(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
29. Dezember 2016 (29.12.2016)

WIPO | PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2016/207086 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
G01N 15/14 (2006.01) *G01N 21/64* (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2016/064113

(22) Internationales Anmeldedatum:
20. Juni 2016 (20.06.2016)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2015 110 359.1 26. Juni 2015 (26.06.2015) DE

(71) Anmelder: **FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E.V.** [DE/DE]; Hansastraße 27c, 80686 München (DE).

(72) Erfinder: **QUINT, Stephan**; Kolmarer Straße 16, 44137 Dortmund (DE). **NADAV, Levanon**; 10 Hameiry Street, 52651 Ramat Gan (IL). **BASSLER, Michael**; Im Borner Grund 10, 55127 Mainz (DE). **SOMMER, Christian**; Heinrich-Wothe-Str. 4, 55122 Mainz (DE).

(74) Anwälte: **KÖPPEN, Manfred** et al.; Postfach 61 45, c/o WSL Patentanwälte Partnerschaft mbB, Kaiser-Friedrich-Ring 98, 65051 Wiesbaden (DE).

(81) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR DETECTING RADIATION-EMITTING PARTICLES

(54) Bezeichnung : VERFAHREN ZUR DETEKTION VON STRAHLUNGSEMITTIERENDEN PARTIKELN

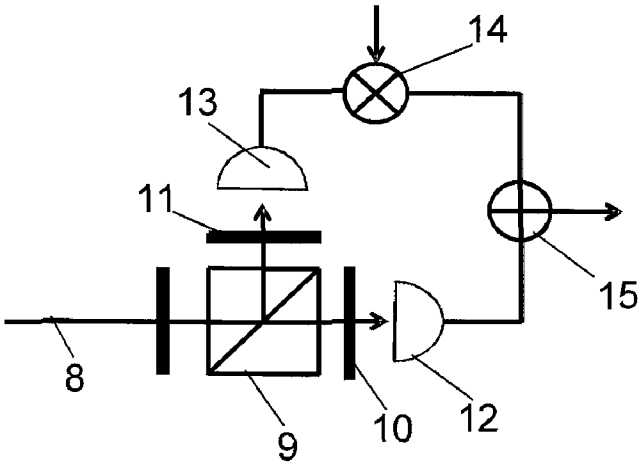


Fig. 6

(57) Abstract: The present invention relates to a method for detecting particles which move along a trajectory and produce or at least influence electromagnetic radiation, an electric field or a magnetic field, wherein the electromagnetic radiation, the electric field or the magnetic field is detected, wherein a first signal is captured with the aid of a first structuring device, wherein the first structuring device either ensures that the particles along a trajectory section produce or at least influence electromagnetic radiation, an electric field or a magnetic field substantially only at first non-periodic spatial intervals or ensures that the electromagnetic radiation, the electric field or the magnetic field is detected along the trajectory section substantially only at first non-periodic spatial intervals. In order to provide a method for detecting particles which move along a trajectory and produce or at least influence electromagnetic radiation, an electric field or a magnetic field, the invention proposes that a second signal is captured with the aid of a second structuring device, wherein the second structuring device either ensures that the particles along a trajectory section produce or at least influence electromagnetic radiation, an electric field or a magnetic field substantially only at second non-periodic spatial intervals or ensures that the electromagnetic radiation, the electric field or the magnetic field is detected along the trajectory section substantially only at second non-periodic spatial intervals, and that the first and second signals are correlated with one another and the correlated signal is used to draw conclusions with respect to the number and/or speed of the particles.

(57) Zusammenfassung:

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2016/207086 A1

Veröffentlicht:

— *mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)*

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Detektion von sich entlang einer Trajektorie bewegenden Partikeln, welche elektromagnetische Strahlung, ein elektrisches Feld oder ein magnetisches Feld erzeugen oder zumindest beeinflussen, wobei die elektromagnetische Strahlung, das elektrische Feld oder das magnetische Feld detektiert wird, wobei ein erstes Signal mit Hilfe einer ersten Strukturierungseinrichtung erfasst wird, wobei die erste Strukturierungseinrichtung entweder dafür Sorge trägt, dass die Partikel entlang eines Trajektorienabschnitts im Wesentlichen nur in ersten nicht-periodischen räumlichen Abständen elektromagnetische Strahlung, ein elektrisches Feld oder ein magnetisches Feld erzeugen oder zumindest beeinflussen oder dafür Sorge trägt, das die elektromagnetische Strahlung, das elektrische oder magnetische Feld im Wesentlichen nur in ersten nicht-periodischen räumlichen Abständen entlang des Trajektorienabschnitts detektiert wird. Um ein Verfahren zur Detektion von sich entlang einer Trajektorie bewegenden Partikeln, welche elektromagnetische Strahlung, ein elektrisches Feld oder ein magnetisches Feld erzeugen oder zumindest beeinflussen zur Verfügung zu stellen, wird erfindungsgemäß vorgeschlagen, dass ein zweites Signal mit Hilfe einer zweiten Strukturierungseinrichtung erfasst wird, wobei die zweite Strukturierungseinrichtung entweder dafür Sorge trägt, dass die Partikel entlang eines Trajektorienabschnitts im Wesentlichen nur in zweiten nichtperiodischen räumlichen Abständen elektromagnetische Strahlung, ein elektrisches Feld oder ein magnetisches Feld erzeugen oder zumindest beeinflussen oder dafür Sorge trägt, das die elektromagnetische Strahlung, das elektrische oder magnetische Feld im Wesentlichen nur in zweiten nicht-periodischen räumlichen Abständen entlang des Trajektorienabschnitts detektiert wird, dass das erste und das zweite Signal miteinander korreliert werden und aus dem korrelierten Signal Rückschlüsse auf die Anzahl und/oder die Geschwindigkeit der Partikel gezogen werden.

Verfahren zur Detektion von strahlungsemittierenden Partikeln

BESCHREIBUNG

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Detektion von sich entlang einer Trajektorie bewegenden Partikeln, welche elektromagnetische Strahlung, ein elektrisches Feld oder ein magnetisches Feld erzeugen oder zumindest beeinflussen. Dabei wird die elektromagnetische Strahlung oder das elektrische oder das magnetische Feld detektiert. Des Weiteren wird eine Strukturierungseinrichtung verwendet, die entweder dafür Sorge trägt, dass die Partikel entlang der Trajektorie im Wesentlichen nur in nicht-periodischen räumlichen Abständen elektromagnetische Strahlung, ein elektrisches Feld oder ein magnetisches Feld erzeugen oder zumindest beeinflussen oder dafür Sorge trägt, dass die elektromagnetische Strahlung, das elektrische oder das magnetische Feld im Wesentlichen nur in nicht-periodischen räumlichen Abständen entlang der Trajektorie detektiert wird.

Ein solches Verfahren wird beispielsweise in Durchflusszytometern verwendet. Bei der Durchflusszytometrie wird eine Zellsuspension durch eine Durchflussmesszelle geleitet. Die Zellsuspension wird mit einer Lichtquelle, bestehend meist aus mehreren Lasern, bestrahlt, wodurch die zu detektierenden Zellen oder ein an den Zellen gebundener Farbstoff angeregt werden und Fluoreszenzsignale emittieren. Als Strukturierungseinrichtung wird häufig eine nicht-periodische, strukturierte Maske, auch Schattenmaske genannt, verwendet und die Partikel werden an einer Seite der Maske mit einer Geschwindigkeit v vorbeigeführt und auf der anderen Seite wird die durch die Maske tretende elektromagnetische Strahlung, das elektrische oder das magnetische Feld mit einem geeigneten Detektor detektiert.

Es versteht sich aber, dass die Strukturierungseinrichtung keine Schattenmaske sein muss. Es wäre beispielsweise auch denkbar, dass die zu detektierenden Partikel mit Hilfe einer strukturierten Anregungsstrahlung angeregt werden müssen, um elektromagnetische Strahlung zu erzeugen. Diese Anregungsstrahlung könnte beispielsweise mit Hilfe von diffraktiven optischen Elementen nur in nicht-periodischen räumlichen Abständen entlang der Trajektorie zur Verfügung gestellt werden, so dass im Wesentlichen auch nur an diesen Orten die zu detektierende elektromagnetische Strahlung emittiert wird. Die Strukturierungseinrichtung besteht dann aus den diffraktiv optischen Elementen.

