



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102621112 B

(45) 授权公告日 2015.12.09

(21) 申请号 201210020091.6

US 5303021 A, 1994.04.12, 全文.

(22) 申请日 2012.01.20

US 7179654 B2, 2007.02.20, 全文.

(30) 优先权数据

2011-014823 2011.01.27 JP

US 7741598 B2, 2010.06.22, 全文, 尤其是说

明书第3栏第4段, 第4栏第3段及附图1.

WO 2010131500 A1, 2010.11.18, 全文.

(73) 专利权人 索尼公司

审查员 林朋飞

地址 日本东京

(72) 发明人 田口步

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限公司  
代理人 余刚 吴孟秋

(51) Int. Cl.

G01N 21/64(2006.01)

(56) 对比文件

CN 101335821 A, 2008.12.31, 全文, 尤其是权利要求1, 说明书第2页倒数第2段, 第3页第7段, 第8页第5段, 第11页第3段.

JP 2010066146 A, 2010.03.25, 全文.

JP 2010085114 A, 2010.04.15, 全文.

JP 2010217087 A, 2010.09.30, 全文.

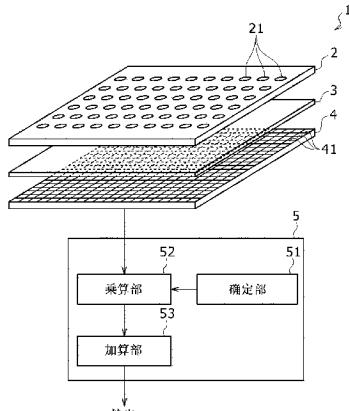
权利要求书1页 说明书6页 附图3页

(54) 发明名称

发光强度测量装置

(57) 摘要

本发明公开了一种发光强度测量装置,包括:光接收单元,与具有其中容纳样本的多个间格的生物芯片相对地设置,并且包括排列的多个光接收元件;和确定部,基于预先获得的光接收元件的噪声特性来确定每一光接收元件的权重比。该发光强度测量装置还包括:乘算部,将每一光接收元件的输出乘以权重比以计算每一光接收元件的加权输出;和加算部,将与间格中的一个分别相对的光接收元件的加权输出相加。



B

CN 102621112 B

1. 一种发光强度测量装置,包括:

光接收单元,被构造为与具有其中容纳样本的多个间格的生物芯片相对地设置,并且包括排列的多个光接收元件;

确定部,被构造为基于预先获得的光接收元件的噪声特性来确定每一光接收元件的权重比;

乘算部,被构造为将所述每一光接收元件的输出乘以所述权重比以计算所述每一光接收元件的加权输出;以及

加算部,被构造为将分别与间格中的一个相对的光接收元件的加权输出相加。

2. 根据权利要求 1 所述的发光强度测量装置,

其中,所述确定部采用与所述光接收元件的噪声强度的平方的倒数成正比的值作为所述权重比。

3. 根据权利要求 2 所述的发光强度测量装置,

其中,所述确定部基于在光接收元件组中的光接收元件的接收光强度分布来计算所述权重比,其中,所述光接收元件组由与同一间格相对的光接收元件组成。

4. 根据权利要求 3 所述的发光强度测量装置,

其中,所述确定部采用与所述接收光强度分布成正比的值作为所述权重比。

5. 根据权利要求 4 所述的发光强度测量装置,

其中,所述确定部将所述权重比标准化,使得每一光接收元件组关于同一接收光强度提供相同的输出。

6. 根据权利要求 5 所述的发光强度测量装置,

其中,所述光接收元件为互补金属氧化物半导体图像传感器。

7. 根据权利要求 1 所述的发光强度测量装置,

其中,所述光接收单元为图像传感器或者线传感器。

## 发光强度测量装置

### 技术领域

[0001] 本发明涉及用于测量生物芯片的发光强度的发光强度测量装置。

### 背景技术

[0002] 在生物科学等领域中,可执行从“间格化区域 (compartmentalized area) ”产生的光发射检测的测量。间格化区域例如可为与其他样本分开来容纳一样本的区域,如在基板上以阵列方式配置大量凹部的生物芯片中的每个凹部。

[0003] 在生物芯片中,诸如 DNA、蛋白质或者糖链的生物分子、具有这些物质中的任一种的细胞等预先被固定在每个凹部 (well) 中。当包括目标分子的样本被提供给这种芯片时,只有针对生物芯片上的生物分子 (下文中,为固定分子) 而言为特定的目标分子结合至固定分子。

