

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3667947号
(P3667947)

(45) 発行日 平成17年7月6日(2005.7.6)

(24) 登録日 平成17年4月15日(2005.4.15)

(51) Int.CI.⁷

F 1

G O 1 N 21/64

G O 1 N 21/64

Z

G O 1 N 21/64

F

請求項の数 2 (全 10 頁)

(21) 出願番号

特願平9-233747

(22) 出願日

平成9年8月29日(1997.8.29)

(65) 公開番号

特開平11-72435

(43) 公開日

平成11年3月16日(1999.3.16)

審査請求日

平成15年12月8日(2003.12.8)

(73) 特許権者 000005201

富士写真フィルム株式会社

神奈川県南足柄市中沼210番地

(74) 代理人 100059959

弁理士 中村 梶

(74) 代理人 100067013

弁理士 大塚 文昭

(74) 代理人 100065189

弁理士 宍戸 嘉一

(74) 代理人 100096194

弁理士 竹内 英人

(74) 代理人 100074228

弁理士 今城 俊夫

(74) 代理人 100084009

弁理士 小川 信夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 蛍光画像読み取り装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

蛍光画像を担持した画像担体に向けて、励起光を照射して、前記画像担体から蛍光を発せさせる少なくとも一つの励起光源と、CCDと、前記CCDの前記画像担体側に設けられたフィルタとを備え、

該フィルタが、前記励起光である波長450nm近傍の光をカットし、前記励起光により発生した蛍光を透過する色ガラスフィルタと、前記色ガラスフィルタの前記画像担体側の面に設けられ、前記励起光である波長450nm近傍の光をカットし、前記励起光により発生した蛍光を透過させ、前記色ガラスフィルタが励起光によって励起され蛍光を発生させることを防止するダイクロイックコーティングとを備えている、

ことを特徴とする蛍光画像読み取り装置。

【請求項2】

前記フィルタが、さらに、前記色ガラスフィルタの前記CCD側に、赤外線カットフィルタを備えた、

ことを特徴とする請求項1に記載の蛍光画像読み取り装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】

本発明は、蛍光画像読み取り装置に関するものであって、さらに詳細には、画像データのノイズとなる励起光および蛍光をカットして、S/N比を向上させることのできる蛍光画

像読み取り装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

蛍光物質を標識物質として使用した蛍光検出 (fluorescence) システムが知られている。この蛍光検出システムによれば、蛍光画像の読み取ることによって、遺伝子配列、遺伝子の発現レベル、蛋白質の分離、同定、あるいは、分子量、特性の評価などをおこなうことができ、たとえば、電気泳動させるべき複数のDNA断片を含む溶液中に、蛍光色素を加えた後に、複数のDNA断片をゲル支持体上で電気泳動させ、あるいは、蛍光色素を含有させたゲル支持体上で、複数のDNA断片を電気泳動させ、あるいは、複数のDNA断片を、ゲル支持体上で、電気泳動させた後に、ゲル支持体を蛍光色素を含んだ溶液に浸すなどして、電気泳動されたDNA断片を標識し、励起光により、蛍光色素を励起して、生じた蛍光を検出することによって、画像を生成し、ゲル支持体上のDNAの分布を検出したり、あるいは、複数のDNA断片を、ゲル支持体上で、電気泳動させた後に、DNAを変性 (denaturation) し、次いで、サザン・ブロッティング法により、ニトロセルロースなどの転写支持体上に、変性DNA断片の少なくとも一部を転写し、目的とするDNAと相補的なDNAもしくはRNAを蛍光色素で標識して調製したプローブと変性DNA断片とをハイブリダイズさせ、プローブDNAもしくはプローブRNAと相補的なDNA断片のみを選択的に標識し、励起光により、蛍光色素を励起して、生じた蛍光を検出することにより、画像を生成し、転写支持体上の目的とするDNAの分布を検出したりすることができる。さらに、標識物質により標識した目的とする遺伝子を含むDNAと相補的なDNAプローブを調製して、転写支持体上のDNAとハイブリダイズさせ、酵素を、標識物質により標識された相補的なDNAと結合させた後、蛍光基質と接触させて、蛍光基質を蛍光を発する蛍光物質に変化させ、励起光によって、生成された蛍光物質を励起して、生じた蛍光を検出することにより、画像を生成し、転写支持体上の目的とするDNAの分布を検出したりすることもできる。この蛍光検出システムは、放射性物質を使用することなく、簡易に、遺伝子配列などを検出することができるという利点がある。10
20

