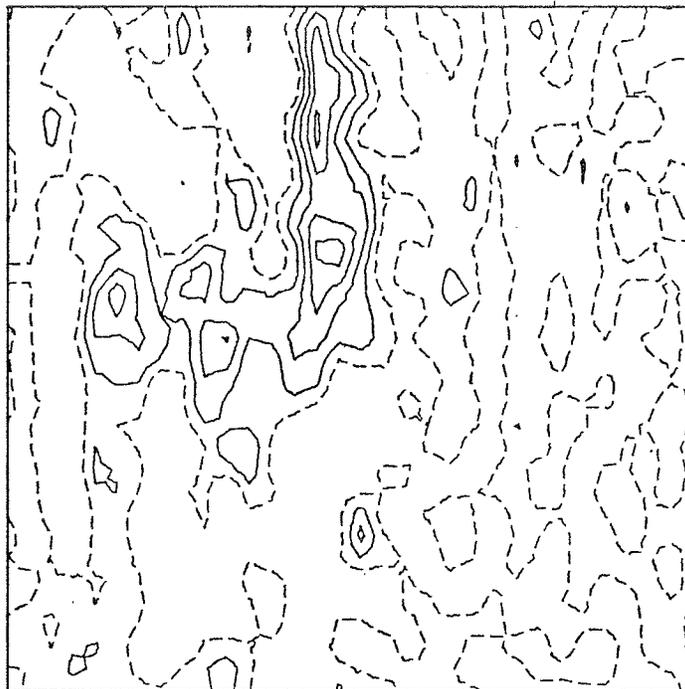
3.0 nm



Schicht Nr. 32

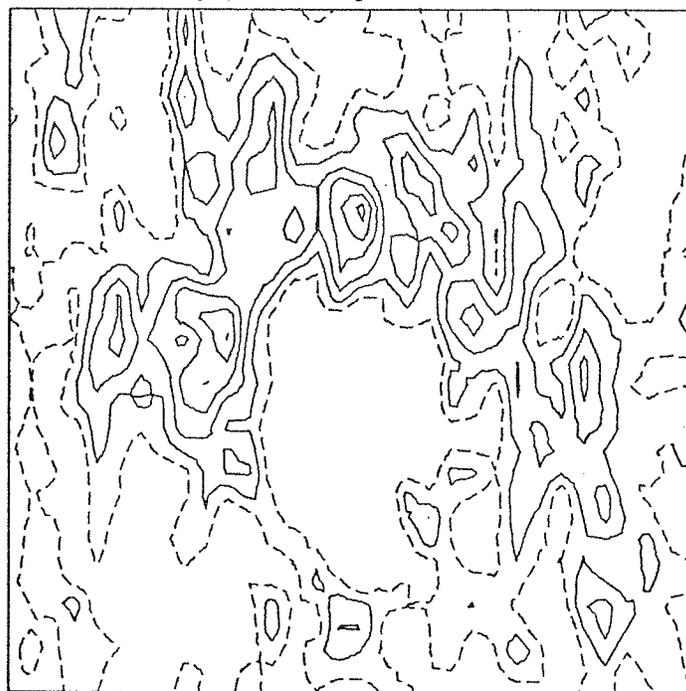
Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. x-y Schichten.

