

(12)

Gebrauchsmusterschrift

(21) Anmeldenummer: GM 50193/2018
(22) Anmeldetag: 10.05.2013
(24) Beginn der Schutzdauer: 15.04.2020
(45) Veröffentlicht am: 15.04.2020

(51) Int. Cl.: **G02B 21/06** (2006.01)
G02B 21/33 (2006.01)
G02B 21/34 (2006.01)

(60) Abzweigung aus EP 13167360.0

(56) Entgegenhaltungen:
DE 19629725 A1
WO 0049447 A1

(73) Gebrauchsmusterinhaber:
European Molecular Biology Laboratory
69117 Heidelberg (DE)

(74) Vertreter:
Schwarz & Partner Patentanwälte OG
1010 Wien (AT)

(54) **Mikroskopmodul zum Abbilden einer Probe**

(57) Ein Mikroskopmodul (300) und eine Mikroskopanordnung (200) zum Abbilden einer Probe (40, 270) sind offenbart. Die Mikroskopanordnung (200) umfasst eine Lichtquelle (20) zum Erzeugen eines Beleuchtungsstrahls entlang eines Beleuchtungsstrahlpfads (215) und einen Detektor (50) zum Detektieren von emittiertem Licht entlang eines Detektionspfads (225). Das Mikroskopmodul (300) umfasst einen Probenhalter geeignet zum Halten der Probe (40, 270) an einer Oberseite des Probenhalters (240), sowie aufweisend einen für den Beleuchtungsstrahl und das von der Probe (40, 270) emittierte Licht transparenten Boden (260).

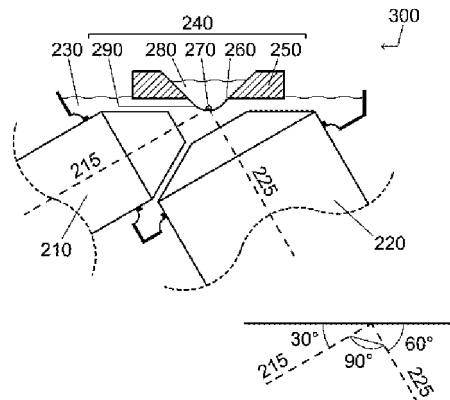


Fig. 3

Beschreibung

TITEL: MIKROSKOPMODUL ZUM ABBILDEN EINER PROBE

QUERVERWEIS ZU VERWANDTEN ANMELDUNG

[0001] Keine

GEBIET DER ERFINDUNG

[0002] Das Gebiet der Erfindung betrifft ein Mikroskopmodul zum Abbilden einer Probe.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0003] Lichtscheibenmikroskopie (SPIM) ist eine Technologie, welche die Erzeugung einer Lichtscheibe verwendet zum Beleuchten einer Probe, sowie ein senkrecht Detektionssystem zum Ermöglichen eines Abbildens von optischen Schnitten der Proben, welche lebendig sein können oder nicht. In den meisten Ausführungsformen erfordert das SPIM- System eine umfangreiche Probenvorbereitung zum Halten der Probe in einer korrekten Position zum Abbilden. Zum Beispiel ist die Probe typischerweise eingebettet in einen Agarosezylinder, welcher eingetaucht wird in einer kleinen, mit einem Immersionsmedium, wie z. B. Wasser, gefüllten Kammer. Die Technologie ist seit über einhundert Jahren bekannt, hat jedoch erst kürzlich eine umfangreiche Anwendung im Abbilden von biologischen Proben gefunden. Ein Nachteil der Technologie ist, dass Agarose nicht mit allen biologischen Proben kompatibel ist. Die Proben sind ebenfalls eingebettet in vertikalen Agarosezylindern einer beschränkten Höhe in den gegenwärtigen SPIM-Systemen. Eine solche Anordnung erlaubt keinen Zugang zur Probe während des Abbildens sowie kein Repositionieren der Probe. Die Anordnung beschränkt die Anzahl von Proben, welche abgebildet werden können, da z. B. es nicht möglich ist, 50 Proben in der beschränkten Länge des Agarosezylinders zu stapeln.

