

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

G01N 33/50

G01N 1/31

G01N 21/17

G02B 21/00



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 03818363.3

[43] 公开日 2005年9月21日

[11] 公开号 CN 1672048A

[22] 申请日 2003.8.29 [21] 申请号 03818363.3

[30] 优先权

[32] 2002. 8. 30 [33] GB [31] 0220157.2

[32] 2002. 11. 27 [33] GB [31] 0227649.1

[86] 国际申请 PCT/GB2003/003726 2003. 8. 29

[87] 国际公布 WO2004/020996 英 2004. 3. 11

[85] 进入国家阶段日期 2005. 1. 31

[71] 申请人 医学研究委员会

地址 英国伦敦

[72] 发明人 J·A·夏泊

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商  
标事务所

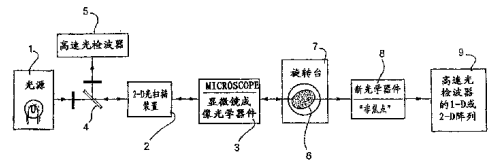
代理人 李华英

权利要求书9页 说明书15页 附图4页

[54] 发明名称 光学投影体层摄影术

[57] 摘要

用于通过光学投影体层摄影术获得样本(6)的图像的装置, 该装置包括光扫描器, 如光线扫描共焦显微镜(1, 2, 3), 用于对所述样本(6)进行入射光的扫描运动。



1. 用于通过光学投影体层摄影术获得样本图像的装置，该装置包括光扫描装置，和用于将所述样本旋转到标明的位置的旋转台，在每一个位置上，通过所述扫描装置对所使用的样本进行入射光的扫描运动。

2. 如权利要求1的装置，其中，沿垂直于光轴的方向对所述入射光进行扫描，然后让所述光线通过该装置。

3. 如权利要求1或2的装置，其中，所述入射光是以光栅形式扫描的，在所述样本的每一个标明的位置上进行一次完整的扫描。

4. 如上述权利要求中任意一项的装置，其中，所述光扫描装置构成了共焦扫描显微镜的一部分。

5. 一种通过光学投影体层摄影术获得样本图像的方法，包括用光束扫描所述样本，以及检测由所述样本所发出的光线，以便产生所述图像。

6. 如权利要求5的方法，其中，所述光线在被检测之前通过所述样本。

7. 如权利要求5的方法，其中，所述光线从所述样本的一侧进入，并且从它的同一侧离开所述样本。

8. 如权利要求5-7中任意一项的方法，其中，所述样本被旋转到标明的位置上，并且在所述样本的每一个标明的位置上进行一次完整的扫描。

9. 如权利要求5-7中任意一项的方法，其中，所述检波器检测平行于入射在所述样本上的光束地离开所述样本或通过所述样本的光线。

10. 如权利要求5-9中任意一项的方法，其中，所述光线是激光。

11. 一种进行在下面所列举的一种或多种分析或方案的方法，包括使用权利要求1-10中任意一项的方法或装置：

生物学组织结构的分析。

生物学组织功能的分析。

生物学组织形状的分析。

生物学组织中细胞类型分布的分析。

生物学组织中基因活性分布的分析，

包括以下成分分布：

- RNA 转录物

- 蛋白质

生物学组织中转基因基因活性分布的分析，

生物学组织中细胞活性分布的分析，包括：

- 包括抑制在内的细胞周期状态

- 细胞死亡

- 细胞增殖

- 细胞转移

生物学组织中生理学状态分布的分析。

免疫组织化学染色技术结果的分析。

原位杂交染色技术结果的分析。

生物学组织中分子标记分布的分析，包括任何有色的或吸光物质，

如：

5, 5'-二溴-4, 4'-二氯-靛蓝 (或其他卤化靛蓝化合物) 甲腈

或通过包括：b-半乳糖苷酶，碱性磷酸酶的酶的催化活性产生的其他有色沉淀，或通过染色底物的催化转化产生的其他有色沉淀，

包括：坚牢红，Vector 红

并且包括任何发光物质，

因此包括任何荧光物质，

如：Alexa 染料，FITC，若丹明，

并且包括任何发光物质，

如绿色荧光蛋白 (GFP) 或类似蛋白，

并且包括任何发磷光的物质。

来自所有植物物种的组织分析。

用于农业研究的任何组织的分析，

包括：

植物生物学所有方面的基础研究(遗传学,发育,生理学,病理学等)

进行过遗传学改变的组织的分析。

来自所有动物物种的组织的分析。

包括:

无脊椎动物

线虫类

脊椎动物

所有类型的鱼(包括硬骨鱼,如斑马鱼,和包括鲨鱼在内的软骨鱼)

两栖类(包括非洲爪蟾属和蝾螈)

爬行动物

鸟类(包括鸡和鹌鹑)

所有动物(包括所有啮齿类,狗,猫和所有灵长类,包括人)

用于任何目的的胚胎组织的分析,

包括:

对任何干细胞群体的研究

对发育生物学的研究

对包括人类综合症在内的导致异常胚胎发育的原因的研究

人类终止怀孕(自发的或诱导的终止)的尸体解剖

用于基因组研究目的的任何组织的分析,

包括:

用于基因组研究目的的任何组织的分析,包括:

转基因,敲入,减弱或敲除生物的分析

包括它们的空间分布,和它们的表达水平在内的基因表达(或活性)的分析或发现

由于人为实验(如遗传学或生理学改变,包括化学或生物化学基因组途径)干扰导致的组织结构或形态学异常性的分析或发现

用于神经生物学研究目的的任何组织的分析,包括:

