

(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
23. Juli 2015 (23.07.2015)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2015/107065 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

G02B 21/00 (2006.01) H03G 1/00 (2006.01)
G01J 1/46 (2006.01) H03G 5/14 (2006.01)
H03F 3/00 (2006.01) H03F 3/70 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2015/050557

(22) Internationales Anmeldedatum:
14. Januar 2015 (14.01.2015)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2014 000 473.2
16. Januar 2014 (16.01.2014) DE

(71) Anmelder: CARL ZEISS MICROSCOPY GMBH
[DE/DE]; Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).

(72) Erfinder: PRESSER, Nico; Carl-Stamitz-Weg 6, 07743
Jena (DE). MÜLLER, Martin; Max-Steenbeck-Straße 21,
07745 Jena (DE).

(74) Anwalt: HAMPE, Holger; Carl Zeiss AG,
Patentabteilung, Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena
(DE).

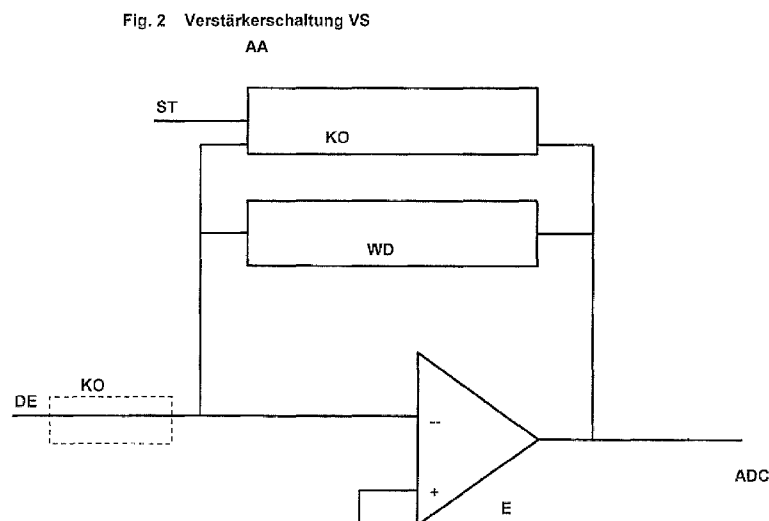
(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW,
BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST,
SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG,
KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH,
CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE,
IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: LASER-SCANNING MICROSCOPE AND AMPLIFIER ASSEMBLY

(54) Bezeichnung : LASER-SCANNING-MIKROSKOP UND VERSTÄRKERBAUGRUPPE



AA Amplifier circuit VS

(57) Abstract: The invention relates to a laser-scanning microscope comprising at least one scanner for changing the orientation of illumination light and at least one detector for detecting light from the sample, and comprising an amplifier assembly for amplifying the detection signal of a detector DE, preferably an APD (avalanche-photodiode) or a PMT (photomultiplier), said amplifier assembly containing an adjustable capacitor KO which can be adjusted depending on the scan speed of the scanner.

(57) Zusammenfassung:

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2015/107065 A1



RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, **Veröffentlicht:**

CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, — *mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz 3)*

Erklärungen gemäß Regel 4.17:

— *Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv)*

Laser-Scanning-Mikroskop mit mindestens einem Scanner zur Änderung der Orientierung von Beleuchtungslicht, und mindestens einem Detektor zur Erfassung von Probenlicht, mit einer Verstärkerbaugruppe zur Verstärkung eines Detektionssignals eines Detektors DE, vorzugsweise einer APD (Avalanche-Photodiode) oder eines PMT (Photomultiplier), wobei die Verstärkerbaugruppe einen einstellbaren Kondensator KO beinhaltet, der abhängig von der Scangeschwindigkeit des Scanners einstellbar ist.

Titel: Laser- Scanning – Mikroskop und Verstärkerbaugruppe

Fig.1 zeigt beispielhaft anhand des ZEISS LSM 710 einen LSM Strahlengang
Es wird zusätzlich auf DE19702753 A1 als Bestandteil der Offenbarung verwiesen
die ausführlich einen weiteren LSM Strahlengang beschreibt.

