

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第6部門第1区分

【発行日】平成26年9月11日(2014.9.11)

【公開番号】特開2014-74725(P2014-74725A)

【公開日】平成26年4月24日(2014.4.24)

【年通号数】公開・登録公報2014-021

【出願番号】特願2014-7451(P2014-7451)

【国際特許分類】

G 01 N 21/64 (2006.01)

G 01 N 33/483 (2006.01)

G 02 B 21/00 (2006.01)

C 12 Q 1/68 (2006.01)

C 12 Q 1/04 (2006.01)

【F I】

G 01 N 21/64 E

G 01 N 33/483 C

G 01 N 21/64 F

G 02 B 21/00

C 12 Q 1/68 Z

C 12 Q 1/04

【手続補正書】

【提出日】平成26年7月30日(2014.7.30)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

サンプルの回折限界以下の解像の方法であって、該方法は、

(1) 光を放射可能である複数の光スイッチング可能な蛍光物体を提供する工程であって、該複数の物体の少なくともいくつかが、該放射光の波長よりも短い分離距離で分離される、工程と、

(2) 該複数の物体の一部分を、光を放射可能な状態に活性化する工程と、

(3) 該複数の物体の該活性化した部分を励起することにより光を放射する工程と、

(4) 該複数の物体の該活性化した部分から放射された光を決定する工程と、

(5) 該複数の物体の該活性化した部分を不活性化する工程と、

(6) 該(2)～(5)を反復または継続することにより、該複数の物体のうちの少なくともいくつかの画像の中心を、約100nmよりも小さな解像度で決定する工程とを含み、

該中心のうちの少なくともいくつかが、連続した画像であらわれる画像ピークの重心位置の重量平均を決定することによって決定され、該画像ピークが、連続した画像間の1カメラピクセルよりも小さな変位を示す、

方法。

【請求項2】

前記(3)が、励起光を使用することにより、前記複数の物体の前記活性化した部分に、光を放射させ、続いて該励起光への連続的な曝露により不活性化させる、請求項1に記載の方法。

**【請求項3】**

30分以下の画像化時間で得られる前記複数の物体の画像の中心を使用して、画像を構築する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項4】**

2分以下の画像化時間で得られる前記複数の物体の画像の中心を使用して、画像を構築する工程を含む、請求項3に記載の方法。

**【請求項5】**

前記(4)が、カメラを使用して前記放射光を得ることを含み、前記複数の物体の前記部分の活性化のタイミングと該カメラのフレームとが、同期化されている、請求項1に記載の方法。

**【請求項6】**

前記活性化のタイミングと前記カメラのフレームとが、1ms以内で同期化されている、請求項5に記載の方法。

**【請求項7】**

前記(6)が、ドリフト補正を使用して、前記画像の中心を100nmよりも小さな解像度で決定することを含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項8】**

基準マーカーまたは画像相関を使用して、前記画像の中心を100nmよりも小さな解像度で決定することを含む、請求項7に記載の方法。

**【請求項9】**

前記(6)が、前記複数の物体の少なくともいくつかの画像の中心を、20nmよりも小さな解像度で決定することを含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項10】**

前記(2)が、

前記複数の物体の一部分を、第1の波長の活性化光で活性化することを含み、

前記(5)が、

該複数の物体の該活性化した部分を、該第1の波長の不活性化光で不活性化することを含む、

請求項1に記載の方法。

**【請求項11】**

前記複数の物体の画像の中心を使用して画像を構築することをさらに含み、該画像が、前記放射光の回折限界解像度よりも良好である解像度を有する、請求項1に記載の方法。

**【請求項12】**

前記(6)が、1つよりも多い時間点で前記複数の物体の画像の中心を決定すること、および/または時間の関数として該複数の物体の画像の中心を決定することを含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項13】**

前記(2)が、活性化光を使用して前記複数の物体の前記部分を活性化することを含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項14】**

前記(2)が、一連のパルスとして照射される活性化光を使用して、前記複数の物体の前記部分を活性化することを含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項15】**

前記複数の物体のうちの少なくともいくつかが、異なる波長の光によって活性化され、かつ/または異なる波長で光を放射する、請求項1に記載の方法。

**【請求項16】**

前記画像の中心を決定する工程が、Gaussian関数または橢円Gaussian関数にフィッティングすることによって該中心を決定することを含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項 17】**

前記複数の物体のうちの少なくともいくつかが、第1部分である光放射部分と、外的刺激に曝露されると該第1部分を活性化する第2部分である外部刺激部分とを含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項 18】**

5秒毎に少なくとも1回、工程(2)～(5)を反復または継続することを含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項 19】**

前記方法は、前記複数の光スイッチング可能な蛍光物体が、少なくとも、第1の複数の光スイッチング可能な蛍光プローブと、該複数の第1の光スイッチング可能な蛍光プローブと区別可能である第2の複数の光スイッチング可能なプローブとを含み、該方法は、該第1の複数のプローブと該第2の複数のプローブとの画像化に基づき、多色画像を構築する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

**【請求項 20】**

請求項1に記載の方法を機械に実行させるために、媒体に組み込まれたプログラムを備える機械可読媒体を含む、物品。