Die vorliegende Erfindung wird im Folgenden anhand eines Verfahrens zur Detektion von strahlungsemittierenden Partikeln beschrieben. Dennoch kann das Verfahren auch zur Detektion von beispielsweise ein Magnetfeld oder ein elektrisches Feld erzeugende oder beeinflussende Teilchen verwendet werden. Auch wäre es denkbar, elektromagnetische Strahlung durch die Maske zu leiten und zu detektieren, so dass die vorbeigeführten Partikel die gerichtete elektromagnetische Strahlung beim Passieren der Masken kurzzeitig abschwächen oder zumindest beeinflussen.

Beispielsweise kann die zeitliche Modulation des Fluoreszenzsignals durch eine entlang der Bewegungsrichtung des Partikels strukturierte Schattenmaske erzeugt werden. Fenster in dieser Schattenmaske erlauben die Transmission des Fluoreszenzlichtes und entsprechen dem Transmissionszustand „1“. Geschlossene Bereiche der Maske verhindern die Transmission und entsprechen dem Zustand „0“. Die räumliche Strukturierung der Maske wird mathematisch beschrieben durch sogenannte binäre Sequenzen, d. h. durch Folgen aus Nullen und Einsen. Daher wird die strukturierte Maske auch als binäre Maske bezeichnet. Grundsätzlich wären aber auch Bereiche mit verminderter Transmission, den dann ein Zwischenzustand von zum Beispiel „1/2“ zugewiesen werden könnte, denkbar. Auch wenn die Erfindung im Folgenden am Beispiel von binären Masken erläutert wird, wären auch strukturierte Masken mit Zwischenzuständen denkbar.

Im Grunde genommen wird das Messsignal durch die Strukturierungseinrichtung kodiert. Der Code, also zum Beispiel die binäre Sequenz, wird dabei von der Strukturierungseinrichtung zur Verfügung gestellt.

Die derart kodierten Fluoreszenzsignale werden detektiert und ausgewertet, um Rückschlüsse auf Anzahl, Art, Intensität und Geschwindigkeit der einzelnen Partikel zu ziehen.

Ein solches Verfahren ist beispielsweise beschrieben in Kiesel et al., Appl. Phys. Lett. 94, 041107-1 (2009). Hierbei wird das gemessene Signal mittels eines Optimalfilters gefiltert, um eine Pulskompression zu erreichen und dann nach der Zeit differenziert, um einen möglichen Signaloffset zu beseitigen. Bei dem sich dann ergebenden Signal wird ein fester Schwellwert zur Ereigniserfassung eingesetzt.

Das detektierte Signal ist naturgemäß unipolar, da es bei der Fluoreszenzemission keine negativen Amplituden geben kann.

Die Verwendung von nicht-periodischen Masken bzw. Signalverläufen dient der Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses sowie der zeitlichen Pulskompression. Allerdings treten bei

diesem Verfahren Signal-Nebenkeulen bei Korrelationssignalen auf, was die Entdeckungswahrscheinlichkeit schwach fluoreszierender Objekte in Gegenwart von größeren, stärker leuchtenden Objekten deutlich erschwert.

Zur Verdeutlichung wird auf die Figuren 1 bis 4 verwiesen. Figur 1 zeigt eine schematische Darstellung eines Messsignals in Abhängigkeit von der Zeit ohne Berücksichtigung des Rausch-und Offsetanteils. In Figur 2 sind die amplitudenmodulierten Rechtecksignale für zwei Teilchen dargestellt. Man erkennt, dass die Messsignale unterschiedlich große Strahlungsintensitäten besitzen. Das erste Messsignal besitzt die doppelte Amplitude des zweiten Messsignals. Durch Überlagerung ergibt sich ein drittes Niveau, welches 1,5 mal den Wert des ersten Messsignals annimmt. Die Rechtecksignale der einzelnen Partikel haben jedoch nicht nur unterschiedliche Amplituden, sie sind auch zeitlich (in x-Richtung) verschoben, das heißt es wird der Fall betrachtet, in dem zwei Partikel unterschiedlicher Lichtstärke und unterschiedlicher Ausdehnung kurz hintereinander an der binären Maske vorbei wandern, so dass das Gesamtsignal, welches mit einem Detektor erfasst wird, eine Überlagerung der von den einzelnen Partikeln herrührenden Einzelsignale ist.

Dieses Signal wird üblicherweise mit einem Optimalfilter bearbeitet, wodurch sich das in Figur 3 dargestellte gefilterte Signal ergibt. Unter einem Optimalfilter wird ein Filter verstanden, welcher ein gefiltertes Signal mit dem größten Signal-Rausch-Verhältnis liefert. Solch ein Filter hat für den Fall eines unipolaren Signals immer ausschließlich unipolare Filterkoeffizienten.

Das Signal des ersten Teilchens (P1) ist deutlich zu erkennen, während das schwächere Signal des zweiten Partikels (P2) nur schwach ausgeprägt ist. Für eine automatisierte Teilchendetektion wird in der Regel ein Grenzwert festgelegt und Signale, die stärker als der festgelegte Grenzwert sind, werden als Teilchendetektion interpretiert. Insbesondere bei der Detektion von mehreren Teilchen mit unterschiedlichen Signalstärken ist dies jedoch nicht möglich. Beispielhaft sind in Figur 3 zwei Schwellwerte als gestrichelte Linien eingezeichnet worden. Wird der größere Wert als Schwellwert verwendet, wird lediglich das erste Partikel detektiert, da die Signalstärke des zweiten Partikels unterhalb des größeren Schwellwertes liegt. Wählt man stattdessen einen Schwellwert, der so klein ist, dass das zweite Partikel korrekt identifiziert wird, liegt jedoch das mit dem ersten Partikel verknüpfte Untergrundsignal ebenfalls über dem Schwellwert, so dass das erste Partikel gegebenenfalls fälschlich mehrfach gezählt wird.

Daher wird üblicherweise das gefilterte Signal nach der Zeit abgeleitet, wodurch das in Figur 4 gezeigte Signal erhalten wird. Das Signal weist keinen Offset mehr auf. Wieder ist das Signal des ersten Partikels (P1) gut zu erkennen, während das Signal des zweiten Partikels (P2) nur geringfügig größer ist als die Signale in den Nebenkeulen („side-lobes“). In der Figur 4 ist beispielhaft ein Schwellwert (gestrichelte Linie) eingezeichnet worden. Ist der Schwellwert zu hoch, wird das

Signal des zweiten Teilchens nicht detektiert. Ist hingegen der Schwellwert zu niedrig, wird nicht nur das zweite Partikel detektiert, sondern es werden zusätzlich Peaks der Nebenkeulen, die in der Figur mit einer punktierten Linie hervorgehoben sind, fälschlicherweise als Ereignis erfasst.

Das bekannte Verfahren hat jedoch eine Reihe von Nachteilen:

1. Aufgrund der Abschattungseigenschaft der binären Maske, wird nicht das vollständige, zur Verfügung stehende Fluoreszenzlicht genutzt. Wird beispielsweise eine „balancierte Maske", d.h. eine Maske mit der gleichen Anzahl von Nullen und Einsen, genutzt, so werden circa 50 % des zur Verfügung stehenden Fluoreszenzlichtes nicht genutzt. Könnte dieses Licht genutzt werden, würde sich das Signal-Rausch-Verhältnis um einen Faktor $\sqrt{2}$ verbessern.

2. Das bekannte Verfahren mit der binären Maske liefert lediglich ein unipolares Signal, so dass aus der Radartechnik bekannte Detektionsverfahren nicht angewendet werden können.

3. Durch die Verwendung eines einzelnen Detektors fließt dessen Rauschhintergrund immer direkt in das Signal mit ein und verfälscht somit das eigentliche Messsignal und erschwert die Detektion.