Ein konfokales Scanmikroskop enthält ein Lasermodul, das bevorzugt aus mehreren Laserstrahlquellen besteht, die Beleuchtungslicht unterschiedlicher Wellenlängen erzeugen. Eine Scaneinrichtung, in die das Beleuchtungslicht als Beleuchtungsstrahl eingekoppelt wird, weist einen Hauptfarbteiler, einen x-y-Scanner und ein Scanobjektiv sowie ein Mikroskopobjektiv auf, um den Beleuchtungsstrahl durch Strahlablenkung über eine Probe zu führen, die sich auf einem Mikroskoptisch einer Mikroskopeinheit befindet. Ein dadurch erzeugter von der Probe kommender Messlichtstrahl wird über einen Hauptfarbteiler und eine Abbildungsoptik auf mindestens eine konfokale Detektionsblende (Detektionsspinnhole) mindestens eines Detektionskanals gerichtet.

Das Licht zweier Laser oder Lasergruppen LQ1 und LQ2 gelangt in Fig.1 jeweils über Hauptfarbteiler HFT1 und HFT 2 zur Trennung von Beleuchtungs- und Detektionsstrahlengang, die schaltbar als dichroitische Filterräder ausgebildet sein können und auch auswechselbar sein können um die Auswahl der Wellenlängen flexibel zu gestalten, und das Beleuchtungslicht reflektieren
zunächst über einen Scanner, bestehend vorzugsweise aus zwei unabhängigen beispielsweise galvanometrischen Scanspiegeln für die X – und Y Ablenkung, in Richtung einer (nicht dargestellten Scanoptik SCO und über diese und das Mikroskopobjektiv O in üblicher Weise auf die Probe. Das Probenlicht gelangt in Rückrichtung durch die Teiler HFT 1, HFT 2 hindurch in Richtung der Detektion D. Hier passiert das Detektionslicht zunächst ein Pinhole PH über eine dem Pinhole vor- und nachgeordnete Pinholeoptik PHO und eine Filteranordnung F zur schmalbandigen Ausfilterung unerwünschter Strahlungsanteile, bestehend beispielsweise aus Notchfiltern, und gelangt über einen Strahlteiler BS, der optional bei entsprechender Schaltung über einen transmissiven Anteil eine Auskopplung auf externe Detektionsmodule ermöglicht, einen Spiegel M sowie weitere Umlenkungen auf ein Gitter G zur spektralen Aufspaltung der Detektionsstrahlung.

Die vom Gitter G aufgespalteten divergenten Spektralanteile werden mittels eines abbildenden Spiegels IM kollimiert und gelangen in Richtung einer Detektoranordnung, die aus einzelnen PMT 1, PMT2 im Randbereich und einem zentral angeordneten Mehrkanaldetektor MPMT besteht.

Anstelle des Mehrkanaldetektors kann auch ein weiterer Einzeldetektor verwendet werden.

Den Einzeldetektoren bzw. den einzelnen Kanälen der Mehrkanal-Detektoranordnung sind jeweils Signalverstärker VS nachgeordnet.

Vor einer Linse L1 befinden sich zwei senkrecht zur optischen Achse verschiebbare Prismen P1, P2 im Randbereich; die einen Teil der Spektralanteile vereinigen, die über die Linse L1 auf die einzelnen PMT 1 und 2 fokussiert werden. Der restliche Teil der Detektionsstrahlung wird nach Durchgang durch die Ebene der PMT1 und 2 über eine zweite Linse L2 kollimiert und spektral separiert auf die einzelnen Detektionskanäle des MPMT gerichtet.

Durch Verschiebung der Prismen P1, P2 kann in flexibler Weise eingestellt werden, welcher Teil des Probenlichtes über den MPMT spektral separiert detektiert wird und welcher Teil über die Prismen P1, P2 zusammengefasst durch PMT1 und 2 detektiert wird.