[0004] SPIM-Systeme werden z. B. beschrieben in der internationalen Patentanmeldung mit der Nr. WO 2004/053558 (Stelzer et al., angemeldet durch European Molecular Biology Laboratory). Diese Offenbarung lehrt ein Mikroskop, in welchem ein dünner Lichtstreifen (Lichtscheibe) eine Probe beleuchtet und die Probe beobachtet wird mittels eines Detektors. Die Achse des Detektors ist im Wesentlichen senkrecht ausgerichtet zur Richtung eines Beleuchtungsstrahls. Die Probe wird durch den Lichtstreifen versetzt bzw. bewegt, und der Detektor nimmt gestreutes Licht von der Probe oder fluoreszentes Licht von der Probe in einer Reihe von Abbildungen auf. Dreidimensionale Abbildungen der Probe können kreiert werden durch optisches Schneiden der Probe sowie darauffolgendes Rekonstruieren der gesamten Abbildung der Probe.

[0005] Shroff et al. haben ein Modul für ein herkömmliches Mikroskop entwickelt, welches gekoppelt wird an die Translationsbasis des herkömmlichen Mikroskops (internationale Patentanmeldung Nr. WO 2012/122027, Shroff et al., angemeldet für die USA). Die Verbindung des Moduls und eines invertierten Mikroskops ermöglicht, dass dieselbe Probe in zwei Weisen abgebildet werden kann, welche einander ergänzen.

ÜBERBLICK ÜBER DIE ERFINDUNG

[0006] Ein Mikroskopmodul zum Abbilden einer oder mehrerer Proben wird offenbart. Das Mikroskopmodul umfasst eine Beleuchtungsvorrichtung zum Erzeugen eines Beleuchtungsstrahls entlang eines Beleuchtungsstrahlpfads und zumindest eine Detektionsvorrichtung, aufweisend einen Detektionspfad. Der Beleuchtungsstrahl ist angeordnet zum Beleuchten unterer Flächen einer oder mehrerer der Proben. Der Beleuchtungsstrahlpfad ist angeordnet unter einem Winkel zum Detektionspfad. In einem Aspekt der Offenbarung ist der Winkel im Wesentlichen orthogonal. Die Proben werden in einem Kulturmedium platziert. Es besteht keine Notwendigkeit, die Proben in einem festen oder viskosen Montagemedium zu lagern, was ein Überleben der biologischen Probe stören könnte, und ebenfalls eine Rückgewinnung und Manipulation der Proben verkompliziert.

[0007] Die Probe ist in einem Probenhalter angeordnet. Der Boden des Probenhalters ist zumindest teilweise transparent für den Beleuchtungsstrahl, so dass der Beleuchtungsstrahl die Probe beleuchten kann. Ein Beispiel eines solchen transparenten Bodens ist eine Membran. Der Probenhalter umfasst zumindest einen Vorsprung bzw. eine Auswölbung, in welchem die Probe gehalten wird. In einem Aspekt der Offenbarung kann der Vorsprung in der Form eines länglichen Troges vorliegen, in welche eine Vielzahl von Proben in einem Kulturmedium gehalten wird.

[0008] Der Probenhalter ist angeordnet zum Ermöglichen eines einfachen Entfernens vom Mikroskopmodul. Dies ermöglicht, dass die Proben im Probenhalter außerhalb des Mikroskopmoduls kultiviert werden und daraufhin ungestört in das Mikroskopmodul zum Abbilden angeordnet bzw. platziert werden.

[0009] Die Anordnung dieser Offenbarung ermöglicht, dass das Beleuchtungsobjektiv und das Detektionsobjektiv in einem Immersionsmedium angeordnet sind, welches getrennt ist vom Kulturmedium, in welchem die Proben angeordnet sind. Die Trennung des Kulturmediums vom Immersionsmedium ist hilfreich zum Aufrechterhalten von Sterilität und ermöglicht auch die Verwendung von kleinen Volumina des Kulturmediums. Der transparente Boden, das Immersionsmedium und das Kulturmedium weisen im Wesentlichen denselben Brechungsindex auf zum Minimieren von optischen Aberrationen.

[0010] Die Offenbarung lehrt auch ein Verfahren eines Abbildens einer Vielzahl von Proben, welches ein Anordnen eines Beleuchtungsobjektivs zum Beleuchten unterer Flächen der Vielzahl von Proben umfasst sowie ein Anordnen eines Detektionsobjektivs zum Detektieren von von der Vielzahl von Proben emittiertem Licht bei einem näherungsweise orthogonalen Winkel zum Beleuchtungspfad. Das detektierte Licht kann verwendet werden zum Erzeugen einer Abbildung einer oder mehrerer der Vielzahl von Proben.

BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0011] Fig. 1 zeigt eine Übersicht einer herkömmlichen SPIM-Anordnung zum Abbilden von Proben.

[0012] Fig. 2 zeigt einen Überblick der SPIM-Anordnung, verwendet in einem Aspekt der Offenbarung.

