(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年8月29日(29.08.2024)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2024/176614 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 21/64 (2006.01) *G01N 15/14* (2024.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2023/046650

(22) 国際出願日： 2023年12月26日(26.12.2023)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2023-027533 2023年2月24日(24.02.2023) JP

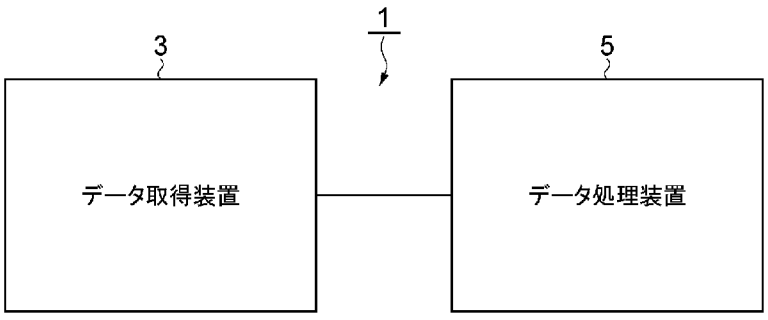
(71) 出願人: 浜松ホトニクス株式会社 (**HAMAMATSU PHOTONICS K.K.**) [JP/JP]; 〒4358558 静岡県浜松市中央区市野町１１２６番地の１ Shizuoka (JP).

(72) 発明者: 樋口 貴文 (**HIGUCHI Takafumi**); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町１１２６番地の１ 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP). 池村 賢一郎 (**IKEMURA Kenichiro**); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町１１２６番地の１ 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP). 山内 嘉晃 (**YAMAUCHI Yoshiaki**); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町１１２６番地の１ 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP). 辻井 健太 (**TSUJII Kenta**); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町１１２６番地の１ 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP). 武宮 孝嗣 (**TAKEMIYA Koji**); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町１１２６番地の１ 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP). 松岡 泰正 (**MATSUOKA Yasumasa**); 〒4358558 静岡県浜松市東区市野町１１２６番地の１ 浜松ホトニクス株式会社内 Shizuoka (JP).

(74) 代理人: 長谷川 芳樹, 外 (**HASEGAWA Yoshiki et al.**); 〒1000005 東京都千代田区丸の内二丁目１番１号丸の内 ＭＹ ＰＬＡＺＡ（明治安田生命ビル） ９階 創英国際特許法律事務所 Tokyo (JP).

(54) **Title:** DYE DATA ACQUISITION METHOD, DYE DATA ACQUISITION DEVICE, AND DYE DATA ACQUISITION PROGRAM

(54) 発明の名称： 色素データ取得方法、色素データ取得装置、及び色素データ取得プログラム



3 Data acquisition device
5 Data processing device

(57) **Abstract:** A data processing device 5 is a device that processes spectral data, which is a distribution of fluorescence intensity values for each of C (C is an integer at least equal to 2) wavelength bands, for N (N is an integer at least equal to 2) analytes, wherein the data processing device 5: clusters the N analytes into L (L is an integer at least equal to 2 and at most equal to N-1) target groups on the basis of the intensity values of each analyte, for each of the C wavelength bands; generates L cluster matrices in which the intensity values for each of the C wavelength bands are arranged for each clustered target group; calculates a statistical value of the intensity value of the target groups in the C wavelength bands for each of the L cluster matrices; and uses the statistical values in the C wavelength bands for each of the L cluster matrices to perform unmixing with respect to the C wavelength bands, to generate K (K is an integer at least equal to 2 and at most equal to C) items of pigment data indicating a distribution for each of K fluorescent dyes.

WO 2024/176614 A1

［続葉有］

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一　国際調査報告（条約第21条(3)）

(57) 要約：データ処理装置５は、Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の分析対象物を対象に、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の波長帯毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを処理する装置であって、Ｃ個の波長帯毎の各分析対象物の強度値を基に、Ｎ個の分析対象物をＬ個（Ｌは２以上Ｎ－１以下の整数）に対象物群にクラスタリングして、Ｃ個の波長帯毎の強度値をクラスタリングした対象物群毎に配列したＬ個のクラスタ行列を生成し、Ｌ個のクラスタ行列ごとにＣ個の波長帯における対象物群の強度値の統計値を計算し、Ｌ個のクラスタ行列ごとのＣ個の波長帯における統計値を用いて、Ｃ個の波長帯を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｃ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示すＫ個の色素データを生成する。

明　細　書

発明の名称 ：

色素データ取得方法、色素データ取得装置、及び色素データ取得プログラム

技術分野

[0001]　実施形態の一側面は、色素データ取得方法、色素データ取得装置、及び色素データ取得プログラムに関する。

背景技術

[0002]　従来から、細胞等の試料を対象にレーザ光を利用して、計数、選別、及び特性解析する技術としてフローサイトメトリーが知られている。例えば、下記特許文献１には、フローサイトメータにおいて出力された細胞からの各色光の蛍光データを対象に、細胞をクラスタリングすることが開示されている。また、下記非特許文献２には、フローサイトメータにおいて出力された蛍光データをアンミキシングして蛍光色素毎の蛍光スペクトルを生成した後、その蛍光スペクトルに対してクラスタリング処理を実行することが開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特開２０２０－８７４６５号公報

特許文献2：特開２０２１－３６２２４号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004]　上述したような従来の手法においては、アンミキシングに用いるミキシング行列が未知の場合に精度の良い蛍光スペクトルを得ることは難しい傾向にある。例えば、観察する色素の種類、使用する励起光の種類、等が変わったことにより観察条件が変化した場合に精度の良い蛍光スペクトルを得るのは

難しい。

[0005] そこで、実施形態の一側面は、かかる課題に鑑みてなされたものであり、観察条件が変化した場合でも精度の良い蛍光スペクトルを得ることが可能な色素データ取得方法、色素データ取得装置、及び色素データ取得プログラムを提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0006] 実施形態の第一の側面に係る色素データ取得方法は、Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象に、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを取得するデータ取得ステップと、Ｃ個の検出波長毎の各対象物の強度値を基に、Ｎ個の対象物をＬ個（Ｌは２以上Ｎ－１以下の整数）に対象物群にクラスタリングして、Ｃ個の検出波長毎の強度値をクラスタリングした対象物群毎に配列したＬ個のクラスタ行列を生成するクラスタリングステップと、Ｌ個のクラスタ行列ごとにＣ個の検出波長における対象物群の強度値の統計値を計算する計算ステップと、Ｌ個のクラスタ行列ごとのＣ個の検出波長における統計値を用いて、Ｃ個の検出波長を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｃ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示すＫ個の色素データを生成するデータ生成ステップと、を備える。

[0007] あるいは、実施形態の第二の側面に係る色素データ取得装置は、Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象に、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを処理する色素データ取得装置であって、Ｃ個の検出波長毎の各対象物の強度値を基に、Ｎ個の対象物をＬ個（Ｌは２以上Ｎ－１以下の整数）に対象物群にクラスタリングして、Ｃ個の検出波長毎の強度値をクラスタリングした対象物群毎に配列したＬ個のクラスタ行列を生成し、Ｌ個のクラスタ行列ごとにＣ個の検出波長における対象物群の強度値の統計値を計算し、Ｌ個のクラスタ行列ごとのＣ個の検出波長における統計値を用いて、Ｃ個の検出波長を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｃ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示すＫ個の色

素データを生成する。

[0008] あるいは、実施形態の第三の側面に係る色素データ取得プログラムは、Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象にした、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを基に、対象物における蛍光色素の分布を示す色素データを生成するための色素データ取得プログラムであって、コンピュータに、Ｃ個の検出波長毎の各対象物の強度値を基に、Ｎ個の対象物をＬ個（Ｌは２以上Ｎ－１以下の整数）に対象物群にクラスタリングして、Ｃ個の検出波長毎の強度値をクラスタリングした対象物群毎に配列したＬ個のクラスタ行列を生成するステップ、Ｌ個のクラスタ行列ごとにＣ個の検出波長における対象物群の強度値の統計値を計算するステップ、及びＬ個のクラスタ行列ごとのＣ個の検出波長における統計値を用いて、Ｃ個の検出波長を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｃ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示すＫ個の色素データを生成するステップ、を実行させる。

[0009] 上記第一の側面、上記第二の側面、あるいは上記第三の側面によれば、Ｎ個の対象物毎にＣ個の検出波長の蛍光分布のスペクトルデータが取得される。このスペクトルデータがＬ個の対象物群にクラスタリングされ、Ｃ個の検出波長毎に対象物群の強度値を配列したＬ個のクラスタ行列が生成され、Ｌ個のクラスタ行列毎に対象物群の強度値の統計値が計算される。さらに、Ｌ個のクラスタ行列の統計値を基にアンミキシングが行われる結果、Ｋ個の蛍光色素の対象物毎の分布を示すＫ個の色素データが生成される。これにより、観察する色素の種類、あるいは観察に用いる励起光の種類等が変化した場合、色素毎の数の偏りが発生した場合であっても、その観察条件に適したアンミキシングが実行され、精度の良い蛍光スペクトルデータである色素データを得ることができる。

[0010] 実施形態の第四の側面に係る色素データ取得方法は、Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象に、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを取得するデータ取得ステップと、Ｎ

個の対象物毎に、強度値を基に、Ｃ個の検出波長をＭ個（Ｍは２以上Ｃ－１以下の整数）の検出波長群にクラスタリングして、Ｎ個の対象物毎の強度値をクラスタリングした検出波長群毎に配列したＭ個のクラスタ行列を生成するクラスタリングステップと、Ｍ個のクラスタ行列ごとにＮ個の対象物における検出波長群の強度値の統計値を計算する計算ステップと、Ｍ個のクラスタ行列ごとのＮ個の対象物における統計値を用いて、Ｎ個の対象物を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｍ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示すＫ個の色素データを生成するデータ生成ステップと、を備える。

[0011] あるいは、実施形態の第五の側面に係る色素データ取得装置は、Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象に、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを処理する色素データ取得装置であって、Ｎ個の対象物毎に、強度値を基に、Ｃ個の検出波長をＭ個（Ｍは２以上Ｃ－１以下の整数）の検出波長群にクラスタリングして、Ｎ個の対象物毎の強度値をクラスタリングした検出波長群毎に配列したＭ個のクラスタ行列を生成し、Ｍ個のクラスタ行列ごとにＮ個の対象物における検出波長群の強度値の統計値を計算し、Ｍ個のクラスタ行列ごとのＮ個の対象物における統計値を用いて、Ｎ個の対象物を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｍ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示すＫ個の色素データを生成する。

[0012] あるいは、実施形態の第六の側面に係る色素データ取得プログラムは、Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象にした、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを基に、対象物における蛍光色素の分布を示す色素データを生成するための色素データ取得プログラムであって、コンピュータに、Ｎ個の対象物毎に、強度値を基に、Ｃ個の検出波長をＭ個（Ｍは２以上Ｃ－１以下の整数）の検出波長群にクラスタリングして、Ｎ個の対象物毎の強度値をクラスタリングした検出波長群毎に配列したＭ個のクラスタ行列を生成するステップ、Ｍ個のクラスタ行列ごとにＮ個の対象物における検出波長群の強度値の統計値を計算するステッ

プ、及び　Ｍ個のクラスタ行列ごとのＮ個の対象物における統計値を用いて、Ｎ個の対象物を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｍ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示すＫ個の色素データを生成するステップ、を実行させる。

[0013] 上記第四の側面、上記第五の側面、あるいは上記第六の側面によれば、Ｎ個の対象物毎にＣ個の検出波長の蛍光分布のスペクトルデータが取得される。このスペクトルデータがＭ個の検出波長群にクラスタリングされ、Ｎ個の対象物毎に検出波長群の強度値を配列したＭ個のクラスタ行列が生成され、Ｍ個のクラスタ行列毎に検出波長群の強度値の統計値が計算される。さらに、Ｍ個のクラスタ行列の統計値を基にアンミキシングが行われる結果、Ｋ個の蛍光色素の対象物毎の分布を示すＫ個の色素データが生成される。これにより、観察する色素の種類、あるいは観察に用いる励起光の種類等が変化した場合であっても、その観察条件に適したアンミキシングが実行され、精度の良い蛍光スペクトルデータである色素データを得ることができる。

発明の効果

[0014] 実施形態の一側面によれば、観察条件が変化した場合に精度の良い蛍光スペクトルを得ることができる。

図面の簡単な説明

[0015] [図1]実施形態にかかる色素データ取得システム１の概略構成図である。

[図2]図１のデータ取得装置３の概略構成図である。

[図3]図１のデータ処理装置５のハードウェア構成の一例を示すブロック図である。

[図4]図１のデータ処理装置５の機能構成を示すブロック図である。

[図5]図４の統計値計算部２０３によって再生成される行列データＹ’及び図４の行列推定部２０４によって導出される色素行列データＸ’のイメージを示す図である。

[図6]実施形態に係る色素データ取得方法の手順を示すフローチャートである。

[図7]フローサイトメトリーにおける一般的な分析対象物の集団同定の方法を説明するためのグラフである。

[図8]色素データ取得システム１においてクラスタリング処理を省略して取得された２つの色素に関する色素データの分布を示すグラフである。

[図9]色素データ取得システム１においてクラスタリング処理を実行して取得された２つの色素に関する色素データの分布を示すグラフである。

[図10]色素データ取得システム１においてクラスタリング処理を省略して取得された２つの色素に関する色素データの分布を示すグラフである。

[図11]色素データ取得システム１においてクラスタリング処理を実行して取得された２つの色素に関する色素データの分布を示すグラフである。

[図12]実施形態に係る色素データ取得システム１において取得されたある蛍光波長帯の強度のヒストグラム及び色素Ｂの発現量のヒストグラムを示すグラフである。

[図13]変形例に係るデータ取得装置３Ａの概略構成図である。

発明を実施するための形態

[0016] 以下、添付図面を参照して、本発明の実施形態について詳細に説明する。なお、説明において、同一要素又は同一機能を有する要素には、同一符号を用いることとし、重複する説明は省略する。