4. In der Praxis ist die Partikelgeschwindigkeit nicht bekannt. Zudem wird bei der Messung mehrerer Partikel eine Geschwindigkeitsverteilung beobachtet, so dass deren Verweildauer im Detektionsbereich, das heißt die zeitliche Ausdehnung des gemessenen Signals nicht nur unbekannt ist, sondern sich auch noch von Partikel zu Partikel unterscheiden kann. Daher muss ein breiter Geschwindigkeitsbereich abgefragt werden, in dem das gemessene Signal mit verschiedenen, zeitlich unterschiedlich ausgedehnten Filtern korreliert wird. Dieser Vorgang ist mit erheblichem Rechenaufwand verbunden.

Ausgehend von dem beschriebenen Stand der Technik ist es daher Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren bereitzustellen, das zumindest einen Teil der beschriebenen Nachteile verringert.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe durch ein Verfahren gemäß Anspruch 1 gelöst, bei dem ein zweites Signal mithilfe einer zweiten Strukturierungseinrichtung erfasst wird, wobei die zweite Strukturierungseinrichtung entweder dafür Sorge trägt, dass die Partikel entlang eines Trajektorienabschnittes im Wesentlichen nur in zweiten nicht-periodischen räumlichen Abständen elektromagnetische Strahlung, ein elektrisches Feld oder ein magnetisches Feld erzeugen oder zumin-

dest beeinflussen oder dafür Sorge trägt, dass die elektromagnetische Strahlung, das elektrische oder magnetische Feld im Wesentlichen nur in zweiten, nicht periodischen räumlichen Abständen entlang des Trajektorienabschnittes detektiert wird, wobei das erste und das zweite Signal miteinander korreliert werden und aus dem korrelierten Signal dann Rückschlüsse auf die Anzahl und/oder die Geschwindigkeit der Partikel gezogen werden.

Erfindungsgemäß wird somit ein zweites Signal erfasst und die beiden erfassten Signale miteinander korreliert.

Daher sind zwei Strukturierungseinrichtungen vorgesehen, die jeweils ein Signal erfassen, wobei vorzugsweise sich die zweiten nicht-periodischen räumlichen Abstände von den ersten nicht-periodischen Abständen unterscheiden. Unter einer Korrelation wird jede mathematische Verknüpfung des ersten und des zweiten Signals verstanden. Beispielsweise können die beiden Signale miteinander multipliziert werden. Vorzugsweise wird eine Kreuzkorrelationsfunktion zur Korrelierung der beiden Signale berechnet.

So können beispielsweise die erste und die zweite Strukturierungseinrichtung eine nicht-periodische, strukturierte Maske verwenden und die Partikel an einer Seite der Maske vorbeigeführt werden und auf der anderen Seite die durch die Maske tretende elektromagnetische Strahlung, das elektrische Feld oder das magnetische Feld detektiert werden. Hierzu könnte ein Strahlteiler verwendet werden, welcher einen Teil des Fluoreszenzlichtes der ersten Strukturierungseinrichtung zuführt, während der andere Teil der zweiten Strukturierungseinrichtung zugeführt wird. Im Ergebnis hat man dann zwei codierte Signale, die - gegebenenfalls nach vorheriger Filterung - miteinander korreliert werden.

Durch die Verwendung von zwei separaten Detektoren wird der Rauschhintergrund eines einzelnen Detektors reduziert, wodurch die Auflösung des Verfahrens verbessert wird.

Allerdings geht durch die Verwendung der Schattenmasken nach wie vor ein Teil des Signals verloren. Der Nachteil der ausgeblendeten Signalintensität kann beispielsweise durch Verwendung eines räumlich strukturierten Detektors überwunden werden. So könnte ein räumlich strukturierter Detektor aus zwei ineinandergreifenden Flächensequenzen bestehen, die jeweils einem Detektorausgang zugeordnet sind. Hierbei liefert der eine Detektorausgang stets inverse Signale zu dem anderen Detektorausgang, da diejenigen Flächenabschnitten, die nicht dem einen Detektorausgang zugeordnet sind und daher für diesen eine „0“ darstellen, dem anderen Detektorausgang zugeordnet werden und daher für jenen eine „1“ darstellen.

Ein solcher Aufbau erzeugt ein analoges Messsignal. Nachteil ist jedoch, dass durch die räumliche Strukturierung des Detektors für diesen Detektor die Modulationssequenz und daher die Codierung feststeht.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird als erste und/oder zweite Strukturierungseinrichtung ein Detektor-Array verwendet. Ein Detektor-Array besteht aus einer Mehrzahl von Detektoren (Pixeldetektoren), die selektiv ausgelesen werden können. Durch analoges oder digitales Zusammenfassen einzelner Pixeldetektoren („Binning"), kann ein räumlich strukturierter Code implementiert werden, wodurch die Strukturierungseinrichtung leicht modifiziert und anwendungsspezifisch verwendet werden kann. Neben dem Vorteil der einfachen Softwareimplementierung hat dieses Detektionsschema weiterhin den Vorteil, dass sich das Rauschen bedingt durch die Zahl der Detektoren weiter verringert.

Da zudem das Fluoreszenzsignal nicht lokal ausgeblendet wird, sondern die gesamte Information erhalten bleibt, kann das Zusammenfassen von Zellen softwaretechnisch parallel in vielen verschiedenen Variationen durchgeführt werden. Mit anderen Worten kann dasselbe Signal parallel nahezu mit beliebig vielen Codes, wie z. B. binären Sequenzen codiert werden, so dass eine Mehrzahl von codierten Signalen für eine Korrelation und anschließende Auswertung zur Verfügung stehen.

Das gleiche Messsignal könnte somit unterschiedlichen Masken zugeordnet werden. Die mehrfache Auswertung des Signales erlaubt es auch verschiedene Informationen aus dem Signal zu entnehmen. Zum Beispiel könnte zunächst eine Partikeldetektion mit einer Autokorrelation von zwei räumlich versetzten LABS und anschließend eine Ermittlung der Partikelgeschwindigkeit mit einem periodischen Binningmuster erfolgen. Dabei versteht man unter LABS sogenannte „low autocorrelation binary sequences", wie sie beispielsweise in Mertens S, Exhaustive search for low-autocorrelation binary sequences, J.Phys. A - Math. Gen. 29, L473 (1996) definiert werden.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist vorgesehen, dass die erste und die zweite Strukturierungseinrichtung jeweils derart ausgestaltet sind, dass bei einer Aufteilung des Trajektorienabschnittes in gleichlange Segmente, die Funktion der ersten und zweiten Strukturierungseinrichtung jeweils durch einen Binärcode, d.h. eine Abfolge von Nullen und Einsen geschrieben werden kann, wobei jede Ziffer ein Segment kennzeichnet und Segmente, in denen die jeweilige Strukturierungseinrichtung entweder dafür Sorge trägt, dass die Partikel ein elektrisches Feld oder ein magnetisches Feld erzeugen oder zumindest beeinflussen oder dafür Sorge trägt, dass die elektromagnetische Strahlung, das elektrische oder magnetische Feld detektiert wird, mit der Ziffer „1" bezeichnet werde und alle anderen Segmente mit der Ziffer „0" bezeichnet werden.

Die Ausgestaltung der Strukturierungseinrichtung wird somit durch eine Abfolge bzw. einen Code bestehend aus Nullen und Einsen gekennzeichnet.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist entweder die Abfolge der zweiten Strukturierungseinrichtung gleich der von hinten nach vorne gelesenen Abfolge der ersten Strukturierungseinrichtung oder die Abfolge der zweiten Strukturierungseinrichtung ist gleich der Abfolge der ersten Strukturierungseinrichtung, wobei dann beide Abfolgen gleichzeitig einem jeweiligen FIFO-Pufferspeicher zugeführt werden, wobei die beiden FIFO-Pufferspeicher parallel zueinander angeordnet sind, die beiden Abfolgen in entgegengesetzter Richtung zugeführt werden und für die Korrelation jeweils benachbarte Speicherplätze der beiden FIFO-Pufferspeicher korreliert werden.