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

このような蛍光検出システム用の画像読み取り装置においては、蛍光画像を担持した試料に、光源から励起光を照射して、生じた蛍光を、レンズによって、CCDカメラの受光素子面に集光して、光電的に検出し、デジタル化して、蛍光画像データを生成しているが、CCDカメラが励起光を検出すると、S/N比が低下するため、レンズの前面に、励起光をカットする色ガラスフィルタを設け、励起光がCCDカメラの受光素子面に入射することの防止が図られている。30

しかしながら、励起光をカットする色ガラスフィルタが、励起光により照射されると、色ガラスフィルタが蛍光を発し、色ガラスフィルタを透過して、CCDカメラの受光素子面に入射するため、励起光をカットする色ガラスフィルタを設けるだけでは、十分に、S/N比を向上させることができないという問題があった。

【0004】

したがって、本発明は、画像データのノイズとなる励起光および蛍光をカットして、S/N比を向上させることのできる蛍光画像読み取り装置を提供することを目的とするものである。40

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明によれば、蛍光画像を担持した画像担体に向けて、励起光を照射して、前記画像担体から蛍光を発せさせる少なくとも一つの励起光源と、CCDと、前記CCDの前記画像担体側に設けられたフィルタとを備え、該フィルタが、前記励起光である波長450nm近傍の光をカットし、前記励起光により発生した蛍光を透過する色ガラスフィルタと、前記色ガラスフィルタの前記画像担体側の面に設けられ、前記励起光である波長450nm近傍の光をカットし、前記励起光により発生した蛍光を透過させ、前記色ガラスフィル50

タが励起光によって励起され蛍光を発生させることを防止するダイクロイックコーティングとを備えている、ことを特徴とする蛍光画像読み取り装置が提供される。

このような構成を有する本発明によれば、CCDの画像担体側の面に設けられたフィルタが、励起光である波長450nm近傍の光をカットし、励起光により発生した蛍光を透過する色ガラスフィルタと、色ガラスフィルタの画像担体側の面に設けられ、励起光である波長が450nm近傍の光をカットし、励起光により発生した蛍光を透過させ、前記色ガラスフィルタが励起光によって励起され蛍光を発生させることを防止するダイクロイックコーティングとを備えているので、フィルタに入射する光に含まれる励起光の大半がダイクロイックコーティングによってカットされるため、色ガラスフィルタが励起光によって励起されて蛍光が発せられることを効果的に防止することができ、色ガラスフィルタが励起光によって励起されて生じた蛍光をCCDが検出することにより画像データにノイズが生成されることを防止して、S/N比を向上させることができ可能になる。

【0006】

本発明の好ましい実施態様においては、前記フィルタが、さらに、前記色ガラスフィルタの前記CCD側に、赤外線カットフィルタを備えている。

本発明の好ましい実施態様によれば、フィルタが、さらに、色ガラスフィルタのCCD側に、赤外線カットフィルタを備えているので、赤外線もまた、フィルタによってカットすることができ、赤外線の波長領域に感度を有するCCDが、赤外線を検出して、画像データにノイズが生成されることを防止して、S/N比を大幅に向上させることができ可能になる。

【0007】

【発明の実施の形態】

以下、添付図面に基づいて、本発明にかかる好ましい実施態様につき、詳細に説明を加える。

図1は、本発明の好ましい実施態様にかかる蛍光画像読み取り装置を含む画像生成システムの略正面図である。

図1において、画像生成システムは、冷却CCDカメラ1、暗箱2およびパーソナルコンピュータ4を備えている。図1に示されるように、パーソナルコンピュータ3は、CRT4とキーボード5を備えている。