[0017] 図１は、実施形態にかかる色素データ取得装置である色素データ取得システム１の概略構成図である。色素データ取得システム１は、分析対象物である細胞(セル)、粒子等の試料内に含まれる色素（蛍光色素）の量を特定するための色素データを生成するための装置である。色素データ取得システム１によって生成される色素データは、そのデータの解析を通じた、セル等の計数、選別、特性解析等の目的に用いられる。そのため、色素データ取得システム１には、多量の分析対象物の色素データを高スループットで生成することが求められる。色素データ取得システム１は、分析対象物を対象にフローサイトメトリーによる分析を実行するデータ取得装置３と、データ取得装置３によって取得されたデータを処理するデータ処理装置５とを備えている。

データ取得装置３とデータ処理装置５とは、それらの間で有線通信あるいは無線通信を用いてデータが送受信可能に構成されていてもよいし、記録媒体を介してデータが入出力可能に構成されていてもよい。また、データ取得装置３とデータ処理装置５とは一体化された装置によって構成されていてもよい。

[0018] 図２は、図１のデータ取得装置３の概略構成図である。データ取得装置３は、フローサイトメトリーを実施するためのシステムであり、一般的にフローサイトメータと呼ばれ、流体システム５２、光学システム（光学系）５３、及び電子システム（信号処理装置）５４によって構成される。

[0019] 流体システム５２は、細胞あるいは粒子等の分析対象物を含むサンプル流体が注入され、サンプル流体に含まれる分析対象物を細いチャネル５５内に整列させて通過させることが可能なフローセル５６を含んで構成される。このフローセル５６には、ゲーティングされた分析対象物を電場制御等によってソーティング（分類および振り分け）する機能（図示せず）も設けられている。

[0020] 光学システム５３は、フローセル５６内を通過する分析対象物をフローサイトメトリーにより光学的に分析するシステムである。この光学システム５３は、光源７ａ，７ｂ，７ｃ，７ｄ、ダイクロイックミラー５７ａ，５７ｂ，５７ｃ、ミラー５７ｄ、レンズ８、フィルタ９ａ，９ｂ，９ｃ，９ｄ、ダイクロイックミラー１０ｂ，１０ｃ、光検出器１１ａ，１１ｂ，１１ｃ，１１ｄを含んで構成され、フローサイトメトリーによって分析対象物から発生した各種の光を光検出器１１ａ，１１ｂ，１１ｃ，１１ｄに導光する。光源７ａ，７ｂ，７ｃ，７ｄは、それぞれ、互いに異なる中心波長（励起波長）を有する光（励起光）を生成する光源装置である。光源７ａ，７ｂ，７ｃ，７ｄは、例えば、レーザ光源、発光ダイオード或いはスーパールミネッセントダイオードなどである。ダイクロイックミラー５７ａは、光源７ａから照射された光をレンズ８に向けて透過し、その他の光源７ｂ，７ｃ，７ｄから照射された光をレンズ８に向けて反射する。ダイクロイックミラー５７ｂは

、光源７ｂから照射された光をダイクロイックミラー５７ａに向けて反射し、光源７ｃ，７ｄから照射された光をダイクロイックミラー５７ａに向けて透過する。ダイクロイックミラー５７ｃは、光源７ｃから照射された光をダイクロイックミラー５７ｂに向けて反射し、光源７ｄから照射された光をダイクロイックミラー５７ｂに向けて透過する。ミラー５７ｄは、光源７ｄから照射された光をダイクロイックミラー５７ｃに向けて反射する。レンズ８は光源７ａ，７ｂ，７ｃ，７ｄから出射された光をフローセル５６内のチャネル５５に集光する。フィルタ９ａは、光の照射によってサンプル流体から生じた前方散乱光（つまり、光源７ａ，７ｂ，７ｃ，７ｄからの光の少なくとも１つの光）を透過させる。ダイクロイックミラー１０ｂは、光源７ａ，７ｂ，７ｃ，７ｄからそれぞれ出射された光の照射によってサンプル流体から生じた蛍光のうち第一の波長帯（第一の検出波長）の蛍光（第一の蛍光）を反射し、サンプル流体から生じた蛍光のうち残余の蛍光を透過させる。ダイクロイックミラー１０ｃは、ダイクロイックミラー１０ｂを透過した蛍光のうちの第二の波長帯（第二の検出波長）の蛍光（第二の蛍光）を反射し、ダイクロイックミラー１０ｂを透過した蛍光のうちの残余の波長帯（第三の検出波長）の蛍光（第三の蛍光）を透過させる。フィルタ９ｂは、ダイクロイックミラー１０ｂによって反射された第一の波長帯の第一の蛍光を透過させ、フィルタ９ｃは、ダイクロイックミラー１０ｃによって反射された第二の波長帯の第二の蛍光を透過させる。フィルタ９ｄは、ダイクロイックミラー１０ｃを透過した蛍光のうち第三の波長帯の第三の蛍光を透過させる。光検出器１１ａ，１１ｂ，１１ｃ，１１ｄは、それぞれ、前方散乱光、第一の蛍光、第二の蛍光、及び第三の蛍光の光軸上に設けられ、前方散乱光、第一の蛍光、第二の蛍光、及び第三の蛍光のそれぞれの強度を測定する。光検出器１１ａ，１１ｂ，１１ｃ，１１ｄは、例えば、光電子増倍管、アバランシェフォトダイオード、ＨＰＤ（Ｈｙｂｒｉｄ　Ｐｈｏｔｏ　Ｄｅｔｅｃｔｏｒ）或いはＳｉＰＭ（Ｓｉｌｉｃｏｎ　Ｐｈｏｔｏｍｕｌｔｉｐｌｉｅｒｓ）などである。また、光検出器１１ａ，１１ｂ，１１ｃ，１１ｄは、複数の

検出口を有する単一の光検出器によって構成されてもよい。このような単一の光検出器としては、マルチアノード光電子増倍管などがある。光学システム５３は、ダイクロイックミラー、フォルタ、光検出器の組み合わせの数に応じて、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光のそれぞれの強度を測定することができる。

[0021] なお、光学システム５３は、光源７ａ，７ｂ，７ｃ，７ｄから複数の波長帯の光を切り替えて照射させながら、前方散乱光、第一の蛍光、第二の蛍光、及び第三の蛍光のそれぞれの強度を測定することが可能とされている。これにより、複数波長帯の蛍光の強度を効率的に測定できる。また、光学システム５３は、光源７ａ，７ｂ，７ｃ，７ｄから複数の波長帯の光を連続的に照射させながら、前方散乱光、第一の蛍光、第二の蛍光、及び第三の蛍光のそれぞれの強度を測定することが可能とされてもよい。また、光学システム５３は、上記と同様な構成により、側方散乱光を観察可能な構成を有していてもよい。

[0022] 電子システム５４は、光学システム５３によって測定された光の強度のデータを収集するための装置である。具体的には、電子システム５４は、複数の光検出器１１ａ，１１ｂ，１１ｃ，１１ｄに電気的に接続され、複数の光検出器１１ａ，１１ｂ，１１ｃ，１１ｄの各チャネルで検出された強度を示す強度信号をＡ／Ｄ変換することにより、Ａ／Ｄ変換後の分析対象物毎の強度値を一次元に配列した配列データを生成し、外部に送信する。ここで、電子システム５４は、複数の光検出器１１ａ，１１ｂ，１１ｃ，１１ｄによって検出された強度信号をそのままＡ／Ｄ変換して配列データを生成してもよいし、強度信号あるいはＡ／Ｄ変換後の強度値を各種パラメータによって補正して、補正後の強度信号あるいは補正後の強度値に基づいた配列データを生成してもよい。

[0023] 次に、図３および図４を参照して、データ処理装置５の構成を説明する。図３は、データ処理装置５のハードウェア構成の一例を示すブロック図であり、図４は、データ処理装置５の機能構成を示すブロック図である。

[0024] 図３に示すように、データ処理装置５は、物理的には、プロセッサであるＣＰＵ（Central Processing Unit）１０１、記録媒体であるＲＡＭ（Random Access Memory）１０２又はＲＯＭ（Read Only Memory）１０３、通信モジュール１０４、及び入出力モジュール１０６等を含んだコンピュータ等であり、各々は電気的に接続されている。なお、データ処理装置５は、入出力デバイスとして、ディスプレイ、キーボード、マウス、タッチパネルディスプレイ等を含んでいてもよいし、ハードディスクドライブ、半導体メモリ等のデータ記録装置を含んでいてもよい。また、データ処理装置５は、複数のコンピュータによって構成されていてもよい。

[0025] 図４に示すように、データ処理装置５は、機能的な構成要素として、データ取得部２０１、クラスタリング部２０２、統計値計算部２０３、行列推定部２０４、及びデータ生成部２０５を備えている。図４に示すデータ処理装置５の各機能部は、ＣＰＵ１０１及びＲＡＭ１０２等のハードウェア上にプログラム（実施形態にかかる色素データ取得プログラム）を読み込ませることにより、ＣＰＵ１０１の制御のもとで、通信モジュール１０４、及び入出力モジュール１０６等を動作させるとともに、ＲＡＭ１０２におけるデータの読み出し及び書き込みを行うことで実現される。データ処理装置５のＣＰＵ１０１は、このコンピュータプログラムを実行することによって図４の各機能部を機能させ、後述する色素データ取得方法に対応する処理を順次実行する。なお、ＣＰＵ１０１は、単体のハードウェアでもよく、ソフトプロセッサのようにＦＰＧＡのようなプログラマブルロジックの中に実装されたものでもよい。ＲＡＭやＲＯＭについても単体のハードウェアでもよく、ＦＰＧＡのようなプログラマブルロジックの中に内蔵されたものでもよい。このコンピュータプログラムの実行に必要な各種データ、及び、このコンピュータプログラムの実行によって生成された各種データは、全て、ＲＯＭ１０３、ＲＡＭ１０２等の内蔵メモリ、又は、ハードディスクドライブなどの記憶媒体に格納される。以下、データ処理装置５の機能的な構成要素の機能について詳細に説明する。

[0026] データ取得部２０１は、Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の分析対象物を対象とした予め指定されたＣ個（Ｃは２以上の整数）の波長帯の蛍光に関する配列データを、データ取得装置３から取得する。これらのＣ個の配列データは、データ取得装置３において、複数の波長帯の光を切り替えて照射させながら、Ｎ個の分析対象物からのＣ個の波長帯毎の蛍光の強度値の分布を測定することによって得られたスペクトルデータである。このとき、取得される配列データの個数Ｃ（観察される蛍光の波長帯の数Ｃ）は、分析対象物に含まれうる色素の最大の数以上になるように予め指定される。

[0027] クラスタリング部２０２は、データ取得部２０１によって取得されたＣ個の配列データを読み取って、Ｃ個の波長帯毎の各分析対象物の強度値を基に、Ｃ個の配列データを構成するＮ個の分析対象物を対象にクラスタリングを実行する。クラスタリングの処理に先立って、クラスタリング部２０２は、Ｃ個の配列データのそれぞれを構成するＮ個の分析対象物の強度値を並列に一次元に配列した行列データＹを生成する。

[0028] そして、クラスタリング部２０２は、各蛍光の波長帯の強度値の分布情報を基に、Ｎ個の分析対象物をＬ個（Ｌは２以上Ｎ－１以下の整数）の対象物群にクラスタリングする。例えば、クラスタリング部２０２は、色素間で強度値の差が生じやすい波長帯を選択し、その波長帯の強度値のヒストグラムを作成し、そのヒストグラムを基に２つのピーク間に閾値を設定する。さらに、クラスタリング部２０２は、設定した閾値と配列データの強度値とを比較することによって、分析対象物を２つの対象物群にクラスタリングすることができる。クラスタリング部２０２は、同様な機能により、分析対象物を３以上の対象物群に分類することができる。ここで、クラスタリング部２０２がクラスタリングする対象物群の数Ｌは、分析対象物に存在しうる色素の種類の数に対応させて、データ処理装置５内に記憶されるパラメータとして予め設定される。そして、クラスタリング部２０２は、Ｃ個の配列データの分析対象物の強度値を一次元に並列に配列した行列データＹを、Ｌ個の対象物群毎のクラスタ行列に分割して再生成する。なお、クラスタリング部２０

２がクラスタリングする対象物群の数Ｌは、検出波長帯の種類や検出波長帯の数（Ｃ個）に応じて予め設定されてもよい。また、クラスタリング部２０２がクラスタリングする対象物群の数Ｌは、これらに無関係に設定されてもよい。

[0029] 統計値計算部２０３及び行列推定部２０４は、分析対象物を対象にして得られたＬ個のクラスタ行列を基に、Ｃ個の配列データからＫ個（Ｋは２以上Ｃ以下の整数）の色素のそれぞれの分布を示すＫ個の色素データを生成するためのミキシング行列Ａを求める。一般に、非負値行列因子分解（ＮＭＦ）の演算方式によれば、観測値行列である行列データＹと、Ｋ個の色素データを分析対象物毎に一次元に並列に配列した色素行列データＸとの関係は、ミキシング行列Ａを用いて、下記式；

$$Y = AX$$

で表わされる。ここで、Ｙは、Ｃ行Ｎ列の行列データであり、Ａは、Ｃ行Ｋ列の行列データであり、Ｘは、Ｋ行Ｎ列の行列データである。逆に、ミキシング行列Ａの値が求まれば、色素行列データＸは、ミキシング行列Ａの逆行列A^{-1}と行列データＹとを用いて、下記式；

$$X = A^{-1}Y$$

によって導き出すことができる（この処理をアンミキシングと言う。）。

[0030] ここで、統計値計算部２０３は、クラスタリング部２０２によって生成された行列データＹを、クラスタリング部２０２によってクラスタリングされた対象物群単位で圧縮することによって、行列データＹ’を再生成する。詳細には、統計値計算部２０３は、行列データＹの各行の強度値を対象に、クラスタリングされたクラスタ行列の対象物群毎に統計値を計算し、各行の対象物群を、計算した統計値を有する１つの対象物に圧縮する。これにより、統計値計算部２０３は、Ｃ行Ｌ列の行列データである行列データＹ’を再生成する。統計値計算部２０３は、統計値として、強度値の積算値に基づいた平均値を計算してもよいし、強度値の最頻値を計算してもよいし、強度値の中間値を計算してもよい。

