

(12) **Österreichische Patentanmeldung**

(21) Anmeldenummer: **A 102/2008**

(51) Int. Cl.<sup>8</sup>: **G01N 1/28** (2006.01)

(22) Anmeldetag: **24.01.2008**

(43) Veröffentlicht am: **15.03.2009**

(73) Patentinhaber:

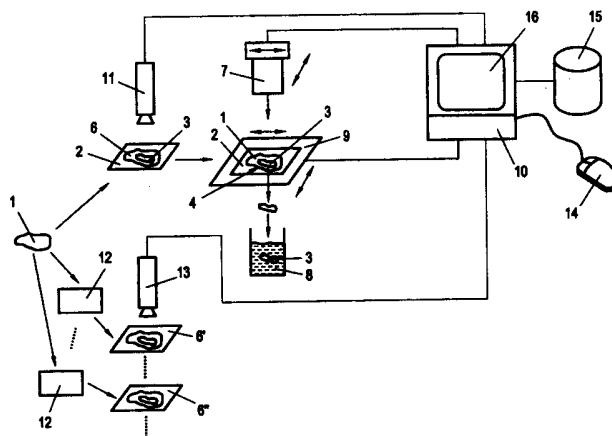
ORIDIS BIOMED FORSCHUNGS- UND  
ENTWICKLUNGS GMBH  
A-8010 GRAZ (AT)

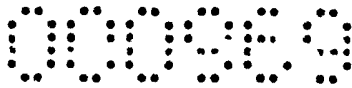
(72) Erfinder:

CASARI GEORG DR.  
GRAZ (AT)

(54) **VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR MANIPULATION MIT PROBEN**

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, mit zumindest einem Laser (7) zum Extrahieren von Proben (3) aus gewünschten Bereichen (4) aus Schnitten (6) von Präparaten (1), insbesondere Gewebeschnitten, und einer Steuereinrichtung (10) zum Steuern des Lasers (7). Zur Schaffung eines Verfahrens bzw. einer Vorrichtung, welche eine einfache Möglichkeit der Auswahl der gewünschten Bereiche (4) auf den Schnitten (6) der Präparate (1) zulässt und den Schnitt (6) nicht beeinflusst, ist eine Kamera (11) zur Aufnahme von Bildern des Schnitts (6) des Präparats (1), aus dem die Probe (3) extrahiert wird, weiters eine Einrichtung zur Überlagerung der aufgenommenen Bilder des Schnitts (6) des Präparats (1) mit in einem Speicher abgelegten digitalen Bildern von weiteren Schnitten (6', 6'', ...) des Präparats (1), weiters eine Anzeige (16) zur Darstellung der Überlagerungsbilder und weiters eine Einrichtung zum Setzen von Markierungen (5) zur Festlegung der gewünschten Bereiche (4), die die Proben (3) beinhalten, vorgesehen, welche mit der Steuereinrichtung (10) verbunden ist.



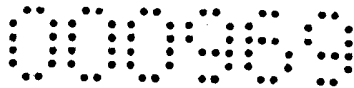


A

Zusammenfassung:

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, mit zumindest einem Laser (7) zum Extrahieren von Proben (3) aus gewünschten Bereichen (4) aus Schnitten (6) von Präparaten (1), insbesondere Gewebeschnitten, und einer Steuereinrichtung (10) zum Steuern des Lasers (7). Zur Schaffung eines Verfahrens bzw. einer Vorrichtung, welche eine einfache Möglichkeit der Auswahl der gewünschten Bereiche (4) auf den Schnitten (6) der Präparate (1) zulässt und den Schnitt (6) nicht beeinflusst, ist eine Kamera (11) zur Aufnahme von Bildern des Schnitts (6) des Präparats (1), aus dem die Probe (3) extrahiert wird, weiters eine Einrichtung zur Überlagerung der aufgenommenen Bilder des Schnitts (6) des Präparats (1) mit in einem Speicher abgelegten digitalen Bildern von weiteren Schnitten (6', 6'', ...) des Präparats (1), weiters eine Anzeige (16) zur Darstellung der Überlagerungsbilder und weiters eine Einrichtung zum Setzen von Markierungen (5) zur Festlegung der gewünschten Bereiche (4), die die Proben (3) beinhalten, vorgesehen, welche mit der Steuereinrichtung (10) verbunden ist.

(Fig. 2)



①

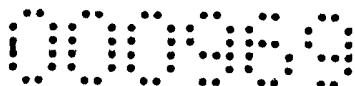
Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, wobei aus Schnitten von Präparaten, insbesondere Gewebeschnitten, mit Hilfe von Lasern Proben extrahiert werden, welche Proben in Probengefäße eingebracht werden.

Die Erfindung betrifft weiters eine Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, mit zumindest einem Laser zum Extrahieren von Proben aus gewünschten Bereichen aus Schnitten von Präparaten, insbesondere Gewebeschnitten, und einer Steuereinrichtung zum Steuern des Lasers.

Unter den Begriff Präparate fallen dabei insbesondere menschliche oder tierische Gewebeteile. Es können jedoch mit dem erfindungsgemäßen Verfahren und der erfindungsgemäßen Vorrichtung auch andere Stoffe bzw. Substanzen, wie z.B. eingebettete Zell- oder Bakteriensuspensionen, aber auch Pflanzen bzw. Pflanzenteile, untersucht und deren Proben manipuliert werden.

Für medizinische aber auch wissenschaftliche Zwecke werden häufig biologische Gewebe von menschlichen und tierischen Organen entnommen und nach einer Reihe von Präparations- und Verarbeitungsschritten verschiedenen Untersuchungen zugeführt, um beispielsweise Krankheiten oder Gewebsveränderungen zu erkennen oder Therapieverläufe beurteilen zu können.

Viele analytische Bestimmungen an biologischen Materialien werden in homogenen Lösungen durchgeführt. Hierzu gehören, unter anderen, die Bestimmungen von RNA-Spezies, DNA-Varianten und DNA-Sequenzen, Proteinen, Lipiden, Proteinmodifikationen und Metaboliten. Biologisches Gewebematerial hingegen ist hochstrukturiert, und diese Inhaltsstoffe sind oft nur in gewissen Unterstrukturen des Gewebematerials vorhanden oder verändert. Um spezifische Untersuchungen an den Unterstrukturen durchführen zu können und die Ergebnisse durch andere, benachbarte Gewebeinhalte möglichst nicht zu verfälschen, wurde das sogenannte Laser Capture Micro-Dissection (LCMD)-Verfahren entwickelt. Bei dieser Methode werden in einem speziell konstruierten Mikroskop Bereiche eines Gewebedünnschnittes von Experten markiert und damit der interessierende Bereich festgelegt. Danach wird mit einem Laserstrahl die gewünschte Probe entsprechend dem gewünschten Bereich extrahiert und die Probe wird für weitere Untersuchungen in ein Probengefäß eingebracht. Dieses Verfahren erlaubt es dem Spezialisten genau zu bestimmen, welche Bereiche des Schnittes

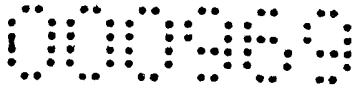


der analytischen Weiteruntersuchung zugeführt werden und minimiert die Verunreinigung und Verfälschung durch andere Gewebe- und Zelltypen auf der ursprünglichen Gewebeprobe. Eine typische Anwendung der LCMD ist die Bestimmung von RNA-Formen oder Proteinen in Tumoren, ohne die Verfälschung durch umgebendes Nicht-Tumormaterial, oder die Bestimmung der spezifischen Unterschiede in Regulationszuständen und Inhalten von kleinen und mikroskopischen Strukturen komplizierterer Organe und Gewebe. Mittels LCMD ist es auch möglich, einzelne Zellen aus den Probeschnitten zu extrahieren.

