



(12) **Geänderte Patentschrift**

(21) Aktenzeichen: **101 52 404.8**
(22) Anmeldetag: **24.10.2001**
(43) Offenlegungstag: **15.05.2003**
(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: **15.12.2011**
(45) Veröffentlichungstag
der geänderten Patentschrift: **08.06.2017**

(51) Int Cl.: **G01N 33/48** (2006.01)
G01N 1/28 (2006.01)
B23K 26/00 (2006.01)
G01N 1/04 (2006.01)

Patent nach Einspruchsverfahren beschränkt aufrechterhalten

(73) Patentinhaber:
Carl Zeiss Microscopy GmbH, 07745 Jena, DE

(74) Vertreter:
Kraus & Weisert Patentanwälte PartGmbH, 80539 München, DE

(72) Erfinder:
Schütze, Karin, Dr., 82327 Tutzing, DE

(56) Ermittelter Stand der Technik:

DE	37 18 066	A1
DE	38 36 716	A1
DE	100 15 157	A1
US	2001 / 0 001 574	A1
US	4 907 158	A
EP	0 539 888	A1
WO	97/ 13 838	A1
WO	97/ 29 355	A1
WO	01/ 73 398	A1

(54) Bezeichnung: **Laser-Mikrodissektionssystem**

(57) Hauptanspruch: Laser-Mikrodissektionssystem zur Bearbeitung eines auf einem Träger (3) befindlichen Materials (14),

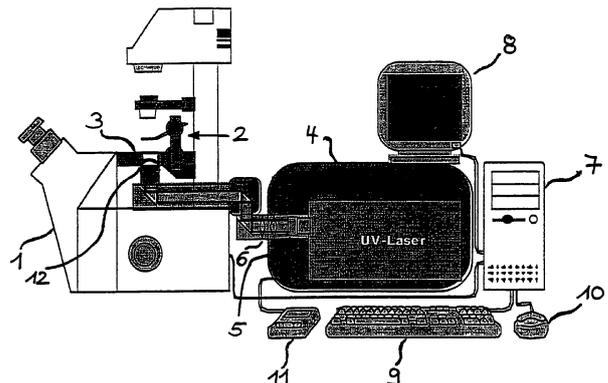
mit einer Laserlichtquelle (4) zur Erzeugung eines auf das zu bearbeitende Material (14) zu richtenden Laserstrahls, um das Material (14) mit dem Laserstrahl zu bearbeiten, mit einer Bildaufnahmeverrichtung (1) zur Erzeugung eines Abbilds wenigstens eines Abschnitts des auf dem Träger (3) befindlichen Materials,

mit einer Anzeigevorrichtung (8) zur Darstellung des von der Bildaufnahmeverrichtung (1) erzeugten Abbilds, mit Auswahlmitteln (9, 10) zum Auswählen von mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekten (15) des auf dem Träger (3) befindlichen Materials (14), dadurch gekennzeichnet,

dass über die Auswahlmittel (9, 10) ein jeweils ausgewähltes Objekt einer entsprechenden Objektgruppe zugeordnet werden kann, und

dass Steuermittel (7) vorhanden sind zum Auswerten der mit Hilfe der Auswahlmittel (9, 10) durchgeführten Auswahl der zu bearbeitenden Objekte (15) und zum Erstellen einer Liste, in welcher die ausgewählten Objekte und/oder die Objektgruppen mit einer Bezeichnung der jeweils entsprechenden Objektgruppe enthalten sind, wobei über die Auswahlmittel (9, 10) eine beliebige erste Objektgruppe und zweite Objektgruppe in der Liste auswählbar sind und die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie eine Bearbeitung der der ausgewählten ersten Objektgruppe zugeordneten Objekte (15) und der der ausgewählten zweiten Objektgruppe zugeordneten Objekte (15) gruppenspezifisch mit dem Laserstrahl derart veranlassen, dass sämtliche Objekte der ersten Objektgrup-

pe in einem ersten Auffangbehälter und sämtliche Objekte der zweiten Objektgruppe in einem zweiten Auffangbehälter gesammelt werden.



Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Laser-Mikrodissektionssystem zur Bearbeitung einer biologischen oder auch nicht-biologischen Masse, insbesondere ein Laser-Mikrodissektionssystem zur Bearbeitung, Separierung und/oder Gewinnung von mikroskopisch kleinen biologischen und/oder nicht-biologischen Objekten einer biologischen bzw. nicht-biologischen Masse.

[0002] Ein derartiges herkömmliches Laser-Mikrodissektionssystem der Anmelderin ist beispielsweise aus der WO 97/29355 A1, der DE 100 15 157 A1 oder der WO 01/73398 A1 bekannt. Mit den in diesen Druckschriften beschriebenen Laser-Mikrodissektionssystemen können einzelne biologische oder nicht-biologische Objekte, welche auf einem planaren Träger angeordnet sind, rechnergestützt selektiert und mit einem Laserstrahl bearbeitet werden. Dabei kann ein selektiertes Objekt von der umgebenden Masse beispielsweise mit Hilfe des Laserstrahls rechnergestützt abgetrennt werden, um das jeweils selektierte Objekt von der umgebenden Masse frei zu präparieren. Anschließend kann das frei präparierte Objekt durch einen Laser-induzierten Transportprozess mit Hilfe eines Laserschusses, welcher auf das frei präparierte Objekt gerichtet wird, von dem Träger zu einer Auffangvorrichtung katapultiert werden. Als Träger kann beispielsweise eine Polymerfolie verwendet werden.

[0003] Die DE 37 18 066 A1 beschreibt ein Verfahren zur Mikroinjektion in Zellen, das eine Markierung von Zellen, die injiziert werden sollen, erlaubt. Ein Rechner verwaltet die Koordinaten der markierten Zellen. Die DE 38 36 716 A1 beschreibt ein Verfahren zur Auswertung von Zellbildern, bei dem mehrere zeitlich aufeinanderfolgende Bilder eines Bildfelds erfasst werden und benutzerdefiniert Markierungen angebracht werden können. Durch die Markierungen können Gruppen von Zellen definiert werden. Markierungen werden zur Auswertung in zeitlich aufeinanderfolgende Bilder übernommen.

[0004] Das zuvor beschriebene Verfahren der WO 97/29355 A1, der DE 100 15 157 A1 oder der WO 01/73398 A1 ermöglicht die Separierung, Sortierung und Gewinnung sowohl von biologischen Objekten als auch von nicht-biologischen Objekten. Im Rahmen der vorliegenden Patentanmeldung werden unter dem Begriff „biologische Objekte“ vor allem lebende oder fixierte biologische Zellen oder Zellbestandteile verstanden, welche Bestandteil eines flüssigen oder festen biologischen Materials, wie beispielsweise eines Zellgewebes, eines Abstriches oder einer Zellkultur etc., sind. Mit Hilfe des zuvor beschriebenen Verfahrens können die jeweils selektierten Objekte gezielt mit einer ausgewählten Substanz durch berührungslose Laser-Mikroinjektion be-

laden und anschließend die erfolgreich injizierten biologischen Objekte aussortiert werden. Die biologischen Objekte können nebeneinander auf einem festen planaren Träger aufgebracht sein, wobei der Vorgang des Absonderns innerhalb kurzer Zeit und berührungslos durchgeführt werden kann. Die Überlebensfähigkeit bzw. die Morphologie der biologischen Objekte wird gewährleistet, d. h. die biologischen Objekte werden durch den Mikroinjektionsvorgang und durch den Abtrenn- und Katapultierprozess nicht geschädigt bzw. beeinträchtigt.

[0005] Im Prinzip kann der zuvor erläuterte Laser-induzierte Transportprozess, d. h. das Herauskatapultieren einzelner zuvor selektierter Objekte aus der jeweils umgebenden Masse, auch ohne vorhergehende Freipräparation des jeweils selektierten Objekts erfolgen, wenn die Laserenergie und/oder der Laserfokus im Moment des Setzens des separaten Laserschusses derart gewählt wird bzw. gewählt werden, dass die daraus resultierende Impulskraft dieses Laserschusses zum Herauslösen des entsprechenden Objekts aus der umgebenden Masse und für den Transportvorgang zu der Auffangvorrichtung ausreicht.

[0006] Da das zuvor beschriebene Verfahren manuell nur relativ aufwändig mit der gewünschten Präzision durchgeführt werden kann, sind die Laser-Mikrodissektionssysteme der obigen Druckschriften rechnergestützt ausgestaltet, d. h. das Ausschneiden und/oder Katapultieren eines selektierten Objekts erfolgt rechnergestützt, so dass die Laserlichtquelle, welche den zum Schneiden und/oder Katapultieren dienenden Laserstrahl erzeugt, automatisch angesteuert und die zum Schneiden und/oder Katapultieren erforderliche Relativbewegung zwischen dem Laserstrahl und dem die biologischen bzw. nicht-biologischen Objekte aufweisenden Träger automatisch herbeigeführt und gesteuert wird. Insbesondere ist eine rechnergestützte Selektion bzw. Markierung der auf dem Träger befindlichen gewünschten Objekte möglich, so dass diese nachfolgend automatisch mit dem Laser-Mikrodissektionssystem bearbeitet werden können. Das Laser-Mikrodissektionssystem umfasst hierzu einen Bildschirm bzw. Monitor, auf dem ein von einer digitalen Kamera aufgenommenes Videobild des auf dem Träger befindlichen Materials dargestellt wird. Der Benutzer kann auf dem Bildschirm bzw. dem Videobild beispielsweise mit Hilfe entsprechender Grafiktools eine gewünschte Schnittkurve zeichnen, welche anschließend rechnergestützt automatisch mit dem Laserstrahl nachgefahren wird, um das somit selektierte Objekt auszuschneiden. Auf ähnliche Art und Weise kann auf dem Bildschirm bzw. auf dem Videobild auch ein gewünschtes Objekt zum Herauskatapultieren markiert werden, wobei anschließend der separate Laserimpuls bzw. Laserschuss an der gewünschten Stelle gesetzt wird.