神经形态学分析

神经通道和连通性分析

部分或完整的动物大脑的分析

用于药物研究的任何组织的分析，

包括：

药用物质（如药物，分子，蛋白，抗体）的分析，

包括它们在所述组织内的空间分布，以及它们的浓度。

组织结构或形态学异常性的分析或发现。

用于医学研究的组织分析，

包括：

对动物组织的遗传学，发育，生理学，结构和功能的研究

分析病变组织，以便促进我们对所有类型的疾病的了解，包括：

先天性疾病

获得性疾病

包括：

感染

肿瘤

血管

炎症

创伤

代谢

内分泌

变性的

药物相关的

因医生的治疗而引起的，或

特发性疾病

用于医学诊断，治疗或监测的组织分析，

包括：

癌症患者的诊断

包括：

寻找活组织检查中的癌细胞和组织

寻找活组织检查中组织的异常结构或形态学

所有活组织检查的分析

包括以下分析:

淋巴结

息肉

肝活组织检查

肾活组织检查

前列腺活组织检查

肌肉活组织检查

大脑活组织检查

在切除患者体内肿瘤过程中取出的组织的分析, 包括:

确定是否取出了所有的肿瘤

确定肿瘤的类型, 以及癌的类型。

12. 将权利要求 1-10 中任意一项所述的方法或装置用于下面所列举的分析或过程中的任意一种或多种中的用途:

生物学组织结构的分析。

生物学组织功能的分析。

生物学组织形状的分析。

生物学组织中细胞类型分布的分析。

生物学组织中基因活性分布的分析, 包括以下成分的分布:

- RNA 转录物

- 蛋白质

生物学组织中转基因基因活性分布的分析,

生物学组织中细胞活性分布的分析, 包括:

- 包括抑制在内的细胞周期状态

- 细胞死亡

- 细胞增殖

- 细胞转移

生物学组织中生理学状态分布的分析。

免疫组织化学染色技术结果的分析。

原位杂交染色技术结果的分析。

生物学组织中分子标记分布的分析，包括任何有色的或吸光物质，  
如：

5, 5'-二溴-4, 4'-二氯-靛蓝（或其他卤化靛蓝化合物）甲腈

或通过包括：b-半乳糖苷酶，碱性磷酸酶的酶的催化活性产生的  
其他有色沉淀，或通过染色底物的催化转化产生的其他有色沉淀，

包括：坚牢红，Vector 红

并且包括任何发光物质，

因此包括任何荧光物质，

如：Alexa 染料，FITC，若丹明，

并且包括任何发光物质，

如绿色荧光蛋白 (GFP) 或类似蛋白，

并且包括任何发磷光的物质。

来自所有植物物种的组织分析。

用于农业研究的任何组织的分析，

包括：

植物生物学所有方面的基础研究（遗传学，发育，生理学，病理学  
等）

进行过遗传学改变的组织的分析。

来自所有动物物种的组织分析。

包括：

无脊椎动物

线虫类

脊椎动物

所有类型的鱼（包括硬骨鱼，如斑马鱼，和包括鲨鱼在内的软骨鱼）

两栖类（包括非洲爪蟾属和蝶螈）

爬行动物

鸟类(包括鸡和鹌鹑)

所有动物(包括所有啮齿类,狗,猫和所有灵长类,包括人)

用于任何目的的胚胎组织的分析,

包括:

对任何干细胞群体的研究

对发育生物学的研究

对包括人类综合症在内的导致异常胚胎发育的原因的研究

人类终止怀孕(自发的或诱导的终止)的尸体解剖

用于基因组研究目的的任何组织的分析,

包括:

用于基因组研究目的的任何组织的分析,

包括:

转基因,敲入,减弱或敲除生物的分析

包括它们的空间分布,和它们的表达水平在内的基因表达(或活性)的分析或发现

由于人为实验(如遗传学或生理学改变,包括化学或生物化学基因组途径)干扰导致的组织结构或形态学异常性的分析或发现,和/或自发异常性(如自然发生的突变)

用于神经生物学目的的任何组织的分析,包括:

神经形态学分析

神经通道和连通性分析

部分或完整的动物大脑的分析

用于药物研究的任何组织的分析,

包括:

药用物质(如药物,分子,蛋白,抗体)的分析,

包括它们在所述组织内的空间分布,以及它们的浓度。

组织结构或形态学异常性的分析或发现。

用于医学研究的组织分析,

包括:

对动物组织的遗传学，发育，生理学，结构和功能的研究  
分析病变组织，以便促进我们对所有类型的疾病的了解，包括：  
先天性疾病  
获得性疾病  
包括：  
感染  
肿瘤  
血管  
炎症  
创伤  
代谢  
内分泌  
变性的  
药物相关的  
因医生的治疗而引起的，或  
特发性疾病  
用于医学诊断，治疗或监测的组织分析，  
包括：  
癌症患者的诊断  
包括：  
寻找活组织检查中的癌细胞和组织  
寻找活组织检查中组织的异常结构或形态学  
所有活组织检查的分析  
包括以下分析：  
淋巴结  
息肉  
肝活组织检查  
肾活组织检查  
前列腺活组织检查

肌肉活组织检查

大脑活组织检查

在切除患者体内肿瘤过程中取出的组织的分析，包括：

确定是否取出了所有的肿瘤

确定肿瘤的类型，以及癌的类型。

## 光学投影体层摄影术

### 发明领域

本发明涉及光学投影体层摄影术。

### 发明背景

光学投影体层摄影术是用于产生样本的三维图像的技术，这种技术的一个例子披露于申请人的公开说明书 WO 02/095476 中。本发明的目的是提供一种将光线照射在所述样本上的不同方式，特别是在荧光显像时使用，其目的是减弱系列图像中的噪音或干扰，并且在所述系列的图像中提供改善了的景深。

### 发明概述

根据本发明的一个方面，提供了用于通过光学投影体层摄影术获得样本图像的装置，该装置包括光扫描装置，以及用于将所述样本旋转到标明的位置的旋转台，在每一个位置上，将所述样本用于通过所述扫描装置进行入射光的扫描运动。

