



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(11) CH 705 318 A1

(51) Int. Cl.: G01N 21/64 (2006.01)

Patentanmeldung für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: 01220/11

(22) Anmeldedatum: 21.07.2011

(43) Anmeldung veröffentlicht: 31.01.2013

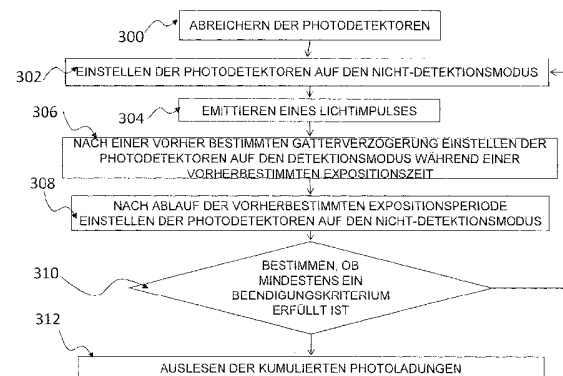
(71) Anmelder:
CSEM Centre Suisse d'Electronique et de Microtechnique
SA Recherche et Développement, Rue Jaquet-Droz 1
2002 Neuchâtel (CH)

(72) Erfinder:
Peter Seitz, 8902 Urdorf (CH)
Christof Fattinger, 4223 Blauen (CH)

(74) Vertreter:
Schneider Feldmann AG Patent- und Markenanwälte,
Beethovenstrasse 49, Postfach 2792
8022 Zürich (CH)

(54) System und Verfahren zur zeitauflösenden Fluoreszenzdetektion.

(57) Die Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung offenbaren ein Fluoreszenzdetektionssystem, das betriebsfähig ist, um eine Fluoreszenzstrahlung in zeitgesteuerter Synchronität zu erkennen. Gemäss den Ausführungsformen der Erfindung kann das Fluoreszenzdetektionssystem einen Bildsensor umfassen, der betriebsfähig ist, um eine Fluoreszenzstrahlung zu erkennen, und der eine Vielzahl von Photodetektoren umfasst. Jeder Photodetektor ist betriebsfähig, um eine erkannte Fluoreszenzstrahlung in eine entsprechende Anzahl von Ausgangsladungen umzuwandeln. Das Fluoreszenzdetektionssystem kann dadurch gekennzeichnet sein, dass jeder der Vielzahl von Photodetektoren mindestens einen Ladungsintegrierer umfasst, der betriebsfähig ist, um während eines vorherbestimmten Zeitintervalls die Ausgangsphotoladungen, die als Reaktion auf die erkannte Fluoreszenzstrahlung generiert werden, selektiv zu integrieren.



Beschreibung

GEBIET DER ERFINDUNG

[0001] Die offenbarte Technik betrifft das Gebiet der Fluoreszenzabbildung und genauer gesagt das Gebiet der zeitaufgelösten Fluoreszenzabbildung.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0002] Die offenbarte Technik wird aus der nachstehenden ausführlichen Beschreibung besser verständlich und anerkannt werden, wenn diese in Zusammenhang mit den Zeichnungen gesehen wird. Es zeigen:

[0003] Fig. 1 eine Abbildung einer Kurve der Amplitude als Funktion der Abklingzeit von Autofluoreszenz, Markierungsfluoreszenz und der Summe derselben (nachstehend: Gesamtfluoreszenz);

[0004] Fig. 2 eine Abbildung eines schematischen Blockdiagramms eines zeitauflösenden Fluoreszenzdetektionssystems, das gemäss einer Ausführungsform der Erfindung aufgebaut ist und funktioniert; und

[0005] Fig. 3 eine Abbildung eines Ablaufschemas eines Verfahrens zur zeitaufgelösten Fluoreszenzdetektion gemäss einer Ausführungsform der Erfindung.

[0006] Es versteht sich, dass der Einfachheit und Übersichtlichkeit halber die in den Figuren gezeigten Elemente nicht unbedingt massstabsgetreu gezeichnet sind. Beispielsweise können die Abmessungen einiger Elemente im Verhältnis zu anderen Elementen der Übersichtlichkeit halber übertrieben sein. Ferner können gegebenenfalls Bezugsnummern in den Figuren wiederholt werden, um identische oder ähnliche Elemente anzugeben, ohne jedoch in der Beschreibung aller Figuren erwähnt zu werden.

ALLGEMEINER STAND DER TECHNIK

[0007] Systeme und Verfahren zur Fluoreszenzdetektion gehören zu den wichtigsten Hilfsmitteln der Biowissenschaft und werden verwendet, um die Eigenschaften von Prüfkörpern zu untersuchen, indem der Effekt der Fluoreszenz verwendet wird.

[0008] Um die Eigenschaften an verschiedenen Stellen der Prüfkörper zu untersuchen, wird ein optoelektronisches Abbildungssystem, wie etwa ein Lichtmikroskop, verwendet. Interessante organische oder anorganische Substanzen in einem Prüfkörper werden spezifisch mit Fluoreszenzmarkern, die nachstehend als «Fluorophore» bezeichnet werden, markiert. Der markiert wird mit Licht einer oder mehrerer spezifischer Wellenlängen beleuchtet, die in der Lage sind, die Fluorophore anzuregen. Diese Fluorophore emittieren dann eine Fluoreszenzstrahlung (nachstehend: «Markierungsfluoreszenz») auf einer längeren oder kürzeren Wellenlänge als das Anregungslicht. Bei der Zwei-Photonen-Fluoreszenzmikroskopie weist das emittierte Fluoreszenzlicht eine kürzere Wellenlänge als das Anregungslicht auf. Die Fluoreszenzstrahlung wird auf einer lichtempfindlichen Oberfläche abgebildet, wo sie erkannt wird, und das entsprechende Signal, das die erkannte Fluoreszenzstrahlung darstellt, wird weiter verarbeitet.

[0009] Viele biologische Prüfkörper enthalten erhebliche Mengen organischer Verbindungen, von denen mehrere eigenfluoreszierend sind, so dass sie so genannte Autofluoreszenz-Eigenschaften aufweisen. Zudem könnte der Behälter oder der Halter des Prüfkörpers ebenfalls Autofluoreszenz-Eigenschaften aufweisen, insbesondere wenn der Behälter Autofluoreszenzmoleküle umfasst, beispielsweise wenn der Behälter oder der Halter aus Glas oder einem Polymermaterial hergestellt ist. Diese Art von Fluorophoren wird nachstehend als «Autofluorophoren» bezeichnet. Entsprechend kann die Gesamtfluoreszenzstrahlung, die in einem Prüfkörper erzeugt wird, sowohl Autofluoreszenz- als auch Markierungsfluoreszenz-Komponenten jeweils von Autofluorophoren und Markierungsfluorophoren enthalten.

[0010] Bisher wurden diverse Arten von Fluoreszenzsystemen und Verfahren vorgeschlagen in der Bemühung, Autofluoreszenz und Markierungsfluoreszenz in der Gesamtfluoreszenzstrahlung auseinander zu halten.

[0011] Die nachstehenden Veröffentlichungen behandeln dieses Problem, indem sie versuchen, eine Reduzierung des Autofluoreszenzlichtes des Hintergrundes zu erzielen.

[0012] Das US-Patent Nr. 3 013 467 im Namen von Minsky, mit dem Titel «Microscopy apparatus» offenbart ein optisches System, das ein Mittel umfasst, um eine punktförmige Lichtquelle zu erzeugen. Licht aus dieser punktförmigen Quelle wird auf einen zu vergrößernden Prüfkörper fokussiert, um ein punktförmiges Beobachtungsfeld zu beleuchten, das in dem Prüfkörper enthalten ist. Der beleuchtete Punkt wird dann als Bild des Punktes auf eine Lochblende fokussiert, und die Lichtstärke des Bildes wird von einer lichtempfindlichen Vorrichtung gemessen. Während das optische System feststehend bleibt, werden Mittel bereitgestellt, um den Prüfkörper in einem ausgewählten Muster über den Fokuspunkt der Beleuchtung zu bewegen, so dass ein ausgewählter Bereich des Prüfkörpers durch den Lichtpunkt geht und davon untersucht wird. Dieses Scanmuster, das der Prüfkörper durchquert, wird von einem identischen Scanmuster oder Raster auf einer Anzeigevorrichtung, wie etwa einer Kathodenstrahlröhre, wiedergegeben, der auch das Signal von der lichtempfindlichen Vorrichtung zugeführt wird. Der Rasterbereich geht weit über den ausgewählten Bereich des Prüfkörpers hinaus. Daher wird ein Bild des zweiten Prüfkörperbereichs in einem stark vergrößerten Massstab in dem Raster der Kathodenstrahlröhre wiedergegeben.

[0013] Das US-Patent Nr. 6 248 988 im Namen von Krantz, mit dem Titel «Conventional and confocal multi-spot Scanning optic microscope» offenbart ein optisches Mikroskopsystem umfassend ein Spot-Array-Beleuchtungssystem, das ein Mikrolinsen-Array oder ein Lochblenden-Array (oder beides) aufweist, um ein Array aus mehreren getrennten fokussierten Lichtpunkten zu erzeugen, das ein Objekt beleuchtet, ein Abbildungs- und Detektionssystem, das einen Array-Detektor mit Detektionselementen umfasst, die angeordnet sind, um gleichzeitig Licht für jeden Punkt zu erkennen, der von dem beleuchteten Objekt abgebildet wird, Mittel zum Scannen der Position des Arrays von getrennten Punkten im Verhältnis zum Objekt, die jeden Pixel abtasten, um ein Bild eines ganzen Feldes des Objekts in einem zusammenhängenden Durchgang zu erfassen. Ein Prozessor erstellt das Bild aus den Pixeldaten, die nacheinander von dem Detektor-Array empfangen werden.

[0014] Die nachstehende Veröffentlichung offenbart einen alternativen Lösungsansatz, um zwischen Autofluoreszenz und Markierungsfluoreszenz zu unterscheiden, der auf Fluoreszenzsystemen und -verfahren basiert, bei denen die Richtungen der Beleuchtung und Beobachtung nicht mehr kollinear sind, um die Detektion von Autofluoreszenz zu vermeiden oder mindestens zu reduzieren.

[0015] Die internationale Patentanmeldung WO 2009/088 874 im Namen von Brown et al., mit dem Titel «Optical Substrate for Microscopic Imaging of a Sample with Reduced Background Fluorescence», offenbart eine Substratform, die es einem Beleuchtungsstrahl ermöglicht, den Zielbereich zu erreichen, ohne durch unnötige Oberflächen innerhalb des optischen Systems zu gehen. Die Dicke und die Oberflächenwinkel des Substrats werden sorgfältig gewählt, um sowohl für die Beleuchtung als auch für die Sammel- oder Emissionsstrahlen getrennte Strahlenpfade bereitzustellen.

