

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7663587号
(P7663587)

(45)発行日 令和7年4月16日(2025.4.16)

(24)登録日 令和7年4月8日(2025.4.8)

(51)国際特許分類		F I	
G O 1 N	15/1429(2024.01)	G O 1 N	15/1429 2 0 0
G O 1 N	15/14 (2024.01)	G O 1 N	15/14 C
G O 1 N	21/64 (2006.01)	G O 1 N	21/64 Z
請求項の数 15 (全46頁)			
(21)出願番号	特願2022-546569(P2022-546569)	(73)特許権者	595117091
(86)(22)出願日	令和3年1月21日(2021.1.21)		ベクトン・ディキンソン・アンド・カン
(65)公表番号	特表2023-511761(P2023-511761		パニー
	A)		B E C T O N , D I C K I N S O N A
(43)公表日	令和5年3月22日(2023.3.22)		N D C O M P A N Y
(86)国際出願番号	PCT/US2021/014338		アメリカ合衆国 ニュー・ジャージー 0
(87)国際公開番号	WO2021/154579		7 4 1 7 - 1 8 8 0 フランクリン・レ
(87)国際公開日	令和3年8月5日(2021.8.5)		イクス ベクトン・ドライブ 1
審査請求日	令和6年1月19日(2024.1.19)	(74)代理人	100114557
(31)優先権主張番号	62/968,520		弁理士 河野 英仁
(32)優先日	令和2年1月31日(2020.1.31)	(74)代理人	100078868
(33)優先権主張国・地域又は機関			弁理士 河野 登夫
	米国(US)	(72)発明者	アーバイン, アリソン
(31)優先権主張番号	63/049,735		アメリカ合衆国 9 4 6 0 6 カリフォル
(32)優先日	令和2年7月9日(2020.7.9)		ニア州, オークランドフットヒル ブル
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 訓練ゲートを調整してフローサイトメータデータに適応させるための方法およびシステム

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

フローサイトメータデータの第1のセットから準備された訓練ゲートを、フローサイトメータデータの第2のセットに適応させるように、調整する方法であって、

フローサイトメータデータの第1および第2のセットを取得することであって、フローサイトメータデータの前記第1のセットは頂点のセットによって定義される訓練ゲートを含む、取得することと、

フローサイトメータデータの取得された第1および第2のセットの各々について画像を生成することと、

プロセッサ実装アルゴリズムを用いて、フローサイトメータデータの前記第1のセットの生成された画像から前記訓練ゲートを定義する頂点の前記セットを、フローサイトメータデータの前記第2のセットの生成された画像に適応させるように、調整することとを含む、方法。

【請求項2】

前記プロセッサ実装アルゴリズムは、フローサイトメータデータの前記第1のセットの生成された画像をワープして、フローサイトメータデータの前記第2のセットの生成された画像に対する類似度を最大化するように構成されている、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記プロセッサ実装アルゴリズムは、数学的変形モデルを含む画像位置合わせアルゴリズムである、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 4】

前記画像位置合わせアルゴリズムは、B スプラインワーピングをさらに含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 B スプラインワーピングは、フローサイトメータデータの前記第 1 のセットの生成された画像をワープしてフローサイトメータデータの前記第 2 のセットの生成された画像に対する類似度を最大化する関数を定義する B スプライン係数を計算することを含む、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記プロセッサ実装アルゴリズムは、前記 B スプライン係数によって定義される前記関数に基づいて前記訓練ゲートの前記頂点を調整するように構成されている、請求項 5 に記載の方法。

10

【請求項 7】

前記訓練ゲートを調整することは、ブランク画像に前記訓練ゲートを示すことを含む、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記プロセッサ実装アルゴリズムは、前記ブランク画像に課された前記訓練ゲートを調整するように構成されている、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記ブランク画像からの調整されたゲートの前記頂点をフローサイトメータデータの前記第 2 のセットの生成された画像に適用することによって、調整された訓練ゲートをフローサイトメータデータの前記第 2 のセットにオーバーレイすることをさらに含む、請求項 8 に記載の方法。

20

【請求項 10】

フローサイトメータデータの前記第 1 および第 2 のセットの画像を生成することは、フローサイトメータデータの前記第 1 および第 2 のセットの各々を二次元ビンに編成することと、各ビンに陰影を割り当てることとを含む、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

フローサイトメータデータの前記第 1 および第 2 のセットの画像を生成することは、各ビンに関連付けられたフローサイトメータデータの平均値の二次元ヒストグラムを作成することをさらに含み、フローサイトメータデータの平均値は、パラメータに対して評価され、前記パラメータは、前方散乱パラメータ、側方散乱パラメータ、または蛍光パラメータである、請求項 10 に記載の方法。

30

【請求項 12】

各ビンに関連付けられたフローサイトメータデータの前記平均値は、1 つ以上のさらなるパラメータに対して評価され、前記パラメータは、前方散乱パラメータ、側方散乱パラメータ、または蛍光パラメータである、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記二次元ヒストグラムに基づいて累積分布関数を計算することと、前記累積分布関数に基づいて各ビンに関連付けられた画像生成値を決定することとをさらに含む、請求項 12 に記載の方法。

40

【請求項 14】

システムであって、

頂点のセットによって定義される訓練ゲートを含むフローサイトメータデータの第 1 のセットを取得するように構成された入力モジュールと、

フローサイトメータデータの第 2 のセットを取得するように構成された粒子分析器構成要素と、

プロセッサであって、前記プロセッサに動作可能に結合されたメモリを備え、前記メモリは、前記メモリに記憶された命令を含み、前記命令は、前記プロセッサによって実行さ

50

れると、前記プロセッサに、

フローサイトメータデータの取得された第1および第2のセットの各々について画像を生成することと、

プロセッサ実装アルゴリズムを用いて、フローサイトメータデータの前記第1のセットの前記生成された画像から前記訓練ゲートを定義する頂点の前記セットを、フローサイトメータデータの前記第2のセットの生成された画像に適応させるように、調整することとを行わせる、プロセッサとを含む、システム。

【請求項15】

非一時的コンピュータ可読記憶媒体であって、

フローサイトメータデータの第1および第2のセットを取得することであって、フローサイトメータデータの前記第1のセットは、頂点のセットによって定義される訓練ゲートを含む、取得することと、

フローサイトメータデータの取得された第1および第2のセットの各々について画像を生成することと、

プロセッサ実装アルゴリズムを用いて、フローサイトメータデータの前記第1のセットの生成された画像から前記訓練ゲートを定義する頂点の前記セットを、フローサイトメータデータの前記第2のセットの前記生成された画像に適応させるように、調整することとを含む、方法によって、

フローサイトメータデータの第1のセットから準備された訓練ゲートを、フローサイトメータデータの第2のセットに適応させるように、調整するための命令が記憶された、非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

フローサイトメトリは、血液サンプルの細胞または別のタイプの生体サンプルもしくは化学的サンプル中の目的の粒子などの生体材料を特徴付け、しばしば選別するために使用される技術である。フローサイトメータは、通常、流体サンプルを受容するためのサンプルリザーバと、シース流体を含むシースリザーバとを含む。フローサイトメータは、流体サンプル中の粒子（細胞を含む）を細胞流としてフローセルに輸送する一方で、シース流体もフローセルに向ける。フローストリームの成分を特徴付けるために、フローストリームは光で照射される。フローストリーム中の形態または蛍光標識の存在などの材料の変動は、観察される光の変動を引き起こす可能性があり、これらの変動により、特徴付けおよび分離が可能となる。

【0002】

例えば、流体懸濁液中の分子、分析物結合ビーズ、または個々の細胞などの粒子は、検出領域を通過し、そこで粒子は、典型的には1つ以上のレーザからの励起光に曝露され、粒子の光散乱および蛍光特性が測定される。粒子またはその成分は、典型的には、検出を容易にするために蛍光染料で標識される。多数の異なる粒子または成分は、スペクトル的に別個の蛍光染料を使用して、異なる粒子または成分を標識することによって、同時に検出され得る。一部の実装形態では、測定される散乱パラメータの各々に対して1つ、および検出される別個の染料の各々に対して1つ以上の、複数の検出器が、分析器に含まれる。例えば、一部の実施形態は、1色素当たり2つ以上のセンサまたは検出器が使用されるスペクトル構成を含む。得られたデータは、光散乱検出器および蛍光放射の各々に対して測定された信号を含む。

【0003】

フローサイトメータは、測定されたデータを記録し、データを分析するための手段をさらに含み得る。例えば、データの記憶および分析は、検出エレクトロニクスに接続されたコンピュータを使用して実行され得る。例えば、データは、表形式で記憶することができ、各行は、1つの粒子に関するデータに対応し、列は、測定された特徴の各々に対応する

10

20

30

40

50

。粒子分析器からのデータを記憶するための「F C S」ファイル形式などの標準ファイル形式の使用は、別個のプログラムおよび／または機械を使用してデータを分析することを容易にする。現行の分析方法を使用して、データは、典型的には、視覚化を容易にするために一次元ヒストグラムまたは二次元（2D）プロットで表示されるが、他の方法を使用して、多次元データを視覚化してもよい。

【0004】

例えばフローサイトメータを使用して測定されるパラメータには、典型的には、前方散乱（F S C）と称される、ほぼ前方方向に沿った狭い角度で粒子によって散乱された励起波長の光、側方散乱（S S C）と称される、励起レーザに対して直交方向に粒子によって散乱された励起光、およびある範囲のスペクトル波長にわたって信号を測定する1つ以上の検出器において蛍光分子から、またはその特定の検出器または検出器アレイにおいて主に検出される蛍光染料によって発せられた光が含まれる。様々な細胞タンパク質または他の成分を蛍光染料標識抗体または他の蛍光プローブで標識することから生じる光散乱特性および蛍光放射によって、異なる細胞のタイプを識別することができる。

【0005】

フローサイトメータおよび走査サイトメータの両方が、例えば、B D B i o s c i e n c e s (S a n J o s e , C a l i f .) から市販されている。フローサイトメトリは、例えば、L a n d y e t a l . (編), C l i n i c a l F l o w C y t o m e t r y , A n n a l s o f t h e N e w Y o r k A c a d e m y o f S c i e n c e s V o l u m e 6 7 7 (1993)、B a u e r e t a l . (編), C l i n i c a l F l o w C y t o m e t r y : P r i n c i p l e s a n d A p p l i c a t i o n s , W i l l i a m s & W i l k i n s (1993)、O r m e r o d (編), F l o w C y t o m e t r y : A P r a c t i c a l A p p r o a c h , O x f o r d U n i v . P r e s s (1994)、J a r o s z e s k i e t a l . (編), F l o w C y t o m e t r y P r o t o c o l s , M e t h o d s i n M o l e c u l a r B i o l o g y N o . 9 1 , H u m a n a P r e s s (1997)、およびP r a c t i c a l S h a p i r o , F l o w C y t o m e t r y , 4 t h e d . , W i l e y - L i s s (2003)に記載されており、すべて参照により本明細書に組み込まれる。蛍光撮像顕微鏡は、例えば、P a w l e y (編), H a n d b o o k o f B i o l o g i c a l C o n f o c a l M i c r o s c o p y , 2 n d E d i t i o n , P l e n u m P r e s s (1989)に記載されており、参照により本明細書に組み込まれる。

【0006】

フローサイトメトリによる細胞（または他の粒子）の分析から得られるデータは、多くの場合、多次元であり、各細胞は、測定されたパラメータによって定義される多次元空間内の点に対応する。細胞または粒子の集団は、データ空間内の点のクラスタとして識別することができる。クラスタの識別、およびそれにより、集団の識別は、データの「散乱プロット」または「ドットプロット」と称される1つ以上の二次元プロットに表示される集団の周りにゲートを描画することによって手動で実行することができる。代替的に、自動的に、クラスタを識別することができ、集団の境界を規定するゲートを決定することができる。自動化されたゲーティングのための方法の例は、例えば、米国特許第4,845,653号、同第5,627,040号、同第5,739,000号、同第5,795,727号、同第5,962,238号、同第6,014,904号、同第6,944,338号、および同第8,990,047号に記載されており、これらの各々は参照により本明細書に組み込まれる。ゲーティングは、サンプルから生成され得る大量のデータを検知するために使用される。したがって、ゲートの作成および操作を容易にすることは、結果が何を意味するかを理解する速度および精度を向上させるために役立ち得る。

【発明の概要】

【0007】

本発明の態様は、フローサイトメータデータの第1のセットから準備された訓練ゲート

10

20

30

40

50

を調整して、フローサイトメータデータの第2のセットを適応させるための方法を含む。一部の実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセットは、特定のパラメータを示すと理解される集団を含み、データの残りに対する対象の集団を区別するために描かれた頂点のセットによって定義される訓練ゲートを含む。本開示の方法は、調整されたゲートがフローサイトメータデータの第2のセット内の類似集団に適合するように、フローサイトメータデータの第2のセット（すなわち、まだゲーティングされていないデータのセット）を適応させるように訓練ゲートを調整することを含む。実施形態では、本方法は、フローサイトメータデータの第1および第2のセットを取得することと、フローサイトメータデータの第1および第2のセットの各々について画像（すなわち、各セットについて別個の画像）を生成することを含む。一部の実施形態では、画像を生成することは、所与の領域内のデータプロットに存在する分析物の数に基づいて、フローサイトメータデータを二次元ピンに編成することを含む。一部の実施形態では、フローサイトメータデータは、1つ以上の異なるパラメータ（例えば、前方散乱、側方散乱、蛍光）に関するデータの状態に基づいてビンニングされる。実施形態では、各ピンは、ピン内に含まれるデータの値（例えば、パラメータに関する）を平均することによって決定される代表値を所有する。データがビンニングされた後、本方法は、ビンニングされたデータに基づいて二次元ヒストグラムを作成することと、ヒストグラムに基づいて累積分布関数を計算することを含む。方法は、各ピンからの代表（例えば、平均）値を計算された累積分布関数に入力して、ピンが画素によって表されるように、陰影（すなわち、明るさまたは暗さ）を割り当てるための基礎として機能する画像生成値を決定することをさらに含む。画像が生成された後、本方法は、プロセッサ実装アルゴリズムを用いて、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープして、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に対する類似性を最大化することを含む。実施形態では、プロセッサ実装アルゴリズムは、画像位置合わせアルゴリズムであり、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープするためにBスプラインを採用する数学的変形モデルを含む。一部の実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像に適用される同じワープ変換は、続いて、訓練ゲートをワープするための関数を定義するためにBスプライン係数を使用することによって訓練ゲートに適用される。実施形態では、訓練ゲートは、その後、調整されたゲートから頂点を抽出し、それらをフローサイトメータデータの第2のセットに転送し、それによって、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像内に調整された訓練ゲートを再構成することによって、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像上にオーバーレイされる。

【0008】

本発明の態様は、フローサイトメータデータの第1のセットから準備された訓練ゲートを調整して、フローサイトメータデータの第2のセットを適応させるためのシステムをさらに含む。実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセットは、フローサイトメータデータを受信および／または記憶するように構成される入力モジュールから取得され、フローサイトメータデータの第2のセットは、粒子分析器から取得される。本システムは、プロセッサに動作可能に結合されたメモリを有するプロセッサをさらに含み、メモリは、メモリに記憶された命令を含み、命令は、プロセッサによって実行されると、プロセッサに、フローサイトメータデータの第1のセットから準備された訓練ゲートを調整して、フローサイトメータデータの第2のセットを適応させる。実施形態では、プロセッサは、調整されたゲートがフローサイトメータデータの第2のセット内の類似集団に適合するように、フローサイトメータデータの第2のセット（すなわち、まだゲーティングされていないデータのセット）に適応するように訓練ゲートを調整するように構成される。実施形態では、プロセッサは、フローサイトメータデータの第1および第2のセットの各々について画像（すなわち、各セットに対する別個の画像）を生成するように構成される。一部の実施形態では、画像を生成することは、所与の領域内のデータプロットに存在する分析物の数に基づいて、フローサイトメータデータを二次元ピンに編成することを含む。一部の実施形態では、フローサイトメータデータは、1つ以上の異なるパラメータ（例えば

10

20

30

40

50

、前方散乱、側方散乱、蛍光）に関するデータの状態に基づいてビンングされる。実施形態では、各ピンは、ピン内に含まれるデータの値（例えば、パラメータに関する）を平均することによって決定される代表値を所有する。データがビンングされた後、プロセッサは、ビンングされたデータに基づいて二次元ヒストグラムを作成し、ヒストグラムに基づいて累積分布関数を計算するように構成され得る。プロセッサは、各ピンからの代表（例えば、平均）値を計算された累積分布関数に入力して、ピンが画素によって表されるように、陰影（すなわち、明るさまたは暗さ）を割り当てるための基礎として機能する画像生成値を決定するようにさらに構成され得る。画像が生成された後、プロセッサは、プロセッサ実装アルゴリズムを用いて、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープして、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に対する類似性を最大化するように構成され得る。実施形態では、プロセッサ実装アルゴリズムは、画像位置合わせアルゴリズムであり、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープするためにBスプラインを採用する数学的変形モデルを含む。一部の実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像に適用される同じワープ変換は、続いて、訓練ゲートをワープするための関数を定義するためにBスプライン係数を使用することによって訓練ゲートに適用される。実施形態では、訓練ゲートは、その後、調整されたゲートから頂点を抽出し、それらをフローサイトメータデータの第2のセットに転送することによって、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像上にオーバーレイされる。

【0009】

本発明の態様は、完全自動化または部分自動化のための1つ以上のコンピュータを含む、コンピュータ制御システムおよびコンピュータ可読記憶媒体をさらに含む。一部の実施形態では、システムは、コンピュータプログラムが記憶されたコンピュータ可読記憶媒体を有するコンピュータを含み、コンピュータプログラムは、コンピュータにロードされると、訓練ゲートを含むフローサイトメータデータの第1のセットおよびフローサイトメータデータの第2のセットを取得し、データを二次元ビンに編成し、二次元ビンングデータに基づいてヒストグラムおよび累積分布関数を作成し、累積分布関数に基づいて画像生成値を決定するための命令を含む。コンピュータはまた、対応する画像生成値に基づいて各ピンに陰影を割り当て、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープしてフローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像との類似性を最大化し、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープすることからBスプライン係数を使用して訓練ゲートを調整し、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像上に訓練ゲートをオーバーレイすることによって、フローサイトメータデータの第1および第2のセットの各々について画像を生成するための命令を含み得る。

【図面の簡単な説明】

【0010】

本発明は、添付の図面と併せて読む場合、以下の詳細な説明から最も理解することができる。図面には、以下の図が含まれる。

【0011】

【図1】フローサイトメータデータの第1のセットおよびその対応する訓練ゲートについて生成された画像、ならびにフローサイトメータデータの第2のセットについて生成された画像を示す図である。

【図2】特定の実施形態による、フローサイトメータデータの第1のセットからの訓練ゲートを自動的に調整してフローサイトメータデータの第2のセットを適応させるためのフローチャートを示す図である。

【図3-1】フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像を適応させるように訓練ゲートを調整することを示す図である。

【図3-2】フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像を適応させるように訓練ゲートを調整することを示す図である。

【図4】調整された訓練ゲートを示す図である。

【図５】フローサイトメータデータの種々の第２のセットを適応させるように調整された訓練ゲートの例を示す図である。

【図６】フローサイトメータデータの種々の第２のセットを適応させるように調整された訓練ゲートの追加の例を示す図である。

【図７】特定の実施形態によるフローサイトメータを示す図である。

【図８】特定の実施形態によるプロセッサの一例の機能ブロック図を示す図である。

【図９】特定の実施形態によるコンピューティングシステムのブロック図を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【００１２】

上記で考察したように、フローサイトメータデータの第１のセットから準備された訓練ゲートを調整してフローサイトメータデータの第２のセットを適応させるための方法が提供される。実施形態では、本方法は、フローサイトメータデータの第１および第２のセットの各々について画像を生成することを含む。一部の例では、画像を生成することは、データを二次元ビンに編成することと、ビンが画素によって表されるように各ビンに陰影を割り当てることとを含む。一部の例では、本方法は、フローサイトメータデータの第１のセットの生成された画像をコンピュータ実装アルゴリズムでワープして、フローサイトメータデータの第２のセットに対する類似性を最大化することと、同じ変換を訓練ゲートに適用することとを含む。一部の実施形態では、本方法は、調整された訓練ゲートを、フローサイトメータデータの第２のセットの生成された画像上にオーバーレイすることを含む。訓練ゲートを調整するためのシステムおよびコンピュータ可読媒体も提供される。