Als Scanner können neben Galvanometerspiegeln auch MEMS Scanner oder Resonanzscanner vorgesehen sein.

In der Bildaufnahme finden derzeit beim Einsatz von PMT wie oben beschrieben Verstärker mit vordefinierter konstanter Bandbreite Anwendung, die den PMT jeweils nachgeordnet sind.

Die effektive Bandbreite ist jedoch von der eingestellten Scangeschwindigkeit (scan-speed) abhängig. Daher wird sie auf die maximale Scangeschwindigkeit eingestellt (große Bandbreite).

Gerade bei kleinen Scangeschwindigkeiten ist jedoch eine große Bandbreite nicht notwendig und wirkt sich negativ auf das Signal/ Rauschverhältnis (SNR) und damit auf die Bildqualität aus, da mehr Rauschen aufgenommen wird.

Die Erfindung wird durch die Merkmale der unabhängigen Ansprüche charakterisiert.

Bevorzugte Weiterbildungen sind Gegenstand der abhängigen Patentansprüche.

Erfindungsgemäß wird nun mit nur einem vorzugsweise integrierten Bauelement eine dynamische Bandbreiteneinstellung realisiert, so dass die Bandbreite der Verstärkung

Für die Scangeschwindigkeit individuell eingestellt werden kann. Das verhindert insbesondere dass bei langsamen Scans ein hoher Anteil an weißem Rauschen mit aufgenommen wird der die Bildqualität negativ beeinflusst.

Auch bei der Erprobung zukünftiger Detektorverstärker ist es vorteilhaft die Tiefpässe variabel einstellen zu können.

Die Erfindung wird nachstehend anhand der Abbildungen weiter erläutert.

Fig. 2 zeigt eine dem Detektor DE wie PMT oder APD nachgeordnete Verstärkerschaltung mit einem, einem Widerstand WD zur Verstärkung und einem diesem parallel geschalteten einstellbaren Kondensator KO mit einem digitalen oder analogen Steuereingang ST zur Ansteuerung zur Bandbreitenbegrenzung, der durch die parallele Schaltungsanordnung als Tiefpass wirkt.

Je höher die Kapazität eingestellt wird desto tiefer ist der eingestellte Bandpass.

Im Element E erfolgt eine Strom/ Spannungswandlung durch einen Operationsverstärker.

In einer Hochpassanwendung würde KO wie gestrichelt dargestellt dem Detektor seriell nachgeordnet angeordnet sein.

Auch ein Betrieb mit zwei einstellbaren Kondensatoren als Hoch – und Tiefpass ist vorstellbar, beispielsweise zur Impulsverstärkung.

In Fig.3 ist schematisch eine Ausführung eines einstellbaren Kondensators beispielhaft dargestellt.

Es wird über ein Interface und eine Kontrolleinheit CO angesteuert.

Diese ist mit Schaltern S1-S5 verbunden, die einzeln schaltbar sind und Einzelkondensatoren C1-C5 einzeln zwischen dem Pluseingang und dem Minusausgang M zu- bzw. abschalten. Da die Kondensatoren C1-C5 parallel geschaltet sind kann die Gesamtkapazität mittels der Schalter S1-S5 entsprechend erhöht oder verringert werden.

Ein solches Bauteil kann in integrierter Form eingesetzt werden, wie es beispielsweise von der Firma Peregrine Semiconductor als Bauteil PE64904 erhältlich ist.

Vorteilhaft ist der Steuereingang des einstellbaren Kondensators mit einer zentralen Ansteuereinheit des Mikroskops verbunden.

In Fig. 1 ist schematisch dargestellt dass die einzelnen den Detektoren nachgeordneten Verstärker gemäß Fig. 2 mit einer Ansteuereinheit verbunden sind die zentrale Mikroskopfunktionen steuert und auch mit einem interaktiven Bildschirm verbunden ist um Benutzervorgaben einzustellen.