[0004] 在凹部 (固定分子和目标分子通过结合至目标分子的发光体而彼此结合) 中引发光发射,并且测量发光强度。由此,可以确定包括在样本中的目标分子的结构和数量。通过与生物芯片相对设置的光接收元件 (诸如电荷耦合器件 (CCD) 图像传感器或者互补金属氧化物半导体 (CMOS) 图像传感器) 来执行发光强度的测量。生物芯片中的光发射在许多情况下为微发光,并且需要精确地测量微弱光。

[0005] 为了精确地检测微发光,减少在光接收元件中产生的噪声将是有效的。例如,日本专利公开第 2010-217087 号 (第 [0043] 段) 中描述的“biochipkensa souti”(英语为“biochip examining device”) 从对生物芯片成像所获得的图像中校正来源于光学读取装置的噪声。

### 发明内容

[0006] 为了去除在光接收元件中产生的噪声,一般预先分选出产生大噪声的光接收元件,并且一经检测到光发射就排除这些光接收元件的输出。然而,特别地,在 CMOS 图像传感器的情况下,光接收元件的噪声强度分布是连续的,因此很难基于特定阈值将像素分为使用的像素和未使用的像素。

[0007] 鉴于以上情况做出了本发明。本发明提供一种能够减少光接收元件中产生的噪声对发光强度测量的影响的发光强度测量装置。

[0008] 根据本发明的一实施方式,提供一种发光强度测量装置,包括:光接收单元,与具有其中容纳样本的多个间格的生物芯片相对地设置,并且包括进行排列的多个光接收元件;确定部,基于预先获得的光接收元件的噪声特性来确定每一光接收元件的权重比 (weight rate);乘算部,将光接收元件各者的输出乘以权重比以计算每一光接收元件的加权输出;以及加算部,将与间格中的一个分别相对的光接收元件的加权输出相加。

[0009] 根据该构造,通过确定部,针对具有大噪声特性的光接收元件设定低权重比,以及针对具有小噪声特性的光接收元件设定高权重比。然后,通过乘算部将各个光接收元件的输出乘以设定的权重比。因此,可以减少由于光接收元件噪声特性而对测量结果的影响。

- [0010] 确定部可以采用与光接收元件的噪声强度平方的倒数成正比的值作为权重比。
- [0011] 该构造使确定部能够基于预先获得的光接收元件的噪声特性来确定权重比。
- [0012] 确定部可以基于在光接收元件组中的光接收元件的接收光强度分布来计算权重比, 其中, 光接收元件组由与同一间格相对的光接收元件组成。
- [0013] 在光接收元件组中, 取决于与间格的位置关系, 在接收光强度中通常呈现分布。例如, 当在间格之一中引起光发射时, 直接位于该间格下的光接收元件的接收光强度高于不直接位于该间格下的光接收元件的接收光强度。因此, 通过利用确定部基于光接收元件的接收光强度分布来计算权重比, 可防止归因于具有低接收光强度的光接收元件的噪声被放大。
- [0014] 确定部可采用与接收光强度分布成正比的值作为权重比。
- [0015] 该构造使确定部能够基于光接收元件的接收光强度分布来计算权重比。
- [0016] 确定部可将权重比标准化, 使得每个光接收元件组可以提供相对于同一接收光强度的相同输出。
- [0017] 该构造使得能够将多个光接收元件组的接收光强度值(即, 各个间格的发光强度值)彼此比较。
- [0018] 光接收元件可为互补金属氧化物半导体图像传感器。
- [0019] 在互补金属氧化物半导体(CMOS)图像传感器的情况下, 各个光接收元件的噪声特性由于其结构而趋于是连续性的。因此, 基于特定阈值确定是否使用光接收元件的现有技术系统是不够的, 而采用本发明的一实施方式是有效的。
- [0020] 如上所述, 本发明的一实施方式可以提供一种能够减少光接收元件中产生的噪声对发光强度测量的影响的发光强度测量装置。

## 附图说明

- [0021] 图1是示出了根据本发明的一个实施方式的发光强度测量装置的示意图;
- [0022] 图2是发光强度测量装置的局部放大图;
- [0023] 图3A至图3E是示出了通过使用发光强度测量装置执行测量的ELISA方法的概述的示图; 以及
- [0024] 图4是示出了激励光照射到发光强度测量装置的生物芯片的状态的示意图。

