



(12) **Patentschrift**

(21) Aktenzeichen: **10 2008 010 435.3**  
 (22) Anmeldetag: **21.02.2008**  
 (43) Offenlegungstag: **03.09.2009**  
 (45) Veröffentlichungstag  
 der Patenterteilung: **29.07.2010**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **G01N 21/64** (2006.01)  
**G02B 21/00** (2006.01)

Innerhalb von drei Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(73) Patentinhaber:  
**Tecan Trading AG, Männedorf, CH**

(74) Vertreter:  
**Rach, W., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 71083 Herrenberg**

(72) Erfinder:  
**Schausberger, Alois, Salzburg, AT; Gfrörer, Andreas, 82549 Königsdorf, DE; Fuchs, Wolfgang, Salzburg, AT**

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:

**DE 10 2005 045163 B4**  
**DE 10 2005 047218 A1**  
**DE 10 2005 037570 A1**  
**DE 100 41 165 A1**  
**DE 11 2004 001972 T5**  
**DE 691 09 181 T2**  
**DE 690 30 703 T2**

**DE 689 24 460 T2**  
**GB 21 84 321 A**  
**US 66 28 385 B1**  
**US 2006/00 56 015 A1**  
**US 56 68 887 A**  
**US 53 04 810 A**  
**US 52 83 433 A**  
**EP 03 80 904 B1**  
**EP 01 76 358 B1**  
**EP 12 91 627 A1**  
**EP 12 09 504 A2**  
**EP 08 71 052 A1**  
**EP 08 45 693 A1**  
**WO 2007/1 01 205 A2**  
**WO 02/0 59 677 A1**  
**WO 01/73 374 A1**  
**JP 2004-1 44 734 A**  
**JP 2003-0 43 369 A**

(54) Bezeichnung: **Datenerfassungsverfahren mit einem Laser Scanner-Gerät**

(57) Hauptanspruch: Datenerfassungsverfahren mit einem Laser Scanner-Gerät (1) zum pixelgenauen Abbilden von auf Objektträgern (8) befindlichen, mit Fluoreszenzfarbstoffen behandelten, fluoreszierenden Proben, wobei dieses Laser Scanner-Gerät (1) umfasst:

(a) einen Probentisch (2) mit einer Aufnahme (34) für Objektträger (8) in einer Probenebene (49);

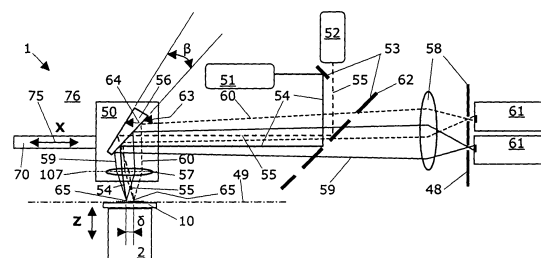
(b) mindestens einen Laser (51, 52) und ein erstes optisches System (53) zum Bereitstellen mindestens eines Laserstrahls (54, 55) zur Anregung der fluoreszierenden Proben;

(c) einen motorgetriebenen, sich nicht-linear im Raum bewegenden Scanner-Kopf (50) mit einem optischen Umlenkelement (56) zum Umlenken der Laserstrahlen (54, 55) zu der Probe hin und zum Abrastern dieser Probe in mindestens einer Bewegungsrichtung (75);

(d) ein erstes Objektiv (57) zum Fokussieren der Laserstrahlen (54, 55) auf der Probe in der Ebene (49);

(e) ein zweites optisches System (58) zum Weiterleiten von durch die Laserstrahlen (54, 55) an der Probe ausge-

lösten und durch das erste Objektiv (57) und das Umlenkelement...



### Beschreibung

**[0001]** Die Erfindung betrifft ein Datenerfassungsverfahren mit einem Laser Scanner-Gerät zum Abbilden und/oder Vermessen von auf Objektträgern befindlichen, mit Fluoreszenzfarbstoffen behandelten, fluoreszierenden Proben. Ein zur Verwendung mit dem erfindungsgemässen Datenerfassungsverfahren geeignetes Laser Scanner-Gerät umfasst einen Probentisch mit einer Aufnahme für Objektträger in einer Probenebene; mindestens einen Laser und ein erstes optisches System zum Bereitstellen mindestens eines Laserstrahls zur Anregung der fluoreszierenden Proben; einen motorgetriebenen, sich nicht-linear im Raum bewegenden Scanner-Kopf mit einem optischen Umlenkelement zum Umlenken der Laserstrahlen zu der Probe hin und zum Abrastern dieser Probe in mindestens einer Bewegungsrichtung; ein erstes Objektiv zum Fokussieren der Laserstrahlen auf der Probe in der Ebene; ein zweites optisches System zum Weiterleiten von durch die Laserstrahlen an der Probe ausgelösten und durch das erste Objektiv und das Umlenkelement umgelenkten Emissionsstrahlenbündeln zu mindestens einem Detektor; einen Weggeber, der Weggeber-Signale aussendet, die den momentanen Aufenthaltsort des Scanner-Kopfs in Bezug auf einen Nullpunkt anzeigen; ein elektronisches Element zur Filterung von Detektor-Signalen des Detektors mit einer definierten Zeitkonstante; und einen A/D-Wandler zur Digitalisierung der gefilterten Detektor-Signale.

**[0002]** Zum Abbilden von auf Objektträgern befindlichen, fluoreszierenden Proben werden seit langem konventionelle optische Rastermikroskope verwendet. Immer häufiger finden wegen der verbesserten Auflösung konfokale optische Rastermikroskope Verwendung. Ein solches Mikroskop ist beispielsweise aus GB 2 184 321 A bekannt. Dieses Mikroskop lenkt das Licht einer Laserquelle entlang eines optischen Pfads, um mit dem fokussierten Lichtstrahl eine sich in der Objektebene des Mikroskops befindende Probe abzurastern bzw. "zu scannen". Der von der Probe emittierte Fluoreszenzstrahl wird zum Entrastern durch den gleichen optischen Pfad zurückgelenkt, mittels eines Dichroidspiegels vom Anregungsstrahl getrennt und auf einer konfokalen Öffnung vor einem Detektor abgebildet. Damit wird aus der Fluoreszenz einer Probe ein Bild geformt, ohne dass das auf die Probe gerichtete Licht zum Auslösen der Fluoreszenz auf den Detektor treffen kann.

**[0003]** Viele der im Handel erhältlichen Mikroskope beruhen auf dieser Konstruktion und weisen Strahlteiler oder Filter zum Unterteilen des von der Probe emittierten Lichts in Strahlen mit unterschiedlichem Wellenlängenbereich auf. Dadurch können auch zwei fluoreszierende Farbstoffe verwendet und deren Emission mit zwei verschiedenen Detektoren gemessen werden.

**[0004]** Allerdings weisen alle konfokalen Scanner-Systeme, welche die beiden Anregungslichtstrahlen mit den beiden unterschiedlichen Wellenlängen auf denselben Abtastfleck lenken, den Nachteil auf, dass die Abgrenzung der beiden Emissionssignale nur spektral erfolgen kann. Da die Absorption und/oder die Fluoreszenzemissionsspektren der verwendeten Farbstoffe sich meist überlappen, können sie (insbesondere bei grösseren Intensitätsunterschieden) nicht zuverlässig und quantitativ unterschieden werden. Damit nicht in zeitraubender Weise zuerst ein Bild mit einem ersten Fluoreszenzspektrum und dann ein zweites Bild mit einer anderen Art des Anregungsstrahls erzeugt werden muss, wurden Abtastmikroskope und "Scanner-Geräte" vorgeschlagen, die zumindest zwei Anregungsstrahlen mit unterschiedlicher Ausrichtung bereitstellen.

**[0005]** Ein solches Mikroskop ist beispielsweise aus US 5,304,810 bekannt, welches mit zwei oder mehr räumlich voneinander getrennten Beleuchtungsstrahlen zwei oder mehr räumlich voneinander getrennte Beleuchtungspunkte erzeugt und eine Probe simultan mit diesen Beleuchtungspunkten abrastert. Die dadurch simultan erzeugten, räumlich voneinander getrennten Fluoreszenzemissionsstrahlenbündel werden entsprechend ihrer jeweiligen Rasterposition simultan mittels individuellen, auf diese räumlich voneinander getrennten Beleuchtungspunkte ausgerichteten Detektoren gemessen. Auch aus US 6,628,385 B1 ist ein solches Mikroskop bekannt, das mittels zwei Anregungslasern zwei separate Lichtflecke auf einer Probe erzeugt. Dabei durchstossen die beiden Anregungsstrahlen unter leicht unterschiedlichen Winkeln eine Öffnung in einem 45°-Spiegel und treffen dann auf ein Objektiv-Element. Dies bewirkt das Bereitstellen von zwei voneinander getrennten Lichtflecken auf der Probe, wobei an jedem Lichtfleck ein Emissionsstrahlenbündel erzeugt wird. Die beiden resultierenden Emissionsstrahlenbündel werden am 45°-Spiegel reflektiert und treffen auf eine Sekundärlinse auf, wonach sie direkt oder nach einer zweiten Umlenkung jeweils einen von zwei Detektoren erreichen. Zudem können optische Trennelemente, wie Dichroidfilter oder Prismen vor den als Photomultiplier ausgebildeten Detektoren positioniert werden. Zum Abrastern der Proben kann ein zwischen dem 45°-Spiegel und dem Objektiv-Element angeordnetes Rastersystem verwendet werden.

**[0006]** Aus WO 02/059677 A1 ist ein optisches System zum Anregen und Messen von Fluoreszenz an oder in mit Fluoreszenzfarbstoffen behandelten Proben bekannt. Dieses System umfasst zumindest einen Laser zum Anregen der verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe, einen Spiegel zum Umlenken des Laserlichts in Rich-

tung einer Probe, ein Umlenkelement zum Umlenken des Lichts aus dem Laser auf diesen Spiegel in einer Y-Richtung eines (hier kartesischen) Koordinatensystems, eine Optik zum Bilden eines ersten Brennpunktes des Laserlichts auf der Probe, eine den Spiegel und die Optik umfassende, in der Y-Richtung bewegliche Raster-Einheit, einen in der X- und Z-Richtung des Koordinatensystems bewegbaren Probentisch zum Ausrichten der Probe gegenüber dem ersten Brennpunkt, eine optische Anordnung zum Abbilden des von der Probe emittierten Lichts in einer in einem zweiten Brennpunkt angeordneten Lochblende und einen Detektor zum Messen der Intensität des die Lochblende durchtretenden Lichts.

**[0007]** Diese bekannten Mikroskope zum hochempfindlichen Abrastern von in einem regelmässigen Muster (einem sogenannten Array) angeordneten Proben sind zudem befähigt, einen ganzen Standard-Objekträger für die Lichtmikroskopie abzurastern und arbeiten bei mittlerer Auflösung zufriedenstellend. Es ist aber zu beachten, dass beim Erhöhen der Auflösung zusätzliche Effekte, wie dynamische Verschiebungen zwischen den Farbkanälen sichtbar werden können. Dadurch liegen beispielsweise die Abbildungspunkte des roten und des grünen Kanals nicht mehr genau übereinander. Die relative Verschiebung kann sich zwischen den Kanälen über die Ausdehnung des Bildes dynamisch ändern. Zudem hängt diese Verschiebung wesentlich von der Positioniergenauigkeit der Probe im Fokus ab. Aus diesen Gründen ist eine relative Verschiebung nachträglich per Software nur sehr schwer korrigierbar.

**[0008]** Sollen die beiden Kanäle nicht nur spektral sondern auch räumlich voneinander getrennt werden, so müssen die beiden Fokalfpunkte der Anregungslaser auf der Probe voneinander getrennt werden. Dies lässt sich nur dadurch erreichen, dass die gebündelten Lichtstrahlen der beiden Laser in einem zwar kleinen aber doch signifikanten Winkel zueinander auf das Scanobjektiv fallen. Es ist allgemein bekannt, dass alle in einem bestimmten Winkel auf das Objektiv auftreffenden Strahlen auf denselben Punkt innerhalb der Fokalebene fokussiert werden. Ein bestimmter Einfallswinkel vor dem Objektiv entspricht also immer einem bestimmten Ort hinter dem Objektiv. In diesem Zusammenhang ist es unerheblich, ob der Laserstrahl das Objektiv in dessen Mitte oder in irgend einem anderem Teilbereich der Objektivapertur trifft; die Bündelung in ein und demselben Fokuspunkt ist davon nicht betroffen. Unterschiedlich ist jedoch der Strahlwinkel hinter dem Objektiv, die Strahlen treffen nun aus unterschiedlichen Richtungen im Fokuspunkt zusammen. Im exakten Fokuspunkt spielt dies keine Rolle, in Ebenen die geringfügig darunter oder darüber liegen, jedoch schon. Dort entfernen sich die Strahlen vom exakten Fokuspunkt in Abhängigkeit von diesem Winkel unterschiedlich schnell.

**[0009]** Sollen nun zwei Laserstrahlen entsprechend diesen Vorgaben auf einer Probe und in der Fokalebene räumlich getrennt voneinander fokussiert werden und bilden diese Laserstrahlen deshalb beim Einfall auf das Scanobjektiv einen Winkel zueinander, so führt dies zwangsläufig dazu, dass zumindest einer der beiden Laserstrahlen vor dem Auftreffen auf das Spiegelement jetzt auch nicht mehr exakt parallel zur Scanachse verlaufen kann.

**[0010]** Wird nun der Scanner-Kopf bewegt, ändert sich der Auftreffpunkt des Laserstrahls auf das Objektiv. Der Strahl wird zwar nach wie vor auf denselben Fokalfpunkt abgelenkt werden, aber unter verschiedenen Winkeln. Ausserhalb der Fokalebene ergeben sich dann entsprechend dem oben gesagten unterschiedliche Positionen je nach Stellung des Scanner-Kopfes in X-Richtung und je nach der Abweichung der Probenebene von der exakten Fokalebene in Z-Richtung. Die letztere Abweichung ist im Rahmen von realistischen Gerätetoleranzen nie vollständig auszuschliessen und als zufällige Toleranz auch nicht beliebig gut kontrollierbar.

**[0011]** Die beschriebenen Effekte sind an sich klein, sie machen sich jedoch im Beispielaufbau bei Auflösungen unterhalb von 5  $\mu\text{m}$  signifikant bemerkbar. Die beschriebenen Effekte können dazu führen, dass die Bilder der beiden Detektionskanäle nicht über den gesamten Bildbereich deckungsgleich sind, und dass das Ausmass der Abweichungen unkontrolliert über das Bild variiert. Quantitative Vermessungen von sehr kleinen Strukturen werden dadurch unmöglich oder zumindest verfälscht. Visuell machen sich die Fehler als lokal variierende Farbsäume bemerkbar.

**[0012]** Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht darin, ein alternatives Datenerfassungsverfahren zum Abbilden von auf Objekträgern befindlichen, mit Fluoreszenzfarbstoffen behandelten, fluoreszierenden Proben mit einem Laser Scanner-Gerät vorzuschlagen, mit welchem die Empfindlichkeit des Laser Scanner-Geräts zusätzlich verbessert wird.