Teil der Benutzervorgaben kann ein Schieber auf dem Bildschirm sein mit dem der Benutzer die Scangeschwindigkeit einstellt. Die eingestellte Scangeschwindigkeit ist dann mit einem Wert des einstellbaren Kondensators KO programmiert verknüpft, beispielsweise über eine lookup Tabelle, so dass der entsprechende Kondensatorwert über den Eingang DI eingestellt werden kann.

Patentansprüche

1.

Laser- Scanning-Mikroskop mit mindestens einem Scanner zur Änderung der Orientierung von Beleuchtungslicht, und mindestens einem Detektor zur Erfassung von Probenlicht,

mit einer Verstärkerbaugruppe zur Verstärkung eines Detektionssignals eines Detektors, vorzugsweise einer APD (Avalanche- Photodiode) oder eines PMT (Photomultiplier),

dadurch gekennzeichnet dass

die Verstärkerbaugruppe einen einstellbaren Kondensator beinhaltet, der abhängig von der Scangeschwindigkeit des Scanners einstellbar ist.

2.

Verstärkerbaugruppe zur Verstärkung eines Detektionssignals eines Detektors eines Laser- Scanning-Mikroskops (LSM) , vorzugsweise einer APD (Avalanche- Photodiode) oder eines PMT (Photomultiplier),

dadurch gekennzeichnet dass

die Verstärkerbaugruppe einen einstellbaren Kondensator beinhaltet, der abhängig von der Scangeschwindigkeit des Scanners des LSM einstellbar ist.

3.

Verfahren zum Betrieb eines Laser-Scanning-Mikroskops (LSM), insbesondere nach einem der Ansprüche 1 oder 2,

wobei das Detektionssignal mindestens eines Detektors des LSM verstärkt wird und bei der Verstärkung über einen einstellbaren Kondensator ein Hochpass und / oder Tiefpass eingestellt wird.

4.

Verfahren nach Anspruch 3, wobei zur Anpassung an die Scangeschwindigkeit durch den Kondensator ein Tiefpass eingestellt wird.

5.

Verfahren nach Anspruch 3, wobei zur Impulsverstärkung durch den Kondensator ein Hochpass eingestellt wird.

6.

Verfahren nach einem der Ansprüche 3-5, wobei die Einstellung des Kondensators über ein analoges oder digitales Interface erfolgt.

7.

Verfahren oder Anordnung nach einem der vorangehenden Patentansprüche, wobei Eingabemittel zur Eingabe einer Scangeschwindigkeit vorgesehen sind und die eingegebene Scangeschwindigkeit mit einem eingestellten Wert eines einstellbaren Kondensators verknüpft wird.

