

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-535253

(P2016-535253A)

(43) 公表日 平成28年11月10日(2016.11.10)

(51) Int.Cl.

GO1N 1/06 (2006.01)

F 1

GO1N 1/06  
GO1N 1/06

テーマコード(参考)

F 2G052

Z

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 34 頁)

(21) 出願番号 特願2016-522749 (P2016-522749)  
 (86) (22) 出願日 平成26年11月5日 (2014.11.5)  
 (85) 翻訳文提出日 平成28年6月10日 (2016.6.10)  
 (86) 國際出願番号 PCT/US2014/064151  
 (87) 國際公開番号 WO2015/069783  
 (87) 國際公開日 平成27年5月14日 (2015.5.14)  
 (31) 優先権主張番号 61/900,262  
 (32) 優先日 平成25年11月5日 (2013.11.5)  
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 502352427  
 ハワード ヒューズ メディカル インス  
 ティチュート  
 アメリカ合衆国、20147 ヴァージニ  
 ア州、アッシュバーン、ヘリックス ドラ  
 イブ 19700  
 (74) 代理人 100079108  
 弁理士 稲葉 良幸  
 (74) 代理人 100109346  
 弁理士 大貫 敏史  
 (74) 代理人 100117189  
 弁理士 江口 昭彦  
 (74) 代理人 100134120  
 弁理士 内藤 和彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】体積試料の切断

## (57) 【要約】

【課題】 人間の労力のみによって実現可能であった試料より大きい体積の試料を切り出すことである。

【解決手段】 ミクロトームは、液体を収容する空洞を画定するトラフの端部に位置するブレードと、少なくとも1つの試料を懸濁させた試料プロックであって、試料プロックがブレードを通過する時に切片が試料プロックから切り出されるように、ブレードに対して移動可能である、試料プロックと、開口を画定する支持フレームおよび開口にわたって延在する透明膜を含むプレートであって、透明膜は、電子に対して透過性を有するプレートと、プレートを受け、かつ保持するように構成されたグラスパであって、ブレードに対して移動可能である、グラスパと、試料を有しない押し出し切片と、を含む。

【選択図】図1

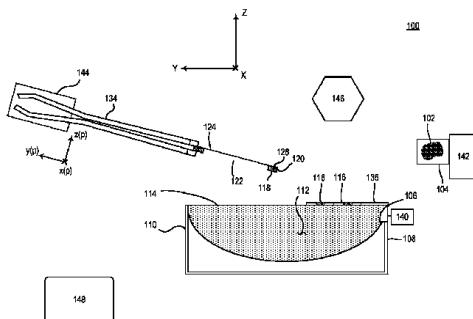


Fig. 1

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

材料の試料ブロックに懸濁した少なくとも 1 つの試料を切り出すミクロトームであって、

液体を収容する空洞を画定するトラフの端部に位置するブレードと、

前記少なくとも 1 つの試料を懸濁させた試料ブロックであって、前記試料ブロックが前記ブレードを通過する時に切片が前記試料ブロックから切り出されるように、前記ブレードに対して移動可能である、試料ブロックと、

開口を画定する支持フレームおよび前記開口にわたって延在する透明領域を含むブレートであって、前記透明領域は、電子に対して透過性を有し、前記支持フレームは、前記ブレートの x - y 平面に沿って延在し、前記 x - y 平面に沿って前記開口から端部まで延在する平面領域を含み、前記ブレードに対して移動可能なブレートと、

前記ブレードを受け、かつ保持するように構成されたグラスパであって、前記ブレードに対して移動可能である、グラスパと、

前記試料押し出し切片を有しない押し出し切片と、  
を備える、ミクロトーム。

**【請求項 2】**

前記押し出し切片は、前記 x - y 平面に沿って前記開口の 1 つの縁部から前記開口の別の縁部まで延在する方向に沿って前記平面領域と少なくとも同じ程度に長い、請求項 1 に記載のミクロトーム。

**【請求項 3】**

前記ブレードが物理的に連結するブレード起動システムと、  
前記試料ブロックが物理的に連結する試料ブロック起動システムと、  
前記ブレートが物理的に連結するブレート起動システムと、  
前記ブレード、前記試料ブロック、前記ブレート、前記トラフ、および前記液体の 1 つ以上と関連付けられた少なくとも 1 つの物理的特徴を検知するように位置決めされた少なくとも 1 つのセンサを含む測定システムと、  
前記測定システムから情報を受け取り、

前記少なくとも 1 つの物理的特徴が許容範囲内にあるかどうかを判断し、  
前記少なくとも 1 つの物理的特徴が前記許容範囲の外にあると判断された場合、1 つ以上の信号を前記ブレード起動システム、前記試料ブロック起動システム、および前記ブレート起動システムに送信するように接続された制御システムと、  
をさらに備える、請求項 1 に記載のミクロトーム。

**【請求項 4】**

前記ブレード起動システムは、前記トラフに連結され、  
前記ブレート起動システムは、前記グラスパに連結される、請求項 3 に記載のミクロトーム。

**【請求項 5】**

前記押し出し切片は前記試料ブロックの部分であり、前記部分には前記試料が無い、請求項 1 に記載のミクロトーム。

**【請求項 6】**

前記試料ブロックが切出しの前に前記ブレードの隣に位置決めされる時に、前記試料ブロックの前記押し出し切片は、前記試料ブロック内に懸濁した前記試料よりも、前記ブレードから離れている、請求項 5 に記載のミクロトーム。

**【請求項 7】**

前記押し出し切片は、前記試料ブロックとは別であり、かつ前記試料が無い空ブロックの部分である、請求項 1 に記載のミクロトーム。

**【請求項 8】**

前記試料を有しない 1 つ以上の追加的押し出し切片をさらに備える、請求項 7 に記載のミクロトーム。

10

20

30

40

50

**【請求項 9】**

前記グラスパは、端部に 2 つのピンチを備え、前記 2 つのピンチは、それらの間に空間を画定する、請求項 1 に記載のミクロトーム。

**【請求項 10】**

前記 2 つのピンチの間の前記空間は、前記平坦な支持フレームの少なくとも厚さに対して調整可能である調整可能範囲を有する、請求項 9 に記載のミクロトーム。

**【請求項 11】**

前記プレートの前記透明領域は、電子に対して透過性を有する領域である、請求項 1 に記載のミクロトーム。

**【請求項 12】**

材料の試料ブロックに懸濁した少なくとも 1 つの試料を切り出す方法であって、

前記試料ブロックをブレードに 1 回以上通過させること、

前記試料ブロックが前記ブレードを通過するたびに、切片を前記試料ブロックから切り出すことであって、1 つ以上の切片が液体上に浮かび、前記 1 つ以上の切片の最後の切片が前記ブレードに付着したままであること、

前記最後の切片が前記ブレードに付着したままである一方で、結像領域を含むプレートを前記液体中、かつ前記 1 つ以上の浮遊切片の下方に位置決めすること、

前記 1 つ以上の浮遊切片を前記プレートに密着させること、および、

少なくとも 1 つの切片が前記プレートに密着した後に、前記ブレードに付着した前記最後の切片を前記ブレードから取り外すこと、

を含む、方法。

**【請求項 13】**

前記プレートを前記液体中、かつ前記 1 つ以上の浮遊切片の下方に位置決めすることは、切片の少なくとも 1 つの試料が前記プレートの前記結像領域にわたって位置決めされるように前記プレートを位置決めすることを含む、請求項 1 2 に記載の方法。

**【請求項 14】**

前記プレートを前記液体中、かつ前記 1 つ以上の浮遊切片の下方に位置決めすることは、1 つ以上の切片が、切片を前記プレートから最初に隔てる前記液体のメニスカスを上るように、前記 1 つ以上の切片および前記プレートを互いに対し移動させることを含む、請求項 1 2 に記載の方法。

**【請求項 15】**

前記 1 つ以上の浮遊切片を前記プレートに密着させることは、前記 1 つ以上の浮遊切片と前記プレートとの間の前記液体を取り除くことを含む、請求項 1 2 に記載の方法。

**【請求項 16】**

前記 1 つ以上の浮遊切片を前記プレートに密着させることは、各浮遊切片の前記少なくとも 1 つの試料が前記プレートの前記結像領域の上に位置決めされるように前記 1 つ以上の浮遊切片を前記プレート上に下ろすことを含む、請求項 1 5 に記載の方法。

**【請求項 17】**

前記 1 つ以上の浮遊切片を前記プレートに密着させることは、前記液体のレベルを下げる前に前記液体のレベルを上げることを含む、請求項 1 5 に記載の方法。

**【請求項 18】**

前記試料ブロックの前記ブレードに対する第 1 の通過の後に前記試料ブロックが前記ブレードを通過するたびに、前記切片が前記ブロックから切り出された後に、前記切片は、切り出されて前記液体に浮かんでいる前記最後の切片に固着する、請求項 1 2 に記載の方法。

**【請求項 19】**

前記 1 つ以上の浮遊切片が前記プレートに密着した後に、前記プレートを前記液体から取り外すことをさらに含む、請求項 1 2 に記載の方法。

**【請求項 20】**

前記プレートが前記液体から取り除かれた後に液体を前記プレートから取り除くことを

10

20

30

40

50

さらに含む、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記プレートを取り外した後に前記液体を前記プレートから取り除くことは、前記プレートを吸収材料に接触させることによって前記液体を吸い取ることを含む、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記結像領域は、透明領域である、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記プレートの前記透明領域は、前記プレート内に画定された開口にわたってプラスチック膜を含み、

前記 1 つ以上の浮遊切片を前記プレートに密着させることは、前記試料を含む各切片の少なくとも一部を前記プラスチック膜に密着させることを含む、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記試料ブロックを前記ブレードに通過させることは、1つの切片が前記液体上に浮かぶように前記試料ブロックを前記ブレードに1回通過させることを含み、前記液体上に浮かぶ前記1つの切片は、前記少なくとも1つの試料を含む試料領域と、前記少なくとも1つの試料を有しない押し出し領域とを含む、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記浮遊切片を前記プレートに密着させることは、前記浮遊領域が前記プレート上に下りるように前記液体のレベルを下げるることを含む、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記浮遊切片を前記プレートに密着させることは、前記浮遊切片の前記試料領域が前記プレートの前記結像領域の上に位置決めされ、かつ、前記押し出し領域が前記プレートの非結像領域の上に位置決めされるように、前記浮遊切片を前記プレート上に下ろすことを含む、請求項 2 5 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記試料ブロックから切り出された少なくとも1つの切片は、前記試料を有しない押し出し領域に隣接して位置決めされた試料領域を含み、前記押し出し領域は、前記少なくとも1つの切片が前記プレートに密着する前に、前記試料領域を前記プレートの前記結像領域の上に位置決めするのに十分な程度に長い、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記試料ブロックが前記ブレードに接触する直前に、前記試料領域は、前記押し出し領域よりも前記ブレードに対して近接している、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 9】

材料の試料ブロックに懸濁した少なくとも1つの試料を切り出す方法であって、

前記試料ブロックをブレードに1回以上通過させること、

前記試料ブロックが前記ブレードを通過するたびに、試料切片を前記試料ブロックから切り出すことであって、1つ以上の試料切片が液体上に浮かぶこと、

空ブロックを前記ブレードに1回以上通過させることであって、前記空ブロックは、前記試料を有しないこと、

前記空ブロックが前記ブレードを通過するたびに、押し出し切片を前記空ブロックから切り出すことであって、1つ以上の押し出し切片が前記液体上に浮かび、最後の押し出し切片が前記ブレードに付着したままであること、

結像領域を含むプレートを前記液体中、かつ前記1つ以上の試料切片の下方に位置決めすること、

前記1つ以上の試料切片および前記1つ以上の押し出し切片を前記プレートに密着させること、および、

前記最後の押し出し切片を前記ブレードから取り外すこと、  
を含む、方法。

10

20

30

40

50

**【請求項 3 0】**

前記 1 つ以上の試料切片および前記 1 つ以上の押出し切片が前記プレートに密着した後に、前記プレートを前記液体から取り外すことをさらに含む、請求項 2 9 に記載の方法。

**【請求項 3 1】**

前記プレートを前記液体中、かつ前記 1 つ以上の試料切片の下方に位置決めすることは、試料切片の前記試料の少なくとも 1 つが前記プレートの前記結像領域にわたって位置決めされるように前記プレートを位置決めすることを含む、請求項 2 9 に記載の方法。

**【請求項 3 2】**

前記 1 つ以上の試料切片および前記 1 つ以上の押出し切片を前記プレートに密着させることは、前記 1 つ以上の試料切片および前記 1 つ以上の押出し切片と前記プレートとの間の液体を取り除くことを含む、請求項 2 9 に記載の方法。

10

**【請求項 3 3】**

前記 1 つ以上の試料切片および前記 1 つ以上の押出し切片を前記プレートに密着させることは、前記切片のすべてが前記液体とともに前記プレート上に下りるように、前記プレートに対して前記液体のレベルを下げることを含む、請求項 2 9 に記載の方法。

**【請求項 3 4】**

前記 1 つ以上の試料切片を前記プレートに密着させることは、前記試料切片の前記試料が前記プレートの前記結像領域の上に位置決めされるように、前記試料切片を前記プレート上に下ろすことを含む、請求項 3 3 に記載の方法。

**【請求項 3 5】**

前記 1 つ以上の試料切片および前記 1 つ以上の押出し切片を前記プレートに密着させることは、前記液体の前記レベルを下げる前に前記液体の前記レベルを上げることを含む、請求項 3 3 に記載の方法。

20

**【請求項 3 6】**

前記試料ブロックの第 1 の通過の後に前記試料ブロックが前記ブレードを通過するたびに、前記試料切片が前記試料ブロックから切り出された後に、前記試料切片は、切り出されて前記液体に浮かんでいる前記最後の試料切片に固着する、請求項 2 9 に記載の方法。

**【請求項 3 7】**

前記最後の押出し切片が前記ブレードに付着したままである一方で、前記プレートは、前記液体内に、かつ少なくとも前記 1 つ以上の試料切片の下方に位置決めされる、請求項 2 9 に記載の方法。

30

**【請求項 3 8】**

前記最後の押出し切片を前記ブレードから取り外すことは、前記試料切片の少なくとも 1 つが前記プレートに密着した後に前記最後の押出し切片を前記ブレードから取り外すことを含む、請求項 3 7 に記載の方法。