Um die histologischen Strukturen in den Geweben mikroskopisch erkennen und zuordnen zu können, müssen die Gewebeschnitte vor der Durchführung des LCMD-Verfahrens üblicherweise gefärbt werden. Diese Färbungen sind meist essentiell zur Erkennung der zu untersuchenden Strukturen. Der Prozess der Färbung führt jedoch zu Veränderungen der Gewebe durch Vorbehandlungen der Proben, wobei Störungen der Zusammensetzung verursacht werden, oder durch Zusätze von Chemikalien und Substanzen zur Färbung, die ebenfalls die folgenden analytischen Bestimmungen empfindlich stören und verfälschen können. Dies stellt eine massive Einschränkung der LCMD dar. Standardfärbungen der Proben erzwingen eine Beschränkung in der Wahl der analytischen Untersuchungen auf diejenigen, die nicht gestört werden. Andernfalls können oft die optimalen Färbungen zur Erkennung der Zielgewebe nicht angewandt werden, wenn sie die folgenden analytischen Untersuchungen verfälschen würden. In diesen Fällen müssen sub-optimale Detektionsmethoden eingesetzt werden, die die Präzision der Bestimmung reduzieren.

Die WO 2004/039938 A2 beschreibt ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Manipulation mit Proben bei der Anwendung von sogenannten Gewebearrays (Tissue Microarrays - TMAs), durch welche eine möglichst einfache Auswahl und Definition gewünschter Ausstechpositionen an den Präparaten möglich ist.

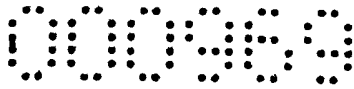
Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht in der Schaffung eines oben genannten Verfahrens und einer oben genannten Vorrichtung, durch welche eine möglichst rasche Festlegung der gewünschten Probe eines Präparats möglich ist, ohne den Schnitt des Präparats selbst, aus dem die Probe extrahiert wird, zu beeinflussen. Das Verfahren soll möglichst rasch und einfach durchführbar sein. Darüber hinaus sollen mit dem erfindungsgemä-



Ben Verfahren Proben hergestellt werden können, die möglichst hohe Qualität und Spezifität aufweisen.

Mit der gegenständlichen Vorrichtung sollen die gewünschten Proben aus den Präparaten möglichst einfach und rasch herstellbar sein. Darüber hinaus soll die Vorrichtung möglichst einfach und kostengünstig aufgebaut und möglichst wartungsfrei sein. Weiters soll die Vorrichtung für eine Manipulation einer großen Anzahl von Proben geeignet sein. Nachteile des Standes der Technik sollen vermieden oder zumindest reduziert werden.

Gelöst wird die erfindungsgemäße Aufgabe in verfahrensmäßiger Hinsicht dadurch, dass zumindest ein digitales Bild eines weiteren Schnitts des Präparats mit einem Bild jenes Schnitts des Präparats, aus dem die Probe extrahiert wird, überlagert wird, und dass auf dem überlagerten Bild Markierungen gesetzt werden, welche die gewünschten Bereiche, die die Proben beinhalten, definieren, aus welchen die Proben extrahiert werden, bevor sie in die Probengefäße eingebracht werden. Die Überlagerung zumindest eines digitalen Schnittbildes des Präparats erleichtert die Auswahl der gewünschten Bereiche des Präparats und erhöht somit die Qualität der resultierenden Proben und in der Folge auch die Qualität der Diagnose bzw. des Untersuchungsergebnisses. Durch das Setzen von Markierungen an den gewünschten Stellen zur Definition der gewünschten Bereiche müssen die Proben nicht sofort extrahiert werden, sondern können die Markierungen auch gespeichert und die Proben später in einem automatischen Vorgang extrahiert werden. Die Erfindung besteht darin, nicht wie bisher üblich für Laser Capture Mikrodisektion den Schnitt des Präparats, aus dem die Probe extrahiert wird, selbst zu färben und histologisch zu charakterisieren, sondern vorzugsweise benachbarte Schnitte des Präparats zu färben bzw. zu behandeln und dort die zu analysierenden gewünschten Bereiche festzulegen und zu markieren. Durch die digitale Überlagerung eines Bildes des ungefärbten und unbehandelten Präparats mit zumindest einem digitalen Bild zumindest eines weiteren Schnitts dieses Präparats, welcher beliebig gefärbt oder behandelt sein kann, wird die Definition der zu untersuchenden Bereiche vom weiteren Schnittbild auf das ungefärbte und unbehandelte Präparat übertragen und daher dieses Präparat weitgehendst nativ für weitere Analyseuntersuchungen belassen. Die digitale Überlagerung der Bilder ermöglicht bei Bedarf die typischen Verformungen des Pro-

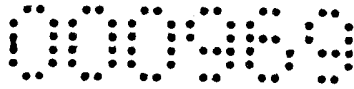


beschnittes beim Dünnschnitt, bei der Übertragung auf Trägermaterial oder beim Färben bzw. Behandeln der Proben nachzustellen und daher eine nicht-triviale Übertragung der Information über die Zielstruktur im Gewebe durchzuführen. Die Überlagerung kann manuell unterstützt sein, kann aber auch mit Bildverarbeitungsroutinen automatisch durchgeführt werden. Sind die Markierungen gesetzt und die Bereiche, welche die Zielregionen definieren, festgelegt, kann die Probe nun gezielt mit dem Laser entsprechend dem gewünschten Bereich extrahiert und gelöst werden und zur Untersuchung in Probengefäße übertragen werden. Die Auswertung der Färbungen kann auch auf geeigneteren und spezielleren Geräten erfolgen und somit auch Zielstrukturen sichtbar machen, die im Standardgerät der LCMD nicht detektierbar wären. Durch das erfindungsgemäße Verfahren wird der Einsatz beliebiger Färbeverfahren und digital bildgebender Detektionsverfahren zur Erkennung und Definition der Probenbereiche für LCMD ermöglicht. Somit können auch empfindlichere und bisher von der Färbung gestörte Analyseverfahren an den gewonnenen Proben zum Einsatz kommen.

