

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-194699

(P2017-194699A)

(43) 公開日 平成29年10月26日(2017.10.26)

(51) Int.Cl.

G02B 21/00 (2006.01)
G02B 21/26 (2006.01)

F 1

G02B 21/00
G02B 21/26

テーマコード(参考)

2 H 052

審査請求 有 請求項の数 20 O L 外国語出願 (全 107 頁)

(21) 出願番号 特願2017-113033 (P2017-113033)
 (22) 出願日 平成29年6月7日 (2017.6.7)
 (62) 分割の表示 特願2016-76394 (P2016-76394)
 の分割
 原出願日 平成13年3月13日 (2001.3.13)
 (31) 優先権主張番号 09/563,437
 (32) 優先日 平成12年5月3日 (2000.5.3)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(特許庁注: 以下のものは登録商標)

1. FIREWIRE
2. Linux
3. ウィンドウズ

(71) 出願人 503293765
 ライカ バイオシステムズ イメージング
 インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 92081 カリフォルニア州 ビスタ パーク センター ドライブ 1360
 (74) 代理人 100114890
 弁理士 アインゼル・フェリックス=ライハルト
 (74) 代理人 100098501
 弁理士 森田 拓
 (74) 代理人 100116403
 弁理士 前川 純一
 (74) 代理人 100135633
 弁理士 二宮 浩康

最終頁に続く

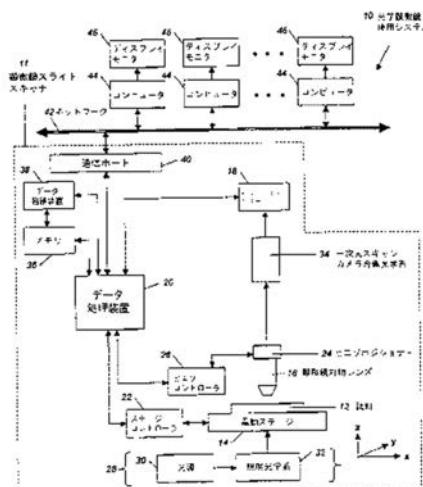
(54) 【発明の名称】全自動迅速顕微鏡用スライドスキャナ

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】試料の連続的スキャンから得られた画像ストリップを単一の連続したデジタル画像を構成するためにコンピュータ制御された顕微鏡スライドスキャナを用いて、顕微鏡試料全体を全自動で迅速なスキャンおよびデジタル化するための装置及び方法に関し、試料全体の低倍率のマクロ画像と一緒に、異なる倍率でこの大きなデジタル画像のサブ領域を静的に表示する方法及び連続したデジタル画像の部分を動的に表示する方法を提供する。

【解決手段】スキャナの要素はすべて、インターネットまたはローカルインターネットに対して主要な接続を行っている単線で囲ったものである好ましい試料タイプは顕微鏡スライドである。照明光学系および画像光学系は回折限界のデジタル画像のために最適化された透過モード光学系と一致している。

【選択図】図1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

最大領域を有する試料の表面によって画定された主要試料面を有する顕微鏡試料の少なくとも一つの部分を自動的にデジタル化するためのスキャナであって、

第一方法および第二方法で試料を取り付けとともに移動させるための電動ステージであって、第一方法は、第一位置及び第二位置で画定された主要進行軸に沿って、予め決められた第一位置と予め決められた第二位置との間を実質的に一定速度で試料面にある試料を動かすことであり、第二方法は、進行主軸に直角であり試料面にある第二の軸に沿って試料を動かすことである電動ステージと、

試料の少なくとも一つの部分が照明される照明システムと、

照明システムによって照明された試料の部分に関して中心にある光軸に沿って位置決めされ、試料面に直角である少なくとも一つの顕微鏡対物レンズと、

顕微鏡対物レンズからの光学信号が光軸に直角の画像面上に合焦されている合焦光学系と、

少なくとも一つの一次元配列で配置された複数の光応答性要素を備える少なくとも一つのカメラであって、カメラが照明システムによって照明された電動ステージの上に試料の領域の一次元の観察フィールドを有するように光応答性要素が、電動ステージに関する画像面に位置決めされ、且つ進行主軸に直角であるカメラと、

予め決められた試料の動きに同期して、複数の光応答性要素からの光強度をデジタル化、処理、および格納するためのデータ処理装置であって、試料動きは、試料の第一の画像ストリップを得るために第一方法で試料を動かすものであり、次に、第二の連続した画像ストリップを得て、試料の完全な画像を生成するために試料の部分をデジタル化するために必要なときに試料を動かすことを繰り返すことのためにカメラを位置決めする第二方法で試料を動かすものであるデータ処理装置と、

を備えることを特徴とするスキャナ。

【請求項 2】

電動ステージとデータ処理装置との間に接続されたステージコントローラをさらに備え、上記データ処理装置が電動ステージの位置を決定することを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 3】

電動ステージは、光軸に沿って試料を動かす第三の方法で試料を移動させることができるることを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 4】

光軸に沿って対物レンズを移動させるために、少なくとも一つの顕微鏡対物レンズに取り付けられたピエゾのポジショナーをさらに備えることを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 5】

ピエゾのポジショナーとデータ処理装置とに接続されたピエゾのコントローラをさらに備え、データ処理装置がピエゾのポジショナーを監督することを特徴とする、請求項 4 記載のスキャナ。

【請求項 6】

電動ステージが複数のステッパーモーターを備えることを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 7】

電動ステージが複数のサーボモータと複数の位置決めエンコーダとを備えることを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 8】

照明システムが、光源及び照明光学系を備えることを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 9】

10

20

30

40

50

光源および照明光学系は、透過モード光学顕微鏡検査に最適化されていることを特徴とする、請求項 8 記載のスキャナ。

【請求項 10】

光源は、強度可変のハロゲンランプ、凹面の反射鏡および熱抑止フィルタを備えることを特徴とする、請求項 9 記載のスキャナ。

【請求項 11】

光源および照明光学系は、試料の少なくとも一つの実質的に円形部分を照明することを特徴とする、請求項 8 記載のスキャナ。

【請求項 12】

光源および照明光学系は、反射モード光学顕微鏡検査に最適化されていることを特徴とする、請求項 8 記載のスキャナ。

【請求項 13】

光源および照明光学系は、蛍光モード光学顕微鏡検査に最適化されていることを特徴とする、請求項 8 記載のスキャナ。

【請求項 14】

光源および照明光学系が各々データ処理装置に接続され、データ処理装置が最適の照明を維持することを特徴とする、請求項 8 記載のスキャナ。

【請求項 15】

少なくとも一つの顕微鏡対物レンズが無限修正タイプであることを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 16】

合焦光学系が機械的なチューブの内部に取り付けられたチューブレンズ光学を備えることを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 17】

チューブレンズ光学系は回折限界の画像を提供するために選択されていることを特徴とする、請求項 16 記載のスキャナ。

【請求項 18】

少なくとも一つのカメラは一次元スキャンカメラを含むことを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 19】

一次元スキャンカメラは、双方向スキャンすることができる特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 20】

データ処理装置に接続されたメモリーをさらに備え、データが格納されることを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 21】

データ処理装置に接続された通信ポートをさらに備え、スキャナがネットワークを介して少なくとも一つのコンピュータと通信することを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 22】

少なくとも一つの顕微鏡対物レンズと合焦光学系との間で光軸に沿って位置決めされた蛍光フィルタ立方体をさらに備えることを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 23】

少なくとも一つの顕微鏡対物レンズと合焦光学系との間で光軸に沿って位置決めされたビームスプリッターをさらに備え、顕微鏡対物レンズからの光学信号が、少なくとも一つの第二光軸に分割されていることを特徴とする、請求項 1 記載のスキャナ。

【請求項 24】

ビームスプリッターからの光学信号が、少なくとも一つの第二光軸と直角である第二画像面の上に合焦される第二合焦光学系と、

第二画像面に位置決めされた複数の光応答性要素を含む少なくとも一つの第二カメラと、をさらに備え、

10

20

30

40

50

第二カメラがデータ処理装置に接続されていることを特徴とする、請求項23記載のスキヤナ。

【請求項25】

少なくとも一つの第二カメラは二次元スキャンカメラを備えることを特徴とする、請求項24記載のスキヤナ。

【請求項26】

複数の顕微鏡対物レンズを保持することができる電動前金具と、

少なくとも一つの第二顕微鏡対物レンズと、

をさらに備え、

少なくとも一つの顕微鏡対物レンズおよび少なくとも一つの第二顕微鏡対物レンズの両方は、電動前金具によって保持されていることを特徴とする、請求項1記載のスキヤナ。

10

【請求項27】

電動前金具とデータ処理装置との間に接続された前金具コントローラをさらに備え、データ処理装置は、電動前金具によって保持された複数の顕微鏡対物レンズの中から選択することを特徴とする、請求項26記載のスキヤナ。

20

【請求項28】

第一方法及び第二方法で少なくとも一つの顕微鏡対物レンズを保持し且つ動かすことのできる電動前金具をさらに備え、

第一方法は、第一位置及び第二位置で画定された進行主軸に沿って、予め決められた第一位置と予め決められた第二位置との間で実質的に一定速度で試料面に並行に顕微鏡対物レンズを動かすものであり、

第二方法は、進行主軸に直角であり試料平行面にある第二軸に沿って顕微鏡対物レンズを動かすものであることを特徴とする、請求項1記載のスキヤナ。

20

【請求項29】

電動前金具とデータ処理装置との間に接続された前金具コントローラをさらに備え、データ処理装置は、電動前金具によって保持された顕微鏡対物レンズの位置を決定することを特徴とする、請求項28記載のスキヤナ。

30

【請求項30】

ローカルの出力装置および少なくとも一つのローカルの入力装置をさらに備え、それがスキャナのデータ処理装置に接続されていることを特徴とする、請求項1記載のスキヤナ。

30

【請求項31】

最大領域を有する試料の表面によって画定された主要試料面を有する顕微鏡試料の少なくとも一つの部分を自動的にデジタル化するためのスキヤナであって、

試料を取り付けるためのステージと、

試料の少なくとも一つの部分が照明される照明システムと、

照明システムによって照明された試料の部分に関して中心にある光軸に沿って位置決めされ、試料面に直角である少なくとも一つの顕微鏡対物レンズと、

第一方法および第二方法で少なくとも一つの顕微鏡対物レンズを保持し且つ動かすことのできる電動前金具であって、第一方法が、第一位置及び第二位置で画定された進行主軸に沿って、予め決められた第一位置と予め決められた第二位置との間で実質的に一定速度で試料面と並行に顕微鏡対物レンズを動かすものであり、第二方法が、進行主軸に直角であり且つ試料平行面にある第二軸に沿って顕微鏡対物レンズを動かすものである電動前金具と、

40

顕微鏡対物レンズからの光学信号が光軸に直角の画像面上に合焦される合焦光学系と、少なくとも一つの一次元配列で配置された複数の光応答性要素を備える少なくとも一つのカメラであって、光応答性要素は、カメラが照明システムによって照明されたステージ上にある試料の領域の一次元の観察フィールドを有し、且つ、進行主軸に直角であるようにステージに関して画像面に位置決めされているカメラと、

予め決められた顕微鏡対物レンズの動きに同期して、複数の光応答性要素からの光強度を

50

デジタル化、処理、及び格納するためのデータ処理装置であって、顕微鏡対物レンズの動きが、試料の第一のストリップ画像を得るために第一方法で顕微鏡対物レンズを動かすものであり、次に、第二の連続したストリップ画像を得て、試料の部分の完全な画像を生成するために試料の部分をデジタル化するために必要なときに顕微鏡対物レンズを動かすことと繰り返すことのためにカメラを位置決めする第二方法で顕微鏡対物レンズを動かすものであるデータ処理装置と、

を備えることを特徴とするスキャナ。

【請求項 3 2】

電動前金具とデータ処理装置との間に接続された前金具コントローラをさらに備え、データ処理装置が電動前金具によって保持された顕微鏡対物レンズの位置を決定することを特徴とする、請求項 3 1 記載のスキャナ。

10

【請求項 3 3】

ステージは、第一方法及び第二方法で試料を取り付け且つ動かすための電動ステージをさらに備え、

第一方法は、第一位置及び第二位置で画定された進行主軸に沿って、予め決められた第一位置と予め決められた第二位置との間で実質的に一定速度で試料面にある試料を動かすものであり、

第二方法は、進行主軸に直角であり試料面にある第二軸に沿って試料を動かすものであることを特徴とする、請求項 3 1 記載のスキャナ。

20

【請求項 3 4】

電動ステージとデータ処理装置との間に接続されたステージコントローラをさらに備え、データ処理装置が電動ステージの位置を決定することを特徴とする、請求項 3 3 記載のスキャナ。

【請求項 3 5】

最大領域を有する試料の表面によって画定された主要試料面を有する顕微鏡試料の少なくとも一つの部分を自動的にデジタル化し且つ調査するための光学顕微鏡使用システムであって、

ネットワークと、

ネットワークに接続された少なくとも一つのコンピュータと、

ネットワークに接続されたスキャナであって、

30

第一方法および第二方法で試料を取り付け且つ動かすための電動ステージであって、第一方法は、第一位置及び第二位置で画定された進行主軸に沿って、予め決められた第一位置と予め決められた第二位置との間で実質的に一定速度で試料面にある試料を動かすものであり、第二方法は、進行主軸に直角であり試料面にある第二軸に沿って試料を動かすものである電動ステージと、

試料の少なくとも一つの部分が照明される照明システムと、

照明システムによって照明された試料の部分に関して中心にある光軸に沿って位置決めされ且つ試料面に直角である少なくとも一つの顕微鏡対物レンズと、

光軸に直角の画像面上に顕微鏡対物レンズからの光学信号が合焦される合焦光学系と、

少なくとも一つの一次元配列で配置された複数の光応答性要素を備える少なくとも一つのカメラと、カメラが照明システムによって照明された電動ステージ上に試料の領域の一次元の観察フィールドを有し、進行主軸に直角であるように、光応答性要素が電動ステージに関して画像面に位置決めされているカメラと、

40

予め決められた試料の動きに同期して、複数の光応答性要素からの光強度をデジタル化、処理、及び格納するためのデータ処理装置であって、試料の動きが、試料の第一のストリップ画像を得るために第一方法で試料を動かすものであり、次に、第二の連続したストリップ画像を得て、試料の部分の完全な画像を生成するために試料の部分をデジタル化するために必要なときに試料を動かすことを繰り返すことのためにカメラを位置決めする第二方法で試料を動かすものであるデータ処理装置と、を備えるスキャナと、

を備えることを特徴とする光学顕微鏡使用システム。

50

【請求項 3 6】

ローカルの出力装置および少なくとも一つのローカルの入力装置をさらに備え、各々がスキャナに接続されていることを特徴とする、請求項 3 5 記載のシステム。

【請求項 3 7】

最大領域を有する試料の表面によって画定された主要試料面を有する顕微鏡試料の少なくとも一つの部分をスキャナで自動的にデジタル化する方法であって、上記スキャナが一次元配列カメラデジタル検出器を備え、

該方法が、

試料が実質的に一定速度で一次元配列カメラデジタル検出器に関して移動する間、試料の一部分から第一の画像ストリップをデジタルでスキャンし且つ格納するステップと、試料の連続した一部分に対して検出器を位置決めするために試料を動かすステップと、試料が実質的に一定速度で検出器に関して動いている間、試料の連続した一部分から第二の画像ストリップをデジタルでスキャンし且つ格納するステップと、顕微鏡試料の部分が完全にデジタル化されるまで、連続した画像ストリップをデジタルでスキャンし且つ格納するステップを繰り返すステップと、を備えることを特徴とする方法。

【請求項 3 8】

第一の画像ストリップをデジタルでスキャンし且つ格納するステップが第一方向で実行され、第一の画像ストリップをデジタルでスキャンし且つ格納するステップが第一方向と反対方向の第二方向で実行されることを特徴とする、請求項 3 7 記載の方法。

【請求項 3 9】

複数の連続した画像ストリップから連続した画像を組み立てるステップをさらに備えることを特徴とする、請求項 3 7 記載の方法。

【請求項 4 0】

最大領域を有する試料の表面によって画定された主要試料面を有する顕微鏡試料の少なくとも一つの部分を、光学顕微鏡使用システムで自動的にデジタル化し且つ調査する方法であって、

光学顕微鏡使用システムが、ネットワーク、ネットワークに接続された少なくとも一つのコンピュータ、及びネットワークに接続されたスキャナを備え、

スキャナが一次元配列カメラデジタル検出器を有し、

上記方法が、

スキャナを初期化するステップと、

スキャナで顕微鏡試料の部分の画像を自動的にデジタル化するステップであって、

試料が実質的に一定速度で一次元配列カメラデジタル検出器に関して動いている間、試料の一部分から第一の画像ストリップをデジタルでスキャンし且つ格納するステップと、試料の連続した部分に検出器を位置決めするために試料を動かすステップと、

試料が実質的に一定速度で検出器に関して動いている間、試料の連続した部分からの第二の画像ストリップをデジタルでスキャンし且つ格納するステップと、

顕微鏡試料の部分が完全にデジタル化されるまで、連続した画像ストリップをデジタルでスキャンし且つ格納するステップを繰り返すステップと、

を通じてスキャナで顕微鏡試料の部分の画像を自動的にデジタル化するステップと、

コンピュータでデジタル化された画像の調査するステップと、

を備えることを特徴とする方法。

【請求項 4 1】

第一の画像ストリップをデジタルでスキャンし且つ格納するステップが第一方向で実行され、第二の画像ストリップをデジタルでスキャンし且つ格納するステップが、第一方向と反対方向である第二方向で実行されることを特徴とする、請求項 4 0 の方法。

【請求項 4 2】

デジタル化画像の調査に基づいて試料にリターン分析すべきかどうか決定するステップと、

10

20

30

40

50

リターン分析を支持する決定に際して、リターン分析が従来の顕微鏡またはスキャナによって行なわれるかどうかを決定するステップと、
をさらに備えることを特徴とする、請求項 4 0 の方法。

【請求項 4 3】

顕微鏡試料の一部分の少なくとも一つの完全な画像に対するコンピュータ画像観察フレームは、

マクロ画像が表示されるマクロ窓と、
低解像度での少なくとも一つの対象画像が表示される対象窓と、
高解像度でのズーム画像または対象画像が表示されるズーム窓と、
少なくとも一つのコントロールアイコンが表示されるユーザコマンド窓と、
を備えることを特徴とするコンピュータ画像観察フレーム。 10

【請求項 4 4】

少なくとも一つの統計量が表示されている分析窓をさらに備えることを特徴とする、請求項 4 3 記載のフレーム。

【請求項 4 5】

いずれの複数の画像属性も、分析の基礎として対話式に選択されることを特徴とする、請求項 4 4 記載のフレーム。

【請求項 4 6】

いずれの窓も、全てのフレーム内に対話式に大きさを合わせられ且つ動かされることを特徴とする、請求項 4 3 記載のフレーム。 20

【請求項 4 7】

ズーム窓に表示されたズーム画像に相当するマクロ窓に表示されたズーム領域をさらに備えることを特徴とする、請求項 4 3 記載のフレーム。

【請求項 4 8】

ズーム領域は、マクロ画像全体に関して対話式に大きさを合わせられ且つ動かされることを特徴とする、請求項 4 7 記載のフレーム。

【請求項 4 9】

顕微鏡試料の一部分の少なくとも一つの完全な画像に対するコンピュータ画像観察フレームを生成する方法であって、

上記方法は、

マクロ窓にマクロ画像を表示するステップと、
対象窓に少なくとも一つの対象画像を低解像度で表示するステップと、
ズーム窓にズーム画像または対象画像を高解像度で表示するステップと、
ユーザコマンド窓に少なくとも一つのコントロールアイコンを表示するステップと、
を備えることを特徴とする方法。 30

【請求項 5 0】

分析窓に少なくとも一つの統計量を表示するステップをさらに備えることを特徴とする、請求項 4 9 記載の方法。

【請求項 5 1】

分析の基礎としていずれの複数の画像属性をも対話式に選択するステップを備えることを特徴とする、請求項 5 0 記載の方法。 40

【請求項 5 2】

全てのフレーム内にいずれの窓をも対話式に大きさを合わせるとともに動かすステップをさらに備えることを特徴とする、請求項 4 9 記載の方法。

【請求項 5 3】

ズーム窓に表示されたズーム画像に相当するマクロ窓にズーム領域を表示するステップをさらに備えることを特徴とする、請求項 4 9 記載の方法。

【請求項 5 4】

マクロ画像全体に関してズーム領域を対話式に大きさを合わせるとともに動かすステップをさらに備えることを特徴とする、請求項 5 3 記載の方法。 50

【請求項 5 5】

顕微鏡試料の一部分の少なくとも一つの完全な画像に対する動的なコンピュータ画像観察フレームであって、
マクロ画像が表示されるマクロ窓と、
映画画像が表示される映画窓と、
ズーム画像が表示されるズーム窓と、
少なくとも一つのコントロールアイコンが表示されるユーザコマンド窓と、
を備えることを特徴とする動的なコンピュータ画像観察フレーム。

【請求項 5 6】

少なくとも一つの統計量が表示される分析窓をさらに備えることを特徴とする、請求項 5 10 記載のフレーム。

【請求項 5 7】

いずれの複数の画像属性も、分析の基礎として対話式に選択されることを特徴とする、請求項 5 6 記載のフレーム。

【請求項 5 8】

いずれの窓も、全てのフレーム内に対話式に大きさを合わせられるとともに動かされることを特徴とする、請求項 5 5 記載のフレーム。

【請求項 5 9】

ズーム窓に表示されたズーム画像に相当するマクロ窓に表示されたズーム領域を備えることを特徴とする、請求項 5 5 記載のフレーム。

【請求項 6 0】

ズーム領域がマクロ画像全体に関して対話式に大きさを合わせられ且つ動かされることを特徴とする、請求項 5 9 記載のフレーム。

【請求項 6 1】

映画窓に表示されているマクロ画像の領域に相当するマクロ窓に表示されたスキャントラッカーをさらに備えることを特徴とする、請求項 5 5 記載のフレーム。

【請求項 6 2】

顕微鏡試料の一部分の少なくとも一つの完全な画像に対する動的なコンピュータ画像観察フレームを生成する方法であって、

上記方法は、

マクロ窓にマクロ画像を表示するステップと、
映画窓中に映画画像を表示するステップと、
ズーム窓にズーム画像を表示するステップと、
ユーザコマンド窓に少なくとも一つのコントロールアイコンを表示するステップと、
を備えることを特徴とする方法。

【請求項 6 3】

分析窓に少なくとも一つの統計量を表示するステップをさらに備えることを特徴とする、請求項 6 2 記載の方法。

【請求項 6 4】

分析の基礎としていずれの複数の画像属性をも対話式に選択するステップを備えることを特徴とする、請求項 6 3 記載の方法。

【請求項 6 5】

全てのフレーム内にいずれの窓をも対話式に大きさを合わせるとともに動かすステップをさらに備えることを特徴とする、請求項 6 2 記載の方法。

【請求項 6 6】

ズーム窓に表示されたズーム画像に相当するマクロ窓にズーム領域を表示するステップをさらに備えることを特徴とする、請求項 6 2 記載の方法。

【請求項 6 7】

マクロ画像全体に関してズーム領域を対話式に大きさを合わせるとともに動かすステップをさらに備えることを特徴とする、請求項 6 6 記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 6 8】

映画窓に表示されているマクロ画像の領域に相当するマクロ窓にスキャントラッカーを表示するステップをさらに備える、請求項 6 2 記載の方法。

【請求項 6 9】

顕微鏡試料の一部分の少なくとも一つの完全な画像に対して動的なコンピュータ映画画像を生成する方法であって、

上記方法は、

完全な画像を複数の映画画像ストリップに分割するステップと、

従来の顕微鏡の手動スキャンの動きをシミュレートする方法で映画窓に複数の映画画像ストリップの一つの少なくとも一つの部分を表示するステップと、

を備えることを特徴とする方法。

【請求項 7 0】

それらの画像内容に基づいた映画画像ストリップの部分をランク付けするステップと、ランク順でそれらの部分を表示するステップをさらに備えることを特徴とする、請求項 6 9 記載の方法。

【請求項 7 1】

重要でないランクの映画画像ストリップの部分は表示されないことを特徴とする、請求項 7 0 記載の方法。

【請求項 7 2】

重要度が低ランクの映画画像ストリップの部分は、第一の速度で表示され、重要度が高ランクの映画画像ストリップの部分は、第二の速度で表示され、第一の速度が第二の速度より速いことを特徴とする、請求項 7 0 記載の方法。

【請求項 7 3】

それらの画像内容に基づいた映画画像ストリップの要素を評価するステップと、ユーザにとって重要でない要素を除去するステップとをさらに備えることを特徴とする、請求項 6 9 記載の方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0 0 0 1】**

本発明は、一般に、光学顕微鏡の分野に関し、特に、全自動迅速顕微鏡用スライドスキャナに関する。

【背景技術】**【0 0 0 2】**

光学顕微鏡の特有の制限は、観察フィールドと、接眼レンズを介して観察される試料の部分と、試料の観察される倍率とがトレードオフであることである。高開口数 (N A) を備える高倍率の顕微鏡対物レンズは、拡大され且つ高解像の画像を顕微鏡使用者に提供するが、倍率の二乗に比例して倍率が増加すると、観察フィールドが劇的に減少する。1.25倍のような低倍率においてさえ、典型的な顕微鏡用スライドの小領域だけが、従来の顕微鏡の双眼鏡を通じて観察される。光学顕微鏡の観察フィールド制限の範囲は、サンプル又は試料の全観察を得るために、顕微鏡使用者が低倍率でスライドを手動スキャンすることを要求する。興味のある領域が低倍率の一つに現れたとき、試料の比例した小領域の拡大された高解像観察フィールドを得るために、顕微鏡使用者は高倍率対物レンズを手動で選択する。病理学者によって観察される組織学的試料のような試料に対して、病理学者が、試料について自分との向きを決めるために広い観察フィールドを備える低倍率対物レンズと、より詳細に試料を観察するために一つ以上の高倍率で視野の狭い対物レンズとにしばしば切換えることは普通である。

【0 0 0 3】

広い観察フィールドと高倍率とを同時に達成するという光学顕微鏡の制限を克服するためのアプローチは、連続した観察フィールドから個々のデジタル画像を複数で捕えられ、広い観察フィールドを作るということである。スキャンシステムが試料を動かすために使用

10

20

30

40

50

されているが、二次元スキャン電荷結合素子（C C D）カメラのような方形の光学センサが所望倍率での各観察フィールドの画像を捉える。これらの小さな観察フィールド（これ以降、画像タイルと呼ぶ）を一つの一貫した画像に組立てるプロセスは、画像タイル化と呼ばれている。以前の画像タイル化システムは、米国特許4 7 6 0 3 8 5号（ジャンソンなど）に説明されたシステムのように、オペレータによって以前に且つ双方向に選択された試料の領域で捕えられた略3 6個のビデオフレーム画像タイルから連続した高解像タイル化画像を作ることに基づかれている。同じであるがより高度な画像タイル化システムが最近利用可能になっている。そのようにシステムの一つが、ベイカス・ラボラトリ社スライドスキャナ（これ以降B L I S Sと呼ぶ）の名前で、ベイカス・ラボラトリ社、ダウナーズ・グローブ、I Lによって売り出されている。B L I S Sシステムの要素は、特許協力条約公報のW O 9 8 / 3 9 7 2 8 及びW O 9 8 / 4 4 4 4 6に記載されている。

