(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119310167 A
(43)申请公布日 2025.01.14

(21)申请号 202411307797.X

(22)申请日 2020.04.21

(30)优先权数据
2019-096011 2019.05.22 JP

(62)分案原申请数据
202080036799.3 2020.04.21

(71)申请人 株式会社日立高新技术
地址 日本

(72)发明人 穴泽隆 伊名波良仁 山本周平 中泽太朗 藤冈满 山崎基博

(74)专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司 11021
专利代理师 潘剑颖

(51)Int.Cl.
G01N 27/447(2006.01)
G01N 21/64(2006.01)
C12M 1/00(2006.01)
C12Q 1/6869(2018.01)
C12M 1/34(2006.01)

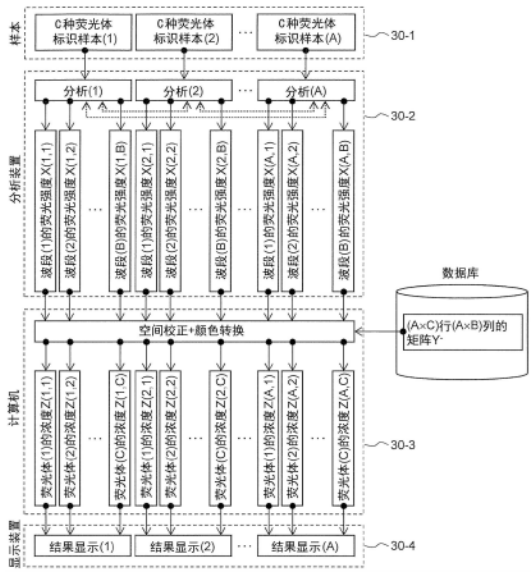
权利要求书12页 说明书29页 附图33页

(54)发明名称

分析装置以及分析方法

(57)摘要

为了识别来自多个发光点的多种荧光体的发光,在分别在多个波段对来自各发光点的荧光进行检测的分析方法以及分析装置中,在多个发光点以及多个波段的信号强度之间存在空间串扰以及光谱串扰,上述识别的性能降低。通过向预先确定的运算式输入多个发光点各自的多个波段中的检测信号的全部,从而消除空间串扰以及光谱串扰,导出各发光点的各发光体的浓度。



CN 119310167 A

1.一种使用多毛细管电泳装置的分析方法,所述多毛细管电泳装置被配置为使用A个毛细管Cap(a)并行地对包含荧光体的A个样本Sam(a)进行电泳分析,A为2以上的整数,a＝1,2,…,A,

所述多毛细管电泳装置包括:

电源,被配置为在所述A个毛细管Cap(a)中的每一个的两端施加电压;

所述A个毛细管Cap(a)上的A个发光点P(a),所述A个发光点是通过用一个或多个激光束照射所述A个毛细管Cap(a)而诱发的荧光的发射源;

光学系统,被配置为对从所述A个发光点P(a)发出的所述A个样本Sam(a)中包含的荧光体的荧光的A个原始信号X(a)进行检测;

计算机,被配置为对所述A个原始信号X(a)执行一并处理,

以输出与所述A个发光点处的荧光体的浓度相对应的A个处理后信号Z(a);以及

显示器,被配置为显示所述A个处理后信号Z(a)的时间序列,所述方法包括:

制备一个包含多个被不同浓度的荧光体标记的成分的样本,所述多个成分在所述A个处理后信号Z(a)的时间序列中显示多个不同的处理后信号峰值;

进行电泳分析,在所述电泳分析中,向A个毛细管Cap(a)中的一个毛细管Cap(a＝j)中注入的样本Sam(a＝j)为所述一个样本,其他毛细管Cap(a≠j)中不注入包含荧光体的样本,j为常数;以及

调整所述多毛细管电泳装置的条件,使得对于所述一个毛细管Cap(a＝j)上的发光点P(a＝j),在处理后信号Z(a＝j)的时间序列中,所述处理后信号峰值的一些强度低于所述多毛细管电泳装置的饱和强度,而所述处理后信号峰值的其他强度高于或等于所述多毛细管电泳装置的饱和强度。

2.根据权利要求1所述的分析方法,其中,

在所述一并处理中,所述多毛细管电泳装置被配置为除了使用所述一个发光点P(a＝j)的原始信号X(a＝j)之外,还使用所述一个发光点P(a＝j)以外的发光点P(a≠j)的原始信号X(a≠j)。

3.根据权利要求1或2所述的分析方法,其中,

当所述处理后信号Z(a＝j)低于所述饱和强度时,所述A个处理后信号Z(a)之间的空间串扰与所述A个原始信号X(a)之间的空间串扰相比较小。

4.根据权利要求1或2所述的分析方法,其中,

所述多毛细管电泳装置被配置为:针对所述一个毛细管Cap(a＝j)之外的毛细管Cap(a≠j)上的发光点P(a≠j),在处理后信号Z(a≠j)的时间序列中提供一个或多个串扰处理后信号峰值,所述一个或多个串扰处理后信号峰值与所述一个毛细管Cap(a＝j)上的发光点P(a＝j)的处理后信号Z(a＝j)的时间序列中的处理后信号峰值的一部分同步,并且

所述一个或多个串扰处理后信号峰值的每个强度随着所述一个样本中的对应成分的浓度非线性增加。

5.根据权利要求3所述的分析方法,其中,

所述多毛细管电泳装置被配置为:针对所述一个毛细管Cap(a＝j)之外的毛细管Cap(a≠j)上的发光点P(a≠j),在处理后信号Z(a≠j)的时间序列中提供一个或多个串扰处理后信号峰值,所述一个或多个串扰处理后信号峰值与所述一个毛细管Cap(a＝j)上的发光点P

(a＝j)的处理后信号Z(a＝j)的时间序列中的处理后信号峰值的一部分同步,并且

所述一个或多个串扰处理后信号峰值的每个强度随着所述一个样本中的对应成分的浓度非线性增加。

6.根据权利要求1或2所述的分析方法,其中,

所述多毛细管电泳装置被配置为:针对所述一个毛细管Cap(a＝j)之外的毛细管Cap(a≠j)上的发光点P(a≠j),在处理后信号Z(a≠j)的时间序列中提供一个或多个串扰处理后信号峰值,所述一个或多个串扰处理后信号峰值与所述一个毛细管Cap(a＝j)上的发光点P(a＝j)的处理后信号Z(a＝j)的时间序列中的处理后信号峰值的一部分同步,并且

当对应的处理后信号峰值的强度低于所述饱和强度时,所述一个或多个串扰处理后信号峰值的每个强度保持为低,当对应的处理后信号峰值的强度高于或等于所述饱和强度时,所述一个或多个串扰处理后信号峰值的每个强度随着所述一个样本中的对应成分的浓度的增加而增加。

7.根据权利要求3所述的分析方法,其中,

所述多毛细管电泳装置被配置为:针对所述一个毛细管Cap(a＝j)之外的毛细管Cap(a≠j)上的发光点P(a≠j),在处理后信号Z(a≠j)的时间序列中提供一个或多个串扰处理后信号峰值,所述一个或多个串扰处理后信号峰值与所述一个毛细管Cap(a＝j)上的发光点P(a＝j)的处理后信号Z(a＝j)的时间序列中的处理后信号峰值的一部分同步,并且

当对应的处理后信号峰值的强度低于所述饱和强度时,所述一个或多个串扰处理后信号峰值的每个强度保持为低,当对应的处理后信号峰值的强度高于或等于所述饱和强度时,所述一个或多个串扰处理后信号峰值的每个强度随着所述一个样本中的对应成分的浓度的增加而增加。

8.一种使用多毛细管电泳装置的分析方法,所述多毛细管电泳装置被配置为使用A个毛细管Cap(a)并行地对包含C种的荧光体的A个样本Sam(a)进行电泳分析,A为2以上的整数,a＝1,2,…,A,C为1以上的整数,

所述多毛细管电泳装置包括:

电源,被配置为在所述A个毛细管Cap(a)中的每一个的两端施加电压;

所述A个毛细管Cap(a)上的A个发光点P(a),所述A个发光点是通过用一个或多个激光束照射所述A个毛细管Cap(a)而诱发的荧光的发射源;

光学系统,被配置为在B个波段W(a,b)中对从所述A个发光点P(a)发出的所述A个样本Sam(a)中包含的C种的荧光体D(a,

c)的荧光的A×B个原始信号X(a,b)进行检测,B为1以上的整数,b＝1,2,…,B,c＝1,2,…,C;

计算机,被配置为对所述A×B个原始信号X(a,b)执行一并处理,以输出与所述A个发光点处的C种的荧光体D(a,c)的浓度相对应的A×C个处理后信号Z(a,c);以及

显示器,被配置为显示所述A×C个处理后信号Z(a,c)的时间序列,

所述方法包括:

制备一个包含多个被不同浓度的C种的荧光体中的一种荧光体D(a,c＝c0)标记的成分的样本,所述多个成分在处理后信号Z(a,c＝c0)的时间序列中显示多个不同的处理后信号峰值,c0为常数;

进行电泳分析,在所述电泳分析中,向A个毛细管Cap(a)中的一个毛细管Cap(a＝j)中注入的样本Sam(a＝j)为所述一个样本,所述一个毛细管Cap(a＝j)之外的其他毛细管Cap(a≠j)中不注入包含任何荧光体的样本,j为常数;以及

调整所述多毛细管电泳装置的条件,使得对于所述一个毛细管Cap(a＝j)上的发光点P(a＝j),在处理后信号Z(a＝j,c＝c0)的时间序列中,所述处理后信号峰值的一些强度低于所述多毛细管电泳装置的饱和强度,而所述处理后信号峰值的其他强度高于或等于所述多毛细管电泳装置的饱和强度。

9.根据权利要求8所述的分析方法,其中,

在所述一并处理中,所述多毛细管电泳装置被配置为除了使用所述一个发光点P(a＝j)的原始信号X(a＝j,b＝b0)之外,还使用所述一个发光点P(a＝j)以外的发光点P(a≠j)的原始信号X(a≠j,b＝b0),b0为常数。

10.根据权利要求8或9所述的分析方法,其中,

当所述处理后信号Z(a＝j,c＝c0)低于所述饱和强度时,所述A×C个处理后信号Z(a,c)之间的空间串扰和光谱串扰与所述A×B个原始信号X(a,b)之间的空间串扰和光谱串扰相比较小。

11.根据权利要求8或9所述的分析方法,其中,

所述多毛细管电泳装置被配置为:针对所述一个毛细管Cap(a＝j)之外的毛细管Cap(a≠j)上的发光点P(a≠j),在处理后信号Z(a≠j,c＝c0)的时间序列中提供一个或多个串扰处理后信号峰值,所述一个或多个串扰处理后信号峰值与所述一个毛细管Cap(a＝j)上的发光点P(a＝j)的处理后信号Z(a＝j,c＝c0)的时间序列中的处理后信号峰值的一部分同步,并且

所述一个或多个串扰处理后信号峰值的每个强度随着所述一个样本中的对应成分的浓度非线性增加。

12.根据权利要求10所述的分析方法,其中,

所述多毛细管电泳装置被配置为:针对所述一个毛细管Cap(a＝j)之外的毛细管Cap(a≠j)上的发光点P(a≠j),在处理后信号Z(a≠j,c＝c0)的时间序列中提供一个或多个串扰处理后信号峰值,所述一个或多个串扰处理后信号峰值与所述一个毛细管Cap(a＝j)上的发光点P(a＝j)的处理后信号Z(a＝j,c＝c0)的时间序列中的处理后信号峰值的一部分同步,并且

所述一个或多个串扰处理后信号峰值的每个强度随着所述一个样本中的对应成分的浓度非线性增加。

13.根据权利要求8或9所述的分析方法,其中,

所述多毛细管电泳装置被配置为:针对所述一个毛细管Cap(a＝j)之外的毛细管Cap(a≠j)上的发光点P(a≠j),在处理后信号Z(a≠j,c＝c0)的时间序列中提供一个或多个串扰处理后信号峰值,所述一个或多个串扰处理后信号峰值与所述一个毛细管Cap(a＝j)上的发光点P(a＝j)的处理后信号Z(a＝j,c＝c0)的时间序列中的处理后信号峰值的一部分同步,并且

当对应的处理后信号峰值的强度低于所述饱和强度时,所述一个或多个串扰处理后信号峰值的每个强度保持为低,当对应的处理后信号峰值的强度高于或等于所述饱和强度

时,所述一个或多个串扰处理后信号峰值的每个强度随着所述一个样本中的对应成分的浓度的增加而增加。

14.根据权利要求10所述的分析方法,其中,

所述多毛细管电泳装置被配置为:针对所述一个毛细管Cap(a＝j)之外的毛细管Cap(a≠j)上的发光点P(a≠j),在处理后信号Z(a≠j,c＝c0)的时间序列中提供一个或多个串扰处理后信号峰值,所述一个或多个串扰处理后信号峰值与所述一个毛细管Cap(a＝j)上的发光点P(a＝j)的处理后信号Z(a＝j,c＝c0)的时间序列中的处理后信号峰值的一部分同步,并且

当对应的处理后信号峰值的强度低于所述饱和强度时,所述一个或多个串扰处理后信号峰值的每个强度保持为低,当对应的处理后信号峰值的强度高于或等于所述饱和强度时,所述一个或多个串扰处理后信号峰值的每个强度随着所述一个样本中的对应成分的浓度的增加而增加。

15.根据权利要求8或9所述的分析方法,其中,

当以所述A×B个原始信号X(a,b)作为要素的(A×B)行1列的矩阵X由下面的数学式1表示:

[数学式1]

$$X = \begin{pmatrix} X(1,1) \\ \vdots \\ X(1,B) \\ X(2,1) \\ \vdots \\ X(A,B) \end{pmatrix},$$

以所述A×C个处理后信号Z(a,c)作为要素的(A×C)行1列的矩阵Z由下面的数学式2表示:

[数学式2]

$$Z = \begin{pmatrix} Z(1,1) \\ \vdots \\ Z(1,C) \\ Z(2,1) \\ \vdots \\ Z(A,C) \end{pmatrix}$$ 并且

具有(A×B)×(A×C)个要素Y(a,b)(a,c)且满足X＝Y×Z的关系的(A×B)行(A×C)列的矩阵Y由下面的数学式3表示时:

[数学式3]

$$Y=\begin{pmatrix} Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,C) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(A,C) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots \\ Y(1,B)(1,1) & \cdots & Y(1,B)(1,C) & Y(1,B)(2,1) & \cdots & Y(1,B)(A,C) \\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,C) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(A,C) \\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(A,B)(1,1) & \cdots & Y(A,B)(1,C) & Y(A,B)(2,1) & \cdots & Y(A,B)(A,C) \end{pmatrix},$$

所述多毛细管电泳装置被配置为预先获得所述矩阵Y的(A×C)行(A×B)列的一般逆矩阵Y^{-},并且所述多毛细管电泳装置被配置为作为所述一并处理执行$Z=Y^{-}\times X$的计算或与所述计算对应的处理。

16.根据权利要求10所述的分析方法,其中,

当以所述A×B个原始信号X(a,b)作为要素的(A×B)行1列的矩阵X由下面的数学式1表示:

[数学式1]

$$X=\begin{pmatrix} X(1,1) \\ \vdots \\ X(1,B) \\ X(2,1) \\ \vdots \\ X(A,B) \end{pmatrix},$$

以所述A×C个处理后信号Z(a,c)作为要素的(A×C)行1列的矩阵Z由下面的数学式2表示:

[数学式2]

$$Z=\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ \vdots \\ Z(1,C) \\ Z(2,1) \\ \vdots \\ Z(A,C) \end{pmatrix}$$ 并且

具有(A×B)×(A×C)个要素Y(a,b)(a,c)且满足X=Y×Z的关系的(A×B)行(A×C)列的矩阵Y由下面的数学式3表示时:

[数学式3]

$$Y=\begin{pmatrix} Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,C) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(A,C) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots \\ Y(1,B)(1,1) & \cdots & Y(1,B)(1,C) & Y(1,B)(2,1) & \cdots & Y(1,B)(A,C) \\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,C) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(A,C) \\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(A,B)(1,1) & \cdots & Y(A,B)(1,C) & Y(A,B)(2,1) & \cdots & Y(A,B)(A,C) \end{pmatrix},$$

所述多毛细管电泳装置被配置为预先获得所述矩阵Y的(A×C)行(A×B)列的一般逆矩阵Y^{-},并且所述多毛细管电泳装置被配置为作为所述一并处理执行$Z=Y^{-}\times X$的计算或与所述计算对应的处理。

17.根据权利要求11所述的分析方法,其中,

当以所述A×B个原始信号X(a,b)作为要素的(A×B)行1列的矩阵X由下面的数学式1表

示：

[数学式1]

$$X=\begin{pmatrix} X(1,1) \\ \vdots \\ X(1,B) \\ X(2,1) \\ \vdots \\ X(A,B) \end{pmatrix},$$

以所述A×C个处理后信号Z(a,c)作为要素的(A×C)行1列的矩阵Z由下面的数学式2表示：

[数学式2]

$$Z=\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ \vdots \\ Z(1,C) \\ Z(2,1) \\ \vdots \\ Z(A,C) \end{pmatrix}$$ 并且

具有(A×B)×(A×C)个要素Y(a,b)(a,c)且满足X＝Y×Z的关系的(A×B)行(A×C)列的矩阵Y由下面的数学式3表示时：

[数学式3]

$$Y=\begin{pmatrix} Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,C) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(A,C) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots \\ Y(1,B)(1,1) & \cdots & Y(1,B)(1,C) & Y(1,B)(2,1) & \cdots & Y(1,B)(A,C) \\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,C) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(A,C) \\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(A,B)(1,1) & \cdots & Y(A,B)(1,C) & Y(A,B)(2,1) & \cdots & Y(A,B)(A,C) \end{pmatrix},$$

所述多毛细管电泳装置被配置为预先获得所述矩阵Y的(A×C)行(A×B)列的一般逆矩阵Y^{-},并且所述多毛细管电泳装置被配置为作为所述一并处理执行$Z=Y^{-}\times X$的计算或与所述计算对应的处理。

18.根据权利要求13所述的分析方法,其中,

当以所述A×B个原始信号X(a,b)作为要素的(A×B)行1列的矩阵X由下面的数学式1表示：

[数学式1]

$$X=\begin{pmatrix} X(1,1) \\ \vdots \\ X(1,B) \\ X(2,1) \\ \vdots \\ X(A,B) \end{pmatrix},$$

以所述A×C个处理后信号Z(a,c)作为要素的(A×C)行1列的矩阵Z由下面的数学式2表

示：

[数学式2]

$$Z=\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ \vdots \\ Z(1,C) \\ Z(2,1) \\ \vdots \\ Z(A,C) \end{pmatrix}$$ 并且

具有(A×B)×(A×C)个要素Y(a,b)(a,c)且满足X＝Y×Z的关系的(A×B)行(A×C)列的矩阵Y由下面的数学式3表示时：

[数学式3]

$$Y=\begin{pmatrix} Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,C) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(A,C) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots \\ Y(1,B)(1,1) & \cdots & Y(1,B)(1,C) & Y(1,B)(2,1) & \cdots & Y(1,B)(A,C) \\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,C) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(A,C) \\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(A,B)(1,1) & \cdots & Y(A,B)(1,C) & Y(A,B)(2,1) & \cdots & Y(A,B)(A,C) \end{pmatrix}$$ ，

所述多毛细管电泳装置被配置为预先获得所述矩阵Y的(A×C)行(A×B)列的一般逆矩阵Y^{-}，并且所述多毛细管电泳装置被配置为作为所述一并处理执行$Z=Y^{-}\times X$的计算或与所述计算对应的处理。

19.根据权利要求12或14所述的分析方法，其中，

当以所述A×B个原始信号X(a,b)作为要素的(A×B)行1列的矩阵X由下面的数学式1表示：

[数学式1]

$$X=\begin{pmatrix} X(1,1) \\ \vdots \\ X(1,B) \\ X(2,1) \\ \vdots \\ X(A,B) \end{pmatrix}$$ ，

以所述A×C个处理后信号Z(a,c)作为要素的(A×C)行1列的矩阵Z由下面的数学式2表示：

[数学式2]

$$Z=\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ \vdots \\ Z(1,C) \\ Z(2,1) \\ \vdots \\ Z(A,C) \end{pmatrix}$$ 并且

具有(A×B)×(A×C)个要素Y(a,b)(a,c)且满足X＝Y×Z的关系的(A×B)行(A×C)列的矩阵Y由下面的数学式3表示时：

[数学式3]

$$Y=\begin{pmatrix} Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,C) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(A,C) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots \\ Y(1,B)(1,1) & \cdots & Y(1,B)(1,C) & Y(1,B)(2,1) & \cdots & Y(1,B)(A,C) \\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,C) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(A,C) \\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(A,B)(1,1) & \cdots & Y(A,B)(1,C) & Y(A,B)(2,1) & \cdots & Y(A,B)(A,C) \end{pmatrix},$$

所述多毛细管电泳装置被配置为预先获得所述矩阵Y的(A×C)行(A×B)列的一般逆矩阵Y^{-},并且所述多毛细管电泳装置被配置为作为所述一并处理执行$Z=Y^{-}\times X$的计算或与所述计算对应的处理。

20.一种使用多毛细管电泳装置的分析方法,所述多毛细管电泳装置被配置为使用A个毛细管Cap(a)并行地对包含C种的荧光体的A个样本Sam(a)进行电泳分析,A为2以上的整数,a=1,2,…,A,C为1以上的整数,

所述多毛细管电泳装置包括:

电源,被配置为在所述A个毛细管Cap(a)中的每一个的两端施加电压;

所述A个毛细管Cap(a)上的A个发光点P(a),所述A个发光点是通过用一个或多个激光束照射所述A个毛细管Cap(a)而诱发的荧光的发射源;