**【請求項 3 9】**

前記結像領域は、透明領域である、請求項 2 9 に記載の方法。

**【請求項 4 0】**

前記プレートは、フレームを提供し、かつ前記透明領域を画定する非透明領域を備え、前記透明領域は、前記透明領域にわたって延在し、かつ前記非透明領域に固定されるプラスチック膜を含む、請求項 2 9 に記載の方法。

40

**【請求項 4 1】**

前記 1 つ以上の試料切片および前記 1 つ以上の押出し切片を前記プレートに密着させることは、各試料切片の前記試料が前記透明領域に隣接するように各試料切片の少なくとも一部を前記プレートに密着させることと、前記押出し切片が前記非透明領域にわたって延在するように前記 1 つ以上の押出し切片の少なくとも一部を前記プレートに密着させることとを含む、請求項 4 0 に記載の方法。

**【請求項 4 2】**

前記試料ブロックを前記ブレードに通過させることは、1 つの試料切片が前記液体上に浮かぶように前記試料ブロックを前記ブレードに 1 回通過させることを含む、請求項 2 9

50

に記載の方法。

**【請求項 4 3】**

前記空ブロックを前記ブレードに通過させることは、1つの押し出し切片が前記液体上に浮かぶように前記空ブロックを前記ブレードに1回通過させることを含む、請求項29に記載の方法。

**【請求項 4 4】**

前記試料ブロックを前記ブレードに通過させることは、複数の試料切片が前記液体上に浮かぶように前記試料ブロックを前記ブレードに複数回通過させることを含む、請求項29に記載の方法。

**【請求項 4 5】**

前記空ブロックを前記ブレードに通過させることは、複数の押し出し切片が前記液体上に浮かぶように前記空ブロックを複数回前記ブレードに通過させることを含む、請求項29に記載の方法。

**【請求項 4 6】**

前記プレートを前記液体中、かつ前記1つ以上の浮遊切片の下方に位置決めすることは、1つ以上の切片が、切片を前記プレートから最初に隔てる前記液体のメニスカスを上るように、前記1つ以上の切片および前記プレートを互いに対し移動させることを含む、請求項29に記載の方法。

**【請求項 4 7】**

材料の試料ブロックに懸濁した試料を切り出す方法であって、

前記試料ブロックを、液体を収容する空洞を画定するトラフの端部に位置するブレードに繰り返して通過させること、

前記試料ブロックが前記ブレードを通過するたびに、試料切片を前記試料ブロックから切り出すことであって、複数の試料切片が、前記トラフ内に収容された前記液体上に浮かび、かつ互いに付着したままであり、前記試料切片の少なくとも1つまたは前記試料が無い押し出し切片が、前記ブレードに付着したままであること、

前記複数の試料切片のすべてを、透明領域を含むプレートに密着させること、

前記ブレードに付着した前記試料切片の前記少なくとも1つまたは前記押し出し切片を前記ブレードから取り外すこと、

前記ブレード、前記トラフ、前記液体、前記プレート、および前記試料ブロックの1つ以上の間の相対的な物理的特徴を検出すること、および、

前記検出された相対的な物理的特徴に基づいて、通過、切出し、密着、および取外しの1つ以上を制御すること、  
を含む、方法。

**【請求項 4 8】**

前記ブレード、前記トラフ、前記液体、前記プレート、および前記試料ブロックの1つ以上の間の相対的な物理的特徴を検出することは、

前記試料ブロックが前記ブレードを通過する前に、前記ブレードと前記試料ブロックとの間の距離を検出すること、

前記試料ブロックが前記ブレードを通過する前に、前記ブレードと前記試料ブロックとの間の角度を検出すること、

前記プレートと前記ブレードとの間の距離を検出すること、および

前記プレートと前記液体との間の電気的特徴を検出すること、の1つ以上を含む、請求項47に記載の方法。

**【発明の詳細な説明】**

**【技術分野】**

**【0001】**

**[関連出願の相互参照]**

本出願は、2013年11月5日に出願された米国特許仮出願第61/900,262

10

20

30

40

50

号の利益を主張し、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

本開示の主題は、透過型電子顕微鏡（TEM）で使用するための生物試料の切断（切出し）に関する。

【背景技術】

【0003】

TEMにおいて結像される生物試料の作製は、複雑な手順になることがある。TEMにおいて使用される生物標本（または試料）は、光学顕微鏡などの他のタイプの顕微鏡を使用して結像される標本と比較して薄い。TEMに関して、結像される標本は、電子が標本を通過することを可能にする程度に十分に薄い必要がある。試料は、試料ブロックに包埋された試料から非常に薄いスライス（切片）を切り出すことによって作製され、この試料ブロックは、生物試料を浸透させ、取り囲み、固体プラスチックブロックに重合するプラスチックから形成することができる。このブロックは、処理を自動化するミクロトームを使用してブレードによって薄い切片に切り出される。各切片の厚さは、20ナノメートル（nm）～マイクロメートル（μm）である。

10

【0004】

ミクロトームを使用して試料ブロックに懸濁した試料を薄い切片にすることは、通常、高度の熟練オペレータによって行われる。技術レベル、切出しエラーを起こさずにそのような切出しを行う労力の度合いは、小さい環形動物（虫）より複雑な微生物の微細構造を完全に理解するのに十分な程度の大きさの体積を切出すことに対する課題を提示することがある。

20

【発明の概要】

【0005】

いくつかの一般的な態様において、ミクロトームは、材料の試料ブロックに懸濁した少なくとも1つの試料を切り出す。ミクロトームは、液体を収容する空洞を画定するトラフの端部に位置するブレードと、少なくとも1つの試料を懸濁させた試料ブロックであって、試料ブロックがブレードを通過する時に切片が試料ブロックから切り出されるように、ブレードに対して移動可能である、試料ブロックと、開口を画定する支持フレームおよび開口にわたって延在する透明膜を含むプレートと、プレートを受け、かつ保持するよう構成されたグラスパであって、ブレードに対して移動可能である、グラスパと、試料押し切片を有しない押し出し切片と、を含む。透明膜は、電子に対して透過性を有する。支持フレームは、プレートのx-y平面に沿って延在し、x-y平面に沿って開口から端部まで延在する平面領域を含み、支持フレームは、プレートのx-y平面に垂直なプレートのz軸に沿って厚さを有し、プレートのz軸に沿う透明膜の厚さは、支持フレームの厚さよりも小さい。プレートは、ブレードに対して移動可能である。

30

【0006】

実施は、以下の特徴の1つ以上を含み得る。例えば、押し出し切片は、x-y平面に沿って開口の1つの縁部から開口の別の縁部まで延在する方向に沿って平面領域と少なくとも同じ程度に長くてよい。

40

【0007】

また、ミクロトームは、ブレードが物理的に連結するブレード起動システムと、試料ブロックが物理的に連結する試料ブロック起動システムと、プレートが物理的に連結するプレート起動システムと、ブレード、試料ブロック、プレート、トラフ、および液体の1つ以上と関連付けられた少なくとも1つの物理的特徴を検知するように位置決めされた少なくとも1つのセンサを含む測定システムと、制御システムと、を含み得る。制御システムは、測定システムから情報を受け取り、少なくとも1つの物理的特徴が許容範囲内にあるかどうかを判断し、少なくとも1つの物理的特徴が許容範囲の外にあると判断された場合、1つ以上の信号をブレード起動システム、試料ブロック起動システム、およびプレート起動システムに送信するように接続され得る。ブレード起動システムは、トラフに連結されてよく、プレート起動システムは、グラスパに連結されてよい。

50

**【 0 0 0 8 】**

押出し切片は、試料ブロックの部分であってよく、部分には試料が無い。試料ブロックの押出し切片は、試料ブロックが切出しの前にブレードの隣に位置決めされる時に、試料ブロック内に懸濁した試料よりも、ブレードから離れ得る。押出し切片は、試料ブロックとは別の空ブロックの部分であってよく、空ブロックには、試料が無くてよい。ミクロトームは、試料を有しない1つ以上の追加的押出し切片を含み得る。

**【 0 0 0 9 】**

グラスパは、端部に2つのピンチを備えてよく、2つのピンチは、それらの間に空間を画定する。2つのピンチの間の空間は、平坦な支持フレームの少なくとも厚さに対して調整可能である調整可能範囲を有し得る。

10

**【 0 0 1 0 】**

他の実施において、材料の試料ブロックに懸濁した少なくとも1つの試料を切り出す方法を説明する。該方法は、試料ブロックをブレードに1回以上通過させることと、試料ブロックがブレードを通過するたびに、切片を試料ブロックから切り出すことであって、1つ以上の切片が液体上に浮かび、1つ以上の切片の最後の切片がブレードに付着したままであることと、を含む。該方法は、最後の切片がブレードに付着したままである一方で、結像領域を含むプレートを液体中、かつ1つ以上の浮遊切片の下方に位置決めすることと、1つ以上の浮遊切片をプレートに密着させることと、少なくとも1つの切片がプレートに密着した後に、ブレードに付着した最後の切片をブレードから取り外すことと、を含む。

20

**【 0 0 1 1 】**

実施は、以下の特徴の1つ以上を含むことができる。例えば、ブレードは、液体を収容する空洞を画定するトラフの端部に位置し得る。該方法は、1つ以上の浮遊切片がプレートに密着した後にプレートを空洞から取り外すことを含み得る。

**【 0 0 1 2 】**

プレートは、切片の少なくとも1つの試料がプレートの結像領域にわたって位置決めされるようにプレートを位置決めすることによって、液体中、かつ1つ以上の浮遊切片の下方に位置決めされ得る。プレートは、1つ以上の切片が、切片をプレートから最初に隔てる液体のメニスカスを上るように、1つ以上の切片およびプレートを互いに対して移動させることによって、液体中、かつ1つ以上の浮遊切片の下方に位置決めされ得る。

30

**【 0 0 1 3 】**

1つ以上の浮遊切片は、1つ以上の浮遊切片とプレートとの間の液体を取り除くことによって、プレートに密着し得る。1つ以上の浮遊切片は、各浮遊切片の少なくとも1つの試料がプレートの結像領域の上に位置決めされるように1つ以上の浮遊切片をプレート上に下ろすことによって、プレートに密着し得る。1つ以上の浮遊切片は、液体のレベルを下げる前に液体のレベルを上げることによって、プレートに密着し得る。

**【 0 0 1 4 】**

試料ブロックのブレードに対する第1の通過の後に試料ブロックがブレードを通過するたびに、切片がブロックから切り出された後に、切片は、切り出されて液体に浮かんでいる最後の切片に固着し得る。

40

**【 0 0 1 5 】**

該方法は、1つ以上の浮遊切片がプレートに密着した後に、プレートを液体から取り外すことを含み得る。該方法は、プレートが液体から取り外された後に液体をプレートから取り除くことを含み得る。液体は、プレートを吸収材料に接触させることによって液体を吸い取ることによって、プレートが取り除かれた後に、プレートから取り除かれ得る。

**【 0 0 1 6 】**

結像領域は、透明領域であり得る。プレートの透明領域は、電子に対して透過性を有する領域であり得る。プレートの透明領域は、プレート内に画定された開口にわたってプラスチック膜を含んでよく、1つ以上の浮遊切片は、試料を含む各切片の少なくとも一部をプラスチック膜に密着させることによって、プレートに密着し得る。

50

**【 0 0 1 7 】**

試料ブロックは、1つの切片が液体上に浮かぶように試料ブロックをブレードに1回通過させることによって、ブレードを通過し得る。また、液体上に浮かぶ1つの切片は、少なくとも1つの試料を含む試料領域と、少なくとも1つの試料を有しない押し出し領域とを含む。浮遊切片は、浮遊領域がプレート上に下りるように液体のレベルを下げることによって、プレートに密着し得る。浮遊切片は、浮遊切片の試料領域がプレートの結像領域の上に位置決めされ、かつ、押し出し領域がプレートの非結像領域の上に位置決めされるように、浮遊切片をプレート上に下ろすことによって、プレートに密着し得る。

**【 0 0 1 8 】**

試料ブロックから切り出された少なくとも1つの切片は、試料を有しない押し出し領域に隣接して位置決めされた試料領域を含み得る。また、押し出し領域は、少なくとも1つの切片がプレートに密着する前に、試料領域をプレートの結像領域の上に位置決めするのに十分な程度に長くてよい。

10

**【 0 0 1 9 】**

試料ブロックがブレードに接触する直前に、試料領域は、押し出し領域よりもブレードに対して近接していてよい。

**【 0 0 2 0 】**

他の一般的な態様において、材料の試料ブロックに懸濁した少なくとも1つの試料を切り出す方法を説明する。該方法は、試料ブロックをブレードに1回以上通過させることと、試料ブロックがブレードを通過するたびに、試料切片を試料ブロックから切り出すことであって、1つ以上の試料切片が液体上に浮かぶことと、空ブロックをブレードに1回以上通過させることであって、空ブロックは、試料を有しないことと、空ブロックがブレードを通過するたびに、押し出し切片を空ブロックから切り出すことであって、1つ以上の押し出し切片が液体上に浮かび、最後の押し出し切片がブレードに付着したままであることと、を含む。該方法は、結像領域を含むプレートを液体中、かつ1つ以上の試料切片の下方に位置決めすることと、1つ以上の試料切片および1つ以上の押し出し切片をプレートに密着させることと、最後の押し出し切片をブレードから取り外すことと、を含む。

20

**【 0 0 2 1 】**

実施は、以下の特徴の1つ以上を含み得る。例えば、ブレードは、液体を収容する空洞を画定するトラフの端部に位置し得る。該方法は、1つ以上の試料切片および1つ以上の押し出し切片がプレートに密着した後に、プレートを空洞から取り外すことを含み得る。

30

**【 0 0 2 2 】**

プレートは、試料切片の試料の少なくとも1つがプレートの結像領域にわたって位置決めされるようにプレートを位置決めすることによって、液体中、かつ1つ以上の試料切片の下方に位置決めされ得る。

**【 0 0 2 3 】**

1つ以上の試料切片および1つ以上の押し出し切片は、1つ以上の試料切片および1つ以上の押し出し切片とプレートとの間の液体を取り除くことによって、プレートに密着し得る。

40

**【 0 0 2 4 】**

1つ以上の試料切片および1つ以上の押し出し切片は、切片のすべてが液体とともにプレート上に下りるようにプレートに対して液体のレベルを下げることによって、プレートに密着し得る。1つ以上の試料切片は、試料切片の試料がプレートの結像領域の上に位置決めされるように試料切片をプレート上に下ろすことによって、プレートに密着し得る。1つ以上の試料切片および1つ以上の押し出し切片は、液体のレベルを下げる前に液体のレベルを上げることによって、プレートに密着し得る。