可以沿垂直于由通过所述装置的光线限定的光轴的方向对所述入射光进行扫描。

所述光扫描装置可以构成共焦扫描显微镜的一部分。

根据本发明的另一方面，提供了通过光学投影体层摄影术获得样本图像的方法，该方法包括用光束扫描所述样本，以及检测由所述样本发出的光线，以便形成所述图像。

所述检波器优选检测平行于入射在所述样本上的光束地离开所述样本或通过 (by-pass) 所述样本的光线。

所述入射光优选是以光栅形式扫描的，在所述样本的每一个标明的位置上进行一次完整的扫描。

还提供了将在上面所提出的任意一方面所述的方法或装置用于下面所列举的任意一种或多种分析或方案中的用途。

根据本发明，本发明的分析和方法包括：

生物学组织的分析。

生物学组织功能的分析。

生物学组织形状的分析。

生物学组织中细胞类型分布的分析。

生物学组织中基因活性分布的分析，

包括以下成分的分布：

- RNA 转录物

- 蛋白质

生物学组织中转基因基因活性分布的分析，生物学组织中细胞活性分布的分析，包括：

- 包括抑制之内的细胞周期状态

- 细胞死亡

- 细胞增殖

- 细胞迁移

生物学组织中生理学状态分布的分析。

免疫组织化学染色技术结果的分析。

原位杂交染色技术结果的分析。

生物学组织中分子标记分布的分析，包括任何有色的或吸光物质，如：

5, 5'-二溴-4, 4'-二氯-靛蓝（或其他卤化靛蓝化合物）甲腈，

或通过包括：b-半乳糖苷酶，碱性磷酸酶的酶的催化活性产生的其他有色沉淀，或通过染色底物的催化转化产生的其他有色沉淀，

包括：坚牢红，Vector 红，

并且包括任何发光物质，

因此包括任何荧光物质，如：Alexa 染料，FITC，若丹明，

并且包括任何发光物质，如绿色荧光蛋白 (GFP) 或类似蛋白，  
并且包括任何发磷光的物质。

来自所有植物物种的组织分析。

用于农业研究的任何组织的分析，

包括：植物生物学所有方面的基础研究（遗传学，发育，生理学，  
病理学等），

进行过遗传学改变的组织的分析。

来自所有动物物种的组织分析。

包括：

无脊椎动物

线虫类

脊椎动物

所有类型的鱼（包括硬骨鱼，如斑马鱼，和包括鲨鱼在内的软骨鱼  
(chondrycthes) )

两栖类（包括非洲爪蟾属和蝶螈）

爬行动物

鸟类（包括鸡和鹌鹑）

所有动物（包括所有啮齿类，狗，猫和所有灵长类，包括人）

用于任何目的的胚胎组织的分析，

包括：

对任何干细胞群体的研究

对发育生物学的研究

对包括人类综合症在内的导致异常胚胎发育的原因的研究

人类终止怀孕（自发的或诱导的终止）的尸体解剖

用于基因组研究目的的任何组织的分析，

包括：

用于基因组研究目的的任何组织的分析，

包括：

转基因，敲入，减弱（knock-down）或敲除生物的分析

包括它们的空间分布，和它们的表达水平在内的基因表达（或活性）的分析或发现

由于人为实验（如遗传学或生理学改变，包括化学或生物化学基因组途径）干扰导致的组织结构或形态学异常性的分析或发现，和/或自发异常性（如自然发生的突变）

用于神经生物学研究目的的任何组织的分析，

包括：

神经形态学分析

神经通道和连通性分析

部分或完整的动物大脑的分析

用于药物研究的任何组织的分析，

包括：

药用物质（如药物，分子，蛋白，抗体）的分析，

包括它们在所述组织内的空间分布，以及他们的浓度

组织结构或形态学异常性的分析或发现。

用于医学研究的组织分析，

包括：

对动物组织的遗传学，发育，生理学，结构和功能的研究

分析病变组织，以便促进我们对所有类型的疾病的了解，

包括：

先天性疾病

获得性疾病

包括：

感染

肿瘤

血管

炎症

创伤

代谢

内分泌  
变性的  
药物相关的  
因医生的治疗而引起的，或  
特发性疾病  
用于医学诊断，治疗或监测的组织分析，  
包括：  
癌症患者的诊断  
包括：  
寻找活组织检查中的癌细胞和组织  
寻找活组织检查中组织的异常结构或形态学  
所有活组织检查的分析  
包括以下分析：  
淋巴结  
息肉  
肝活组织检查  
肾活组织检查  
前列腺活组织检查  
肌肉活组织检查  
大脑活组织检查  
在切除患者体内肿瘤过程中取出的组织的分析，  
包括：  
确定是否取出了所有的肿瘤  
确定肿瘤的类型，以及癌的类型。

根据本发明，在本发明中使用的样品可以按照以前的专利申请所披露的方法制备和/或采用本领域技术人员所熟知的病理学和组织学技术和方法制备。

例如，原位杂交（特别适用于检测 RNAs）：Hammond K L, Hanson I M, Brown A G, Lettice L A, Hill R E “哺乳动物和果蝇属达克斯

猎犬基因与 Ski 原型致癌基因相关，并且是在眼睛和肢体中表达的”。  
Mech Dev. 1998 Jun ; 74 (1-2): 121-31。

免疫组织化学(特别适用于检测蛋白和其他分子): Sharpe J, Ahlgren U, Perry P, Hill B, Ross A, Hecksher-Sorensen J, Baldock R, Davidson D. “光学投影体层摄影术作为 3D 显微术和基因表达研究的工具” Science. 2002 Apr 19; 296 (5567): 541-5。