## 具体实施方式

- [0025] 下文将参考附图描述本发明的实施方式。
- [0026] [发光强度测量装置的构造]
- [0027] 图1是示出了根据本发明的一个实施方式的发光强度测量装置1的概况的示意图。图2是发光强度测量装置1的局部放大图。如这些图所示, 发光强度测量装置1具有生物芯片2、激励光截止滤光片3、光接收单元4和信号处理装置5。在图2中, 省略激励光截止滤光片3。生物芯片2和光接收单元4通过激励光截止滤光片3这一中间物而彼此相对, 以及光接收单元4连接至信号处理装置5。在本实施方式中, 发光强度测量装置1被配置为用于检测抗原的荧光的装置。然而, 只要发光强度测量装置1为用于检测光发射的装置, 也能够采用另一构造。

[0028] 生物芯片 2 配置了多个凹部 21。被形成为彼此间格化的凹陷可以用作凹部 21，并且每个凹部 21 可独立于其他凹部 21 来容纳样本。尽管生物芯片 2 的类型包括脱氧核糖核酸 (DNA) 芯片、蛋白质芯片、糖链芯片、细胞芯片等，但是生物芯片 2 的类型可以为任意类型。例如，可以使用每一边的长度为几厘米且凹部 21 的直径为几十微米的生物芯片作为生物芯片 2。

[0029] 激励光截止滤光片 3 用于阻挡照射到生物芯片 2 的激励光，使得可防止激励光到达光接收单元 4，并且将激励光与由激励光照射引起的荧光分离。任何的截止滤光片均可被用作激励光截止滤光片 3。

[0030] 光接收单元 4 已经配置了多个光接收元件 41。光接收元件 41 为诸如电荷耦合器件 (CCD) 或者互补金属氧化物半导体 (CMOS) 的光电转换元件。光接收单元 4 可以为其中二维配置光接收元件 41 的图像传感器，或者可为其中一维配置光接收元件 41 的线传感器。具体地，优选采用允许在凹部 21 与光接收元件 41 之间容易对准并且在凹部 21 的形状与光接收元件 41 的形状之间适合度 (fitness) 极好的图像传感器。光接收单元 4 将各个光接收元件 41 的输出提供给信号处理装置 5。尽管输出系统根据 CCD、CMOS 等的元件结构而不同，但各个光接收元件 41 的输出彼此独立地被输出。

[0031] 光接收单元 4 与生物芯片 2 相对地设置。具体地，如图 2 所示，光接收单元 4 被设置为使得多个光接收元件 41 与生物芯片 2 的凹部 21 的各个凹部相对。与一个凹部 21 相对的光接收元件 41 的组被定义为群集 (cluster) 42。即，光接收单元 4 具有与凹部 21 的数目相同的群集 42 的数目。

[0032] 在群集 42 中，存在具有各种噪声特性的光接收元件 41。例如，如果光接收元件 41 为 CMOS 元件，则噪声为暗电流噪声、切换噪声等。此外，例如，暗电流噪声被划分为与时间成正比且可预见的系统噪声成分以及具有与暗电流成正比的分散度且不可预见的统计噪声成分。在这些噪声成分中，特别地，不可校正的统计噪声成为发光强度测量中的问题。以下描述是基于假设噪声为统计噪声的。在图 2 中，基于灰度而示例出说明各个光接收元件 41 的噪声强度。以此方式，每一群集 42 均包括具有不同噪声强度的光接收元件 41。

[0033] 信号处理装置 5 基于光接收单元 4 的各个光接收元件 41 的输出来执行下文所述的信号处理。如图 1 所示，信号处理装置 5 具有确定部 51、乘算部 52 和加算部 53。这些各自的构造可通过信号处理电路来实现，或者可通过算术处理装置的程序来实现。乘算部 52 连接至光接收单元 4，以及确定部 51 连接至乘算部 52。加算部 53 连接至乘算部 52，以及加算部 53 的输出从信号处理装置 5 输出。

[0034] 确定部 51 确定每一光接收元件 41 的“权重比”。尽管将在下文中描述由确定部 51 确定权重比的方法的细节，但确定部 51 根据来源于光接收元件 41 的固有噪声的每一光接收元件 41 的“统计噪声强度”和来源于群集 42 中的假设光强度的“信号敏感度”来确定权重比。此外，确定部 51 根据需要将权重比标准化，使得可在群集 42 中比较接收光强度。确定部 51 将权重比输出至乘算部 52。