[0013] Fig. 3 zeigt eine Übersicht eines Mikroskopmoduls.

[0014] Fig. 4 zeigt einen länglichen Trog, in welchem die Proben angeordnet sind.

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0015] Die Erfindung wird nun auf der Basis der Zeichnungen beschrieben werden. Es wird deutlich werden, dass die Ausführungsformen und Aspekte der Erfindung, wie hierin beschrieben, nur Beispiele sind und den Schutzbereich der Ansprüche in keiner Weise beschränken. Die Erfindung wird definiert durch die Ansprüche und ihre Äquivalente. Es wird deutlich werden, dass Merkmale eines Aspektes oder einer Ausführungsform der Erfindung kombiniert werden können mit einem Merkmal eines verschiedenen Aspekts, verschiedener Aspekte und/oder Ausführungsformen der Erfindung.

[0016] Fig. 1 stellt das fundamentale Prinzip von SPIM dar, welches umfangreicher um US-Patent Nr. 7,554,725 beschrieben wird, dessen Offenbarung durch Verweis herein eingeschlossen ist. Die Anordnung 10 umfasst einen Laser 20, welcher mittels eines Beleuchtungsobjektivs 25 eine Lichtscheibe 30 erzeugt zum Beleuchten von Abschnitten einer Probe 40. Die Lichtscheibe 30 wird entlang eines Beleuchtungsstrahlpfads 35 gerichtet. Ein Detektionsobjektiv 65 wird derart angeordnet, dass die Detektionsrichtung 55 im Wesentlichen orthogonal zur Ebene der Lichtscheibe 30 (d. h. senkrecht zum Beleuchtungsstrahlpfad 35) ist.

[0017] Die Probe 40 kann gedreht werden um eine Rotationsachse 45, und die Lichtscheibe 30 kann angeordnet werden zum Beleuchten von optischen Schnitten der Probe 40. Der Laser 20 regt typischerweise Fluorophore in der Probe 40 an zum Emittieren von fluoreszentem Licht in

vielen Richtungen.

[0018] Der Detektor 50 detektiert mittels eines Detektionsobjektivs 65 sowie einer optischen Anordnung 66 einen Teil des emittierten fluoreszenten Lichts von den Fluorophoren in der Probe 40, welche angeregt worden sind durch die Strahlung in der Lichtscheibe 30. Der Detektor 50 weist eine Abbildungsvorrichtung 60 auf, wie z. B. eine CCD-Kamera, welche verbunden ist an einen Prozessor 70 mit einem Speicher 80. Der Speicher 80 speichert die individuellen Abbildungen 85 von jedem der optischen Schnitte der Probe 40, und der Prozessor 70 kann eine dreidimensionale Abbildung der Probe 40 erzeugen.

[0019] Fig. 2 zeigt eine Ausführungsform der Mikroskopanordnung 200, wie verwendet in dieser Offenbarung. Identische Bezugszeichen werden verwendet zum Anzeigen identischer Elemente in Fig. 1 und 2. Es besteht kein Bedarf, die Probe 40 in dieser Offenbarung in Agarose einzubetten, da die Probe 40 ausreichend stabil im Apparat gehalten wird, wie im Folgenden erklärt wird.

[0020] Der Laser 20 erzeugt mittels von Spiegeln 67 und des Beleuchtungsobjektivs 25 eine Lichtscheibe 30 zum Beleuchten von Abschnitten der Probe 40. Die Lichtscheibe 30 tritt in die Probe 40 ein durch die untere Oberfläche der Probe 40. Ein großer Teil des von der Probe 40 emittierten fluoreszenten Lichts wird durch eine Detektionsobjektiv 65 geleitet, durch einen Spiegel 27 reflektiert, sowie mittels der optischen Anordnung 66 auf die Abbildungsvorrichtung 60 im Detektor 50 zum Ausformen einer Abbildung fokussiert. Die Abbildung wird vom Detektor 50 zum Prozessor 70 übertragen sowie daraufhin im Speicher 80 in der Form individueller Abbildungen gespeichert.

[0021] Fig. 3 zeigt ein Beispiel des Mikroskopmoduls 300 mit einem Beleuchtungsobjektiv 210 sowie einem Detektionsobjektiv 220. Das Beleuchtungsobjektiv 210 beleuchtet mittels eines Beleuchtungsstrahls (Lichtscheibe) entlang eines Beleuchtungsstrahlpfads 215. Der Beleuchtungsstrahlpfad 215 durch das Beleuchtungsobjektiv 210 sowie der Detektionspfad 225 durch das Detektionsobjektiv 220 sind näherungsweise orthogonal zueinander angeordnet. Sowohl das Beleuchtungsobjektiv 210 als auch das Detektionsobjektiv 220 sind in einem Immersionsmedium 230 befindlich, welches typischerweise entgastes Wasser oder Immersionsöl umfasst. Ein Entgasen des Wassers stellt sicher, dass Blasen im Immersionsmedium 230 nicht vorhanden sind.

