

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3913972号

(P3913972)

(45) 発行日 平成19年5月9日(2007.5.9)

(24) 登録日 平成19年2月9日(2007.2.9)

(51) Int. Cl.

G O 1 N 21/64 (2006.01)

F I

G O 1 N 21/64

B

G O 1 N 21/64

F

請求項の数 19 (全 25 頁)

(21) 出願番号 特願2000-353093 (P2000-353093)
 (22) 出願日 平成12年11月20日(2000.11.20)
 (65) 公開番号 特開2002-156330 (P2002-156330A)
 (43) 公開日 平成14年5月31日(2002.5.31)
 審査請求日 平成17年9月2日(2005.9.2)

(73) 特許権者 306037311
 富士フイルム株式会社
 東京都港区西麻布2丁目26番30号
 (74) 代理人 100078031
 弁理士 大石 皓一
 (72) 発明者 伊神 盛志
 神奈川県足柄上郡開成町宮台798番地
 富士写真フイルム株式会社内

審査官 横井 亜矢子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 画像データ生成方法および装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

互いに独立して形成されるとともに、二次元的なひろがりをもって、分布され、少なくともその一部が蛍光物質を含んだ試料を備えた画像担体に、励起光を照射して、前記試料に含まれる蛍光物質を励起し、前記画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、前記試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出するステップを備え、少なくとも2つの開口部を有する円板状の回転可能なチョッパを用いて、前記チョッパの1つの開口部が、前記少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光の光路内に位置している間は、前記二次元エリアセンサの光電面を前記チョッパが覆い、前記チョッパが、前記少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光の光路内に位置して、励起光をカットしているときにのみ、前記チョッパの1つの開口部が、前記二次元エリアセンサの光電面の前面に位置するように、前記チョッパを回転制御し、励起光を発する少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光による照射と励起光のカットおよび前記二次元エリアセンサの受光面の開閉とを同期させることによって、前記ステップを実行することを特徴とする画像データの生成方法。

【請求項2】

前記ステップを、2回以上繰り返すことを特徴とする請求項1に記載の画像データの生成方法。

【請求項3】

励起光を発する少なくとも1つの励起光源のオン・オフと、前記二次元エリアセンサの

10

20

シャッタの開閉とを同期させることによって、前記ステップを実行することを特徴とする請求項 1 または 2 に記載の画像データの生成方法。

【請求項 4】

前記二次元エリアセンサによって、少なくとも励起光の波長の光をカットするフィルタを介して、長寿命蛍光を光電的に検出することを特徴とする請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項に記載の画像データの生成方法。

【請求項 5】

前記二次元エリアセンサによって、フレネルレンズを介して、長寿命蛍光を光電的に検出することを特徴とする請求項 1 ないし 4 のいずれか 1 項に記載の画像データの生成方法。

10

【請求項 6】

前記二次元エリアセンサとして、CCDカメラを用いることを特徴とする請求項 1 ないし 5 のいずれか 1 項に記載の画像データの生成方法。

【請求項 7】

前記二次元エリアセンサとして、冷却 CCDカメラを用いることを特徴とする請求項 6 に記載の画像データの生成方法。

【請求項 8】

前記画像担体として、多数のウエルが形成され、前記ウエル内に、蛍光色素によって標識された試料が収容されたマイクロタイタープレートを用いることを特徴とする請求項 1 ないし 7 のいずれか 1 項に記載の画像データの生成方法。

20

【請求項 9】

励起光を発する少なくとも 1 つの励起光源と、互いに独立して形成されるとともに、二次元的に分布され、少なくともその一部が蛍光物質を含んだ試料を備えた画像担体が載置されるステージと、二次元エリアセンサと、前記少なくとも 1 つの励起光源から発せられる励起光を前記ステージに載置された前記画像担体に照射して、前記試料に含まれる蛍光物質を励起し、前記画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、前記試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出させるように制御する制御手段と、少なくとも 2 つの開口部を有する円板状の回転可能なチョッパを備え、前記制御手段が、前記チョッパの 1 つの開口部が、前記少なくとも 1 つの励起光源から発せられる励起光の光路内に位置している間は、前記二
次元エリアセンサの光電面を前記チョッパが覆い、前記チョッパが、前記少なくとも 1 つの励起光源から発せられる励起光の光路内に位置して、励起光をカットしているときのみ、前記チョッパの 1 つの開口部が、前記二次元エリアセンサの光電面の前面に位置するように、前記チョッパを回転制御するように構成されたことを特徴とする画像データ生成装置。

30

【請求項 10】

前記制御手段が、前記少なくとも 1 つの励起光源から発せられる励起光を前記ステージに載置された前記画像担体に照射して、前記試料に含まれる蛍光物質を励起し、前記画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、前記試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出させる
ステップを、2 回以上繰り返すように構成されたことを特徴とする請求項 9 に記載の画像データ生成装置。

40

【請求項 11】

前記制御手段が、前記少なくとも 1 つの励起光源がオンされている間は、前記二次元エリアセンサのシャッタを閉じ、前記少なくとも 1 つの励起光源がオフされているときのみ、前記二次元エリアセンサのシャッタを開くように、前記少なくとも 1 つの励起光源のオン・オフと、前記二次元エリアセンサのシャッタの開閉を同期させることによって、前記少なくとも 1 つの励起光源から発せられる励起光を前記ステージに載置された前記画像担体に照射して、前記試料に含まれる蛍光物質を励起し、前記画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、前記試料に含まれる蛍光物質から放出される

50

長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出させるように制御することを特徴とする請求項 9 または 10 に記載の画像データ生成装置。

【請求項 12】

さらに、前記少なくとも 1 つの励起光源から発せられる励起光を導く光ガイドを備え、前記制御手段が、前記チョッパの 1 つの開口部が、前記光ガイドの励起光射出端部の前面に位置している間は、前記二次元エリアセンサの光電面を前記チョッパが覆い、前記チョッパが、前記光ガイドの励起光射出端部の前面に位置して、励起光をカットしているときにのみ、前記チョッパの 1 つの開口部が、前記二次元エリアセンサの光電面の前面に位置するように、前記チョッパを回転制御するように構成されたことを特徴とする請求項 9 ないし 11 のいずれか 1 項に記載の画像データ生成装置。

10

【請求項 13】

前記光ガイドが光ファイバによって構成されていることを特徴とする請求項 12 に記載の画像データ生成装置。

【請求項 14】

前記チョッパに、4 つの開口部が形成されたことを特徴とする請求項 9 ないし 13 のいずれか 1 項に記載の画像データ生成装置。

【請求項 15】

さらに、前記二次元エリアセンサの前面に、少なくとも励起光の波長の光をカットするフィルタを備えたことを特徴とする請求項 9 ないし 14 のいずれか 1 項に記載の画像データ生成装置。

20

【請求項 16】

さらに、前記ステージと前記二次元エリアセンサの間に、フレネルレンズを備えたことを特徴とする請求項 9 ないし 15 のいずれか 1 項に記載の画像データ生成装置。

【請求項 17】

前記二次元エリアセンサが、CCD カメラによって構成されたことを特徴とする請求項 9 ないし 16 のいずれか 1 項に記載の画像データ生成装置。

【請求項 18】

前記 CCD カメラが、冷却 CCD カメラによって構成されたことを特徴とする請求項 17 に記載の画像データ生成装置。

【請求項 19】

前記画像担体が、多数のウエルが形成され、前記ウエル内に、蛍光色素によって標識された試料が収容されたマイクロタイタプレートによって構成されたことを特徴とする請求項 9 ないし 18 のいずれか 1 項に記載の画像データ生成装置。

30

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、画像データ生成方法および装置に関するものであり、さらに詳細には、互いに独立して形成されるとともに、二次元的なひろがりをもって、分布され、少なくともその一部が蛍光物質を含んだ試料を備えた画像担体に励起光を照射して、蛍光物質を励起し、蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出することによって、短時間に、かつ、簡易な操作で、ノイズの少ない画像データを生成することができる画像データ生成方法および装置に関するものである。

40

【0002】

【従来の技術】

放射線が照射されると、放射線のエネルギーを吸収して、蓄積、記録し、その後に、特定の波長域の電磁波を用いて励起すると、照射された放射線のエネルギーの量に応じた光量の輝尽光を発する特性を有する輝尽性蛍光体を、放射線の検出材料として用い、放射性標識を付与した物質を、生物体に投与した後、その生物体あるいはその生物体の組織の一部を試料とし、この試料を、輝尽性蛍光体層が設けられた蓄積性蛍光体シートと一定時間重ね合わせることにより、放射線エネルギーを輝尽性蛍光体に、蓄積、記録し、しかる後に