Vorzugsweise wird zumindest ein digitales Bild eines gefärbten Schnitts des Präparats mit dem Bild des Schnitts des Präparats, aus dem die Probe extrahiert wird, überlagert. Unter den Begriff des Färbens fallen dabei sowohl Färbemethoden auf Basis von Lichtabsorption, z.B. Hämotoxylin & Eosin Färbung als auch Anregungsmethoden, wie z.B. Fluoreszenzmethoden.

Insbesondere können auch Kombinationen digitaler Bilder von verschiedenartig gefärbten Schnitten des Präparats, mit dem Bild des Schnitts des Präparats aus dem die Probe extrahiert wird, überlagert werden. Bei kleinräumiger struktureller Komplexität der jeweiligen Proben ist die Übertragung der Information über die interessierenden Bereiche nur zum benachbarten Schnitt des Präparats möglich. Bei großräumigeren Zielstrukturen kann die Übertragung auch über viele Schnitte hinweg durchgeführt werden. In diesen Fällen kann auch die Kombination mehrerer Färbungen zur Definition der Zielstruktur herangezogen werden, und es können so auch Mehrfachfärbungen, die technisch nicht an derselben Probe durchgeführt werden.

Gemäß einem weiteren Merkmal der Erfindung ist vorgesehen, dass die Markierungen, welche die gewünschten, interessierenden Bereiche definieren, automatisch gesetzt werden. Zum Festlegen



der interessierenden Bereiche können dabei Verfahren angewandt werden, welche beispielsweise aus Kontrastunterschieden der Bilder Vorschläge für die gewünschten Bereiche automatisch ermitteln.

Bei den Schnittbildern handelt es sich üblicherweise um digitale Bilder. Da bei mikroskopischen Bildern das Gesichtsfeld eines Mikroskops bei entsprechender Vergrößerung zu gering ist, um den gesamten Schnitt eines Präparats darzustellen, können die digitalen Bilder eines Schnitts des Präparats auch aus mehreren Segmenten zusammengesetzt sein, welche vor der Überlagerung mit dem Bild des Schnitts des Präparats, aus dem die Probe extrahiert wird, zusammengesetzt werden.

Um die Qualität der resultierenden Proben durch optimale Information über das Präparat noch weiter zu erhöhen, ist vorgesehen, dass das digitale Bild eines Schnitts des Präparats bzw. die Segmente des digitalen Bildes entzerrt oder von Artefakten befreit wird bzw. werden.

Um einen Extraktionsvorgang nach dem Setzen aller Markierungen zu ermöglichen, werden die Markierungen bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennung für das Präparat in einer Datenbank gespeichert. Dadurch kann eine große Anzahl von Präparaten entsprechend bearbeitet und können Markierungen auf den Präparaten gesetzt werden und nachträglich in einem raschen automatischen Vorgang die entsprechenden Proben aus den Schnitten der Präparate extrahiert und in entsprechende Probengefäße eingebracht werden, die danach den jeweiligen weiteren Untersuchungen zugeführt werden. Die Kennung für das Präparat kann beispielsweise durch einen am Präparat bzw. einem das Präparat umgebenden Element angebrachten Barcode oder dergl. gebildet sein.

Um die Auswahl der Extraktionsbereiche noch mehr zu unterstützen, können für jedes Präparat mehrere digitale Schnittbilder ausgewählt werden. Diese Schnittbilder, welche vor dem Manipulationsverfahren aufgenommen wurden, werden dabei ebenfalls zusammen mit der Kennung für das Präparat in einer entsprechenden Datenbank gespeichert.

Zum leichteren Setzen der Markierungen entlang der gewünschten Bereiche kann der Darstellungsmaßstab der Schnittbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden. Somit kann das medizinische Fachpersonal die interessierenden Bereiche vergrößern.



Bern bzw. sich durch entsprechende Verkleinerungen des Darstellungsmaßstabes einen Gesamtüberblick verschaffen.

Eine Vereinfachung des gegenständlichen Verfahrens wird auch dadurch erzielt, dass die Schnittbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verschoben und in ihrer Farbe verändert werden können. Durch Veränderung der Farbe können bestimmte Effekte erzielt werden, welche eine Beurteilung der Schnittbilder bzw. Überlagerungsbilder erleichtern. Beispielsweise können durch Zuordnung unterschiedlicher Farbkanäle eines Anzeigemonitors für verschiedene überlagerte Bilder diese sichtbar gemacht werden.

Zur optimalen Darstellung der Überlagerungsbilder kann gemäß einem weiteren Verfahrensmerkmal der Durchscheingrad der überlagerten Schnittbilder verändert werden. Dieser sogenannte Alphawert gibt an, wie stark das Schnittbild des Präparats im Vergleich zu den digitalen Bildern der weiteren Schnitte des Präparats durchscheinen soll.

Weiters kann die Transparenz der Schnittbilder verändert werden, um eine optimale Darstellung der Überlagerungsbilder zu ermöglichen.

Um dem medizinischen Fachpersonal eine Information zum jeweiligen Präparat zukommen zu lassen, kann eine einer Kennung für das Präparat zugeordnete Patienteninformation oder dergl. zusammen mit dem Überlagerungsbild angezeigt werden. Diese Patienteninformation oder dergl. ist vorteilhafterweise ebenfalls in einer Datenbank gespeichert und wird zur Unterstützung des Vorgangs der Auswahl der gewünschten Bereiche beispielsweise am Bildschirm angezeigt.

Die gesetzten Markierungen können entsprechend gekennzeichnet werden, was beispielsweise durch eine fortlaufende Nummerierung erfolgen kann. Dadurch wird eine eindeutige Identifikation aller Markierungen möglich.

Um eine Auswahl von Markierungen zur Veränderung der gewünschten Bereiche auch wieder rückgängig machen zu können, können gesetzte Markierungen selektiert und gelöscht werden.

Um bereits ausgewählte Markierungen korrigieren zu können, ist es von Vorteil, wenn gesetzte Markierungen selektiert und in ihrer Lage verändert werden können. Auf diese Weise können die interessierenden Bereiche nachträglich verändert werden.

Wenn den gesetzten Markierungen Kommentare zugeordnet werden, kann nachträglich bei der Auswertung der Proben die Diagno-



se erleichtert werden.

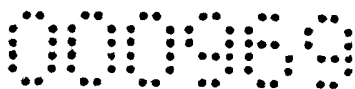
Den gesetzten Markierungen bzw. den gewünschten Bereichen können bestimmte Probengefäße zur Einbringung der extrahierten Proben zugeordnet werden. Wird von dieser Möglichkeit nicht Gebrauch gemacht, können beispielsweise die vorhandenen Probengefäße sequentiell mit den extrahierten Proben befüllt werden.