[0022] Der Beleuchtungsstrahlpfad 215 durch das Beleuchtungsobjektiv 210 ist befindlich unterhalb eines Probenhalters 240 bei näherungsweise 30° zur Ebene des Probenhalters 240. Der Detektionspfad 225 ist demnach befindlich bei näherungsweise 60° zur Ebene des Probenhalters 240. Flexible Kunststoffringe um das Beleuchtungsobjektiv 210 und das Detektionsobjektiv 220 verhindern bzw. hemmen ein Lecken des Immersionsmediums 230.

[0023] Der Probenhalter 240 mit Wänden 250 ist aus einem biokompatiblen Material hergestellt, wie, ohne hierauf beschränkt zu sein, z. B. PEEK, und weist einen Boden 260 auf, welcher aus einer dünnen transparenten Membran hergestellt ist, wie z. B. einem von Dupont hergestellten Teflon®-FEP-Film, aufweisend einen Brechungsindex, welcher im Wesentlichen ähnlich demjenigen des Immersionsmediums 230 und/oder des Kulturmediums 280 ist, zum Reduzieren von optischen Aberrationen. Die transparente Membran im Boden 260 erlaubt demnach den Durchtritt von Strahlung auf eine Probe 270, befindlich an der Oberseite der transparenten Membran 260. Die transparente Membran, welche den Boden 260 ausformt, ist befestigt an den Wänden 250 des Probenhalters 240 mittels eines biokompatiblen Silikonklebers oder mittels Klemmens. Die transparente Membran ist gekrümmt im Bereich, welcher nicht durch die Wände 250 gestützt ist, um die transparente Membran unter Spannung zu halten. Der Probenhalter 240 ist an der Oberseite offen, und die Öffnung ermöglicht einen einfachen Zugang zur sowie eine Entfernung der Probe 270, sofern erforderlich. Die transparente Membran ist plasmabehandelt, um sie hydrophil zu machen, und unterstützt demnach ein Verhindern einer Blasenbildung im Immersionsmedium.

[0024] Die Probe 270 ist befindlich im gekrümmten Bereich in der transparenten Membran in einem geeigneten Kulturmedium 280. Das Kulturmedium 280 ist ein Embryo- oder Gewebekul-

turmedium und kann eine Ölschicht auf dessen Oberfläche aufweisen zum Verhindern von Verdunstung. Der unterschiedliche Brechungsindex des Öls wird das Abbilden der Probe 270 nicht beeinträchtigen, da der Beleuchtungsstrahlpfad 215 und/oder der Detektionspfad 225 nicht durch das Öl hindurchtreten. Das Kulturmedium 280 kann ein sehr kleines Volumen aufweisen, wie z. B. 10 µl. Beispiele eines solchen Kulturmediums 280 schließen, sind jedoch nicht beschränkt auf, KSOM, M16 (Mausembryo), DMEM und RPE (Zellkultur) ein. Es besteht kein Bedarf, die Probe 270 in einen Agarosezylinder (wie bekannt im Stand der Technik) einzubetten. Der Vorsprung bzw. die Auswölbung 290 kann länglich sein zum Ausformen eines Troges (s. Fig. 4).

[0025] Das Mikroskopmodul 300, gezeigt in Fig. 3, ermöglicht die Isolierung des Immersionsmediums 230 vom Kulturmedium 280. Es wird erkannt werden, dass dies ein Unterschied ist zur Anordnung 10 der Fig. 1, in welcher das Immersionsmedium dasselbe ist wie das wässrige Medium, welches die Probe 40 hält.

[0026] Die Probe 270 kann auch einfach gehandhabt werden, da die Probe 270 zugänglich ist von der Oberseite durch das Kulturmedium 280. Eine Öffnung im Probenhalter 240 erlaubt einen Zugang zur Probe 270.

[0027] Es wird erkannt werden von der Anordnung der Fig. 3, dass ausschließlich die unteren Oberflächen, einschließlich eine bodenseitige Fläche sowie seitliche Flächen, der Probe 270 beleuchtet werden mittels der Strahlung vom Beleuchtungsobjektiv 210. In ähnlicher Weise wird das fluoreszente Licht von den unteren Oberflächen der Probe 270 gesammelt werden durch das Detektionsobjektiv 220 und so verwendet werden zum Erzeugen der Abbildung 85 im Speicher 80.

