

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載
 【部門区分】第 6 部門第 1 区分
 【発行日】平成25年8月8日 (2013.8.8)

【公開番号】特開2012-8055(P2012-8055A)
 【公開日】平成24年1月12日 (2012.1.12)
 【年通号数】公開・登録公報2012-002
 【出願番号】特願2010-145607(P2010-145607)
 【国際特許分類】

G 0 1 N 21/64 (2006.01)

【 F I 】

G 0 1 N 21/64 Z

【手続補正書】
 【提出日】平成25年6月20日 (2013.6.20)
 【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲
 【補正対象項目名】全文
 【補正方法】変更
 【補正の内容】
 【特許請求の範囲】
 【請求項 1】

空間的に異なる複数の解析領域を有する画像を取得する解析領域画像取得ステップを有し、前記解析領域の各画像は、時系列的に取得された複数のデータをそれぞれ有する複数のピクセルから構成されており、さらに、

前記解析領域を有する画像のピクセルのデータを使用して二つの解析領域の相互相関を求める相関解析ステップとを有する画像解析方法。

【請求項 2】

前記解析領域画像取得ステップは、

前記解析領域を含む観察領域の画像を取得する観察領域画像取得ステップを有し、前記観察領域の画像は、同時又は時系列的に取得された複数のデータをそれぞれ有する複数のピクセルから構成されており、さらに、

前記観察領域の画像に対して前記解析領域を設定する解析領域設定ステップと、

前記観察領域の画像から前記解析領域に対応するピクセルのデータを抽出するデータ抽出ステップとを有する請求項 1 に記載の画像解析方法。

【請求項 3】

前記観察領域画像取得ステップは、前記観察領域の複数フレームの画像を取得する請求項 2 に記載の画像解析方法。

【請求項 4】

前記解析領域画像取得ステップは、複数の光学系を使用して前記解析領域を有する画像をそれぞれ取得する請求項 1 に記載の画像解析方法。

【請求項 5】

前記解析領域画像取得ステップは、前記解析領域を有する画像を同時に取得する請求項 4 に記載の画像解析方法。

【請求項 6】

前記解析領域画像取得ステップは、前記解析領域を有する複数フレームの画像を取得する請求項 4 に記載の画像解析方法。

【請求項 7】

前記相関解析ステップは、蛍光強度、ピクセル時間、ライン時間、フレーム時間、ピクセル位置関係、ピクセルサイズまたはそれについての統計値を使用して相互相関を求める

請求項 3 または 6 に記載の画像解析方法。

【請求項 8】

前記相関解析ステップは、前記データの平均値、最大値、最小値、相対差または絶対差のいずれかを使用して相互相関を求める請求項 1 に記載の画像解析方法。

【請求項 9】

前記相関解析ステップは、前記データを再構成して得た再構成データを使用して相互相関を求める請求項 1 に記載の画像解析方法。

【請求項 10】

前記解析領域を有する各画像は二次元画像であり、相互相関を求める前記二つの解析領域は解析領域 1 と解析領域 2 であり、前記相関解析ステップは、下記の式 (1) を用いて相関計算を行ない、前記相関計算の結果に対して下記の式 (2) を用いてフィッティングを行なって二次元解析領域の相互相関を求める請求項 1 に記載の画像処理方法、

【数 1】

$$G_s(\xi, \psi) = \frac{\sum I_1(x, y) * I_2(x + \xi, y + \psi) / M_{12}}{(\sum I_1(x, y) / M_1) (\sum I_2(x, y) / M_2)} \quad \dots(1)$$

ここで、 G_s は R I C S の空間相互相関値、 I_1 は解析領域 1 を有する画像のピクセルのデータ、 I_2 は解析領域 2 を有する画像のピクセルのデータ、 x, y は測定点の空間的座標、 ξ, ψ は測定点からの空間的座標の変化量、 M_{12} は解析領域 1 と解析領域 2 のデータの積和計算の回数、 M_1 は解析領域 1 のデータ総数、 M_2 は解析領域 2 のデータ総数である、

【数 2】

$$G_s(\xi, \psi) = S(\xi, \psi) * G(\xi, \psi)$$

$$S(\xi, \psi) = \exp \left(- \frac{\frac{1}{2} * \left[\left(\frac{2\xi \delta_r}{W_0} \right)^2 + \left(\frac{2\psi \delta_r}{W_0} \right)^2 \right]}{\left(1 + \frac{4D(\tau_p \xi + \tau_l \psi)}{W_0^2} \right)} \right) \quad \dots(2)$$

$$G(\xi, \psi) = \frac{1}{N} \left(\left(1 + \frac{4D(\tau_p \xi + \tau_l \psi)}{W_0^2} \right)^{-1} * \left(1 + \frac{4D(\tau_p \xi + \tau_l \psi)}{W_z^2} \right)^{-1/2} \right)$$