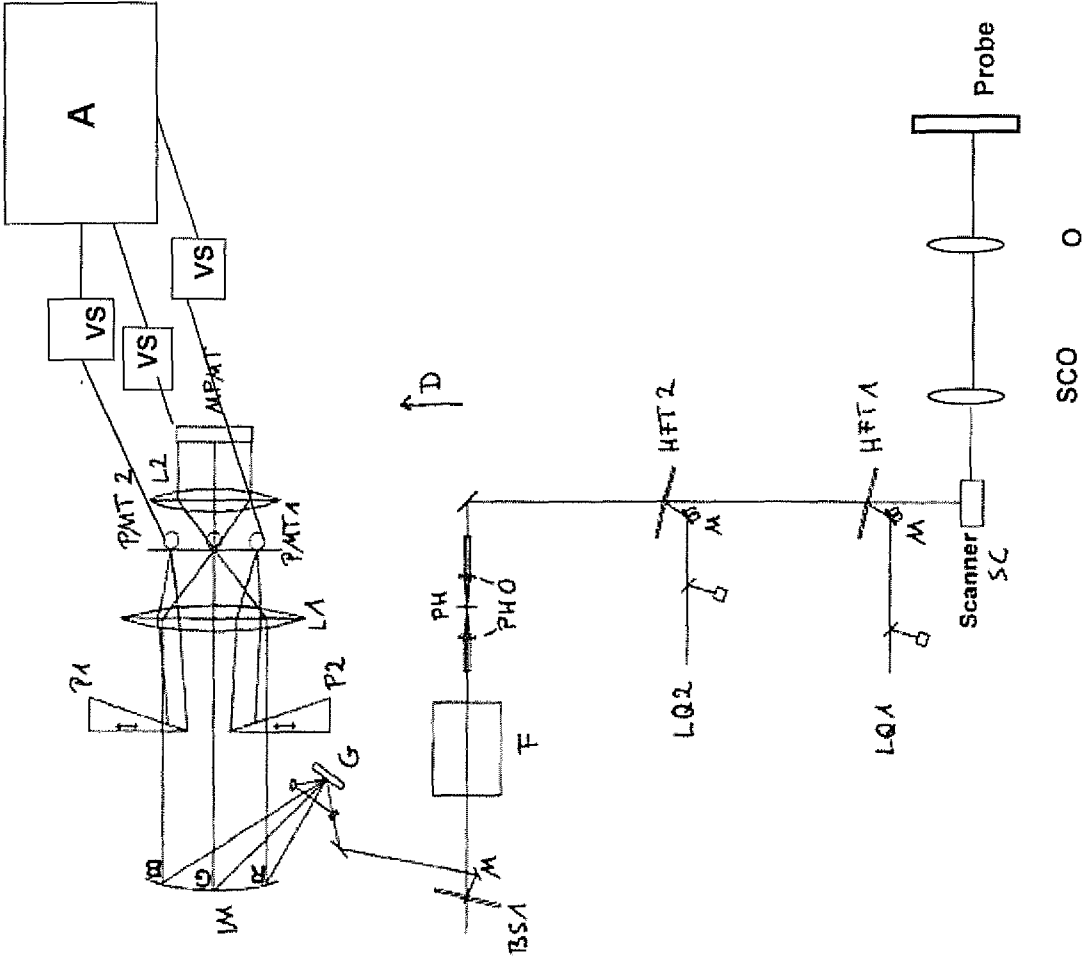


Fig.1

Fig. 2 Verstärkerschaltung VS