Abb. A2



Schicht Nr. 1

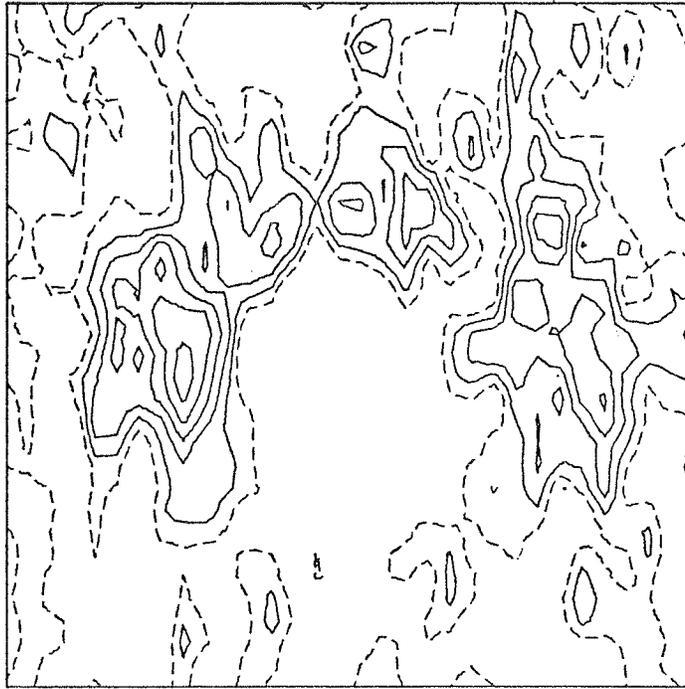
3.0 nm



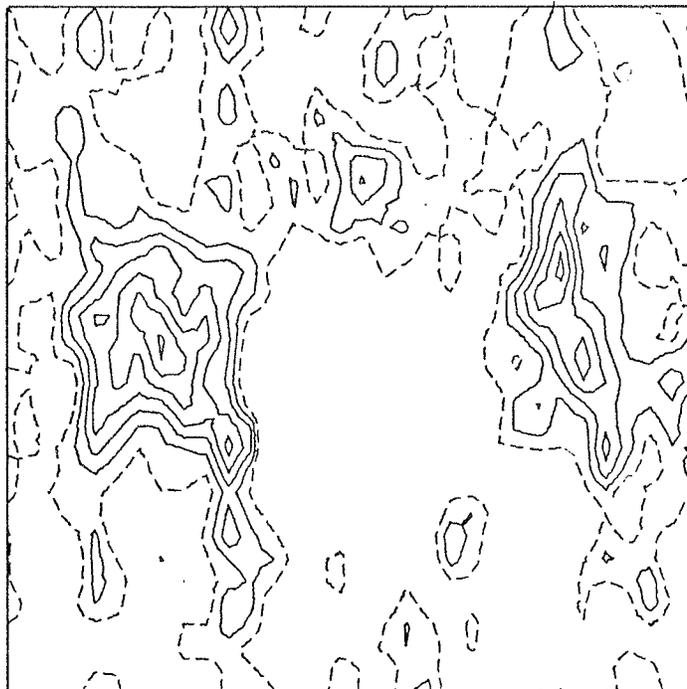
Schicht Nr. 2

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



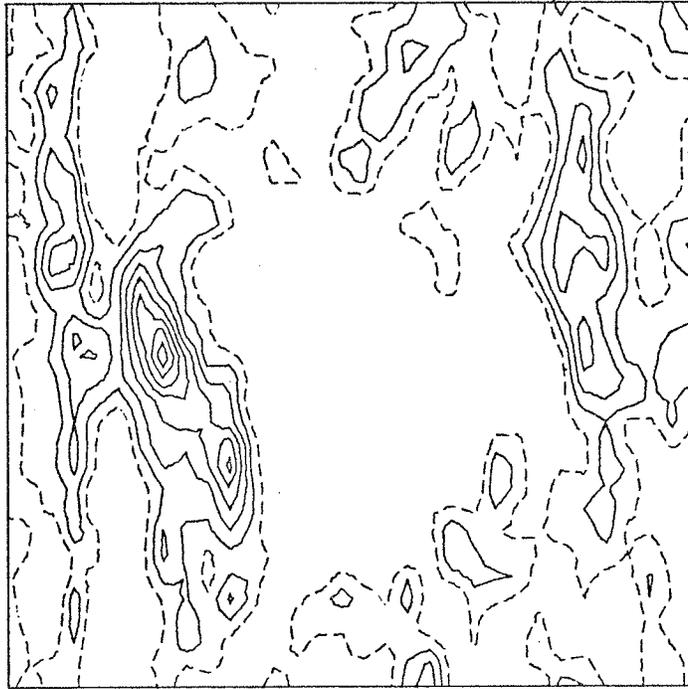
Schicht Nr. 3

3.0 nm
└───┘

Schicht Nr. 4

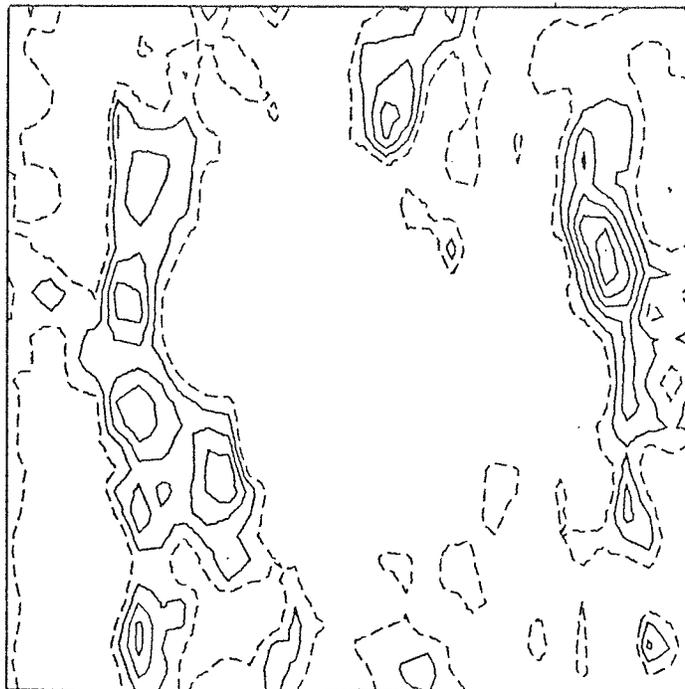
Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



Schicht Nr. 5

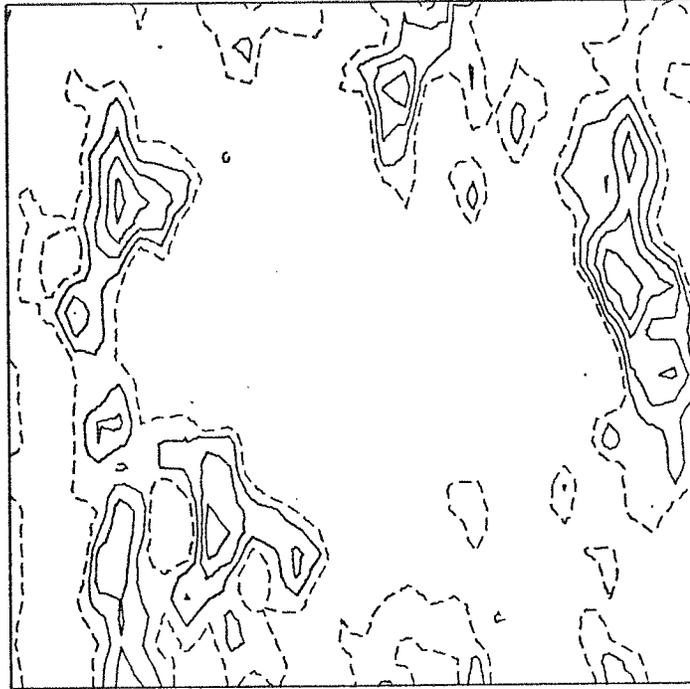
3.0 nm



Schicht Nr. 6

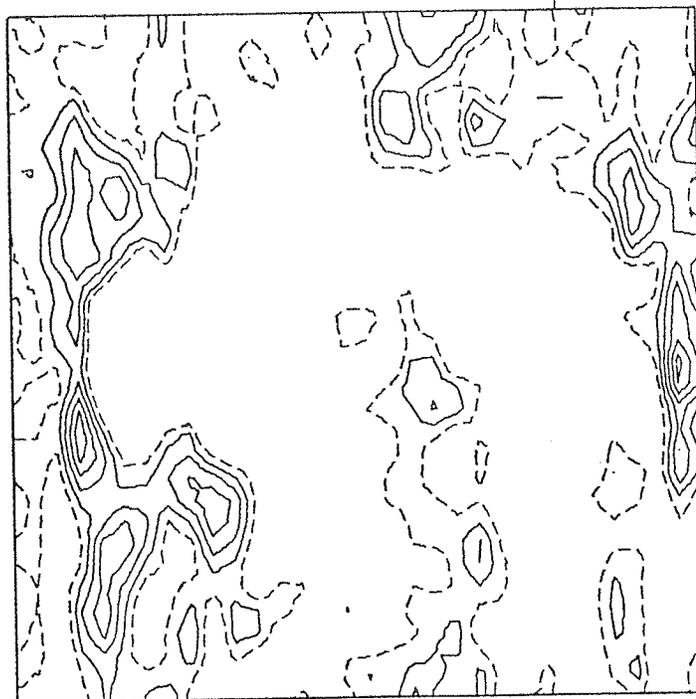
Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



Schicht Nr. 7

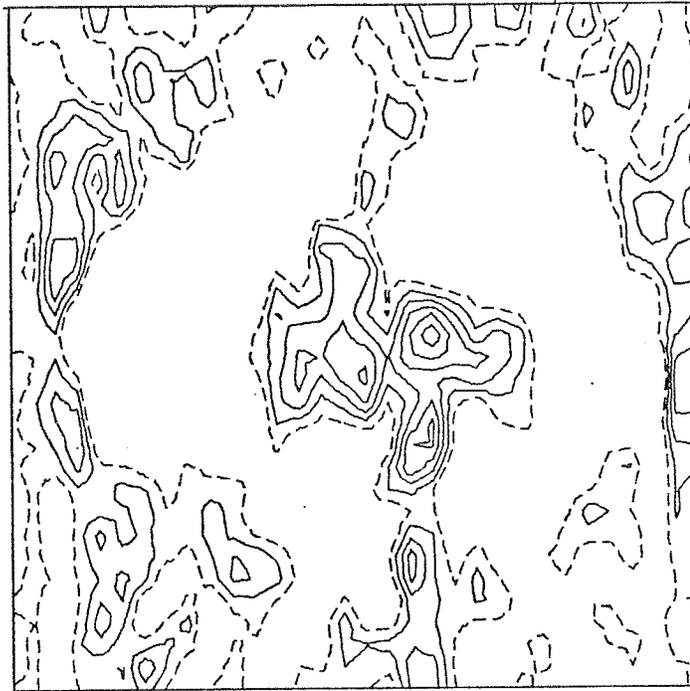
3.0 nm



Schicht Nr. 8

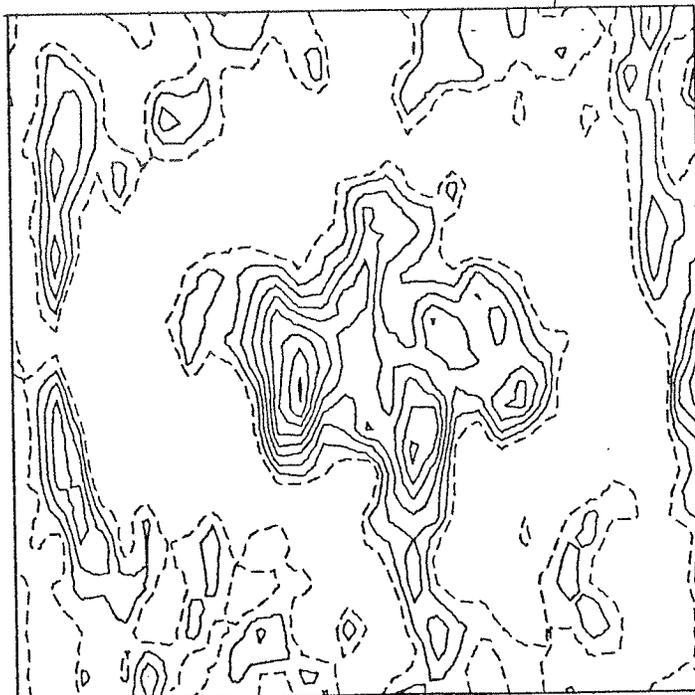
Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