可以理解的是，在不超过本发明范围的前提下，可以对本发明进行改进。

### 附图的简要说明

下面将结合附图以举例形式对本发明进行说明，其中：

图 1 是构成本发明的优选实施方案的装置的图解，

图 2a 和 2b 所述装置的光学器件如何安装以具有小数值孔径或大数值孔径，

图 3 表示已知的成像光学器件，

图 4 和 5 表示本发明装置的光学系统的成像光学器件，

图 6a, 6b, 6c 和 6d 表示本发明装置的光学系统的典型的光路，

图 7a, 7b 和 7c 表示不同程度的折射如何影响所述光学系统的工作，

图 8 表示如何利用一维布置的检波器测定折射，和

图 9-12 以三维形式说明所述光学系统的工作。

### 附图的详细说明

参见图 1，所述装置包括光源 1（激光形式的光源），由它为二维光扫描装置 2 提供光线，它的扫描机构具有复式反射镜系统。具有扫描运动的光线是通过成像光学器件 3 输入的。放置在光源 1 和扫描装置 2 之间的分色镜 4 将回光导向高速光检波器 5。所述部件 1-5 可以通过共焦光学扫描显微镜提供。

来自光学器件 3 的光线通过在旋转台 7 内旋转并且由它支撑的样

品 6，旋转台 7 的结构相当于在申请人的再审批的国际专利申请号 PCT/GB02/02373 中所披露的旋转台。由旋转台 7 将样本 6 旋转到一系列标明的位置，在每一个位置上对激发光进行一次完整的扫描，同时所述样本是静止的。在所述光线通过样本 6 之后，通过光学系统 8 对它进行处理，由该系统将所述光线导向高速光检波器 9 的一维或二维阵列。

在荧光模式下，来自样本 6 的光线通过光学器件 3 和扫描装置 2，并因此通过镜片 4 返回高速光检波器 5。在这种荧光成像方法中，激发光进入所述样本的一侧，并且在被检测之前从它的同一侧离开所述样本。在将要说明的透射模式下，使用了在图 1 中的旋转台 7 右侧示出的部件。

显微镜光学器件 3 可以具有大的数值孔径（图 2a）或可以调整到具有小的数值孔径（图 2b），可将它用于要成像的某些样本。

图 3 表示已知的成像系统。收集来自所述共焦平面 12 上的任意点的光线（在所述样本内），并且通过透镜 13 向像平面 14 上的一个点折射。存在对称性，因此在像平面 14 上的任何点都映射到焦平面 12 上的一个点，反之亦然。

相反，在图 4 和 5 中所示出的本发明的“非焦点”光学器件中取消了对成像光学装置的需要，所述附图没有显示这种对称性。非焦点光学系统 8 是通过凸透镜 15 表示的。来自焦平面 12 上的单个点的光线不会聚焦到单个光检波器上。它是分散的，因此只有平行于所述入射光束地离开或通过样本 6 的光线会到达位于所述光轴上的单一的光检波器 9a。透镜 15 在图 4 和 5 中的作用与在图 3 中的作用不同。它在光扫描状态下起作用。所述光束从所述样本上扫描通过（例如，以光栅形式），通过多个不同的位置（在图 5 中以黑色箭头形式示出了其中的五个位置）。非焦点光学系统 8（即透镜 15）的作用是将光线导向所述单一的光检波器 9a，不管所述光束的扫描位置如何，离开或通过所述样本的光线平行于入射光束。在会导致光线的明显散射的样本中，所述系统可以通过限制散射光的检测获得较高的信噪比。

图 6a-6d 表示散射，作为显示来自原始光束位置的偏差的例子，

表示从样本 6 中发出的同时通过所述非焦点光学系统的射线（来自激光光束）的某些典型的光路。从左侧接近所述样本的光束是入射在所述样本上的光束。

在图 6a 中，从样本 6 的中央点散射的光线被从所述光检波器 9a 移开。可以通过改变所述检波器的有效尺寸来调整被检测到的散射线线的比例。可以用可调整的光圈进行这种控制（它非常类似于扫描共焦显微镜上的针孔）。或者，可以调整所述透镜的位置，以便导致所述散射线的更多或更少的发散。在光学成像系统中，艾里环是由从所述样本里的单个点发射的光线产生的干涉图。能产生较大艾里环的光学系统具有较低的分辨能力，因为来自所述样本里的相邻的点的艾里环会重叠。艾里环的概念并不严格地与这样的投影测定系统相关，不过，不存在类似的概念。对于本文所披露的非焦点光学器件来说，来自每一次透射的光线产生了类似于宽的艾里环的非常宽的程度分布（在所述检波器的位置上），这可能暗示了它具有低的分辨能力。不过由于在任何时间只能测定单次投影，因此即使是很宽的程度分布也不会相互干扰。

在图 6b 中，来自沿图 6a 中相同的线取样的其他点的散射线线同样是从光检波器 9a 上发散的。

在图 6c 中，来自不同的扫描位置的非散射光（黑色箭头）是从样本 6 中大体上平行于所述光轴发射的，并因此被折射朝向光检波器 9a。如图 6a 和 6b 所示，散射线线被引导离开检波器 9a。

在图 6d 中，来自任何扫描位置的非散射线线被导向光检波器 6。箭头表示当所述激光束沿垂直于光轴的方向扫描通过样本 6 时它的连续的位置。

迄今为止，用光学投影体层摄影术进行的所有实验都表明了尽管某些光线被散射了，但所述样本的折射率是一致的。最新的实验业已证实，多种重要的样本（包括生物活组织检查的医学成像）具有不一致的折射率。这意味着现有的算法不能够精确地使样本成像，并且导入了扭曲和假像。所披露的装置通过测定以前无法获得的与光线离开所述样本的光束的角度相关的信息，减轻了这一问题。一般来说，在具有低投影，

但是不一致的折射率的分布的样本中，该系统可以通过测定每一次透射所经历的折射度计算这种不一致的分布。

在本装置的使用中，采用了澄清器(如 BABB)，以便大部分光线不会被散射。不过，它会遇到不同形式的破坏-折射。在图 7 中，散射线是通过虚线表示的，而所述主要光路是用实线表示的。在图 7a 所示的第一种实施例中，该光路在它通过样本 6 时没有弯曲(它只是在通过所述透镜时折射)。主要光路以比其余部分(灰色圆形)高的折射率通过所述样本区，不过，它在具有不同的折射率的区域之间遇到的界面都是垂直于所述光路的，因此不会发生折射。