10

【0 0 0 4】

B L I S Sシステムは、非常に低い倍率で得られた組織学試料の解剖学上の位置を、低倍率のタイル化画像やマクロ画像から病理学者によって双方向に選択された試料の領域の幾つかの高倍率視野に結合する必要性を有する病理解剖学者のために第一に設計されている。B L I S Sシステムによって、病理学者は、20倍又は40倍で捕えられた選択領域の選択された高解像ミクロ画像と、1.25倍で捕えられた低解像マクロ画像との間を素早く前後させることができ、従来の顕微鏡の病理学者の手動使用を再現させることができる。その代りに、B L I S Sシステムのユーザーインターフェースは、分離された分割スクリーンを表示するモニタに設けられている。それにより、病理学者には、マクロ視野が全体的に示され、マーカーは、現在の高倍率視野がどこにあるかを示している。タイル化画像は、結合されたデータ構造を作り出すために高倍率で幾つかの隣接した元の顕微鏡視野とともに、試料のマクロ視野全体を得るために最初の倍率で幾つかの隣接した元の顕微鏡視野を組立てることによって構築される。データ構造は、地図座標を用いて低倍率画像タイルをデジタルでスキャンすること及び蓄えること、及び地図座標を用いて高倍率画像タイルをデジタルでスキャンすること及び蓄えることによって得られる。さらに、病理学者は、高解像度で蓄えられた画像ピクセルの数をかなり減らすために、デジタルでスキャンすること及び蓄えることのために試料の診断上重要な領域だけを双方向に選択することができる。データ構造は、バーチャル顕微鏡スライドに似て、インターネットのようなネットワークを通じて離れたビューワーに移される。離れたユーザーは、一連の隣接したタイル化画像を備える。各画像タイルは、二つの異なった光学倍率で一つの小さな光学観察フィールドに実質的に等しい。

20

30

40

【0 0 0 5】

B L I S Sシステムは、ニューヨークのソーンウッドにあるカールツワイス社によって販売されたアキシオプラン2（A x i o p l a n - 2）顕微鏡システムのような、コンピュータ制御された自動顕微鏡に一体化されている。この種のハイエンドの顕微鏡は、照明サブシステム、フォーカスサブシステム、顕微鏡対物レンズサブシステム、フィルターサブシステム、最適なケラー照明を実現するために使用される複数のフィールドやコンデンサ絞り又は光学トップを含む、幾つかのサブシステムのコンピュータ制御を可能にする。基本的に、顕微鏡の全ての可動要素は、コンピュータ制御され、そして原則として、インターネットを介して離れた場所から制御される。全ての絞りの位置やフォーカス及び照明レベルのような他の設定は、コンピュータに蓄えられ、手動をはさむことなく顕微鏡の対物レンズを変えることを可能にする。B L I S Sシステムは、優れた位置決め性を提供するために位置用エンコーダ及び閉ループフィードバックコントロールを用いて、0.1 μmの位置決め精度を達成するコンピュータ制御された2軸（上下左右の動きに対するx/y）の平行移動ステージを備えている。752 × 480ピクセルのC C Dカメラ及び画像フレーム取込み器がB L I S Sシステムに一体化されている。

【0 0 0 6】

画像タイルに基づいているので、B L I S Sシステムは、画像タイルアプローチの幾つかの既知の不利な点がある。例えば、B L I S Sシステムの第一の不利な点は、タイル化さ

50

れたデータ構造を得るために時間（典型的には20分以上）がかかることがある。これらの時間見積は、手動をはさむ間に、例えば、低倍率マクロ画像の選択領域から高倍率タイル化画像を得る前に、受けるさらなる遅延が考慮されていない。タイル化は、単一の視野の幅に等しい個々のステップにおいて、及び、B L I S S システムで使用されるC C D カメラのような静止二次元スキャンカメラについては、電動ステージ上にあるスライドを動かすことを含んでいる。画像タイルは全てのステップで得られる。個々の画像は、興味のある領域の大きな継ぎ目のない画像を作るために共にタイル化される。画像のタイル化は、画像が捕えられている間に試料とカメラとの間での相対的な動きを最小にする必要があるために、時間がかかる。相対的な動きの主たる原因是、一連の停止及び進行という命令を出したあとでの、機械的位置決めステージの設定時間である。容認できない汚れのない画像を得るために、理想的には一つより少ないピクセル内に、ステージが定着されるまで待つことが必要である。例えば、40倍で、1/2インチ型C C Dで捕えられた画像タイルの幅は、試料の160 μmに対応する。この倍率で、752ピクセルのワイドC C Dでの個々のピクセルは、試料の約0.2 μmの範囲を定める。単一のタイル化工程は、機械的なステージの関連した加速・減速で、160 μmという相対的に大きな移動を必要とする。画像の汚れを避けるために、画像タイルは、機械的なステージが動きの一つより少ないピクセルすなわち約0.2 μmに定着されたあとに捕えられるべきである。米国特許5912699号（ハエンガ等）は、ストロボ光と同期した従来の二次元スキャンカメラを用いて画像タイルを結合する他の方法を提案することによって、従来の画像タイル化システムのこのよく知られた設定時間制限に取り組んでいる。タイル化システムのB L I S S システムを含む遅い捕捉時間は、初期の非常に低倍率のマクロ画像の捕捉と高倍率捕捉に対する小領域のその後の選択との間に広範囲な手動をはさむことで、画像タイル化の有用性を二つのステップのプロセスに制限する。

【0007】

タイル化システムに関係した遅い捕捉時間は、タイル化されたデータ構造を作るプロセスの間に手動をはさむ必要があるという、B L I S S システムの第二の不利な点である。1.25倍という非常に低い顕微鏡対物レンズ倍率でスライドをプレスキャンしたあと、B L I S S システムの操作者は、高倍率対物レンズを用いて、スキャンされるべき興味のある関連領域に対するマクロ画像を調べる。手動をはさむことの動機は最終データ構造の大きさを制限することであるが、手動をはさむことは合理的な時間で得られる小さな領域を画定するのに絶対的に必須である。例えば、20倍で顕微鏡スライドを完全にスキャンためにB L I S S システムを使用することは、捕捉時間を考慮するために、実用的ではない。20倍では、752 × 480ピクセルの1/2インチ型二次元スキャンC C Dを用いて、顕微鏡スライドの2インチ × 1インチの領域をデジタル化するために、約16300の個別画像タイルを捕捉しなければならない。各画像タイルを得るために約1秒かかることを仮定すると、停止及び進行の命令の16300の繰り返しのそれぞれに関連した相対的に長い機械的設定時間も手伝って、トータルの捕捉時間は4時間30分になるであろう。40倍では、捕捉時間が4倍になって18時間になるであろう。10倍でさえも、捕捉時間が1時間を越えるであろう。しかしながら、B L I S S システムの1.25倍という非常な低倍率では、64の画像タイルだけが、顕微鏡の2 × 1インチ領域のマクロ画像を作るために必要である。マクロ画像に対するトータルの捕捉時間は約1分である。

【0008】

捕捉時間制限が低倍率のマクロ画像の捕捉を必要とすることを理解すると、高倍率で捕捉されるべき小さな領域のこのマクロ画像から双方向に選択することに続いて、B L I S S システムの第三の不利な点が明らかになる。この第三の不利な点は、低倍率のマクロ画像から興味のある領域を位置決めすることが、解剖学的基準情報が利用可能である試料に制限されていることに存する。B L I S S システムは、P a p 汚れのような非組織学的試料に対する制限された有用性を有している。なぜならば、そのような細胞試料がもともと解剖学的位置についての情報を欠いているからである。そのような試料において、細胞は、顕微鏡スライドの広い領域にわたって多かれ少なかれランダムに分布している。画定する

10

20

30

40

50

能力なく、マクロ画像を用いて、特定の小さな領域が高倍率でタイル化されているほど、代りのものが試料全体をスキャンし且つデジタル化する。しかしながら、前に説明したように、画像タイル化方法で必要とされた長い捕捉時間は、この代りのものを仮想的に非現実的にする。別の言いかたをすれば、高倍率での画像タイル化に対して顕微鏡スライドの特定且つ重要な小領域を画定するために手動をはさむことや細胞学的試料の不可能性がなく、タイル化アプローチは制限された有用性を有する。手動をはさまない、全自动スキャン顕微鏡スライドのシステムを人は好むであろう。そのようなシステムは、スライドが解剖学的基準情報を含むか否かにかかわらず、顕微鏡スライドの全タイプに適しているであろう。

【0009】

10

B L I S S システムの第四の不利な点は、複雑であることや高価であることである。B L I S S システムは、規格品の部品から大部分できている。規格品の部品は、複数の対物レンズと高価な閉じた x / y のステージ制御ループを備える、ハイエンドで、全自动の第三者の顕微鏡を含む。B L I S S システムの提示された消費者価格は約 10 万ドルである。B L I S S システムの複数の自動要素は、高価な自動化にもかかわらず、操作及び維持の難しい複雑なシステムを示している。簡単で信頼性が高くて、B L I S S システムのコストの約 1 / 3 で利用可能となる顕微鏡スライドスキャンシステムを、人は好む。

【0010】

20

従来の顕微鏡に基づいたあらゆる顕微鏡スライドスキャンシステムの幾つかの制限は、B L I S S システムのコスト的に不利な点に固有である。B L I S S システムの最も高価な部品は、自動化された顕微鏡それ自身である。全自动顕微鏡をB L I S S システムに組み入れる理由の一つは、顕微鏡の対物レンズタレットが自動的に回転して顕微鏡の対物レンズを変える（例えば 1.25 倍 ~ 40 倍）とき、多くの設定を自動的に変更するために必要である。顕微鏡の対物レンズを変えるときに典型的な顕微鏡は、異なった最適なフォーカス面を有し、ケラー照明を達成するために、フィールド及びコンデンサの絞りの新しい設定を必要とする。異なった照明強度は、C C D のダイナミックレンジを最適に満たすために必要である。顕微鏡の対物レンズを変える必要性が除去されたならば、そのような高価な自動化の必要性が除去される。人は、伝統的な光学顕微鏡の視野制限のフィールドに打ち勝つだけでなく、顕微鏡の複数の対物レンズの必要性を除去することができ、B L I S S のような画像タイル化システムを越える十分なコストの利点を備える素早いスキャン方法を好む。単一の顕微鏡の対物レンズの必要性は、伝統的な顕微鏡の光学系によって強いられた制約を削除することに極めて関係している。人は、顕微鏡スライドがスキャンし、回折限界の解像度でデジタル化すること、すなわち、顕微鏡の対物レンズの解像度で利用可能な全ての可能な空間詳細がデジタル画像で捕えられることを確実にする光学設計に基づいたシステムを好む。いったん、回折限界のデジタル画像が捕えられたならば、悪化した低い解像度と倍率の画像は、標準的なコンピュータアルゴリズムを用いて、作られる。

30

【0011】

40

多くの顕微鏡の応用において、試料全体又は試料の大部分は、欠陥、特別な対象物又は異常な細胞のような対象の存在又は存在しないことを調べることが必要である。それに続く高解像度調査で興味のある特定の領域を同定するために、試料の大部分又は試料全体が低解像度（典型的には 10 倍 ~ 20 倍）で手動スキャンしなければならないとき、顕微鏡は、労働集約的なものである。単一フィールドの拡張された手動スクリーニング又は連続した観察によって、目の疲れ、疲労、生産性及び正確さに悪影響を及ぼす視覚順化が起こる。それに続く高解像度調査で興味のある関連の領域を素早く見つけ且つ位置決めすることの問題は、顕微鏡を、一次元に配置された補助検出器及び自動位置決めテーブルに結合させた従来のリアルタイムのスキャンシステムを使用することで、取り組まれている。それらの全てがコンピュータ制御されている。米国特許 5 922282 号（レドレイ等）で説明されたシステムのような幾つかのアプローチは、対象物（この場合、特製のガラス顕微鏡スライド上にあるマイコバクテリア）の再配置を可能にする物理的スライドの領域上で

50

見つけられた関連対象物の x / y ステージの座標を蓄えることに基づいている。5 μm ステップで動くステージに同期された一次元スキャンカメラで測定された強度情報に適用されている特化されたリアルタイムパターン認識回路を用いて、マイコバクテリアの x / y 座標が得られる。その代りに、ビデオカメラのような二次元スキャンセンサが、類似した回路とともに、選択された対象物の x / y 座標を導くための基礎として使用される。後者の場合、ステージは、タイル化方法で要求されたステージ移動に似て、完全な画像フィールドに対応した大きなステップで動かされる。瞬間的な自動フォーカス制御を用いて、フォーカスが維持される。米国特許 4 7 0 0 2 9 8 号（パルシック等）に記載された他のシステムは、組織フラスコで成長する細胞の x / y 座標をリアルタイムで記録する目的で広い領域をスキャンするために、オートフォーカス手段を備えた、市販の顕微鏡に取り付けられた一次元配置の CCD を用いる。これらの既知の方法及びシステムは、全て、スキャン過程の間に得られ且つ処理されたデジタル情報のリアルタイム分析に基づいている。多くの場合、特化された回路が、リアルタイムで決定することを可能にする一次元配置の検出器から読み出された強度データを直ちに処理するために使用される。他の新規なアプローチは、手動スライドスキャンの労働集約的な面を自動化するのに十分な光学解像度で顕微鏡スライド全体の大きな隣接画像を素早く組立てるために、一次元配置センサを使用することである。手動スライドスキャンの代替物として使用されるシステムを、デジタル画像処理方法とともに、人は好む。

10

20

30

40

【 0 0 1 2 】

顕微鏡スライドの手動スキャンに関係した他の共通の問題は、スライドの部分がスライドの x / y の手動スキャンの間に容易にミスすることである。特にスライドが顕微鏡から除去されたあと、前に同定したセルに再配置することは難しい。 x / y の手動スキャンの間にスライドのあらゆる領域をミスしないという問題は、 x / y 位置及び手動で調べられる物理的スライドの領域の滞留時間を記録する品質保証システムを位置エンコードし、このように失敗したか早く観察できるスライドの領域を強調表示することによって取り組まれている。米国特許 5 7 9 3 9 6 9 号（カメンツキ等）は、科学技術者によって再観察される Pap 汚れスライドの品質保証方法を説明している。この方法は、スライド再観察の間に科学技術者によって訪問された全てのフィールドの x / y ステージ座標を記録すること、及び、相対的スライド滞留時間の x / y 地図を作ることに基づいている。

【 0 0 1 3 】

顕微鏡スライド全体を素早くスキャンし且つデジタル化することのできる簡単で信頼性の高いシステムに対する明確な必要性が、存在する。スキャン及びデジタル化は、顕微鏡スライドのスキャン及びデジタル化に相当する光学解像度でなされるべきである。これにより、スライド全体を手動スキャンする代りに又はそれに加えて、デジタルイメージデータセットに画像処理アルゴリズムを適用することを可能にする。理想的には、そのようなシステムは、画像捕捉プロセスの間に手動をはさむことを要求するべきでない。そのようなシステムは、スライドが解剖学的基準情報を含むか否かにかかわらず、あらゆるタイプの顕微鏡試料に適するべきである。理想的には、そのようなシステムは、従来のシステムより低コストである。そのようなシステムは、従来の市販の顕微鏡の制限及び特有のコストによって制約されるべきでない。それは回折限界のデジタル画像の捕捉を可能にする光学設計を可能にする。本発明の第一の目的は、これらの必要性を解決し且つ関係する利点を与えることである。

【 発明の概要 】

【 0 0 1 4 】

本発明は、コンピュータ制御された顕微鏡スライドスキャナの部分である位置決めステージと同期した一次元配置検出器を用いて、顕微鏡試料全体、すなわち実質的に大部分の顕微鏡試料の迅速スキャン及びデジタル化を完全自動化するための装置及び方法を提供する。さらに、本発明は、試料の一連のスキャンから得られた画像ストリップを単一の連続したデジタル画像に組み立てる方法を提供する。さらに、本発明は、試料全体の低倍率のマクロ画像とともに、異なった倍率でこの大きなデジタル画像のサブ領域を静的に表示する

50

方法を提供する。さらに、本発明は、連続したデジタル画像の部分を、操作者の相互作用の有無で、動的に表示する方法を提供する。本発明の好ましい実施形態において、スキャナの全ての要素は、インターネットか又はローカルインターネットのようなネットワークへの第一の接続を有する単線で囲った部分である。この実施形態において、好ましい試料の形態は、顕微鏡スライドであり、照明及び結像光学系は、回折限界のデジタル結像を最適化する透過モード光学系と一致している。

【0015】

本発明を実行するためのベストモード

本発明の目的、利点、及び特徴は、添付図面とともに読むときに、以下の詳細な説明から容易に理解されるであろう。

10

【0016】

まず、図1を参照すると、本発明に係る光学顕微鏡システム10の好ましい実施形態のブロック図が示されている。システム10の心臓部は、試料又は試料12をスキャンし且つデジタル化する顕微鏡スライドスキャナ11である。試料12は、光学顕微鏡によって調べられるあらゆるものである。例えば、試料12は顕微鏡スライド又は光学顕微鏡によって調べられる他の試料タイプである。顕微鏡スライドが、組織や細胞、染色体、DNA、蛋白質、血液、骨髄、尿、バクテリア、ビーズ、生検材料、生きているか死んでいるか、汚れているか錆ていないか、標示付きか標示なしかである他のタイプの生物学的な材料又は物質を含む試料に対する観察基板としてしばしば使用される。試料12は、マイクロアレイとして良く知られた全ての試料を含む、DNA又は、cDNAかRNAかあらゆるタイプのスライド又は他の基板の上に堆積蛋白質のようなDNAに関連したあらゆるタイプの配置である。試料12はマイクロタイター板（例えば96ウェル板）であってもよい。試料12の他の具体例は、集積回路基板、電気泳動レコード、ペトリ皿、フィルム、半導体材料、法医学材料または機械加工部品を含んでいる。

20

【0017】

スキャナ11は、電動ステージ14、顕微鏡対物レンズ16、一次元スキャンカメラ18およびデータ処理装置20を含んでいる。試料12はスキャン用の電動ステージ14の上に配置される。電動ステージ14は、データ処理装置20に順番に接続されるステージコントローラ22に接続される。データ処理装置20は、ステージコントローラ22によって電動ステージ14上の試料12の位置を決定する。現在の好ましい実施形態では、電動ステージ14は、少なくとも試料12の平面にある2つの軸（x/y）にある試料12を動かす。光学のZ軸に沿った試料12の微小な動きは、スキャナ11の適用に、例えば焦点制御のために必要かもしれない。Z軸動きは、Polytec PIからのPIFOC、またはPiezosystem JenaからのMIPOS3のようなピエゾのポジショナー24で好ましくは達成される。ピエゾのポジショナー24は、顕微鏡対物レンズ16に直接に取り付けられ、データ処理装置20に接続され、且つ、ピエゾのコントローラ26によってデータ処理装置20によって監督される。粗い焦点調節を提供する手段も必要であってもよく、電動ステージ14または手動のラック・アンド・ピニオンの粗い焦点調節（示されない）の一部としてZ軸ムーブメントによって提供することができる。

30

【0018】

現在の好ましい実施形態では、電動ステージ14は、滑らかな運動および優れた直線および平面精度を提供するために、玉軸受一次元法を備えた高精度位置決めテーブルを含んでいる。例えば、電動ステージ14は、互いのトップに積み重ねられた2つのダエダル（Daedal）モデル106004テーブルを含む。他のタイプの電動ステージ14は、スキャナ11に適しており、玉軸受とは第二方法で積み重ねられた単一軸ステージ、中央が開いており試料の下からの透過照明に特に適している単一軸または複数軸の位置決めステージ、又は複数の試料を支持することのできる大きなステージを含んでいる。現在の好ましい実施形態では、電動ステージ14は2つの積み重ねられた単一の軸位置決めテーブルを含んでおり、各々は、2ミリメートルの親ネジおよびネマ（Nema）23ステッピングモータに連結されている。毎秒25回転という最大の親ネジ速度で、電動ステージ14

40

50

上の試料 1 2 の最大速度は、毎秒 5 0 ミリメートルである。大きな直径（例えば 5 ミリメートル）を備えた親ネジの選択は、最大速度を毎秒 1 0 0 ミリメートル以上に増加させることができる。電動ステージ 1 4 は、システムにかなり費用を加えるという欠点を有している機械的又は光学的位置エンコーダを具備することができる。従って、現在の好ましい実施形態は位置エンコーダを含んでいない。しかしながら、人がステッピングモータの代わりのサーボモータを用いるのであれば、人は適切なコントロールのために位置フィードバックを用いなければならないだろう。

【 0 0 1 9 】

データ処理装置 2 0 からの位置コマンドは、ステージコントローラ 2 2 における、モータ電流または電圧コマンドに変換される。現在の好ましい実施形態では、ステージコントローラ 2 2 は 2 軸のサーボ / ステッパーモーターコントローラ（Compumotor 6 K 2 ）および 2 つの 4 アンプのマイクロステッピング駆動装置（Compumotor OEMZL 4 ）を含んでいる。マイクロステッピングは、1.8 度の比較的大きな単一のモータ・ステップよりはるかに小さなインクリメントにおけるステッパーモーターを命令するための手段を備える。例えば、100 のマイクロステップでは、試料 1 2 は、0.1 マイクロメータと同じ小さなステップで移動することを命令することができる。25,000 のマイクロステップは、本発明の現在の好ましい実施形態で用いられる。また、より小さなステップサイズは可能である。電動ステージ 1 4 およびステージコントローラ 2 2 の最適な選択が、試料 1 2 の特性、試料をデジタル化するための所望時間、および試料 1 2 の得られたデジタル画像の所望の解像度を含む多くの要因に依存することは明らかに違いない。

【 0 0 2 0 】

顕微鏡対物レンズ 1 6 は一般に利用可能なあらゆる顕微鏡対物レンズであってもよい。当業者は、どの対物レンズを用いるべきかの選択が特別の状況に依存するだろうということを理解するだろう。本発明の好ましい実施形態では、顕微鏡対物レンズ 1 6 は無限修正タイプのものである。

【 0 0 2 1 】

試料 1 2 は、光源 3 0 及び照明光学系 3 0 を含んでいる照明システム 2 8 によって照明される。現在の好ましい実施形態における光源 3 0 は、フィルタ光出力を最大限にするための凹面反射鏡及び熱を抑える KG - 1 を備えた可変強度ハロゲン光源を含んでいる。しかしながら、光源 3 0 は、また他のタイプのアークランプ、レーザーまたは他の光源でりえる。現在の好ましい実施形態における照明光学系 3 2 は、光軸に直角な 2 つの結合した平面を備えた標準のケラー照明システムを含んでいる。照明光学系 3 2 は、カールツワイス、ニコン、オリンパスまたはライカのような会社によって販売された最も商業上利用可能な複数顕微鏡上で見つけることができる明視野照明光学系の代表である。1 セットの結合した面は、(i) 光源 3 0 によって照明されたフィールド絞り口径、(i i) 試料 1 2 の焦点面によって画定される対象面、および(i i i) 一次元スキャンカメラ 1 8 の光応答性要素を含む面を含んでいる。別の結合した平面は、(i) 光源 3 0 の一部であるバルブのフィラメント、(i i) 照明光学系 3 2 の一部であるコンデンサー光学系の前に配置されるコンデンサー絞りの口径、及び(i i i) 顕微鏡対物レンズ 1 6 の後ろの焦点面を、含んでいる。現在の好ましい実施形態では、試料 1 2 は、透過モードで照らされ且つ画像にされ、一次元スキャンカメラ 1 8 は、試料 1 2 によって放射される光学エネルギーか、反対に、試料 1 2 で吸収される光学エネルギーを感知する。

【 0 0 2 2 】

本発明のスキャナ 1 1 は、試料 1 2 から反射される光学エネルギーを検出するのに適している。その場合、光源 3 0 、照明光学系 3 2 および顕微鏡対物レンズ 1 6 は、反射画像との適合性に基づいて選択されなければならない。したがって、可能な一つの実施形態は、試料 1 2 の上に位置決めする光ファイバーバンドルによる照明であってもよい。他の可能性は、モノクロメータによってスペクトルで規定される励起を含んでいる。顕微鏡対物レンズ 1 6 が位相差顕微鏡の顕微鏡使用と互換性をもつために選択されているならば、照明

10

20

30

40

50

光学系 3 2 の一部であるコンデンサー光学系の少なくとも一つの位相停止の組み込みによって、スキャナ 1 1 が位相コントラスト顕微鏡に使用されることが可能になるだろう。当業者にとっては、微分干渉コントラスト及び共焦点顕微鏡のような他のタイプの顕微鏡に必要な修正は、容易に明白に違いない。全体として、スキャナ 1 1 は、適切であるがよく知られた修正で、光学顕微鏡のあらゆる既知のモードにおける微視的な試料の調査に適している。

【 0 0 2 3 】

顕微鏡対物レンズ 1 6 と一次元スキャンカメラ 1 8 との間に、一次元スキャンカメラ 1 8 の光応答性要素の上にある顕微鏡対物レンズ 1 6 によって捕えられた光学信号に焦点を合わせる一次元スキャンカメラ合焦点光学系 3 4 が位置している。現代の無限修正顕微鏡において、顕微鏡対物レンズと接眼レンズ光学との間に、または顕微鏡対物レンズと外部の画像ポートとの間にある合焦点光学系は、顕微鏡の観察チューブの一部であるチューブレンズとして知られている光学要素から成る。しばしば、コマまたは非点収差の導入を防ぐために、チューブレンズは複数の光学要素から成る。従来の有限の筒長光学系から無限修正光学系までの比較的最近の変化の動機の中の一つは、試料 1 2 からの光学エネルギーが平行である物理的なスペースを増加させることであり、この光学エネルギーの焦点ポイントが無限にあることを意味する。この場合、ダイクロイックミラーまたはフィルタのような付属要素は、光学パス倍率を変更せず、かつ、好ましくない光学人工品を導入せずに、無限スペースに挿入することができる。

10

【 0 0 2 4 】

無限修正の顕微鏡対物レンズは、無限マークを典型的に記入される。無限修正の顕微鏡対物レンズの倍率は、対物レンズの焦点距離で除せられたチューブレンズの焦点距離の商から与えられる。例えば、9ミリメートルの焦点距離を備えた対物レンズが用いられるならば、180ミリメートルの焦点距離を備えたチューブレンズは20×の倍率となるだろう。異なる顕微鏡メーカーによって製造された対物レンズが互換性をもたないという理由の一つは、チューブレンズ焦点距離における標準化がないためである。例えば、オリンパス(180ミリメートルのチューブレンズ焦点距離を用いる会社)からの20×対物レンズは、200ミリメートルの異なる筒長焦点距離に基づくニコン顕微鏡上で20×倍率を提供しないだろう。代わりに、20×が刻まれて、9ミリメートルの焦点距離を有しているオリンパス対物レンズの有効な倍率は、対物レンズの9ミリメートルの焦点距離で200ミリメートルのチューブレンズ焦点距離を割ることにより得られた22.2×になるだろう。顕微鏡を取り外さすことなく、従来の顕微鏡上のチューブレンズの変更は、事実上不可能である。チューブレンズは顕微鏡の重要な固定要素の一部である。異なるメーカーによって製造された対物レンズと顕微鏡との間の非互換性へのもう一つの寄与する要因は、接眼レンズ光学系、試料が観察される双眼鏡の設計である。ほとんどの光学系の補正は顕微鏡対物レンズにおいて設計されているが、ほとんどの顕微鏡ユーザは、最良の可視像を達成するために、その同じメーカーの顕微鏡対物レンズと一つのメーカーの双眼鏡光学系とを一致させることにある利益があると確信し続けている。