Nach dem Setzen der letzten Markierung am letzten Präparat wird der Extraktionsvorgang gestartet. Dabei werden nacheinander die unbehandelten Schnitte der Präparate zum Laser positioniert und entlang den gespeicherten Markierungen bzw. Bereiche die gewünschten Proben extrahiert, welche danach in die dafür vorgesehenen Probengefäße eingebracht werden. Der Extraktionsvorgang kann für eine große Anzahl von Präparaten vorzugsweise automatisch und rasch durchgeführt werden.

Um Veränderungen während des Extraktionsvorganges vornehmen zu können, kann dieser vorzugsweise unterbrochen und wieder fortgesetzt werden.

Die erfindungsgemäße Aufgabe wird auch durch eine oben genannte Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben gelöst, bei der eine Kamera zur Aufnahme von Bildern des Schnitts des Präparats, aus dem die Probe extrahiert wird, weiters eine Einrichtung zur Überlagerung der aufgenommenen Bilder des Schnitts des Präparats mit in einem Speicher abgelegten digitalen Bildern von weiteren Schnitten des Präparats, weiters einer Anzeige zur Darstellung der Überlagerungsbilder und einer Einrichtung zum Setzen von Markierungen zur Festlegung der gewünschten Bereiche, die die Proben beinhalten, vorgesehen ist, welche mit der Einrichtung zur Steuerung des Lasers verbunden ist. Durch die Kamera zur Aufnahme von Bildern der Schnitte der Präparate und die Einrichtung zur Überlagerung des Bildes jenes Schnitts des Präparats aus dem die Probe extrahiert wird mit dem oder weiteren Schnittbild(ern), kann die Auswahl der gewünschten Markierungen und Bereiche unterstützt und beschleunigt werden. Dabei wird die Einrichtung zur Überlagerung der Bilder vorzugsweise durch einen Rechner gebildet. Nach der Festlegung der gewünschten Bereiche können die entsprechenden Steuereinrichtungen zum Steuern des Lasers entsprechend angesteuert werden, wodurch eine automatische Manipulation mit den Proben resultiert.

Zur einfacheren Festlegung der interessierenden Bereiche sind vorzugsweise Einrichtungen zum Färben der weiteren Schnitte



der Präparate vorgesehen.

Weiters kann eine Einrichtung zum automatischen Setzen von Markierungen zur Festlegung der gewünschten Bereiche vorgesehen sein. Wie bereits oben erwähnt können beispielsweise aufgrund von Kontrastunterschieden in den digitalen Schnittbildern automatisch Vorschläge für Markierungen gemacht werden.

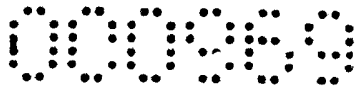
Da insbesondere mikroskopische Bilder, die detaillierte Informationen über spezifische und fokale Veränderungen des Präparats, insbesondere Gewebsveränderungen, beinhalten, eine entsprechend hohe mikroskopische Vergrößerung benötigen, kann, aufgrund des eingeschränkten Bildausschnittes digitaler, mikroskopischer Bilder, in der Regel nicht ein gesamtes Präparat bei Erhaltung der mikroskopischen Detailinformation in einem Bild dargestellt werden. Dies erfordert die Darstellung eines Präparats in mehreren Segmenten, welche jeweils mit dem Bild der Oberfläche des Präparats überlagert werden können. Darüber hinaus kann eine Einrichtung zum Zusammensetzen der digitalen Bilder der weiteren Schnitte der Präparate aus mehreren Segmenten vorgesehen sein. Diese Einrichtung kann ebenfalls durch den bereits oben genannten Rechner bzw. einen gesonderten Rechner oder dergl. gebildet sein.

Durch die Überlagerung mehrerer Bildsegmente, die unabhängig voneinander positioniert werden können, ist es auch möglich, Verzerrungsartefakte, die bei der Herstellung histologischer Schnitte entstehen können, auszugleichen.

Vorteilhafterweise ist eine Datenbank zum Speichern der Markierungen bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennung für das Präparat und allenfalls einer Patienteninformation oder dergl. vorgesehen. Diese Datenbank kann beispielsweise in einem Rechner, der bereits die Einrichtung zur Überlagerung der Bilder repräsentiert, integriert sein, aber auch extern angeordnet sein und mit entsprechenden Datenleitungen mit der Rechereinrichtung oder dergl. verbunden sein.

Um eine optimale Auswahl der gewünschten Bereiche zu erzielen, können Einrichtungen zur Änderung des Darstellungsmaßstabes, zur Änderung der Orientierung, zur Verschiebung oder zur Änderung der Farbe der Schnittbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder vorgesehen sein.

Um das Überlagerungsbild optimal einrichten zu können und somit die Präparate entsprechend beurteilen zu können, können



Einrichtungen zur Änderung des Durchscheingrads der überlagerten Schnittbilder und Einrichtungen zur Änderung der Transparenz der Schnittbilder vorgesehen sein. Üblicherweise werden die oben genannten Einrichtungen durch einen entsprechenden Rechner gebildet.

Die Einrichtung zum Setzen von Markierungen zur Festlegung der gewünschten Bereiche kann durch eine Computermaus gebildet sein.

Gemäß einem weiteren Merkmal der Erfindung ist vorgesehen, dass der Laser mit einer Verschiebeeinrichtung verbunden ist, welche Verschiebeeinrichtung mit der Steuereinrichtung verbunden ist. Eine Verschiebung des Laserlichts kann auch bei feststehendem Laser beispielsweise durch entsprechend bewegte Spiegel erzielt werden. Auf diese Weise kann der Laser einfach entlang der gewünschten Bereiche geführt und somit die Proben an den gewünschten Stellen der Schnitte der Präparate extrahiert werden. Alternativ oder zusätzlich zur Verschiebeeinrichtung des Lasers kann auch der Schnitt des Präparats, aus dem die Probe extrahiert werden soll, selbst beweglich gelagert sein.

Zur Lösung der erfindungsgemäßen Aufgaben dient auch ein Computerprogrammprodukt, das direkt in den internen Speicher eines digitalen Computers geladen werden kann und Softwarecodeabschnitte umfasst, wobei mit dem Computer die Schritte des oben beschriebenen Verfahrens abgearbeitet werden, wenn das Produkt auf dem Computer läuft.

Dabei ist das Computerprogrammprodukt vorzugsweise auf einem computerlesbaren Medium gespeichert.

Die vorliegende Erfindung wird anhand von Zeichnungen, welche das Prinzip und Ausführungsbeispiele der Erfindung zeigen, näher erläutert.

Darin zeigen:

Fig. 1 eine schematische Draufsicht auf einen Schnitt eines Präparats;

Fig. 2 eine schematische Darstellung einer Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben.

