

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載
 【部門区分】第 6 部門第 2 区分
 【発行日】平成29年11月24日 (2017.11.24)

【公表番号】特表2016-538584(P2016-538584A)
 【公表日】平成28年12月8日 (2016.12.8)
 【年通号数】公開・登録公報2016-067
 【出願番号】特願2016-521691(P2016-521691)
 【国際特許分類】

G 0 2 B 21/06 (2006.01)

G 0 1 N 21/64 (2006.01)

【F I】

G 0 2 B 21/06

G 0 1 N 21/64 E

【手続補正書】
 【提出日】平成29年10月6日 (2017.10.6)
 【手続補正 1】
 【補正対象書類名】特許請求の範囲
 【補正対象項目名】全文
 【補正方法】変更
 【補正の内容】
 【特許請求の範囲】
 【請求項 1】

生きている生物試料をイメージングする方法であって、

1 つ以上の第 1 のライトシートを生成することと、

前記生成された 1 つ以上の第 1 のライトシートが第 1 の画像平面において前記生物試料の少なくとも一部分と光学的に相互作用するように第 1 の照射軸と平行なそれぞれの経路に沿って前記 1 つ以上の第 1 のライトシートを誘導することと、

複数の第 1 のビュー方向のそれぞれにおいて、前記 1 つ以上の第 1 のライトシートと前記生物試料の一部分との前記光学的な相互作用により、前記生物試料から第 1 の検出軸に沿って放出された蛍光の画像を記録することと、

1 つ以上の第 2 のライトシートを生成することと、

前記生成された 1 つ以上の第 2 のライトシートが第 2 の画像平面において前記生物試料の少なくとも一部分と光学的に相互作用するように第 2 の照射軸と平行なそれぞれの経路に沿って前記 1 つ以上の第 2 のライトシートを誘導することであって、前記第 2 の照射軸が前記第 1 の照射軸と平行ではないことと、

複数の第 2 のビュー方向のそれぞれにおいて、前記 1 つ以上の第 2 のライトシートと前記生物試料の一部分との前記光学的な相互作用により、前記生物試料から第 2 の検出軸に沿って放出された蛍光の画像を記録することと、

を含み、

それぞれの第 2 のビュー方向はそれぞれの第 1 のビュー方向と異なる、方法。

【請求項 2】

1 つ以上の第 1 のライトシートを生成することが、2 つの第 1 の光源ユニットを活動化して 2 つの第 1 のライトシートを生成することを含み、

前記生成された 1 つ以上の第 1 のライトシートが前記第 1 の画像平面において前記生物試料と光学的に相互作用するように前記生物試料を通して前記第 1 の照射軸と平行なそれぞれの経路に沿って前記 1 つ以上の第 1 のライトシートを誘導することが、互いに平行であるが互いに反対方向を指しているそれぞれの経路に沿って前記生成された 2 つの第 1 のライトシートを誘導することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記生成された 2 つの第 1 のライトシートが前記第 1 の画像平面に沿って前記生物試料内で空間的かつ時間的にオーバーラップする、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記生成された第 1 のライトシートの前記時間的オーバーラップが、顕微鏡の空間分解能限界に対応する分解能時間より小さいタイムシフト内である、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記タイムシフト中に前記生物試料の追跡された構造物における空間的変位が前記顕微鏡の前記空間分解能限界より小さい、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

1 つ以上の第 2 のライトシートを生成することが、2 つの第 2 の光源ユニットを活動化して 2 つの第 2 のライトシートを生成することを含み、

前記生成された 1 つ以上の第 2 のライトシートが前記第 2 の画像平面において前記生物試料と光学的に相互作用するように前記生物試料を通して前記第 2 の照射軸と平行なそれぞれの経路に沿って前記 1 つ以上の第 2 のライトシートを誘導することが、互いに平行であるが互いに反対方向を指しているそれぞれの経路に沿って前記生成された 2 つの第 2 のライトシートを誘導することを含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 7】

