(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119213294 A
(43)申请公布日 2024.12.27

(21)申请号 202380020477.3
(22)申请日 2023.02.02
(30)优先权数据
2022-018690 2022.02.09 JP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.08.06
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2023/003471 2023.02.02
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/153316 JA 2023.08.17
(71)申请人 浜松光子学株式会社
地址 日本
(72)发明人 十井健太 浅井昌人 武宫孝嗣 山内嘉晃
(74)专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限公司 11322
专利代理师 杨琦 梁策
(51)Int.Cl.
G01N 15/1434(2024.01)
G01N 21/53(2006.01)
G01N 21/64(2006.01)

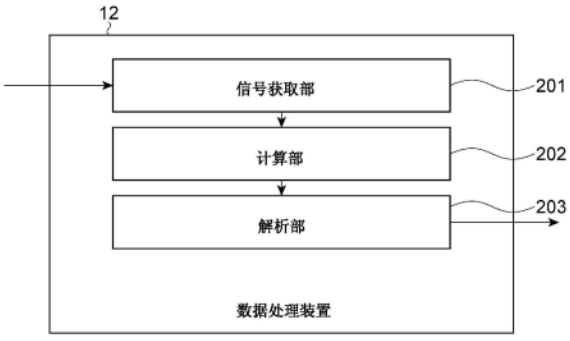
权利要求书3页 说明书17页 附图9页

(54)发明名称

信号处理方法、信号处理装置、及信号处理系统

(57)摘要

本发明的数据处理装置(12)是对构成流式细胞仪系统(1)的光电倍增管(11a、11b、11c、11d)的输出进行处理,并具备处理器的信号处理装置,处理器构成为,获取基于由使用了流式细胞仪系统(1)的流式细胞术产生的信号光的光电倍增管(11a、11b、11c、11d)的强度信号,将强度信号的数字值(DN)除以光电倍增管(11a、11b、11c、11d)的增益(G)及信号光的量子效率(Q_S),从而计算入射于光电倍增管(11a、11b、11c、11d)的信号光的假想光子数(S),基于信号光的假想光子数(S),执行数据解析。



CN 119213294 A

1.一种信号处理方法,其中,

是对构成流式细胞仪的光电倍增管的输出进行处理的信号处理方法,

获取基于由使用了所述流式细胞仪的流式细胞术产生的信号光的所述光电倍增管的输出电流信号作为第一电流信号,

通过将所述第一电流信号的值除以所述光电倍增管的增益,计算解析评价值,所述解析评价值为入射于所述光电倍增管的所述信号光的光子数或从所述光电倍增管的光电转换部释放的光电子数的任意者,

基于所述解析评价值,执行数据解析。

2.根据权利要求1所述的信号处理方法,其中,

所述解析评价值为所述光子数。

3.根据权利要求1或2所述的信号处理方法,其中,

所述数据解析包含划定解析对象的集团的边界的选通处理。

4.根据权利要求3所述的信号处理方法,其中,

基于所述解析评价值、及所述光电倍增管的增益,进一步计算相当于所述解析评价值中所含的噪声的第一噪声值,

在所述选通处理中,使用所述解析评价值及所述第一噪声值设定选通的区间。

5.根据权利要求1~4中任一项所述的信号处理方法,其中,

获取第二电流信号的平均值作为第一平均值,所述第二电流信号为在所述流式细胞仪中不入射所述信号光的情况下的所述光电倍增管的输出电流信号,

使用减去了所述第一平均值的所述第一电流信号的值,计算所述解析评价值。

6.根据权利要求4所述的信号处理方法,其中,

获取第二电流信号的噪声值作为第二噪声值,所述第二电流信号为在所述流式细胞仪中不入射所述信号光的情况下的所述光电倍增管的输出电流信号,

进一步使用所述第二噪声值,计算所述第一噪声值。

7.根据权利要求4所述的信号处理方法,其中,

获取作为第三电流信号的平均值的第二平均值、和作为该第三电流信号的噪声值的第三噪声值,所述第三电流信号为基于所述流式细胞仪中与规定强度的激发光对应的所述信号光的所述光电倍增管的输出电流信号,

进一步使用所述第二平均值及所述第三噪声值,计算所述第一噪声值。

8.根据权利要求1所述的信号处理方法,其中,

进一步计算第一噪声值,所述第一噪声值包含:反映了所述光电倍增管的检测对象的信号光的期待值、及所述光电倍增管的增益的因自己的信号光而引起的自己的独立系噪声;反映了与所述光电倍增管不同的其它的光电倍增管的检测对象的信号光中泄漏到所述光电倍增管的信号光的期待值、及所述光电倍增管的增益的因其它的信号光而引起的其它的独立系噪声;以及反映了所述光电倍增管的检测对象的信号光的期待值、及所述光电倍增管的增益的、因自己的信号光和其它的信号光之间的相关而引起的自己的相关系噪声,

使用所述解析评价值及所述第一噪声值,执行数据解析。

9.根据权利要求8所述的信号处理方法,其中,

计算所述第一噪声值,所述第一噪声值还包含:反映了所述其它的光电倍增管的检测

对象的信号光的期待值、及所述光电倍增管的增益的因自己的信号光和其它的信号光之间的相关而引起的其它的相关系噪声。

10.根据权利要求1～9中任一项所述的信号处理方法,其中,

基于所述解析评价值、及所述光电倍增管的增益,进一步计算相当于所述解析评价值中所含的噪声的第一噪声值,

使用所述解析评价值及所述第一噪声值,通过优化算法执行数据解析。

11.一种信号处理装置,其中,

是对构成流式细胞仪的光电倍增管的输出进行处理,并具备处理器的信号处理装置,

所述处理器构成为,

获取基于由使用了所述流式细胞仪的流式细胞术产生的信号光的所述光电倍增管的输出电流信号作为第一电流信号,

通过将所述第一电流信号的值除以所述光电倍增管的增益,计算解析评价值,所述解析评价值为入射于所述光电倍增管的所述信号光的光子数或从所述光电倍增管的光电转换部释放的光电子数中的任意者,

基于所述解析评价值,执行数据解析。

12.根据权利要求11所述的信号处理装置,其中,

所述解析评价值为所述光子数。

13.根据权利要求11或12所述的信号处理装置,其中,

所述数据解析包含划定解析对象的集团的边界的选通处理。

14.根据权利要求13所述的信号处理装置,其中,

所述处理器,

基于所述解析评价值、及所述光电倍增管的增益,进一步计算相当于所述解析评价值中所含的噪声的第一噪声值,

在所述选通处理中,使用所述解析评价值及所述第一噪声值设定选通的区间。

15.根据权利要求11～14中任一项所述的信号处理装置,其中,

所述处理器,

获取第二电流信号的平均值作为第一平均值,所述第二电流信号为在所述流式细胞仪中不入射所述信号光的情况下的所述光电倍增管的输出电流信号,

使用减去了所述第一平均值的所述第一电流信号的值,计算所述解析评价值。

16.根据权利要求14所述的信号处理装置,其中,

所述处理器,

获取第二电流信号的噪声值作为第二噪声值,所述第二电流信号为在所述流式细胞仪中不入射所述信号光的情况下的所述光电倍增管的输出电流信号,

进一步使用所述第二噪声值,计算所述第一噪声值。

17.根据权利要求14所述的信号处理装置,其中,

所述处理器,

获取作为第三电流信号的平均值的第二平均值、和作为该第三电流信号的噪声值的第三噪声值,所述第三电流信号为基于所述流式细胞仪中与规定强度的激发光对应的所述信号光的所述光电倍增管的输出电流信号,

进一步使用所述第二平均值及所述第三噪声值,计算所述第一噪声值。

18.根据权利要求11所述的信号处理装置,其中,

所述处理器,

进一步计算第一噪声值,所述第一噪声值包含:反映了所述光电倍增管的检测对象的信号光的期待值、及所述光电倍增管的增益的因自己的信号光而引起的自己的独立系噪声;反映了与所述光电倍增管不同的其它的光电倍增管的检测对象的信号光中泄漏到所述光电倍增管的信号光的期待值、及所述光电倍增管的增益的因其它的信号光而引起的其它的独立系噪声;以及反映了所述光电倍增管的检测对象的信号光的期待值、及所述光电倍增管的增益的、因自己的信号光和其它的信号光之间的相关而引起的自己的相关系噪声,

使用所述解析评价值及所述第一噪声值,执行数据解析。

19.根据权利要求18所述的信号处理装置,其中,

所述处理器,

计算所述第一噪声值,所述第一噪声值还包含:反映了所述其它的光电倍增管的检测对象的信号光的期待值、及所述光电倍增管的增益的因自己的信号光和其它的信号光之间的相关而引起的其它的相关系噪声。

20.根据权利要求11~19中任一项所述的信号处理装置,其中,

所述处理器,

基于所述解析评价值、及所述光电倍增管的增益,进一步计算相当于所述解析评价值中所含的噪声的第一噪声值,

使用所述解析评价值及所述第一噪声值,通过优化算法执行数据解析。

21.一种信号处理系统,其中,

具备:

权利要求11~20中任一项所述的信号处理装置;

所述光电倍增管;以及

光学系统,其将所述信号光导向所述光电倍增管。

信号处理方法、信号处理装置、及信号处理系统

技术领域

[0001] 实施方式的一个方面涉及信号处理方法、信号处理装置、及信号处理系统。

背景技术

[0002] 目前,作为以细胞等试样为对象利用激光进行计数、筛选、及特性解析的技术,已知有流式细胞术(flow cytometry)。例如,在下述专利文献1中公开了一种流式细胞术系统,具备:第一传感器,其相对于光源沿轴向配置,感知前方散射成分;以及第二传感器,其相对于第一传感器以某个角度设置,感知侧方散射成分和/或荧光成分。

[0003] 现有技术文献

[0004] 专利文献

[0005] 专利文献1:日本特表2013-504051号公报

发明内容

[0006] 发明所要解决的问题

[0007] 在上述那样的现有的装置中,有时来自传感器的输出信号由于传感器的检测特性的偏差而产生变动。为了抑制传感器的输出信号的变动,也能够调整传感器的供给电压等设定参数,但在该情况下,由于调整的程度不同,同一入射强度的光作为不同的输出信号的值被检测。其结果,有时由于调整的程度不同而产生不同的分析结果。

[0008] 因此,实施方式的一个方面是鉴于上述的问题而完成的,其问题在于,提供一种能够降低基于流式细胞术的分析结果的偏差的信号处理方法、信号处理装置、及信号处理系统。

[0009] 用于解决问题的技术方案

[0010] 实施方式的第一方面的信号处理方法是对构成流式细胞仪的光电倍增管的输出进行处理的信号处理方法,其中,获取基于由使用了流式细胞仪的流式细胞术产生的信号光的光电倍增管的输出电流信号作为第一电流信号,通过将第一电流信号的值除以光电倍增管的增益,计算解析评价值,基于解析评价值,执行数据解析,该解析评价值为入射于光电倍增管的信号光的光子数或从光电倍增管的光电转换部释放的光电子数的任意者。

[0011] 或者,实施方式的第二方面的信号处理装置是对构成流式细胞仪的光电倍增管的输出进行处理并具备处理器的信号处理装置,处理器构成为,获取基于由使用了流式细胞仪的流式细胞术产生的信号光的光电倍增管的输出电流信号作为第一电流信号,通过将第一电流信号的值除以光电倍增管的增益,计算解析评价值,基于解析评价值,执行数据解析,该解析评价值为入射于光电倍增管的信号光的光子数或从光电倍增管的光电转换部释放的光电子数的任意者。

[0012] 或者,实施方式的第三方面的信号处理系统具备:上述的信号处理装置、光电倍增管、以及将信号光导向光电倍增管的光学系统。

[0013] 根据上述第一方面、上述第二方面、或上述第三方面,通过光电倍增管检测使用流

式细胞仪产生的信号光而获取第一电流信号,根据该第一电流信号的值,计算解析评价值,基于计算的解析评价值,执行数据解析,该解析评价值为入射于光电倍增管的信号光的光子数或从光电倍增管的光电转换部释放的光电子数。其结果,能够定量地解析信号光,能够降低基于流式细胞术的分析结果的偏差。