[0007] Obwohl bei den zuvor erläuterten bekannten Laser-Mikrodissektionssystemen bereits grundsätzlich eine rechnergestützte und automatisierte Verarbeitung des auf dem Träger befindlichen Materials gegeben ist, ist dennoch die Verarbeitung einer Vielzahl biologischer Objekte, welche insbesondere unterschiedlicher Art sein können, relativ aufwändig, da die Objekte entweder nur einzeln oder in ihrer Gesamtheit bearbeitet werden können.

[0008] Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein Laser-Mikrodissektionssystem der zuvor beschriebenen Art bereitzustellen, bei dem die Benutzerfreundlichkeit und Funktionsvielfalt verbessert ist.

[0009] Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch ein Laser-Mikrodissektionssystem mit dem Merkmalen des Anspruchs 1 gelöst. Die Unteransprüche definieren jeweils bevorzugte und vorteilhafte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung.

[0010] Die vorliegende Erfindung wird nachfolgend anhand des Schneidens und/oder Katapultierens biologischer Objekte beschrieben. Die Erfindung ist jedoch ebenso für nicht-biologische Objekte (unbelebte Materie) anwendbar, wobei es sich z. B. um mikroskopisch kleine Objekte aus Glas, Silica, Kunststoff etc. oder künstlich hergestellte Vesikel usw. in einer biologischen Masse handeln kann. Ebenso ist die vorliegende Erfindung auf nicht-biologische Massen oder Materialien, z. B. Polymermassen oder dergleichen, anwendbar, aus denen mikroskopisch kleine Objekte mit Hilfe des Laser-Mikrodissektionssystems herausgelöst werden sollen.

[0011] Das erfindungsgemäße Laser-Mikrodissektionssystem umfasst eine Laserlichtquelle zur Erzeugung eines Laserstrahls, der auf das auf einem entsprechenden Träger befindliche zu bearbeitende Material zu richten ist. Des Weiteren ist eine Bildaufnahmevorrichtung, beispielsweise mit einer CCD-Kamera, vorgesehen, welche ein Video- bzw. Abbild des auf dem Träger befindlichen Materials erzeugt und auf einer Anzeigenvorrichtung, beispielsweise einem Bildschirm, des Laser-Mikrodissektionssystems darstellt. Dieses Abbild wird mit einer Benutzerschnittstelle des Laser-Mikrodissektionssystems überlagert, um jeweils die gewünschten, mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekte auswählen und entsprechend den Objektgruppen zuordnen zu können. Das Laser-Mikrodissektionssystem umfasst Steuermittel zum Auswerten der somit durchgeführten Benutzerauswahl und zum Erstellen einer Liste, in welcher die ausgewählten Objekte mit einer Angabe oder Bezeichnung der jeweils zugeordneten Objektgruppe derart enthalten sind, dass unter Orientierung an der Objektgruppenangabe eine weitergehende Auswahl der Objekte und/oder eine objektgruppenspezifische Auswahl für eine nachfolgende Bearbeitung

mit dem Laserstrahl möglich ist. Die Steuermittel sind derart ausgestaltet, dass sie eine Bearbeitung der der ausgewählten Objektgruppe zugeordneten Objekte gruppenspezifisch mit dem Laserstrahl derart veranlassen, dass sämtliche Objekte einer ersten Objektgruppe in einem ersten Auffangbehälter und sämtliche Objekte einer zweiten Objektgruppe in einem zweiten Auffangbehälter gesammelt werden und/oder dass die Bearbeitung gemäß einer gruppenspezifischen Laserfunktion, die aus einer Gruppe vorgegebener Laserfunktionen auswählbar ist, erfolgt. Diese Steuermittel sind insbesondere in einem PC-Rechner oder Computer des Laser-Mikrodissektionssystems implementiert.

[0012] Zur Auswahl und zur Zuordnung der gewünschten, mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekte werden unterschiedliche Markierungsarten dem Benutzer zur Verfügung gestellt, so dass der Benutzer auf der Anzeigenvorrichtung rechnergestützt beispielsweise durch entsprechende Wahl der Markierung das jeweils gewünschte Objekt einerseits festlegt und andererseits gleichzeitig der entsprechenden Objektgruppe zuordnet, wobei jeder Objektgruppe eine andere Markierung zugewiesen ist. So können beispielsweise dem Benutzer unterschiedliche Farben für die Markierung der gewünschten Objekte angeboten werden, wobei der Benutzer mit Hilfe entsprechender graphischer Hilfsmittel z. B. eine Schnittlinie für ein auszuschneidendes biologisches Objekt auf der Anzeigenvorrichtung in der gewünschten Farbe zeichnen kann. Auf diese Weise ist es möglich, auf der Anzeigenvorrichtung beispielsweise gesunde Zellen in einer ersten Farbe und Tumorzellen in einer zweiten Farbe zu markieren, wobei in der von den Steuermitteln erstellten Liste die einzelnen Objekte nach Farben sortiert und zusammengefasst werden. Durch Auswählen einer Objektgruppe (welche von den Steuermitteln auf der Anzeigenvorrichtung vorzugsweise mit der entsprechenden Farbe angezeigt wird) ist es dann möglich, alle dieser Objektgruppe zugehörigen Objekte automatisch, d. h. rechnergestützt, zu bearbeiten, wobei die entsprechenden Objekte nacheinander angefahren und mit Hilfe des Laserstrahls beispielsweise ausgeschnitten und/oder herauskatapultiert werden. Selbstverständlich ist anstelle der Markierung mittels unterschiedlicher Farben auch jede andere Art von unterscheidungskräftiger Markierung möglich. So kann beispielsweise eine auf dem Videobild um ein gewünschtes Objekt herum gezeichnete Schnittlinie mit einem eindeutigen Identifier, welcher die jeweils gewünschte Objektgruppe identifiziert, überlagert werden etc.

[0013] Durch die zuvor beschriebene Vorgehensweise ist es möglich, die zuvor ausgewählten und markierten Objekte mit dem Laserstrahl gruppenspezifisch zu bearbeiten. D. h. es können beispielsweise zunächst alle einer ersten Objektgruppe zugeordneten Objekte mit dem Laserstrahl bearbeitet werden,

während anschließend dann alle einer zweiten Objektgruppe zugeordneten Objekte bearbeitet werden. Dies ermöglicht, dass sämtliche Objekte der ersten Objektgruppe in einem ersten Auffangbehälter und sämtliche Objekte der zweiten Objektgruppe in einem zweiten Auffangbehälter nach Durchführung des Schneide- und/oder Katapultiervorgangs gesammelt werden können. Bei den Objekten der ersten Gruppe kann es sich – wie bereits erwähnt worden ist – beispielsweise um Tumorzellen handeln, während es sich bei den Objekten der zweiten Gruppe beispielsweise um gesunde Zellen handeln kann. Die Separierung der gewünschten Objekte wird auf diese Weise für den Benutzer deutlich vereinfacht und beschleunigt.

[0014] Vorteilhafterweise kann für jede Objektgruppe eine unterschiedliche Laser-Bearbeitungsart ausgewählt und eingestellt werden. Hierzu werden von dem Laser-Mikrodissektionssystem mehrere unterschiedliche Laserfunktionen zur Verfügung gestellt, wobei insbesondere auch für jede Objektgruppe separat die Anzahl der Wiederholungen der voreingestellten Laser-Bearbeitung ausgewählt werden kann.

[0015] Die von den Steuermitteln des Laser-Mikrodissektionssystems erzeugte Liste, in welcher die von dem Benutzer zuvor ausgewählten Objekte gruppenweise zusammengefasst sind, umfasst vorzugsweise für jede Gruppe eine Angabe der Anzahl der darin enthaltenen Objekte sowie der Gesamtfläche der darin enthaltenen Objekte. Hierzu ist das Laser-Mikrodissektionssystem mit einer automatischen Flächenberechnungsfunktion ausgestattet, welche ermöglicht, dass nach dem Zeichnen einer Schnittlinie um ein gewünschtes Objekt automatisch die von dieser Schnittlinie eingeschlossene Fläche des somit ausgewählten Objekts berechnet wird. Auf diese Weise werden dem Benutzer wichtige zusätzliche Informationen über die bearbeiteten Objekte – aufgeteilt nach den jeweiligen Objektgruppen – zur Verfügung gestellt.