50

、電磁波によって、輝尽性蛍光体層を走査して、輝尽性蛍光体を励起し、輝尽性蛍光体から放出された輝尽光を光電的に検出して、デジタル画像信号を生成し、画像処理を施して、CRTなどの表示手段上あるいは写真フィルムなどの記録材料上に、画像を再生するように構成されたオートラジオグラフィ検出システムが知られている（たとえば、特公平1-60784号公報、特公平1-60782号公報、特公平4-3952号公報など）。

【0003】

蓄積性蛍光体シートを画像の検出材料として使用するオートラジオグラフィシステムは、写真フィルムを用いる場合とは異なり、現像処理という化学的処理が不必要であるだけでなく、得られた画像データに画像処理を施すことによって、所望のように、画像を再生し、あるいは、コンピュータによる定量解析が可能になるという利点を有している。

10

【0004】

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

20

30

また、蛍光検出システムの一つとして、試料溶液を収容可能な多数のウェルを備えたマイクロタイタープレートと呼ばれる分析用のプレートが知られており、蛍光物質によって標識された試料溶液をウェルに収容し、試料溶液に光を照射して、蛍光物質を励起し、蛍光物質から放出された蛍光を検出して、生化学的な分析を実施するように構成されている。

40

【0005】

さらに、近年、スライドガラス板やメンブレンフィルタなどの基板表面上の異なる位置に、ホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、抗体、抗原、アプザイム、その他のタンパク質、核酸、cDNA、DNA、RNAなど、生体由来の物質と特異的に結合可能で、かつ、塩基配列や塩基の長さ、組成などが既知の特異的結合物質を、スポッター装置を用いて、滴下して、多数の独立したスポットを形成し、次いで、ホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、抗体、抗原、アプザイム、その他のタンパク質、核酸、cDNA、DNA、mRNAなど、抽出、単離などによって、生体から採取され、あるいは、さらに、化学的処理、化学修飾などの処理が施された生体由来の物質であって、蛍光色素などの標識物質によって標識された物質をハイブリダイズさせたマイクロアレイに、励起光を照射して、蛍光色素などの

50

標識物質から発せられた蛍光などの光を光電的に検出して、生体由来の物質を解析するマイクロアレイ検出システムが開発されている。このマイクロアレイ画像検出システムによれば、スライドガラス板やメンブレンフィルタなどの基板表面上の異なる位置に、数多くの特異的結合物質のスポットを高密度に形成して、標識物質によって標識された生体由来の物質をハイブリダイズさせることによって、短時間に、生体由来の物質を解析することが可能になるという利点がある。

【 0 0 0 6 】

【発明が解決しようとする課題】

蛍光検出システムやマイクロアレイ検出システムにおいては、標識物質に励起光を照射して、励起し、標識物質から放出された蛍光を、光検出器によって、光電的に検出して、画像データなどの生化学的な分析用のデータを生成するものであり、したがって、励起光が光検出器に入射するとノイズを生成し、分析の精度が低下するため、励起光をカットして、光検出器に入射することを防止する励起光カットフィルタが設けられている。

10

【 0 0 0 7 】

しかしながら、励起光カットフィルタを設けても、励起光を完全にカットすることは困難であるため、標識物質に励起光を照射して、標識物質を励起した後、励起光の照射を停止し、励起光の照射終了後にも、標識物質から放出されている長寿命蛍光を検出することによって、励起光が検出されることに起因するノイズの生成を防止する方法が提案されている。

【 0 0 0 8 】

20

かかる長寿命蛍光を検出する方法を用いて、マイクロタイタープレートの多数のウェルに収容された試料溶液に含まれた蛍光物質を励起して、長寿命蛍光を検出する場合、従来は、ウェルに、順次、励起光を照射し、ウェルに収容された試料溶液に含まれた蛍光物質を励起して、励起光の照射を停止している間に、蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、フォトマルチプライアなどの光検出器を用いて、光電的に検出することによって、生化学的な分析用データを生成していた。

【 0 0 0 9 】

しかしながら、マイクロタイタープレートには、たとえば、96などの多数のウェルが形成されており、また、1回の励起光照射によって、検出される長寿命蛍光の光量は小さいため、励起光を照射し、励起光照射の停止して、長寿命蛍光を検出するというステップを繰り返すことが必要であり、したがって、すべてのウェルに収容された試料溶液に含まれた蛍光物質を励起して、蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、フォトマルチプライアなどの光検出器を用いて、光電的に検出して、生化学的な分析用データを生成するためには、必然的に、時間がかかり、ウェル内の試料溶液の反応の進行状態が、ウェルによって変化するという問題があった。

30

【 0 0 1 0 】

かかる問題を解決するため、従来は、各ウェルに、試料溶液を投入する毎に、ウェル内の試料溶液に含まれた蛍光物質を励起して、蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、フォトマルチプライアなどの光検出器を用いて、光電的に検出して、生化学的な分析用データを生成していた。

40

【 0 0 1 1 】

しかしながら、このようにして、生化学的な分析用データを生成することは、操作が煩雑であるだけでなく、分析用データの生成に、多大な時間を要し、不経済であるという問題があった。

【 0 0 1 2 】

マイクロアレイ検出システムにおいても、スライドガラス板やメンブレンフィルタなどの基板表面上に、スポット状に滴下された特異的結合物質に、標識物質によって標識された生体由来の物質をハイブリダイズさせたスポットの状態が経時的に変化する場合があり、マイクロタイタープレートの場合と、同様の問題を有していた。

【 0 0 1 3 】

50

したがって、本発明は、互いに独立して形成されるとともに、二次元的なひろがりをもって、分布され、少なくともその一部が蛍光物質を含んだ試料を備えた画像担体に励起光を照射して、蛍光物質を励起し、蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出することによって、短時間に、かつ、簡易な操作で、ノイズの少ない画像データを生成することができる画像データ生成方法および装置を提供することを目的とするものである。

【0014】

【課題を解決するための手段】

本発明のかかる目的は、互いに独立して形成されるとともに、二次元的なひろがりをもって、分布され、少なくともその一部が蛍光物質を含んだ試料を備えた画像担体に、励起光を照射して、前記試料に含まれる蛍光物質を励起し、前記画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、前記試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出するステップを備え、少なくとも2つの開口部を有する円板状の回転可能なチョッパを用いて、前記チョッパの1つの開口部が、前記少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光の光路内に位置している間は、前記二次元エリアセンサの光電面を前記チョッパが覆い、前記チョッパが、前記少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光の光路内に位置して、励起光をカットしているときにのみ、前記チョッパの1つの開口部が、前記二次元エリアセンサの光電面の前面に位置するように、前記チョッパを回転制御し、励起光を発する少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光による照射と励起光のカットおよび前記二次元エリアセンサの受光面の開閉とを同期させることによって、前記ステップを実行することを特徴とする画像データの生成方法によって達成される。

【0015】

本発明によれば、画像担体に、励起光を照射して、試料に含まれる蛍光物質を励起し、画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出しているから、二次元エリアセンサが長寿命蛍光を検出している間は、画像担体に、励起光は照射されておらず、したがって、励起光が、二次元エリアセンサによって受光されることに起因する画像データのノイズを大幅に低減させることが可能になる。

さらに、本発明によれば、少なくとも2つの開口部を有する円板状の回転可能なチョッパを用いて、チョッパの1つの開口部が、少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光の光路内に位置している間は、二次元エリアセンサの光電面をチョッパが覆い、チョッパが、少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光の光路内に位置して、励起光をカットしているときにのみ、チョッパの1つの開口部が、二次元エリアセンサの光電面の前面に位置するように、チョッパを回転制御し、励起光を発する少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光による照射と励起光のカットおよび二次元エリアセンサの受光面の開閉とを同期させることによって、画像担体に、励起光を照射して、試料に含まれる蛍光物質を励起し、画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出するステップが実行されるから、画像担体に励起光が照射されていないときにのみ、確実に、二次元エリアセンサによって、長寿命蛍光を光電的に検出することができ、したがって、励起光が、二次元エリアセンサによって受光されることに起因する画像データのノイズを大幅に低減させることが可能になる。

【0016】

本発明の好ましい実施態様においては、前記画像担体に、励起光を照射して、前記試料に含まれる蛍光物質を励起し、前記画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、前記試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出するステップを、2回以上繰り返すことによって、画像データが生成される。

【0017】

本発明の好ましい実施態様によれば、画像担体に、励起光を照射して、試料に含まれる蛍

10

20

30

40

50

光物質を励起し、画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出するというステップが、2回以上繰り返されるから、二次元エリアセンサによって、十分な光量の長寿命蛍光を受光することができ、したがって、所望の画像を生成することのできる画像データを生成することが可能になる。

【0018】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、励起光を発する少なくとも1つの励起光源のオン・オフと、前記二次元エリアセンサのシャッタの開閉とを同期させることによって、画像担体に、励起光を照射して、前記試料に含まれる蛍光物質を励起し、前記画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、前記試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出するステップが実行される。

