

【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22年5月6日(2010.5.6)

【公表番号】特表2010-500563(P2010-500563A)

【公表日】平成22年1月7日(2010.1.7)

【年通号数】公開・登録公報2010-001

【出願番号】特願2009-523831(P2009-523831)

【国際特許分類】

G 0 1 N 21/64 (2006.01)

【F I】

G 0 1 N 21/64 E

【手続補正書】

【提出日】平成22年3月16日(2010.3.16)

【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】

光スイッチング可能な蛍光物体を含むサンプルを画像化する方法であって、

(a) 前記サンプルを複数の光スイッチング可能な蛍光物体で標識する工程であって、該複数の光スイッチング可能な蛍光物体は、第 1 の光スイッチング可能な蛍光物体および第 2 の光スイッチング可能な蛍光物体が約 1 0 0 0 n m 未満の距離で隔てられて該サンプル内に存在するように、少なくとも第 1 の光スイッチング可能な蛍光物体および第 2 の光スイッチング可能な蛍光物体を含み、ここで該第 1 の光スイッチング可能な蛍光物体および該第 2 の光スイッチング可能な蛍光物体は、実質的に同じである、工程；

(b) 該第 1 の光スイッチング可能な蛍光物体および該第 2 の光スイッチング可能な蛍光物体の両方を実質的に同じ活性化光に同時にさらし、第 1 の波長で光を放射することが可能でない状態から、第 1 の波長で光を放射することが可能な状態へ、該第 1 の物体を活性化するが、該第 2 の物体を活性化しない、工程；

(c) 励起光で該活性化された第 1 の物体を励起し、該第 1 の物体に該第 1 の波長での光の放射を引き起こす工程；

(d) 該第 1 の物体により放射される光を測定する工程；

(e) 該第 1 の物体を不活性化する工程；

(f) 該第 1 の光スイッチング可能な蛍光物体および該第 2 の光スイッチング可能な蛍光物体の両方を実質的に同じ活性化光に同時にさらして、該第 1 の波長で光を放射することが可能でない状態から、該第 1 の波長で光を放射することが可能な状態へ、該第 2 の物体を活性化するが、該第 1 の物体を活性化しない、工程；

(g) 励起光で該第 2 の物体を励起し、該第 2 の物体に該第 1 の波長での光の放射を引き起こす工程；

(h) 該第 2 の物体により放射される光を測定する工程；ならびに

(i) 該第 1 の物体から放射された光および該第 2 の物体から放射された光を用いることにより、該サンプル内の該第 1 の物体の位置および該第 2 の物体の位置を決定する工程、を含む、方法。

【請求項 2】

前記第 1 の物体より放射される光を測定する工程および前記第 2 の物体より放射される光を測定する工程が、該第 1 の物体より放射される光および該第 2 の物体より放射される光

の画像を得る工程を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定する工程が、前記放射光の Gaussian フィッティングを用いて、該第 1 の物体の位置および該第 2 の物体の位置を決定することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置が、前記第 1 の物体および / または前記第 2 の物体から放射される光の波長未満の精度で決定される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

半値全幅 (F W H M) により規定される前記精度は、約 2 0 n m 未満である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定する工程が、ドリフト補正を用いて、該第 1 の物体の位置および該第 2 の物体の位置を決定することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記ドリフト補正を用いる工程が、基準マーカーをドリフトの決定に用いる工程を含む、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

時間の関数として前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記第 1 の物体および / または前記第 2 の物体が、第 1 部分である光放射部分と、光にさらされると該第 1 部分を活性化する第 2 部分である活性化部分とを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記第 1 部分が Cy 5、Cy 5. 5、または Cy 7 であり、そして前記第 2 の部分が Cy 2、Alexa Fluor 488、Cy 3、Cy 3. 5、または Cy 5 である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記 (c) および / または (g) において、前記活性化光が、確率的に、前記第 1 の光スイッチング可能な蛍光物体および前記第 2 の光スイッチング可能な蛍光物体の両方ではなく 1 つを活性化するのに十分な強度を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

請求項 11 の前記活性化光が、該活性化光が入射する光スイッチング可能な蛍光物体の平均で約 5 0 % 以下を活性化するのに十分な強度を有する、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記 (f) は、前記第 1 の物体を不活性化光にさらすことにより、該第 1 の物体を不活性化する工程を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 14】

(1) 活性化されると光を放射可能な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、該複数の光スイッチング可能な蛍光物体の少なくともいくつかは、放射光の波長未満の隔離距離により隔てられている、工程；

(2) 活性化光を用いて、該複数の物体の一部を光放射可能な状態に活性化する工程；

(3) 励起光を用いて、該活性化された複数の物体の一部より光の放射を引き起こす工程；

(4) 該活性化された複数の物体の一部より放射される光を測定する工程；

(5) 該活性化された複数の物体の一部を不活性化する工程；

(6) (2) から (5) を繰り返して、約 1 0 0 n m 未満の解像度に対して該複数の物体

の少なくともいくつかの位置を決定する工程；
を含む方法。

【請求項 15】

30 分以下の画像化時間中に得られる前記複数の物体の位置を用いて画像を構築する工程
をさらに含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記(4)が、カメラを用いて放射光を得る工程を含み、ここで活性化光およびカメラの
フレームのタイミングは同期化される工程を含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 17】