ここで、 G_s は R I C S の空間相関値、 S は R I C S の解析におけるスキヤンの影響、 G は R I C S の解析における時間遅延の影響、 D は拡散定数、 δ_r はピクセルサイズ、 N は分子数、 ξ, ψ は測定点からの空間的座標の変化量、 W_0 は励起レーザビームの横方向の半径、 W_z は励起レーザビームの縦方向の半径、 τ_p はピクセル時間、 τ_l はライン時間である。

【請求項 11】

前記解析領域を有する各画像は三次元画像であり、相互相関を求める前記二つの解析領域は解析領域 1 と解析領域 2 であり、前記相関解析ステップは、下記の式 (3) を用いて相関計算を行ない、前記相関計算の結果に対して下記の式 (4) を用いてフィッティングを行なって三次元解析領域の相互相関を求める請求項 1 に記載の画像処理方法、

【数 3】

$$G_s(\xi, \psi, \eta) = \frac{\sum I_1(x, y, z) * I_2(x + \xi, y + \psi, z + \eta) / M_{12}}{(\sum I_1(x, y, z) / M_1) (\sum I_2(x, y, z) / M_2)} \quad \dots(3)$$

ここで、 G_s は R I C S の空間相互相関値、 I_1 は解析領域 1 を有する 画像のピクセルのデータ、 I_2 は解析領域 2 を有する 画像のピクセルのデータ、 x, y, z は測定点の空間的座標、 ξ, ψ, η は測定点からの空間的座標の変化量、 M_{12} は解析領域 1 と解析領域 2 中のデータの積和計算の回数、 M_1 は解析領域 1 のデータ総数、 M_2 は解析領域 2 のデータ総数である、

【数 4】

$$G_s(\xi, \psi, \eta) = S(\xi, \psi, \eta) * G(\xi, \psi, \eta)$$

$$S(\xi, \psi, \eta) = \exp \left(- \frac{\frac{1}{2} * \left[\left(\frac{2\xi \delta_r}{W_0} \right)^2 + \left(\frac{2\psi \delta_r}{W_0} \right)^2 + \left(\frac{2\eta \delta_r}{W_0} \right)^2 \right]}{\left(1 + \frac{4D(\tau_p \xi + \tau_l \psi + \tau_f \eta)}{W_0^2} \right)} \right) \quad \dots(4)$$

$$G(\xi, \psi, \eta) = \frac{1}{N} \left(\left(1 + \frac{4D(\tau_p \xi + \tau_l \psi + \tau_f \eta)}{W_0^2} \right)^{-1} * \left(1 + \frac{4D(\tau_p \xi + \tau_l \psi + \tau_f \eta)}{W_z^2} \right)^{-1/2} \right)$$

ここで、 G_s は R I C S の空間相互相関値、 S は R I C S の解析におけるスキンの影響、 G は R I C S の解析における時間遅延の影響、 D は拡散定数、 δ_r はピクセルサイズ、 N は分子数、 ξ, ψ, η は空間的座標の変化量、 W_0 は励起レーザビームの横方向の半径、 W_z は励起レーザビームの縦方向の半径、 τ_p はピクセル時間、 τ_l はライン時間、 τ_f はフレーム時間である。

【請求項 1 2】

空間的に異なる複数の解析領域を有する画像を取得する解析領域画像取得部を有し、前記解析領域を有する各画像は、時系列的に取得された複数のデータをそれぞれ有する複数のピクセルから構成されており、さらに、

前記解析領域を有する画像のピクセルのデータを使用して二つの解析領域の相互相関を求める相関解析処理部とを有する画像解析装置。

【請求項 1 3】

前記解析領域画像取得部は、

前記解析領域を含む観察領域の画像を取得する観察領域画像取得部を有し、前記観察領域の画像は、時系列的に取得された複数のデータをそれぞれ有する複数のピクセルから構成されており、さらに、

前記観察領域の画像に対して前記解析領域を設定する解析領域設定部と、

前記観察領域の画像から前記解析領域に対応するピクセルのデータを抽出するデータ抽出部とを有する請求項 1 2 に記載の画像解析装置。

【請求項 1 4】

前記観察領域画像取得部は、前記観察領域の複数フレームの画像を取得する請求項 1 3 に記載の画像解析装置。

【請求項 1 5】

前記解析領域画像取得部は、前記解析領域を有する画像をそれぞれ取得する複数の光学系を有する請求項 1 2 に記載の画像解析装置。

【請求項 1 6】

前記解析領域画像取得部は、前記解析領域を有する画像を同時に取得する請求項 1 5 に記載の画像解析装置。

【請求項 1 7】

前記解析領域画像取得部は、前記解析領域を有する複数フレームの画像を取得する請求項 1 5 に記載の画像解析装置。

【請求項 1 8】

前記相関解析部は、蛍光強度、ピクセル時間、ライン時間、フレーム時間、ピクセル位置関係、ピクセルサイズまたはそれについての統計値を使用して相互相関を求める請求項 1 4 または請求項 1 7 に記載の画像解析装置。