**【 0 0 2 5 】**

試料ブロックの第1の通過の後に試料ブロックがブレードを通過するたびに、試料切片が試料ブロックから切り出された後に、試料切片は、切り出されて液体に浮かんでいる最後の試料切片に固着し得る。

50

**【 0 0 2 6 】**

最後の押出し切片がブレードに付着したままである一方で、プレートは、液体内に、かつ少なくとも1つ以上の試料切片の下方に位置決めされ得る。最後の押出し切片は、試料切片の少なくとも1つがプレートに密着した後に最後の押出し切片をブレードから取り外すことによって、ブレードから取り外され得る。

**【 0 0 2 7 】**

結像領域は、透明領域であり得る。プレートの透明領域は、電子に対して透過性を有する領域であり得る。プレートは、フレームを提供し、かつ透明領域を画定する非透明領域を含み得る。透明領域は、透明領域にわたって延在し、かつ非透明領域に固定されるプラスチック膜を含み得る。1つ以上の試料切片および1つ以上の押出し切片は、各試料切片の試料が透明領域に隣接するように各試料切片の少なくとも一部をプレートに密着させることと、押出し切片が非透明領域にわたって延在するように1つ以上の押出し切片の少なくとも一部をプレートに密着させることと、によってプレートに密着し得る。

10

**【 0 0 2 8 】**

試料ブロックは、1つの試料切片が液体上に浮かぶように試料ブロックをブレードに1回通過させることによって、ブレードを通過し得る。空ブロックは、1つの押出し切片が液体上に浮かぶように空ブロックをブレードに1回通過させることによって、ブレードを通過し得る。試料ブロックは、複数の試料切片が液体上に浮かぶように試料ブロックをブレードに複数回通過させることによって、ブレードを通過し得る。空ブロックは、複数の押出し切片が液体上に浮かぶように空ブロックを複数回ブレードに通過させることによって、ブレードを通過し得る。

20

**【 0 0 2 9 】**

プレートは、1つ以上の切片が、切片をプレートから最初に隔てる液体のメニスカスを上るように、1つ以上の切片およびプレートを互いに対し移動させることによって、液体中、かつ1つ以上の浮遊切片の下方に位置決めされ得る。

**【 0 0 3 0 】**

他の一般的な態様において、材料の試料ブロックに懸濁した試料を切り出す方法を説明する。該方法は、材料の試料ブロックに懸濁した試料を切り出す方法であって、試料ブロックを、液体を収容する空洞を画定するトラフの端部に位置するブレードに繰り返して通過させることと、試料ブロックがブレードを通過するたびに、試料切片を試料ブロックから切り出すことであって、複数の試料切片が、トラフ内に収容された液体上に浮かび、かつ互いに付着したままであり、記試料切片の少なくとも1つまたは試料が無い押出し切片が、ブレードに付着したままであることと、複数の試料切片のすべてを、透明領域を含むプレートに密着させることと、ブレードに付着した試料切片の少なくとも1つまたは押出し切片をブレードから取り外すことと、ブレード、トラフ、液体、プレート、および試料ブロックの1つ以上の間の相対的な物理的特徴を検出することと、検出された相対的な物理的特徴に基づいて、通過、切出し、密着、および取外しの1つ以上を制御することと、を含む。

30

**【 0 0 3 1 】**

実施は、以下の特徴の1つ以上を含み得る。例えば、ブレード、トラフ、液体、プレート、および試料ブロックの1つ以上の間の相対的な物理的特徴は、試料ブロックがブレードを通過する前にブレードと試料ブロックとの間の距離を検出することによって、検出され得る。

40

**【 0 0 3 2 】**

ブレード、トラフ、液体、プレート、および試料ブロックの1つ以上の間の相対的な物理的特徴は、試料ブロックがブレードを通過する前にブレードと試料ブロックとの間の角度を検出することによって、検出され得る。ブレード、トラフ、液体、プレート、および試料ブロックの1つ以上の間の相対的な物理的特徴は、プレートとブレードとの間の距離を検出することによって、検出され得る。ブレード、トラフ、液体、プレート、および試料ブロックの1つ以上の間の相対的な物理的特徴は、プレートと液体との間の電気的特徴

50

を検出することによって、検出され得る。

**【0033】**

該方法は、試料切片の少なくとも1つまたは押し出し切片がブレードに付着したままである一方で、プレートが液体内に、かつ複数の試料切片の下方に進むように、プレートをトラフの空洞に位置決めすることを含み得る。

**【0034】**

ブレードに付着した試料切片の少なくとも1つまたは押し出し切片は、複数の試料切片の1つ以上の試料切片がプレートに密着した後に試料切片の少なくとも1つまたは押し出し切片を取り外すことによって、ブレードから取り外され得る。

**【0035】**

複数の試料切片のすべては、複数の試料切片をプレートに順次密着させることによって、プレートに密着し得る。複数の試料切片のすべては、複数の試料切片の試料をプレートの透明領域にわたって位置決めすることによって、プレートに密着し得る。

**【図面の簡単な説明】**

**【0036】**

**【図1】**図1は、透過型電子顕微鏡(TEM)の切片をTEMプレート上に切出し、配置するミクロトームのブロック図である。

**【図2A】**図2Aは、切り出された切片を保持するプレートの上面図である。

**【図2B】**図2Bは、図2Aのプレートの断面図である。

**【図3】**図3は、切り出された切片を有するプレートを受ける例示的なTEMのブロック図である。

**【図4A】**図4Aは、プレートおよびグラスパの上面図である。

**【図4B】**図4Bは、図4Aのプレートおよびグラスパの側断面図である。

**【図5A】**図5Aは、切り出された切片が付着したプレートの上面図である。

**【図5B】**図5Bは、図5Aのプレートおよび切り出された切片の側断面図である。

**【図6】**図6は、図1のミクロトームの、切り出された切片が浮遊する液体を保持するトラフ、プレート、1つ以上の試料ブロックおよび空ブロックの斜視図である。

**【図7A】**図7Aは、グラスパおよびプレート、ならびに複数のプレートを保持するプレート格納デバイスの斜視図である。

**【図7B】**図7Bは、プレートを受ける図7Aのプレート格納デバイスの領域を示す上面図である。

**【図7C】**図7Cは、図7Aのプレート格納デバイスの上半分の保持クランプを示す上面図である。

**【図7D】**図7Dは、図7Aのプレート格納デバイスの上半分である保持クランプおよび図7Aのプレート格納デバイスの下半分であるシェルフの側断面図である。

**【図7E】**図7Eは、プレート格納デバイスのシェルフと保持クランプとの間にプレートを受ける図7Aのプレート格納デバイスの領域の上面図である。

**【図7F】**図7Fは、図7Aのプレート格納デバイスの上半分および下半分の斜視図である。

**【図8】**図8は、図1のミクロトームの例示的な制御システムのブロック図である。

**【図9】**図9は、図1のミクロトームの、切り出された切片が浮遊する液体を保持する例示的なトラフ、プレート、および1つ以上の試料ブロックの斜視図である。

**【図10】**図10は、図1のミクロトームの、切り出された切片が浮遊する液体を保持する例示的なトラフ、プレート、および1つ以上の試料ブロックの斜視図である。

**【図11】**図11は、図1のミクロトームの、切り出された切片が浮遊する液体を保持するトラフ、プレート、1つ以上の試料ブロックおよび1つ以上の空ブロックの斜視図である。

**【図12】**図1のミクロトームによって行われる例示的手順のフローチャートである。

**【図13A】**図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する試料ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。

10

20

30

40

50

【図13B】図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する試料ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。

【図13C】図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する試料ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。

【図13D】図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する試料ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。

【図14A】切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的斜視図である。

【図14B】切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的側断面図である。

【図15A】切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的斜視図である。

【図15B】切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的側断面図である。 10

【図15C】切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的斜視図である。

【図15D】切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的側断面図である。

【図15E】切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的斜視図である。

【図15F】切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的側断面図である。

【図16A】切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的側断面図である。

【図16B】切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的側断面図である。

【図16C】切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的斜視図である。

【図16D】切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的側断面図である。

【図17】図1のミクロトームによって行われる例示的手順のフローチャートである。

【図18A】図18Aは、第1の切り出された試料切片を生成するための、図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する試料ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。 20

【図18B】図18Bは、第1の切り出された試料切片を生成するための、図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する試料ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。

【図18C】図18Cは、第1の切り出された試料切片を生成するための、図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する試料ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。

【図18D】図18Dは、図18Cの第1の切り出された試料切片に隣接する第2の切り出された試料切片を生成するための、図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する試料ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。 30

【図18E】図18Eは、図18Cの第1の切り出された試料切片に隣接する第2の切り出された試料切片を生成するための、図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する試料ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。

【図18F】図18Fは、図18Cの第1の切り出された試料切片に隣接する第2の切り出された試料切片を生成するための、図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する試料ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。

【図19A】図19Aは、第3の切り出された試料切片に隣接する押出し切片を生成するための、図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する空ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。

【図19B】図19Bは、第3の切り出された試料切片に隣接する押出し切片を生成するための、図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する空ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。 40

【図19C】図19Cは、第3の切り出された試料切片に隣接する押出し切片を生成するための、図1のミクロトームの液体の隣に位置するブレードを通過する空ブロックの例示的な進行を示す側断面図である。

【図20A】図20Aは、切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的斜視図である。

【図20B】図20Bは、切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的側断面図である。 50

【図 20 C】図 20 C は、切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的斜視図である。

【図 20 D】図 20 D は、切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的側断面図である。

【図 20 E】図 20 E は、切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的側断面図である。

【図 20 F】図 20 F は、切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的側断面図である。

【図 21 A】図 21 A は、切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的斜視図である。

【図 21 B】図 21 B は、切片がどのようにプレートに密着するかを示す例示的側断面図である。

【図 22】図 22 は、図 1 のミクロトームによって行われる例示的手順のフローチャートである。

【図 23】図 23 は、図 1 のミクロトームの例示的測定システムの斜視図である。

【図 24】図 24 は、図 22 の例示的測定システムの別の斜視図である。

【図 25】図 25 は、図 23 および図 24 の例示的測定システムの側断面図である。

【図 26】図 26 は、プレートおよび切り出された切片を受ける例示的 SEM のプロック図である。

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【0037】

図 1 を参照すると、透過型電子顕微鏡 (TEM) による超薄切片を試料ブロックから TEM プレート (グリッドとも呼ばれる) 上に切り出し、配置する処理を自動化するミクロトーム 100 が示されている。ミクロトームは、1 日 24 時間動作することができる手順を実施し、高い信頼性を有する高品質の切片を切り出し、収集する。本明細書に開示の技術によって、これまで人間の労力のみによって実現可能であった試料より大きい体積の試料を完全に切り出すことが実行可能および実施可能になる。

##### 【0038】

ミクロトーム 100 は、プラスチックなどの材料の試料ブロック 104 に懸濁した（例えば、包埋された）少なくとも 1 つの生物試料 102 を切り出す。試料 102 を試料ブロック 104 に懸濁または包埋するために、試料ブロック 104 を金型にいれ、パラフィン（ろう）またはエポキシなどの液体物質で満たしてよく、その後これを硬化させて、容易に切り出される試料ブロック 104 を生成する。

##### 【0039】

ミクロトーム 100 は、液体 114 を収容する空洞 112 を画定するトラフ 110 の端部 108 に位置するブレード 106 を含む。ブレード 106 は、トラフ 110 の端部 108 に固定されてよく、または、トラフ 110 の端部 108 に装着されてトラフ 110 に対して引き続き移動可能であってよい。ブレード 106 は、ブロックのさらい刃であり、その設計は、結像される試料の材料および調合に基づき得る。ブレード 106 は、例えば、（図 1 に示すように）平面凹形状、くさび形状、またはたがね形状に成形され得る。ブレード 106 は、ガラスまたはダイヤモンドなどの材料から形成され得る。1 つの切片 116（または、試料ブロック 104 から複数が切り出される場合、複数の切片 116）は、ブレード 106 によって切り出された後に液体 114 上に浮かぶ。

##### 【0040】

試料ブロック 104 は、X、Y、および Z 方向のいずれかに沿ってブレード 106 に対して移動可能である。試料ブロック 104 が（例えば、図 13A～図 13D および図 18A～図 18C に示すように Z 方向に沿って）ブレード 104 を通過すると、切片 116 が試料ブロック 104 から切り出され、切り出された後、切片 116 は液体 114 上に浮かぶ。

##### 【0041】

10

20

30

40

50

ミクロトーム 100 は、ブレード 106 に対して移動可能であるプレート 118 を含む。図 2A および図 2B (プレート 118 のより大きい図を示す) も参照すると、プレート 118 は、開口 122 と透明領域 124 とを画定する平坦な支持フレーム 120 を含む。透明領域 124 は、開口 122 にわたって延在する透明膜であり得る。図示の例において、透明膜は、プレート 118 の表面全体にわたって平坦な支持フレーム 120 の縁部まで延在する。透明膜は、開口 122 を覆っている限り、平坦な支持フレーム 120 の表面の一部のみにわたって延在してもよい。

#### 【0042】

平坦な支持フレーム 120 は、プレート 118 のフレームの x (p) - y (p) 平面に沿って延在し、x (p) - y (p) プレート平面に沿って開口 122 の縁部から平坦な支持フレーム 120 の端部 126 まで延在するフレーム長さ 128 を含む。平坦な支持フレーム 120 は、プレート 118 の z (p) 軸に沿って延在する厚さ 130 を有し、プレート 118 の z (p) 軸は、プレート 118 の x (p) - y (p) 平面に垂直である。プレートの z (p) 軸に沿う透明膜 124 の厚さ 132 は、平坦な支持フレーム 120 の厚さ 130 より小さい。プレート 118 の平坦な支持フレーム 120 は、金属 (例えば、銅、ニッケル、または銅およびニッケルの合金) などの好適に硬質材料、または腐食処理されたシリコンから形成され得る。