[0031] 行列推定部２０４は、統計値計算部２０３が再生した行列データＹ’、及び、色素行列データＸから同様にして圧縮される色素行列データＸ’にも、ミキシング行列Ａを含む下記式；

Ｙ’＝ＡＸ’

が成立する性質を利用して、行列データＹ’を基にミキシング行列Ａを導出する。図５には、統計値計算部２０３によって再生成される行列データＹ’、及びそれに対応する色素行列データＸ’のイメージを示している。図５に図示される１つの升目は行列データの１つの要素を表している。例えば、３つの対象物群ＰＧｒ$_{01}$～ＰＧｒ$_{03}$に分割された色素行列データＸ及び行列データＹは、対象物群ＰＧｒ$_{01}$～ＰＧｒ$_{03}$毎の統計値を代表値として、３列の色素行列データＸ’及び行列データＹ’に圧縮される。

[0032] 行列推定部２０４は、次のようにして、行列データＹ’を基にミキシング行列Ａを導出する。すなわち、行列推定部２０４は、ミキシング行列Ａに初期値を設定し、ミキシング行列Ａの値を順次変更しながら下記のロス関数（損失値）Ｌｏｓを計算し、ロス関数Ｌｏｓの値を低減させるようなミキシング行列Ａを導出する。なお、このロス関数には、Ｌ１ノルムλ|A|（λは正則化項を重視する度合いを示す係数）等の正則化項が追加されてもよい。

[数1]

$$Los = \sum_{j}^{C} \frac{1}{a} (\boldsymbol{Y'} - \boldsymbol{AX'})_{1j}{}^{2} + \sum_{j}^{C} \frac{1}{b} (\boldsymbol{Y'} - \boldsymbol{AX'})_{2j}{}^{2} + \sum_{j}^{C} \frac{1}{c} (\boldsymbol{Y'} - \boldsymbol{AX'})_{3j}{}^{2}$$

上記式中、ｊは行列データの行の位置（蛍光の波長帯に対応）を示すパラメータであり、行列の添え字１ｊは、１番目のクラスタ行列のｊ番目の行の行列データを示し、行列の添え字２ｊは、２番目のクラスタ行列のｊ番目の行の行列データを示し、行列の添え字３ｊは、３番目のクラスタ行列のｊ番目の行の行列データを示す。また、パラメータａ、ｂ、ｃは、行列データＹ’の各列の統計値の平均値を示している。

[0033] 上記のように、行列推定部２０４は、クラスタリング部２０２によって分

割されたＬ個のクラスタ行列毎に、Ｃ個の行列データＹ’の統計値を参照してロス関数を計算し、Ｌ個のロス関数の和を基にロス関数Ｌｏｓを計算し、そのロス関数Ｌｏｓを基にミキシング行列Ａを求める。この際、行列推定部２０４は、Ｌ個のクラスタ行列毎に計算したロス関数を、Ｃ個の行列データＹ’の統計値の平均値ａ，ｂ，ｃで除算することによって補正してから、補正したロス関数の和を計算することによってロス関数Ｌｏｓを求めている。なお、行列推定部２０４は、Ｌ個のクラスタ行列毎のロス関数を、差分値Ｙ’－ＡＸ’の蛍光の波長帯毎の行成分を蛍光の各波長帯に対応するＣ個の統計値を用いて除算して補正することによって、計算してもよい。

[0034] なお、上記式は、次のように一般化することもできる。つまり、行列推定部２０４は、次のようにして、行列データＹ’を基にミキシング行列Ａと色素行列データＸ’を導出する。すなわち、行列推定部２０４は、ミキシング行列Ａと色素行列データＸ’に初期値を設定し、ミキシング行列Ａと色素行列データＸ’の値を順次変更しながら下記式を用いてロス関数（損失値）Ｌｏｓを計算し、ロス関数Ｌｏｓの値を低減させるようなミキシング行列Ａと色素行列データＸ’を導出する。なお、このロス関数には、Ｌ１ノルムλ|A|（λは正則化項を重視する度合いを示す係数）等の正則化項が追加されてもよい。また、ミキシング行列Ａと色素行列データＸ’が非負値になるような制約をかけて計算してもよい。

[数2]

$$Los = \sum_{i}^{L} Los_i = \sum_{i}^{L} \sum_{j}^{C} w_{ij} (Y' - AX')_{ij}{}^{2}$$

上記式中、ｊは行列データの行の位置（蛍光の波長帯に対応）を示すパラメータであり、ｉは行列データの列の位置（ｉ番目のクラスタに対応）を示すパラメータである。また、w_{ij}は行列データの各要素の重みを表しており、各要素の値またはその標準偏差から計算しても良い。また、w_{ij}を全て同じ値にして各要素の重みを考慮しないことも可能である。なお、上記式における

行列データＹ’の各列の統計値の平均値をa、b、c、…とし、w_{1j}＝１／ａ、w_{2j}＝１／ｂ、w_{3j}＝１／ｃと置き換えた式は、先に示したロス関数Ｌｏｓの式と同じとなる。

[0035] 上記のように、行列推定部２０４は、クラスタリング部２０２によって分割されたＬ個のクラスタ行列毎に、Ｃ個の行列データＹ’の統計値を参照してロス関数を計算し、Ｌ個のロス関数$Ｌｏｓ_i$の和を基にロス関数Ｌｏｓを計算し、そのロス関数Ｌｏｓを基にミキシング行列Ａを求める。なお、行列推定部２０４は、Ｌ個のクラスタ行列毎のロス関数$Ｌｏｓ_i$を、差分値Ｙ’－ＡＸ’の蛍光の波長帯毎の行成分を蛍光の各波長帯に対応するＣ個の統計値を用いて除算して補正することによって、計算してもよい。

[0036] データ生成部２０５は、分析対象物を対象にして得られたＣ個の配列データに対して、行列推定部２０４によって導出されたミキシング行列Ａを用いてアンミキシングすることによって、Ｋ個の色素データを取得する。具体的には、データ生成部２０５は、クラスタリング部２０２によってＣ個の配列データを基に生成された行列データＹに、ミキシング行列Ａの逆行列$Ａ^{-1}$を適用することにより、色素行列データＸを計算する。そして、データ生成部２０５は、色素行列データＸからＫ個の色素データを再生し、再生したＫ個の色素データを出力する。このときの出力先は、ディスプレイ、タッチパネルディスプレイ等のデータ処理装置５の出力デバイスであってもよいし、データ処理装置５にデータ通信可能に接続された外部の装置であってもよい。また、データ生成部２０５によって生成された色素データは、分析対象物の計数、選別、特性解析等の目的でデータ解析に用いられてもよい。

[0037] 次に、本実施形態に係る色素データ取得システム１を用いた分析対象物を対象にした観察処理の手順、すなわち、本実施形態に係る色素データ取得方法の流れについて説明する。図６は、色素データ取得システム１による観察処理の手順を示すフローチャートである。

[0038] まず、データ取得装置３によって、複数の分析対象物を対象にした観察処理が実行される結果、配列データが生成および送信される（ステップＳ１）

。次に、データ処理装置５のデータ取得部２０１によって、Ｃ個の蛍光波長帯の配列データが、データ取得装置３から取得される（ステップＳ２；データ取得ステップ）。

[0039] さらに、データ処理装置５のクラスタリング部２０２によって、Ｃ個の配列データを対象にクラスタリングが実行され、配列データのＮ個の分析対象物がＬ個の対象物群にクラスタリングされる（ステップＳ３；クラスタリングステップ）。次に、データ処理装置５の統計値計算部２０３により、Ｌ個の対象物群の統計値を計算することにより、クラスタリング部２０２によって生成された行列データＹを基に行列データＹ’が再生成される（ステップＳ４；計算ステップ）。

[0040] そして、データ処理装置５の行列推定部２０４により、行列データＹ’を基にミキシング行列Ａが導出される（ステップＳ５；データ生成ステップ）。最後に、データ処理装置５のデータ生成部２０５により、分析対象物を対象にしたＣ個の配列データを基に生成された行列データＹがミキシング行列Ａを用いてアンミキシングされることにより、Ｋ個の色素データが取得および出力される（ステップＳ６；データ生成ステップ）。以上により、複数の分析対象物を対象にした観察処理が完了する。

[0041] 以上説明した色素データ取得システム１によれば、Ｎ個の分析対象物毎にＣ個の波長帯の蛍光の分布を示すスペクトルデータが取得される。このスペクトルデータがＬ個の対象物群にクラスタリングされ、Ｃ個の蛍光波長帯毎に対象物群の強度値を配列したＬ個のクラスタ行列が生成され、Ｌ個のクラスタ行列毎に対象物群の強度値の統計値が計算される。さらに、Ｌ個のクラスタ行列の統計値を基にアンミキシングが行われる結果、Ｋ個の蛍光色素の対象物毎の分布を示すＫ個の色素データが生成される。これにより、観察する色素の種類、あるいは観察に用いる励起光の種類等が変化した場合、色素毎の数の偏りが発生した場合であっても、その観察条件に適したアンミキシングが実行され、精度の良い蛍光スペクトルデータである色素データを得ることができる。

[0042] フローサイトメトリーは、細胞、細胞表面タンパク質、細胞内タンパク質を染色することで、細胞集団の同定あるいは定量を可能とし、セルソーティング、免疫表現型などの用途に利用できる手法である。本実施形態によれば、取得した色素データを基に、例えば、血液細胞に対して使用した抗体の発現の組み合わせを分析することによって、どの細胞が腫瘍化しているのかを精度よく同定することができる。

[0043] 本実施形態においては、複数の波長帯の光のそれぞれを分析対象物に照射することで、Ｃ個の蛍光波長帯毎の強度値の分布であるスペクトルデータが取得されている。これにより、複数の波長帯の光を用いることで、複数種類の蛍光色素からの蛍光を効率よく観察することができる。その結果、複数の蛍光色素を観察対象とする場合に精度の良い色素データを得ることができる。

[0044] また、本実施形態においては、強度値のＣ個の蛍光波長帯毎の分布情報を基にＮ個の分析対象物がクラスタリングされている。このように分布情報を利用することで、蛍光波長分布の類似性を基にクラスタリングすることができる。その結果、観察条件に適したアンミキシングが実行され、精度の良い色素データを得ることができる。

[0045] また、本実施形態においては、配列データの統計値が、対象物群の強度値の積算値、最頻値、あるいは中間値に基づいて計算されている。この場合、クラスタ行列におけるＬ個の対象物群の強度値の全体的傾向を基にアンミキシングを実行することができ、観察条件に適したアンミキシングが実行され、精度の良い色素データを得ることができる。

[0046] また、本実施形態においては、Ｌ個のクラスタ行列ごとのＣ個の蛍光波長帯の統計値を用いて、ミキシング行列Ａが求められ、ミキシング行列Ａを用いてアンミキシングが行われている。この場合、解析対象物の数、観察に用いる励起光の種類、あるいは、観察する蛍光バンドの数が増加しても、アンミキシングを行う際の計算量を抑えることができる。また、クラスタリングされたクラスタ行列毎の強度値の統計値を用いてアンミキシングを行うこと

で、色素データの分離の精度も向上させることができる。従来は、ミキシング行列Ａの導出を各色素のリファレンス情報（蛍光スペクトル、吸収スペクトル等）を基に計算することによって行っていた。本実施形態では、そのようなリファレンス情報が未知の場合であっても、配列データから得られる行列データＹからミキシング行列を推定することができる。結果として、分離データの精度を高めつつ色素データを取得する際のスループットの向上を図ることができる。

[0047] さらに、本実施形態においては、非負値行列因子分解を用いて、Ｌ個のクラスタ行列ごとのＣ個の蛍光波長帯の統計値を基にロス関数Ｌｏｓが計算され、ロス関数Ｌｏｓの和を基にミキシング行列Ａが求められている。この場合、クラスタリングされた配列データのＬ個の対象物群の統計値を基にロス関数Ｌｏｓが計算され、これらのロス関数Ｌｏｓの和を基にミキシング行列Ａが求められ、そのミキシング行列Ａを用いてアンミキシングを実行することができる。これにより、複数の分析対象物に含まれる各色素の量に差がある場合であっても、生成される色素データの精度をさらに向上させることができる。すなわち、クラスタリングすることなく配列データを対象にロス関数Ｌｏｓを計算する場合には、相対的に量が多い色素の分離精度が重視されるため、結果として相対的に量が少ない色素の分離精度が低下してしまうが、本実施形態では、複数の色素の分離精度を一律に向上させることができる。また、色素データを取得する際のスループットの向上も図ることができる。

[0048] また、本実施形態においては、Ｌ個のクラスタ行列ごとロス関数Ｌｏｓが統計値を基にした係数ａ，ｂ，ｃを用いて補正され、補正されたロス関数Ｌｏｓの和を基にミキシング行列Ａが求められている。こうすれば、クラスタリングされた配列データのＬ個の対象物群の統計値を基にロス関数Ｌｏｓが計算され、ロス関数Ｌｏｓの和を求める際に統計値を基にそれぞれのロス関数Ｌｏｓが補正される。これにより、分析対象物の配列データにおける各色素の蛍光強度に差がある場合であっても、精度よく色素データを生成するこ

とができる。すなわち、Ｌ個のロス関数Ｌｏｓを補正することなくロス関数Ｌｏｓを計算する場合には、相対的に強度の強い色素の分離精度が重視されるため、結果として相対的に強度の弱い色素の分離精度が低下してしまうが、本実施形態では、複数の色素の分離精度を一律に向上させることができる。

[0049] 図７は、フローサイトメトリーにおける一般的な分析対象物の集団同定の方法を説明するためのグラフである。一般的なフローサイトメトリーでは、複数の細胞に関する、“検出波長１”の波長帯の蛍光強度及び“検出波長２”の波長帯の蛍光強度を基に、ドットプロットＤＰのグラフが生成され、そのドットプロットＤＰを基に、“検出波長１”の強度のヒストグラムＨＧ１と、“検出波長２”の強度のヒストグラムＨＧ２が作成される。そして、ＨＧ１，ＨＧ２の分布を基に決定した閾値を基に、もしくはドットプロットＤＰを基にゲーティングを行うことで、“色素Ａ”の集団と、“色素Ｂ”の集団とが同定される。