[0028] Der Vorsprung bzw. die Auswölbung 290 kann in der Form eines länglichen Troges 295 vorliegen, wie gezeigt in Fig. 4. Dieser Aspekt der Erfindung erlaubt, mehrere der Proben 270 anzuordnen entlang des Troges und abgebildet zu werden unter Verwendung desselben Mikroskopmoduls 300. Eine solche Anordnung erlaubt ein Hochdurchsatz-Abbilden einer Vielzahl von Proben 270.

[0029] Das Mikroskopmodul 300 ermöglicht langfristige Hochdurchsatz-Abbildungsexperimente von lebendigen Zellen und Embryos, z. B. von Säugetierembryos, sowie von in vitro abgebildeten Eizellen.

[0030] Ein Verfahren zum Ausführen langfristiger Hochdurchsatz-Abbildungsexperimente von lebendigen Zellen und Embryos kann ausgeführt werden durch das Mikroskopmodul 300. Das Verfahren umfasst ein Anordnen des Beleuchtungsobjektivs 210 derart, dass ein Beleuchtungsstrahl erzeugt wird zum Beleuchten der unteren Oberflächen der Vielzahl von Proben 270 entlang des Beleuchtungsstrahlpfads 215. Das Detektionsobjektiv 220 sammelt einen Teil des fluoreszenten Lichts, welches von der Vielzahl von Proben 270 emittiert wird. Das fluoreszente Licht wird in alle Richtungen emittiert, und fluoreszentes Licht in einem Bogen von näherungsweise 120° um den Detektionspfad 225 wird gesammelt werden. Das durch das Detektionsobjektiv 220 gesammelte fluoreszente Licht wird reflektiert mittels eines Spiegels 27 sowie auf die Abbildungsvorrichtung 60 im Detektor 50 fokussiert durch die optische Anordnung 66. Die Abbildungsvorrichtung 60 sendet an den Prozessor 70 Daten, betreffend die Abbildungen 85, und der Prozessor 70 ist fähig eines Erzeugens einer dreidimensionalen Abbildung einer oder mehrerer der Vielzahl von Proben 270.

[0031] Es wird erkannt werden von Fig. 4, dass der längliche Trog 295 bewegt werden kann, derart dass das Detektionsobjektiv 220 und das Beleuchtungsobjektiv 210 den länglichen Trog 295 scannen bzw. abtasten zum Abbilden verschiedener der Vielzahl von Proben 270. Das Detektionsobjektiv 220 und das Beleuchtungsobjektiv 210 verbleiben fixiert an den optischen Tisch.

[0032] Das Kulturmedium 280 verbleibt ungestört durch entweder das Detektionsobjektiv oder das Beleuchtungsobjektiv und verbleibt steril, was langfristige Experimente erlaubt.

BEZUGSZEICHEN

10	Anordnung
20	Laser
25	Beleuchtungsobjektiv
27	Spiegel
30	Lichtscheibe
35	Beleuchtungsstrahlpfad
40	Probe
45	Rotationsachse
50	Detektor
55	Detektionsrichtung
60	Abbildungsvorrichtung
65	Detektionsobjektiv
66	Optische Anordnung
67	Spiegel
70	Prozessor
80	Speicher
85	Abbildungen
200	Mikroskopanordnung
210	Beleuchtungsobjektiv
215	Beleuchtungsstrahlpfad
220	Detektionsobjektiv
225	Detektionspfad
230	Immersionsmedium
240	Probenhalter
250	Wände
260	Boden
270	Probe
280	Kulturmedium
290	Vorsprung
295	Trog
300	Mikroskopmodul