[0014] 发明效果

[0015] 根据本公开的任意方面,能够降低基于流式细胞术的分析结果的偏差。

附图说明

[0016] 图1是实施方式的作为流式细胞仪的流式细胞仪系统1的概略结构图。

[0017] 图2是表示图1的数据处理装置12的硬件结构的一例的框图。

[0018] 图3是表示数据处理装置12的功能结构的框图。

[0019] 图4是表示在图3的由解析部203进行的数据解析中生成及输出的散点图的例子的图表。

[0020] 图5是表示在图3的由解析部203进行的数据解析中生成及输出的散点图的例子的图表。

[0021] 图6是表示实施方式的信号处理方法的顺序的流程图。

[0022] 图7是表示实施方式的信号处理方法的顺序的流程图。

[0023] 图8是表示在基于现有的流式细胞术的数据解析中生成及输出的散点图的例子的图表。

[0024] 图9是表示在基于现有的流式细胞术的数据解析中生成及输出的散点图的例子的图表。

[0025] 图10是表示通过第二变形例的数据解析而生成及输出的散点图的例子的图表。

具体实施方式

[0026] 以下,参照附图详细地说明本发明的实施方式。此外,在说明中,对相同要素或具有相同功能的要素使用相同附图标记,并省略重复的说明。

[0027] 图1是实施方式的作为流式细胞仪(信号处理系统)的流式细胞仪系统1的概略结构图。流式细胞仪系统1是用于实施流式细胞术的系统,由流体系统2、光学系统(光学系)3、及电子系统(信号处理装置)4构成。

[0028] 流体系统2构成为包含流动池6,该流动池6可注入有包含细胞或粒子等分析对象物的试样流体,并使试样流体中所含的分析对象物在细的通道5内排列并通过。在该流动池6还设有通过电场控制等将选通(gating)的分析对象物进行分选(sorting)(分类及分配)的功能(未图示)。

[0029] 光学系统3是通过流式细胞术对通过流动池6内的分析对象物进行光学分析的系统。该光学系统3构成为包含激光光源7、透镜8、滤光器9a、9b、9c、9d、分色镜10b、10c、光电倍增管11a、11b、11c、11d,将通过流式细胞术从分析对象物产生的各种光导光到光电倍增管11a、11b、11c、11d。激光光源7是以特定频率生成单一波段的激光(激发光)的光源装置,透镜8将从激光光源7出射的激光聚光到流动池6内的通道5。滤光器9a使通过激光的照射而从试样流体产生的前方散射光透过。分色镜10b反射通过激光的照射而从试样流体产生的

侧方散射光,并使从试样流体产生的荧光透过。分色镜10c反射透过了分色镜10b的荧光中的第一波段的荧光,并使透过的荧光中的剩余的波段的荧光透过。滤光器9b使由分色镜10b反射的侧方散射光透过,滤光器9c使由分色镜10c反射的第一波段的第一荧光透过。滤光器9d使透过了分色镜10c的荧光中的第二波段的第二荧光透过。光电倍增管11a、11b、11c、11d分别设置于前方散射光、侧方散射光、第一荧光、及第二荧光的光轴上,测定前方散射光、侧方散射光、第一荧光、及第二荧光各自的强度。

[0030] 电子系统4是构成为包含数据处理装置12,用于对由光学系统3测定的光的强度进行解析的装置。具体而言,数据处理装置12与多个光电倍增管11a、11b、11c、11d电连接,基于表示在多个光电倍增管11a、11b、11c、11d的各通道中检测的强度的强度信号,执行制作直方图或散点图(也称为细胞图。)等的数据解析,并且执行选通(gating)处理。另外,数据处理装置12基于选通处理,以试样流体中所含的分析对象物为对象执行分选(分类及分配)。

[0031] 接着,参照图2及图3,说明数据处理装置12的结构。图2是表示数据处理装置12的硬件结构的一例的框图,图3是表示数据处理装置12的功能结构的框图。

[0032] 如图2所示,数据处理装置12是在物理上包含作为处理器的CPU(Central Processing Unit,中央处理器)101、作为记录介质的RAM(Random Access Memory,随机存取存储器)102或ROM(Read Only Memory,只读存储器)103、通信模块104、及输入输出模块106等的计算机等,各自电连接。此外,数据处理装置12也可以包含显示器、键盘、鼠标、触摸面板显示器等作为输入输出设备,也可以包含硬盘驱动器、半导体存储器等数据记录装置。另外,数据处理装置12也可以由多个计算机构成。

[0033] 如图3所示,数据处理装置12,作为功能性的构成要素,具备:信号获取部201、计算部202、及解析部203。图3所示的数据处理装置12的各功能部通过如下实现,通过将程序读入CPU101及RAM102等硬件上,在CPU101的控制下,使通信模块104、及输入输出模块106等动作,并且进行RAM102的数据的读出及写入。数据处理装置12的CPU101通过执行程序,使图3的各功能部发挥作用,依次执行与后面叙述的信号处理方法对应的处理。此外,CPU101也可以是单体的硬件,也可以如软处理器那样安装于FPGA那样的可编程逻辑中。RAM及ROM也可以是单体的硬件,也可以内置于FPGA那样的可编程逻辑中。执行程序所需要的各种数据、及通过执行程序而生成的各种数据全部储存于ROM103、RAM102等内置存储器、或硬盘驱动器等记录介质中。以下,详细地说明数据处理装置12的功能性的构成要素的功能。

[0034] 信号获取部201获取从多个光电倍增管11a、11b、11c、11d的各通道输出的强度信号(输出电流信号)。获取的强度信号是在各个光电倍增管中,对由与流式细胞术产生的前方散射光、侧方散射光、或荧光等信号光在强度上对应的倍增电子的电流进行检测而得到的模拟信号。信号获取部201将获取的各通道的强度信号转换为数字值DN并输出到计算部202。此外,信号获取部201的A/D转换的功能也可以由数据处理装置12的外置的电路部实现。

[0035] 计算部202执行以下计算,将从信号获取部201输出的各通道的数字值DN转换为以入射于各通道的现实的光子(光子)的数为准的指标(解析评价值)即假想光子数(光子数)。在此,在说明计算部202的计算功能之前,说明由本申请的发明人等研究的信号光的强度及噪声的理论模型。

[0036] 根据所研究的理论模型,强度信号的平均值A_S[DN:数字值]及强度信号的噪声σ_{this}(标准偏差)[DN rms]由下述式(1)及下述式(2)表示。

[0037] [数学式1]

[0038] $$A_s = A_o + C*G*(D+Q_B*B+Q_S*S) \quad (1)$$

[0039] [数学式2]

[0040] $$\sigma_{this} = \sqrt{(\sigma_C)^2 + \left(C*\sqrt{F}*G*\sqrt{D+Q_B*B}\right)^2 + \left(C*\sqrt{F}*G*\sqrt{Q_S*S}\right)^2 + (C*\rho*G*Q_S*S)^2} \quad (2)$$

[0041] 在此,上述式中的参数中、主要涉及期待值的参数以大写字母的字母表示,主要涉及噪声的参数以小写字母的希腊文字表示。σ_C表示在流式细胞仪系统1内从各通道的光电倍增管的输出至数据处理装置12的信号获取部201之间,担任传递强度信号并至转换为数字值的功能的电路(以下,简称为“A/D转换用电路”。)所产生的噪声[DN rms],C表示数字值DN相对于由A/D转换用电路中的光电倍增管输出的电子数的转换系数[DN/e],F是表示具有倍增机构的光电倍增管具有的倍增波动的程度的指数(过剩噪声系数),G是光电倍增管具有的倍增率(增益)、即输出电子数相对于输入电子数的比率[e/e],D是光电倍增管所具有的暗电流的有效电子数期待值[e]。有效值是指,从光电倍增管输出的强度信号去除在统计计算上能够忽视的成分而算出的值(以下相同)。另外,Q_B表示与入射于光电倍增管的背景光的波长谱对应的、从光电倍增管的光子向电子的转换效率(背景光的量子效率)[e/photon],B表示入射于光电倍增管的背景光的入射光量中的以假想光子数为准的指标的期待值(背景光的假想光子数期待值)[photon]。“假想光子数”是指,保持定量性并相对性地表示现实的光子数的值(以下相同)。另外,Q_S表示与入射于光电倍增管的信号光的波长谱对应的、从光电倍增管的光子向电子的转换效率(信号光的量子效率)[e/photon],S表示入射于光电倍增管的信号光的入射光量的光子数为准的指标的期待值(信号光的假想光子数期待值)[photon],ρ是通过相对于信号光量期待值的比率表示由激光光源7或试样流体等引起的、在向光电倍增管入射之前产生的信号光的偏差程度的值(光源及试样侧的偏差率),A_0是表示A/D转换用电路所具有的固有的偏移(offset)的值(偏移)[DN]。

[0042] 此外,在上述式(1)、(2)中,Q_B＊B表示入射于光电倍增管的背景光的有效光电子数[e],Q_S＊S表示入射于光电倍增管的信号光的有效光电子数[e]。这些值在上述式(1)、(2)中与暗电流的有效电子数期待值D并列,作为研究这些的理论模型中的基轴物理量而处理。这里所说的有效光电子数是指,从在光电倍增管中根据入射的光从光电转换部释放的光电子的数量中去除在统计计算上能够忽视的成分而算出的值(以下相同)。

[0043] 作为光源及试样侧的偏差率ρ的值的变化的主要原因,主要存在基于向在流式细胞仪系统1的流动池6内的通道5中流动的细胞等分析对象物的激光的照射方式的偏差、以及在每个分析对象物产生的偏差。基于激光的照射方式的偏差包含:激光向通道5的照射方式的偏差、以及在通道5内流动的分析对象物的空间上的偏差。另外,对每个分析对象物的偏差包含:分析对象物的大小的偏差、以及成为存在于分析对象物内的测定对象的分子或分子结构的含有率的偏差。实际上影响偏差率ρ的主要原因可列举:激光光源7其本身的经时的光量的偏差、基于激光向通道5的照射方式的偏差、通道5内的流速的经时的偏差、通道5内的分析对象物的空间上的偏差、分析对象物的大小的偏差、存在于分析对象物内的分子

或分子结构的含有率的偏差、存在于分析对象物内的分子或分子结构的空间上的偏差、分子或分子结构物和染色荧光的结合率的偏差、染色荧光的发光效率的偏差、由在通道5中流动的分析对象物以外的异物产生的偏差等。

[0044] 在上述式(2)中,平方根内的第一项及第二项是不依赖于信号光的假想光子数期待值即参数S、主要根据包含A/D转换用电路的噪声的电路噪声或背景光和暗电流而变化的项,平方根内的第三项是依赖于参数S的平方根$S^{1/2}$,且主要根据在从光子向电子的转换过程中产生的噪声(散粒噪声)而变化的项,平方根内的第四项是依赖于参数S,且主要根据光源及试样侧的偏差而变化的项。根据该式可知,在信号光的强度较低的情况下,如果考虑第一项~第三项的影响,则能够评价强度信号的噪声的倾向,在信号光的强度高的情况下,如果不也参考第四项的影响,则不能评价强度信号的噪声的倾向。

[0045] 上述的每个通道的参数中已知的转换系数C、增益G、及信号光的量子效率Q_S由用户输入数据处理装置12中,并预先存储于RAM102等内部的记录介质。计算部202利用与各通道相关地存储的参数,如下计算与在各通道中检测的信号光对应的假想光子数。

[0046] 即,计算部202在停止基于流式细胞术的检测,不向光电倍增管入射信号光的状态下,获取多个事件(event)量的从光电倍增管输出的强度信号(输出电流信号)的数字值DN,计算及获取数字值DN的平均值(第一平均值)$A_{S=0}$及标准偏差(第二噪声值)$\sigma_{S=0}$。计算的平均值$A_{S=0}$及标准偏差$\sigma_{S=0}$,如果应用式(1)及式(2)的理论式,则近似于下述式(3)及下述式(4)所示那样的值。

[0047] [数学式3]

[0048] $$\sigma_{S=0} = \sqrt{(\sigma_C)^2 + \left(C * \sqrt{F} * G * \sqrt{D + Q_B * B}\right)^2} \quad (3)$$

[0049] [数学式4]

[0050] $A_S = 0 = A_0 + C*G*(D+Q_B*B)$ (4)

[0051] 而且,计算部202将计算的参数$A_{S=0}$、$\sigma_{S=0}$存储于内部的记录介质中。

[0052] 另外,计算部202,通过将激光的强度变更为规定强度、使用成为适当的发光光量的珠子(bead)或染色荧光体、或在流式细胞仪侧搭载校正用光源等方法,在信号光的强度充分大的状态下,以测定对象的试样流体为对象开始基于流式细胞术的检测,获取多个事件量的从光电倍增管输出的强度信号(输出电流信号)的数字值DN,并计算及获取数字值DN的平均值(第二平均值)$A_{S>>H}$及标准偏差(第三噪声值)$\sigma_{S>>H}$。上述激光的强度、珠子、染色荧光体、或校正用光源根据分析对象物所发出的光量的上限值、或信号处理电路的输入上限电压等而确定。计算的标准偏差$\sigma_{S>>H}$及平均值$A_{S>>H}$,如果应用式(1)及式(2)的理论式,则近似于下述式(5)及下述式(6)所示那样的值。因此,计算部202能够基于平均值$A_{S>>H}$及标准偏差$\sigma_{S>>H}$,使用下述式(7),计算偏差率ρ。

[0053] [数学式5]

[0054] $$\sigma_{S \gg H} = \sqrt{(C * \rho * G * Q_S * S)^2} \quad (5)$$

[0055] [数学式6]