20

30

【 0 0 2 5 】

一次元スキャンカメラ合焦点光学系 3 4 は、機械的なチューブの内部にマウントされたチューブレンズ光学系を含んでいる。その好ましい実施形態において、スキャナ 1 1 が、従来の視覚観察用の双眼鏡または接眼レンズを欠いているので、対物レンズと双眼鏡との間の潜在的な非互換性という従来の顕微鏡によって受けられた問題は、直接除去される。当業者は、いかなる接眼レンズも有していないことによって、顕微鏡の接眼レンズとディスプレイモニタ上のデジタル画像との間の焦点面の同一を達成する問題も除去されることを同様に理解するであろう。スキャナ 1 1 が試料 1 2 の物理的な境界によってだけ実際に制限された観察フィールドを提供することにより、従来の顕微鏡の観察フィールド制限を克服するので、現在のスキャナ 1 1 によって提供されるような全デジタルの画像顕微鏡における倍率の重要性が制限されている。一旦、試料 1 2 の一部分がデジタル化されたならば、その倍率を増加させるために、試料 1 2 の画像に、電気的なズームとして知られた数倍の

40

50

電子倍率を適用することは簡単である。画像の倍率を電子的に増加させることは、画像を表示するために用いられるモニタ上にあるその画像サイズを増加させる効果を有する。あまりに大きな電子ズームが適用されるならば、ディスプレイモニタは拡大画像の部分だけを示すことができるだろう。しかしながら、まず第一にデジタル化されたオリジナルの光学信号になかった情報を表示するために電子倍率を用いることは可能ではない。スキャナ11の対物レンズの一つが高品質デジタル画像を提供することであるので、顕微鏡の接眼レンズによる視覚観察の代わりに、スキャナ11によって得られた画像の内容ができるだけ詳細な画像を含むことは重要である。解像度という用語はかかる画像詳細を記載するために典型的に用いられる。また、回折限界という用語は光学信号において利用可能な波長制限のある最大の空間の詳細を記載するために用いられる。スキャナ11は、チューブレンズ焦点距離の選択による回折限界のデジタル画像化を提供する。チューブレンズ焦点距離は、良く知られたナイキスト・サンプリング標準によれば、一次元スキャンカメラ18のような光を感知するカメラにおける個々の画素要素のサイズと、顕微鏡対物レンズ16の開口数とに一致する。倍率ではなく開口数が、顕微鏡対物レンズ16の解像度を制限する属性であることは有名である。

【0026】

具体例は、一次元スキャンカメラ合焦光学系34の一部であるチューブレンズ焦点距離の最適選択を図示するのを役立つであろう。前に説明した9ミリメートルの焦点距離を備えた20×顕微鏡対物レンズ16を再び考慮して、この対物レンズが0.50の開口数を有していると仮定すること。コンデンサーからの大幅な低下がないことを仮定すると、500ナノメーターの波長でのこの対物レンズの回折限界の解像力は、およそ0.6マイクロメータであり、よく知られたアッベ(Abbe)の関係を利用して得られる。一次元スキャンカメラ18が試料12の部分を検出するために用いられるとき仮定する。一次元スキャンカメラ18は、その好ましい実施形態において複数の14マイクロメータの2乗の画素を有する。サンプリング理論に従って、少なくとも2つのセンサ画素が最も小さな分解可能な空間の特徴に内在する必要がある。この場合、28マイクロメータで除されることにより得られて、46.7の倍率を達成するためにチューブレンズが選択されなければならない。それは0.6マイクロメータで除されることにより得られた2つの14マイクロメータの画素に一致する。最も小さな分解可能な特徴寸法である。したがって、最適のチューブレンズ光学の焦点距離は、約420ミリメートルであり、46.7×9とすることにより得られる。420ミリメートルの焦点距離を有するチューブレンズ光学系を備えた一次元スキャン合焦光学系34は、最良の可能な空間分解能を備えた画像を得ることができるであろう。20×対物レンズを用いて、顕微鏡で試料を観察することにより得られるであろうものに似ている。繰り返すために、スキャナ11は、高倍率の光学構成における従来の20×顕微鏡対物レンズ16を利用する。回折限界のデジタル画像を得るためにこの具体例では約47×である。より高い開口数(およそ0.75)を備えた従来の20×倍率対物レンズ16が用いられるならば、回折限界の画像のための必要なチューブレンズ光学倍率が約615ミリメートルである。68×の全体の光学倍率に対応する。同様に、20×対物レンズの開口数が0.3だけであるならば、最適のチューブレンズ光学倍率が約28×だけであろう。それは、およそ252ミリメートルのチューブレンズ光学焦点距離に相当する。一次元スキャンカメラ合焦光学系34はスキャナ11のモジュール要素であり、最適のデジタル画像化に必要なときに交換することができる。回折限界のデジタル画像化という利点は、例えば明視野顕微鏡への適用に特に重要な意義を持つ。明視野顕微鏡では、倍率の増加に伴う信号輝度の減少は、適切に設計された照明システム28の強度を増加させることにより、容易に補償される。

【0027】

ちょうど現在のスキャナ11に対して記載されているように、回折限界の画像化を達成するために、チューブレンズ倍率を有効に増加させる従来の顕微鏡に基づいたデジタル画像システムに、外部の倍率増加光学系を取り付けることは原則としては可能である。しかしながら、結果として生じる視野の減少は、受け入れがたいものであり、このアプローチを

10

20

30

40

50

非変実的にする。更に、顕微鏡の多くのユーザが、独力でこれらの技術を有効に使用するために典型的には回折限界の画像化の詳細に関して十分に理解しない。実際上、接眼レンズを通して見ることができるものに似ているものに観察フィールドのサイズを増加させることを試みるために、デジタルカメラは、倍率を減少するオプティカルカプラーを備えた顕微鏡ポートに取り付けられる。ゴールが回折限界のデジタル画像を得ることであるならば、非拡大光学系を加える標準的な行為は間違ったステップである。

【0028】

従来の顕微鏡では、異なる解像度および倍率で試料を観察するために、異なるパワー対物レンズが典型的に用いられている。標準顕微鏡は、5つの対物レンズを保持する対物レンズ取り付け台を有している。現在のスキャナ11のような全くデジタル画像システムでは、最も高い望ましい空間解像度に対応する開口数を備えた単一の顕微鏡対物レンズ16も必要性がある。スキャナ11の現在の好ましい実施形態は、一つだけの顕微鏡対物レンズ16を提供する。一旦、回折限界のデジタル画像がこの解像度で捕えられたならば、いかなる望ましい低い解像度および倍率でも画像情報を示すために、標準のデジタル画像処理技術を用いることは簡単である。

10

【0029】

スキャナ11の現在の好ましい実施形態は、一次元配列で整列された1024ピクセル(画素)を備えたダルサ・スパーク(Dalsa SPARK)の一次元スキャンカメラ18に基づく。各ピクセルは 14×14 マイクロメータの寸法を有している。あらゆる他のタイプの一次元配列は、カメラの一部としてパッケージにされたか、画像化電子モジュールに顧客注文で統合されているとしても、用いることができる。現在の好ましい実施形態における一次元配列は、8ビット量子化を有効に提供する。しかし、より高いかより低いレベルの量子化を提供する他の配列も用いられる。3チャネルの赤・緑・青(RGB)の色情報または時間遅れ積分(TDI)に基づいた代りの配列も用いられる。TDI配列は、試料の前の画像化領域からの強度データを合計して、積分ステージ数の平方根に比例しているSNRを増加させることにより、出力信号において実質的によりよい信号対雑音比(SNR)を提供する。TDI配列は、一次元配列の複数ステージを含むことができる。TDI配列は、24、32、48、64、96、またはそれより多くのステージで利用可能である。スキャナ11は、512ピクセルのもの、1024ピクセルのもの、4096ピクセルのものを含む様々なフォーマットで製造される一次元配列をサポートする。照明システム28および一次元スキャンカメラ合焦光学系34への適切であるがよく知られた修正が、大きな配列を提供するために必要とされるかもしれない。様々なピクセルサイズを備えた一次元配列もスキャナ11で用いることができる。あらゆるタイプの一次元スキャンカメラ18を選択するための顕著な要件は、高品質像を得るために、試料12のデジタル化の間に、試料12が一次元スキャンカメラ18に対して動くことができるということであり、先行技術で既知の従来の画像タイル化アプローチの静止の要件を克服する。

20

【0030】

一次元スキャンカメラ18の出力信号はデータ処理装置20に接続される。現在の好ましい実施形態におけるデータ処理装置20は、ビデオカードまたはフレーム取込み器のような少なくとも一つの信号デジタル化電子基板を支持するために、付随的な電子装置(例えばマザーボード)を備えた中央処理装置を含んでいる。現在の好ましい実施形態では、ビデオカードはEPIX PIXCILD24 PCIバスのビデオカードである。しかし、EPIX基板の代わりに用いることができる、様々なメーカーからの他の多くのタイプのビデオカードまたはフレーム取込み器がある。他の実施形態は、ビデオカードをすべて無視し、かつハードディスクのようなデータ記憶装置3にデータを直接格納するために、Firewireとして知られているIEEE 1394のようなインターフェースを用いる一次元スキャンカメラであってもよい。

30

【0031】

データ処理装置20も、データの短期間格納のためにランダムアクセス記憶装置(RAM)のようなメモリ36に接続され、長期的なデータ記憶のためにハードドライブのような

40

50

データ記憶装置38に接続される。さらに、データ処理装置20は、ローカル・エリア・ネットワーク(ＬＡＮ)のようなネットワーク42、広域ネットワーク(ＷＡＮ)、大都市圏ネットワーク(ＭＡＮ)、インターネット、エクストラネットまたはグローバルなインターネットに接続される通信ポート40に接続される。メモリ36およびデータ記憶装置38も互いに接続される。また、データ処理装置20は、一次元スキャンカメラ18およびステージコントローラ22のようなスキャナ11の重要な要素を制御するために、すなわち様々な画像処理機能、画像解析機能またはネットワーキングのために、計算機プログラムをソフトウェアの形で実行することができる。データ処理装置20は、Windows(登録商標)、Linux、OS/2、Mac OSおよびUnix(登録商標)のようなOSを含むあらゆるOSに基づくことができる。現在の好ましい実施形態では、データ処理装置20は、Windows NTというOSに基づいて作動する。

10

【0032】

データ処理装置20、メモリ36、データ記憶装置38および通信ポート40は、各々従来のコンピュータに見られる要素である。ある具体例は、Pentium(登録商標)III 500MHzのプロセッサおよびRAMの756メガバイト(MB)以内を特色とするデル・ディメンジョンXPS T500のようなパーソナルコンピュータである。現在の好ましい実施形態では、コンピュータ、データ処理装置20を含む要素、メモリ36、データ記憶装置38および通信ポート40は、すべてスキャナ11に内部にある。その結果、システム10の他の要素に対するスキャナ11の接続部だけが、通信ポート40である。スキャナ11の他の実施形態では、コンピュータ要素は、コンピュータ要素とスキャナ11との間で対応する接続を備えたスキャナ11の外部にある。

20

【0033】

スキャナ11は、本発明の現在好ましい実施形態では、光学顕微鏡による検査、デジタル画像化、電動試料の位置決め、計算、及び単一のカバーのユニットにネットワークベースの通信を行なうことを統合する。データの入出力の検出部と同じ通信ポート40を備えた単一のカバーのユニットのようなスキャナ11をパッケージすることの主な利点は、複雑さを減らし、信頼性を高めることである。スキャナ11の様々な要素は、従来の顕微鏡ベースの画像システムと対比して、ともに機能するように最適化される。従来の顕微鏡ベースの画像システムでは、顕微鏡、光源、電動ステージ、カメラおよびコンピュータが異なるベンダーによって典型的に提供され、多くの組み込みおよびメンテナンスを必要とする。

30

【0034】

通信ポート40は、システム10の他の要素との迅速な通信手段を提供し、ネットワーク42を含む。通信ポート40用の現在の好ましい通信プロトコルは、伝送制御およびインターネットワーキング用のTCP/IPプロトコルと一緒に、イーサーネットのようなキャリヤーセンスの共同利用の競合検出プロトコルである。スキャナ11は、あらゆるタイプのトランスマッショング媒体で作動することを意図しており、広帯域、ベースバンド、同軸ケーブル、撲線対、光ファイバー、DSLまたはワイヤレスを含んでいる。

30

【0035】

現在の好ましい実施形態では、スキャナ11のコントロール、およびスキャナ11によって捕えられた画像データの再検討は、ネットワーク42に接続されるコンピュータ44上で行なわれる。オペレータに画像情報を提供するために、コンピュータ44は、その現在の好ましい実施形態では、ディスプレイモニタ46に接続される。複数のコンピュータ44は、ネットワーク42に接続される。現在の好ましい実施形態では、コンピュータ44は、AOLからのネットスケープ・コミュニュケータ又はマイクロソフトからのインターネット・エキスプローラーのようなネットワーク・ブラウザを用いて、スキャナ11と通信する。画像は、最も商用ブラウザに既に組み込まれる標準的な画像圧縮方法と互換性がある画像フォーマットであるJPEGのような共通の圧縮形式でスキャナ11に格納される。他の標準または非標準か、損失があるか、損失がないか、画像の圧縮フォーマットは作動するだろう。現在の好ましい実施形態では、スキャナ11は、スキャナ11から

40

50

コンピュータ44へ送られるウェブページに基づくオペレータ・インターフェースを提供するウェブサーバーである。画像データの動的な再調査のために、スキャナ11の現在の好みの実施形態は、マイクロソフトからのメディア・プレイヤー、アップルコンピュータからのクイックタイム、あるいはリアルネットワークからのリアルプレイヤーのようなソフトウェアパッケージと互換性のある標準的な複数フレームのブラウザを用いて、コンピュータ44に接続されたディスプレイモニタ46についての再調査のために、画像データの複数フレームを再生することに基づいている。現在の好みの実施形態では、コンピュータ44上のブラウザは、伝送制御のためのTCPと一緒に、ハイパーテキスト・トランスミッション・プロトコル(`http`)を用いる。

【0036】

10

スキャナ11がコンピュータ44または複数のコンピュータと通信することのできる、様々な手段およびプロトコルが現在及び将来に存在するであろう。現在の好みの実施形態は、標準的な手段およびプロトコルに基づいているが、アプレットとして知られている一つまたは複数のカスタマイズされたソフトウェア・モジュールを開発する方法が、実現可能であり、スキャナ11の選択された将来の適用に好みの。さらに、コンピュータ44は、パーソナルコンピュータ(PC)のような特定の型式であること、デルのようなあらゆる特定の会社によって製造されたものであるという制約はない。標準化された通信ポート40の利点の一つは、共通ネットワークブラウザ・ソフトウェアを操作するあらゆるタイプのコンピュータ44がスキャナ11と通信することができるということである。

【0037】

20

人が望むならば、スペクトルで分解された画像を得ることは、スキャナ11にある修正を行なうことできである。スペクトルで分解された画像は、スペクトルの情報がすべての画像ピクセルで測定される画像である。スキャナ11の一次元スキャンカメラ18を、光学スリットおよび画像分光器に置換することにより、スペクトルで分解された画像が得られる。画像分光器は、検出器の行のそれぞれに沿って光学スリットに合焦される光学信号を分散させるためにプリズムまたは回折格子を用いることにより、画像ピクセルのカラム用の波長に特有の強度データを捕らえるために、二次元のCCD検出器を用いる。

【0038】

30

さて図2を参照すると、本発明に係る光学顕微鏡による検査システム10の別の実施形態のプロック図が示される。このシステム10では、スキャナ11は、図1で示される現在の好みの実施形態より、複雑で高価である。示されるスキャナ11の追加の属性は、必ずしも、正確に機能するあらゆる他の実施形態に存在している必要はない。図2は、スキャナ11に組み入れることができた追加の特徴および能力の合理的な具体例を提供することを意図している。

【0039】

40

図2の他の実施形態は、図1の現在の好みの実施形態より大幅に自動化されたものを提供する。照明システム28のより完全なレベルの自動化は、データ処理装置20と光源30および照明システム28の照明光学系32との間での接続によって達成される。光源30への接続は、光源30の強度を制御するために、開いているか閉じたループのように、電圧又は電流を制御する。現在の好みの実施形態では、光源30がハロゲン・バルブであることを思い出すこと。データ処理装置20と照明光学系32との接続は、最適のケラー照明が維持されることを保証する手段を提供するために、フィールド絞り口径およびコンデンサー絞りの閉ループ制御を設ける。

【0040】

50

蛍光画像にスキャナ11を使用することは、光源30、照明光学系32および顕微鏡対物レンズ16に対して容易に認識された修正を必要とする。図2の第二の実施形態は、また励起フィルタ、二色フィルタおよびバリアーフィルタを含む蛍光フィルタ立方体50を提供する。蛍光フィルタ立方体50は、一次元スキャンカメラ合焦光学系34と顕微鏡対物レンズ16との間に存在する無限修正ビーム・パスに位置決めされる。入手可能な様々な蛍光性染料またはナノクリスタルに適切なスペクトルの励起を提供するために、蛍光画像

に関する一つの実施形態は、照明光学系 3 2 にフィルタ・ホイールまたはチューナブルフィルターの追加を含むことができる。

【 0 0 4 1 】

画像化パスに少なくとも一つのビームスプリッター 5 2 を追加することによって、光学信号が少なくとも 2 つのパスに分割される。前に説明したように、一次元スキャンカメラ 1 8 による回折限界画像化を可能にするために、主要なパスは一次元スキャンカメラ合焦光学系 3 4 を経由する。第二のパスは、二次元スキャンカメラ 5 6 によって画像化するために二次元スキャンカメラ合焦光学系 5 4 を経由して提供される。これらの 2 つの合焦光学系の適切な選択が、異なるピクセルサイズを有している 2 つのカメラ・センサによる回折限界画像化を保証できることは、明白である。二次元スキャンカメラ 5 6 は、現在利用可能な多くのタイプの一つであり、単純なカラー・ビデオカメラ、高機能で冷却された C C D カメラ、または可変積分時間の速いフレーム・カメラを含む。二次元スキャンカメラ 5 6 はデータ処理装置 2 0 に接続される。2 つのカメラ、例えば、一次元スキャンカメラ 1 8 および二次元スキャンカメラ 5 6 が用いられるならば、両方のカメラ・タイプは、単一の二つの機能を兼ねたビデオカード、2 つの異なるビデオカードまたは I E E E 1 3 9 4 の Firewire インタフェースのいずれかを用いて、データ処理装置に接続される。その場合には、一つまたは両方のビデオカードは必要ではないかもしれない。また、データ処理装置 2 0 に画像化センサを接続するという他の関連した方法が、利用可能である。

10

【 0 0 4 2 】

スキャナ 1 1 はネットワーク 4 2 を介してコンピュータ 4 4 に接続されが、例えばネットワーク 4 2 のない場合がある。ディスプレイモニタ 5 8 のようなローカルの出力装置にスキャナ 1 1 を直接に接続することができ、またスキャナ 1 1 のデータ処理装置 2 0 に直接に接続されるキーボードとマウスの 6 0 のようなローカルの入力装置を設けることは、有益である。この場合には、適切なドライバ・ソフトウェアおよびハードウェアが同様に提供されなければならないだろう。

20

【 0 0 4 3 】

図 2 で示される第二の実施形態は、大幅に自動化された画像化性能を備える。スキャナ 1 1 の画像化が増強された自動化は、オートフォーカスというよく知られた方法を用いて、ピエゾのポジショナー 2 4 、ピエゾのコントローラ 2 6 およびデータ処理装置 2 0 を含む閉焦点制御ループにより達成される。第二の実施形態は、いくつかの対物レンズを提供するために電動の前金具 6 2 に備える。電動の前金具 6 2 は、データ処理装置 2 0 に接続され、前金具コントローラ 6 4 を通じてデータ処理装置 2 0 で監督される。

30

【 0 0 4 4 】

組込まれるスキャナ 1 1 の他の特徴および能力がある。例えば、試料 1 2 の x / y 平面において実質的に静止している顕微鏡対物レンズ 1 6 に関して試料 1 2 をスキャンする過程は、静止している試料 1 2 に関して顕微鏡対物レンズ 1 6 のスキャンすることを含むように修正される。試料 1 2 をスキャンすること、顕微鏡対物レンズ 1 6 をスキャンすること、又は試料 1 2 および顕微鏡対物レンズ 1 6 の両方を同時にスキャンすることは、前に説明したのと同様に試料 1 2 の大きな連続したデジタル画像を提供することができるスキャナ 1 1 の予定された実施形態である。

40

【 0 0 4 5 】

スキャナ 1 1 は、多くのタイプの顕微鏡ベースの分析を自動化するための汎用プラットフォームを提供する。レーザー励起で試料 1 2 をスキャンすることを可能にするために、従来のハロゲン・ランプまたはアークランプからレーザーベースの照明システムに照明システム 2 8 を修正することができる。一次元スキャンカメラ 1 8 または二次元スキャンカメラ 5 6 に加えて又はその代わりに、光電子増倍管または他の非画像検出器の組み込みを含む修正が、試料 1 2 を備えたレーザー・エネルギーの相互作用から生じた光学信号を検出する手段を提供するために用いられる。

【 0 0 4 6 】

50

図3A～3Cを参照すると、連続した画像ストリップが本発明に係る一次元配列検出器によって得られる方法が示される。図1の一次元スキャンカメラ18は、図3Aに示されるような一次元スキャンカメラ観察フィールド70を観察する。一次元スキャンカメラ観察フィールド70は、図3Bに示されるような一次元配列74に一次元で整列される多くの個々のピクセル要素72によって画像化されている図1の試料12の領域を含む。現在の好ましい実施形態の一次元配列74は、1024の個々のピクセル要素72を備え、ピクセル要素72のそれぞれは、 1.4×1.4 マイクロメータである。現在の好ましい実施形態の一次元配列74の物理的な寸法は、 1.4×3.4 ミリメートル $\times 1.4$ マイクロメータである。スキャナ11の操作を説明するために、試料12と一次元スキャンカメラ18との間の倍率が10であると仮定すると、一次元スキャンカメラ観察フィールド70は、 1.4 マイクロメータ $\times 1.4$ ミリメートルと等しい寸法の試料12の領域に相当する。各ピクセル要素72は、約 1.4 マイクロメータ $\times 1.4$ マイクロメータの領域を画像化する。

10

20

30

40

50

【0047】

試料12をデジタルスキャンする間に、第一の画像ストリップ78から始まって、第二の画像ストリップ80が続いて、画像76をデジタル化するのに必要な最後の画像ストリップ82が得られるまで、画像ストリップ77のような画像ストリップで画像76が得られることを、図3Cは図示する。当業者は、スキャンが、頂部から底部に又は底部から頂部になされるか、試料上のいかなるポイントでスタートしてもよいことを理解するだろう。デジタルスキャンは、水平の画像ストリップよりも垂直の画像ストリップを含む。望ましいが、連続したやり方で画像ストリップを得る必要はない。画像76は試料12の全体または試料12の部分だけを含むことができる。スキャナ11の現在の好ましい実施形態では、図3Aに示されるように、スキャン及びデジタル化は、画像ストリップを交互にする進行方向84へ行なわれる。この種の双方向スキャンは、単一方向のスキャンより迅速なデジタル化プロセスを備え、スキャン及びデジタル化の方法は各画像ストリップの同じ進行方向84を必要とする。

【0048】

一次元スキャンカメラ18の能力は、スキャナ11の現在の好ましい実施形態と同様に、スキャンが二方向に行われるか、単一方向に行なわれるかを典型的に決める。単一方向のシステムは、しばしば、図3Bに示される3つのチャネル・カラー配列86またはマルチチャネルTDI配列88のような一つ以上の一次元配列74を含む。カラー配列86は、カラー画像を得るために必要なRGB強度を検出する。カラー情報を得るために他の実施形態は、3つのカラー・チャネルに広帯域の光学信号を分割するためのプリズムを用いる。速いデータ速度を維持している間、およびデジタル画像データの信号対雑音比の大きなロスなしで、一次元スキャンカメラ18の有効な積分時間を増加させる手段を提供するために、他の実施形態のスキャナ11において、TDI配列88が用いられる。

【0049】

図4を参照すると、本発明に係る光学顕微鏡による検査システム10の操作の単純化されたフローチャートが示されている。試料12はステップ200でスキャナ11に装填される。試料装填の最も単純な方法は、オペレータが電動ステージ14に物理的に試料12を置くか位置決めすることである。試料装填の最も高度な方法は、スキャナ11が、前に装填された試料カセットから一つ、または複数の試料12を自動的に装填することである。試料装填の他の実施形態は、従来技術で知られている。本発明の現在の好ましい実施形態では、試料装填は、システム費用および機械的な複雑さを減じるために手動で行なわれる。

【0050】

スキャナ11は、コンピュータ44から、または同様にスキャナ11の他の実施形態の一部であるボタンから出された命令によって、ステップ201で初期化される。デジタル化プロセスの所望の解像度、画像76を作成するためにデジタル化される試料12の部分、および関係したキャリブレーションファイルの名前を含む初期設定パラメータは、ステッ

201でオペレータによって入力される。もし他に指示されないならば、スキャナ11は、試料全体をデジタル化することを失敗する。試料を装填し、スキャナを初期化した後、以下の画像収集プロセスにおいてオペレータの手動の介入が不要であることに注目することは重要である。

【0051】

試料12を画像76に自動スキャンおよびデジタル化することは、ステップ202～210を含んでいる。これらのステップは、一度に一次元スキャンカメラ18から1ラインまたは画像ストリップで画像データの読み出しを同期させるデータ処理装置20によって結集されるが、試料12が、ステージコントローラ22で制御されている電動ステージ14で実質的に一定速度で移動されている。スキャナ11は、ステップ202で試料12の自動デジタル化を開始して、試料12の移動と、一次元スキャンカメラ18からの単一のライン画像の収集を行なう。試料12の予め決められた領域、例えば、図3Cで示されるように試料12の左上側のコーナーにおいてスタートする。ステップ202において、電動ステージ14は、前に説明した双方向すなわち前後に、一次元スキャンカメラ18に関して移動される。ステップ204の決定ブロックの制御ロジックは、画像ストリップ77のような画像ストリップの端が到達したかどうかを決定する。位置エンコーダからの位置フィードバックなしでこのロジックを実行する多くの可能な方法がある。例えば、一次元スキャンカメラ18によって読み取られた画像ラインの全数は、画像ストリップの端が到達したときを知る手段として用いられる。合計の経過したスキャン時間や、試料18の部分であるかまたは試料18に隣接して位置決めされたキャリブレーションマークのような他のパラメータが使用される。新しいスキャンのために電動ステージ14の位置をえる時間を示すために、光学リミットスイッチは、スキャナ11の現在の好ましい実施形態の電動ステージ14に設けられる。画像ストリップ77の端がステップ204に達していなければ、デジタル化プロセスは、ステップ202で、次のライン画像の収集を継続する。試料12は、デジタル化プロセスの間、略一定速度で移動し続ける。そして、いかなる必要な焦点調整も、ステップ206で示されるように機械的なステージ14の継続的な運動と並行して行なわれる。焦点が一つの画像ストリップから次のものに劇的に変わらないので、焦点調整は比較的ゆっくり且つ徐々に行われる。スキャナ11の操作の説明のために、10×の倍率でデジタル化される試料12の領域は、50ミリメートル×25ミリメートルであることを再び仮定すると、画像ストリップ77に似て、18個の画像ストリップ（各々が1.43ミリメートル×50ミリメートルの寸法である）が、画像76を生成するために得なければならない。各画像ストリップ77は、約36,000×18,000ピクセルを含み、全ての画像76は、約36,000×1024ピクセルの要素を含むだろう。画像76を作成するために試料12の所望部分をデジタル化するプロセスが終了しないならばおよびそのプロセスが終了するまで、ステップ208の決定ロジックによって決定されるように、新しいスキャンのための試料12の位置調整がステップ210で起こる。ステップ210は、新しいスキャン用の電動ステージ14を位置決めするために、ある画像ストリップから他の画像ストリップまで電動ステージ14を動かすことを含んでいる。