光学系统,被配置为在B个波段W(a,b)中对从所述A个发光点P(a)发出的所述A个样本Sam(a)中包含的C种的荧光体D(a,c)的荧光的A×B个原始信号X(a,b)进行检测,B为1以上的整数,b=1,2,…,B,c=1,2,…,C;

计算机,被配置为对所述A×B个原始信号X(a,b)执行一并处理,以输出与所述A个发光点P(a)处的C种的荧光体D(a,c)的浓度相对应的A×C个处理后信号Z(a,c);以及

显示器,被配置为显示所述A×C个处理后信号Z(a,c)的时间序列,

所述方法包括:

制备包含第一成分和第二成分的一个样本,所述第一成分被所述C种的荧光体中的第一种荧光体D标记,所述第二成分被所述C种的荧光体之外的第二种荧光体E标记,在所述A×C个处理后信号Z(a,c)的时间序列中,所述第一成分显示强度最大的第一处理后信号峰值,所述第二成分显示强度最大的第二处理后信号峰值;并且

进行电泳分析,在所述电泳分析中,向A个毛细管Cap(a)中的一个毛细管Cap(a=j)中注入的样本Sam(a=j)为所述一个样本,所述一个毛细管Cap(a=j)之外的其他毛细管Cap(a≠j)中不注入包含任何荧光体的样本,j为常数。

21.根据权利要求20所述的分析方法,其中,

在所述一并处理中,所述多毛细管电泳装置被配置为除了使用所述一个发光点P(a=j)的原始信号X(a=j,b=b0)之外,还使用所述一个发光点P(a=j)以外的发光点P(a≠j)的原始信号X(a≠j,b=b0),b0为常数。

22.根据权利要求20或21所述的分析方法,其中,

当在所述A×C个处理后信号Z(a,c)的时间序列中未检测到所述第二种荧光体E的荧光时,所述A×C个处理后信号Z(a,c)之间的空间串扰和光谱串扰与所述A×B个原始信号X(a,b)之间的空间串扰和光谱串扰相比较小。

23.根据权利要求20或21所述的分析方法,其中,

所述多毛细管电泳装置被配置为:在电泳分析中,针对所述一个毛细管Cap(a＝j)之外的毛细管Cap(a≠j)上的发光点P(a≠j),在处理后信号Z(a≠j,c)的时间序列中提供强度最大的第一串扰处理后信号峰值和强度最大的第二串扰处理后信号峰值,所述第一串扰处理后信号峰值和所述第二串扰处理后信号峰值分别与所述一个毛细管Cap(a＝j)上的发光点P(a＝j)的处理后信号Z(a＝j,c)的时间序列中的第一处理后信号峰值和第二处理后信号峰值同步;并且

所述第二串扰处理后信号峰值的强度与所述第一串扰处理后信号峰值的强度相比较大。

24.根据权利要求22所述的分析方法,其中,

所述多毛细管电泳装置被配置为:在电泳分析中,针对所述一个毛细管Cap(a＝j)之外的毛细管Cap(a≠j)上的发光点P(a≠j),在处理后信号Z(a≠j,c)的时间序列中提供强度最大的第一串扰处理后信号峰值和强度最大的第二串扰处理后信号峰值,所述第一串扰处理后信号峰值和所述第二串扰处理后信号峰值分别与所述一个毛细管Cap(a＝j)上的发光点P(a＝j)的处理后信号Z(a＝j,c)的时间序列中的第一处理后信号峰值和第二处理后信号峰值同步;并且

所述第二串扰处理后信号峰值的强度与所述第一串扰处理后信号峰值的强度相比较大。

25.根据权利要求20或21所述的分析方法,其中,

当以所述A×B个原始信号X(a,b)作为要素的(A×B)行1列的矩阵X由下面的数学式1表示:

[数学式1]

$$X=\begin{pmatrix} X(1,1) \\ \vdots \\ X(1,B) \\ X(2,1) \\ \vdots \\ X(A,B) \end{pmatrix},$$

以所述A×C个处理后信号Z(a,c)作为要素的(A×C)行1列的矩阵Z由下面的数学式2表示:

[数学式2]

$$Z=\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ \vdots \\ Z(1,C) \\ Z(2,1) \\ \vdots \\ Z(A,C) \end{pmatrix}$$ 并且

具有(A×B)×(A×C)个要素Y(a,b)(a,c)且满足X＝Y×Z的关系的(A×B)行(A×C)列

的矩阵Y由下面的数学式3表示时：

[数学式3]

$$Y=\begin{pmatrix} Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,C) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(A,C) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots \\ Y(1,B)(1,1) & \cdots & Y(1,B)(1,C) & Y(1,B)(2,1) & \cdots & Y(1,B)(A,C) \\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,C) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(A,C) \\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(A,B)(1,1) & \cdots & Y(A,B)(1,C) & Y(A,B)(2,1) & \cdots & Y(A,B)(A,C) \end{pmatrix},$$

所述多毛细管电泳装置被配置为预先获得所述矩阵Y的(A×C)行(A×B)列的一般逆矩阵Y^{-},并且所述多毛细管电泳装置被配置为作为所述一并处理执行$Z=Y^{-}\times X$的计算或与所述计算对应的处理。

26.根据权利要求22所述的分析方法,其中,

当以所述A×B个原始信号X(a,b)作为要素的(A×B)行1列的矩阵X由下面的数学式1表示：

[数学式1]

$$X=\begin{pmatrix} X(1,1) \\ \vdots \\ X(1,B) \\ X(2,1) \\ \vdots \\ X(A,B) \end{pmatrix},$$

以所述A×C个处理后信号Z(a,c)作为要素的(A×C)行1列的矩阵Z由下面的数学式2表示：

[数学式2]

$$Z=\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ \vdots \\ Z(1,C) \\ Z(2,1) \\ \vdots \\ Z(A,C) \end{pmatrix}$$ 并且

具有(A×B)×(A×C)个要素Y(a,b)(a,c)且满足X=Y×Z的关系的(A×B)行(A×C)列的矩阵Y由下面的数学式3表示时：

[数学式3]

$$Y=\begin{pmatrix} Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,C) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(A,C) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots \\ Y(1,B)(1,1) & \cdots & Y(1,B)(1,C) & Y(1,B)(2,1) & \cdots & Y(1,B)(A,C) \\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,C) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(A,C) \\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(A,B)(1,1) & \cdots & Y(A,B)(1,C) & Y(A,B)(2,1) & \cdots & Y(A,B)(A,C) \end{pmatrix},$$

所述多毛细管电泳装置被配置为预先获得所述矩阵Y的(A×C)行(A×B)列的一般逆矩阵Y^{-},并且所述多毛细管电泳装置被配置为作为所述一并处理执行$Z=Y^{-}\times X$的计算或与所述计算对应的处理。

27.根据权利要求23所述的分析方法,其中,

当以所述A×B个原始信号X(a,b)作为要素的(A×B)行1列的矩阵X由下面的数学式1表示:

[数学式1]

$$X=\begin{pmatrix} X(1,1) \\ \vdots \\ X(1,B) \\ X(2,1) \\ \vdots \\ X(A,B) \end{pmatrix},$$

以所述A×C个处理后信号Z(a,c)作为要素的(A×C)行1列的矩阵Z由下面的数学式2表示:

[数学式2]

$$Z=\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ \vdots \\ Z(1,C) \\ Z(2,1) \\ \vdots \\ Z(A,C) \end{pmatrix}$$ 并且

具有(A×B)×(A×C)个要素Y(a,b)(a,c)且满足X=Y×Z的关系的(A×B)行(A×C)列的矩阵Y由下面的数学式3表示时:

[数学式3]

$$Y=\begin{pmatrix} Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,C) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(A,C) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots \\ Y(1,B)(1,1) & \cdots & Y(1,B)(1,C) & Y(1,B)(2,1) & \cdots & Y(1,B)(A,C) \\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,C) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(A,C) \\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(A,B)(1,1) & \cdots & Y(A,B)(1,C) & Y(A,B)(2,1) & \cdots & Y(A,B)(A,C) \end{pmatrix},$$

所述多毛细管电泳装置被配置为预先获得所述矩阵Y的(A×C)行(A×B)列的一般逆矩阵Y^{-},并且所述多毛细管电泳装置被配置为作为所述一并处理执行$Z=Y^{-}\times X$的计算或与所述计算对应的处理。

28.根据权利要求24所述的分析方法,其中,

当以所述A×B个原始信号X(a,b)作为要素的(A×B)行1列的矩阵X由下面的数学式1表示:

[数学式1]

$$X = \begin{pmatrix} X(1,1) \\ \vdots \\ X(1,B) \\ X(2,1) \\ \vdots \\ X(A,B) \end{pmatrix},$$

以所述A×C个处理后信号Z(a,c)作为要素的(A×C)行1列的矩阵Z由下面的数学式2表示：

[数学式2]

$$Z = \begin{pmatrix} Z(1,1) \\ \vdots \\ Z(1,C) \\ Z(2,1) \\ \vdots \\ Z(A,C) \end{pmatrix}$$ 并且

具有(A×B)×(A×C)个要素Y(a,b)(a,c)且满足X＝Y×Z的关系的(A×B)行(A×C)列的矩阵Y由下面的数学式3表示时：

[数学式3]

$$Y = \begin{pmatrix} Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,C) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(A,C) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots \\ Y(1,B)(1,1) & \cdots & Y(1,B)(1,C) & Y(1,B)(2,1) & \cdots & Y(1,B)(A,C) \\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,C) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(A,C) \\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(A,B)(1,1) & \cdots & Y(A,B)(1,C) & Y(A,B)(2,1) & \cdots & Y(A,B)(A,C) \end{pmatrix},$$

所述多毛细管电泳装置被配置为预先获得所述矩阵Y的(A×C)行(A×B)列的一般逆矩阵Y^{-},并且所述多毛细管电泳装置被配置为作为所述一并处理执行$Z＝Y^{-}×X$的计算或与所述计算对应的处理。

分析装置以及分析方法

[0001] 本申请是申请日为2020年4月21日、申请号为202080036799.3的中国发明专利申请“分析装置以及分析方法”的分案申请。

技术领域

[0002] 本公开涉及在多个发光点处分别识别并检测从多种荧光体发出的荧光的分析方法以及分析装置。

背景技术

[0003] 近年来,在多个毛细管中,填充电解质溶液、或者包括高分子凝胶、聚合物的电解质溶液等电泳分离介质,并联地进行电泳分析的多毛细管电泳装置被广泛使用。分析对象从低分子到蛋白质、核酸等高分子,范围广泛。此外,在测量模式中,大量有如下模式等:将灯光照射到各毛细管的吸光点,检测分析对象通过吸光点时产生的灯光的吸收的模式;或者,将激光照射到各毛细管的发光点,检测分析对象通过发光点时产生的荧光或者散射光的模式等。

[0004] 例如,在专利文献1中,将A根(A为2以上的整数)毛细管上的A个发光点的周边的全部毛细管排列在相同平面上,从排列平面的侧方导入激光束而一并照射全部毛细管的发光点,使在各发光点产生的荧光在与排列平面垂直的方向上进行波长分散而一并检测。在检测装置中,将从A个发光点发出的荧光在1个聚光透镜中一并准直,使其透过1个透射型的衍射光栅,利用1个成像透镜将各荧光的1次衍射光一并成像在1个二维传感器上。在此,通过使A个发光点的排列方向与基于衍射光栅的波长分散方向相互垂直,使来自各毛细管的发光荧光的波长分散图像在二维传感器上不相互重合。对于各毛细管的波长分散图像,通过设定B个(B为1以上的整数)任意波段的检测区域,能够进行B色检测。将B=1的情况称为单色检测,将B≥2的情况称为多色检测。在专利文献1的多毛细管电泳装置中,例如,能够在各毛细管中进行不同的DNA样本的基于Sanger法的DNA序列。在Sanger法中,在DNA样本中包括的DNA片段中,根据末端碱基种类A、C、G以及T,标记4种荧光体,通过多色检测来识别各自的发光荧光。

[0005] 在专利文献2中,将A根(A为2以上的整数)毛细管上的A个发光点的周边的全部毛细管排列在相同平面上,从排列平面的侧方导入激光束而一并照射全部毛细管的发光点,根据波长分量将在与排列平面垂直的方向上在各发光点产生的荧光分割而一并检测。在检测装置中,将来自A个发光点的发光荧光分别用A个聚光透镜单独准直后作为A根光束,对排列了B个(B为1以上的整数)的分色镜的1组分色镜阵列并联入射各光束分别分割成B根不同波段的光束,将生成的合计A×B根光束并列入射到1个二维传感器,在图像上生成A×B个分割像。在此,通过使A个发光点的排列方向与基于分色镜阵列的各光束的B个分割方向相互垂直,使得A×B个分割像在图像上不相互重合,能够设定A×B个检测区域。由此,能够进行各毛细管的B色检测。因此,在专利文献2的多毛细管电泳装置中,例如,与专利文献1的情况同样地,能够在各毛细管中进行不同的DNA样本的基于Sanger法的DNA序列。

[0006] 然而,通常,通过仅进行多色检测,无法识别多种荧光体的发光荧光。这是因为,各荧光体的荧光光谱相互重合,因此在任意一个波段中混入多种荧光体的荧光(在本公开中,称为光谱串扰)。此外,这是因为存在不同浓度的多种荧光体同时发出荧光的情况。因此,通过接下来的工序(在本公开中,称为颜色转换),消除光谱串扰,从而能够进行上述识别。

[0007] 对于A个(A为2以上的整数)的发光点的每一个,在各时刻对于C种(C为1以上的整数)荧光体的发光荧光,在B种(B为1以上的整数)波段的检测区域进行B色检测。其中,设B≥C。对于各发光点,并且对各时刻,对B色检测结果施行颜色转换,取得C种的荧光体的浓度。对于发光点P(a)(a=1,2,…,A)的每一个,在不同波段的检测区域W(b)(b=1,2,…,B)中,检测荧光体D(c)(c=1,2,…,C)的发光荧光。在任意时刻,将发光点P(a)处的荧光体D(c)的浓度设为Z(c),将关于发光点P(a)的检测区域W(b)的信号强度设为X(b)。在此,设为X是以信号强度X(b)为要素的B行1列的矩阵,Z是以浓度Z(c)为要素的C行1列的矩阵,Y是以Y(b)(c)为要素的B行C列的矩阵,下式成立。(数学式1)~(数学式4)是b以及c的关系式,而不是a的关系式,在各发光点P(a)独立成立。在B=1的单色检测的情况下,通过B≥C,C=1,X、Y、Z都不是矩阵。

[0008] [数学式1]

[0009] $$X = Y \times Z \quad (数1)$$

[0010] [数学式2]

[0011] $$X = \begin{pmatrix} X(1) \\ \vdots \\ X(B) \end{pmatrix} \quad (数2)$$

[0012] [数学式3]

[0013] $$Y = \begin{pmatrix} Y(1)(1) & \cdots & Y(1)(C) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(B)(1) & \ldots & Y(B)(C) \end{pmatrix} \quad (数3)$$

[0014] [数学式4]

[0015] $$Z = \begin{pmatrix} Z(1) \\ \vdots \\ Z(C) \end{pmatrix} \quad (数4)$$

[0016] 在此,B行C列的矩阵Y的要素Y(b)(c)表示荧光体D(c)的发光荧光在检测区域W(b)中检测出的信号强度比率。通过使任意1种荧光体D(c_0)单独地荧光发光,能够决定矩阵Y的1列Y(b)(c_0)(b=1,2,…,B)。在此,控制荧光体D(c_0)的浓度一般是困难的,因此若将1列Y(b)(c_0)标准化则较为便利。例如,优选地,在B个要素中,以最大的要素为1,以相对于最大值的比率表示其他要素。或者,优选地,决定各要素的比率,以使B个要素的合计为1。换句话说,

[0017] [数学式5]

[0018] $$\sum_{b=1}^{B} Y(b)(C_0) = 1 \quad (数5)$$

[0019] 而且,通过对C种荧光体D(c)全部依次进行上述工序,能够决定矩阵Y的全部列。矩

阵Y仅由荧光体D(c)以及不同波段的检测区域W(b)的特性决定,在电泳分析正在进行的过程中不变化。此外,只要固定光学系统、荧光体D(c)、检测区域W(b)等条件,对于不同的电泳分析,矩阵Y也保持固定。因此,关于各发光点,各时刻的荧光体D(c)的浓度Z(c)根据各时刻的检测区域W(b)的信号强度X(b),通过下式求出。

[0020] [数学式6]

[0021] $Z=Y^{-}\times X$ (数6)

[0022] 在此,Y^{-}为C行B列,为Y的一般逆矩阵,通过$Y=(Y^{T}\times Y)^{-1}\times Y^{T}$)求出。当矩阵Y为B=C的正方矩阵时,Y等于逆矩阵Y^{-1}。

[0023] (数学式1)是表示未知的C种荧光体的浓度与已知的B色荧光强度的关系的联立方程式,(数学式6)相当于求出其解。因此,通常,如上所述,需要B≥C的条件。假设B<C,则无法唯一地求出解(换句话说,由于可能存在多个解),无法如(数学式6)那样执行颜色转换。

[0024] 作为例子,对Sanger法的C=4,4色检测的B=4的情况进行详细说明。通过Sanger反应,在制作针对模板DNA的各种长度的DNA片段的拷贝时,根据末端的碱基种类A,C,G,以及T,用4种荧光体D(1),D(2),D(3),以及D(4)标记,将它们通过电泳进行长度分离的同时依次照射激光束进行荧光发光。在与荧光体D(1)、D(2)、D(3)、以及D(4)各自的极大发光波长对应的4种波段的检测区域W(1)、W(2)、W(3)、以及W(4)中检测4色的发光荧光,取得它们的信号强度X(1)、X(2)、X(3)、以及X(4)的时间序列数据(在本公开中,称为原始数据。但是,不限于B=4、C=4的情况)。如果将各时刻的荧光体D(1)、D(2)、D(3)以及D(4)的浓度设为Z(1)、Z(2)、Z(3)、以及Z(4),则(数学式1)成为下式。

[0025] [数学式7]

[0026]
$$\begin{pmatrix}X(1)\\X(2)\\X(3)\\X(4)\end{pmatrix}=\begin{pmatrix}Y(1)(1)&Y(1)(2)&Y(1)(3)&Y(1)(4)\\Y(2)(1)&Y(2)(2)&Y(2)(3)&Y(2)(4)\\Y(3)(1)&Y(3)(2)&Y(3)(3)&Y(3)(4)\\Y(4)(1)&Y(4)(2)&Y(4)(3)&Y(4)(4)\end{pmatrix}\times\begin{pmatrix}Z(1)\\Z(2)\\Z(3)\\Z(4)\end{pmatrix}\qquad(数\ 7)$$

[0027] 在此,4行4列矩阵Y的要素Y(b)(c)表示通过光谱串扰,荧光体D(c)(c为1,2,3,或者4)的发光荧光在波段W(b)(b为1,2,3,或者4)被检测出的强度比率。在各毛细管中,荧光体D(c)(c为1,2,3,或者4)分别对单独进行荧光发光的样本进行电泳分析,从而能够决定矩阵Y的要素Y(b)(c)。例如,荧光体D(1)单独进行荧光发光时的4色荧光强度X(1)、X(2)、X(3)、以及X(4)分别赋予要素Y(1)(1)、Y(2)(1)、Y(3)(1)、以及Y(4)(1)。此外,荧光体D(2)单独进行荧光发光时的4色荧光强度X(1)、X(2)、X(3)、以及X(4)分别赋予要素Y(1)(2)、Y(2)(2)、Y(3)(2)、以及Y(4)(2)。对于荧光体D(3)、D(4)也是同样的。Y(b)(c)是仅由荧光体D(c)以及波段W(b)的特性决定的固定值,在电泳中不变化。因此,对于各毛细管,各时刻的荧光体D(1)、D(2)、D(3)、以及D(4)的浓度根据各时刻的4色荧光强度X(1)、X(2)、X(3)、以及X(4),通过将(数学式6)具体化的下式求出。

[0028] [数学式8]

[0029]
$$\begin{pmatrix}Z(1)\\Z(2)\\Z(3)\\Z(4)\end{pmatrix}=\begin{pmatrix}Y(1)(1)&Y(1)(2)&Y(1)(3)&Y(1)(4)\\Y(2)(1)&Y(2)(2)&Y(2)(3)&Y(2)(4)\\Y(3)(1)&Y(3)(2)&Y(3)(3)&Y(3)(4)\\Y(4)(1)&Y(4)(2)&Y(4)(3)&Y(4)(4)\end{pmatrix}^{-1}\times\begin{pmatrix}X(1)\\X(2)\\X(3)\\X(4)\end{pmatrix}\qquad(数\ 8)$$

[0030] 这样,逆矩阵Y^{-1},通过与4色荧光强度相乘来消除光谱串扰,取得4种荧光体的浓度,即末端为4种碱基的DNA片段的浓度的时间序列数据(在本公开中,称为颜色转换数据。但是,不限于B=4,C=4的情况)。

[0031] 以上的颜色转换的工序如上所述,针对A根毛细管分别独立地进行。这在毛细管之间的串扰(在本公开中,称为空间串扰)足够小的前提下成立。换句话说,意味着在检测从任意一个毛细管发出的荧光而得到的信号强度中,来自其他毛细管发出的来自荧光的信号强度混合存在的比率足够小。因此,通过对C种荧光体D(c)依次进行使上述的1种荧光体D(c0)单独进行荧光发光的工序来决定矩阵Y的工序实质上同时针对A根毛细管进行,并行地求出A根毛细管各自的矩阵Y。这是为了在短时间内不费事地执行矩阵Y的导出而必须的工序。