[0016] Neben dem zuvor erläuterten Listenabschnitt wird von den Steuermitteln vorzugsweise auch ein Listenabschnitt erzeugt und auf der Anzeigenvorrichtung dargestellt, welcher Informationen über jedes einzelne zu bearbeitende Objekt, über den jeweiligen Objekttyp, über die jeweilige Objektfläche und/oder über die jeweils zugewiesene Objektgruppe enthalten kann. Hinsichtlich des Objekttyps kann beispielsweise unterschieden werden, ob es sich um ein durch eine Schnittlinie definiertes Objekt oder lediglich um ein durch einen Katapultierpunkt definiertes Objekt handelt etc. Innerhalb dieses Listenabschnitts kann jedes einzelne Objekt bzw. eine beliebige Auswahl der dargestellten Objekte markiert werden, um die entsprechend markierten Objekte anschließend gemeinsam mit der gewünschten Laserfunktion bearbeiten zu können.

[0017] Die von den Steuermitteln erzeugte Liste kann wahlweise auch nur den erstgenannten Listenabschnitt, in dem die ausgewählten Objekte objektgruppenweise zusammengefasst sind, oder nur den zweitgenannten Listenabschnitt, in dem die einzelnen ausgewählten Objekte enthalten sind, aufweisen. Wichtig ist jedoch, dass in jedem Fall eine Objektgruppenangabe vorgesehen ist, um eine weitere Selektion anhand der Objektgruppenangabe zu ermöglichen.

[0018] Die von den Steuermitteln erstellte Liste bzw. die darin enthaltenen Objektinformationen können in einem geeigneten Speichermedium bzw. in dem Arbeitsspeicher des Laser-Mikrodissektionssystems gespeichert werden. Dabei ist es vorteilhaft, für die ausgewählten Objekte eine Referenzposition auf dem entsprechenden Träger festzulegen, auf welche sich die jeweiligen Objektpositionen der ausgewählten Objekte beziehen, so dass bei einer späteren Bearbeitung des entsprechenden Trägers und beim Laden der gespeicherten Objektinformationen ausgehend von der zuvor festgelegten Referenzposition ein einfaches Anfahren und Auffinden der hierzu relativ abgespeicherten Objektpositionen möglich ist.

[0019] Als Laserquelle des Laser-Mikrodissektionssystems wird vorzugsweise ein gepulster UV-Laser eingesetzt. Als Träger kann ein Glas-Objektträger verwendet werden, welcher vorzugsweise mit einer Trägerfolie, bestehend aus einer UV-absorbierenden Polymerfolie mit einer Dicke zwischen beispielsweise 5 µm und 15 µm, beschichtet sein kann, wobei das Absorptionsverhalten der Trägerfolie an die Wellenlänge des UV-Lasers angepasst ist und somit vorzugsweise in der Umgebung der Laserwellenlänge ein Absorptionsmaximum besitzt. Ebenso können als Träger auf Rahmen gespannte Trägerfolien bzw. Trägermembrane oder auch Teflonmembrane in Form von so genannten Petrischälchen etc. verwendet werden. Als Auffangvorrichtung zum Auffangen bzw. Aufnehmen von aus dem zu bearbeitenden Material herausgelösten Objekten kann ein Auffangsubstrat verwendet werden, welches in Form einer Folie oder Platte oder auch in Form eines topfförmigen Behälters ausgebildet sein kann. Insbesondere werden als Auffangvorrichtung Mikrozentrifugenbehälter empfohlen, wie sie in der Molekularbiologie verwendet werden, oder die Abdeckkappen („Caps“) davon, wobei insbesondere mehrere derartige Auffangbehälter nebeneinander angeordnet sein können, um nacheinander unterschiedliche Objekte in unterschiedliche Auffangbehälter befördern zu können. Ebenso ist als Auffangvorrichtung beispielsweise der Einsatz einer Mikrotiterplatte mit einer Vielzahl von Vertiefungen („Wells“) möglich, so dass nacheinander mehrere Objekte von unterschiedlichen Vertiefungen aufgefangen werden können. Die Auffangvorrichtung kann mit einer adhäsiven Schicht versehen sein, so dass herausgelöste Objekte durch die

Klebeschicht fixiert werden können. Vorzugsweise ist für den Träger und/oder die Auffangvorrichtung eine rechnergestützt ansteuerbare Verstellvorrichtung vorgesehen, um eine automatische Positionierung dieser Einheiten zu ermöglichen.

[0020] Die Funktion der zuvor erläuterten erfindungsgemäßen Steuermittel kann insbesondere softwaremäßig in Form eines entsprechenden Steuerprogramms für das Laser-Mikrodissektionssystem implementiert sein. Die vorliegende Erfindung betrifft somit nicht nur das Laser-Mikrodissektionssystem als solches, sondern auch die Ausgestaltung des entsprechenden Steuerprogramms bzw. das computerlesbare Speichermedium, welches dieses Steuerprogramm speichert.

[0021] Die vorliegende Erfindung wird nachfolgend näher unter Bezugnahme auf die beigefügte Zeichnung anhand bevorzugter Ausführungsbeispiele erläutert.

[0022] Fig. 1 zeigt den Aufbau eines Laser-Mikrodissektionssystems gemäß einem bevorzugten Ausführungsbeispiel,

[0023] Fig. 2 zeigt die Darstellung eines beispielhaften Bildschirmbilds des in Fig. 1 gezeigten Laser-Mikrodissektionssystems zur Auswahl und Markierung gewünschter biologischer Objekte, und

[0024] Fig. 3 zeigt beispielhaft eine Bildschirmdarstellung des in Fig. 1 gezeigten Laser-Mikrodissektionssystems mit einer Liste, in der von einem Benutzer zuvor ausgewählte und markierte biologische Objekte enthalten sind.

[0025] Das in Fig. 1 gezeigte Laser-Mikrodissektionssystem umfasst eine Laservorrichtung 4, in der eine Laserlichtquelle zur Erzeugung eines Laserstrahls untergebracht ist. Des Weiteren ist in der Laservorrichtung 4 eine Optik mit Linse 6 untergebracht, die erforderlich ist, um den Laserstrahl in ein Mikroskop 1 einzukoppeln und den Laserfokus in der Objektebene auf den optischen Fokus des Mikroskops 1 abzustimmen. Im vorliegenden Fall handelt es sich beispielsweise um einen gepulsten UV-Stickstofflaser mit einer Wellenlänge von 337 nm, eine Impulsenergie von 270 µJ, einer Impulsdauer von 3 ms und einer Impulsfrequenz von 1–30 Impulsen/Sekunde.

[0026] Zur präzisen Verstellung der Laserenergie ist ein Quarzfilter 5 senkrecht zum Laserstrahlpfad angeordnet, der über ein (nicht gezeigtes) Steuerpaneel zur entsprechenden Einstellung der Laserenergie manuell oder auch automatisch verstellt werden kann. Neben der Einstellung der Laserenergie kann auch der Laserfokus unabhängig von dem Mikroskopfokus eingestellt werden, d. h. der Brennpunkt des Lasers kann in z-Richtung relativ zu der Objekt-

ebene des Mikroskops 1 verschoben werden, wobei zu diesem Zweck die in Fig. 1 gezeigten Linsen 6 über einen Schrittmotor bewegt werden können. Auch diese Verstellung kann sowohl manuell als auch automatisch erfolgen.

[0027] Der Laserstrahl wird über mehrere beschichtete Strahlteiler in das Mikroskop 1 eingekoppelt und zu einem Objektiv 12 hin abgelenkt. Der Durchmesser des auf der Objektebene auftreffenden Laserstrahls ist maßgeblich von der numerischen Apertur des Objektivs 12 abhängig. Ein Objektiv mit einer relativ hohen numerischen Apertur ermöglicht Laserstrahldurchmesser kleiner als 1 µm. Zudem sollte darauf geachtet werden, dass das jeweils verwendete Objektiv 12 eine hohe Durchlässigkeit für die jeweilige Laserwellenlänge aufweist, um Energieverluste zu minimieren.

[0028] Der über das Objektiv 12 emittierte Laserstrahl trifft schließlich auf einen motorisierten und computergesteuerten Mikroskop- oder Trägertisch 3, auf dem ein Träger mit einem zu bearbeitenden biologischen Material angeordnet ist. Oberhalb des Trägertisches 3 befindet sich ein manuell betätigbarer oder vorzugsweise ebenfalls motorisierter und computergesteuerter Manipulator 2. Die Komponenten 2 und 3 ermöglichen eine exakte Objektpositionierung mit hoher Präzision sowie die automatische Durchführung von µ-Manipulationsprozeduren.

[0029] Der motorisierte Trägertisch 3 ist entlang zweier linearer Achsen (x/y-Richtung) verfahrbar. An dem motorisierten Manipulator 2 kann beispielsweise eine Nadel oder Mikropipette zur Mikroinjektion angebracht sein. Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird jedoch davon ausgegangen, dass an dem Manipulator 2 eine Auffangvorrichtung angebracht ist, um von dem Träger wegkatapultierte biologische Objekte aufzufangen. Der motorisierte Manipulator 2 kann sowohl in x/y-Richtung als auch in z-Richtung verfahren werden.