Mit anderen Worten wird der erste Speicherplatz des ersten FIFO-Pufferspeichers mit dem letzten Speicherplatz des zweiten FIFO-Pufferspeichers korreliert, wobei der zweite Speicherplatz „von hinten“ befüllt wird. Durch diese Maßnahme erfolgt im Ergebnis eine Korrelation des zeitinversen Signals mit dem eigentlichen Signal. Dadurch wird das Signal-Rausch-Verhältnis und somit die Detektion von Teilchen verbessert.

Dabei ist es im Ergebnis unerheblich, ob das zeitlich inverse Signal mit Hilfe der zweiten Strukturierungseinrichtung erzeugt wird, oder ob die zweite Strukturierungseinrichtung das identische Signal wie die erste Strukturierungseinrichtung erzeugt, das von der zweiten Strukturierungseinrichtung ermittelte Signal jedoch in entgegengesetzter Richtung in einen parallelen FIFO-Pufferspeicher eingegeben wird.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die Abfolge der zweiten Strukturierungseinrichtung die inverse Abfolge zu der Abfolge der ersten Strukturierungseinrichtung. Dabei wird vorzugsweise entweder das mit der ersten Strukturierungseinrichtung erfasste Signal oder das mit der zweiten Strukturierungseinrichtung erfasste Signal mit einem Faktor „-1“ multipliziert und danach die beiden erfassten Signale durch Addition miteinander kombiniert, um ein bipolares Signal zu bilden.

Dieses bipolare Signal kann dann mit üblichen, aus der Radartechnik bekannten Verfahren, ausgewertet werden, um ein Teilchen zu detektieren und dessen Geschwindigkeit zu bestimmen. Zum Beispiel können dann LABS verwendet und für enge Geschwindigkeitsverteilungen nach bekannten Verfahren ausgewertet werden

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die Abfolge der zweiten Strukturierungseinrichtung komplementär zur Abfolge der ersten Strukturierungseinrichtung ausgebildet. D.h. die, der Strukturierung der beiden Strukturierungseinrichtungen zu Grunde liegenden Binärcodes,

sind komplementär zueinander. Zueinander komplementäre Binärcodes besitzen die wesentliche Eigenschaft, dass die Addition ihrer Autokorrelationsfunktionen alle Signalnebenkeulen verschwinden lässt. Lediglich der Hauptpeak addiert sich konstruktiv.

Eine weitere Verbesserung kann erzielt werden, wenn das bipolare Signal vor der weiteren Verarbeitung in einen Manchestercode umgewandelt wird. Manchestercodes sind beispielsweiese definiert in Foster R, Manchester encoding - opposing definitions resolved, Engineering Science & Education Journal 9 (6), 278 (2000).
Beispielsweise könnte jede „1“ durch die Abfolge „1,-1“ und jede „-1“ durch die Abfolge „-1,1“ ersetzt werden.

Ein wichtiger Gesichtspunkt bei der Messung von Intensitäten ist nämlich der Offset, der sich durch das Detektorrauschen, das elektronische Rauschen und die Verstärkung ergibt und in jedem Signal enthalten ist. Bipolare Codes bieten den Vorteil, dass eine konstante Offsetspannung am Detektor weitgehend eliminiert wird, sofern die verwendete binäre Sequenz genauso viele Einsen wie inverse Einsen besitzt. Durch die Autokorrelation (auf dem resonanten Geschwindigkeitskanal) addiert sich ein konstanter Offset daher zu Null, was von Vorteil ist. Bei komplementären Sequenzen weisen beide Codes meist unterschiedliche Signalenergien auf, so dass nach Autokorrelation und Addition der Korrelationssignale ein DC-Offset nicht verschwindet. Durch die Manchestercodierung werden die Sequenzen zwar doppelt so lang, jedoch wird auf diese Weise sichergestellt, dass beide Codes immer balanciert sind, das heißt die Summe ihrer Koeffizienten immer Null ergibt und sich somit ein zeitlich konstanter Detektoroffset aufhebt.

Weitere Vorteile, Merkmale und Anwendungsmöglichkeiten werden deutlich anhand der folgenden Beschreibung bevorzugter Ausführungsformen und der dazugehörigen Figuren. Es zeigen:

Figur 1 eine vereinfachte Form eines Messsignals mit der Amplitude 1 ohne Rauschen und Offset,
Figur 2 eine vereinfachte Darstellung eines überlagerten Messsignals,
Figur 3 das mit einem Optimalfilter gefilterte Messsignal,
Figur 4 das differenzierte Signal von Figur 3,
Figur 5 eine schematische Querschnittsdarstellung eines Durchflusszytometeraufbaus,
Figur 6 eine schematische Darstellung einer ersten Ausführungsform,
Figur 7 eine schematische Darstellung eines Detektors einer zweiten Ausführungsform,
Figur 8 eine schematische Darstellung einer dritten Ausführungsform und
Figur 9 eine schematische Darstellung einer vierten Ausführungsform.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird am Beispiel eines Durchflusszytometers, wie es schematisch in Figur 5 gezeigt ist, erläutert. Die Figur 5 zeigt einen Querschnitt. Das Durchflusszytometer weist einen auf einem Substrat 1 aufgebrachten Mikrokanal 2 auf, durch den fluoreszierende Objekte 3 bewegt werden. Dabei erreichen sie eine Anregungszone 4, welche mittels beispielsweise eines Laserstrahls beleuchtet wird, wodurch die Objekte angeregt werden und fluoreszierende Strahlung emittieren. In diesem Bereich ist ein optisches Amplitudengitter 5, d.h. ein nichtperiodisches, binäres Filter 5 vorgesehen, durch welches Fluoreszenzstrahlung austreten kann, welche über den optischen Filter 6 auf den Detektor 7 gelangt. Dort wird im Wesentlichen das in Figur 2 oben gezeigte Signal empfangen. Das Signal besteht somit aus verschiedenen Rechteckpulsen, deren Breite der Breite der Öffnungen im binären Filter 5 entsprechen.

In Figur 6 ist eine schematische Darstellung einer ersten Ausführungsform der Erfindung gezeigt. Ein Fluoreszenzlichtstrahl 8 wird an einem Strahlteiler 9 aufgeteilt. Ein erster Teil des Fluoreszenzlichtstrahls wird durch die Maske 10 auf den Detektor 12 abgebildet. Am Detektor 12 wird somit ein Signal empfangen, das sich durch eine Abfolge von „0“ und „1“ repräsentieren lässt. Der zweite Teil wird von dem zweiten Detektor 13 erfasst, der einer zweiten Maske 11, welche invers zur ersten Maske 10 ausgebildet ist, zugeordnet ist. Auch das vom zweiten Detektor 13 erfasste Signal lässt sich durch eine Abfolge von „0“ und „1“ repräsentieren. Das Signal des zweiten Detektors 13 wird mit Hilfe eines Multiplikators 14 mit „-1“ multipliziert. Danach werden die beiden Signale, d.h. das Signal des ersten Detektors 12 und das mit „-1“ multiplizierte Signal des zweiten Detektors 13 miteinander korreliert, d.h. im vorliegenden Fall mit Hilfe des Addierers 15 addiert.

Durch die in Fig. 6 gezeigte Ausführungsform wird ein bipolares Signal erzeugt, welches bei der weiteren Auswertung verwendet wird. Bipolare Signale lassen sich deutlich leichter auswerten als die bislang verwendeten unipolaren Signale. Insbesondere kann das Signal-zu-Nebenkeulen-Verhältnis deutlich verbessert werden, da durch den bipolaren Charakter des Signals die niederfrequenten Anteile unterdrückt sind.

In Figur 7 ist eine schematische Darstellung eines Detektors einer zweiten Ausführungsform gezeigt. Bei dieser Ausführungsform wird ein räumlich strukturierter Detektor 16 mit zwei getrennten Detektorausgängen 17,18 verwendet. Man erkennt, dass der nicht schraffierte Teil der Detektorfläche 19 dem ersten Detektorausgang 17 und der schraffierte, andere Teil dem zweiten Detektorausgang 18 zugeordnet ist. Die Zusammenschaltung der dem zweiten Detektorausgang 18 zugeordneten Fläche liefert somit das auf die binäre Sequenz bezogene komplementäre Signal.