[0056] $A_{S>>H} = C*g*Q_S*S$ (6)

[0057] [数学式7]

[0058] $$\rho = \frac{\sigma_{S \gg H}}{A_{S \gg H}} \quad (7)$$

[0059] 而且,计算部202将所计算的参数ρ存储于内部的记录介质中。

[0060] 另外,计算部202,通过将激光的强度变更为两种、再次使用成为适当的发光光量的两种珠子或染色荧光体、向流式细胞仪侧搭载发出两种光量的校正用光源、或使用ND滤光器对光量充分大的状态进行减光等,在将信号光的强度变更为高低两种的状态的各个状态下,以测定对象的试样流体为对象开始基于流式细胞术的检测,在各个状态下获取多个事件量的从光电倍增管输出的强度信号(输出电流信号)的数字值DN。进而,计算部202计算及获取:向光电倍增管的入射光量高的情况下的数字值DN的平均值A_H及标准偏差σ_H、以及向光电倍增管的入射光量低的情况下的数字值DN的平均值A_L及标准偏差σ_L。另外,计算部202基于平均值A_H、A_L、标准偏差σ_H、σ_L、及平均值$A_{S=0}$,使用下述式(8)计算过剩噪声系数F。

[0061] [数学式8]

[0062] $$F = \left\{ \frac{{\sigma_H}^2 - {\sigma_L}^2}{A_H - A_L} - \rho^2 * (A_H + A_L - 2 * A_{S=0}) \right\} * \frac{1}{C * G} \quad (8)$$

[0063] 并且,计算部202将计算的参数F存储于内部的记录介质。

[0064] 参照上述那样存储的每个通道的参数,计算部202,在将激光的强度设定为适于测定的规定值的状态下,开始测定对象的试样流体的基于流式细胞术的检测,获取从各通道的光电倍增管输出的强度信号(第一电流信号)的数字值DN。进而,计算部202参照存储的各通道的参数,计算下述式(9),从而从数字值DN表示的强度信号的平均值A_S导出假想光子数S。

[0065] [数学式9]

[0066] $$S = \frac{A_S - \{A_0 + C * G * (D + Q_B * B)\}}{C * G * Q_S} = \frac{A_S - A_{S=0}}{C * G * Q_S} \quad (9)$$

[0067] 即,计算部202从强度信号的平均值A_S减去平均值$A_{S=0}$,将减法所得的值除以转换系数C、增益G、及信号光的量子效率Q_S,计算入射于光电倍增管的信号光的假想光子数S。

[0068] 另外,计算部202通过参照上述那样计算的假想光子数S、和存储的各通道的参数,来导出数字值DN表示的强度信号的标准偏差(第一噪声值)σ_{this}。详细而言,计算部202利用下述式(10),对标准偏差$\sigma_{S=0}$的平方值相加由转换系数C、增益G、信号光的量子效率Q_S、偏差率ρ、过剩噪声系数F、及假想光子数S计算的值,并求得相加得到的值的平方根,从而计算标准偏差(第一噪声值)σ_{this}。然后,计算部202通过将该标准偏差σ_{this}除以转换系数C、增益G、及信号光的量子效率Q_S,能够将标准偏差σ_{this}[DN rms]转换为换算成假想光子数的标准偏差σ_{this}[photon rms]。

[0069] [数学式10]

[0070] $$\sigma_{this} = \sqrt{\left\{ \sqrt{(\sigma_C)^2 + \left(C * \sqrt{F} * G * \sqrt{D + Q_B * B}\right)^2} \right\}^2 + C^2 * G^2 * Q_S * (F * S + \rho^2 * Qs * S^2)}$$

$$= \sqrt{{\sigma_{S=0}}^2 + C^2 * G^2 * Q_S * (F * S + \rho^2 * Qs * S^2)} \quad (10)$$

[0071] 解析部203,基于由计算部202计算的每个通道的假想光子数S及每个通道的标准偏差σ_{this}的数据,执行数据解析。具体而言,基于多个通道的假想光子数S生成直方图及散点图,并将这些输出到输入输出设备。另外,解析部203以生成的散点图为对象进行选通处理,划定不同的分析对象物的集团的边界。进而,解析部203也能够通过控制流体系统2,基于分析对象物的集团的边界,执行对集团进行分类及分配的分选处理。

[0072] 图4及图5是表示在由解析部203进行的数据解析中生成及输出的散点图的例子的图表。在图4中表示绘制有与抗体A对应的荧光通道的假想光子数和与抗体B对应的荧光通道的假想光子数的关系的散点图,以实现表示通过选通处理划定的边界。这样,通过选通处理计算及输出检测对象的整体的分析对象物中的集团的比例,输出抗体A及抗体B双方为阴性的集团的比例“36.6%”、仅抗体B为阳性的集团的比例“34.7%”、仅抗体A为阳性的集团的比例“27.7%”、抗体A,B双方为阳性的比例“1.05%”。在图5中表示绘制有使用了荧光色素Cy5的荧光通道的假想光子数和使用了荧光色素TR的荧光通道的假想光子数的关系的散点图。这样,能够在通过选通处理划定集团的边界时,自动划定以集团的假想光子数的平均值S为中心的、由与该平均值S对应的标准偏差σ_{this}确定的选通(gate)区间的范围W的边界。由标准偏差σ_{this}确定的范围W例如设定为假想光子数为$S\pm3\times\sigma_{this}$的范围。

[0073] 接着,参照图6及图7说明使用了流式细胞仪系统1的光电倍增管的输出信号的处理方法的顺序。在图6中表示由流式细胞仪系统1进行的每个通道的参数的事前准备的处理,在图7中表示以试样流体为对象的基于流式细胞术的分析处理。

[0074] 首先,参照图6,由用户将每个通道的参数中已知的转换系数C、增益G、及信号光的量子效率Q_S输入数据处理装置12(步骤S101)。然后,在流式细胞仪系统1中不对各通道入射信号光的状态下,通过数据处理装置12获取多个事件量的各通道的数字值DN的数据(步骤S102)。这样,在数据处理装置12,获取及保存各通道的参数$A_{S=0}$、$\sigma_{S=0}$(步骤S103)。

[0075] 接着,通过在流式细胞仪系统1中将激光变更为规定强度、使用成为适当的发光光量的珠子或染色荧光体、或在流式细胞仪侧搭载校正用光源等方法,在信号光的强度充分大的状态下,通过数据处理装置12,以测定对象的试样流体为对象检测信号光,从而获取多个事件量的各通道的数字值DN的数据(步骤S104)。这样,在数据处理装置12中,获取及保存各通道的参数ρ(步骤S105)。

[0076] 进而,进行在流式细胞仪系统1中将激光的强度变更为两种、使用成为适当的发光光量的两种珠子或荧光色素、使用两种光量的校正用光源、或从充分亮的状态使用两种ND滤光器等,在将信号光的强度变更为高低两种的状态下,在数据处理装置12中,以测定对象的试样流体为对象检测信号光,从而获取多个事件量的各通道的数字值DN的数据(步骤S106)。这样,在数据处理装置12中,获取及保存各通道的参数F(步骤S107)。通过以上,事前准备处理完成。

[0077] 参照图7,在流式细胞仪系统1中将激光的强度设定为适于测定的规定值的状态下,开始测定对象的试样流体的基于流式细胞术的检测,据此,通过数据处理装置12获取各通道的数字值DN的数据(步骤S201)。接着,在数据处理装置12中,使用各通道的数字值DN,生成各通道的直方图、及散点图(步骤S202)。此时,通过数据处理装置12,参照存储的各通道的参数$A_{S=0}$、$\sigma_{S=0}$、ρ、F,将各通道的数字值DN转换为假想光子数S,并且计算与假想光子数S对应的标准偏差σ_{this}(步骤S203)。

[0078] 然后,通过数据处理装置12,对生成的直方图及散点图,实施使用了计算的假想光子数S及标准偏差σ_{this}的选通处理(步骤S204)。然后,通过数据处理装置12,基于选通处理的结果,进行直方图及散点图中所示的数据中的分析对象物的集团(目标集团)的分类划分(步骤S205)。

[0079] 接着,在数据处理装置12中设定为执行分选的情况下(步骤S206;是),通过数据处理装置12,控制为对分类划分的目标集团进行分选(S207)。另一个方面,在数据处理装置12中设定为不执行分选的情况下(步骤S206;否),通过数据处理装置12,对分类划分的目标集团进行相对于整体的比例的计算等数据解析处理(S208)。

[0080] 对以上说明的实施方式的流式细胞仪系统1的作用效果进行说明。

[0081] 在本实施方式的流式细胞仪系统1中,通过光电倍增管11a、11b、11c、11d检测在各通道中产生的信号光而获取强度信号,根据该强度信号的数字值DN计算入射于光电倍增管11a、11b、11c、11d的信号光的假想光子数S,基于计算的信号光的假想光子数S执行数据解析。其结果,能够定量地解析信号光,能够降低基于流式细胞术的分析结果的偏差。特别地,在本实施方式中,使用假想光子数作为解析评价值,因此,也能够降低不同的装置间的基于流式细胞术的分析结果的偏差。

[0082] 另外,本实施方式的数据处理装置12,作为数据解析,执行划定解析对象的集团的边界的选通处理。由此,能够基于定量的信号光的强度信息进行选通处理,能够提高解析对象的集团鉴定的精度。

[0083] 进而,在本实施方式的数据处理装置12中,根据计算的信号光的假想光子数S计算相当于该假想光子数S中所含的噪声的标准偏差σ_{this},在选通处理中使用该标准偏差σ_{this}设定选通区间。由此,能够进一步提高解析对象的集团鉴定的精度。

[0084] 进而,本实施方式的数据处理装置12获取在流式细胞仪系统1中不入射信号光的情况下的光电倍增管11a、11b、11c、11d的强度信号的数字值DN的平均值$A_{S=0}$,使用减去了平均值$A_{S=0}$的平均值A_S,计算信号光的假想光子数S。这样,能够去除背景光及暗电流的影响地计算信号光的假想光子数S。其结果,能够提高基于流式细胞术的分析结果的可靠性。

[0085] 另外,本实施方式的数据处理装置12获取在流式细胞仪系统1中不入射信号光的情况下的光电倍增管11a、11b、11c、11d的强度信号的数字值DN的标准偏差$\sigma_{S=0}$,进一步使用标准偏差$\sigma_{S=0}$,计算标准偏差σ_{this}。这样,能够考虑背景光及暗电流的影响地计算信号光的假想光子数的噪声成分。其结果,能够进一步提高解析对象的集团鉴定的精度。

[0086] 另外,本实施方式的数据处理装置12获取在流式细胞仪系统1中基于与规定强度的激光对应的信号光的光电倍增管11a、11b、11c、11d的强度信号的数字值DN的平均值$A_{S\gg H}$、和该数字值DN的标准偏差$\sigma_{S\gg H}$,进一步使用平均值$A_{S\gg H}$及标准偏差$\sigma_{S\gg H}$,计算标准偏差σ_{this}。如果采用上述的结构,则能够考虑光源的特性及解析对象的偏差地计算信号光的假想光子数的噪声成分。其结果,能够进一步提高解析对象的集团鉴定的精度。

[0087] 图8是表示在基于现有的流式细胞术的数据解析中、由一个系统生成及输出的散点图的例子的图表,图9是表示在基于现有的流式细胞术的数据解析中、由另一系统生成及输出的散点图的例子的图表。这样,即使在将包含相同的分析对象物的试样流体设为对象的情况下,在两个系统中基于数据解析的集团的比率也不同地计算。例如,抗体A、B双方为阳性的比例,在一个系统中计算为“0.78%”,在另一系统中计算为“10.1%”,通过两者计算

的比率被计算成差异较大的值。这是由于系统中所含的装置的特性的偏差、由系统的操作员引起的装置的调整程度的偏差等。根据本实施方式,能够可靠地降低这种偏差引起的分析结果的偏差。

[0088] 以上,说明了本发明的各种实施方式,但本发明不限定于上述实施方式,也可以在不变更各权利要求所记载的宗旨的范围内变形、或应用于其它的方式。

[0089] 例如,散点图中的选通处理不限于基于电子系统4的自动设定,也可以通过作业者的输入而设定,也可以通过作业者的输入来调整自动设定的处理。另外,实施方式的光电倍增管不仅具备倍增极或电子收集电极即阳极,还可以是由半导体元件倍增及检测从光电转换部放出的光电子的HPD(Hybrid Photo Detector,混合光电探测器)。

[0090] 另外,作为第一变形例,数据处理装置12也可以,作为解析评价值,使用有效光电子数(光电子数)代替假想光子数。在该情况下,作为信号光的强度及噪声的理论模型,可应用由下述式(11)及下述式(12)表示的理论模型。

[0091] [数学式11]

[0092] $A_s = A_o + C*G*(E_D + E_B + E_S)$ (11)

[0093] [数学式12]