[0032] 空间串扰基于光学系统的设计而减少是基本的,但也有通过计算处理来减少的尝试。在专利文献3中,并非来自多个毛细管,而是将来自随机排列在平面上的多个发光点的发光荧光通过1个聚光透镜一并成像在1个二维传感器上。来自各发光点的发光荧光作为设置在二维传感器上的各个成像位置的检测区域的信号强度而得到。来自任意一个发光点的发光荧光的信号强度赋予来自其他发光点的发光荧光的信号强度的空间串扰的比率能够作为这两个发光点间的距离、或者对应的两个检测区域的距离的函数来表示,发现其与上述距离一起减少。预先求出上述函数,在随机排列在平面上的多个发光点的荧光图像中,根据任意两个检测区域的距离和上述函数求出相互的空间串扰,从原来的荧光图像中减去所求出的空间串扰,由此实现空间串扰的减少。

[0033] 在先技术文献

[0034] 专利文献

[0035] 专利文献1:日本专利第3897277号公报

[0036] 专利文献2:日本专利第6456983号公报

[0037] 专利文献3:日本特表2018-529947号公报

发明内容

[0038] 发明要解决的课题

[0039] 在专利文献1、以及专利文献2的任一情况下,由于从A根毛细管上的A个发光点发出的荧光在二维传感器上相互分离而成像,因此空间串扰本质上被抑制得较低。对于空间串扰的重要因素,可以考虑(1)透镜的像差、(2)由多毛细管、透镜、滤波器、分色镜以及二维传感器等要素构成的在光学系统的内部产生的、荧光的要素间的多重反射、(3)二维传感器的像素间的高光溢出(blooming)等。为了减少空间串扰,需要以上述的重要因素(1)~(3)的影响最小的方式来构建光学系统。例如,为了抑制重要因素(2)的影响,作为对透镜实施的减反射涂层,考虑选择反射率更小的涂层等。然而,不能使空间串扰完全为零。对于空间串扰,在从任意一个毛细管发出的荧光的检测中,有效地使检测下限上升,因此在降低检测灵敏度的同时,有可能缩小检测动态范围。因此,即使稍微减少空间串扰,在缓解或解决上述课题的方面极其重要。

[0040] 本发明人等针对专利文献1、或专利文献2的光学系统,通过专利文献3的方法,尝试减少空间串扰,但没有良好地发挥功能。首先,对B=1的单色检测的情况进行说明。对于A个发光点的任意1个的发光点即发光点α的检测区域β的信号强度X(α)(β),虽然确认到其对

上述以外的任意1个发光点α'(α≠α')的检测区域β的信号强度X(α')(β)赋予的空间串扰与上述2个检测区域之间的距离一起减少的倾向,但显然不能用一个上述距离的函数表示。例如,即使上述2个检测区域之间的距离固定,在上述2个检测区域位于光学系统的中心轴的附近的情况下和位于远离光学系统的中心轴的位置的情况下,空间串扰的比率也不同。此外,从上述2个检测区域的一方到另一方的空间串扰的比率和另一方到一方的空间串扰的比率不同。在B≥2的多色检测的情况下,专利文献3的方法更为无法发挥功能。关于A个发光点的任意1个的发光点即发光点α的、B个检测区域的任意1个检测区域即检测区域β的信号强度X(α)(β),对于关于上述以外的任意1个发光点α'(α≠α')的、B个检测区域的任意1个检测区域β'(是β=β'或者β≠β',β=β'表示相同波段的检测区域,β≠β'表示不同波段的检测区域)的信号强度X(α')(β')赋予的空间串扰,无法用上述2个检测区域之间的距离的函数表示。特别是,在β≠β'的情况下,由于空间串扰和光谱串扰混合存在,因此上述2个检测区域之间的串扰本质上不能用两者的距离的函数来表示。关于本课题,在"具体实施方式"中详细地进行说明。

[0041] 因此,在本公开中,提出了通过计算处理来减少在分别检测来自多个发光点的发光的任意的光学系统中产生的多个发光点间的空间串扰,从而识别来自多个发光点的发光,分别独立地检测发光点的方法。此外,提出了通过计算处理来减少在分别检测从多个发光点发出的多种荧光体的荧光的任意的光学系统中产生的多个发光点间的空间串扰、以及针对各发光点的多种荧光体之间的光谱串扰,从而识别来自多个发光点的多种荧光体的荧光发光,分别独立地进行检测的方法。或者,提出了如下方法:通过计算处理来减少在分别检测多个吸光点中的吸光的任意的光学系统中产生的多个吸光点之间的空间串扰,从而识别多个吸光点中的吸光,分别独立地进行检测。此外,提出了如下方法:通过计算处理来减少在分别检测多个吸光点中的多种吸光体的吸光的任意的光学系统中产生的多个吸光点间的空间串扰、针对以及各吸光点的多种吸光体间的光谱串扰,从而识别多个吸光点中的多种吸光体的吸光,分别独立地检测多个吸光点中的多个种类的吸光体的吸光。

[0042] 用于解决课题的手段

[0043] 在专利文献1或者专利文献2等的光学系统中,说明了针对A个(A为2以上的整数)的发光点的每一个,在B个(B为1以上的整数)的波段的检测区域中,检测C种(C为1以上的整数)荧光体的发光荧光的情况。在此,设为不同波段的检测区域分别检测荧光不同的波长分量。此外,不同种类的荧光体分别发出具有不同荧光光谱的荧光。对于发光点P(a)(a=1,2,…,A)的每一个,在不同波段的检测区域W(a,b)(b=1,2,…,B)中,检测存在于发光点P(a)的荧光体D(a,c)(c=1,2,…,C)的发光荧光。在任意时刻,将发光点P(a)处的荧光体D(a,c)的浓度设为Z(a,c),将针对发光点P(a')的检测区域W(a',b)的信号强度设为X(a',b)。在此,本发明人首次发现,设X为以X(a',b)为要素的A×B行1列的矩阵,Z为以Z(a,c)为要素的A×C行1列的矩阵,Y为以Y(a',b)(a,c)为要素的(A×B)行(A×C)列的矩阵,下式成立。

[0044] [数学式9]

[0045] X=Y×Z (数9)

[0046] [数学式10]

[0047] $$X=\begin{pmatrix}X(1,1)\\ \vdots\\ X(1,B)\\ X(2,1)\\ \vdots\\ X(A,B)\end{pmatrix} \quad (数\ 10)$$

[0048] [数学式11]

[0049] $$Y=\begin{pmatrix}Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,C) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(A,C)\\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots\\ Y(1,B)(1,1) & \cdots & Y(1,B)(1,C) & Y(1,B)(2,1) & \cdots & Y(1,B)(A,C)\\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,C) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(A,C)\\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots\\ Y(A,B)(1,1) & \cdots & Y(A,B)(1,C) & Y(A,B)(2,1) & \cdots & Y(A,B)(A,C)\end{pmatrix} \quad (数\ 11)$$

[0050] [数学式12]

[0051] $$Z=\begin{pmatrix}Z(1,1)\\ \vdots\\ Z(1,C)\\ Z(2,1)\\ \vdots\\ Z(A,C)\end{pmatrix} \quad (数\ 12)$$

[0052] (数学式9)是与(数学式1)相同的式子,但若比较(数学式1)~(数学式4)和(数学式9)~(数学式12),可知,两者完全不同。(数学式9)~(数学式12)不仅是b以及c的关系式,也是a的关系式,不同的发光点P(a)相互关联。即,(数学式9)~(数学式12)除了对相同发光点P(a)的光谱串扰以外,还能够一并考虑不同的发光点P(a)间的空间串扰以及光谱串扰,与(数学式1)~(数学式4)本质上不同。

[0053] 在此,关于(A×B)行(A×C)列的矩阵Y的要素Y(a',b)(a,c)表示:(1)通过针对a'=a即相同的发光点的光谱串扰,P(a')中的荧光体D(a',c)的发光荧光在任意的检测区域W(a',b)中被检测的信号强度比率,除此之外,表示:(2)通过针对a'≠a即不同的发光点的空间串扰以及光谱串扰,发光点P(a)处的荧光体D(a,c)的发光荧光在任意的检测区域W(a',b)中被检测的信号强度比率。在任意1个发光点P(a_0)中,通过使任意1种荧光体D(a_0,c_0)单独地进行荧光发光,能够决定矩阵Y的1列Y(a,b)(a_0,c_0)(a=1,2,…,A,以及,b=1,2,…,B)。在此,控制荧光体D(a_0,c_0)的浓度一般是困难的,因此将1列Y(a,b)(a_0,c_0)标准化是方便的。例如,在A×B个要素中,以最大的要素为1,以相对于最大值的比率表示其他要素即可。或者,优选以A×B个要素的合计为1的方式来决定各要素的比率。换句话说,设为

[0054] [数学式13]

[0055] $$\sum_{b=1}^{B}\sum_{a=1}^{A}Y(a,b)(a_0,c_0)=1 \quad (数\ 13)$$

[0056] 。然后,通过对A个发光点P(a)中的C种荧光体D(a,c)的全部组合依次进行上述工序,能够决定矩阵Y的全部列。矩阵Y仅由发光点P(a)、荧光体D(a,c)、以及检测区域W(a,b)的特性决定,在电泳分析正在进行的过程中不变化。此外,只要固定光学系统、发光点P(a)、荧光体D(a,c)、检测区域W(a,b)等的条件,对于不同的电泳分析,矩阵Y也保持固定。因此,

关于各发光点,各时刻的荧光体D(a,c)的浓度Z(a,c)根据各时刻的检测区域W(a,b)的信号强度X(a,b),通过下式求出。

[0057] [数学式14]

[0058] $Z=Y^{-}\times X$ (数14)

[0059] (数学式14)是与(数学式6)相同的式子,但若比较(数学式2)~(数学式4)以及(数学式6)、(数学式10)~(数学式12)以及(数学式14),则可知两者完全不同。通过(数学式14),对于各时刻,通过将预先求出的矩阵Y的一般逆矩阵Y-与A×B个信号强度X(a,b)相乘,能够消除光谱串扰和空间串扰这两者,求出A×C个荧光体的浓度Z(a,c)。Y-是(A×C)行(A×B)列的矩阵。在本公开中,将消除光谱串扰称为颜色转换,与此对应,将消除空间串扰称为空间校正。换句话说,在Y-的(A×C)×(A×B)个要素中,包括执行颜色转换的部分和执行空间校正的部分这两者。而且,在本公开中,将对各时刻执行(数学式14)而得到的Z(a,c)的时间序列数据称为颜色转换+空间校正数据。

[0060] 矩阵X的各要素可以是预先减去了背景光的值,也可以是实施了适当的噪声减少处理的值。此外,对于矩阵Y的各要素,也同样地,可以是预先减去了背景光的值,也可以加入适当的变化。

[0061] 在B=1、以及C=1的单色检测的情况下,上述被如下那样简化。对于发光点P(a)(a=1,2,…,A),分别在1个检测区域中检测1种荧光体的发光荧光。在任意时刻,将发光点P(a)处的荧光体的浓度设为Z(a),将针对发光点P(a')的信号强度设为X(a')。在此,如果设X是以X(a′)为要素的A行1列的矩阵,Z是以Z(a)为要素的A行1列的矩阵,Y是以Y(a′)(a)为要素的A行A列的矩阵,则(数学式10)~(数学式12)如下式那样被简化。(数学式9)以及(数学式14)直接成立。

[0062] [数学式15]

[0063] $$X=\begin{pmatrix}X(1)\\ \vdots\\ X(A)\end{pmatrix} \qquad (数\ 15)$$

[0064] [数学式16]

[0065] $$Y=\begin{pmatrix}Y(1)(1) & \cdots & Y(1)(A)\\ \vdots & \ddots & \vdots\\ Y(A)(1) & \cdots & Y(A)(A)\end{pmatrix} \qquad (数\ 16)$$

[0066] [数学式17]

[0067] $$Z=\begin{pmatrix}Z(1)\\ \vdots\\ Z(A)\end{pmatrix} \qquad (数\ 17)$$

[0068] (数学式9)以及(数学式14)~(数学式17)与专利文献3中使用的通式、例如专利文献3的[数学式7]~[数学式9]形式上相同,但内容有很大不同(以下,将专利文献3中使用的数学式记载为[])。[数学式7]的矩阵A的要素αij是发光点φ(meas)i和φ(meas)j各个检测区域之间的距离dij的函数,具体如[数学式10]所示,由dij的指数函数之和表示,伴随着dij的增大而αij衰减。在专利文献3中,对不同的样本得到不同的荧光图像,在各荧光

图像中,多个发光点的检测区域的位置随机变化。因此,在专利文献3中,预先求出上述函数,针对各荧光图像,针对全部的2个发光点的组合求出多个发光点中的任意2个发光点的检测区域之间的距离,代入上述函数来导出αij。换句话说,针对每个样本或者每个荧光图像,αij即矩阵A发生变化。对此,在本公开中,如上述那样,或者如在[具体实施方式]中叙述的那样,发现了(数学式16)的矩阵Y的要素Y(a')(a)不能以发光点P(a)与P(a')各自的检测区域之间的距离的函数来表示。此外,发现根据光学系统的结构等,也不可能通过计算求出要素Y(a')(a)。因此,在本公开中,对于不同的样本,作为多个发光点的检测区域的位置不变化的条件,在该条件下通过实测求出要素Y(a')(a)。具体而言,如上所述,仅在任意1个发光点P(a_0)中单独进行荧光发光,由此决定矩阵Y的1列Y(a')(a_0)(a'=1,2,…,A)。然后,通过对A个发光点P(a)的全部依次进行上述工序来决定矩阵Y的全部列。矩阵Y仅由发光点P(a)的特性决定,在分析正在进行的过程中不变化。此外,只要光学系统、发光点P(a)以及其检测区域等条件固定,对于不同样本的分析,矩阵Y也保持固定。通过专利文献3的光学系统或者装置结构来实施以上的工序是不可能的。这是因为,不能固定多个发光点的检测区域的位置,即使假设能固定,也不能使各发光点单独并依次发光。因此,从专利文献3中,无法想到本公开的方法。

[0069] 以上能够以如下方式进行重新说明。即,对于A个(A为2以上的整数)的发光点的每一个,在B个(B为1以上的整数)的任意波段的检测区域中,检测C种(C为1以上的整数)发光体的发光。对于发光点P(a)(a=1,2,…,A)的每一个,在不同波段的检测区域W(a,b)(b=1,2,…,B)中,检测存在于发光点P(a)的发光体D(a,c)(c=1,2,…,C)的发光。在任意时刻,将发光点P(a)处的发光体D(a,c)的浓度设为Z(a,c),将针对P(a')的W(a',b)的发光强度设为X(a',b)。在这种情况下,(数学式9)~(数学式17)成立,同样地,能够消除光谱串扰和空间串扰这两者,求出A×C个发光体的浓度Z(a,c)。在此,发光是指荧光、磷光、散射光等。

[0070] 此外,以上也可以如下进行重新说明。即,A个(A为2以上的整数)吸光点的每一个,在B个(B为1以上的整数)任意波段的检测区域中,检测C种(C为1以上的整数)的吸光体的吸光。对于吸光点P(a)(a=1,2,…,A)的每一个,在不同波段的检测区域W(a,b)(b=1,2,…,B)中,检测存在于吸光点P(a)的吸光体D(a,c)(c=1,2,…,C)的吸光。在任意时刻,将吸光点P(a)处的吸光体D(a,c)的浓度设为Z(a,c),将针对吸光点P(a')的W(a',b)的吸光度设为X(a',b)。在这种情况下,(数学式9)~(数学式17)成立,同样地,能够消除光谱串扰和空间串扰这两者,求出A×C个吸光体的浓度Z(a,c)。

[0071] 或者,也能够将以上重新说明为光测量以外的多点检测。即,对于A个(A为2以上的整数)信号产生点的每一个,在B个(B为1以上的整数)任意频带的检测区域中,检测C种(C为1以上的整数)的信号产生体的信号。对于信号产生点P(a)(a=1,2,…,A)的每一个,在不同频带的检测区域W(a,b)(b=1,2,…,B)中,检测存在于信号产生点P(a)的信号产生物体D(a,c)(c=1,2,…,C)的信号。在任意时刻,将信号产生点P(a)处的信号产生物体D(a,c)的浓度设为Z(a,c),将针对信号产生点P(a')的W(a',b)的信号强度设为X(a',b)。在这种情况下,(数学式9)~(数学式17)成立,同样地,能够消除光谱串扰和空间串扰这两者,求出A×C个信号产生体的浓度Z(a,c)。

[0072] 以上,主要使用数学式进行了说明,但这用于容易理解本公开的内容。在实施本公开的技术时,只要使用基于本公开的内容的方法即可,不一定像数学式那样进行,也可以使

数学式变形,也可以不使用数学式。此外,在本公开中,“发光体的浓度”的记载能够替换为“发光体的发光强度”,“荧光体的浓度”的记载能够替换为“荧光体的荧光强度”,“吸光体的浓度”的记载能够替换为“吸光体的吸光度”。

[0073] 根据本说明书的描述、附图,本公开所涉及的进一步的特征将变得清楚。此外,本公开的方式通过要素以及多样的要素的组合以及以后的详细的记述和附加的权利要求的方式来达成并实现。

[0074] 本说明书的描述只不过是典型的例示,在任何意义上都不限定本公开的权利要求书或应用例。

[0075] 根据本说明书的描述、附图,本公开所涉及的进一步的特征将变得清楚。此外,本公开的方式通过要素以及多样的要素的组合以及以后的详细的记述和附加的权利要求的方式来达成并实现。

[0076] 本说明书的描述只不过是典型的例示,在任何意义上都不限定本公开的权利要求书或应用例。

[0077] 发明效果

[0078] 根据本公开,通过计算处理消除或减少在分别检测来自多个发光点的发光的任意的光学系统中产生的多个发光点间的空间串扰,能够识别来自多个发光点的发光,分别独立地进行检测。此外,通过计算处理消除或减少在分别检测从多个发光点发出的多种荧光体的荧光的任意的光学系统中产生的、多个发光点间的空间串扰、以及关于各发光点的多种荧光体间的光谱串扰,从而能够识别来自多个发光点的多种荧光体的荧光发光,分别独立地进行检测。

[0079] 进而,通过消除或减少空间串扰以及光谱串扰,能够避免伴随着空间串扰以及光谱串扰而产生的检测灵敏度的降低、或者检测动态范围的降低。

[0080] 上述以外的课题、结构以及效果通过以下的实施方式的说明而变得明确。

附图说明

[0081] 图1是单纯的光学系统的示意图。

[0082] 图2是在单纯的光学系统中通过二维传感器取得的发光图像。

[0083] 图3是发光图像中的发光图像的信号强度分布。

[0084] 图4是发光像的中心的绝对信号强度与从发光像的中心向左侧离开的位置的绝对信号强度的关系。

[0085] 图5是发光像的中心的绝对信号强度与从发光像的中心向右侧离开的位置的绝对信号强度的关系。

[0086] 图6是发光像的中心的绝对信号强度与从发光像的中心向左侧离开的位置的绝对信号强度的关系。

[0087] 图7是发光像的中心的绝对信号强度与从发光像的中心向右侧离开的位置的绝对信号强度的关系。

[0088] 图8是模型实验系统的示意图。

[0089] 图9是模型实验系统中的光谱串扰和空间串扰的示意图。

[0090] 图10是模型实验系统的示意图。

[0091] 图11是通过已知样本的电泳分析得到的原始数据。

[0092] 图12是对图11的原始数据实施了颜色转换的颜色转换数据。

[0093] 图13是对图11的原始数据实施了颜色转换+空间校正的颜色转换+空间校正数据。

[0094] 图14是通过未知样本的电泳分析得到的原始数据。

[0095] 图15是对图14的原始数据实施了颜色转换的颜色转换数据。

[0096] 图16是对图14的原始数据实施了颜色转换+空间校正的颜色转换+空间校正数据。

[0097] 图17是通过包括未知的荧光体样本的电泳分析得到的原始数据。

[0098] 图18是对图17的原始数据实施了颜色转换+空间校正的颜色转换+空间校正数据。

[0099] 图19是通过使已知的荧光体的浓度阶段性地上升的样本的电泳分析而得到的原始数据。

[0100] 图20是对图19的原始数据实施了颜色转换的颜色转换数据。

[0101] 图21是对图19的原始数据实施了颜色转换+空间校正的颜色转换+空间校正数据。

[0102] 图22是向多个毛细管错开定时进行样本注入的方法的示意图。

[0103] 图23是在多个毛细管中错开定时而得到荧光发光的方法的示意图。

[0104] 图24是多毛细管电泳装置的示意图。

[0105] 图25是专利文献1的光学系统的4根毛细管的拉曼散射光的波长分散图像。

[0106] 图26是表示图25中的各毛细管的20个波段的检测区域的设定的图。

[0107] 图27是将专利文献2的光学系的来自4根毛细管的发光荧光单独分割为4个波段进行成像的示意图。

[0108] 图28是将来自在平面上排列的5个发光点的发光荧光一并分割为4个波段进行成像的光学系统和示意图。

[0109] 图29是现有方法的流程图。

[0110] 图30是本方法的流程图。

[0111] 图31是用于决定进行本方法的颜色转换+空间校正的矩阵的流程图。

[0112] 图32是反复进行多次分析的会话的情况下的流程图。

[0113] 图33是计算机的结构图。

具体实施方式

[0114] [实施例1]

[0115] 为了详细地调查空间串扰的特性,构建了图1所示的单纯的光学系统。图1的光学系统具备针孔板1-1、发光点侧开口板1-2、聚光透镜1-3、传感器侧开口板1-4、彩色玻璃滤波器1-5、二维传感器1-6、照射卤素灯光1-7的卤素灯(光源)。具体而言,如以下那样构成图1的光学系统。在具有φ0.05mm的针孔的针孔板1-1,从下方照射卤素灯光1-7,从而形成φ0.05mm的发光点1-8。此外,将具有φ0.2mm的开口的发光点侧开口板1-2配置于向发光点1-8的上方离开0.2㎜的位置,将焦距为f=1.4㎜的聚光透镜1-3配置于向发光点1-8的上方离开1.54㎜的位置,将具有φ0.7mm的开口的传感器侧开口板1-4配置于聚光透镜1-3的正上方。进而,将二维传感器1-6配置于向聚光透镜1-3的上方离开15㎜的位置,将彩色玻璃滤波器1-5配置于二维传感器1-6的正下方。以上,针孔板1-1、发光点侧开口板1-2、传感