【0052】

画像76を得るのに必要な合計時間は、一次元スキャンカメラ18が情報をデジタル化することができるライン速度に比例する。スキャナ11の現在の好ましい実施形態では、ライン速度は、用いられるDALSA SPARKモデルSP12-01K30では、毎秒27,600ラインであるか、または毎秒2830万個のピクセルである。毎秒27,600ピクセルのライン速度で、説明のために36,000×1024ピクセルを含む各画像ストリップ77は、約1.3秒（36,000/27,600）でデジタル化することができる。現在の実施形態における電動ステージ14は、X軸に沿って毎秒約38ミリメートルで移動して、これらの1.3秒の間に50ミリメートルの画像ストリップ77の全長をカバーする。画像76が18の画像ストリップ77を含むので、試料12の所望の部分をデジタル化するために、23.4秒が必要である。前に説明したように、本発明の好

10

20

30

40

50

ましい実施形態で用いられているように、この時間は双方向の一次元スキャンカメラだけに有効である。一次元スキャンカメラは、X軸に沿った右から左まで、また左から右までスキャンすることができる。他の実施形態は、左からだけ右までスキャンすることができる、単一方向タイプの一次元スキャンカメラを利用することができます。この場合、電動ステージ14は、最大のステージ速度で、X軸に沿って同じ左基準位置に戻される。また、画像ストリップ77のような画像ストリップはすべて、左から右まで行く単一方向の方法で得られる。画像ストリップ77のような個々の画像ストリップのデジタル化を完成した後に、電動ステージ14は、減速し、停止して、Y軸に沿って下降し、次の画像ストリップをスキャンするために再び加速する。スキャンおよびデジタル化プロセスの間に電動ステージ14が実質的に一定速度で確実に移動するために、電動ステージ14が、スキャンされる各画像ストリップの始めと終わりで加速し減速することを時間及び距離において許容しなければならない。加速及び減速のために必要な付加的な時間は、電動ステージ14のX軸性能およびステージコントローラ22のX軸属性に依存する。現在の好ましい実施形態では、滑らかな運動および最小のピックとした動きのために5字カーブプロファイルを用いると、加速および減速時間は、およそ0.7秒である。電動ステージ14の加速及び減速を考慮すると、ステップ210を含む新しいスキャンセット・アップの間に、一次元スキャンカメラ18がデジタル化されることになっている試料12の部分のエッジから移動することが必要である。新しいスキャン準備時間は、電動ステージ14の特別なY軸性能およびステージコントローラ22のY軸属性に依存し、発明の現在好ましい実施形態ではおよそ半分である。このように、18画像ストリップ×1.4秒によって得られた合計時間の25.2秒は、各画像ストリップの始めおよび終わりでX軸に沿って加速及び減速のために加えられる。また、さらに9秒が、次のスキャンのためにY軸に沿ってモーター駆動された位置を変えるために付け加えられる。したがって、現在の具体例で画像76を捕らえるのに必要なプロセスのすべての部分のために必要な合計処理時間は、双方向スキャン実施形態では約1分である。

【0053】

スキャナ11をさらに最適化すると、画像76の収集時間の合計がさらに最小化される。スキャナ11によって達成することができる画像収集時間は、一次元スキャンカメラ18のライン速度に部分的に依存する。現在の具体例の毎秒27,600ラインのライン速度では、各ライン画像が約0.04ミリ秒で捕えられる。50ワットのバルブを含む光源からの照明は、一次元スキャンカメラ上の十分な信号対雑音比で信号を登録するための十分な光を提供する。速い読み出し速度で、1ライン当たりの露光時間が減じられる。また、スキャナ11の照明システム28への改良および増強が必要かもしれない。同様に、光、例えば、蛍光がほとんど利用されないスキャナ11の適用では、有効なライン積分時間が増加しなければならない。T D Iタイプの一次元スキャンカメラは、画像データの信号対雑音比の大きなロスなしで、速いデータ読み出しを維持する間に有効な積分時間を増加させる優れた手段を備える。

【0054】

速い一次元スキャンカメラは商業上利用可能で、速い電動ステージと同期することができます。代わりに、一次元配列74のような一次元配列（1024を越えるピクセル要素72を備える）の選択が、画像76を捕らえるためにスキャンされなければならない画像ストリップ数が減じられ、少数の加速及び減速のサイクルを必要とする。2048以上のピクセルを含む配列は、しばしば1024のピクセルを備えた配列より小さな比例したライン速度を有している。ライン積分時間を増加させる間に、画像捕捉時間の合計の減らすことなく、大きな配列の減少したライン速度は、電動ステージ14によって必要とされた最高速度を減じる2重の利益を有している。大きなフォーマット一次元配列の欠点は、大きくて高価な光学系および照明システムが、口径食および他の光学収差なしに、高品質の光学信号を備えることを必要とすることである。画像収集時間全体を減らすために複数のセンサを用いることは可能である。

【0055】

10

20

30

40

50

スキャナ 11 は、その現在の好ましい実施形態において、動的なオートフォーカスのコストおよび複雑さを除去するか最小化するために比較的大きな被写界深度を有する顕微鏡対物レンズを用いて、試料のデジタル化を行なう。0.15 の開口数 (NA) を備えた対物レンズの理論的な被写界深度は、20 マイクロメータ以上である。被写界深度は、0.3 に等しい NA で約 5 マイクロメータに低下し、0.5 に等しい NA で約 1.8 マイクロメータに下がる。適度な開口数を備えた対物レンズを用いるときでさえ、適用に依存して、試料全体または試料 12 の部分は、焦点面を調節する必要がなく、スキャンされる。相対的に低い NA の対物レンズの選択は、試料 12 の広範囲な手動スキャンへの補助としてそれが用いられるスキャナ 11 の一つの適用と一致している。典型的には、かかる従来の手動スキャンは、低い開口数および低い倍率で行なわれる。試料 12 の画像 76 は、このように、試料 12 の選択された領域の高い解像度調査のための基礎としてコスト効率良く用いることができる。ステップ 220 を含む決定ロジックに基づいて、ステップ 222 で示された従来の光学顕微鏡またはステップ 224 で示されたスキャナ 11 の高解像度の実施形態のいずれかは、試料 12 の高解像度再調査のために用いられる。後者の場合では、動的なオートフォーカスが必要かもしれない。現在利用可能な計算能力を用いて、顕微鏡スライドのように試料 12 の全体、または試料 12 の大部分の高解像度デジタル化は実際的でないかもしれないし、コスト効率が良くないかもしれない。しかしながら、データ処理、メモリおよびデータ記憶装置の将来のコスト低減及び改良が、高解像度の迅速なデジタル化を現実のものにすると予想される。

10

20

30

40

50

【0056】

スキャン中に合焦することの必要性は、ステップ 206 で示されており、スキャナ 11 の特別な用途に非常に依存する。スキャナ 11 はキャリブレーション方法を用い、その方法では、予め決められる形およびサイズの標準化キャリブレーション試料がデジタル化される。また、最良の焦点は、従来技術でよく知られた方法を用いて、電動ステージ 14 の x / y 位置の関数として決定される。スキャンおよびデジタル化プロセスの間に、顕微鏡対物レンズ 16 の位置は、この x / y 焦点地図に従って移動される。オートフォーカスにする様々な方法が、試料 12 に関して顕微鏡対物レンズ 16 の相対的な位置を変更するために用いられる従来技術において知られている。本発明の現在の好ましい方法は、その代りに、商業上利用可能なピエゾのポジショナー 24 を用いて、顕微鏡対物レンズ 16 を移動させることであるが、電動ステージ 14 の垂直 z 軸成分はオートフォーカスのために使用される。顕微鏡対物レンズ 16 に付けられる、ピエゾのポジショナー 24 の総範囲が、比較的小さく、典型的に 100 マイクロメータであり、ピエゾの帯域幅は重い電動ステージのそれより高い。高いピエゾの帯域幅（典型的に 150 ヘルツ）は堅い機械的なステージより望ましく、小さな焦点変化に関係した振動を最小限にする。

【0057】

スキャナ 11 の利点の一つは、試料 12 を労働集約的に手動スキャンすることと比較すると、効率的に処理してコストを低減することができる画像 76 を提供するために、試料 12 の大部分の迅速なデジタル化である。これと一致して、スキャナ 11 は、その最も基礎的な実施形態において、いくつかの従来の画像システムで見られる動的なオートフォーカスの複雑さを必要としない。x / y 位置の関数として最良の焦点の予備スキャンすることおよびマッピングすることは、ほとんどの用途に適切な焦点を提供する。スキャナ 11 の代替物だが高価な実施形態は、二次元スキャンカメラ 56 のような付随的な二次元スキャンカメラを用いて、広範囲なオートフォーカス能力を提供する。オートフォーカスにするための空間情報が試料 12 の一部（例えばキャリブレーションマークを備えたガラス顕微鏡スライド）である高度なキャリブレーション方法も、可能である。

【0058】

画像 76 の全体的性能は、試料 12 が実質的に一定速度で移動されるという能力と関係している。一次元スキャンカメラ 18 と電動ステージ 14 との間の同期が十分に維持されないならば、画像ゆがみに導くサンプリング誤差が起こる。適用および画像解像度の必要性によって、スキャナ 11 は、試料動きと同期してデータを捕らえるために異なる方法を支

持する。既知の形のキャリブレーションターゲット（例えば顕微鏡スライド上のR o n c h i 署線）を予備スキャンすることは、スキャナ11が一定の試料速度を達成する一つの手段である。電動ステージ14へ送られる位置コマンドの両方の時間プロフィールを制御し、かつ一次元スキャンカメラ18のライン・データ読み出し速度を動的に変更するための機能が、データ処理装置20に設けられる。電動ステージ14での大多数の速度関係誤差が再生できるので、位置プロフィールの最適化または一次元スキャンカメラ18の読み出し速度の最適化は、キャリブレーションスキャンの間の最適画像を得るために、試料12がスキャンされデジタル化されるときに、優れた画像を提供するのに十分である。高解像度画像をデジタル化するのに適したスキャナ11の他の実施形態は、電動ステージ14からの位置フィードバックを利用する。スキャナ11の現在の好ましい実施形態は、高価な位置エンコーダからのフィードバックを必要としないで、キャリブレーションターゲットに適用されたキャリブレーション方法を用いて、低くて適度な解像度で高品質画像を生成することができる。

【0059】

具体例として前に説明した36,000×18,000ピクセルの画像がピクセル当たりの8ビット（1バイト）の量子化で捕えられると仮定すると、RAMの6億4800万バイト（メガバイトまたはMB）は、メモリ36におけるそれらの非圧縮の生のフォーマットにおいて全ての画像ストリップ77の全てのデータを蓄えるために必要とされる。複数の画像ストリップ77がステップ212の間に画像76に組み入れられる。試料12のデジタル化の間に収集した、複数の画像ストリップ77からの画像を組み立てる多くの可能な方法がある。本発明の現在の好ましい実施形態の画像組立方法は、わずかに画像ストリップ77をオーバーラップさせる、例えば10～20画素だけ重ならせるために、かつ連続した画像76に画像ストリップ77のx/yアラインメントを微調整するために重なるピクセルを用いるために、試料12をスキャンすることである。JPEGまたは他の画像の圧縮方法を用いると、多くの場合、特別な適用によって必要とされた情報量のかなりのロスをすることなく、画像76のデータサイズ、すなわち個々の画像ストリップ77のサイズは、それらの元のサイズの5～10パーセント以下に減らされる。スキャナ11は、意味のある画像データを含んでいない空の領域を画像76から除去することができ、画像76のデータ記憶要件をさらに減じる。

【0060】

試料12を大きな連続した画像76にデジタル化する動機の一つは、典型的に、従来の光学顕微鏡下で試料12を手動スキャンするために用いられる適度な低い光学解像度で、得られた画像データに特定の計算機プログラムを適用することができるることである。ステップ214において、試料12のデジタル化された部分を示す画像76の分析は、画像76の中の特定のタイプの対象物（例えば、正常か異常な細胞）を同定したり場所を見つける形態的アルゴリズムの適用のような様々な方法を含む。分析方法関数の他の具体例は、計数又は測定のアルゴリズム、または画像76での欠陥を同定するために比較または品質保証のアルゴリズム、または既に測定された同様の画像を画像76と区別するために他のタイプのアルゴリズムを含む。一旦、試料12の画像のデジタル化が完成したならば、ステップ214を含む分析法が試料12が物理的に存在するか又は利用可能であることを必要としないことは明らかに違いない。ステップ214の方法は、自動的に適用することができるか、または反復プロセスの一部としてネットワーク42によってスキャナ11に接続されるコンピュータモニタ46上で、ステップ216で示されるような画像76を対話式に精査するオペレータを含むことができる。

【0061】

試料12の選択された領域の高解像度調査のためにリターン決定は、画像76から得られた情報（例えば、ステップ214および216において画像76の分析から得られた対象座標）を用いて、ステップ218の一部として行なわれる。ステップ218での決定ロジックが試料12に分析を返さないならば、オペレータの仕事が完了している。オペレータがステップ218の一部として試料12に戻すことを望むならば、ステップ220の決定

10

20

30

40

50

ロジックは、ステップ 222 で示されるように高解像度調査が従来の光学顕微鏡上で行なわれるか、ステップ 224 によりスキャナ 11 を用いるかを決める。低い解像度から画像 76 の適度な解像度分析まで得られた座標情報が、従来の顕微鏡上の試料 12 の高解像度調査をガイドするのに十分であることは理解されるべきである。スキャナ 11 を用いる試料 12 の高解像度調査は、ステップ 224 を含み、図 2 の他の実施形態の前に記載された特徴の多くを用いて、スキャナ 11 を遠隔制御する能力を含んでいる。例えば、ピエゾのポジショナー 24 の位置と同様に、電動ステージ 14 の位置および光源 30 の照明強度も、ステップ 224 の間にオペレータの遠隔制御下にあってもよい。例えば二次元スキャンカメラ 56 からのリアルタイムの画像は、試料 12 からのデジタル化された情報ではなくこの再調査に基づいている。その代わりに、オペレータは、一次元スキャンカメラ 18 または二次元スキャンカメラ 56 のいずれかを用いて、高解像度でデジタル化される試料 12 の小さな部分を選択してもよい。前の場合では、プロセスは、試料 12 のデジタル化を含むステップ 210 からステップ 202 に戻り、次に、ステップ 224 に直接戻る。デジタル化される試料 12 の部分のサイズと、利用される顕微鏡対物レンズ 16 の被写界深度とに基づいたオートフォーカスが、必要なときに利用されるだろう。

【0062】

図 5A 及び 5B を参照すると、本発明に係る画像観察フレーム 100 の模式図が示されており、それは、ステップ 216 により画像 76 の対話式調査のためにディスプレイモニタ 46 に画像 76 を表示するために、グラフィカル・ユーザー・インターフェースの一つの実施形態を表わす。約 $36,000 \times 18,000$ ピクセル以上のオーダーである画像 76 のディスプレイは、先の具体例で記述された画像 76 のような、ディスプレイモニタ 46 のような従来のモニタまたは表示装置上では不可能である。19インチの日立 CM751 モニタのような現在利用可能なモニタの最大数のピクセルは、約 1600×1200 ピクセルであり、典型的には 1024×768 ピクセルである。したがって、画像 76 の部分だけは、画像 76 の全体の十分な解像度でいつでも表示することができる。しかしながら、マクロ画像 102 (それは、画像 76 の部分に相当する高解像度ズーム画像 104 とともに、ディスプレイモニタ 46 の画像 76 の低解像度バージョンである) を表示することは可能である。ズーム画像 104 において表示されるマクロ画像 102 の領域は、オペレータによってマクロ画像 102 全体に関して対話式に大きさが合わせられ移動することができるズーム領域 106 としてマクロ画像 102 それ自体の上に示される。その最も単純な実施形態では、ズーム領域 106 は固定の長方形の領域であるが、手動で描かれた領域を含む他のアイコンまたは形状を実行することができる。ズーム領域 106 は、マクロ画像 102 とズーム画像 104 との間の重要な基準を備える。マクロ画像 102 の拡大された観察フィールドが、図 5B に示される。マクロ画像 102 の中の 8 つの模式対象の存在を図示で強調表示しており、4 つの円および 4 つの長方形としてここに示され、01 108、02 110、03 112、04 114、05 116、06 118、07 120 および 08 122 として指定された。個々の対象は、同じクラスでこの場合同じ形で、ユニークなパターンによる同じクラスの他の対象と区別される。非常に単純な対象の使用は、単に画像観察フレーム 100 において表示された異なるタイプの情報の関係を図示し明確にすることだけを意図している。この場合、対象 01 108 および 02 112 は、ズーム領域 106 内にあり、オペレータのかなり大きいズーム窓 124 の一部であるズーム画像 104 にこのように表示される。ユーザは、画像観察フレーム 100 の一部であるユーザ命令窓 126 の一部であるアイコンを用いて、ズーム画像 104 の電子ズームを増加させるための能力を有している。一つの実施形態では、これらのアイコンが、指示デバイスとしてマウスを用いてクリックされる。しかしながら、アイコンを指すか、アイコンと関係した機能を生じる他の手段は、従来技術で知られており、ここで同様に用いることができる。命令アイコンは、画像観察フレーム 100 の部分であるいずれの窓でも組み入れられ、ユーザ命令窓 126 を含む。例えば、電子ズーム・アイコンは、ズーム窓 124 の一部である。電子ズームが増加するとき、ズーム領域 106 のサイズは、一定サイズのズーム画像 104 を維持するためにマクロ画像 102 上で小さくなる。

10

20

30

40

50

【0063】

あらゆる画像に関する一般情報は、その画像に対応する窓の一部として表示することができる。例えば、マクロ窓128は、ピクセルでマクロ画像102のサイズ、ピクセルでズーム領域106のサイズ、およびズーム領域106の中心ピクセル座標を表示する。ズーム窓124は、物理的な寸法の基準と一緒にズーム画像104に適用された電子ズームの量を表示する。オペレータは、マクロ窓128およびズーム窓124のようなすべての窓のサイズおよび形を、あらゆるウインドウズに基づいたソフトウェアが働く方法に似ていて、異なる試料タイプを異なる縦横比で適合するために、対話式に変更することができる。

【0064】

ステップ214の結果、画像76に特定の計算機プログラムを適用することは、画像観察フレーム100の対象窓130に表示される。本発明の現在の好ましい実施形態における対象窓130は、対象画像132のような、各々が大きな連続したデジタル画像76の異なる部分に相当する多くの対象画像を含む。それらのサイズに依存して、対象画像132は、画像ギャラリー・タイプ配置で低解像度の刻印画像として表示することができる。対象画像132の一つをクリックするか指すことは、ズーム窓124の一部であるズーム画像104のように、対象画像132のそれを十分な解像度で表示することとなる。対象窓130中の対象画像132を表示する基準は、ステップ214の画像76に適用される特別の計算機プログラムに基づく。現在の具体例において、特別の計算機プログラムは、すべての対象、この場合対象01108から対象08122までの存在を求めて画像76を探索するために単純な境界検出およびセグメンテーション・アルゴリズムを用い、対象窓130に対象画像132としてこれらの対象を表示する。異なる特別の計算機プログラム、例えば対象を数えることができ、正方形と円とを識別することができるものは、分類のレベルを提供するために、各対象画像132に適用することができる。その結果、この場合、数の結果が画像観察フレーム100の分析窓134に表示される。現在の具体例における分析窓134は、形、正方形および丸の2つのクラスのいずれかでの対象の総計とともに、対象の総計、この場合には8を含むことができる。画像76に適用することができる多くのタイプの特別の計算機プログラム、および、かかる特別の計算機プログラムの画像76への適用の結果として対象窓130に表示される多くのタイプの対象画像132がある。また、様々なフォーマットで分析窓134に後で表示するために高いレベルの対象分類を提供するために、多くの対象画像132に適用される特別の計算機プログラムをより洗練した多くのタイプがある。画像観察フレーム100のユーザコマンド窓126は、ステップ214の一部として行なわれる画像解析の属性およびステップ216での画像76の再調査の基準を対話式に選択するための窓を与える。

【0065】

図6A及び6Bを参照すると、動的画像観察フレーム150の模式図は、ステップ216の通りに画像76を対話式で調査するためにディスプレイモニタ46に画像76を動的に表示するための本発明に係るグラフィック・ユーザー・インターフェースを表わす。画像76を対話式に調査する方法は、顕微鏡の接眼レンズを通して光学信号を観察する間に、従来の顕微鏡で適度な低解像度で試料12を手動スキャンすることの代りにデジタル画像を提示することを意図している。現在の好ましい発明の目的の一つは、ディスプレイモニタ46上で、試料12の部分のデジタル化、及び、好ましくは試料12の回折限界のデジタル化である画像76を動的に観察することにより、試料12の手動スキャンを交換する手段を提供することである。この方法には多くの利点があり、快適に制御された観察環境を含んでいる。その環境では、デジタル画像データに適用された知的なスキャン・電子ズーミング方法が、画像で選択対象（例えば異常細胞）を発見する責任を負ったオペレータの生産性を増すことができる。同定される特定の対象は、従来の顕微鏡で、又はスキャナ11を用いて、再配置され、ステップ218および220の決定ロジックに依存する。スキャナ11の接続によってネットワーク42に与えられたもう一つの利点は、試料12へのアクセスを必要とせずに、画像76の動的な調査を遠隔で行なうことができるというこ

10

20

30

40

50

とである。さらに、試料 12 (すなわち画像 76) のデジタル化されたバージョンの調査は、観察された画像 76 の特定の領域をモニタするための様々な技術に向いている。また、オペレータが画像 76 の特定の領域を観察するのに費やした時間を測定することは簡単である。

【 0 0 6 6 】

動的な画像観察フレーム 150 は、図 5A の前に説明された画像観察フレーム 100 のそれと同様に、マクロ窓 128 内のマクロ画像 102 を含んでいる。動的な画像観察フレーム 150 は、ズーム窓 124 内のズーム画像 104 と、前に記載した画像観察フレーム 100 と同様に、マクロ画像 102 をズーム画像 104 に関係づけるズーム領域 106 とを含んでいる。オペレータはすべての窓のサイズを変更することができるが、動的な画像観察フレーム 150 におけるズーム窓 124 は、典型的には、映画画像 152 が、映画窓 154 内で十分な解像度で表示されることを可能にするために、前に記載された画像観察フレーム 100 中のものよりも小さくなる。映画画像 152 は、必要があれば更新される十分な解像度の動的画像であり、オペレータによって決定された速度および方向で画像 76 をスキャンすることをシミュレートする。画像 76 (36,000 × 18,000 ピクセル) のような画像の具体例に再び戻ると、大きな画像 76 を、ユーザの選択可能な解像度でディスプレイモニタ 46 に表示される複数の映画画像ストリップ 156 に分割することにより、映画画像 152 を生成することができる。例えば、所望の映画画像解像度が 600 × 600 ピクセルである場合、画像 76 は、30 個の 600 × 36,000 ピクセルの映画画像ストリップ 156 に分割されるか、または代わりに、60 個の 600 × 18,000 ピクセルの映画画像ストリップ 156 に分割される。映画画像ストリップ 156 は、試料 12 の画像 76 のスキャンをシミュレートするために、動的な画像観察フレーム 150 の映画窓 154 に表示される。X 軸あるいは Y 軸に沿ったスキャンをシミュレートする一つの方法は、映画画像 152 の対向するエッジに沿って画像ピクセルの新しい少なくとも一つのカラムを加える間に、映画画像 152 の一つのエッジに沿ってピクセルの前に示した少なくとも一つのカラムを除去することである。記載したように互いに異なった一連の映画画像 152 は、マイクロソフトからのメディア・プレイヤーのような従来のブラウザ・ソフトウェアを用いて、ディスプレイモニタ 46 上の映画窓 154 においてプレイされ且つ表示されるデジタル映画の個々のフレームを含むことができる。この種のシミュレートされたスキャンは、手動で試料 12 をスキャンする間に従来の顕微鏡の双眼鏡で観察されるものに似ている。

【 0 0 6 7 】

試料 12 の画像 76 のこの種のシミュレートされたスキャンの潜在的な欠点の一つは、映画画像 152 における対象が、典型的に動いているということであり、オペレータが対象を同定することを挑戦させ、かつ、試料 12 の画像 76 をスキャンするプロセスの間に複数の停止及び進行コマンドを実行することをオペレータに要求する。動くことの負の効果ない他のスキャン方法もスキャナ 11 で達成される。この代替のプロセスは、映画画像ストリップ 156 を、例えば 600 × 600 ピクセルの連続した画像フィールドに分割することを含む。そして、一連の映画画像 152 として、好ましくは画像間で重なった状態で、これらの連続した画像フィールドを一度に表示することを含む。他のサイズの画像を用いることができる所以、600 × 600 ピクセルの画像への特定の参照は、その考え方の原理を図示することを意味するだけである。従来の顕微鏡上にある試料 12 を観察している間に長所を提供する画像 76 を動的に調査する多くの方法があることは、明白である。映画画像 152 として前に観察された画像 76 のそれらの領域を示すためにマクロ画像 102 自身の上に、スキャントラッカー 158 が示される。オペレータが画像 76 のシミュレートされたスキャン速度を制御することができるので、オペレータは他の領域よりある領域上で多くの時間を費やしてもよい。スキャントラッカー 158 は、例えば、相対的な滞在時間を示すためにカラー符号化され、画像 76 の調査の完全さに関してオペレータに即時フィードバックを提供する。他のより高度なシミュレートされた画像スキャン方法が可能である。例えば、特別のコンピュータ・アルゴリズムは、それらの重要性の観点から画

10

20

30

40

50

像 7 6 の領域を並べて、かかる相対的重要性基準に従って映画画像 1 5 2 を与える。まばらな画像については、空の領域を完全にスキップして、画像 7 6 上の本質的に空フィールドの観察を不要とすることにより、オペレータが効率的になる。映画画像 1 5 2 から画像 7 6 のある要素を除去するために、特別のコンピュータ・アルゴリズムを使用することができる。例えば、画像 7 6 の分析にとって重要でないか、画像 7 6 に関係した判断をする際に関係しないクラッタまたは対象または細胞は、映画画像 1 5 2 を表示する前に画像 7 6 から削除される。動的な画像観察フレーム 1 5 0 のユーザコマンド窓 1 2 6 において、アイコンまたはボタンをクリックすることおよび指すことの間に性能改良をさらに提供するために、ジョイスティック、トラックボール、ゲームパッドまたは踏子のようなエルゴノミックスのコントローラを利用することができる。動的に画像 7 6 を調査するのに有用な機能の具体例は、前に送る、後に送る、速く前に送る、戻す、休止、ループ、そして従来のビデオ再生や編集環境で見られるものに似ている他の機能のような機能を含んでいる。状況によって、個々の画像フレーム、対象の座標、あるいは画像 7 6 の将来の参照または後の再調査のための他のデータを格納する必要性があることは理解されるべきである。

【 0 0 6 8 】

本発明が特定の実施形態によって図示され且つ記載されているが、添付された請求項および等価物で画定されるような本発明の精神および範囲から逸脱することなく、多く変形および修正がなされることは理解されるべきである。

【 0 0 6 9 】

本明細書は、好ましい設計、材料、製造方法および使用方法を記載しているが、当業者は添付された請求項を参照して本発明の範囲および精神を十分に理解するであろう。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 7 0 】