[0035] 乘算部 52 将各个光接收元件 41 的输出乘以从确定部 51 输出的权重比。下文中，光接收元件 41 乘以权重比的输出被称为“加权输出”。通过乘法，各个光接收元件 41 的输出随着统计噪声强度和信号敏感度而增加和减少。乘算部 52 将加权输出输出至加算部 53。

[0036] 加算部 53 基于每一群集 42 而将从乘算部 52 输出的各个光接收元件 41 的加权输出

出相加。由此,计算出群集 42 的单元中的接收光强度。加算部 53 从信号处理装置 5 输出群集 42 的单元中的接收光强度。

[0037] [使用发光强度测量装置的发光强度测量方法]

[0038] 将描述通过使用发光强度测量装置 1 的发光强度测量方法。首先,由使用者制备生物芯片 2。尽管存在使用生物芯片的多种发光强度测量方法,但本实施方式可以应用于这些方法中的任一种。这里,将示意性地描述作为这些方法之一的酶联免疫吸附试验 (ELISA) 方法 (夹心方法)。

[0039] 图 3 是示出了 ELISA 方法的略图的示意图。该图示意性地示出了生物芯片 2 的一个凹部 21。如图 3A 所示,将能够结合至作为量化目标的蛋白质 (下文中,为所关注的蛋白质) 的抗体 A 固定至凹部 21。此时,例如,可以将能够结合至具有不同结构的所关注的蛋白质的抗体固定至其他凹部 21。

[0040] 接着,如图 3B 所示,将包括所关注的蛋白质的样本提供给凹部 21,并且所关注的蛋白质 B 结合至抗体 A。随后,如图 3C 所示,将能够结合至所关注的蛋白质的一次抗体 C 提供给凹部 21,并且将该一次抗体 C 结合至所关注的蛋白质 B。此后,将没有结合的所关注的蛋白质 B 和一次抗体 C 冲洗干净。

[0041] 如图 3D 所示,可以将能够结合至一次抗体 C 的二次抗体 D 提供给凹部 21,并且将二次抗体 D 结合至一次抗体 C。二次抗体通过荧光分子来标记。如图 3E 所示,当激励光照射到凹部 21 时,荧光分子产生荧光。即,如果在特定凹部 21 周围发现荧光强度,则使能对应于凹部 21 的所关注的蛋白质 B 的定量测定。

[0042] 在 ELISA 方法中的荧光的情况下,发光体为分子级,并且发光强度是微小的。因此,采用诸如延长光接收元件的曝光时间的对策。然而,在该情况下,光接收元件的噪声成为问题。特别地,在这种分析中,发光强度与分析值直接关联,因此,应执行从中消除噪声影响的精确发光强度测量。这种情况也适用于除 ELISA 方法以外的发光强度测量方法。

[0043] [发光强度测量装置的操作]

[0044] 将描述发光强度测量装置 1 的操作。该描述是基于如上所述针对发光强度测量装置 1 的生物芯片 2 来执行通过荧光分子进行标记的假设。图 4 是示出了激励光照射到生物芯片 2 的一凹部 21 的状态的示意图。如图所示,当激励光 L1 照射到凹部 21 时,荧光 L2 出现。荧光 L2 穿过激励光截止滤光片 3(图 4 中未示出)而透射,并且入射在与凹部 21 相对的群集 42 上。如图 4 所示,在群集 42 的光接收元件 41 中,接收光强度分布 S 取决于与凹部 21 的位置关系而形成。

[0045] 各个光接收元件 41 均执行入射荧光的光电转换,并且将转换结果输出至乘算部 52。就光接收元件 41 为输出源而言,基于输出顺序来识别每一光接收元件 41 的输出。

[0046] 确定部 51 确定权重比。确定部 51 保留在发光强度测量之前在各个光接收元件 41 周围所测量的暗电流值。一经开始发光强度测量,确定部 51 就获得对应于测量时间的暗电流值并且计算暗电流值的平方根。此外,确定部 51 将作为平方和的平方根的诸如切换噪声的其他类型的统计噪声相加到该平方根,并且采用该求和结果作为光接收元件 41 的噪声强度  $N_{i,j}$ 。 $N_{i,j}$  是指在排列的光接收元件 41 中第 i 行和第 j 列上的光接收元件 41 的噪声强度 (下文中,这也适用于其他下标)。