**[0013]** Diese Aufgabe wird mit einem Datenerfassungsverfahren mit einem Laser Scanner-Gerät zum pixelgenauen Abbilden von auf Objekträgern befindlichen, mit Fluoreszenzfarbstoffen behandelten, fluoreszierenden Proben gelöst, das die Merkmale des unabhängigen Anspruchs 1 umfasst. Ein zur Durchführung dieses Datenerfassungsverfahrens geeignetes Laser Scanner-Gerät umfasst:

- a) einen Probentisch mit einer Aufnahme für Objektträger in einer Probenebene;
- b) mindestens einen Laser und ein erstes optisches System zum Bereitstellen mindestens eines Laserstrahls zur Anregung der fluoreszierenden Proben;
- c) einen motorgetriebenen, sich nicht-linear im Raum bewegenden Scanner-Kopf mit einem optischen Umlenkelement zum Umlenken der Laserstrahlen zu der Probe hin und zum Abrastern dieser Probe in mindestens einer Bewegungsrichtung;
- d) ein erstes Objektiv zum Fokussieren der Laserstrahlen auf der Probe in der Ebene;
- e) ein zweites optisches System zum Weiterleiten von durch die Laserstrahlen an der Probe ausgelösten und durch das erste Objektiv und das Umlenkelement umgelenkten Emissionsstrahlenbündeln zu mindestens einem Detektor;
- f) einen Weggeber, der Weggeber-Signale aussendet, die den momentanen Aufenthaltsort des Scanner-Kopfs in Bezug auf einen Nullpunkt anzeigen;
- g) ein elektronisches Element zur Filterung von Detektor-Signalen des Detektors mit einer definierten Zeitkonstante; und
- h) einen A/D-Wandler zur Digitalisierung der gefilterten Detektor-Signale.

**[0014]** Das erfindungsgemäße Datenerfassungsverfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass die gefilterten Detektor-Signale des A/D-Wandlers und die Weggeber-Signale unabhängig, parallel und kontinuierlich von einer Rechneinheit bzw. einer Steuerung erfasst und auf eine gemeinsame Zeitbasis bezogen werden, wobei die A/D-Wandlung so häufig erfolgt, dass jedem Pixel eines Bildes stets mehr als ein Datenpunkt des A/D-Wandlers zugeordnet wird.

**[0015]** Zusätzliche bevorzugte Ausführungsformen und erfindungsgemäße Merkmale ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

**[0016]** Vorteile des erfindungsgemässen Datenerfassungsverfahrens umfassen:

- Durch die kontinuierliche Datenerfassung ist die tatsächliche Datenerfassungszeit identisch mit der insgesamt zur Verfügung stehenden Scanzeit. Das heisst, 100% der anfallenden Signale, insbesondere der eintreffenden Photonen, werden auch erfasst. Es gibt somit keine Lücken oder Totzeiten in denen die Datenerfassung eintreffende Signale nicht registrieren kann. Dies steht im Gegensatz zu den herkömmlichen Systemen, die aktiv geschaltete Integratoren verwenden und deren tatsächliche Integrationszeit stets um die Löschezit verringert ist. Die Löschezit entfällt im vorgestellten Verfahren, sämtliche eintreffenden Photonensignale werden ohne Lücke erfasst. Diese höhere Erfassungsrate bedeutet eine höhere Empfindlichkeit des Systems, da diese entsprechend den Gesetzen der Photonenstatistik direkt von der Gesamtzahl der erfassten Photonensignale abhängt.
- Im herkömmlichen Ansatz wird der Beginn der Integrationszeit durch die aufeinanderfolgenden Weggebersignale ausgelöst. Dies hat zur Folge, dass stets sichergestellt sein muss, dass Integrationszeit und Löschezit immer vollständig abgeschlossen sind, bevor der nachfolgende Triggerimpuls eintrifft. Da die Weggebersignale einen signifikanten "Jitter" (Instabilität) aufweisen (bis zu  $\pm 30\%$ ) kann das fixe Integrationsintervall maximal so gross sein, wie der kleinste mögliche Abstand zwischen 2 Triggersignalen des Weggebers. Dadurch gehen im konventionellen Verfahren wiederum bis zu 30% der eigentlich verfügbaren Messzeit verloren. Im Gegensatz dazu nutzt das erfindungsgemäße Verfahren den Duty Cycle (Arbeitszyklus) voll aus, was wiederum ein gesteigerte Empfindlichkeit zur Folge hat.
- Da Weggebersignale und Datenerfassung unabhängig voneinander aufgezeichnet werden, ist die einstellbare Pixelauflösung des Systems frei skalierbar und unabhängig von der Weggeberteilung, wie dies in konventionell betriebenen Systemen der Fall ist.
- Da mindestens zwei Rohdatenpunkte pro Pixel verwendet werden, kann ein Filter mit kleinerer Integrationskonstante verwendet werden. Somit ist das Abklingverhalten zwischen zwei aufeinanderfolgenden Pixeln beschleunigt und es resultiert eine bessere Auflösung an starken Hell/Dunkel Übergängen.

**[0017]** Das erfindungsgemäße Datenerfassungsverfahren mit dem dafür bevorzugten Laser Scanner-Gerät soll nun an Hand von schematischen Zeichnungen, die den Umfang der vorliegenden Erfindung nicht einschränken sollen und die lediglich Beispiele von besonders bevorzugten Ausführungsformen darstellen, erläutert werden. Dabei zeigen:

**[0018]** **Fig. 1** einen vertikalen Teilschnitt durch zwei Objektträgermagazine und einen vor diesen platzierten Objektisch beim Transfer eines Objektträgers aus dem Proben-Magazin auf den Objektisch;

**[0019]** **Fig. 2** einen horizontalen Teilschnitt durch die Objektträgermagazine und eine Draufsicht auf den vor diesen platzierten Objektisch beim Transfer eines Test-Objektträgers aus dem Testobjekt-Magazin auf den

Objekttisch;

[0020] **Fig. 3** vertikale Ansichten der Objektträgermagazine mit geöffnetem Testobjekt-Magazin, wobei

[0021] **Fig. 3A** die Einschubseite der beiden Objektträgermagazine in einer Frontansicht vom Objekttisch her gesehen, und

[0022] **Fig. 3B** die beiden Objektträgermagazine im Vertikalschnitt mit Blick gegen den Objekttisch hin zeigt;

[0023] **Fig. 4** vertikale Teilschnitte durch den Objekttisch und dessen Querneigevorrichtung, wobei:

[0024] **Fig. 4A** den Objekttisch mit Blick gegen die Objektträgermagazine und mit einem im geschlossenen Objekttisch doppelt gehaltenen Objektträger, und

[0025] **Fig. 4B** den Objekttisch mit Blick von den Objektträgermagazinen weg, mit geöffnetem Objekttisch, nach dem Entfernen bzw. vor dem Einschieben eines Objektträgers zeigt;

[0026] **Fig. 5** einen vertikalen Teilschnitt durch den Objekttisch und dessen Höhenverstellung und Längsneigevorrichtung;

[0027] **Fig. 6** eine Prinzipskizze mit wesentlichen optischen Elementen des Laser Scanner-Geräts mit einem Scanner-Kopf gemäß einer ersten Ausführungsform;

[0028] **Fig. 7** Prinzipskizzen des Scanner-Kopfes, wobei:

[0029] **Fig. 7A** eine zweite Ausführungsform des Scanner-Kopfes, und

[0030] **Fig. 7B** eine dritte Ausführungsform des Scanner-Kopfes zeigt;

[0031] **Fig. 8** einen horizontalen Teilschnitt durch ein Laser Scanner-Gerät mit wesentlichen optischen Elementen, einer Scanner-Einrichtung mit Scanner-Kopf und einem Objekttisch mit Objektträgermagazinen;

[0032] **Fig. 9** einen horizontalen Teilschnitt durch den Scanner-Kopf des Laser Scanner-Geräts mit dem zugeordneten Weggeber;

[0033] **Fig. 10** eine Prinzipskizze des Weggebers für den Scanner-Kopf und dessen nichtlineare Bewegung beim Scannen als  $X/t$ -Diagramm, welches auf die unterschiedliche Zeitdauer ( $\Delta t_1$ ;  $\Delta t_2$ ) für die Erfassung des von einem Objekt ausgehenden Fluoreszenzlichtes je nach der Position einer Anzahl Pixel ( $\Delta x$ ) auf der X-Achse hinweist;

[0034] **Fig. 11–Fig. 15** Diagramme von Lösungsvorschlägen, in denen die Signalintegration ( $I$ ) in Funktion der Zeit ( $t$ ) dargestellt ist, wobei:

[0035] **Fig. 11** einen ersten Lösungs-Vorschlag zeigt, bei welchem der Weggeber die Datenerfassung mit einem passiven Integrator triggert;

[0036] **Fig. 12** einen zweiten Lösungs-Vorschlag zeigt, bei welchem der Weggeber die Datenerfassung mit einem schaltbaren Integrator bei konstanter Integrationszeit triggert;

[0037] **Fig. 13** einen dritten Lösungs-Vorschlag zeigt, bei welchem das Weggeber-Signal als Ereignis zeitlich erfasst und jedem Signal über eine Zeitbasis der Zeitpunkt seines Auftretens zugeordnet wird, wobei die Signal-Integration konstant fortlaufend von der Zeitbasis getriggert wird;

[0038] **Fig. 14** einen vierten Lösungs-Vorschlag entsprechend dem dritten Lösungs-Vorschlag zeigt, wobei jedoch ein passives RC-Glied zur Integration verwendet wird;

[0039] **Fig. 15** einen fünften Lösungs-Vorschlag zeigt, welcher dem vierten Lösungs-Vorschlag entspricht, wobei aber mehrere Messungen pro Pixel ausgeführt werden.

[0040] **Fig. 1** zeigt einen vertikalen Teilschnitt durch zwei Objektträgermagazine und einen vor diesen plat-

zierten Objektisch beim Transfer eines Objektträgers aus dem Proben-Magazin auf den Objektisch. Diese beiden Objektträgermagazine gehören zu einem erfindungsgemässen Laser Scanner-Gerät **1** zum Abbilden und/oder Vermessen von auf Objektträgern befindlichen, mit Fluoreszenzfarbstoffen behandelten, fluoreszierenden Proben. Dieses Laser Scanner-Gerät umfasst einen eine Probenebene **49** definierenden Probenstisch **2** und eine motorisierte Transportvorrichtung **3** zum Bewegen eines Objektträgers von einer Aufbewahrungseinheit **4** zum Probenstisch **2** und zurück. Dabei umfasst die Aufbewahrungseinheit **4** je einen, zumindest je eine Lagerstelle **6** aufweisenden und während des Betriebs des Laser Scanner-Geräts **1** für die Transportvorrichtung **3** zugänglichen Probenteil **7** für Proben-Objektträger **8** und Testteil **9** für Test-Objektträger **10**. In diesem erfindungsgemässen Laser Scanner-Gerät ist der Testteil **9** vom Probenteil **7** getrennt und als mit dem Laser Scanner-Gerät **1** fest verbundenes Testteil-Magazin **9'** für einen oder mehrere Test-Objektträger **10** ausgebildet. Dadurch ist ein im Testteil **9** aufbewahrter Test-Objektträger **10** im Betriebszustand des Laser Scanner-Geräts **1** für eine Bedienungsperson manuell nicht zugänglich. Dies hat den Vorteil, dass jederzeit ein geeigneter Test-Objektträger bereitgestellt werden kann, ohne dass ein solcher Test-Objektträger **10** durch unsachgemässe Manipulationen durch Bedienungspersonen verschmutzt oder gar beschädigt werden kann. Das hier abgebildete Testteil-Magazin **9'** umfasst eine offene Einschubseite **15**.

**[0041]** In der hier dargestellten Ausführungsform ist der Probenteil **7** axial über dem Testteil **9** angeordnet und der Testteil **9** der Aufbewahrungseinheit **4** ist mit einer gegenüber dem Probenstisch **2** des Laser Scanner-Geräts **1** beweglichen Stellplatte **11** der Aufbewahrungseinheit **4** fest verbunden. Dabei ist hier die Stellplatte **11** der Aufbewahrungseinheit **4** im Wesentlichen senkrecht gegenüber der Probenebene **49** des Probenstisches **2** verschiebbar. So kann ein beliebiger Objektträger **8**, **10** auf das Niveau der vom Probenstisch **2** definierten Probenebene **49** gebracht und zu einem linearen Transport auf den Probenstisch **2** bereit gestellt werden.

**[0042]** Es wird bevorzugt, dass die Probenebene **49** des Probenstisches **2** im Wesentlichen horizontal angeordnet ist, wobei der Probenstisch **2** einen Objektträger **8**, **10** über sich trägt. Allerdings kann der Probenstisch **2** auch über Kopf angeordnet werden, so dass der eingesetzte Objektträger **8**, **10** unter dem Probenstisch angeordnet ist. Auch eine beliebige andere Lage der Probenebene **49** im Raum ist grundsätzlich denkbar, wird aber weniger bevorzugt.

**[0043]** Das Laser Scanner-Gerät **1**, gemäss der in [Fig. 1](#) abgebildeten, ersten Ausführungsform umfasst vorzugsweise ein Gehäuse **5**, wobei der Probenteil **7** als von aussen in das Gehäuse **5** des Laser Scanner-Geräts **1** einsetzbares Magazin **7'** für eine Vielzahl von Proben-Objektträgern **8** ausgebildet ist. Der Probenteil **7** ist bevorzugt reversibel an der Stellplatte **11** der Aufbewahrungseinheit **4** montierbar. In der gezeigten Ausführungsform verbindet eine steckbare Schwalbenschwanzverbindung das Probenteil-Magazin **7'** mit der hier vertikal beweglichen Stellplatte **11**. Somit kann das Probenteil-Magazin **7'** am Handgriff **42** festgehalten und in im wesentlichen vertikaler Richtung in das Gehäuse **5** gesenkt und am Schwalbenschwanz **43** der Stellplatte **11** eingesteckt werden. Da hier die beiden Magazine **7'**, **9'** senkrecht übereinander angeordnet sind, stellt das fest mit der Stellplatte **11** verschraubte Testteil-Magazin **9'** vorzugsweise gerade den unteren Anschlag für das in den Schwalbenschwanz **43** eingeschobene Probenteil-Magazin **7'** dar.

**[0044]** Die Lagerstellen **6** im Probenteil-Magazin **7'** und/oder im Testteil-Magazin **9'** sind zur Aufnahme von Objektträgern ausgebildet, welche im Wesentlichen die Abmessungen eines Standardobjektträgers für die Lichtmikroskopie aufweisen. Vorzugsweise sind diese Lagerstellen **6** voneinander durch Lagerstege **12** getrennt, so dass diese Objektträger auf jeweils zwei sich jeweils im Wesentlichen über die ganze Länge der Objektträger **8**, **10** erstreckenden Lagerstegen **12** ruhen.

**[0045]** Der in der [Fig. 1](#) in einem Vertikalschnitt gezeigte Probenstisch **2** ist zum Transfer von Proben-Objektträgern **8** oder von Test-Objektträgern **10** mittels eines an einer Aufhängung **83** angeordneten Spindeltriebes **84** unmittelbar vor eine Aufbewahrungseinheit **4** für solche Objektträger **8**, **10** verfahrbar ausgebildet. Die Aufnahme **34** des Probenstisches **2** umfasst vorzugsweise zwei einander gegenüber liegende Nuten **35** zum Aufnehmen der beiden Längskanten **14** eines Proben-Objektträgers **8** oder eines Test-Objektträgers **10**. Die Probenebene **49** ist dabei bevorzugt im Wesentlichen horizontal angeordnet. Der Probenstisch **2** umfasst zum klemmenden Festhalten eines Objektträgers **8**, **10** in im wesentlichen senkrechter Richtung zur Oberfläche der Objektträger zwei feststehende Stege **36** und einen federnd gegen diese Stege **36** beweglichen Backen **37** mit zwei aufstehenden Seitenwänden **38**, welche zusammen mit den Unterkanten der Stege **36** die Öffnungsweite der Nuten **35** definieren (vgl. auch [Fig. 4](#)).