[0094] $$\sigma_{this} = \sqrt{(\sigma_C)^2 + \left(C*\sqrt{F}*G*\sqrt{E_D+E_B}\right)^2 + \left(C*\sqrt{F}*G*\sqrt{E_S}\right)^2 + (C*\rho*G*E_S)^2} \quad (12)$$

[0095] 在第一变形例中,计算部202与上述实施方式相同,作为暗电流的有效电子数期待值E_D、背景光的有效光电子数E_B、有效光电子数期待值ES,计算参数$A_{ES=0}$、$\sigma_{ES=0}$、偏差率ρ、参数F并存储于内部的存储介质。而且,计算部202在开始测定对象的试样流体的检测时,基于获取的数字值DN计算下述式(13),从而从数字值DN表示的强度信号的平均值A_S导出有效光电子数E_S。

[0096] [数学式13]

[0097] $$E_S = \frac{A_S - \{A_0 + C*G*(E_D+E_B)\}}{C*G} = \frac{A_S - A_{ES=0}}{C*G} \quad (13)$$

[0098] 进而,计算部202通过在下述式(14)中应用计算的有效光电子数E_S、存储的参数$\sigma_{ES=0}$、F及偏差率ρ,来计算标准偏差σ_{this}。

[0099] [数学式14]

[0100] $$\sigma_{this} = \sqrt{\left\{\sqrt{(\sigma_C)^2 + \left(C*\sqrt{F}*G*\sqrt{E_D+E_B}\right)^2}\right\}^2 + C^2*G^2*(F*Es + \rho^2*Es^2)}$$
$$= \sqrt{{\sigma_{ES=0}}^2 + C^2*G^2*(F*Es + \rho^2*Es^2)} \quad (14)$$

[0101] 然后,计算部202能够通过将该标准偏差σ_{this}除以转换系数C及增益G,来将标准偏差σ_{this}[DN rms]转换为换算成有效光电子数的标准偏差σ_{this}[e rms]。

[0102] 通过第一变形例,也能够进行使用了计算的有效光电子数E_S及标准偏差σ_{this}的选通处理等数据解析,能够定量地解析信号光,能够降低基于流式细胞术的分析结果的偏差。

[0103] 另外,作为第二变形例,数据处理装置12也可以使用其它的理论模型作为信号光

的强度及噪声的理论模型,计算多个光电倍增管11a、11b、11c、11d的各通道的强度信号的平均值及噪声。例如,在该第二变形例中,通过两个光电倍增管11c、11d,测定来自分析对象物中所含的多种荧光体的多个颜色的荧光的强度,基于光电倍增管11c、11d的两个通道的数字值执行数据解析处理。在于两个通道测定多个颜色的荧光的情况下,可产生荧光从一通道向另一通道的泄漏。因此,在第二变形例中,采用考虑了荧光泄漏的理论模型来执行数据解析。以下,对第二变形例的由数据处理装置12进行的数据解析处理的详情与理论模型一起进行说明。

[0104] 在数据处理装置12中,关于来自与光电倍增管11c的通道(X轴)对应的分析对象物内的染色荧光体U的第一波段的荧光的强度的期待值X[DN]、和来自与光电倍增管11d的通道(Y轴)对应的染色荧光体V的第二波段的荧光的强度的期待值Y[DN],可应用由下述式(15)及下述式(16)表示的理论模型。

[0105] [数学式15]

[0106]
$$X = X_o + CG_XQ_X\langle S_U\rangle + CG_XQ_XR_{V\to X}\langle S_V\rangle \pm \left\{\sqrt{(\sigma_{cX})^2 + \left(CG_X\sqrt{F_X}\sqrt{Q_X\langle S_U\rangle}\right)^2 + \left(CG_X\sqrt{F_X}\sqrt{Q_XR_{V\to X}\langle S_V\rangle}\right)^2} \right.$$
$$\left. \overline{+(CG_XQ_X\rho_{U\mathrm{I}}\langle S_U\rangle)^2 + (CG_XQ_XR_{V\to X}\rho_{V\mathrm{I}}\langle S_V\rangle)^2}\right\}$$
$$\pm\sqrt{(CG_X\widehat{Q_X\rho_{U\mathrm{r}}}\langle S_U\rangle)^2} \pm \sqrt{(CG_XQ_X\widehat{R_{V\to X}}\rho_{V\mathrm{r}}\langle S_V\rangle)^2} \quad (15)$$

[0107] [数学式16]

[0108]
$$Y = Y_o + CG_YQ_YR_{U\to Y}\langle S_U\rangle + CG_YQ_Y\langle S_V\rangle \pm \left\{\sqrt{(\sigma_{cY})^2 + \left(CG_Y\sqrt{F_Y}\sqrt{Q_YR_{U\to Y}\langle S_U\rangle}\right)^2 + \left(CG_Y\sqrt{F_Y}\sqrt{Q_Y\langle S_V\rangle}\right)^2} \right.$$
$$\left. \overline{+(CG_YQ_YR_{U\to Y}\rho_{U\mathrm{I}}\langle S_U\rangle)^2 + (CG_YQ_Y\rho_{V\mathrm{I}}\langle S_V\rangle)^2}\right\}$$
$$\pm\sqrt{(CG_Y\widehat{Q_YR_{U\to Y}}\rho_{U\mathrm{r}}\langle S_U\rangle)^2} \pm \sqrt{(CG_Y\widehat{Q_Y\rho_{V\mathrm{r}}}\langle S_V\rangle)^2} \quad (16)$$

[0109] 此外,在上述式(15)、(16)中,X_0为包含X轴上的暗电流成分及背景光成分的偏移[DN],Y_0为包含Y轴上的暗电流成分及背景光成分的偏移[DN],G_X为向X轴输出强度信号的光电倍增管的增益[e/e],G_Y为向Y轴输出强度信号的光电倍增管的增益[e/e],Q_X为向X轴输出强度信号的光电倍增管的从光子向电子的转换效率[e/photon],Q_Y为向Y轴输出强度信号的光电倍增管的从光子向电子的转换效率[e/photon],$\langle S_U\rangle$表示与从染色荧光体U发出、且入射于向X轴输出强度信号的光电倍增管的信号光的波长谱对应的指标的期待值(信号光的假想光子数期待值)[photon],$\langle S_V\rangle$表示与从染色荧光体V发出、且入射于向Y轴输出强度信号的光电倍增管的信号光的波长谱对应的指标的期待值(信号光的假想光子数期待值)[photon],$R_{V\to X}$表示从染色荧光体V发出、向X轴输出强度信号的光电倍增管中信号光泄漏的比例[photon/photon],$R_{U\to Y}$表示从染色荧光体U发出、向Y轴输出强度信号的光电倍增管中信号光泄漏的比例[photon/photon]。

[0110] 另外,在上述式(15)、(16)中,σ_{cX}表示X轴的强度信号中的读出噪声(包含电路产生的噪声、暗电流·背景光的散粒噪声成分)[DN rms],σ_{cY}表示Y轴的强度信号中的读出噪声(包含电路产生的噪声、暗电流·背景光的散粒噪声成分)[DN rms],F_X是向X轴输出强度信

号的光电倍增管的过剩噪声系数,F_Y是向Y轴输出强度信号的光电倍增管的过剩噪声系数,ρ_{Ui}表示在染色荧光体U相关的测定中、向X轴输出强度信号的光电倍增管的输出和向Y轴输出强度信号的光电倍增管的输出互不影响(独立)的偏差程度,ρ_{Ur}表示在染色荧光体U相关的测定中、向X轴输出强度信号的光电倍增管的输出和向Y轴输出强度信号的光电倍增管的输出相互影响(相关)的偏差程度,ρ_{Vi}表示在染色荧光体V相关的测定中、向X轴输出强度信号的光电倍增管的输出和向Y轴输出强度信号的光电倍增管的输出互不影响(独立)的偏差程度,ρ_{Vr}表示在染色荧光体V相关的测定中、向X轴输出强度信号的光电倍增管的输出和向Y轴输出强度信号的光电倍增管的输出相互影响(相关)的偏差程度。

[0111] 在上述式(15)、(16)中,从右边的第一项至第三项表示强度信号的平均值[DN],与式(1)不同,将暗电流和背景光的影响包含于偏移中地进行评价。另外,式(15)的右边的第四项以后表示强度信号的噪声,与式(2)不同,将暗电流和背景光的影响包含于电路噪声中地进行评价。强度信号的噪声中下述式;

[0112] [数学式17]

[0113] $(\sigma_{cX})^2$

[0114] 的项表示自己的通道中的读出噪声。强度信号的噪声中下述式;

[0115] [数学式18]

[0116] $\left(CG_X\sqrt{F_X}\sqrt{Q_X\langle S_U\rangle}\right)^2$

[0117] 的项表示自己的通道中的散粒噪声,下述式;

[0118] [数学式19]

[0119] $\left(CG_X\sqrt{F_X}\sqrt{Q_XR_{V\to X}\langle S_V\rangle}\right)^2$

[0120] 的项表示来自另一通道的散粒噪声。

[0121] 上述强度信号的噪声中下述式;

[0122] [数学式20]

[0123] $(CG_XQ_X\rho_{Ui}\langle S_U\rangle)^2$

[0124] 的项是反映了自己的通道中的检测对象的信号光的假想光子数期待值、及自己的通道的光电倍增管的增益的、因自己的通道的信号光而引起的自己的独立系噪声(依赖于光源及试样侧的偏差)。独立系噪声是指,两个通道的强度信号的偏差方(程度及方向)彼此独立那样的成分的噪声。另外,强度信号的噪声中下述式;

[0125] [数学式21]

[0126] $(CG_XQ_XR_{V\to X}\rho_{Vi}\langle S_V\rangle)^2$

[0127] 的项是反映了另一通道中的检测对象的信号光中向自己的通道的光电倍增管泄漏的信号光的假想光子数期待值、及自己的通道的光电倍增管的增益的、因另一通道的信号光而引起的其它的独立系噪声(依赖于光源及试样侧的偏差)。强度信号的噪声中下述式;

[0128] [数学式22]

[0129] $(CG_X\widetilde{Q_X\rho_{Ur}}\langle S_U\rangle)^2$

[0130] 的项是反映了自己的通道中的检测对象的信号光的假想光子数期待值、及自己的

通道的光电倍增管的增益的、因自己的通道的信号光和另一通道的信号光之间的相关而引起的自己的相关系噪声(依赖于光源及试样侧的偏差)。相关系噪声是指,两个通道的强度信号的偏差方(程度及方向)彼此相关那样的成分的噪声。该式中的“^”的标记表示因通道间的相关而引起的相关系噪声。强度信号的噪声中下述式;

[0131] [数学式23]

[0132] $$(CG_X Q_X \widehat{R_{V\to X}} \rho_{Vr}(S_V))^2$$

[0133] 的项是反映了另一通道中的检测对象的信号光的假想光子数期待值、及自己的通道的光电倍增管的增益的、因自己的通道的信号光和另一通道的信号光之间的相关而引起的其它的相关系噪声(依赖于光源及试样侧的偏差)。该式中的“^”的标记也表示因通道间的相关而引起的相关系噪声。式(16)的右边的第四项以后也包含相同的噪声的项。

[0134] 与上述实施方式相同,数据处理装置12的计算部202获取:不向各通道的光电倍增管入射信号光的情况下的强度信号、各通道的信号光的强度充分大的情况下的强度信号、高低变更各通道的信号光的强度的情况下的强度信号等。而且,计算部202参照获取的强度信号,计算及存储上述式(15)及上述式(16)中的各参数。此时,独立系噪声及相关系噪声以外的项的参数能够与上述的实施方式相同地计算,独立系噪声及相关系噪声的项的参数,能够通过在使各荧光体发光的状态下在两个通道中进行测定,其结果,使得到的强度信号在上述式(15)、(16)中联立从而进行计算。进而,计算部202能够基于在开始基于流式细胞术的检测时从各通道输出的强度信号,使用所存储的参数,导出各通道的假想光子数(或有效光电子数)及其标准偏差(第一噪声值)。数据处理装置12的解析部203能够使用由计算部202计算的假想光子数(或有效光电子数)及标准偏差,执行与上述实施方式相同的数据解析。

[0135] 根据以上说明的第二变形例,能够高精度地预测因自己的通道中的光电倍增管的检测对象的信号光的偏差而引起的解析评价值的噪声值。其结果,能够通过数据解析定量地解析信号光。特别地,在使用多个通道测定多个颜色的荧光的强度时,噪声值的预测精度提高。另外,即使在将单色的信号光设为测定对象的情况下,在强度信号中也包含由于上述那样的各种主要原因(由激光的照射方式产生的偏差、分析对象物的大小的偏差、分析对象物的结构的偏差等)而产生的偏差。如本变形例,通过分为独立系噪声及相关系噪声并进行评价,能够划分这些主要原因并预测噪声。进而,也能够划分噪声的主要原因并进行评价,在进行为了减小噪声值的改良(装置的改良、荧光体的改良等)时,能够有效地进行改良。例如,在评价为相关系噪声的成分为0.25时,如果知道由激光的照射方式产生的偏差的相关系噪声的成分为0.05程度,则能够以相当大的比例推测:以分析对象物为主要原因的偏差的成分为问题。在该情况下,能够推测:通过提高荧光体的结合效率,能够有效地降低噪声值。