[0047] 此外,确定部 51 保留通过预先测量或者计算所获得的群集 42 中的接收光强度分

布 S。确定部 51 采用该接收光强度分布作为假定接收光强度。此外,如果在光接收元件 41 之间相对于同一光强度存在敏感度差,则确定部 51 将假定接收光强度乘以该敏感度差以获得信号敏感度  $S_{ij}$

[0048] 确定部 51 根据统计噪声强度  $N_{ij}$  和信号敏感度  $S_{ij}$  来计算权重比  $R_{ij}$ 。下文将描述用于推导权重比  $R_{ij}$  的方法。

[0049] 如果每一光接收元件 41 的噪声与其他光接收元件 41 的噪声不相关,则构成群集 42 的光接收元件 41 在加权之后的信噪 (SN) 比由下面的表达式 1 所示的等式给出。

[0050] [ 表达式 1]

[0051]

$$SN\text{ 比} = \frac{\sum_{i,j} R_{ij} S_{ij}}{\sqrt{(\sum_{i,j} R_{ij} N_{ij})^2}}$$

[0052] 使该 SN 比最小化的权重比  $R_{ij}$  通过以下表达式 2 所示的等式来获得。

[0053] [ 表达式 2]

[0054]

$$\partial_{R_{ij}} SN\text{ 比} = \frac{(\sum_{k \neq i, l \neq j} R_{kl}^2 N_{kl}^2) S_{ij} - N_{ij}^2 R_{ij} (\sum_{k \neq i, l \neq j} R_{kl} S_{kl})}{(\sum_{k,l} R_{kl}^2 N_{kl}^2)^{3/2}} = 0$$

[0055] 此时,权重比  $R_{ij}$  由下面的表达式 3 所示的等式给出。

[0056] [ 表达式 3]

$$[0057] R_{ij} = \frac{S_{ij} \sum_{k \neq i, l \neq j} R_{kl} N_{kl}}{N_{ij}^2 \sum_{k \neq i, l \neq j} (R_{kl} S_{kl})}$$

[0058] 一般地,表达式 3 中所示的等式的解法不是分析获得的。因此,采用由下面的表达式 4 所示的等式表示的近似。

[0059] [ 表达式 4]

[0060]

$$\frac{\sum_{k \neq i, l \neq j} R_{kl} N_{kl}}{\sum_{k \neq i, l \neq j} (R_{kl} S_{kl})} = \text{常数}$$

[0061] 近似是基于以下假设:无论哪个特定的光接收元件 41 出现问题,就其他光接收元件 41 而言,  $R_{kl} N_{kl}$  和  $(R_{kl} S_{kl})$  的总和均是恒定的。如果光接收元件 41 的数目足够大,则该近似是合理的。在该近似下,由表达式 4 所示的等式表示的权重比  $R_{ij}$  由下面的表达式 5 所示的等式给出。该等式最适合于与  $S_{ij}$  成正比的权重比  $R_{ij}$ 。

[0062] [ 表达式 5]

$$[0063] R_{ij} = \frac{S_{ij}}{N_{ij}^2}$$

[0064] 信号敏感度  $S_{ij}$  为光接收元件 41 对光的敏感度并且同时包括特定光接收元件 41 中(在特定光接收元件 41 中检测所观察的发光现象的概率)的假定光强度。噪声强度  $N_{ij}$  为不依赖于所检测的光强度的噪声。此外,执行标准化,使得信号敏感度  $S_{ij}$  可在群集 42 之间变得相同,并且以与以下表达式 6 所示的等式成正比的形式给出最后的权重比  $R_{ij}$ 。如果

在群集 42 之间不比较接收光强度,则不需要一定执行标准化。

[0065] [ 表达式 6]

$$[0066] \frac{R_{ij}}{\sum_{k,l}(R_{kl}S_{kl})} = \frac{S_{ij}\sum_{k,l}(N_{kl}^2)}{N_{ij}^2\sum_{k,l}(S_{kl}^2)}$$

[0067] 以上述方式来确定权重比  $R_{ij}$ 。通过确定部 51, 针对具有大噪声特性的光接收元件 41 来设定低权重比  $R_{ij}$ , 并且针对具有小噪声特性的光接收元件 41 来设定高权重比  $R_{ij}$ 。因此, 可减少由于光接收元件 41 的噪声特性导致的对测量结果的影响。