[0016] Noch andere Versuche, den Einfluss der Autofluoreszenz auf die Markierungsfluoreszenz zu reduzieren, basieren auf der Ausnutzung der relativ kurzen Abklingzeit der Autofluoreszenz im Vergleich zur Abklingzeit der Markierungsfluoreszenz der Fluoreszenzmarkierungen. Die Autofluoreszenz weist typischerweise eine Abklingzeit im Bereich von 1 bis 100 Nanosekunden auf. Falls ein Fluoreszenzmarker verwendet wird, bei dem die Abklingzeit der Markierungsfluoreszenz erheblich länger ist als die Abklingzeit der Autofluoreszenz eines Autofluorophors, kann man den Autofluoreszenzanteil von der Markierungsfluoreszenz in der Gesamtfluoreszenz unterscheiden, indem man eine gattergesteuerte Detektion des optischen Signals verwendet, das die Gesamtfluoreszenz darstellt, die mit einem Photodetektor umgesetzt wird, dessen Lichtempfindlichkeit während des Zeitraums, in dem die Autofluoreszenz in einem erheblichen Anteil vorliegt, vollständig unterdrückt werden kann.

[0017] Mit Bezug auf Fig. 1 wird eine Kurve der Amplitude als Funktion der Abklingzeit von Autofluoreszenz, Markierungsfluoreszenz und der Summe von Autofluoreszenz und Markierungsfluoreszenz abgebildet, wobei die X-Achse die Abklingzeit (in willkürlichen Zeiteinheiten) und die Y-Achse die Amplitude (in willkürlichen Energieeinheiten) darstellt. Bei dem Beispiel aus Fig. 1 weist die Autofluoreszenz eine Abklingzeit auf, die siebenmal kürzer ist als die Markierungsfluoreszenz, während die Emissionsamplitude des Autofluorophors anfänglich zehnmal höher ist als die Emissionsamplitude des Markierungsfluorophors. Somit kann es bei diesem bestimmten Beispiel ausreichen, etwa 50 Zeiteinheiten abzuwarten, während deren die Autofluoreszenz auf einen derart niedrigen Pegel abgesunken ist, dass die Gesamtfluoreszenz praktisch ausschliesslich durch das Markierungsfluorophor verursacht wird.

[0018] Die folgenden Veröffentlichungen versuchen, den Einfluss der Autofluoreszenz zu reduzieren, indem sie das zuvor erläuterte Phänomen der unterschiedlichen Abklingzeiten zwischen Autofluoreszenz und Markierungsfluoreszenz ausnutzen.

[0019] Die japanische Patentanmeldung Nr. 2006 194 770A im Namen von Tawara et al., mit dem Titel «Time-resolved fluorescence microscope» offenbart einen Laserstrahl, der aus einem Impulslaserstrahl-Generierungsmittel stammt, wobei der Laserstrahl durch einen Halbspiegel halbiert wird, und ein geteilter Strahl als Anregungslicht auf eine Probe gestrahlt wird. Ein nicht lineares optisches Element zum Erzeugen eines optischen Kerr-Effekts wird zwischen einem Paar Polarisationsplatten eingeschoben und angeordnet, deren Ablenkungsrichtungen sich in einem optischen Abbildungssystem orthogonal schneiden, um die Fluoreszenz zu kondensieren, die von der Probe generiert wird, und das Fluoreszenzbild der Probe zu bilden, wobei der andere Laserstrahl, der von dem Halbspiegel geteilt wird, als Ansteuerlicht auf ein nicht lineares optisches Element gestrahlt wird. Der optische Pfadunterschied zwischen dem Anregungslicht und dem Ansteuerlicht wird durch eine optische Verzögerungsschaltung angepasst, und das Fluoreszenzbild der Probe wird von einem zweidimensionalen Abbildungsmittel aufgenommen.

[0020] Die US-Patentanmeldung Nr. 2008/0 265 177 im Namen von Connally et al., mit dem Titel «Fluorescence Detection» offenbart ein Fluoreszenzdetektionssystem, umfassend eine Strahlungsquelle, um eine Lichtemission zu generieren, um Fluoreszenz in einer fluoreszierend markierten Art zu erkennen, und einen Detektor zum Erkennen der Fluoreszenz, wobei entweder das Abklingen der Lichtemission aus der Strahlungsquelle derart ist, dass es eine Messung der Fluoreszenz zu einem Zeitpunkt ermöglicht, an dem die Fluoreszenz von der Autofluoreszenz unterscheidbar ist, oder der Detektor ein auf einem Chip befindlicher, verstärkter Detektor (CCD), um die Fluoreszenz zu erkennen, ist oder beides.

BESCHREIBUNG DER AUSFÜHRUNGSFORMEN

[0021] Es versteht sich, dass eine Ausführungsform ein Beispiel oder eine Umsetzung der Erfindungen ist. Das diverse Vorkommen von «einer Ausführungsform», «eine Ausführungsform» oder «einige Ausführungsformen» bezieht sich nicht unbedingt alle auf die gleichen Ausführungsformen.

[0022] Obwohl diverse Merkmale der Erfindung in Zusammenhang mit einer einzigen Ausführungsform beschrieben werden können, können die Merkmale auch getrennt oder in einer beliebigen geeigneten Kombination bereitgestellt werden. Obwohl andererseits die Erfindung hier der Übersichtlichkeit halber in Zusammenhang mit getrennten Ausführungsformen beschrieben werden kann, kann die Erfindung auch in einer einzigen Ausführungsform umgesetzt werden.

[0023] Es versteht sich, dass die Begriffe «enthaltend», «umfassend», «bestehend aus» und ihre grammatikalischen Varianten nicht das Hinzufügen eines oder mehrerer von Komponenten, Merkmalen, Schritten, Ganzzahlen oder Gruppen derselben ausschliesst.

[0024] Die Erwähnung oder Identifizierung einer beliebigen Referenz in der Beschreibung einiger Ausführungsformen der Erfindung ist nicht als Zugeständnis zu deuten, dass eine derartige Referenz als Stand der Technik für die vorliegende Erfindung zur Verfügung steht.

[0025] Die Begriffe «oberer», «unterer», «rechts», «links», «unten», «unterhalb», «abgesenkt», «niedrig», «oben», «oberhalb», «angehoben», «hoch», «senkrecht» und «waagrecht» sowie ihre grammatikalischen Variationen, wie sie hier verwendet werden, geben nicht unbedingt an, dass beispielsweise eine «untere» Komponente unterhalb einer «oberen» Komponente vorliegt, oder dass eine Komponente, die sich «unterhalb» befindet, tatsächlich «unterhalb» einer anderen Komponente vorliegt, oder dass eine Komponente, die sich «oberhalb» befindet, tatsächlich «oberhalb» einer anderen Komponente vorliegt, da diese Richtungen, Komponenten oder beides ausgetauscht, umgedreht, räumlich bewegt, in einer diagonalen Orientierung oder Position eingesetzt, waagrecht oder senkrecht eingesetzt, oder ähnlich geändert werden können. Entsprechend versteht es sich, dass die Begriffe «unten», «unterhalb», «oben» und «oberhalb» hier rein beispielhaft verwendet werden können, um die relative Positionierung oder Anordnung von bestimmten Komponenten zu erläutern, um eine erste und eine zweite Komponente oder beide anzugeben.

[0026] Obwohl einige beispielhafte Ausführungsformen der Erfindung in dieser Hinsicht nicht eingeschränkt sind, können sich Diskussionen, die Begriffe wie zum Beispiel «verarbeiten», «berechnen», «rechnen», «bestimmen», «analysieren», «erstellen», «überprüfen», «identifizieren oder dergleichen verwenden, auf einen oder mehrere Vorgänge und/oder Prozesse eines Computers, einer Computerplattform, eines Computersystems oder einer anderen elektronischen Computervorrichtung beziehen, die Daten manipulieren und/oder umwandeln, die als physische (z.B. elektronische) Grössen innerhalb der Register und/oder Speicher oder eines anderen Informationsspeichermediums des Computers, die Anweisungen speichern können, um Vorgänge und/oder Prozesse und/oder Anwendungen auszuführen, dargestellt werden.

[0027] Es sei zu beachten, dass der Gebrauch der unbestimmten Artikel «ein, eine, ein», wenn sie ein Merkmal einleiten, keineswegs derart auszulegen ist, dass es nur ein Exemplar dieses Merkmals gibt, soweit nicht anders angegeben. Entsprechend umfassen die unbestimmten Artikel «ein, eine, ein», wie sie hier verwendet werden, die Bedeutung des Ausdrucks «mindestens eines» des gleichen Merkmals.

[0028] Obwohl gegebenenfalls Zustandsdiagramme, Ablaufdiagramme oder beide verwendet werden können, um Ausführungsformen zu beschreiben, ist die Erfindung nicht auf diese Diagramme oder auf die entsprechenden Beschreibungen eingeschränkt. Beispielsweise muss ein Ablauf nicht durch jedes abgebildete Kästchen bzw. jeden Zustand in genau der gleichen Reihenfolge wie abgebildet und beschrieben gehen.

[0029] Der Begriff «Verfahren» bezieht sich auf Methoden, Mittel, Techniken und Prozeduren zum Bewerkstelligen einer bestimmten Aufgabe, wozu ohne Einschränkung Methoden, Mittel, Techniken und Prozeduren gehören, die entweder bekannt sind oder ohne Weiteres vom Fachmann auf dem Gebiet der Erfindung aus bekannten Methoden, Mitteln, Techniken und Prozeduren entwickelt werden können.

[0030] Obwohl gegebenenfalls Zustandsdiagramme, Ablaufdiagramme oder beides verwendet werden können, um Ausführungsformen zu beschreiben, ist die Erfindung nicht auf diese Diagramme oder auf die entsprechenden Beschreibungen eingeschränkt. Beispielsweise muss ein Ablauf nicht durch jedes abgebildete Kästchen bzw. jeden Zustand in genau der gleichen Reihenfolge wie abgebildet und beschrieben gehen.

[0031] Die Beschreibungen, Beispiele, Verfahren und Materialien, die in den Ansprüchen und der Beschreibung vorgelegt werden, sind nicht als einschränkend sondern als rein beispielhaft auszulegen.

[0032] Der Begriff «Autofluoreszenz» umfasst jede andere Art angeregter Fluoreszenzstrahlung (z.B. Hintergrundbeleuchtung) als die Markierungsfluoreszenz, die sich auf die Fluoreszenzstrahlung bezieht, die für die Analyse des markierten Prüfkörpers interessant ist.

[0033] Der Begriff «Strahlung», wie er hier verwendet wird, kann sich sowohl auf eine sichtbare als auch auf eine unsichtbare elektromagnetische Strahlung, wie beispielsweise auf Licht im ultravioletten Spektrum, beziehen.