図2は、冷却CCDカメラ1の略縦断面図である。

図2に示されるように、冷却CCDカメラ1は、CCD6と、アルミニウムなどの金属により作られた伝熱板7と、CCD6を冷却するためのペルチ工素子8と、CCD6の前面に配置されたシャッタ9と、CCD6が生成したアナログ画像データをデジタル画像データに変換するA/D変換器10と、A/D変換器10によってデジタル化された画像データを一時的に記憶する画像データバッファ11と、デジタル画像データとともに、その画像データを生成した時の撮像条件を記憶するデータ記憶手段12と、冷却CCDカメラ1の動作を制御するカメラ制御回路13とを備えている。暗箱2との間に形成された開口部は、ガラス板14によって閉じられており、冷却CCDカメラ1の周囲には、ペルチ工素子8が発する熱を放熱するための放熱フィン15が、長手方向のほぼ1/2にわたって形成されている。データ記憶手段12は、カメラ制御回路13によりアクセス可能に構成されている。

【0008】

冷却CCDカメラ1に設けられたガラス板14の前面には、暗箱2内に設けられたカメラレンズ16が取付けられている。

図3は、暗箱2の略縦断面図である。

図3に示されるように、暗箱2内には、発光波長中心が450nmの励起光を発する透過型の第一の青色LED光源21が設けられており、第一の青色LED光源21の斜め上方には、発光波長中心が450nmの励起光を発する落射型の第二の青色LED光源22および第三の青色LED光源23が設けられている。第一の青色LED光源21の上面には、フィルタ24が貼着され、第二の青色LED光源22および第三の青色LED光源23

10

20

30

40

50

の前面には、それぞれ、フィルタ 25 およびフィルタ 26 が貼着されている。フィルタ 24、25、26 は、450 nm 近傍の波長以外の蛍光物質の励起に有害な光をカットし、450 nm 近傍の波長の光のみを透過する性質を有している。カメラレンズ 16 の前面には、450 nm 近傍の励起光をカットするフィルタ 27 が取り外し可能に設けられており、フィルタ 24 の上面には、第一の青色 LED 光源 21 から発せられる励起光を拡散させる拡散板 28 が設けられている。拡散板 28 の上面には、サンプル台 40 が載置され、サンプル台 40 の上面には、その上に載置される画像担体 18 に均一に照射されるように、第一の青色 LED 光源 21 から発せられる励起光を拡散させる拡散板 41 が設けられている。本実施態様においては、暗箱 2 の両壁部に、蛍光画像を担持した画像担体 18 を載置するサンプル台 40 を固定する 6 段の棚（図示せず）が設けられ、サンプル台 40 の位置を、上下方向に、7 段にわたって、変化させることができるように構成されている。
10

【0009】

図 4 は、フィルタ 27 の略断面図である。

図 4 に示されるように、フィルタ 27 は、色ガラスフィルタ 27a と、色ガラスフィルタ 27a のサンプル台 40 の側の表面に施されたダイクロイックコーティング 27b を備えている。色ガラスフィルタ 27a およびダイクロイックコーティング 27b は、図 5 に示されるような透過特性を有しており、450 nm 近傍の光をカットし、450 nm を越える波長の光を透過する性質を有している。ここに、蛍光色素が励起された結果、生ずる蛍光の波長は、つねに、励起光の波長よりも長いため、ダイクロイックコーティング 27b は、450 nm 近傍の励起光はカットするが、励起光により励起されて、蛍光色素が発する蛍光を透過させることができる。このように、色ガラスフィルタ 27a のサンプル台 40 側の表面には、450 nm 近傍の光をカットし、蛍光色素から発せられる蛍光を透過する性質を有するダイクロイックコーティング 27b が施されているので、第一の青色 LED 光源 21、第二の青色 LED 光源 22 または第三の青色 LED 光源 23 から発せられた励起光が、フィルタ 27 に入射した場合には、その大半は、ダイクロイックコーティング 27b によってカットされ、ごくわずかな励起光が色ガラスフィルタ 27a に入射するのみであるので、励起光によって、色ガラスフィルタ 27a が励起されて、蛍光を発し、この蛍光が、CCD 6 の光電面に入射して、光電的に読み取られ、生成された画像データにノイズを生ずることを効果的に防止することが可能になる。
20