前記(6)が、ドリフト補正を用いて 100 nm 未満の解像度に対して前記複数の物体の
少なくともいくつかの位置を決定する工程を含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 18】

前記(6)が、100 nm 未満の解像度に対して前記複数の物体の少なくともいくつかの
位置を決定し、活性化光および / または放射光の波長に基づく少なくとも 3 色を含む画像
を構築する工程を含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 19】

前記(2)が、前記複数の物体の一部を第 1 の波長の活性化光により活性化する工程を含
み、そして前記(5)が、前記活性化された複数の物体の一部を第 1 の波長の不活性化光
により不活性化する工程を含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 20】

前記複数の物体の位置を用いて、画像を構築する工程をさらに含み、ここで該画像は、放
射光の回折限界解像度よりも良好な解像度を有する、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 21】

前記複数の物体の位置が、1 つより多くの時間点でおよび / または時間の関数として決定
する工程を含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 22】

前記複数の物体の一部を活性化する工程は、光を用いて複数の物体の一部を活性化する工
程を含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 23】

前記複数の物体の少なくともいくつかは、異なる波長の光により活性化され、および / ま
たは異なる波長で光を放射する、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 24】

前記複数の物体の少なくともいくつかは、光活性化可能なプローブまたは光スイッチング
可能なプローブである、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 25】

前記複数の物体の位置を決定する工程が、複数の物体の少なくともいくつかからの放射光
の画像の中心を決定する工程を含む、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 26】

請求項 14 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。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0005】

(発明の要旨)

本発明は、例えば以下の項目を提供する。

(項目 1)

約 1000 nm 未満の距離で隔てられた第 1 の物体と第 2 の物体とを提供することと；

前記第 1 の物体から放射される光を決定することと；

前記第 2 の物体から放射される光を決定することと；

前記第 1 の物体から放射される光と、前記第 2 の物体から放射される光とを用いて、前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することを含む、方法。

(項目 2)

前記第 1 の物体から放射される光の波長と、前記第 2 の物体から放射される光の波長とが異なる、項目 1 に記載の方法。

(項目 3)

前記第 1 の物体から放射される光の波長と、前記第 2 の物体から放射される光の波長とが実質的に同じである、項目 1 に記載の方法。

(項目 4)

前記第 1 の物体および前記第 2 の物体が、異なる波長によって活性化される、項目 1 に記載の方法。

(項目 5)

前記第 1 の物体および前記第 2 の物体が、実質的に同じ波長によって活性化される、項目 1 に記載の方法。

(項目 6)

前記第 1 の物体を活性化させ、前記第 1 の物体から放射される光を発生することを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 7)

前記第 1 の物体を第 1 の波長を有する入射光にさらすことによって、前記第 1 の物体が活性化する、項目 6 に記載の方法。

(項目 8)

前記第 1 の物体から放射される光を発生させないように、前記第 1 の物体を不活性化することを含む、項目 6 に記載の方法。

(項目 9)

前記第 2 の物体を第 1 の波長を有する入射光にさらすことによって、前記第 1 の物体が不活性化する、項目 8 に記載の方法。

(項目 10)

前記第 1 の物体を第 1 の波長を有する入射光にさらすことによって、前記第 1 の物体が不活性化する、項目 8 に記載の方法。

(項目 11)

前記第 2 の物体を活性化させずに、前記第 1 の物体を活性化し、光を発生させることをさらに含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 12)

前記第 2 の物体を活性化し、光を発生させることをさらに含む、項目 11 に記載の方法。

(項目 13)

前記第 1 の物体を不活性化することをさらに含む、項目 12 に記載の方法。

(項目 14)

前記第 1 の物体を不活性化させる工程の後に、前記第 2 の物体を活性化し、光を発生させる工程が行われる、項目 13 に記載の方法。

(項目 15)

前記第 1 の物体が、前記第 2 の物体とは化学的に異なっている、項目 1 に記載の方法。

(項目 16)

前記第 1 の物体が、前記第 2 の物体と化学的に実質的に同じである、項目 1 に記載の方法。

(項目 17)

前記第 1 の物体が、光活性化可能なプローブまたは光スイッチング可能なプローブであり、前記第 2 の物体が、光活性化可能なプローブまたは光スイッチング可能なプローブで

ある、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 8)

前記第 1 の物体が、光活性化可能な染料または光スイッチング可能な染料である、項目 1 に記載の方法。

(項目 1 9)

前記第 1 の物体が、光活性化可能な蛍光タンパク質または光スイッチング可能な蛍光タンパク質である、項目 1 に記載の方法。

(項目 2 0)

前記第 2 の物体が、光活性化可能な染料または光スイッチング可能な染料である、項目 1 に記載の方法。

(項目 2 1)

前記第 2 の物体が、光活性化可能な蛍光タンパク質または光スイッチング可能な蛍光タンパク質である、項目 1 に記載の方法。

(項目 2 2)