[0050] しかしながら、単一の色素からの蛍光には複数種類の蛍光波長帯が含まれており、異なる色素間で蛍光に含まれる波長帯の分布が複雑に変化している。また、１つの分析対象物には複数の色素が含まれうる。上記の従来の集団同定方法では、色素間でヒストグラムＨＧ１，ＨＧ２の分布が重なり合う場合は閾値によって精度よく２つの色素を分離することが難しく、精度よく色素を同定することができない。また、ドットプロットＤＰ上でゲーティングしても精度よく２つの色素を分離することが難しく、精度よく色素を同定することができない。そればかりか、１つの分析対象物に含まれる複数の色素を同定することは難しい。これに対して、本実施形態によれば、Ｃ個の蛍光波長帯の配列データをアンミキシングして処理することにより、精度よい各色素の発現量を定量的に得ることができる。

[0051] 図８～図１１には、色素データ取得システム１において取得された２つの色素に関する色素データの分布を示す。図８～図１１において、（ａ）部は２つの蛍光波長帯の強度値のドットプロットを示すグラフであり、（ｂ）部

は２つの色素“色素Ａ”、“色素Ｂ”の発現量（分布）を示すグラフである。図８は、色素毎の数に差がある場合（色素Ａのセル数が色素Ｂのセル数の１／１００の場合）にデータ処理装置５においてクラスタリング処理を省略して色素データを取得した結果を示し、図９は、色素毎の数に差がある場合（色素Ａのセル数が色素Ｂのセル数の１／１００の場合）にデータ処理装置５においてクラスタリング処理を実行して色素データを取得した結果を示す。また、図１０は、色素毎の強度に差がある場合（色素Ａのセルの強度が色素Ｂのセルの強度の１／１０の場合）にデータ処理装置５においてクラスタリング処理を省略して色素データを取得した結果を示し、図１１は、色素毎の強度に差がある場合（色素Ａのセルの強度が色素Ｂのセルの強度の１／１０の場合）にデータ処理装置５においてクラスタリング処理を実行して色素データを取得した結果を示す。

[0052] 図８に示すように、クラスタリング処理を省略した場合は、点線で示す範囲に色素Ａの単色セルが存在しているが、２つの色素の発現量が分離して求められていない。これに対して、図９に示すように、クラスタリング処理を実行した場合には、点線で示す範囲に色素Ａの単色セルの発現量が計算されており、２つの色素の発現量が精度よく分離されている。

[0053] 図１０に示すように、クラスタリング処理を省略した場合は、２つの色素の発現量が分離して求められていない。これに対して、図１１に示すように、クラスタリング処理を実行した場合には、２つの色素の発現量が分離されており、２つの色素の発現量が精度よく計算されている。

[0054] 図１２には、（ａ）部に色素データ取得システム１において取得されたある蛍光波長帯の強度の色素Ａのセル及び色素Ｂのセル毎のヒストグラムを示し、（ｂ）部に色素データ取得システム１において取得された色素Ｂの発現量のヒストグラムを示している。このように、蛍光波長帯の強度のヒストグラムについては２つの色素間で重なりが大きいため、このヒストグラムによっては色素の同定が難しいことが理解される。これに対して、本実施形態によって得られた色素データによれば、色素Ｂの発現量を精度よく分離できて

いる。

[0055] 以上、本発明の種々の実施形態について説明したが、本発明は上記実施形態に限定されるものではなく、各請求項に記載した要旨を変更しない範囲で変形し、又は他のものに適用したものであってもよい。

[0056] データ処理装置５における対象物群のクラスタリングの手法としては、K-means法のような機械学習を用いた手法、ディープラーニングを用いた手法等が採用されてもよい。

[0057] また、データ処理装置５における対象物群のクラスタリングの手法としては、K-means法の他に、決定木、サポートベクタマシン、KNN(K最近傍)、自己組織化マップ、スペクトラルクラスタリング、混合ガウスモデル、DBSCAN、Affinity Propagation、MeanShift、Ward、Agglomerative Clustering、OPTICS、BIRCHのような機械学習を用いた手法、ディープラーニングを用いた手法等が採用されてもよい。また、クラスタリングを適用する前に行列データＹに前処理を行ってもよい。例えば、Phasor Analysisや主成分分析、特異値分解、独立成分分析、線形判別分析、t-SNE、UMAP、その他機械学習などにより、各分析対象物C次元のデータを次元削減してもよい。

[0058] データ処理装置５のクラスタリング部２０２は、行列データＹを、各波長帯の強度値を基にＣ個の蛍光波長帯をＭ個（Ｍは２以上Ｃ－１以下の整数）の波長群（検出波長群）にクラスタリングして、検出対象物毎の強度値を波長群毎に配列したＭ個のクラスタ行列をさらに生成してもよい。このＭ個のクラスタ行列の生成は、上述したＬ個のクラスタ行列の生成前であってもよいし、Ｌ個のクラスタ行列の生成後であってもよい。この際、統計値計算部２０３は、上述した方法と同様な方法によって、クラスタリングされた波長群単位でも行列データＹを統計値を用いて圧縮することによって行列データＹ’を再生成する。このように、蛍光波長帯どうしでもクラスタリングすることによって、色素データのＳ／Ｎを向上させることができる。また、アンミキシングを行う際の計算量をさらに抑えることができる。また、クラスタリングされた波長群毎の強度値の統計値を用いてアンミキシングを行うこと

で、色素データの分離の精度も維持することができる。

[0059] なお、データ処理装置５のクラスタリング部２０２は、上述した実施形態におけるＬ個の対象物群へのクラスタリングを行わないで、上記のＭ個の波長群へのクラスタリングのみを行ってＭ個のクラスタ行列の生成のみを行ってもよい。この場合、データ処理装置５のデータ生成部２０５は、Ｍ個のクラスタ行列毎のＮ個の分析対象物における統計値を用いてアンミキシングを行ってＫ個（Ｋは２以上Ｍ以下の整数）の色素データを生成する。

[0060] 上記実施形態のデータ取得装置３は、図１３に示す構成に変更されてもよい。図１３に示す変形例に係るデータ取得装置３Ａのデータ取得装置３Ａとの相違点は、光学システム５３として分光器５８及び検出器５９を備える点である。分光器５８は、サンプル流体から生じた蛍光を、複数の波長帯（例えば、１０２４チャンネルの波長帯）に分光する。検出器５９は、複数の画素（例えば１０２４画素）を有する一次元検出器或いは二次元検出器であり、分光器５８から各画素に入射した各波長帯の蛍光の強度を測定し電子システム５４に出力する。このようなデータ取得装置３Ａによれば、複数の蛍光波長帯の配列データを生成することができる。例えば、データ取得装置３Ａによって生成された１０２４チャンネルの配列データは、データ処理装置５によって、隣接する２つのチャンネルが１つの波長群にクラスタリングされることによって、５１２個のクラスタ行列に分割される。

[0061] 上記第一の側面においては、データ取得ステップでは、複数の励起波長の励起光のそれぞれを対象物に照射することで、Ｃ個の検出波長毎の強度値の分布であるスペクトルデータを取得する、ことが好適である。また、上記第二の側面においては、複数の励起波長の励起光のそれぞれを対象物に照射することで、Ｃ個の検出波長毎の強度値の分布であるスペクトルデータを取得するデータ取得装置をさらに備える、ことが好適である。これにより、複数の励起波長の励起光を用いることで、複数種類の蛍光色素からの蛍光を効率よく観察することができる。その結果、複数の蛍光色素を観察対象とする場合に精度の良い色素データを得ることができる。

[0062] また、上記第一の側面においては、クラスタリングステップでは、強度値のＣ個の検出波長毎の分布情報を基にＮ個の対象物をクラスタリングする、ことも好適である。このように分布情報を利用することで、波長分布の類似性を基にクラスタリングすることができる。その結果、観察条件に適したアンミキシングが実行され、精度の良い色素データを得ることができる。

[0063] また、上記第一の側面においては、計算ステップでは、統計値を、対象物群の強度値の積算値、最頻値、あるいは中間値に基づいて計算する、ことも好適である。この場合、観察条件に適したアンミキシングが実行され、精度の良い色素データを得ることができる。

[0064] また、上記第一の側面においては、データ生成ステップでは、Ｌ個のクラスタ行列ごとのＣ個の検出波長の統計値を用いて、ミキシング行列を求め、ミキシング行列を用いてアンミキシングを行う、ことが好適である。この場合、対象物の数、観察に用いる励起光の種類、あるいは、観察する蛍光バンドの数が増加しても、アンミキシングを行う際の計算量を抑えることができる。また、クラスタリングされたクラスタ行列毎の強度値の統計値を用いてアンミキシングを行うことで、色素データの分離の精度も向上させることができる。その結果、分離データの精度を高めつつ色素データを取得する際のスループットの向上を図ることができる。

[0065] さらに、上記第一の側面においては、データ生成ステップでは、非負値行列因子分解を用いて、Ｌ個のクラスタ行列ごとのＣ個の検出波長の統計値を基に損失値を計算し、損失値の和を基にミキシング行列を求める、ことも好適である。この場合、分離データの精度を高めつつ色素データを取得する際のスループットの向上を図ることができる。

[0066] またさらに、上記第一の側面においては、データ生成ステップでは、Ｌ個のクラスタ行列ごと損失値を統計値を基に補正し、補正した損失値の和を基にミキシング行列を求める、ことも好適である。こうすれば、蛍光色素毎の強度に偏りがある場合であっても色素データの分離の精度を向上させることができる。

[0067] さらにまた、上記第一の側面においては、クラスタリングステップでは、Ｎ個の対象物毎に、強度値を基に、Ｃ個の検出波長をＭ個（Ｍは２以上Ｃ－１以下の整数）の検出波長群にクラスタリングして、Ｎ個の対象物毎の強度値をクラスタリングした検出波長群毎に配列したＭ個のクラスタ行列をさらに生成する、ことも好適である。こうすれば、アンミキシングを行う際の計算量をさらに抑えることができる。また、クラスタリングされた検出波長群毎の強度値の統計値を用いてアンミキシングを行うことで、色素データの分離の精度も維持することができる。

[0068] 実施形態の色素データ取得方法は、［１］「Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象に、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを取得するデータ取得ステップと、前記Ｃ個の検出波長毎の各対象物の前記強度値を基に、前記Ｎ個の対象物をＬ個（Ｌは２以上Ｎ－１以下の整数）に対象物群にクラスタリングして、前記Ｃ個の検出波長毎の前記強度値をクラスタリングした対象物群毎に配列したＬ個のクラスタ行列を生成するクラスタリングステップと、Ｌ個のクラスタ行列ごとにＣ個の検出波長における前記対象物群の前記強度値の統計値を計算する計算ステップと、Ｌ個のクラスタ行列ごとの前記Ｃ個の検出波長における前記統計値を用いて、前記Ｃ個の検出波長を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｃ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示す前記Ｋ個の色素データを生成するデータ生成ステップと、を備える色素データ取得方法」である。

[0069] 実施形態の色素データ取得方法は、［２］「前記データ取得ステップでは、複数の励起波長の励起光のそれぞれを前記対象物に照射することで、前記Ｃ個の検出波長毎の前記強度値の分布である前記スペクトルデータを取得する、上記［１］に記載の色素データ取得方法」であってもよい。

[0070] 実施形態の色素データ取得方法は、［３］「前記クラスタリングステップでは、前記強度値の前記Ｃ個の検出波長毎の分布情報を基に前記Ｎ個の対象物をクラスタリングする、上記［２］に記載の色素データ取得方法」であっ

てもよい。

[0071] 実施形態の色素データ取得方法は、［４］「前記計算ステップでは、前記統計値を、前記対象物群の前記強度値の積算値、最頻値、あるいは中間値に基づいて計算する、上記［１］～［３］のいずれかに記載の色素データ取得方法」であってもよい。

[0072] 実施形態の色素データ取得方法は、［５］「前記データ生成ステップでは、Ｌ個のクラスタ行列ごとの前記Ｃ個の検出波長の前記統計値を用いて、ミキシング行列を求め、前記ミキシング行列を用いてアンミキシングを行う、上記［１］～［４］のいずれかに記載の色素データ取得方法」であってもよい。

[0073] 実施形態の色素データ取得方法は、［６］「前記データ生成ステップでは、非負値行列因子分解を用いて、Ｌ個のクラスタ行列ごとの前記Ｃ個の検出波長の前記統計値を基に損失値を計算し、前記損失値の和を基に前記ミキシング行列を求める、上記［５］に記載の色素データ取得方法」であってもよい。

[0074] 実施形態の色素データ取得方法は、［７］「前記データ生成ステップでは、Ｌ個のクラスタ行列ごと前記損失値を前記統計値を基に補正し、補正した前記損失値の和を基に前記ミキシング行列を求める、上記［６］に記載の色素データ取得方法」であってもよい。

[0075] 実施形態の色素データ取得方法は、［８］「前記クラスタリングステップでは、前記Ｎ個の対象物毎に、前記強度値を基に、前記Ｃ個の検出波長をＭ個（Ｍは２以上Ｃ－１以下の整数）の検出波長群にクラスタリングして、前記Ｎ個の対象物毎の前記強度値をクラスタリングした検出波長群毎に配列したＭ個のクラスタ行列をさらに生成する、上記［１］～［７］のいずれかに記載の色素データ取得方法」であってもよい。

符号の説明

[0076] １…色素データ取得システム、３，３Ａ…データ取得装置、５…データ処理装置、２０１…データ取得部、２０２…クラスタリング部、２０３…統計

値計算部、２０４…行列推定部、２０５…データ生成部、Ａ…ミキシング行列。

請求の範囲

[請求項1] Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象に、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを取得するデータ取得ステップと、

前記Ｃ個の検出波長毎の各対象物の前記強度値を基に、前記Ｎ個の対象物をＬ個（Ｌは２以上Ｎ－１以下の整数）に対象物群にクラスタリングして、前記Ｃ個の検出波長毎の前記強度値をクラスタリングした対象物群毎に配列したＬ個のクラスタ行列を生成するクラスタリングステップと、