【0010】

図 6 は、パーソナルコンピュータ 3 の周辺のブロックダイアグラムである。

図 6 に示されるように、パーソナルコンピュータ 3 は、冷却 CCD カメラ 1 の露出を制御する CPU 30 と、冷却 CCD カメラ 1 の生成した画像データを、画像データバッファ 11 から読み出す画像データ転送手段 31 と、画像データ転送手段 31 によって読み出された画像データに画像処理を施し、画像データ記憶手段 32 に記憶させる画像処理手段 33 と、画像データ記憶手段 32 に記憶された画像データに基づき、CRT 4 の画面上に可視画像を表示する画像表示手段 34 と、画像データ記憶手段 32 に記憶された画像データを解析する画像データ解析手段 35 を備えている。第一の青色 LED 光源 21、第二の青色 LED 光源 22 および第三の青色 LED 光源 23 は、光源制御手段 36 により制御されており、光源制御手段 36 には、キーボード 5 から、CPU 30 を介して、指示信号が入力されるように構成されている。CPU 30 は、冷却 CCD カメラ 1 のカメラ制御回路 13 に種々の信号を出力可能に構成されている。画像データ記憶手段 32 には、画像データとともに、その画像データを生成した時の撮像条件が記憶されており、CPU 30 によってアクセス可能に構成されている。
40

【0011】

本実施態様にかかる蛍光画像読み取り装置は、蛍光物質の画像を担持している画像担体 18 に、第一の青色 LED 光源 21 あるいは第二の青色 LED 光源 22 および第三の青色 LED 光源 23 から励起光を照射して、画像担体 18 から生じた蛍光を、カメラレンズ 16 を介して、冷却 CCD カメラ 1 の CCD 6 によって検出し、蛍光画像を生成可能に構成されている。ここに、画像担体 18 が蛍光物質の画像を担持しているとは、蛍光色素によっ
50

て標識された試料の画像を担持している場合と、酵素を標識された試料と結合させた後に、酵素を蛍光基質と接触させて、蛍光基質を、蛍光を発する蛍光物質に変化させ、得られた蛍光物質の画像を担持している場合とを包含している。

以上のように構成された本発明の実施態様にかかる蛍光画像読み取り装置は、以下のようにして、第一の青色LED光源21を用いて、蛍光画像が生成する。

【0012】

まず、ユーザーにより、サンプル台40の拡散板41上に、画像担体18が載置されて、レンズフォーカス合わせがなされ、暗箱2が閉じられた後、ユーザーがキーボード5に露出開始信号を入力すると、光源制御手段36によって、第一の青色LED光源21がオンされて、拡散板41上に載置された画像担体18に向けて、励起光が発せられる。同時に、露出開始信号は、CPU30を介して、冷却CCDカメラ1のカメラ制御回路13に入力され、カメラ制御回路13によって、シャッタ9が開かれ、CCD6の露出が開始される。
10

第一の青色LED光源21から発せられた励起光は、フィルタ24によって、450nm近傍の波長の光以外の波長成分がカットされ、その結果、450nm近傍の波長の光により、画像担体18中の蛍光物質が励起されて、蛍光が発せられる。

【0013】

画像担体18中の蛍光物質から発せられた蛍光は、フィルタ27およびカメラレンズ16を介して、CCD6の光電センサ60の光電面に画像を形成する。CCD6の光電センサ60は、こうして形成された画像の光を受け、これを電荷の形で蓄積する。本実施態様においては、第一の青色LED光源21から発せられた励起光がフィルタ27に入射した場合、色ガラスフィルタ27aのサンプル台40の側の表面に形成されたダイクロイックコーティング27bにより、450nm近傍の波長の励起光の大半がカットされ、色ガラスフィルタ27aに入射する励起光はごくわずかであるため、励起光が、色ガラスフィルタ27aに入射して、色ガラスフィルタ27aを励起することにより蛍光が生ずることを効果的に防止することができ、したがって、励起光により、色ガラスフィルタ27aが励起されて、生じた蛍光が、CCD6の光電センサ60の光電面に入射し、画像データ中にノイズが生成されることを防止して、S/N比を向上させることが可能になる。こうして、画像担体18中の蛍光物質から発せられた蛍光のみが、CCD6によって受光される。
20