[0136] 另外,第二变形例的数据处理装置12,也可以以一个通道的信号强度及另一通道的信号强度为对象,实施被称为补偿(Compensation)的信号校正处理。补偿是以一通道的信号强度为对象减去从另一通道泄漏的量,并以仅反映来自目标荧光体的信号光的方式校正的处理。

[0137] 数据处理装置12的计算部202如下执行补偿。即,计算部202使用下述式;

[0138] [数学式24]

[0139] $Comp[X]=X-R_{V\to X}'Y$

[0140] ,将在一通道中获取的强度信号X转换为校正值Comp[X]。在此,系数$R_{V\to X}'$是以下述式;

[0141] [数学式25]

[0142] $$\frac{G_X Q_X}{G_Y Q_Y} R_{V\to X} = R_{V\to X}'$$

[0143] 表示的系数。该系数$R_{V\to X}'$能够通过如下获取,仅通过染色荧光体V的发光进行基于流式细胞术的检测,将X轴的强度信号的期待值除以Y轴的强度信号的期待值。然后,计算部202能够基于在开始基于流式细胞术的检测时从X轴的通道输出的强度信号,导出校正值Comp[X]。

[0144] 同样,计算部202使用下述式;

[0145] [数学式26]

[0146] $Comp[Y]=Y-R_{U\to Y}'X$

[0147] ,将在另一通道中获取的强度信号Y转换为校正值Comp[Y]。在此,系数$R_{U\to Y}'$是以下述式;

[0148] [数学式27]

[0149] $$\frac{G_Y Q_Y}{G_X Q_X} R_{U\to Y} = R_{U\to Y}'$$

[0150] 表示的系数。该系数$R_{U\to Y}'$能够通过如下获取,仅通过染色荧光体U的发光进行基于流式细胞术的检测,将Y轴的强度信号的期待值除以X轴的强度信号的期待值。然后,计算部202能够基于在开始基于流式细胞术的检测时从Y轴的通道输出的强度信号,导出校正值Comp[Y]。

[0151] 在通过补偿校正强度信号的情况下,在数据处理装置12中,关于强度信号Comp[X]及强度信号Comp[Y],可应用由下述式(17)及下述式(18)表示的理论模型。

[0152] [数学式28]

[0153] $$\begin{aligned}Comp[X] = X_o - \left(\frac{G_X Q_X}{G_Y Q_Y} R_{V\to X}\right) Y_o + (1 - R_{V\to X} R_{U\to Y}) C G_X Q_X \langle S_U \rangle \\ \pm \left\{ \sqrt{(\sigma_{cX})^2 + \left(\frac{G_X Q_X}{G_Y Q_Y} R_{V\to X}\right)^2 (\sigma_{cY})^2} \right. \\ + \left\{ (G_X)^2 F_X Q_X + (G_X R_{V\to X})^2 F_Y \frac{(Q_X)^2}{Q_Y} R_{U\to Y} \right\} \left(C\sqrt{\langle S_U \rangle}\right)^2 \\ + \left\{ (G_X)^2 F_X Q_X R_{V\to X} + (G_X R_{V\to X})^2 F_Y \frac{(Q_X)^2}{Q_Y} \right\} \left(C\sqrt{\langle S_V \rangle}\right)^2 \\ + \{(G_X Q_X)^2 + (G_X Q_X R_{V\to X} R_{U\to Y})^2\} (C\rho_{U_1} \langle S_U \rangle)^2 \\ \left. + \{2(G_X Q_X R_{V\to X})^2\} (C\rho_{V_1} \langle S_V \rangle)^2 \} \right\} \\ \pm \sqrt{\{G_X Q_X - G_X Q_X R_{V\to X} R_{U\to Y}\}^2 (C\widetilde{\rho_{Ur}\langle S_U \rangle})^2} \end{aligned} \qquad (17)$$

[0154] [数学式29]

$$\mathrm{Comp[Y]} = Y_o - \left(\frac{G_Y Q_Y}{G_X Q_X} R_{U\to Y}\right) X_o + (1 - R_{V\to X} R_{U\to Y}) C G_Y Q_Y \langle S_V \rangle$$

$$\pm \left\{ \sqrt{(\sigma_{cY})^2 + \left(\frac{G_Y Q_Y}{G_X Q_X} R_{U\to Y}\right)^2 (\sigma_{cX})^2} \right.$$

[0155]
$$\left. \begin{array}{l} + \left\{ (G_Y)^2 F_Y Q_Y R_{U\to Y} + (G_Y R_{U\to Y})^2 F_X \dfrac{(Q_Y)^2}{Q_X} \right\} \left(C\sqrt{\langle S_U \rangle} \right)^2 \\ + \left\{ (G_Y)^2 F_Y Q_Y + (G_Y R_{U\to Y})^2 F_X \dfrac{(Q_Y)^2}{Q_X} R_{V\to X} \right\} \left(C\sqrt{\langle S_V \rangle} \right)^2 \\ + \{2(G_Y Q_Y R_{U\to Y})^2\} (C\rho_{U_i} \langle S_U \rangle)^2 \\ + \{(G_Y Q_Y)^2 + (G_Y Q_Y R_{V\to X} R_{U\to Y})^2\} (C\rho_{V_i} \langle S_V \rangle)^2 \end{array} \right\}$$

$$\pm \sqrt{\{G_Y Q_Y - G_Y Q_Y R_{V\to X} R_{U\to Y}\}^2 (C\widehat{\rho_{Vr}\langle S_V \rangle})^2} \qquad (18)$$

[0156] 在上述式(17)、(18)中,从右边的第一项至第三项表示强度信号的平均值[DN],右边的第四项以后表示强度信号的噪声。上述式(17)的噪声中、

[0157] 下述式;

[0158] [数学式30]

[0159] $(\sigma_{cX})^2$

[0160] 的项表示自己的通道的读出噪声,下述式;

[0161] [数学式31]

[0162] $\left(\frac{G_X Q_X}{G_Y Q_Y} R_{V\to X}\right)^2 (\sigma_{cY})^2$

[0163] 的项表示另一通道的读出噪声。另外,上述式(17)的噪声中、下述式;

[0164] [数学式32]

[0165] $\left\{ (G_X)^2 F_X Q_X + (G_X R_{V\to X})^2 F_Y \frac{(Q_X)^2}{Q_Y} R_{U\to Y} \right\} \left(C\sqrt{\langle S_U \rangle} \right)^2$

[0166] 的项表示自己的通道的散粒噪声,下述式;

[0167] [数学式33]

[0168] $\left\{ (G_X)^2 F_X Q_X R_{V\to X} + (G_X R_{V\to X})^2 F_Y \frac{(Q_X)^2}{Q_Y} \right\} \left(C\sqrt{\langle S_V \rangle} \right)^2$

[0169] 的项表示来自另一通道的散粒噪声。

[0170] 上述强度信号的噪声中下述式;

[0171] [数学式34]

[0172] $\{(G_X Q_X)^2 + (G_X Q_X R_{V\to C} R_{U\to Y})^2\} (C\rho_{Ui} \langle S_U \rangle)^2$

[0173] 的项是自己的独立系噪声,下述式;

[0174] [数学式35]

[0175] $\{2(G_X Q_X R_{V\to X})^2\} (C\rho_{Vi} \langle S_V \rangle)^2$

[0176] 的项是另一独立系噪声,下述式;

[0177] [数学式36]

[0178] $$\{G_X Q_X - G_X Q_X R_{V\to X} R_{U\to Y}\}^2 (C\rho_{Ur}(\widehat{S_U}))^2$$

[0179] 的项是自己的相关系噪声。在式(17)的理论模型中,与式(15)的理论模型不同,包含另一通道的读出噪声,另一方面,不包含其它的相关系噪声。这反映出通过补偿另一通道的读出噪声混入校正值,另一方面,通过补偿抵消其它的相关系噪声。上述式(18)的噪声中也包含同样的独立系噪声及相关系噪声。

[0180] 数据处理装置12的计算部202能够应用由上述式(17)、(18)表示的理论模型,导出各通道的假想光子数(或有效光电子数)及其标准偏差。

[0181] 图10是表示通过由解析部203进行的数据解析而生成及输出的散点图的例子的图表,(a)部中表示不执行补偿情况下的图表,(b)中表示执行补偿的情况下的图表。在各个图表中绘制有:与来自染色荧光体U的荧光对应的通道(X轴)的强度信号和与来自染色荧光体V的荧光对应的通道(Y轴)的强度信号的关系。这样可知,在不执行补偿的情况下集中于一个部位的数据分布,通过补偿校正为分布区域变宽,能够进行将通道间的光的泄漏的影响排除的分布的评价。

[0182] 另外,对由第二变形例的数据处理装置12导出的强度信号的标准偏差的精度的评价例进行说明。在以分析对象物的试样流体为对象的两次测定中,通过数据处理装置12,使用从上述式(17)、(18)去除独立系噪声的项的理论模型,从强度信号导出标准偏差,各个测定的标准偏差为30.1、及338。这相对于从基于各个测定的散点图计算的实际的标准偏差90.8、962,误差变大。与之相对,可知:使用上述式(17)、(18)的理论模型导出标准偏差,各个标准偏差成为93.4、937,误差被抑制得小。

[0183] 在上述实施方式、第一变形例、及第二变形例的数据处理装置12中,获取的强度信号转换为光子数。各通道的强度信号的增益针对各通道的光电倍增管的个体差或各通道的检测条件而变化。其结果,即使光学系统3中所含的滤光器的特性一致,在保持测定多波段的光的多个通道的强度信号的值而进行评价的情况下,由于光电倍增管的个体差或检测条件等光谱形状也被零乱获取。与之相对,在上述实施方式、第一变形例、及第二变形例的数据处理装置12中,能够将各通道的强度信号转换为光子数并进行标准化地评价,不管各通道的光电倍增管的个体差或各通道的检测条件等,均能够精确地评价光谱形状。

[0184] 在第三变形例的数据处理装置12中,也可以构成为能够执行以下那样的数据解析。即,计算部202基于通过以新的未知的分析对象物为对象的测定而得到的强度信号的数据,计算假想光子数等解析评价值和其标准偏差(第一噪声值)。而且,解析部203能够将以数据的各个为对象的解析评价值及标准偏差的数据的组,使用机械学习来进行处理,或使用优化算法来进行处理,或用于测定结果的可靠度的评价处理。详细而言,解析部203使用加权最小二乘法作为机械学习或优化算法。由此,能够对数据点进行加权,使用标准偏差的倒数作为解析评价值的权重,从而能够进行依据根据理论模型而算出的妥当性的推定处理。在此,作为机械学习或优化算法,除了加权最小二乘法之外,解析部203可以进行正则化,也使用贝叶斯统计、使用内核法,也可以使用向量机、决策树、神经网络、集群链路(cluster link)等。

[0185] 在实施方式的第一方面及第二方面中,优选的是,解析评价值为光子数。在该情况下,也能够进一步降低基于流式细胞术的分析结果的装置间的偏差。

[0186] 另外,在上述第一方面及上述第二方面中,优选的是,数据解析包含划定解析对象的集团的边界的选通处理。由此,能够基于定量的信号光的强度信息进行选通处理,能够提高解析对象的集团鉴定的精度。

[0187] 另外,在上述第一方面中,还优选的是,基于解析评价值、及光电倍增管的增益,进一步计算相当于解析评价值中所含的噪声的第一噪声值,在选通处理中,使用解析评价值及第一噪声值设定选通(gate)的区间。另外,在上述第二方面中,还优选的是,处理器基于解析评价值、及光电倍增管的增益,进一步计算相当于解析评价值中所含的噪声的第一噪声值,在选通处理中,使用解析评价值及第一噪声值设定选通的区间。在该情况下,根据计算的信号光的光子数计算相当于该光子数中所含的噪声的值,在选通处理中使用该值设定选通的区间。由此,能够进一步提高解析对象的集团鉴定的精度。

[0188] 另外,进一步在上述第一方面中,还优选的是,获取在流式细胞仪中不入射信号光的情况下的光电倍增管的输出电流信号即第二电流信号的平均值作为第一平均值,使用减去了第一平均值的第一电流信号的值,计算解析评价值。另外,进一步在上述第二方面中,还优选的是,处理器获取在流式细胞仪中不入射信号光的情况下的光电倍增管的输出电流信号即第二电流信号的平均值作为第一平均值,使用减去了第一平均值的第一电流信号的值,计算解析评价值。这样,能够消除背景光及暗电流的影响地计算信号光的光子数。其结果,能够提高基于流式细胞术的分析结果的可靠性。