[0030] Bei dem Mikroskop 1 kann es sich um ein beliebig ausgestaltetes Mikroskop handeln. Insbesondere ist sowohl die Verwendung eines inversen als auch eines aufrechten Mikroskops oder eines Lasermikroskops denkbar. Bei dem in Fig. 1 dargestellten Laser-Mikrodissektionssystem handelt es sich um einen inversen Aufbau, bei dem der Laserstrahl von unten auf den Träger trifft, um darauf befindliche biologische Objekte nach oben zu der Auffangvorrichtung zu katapultieren. Bei einem aufrechten Aufbau trifft hingegen der Laserstrahl von oben auf den Träger, so dass aus dem biologischen Material herausgelöste Objekte nach unten auf die unterhalb des Trägers befindliche Auffangvorrichtung fallen.

[0031] Das Mikroskop 1 ist mit einer Videokamera, insbesondere einer CCD-Videokamera („Charge

Coupled Device") ausgestattet, die den Bereich des Trägers **3** oberhalb des Objektivs **12** aufnimmt. Das Videosignal dieser Videokamera wird einem handelsüblichen Computer („Personal Computer“) **7** zugeführt und dort verarbeitet, so dass das entsprechende Videobild in Echtzeit auf dem Bildschirm oder dem Monitor **8** des Computers **7** dargestellt werden kann. Ebenso ist ein Speichern einzelner Videobilder auf einem geeigneten Speichermedium des Computers **7** möglich. Des Weiteren kann mit dem Computer **7** auch ein analoger oder digitaler Videorecorder zum Aufzeichnen der von der Videokamera gelieferten Videobilder gekoppelt sein.

[0032] Wie nachfolgend näher beschrieben wird, sind auf dem Computer **7** bzw. durch die darauf ablaufende Software verschiedene Funktionen implementiert, die sowohl eine rechnergestützte, d. h. automatische, Ansteuerung der Laservorrichtung **4** als auch des Mikroskops **1** ermöglichen, so dass beispielsweise der Laser automatisch aktiviert und der Manipulator **2** bzw. der Trägertisch **3** automatisch verfahren werden können. Ebenso ermöglichen diese rechnergestützten Funktionen eine besonders benutzerfreundliche Auswahl und Bearbeitung gewünschter biologischer Objekte des auf dem Träger befindlichen biologischen Materials. Zur Einstellung bzw. Auswahl dieser Funktionen sind herkömmliche Eingabemittel, wie beispielsweise eine Tastatur **9** oder eine Computermaus **10**, vorgesehen. Des Weiteren ist der Laservorrichtung **4** ein Fußschalter **11** zugeordnet, durch dessen Betätigung der Laser manuell aktiviert werden kann.

[0033] Nachfolgend sollen die bei dem in **Fig. 1** gezeigten Laser-Mikrodissektionssystem vorgesehenen Funktionen näher erläutert werden.

[0034] Nach dem Einschalten des Computers **7** wird auf dem Bildschirm **8** das von der Videokamera augenblicklich aufgenommene Mikroskopbild dargestellt, wie es beispielsweise in **Fig. 2** gezeigt ist. Der Laser-Zielpunkt **13** ist in **Fig. 2** mit einem Kreuz dargestellt. Neben diesem Mikroskopbild werden auf dem Bildschirm softwaremäßig realisierte Einstellungsmöglichkeiten zur Einstellung der Laserenergie, des Laserfokus, der Laserfunktion, der Vergrößerung der verwendeten Objektivlinse **12**, zum Abspeichern des dargestellten Mikroskopbilds etc. oder Möglichkeiten zum Aufrufen weiterer Menüfenster dargestellt, auf die an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden soll. Das Steuerprogramm wird im Wesentlichen über die in **Fig. 1** gezeigte Computermaus **10** gesteuert, wobei jedoch die wesentlichen Funktionen auch durch entsprechende Tastenkombinationen der Tastatur **9** aufgerufen werden können.

[0035] Im Wesentlichen kann zwischen zwei unterschiedlichen Betriebsmodi unterschieden werden.

[0036] Im sogenannten Cursor-Modus können mit Hilfe der Maus **10** Menüs geöffnet, entsprechende Menüfunktionen ausgewählt und sogenannte Buttons angeklickt werden. Im Verfahr-Modus werden hingegen Bewegungen der Maus **10** direkt in entsprechende Verstellsignale und somit entsprechende mechanische Bewegungen des Trägertisches **3** oder des Manipulators **2** umgesetzt. Unterhalb des Mikroskopbildes kann ein Statusfenster angezeigt werden, welches u. a. anzeigt, ob sich die Steuerung augenblicklich im Cursor-Modus oder im Verfahr-Modus befindet. Dieses Statusfenster kann zudem die X- und Y-Koordinaten anzeigen, welche die absolute Position (in μm) des Mikroskop- bzw. Trägertisches **3** bezogen auf eine Null-Position definieren.

[0037] Neben den zuvor erläuterten Funktionen werden zusätzlich zu dem Mikroskopbild so genannte Grafiktools auf dem Bildschirm **8** dargestellt, mit deren Hilfe auf dem Bildschirm **8** bzw. auf dem dargestellten Mikroskopbild Freihandlinien oder vorgegebene Figuren, wie beispielsweise Rechtecke, Kreise, gerade Linien oder Ellipsen, gezeichnet werden können, so dass das Mikroskopbild mit diesen grafischen Elementen überlagert auf dem Bildschirm **8** dargestellt wird. Zudem kann auf dem Bildschirm **8** eine Farbpalette dargestellt werden, so dass für jedes gezeichnete Element die gewünschte Farbe, welche auf dem Bildschirm **8** erscheint, ausgewählt werden kann. Dabei wird die jeweils ausgewählte Farbe als Standardvorgabe („Default“) für alle Elemente des augenblicklich ausgewählten Elementtyps gespeichert. Auf diese Weise ist es möglich, unterschiedliche biologische Objekte des auf dem Träger **3** befindlichen biologischen Materials **14**, welches in Form des Video- bzw. Mikroskopbilds auf dem Bildschirm **8** dargestellt wird, durch unterschiedliche Farben auszuwählen und zu markieren.

[0038] Bei dem in **Fig. 2** dargestellten Beispiel wird davon ausgegangen, dass der Benutzer mit Hilfe der zuvor erläuterten Grafiktools um zwei biologische Objekte eine Freihand-Schnittlinie **16** in einer ersten Farbe, welche in **Fig. 2** durch ein Quadrat angedeutet ist, gelegt hat. In einer zweiten Farbe, welche in **Fig. 2** durch einen Kreis angedeutet ist, wurden zwei weitere Objekte mit Hilfe entsprechender Freihand-Schnittlinien markiert. Drei weitere Objekte wurden auf analoge Art und Weise durch eine Freihand-Schnittlinie in einer dritten Farbe, welche durch ein Dreieck angedeutet ist, selektiert bzw. markiert. In einer vierten Farbe, welche durch einen Stern angedeutet ist, wurde schließlich eine weitere Freihand-Schnittlinie um ein weiteres biologisches Objekt gelegt, wobei jedoch im Gegensatz zu den zuvor erläuterten Freihand-Schnittlinien diese Freihand-Schnittlinie nicht ganz geschlossen ist. Die in **Fig. 2** gezeigten Schnittlinien dienen nicht nur zur Markierung und Selektion der entsprechenden biologischen Objekte, sondern für die nachfolgende Laserbearbeitung des

auf dem Trägertisch **3** befindlichen biologischen Materials **14** auch als Vorgabe für die automatische Relativbewegung zwischen dem Trägertisch **3** und dem Laserstrahl der Laservorrichtung **4**, um den Laserstrahl entlang der jeweils vorgegebenen Schnittlinie zu führen und somit das jeweils selektierte biologische Objekt von der umgebenden biologischen Masse frei zu präparieren.

[0039] Im Rahmen des vorliegenden Ausführungsbeispiels wird davon ausgegangen, dass die unterschiedlichen biologischen Objekte **15** für die nachfolgende Laserbearbeitung in unterschiedlichen Farben markiert werden, wobei alle in ein- und derselben Farbe markierten Objekte eine entsprechende Objektgruppe bilden. Selbstverständlich ist jedoch auch abgesehen von der Verwendung unterschiedlicher Farben eine anderweitige Art der Markierung der einzelnen biologischen Objekte auf dem Bildschirm **8** möglich. So kann beispielsweise – wie in **Fig. 2** gezeigt ist – für jede Schnittlinie eine andere Art der grafischen Darstellung (in **Fig. 2** mit einem Rechteck, Kreis, Dreieck oder Stern) gewählt werden. Von Bedeutung ist dies bezüglich lediglich, dass die Markierung jeweils derart gewählt wird, dass eine möglichst deutliche Unterscheidung der einzelnen Gruppen, in denen jeweils die biologischen Objekte mit derselben Markierung zusammengefasst sind, möglich ist.