【0014】

所定の露出時間が経過すると、CPU30は、冷却CCDカメラ1のカメラ制御回路13に露出完了信号を出力する。カメラ制御回路13は、CPU30から露出完了信号を受けると、CCD6が、電荷の形で蓄積したアナログ画像データを、A/D変換器10に転送させ、デジタル画像データにデジタル化して、撮像条件とともに、画像データバッファ11に、一時的に記憶させる。画像データバッファ11に一時的に記憶された画像データとその画像データを生成した時の撮像条件とは、データ記憶手段12に入力され、記憶される。同時に、CPU30は、画像データ転送手段31にデータ転送信号を出力して、冷却CCDカメラ1の画像データバッファ11に一時的に記憶されたデジタル画像データを撮像条件とともに、読み出させ、画像処理手段33に入力させる。
30

【0015】

画像処理手段33は、入力された画像データに所定の画像処理を施し、画像データ記憶手段32に記憶させる。

その後、ユーザーがキーボード5に画像生成信号を入力すると、画像表示手段35により、データ記憶手段32に記憶された画像データが読み出され、読み出された画像データに基づいて、CRT4の画面上に、蛍光画像が表示される。

また、ユーザーが、キーボード5を介して、解析信号を入力すると、画像データ解析手段35は、画像データ記憶手段32に記憶された画像データとその画像データを生成した時の撮像条件とを読み出し、ユーザーの指定した画像データの解析を実行し、解析結果は、画像表示手段34により、CRT4の画面上に表示される。

【0016】

10

20

30

40

50

本実施態様によれば、カメラレンズ16の前面に、取り外し可能に設けられたフィルタ27は、色ガラスフィルタ27aと、色ガラスフィルタ27aのサンプル台40の側の表面に施されたダイクロイックコーティング27bを備え、色ガラスフィルタ27aのサンプル台40側の表面には、450nm近傍の光をカットし、蛍光色素から発せられる蛍光を透過する性質を有するダイクロイックコーティング27bが施されているので、第一の青色LED光源21、第二の青色LED光源22または第三の青色LED光源23から発せられた励起光が、フィルタ27に入射した場合には、その大半は、ダイクロイックコーティング27bによってカットされ、ごくわずかな励起光が色ガラスフィルタ27aに入射するのみであるので、励起光によって、色ガラスフィルタ27aが励起されて、蛍光を発し、この蛍光が、CCD6の光電面に入射して、光電的に読み取られ、生成された画像データにノイズを生ずることを効果的に防止することが可能になる。

【0017】

図7は、カメラレンズ16の前面に、取り外し可能に設けられたフィルタ27の他の例を示す略断面図である。

図7に示されるように、フィルタ27は、色ガラスフィルタ27aと、色ガラスフィルタ27aのサンプル台40側の表面に施されたダイクロイックコーティング27bと、色ガラスフィルタ27aのカメラレンズ16側の表面に貼着された赤外線カットフィルタ27cを備えている。したがって、図7に示されるフィルタ27が、カメラレンズ16の前面に設けられた本発明の他の実施態様にかかる蛍光画像読み取り装置にあっては、励起光だけでなく、CCD6が検出可能な赤外線もまた、フィルタ27の赤外線カットフィルタ27cによりカットされるため、赤外線が、CCD6の光電センサ60の光電面に入射して、検出され、画像データにノイズが生成されることを効果的に防止することができ、S/N比を大幅に向上させることができるとなる。

【0018】

本発明は、以上の実施態様に限定されることなく、特許請求の範囲に記載された発明の範囲内で種々の変更が可能であり、それらも本発明の範囲内に包含されるものであることがいうまでもない。

たとえば、前記実施態様においては、冷却CCDカメラ1を用いているが、蛍光画像のように、微弱な光を検出する必要のない場合には、冷却手段を備えていないCCDカメラを使用して、画像データを生成し、シェーディング補正をするようにしてもよい。

さらに、前記実施態様においては、暗箱2内に、第一の青色LED光源21、第二の青色LED光源22および第三の青色LED光源23を設けているが、第一の青色LED光源21のみ、あるいは、第二の青色LED光源22および第三の青色LED光源23のみを設けるようにしてもよい。

【0019】

また、前記実施態様においては、発光波長中心が450nmの励起光を発する青色LED光源21、22、23を用いているが、蛍光物質の種類に応じて、発光波長中心が400nmないし700nmの波長の励起光を発するLED光源を選択して、使用することができる。