前記生成された 2 つの第 2 のライトシートが前記第 2 の画像平面に沿って前記生物試料内で空間的かつ時間的にオーバーラップする、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記生成された第 2 のライトシートの前記時間的オーバーラップが、前記顕微鏡の空間分解能限界に対応する分解能時間より小さいタイムシフト内である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記タイムシフト中に前記生物試料の追跡された構造物における空間的変位が前記顕微鏡の前記空間分解能限界より小さい、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記第 1 のビュー方向のそれぞれが前記第 1 の照射軸に垂直であり、前記第 2 のビュー方向のそれぞれが前記第 2 の照射軸に垂直である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記 1 つ以上の第 1 のライトシートを生成することが、1 つ以上のそれぞれの第 1 の光源ユニットを活動化することを含み、

前記 1 つ以上の第 2 のライトシートを生成することが、1 つ以上のそれぞれの第 2 の光源ユニットを活動化することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記 1 つ以上の第 2 の光源ユニットを活動化しながら前記 1 つ以上の第 1 の光源ユニットを活動化すること

を更に含む、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記 1 つ以上の第 1 のライトシート及び前記 1 つ以上の第 2 のライトシートが同じ波長である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記第 1 の検出軸に沿って放出された前記蛍光を第 1 の対物レンズで捕捉し、前記捕捉された蛍光を前記対物レンズから前記第 1 の対物レンズの焦平面に配置された第 1 のアパーチャを通して誘導して、前記第 1 のビュー方向において前記蛍光の画像を記録する前に、焦点が合っていない蛍光の少なくとも一部分を遮断することと、

前記第 2 の検出軸に沿って放出された前記蛍光を第 2 の対物レンズで捕捉し、前記捕捉された蛍光を前記第 2 の対物レンズから前記第 2 の対物レンズの焦平面に配置された第 2 のアパーチャを通して誘導して、前記第 2 のビュー方向において前記蛍光の画像を記録す

る前に、焦点が合っていない蛍光の少なくとも一部分を遮断することと、
を更に含む、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 1 5】

それぞれの第 1 のライトシートを生成することが、前記第 1 の照射軸に対して横向き
の方向に沿って第 1 の光源から放出された第 1 の光ビームをスキャンして前記第 1 のライト
シートを生成することを含み、それぞれの第 2 のライトシートを生成することが、前記第
2 の照射軸に対して横向きの方向に沿って第 2 の光源から放出された第 2 の光ビームをス
キャンして前記第 2 のライトシートを生成し、前記第 1 のライトシートの前記第 1 の光ビ
ームが前記生物試料内で前記第 2 のライトシートの前記第 2 の光ビームと交差しないよう
になっていることを含む、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 6】

前記第 1 の検出軸に沿って放出された蛍光の画像を記録することが、第 1 の対物レンズ
で前記蛍光を捕捉することと、前記捕捉された蛍光を前記対物レンズから前記蛍光の前記
画像を記録する第 1 のカメラに誘導することを含み、

前記第 2 の検出軸に沿って放出された蛍光の画像を記録することが、第 2 の対物レンズ
で前記蛍光を捕捉することと、前記捕捉された蛍光を前記第 2 の対物レンズから前記蛍光
の前記画像を記録する第 2 のカメラに誘導することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記生成された第 1 のライトシートのそれぞれが互いに異なる偏光状態を有し、前記生
成された第 2 のライトシートのそれぞれが互いに異なる偏光状態を有する、請求項 1 に記
載の方法。

【請求項 1 8】

前記 1 つ以上の第 1 のライトシートの生成中に、

前記生物試料の少なくとも一部分に及ぶ 1 組の第 1 の画像平面に沿って前記 1 つ以上の
第 1 のライトシートが前記生物試料と光学的に相互作用するように、増分ステップにより
、前記生物試料、前記 1 つ以上の第 1 のライトシート、及び前記蛍光が記録される前記第
1 のビュー方向のうちの 1 つ以上を、前記第 1 の照射軸と垂直な第 1 の線形軸に沿って互
いに対して並進させることと、

それぞれの第 1 の画像平面について、前記生物試料によって生成された蛍光を前記第 1
のビュー方向において記録することと、

を更に含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 9】

前記生物試料、前記 1 つ以上の第 1 のライトシート、及び前記第 1 の記録ビュー方向の
うちの 1 つ以上を、増分ステップにより前記第 1 の線形軸に沿って互いに対して並進さ
せることが、

前記生物試料の位置を維持することと、

前記 1 つ以上の第 1 のライトシート及び前記第 1 の記録ビュー方向を前記第 1 の線形軸
に沿って並進させることと、

を含む、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記 1 つ以上の第 2 のライトシートの生成中に、