Schicht Nr. 9

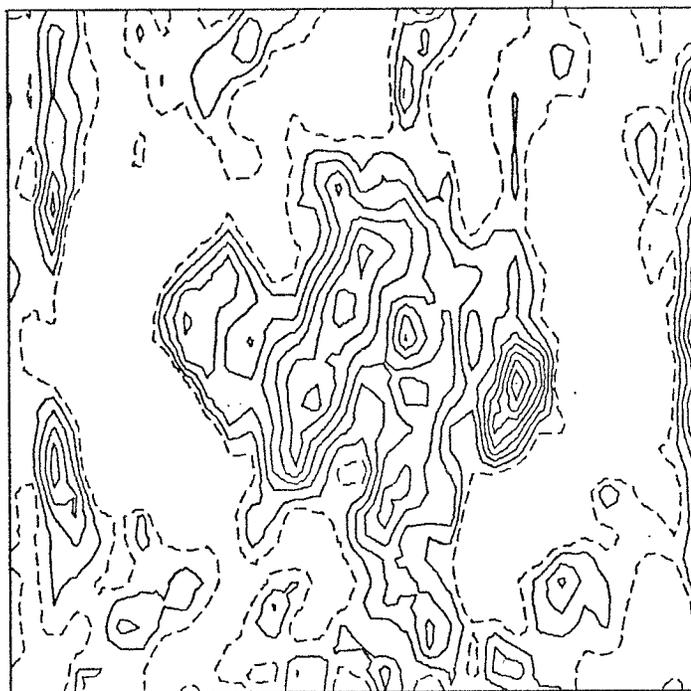
3.0 nm



Schicht Nr. 10

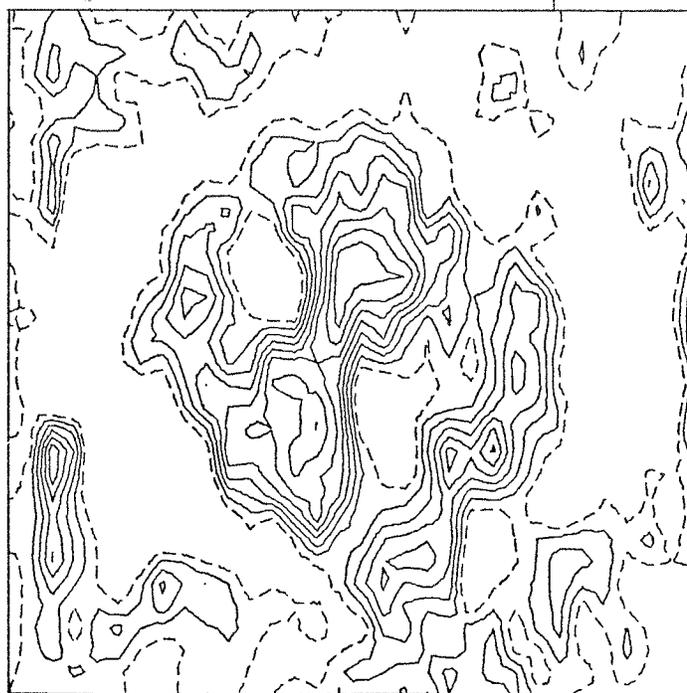
Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