【 図 1 】本発明に係る光学顕微鏡システムの好ましい実施形態のブロック図である。

【 図 2 】本発明に係る光学顕微鏡システムの第二の実施形態のブロック図である。

【 図 3 A 】本発明に係る、一次元配置検出器によって得られた連続画像ストリップが試料の一部分をデジタル化する方法を説明する図である。

【 図 3 B 】本発明に係る、一次元配置検出器によって得られた連続画像ストリップが試料の一部分をデジタル化する方法を説明する図である。

【 図 3 C 】本発明に係る、一次元配置検出器によって得られた連続画像ストリップが試料の一部分をデジタル化する方法を説明する図である。

【 図 4 】本発明に係る、光学顕微鏡システムの操作の単純化されたフローチャートである。

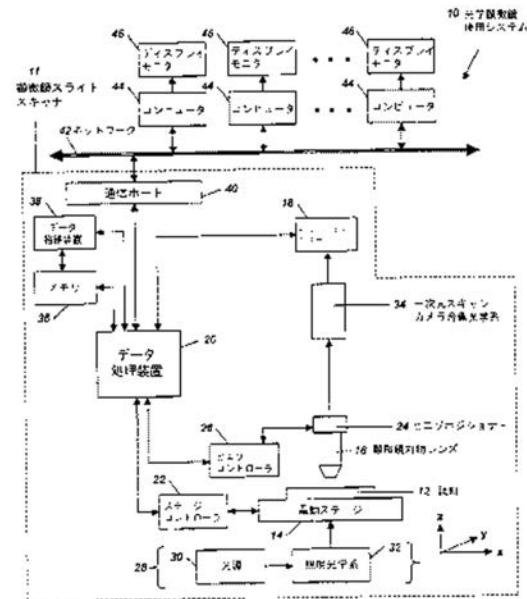
【 図 5 A 】本発明に係る、画像観察フレームの模式図である。

【 図 5 B 】本発明に係る、画像観察フレームの模式図である。

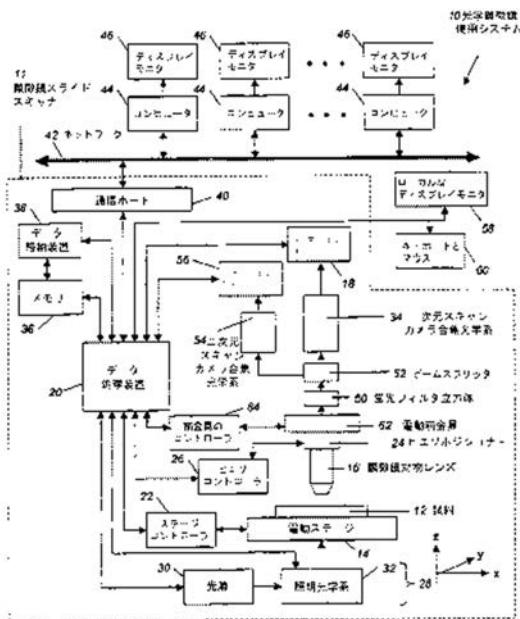
【 図 6 A 】本発明に係る、動的画像観察フレームの模式図である。

【 図 6 B 】本発明に係る、動的画像観察フレームの模式図である。

【図1】



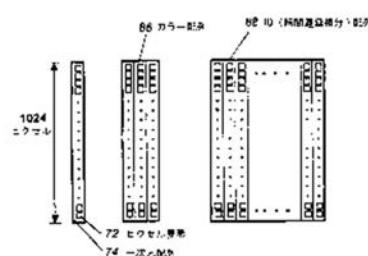
【図2】



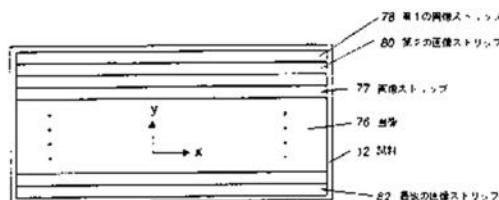
【図3 A】



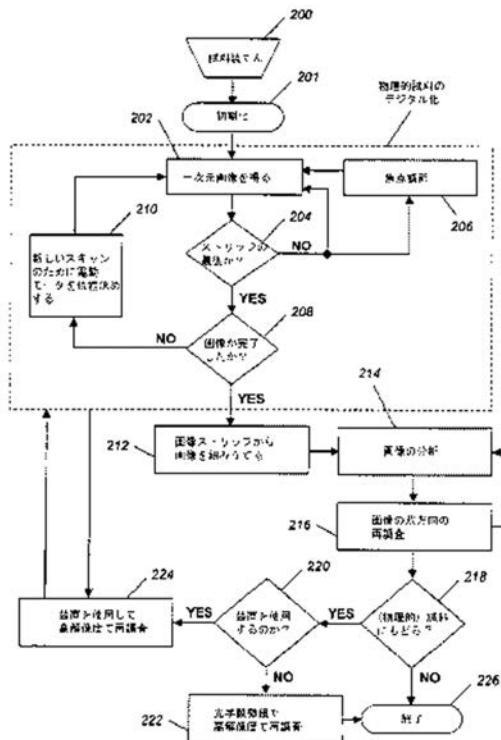
【図3 B】



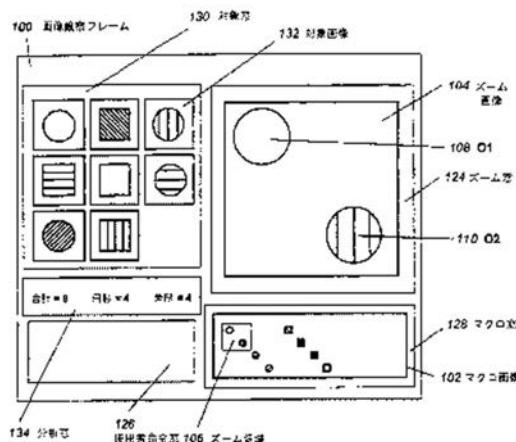
【図3 C】



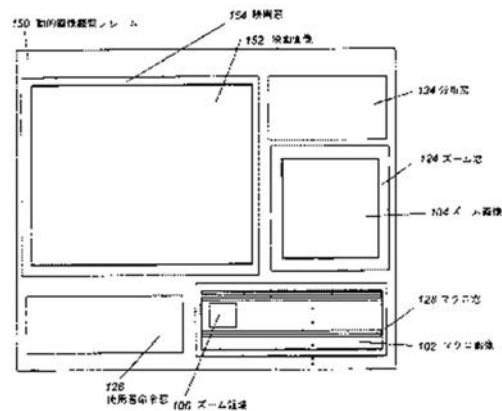
【図4】



【図 5 A】

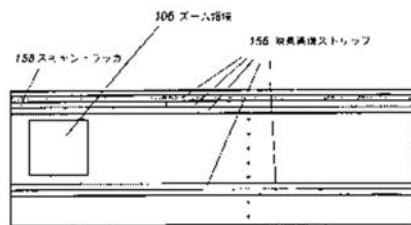
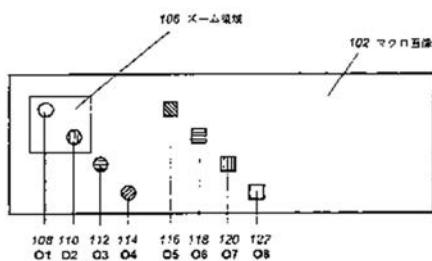


【図 6 A】



【図 6 B】

【図 5 B】



【手続補正書】

【提出日】平成29年6月8日(2017.6.8)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

全体の顕微鏡試料の1つの連続的なデジタル画像を生成する顕微鏡スライドスキャナであって、

顕微鏡試料を支持し、実質的に一定の速度で前記顕微鏡試料を移動させる電動ステージと、

前記顕微鏡試料の少なくとも一部を視野とするように配置された少なくとも1つの対物レンズと、

前記少なくとも1つの対物レンズに光学的に結合された少なくとも1つのラインスキャンカメラであって、一次元視野を定める少なくとも1つの一次元配列内に配置された複数のピクセル要素を有する、ラインスキャンカメラと、

少なくとも1つの合焦光学系であって、当該合焦光学系によって、前記対物レンズからの光学信号が前記少なくとも1つのラインスキャンカメラの前記複数のピクセル要素上に合焦される、合焦光学系と、

少なくとも1つのデータ処理装置であって、

前記電動ステージの移動と並行して前記少なくとも1つの対物レンズの焦点高さを調整している間、前記電動ステージの移動速度を前記少なくとも1つのラインスキャンカメラのライン速度に同期させて、前記電動ステージ上に支持された顕微鏡試料の複数の連続的

な一次元視野をデジタル化し、

前記複数の連続的な一次元視野を1つのデジタル画像ストリップとしてメモリに格納し、

複数のデジタル画像ストリップを組み合わせて全体の顕微鏡試料の1つの連続的なデジタル画像を生成し、

前記連続的なデジタル画像を格納する、

ように構成されたデータ処理装置と、

を備えることを特徴とする、顕微鏡スライドスキャナ。

【請求項2】

前記少なくとも1つのデータ処理装置は、前記顕微鏡試料上の複数の位置の各々の焦点高さ値を含む焦点地図を生成するようにさらに構成され、前記少なくとも1つの対物レンズの前記焦点高さの調整は、生成された焦点地図に従って実行される、請求項1記載の顕微鏡スライドスキャナ。

【請求項3】

前記少なくとも1つの一次元配列は、複数の一次元配列を含む、請求項1記載の顕微鏡スライドスキャナ。

【請求項4】

前記少なくとも1つの一次元スキャンカメラは、時間差積分(TDI)一次元スキャンカメラを含む、請求項3記載の顕微鏡スライドスキャナ。

【請求項5】

前記少なくとも1つのデータ処理装置は、前記連続的なデジタル画像の格納に先行して、不可逆の又は可逆の1つ以上の圧縮フォーマットを用いて前記連続的なデジタル画像を圧縮するようにさらに構成されている、請求項1記載の顕微鏡スライドスキャナ。

【請求項6】

前記少なくとも1つのデータ処理装置は、前記電動ステージへ送られる位置コマンドの時間プロファイルを制御するように、且つ、前記少なくとも1つの一次元スキャンカメラの読み出し速度を動的に変更するようにさらに構成されている、請求項1記載の顕微鏡スライドスキャナ。

【請求項7】

前記複数のデジタル画像ストリップの各々は、少なくとも他の1つの前記複数のデジタル画像ストリップの部分と重複する少なくとも1つの重複部分を含み、前記複数のデジタル画像ストリップを組み合わせて1つの連続的なデジタル画像にすることは、前記複数のデジタル画像ストリップの前記重複部分に基づいている、請求項1記載の顕微鏡スライドスキャナ。

【請求項8】

少なくとも1つのネットワークを経由したグラフィカル・ユーザー・インターフェースを提供するように構成されたウェブ・サーバをさらに含む、請求項1記載の顕微鏡スライドスキャナ。

【請求項9】

前記グラフィカル・ユーザー・インターフェースは、

第1の解像度の前記連続的なデジタル画像を含む低解像度画像と、

前記第1の解像度より高い第2の解像度の前記連続的なデジタル画像の領域を含む高解像度画像と、

前記高解像度画像が含む前記連続的なデジタル画像を含む前記領域を識別する前記低解像度画像上の指標と、

を含む、請求項8記載の顕微鏡スライドスキャナ。

【請求項10】

前記低解像度画像上の指標は、ユーザにより移動とリサイズの1つ以上となるように構成されている、請求項9記載の顕微鏡スライドスキャナ。

【請求項11】

顕微鏡試料全体の連続的なデジタル画像を作成する方法であって、
電動ステージと、少なくとも1つの対物レンズと、前記少なくとも1つの対物レンズと
光学的に結合し且つ一次元視野を定める少なくとも1つの一次元配列で配置された複数の
ピクセル要素を含む少なくとも1つの一次元スキャンカメラと、合焦光学系であって、当
該合焦光学系によって、前記対物レンズからの光学信号が前記少なくとも1つの一次元ス
キャンカメラの前記複数のピクセル要素に合焦される少なくとも1つの合焦光学系と、を
含む顕微鏡スライドスキャナの少なくとも1つのデータ処理装置によって、

前記電動ステージの移動と並行して前記少なくとも1つの対物レンズの焦点高さを調整
している間、前記電動ステージの移動速度を前記少なくとも1つのラインスキャンカメラ
のライン速度に同期させて、前記電動ステージ上に支持された顕微鏡試料の複数の連続的
な一次元視野をデジタル化するステップと、

前記複数の連続的な一次元視野を1つのデジタル画像ストリップとしてメモリに格納す
るステップと、

複数の前記デジタル画像ストリップを組み合わせて全体の顕微鏡試料の1つの連続的
なデジタル画像を生成するステップと、

前記連続的なデジタル画像を格納するステップと、
を含む方法。

【請求項12】

前記顕微鏡試料上の複数の位置の各々の焦点高さ値を含む焦点地図を生成するステップ
をさらに含み、前記少なくとも1つの対物レンズの焦点高さの前記調整は、生成された焦
点地図に従って実行される、請求項11記載の方法。

【請求項13】

前記少なくとも1つの一次元配列は、複数の一次元配列を含む、請求項11記載の方法
。

【請求項14】

前記少なくとも1つの一次元スキャンカメラは、少なくとも1つの時間差積分(TDI)
一次元スキャンカメラを含む、請求項13記載の方法。

【請求項15】

前記連続的なデジタル画像の格納に先行して、不可逆の又は可逆の1つ以上の圧縮フォ
ーマットを用いて前記連続的なデジタル画像を圧縮するステップをさらに含む、請求項1
1記載の方法。

【請求項16】

前記複数のデジタル画像ストリップの各々は、少なくとも他の1つの前記複数のデジタ
ル画像ストリップの部分と重複する少なくとも1つの重複部分を含み、前記複数のデジタ
ル画像ストリップを組み合わせて1つの連続的なデジタル画像にすることは、前記複数の
デジタル画像ストリップの前記重複部分に基づいている、請求項11記載の方法。

【請求項17】

前記連続的なデジタル画像中の対象物の1つ以上のタイプを識別するために、前記連続
的なデジタル画像における1つ以上のアルゴリズムを実行するステップをさらに含む、請
求項11記載の方法。

【請求項18】

少なくとも1つのネットワークを介して、グラフィカル・ユーザー・インターフェースを
送信するステップをさらに含み、

前記グラフィカル・ユーザー・インターフェースは、

第1の解像度の前記連続的なデジタル画像を含む低解像度画像と、

第1の解像度より高い第2の解像度の前記連続的なデジタル画像の領域を含む高解像度
画像と、

前記高解像度画像が含む前記連続的なデジタル画像を含む前記領域を定める前記低解像
度画像上の指標を含む、請求項17記載の方法。

【請求項19】

前記指標の 1 つ以上の移動とリサイズを受信するステップをさらに含む、請求項 1 8 記載の方法。

【請求項 20】

前記グラフィカル・ユーザー・インターフェースは、前記 1 つ以上のアルゴリズムにより識別された 1 つ以上の対象物のための対象画像を含んでいる対象窓をさらに含む、請求項 1 8 記載の方法。

フロントページの続き

(74)代理人 100162880

弁理士 上島 類

(72)発明者 ダーク・ソーンクセン

アメリカ合衆国 92009 カリフォルニア州カールスバッド、ス威ート・ジー、アベニダ・ニー
ブ 3386 番

F ターム(参考) 2H052 AA07 AA09 AC04 AD06 AD09 AD16 AD18 AD19 AF14 AF21

【外国語明細書】

FULLY AUTOMATIC RAPID MICROSCOPE SLIDE SCANNER

TECHNICAL FIELD

The present invention relates generally to the field of optical microscopy and
5 pertains more specifically to a fully automatic rapid microscope slide scanner.

BACKGROUND ART

One of the inherent limitations of optical microscopy is the tradeoff between the field of view, the portion of the sample that can be viewed through the eyepieces of a microscope, and the magnification at which the sample can be viewed. While higher magnification microscope objective lenses with higher numerical apertures (NA) provide the microscopist with an enlarged and often higher resolution image, the field of view decreases dramatically with increases in magnification, in proportion to the square of the magnification. Even at very low magnifications such as 1.25 times (1.25x), only
15 a small area of a typical microscope slide can be viewed through the binoculars of a conventional microscope. The field of view limitation of optical microscopy requires that the microscopist manually scan a slide at low magnification to obtain an overall view of the sample or specimen. When an area of interest appears in one of the lower magnification fields of view, the microscopist manually selects a higher magnification
20 objective lens to obtain an enlarged higher resolution view of a proportionately smaller area of the specimen. For samples such as histological specimens that are viewed by a pathologist, it is typical for the pathologist to frequently switch back and forth between a lower magnification objective lens with a larger field of view, for purposes of orienting himself or herself with respect to the specimen, and one or more higher

magnification, smaller field of view objective lenses for purposes of viewing the sample in greater detail.

One approach to overcome the optical microscopy limitation of simultaneously achieving both a large field of view, and high magnification, is to capture multiple 5 individual digital images from contiguous fields of view, thereby creating a large field of view image. A scanning system is used to move the sample, while a rectangular optical sensor such as an area scan charge-coupled device (CCD) camera captures an image of each field of view at the desired magnification. The process of assembling these smaller fields of view (hereinafter "image tiles") into one coherent image is called 10 image tiling. Early image tiling systems, such as the system discussed in U.S. Patent No. 4,760,385 (Jansson et al.) were based on creating a contiguous high resolution tiled image from approximately thirty-six individual video frame image tiles captured in a region of the sample that was previously and interactively selected by an operator. Similar but more sophisticated image tiling system have more recently become 15 available. One such system is sold by Bacus Laboratories, Inc., Downers Grove, IL., under the name Bacus Laboratories Inc., Slide Scanner (hereinafter "BLISS"). Elements of the BLISS system are described in Patent Cooperation Treaty publications WO 98/39728 and WO 98/44446.

The BLISS system is designed primarily for the anatomic pathologist who has a 20 need to combine the anatomic orientation of a histological specimen that is obtained at very low magnification, together with several high magnification views of areas of the specimen that have been interactively selected by the pathologist from the low

magnification tiled image, also referred to as a macro image. The BLISS system enables the pathologist to quickly flip back and forth between selected high resolution micro images of selected areas captured at 20x or 40x, and a low resolution macro image captured at 1.25x, emulating in some sense the pathologist's manual use of a conventional microscope. Alternatively, the BLISS system user interface provides separate split screens on a display monitor whereby the pathologist is shown an overall macro view and a marker showing where the current higher magnification view is located. A tiled image is constructed by assembling several adjacent, original microscope views at a first magnification to obtain an overall macro view of the specimen, together with several adjacent original microscope views at a higher magnification to create a combined data structure. The data structure is obtained by digitally scanning and storing the low magnification image tiles with their mapping coordinates and likewise, digitally scanning and storing higher magnification image tiles with their mapping coordinates. Furthermore, a pathologist may interactively select only those diagnostically significant areas of the specimen for digital scanning and storing to reduce significantly the number of image pixels stored at high resolution. The data structure, akin to a virtual microscope slide, may then be transferred to a remote viewer over a network such as the Internet. The remote user is thus provided with a series of abutted, tiled images, with each image tile being substantially equal to one small optical field of view at each of two different optical magnifications.

The BLISS system is integrated around a computer-controlled, automated microscope such as the Axioplan-2 microscope system sold by Carl Zeiss, Inc.,

Thornwood, NY. This type of high-end microscope has capabilities for computer-control of several subsystems, including the illumination subsystem, the focusing subsystem, the microscope objective lens subsystem, the filtering subsystem, as well as multiple field and condenser diaphragms or optical stops which may be used to achieve optimum Koehler illumination. Essentially, all moveable elements of the microscope can be controlled from the computer; and in principle, from a remote location via the Internet. Positions for all diaphragms and other settings such as focus and illumination level are stored by the computer, enabling microscope objective lenses to be changed without manual intervention. The BLISS system is also equipped with a computer controlled two-axis (*x/y* for left/right/up/down motion) translation stage that achieves 0.1 micrometer positioning accuracy using position encoders and closed-loop feedback control to provide superior positioning performance. A CCD camera with 752 by 480 pixels, and an image frame grabber are also integrated into the BLISS system.

Because it is based on image tiling, the BLISS system suffers from several known disadvantages of the image tiling approach. For example, a first disadvantage of the BLISS system is that it takes a long time, typically twenty minutes or longer to acquire the tiled data structures. These time estimates are without consideration for any additional delays that may be incurred during manual intervention, for example, prior to acquiring high magnification tiled images from selected areas of the low magnification macro image. Tiling involves moving a slide on a motorized stage, in discrete steps equal to the width of a single field of view, and with respect to a stationary area scan camera such as the CCD camera used by the BLISS system. An image tile is acquired

at every step. Individual images are then tiled together to create a larger seamless image of the area of interest. Image tiling is relatively slow because of the need to minimize any significant relative motion between the sample and the camera while the image is captured. A major cause of relative motion is the settling time of the mechanical 5 positioning stage after issuing sequential stop and go commands. To acquire images without unacceptable smearing requires waiting until the stage has settled, ideally to within less than one pixel. For example, at a 40x magnification, the width of a single image tile captured by a one-half inch format CCD camera corresponds to 160 micrometers of the sample. At this magnification, each individual pixel in a 752-pixel 10 wide CCD camera subtends approximately 0.2 micrometers of the sample. A single tiling step thus requires a relatively large 160 micrometer movement, with associated acceleration and deceleration of the mechanical stage. In order to avoid any smearing of the image, the image tile should be captured only after the mechanical stage has settled to less than one pixel, or about 0.2 micrometers, of motion. U.S. Patent No. 5,912,699 15 (Hayenga et al.) addresses this well known settling time limitation of conventional image tiling systems by proposing an alternate method that combines image tiling using conventional area scan cameras with strobe light synchronization. The slow capture times of tiling systems, including the BLISS system, limits the practical utility of image tiling to a two-step process, with extensive manual intervention between the capture of 20 an initial very low magnification macro image and the subsequent selection of small areas for higher magnification capture.

The slow acquisition time associated with tiling systems leads to a second

disadvantage of the BLISS system, that being the need for manual intervention during the process of creating the tiled data structure. After pre-scanning a slide at a very low microscope objective lens magnification of 1.25x, the BLISS operator inspects the macro-image for relevant regions of interest to be scanned using a higher magnification

5 objective lens. While one motivation for the manual intervention may be to limit the size of the final data structure, manual intervention is absolutely essential to define smaller areas which can be acquired in a reasonable time. For example, it would not be practical, because of acquisition time considerations, to use the BLISS system to scan an entire microscope slide at 20x magnification. At a 20x magnification, approximately

10 16,300 individual image tiles must be captured to digitize a two inch by one inch area of a microscope slide using a 752 by 480 pixel one-half inch format area scan CCD. Assuming further that it takes approximately one second to acquire each image tile, due in large part to the relatively long mechanical settling times associated with each of the 16,300 repeated stop-and-go commands, the total acquisition time would be four and

15 one-half hours. At a 40x magnification, the acquisition time would quadruple to eighteen hours. Even at a 10x magnification the acquisition time would exceed one hour. However, at the BLISS system's very low magnification of 1.25x, only 64 image tiles are needed to create a macro-image of a two inch by one inch area of a microscope slide. The total acquisition time for such a macro-image is about one minute.

20 Understanding now that the acquisition time limitations of any image tiling system require the capture of a very low magnification macro-image, followed by the interactive selection from this macro image of small areas to be captured at higher

magnification, a third disadvantage of the BLISS system becomes apparent. This third disadvantage resides in the realization that locating areas of interest from a very low magnification macro-image is practically limited to samples in which anatomic reference information is available. The BLISS system thus has limited utility for non-
5 histological samples such as Pap smears, because such cytological samples inherently lack any information about anatomic orientation. In such samples the cells are more or less randomly distributed over a large area of the microscope slide. Without the ability to define, using the macro image, the specific smaller regions of interest that are to be tiled at higher optical magnifications, the only alternative is to scan and digitize the
10 entire sample. However, as described previously, the long acquisition times required by the image tiling method make this alternative virtually impractical. Stated differently, without manual intervention to define specific and significantly smaller areas of the microscope slide for image tiling at higher magnifications, an impossibility for
15 cytological samples, a tiling approach has limited utility. One would prefer a system for scanning microscope slides which is fully automatic, without the need for manual intervention. Such a system would also be suitable for all types of microscope slides, regardless of whether or not the slide contains anatomic reference information.

A fourth disadvantage of the BLISS system is its complexity and expense. The BLISS system is based largely on off-the-shelf components, including a high-end, fully
20 automated third-party microscope with multiple objective lenses and an expensive closed *x/y* stage control loop. The suggested end-user price of the BLISS system is well above \$100,000. The multiple automated elements of the BLISS system represent a

complicated system that, in spite of its extensive automation, may be difficult to operate and maintain. One would prefer a system for scanning microscope slides which is simple and reliable, and which can be made available for about one third of the cost of the BLISS system.

5 Inherent in the cost disadvantage of the BLISS system are several limitations of any microscope slide scanning system that is based on a conventional microscope. The most expensive component of the BLISS system is the automated microscope itself. One of the reasons for incorporating a fully automatic microscope into the BLISS system is the need for automatically changing many settings when the microscope

10 objective lens turret is rotated automatically to change microscope objective lenses, for example, from 1.25x to 40x. A typical microscope, upon changing the microscope objective lens, will have a different optimal plane of focus and require new settings for the field and condenser diaphragms to achieve Koehler illumination. Also, a different intensity of illumination will be needed to optimally fill the dynamic range of the CCD.

15 The need for such extensive automation is eliminated if the requirement for changing microscope objective lenses can be eliminated. One would prefer a rapid scanning method that can not only overcome the field of view limitations of traditional optical microscopy but that can also eliminate the need for multiple microscope objective lenses, providing a substantial cost advantage over image tiling systems such as BLISS.

20 The need for a single microscope objective lens is also closely related to eliminating the constraints imposed by the optics of a conventional microscope. One would prefer a system based on an optical design that ensures that microscope slides are scanned and

digitized at diffraction-limited resolutions, that is, all possible spatial details available at the resolution of the microscope objective lens are captured by the digital image. Once a diffraction-limited digital image has been captured, degenerate lower resolution and magnification images can be created using standard computational algorithms.

5 In many microscopy applications it is necessary that the entire sample, or a large portion of a sample, be searched for defects or for the presence or absence of a special object or objects, for example, abnormal cells. Microscopy becomes very labor intensive when large portions of a sample, or even the entire sample, must be manually scanned at low resolutions, typically 10x to 20x, in order to identify specific areas of

10 interest for subsequent higher resolution interrogation. Extended manual screening or continued viewing of a single field causes eyestrain, fatigue, and visual habituation that can negatively affect productivity and accuracy. The problem of rapidly finding and locating relevant areas of interest for subsequent higher resolution interrogation has been addressed using conventional real-time scanning systems that combine

15 microscopes with ancillary linear array detectors and automated positioning tables, all controlled by a computer. Some approaches, such as the system discussed in U.S. Patent No. 5,922,282 (Ledley et al.), are based on storing the *x/y* stage coordinates of relevant objects found on regions of the physical slide to enable relocation of the object, in this case mycobacteria on a customized glass microscope slide. The *x/y* coordinates of the mycobacteria are obtained using specialized real-time pattern recognition circuitry that is applied to the intensity information measured by a line scan camera that is synchronized to a stage which is moved in relatively large five micrometer steps.

Alternatively, an area scan sensor such as a video camera can be used as the basis for deriving the x/y coordinates of selected objects, in conjunction with similar circuitry. In this latter case, the stage is moved in larger steps corresponding to a complete image field, similar to the stage movements required by the tiling method. Focus is maintained 5 using instantaneous automated focus control. An alternate system described in U.S. Patent No. 4,700,298 (Palcic et al.) uses a linear array CCD attached to a commercially available microscope, with means for autofocus, to scan large areas for purposes of recording, in real time, the x/y coordinates of cells growing in a tissue flask. These known methods and systems are all based on the real-time analysis of digital 10 information that is acquired and processed during the scanning process. In many cases, specialized circuitry is used to immediately process the intensity data that has been read out from the linear array detector, enabling a decision to be made in real-time. An alternative novel approach is to use a linear array sensor to rapidly assemble a large contiguous image of the entire microscope slide at optical resolutions sufficient for 15 automating the labor intensive aspects of manual slide scanning. One would prefer a system that can be used, together with digital image processing methods, as an alternative to manual slide scanning.