さらに、前記実施態様においては、冷却CCDカメラ1の周囲に、ペルチ工素子8が発する熱を放熱するための放熱フィン15が、長手方向のほぼ1/2にわたって形成されているが、長手方向のすべてにわたって、放熱フィン15を設けてもよく、冷却CCDカメラ1の周囲に、どの程度の放熱フィン15を設けるかは任意に決定することができる。

また、前記実施態様においては、落射型の光源として、第二の青色LED光源22および第三の青色LED光源23を設けているが、励起光源の数は2つに限定されるものではなく、3以上の任意の数の励起光源、たとえば、4つの励起光源を設けることもできる。

【0020】

さらに、本発明において、手段とは、必ずしも物理的手段を意味するものではなく、各手段の機能がソフトウェアによって実現される場合も包含する。また、一つの手段の機能が二以上の物理的手段により実現されても、二以上の手段の機能が一つの物理的手段により

実現されてもよい。

【0021】

【発明の効果】

本発明によれば、本発明は、画像データのノイズとなる励起光および蛍光をカットして、S/N比を向上させることのできる蛍光画像読み取り装置を提供することが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、本発明の好ましい実施態様にかかる画像処理装置を含む画像生成システムの略正面図である。

【図2】図2は、冷却CCDカメラの略縦断面図である。

【図3】図3は、暗箱の略縦断面図である。

10

【図4】フィルタの略断面図である。

【図5】図5は、色ガラスフィルタおよびダイクロイックコーティングの透過特性を示すグラフである。

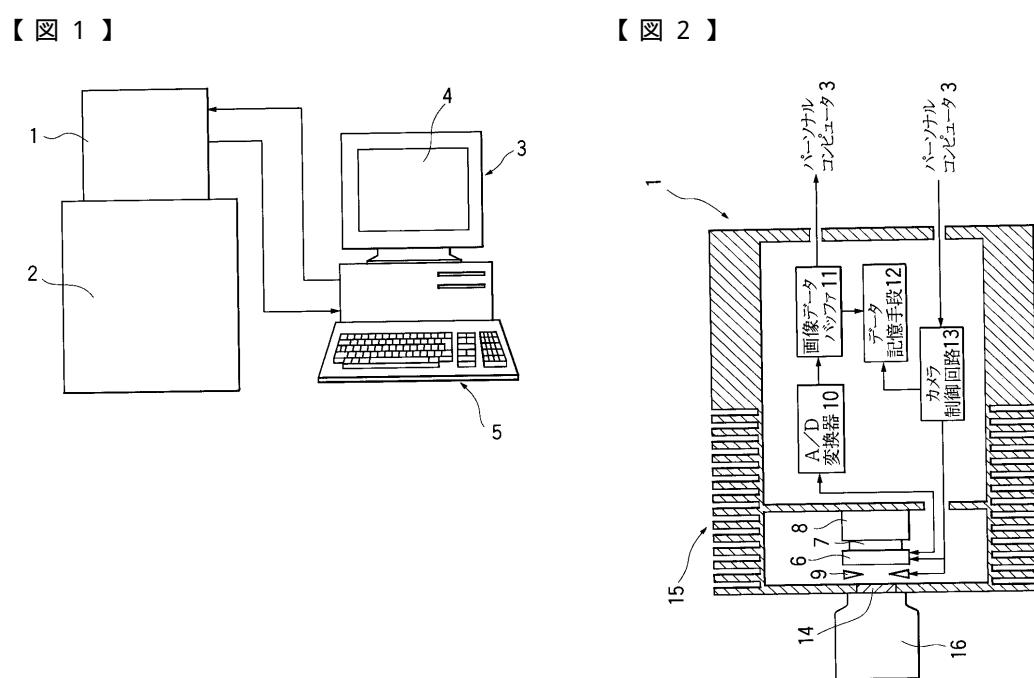
【図6】図6は、パーソナルコンピュータの周辺のブロックダイアグラムである。

【図7】図7は、フィルタの他の例を示す略断面図である。

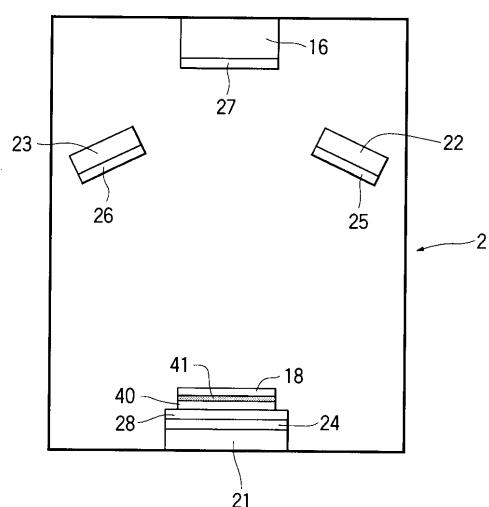
【符号の説明】

- | | | |
|----------|---------------|----|
| 1 | 冷却CCDカメラ | |
| 2 | 暗箱 | |
| 3 | パーソナルコンピュータ | |
| 4 | CRT | 20 |
| 5 | キー ボード | |
| 6 | CCD | |
| 7 | 伝熱板 | |
| 8 | ペルチ工素子 | |