器侧开口板1-4、彩色玻璃滤波器1-5、二维传感器1-6相互平行地配置。从发光点1-8发出的光1-9透过φ0.2mm的开口，由聚光透镜1-3聚光，透过φ0.7mm的开口，透过彩色玻璃滤波器1-5，在二维传感器1-6上，形成φ0.5mm的发光像1-10。在此，发光点1-8在对焦于二维传感器1-6上的状态下，以10倍的像倍率成像。

[0116] 图2是包括在图1的单纯的光学系统中由二维传感器1-6得到的像1-10的发光图像。二维传感器1-6的传感器尺寸为13×13mm，各像素的信号范围为0～65536。图2的(a)和图2的(b)是相同的发光图像，但图2的(a)的信号显示刻度(灰度)为0～50000，图2的(b)的信号显示刻度为0～500。发光像的最大信号值为约50000，在图2的(a)中所有像素的信号几乎不饱和地显示，相对于此，在图2的(b)中发光像饱和显示。根据图2的(a)，如期待那样得到φ0.5mm的发光像，φ0.5mm的发光像的外侧可以看做信号零。然而，根据图2的(b)，能够确认到在φ0.5mm的发光像的外侧扩展了低强度的下摆。

[0117] 图3的(a)～(c)的α(点线)表示在图2的发光图像中通过发光像的中心的水平方向的信号强度分布。图3的(a)、图3的(b)以及图3的(c)使用相同的数据，但变更纵轴。横轴是共同的，表示距发光像的中心的距离。横轴的正以及负分别表示在发光图像中的发光像的右侧和左侧。图3的(a)和(b)的纵轴表示绝对信号强度，图3的(a)表示纵轴刻度为0～60000，图3的(b)表示纵轴刻度为0～100。另一方面，图3的(c)将纵轴设为对数比例，且作为将最大信号强度设为100％的相对信号强度，将纵轴刻度设为0.001％～100％。图3的(a)～(c)的β(实线)、γ(虚线)表示在图2的发光图像的取得条件下，阶段性地降低了卤素灯光1-7的输出强度的情况，与α同样地表示信号强度分布。从图3的(a)可知，α、β、γ的发光像的最大信号强度分别为约50000，约25000，约10000。另一方面，当观察图3的(b)时，可知存在信号强度随着远离发光像的中心而减小的倾向，但与在图3的(a)中观察到的发光像的大小(宽度0.5mm左右)相比，一直扩展有大的下摆。此外，还可知，当最大信号强度减少时，则下摆的强度也减少。因此，当观察图3的(c)时，可知α、β、γ重叠为一个。这是新的发现，带来了一些重要的见解。例如，在从发光像的中心离开±1mm的位置、即图2的(a)所示的发光像的外侧的位置，观察到最大信号强度的约0.1％的信号强度。假设在离开±1mm的位置存在相邻的发光像的检测区域的情况下，这意味着存在约0.1％的空间串扰。如图1所示，令人惊讶的是，尽管使用极其简单化的光学系统对发光点进行了聚焦，但存在这样无法忽视的大小的空间串扰。更令人惊讶的是，由于α、β、γ重叠为一个，因此只要光学系统以及发光点的位置被固定，则无论发光点的发光强度或者成像点的信号强度如何，都判明了成像点的相对信号强度分布恒定。

[0118] 图4的(a)以及图5的(a)是从图3导出的结果。图4的(a)是将从成像点的中心离开-1、-2、-3、-4、-5、-6mm的位置处，图5的(a)是将从成像点的中心离开+1、+2、+3、+4、+5、+6mm的位置处的绝对信号强度设为纵轴、任意情况下都将发光像的中心的绝对信号强度设为横轴的图。上述的绝对信号强度设为图3中的以各位置为中心的±0.1mm宽度的绝对信号强度的平均值。其结果判明，各位置的3个绘图(与图3的α、β、γ对应)均处于通过原点的近似直线上。各近似直线的斜率，表示对应的位置处的空间串扰比率。换句话说，可知随着远离成像点的中心，近似直线的斜率变小，空间串扰比率降低。为了比较，以虚线重叠显示空间串扰为0.1％以及0.01％的直线。例如，读取了从成像点的中心离开-1mm的位置的空间串扰比

率为0.1％强，而远离-3㎜的位置的空间串扰比率为0.01％左右。以上的结果表示，从成像点的中心离开的任意的位置处的空间串扰的绝对信号强度相对于成像点的中心的绝对信号强度存在直线性，与发光像的中心的绝对信号强度无关，空间串扰比率恒定。即，新发现了，通过从成像点的中心离开的任意的位置处的绝对信号强度减去在成像点的中心的绝对信号强度上乘以空间串扰比率而得到的值，能够消除或者减少任意位置处的空间串扰。这相当于从图4的(a)以及图5的(a)中的各绘图的绝对信号强度减去相同位置处的对应的近似直线的值。

[0119] 图4的(b)以及图5(b)分别是对图4的(a)以及图5的(a)的结果进行上述相减运算的结果。表示各位置的绘图的种类以及横轴，在图4的(a)和图4的(b)、图5的(a)和图5的(b)中是共同的。图4的(b)以及图5的(b)的纵轴表示进行了上述相减运算后的绝对信号强度，与图4的(a)以及图5的(a)相比放大了刻度。为了比较，以虚线重叠显示空间串扰为±0.01％的直线。其结果，明确了各位置的相减运算后的绝对信号强度与像中心的绝对信号强度无关，大致为零，各位置处的空间串扰小于±0.01％。若在从成像点的中心离开-1㎜的位置进行比较，则通过本方法，能够使空间串扰至少减少1个数位以上。各位置的相减运算后的绝对信号强度不完全不为零的原因在于，存在与图4的(a)以及图5的(a)中的各绘图对应的近似直线的偏移、误差。各位置上，经过原点的近似直线的决定系数(R^2)越高(越接近1)，即，相对于成像点中心的绝对信号强度，各位置的绝对信号强度的线性越高，上述误差越小，相减运算后的绝对信号强度越接近零。当然，相减运算后的绝对信号强度有时也会变为负。然而，只要存在上述的直线性，则各位置的绝对信号强度的大小通过相减运算而至少变小。此外，近似直线的斜率越小，即，相减运算前的空间串扰越小，则各位置的绝对信号强度与近似直线的差分的绝对值也越小，因此上述误差也越小。

[0120] 图6以及图7是与图4以及图5相同的实验结果。在图1的光学系统中，暂时取下针孔板1-1，再次安装后，取得与图2和图3同样的结果，通过同样的方法导出图6以及图7的结果。针孔板1-1的安装位置，大致与原来的位置相同，但严格来说不是完全相同的位置。图6以及图7的结果与图4以及图5的结果相同，示出通过相减运算处理，消除或者减少任意位置处的空间串扰的方法的再现性高。

[0121] 另一方面，根据图4～图7的比较，如下所示，得到了另一个重要的见解。对图4的(a)的-1㎜、图5的(a)的+1㎜、图6的(a)的-1㎜以及图7的(a)的+1㎜的近似直线进行比较。这4个近似直线的斜率均表示从成像点的中心离开1㎜的位置处的空间串扰比率，但已判明相互不同。因此，例如，可知若使用图4的(a)的-1㎜的近似直线，进行图5的(a)的+1㎜、图6的(a)的-1㎜、或者图7的(a)的+1㎜的各绘图的相减运算处理，则上述误差变大，空间串扰的减少变得不充分。可知该现象在其他位置也同样地产生，根据情况，有时也会导致相减运算处理的相反效果，即，使空间串扰增大。产生这样的现象的重要因素在于，(1)在图1那样的单纯的光学系统中，成像所带来的空间串扰的点对称性不一定高(例如，在图2中，成像点的左方向和右方向上的空间串扰比率不同)，(2)伴随着发光点的位置稍微偏离等光学系统的微妙变化，成像所带来的空间串扰显著地变化等。因此，明确了不能用两者之间的距离的函数来表示在成像点的中心与任意的位置之间产生的空间串扰比率。这意味着专利文献3所示的方法不会有效地发挥功能。在本公开中，与专利文献3的不同点在于，固定光学系统以以及多个成像点、即多个检测区域的条件，与相互的距离无关地，通过实验导出相互的空

间串扰比率,如图4～图7分别所示。如果条件产生改变,则每次都需要重新取得空间串扰比率。

[0122] 扩展了以上实验得到的见解,即,离开成像点的中心的任意位置处的空间串扰的绝对信号强度,相对于成像点中心的绝对信号强度有直线性,空间串扰比率恒定的事实,若一般化,则导出了(数学式9)～(数学式17)。

[0123] [实施例2]

[0124] 对在多个波段的检测区域中分别检测从多个发光点发出的多种荧光体的荧光的光学系统的最简单的情况进行了模型实验。在本实施例以以及使用相同的模型实验系统的其他实施例中,作为例子,在(数学式9)～(数学式12)中,对于A＝2个发光点分别选择了在B＝2个波段的检测区域中检测C＝2种荧光体的发光荧光的情况,但关于A、B、C分别为其他数值的情况,不必说,当然也能够通过同样的方法得到同样的效果。

[0125] 图8表示模型实验系统。图8的模型实验系统具备2根毛细管Cap(1)以及Cap(2)和向2根毛细管Cap(1)以及Cap(2)的排列方向照射激光束LB的光源(未图示)。在2根毛细管Cap(1)以及Cap(2)上,在照射激光束LB的位置分别设置有发光点P(1)以及P(2)。在毛细管Cap(1)中电泳有2种荧光体D(1,1)以及D(1,2)标记的物质,在毛细管Cap(2)中电泳有2种荧光体D(2,1)以及D(2,2)标记的物质。在此,D(1,1)和D(2,1)为相同种类的荧光体,D(1,2)和D(2,2)为相同种类的荧光体。相同种类的荧光体是指发出的荧光的荧光光谱相等。荧光体D(1,1)以及D(1,2)在发光点P(1),通过激光束LB的照射发出荧光,在设置于传感器S的检测区域W(1,1)以及W(1,2)进行检测。尽管分别设计有检测波段,使得检测区域W(1,1)主要检测荧光体D(1,1)的发光荧光,检测区域W(1,2)主要检测荧光体D(1,2)的发光荧光,但相互的光谱串扰显著地存在。同样地,荧光体D(2,1)以及D(2,2)在发光点P(2),通过激光束LB的照射发出荧光,由设置于传感器S的检测区域W(2,1)以及W(2,2)进行检测。尽管分别设计有检测波段,使得检测区域W(2,1)主要检测荧光体D(2,1)的发光荧光,检测区域W(2,2)主要检测荧光体D(2,2)的发光荧光,但相互的光谱串扰显著地存在。此外,发光点P(1)处的荧光体D(1,1)以及D(1,2)的荧光发光在检测区域W(2,1)以及W(2,2)中也被检测,同样地,发光点P(2)处的荧光体D(2,1)以及D(2,2)的荧光发光在检测区域W(1,1)以及W(1,2)中也被检测,空间串扰显著地存在。如果将检测区域W(1,1)、W(1,2)、W(2,1)以及W(2,2)中的信号强度(荧光强度)设为X(1,1)、X(1,2)、X(2,1)以及X(2,2),则如图8下侧所示,对于发光点P(1)、发光点P(2)的每一个,伴随着电泳,得到信号强度X(1,1)以及X(1,2)、X(2,1)以及X(2,2)的时间序列数据。

[0126] 另外,在图8中,以检测区域W(1,1)、W(1,2)、W(2,1)以及W(2,2)设置在1个传感器S上的方式进行描绘,但并不是必须的。检测区域W(1,1)和W(1,2)可以设置在一个传感器上,检测区域W(2,1)和W(2,2)可以设置在另一个传感器上,检测区域W(1,1)、W(1,2)、W(2,1)以及W(2,2)可以分别设置在不同的4个传感器上。此外,在发光点P(1)以及P(2)与传感器S之间,需要某种成像单元以及分光单元,但在本实施例中,不论为何种成像单元以及分光单元均可,在图8中省略了成像单元以及分光单元。

[0127] 图9是表示图8中的光谱串扰以及空间串扰的关系的示意图。在图9的(a)中,发光点P(1)处的荧光体D(1,1)的荧光发光主要在(i)检测区域W(1,1)中检测,(ii)在检测区域W(1,2)中作为辅助被检测。此外,上述发光荧光在(iii)检测区域W(2,1)中也以与(i)以及

(ii)相比一直较小的强度进行检测,进而,在(iv)检测区域W(2,2)中也以小于(iii)的强度进行检测。(i)和(ii)表示光谱串扰,(iii)和(iv)表示空间串扰以及光谱串扰。换句话说,在现有方法中只考虑了(i)和(ii),但在本公开中考虑了(i)～(iv)的全部。在图9中,用箭头的粗细、实线或者虚线、(i)～(iv)的编号共同示出以上的检测强度的强弱的关系、以及串扰的关系。与图9的(a)同样地,图9的(b)描绘了发光点P(1)处的荧光体D(1,2)的荧光发光,图9的(c)描绘了发光点P(2)处的荧光体D(2,1)的荧光发光,图9的(d)描绘了发光点P(2)处的荧光体D(2,2)的荧光发光的情况。在实际的分析中,图9的(a)～(d)在同时刻一齐产生,而且各自的荧光强度不同。

[0128] 图10表示与图8相同的模型实验系统。但是,在图10的模型实验系统中,相对于2根毛细管Cap(1)以及Cap(2),与其排列方向垂直地从光源照射灯光LL。因此,不检测与激光束LB的照射相伴的发光荧光,而是检测与灯光LL的透过相伴的吸光、或者吸光度。在2根毛细管Cap(1)以及Cap(2)上,在照射灯光LL的位置分别设置有吸光点P(1)以及P(2)。在毛细管Cap(1)中电泳有2种吸光体D(1,1)以及D(1,2),在毛细管Cap(2)中电泳有2种吸光体D(2,1)以及D(2,2)。在此,D(1,1)和D(2,1)为相同种类的吸光体,D(1,2)和D(2,2)为相同种类的吸光体。相同种类的吸光体意味着光的吸光光谱相等。吸光体D(1,1)以及D(1,2)在吸光点P(1),通过灯光LL的照射而吸收光,未被吸收的光被设置于传感器S的检测区域W(1,1)以及W(1,2)检测。尽管分别设计有检测波段,以使得检测区域W(1,1)主要检测吸光体D(1,1)的吸光,检测区域W(1,2)主要检测吸光体D(1,2)的吸光,但相互的光谱串扰显著地存在。同样地,吸光体D(2,1)以及D(2,2)在吸光点P(2),通过灯光LL的照射来吸收光,未被吸收的光由设置于传感器S的检测区域W(2,1)以及W(2,2)检测。尽管分别设计有检测波段,以使得检测区域W(2,1)主要检测吸光体D(2,1)的吸光,检测区域W(2,2)主要检测吸光体D(2,2)的吸光,但相互的光谱串扰显著地存在。此外,在检测区域W(2,1)以及W(2,2)中也检测出吸光点P(1)处的吸光体D(1,1)以及D(1,2)的吸光,同样地,在检测区域W(1,1)以及W(1,2)中也检测出吸光点P(2)处的吸光体D(2,1)以及D(2,2)的吸光,空间串扰显著地存在。这是因为,透过吸光点P(1)的灯光LL的透过光的一部分在检测区域W(2,1)以及W(2,2)中也被检测,透过吸光点P(2)的灯光LL的透过光的一部分在检测区域W(1,1)以及W(1,2)中也被检测。如果将检测区域W(1,1)、W(1,2)、W(2,1)以及W(2,2)中的吸光度设为X(1,1)、X(1,2)、X(2,1)以及X(2,2),则如图10下侧所示,对于吸光点P(1)、吸光点P(2)的每一个,伴随着电泳,得到吸光度X(1,1)以及X(1,2)、X(2,1)以及X(2,2)的时间序列数据。以下,对使用图8的情况进行说明,但在使用图10的情况下也能够得到同样的效果,这是不言而喻的。

[0129] 图11是使用图8的模型实验系统,将已知的样本注入毛细管Cap(1)以及Cap(2)并通过电泳分析得到的原始数据。均将横轴设为电泳时间(任意单位),将纵轴设为荧光强度(任意单位)。图11的(a)和图11的(b)是在发光点P(1)得到的相同的原始数据,(b)是将(a)的纵轴刻度放大后的图。同样地,图11的(c)和图11的(d)是在发光点P(2)得到的相同的原始数据,图11的(d)是将图11的(c)的纵轴刻度放大的图。图11的(a)～(d)的横轴刻度表示时刻0～500,图11的(a)(c)的纵轴刻度表示荧光强度0～250,图11的(b)(d)的纵轴刻度表示荧光强度-0.2～0.8。X(1,1)以及X(2,1)用实线表示,X(1,2)以及X(2,2)用虚线表示。如图11所示,制备样本,以使得在时刻100使荧光体D(1,1)在发光点P(1)单独发出荧光(图9的(a)的状态),在时刻200使荧光体D(2,1)在发光点P(2)单独发出荧光(图9的(c)的状态),在

时刻300使荧光体D(1,2)在发光点P(1)单独发出荧光(图9的(b)的状态),在时刻400使荧光体D(2,2)在发光点P(2)单独发出荧光(图9的(d)的状态)。然后,制备样本,以使这些以外的荧光不发光。观察图11的(a)和图11的(c),仅观察到与上述的荧光发光对应的4个大的峰值(与图9的(i)(ii)对应),但观察图11的(b)和图11的(d),用箭头表示的4个小的峰值,即,在时刻100在发光点P(2)观察荧光体D(2,1),在时刻200在发光点P(1)观察荧光体D(1,1),在时刻300在发光点P(2)观察荧光体D(2,2),在时刻400在发光点P(1)观察荧光体D(1,2)(与图9的(iii)(iv)对应)。因此,这4个小的峰值能够判断为是基于空间串扰以及光谱串扰的峰值。例如,时刻100的发光点P(2)处的荧光体D(2,1)以及D(2,2)的小的峰值是时刻100的发光点P(1)处的荧光体D(1,1)的荧光发光的一部分通过空间串扰以及光谱串扰而被检测为X(2,1)和X(2,2)的结果(与图9的(a)的(iii)(iv)对应)。

[0130] 在不考虑空间串扰的情况下,即,在忽略图11的(c)以及图11的(d)的4个小的峰值的情况下(在图9中仅考虑(i)、(ii)的情况下),只要执行图11的(a)以及图11的(c)的4个大的峰值的光谱串扰的消除、即基于现有方法的颜色转换即可。此时,(数学式6)由下式表示。

[0131] [数学式18]

[0132] $$\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ Z(1,2) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0.7 & 0.2 \\ 0.3 & 0.8 \end{pmatrix}^{-1} \times \begin{pmatrix} X(1,1) \\ X(1,2) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1.6 & -0.4 \\ -0.6 & 1.4 \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} X(1,1) \\ X(1,2) \end{pmatrix} \quad (数\ 18)$$

[0133] [数学式19]

[0134] $$\begin{pmatrix} Z(2,1) \\ Z(2,2) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0.7 & 0.2 \\ 0.3 & 0.8 \end{pmatrix}^{-1} \times \begin{pmatrix} X(1,1) \\ X(1,2) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1.6 & -0.4 \\ -0.6 & 1.4 \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} X(2,1) \\ X(2,2) \end{pmatrix} \quad (数\ 19)$$

[0135] 在此,Z(1,1)、Z(1,2)、Z(2,1)以及Z(2,2)表示各时刻的荧光体D(1,1)、D(1,2)、D(2,1)以及D(2,2)的浓度。如(数学式18)以及(数学式19)所示,在本实施例中,2行2列的矩阵Y以及逆矩阵Y^{-1}在发光点P(1)和发光点P(2)相同。但是,通常,有时在发光点P(1)和发光点P(2),矩阵Y以及逆矩阵Y^{-1}不同。关于发光点P(1)的矩阵Y的各要素根据时刻100的荧光体D(1,1)的荧光强度X(1,1)与X(1,2)的强度比、时刻300的荧光体D(1,2)的荧光强度X(1,1)与X(1,2)的强度比来决定。关于发光点P(2)的矩阵Y的各要素根据时刻200的荧光体D(2,1)的荧光强度X(2,1)与X(2,2)的强度比、时刻400的荧光体D(2,2)的荧光强度X(2,1)与X(2,2)的强度比来决定。

[0136] 图12是针对图11的原始数据,在各时刻执行(数学式18)以及(数学式19)的颜色转换而得到的颜色转换数据。表述方法与图11相同。如期待那样,可知图11的(a)以及图11的(c)的4个大的峰值的光谱串扰通过图12的(a)以及图12的(c)的4个大的峰值消除。另一方面,图11的(b)以及图11的(d)的4个小的峰值的光谱串扰也通过图12的(c)以及图12(d)的4个小的峰值(同样地由箭头表示)消除,但这些峰值本身依然残留,可知没有消除空间串扰。这是现有方法的课题。

[0137] 因此,接下来,对于图11,考虑光谱串扰和空间串扰这两者(在图9中全部考虑(i)~(iv)),执行颜色转换和空间校正这两者。此时,(数学式14)由下式表示。

[0138] [数学式20]