Schicht Nr. 11

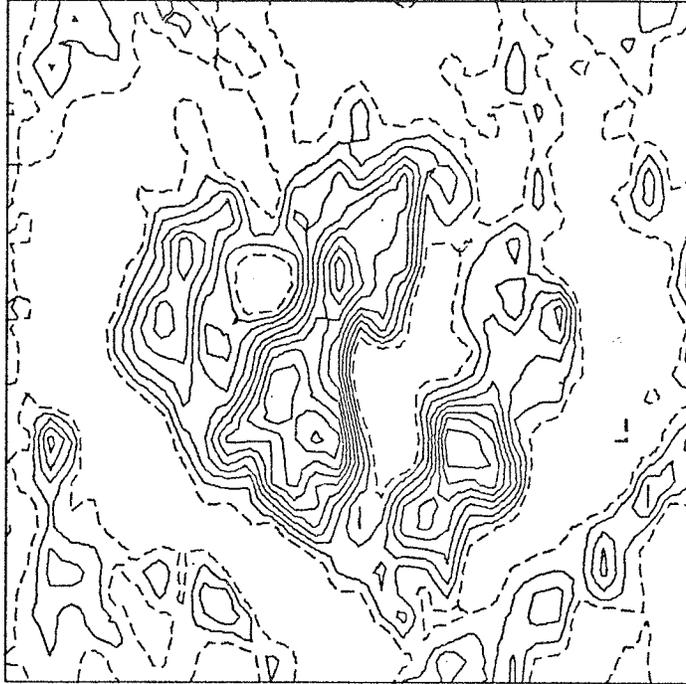
3.0 nm



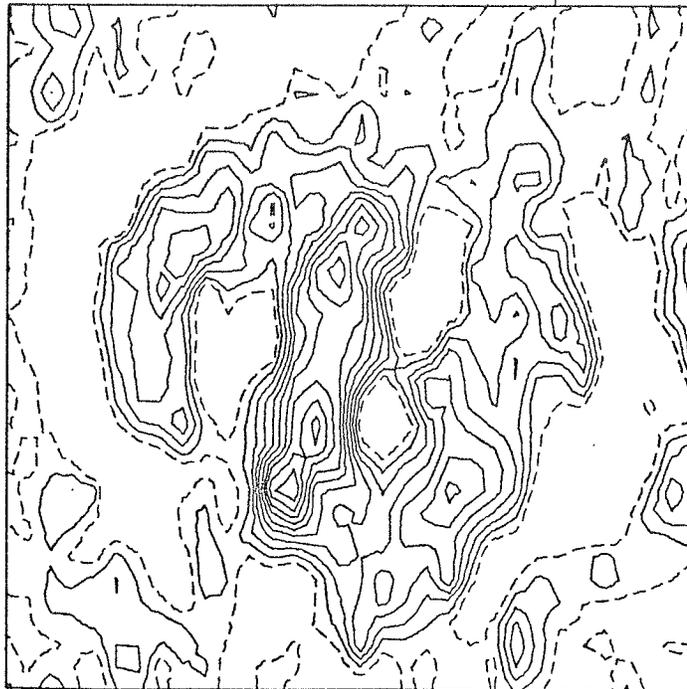
Schicht Nr. 12

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



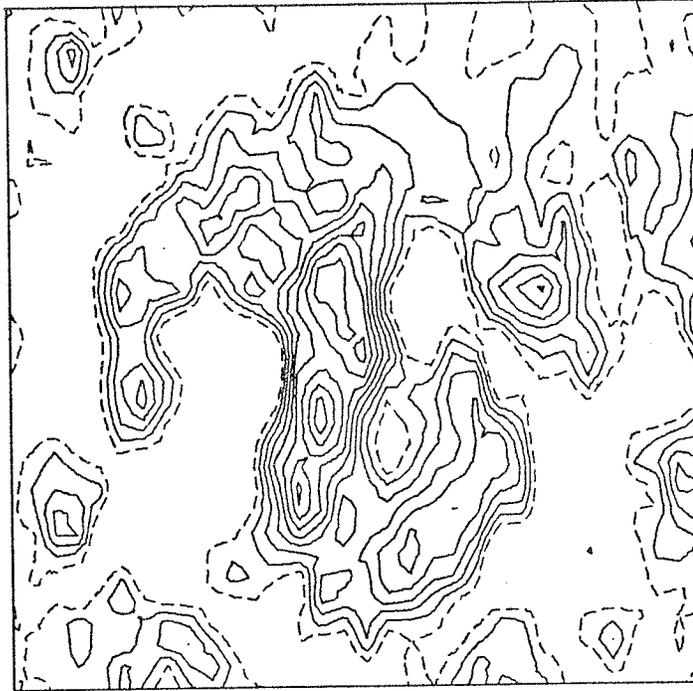
Schicht Nr. 13

3.0 nm
└───┘

Schicht Nr. 14

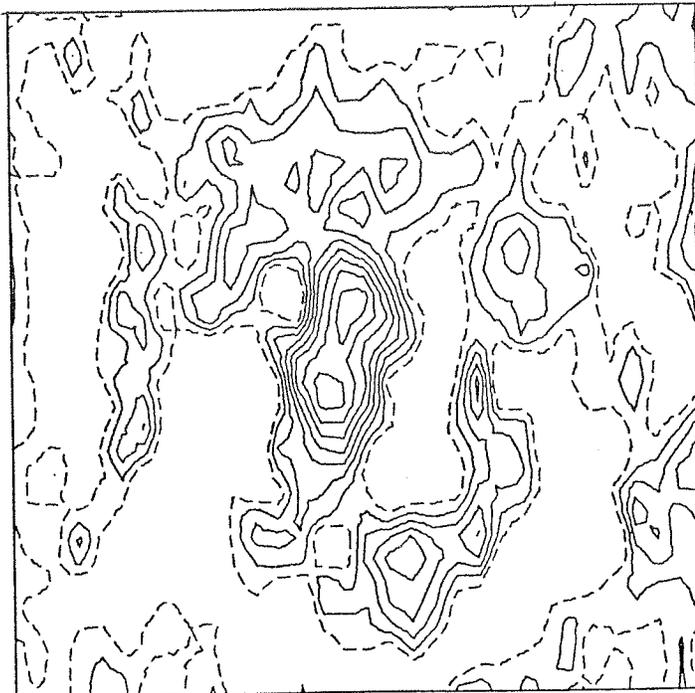
Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