#### 【0043】

図 3 を参照すると、透明膜 124 は、プレート 118 に (特に、膜 124 に) 密着する 1 つの切片 116 (または、複数の切片が切り出される場合、複数の切片) が透過型顕微鏡 (TEM) 300 において電子で結像され得るように電子に対して透過性を有する。TEM 300 は、電子流 (または電子ビーム 308) を生成する電子源 304 と、電子ビーム 308 を切片 116 に誘導する電磁ビーム光学系 306 (電磁レンズ等) とを含む電子源システム 302 を含む。TEM 300 の構成要素は、真空環境に近づく圧力で保持されるチャンバ 310 内に設けられる。電子ビーム 308 は、切片 116 を通って進行し、切片 116 に懸濁した試料の密度によってビーム 308 の電子の一部は結像の経路内に存在しない方向に沿って散乱し、またはビームから消滅する。散乱しない電子および小角散乱電子は、電子ビーム 312 として、切片 116 に懸濁した試料を通過する。電子ビーム 312 は、電磁ビーム光学系 314 によってスクリーン 316 上に集束する。スクリーン 316 は、試料の影像 318 を生成し、試料の別々の部分が密度に応じて異なる暗さで表示される。像は、オペレータ 320 によって直接調べてよく、または後の観察のためにカメラで撮影されてもよい。

#### 【0044】

あるいは、走査透過型電子顕微鏡法について、電子ビーム 308 は、切片 116 内の試料上のスポットに集束し、切片 116 内の試料にわたってラスタパターンで走査され得る。散乱しない電子ビーム 312 または小角散乱電子を別々に検出して、切片 116 内の試料のラスタ画像が形成され得る。

#### 【0045】

再び図 1 を参照すると、ミクロトーム 100 は、ブレード 106 に対して移動可能であるグラスパ 134 を含む。図 4A および図 4B にも示すように、グラスパ 134 は、一方の端部に、プレート 118 を受け、かつ締め付ける 2 つの対向するペンチ 400、402 を含む。2 つのペンチ 400、402 は、それらの間に空間 404 を画定する。グラスパ 134 は、空間 404 でプレート 118 を受け、かつ 2 つのペンチ 400、402 の間でプレート 118 を保持またはクランプ締めするように構成される。2 つのペンチ 400、402 の間の空間 404 は、平坦な支持フレーム 120 の厚さ 130 以下に調整可能な範囲を有する。

#### 【0046】

再び図 1 を参照すると、ミクロトーム 100 は、平坦な支持フレーム 120 上に配置される押出し切片 136 も含む。押出し切片 136 を使用して、対象の試料が結像され得るように切片 116 を透明領域 124 に対して押す。いくつかの実施において、押出し切片

10

20

30

40

50

136は、TEMの透過において可視化されることになつてない試料の一部を含み得る。他の実施において、押し出し切片136には、試料が無い（すなわち、試料を有しない）。図5Aおよび図5Bも参照すると、押し出し切片136の範囲500は、少なくとも、プレート118のy(p)方向に沿ってプレート118のx(p)-y(p)平面に沿ったフレーム長さ128と同等に長い。押し出し切片136のさらなる詳細は、以下に示す。

#### 【0047】

図7A～図7Cを参照すると、ミクロトーム100は、複数のプレート118を格納する格納デバイス700を含む。格納デバイス700を使用して、（切片を有しない）空のプレート118または1つ以上の試料切片および押し出し切片が付着したプレート118を格納し得る。

10

#### 【0048】

各プレート118は、格納デバイス700の平坦な円形構造の2つの部分770、772の間に留める、または把持することができる。下半分770は、プレート718が配置され得る複数のシェルフまたはポケットを有し得る。各プレート718を保持するために、端部に「C」リテーナ778などの保持クランプを有する、ばね鋼製のばねアーム776が、Cリテーナ778の各々がプレートのシェルフに合致するように、上半分772の一部をなす。側面視で、ばねアーム776は、下半分770の穴782を通るピン780によって持ち上がり得る。図7Bに示すように、プレート718がシェルフ774と保持クランプ778との間に入ると、ピン780は降下し、ばねアーム776のプレート718およびシェルフ774に対するばね力によって、プレート718が確実に保持される。そのようなマルチプレートホルダまたは格納デバイス700を使用して、自動化された格納を行い、切片が配置される前の新しいプレート118上および切片が配置された後の切片を有するプレート118の両方を受け取り得る。さらに、そのような格納デバイス700を容易に走査透過型電子顕微鏡のチャンバ（（例えば、図3に示すもの）内に配置して、各プレート110を再び装着せずに複数のプレート118上の複数の切片を自動的に見ることが可能になり得る。最終的に、そのようなマルチプレートホルダの薄いジオメトリによって、大きい角度（例えば、45度より大きい角度）で切片が電子ビームに対して傾斜することが可能になり、電子断層撮影法の複数の角度での結像が可能になる。

20

#### 【0049】

図1を再び参照すると、ミクロトーム100は、各々がミクロトームのそれぞれの構成要素に接続または連結される起動システム140、142、144のセットと、測定システム146と、制御システム148とをさらに含む。物理的連結は、起動システムとそれぞれの構成要素との間の直接的な物理的接続に起因してよく、または、起動システムとそれぞれの構成要素との間の間接的な物理的接続に起因してもよい。

30

#### 【0050】

具体的には、ミクロトーム100は、（制御システム148の制御下で）起動システム140によって与えられる移動が結果としてブレード106に与えられるように、ブレード106に物理的に連結された起動システム140を含む。起動システム140は、ブレード106に直接に物理的に連結され得る。あるいは、いくつかの実施において、例えば、ブレード106がトラフ110に固定される場合、起動システム140は、トラフ110に物理的に接続または連結され得る。このように、移動はトラフ110に対して与えられ、また、ブレード106はトラフ110に固定されるので、ブレード106の動きも制御される。

40

#### 【0051】

ミクロトーム100は、（制御システム148の制御下で）起動システム142によって与えられる移動が結果として試料ブロック104に与えられるように、試料ブロック104に物理的に連結された起動システム142を含む。（図6に示すように）複数の試料ブロック104がミクロトーム100において使用される場合、起動システム142は、試料ブロック104のすべてを同時にまたは連続的に制御するように設定され得る。

#### 【0052】

50

ミクロトーム 100 は、(制御システム 148 の制御下で) 起動システム 144 によって与えられる移動が結果としてプレート 118 に与えられるように、プレート 118 に物理的に連結された起動システム 144 を含む。いくつかの実施において、例えば、プレート 118 がグラスパ 134 によって保持される場合、起動システム 144 は、グラスパ 134 に物理的に接続または連結され得る。このように、移動は、グラスパ 134 に対して与えられ、また、プレート 118 はグラスパ 134 によって保持されるので、プレート 118 の動きも制御される。

#### 【0053】

測定システム 146 は、ブレード 106、試料ブロック 104、プレート 118、トラフ 110、および液体 114 の 1 つ以上に関連付けられた少なくとも 1 つの物理的特徴を検知するように位置決めされた 1 つ以上のセンサを含む。例えば、測定システム 146 は、図 23 ~ 図 25 に関連して以下に述べるとおり、ブレード 106 と試料ブロック 104 との間の距離を測定し、かつ制御システム 148 と連携してフィードバックループの位置検知素子として機能する 1 つ以上の光学干渉計を含み得る。

10

#### 【0054】

別の例として、測定システム 146 は、プレート 118 とミクロトーム 100 の他の部分、例えば、ブレード 106、グラスパ 134、1 つ以上のプレート 118 用の格納デバイス（例えば、数百のプレート 118 に対する固定可能な開口を有する、図 7A および図 7B に示す格納デバイス 700）との間の相対位置を決定する機械視覚装置を含み得る。グラスパ 134 は自動化起動システム 144 によって制御されるので、また、ミクロトーム 100 内の機械部分の許容値は小さいので、ミクロトーム 100 での処理の前後に、プレート 118 を保持する格納デバイスからプレート 118 を取り出す際に、機械視覚システムによって、プレート 118 を確実に取り扱うことが可能になり得る。

20

#### 【0055】

別の例として、測定システム 146 は、プレート 118 が液体 114 に接触する時を検出する電気または接触検出システムを含み得る。例えば、そのような検出システムは、ミクロトーム 100 での処理の前後に、プレート 118 と液体 114 との間の電気的連続性またはプレート 118 とそれを保持する格納デバイスとの間の電気的連続性を検知し得る。

30

#### 【0056】

制御システム 148 は、測定システム 146 と、上記セットの各起動システム（例えば、システム 140、142、144）とに接続される。図 8 を参照すると、制御システム 148 は、データを格納、検索、および処理する能力を有するワークステーションなどのコンピュータを含み得る。したがって、コンピュータは、ハードウェア、例えば、1 つ以上の出力デバイス 800（例えば、モニタまたはプリンタ）と、1 つ以上のユーザ入力インターフェイス 802（例えば、キーボード、マウス、タッチディスプレイ、またはマイクロフォン）と、（特定のタスクを実行する専用のワークステーションを含む）1 つ以上の処理ユニット 804 と、メモリ（例えば、ランダムアクセスメモリまたは読み出し専用メモリまたは仮想メモリ）806 と、1 つ以上の記憶装置 808（例えば、ハードディスクドライブ、ソリッドステートドライブ、または光学ディスク等）とを含む。処理ユニット 804 は、独立型プロセッサであってよく、またはそれら自体がワークステーションなどのサブコンピュータであってもよい。

40

#### 【0057】

いくつかの実施において、図 9 に示すように、押し出し切片 936 は、試料ブロック 904 の部分または領域 938 であり、（試料 902 は試料ブロック 904 の別の部分または領域に存在し、または部分 938 は TEM 300 において可視化されない試料を含み得るとしても）部分 938 には、TEM 300 において可視化される試料が無い。押し出し切片 936 は、試料ブロック 904 から切り出される。押し出し切片 936 は、まだ試料ブロック 904 内に存在する場合に（および図 9 に示すように切り出される前に）、試料ブロック 904 がブレード 106 の隣に位置決めされる際に試料ブロック 904 内に懸濁した試

50

料 902 より、ブレード 106 から離れている。

【0058】

図 10 を参照すると、他の実施において、2つ以上の試料 1002、1002' を試料ブロック 1004 に懸濁させることができある。例えば、2つの試料 1002、1002' が、試料ブロック 1004 内に懸濁する。

【0059】

図 6 を参照すると、他の実施において、押し出し切片 636 は、試料ブロック 604 とは別の空ブロック 638 から取り出されたスライスであり、空ブロック 638 には、TEM において可視化される試料 602 がまったく無い（ただし空ブロック 638 は、TEM 300において可視化されない試料を含み得る）。

10

【0060】

他の実施において、図 11 に示すように、ミクロトーム 100 は、TEM 300 において可視化される試料を有しない、かつ 1 つ以上の空ブロック 1138 から取り出される、1 つ以上のさらなる追加的押し出し切片 1136 を含み得る。

【0061】

図 12 を参照すると、材料の試料ブロック（例えば、図 9 のブロック 904 または図 10 のブロック 1004）に懸濁した少なくとも 1 つの試料（例えば、図 9 の試料 902 または図 10 の試料 1002、1002'）を切り出す手順 1200 が行われる。手順 1200 は、制御システム 148 の制御下で行われ、制御システム 148 は、測定システム 146 からの情報を評価し、情報に関する分析を行い、分析に基づいて、ミクロトーム 100 の構成要素を調整して試料を切片に切り出す方法を決定する。制御システム 148 は、信号を起動システム 140、142、144 の 1 つ以上に送信して、ブレード 106、試料ブロック 904、1004、およびプレート 118 の移動を制御する。

20

【0062】

手順 1200 を説明する際、1 つの試料 902 のみを含む試料ブロック 904 を示す、図 9、図 13A～図 13D、図 14A～図 14B、図 15A～15F、および図 16A～図 16D を参照する。手順 1200 は、2 つの試料 1002、1002' を含む試料ブロック 1004 などの、複数の試料を有する試料ブロックにも適用可能である。試料ブロック 904 は、ブレード 106 を 1 回以上通過する（1205）。図 13A～図 13D において、試料ブロック 904 がミクロトーム 100 の -Z 方向に沿ってブレード 106 を 1 回通過する際の試料ブロック 904 の進行が示されている。試料ブロック 904 がブレード 106 を通過するたびに、切片 916 が試料ブロック 904 から切り出される（1210）。1 つ以上の切片 916 は、液体 114 上に浮かび、1 つ以上の切片 916 の最後の切片 1356 は、ブレード 106 に付着したままである。図 9 および図 13A～図 13D において、試料ブロック 904 はブレード 106 を通過する。さらに、図 9 は、ステップ 1210 が完了した後の時点のミクロトーム 100 を示している。したがって、最後の切片 1356 は依然として付着しており、最後の切片 1356 は、プレート 118 を伴う以降のステップの前に切り出された唯一の切片である。さらに、図 9 において、手順 1200 の次のステップは、まだ完了または実行されていない。

30

【0063】

手順は、非常に薄い切片が形成されることを伴うので、ブレード 106 に対する試料ブロックのすべての通過が切片の正常な切出しにつながるとは限らない場合がある（正常な切片は、裂けていない、またはしわがよっていない切片であり得る）。何らかの理由で、切片が適切に、またはうまく切り出されない場合、制御システム 148 を設定して（測定システムおよび／または視覚システム 146 から信号を受信することによって）そのような失敗した切出しを検出することができ、制御システム 148 は、命令を 1 つ以上の起動システムに送信して、所望の切出しが達成されるまで第 2 のまたはさらなる通過を行える。

40

【0064】

次に図 14A～図 14B および図 15A～図 15D を参照すると、プレート 118 は、

50

液体 114 内に位置決めされ、 -Y 方向に沿ってブレード 106 に向かって進んで 1 つ以上の浮遊切片 916 の下方に位置決めされる一方、最後の切片 1356 は、ブレード 106 に付着したままである（1215）。プレート 118 は、Y 方向に対して所与の角度、例えば、25～75°で液体 114 中に挿入される。図 15B および図 15D に示すように、液体 114 のメニスカスは、ブレード 106 の上縁（鋭利な側）および液体が上がる安定レベルよりも高くプレート 118 の傾斜を上る。プレート 118 は、切片 916 の少なくとも 1 つの試料 902 が位置決めされて、次の動作においてプレート 118 の開口 122 に画定された透明領域に持ち上がるようプレート 118 を位置決めすることによって、液体 114 中かつ 1 つ以上の浮遊切片 916 の下方に位置決めされ、このことは、図 15E～図 15F および図 16A～図 16D に示されている。