[0139]
$$\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ Z(1,2) \\ Z(2,1) \\ Z(2,2) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0.6970 & 0.2000 & 0.0021 & 0.0004 \\ 0.3000 & 0.7980 & 0.0009 & 0.0016 \\ 0.0021 & 0.0004 & 0.6970 & 0.2000 \\ 0.0009 & 0.0016 & 0.3000 & 0.7980 \end{pmatrix}^{-1} \times \begin{pmatrix} X(1,1) \\ X(1,2) \\ X(2,1) \\ X(2,2) \end{pmatrix}$$
$$= \begin{pmatrix} 1.6082 & -0.4031 & -0.0048 & 0.0012 \\ -0.6046 & 1.4047 & 0.0012 & -0.0028 \\ -0.0048 & 0.0012 & 1.6082 & -0.4031 \\ 0.0012 & -0.0028 & -0.6046 & 1.4047 \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} X(1,1) \\ X(1,2) \\ X(2,1) \\ X(2,2) \end{pmatrix} \quad (数\ 20)$$

[0140] 矩阵Y以及逆矩阵Y^{-1}从(数学式18)和(数学式19)的2行2列扩展成4行4列。此外,在(数学式18)和(数学式19)中,在发光点P(1)和发光点P(2)分别独立地进行颜色转换,与此相对,在(数学式20)中使发光点P(1)和发光点P(2)混合存在而一并进行颜色转换+空间校正。(数学式20)的矩阵Y的各要素根据图11中的时刻100的荧光体D(1,1)的荧光强度X(1,1)、X(1,2)、X(2,1)以及X(2,2)的强度比、时刻200的荧光体D(2,1)的荧光强度X(1,1)、X(1,2)、X(2,1)以及X(2,2)的强度比、时刻300的荧光体D(1,2)的荧光强度X(1,1)、X(1,2)、X(2,1)以及X(2,2)的强度比、以及时刻400的荧光体D(2,2)的荧光强度X(1,1)、X(1,2)、X(2,1)以及X(2,2)的强度比来决定。(数学式20)的矩阵Y的左上的2行2列以及右下的2行2列与(数学式18)以及(数学式19)的矩阵Y对应,各要素的值彼此大致相等。同样地,(数学式20)的矩阵Y^{-1}的左上的2行2列以及右下的2行2列与(数学式18)以及(数学式19)的矩阵Y^{-1}对应,各要素的值彼此大致相等。换句话说,这些要素负责消除针对相同发光点的光谱串扰的颜色转换。在此,这些要素的值在(数学式20)和(数学式18)以及(数学式19)中不完全一致的理由是以下所述的有无考虑空间串扰的差异。与此相对,(数学式20)的矩阵Y以及矩阵Y^{-1}的右上的2行2列、以及左下的2行2列不存在于(数学式18)以及(数学式19),负责消除不同的发光点间的空间串扰以及光谱串扰的空间校正以及颜色转换。(数学式20)如以下式那样变形,则上述内容更容易理解。

[0141] [数学式21]

[0142]
$$\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ Z(1,2) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1.6082 & -0.4031 \\ -0.6046 & 1.4047 \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} X(1,1) \\ X(1,2) \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} -0.0048 & 0.0012 \\ 0.0012 & -0.0028 \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} X(2,1) \\ X(2,2) \end{pmatrix} \quad (数\ 21)$$

[0143] [数学式22]

[0144]
$$\begin{pmatrix} Z(2,1) \\ Z(2,2) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -0.0048 & 0.0012 \\ 0.0012 & -0.0028 \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} X(1,1) \\ X(1,2) \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 1.6082 & -0.4031 \\ -0.6046 & 1.4047 \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} X(2,1) \\ X(2,2) \end{pmatrix} \quad (数\ 22)$$

[0145] (数学式21)右边第一项以及(数学式22)右边第二项负责现有方法的颜色转换,分别与(数学式18)以及(数学式19)对应。与此相对,(数学式21)右边第二项以及(数学式22)右边第一项负责在现有方法中不进行处理的负责空间校正以及颜色转换。这样,既可以切分地单独执行颜色转换、空间校正以及颜色转换,也可以仅进行某一方。或者,例如,也可以对发光点P(1)实施空间校正以及颜色转换,对发光点P(2)仅实施颜色转换等,通过发光点使处理变化。

[0146] 图13是针对图11的原始数据,在各时刻执行(数学式20)的颜色转换+空间校正而得到的颜色转换+空间校正数据。表述方法与图11相同。首先,与图12同样地,可知图11的(a)以及图11的(c)的4个大的峰值的光谱串扰通过图13的(a)以及图13的(c)的4个大的峰值消除。进而,如期待那样,图11的(b)以及图11的(d)的4个小的峰值的空间串扰以及光谱串扰也在图13的(c)以及图13的(d)中消除,可知峰值消失(用箭头表示)。

[0147] 根据以上内容,根据本公开,示出了能够通过计算处理消除或者减少在分别检测从多个发光点发出的多种荧光体的荧光的任意的光学系统中产生的、针对同一发光点的光谱串扰、以及多个发光点间的空间串扰以及光谱串扰。

[0148] [实施例3]

[0149] 接下来,依据[实施例2]的实验结果,此次进行未知样本的分析。图14是使用图8的模型实验系统,将未知的样本注入毛细管Cap(1)以及Cap(2)进行电泳分析的结果得到的原始数据。由于使用了与[实施例2]相同的模型实验系统,因此能够直接使用(数学式18)~(数学式22)。表述方法与图11相同。但是,图11的(b)(d)的纵轴刻度缩小为荧光强度-0.5~2.0。在时刻100、200、300以及400各自中,在发光点P(1)观察到大的峰值,另一方面,在发光点P(2)观察到小的峰值(用箭头表示)。

[0150] 图15是针对图14的原始数据,在各时刻执行(数学式18)以及(数学式19)的颜色转换而得到的颜色转换数据。表述方法与图14相同。如图15的(a)所示,在发光点P(1)中,在时刻100以及300单独检测荧光体D(1,1)的发光荧光,在时刻200以及400单独检测荧光体D(1,2)的发光荧光。另一方面,如图15的(d)所示,在发光点P(2)中,在时刻100、200、300以及400检测出的4个小的峰值(用箭头表示)的本来情况不明。即,不清楚它们的来源为:(1)发光点P(2)处的荧光体D(2,1)与D(2,2)的混合物的荧光发光,(2)发光点P(2)处的荧光体D(2,1)与D(2,2)以外的杂质的荧光发光,或者(3)发光点P(1)处的荧光体D(1,1)以及D(1,2)的荧光发光的空间串扰。

[0151] 图16是针对图14的原始数据,在各时刻执行(数学式20)的颜色转换+空间校正而得到的颜色转换+空间校正数据。表述方法与图14相同。如图16的(a)所示,与图15的(a)同样地,在发光点P(1)中,在时刻100以及300单独检测荧光体D(1,1)的发光荧光,在时刻200以及400单独检测荧光体D(1,2)的发光荧光。除此之外,如图16的(d)所示,判明了,作为针对发光点P(1)处的荧光体D(1,1)以及D(1,2)的荧光发光的检测区域W(2,1)以及W(2,2)的空间串扰以及光谱串扰被消除的结果,在发光点P(2)中,在时刻100以及300单独检测出荧光体D(2,2)的微弱的发光荧光,在时刻200以及400单独检测出荧光体D(2,1)的微弱的发光荧光。这些微弱的发光荧光的峰值强度弱于在发光点P(1)观察到的发光荧光的峰值强度的1%。另一方面,由图12的结果可知,在图8的模型实验系统中产生的空间串扰比率也为1%弱。因此,在图15的(d)中,真正的微弱的发光荧光和由空间串扰引起的伪微弱的发光荧光混合存在,不能进行两者的区别。

[0152] 上述的结果表示,空间串扰能够上推来自各发光点的发光的检测中的检测下限。如上述的例子那样,设为空间串扰比率为1%时,假设发光点为1个的情况下的检测下限为0.1%,也无法区别1%以下的信号是真的信号还是由空间串扰引起的伪信号,因此,有效的检测下限上升为1%。换句话说,与1个发光点的发光检测相比,在多个发光点的发光检测中,检测灵敏度和动态范围都降低1个数位。本公开能够解决这样的课题,避免多个发光点的发光检测中的检测灵敏度和动态范围的降低。

[0153] [实施例4]

[0154] 接下来,依据[实施例2]的实验结果,在发光点P(1),与荧光体D(1,1)与荧光体D(1,2)一起,对由未知的荧光体D(1,3)标记的物质进行电泳分析。图17是使用图8的模型实验系统,只向毛细管Cap(1)注入样本,毛细管Cap(2)中不注入样本,对毛细管Cap(1)和Cap

(2)这两者进行电泳分析得到的原始数据。表述方法与图14相同。制备样本,以使得在时刻100在发光点P(1)使荧光体D(1,1)单独发出荧光,在时刻200在发光点P(1)使荧光体D(1,2)单独发出荧光,在时刻300在发光点P(1)使荧光体D(1,1)单独发出荧光,在时刻400在发光点P(1)使荧光体D(1,3)单独发出荧光。然后制备样本,以使这些以外的荧光不发光。如图17的(a)所示,仅观察到与上述荧光发光对应的4个大的峰值。可知,荧光体D(1,3)的光谱串扰比率与荧光体D(1,2)的光谱串扰比率相似,但稍微不同。另一方面,如图17的(d)所示的箭头所示的4个小的峰值分别能够判断为其是作为图17的(a)的4个大的峰值的来源的发光荧光的空间串扰以及光谱串扰的结果。

[0155] 图18是针对图17的原始数据,在各时刻执行(数学式20)的颜色转换+空间校正而得到的颜色转换+空间校正数据。表述方法与图14相同。如图18的(a)所示,在发光点P(1)中,在时刻100以及300单独检测荧光体D(1,1)的发光荧光,在时刻200单独检测荧光体D(1,2)的发光荧光。然而,如箭头所示,在时刻400单独检测出荧光体D(1,3)的发光荧光,但由于光谱串扰比率与荧光体D(1,1)和荧光体D(1,2)中的任一个都不同,因此没有进行光谱串扰的消除。另一方面,如图18的(d)所示,判明了,尽管时刻100、200、以及300的发光点P(1)处的荧光体D(1,1)以及D(1,2)的荧光发光引起的空间串扰以及光谱串扰被消除,但如箭头所示那样,时刻400的发光点P(1)处的荧光体D(1,3)的荧光发光引起的空间串扰以及光谱串扰未被消除,而残留有峰值。这是因为,在[实施例2]中,对发光点P(1)处的荧光体D(1,1)、D(1,2)以及发光点P(2)处的荧光体D(2,1)、D(2,2)的发光荧光进行了(数学式20)的导出,发光点P(1)处的D(1,3)的发光荧光的空间串扰以及光谱串扰的特性与(数学式20)不同。因此,对于发光点P(1)处的荧光体D(1,3)的发光荧光,只要重新取得(数学式20),就解决了上述问题。以上的现象表示本公开的一个方面。

[0156] [实施例5]

[0157] 此次,依据[实施例2]的实验结果,在发光点P(1)处,进行阶段性地提升由荧光体D(1,1)标记的物质的浓度而进行荧光发光的实验。图19是使用图8的模型实验系统,只对毛细管Cap(1)注入样本,对毛细管Cap(2)不注入样本,对毛细管Cap(1)和Cap(2)这两者进行电泳分析得到的原始数据。表述方法与图14相同。但是,图19的(a)(c)的纵轴刻度缩小为荧光强度0~400。制备样本,以使得在时刻100、200、300、400的各个时刻,荧光体D(1、1)分别在发光点P(1)单独发出荧光,并且荧光体D(1,1)的浓度以及荧光强度阶段性地上升。而且,制备样本,以使这些以外的荧光不发光。如图19的(a)所示,观察到与上述的荧光发光对应的4个大的峰值,但由于在图8的模型实验系统中使用的传感器S在荧光强度200饱和,因此时刻200、300、400的3个峰值被饱和检测。与此相对,图19的(d)所示的发光点P(1)处的荧光体D(1,1)的发光荧光的空间串扰以及光谱串扰所产生的4个小的峰值由于荧光强度低,因此均不饱和地被观察到。

[0158] 图20是针对图19的原始数据,在各时刻执行(数学式18)以及(数学式19)的颜色转换而得到的颜色转换数据。表述方法与图19相同。如图20的(a)所示,发光点P(1)中的时刻100的荧光体D(1,1)的发光荧光的光谱串扰被消除,并被单独检测。然而,由于时刻200、300、400的荧光体D(1,1)的发光荧光饱和,因此没有消除光谱串扰。由图19的(a)可知,这是因为,当荧光强度饱和时,根据X(1,1)和X(1,2)的强度比导出的光谱串扰比率发生变化,偏离由(数学式18)以及(数学式19)定义的光谱串扰比率。与此相对,如图20的(d)所示,由于

荧光体D(2,1)的荧光强度没有饱和,因此针对用箭头表示的4个小的峰值分别消除了光谱串扰。图20的(d)所示的4个峰值的强度比表示时刻100、200、300、400的发光点P(1)处的荧光体D(1,1)的发光荧光的强度比。

[0159] 图21是针对图19的原始数据,在各时刻执行(数学式20)的颜色转换+空间校正而得到的颜色转换+空间校正数据。表述方法与图19相同。在图21的(a)中,根据与图20的(a)相同的理由,得到同等的结果。与此相对,如图21的(d)所示,关于时刻100的荧光体D(2,1)的发光荧光,消除了空间串扰和光谱串扰这两者。然而,对于时刻200、300、400的荧光体D(2、1)的发光荧光,没有消除空间串扰和光谱串扰。这是因为,在时刻200、300、400中,图19的(a)所示的X(1,1)或者X(1,2)的荧光强度饱和,结果,图19的(d)所示的X(2,1)以及X(2,2)的荧光强度相对于这些X(1,1)以及X(1,2)的荧光强度的比率偏离由(数学式20)定义的空间串扰比率。此外,由于该偏离的程度根据饱和的程度而增大,因此在图21的(d)中,时刻300的荧光强度比时刻200增大,时刻400的荧光体D(2,1)的荧光强度比时刻300增大。

[0160] [实施例6]

[0161] 在此,说明通过与[实施例2]不同的方法来决定(数学式20)的矩阵Y的方法。在[实施例2]中,如图11的(a)所示,通过以荧光体D(1,1)、D(2,1)、D(1,2)以及D(2,2)的顺序分别单独地使其进行荧光发光,即,使发光点P(1)和发光点P(2)交替地进行荧光发光,从而决定了矩阵Y。然而,如果毛细管Cap(1)和Cap(2)中的任一个的电泳速度偏离设想,则可能在发光点P(1)和发光点P(2)同时进行荧光发光,在这种情况下不能确定矩阵Y。

[0162] 图22表示用于避免上述问题的更现实的方法。最初,如图22的(a)所示,仅向毛细管Cap(1)注入样本,用毛细管Cap(1)和Cap(2)进行电泳分析,使荧光体D(1,1)和D(1,2)分别单独荧光发光,在检测区域W(1,1)、W(1,2)、W(2,1)、W(2,2)进行荧光检测。接下来,如图22的(b)所示,仅向毛细管Cap(2)注入样本,用毛细管Cap(1)和Cap(2)进行电泳分析,使荧光体D(2,1)和D(2,2)分别单独荧光发光,在检测区域W(1,1)、W(1,2)、W(2,1)、W(2,2)进行荧光检测。通过这样的方法,与[实施例2]同样,能够决定矩阵Y。此外,根据该方法,能够比[实施例2]更简便且可靠地决定矩阵Y。在图22中,为了便于理解,描绘为使毛细管Cap(1)中的荧光体D(1,1)和D(1,2)以及毛细管Cap(2)中的荧光体D(2,1)和D(2,2)分别进行多次荧光发光,但只要分别各荧光发光1次就足够了。此外,在上述中,在最初的电泳分析结束之后,进行了接下来的电泳分析,但也可以到此为止不扩大电泳分析的间隔。通过适当地错开毛细管Cap(1)的样本注入和毛细管Cap(2)的样本注入的定时,能够得到与图22同等的效果。例如,向毛细管Cap(1)进行样本注入后只进行短时间的电泳,然后向毛细管Cap(2)进行样本注入后重新开始电泳即可。由此,能够削减决定矩阵Y所需的时间。此外,根据该方法,能够使注入毛细管Cap(1)的样本和注入毛细管Cap(2)的样本为相同的组成、或者使其相同。由此,能够使准备的样本简单化,能够削减用于其的成本。

[0163] 图23表示使矩阵Y的决定更简便的方法。在此,尽管在相同的定时进行毛细管Cap(1)的样本注入和毛细管Cap(2)的样本注入,但与图22同样地制备样本,以使得毛细管Cap(1)中的荧光体D(1,1)和D(1,2)以及毛细管Cap(2)中的荧光体D(2,1)和D(2,2)分别在不同的时刻进行荧光发光。换句话说,改变注入毛细管Cap(1)的样本和注入毛细管Cap(2)的样本的组成,使标记有各荧光体的物质的电泳速度出现差异即可。例如,可以进行制备,使得在注入毛细管Cap(1)的样本中,包括标记有荧光体D(1,1)的50碱基长的DNA片段、以及标记

有荧光体D(1,2)的60碱基长的DNA片段,在注入毛细管Cap(2)的样本中,包括标记有荧光体D(2,1)的70碱基长的DNA片段、以及标记有荧光体D(2,2)的80碱基长的DNA片段。

[0164] 或者,图23也能够通过即使在毛细管Cap(1)和Cap(2)以相同的定时注入了相同组成的样本,还通过在毛细管Cap(1)和Cap(2)中设定不同的电泳条件来实现。例如,在电泳正在进行的过程中,会暂时降低Capi(2)的施加电压、降低电泳时的Capi(2)的温度等。

[0165] 以上,设想了预先准备用于决定矩阵Y的专用样本,但并不一定是必须的。在成为分析对象的实际样本的电泳分析的原始数据中,存在各毛细管中的各荧光体的荧光发光单独产生的状态,如果能够确定其,则能够使用该时刻的原始数据来决定矩阵Y。

[0166] [实施例7]

[0167] 图24是作为分析装置的一例的多毛细管电泳装置的结构图。多毛细管电泳装置被广泛用作进行DNA序列、DNA片段解析的分析装置。如图24所示,多毛细管电泳装置具备毛细管24-1、阴极24-4、阳极24-5、阴极侧缓冲液24-6、阳极侧缓冲液24-7、泵块24-9、注射器24-11以及激光光源24-12。在本实施例中,使用4根毛细管24-1,在各毛细管24-1中实施不同样本的DNA序列。DNA序列的样本由以4种荧光体标记的DNA片段构成。通过以下的(1)~(6)的工序,执行了1次分析会话。(1)首先,将4根毛细管24-1的试样注入端24-2浸入阴极侧缓冲液24-6,将试样溶出端24-3经由聚合物块24-9中的聚合物溶液浸入阳极侧缓冲液24-7。(2)接下来,关闭泵块24-9的阀门24-10,下压与泵块24-9连接的注射器24-11的活塞以对内部的聚合物溶液进行加压,将聚合物溶液在各毛细管24-1的内部从样本溶出端24-3向样本注入端24-2填充。(3)接下来,打开阀门24-10,从样本注入端24-2向各毛细管24-1电场注入不同样本后,在阴极24-4与阳极24-5之间通过电源24-8施加高电压,以开始毛细管电泳。以4种荧光体标记的DNA片段从样本注入端24-2朝向样本溶出端24-3电泳。(4)并行地,将各毛细管24-1的从样本注入端24-2电泳一定距离的位置作为发光点24-14,将激光光源24-12振荡出的波长为505nm的激光束24-13一并照射到各发光点24-14。在此,预先去除发光点24-14附近的各毛细管24-1的覆盖,将发光点24-14附近的各毛细管24-1排列在相同平面上,将激光束24-13聚光后,从上述的排列平面的侧方,沿排列平面导入。(5)然后,用4种荧光体标记的DNA片段在各毛细管24-1的内部电泳,在通过发光点24-14时通过激光束24-13的照射激励,发出荧光。换句话说,从4个发光点使4种荧光体荧光发光,伴随着电泳,各自的荧光强度时时刻刻变化。(6)最后,通过传感器(未图示)对从各发光点发出的荧光进行多色检测,对由计算机(未图示)得到的时间序列数据进行解析,由此进行注入到各毛细管的样本的DNA序列。由以上的(1)~(6)的工序构成的分析会话能够重复多次。例如,通过在第一次分析会话中分析样本(1)~(4),在第二次分析会话中分析样本(5)~(8),…,能够分析大量不同的样本。

[0168] 在本实施例中,使用专利文献1的光学系统进行上述(6)的多色检测。即,将从A=4个发光点P(1)~P(4)发出的荧光用1个聚光透镜准直,使1个透射型的衍射光栅透过,将各荧光的1级衍射光通过1个成像透镜成像在1个二维传感器上。图25是在4根毛细管Cap(1)~Cap(4)中填充标准溶液时通过激光束照射产生的包括从4个发光点P(1)~P(4)发出的拉曼散射光的波长分散图像的二维传感器图像的取得结果。横轴方向是4根毛细管的排列方向,纵轴方向是波长方向。箭头所示的纵向延伸的4条条纹状的像分别为毛细管Cap(1)~Cap(4)的拉曼散射光的波长分散图像。基于该结果,针对各发光点,进行二维传感器图像上的

波长分散图像的波长校正,求出像素位置与波长的关系。然后,基于其结果,如图26所示,针对二维传感器图像上的发光点P(1)～P(4)的各个,设定B＝20个不同波段的检测区域。20个检测区域分别设定为在以10nm间隔等分割的波段分别检测500～700nm的发光。例如,对发光点P(1)设定的检测区域W(1,1)、W(1,2)、…、W(1,20)分别设定为检测500～510nm、510～520nm、…、690～700nm的波段的发光,将各自的信号强度设为X(1,1)、X(1,2)、…、X(1,20)。对于发光点P(2)～P(4)也是同样的。在此,只要各发光点P(1)～P(4)的位置以及光学系统被固定,则二维传感器图像中的各毛细管的像素位置与波长的关系得以维持,因此图26中设定的检测区域对于多个不同的发光检测、或者多个不同的分析会话也是有效的。