[0040] Bei dem in **Fig. 2** gezeigten Beispiel sind die zuvor erläuterten Grafiktools derart eingestellt, dass jedes mit einer Freihand-Schnittlinie **16** markiertes bzw. selektiertes biologisches Objekt mit einer durchlaufenden Nummer versehen ist, welche auch auf dem Bildschirm **8** dargestellt wird. Die biologischen Objekte mit der Nummer „1“ und „2“, die biologischen Objekte mit der Nummer „3“ und „4“, die biologischen Objekte mit der Nummer „5“–„7“ und das biologische Objekt mit der Nummer „8“ bilden somit jeweils eine Objektgruppe. Die Anzeige dieser Nummern auf dem Bildschirm **8** kann wahlweise auch deaktiviert werden. Darüber hinaus umfasst die Software des Laser-Mikrodissektionssystems eine Funktion, mit welcher die Entfernung zwischen zwei auf dem Mikroskopbild ausgewählten Punkten gemessen werden kann. So kann beispielsweise auf dem Mikroskopbild ein Startpunkt ausgewählt werden, wobei automatisch die Messung der Entfernung zu diesem Startpunkt während der Bewegung der Maus **10** erfolgt, wenn eine entsprechende Maustaste der Maus **10** gedrückt gehalten wird. Ebenso kann die Software eine Funktion zur automatischen Berechnung des Flächeninhalts eines auf zuvor erläuterte Art und Weise selektierten bzw. markierten biologischen Objekts, welches von einer zuvor gezeichneten Schnittlinie **16** begrenzt ist, aufweisen. Der Flächeninhalt des jeweiligen biologischen Objekts wird dann beispielsweise in μm^2 auf dem Bildschirm **8** des Laser-Mikrodissektionssystems dargestellt. Als weitere Funktion können die Grafiktools des Laser-Mikrodissektionssys-

tems auch eine „Radiergummi“-Funktion aufweisen, um zuvor auf dem Bildschirm **8** gezeichnete Grafikelemente wieder zu löschen. Ebenso kann über eine entsprechende Funktion an jeder beliebigen Stelle des auf dem Bildschirm **8** dargestellten Videobilds ein gewünschter Textkommentar eingefügt werden.

[0041] Die zuvor beschriebene Markierung bzw. Selektierung der gewünschten biologischen Objekte **15** dient dazu, die für die nachfolgende Laserbehandlung gewünschten biologischen Objekte auszuwählen, d. h. es werden diejenigen biologischen Objekte festgelegt, welche später automatisch freipräpariert und/oder zu der Auffangvorrichtung katapultiert werden sollen. Für die auf diese Weise ausgewählten biologischen Objekte wird jeweils ein Eintrag in einer Liste generiert, welche ebenfalls auf dem Bildschirm **8** dargestellt wird. Der Aufbau dieser Liste soll nachfolgend näher unter Bezugnahme auf **Fig. 3** erläutert werden.

[0042] In einem oberen Listenabschnitt von **Fig. 3** ist für jedes zuvor ausgewählte Objekt ein Eintrag bzw. ein Element vorhanden. In einer Spalte A sind die einzelnen ausgewählten bzw. markierten Objekte in der Reihenfolge ihrer Markierung analog zu **Fig. 2** durchnummeriert. In einer Spalte B ist für jedes Element angegeben, um was für einen Typ es sich handelt, wobei insbesondere zwischen einem Typ „Line“ für eine Schnittlinie und einem Typ „Dot“ für einen einzelnen Katapultierpunkt, welche ebenfalls mit den vorgegebenen Grafiktools auf dem Videobild festgelegt werden kann, unterschieden wird. Bei dem in **Fig. 3** dargestellten Beispiel handelt es sich bei allen Elementen um vorgezeichnete Linien. Des Weiteren ist in einer Spalte C für jedes selektierte biologische Objekt die von der entsprechenden Schnittlinie eingeschlossene Fläche (vorzugsweise in μm^2) angegeben. In einer Spalte D kann zusätzlich wahlweise für jeden Eintrag ein entsprechender Kommentar eingefügt werden.

[0043] Wie aus **Fig. 3** ersichtlich ist, ist in einer weiteren Spalte **18** für jedes Element bzw. für jedes Objekt die bei der Selektion des jeweiligen Objekts gewählte Markierung oder Farbe angegeben.

[0044] Die Liste wird kontinuierlich auf den neuesten Stand gebracht. D. h. während der Markierung weiterer gewünschter biologischer Objekte durch den Benutzer auf dem Bildschirm **8** wird für jedes zusätzlich markierte biologische Objekt automatisch ein neuer Eintrag in der Liste generiert.

[0045] In einem unteren Listenabschnitt **29** ist eine zusammenfassende Aufstellung dargestellt, in welcher die Objekte nach Objektgruppen bzw. Markierungen/Farben sortiert und zusammengefasst sind. Dabei ist für jede Markierung/Farbe in einer Spalte F die Anzahl der jeweils enthaltenen Objekte und

in einer Spalte G die Gesamtfläche der dieser Objektgruppe zugeordneten Objekte angegeben. Eine abschließende Zeile dieses Listenabschnitts **29** gibt Aufschluss über die Gesamtanzahl der Objekte sämtlicher Objektgruppen, d. h. die Gesamtanzahl sämtlicher markierter Objekte, und deren Gesamtfläche.

[0046] Bei dem in **Fig. 3** dargestellten Beispiel ist ein Auswahlfeld **19** aktiviert, wobei bei dessen Aktivierung lediglich Listeneinträge des Typs „Live“ dargestellt werden. Einträge des Typs „Dot“ oder auch Texteinträge etc. werden jedoch bei Aktivierung des Auswahlfelds **19** nicht dargestellt.

[0047] Durch Anklicken eines Buttons **20** kann die dargestellte Liste gespeichert und geschlossen werden. Durch Anklicken eines Buttons **21** kann hingegen die Liste ohne Abspeichern geschlossen und somit verworfen werden. Durch Anklicken eines Buttons **22** können sämtliche Elemente der Liste sowie deren Eigenschaften (z. B. Markierung/Farbe, Nummer oder Typ etc.) sowie die zusammenfassenden Werte in eine Datei exportiert werden.

[0048] Ein Button **23** ermöglicht das Abspeichern sämtlicher Elemente der dargestellten Liste in einer Datei, wobei insbesondere für jedes Element bzw. für jedes biologische Objekt auch die Position in Bezug auf eine zuvor gewählte Referenzposition des jeweiligen biologischen Materials gespeichert wird. Vor dem Abspeichern muss somit rechnergestützt diese Referenzposition des Trägers bzw. des darauf befindlichen biologischen Materials bestimmt werden. Diese Referenzposition ist notwendig, um bei einer erneuten Verwendung eines Objektträgers mit einem bereits zuvor untersuchten biologischen Material sicherzustellen, dass die dort ausgewählten und markierten biologischen Objekte korrekt angefahren bzw. positioniert werden können. Dabei kann für jeden Objektträger bzw. für jede Probe eine unterschiedliche Referenzposition bestimmt werden. Bei Einlegen des Objektträgers werden dann die gewünschten biologischen Objekte in Bezug auf die zuvor bestimmte Referenzposition angefahren, d. h. die für jedes Element bzw. für jedes ausgewählte biologische Objekt abgespeicherten Positionsdaten sind relative Positionsdaten, welche auf die zuvor bestimmte Referenzposition bezogen sind. Über eine entsprechende Softwarefunktion kann von dem Benutzer beim Festlegen der Referenzposition auf dem dargestellten Mikroskopbild diese zugleich mit dem Laser in dem biologischen Material markiert werden, so dass später ein einfaches Auffinden der Referenzposition möglich ist.

[0049] Die Aktivierung eines Buttons **24** ermöglicht das Löschen sämtlicher Elemente der dargestellten Liste, während ein Button **28** lediglich das Löschen eines oder mehrerer ausgewählter Elemente der Liste erlaubt. Durch Anklicken eines Buttons **25** können

die dann verbliebenen Elemente der Liste neu nummeriert werden.

[0050] Mit Hilfe eines Buttons **26** kann jedes einzelne biologische Objekt derart angefahren werden, dass es zentriert auf dem Bildschirm **8** erscheint. Zur zentrierten Darstellung des Objekts Nummer „5“ muss lediglich die entsprechende Zeile im oberen Listenabschnitt von **Fig. 3** mit der Maus **10** markiert und anschließend der Button **26** aktiviert werden.

[0051] Jedes einzelne Element bzw. jedes einzelne biologische Objekt kann separat mit dem Laserstrahl bearbeitet werden. Soll beispielsweise das biologische Objekt Nr. „5“ bearbeitet werden, muss lediglich der entsprechende Eintrag im oberen Listenabschnitt mit der Maus markiert und anschließend ein Laserstartbutton **30** aktiviert werden. Anschließend wird rechnergestützt der Laserstrahl durch eine geeignete Relativbewegung zwischen dem Laserstrahl und dem Trägertisch **3** auf der gewünschten und gemäß **Fig. 2** vorgezeichneten Schnittlinie des jeweiligen biologischen Objekts positioniert und entlang der vorgezeichneten Schnittlinie bewegt, um das biologische Objekt frei zu präparieren. Auf analoge Art und Weise können auch mehrere der ausgewählten biologischen Objekte markiert und anschließend durch Aktivierung des Laserstartbuttons **30** nacheinander abgearbeitet werden.

[0052] Von besonderem Vorteil ist jedoch, dass auch in dem unteren Listenabschnitt **29** eine entsprechende Auswahl einzelner oder mehrerer Objektgruppen vorgenommen werden kann, so dass nach anschließender Aktivierung des Laserstartbuttons **30** nur die der ausgewählten Objektgruppe bzw. den ausgewählten Objektgruppen zugehörigen biologischen Objekte verarbeitet werden.