在图 7b 所示出的第二种情形下，发光光束略高一些，因此它在所述样本的灰色区和白色区(不同的折射率)之间所遇到的界面略微偏离垂直。由此导致了所述主要光路的两种轻微的折射，因此，当所述光线从所述样本上发出时，它不再平行于所述入射光束，并且被导向略微偏移到原始中央光检波器 9a 的侧面。如果将辅助光检波器 9b 安装在中央检波器 9a 的任意一侧，这些辅助检波器能够测定折射度。任何投影都能提供沿光检波器阵列的某种强度分布。可将所述强度分布用于确定从所述样本上发出的主要光路的角度。该系统只需要确定该分布的中点在哪里(通常是最大强度的点)，以便测定从所述样本上发出的主要光路的角度。在图 7c 所示出的最后一种情形下，不同的扫描位置导致了所述光束的更大的折射，它是在沿检波器阵列的进一步移动中反射的。

在图 8 中，样本 6 的椭圆形区具有比其余部分高的折射率(灰色形状)。从所述样本周围通过的射线没有被折射，因此被导向中央光检波器 9a。从样本中央通过的射线(在图 8 中的中央的两条射线 11)被折射了两次。所述光线通过的两个界面(白色-灰色以及灰色-白色)是彼此平行的，并且所述光线因此是与它们进入样本相同的角度离开样本的。这些光线同样被导向中央检波器 9a。从灰色区的其他部分通过的射线同样被折射了两次，但是，没有通过平行界面，因此，这些射线是通过相邻的光检波器 9b 检测的。

某些光线会被折射，但仍然平行于入射光束离开样本 6 这一事实

不再是问题。图 8 的实施例仅表示通过这一部分产生的多次投影中的一种。完整的成像包括捕捉通过所述部分的很多取向的这样的数据组，并且所有这样的数据的组合可以完整地重建所述分布。

图 9-12 表示所述装置的三维示意图。在图 9 中，所有通过所述样本的二维部分的未折射的（和非散射的）射线被聚焦到所述阵列的中央光检波器上。样本 6 绕所标明的位置之间的垂直轴线旋转，在每一个位置上进行一次完整的扫描。

图 10 表示照射到辅助光检波器上的散射光或折射光的光路。

图 11 表示使得检波器 9 的一维阵列能够从所述样本的完整的二维光栅扫描获取数据的透镜（或光学系统）。将一排扫描位置总是导向所述检波器排的上或下，不考虑所述扫描的垂直高度。

如图 12 所示，可以用光检波器 9 的二维阵列取代一维阵列。这样就能够测定在由图 12 所示出的光线所占据的平面上面或下面散射或折射的光线。

在现有的广角光学投影体层摄影术中，CCD 的每一个像素应当记录来自通过所述样本的近似投影的信息。广角荧光光学投影体层摄影术存在由于以下事实所造成问题：所述样本的发光/激发同样必须是广角的。如果所述样本的光学特性导致了光线的内部散射，很多光子会沿射线轨道离开所述样本，导致它们被不能代表来自产生所述光子的投影的像素检测。由此明显增加了图像的噪音。这里所披露的本发明的光扫描发明避免了这一问题，因为只有所述近似投影内的荧光颗粒是在所有时间都被激发的。

来自检波器阵列 9 的光学器件的数据是通过算法解读的。

业已存在多种用于进行背投计算的多种不同的运算方法，一种方法是利用标准的线性滤波的背投算法（如在美国专利 5680484 中所披露的）。其它方法包括迭代的，最大平均信息量和代数重建技术（R. Gordon et al.， “构成投影的三维重建：程序的算法”）。

所述算法是按以下方式运行的：

1. 将所述数据作为平行(或扇形波束)数据使用,以便实施背投。这产生了对所述样本的吸收特征的分布的“模糊”评估,或对所述样本荧光的模糊分布的评估。

2. 评估了折射率分布的第一个近似值。这一目的可以通过多种方式实现。一种有用的方法是假设所述吸收或荧光分布能体现折射率的分布。在每一个部分计算每一个体元的 2-D 梯度向量。一种替代方案是以均匀的或随机的分布开始的。

3. 将估算的折射分布用于进行向前投影,即,如果所述折射分布的初步评估是正确的话,所述投影数据会怎样的预测。

4. 比较预测的投影和实际投影。

5. 修改估算的折射分布。在预测的和实际的投影之间具有较大差别的投影鉴别了哪一个分布区需要进行更多的修饰。例如,对于图 8 中的灰色形状来说,来自椭圆形的弯曲末端的投影因为具有大量的折射而与所述预测有很多不同。因此,在所述部位的体元的预测的折射率的改变比其他部分更大。

6. 重复从 3 到 6 的循环,直到不再能够对所述预测的投影做出进一步的改进。

还可将上述算法用于解释其他光学信号,例如,荧光或散射。

可以将所述装置和方法用于各种分析和方案中,如下面所列举的:

生物学组织结构的分析。

生物学组织功能的分析。

生物学组织形状的分析。

生物学组织中细胞类型分布的分析。

生物学组织中基因活性分布的分析,包括以下成分分布:

- RNA 转录物

- 蛋白质。

生物学组织中转基因基因活性分布的分析,

生物学组织中细胞活性分布的分析,包括:

- 包括抑制在内的细胞周期状态
- 细胞死亡
- 细胞增殖
- 细胞迁移

生物学组织中生理学状态分布的分析。

免疫组织化学染色技术结果的分析。

原位杂交染色技术结果的分析。

生物学组织中分子标记分布的分析，包括任何有色的或吸光物质，如：

5, 5'-二溴-4, 4'-二氯-靛蓝（或其他卤化靛蓝化合物）甲酯，或通过包括  $\beta$ -半乳糖苷酶，碱性磷酸酶的酶的催化活性产生的其他有色沉淀，或通过染色底物的催化转化产生的其他有色沉淀，