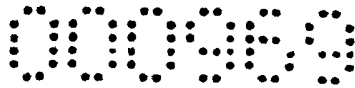
Fig. 1 zeigt eine schematische Draufsicht auf einen Schnitt 6 eines Präparats 1, beispielsweise eine Gewebeprobe, welche auf einem Träger 2 angeordnet ist. In dem Schnitt 6 des Präparats 1 befindet sich ein gewünschter Bereich 4, der die Probe 3 beinhaltet. Der Bereich 4 wird nach dem Stand der Technik durch Fär-



ben des Schnitts 6 des Präparats 1 und Festlegen von Markierungen 5 ermittelt. Die Markierungen 5 werden manuell oder bei digitaler Analyse softwareunterstützt vorgenommen. Dadurch wird der Schnitt 6 des Präparats 1 selbst beispielsweise durch die Färbung jedoch beeinflusst und verändert.

Fig. 2 zeigt eine schematische Darstellung einer Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben. Ausgehend von einem Präparat 1, beispielsweise einer Gewebeprobe, wird ein Schnitt 6 hergestellt, welcher üblicherweise auf einem Träger 2 angeordnet wird. Ziel ist es nun, aus diesem Schnitt 6 des Präparats 1 eine bestimmte Probe 3 entsprechend einem gewünschten Bereich 4 zu extrahieren und weiter zu analysieren. Die Probe 3 wird mit Hilfe eines Lasers 7, der entsprechend dem gewünschten Bereich 4 der Probe 3 bewegt oder abgelenkt wird, extrahiert bzw. ausgeschnitten. Danach wird die Probe 3 in ein Probengefäß 8 überführt. Der Laser 7 und bzw. oder eine Unterlage 9, auf der der Träger 2 des Schnitts 6 des Präparats 1 angeordnet ist, können verschieblich angeordnet sein. Vorzugsweise werden der Laser 7, allenfalls die verschieblich angeordnete Unterlage 9 mit einer Steuereinrichtung, beispielsweise einem Rechner 10, verbunden. Bei herkömmlichen Verfahren war es zur Festlegung des gewünschten Bereichs 4 bzw. der Probe 3 des Schnitts 6 des Präparats 1 notwendig, diesen Schnitt 6 des Präparats 1 einzufärben oder anderwertig zu behandeln.

Beim erfindungsgemäßen Verfahren wird ein Bild des Schnitts 6 des Präparats 1, aus dem die Probe 3 extrahiert wird, mit Hilfe einer Kamera 11 aufgenommen und in einem Rechner 10 verarbeitet. Weiters wird zumindest ein weiterer Schnitt 6', 6'', ... des Präparats 1 angefertigt. Diese weiteren Schnitte 6', 6'', ... befinden sich vorzugsweise benachbart dem Schnitt 6 des Präparats 1, aus dem die Probe 3 extrahiert werden soll. Diese Schnitte 6', 6'', ... können durch entsprechende Färbereinrichtungen 12 beliebig eingefärbt werden. Mit Hilfe einer Kamera 13, die natürlich mit der Kamera 11 identisch sein kann, oder anderen beliebigen bildgebenden Verfahren werden digitale Bilder der Schnitte 6', 6'', ... angefertigt und im Speicher des Rechners 10 abgelegt. Diese Bilder der Schnitte 6', 6'', ... werden mit dem Bild des Schnitts 6 überlagert und an der Anzeige 16 dargestellt. Danach werden die Markierungen 5, welche den gewünschten Bereich 4 der gewünschten Probe 3 des Schnitts 6 des Präparats 1



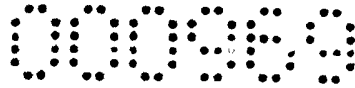
festlegen, gesetzt. Dabei kann das Setzen der Markierungen 5 manuell oder automatisch oder teil-automatisch erfolgen. Zum Setzen der Markierungen 5 kann beispielsweise eine Computermaus 14 dienen. Die gesetzten Markierungen 5 können nachträglich vorzugsweise selektiert und wieder gelöscht bzw. verschoben werden, so dass die gewünschten Bereiche 4 verändert werden können. In einer Datenbank 15 können die Markierungen 5 bzw. deren Koordinaten, zusammen mit entsprechenden Kennungen der Präparate 1, gespeichert werden.

Die vorliegende Erfindung besteht darin, nicht wie bisher üblich für Laser Capture Mikrodisektion dem Schnitt 6 des Präparats 1, aus dem die Probe 3 extrahiert werden soll, selbst zu färben und histologisch zu charakterisieren und dabei zu verändern, sondern einen vorzugsweise benachbarten Schnitt 6', 6'', ... des Präparats zu färben oder zu behandeln und dort die zu analysierenden Bereiche zu markieren. Durch digitale Überlagerung des Bildes des ungefärbten Schnitts 6 im Rechner 10 mit zumindest einem digitalen Bild der gefärbten Schnitte 6', 6'', ... wird die Definition der zu untersuchenden Proben 3 vom gefärbten Schnitt 6', 6'', ... auf den ungefärbten Schnitt 6 übertragen und daher dieses Präparat 1 weitgehendst nativ für weitere Analyseuntersuchungen belassen.

Durch das Verfahren wird der Einsatz beliebiger Färbeverfahren und digital-bildgebender Detektionsverfahren zur Erkennung und Definition der Probenbereiche für LCMD ermöglicht. Somit können auch empfindlichere und bisher von der Färbung gestörte Analyseverfahren an den gewonnenen Proben zum Einsatz kommen.

Beispielsweise benötigen Analyseverfahren, wie Sequenzierung, Chipanalysen oder sensitive PCR (Polymerase Chain Reaction) fluoreszierende Markierungen um die analytische Reaktion zu verfolgen und zu messen. Beimengungen fluoreszierenden Materials, wie sie bei fluoreszierenden Färbungen benötigt werden, stören diese Analyseverfahren empfindlich oder machen den Einsatz unmöglich. Durch Einsatz des hier beschriebenen Verfahrens sind Fluoreszenzfärbungen zur spezifischen Bestimmung des Probenbereiches, Gewinnung mit LCMD und Einsatz der miniaturisierten Varianten der obengenannten Analyseverfahren möglich.

Es eröffnen sich jedoch zahlreiche weitere Anwendungsgebiete mit Hilfe des erfindungsgemäßen Verfahrens und der erfindungsgemäßen Vorrichtung.



1

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Manipulation mit Proben (3), insbesondere Gewebeproben, wobei aus Schnitten (6) von Präparaten (1), insbesondere Gewebeschnitten, mit Hilfe von Lasern (7) Proben (3) extrahiert werden, welche Proben (3) in Probengefäße (8) eingebracht werden, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein digitales Bild eines weiteren Schnitts (6', 6'', ...) des Präparats (1) mit einem Bild jenes Schnitts (6) des Präparats (1), aus dem die Probe (3) extrahiert wird, überlagert wird, und dass auf dem zumindest einen überlagerten Bild Markierungen (5) gesetzt werden, welche die gewünschten Bereiche (4), die die Proben (3) beinhalten, definieren, aus welchen die Proben (3) extrahiert werden, bevor sie in die Probengefäße (8) eingebracht werden.