Ｌ個のクラスタ行列ごとにＣ個の検出波長における前記対象物群の前記強度値の統計値を計算する計算ステップと、

Ｌ個のクラスタ行列ごとの前記Ｃ個の検出波長における前記統計値を用いて、前記Ｃ個の検出波長を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｃ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示す前記Ｋ個の色素データを生成するデータ生成ステップと、

を備える色素データ取得方法。

[請求項2] 前記データ取得ステップでは、

複数の励起波長の励起光のそれぞれを前記対象物に照射することで、前記Ｃ個の検出波長毎の前記強度値の分布である前記スペクトルデータを取得する、

請求項１に記載の色素データ取得方法。

[請求項3] 前記クラスタリングステップでは、前記強度値の前記Ｃ個の検出波長毎の分布情報を基に前記Ｎ個の対象物をクラスタリングする、

請求項２に記載の色素データ取得方法。

[請求項4] 前記計算ステップでは、前記統計値を、前記対象物群の前記強度値の積算値、最頻値、あるいは中間値に基づいて計算する、

請求項１～３のいずれか１項に記載の色素データ取得方法。

[請求項5] 前記データ生成ステップでは、Ｌ個のクラスタ行列ごとの前記Ｃ個

の検出波長の前記統計値を用いて、ミキシング行列を求め、前記ミキシング行列を用いてアンミキシングを行う、

請求項１～４のいずれか１項に記載の色素データ取得方法。

[請求項6] 前記データ生成ステップでは、非負値行列因子分解を用いて、Ｌ個のクラスタ行列ごとの前記Ｃ個の検出波長の前記統計値を基に損失値を計算し、前記損失値の和を基に前記ミキシング行列を求める、

請求項５に記載の色素データ取得方法。

[請求項7] 前記データ生成ステップでは、Ｌ個のクラスタ行列ごと前記損失値を前記統計値を基に補正し、補正した前記損失値の和を基に前記ミキシング行列を求める、

請求項６に記載の色素データ取得方法。

[請求項8] 前記クラスタリングステップでは、

前記Ｎ個の対象物毎に、前記強度値を基に、前記Ｃ個の検出波長をＭ個（Ｍは２以上Ｃ－１以下の整数）の検出波長群にクラスタリングして、前記Ｎ個の対象物毎の前記強度値をクラスタリングした検出波長群毎に配列したＭ個のクラスタ行列をさらに生成する、

請求項１～７のいずれか１項に記載の色素データ取得方法。

[請求項9] Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象に、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを処理する色素データ取得装置であって、

前記Ｃ個の検出波長毎の各対象物の強度値を基に、前記Ｎ個の対象物をＬ個（Ｌは２以上Ｎ－１以下の整数）に対象物群にクラスタリングして、前記Ｃ個の検出波長毎の前記強度値をクラスタリングした対象物群毎に配列したＬ個のクラスタ行列を生成し、

Ｌ個のクラスタ行列ごとにＣ個の検出波長における前記対象物群の前記強度値の統計値を計算し、

Ｌ個のクラスタ行列ごとの前記Ｃ個の検出波長における前記統計値を用いて、前記Ｃ個の検出波長を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（

Ｋは２以上Ｃ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示す前記Ｋ個の色素データを生成する、

色素データ取得装置。

[請求項10] 複数の励起波長の励起光のそれぞれを前記対象物に照射することで、前記Ｃ個の検出波長毎の前記強度値の分布である前記スペクトルデータを取得するデータ取得装置をさらに備える、

請求項９に記載の色素データ取得装置。

[請求項11] Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象にした、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを基に、前記対象物における蛍光色素の分布を示す色素データを生成するための色素データ取得プログラムであって、

コンピュータに、

前記Ｃ個の検出波長毎の各対象物の強度値を基に、前記Ｎ個の対象物をＬ個（Ｌは２以上Ｎ－１以下の整数）に対象物群にクラスタリングして、前記Ｃ個の検出波長毎の前記強度値をクラスタリングした対象物群毎に配列したＬ個のクラスタ行列を生成するステップ、

Ｌ個のクラスタ行列ごとにＣ個の検出波長における前記対象物群の前記強度値の統計値を計算するステップ、及び

Ｌ個のクラスタ行列ごとの前記Ｃ個の検出波長における前記統計値を用いて、前記Ｃ個の検出波長を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｃ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示す前記Ｋ個の色素データを生成するステップ、

を実行させる色素データ取得プログラム。

[請求項12] Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象に、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを取得するデータ取得ステップと、

前記Ｎ個の対象物毎に、前記強度値を基に、前記Ｃ個の検出波長をＭ個（Ｍは２以上Ｃ－１以下の整数）の検出波長群にクラスタリング

して、前記Ｎ個の対象物毎の前記強度値をクラスタリングした検出波長群毎に配列したＭ個のクラスタ行列を生成するクラスタリングステップと、

前記Ｍ個のクラスタ行列ごとに前記Ｎ個の対象物における前記検出波長群の前記強度値の統計値を計算する計算ステップと、

前記Ｍ個のクラスタ行列ごとの前記Ｎ個の対象物における前記統計値を用いて、前記Ｎ個の対象物を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｍ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示す前記Ｋ個の色素データを生成するデータ生成ステップと、

を備える色素データ取得方法。

[請求項13] Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象に、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを処理する色素データ取得装置であって、

前記Ｎ個の対象物毎に、前記強度値を基に、前記Ｃ個の検出波長をＭ個（Ｍは２以上Ｃ－１以下の整数）の検出波長群にクラスタリングして、前記Ｎ個の対象物毎の前記強度値をクラスタリングした検出波長群毎に配列したＭ個のクラスタ行列を生成し、

前記Ｍ個のクラスタ行列ごとに前記Ｎ個の対象物における前記検出波長群の前記強度値の統計値を計算し、

前記Ｍ個のクラスタ行列ごとの前記Ｎ個の対象物における前記統計値を用いて、前記Ｎ個の対象物を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｍ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示す前記Ｋ個の色素データを生成する、

色素データ取得装置。

[請求項14] Ｎ個（Ｎは２以上の整数）の対象物を対象にした、Ｃ個（Ｃは２以上の整数）の検出波長毎の蛍光の強度値の分布であるスペクトルデータを基に、前記対象物における蛍光色素の分布を示す色素データを生成するための色素データ取得プログラムであって、

コンピュータに、

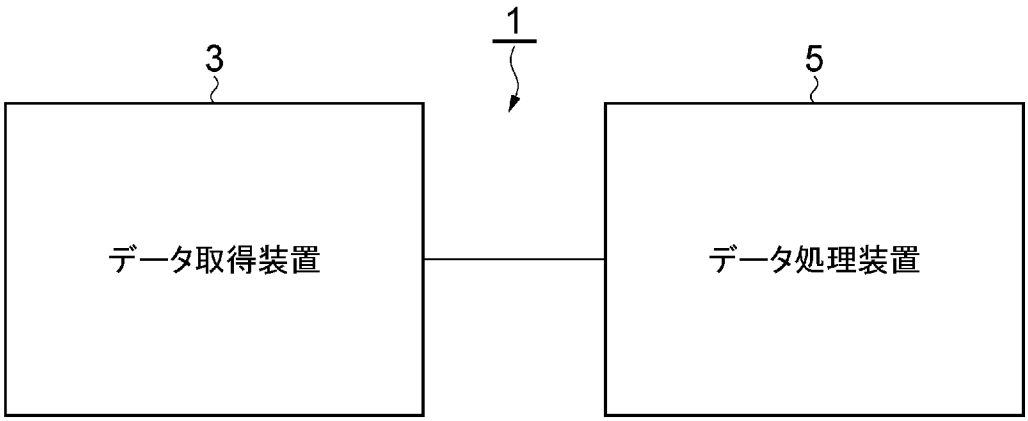
前記Ｎ個の対象物毎に、前記強度値を基に、前記Ｃ個の検出波長をＭ個（Ｍは２以上Ｃ－１以下の整数）の検出波長群にクラスタリングして、前記Ｎ個の対象物毎の前記強度値をクラスタリングした検出波長群毎に配列したＭ個のクラスタ行列を生成するステップ、

前記Ｍ個のクラスタ行列ごとに前記Ｎ個の対象物における前記検出波長群の前記強度値の統計値を計算するステップ、及び

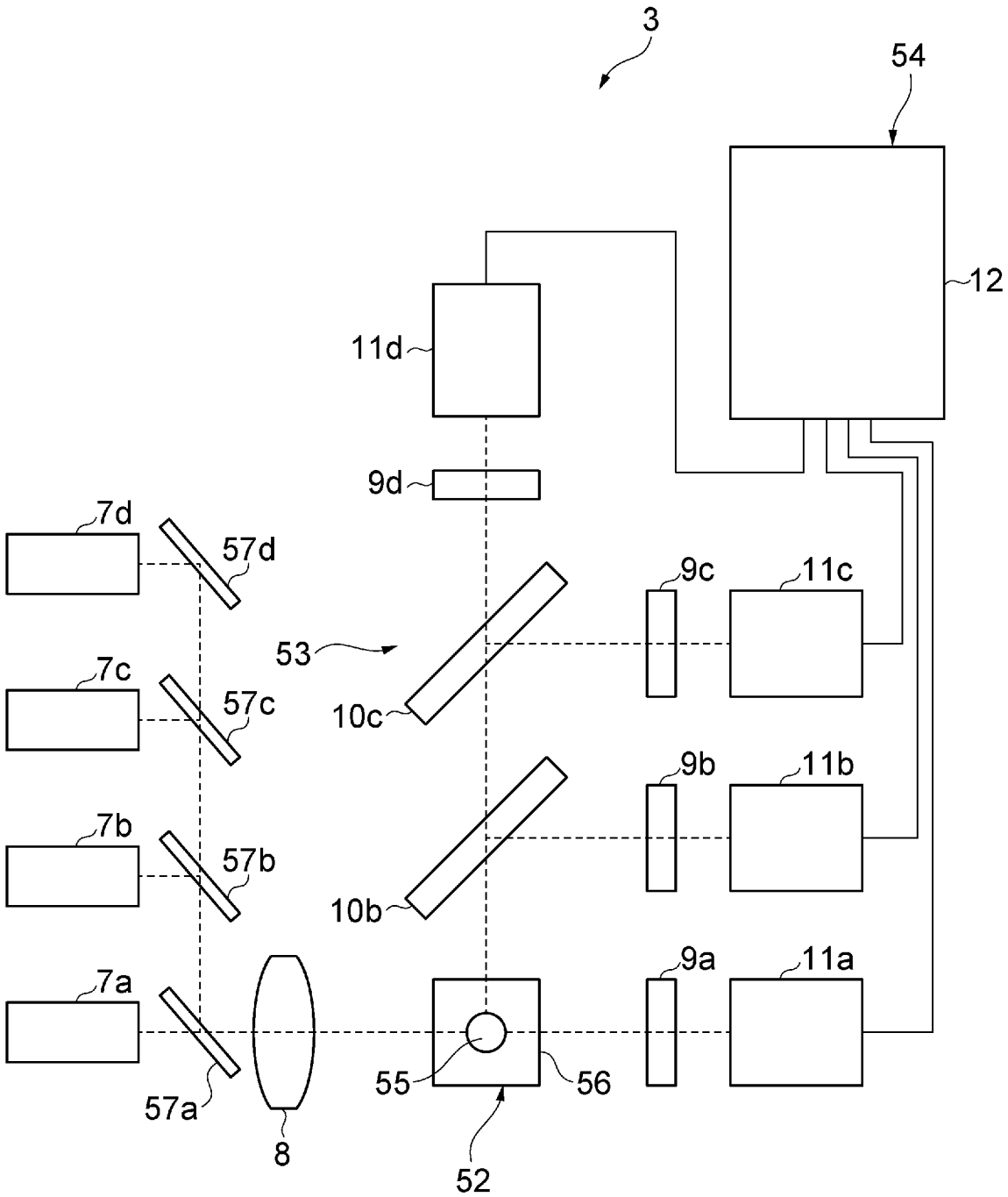
前記Ｍ個のクラスタ行列ごとの前記Ｎ個の対象物における前記統計値を用いて、前記Ｎ個の対象物を対象にアンミキシングを行い、Ｋ個（Ｋは２以上Ｍ以下の整数）の蛍光色素毎の分布を示す前記Ｋ個の色素データを生成するステップ、

を実行させる色素データ取得プログラム。

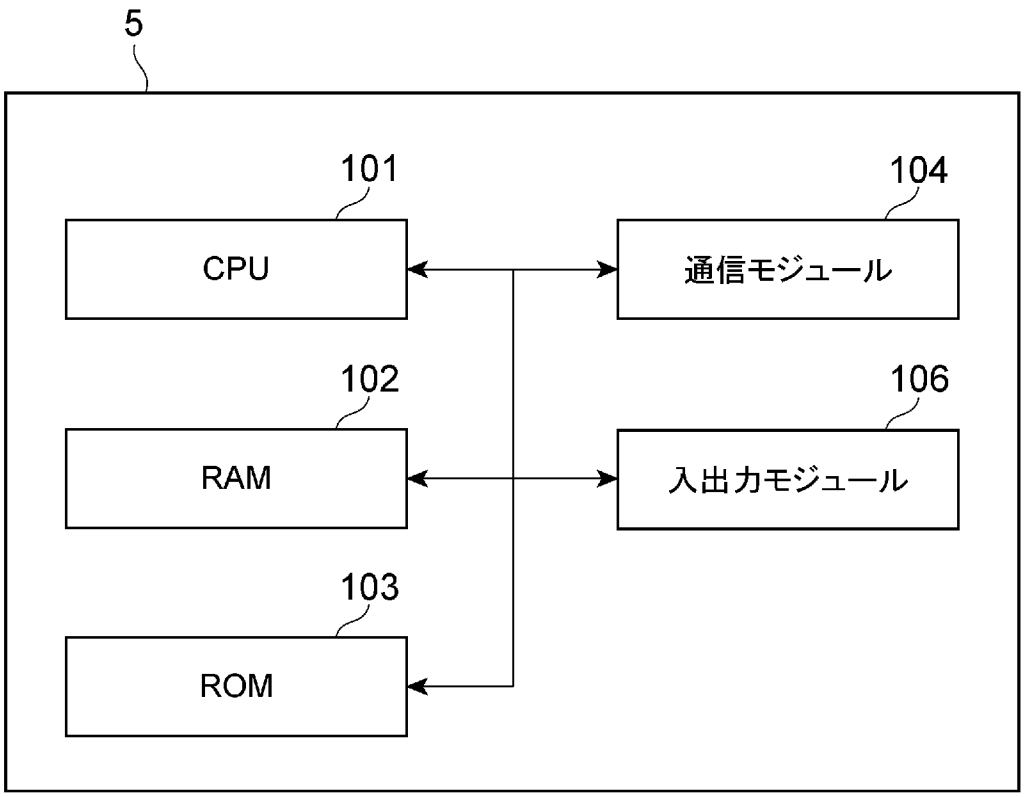
[図1]



