

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号
特表2004-502191
(P2004-502191A)

(43) 公表日 平成16年1月22日(2004.1.22)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
GO 2 B 21/06	GO 2 B 21/06	2 GO 5 9
GO 1 N 21/27	GO 1 N 21/27	2 HO 5 2
GO 2 B 21/16	GO 2 B 21/16	
GO 2 B 21/36	GO 2 B 21/36	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願2002-506087 (P2002-506087)	(71) 出願人 396000455
(86) (22) 出願日 平成13年6月22日 (2001. 6. 22)	カール ツァイス イエナ ゲゼルシャフ
(85) 翻訳文提出日 平成14年2月27日 (2002. 2. 27)	ト ミット ベシュレンクテル ハフツン
(86) 国際出願番号 PCT/EP2001/007103	グ
(87) 国際公開番号 WO2002/001201	ドイツ D-07745 イエナ カール
(87) 国際公開日 平成14年1月3日 (2002. 1. 3)	ツァイス プロムナーデ 10
(31) 優先権主張番号 100 33 179.3	(71) 出願人 303033130
(32) 優先日 平成12年6月29日 (2000. 6. 29)	ラルフ ヴォレシェンスキー
(33) 優先権主張国 ドイツ (DE)	ドイツ国 99510 シェッテン プロ
(81) 指定国 EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR) , JP	ムナーデ 3
	(71) 出願人 303033141
	グンター メーラー
	ドイツ国 07745 イエナ オルチデ
	イーンヴェーグ 3

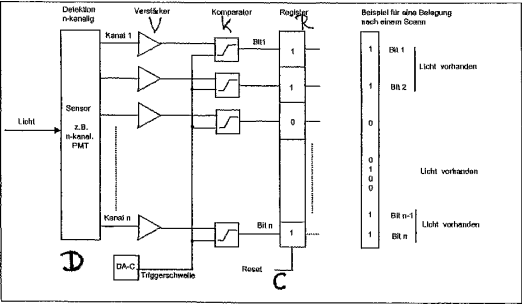
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 複数検出チャンネルにおける照明試料の光学的検出方法

(57) 【要約】

【解決手段】 少なくとも1つのチャンネルについて上限値及び／又は下限値が設定できて、これらの限界値に達した場合には検出チャンネルの作動態様に変化が現われ、また好ましいことに、検出チャンネルが遮断され、又はその増幅が変更され、又は照明パラメータ変更のために光源への再連結がなされる、又は検出チャンネルの信号が追加加工に於いては顧慮されないままであるという、複数検出チャンネルにおける照明試料の光学的検出方法。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

少なくとも 1 つのチャネルについて上限値及び／又は下限値が設定できて、これらの限界値に達した場合には検出チャネルの作動態様に変化が現われる、複数検出チャネルにおける照明試料の光学的検出方法

【請求項 2】

検出チャネルが遮断され、又はその増幅が変更され、又は照明パラメータ変更のために光源への再連結がなされ、又は検出チャネルの信号が追加加工においては顧慮されないままであるという、請求項 1 に記載の方法

【請求項 3】

照明及び検出がポイント毎に行なわれる、請求項 1 又は 2 に記載の方法

【請求項 4】

照明及び検出が平行移動により行われる、請求項 1 又は 2 に記載の方法

【請求項 5】

マイクロ滴定プレートが照明され、検出される、請求項 4 に記載の方法

【請求項 6】

試料から放出された光がスペクトル分割される、請求項 1 ～ 5 の 1 項に記載の方法

【請求項 7】

スペクトル分割のために分散素子が設置されていて、その後にマルチチャネル検出器が配置されている、請求項 6 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

レーザ走査型顕微鏡の場合、試料の照明及び励起に、様々な波長のレーザが使用され、試料から出る光も、照明及び試料の物質に依存して様々な波長を有している（蛍光）。試料から戻ってくる光は、画像描写の方法で測定され、評価される。

【0002】

【従来の技術】

n 基チャネル型システムの場合は、実際にはどのチャネルでデータ取得できるのかを確認するためには、すべてのチャネルを評価しなければならない。

顕微鏡装置では、通常、画像評価するための記録チャネルが 2 ～ 4 基備えられている。どのチャネルで光が検出されるかの確認のためには、試料に対して、n / 4 回の走査及びまた照明を行わねばならない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