Durch die Verwendung eines strukturierten Detektors wird das gesammelte Fluoreszenzlicht des Objektes vollständig genutzt, da keine Abschattung notwendig ist. Im Grunde genommen unter-

scheidet sich der räumlich strukturierte Detektor von den Schattenmasken dadurch, dass die abgeschatteten Bestandteile nun ebenfalls auf dem Detektor erfasst und dem inversen Signal zugeführt werden. Auch hier ist es möglich, das inverse Signal mit „-1“ zu multiplizieren und zu dem Ursprungssignal zu addieren, sodass ein bipolar codiertes Signal erzeugt wird.

Bei dieser Ausführungsform wird zwar das Fluoreszenzlicht vollständig genutzt, der strukturierte Detektor 16 hat jedoch eine vorgegebene, nicht änderbare Struktur.

In einer dritten Ausführungsform, die schematisch in Figur 8 dargestellt ist, wird daher ein aus einer Vielzahl von Pixeln 21 bestehender Detektor 20 verwendet, bei dem jedes Pixel 21 selektiv ausgelesen werden kann. Durch analoges oder digitales Zusammenfassen einzelner Pixelbereiche (das auch „Binning“ genannt wird) ist es daher möglich, einen räumlich strukturierten Code zu implementieren. Das Binning ist mit Hilfe der miteinander verbundenen Linien in Fig. 8 skizziert. So werden die einzelnen Pixel 21 des Detektors 20 in dieser Figur zu einem ersten Pixelbereich 22 und einem zweiten Pixelbereich 23 zusammengefasst Mit Hilfe der entsprechenden Ansteuersoftware kann somit nahezu jeder beliebige Code durch entsprechendes Zusammenfassen von Pixelbereichen abgebildet werden. Neben dem Vorteil der einfachen Softwareimplementierung hat diese Ausführungsform weiterhin den Vorteil, dass das Rauschen bedingt durch die Vielzahl der Pixel des Detektors 20 weiter verringert wird.

Da zudem das Signal nicht lokal ausgeblendet wird, sondern die gesamte Information erhalten bleibt, kann das Zusammenfassen von Pixeln softwaretechnisch auch parallel in vielen verschiedenen Variationen durchgeführt werden. Das gleiche Messsignal könnte somit unterschiedlichen Masken zugeordnet werden. Dies ist insbesondere von Vorteil für die Klasse von sogenannten komplementären Binärcodes, wie im Folgenden beschrieben wird, obgleich jede andere Art von Code ebenso implementiert werden kann. Durch die mehrfache parallele Auswertung des Signales ist es zudem möglich, dem Signal unterschiedliche Informationen zu entnehmen. So ist beispielsweise im ersten Schritt eine Partikeldetektion durch eine Autokorrelation von zwei räumlich versetzten LABS möglich und im zweiten Schritte kann dann die Partikelgeschwindigkeit mit einem periodischen Binningmuster ermittelt werden. Insbesondere dann, wenn das bipolare LABS entsprechend kurz ausgewählt wird, kann beispielsweise dreimal das gleiche LABS mittels des Detektors ausgelesen werden und aus der zeitlichen Differenz des Korrelationspeaks die Partikelgeschwindigkeit bestimmt werden.

Durch die Umwandlung des zunächst unipolaren Signals in ein bipolares Signal können aus der Radartechnik bekannte Verfahren zur Teilchendetektion und zur Geschwindigkeitsbestimmung der Teilchen verwendet werden. Mit Vorteil wird das Messsignal in komplementäre Binärcodes umgewandelt. Diese besitzen die wesentliche Eigenschaft, dass die Addition ihrer Autokorrelati-

onsfunktionen alle Signalnebenkeulen verschwinden lässt. Lediglich der Hauptpeak addiert sich konstruktiv. Beispiele und Definitionen von komplementären Binärcodes finden sich beispielsweise in „Radar signals", Levanon, Nadav, and Eli Mozeson, John Wiley & Sons, 2004.und in M. J. I. Golay, „Complementary series", IRE Trans. Inform. Theory, IT-7, Seiten 82 bis 87 (1961).

Ein weiterer nicht zu vernachlässigender Gesichtspunkt bei der Messung von Intensitäten ist der Offset, der sich durch das Detektorrauschen, durch elektronisches Rauschen und die Verstärkung ergibt und somit in jedem Signal enthalten ist.

Die hier beschriebenen bipolaren Codes bieten den Vorteil, dass eine konstante Offsetspannung am Detektor weitgehend eliminiert wird. Durch die Autokorrelation (auf dem resonanten Geschwindigkeitskanal) addiert sich ein konstanter Offset zu Null, was von Vorteil ist. Bei komplementären Sequenzen weisen jedoch beide Codes meistens unterschiedliche Signalenergien auf, sodass nach Autokorrelation und Addition im Korrelationssignal ein DC-Offset nicht verschwindet. Eine Möglichkeit, dies zu umgehen, ist eine Manchester-Encodierung der komplementären Sequenzen vorzunehmen. Dies kann beispielsweise dadurch erfolgen, dass jede Eins „1" ersetzt wird durch die Abfolge „1, -1", während eine inverse Eins „-1" ersetzt wird durch die Ziffernfolge „-1, 1". Dadurch werden die Sequenzen zwar doppelt so lang, jedoch wird auf diese Weise sichergestellt, dass beide Codes immer balanciert sind, d.h. die Manchester-Encodierte binäre Sequenz genauso viele Einsen „1" wie inverse Einsen „-1" aufweist und die Summe ihrer Koeffizienten daher immer Null ergibt und somit ein zeitlicher konstanter Detektoroffset eliminiert wird.

In Figur 9 ist schematisch der Aufbau einer entsprechenden Detektionsvorrichtung gezeigt. Die zu detektierenden Objekte 3 bewegen sich durch einen Mikrokanal 2. In diesem Mikrokanal 2 wird mit Hilfe einer Beleuchtungsoptik 24, bestehend aus einem Laser (nicht gezeigt), von dem ein Laserstrahl 25 ausgesendet wird, einem optischen Anregungslichtfilter 26, einer Powell-Linse 27 und einer asphärischen Linse 28, eine Anregungszone gleichmäßig ausgeleuchtet. Beim Durchlaufen der Anregungszone fluoreszieren die Objekte 3. Das entsprechende Fluoreszenzlicht 29 trifft, nachdem es einen optischen Filter 30 passiert hat, auf ein Gradienten-Index-Linsen (GRIN) Array 31, was wiederum das Licht auf entsprechende Makropixel 32, die für das Binning zuständig sind, abbildet.

Bezugszeichenliste

1	Substrat
2	Mikrokanal
3	Objekte
4	Anregungszone
5	optisches Amplitudengitter (binärer Filter)
6	optischer Filter
7	Detektor
8	Fluoreszenzlichtstrahl
9	Strahlteiler
10	Maske
11	Maske
12	Detektor
13	Detektor
14	Multiplikator
15	Addierer
16	Detektor
17	erster Detektorausgang
18	zweiter Detektorausgang
19	Detektorfläche
20	Detektor
21	Pixel
22	erster Pixelbereich
23	zweiter Pixelbereich
24	Beleuchtungsoptik
25	Laserstrahl
26	Anregungslichtfilter
27	Powell-Linse
28	asphärische Linse
29	Fluoreszenzlicht
30	optischer Filter
31	GRIN-Array
32	Makropixel