[0068] 此外, 确定部 51 基于与光接收元件 41(取决于与凹部 21 的位置关系而形成)的接收光强度分布 S 相关联的信号敏感度  $S_{ij}$  来计算权重比  $R_{ij}$ 。这可防止归因于具有低接收光强度的光接收元件 41 的噪声被放大。

[0069] 确定部 51 将以上述方式计算的权重比  $R_{ij}$  输出至乘算部 52。乘算部 52 将每一光接收元件 41 的输出乘以对应的一个权重比  $R_{ij}$  以产生加权输出。

[0070] 加算部 53 将各个光接收元件 41 的加权输出相加。由此, 计算每一群集 42 的接收光强度。每一群集的接收光强度从信号处理装置 5 输出, 并且通过使用者或者通过信息处理装置来执行所关注的物质的量化等。

[0071] 如上所述, 发光强度测量装置 1 基于来源于光接收元件 41 的固有噪声的统计噪声强度来确定权重比。因此, 使来自具有大噪声的光接收元件 41 的输出衰减, 并使来自具有小噪声的光接收元件 41 的输出放大。因此, 发光强度测量装置 1 可减少光接收元件 41 的固有噪声对测量结果的影响。此外, 这可减小光接收单元 4 的尺寸。

[0072] 具体地, 在根据本实施方式的发光强度测量装置 1 中, 如果光接收元件 41 为 CMOS 图像传感器, 则噪声可被抑制 15%。这可将光接收单元 4 的面积减小 25% (1/(噪声抑制比)2)。一般地, CMOS 图像传感器的价格与面积成正比, 以及因此可降低发光强度测量的成本。

[0073] 本发明的实施方式并不限于所述实施方式, 以及在不背离本发明的要旨的情况下可以进行改变。

[0074] 在本实施方式中, 已经描述用于测量在生物芯片中产生的光的发光强度的发光强度测量装置。然而, 本发明的实施方式也可适用于其他测量装置。具体地, 本发明的实施方式可以适用于用于通过多个传感器检测由相同因果关系控制的现象的系统, 诸如具有 PH 传感器的系统以及具有用于基于抗原 - 抗体反应来检测电位改变的传感器的系统。

[0075] 本发明包括于 2011 年 1 月 27 日向日本专利局提交的日本在先专利申请 JP 2011-014823 中所涉及的主题, 其全部内容结合于此作为参考。