前記第 1 の物体が、第 1 部分である光放射部分と、外的刺激にさらされると前記第 1 部分を活性化する第 2 部分である活性化部分とを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 2 3)

前記第 1 部分である光放射部分が C y 5 である、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 2 4)

前記第 1 部分である光放射部分が C y 5 . 5 である、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 2 5)

前記第 1 部分である光放射部分が C y 7 である、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 2 6)

前記第 1 部分である光放射部分が A l e x a F l u o r 6 4 7 である、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 2 7)

前記第 2 部分である活性化部分が A l e x a F l u o r 4 0 5 である、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 2 8)

前記第 2 部分である活性化部分が A l e x a F l u o r 4 8 8 である、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 2 9)

前記第 2 部分である活性化部分が C y 2 である、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 3 0)

前記第 2 部分である活性化部分が C y 3 である、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 3 1)

前記第 2 部分である活性化部分が C y 3 . 5 である、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 3 2)

前記第 2 部分である活性化部分が C y 5 である、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 3 3)

前記第 2 の物体が、第 1 部分である光放射部分と、外的刺激にさらされると前記第 1 部分を活性化する第 2 部分である活性化部分とを含む、項目 2 2 に記載の方法。

(項目 3 4)

前記第 1 部分である光放射部分が C y 5 である、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 3 5)

前記第 1 部分である光放射部分が C y 5 . 5 である、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 3 6)

前記第 1 部分である光放射部分が C y 7 である、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 3 7)

前記第 1 部分である光放射部分が A l e x a F l u o r 6 4 7 である、項目 3 3 に

記載の方法。

(項目 38)

前記第2部分である活性化部分が Alexa Fluor 405 である、項目 33 に記載の方法。

(項目 39)

前記第2部分である活性化部分が Alexa Fluor 488 である、項目 33 に記載の方法。

(項目 40)

前記第2部分である活性化部分が Cy2 である、項目 33 に記載の方法。

(項目 41)

前記第2部分である活性化部分が Cy3 である、項目 33 に記載の方法。

(項目 42)

前記第2部分である活性化部分が Cy3.5 である、項目 33 に記載の方法。

(項目 43)

前記第2部分である活性化部分が Cy5 である、項目 33 に記載の方法。

(項目 44)

前記第1の物体の第1部分と、前記第2の物体の第1部分とが、化学的に実質的に同じであり、前記第1の物体の第2部分と、前記第2の物体の第2部分とが、化学的に同じではない、項目 33 に記載の方法。

(項目 45)

前記第1の物体の第1部分と、前記第2の物体の第1部分とが、化学的に同じではなく、前記第1の物体の第2部分と、前記第2の物体の第2部分とが、化学的に実質的に同じである、項目 33 に記載の方法。

(項目 46)

前記第1の物体の第1部分と、前記第2の物体の第1部分とが、化学的に同じではなく、前記第1の物体の第2部分と、前記第2の物体の第2部分とが、化学的に同じではない、項目 33 に記載の方法。

(項目 47)

前記第1の物体の第1部分と、前記第2の物体の第1部分とが、化学的に実質的に同じであり、前記第1の物体の第2部分と、前記第2の物体の第2部分とが、化学的に実質的に同じである、項目 33 に記載の方法。

(項目 48)

前記第1の物体および前記第2の物体がスイッチング可能である、項目 1 に記載の方法。

(項目 49)

前記第1の物体から放射される光が可視光である、項目 1 に記載の方法。

(項目 50)

前記第1の物体および前記第2の物体が、共通の物体に固定される、項目 1 に記載の方法。

(項目 51)

前記共通の物体が生体分子複合体を含む、項目 50 に記載の方法。

(項目 52)

前記共通の物体が生体分子を含む、項目 50 に記載の方法。

(項目 53)

前記生体分子が核酸である、項目 52 に記載の方法。

(項目 54)

前記第1の物体と前記第2の物体とを隔てている塩基の数を決定することをさらに含む、項目 53 に記載の方法。

(項目 55)

前記生体分子が DNA である、項目 53 に記載の方法。

(項目 5 6)

前記生体分子がRNAである、項目53に記載の方法。

(項目 5 7)

前記生体分子がPNAである、項目53に記載の方法。

(項目 5 8)

前記生体分子がタンパク質である、項目52に記載の方法。

(項目 5 9)

前記共通の物体が細胞である、項目50に記載の方法。

(項目 6 0)

前記共通の物体が組織である、項目50に記載の方法。

(項目 6 1)

前記共通の物体が生体物質ではない、項目50に記載の方法。

(項目 6 2)

前記第1の物体から放射される光を決定する工程と、前記第2の物体から放射される光を決定する工程とを繰り返す、項目1に記載の方法。

(項目 6 3)

前記第1の物体から放射される光を決定する工程が、前記第1の物体から放射される光の画像を得ることを含む、項目1に記載の方法。

(項目 6 4)

前記第1の物体の位置および前記第2の物体の位置を決定する工程が、前記放射光のGaussianフィッティングを用いて、前記第1の物体の位置および前記第2の物体の位置を決定することを含む、項目1に記載の方法。

(項目 6 5)