[0034] Es sei zu beachten, dass obwohl der Begriff «Anregungslichtimpulse» in der gesamten Beschreibung mit der gleichen Nummer referenziert ist, um von einer spezifischen Lichtquelle emittiert zu werden, dies keineswegs als einschränkend auszulegen ist, insofern es für den Fachmann klar ist, dass diese Anregungslichtimpulse Änderungen erfahren können.

ten, beispielsweise im Hinblick auf die spektrale Bandbreite und/oder Stärke, wenn sie sich durch ein optisches Medium ausbreitet.

[0035] Entsprechend sei zu beachten, dass obwohl auf den Begriff «Gesamtfluoreszenzstrahlung» in der gesamten Beschreibung mit der gleichen Nummer referenziert ist, um von der Probe emittiert zu werden, dies keineswegs als einschränkend auszulegen ist, insofern es für den Fachmann klar ist, dass die Gesamtfluoreszenzstrahlung Änderungen erfahren kann, beispielsweise im Hinblick auf die spektrale Bandbreite und/oder Stärke, wenn sie sich durch ein optisches Medium ausbreitet.

KURZDARSTELLUNG DER AUSFÜHRUNGSFORMEN

[0036] Die vorliegende Erfindung offenbart ein Fluoreszenzdetektionssystem, das betriebsfähig ist, um eine Fluoreszenzstrahlung in zeitgesteuerter Synchronität zu erkennen.

[0037] Bei einigen Ausführungsformen umfasst das Fluoreszenzdetektionssystem einen Bildsensor, der betriebsfähig ist, um eine Fluoreszenzstrahlung zu erkennen. Der Bildsensor umfasst eine Vielzahl von Photodetektoren, wobei jeder Photodetektor betriebsfähig ist, um eine erkannte Fluoreszenzstrahlung in eine entsprechende Anzahl von Ausgangsladungen umzusetzen.

[0038] Bei einigen Ausführungsformen umfasst jeder der Vielzahl von Photodetektoren mindestens einen Ladungsintegrierer, der betriebsfähig ist, um während eines vorherbestimmten Zeitintervalls die Ausgangsphotoladungen, die als Reaktion auf die erkannte Fluoreszenzstrahlung generiert werden, selektiv zu integrieren.

[0039] Bei einigen Ausführungsformen umfasst das Fluoreszenzdetektionssystem eine Vielzahl von elektrischen Driftfeldgeneratoren, die jeweils betriebsfähig mit der Vielzahl von Pixelsensoren gekoppelt sind.

[0040] Bei einigen Ausführungsformen ist die Vielzahl von elektrischen Driftfeldgeneratoren derart betriebsfähig, dass sie die Ausgangsladungen, die von jedem der Photodetektoren bereitgestellt werden, an den mindestens einen Ladungsintegrierer während eines vorherbestimmten Zeitintervalls selektiv übertragen.

[0041] Bei einigen Ausführungsformen umfasst jeder der Vielzahl von Photodetektoren einen Verstärker, der betriebsfähig ist, um das Signal zu verstärken, das die Ausgangsphotoladungen darstellt, die als Reaktion auf die erkannte Fluoreszenzstrahlung generiert werden.

[0042] Bei einigen Ausführungsformen umfasst der Verstärker einen Regelkreisverstärker.

[0043] Bei einigen Ausführungsformen umfasst das Fluoreszenzdetektionssystem eine Strahlungsquelle, die betriebsfähig ist, um eine Sequenz von Anregungslichtimpulsen zu emittieren, die jeweilige Beleuchtungsperioden aufweisen, und einen Controller. Die Photodetektoren, die Strahlungsquelle und der Controller sind betriebsfähig miteinander gekoppelt.

[0044] Bei einigen Ausführungsformen ist der Bildsensor in einem Detektionsmodus, bei dem fluoreszenzinduzierte Photoladungen gespeichert und integriert werden, und in einem Nicht-Detektionsmodus, bei dem die fluoreszenzinduzierten Photoladungen verworfen werden, selektiv betriebsfähig.

[0045] Bei einigen Ausführungsformen ist der Controller betriebsfähig, um selektiv zwischen dem Detektionsmodus und dem Nicht-Detektionsmodus der Photodetektoren in zeitgesteuerter Synchronität mit der Strahlungsquelle abzuwechseln.

[0046] Bei einigen Ausführungsformen umfasst jeder der Photodetektoren einen lichtempfindlichen Teil, um Photonen in Photoladungen umzuwandeln, und einen lichtunempfindlichen Teil, der mindestens einen elektrischen Schalter umfasst, und wobei der mindestens eine Ladungsintegrierer jeweils dem mindestens einen elektrischen Schalter zugewiesen ist; und einen Taktgeber, um den elektrischen Schalter derart zu steuern, dass Photoladungen, die in dem lichtempfindlichen Teil generiert werden, an den mindestens einen Ladungsintegrierer in zeitgesteuerter Synchronität mit Bezug auf die Anregungslichtimpulsen gegeben werden.

[0047] Bei einigen Ausführungsformen umfasst jeder Photodetektor ein lineares Zeitumwandlungselement länglicher Erstreckung und einen seitlichen elektrischen Feldgenerator.

[0048] Bei einigen Ausführungsformen sind das lineare Zeitumwandlungselement und der seitliche elektrische Feldgenerator betriebsfähig miteinander gekoppelt, so dass in dem linearen Zeitumwandlungselement ein seitliches Driftfeld generiert wird, wodurch das Absuchen von Photoladungen in dem Zeitumwandlungselement von einem ersten Ende bis zu einem zweiten Ende an der Längserstreckung des linearen Zeitumwandlungselements entlang ermöglicht wird.

[0049] Bei einigen Ausführungsformen sind die Ladungsintegrierer in mindestens einer Reihe an der Längserstreckung des linearen Zeitumwandlungselements entlang angeordnet.

[0050] Bei einigen Ausführungsformen sind die Ladungsintegrierer mit dem Zeitumwandlungselement jeweils an einer Vielzahl von beabstandeten Abtaststellen des Zeitumwandlungselements elektrisch gekoppelt.

[0051] Bei einigen Ausführungsformen ist mindestens ein lichtempfindlicher Bereich, um Photonen in Photoladungen umzuwandeln, derart mit dem linearen Zeitumwandlungselement gekoppelt, dass die generierten Photoladungen in das lineare Zeitumwandlungselement eingespeist werden.

[0052] Bei einigen Ausführungsformen ist die mindestens eine Ladeerkennungsschaltung an die Ladungsintegrierer elektrisch anschliessbar, um eine Photoladung zu erkennen, die durch mindestens einen Teil des linearen Zeitumwandlungselements an seiner Längserstreckung entlang gegangen ist.

[0053] Bei einigen Ausführungsformen umfasst die Vielzahl von Photodetektoren jeweils eine Vielzahl von Rücksetztransistoren.

[0054] Bei einigen Ausführungsformen ist jeder Rücksetztransistor durch ein Rücksetzsignal derart steuerbar, dass solange das Rücksetzsignal den Rücksetztransistor offen hält, Photoladungen, die als Reaktion auf erkanntes Licht generiert werden, gleichzeitig abgeleitet werden, so dass sich die Photodetektoren im Nicht-Detektionsmodus befinden; und wobei, wenn der Rücksetztransistor geschlossen ist, die Photoladungen kumuliert werden, so dass die Photodetektoren in den Detektionsmodus gesetzt werden.

[0055] Bei einigen Ausführungsformen umfasst jeder der Photodetektoren ferner einen Pixelinternen Verstärker.

[0056] Die vorliegende Erfindung offenbart ferner ein Verfahren zum Betreiben eines Fluoreszenzdetektionssystems.

[0057] Bei einigen Ausführungsformen umfasst das Verfahren beispielsweise den Schritt des Abreicherns der Photodetektoren aus zuvor generierten Photoladungen.

[0058] Bei einigen Ausführungsformen umfasst das Verfahren beispielsweise den Schritt des Einstellens der Photodetektoren in einen Nicht-Detektionsmodus.

[0059] Bei einigen Ausführungsformen umfasst das Verfahren beispielsweise den Schritt des Beleuchtens mindestens einer mit Fluorophoren markierten Art mit einem Lichtimpuls.

[0060] Bei einigen Ausführungsformen umfasst das Verfahren beispielsweise nach einer vorherbestimmten Gatterverzögerung, die am Ende der Beleuchtungszeit beginnt, den Schritt des Einstellens der Photodetektoren in einen Detektionsmodus für eine vorherbestimmte Photonenexpositionperiode.

[0061] Bei einigen Ausführungsformen wird die Dauer der Gatterverzögerung derart ausgewählt, dass das Verhältnis zwischen der Autofluoreszenz und der gewünschten Fluoreszenz, die durch den Lichtimpuls angeregt wird, gering genug ist, um eine zuverlässige Detektion der gewünschten Fluoreszenz durch die Photodetektoren sicherzustellen.

[0062] Bei einigen Ausführungsformen umfasst das Verfahren beispielsweise, solange das mindestens eine vorherbestimmte Beendigungskriterium nicht erfüllt ist, das Abreichern der Photodetektoren aus den zuvor generierten Photoladungen; das Einstellen der Photodetektoren in den Nicht-Detektionsmodus; das Beleuchten mindestens einer mit Fluorophoren markierten Art mit einem Lichtimpuls; und nach der vorherbestimmten Gatterverzögerung, die am Ende der Beleuchtungszeit beginnt, das Einstellen der Photodetektoren in den Detektionsmodus während der vorherbestimmten Photonenexpositionperiode.

[0063] Bei einigen Ausführungsformen umfasst das Verfahren beispielsweise den Schritt des mindestens zweimaligen Abtastens während der Expositionsperiode des Signals, das die Ausgangsladungen der erkannten Fluoreszenzstrahlung darstellt.

[0064] Bei einigen Ausführungsformen wird der Zeitunterschied zwischen jedem Abtastschritt ausgewählt, um dem Unterschied der Abklingzeit zwischen mindestens zwei Fluorophormarkierungen zu entsprechen.

[0065] Bei einigen Ausführungsformen umfasst das Verfahren beispielsweise den Schritt des Bereitstellens von Informationen über die Fluoreszenz-Abklingeigenschaften der Licht emittierenden Fluorophormarkierung.

Ausführliche Beschreibung der Erfindung

[0066] Die offenbarte Erfindung behebt die Nachteile nach dem Stand der Technik, indem sie ein alternatives System und Verfahren zur zeitaufgelösten Fluoreszenzdetektion bereitstellt, die eine Betriebsfähigkeit auf vergleichsweise niedrigen Spannungen, z.B. gleich oder kleiner als 10 V, ermöglichen und dabei eine kurze Gatterverzögerung, die z.B. gleich oder weniger als 1 Mikrosekunde dauert, und eine hohe Empfindlichkeit für die Fluoreszenzdetektion erreichen. Das System und das Verfahren zur zeitaufgelösten Fluoreszenzdetektion gemäss den Ausführungsformen der Erfindung sind betriebsfähig für die Analyse von Strukturen, Merkmalen und Eigenschaften von mikroskopischen oder makroskopischen Prüfkörpern. Solche Analysen können beispielsweise die Messung von molekularen Eigenschaften des Prüfkörpers umfassen (z.B. molekulare Konzentrationen, molekulare Interaktionen) und können für Hochleistungsmusterung, zellbasierte Assays, sekundäre Musterung, molekulare Pathologie und/oder andere analytische und/oder diagnostische Anwendungen verwendet werden.