Ansprüche

1. Mikroskopmodul (300) für eine Mikroskopanordnung (200) zum Abbilden einer Probe (40, 270), wobei die Mikroskopanordnung (200) umfasst:
 - eine Lichtquelle (20) zum Erzeugen eines Beleuchtungsstrahls entlang eines Beleuchtungsstrahlpfads (215); und
 - einen Detektor (50) zum Detektieren von emittiertem Licht entlang eines Detektionspfads (225);wobei das Mikroskopmodul (300) umfasst:
 - einen Probenhalter (240), entferntbar angeordnet in der Mikroskopanordnung (200) und geeignet zum Halten der Probe (40, 270) an einer Oberseite des Probenhalters (240), sowie aufweisend einen für den Beleuchtungsstrahl und das von der Probe (40, 270) emittierte Licht transparenten Boden (260);
 - zumindest ein Beleuchtungsobjektiv (210), befindlich unterhalb des Probenhalters (240) und angeordnet in der Mikroskopanordnung (200) zum Leiten des Beleuchtungsstrahls durch den Boden (260) des Probenhalters (240); und
 - zumindest ein Detektionsobjektiv (220), befindlich unterhalb des Probenhalters (240) und angeordnet in der Mikroskopanordnung (200) zum Sammeln des von der Probe (40, 270) durch den Boden (260) des Probenhalters (240) entlang des Detektionspfads (225) emittierten Lichts;wobei das Beleuchtungsobjektiv (210) und das Detektionsobjektiv (220) in einem Immersionsmedium (230) befindlich sind, welches in Berührung steht bzw. gelangt mit dem zumindest teilweise transparenten Boden (260) des Probenhalters (240).
2. Mikroskopmodul (300) nach Anspruch 1, wobei der Winkel des Detektionspfads (225) zum Beleuchtungsstrahlpfad (215) im Wesentlichen orthogonal ist.
3. Mikroskopmodul (300) nach Anspruch 1 oder 2, wobei ein Brechungsindex des Immersionsmediums (230) im Wesentlichen gleich einem Brechungsindex des zumindest teilweise transparenten Bodens (260) des Probenhalters (240) ist.
4. Mikroskopmodul (300) nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei der zumindest teilweise transparente Boden (260) des Probenhalters (240) aus einer Membran hergestellt ist.
5. Mikroskopmodul (300) nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die Probe (40, 270) sich in einem Kulturmedium (280) befindet.
6. Mikroskopmodul (300) nach Anspruch 5, wobei das Kulturmedium (280) einen Brechungsindex aufweist, welcher im Wesentlichen ähnlich demjenigen des zumindest teilweise transparenten Bodens (260) des Probenhalters (240) ist.
7. Mikroskopmodul (300) einem der Ansprüche 1 bis 6 wobei der zumindest teilweise transparente Boden (260) des Probenhalters (240) einen Vorsprung (290) umfasst, in welchem die Probe (40, 270) gehalten wird.
8. Mikroskopmodul (300) nach Anspruch 7, wobei der Beleuchtungsstrahl angeordnet ist zum Beleuchten der Probe (40) durch einen Boden des Vorsprungs (290).
9. Mikroskopmodul (300) nach Anspruch 7 oder 8, wobei der Vorsprung (290) länglich ist.
10. Mikroskopmodul (300) nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei der Beleuchtungsstrahlpfad (215) angeordnet ist bei im Wesentlichen 30° zur Horizontalen.
11. Mikroskopanordnung (200) zum Abbilden einer Probe (40, 270), wobei die Mikroskopanordnung (200) umfasst:
 - zumindest ein Beleuchtungsobjektiv (210);
 - zumindest ein Detektionsobjektiv (220);
 - eine Lichtquelle (20) zum Erzeugen eines Beleuchtungsstrahls entlang eines Beleuchtungsstrahlpfads (215) durch das zumindest eine Beleuchtungsobjektiv (210);
 - einen Detektor (50) zum Detektieren von emittiertem Licht entlang eines Detektionspfads (225) durch das zumindest eine Detektionsobjektiv (220);

wobei:

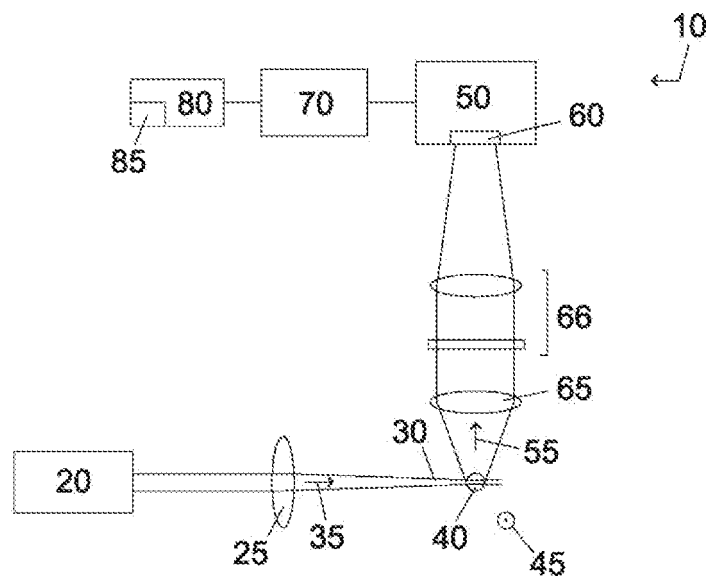
- ein Probenhalter (240) entfernbar angeordnet ist in der Mikroskopanordnung (200) und geeignet ist zum Halten der Probe (40, 270) an einer Oberseite des Probenhalters (240), sowie aufweisend einen für den Beleuchtungsstrahl und das von der Probe (40, 270) emittierte Licht transparenten Boden (260),
- das zumindest eine Beleuchtungsobjektiv (210) befindlich ist unterhalb des Probenhalters (240) und angeordnet zum Leiten des Beleuchtungsstrahls durch den Boden (260);
- das zumindest eine Detektionsobjektiv (220) befindlich ist unterhalb des Probenhalters (240) und angeordnet zum Sammeln des von der Probe (40, 270) durch den Boden (260) entlang des Detektionspfads (225) emittierten Lichts;