包括：坚牢红，Vector 红

并且包括任何发光物质，

因此包括任何荧光物质，

如：Alexa 染料，FITC，若丹明，

并且包括任何发光物质，

如绿色荧光蛋白 (GFP) 或类似蛋白，

并且包括任何发磷光的物质。

来自所有植物物种的组织分析。

用于农业研究的任何组织的分析，

包括：

植物生物学所有方面的基础研究（遗传学，发育，生理学，病理学等）

进行过遗传学改变的组织的分析。

来自所有动物物种的组织分析，

包括：

无脊椎动物

线虫类

## 脊椎动物

所有类型的鱼(包括硬骨鱼,如斑马鱼,和包括鲨鱼在内的软骨鱼)

两栖类(包括非洲爪蟾属和蝶螈)

## 爬行动物

鸟类(包括鸡和鹌鹑)

所有动物(包括所有啮齿类,狗,猫和所有灵长类,包括人)

用于任何目的的胚胎组织的分析,

包括:

对任何干细胞群体的研究

对发育生物学的研究

对包括人类综合症在内的导致异常胚胎发育的原因的研究

人类终止怀孕(自发的或诱导的终止)的尸体解剖

用于基因组研究目的的任何组织的分析,

包括:

转基因,敲入,减弱或敲除生物的分析

包括它们的空间分布,和它们的表达水平在内的基因表达(或活性)的分析或发现

由于人为实验(如遗传学或生理学改变,包括化学或生物化学基因组途径)干扰导致的组织结构或形态学异常性的分析或发现,和/或自发异常性(如自然发生的突变)

用于神经生物学研究目的的任何组织的分析,

包括:

神经形态学分析

神经通道和连通性分析

部分或完整的动物大脑的分析

用于药物研究的任何组织的分析,

包括:

药用物质(如药物,分子,蛋白,抗体)的分析,

包括它们在所述组织内的空间分布,以及它们的浓度

组织结构或形态学异常性的分析或发现。

用于医学研究的组织分析，

包括：

对动物组织的遗传学，发育，生理学，结构和功能的研究  
分析病变组织，以便促进我们对所有类型的疾病的了解，

包括：

先天性疾病

获得性疾病

包括：

感染

肿瘤

血管

炎症

创伤

代谢

内分泌

变性的

药物相关的

因医生的治疗而引起的，或

特发性疾病

用于医学诊断，治疗或监测的组织分析，

包括：

癌症患者的诊断

包括：

寻找活组织检查中的癌细胞和组织

寻找活组织检查中组织的异常结构或形态学

所有活组织检查的分析

包括以下分析：

淋巴结

息肉

肝活组织检查

肾活组织检查

前列腺活组织检查

肌肉活组织检查

大脑活组织检查

在切除患者体内肿瘤过程中取出的组织的分析，包括：

确定是否取出了所有的肿瘤

确定肿瘤的类型，以及癌的类型。

可以理解的是，在不超出本发明范围的前提下，可以对本本发明进行改进。

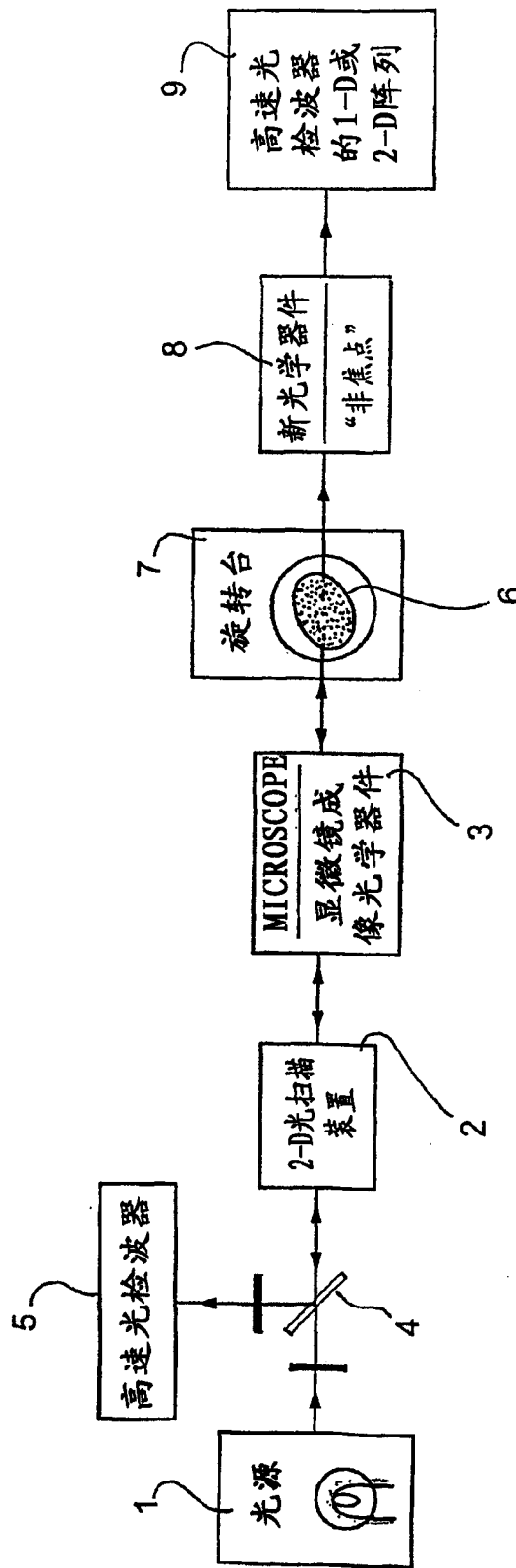


图1

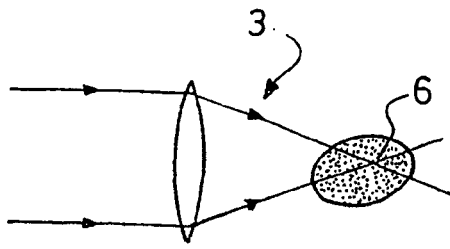


图 2a

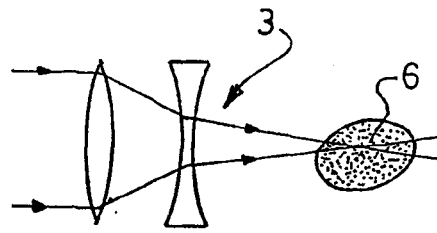


图 2b

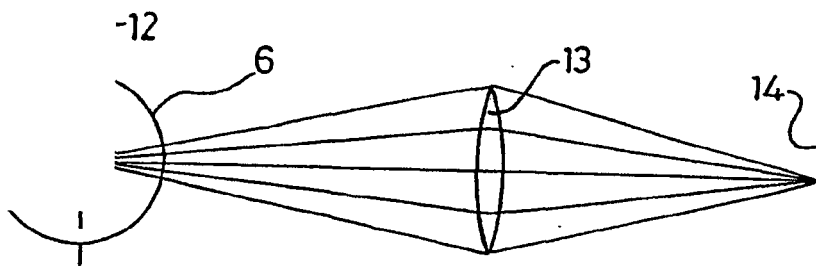


图 3

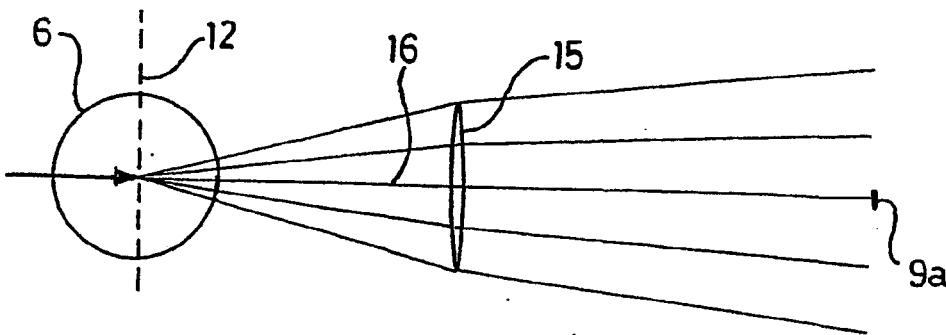


图 4

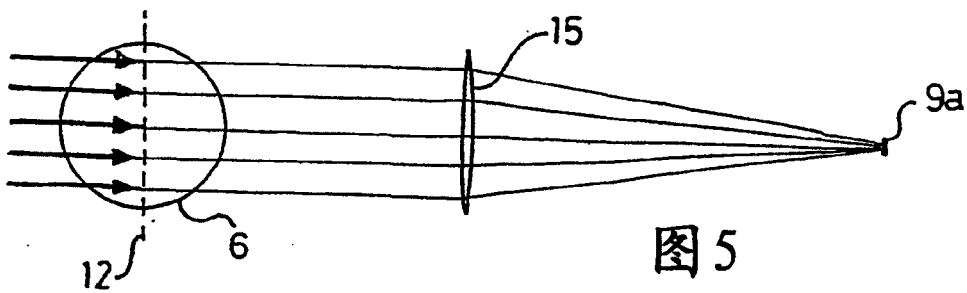


图 5

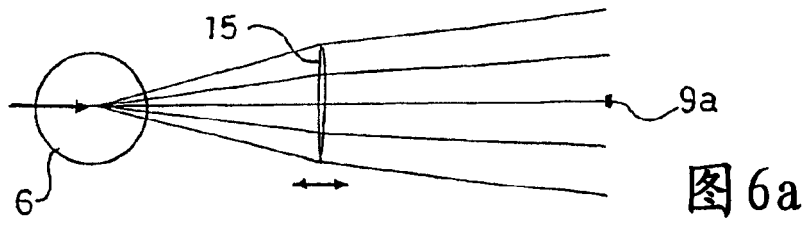


图 6a

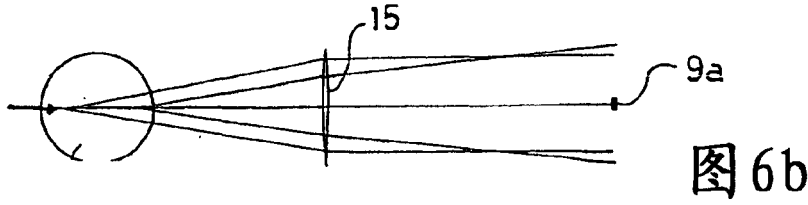


图 6b

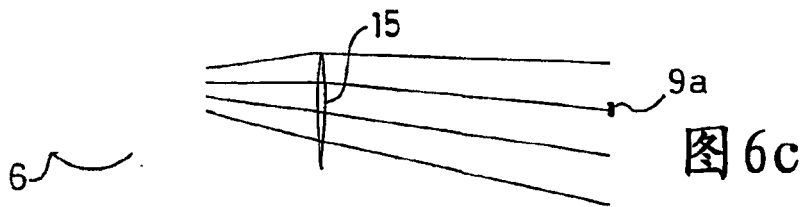


图 6c

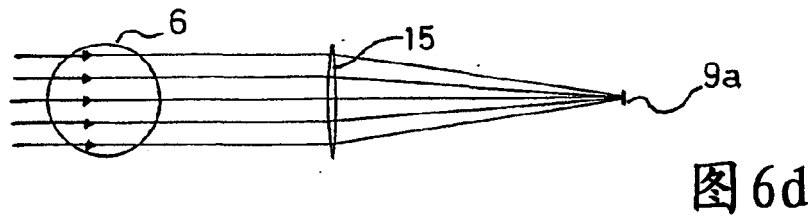


