

【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1000nm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 20 nm 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 50 % 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 100 nm 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 1 5】**

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 1 4 に記載の方法。

**【請求項 1 6】**

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 1 4 に記載の方法。

**【請求項 1 7】**

前記(6)が、ドリフト補正を用いて100nm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 1 4 に記載の方法。

**【請求項 1 8】**

前記(6)が、100nm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 1 4 に記載の方法。

**【請求項 1 9】**

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 1 4 に記載の方法。

**【請求項 2 0】**

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 1 4 に記載の方法。

**【請求項 2 1】**

前記複数の物体の位置が、1つより多くの時間点および/または時間の関数として決定  
する工程を含む、請求項 1 4 に記載の方法。

**【請求項 2 2】**

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 1 4 に記載の方法。

**【請求項 2 3】**

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 1 4 に記載の方法。

**【請求項 2 4】**

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 1 4 に記載の方法。

**【請求項 2 5】**

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 1 4 に記載の方法。

**【請求項 2 6】**

請求項 1 4 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1000nm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；

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 18)

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 19)

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 20)

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 21)

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 22)

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 23)

前記第 1 部分である光放射部分が Cy 5 である、項目 22 に記載の方法。

(項目 24)

前記第 1 部分である光放射部分が Cy 5 . 5 である、項目 22 に記載の方法。

(項目 25)

前記第 1 部分である光放射部分が Cy 7 である、項目 22 に記載の方法。

(項目 26)

前記第 1 部分である光放射部分が Alexa Fluor 647 である、項目 22 に記載の方法。

(項目 27)

前記第 2 部分である活性化部分が Alexa Fluor 405 である、項目 22 に記載の方法。

(項目 28)

前記第 2 部分である活性化部分が Alexa Fluor 488 である、項目 22 に記載の方法。

(項目 29)

前記第 2 部分である活性化部分が Cy 2 である、項目 22 に記載の方法。

(項目 30)

前記第 2 部分である活性化部分が Cy 3 である、項目 22 に記載の方法。

(項目 31)

前記第 2 部分である活性化部分が Cy 3 . 5 である、項目 22 に記載の方法。

(項目 32)

前記第 2 部分である活性化部分が Cy 5 である、項目 22 に記載の方法。

(項目 33)

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 22 に記載の方法。

(項目 34)

前記第 1 部分である光放射部分が Cy 5 である、項目 33 に記載の方法。

(項目 35)

前記第 1 部分である光放射部分が Cy 5 . 5 である、項目 33 に記載の方法。

(項目 36)

前記第 1 部分である光放射部分が Cy 7 である、項目 33 に記載の方法。

(項目 37)

前記第 1 部分である光放射部分が Alexa Fluor 647 である、項目 33 に

記載の方法。

(項目38)

前記第2部分である活性化部分がAlalexaphluor405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Alalexaphluor488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Cycl2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Cycl3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Cycl3.5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Cycl5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 R N A である、項目 5 3 に記載の方法。

(項目 5 7)

前記生体分子が P N A である、項目 5 3 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 5 2 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 5 0 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 5 0 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 5 0 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 G aussian 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 6 4 に記載の方法。

(項目 6 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 6 5 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 6 5 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 3 0 0 n m 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 1 0 0 n m 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 5 0 n m 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 2 0 n m 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 7 0 0 n m 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75)

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1に記載の方法。

(項目76)

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77)

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78)

約1000nm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とを含む、方法。

(項目79)

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とを含む、方法。

(項目80)

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79に記載の方法。

(項目81)

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79に記載の方法。

(項目82)

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79に記載の方法。

(項目83)

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79に記載の方法。

(項目84)

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79に記載の方法。

(項目85)

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84に記載の方法。

(項目86)

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84に記載の方法。

(項目87)

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や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Gaussi an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、基準マーカーを用いて行われる、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122)

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79に記載の方法。

(項目123)

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79に記載の方法。

(項目124)

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125)

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126)

前記複数の物体の少なくともいくつかが、異なる波長で光を放射する、項目125に記載の方法。

(項目127)

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125に記載の方法。

(項目128)

前記複数の物体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る、項目125に記載の方法。

(項目129)

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125に記載の方法。

(項目130)

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分が活性化する、項目125に記載の方法。

(項目131)

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125に記載の方法。

(項目132)

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分を不活性化する、項目125に記載の方法。

(項目133)

前記複数の物体の少なくともいくつかが化学的に異なっている、項目125に記載の方法。

(項目134)