【００１３】

本発明がより詳細に説明される前に、本発明は、説明される特定の実施形態に限定されるものではなく、したがって、もちろん、変化し得ることが理解されるべきである。また、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるため、本明細書で使用される専門用語は、単に特定の実施形態を説明するためのものであることも理解されたい。

【００１４】

値の範囲が提供される場合、文脈が明確に別段の指示をしない限り、その範囲の上限と下限との間の、下限の単位の１０分の１までの各中間値、およびこの記載の範囲内の任意の他の記載される値または中間値が本発明に包含されることが理解される。これらのより小さい範囲の上限および下限は、独立して、より小さい範囲に含まれてもよく、記載された範囲内の任意の具体的に除外された限界に従うことを条件として、本発明内にも包含される。記載された範囲が限定の一方または両方を含む場合、それらの含まれる限定のいずれかまたは両方を除外する範囲も、同様に本発明に含まれる。

【００１５】

ある特定の範囲は、「約」という用語によって先行される数値を伴って本明細書において提示される。「約」という用語は、本明細書において、それが先行する正確な数、ならびにその用語が先行する数に近い、または近似しているその数についての文字どおりの裏付けを提供するために使用される。ある数が具体的に列挙された数に近い、または近似するか否かを判定するとき、その近いまたは近似する列挙されない数は、それが提示されている文脈において、具体的に列挙されている数の実質的な等価物を提供する数であり得る。

【００１６】

別途定義されない限り、本明細書で使用されるすべての技術用語および科学用語は、本発明が属する当業者に一般に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書に記載されるものと類似または同等の任意の方法および材料も、本発明の実施または試験に使用され得るが、代表的な例示的な方法および材料が、以下に記載される。

【００１７】

本明細書で引用されるすべての刊行物および特許は、あたかも各個々の刊行物または特許が、参照することによって組み込まれるように具体的かつ個々に示されているかのよう

に、参照することによって本明細書に組み込まれ、方法および／または材料を開示および

10

20

30

40

50

記載するために、参照によって本明細書に組み込まれ、それらの方法および／または材料に関連して刊行物が引用される。いかなる刊行物の引用も、出願日以前のその開示に関するものであり、本発明が、先行発明を理由に、かかる刊行物に先行する権利がないことを認めるものと解釈されるべきではない。さらに、提供される刊行物の日付は、独立して確認する必要がある実際の刊行日とは異なる場合がある。

【0018】

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、冠詞「a」、「an」、および「the」は、別途文脈が明確に指示しない限り、複数の指示対象を含むことに留意されたい。特許請求の範囲は、あらゆる選択肢的要素を除外するように起草され得ることにさらに留意されたい。したがって、この記述は、特許請求要素の列挙に関連した「もっぱら (solely)」および「のみ (only)」などの排他的用語の使用のための、または「消極的な」限定の使用のための先行詞として機能することが意図される。

10

【0019】

本開示を読むと当業者には明らかであるように、本明細書に記載および例証される別個の実施形態の各々は、本発明の範囲または趣旨から逸脱することなく、他の様々な実施形態のいずれかの特徴から容易に分離され得るか、またはこれらと組み合わせられ得る別個の構成要素および特徴を有する。任意の列挙された方法は、列挙された事象の順序、または論理的に可能な任意の他の順序で実行され得る。

【0020】

装置および方法は、文法的な流動性のために機能的説明とともに記述されてきた、または記述されるが、米国特許法第112条に基づいて明確に記載されていない限り、特許請求の範囲は、必ずしも「手段」または「ステップ」の限定の解釈によって限定されると解釈すべきではなく、法的均等論の下で特許請求の範囲によって提供される定義の意味および等価物の完全な範囲を付与されるべきであり、特許請求の範囲が米国特許法第112条に基づいて明確に記載されている場合には、米国特許法第112条に基づく完全な法的等価物を付与されるべきであることを明確に理解されたい。

20

【0021】

訓練ゲートを調整してフローサイトメータデータを適応させる方法

上記で考察したように、本開示の態様は、フローサイトメータデータの第1のセットから準備された訓練ゲートを調整して、フローサイトメータデータの第2のセットを適応させるための方法を含む。したがって、本発明の実施形態は、フローサイトメータデータの第1および第2のセットを取得することを含む。実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセットは、その中に含まれる1つ以上の集団が、対象のサブタイプ（すなわち、表現型）と関連付けられると理解されるように、特徴付けられたものである。一部の実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセットは、以前のフローサイトメトリ実験から得られる。したがって、フローサイトメータデータの第1のセットは、特定の実施形態によれば、対象となる特定の特性に関連付けられることがユーザによって認識または確認された集団を含む。逆に、本発明の実施形態によるフローサイトメータデータの第2のセットは、まだ定義されていない1つ以上の集団を含む。換言すれば、フローサイトメータデータの第2のセット内の対象の集団は、残りのデータから形式的に区別することができるように、境界（すなわち、ゲート）を必要とする。実施形態では、フローサイトメータデータの第1および第2のセットは、同じパラメータを示すデータを含む（例えば、同じ蛍光色素が両方のセットで検出される）。

30

40

【0022】

実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセットは、訓練ゲートを含む。本明細書で使用される場合、「ゲート」は、概して、関心対象のデータのサブセットを識別する分類子境界を指す。サイトメトリでは、ゲートは、特に関心がある事象の群に結合することができる。加えて、「ゲーティング」は、概して、所与のデータセットについて定義されたゲートを使用してデータを分類するプロセスを指し、ゲートは、ブール論理と組み合わせられた1つ以上の関心領域であり得る。一部の実施形態では、ゲートは、フローサ

50

イトメータデータの集団を分類するための境界を定義する。実施形態では、ゲートは、同じパラメータを示すフローサイトメータデータを識別する。ゲーティングのための方法の例は、例えば、米国特許第4,845,653号、同第5,627,040号、同第5,739,000号、同第5,795,727号、同第5,962,238号、同第6,014,904号、同第6,944,338号、および同第8,990,047号に記載されており、これらの各々は参照により本明細書に組み込まれる。したがって、「訓練ゲート」は、フローサイトメータデータの特定のサブセットを定義することが知られているゲートを指す。換言すれば、訓練ゲートは、ユーザまたは他のサイトメトリの技術によって、対象の特性に対応するように以前に決定されたフローサイトメータデータの集団の境界を定める。実施形態では、訓練ゲートは、頂点、すなわち、接続された場合にゲートを形成する二次元プロット上の点を含む。一部の実施形態では、訓練ゲートはユーザによって描かれる。他の実施形態では、訓練ゲートは、サイトメトリにおける他の技術によって事前に確立される。実施形態では、訓練ゲートは、フローサイトメータデータの第1のセット内の対象集団を定義するために使用される。実施形態では、訓練ゲートは、フローサイトメータデータの第1のセット内の対象集団の形状に対応する形状を保有する。一部の実施形態では、訓練ゲートは多角形状を有する。したがって、実施形態では、ユーザは、フローサイトメータデータ測定値の第1のセットのグラフ上に多角形を描いて、訓練ゲート内に含まれるデータ値の範囲を定義することができる。

【0023】

特定の実施形態では、本方法は、粒子の集団をプロットする1つ以上の領域、例えば2つ以上の領域、例えば3つ以上の領域、例えば4つ以上の領域、および5つ以上の領域を含む二次元データプロットを生成することによって、訓練ゲートの境界を決定することを含む。一部の実施形態では、データプロット内の各領域のビットマップが生成され、これは、特定の実施形態によれば、その対応する領域のゲートとして使用される。一部の実施形態では、データプロットにおける各領域の境界が決定される。一部の例では、データプロットの領域の境界を決定するために、本方法は、各頂点についてデータプロットの各軸に沿って最小値および最大値を決定することによって、データプロット内の各領域について境界を形成する頂点のセットを計算することを含む。これらの実施形態では、x軸に沿った最小値およびy軸に沿った最小値、ならびにx軸に沿った最大値およびy軸に沿った最大値が、各頂点について決定される。

【0024】

一部の実施形態では、データプロットの各領域の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が決定される。採用されるデータプロットのタイプ（例えば、双指数関数データプロット）に応じて、データプロットの各頂点に対して識別されるアルゴリズム変換は、線形数値変換、対数数値変換、または双指数関数数値変換などにより変動し得る。変換は、データプロット上の粒子集団位置に依存して正または負であり得る。例えば、変換は正の線形変換、正の対数変換、負の線形変換または負の対数変換であってもよい。一部の実施形態では、識別されたアルゴリズム変換は、正の線形変換／正の線形変換（すなわち、正のx軸に沿った線形変換および正のy軸に沿った線形変換）である。他の実施形態では、識別されたアルゴリズム変換は、正の対数変換／正の対数変換である。他の実施形態では、アルゴリズム変換は正の線形変換／正の対数変換である。他の実施形態では、アルゴリズム変換は負の線形変換／負の対数変換である。他の実施形態では、アルゴリズム変換は正の対数変換／負の線形変換である。他の実施形態では、アルゴリズム変換は正の対数変換／負の線形変換である。

【0025】

ビットマップは、データプロット内の各粒子集団領域について生成され得る。ビットマップという用語は、本明細書では、データプロットの領域のマッピングインデックスを指すために、その従来の意味で使用される。本明細書で説明されるビットマップは、データの形態で、またはグラフィカル表示として生成され得る。一部の実施形態では、ビットマ

ップは単一のタイルから形成される。他の実施形態では、ビットマップは、複数のタイルから形成される。一部の実施形態では、3つ以上のビットマップタイル、4つ以上のビットマップタイル、5つ以上のビットマップタイル、6つ以上のビットマップタイル、7つ以上のビットマップタイル、8つ以上のビットマップタイルなど、および9つ以上のビットマップタイルを含む、2つ以上のビットマップタイルがデータプロットから生成される。各ビットマップタイルは、対象の粒子集団の各領域からの境界の1つ以上の頂点、例えば対象の粒子集団の各領域の2つ以上の頂点、3つ以上の頂点、4つ以上の頂点など、および5つ以上の頂点を含んでもよい。

【0026】

特定の例では、ビットマップ中の各頂点に適用するためのアルゴリズム変換が識別される。採用されるデータプロットのタイプ（例えば、双指数関数データプロット）に応じて、ビットマップの各頂点に対して識別されるアルゴリズム変換は、線形数値変換、対数数値変換、または双指数関数数値変換などにより変動し得る。変換は、データプロット上の粒子集団位置に依存して正または負であり得る。一部の実施形態では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が線形である場合、本方法は、ビットマップ内の対応する頂点に適用するための線形変換を識別することを含む。他の実施形態では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が対数である場合、本方法は、ビットマップ内の対応する頂点に適用するための対数変換を識別することを含む。他の実施形態では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が双指数関数的である場合、本方法は、対称対数変換、線形変換、またはそれらの組み合わせを含む、ビットマップ内の対応する頂点に適用するための変換を識別することを含む。一例では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が正の線形／正の線形である場合、本方法は、正の線形／正の線形であるビットマップ内の対応する頂点に適用するためのアルゴリズム変換を識別することを含む。別の例では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が正の対数／正の対数である場合、本方法は、ビットマップ内の対応する頂点に適用するための、正の線形／正の線形であるアルゴリズム変換を識別することを含む。別の例では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が正の線形／正の対数である場合、本方法は、ビットマップ内の対応する頂点に適用するための、正の線形／正の対数であるアルゴリズム変換を識別することを含む。別の例では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が正の対数／正の線形である場合、本方法は、ビットマップ内の対応する頂点に適用するための、正の対数／正の線形であるアルゴリズム変換を識別することを含む。別の例では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が負の対数／正の線形である場合、本方法は、ビットマップ内の対応する頂点に適用するための、負の対数／正の線形であるアルゴリズム変換を識別することを含む。別の例では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が正の対数／負の線形である場合、本方法は、ビットマップ内の対応する頂点に適用するための、正の対数／負の線形であるアルゴリズム変換を識別することを含む。別の例では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が負の線形／正の対数である場合、本方法は、ビットマップ内の対応する頂点に適用するための、負の線形／正の対数であるアルゴリズム変換を識別することを含む。別の例では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が正の線形／負の対数である場合、本方法は、ビットマップ内の対応する頂点に適用するための、正の線形／負の対数であるアルゴリズム変換を識別することを含む。別の例では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が負の線形／負の線形である場合、本方法は、ビットマップ内の対応する頂点に適用するための、負の線形／負の線形であるアルゴリズム変換を識別することを含む。別の例では、データプロット内の頂点に関連付けられたアルゴリズム変換が負の対数／負の対数である場合、本方法は、ビットマップ内の対応する頂点に適用するための、負の線形／負の線形であるアルゴリズム変換を識別することを含む。

【0027】

一部の実施形態では、本方法は、ビットマップに適用されるアルゴリズム変換を整列さ

10

20

30

40

50

せることを含む。これらの実施形態では、変換は、重複が最小化され、変換が適切に切り替わるように整列される。特定の実施形態では、本方法は、ビットマップのアフィン変換を実行し、ビットマップの使用が最大化されるように、すなわち、ビットマップ境界が領域境界ボックスと整列するように、アフィン変換を調整することを含む。これらの実施形態では、ADCチャネル内のビットマップにわたるスパンがビットマップ分解能未満である場合、忠実度を最大化するために、そのセクションについて線形への変換の切り替えが実行され得る。ビットマップは、2つの頂点間の1つ以上のラインセグメントを補間することによってレンダリングされ得る。一部の例では、ビットマップは、ポリゴン走査線フィルアルゴリズムなどのポリゴン描画アルゴリズムを用いて生成され得る。

【0028】

特定の実施形態では、粒子の集団を有する1つ以上の領域を含む二次元データプロットは、米国特許第10,613,017号に記載されるように生成され、その開示は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0029】

「フローサイトメータデータ」とは、粒子分析器内の任意の数の光検出器によって収集されるフローセル内のサンプル（例えば、細胞、粒子）のパラメータに関する情報を意味する。実施形態では、フローサイトメータデータは、前方散乱検出器から受信される。前方散乱検出器は、一部の例では、粒子の全体的なサイズに関する情報をもたらすことができる。実施形態では、フローサイトメータデータは、側方散乱検出器から受信される。側方散乱検出器は、一部の例では、粒子の表面および内部構造からの屈折光および反射光を検出するように構成されてもよく、これは、構造の粒子複雑性の増加とともに増加する傾向がある。実施形態では、フローサイトメータデータは、蛍光検出器から受信される。蛍光検出器は、一部の例では、フローセル内の粒子に関連付けられた蛍光分子、例えば、標識された特異的結合メンバー（対象のマーカに特異的に結合する標識抗体など）からの蛍光放射を検出するように構成されてもよい。特定の実施形態では、本方法は、1つ以上の蛍光検出器、例えば、2つ以上、例えば、3つ以上、例えば、4つ以上、例えば、5つ以上、例えば、6つ以上、例えば、7つ以上、例えば、8つ以上、例えば、9つ以上、例えば、10以上、例えば、15以上、および25以上の蛍光検出器を用いて、サンプルからの蛍光を検出することを含む。

【0030】

フローサイトメトリによる細胞（または他の粒子）の分析から得られるデータは、多くの場合、多次元であり、各細胞は、測定されたパラメータによって定義される多次元空間内の点に対応する。細胞または粒子の集団は、データ空間内の点のクラスタとして識別することができる。一部の実施形態では、本方法は、サンプル中の分析物（例えば、細胞、粒子）の決定されたパラメータに基づいて、1つ以上の集団クラスタを生成することを含む。本明細書中で使用される場合、分析物（例えば、細胞または他の粒子）の「集団」または「亜集団」は、概して、測定されたパラメータデータがデータ空間においてクラスタを形成するように、1つ以上の測定されたパラメータに関する特性（例えば、光学特性、インピーダンス特性、または時間特性）を有する分析物の群を指す。実施形態では、データは、複数の異なるパラメータ（例えば、2以上、3以上、4以上、5以上、6以上、7以上、8以上、9以上、10以上、および20以上を含む）からの信号から構成される。したがって、集団はデータ内のクラスタとして認識される。逆に、ノイズまたはバックグラウンドに対応するクラスタも典型的に観察されるが、各データクラスタは、概して、特定のタイプの細胞または分析物の集団に対応するものとして解釈される。クラスタは、次元のサブセット内で、例えば、細胞または粒子の測定値から抽出された、測定されたパラメータまたは特徴のサブセット内のみで異なる集団に対応する、測定されたパラメータのサブセットに関して、定義され得る。

【0031】

実施形態では、本方法は、フローサイトメータデータを受信することと、各分析物のパラメータを計算することと、計算されたパラメータに基づいて分析物を一緒にクラスタ化

10

20

30

40

50

することを含む。例えば、実験は、複数のフルオロフォアまたは蛍光標識抗体によって標識された粒子を含んでもよく、粒子の群は、1つ以上の蛍光測定に対応する集団によって定義されてもよい。この例では、第1の群は、第1のフルオロフォアに対する特定の範囲の光散乱によって定義されてもよく、第2の群は、第2のフルオロフォアに対する特定の範囲の光散乱によって定義されてもよい。第1および第2のフルオロフォアがそれぞれx軸およびy軸上に表される場合、情報がグラフィカルに表示される場合、2つの異なる色分けされた集団が粒子の各群を定義するよう見える可能性がある。任意の数の分析物がクラスタに割り当てられてもよく、5以上の分析物、例えば10以上の分析物、例えば50以上の分析物、例えば100以上の分析物、例えば500の分析物を含み、1000の分析物を含む。特定の実施形態では、本方法は、サンプル中で検出された稀な事象（例えば、サンプル中のがん細胞などの稀な細胞）をクラスタと一緒に群化する。これらの実施形態では、生成された分析物クラスタは、10個以下の割り当て済み分析物、例えば9個以下の割り当て済み分析物を含むことができ、5個以下の割り当て済み分析物を含み得る。

【0032】

フローサイトメータデータが得られた後、本発明の態様は、フローサイトメータデータの第1および第2のセットの各々についての画像（すなわち、フローサイトメータデータの各セットについての別個の画像）を生成することをさらに含む。「画像を生成する」とは、フローサイトメータデータが、アセンブルされたときにデータを表す画像を構成する画素によって表されるように、二次元プロットを画像フォーマットに変換することを意味する。実施形態では、フローサイトメータデータの第1および第2のセットの各々について画像を生成することは、データを二次元ビンに編成することを伴う。本開示では、「ビン」という用語は、特定の区画内に入るデータ点が組み合わされるデータ構造を指すために、その従来の意味で使用される。その後、ビンには、その区画を表す値が割り当てられる。実施形態では、ビンの代表値は、該ビン内に含まれるフローサイトメータデータの平均値である。したがって、実施形態では、二次元散布図の定義された領域内の個々のデータ点は、ビンに照合され、そのビンは、その中に含まれるデータ点の数を反映する代表値に関連付けられる。

【0033】

一部の実施形態では、フローサイトメータデータは、パラメータに対するデータの状態に従ってビンニングされる。かかる実施形態では、所与のビンの代表値は、該パラメータについて検出された強度に関するビンニングされたデータの平均値であってもよい。例えば、パラメータが蛍光パラメータである場合、特定のビンの代表値は、所与の蛍光色素から放出される蛍光の強度に関するそのビン内のデータの平均値であってもよい。実施形態では、データは、1つ以上の追加のパラメータに対するデータの状態に従ってビンニングされる。かかる実施形態では、所与のビンの代表値は、各関連パラメータに関して評価された平均値の複合であってもよい。したがって、実施形態では、フローサイトメータデータをビンに組み合わせることは、2つ以上、3つ以上、4つ以上、5つ以上、10以上、15以上などの1つ以上の追加パラメータに関してデータを評価することを含み、20個以上の追加パラメータを含む。