[0076] 本领域的技术人员应当理解, 根据设计需求和其他因素, 可以进行各种修改、组合、子组合和变形, 只要它们均包括在所附权利要求或其等价物的范围之内。

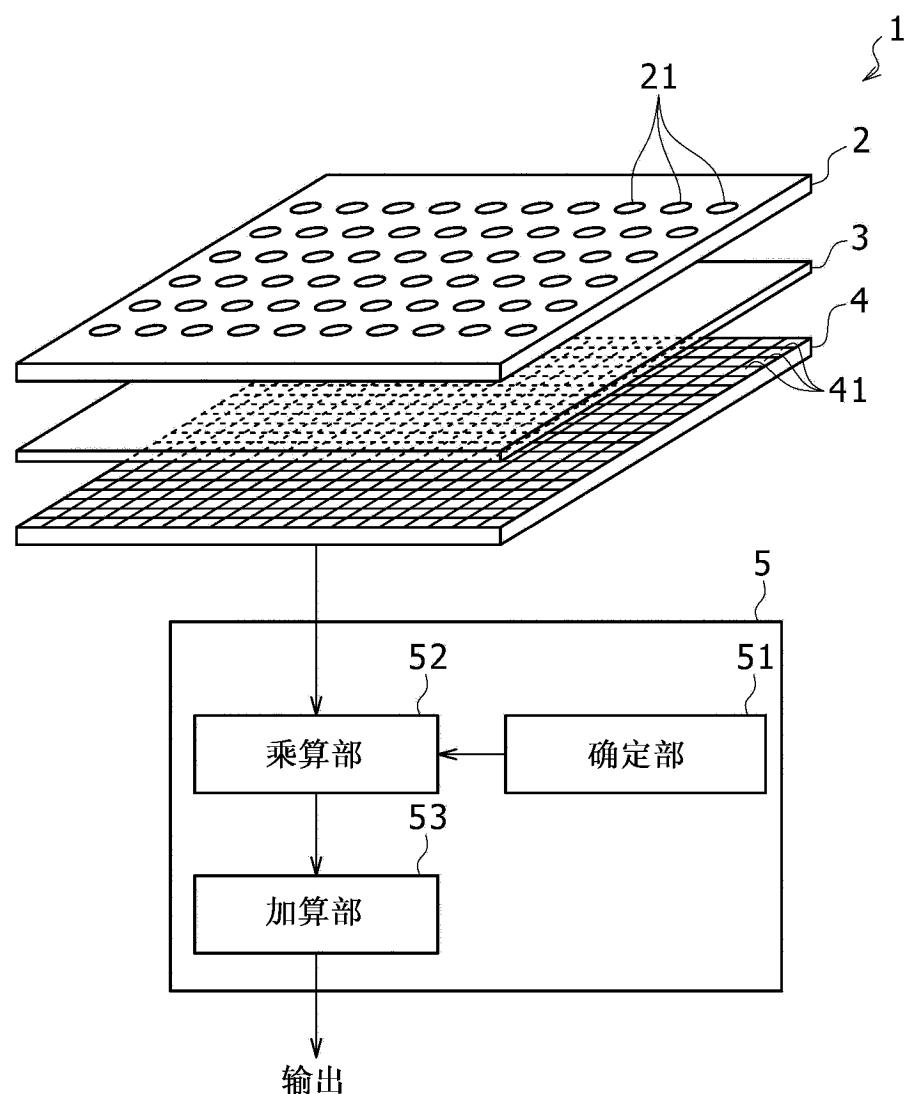


图 1

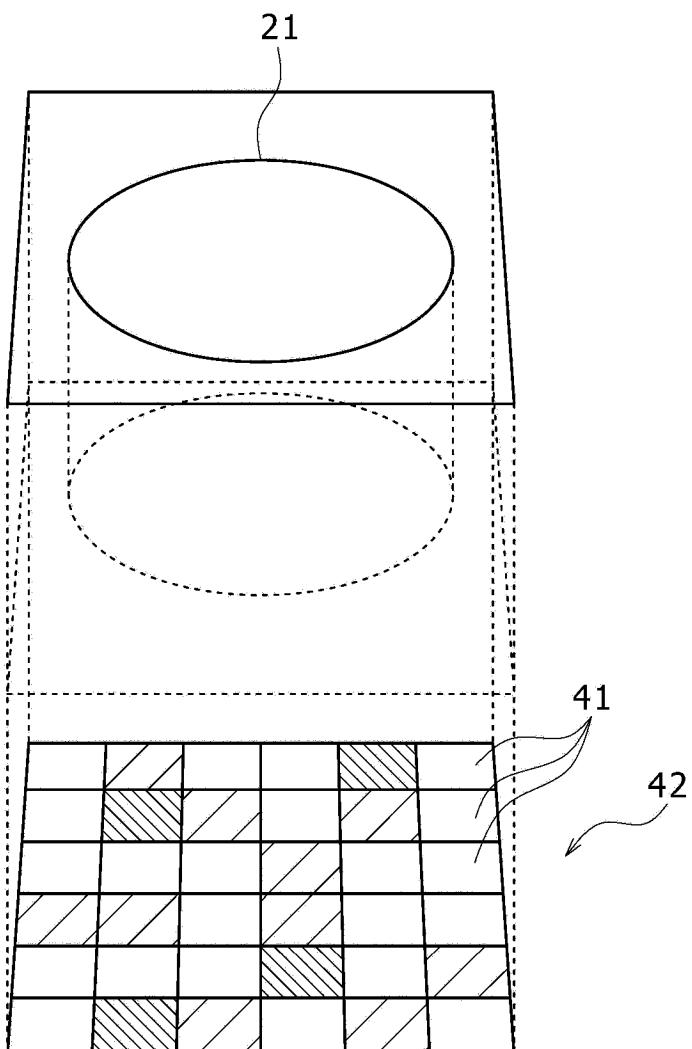


图 2

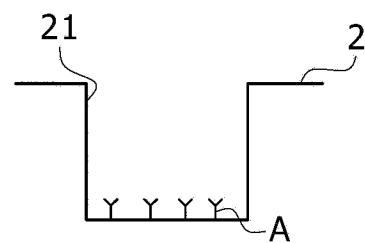


图 3A