前記第1の物体の位置および前記第2の物体の位置を決定する工程が、ドリフト補正を用いて、前記第1の物体の位置および前記第2の物体の位置を決定することをさらに含む、項目64に記載の方法。

(項目 6 6)

前記ドリフト補正が、基準マーカを用いて行われる、項目65に記載の方法。

(項目 6 7)

前記ドリフト補正が、画像相関を用いて行われる、項目65に記載の方法。

(項目 6 8)

前記第1の物体の位置および前記第2の物体の位置が、少なくとも約300nmの精度で決定される、項目1に記載の方法。

(項目 6 9)

前記第1の物体の位置および前記第2の物体の位置が、少なくとも約100nmの精度で決定される、項目1に記載の方法。

(項目 7 0)

前記第1の物体の位置および前記第2の物体の位置が、少なくとも約50nmの精度で決定される、項目1に記載の方法。

(項目 7 1)

前記第1の物体の位置および前記第2の物体の位置が、少なくとも約20nmの精度で決定される、項目1に記載の方法。

(項目 7 2)

前記第1の物体の位置および前記第2の物体の位置が、前記第1の物体および/または前記第2の物体から放射される光の波長未満の精度で決定される、項目1に記載の方法。

(項目 7 3)

前記第1の物体と前記第2の物体とが、約700nm未満の距離によって隔てられている、項目1に記載の方法。

(項目 7 4)

前記第1の物体と前記第2の物体とが、前記第1の物体から放射される光の波長または

前記第 2 の物体から放射される光の波長未満の距離によって隔てられている、項目 1 に記載の方法。

(項目 7 5)

第 1 の時間点で前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することと、第 2 の時間点で前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 7 6)

2 つ以上の時間点で前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することおよび / または時間の関数として前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することを含む、項目 1 に記載の方法。

(項目 7 7)

前記工程が、列挙した順に行われる、項目 1 に記載の方法。

(項目 7 8)

約 1 0 0 0 n m 未満の距離で隔てられた第 1 の物体と第 2 の物体とを提供することと；

前記第 1 の物体を活性化し、前記第 2 の物体を活性化しないことと；

前記第 1 の物体から放射される光を決定することと；

前記第 2 の物体を活性化することと；

前記第 2 の物体から放射される光を決定することと；

前記第 1 の物体から放射される光と、前記第 2 の物体から放射される光とを用いて、前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することを含む、方法。

(項目 7 9)

ある距離で隔てられた第 1 の物体と第 2 の物体とを提供することと；

前記隔てられた距離よりも大きな波長を有する、前記第 1 の物体から放射される光を決定することと；

前記第 2 の物体から放射される光を決定することと；

前記第 1 の物体から放射される光と、前記第 2 の物体から放射される光とを用いて、前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することを含む、方法。

(項目 8 0)

前記第 1 の物体から放射される光の波長と、前記第 2 の物体から放射される光の波長とが異なる、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 8 1)

前記第 1 の物体から放射される光の波長と、前記第 2 の物体から放射される光の波長とが実質的に同じである、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 8 2)

前記第 1 の物体を活性化するのに使用する光の波長と、前記第 2 の物体を活性化するのに使用する光の波長とが異なる、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 8 3)

前記第 1 の物体を活性化するのに使用する光の波長と、前記第 2 の物体を活性化するのに使用する光の波長とが実質的に同じである、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 8 4)

前記第 1 の物体を活性化させ、前記第 1 の物体から放射される光を発生することを含む、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 8 5)

前記第 1 の物体を第 1 の波長を有する入射光にさらすことによって、前記第 1 の物体が活性化する、項目 8 4 に記載の方法。

(項目 8 6)

前記第 1 の物体から放射される光を発生させないように、前記第 1 の物体を不活性化することを含む、項目 8 4 に記載の方法。

(項目 8 7)

前記第 2 の物体を第 1 の波長を有する入射光にさらすことによって、前記第 1 の物体が

不活性化する、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 8 8)

前記第 1 の物体を第 1 の波長を有する入射光にさらすことによって、前記第 1 の物体が不活性化する、項目 8 6 に記載の方法。

(項目 8 9)

前記第 2 の物体を活性化させずに、前記第 1 の物体を活性化し、光を発生させることをさらに含む、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 9 0)

前記第 2 の物体を活性化し、光を発生させることをさらに含む、項目 8 9 に記載の方法。

(項目 9 1)

前記第 1 の物体を不活性化することをさらに含む、項目 9 0 に記載の方法。

(項目 9 2)

前記第 1 の物体を不活性化させる工程の後に、前記第 2 の物体を活性化し、光を発生させる工程が行われる、項目 9 1 に記載の方法。

(項目 9 3)

前記第 1 の物体が、前記第 2 の物体とは化学的に異なっている、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 9 4)

前記第 1 の物体が、前記第 2 の物体と化学的に実質的に同じである、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 9 5)

前記第 1 の物体が、光活性化可能なプローブまたは光スイッチング可能なプローブであり、前記第 2 の物体が、光活性化可能なプローブまたは光スイッチング可能なプローブである、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 9 6)