Schicht Nr. 15

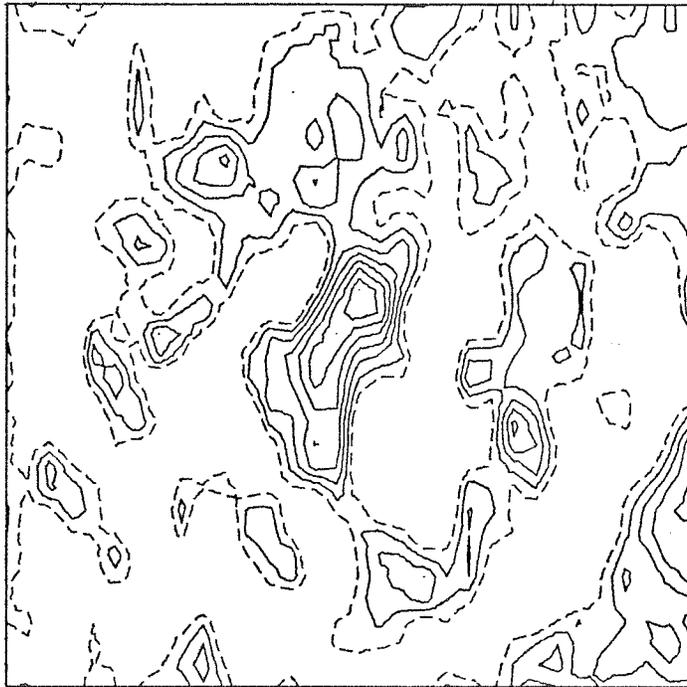
3.0 nm



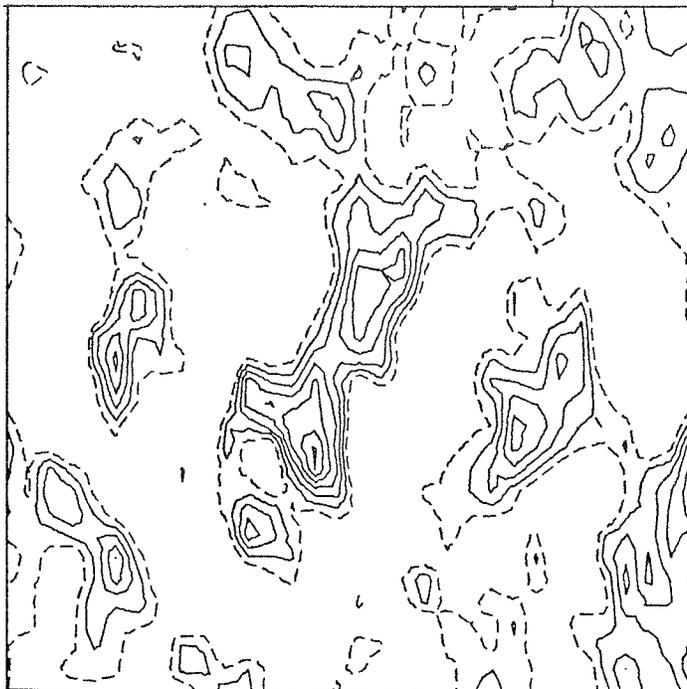
Schicht Nr. 16

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



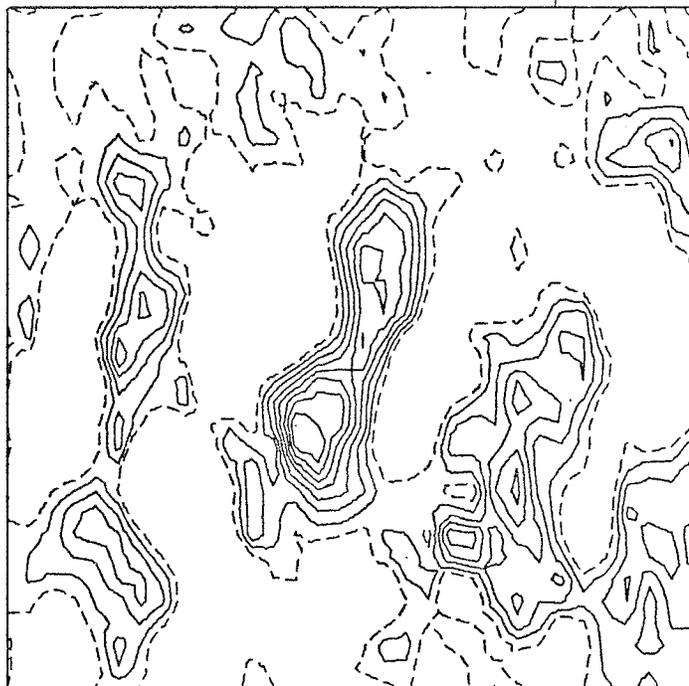
Schicht Nr. 17

3.0 nm
|-----|

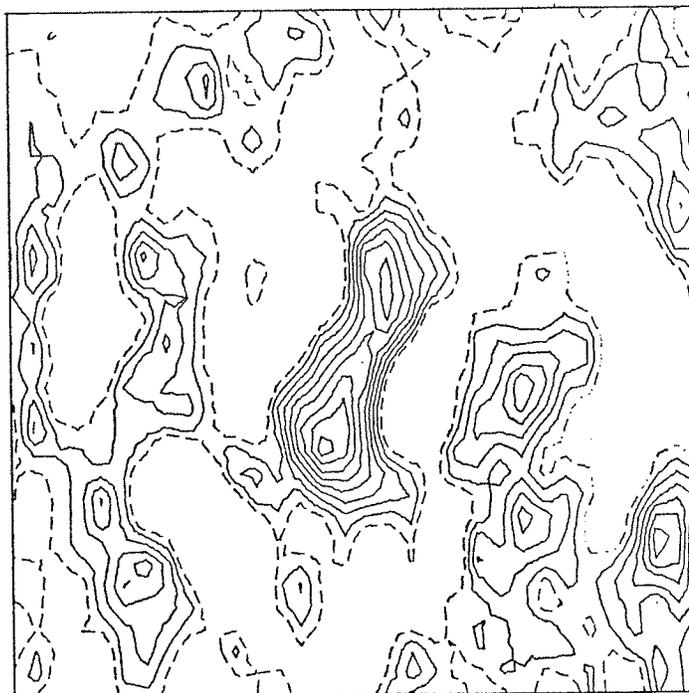
Schicht Nr. 18

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



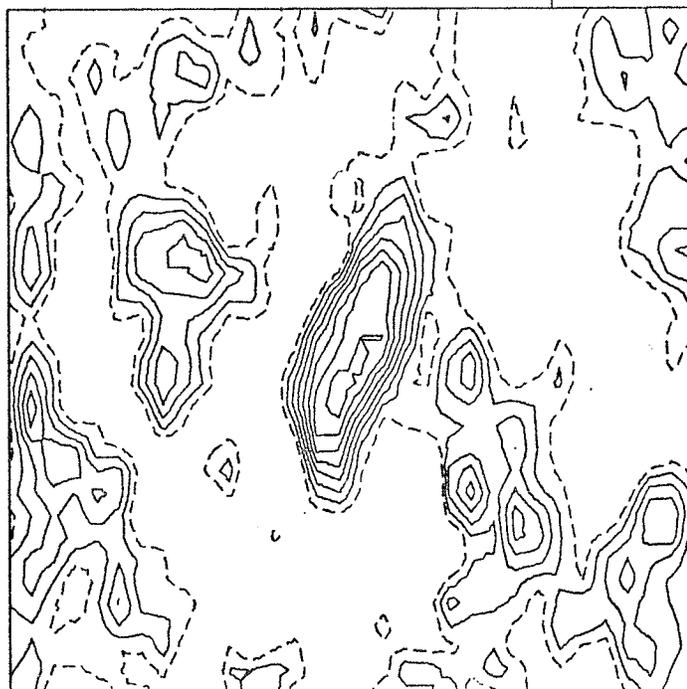
Schicht Nr. 19

3.0 nm
┌───┐

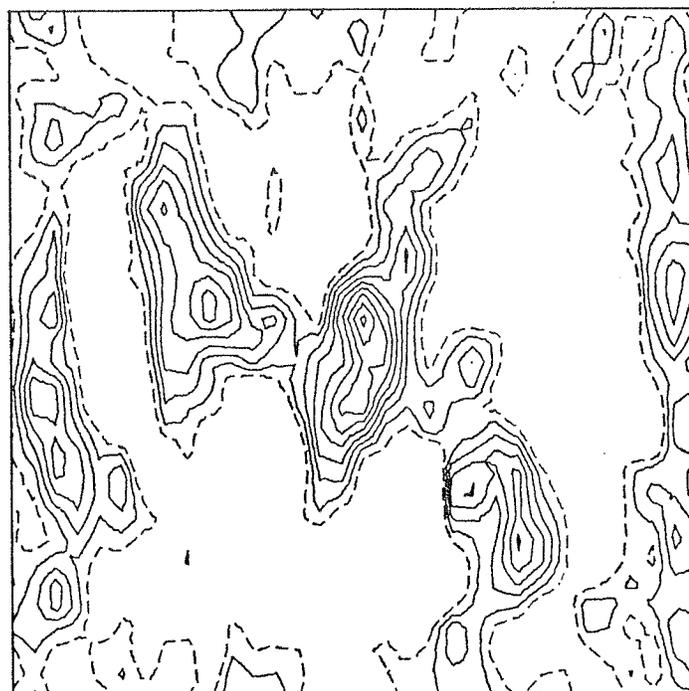
Schicht Nr. 20

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



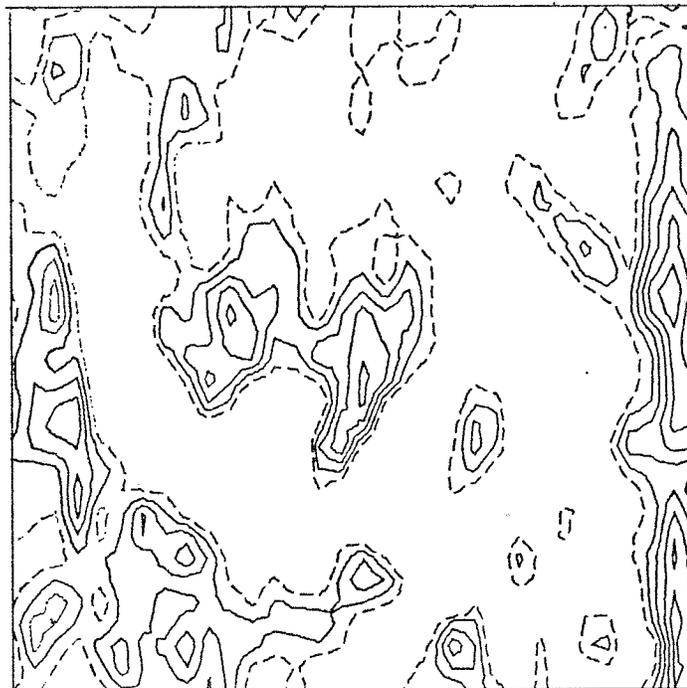
Schicht Nr. 21

3.0 nm
└───┘

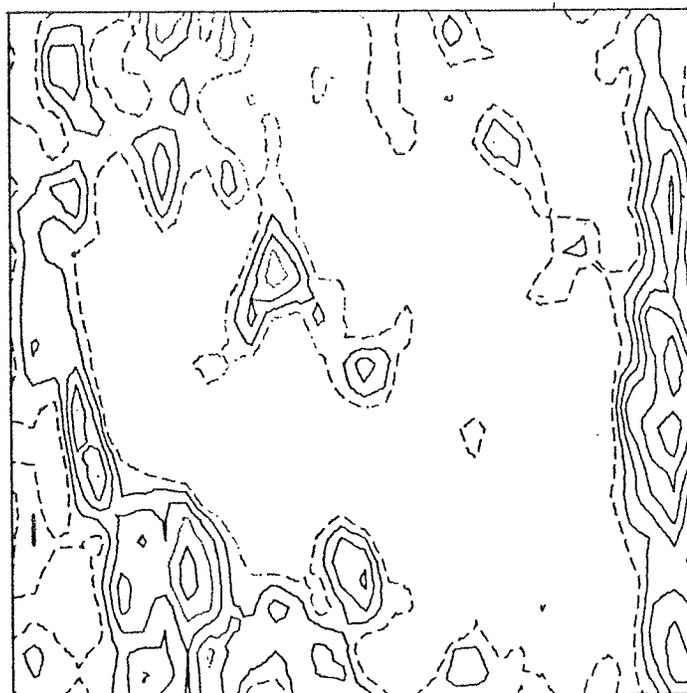
Schicht Nr. 22

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



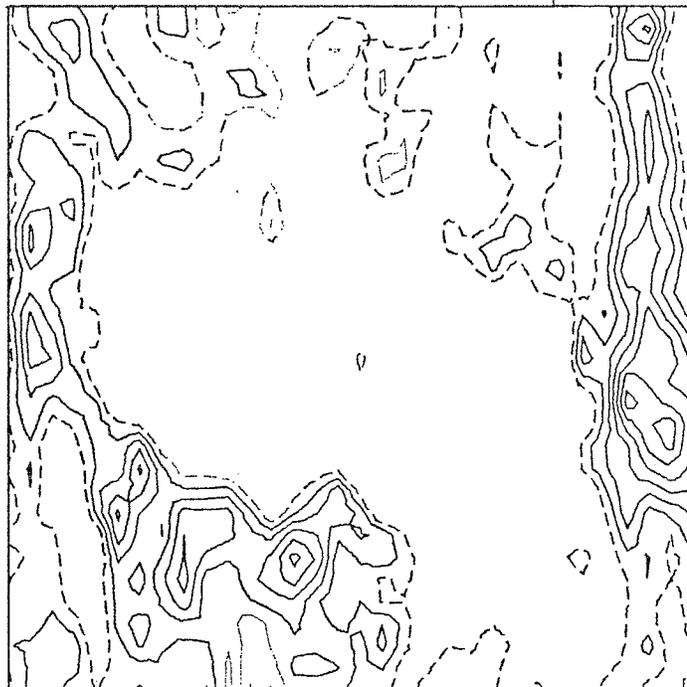
Schicht Nr. 23

3.0 nm
|-----|

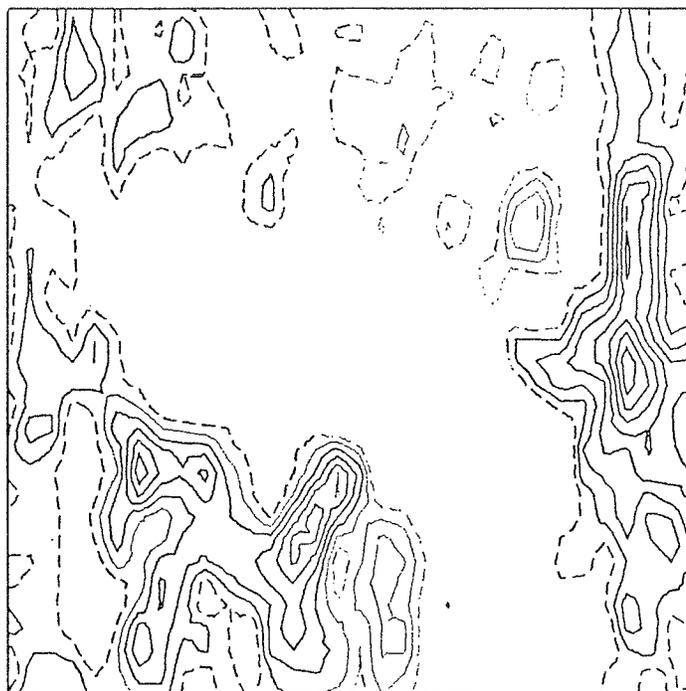
Schicht Nr. 24

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



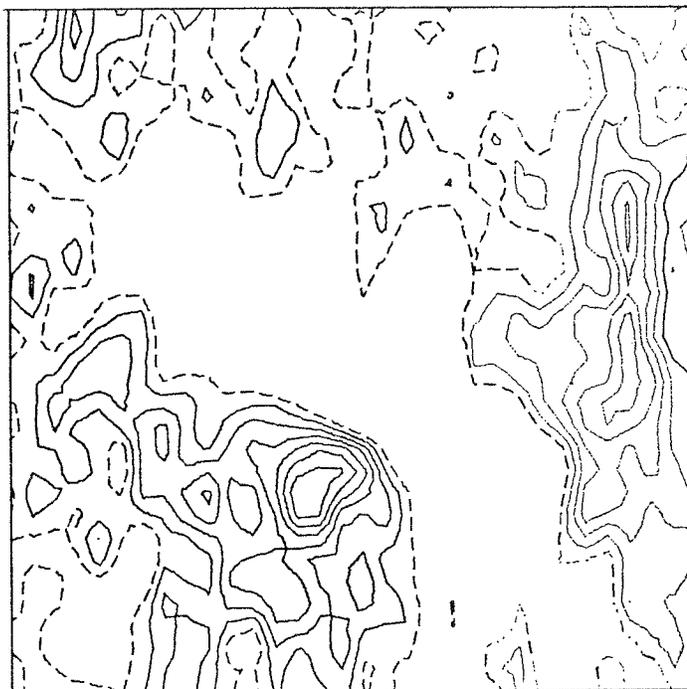
Schicht Nr. 25

3.0 nm
|-----|

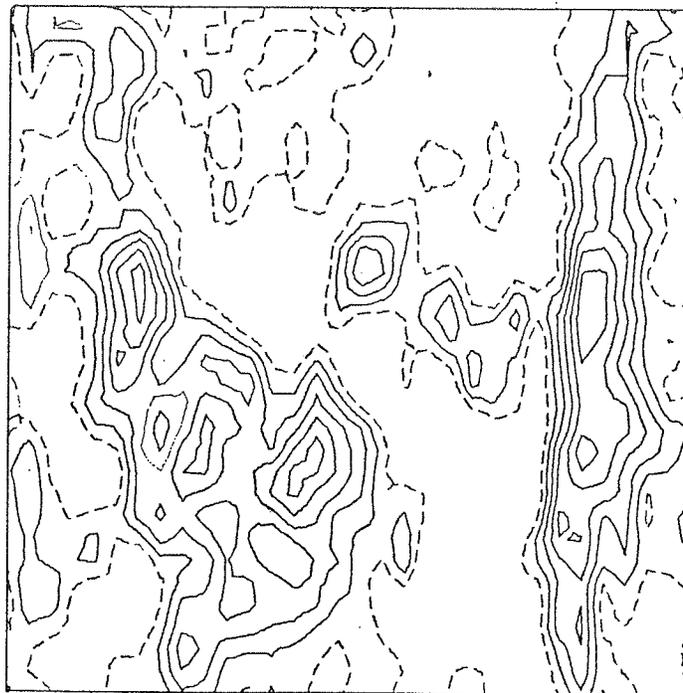
Schicht Nr. 26

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



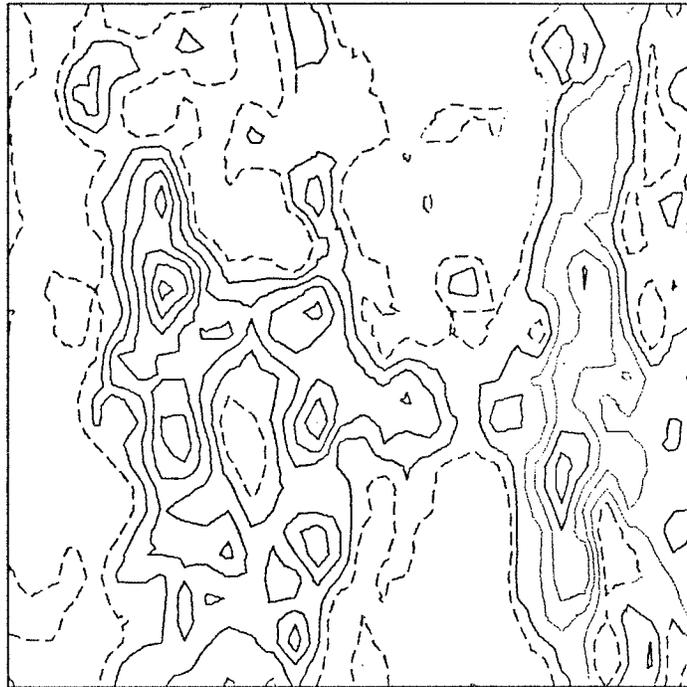
Schicht Nr. 27

3.0 nm
┌───┐

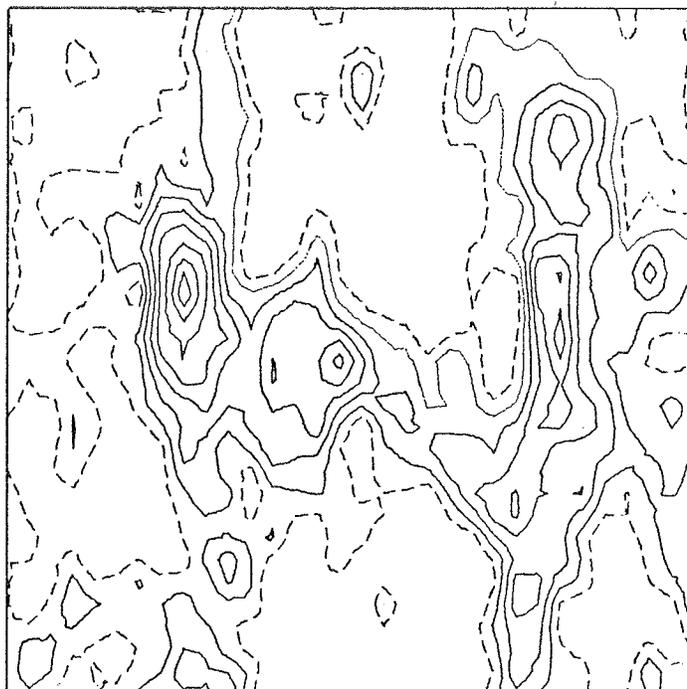
Schicht Nr. 28

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



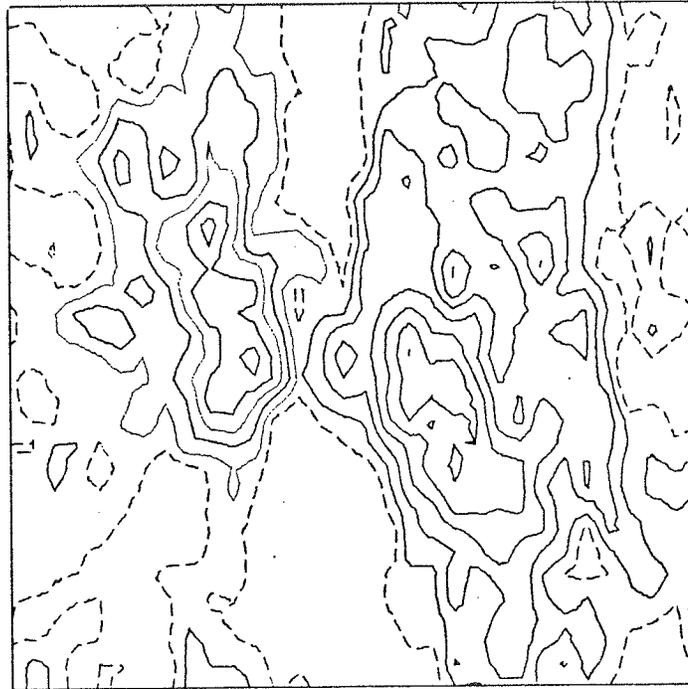
Schicht Nr. 29

3.0 nm


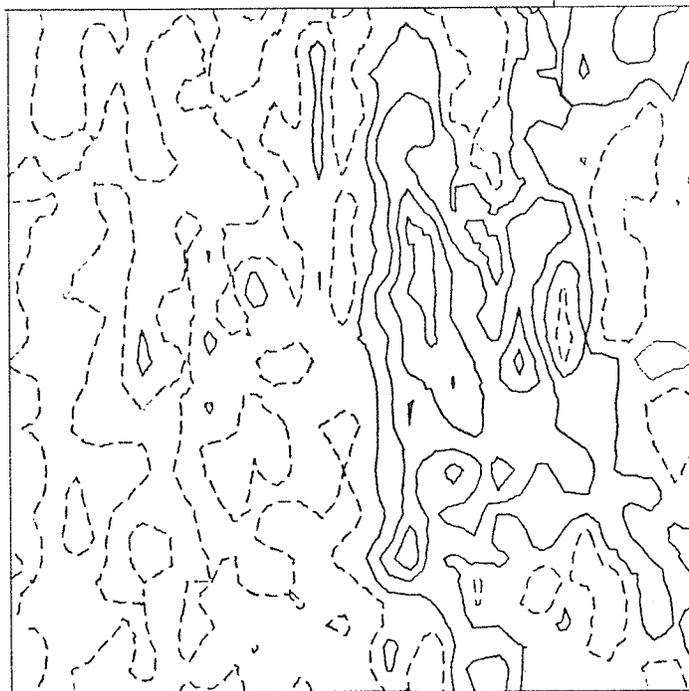
Schicht Nr. 30

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

Abb. A2



Schicht Nr. 31

3.0 nm
┌───┐

Schicht Nr. 32

Rekonstruktion der Hefefettsäuresynthetase. y-z Schichten.

1. Literatur:

- (1) Hoppe W., Langer R., Knesch G., Poppe Ch., Protein-kristallstrukturanalyse mit Elektronenstrahlen. Naturw. 55 1968 (333-336)
- (2) De Rosier D. J., Klug A., Reconstruction of Threedimensional Images From Electron Micrographs. Nature (Lond.) 217: 1968 (130-134)
- (3) Isaacson M., Collins M.L., Listvan M., Electron Beam Damage Of Biomolecules Assessed By Energy Loss Spectroscopy. Proc. 9th Int. Congr. El. Micr. Vol 3 Toronto 1978 (61-69)