この過程は労力を要し、時間のロスになるばかりか、レーザ光により試料に不必要な負荷をかけることになる。

【0004】

【課題を解決するための手段】

n 基チャネル型検出システム D の場合は、増幅器 V の後ろに、デジタル／アナログ変換器によって接続閾値の設定ができる n 基の比較器 K 又はトリガ（各検出チャネルにつき 1 基）が設置されている。その閾値は、ノイズ指数を越えるように設定される。比較器の出力部は、それぞれ共通のクリア入力部 C と接続していてコンピュータで読み取ることでできるレジスタ R に繋がっている。測定前にはレジスタ（n 基、ビット単位）は元通りに戻される。

【0005】

走査が実行されて、入力部に設定閾値を越える信号を持つに到った比較器は接続状態になる。例えば波長別に配置されたチャネルで、比較器の接続閾値を越える信号を送信しないものは評価上重要でなく、無視できるか又は総合信号と見なすことができる。

【0006】

10

20

30

40

50

比較器がウィンドウ型比較器の形態を取るものであって、両接続閾値（上限及び下限）が（例えばデジタル／アナログ変換器を通じて）設定可能であれば、閾値内だけの信号と閾値外（閾値以下又は閾値以上）との信号に分けて評価することができる。走査後には既に、 n 基のビット単位レジスタにより、 n 基チャンネルのうちの何れでデータ取得できるかを読み取ることができる。

【0007】

検出器がスペクトル別に配置されている限り（配置態様は問われない）、レジスタが即座に検出光のスペクトル成分に関する情報を提供する。

この情報は、 n 基チャンネル型システムを正しく設定する上で重要な要素である。この情報によって、主観的ミス犯すことなくすべてのチャンネルを対応波長に適合させることができる。それにより、スペクトル記録についてシステム自動制御（オンライン）の可能性が生まれてくる。そればかりか、手動操作における最適選択（オフライン）のための指針も得られる。

10

【0008】

【発明の実施の形態】

本発明に基づく方法の長所は次の諸点である：

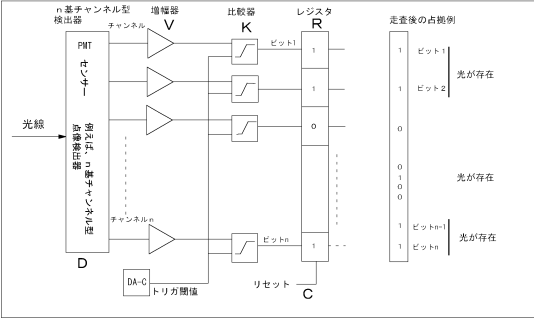
- ・ n 基チャンネル型検出システムの場合では、能動チャンネルに関して即座に情報が得られる。
- ・ n 基検出チャンネルがスペクトル対応の配置になっていれば、スペクトル成分に関する情報が即座に表示できる。
- ・ 記録チャンネルより数多くの検出チャンネルが設置されていれば、データ存在位置の確認に度重なる走査は不要である。即ち試料負荷が小さい。
- ・ 能動チャンネルの把握により、システムが自動的に配置設定することができる。（能動チャンネル及びフィルタの組合せにおける波長別の設定）
- ・ 当システムはデータ所在チャンネルをその波長と共に表示する。この情報によって、手動システム設定の場合のように操作者が時間をかけて試料記録する必要はなくなる。

20

【図面の簡単な説明】

【図1】接続原理を示す

【図 1】



【国際公開パンフレット】

(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
3. Januar 2002 (03.01.2002)