10

【0019】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、励起光を発する少なくとも1つの励起光源のオン・オフと、二次元エリアセンサのシャッタの開閉とを同期させることによって、画像担体に、励起光を照射して、試料に含まれる蛍光物質を励起し、画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出するステップが実行されるから、画像担体に励起光が照射されていないときにのみ、確実に、二次元エリアセンサによって、長寿命蛍光を光電的に検出することができ、したがって、励起光が、二次元エリアセンサによって受光されることに起因する画像データのノイズを大幅に低減させることが可能になる。

20

【0022】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記二次元エリアセンサによって、少なくとも励起光の波長の光をカットするフィルタを介して、長寿命蛍光を光電的に検出することによって、画像データが生成される。

【0023】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、二次元エリアセンサによって、少なくとも励起光の波長の光をカットするフィルタを介して、長寿命蛍光が光電的に検出されるから、二次元エリアセンサが、長寿命蛍光を光電的に検出する際、何らかの原因で、励起光が装置内に存在していても、二次元エリアセンサによって、励起光が検出されることを確実に防止することができ、したがって、励起光が、二次元エリアセンサによって受光されることに起因する画像データのノイズをより大幅に低減させることが可能になる。

30

【0024】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記二次元エリアセンサによって、フレネルレンズを介して、長寿命蛍光を光電的に検出することによって、画像データが生成される。

【0025】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、二次元エリアセンサが、フレネルレンズを介して、長寿命蛍光を光電的に検出するように構成されているから、マイクロタイタプレート多数のウェル内に収容された試料溶液を標識している蛍光色素の画像を読み取る場合にも、パララックスを生じることなく、マイクロタイタプレートから発せられる蛍光を、二次元エリアセンサによって受光して、画像データを生成することが可能になる。

40

【0026】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記二次元エリアセンサとして、CCDカメラを用いることによって、画像データが生成される。

【0027】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記二次元エリアセンサとして、冷却CCDカメラを用いることによって、画像データが生成される。

【0028】

50

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、二次元エリアセンサとして、冷却ＣＣＤカメラが用いられているから、十分に長い時間にわたって、冷却ＣＣＤカメラを露出することができ、したがって、長寿命蛍光が微弱であっても、所望のように、画像データを生成することが可能になる。

【００２９】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記画像担体として、多数のウエルが形成され、前記ウエル内に、蛍光色素によって標識された試料が収容されたマイクロタイタープレートを用いられる。

【００３０】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、マイクロタイタープレートに形成されたすべてのウエル内に収容された試料を標識している蛍光色素の画像データが、二次元エリアセンサによって、同時に生成されるから、経時的に、ウエル内の試料溶液の反応の進行しても、マイクロタイタープレートに形成されたすべてのウエル内に、一度に、蛍光色素によって標識された試料を収容させることができ、短時間に、かつ、簡易な操作で、ノイズが大幅に低減された画像データを生成することが可能になる。

【００３１】

本発明の前記目的はまた、励起光を発する少なくとも１つの励起光源と、互いに独立して形成されるとともに、二次元的に分布され、少なくともその一部が蛍光物質を含んだ試料を備えた画像担体が載置されるステージと、二次元エリアセンサと、前記少なくとも１つの励起光源から発せられる励起光を前記ステージに載置された前記画像担体に照射して、前記試料に含まれる蛍光物質を励起し、前記画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、前記試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出させるように制御する制御手段と、少なくとも２つの開口部を有する円板状の回転可能なチョッパを備え、前記制御手段が、前記チョッパの１つの開口部が、前記少なくとも１つの励起光源から発せられる励起光の光路内に位置している間は、前記二次元エリアセンサの光電面を前記チョッパが覆い、前記チョッパが、前記少なくとも１つの励起光源から発せられる励起光の光路内に位置して、励起光をカットしているときにのみ、前記チョッパの１つの開口部が、前記二次元エリアセンサの光電面の前面に位置するように、前記チョッパを回転制御するように構成されたことを特徴とする画像データ生成装置によって達成される。

【００３２】

本発明によれば、画像データ生成装置は、少なくとも１つの励起光源から発せられる励起光をステージに載置された画像担体に照射して、試料に含まれる蛍光物質を励起し、画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出させるように制御する制御手段を備えているから、二次元エリアセンサが長寿命蛍光を検出している間は、画像担体に、励起光は照射されておらず、したがって、励起光が、二次元エリアセンサによって受光されることに起因する画像データのノイズを大幅に低減させることが可能になる。

さらに、本発明によれば、画像データ生成装置が、少なくとも２つの開口部を有する円板状の回転可能なチョッパを備え、制御手段が、チョッパの１つの開口部が、少なくとも１つの励起光源から発せられる励起光の光路内に位置している間は、二次元エリアセンサの光電面をチョッパが覆い、チョッパが、少なくとも１つの励起光源から発せられる励起光の光路内に位置して、励起光をカットしているときにのみ、チョッパの１つの開口部が、二次元エリアセンサの光電面の前面に位置するように、チョッパを回転制御するように構成されているから、画像担体に励起光が照射されていないときにのみ、確実に、二次元エリアセンサによって、長寿命蛍光を光電的に検出することができ、したがって、励起光が、二次元エリアセンサによって受光されることに起因する画像データのノイズを大幅に低減させることが可能になる。

【００３３】

本発明の好ましい実施態様においては、前記制御手段が、前記少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光を前記ステージに載置された前記画像担体に照射して、前記試料に含まれる蛍光物質を励起し、前記画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、前記試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出させるステップを、2回以上繰り返すように構成されている。

【0034】

本発明の好ましい実施態様によれば、画像担体に、励起光を照射して、試料に含まれる蛍光物質を励起し、画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出するというステップが、2回以上繰り返されるから、二次元エリアセンサによって、十分な光量の長寿命蛍光を受光することができ、したがって、所望の画像を生成することのできる画像データを生成することが可能になる。

10

【0035】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記制御手段が、前記少なくとも1つの励起光源がオンされている間は、前記二次元エリアセンサのシャッタを閉じ、前記少なくとも1つの励起光源がオフされているときにのみ、前記二次元エリアセンサのシャッタを開くように、前記少なくとも1つの励起光源のオン・オフと、前記二次元エリアセンサのシャッタの開閉を同期させることによって、前記少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光を前記ステージに載置された前記画像担体に照射して、前記試料に含まれる蛍光物質を励起し、前記画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、前記試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出させるように制御するように構成されている。

20

【0036】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、制御手段が、少なくとも1つの励起光源がオンされている間は、二次元エリアセンサのシャッタを閉じ、少なくとも1つの励起光源がオフされているときにのみ、二次元エリアセンサのシャッタを開くように、少なくとも1つの励起光源のオン・オフと、二次元エリアセンサのシャッタの開閉を同期させることによって、少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光をステージに載置された画像担体に照射して、試料に含まれる蛍光物質を励起し、画像担体への励起光の照射を停止して、励起光の照射を停止した後に、試料に含まれる蛍光物質から放出される長寿命蛍光を、二次元エリアセンサによって、光電的に検出させるように制御するように構成されているから、画像担体に励起光が照射されていないときにのみ、確実に、二次元エリアセンサによって、長寿命蛍光を光電的に検出することができ、したがって、励起光が、二次元エリアセンサによって受光されることに起因する画像データのノイズを大幅に低減させることが可能になる。

30

【0039】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、画像データ生成装置が、さらに、前記少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光を導く光ガイドを備え、前記制御手段が、前記チョッパの1つの開口部が、前記光ガイドの励起光射出端部の前面に位置している間は、前記二次元エリアセンサの光電面を前記チョッパが覆い、前記チョッパが、前記光ガイドの励起光射出端部の前面に位置して、励起光をカットしているときにのみ、前記チョッパの1つの開口部が、前記二次元エリアセンサの光電面の前面に位置するように、前記チョッパを回転制御するように構成されている。

40

【0040】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、画像データ生成装置が、さらに、少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光を導く光ガイドを備えているから、少なくとも1つの励起光源から発せられる励起光を、効率よく、画像担体に照射することが可能になる。

【0041】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記チョッパに、4つの開口部が形成され

50

ている。

【 0 0 4 2 】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、蛍光物質から放出される長寿命蛍光の減衰時間が短い場合でも、チョッパを過度に高速で回転させることなく、画像担体に励起光が照射されていないときにのみ、確実に、二次元エリアセンサによって、長寿命蛍光を光電的に検出することができ、したがって、励起光が、二次元エリアセンサによって受光されることに起因する画像データのノイズを大幅に低減させることが可能になる。