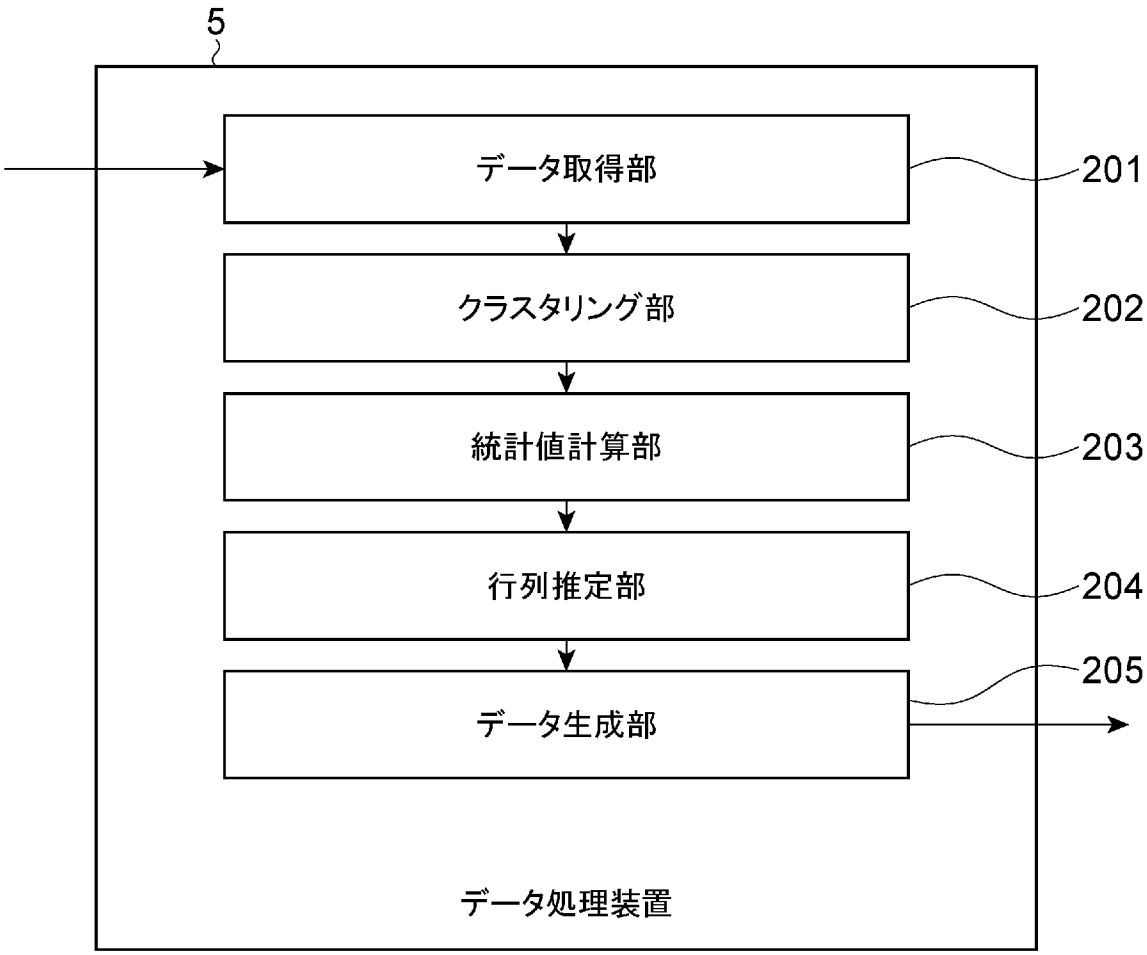
[図2]


3
54
12
11d
9d
7d
57d
53
9c
11c
7c
57c
10c
7b
57b
9b
11b
10b
7a
9a
11a
57a
8
55
56
52

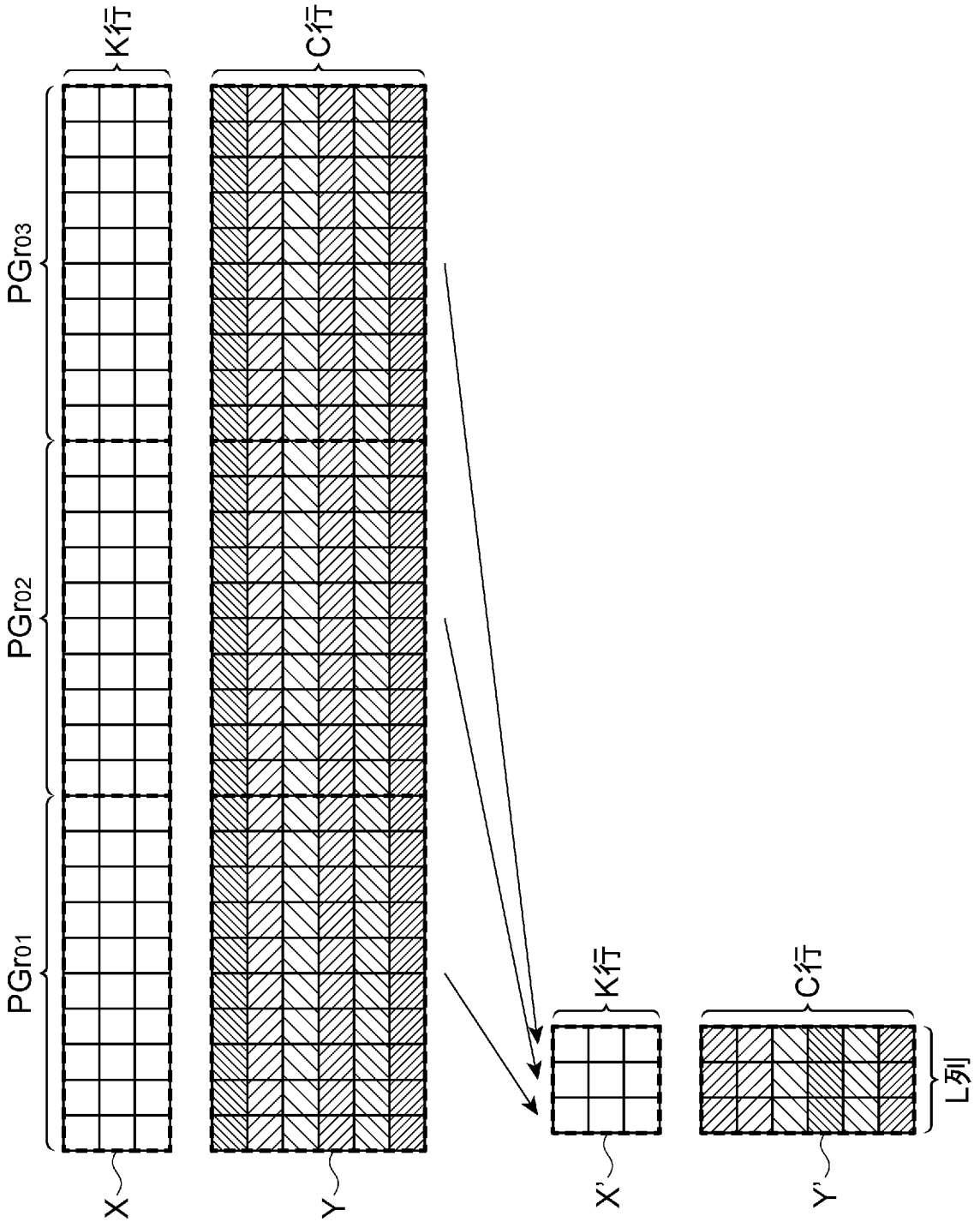
[図3]



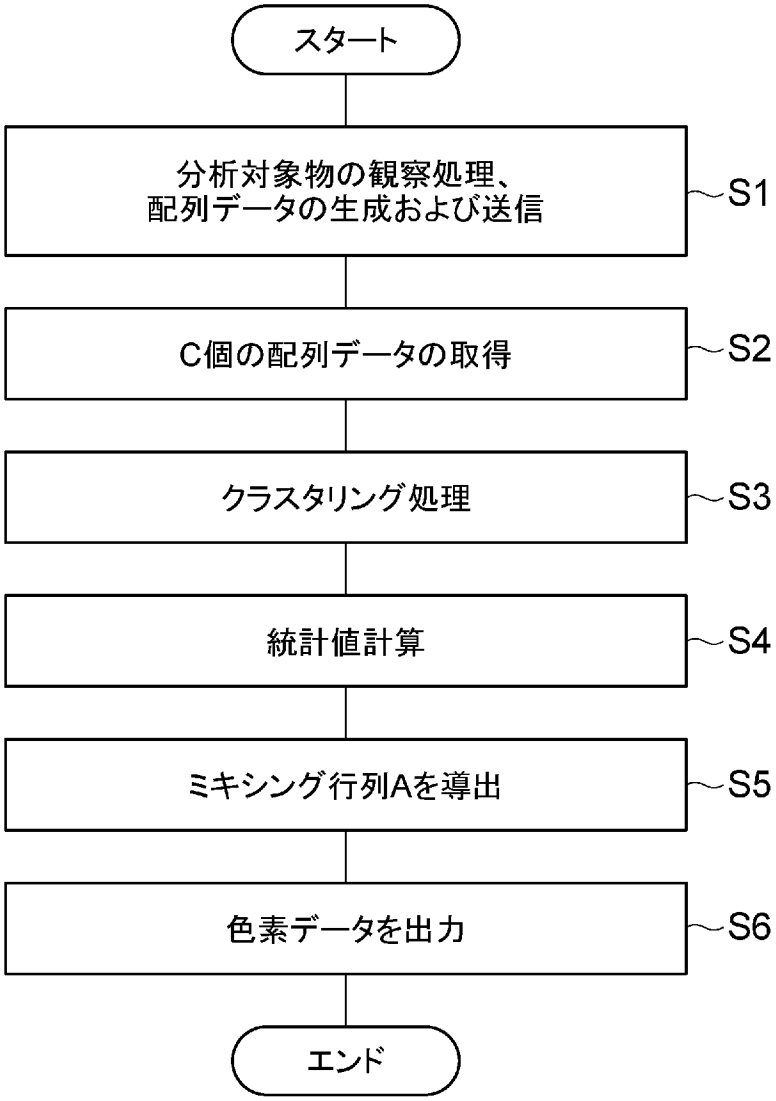
[図4]


5
データ取得部
201
クラスタリング部
202
統計値計算部
203
行列推定部
204
データ生成部
205
データ処理装置

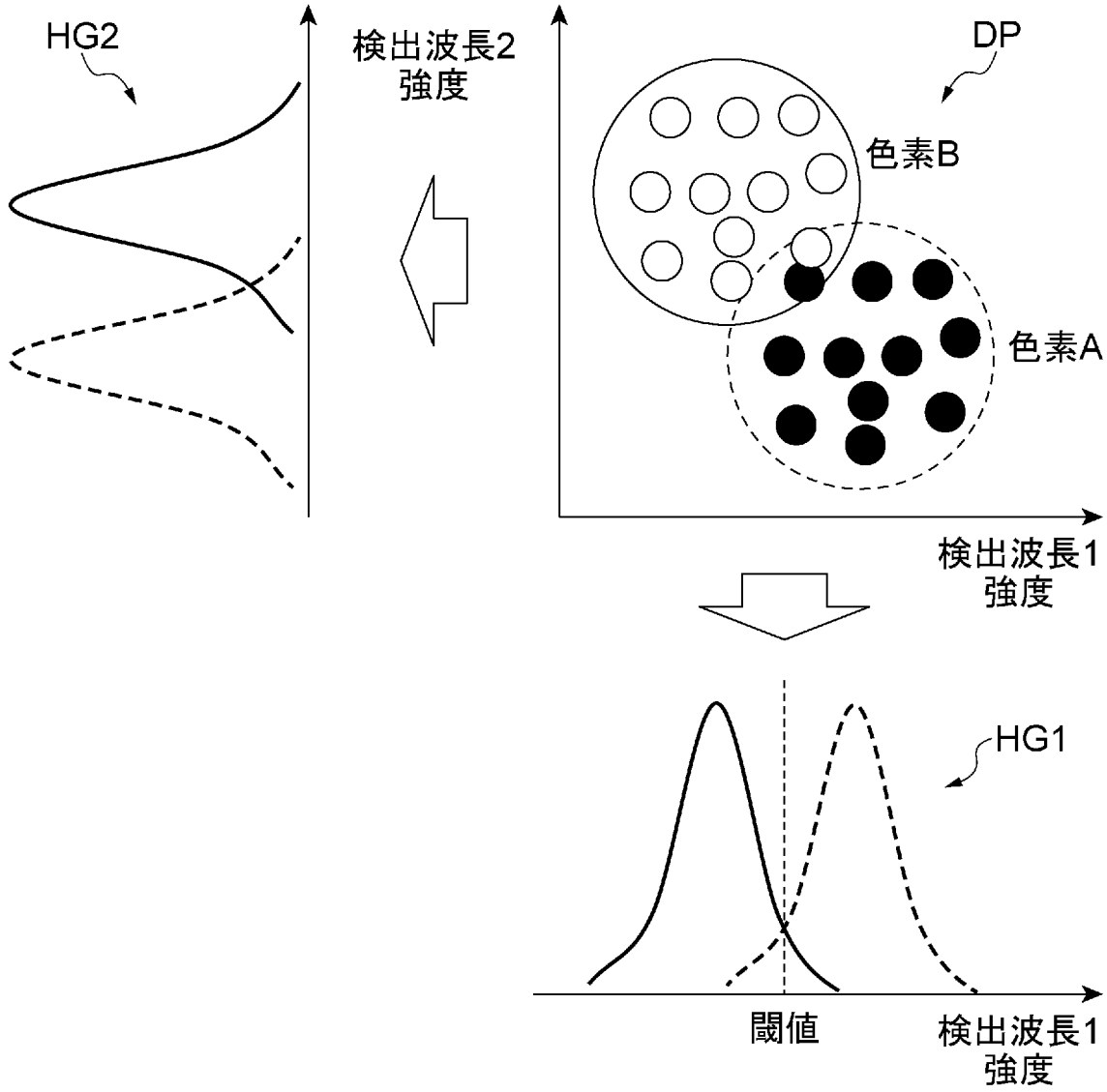
[図5]