PCT

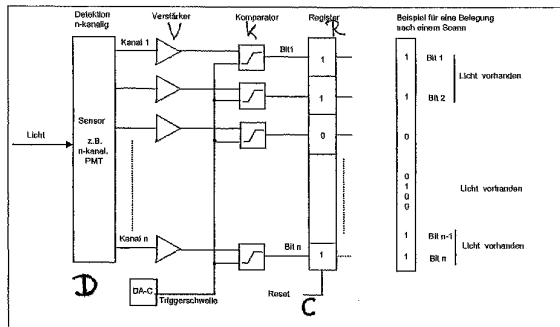
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/01201 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation: G01N 21/47, 21/64, G02B 21/00
- (71) Anmelder und
(72) Erfinder: WOLLESCHENSKY, Ralf [DE/DE]; An der Promenade 3, 99510 Schützen (DE); MÖHLER, Gunter [DE/DE]; Orchideenweg 3, 07745 Jena (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/07103
- (74) Gemeinsamer Vertreter: CARL ZEISS JENA GMBH; Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).
- (22) Internationales Anmeldedatum: 22. Juni 2001 (22.06.2001)
- (81) Bestimmungsstaat (national): JP.
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 100 33 179.3 29. Juni 2000 (29.06.2000) DE
- Veröffentlicht:
— mit internationalem Recherchenbericht
— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen
- (71) Anmelder: CARL ZEISS JENA GMBH [DE/DE]; Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR OPTICALLY DETECTING AN ILLUMINATED SAMPLE IN SEVERAL DETECTION CHANNELS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR OPTISCHEN DETEKTION EINER BELEUCHTETEN PROBE IN MEHREREN DETEKTIONSKANÄLEN



(57) Abstract: The invention relates to a method for optically detecting an illuminated sample in several detection channels. An upper and/or lower limit value can be set for at least one channel, the operating mode of the detection channel then being modified when this limit value is reached. The detection channel is advantageously deactivated or its strength is modified or there is a feedback to the light source in order to modify the illumination parameters or the signals of the detection channel are not taken into account in subsequent processing.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 02/01201 A1

WO 02/01201 A1



*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.*

(57) Zusammenfassung: Verfahren zur optischen Detektion einer beleuchteten Probe in mehreren Detektionskanälen, wobei für mindestens einen Kanal ein oberer und/oder unterer Grenzwert einstellbar ist und beim Erreichen dieses Grenzwertes der Detektionskanal bezüglich seiner Betriebsweise verändert wird und wobei vorteilhaft der Detektionskanal abgeschaltet wird oder seine Verstärkung geändert wird oder eine Rückkopplung zur Lichtquelle zur Änderung der Beleuchtungsparameter erfolgt oder die Signale des Detektionskanals bei der Weiterverarbeitung unberücksichtigt bleiben.

WO 02/01201

PCT/EP01/07103

VERFAHREN ZUR OPTISCHEN DETEKTION EINER BELEUCHTETEN PROBE IN MEHREREN DETEKTIONSKANÄLEN

Bei Laser-Scanning-Mikroskopen werden zur Beleuchtung und Anregung der Proben Laser unterschiedlicher Wellenlängen eingesetzt. Das Licht von der Probe weist ebenfalls unterschiedliche Wellenlängen auf, abhängig von der Beleuchtung und von der Probe selbst. (Floreszens). Das von der Probe zurückkommende Licht wird gemessen und ausgewertet in Form von Bilddarstellungen

Bei einem n-kanaligen System müssen alle Kanäle ausgewertet werden um festzustellen, auf welchen der Kanäle wirklich Daten zu erfassen sind.

Üblicherweise gibt es bei Mikroskopsystemen 2-4 Aufnahmekanäle, die bildmäßig ausgewertet werden. Um festzustellen in welchen Kanälen Licht detektiert wird, muß $n/4$ mal die Probe gescannt und damit auch beleuchtet werden.

Dieser Vorgang ist aufwendig, bedeutet Zeitverlust und unnötige Belastung der Probe durch Laserlicht.

Lösung:

Bei einem n-kanaligen Detektionssystem D werden nach der Verstärkung V n-Komparatoren K bzw. Trigger (für jeden Detektionskanal einen) eingesetzt, die in ihrer Schaltschwelle durch einen Digital-Analog-Wandler einstellbar sind.

Die Schwelle wird so eingestellt, daß sie oberhalb des Rauschpegels liegt. Der Ausgang der Komparatoren wird jeweils auf ein Register R geführt, welches über einen gemeinsamen Clear-Eingang C verfügt und das von einem Computer gelesen werden kann. Vor einer Messung wird das Register (n-Bit breit) zurückgesetzt. Wird nun ein Scann-Durchlauf angestoßen, so werden diejenigen Komparatoren schalten, die ein Signal auf ihren Eingang erhalten das über der eingestellten Schwelle liegt. Kanäle, die z.B. wellenlängenabhängig angeordnet sind und kein Signal senden, das über der Schaltschwelle des Komparators liegt sind für die Auswertung uninteressant und können vernachlässigt oder als Summensignal betrachtet werden. Wird der Komparator als Fensterkomparator ausgeführt und beide Schaltschwellen (obere und untere) sind einstellbar (z.B. über Digital-Analog-Wandler) dann

WO 02/01201

PCT/EP01/07103

können Signale separiert und ausgewertet werden, die entweder nur innerhalb der Schwellen oder außerhalb (unter bzw. über den Schwellen) liegen.