**[0046]** Bevorzugt überwacht bzw. regelt eine Steuerung **40** einen Motor **87**, welche den Spindeltrieb **84** antreibt. Dadurch kontrolliert die Steuerung **40** die Bewegungen des Probenstisches **2**.

**[0047]** [Fig. 2](#) zeigt einen horizontalen Teilschnitt durch die in der [Fig. 1](#) gezeigten Objektträgermagazine und eine Draufsicht auf den vor diesen platzierten Objektstisch beim Transfer eines Test-Objektträgers aus dem Testobjekt-Magazin auf den Objektstisch. Das hier abgebildete Testteil-Magazin **9'** umfasst eine offene Einschubseite **15**, welche in ihrer Breite zumindest teilweise von je einer, sich im wesentlichen über die ganze Stapelhöhe des Magazins **9'** erstreckenden, individuell wegschwenkbaren Klappe **16** abdeckbar ist. Diese Klappe **16** ist hier weggeschwenkt, so dass der abgebildete Test-Objektträger aus der Einschubseite **15** des Testteil-Magazins **9'** herausgeschoben werden kann, ohne dass er dabei von der wegschwenkbaren Klappe **16** behindert würde.

**[0048]** Damit die Objektträger **8, 10** in den Magazinen **7', 9'** im wesentlichen spielfrei sitzen, umfasst jede dieser Lagerstellen **6** vorzugsweise eine Anpressfeder **13**, welche elastisch eine Längskante **14** eines eingesetzten Objektträgers beaufschlägt. Zudem wird durch den Federdruck die jeweils gegenüberliegende Längskante **14** des Objektträgers **8, 10** in einer durch das entsprechende Magazin **7', 9'** definierten Lage gehalten, welche geeignet ist, eine Referenz für den Ursprung eines Koordinatensystems zu definieren. Desgleichen ist der Probenstisch **2** bevorzugt mit beweglichen Anpressteilen **39** in der Form von Rollen ausgestattet (vgl. [Fig. 2](#)), welche ebenfalls dieselbe Längskante **14** in einer definierten Lage festhalten, wodurch wiederum eine Referenz für den Ursprung des Koordinatensystems geschaffen wird.

**[0049]** Zumindest das Proben-Magazin **7'** umfasst bevorzugt an einer der Einschubseite **15** gegenüber liegenden Ecke eine sich im wesentlichen über die ganze Stapelhöhe erstreckende Kontrollöffnung **21** zum Feststellen der An- oder Abwesenheit eines Objektträgers in einer bestimmten Lagerstelle **6**. Die An- oder Abwesenheit eines Objektträgers **8, 10** in einer bestimmten Lagerstelle **6** kann mit unterschiedlichen Methoden und Vorrichtungen festgestellt werden. So kann z. B. (vgl. [Fig. 2](#)) ein sich im Wesentlichen horizontal ausdehnender Lichtstrahl **23** bzw. eine Lichtschranke einer Kontrollvorrichtung **22** schräg durch die Magazine **7', 9'** gerichtet werden, falls die Kontrollöffnung **21** für diesen Lichtstrahl **23** durchlässig ist. Die Ablenkung, Streuung oder Abschwächung des Lichtstrahls **23** durch einen in einem Lagerplatz **6** anwesenden Objektträger **8, 10** kann einfach mit einem lichtempfindlichen Sensor festgestellt werden. Während in [Fig. 2](#) eine Kontrollöffnung **21** in Form einer "abgeschnittenen Ecke" gezeigt ist, kann der Lichtstrahl **23** auch durch die Einschubseite **15** in die Magazine **7', 9'** gesendet werden und auf der entgegengesetzten, nicht abgeschnittenen Seite auf einen Sensor auftreffen; eine schräge Ausrichtung gegenüber der Transportrichtung der Objektträger **8, 10** und/oder das Anbringen eines Umlenkspiegels (beides nicht gezeigt) ermöglichen ebenfalls eine Detektion der Objektträger in ihren Magazinen selbst bei angenähertem Probenstisch **2**.

**[0050]** Bevorzugt umfasst die Transportvorrichtung **3** des Laser Scanner-Geräts **1** einen Entladeschieber **31**, der im wesentlichen parallel zu der Probenebene **49** durch die der Einschubseite **15** der Magazine **7', 9'** gegenüberliegende Seite eingreifend und zum Transportieren eines Proben-Objektträgers **8** oder eines Test-Objektträgers **10** aus seiner Lagerstelle **6** und aus der Einschubseite **15** heraus zum Probenstisch **2** ausgebildet ist. Diese Transportvorrichtung **3** umfasst vorzugsweise zudem einen Ladeschieber **32**, der zum Transportieren eines Proben-Objektträgers **8** oder eines Test-Objektträgers **10** aus dem Probenstisch **2** und durch die Einschubseite **15** hinein zu einem Lagerplatz **6** in einem der Magazine **7', 9'** ausgebildet ist. Besonders bevorzugt wird, dass Ladeschieber **32** eine schwenkbare Klappe **33** umfasst, welche hochgeschwenkt werden und so über den im Probenstisch **2** eingesetzten Objektträger **8, 10** weg bewegt werden kann, ohne dass diese Klappe **33**, welche um eine Achse **47** kippbar ist, den Objektträger berührt. So kann diese Klappe über den Objektträger **8, 10** bewegt und hinter diesem abgesenkt werden, worauf der Objektträger von der Klappe **33** erfasst und aus dem Probenstisch **2** gezogen werden kann. Das Hochschwenken der Klappe **33** ermöglicht das Bewegen des Probenstisches **2** und des darin eingesetzten Objektträgers **8, 10** zum Ort der Scanner-Einrichtung **72**. Dieses Hochschwenken der Klappe **33** um die Kippachse **47** ermöglicht somit die freie Bewegung des Probenstisches **2**, ohne dass die Klappe **33** mit dem eingesetzten Objektträger **8, 10** in Kontakt kommen kann.

**[0051]** Bevorzugt ist der Antrieb **44** für die bewegliche Stellplatte **11**, der Antrieb **45** für den Entladeschieber **31** und der Antrieb **46** für den Ladeschieber **32** jeweils ein Elektromotor, welcher von der Steuerung **40** gesteuert und überwacht wird.

**[0052]** Der in der [Fig. 2](#) gezeigte Probenstisch **2** umfasst zum klemmenden Festhalten eines Objektträgers **8, 10** in im wesentlichen paralleler Richtung zur Oberfläche der Objektträger gegen zumindest eine der Längskanten **14** des Objektträgers bewegliche Anpressteile **39**, welche die Öffnungsbreite der Aufnahme **34** federnd begrenzen. Dabei sind die gegen zumindest eine der Längskanten **14** des Objektträgers beweglichen Anpressteile **39** bevorzugt als Rollen mit je einer im Wesentlichen vertikalen Achse ausgebildet.

**[0053]** Bevorzugt überwacht bzw. regelt eine Steuerung **40** einen Motor **87**, welche den Spindeltrieb **84** an-

treibt. Dadurch kontrolliert die Steuerung **40** die Bewegungen des Probenstisches **2**.

**[0054]** **Fig. 3** zeigt vertikale Ansichten der Objektträgermagazine mit geöffnetem Testobjekt-Magazin. Die **Fig. 3A** zeigt dabei die Einschubseite der beiden Objektträgermagazine in einer Frontansicht vom Objektstisch her gesehen. Die vertikal bewegliche Stellplatte **11** ist auf der rechten Seite sichtbar und ihre Beweglichkeit mit einem Doppelpfeil markiert. Der Probenenteil **7** ist gerade über dem Testteil **9** angeordnet, wobei das Probenenteil-Magazin **7'** mit hier acht in den Lagerstellen **6** ruhenden Proben-Objektträgern **8** axial über dem Testteil-Magazin **9'** mit hier zwei Test-Objektträgern **10** befestigt ist. Die wegschwenkbare Klappe **16** des Probenenteil-Magazins **7'** ist geschlossen, währenddem die wegschwenkbare Klappe **16** des Testteil-Magazins **9'** geöffnet ist und im Wesentlichen die ganze Breite der Einschubseite des Testteil-Magazins **9'** frei gibt. Das Wegschwenken der wegschwenkbaren Klappe **16** des Testteil-Magazins **9'** wird hier durch die Exzenterwalze **19** bewerkstelligt, welche auf die Winkelplatte **18** dieser Klappe drückt. Die Exzenterwalze **19** wird bevorzugt zumindest nahe der durch den Probenstisch **2** definierten Probenebene **49** angeordnet, so dass trotz dem Verschieben der Aufbewahrungseinheit **4** in der Höhe immer die richtige Klappe **16** weggeschwenkt wird. Die Anpressfedern des Testteil-Magazins **9'** sind gut zu sehen, wie sie federnd auf die eine Seitenkante **14** der Test-Objektträger **10** drücken.

**[0055]** Die **Fig. 3B** zeigt die beiden gleichen Objektträgermagazine im Vertikalschnitt mit Blick gegen den Objektstisch hin. Die vertikal bewegliche Stellplatte **11** ist auf der linken Seite sichtbar und ihre Beweglichkeit mit einem Doppelpfeil markiert. Das Probenenteil-Magazin **7'** ist über den Schwalbenschwanz **43** der Stellplatte **11** geschoben und wird hier vom Testteil-Magazin **9'** in einer konstanten Position an der Stellplatte **11** gehalten. Das Testteil-Magazin **9'** ist hier mit der Stellplatte **11** fest verschraubt. Die Anpressfedern **13** des Probenenteil-Magazins **7'** und des Testteil-Magazins **9'** sind hier gut auf der rechten Seite der Objektträgerstapel zu sehen.

**[0056]** **Fig. 4** zeigt vertikale Teilschnitte durch den Objektstisch **2** und dessen Querneigevorrichtung bzw. den Kippmechanismus **79**, welcher einen motorisch angetriebenen Exzenter **80** und eine einseitige Drehachse **81** umfasst. Dieser Kippmechanismus **79** dient zum Ausrichten einer Probe bzw. eines Objektträgers **8, 10** gegenüber einer Fokallinie **101**, welche in einer Rasterebene **76** (vgl. **Fig. 5**) verläuft. Der Fokus des ersten Objektivs **57** und die Bewegungsrichtung **75** des Scanner-Kopfs **50** des Laser-Scanner Geräts **1** definieren diese Fokallinie **101**. Diese Fokallinie **101** selbst definiert zusammen mit dem optischen Umlenkelement **56** des Scanner-Kopfs **50** die Rasterebene **76**. Diese Rasterebene **76** wird somit durch die Bewegungsrichtung **75** des Scanner-Kopfs **50** und dessen optisches Umlenkelement **56** definiert. Diese Rasterebene **76** steht dabei im Wesentlichen senkrecht zu der Probenebene **49**. Diese Fokallinie **101** ist definiert durch die Bewegungsrichtung **75** des Scanner-Kopfes **50** und den Fokalfpunkt **65** des Scannerobjektivs **57** und liegt im richtig justierten Zustand des Geräts in der Probenebene **49**. Die Drehachse **81** kann als eigentliche Achse ausgebildet sein (nicht gezeigt). Allerdings wird eine virtuelle Drehachse **81** bevorzugt, welche durch eine Stahlfeder **104** gebildet wird. Diese Stahlfeder **104** ist vorzugsweise mittels je eines Jochs **105** an dem Probenstisch **2** oder an dem Auflageteil **103** angeschraubt. Diese Stahlfeder **104** bewirkt eine Gegenkraft zum Exzenter **80**, so dass ein einfacher, spielfreier Kippmechanismus für das Auflageteil **103** des Probenstisches **2** geschaffen wird.

**[0057]** Die **Fig. 4A** zeigt den Objektstisch **2** des Laser-Scanner Geräts **1** mit Blick gegen die Objektträgermagazine **7', 9'** und mit einem im geschlossenen Objektstisch **2** doppelt gehaltenen Objektträger **8**. Der Probenstisch **2** umfasst einen Kippmechanismus **79** mit einem motorisch angetriebenen Exzenter **80** und einer einseitigen Drehachse **81**, mit welchem Kippmechanismus **79** ein Objektträger **8, 10** oder eine Probe gegenüber einer Fokallinie **101** ausgerichtet werden kann. Diese Fokallinie **101** liegt vorzugsweise in der Probenebene **49** und in einer Rasterebene **76**, die der Scanner-Kopf **50** mit seinem optischen Umlenkelement **56** und seiner Bewegungsrichtung **75** definiert. Dabei steht die Rasterebene **76** vorzugsweise senkrecht zu der Probenebene **49** (vgl. auch **Fig. 5**). Mit dem Exzenter **80**, der vorzugsweise motorisch angetrieben ist, kann die Querneigung des Objektträgers **8, 10** bzw. des Probenstisches **2** korrigiert werden, so dass die Fokallinie **101** der Scanner-Einrichtung **72** exakt in die Probenebene **49** zu liegen kommt.

**[0058]** Vorzugsweise ist die Probenebene **49** im Wesentlichen horizontal angeordnet. Die Aufnahme **34** des Probenstisches **2** umfasst zwei einander gegenüber liegende Nuten **35** (vgl. **Fig. 4B**) zum Aufnehmen der beiden Längskanten **14** des gezeigten Proben-Objektträgers **8** oder eines (nicht gezeigten) Test-Objektträgers **10**.

**[0059]** Der Probenstisch **2** umfasst zum klemmenden Festhalten eines Objektträgers **8, 10** in im Wesentlichen senkrechter Richtung zur Oberfläche der Objektträger vorzugsweise ein Auflageteil **103** mit zwei feststehenden Stegen **36**. Zudem umfasst der Probenstisch **2** einen federnd gegen diese Stege **36** beweglichen Backen **37** mit zwei aufstehenden Seitenwänden **38**. Diese Seitenwände **38** definieren zusammen mit den Unterkanten der Stege **36** die Öffnungsweite der Nuten **35**. Der bewegliche Backen **37** ist mit Federn **30** elastisch gegenü-



ber dem Auflageteil **103** des Probenstisches **2** abgestützt, so dass diese Federn **30** die beiden aufstehenden Seitenwände **38** des beweglichen Backens **37** federnd gegen die Unterseite des Objektträgers **8** drücken. Dadurch wird ein Proben-Objektträger bzw. ein Test-Objektträger **10**, der bevorzugt zumindest annähernd die Masse eines Glasobjektträgers für die Lichtmikroskopie aufweist, in vertikaler Richtung klemmend im Probenstisch **2** gehalten.

**[0060]** Der Probenstisch **2** umfasst zum klemmenden Festhalten eines Objektträgers **8**, **10** in im Wesentlichen paralleler Richtung zur Oberfläche der Objektträger gegen zumindest eine der Längskanten **14** des Objektträgers **8** bewegliche Anpressteile **39**, welche die Öffnungsbreite der Aufnahme **34** federnd begrenzen. Diese gegen zumindest eine der Längskanten **14** des Objektträgers **8** beweglichen Anpressteile **39** sind vorzugsweise als Rollen mit je einer im Wesentlichen vertikalen Achse ausgebildet. Die den Rollen **39** gegenüber liegende Nute **35** definiert einen Anschlag der Proben-Objektträger **8** bzw. Test-Objektträger **10**, der sich zur Definition der Achse eines Koordinatensystems des Laser Scanner-Geräts **1** eignet. In eine Aussparung **98** eintauchend ist hier zudem ein Senkdorn **88** dargestellt, der beim Annähern des Probenstisches **2** an die Aufbewahrungseinheit **4** in den Probenstisch eindringt und mit diesem Eindringen den Backen **37** und die Seitenwände **38** von den Stegen **36** des Auflageteils **103** wegzieht.