wobei der Detektionspfad (225) im Wesentlichen orthogonal zum Beleuchtungspfad (215) steht,

das Beleuchtungsobjektiv (210) und das Detektionsobjektiv (220) in einem Immersionsmedium (230) befindlich sind, welches in Berührung steht bzw. gelangt mit dem zumindest teilweise transparenten Boden (260) des Probenhalters (240), und der Brechungsindex des Immersionsmediums (230) ähnlich dem Brechungsindex des zumindest einen im Wesentlichen teilweise transparenten Bodens (260) des Probenhalters (240).

12. Mikroskopanordnung (200) nach Anspruch 11, wobei der Winkel des Detektionspfads (225) zum Beleuchtungsstrahlpfad (215) im Wesentlichen orthogonal ist.
13. Mikroskopanordnung (200) nach Anspruch 11 oder 12, wobei der zumindest teilweise transparente Boden (260) des Probenhalters (240) aus einer Membran hergestellt ist, welche an den Wänden (250) des Probenhalters (240) befestigt ist.
14. Mikroskopanordnung (200) nach einem der Ansprüche 11 bis 13, weiter angepasst, dass die Probe (40, 270) sich in einem Kulturmedium (280) befindet.
15. Mikroskopanordnung (200) nach Anspruch 14, wobei das Kulturmedium (280) einen Brechungsindex aufweist, welcher ähnlich dem Brechungsindex des zumindest teilweise transparenten Bodens (260) des Probenhalters (240) ist zum Reduzieren optischer Aberrationen.
16. Mikroskopanordnung (200) einem der Ansprüche 11 bis 15 wobei der zumindest teilweise transparente Boden (260) des Probenhalters (240) einen Vorsprung (290) umfasst, welcher angepasst ist die Probe (40, 270) zu halten.
17. Mikroskopanordnung (200) nach Anspruch 16, wobei der Beleuchtungsstrahl angeordnet ist zum Leiten des Beleuchtungsstrahls durch einen Boden des Vorsprungs (290).
18. Mikroskopanordnung (200) nach Anspruch 17, wobei der Vorsprung (290) länglich ist.
19. Mikroskopanordnung (200) nach einem der Ansprüche 11 bis 18, wobei der Beleuchtungsstrahlpfad angeordnet ist bei im Wesentlichen 30° zur Horizontalen.