[0169] 在本实施例中,作为C＝4种荧光体,使用dR110、dR6G、dTAMRA以及dROX,分别将其标记到通过Sanger反应制备的末端碱基种类为T、C、A以及G的DNA片段。dR110、dR6G、dTAMRA以及dROX的极大荧光发光波长分别为541nm、568nm、595nm以及618nm,因此各自的发光荧光在540～550nm、560～570nm、590～600nm以及610～620nm的波段的检测区域以最强的强度被检测。例如,发光点P(1)处的dR110、dR6G、dTAMRA以及dROX的发光荧光分别主要在区域W(1,5)、W(1,7)、W(1,10)以及W(1,12)被检测。其中,各发光荧光在通过光谱串扰而在发光点P(1)的其他检测区域中也被检测出,通过空间串扰以及光谱串扰,在发光点P(2)～P(3)的检测区域中也以较弱的强度被检测出。以下,将发光点P(1)处的dR110、dR6G、dTAMRA以及dROX分别设为D(1,1)、D(1,2)、D(1,3)以及D(1,4),并且将它们的浓度设为Z(1,1)、Z(1,2)、Z(1,3)以及Z(1,4)。对于发光点P(2)～P(4)也是同样的。

[0170] 此时,(数学式9)中的(数学式10)～(数学式12)成为下式。

[0171] [数学式23]

[0172] $$X=\begin{pmatrix} X(1,1) \\ \vdots \\ X(1,20) \\ X(2,1) \\ \vdots \\ X(4,20) \end{pmatrix} \qquad (数\ 23)$$

[0173] [数学式24]

[0174] $$Y=\begin{pmatrix} Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,4) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(4,4) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots \\ Y(1,20)(1,1) & \cdots & Y(1,20)(1,4) & Y(1,20)(2,1) & \cdots & Y(1,20)(4,4) \\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,4) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(4,4) \\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(4,20)(1,1) & \cdots & Y(4,20)(1,4) & Y(4,20)(2,1) & \cdots & Y(4,20)(4,4) \end{pmatrix} \qquad (数\ 24)$$

[0175] [数学式25]

[0176] $$Z=\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ \vdots \\ Z(1,4) \\ Z(2,1) \\ \vdots \\ Z(4,4) \end{pmatrix} \qquad (数\ 25)$$

[0177] 在此,X为80行1列的矩阵,Y为80行16列的矩阵,Z为16行1列的矩阵。实施将(数学

式23)～(数学式25)代入(数学式14)得到的空间校正和颜色转换,消除空间串扰和光谱串扰这两者,能够取得各毛细管中的4种荧光体的浓度的时间序列数据。其结果是,能够实施注入到各毛细管的不同样本的DNA序列。另外,与本实施例对应的现有方法是对各毛细管的每一个(数学式8)实施的颜色转换。在现有方法中无法消除空间串扰。

[0178] (数学式23)～(数学式25)以及从它们导出的(数学式14),只要各发光点的位置、光学系统、以及所使用的荧光体被固定,则对于多个不同的发光检测、或者多个不同的分析会话也是有效的。

[0179] 矩阵Y的决定方法如上所述。但是,不一定需要将80×16个要素全部设定。例如,可以将与其它元素相比绝对值足够小的元素置换为零,简化相关的计算。此外,在空间串扰所涉及的范围有限的情况下,也可以在有限的范围内定义(数学式9)～(数学式12)。在这种情况下,根据需要,也能够使限定的范围依次滑动,进行更宽范围的分析。例如,在空间串扰所涉及的范围能够限定于两个相邻的毛细管的情况下,也可以忽略关于离开2根以上的毛细管的空间串扰以及光谱串扰,省略相关的计算。进而在该情况下,也能够将为了决定矩阵Y而使在各发光点单独发光的工序简化为使相互不造成空间串扰的影响的多个发光点同时发光的工序。

[0180] [实施例8]

[0181] 在本实施例中,与[实施例7]同样地,进行使用了图24的多毛细管电泳装置的DNA序列。但是,在各时刻,通过专利文献2的光学系统来多色检测从4个发光点发出的4种荧光体的荧光发光。图27表示本光学系统的结构和由本光学系统取得的4个发光点的4分割像。图27的光学系统具备聚光透镜阵列27-1、长通滤波器27-3、分色镜27-4、27-5、27-6以及27-7和二维传感器27-8。如图27的(a)以及图27的(b)所示,首先,将从A＝4个发光点P(1)～P(4)发出的荧光分别用构成聚光透镜阵列27-1的4个聚光透镜27-2单独准直而成为4根光束27-9,使其一并透过1个长通滤波器27-3,由此将激光束光切断。接下来,在由4个分色镜27-4、27-5、27-6以及27-7构成的1组分色镜阵列中一并入射各光束27-9,由此将各光束27-9分别分割成B＝4个分割光束27-10、27-11、27-12以及27-13,从分色镜阵列出射。在此,通过调整各分色镜的分光特性,使分割光束27-10、27-11、27-12以及27-13分别具有520～550nm、550～580nm、580～610nm以及610～640nm波段的光。最后,将生成的A×B＝4×4＝16个分割光束入射到二维传感器27-8,如图27的(c)所示,得到16个分割像W(1,1)～W(4,4)。在此,由于4根毛细管Cap(1)～Cap(4)的排列方向,即,发光点P(1)～P(4)的排列方向以及基于分色镜阵列的分割方向、即波长方向相互垂直,因此如图27的(c)所示,在二维传感器图像27-14中,分割像W(1,1)～W(4,4)不会相互重叠,在进行了排队的状态下被检测到。例如,从发光点P(1)发出的荧光被检测为W(1,1)、W(1,2)、W(1,3)以及W(1,4)的分割像,分别具有520～550nm、550～580nm、580～610nm以及610～640nm的波段的光分量。对于发光点P(2)～P(4)也是同样的。因此,将二维传感器图像27-14中的分割像W(1,1)～W(4,4)分别设定为检测区域。此外,将在各检测区域中检测出的信号强度分别设为X(1,1)～X(4,4)。在此,只要各发光点P(1)～P(4)的位置以及光学系统被固定,就维持二维传感器图像27-14中的各毛细管的像素位置与波长的关系,因此图27的(c)中设定的检测区域对于多个不同的发光检测、或者多个不同的分析会话也是有效的。

[0182] 在本实施例中,与[实施例7]同样地,作为C＝4种荧光体,使用dR110、dR6G、dTAMRA

以及dROX,分别将其标记为通过Sanger反应制备的末端碱基种类为T、C、A以及G的DNA片段。dR110、dR6G、dTAMRA以及dROX的极大荧光发光波长分别为541nm、568nm、595nm以及618nm,因此各自的发光荧光在520～550nm、550～580nm、580～610nm以及610～640nm的波段的检测区域以最强的强度被检测出。例如,发光点P(1)处的dR110、dR6G、dTAMRA以及dROX的发光荧光分别在检测区域W(1,1)、W(1,2)、W(1,3)以及W(1,4)被主要检测。但是,各发光荧光通过光谱串扰而在发光点P(1)的其他检测区域中也被检测出,通过空间串扰以及光谱串扰而在发光点P(2)～P(3)的检测区域中也被检测出。以下,将发光点P(1)处的dR110、dR6G、dTAMRA以及dROX分别设为荧光体D(1,1)、D(1,2)、D(1,3)、以及D(1,4),此外,将它们的浓度设为Z(1,1)、Z(1,2)、Z(1,3)以及Z(1,4)。对于发光点P(2)～P(4)也是同样的。

[0183] 此时,(数学式9)中的(数学式10)～(数学式12)成为下式。

[0184] [数学式26]

[0185] $$X=\begin{pmatrix} X(1,1) \\ \vdots \\ X(1,4) \\ X(2,1) \\ \vdots \\ X(4,4) \end{pmatrix} \quad (数\ 26)$$

[0186] [数学式27]

[0187] $$Y=\begin{pmatrix} Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,4) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(4,4) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots \\ Y(1,4)(1,1) & \cdots & Y(1,4)(1,4) & Y(1,4)(2,1) & \cdots & Y(1,4)(4,4) \\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,4) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(4,4) \\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(4,4)(1,1) & \cdots & Y(4,4)(1,4) & Y(4,4)(2,1) & \cdots & Y(4,4)(4,4) \end{pmatrix} \quad (数\ 27)$$

[0188] [数学式28]

[0189] $$Z=\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ \vdots \\ Z(1,4) \\ Z(2,1) \\ \vdots \\ Z(4,4) \end{pmatrix} \quad (数\ 28)$$

[0190] 在此,X为16行1列的矩阵,Y为16行16列的矩阵,Z为16行1列的矩阵。通过将(数学式26)～(数学式28)代入(数学式14),能够消除空间串扰和光谱串扰这两者,取得各毛细管中的4种荧光体浓度的时间序列数据。其结果是,能够实施注入到各毛细管的不同样本的DNA序列。另外,与本实施例对应的现有方法是对每个毛细管实施(数学式8)的颜色转换。在现有方法中无法消除空间串扰。

[0191] (数学式26)～(数学式28)以及从它们导出的(数学式14)只要各发光点的位置、光学系统、以及所使用的荧光体被固定,则对于多个不同的发光检测、或者多个不同的分析会话也是有效的。

[0192] [实施例9]

[0193] 图28表示以1个碱基为单位进行将多个反应槽排列在平面上的多通道的、在各通道中以不同的DNA片段为模板的互补链伸长反应,通过在伸长反应中对被导入互补链的4种碱基标记的C＝4种荧光体的发光荧光进行多色检测,进行各DNA片段的DNA序列的多通道伸长反应装置的结构图,以及由多个二维传感器得到的二维传感器图像的示意图。多通道伸长反应装置,包括激光光源28-1,分色镜28-3,透镜28-4,分色镜28-8,28-9以及28-10,透镜28-11,第一二维传感器28-12,透镜28-13,第二二维传感器28-14,透镜28-15,第三二维传感器28-16,透镜28-17以及第四二维传感器28-18。以碱基种类T、C、A以及G标记的荧光体的极大荧光发光波长分别为535nm、565nm、595nm以及625nm。首先,使激光光源28-1振荡出的激光束28-2,透过分色镜28-3后,由透镜28-4聚光照射到多通道中的样本28-5即DNA片段上。接着,在各通道中,将通过激光束照射而被激励的各荧光体的荧光发光28-6在透镜28-4一并准直后,使得到的光束28-7在分色镜28-3反射。分色镜28-3具有使激光束透过并使发光荧光反射的分光特性。接下来,通过3种分色镜28-8、28-9以及28-10,将光束28-7分割成4个具有4个不同波长分量的光束。然后,通过透镜28-11使第一分割光束在第一二维传感器28-12上成像,通过透镜28-13使第二分割光束在第二二维传感器28-14上成像,通过透镜28-15使第三分割光束在第三二维传感器28-16上成像,通过透镜28-17使第四分割光束在第四二维传感器28-18上成像。

[0194] 样本28-19是从与排列平面垂直的方向观察样本28-5的示意图。A＝5个通道分别形成了发光点P(1)～P(5)。实际上,在样本上存在更多的通道,通过上述的光学系统一并检测来自各通道的发光荧光,但在此,仅将关注的发光点P(3)和对发光点P(3)直接造成空间串扰的影响的存在于发光点P(3)的周围的发光点P(1)、P(2)、P(4)、P(5)作为解析对象,因此在样本28-19中简略地仅描绘了发光点P(1)～P(5)。在关注发光点P(3)以外的发光点的情况下,将其发光点和其周边的发光点作为对象同样地进行解析即可。在关注任何发光点的情况下,也可以在荧光检测之后,对相同的荧光检测数据单独地进行解析。第一二维传感器图像28-20是由第一二维传感器28-12取得的样本28-19的分割像,在发光点P(1)～P(5)各自的成像点设定检测区域W(1,1)～W(5,1),将各自的信号强度设为X(1,1)～X(5,1)。在第一二维传感器图像28-20中,检测出波段520～550nm的荧光分量。第二二维传感器图像28-21是由第二二维传感器28-14取得的样本28-19的分割像,在发光点P(1)～P(5)各自的成像点设定检测区域W(1,2)～W(5,2),将各自的信号强度设为X(1,2)～X(5,2)。在第二二维传感器图像28-21中,检测出波段550～580nm的荧光分量。第三二维传感器图像28-22是由第三二维传感器28-16取得的样本28-19的分割像,在发光点P(1)～P(5)各自的成像点设定检测区域W(1,3)～W(5,3),将各自的信号强度设为X(1,3)～X(5,3)。在第三二维传感器图像28-22中,检测出波段580～610nm的荧光分量。第四二维传感器图像28-23是由第四二维传感器28-18取得的样本28-19的分割像,在发光点P(1)～P(5)各自的成像点设定检测区域W(1,4)～W(5,4),将各自的信号强度设为X(1,4)～X(5,4)。在第四二维传感器图像28-23中,检测出波段610～640nm的荧光分量。即,使用4个二维传感器对来自各发光点的发光荧光进行B＝4色检测。例如,发光点P(3)中的4种荧光体的发光荧光按波长顺序分别在检测区域W(3,1)、W(3,2)、W(3,3)以及W(3,4)中被主要检测。但是,各发光荧光通过光谱串扰而在发光点P(3)的其他检测区域中也被检测出,通过空间串扰以及光谱串扰而在发光点P(1)、P(2)、P(4)、P(5)的检测区域中也被检测出。以下,将发光点P(3)中的4种荧光体按波长顺序

分别设为D(3,1)、D(3,2)、D(3,3)以及D(3,4)，此外，将它们的浓度设为Z(3,1)、Z(3,2)、Z(3,3)以及Z(3,4)。对于发光点P(1)、P(2)、P(4)、P(5)也是同样的。

[0195] 此时，(数学式9)中的(数学式10)～(数学式12)成为下式。

[0196] [数学式29]

[0197] $$X=\begin{pmatrix} X(1,1) \\ \vdots \\ X(1,4) \\ X(2,1) \\ \vdots \\ X(5,4) \end{pmatrix} \quad (数\ 29)$$

[0198] [数学式30]

[0199] $$Y=\begin{pmatrix} Y(1,1)(1,1) & \cdots & Y(1,1)(1,4) & Y(1,1)(2,1) & \cdots & Y(1,1)(5,4) \\ \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \iddots & \vdots \\ Y(1,4)(1,1) & \cdots & Y(1,4)(1,4) & Y(1,4)(2,1) & \cdots & Y(1,4)(5,4) \\ Y(2,1)(1,1) & \cdots & Y(2,1)(1,4) & Y(2,1)(2,1) & \cdots & Y(2,1)(5,4) \\ \vdots & \iddots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ Y(5,4)(1,1) & \cdots & Y(5,4)(1,4) & Y(5,4)(2,1) & \cdots & Y(5,4)(5,4) \end{pmatrix} \quad (数\ 30)$$

[0200] [数学式31]

[0201] $$Z=\begin{pmatrix} Z(1,1) \\ \vdots \\ Z(1,4) \\ Z(2,1) \\ \vdots \\ Z(5,4) \end{pmatrix} \quad (数\ 31)$$

[0202] 在此，X为20行1列的矩阵，Y为20行20列的矩阵，Z为20行1列的矩阵。通过将(数学式29)～(数学式31)代入(数学式14)，能够消除空间串扰和光谱串扰这两者，取得各通道中4种荧光体的浓度的时间序列数据。但是，在本实施例中，由于仅关注发光点P(3)，因此仅提取矩阵Z中的Z(3,1)、Z(3,2)、Z(3,3)以及Z(3,4)的要素。其结果是，能够在发光点P(3)的通道中实施DNA序列。在关注其他发光点而在对应的通道进行DNA序列时，也能够采用同样的方法。

[0203] [实施例10]

[0204] 在本实施例中，利用流程图总结现有的方法和本公开的方法。图29是表示现有方法的1次分析会话的流程图。如图29所示，现有方法的分析会话，是通过具有分析样本29-1的分析装置、计算机、显示装置以及数据库的分析系统来执行的。分析装置具有来自样本29-1的光入射的传感器(未图示)。首先，将由C种(C为1以上的整数)荧光体标记的A种(A为2以上的整数)样本29-1输入到分析装置。接下来，在分析装置中，通过工序29-2，对各样本进行并行分析，对于各自的分析，并在各时刻，在B种(B为1以上的整数)波段检测发光荧光，取得A×B个荧光强度X(a,b)的时间序列原始数据，将这些时间序列原始数据发送到计算机。在此，a＝1,2,…,以及A,b＝1,2,…,以及B。接下来，在计算机中，通过工序29-3，对于分析(a_0)，通过使用数据库中存储的C行B列的矩阵Y^{-}(a_0)的颜色转换(a_0)来消除光谱串扰，在各

时刻,根据荧光强度X(a_0,b)求出C种荧光体的浓度Z(a_0,c)。在此,a_0=1,2,…,A,c=1,2,…,C。最后,在显示装置中,通过工序29-4,输出Z(a_0,c)的时间序列颜色转换数据。工序29-3以及工序29-4对所有的a_0实施。如图29所示,现有方法的特征在于,分别独立地进行A个分析以及解析。另外,在(数学式1)~(数学式4)中,荧光强度X(a,b)标记为X(b),浓度Z(a_0,c)标记为Z(c)。

[0205] 图30是表示本方法的1次分析会话的流程图。与图29同样,图30所示的本实施例的分析会话,由具有分析样本30-1的分析装置,计算机,显示装置以及数据库的分析系统来执行。分析装置具有来自样本30-1的光入射的传感器(未图示)。首先,将由C种(C为1以上的整数)荧光体标识的A种(A为2以上的整数)样本30-1输入到分析装置。接下来,在分析装置中,通过工序30-2,对各样本进行并行分析,对于各自的分析,并在各时刻,在B种(B为1以上的整数)波段检测发光荧光,取得A×B个荧光强度X(a,b)的时间序列原始数据,将这些时间序列原始数据发送到计算机。在此,a=1,2,…,以及A,b=1,2,…,以及B。但是,与图29不同,如工序30-2中虚线箭头所示,在不同的分析之间显著地存在发光荧光的空间串扰。接下来,在计算机中,通过工序30-3,对于全部的分析(a),通过使用数据库中保存的(A×C)行(A×B)列的矩阵Y^-的颜色转换+空间校正来消除光谱串扰以及空间串扰,在各时刻,根据荧光强度X(a,b),一并求出针对A种的样本或者分析的C种的荧光体的浓度Z(a,c)。在此,a=1,2,…,以及A,c=1,2,…,以及C。最后,在显示装置中,通过工序30-4,对于各个分析(a),输出Z(a,c)的时间序列颜色转换+空间校正数据。如图30所示,本方法的特征在于,对所有的分析一并进行工序30-3中的颜色转换+空间校正。进一步的特征在于,颜色转换+空间校正在所有分析中使用共同的矩阵Y^-。

[0206] 图31是表示在图30之前进行的保存于数据库的矩阵Y^-的求出方法的流程图。首先,将由C种(C为1以上的整数)荧光体标识的A种(A为2以上的整数)矩阵Y决定用样本31-1输入到分析装置。该样本被制备为单独产生分析(a)中的荧光体(c)的荧光发光。换句话说,a=1,2,…,以及A,c=1,2,…,以及C,对于这些A×C个的所有组合进行荧光发光,但不同时产生2个以上的组合的荧光发光。在此,通过矩阵Y决定用样本31-1来实现上述,但也可以通过分析装置的设定来实现上述。接下来,在分析装置中,通过工序31-2,在B种(B为1以上的整数)波段检测上述A×C个单独的荧光发光,取得A×B个荧光强度X(a,b)的时间序列原始数据,将这些时间序列原始数据发送到计算机。接下来,在计算机中,通过工序31-3,从得到的(A×B)个×(A×C)个数据,导出(A×B)行(A×C)列的矩阵,进而,求出Y的一般逆矩阵,求出(A×C)行(A×B)列的矩阵Y^-。然后,将所求出的矩阵Y^-保存于数据库,在图30等以后的分析中利用矩阵Y^-。

[0207] 图32是在利用图31中求出的矩阵Y^-的同时,重复多次进行针对图30所示的A种样本30-1的工序30-2~30-4的分析会话的情况下的流程图。在此,各分析会话中的分析对象的A种样本30-1相互不同。如图32所示,对于多个不同的分析会话,利用数据库中保存的相同矩阵Y^-这一点是本方法的特征。

[0208] 图33表示计算机的结构例。计算机与分析装置连接。计算机不仅进行数据分析,还进行分析装置的控制。在图29~图31中,数据库以及显示装置描绘在计算机的外部,但在图33中将它们描绘在计算机的内部。通过作为输入部的键盘,进行数据解析的条件设定、分析装置控制的条件设定。从分析装置输出的荧光强度X(a,b)的时间序列原始数据被依次保存

在存储器中。此外,保存在HDD内部的数据库中的(A×C)行(A×B)列的矩阵Y^-被保存在存储器中。CPU计算存储器中保存的荧光强度X(a,b)和Y^-的积,导出荧光体浓度Z(a,c)的时间序列颜色转换+空间校正数据,依次保存在存储器中,同时显示在作为显示部的监视器上。此外,解析结果可以通过网络接口NIF与网络上的信息进行比对。

[0209] [变形例]

[0210] 本公开并不限定于上述的实施方式,包括各种变形例。例如,上述的实施方式是为了容易理解地说明本公开而详细地进行了说明的实施方式,未必需要具备所说明的全部结构。此外,能够将某实施方式的一部分置换为其他实施方式的结构。此外,也能够在某实施方式的结构中添加其他实施方式的结构。此外,对于各实施方式的结构的一部分,也能够追加、删除或者置换其他实施方式的结构的一部分。