Schon nach einem Scann kann in dem n-Bit breitem Register abgelesen werden, in welchem der n-Kanäle Daten zu erwarten sind.

Sind die Detektoren noch spektral angeordnet (Art und Weise ist dabei beliebig) so gibt das Register sofort eine Information über die spektralen Anteile des detektierten Lichtes.

Diese Information ist ein wichtiger Bestandteil für die richtige Einstellung eines n-kanaligen Systems. Aus dieser Information können alle Kanäle auf die jeweiligen Wellenlängen eingerichtet werden ohne subjektive Fehler zu machen. Es besteht die Möglichkeit der Autokonfiguration (online) eines Systems in Bezug auf spektrale Aufnahmen. Weiterhin gibt es Hinweise für eine manuelle optimale Auswahl (off line)

Im Bild 1 wird das Prinzip der Schaltung dargestellt.

Vorteile des erfindungsgemäßen Verfahrens sind:

- bei einem n-kanaligen Detektionssystem stehen sofort Informationen über die aktiven Kanäle bereit
- sind die n-Detektionskanäle spektral empfindlich angeordnet so kann sofort eine Information über die spektralen Anteile angezeigt werden
- sind mehr Detektionskanäle als Aufnahmekanäle vorhanden, so entfällt das mehrmalige Scannen um festzustellen wo Daten vorhanden sind, d.h. geringere Belastung der Probe
- durch Kenntnis der aktiven Kanäle kann das System automatisch die Konfiguration einstellen (aktive Kanäle und Wellenlängenabhängige Einstellungen von Filterkombinationen).
- Das System zeigt an in welchen Kanälen Daten zu erwarten sind und mit welcher Wellenlänge, diese Information erspart dem Operator zeitaufwendige Probeaufnahmen bei manueller Einstellung des Systems

WO 02/01201

PCT/EP01/07103

Patentansprüche

1.
Verfahren zur optischen Detektion einer beleuchteten Probe in mehreren Detektionskanälen,
wobei für mindestens einen Kanal ein oberer und/ oder unterer Grenzwert einstellbar ist und beim Erreichen dieses Grenzwertes der Detektionskanal bezüglich seiner Betriebsweise verändert wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1,
wobei der Detektionskanal abgeschaltet wird oder seine Verstärkung geändert wird oder eine Rückkopplung zur Lichtquelle zur Änderung der Beleuchtungsparameter erfolgt oder die Signale des Detektionskanals bei der Weiterverarbeitung unberücksichtigt bleiben
3.
Verfahren nach Anspruch 1 oder 2,
wobei eine punktwise Beleuchtung und Detektion erfolgt
4.
Verfahren nach Anspruch 1 oder 2,
wobei eine parallele Beleuchtung und Detektion erfolgt
5.
Verfahren nach Anspruch 4,
wobei eine Mikrotiterplatte beleuchtet und detektiert wird
6.
Verfahren nach einem der Ansprüche 1-5,
wobei eine spektrale Aufspaltung des von der Probe emittierten Lichtes erfolgt

WO 02/01201

PCT/EP01/07103

7.

Verfahren nach Anspruch 6,
wobei zur spektralen Aufspaltung ein dispergierendes Element vorgesehen ist,
dem ein Multikanal-detektor nachgeordnet ist