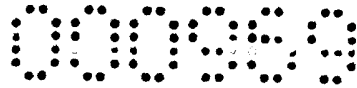
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein digitales Bild eines gefärbten Schnitts (6', 6'', ...) des Präparats (1) mit dem Bild des Schnitts (6) des Präparats (1), aus dem die Probe (3) extrahiert wird, überlagert wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass Kombinationen digitaler Bilder von verschiedenartig gefärbten Schnitten (6', 6'', ...) des Präparats (1) mit dem Bild des Schnitts (6) des Präparats (1), aus dem die Probe (3) extrahiert wird, überlagert werden.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Markierungen (5), welche die gewünschten Bereiche (4) definieren, automatisch gesetzt werden.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass sich die digitalen Bilder eines Schnitts (6', 6'', ...) des Präparats (1) aus mehreren Segmenten zusammensetzen, welche vor der Überlagerung mit dem Bild des Schnitts (6) des Präparats (1), aus dem die Probe (3) extrahiert wird, zusammengesetzt werden.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das digitale Bild eines Schnitts (6', 6'', ...)



des Präparats (1) bzw. die Segmente des digitalen Bildes entzerrt oder von Artefakten befreit wird bzw. werden.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Markierungen (5) bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennung für das Präparat (1) in einer Datenbank (15) gespeichert werden.

8. Verfahren nach Anspruch 1 oder 7, dadurch gekennzeichnet, dass für jedes Präparat (1) mehrere digitale Schnittbilder (6', 6'', ...) ausgewählt werden können.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass der Darstellungsmaßstab der Schnittbilder (6, 6', 6'', ...) und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden kann.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Orientierung der Schnittbilder (6, 6', 6'', ...) und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden kann.

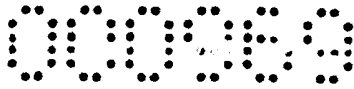
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Schnittbilder (6, 6', 6'', ...) und bzw. oder Überlagerungsbilder verschoben werden können.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Farbe der Schnittbilder (6, 6', 6'', ...) und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden kann.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass der Durchscheingrad der überlagerten Schnittbilder (6, 6', 6'', ...) verändert werden kann.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Transparenz der Schnittbilder (6, 6', 6'', ...) verändert werden kann.

15. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass eine einer Kennung für das Präparat (1) zugeord-



nete Patienteninformation oder dergl. zusammen mit dem Überlagerungsbild angezeigt wird.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass gesetzte Markierungen (5) gekennzeichnet, vorzugsweise fortlaufend nummeriert werden.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass gesetzte Markierungen (5) selektiert und gelöscht werden können.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass gesetzte Markierungen (5) selektiert und in ihrer Lage verändert werden können.

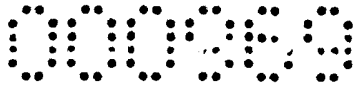
19. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass den gesetzten Markierungen (5) Kommentare zugeordnet werden.

20. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass den gesetzten Markierungen (5) bzw. den gewünschten Bereichen (4) Probengefäße (8) zur Einbringung der extrahierten Proben (3) zugeordnet werden.

21. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass nach dem Setzen der letzten Markierung (5) am letzten Präparat (1) der Extraktionsvorgang gestartet wird.

22. Verfahren nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass der Extraktionsvorgang unterbrochen und fortgesetzt werden kann.

23. Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, mit zumindest einem Laser (7) zum Extrahieren von Proben (3) aus gewünschten Bereichen (4) aus Schnitten (6) von Präparaten (1), insbesondere Gewebeschnitten, und einer Steuereinrichtung (10) zum Steuern des Lasers (7), dadurch gekennzeichnet, dass eine Kamera (11) zur Aufnahme von Bildern des Schnitts (6) des Präparats (1), aus dem die Probe (3) extrahiert wird, weiters eine Einrichtung zur Überlagerung der aufgenommenen Bilder des Schnitts (6) des Präparats (1) mit in einem Spei-



cher abgelegten digitalen Bildern von weiteren Schnitten (6', 6'', ...) des Präparats (1), weiters eine Anzeige (16) zur Darstellung der Überlagerungsbilder, und weiters eine Einrichtung zum Setzen von Markierungen (5) zur Festlegung der gewünschten Bereiche (4), die die Proben (3) beinhalten, vorgesehen ist, welche mit der Steuereinrichtung (10) verbunden ist.

24. Vorrichtung nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass Einrichtungen (12) zum Färben der weiteren Schnitte (6', 6'', ...) vorgesehen sind.

25. Vorrichtung nach Anspruch 23 oder 24, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zum automatischen Setzen von Markierungen (5) zur Festlegung der gewünschten Bereiche (4) vorgesehen ist.

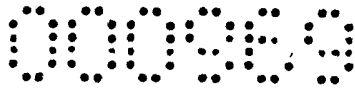
26. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zum Zusammensetzen der digitalen Bilder der weiteren Schnitte (6', 6'', ...) der Präparate (1) aus mehreren Segmenten vorgesehen ist.

27. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass eine Datenbank (15) zum Speichern der Markierungen (5) bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennung für das Präparat (1) und allenfalls einer Patienteninformation oder dergl. vorgesehen ist.

28. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung des Darstellungsmaßstabes der Schnittbilder (6, 6', 6'', ...) und bzw. oder Überlagerungsbilder vorgesehen ist.

29. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung der Orientierung der Schnittbilder (6, 6', 6'', ...) und bzw. oder Überlagerungsbilder vorgesehen ist.

30. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Verschiebung der Schnittbilder (6, 6', 6'', ...) und bzw. oder Überlagerungsbilder



vorgesehen ist.

31. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 30, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung der Farbe der Schnittbilder (6, 6', 6'',...) und bzw. oder Überlagerungsbilder vorgesehen ist.

32. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 31, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung des Durchscheingrads der überlagerten Schnittbilder (6, 6', 6'',...) vorgesehen ist.

33. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 32, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung der Transparenz der Schnittbilder (6, 6', 6'',...) vorgesehen ist.

34. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 33, dadurch gekennzeichnet, dass die Einrichtung zum Setzen von Markierungen (5) zur Festlegung der gewünschten Bereiche (4) durch eine Computermaus (14) gebildet ist.

35. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 34, dadurch gekennzeichnet, dass der Laser (7) mit einer Verschiebeeinrichtung verbunden ist, welche Verschiebeeinrichtung mit der Steuereinrichtung (10) verbunden ist.