[0211] 符号说明

[0212] 1-1 针孔板

[0213] 1-2 发光点侧开口板

[0214] 1-3 聚光透镜

[0215] 1-4 传感器侧开口板

[0216] 1-5 彩色玻璃滤波器

[0217] 1-6 二维传感器

[0218] 1-7 卤素灯光

[0219] 1-8 发光点

[0220] 1-9 光

[0221] 1-10 发光像

[0222] Cap(1) 毛细管1

[0223] Cap(2) 毛细管2

[0224] P(1)Cap(1) 上的发光点

[0225] P(2)Cap(2) 上的发光点

[0226] D(1,1)P(1) 上的荧光体1或者吸光体1

[0227] D(1,2)P(1) 上的荧光体2或者吸光体2

[0228] D(2,1)P(2) 上的荧光体1或者吸光体1

[0229] D(2,2)P(2) 上的荧光体2或者吸光体2

[0230] D(1,3)P(1) 上的荧光体3或者吸光体3

[0231] W(1,1)以D(1,1) 为主进行检测的检测区域

[0232] W(1,2)以D(1,2) 为主进行检测的检测区域

[0233] W(2,1)以D(2,1) 为主进行检测的检测区域

[0234] W(2,2)以D(2,2) 为主进行检测的检测区域

[0235] X(1,1)W(1,1) 的信号强度

[0236] X(1,2)W(1,2) 的信号强度

[0237] X(2,1)W(2,1) 的信号强度

[0238] X(2,2)W(2,2) 的信号强度

[0239] Z(1,1)D(1,1) 的浓度

[0240] Z(1,2)D(1,2) 的浓度

[0241] Z(2,1)D(2,1) 的浓度

[0242] Z(2,2)D(2,2) 的浓度

[0243] S 传感器

[0244] LB 激光束

[0245] LL 灯光

[0246] 24-1 毛细管

[0247] 24-2 试样注入端

[0248] 24-3 试样溶出端

[0249] 24-4 阴极

[0250] 24-5 阳极

[0251] 24-6 阴极侧缓冲液

[0252] 24-7 阳极侧缓冲液

[0253] 24-8 电源

[0254] 24-9 聚合物块

[0255] 24-10 阀门

[0256] 24-11 注射器

[0257] 24-12 激光光源

[0258] 24-13 激光束

[0259] 24-14 发光点

[0260] Cap(a) 毛细管a(a＝1,2,3,以及4)

[0261] P(a) 毛细管a上的发光点(a＝1,2,3,以及4)

[0262] W(a,b) 来自P(a)的发光的波段b的检测区域(a＝1,2,…,以及4)(b＝1,2,…,以及20)

[0263] 27-1 聚光透镜阵列

[0264] 27-2 聚光透镜

[0265] 27-3 长通滤波器

[0266] 27-4,27-5,27-6,以及27-7 分色镜

[0267] 27-8 二维传感器

[0268] 27-9 光束

[0269] 27-10,27-11,27-12,以及27-13 分割光束

[0270] 27-14二维传感器图像

[0271] P(a)发光点a(a＝1,2,3,4,以及5)

[0272] W(a,b)来自P(a)的发光的波段b的检测区域(a＝1,2,3,4,以及5)(b＝1,2,3,以及4)

[0273] 28-1 激光光源

[0274] 28-2 激光束

[0275] 28-3,28-8,28-9,以及28-10分色镜

[0276] 28-4,28-11,28-13,28-15,以及28-17透镜

[0277] 28-5,以及28-19样本

[0278] 28-6 荧光发光

[0279] 28-7 光束

[0280] 28-12,28-14,28-16,以及28-18二维传感器

[0281] 28-20,28-21,28-22,以及28-23二维传感器图像

[0282] 29-1 样本

[0283] 29-2 分析装置中的工序

[0284] 29-3 计算机中的工序

[0285] 29-4 显示装置中的工序

[0286] 30-1 样本

[0287] 30-2 分析装置中的工序

[0288] 30-3 计算机中的工序

[0289] 30-4 显示装置中的工序

[0290] 31-1 样本

[0291] 31-2 分析装置中的工序

[0292] 31-3计算机中的工序。

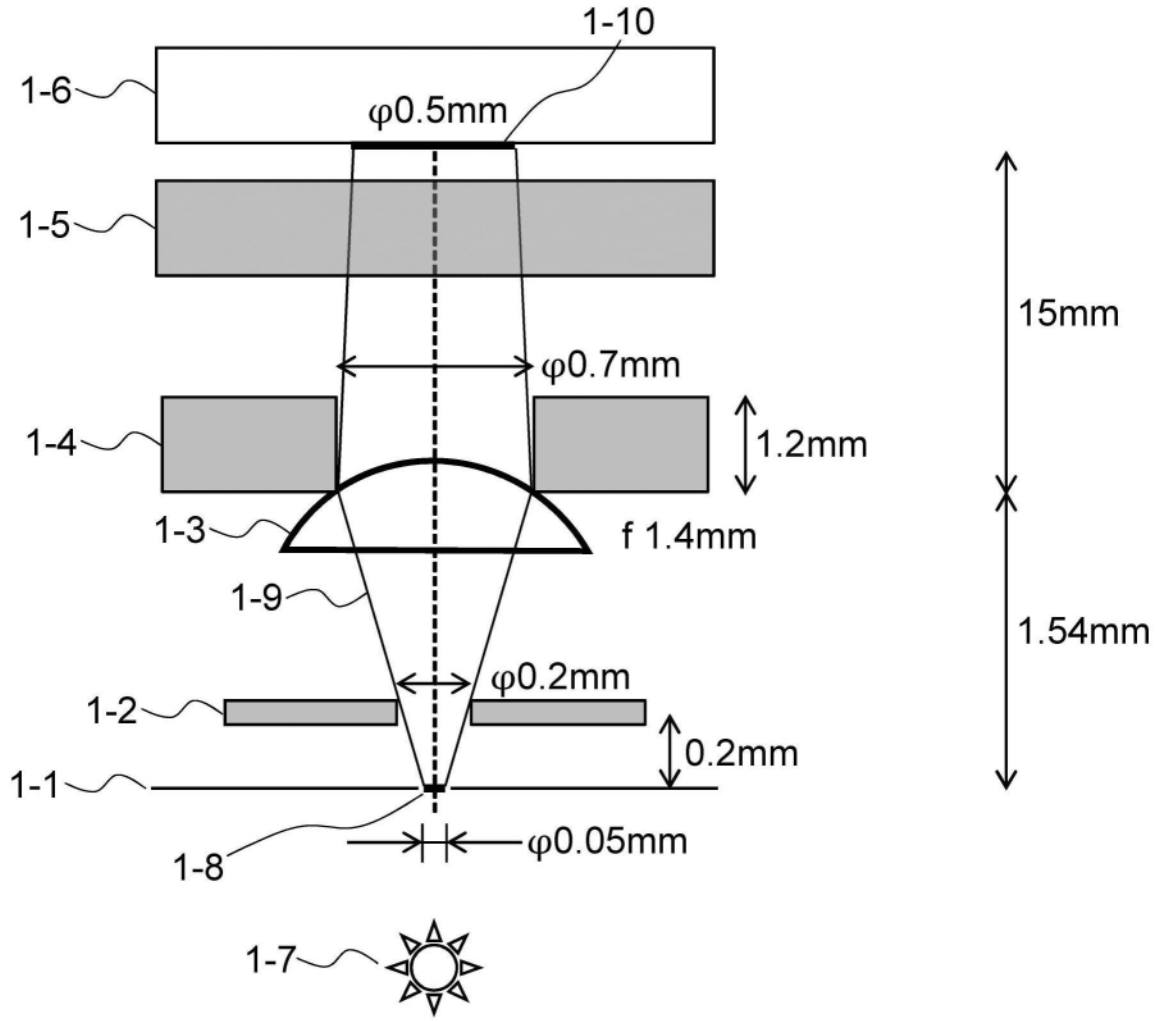

1-10
1-6
φ0.5mm
1-5
15mm
φ0.7mm
1-4
1.2mm
1-3
f 1.4mm
1-9
1.54mm
φ0.2mm
1-2
0.2mm
1-1
1-8
φ0.05mm
1-7

图1

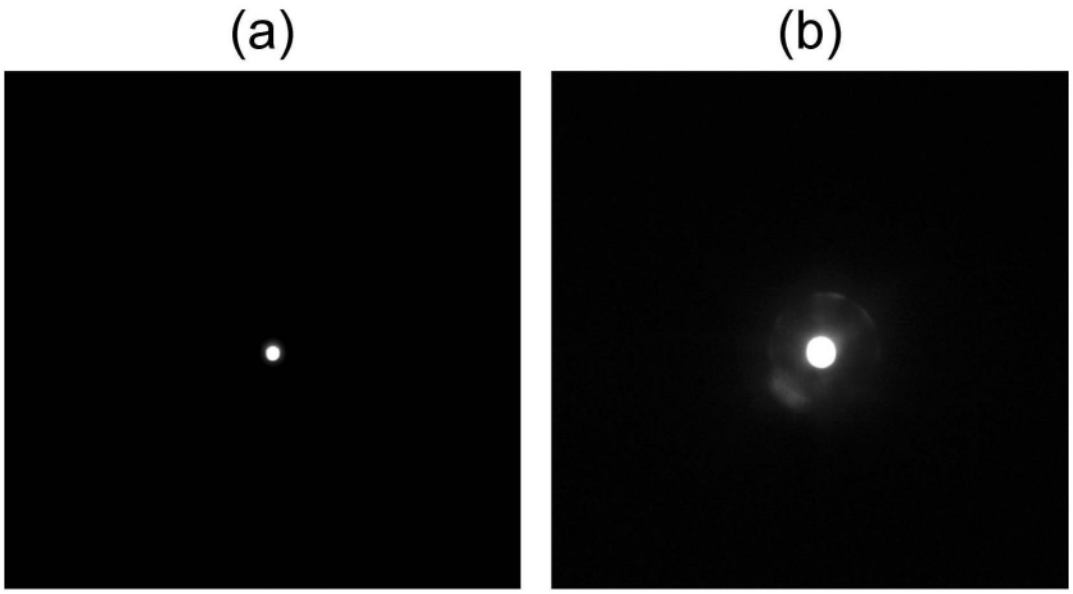


图2

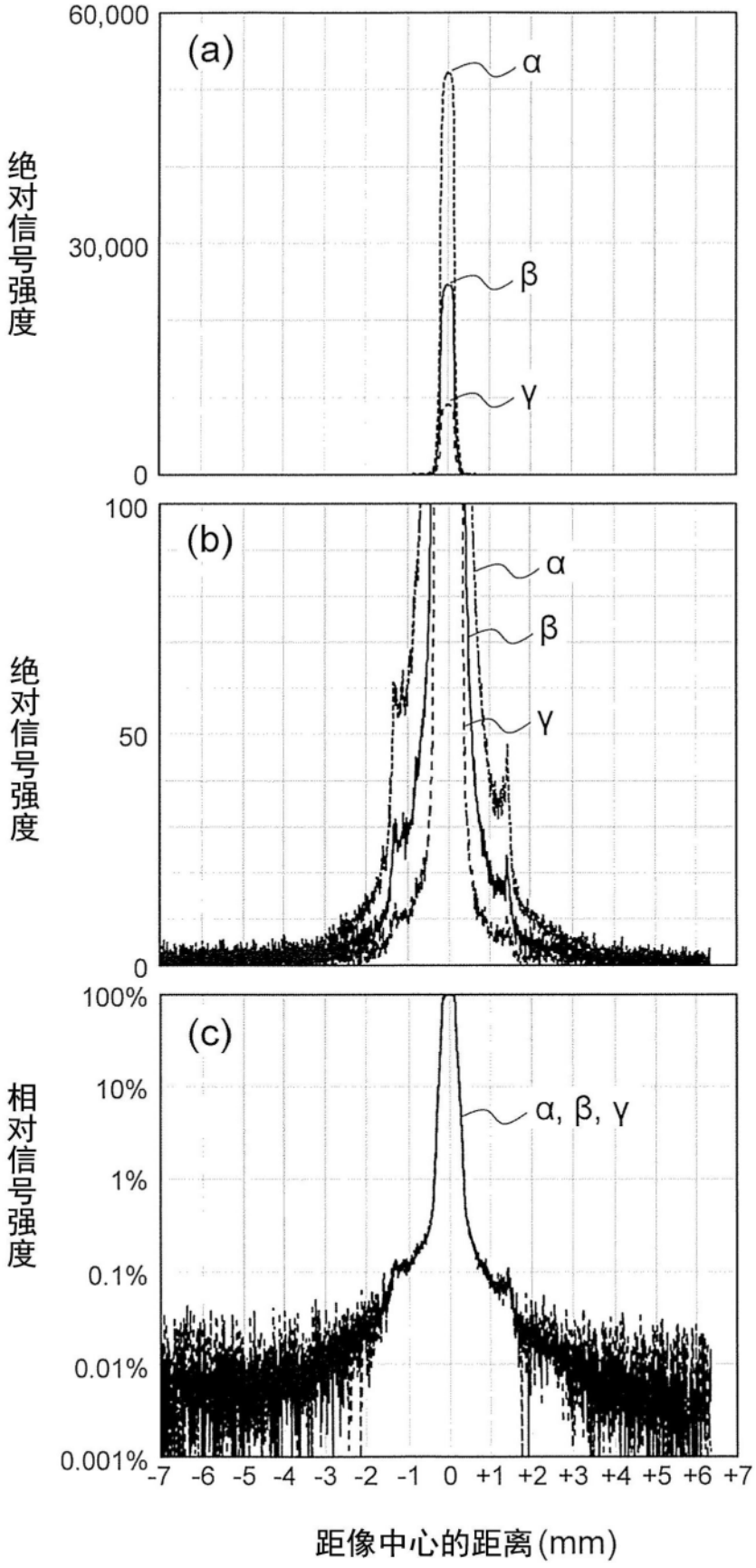

60,000
30,000
0
(a)
α
β
γ
绝对信号强度
100
50
0
(b)
α
β
γ
绝对信号强度
100%
10%
1%
0.1%
0.01%
0.001%
(c)
α, β, γ
相对信号强度
-7 -6 -5 -4 -3 -2 -1 0 +1 +2 +3 +4 +5 +6 +7
距像中心的距离(mm)

图3

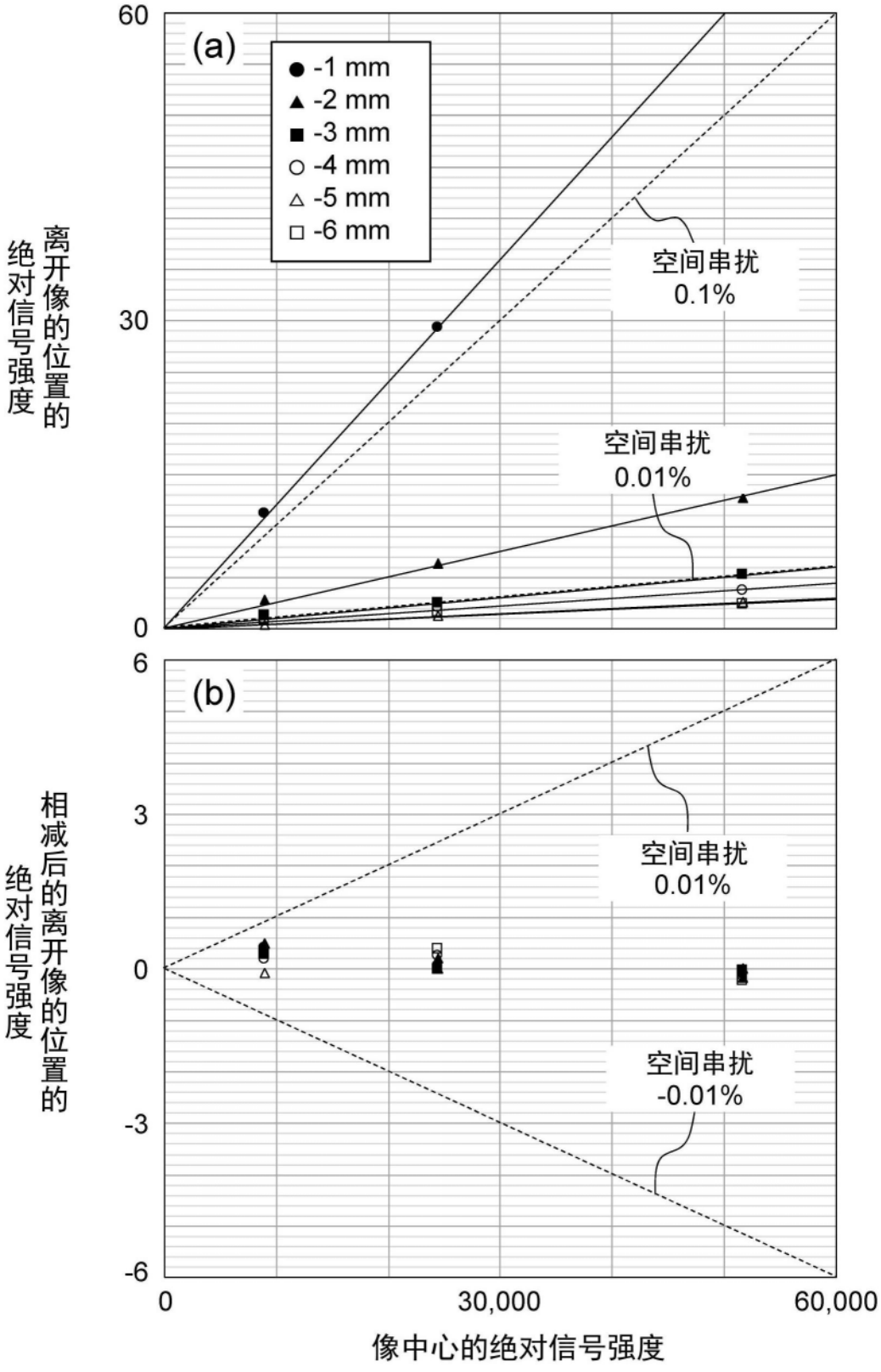

(a)
-1 mm
-2 mm
-3 mm
-4 mm
-5 mm
-6 mm
空间串扰
0.1%
空间串扰
0.01%
离开像的位置的
绝对信号强度
60
30
0
(b)
空间串扰
0.01%
空间串扰
-0.01%
相减后的离开像的位置的
绝对信号强度
6
3
0
-3
-6
0
30,000
60,000
像中心的绝对信号强度

图4

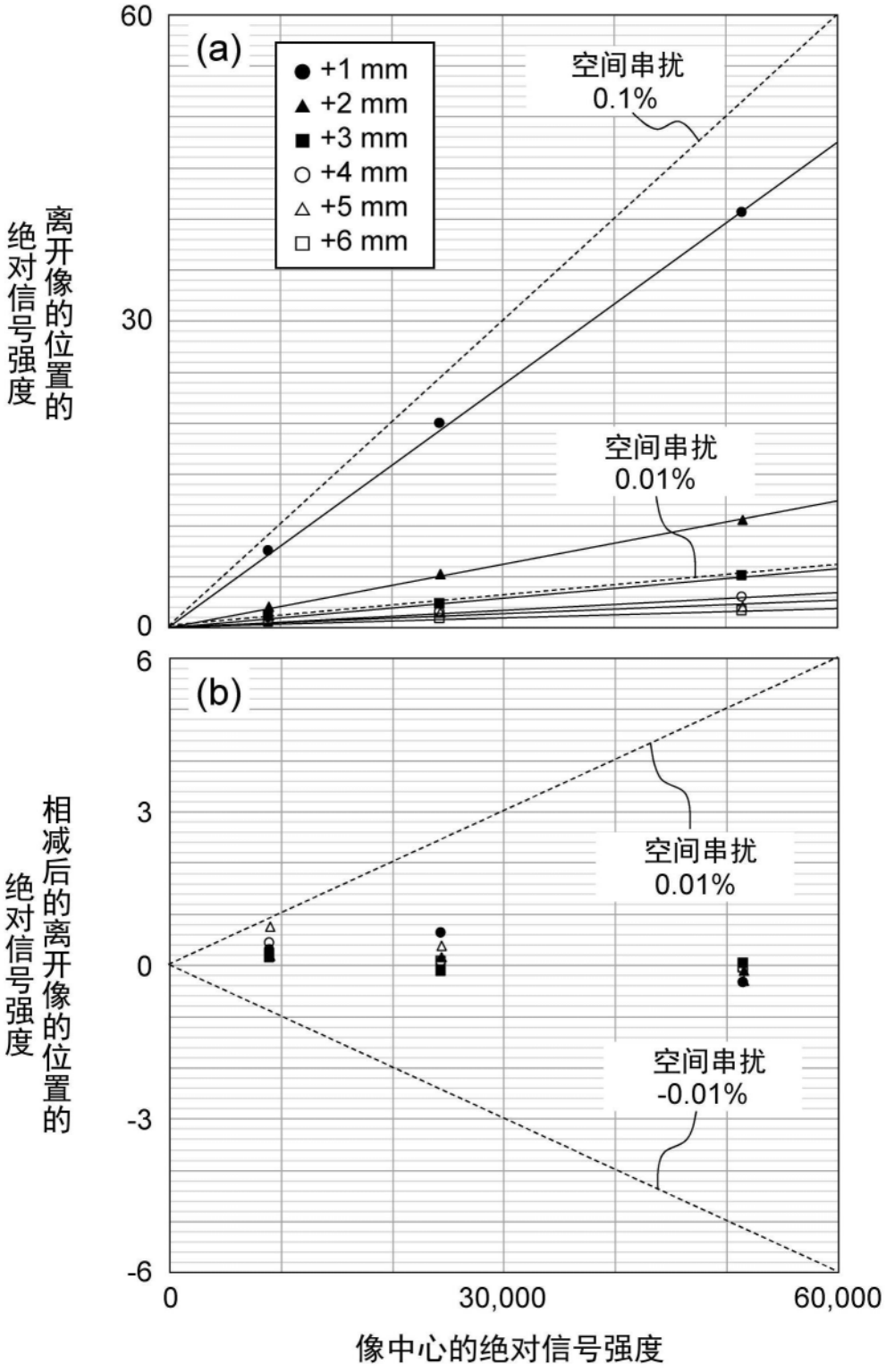

(a)
+1 mm
+2 mm
+3 mm
+4 mm
+5 mm
+6 mm
空间串扰
0.1%
空间串扰
0.01%
离开像的位置的
绝对信号强度
60
30
0
(b)
空间串扰
0.01%
空间串扰
-0.01%
相减后的离开像的位置的
绝对信号强度
6
3
0
-3
-6
0
30,000
60,000
像中心的绝对信号强度