前記生物試料の少なくとも一部分に及ぶ 1 組の第 2 の画像平面に沿って前記 1 つ以上の
第 2 のライトシートが前記生物試料と光学的に相互作用するように、増分ステップにより
、前記生物試料、前記 1 つ以上の第 2 のライトシート、及び前記蛍光が記録される前記第
2 のビュー方向のうちの 1 つ以上を、前記第 2 の照射軸と垂直な第 2 の線形軸に沿って互
いに対して並進させることと、

それぞれの第 2 の画像平面について、前記生物試料によって生成された蛍光を前記第 2
のビュー方向において記録することと、

を更に含む、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記第 1 及び第 2 のビュー方向において前記記録された蛍光の前記画像を位置合わせすることにより前記生物試料の画像を作成することと、マルチビュー・デコンボリューション・アルゴリズムを使用して、前記位置合わせされた画像を結合することを更に含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記記録に基づいて前記生物試料内の構造物を追跡することを更に含み、前記構造物を追跡することが、前記第 1 及び第 2 のビュー方向において前記記録された蛍光の画像を作成することと、前記位置合わせされた画像を結合することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 23】

前記第 1 のビュー方向のそれぞれにおいて記録することが、前記第 1 の照射軸に垂直な前記第 1 の検出軸に沿って記録することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 24】

そのそれぞれの検出軸に沿って取られた前記ライトシートのそれぞれの最小厚さが、イメージングすべき前記試料内の構造物の断面サイズより小さい、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 25】

前記第 2 の照射軸が前記第 1 の照射軸と垂直である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 26】

前記 1 つ以上の第 1 のライトシートが前記生物試料と光学的に相互作用した後又は相互作用している間に蛍光が前記第 1 の検出軸に沿って放出され、

前記 1 つ以上の第 2 のライトシートが前記生物試料と光学的に相互作用した後又は相互作用している間に蛍光が前記第 2 の検出軸に沿って放出される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 27】

前記第 1 の照射軸及び前記第 2 の照射軸が前記生物試料内で空間的にオーバーラップする、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 28】

ライトシートを生成することが、レーザ・ライトシートを生成することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 29】

ライトシートを生成することが、第 1 の交軸に垂直な第 2 の交軸より前記第 1 の交軸に沿ってより長い空間プロファイルを有する光のシートを形成することを含み、前記交軸が前記ライトシートの伝搬の方向に垂直である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 30】

前記 1 つ以上の第 1 のライトシートの前記第 2 の交軸が前記第 1 の検出軸と平行であり、前記 1 つ以上の第 2 のライトシートの前記第 2 の交軸が前記第 2 の検出軸と平行である、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記複数の第 1 のビュー方向のそれぞれにおいて、前記生物試料から前記第 1 の検出軸に沿って放出された蛍光の画像を記録することが、前記複数の第 1 のビュー方向のそれぞれにおいて、前記第 1 の検出軸に沿って前記生物試料内で蛍光体から放出された蛍光の画像を記録することを含み、

前記複数の第 2 のビュー方向のそれぞれにおいて、前記生物試料から前記第 2 の検出軸に沿って放出された蛍光の画像を記録することが、前記複数の第 1 のビュー方向のそれぞれにおいて、前記第 2 の検出軸に沿って前記生物試料内で蛍光体から放出された蛍光の画像を記録することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 32】

生きている生物試料をイメージングするための顕微鏡システムであって、

生物試料を受け入れるように構成された試料領域と、

3 つ以上の光学アームであって、それぞれの光学アームが前記試料領域を横切る光路を有し、それぞれの光学アームが光源ユニットと検出ユニットとを含み、それぞれの光学ア

ームが別個のアーム軸に沿って配置され、少なくとも2つのアーム軸が互いに平行ではない、3つ以上の光学アームと、を含み、

それぞれの光学アーム内の前記光源ユニットは、他のそれぞれの光学アーム内の前記光源ユニットとは別個であり、

それぞれの光源ユニットは、それぞれの照射軸に沿って前記試料領域に向かってライトシートを生成し誘導するように配置された1つの光源及び1組の照射光学装置と、1つ以上の照射光学装置に結合された1組のアクチュエータとを含み、