36. Computerprogrammprodukt, das direkt in den internen Speicher eines digitalen Computers geladen werden kann und Softwarecodeabschnitte umfasst, wobei mit dem Computer die Schritte des Verfahrens gemäß einem der Ansprüche 1 bis 22 abgearbeitet werden, wenn das Produkt auf dem Computer läuft.

37. Computerprogrammprodukt gemäß Anspruch 36, wobei es auf einem computerlesbaren Medium gespeichert ist.

000000  
1/2

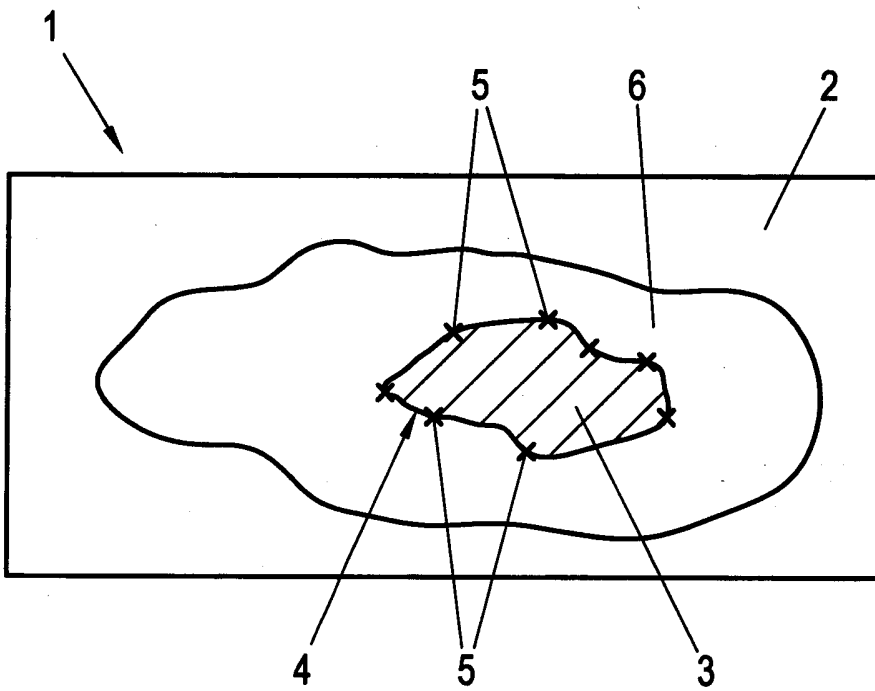


Fig. 1

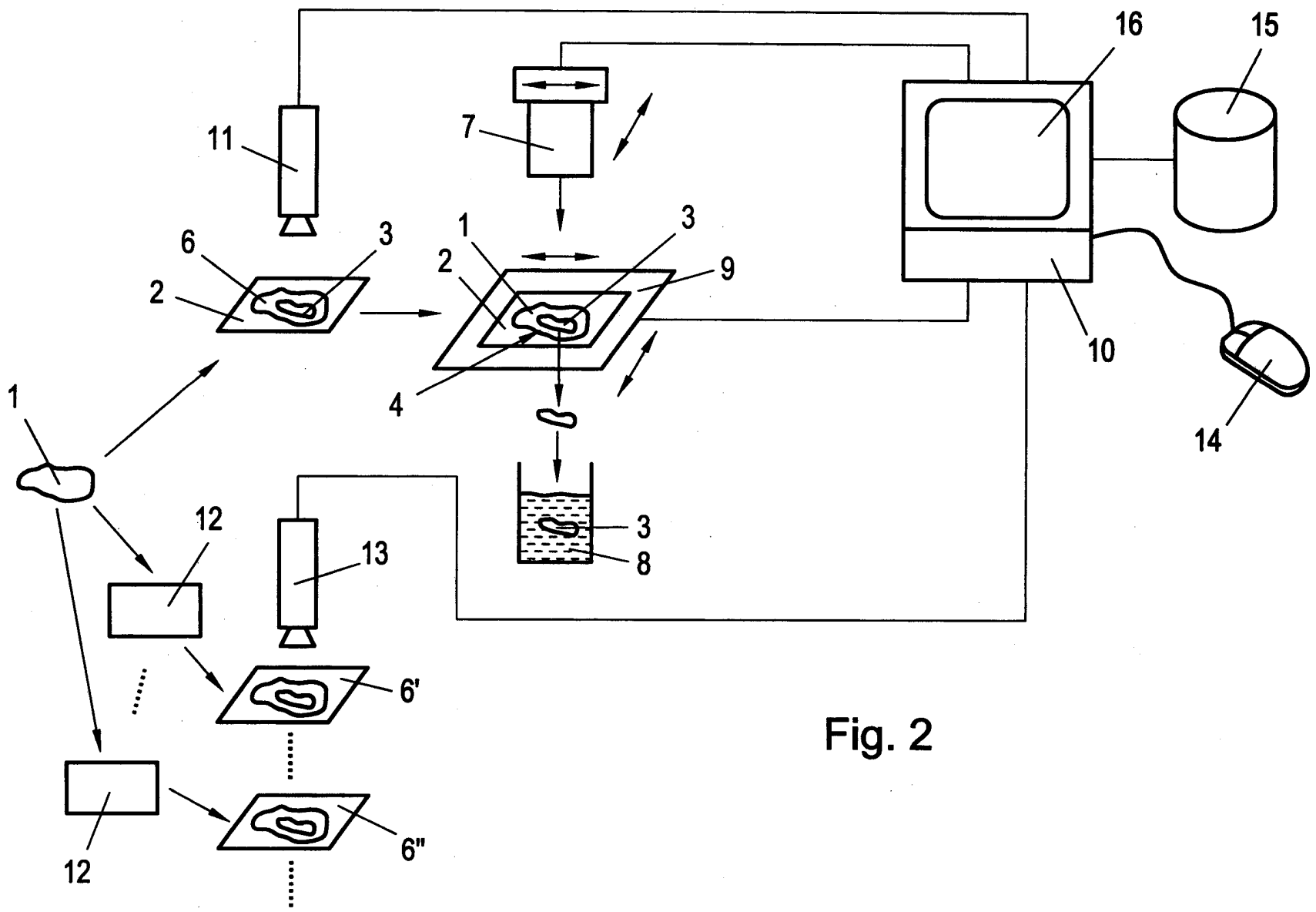
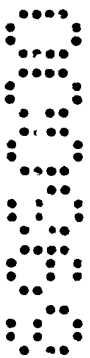


Fig. 2





Patentansprüche:

1. Verfahren zur Manipulation mit Proben (3), insbesondere Gewebeproben, wobei aus Schnitten (6) von Präparaten (1), insbesondere Gewebeschnitten, mit Hilfe von Lasern (7) Proben (3) extrahiert werden, welche Proben (3) in Probengefäße (8) eingebracht werden, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein digitales Bild eines weiteren Schnitts (6', 6'', ...) des Präparats (1) mit einem Bild jenes Schnitts (6) des Präparats (1), aus dem die Probe (3) extrahiert wird, überlagert wird, und dass auf dem zumindest einen überlagerten Bild Markierungen (5) gesetzt werden, welche die gewünschten Bereiche (4), die die Proben (3) beinhalten, definieren, aus welchen die Proben (3) extrahiert werden, bevor sie in die Probengefäße (8) eingebracht werden.