[0053] Sollen beispielweise Tumorzellen in einem Auffangbehälter und gesunde Zellen in einem weiteren Auffangbehälter plaziert werden, empfiehlt es sich, während des Abfahrens des gemäß **Fig. 2** auf dem Bildschirm **3** dargestellten Mikroskopbilds die gewünschten Zellen derart zu markieren, dass die Schnittlinien der Tumorzellen in einer ersten Farbe und die Schnittlinien der gesunden Zellen in einer zweiten Farbe gezeichnet werden. So sei beispielsweise angenommen, dass für die Tumorzellen zur Markierung die Farbe Blau verwendet wird, während für die gesunden Zellen zur Markierung die Farbe Gelb verwendet wird. In dem unteren Listenabschnitt **29** würde dann eine Zeile mit einer Zusammenfassung der „blauen“ Tumorzellen und eine Zeile mit der Zusammenfassung der „gelben“ gesunden Zellen erscheinen. Durch Markierung der „blauen“ Zeile („Highlighting“), entsprechende Positionierung des Auffangbehälters über dem Laserstrahl und anschließende Aktivierung des Laserstartbuttons **30** werden anschließend sämtliche „blauen“ Tumorzellen

len mit dem Laserstrahl bearbeitet und – abhängig von der in einem Auswahlfeld **32** eingestellten Laserfunktion – in den Auffangbehälter katapultiert. Anschließend kann die „gelbe“ Zeile mit der Maus **10** markiert, ein neuer Auffangbehälter über dem Laserstrahl positioniert und erneut der Laserstartbutton **30** aktiviert werden, so dass in dem zweiten Auffangbehälter sämtliche „gelbe“ gesunde Zellen aufgefangen werden.

[0054] In dem oberen Listenabschnitt ist neben der Spalte **18** eine weitere Spalte **17** vorgesehen, in der für jedes Element bzw. für jedes biologische Objekt der Bearbeitungsstatus angezeigt wird. Sobald ein biologisches Objekt nach Aktivierung des Laserstartbuttons **30** mit dem Laserstrahl bearbeitet worden ist, wird die diesem biologischen Objekt bzw. diesem Listeneintrag entsprechende „Checkbox“ markiert.

[0055] Für jede Aktivierung des Laserstartbuttons **30** kann die Anzahl der Wiederholungen der Laserbehandlung durch Eingabe eines entsprechenden Werts in ein weiteres Auswahlfenster **31** eingegeben werden. Bei dem in **Fig. 3** gezeigten Beispiel ist lediglich eine einfache Durchführung der gemäß dem Auswahlfenster **32** eingestellten Laserfunktion vorgesehen.

[0056] Wie bereits zuvor kurz erläutert worden ist, kann mit Hilfe des Auswahlfensters **32** für jede Laserbearbeitung eine bestimmte von mehreren vorgegebenen Laserfunktionen ausgewählt werden. Mit der gemäß **Fig. 3** voreingestellten Laserfunktion „RoboLPC“ wird bei Aktivierung des Laserstartbuttons **30** automatisch die vorgezeichnete Schnittlinie des jeweiligen biologischen Objekts bis auf einen vorgegebenen Reststeg abgefahren und anschließend ein separater Laserschuss auf die Mitte dieses Reststegs gesetzt, um das gewünschte biologische Objekt aus der umgebenden biologischen Masse heraus in den Auffangbehälter zu katapultieren. Wurde beim Vorzeichnen der Schnittlinie – wie bei dem in **Fig. 2** gezeigten biologischen Objekt mit der Nr. „8“ – die Schnittlinie weiter offengelassen als es der in dem System voreingestellten Breite dieses Reststegs entsprechen würde, wird automatisch diese überdimensionierte Lücke durch eine gerade Linie auf die vorgegebene Breite des Reststegs reduziert.

[0057] Eine weitere Laserfunktion „LPC“ kann beispielsweise zum Setzen separater Katapultier-Laserschüsse vorgesehen sein, d. h. ohne vorhergehende Freipräparation wird an der gewünschten Stelle ein Laserschuss gesetzt, um das entsprechende biologische Objekt herauszukatapultieren. Bei bestimmten Präparationen, wie beispielsweise zytozentrifugierten Zellen, kann dieser separat gesetzte Laserschuss bereits zum Herauskatapultieren ausreichen. Eine weitere Laserfunktion „Cut“ kann lediglich zum Schneiden entlang der vorgezeichneten Schnittlinie

vorgesehen sein, ohne dass ein anschließender Katapultier-Laserschuss gesetzt wird. Der Laserschuss kann dann separat an einer gewünschten Stelle auf dem freipräparierten biologischen Objekt mit Hilfe der zuvor erläuterten Laserfunktion gesetzt werden. Auch bei dieser reinen Schneidefunktion wird vorzugsweise das jeweilige biologische Objekt nicht vollständig freipräpariert, sondern es wird ein schmaler Reststeg vorgegebener Breite stehengelassen. Eine weitere vorgesehene Laserfunktion „CloseCut“ kann der zuvor erläuterten Schneidefunktion entsprechen, wobei jedoch die vorgezeichnete Schnittlinie mit dem Laserstrahl vollständig abgefahren wird, um das jeweilige biologische Objekt vollständig frei zu präparieren. Wurde die Schnittlinie von dem Benutzer nicht vollständig geschlossen, werden der Start- und Endpunkt der Schnittlinie durch eine gerade Linie von dem Laser-Mikrodissektionssystem verbunden, um eine geschlossene Schnittlinie zu erhalten. Eine weitere über das Auswahlfenster **32** einstellbare Laserfunktion „AutoLPC“ kann zum Abtragen einer zuvor auf dem Mikroskopbild markierten Fläche bzw. eines zuvor markierten biologischen Objekts vorgesehen sein. Bei Auswahl dieser Laserfunktion wird der Bereich innerhalb der vorgezeichneten Linie durch eine Vielzahl von nacheinander gesetzten Laserschüssen abgetragen und in den entsprechenden Auffangbehälter katapultiert. Die Anzahl der Laserschüsse pro Flächeneinheit kann dabei über ein entsprechendes Menü des Laser-Mikrodissektionssystems eingestellt werden. Eine weitere Laserfunktion „CloseCut & AutoLPC“ sieht schließlich eine Kombination der beiden zuvor erläuterten Laserfunktionen vor, d. h. das gewünschte biologische Objekt wird zunächst mit Hilfe einer vollständig geschlossenen Schnittlinie von der umgebenden biologischen Masse separiert und anschließend durch eine Vielzahl von nacheinander gesetzten Laserschüssen abgetragen und in den Auffangbehälter transportiert. Diese Vorgehensweise ist insbesondere dann sinnvoll, wenn der Benutzer jede Gefahr einer Kontaminierung des abzutragenden biologischen Materials durch benachbartes biologisches Material ausschließen will.

[0058] Für jeden Laserbearbeitungsvorgang, d. h. für jede Aktivierung des Laserstartbuttons **30**, kann somit die Laserfunktion über das Auswahlfenster **32** und die Anzahl der Wiederholungen dieser Laserfunktion über das Auswahlfenster **31** eingestellt werden. Andererseits kann für jede Aktivierung des Laserstartbuttons **30** durch entsprechende Markierung der gewünschten Elemente bzw. Objekte oder Objektgruppen in der dargestellten Liste ausgewählt werden, ob sich der entsprechende Vorgang auf einzelne Objekte oder ganze Objektgruppen erstrecken soll.

[0059] Wie bereits zuvor erwähnt worden ist, wird in der Spalte **17** für jedes bearbeitete Objekt die entsprechende „Checkbox“ gesetzt, sobald die Bearbei-

tung für dieses Objekt abgeschlossen worden ist. Zugleich wird in einer Spalte E die Anzahl der für das entsprechende Objekt durchgeführten Schneide- oder Katapultvorgänge festgehalten und dargestellt.

[0060] Die zuvor erläuterte Ausgestaltung des Laser-Mikrodissektionssystems ermöglicht beispielsweise, dass die in unterschiedlichen Objektgruppen zusammengefassten biologischen Objekte auf unterschiedliche Art und Weise mit dem Laser bearbeitet werden. So kann beispielsweise für die Objekte einer ersten Objektgruppe lediglich die Schneide-Laserfunktion eingestellt sein, während für die Objekte einer zweiten Objektgruppe die in **Fig. 3** voreingestellte „RoboLPC“-Laserfunktion vorgesehen ist. Auf diese Weise wird ein größtmögliches Maß an Flexibilität erzielt.