前記第 1 の物体が、第 1 部分である光放射部分と、外的刺激にさらされると前記第 1 部分を活性化する第 2 部分である活性化部分とを含む、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 9 7)

前記第 1 部分である光放射部分が Cy 5 である、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 9 8)

前記第 1 部分である光放射部分が Cy 5 . 5 である、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 9 9)

前記第 1 部分である光放射部分が Cy 7 である、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 0)

前記第 1 部分である光放射部分が Alexa Fluor 647 である、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 1)

前記第 2 部分である活性化部分が Alexa Fluor 405 である、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 2)

前記第 2 部分である活性化部分が Alexa Fluor 488 である、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 3)

前記第 2 部分である活性化部分が Cy 2 である、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 4)

前記第 2 部分である活性化部分が Cy 3 である、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 5)

前記第 2 部分である活性化部分が Cy 3 . 5 である、項目 9 6 に記載の方法。

(項目 1 0 6)

前記第２部分である活性化部分がC y 5である、項目９６に記載の方法。

(項目１０７)

前記第２の物体が、第１部分である光放射部分と、外的刺激にさらされると前記第１部分を活性化する第２部分である活性化部分とを含む、項目７９に記載の方法。

(項目１０８)

前記第１の物体の第１部分と、前記第２の物体の第１部分とが、化学的に実質的に同じであり、前記第１の物体の第２部分と、前記第２の物体の第２部分とが、化学的に同じではない、項目１０７に記載の方法。

(項目１０９)

前記第１の物体の第１部分と、前記第２の物体の第１部分とが、化学的に同じではなく、前記第１の物体の第２部分と、前記第２の物体の第２部分とが、化学的に実質的に同じである、項目１０７に記載の方法。

(項目１１０)

前記第１の物体の第１部分と、前記第２の物体の第１部分とが、化学的に同じではなく、前記第１の物体の第２部分と、前記第２の物体の第２部分とが、化学的に同じではない、項目１０７に記載の方法。

(項目１１１)

前記第１の物体の第１部分と、前記第２の物体の第１部分とが、化学的に実質的に同じであり、前記第１の物体の第２部分と、前記第２の物体の第２部分とが、化学的に実質的に同じである、項目１０７に記載の方法。

(項目１１２)

前記第１の物体から放射される光が可視光である、項目７９に記載の方法。

(項目１１３)

前記第１の物体および前記第２の物体が、共通の物体に固定される、項目７９に記載の方法。

(項目１１４)

前記第１の物体から放射される光を決定する工程と、前記第２の物体から放射される光を決定する工程とを繰り返す、項目７９に記載の方法。

(項目１１５)

前記第１の物体から放射される光を決定する工程が、前記第１の物体から放射される光の画像を得ることを含む、項目７９に記載の方法。

(項目１１６)

前記第１の物体の位置および前記第２の物体の位置を決定する工程が、前記放射光のGaussianフィッティングを用いて、前記第１の物体の位置および前記第２の物体の位置を決定することを含む、項目７９に記載の方法。

(項目１１７)

前記第１の物体の位置および前記第２の物体の位置を決定する工程が、ドリフト補正を用いて、前記第１の物体の位置および前記第２の物体の位置を決定することをさらに含む、項目１１６に記載の方法。

(項目１１８)

前記ドリフト補正が、基準マーカを用いて行われる、項目１１７に記載の方法。

(項目１１９)

前記ドリフト補正が、画像相関を用いて行われる、項目１１７に記載の方法。

(項目１２０)

前記第１の物体の位置および前記第２の物体の位置が、少なくとも約300nmの精度で決定される、項目７９に記載の方法。

(項目１２１)

前記第１の物体の位置および前記第２の物体の位置が、前記第１の物体または前記第２の物体から放射される光の波長よりもおおきな精度で決定される、項目７９に記載の方法。

(項目 1 2 2)

第 1 の時間点で前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することと、
第 2 の時間点で前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することとを含
む、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 1 2 3)

2 つ以上の時間点で前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定すること
および / または時間の関数として前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決
定することを含む、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 1 2 4)

ある距離で隔てられた第 1 の物体と第 2 の物体とを提供することと ;
前記第 1 の物体を活性化し、前記第 2 の物体を活性化しないことと ;
前記隔てられた距離よりも大きな波長を有する、前記第 1 の物体から放射される光を決
定することと ;
前記第 2 の物体を活性化することと ;
前記第 2 の物体から放射される光を決定することと ;
前記第 1 の物体から放射される光と、前記第 2 の物体から放射される光とを用いて、前
記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することとを含む、方法。

(項目 1 2 5)

光を放射することが可能で、そのうちのいくつかは、放射される光の波長未満の距離で
隔てられている、複数の物体を提供することと ;
前記複数の物体の一部を活性化し、光を放射させることと ;
前記放射される光を決定することと ;
前記複数の物体のうち、前記活性化した部分を不活性化することと ;
前記複数の物体を活性化し、不活性化する工程を繰り返して、前記複数の物体の位置を
決定することとを含む、方法。

(項目 1 2 6)

前記複数の物体の少なくともいくつかは、異なる波長で光を放射する、項目 1 2 5 に記
載の方法。

(項目 1 2 7)