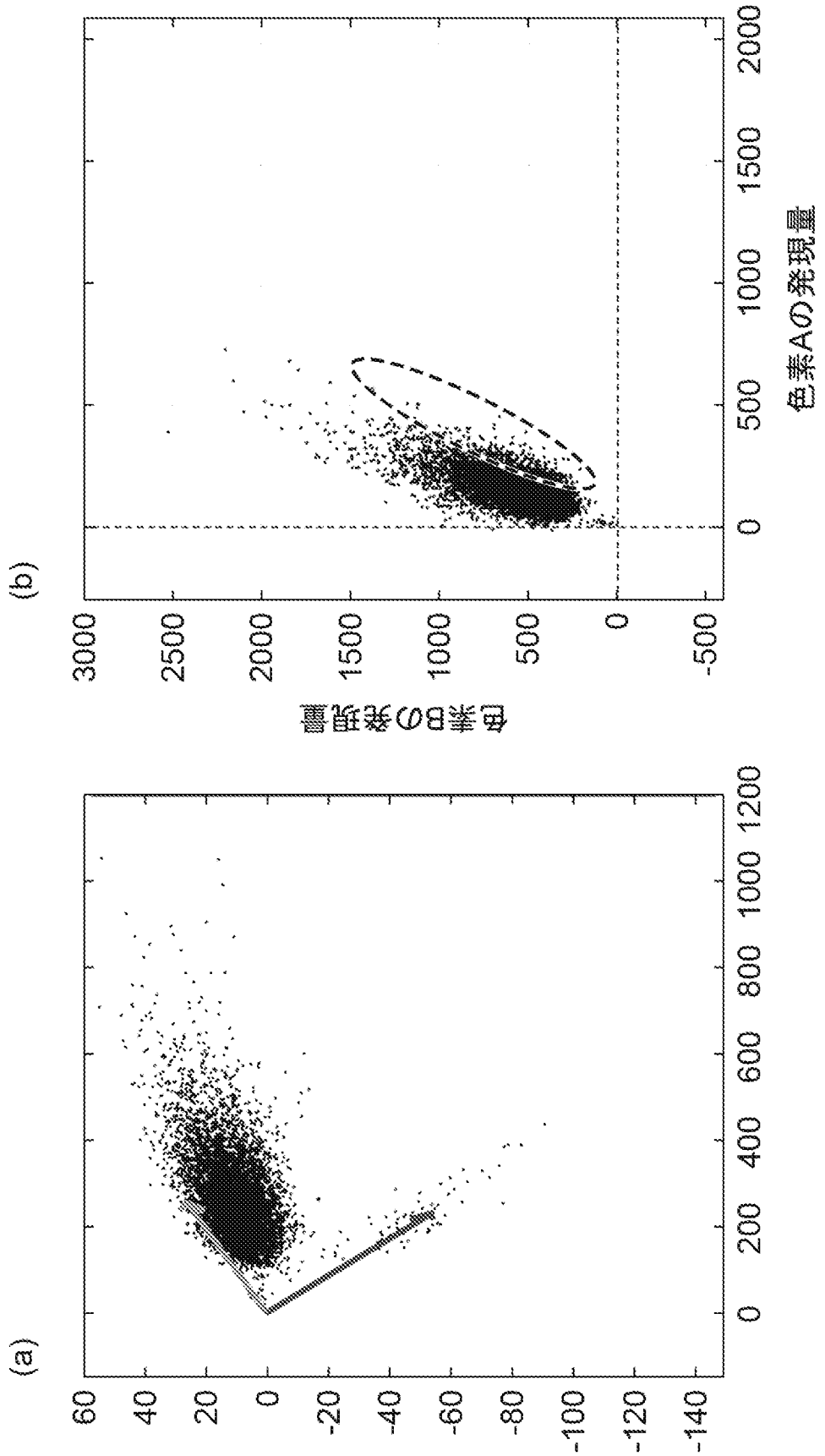
[図6]


スタート
分析対象物の観察処理、
配列データの生成および送信
S1
C個の配列データの取得
S2
クラスタリング処理
S3
統計値計算
S4
ミキシング行列Aを導出
S5
色素データを出力
S6
エンド

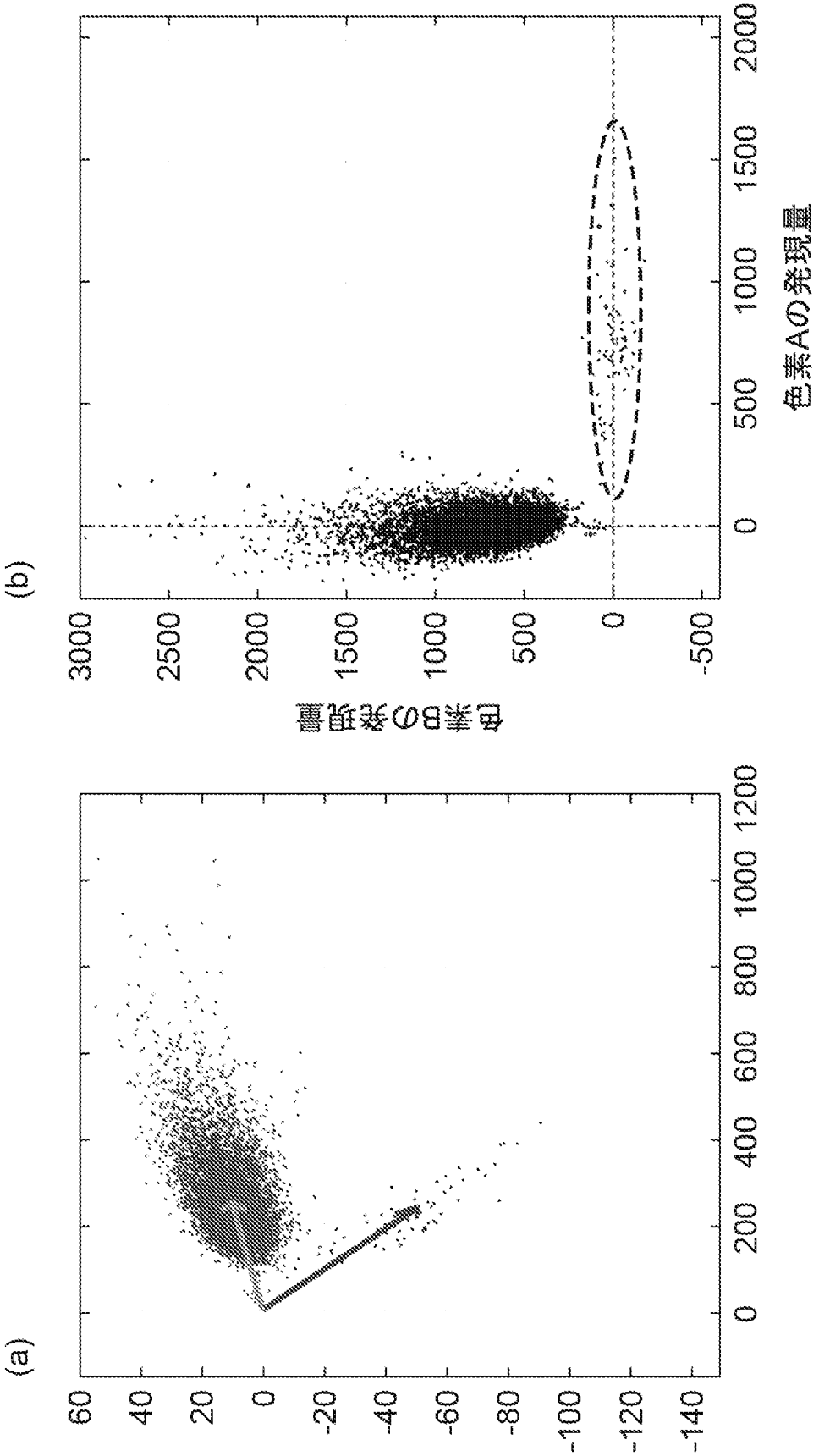
[図7]



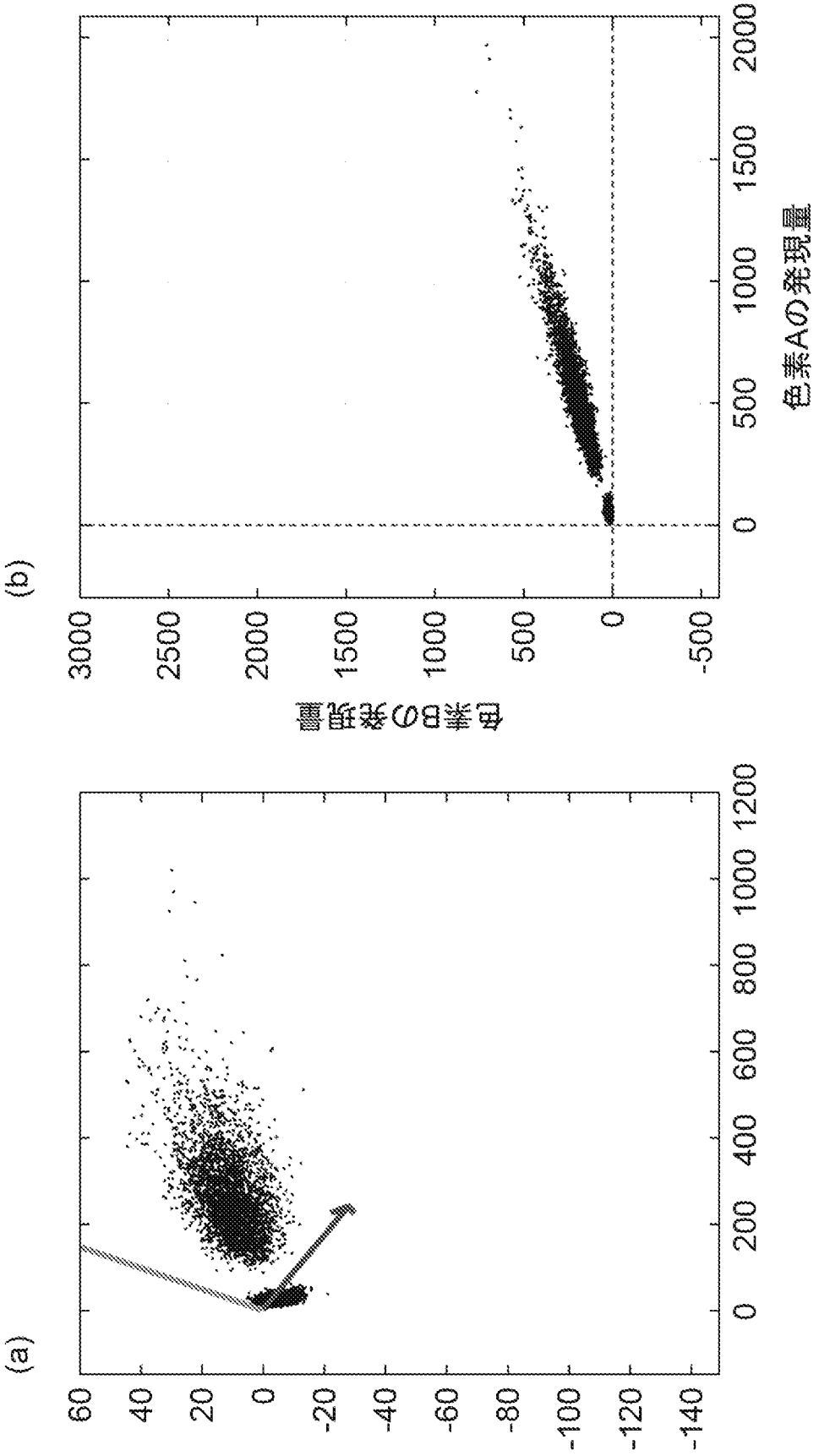
[図8]


(a)
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
-120
-140
0
200
400
600
800
1000
1200
(b)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
-500
0
500
1000
1500
2000
色素Bの発現量
色素Aの発現量