Another common problem associated with manual scanning of microscope slides is that portions of a slide are easily missed during manual x/y scanning of a slide. 20 Relocation to previously identified cells can be difficult, especially after the slide has been removed from the microscope. The problem of not missing any areas of a slide during manual x/y scanning has been addressed by position encoding quality assurance

systems that record the x/y position and dwell time of areas of the physical slide that have been examined manually, thus highlighting areas of the slide that were missed or possibly viewed too quickly. U.S. Patent No. 5,793,969 (Kamentsky et al.) discusses a method for quality assurance of a Pap smear slide that has been previously reviewed by 5 a technologist. This method is based on recording the x/y stage coordinates of all fields visited by the technologist during the slide review, and creating an x/y map of relative slide dwell times.

A definite need exists for a simple and reliable system that can rapidly scan and digitize an entire microscope slide. The scanning and digitization should be performed 10 at optical resolutions comparable to those used for the manual scanning of microscope slides, thereby enabling the application of image processing algorithms to the digital imagery data set, in lieu of, or in addition to, manually scanning an entire slide. Ideally, such a system should not require any type of manual intervention during the image acquisition process. Such a system should also be suitable for all types of microscope 15 specimens, regardless of whether or not the slide contains anatomic reference information. Ideally, such a system should have a lower cost than conventional systems. Such a system should also not be constrained by the limitations and inherent cost of conventional off-the-shelf microscopes, enabling an optical design that allows the capture of diffraction-limited digital images. A primary purpose of the present 20 invention is to solve these needs and to provide further, related advantages.

DISCLOSURE OF INVENTION

The present invention provides an apparatus for and a method of fully automatic

rapid scanning and digitizing of an entire microscope sample, or a substantially large portion of a microscope sample, using a linear array detector synchronized with a positioning stage that is part of a computer controlled microscope slide scanner. The invention also provides a method for composing the image strips obtained from 5 successive scans of the sample into a single contiguous digital image. The invention further provides a method for statically displaying sub-regions of this large digital image at different magnifications, together with a reduced magnification macro image of the entire sample. The invention also provides a method for dynamically displaying, with or without operator interaction, portions of the contiguous digital image. In one 10 preferred embodiment of the invention, all elements of the scanner are part of a single- enclosure that has a primary connection to a network such as the Internet or a local intranet. In this embodiment, the preferred sample type is a microscope slide and the illumination and imaging optics are consistent with transmission mode optics optimized for diffraction-limited digital imaging.

15

BRIEF DESCRIPTION OF DRAWING

The objects, advantages and features of this invention will be more readily appreciated from the following detailed description, when read in conjunction with the accompanying drawing, in which:

20

FIG. 1 is a block diagram of a preferred embodiment of an optical microscopy system according to the present invention;

FIG. 2 is a block diagram of a second embodiment of an optical microscopy system according to the present invention;

FIGS. 3A-3C illustrates a manner in which contiguous image strips acquired by a linear array detector digitizes a portion of a sample according to the present invention;

FIG. 4 is a simplified flow chart of the operation of an optical microscopy system according to the present invention;

5 FIGS. 5A-5B are a schematic diagram of an image viewing frame according to the present invention; and

FIGS. 6A-6B are a schematic diagram of a dynamic image viewing frame according to the present invention.

10 **BEST MODE FOR CARRYING OUT THE INVENTION**

Turning first to FIG. 1, a block diagram of a preferred embodiment of an optical microscopy system 10 according to the present invention is shown. The heart of the system 10 is a microscope slide scanner 11 that serves to scan and digitize a specimen or sample 12. The sample 12 can be anything that may be interrogated by optical

15 microscopy. For instance, the sample 12 may be a microscope slide or other sample type that may be interrogated by optical microscopy. A microscope slide is frequently used as a viewing substrate for specimens that include tissues and cells, chromosomes, DNA, protein, blood, bone marrow, urine, bacteria, beads, biopsy materials, or any other type of biological material or substance that is either dead or alive, stained or unstained.

20 labeled or unlabeled. The sample 12 may also be an array of any type of DNA or DNA-related material such as cDNA or RNA or protein that is deposited on any type of slide or other substrate, including any and all samples commonly known as a microarrays. The sample 12 may be a microtiter plate, for example a 96-well plate. Other examples

of the sample 12 include integrated circuit boards, electrophoresis records, petri dishes, film, semiconductor materials, forensic materials, or machined parts.

The scanner 11 includes a motorized stage 14, a microscope objective lens 16, a line scan camera 18, and a data processor 20. The sample 12 is positioned on the 5 motorized stage 14 for scanning. The motorized stage 14 is connected to a stage controller 22 which is connected in turn to the data processor 20. The data processor 20 determines the position of the sample 12 on the motorized stage 14 via the stage controller 22. In the presently preferred embodiment, the motorized stage 14 moves the sample 12 in at least the two axes (x/y) that are in the plane of the sample 12. Fine 10 movements of the sample 12 along the optical z-axis may also be necessary for certain applications of the scanner 11, for example, for focus control. Z-axis movement is preferably accomplished with a piezo positioner 24, such as the PIFOC from Polytec PI or the MIPOS 3 from Piezosystem Jena. The piezo positioner 24 is attached directly to the microscope objective 16 and is connected to and directed by the data processor 20 15 via a piezo controller 26. A means of providing a coarse focus adjustment may also be needed and can be provided by z-axis movement as part of the motorized stage 14 or a manual rack-and-pinion coarse focus adjustment (not shown).

In the presently preferred embodiment, the motorized stage 14 includes a high 20 precision positioning table with ball bearing linear ways to provide smooth motion and excellent straight line and flatness accuracy. For example, the motorized stage 14 could include two Daedal model 106004 tables stacked one on top of the other. Other types of motorized stages 14 are also suitable for the scanner 11, including stacked single axis

stages based on ways other than ball bearings, single- or multiple-axis positioning stages that are open in the center and are particularly suitable for trans-illumination from below the sample, or larger stages that can support a plurality of samples. In the presently preferred embodiment, motorized stage 14 includes two stacked single-axis positioning tables, each coupled to two millimeter lead-screws and Nema-23 stepping motors. At the maximum lead screw speed of twenty-five revolutions per second, the maximum speed of the sample 12 on the motorized stage 14 is fifty millimeters per second. Selection of a lead screw with larger diameter, for example five millimeters, can increase the maximum speed to more than 100 millimeters per second. The motorized stage 14 can be equipped with mechanical or optical position encoders which has the disadvantage of adding significant expense to the system. Consequently, the presently preferred embodiment does not include position encoders. However, if one were to use servo motors in place of stepping motors, then one would have to use position feedback for proper control.

Position commands from the data processor 20 are converted to motor current or voltage commands in the stage controller 22. In the presently preferred embodiment, the stage controller 22 includes a 2-axis servo/stepper motor controller (Compumotor 6K2) and two 4-amp microstepping drives (Compumotor OEMZL4). Microstepping provides a means for commanding the stepper motor in much smaller increments than the relatively large single 1.8 degree motor step. For example, at a microstep of 100, the sample 12 can be commanded to move at steps as small as 0.1 micrometer. A microstep of 25,000 is used in the presently preferred embodiment of this invention. Smaller step

sizes are also possible. It should be obvious that the optimum selection of the motorized stage 14 and the stage controller 22 depends on many factors, including the nature of the sample 12, the desired time for sample digitization, and the desired resolution of the resulting digital image of the sample 12.

5 The microscope objective lens 16 can be any microscope objective lens commonly available. One of ordinary skill in the art will realize that the choice of which objective lens to use will depend on the particular circumstances. In the preferred embodiment of the present invention, the microscope objective lens 16 is of the infinity-corrected type.

10 The sample 12 is illuminated by an illumination system 28 that includes a light source 30 and illumination optics 32. The light source 30 in the presently preferred embodiment includes a variable intensity halogen light source with a concave reflective mirror to maximize light output and a KG-1 filter to suppress heat. However, the light source 30 could also be any other type of arc-lamp, laser, or other source of light. The 15 illumination optics 32 in the presently preferred embodiment include a standard Köhler illumination system with two conjugate planes that are orthogonal to the optical axis. The illumination optics 32 are representative of the bright-field illumination optics that can be found on most commercially available compound microscopes sold by companies such as Carl Zeiss, Nikon, Olympus, or Leica. One set of conjugate planes 20 includes (i) a field iris aperture illuminated by the light source 30, (ii) the object plane that is defined by the focal plane of the sample 12, and (iii) the plane containing the light-responsive elements of the line scan camera 18. A second conjugate plane

includes (i) the filament of the bulb that is part of the light source 30, (ii) the aperture of a condenser iris that sits immediately before the condenser optics that are part of the illumination optics 32, and (iii) the back focal plane of the microscope objective lens 16.

In the presently preferred embodiment, the sample 12 is illuminated and imaged in 5 transmission mode, with the line scan camera 18 sensing optical energy that is transmitted by the sample 12, or conversely, optical energy that is absorbed by the sample 12.

The scanner 11 of the present invention is equally suitable for detecting optical energy that is reflected from the sample 12, in which case the light source 30, the 10 illumination optics 32, and the microscope objective lens 16 must be selected based on compatibility with reflection imaging. One possible embodiment may therefore be illumination through a fiber optic bundle that is positioned above the sample 12. Other possibilities include excitation that is spectrally conditioned by a monochromator. If the microscope objective lens 16 is selected to be compatible with phase-contrast 15 microscopy, then the incorporation of at least one phase stop in the condenser optics that are part of the illumination optics 32 will enable the scanner 11 to be used for phase contrast microscopy. To one of ordinary skill in the art, the modifications required for other types of microscopy such as differential interference contrast and confocal 20 microscopy should be readily apparent. Overall, the scanner 11 is suitable, with appropriate but well-known modifications, for the interrogation of microscopic samples in any known mode of optical microscopy.

Between the microscope objective lens 16 and the line scan camera 18 are

situated the line scan camera focusing optics 34 that focus the optical signal captured by the microscope objective lens 16 onto the light-responsive elements of the line scan camera 18. In a modern infinity-corrected microscope the focusing optics between the microscope objective lens and the eyepiece optics, or between the microscope objective lens and an external imaging port, consist of an optical element known as a tube lens that is part of a microscope's observation tube. Many times the tube lens consists of multiple optical elements to prevent the introduction of coma or astigmatism. One of the motivations for the relatively recent change from traditional finite tube length optics to infinity corrected optics was to increase the physical space in which the optical energy from the sample 12 is parallel, meaning that the focal point of this optical energy is at infinity. In this case, accessory elements like dichroic mirrors or filters can be inserted into the infinity space without changing the optical path magnification or introducing undesirable optical artifacts.

Infinity-corrected microscope objective lenses are typically inscribed with an infinity mark. The magnification of an infinity corrected microscope objective lens is given by the quotient of the focal length of the tube lens divided by the focal length of the objective lens. For example, a tube lens with a focal length of 180 millimeters will result in 20x magnification if an objective lens with 9 millimeter focal length is used. One of the reasons that the objective lenses manufactured by different microscope manufacturers are not compatible is because of a lack of standardization in the tube lens focal length. For example, a 20x objective lens from Olympus, a company that uses a 180 millimeter tube lens focal length, will not provide a 20x magnification on a Nikon

microscope that is based on a different tube length focal length of 200 millimeters.

Instead, the effective magnification of such an Olympus objective lens engraved with 20x and having a 9 millimeter focal length will be 22.2x, obtained by dividing the 200 millimeter tube lens focal length by the 9 millimeter focal length of the objective lens.

5 Changing the tube lens on a conventional microscope is virtually impossible without disassembling the microscope. The tube lens is part of a critical fixed element of the microscope. Another contributing factor to the incompatibility between the objective lenses and microscopes manufactured by different manufacturers is the design of the eyepiece optics, the binoculars through which the specimen is observed. While most of
10 the optical corrections have been designed into the microscope objective lens, most microscope users remain convinced that there is some benefit in matching one manufacturers' binocular optics with that same manufacturers' microscope objective lenses to achieve the best visual image.

15 The line scan camera focusing optics 34 include a tube lens optic mounted inside of a mechanical tube. Since the scanner 11, in its preferred embodiment, lacks binoculars or eyepieces for traditional visual observation, the problem suffered by conventional microscopes of potential incompatibility between objective lenses and binoculars is immediately eliminated. One of ordinary skill will similarly realize that the problem of achieving parfocality between the eyepieces of the microscope and a
20 digital image on a display monitor is also eliminated by virtue of not having any eyepieces. Since the scanner 11 also overcomes the field of view limitation of a traditional microscope by providing a field of view that is practically limited only by the

physical boundaries of the sample 12, the importance of magnification in an all-digital imaging microscope such as provided by the present scanner 11 is limited. Once a portion of the sample 12 has been digitized, it is straightforward to apply electronic magnification, sometimes known as electric zoom, to an image of the sample 12 in order 5 to increase its magnification. Increasing the magnification of an image electronically has the effect of increasing the size of that image on the monitor that is used to display the image. If too much electronic zoom is applied, then the display monitor will be able to show only portions of the magnified image. It is not possible, however, to use electronic magnification to display information that was not present in the original 10 optical signal that was digitized in the first place. Since one of the objectives of the scanner 11 is to provide high quality digital images, in lieu of visual observation through the eyepieces of a microscope, it is important that the content of the images acquired by the scanner 11 include as much image detail as possible. The term resolution is typically used to describe such image detail and the term diffraction-limited 15 is used to describe the wavelength-limited maximum spatial detail available in an optical signal. The scanner 11 provides diffraction- limited digital imaging by selection of a tube lens focal length that is matched according to the well know Nyquist sampling criteria to both the size of an individual pixel element in a light-sensing camera such as the line scan camera 18 and to the numerical aperture of the microscope objective lens 20 16. It is well known that numerical aperture, not magnification, is the resolution-limiting attribute of a microscope objective lens 16.

An example will help to illustrate the optimum selection of a tube lens focal

length that is part of the line scan camera focusing optics 34. Consider again the 20x microscope objective lens 16 with 9 millimeter focal length discussed previously and assume that this objective lens has a numerical aperture of 0.50. Assuming no appreciable degradation from the condenser, the diffraction-limited resolving power of 5 this objective lens at a wavelength of 500 nanometers is approximately 0.6 micrometers, obtained using the well-known Abbe relationship. Assume further that the line scan camera 18, which in its preferred embodiment has a plurality of 14 micrometer square pixels, is used to detect a portion of the sample 12. In accordance with sampling theory, it is necessary that at least two sensor pixels subtend the smallest resolvable spatial 10 feature. In this case, the tube lens must be selected to achieve a magnification of 46.7, obtained by dividing 28 micrometers, which corresponds to two 14 micrometer pixels, by 0.6 micrometers, the smallest resolvable feature dimension. The optimum tube lens optic focal length is therefore about 420 millimeters, obtained by multiplying 46.7 by 9. The line scan focusing optics 34 with a tube lens optic having a focal length of 420 15 millimeters will therefore be capable of acquiring images with the best possible spatial resolution, similar to what would be observed by viewing a specimen under a microscope using the same 20x objective lens. To reiterate, the scanner 11 utilizes a traditional 20x microscope objective lens 16 in a higher magnification optical configuration, in this example about 47x, in order to acquire diffraction-limited digital 20 images. If a traditional 20x magnification objective lens 16 with a higher numerical aperture were used, say 0.75, the required tube lens optic magnification for diffraction-limited imaging would be about 615 millimeters, corresponding to an overall optical

magnification of 68x. Similarly, if the numerical aperture of the 20x objective lens were only 0.3, the optimum tube lens optic magnification would only be about 28x, which corresponds to a tube lens optic focal length of approximately 252 millimeters. The line scan camera focusing optics 34 are modular elements of the scanner 11 and can be 5 interchanged as necessary for optimum digital imaging. The advantage of diffraction-limited digital imaging is particularly significant for applications, for example bright field microscopy, in which the reduction in signal brightness that accompanies increases in magnification is readily compensated by increasing the intensity of an appropriately designed illumination system 28.

10 In principle, it is possible to attach external magnification-increasing optics to a conventional microscope-based digital imaging system to effectively increase the tube lens magnification so as to achieve diffraction-limited imaging as has just been described for the present scanner 11; however, the resulting decrease in the field of view is often unacceptable, making this approach impractical. Furthermore, many users of 15 microscopes typically do not understand enough about the details of diffraction-limited imaging to effectively employ these techniques on their own. In practice, digital cameras are attached to microscope ports with magnification-decreasing optical couplers to attempt to increase the size of the field of view to something more similar to what can be seen through the eyepiece. The standard practice of adding de-magnifying optics is a 20 step in the wrong direction if the goal is to obtain diffraction-limited digital images.

In a conventional microscope, different power objectives lenses are typically used to view the specimen at different resolutions and magnifications. Standard

microscopes have a nosepiece that holds five objectives lenses. In an all-digital imaging system such as the present scanner 11 there is a need for only one microscope objective lens 16 with a numerical aperture corresponding to the highest spatial resolution desirable. The presently preferred embodiment of the scanner 11 provides for only one 5 microscope objective lens 16. Once a diffraction-limited digital image has been captured at this resolution, it is straightforward using standard digital image processing techniques, to present imagery information at any desirable reduced resolutions and magnifications.

The presently preferred embodiment of the scanner 11 is based on a Dalsa 10 SPARK line scan camera 18 with 1024 pixels (picture elements) arranged in a linear array, with each pixel having a dimension of 14 by 14 micrometers. Any other type of linear array, whether packaged as part of a camera or custom-integrated into an imaging electronic module, can also be used. The linear array in the presently preferred embodiment effectively provides eight bits of quantization, but other arrays providing 15 higher or lower level of quantization may also be used. Alternate arrays based on 3-channel red-green-blue (RGB) color information or time delay integration (TDI), may also be used. TDI arrays provide a substantially better signal-to-noise ratio (SNR) in the output signal by summing intensity data from previously imaged regions of a specimen, yielding an increase in the SNR that is in proportion to the square-root of the number of 20 integration stages. TDI arrays can comprise multiple stages of linear arrays. TDI arrays are available with 24, 32, 48, 64, 96, or even more stages. The scanner 11 also supports linear arrays that are manufactured in a variety of formats including some with 512

pixels, some with 1024 pixels, and others having as many as 4096 pixels. Appropriate, but well known, modifications to the illumination system 28 and the line scan camera focusing optics 34 may be required to accommodate larger arrays. Linear arrays with a variety of pixel sizes can also be used in scanner 11. The salient requirement for the 5 selection of any type of line scan camera 18 is that the sample 12 can be in motion with respect to the line scan camera 18 during the digitization of the sample 12 in order to obtain high quality images, overcoming the static requirements of the conventional imaging tiling approaches known in the prior art.

The output signal of the line scan camera 18 is connected to the data processor 10 20. The data processor 20 in the presently preferred embodiment includes a central processing unit with ancillary electronics, for example a motherboard, to support at least one signal digitizing electronics board such as an imaging board or a frame grabber. In the presently preferred embodiment, the imaging board is an EPIX PIXCID24 PCI bus imaging board, however, there are many other types of imaging boards or frame 15 grabbers from a variety of manufacturers which could be used in place of the EPIX board. An alternate embodiment could be a line scan camera that uses an interface such as IEEE 1394, also known as Firewire, to bypass the imaging board altogether and store data directly on a data storage 38, such as a hard disk.

The data processor 20 is also connected to a memory 36, such as random access 20 memory (RAM), for the short-term storage of data, and to the data storage 38, such as a hard drive, for long-term data storage. Further, the data processor 20 is connected to a communications port 40 that is connected to a network 42 such as a local area network

(LAN), a wide area network (WAN), a metropolitan area network (MAN), an intranet, an extranet, or the global Internet. The memory 36 and the data storage 38 are also connected to each other. The data processor 20 is also capable of executing computer programs, in the form of software, to control critical elements of the scanner 11 such as

5 the line scan camera 18 and the stage controller 22, or for a variety of image-processing functions, image-analysis functions, or networking. The data processor 20 can be based on any operating system, including operating systems such as Windows, Linux, OS/2, Mac OS, and Unix. In the presently preferred embodiment, the data processor 20 operates based on the Windows NT operating system.

10 The data processor 20, memory 36, data storage 38, and communication port 40 are each elements that can be found in a conventional computer. One example would be a personal computer such as a Dell Dimension XPS T500 that features a Pentium III 500 MHz processor and up to 756 megabytes (MB) of RAM. In the presently preferred embodiment, the computer, elements which include the data processor 20, memory 36,

15 data storage 38, and communications port 40 are all internal to the scanner 11, so that the only connection of the scanner 11 to the other elements of the system 10 is the communication port 40. In an alternate embodiment of the scanner 11, the computer elements would be external to the scanner 11 with a corresponding connection between the computer elements and the scanner 11.

20 The scanner 11, in the presently preferred embodiment of the invention, integrates optical microscopy, digital imaging, motorized sample positioning, computing, and network-based communications into a single-enclosure unit. The major

advantage of packaging the scanner 11 as a single-enclosure unit with the communications port 40 as the primary means of data input and output are reduced complexity and increased reliability. The various elements of the scanner 11 are optimized to work together, in sharp contrast to traditional microscope-based imaging 5 systems in which the microscope, light source, motorized stage, camera, and computer are typically provided by different vendors and require substantial integration and maintenance.

The communication port 40 provides a means for rapid communications with the other elements of the system 10, including the network 42. The presently preferred 10 communications protocol for the communications port 40 is a carrier-sense multiple-access collision detection protocol such as Ethernet, together with the TCP/IP protocol for transmission control and internetworking. The scanner 11 is intended to work with any type of transmission media, including broadband, baseband, coaxial cable, twisted pair, fiber optics, DSL or wireless.

15 In the presently preferred embodiment, control of the scanner 11 and review of the imagery data captured by the scanner 11 are performed on a computer 44 that is connected to the network 42. The computer 44, in its presently preferred embodiment, is connected to a display monitor 46 to provide imagery information to an operator. A plurality of computers 44 may be connected to the network 42. In the presently 20 preferred embodiment, the computer 44 communicates with the scanner 11 using a network browser such as Internet Explorer from Microsoft or Netscape Communicator from AOL. Images are stored on the scanner 11 in a common compressed format such a

JPEG which is an image format that is compatible with standard image-decompression methods that are already built into most commercial browsers. Other standard or non-standard, lossy or lossless, image compression formats will also work. In the presently preferred embodiment, the scanner 11 is a webserver providing an operator interface

5 that is based on webpages that are sent from the scanner 11 to the computer 44. For dynamic review of imagery data, the currently preferred embodiment of the scanner 11 is based on playing back, for review on the display monitor 46 that is connected to the computer 44, multiple frames of imagery data using standard multiple-frame browser compatible software packages such as Media-Player from Microsoft, Quicktime from

10 Apple Computer, or RealPlayer from Real Networks. In the presently preferred embodiment, the browser on the computer 44 uses the hypertext transmission protocol (http) together with TCP for transmission control.

There are, and will be in the future, many different means and protocols by which the scanner 11 could communicate with the computer 44, or a plurality of

15 computers. While the presently preferred embodiment is based on standard means and protocols, the approach of developing one or multiple customized software modules known as applets is equally feasible and may be desirable for selected future applications of the scanner 11. Further, there are no constraints that computer 44 be of any specific type such as a personal computer (PC) or be manufactured by any specific

20 company such as Dell. One of the advantages of a standardized communications port 40 is that any type of computer 44 operating common network browser software can communicate with the scanner 11.

If one so desires, it is possible, with some modifications to the scanner 11, to obtain spectrally resolved images. Spectrally resolved images are images in which spectral information is measured at every image pixel. Spectrally resolved images could be obtained by replacing the line scan camera 18 of the scanner 11 with an optical slit 5 and an imaging spectrograph. The imaging spectrograph uses a two-dimensional CCD detector to capture wavelength-specific intensity data for a column of image pixels by using a prism or grating to disperse the optical signal that is focused on the optical slit along each of the rows of the detector.

Turning now to FIG. 2, a block diagram of a second embodiment of an optical 10 microscopy system 10 according to the present invention is shown. In this system 10, the scanner 11 is more complex and expensive than the currently preferred embodiment shown in FIG. 1. The additional attributes of the scanner 11 that are shown do not all have to be present for any alternate embodiment to function correctly. FIG. 2 is intended to provide a reasonable example of additional features and capabilities that 15 could be incorporated into the scanner 11.

The alternate embodiment of FIG. 2 provides for a much greater level of automation than the presently preferred embodiment of FIG. 1. A more complete level of automation of the illumination system 28 is achieved by connections between the data processor 20 and both the light source 30 and the illumination optics 32 of the 20 illumination system 28. The connection to the light source 30 may control the voltage, or current, in an open or closed loop fashion, in order to control the intensity of the light source 30. Recall that the light source 30 is a halogen bulb in the presently preferred

embodiment. The connection between the data processor 20 and the illumination optics 32 could provide closed loop control of the field iris aperture and the condenser iris to provide a means for ensuring that optimum Köhler illumination is maintained.

Use of the scanner 11 for fluorescence imaging requires easily recognized 5 modifications to the light source 30, the illumination optics 32, and the microscope objective lens 16. The second embodiment of FIG. 2 also provides for a fluorescence filter cube 50 that includes an excitation filter, a dichroic filter, and a barrier filter. The fluorescence filter cube 50 is positioned in the infinity corrected beam path that exists between the microscope objective lens 16 and line scan camera focusing optics 34. One 10 embodiment for fluorescence imaging could include the addition of a filter wheel or tunable filter into the illumination optics 32 to provide appropriate spectral excitation for the variety of fluorescent dyes or nano-crystals available on the market.

The addition of at least one beam splitter 52 into the imaging path allows the 15 optical signal to be split into at least two paths. The primary path is via the line scan camera focusing optics 34, as discussed previously, to enable diffraction-limited imaging by the line scan camera 18. A second path is provided via an area scan camera focusing optics 54 for imaging by an area scan camera 56. It should be readily apparent that proper selection of these two focusing optics can ensure diffraction-limited imaging by the two camera sensors having different pixel sizes. The area scan camera 56 can be 20 one of many types that are currently available, including a simple color video camera, a high performance, cooled, CCD camera, or a variable integration-time fast frame camera. The area scan camera 56 provides a traditional imaging system configuration

for the scanner 11. The area scan camera 56 is connected to the data processor 20. If two cameras are used, for example the line scan camera 18 and the area scan camera 56, both camera types could be connected to the data processor using either a single dual-purpose imaging board, two different imaging boards, or the IEEE1394 Firewire 5 interface, in which case one or both imaging boards may not be needed. Other related methods of interfacing imaging sensors to the data processor 20 are also available.

While the primary interface of the scanner 11 to the computer 44 is via the network 42, there may be instances, for example a failure of the network 42, where it is beneficial to be able to connect the scanner 11 directly to a local output device such as a 10 display monitor 58 and to also provide local input devices such as a keyboard and mouse 60 that are connected directly into the data processor 20 of the scanner 11. In this instance, the appropriate driver software and hardware would have to be provided as well.

The second embodiment shown in FIG. 2 also provides for a much greater level 15 of automated imaging performance. Enhanced automation of the imaging of the scanner 11 can be achieved by closing the focus control loop comprising the piezo positioner 24, the piezo controller 26, and the data processor 20 using well-known methods of autofocus. The second embodiment also provides for a motorized nose-piece 62 to accommodate several objectives lenses. The motorized nose-piece 62 is connected to 20 and directed by the data processor 20 through a nose-piece controller 64.