前記複数の物体が化学的に実質的に同じである、項目125に記載の方法。

(項目135)

前記複数の物体の少なくともいくつかが、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125に記載の方法。

(項目136)

前記複数の物体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125に記載の方法。

(項目137)

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136に記載の方法。

(項目138)

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136に記載の方法。

(項目139)

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136に記載の方法。

(項目140)

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136に記載の方法。

(項目141)

前記放射光が可視光である、項目125に記載の方法。

(項目142)

前記複数の物体の少なくともいくつかが、共通の物体に固定される、項目125に記載の方法。

(項目143)

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125に記載の方法。

(項目144)

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フィッティングを用いて、前記複数の物体の位置を決定することを含む、項目125に記載の方法。

(項目145)

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144に記載の方法。

(項目146)

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145に記載の方法。

(項目147)

前記ドリフト補正が、画像相関を用いて行われる、項目145に記載の方法。

(項目148)

前記複数の物体の位置が、少なくとも約300nmの精度で決定される、項目125に記載の方法。

(項目149)

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125に記載の方法。

(項目150)

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とを含む、項目125に記載の方法。

(項目151)

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125に記載の方法。

(項目152)

前記工程が、列挙した順に行われる、項目 125 に記載の方法。

(項目 153)

光を放射することが可能で、そのうちのいくつかは、約 1000 nm 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；

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；

前記放射される光を決定すること；

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；

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とを含む、方法。

(項目 154)

前記複数の物体の少なくともいくつかが、異なる波長で光を放射する、項目 153 に記載の方法。

(項目 155)

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 153 に記載の方法。

(項目 156)

前記複数の物体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る、項目 153 に記載の方法。

(項目 157)

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 153 に記載の方法。

(項目 158)

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 153 に記載の方法。

(項目 159)

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 153 に記載の方法。

(項目 160)

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 153 に記載の方法。

(項目 161)

前記複数の物体の少なくともいくつかが、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 153 に記載の方法。

(項目 162)

前記プローブの少なくともいくつかが、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 161 に記載の方法。

(項目 163)

前記プローブの少なくともいくつかが、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 161 に記載の方法。

(項目 164)

前記複数の物体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 153 に記載の方法。

(項目 165)

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 164 に記載の方法。

(項目 166)

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 164 に記載の方法。

(項目 167)

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 164 に記載の方法。

(項目 168)

前記複数の物体の少なくともいくつかが、共通の物体に固定される、項目 153 に記載の方法。

(項目 169)

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 153 に記載の方法。

(項目 170)

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 153 に記載の方法。

(項目 171)

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 170 に記載の方法。

(項目 172)

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 171 に記載の方法。

(項目 173)

前記ドリフト補正が、画像相関を用いて行われる、項目 171 に記載の方法。

(項目 174)

前記複数の物体の位置が、少なくとも約 300 nm の精度で決定される、項目 153 に記載の方法。

(項目 175)

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 153 に記載の方法。

(項目 176)

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とを含む、項目 153 に記載の方法。

(項目 177)

約 1000 nm 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とを含む、方法。

(項目 178)

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とを含む、方法。

(項目 179)

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とを含む、方法。

(項目180)

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181)

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182)

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181に記載の方法。

(項目183)

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184)

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185)

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186)

前記1つ以上の光放射領域の位置を再構築したものを用いて、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187)

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188)

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189)

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190)

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191)

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192)

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193)

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194)

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

載の物品。

(項目195)

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194に記載の物品。

(項目196)

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189に記載の物品。

(項目197)

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196に記載の物品。

(項目198)

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189に記載の物品。

(項目199)

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189に記載の物品。

(項目200)

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201)

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200に記載の画像化組成物。

(項目202)

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200に記載の画像化組成物。

(項目203)

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202に記載の画像化組成物。

(項目204)

前記第1部分が前記第2部分と共有結合している、項目202に記載の画像化組成物。

(項目205)

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202に記載の画像化組成物。

(項目206)

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202に記載の画像化組成物。

(項目207)

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202に記載の画像化組成物。

(項目208)

前記第1部分が、Cy5、Cy5.5、Cy7またはAlexa Fluor 647である、項目202に記載の画像化組成物。

(項目209)

前記第2部分が、Alexa Fluor 405、Cy2、Alexa Fluor 488、Cy3またはCy3.5である、項目202に記載の画像化組成物。

(項目210)

前記第1部分および前記第2部分が、約50nm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202)

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。