前記複数の物体が、各々実質的に同じ波長で光を放射する、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 2 8)

前記複数の物体の少なくともいくつかは、異なる波長の光によって活性化される、項目
1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 2 9)

前記複数の物体が、実質的に同じ波長の光によって活性化される、項目 1 2 5 に記載の
方法。

(項目 1 3 0)

第 1 の波長を有する入射光を前記複数の物体に照射することによって、前記複数の物体
の一部が活性化する、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 3 1)

第 2 の波長を有する入射光を前記複数の物体の一部に照射することによって、前記複
数の物体の一部を不活性化する、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 3 2)

第 1 の波長を有する入射光を前記複数の物体に照射することによって、前記複数の物体
の一部を不活性化する、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 3 3)

前記複数の物体の少なくともいくつかは化学的に異なっている、項目 1 2 5 に記載の方
法。

(項目 1 3 4)

前記複数の物体が化学的に実質的に同じである、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 3 5)

前記複数の物体の少なくともいくつか、光活性化可能なプローブまたは光スイッチング可能なプローブである、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 3 6)

前記複数の物体の少なくともいくつか、第 1 部分である光放射部分と、外的刺激にさらされると前記第 1 部分を活性化する第 2 部分である活性化部分とを含む、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 3 7)

前記複数の物体の第 1 部分が化学的に同じであり、前記複数の物体の第 2 部分が化学的に同じではない、項目 1 3 6 に記載の方法。

(項目 1 3 8)

前記複数の物体の第 1 部分が化学的に同じではなく、前記複数の物体の第 2 部分が化学的に実質的に同じである、項目 1 3 6 に記載の方法。

(項目 1 3 9)

前記複数の物体の第 1 部分が化学的に同じではなく、前記複数の物体の第 2 部分が化学的に同じではない、項目 1 3 6 に記載の方法。

(項目 1 4 0)

前記複数の物体の第 1 部分が化学的に実質的に同じであり、前記複数の物体の第 2 部分が化学的に実質的に同じである、項目 1 3 6 に記載の方法。

(項目 1 4 1)

前記放射光が可視光である、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 4 2)

前記複数の物体の少なくともいくつか、共通の物体に固定される、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 4 3)

前記放射光を決定する工程が、前記放射光の画像を得ることを含む、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 4 4)

前記複数の物体の位置を決定する工程が、前記放射光の Gaussian フィットting を用いて、前記複数の物体の位置を決定することを含む、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 4 5)

前記複数の物体の位置を決定する工程が、ドリフト補正を用いて、前記複数の物体の位置を決定することを含む、項目 1 4 4 に記載の方法。

(項目 1 4 6)

前記ドリフト補正が、基準マーカーを用いて行われる、項目 1 4 5 に記載の方法。

(項目 1 4 7)

前記ドリフト補正が、画像相関を用いて行われる、項目 1 4 5 に記載の方法。

(項目 1 4 8)

前記複数の物体の位置が、少なくとも約 3 0 0 n m の精度で決定される、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 4 9)

前記複数の物体の位置が、前記複数の物体から放射される光の波長よりも大きな精度で決定される、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 5 0)

第 1 の時間点で前記複数の物体の位置を決定することと、第 2 の時間点で前記複数の物体の位置を決定することを含む、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 5 1)

2 つ以上の時間点で前記複数の物体の位置を決定することおよび / または時間の関数として前記複数の物体の位置を決定することを含む、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 5 2)

前記工程が、列挙した順に行われる、項目 1 2 5 に記載の方法。

(項目 1 5 3)

光を放射することが可能で、そのうちのいくつかは、約 1 0 0 0 n m 未満の距離で隔てられている、複数の物体を提供することと；

前記複数の物体の一部分を活性化し、光を放射させることと；

前記放射される光を決定することと；

前記複数の物体の前記活性化した部分を不活性化することと；

前記複数の物体を活性化し、不活性化する工程を繰り返し、前記複数の物体の位置を決定することを含む、方法。

(項目 1 5 4)

前記複数の物体の少なくともいくつかは、異なる波長で光を放射する、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 5 5)

前記複数の物体が、各々実質的に同じ波長で光を放射する、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 5 6)

前記複数の物体の少なくともいくつかは、異なる波長の光によって活性化される、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 5 7)

前記複数の物体が、実質的に同じ波長の光によって活性化される、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 5 8)

第 1 の波長を有する入射光を前記複数の物体の一部分に照射することによって、前記複数の物体の一部分を活性化する、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 5 9)

第 2 の波長を有する入射光を前記複数の物体の一部分に照射することによって、前記複数の物体の一部分を不活性化する、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 6 0)

第 1 の波長を有する入射光を前記複数の物体の一部分に照射することによって、前記複数の物体の一部分を不活性化する、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 6 1)

前記複数の物体の少なくともいくつかは、光活性化可能なプローブまたは光スイッチング可能なプローブである、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 6 2)

前記プローブの少なくともいくつかは、光活性化可能な染料または光スイッチング可能な染料である、項目 1 6 1 に記載の方法。

(項目 1 6 3)