【 0 0 4 3 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、画像データ生成装置は、さらに、前記二次元エリアセンサの前面に、少なくとも励起光の波長の光をカットするフィルタを備えている。

10

【 0 0 4 4 】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、画像データ生成装置は、さらに、二次元エリアセンサの前面に、少なくとも励起光の波長の光をカットするフィルタを備えているから、二次元エリアセンサが、長寿命蛍光を光電的に検出する際、何らかの原因で、励起光が装置内に存在していても、二次元エリアセンサによって、励起光が検出されることを確実に防止することができ、したがって、励起光が、二次元エリアセンサによって受光されることに起因する画像データのノイズをより大幅に低減させることが可能になる。

【 0 0 4 5 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、画像データ生成装置は、さらに、前記ステージと、前記二次元エリアセンサの間に、フレネルレンズを備えている。

20

【 0 0 4 6 】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、画像データ生成装置は、さらに、ステージと二次元エリアセンサの間に、フレネルレンズを備えているから、マイクロタイタープレーットの多数のウエル内に収容された試料溶液を標識している蛍光色素の画像を読み取る場合にも、バララックスを生じることなく、マイクロタイタープレートから発せられる蛍光を、二次元エリアセンサによって受光して、画像データを生成することが可能になる。

【 0 0 4 7 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記二次元エリアセンサが、CCDカメラによって構成されている。

30

【 0 0 4 8 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記二次元エリアセンサが、冷却CCDカメラによって構成されている。

【 0 0 4 9 】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、二次元エリアセンサが、冷却CCDカメラによって構成されているから、十分に長い時間にわたって、冷却CCDカメラを露出することができ、したがって、長寿命蛍光が微弱であっても、所望のように、画像データを生成することが可能になる。

【 0 0 5 0 】

本発明のさらに好ましい実施態様においては、前記画像担体が、多数のウエルが形成され、前記ウエル内に、蛍光色素によって標識された試料が収容されたマイクロタイタープレートによって構成されている。

40

【 0 0 5 1 】

本発明のさらに好ましい実施態様によれば、マイクロタイタープレートに形成されたすべてのウエル内に収容された試料を標識している蛍光色素の画像データが、二次元エリアセンサによって、同時に生成されるから、経時的に、ウエル内の試料溶液の反応の進行しても、マイクロタイタープレートに形成されたすべてのウエル内に、一度に、蛍光色素によって標識された試料を収容させることができ、短時間に、かつ、簡易な操作で、ノイズが大幅に低減された画像データを生成することが可能になる。

【 0 0 5 2 】

50

【発明の実施の形態】

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

【0053】

図1は、本発明の好ましい実施態様にかかる画像データ生成装置の略正面図である。

【0054】

図1に示されるように、画像データ生成装置は、冷却CCDカメラ1、暗箱2およびパーソナルコンピュータ4を備えている。パーソナルコンピュータ3は、CRT4とキーボード5を備えている。

【0055】

図2は、冷却CCDカメラ1の略縦断面図である。

10

【0056】

図2に示されるように、冷却CCDカメラ1は、CCD6と、アルミニウムなどの金属により作られた伝熱板7と、CCD6を冷却するためのペルチエ素子8と、CCD6の前面に配置されたシャッター9と、CCD6が生成したアナログ画像データをデジタル画像データに変換するA/D変換器10と、A/D変換器10によってデジタル化された画像データを一時的に記憶する画像データバッファ11と、冷却CCDカメラ1の動作を制御するカメラ制御回路12とを備えている。暗箱2との間に形成された開口部は、ガラス板15によって閉じられており、冷却CCDカメラ1の周囲には、ペルチエ素子8が発する熱を放熱するための放熱フィン16が長手方向のほぼ全面にわたって形成されている。

【0057】

20

ガラス板15の前面の暗箱2内には、レンズフォーカス調整機能を有するカメラレンズ17が取付けられている。

【0058】

図3は、暗箱2の略縦断面図である。

【0059】

図3に示されるように、暗箱2内には、ステージ20が設けられており、ステージ20斜め上方には、発光波長中心が340nmの励起光を得るための第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22が、それぞれ、設けられている。第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22の前面には、それぞれ、フィルタ23およびフィルタ24が貼着されている。フィルタ23およびフィルタ24は、340nm近傍の波長以外の蛍光色素の励起に有害な光をカットし、340nm近傍の波長の光のみを透過する性質を有している。カメラレンズ17の前面には、613nm近傍の波長の光のみを透過するバンドパスフィルタ25が、取り外し可能に、取り付けられている。

30

【0060】

ステージ20上には、画像担体26が載置され、本実施態様においては、画像担体26として、96のウエル(図示せず)が形成されたマイクロタイタープレートあるいはマイクロアレイが用いられる。

【0061】

図4は、パーソナルコンピュータ3の周辺のブロックダイアグラムである。

40

【0062】

図4に示されるように、パーソナルコンピュータ3は、冷却CCDカメラ1の露出を制御するCPU30と、冷却CCDカメラ1の生成した画像データを画像データバッファ11から読み出す画像データ転送手段31と、画像データ転送手段31から転送された画像データを記憶する画像データ記憶手段32と、画像データ記憶手段32に記憶された画像データに、必要に応じて、画像処理を施す画像データ処理手段33と、画像データ記憶手段32に記憶された画像データに基づいて、CRT4の画面上に可視画像を表示する画像表示手段34とを備えている。第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22は光源制御手段35によって制御されており、光源制御手段35は、CPU30によって制御されている。CPU30は、冷却CCDカメラ1のカメラ制御

50

回路 1 2 に種々の信号を出力可能に構成されている。

【 0 0 6 3 】

図 5 は、C C D 6 の周辺のブロックダイアグラムである。

【 0 0 6 4 】

図 5 に示されるように、C C D 6 は、光電センサ 4 0 と出力増幅器 4 2 を備えており、光電センサ 4 0 に蓄積された電荷は、電荷転送路 4 4 を介して、出力増幅器 4 2 に送られて、出力されるように構成されている。電荷転送路 4 4 からの電荷の転送は、読み出し制御回路 4 6 によって制御され、読み出し制御回路 4 6 は、カメラ制御回路 1 2 により制御されている。

【 0 0 6 5 】

本実施態様にかかる画像データ生成装置は、9 6 のウエル（図示せず）が形成され、ウエル内に、蛍光色素によって標識された試料溶液が収容されたマイクロタイタープレートあるいはスライドガラス板やメンブレンフィルタなどの基板表面上に、スポット状に滴下された特異的結合物質に、蛍光色素によって標識された生体由来の物質をハイブリダイズさせたスポットを有するマイクロアレイが画像担体 2 6 として用いられ、第一のキセノンフラッシュランプ 2 1 および第二のキセノンフラッシュランプ 2 2 をオンして、画像担体 2 6 に励起光を照射し、蛍光色素を励起した後、第一のキセノンフラッシュランプ 2 1 および第二のキセノンフラッシュランプ 2 2 をオフし、第一のキセノンフラッシュランプ 2 1 および第二のキセノンフラッシュランプ 2 2 をオフされた後にも、蛍光色素から放出される長寿命蛍光を、カメラレンズ 1 7 を介して、冷却 C C D カメラ 1 の C C D 6 によって検出し、蛍光色素の画像データを生成可能に構成されている。

【 0 0 6 6 】

マイクロタイタープレートが担持している蛍光色素の画像データを生成するときは、まず、ユーザーによって、カメラレンズ 1 7 が用られて、レンズフォーカス合わせがなされる。

【 0 0 6 7 】

次いで、画像担体 2 6 として、3 価のユーロピウムによって賦活された蛍光色素である米国のパーキンエルマーライフサイエンス株式会社グループ下の Wallac Oy 製の「DELFLIA」（商品名）によって標識された試料溶液が、9 6 のウエル内に収容されたマイクロタイタープレート（図示せず）がステージ 2 0 上に載置されて、暗箱 2 が閉じられる。

次いで、ユーザーによって、キーボード 5 に、露出開始信号が入力されると、C P U 3 0 は、光源制御手段 3 5 に、光源点灯信号を出力し、光源制御手段 3 5 は、光源点灯信号を受けると、第一のキセノンフラッシュランプ 2 1 および第二のキセノンフラッシュランプ 2 2 をオンする。

【 0 0 6 8 】

その結果、第一のキセノンフラッシュランプ 2 1 および第二のキセノンフラッシュランプ 2 2 から、発光波長中心が 3 4 0 n m の励起光が、ステージ 2 0 上に載置された画像担体 2 6 に向けて、発せられ、マイクロタイタープレートに形成された 9 6 のウエル内に収容されている試料溶液を標識している蛍光色素である米国のパーキンエルマーライフサイエンス株式会社グループ下の Wallac Oy 製の「DELFLIA」（商品名）が励起されて、6 1 3 n m の波長の蛍光が放出される。