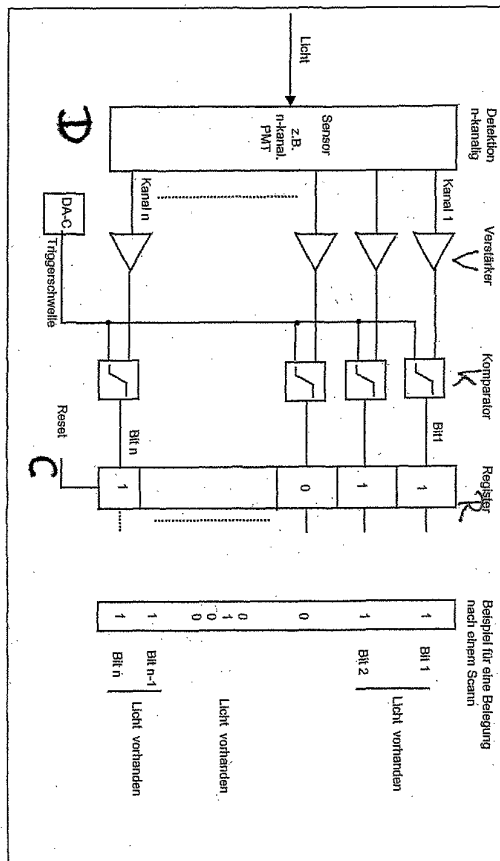


Bild 1

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/EP 01/07103
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G01N21/47 G01N21/64 G02B21/00		
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) IPC 7 G01N G02B		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 198 29 944 A (ZEISS CARL JENA GMBH) 5 January 2000 (2000-01-05) column 2, line 15 - line 29 column 3, line 50 - column 5, line 44; figures 1-3,6	1 2-7
A	DE 198 29 981 A (ZEISS CARL JENA GMBH) 5 January 2000 (2000-01-05) column 6, line 22 - column 8, line 21; figures 1,2	1-4,6,7
A	US 4 786 813 A (SVANBERG SUNE ET AL) 22 November 1988 (1988-11-22) column 1, line 4 - line 61 column 3, line 22 - column 5, line 9; figures 1,2A	1,3,4,6, 7

	---/---	
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in 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 document 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 *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 27 November 2001		Date of mailing of the international search report 05/12/2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2200 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 345-2040, Tx: 31 651 epo nl Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Stuebner, B

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. JP 2004-502191
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ROBINSON L ET AL: "CONFOCAL MICROSCOPES PROBE BIOLOGICAL SPECIMENS" LASER FOCUS WORLD, PENNELL PUBLISHING, TULSA, US, May 1994 (1994-05), pages 215-220, XP002173905 ISSN: 1043-8092 page 216 -page 218	1,3,6,7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
 Information on patent family members

 International Application No.
 PCT/JP 01/07103

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 19829944	A	05-01-2000	DE 19829944 A1 05-01-2000 JP 2000039563 A 08-02-2000 US 6300639 B1 09-10-2001
DE 19829981	A	05-01-2000	DE 19829981 A1 05-01-2000 EP 0977069 A2 02-02-2000 JP 2000035400 A 02-02-2000
US 4786813	A	22-11-1988	SE 455646 B 25-07-1988 AT 68266 T 15-10-1991 AU 585288 B2 15-06-1989 AU 5065485 A 15-05-1986 CA 1265232 A1 30-01-1990 DE 3584367 D1 14-11-1991 EP 0199767 A1 05-11-1986 JP 6090134 B 14-11-1994 JP 62500803 T 02-04-1987 SE 8405276 A 23-04-1986 WO 8602730 A1 09-05-1986

Formblatt PCT/ISA210 (Blatt 2) (Juli 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
EP 01/07103

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 19829944 A	05-01-2000	DE 19829944 A1	05-01-2000
		JP 2000039563 A	08-02-2000
		US 6300639 B1	09-10-2001
DE 19829981 A	05-01-2000	DE 19829981 A1	05-01-2000
		EP 0977069 A2	02-02-2000
		JP 2000035400 A	02-02-2000
US 4786813 A	22-11-1988	SE 455646 B	25-07-1988
		AT 68266 T	15-10-1991
		AU 585288 B2	15-06-1989
		AU 5065485 A	15-05-1986
		CA 1265232 A1	30-01-1990
		DE 3584367 D1	14-11-1991
		EP 0199767 A1	05-11-1986
		JP 6090134 B	14-11-1994
		JP 62500803 T	02-04-1987
		SE 8405276 A	23-04-1986
		WO 8602730 A1	09-05-1986

フロントページの続き

(74)代理人 100071098

弁理士 松田 省躬

(72)発明者 ラルフ ヴォレシエンスキー

ドイツ国 9 9 5 1 0 シェッテン プロムナーデ 3

(72)発明者 グンター メーラー

ドイツ国 0 7 7 4 5 イエナ オルチディーンヴェーグ 3

Fターム(参考) 2G059 AA05 EE11 EE12 GG01 GG10 KK01 KK03 MM05 MM09 PP01

2H052 AA07 AA11 AC07 AC12 AC14 AC15 AC34 AF02 AF25