**[0061]** Die [Fig. 4B](#) zeigt den Objektstisch **2** mit Blick von den Objektträgermagazinen **7'**, **9'** weg, mit geöffnetem Objektstisch **2**, nach dem Entfernen bzw. vor dem Einschieben eines Objektträgers **8**, **10**. Weil sich gerade kein Objektträger **8**, **10** im Probenstisch **2** befindet, sind die rollenförmigen Anpressteile **39** in ihrer Extremposition. Aus dieser Extremposition werden die rollenförmigen Anpressteile **39** gegen den Druck von Federelementen verdrängt, sobald ein Objektträger **8**, **10** in den Probenstisch **2** eingeschoben wird. Ebenfalls gut sichtbar ist hier, wie der Senkdorn **88** an einer Rampe **89** aufläuft, so dass der bewegliche Backen **37** des Probenstisches **2** etwas heruntergezogen und so das Einschieben eines Objektträgers **8**, **10** in die Aufnahme **34** des Probenstisches **2** ermöglicht wird.

**[0062]** [Fig. 5](#) zeigt einen vertikalen Teilschnitt durch den Objektstisch sowie dessen Höhenverstellung und Längsneigevorrichtung. Die durch den Probenstisch **2** definierte Probenebene **49** ist in im wesentlichen der Z-Richtung (hier in der Vertikalen) verstellbar, indem der an einer Aufhängung **83** linear befestigte und linear verschiebbare Probenstisch **2** zusammen mit dieser Aufhängung **83** auf einem motorisch angetriebenen Exzenter **106** aufliegt und schwenkbar an einem Rahmen **82** einseitig befestigt ist. Wird der Exzenter **106** etwas gedreht, so hebt oder senkt sich entsprechend die Aufhängung **83** mit dem Probenstisch **2**. Mit dieser Bewegung kann die Ebene des Probenstisches **2**, also die Probenebene **49**, mit der Ebene einer Lagerstelle **6** im Probenstisch-Magazin **7'** oder im Testteil-Magazin **9'** der Aufbewahrungseinheit **4** in Übereinstimmung gebracht werden, so dass ein linearer Transfer zwischen einem dieser Magazine **7'**, **9'** und dem Probenstisch erfolgen kann. Vorzugsweise wird das entsprechende Magazin in der Z-Richtung durch eine Verschiebung der beweglichen Stellplatte **11** bereitgestellt, so dass nur eine allfällige Feinabstimmung mit dem Exzenter **106** der Probenstischaufhängung **83** erfolgen muss. Mit dem Exzenter **106**, der vorzugsweise motorisch angetrieben ist, kann die Längsneigung des Objektträgers **8**, **10** bzw. des Probenstisches **2** korrigiert werden, so dass die Fokallinie **101** der Scanner-Einrichtung **72** exakt in die Probenebene **49** zu liegen kommt. Tatsächlich findet mit der Korrektur der Längsneigung auch eine Verschiebung in der Höhe, also entlang einer Z-Achse, statt.

**[0063]** Zum Zweck eines solchen Objektträgertransfers wird der Probenstisch **2** vorzugsweise möglichst weit der Aufbewahrungseinheit **4** in der im Wesentlichen horizontalen Y-Richtung angenähert. Beim Annähern des Probenstisches **2** an die Aufbewahrungseinheit **4** dringt ein Senkdorn **88** in den Probenstisch **2** ein und senkt dadurch eine Auflage der Aufnahme **34** des Probenstisches **2** zum Aufnehmen eines Objektträgers ab. Dadurch wird der Probenstisch **2** zur Aufnahme eines Objektträgers **8**, **10** bereit gestellt. Diese Annäherung geschieht bevorzugt mittels eines an der Aufhängung **83** gelagerten Spindeltriebes **84** und entlang einer Linearführung **85**. Der Spindeltrieb **84** ist über eine flexible Kupplung **86** mit dem Motor **87** verbunden, so dass eine exakte Linearführung des Probenstisches **2** in im Wesentlichen der Y-Richtung auch dann erfolgen kann, wenn die Probenebene **49** einen geringen Neigungswinkel zur Horizontalen einschliesst. Ziel der Verstellbarkeit des Probenstisches **2** mit dem Exzenter **80** ist hauptsächlich das Ausrichten der Probenebene **49** zu einer Fokallinie **101**, die durch einen in der X-Richtung (hier senkrecht zur Zeichnungsebene) schwingenden Scanner-Kopf **50** des Laser Scanner-Geräts **1** definiert wird. Dieser Scanner-Kopf **50** bewegt sich sehr schnell in der X-Richtung und auf der Oberseite einer Trennplatte **99**. Diese Trennplatte weist eine Rasteröffnung **90** auf. Bevorzugt ist der Scanner-Kopf **50** in diese Rasteröffnung **90** eingesenkt, so dass die von ihm ausgehenden Lichtstrahlen die Probe in geringem Abstand treffen, und dass der Scanner-Kopf **50** die von der Probe kommenden Fluoreszenzmission so effektiv wie möglich aufnehmen und an einen Detektor **61** oder an mehrere Detektoren **61**, **61'** weiter leiten kann.

**[0064]** Die [Fig. 6](#) zeigt eine Prinzipskizze mit wesentlichen optischen Elementen des Laser Scanner-Geräts **1** mit einem Scanner-Kopf **50** gemäss einer ersten Ausführungsform. Das Laser Scanner-Gerät **1** zum Abbilden und/oder Vermessen von auf Objektträgern befindlichen, mit zwei unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen behandelten, fluoreszierenden Proben umfasst einen motorisch verfahrbaren Probentisch **2** mit einer Aufnahme für einen Proben-Objektträger **10** in einer Probenebene **49**. Ein erster Laser **51** und ein zweiter Laser **52** sowie ein erstes optisches System **53** stellen zwei parallel zueinander ausgerichtete und parallel zu dieser Ebene **49** verlaufenden Laserstrahlen **54, 55** unterschiedlicher Wellenlänge bereit. Eine Scanner-Einrichtung **72** umfasst einen parallel zu dieser Ebene **49** hin und her beweglichen Scanner-Kopf **50** mit einem optischen Umlenkelement **56** zum Umlenken der Laserstrahlen **54, 55** zu der Probe hin. Ein erstes Objektiv **57** fokussiert die Laserstrahlen **54, 55** auf der Probe in der Ebene **49**. Dieses erste Objektiv **57** weist eine Hauptebene **107** auf, welche vorzugsweise parallel zur Probenebene **49** angeordnet ist.

**[0065]** Ein zweites optisches System **58** leitet die durch die Laserstrahlen **54, 55** an der Probe ausgelösten und durch das erste Objektiv **57** und das Umlenkelement **56** in eine zur Ebene **49** im Wesentlichen parallelen Richtung umgelenkten Emissionsstrahlenbündel **59, 60** zu Detektoren **61, 61'**. Zwei solche Detektoren **61, 61'** erfassen die von den Proben kommenden Emissionsstrahlenbündel **59, 60** unterschiedlicher Wellenlänge. Die Öffnungen der Blenden **48** weisen bevorzugt einen grösseren Durchmesser als die fokussierten Emissionsstrahlenbündel **59, 60** auf, sie können jedoch auch den Dimensionen der fokussierten Emissionsstrahlenbündel **59, 60** im wesentlichen entsprechen, wodurch ein konfokales Laser Scanner-Gerät **1** geschaffen würde.

**[0066]** Das optische Umlenkelement **56** des erfindungsgemässen Laser Scanner-Geräts **1** umfasst einen keilförmigen Dichroidspiegel **62** mit in einem Zwischenwinkel  $\beta$  zueinander angeordneten vorderen und hinteren dichroidischen Oberflächen **63, 64**. Dabei ist der keilförmige Dichroidspiegel **62** so eingestellt, dass die beiden Laserstrahlen **54, 55** an je einer der Oberflächen **63, 64** reflektiert werden. Dabei bewirkt der keilförmige Dichroidspiegel **62** durch den Zwischenwinkel  $\beta$  eine räumliche Trennung der beiden resultierenden Fokuspunkte **65** und der beiden in Richtung der Detektoren **61, 61'** gelenkten Emissionsstrahlenbündel **59, 60**. Die beiden resultierenden Fokuspunkte **65, 65'** sind in einem Abstand **6** zu einander in der Probenebene **49** angeordnet. In dieser in der [Fig. 6](#) gezeigten ersten Ausführungsform ist das optische Umlenkelement **56** ein keilförmiger Dichroidspiegel **62**. Bevorzugt ist dabei die hintere dichroidische Oberfläche **64** des keilförmigen Dichroidspiegels **62** zum Spiegeln eines ersten Laserstrahls **54** und dessen vordere dichroidische Oberfläche **63** zum Spiegeln eines zweiten Laserstrahls **55** und der beiden Emissionsstrahlenbündel **59, 60** ausgebildet.

**[0067]** Das zweite optische System **58** umfasst an sich bekannte Elemente wie ein zweites Objektiv **57'**, das die eintretenden Emissionsstrahlenbündel **59, 60** in je einem Punkt fokussiert. Das zweite optische System **58** umfasst zudem eine Blende **48**, deren Öffnungen bevorzugt wesentlich grösser sind als die diese Öffnungen durchtretenden, fokussierten Emissionsstrahlenbündel **59, 60**. Gemäss einer besonders bevorzugten Ausführungsform beruht das Laser Scanner-Gerät **1** somit auf einem nicht-konfokalen Abbildungsprinzip. Diese fokussierten Emissionsstrahlenbündel **59, 60** treffen danach auf je einem Detektor **61, 61'** auf, welcher die Intensität der jeweiligen Emissionsstrahlenbündel **59, 60** misst. Dieses zweite Objektiv **57'** kann als Achromat oder als einfache Linse ausgebildet sein.

**[0068]** Die [Fig. 7](#) zeigt Prinzipskizzen des Scanner-Kopfes des erfindungsgemässen Laser-Scanner Geräts. Dabei zeigt [Fig. 7A](#) eine zweite Ausführungsform des Scanner-Kopfes **50**, bei dem das optische Umlenkelement **56** als Pentaspiegelanordnung **66** mit einem keilförmigen Dichroidspiegel **62** und einem einfachen Spiegel **67** ausgebildet ist. Wie schon in der ersten Ausführungsform (vgl. [Fig. 6](#)) ist die hintere dichroidische Oberfläche **64** des keilförmigen Dichroidspiegels **62** zum Spiegeln eines ersten Laserstrahls **54** und dessen vordere dichroidische Oberfläche **63** zum Spiegeln eines zweiten Laserstrahls **55** und der beiden Emissionsstrahlenbündel **59, 60** ausgebildet.

**[0069]** Die [Fig. 7B](#) zeigt eine dritte Ausführungsform des Scanner-Kopfes **50**, bei dem das optische Umlenkelement **56** ebenfalls als Pentaspiegelanordnung **66** mit einem keilförmigen Dichroidspiegel **62** und einem einfachen Spiegel **67** ausgebildet ist. Im Unterschied zu der zweiten Ausführungsform (vgl. [Fig. 7A](#)) ist die Anordnung des Dichroidspiegels **62** und des einfachen Spiegels **67** vertauscht. Dabei ist die hintere dichroidische Oberfläche **64** des keilförmigen Dichroidspiegels **62** zum Spiegeln eines ersten Laserstrahls **54** und dessen vordere dichroidische Oberfläche **63** zum Spiegeln eines zweiten Laserstrahls **55** sowie der ersten und zweiten Emissionsstrahlenbündel **59, 60** ausgebildet.

**[0070]** Es versteht sich von selbst, dass die eben beschriebenen Ausführungsformen und weitere Kombinationen beliebig vertauscht werden können. Allerdings wird die erste Ausführungsform gemäss der [Fig. 6](#), bei der das optische Umlenkelement **56** als keilförmiger Dichroidspiegel **62** ausgebildet ist oder die zweite Ausbil-

dungsform gemäss der [Fig. 7A](#), bei der das optische Umlenkelement **56** als Pentaspiegelanordnung **66** mit einem keilförmigen Dichroidspiegel **62** und einem einfachen Spiegel **67** ausgebildet ist, bevorzugt. Für alle Pentaspiegelanordnungen **66** gilt, dass die vordere Oberfläche **63** und der einfache Spiegel **67** bevorzugt einen Winkel von 22.5° einschliessen.

**[0071]** Die [Fig. 8](#) zeigt einen horizontalen Teilschnitt durch ein Laser Scanner-Gerät **1** mit wesentlichen optischen Elementen eines ersten optischen Systems **53** zum Bereitstellen von Anregungslicht und eines zweiten optischen Systems **58** zum Erfassen der ausgelösten Fluoreszenzemission der Proben, einer Scanner-Einrichtung **72** mit Scanner-Kopf **50** und einem Objektisch **2** mit einer Objektträgermagazine **7'**, **9'** umfassenden Aufbewahrungseinheit **4**. Bevorzugt sind alle wesentlichen optischen Elemente und die Scanner-Einrichtung **72** auf einer gemeinsamen Trennplatte **99** und der Probenstisch **2** unterhalb dieser Trennplatte **99** (vgl. [Fig. 5](#)) angeordnet.

**[0072]** Die wesentlichen optischen Elemente des ersten optischen Systems **53** sind in einem Gehäuse **5** angeordnet und umfassen zumindest einen ersten Laser **51** und optional einen zweiten Laser **52**, Filterräder **97** für die von dem oder den Lasern **51**, **52** ausgehenden Laserstrahlen **54**, **55** sowie eine Anzahl Dichroidspiegel **62** und einfacher Spiegel **67** zum Umlenken der Laserstrahlen **54**, **55** aus den Lasern **51**, **52** in eine zur X-Richtung parallelen Richtung.

**[0073]** Die wesentlichen optischen Elemente des zweiten optischen Systems **58** sind im gleichen Gehäuse **5** angeordnet und umfassen einen oder mehrere Detektoren **61**, **61'** diesen vorgeordnete Filterräder **97** und Blenden **48** für die von den Proben ausgehenden Emissionsstrahlenbündel **59**, **60** sowie eine Anzahl Dichroidspiegel **62** und einfacher Spiegel **67** zum Umlenken der Emissionsstrahlenbündel **59**, **60** aus einer zur X-Richtung parallelen Richtung in Richtung der Detektoren **61**, **61'**. Die Scanner-Einrichtung **72** umfasst einen Antrieb **71**, den Scanner-Kopf **50** und vorzugsweise einen Gegenschwinger **73** mit einer dem Scanner-Kopf **50** gleichen oder zumindest äquivalenten Masse zur Impulskompensation. Scanner-Kopf und Gegenschwinger sind mittels Pleuelstangen **70**, **70'** mit dem Antrieb **71** verbunden und an je einer präzisen Linearführung (nicht gezeigt) befestigt. Durch den Antrieb **71** wird der Scanner-Kopf **50** in eine schnelle hin und her Bewegung in einer Bewegungsrichtung **75** (vgl. ausgefüllte Doppelpfeile) gebracht, welche gleichzeitig die Scan-Achse **75** definiert. Dabei führt der Gegenschwinger **73** immer eine entgegengesetzte Bewegung aus, wodurch es gelingt, die Trennplatte **99** und damit das ganze Laser Scanner-Gerät **1** trotz der bevorzugt hohen Rastergeschwindigkeit des Scanner-Kopfes **50** ruhig zu halten. Die Scan-Achse **75** ist parallel zur X-Achse oder fällt gerade mit dieser zusammen. Der Scanner-Kopf **50** umfasst ein optisches Umlenkelement **56**, welches z. B. als Dichroidspiegel **62** ausgebildet ist. Dieses Umlenkelement **56** kann als Vollspiegel, Prisma, Pentaprisma, Pentaspiegel-Konfiguration oder als Kombination aus diesen hier aufgeführten Elementen ausgebildet sein. Dieses Umlenkelement **56** lenkt einerseits die Laserstrahlen **54**, **55** des ersten optischen Systems **53** auf die Proben auf dem Probenstisch **2** und andererseits die von den Proben ausgesandten Emissionsstrahlenbündel **59**, **60** in Richtung des zweiten optischen Systems **58**.