- (4) Scherzer O. Die Strahlenschädigung der Objekte als Grenze für die hochauflösende Elektronenmikroskopie. Ber. d. Bunsenges. Bd. 74 Nr.11 1970 (1154-1167)
- (5) Cosslett V.E. Radiation Damage In The High Resolution Electron Microscopy Of Biological Materials. Journ. of Micr. Vol 113 July 1978 (113-129)
- (6) Stöffler G. Structure And Function Of The E.Coli Ribosome: Immunochemical Analysis. In: Ribosomes, Edts.: Nomura M., Tissieres A., Langyel P., Cold Spring Harbor Laboratory, 1974.
- (7) Hoppe W., Dreidimensional abbildende Elektronenmikroskope. Zeitschr. f. Naturf. 27a Heft 6 1972 (919-929)

- (8) Typke d., Hoppe W., Seßler W., Burger M., Conception Of A 3-D Imaging Electron Microscope. 6th Europ. Congr. El. Micr. Jerusalem 1976 Vol.I (334-335)
- (9) Dietrich I., Fox F., Knappek E., Lefranc G., Nachtrieb K., Weyl R., Zerbst H., Improvements In Electron Microscopy By Application Of Superconductivity. Ultramicroscopy 2 1977 (241-249)
- (10) Colsher J. G., Hart R. G., Comparison Of Algorithms For Three-dimensional Image Reconstruction From A Series Of Conical Projections. Digest Of Papers, Topical Meeting On Image Processing For 2-D and 3-D Reconstruction From Projections. Stanford University, Palo Alto, Calif., Aug. 4-7, 1975
- (11) Colsher J. G. Iterative Threedimensional Image Reconstruction From Tomographic Projections. Comp. Graph. Image Proc. 6 1977 (513-537)
- (12) Colsher J. G., Iterative Threedimensional Image Reconstruction From Tomographic Projections. PHD Thesis 1978
- (13) Crowther R. A., Klug A., ART And Science, Or, Conditions For 3-D Reconstruction From Electron Microscope Images. J. Theor. Biol. 32 1971 (199-203)
- (14) Herman G., Rowland S., Resolution in ART. J. Theor. Biol. 33 1971 (213-223)
- (15) Knauer V., Schramm H. J., Hoppe W., A Minimal Dose

Technique in 3-D Electron Microscopy., Proc. 9th
Congr. El. Micr. 1978 Vol 2 (4-5)

- (16) Knauer V., Dreidimensionale Rekonstruktion von negativ gefärbten, im Sandwich präparierten 30s Ribosomen Untereinheiten von E.coli aus elektronenmikroskopischen Aufnahmen. Dissertation TU München 1979
- (17) Cormack A. M., Representation Of A Function By Its Line Integrals, With Some Radiological Applications. J. Appl. Phys. Vol 34 No 9 Sept 1963 (2722-2727)