图 6d

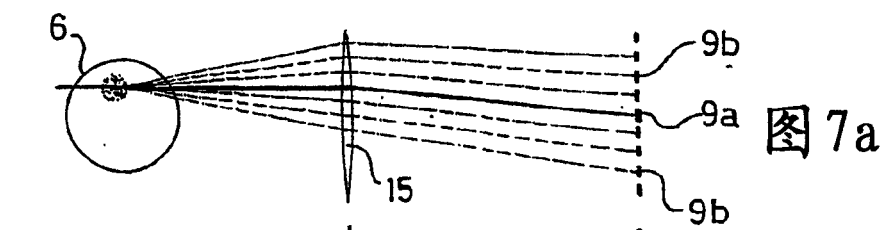


图 7a



图 7b

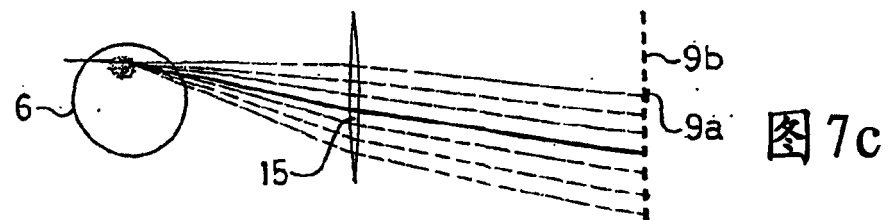


图 7c

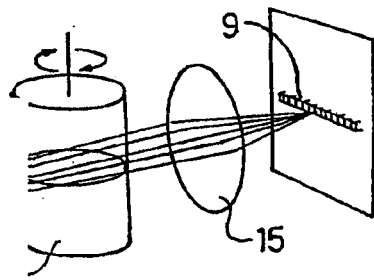
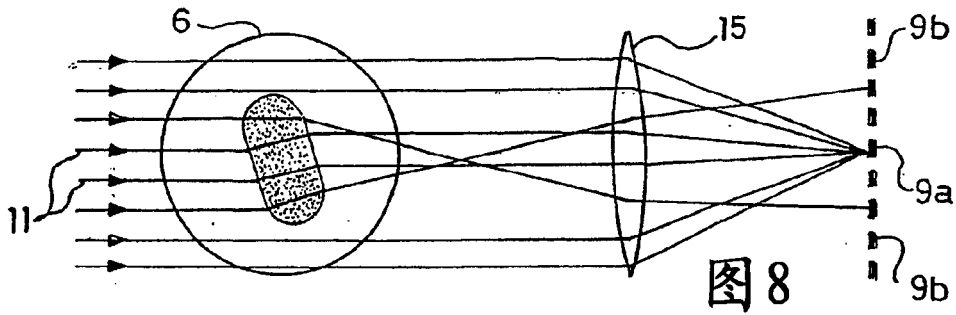


图 9

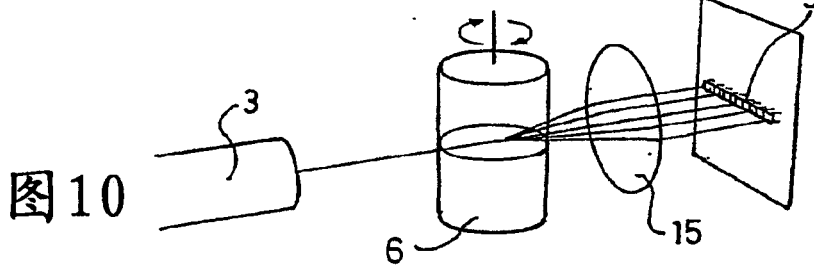


图 10

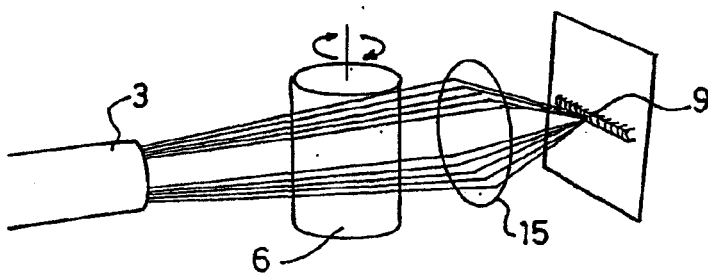


图 11

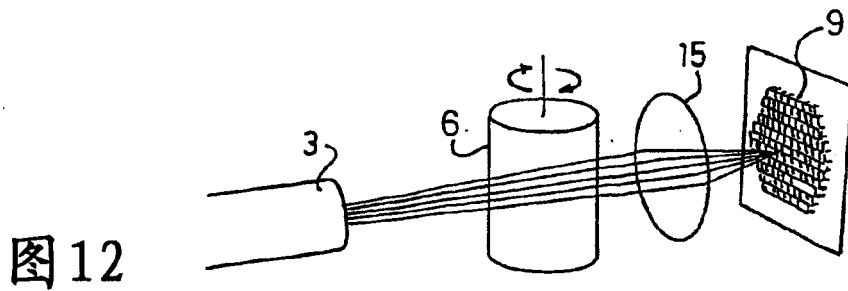


图 12

专利名称(译)	光学投影体层摄影术		
公开(公告)号	<a href="#">CN1672048A</a>	公开(公告)日	2005-09-21
申请号	CN03818363.3	申请日	2003-08-29
[标]申请(专利权)人(译)	医药研究委员会		
申请(专利权)人(译)	医学研究委员会		
当前申请(专利权)人(译)	医学研究委员会		
[标]发明人	JA夏泊		
发明人	J·A·夏泊		
IPC分类号	G01N15/14 G01N21/47 G01N21/64 G01N33/48 G01N33/53 G01N33/50 G01N1/31 G01N21/17 G02B21/00		
CPC分类号	G01N2015/1472 G01N21/6456 G01N21/4795 G01N15/1468		
代理人(译)	李华英		
优先权	2002027649 2002-11-27 GB 2002020157 2002-08-30 GB		
其他公开文献	CN100483132C		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

用于通过光学投影体层摄影术获得样本(6)的图像的装置，该装置包括光扫描器，如光线扫描共焦显微镜(1, 2, 3)，用于对所述样本(6)进行入射光的扫描运动。