【0034】

フローサイトメータデータがビンに編成された後、本発明の態様は、画像生成値を決定することを含む。本明細書で考察されるように、画像生成値は、所与のビン内のデータ点濃度を定量化し、画像を生成するための基礎としての役割を果たす。特定の実施形態では、画像生成値を決定することは、二次元ビンニングされたデータのヒストグラム（すなわち、各ビンに関連付けられた代表値のヒストグラム）を作成することを含む。かかる実施形態では、画像生成値を決定することはまた、ヒストグラムに基づいて累積分布関数を計算することを含む。累積分布関数は、その従来の意味で参照され、変数が特定の量以下である確率を決定する。このように、ヒストグラムから算出された累積分布関数に各ビンの代表値を代入して画像生成値を求める。一部の実施形態では、画像生成値は0～1の範囲で

ある。他の実施形態では、画像生成値は、0からユーザによって選択された任意の数までの範囲にスケールされてもよい。実施形態では、より高い画像生成値は、関連するピンがより多くのデータ点に関連付けられていることを示し、より低い画像生成値は、関連するピンがより少ないデータ点に関連付けられていることを示す。

【0035】

画像生成値の決定に続いて、本発明の実施形態は、そのピンに対応する画像生成値に基づいて各ピンに陰影を割り当てることを含む。本明細書で説明される「陰影」は、所与のピンが結果として得られる画像において表される明るさまたは暗さを指す。一部の実施形態では、ピンにはグレーの陰影が割り当てられる。かかる実施形態では、結果として得られる画像はグレースケール画像である。他の実施形態では、ピンには非グレー色の陰影が割り当てられる。かかる実施形態では、結果として得られる画像はカラー画像である。ピンに結合されたデータが複数のパラメータに関して評価される実施形態では、かかるピンから生成された画像は多色であり得る。かかる実施形態では、異なる色が、各別個のパラメータに関連付けられ得る。一部の実施形態では、より高い画像生成値に関連付けられたピンにはより明るい色が割り当てられ、より低い画像生成値に関連付けられたピンにはより暗い色が割り当てられる。本発明の特定の実施形態は、画像生成閾値も含む。かかる実施形態では、閾値未満の画像生成値に関連付けられたすべてのピンに黒色が割り当てられる。一部の実施形態では、閾値は調整可能である（すなわち、ユーザによって複数の異なるオプションから選択される）。したがって、選択された閾値の大きさに基づいて、より多くのまたはより少ない画像が黒色に割り当てられてもよい。

【0036】

図1は、上述のプロセスによって生成されたフローサイトメータデータ101の第1のセットの画像、ならびにフローサイトメータデータ101の第1のセット内の関心対象の集団を定義するための対応する訓練ゲート101aを示している。一方、フローサイトメータデータ102の第2のセットのために生成された画像は、フローサイトメータデータの類似集団を境界付けるゲートを含まない。

【0037】

本発明の態様は、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像から訓練ゲートを調整して、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像を適応させることをさらに含む。フローサイトメータデータの第2のセットを「適応させる」ように訓練ゲートを調整することによって、調整された訓練ゲートが、フローサイトメータデータの第1のセットと比較してフローサイトメータデータの第2のセットに存在する集団形態の差を説明するように、訓練ゲートの形状を変更することを意味する。特定の実施形態では、訓練ゲートの調整は、訓練ゲートの構成頂点のうちの1つ以上、最大で各々を調整することを含む。実施形態では、訓練ゲートの調整は、プロセッサ実装アルゴリズムによって実行される。かかる場合の実施形態では、プロセッサ実装アルゴリズムは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像から取得された訓練ゲートの頂点をワープして、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に適合させるように構成され得る。本開示の実施形態によれば、プロセッサ実装アルゴリズムは、画像位置合わせアルゴリズムである。画像位置合わせアルゴリズムは、画像から受信したデータを統合し変換する。したがって、本明細書に記載される画像位置合わせアルゴリズムは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像を分析し、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像を分析し、それらの分析に基づいてフローサイトメータデータの第1のセットからの訓練ゲートをワープして、フローサイトメータデータの第2のセットに適合させる。

【0038】

実施形態では、フローサイトメータデータの第2のセットに適合するように訓練ゲートをワープすることは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像全体をワープして、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に対する類似性を最大化することを含む。かかる実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセッ

トの生成された画像内の対象の集団は、該集団の輪郭がフローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像内の類似集団の輪郭とほぼ同一であるように調整される（すなわち、ワープされる）。換言すれば、プロセッサ実装アルゴリズムは、フローサイトメータデータの第2のセットに似るようにフローサイトメータデータの第1のセットを変換／変形するように構成された数学的変形モデルを含み得る。フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像がワープされた後、その中に含まれる訓練ゲートは、対応してワープされ得る。例えば、図2は、本発明の特定の実施形態によるサンプルワークフローを示している。ステップ201および202において、フローサイトメータデータの第1および第2のセットが得られる。フローサイトメータデータの第1のセットは、訓練ゲート201aを含む。ステップ203では、（例えば、上述のように）フローサイトメータデータの第1および第2のセットの各々について画像が生成される。続いて、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像は、対象集団がフローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像内の類似集団に似るように、ワープされる（ステップ204）。フローサイトメータデータの第1のセット内に含まれる訓練ゲートは、その後、ステップ205において、ステップ204で使用された同じ変換によってワープされ得る。ステップ205において変換されたゲートの頂点は、次いで、ステップ206において、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に適用され得る。一部の実施形態では、訓練ゲートが調整される前に、訓練ゲートは最初に（すなわち、訓練ゲートが画像内の唯一の要素であるように）ブランク画像に課される。換言すれば、訓練ゲートは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像の残りから分離され、別個の画像に課され得る。

【0039】

一部の実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープするように構成された画像位置合わせアルゴリズムは、Bスプラインワーピングを含む。Bスプライン（すなわち、基底スプライン）は、曲線当てはめにしばしば使用される数学関数を記述する。Bスプラインは、例えば、Gans, P., & Gill, J. B. (1984). *Smoothing and differentiation of spectroscopic curves using spline functions*, *Applied spectroscopy*, 38 (3), 370-376に記載されており、これらの開示は参照により本明細書に組み込まれる。実施形態では、Bスプラインワーピングは、Bスプライン係数を計算することを含み、Bスプライン係数は、次いで、訓練ゲートを調整するための関数を定義するために使用される。換言すれば、画像位置合わせアルゴリズムは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープし、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像がどのようにワープされたかを数値的に記述するBスプライン係数を出力する。次いで、これらの係数は、フローサイトメータデータの第1のセットと第2のセットとの間の差異を説明する調整された訓練ゲートが生成されるように、訓練ゲートの頂点を更新するための基礎として役立つ。次いで、更新された（すなわち、調整された）頂点は、その上に調整されたゲートを形成するために、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に適用され得る。例えば、図3は、特定の実施形態による、フローサイトメータデータの第1のセットおよびその対応する訓練ゲートを調整するプロセスを示している。画像301aは、ブランク画像に課された訓練ゲートを示し、画像301bは、フローサイトメータデータの第1のセットの対応する生成画像を示している。画像301bは、プロセッサ実装アルゴリズムによって調整された画像303bにワープされて、フローサイトメータデータの第2のセット（図1に示される102）の生成された画像に対する類似性を最大化するため、Bスプライン係数302aのセットが採用され、記録される。画像301bのワーピングは、変形302bによって示されている。次に、画像301bを画像303bにワープするために使用される同じBスプライン係数302aを使用して、ブランク画像301aに課される訓練ゲートをワープし、調整された訓練ゲート303aを作成するための関数を定義する。

10

20

30

40

50

【0040】

訓練ゲートの調整に続いて、本発明の態様は、調整された訓練ゲートをフローサイトメータデータの第2のセット上にオーバーレイすることを含む。かかる実施形態では、ブランク画像内の調整された訓練ゲートの頂点は、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像内の対応する集団に適用されて、その集団の周囲にゲートを形成する。例えば、図4に示される画像400は、フローサイトメータデータ102の第2のセット上にオーバーレイされた調整された訓練ゲートを示している。一部の実施形態では、調整された訓練ゲートを作成するために訓練ゲートの頂点を調整することは、訓練ゲートから頂点を抽出すること（すなわち、各頂点の位置を分離および観察すること）と、Bスプライン係数（例えば、上記で決定されるような）に基づいて各頂点の位置を変更することと、調整された訓練ゲートを形成するために、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に調整された頂点を適用することを含む。他の実施形態では、プロセッサ実装アルゴリズムは、各頂点の位置を観察する前に訓練ゲートをワープしてもよい。かかる実施形態では、プロセッサ実装アルゴリズムは、画像位置合わせアルゴリズム（例えば、上記で考察されるように）によって訓練ゲートを調整し、次いで、調整された頂点は、観察され、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に適用されてもよい。

10

【0041】

一部の実施形態では、フローサイトメータデータの第2のセット上にオーバーレイされた調整された訓練ゲートは、元の訓練ゲートとは異なる形状を有し、すなわち、フローサイトメータデータの第2のセット内の関連する集団の形状に適應する。一部の例では、フローサイトメータデータの第2のセット内の関連する集団は、フローサイトメータデータの第1のセットにおける集団と比較した場合に、一部の領域において調節され、例えば、伸長され、縮小され、またはシフトされる。したがって、一部の例では、調整された訓練ゲートは、これらの差に適應するように成形される。一部の例では、調整された訓練ゲートは多角形である。

20

【0042】

図5および図6は、上述のプロセスによって調整された訓練ゲートを示している。図5は、訓練ゲートを含むフローサイトメータデータ501の第1のセットを示している。502a~502dは、フローサイトメータデータの第2のセットを示し、各々は、本方法によって画像501から調整されたゲートを含む。同様に、図6は、訓練ゲートを含むフローサイトメータデータ601の第1のセットを示している。602aおよび602bは、フローサイトメータデータの第2のセットを示し、各々は、本方法によって画像601から調整されたゲートを含む。

30

【0043】

本開示によるフローサイトメータデータを生成するために、粒子を有するサンプルが光源で照射され、サンプルからの光が検出されて、検出された光の測定値に少なくとも部分的に基づいて関連粒子の集団が生成される。一部の例では、サンプルは生体サンプルである。「生体サンプル」という用語は、その従来の意味で、全生物、植物、菌類、または、場合によっては、血液、粘液、リンパ液、滑液、脳脊髄液、唾液、気管支肺胞洗浄、羊水、羊膜臍帯血、尿、膿液、および精液中に見られ得る動物の組織、細胞、または構成成分のサブセットを指すために使用される。したがって、「生体サンプル」は、天然有機体またはその組織のサブセットの両方、ならびに、例えば、血漿、血清、脊髄液、リンパ液、皮膚の切片、呼吸管、胃腸管、心血管、および泌尿器管、涙液、唾液、乳、血液細胞、腫瘍、臓器を含むが、これらに限定されない、生物またはその組織のサブセットから調製されたホモジネート、溶解物、または抽出物を指す。生体サンプルは、健康組織と、疾患組織（例えば、がん性、悪性、壊死性など）との両方を含む、任意のタイプの生体組織であり得る。特定の実施形態では、生体サンプルは、血液またはその誘導体、例えば、血漿、涙液、尿、精液などの液体サンプルであり、一部の例では、サンプルは、静脈穿刺またはフィンガースティックから取得された血液など、全血を含む血液サンプルである（血液は

40

50

、アッセイの前に、防腐剤、抗凝固剤などの任意の試薬と組み合わせられてもよく、または組み合わせられなくてもよい）。

【0044】

特定の実施形態では、サンプルのソースは、「哺乳動物 (mammal)」または「哺乳動物 (mammalian)」であり、これらの用語は、肉食動物目 (例えば、イヌおよびネコ)、げっ歯目 (例えば、マウス、モルモット、およびラット)、ならびに霊長目 (例えば、ヒト、チンパンジー、およびサル) を含む、哺乳綱内の生物を示すために広く使用される。一部の例では、被験体はヒトである。方法は、両方の性別のヒト被検体から、発達の任意の段階 (すなわち、新生児、乳幼児、年少者、青年、成人) で取得されたサンプルに適用され得、特定の実施形態では、ヒト被検体は、年少者、青年、または成人である。本発明は、ヒト被検体からのサンプルに適用され得るが、以下に限定されるものではないが、鳥、マウス、ラット、イヌ、ネコ、家畜、およびウマなどの他の動物被検体からの (すなわち、「非ヒト被検体」内の) サンプルに対しても実施され得ることを理解されたい。

【0045】

本発明の方法の実施において、粒子を有するサンプル (例えば、フローサイトメータのフローストリーム中) は、光源からの光で照射される。一部の実施形態では、光源は、例えば 100 nm 以上、例えば 150 nm 以上、例えば 200 nm 以上、例えば 250 nm 以上、例えば 300 nm 以上、例えば 350 nm 以上、例えば 400 nm 以上、および 500 nm 以上にわたることを含む、例えば 50 nm 以上にわたるなど、広範囲の波長を有する光を発する広帯域光源である。例えば、ある好適な広帯域光源は、200 nm ~ 1500 nm の波長を有する光を放出する。好適な広帯域光源の別の実施例は、400 nm ~ 1000 nm の波長を有する光を放出する光源を含む。方法が広帯域光源で照射することを含む場合、対象の広帯域光源プロトコルは、他の広帯域光源またはそれらの任意の組み合わせの中でもとりわけ、ハロゲンランプ、重水素アークランプ、キセノンアークランプ、安定化繊維結合広帯域光源、連続スペクトルの広帯域 LED、超発光ダイオード、半導体発光ダイオード、ワイドスペクトル LED 白色光源、マルチ LED 一体型白色光源を含み得るが、これらに限定されない。

【0046】

他の実施形態では、本方法は、例えば 40 nm 以下、例えば 30 nm 以下、例えば 25 nm 以下、例えば 20 nm 以下、例えば 15 nm 以下、例えば 10 nm 以下、例えば 5 nm 以下、例えば 2 nm 以下、および特定の光の波長 (すなわち、単色光) を発する光源を含む、50 nm 以下の範囲のような狭波長範囲の光を発する光源など、特定の波長または狭い範囲の波長を発する狭帯域光源で照射することを含む。方法が、狭帯域光源で照射することを含む場合、対象の狭帯域光源プロトコルは、狭波長 LED、レーザダイオード、または 1 つ以上の光学バンドパスフィルタ、回折格子、モノクロメータ、またはこれらの任意の組み合わせに結合された広帯域光源を含んでもよいが、これらに限定されない。

【0047】

本発明の態様は、検出器または検出器の組み合わせで光を収集することを含む。一部の実施形態では、光は、側方散乱光を検出するように構成された 1 つ以上の側方散乱検出器によって収集される。さらなる実施形態では、光は、前方散乱光を検出するように構成された 1 つ以上の前方散乱検出器によって収集される。さらなる実施形態では、光は、蛍光を検出するように構成される 1 つ以上の蛍光検出器によって収集される。蛍光検出器は、一部の例では、フローセル内の粒子に関連付けられた蛍光分子、例えば、標識された特異的結合メンバー (対象のマーカーに特異的に結合する標識抗体など) からの蛍光放射を検出するように構成されてもよい。特定の実施形態では、本方法は、1 つ以上の蛍光検出器、例えば、2 つ以上、例えば、3 つ以上、例えば、4 つ以上、例えば、5 つ以上、例えば、6 つ以上、例えば、7 つ以上、例えば、8 つ以上、例えば、9 つ以上、例えば、10 個以上、例えば、15 個以上、および 25 個以上の蛍光検出器を用いて、サンプルからの蛍光を検出することを含む。実施形態では、蛍光検出器の各々は、蛍光データ信号を生成する

ように構成される。サンプルからの蛍光は、200 nm～1200 nmの波長範囲のうちの1つ以上にわたって、独立して、各蛍光検出器によって検出され得る。一部の例では、本方法は、200 nm～1200 nmなど、300 nm～1100 nmなど、400 nm～1000 nmなど、500 nm～900 nmなど、600 nm～800 nmを含む波長範囲にわたってサンプルからの蛍光を検出することを含む。他の例では、本方法は、1つ以上の特定の波長で各蛍光検出器を用いて蛍光を検出することを含む。例えば、蛍光は、本発明の光検出システムにおける異なる蛍光検出器の数に応じて、450 nm、518 nm、519 nm、561 nm、578 nm、605 nm、607 nm、625 nm、650 nm、660 nm、667 nm、670 nm、668 nm、695 nm、710 nm、723 nm、780 nm、785 nm、647 nm、617 nmおよびそれらの任意の組み合わせのうちの1つ以上で検出されてもよい。特定の実施形態では、本方法は、サンプル中に存在する特定の蛍光色素の蛍光ピーク波長に対応する光の波長を検出することを含む。実施形態では、フローサイトメータデータは、1つ以上の蛍光検出器（例えば、1つ以上の検出チャンネル）、例えば2つ以上、例えば3つ以上、例えば4つ以上、例えば5つ以上、例えば6つ以上、さらには8つ以上の蛍光検出器（例えば、8つ以上の検出チャンネル）から受信される。

【0048】

訓練ゲートを調整してフローサイトメータデータを適応させるためのシステム

本開示の態様はまた、フローサイトメータデータの第1のセットから準備された訓練ゲートを調整して、フローサイトメータデータの第2のセットを適応させるためのシステムをさらに含む。一部の実施形態では、システムは、フローサイトメータデータの第1のセットを取得するように構成される入力モジュールと、フローサイトメータデータの第2のセットを取得するように構成される粒子分析器と、フローサイトメータデータを分析するように構成されるプロセッサとを含む。

【0049】

一部の実施形態では、本粒子分析器は、フローセルと、フローセル内の粒子を照射するように構成されたレーザとを有する。実施形態では、レーザは、連続波レーザなどの任意の好都合なレーザであってもよい。例えば、レーザは、紫外線ダイオードレーザ、可視ダイオードレーザおよび近赤外線ダイオードレーザなどのダイオードレーザであってもよい。他の実施形態では、レーザは、ヘリウムネオン（HeNe）レーザであり得る。一部の例では、レーザは、ヘリウムネオンレーザ、アルゴンレーザ、クリプトンレーザ、キセノンレーザ、窒素レーザ、CO₂レーザ、COレーザ、アルゴンフッ素（ArF）エキシマレーザ、クリプトンフッ素（KrF）エキシマレーザ、キセノン塩素（XeCl）エキシマレーザ、またはキセノンフッ素（XeF）エキシマレーザ、もしくはそれらの組み合わせなどのガスレーザである。他の例では、本フローサイトメータは、スチルベン、クマリンまたはローダミンレーザなどの色素レーザを含む。さらに他の例では、対象のレーザは、ヘリウム-カドミウム（HeCd）レーザ、ヘリウム-水銀（HeHg）レーザ、ヘリウム-セレン（HeSe）レーザ、ヘリウム-銀（HeAg）レーザ、ストロンチウムレーザ、ネオン-銅（NeCu）レーザ、銅レーザ、または金レーザ、およびそれらの組み合わせなどの金属蒸気レーザを含む。さらに他の例では、本発明のフローサイトメータは、ルビーレーザ、Nd:YAGレーザ、NdCrYAGレーザ、Er:YAGレーザ、Nd:YLFレーザ、Nd:YVO₄レーザ、Nd:YCa₄O(BO₃)₃レーザ、Nd:YCOBレーザ、チタンサファイアレーザ、スリムYAGレーザ、イッテルビウムYAGレーザ、Y₂O₃レーザ、またはセリウムドープレーザ、およびそれらの組み合わせなどの固体レーザを含む。

【0050】

特定の実施形態では、本粒子分析器は、周波数シフト光の2つ以上のビームを生成するように構成される、光ビーム発生器を含む。一部の例では、光ビーム発生器は、レーザと、高周波駆動信号を音響光学デバイスに印加して、2つ以上の角度偏向レーザビームを生成するように構成される、高周波発生器とを含む。これらの実施形態では、レーザはパル