Cormack A.M., Representation Of A Function By Its Line Integrals, With Some Radiological Applications. II J. Appl. Phys. Vol 35 No 10 Oct. 1964 (2908-2912)
Cormack A. M., Reconstruction Of Densities From Their Projections, With Applications In Radiological Physics. Phys. Med. Biol. Vol. 18 No 2 1973 (195-207)
- (18) Smith P. R., Peter T. M., Bates R. H. T., Image Reconstruction From A Finite Number Of Projections. J. Phys. A: Math Nucl. Gen. 6 (361-382) 1973
- (19) Heidenreich R. D. Fundamentals Of Transmission Electron Microscopy. New York 1964
- (20) Langer R., Zur Frage der Sichtbarmachung von Atomen im Elektronenmikroskop bei Verwendung von Zonenkorrekturplatten. Dissertation TU München 1967
- (21) Gottfried K., Quantum Mechanics. Vol 1 New York 1966
- (22) Born M., Wolf E., Principles Of Optics. 5th Ed. Pergamon Press 1975

- (23) Radon J., Über die Bestimmung von Funktionen durch ihre Integralwerte längs gewisser Mannigfaltigkeiten. Berichte über die Verh. d. königl. sächs. Ges. d. Wiss. zu Leipzig Math. Phys. Klasse Bd. 69 1917 (262-277)
- (24) Goodman J. W., Introduction To Fourier Optics. New York 1968
- (25) Röhler R., Informationstheorie in der Optik. Stuttgart 1967
- (26) z. B.: Nermut M. V., Methoden der Negativkontrastierung. Meth. Elmi. 6 Stuttgart 1973
- (27) Rowland S., The Computer Implementation Of Three Versions Of The Radon Inversion Formula. In: Image Proc. For 2-D And 3-d Reconstr. From Proj., Stanford Calif. Aug 5-7 1975
- (28) Ferguson H. R. P., Reconstruction Of Plane Objects By Farey Dissection Of Radon's Integral Solution. In: Image Proc. For 2-D And 3-d Reconstr. From Proj., Stanford Calif. Aug 5-7 1975
- (29) Gilbert P. C. F., Herman G. T. , Naparstek A., Fast Image Reconstruction Based On A Radon Inversion Formula Appropriate For Rapidly Collected Data. Siam. J. Appl. Math. Vol 33 No 3 Nov. 1977 (511-533)
- (30) Hoppe W., Das Endlichkeitspostulat und das Interpolationstheorem der dreidimensionalen elektronenmikrosko-

pischen Analyse aperiodischer Strukturen. Optik 29
Heft 6 1969 (617-621)