[0189] 另外,进一步在上述第一方面中,还优选的是,获取在流式细胞仪中不入射信号光的情况下的光电倍增管的输出电流信号即第二电流信号的噪声值作为第二噪声值,进一步使用第二噪声值,计算第一噪声值。另外,进一步在上述第二方面中,处理器获取在流式细胞仪中不入射信号光的情况下的光电倍增管的输出电流信号即第二电流信号的噪声值作为第二噪声值,进一步使用第二噪声值,计算第一噪声值。这样,能够考虑背景光及暗电流的影响地计算信号光的光子数的噪声成分。其结果,能够进一步提高解析对象的集团鉴定的精度。

[0190] 另外,在上述第一方面中,还优选的是,获取基于流式细胞仪中与规定强度的激发光对应的信号光的光电倍增管的输出电流信号即第三电流信号的平均值即第二平均值、和作为该第三电流信号的噪声值的第三噪声值,进一步使用第二平均值及第三噪声值,计算第一噪声值。另外,在上述第二方面中,还优选的是,处理器获取基于流式细胞仪中与规定强度的激发光对应的信号光的光电倍增管的输出电流信号即第三电流信号的平均值即第二平均值、和作为该第三电流信号的噪声值的第三噪声值,进一步使用第二平均值及第三噪声值,计算第一噪声值。如果采用上述的结构,则能够考虑光源的特性及解析对象的偏差地计算信号光的光子数的噪声成分。其结果,能够进一步提高解析对象的集团鉴定的精度。

[0191] 另外,在上述第一方面中,还优选的是,进一步计算第一噪声值,该第一噪声值包含:反映了光电倍增管的检测对象的信号光的期待值、及光电倍增管的增益的因自己的信号光而引起的自己的独立系噪声;反映了与光电倍增管不同的其它的光电倍增管的检测对象的信号光中泄漏到光电倍增管的信号光的期待值、及光电倍增管的增益的因其它的信号光而引起的其它的独立系噪声;以及反映了光电倍增管的检测对象的信号光的期待值及光电倍增管的增益的、因自己的信号光和其它的信号光之间的相关而引起的自己的相关系噪声,使用解析评价值及第一噪声值,执行数据解析。另外,在上述第二方面中,还优选的是,

处理器进一步计算第一噪声值,该第一噪声值包含:反映了光电倍增管的检测对象的信号光的期待值、及光电倍增管的增益的因自己的信号光而引起的自己的独立系噪声;反映了与光电倍增管不同的其它的光电倍增管的检测对象的信号光中泄漏到光电倍增管的信号光的期待值、及光电倍增管的增益的因其它的信号光而引起的其它的独立系噪声;以及反映了光电倍增管的检测对象的信号光的期待值、及光电倍增管的增益的、因自己的信号光和其它的信号光之间的相关而引起的自己的相关系噪声的第一噪声值,使用解析评价值及第一噪声值,执行数据解析。如果采用上述的结构,则能够高精度地预测因光电倍增管的检测对象的信号光的偏差而引起的解析评价值的噪声值。其结果,能够通过数据解析定量地解析信号光。

[0192] 进一步在上述第一方面中,还优选的是,计算第一噪声值,该第一噪声值还包含:反映了其它的光电倍增管的检测对象的信号光的期待值、及光电倍增管的增益的因自己的信号光和其它的信号光之间的相关而引起的其它的相关系噪声的。进而,在上述第二方面中,处理器计算第一噪声值,该第一噪声值还包含:反映了其它的光电倍增管的检测对象的信号光的期待值、及光电倍增管的增益的因自己的信号光和其它的信号光之间的相关而引起的其它的相关系噪声。在该情况下,能够高精度地预测因光电倍增管的检测对象的信号光的偏差而引起的解析评价值的噪声值。

[0193] 另外,进一步在上述第一方面中,还优选的是,基于解析评价值、及光电倍增管的增益,进一步计算相当于解析评价值中所含的噪声的第一噪声值,使用解析评价值及第一噪声值,通过优化算法执行数据解析。另外,进一步在上述第二方面中,还优选的是,处理器基于解析评价值、及光电倍增管的增益,进一步计算相当于解析评价值中所含的噪声的第一噪声值,使用解析评价值及第一噪声值,通过优化算法执行数据解析。在该情况下,能够以解析评价值为对象,施加加权等反映了噪声值的处理,并且进行数据解析。其结果,能够在反映了可靠度的基础上利用基于流式细胞术的分析结果。

[0194] 附图标记说明

[0195] 1…流式细胞仪系统,2…流体系统,3…光学系统,4…电子系统(信号处理装置),5…通道,6…流动池,7…激光光源,8…透镜,9a、9b、9c、9d…滤光器,10b、10c…分色镜,11a、11b、11c、11d…光电倍增管,12…数据处理装置,201…信号获取部,202…计算部,203…解析部。