【 0 0 6 9 】

所定の時間が経過すると、C P U 3 0 は、光源制御手段 3 5 に、光源消灯信号を出力し、光源制御手段 3 5 は、光源消灯信号を受けると、第一のキセノンフラッシュランプ 2 1 および第二のキセノンフラッシュランプ 2 2 をオフする。

【 0 0 7 0 】

同時に、C P U 3 0 は、冷却 C C D カメラ 1 のカメラ制御回路 1 2 に、露出信号を出力し、シャッター 9 を開放させる。

【 0 0 7 1 】

その結果、第一のキセノンフラッシュランプ 2 1 および第二のキセノンフラッシュランプ

10

20

30

40

50

22をオフした後にも、蛍光色素から放出されている613nmの波長の長寿命蛍光が、バンドパスフィルタ25およびカメラレンズ17を介して、冷却CCDカメラ1のCCD6の光電面に入射して、光電面に画像を形成する。CCD6の光電センサ40は、こうして、光電面に形成された画像の光を受け、これを電荷の形で蓄積する。バンドパスフィルタ25は、613nm近傍の波長の光のみを透過する性質を有しているから、マイクロタイタープレートの96のウエル内に収容された試料溶液を標識している蛍光色素である米国のパーキンエルマーライフサイエンス株式会社グループ下のWallac Oy製の「DELFIA」(商品名)から放出された613nmの波長の長寿命蛍光のみがCCD6の光電センサ40によって受光される。

【0072】

所定の時間が経過した後、CPU30は、冷却CCDカメラ1のカメラ制御回路12に、露出停止信号を出力し、シャッター9を閉じさせる。

【0073】

同時に、CPU30は、光源制御手段35に、光源点灯信号を出力して、光源制御手段35に、第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22をオンさせる。

【0074】

その結果、第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22から、再び、発光波長中心が340nmの励起光が、ステージ20上に載置された画像担体26に向けて、発せられ、マイクロタイタープレートに形成された96のウエル内に収容されている試料溶液を標識している蛍光色素である米国のパーキンエルマーライフサイエンス株式会社グループ下のWallac Oy製の「DELFIA」(商品名)が励起されて、613nmの波長の蛍光が放出される。

【0075】

所定の時間が経過すると、CPU30は、光源制御手段35に、光源消灯信号を出力して、第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22をオフさせる。

【0076】

同時に、CPU30は、冷却CCDカメラ1のカメラ制御回路12に、露出信号を出力し、シャッター9を再び開放させる。

【0077】

その結果、第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22をオフした後にも、蛍光色素から放出されている613nmの波長の長寿命蛍光が、バンドパスフィルタ25およびカメラレンズ17を介して、冷却CCDカメラ1のCCD6の光電面に入射して、光電面に画像を形成し、CCD6の光電センサ40が、こうして、光電面に形成された画像の光を受け、これを電荷の形で蓄積する。

【0078】

このような第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22のオン・オフと、シャッター9の開閉が、所定の露出時間が経過するまで、繰り返される。

【0079】

本実施態様においては、試料溶液を標識している蛍光色素は、米国のパーキンエルマーライフサイエンス株式会社グループ下のWallac Oy製の「DELFIA」(商品名)であり、この蛍光色素の長寿命蛍光の減衰時間は約1msであるので、CPU30は、1kHz以下の周波数で、第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22をオン・オフ制御するとともに、シャッター9を閉じ、開く制御を実行するように構成されている。

【0080】

所定の露出時間が経過すると、CPU30は、光源制御手段35に、露出完了信号を出力して、第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22

10

20

30

40

50

をオフさせるとともに、冷却ＣＣＤカメラ１のカメラ制御回路１２に露出完了信号を出力する。

【００８１】

カメラ制御回路１２は、ＣＰＵ３０から露出完了信号を受けると、読み出し制御回路４６を駆動して、ＣＣＤ６の光電センサ４０が電荷の形で蓄積したアナログ画像データを、電荷転送路４４を介して、出力増幅器４２に送り、さらに、Ａ／Ｄ変換器１０に転送させて、ディジタル化し、画像データバッファ１１に一時的に記憶させる。

【００８２】

カメラ制御回路１２に露出完了信号を出力すると同時に、ＣＰＵ３０は、画像データ転送手段３１にデータ転送信号を出力して、冷却ＣＣＤカメラ１の画像データバッファ１１から画像データを読み出させ、画像データ記憶手段３２に記憶させる。

10

【００８３】

その後、ユーザーがキーボード５に画像生成信号を入力すると、画像表示手段３４により、画像データ記憶手段３２に記憶された画像データが読み出され、必要に応じて、画像データ処理手段３３によって、画像データ処理が施され、画像データ処理が施された画像データに基づいて、ＣＲＴ４の画面上に、マイクロタイタプレートの９６のウエル内に収容された試料溶液を標識している蛍光色素の画像が表示される。

【００８４】

マイクロアレイに担持されている蛍光色素の画像データを生成するときは、画像担体２６として、スライドガラス板やメンブレンフィルタなどの基板表面上に、スポット状に滴下された特異的結合物質に、蛍光色素によって標識された生体由来の物質をハイブリダイズさせたスポットを有するマイクロアレイが、ステージ２０上に載置されて、暗箱２が閉じられる。

20

【００８５】

マイクロタイタプレートの場合と同様にして、ＣＰＵ３０により、１ｋＨｚ以下の周波数で、第一のキセノンフラッシュランプ２１および第二のキセノンフラッシュランプ２２がオン・オフ制御されるとともに、シャッター９を閉じ、開く制御が実行されて、所定の露出時間が経過すると、ＣＣＤ６の光電センサ４０が電荷の形で蓄積したアナログ画像データが、電荷転送路４４および出力増幅器４２を介して、Ａ／Ｄ変換器１０に転送させて、ディジタル化され、ディジタル画像データが生成される。

30

【００８６】

こうして生成されたディジタル画像データに基づいて、マイクロタイタプレートの場合と同様にして、ＣＲＴ４の画面上に、スライドガラス板やメンブレンフィルタなどの基板表面上に、スポット状に滴下された特異的結合物質にハイブリダイズされた生体由来の物質を標識している蛍光色素の画像が表示される。

【００８７】

本実施態様によれば、シャッター９を閉じた状態に保持して、第一のキセノンフラッシュランプ２１および第二のキセノンフラッシュランプ２２をオンして、マイクロタイタプレートの９６のウエル内に収容された試料溶液を標識している蛍光色素あるいはスライドガラス板やメンブレンフィルタなどの基板表面上に、スポット状に滴下された特異的結合物質にハイブリダイズされた生体由来の物質を標識している蛍光色素を励起し、第一のキセノンフラッシュランプ２１および第二のキセノンフラッシュランプ２２をオフして、シャッター９を開き、第一のキセノンフラッシュランプ２１および第二のキセノンフラッシュランプ２２がオフされた後も、蛍光色素から放出される長寿命蛍光を、ＣＣＤ６の光電センサ４０によって光電的に検出し、画像データを生成しており、冷却ＣＣＤカメラ１によって、長寿命蛍光を受光しているときは、第一のキセノンフラッシュランプ２１および第二のキセノンフラッシュランプ２２はオフ状態にあるから、第一のキセノンフラッシュランプ２１および第二のキセノンフラッシュランプ２２から発せられた励起光が、ＣＣＤ６の光電センサ４０によって受光されることに起因する画像データのノイズを大幅に低減させることが可能になる。

40

50

【0088】

また、本実施態様によれば、マイクロタイタープレートに形成された96のすべてのウェル内に収容された試料溶液を標識している蛍光色素の画像データあるいはスライドガラス板やメンブレンフィルタなどの基板表面上に、スポット状に滴下された特異的結合物質にハイブリダイズされた生体由来の物質を標識しているすべてのスポット内の蛍光色素の画像データは、同時に、冷却CCDカメラ1によって生成されるから、マイクロタイタープレートに形成されたウェル内の試料溶液の反応が時間とともに進行するような場合にも、マイクロタイタープレートに形成された96のすべてのウェル内に、一度に、蛍光色素によって標識された試料溶液を収容させることができ、短時間に、かつ、簡易な操作で、ノイズが大幅に低減された画像データを生成することが可能になり、また、スライドガラス板やメンブレンフィルタなどの基板表面上に、スポット状に滴下された特異的結合物質に、標識物質によって標識された生体由来の物質をハイブリダイズさせたスポットの状態が経時的に変化するような場合にも、時間経過の影響を受けない画像データを生成することが可能になる。