[0067] Das Fluoreszenzsystem gemäss den Ausführungsformen der Erfindung umfasst eine Strahlungsquelle, die betriebsfähig ist, um eine Sequenz von Anregungslichtimpulsen zu emittieren, von denen jeder eine Dauer von beispielsweise gleich oder weniger als 1 Mikrosekunde aufweist, einen Bildsensor und einen Controller. Das Fluoreszenzdetektionssystem kann gemäss den Ausführungsformen der Erfindung einen dichroitischen Spiegel, eine Bildgebungsoptik, ein Okular und ein Emissionsfilter umfassen.

[0068] Die Strahlungsquelle ist betriebsfähig, um Anregungslichtimpulse auf einer oder mehreren Wellenlängen zu emittieren, die Fluoreszenzmoleküle (nachstehend: Fluorophore) in einem Prüfkörper anregen.

[0069] Das Fluoreszenzsystem ist betriebsfähig und derart konfiguriert, dass mindestens ein Teil des Fluoreszenzlichtes, das aus den Fluorophoren austritt, auf den Bildsensor fällt und von diesem in entsprechende Photoladungen umgesetzt, kumuliert und in den jeweiligen Photodetektoren gespeichert wird. Genauer gesagt umfasst der Bildsensor eine Vielzahl von Photodetektoren, wobei jeder Photodetektor mindestens einen Ladungsintegrierer umfasst, der betriebsfähig ist, um während eines vorherbestimmten Zeitintervalls die Ausgangsphotoladungen, die jeweils in dem mindestens einen Ladungsintegrierer als Reaktion auf die erkannte Fluoreszenzstrahlung generiert werden, selektiv zu integrieren. Entsprechend weist jeder Photodetektor Fähigkeiten zum Abtasten und Integrieren von Photosignalen mit Bezug auf jedes der abgetasteten elektrischen Signale, die in dem mindestens einen der Photodetektoren des Bildsensors generiert werden können, auf.

[0070] Der Controller ist derart betriebsfähig mit der Strahlungsquelle und dem Bildsensor gekoppelt, dass er die Emission der Anregungslichtimpulse und die Abtastintervalle der Photodetektoren in zeitgesteuerter Synchronisation ermöglicht, so dass von der erkannten Gesamtfluoreszenz der Anteil der Autofluoreszenz im Vergleich zum Anteil der Markierungsfluoreszenz geringfügig ist. Daraufhin wird Hintergrundrauschen, das ansonsten durch die Autofluoreszenz verursacht würde, zumindest reduziert.

[0071] Das Verfahren gemäss den Ausführungsformen der Erfindung kann unter anderem den Schritt der Lichtimpulsmmission, die zeitgesteuerte Fluoreszenzdetektion und die wiederholte und gleichzeitige Integration einer Photoladung in allen Photodetektoren umfassen, bis ein ausreichend hoher elektrischer Signalpegel erreicht ist, woraufhin die jeweiligen elektrischen Signale des mindestens einen Ladungsintegrierers zur Weiterverarbeitung ausgelesen werden. Die elektrischen Signale stellen die integrierten Photoladungen dar.

[0072] Es wird nun Bezug genommen auf Fig. 2. Gemäss einer Ausführungsform der Erfindung kann ein Fluoreszenzdetektionssystem 100, das betriebsfähig ist, um auf zeitgattergesteuerte bzw. zeitgesteuerte Art und Weise eine Fluoreszenzdetektion zu erkennen, beispielsweise eine Strahlungsquelle 110, die betriebsfähig ist, um Anregungslichtimpulse 112 zu emittieren; ein Schmalband-Erregungsfilter 130; einen dichroitischen Spiegel 140; ein Bildgebungsobjektiv 150; ein Emissionsfilter 160; ein Okular 170; einen Bildsensor 180, der eine Vielzahl von Photodetektoren 185 umfasst, die alle miteinander optisch gekoppelt sein können, wie es nachstehend erläutert wird, und einen Controller 190 umfassen. Das Fluoreszenzdetektionssystem 100 kann ferner einen (nicht gezeigten) Behälter umfassen, der dazu geeignet ist, um einen Prüfkörper 120 aufzunehmen, der Markierungsfluorophore 121 umfassen kann.

[0073] Die Strahlungsquelle 110 kann beispielsweise als einstellbare optische parametrische Oszillator- (OPO) Laser, gepulste Laserdioden, gepulste Leuchtdioden (LED), modengekoppelte oder gütegeschaltete Laser oder als eine andere geeignete Strahlungsquelle, wie sie beispielsweise in der Technik bekannt ist, umgesetzt werden.

[0074] Die Wellenlänge der Anregungslichtimpulse 112 wird derart ausgewählt, dass mindestens einige der Markierungsfluorophore 121 angeregt werden, um als Reaktion eine Gesamtfluoreszenzstrahlung 114 auszustrahlen, die eine Markierungsfluoreszenz- und eine Autofluoreszenz-Strahlungskomponente umfassen kann. Bei einigen Ausführungsformen kann die Bandbreite der Anregungslichtimpulse 112 die Absorptionsbandbreite der Markierungsfluorophore 121 mindestens teilweise überlagern oder einbeziehen. Um die Bandbreite der Anregungslichtimpulse 112 derart zu reduzieren, dass sie die Absorptionsbandbreite aus den Anregungslichtimpulsen 112 um mindestens 50 % ausschliesst, kann das Anregungsfilter 130 beispielsweise zwischen der Strahlungsquelle 110 und dem dichroitischen Spiegel 140 verwendet werden. Dies könnte beispielsweise notwendig sein, wenn gepulste LEDs als Strahlungsquellen verwendet werden.

[0075] Ferner können die Anregungslichtimpulse 112, die von der Strahlungsquelle 110 emittiert werden, eine Impulsabklingzeit aufweisen, die kürzer ist als die charakteristische Abklingzeit der emittierten Markierungsfluoreszenzstrahlung, die als Reaktion auf einfallende Anregungslichtimpulse 112 aus den Markierungsfluorophoren 121 angeregt wird, so dass der Lichtimpuls nach einem gewissen Zeitraum die Markierungsfluoreszenz-Strahlungskomponente der Gesamtfluoreszenzstrahlung 114 nicht stören kann. Dadurch wird diese messbar und von den Anregungslichtimpulsen 112 unterscheidbar.

[0076] Je nach den charakteristischen Abklingzeiten der Markierungsfluorophore 121, kann die notwendige Dauer der Anregungslichtimpulse 112 beispielsweise von 10 Pikosekunden bis 1 Mikrosekunde reichen.

[0077] Das Anregungsfilter 130 kann im Verhältnis zur Ausbreitungsrichtung der Anregungslichtimpulse 112, die von der Strahlungsquelle 110 emittiert werden, zwischen der Strahlungsquelle 110 und dem dichroitischen Spiegel 140 positioniert sein. Ferner kann das Bildgebungsobjektiv 150 im Verhältnis zur Ausbreitungsrichtung der Anregungslichtimpulse 112 zwischen dem (nicht gezeigten) Behälter und dem dichroitischen Spiegel 140 positioniert sein. Mit anderen Worten kann die Strahlungsquelle 110 optisch mit dem dichroitischen Spiegel 140 derart gekoppelt sein, dass der dichroitische Spiegel 140 die emittierten Anregungslichtimpulse 112 in Richtung auf das Bildgebungsobjektiv 150 ablenkt; und das Bildgebungsobjektiv 150 kann mit dem (nicht gezeigten) Behälter derart optisch gekoppelt sein, dass Anregungslichtimpulse 112, die das Bildgebungsobjektiv 150 verlassen, auf den (nicht gezeigten) Behälter einfallen, der einen Prüfkörper 120 enthalten kann, der Markierungsfluorophore 121 umfasst.

[0078] Anregungslichtimpulse 112, die auf Markierungsfluorophore einfallen, haben eine Stärke und eine spektrale Bandbreite, welche die Anregung der Markierungsfluorophore 121 verursachen, d.h. die Markierungsfluorophore 121 können

als Reaktion auf einfallende Anregungslichtimpulse 112 ausgelöst werden, um eine Markierungsfluoreszenzstrahlung zu emittieren. Wie hier jedoch erläutert, können die Anregungslichtimpulse 112 auch die Anregung von Autofluorophoren auslösen, deren Summe hier als «Gesamtfluoreszenzstrahlung» bezeichnet wird. Die Gesamtfluoreszenzstrahlung 114 wird von dem Bildgebungsobjektiv 150 und dem dichroitischen Spiegel 140 gesammelt und verbreitet sich durch diese hindurch. Der dichroitische Spiegel 140 kann eine Grenzwellenlänge aufweisen, welche die Übertragung einer Markierungsfluoreszenzstrahlung, die von den Markierungsfluorophoren 121 emittiert werden kann, erlaubt, dabei aber die Anregungsstrahlung oder Hintergrundstrahlung anderer Wellenlängen absorbiert.

[0079] Nach einigen Ausführungsformen der Erfindung kann das Fluoreszenzdetektionssystem 100 betriebsfähig sein, um die Gesamtfluoreszenzstrahlung 114, die durch den dichroitischen Spiegel 140 hindurch übertragen wird, beispielsweise unter Verwendung eines Emissionsfilters 160, das im Verhältnis zur Ausbreitungsrichtung der Gesamtfluoreszenzstrahlung 114 unterhalb des dichroitischen Spiegels 140 positioniert ist, weiter spektral einschränken, wobei das Emissionsfilter 160 entsprechend geeignete spektrale Bandbreitenfiltereigenschaften aufweist.

[0080] Gemäss einer Ausführungsform der Erfindung kann das Okular 170 unterhalb des dichroitischen Spiegels 140 oder, wenn es auf das Emissionsfilter 160 angewendet wird, im Verhältnis zur Ausbreitungsrichtung der Gesamtfluoreszenzstrahlung 114, d.h. zwischen dem Bildsensor 180 und dem dichroitischen Spiegel 140 oder dem Emissionsfilter 160, positioniert sein, so dass die Gesamtfluoreszenzstrahlung 114 dann von dem Okular 170 geführt werden kann, um auf die Oberfläche des Bildsensors 180 einzufallen.