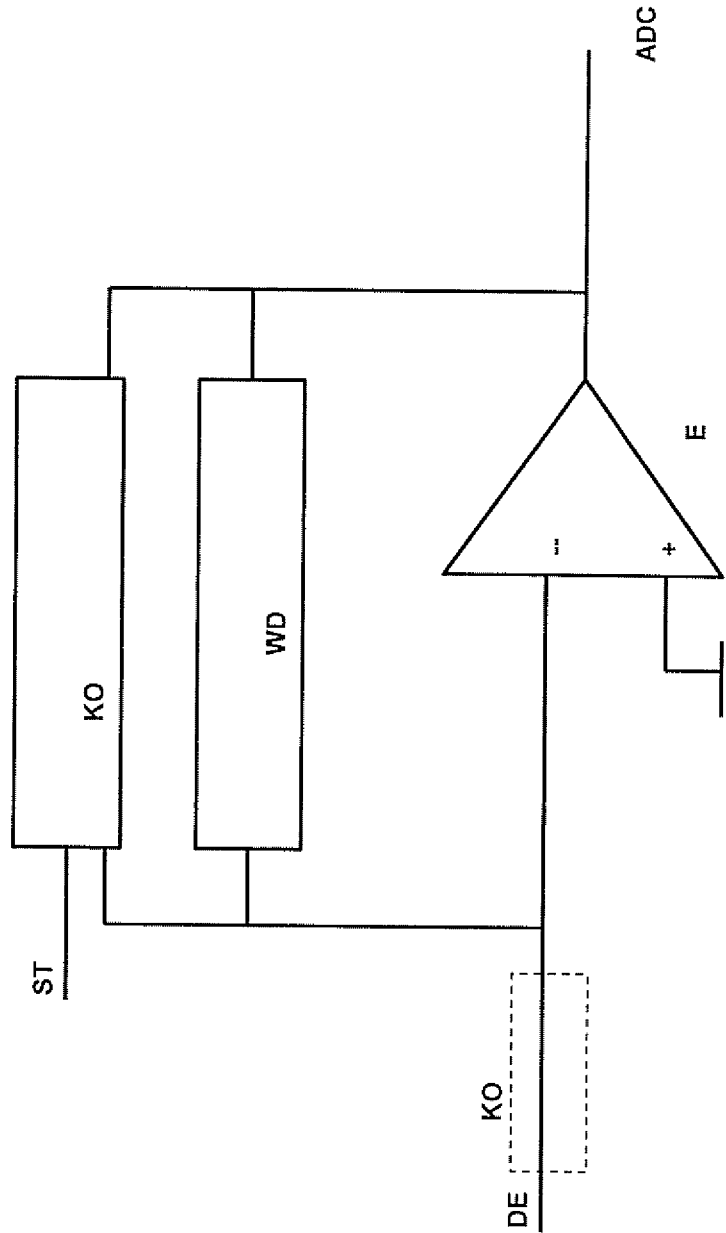
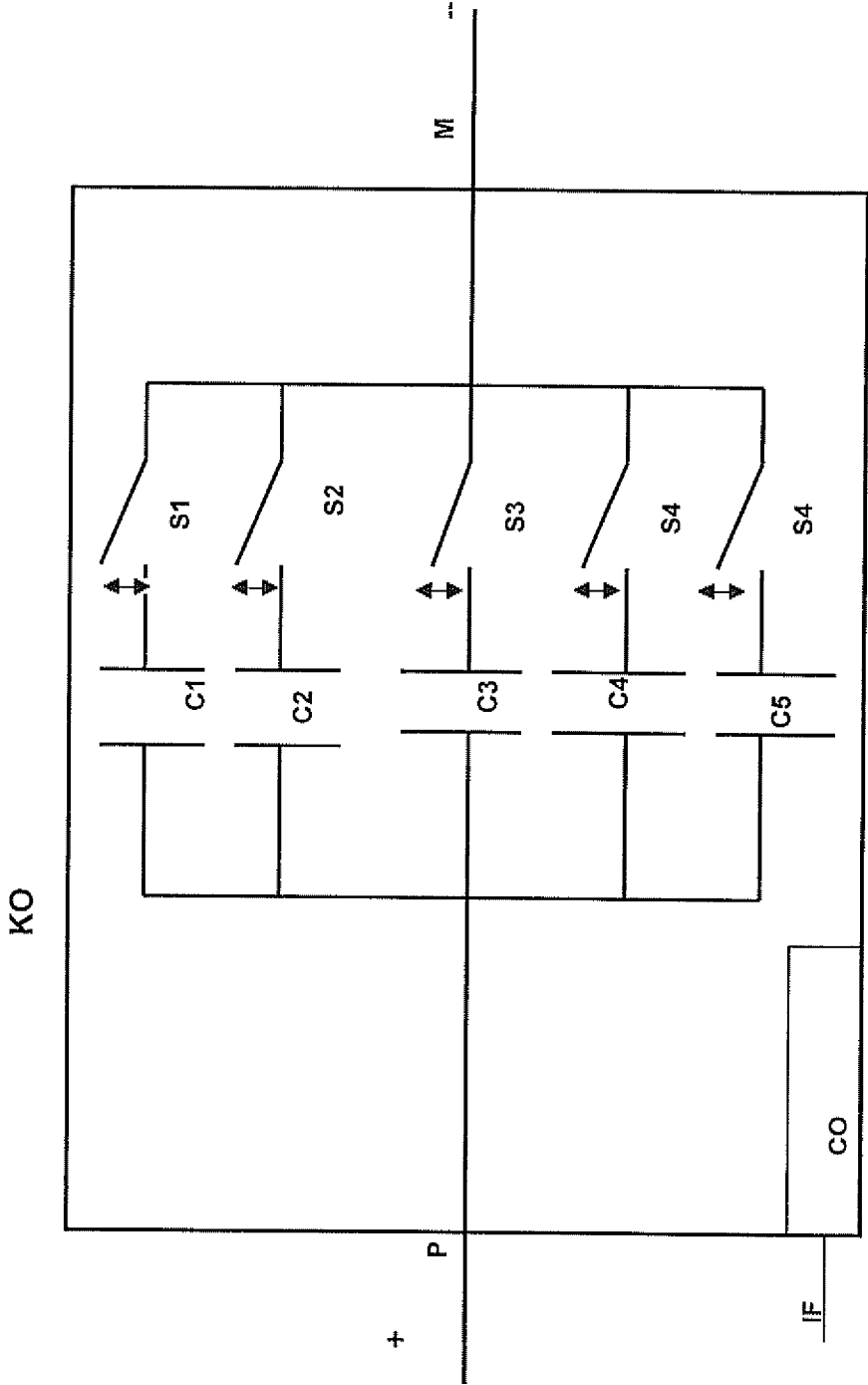