10

【0089】

さらに、本実施態様によれば、所定の露出時間が経過するまで、CPU30により、1kHz以下の周波数で、第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22がオン・オフ制御されるとともに、シャッター9を閉じ、開く制御が実行されているから、冷却CCDカメラ1のCCD6の光電センサ40に、十分な光量の長寿命蛍光を受光させることができ、したがって、所望の画像を生成することのできる画像データを生成することが可能になる。

20

【0090】

図6は、本発明の別の好ましい実施態様にかかる画像データ生成装置の冷却CCDカメラの略縦断面図である。

【0091】

図6に示されるように、本実施態様にかかる画像データ生成装置においては、冷却CCDカメラ1は、シャッターを備えていない点を除いて、図2と同様の構成を有している。

【0092】

図7は、暗箱2の略縦断面図である。

【0093】

図7に示されるように、本実施態様にかかる画像データ生成装置においては、613nm近傍の波長の光のみを透過するバンドパスフィルタは設けられておらず、また、キセノンフラッシュランプ52から発せられる励起光は、光ファイバ54によって、暗箱2内に導かれるように構成されている。

30

【0094】

図7に示されるように、チョッパ50は、冷却CCDカメラ1のカメラレンズ17の前面に位置するとともに、光ファイバ54の励起光射出端部56の前面に位置している。

【0095】

図8は、チョッパ50の略平面図である。

【0096】

図8に示されるように、チョッパ50は、回転可能な円板58によって形成されており、円板58には、CCD6を露光するための一対のCCD露光用開口部60が、回転方向に、180度の角度を隔てて、形成され、キセノンフラッシュランプ52から発せられる励起光を暗箱2内に導くための一対の励起光用開口部62が、回転方向に、180度の角度を隔てて、形成されている。

40

【0097】

ここに、一対のCCD露光用開口部60と、一対の励起光用開口部62は、CCD露光用開口部60の一方が、冷却CCDカメラ1のカメラレンズ17の前面に位置しているときは、励起光用開口部62が、光ファイバ54の励起光射出端部56の前面から退避し、チョッパ50の円板58によって、光ファイバ54の励起光射出端部56が閉じられ、かつ

50

、励起光用開口部 6 2 の一方が、光ファイバ 5 4 の励起光射出端部 5 6 の前面に位置しているときは、CCD 露光用開口部 6 0 が、冷却 CCD カメラ 1 のカメラレンズ 1 7 の前面から退避して、チョッパ 5 0 の円板 5 8 によって、カメラレンズ 1 7 が閉じられるような位置関係に形成されている。

【 0 0 9 8 】

本実施態様において、チョッパ 5 0 の回転は、パーソナルコンピュータ 3 の CPU 3 0 によって制御されている。

【 0 0 9 9 】

本実施態様においても、マイクロタイタプレートに形成された 9 6 のウエル内に収容された試料溶液を標識する蛍光色素あるいはスライドガラス板やメンブレンフィルタなどの基板表面上に、スポット状に滴下された特異的結合物質にハイブリダイズされた生体由来の物質を標識する蛍光色素として、米国のパーキンエルマーライフサイエンス株式会社グループ下の Wallac Oy 製の「DELFLIA」(商品名)が用いられており、この蛍光色素の長寿命蛍光の減衰時間は約 1 m s であるので、CPU 3 0 は、1 k H z 以下の周波数で、キセノンフラッシュランプ 5 2 をオン・オフ制御するように、たとえば、1 0 0 H z の周波数で、駆動するときは、CCD 6 の露光時に、チョッパ 5 0 を、3 0 0 0 r p m で、回転させるように、チョッパ 5 0 を回転駆動するモータ(図示せず)を制御している。

【 0 1 0 0 】

以上のように構成された本発明の別の好ましい実施態様にかかる画像データ生成装置は、次のようにして、マイクロタイタプレートが担持している蛍光色素の画像データを生成する

まず、チョッパ 5 0 の CCD 露光用開口部 6 0 が、カメラレンズ 1 7 の前面に位置した状態で、ユーザーによって、カメラレンズ 1 7 が用られ、レンズフォーカス合わせがなされる。

【 0 1 0 1 】

次いで、画像担体 2 6 として、3 価のユーロピウムによって賦活された蛍光色素である米国のパーキンエルマーライフサイエンス株式会社グループ下の Wallac Oy 製の「DELFLIA」(商品名)によって標識された試料溶液が、9 6 のウエル内に収容されたマイクロタイタプレート(図示せず)がステージ 2 0 上に載置されて、暗箱 2 が閉じられる。

次いで、ユーザーによって、キーボード 5 に、露出開始信号が入力されると、CPU 3 0 は、チョッパ 5 0 を回転駆動するモータ(図示せず)に駆動信号を出力して、1 k H z 以下の周波数で、キセノンフラッシュランプ 5 2 をオン・オフ制御するように、たとえば、1 0 0 H z の周波数で、駆動するときは、CCD 6 の露光時に、チョッパ 5 0 を、3 0 0 0 r p m の回転数で回転させる。

【 0 1 0 2 】

次いで、CPU 3 0 は、光源制御手段 3 5 に、光源点灯信号を出力し、光源制御手段 3 5 は、光源点灯信号を受けると、キセノンフラッシュランプ 5 2 をオンする。

【 0 1 0 3 】

その結果、励起光用開口部 6 2 の一方が、光ファイバ 5 4 の励起光射出端部 5 6 の前面に位置しているときは、CCD 露光用開口部 6 0 が、冷却 CCD カメラ 1 のカメラレンズ 1 7 の前面から退避し、チョッパ 5 0 の円板 5 8 によって、カメラレンズ 1 7 が閉じられるような位置関係に、一対の CCD 露光用開口部 6 0 と、一対の励起光用開口部 6 2 が、円板 5 8 に形成されているため、カメラレンズ 1 7 が、チョッパ 5 0 の円板により閉じられた状態で、キセノンフラッシュランプ 5 2 から発せられた発光波長中心が 3 4 0 n m の励起光が、光ファイバ 5 4 の励起光射出端部 5 6 を介して、暗箱 2 内に導かれて、マイクロタイタプレートに形成された 9 6 のウエル内に収容されている試料溶液を標識している蛍光色素である米国のパーキンエルマーライフサイエンス株式会社グループ下の Wallac Oy 製の「DELFLIA」(商品名)が励起されて、6 1 3 n m の波長の蛍光が放出される。

【 0 1 0 4 】

他方、CCD 露光用開口部 6 0 の一方が、冷却 CCD カメラ 1 のカメラレンズ 1 7 の前面

10

20

30

40

50

に位置しているときは、励起光用開口部 6 2 が、光ファイバ 5 4 の励起光射出端部 5 6 の前面から退避し、チョッパ 5 0 の円板 5 8 によって、光ファイバ 5 4 の励起光射出端部 5 6 が閉じられているから、キセノンフラッシュランプ 5 2 から発せられた励起光が、光ファイバ 5 4 の励起光射出端部 5 6 により、暗箱 2 内に導かれてない間だけ、励起光の照射が完了した後も、蛍光色素から放出されている 6 1 3 n m の波長の長寿命蛍光が、バンドパスフィルタ 2 5 およびカメラレンズ 1 7 を介して、冷却 C C D カメラ 1 の C C D 6 の光電面に入射して、光電面に画像を形成し、C C D 6 の光電センサ 4 0 が、こうして、光電面に形成された画像の光を受け、これを電荷の形で蓄積する。

【 0 1 0 5 】

チョッパ 5 0 は、C P U 3 0 によって、1 k H z 以下の周波数で、キセノンフラッシュランプ 5 2 をオン・オフ制御するように、たとえば、1 0 0 H z の周波数で、駆動されるときは、C C D 6 の露光時に、3 0 0 0 r p m の回転数で回転されるように制御されているから、1 k H z 以下の周波数で、蛍光色素への励起光の照射と長寿命蛍光の検出が繰り返される。

10

【 0 1 0 6 】

所定の露出時間が経過すると、C P U 3 0 は、光源制御手段 3 5 に、露出完了信号を出力して、キセノンフラッシュランプ 5 2 をオフさせるとともに、冷却 C C D カメラ 1 のカメラ制御回路 1 2 に露出完了信号を出力する。

【 0 1 0 7 】

カメラ制御回路 1 2 は、C P U 3 0 から露出完了信号を受けると、読み出し制御回路 4 6 を駆動して、C C D 6 の光電センサ 4 0 が電荷の形で蓄積したアナログ画像データを、電荷転送路 4 4 を介して、出力増幅器 4 2 に送り、さらに、A / D 変換器 1 0 に転送させて、デジタル化し、画像データバッファ 1 1 に一時的に記憶させる。

20

【 0 1 0 8 】

カメラ制御回路 1 2 に露出完了信号を出力すると同時に、C P U 3 0 は、画像データ転送手段 3 1 にデータ転送信号を出力して、冷却 C C D カメラ 1 の画像データバッファ 1 1 から画像データを読み出させ、画像データ記憶手段 3 2 に記憶させる。