[0081] Bei einigen Ausführungsformen der Erfindung kann das Fluoreszenzdetektionssystem 100 derart betriebsfähig sein, dass mindestens ein Teil der Autofluoreszenzstrahlung (die z.B. von der Oberfläche des Behälters und/oder des Prüfkörpers 120 ausgeht), die durch die Anregungslichtimpulse 112 angeregt wird, eventuell nicht auf den Bildsensor 180 einfällt, d.h. davon ausgeschlossen wird, auf dem Bildsensor 180 abgebildet zu werden, um die negativen Auswirkungen, die durch die Autofluoreszenzstrahlung verursacht werden, mindestens zu reduzieren. Zum Beispiel bei Ausführungsformen, bei denen das Fluoreszenzdetektionssystem 100 das Bildgebungsobjektiv 150 und/oder das Okular 170 umfasst, können sie beispielsweise im Verhältnis zu dem (nicht gezeigten) Behälter derart konfiguriert und positioniert sein, dass mindestens ein Teil der Autofluoreszenzstrahlung, die angeregt werden kann, von dem Bildgebungsobjektiv 150 und/oder dem Okular 170 als nicht abgebildet übrig bleibt. Genauer gesagt kann eine Reduzierung des abgebildeten Teils der Autofluoreszenzstrahlung bei einigen Ausführungsformen ausgebildet sein, indem beispielsweise eine konfokale Multispot-Scaneinrichtung verwendet wird und/oder indem eine optische Weitfeldabbildungseinrichtung verwendet wird, die eine grosse numerische Apertur, beispielsweise von mehr als 0,2, aufweist.

[0082] Gemäss einer Ausführungsform der Erfindung umfasst der Bildsensor 180 eine Vielzahl von Photodetektoren 185, die mindestens einen (nicht gezeigten) Ladungsintegrierer umfassen. Jeder Photodetektor 185 weist im Verhältnis zur Emission der Anregungslichtimpulse 112 eine zeitgesteuerte Betriebsfähigkeit auf. Ferner ist jeder Photodetektor 185 betriebsfähig, um während eines vorherbestimmten Zeitintervalls (nicht gezeigte) Photoladungen zu integrieren, die als Reaktion auf die Gesamtfluoreszenzstrahlung 114 generiert werden, die von den Photodetektoren 185 erkannt wird. Mit anderen Worten weist der Bildsensor 180 mit Bezug auf lokal generierte Photoladungen, die von den Photodetektoren 185 generiert werden, Integrationsfähigkeiten auf.

[0083] Bei einigen Ausführungsformen kann jeder Photodetektor 185 betriebsfähig sein, um eine Vielzahl von Abtastschritten während des vorherbestimmten Zeitintervalls auszuführen und um die Photoladungen bezüglich der verschiedenen Abtastschritte in den entsprechenden Ladungsintegrierern zu integrieren. Die Abtastintervalle, die der Bildsensor 180 erreichen kann, können bei einigen Ausführungsformen geringer sein als die Abklingzeit der Markierungsfluorophore 121. Entsprechend kann der Bildsensor 180 betriebsfähig sein, um eine Markierungsfluoreszenz bezüglich der Markierungsfluorophore 121 abzubilden, die unterschiedliche Abklingzeiten für die Markierungsfluoreszenzstrahlung aufweisen. Ferner kann die Markierungsfluoreszenzstrahlung der gleichen Markierungsfluorophore 121 mindestens zweimal während der Abklingzeit der Markierungsfluoreszenzstrahlung abgetastet werden.

[0084] Der Bildsensor 180 kann beispielsweise umgesetzt werden, wie es in dem US-Patent Nr. 5 856 667 im Namen von Seitz et al., mit dem Titel «Device and method for the detection and demodulation of an intensity-modulated radiation field» (667), beispielsweise mit Bezug auf den Abschnitt mit dem Titel «Kurzdarstellung der Erfindung», Fig. 2, Fig. 3, und die Ansprüche offenbart wird. Die Umsetzung des Bildsensors 180 gemäss 667 ermöglicht Abtastintervalle z.B. von gleich oder weniger als 10 Nanosekunden bei Ansteuerspannungen von gleich oder weniger als 5 V.

[0085] Bei einigen Ausführungsformen der Erfindung kann der Bildsensor 180 beispielsweise umgesetzt werden, wie es in der europäischen Patentanmeldung Nr. 2 182 523 (523) im Namen von P. Seitz, mit dem Titel «Charge sampling device and method», z.B. in dem Abschnitt mit dem Titel «Kurzdarstellung der Erfindung», «Beschreibung der Figuren», «Ausführliche Beschreibung der Zeichnung», den «Ansprüchen», in Verbindung mit den entsprechenden Figuren offenbart wird. Ausführungsformen des Bildsensors 180, die wie in 523 erläutert umgesetzt werden, können betriebsfähig sein, um Zeitabtastintervalle z.B. von weniger als 1 Nanosekunde zu erreichen, was im Allgemeinen geringer ist als die Abklingzeit der Markierungsfluoreszenzstrahlung.

[0086] Bei einigen Ausführungsformen kann der Bildsensor 180 als Komplementär-Metalloxid-Halbleiter- (CMOS) Bildsensor umgesetzt sein, bei dem alle (nicht gezeigten) Rücksetztransistoren der individuellen Photodetektoren 185 von einem (nicht gezeigten) gemeinsamen Rücksetzsignal gesteuert werden. Solange dieses Rücksetzsignal die Rücksetz-

transistoren offen hält, werden die Photoladungen, die sich aus dem erkannten Licht ergeben, gleichzeitig abgeleitet. Erst wenn die Rücksetztransistoren ausgeschaltet sind, werden die Photodetektoren 185 lichtempfindlich und beginnen die Expositionsperiode. Dadurch dass das Rücksetzsignal zum selektiven Öffnen und Schliessen der Rücksetztransistoren gesteuert wird, sind die Photodetektoren 185 in zeitgesteuerter Synchronität, die notwendig ist, um eine zeitgesteuerte Funktionalität des Fluoreszenzdetektionssystems 100 gemäss den Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung zu ermöglichen, betriebsfähig.

[0087] Bei Ausführungsformen der Erfindung kann die Empfindlichkeit des Bildsensors 180 beispielsweise umgesetzt werden, wie es in der europäischen Patentanmeldung Nr. EP2 160 012 (012) im Namen von Lotto et al., mit dem Titel «Highly sensitive Single photon imaging device», z.B. in die Abschnitten mit dem Titel «Beschreibung der Figuren» ausser Fig. 1, «Kurzdarstellung einiger Ausführungsformen der Erfindung», «Beschreibung der Ausführungsformen der Erfindung», «Ansprüche», «Geänderte Ansprüche...» und in den entsprechenden Figuren offenbart wird. Entsprechend kann der Bildsensor 180, der auf der CMOS-Technologie basiert, wie beispielsweise zuvor erläutert, ferner verstärkt werden, indem man eine pixelinterne Verstärkungsschaltung verwendet. Eine derartige Verstärkungsschaltung umgeht die Notwendigkeit der Verwendung erhöhter Spannungen, wie es bei Photodetektoren 185 der Fall ist, die auf der Basis der Nutzung eines die Photoladung multiplizierenden Lawineneffekts funktionieren. Das Ausleserauschen des Bildsensors 180, den man als «pixelverstärkten Halbleiterbildsensor» bezeichnen kann, wenn er wie in 012 erläutert umgesetzt ist, kann bei Raumtemperatur, die beispielsweise von 20 °C bis 30 °C reicht, gleich oder kleiner als beispielsweise 1 Elektronen-Effektivwert (r.m.s.) sein. Da die Photodetektoren 185 des Bildsensors 180 umgesetzt werden, wie in 012 offenbart, einen lokalen Rücksetztransistor verwenden, kann ein derartiger pixelverstärkter Halbleiterbildsensor für die Ausbildung eines hoch empfindlichen Fluoreszenzdetektionssystems 100 verwendet werden, das in zeitgesteuerter Synchronität gemäss den Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung betriebsfähig ist.

[0088] Die zeitgesteuerten Betriebsfähigkeiten des Fluoreszenzdetektionssystems 100 gemäss den Ausführungsformen der Erfindung werden hier nachstehend ausführlicher erläutert.

[0089] Die Photodetektoren 185 des Bildsensors 180 und der Strahlungsquelle 110 sind miteinander mit dem Controller 190 betriebsfähig gekoppelt, so dass dieser die Photodetektoren 185 und Strahlungsquelle 110 in zeitgesteuerter (oder mit anderen Worten zeitaufgelöster) Synchronität betreiben kann. Genauer gesagt ist der Controller 190 betriebsfähig, um den Betrieb zwischen der Strahlungsquelle 110 und dem Bildsensor 180 zu synchronisieren, so dass es ein Zeitgatter zwischen der Emission von Anregungslichtimpulsen 112 und dem Beginn der Sequenz des Integrierens und Auslesens der Photoladungen gibt. Mit anderen Worten wird der Startpunkt der Expositionsperiode, während der die Detektion von Photonen ermöglicht ist, in zeitgesteuerter Synchronität mit dem Einleiten der Emission eines Anregungslichtimpulses 112 synchronisiert, d.h. der Controller 190 verwendet eine Gatterverzögerung zwischen jeder Einleitung der Emission eines Anregungslichtimpulses 112 und dem Beginn der Expositionsperiode (Integrationsperiode) der Photodetektoren 185. Diese Gatterverzögerung wird derart gemäss der Abklingzeit der Autofluoreszenz ausgewählt, dass das Verhältnis zwischen Markierungsfluoreszenz und Autofluoreszenz hoch genug ist, um eine zuverlässige Detektion der Markierungsfluoreszenz zu ermöglichen, wobei das Verhältnis einen der Werte aufweist, wie sie beispielsweise in der US-Patentanmeldung Nr. US2008/0265177 im Namen von Connally et al., mit dem Titel «Fluorescence detection» (177), in dem Abschnitt mit dem Titel «Kurzdarstellung der Erfindung» offenbart werden. Die Gatterverzögerung kann beispielsweise gemäss der Gatterverzögerung ausgewählt werden, die in dem Abschnitt mit dem Titel «Kurzdarstellung der Erfindung» bei '177 offenbart wird. Auf jeden Fall wird die Gatterverzögerung gemäss den Abklingeigenschaften des Autofluorophors und des Markierungsfluorophors ausgewählt.

[0090] Entsprechend kann der Controller 190 einen (nicht gezeigten) Speicher, der (nicht gezeigte) Anweisungen speichert, und einen (nicht gezeigten) Prozessor umfassen, wobei die Ausführung der Anweisungen durch den Prozessor zu einer Fluoreszenzdetektionsanwendung führt, die den zeitgesteuerten synchronisierten Betrieb zwischen der Strahlungsquelle 110 und den Photodetektoren 185 ermöglicht.

[0091] Zusätzlich mit Bezug auf Fig. 3 kann diese Fluoreszenzanwendung gemäss einer Ausführungsform der Erfindung ein Verfahren zur Fluoreszenzdetektion, beispielsweise durch Ausführen der folgenden Schritte, umsetzen:

[0092] Wie in Block 300 angegeben, kann das Verfahren den Schritt des Abreicherns der Photodetektoren 185 umfassen. Daraufhin werden Photoladungen, die in den Photodetektoren 185 generiert und zuvor gespeichert worden sein können, aus diesen entfernt.