Patentansprüche

1. Verfahren zur Detektion von sich entlang einer Trajektorie bewegenden Partikeln, welche elektromagnetische Strahlung, ein elektrisches Feld oder ein magnetisches Feld erzeugen oder zumindest beeinflussen, wobei die elektromagnetische Strahlung, das elektrische Feld oder das magnetische Feld detektiert wird, wobei ein erstes Signal mit Hilfe einer ersten Strukturierungseinrichtung erfasst wird, wobei die erste Strukturierungseinrichtung entweder dafür Sorge trägt, dass die Partikel entlang eines Trajektorienabschnitts im Wesentlichen nur in ersten nicht-periodischen räumlichen Abständen elektromagnetische Strahlung, ein elektrisches Feld oder ein magnetisches Feld erzeugen oder zumindest beeinflussen oder dafür Sorge trägt, das die elektromagnetische Strahlung, das elektrische oder magnetische Feld im Wesentlichen nur in ersten nicht-periodischen räumlichen Abständen entlang des Trajektorienabschnitts detektiert wird, dadurch gekennzeichnet, dass ein zweites Signal mit Hilfe einer zweiten Strukturierungseinrichtung erfasst wird, wobei die zweite Strukturierungseinrichtung entweder dafür Sorge trägt, dass die Partikel entlang eines Trajektorienabschnitts im Wesentlichen nur in zweiten nicht-periodischen räumlichen Abständen elektromagnetische Strahlung, ein elektrisches Feld oder ein magnetisches Feld erzeugen oder zumindest beeinflussen oder dafür Sorge trägt, das die elektromagnetische Strahlung, das elektrische oder magnetische Feld im Wesentlichen nur in zweiten nicht-periodischen räumlichen Abständen entlang des Trajektorienabschnitts detektiert wird, dass das erste und das zweite Signal miteinander korreliert werden und aus dem korrelierten Signal Rückschlüsse auf die Anzahl und/oder die Geschwindigkeit der Partikel gezogen werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass als erste und/oder zweite Strukturierungseinrichtung eine nicht-periodische, strukturierte Maske verwendet wird und die Partikel an einer Seite der Maske mit einer Geschwindigkeit v vorbeigeführt werden und auf der anderen Seite die durch die Maske tretende elektromagnetische Strahlung, das elektrische Feld oder das magnetische Feld detektiert wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass als erste und/oder zweite Strukturierungseinrichtung ein Detektorarray verwendet wird.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die erste und die zweite Strukturierungseinrichtung jeweils derart ausgestaltet sind, dass bei einer Aufteilung des Trajektorienabschnittes in gleichlange Segmente, die Funktion der ersten und zweiten Strukturierungseinrichtung jeweils durch eine Abfolge von Nullen („0“) und Einsen („1“) beschrieben werden kann, wobei jede Ziffer ein Segment kennzeichnet und Segmente, in denen die jeweilige Strukturierungseinrichtung entweder dafür Sorge trägt, dass die

Partikel ein elektrisches Feld oder ein magnetisches Feld erzeugen oder zumindest beeinflussen oder dafür Sorge trägt, das die elektromagnetische Strahlung, das elektrische oder magnetische Feld detektiert wird, mit der Ziffer „1“ bezeichnet werden und alle anderen Segmente mit der Ziffer „0“ bezeichnet werden.

5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass entweder die Abfolge der zweiten Strukturierungseinrichtung gleich der von hinten nach vorne gelesenen Abfolge der ersten Strukturierungseinrichtung ist oder die Abfolge der zweiten Strukturierungseinrichtung gleich der Abfolge der ersten Strukturierungseinrichtung ist, und beide Abfolgen gleichzeitig jeweils einem FIFO-Pufferspeicher zugeführt werden, wobei die beiden FIFO-Pufferspeicher parallel zueinander angeordnet sind, die beiden Abfolgen in entgegengesetzter Richtung zugeführt werden und für die Korrelation jeweils benachbarte Speicherplätze der beiden FIFO-Pufferspeicher korreliert werden.

6. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Abfolge der zweiten Strukturierungseinrichtung die inverse Abfolge zu der Abfolge der ersten Strukturierungseinrichtung ist, wobei vorzugsweise entweder das mit der ersten Strukturierungseinrichtung erfasste Signal oder das mit der zweiten Strukturierungseinrichtung erfasste Signal mit einem Faktor „-1“ multipliziert wird und danach die beiden erfassten Signale durch Addition miteinander korreliert werden, um ein bipolares Signal zu bilden.

7. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Abfolge der zweiten Strukturierungseinrichtung komplementär zur Abfolge der ersten Strukturierungseinrichtung ausgebildet sind.

8. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass das bipolare Signal vor der weiteren Verarbeitung in einen Manchester Code umgewandelt wird.

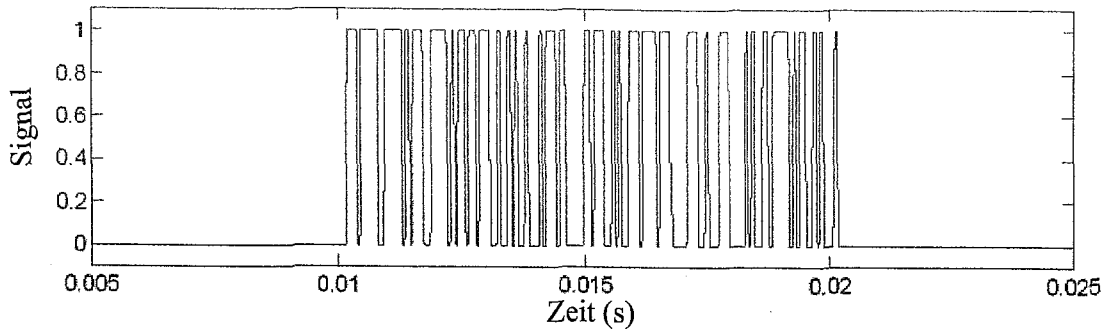

Signal
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
0.005
0.01
0.015
0.02
0.025
Zeit (s)