スレーザまたは連続波レーザであってもよい。例えば、対象となる光ビーム発生器におけるレーザは、ガスレーザ（例えば、ヘリウム－ネオンレーザ、アルゴンレーザ、クリプトンレーザ、キセノンレーザ、チッ素レーザ、 CO_2 レーザ、 CO レーザ、アルゴンフッ素（ ArF ）エキシマレーザ、クリプトンフッ素（ KrF ）エキシマレーザ、キセノン塩素（ XeCl ）エキシマレーザ、またはキセノンフッ素（ XeF ）エキシマレーザ、またはこれらの組み合わせなど）、色素レーザ（例えば、スチルベン、クマリンまたはローダミンレーザなど）、金属蒸気レーザ（例えば、ヘリウム－カドミウム（ HeCd ）レーザ、ヘリウム－水銀（ HeHg ）レーザ、ヘリウム－セレン（ HeSe ）レーザ、ヘリウム－銀（ HeAg ）レーザ、ストロンチウムレーザ、ネオン－銅（ NeCu ）レーザ、銅レーザ、または金レーザ、およびそれらの組み合わせなど）、固体レーザ（例えば、ルビーレーザ、 $\text{Nd}:\text{YAG}$ レーザ、 NdCrYAG レーザ、 $\text{Er}:\text{YAG}$ レーザ、 $\text{Nd}:\text{YLF}$ レーザ、 $\text{Nd}:\text{YVO}_4$ レーザ、 $\text{Nd}:\text{YCa}_4\text{O}(\text{BO}_3)_3$ レーザ、 $\text{Nd}:\text{YCOB}$ レーザ、チタンサファイアレーザ、スリム YAG レーザ、イッテリビウム YAG レーザ、 Y_2O_3 レーザ、またはセリウムドープレーザ、およびこれらの組み合わせなど）であってもよい。

【0051】

音響光学デバイスは、印加された音波を使用してレーザ光を周波数シフトするように構成された任意の好都合な音響光学プロトコルであり得る。特定の実施形態では、音響光学デバイスは、音響光学偏向器である。本システムにおける音響光学デバイスは、レーザからの光および印加された無線周波数駆動信号から、角度偏向レーザビームを生成するように構成される。無線周波数駆動信号は、直接デジタルシンセサイザ（DDS）、任意波形発生器（AWG）、または電気パルス発生器などの任意の好適な無線周波数駆動信号源を用いて、音響光学デバイスに印加され得る。

【0052】

実施形態では、コントローラは、音響光学デバイスに無線周波数駆動信号を印加して、出力レーザビーム内に所望の数の角度偏向レーザビームを生成するように構成され、例えば、3つ以上の無線周波数駆動信号、例えば4つ以上の無線周波数駆動信号、例えば5つ以上の無線周波数駆動信号、例えば、6つ以上の高周波駆動信号、7つ以上の高周波駆動信号、8つ以上の高周波駆動信号、9つ以上の高周波駆動信号、10個以上の高周波駆動信号、15個以上の高周波駆動信号、25個以上の高周波駆動信号、50個以上の高周波駆動信号を印加するように構成され、100個以上の高周波駆動信号を印加するように構成されていることを含む。

【0053】

一部の例では、出力レーザビームにおいて角度偏向されたレーザビームの強度プロファイルを生成するために、コントローラは、約0.001V～約500V、約0.005V～約400V、約0.01V～約300V、約0.05V～約200V、約0.1V～約100V、約0.5V～約75V、約1V～50V、約2V～40V、3V～約30Vなど、および約5V～約25Vを含む振幅を有する高周波駆動信号を印加するように構成される。印加される各高周波駆動信号は、一部の実施形態では、約0.001MHz～約500MHz、例えば約0.005MHz～約400MHz、例えば約0.01MHz～約300MHz、例えば約0.05MHz～約200MHz、例えば約0.1MHz～約100MHz、例えば、約0.5MHz～約90MHz、例えば約1MHz～約75MHz、例えば約2MHz～約70MHz、例えば約3MHz～約65MHz、例えば約4MHz～約60MHzの周波数を有し、約5MHz～約50MHzを含む。

【0054】

特定の実施形態では、コントローラは、プロセッサに動作可能に結合されたメモリを有するプロセッサを有し、メモリは、メモリに記憶された命令を含み、命令は、プロセッサによって実行されると、プロセッサに、所望の強度プロファイルを有する角度偏向されたレーザビームを伴う出力レーザビームを生成させる。例えば、メモリは、同じ強度を有する2つ以上、例えば3つ以上、例えば4つ以上、例えば5つ以上、例えば10個以上、例

例えば25個以上、例えば50個以上の角度偏向されたレーザービームを生成する命令を含んでもよく、メモリを含むことは、同じ強度を有する100個以上の角度偏向されたレーザービームを生成する命令を含んでもよい。他の実施形態では、命令は、異なる強度を有する2つ以上の角度偏向レーザービーム、例えば3つ以上、例えば4つ以上、例えば5つ以上、例えば10個以上、例えば25個以上、例えば50個以上の角度偏向レーザービームを生成する命令を含むことができ、メモリを含むことは、異なる強度を有する100個以上の角度偏向レーザービームを生成する命令を含み得る。

【0055】

特定の実施形態では、コントローラは、プロセッサに動作可能に結合されたメモリを有するプロセッサを有し、メモリは、メモリに記憶された命令を含み、命令は、プロセッサによって実行されると、プロセッサに、水平軸に沿って出力レーザービームの縁部から中心に増加する強度を有する出力レーザービームを生成させる。これらの例では、出力ビームの中心における角度偏向されたレーザービームの強度は、水平軸に沿った出力レーザービームの縁部における角度偏向されたレーザービームの強度の0.1%~約99%、例えば、水平軸に沿った出力レーザービームの縁部における角度偏向されたレーザービームの強度の0.5%~約95%、1%~約90%、約2%~約85%、約3%~約80%、約4%~約75%、約5%~約70%、約6%~約65%、約7%~約60%、約8%~約55%の範囲であってもよく、約10%~約50%を含んでもよい。他の実施形態では、コントローラは、プロセッサに動作可能に結合されたメモリを有するプロセッサを有し、メモリは、メモリに記憶された命令を含み、命令は、プロセッサによって実行されると、プロセッサに、水平軸に沿って出力レーザービームの縁部から中心に増加する強度を有する出力レーザービームを生成させる。これらの例では、出力ビームの縁部における角度偏向されたレーザービームの強度は、水平軸に沿った出力レーザービームの中心における角度偏向されたレーザービームの強度の0.1%~約99%、例えば、水平軸に沿った出力レーザービームの中心における角度偏向されたレーザービームの強度の0.5%~約95%、1%~約90%、約2%~約85%、約3%~約80%、約4%~約75%、約5%~約70%、約6%~約65%、約7%~約60%、約8%~約55%の範囲であってもよく、約10%~約50%を含んでもよい。さらに他の実施形態では、コントローラは、プロセッサに動作可能に結合されたメモリを有するプロセッサを有し、メモリは、メモリに記憶された命令を含み、命令は、プロセッサによって実行されると、プロセッサに、水平軸に沿ってガウス分布を伴う強度プロファイルを有する出力レーザービームを生成させる。さらに他の実施形態では、コントローラは、プロセッサに動作可能に結合されたメモリを有するプロセッサを有し、メモリは、メモリに記憶された命令を含み、命令は、プロセッサによって実行されると、プロセッサに、水平軸に沿ってトップハット強度プロファイルを有する出力レーザービームを生成させる。

【0056】

一部の実施形態では、対象の光ビーム発生器は、空間的に分離された出力レーザービーム内に角度偏向レーザービームを生成するように構成されてもよい。印加される高周波駆動信号および出力レーザービームの所望の照射プロファイルに応じて、角度偏向されたレーザービームは、0.001 μ m以上、例えば0.005 μ m以上、例えば0.01 μ m以上、例えば0.05 μ m以上、例えば0.1 μ m以上、例えば0.5 μ m以上、例えば1 μ m以上、例えば5 μ m以上、例えば10 μ m以上、例えば100 μ m以上、例えば500 μ m以上、例えば1000 μ m以上、さらには5000 μ m以上離れていてもよい。一部の実施形態では、システムは、出力レーザービームの水平軸に沿って隣接する角度偏向されたレーザービームなどと重複する、角度偏向されたレーザービームを出力レーザービーム内に生成するように構成される。隣接する角度偏向されたレーザービーム間の重複（ビームスポットの重複など）は、0.001 μ m以上の重複、例えば0.005 μ m以上の重複、例えば0.01 μ m以上の重複、例えば0.05 μ m以上の重複、例えば0.1 μ m以上の重複、例えば0.5 μ m以上の重複、例えば1 μ m以上の重複、例えば5 μ m以上の重複、例えば10 μ m以上の重複であってもよく、100 μ m以上の重複を含む。

【0057】

特定の例では、周波数シフト光の2つ以上のビームを生成するように構成された光ビーム発生器は、米国特許第9,423,353号、同第9,784,661号および同第10,006,852号、ならびに米国特許出願公開第2017/0133857号および同第2017/0350803号に記載されているようなレーザ励起モジュールを含み、これらの開示は参照により本明細書に組み込まれる。

【0058】

本発明の態様はまた、前方散乱光を検出するように構成された前方散乱検出器を含む。本発明のフローサイトメータにおける前方散乱検出器の数は、必要に応じて変化し得る。例えば、本粒子分析器は、1つの前方散乱検出器、または2つ以上、3つ以上、4つ以上、および5つ以上を含む、複数の前方散乱検出器を含んでもよい。特定の実施形態では、フローサイトメータは、1つの前方散乱検出器を含む。他の実施形態では、フローサイトメータは2つの前方散乱検出器を含む。

【0059】

収集された光を検出するための任意の好都合な検出器が、本明細書に説明される前方散乱検出器において使用されてもよい。対象となる検出器は、他の検出器の中でも特に、アクティブ画素センサ（APS）、アバランシェフォトダイオード、画像センサ、電荷結合素子（CCD）、増感電荷結合素子（ICCD）、発光ダイオード、光子計数器、ボロメータ、焦電検出器、フォトレジスタ、光電池、フォトダイオード、光電子増倍管（PMT）、フォトトランジスタ、量子ドット光導電体、またはフォトダイオード、およびそれらの組み合わせなどの光学センサまたは検出器を含んでもよいが、それらに限定されない。特定の実施形態では、収集された光は、電荷結合素子（CCD）、半導体電荷結合素子（CCD）、アクティブ画素センサ（APS）、相補型金属酸化膜半導体（CMOS）画像センサ、またはN型金属酸化膜半導体（NMOS）画像センサを用いて測定される。特定の実施形態では、検出器は、 $0.01\text{ cm}^2 \sim 10\text{ cm}^2$ 、例えば $0.05\text{ cm}^2 \sim 9\text{ cm}^2$ 、例えば $0.1\text{ cm}^2 \sim 8\text{ cm}^2$ 、例えば $0.5\text{ cm}^2 \sim 7\text{ cm}^2$ の範囲であり、 $1\text{ cm}^2 \sim 5\text{ cm}^2$ を含む各領域の活性検出表面積を有する光電子増倍管などの光電子増倍管である。

【0060】

本粒子分析器が複数の前方散乱検出器を含む場合、各検出器は同じであってもよく、または検出器の集合は異なる種類の検出器の組み合わせであってもよい。例えば、本粒子分析器が2つの前方散乱検出器を含む場合、一部の実施形態では、第1の前方散乱検出器は、CCD型デバイスであり、第2の前方散乱検出器（または撮像センサ）は、CMOS型デバイスである。他の実施形態では、第1および第2の前方散乱検出器の両方が、CCD型デバイスである。さらに他の実施形態では、第1および第2の前方散乱検出器の両方が、CMOS型デバイスである。さらに他の実施形態では、第1の前方散乱検出器はCCD型デバイスであり、第2の前方散乱検出器は光電子増倍管（PMT）である。さらに他の実施形態では、第1の前方散乱検出器はCMOS型デバイスであり、第2の前方散乱検出器は光電子増倍管である。さらに他の実施形態では、第1および第2の前方散乱検出器の両方が、光電子増倍管である。

【0061】

実施形態では、前方散乱検出器は、連続的にまたは離散間隔で光を測定するように構成される。一部の例では、対象の検出器は、収集された光の測定を連続的に行うように構成される。他の例では、対象の検出器は、 0.001 ミリ秒毎、 0.01 ミリ秒毎、 0.1 ミリ秒毎、 1 ミリ秒毎、 10 ミリ秒毎、 100 ミリ秒毎、および 1000 ミリ秒毎を含む、または一部の他の間隔毎に光を測定するなど、別個の間隔で測定するように構成される。

【0062】

本発明の実施形態は、フローセルと前方散乱検出器との間に位置決めされた光分散／分離モジュールも含む。対象となる光分散デバイスは、他の波長分離デバイスの中でも、着色ガラス、バンドパスフィルタ、干渉フィルタ、ダイクロイックミラー、回折格子、モノ

クロメータ、およびそれらの組み合わせを含むが、それらに限定されない。一部の実施形態では、フローセルと前方散乱検出器との間にバンドパスフィルタが位置決めされる。他の実施形態では、フローセルと前方散乱検出器との間に、例えば、2つ以上、3つ以上、4つ以上、5つ以上を含む、2つ以上のバンドパスフィルタが位置決めされる。実施形態では、バンドパスフィルタは、2 nm～100 nm、例えば3 nm～95 nm、例えば5 nm～95 nm、例えば10 nm～90 nm、例えば12 nm～85 nm、例えば15 nm～80 nmの範囲の最小帯域幅を有し、20 nm～50 nmの範囲の最小帯域幅を有するバンドパスフィルタを含み、他の波長を有する光を前方散乱検出器に反射する。

【0063】

本発明の特定の実施形態は、光（例えば、粒子の表面および内部構造から屈折および反射された光）の側方散乱波長を検出するように構成された側方散乱検出器を含む。他の実施形態では、フローサイトメータは、複数の側方散乱検出器、例えば2つ以上、例えば3つ以上、例えば4つ以上、および5つ以上を含む側方散乱検出器を含む。

【0064】

収集された光を検出するための任意の好都合な検出器が、本明細書に説明される側方散乱検出器において使用されてもよい。対象となる検出器は、他の検出器の中でも特に、アクティブ画素センサ（APS）、アバランシェフォトダイオード、画像センサ、電荷結合素子（CCD）、増感電荷結合素子（ICCD）、発光ダイオード、光子計数器、ボロメータ、焦電検出器、フォトレジスタ、光電池、フォトダイオード、光電子増倍管（PMT）、フォトトランジスタ、量子ドット光導電体、またはフォトダイオード、およびそれらの組み合わせなどの光学センサまたは検出器を含んでもよいが、それらに限定されない。特定の実施形態では、収集された光は、電荷結合素子（CCD）、半導体電荷結合素子（CCD）、アクティブ画素センサ（APS）、相補型金属酸化膜半導体（CMOS）画像センサ、またはN型金属酸化膜半導体（NMOS）画像センサを用いて測定される。特定の実施形態では、検出器は、 $0.01\text{ cm}^2 \sim 10\text{ cm}^2$ 、例えば $0.05\text{ cm}^2 \sim 9\text{ cm}^2$ 、例えば $0.1\text{ cm}^2 \sim 8\text{ cm}^2$ 、例えば $0.5\text{ cm}^2 \sim 7\text{ cm}^2$ の範囲であり、 $1\text{ cm}^2 \sim 5\text{ cm}^2$ を含む各領域の活性検出表面積を有する光電子増倍管などの光電子増倍管である。

【0065】

本粒子分析器が複数の側方散乱検出器を含む場合、各側方散乱検出器は同じであってもよく、または側方散乱検出器の集合は異なる種類の検出器の組み合わせであってもよい。例えば、本粒子分析器が2つの側方散乱検出器を含む場合、一部の実施形態では、第1の側方散乱検出器は、CCD型デバイスであり、第2の側方散乱検出器（または撮像センサ）は、CMOS型デバイスである。他の実施形態では、第1および第2の側方散乱検出器の両方が、CCD型デバイスである。さらに他の実施形態では、第1および第2の側方散乱検出器の両方が、CMOS型デバイスである。さらに他の実施形態では、第1の側方散乱検出器はCCD型デバイスであり、第2の側方散乱検出器は光電子増倍管（PMT）である。さらに他の実施形態では、第1の側方散乱検出器はCMOS型デバイスであり、第2の側方散乱検出器は光電子増倍管である。さらに他の実施形態では、第1および第2の側方散乱検出器の両方が、光電子増倍管である。

【0066】

本発明の実施形態は、フローセルと側方散乱検出器との間に位置決めされた光分散／分離モジュールも含む。対象となる光分散デバイスは、他の波長分離デバイスの中でも、着色ガラス、バンドパスフィルタ、干渉フィルタ、ダイクロイックミラー、回折格子、モノクロメータ、およびそれらの組み合わせを含むが、それらに限定されない。

【0067】

実施形態では、本粒子分析器はまた、1つ以上の蛍光波長の光を検出するように構成された蛍光検出器を含む。他の実施形態では、粒子分析器は、2つ以上、3つ以上、4つ以上、5つ以上、10個以上、15個以上など、および20個以上を含む、複数の蛍光検出器を含む。

【0068】

収集された光を検出するための任意の好都合な検出器が、本明細書に記載される蛍光検出器において使用され得る。対象となる検出器は、他の検出器の中でも特に、アクティブ画素センサ（APS）、アバランシェフォトダイオード、画像センサ、電荷結合素子（CCD）、増感電荷結合素子（ICCD）、発光ダイオード、光子計数器、ポロメータ、焦電検出器、フォトレジスタ、光電池、フォトダイオード、光電子増倍管（PMT）、フォトリソグラフィスタ、量子ドット光導電体、またはフォトダイオード、およびそれらの組み合わせなどの光学センサまたは検出器を含んでもよいが、それらに限定されない。特定の実施形態では、収集された光は、電荷結合素子（CCD）、半導体電荷結合素子（CCD）、アクティブ画素センサ（APS）、相補型金属酸化膜半導体（CMOS）画像センサ、またはN型金属酸化膜半導体（NMOS）画像センサを用いて測定される。特定の実施形態では、検出器は、 $0.01\text{ cm}^2 \sim 10\text{ cm}^2$ 、例えば $0.05\text{ cm}^2 \sim 9\text{ cm}^2$ 、例えば $0.1\text{ cm}^2 \sim 8\text{ cm}^2$ 、例えば $0.5\text{ cm}^2 \sim 7\text{ cm}^2$ の範囲であり、 $1\text{ cm}^2 \sim 5\text{ cm}^2$ を含む各領域の活性検出表面積を有する光電子増倍管などの光電子増倍管である。

10

【0069】

本粒子分析器が複数の蛍光検出器を含む場合、各蛍光検出器は同じであってもよく、または蛍光検出器の集合は異なる種類の検出器の組み合わせであってもよい。例えば、本粒子分析器が2つの蛍光検出器を含む場合、一部の実施形態では、第1の蛍光検出器は、CCD型デバイスであり、第2の蛍光検出器（または撮像センサ）は、CMOS型デバイスである。他の実施形態では、第1および第2の蛍光検出器の両方が、CCD型デバイスである。さらに他の実施形態では、第1および第2の蛍光検出器の両方が、CMOS型デバイスである。さらに他の実施形態では、第1の蛍光検出器はCCD型デバイスであり、第2の蛍光検出器は光電子増倍管（PMT）である。さらに他の実施形態では、第1の蛍光検出器はCMOS型デバイスであり、第2の蛍光検出器は光電子増倍管である。さらに他の実施形態では、第1および第2の蛍光検出器の両方が、光電子増倍管である。

20

【0070】

本発明の実施形態は、フローセルと蛍光検出器との間に位置決めされた光分散／分離モジュールも含む。対象となる光分散デバイスは、他の波長分離デバイスの中でも、着色ガラス、バンドパスフィルタ、干渉フィルタ、ダイクロイックミラー、回折格子、モノクロメータ、およびそれらの組み合わせを含むが、それらに限定されない。

30

【0071】

本開示の実施形態では、対象の蛍光検出器は、1つ以上の波長、例えば2つ以上の波長、例えば5つ以上の異なる波長、例えば10個以上の異なる波長、例えば25個以上の異なる波長、例えば50個以上の異なる波長、例えば100個以上の異なる波長、例えば200個以上の異なる波長、例えば300個以上の異なる波長で収集された光を測定するように構成され、400個以上の異なる波長でフローストリーム中のサンプルによって放出された光を測定することを含む。一部の実施形態では、本明細書に説明されるようなフローサイトメータ内の2つ以上の検出器は、収集された光の同一または重複波長を測定するように構成される。