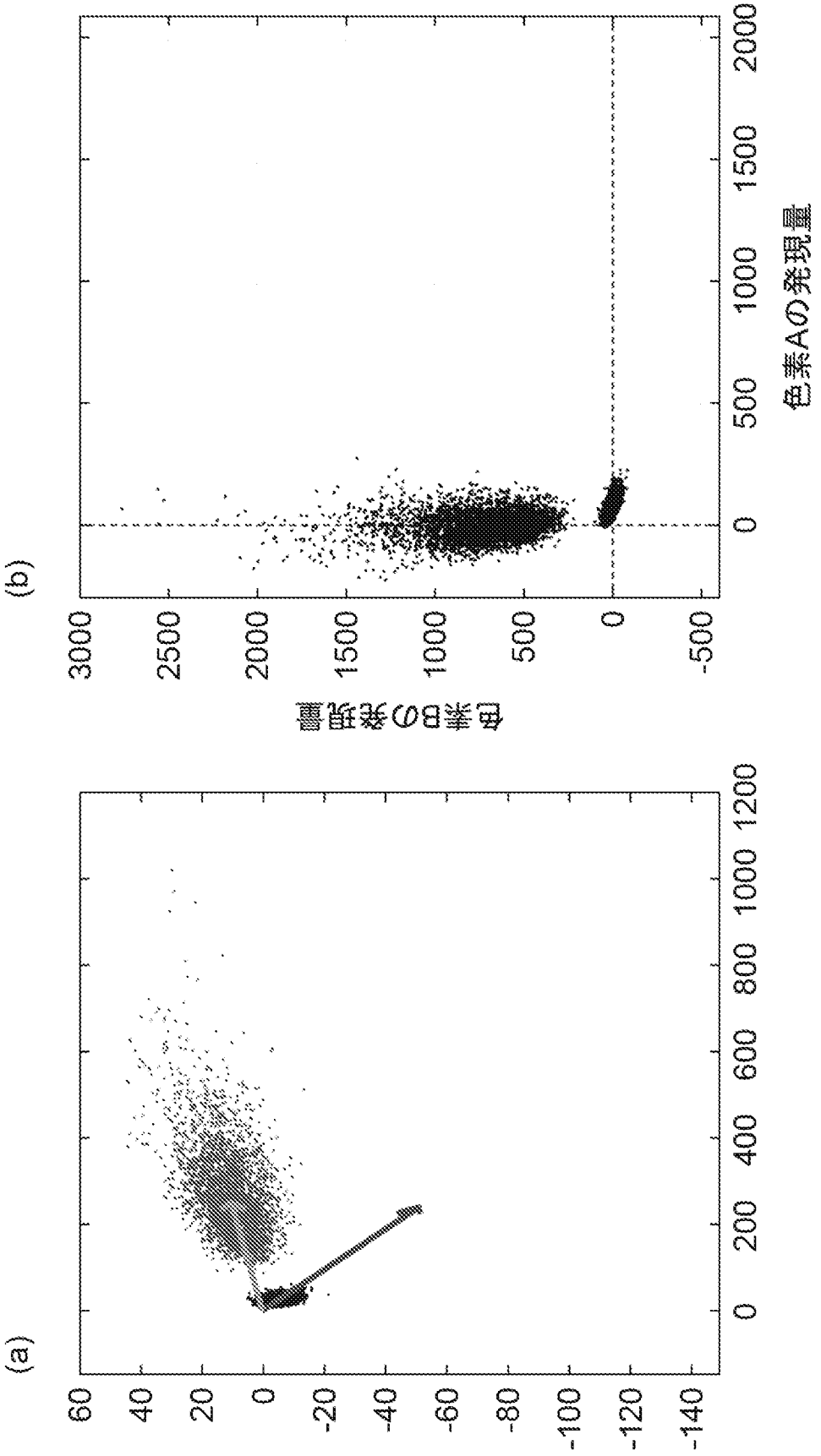
[図9]


(a)
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
-120
-140
0
200
400
600
800
1000
1200
(b)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
-500
0
500
1000
1500
2000
色素Bの発現量
色素Aの発現量

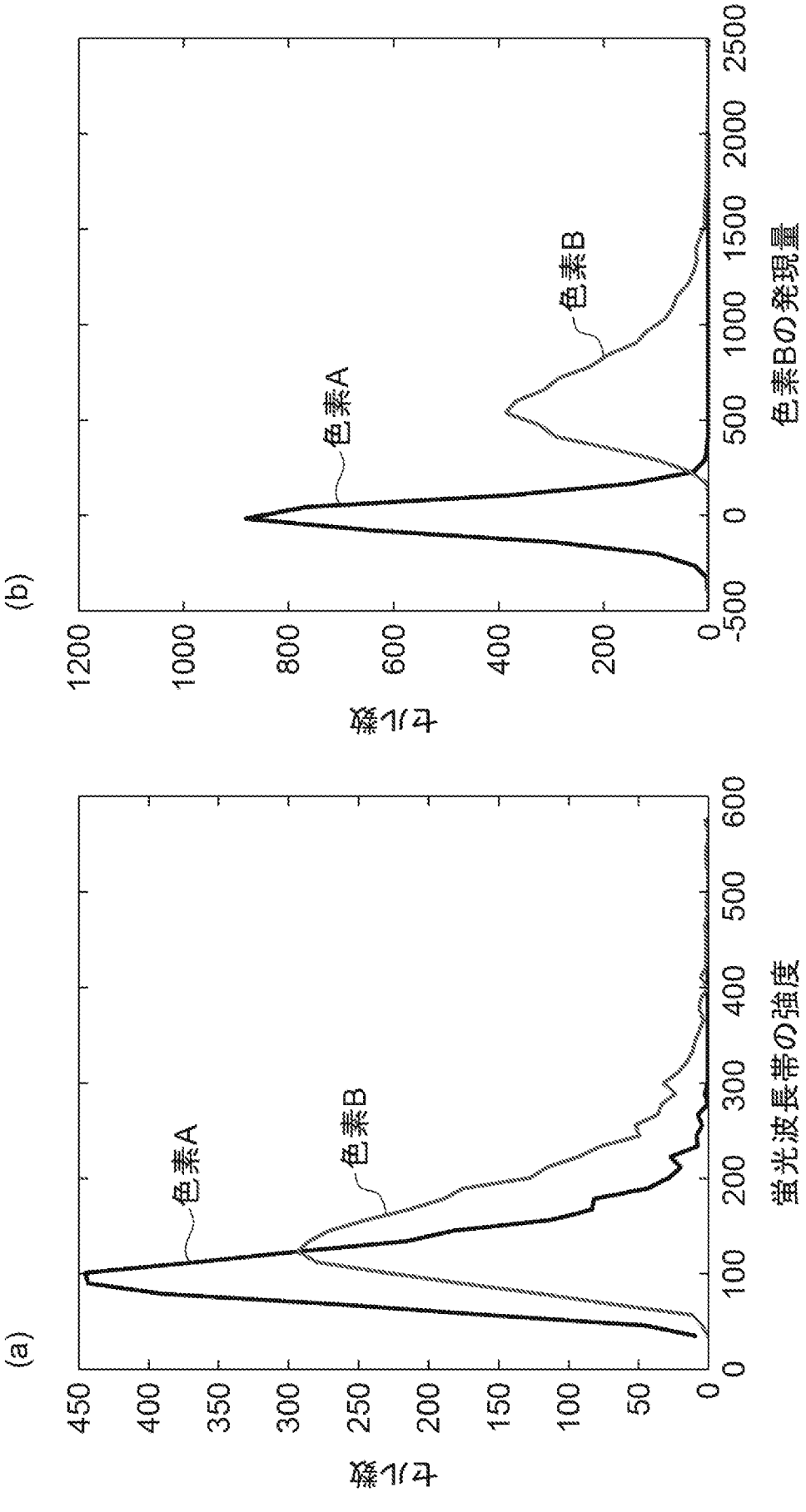
[図10]


(a)
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
-120
-140
0
200
400
600
800
1000
1200
(b)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
-500
0
500
1000
1500
2000
色素Bの発現量
色素Aの発現量

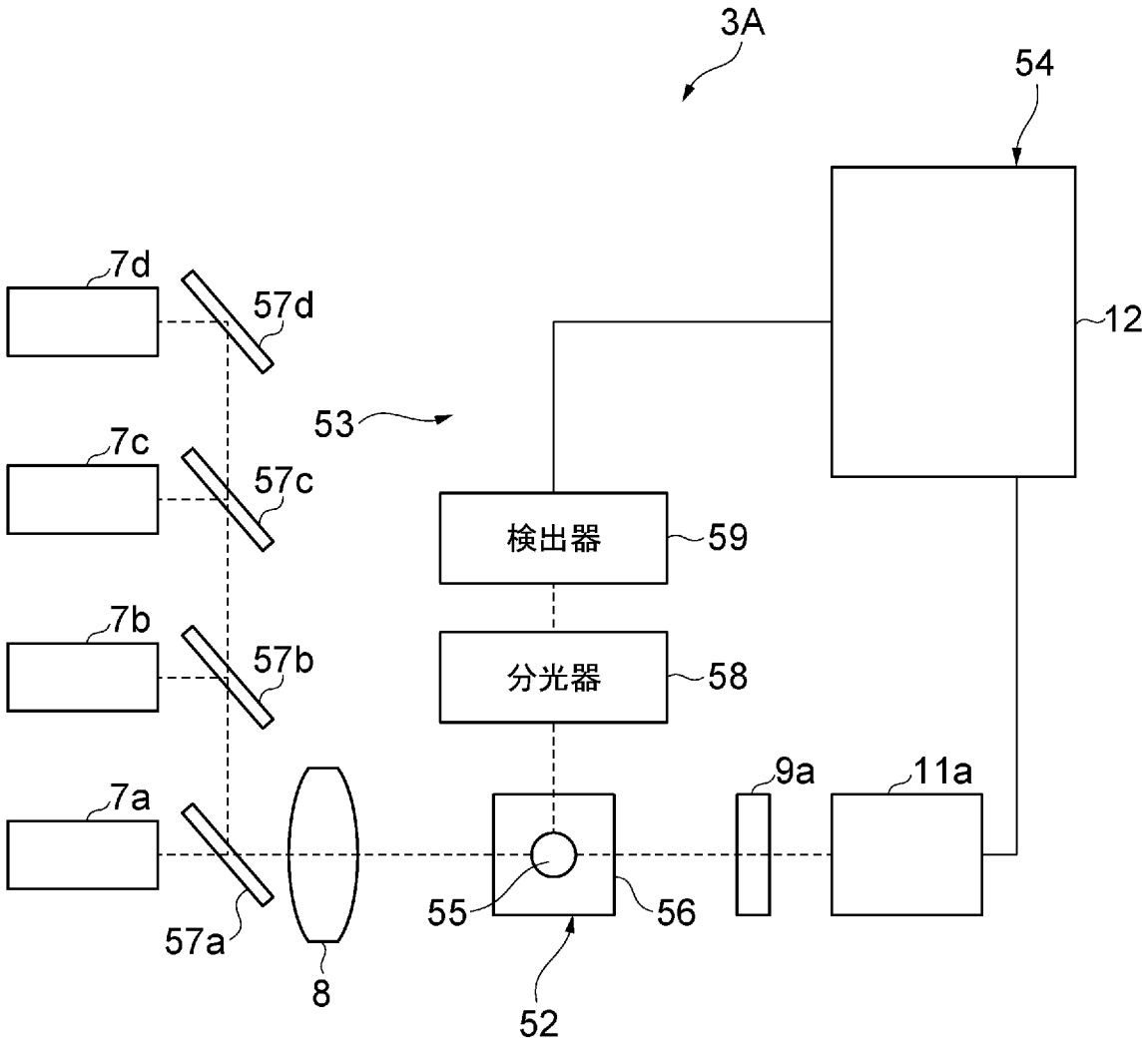
[図11]


(a)
60
40
20
0
-20
-40
-60
-80
-100
-120
-140
0
200
400
600
800
1000
1200
(b)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
-500
0
500
1000
1500
2000
色素Bの発現量
色素Aの発現量

[図12]


(a)
色素A
色素B
蛍光波長帯の強度
セル数
0
100
200
300
400
500
600
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
(b)
色素A
色素B
色素Bの発現量
セル数
-500
0
500
1000
1500
2000
2500
0
200
400
600
800
1000
1200

[図13]


3A
54
12
7d
57d
53
7c
57c
検出器
59
7b
57b
分光器
58
9a
11a
7a
55
56
57a
8
52

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2023/046650

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 21/64(2006.01)i; ***G01N 15/14***(2024.01)i
FI: G01N21/64 F; G01N15/14 C

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N21/00-21/83; G01N15/00-15/1492

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2020-87465 A (SONY CORPORATION) 04 June 2020 (2020-06-04)	1-14
A	JP 2021-36224 A (SONY CORPORATION) 04 March 2021 (2021-03-04)	1-14
A	US 2022/0082488 A1 (CYTEK BIOSCIENCES, INC.) 17 March 2022 (2022-03-17)	1-14
P, A	WO 2023/026742 A1 (HAMAMATSU PHOTONICS KK) 02 March 2023 (2023-03-02)	1-14

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
13 February 2024	**27 February 2024**

Name and mailing address of the ISA/JP	Authorized officer
Japan Patent Office (ISA/JP) **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2023/046650

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 2020-87465 A	04 June 2020	US 2022/0003656 A1	
		WO 2020/101023 A1	
		EP 3867768 A1	
		CN 112771510 A	
JP 2021-36224 A	04 March 2021	US 2022/0283073 A1	
		WO 2021/039158 A1	
		EP 4019937 A1	
		CN 114270168 A	
US 2022/0082488 A1	17 March 2022	US 2022/0082489 A1	
WO 2023/026742 A1	02 March 2023	(Family: none)	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2023/046650

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

G01N 21/64(2006.01)i; G01N 15/14(2024.01)i
FI: G01N21/64 F; G01N15/14 C

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

G01N21/00-21/83; G01N15/00-15/1492

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２４年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２４年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２４年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	JP 2020-87465 A (ソニー株式会社) 04.06.2020 (2020-06-04)	1-14
A	JP 2021-36224 A (ソニー株式会社) 04.03.2021 (2021-03-04)	1-14
A	US 2022/0082488 A1 (CYTEK BIOSCIENCES, INC.) 17.03.2022 (2022-03-17)	1-14
P, A	WO 2023/026742 A1 (浜松ホトニクス株式会社) 02.03.2023 (2023-03-02)	1-14

☐ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
"D" 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献
"E" 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
"L" 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
"P" 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
"T" 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
"X" 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
"Y" 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
"&" 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
13.02.2024	27.02.2024

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
伊藤　裕美 2W 9515
電話番号 03-3581-1101 内線 3258

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2023/046650

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2020-87465 A	04.06.2020	US 2022/0003656 A1	
		WO 2020/101023 A1	
		EP 3867768 A1	
		CN 112771510 A	
JP 2021-36224 A	04.03.2021	US 2022/0283073 A1	
		WO 2021/039158 A1	
		EP 4019937 A1	
		CN 114270168 A	
US 2022/0082488 A1	17.03.2022	US 2022/0082489 A1	
WO 2023/026742 A1	02.03.2023	（ファミリーなし）	