【 0 1 0 9 】

その後、ユーザーがキーボード 5 に画像生成信号を入力すると、画像表示手段 3 4 により、画像データ記憶手段 3 2 に記憶された画像データが読み出され、必要に応じて、画像データ処理手段 3 3 によって、画像データ処理が施され、画像データ処理が施された画像データに基づいて、C R T 4 の画面上に、マイクロタイタプレートの 9 6 のウエル内に収容された試料溶液を標識している蛍光色素の画像が表示される。

30

【 0 1 1 0 】

マイクロアレイに担持されている蛍光色素の画像データを生成するときも、同様にして、チョッパ 5 0 が、1 k H z 以下の周波数で、キセノンフラッシュランプ 5 2 をオン・オフ制御するように、たとえば、1 0 0 H z の周波数で、駆動されるときは、C C D 6 の露光時に、3 0 0 0 r p m の回転数で、回転されて、長寿命蛍光が、冷却 C C D カメラ 1 によって受光される。

【 0 1 1 1 】

40

本実施態様によれば、チョッパ 5 0 を回転させて、蛍光色素への励起光の照射と長寿命蛍光の検出が繰り返されるように構成されているから、簡易な構成で、かつ、確実に、励起光が照射されていないときにのみ、長寿命蛍光を、C C D 6 の光電センサ 4 0 によって受光し、キセノンフラッシュランプ 5 2 から発せられた励起光が、C C D 6 の光電センサ 4 0 によって受光されることに起因する画像データのノイズを大幅に低減させることが可能になる。

【 0 1 1 2 】

また、本実施態様によれば、カメラレンズ 1 7 の前面に、6 1 3 n m の波長の光のみを透過するバンドパスフィルタが設けられていないから、より多くの光量の長寿命蛍光を C C D 6 の光電センサ 4 0 によって受光することが可能になる。

50

【0113】

図9は、本発明の他の好ましい実施態様にかかる画像データ生成装置の暗箱2の略縦断面図である。

【0114】

図9に示されるように、本実施態様にかかる画像データ生成装置は、さらに、ステージ20の上方に、ステイ72によって、フレネルレンズ70が支持されている点を除き、図1ないし図5に示された実施態様と同様の構成を有している。

【0115】

本実施態様においては、画像データ生成装置は、ステージ20の上方に、さらに、フレネルレンズ70を備えているので、マイクロタイタプレート96のウェル内に収容された試料溶液を標識している蛍光色素の画像を読み取る場合にも、パララックスを生じることなく、マイクロタイタプレートから発せられる蛍光を、CCD6の光電センサ40によって受光して、画像データを生成することが可能になる。

10

【0116】

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

【0117】

たとえば、前記実施態様においては、マイクロタイタプレートに形成された96のウェル内に収容された試料溶液を標識する蛍光色素あるいはスライドガラス板やメンブレンフィルタなどの基板表面上に、スポット状に滴下された特異的結合物質にハイブリダイズされた生体由来の物質を標識する蛍光色素として、米国のパーキンエルマーライフサイエンス株式会社グループ下のWallac Oy製の「DELFLIA」(商品名)が用いられているが、ある程度の長さ以上の長寿命蛍光の減衰時間を有する蛍光物質であればよく、「DELFLIA」(商品名)に代えて、たとえば、SYPRO Ruby(登録商標)などの蛍光色素を用いることもできる。

20

【0118】

さらに、前記実施態様においては、96のウェルが形成されたマイクロタイタプレートを用いているが、384のウェルが形成されたマイクロタイタプレートを用いることもでき、マイクロタイタプレートに形成されたウェルの数は限定されるものではない。

30

【0119】

また、前記実施態様においては、1kHz以下の周波数で、蛍光色素への励起光の照射と長寿命蛍光の検出が繰り返されるように、CPU30が、第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22のオン・オフおよびシャッタ9の開閉あるいはチョッパ50の回転を制御しているが、いかなる周波数で、蛍光色素への励起光の照射と長寿命蛍光の検出が繰り返されるように制御するかは、蛍光物質が放出する長寿命蛍光の減衰時間によって、任意に決定することができる。

【0120】

さらに、前記実施態様においては、発光発光波長中心が340nmの励起光を得るための第一のキセノンフラッシュランプ21および第二のキセノンフラッシュランプ22あるいはキセノンフラッシュランプ52が用いられているが、かかる波長の励起光を発する励起光源に限定されるものではなく、使用する蛍光物質に応じて、任意の波長の励起光を発する励起光源を用いることができる。

40

【0121】

また、図1ないし図5に示された実施態様および図9に示された実施態様においては、カメラレンズ17の前面に、613nmの波長の光のみを透過するバンドパスフィルタ25が設けられているが、613nmの波長の光のみを透過するバンドパスフィルタ25に代えて、励起光の波長近傍の光をカットする励起光カットフィルタを、カメラレンズ17の前面に設けてもよい。

【0122】

50

さらに、図 6 ないし図 8 に示された実施態様においては、カメラレンズ 17 の前面に、バンドパスフィルタは設けられていないが、613 nm の波長の光のみを透過するバンドパスフィルタを、カメラレンズ 17 の前面に設けるようにしてもよい。

【0123】

また、図 1 ないし図 5 に示された実施態様および図 9 に示された実施態様においては、カメラレンズ 17 の前面に、613 nm の波長の光のみを透過するバンドパスフィルタ 25 が設けられているが、場合によっては、バンドパスフィルタ 25 を設けないようにすることもできる。

【0124】

さらに、図 1 ないし図 5 に示された実施態様においては、第一のキセノンフラッシュランプ 21 および第二のキセノンフラッシュランプ 22 が設けられているが、いずれか一方のみを設けるようにしてもよい。

10

【0125】

また、図 6 ないし図 8 に実施態様においては、単一のキセノンフラッシュランプ 52 のみが設けられているが、カメラレンズ 17 を挟むように、2 つのキセノンフラッシュランプを設けることもできる。

【0126】

さらに、図 6 ないし図 8 に示される実施態様においては、フレネルレンズは設けられていないが、図 9 に示された実施態様と同様に、フレネルレンズ 70 を設けることもできる。

【0127】

20

また、図 9 に示された実施態様においては、フレネルレンズ 70 はステイ 72 によって支持されているが、マイクロタイタプレート上に重ね合わせるようにしてもよい。

【0128】

また、図 9 に示された実施態様においては、フレネルレンズ 70 を設けているが、フレネルレンズ 70 に代えて、凸レンズを設けることもできる。

【0129】

さらに、前記実施態様においては、マイクロタイタプレートの 96 のウエル内に収容された試料溶液を標識している蛍光色素の画像およびスライドガラス板やメンブレンフィルタなどの基板表面上に、スポット状に滴下された特異的結合物質にハイブリダイズされた生体由来の物質を標識している蛍光色素の画像を読み取って、画像データを生成する場合につき、説明を加えたが、本発明は、かかる蛍光色素の画像を読み取って、画像データを生成する場合に限定されるものではなく、本発明は、互いに独立して形成され、二次元的に分布された蛍光物質によって標識されている試料の状態が経時的に変化する場合における蛍光物質の画像の読み取り、画像データの生成に広く適用することができる。

30

【0130】

また、前記実施態様においては、冷却 CCD カメラ 1 の周囲に、ペルチエ素子 8 が発する熱を放熱するための放熱フィン 16 が、長手方向のほぼ 1/2 にわたって形成されているが、長手方向のすべてにわたって、放熱フィン 16 を設けてもよく、CCD カメラ 1 の周囲に、どの程度、放熱フィン 14 を設けるかは、任意に決定することができる。

【0131】

40

さらに、前記実施態様においては、冷却 CCD カメラ 1 を用いているが、冷却手段を備えない CCD カメラを用いることもできる。

【0132】

また、前記実施態様においては、CCD カメラ 1 を用いているが、CCD カメラ 1 に代えて、CID (電荷注入素子)、PDA (フォトダイオードアレイ)、MOS 型撮像素子など、二次元エリアセンサとして機能する他の固体撮像素子を用いることもできる。

【0133】

さらに、図 6 ないし図 8 に示された実施態様においては、一对の CCD 露光用開口部 61 および一对の励起光用開口部 62 が形成されたチョッパ 50 を用いているが、CCD 露光用開口部 61 および励起光用開口部 62 が、一つづつ、形成されたチョッパ 50 を用いる

50

ことも、３以上のＣＣＤ露光用開口部６１および励起光用開口部６２が形成されたチョッパ５０を用いることもできる。

【０１３４】

また、図６ないし図８に示された実施態様においては、光ファイバ５４によって、キセノンフラッシュランプ５２から発せられた励起光が導かれているが、光ファイバ５４に代えて、他の光ガイドを用いるようにしてもよい。