【0072】

一部の実施形態では、対象の蛍光検出器は、ある波長範囲（例えば、 $200\text{ nm} \sim 1000\text{ nm}$ ）にわたって収集された光を測定するように構成される。特定の実施形態では、対象の検出器は、ある範囲の波長にわたって光のスペクトルを集めるように構成される。例えば、粒子分析器は、 $200\text{ nm} \sim 1000\text{ nm}$ の波長範囲のうちの1つ以上にわたって光のスペクトルを収集するように構成される、1つ以上の検出器を含んでもよい。さらに他の実施形態では、対象の検出器は、1つ以上の特定の波長でフローストリーム内のサンプルによって発せられた光を測定するように構成される。例えば、粒子分析器は、 450 nm 、 518 nm 、 519 nm 、 561 nm 、 578 nm 、 605 nm 、 607 nm 、 625 nm 、 650 nm 、 660 nm 、 667 nm 、 670 nm 、 668 nm 、 695 nm 、 710 nm 、 723 nm 、 780 nm 、 785 nm 、 647 nm 、 617 nm 、およ

40

50

びそれらの任意の組み合わせのうちの1つ以上で光を測定するように構成される、1つ以上の検出器を含んでもよい。特定の実施形態では、1つ以上の検出器は、蛍光アッセイでサンプルとともに使用されるものなどの特定のフルオロフォアと対になるように構成され得る。

【0073】

好適なフローサイトメトリシステムとしては、Ormerod (編), Flow Cytometry: A Practical Approach, Oxford Univ. Press (1997)、Jaroszeski et al. (編), Flow Cytometry Protocols, Methods in Molecular Biology No. 91, Humana Press (1997)、Practical Flow Cytometry, 3rd ed., Wiley-Liss (1995)、Virgo, et al. (2012) Ann Clin Biochem. Jan, 49 (pt 1): 17-28、Linden, et. al., Semin Throm Hemost. 2004 Oct; 30 (5): 502-11、Alison, et al. J Pathol, 2010 Dec; 222 (4): 335-344、およびHerbig, et al. (2007) Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 24 (3): 203-255に記載されているものが挙げられ得るが、これらに限定されない。これらの開示は参照により本明細書に組み込まれる。特定の例では、対象となるフローサイトメトリシステムは、BD Biosciences FACSCanto (商標) フローサイトメータ、BD Biosciences FACSCanto (商標) II フローサイトメータ、BD Accuri (商標) フローサイトメータ、BD Accuri (商標) C6 Plus フローサイトメータ、BD Biosciences FACSCelesta (商標) フローサイトメータ、BD Biosciences FACSLyric (商標) フローサイトメータ、BD Biosciences FACSVerse (商標) フローサイトメータ、BD Biosciences FACSymphony (商標) フローサイトメータ、BD Biosciences LSRFortessa (商標) フローサイトメータ、BD Biosciences LSRFortessa (商標) X-20 フローサイトメータ、BD Biosciences FACSPresto (商標) フローサイトメータ、BD Biosciences FACSVia (商標) フローサイトメータおよびBD Biosciences FACSCalibur (商標) 細胞ソータ、BD Biosciences FACSCount (商標) 細胞ソータ、BD Biosciences FACSLyric (商標) 細胞ソータ、BD Biosciences Via (商標) 細胞ソータ、BD Biosciences Influx (商標) 細胞ソータ、BD Biosciences Jazz (商標) 細胞ソータ、BD Biosciences Aria (商標) 細胞ソータ、BD Biosciences FACSAria (商標) II 細胞ソータ、BD Biosciences FACSAria (商標) III 細胞ソータ、BD Biosciences FACSAria (商標) 融合細胞ソータおよびBD Biosciences FACSMelody (商標) 細胞ソータ、BD Biosciences FACSymphony (商標) S6 細胞ソータなどを含む。

【0074】

一部の実施形態では、本システムは、フローサイトメトリシステム、例えば、米国特許第10,663,476号、同第10,620,111号、同第10,613,017号、同第10,605,713号、同第10,585,031号、同第10,578,542号、同第10,578,469号、同第10,481,074号、同第10,302,545号、同第10,145,793号、同第10,113,967号、同第10,006,852号、同第9,952,076号、同第9,933,341号、同第9,726,527号、同第9,453,789号、同第9,200,334号、同第9,097,640号、同第9,095,494号、同第9,092,034号、同第8,975,595号、同第8,753,573号、同第8,233,146号、同第8,140,30

0号、同第7, 544, 326号、同第7, 201, 875号、同第7, 129, 505号、同第6, 821, 740号、同第6, 813, 017号、同第6, 809, 804号、同第6, 372, 506号、同第5, 700, 692号、同第5, 643, 796号、同第5, 627, 040号、同第5, 620, 842号、同第5, 602, 039号、同第4, 987, 086号、同第4, 498, 766号に記載されている。

【0075】

特定の例では、本発明のフローサイトメトリシステムは、Diebold, et al. Nature Photonics Vol. 7 (10)、806-810 (2013) に記載されているもの、ならびに米国特許第9, 423, 353号、同第9, 784, 661号、同第9, 983, 132号、同第10, 006, 852号、同第10, 078, 045号、同第10, 036, 699号、同第10, 222, 316号、同第10, 288, 546号、同第10, 324, 019号、同第10, 408, 758号、同第10, 451, 538号、同第10, 620, 111号、ならびに米国特許公開第2017/0133857号、同第2017/0328826号、同第2017/0350803号、同第2018/0275042号、同第2019/0376895号および同第2019/0376894号に記載されているものなど、高周波タグ付き発光(FIRE)を使用する蛍光撮像によってフローストリーム中の粒子を撮像するように構成されており、これらの開示は参照により本明細書に組み込まれる。

【0076】

特定の実施形態では、本システムは、プロセッサに動作可能に結合されたメモリを有するプロセッサをさらに含み、メモリは、メモリに記憶された命令を含み、命令は、プロセッサによって実行されると、プロセッサに、フローサイトメータデータの第1のセットから準備された訓練ゲートを調整して、フローサイトメータデータの第2のセットを適応させる。したがって、本発明の実施形態は、フローサイトメータデータの第1および第2のセットを取得することを含む。フローサイトメータデータの第1のセットは、その中に含まれる1つ以上の集団が、対象のサブタイプ(すなわち、表現型)と関連付けられると理解されるように、特徴付けられたものである。実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセットは、入力モジュールから取得される。入力モジュールは、フローサイトメータデータの第1のセットをプロセッサに提供するように構成される、プロセッサと通信する任意の好都合なデバイスであり得る。実施形態では、入力モジュールは、訓練ゲートを調整するために必要とされるときにプロセッサによって呼び出され得るフローサイトメータデータを記憶するために、それに結合されたメモリを有する。一部の実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセットは、以前のフローサイトメトリ実験から得られる。したがって、フローサイトメータデータの第1のセットは、特定の実施形態によれば、対象となる特定の特性に関連付けられることがユーザによって認識または確認された集団を含む。逆に、本発明の実施形態によるフローサイトメータデータの第2のセットは、まだ定義されていない1つ以上の集団を含む。換言すれば、フローサイトメータデータの第2のセット内の対象の集団は、残りのデータから形式的に区別することができるように、境界(すなわち、ゲート)を必要とする。実施形態では、フローサイトメータデータの第1および第2のセットは、同じパラメータを示すデータを含む(例えば、同じ蛍光色素が両方のセットで検出される)。実施形態では、フローサイトメータデータの第2のセットは、上記で説明されるものなどの粒子分析器から取得される。

【0077】

実施形態では、入力モジュールから取得されたフローサイトメータデータの第1のセットは、訓練ゲートを含む。訓練ゲートは、ユーザまたは他のサイトメトリの技術によって、対象の特性に対応するように以前に決定されたフローサイトメータデータの集団の境界を定める。実施形態では、訓練ゲートは、頂点、すなわち、接続された場合にゲートを形成する二次元プロット上の点を含む。一部の実施形態では、訓練ゲートはユーザによって描かれる。他の実施形態では、訓練ゲートは、サイトメトリにおける他の技術によって事前に確立される。実施形態では、訓練ゲートは、フローサイトメータデータの第1のセッ

ト内の対象集団を定義するために使用される。実施形態では、訓練ゲートは、フローサイトメータデータの第1のセット内の対象集団の形状に対応する形状を保有する。一部の実施形態では、訓練ゲートは多角形状を有する。したがって、実施形態では、ユーザは、フローサイトメータデータ測定値の第1のセットのグラフ上に多角形を描いて、訓練ゲート内に含まれるデータ値の範囲を定義することができる。

【0078】

フローサイトメトリによる細胞（または他の粒子）の分析から得られるデータは、多くの場合、多次元であり、各細胞は、測定されたパラメータによって定義される多次元空間内の点に対応する。細胞または粒子の集団は、データ空間内の点のクラスタとして識別することができる。一部の実施形態では、本方法は、サンプル中の分析物（例えば、細胞、粒子）の決定されたパラメータに基づいて、1つ以上の集団クラスタを生成することを含む。本明細書中で使用される場合、分析物（例えば、細胞または他の粒子）の「集団」または「亜集団」は、概して、測定されたパラメータデータがデータ空間においてクラスタを形成するように、1つ以上の測定されたパラメータに関する特性（例えば、光学特性、インピーダンス特性、または時間特性）を有する分析物の群を指す。実施形態では、データは、複数の異なるパラメータ（例えば、2以上、3以上、4以上、5以上、6以上、7以上、8以上、9以上、10以上、および20以上を含む）からの信号から構成される。したがって、集団はデータ内のクラスタとして認識される。逆に、ノイズまたはバックグラウンドに対応するクラスタも典型的に観察されるが、各データクラスタは、概して、特定のタイプの細胞または分析物の集団に対応するものとして解釈される。クラスタは、次元のサブセット内で、例えば、細胞または粒子の測定値から抽出された、測定されたパラメータまたは特徴のサブセット内のみで異なる集団に対応する、測定されたパラメータのサブセットに関して、定義され得る。

【0079】

実施形態では、プロセッサは、フローサイトメータデータを受信し、各分析物のパラメータを計算し、計算されたパラメータに基づいて分析物を一緒にクラスタ化するように構成される。任意の数の分析物がクラスタに割り当てられてもよく、5以上の分析物、例えば10以上の分析物、例えば50以上の分析物、例えば100以上の分析物、例えば500の分析物を含み、1000の分析物を含む。特定の実施形態では、本方法は、サンプル中で検出された稀な事象（例えば、サンプル中のがん細胞などの稀な細胞）をクラスタと一緒に群化する。これらの実施形態では、生成された分析物クラスタは、10個以下の割り当て済み分析物、例えば9個以下の割り当て済み分析物を含むことができ、5個以下の割り当て済み分析物を含み得る。

【0080】

フローサイトメータデータが取得された後、プロセッサは、フローサイトメータデータの第1および第2のセットの各々について画像（すなわち、フローサイトメータデータの各セットに対する別個の画像）を生成するように構成され得る。「画像を生成する」とは、フローサイトメータデータが、アセンブルされたときにデータを表す画像を構成する画素によって表されるように、二次元プロットを画像フォーマットに変換することを意味する。実施形態では、フローサイトメータデータの第1および第2のセットの各々について画像を生成することは、データを二次元ビンに編成することを伴う。本開示では、「ビン」という用語は、ある間隔内に入るデータ点が組み合わされるデータ構造を指すために、その従来の意味で使用される。その後、ビンには、その間隔を表す値が割り当てられる。実施形態では、ビンの代表値は、該ビン内に含まれるフローサイトメータデータの平均値である。したがって、実施形態では、二次元散布図の定義された領域内の個々のデータ点は、ビンに照合され、そのビンは、その中に含まれるデータ点の数を反映する代表値に関連付けられる。

【0081】

一部の実施形態では、プロセッサは、パラメータに対するデータのステータスに従って、フローサイトメータデータをビンに編成するように構成される。かかる実施形態では、

所与のピンの代表値は、該パラメータについて検出された強度に関するビンニングされたデータの平均値であってもよい。例えば、パラメータが蛍光パラメータである場合、特定のピンの代表値は、所与の蛍光色素から放出される蛍光の強度に関するそのピン内のデータの平均値であってもよい。実施形態では、データは、1つ以上の追加のパラメータに対するデータの状態に従ってビンニングされる。かかる実施形態では、所与のピンの代表値は、各関連パラメータに関して評価された平均値の複合であってもよい。したがって、実施形態では、フローサイトメータデータをビンに組み合わせることは、2つ以上、3つ以上、4つ以上、5つ以上、10個以上、15個以上、および20個以上を含むなど、1つ以上の追加パラメータに関してデータを評価することを含む。

【0082】

フローサイトメータデータがビンに編成された後、プロセッサは、画像生成値を作成するように構成され得る。本明細書で考察されるように、画像生成値は、所与のピン内のデータ点濃度を定量化し、画像を生成するための基礎としての役割を果たす。特定の実施形態では、画像生成値を決定することは、二次元ビンニングされたデータのヒストグラム（すなわち、各ビンに関連付けられた代表値のヒストグラム）を作成することを含む。かかる実施形態では、画像生成値を決定することはまた、ヒストグラムに基づいて累積分布関数を計算することを含む。累積分布関数は、その従来の意味で参照され、変数が特定の量以下である確率を決定する。このように、ヒストグラムから算出された累積分布関数に各ビンの代表値を代入して画像生成値を求める。一部の実施形態では、画像生成値は0～1の範囲である。他の実施形態では、画像生成値は、0からユーザによって選択された任意の数までの範囲であってもよい。実施形態では、より高い画像生成値は、関連するビンがより多くのデータ点に関連付けられていることを示し、より低い画像生成値は、関連するビンがより少ないデータ点に関連付けられていることを示す。

【0083】

画像生成値の決定に続いて、プロセッサは、そのビンに対応する画像生成値に基づいて、各ビンに陰影を割り当てるように構成され得る。本明細書で説明される「陰影」は、所与のビンが結果として得られる画像において表される明るさまたは暗さを指す。一部の実施形態では、ビンにはグレーの陰影が割り当てられる。かかる実施形態では、結果として得られる画像はグレースケール画像である。他の実施形態では、ビンには非グレー色の陰影が割り当てられる。かかる実施形態では、結果として得られる画像はカラー画像である。ビンに結合されたデータが複数のパラメータに関して評価される実施形態では、かかるビンから生成された画像は多色であり得る。かかる実施形態では、異なる色が、各別個のパラメータに関連付けられ得る。一部の実施形態では、より高い画像生成値に関連付けられたビンにはより明るい色が割り当てられ、より低い画像生成値に関連付けられたビンにはより暗い色が割り当てられる。本発明の特定の実施形態は、画像生成閾値も含む。かかる実施形態では、閾値未満の画像生成値に関連付けられたすべてのビンに黒色が割り当てられる。一部の実施形態では、閾値は調整可能である（すなわち、ユーザによって複数の異なるオプションから選択される）。したがって、選択された閾値の大きさに基づいて、より多くのまたはより少ない画像が黒色に割り当てられてもよい。

【0084】

プロセッサは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像から訓練ゲートを調整して、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像を適応させるようにさらに構成され得る。フローサイトメータデータの第2のセットを「適応させる」ように訓練ゲートを調整することによって、調整された訓練ゲートが、フローサイトメータデータの第1のセットと比較してフローサイトメータデータの第2のセットに存在する集団形態の差を説明するように、訓練ゲートの形状を変更することを意味する。特定の実施形態では、訓練ゲートの調整は、訓練ゲートの構成頂点の各々を調整することを含む。実施形態では、プロセッサは、プロセッサ実装アルゴリズムを用いて訓練ゲートを調整する。かかる実施形態では、プロセッサ実装アルゴリズムは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像から取得された訓練ゲートの頂点を調整して、フローサ

イトメータデータの第2のセットの生成された画像に適合するように構成される。本開示の実施形態によれば、プロセッサ実装アルゴリズムは、画像位置合わせアルゴリズムである。画像位置合わせアルゴリズムは、画像から受信したデータを統合し変換する。したがって、本明細書に記載される画像位置合わせアルゴリズムは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像を分析し、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像を分析し、それらの分析に基づいてフローサイトメータデータの第1のセットからの訓練ゲートをワープして、フローサイトメータデータの第2のセットに適合させる。

【0085】

実施形態では、フローサイトメータデータの第2のセットに適合するように訓練ゲートをワープすることは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像全体をワープして、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に対する類似性を最大化することを含む。かかる実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像内の対象の集団は、該集団の輪郭がフローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像内の類似集団の輪郭とほぼ同一であるように調整される（すなわち、ワープされる）。換言すれば、プロセッサ実装アルゴリズムは、フローサイトメータデータの第2のセットに似るようにフローサイトメータデータの第1のセットを変換／変形するように構成された数学的変形モデルを含み得る。フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像がワープされた後、その中に含まれる訓練ゲートは、対応してワープされ得る。一部の実施形態では、訓練ゲートが調整される前に、訓練ゲートは最初（すなわち、訓練ゲートが画像内の唯一の要素であるように）ブランク画像に課される。換言すれば、訓練ゲートは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像の残りから分離され、別個の画像に課され得る。

【0086】

一部の実施形態では、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープするように構成された画像位置合わせアルゴリズムは、Bスプラインワーピングを含む。実施形態では、Bスプラインワーピングは、Bスプライン係数を計算することを含み、Bスプライン係数は、次いで、訓練ゲートを調整するための関数を定義するために使用される。換言すれば、画像位置合わせアルゴリズムは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープし、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像がどのようにワープされたかを数値的に記述するBスプライン係数を出力する。次いで、これらの係数は、フローサイトメータデータの第1のセットと第2のセットとの間の差異を説明する調整された訓練ゲートが生成されるように、訓練ゲートの頂点を更新するための基礎として役立つ。次いで、更新された（すなわち、調整された）頂点は、その上に調整されたゲートを形成するために、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に適用され得る。

【0087】

訓練ゲートの調整に続いて、本発明の態様は、調整された訓練ゲートをフローサイトメータデータの第2のセット上にオーバーレイすることを含む。かかる実施形態では、ブランク画像内の調整された訓練ゲートの頂点は、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像内の対応する集団に適用されて、その集団の周囲にゲートを形成する。一部の実施形態では、調整された訓練ゲートを作成するために訓練ゲートの頂点を調整することは、訓練ゲートから頂点を抽出すること（すなわち、各頂点の位置を分離および観察すること）と、Bスプライン係数（例えば、上記で決定されるような）に基づいて各頂点の位置を変更することと、調整された訓練ゲートを形成するために、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に調整された頂点を適用することを含む。他の実施形態では、プロセッサ実装アルゴリズムは、各頂点の位置を観察する前に訓練ゲートをワープしてもよい。かかる実施形態では、プロセッサ実装アルゴリズムは、画像位置合わせアルゴリズム（例えば、上記で考察されるように）によって訓練ゲートを調整し、次いで、調整された頂点は、観察され、フローサイトメータデータの第2のセットの生成

10

20

30

40

50

された画像に適用されてもよい。

【0088】

一部の実施形態では、フローサイトメータデータの第2のセット上にオーバーレイされた調整された訓練ゲートは、元の訓練ゲートとは異なる形状を有し、すなわち、フローサイトメータデータの第2のセット内の関連する集団の形状に適応する。一部の例では、フローサイトメータデータの第2のセット内の関連する集団は、フローサイトメータデータの第1のセットにおける集団と比較した場合に、一部の領域において伸長され、縮小され、またはシフトされる。したがって、一部の例では、調整された訓練ゲートは、これらの差に適応するように成形される。一部の例では、調整された訓練ゲートは多角形である。

【0089】

図7は、本発明の例示的な実施形態によるフローサイトメトリのためのシステム700を示している。システム700は、フローサイトメータ710、コントローラ／プロセッサ790、およびメモリ795を含む。フローサイトメータ710は、1つ以上の励起レーザ715a～715c、集束レンズ720、フローチャンバ725、前方散乱検出器730、側方散乱検出器735、蛍光収集レンズ740、1つ以上のビームスプリッタ745a～745g、1つ以上のバンドパスフィルタ750a～750e、1つ以上のロングパス（「LP」）フィルタ755a～755b、および1つ以上の蛍光検出器760a～760fを含む。

【0090】

励起レーザ715a～cは、レーザビームの形態で光を放出する。励起レーザ715a～715cから放出されるレーザビームの波長は、図7の例示的なシステムにおいて、それぞれ488nm、633nm、および325nmである。レーザビームは、最初に、ビームスプリッタ745aおよび745bのうちの1つ以上のものを通して指向される。ビームスプリッタ745aは、488nmの光を透過し、633nmの光を反射する。ビームスプリッタ745bは、UV光（10～400nmの範囲の波長を有する光）を透過し、488nmおよび633nmの光を反射する。