前記プローブの少なくともいくつかは、光活性化可能な蛍光タンパク質または光スイッチング可能な蛍光タンパク質である、項目 1 6 1 に記載の方法。

(項目 1 6 4)

前記複数の物体の少なくともいくつかは、第 1 部分である光放射部分と、外的刺激にさらされると前記第 1 部分を活性化する第 2 部分である活性化部分とを含む、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 6 5)

前記複数の物体の第 1 部分が化学的に同じであり、前記複数の物体の第 2 部分が化学的に同じではない、項目 1 6 4 に記載の方法。

(項目 1 6 6)

前記複数の物体の第 1 部分が化学的に同じではなく、前記複数の物体の第 2 部分が化学的に実質的に同じである、項目 1 6 4 に記載の方法。

(項目 1 6 7)

前記複数の物体の第 1 部分が化学的に同じではなく、前記複数の物体の第 2 部分が化学

的に同じではない、項目 1 6 4 に記載の方法。

(項目 1 6 8)

前記複数の物体の少なくともいくつか、共通の物体に固定される、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 6 9)

前記放射光を決定する工程が、前記放射光の画像を得ることを含む、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 7 0)

前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定する工程が、前記放射光の Gaussian フィットングを用いて、前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することを含む、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 7 1)

前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定する工程が、ドリフト補正を用いて、前記第 1 の物体の位置および前記第 2 の物体の位置を決定することをさらに含む、項目 1 7 0 に記載の方法。

(項目 1 7 2)

前記ドリフト補正が、基準マーカを用いて行われる、項目 1 7 1 に記載の方法。

(項目 1 7 3)

前記ドリフト補正が、画像相関を用いて行われる、項目 1 7 1 に記載の方法。

(項目 1 7 4)

前記複数の物体の位置が、少なくとも約 3 0 0 n m の精度で決定される、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 7 5)

前記複数の物体の位置が、前記第 1 の物体から放射される光の波長未満の精度で決定される、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 7 6)

第 1 の時間点で前記複数の物体の位置を決定することと、第 2 の時間点で前記複数の物体の位置を決定することを含む、項目 1 5 3 に記載の方法。

(項目 1 7 7)

約 1 0 0 0 n m 未満の距離で隔てられ、各々共通の物体に固定されている第 1 の物体と第 2 の物体とを提供することと；

第 1 の時間点で前記第 1 の物体および前記第 2 の物体の位置を決定することと；

第 2 の時間点で前記第 1 の物体および前記第 2 の物体の位置を決定することと；

前記第 1 の時間点および前記第 2 の時間点での前記第 1 の物体および前記第 2 の物体の位置を用いて、前記共通の物体の移動を決定することを含む、方法。

(項目 1 7 8)

ある距離で隔てられ、共通の物体に固定されている第 1 の物体と第 2 の物体とを提供することと；

前記隔てられたある距離より大きな波長を有する前記第 1 の物体から放射される光と、前記第 2 の物体から放射される光とを用いて、第 1 の時間点で前記第 1 の物体および前記第 2 の物体の位置を決定することと；

第 2 の時間点で前記第 1 の物体および前記第 2 の物体の位置を決定することと；

前記第 1 の時間点および前記第 2 の時間点での前記第 1 の物体および前記第 2 の物体の位置を用いて、前記共通の物体の移動を決定することを含む、方法。

(項目 1 7 9)

時間内の一連の画像の中で、1 つの物体によって各々作成される 1 つ以上の光放射領域を同定することと；

各光放射領域について、その光放射領域の中心を同定することと；

各光放射領域について、前記光放射領域を作成する前記 1 つの物体の位置を、前記 1 つの物体から放射される光の波長よりも大きな解像度で再構築することを含む、方法。

(項目 1 8 0)

前記光放射領域の中心を同定する工程が、Gaussian関数に対する最少二乗法を用いることを含む、項目179に記載の方法。

(項目 1 8 1)

前記第1の物体の位置および前記第2の物体の位置を決定する工程が、ドリフト補正を用いて、前記第1の物体の位置および前記第2の物体の位置を決定することをさらに含む、項目179に記載の方法。

(項目 1 8 2)

前記ドリフト補正が、基準マーカを用いて行われる、項目181に記載の方法。

(項目 1 8 3)

前記ドリフト補正が、画像相関を用いて行われる、項目181に記載の方法。

(項目 1 8 4)

前記1つの物体が、光活性化可能なプローブまたは光スイッチング可能なプローブである、項目179に記載の方法。

(項目 1 8 5)

前記1つの物体が、第1部分である光放射部分と、外的刺激にさらされると前記第1部分を活性化する第2部分である活性化部分とを含む、項目179に記載の方法。

(項目 1 8 6)

前記1つ以上の光放射領域の位置を再構築したものをを用いて、画像を作成することをさらに含む、項目179に記載の方法。

(項目 1 8 7)

時間内の一連の画像の中で、1つの物体によって各々作成される1つ以上の光放射領域を同定する工程と；

各光放射領域について、その光放射領域の中心を同定する工程と；

各光放射領域について、前記光放射領域を作成する前記1つの物体の位置を、前記1つの物体から放射される光の波長よりも大きな解像度で再構築する工程とを含む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。