**[0074]** Senkrecht zur X-Achse und Scan-Achse **75** verläuft die Bewegungsrichtung des unterhalb der Trennplatte **99** angeordneten Probenstischs **2** in Richtung der Y-Achse. Vorzugsweise in einem Bereich ausserhalb der Trennplatte **99** ist die Aufbewahrungseinheit **4** mit den in einem Probenstisch-Magazin **7'** gelagerten Proben-Objektträgern **8** und den in einem Testteil-Magazin **9'** gelagerten Test-Objektträgern **10** angeordnet. Die Anwesenheit eines Objektträgers **8**, **10** in einer bestimmten Lagerstelle **6** dieser Magazine **7'**, **9'** wird bevorzugt mittels einer Kontrollvorrichtung **22** überprüft. Diese Kontrollvorrichtung umfasst vorzugsweise einen Lichtstrahl **23**, der zu diesen Kontrollzwecken eine Kontrollöffnung **21** durchdringt.

**[0075]** Besonders bevorzugt wird, dass ein Service Fachmann einen oder mehrere Test-Objektträger **10** individuell in ein Probenstisch-Magazin **7'** einschiebt und dieses Probenstisch-Magazin **7'** auf dem ordentlichen Wege in das Laser Scanner-Gerät **1** einsetzt. Eine entsprechend programmierte Firmware in der Steuerung **40** des Laser Scanner-Geräts **1** wird dann vorzugsweise per Eingabe einer persönlichen Identifikationsnummer (PIN) des Service Fachmanns bzw. per Eingabe eines Codes für die Service-Fachleute aktiviert. Die so aktivierte Firmware befähigt die Steuerung **40** des Laser Scanner-Geräts **1**, den automatischen Transport jedes dieser Test-Objektträger **10** aus dem Probenstisch-Magazin **7'** auf den Probenstisch **2** und weiter in eine Lagerstelle **6** des Testteil-Magazins **9'** zu steuern. Gemäss diesem besonders bevorzugten Verfahren wird jeder manuelle Eingriff in das Testteil-Magazin **9'** verunmöglicht. Nur in besonderen Notfällen könnte ein Service-Fachmann mit geeigneten Werkzeugen die vorzugsweise in dem zusätzlichen Gehäuse **29** eingeschlossenen Test-Objektträger **10** herausholen. Vorzugsweise ist die Steuerung **40** des erfindungsgemässen Laser Scanner-Geräts **1** zum Steuern einer automatisierten, internen und an Hand von Test-Objektträgern **10** ausgeführten Instrumentprüfung ausgebildet.

**[0076]** Vorzugsweise ist der Probenstisch **2** zum Verfahren bis unmittelbar vor die Aufbewahrungseinheit **4** motorisch angetrieben ausgebildet und dessen Lage und Bewegung durch die Steuerung **40** kontrolliert. Dasselbe gilt auch für die Stellplatte **11** der Aufbewahrungseinheit **4** zum Auswählen des zu untersuchenden Objektträgers **8**, **10** und für die drehbare Exzenterwalze **19** zum Wegschwenken der Klappen **16**. Zudem wird bevorzugt, dass auch der Entladeschieber **31** zum Transportieren eines Objektträgers **8**, **10** zu dem Probenstisch **2** für das automatisierte Auswählen und Bereitstellen eines Proben-Objektträgers **8** oder Test-Objektträgers **10** auf dem Probenstisch **2** motorisch angetrieben ausgebildet und dessen Lage und Bewegung durch die Steuerung **40** kontrolliert sind. Dasselbe gilt auch für den Ladeschieber **32** zum Transportieren eines Objektträgers **8**, **10** zu der Aufbewahrungseinheit **4** beim Zurücklegen derselben in eine Lagerstelle **6** des Probenstisch-Magazins **7'** oder des Teststisch-Magazins **9'**.

**[0077]** Die [Fig. 9](#) zeigt einen horizontalen Teilschnitt durch den Scanner-Kopf **50** des Laser Scanner-Geräts **1** mit dem zugeordneten Weggeber **91**. An einem Rahmen **82** ist eine Linearführung **68** befestigt, an welcher der Scanner-Kopf **50** in der X-Richtung und in eine Rasteröffnung **90** eintauchend, beweglich angeordnet ist. In diesem Fall fällt die X-Achse mit der Bewegungsrichtung **75** des Scanner-Kopfes **50** zusammen, wobei diese Bewegungsrichtung **75** gemeinsam mit den zur unter dem Scanner-Kopf **50** angeordneten Probe (nicht gezeigt) hin umgelenkten ersten und zweiten Laserstrahlen **54**, **55** eine Rasterebene **76** definiert. Diese Rasterebene **76** steht bevorzugt senkrecht zu der Probenebene **49**. Der Scanner-Kopf **50** umfasst einen Massstab **77**, der in einem Abstand zu einem fixierten, linearen Messsystem **78** des Laser Scanner-Geräts **1** und in dieser Rasterebene **76** angeordnet ist. Der Probenstisch **2** ist vorzugsweise in einer rechtwinklig zur X-Achse **75** angeordneten Y-Richtung eines Kartesischen Koordinatensystems linear verfahrbar ausgebildet und motorisch angetrieben.

**[0078]** Der Scanner-Kopf mit allen seinen optischen Elementen, Befestigungsmitteln, dem Massstab **77** und einem Teil der Linearführung weist einen Massenschwerpunkt **74** auf. Dieser Massenschwerpunkt **74** ist in der Bewegungsrichtung **75** des Scanner-Kopfes **50** auf einer Linie mit einem Pleuelangriffspunkt **69** angeordnet, welche die Pleuelstange **70** des Scanner-Kopfes **50** mit dem Antrieb **71** verbindet. Dieser Pleuelangriffspunkt **69** kann z. B. als Achse ausgebildet sein; es wird jedoch bevorzugt, den Pleuelangriffspunkt als Kreuzfederge lenk auszubilden.

**[0079]** Die [Fig. 10](#) zeigt eine Prinzipskizze des Weggebers **91** für den Scanner-Kopf **50** und dessen nichtlineare Bewegung beim Scannen als X/t-Diagramm. Dieses X/t-Diagramm weist auf die unterschiedliche Zeitdauer ( $\Delta t_1$ ;  $\Delta t_2$ ) für die Erfassung eines Pixels ( $\Delta x$ ) je nach der Position auf der X-Achse hin. Das Weggeber-Signal **92** entspricht in etwa einer Sinuskurve, welche ihre Maxima an den Extrempunkten (Endpunkten) einer Scan-Linie des Laser-Kopfes **50** aufweist. Wegen der Umkehr der Scan-Richtung in diesen Endpunkten und der dadurch verlangsamten Bewegung braucht der Scanner-Kopf in der Nähe dieser Wendepunkte eine länger Zeit ( $\Delta t_2$ ) für die selbe Wegstrecke ( $\Delta x$ ), als mit der erreichbaren Höchstgeschwindigkeit des Scanner-Kopfes in einer Mittelstellung zwischen den Wendepunkten, bei der dieselbe Wegstrecke ( $\Delta x$ ) in einer viel kürzeren Zeit ( $\Delta t_1$ ) durchlaufen wird. Das Pixel ( $\Delta x$ ) sowie der entsprechende Ort und Zeitpunkt wird miteinander korreliert und der zu diesem Zeitpunkt gemessenen Intensität zugeordnet. Die Summe aller gemessenen Pixel ergibt dann ein zweidimensionales Bild. Die Korrelation des Ortes dieser Pixel in der Probenebene **49** mit der Intensität der an diesem Ort gemessenen Fluoreszenzintensität bestimmt in Kombination mit der Pixelgröße letztendlich die Auflösung des Laser-Scanner Geräts **1**.

**[0080]** Die [Fig. 11](#) bis [Fig. 15](#) zeigen Diagramme von Lösungsvorschlägen, in denen die Signalintegration (I) in Funktion der Zeit (t) dargestellt ist.

**[0081]** Die [Fig. 11](#) zeigt einen ersten Lösungs-Vorschlag, bei welchem der Weggeber die Datenerfassung mit einem passiven Integrator (RC Glied) triggert. Dieser Lösungs-Vorschlag zur Verbesserung der Empfindlichkeit des Laser Scanner-Geräts beinhaltet aber noch einige mögliche Nachteile. So ist die gemessene Intensität am Rand des Scanbereichs höher, da hier pro Pixel länger integriert wird. Zudem wird die Auflösung des Laser Scanner-Geräts wegen der Abklingcharakteristik des RC Glieds reduziert.

**[0082]** Die [Fig. 12](#) zeigt einen zweiten Lösungs-Vorschlag, bei welchem der Weggeber die Datenerfassung mit einem schaltbaren Integrator bei konstanter Integrationszeit triggert. Dieser Lösungs-Vorschlag zur Verbesserung der Empfindlichkeit des Laser Scanner-Geräts beinhaltet aber noch einige, nicht akzeptable Nachteile. So reduziert die Löszeit für den Integrator die Empfindlichkeit, da diese Zeit nicht für die Signalerfassung zur Verfügung steht. Diese Löszeit besetzt insbesondere bei kleinen Auflösungen, d. h. sehr kleinen ‚Pixelzeiten‘ (pixel dwell time) einen signifikanten Anteil der Messzeit. Zudem wird durch den Lösvorgang selbst zusätzliches Rauschen erzeugt. Es ergibt sich überdies ein sogenanntes „Undersampling“ am Rand des Scanbe-

reichs. Auch können ungleiche Bedingungen der Datenerfassung (kürzere oder längere Abstände zwischen zwei Triggerpulsen) zu Inhomogenitäten zwischen Zentral- und Randbereichen führen.

[0083] Die [Fig. 13](#) zeigt einen dritten Lösungs-Vorschlag, bei welchem das Weggeber-Signal als Ereignis zeitlich erfasst und jedem Signal über eine Zeitbasis der Zeitpunkt seines Auftretens zugeordnet wird, wobei die Signal-Integration konstant fortlaufend von der Zeitbasis getriggert wird. Dem Vorteil gegenüber dem zweiten Lösungs-Vorschlag zur Verbesserung der Empfindlichkeit des Laser Scanner-Geräts, gemäss welchem nun über den ganzen Scanbereich gleiche "elektronische Bedingungen" herrschen, stehen die aus dem Lösungs-Vorschlag 2 bekannten Nachteile gegenüber. Diese Nachteile ergeben sich dadurch, dass das zusätzliche Rauschen, das durch den Löschvorgang erzeugt wird, dass die Löszeit die Empfindlichkeit reduziert.

[0084] Die [Fig. 14](#) zeigt einen vierten Lösungs-Vorschlag entsprechend dem dritten Lösungs-Vorschlag, wobei jedoch ein passives RC-Glied zur Integration verwendet wird. Der Vorteil gegenüber dem dritten Lösungs-Vorschlag zur Verbesserung der Empfindlichkeit des Laser Scanner-Geräts liegt hier darin, dass nun keine Einbussen bei der Empfindlichkeit mehr in Kauf genommen werden müssen, da die Löszeit und das zusätzliche Rauschen durch den Löschvorgang entfallen. Hingegen besteht noch der klare Nachteil wegen der durch die Abklingcharakteristik des RC Glieds bedingte reduzierte Auflösung. Es wird hier angemerkt, dass die Verkleinerung der Zeitkonstante des RC Glieds zwar die Auflösungsproblematik lösen würde; dies würde jedoch Einbussen bei der Empfindlichkeit mit sich bringen. Die Zeitkonstante des RC Glieds muss mindestens in der Grössenordnung eines Pixels liegen bevorzugt aber in der Grössenordnung eines Datenerfassungsintervalls, da ansonsten kurze Signale (typischerweise von einzelnen Photonen) evtl. übersehen, d. h. nicht detektiert würden. Als Datenerfassungsintervall wird die Zeit zwischen zwei Wandlungspunkten des A/D Wandlers bezeichnet.

[0085] Die [Fig. 15](#) zeigt einen fünften Lösungs-Vorschlag, welcher dem vierten Lösungs-Vorschlag entspricht, wobei aber mehrere Messungen pro Pixel ausgeführt werden. Vorzugsweise wird dabei die Intensität eines Pixels als Mittelwert aller Datenpunkte die innerhalb der Zeitmarken für dieses Pixel liegen berechnet (und gegebenenfalls durch Interpolation noch verfeinert). Der letzte noch bestehende Nachteil gegenüber dem vierten Vorschlag wird hier eliminiert, weil sich durch die geringere Abklingzeit des RC Glieds keine verringerte Auflösung mehr ergibt.

[0086] Die Erkenntnisse aus den gezeigten, unterschiedlichen Lösungs-Vorschlägen führen zu bevorzugten Ausführungsformen des erfindungsgemässen Datenerfassungsverfahrens:

Vorzugsweise wird jedes von einem Detektor (61) erzeugte Detektorsignal (93) von einem Integrator der Steuerung (40) integriert, wobei jedem Teil eines integrierten Detektorsignals (93) über die Zeitbasis (94) der Zeitpunkt des entsprechenden Weggeber-Signals (92) zugeordnet wird, und wobei jede Signal-Integration konstant fortlaufend von der Zeitbasis (94) getriggert und von der Steuerung (40) mit konstanter Integrationszeit durchgeführt wird.

[0087] Besonders bevorzugt wird, dass die Signal-Integration mit einem passiven RC-Glied ausgeführt wird, wobei die für das RC-Glied gewählte Zeitkonstante mindestens in der Grössenordnung eines Datenerfassungsintervalls  $\Delta d$  liegt. Ein Datenerfassungsintervall ist eine in der Zeit konstant durchlaufende Erfassung der integrierten Detektorsignale 93 zwischen zwei Detektorsignalmaxima (vgl. [Fig. 15](#)).

[0088] Speziell bevorzugt wird, dass die Intensität eines Pixels 95 als Mittelwert aller Datenpunkte berechnet wird, die innerhalb von Zeitmarken 96 für dieses Pixel 95 liegen. Zur weiteren Verfeinerung kann auch ein Interpolationsverfahren, das unvollständig zwischen den Zeitmarken eines Pixels liegende Datenerfassungsintervalle  $\Delta d$  berücksichtigt und deren zugehörige Messwerte anteilig interpoliert, zum Einsatz kommen.

[0089] Die [Fig. 16](#) zeigt einen bevorzugten Test-Objektträger 10, der das Format eines Standardobjektträgers für die Lichtmikroskopie aufweist und der ausschliesslich im Wesentlichen lichtstabile Teststrukturen 41 umfasst. Als "im wesentlichen lichtstabil" wird eine Teststruktur bezeichnet, wenn diese bei normaler Benutzung, d. h. bei der während Testverfahren üblicherweise auftretenden Strahlenbelastung keinen messbaren Schaden erleidet. Eine minutenlange oder gar stundenlange Bestrahlung eines Test-Objektträgers 10 mit einem Laserstrahl 54, 55, bzw. das Liegelaassen eines Test-Objektträgers 10 an einem ungeschützten Ort für längere Zeit (beispielsweise gegenüber dem Umgebungslicht exponiert) wird nicht als "normale Benutzung" bezeichnet.