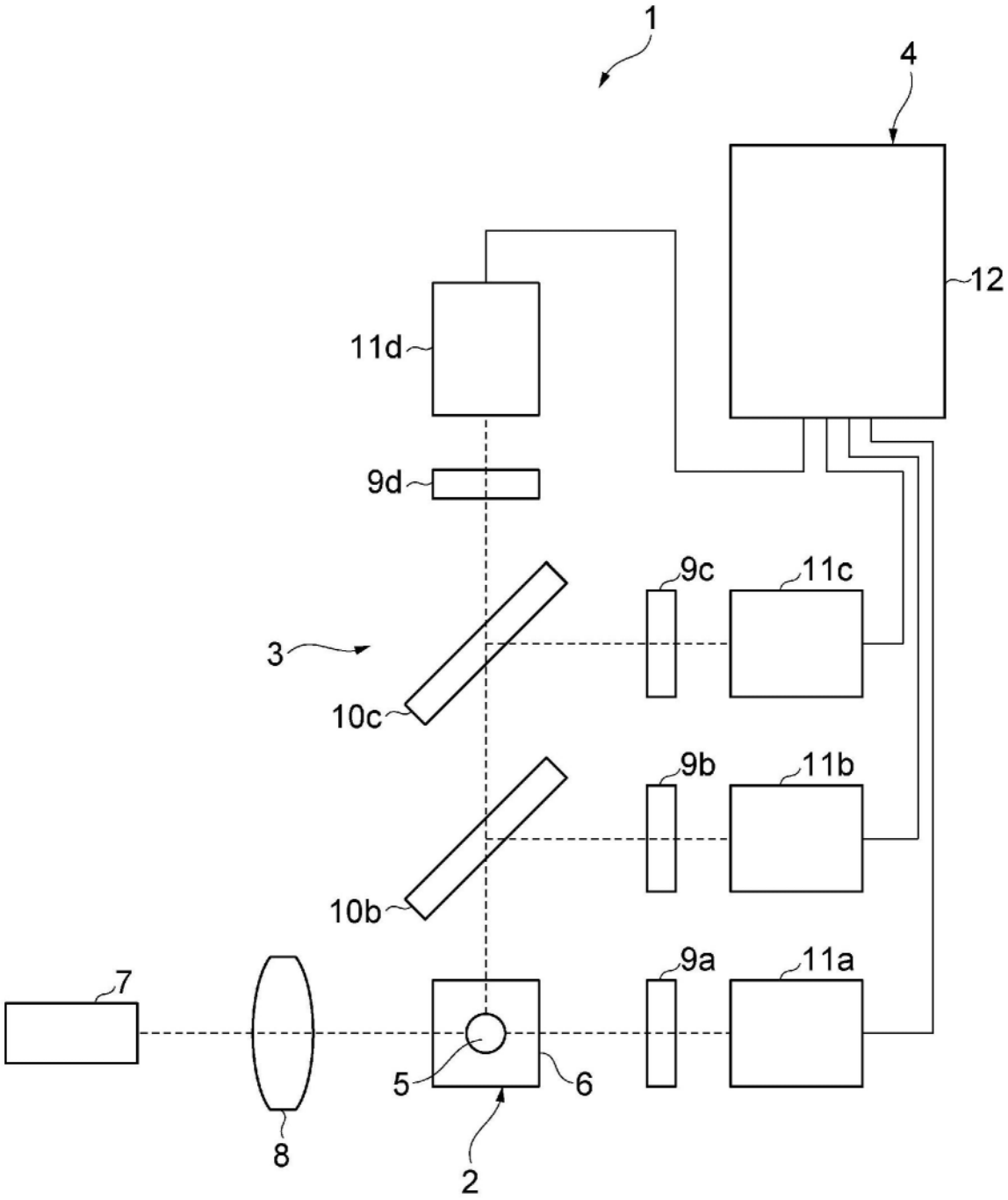


图1

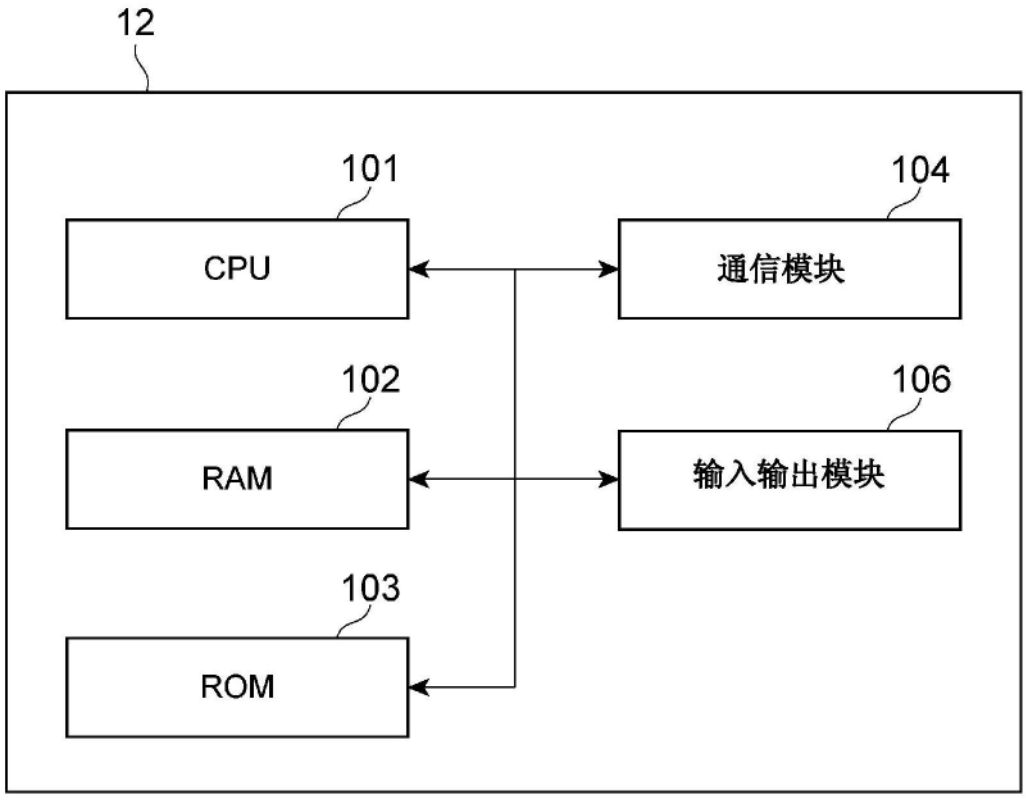

12
101
CPU
104
通信模块
102
RAM
106
输入输出模块
103
ROM

图2

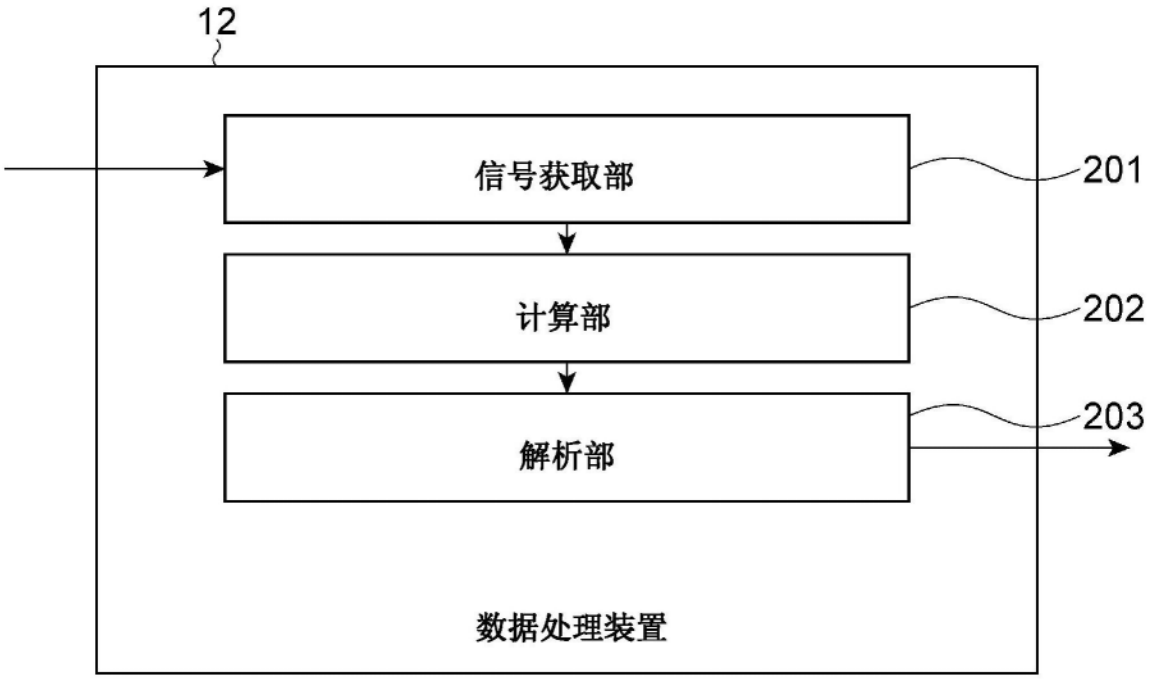

12
信号获取部
201
计算部
202
解析部
203
数据处理装置

图3

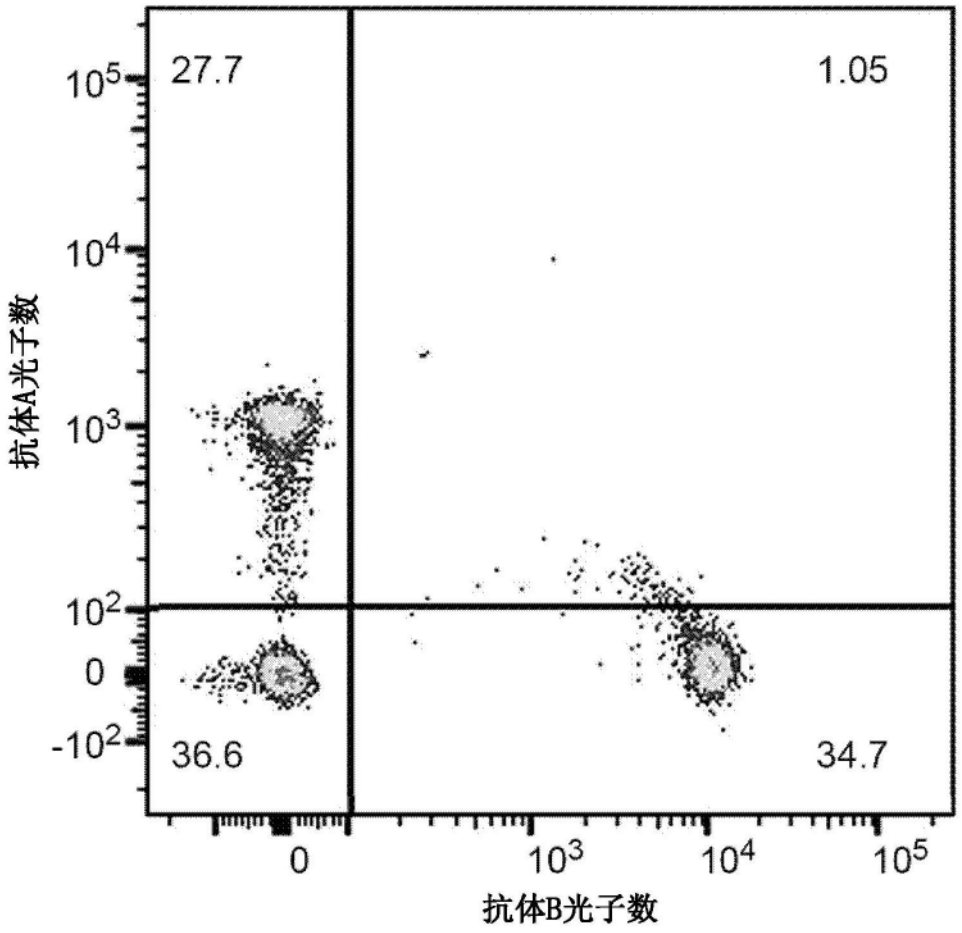

27.7
1.05
36.6
34.7
10^5
10^4
10^3
10^2
0
-10^2
0
10^3
10^4
10^5
抗体A光子数
抗体B光子数

图4

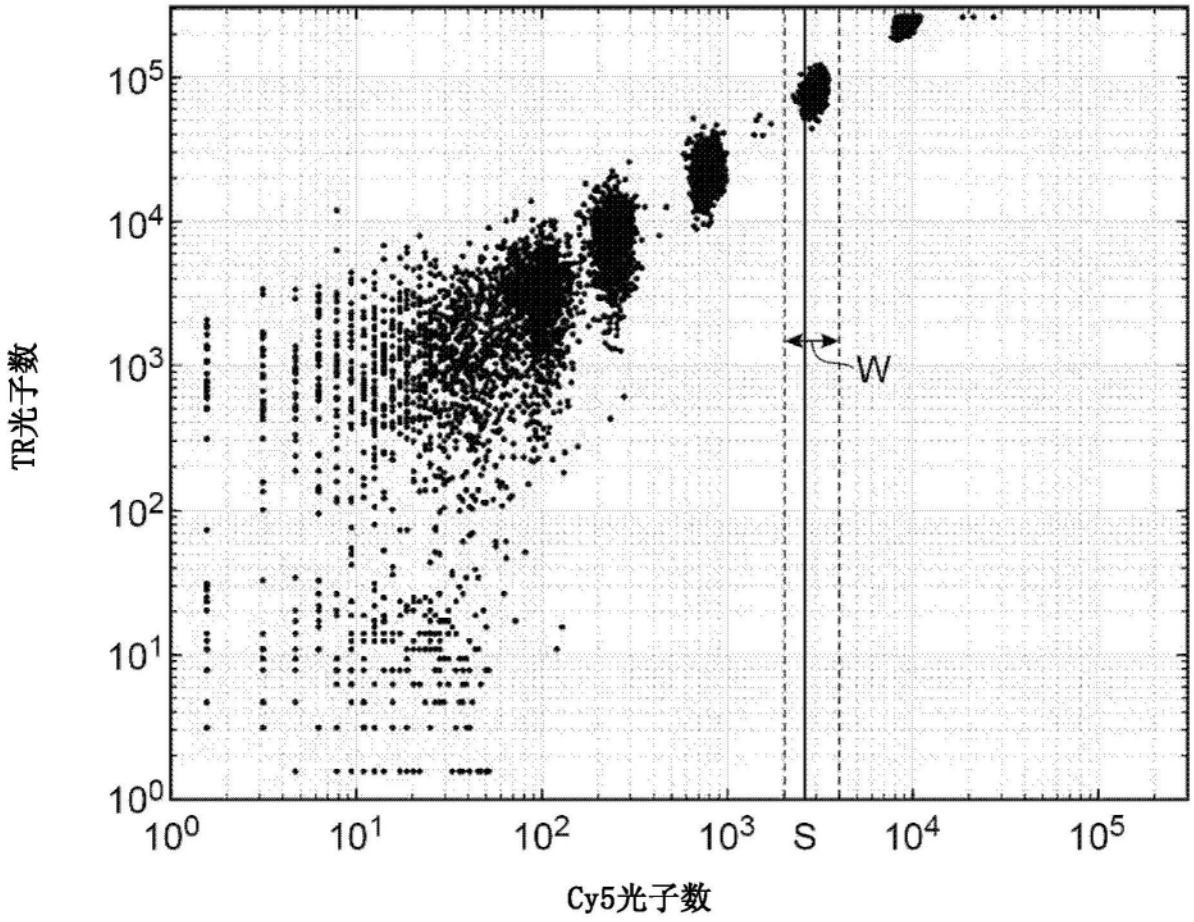


图5

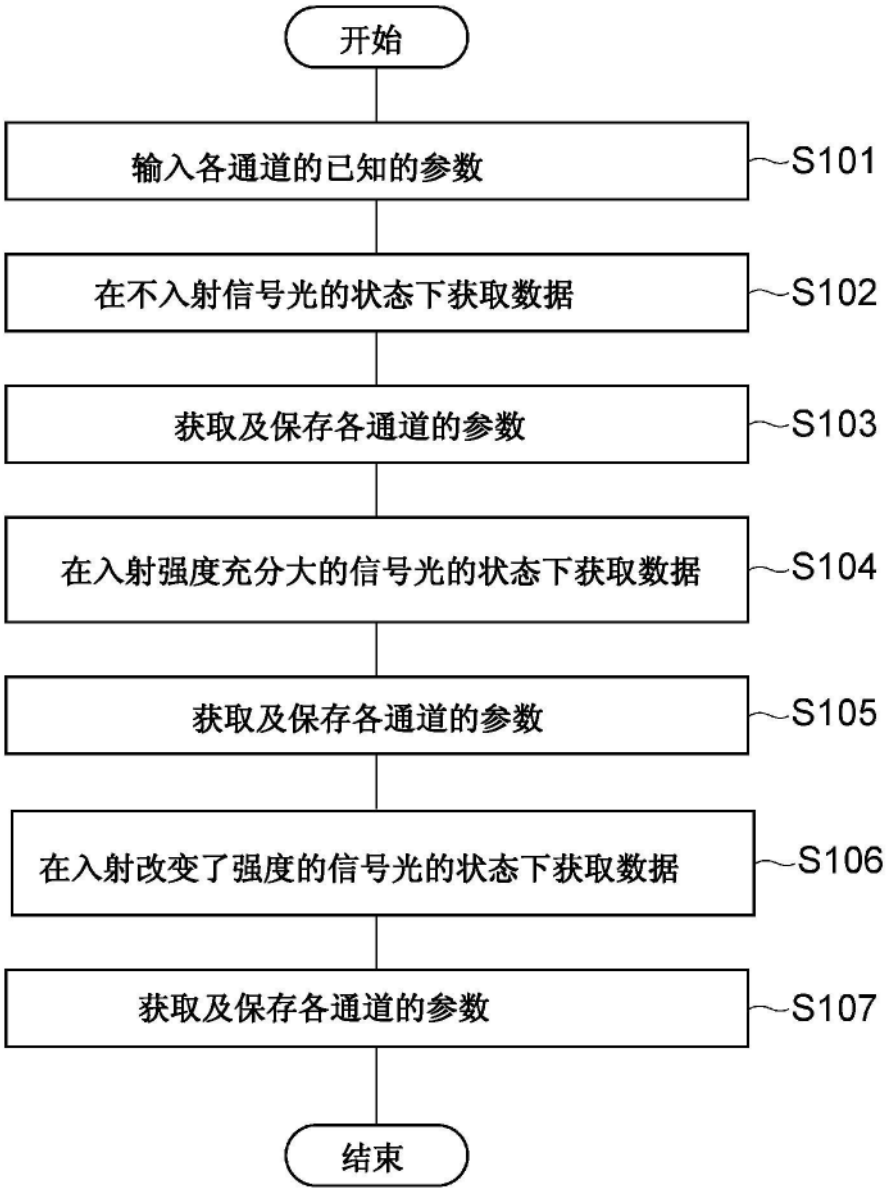

开始
输入各通道的已知的参数
S101
在不入射信号光的状态下获取数据
S102
获取及保存各通道的参数
S103
在入射强度充分大的信号光的状态下获取数据
S104
获取及保存各通道的参数
S105
在入射改变了强度的信号光的状态下获取数据
S106
获取及保存各通道的参数
S107
结束