【０１３５】

さらに、図６ないし図８に示された実施態様においては、キセノンフラッシュランプ５２から発せられた励起光を導く光ファイバ５４の励起光射出端部の前面に、チョッパ５０が配置されているが、光ファイバ５４を設けずに、キセノンフラッシュランプ５２の前面に、チョッパ５０を配置することもできる。

10

【０１３６】

また、前記実施態様においては、ＣＲＴ４の画面上に、画像を再生するように構成されているが、ＣＲＴ４に代えて、液晶ディスプレイや有機ＥＬディスプレイなどのフラットパネルディスプレイを用いることもできる。

【０１３７】

【発明の効果】

本発明によれば、互いに独立して形成されるとともに、二次元的なひろがりをもって、分布され、少なくともその一部が蛍光物質を含んだ試料を備えた画像担体に励起光を照射して、蛍光物質を励起し、蛍光物質から放出された蛍光を光電的に検出することによって、短時間に、かつ、簡易な操作で、ノイズの少ない画像データを生成することができる画像データ生成方法および装置を提供することが可能になる。

20

【図面の簡単な説明】

【図１】図１は、本発明の好ましい実施態様にかかる画像データ生成装置の略正面図である。

【図２】図２は、冷却ＣＣＤカメラの略縦断面図である。

【図３】図３は、暗箱の略縦断面図である。

【図４】図４は、パーソナルコンピュータの周辺のブロックダイアグラムである。

【図５】図５は、ＣＣＤの周辺のブロックダイアグラムである。

【図６】図６は、本発明の別の好ましい実施態様にかかる画像データ生成装置の冷却ＣＣＤカメラの略縦断面図である。

30

【図７】図７は、本発明の別の好ましい実施態様にかかる画像データ生成装置の暗箱２の略縦断面図である。

【図８】図８は、チョッパの略平面図である。

【図９】図９は、本発明の他の好ましい実施態様にかかる画像データ生成装置の暗箱の略縦断面図である。

【符号の説明】

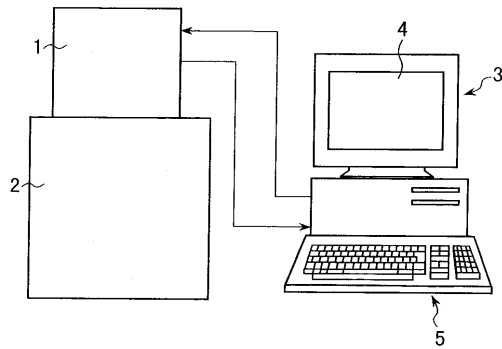
- １ 冷却ＣＣＤカメラ
- ２ 暗箱
- ３ パーソナルコンピュータ
- ４ ＣＲＴ
- ５ キーボード
- ６ ＣＣＤ
- ７ 伝熱板
- ８ ベルチエ素子
- ９ シャッタ
- １０ Ａ／Ｄ変換器
- １１ 画像データバッファ
- １２ カメラ制御回路
- １５ ガラス板

40

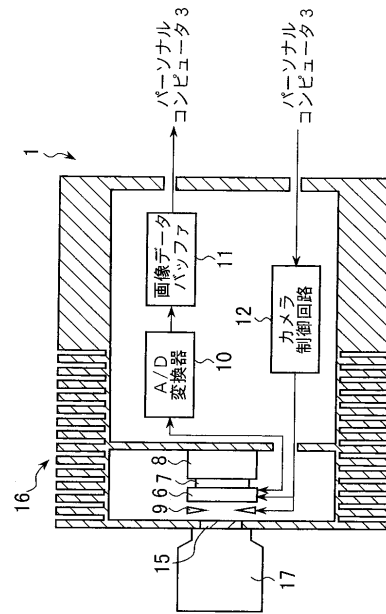
50

1 6	放熱フィン	
1 7	カメラレンズ	
2 0	ステージ	
2 1	第一のキセノンフラッシュランプ	
2 2	第二のキセノンフラッシュランプ	
2 3	フィルタ	
2 4	フィルタ	
2 5	バンドパスフィルタ	
2 6	画像担体	
3 0	C P U	10
3 1	画像データ転送手段	
3 2	画像データ記憶手段	
3 3	画像データ処理手段	
3 4	画像表示手段	
3 5	光源制御手段	
4 0	光電センサ	
4 2	出力増幅器	
4 4	電荷転送路	
4 6	読み出し制御回路	
5 0	チョッパ	20
5 2	キセノンフラッシュランプ	
5 4	光ファイバ	
5 6	光ファイバの励起光射出端部	
5 8	円板	
6 0	C C D 露光用開口部	
6 2	励起光用開口部	
7 0	フレネルレンズ	
7 2	ステイ	

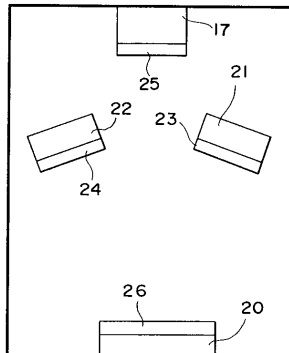
【図 1】



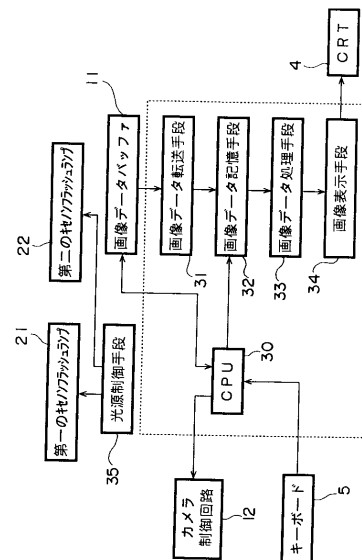
【図 2】



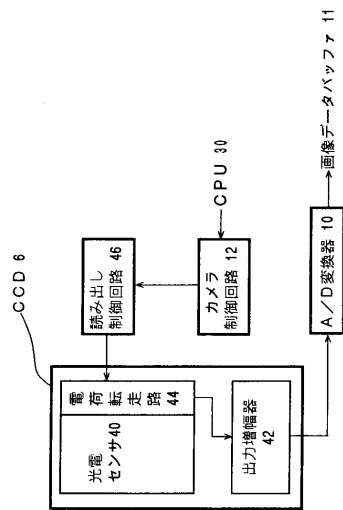
【図 3】



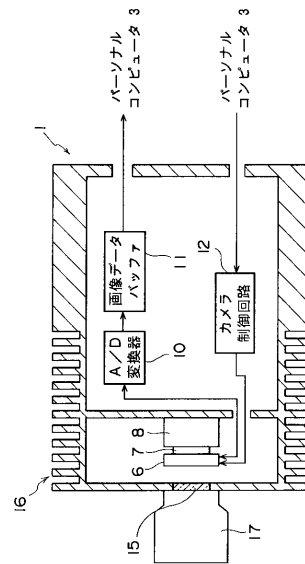
【図 4】



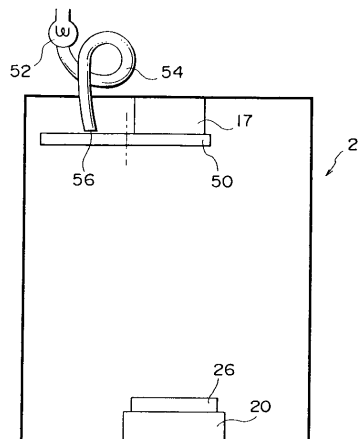
【 図 5 】



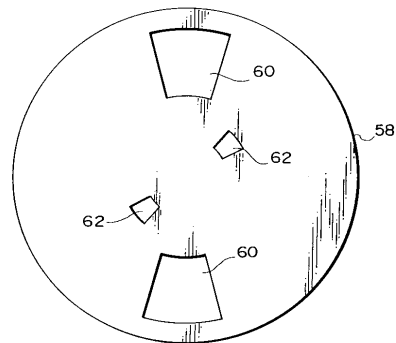
【 図 6 】



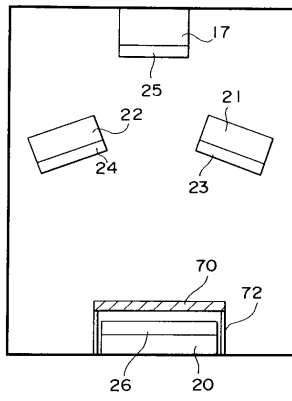
【圖 7】



【 図 8 】



【 図 9 】



フロントページの続き

- (56)参考文献 特開平10-300672(JP,A)
国際公開第99/008233(WO,A1)
特開平10-311796(JP,A)
特開2000-074837(JP,A)
特開昭49-089587(JP,A)

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