Patentansprüche

1. Laser-Mikrodissektionssystem zur Bearbeitung eines auf einem Träger (3) befindlichen Materials (14), mit einer Laserlichtquelle (4) zur Erzeugung eines auf das zu bearbeitende Material (14) zu richtenden Laserstrahls, um das Material (14) mit dem Laserstrahl zu bearbeiten, mit einer Bildaufnahmeverrichtung (1) zur Erzeugung eines Abbilds wenigstens eines Abschnitts des auf dem Träger (3) befindlichen Materials, mit einer Anzeigenvorrichtung (8) zur Darstellung des von der Bildaufnahmeverrichtung (1) erzeugten Abbilds, mit Auswahlmitteln (9, 10) zum Auswählen von mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekten (15) des auf dem Träger (3) befindlichen Materials (14), **dadurch gekennzeichnet**, dass über die Auswahlmittel (9, 10) ein jeweils ausgewähltes Objekt einer entsprechenden Objektgruppe zugeordnet werden kann, und dass Steuermittel (7) vorhanden sind zum Auswerten der mit Hilfe der Auswahlmittel (9, 10) durchgeführten Auswahl der zu bearbeitenden Objekte (15) und zum Erstellen einer Liste, in welcher die ausgewählten Objekte und/oder die Objektgruppen mit einer Bezeichnung der jeweils entsprechenden Objektgruppe enthalten sind, wobei über die Auswahlmittel (9, 10) eine beliebige erste Objektgruppe und zweite Objektgruppe in der Liste auswählbar sind und die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie eine Bearbeitung der der ausgewählten ersten Objektgruppe zugeordneten Objekte (15) und der der ausgewählten zweiten Objektgruppe zugeordneten Objekte (15) gruppenspezifisch mit dem Laserstrahl derart veranlassen, dass sämtliche Objekte der ersten Objektgruppe in einem ersten Auffangbehälter und sämtliche Objekte der zweiten Objektgruppe in einem zweiten Auffangbehälter gesammelt werden.

2. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass die zu bearbeitenden Objekte (15) durch entsprechende Markierung der Objekte auf dem von der Anzeigenvorrichtung (8) dargestellten Abbild des auf dem Träger (3) befindlichen Materials auswählbar sind, und dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie unterschiedliche Markierungsarten zur Verfügung stellen, wobei jede Markierungsart einer Objektgruppe zugeordnet ist, so dass alle mit einer bestimmten Markierungsart markierten und ausgewählten Objekte (15) eine entsprechende Objektgruppe bilden.

3. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie die Liste mit einem Listenabschnitt (29) erstellen, in dem die ausgewählten Objekte (15) in den entsprechenden Objektgruppen zusammengefasst sind, wobei die Liste mit dem Listenabschnitt (29) von den Steuermitteln (7) auf der Anzeigenvorrichtung (8) dargestellt wird, und wobei über die Auswahlmittel (9, 10) die Objektgruppe in dem Listenabschnitt (29) auswählbar ist.

4. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 2 und Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass in dem Listenabschnitt (29) der Liste für jede Objektgruppe die bei der Auswahl der entsprechenden Objekte (15) verwendete Markierung angegeben ist.

5. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 3 oder 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Steuermittel (7) eine Flächenberechnungsfunktion zur Berechnung der Fläche eines über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählten Objekts (15) umfassen, und dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass in dem Listenabschnitt (29) der Liste zu jeder Objektgruppe die Gesamtfläche aller der entsprechenden Objektgruppe zugeordneten Objekte enthalten ist.

6. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie die Liste mit einem Listeneintrag mit Objektinformationen zu den einzelnen über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählten und mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekten (15) erzeugen.

7. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 6,

dadurch gekennzeichnet,
dass die Steuermittel (7) eine Flächenberechnungsfunktion zur Berechnung der Fläche eines über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählten und mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekts (15) umfassen, und
dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie die Listeneinträge mit Objektinformationen, welche zu den ausgewählten Objekten (15) die jeweilige Objektfläche angeben, erzeugen.

8. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 6 oder 7, **dadurch gekennzeichnet,** dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass jeder Listeneintrag eine Angabe darüber enthält, ob das entsprechende Objekt (15) bereits mit dem Laserstrahl bearbeitet worden ist oder nicht.

9. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der Ansprüche 6–8, **dadurch gekennzeichnet,** dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass die Listeneinträge der von den Steuermitteln (7) erzeugten Liste eine Angabe zu dem Typ des entsprechenden Objekts (15) enthalten.

10. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der Ansprüche 1–9, **dadurch gekennzeichnet,** dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass die Bearbeitung gemäß einer gruppenspezifischen Laserfunktion, die aus einer Gruppe vorgegebener Laserfunktionen auswählbar ist, erfolgt, und dass die Gruppe von vorgegebenen Laserfunktionen mindestens eine erste Laserfunktion zum Schneiden mit dem Laserstrahl entlang einer über die Auswahlmittel (9, 10) vorgegebenen Schnittlinie und eine zweite Laserfunktion zum Setzen eines Laserschusses an einer über die Auswahlmittel (9, 10) vorgegebenen Position auf dem auf dem Träger (3) befindlichen Material (14) umfasst.

11. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der Ansprüche 1–10, **dadurch gekennzeichnet,** dass über die Auswahlmittel (9, 10) die Anzahl der Wiederholungen der Bearbeitung der über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählten Objekte (15) oder Objektgruppen mit dem Laserstrahl einstellbar ist.

12. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der Ansprüche 1–11, **dadurch gekennzeichnet,** dass die Steuermittel (7) eine Flächenberechnungsfunktion zur Berechnung der Fläche eines über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählten Objekts (15) umfassen, und
dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie die Liste mit einer Angabe über die Gesamtanzahl sämtlicher über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählter Objekte und mit einer Angabe über die Ge-

samtfläche der über die Auswahlmittel (9, 10) ausgewählten Objekte erzeugen.

13. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der Ansprüche 2–12, **dadurch gekennzeichnet,** dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie zur Markierung der zu bearbeitenden Objekte (15) unterschiedliche Markierungsarten zur Verfügung stellen und alle über die Auswahlmittel (9, 10) mit derselben Markierungsart markierten Objekte (15) einer entsprechenden Objektgruppe zuordnen, so dass jede Objektgruppe mit ein- und derselben Markierungsart markierte Objekte umfasst.

14. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 2 oder 13, **dadurch gekennzeichnet,** dass die unterschiedlichen Markierungsarten unterschiedliche Markierungsfarben, mit denen die zu bearbeitenden Objekte (15) auf dem auf der Anzeigenvorrichtung (8) dargestellten Abbild des auf dem Träger (3) befindlichen Materials markiert werden, sind.

15. Laser-Mikrodissektionssystem nach einem der Ansprüche 1–14, **dadurch gekennzeichnet,** dass die Steuermittel (7) eine Funktion zur Bestimmung einer Referenzposition auf dem auf dem Träger (3) befindlichen Material umfassen, und dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie beim Abspeichern der Liste in den Speichermitteln Positionen der ausgewählten Objekte in dem auf dem Träger (3) befindlichen Material in Bezug auf die Referenzposition abspeichern.