[0093] Wie in Block 302 angegeben, kann das Verfahren dann den Schritt des Einstellens der Photodetektoren 185 auf einen Nicht-Detektionsmodus umfassen, was dazu führt, dass die Photodetektoren 185 alle Photoladungen ableiten, die durch einfallende Photonen erstellt werden.

[0094] Wie in Block 304 angegeben, kann das Verfahren die Emission eines ersten Anregungslichtimpulses vorherbestimmter Länge und spektraler Wellenlänge umfassen, z.B. durch Einschalten der Strahlungsquelle 110. Die Emission eines ersten Anregungsimpulses kann derart gerichtet sein, dass der Prüfkörper 120 durch den ersten Anregungslichtimpuls beleuchtet wird. Angesichts der Tatsache, dass die Dauer des ersten Anregungslichtimpulses vorherbestimmt und somit bekannt ist, ist die Beleuchtungsperiode, während der der Prüfkörper 120 beleuchtet wird, ebenfalls bekannter Dauer.

[0095] Wie in Block angegeben 304, kann das Verfahren dann nach dem Ablaufen einer vorherbestimmten Gatterverzögerung, die am Ende der Beleuchtungsperiode beginnen kann, den Schritt des Einstellens der Photodetektoren 185 auf den Detektionsmodus während einer vorherbestimmten Photonenexpositionsperiode umfassen. Die Gatterverzögerung wird derart ausgewählt, dass die Autofluoreszenzstrahlung auf ausreichend niedrige Pegel abklingt, welche die zuverlässige Detektion der Markierungsauf autofluoreszenz ermöglichen. Die Gatterverzögerung kann beispielsweise derart ausgewählt werden, dass die Autofluoreszenzstrahlung, die in der Gesamtfluoreszenzstrahlung vorliegen könnte, auf gleich oder weniger als einen der folgenden Prozentwerte ihrer ursprünglichen Stärke abklingt: 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,1%, 0,05%, oder gleich oder weniger als 0,01%. Während der vorherbestimmten Expositionsperiode integrieren, d.h. kumulieren und speichern, die Photodetektoren 185 des Bildsensors 180 die lokal generierten Photoladungen lokal in mindestens einem (nicht gezeigten) Ladungsintegrierer, der in jedem der Photodetektoren 185 enthalten ist. Bei Ausführungsformen, bei denen jeder Photodetektor 185 eine Vielzahl von Ladungsintegrierern umfasst, können Photoladungen, die während der Expositionsperiode generiert wurden, während jeweiligen Abtastperioden abgetastet und mit Bezug auf jede Abtastperiode sequenziell auf die Vielzahl von Ladungsintegrierern zur Integration gerichtet werden. Der Controller 190 kann das Abtasten der Photoladungen und ihre Integration in die Vielzahl von Ladungsintegrierern mit Bezug auf die Vielzahl von Abtastperioden steuern.

[0096] Wie in Block 306 angegeben, kann das Verfahren dann das Zurücksetzen der Photodetektoren 185 in den Nicht-Detektionsmodus umfassen.

[0097] Wie in Block 308 angegeben, kann das Verfahren ferner den Schritt des Bestimmens, ob mindestens ein Beendigungskriterium erfüllt ist, umfassen, und wenn nicht, die Schritte 300 bis 306 wiederholen, bis mindestens ein Beendigungskriterium erfüllt ist. Dieses Beendigungskriterium kann beispielsweise einen minimalen, vorherbestimmten Ladesignalschwellenpegel definieren, wobei das Ladesignal die Photonen darstellt, die von dem Bildsensor 180 erkannt werden und in Photoladungen umgesetzt werden. Wenn das generierte Ladesignal den vorherbestimmten Ladesignalschwellenpegel übersteigt, ist das Beendigungskriterium erfüllt.

[0098] Alternativ kann das Beendigungskriterium beispielsweise die Anzahl der Anregungslichtimpulse 112 betreffen, die von der Strahlungsquelle 110 emittiert werden, d.h. bei einigen Ausführungsformen der Erfindung kann die Anzahl der Anregungslichtimpulse 112, die von der Strahlungsquelle 110 emittiert werden, vorherbestimmt werden. Wie oft die Photodetektoren 185 für eine vorherbestimmte Expositionsperiode auf den Detektionsmodus eingestellt werden, kann somit ebenfalls entsprechend vorherbestimmt werden. Zusätzlich oder alternativ kann das Beendigungskriterium ein Zeitlimit für den Betrieb der Strahlungsquelle 110, des Bildsensors 180 und/oder der Strahlungsquelle 110 definieren.

[0099] Wenn, wie in Block 310 angegeben, das mindestens eine Beendigungskriterium erfüllt ist, umfasst das Verfahren den Schritt des Auslesens der kumulierten Photoladungen.

[0100] Wie in Block 312 angegeben, kann das Verfahren dann den Schritt des Ausführens einer Analyse des Prüfkörpers 120 basierend auf den ausgelesenen Photoladungen umfassen.

[0101] Bei einigen Ausführungsformen der Erfindung kann die Strahlungsquelle 110 von dem Controller 190 gesteuert werden, beispielsweise wenn die Strahlungsquelle 110 z.B. durch eine gepulste LED oder Laserdiode umgesetzt wird. Bei alternativen Ausführungsformen der Erfindung ist die Strahlungsquelle 110 von dem Controller 190 eventuell nicht steuerbar, beispielsweise wenn die Strahlungsquelle 110 z.B. durch einen modengekoppelten Laser umgesetzt wird. In diesem Fall kann der Controller 190 zusammen mit einem (nicht gezeigten) Impulsdetektor, der betriebsfähig ist, um die Emission von Anregungslichtimpulsen 112 beispielsweise unter Verwendung eines schnellen Photosensors, auf dessen lichtempfindlicher Oberfläche mindestens ein Teil der emittierten Anregungslichtimpulse 112 auftrifft, zu erkennen, betriebsfähig sein.

[0102] Das Verfahren zur Fluoreszenzdetektion kann mit demjenigen identisch sein, das zuvor mit Bezug auf Fig. 3 erläutert wurde, ausser dass die Zeitgatterverzögerung beginnt, sobald z.B. durch den Controller 190 zum ersten Mal bestimmt wird, dass der Teil des Anregungslichtimpulses 112, der auf den Impulsdetektor trifft, einen vorherbestimmten Impulsschwellenpegel überschreitet, und nicht mit der Ausgabe eines Befehls durch den Controller 190 an die Strahlungsquelle 110, Anregungslichtimpulse 112 zu emittieren.

[0103] Es sei zu beachten, dass obwohl sich der Begriff «Zeitgatterverzögerung», wie er hier verwendet wird, auf die Periode bezieht, die nach dem Ablaufen der Dauer jedes der Anregungsimpulse und/oder sobald der Teil der Anregungslichtimpulse 112 einen vorherbestimmten Impulsschwellenpegel überschreitet, beginnt, dies keineswegs als Einschränkung zu deuten ist. Bei einigen Ausführungsformen kann die Zeitgatterverzögerung beispielsweise nach dem Ausgeben eines Befehls zum Starten des Betriebs der Strahlungsquelle 110 beginnen. In diesem Fall kann die Zeitgatterverzögerung auch die Impulsdauer der jeweiligen Anregungslichtimpulse 112 umfassen.

Patentansprüche

1. Fluoreszenzdetektionssystem (100), das betriebsfähig ist, um eine Fluoreszenzstrahlung in zeitgesteuerter Synchronität zu erkennen, wobei das System Folgendes umfasst:
einen Bildsensor (180), der betriebsfähig ist, um eine Fluoreszenzstrahlung zu erkennen;

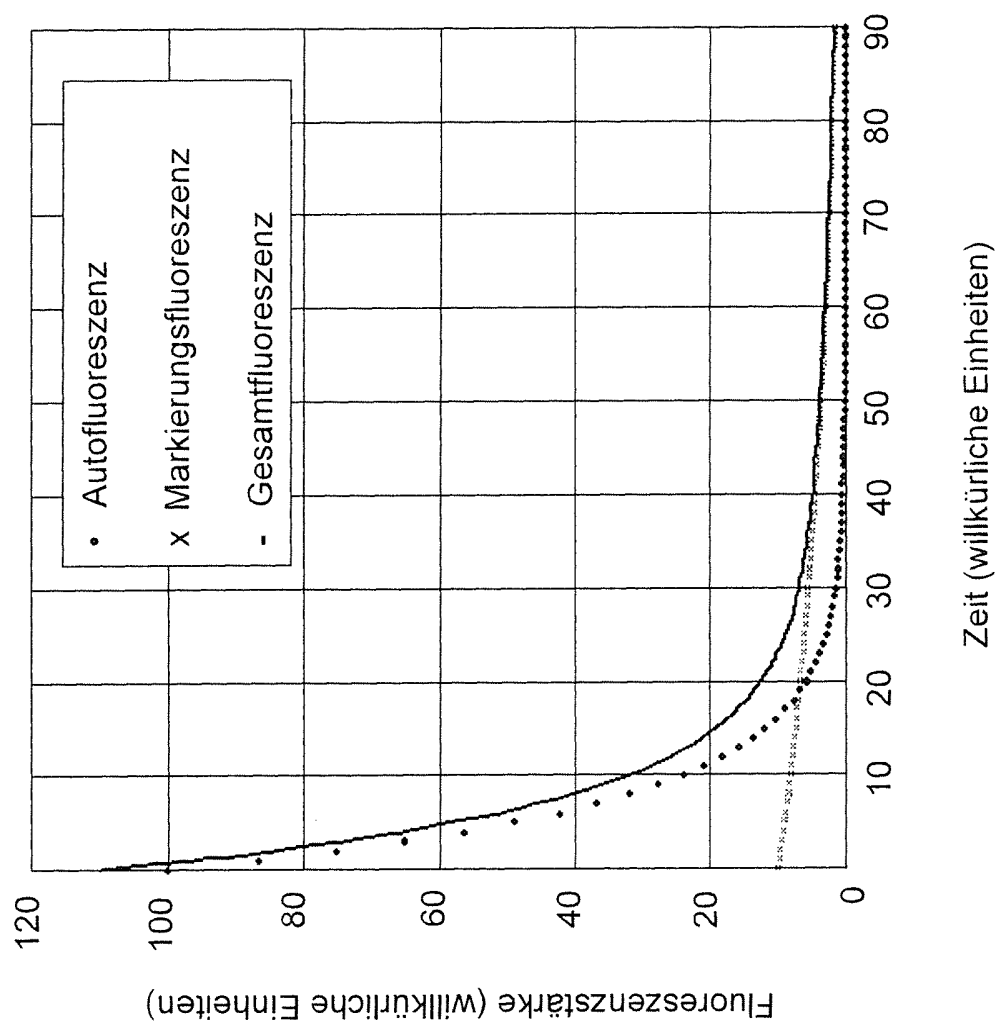
wobei der Bildsensor (180) eine Vielzahl von Photodetektoren (185) umfasst, wobei jeder Photodetektor (185) betriebsfähig ist, um eine erkannte Fluoreszenzstrahlung in eine entsprechende Anzahl von Ausgangsladungen umzusetzen;

dadurch gekennzeichnet, dass jeder der Vielzahl von Photodetektoren (185) mindestens einen Ladungsintegrierer umfasst, der betriebsfähig ist, um während eines vorherbestimmten Zeitintervalls die Ausgangsphotoladungen, die als Reaktion auf die erkannte Fluoreszenzstrahlung generiert werden, selektiv zu integrieren.