There are other features and capabilities of the scanner 11 which could be incorporated. For example, the process of scanning the sample 12 with respect to the

microscope objective lens 16 that is substantially stationary in the x/y plane of the sample 12 could be modified to comprise scanning of the microscope objective lens 16 with respect to a stationary sample 12. Scanning the sample 12, or scanning the microscope objective lens 16, or scanning both the sample 12 and the microscope 5 objective lens 16 simultaneously, are possible embodiments of the scanner 11 which can provide the same large contiguous digital image of the sample 12 as discussed previously.

The scanner 11 also provides a general purpose platform for automating many types of microscope-based analyses. The illumination system 28 could be modified 10 from a traditional halogen lamp or arc-lamp to a laser-based illumination system to permit scanning of the sample 12 with laser excitation. Modifications, including the incorporation of a photomultiplier tube or other non-imaging detector, in addition to or in lieu of the line scan camera 18 or the area scan camera 56, could be used to provide a means of detecting the optical signal resulting from the interaction of the laser energy 15 with the sample 12.

Turning now to FIGS. 3A-3C, the manner in which contiguous image strips are acquired by a linear array detector according to the present invention is shown. The line scan camera 18 of FIG. 1 observes a line scan camera field of view 70 as shown in FIG. 3A. The line scan camera field of view 70 comprises the region of the sample 12 of 20 FIG. 1 that is imaged by a multitude of individual pixel elements 72 that are arranged in a linear fashion into a linear array 74 as shown in FIG. 3B. The linear array 74 of the presently preferred embodiment comprises 1024 of the individual pixel elements 72,

with each of the pixel elements 72 being 14 micrometers square. The physical dimensions of the linear array 74 of the presently preferred embodiment are 14.34 millimeters by 14 micrometers. Assuming, for purposes of discussion of the operation of the scanner 11, that the magnification between the sample 12 and the line scan camera 18 is ten, then the line scan camera field of view 70 corresponds to a region of the sample 12 that has dimensions equal to 1.43 millimeters by 1.4 micrometers. Each pixel element 72 images an area about 1.4 micrometers by 1.4 micrometers.

5 FIG. 3C illustrates that during digital scanning of the sample 12, an image 76 is acquired in image strips, such as image strip 77, starting with a first image strip 78, followed by a second image strip 80, and so on, until the last image strip 82 necessary to digitize the image 76 has been acquired. One of ordinary skill in the art will realize that the scanning may be either top-to-bottom or bottom-to-top or may start any point on the sample. The digital scanning may also involve vertical image strips rather than horizontal image strips. While desirable, it is also not necessary that the image strips be 10 acquired in a contiguous manner. The image 76 can comprise the entire sample 12 or only a portion of the sample 12. In the presently preferred embodiment of the scanner 11, the scanning and digitization is performed in a direction of travel 84 that alternates 15 between image strips, as shown in FIG. 3A. This type of bi-directional scanning provides for a more rapid digitization process than uni-directional scanning, a method of 20 scanning and digitization which requires the same direction of travel 84 for each image strip.

The capabilities of the line scan camera 18 typically determine whether scanning

can be done bi-directionally, as in the currently preferred embodiment of the scanner 11, or uni-directionally. Uni-directional systems often comprise more than one linear array 74, such as a three channel color array 86 or a multi-channel TDI array 88 shown in FIG. 3B. The color array 86 detects the RGB intensities required for obtaining a color image. An alternate embodiment for obtaining color information uses a prism to split the broadband optical signal into the three color channels. The TDI array 88 could be used in an alternate embodiment of the scanner 11 to provide a means of increasing the effective integration time of the line scan camera 18, while maintaining a fast data rate, and without significant loss in the signal-to-noise ratio of the digital imagery data.

10 Turning now to FIG. 4, a simplified flow chart of the operation of an optical microscopy system 10 according to the present invention is shown. The sample 12 is loaded into scanner 11 at step 200. The simplest method of sample loading is for an operator to physically place or position the sample 12 on the motorized stage 14. The most advanced method of sample loading is for the scanner 11 to automatically load one 15 or multiple samples 12 from a sample cassette that has been previously loaded. Other embodiments for sample loading are known in the art. In the presently preferred embodiment of this invention, sample loading is performed manually to reduce system cost and mechanical complexity.

 The scanner 11 is initialized at step 201 by commands issued from the computer 20 44, or similarly from buttons that may be part of an alternate embodiment of the scanner 11. Initialization parameters, including the desired resolution of the digitization process, the portion of the sample 12 to be digitized to create the image 76, and the name of a

relevant calibration file are entered by an operator at step 201. The scanner 11 defaults to digitizing the entire sample unless instructed otherwise. It is important to note that after loading the sample and initializing the scanner, there should be no need for the manual intervention of the operator in the image acquisition process that follows.

5 The automatic scanning and digitization of the sample 12 into the image 76 includes steps 202 through 210. These steps are orchestrated by the data processor 20 which synchronizes the read-out of imagery data from the line scan camera 18 one line or image strip at a time, while the sample 12 is moved at substantially constant velocity on the motorized stage 14 that is under control of the stage controller 22. The scanner
10 11 commences the automatic digitization of the sample 12 at step 202 with the movement of the sample 12 and the acquisition of a single line image from the line scan camera 18, starting in a predetermined region of the sample 12, for example the upper left-hand corner of the sample 12 as shown in FIG. 3C. In step 202, the motorized stage 14 is moved with respect to the line scan camera 18 in the bi-directional back and forth
15 manner discussed previously. The control logic of the decision block of step 204 determines whether the end of an image strip, such as the image strip 77, has been reached. There are many possible ways to implement this logic, some without position feedback from a position encoder. For example, the total number of image lines read out by the line scan camera 18 could be used as a means of knowing when the end of the
20 image strip has been reached. Other parameters such as total elapsed scan time or calibration markings that are part of, or positioned in close proximity to, the sample 18 could also be used. Optical limit switches are provided in the motorized stage 14 of the

presently preferred embodiment of the scanner 11 to indicate when it is time to reposition the motorized stage 14 for a new scan. If the end of the image strip 77 has not been reached at step 204, then the digitization process continues with step 202, the acquisition of the next line image. The sample 12 continues to move at approximately 5 constant velocity at all times during the digitization process, and any required focus adjustments are made in parallel with the on-going motion of the mechanical stage 14 as indicated in step 206. Because the focus will not change dramatically from one image strip to the next, focus adjustments are made relatively slowly and gradually. Assuming again, for purposes of discussion of operation of the scanner 11, that the area of the 10 sample 12 to be digitized at a magnification of 10x is 50 millimeters by 25 millimeters, then eighteen image strips, similar to the image strip 77, each of dimension 1.43 millimeters by 50 millimeters must be acquired to generate the image 76. Each image strip 77 would comprise about 36,000 by 1024 pixel elements, with the entire image 76 comprising approximately 36,000 by 18,000 pixels. Unless and until the process of 15 digitizing the desired portion of the sample 12 to create the image 76 has finished, as determined by the decision logic of step 208, the positioning of the sample 12 for a new scan occurs at step 210. Step 210 includes movement of the motorized stage 14 from one image strip to another in order to position the motorized stage 14 for a new scan.

The total time required to acquire the image 76 is proportional to the line rate at 20 which the line scan camera 18 can digitize information. In the presently preferred embodiment of the scanner 11, the line rate is 27,600 lines per second, or 28.3 million pixels per second, for the DALSA SPARK model SP12-01K30 that is used. At a line

rate of 27,600 pixels per second, each image strip 77 comprising, for purposes of discussion, 36,000 by 1024 pixels can be digitized in about 1.3 seconds (36,000/27,600). The motorized stage 14 in the present embodiment thus moves at approximately 38 millimeters per second along the x -axis, covering the entire length of 5 the 50 millimeters image strip 77 during these 1.3 seconds. Since the image 76 comprises 18 image strips 77, 23.4 seconds are required to digitize the desired portion of the sample 12. As discussed previously, this time is only valid for a bi-directional line scan camera, such as used in the preferred embodiment of the present invention, that can scan from right to left and also from left to right along the x -axis. An alternated 10 embodiment could utilize a uni-directional type of the line scan camera which can scan only from left to right. In this case, the motorized stage 14 is returned at maximum stage velocity to the same left reference position along the x -axis and all image strips, such as the image strip 77, are acquired in a uni-directional manner going only from left to right. After completing the digitization of an individual image strip, such as the 15 image strip 77, the motorized stage 14 decelerates, comes to a stop, moves downward along the y -axis and accelerates again to scan the subsequent image strip. Allowances, in both time and distance, have to be made for the motorized stage 14 to accelerate and decelerate at the beginning and end of each image strip that is scanned so as to ensure that the motorized stage 14 is moving at substantially constant velocity during the 20 scanning and digitization process. The additional time required for acceleration and deceleration depends on the x -axis performance of the motorized stage 14 and the x -axis attributes of the stage controller 22. In the presently preferred embodiment, the

acceleration and deceleration times, using S-curve profiles for smooth motion and minimum jerk, are approximately 0.7 seconds. The consideration of acceleration and deceleration of the motorized stage 14 require that during the new scan set-up comprising step 210, the line scan camera 18 moves off the edges of the portion of the 5 sample 12 that is to be digitized. The new scan set-up time depends on the particular y -axis performance of the motorized stage 14, and the y -axis attributes of the stage controller 22, and is approximately one-half second in the presently preferred embodiment of the invention. Thus, a total of 25.2 seconds, obtained by multiplying 18 image strips times 1.4 seconds, are added for acceleration and deceleration along the x -axis at the beginning and end of each image strip, and an additional nine seconds are 10 added to reposition the motorized along the y -axis for the next scan. The total time required for all portions of the process required to capture the image 76 in the present example is therefore about one minute for a bi-directional scanning embodiment.

The scanner 11 can be further optimized to minimize the total acquisition time of 15 the image 76 even more. The image acquisition time that can be achieved by the scanner 11 depends in part on the line rate of the line scan camera 18. At the line rate of 27,600 lines per second of the present example, each line image is captured in about 0.04 milliseconds. Illumination from the light source that includes a 50 watt bulb, provides sufficient light to register a signal with sufficient signal-to-noise ratio on the 20 line scan camera. At faster read-out rates, the exposure time per line is reduced and improvements and enhancements to the illumination system 28 of the scanner 11 may be required. Similarly, for applications of the scanner 11 in which less light is available,

for example fluorescence, the effective line integration time must be increased. A TDI type of line scan camera provides an excellent means of increasing the effective integration time while maintaining a fast data read-out, without significant loss in the signal-to-noise ratio of the imagery data.

5 Faster line scan cameras are commercially available and can be synchronized with faster motorized stages. Alternatively, selection of a linear array, such as linear array 74, but with more than 1024 pixel elements 72 would reduce the number of image strips that have to be scanned to capture image 76, and require fewer acceleration and deceleration cycles. Arrays comprising 2048 or more pixels often have proportionately 10 smaller line rates than arrays with 1024 pixels. The reduced line rate of such larger arrays has the dual benefit of reducing the maximum velocity required by the motorized stage 14, while increasing the line integration time, all without a reduction in total image capture time. The disadvantage of larger format linear arrays is that larger and more expensive optics and illumination systems are required to provide a high quality 15 optical signal without vignetting and other optical aberrations. It is even possible to use multiple sensors to reduce the overall image acquisition time further.

20 The scanner 11, in its presently preferred embodiment, performs the digitization of the sample using microscope objective lenses having a relatively large depth of field so as to eliminate or minimize the cost and complexity of dynamic autofocus. The theoretical depth of field of an objective lens with numerical aperture (NA) of 0.15 is greater than twenty micrometers. The depth of field degrades to about five micrometers at NA equal to 0.3 and to about 1.8 micrometers at NA equal to 0.5. Depending on the

application, the entire sample or portions of the sample 12 may be scanned without any need to adjust the focal plane, even when using objective lenses with moderate numerical apertures. Selection of relatively low NA objective lenses is consistent with one application of the scanner 11 in which it is used as an aid to extensive manual 5 scanning of the sample 12. Such conventional manual scanning is typically performed at low numerical apertures and low magnifications. The image 76 of the sample 12 can thus be used cost-effectively as the basis for a subsequently higher resolution interrogation of selected areas of the sample 12. Based on the decision logic that comprises step 220, either a conventional optical microscope as indicated in step 222 or 10 a higher resolution embodiment of the scanner 11 as shown in step 224 can be used for the higher resolution review of the sample 12. In the latter case, dynamic autofocus may be necessary. The high-resolution digitization of an entire sample 12, such as a microscope slide, or large portions of the sample 12, may not be practical or cost-effective using currently available computing power. However, future cost reductions 15 of, and improvements in, data processing, memory, and data storage are expected to make high-resolution rapid digitization a reality.

The need for focusing during scanning is indicated in step 206 and is very much dependent on the particular application of the scanner 11. The scanner 11 uses a calibration method in which a standardized calibration sample of predetermined shape 20 and size is digitized and the best focus is determined as a function of the *x/y* position of the motorized stage 14 using methods that are well known in the art. During the scanning and digitization process, the position of the microscope objective lens 16 is

moved in accordance with this x/y focus map. Many different approaches to autofocus are known in the art that could be used to change the relative position of the microscope objective lens 16 with respect to the sample 12. A vertical (z) axis component of the motorized stage 14 can be used for autofocus, although the presently preferred method 5 of the invention is to move the microscope objective lens 16 instead using the commercially available piezo positioner 24. While the total range of the piezo positioner 24 that is attached to the microscope objective lens 16 is relatively small, typically 100 micrometers, the bandwidth of a piezo is higher than that of a heavy motorized stage. The higher piezo bandwidth, typically 150 Hertz, is more desirable 10 than a stiffer mechanical stage to minimize vibrations associated with small focus changes.

One of the benefits of the scanner 11 is the rapid digitization of a large portion of the sample 12, in order to provide the image 76 that can be processed efficiently and cost effectively when compared to labor intensive manual scanning of the sample 12. 15 Consistent with this, the scanner 11, in its most basic embodiment, does not require the complexity of dynamic autofocus that is found in some conventional imaging systems. Pre-scanning and mapping of the best focus as a function of x/y position provides adequate focus for most applications. An alternate but more expensive embodiment of the scanner 11 provides extensive autofocus capabilities using an ancillary area scan 20 camera such as the area scan camera 56. More advanced calibration methods in which the spatial information for autofocusing is part of the sample 12, for example, a glass microscope slide with calibration markings, are also possible.

The overall quality of the image 76 is related to the ability of the sample 12 to be moved at substantially constant velocity. Sampling errors leading to image distortion can occur if the synchrony between the line scan camera 18 and the motorized stage 14 are not adequately preserved. Depending on the application and the need for image resolution, the scanner 11 supports different approaches for capturing data in synchrony with sample movement. Pre-scanning of a calibration target of known shape, for example a Ronchi ruling on a microscope slide, is one means by which the scanner 11 achieves constant sample velocities. Capabilities are provided in the data processor 20 to control both the time profile of position commands that are sent to the motorized stage 14 and to dynamically change the line data read-out rate of the line scan camera 18. Since the majority of velocity related errors in the motorized stage 14 are reproducible, the optimization of the position profile or the optimization of the line scan camera 18 readout-rate, so as to obtain optimum images during the calibration scan is sufficient to provide excellent images when the sample 12 is subsequently scanned and digitized. An alternate embodiment of the scanner 11 that is more suitable for digitizing high-resolution images utilizes position feedback from the motorized stage 14. The presently preferred embodiment of the scanner 11 is able to generate high quality images at low to moderate resolutions using calibration methods applied to a calibration target, without the need for feedback from expensive position encoders.

Assuming that the 36,000 by 18,000 pixel image discussed previously as an example is captured at eight bits (one byte) of quantization per pixel, 648 million bytes (megabytes or MB) of RAM are required to store all of the data for all of the image

strips 77 in their uncompressed raw format in the memory 36. A plurality of image strips 77 are assembled into the image 76 during step 212. There are many possible ways to assemble the image from the multiple image strips 77 acquired during the digitization of the sample 12. The image assembly method of the currently preferred 5 embodiment of the invention is to scan the sample 12 so as to slightly overlap the image strips 77, for example by 10-20 pixels, and to use these overlapping pixels to fine-tune the *x/y* alignment of the image strips 77 into a contiguous image 76. Using JPEG or other image compression methods, the data size of the image 76, or the size of individual image strips 77, can be reduced to five to ten percent, or less, of their original 10 size -- in many cases without appreciable loss in the information content required by a particular application. The scanner 11 is also capable of eliminating from the image 76 those empty areas that do not contain any meaningful imagery data, further reducing the data storage requirements of the image 76.

One of the motivations for digitizing the sample 12 into a large contiguous 15 image 76, typically at the low to moderate optical resolutions that are used for manually scanning of the sample 12 under a conventional optical microscope, is to be able to apply specialized computer programs to the resulting imagery data. In step 214, the analysis of the image 76 that represents a digitized portion of the sample 12, comprises a variety of methods such as the application of morphological algorithms to identify and 20 locate specific types of objects in the image 76, for example, normal or abnormal cells. Other examples of analysis methods functions might include counting or measuring algorithms, or comparison or quality assurance algorithms to identify defects in the

image 76, or other types of algorithms to differentiate the image 76 from previously measured similar images. It should be clear that once the digitization of the image of the sample 12 has been completed, the analysis methods that comprise step 214 do not require that the sample 12 be physically present or available. The methods of step 214 5 can be applied automatically, or as part of an iterative process involving an operator who interactively reviews the image 76 as shown in step 216, on the computer monitor 46 that is connected to the scanner 11 via the network 42.

A decision to return for a high resolution interrogation of selected areas of the sample 12, using information obtained from the image 76, for example object 10 coordinates obtained from the analysis of the image 76 in steps 214 and 216, is made as part of step 218. If the decision logic in step 218 does not return the analysis to the sample 12, then the operator's task is complete. If the operator wishes to return to the sample 12 as part of step 218, the decision logic of step 220 determines whether the 15 high-resolution interrogation is conducted on a conventional optical microscope as shown in step 222, or using the scanner 11 as per step 224. It should be realized that coordinate information obtained from a low to moderate resolution analysis of the image 76 is sufficient to guide the higher resolution interrogation of the sample 12 on a conventional microscope. The high-resolution review of the sample 12 using the scanner 11 comprises step 224 and includes the ability to remotely control the scanner 20 11 using many of the previously described features of the alternate embodiment of FIG. 2. For example, the position of the motorized stage 14, as well as the position of the piezo positioner 24, and the illumination intensity of the light source 30 may be under

remote control of the operator during step 224. Real-time imagery, for example from the area scan camera 56 may be the basis for this review rather than digitized information from the sample 12. Alternatively, the operator may select smaller portions of the sample 12 to be digitized at higher resolutions using either the line scan camera 5 18 or the area scan camera 56. In the former case, the process would return to the steps 202 through 210 comprising the digitization of the sample 12 and then return directly to step 224. Autofocus would be utilized as required based on the size of the portion of the sample 12 to be digitized and the depth of field of the microscope objective lens 16 that is utilized.

10 Turning now to FIGS. 5A-5B, a schematic of an image viewing frame 100 according to the present invention is shown which represents one embodiment of a graphical user interface for displaying the image 76 on the display monitor 46 for purposes of interactive reviewing of the image 76 as per step 216. The display of the image 76 that may be on the order of 36,000 by 18,000 pixels or larger, such as the 15 image 76 described in a prior example, is not possible on a conventional monitor or display device such as display monitor 46. The maximum number of pixels on currently available monitors such as a 19-inch Hitachi CM751 monitor is about 1600 by 1200 pixels, with 1024 by 768 pixels being more typical. Only portions of the image 76 can therefore be displayed at any one time at the full resolution of the entire image 76. 20 However, it is possible to display a macro image 102, that is a reduced resolution version of the image 76 on the display monitor 46, together with a higher resolution zoom image 104 that corresponds to a portion of the image 76. The region of the macro

image 102 that is displayed in the zoom image 104 is indicated on the macro image 102 itself as a zoom region 106 that can be interactively sized and moved over the entire macro image 102 by the operator. In its simplest embodiment, the zoom region 106 is a fixed rectangular region, but other icons or shapes, including manually drawn regions, 5 could also be implemented. The zoom region 106 provides a critical reference between the macro image 102 and the zoom image 104. An expanded view of the macro image 102 is shown in FIG. 5B, highlighting the presence, for illustrative purposes only, of eight schematic objects in the macro image 102, shown here as four circles and four rectangles and designated as O1 108, O2 110, O3 112, O4 114, O5 116, O6 118, O7 120 10 and O8 122. Each of the objects in a similar class, in this case similar shape, are distinguished from the other objects in the same class by a unique pattern. The use of very simple objects is intended only to illustrate and clarify the relationship between the different types of information displayed in the image viewing frame 100. In this case, objects O1 108 and O2 112 are within the zoom region 106 and are thus displayed in the 15 zoom image 104 that is part of an operator sizable zoom window 124. The user has the ability, using icons that are part of a user command window 126 that is also part of the image viewing frame 100, to increase the electronic zoom of the zoom image 104. In one embodiment, these icons would be clicked using a mouse as a pointing device, however other means of pointing to an icon or invoking the function associated with an 20 icon are known in the art and can be used here as well. Command icons may be incorporated into any of the windows that are part of the image viewing frame 100, including the user command window 126. For example, an electronic zoom icon can be

part of the zoom window 124. As the electronic zoom is increased, the size of the zoom region 106 is decreased on the macro image 102 so as to maintain a constant sized zoom image 104.

General information about any of the images can be displayed as part of the 5 window corresponding to that image. For example, a macro window 128 might display the size of the macro image 102 in pixels, the size of the zoom region 106 in pixels, and the center pixel coordinates of the zoom region 106. The zoom window 124 might display the amount of electronic zoom applied to the zoom image 104 together with a reference to a physical dimension. The size and shape of all windows such as the macro 10 window 128 and the zoom window 124 can be changed interactively by the operator, similar to the way that any windows-based software operates, to accommodate different sample types with different aspect ratios.

The results of step 214, the application of specialized computer programs to the image 76, are displayed in an object window 130 of the image viewing frame 100. The 15 object window 130 in the presently preferred embodiment of this invention comprises a multitude of object images, such as object image 132, that each correspond to different portions of the large contiguous digital image 76. Depending on their size, the object images 132 can be displayed as reduced resolution thumbprint images in an image gallery type arrangement. Clicking or pointing in one of the object images 132 also 20 results in display of that the object image 132 at full resolution as the zoom image 104 that is part of the zoom window 124. The criteria for displaying object images 132 in the object window 130 are based on the specialized computer programs that are applied

to the image 76 in step 214. In the present example, the specialized computer program would use simple boundary detection and segmentation algorithms to search the image 76 for the presence of all objects, in this case objects O1 108 through O8 122, and display these objects as object images 132 in the object window 130. A different 5 specialized computer program, for example one that is capable of counting objects and distinguishing circles from squares, could then be applied to each of the object images 132 to provide a further level of classification. The results, in this case numerical results, could be displayed in an analysis window 134 of the image viewing frame 100. The analysis window 134 in the present example could contain the total count of 10 objects, in this case eight, as well as the total count of objects in either of the two classes of shapes, square and round. There are many types of specialized computer programs which could be applied to the image 76, and many types of object images 132 which could be displayed in the object window 130 as a result of applying such specialized computer programs to the image 76. Also, there are many types of more refined 15 specialized computer programs that could be applied to the multitude of object images 132 to provide a higher level of object classification for subsequent display in the analysis window 134 in a variety of formats. The user commands window 126 of the image viewing frame 100 provides a window for interactively selecting the attributes of the image analysis that is performed as part of step 214, and the criteria for the review of 20 the image 76 in step 216.

Turning now to FIGS. 6A-6B, a schematic of a dynamic image viewing frame 150 which represents a graphical user interface according to the present invention for

dynamically displaying the image 76 on the display monitor 46 for purposes of interactive reviewing the image 76 as per step 216. The method of interactively reviewing the image 76 is intended to offer a digital imaging alternative to manually scanning the sample 12 at low to moderate resolutions under a conventional microscope

5 while at the same time viewing the optical signal through the eyepieces of the microscope. One of the objects of the presently preferred invention is to provide a means of replacing manual scanning of the sample 12 by dynamically viewing the image 76 that is a digitization of a portion of the sample 12, and preferably a diffraction-limited digitization of the sample 12, on the display monitor 46. There are many

10 advantages to this approach, including a more comfortable and controlled viewing environment in which intelligent scanning and electronic zooming methods applied to the digital imagery data can increase the productivity of an operator charged with finding selected objects, for example abnormal cells, in the image. Specific objects that are identified can then be relocated, depending on the decision logic of steps 218 and

15 220, under a conventional microscope or using the scanner 11. Another advantage, afforded by the connection of the scanner 11 to the network 42, is that the dynamic review of the image 76 can be performed remotely without requiring access to the sample 12. Further, reviewing a digitized version of the sample 12, namely the image 76, lends itself to a variety of techniques for monitoring the specific areas of the image

20 76 that have been viewed. It is also straightforward to measure the time that the operator has spent viewing specific areas of the image 76.

The dynamic image viewing frame 150 includes the same macro image 102

within the macro window 128 as that in the previously discussed image viewing frame 100 of FIG. 5A. The dynamic image viewing frame 150 also includes the zoom image 104 within the zoom window 124 and the zoom region 106 that relates the macro image 102 to the zoom image 104, similar to the image viewing frame 100 described previously. While the size of all windows can be changed by the operator, the zoom window 124 in the dynamic image viewing frame 150 will typically be smaller than in the previously described image viewing frame 100 to allow a movie image 152 to be displayed with sufficient resolution within a movie window 154. The movie image 152 is a full resolution dynamic image that is updated, as required, to simulate scanning the image 76 at a speed and direction determined by the operator. Returning again to the example of an image, such as the image 76, that is 36,000 by 18,000 pixels, the movie image 152 could be generated by dividing the large image 76 into multiple movie image strips 156 that can be displayed at a user-selectable resolution on the display monitor 46. For example, if the desired movie image resolution is 600 by 600 pixels, then the image 76 would be divided into thirty movie image strips 156 of 600 by 36,000 pixels, or alternatively, into sixty movie image strips 156 of 600 by 18,000 pixels. The movie image strip 156 is then displayed in the movie window 154 of the dynamic image viewing frame 150 so as to simulate scanning of the image 76 of the sample 12. One way to simulate this scanning along either the x- or y-axis is to remove at least one previously shown column of pixels along one edge of the movie image 152 while adding at least one new column of image pixels along the opposing edge of the movie image 152. A series of movie images 152 that differs from each other as described can

comprise the individual frames of a digital movie that is played and displayed in the movie window 154 on the display monitor 46 using conventional browser software such as Media Player from Microsoft. This type of simulated scanning is similar to what might be observed in the binoculars of a conventional microscope while manually 5 scanning the sample 12.

One potential disadvantage of this type of simulated scanning of the image 76 of the sample 12 is that objects in the movie image 152 are typically in motion, making it more challenging for an operator to identify objects, or requiring the operator to execute multiple stop-and-go commands during the process of scanning the image 76 of the 10 sample 12. An alternate scanning method without the negative effects of motion can also be achieved with the scanner 11. This alternate process comprises dividing the movie image strip 156 into contiguous image fields of, for example, 600 by 600 pixels each, and then displaying these contiguous images one at a time, preferably with some overlap between images, as a series of movie images 152. The specific reference to a 15 600 by 600 pixel image is only meant to illustrate the principles of the idea, as images of other size can also be used. It should be apparent that there are many methods for dynamically reviewing the image 76 that provide an advantage over viewing the sample 12 on a conventional microscope. A scan tracker 158 could be shown on the macro image 102 itself to indicate those regions of the image 76 that have previously been 20 viewed as movie images 152. Since the operator can control the speed of the simulated scanning of the image 76, the operator may spend more time on some areas than on others. The scan tracker 158 could be color coded, for example, to indicate relative

dwell times, providing immediate feedback to the operator regarding the thoroughness of the review of the image 76. Other more advanced simulated image scanning methods are also possible. For example, specialized computer algorithms might rank areas of the image 76 in terms of their importance and present the movie images 152 according to 5 such relative importance criteria. For sparse images, empty areas could be skipped entirely, making the operator more efficient by not requiring viewing of essentially blank fields on the image 76. Specialized computer algorithms could be employed to eliminate from the movie image 152 certain elements of the image 76. For example, clutter or objects or cells that may not be important for the analysis of image 76, or may 10 not be relevant in making a diagnosis associated with image 76, could be eliminated from the image 76 prior to the display of the movie image 152. Ergonomic controllers such as joysticks, trackballs, gamepads, or footpedals could also be utilized to provide further performance improvements over clicking and pointing icons or buttons in the user commands window 126 of the dynamic image viewing frame 150. Examples of 15 functions that could be useful to dynamically review the image 76 include functions such as forward play, backward play, fast forward, rewind, pause, loop, and other functions similar to what can be found in a conventional video playing or editing environment. It should also be realized that depending on the circumstances, there may be a need to store individual image frames, object coordinates, or other data for future 20 reference or subsequent review of the image 76.