图6

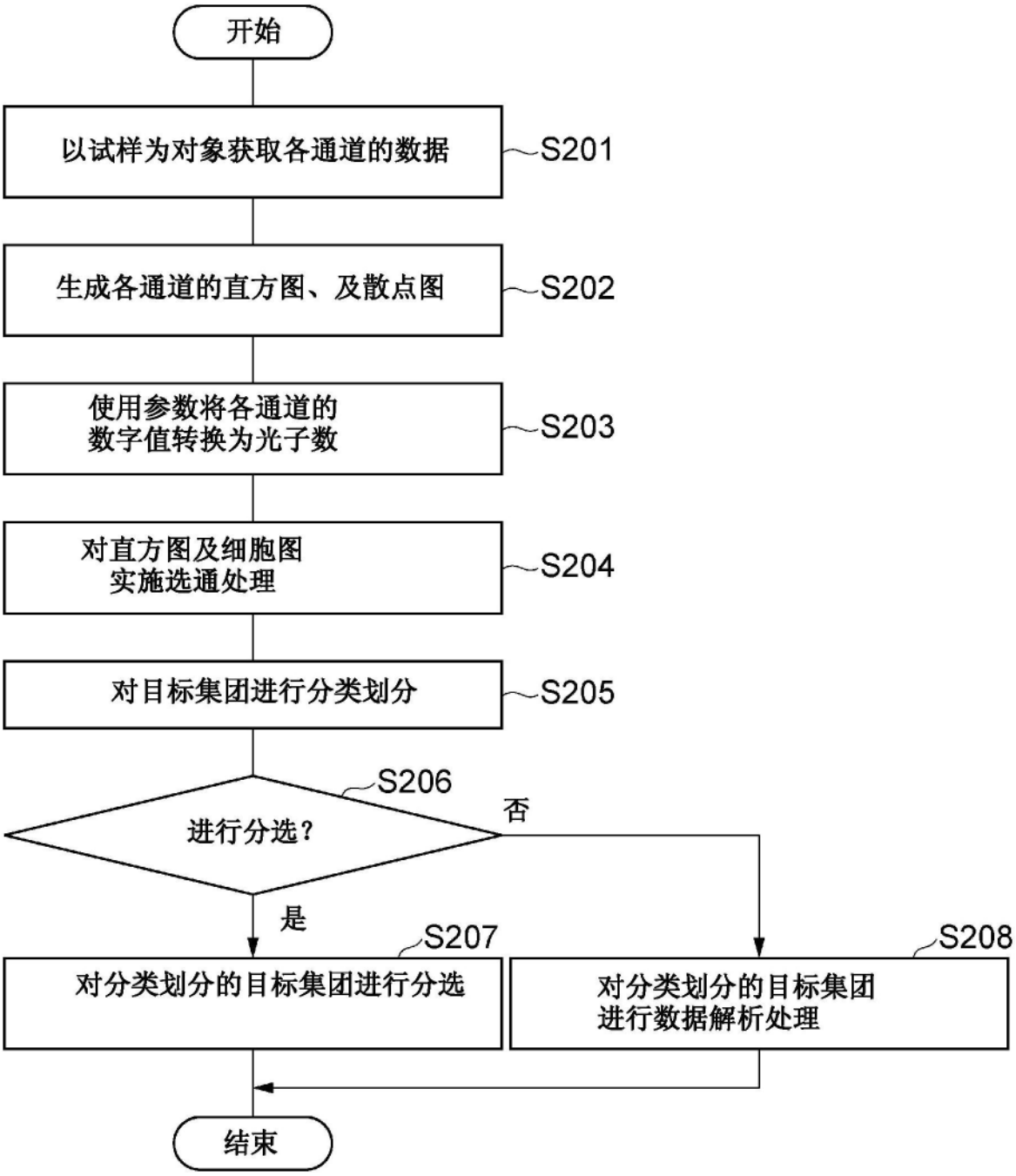

开始
以试样为对象获取各通道的数据
S201
生成各通道的直方图、及散点图
S202
使用参数将各通道的
数字值转换为光子数
S203
对直方图及细胞图
实施选通处理
S204
对目标集团进行分类划分
S205
S206
进行分选？
否
是
S207
对分类划分的目标集团进行分选
S208
对分类划分的目标集团
进行数据解析处理
结束

图7

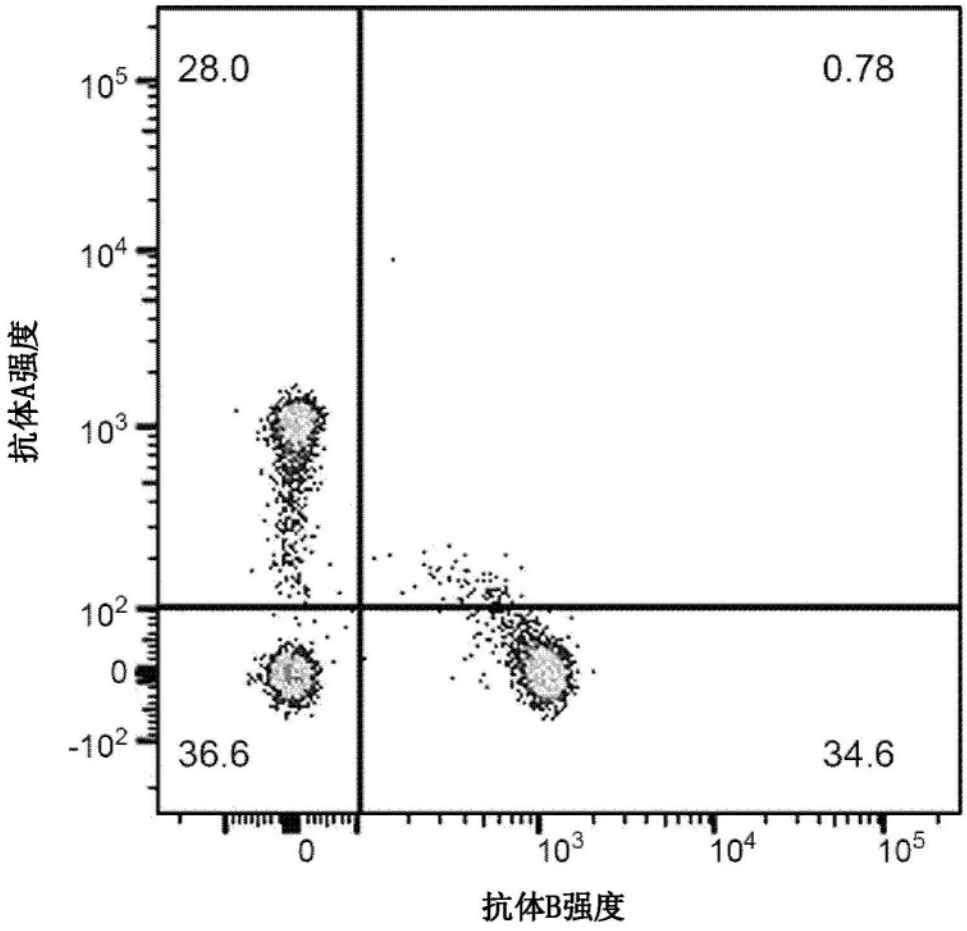


图8

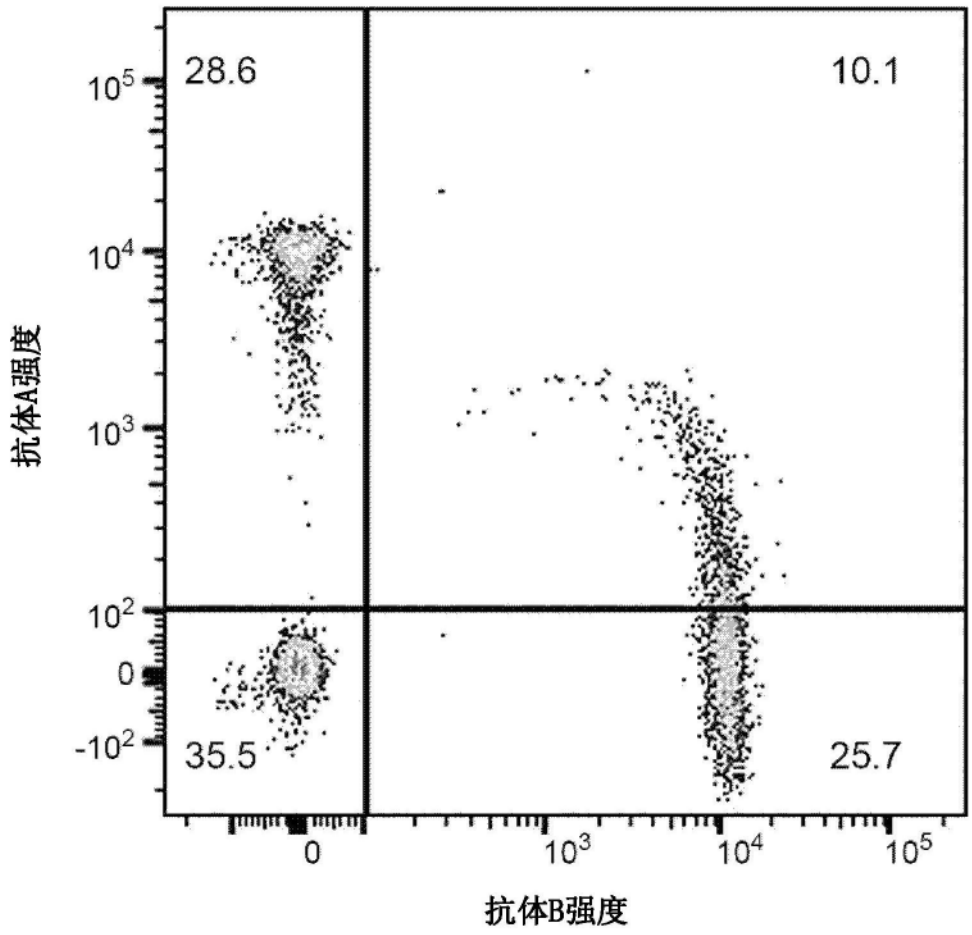


图9

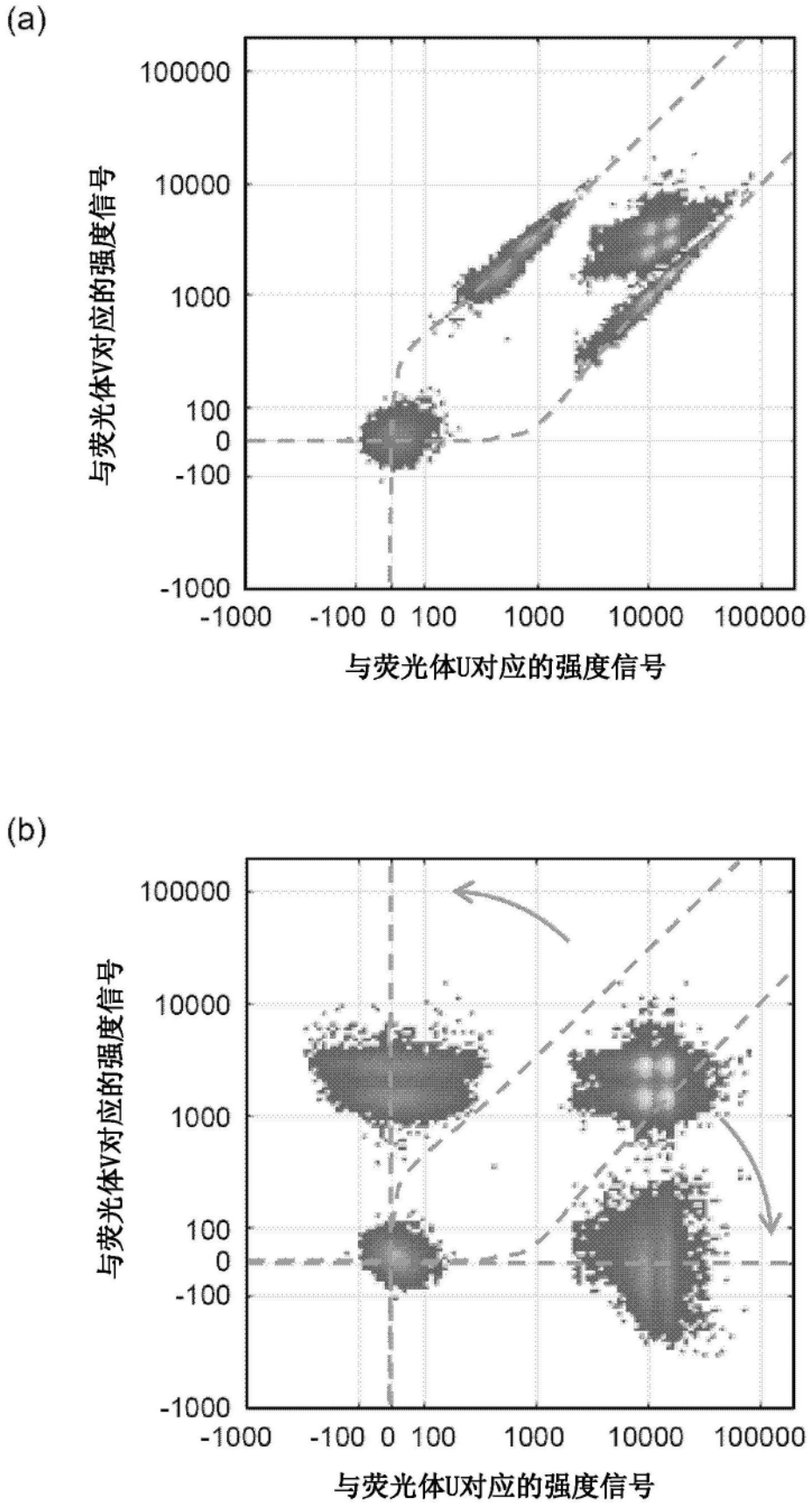

(a)
100000
10000
1000
100
0
-100
-1000
-1000 -100 0 100 1000 10000 100000
与荧光体V对应的强度信号
与荧光体U对应的强度信号
(b)
100000
10000
1000
100
0
-100
-1000
-1000 -100 0 100 1000 10000 100000
与荧光体V对应的强度信号
与荧光体U对应的强度信号

图10