Fig. 3 : Einstellbarer Kondensator



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2015/050557

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. G02B21/00 G01J1/46 H03F3/00 H03G1/00 H03G5/14
H03F3/70

ADD.

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)

G02B G01J H03F H03G

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 practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	TIMOTHY P. PADERA ET AL: "Conventional and High-Speed Intravital Multiphoton Laser Scanning Microscopy of Microvasculature, Lymphatics, and Leukocyte-Endothelial Interactions", MOLECULAR IMAGING, vol. 1, no. 1, 1 January 2002 (2002-01-01), pages 9-15, XP055180588, ISSN: 1535-3508, DOI: 10.1162/153535002753395662 figure 1	1,3-7
X	----- US 2003/020547 A1 (FENG KAI D [US]) 30 January 2003 (2003-01-30)	2
Y	figure 2	1,3-7
X	----- US 2013/293305 A1 (LEE JONG-WOO [KR]) 7 November 2013 (2013-11-07)	2
Y	figure 4	1,3-7



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family 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 application or patent 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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 March 2015

Date of mailing of the international search report

13/04/2015

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Rödig, Christoph

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/050557

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2003020547	A1	30-01-2003	NONE

US 2013293305	A1	07-11-2013	EP 2845317 A1 11-03-2015
			KR 20130124025 A 13-11-2013
			US 2013293305 A1 07-11-2013
			WO 2013165082 A1 07-11-2013

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2015/050557

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV. G02B21/00 G01J1/46 H03F3/00 H03G1/00 H03G5/14 H03F3/70 ADD. Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) G02B G01J H03F H03G Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	TIMOTHY P. PADERA ET AL: "Conventional and High-Speed Intravital Multiphoton Laser Scanning Microscopy of Microvasculature, Lymphatics, and Leukocyte-Endothelial Interactions", MOLECULAR IMAGING, Bd. 1, Nr. 1, 1. Januar 2002 (2002-01-01), Seiten 9-15, XP055180588, ISSN: 1535-3508, DOI: 10.1162/153535002753395662 Abbildung 1	1,3-7
X	----- US 2003/020547 A1 (FENG KAI D [US]) 30. Januar 2003 (2003-01-30)	2
Y	Abbildung 2	1,3-7
X	----- US 2013/293305 A1 (LEE JONG-WOO [KR]) 7. November 2013 (2013-11-07)	2
Y	Abbildung 4	1,3-7
☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen ☒ Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 31. März 2015		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 13/04/2015
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Rödiger, Christoph

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2015/050557

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 2003020547	A1	30-01-2003	KEINE

US 2013293305	A1	07-11-2013	EP 2845317 A1 11-03-2015
			KR 20130124025 A 13-11-2013
			US 2013293305 A1 07-11-2013
			WO 2013165082 A1 07-11-2013