【請求項 1 9】

前記相関解析部は、前記データの平均値、最大値、最小値、相対差または絶対差のいずれかを使用して相互相関を求める請求項 1 2 に記載の画像解析装置。

【請求項 2 0】

前記相関解析部は、前記データを再構成して得た再構成データを使用して相互相関を求める請求項 1 2 に記載の画像解析装置。

【請求項 2 1】

前記解析領域を有する各画像は二次元画像であり、相互相関を求める前記二つの解析領域は解析領域 1 と解析領域 2 であり、前記相関解析部は、下記の式 (1) を用いて相関計算を行ない、前記相関計算の結果に対して下記の式 (2) を用いてフィッティングを行なって二次元解析領域の相互相関を求める請求項 1 2 に記載の画像処理装置、

【数 5】

$$G_s(\xi, \psi) = \frac{\sum I_1(x, y) * I_2(x + \xi, y + \psi) / M_{12}}{(\sum I_1(x, y) / M_1) (\sum I_2(x, y) / M_2)} \quad \dots(5)$$

ここで、 G_s は R I C S の空間相互相関値、 I_1 は解析領域 1 を有する画像のピクセルのデータ、 I_2 は解析領域 2 を有する画像のピクセルのデータ、 x, y は測定点の空間的座標、 ξ, ψ は測定点からの空間的座標の変化量、 M_{12} は解析領域 1 と解析領域 2 のデータの積和計算の回数、 M_1 は解析領域 1 のデータ総数、 M_2 は解析領域 2 のデータ総数である、

【数 6】

$$G_s(\xi, \psi) = S(\xi, \psi) * G(\xi, \psi)$$

$$S(\xi, \psi) = \exp \left[- \frac{\frac{1}{2} * \left[\left(\frac{2\xi \delta_r}{W_0} \right)^2 + \left(\frac{2\psi \delta_r}{W_0} \right)^2 \right]}{\left(1 + \frac{4D(\tau_p \xi + \tau_l \psi)}{W_0^2} \right)} \right] \quad \dots(6)$$

$$G(\xi, \psi) = \frac{1}{N} \left(\left(1 + \frac{4D(\tau_p \xi + \tau_l \psi)}{W_0^2} \right)^{-1} * \left(1 + \frac{4D(\tau_p \xi + \tau_l \psi)}{W_z^2} \right)^{-1/2} \right)$$

ここで、 G_s は R I C S の空間相関値、 S は R I C S の解析におけるスキンの影響、 G は R I C S の解析における時間遅延の影響、 D は拡散定数、 δ_r はピクセルサイズ、 N は分子数、 ξ, ψ は測定点からの空間的座標の変化量、 W_0 は励起レーザービームの横方向

の半径、 W_z は励起レーザビームの縦方向の半径、 τ_p はピクセル時間、 τ_l はライン時間である。

【請求項 2 2】

前記解析領域を有する各画像は三次元画像であり、相互相関を求める前記二つの解析領域は解析領域 1 と解析領域 2 であり、前記相関解析部は、下記の式 (3) を用いて相関計算を行ない、前記相関計算の結果に対して下記の式 (4) を用いてフィッティングを行なって三次元解析領域の相互相関を求める請求項 1 2 に記載の画像処理装置、

【数 7】

$$G_s(\xi, \psi, \eta) = \frac{\sum I_1(x, y, z) * I_2(x + \xi, y + \psi, z + \eta) / M_{12}}{(\sum I_1(x, y, z) / M_1) (\sum I_2(x, y, z) / M_2)} \quad \dots(7)$$

ここで、 G_s は R I C S の空間相互相関値、 I_1 は解析領域 1 を有する画像のピクセルのデータ、 I_2 は解析領域 2 を有する画像のピクセルのデータ、 x, y, z は測定点の空間的座標、 ξ, ψ, η は測定点からの空間的座標の変化量、 M_{12} は解析領域 1 と解析領域 2 中のデータの積和計算の回数、 M_1 は解析領域 1 のデータ総数、 M_2 は解析領域 2 のデータ総数である、