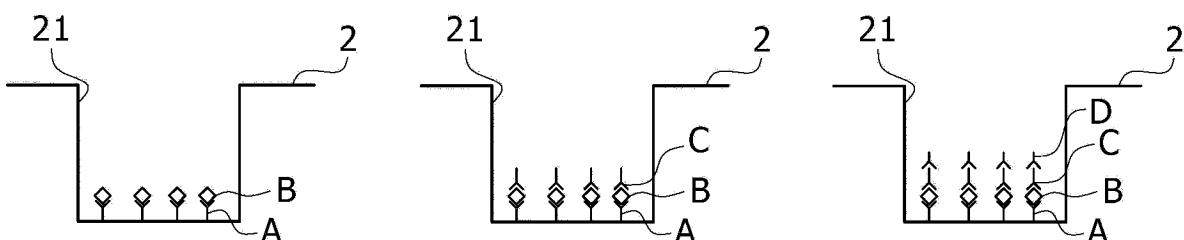


图 3B

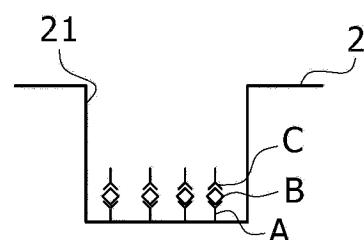


图 3C

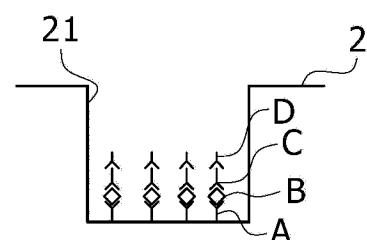


图 3D

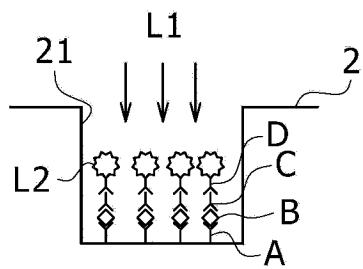


图 3E

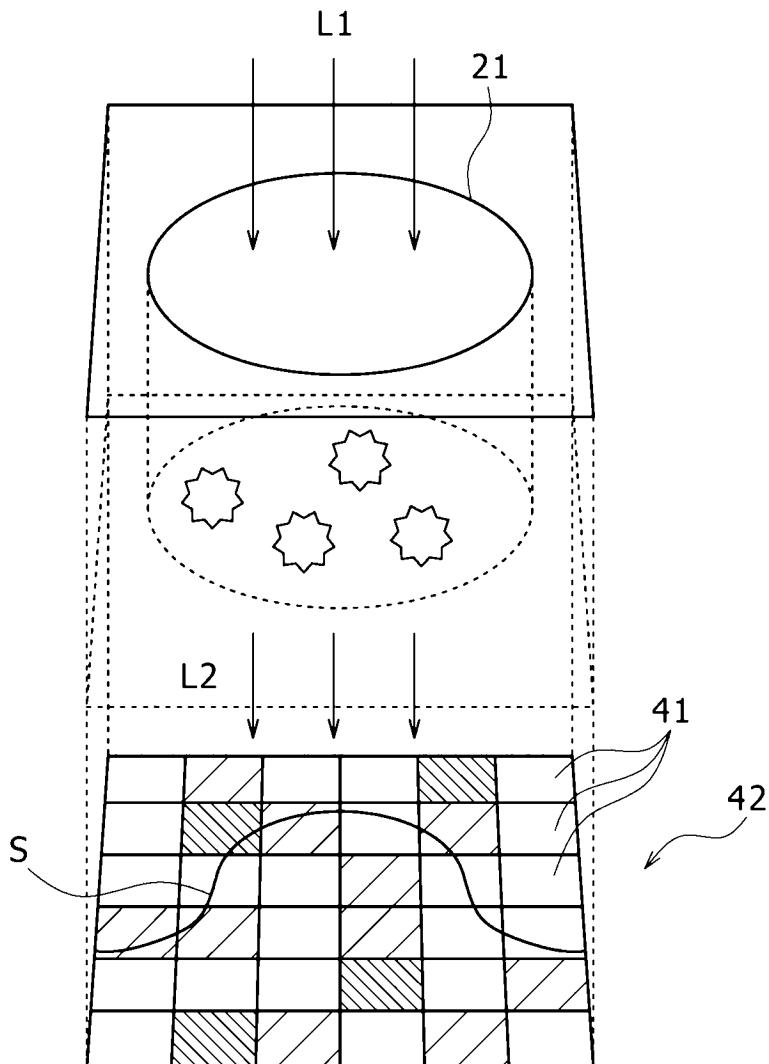


图 4