10

#### 【0065】

次に説明するように、1 つ以上の浮遊切片 916 は、液体 114 の表面上に浮かんでいるため、プレート 118 の傾斜を自然に上るように押され、プレート 118 は、液体 114 の下方から持ち上がる。図 15E～図 15F および図 16A～図 16B を参照すると、1 つ以上の浮遊切片 916 がプレート 118 に密着する（1220）。1 つ以上の浮遊切片 916 は、1 つ以上の浮遊切片 916 がプレート 118 上に下りるように液体 114 のレベルを下げる（例えば、-Z 方向に液体 114 を下げること）によってプレート 118 に密着し得る。1 つ以上の浮遊切片 916 は、浮遊切片 916 の試料 902 がプレート 118 の開口 122 に画定された透明領域の上に位置決めされるように、1 つ以上の浮遊切片 916 をプレート 118 上に下ろすことによってプレート 118 に密着し得る。1 つ以上の浮遊切片 916 は、（例えば、-Z 方向に沿って）液体 114 のレベルを下げる前に（例えば、+Z 方向に沿って）液体 114 のレベルをまず上げることによってプレート 118 に密着し得る。上述のとおり、プレート 118 の透明領域は、プレート 118 内に画定された開口 124 にわたってプラスチック膜を含み得る。したがって、試料 902 を含む少なくとも各切片 916 の一部は、プラスチック膜に密着し得る。この密着が起こり得るのは、液体 114 が、切片 916 とプレート 118 との間のすき間から流出するからである。

20

#### 【0066】

図 16A～図 16D を参照すると、ブレード 106 に付着している（唯一の浮遊切片 916 である）最後の切片 1356 は、少なくとも 1 つの切片 916 がプレート 118 に密着した後にブレード 106 から取り外される（1225）。最後の切片 1356 はブレード 106 から取り外され（1225）、切片 916 がプレート 118 に密着すると、図 16C～図 16D に示すように、プレート 118 はトラフ 110 の空洞および液体 114 から取り外される。

30

#### 【0067】

手順 1200 は、プレート 118 が液体 114 から取り外された後に、プレート 118 に密着している可能性がある液体 114 をプレート 118 から取り除く任意のステップに進み得る。例えば、液体 114 は、プレート 118 を吸収材料に接触させることなどによって液体 114 を吸い取ることによって、取り除かれ得る。

40

#### 【0068】

図 9、図 13A～図 13D、図 14～図 14B、図 15A～図 15F、および図 16A～図 16D に示す例では、1 つの切片 916 が液体 114 上に浮かぶように、手順 1200 中、試料プロック 904 はブレード 106 を 1 回通過する。液体 114 上に浮かぶ 1 つの切片 916 は、少なくとも 1 つの試料 902 を含む試料領域と、少なくとも 1 つの試料 902 を有しない空領域とを含む。このようにして、浮遊切片 916 は、試料 902 を含む試料領域がプレート 118 の透明領域 124 の上に位置決めされ、かつ空領域がプレート 118 の（平坦な支持フレーム 120 である）非透明領域の上に位置決めされるように、プレート 118 に密着する。したがって、試料プロック 904 から切り出された切片 916 は、試料を有しない空領域に隣接して位置決めされた試料領域を含む。空領域は、少なくとも 1 つの切片がプレート 118 に密着する前に、試料領域をプレート 118 の透明

50

領域の上に位置決めするのに十分な程度に長い必要がある。プレート 118 に対する空領域および試料領域のこのような相対的な位置決めを生じさせるために、試料領域は、試料ブロック 904 がブレード 106 に接する直前に、空領域よりもブレード 106 に対して近接している必要があり、このことは図 13A に示されている。

#### 【0069】

図 17 を参照すると、手順 1700 が、材料の試料ブロックに懸濁した少なくとも 1 つ 10 の試料を切り出すミクロトーム 100 によって行われる。手順 1700 は、別の空ブロック（例えば、図 6 の空ブロック 638 および図 11 の空ブロック 1138）を使用してブレード 106 の縁部から離れるように、かつプレート 118 の透明領域 124 の上に試料切片を押す。試料ブロック 604 は、ブレード 106 を 1 回以上通過する（1705）。図 18A～図 18C を参照すると、試料ブロック 604 がブレード 106 を通過するたびに、試料切片 616 が試料ブロック 604 から切り出される（1710）。各試料切片 616 が切り出されると、1 つ以上の試料切片 616 は、液体 114 上に浮かぶ。図 18C において、試料切片 616 は、試料ブロック 604 から切り出されており、液体 114 上に浮き始める。第 1 の試料切片 616 が切り出された後、さらなる試料切片 616 が切り出される場合、ミクロトーム 100 は、試料ブロック 604 は次の切出しの準備が整うよう 20 に、例えば、試料ブロック 604 を -Y 方向（図 18C で矢印によって示す）に沿って平行移動させ、試料ブロック 604 を +Z 方向（図 18C で矢印によって示す）に沿って平行移動させ、次いで、試料ブロック 604 を +Y 方向（図 18D で矢印によって示す）に沿って平行移動させることによって、ブレード 106 の上方に試料ブロック 604 を再配置する。図 18D～図 18F を参照すると、-Z 方向に沿った試料ブロック 604 の進行が示すように、次の試料切片 616 が試料ブロック 604 から切り出される。次の試料切片 616 が切り出されると、試料切片 616 は、ブレード 106 から離れるように、かつ液体 114 上で第 1 の試料切片 616 を押す。

#### 【0070】

切り出される試料切片 616 の数は、例えば、試料切片 616 を保持することができる透明領域のサイズ、結像される特定の試料 602、試料ブロック 604 のサイズ、または試料 602 のサイズによって決まり得る。切り出される試料切片 616 の数は、試料ブロック 604 が切り出される前に予め設定されてよく、あるいは、試料ブロック 604 の切出し中に調整され得る。次に示す例において、3 つの試料切片 616 が、以降のステップ 30 に進む前に切り出され、このことは図 19A～図 19C を参照して説明する。

#### 【0071】

図 19A～図 19C を参照すると、すべての試料切片 616 が切り出されている場合、次に、（試料を有しない）空ブロック 638 がブレード 106 を 1 回以上通過する（1715）。空ブロック 638 がブレード 106 を通過するたびに、図 19C に示すように、1 つ以上の押出し切片が液体 114 上に浮き、かつ、最後の押出し切片がブレード 106 に付着したままであるように、押し出し切片 636 が空ブロック 638 から切り出される（1720）。例えば、図 6 において、1 つの押し出し切片 636 のみが切り出され、これは最後の押し出し切片となる。別の例として、図 11 において、2 つの押し出し切片 1136 が切り出され、切り出された第 2 の押し出し切片 1136 が最後の押し出し切片（図 11 に示すようにブレード 106 に付着したままである）となる。

#### 【0072】

次に、透明領域を含むプレート 118 は、液体 114 内に配置され、ブレード 106 に向かって -Y 方向に沿って進んで少なくとも 1 つ以上の試料切片 616 の下方に位置決めされる（1725）。プレート 118 の進行は、図 20A～図 20D に示されている。プレート 118 は、Y 方向に対して所与の角度、例えば、25～75° で液体 114 中に挿入される。図 20B および図 20D に示すように、液体 114 のメンスカスが、ブレード 106 の上縁部（鋭利な側）および液体が上の安定高さより高く、プレート 118 の傾斜を上る。

#### 【0073】

10

20

30

40

50

1つ以上の試料切片616および1つ以上の押出し切片636は、プレート118に密着する(1730)。プレート118に密着する1つ以上の試料切片616および1つ以上の押出し切片636の例示的な進行が、図20C～図20Fに示されている。

#### 【0074】

1つ以上の試料切片616は、液体114の表面上に浮かんでいるため、プレート118の傾斜を自然に上るように押され、プレート118は、液体114の下方から持ち上がる。試料切片616の少なくとも1つがプレートに密着すると、図20F～図21Bの進行(図21Aでは斜視図で見られる)が示すように、最後の押出し切片が、ブレード106から取り外される(1735)。プレート118は、試料切片616の試料602の少なくとも1つがプレート118の開口122の上の透明領域にわたって位置決めされようとして位置決めすることによって、液体114内かつ1つ以上の試料切片616の下方に位置決めされ得る。プレート118は、液体114内かつ少なくとも1つの試料切片616の下方に位置決めされ(1725)、一方で最後の押出し切片は、ブレード106に付着したままである。

10

#### 【0075】

さらに、最後の押出し切片がブレード106から取り外された後(1735)、図21Aおよび図21Bに示すように、(試料切片616が密着した)プレート118は、空洞112および液体114から取り外される。

#### 【0076】

1つ以上の試料切片616および1つ以上の押出し切片636は、すべての試料切片616(および1つ以上の押出し切片636)が液体114とともにプレート118上に下りるように、プレート118に対して液体114のレベルを下げることによってプレート118に密着し得る。1つ以上の試料切片616は、試料切片616の試料602がプレート118の開口122の上の透明領域上に位置決めされようとして位置決めされることによってブレード106に密着し得る。いくつかの実施において、1つ以上の試料切片616および1つ以上の押出し切片636は、液体114のレベルを下げる前に液体114のレベルを上げることによってプレート118に密着することができる。

20

#### 【0077】

試料ブロック604の第1の通過の後に試料ブロック604がブレード106を通過するたびに、試料切片616が試料ブロック604から切り出された後に、試料切片616は、切り出されて液体114に浮かんでいる最後の試料切片616に固着する。

30

#### 【0078】

1つ以上の試料切片616および1つ以上の押出し切片636は、各試料切片616の少なくとも一部をプラスチック膜に密着させ、かつ、1つ以上の押出し切片の少なくとも一部を非透明領域(平坦な支持フレーム120)に密着させることによって、プレート118に密着し得る。

#### 【0079】

図22を参照すると、手順2200が、材料の試料ブロック104に懸濁した試料102を切り出すミクロトーム100によって行われる。手順2200は、制御システム148の制御下で実行される。試料ブロック104は、ブレード106を繰り返して通過し(2205)、試料ブロック104がブレード106を通過するたびに、試料切片116が試料ブロック104から切り出される(2210)。液体114上に浮かぶ複数の試料切片116は、互いに付着したままである。そして、試料切片116の少なくとも1つまたは押出し切片(切片136など)がブレード106に付着したままである。複数の試料切片116は、プレート118に密着し(2215)、ブレード106に付着したままである少なくとも1つ試料切片または押出し切片は、ブレードから取り外される(2220)。

40

#### 【0080】

制御システム148は、測定システム146から、ブレード、トラフ、液体、プレート

50

、および試料ブロックの1つ以上の間の検出された相対的な物理的特徴の測定値を受け取る(2225)。検出され得る相対的な物理的特徴は、試料ブロック104がブレード106を通過する前のブレード106と試料ブロック104との間の距離とすることができる。検出され得る相対的な物理的特徴は、試料ブロック104がブレード106を通過する前のブレード106と試料ブロック104との間の角度とすることができる。相対的な物理的特徴は、プレート118とブレード106との間の距離とすることができる。相対的な物理的特徴は、プレート118と液体114との間の電気的特徴とすることができる。

#### 【0081】

制御システム148は、測定値に関するデータ分析を行い、分析に基づいて、検出された相対的な物理的特徴に基づき通過、切出し、密着、および取外しの1つ以上を制御する(2230)。制御は、ミクロトーム100のそれぞれの構成要素に連結された起動システム140、142、144に1つ以上の信号を送信することによって実行される。

#### 【0082】

特に、各試料切片116とブレード106との間の距離は測定され、そして制御システム148内に格納され、ブレード106の正確な切出し位置を定めるために呼び出され得る。この再配置は、ブレードから切片までの距離が変化しながら他の動作、例えば、別の切片を試料ブロックから切り出す、または押し出し切片を空ブロックから切り出すことを行った後に、数ナノメートルの精度で行われる。また、ナノメートルの精度までの再配置は、切片の厚さをナノメートル制御することで試料切片および別の押し出し切片の両方を切り出すことが可能であることに対する鍵である。

#### 【0083】

図23～図25を参照すると、いくつかの実施において、測定システム146は、トラフ110およびブレード106も保持するマウントまたはアセンブリ2350(図24に示す)に取り付けられた多相干渉計2346と、試料ブロックおよび/または空ブロックも保持するマウントまたはアセンブリ2354(図24に示す)に(直接的にまたは間接的に)固定して取り付けられた反射光学系2352(ミラーなど)とを含む。各試料ブロックまたは空ブロックは、各ブロックマウント2356に装着される。アセンブリ2350および2354の両方とも剛性を有するアセンブリであるため、干渉計2346とミラー2352との間の距離は、試料ブロックおよび/または空ブロックとブレード106との間の距離に直接的に関連する。さらに、1つのアセンブリ(ブロックアセンブリなど)の他のアセンブリ(ブレードアセンブリなど)に対する回転の可能性がある場合、第2の干渉計2348が第1の干渉計の隣に配置され得る。そして、第2の干渉計2348は、2つのアセンブリ2350、2354の間の回転または角度を測定するように構成され得る。このようにして、2つのアセンブリ2350、2354の並進および回転の両方を使用して、試料ブロックまたは空ブロックに対してブレード106を適切に位置決めし得る。

#### 【0084】

本明細書に記載のミクロトーム100によって、オペレータは、より少ない人的労力でより長い期間にわたってより大きい体積を切り出すことが可能になり、それによってより大きくより複雑な有機体の完全な切出しが可能になるであろう。さらに、本明細書に記載のミクロトーム100は、従前の非自動化システムよりも試料が変形しない、薄い、最小変形の切片を生成することができ、それによって、組織試料の観察の向上が可能になる。

#### 【0085】

ミクロトーム100において、プレート118は、グラスパ134内に保持され、ミクロトーム100は、プレート118とブレード106との間の空間関係を決定する。1つ以上の試料切片および1つ以上の押し出し切片は、1つのプレート118のみに対して切り出され得る。そして、切り出された切片(1つ以上の試料切片および任意の押し出し切片(存在する場合)または空領域)はプレートに密着し、乾燥され、プレート118は収納され、プロセスは再び最初から開始し得る。したがって、各切片の切出しの間隔は、手順を