それぞれの検出ユニットは、前記照射軸のうちの1つ以上に垂直なそれぞれの検出軸に沿って前記試料領域内に受け入れた生物試料から放出された蛍光の画像を収集し記録するように配置された1つのカメラ及び1組の検出光学装置と、前記カメラ及び前記検出光学装置のうちの1つ以上に結合された1組のアクチュエータとを含み、

それぞれの光学アームは、前記試料領域と前記光源ユニットと前記検出ユニットとの間の前記経路上にあって、前記光源ユニットと前記検出ユニットとの間の光学データを分離するように構成された光学データ分離装置を含む、

顕微鏡システム。

【請求項33】

前記試料領域、前記光源ユニット、及び前記検出ユニットのうちの1つ以上に結合され、前記試料領域内に受け入れた生物試料を回転させずに、前記試料領域、前記光源ユニット内の前記ライトシート、及び前記検出ユニットのうちの1つ以上を線形軸に沿って互いに対して並進させるように構成された並進システムを更に含む、請求項32に記載の顕微鏡システム。

【請求項34】

前記試料領域内に位置するようにその上に前記生物試料が装着される試料ホルダを更に含む、請求項32に記載の顕微鏡システム。

【請求項35】

少なくとも1つのコンポーネントがそれぞれの光学アームの前記光源ユニットと前記検出ユニットとの間で共用される、請求項32に記載の顕微鏡システム。

【請求項36】

前記少なくとも1つの共用コンポーネントが顕微鏡対物レンズを含む、請求項35に記載の顕微鏡システム。

【請求項37】

前記少なくとも1つの共用コンポーネントが前記光学データ分離装置と前記試料領域との間に配置される、請求項36に記載の顕微鏡システム。

【請求項38】

それぞれの光学アーム内の前記顕微鏡対物レンズが他の光学アーム内の他の顕微鏡対物レンズと同じ焦平面を有する、請求項36に記載の顕微鏡システム。

【請求項39】

それぞれの光学アーム内の前記顕微鏡対物レンズと前記カメラとの間に配置されたアパーチャを更に含む、請求項36に記載の顕微鏡システム。

【請求項40】

それぞれの検出ユニット内の前記顕微鏡対物レンズの視野が前記顕微鏡対物レンズの回折限界と少なくとも同じ大きさである、請求項36に記載の顕微鏡システム。

【請求項41】

それぞれの検出ユニット内の前記顕微鏡対物レンズが、前記検出ユニットによって追跡された前記生物試料の構造物を解明するのに十分な開口数を有する、請求項36に記載の顕微鏡システム。

【請求項42】

前記少なくとも1つの共用コンポーネントがチューブレンズを含む、請求項36に記載の顕微鏡システム。

【請求項43】

互いに平行ではない前記少なくとも 2 つのアーム軸が互いに垂直である、請求項 3 2 に記載の顕微鏡システム。

【請求項 4 4】

前記 3 つ以上の光学アームが 4 つの光学アームを含み、それぞれの光学アーム軸が他の光学アーム軸のうちの少なくとも 2 つに垂直である、請求項 3 2 に記載の顕微鏡システム。

【請求項 4 5】

前記光学データ分離装置が、前記光源ユニット及び前記検出ユニットの前記少なくとも 1 つの共用コンポーネントと残りのコンポーネントとの間に二色性光学素子を含む、請求項 3 2 に記載の顕微鏡システム。

【請求項 4 6】

それぞれの光学アーム内で、前記光源からの前記ライトシートが前記二色性光学素子から反射され、前記生物試料からの前記蛍光が前記二色性光学素子を通して透過される、請求項 4 5 に記載の顕微鏡システム。

【請求項 4 7】

前記第 1 の検出軸に垂直な方向に沿って前記第 1 のアパーチャを並進させて、前記第 1 の検出軸に沿って放出された前記蛍光が前記第 1 のアパーチャを通過して記録されることができるようになることと、

前記第 2 の検出軸に垂直な方向に沿って前記第 2 のアパーチャを並進させて、前記第 2 の検出軸に沿って放出された前記蛍光が前記第 1 のアパーチャを通過して記録されることができるようになることと、

を更に含む、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 4 8】

それぞれの光学アーム内の前記検出ユニットは、他のそれぞれの光学アーム内の前記検出ユニットとは別個である、請求項 3 2 に記載の顕微鏡システム。