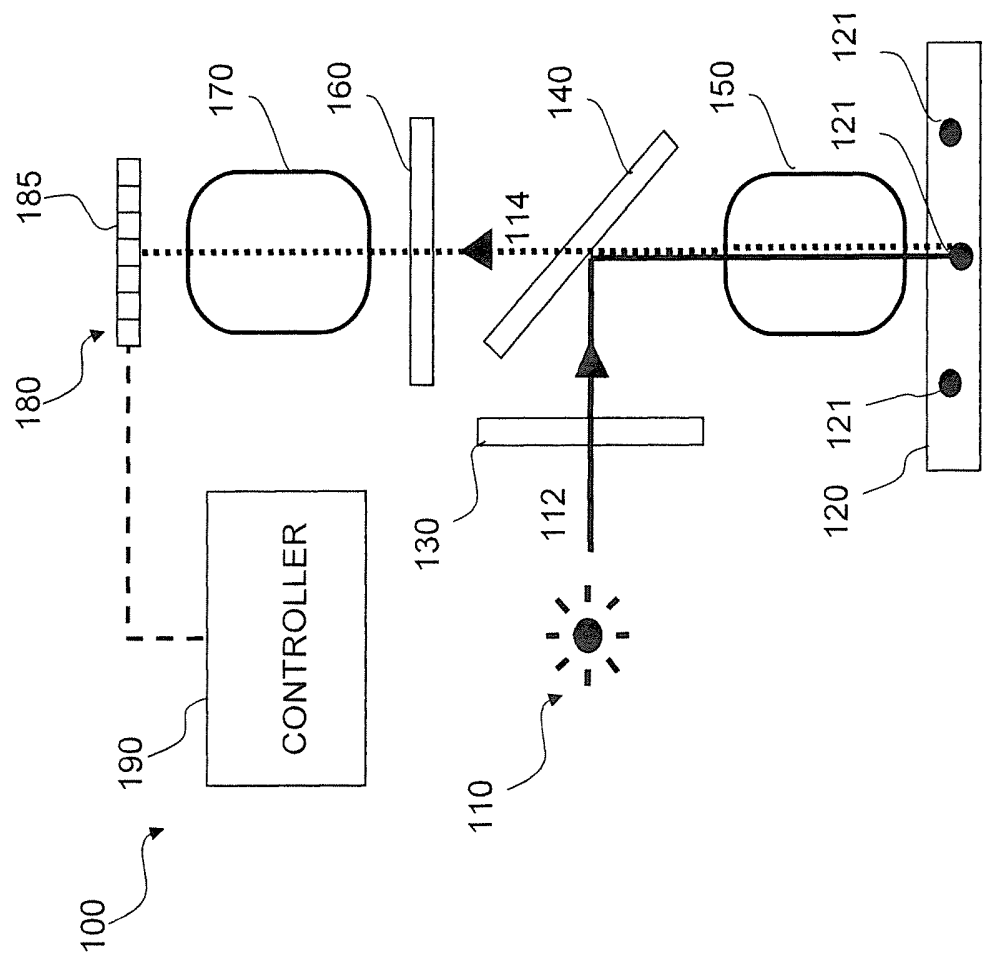
2. Fluoreszenzdetektionssystem (100) nach Anspruch 1, umfassend: eine Vielzahl von elektrischen Driftfeldgeneratoren, die jeweils mit der Vielzahl von Pixelsensoren betriebsfähig gekoppelt ist, wobei die Vielzahl von elektrischen Driftfeldgeneratoren derart betriebsfähig ist, dass sie die Ausgangsladungen, die von jedem der Photodetektoren bereitgestellt werden, an den mindestens einen Ladungsintegrierer während eines vorherbestimmten Zeitintervalls selektiv übertragen.
3. Fluoreszenzdetektionssystem (100) nach Anspruch 1 oder 2, wobei jeder der Vielzahl von Photodetektoren einen Verstärker umfasst, der betriebsfähig ist, um das Signal zu verstärken, das die Ausgangsphotoladungen darstellt, die als Reaktion auf die erkannte Fluoreszenzstrahlung generiert werden.
4. Fluoreszenzdetektionssystem (100) nach Anspruch 3, wobei der Verstärker ein Regelkreisverstärker ist.
5. Fluoreszenzdetektionssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche, umfassend: eine Strahlungsquelle (110), die betriebsfähig ist, um eine Sequenz von Anregungslichtimpulsen zu emittieren, die jeweilige Beleuchtungsperioden aufweisen; und einen Controller (190); wobei die Photodetektoren (185), die Strahlungsquelle (110) und der Controller (190) betriebsfähig miteinander gekoppelt sind; wobei die Photodetektoren (185) in einem Detektionsmodus, in dem fluoreszenzinduzierte Photoladungen gespeichert und integriert werden, und in einem Nicht-Detektionsmodus, in dem fluoreszenzinduzierte Photoladungen verworfen werden, selektiv betriebsfähig sind; wobei der Controller (190) betriebsfähig ist, um zwischen dem Detektionsmodus und dem Nicht-Detektionsmodus der Photodetektoren in zeitgesteuerter Synchronität mit der Strahlungsquelle (110) selektiv abzuwechseln.
6. Fluoreszenzdetektionssystem (100) nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei jeder der Photodetektoren einen lichtempfindlichen Teil, um Photonen in Photoladungen umzuwandeln, und einen lichtunempfindlichen Teil, der mindestens einen elektrischen Schalter umfasst, umfasst, und der mindestens einen Ladungsintegrierer jeweils dem mindestens einen elektrischen Schalter zugewiesen ist; und [umfassend] einen Taktgeber zum Steuern des elektrischen Schalters, so dass Photoladungen, die in dem lichtempfindlichen Teil generiert werden, mit Bezug auf die Anregungslichtimpulse in zeitgesteuerter Synchronität an den mindestens einen Ladungsintegrierer gegeben werden.
7. Fluoreszenzdetektionssystem (100) nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei jeder Photodetektor Folgendes umfasst: ein lineares Zeitumwandlungselement länglicher Erstreckung; und einen seitlichen elektrischen Feldgenerator; wobei das lineare Zeitumwandlungselement und der seitliche elektrische Feldgenerator betriebsfähig sind, um derart miteinander gekoppelt zu sein, dass ein seitliches Driftfeld in dem linearen Zeitumwandlungselement generiert wird, welches das Absuchen von Photoladungen in dem Zeitumwandlungselement von einem ersten Ende bis zu einem zweiten Ende an der Längserstreckung des linearen Zeitumwandlungselements entlang ermöglicht; wobei die Ladungsintegrierer in mindestens einer Reihe an der Längserstreckung des linearen Zeitumwandlungselements entlang angeordnet sind; wobei die Ladungsintegrierer mit dem Zeitumwandlungselement jeweils an einer Vielzahl von diskret beabstandeten Abtaststellen des Zeitumwandlungselements elektrisch gekoppelt sind; mindestens einen lichtempfindlichen Bereich, um Photonen in Photoladungen umzuwandeln, der mit dem linearen Zeitumwandlungselement derart gekoppelt ist, dass generierte Photoladungen dem linearen Zeitumwandlungselement zugeführt werden; und mindestens eine Ladeerkennungsschaltung, die an die Ladungsintegrierer elektrisch angeschlossen ist, um eine Photoladung zu erkennen, die durch mindestens einen Teil des linearen Zeitumwandlungselements an seiner Längserstreckung entlang gegangen ist.
8. Fluoreszenzdetektionssystem (100) nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei die Vielzahl von Photodetektoren jeweils eine Vielzahl von Rücksetztransistoren umfasst; wobei jeder Rücksetztransistor derart durch ein Rücksetzsignal derart steuerbar ist, dass solange das Rücksetzsignal den Rücksetztransistor offen hält, Photoladungen, die als Reaktion auf erkanntes Licht generiert werden, gleichzeitig abgeleitet werden, wobei sich die Photodetektoren somit im Nicht-Detektionsmodus befinden; und wobei, wenn der Rücksetztransistor geschlossen ist, die Photoladungen kumuliert werden, wobei sich die Photodetektoren somit im Detektionsmodus befinden.
9. Fluoreszenzdetektionssystem (100) nach Anspruch 8, wobei jeder der Photodetektoren ferner einen pixelinternen Verstärker umfasst.

10. Verfahren zum Betreiben eines Fluoreszenzdetektionssystems (100) gemäss einem der vorhergehenden Ansprüche, umfassend folgende Schritte:
 - a) (300) Abreichen der Photodetektoren aus zuvor generierten Photoladungen;
 - b) (302) Einstellen der Photodetektoren auf einen Nicht-Detektionsmodus;
 - c) (304) Beleuchten mindestens eines mit Fluorophoren markierten Prüfkörpers mit einem Lichtimpuls; und
 - d) (306) nach einer vorherbestimmten Gatterverzögerung, die am Ende der Beleuchtungsperiode beginnt, Einstellen der Photodetektoren auf einen Detektionsmodus für eine vorherbestimmte Photonenexpositionsperiode; wobei die Dauer der Gatterverzögerung derart ausgewählt wird, dass das Verhältnis zwischen Autofluoreszenz und gewünschter Fluoreszenz, die von dem ersten Lichtimpuls generiert wird, gering genug ist, um eine zuverlässige Detektion der gewünschten Fluoreszenz durch die Photodetektoren sicherzustellen.
11. Verfahren zum Betreiben eines Fluoreszenzdetektionssystems (100) nach Anspruch 10, ferner umfassend folgende Schritte:
 - e) (310) Bestimmen, ob mindestens ein Beendigungskriterium erfüllt ist, und wenn nicht,
 - f) Wiederholen der Schritte a) bis d). und wenn ja, (312) Auslesen der kumulierten Photoladungen.
12. Verfahren zum Betreiben eines Fluoreszenzdetektionssystems (100) nach einem der Ansprüche 10 bis 12, umfassend folgenden Schritt:

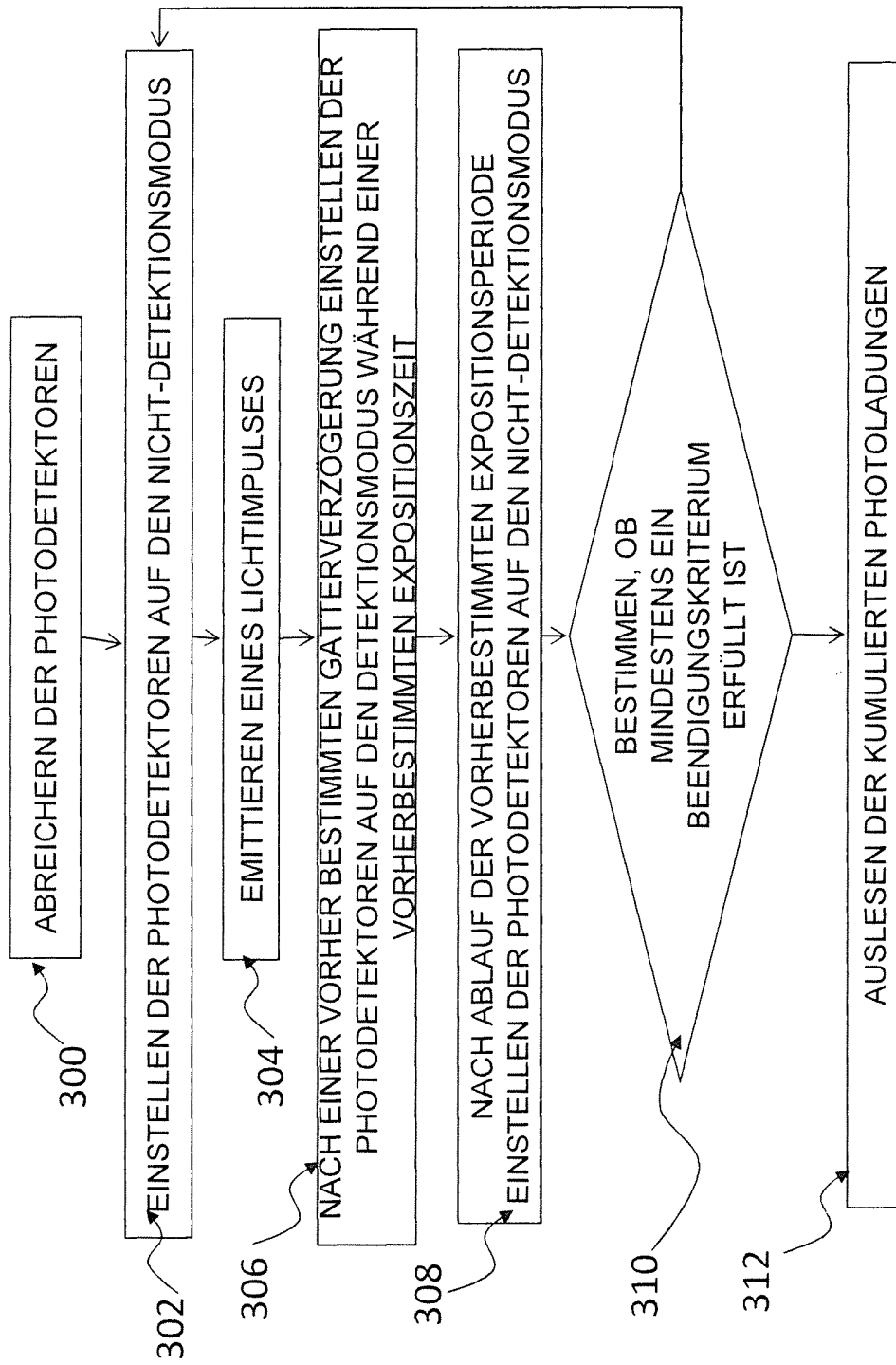
mindestens zweimaliges Abtasten während der Expositionsperiode des Signals, das die Ausgangsladungen der erkannten Fluoreszenzstrahlung darstellt.
13. Verfahren zum Betreiben eines Fluoreszenzdetektionssystems (100) nach Anspruch 12, wobei der Zeitunterschied zwischen jedem Abtastschritt ausgewählt wird, um dem Unterschied der Abklingzeit zwischen mindestens zwei Fluorophormarkierungen zu entsprechen.
14. Verfahren zum Betreiben eines Fluoreszenzdetektionssystems (100) nach Anspruch 12 oder 13, umfassend den Schritt des Bereitstellens von Informationen über die Eigenschaften der Fluoreszenzabklingzeit der Licht emittierenden Fluorophormarkierung.



FIGUR 1



FIGUR 2



FIGUR 3

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

BERICHT ÜBER DIE RECHERCHE INTERNATIONALER ART

KENNZEICHNUNG DER NATIONALEN ANMELDUNG		AKTENZEICHEN DES ANMELDERS ODER ANWALTS	
		CSE-518-P-CH	
Nationales Aktenzeichen		Anmeldedatum	
1220/2011		21-07-2011	
Anmelde-land		Beanspruchtes Prioritätsdatum	
CH			
Anmelder (Name)			
CSEM Centre Suisse d'Electronique de Microtechnique SA			
Datum des Antrags auf eine Recherche internationaler Art		Nummer, die die internationale Recherchenbehörde dem Antrag auf eine Recherche internationaler Art zugeteilt hat	
02-08-2011		SN 56638	
I. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (treffen mehrere Klassifikationssymbole zu, so sind alle anzugeben)			
Nach der internationalen Patentklassifikation (IPC) oder sowohl nach der nationalen Klassifikation als auch nach der IPC			
G01N21/64			
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE			
Recherchierter Mindestprüfstoff			
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole		
IPC. 8	G01N		
Recherchierte, nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen			
III. ☐ EINIGE ANSPRÜCHE HABEN SICH ALS NICHT RECHERCHIERBAR ERWIESEN (Bemerkungen auf Ergänzungsbogen)			
IV. ☐ MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG (Bemerkungen auf Ergänzungsbogen)			

Formblatt PCT/ISA 201 a (11/2000)

BERICHT ÜBER DIE RECHERCHE INTERNATIONALER ART

Nr. des Antrags auf Recherche

CH 12202011

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV. GOIN21/64 ADD.		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) GOIN		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE VERÖFFENTLICHUNGEN		
Kategorie	Bereitstellung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 2004/106874 A1 (SENSOVATION AG [DE]; HING PAUL ANTHONY [DE]) 9. Dezember 2004 (2004-12-09)	1-3, 5, 6, 8-11
Y	* Seite 21, Zeile 13 - Seite 22, Zeile 7; Abbildungen 15, 16 * * Ansprüche 1, 7 * * Seite 6, Absatz 3 * * Seite 11, Zeile 5 - Zeile 8 * * Seite 11, Absatz 3 - letzter Absatz *	4, 7
Y, D	EP 2 160 012 A1 (SUISSE ELECTRONIQUE MICROTECH [CH]) 3. März 2010 (2010-03-03) in der Anmeldung erwähnt * Anspruch 1 *	4
-/-		
☒	Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	☒ Siehe Anhang Patentfamilie
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *B* Stilles Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *C* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Rechercherbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll, oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *D* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Ausstellung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *E* Veröffentlichung, die vor dem Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *F* Spätere Veröffentlichung, die nach dem Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis der Erfindung zugrundeliegenden Prinzipia oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *G* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden *H* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *I* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des tatsächlichen Abschlusses der Recherche internationaler Art 25. Oktober 2011		Abschließdatum des Berichts über die Recherche internationaler Art 15.11.2011
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.O. Box 5818 Patentlaan 2 NL - 2000 PH The Hague Tel: (+31-70) 340-2046 Fax: (+31-70) 340-2016		Baumstammhalter Bediensteter Verdoordt, Erik

Formblatt PC/ENBA2011 (Stand 2) (Januar 2004)

BERICHT ÜBER DIE RECHERCHE INTERNATIONALER ART

Nr. des Antrags auf Recherche

CH 12202011

C. (Fortsetzung): ALS WESENTLICH ANGESEHENE VERÖFFENTLICHUNGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Bez. Anspruch Nr.
A,D	US 2008/265177 A1 (CONNALLY RUSSELL [AU] ET AL) 30. Oktober 2008 (2008-10-30) in der Anmeldung erwähnt * Anspruch 1 *	5
A,D	US 5 856 667 A (SPIRIG THOMAS [CH] ET AL) 5. Januar 1999 (1999-01-05) in der Anmeldung erwähnt * Anspruch 1 *	6
Y,D	EP 2 182 523 A1 (SUISSE ELECTRONIQUE MICROTECH [CH]) 5. Mai 2010 (2010-05-05) in der Anmeldung erwähnt * Anspruch 1 *	7
A	US 2004/239922 A1 (MODLIN DOUGLAS N [US] ET AL) 2. Dezember 2004 (2004-12-02) * Absätze [0105], [0120], [0121], [0127] * * Absatz [0134] * * Absätze [0135], [0137] * * Abbildung 9 *	1,10,11
A	US 2008/037008 A1 (SHEPARD KENNETH L [US] ET AL) 14. Februar 2008 (2008-02-14) * Absätze [0016], [0018], [0047], [0052] *	1,10

Furnish PCT/ISA(2) (Fortsetzung von Blatt 2) (Januar 2004)

Seite 2 von 2

BERICHT ÜBER DIE RECHERCHE INTERNATIONALER ART

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Nr. des Antrags auf Recherche

CH 12202011

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 2004106874	A1	09-12-2004	AU 2003245902 A1 21-01-2005
			EP 1634043 A1 15-03-2006
			US 2007057159 A1 15-03-2007
			WO 2004106874 A1 09-12-2004
EP 2160012	A1	03-03-2010	EP 2160012 A1 03-03-2010
			JP 2010063096 A 18-03-2010
			US 2010051786 A1 04-03-2010
US 2008265177	A1	30-10-2008	AU 2005327903 A1 31-08-2006
			CA 2584186 A1 31-08-2006
			EP 1817573 A1 15-08-2007
			JP 2008517280 A 22-05-2008
			US 2008265177 A1 30-10-2008
			WO 2006089342 A1 31-08-2006
US 5856667	A	05-01-1999	CA 2197079 A1 23-05-1996
			CN 1163687 A 29-10-1997
			DE 4440613 C1 25-07-1996
			EP 0792555 A1 03-09-1997
			HK 1003076 A1 08-08-2003
			JP 3723215 B2 07-12-2005
			JP H10508736 A 25-08-1998
			US 5856667 A 05-01-1999
			WO 9615626 A1 23-05-1996
EP 2182523	A1	05-05-2010	EP 2182523 A1 05-05-2010
			US 2010109640 A1 06-05-2010
US 2004239922	A1	02-12-2004	KEINE
US 2008037008	A1	14-02-2008	KEINE

Formblatt PCT/ISA/201 (Anhang Patentfamilie) (Januar 2004)