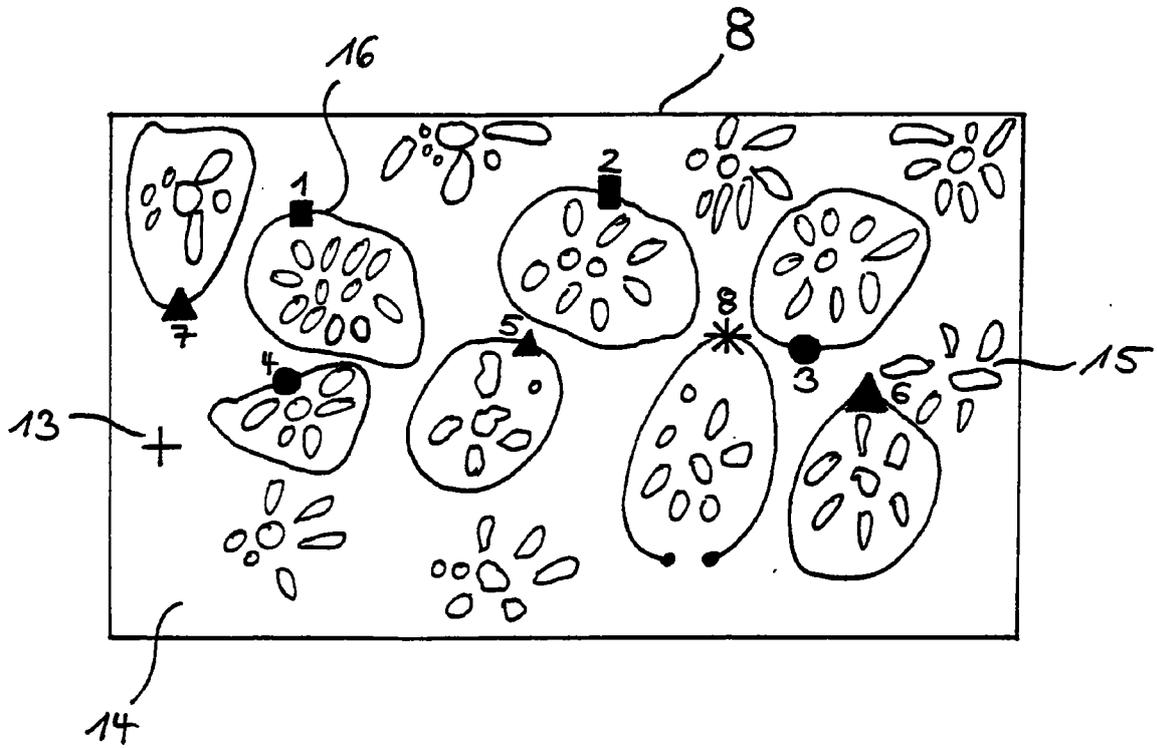
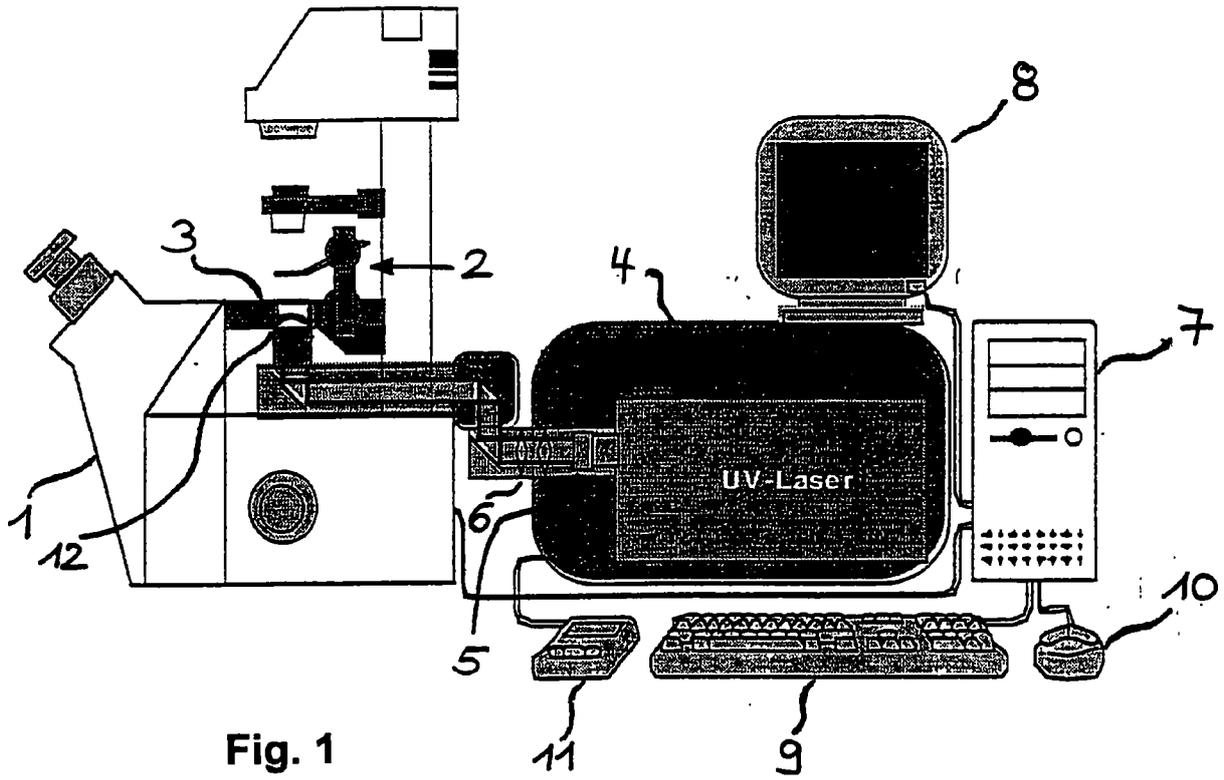
16. Laser-Mikrodissektionssystem nach Anspruch 15, **dadurch gekennzeichnet,** dass die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie eine Funktion (26) zum gezielten Anfahren eines in der Liste enthaltenen ausgewählten Objekts (15) umfassen, wobei die Steuermittel (7) derart ausgestaltet sind, dass sie die Position des entsprechenden Objekts (15) in Bezug auf die Referenzposition ermitteln und ausgehend von der Referenzposition eine Verstellung des Trägers (3) derart veranlassen, dass das entsprechende Objekt (15) des auf dem Träger (3) befindlichen Materials an einer bestimmten Stelle in dem auf der Anzeigenvorrichtung (8) dargestellten Abbild erscheint.

17. Computerlesbares Speichermedium, in dem ein Steuerprogramm zum computergestützten Steuern eines Laser-Mikrodissektionssystems zur Bearbeitung eines auf einem Träger (3) befindlichen Materials (14) gespeichert ist, wobei das Laser-Mikrodissektionssystem umfasst:
– eine Laserlichtquelle (4) zur Erzeugung eines auf das zu bearbeitende Material (14) zu richtenden Laserstrahls, um das Material (14) mit dem Laserstrahl zu bearbeiten,

- eine Bildaufnahmevorrichtung (1) zur Erzeugung eines Abbilds wenigstens eines Abschnitts des auf dem Träger (3) befindlichen Materials (14),
- eine Anzeigenvorrichtung (8) zur Darstellung des von der Bildaufnahmevorrichtung (1) erzeugten Abbilds, und
- Auswahlmittel (9, 10) zum Auswählen von mit dem Laserstrahl zu bearbeitenden Objekten (15) des auf dem Träger (3) befindlichen Materials (14),
dadurch gekennzeichnet,
dass das Steuerprogramm derart eingerichtet ist, dass es bei Ausführung in dem computergestützt gesteuerten Laser-Mikrodissektionssystem die Funktion der Steuermittel (7) des Laser-Mikrodissektionssystems nach einem der Ansprüche 1–16 ausführt.

Es folgen 2 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



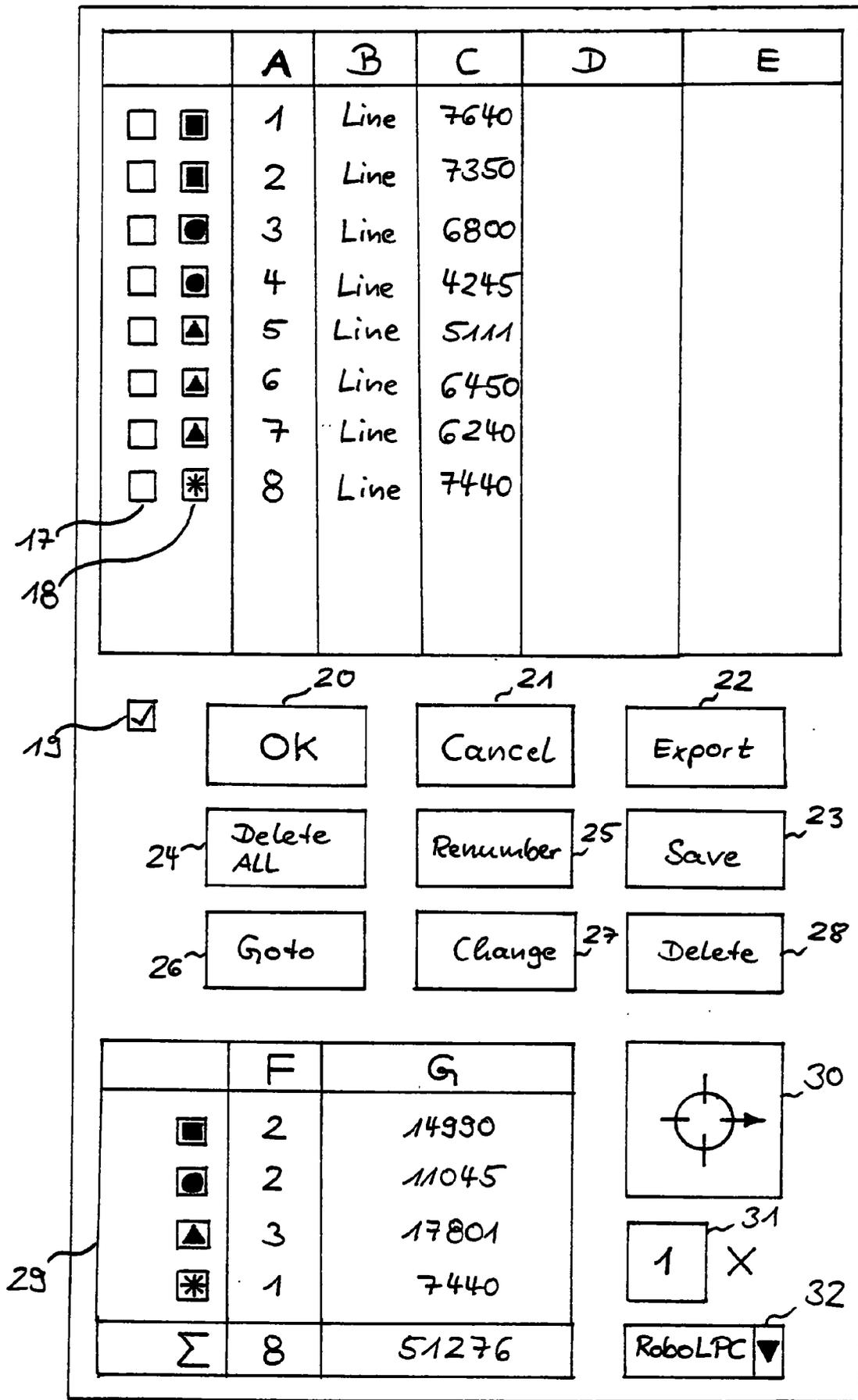


Fig. 3