[0090] Die folgende Tabelle 1 gibt einen Überblick über die gebräuchlichsten Glasobjektträger für die Lichtmikroskopie:

Typ	Inch: 1 × 3 Zoll	Metrisch: 25 × 75 mm
Dimensionen:		
Länge × Breite	76.2 mm × 25.4 mm	76 mm × 25 mm
(Toleranzen)	(±0.5 mm)	(±0.5 mm)
Dicke:		
"standard"	1.02 mm (±0.05 mm)	
"dick"	1.2 mm (±0.1 mm)	1.02 mm (±0.05 mm)
Behandlung:		
Ecken	scharf, gefast	scharf, gefast
Kanten	scharf, gefast	scharf, gefast
Oberflächen	blank, sandgestrahlt, auf einer oder beiden Seiten	blank, sandgestrahlt, auf einer oder beiden Seiten

**[0091]** Der in der [Fig. 16](#) abgebildete, beispielhafte Test-Objektträger **10** weist eine Fläche mit einer Länge A von 75 mm einer Breite B von 25 mm sowie eine Dicke C von 1 mm auf. Die eine Hälfte der Fläche A/2 ist (beispielsweise mittels Schleifen) mattiert. Die andere Hälfte weist ein bevorzugtes Linien-Muster mit einer Breite D von 20 mm auf.

**[0092]** Dieses Linienmuster besteht bevorzugt aus einer mittels Maske erstellten, aufgedampften Chromschicht. Die Grossbuchstaben E, F, G bezeichnen eine bestimmte Anzahl Linienpaare pro Millimeter (lp/mm) und die Kleinbuchstaben l, m, n, o bezeichnen bestimmte Masse wie folgt:  
E = 50 lp/mm; F = 100 lp/mm; G = 10 lp/mm;  
l = 0.5 mm; m = 2 mm; n = 1 mm; o = 7 mm.

**[0093]** Alle diese Teststrukturen **41** sind bevorzugt ausschliesslich im Wesentlichen lichtstabil und nicht fluoreszierend.

**[0094]** Das erfindungsgemässe Laser Scanner-Gerät **1** ist zur Abbildung und Vermessung von zweidimensionalen Objekten ausgelegt. Dementsprechend muss eine Empfindlichkeitskalibrierung genau für diese "flachen" Objekte gültig sein. Zweidimensionale Fluoreszenzproben, die sowohl lichtstabil als auch chemisch über lange Zeiträume beständig sind, sind jedoch nicht oder nur sehr schwer herzustellen.

**[0095]** Dagegen können Objekte, die eine dreidimensionale Ausdehnung haben, vermessen werden. Weil die an solchen dreidimensionalen Objekten gemessenen Intensitäten aber stark von der Tiefenschärfe des Laser Scanner-Geräts und von der jeweiligen Positionierung im Fokus (d. h. in der Z-Richtung) abhängen, sind solche dreidimensionalen Objekte nicht direkt zur Kalibrierung von Signalintensität oder Empfindlichkeit geeignet. Als sogenanntes "Bulk-Material" existieren jedoch Materialien **102**, wie beispielsweise in Kunststoff eingebettete Fluoreszenzfarbstoffe oder dotierte Gläser, die weitestgehend lichtstabil und chemisch beständig sind.

**[0096]** Die Ausrichtung des Probenstischs **2** und der Aufbewahrungseinheit des Laser Scanner-Geräts **1** im Raum ist eigentlich beliebig. Dasselbe gilt für die gut ausgewuchtete bzw. mittels Gegenschwinger **73** impuls-kompensierte Scanner-Einrichtung **72**. Auch kann die Probenebene **49** des Probenstisches **2** im Wesentlichen horizontal aber kopfüber hängend angeordnet sein. Allerdings wird eine stehende Anordnung des Probenstischs gemäss den [Fig. 1](#) und [Fig. 2](#) bzw. 4 bis 7 bevorzugt.

**[0097]** Gleiche Merkmale oder Elemente des erfindungsgemässen Laser Scanner-Geräts **1** sind jeweils mit gleichen Bezugszeichen versehen, auch wenn diese Elemente nicht in allen Fällen im Detail beschrieben sind.

**[0098]** Bestandteil des erfindungsgemässen Datenerfassungsverfahrens mit einem Laser Scanner-Gerät **1** zum Abbilden und/oder Vermessen von auf Objektträgern befindlichen, mit Fluoreszenzfarbstoffen behandelten, fluoreszierenden Proben bilden auch folgende Merkmale, gemäss welchen:

- Die Probenebene **49** im Wesentlichen horizontal angeordnet ist und die Bewegungsrichtung **75** des Scanner-Kopfs **50** vorzugsweise eine X-Achse oder Scan-Achse definiert, wobei der Probenstisch **2** in einer dazu rechtwinklig angeordneten Y-Richtung eines Kartesischen Koordinatensystems linear verfahren wird.
- Zwei parallel zueinander ausgerichtete und parallel zu der Probenebene **49** verlaufende Laserstrahlen **54**, **55** unterschiedlicher Wellenlänge mit dem mindestens einen Laser **51**, **52** und dem ersten optischen System **53** bereitgestellt und mit einem optischen Umlenkelement **56** einer Scanner-Einrichtung **72** zu der Pro-

be hin umgelenkt werden. Bevorzugt werden diese Laserstrahlen **54, 55** mit dem ersten Objektiv **57** auf der Probe in der Ebene **49** fokussiert, wonach die durch die Laserstrahlen **54, 55** an der Probe ausgelösten und durch das erste Objektiv **57** und das Umlenkelement **56** in eine zur Ebene **49** im wesentlichen parallelen Richtung umgelenkten Emissionsstrahlenbündel **59, 60** unterschiedlicher Wellenlänge mit dem zweiten optischen System **58** zu zwei Detektoren **61, 61'** geleitet und von diesen Detektoren **61, 61'** erfasst werden. Besonders bevorzugt wird die Verwendung eines keilförmigen Dichroidspiegels **62** mit in einem Zwischenwinkel  $\beta$  zueinander angeordneten vorderen und hinteren dichroidischen Oberflächen **63, 64** als Teil des optischen Umlenkelements **56**. Dabei ist der keilförmige Dichroidspiegel **62** vorzugsweise so eingestellt, dass die beiden Laserstrahlen **54, 55** an je einer der Oberflächen **63, 64** reflektiert werden, so dass der keilförmige Dichroidspiegel **62** durch den Zwischenwinkel  $\beta$  eine räumliche Trennung von beiden resultierenden Fokuspunkten **65** und von beiden in Richtung der Detektoren **61, 61'** gelenkten Emissionsstrahlenbündeln **59, 60** bewirkt.

– Ein als Pentaspiegelanordnung **66** mit einem keilförmigen Dichroidspiegel **62** und einem einfachen Spiegel **67** ausgebildetes, optisches Umlenkelement **56** verwendet wird, wobei diese Pentaspiegelanordnung **66** Verkippungen des Scanner-Kopfes **50** um eine zur Scan-Achse **75** rechtwinklig verlaufende Y-Achse so korrigiert, dass die resultierenden Fokuspunkte **65** ihre aktuelle Position in der Probenebene **49** nicht verändern.

– Die Auslenkung des Scanner-Kopfs **50** in der X-Achse **75** mit einem Massstab **77** gemessen wird, welcher in einem Abstand zu einem linearen Messsystem **78** des Laser Scanner-Geräts **1** in dieser Rasterebene **76** angeordnet ist. Alternativ wird bevorzugt, die Auslenkung des Scanner-Kopfs **50** in der X-Achse **75** mit einem Massstab **77** zu messen, welcher zumindest in der Nähe der Hauptebene **107** des ersten Objektivs **57** angeordnet ist.

**[0099]** Speziell bevorzugt wird, dass der Scanner-Kopf **50** mit seinem optischen Umlenkelement **56** und seiner Bewegungsrichtung **75** eine Rasterebene **76** definiert, welche senkrecht zu der Probenebene **49** steht, wobei die Auslenkung des Scanner-Kopfs **50** in der X-Achse **75** mit einem Massstab **77** gemessen wird, welcher in einem Abstand zu einem linearen Messsystem **78** des Laser Scanner-Geräts **1** und in dieser Rasterebene **76** angeordnet ist. Dieser Massstab **77** ist bevorzugt in der Rasterebene **76** oder zumindest in der unmittelbaren Nähe dieser Rasterebene **76** angeordnet. Dieser Massstab **77** ist bevorzugt zudem in der Hauptebene **107** des ersten Objektivs **57** (vgl. [Fig. 6](#) und 7) oder zumindest in der unmittelbaren Nähe dieser Hauptebene **107** angeordnet.

**[0100]** An der Stelle eines normalen Scans bzw. eines normalen abgerasterten Feldes in XY-Richtung und damit parallel zur Probenebene **49** wird ein Scan in XZ-Richtung (Z-Profil) durchgeführt, indem ein Feld abgerastert wird, welches zumindest im wesentlichen senkrecht auf der Probenebene **49** steht. Das direkt gemessene Z-Profil stellt die gemessene Intensität in Abhängigkeit von der Z-Koordinate dar ( $I = I(Z)$ ). An der Stelle dieses Z-Profiles wird nun vorzugsweise die erste Ableitung der entsprechenden Intensitäten ( $dI = dI(z)/dz$ ) berechnet, womit wieder eine zweidimensionale Intensitätsverteilung vorliegt. Das Maximum der ersten Ableitung ist somit ein Mass für die vom Laser Scanner-Gerät **1** an der Oberfläche der Probe gemessenen Intensität.

**[0101]** Die für dieses Kalibrierverfahren geeigneten Materialien **102** können zusammen mit den aufgedampften Linienmustern auf dem gleichen Test-Objektträger **10** oder auf einem separaten Test-Objektträger angeordnet werden. Diese flachen, dreidimensionalen Materialien **102** weisen bevorzugt eine zur Probenebene **49** parallele Ausdehnung von  $2 \times 2$  mm bis  $10 \times 10$  mm auf und haben eine Dicke von etwa 0.1 bis 2 mm, bevorzugt eine Dicke von ca. 1 mm (vgl. [Fig. 16](#)).

**[0102]** Ein Fachmann kennt die Funktion eines Dichroidspiegels als optisches Element, das für einen Teil des Wellenlängenspektrums durchlässig ist und einen anderen Teil dieses Wellenlängenspektrums spiegelt. Der Fachmann spricht hier deshalb von einer wellenlängenselektiven Transmission und Reflektion. Sich für einen Fachmann aus der vorliegenden Beschreibung ergebende Kombinationen bzw. Varianten der beschriebenen Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung gehören zu deren Umfang.

#### Bezugszeichenliste

<b>1</b>	Laser Scanner-Gerät
<b>2</b>	Probentisch
<b>3</b>	Transportvorrichtung
<b>4</b>	Aufbewahrungseinheit
<b>5</b>	Gehäuse
<b>6</b>	Lagerstelle

7	Probenteil
7'	Probenteil-Magazin
8	Proben-Objekträger
9	Testteil
9'	Testteil-Magazin
10	Test-Objekträger
11	bewegliche Stellplatte
12	Lagerstege
13	Anpressfeder
14	Längskante Objekträger
15	Einschubseite
16	wegschwenkbare Klappe
18	Winkelplatte
19	Exzenterwalze
21	Kontrollöffnung
22	Kontrollvorrichtung
23	Lichtstrahl
29	Zusätzliches Gehäuse
30	Feder
31	Entladeschieber
32	Ladeschieber
33	schwenkbare Klappe
34	Aufnahme
35	gegenüber liegende Nuten
36	feststehende Stege
37	beweglicher Backen
38	aufstehende Seitenwände
39	bewegliche Anpressteile
40	Steuerung
41	lichtstabile Teststrukturen
42	Handgriff
43	Schwalbenschwanz
44	Antrieb zu <b>11</b>
45	Antrieb zu <b>31</b>
46	Antrieb zu <b>32</b>
47	Kippachse von <b>33</b>
48	Blende
49	Ebene, Probenebene
50	Scanner-Kopf
51	erster Laser
52	zweiter Laser
53	erstes optisches System
54	erster Laserstrahl
55	zweiter Laserstrahl
56	optisches Umlenkelement
57	erstes Objektiv
57'	zweites Objektiv
58	zweites optisches System
59	erstes Emissionsstrahlenbündel
60	zweites Emissionsstrahlenbündel
61	erster Detektor
61'	zweiter Detektor
62	Dichroidspiegel
63	vordere Oberfläche
64	hintere Oberfläche
65	resultierende Fokuspunkte
66	Pentaspiegelanordnung
67	einfacher Spiegel
68	Linearführung
69, 69'	Pleuelangriffspunkt



70, 70'	Pleuel, Pleuelstange
71	Antrieb
72	Scanner-Einrichtung
73	Gegenschwinger
74	Massenschwerpunkt
75	Bewegungsrichtung X-Achse, Scan-Achse
76	Rasterebene
77	Massstab
78	lineares Messsystem
79	Kippmechanismus
80	Exzenter, Exzentervorrichtung
81	Drehachse
82	Rahmen
83	Aufhängung
84	Spindeltrieb
85	Linearführung
86	Kupplung
87	Motor
88	Senkdorn
89	Rampe
90	Rasteröffnung
91	Weggeber
92	Weggeber-Signal
93	Detektor-Signal
94	Zeitbasis
95	Pixel
96	Zeitmarken
97	Filterrad
98	Aussparung
99	Trennplatte
101	Fokallinie
102	flache Materialien
103	Auflageteil von 2
104	Stahlfeder
105	Joch
106	Exzenter, Exzentervorrichtung
107	Hauptebene des Objektivs 57

### Patentansprüche

1. Datenerfassungsverfahren mit einem Laser Scanner-Gerät (1) zum pixelgenauen Abbilden von auf Objektträgern (8) befindlichen, mit Fluoreszenzfarbstoffen behandelten, fluoreszierenden Proben, wobei dieses Laser Scanner-Gerät (1) umfasst:

- (a) einen Probentisch (2) mit einer Aufnahme (34) für Objektträger (8) in einer Probenebene (49);
- (b) mindestens einen Laser (51, 52) und ein erstes optisches System (53) zum Bereitstellen mindestens eines Laserstrahls (54, 55) zur Anregung der fluoreszierenden Proben;
- (c) einen motorgetriebenen, sich nicht-linear im Raum bewegenden Scanner-Kopf (50) mit einem optischen Umlenkelement (56) zum Umlenken der Laserstrahlen (54, 55) zu der Probe hin und zum Abrastern dieser Probe in mindestens einer Bewegungsrichtung (75);
- (d) ein erstes Objektiv (57) zum Fokussieren der Laserstrahlen (54, 55) auf der Probe in der Ebene (49);
- (e) ein zweites optisches System (58) zum Weiterleiten von durch die Laserstrahlen (54, 55) an der Probe ausgelösten und durch das erste Objektiv (57) und das Umlenkelement (56) umgelenkten Emissionsstrahlenbündeln (59, 60) zu mindestens einem Detektor (61);
- (f) einen Weggeber (91), der Weggeber-Signale (92) aussendet, die den momentanen Aufenthaltsort des Scanner-Kopfs (50) in Bezug auf einen Nullpunkt anzeigen;
- (g) ein elektronisches Element zur Filterung von Detektor-Signalen (93) des Detektors (61) mit einer definierten Zeitkonstante; und
- (h) einen A/D-Wandler zur Digitalisierung der gefilterten Detektor-Signale (93),  
**dadurch gekennzeichnet**, dass der Scanner-Kopf (50) an einer Linearführung (68), welche die Bewegungsrichtung (75) des Scanner-Kopfs (50) definiert, verschoben wird,

dass die gefilterten Detektor-Signale (93) des A/D-Wandlers und die Weggeber-Signale (92) zeitlich parallel und kontinuierlich, aber unabhängig voneinander von einer Rechneinheit bzw. einer Steuerung (40) erfasst und auf eine gemeinsame Zeitbasis (94) bezogen werden, wobei die A/D-Wandlung so häufig erfolgt, dass jedem Pixel (95) eines Bildes stets mehr als ein Datenpunkt des A/D-Wandlers zugeordnet wird, und dass das von einem Detektor (61) erzeugte Detektorsignal (93) von dem A/D-Wandler dieser Steuerung (40) digitalisiert wird, wobei jedem Wandlungspunkt des A/D Wandlers über die Zeitbasis (94) der Zeitpunkt des entsprechenden Weggeber-Signals (92) zugeordnet wird, und wobei jede Digitalisierung konstant fortlaufend von der Zeitbasis (94) getriggert und von der Steuerung (40) mit einer konstanten und gleichen Zeit für alle Datenerfassungsintervalle ( $\Delta d$ ) durchgeführt wird.

2. Datenerfassungsverfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Signal-Filterung mit einem passiven RC-Glied ausgeführt wird, wobei die für das RC-Glied gewählte Zeitkonstante in der Größenordnung eines Datenerfassungsintervalls ( $\Delta d$ ) liegt.

3. Datenerfassungsverfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Signal-Filterung mit einem passiven RC-Glied ausgeführt wird, wobei die für das RC-Glied gewählte Zeitkonstante einen Teil der Größenordnung eines Pixels (95) beträgt.

4. Datenerfassungsverfahren nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Intensität eines Pixels (95) als Mittelwert aller Datenpunkte berechnet wird, die innerhalb von Zeitmarken (96) für dieses Pixel (95) liegen.

5. Datenerfassungsverfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich die Messwerte von unvollständig zwischen den Zeitmarken eines Pixels liegenden Datenerfassungsintervallen anteilig interpoliert werden.

6. Datenerfassungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass mit dem Laser Scanner-Gerät (1) beim Abbilden von auf Objektträgern (8) befindlichen, mit Fluoreszenzfarbstoffen behandelten, fluoreszierenden Proben eine Pixelauflösung erreicht wird, die 2.0  $\mu\text{m}$  oder besser ist.

7. Datenerfassungsverfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass mit dem Laser Scanner-Gerät (1) Pixel (95) mit einer Grösse von 2  $\mu\text{m}$  mit mindestens zwei individuellen Detektor-Signalen (93) abgebildet werden.

8. Datenerfassungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Scanner-Kopf (50) einen Pleuelangriffspunkt (69) aufweist, die über einen Pleuel (70) mit einem Antrieb (71) einer Scanner-Einrichtung (72) verbunden ist, welche diesen Scanner-Kopf (50) umfasst.

9. Datenerfassungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Pleuelangriffspunkt (69) des Scanner-Kopfs (50) in der Bewegungsrichtung (75) auf einer Linie mit einem Massenschwerpunkt (74) des Scanner-Kopfs (50) angeordnet ist.

10. Datenerfassungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Scanner-Kopf (50) mit seinem optischen Umlenkelement (56) und seiner Bewegungsrichtung (75) eine Rasterebene (76) definiert, wobei der Scanner-Kopf (50) einen Massstab (77) umfasst, der in einem Abstand zu einem linearen Messsystem (78) des Laser Scanner-Geräts (1) und in dieser Rasterebene (76) angeordnet ist.

11. Datenerfassungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Scanner-Kopf (50) einen Massstab (77) umfasst, der zumindest in der Nähe einer Hauptebene (107) des ersten Objektivs (57) angeordnet ist.

12. Datenerfassungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Scanner-Einrichtung (72) einen Gegenschwinger (73) umfasst, der an einer Linearführung verschiebbar befestigt ist und einen Pleuelangriffspunkt (69') aufweist, die über einen Pleuel (70') mit dem Antrieb (71) der Scanner-Einrichtung (72) verbunden ist.

13. Datenerfassungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Probenebene (49) im Wesentlichen horizontal angeordnet ist.

14. Datenerfassungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Bewegungsrichtung (75) des Scanner-Kopfs (50) eine X-Achse oder Scan-Achse definiert und der Probenstisch (2) in einer dazu rechtwinklig angeordneten Y-Richtung eines Kartesischen Koordinatensystems linear verfahren wird.

15. Datenerfassungsverfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass zwei parallel zueinander ausgerichtete und parallel zu der Probenebene (49) verlaufende Laserstrahlen (54, 55) unterschiedlicher Wellenlänge mit dem mindestens einen Laser (51, 52) und dem ersten optischen System (53) bereitgestellt und mit einem optischen Umlenkelement (56) einer Scanner-Einrichtung (72) zu der Probe hin umgelenkt werden.

16. Datenerfassungsverfahren nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass diese Laserstrahlen (54, 55) mit dem ersten Objektiv (57) auf der Probe in der Ebene (49) fokussiert werden, wonach die durch die Laserstrahlen (54, 55) an der Probe ausgelösten und durch das erste Objektiv (57) und das Umlenkelement (56) in eine zur Ebene (49) im wesentlichen parallelen Richtung umgelenkten Emissionsstrahlenbündel (59, 60) unterschiedlicher Wellenlänge mit dem zweiten optischen System (58) zu zwei Detektoren (61, 61') geleitet und von diesen Detektoren (61, 61') erfasst werden.

17. Datenerfassungsverfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass ein keilförmiger Dichroidspiegel (62) mit in einem Zwischenwinkel ( $\beta$ ) zueinander angeordneten vorderen und hinteren dichroischen Oberflächen (63, 64) als Teil des optischen Umlenkelements (56) verwendet wird, wobei der keilförmige Dichroidspiegel (62) so eingestellt ist, dass die beiden Laserstrahlen (54, 55) an je einer der Oberflächen (63, 64) reflektiert werden, und wobei der keilförmige Dichroidspiegel (62) durch den Zwischenwinkel ( $\beta$ ) eine räumliche Trennung von beiden resultierenden Fokuspunkten (65) und von beiden in Richtung der Detektoren (61, 61') gelenkten Emissionsstrahlenbündeln (59, 60) bewirkt.

18. Datenerfassungsverfahren nach Anspruch 16 oder 17, dadurch gekennzeichnet, dass ein als Pentaspiegelanordnung (66) mit einem keilförmigen Dichroidspiegel (62) und einem einfachen Spiegel (67) ausgebildetes, optisches Umlenkelement (56) verwendet wird, wobei diese Pentaspiegelanordnung (66) Verkippungen des Scanner-Kopfes (50) um eine zur Scan-Achse (75) rechtwinklig verlaufende Y-Achse so korrigiert, dass die resultierenden Fokuspunkte (65) ihre aktuelle Position in der Probenebene (49) nicht verändern.

19. Datenerfassungsverfahren nach Anspruch 17 oder 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Auslenkung des Scanner-Kopfes (50) in der X-Achse (75) mit einem Massstab (77) gemessen wird, welcher in einem Abstand zu einem linearen Messsystem (78) des Laser Scanner-Geräts (1) in dieser Rasterebene (76) angeordnet ist.

20. Datenerfassungsverfahren nach einem der Ansprüche 17 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass die Auslenkung des Scanner-Kopfes (50) in der X-Achse (75) mit einem Massstab (77) gemessen wird, welcher zumindest in der Nähe der Hauptebene (107) des ersten Objektivs (57) angeordnet ist.