| 9 | シャッタ | |
| 10 | A/D変換器 | |
| 11 | 画像データバッファ | |
| 12 | データ記憶手段 | |
| 13 | カメラ制御回路 | |
| 14 | ガラス板 | 30 |
| 15 | 放熱フィン | |
| 16 | カメラレンズ | |
| 18 | 画像担体 | |
| 21 | 第一の青色LED光源 | |
| 22 | 第二の青色LED光源 | |
| 23 | 第三の青色LED光源 | |
| 24、25、26 | フィルタ | |
| 27 | フィルタ | |
| 27a | 色ガラスフィルタ | |
| 27b | ダイクロイックコーティング | 40 |
| 27c | 赤外線カットフィルタ | |
| 28 | 拡散板 | |
| 30 | CPU | |
| 31 | 画像データ転送手段 | |
| 32 | 画像データ記憶手段 | |
| 33 | 画像処理手段 | |
| 34 | 画像表示手段 | |
| 35 | 画像データ解析手段 | |
| 36 | 光源制御手段 | |
| 40 | サンプル台 | 50 |

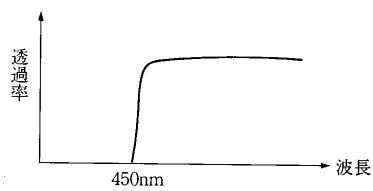
4 1 拡散板



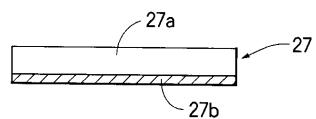
【図3】



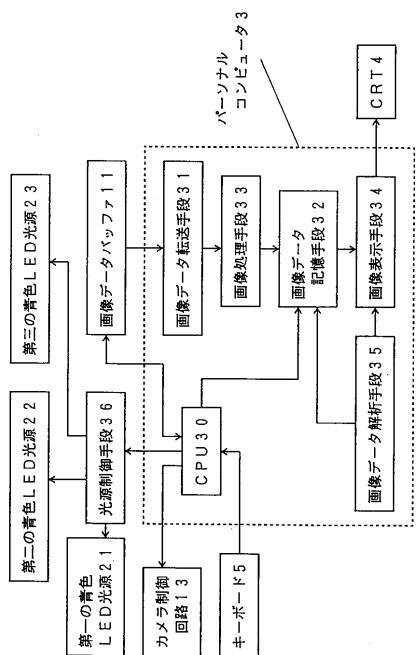
【図5】



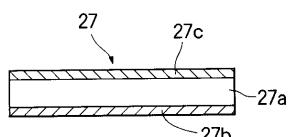
【図4】



【図6】



【図7】



フロントページの続き

(74)代理人 100082821
弁理士 村社 厚夫

(74)代理人 100078031
弁理士 大石 皓一

(72)発明者 西岡 由起憲
神奈川県足柄上郡開成町宮台798番地 富士写真フィルム株式会社内

審査官 横井 亜矢子

(56)参考文献 特開平08-304284(JP,A)
特開平05-256763(JP,A)
特開平05-034847(JP,A)
特開平07-209510(JP,A)
特開平07-333234(JP,A)
実開昭63-142743(JP,U)

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)
G01N 21/62-21/74
G02B 5/20-5/28