Hierzu 4 Blatt Zeichnungen



Stand der Technik

Fig. 1

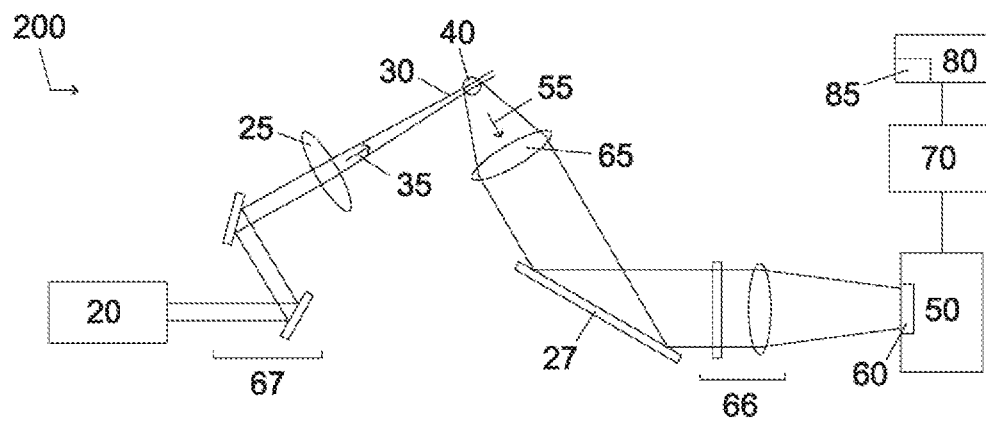


Fig. 2

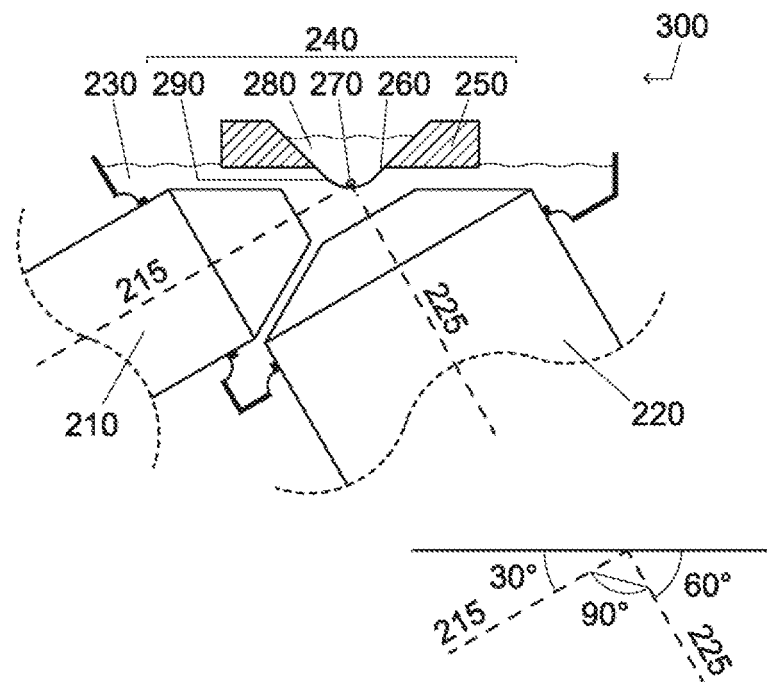


Fig. 3

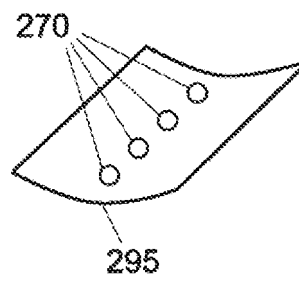


Fig. 4

Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß IPC:
G02B 21/06 (2006.01); **G02B 21/33** (2006.01); **G02B 21/34** (2006.01)

Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß CPC:
G02B 21/06 (2013.01); **G02B 21/33** (2017.08); **G02B 21/34** (2013.01)

Recherchierter Prüfstoff (Klassifikation):
 G02B

Konsultierte Online-Datenbank:
 EPODOC; TXT NN

Dieser Recherchenbericht wurde zu den am **21.11.2018** eingereichten Ansprüchen **1-19** erstellt.

Kategorie ¹⁾	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungs- datum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend Anspruch
A	DE 19629725 A1 (EUROP LAB MOLEKULARBIOLOG) 05. Februar 1998 (05.02.1998) Abstract; Fig. 1	1-19
A	WO 0049447 A1 (LUCID INC) 24. August 2000 (24.08.2000) Abstract; Fig. 1	1-19

Datum der Beendigung der Recherche:
 18.09.2019

Seite 1 von 1

Prüfer(in):
 BABUREK Gerhard

¹⁾ **Kategorien** der angeführten Dokumente:

- X** Veröffentlichung **von besonderer Bedeutung**: der Anmel-
 dungsgegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf
 erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden.
- Y** Veröffentlichung **von Bedeutung**: der Anmel-
 dungsgegenstand kann nicht
 als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Ver-
 öffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser
 Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese **Verbindung für einen
 Fachmann naheliegend** ist.

- A** Veröffentlichung, die den allgemeinen **Stand der Technik** definiert.
- P** Dokument, das von **Bedeutung** ist (Kategorien **X** oder **Y**), jedoch **nach
 dem Prioritätstag** der Anmeldung veröffentlicht wurde.
- E** Dokument, das **von besonderer Bedeutung** ist (Kategorie **X**), aus dem
 ein „**älteres Recht**“ hervorgehen könnte (früheres Anmeldedatum, jedoch
 nachveröffentlicht, Schutz ist in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage
 stellen).
- &** Veröffentlichung, die Mitglied der selben **Patentfamilie** ist.