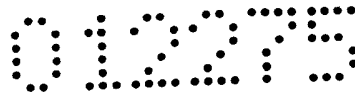
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein digitales Bild eines gefärbten Schnitts (6', 6'', ...) des Präparats (1) mit dem Bild des Schnitts (6) des Präparats (1), aus dem die Probe (3) extrahiert wird, überlagert wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass Kombinationen digitaler Bilder von verschiedenartig gefärbten Schnitten (6', 6'', ...) des Präparats (1) mit dem Bild des Schnitts (6) des Präparats (1), aus dem die Probe (3) extrahiert wird, überlagert werden.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Markierungen (5), welche die gewünschten Bereiche (4) definieren, automatisch gesetzt werden.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass sich die digitalen Bilder eines Schnitts (6', 6'', ...) des Präparats (1) aus mehreren Segmenten zusammensetzen, welche vor der Überlagerung mit dem Bild des Schnitts (6) des Präparats (1), aus dem die Probe (3) extrahiert wird, zusammengesetzt werden.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das digitale Bild eines Schnitts (6', 6'', ...)



des Präparats (1) bzw. die Segmente des digitalen Bildes entzerrt oder von Artefakten befreit wird bzw. werden.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Markierungen (5) bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennung für das Präparat (1) in einer Datenbank (15) gespeichert werden.

8. Verfahren nach Anspruch 1 oder 7, dadurch gekennzeichnet, dass für jedes Präparat (1) mehrere digitale Schnittbilder (6', 6'',...) ausgewählt werden können.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass der Darstellungsmaßstab der Schnittbilder (6, 6', 6'',...) und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden kann.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Orientierung der Schnittbilder (6, 6', 6'',...) und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden kann.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Schnittbilder (6, 6', 6'',...) und bzw. oder Überlagerungsbilder verschoben werden können.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Farbe der Schnittbilder (6, 6', 6'',...) und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden kann.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass der Durchschieingrad der überlagerten Schnittbilder (6, 6', 6'',...) verändert werden kann.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Transparenz der Schnittbilder (6, 6', 6'',...) verändert werden kann.

15. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass eine einer Kennung für das Präparat (1) zugeord-



nete Patienteninformation oder dergl. zusammen mit dem Überlagerungsbild angezeigt wird.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass gesetzte Markierungen (5) gekennzeichnet, vorzugsweise fortlaufend nummeriert werden.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass gesetzte Markierungen (5) selektiert und gelöscht werden können.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass gesetzte Markierungen (5) selektiert und in ihrer Lage verändert werden können.

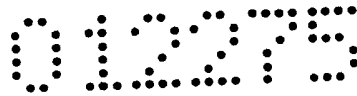
19. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass den gesetzten Markierungen (5) Kommentare zugeordnet werden.

20. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass den gesetzten Markierungen (5) bzw. den gewünschten Bereichen (4) Probengefäße (8) zur Einbringung der extrahierten Proben (3) zugeordnet werden.

21. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass nach dem Setzen der letzten Markierung (5) am letzten Präparat (1) der Extraktionsvorgang gestartet wird.

22. Verfahren nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass der Extraktionsvorgang unterbrochen und fortgesetzt werden kann.

23. Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, mit zumindest einem Laser (7) zum Extrahieren von Proben (3) aus gewünschten Bereichen (4) aus Schnitten (6) von Präparaten (1), insbesondere Gewebeschnitten, und einer Steuereinrichtung (10) zum Steuern des Lasers (7), dadurch gekennzeichnet, dass eine Kamera (11) zur Aufnahme von Bildern des Schnitts (6) des Präparats (1), aus dem die Probe (3) extrahiert wird, weiters eine Einrichtung zur Überlagerung der aufgenommenen Bilder des Schnitts (6) des Präparats (1) mit in einem Spei-



cher abgelegten digitalen Bildern von weiteren Schnitten (6', 6'',...) des Präparats (1), weiters eine Anzeige (16) zur Darstellung der Überlagerungsbilder, und weiters eine Einrichtung zum Setzen von Markierungen (5) zur Festlegung der gewünschten Bereiche (4), die die Proben (3) beinhalten, vorgesehen ist, welche mit der Steuereinrichtung (10) verbunden ist.

24. Vorrichtung nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass Einrichtungen (12) zum Färben der weiteren Schnitte (6', 6'',...) vorgesehen sind.

25. Vorrichtung nach Anspruch 23 oder 24, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zum automatischen Setzen von Markierungen (5) zur Festlegung der gewünschten Bereiche (4) vorgesehen ist.

26. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zum Zusammensetzen der digitalen Bilder der weiteren Schnitte (6', 6'',...) der Präparate (1) aus mehreren Segmenten vorgesehen ist.

27. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass eine Datenbank (15) zum Speichern der Markierungen (5) bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennung für das Präparat (1) und allenfalls einer Patienteninformation oder dergl. vorgesehen ist.

28. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung des Darstellungsmaßstabes der Schnittbilder (6, 6', 6'',...) und bzw. oder Überlagerungsbilder vorgesehen ist.

29. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung der Orientierung der Schnittbilder (6, 6', 6'',...) und bzw. oder Überlagerungsbilder vorgesehen ist.

30. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Verschiebung der Schnittbilder (6, 6', 6'',...) und bzw. oder Überlagerungsbilder

**NACHGEREICHT**

vorgesehen ist.

31. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 30, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung der Farbe der Schnittbilder (6, 6', 6'',...) und bzw. oder Überlagerungsbilder vorgesehen ist.

32. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 31, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung des Durchscheingrads der überlagerten Schnittbilder (6, 6', 6'',...) vorgesehen ist.

33. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 32, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung der Transparenz der Schnittbilder (6, 6', 6'',...) vorgesehen ist.

34. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 33, dadurch gekennzeichnet, dass die Einrichtung zum Setzen von Markierungen (5) zur Festlegung der gewünschten Bereiche (4) durch eine Computermaus (14) gebildet ist.

35. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 34, dadurch gekennzeichnet, dass der Laser (7) mit einer Verschiebeeinrichtung verbunden ist, welche Verschiebeeinrichtung mit der Steuereinrichtung (10) verbunden ist.

**NACHGEREICHT**