【0091】

次に、レーザビームは、集束レンズ720に指向され、集束レンズは、フローチャンバ725内で、サンプルの粒子が位置する流体流の部分にビームを集束させる。フローチャンバは、流体工学システムの一部であり、流体工学システムは、粒子を、典型的には一度に1つずつ、照会のために集束されたレーザビームにストリーム中で指向させる。フローチャンバは、ベンチトップサイトメータ内のフローセルまたはストリームインエアサイトメータ内のノズルチップを含み得る。

【0092】

レーザビームからの光は、回折、屈折、反射、散乱、および吸収によってサンプル中の粒子と相互作用し、粒子のサイズ、内部構造、および粒子に付着した、または粒子上もしくは粒子内に自然に存在する1つ以上の蛍光分子の存在などの粒子の特性に応じて、種々の異なる波長で再放出する。蛍光発光ならびに回折光、屈折光、反射光、および散乱光は、ビームスプリッタ745a～745g、バンドパスフィルタ750a～750e、ロングパスフィルタ755a～755b、および蛍光収集レンズ740のうちの1つ以上を通して、前方散乱検出器730、側方散乱検出器735、および1つ以上の蛍光検出器760a～760fのうちの1つ以上に送られ得る。

【0093】

蛍光収集レンズ740は、粒子－レーザビーム相互作用から放出された光を収集し、その光を1つ以上のビームスプリッタおよびフィルタに向かって送る。バンドパスフィルタ750a～750eなどのバンドパスフィルタは、狭い範囲の波長がフィルタを通過することを可能にする。例えば、バンドパスフィルタ750aは510／20フィルタである。第1の数は、スペクトル帯域の中心を表す。第2の数は、スペクトル帯域の範囲を提供する。したがって、510／20フィルタは、スペクトル帯域の中心の各側に10nm、すなわち500nmから520nmまで延在する。ショートパスフィルタは、特定の波長

10

20

30

40

50

以下の波長の光を透過する。ロングパスフィルタ 755 a ~ 755 b などのロングパスフィルタは、指定された光の波長以上の光の波長を透過させる。例えば、670 nm ロングパスフィルタであるロングパスフィルタ 755 a は、670 nm 以上の光を透過させる。フィルタは、特定の蛍光染料に対する検出器の特異性を最適化するように選択されることが多い。フィルタは、検出器に透過される光のスペクトル帯域が蛍光染料の発光ピークに近くなるように構成することができる。

【0094】

ビームスプリッタは、異なる波長の光を異なる方向に指向させる。ビームスプリッタは、ショートパスおよびロングパスなどのフィルタ特性によって特徴付けることができる。例えば、ビームスプリッタ 705 g は 620 SP ビームスプリッタであり、これは、ビームスプリッタ 745 g が、620 nm 以下の波長の光を透過し、620 nm より長い波長の光を異なる方向に反射することを意味する。一実施形態では、ビームスプリッタ 745 a ~ 745 g は、ダイクロイックミラーなどの光学ミラーを備えることができる。

【0095】

前方散乱検出器 730 は、フローセルを通る直接ビームから軸外に位置決めされ、回折光、すなわち、主に順方向に粒子を通して、またはその周囲を進行する励起光を検出するように構成される。前方散乱検出器によって検出される光の強度は、粒子の全体的なサイズに依存する。前方散乱検出器は、フォトダイオードを含み得る。側方散乱検出器 735 は、粒子の表面および内部構造から屈折および反射された光を検出するように構成され、構造の粒子複雑性の増加とともに増加する傾向がある。粒子に関連付けられた蛍光分子からの蛍光発光は、1つ以上の蛍光検出器 760 a ~ 760 f によって検出され得る。側方散乱検出器 735 および蛍光検出器は、光電子増倍管を含み得る。前方散乱検出器 730、側方散乱検出器 735 および蛍光検出器で検出された信号は、検出器によって電子信号（電圧）に変換することができる。このデータは、サンプルに関する情報を提供することができる。

【0096】

動作中、サイトメータ動作は、コントローラ／プロセッサ 790 によって制御され、検出器からの測定データは、メモリ 795 に記憶され、コントローラ／プロセッサ 790 によって処理され得る。明示的に示されていないが、コントローラ／プロセッサ 790 は、検出器に結合されて、そこから出力信号を受信し、また、フローサイトメータ 700 の電気および電気機械構成要素に結合されて、レーザ、流体流動パラメータなどを制御してもよい。入力／出力（I/O）機能 797 もシステム内に提供され得る。メモリ 795、コントローラ／プロセッサ 790、および I/O 797 は、フローサイトメータ 710 の一体部分として完全に提供され得る。かかる実施形態では、ディスプレイはまた、実験データをサイトメータ 700 のユーザに提示するための I/O 機能 797 の一部を形成してもよい。代替的に、メモリ 795 およびコントローラ／プロセッサ 790 および I/O 機能の一部または全部は、汎用コンピュータなどの1つ以上の外部デバイスの一部であってもよい。一部の実施形態では、メモリ 795 およびコントローラ／プロセッサ 790 の一部または全部は、サイトメータ 710 と無線通信または有線通信することができる。コントローラ／プロセッサ 790 は、メモリ 795 および I/O 797 と併せて、フローサイトメータ実験の準備および分析に関連する種々の機能を行うように構成され得る。

【0097】

図 7 に示されるシステムは、フローセル 725 から各検出器へのビーム経路内のフィルタおよび／またはスプリッタの構成によって画定される、6つの異なる波長帯域（本明細書では、所与の検出器のための「フィルタ窓」と称され得る）内の蛍光を検出する6つの異なる検出器を含む。フローサイトメータ実験に使用される異なる蛍光分子は、それら自体の特徴的な波長帯の光を放出する。実験のために使用される特定の蛍光標識およびそれらの関連する蛍光発光帯は、検出器のフィルタ窓と概して一致するように選択され得る。しかしながら、より多くの検出器が提供され、より多くの標識が利用されるので、フィルタ窓と蛍光発光スペクトルとの間の完全な対応は不可能である。特定の蛍光分子の発光ス

ペクトルのピークは、1つの特定の検出器のフィルタウィンドウ内に存在し得るが、概して、その標識の発光スペクトルの一部はまた、1つ以上の他の検出器のフィルタウィンドウと重複するという事実がある。これはスピルオーバーと称されることがある。I/O 797は、蛍光標識のパネルおよび複数のマーカを有する複数の細胞集団を有するフローサイトメータ実験に関するデータを受信するように構成することができ、各細胞集団は複数のマーカのサブセットを有する。I/O 797はまた、1つ以上のマーカを1つ以上の細胞集団に割り当てる生体データ、マーカ密度データ、発光スペクトルデータ、標識を1つ以上のマーカに割り当てるデータ、およびサイトメータ構成データを受信するように構成され得る。フローサイトメータ実験データ（例えば、標識スペクトル特性およびフローサイトメータ構成データ）もまた、メモリ 795に記憶され得る。コントローラ/プロセッサ 790は、マーカへのラベルの1つ以上の割り当てを評価するように構成され得る。

10

【0098】

当業者は、本発明の実施形態に従うフローサイトメータが、図7に示されるフローサイトメータに限定されず、当技術分野で既知の任意のフローサイトメータを含み得ることを認識する。例えば、フローサイトメータは、任意の数のレーザ、ビームスプリッタ、フィルタ、および検出器を、種々の波長および種々の異なる構成で有し得る。

【0099】

図8は、データを分析し表示するためのプロセッサ 800の一例の機能ブロック図を示している。プロセッサ 800は、生体事象のグラフィック表示を制御するための種々のプロセスを実装するように構成され得る。フローサイトメータ 802は、（例えば、上述したように）生体サンプルを分析することによってフローサイトメータデータを取得するように構成することができる。フローサイトメータ 802は、生体事象データをプロセッサ 800に提供するように構成することができる。データ通信チャンネルは、フローサイトメータ 802とプロセッサ 800との間に含まれ得る。データは、データ通信チャンネルを介してプロセッサ 800に提供することができる。プロセッサ 800は、プロット（例えば、上記で説明されるような）を含むグラフィカル表示をディスプレイ 806に提供するように構成され得る。プロセッサ 800は、例えば、プロット上にオーバーレイされた、表示デバイス 806によって示されるフローサイトメータデータの集団の周りにゲートをレンダリングするようにさらに構成され得る。一部の実施形態では、ゲートは、単一パラメータヒストグラムまたは二変量プロット上に描かれた1つ以上のグラフィカル関心領域の論理的組み合わせであり得る。一部の実施形態では、ディスプレイは、分析物パラメータまたは飽和検出器データを表示するために使用され得る。

20

30

【0100】

プロセッサ 800はさらに、ゲート外のフローサイトメータデータ内の他の事象とは異なって、ゲート内の表示デバイス 806上にフローサイトメータデータを表示するように構成され得る。例えば、プロセッサ 800は、ゲート内に含まれるフローサイトメータデータの色を、ゲート外のフローサイトメータデータの色とは異なるようにレンダリングするように構成することができる。このようにして、プロセッサ 800は、データの各一意の集団を表すために異なる色をレンダリングするように構成され得る。表示デバイス 806は、モニタ、タブレットコンピュータ、スマートフォン、またはグラフィカルインターフェースを提示するように構成された他の電子デバイスとして実装され得る。

40

【0101】

プロセッサ 800は、第1の入力デバイスからゲートを識別するゲート選択信号を受信するように構成することができる。例えば、第1の入力デバイスは、マウス 810として実装することができる。マウス 810は、プロセッサ 800へのゲート選択信号を開始して、（例えば、カーソルがそこに位置決めされたときに所望のゲート上またはゲート内をクリックすることによって）表示デバイス 806を介して表示または操作される集団を識別することができる。一部の实装形態では、第1のデバイスは、キーボード 808、またはタッチスクリーン、スタイラス、光検出器、もしくは音声認識システムなど、プロセッサ 800に入力信号を提供するための他の手段として実装され得る。一部の入力デバイス

50

は、複数の入力機能を含み得る。かかる実装形態では、入力機能は各々、入力デバイスとみなされ得る。例えば、図 8 に示されるように、マウス 810 は、右マウスボタンおよび左マウスボタンを含むことができ、それらの各々は、トリガ事象を生成することができる。

【0102】

トリガ事象は、プロセッサ 800 に、フローサイトメータデータが表示される様式を変更させ、データのどの部分が実際に表示デバイス 806 上に表示されるか、および／または分析のための対象集団の選択などのさらなる処理に inputs を提供させることができる。

【0103】

一部の実施形態では、プロセッサ 800 は、ゲート選択がマウス 810 によって開始されたときを検出するように構成することができる。プロセッサ 800 は、ゲーティングプロセスを容易にするためにプロット視覚化を自動的に修正するようにさらに構成され得る。修正は、プロセッサ 800 によって受信されたデータの特定の分布に基づき得る。

【0104】

プロセッサ 800 は、ストレージデバイス 804 に接続することができる。ストレージデバイス 804 は、プロセッサ 800 からデータを受信して記憶するように構成することができる。ストレージデバイス 804 は、プロセッサ 800 によるフローサイトメータデータなどのデータの検索を可能にするようにさらに構成され得る。

【0105】

表示デバイス 806 は、プロセッサ 800 から表示データを受信するように構成され得る。表示データは、フローサイトメータデータのプロットおよびプロットのセクションの輪郭を描くゲートを含み得る。表示デバイス 806 は、装置 802、ストレージデバイス 804、キーボード 808、および／またはマウス 810 からの入力と併せてプロセッサ 800 から受信された入力に従って提示される情報を変更するようにさらに構成され得る。

【0106】

一部の実施形態では、プロセッサ 800 は、ソートのための例示的な事象を受信するためのユーザインターフェースを生成することができる。例えば、ユーザインターフェースは、例示的な事象または例示的な画像を受信するためのコントロールを含み得る。例示的な事象もしくは画像または例示的なゲートは、サンプルについての事象データの収集の前に、またはサンプルの一部についての事象の初期セットに基づいて提供され得る。

【0107】

コンピュータ制御システム

本開示の態様は、コンピュータ制御システムをさらに含み、システムは、完全自動化または部分自動化のための 1 つ以上のコンピュータをさらに含む。一部の実施形態では、システムは、コンピュータプログラムが記憶されたコンピュータ可読記憶媒体を有するコンピュータを含み、コンピュータプログラムは、コンピュータにロードされると、訓練ゲートを含むフローサイトメータデータの第 1 のセットおよびフローサイトメータデータの第 2 のセットを取得し、データを二次元ビンに編成し、二次元ビンデータに基づいてヒストグラムおよび累積分布関数を作成し、累積分布関数に基づいて画像生成値を決定し、対応する画像生成値に基づいて各ビンに陰影を割り当て、フローサイトメータデータの第 1 のセットの生成された画像をワープしてフローサイトメータデータの第 2 のセットの生成された画像との類似性を最大化し、フローサイトメータデータの第 1 のセットの生成された画像をワープすることから B スプライン係数を使用して訓練ゲートを調整し、フローサイトメータデータの第 2 のセットの生成された画像上に訓練ゲートをオーバーレイすることによって、フローサイトメータデータの第 1 および第 2 のセットの各々について画像を生成するための命令を含み得る。

【0108】

実施形態では、システムは、FlowJo（登録商標）（Ashland, OR）などのフローサイトメータデータまたは核酸配列データを分析するためのソフトウェアまたは分析ツール内でデータを分析するように構成される。FlowJo（登録商標）は、フローサイトメータデータを分析するために FlowJo LLC（Becton Dicki

10

20

30

40

50

nsonの子会社)によって開発されたソフトウェアパッケージである。ソフトウェアは、フローサイトメータデータを管理し、それに関するグラフィカルレポートを作成するように構成される([https://www\(dot\)flowjo\(dot\)com/learn/flowjo-university/flowjo](https://www(dot)flowjo(dot)com/learn/flowjo-university/flowjo))。初期データは、データ分析ソフトウェアまたはツール(例えば、FlowJo(登録商標))内で、手動ゲーティング、クラスタ分析、または他のコンピュータ技術などの適切な手段によって分析することができる。本システムまたはその一部は、FlowJo(登録商標)などのデータを分析するためのソフトウェアのソフトウェア構成要素として実装することができる。これらの実施形態では、本開示によるコンピュータ制御システムは、FlowJo(登録商標)などの既存のソフトウェアパッケージのためのソフトウェア「プラグイン」として機能することができる。

10

【0109】

実施形態では、システムは、入力モジュール、処理モジュール、および出力モジュールを含む。主題のシステムは、ハードウェア構成要素およびソフトウェア構成要素の両方を含むことができ、ハードウェア構成要素は、1つ以上のプラットフォームの形態、例えば、サーバの形態をとることができ、それにより、機能要素、すなわち、システムの特定のタスク(情報の入出力の管理、情報の処理など)を実行するシステムの要素は、システムで表される1つ以上のコンピュータプラットフォーム上で、およびそれにわたってソフトウェアアプリケーションを実行することによって実行することができる。

【0110】

システムは、ディスプレイと、オペレータ入力デバイスとを含み得る。オペレータ入力デバイスは、例えば、キーボード、マウスなどであってもよい。処理モジュールは、主題の方法のステップを実行するために記憶された命令を有するメモリにアクセスするプロセッサを含む。処理モジュールは、オペレーティングシステム、グラフィカルユーザインターフェース(GUI)コントローラ、システムメモリ、メモリ記憶デバイス、および入出力コントローラ、キャッシュメモリ、データバックアップユニット、ならびに多くの他のデバイスを含み得る。プロセッサは、市販のプロセッサであってもよいし、利用可能であるかまたは利用可能になる他のプロセッサのうちの1つであってもよい。プロセッサは、オペレーティングシステムを実行し、オペレーティングシステムは、周知の様式でファームウェアおよびハードウェアとインターフェースし、当技術分野で既知のように、Java、Perl、C++、他の高レベルまたは低レベル言語、ならびにそれらの組み合わせなどの様々なプログラミング言語で書かれ得る様々なコンピュータプログラムの機能をプロセッサが協調することと、実行することとを容易にする。オペレーティングシステムは、通常、プロセッサと協調して、コンピュータの他の構成要素の機能を調整し、実行する。オペレーティングシステムはまた、すべて既知の技術に従って、スケジューリング、入出力制御、ファイルおよびデータ管理、メモリ管理、ならびに通信制御および関連サービスを提供する。プロセッサは、任意の好適なアナログまたはデジタルシステムであり得る。一部の実施形態では、プロセッサは、ユーザが第1および第2の光信号に基づいて光源をフローストリームと手動で整列させることを可能にするアナログ電子機器を含む。一部の実施形態では、プロセッサは、例えば、負帰還制御などのフィードバック制御を提供するアナログ電子機器を含む。

20

30

40

【0111】

システムメモリは、様々な既知または将来のメモリ記憶デバイスのいずれかであり得る。例としては、任意の一般的に入手可能なランダムアクセスメモリ(RAM)、常駐ハードディスクもしくはテープなどの磁気媒体、リードライトコンパクトディスクなどの光学媒体、フラッシュメモリデバイス、または他のメモリ記憶デバイスが挙げられる。メモリ記憶デバイスは、コンパクトディスクドライブ、テープドライブ、リムーバブルハードディスクドライブ、またはディスクドライブを含む、様々な既知または将来のデバイスのいずれかであり得る。かかるタイプのメモリ記憶デバイスは、通常、それぞれ、コンパクトディスク、磁気テープ、リムーバブルハードディスク、またはフロッピーディスクなどの

50

プログラム記憶媒体（図示せず）から読み出し、および／またはプログラム記憶媒体に書き込む。これらのプログラム記憶媒体のいずれか、または現在使用されている、もしくは後に開発され得る他のものは、コンピュータプログラム製品とみなされ得る。理解されるように、これらのプログラム記憶媒体は、通常、コンピュータソフトウェアプログラムおよび／またはデータを記憶する。コンピュータ制御ロジックとも称されるコンピュータソフトウェアプログラムは、通常、システムメモリ、および／またはメモリ記憶デバイスと併せて使用されるプログラム記憶デバイスに記憶される。

【0112】

一部の実施形態では、コンピュータプログラム製品は、記憶された制御ロジック（プログラムコードを含むコンピュータソフトウェアプログラム）を有するコンピュータ使用可能媒体を備えて記載される。制御ロジックは、プロセッサによって実行されるとコンピュータ、プロセッサに、本明細書に記載された機能を実行させる。他の実施形態では、一部の機能は、例えば、ハードウェアステートマシンを使用して、主にハードウェア内に実装される。本明細書に記載される機能を実行するためのハードウェアステートマシンの実装形態は、関連技術分野の当業者には明らかである。

【0113】

メモリは、磁気、光学、またはソリッドステート記憶デバイス（磁気もしくは光学ディスク、またはテープ、またはRAM、または固定型もしくは携帯型のいずれかの任意の他の好適なデバイスを含む）などの、プロセッサがデータを記憶し、取り出すことができる任意の好適なデバイスであり得る。プロセッサは、必要なプログラムコードを担持するコンピュータ可読媒体から好適にプログラムされた汎用デジタルマイクロプロセッサを含み得る。プログラミングは、通信チャネルを介してプロセッサにリモートで提供され得るか、またはメモリまたは何らかの他の携帯型もしくは固定型のコンピュータ可読記憶媒体などのコンピュータプログラム製品に、メモリと一緒にそれらのデバイスのいずれかを使用して、あらかじめ保存され得る。例えば、磁気ディスクまたは光学ディスクは、プログラミングを担持し得、ディスクライタ／リーダによって読み取ることができる。本発明のシステムは、例えば、コンピュータプログラム製品の形態のプログラミング、上記の方法を実施する際に使用するためのアルゴリズムも含む。本発明によるプログラミングは、コンピュータ可読媒体、例えば、コンピュータによって直接読み取りおよびアクセスすることができる任意の媒体に記録され得る。かかる媒体としては、以下に限定されないが、フロッピーディスク、ハードディスク記憶媒体、および磁気テープなどの磁気記憶媒体、CD-ROMなどの光学記憶媒体、RAMおよびROMなどの電気記憶媒体、ポータブルフラッシュドライブ、ならびに磁気／光学記憶媒体などのこれらのカテゴリのハイブリッドが挙げられる。