While the invention has been illustrated and described by means of specific embodiments, it is to be understood that numerous changes and modifications may be

made therein without departing from the spirit and scope of the invention as defined in the appended claims and equivalents thereof.

CLAIMS

1. A scanner for automatically digitizing at least a portion of a microscope sample having a primary sample plane defined by a surface of the sample having the maximum area, the scanner comprising:
 - 4 a motorized stage for mounting and moving the sample in a first manner and a second manner, the first manner being movement of the sample in the sample plane at substantially constant velocity between a predetermined first position and a predetermined second position along a primary axis of travel defined by the first position and the second position, the second manner being movement of the sample along a secondary axis that is orthogonal to the primary axis of travel and in the sample plane;
 - 10 an illumination system whereby at least one portion of the sample is illuminated;
 - 12 at least one microscope objective lens positioned along an optical axis centered about the portion of the sample illuminated by the illumination system and orthogonal to the sample plane;
 - 14 focusing optics whereby an optical signal from the microscope objective lens is focused onto an image plane that is orthogonal to the optical axis;
 - 16 at least one camera comprising a plurality of light-responsive elements disposed in at least one linear array, the light-responsive elements positioned in the image plane with respect to the motorized stage such that the camera has a linear field of view of a region of the sample on the motorized stage illuminated by the illumination system and orthogonal to the primary axis of travel; and

22 a data processor for digitizing, processing, and storing light intensities from the
plurality of light-responsive elements in synchrony with predetermined sample motion,
24 the sample motion being movement of the sample in the first manner to acquire a first
image strip of the sample followed by movement of the sample in the second manner to
26 position the camera for acquiring a second contiguous image strip, and repeating the
sample motion as necessary so as to digitize the portion of sample for purposes of
28 generating a complete image of the portion of the sample.

2. The scanner as defined in claim 1, further comprising a stage controller
2 connected between the motorized stage and the data processor whereby the data
processor determines the position of the motorized stage.

3. The scanner as defined in claim 1, wherein the motorized stage is capable
2 of moving the sample in a third manner being movement of the sample along the optical
axis.

4. The scanner as defined in claim 1, further comprising a piezo positioner
2 attached to the at least one microscope objective lens for moving the objective lens
along the optical axis.

5. The scanner as defined in claim 4, further comprising a piezo controller
2 connected between the piezo positioner and the data processor whereby the data
processor directs the piezo positioner.

6. The scanner as defined in claim 1, wherein the motorized stage
2 comprises a plurality of stepper motors.

7. The scanner as defined in claim 1, wherein the motorized stage

2 comprises a plurality of servo motors and a plurality of position encoders.

8. The scanner as defined in claim 1, wherein the illumination system

2 comprises a light source and illumination optics.

9. The scanner as defined in claim 8, wherein the light source and

2 illumination optics are optimized for transmission mode optical microscopy.

10. The scanner as defined in claim 9, wherein the light source comprises a
2 variable intensity halogen lamp, a concave reflective mirror, and a heat suppression
filter.

11. The scanner as defined in claim 8, wherein the light source and
2 illumination optics illuminate at least one substantially circular portion of the sample.

12. The scanner as defined in claim 8, wherein the light source and
2 illumination optics are optimized for reflection mode optical microscopy.

13. The scanner as defined in claim 8, wherein the light source and
2 illumination optics are optimized for fluorescence mode optical microscopy.

14. The scanner as defined in claim 8, wherein the light source and
2 illumination optics are each connected to the data processor whereby the data processor
maintains optimum illumination.

15. The scanner as defined in claim 1, wherein the at least one microscope
2 objective lens is of the infinity-corrected type.

16. The scanner as defined in claim 1, wherein the focusing optics comprises
2 a tube lens optic mounted inside of a mechanical tube.

17. The scanner as defined in claim 16, wherein the tube lens optic is

2 selected to provide diffraction-limited imaging.

18. The scanner as defined in claim 1, wherein the at least one camera
2 comprises a line scan camera.

19. The scanner as defined in claim 18, wherein the line scan camera is
2 capable of bi-directional scanning.

20. The scanner as defined in claim 1, further comprising a memory
2 connected to the data processor whereby data is stored.

21. The scanner as defined in claim 1, further comprising a communications
2 port connected to the data processor whereby the scanner communicates with at least
one computer via a network.

22. The scanner as defined in claim 1, further comprising a fluorescence
2 filter cube positioned along the optical axis between the at least one microscope
objective lens and the focusing optics.

23. The scanner as defined in claim 1, further comprising a beam splitter
2 positioned along the optical axis between the at least one microscope objective lens and
the focusing optics whereby the optical signal from the microscope objective lens is
4 split into at least a second optical axis.

24. The scanner as defined in claim 23, further comprising:
2 second focusing optics whereby the optical signal from the beam splitter is
focused onto a second image plane that is orthogonal to the at least a second optical
4 axis; and

at least a second camera comprising a plurality of light-responsive elements

6 positioned in the second image plane;

wherein the second camera is connected to the data processor.

25. The scanner as defined in claim 24, wherein the at least a second camera
2 comprises an area scan camera.

26. The scanner as defined in claim 1, further comprising:

2 a motorized nose-piece capable of holding a plurality of microscope objectives

lens; and

4 at least a second microscope objective lens;

wherein both the at least one and the at least a second microscope objective
6 lenses are held by the motorized nose-piece

27. The scanner as defined in claim 26, further comprising a nose-piece
2 controller connected between the motorized nose-piece and the data processor whereby
the data processor selects from among the plurality of microscope objective lenses held
4 by the motorized nose-piece.

28. The scanner as defined in claim 1, further comprising a motorized nose-
piece capable of holding and moving the at least one microscope objective lens in a first
manner and a second manner, the first manner being movement of the microscope
4 objective lens parallel to the sample plane at substantially constant velocity between a
predetermined first position and a predetermined second position along a primary axis
6 of travel defined by the first position and the second position, the second manner being
movement of the microscope objective lens along a secondary axis that is orthogonal to
8 the primary axis of travel and in the sample parallel plane.

29. The scanner as defined in claim 28, further comprising a nose-piece
2 controller connected between the motorized nose-piece and the data processor whereby
the data processor determines the position of the microscope objective lens held by the
4 motorized nose-piece.

30. The scanner as defined in claim 1, further comprising a local output
2 device and at least one local input device each connected to the data processor of the
scanner.

31. A scanner for automatically digitizing at least a portion of a microscope
2 sample having a primary sample plane defined by a surface of the sample having the
maximum area, the scanner comprising:
4 a stage for mounting the sample;
an illumination system whereby at least one portion of the sample is illuminated;
6 at least one microscope objective lens positioned along an optical axis centered
about the portion of the sample illuminated by the illumination system and orthogonal
8 to the sample plane;

a motorized nose-piece capable of holding and moving the at least one
10 microscope objective lens in a first manner and a second manner, the first manner being
movement of the microscope objective lens parallel to the sample plane at substantially
12 constant velocity between a predetermined first position and a predetermined second
position along a primary axis of travel defined by the first position and the second
14 position, the second manner being movement of the microscope objective lens along a
secondary axis that is orthogonal to the primary axis of travel and in the sample parallel

16 plane;

focusing optics whereby an optical signal from the microscope objective lens is

18 focused onto an image plane that is orthogonal to the optical axis;

at least one camera comprising a plurality of light-responsive elements disposed

20 in at least one linear array, the light-responsive elements positioned in the image plane

with respect to the stage such that the camera has a linear field of view of a region of the

22 sample on the stage illuminated by the illumination system and orthogonal to the

primary axis of travel; and

24 a data processor for digitizing, processing, and storing light intensities from the

plurality of light-responsive elements in synchrony with predetermined microscope

26 objective lens motion, the microscope objective lens motion being movement of the

microscope objective lens in the first manner to acquire a first strip image of the sample

28 followed by movement of the microscope objective lens in the second manner to

position the camera for acquiring a second contiguous strip image, and repeating the

30 microscope objective lens motion as necessary so as to digitize the portion of sample for

purposes of generating a complete image of the portion of the sample.

32. The scanner as defined in claim 31, further comprising a nose-piece

2 controller connected between the motorized nose-piece and the data processor whereby

the data processor determines the position of the microscope objective lens held by the

4 motorized nose-piece.

33. The scanner as defined in claim 31, wherein the stage further comprises a

2 motorized stage for mounting and moving the sample in a first manner and a second

manner, the first manner being movement of the sample in the sample plane at
4 substantially constant velocity between a predetermined first position and a
predetermined second position along a primary axis of travel defined by the first
6 position and the second position, the second manner being movement of the sample
along a secondary axis that is orthogonal to the primary axis of travel and in the sample
8 plane.

34. The scanner as defined in claim 33, further comprising a stage controller
2 connected between the motorized stage and the data processor whereby the data
processor determines the position of the motorized stage.

35. An optical microscopy system for automatically digitizing and reviewing
2 at least a portion of a microscope sample having a primary sample plane defined by a
surface of the sample having the maximum area, the system comprising:
4 a network;
at least one computer connected to the network; and
6 a scanner connected to the network, the scanner comprising:
a motorized stage for mounting and moving the sample in a first manner
8 and a second manner, the first manner being movement of the sample in the
sample plane at substantially constant velocity between a predetermined first
10 position and a predetermined second position along a primary axis of travel
defined by the first position and the second position, the second manner being
12 movement of the sample along a secondary axis that is orthogonal to the primary
axis of travel and in the sample plane;

14 an illumination system whereby at least one portion of the sample is
illuminated;

16 at least one microscope objective lens positioned along an optical axis
centered about the portion of the sample illuminated by the illumination system
18 and orthogonal to the sample plane;

20 focusing optics whereby an optical signal from the microscope objective lens is focused onto an image plane that is orthogonal to the optical axis;

22 at least one camera comprising a plurality of light-responsive elements
disposed in at least one linear array, the light-responsive elements positioned in
the image plane with respect to the motorized stage such that the camera has a
24 linear field of view of a region of the sample on the motorized stage illuminated
by the illumination system and orthogonal to the primary axis of travel; and

26 a data processor for digitizing, processing, and storing light intensities
from the plurality of light-responsive elements in synchrony with predetermined
28 sample motion, the sample motion being movement of the sample in the first
manner to acquire a first strip image of the sample followed by movement of the
30 sample in the second manner to position the camera for acquiring a second
contiguous strip image, and repeating the sample motion as necessary so as to
32 digitize the portion of sample for purposes of generating a complete image of the
portion of the sample.

36. The system as defined in claim 35, further comprising a local output device and at least one local input device each connected to the scanner.

37. A method of automatically digitizing with a scanner at least a portion of
2 a microscope sample having a primary sample plane defined by a surface of the sample
having the maximum area, the scanner comprising a linear array camera digitizing

digitally scanning and storing a first image strip from a portion of the sample,

6 while the sample is moving with respect to the linear array camera digitizing detector at substantially constant velocity;

8 moving the sample so as to position the detector to a contiguous portion of the sample;

10 digitally scanning and storing a second image strip from a contiguous portion of the sample, while the sample is moving with respect to the detector at substantially constant velocity; and

12 repeating the steps of digitally scanning and storing contiguous image strips until the portion of the microscope sample has been completely digitized.

14

38. The method as defined in claim 37, wherein the step of digitally scanning
2 and storing a first image strip is performed in a first direction and the step of digitally
scanning and storing a second image strip is performed in a second direction that is
4 opposite to the first direction.

39. The method as defined in claim 37, further comprising the step of
2 assembling the plurality of contiguous image strips into a contiguous image.

40. A method of automatically digitizing and reviewing with an optical
2 microscopy system at least a portion of a microscope sample having a primary sample

plane defined by a surface of the sample having the maximum area, the optical
4 microscopy system comprising a network, at least one computer connected to the
network, and a scanner connected to the network, the scanner having a linear array
6 camera digitizing detector, the method comprising the steps of:
initializing the scanner;
8 automatically digitizing an image of the portion of the microscope sample with
the scanner through the steps of:
10 digitally scanning and storing a first image strip from a portion of the
sample, while the sample is moving with respect to the linear array camera
12 digitizing detector at substantially constant velocity;
moving the sample so as to position the detector to a contiguous portion
14 of the sample;
digitally scanning and storing a second image strip from a contiguous
16 portion of the sample, while the sample is moving with respect to the detector at
substantially constant velocity; and
18 repeating the steps of digitally scanning and storing contiguous image
strips until the portion of the microscope sample has been completely digitized;
20 and
reviewing the digitized image with the computer.

41. The method as defined in claim 40, wherein the step of digitally scanning
2 and storing a first image strip is performed in a first direction and the step of digitally
scanning and storing a second image strip is performed in a second direction that is

4 opposite to the first direction.

42. The method as defined in claim 40, further comprising the steps of:

2 determining whether to return analysis to the sample based on the review of the
digitized image; and

4 upon a determination in favor of return analysis, determining whether the return
analysis should be performed by a conventional microscope or the scanner.

43. A computer image viewing frame for at least one complete image of a
2 portion of a microscope sample comprising:

4 a macro window where a macro image is displayed;
an object window where at least one object image at low resolution is displayed;
a zoom window where a zoom image or an object image at high resolution is
6 displayed; and
a user commands window where at least one control icon is displayed.

44. The frame as defined in claim 43, further comprising an analysis window
2 where at least one statistic is displayed.

45. The frame as defined in claim 44, wherein any of a plurality of image
2 attributes can be interactively selected as a basis for analysis.

46. The frame as defined in claim 43, wherein any of the windows can be
2 interactively sized and moved within the entire frame.

47. The frame as defined in claim 43, further comprising a zoom region
2 displayed in the macro window that corresponds to a zoom image displayed in the zoom
window.

48. The frame as defined in claim 47, wherein the zoom region can be
2 interactively sized and moved over the entire macro image.

49. A method of generating a computer image viewing frame for at least one
2 complete image of a portion of a microscope sample, the method comprising the steps
of:

4 displaying a macro image in a macro window;
displaying at least one object image at low resolution in an object window;
6 displaying a zoom image or an object image at high resolution in a zoom
window; and
8 displaying at least one control icon in a user commands window.

50. The method as defined in claim 49, further comprising the step of
2 displaying at least one statistic in an analysis window.

51. The method as defined in claim 50, further comprising the step of
2 interactively selecting any of a plurality of image attributes as a basis for analysis.

52. The method as defined in claim 49, further comprising the step of
2 interactively sizing and moving any of the windows within the entire frame.

53. The method as defined in claim 49, further comprising the step of
2 displaying a zoom region in the macro window that corresponds to a zoom image
displayed in the zoom window.

54. The method as defined in claim 53, further comprising the step of
2 interactively sizing and moving the zoom region over the entire macro image.

55. A dynamic computer image viewing frame for at least one complete
2 image of a portion of a microscope sample comprising:
4 a macro window where a macro image is displayed;
6 a movie window where a movie image is displayed;
a zoom window where a zoom image is displayed; and
a user commands window where at least one control icon is displayed.

56. The frame as defined in claim 55, further comprising an analysis window
2 where at least one statistic is displayed.

57. The frame as defined in claim 56, wherein any of a plurality of image
2 attributes can be interactively selected as a basis for analysis.

58. The frame as defined in claim 55, wherein any of the windows can be
2 interactively sized and moved within the entire frame.

59. The frame as defined in claim 55, further comprising a zoom region
2 displayed in the macro window that corresponds to a zoom image displayed in the zoom
window.

60. The frame as defined in claim 59, wherein the zoom region can be
2 interactively sized and moved over the entire macro image.

61. The frame as defined in claim 55, further comprising a scan tracker
2 displayed in the macro window that corresponds to regions of the macro image that have
been displayed in the movie window.

62. A method of generating a dynamic computer image viewing frame for at least one complete image of a portion of a microscope sample, the method comprising the steps of:

- 4 displaying a macro image in a macro window;
- displaying a movie image in a movie window;
- 6 displaying a zoom image in a zoom window; and
- displaying at least one control icon in a user commands window.

63. The method as defined in claim 62, further comprising the step of displaying at least one statistic in an analysis window.

64. The method as defined in claim 63, further comprising the step of interactively selecting any of a plurality of image attributes as a basis for analysis.

65. The method as defined in claim 62, further comprising the step of interactively sizing and moving any of the windows within the entire frame.

66. The method as defined in claim 62, further comprising the step of displaying a zoom region in the macro window that corresponds to a zoom image displayed in the zoom window.

67. The method as defined in claim 66, further comprising the step of interactively sizing and moving the zoom region over the entire macro image.

68. The method as defined in claim 62, further comprising the step of displaying a scan tracker in the macro window that corresponds to regions of the macro image that have been displayed in the movie window.

69. A method of generating a dynamic computer movie image for at least
2 one complete image of a portion of a microscope sample, the method comprising the
steps of:

4 dividing the complete image into a plurality of movie image strips; and
displaying at least a portion of one of the plurality of movie image strips in a
6 movie window in a manner that simulates a manual scanning motion of a conventional
microscope.

70. The method as defined in claim 69, further comprising the step of
2 ranking portions of the movie image strips based on their image content and displaying
those portions in rank order.

71. The method as defined in claim 70, wherein the portions of the movie
2 image strips that rank of no importance are not displayed.

72. The method as defined in claim 70, wherein the portions of the movie
2 image strips that rank of lower importance are displayed at a first rate, the portions of
the movie image strips that rank of higher importance are displayed at a second rate, and
4 the first rate is faster than the second rate.

73. The method as defined in claim 69, further comprising the step of
2 evaluating elements of the movie image strips based on their image content and
eliminating those elements that are not important to the user.

Abstract

Apparatus for and method of fully automatic rapid scanning and digitizing of an entire microscope sample using a computer controlled microscope slide scanner for composing the image strips obtained from successive scans of the sample into a single contiguous digital image. The method provides for statically displaying sub-regions of this large digital image at different magnifications, together with a reduced magnification macro-image of the entire sample. The method also provides for dynamically displaying portions of the contiguous digital image. In one preferred embodiment all elements of the scanner are in single-enclosure with a primary connection to the Internet or to a local intranet. In this embodiment, the preferred sample type is a microscope slide with illumination and imaging optics consistent with transmission mode optics for diffraction-limited digital imaging.

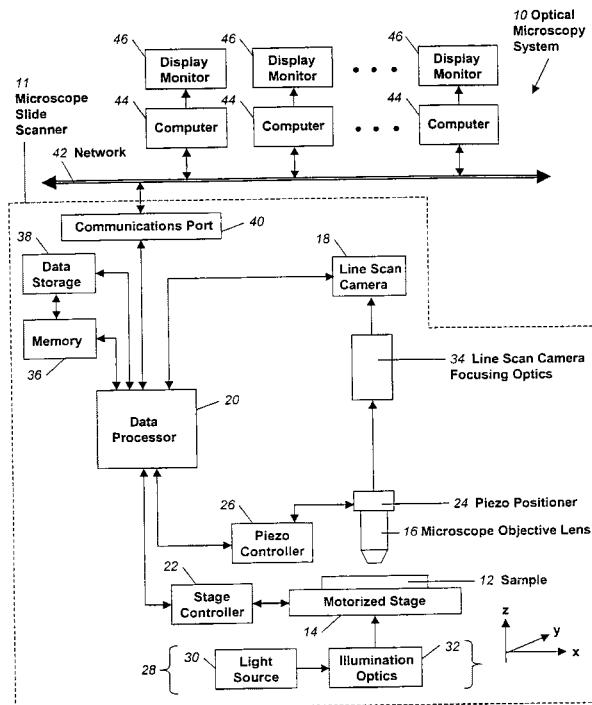


FIG. 1

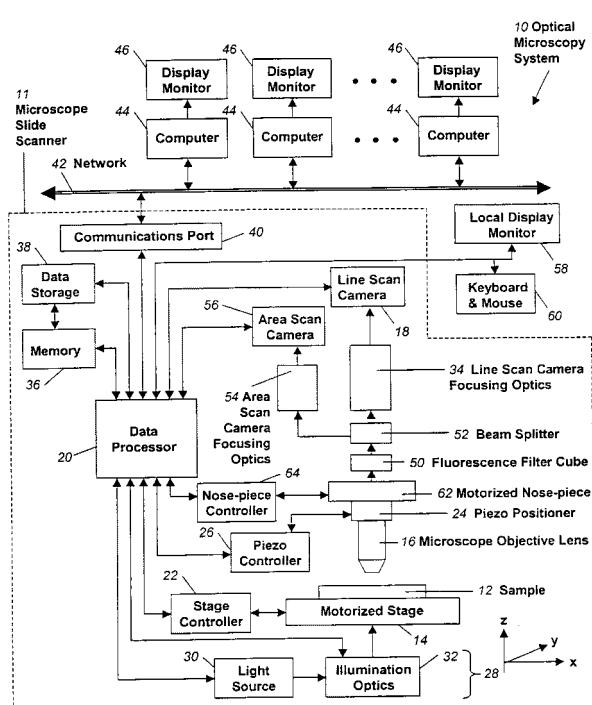


FIG. 2

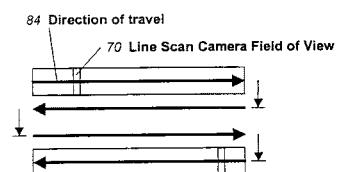


FIG. 3A

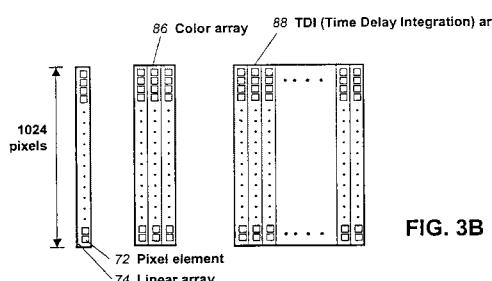


FIG. 3B

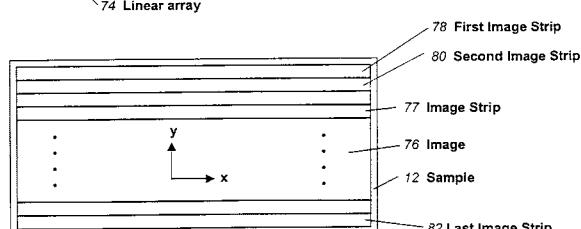


FIG. 3C

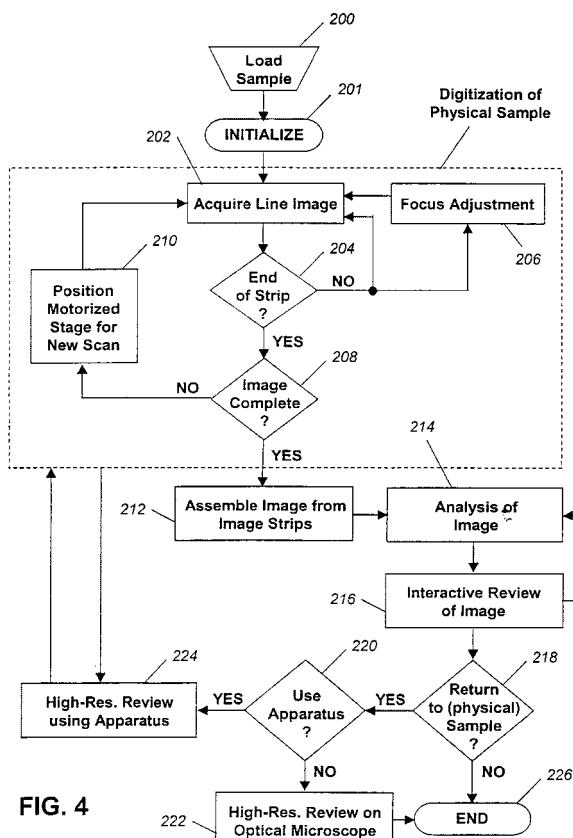


FIG. 4

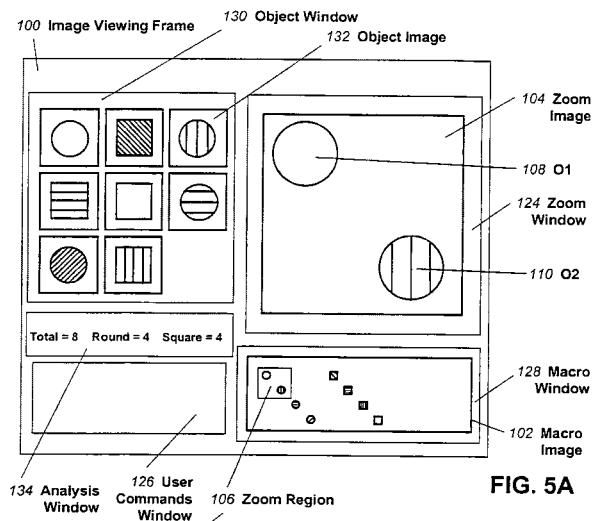


FIG. 5A

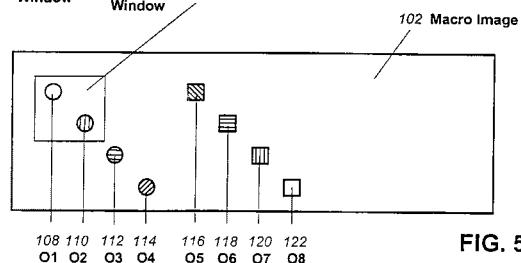


FIG. 5B

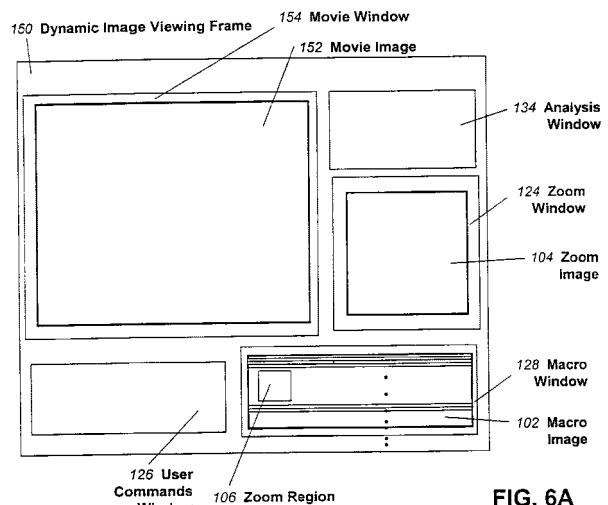


FIG. 6A

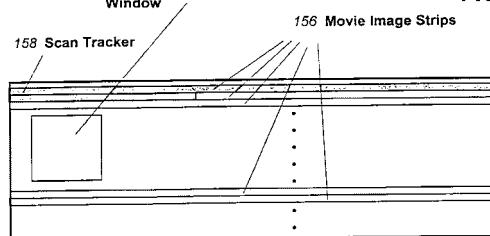


FIG. 6B