Es folgen 5 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Fig. 1

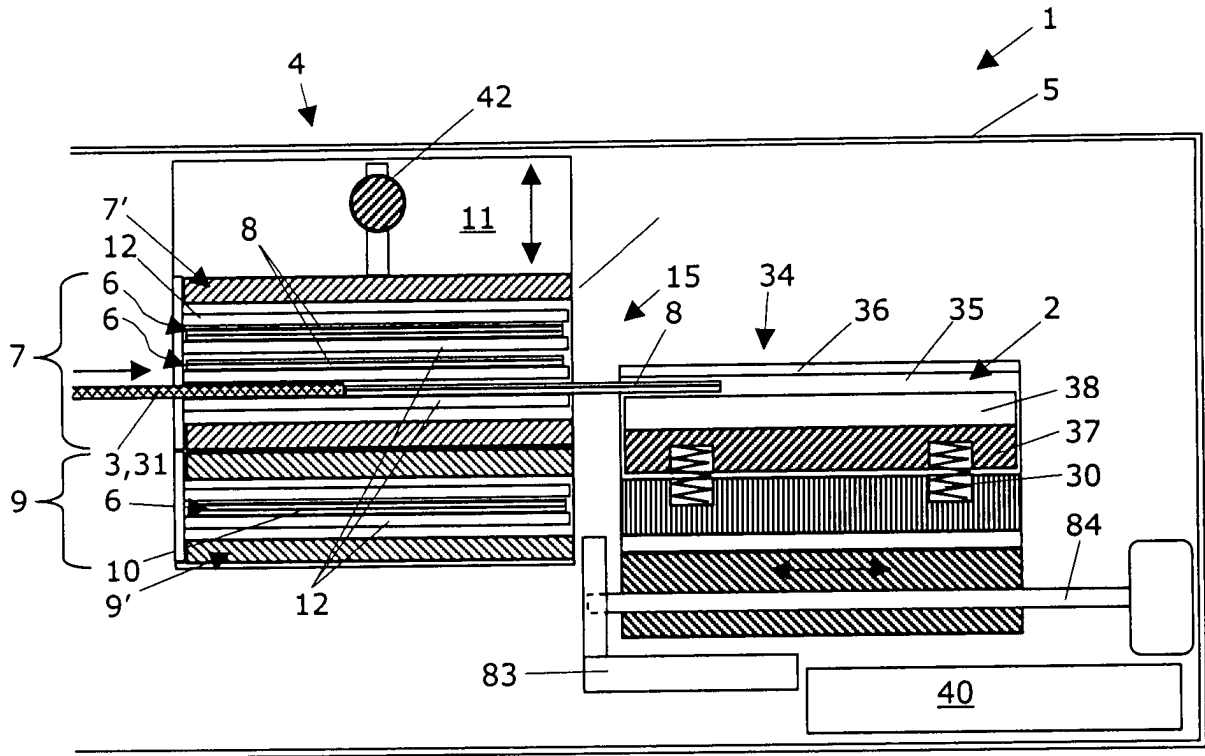


Fig. 2

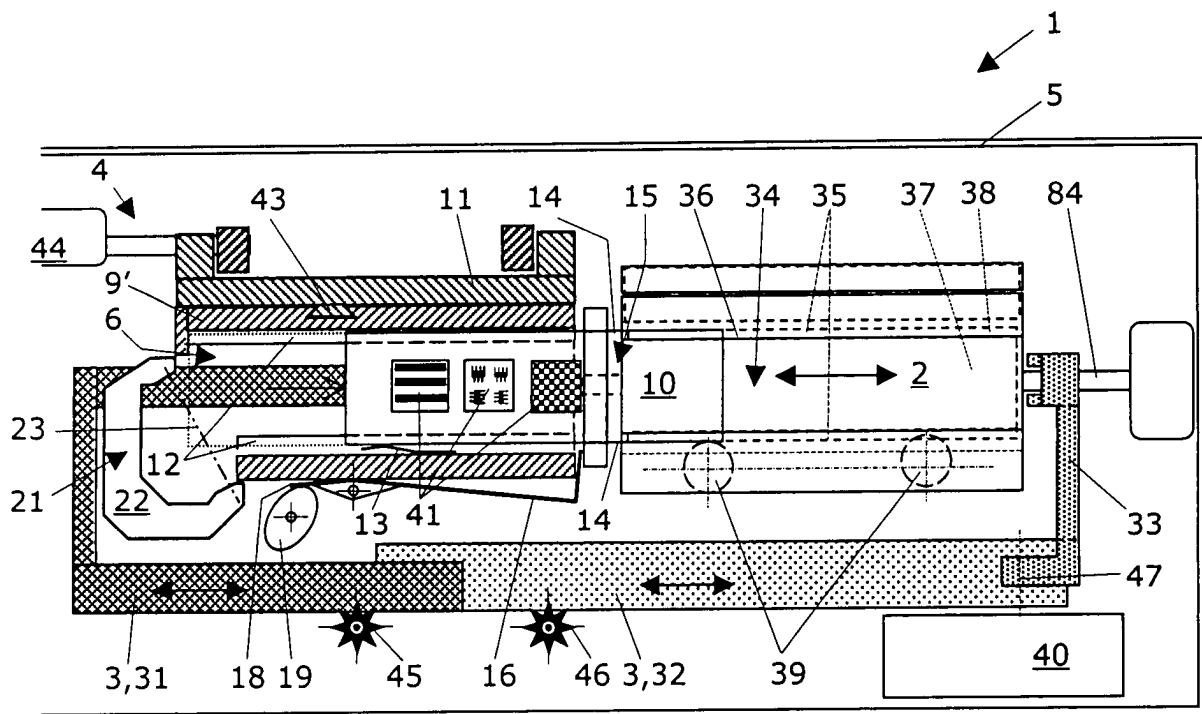


Fig. 3A

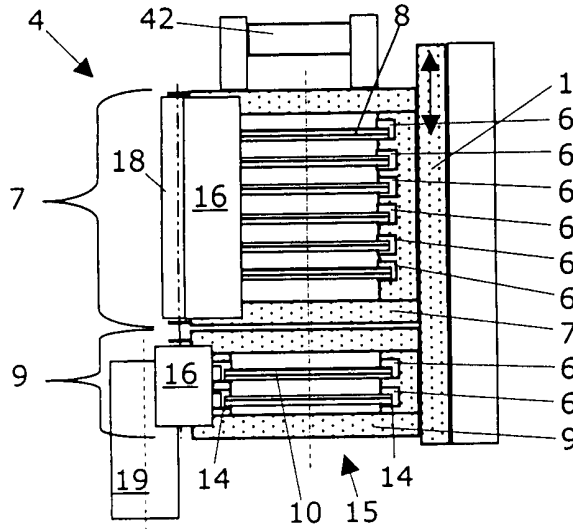


Fig. 3B

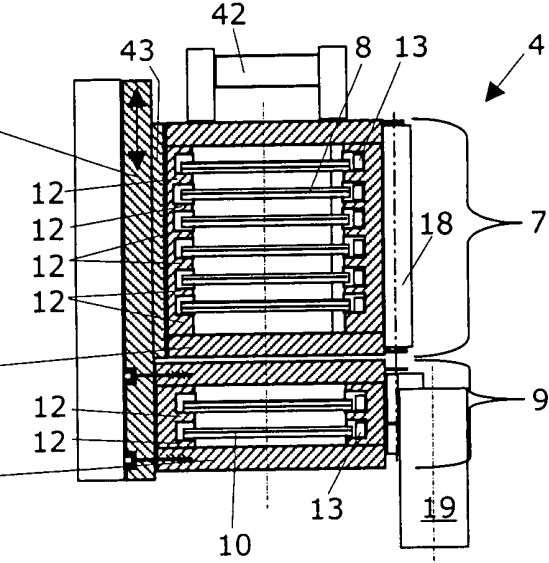


Fig. 4A

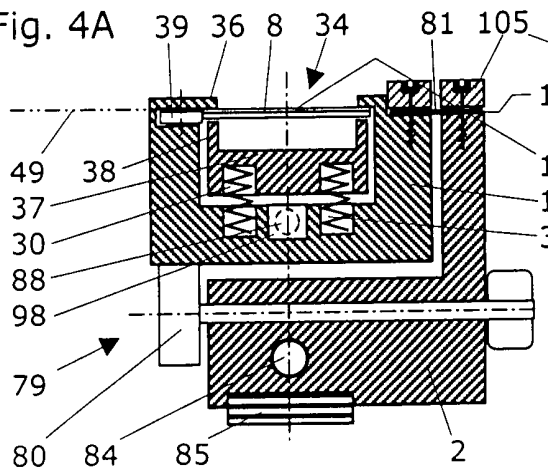


Fig. 4B

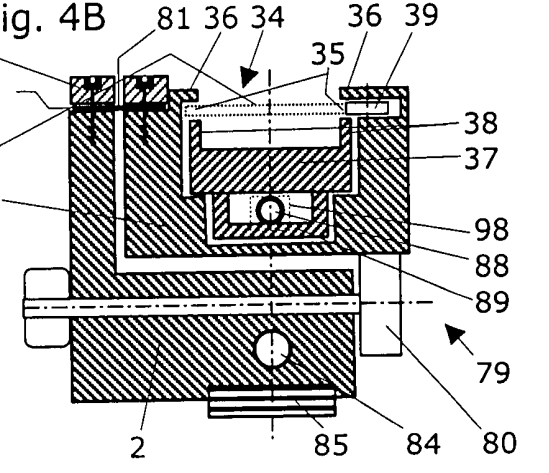


Fig. 5

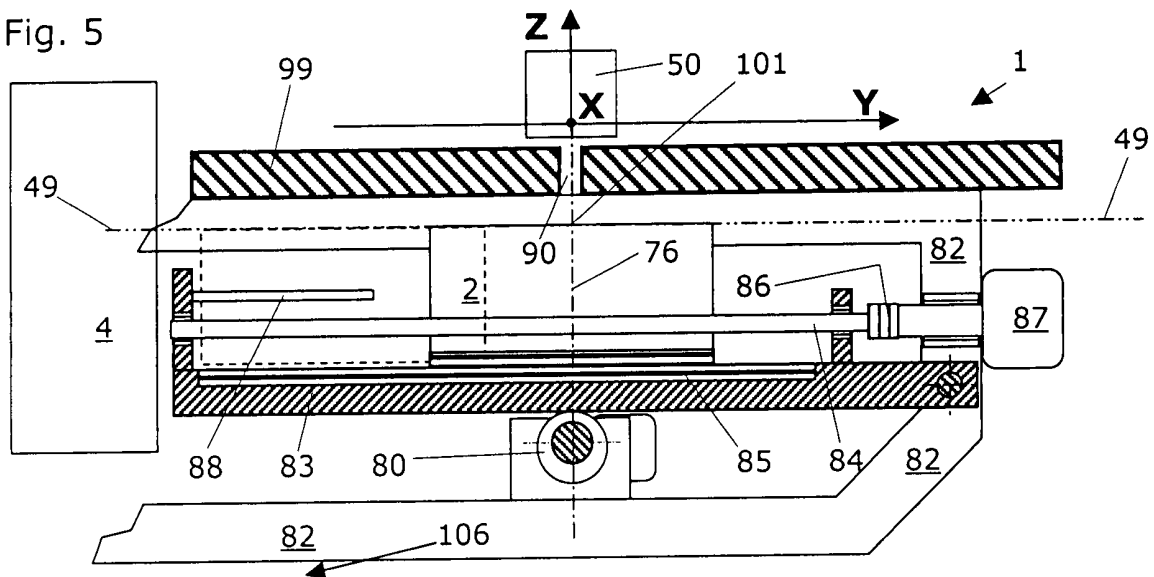


Fig. 6

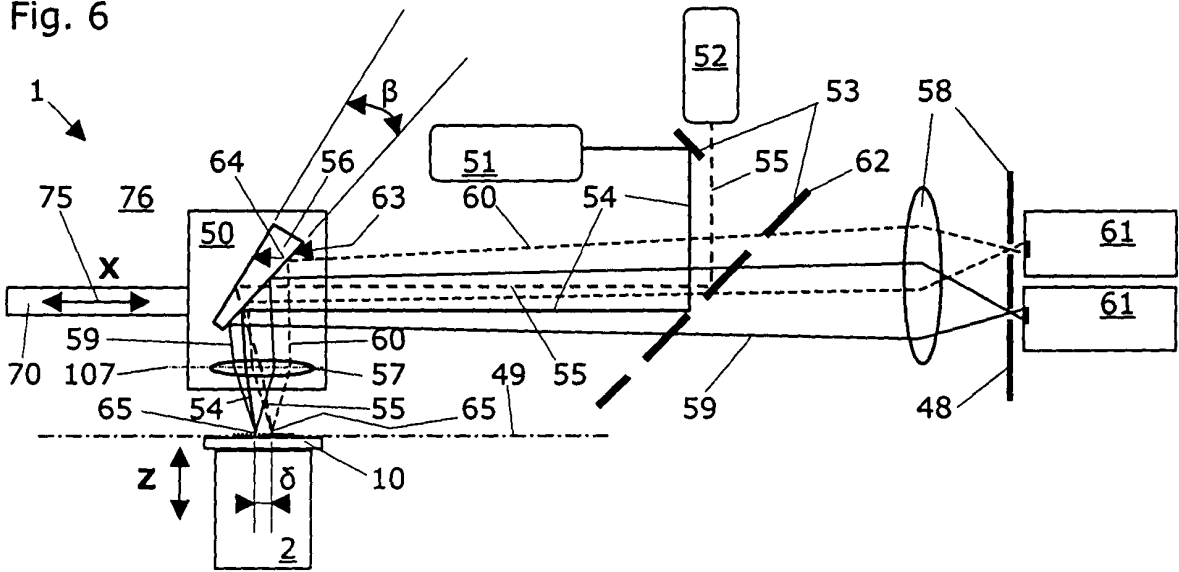


Fig. 7A

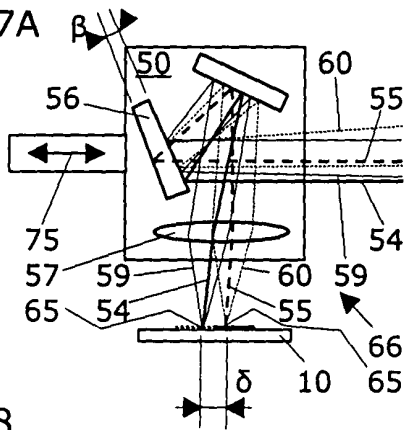


Fig. 7B

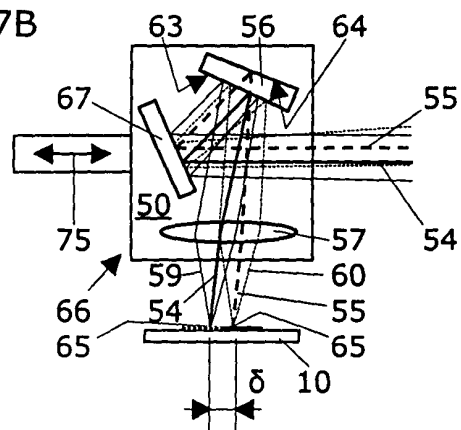
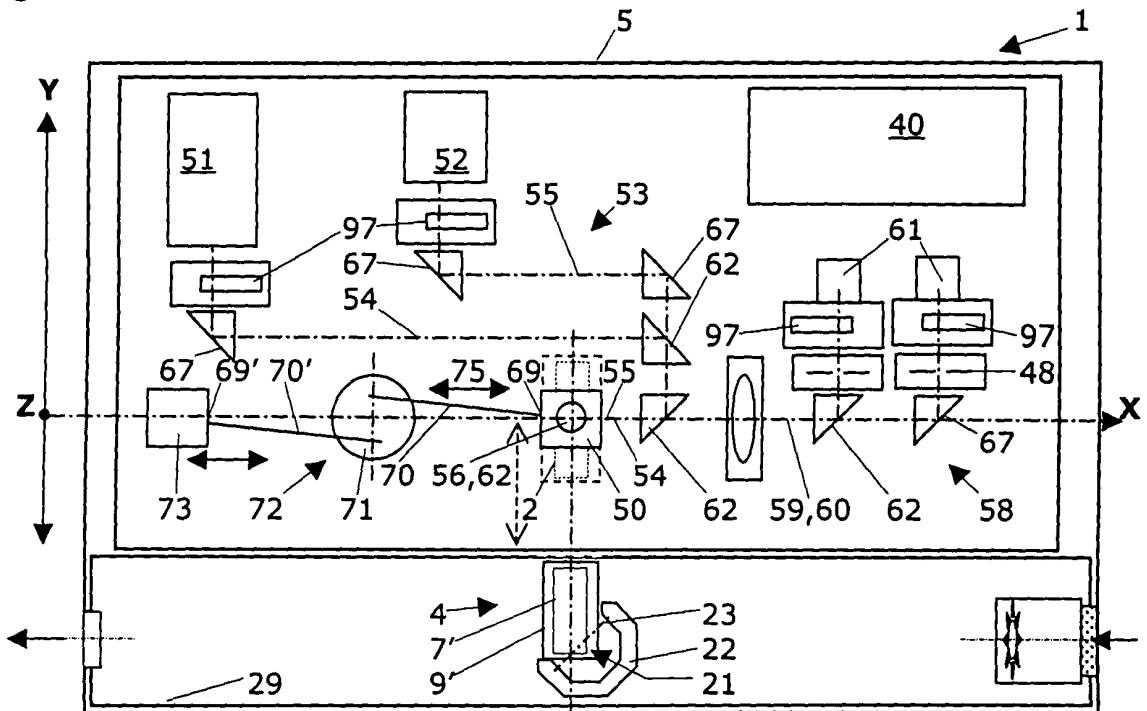


Fig. 8



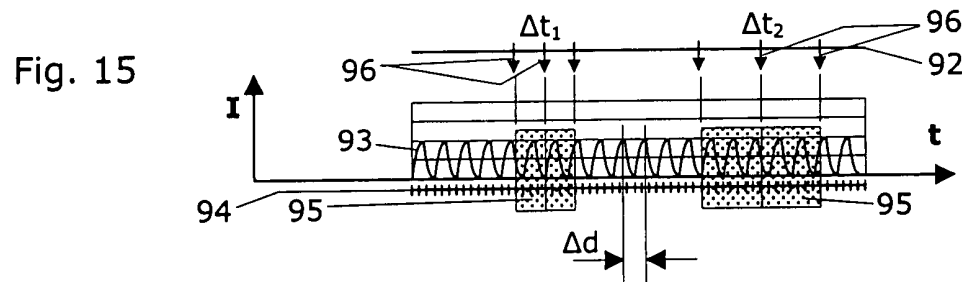
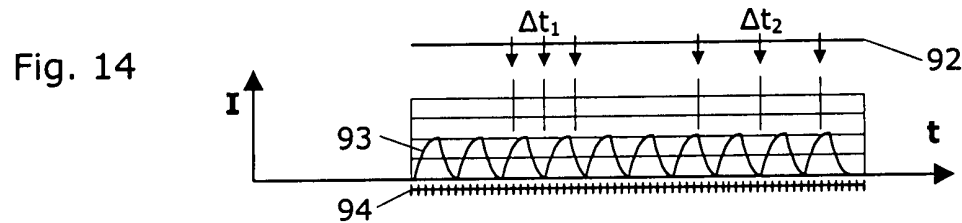
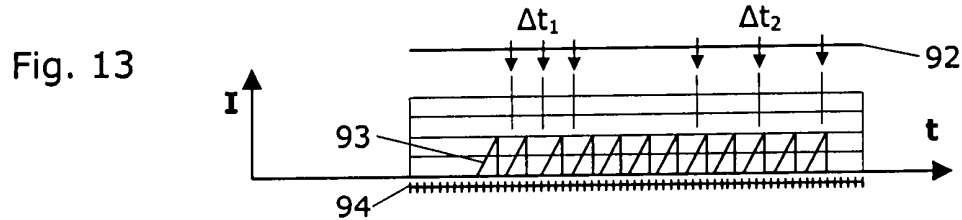
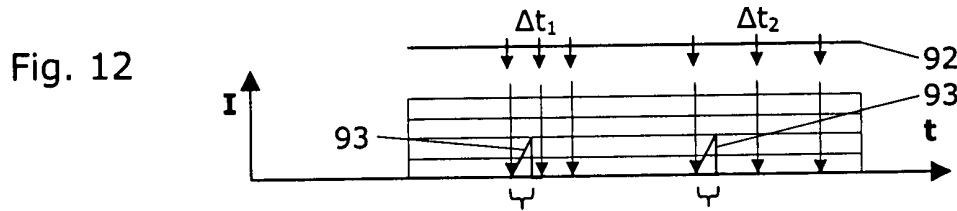
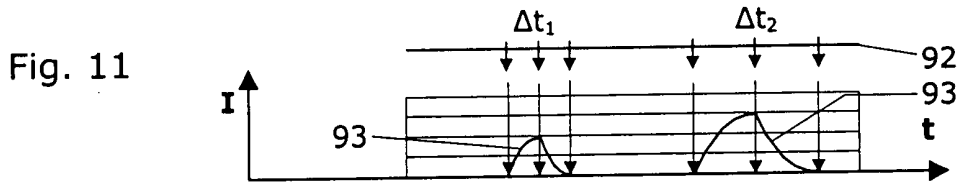
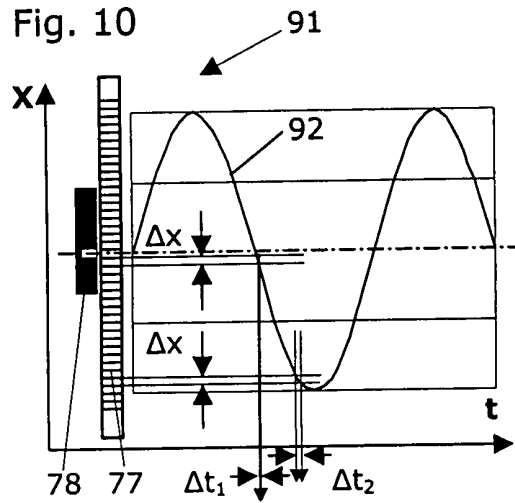
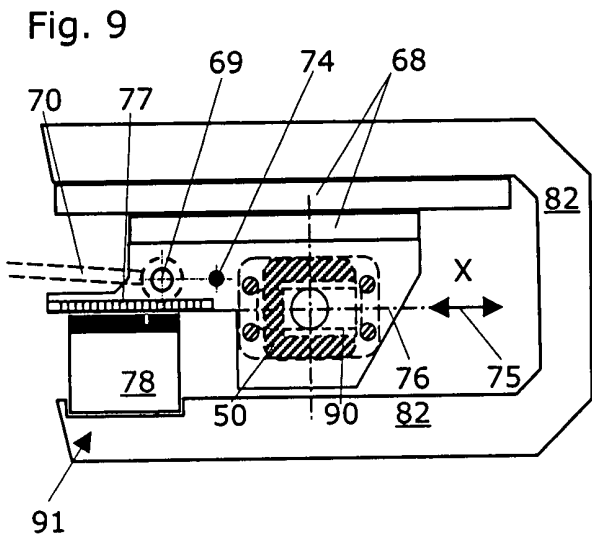


Fig. 16