- (31) Henkel J. Fouriermethode zur dreidimensionalen elektronenmikroskopischen Rekonstruktion beliebig großer Objektbereiche mit fester Kippachse und beschränktem Winkelbereich. Dissertation, München 1978
- (32) Crowther R. A., De Rosier D. J., Klug A., The Reconstruction Of A Threedimensional Structure From Projections And Its Application To Electron Microscopy. Proc. Roy. Soc. Lond. A 317 1970 (319-340)
- (33) Hunsmann N., Die Bestimmung dreidimensionaler Strukturen aus elektronenmikroskopischen Aufnahmen. Dissertation München 1975
- (34) Gilbert P. C. F., The Reconstruction Of A Threedimensional Structure From Projections And Its Application To Electron Microscopy. II Direct Methods. Proc. Roy. Soc. Lond. B 182 1972 (89-102)
- (35) Goitein M., Threedimensional Density Reconstruction From A Series Of Twodimensional Projections. Nucl. Instr. And Meth. 101 1972 (509-518)
- (36) Vainstein B., K., Orlov S. S., Theory Of The Recovery Of Functions From Their Projections. Sov. Phys. Cryst. Vol 17 No 2 Sept/Oct. 1972 (213-222)
- (37) Gordon R., Bender R., Herman G. T., Algebraic Reconstruction Techniques For Threedimensional

- Electron Microscopy And X-Ray Tomography. J. Theor. Biol. 29 1970 (471-481)
- (38) Gilbert P. C. F., Iterative Methods For The Threedimensional Reconstruction Of An Object From Projections. J. Theor. Biol. 36 1972 (105-117)
- (39) Hoppe W., Grill B., Prospects Of Threedimensional High Resolution Electron Microscopy Of Non Periodic Structures. Ultramicroscopy 2 1977 (153-168)
- (40) Edholm P., The Tomogram -Its Formation And Content. Acta Radiol. Suppl. (1-109) . Stockholm 1960
- (41) Bahr G. F., Boccia J. A., Engler W. F., Robb R. A., Jurkevich I., Petty A. F., Reconstruction Of A Chromosome Modell From Its Projections. Ultramicroscopy 4 1979 (45-53)
- (42) Bender R., Bellman S. H., Gordon R., ART And The Ribosome. J. Theor. Biol. 29 1970 (483-487)
- (43) Barret H. H., Swindel W., Analog Reconstruction Methods For Transaxial Tomography. IEEE Vol 65 No 1 Jan 1977 (89-107)
- (44) Cho Z. H., Chan J. K., A Comparative Study Of 3-D Image Reconstruction Methods With Reference To Number Of Projections And Noise Filtering. IEEE Trans. Nucl. Sci. Vol 22 Febr 1975 (344-363)
- (45) Zwick M., Zeitler E., Image Reconstruction From Pro-

- jections. Optik 38 No 5 1973 (550-565)
- (46) Kashyap R. L., Mittal M. C., Picture Reconstruction From Projections. IEEE Trans. On Comp. Vol c-24 No 9 Sept 1975 (915-925)
- (47) Lewitt R. M., Bates R. H. T., Image Reconstruction From Projections.
I General Theoretical Considerations. Optic 50 No1 1978 (19-33)
II Modified Backprojection Methods. Optik 50 No2 1978 (85-109)
III Projection Completion Methods. Optik 50 No3 1978 (187-204)
- (48) Radermacher M., Hoppe W., 3-D Reconstruction from Conically Tilted Projections. Proc. 9th Int Congr. El. Micr. Toronto 1978 (218-219) (Vorveröffentlichung)
- (49) Typke, D. private Mitteilung.
- (50) Bracewell R. N., Riddle A.C., Inversion Of Fan Beam Scans In Radio Astronomy. The Astrophys. J. Vol 150 Nov 1967 (427-434)
- (51) Hart R. G., Electron Microscopy Of Unstained Biological Material: The Polytropic Montage. Science Vol 159 March 1968 (1464-1467)
- (52) Champeny D. C. Fourier Transforms And Their Physical Applications. London N.Y. 1973

- (53) Sturm M., Dreidimensionale Strukturanalyse von Hefefettsäuresynthetase aus Elektronenmikroskopischen Kippserien. Dissertation MPI für Biochemie Martinsried 1976
- (54) Hoppe W., Hunsmann N., Schramm H., Sturm M., Grill B., Gaßmann J., Threedimensional Electron Microscopy Of Individual Objects. 6th Europ. Congr. El. Micr. Jerusalem 1976 Vol 1 (8-13)
- (55) Crowther R. A., Criteria For Reliable Threedimensional Image Reconstruction Brookhaven Symp. July 1977
- (56) Frank J., Bußler P., Langer R., Hoppe W., Einige Erfahrungen mit der rechnerischen Analyse und Synthese von elektronenmikroskopischen Bildern hoher Auflösung. Ber. d. Bunsenges. f. phys. Chem. Bd. 74 11 1970 (1105-1115)
- (57) Frieder G., Herman G. T., Resolution in Reconstructing Objects From Electron Micrographs. J. Theor. Biol. 33 1971 (189-211)
- (58) Saxton W. O., Pitt T. J., Horner M., Digital Image Processing: The Semper System. Ultramicroscopy 4 1979 (343-354)
- (59) Frank J., Goldfarb W., Eisenberg D., Baker T. S., Reconstruction Of Glutamine Synthetase Using Computer Averaging. Ultramicroscopy 3 1978 (283-290)
- (60) Hoppe W., Wenzel H., Schramm H., New 3-D Reconstruct-

- tion Technique At Minimal Dose Conditions. Proc. 6th Europ. Congr. El. Micr. Jerusalem 1976 Vol.2 (58-60)
- (61) Hoppe W., Köstler D., Experimental Results In High Resolution Electron Microscopy Using The Tilt Images Reconstruction Technique. Proc. 6th Europ. Congr. El. Micr. Jerusalem 1976 (99-104)
- (62) Cho Z. H., Burger J. R., Construction, Restauration And Enhancement Of 2 And 3-Dimensional Images. IEEE Trans Nucl. Sci. Vol 24 No 2 Apr. 1977 (886-899)
- (63) Scudder H. J., Introduction To Computer Aided Tomography. IEEE Vol 66 No 6 Jan 1978 (628-637)
- (64) EM-Manual, unveröffentlicht
- (65) Smith P. R., An Integrated Set Of Computer Programs For Processing Electron Micrographs Of Biological Structures. Ultramicroscopy 3 1978 (153-160)
- (66) Hoppe W., Schramm H. J., Sturm M., Hunsmann N., Gaßmann J., Three-Dimensional Electron Microscopy Of Individual Biological Objects.
Part I. Methods. Z. Naturforsch. 31a, 1976 (645-655)
Part II. Test Calculations. Z. Naturforsch. 31a 1976 (1370-1379)
Part III. Experimental Results On Yeast Fatty Acid Synthetase. Z. Naturforsch 31a 1976 (1380-1390)
- (67) Gradshteyn I. S., Ryzhik I. M., Table Of Integrals Series And Products. 4th ed. New York, London 1965

- (68) Bronstein H., Semendajajew K., Taschenbuch der Mathematik. 5. Aufl. Frankfurt 1965
- (69) Bartsch H., Mathematische Formeln. Köln 1970
- (70) Zurmühl R., Praktische Mathematik. 3. Aufl. Berlin 1961