【数 8】

$$G_s(\xi, \psi, \eta) = S(\xi, \psi, \eta) * G(\xi, \psi, \eta)$$

$$S(\xi, \psi, \eta) = \exp \left(- \frac{\frac{1}{2} * \left[\left(\frac{2\xi \delta_r}{W_0} \right)^2 + \left(\frac{2\psi \delta_r}{W_0} \right)^2 + \left(\frac{2\eta \delta_r}{W_0} \right)^2 \right]}{\left(1 + \frac{4D(\tau_p \xi + \tau_l \psi + \tau_f \eta)}{W_0^2} \right)} \right) \quad \dots(8)$$

$$G(\xi, \psi, \eta) = \frac{1}{N} \left(\left(1 + \frac{4D(\tau_p \xi + \tau_l \psi + \tau_f \eta)}{W_0^2} \right)^{-1} * \left(1 + \frac{4D(\tau_p \xi + \tau_l \psi + \tau_f \eta)}{W_z^2} \right)^{-1/2} \right)$$

ここで、 G_s は R I C S の空間相互相関値、 S は R I C S の解析におけるスキヤンの影響、 G は R I C S の解析における時間遅延の影響、 D は拡散定数、 δ_r はピクセルサイズ、 N は分子数、 ξ, ψ, η は空間的座標の変化量、 W_0 は励起レーザビームの横方向の半径、 W_z は励起レーザビームの縦方向の半径、 τ_p はピクセル時間、 τ_l はライン時間、 τ_f はフレーム時間である。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0012

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0012】

本発明による画像解析方法は、空間的に異なる複数の解析領域を有する画像を取得する解析領域画像取得ステップを有する。解析領域を有する各画像は、同時または時系列的に取得された複数のデータをそれぞれ有する複数のピクセルから構成されている。画像解析方法はさらに、前記解析領域を有する画像のピクセルのデータを使用して二つの解析領域の相互相関を求める相関解析ステップを有する。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0026

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0026】

走査制御部162は、試料Sの蛍光画像を取得する際、励起光の照射位置を試料Sに対してラスタ走査するようにガルバノミラー124を制御する。走査制御部162はまた、必要であれば、励起光の照射位置を試料Sに対してz走査するように対物レンズ駆動機構128を制御する。画像形成部164は、走査制御部162から入力される励起光の照射位置の情報と光検出器142a, ..., 142mの出力信号とから試料Sの蛍光画像を形成する。これにより、蛍光画像が取得される。記憶部166は、画像形成部164で形成された蛍光画像を記憶する。表示部168は、試料Sの蛍光画像や解析処理結果を表示する。入力部170は、たとえばマウスやキーボードを含み、表示部168と共同してGUIを構成する。このGUIは、観察領域や解析領域の設定などに利用される。ステージ制御部180は、たとえば観察領域を設定するために、入力部170からの入力情報にしたがって試料ステージ190を制御する。解析領域設定部172は、入力部170からの入力情報にしたがって解析領域を設定する。データ抽出部174は、相関を求める二つの解析領域のデータを抽出する。解析処理部176は、二つの解析領域を有する画像のピクセルのデータを使用して相互相関を求める。解析処理部176の処理の詳細は後述する。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0031

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0031】

【数1】

$$G_s(\xi, \psi) = \frac{\sum I_1(x, y) * I_2(x + \xi, y + \psi) / M_{12}}{(\sum I_1(x, y) / M_1)(\sum I_2(x, y) / M_2)} \quad \dots(1)$$

ここで、 G_s はRICSの空間相互相関値、 I_1 は解析領域1を有する画像のピクセルのデータたとえば蛍光強度データ、 I_2 は解析領域2を有する画像のピクセルのデータたとえば蛍光強度データ、 x, y は測定点の空間的座標、 ξ, ψ は測定点からの空間的座標の変化量、 M_{12} は解析領域1と解析領域2のデータの積和計算の回数、 M_1 は解析領域1のデータ総数、 M_2 は解析領域2のデータ総数である。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0036

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0036】

【数3】

$$G_s(\xi, \psi, \eta) = \frac{\sum I_1(x, y, z) * I_2(x + \xi, y + \psi, z + \eta) / M_{12}}{(\sum I_1(x, y, z) / M_1)(\sum I_2(x, y, z) / M_2)} \quad \dots(3)$$

ここで、 G_s はRICSの空間相互相関値、 I_1 は解析領域1を有する画像のピクセルのデータたとえば蛍光強度データ、 I_2 は解析領域2を有する画像のピクセルのデータたとえば蛍光強度データ、 x, y, z は測定点の空間的座標、 ξ, ψ, η は測定点からの空

間的座標の変化量、 M_{12} は解析領域 1 と解析領域 2 中のデータの積和計算の回数、 M_1 は解析領域 1 のデータ総数、 M_2 は解析領域 2 のデータ総数である。

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0065

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0065】

解析処理部 276 による画像の解析処理は、第一実施形態における二つの解析領域を有する画像が画像形成部 264 A, 264 B で取得された二つの観察領域の画像に代わるほかは、第一実施形態の解析処理部 176 による画像の解析処理と同様に行なわれる。