10

20

30

40

50

通じて変わらず、ステップごとに常に再現され得る。複数の試料切片が各プレート 118 について切り出され（例えば、図 20A～図 20F に示すように、3 つの試料切片および 1 つの押し出し切片）、（間隔が各試料切片の切出しの完了と完了との間の時間である場合）試料切片は、10 秒～約 1 分の間隔で切り出され得る。手順全体（第 1 の切出しからプレート 118 の格納部への配置まで）は、約 6～15 分かかり得る。ミクロトーム 100 内のドリフトの影響と比較して時間間隔は長いので、干渉計の使用はミクロトーム 100 内のドリフトの影響を打ち消すのに役立ち得る。

【0086】

図 26 も参照すると、他の実施において、走査電子顕微鏡（SEM）2600において使用することができるよう、別の種類のプレート 2618 が開口 122 無しで設計され得る。SEM 2600 は、プレート 2618 は、それにより、電子源システム 2602 によって生成された集束電子ビーム 2608 でプレート 2618 および試料を走査することによって、プレート 2618 上に試料切片 2616 の像を生成する。ビーム 2608 の電子は試料内の原子と相互作用し、それにより、検出可能であり、かつ試料表面のトポグラフィおよび組成に関する情報を含む様々な信号が生成される。電子ビーム 2608 は、一般に、ラスタ走査パターンで走査され、ビームの位置は、検出された信号と組み合わされて像を生成する。SEM は、1 ナノメートルより高い分解能を達成し得る。生物試料は、高真空、低真空、湿潤状態（環境制御型 SEM）、または広範囲の極低温または高温で観察され得る。SEM における最も一般的な検出の態様は、試料内の原子によって放出された二次電子が電子ビーム 2608 によって励起されることによるものである。平面上で、二次電子のブルームは、試料によって主に含まれるが、傾斜面上では、ブルームは、部分的にさらされ、より多い電子が放出される。試料を走査し、二次電子を検出することによって、表面のトポグラフィを示す像が生成される。

10

20

30

【0087】

電子ビーム 2608 とプレート 2618 の切片上の試料との間のエネルギー交換によって、弾性散乱による高エネルギー電子の反射と、非弾性散乱による二次電子の放出と、電磁放射の放出とがもたらされ、これらはそれぞれ、視検のためのプレート 2618（および試料切片 2616）に対して配置された専用の検出器 2680、2682、2884 によって検出され得る。試料によって吸収されたビーム電流も検出可能であり、試料全体の電流分布の像を生成するために使用され得る。

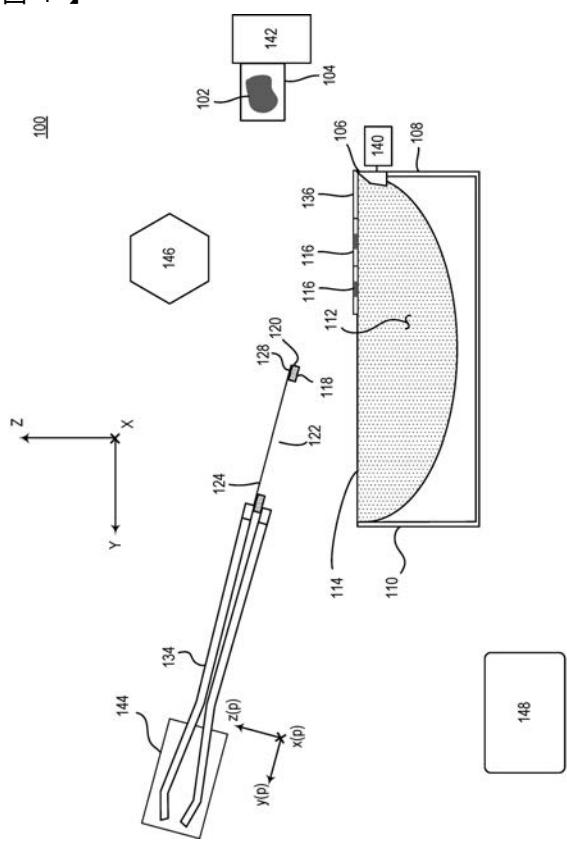
【0088】

いくつかの実施において、プレート 2618 は、最初に光学顕微鏡環境で使用され、次いで SEM において使用される相關顕微鏡法が可能になるようにガラスで形成され得る。