(項目 1 8 8)

約100nm/分未満のドリフトを有する顕微鏡用の移動ステージを備える、物品。

(項目 1 8 9)

前記移動ステージが、約10nm/分未満のドリフトを有する、項目188に記載の物品。

(項目 1 9 0)

前記移動ステージの少なくとも一部分に照射するように配置された光源をさらに備え、この光源を、プログラムされた様式で作動させ、停止させることが可能である、項目188に記載の物品。

(項目 1 9 1)

前記移動ステージの少なくとも一部分に照射するように配置された光源をさらに備え、この光源を、周期的な様式で作動させ、停止させることが可能である、項目188に記載の物品。

(項目 1 9 2)

前記移動ステージの少なくとも一部分に照射するように配置された光源をさらに備え、この光源をシャッターを用いて調節することが可能である、項目189に記載の物品。

(項目 1 9 3)

前記移動ステージの少なくとも一部分に照射するように配置された光源をさらに備え、この光源を音響光学変調器を用いて調節することが可能である、項目189に記載の物品。

(項目 1 9 4)

前記移動ステージに光学的に連結した位置に光検出器をさらに備える、項目189に記載

載の物品。

(項目 1 9 5)

前記光検出器が、フォトダイオード、光電子増倍器またはＣＣＤカメラを備える、項目 1 9 4 に記載の物品。

(項目 1 9 6)

前記移動ステージの少なくとも一部分に照射するように配置された２つ以上の光源をさらに備える、項目 1 8 9 に記載の物品。

(項目 1 9 7)

前記２つ以上の光源のうち少なくとも２つは、異なる波長で光を放射する、項目 1 9 6 に記載の物品。

(項目 1 9 8)

光源から前記移動ステージに直接光があたるように配置された二色性ミラーまたは多色性ミラーを備える、項目 1 8 9 に記載の物品。

(項目 1 9 9)

前記移動ステージの少なくとも一部分に照射するように配置された光源と、前記移動ステージに照射する前に、前記光源から放射される光の少なくとも一部分を変えるように配置されたカラーフィルタとをさらに備える、項目 1 8 9 に記載の物品。

(項目 2 0 0)

第 1 の放射波長で光を放射可能な第 1 状態と、第 1 の放射波長では実質的に光を放射しない第 2 状態とにスイッチング可能な、光を放射する物体を含む、画像化組成物。

(項目 2 0 1)

前記光を放射する物体と区別可能であり、第 1 の放射波長で光を放射可能な第 1 状態と、第 1 の放射波長では実質的に光を放射しない第 2 状態とにスイッチング可能な、第 2 の光を放射する物体をさらに含む、項目 2 0 0 に記載の画像化組成物。

(項目 2 0 2)

前記光を放射する物体が、

前記第 1 の波長で光を放射可能な第 1 部分と；

外的刺激にさらされると、前記第 1 の部分を活性化させ、前記第 1 の波長で前記第 1 部分から光を放射させる第 2 部分とを含む、項目 2 0 0 に記載の画像化組成物。

(項目 2 0 3)

励起波長を有する光にさらされると、前記第 2 部分が前記第 1 部分を活性化させる、項目 2 0 2 に記載の画像化組成物。

(項目 2 0 4)

前記第 1 部分が前記第 2 部分と共有結合している、項目 2 0 2 に記載の画像化組成物。

(項目 2 0 5)

前記第 1 部分および前記第 2 部分が、各々共通の物体に結合している、項目 2 0 2 に記載の画像化組成物。

(項目 2 0 6)

前記第 1 部分が、前記第 2 部分から切り離されると蛍光性である、項目 2 0 2 に記載の画像化組成物。

(項目 2 0 7)

前記第 2 部分が、前記第 1 部分から切り離されると蛍光性である、項目 2 0 2 に記載の画像化組成物。

(項目 2 0 8)

前記第 1 部分が、C y 5、C y 5 . 5、C y 7 または A l e x a F l u o r 6 4 7 である、項目 2 0 2 に記載の画像化組成物。

(項目 2 0 9)

前記第 2 部分が、A l e x a F l u o r 4 0 5、C y 2、A l e x a F l u o r 4 8 8、C y 3 または C y 3 . 5 である、項目 2 0 2 に記載の画像化組成物。

(項目 2 1 0)

前記第 1 部分および前記第 2 部分が、約 50 nm 以下の距離で隔てられている、項目 202 に記載の画像化組成物。

(項目 211)

前記光を放射する物体と区別可能な第 2 の光を放射する物体をさらに含み、この第 2 の光を放射する物体が、第 1 の波長で光を放射可能な第 1 部分と、外的刺激にさらされると前記第 1 部分を活性化する第 2 部分とを含み、それにより前記第 1 部分が前記第 1 の波長で光を放射する、項目 202 に記載の画像化組成物。

本発明は、一般的に、回折限界以下の画像解像技術および他の画像化技術に関する。本発明の主題は、いくつかの場合には、相互に関連する製品、特定の問題に対する代替的な解決法、および / または 1 つ以上のシステムおよび / または物品の複数の異なる用途に関する。