【0114】

プロセッサはまた、リモート位置でユーザと通信するための通信チャネルへのアクセスを有し得る。リモート位置とは、ユーザがシステムと直接接触せず、広域ネットワーク（「WAN」）、電話ネットワーク、衛星ネットワーク、または携帯電話（すなわち、スマートフォン）を含む任意の他の好適な通信チャネルに接続されたコンピュータなどの外部デバイスから入力情報を入力マネージャに中継することを意味する。

【0115】

一部の実施形態では、本開示によるシステムは、通信インターフェースを含むように構成され得る。一部の実施形態では、通信インターフェースは、ネットワークおよび／または別のデバイスと通信するための受信機および／または送信機を含む。通信インターフェースは、無線周波数（RF）通信（例えば、無線周波数特定（RFID）、ジグビー通信プロトコル、Wi-Fi、赤外線、無線ユニバーサルシリアルバス（USB）、超広帯域（UWB）、Bluetooth（登録商標）通信プロトコル、および符号分割多元接続（CDMA）またはモバイル通信のためのグローバルシステム（GSM）などのセルラー通信を含むが、これらに限定されない、有線または無線通信のために構成され得る。

【0116】

一実施形態では、通信インターフェースは、主題のシステムと、同様の補完的データ通信のために構成される（例えば、診療所または病院環境における）コンピュータ端末などの他の外部デバイスとの間のデータ通信を可能にするために、例えば、USBポート、RS-232ポート、または任意の他の好適な電気接続ポートなどの物理ポートまたはインターフェースなど、1つ以上の通信ポートを含むように構成される。

【0117】

一実施形態では、通信インターフェースは、赤外線通信、Bluetooth（登録商標）通信、または任意の他の好適な無線通信プロトコルのために構成されて、主題のシステムが、コンピュータ端末および／またはネットワーク、通信可能な携帯電話、パーソナルデジタルアシスタント、またはユーザが併せて使用し得る任意の他の通信デバイスなど、他のデバイスと通信することを可能にする。

10

【0118】

一実施形態では、通信インターフェースは、携帯電話ネットワーク、ショートメッセージサービス（SMS）、インターネットに接続されるローカルエリアネットワーク（LAN）上のパーソナルコンピュータ（PC）への無線接続、またはWiFiホットスポットでのインターネットへのWiFi接続を介して、インターネットプロトコル（IP）を利用するデータ転送のための接続を提供するように構成される。

【0119】

一実施形態では、主題のシステムは、例えば802.11もしくはBluetooth（登録商標）RFプロトコル、またはIrDA赤外線プロトコルなどの共通標準を使用して、通信インターフェースを介してサーバデバイスと無線で通信するように構成される。サーバデバイスは、スマートフォン、パーソナルデジタルアシスタント（PDA）もしくはノートブックコンピュータなどの別のポータブルデバイス、またはデスクトップコンピュータ、アプライアンスなどのより大きなデバイスであってもよい。一部の実施形態では、サーバデバイスは、液晶ディスプレイ（LCD）などのディスプレイ、ならびにボタン、キーボード、マウス、またはタッチスクリーンなどの入力デバイスを有する。

20

【0120】

一部の実施形態では、通信インターフェースは、上述の通信プロトコルおよび／または機構のうちの1つ以上を使用して、ネットワークまたはサーバデバイスと、主題のシステム、例えば、任意のデータ記憶ユニットに記憶されたデータを自動的にまたは半自動で通信するように構成される。

30

【0121】

出力コントローラは、人間であろうと機械であろうと、ローカルであろうとリモートであろうと、ユーザに情報を提示するための様々な既知の表示デバイスのいずれかのためのコントローラを含み得る。表示デバイスのうちの1つが視覚情報を提供する場合、この情報は、通常、ピクチャ要素のアレイとして論理的および／または物理的に編成され得る。グラフィカルユーザインターフェース（GUI）コントローラは、システムとユーザとの間にグラフィカル入力および出力インターフェースを提供するための、およびユーザ入力を処理するための様々な既知または将来のソフトウェアプログラムのいずれかを含み得る。コンピュータの機能要素は、システムバスを介して互いに通信し得る。これらの通信のいくつかは、ネットワークまたは他のタイプのリモート通信を使用して、代替の実施形態で達成され得る。出力マネージャはまた、既知の技術に従って、例えば、インターネット、電話、または衛星ネットワークを介して、リモート位置でユーザに、処理モジュールによって生成された情報を提供し得る。出力マネージャによるデータの提示は、様々な既知の技術に従って実装され得る。一部の例として、データは、SQL、HTML、もしくはXMLドキュメント、電子メールもしくは他のファイル、または他の形態のデータを含み得る。データは、ユーザが追加のSQL、HTML、XML、または他のドキュメントもしくはデータをリモートソースから取り出すことができるように、インターネットURLアドレスを含み得る。主題のシステム内に存在する1つ以上のプラットフォームは、通常、一般的にサーバと称されるコンピュータのクラスのものであるが、任意のタイプの既知

40

50

のコンピュータプラットフォームまたは将来開発されるタイプであってもよい。また一方、それらは、メインフレームコンピュータ、ワークステーション、または他のコンピュータタイプであってもよい。それらは、任意の既知または将来のタイプのケーブル配線、またはネットワーク化された、もしくははされていない無線システムを含む、他の通信システムを介して接続され得る。それらは、同一場所に配置され得るか、または物理的に分離され得る。場合により、選択されたコンピュータプラットフォームのタイプおよび／または構成に応じて、様々なオペレーティングシステムが、コンピュータプラットフォームのいずれかで用いられ得る。適切なオペレーティングシステムには、Windows NT、Windows XP、Windows 7、Windows 8、iOS、Sun Solaris、Linux（登録商標）、OS/400、Compaq Tru64 Unix、SGI IRIX、Siemens Reliant Unixなどが含まれる。

【0122】

図9は、特定の実施形態による例示的なコンピューティングデバイス900の一般的なアーキテクチャを示している。図9に示されるコンピューティングデバイス900の一般的なアーキテクチャは、コンピュータハードウェアおよびソフトウェア構成要素の配置を含む。しかしながら、実施可能な開示を提供するために、これらの概して従来の要素のすべてを示す必要はない。図示されるように、コンピューティングデバイス900は、処理ユニット910と、ネットワークインターフェース920と、コンピュータ可読媒体ドライブ930と、入力／出力デバイスインターフェース940と、ディスプレイ950と、入力デバイス960とを含み、これらはすべて、通信バスによって互いに通信することができるネットワークインターフェース920は、1つ以上のネットワークまたはコンピューティングシステムへの接続性を提供することができる。したがって、処理ユニット910は、ネットワークを介して他のコンピューティングシステムまたはサービスから情報および命令を受信することができる。処理ユニット910はまた、メモリ970と通信し、入力／出力デバイスインターフェース940を介して任意選択のディスプレイ950に出力情報をさらに提供することができる。例えば、分析システムの非一時的メモリに実行可能命令として記憶された分析ソフトウェア（例えば、FlowJo（登録商標）などのデータ分析ソフトウェアまたはプログラム）は、フローサイトメトリ事象データをユーザに表示することができる。入力／出力デバイスインターフェース940はまた、キーボード、マウス、デジタルペン、マイクロフォン、タッチスクリーン、ジェスチャ認識システム、音声認識システム、ゲームパッド、加速度計、ジャイロ스코プ、または他の入力デバイスなどの任意選択の入力デバイス960からの入力を受け入れることができる。

【0123】

メモリ970は、1つ以上の実施形態を実装するために処理ユニット910が実行する（一部の実施形態ではモジュールまたは構成要素として群化される）コンピュータプログラム命令を含み得る。メモリ970は、概して、RAM、ROM、および／または他の永続的、補助的もしくは非一時的コンピュータ可読媒体を含む。メモリ970は、コンピューティングデバイス900の一般的な管理および動作において処理ユニット910によって使用されるコンピュータプログラム命令を提供するオペレーティングシステム972を記憶することができる。データは、データストレージデバイス990に記憶されてもよい。メモリ970は、本開示の態様を実装するためのコンピュータプログラム命令および他の情報をさらに含み得る。

【0124】

コンピュータ可読記憶媒体

本開示の態様は、主題の方法を実施するための命令を有する非一時的コンピュータ可読記憶媒体をさらに含む。コンピュータ可読記憶媒体は、本明細書に説明される方法を実践するためのシステムの完全自動化または部分自動化のために、1つ以上のコンピュータ上で採用されてもよい。一部の実施形態では、本明細書で説明される方法による命令は、「プログラミング」の形態でコンピュータ可読媒体上にコード化することができ、本明細書で使用される「コンピュータ可読媒体」という用語は、実行および処理のために命令およ

びデータをコンピュータに提供することに関与する任意の非一時的記憶媒体を指す。好適な非一時的記憶媒体の例は、フロッピーディスク、ハードディスク、光ディスク、光磁気ディスク、CD-ROM、CD-R、磁気テープ、不揮発性メモ리카ード、ROM、DVD-ROM、ブルーレイディスク、ソリッドステートディスク、およびネットワーク接続ストレージ(NAS)を含み、かかるデバイスがコンピュータの内部にあるか外部にあるかを問わない。一部の例では、命令は集積回路デバイス上に提供され得る。対象の集積回路デバイスは、特定の例では、再構成可能なフィールドプログラマブルゲートアレイ(FPGA)、特定用途向け集積回路(ASIC)、または複合プログラマブル論理デバイス(CPLD)を含み得る。情報を含むファイルは、コンピュータ可読媒体上に「保存」することができ、ここで、「保存」とは、コンピュータによって後日アクセス可能および検索可能であるように情報を記録することを意味する。本明細書で説明されるコンピュータ実装方法は、任意の数のコンピュータプログラミング言語のうちの1つ以上で記述することができるプログラミングを使用して実行することができる。かかる言語は、例えば、Java(Sun Microsystems, Inc., Santa Clara, CA)、Visual Basic(Microsoft Corp., Redmond, WA)、およびC++(AT&T Corp., Bedminster, NJ)、ならびに任意の多くの他の言語を含む。

【0125】

一部の実施形態では、対象となるコンピュータ可読記憶媒体は、対象となるコンピュータ可読記憶媒体に記憶されたコンピュータプログラムを含み、コンピュータプログラムは、コンピュータにロードされると、訓練ゲートを含むフローサイトメータデータの第1のセットおよびフローサイトメータデータの第2のセットを取得し、データを二次元ビンに編成し、二次元ビンニングデータに基づいてヒストグラムおよび累積分布関数を作成し、累積分布関数に基づいて画像生成値を決定し、対応する画像生成値に基づいて各ビンに陰影を割り当て、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープしてフローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像との類似性を最大化し、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープすることからBスプライン係数を使用して訓練ゲートを調整し、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像上に訓練ゲートをオーバーレイすることによって、フローサイトメータデータの第1および第2のセットの各々について画像を生成するための命令を含み得る。

【0126】

実施形態では、システムは、FlowJo(登録商標)などのフローサイトメータデータまたは核酸配列データを分析するためのソフトウェアまたは分析ツール内でデータを分析するように構成される。初期データは、データ分析ソフトウェアまたはツール(例えば、FlowJo(登録商標))内で、手動ゲーティング、クラスタ分析、または他のコンピュータ技術などの適切な手段によって分析することができる。本システムまたはその一部は、FlowJo(登録商標)などのデータを分析するためのソフトウェアのソフトウェア構成要素として実装することができる。これらの実施形態では、本開示によるコンピュータ制御システムは、FlowJo(登録商標)などの既存のソフトウェアパッケージのためのソフトウェア「プラグイン」として機能することができる。

【0127】

コンピュータ可読記憶媒体は、ディスプレイおよびオペレータ入力デバイスを有する1または複数のコンピュータシステム上で使用することができる。オペレータ入力デバイスは、例えば、キーボード、マウスなどであってもよい。処理モジュールは、主題の方法のステップを実行するために記憶された命令を有するメモリにアクセスするプロセッサを含む。処理モジュールは、オペレーティングシステム、グラフィカルユーザインターフェース(GUI)コントローラ、システムメモリ、メモリ記憶デバイス、および入出力コントローラ、キャッシュメモリ、データバックアップユニット、ならびに多くの他のデバイスを含み得る。プロセッサは、市販のプロセッサであってもよいし、利用可能であるかまたは利用可能になる他のプロセッサのうちの1つであってもよい。プロセッサは、オペレー

ティングシステムを実行し、オペレーティングシステムは、周知の様式でファームウェアおよびハードウェアとインターフェースし、当技術分野で既知のように、Java、Perl、C++、他の高レベルまたは低レベル言語、ならびにそれらの組み合わせなどの様々なプログラミング言語で書かれ得る様々なコンピュータプログラムの機能をプロセッサが協調することと、実行することとを容易にする。オペレーティングシステムはまた、すべて既知の技術に従って、スケジューリング、入出力制御、ファイルおよびデータ管理、メモリ管理、ならびに通信制御および関連サービスを提供する。

【0128】

ユーティリティ

本発明の装置、方法およびコンピュータシステムは、フローサイトメータデータをゲート制御することが望ましい種々の用途に使用される。例えば、本開示は、フローサイトメータデータのセットからゲートを取得し、そのゲートをフローサイトメータデータの第2のセットに適合するように調整する際に使用される。したがって、本開示は、以前に特徴付けられたフローサイトメータデータのセットから取得された既存のゲートを適合させ、それを、まだゲーティングされていないフローサイトメータデータのセットに適用する際に使用を見出す。換言すれば、本開示は、フローサイトメータデータの1つのセットからの既存のゲートを、フローサイトメータデータの第2のセット内の同じ集団に適合させる際に、その集団がわずかに縮小、伸長、またはシフトした場合であっても、使用を見出す。したがって、本方法、システム、およびコンピュータ制御システムは、ユーザが手動でゲートを再描画すること、または新しいゲートを描画するためにその頂点を操作することを必要とせず、それによって、フローサイトメータデータ分析の効率を改善する。一部の実施形態では、主題の方法およびシステムは、完全に自動化されたプロトコルを提供し、その結果、データに対する調整は、あったとしても、ほとんど人間の入力が必要としない。

【0129】

本開示は、多くのタイプの分析物、特に、患者をケアするための医療診断またはプロトコルに関連する分析物を特徴付けるために使用することができ、これには、タンパク質（遊離タンパク質、ならびに細胞などの構造の表面に結合したタンパク質およびタンパク質の両方を含む）、核酸、ウイルス粒子などが含まれるが、これらに限定されない。さらに、サンプルは、インビトロまたはインビボ供給源由来であり得、そしてサンプルは、診断用サンプルであり得る。

【0130】

キット

本開示の態様はキットをさらに含み、キットは、フロッピーディスク、ハードディスク、光ディスク、光磁気ディスク、CD-ROM、CD-R、磁気テープ、不揮発性メモリカード、ROM、DVD-ROM、ブルーレイディスク、ソリッドステートディスク、およびネットワーク接続ストレージ（NAS）などの記憶媒体を含む。これらのプログラム記憶媒体のいずれか、または現在使用されている、もしくは後に開発され得る他のものが、本キットに含まれてもよい。実施形態では、主題のキットまたはその一部に提供されるコンピュータ可読媒体に含まれる命令は、FlowJo（登録商標）などのデータを分析するためのソフトウェアのソフトウェア構成要素として実装され得る。これらの実施形態では、本開示によるコンピュータ制御システムは、FlowJo（登録商標）などの既存のソフトウェアパッケージのためのソフトウェア「プラグイン」として機能することができ

【0131】

上記の構成要素に加えて、主題のキットは、（一部の実施形態において）例えば、FlowJo（登録商標）などの既存のソフトウェアパッケージにプラグインをインストールするための命令をさらに含み得る。これらの説明書は、様々な形態で主題のキット内に存在し得、そのうちの1つ以上が、キット内に存在し得る。これらの説明書が存在し得る1つの形態は、例えば、情報が印刷される1枚または複数枚の紙などの好適な媒体または基板上、キットのパッケージ中、添付文書などの中の印刷情報としてである。これらの説明

書のさらに別の形態は、情報が記録されたコンピュータ可読媒体、例えば、ディスク、コンパクトディスク（CD）、ポータブルフラッシュドライブなどである。存在し得る、これらの説明書のさらに別の形態は、隔たったサイトで情報にアクセスするために、インターネットを介して使用され得るウェブサイトアドレスである。

【0132】

添付の特許請求の範囲にもかかわらず、本明細書に記載される開示は、以下の付記によっても定義される。

1. フローサイトメータデータの第1のセットから準備された訓練ゲートを調整して、フローサイトメータデータの第2のセットを適応させる方法であって、本方法は、

フローサイトメータデータの第1および第2のセットを取得することであって、フロー
サイトメータデータの第1のセットは、頂点のセットによって定義される訓練ゲートを含
む、取得することと、

フローサイトメータデータの取得された第1および第2のセットの各々について画像を
生成することと、

プロセッサ実装アルゴリズムを用いて、フローサイトメータデータの第1のセットの生
成された画像から訓練ゲートを定義する頂点のセットを調整して、フローサイトメータデ
ータの第2のセットの生成された画像を適応させることと

を含む、方法。

2. プロセッサ実装アルゴリズムは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成
された画像をワープして、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に
対する類似度を最大化するように構成されている、付記1に記載の方法。

3. プロセッサ実装アルゴリズムは、数学的変形モデルを含む画像位置合わせアルゴリ
ズムである、付記1または2に記載の方法。

4. 画像位置合わせアルゴリズムは、Bスプラインワーピングをさらに含む、付記3に
記載の方法。

5. Bスプラインワーピングは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成され
た画像をワープしてフローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に対する
類似度を最大化する関数を定義するBスプライン係数を計算することを含む、付記4に記
載の方法。

【0133】

6. プロセッサ実装アルゴリズムは、Bスプライン係数によって定義される関数に基づ
いて訓練ゲートの頂点を調整するように構成されている、付記5に記載の方法。

7. 訓練ゲートを調整することは、ブランク画像に訓練ゲートを課することを含む、付記
1～6のいずれか一つに記載の方法。

8. プロセッサ実装アルゴリズムは、ブランク画像に課される訓練ゲートを調整するよ
うに構成される、付記7に記載の方法。

9. ブランク画像からの調整されたゲートの頂点をフローサイトメータデータの第2の
セットの生成された画像に適用することによって、調整された訓練ゲートをフローサイ
トメータデータの第2のセットにオーバーレイすることをさらに含む、付記8に記載の方法。

10. フローサイトメータデータの第1および第2のセットの画像を生成することは、
フローサイトメータデータの第1および第2のセットの各々を二次元ビンに編成すること
と、各ビンに陰影を割り当てることとを含む、付記1～9のいずれか一つに記載の方法。

【0134】

11. フローサイトメータデータの第1および第2のセットの画像を生成することは、
各ビンに関連付けられたフローサイトメータデータの平均値の二次元ヒストグラムを作成
することをさらに含み、フローサイトメータデータの平均値は、パラメータに対して評価
される、付記10に記載の方法。

12. 各ビンに関連付けられたフローサイトメータデータの平均値は、1つ以上のさら
なるパラメータに対して評価される、付記11に記載の方法。

13. ヒストグラムに基づいて累積分布関数を計算することと、累積分布関数に基づい

10

20

30

40

50

て各ピンに関連付けられた画像生成値を決定することとをさらに含む、付記 12 に記載の方法。

14. より大きい画像生成値に関連付けられたピンは、より明るい陰影を割り当てられ、より小さい画像生成値に関連付けられたピンは、より暗い陰影を割り当てられる、付記 13 に記載の方法。

15. 閾値未満の画像生成値に関連付けられたピンは、黒色が割り当てられる、付記 13 または 14 に記載の方法。

【0135】

16. 閾値は、調整可能である、付記 15 に記載の方法。

17. 画像は、グレースケール画像である、付記 1～16 のいずれか一つに記載の方法。

18. 画像は、カラー画像である、付記 1～16 のいずれか一つに記載の方法。

19. 訓練ゲートは、ユーザによって描画される、付記 1～18 のいずれか一つに記載の方法。

20. 調整された訓練ゲートは、訓練ゲートとは異なる形状を有する、付記 1～19 のいずれか一つに記載の方法。

【0136】

21. システムであって、

頂点のセットによって定義される訓練ゲートを含むフローサイトメータデータの第 1 のセットを取得するように構成された入力モジュールと、

フローサイトメータデータの第 2 のセットを取得するように構成された粒子分析器構成要素と、

プロセッサであって、プロセッサに動作可能に結合されたメモリを備え、メモリは、メモリに記憶された命令を含み、命令は、プロセッサによって実行されると、プロセッサに、

フローサイトメータデータの取得された第 1 および第 2 のセットの各々について画像を生成することと、

プロセッサ実装アルゴリズムを用いて、フローサイトメータデータの第 1 のセットの生成された画像から訓練ゲートを定義する頂点のセットを調整して、フローサイトメータデータの第 2 のセットの生成された画像を適応させることと