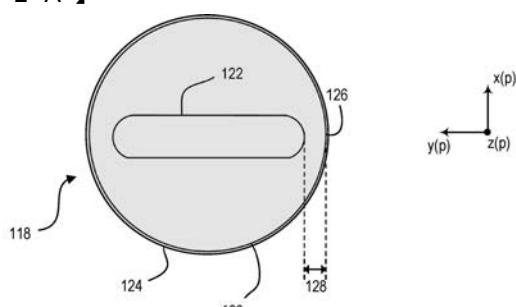
【0089】

他の実施は、添付の請求の範囲内で行われる。

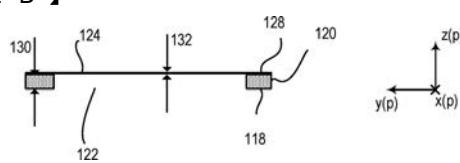
【図1】



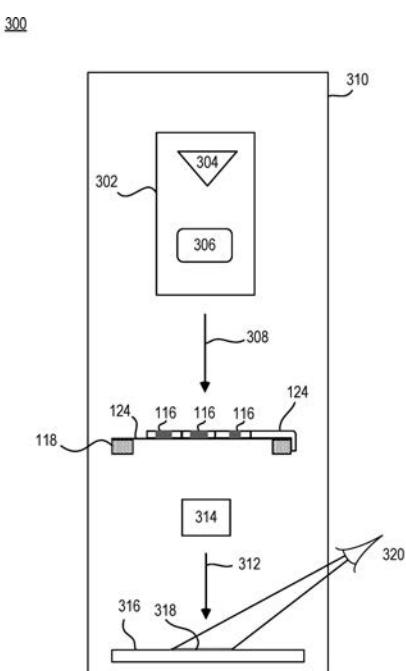
【図2A】



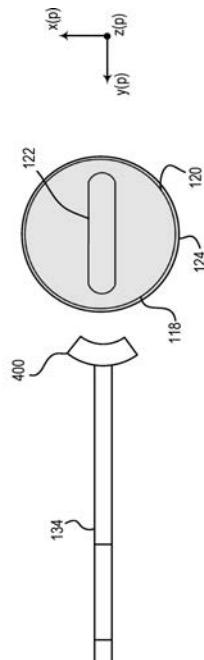
【図2B】



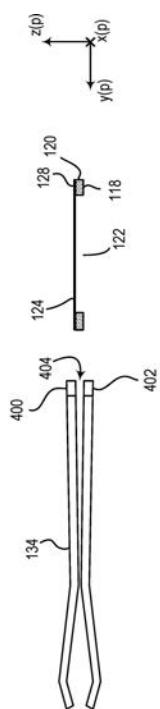
【図3】



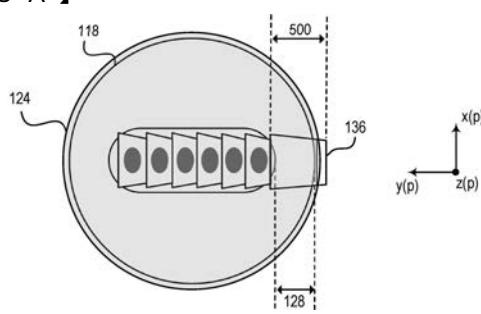
【図4A】



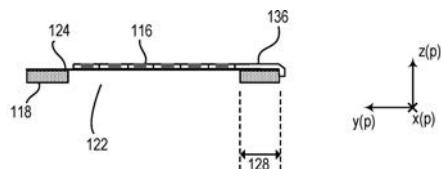
【図 4 B】



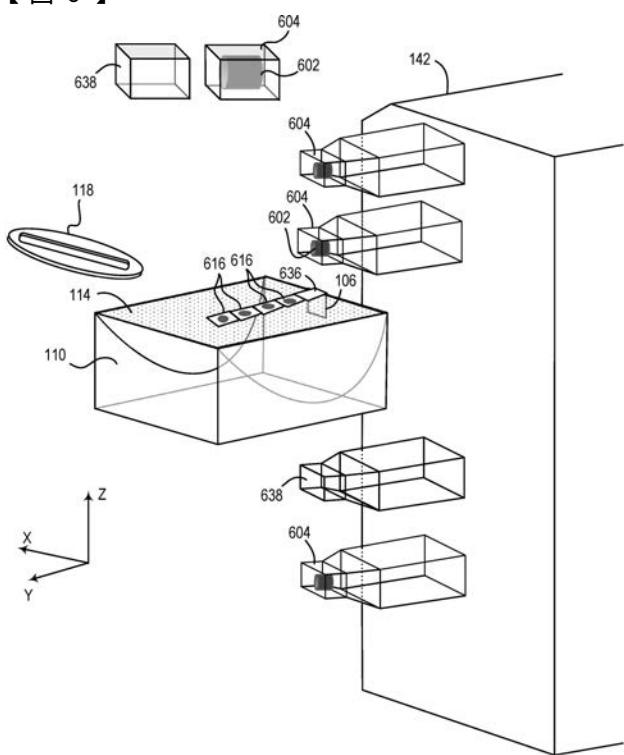
【図 5 A】



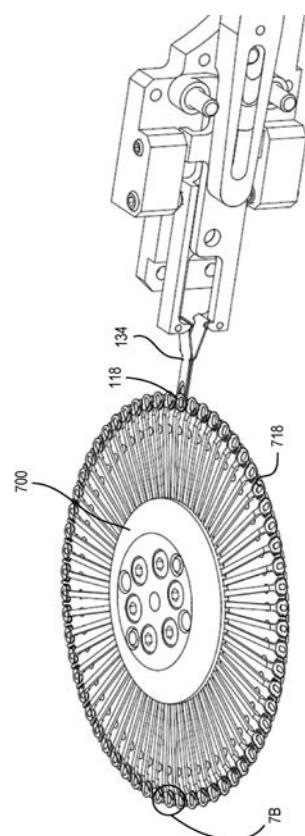
【図 5 B】



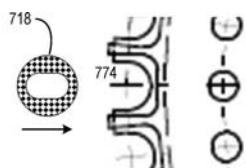
【図 6】



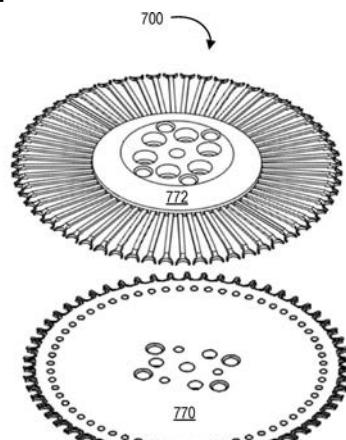
【図 7 A】



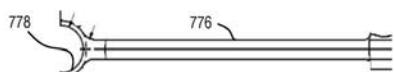
【図 7 B】



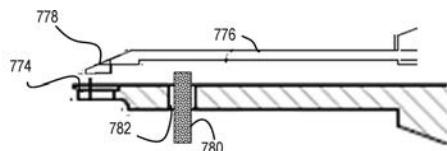
【図 7 F】



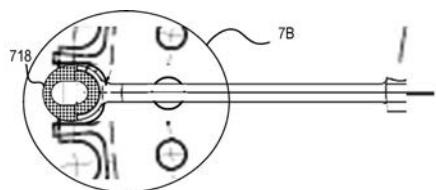
【図 7 C】



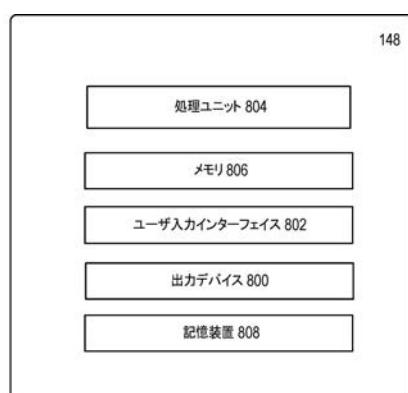
【図 7 D】



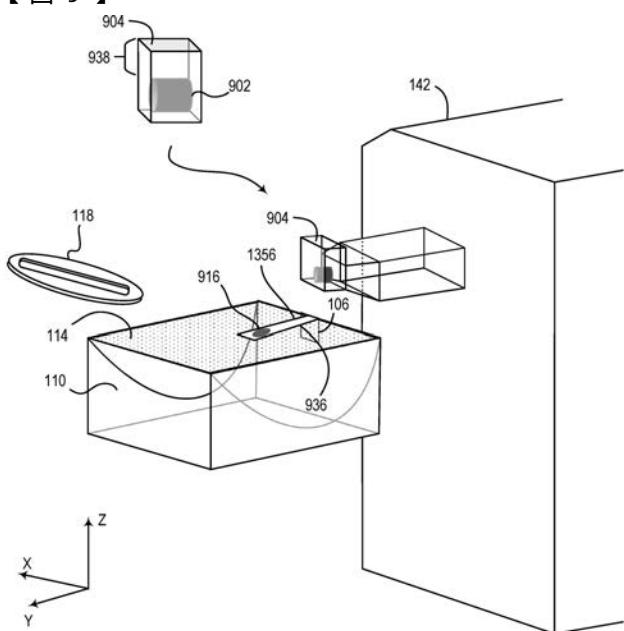
【図 7 E】



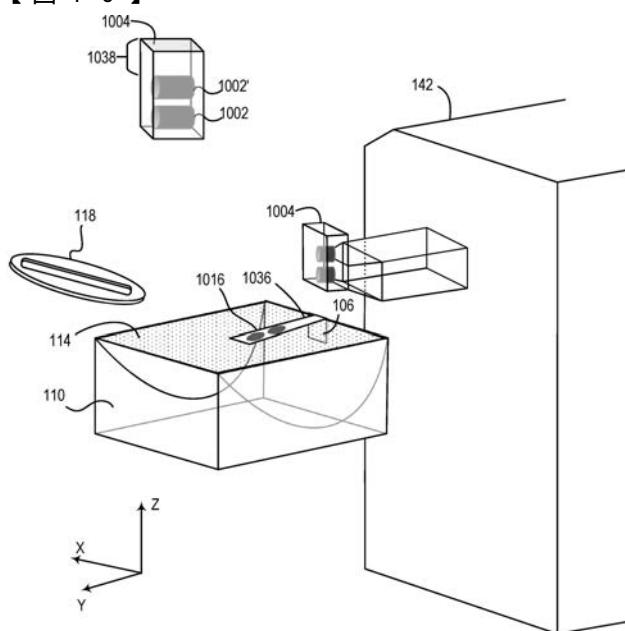
【図 8】



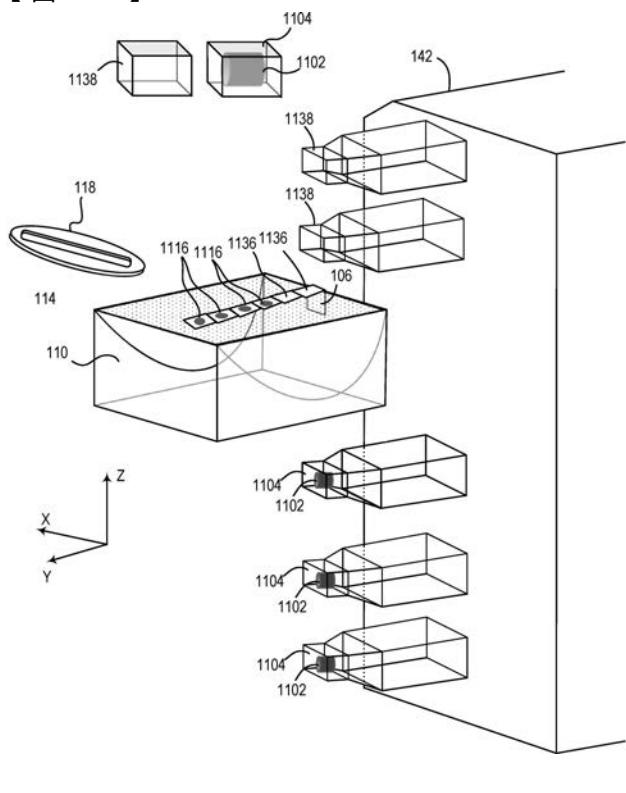
【図 9】



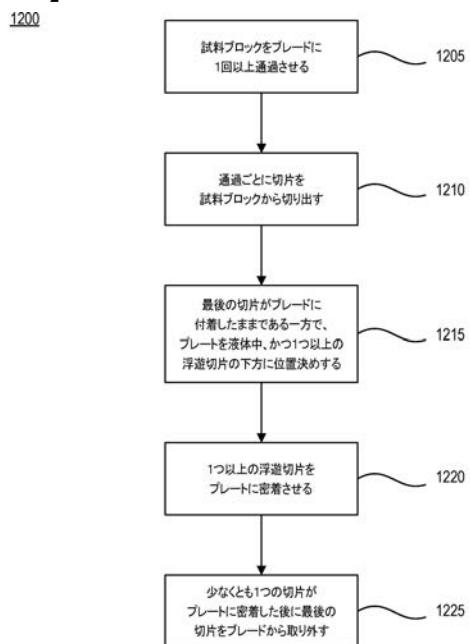
【図 10】



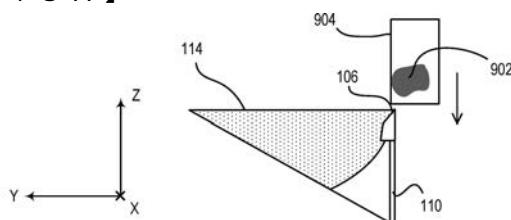
【図 1 1】



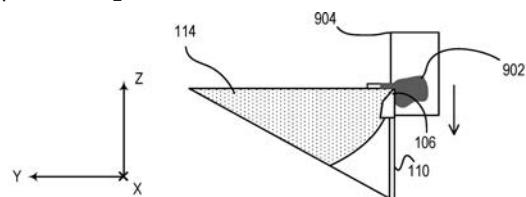
【図 1 2】



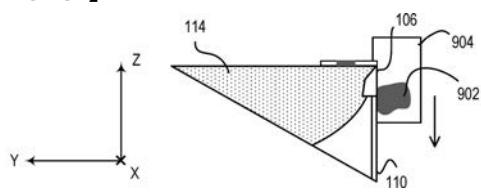
【図 1 3 A】



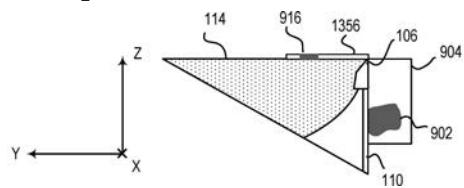
【図 1 3 B】



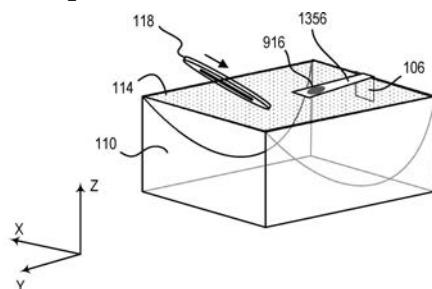
【図 1 3 C】



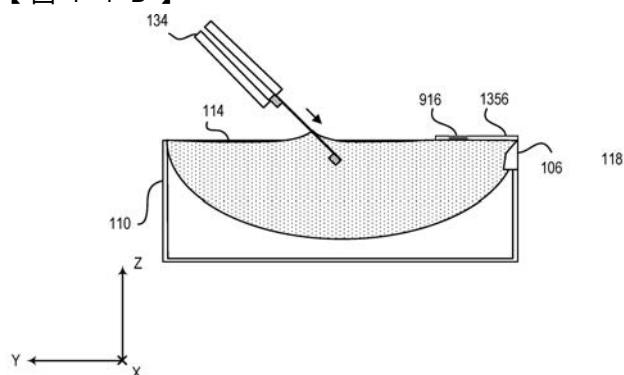
【図 1 3 D】



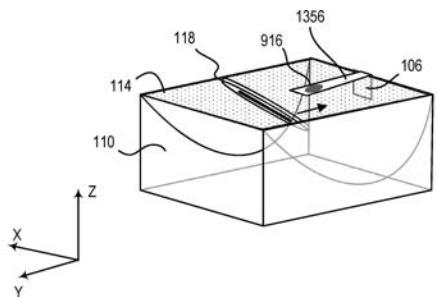
【図 1 4 A】



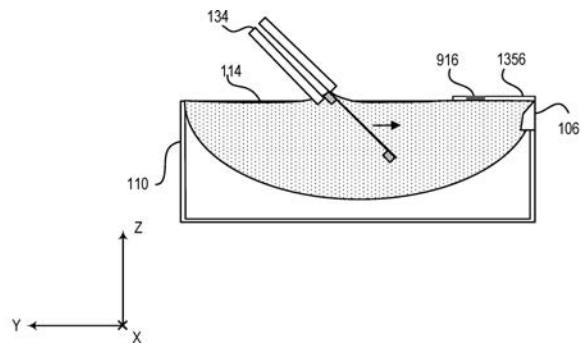
【図 1 4 B】



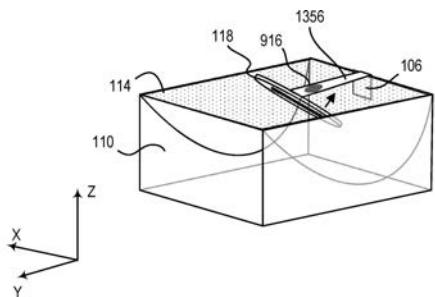
【図 15 A】



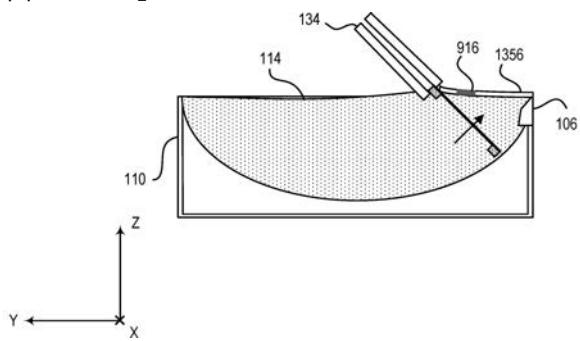
【図 15 B】



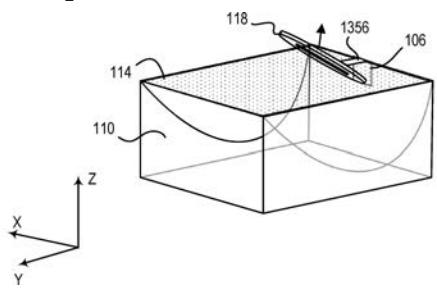
【図 15 C】



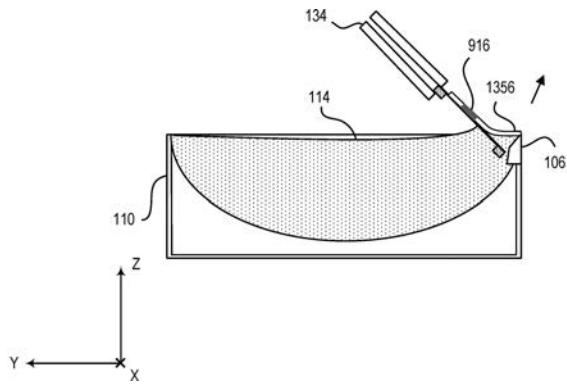
【図 15 D】



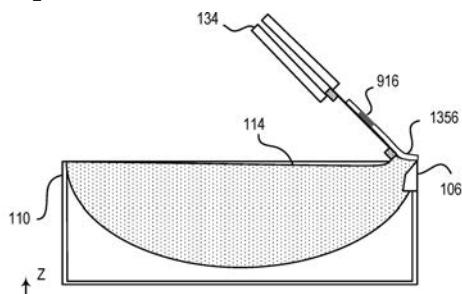
【図 15 E】



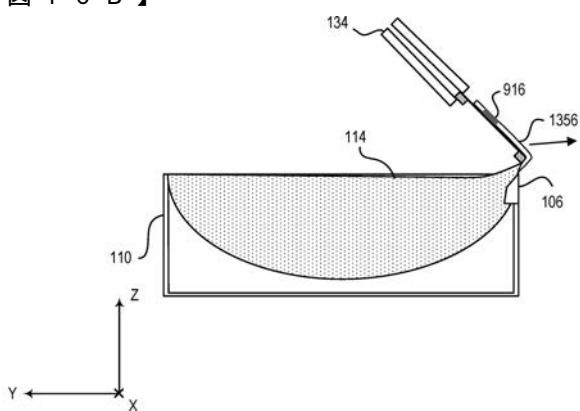
【図 15 F】



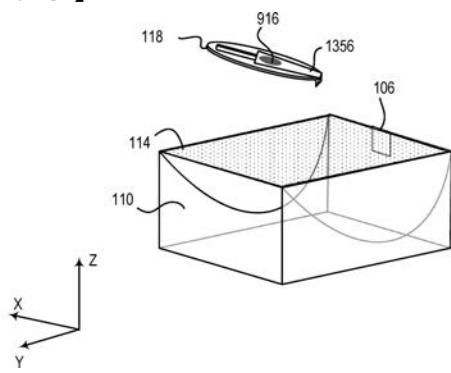
【図 16 A】



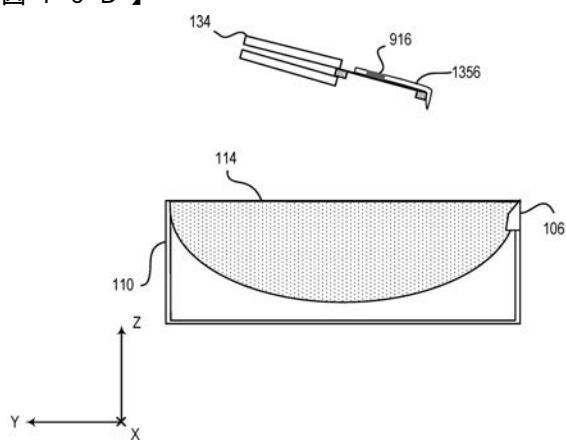
【図 16 B】



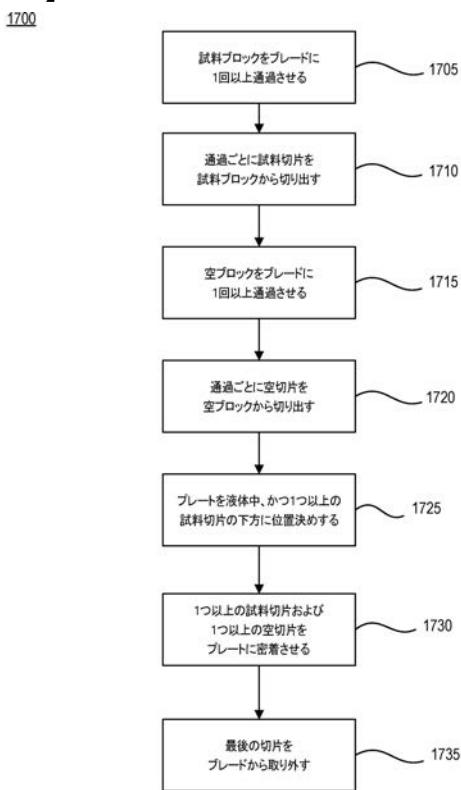
【図 16 C】



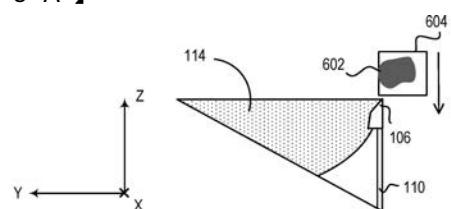
【図 16 D】



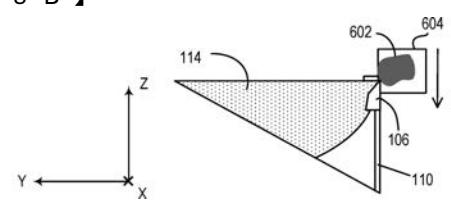
【図 17】



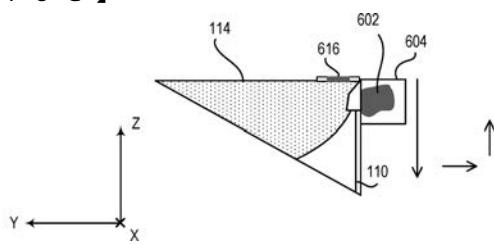
【図 18 A】



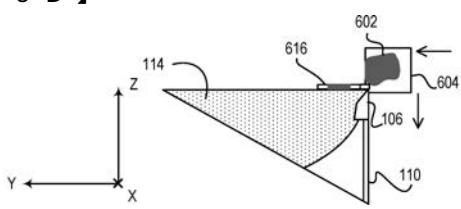
【図 18 B】



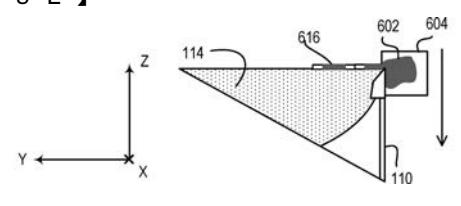
【図 18 C】



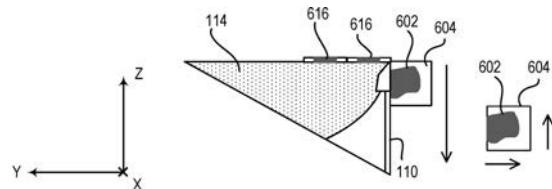
【図 18 D】



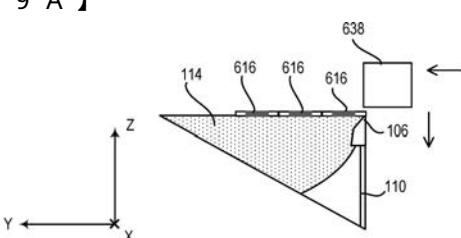
【図 18 E】



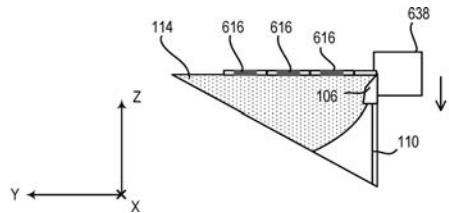
【図 18 F】



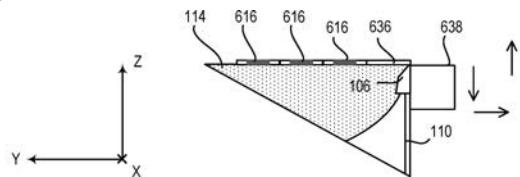
【図 19 A】



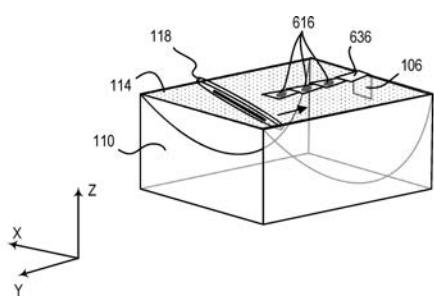
【図 19 B】



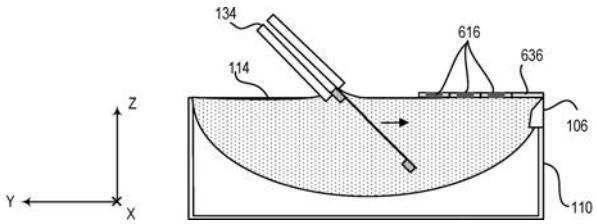
【図 19 C】



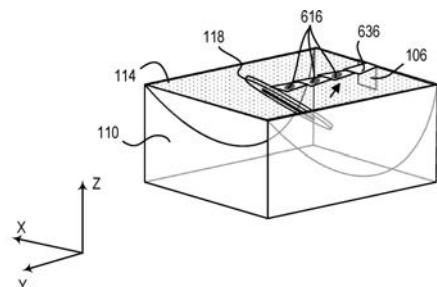
【図 20 A】



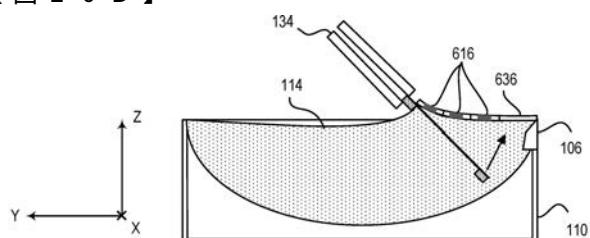
【図 20 B】



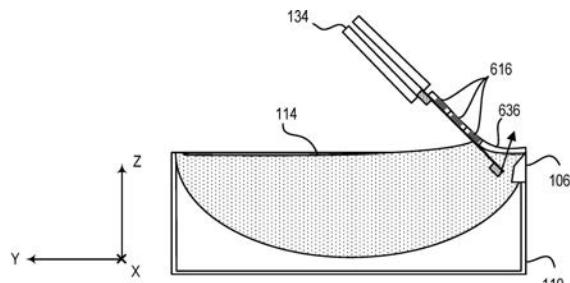
【図 20 C】



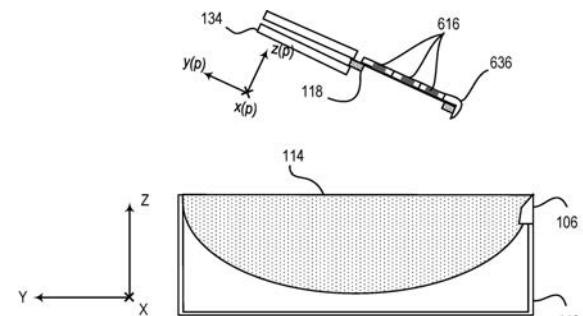
【図 20 D】



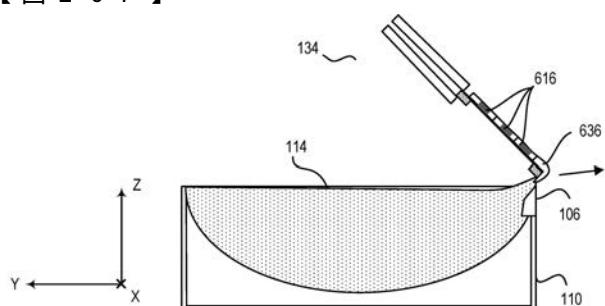
【図 20 E】



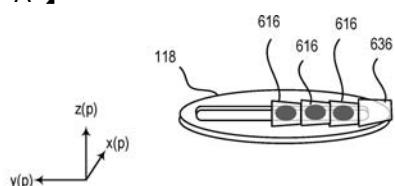
【図 21 B】



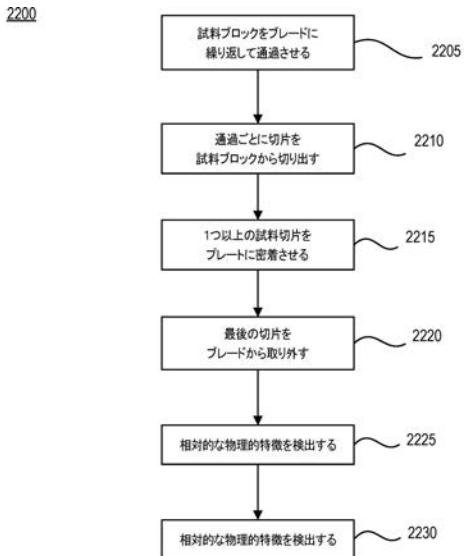
【図 20 F】



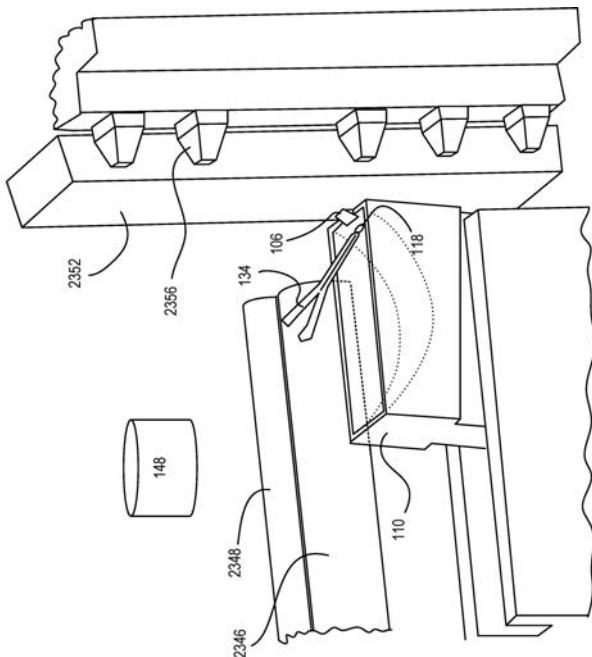
【図 21 A】



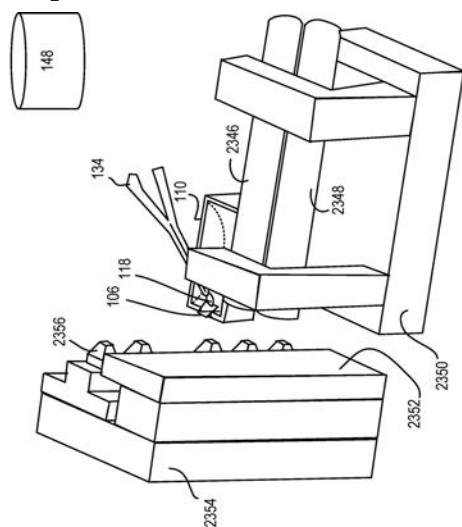
【図 2 2】



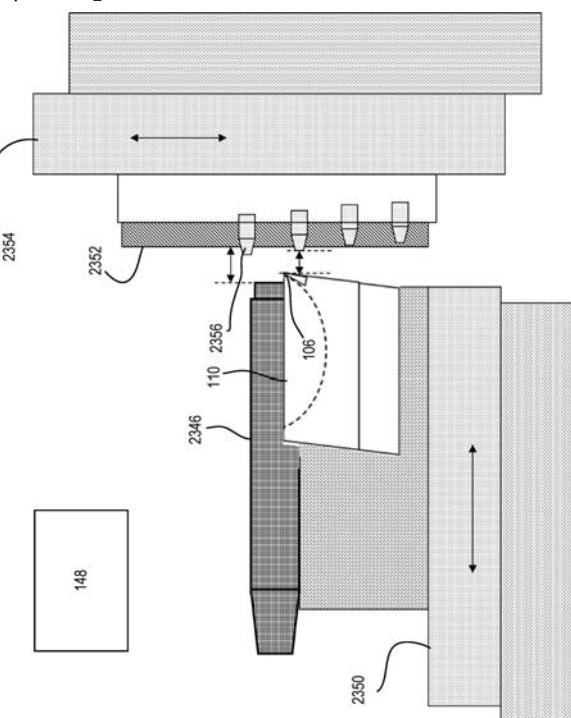
【図 2 3】



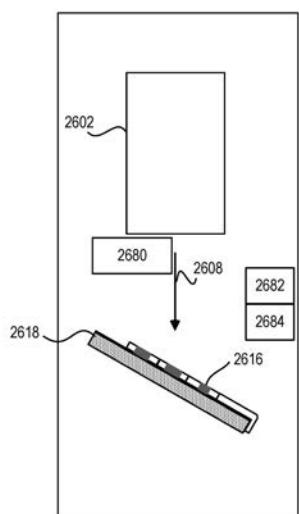
【図 2 4】



【図 2 5】



【図26】

2600

## 【国際調査報告】

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>		International application No. <b>PCT/US2014/064151</b>