Fig. 1

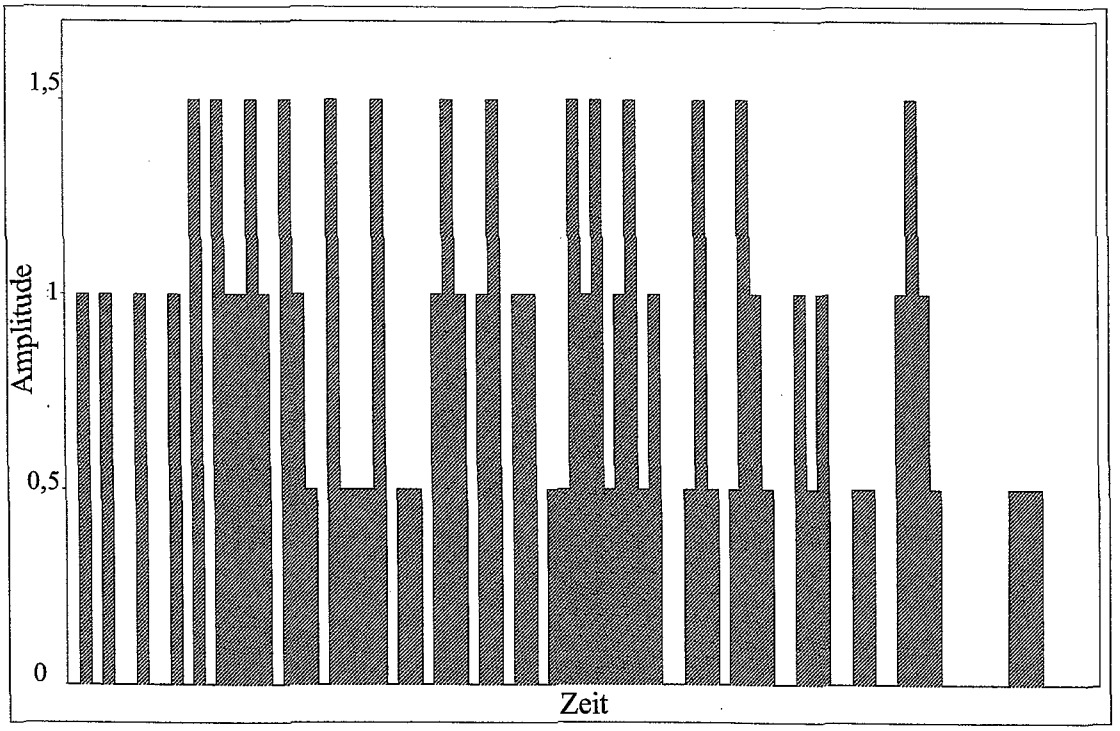

1,5
1
0,5
0
Amplitude
Zeit

Fig. 2

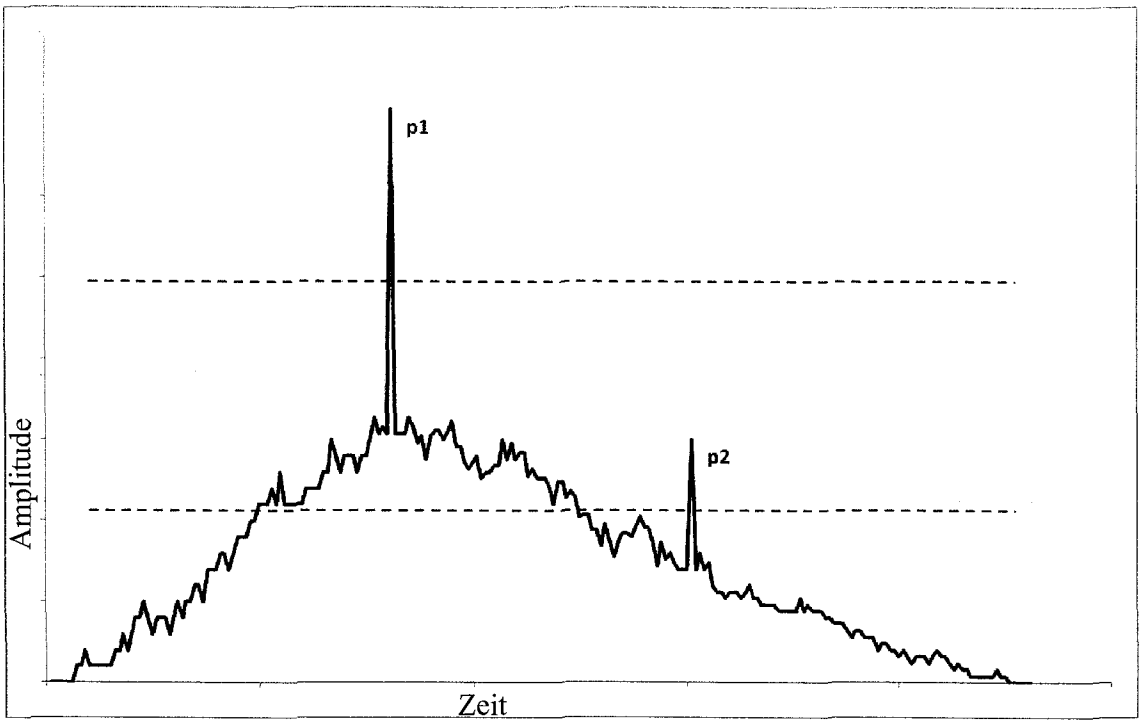


Fig. 3

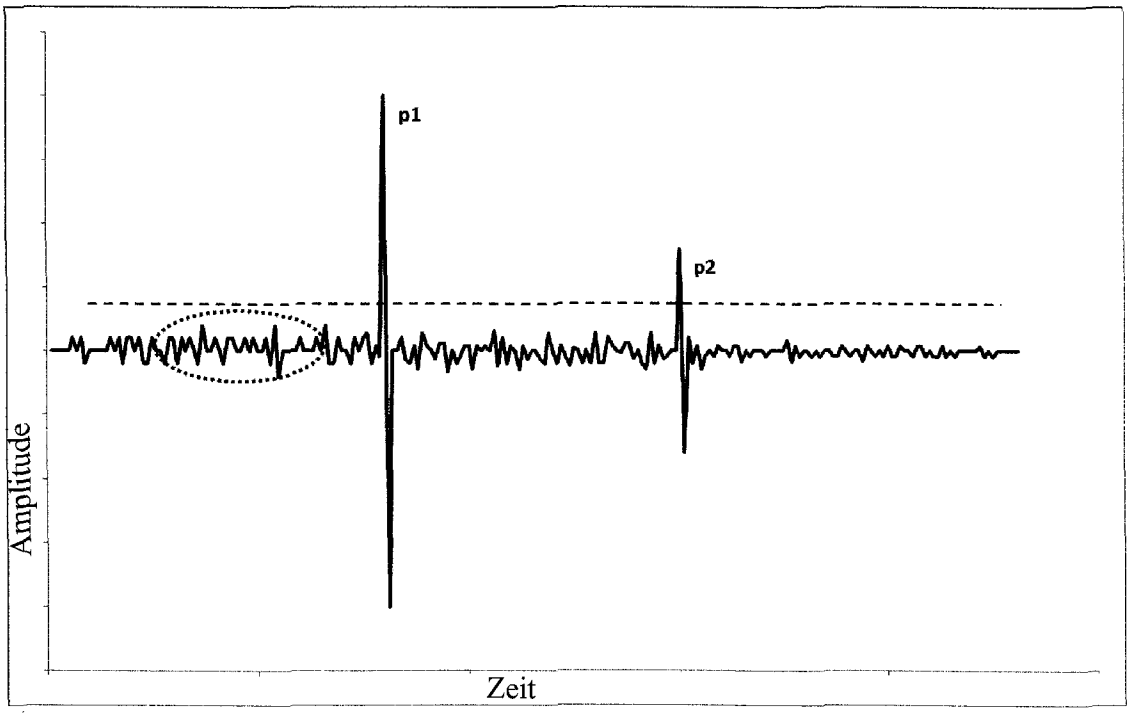


Fig. 4

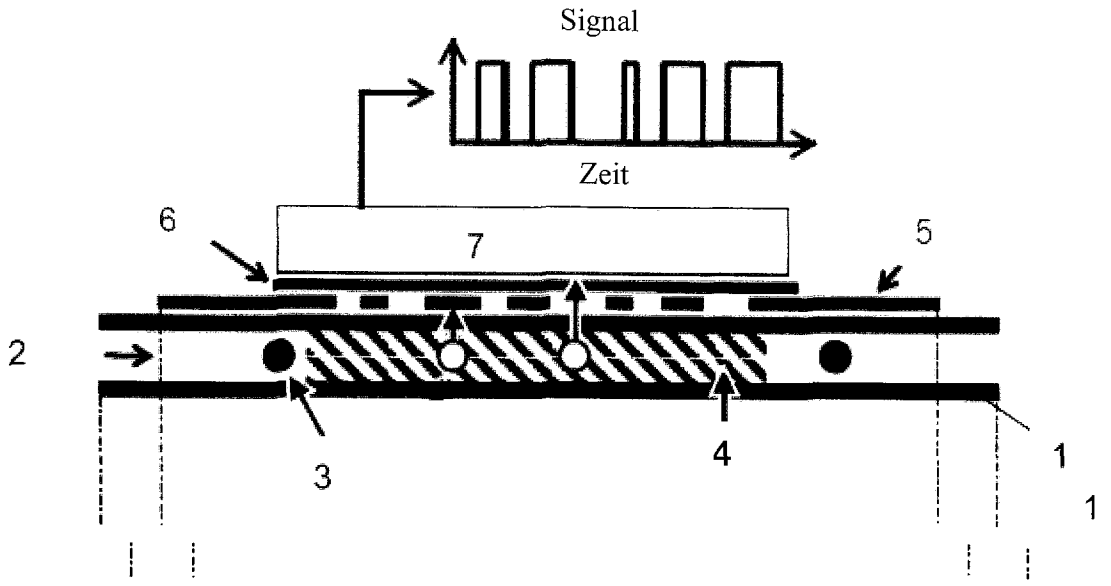


Fig. 5

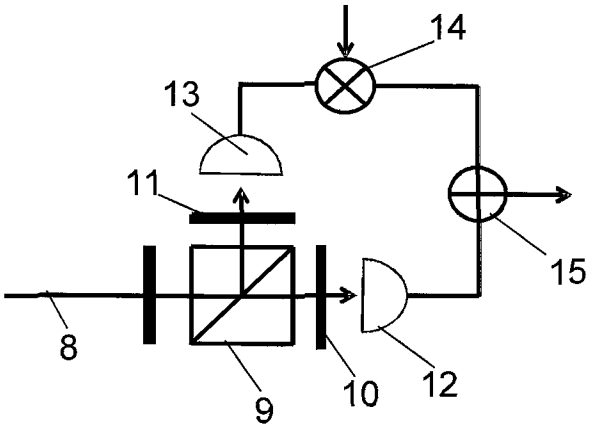


Fig. 6

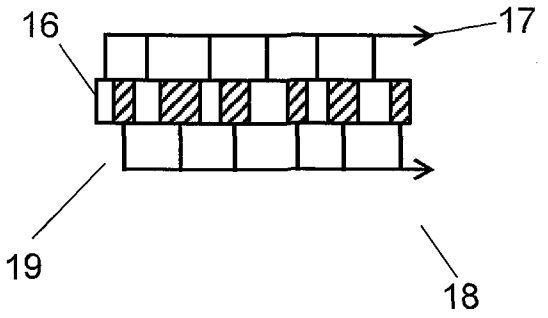


Fig. 7

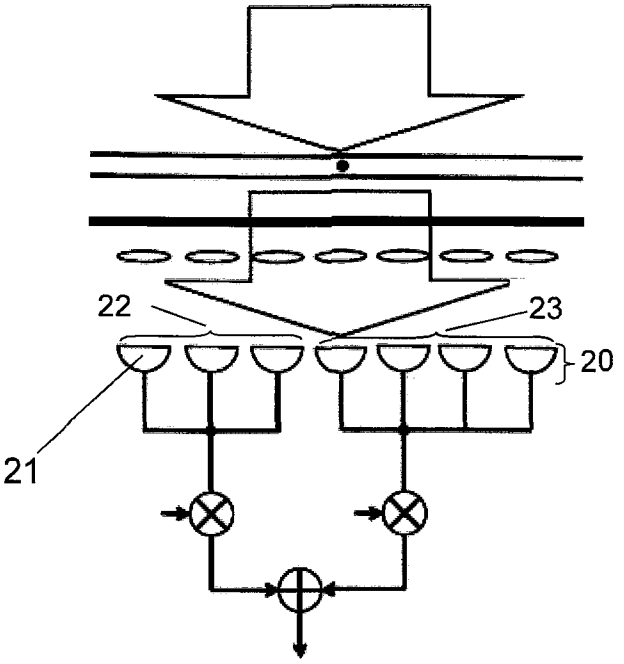


Fig. 8

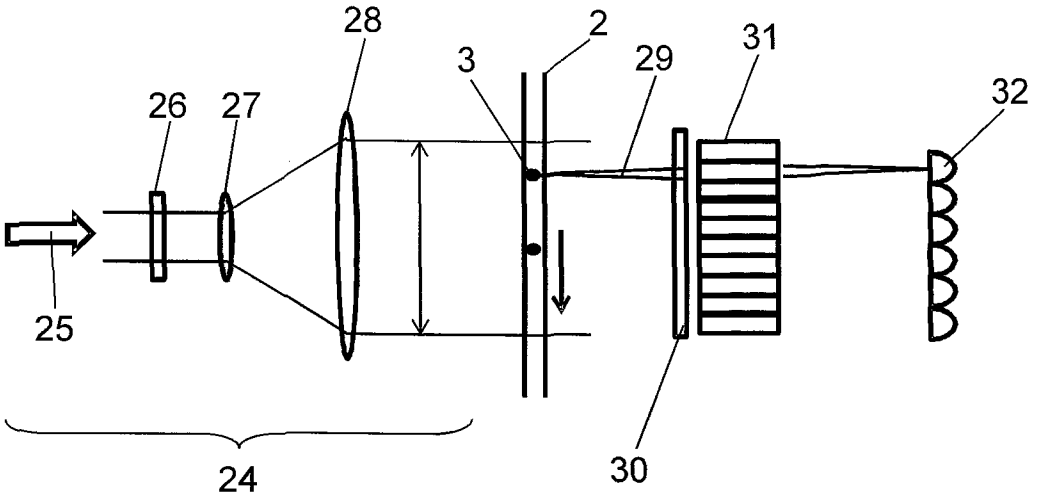


Fig. 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/064113

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. G01N15/14
ADD. G01N21/64

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 10 2013 015016 A1 (TESTO AG [DE]) 18 September 2014 (2014-09-18) paragraphs [0001], [0003], [0006], [0015], [0016] figure 1	1-8
A	KIESEL PETER ET AL: "Spatially modulated fluorescence emission from moving particles", APPLIED PHYSICS LETTERS, A I P PUBLISHING LLC, US, vol. 94, no. 4, 27 January 2009 (2009-01-27), pages 41107-41107, XP012118708, ISSN: 0003-6951, DOI: 10.1063/1.3070536 the whole document	1-8

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
9 September 2016	19/09/2016

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Böhler, Robert

2

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/064113

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2011/222062 A1 (MARTINI JOERG [US] ET AL) 15 September 2011 (2011-09-15) paragraph [0356]; figure 35a	1-8
A	DE 10 2013 105953 A1 (FRAUNHOFER GES ZUR FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E V [DE]) 11 December 2014 (2014-12-11) paragraphs [0002] - [0007]	1-8
Y	US 2008/021674 A1 (PUSKAS ROBERT [US]) 24 January 2008 (2008-01-24) paragraph [0137]; figure 1	1
Y	WO 2007/051170 A2 (UNIV CALIFORNIA [US]; LO YU-HWA [US]; LIEN VICTOR JIE [US]; CHEN CHUN) 3 May 2007 (2007-05-03) paragraphs [0060], [0070]	1

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2016/064113

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 102013015016 A1	18-09-2014	NONE	
US 2011222062 A1	15-09-2011	US 2011222062 A1	15-09-2011
		US 2014192359 A1	10-07-2014
DE 102013105953 A1	11-12-2014	DE 102013105953 A1	11-12-2014
		US 2016123863 A1	05-05-2016
		WO 2014195207 A1	11-12-2014
US 2008021674 A1	24-01-2008	NONE	