を行わせる、プロセッサと

を含む、システム。

22. プロセッサ実装アルゴリズムは、フローサイトメータデータの第 1 のセットの生成された画像をワープして、フローサイトメータデータの第 2 のセットの生成された画像に対する類似度を最大化するように構成されている、付記 21 に記載のシステム。

23. プロセッサ実装アルゴリズムは、数学的変形モデルを含む画像位置合わせアルゴリズムである、付記 21 または 22 に記載のシステム。

24. 画像位置合わせアルゴリズムは、B スプラインワーピングをさらに含む、付記 23 に記載のシステム。

25. B スプラインワーピングは、フローサイトメータデータの第 1 のセットの生成された画像をワープしてフローサイトメータデータの第 2 のセットの生成された画像に対する類似度を最大化する関数を定義する B スプライン係数を計算することを含む、付記 24 に記載のシステム。

【0137】

26. プロセッサ実装アルゴリズムは、B スプライン係数によって定義される関数に基づいて訓練ゲートの頂点を調整するように構成されている、付記 25 に記載のシステム。

27. 訓練ゲートを調整することは、ブランク画像に訓練ゲートを課すことを含む、付記 21～25 のいずれか一つに記載のシステム。

28. プロセッサ実装アルゴリズムは、ブランク画像に課される訓練ゲートを調整するように構成される、付記 27 に記載のシステム。

29. ブランク画像からの調整されたゲートの頂点をフローサイトメータデータの第 2 のセットの生成された画像に適用することによって、調整された訓練ゲートをフローサイ

10

20

30

40

50

トメータデータの第2のセットにオーバーレイすることをさらに含む、付記28に記載のシステム。

30. フローサイトメータデータの第1および第2のセットの画像を生成することは、フローサイトメータデータの第1および第2のセットの各々を二次元ビンに編成することと、各ビンに陰影を割り当てることとを含む、付記21~29のいずれか一つに記載のシステム。

【0138】

31. フローサイトメータデータの第1および第2のセットの画像を生成することは、各ビンに関連付けられたフローサイトメータデータの平均値の二次元ヒストグラムを作成することをさらに含み、フローサイトメータデータの平均値は、パラメータに対して評価される、付記30に記載のシステム。

10

32. 各ビンに関連付けられたフローサイトメータデータの平均値は、1つ以上のさらなるパラメータに対して評価される、付記31に記載のシステム。

33. ヒストグラムに基づいて累積分布関数を計算することと、累積分布関数に基づいて各ビンに関連付けられた画像生成値を決定することとを含む、付記32に記載のシステム。

34. より大きい画像生成値に関連付けられたピンは、より明るい陰影を割り当てられ、より小さい画像生成値に関連付けられたピンは、より暗い陰影を割り当てられる、付記33に記載のシステム。

35. 閾値未満の画像生成値に関連付けられたピンは、黒色が割り当てられる、付記33または34に記載のシステム。

20

【0139】

36. 閾値は、調整可能である、付記35に記載のシステム。

37. 画像は、グレースケール画像である、付記21~36のいずれか一つに記載のシステム。

38. 画像は、カラー画像である、付記21~36のいずれか一つに記載のシステム。

39. 訓練ゲートは、ユーザによって描画される、付記21~38のいずれか一つに記載のシステム。

40. 調整された訓練ゲートは、訓練ゲートとは異なる形状を有する、付記21~39のいずれか一つに記載のシステム。

30

【0140】

41. 非一時的コンピュータ可読記憶媒体であって、

フローサイトメータデータの第1および第2のセットを取得することであって、フローサイトメータデータの第1のセットは、頂点のセットによって定義される訓練ゲートを含む、取得することと、

フローサイトメータデータの取得された第1および第2のセットの各々について画像を生成することと、

プロセッサ実装アルゴリズムを用いて、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像から訓練ゲートを定義する頂点のセットを調整して、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像を適応させることとを含む、方法によって、

40

フローサイトメータデータの第1のセットから準備された訓練ゲートを調整して、フローサイトメータデータの第2のセットを適応させるための命令が記憶された非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

42. プロセッサ実装アルゴリズムは、フローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に対する類似度を最大化するために、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープするように構成される、付記41に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

43. プロセッサ実装アルゴリズムは、数学的変形モデルを含む画像位置合わせアルゴリズムである、付記41または42に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

44. 画像位置合わせアルゴリズムは、Bスプラインワーピングをさらに含む、付記4

50

3に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

45. Bスプラインワーピングは、フローサイトメータデータの第1のセットの生成された画像をワープしてフローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に対する類似度を最大化する関数を定義するBスプライン係数を計算することを含む、付記44に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

【0141】

46. プロセッサ実装アルゴリズムは、Bスプライン係数によって定義される関数に基づいて訓練ゲートの頂点を調整するように構成されている、付記45に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

47. 訓練ゲートを調整することは、ブランク画像に訓練ゲートを課すことを含む、付記41～45のいずれか一つに記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

48. プロセッサ実装アルゴリズムは、ブランク画像に課される訓練ゲートを調整するように構成される、付記47に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

49. ブランク画像からの調整されたゲートの頂点をフローサイトメータデータの第2のセットの生成された画像に適用することによって、調整された訓練ゲートをフローサイトメータデータの第2のセットにオーバーレイすることをさらに含む、付記48に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

50. フローサイトメータデータの第1および第2のセットの画像を生成することは、フローサイトメータデータの第1および第2のセットの各々を二次元ビンに編成することと、各ビンに陰影を割り当てることとを含む、付記41～49のいずれか一つに記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

【0142】

51. フローサイトメータデータの第1および第2のセットの画像を生成することは、各ビンに関連付けられたフローサイトメータデータの平均値の二次元ヒストグラムを作成することをさらに含み、フローサイトメータデータの平均値は、パラメータに対して評価される、付記50に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

52. 各ビンに関連付けられたフローサイトメータデータの平均値は、1つ以上のさらなるパラメータに対して評価される、付記51に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

53. ヒストグラムに基づいて累積分布関数を計算することと、累積分布関数に基づいて各ビンに関連付けられた画像生成値を決定することとをさらに含む、付記52に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

54. より大きい画像生成値に関連付けられたピンは、より明るい陰影を割り当てられ、より小さい画像生成値に関連付けられたピンは、より暗い陰影を割り当てられる、付記53に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

55. 閾値未満の画像生成値に関連付けられたピンは、黒色が割り当てられる、付記53または54に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

【0143】

56. 閾値は、調整可能である、付記55に記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

57. 画像は、グレースケール画像である、付記41～56のいずれか一つに記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

58. 画像は、カラー画像である、付記41～56のいずれか一つに記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

59. 訓練ゲートは、ユーザによって描画される、付記41～58のいずれか一つに記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

60. 調整された訓練ゲートは、訓練ゲートとは異なる形状を有する、付記41～59のいずれか一つに記載の非一時的コンピュータ可読記憶媒体。

【0144】

上記の発明は、理解を明確にするために、例示および実施例によってある程度詳細に記載されているが、本発明の教示に照らして当業者には、特定の変更および修正が添付の特

10

20

30

40

50

許請求の範囲の趣旨または範囲から逸脱することなく、本発明を実施することができることは容易に明らかである。

【0145】

したがって、上述は単に本発明の原理を説明したものである。当業者であれば、本明細書には明示的に記載も示されてもいないが、本発明の原理を具現化し、本発明の趣旨および範囲内に含まれる様々な変更を考案し得ることが、理解される。さらに、本明細書に列挙されるすべての例および条件付き用語は、主に、読者が、本発明の原理、および当技術分野をさらに進めるために発明者らによって提供された概念を理解することを助ける点を意図しており、かかる具体的に列挙される例および条件に限定されるものではないと解釈されるべきである。さらに、本発明の原理、態様、および実施形態を列挙する、本明細書のすべての記述、ならびにその具体例は、その構造的および機能的等価物の両方を包含することが意図される。さらに、かかる等価物は、構造に関係なく、現在知られている等価物と、将来開発される等価物との両方、すなわち、同じ機能を実行するように開発されたあらゆる要素を含むことが意図される。さらに、本明細書に開示されるいかなるものも、かかる開示が特許請求の範囲において明示的に列挙されているか否かにかかわらず、公に献呈するように意図されていない。

【0146】

したがって、本発明の範囲は、本明細書に示され、記載される例示的な実施形態に限定されることを意図するものではない。むしろ、本発明の範囲および趣旨は、添付の特許請求の範囲によって具現化される。特許請求の範囲においては、米国特許法第112条(f)または米国特許法第112条(6)は、「のための手段(means for)」または「のためのステップ(step for)」と完全に一致する語句が、特許請求項における限定の始まりで列挙されるときにのみ、特許請求項におけるかかる限定を喚起しているとして明確に定義されており、かかる完全に一致する語句が、特許請求項における限定に使用されていない場合、米国特許法第112条(f)も米国特許法第112条(6)も適用されない。

【0147】

関連出願の相互参照

本出願は、2020年1月31日に出願された米国仮特許出願第62/968,520号および2020年7月9日に出願された米国仮特許出願第63/049,735号に関連し、これらの開示は参照により本明細書に組み込まれる。

10

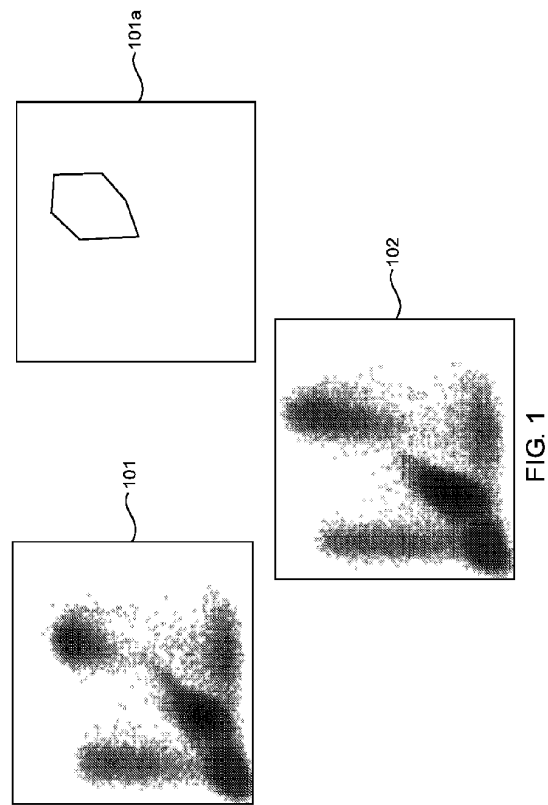
20

30

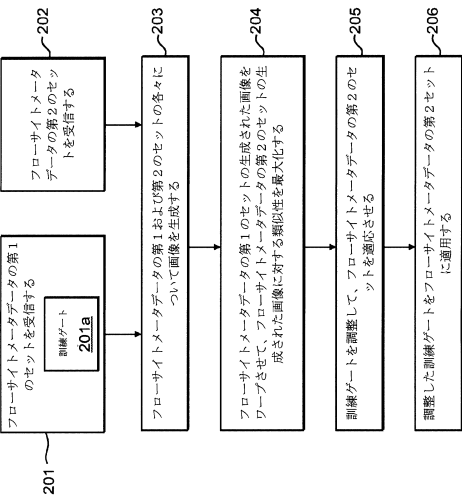
40

50

【図面】
【図 1】



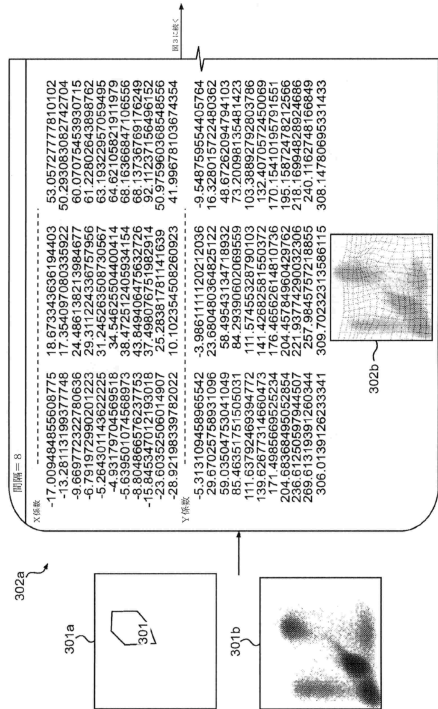
【図 2】



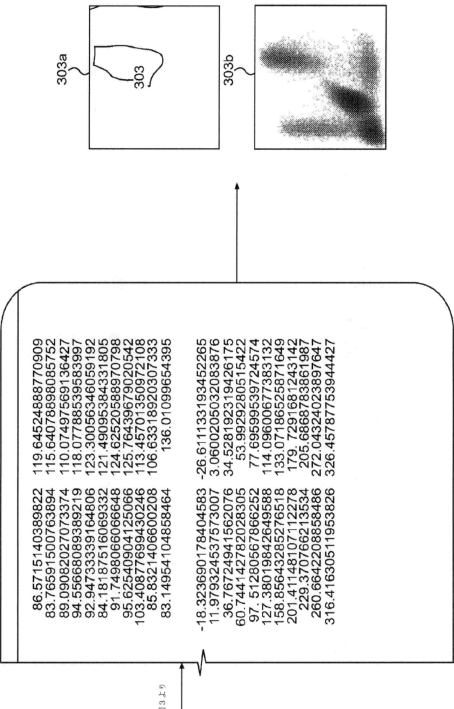
10

20

【図 3 - 1】



【図 3 - 2】



30

40

50

【図 4】

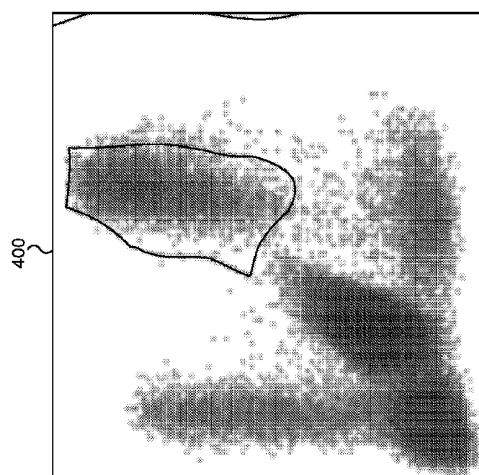


FIG. 4

【図 5】

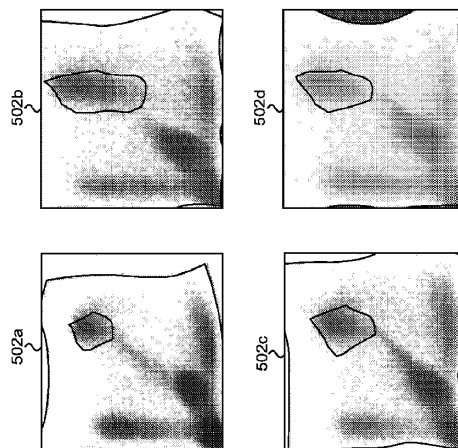
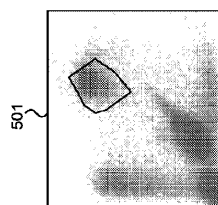


FIG. 5



【図 6】

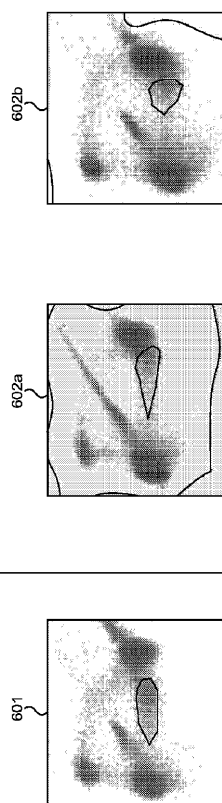
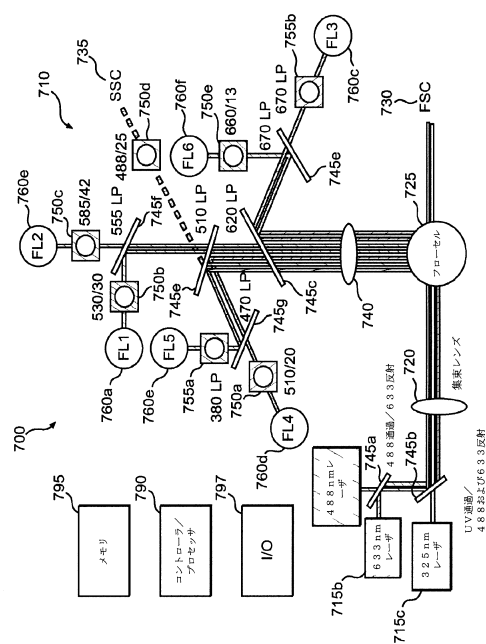


FIG. 6

【圖 7】



【図 8】

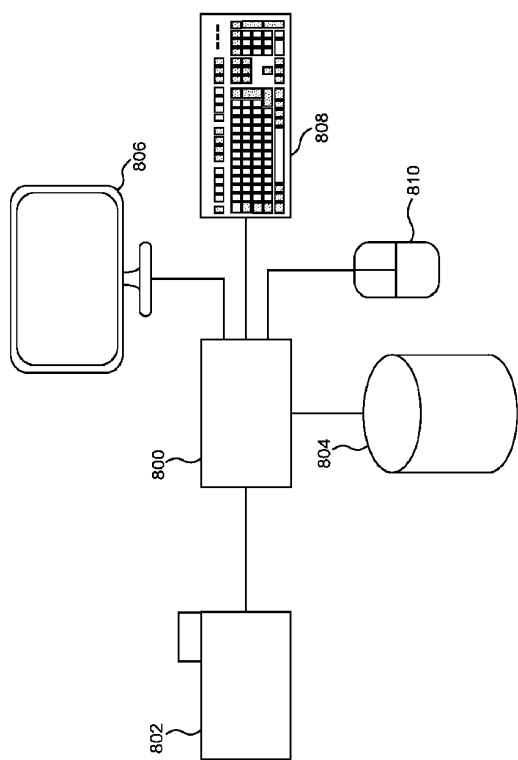
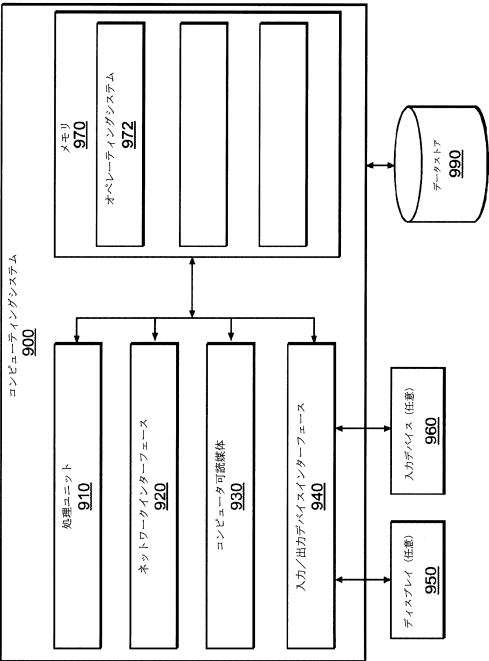


FIG. 8

【図 9】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

ーバード 2241

(72)発明者 サムシク, ニコライ

アメリカ合衆国 97530 オレゴン州, ジャクソンビル, アッパー アップルゲート ロード 8
387

(72)発明者 トロッター, ジョゼフ ティー.

アメリカ合衆国 92037 カリフォルニア州, ラホヤ, ボーモント アベニュー 5804

審査官 外川 敬之

(56)参考文献 米国特許出願公開第2019/0369001 (US, A1)

米国特許出願公開第2017/0061657 (US, A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

G01N 15/1429

G01N 15/14

G01N 21/64