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <b>G01N 1/06(2006.01)i, H01J 37/26(2006.01)i</b>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) <b>G01N 1/06; B23Q 1/25; B26D 7/06; B26D 1/00; B26D 7/10; B26D 1/45; H01J 37/26</b>		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: microtome, blade, plate, grasper, pusher, transparent, clinging, removing and floating		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2010-0175520 A1 (KONG et al.) 15 July 2010 See abstract, paragraphs [0010]-[0047] and figures 1-4.	1-48
A	US 2003-0101858 A1 (TAMURA et al.) 05 June 2003 See abstract, paragraphs [0015]-[0057] and figures 1-6.	1-48
A	US 2006-0266177 A1 (STUDER, DANIEL) 30 November 2006 See abstract, paragraphs [0015]-[0017] and figures 1-8.	1-48
A	US 5551326 A (GOODMAN, STEVEN L.) 03 September 1996 See abstract, column 2, line 32 - column 3, line 12 and figures 1-6.	1-48
A	US 5906148 A (AIHARA et al.) 25 May 1999 See abstract, column 1, line 36 - column 2, line 37 and figures 1-12.	1-48
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
<p>* Special categories of cited documents:            "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance            "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date            "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)            "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means            "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed         </p>		<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention            "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone            "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art            "&amp;" document member of the same patent family         </p>
Date of the actual completion of the international search 13 February 2015 (13.02.2015)	Date of mailing of the international search report <b>16 February 2015 (16.02.2015)</b>	
Name and mailing address of the ISA/KR International Application Division Korean Intellectual Property Office 189 Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon Metropolitan City, 302-701, Republic of Korea Facsimile No. +82 42 472 3473	Authorized officer  LEE, Hun Gil   Telephone No. +82-42-481-8525	

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No. <b>PCT/US2014/064151</b>
---

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2010-0175520 A1	15/07/2010	CA 2661866 A1 CN 101500767 A CN 101500767 B EP 2059373 A2 EP 2059373 A4 JP 2010-502983 A US 8109184 B2 WO 2008-030279 A2 WO 2008-030279 A3	13/03/2008 05/08/2009 15/12/2010 20/05/2009 01/06/2011 28/01/2010 07/02/2012 13/03/2008 07/08/2008
US 2003-0101858 A1	05/06/2003	EP 1316790 A2 EP 1316790 A3 JP 03576136 B2 JP 2003-166915 A US 6651538 B2	04/06/2003 07/04/2004 13/10/2004 13/06/2003 25/11/2003
US 2006-0266177 A1	30/11/2006	EP 0924503 A1 EP 0924503 B1 JP 11-241979 A US 2004-0107807 A1 US 7430946 B2	23/06/1999 07/07/2004 07/09/1999 10/06/2004 07/10/2008
US 5551326 A	03/09/1996	None	
US 5906148 A	25/05/1999	JP 10-197418 A	31/07/1998

---

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,R0,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,D0,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(72)発明者 ヘス , ハラルド エフ .

アメリカ合衆国 , バージニア州 20176 , リーズバーグ , パッカニー 18300

(72)発明者 ピール , デビッド

アメリカ合衆国 , カリフォルニア州 92126 , サン ディエゴ , ノアキャニオン ウェイ 7  
892

(72)発明者 リー , パトリック アール .

アメリカ合衆国 , カリフォルニア州 92123 , サン ディエゴ , マレー リッジ ロード 2  
561

F ターム(参考) 2G052 AD32 AD52 EC03 GA34 GA35 HC04 JA06