WO 2007051170 A2	03-05-2007	US 2009155832 A1	18-06-2009
		US 2013004987 A1	03-01-2013
		US 2014244217 A1	28-08-2014
		WO 2007051170 A2	03-05-2007

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2016/064113

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
INV. G01N15/14
ADD. G01N21/64

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
G01N

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

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DE 10 2013 015016 A1 (TESTO AG [DE]) 18. September 2014 (2014-09-18) Absätze [0001], [0003], [0006], [0015], [0016] Abbildung 1 -----	1-8
A	KIESEL PETER ET AL: "Spatially modulated fluorescence emission from moving particles", APPLIED PHYSICS LETTERS, A I P PUBLISHING LLC, US, Bd. 94, Nr. 4, 27. Januar 2009 (2009-01-27), Seiten 41107-41107, XP012118708, ISSN: 0003-6951, DOI: 10.1063/1.3070536 das ganze Dokument ----- -/--	1-8

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen [X] Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
9. September 2016	19/09/2016

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Böhler, Robert

2

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 2011/222062 A1 (MARTINI JOERG [US] ET AL) 15. September 2011 (2011-09-15) Absatz [0356]; Abbildung 35a	1-8
A	DE 10 2013 105953 A1 (FRAUNHOFER GES ZUR FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E V [DE]) 11. Dezember 2014 (2014-12-11) Absätze [0002] - [0007]	1-8
Y	US 2008/021674 A1 (PUSKAS ROBERT [US]) 24. Januar 2008 (2008-01-24) Absatz [0137]; Abbildung 1	1
Y	WO 2007/051170 A2 (UNIV CALIFORNIA [US]; LO YU-HWA [US]; LIEN VICTOR JIE [US]; CHEN CHUN) 3. Mai 2007 (2007-05-03) Absätze [0060], [0070]	1

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2016/064113

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 102013015016 A1	18-09-2014	KEINE	
US 2011222062 A1	15-09-2011	US 2011222062 A1	15-09-2011
		US 2014192359 A1	10-07-2014
DE 102013105953 A1	11-12-2014	DE 102013105953 A1	11-12-2014
		US 2016123863 A1	05-05-2016
		WO 2014195207 A1	11-12-2014
US 2008021674 A1	24-01-2008	KEINE	
WO 2007051170 A2	03-05-2007	US 2009155832 A1	18-06-2009
		US 2013004987 A1	03-01-2013
		US 2014244217 A1	28-08-2014
		WO 2007051170 A2	03-05-2007