图5

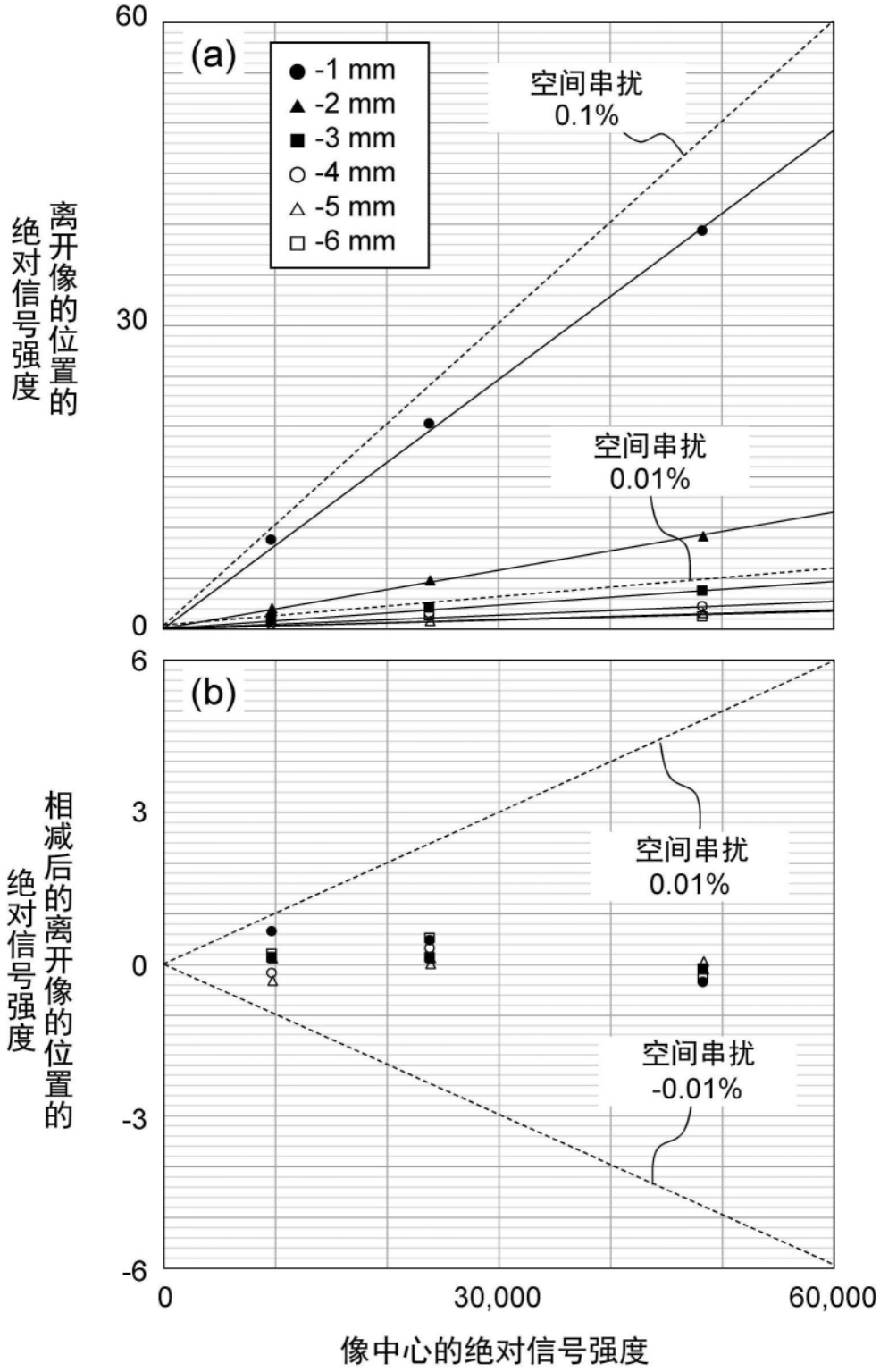

(a)
-1 mm
-2 mm
-3 mm
-4 mm
-5 mm
-6 mm
空间串扰
0.1%
空间串扰
0.01%
离开像的位置的
绝对信号强度
60
30
0
(b)
空间串扰
0.01%
空间串扰
-0.01%
相减后的离开像的位置的
绝对信号强度
6
3
0
-3
-6
0
30,000
60,000
像中心的绝对信号强度

图6

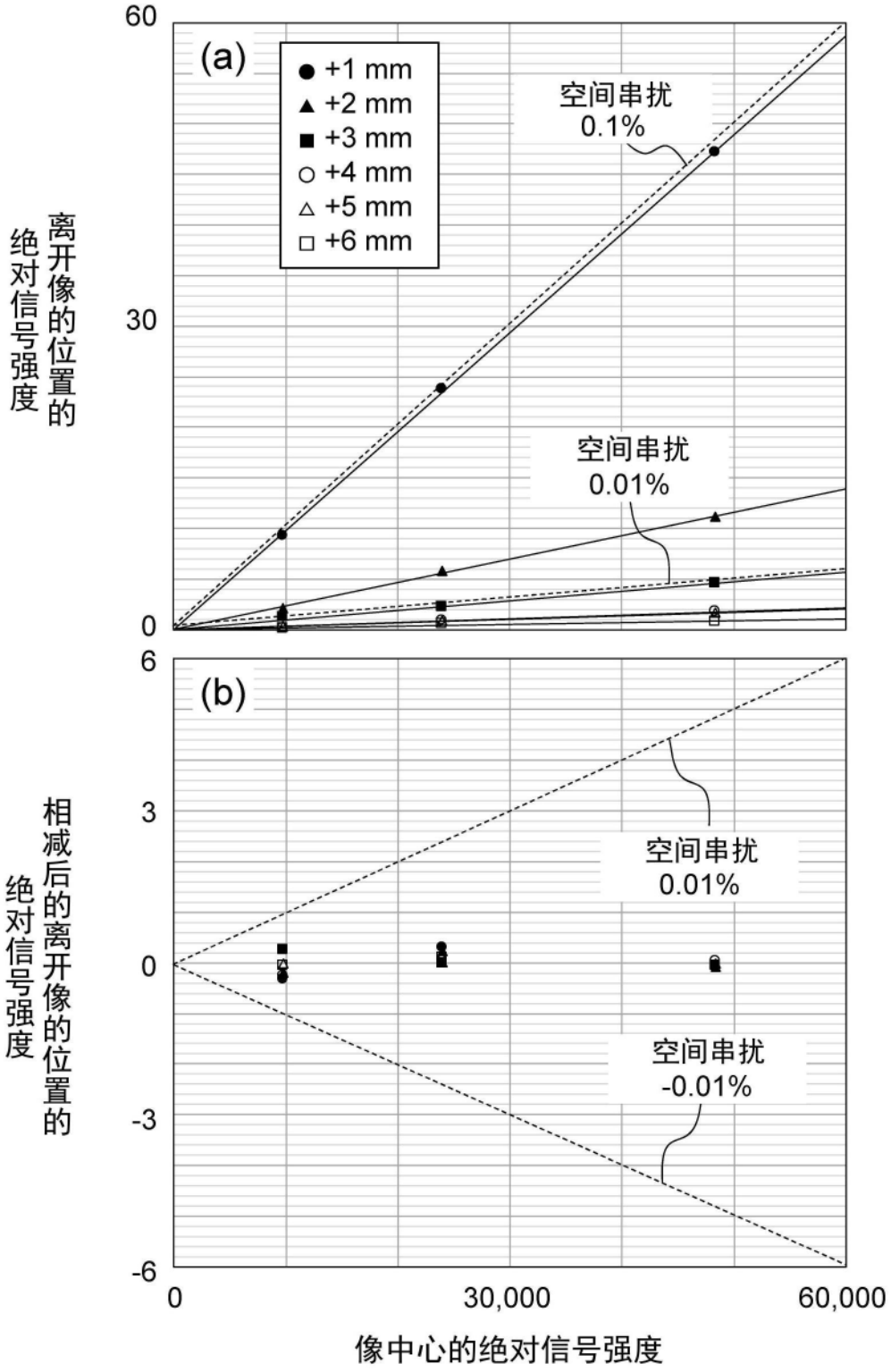

(a)
● +1 mm
▲ +2 mm
■ +3 mm
○ +4 mm
△ +5 mm
□ +6 mm
空间串扰
0.1%
空间串扰
0.01%
离开像的位置的
绝对信号强度
60
30
0
(b)
空间串扰
0.01%
空间串扰
-0.01%
相减后的离开像的位置的
绝对信号强度
6
3
0
-3
-6
0
30,000
60,000
像中心的绝对信号强度

图7

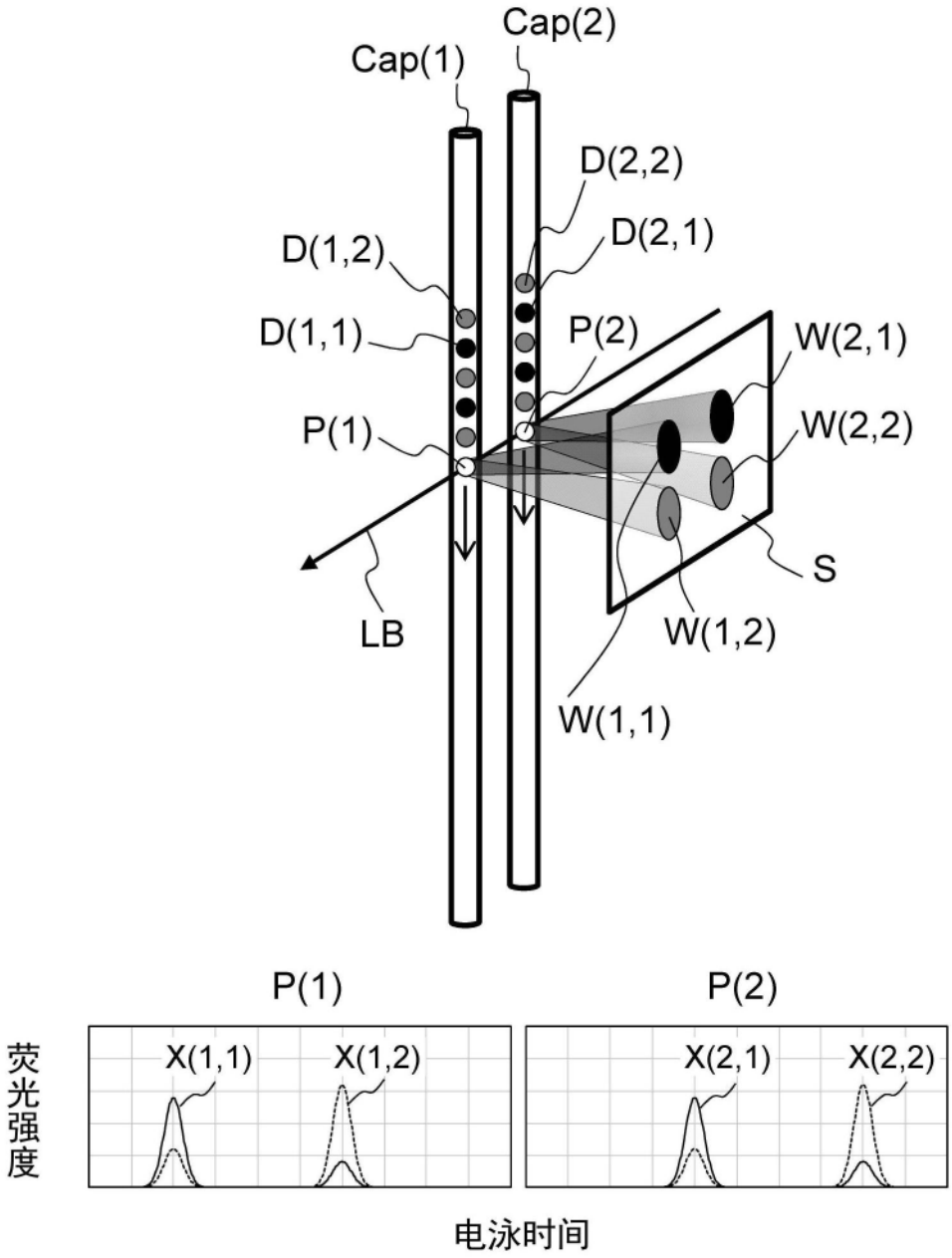

Cap(2)
Cap(1)
D(2,2)
D(2,1)
D(1,2)
D(1,1)
P(2)
W(2,1)
P(1)
W(2,2)
S
LB
W(1,2)
W(1,1)
P(1)
P(2)
X(1,1)
X(1,2)
X(2,1)
X(2,2)
荧光强度
电泳时间

图8

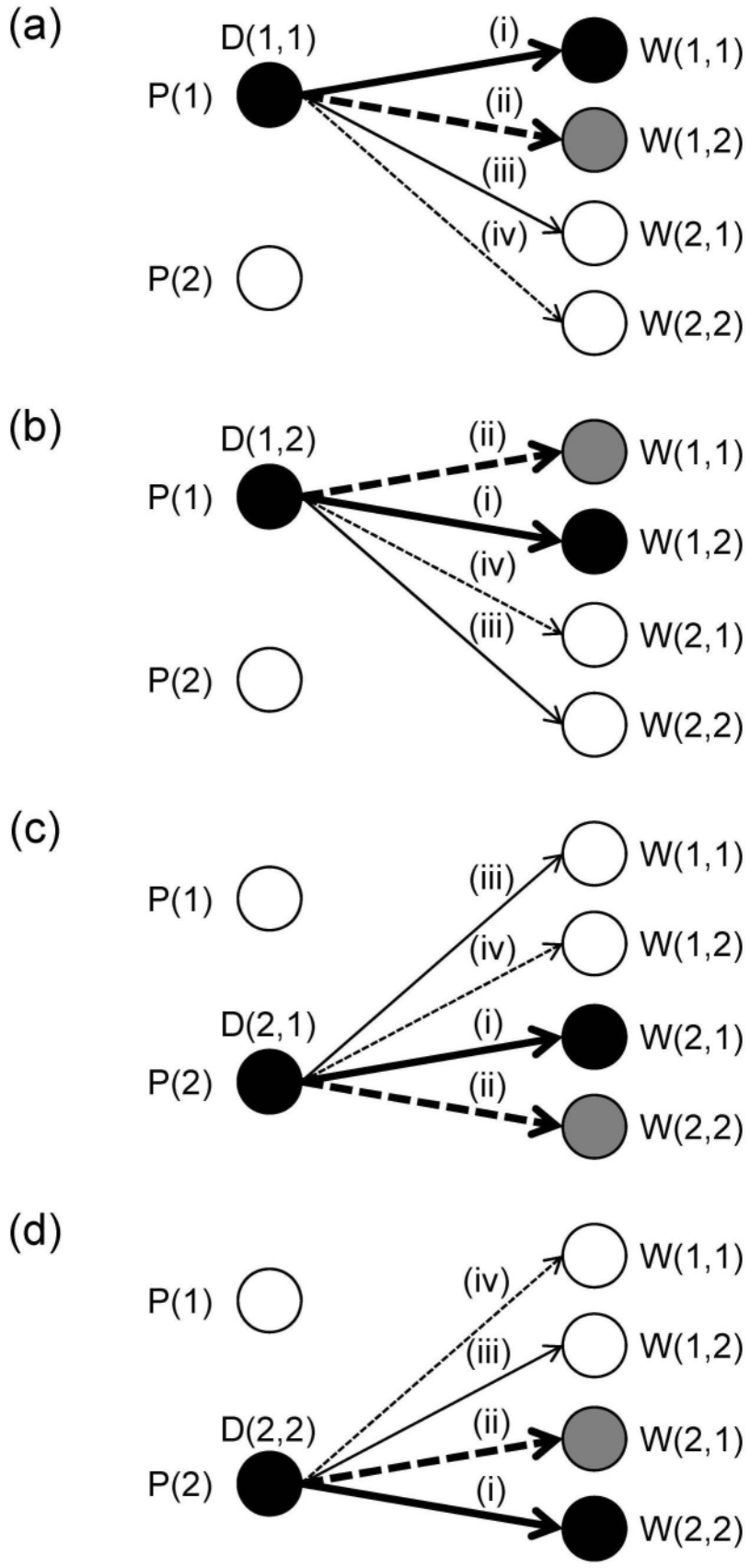

(a)
D(1,1)
P(1)
P(2)
(i)
(ii)
(iii)
(iv)
W(1,1)
W(1,2)
W(2,1)
W(2,2)
(b)
D(1,2)
P(1)
P(2)
(ii)
(i)
(iv)
(iii)
W(1,1)
W(1,2)
W(2,1)
W(2,2)
(c)
P(1)
D(2,1)
P(2)
(iii)
(iv)
(i)
(ii)
W(1,1)
W(1,2)
W(2,1)
W(2,2)
(d)
P(1)
D(2,2)
P(2)
(iv)
(iii)
(ii)
(i)
W(1,1)
W(1,2)
W(2,1)
W(2,2)

图9

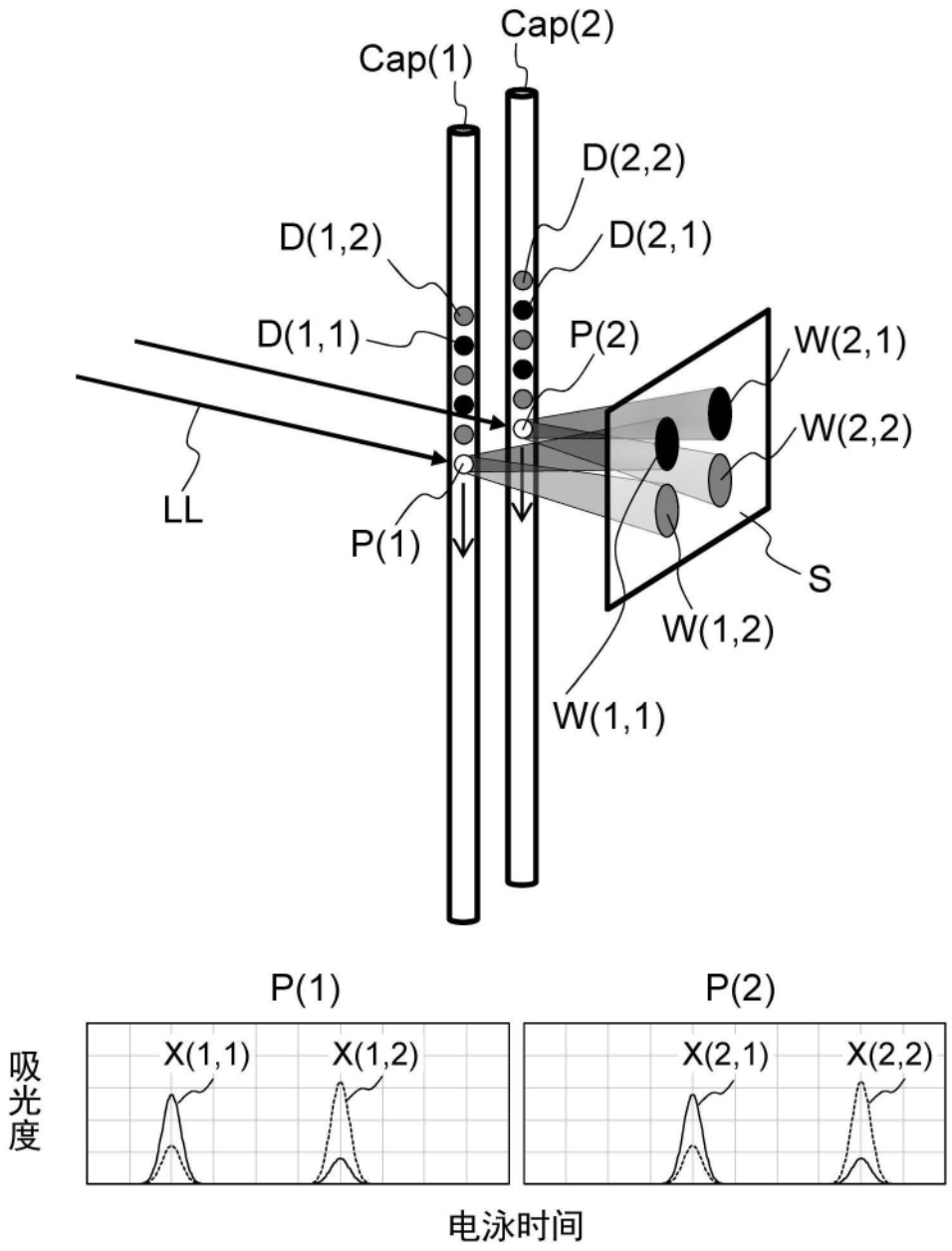

Cap(1)
Cap(2)
D(2,2)
D(1,2)
D(2,1)
D(1,1)
P(2)
W(2,1)
W(2,2)
LL
P(1)
S
W(1,2)
W(1,1)
P(1)
P(2)
吸光度
X(1,1)
X(1,2)
X(2,1)
X(2,2)
电泳时间

图10

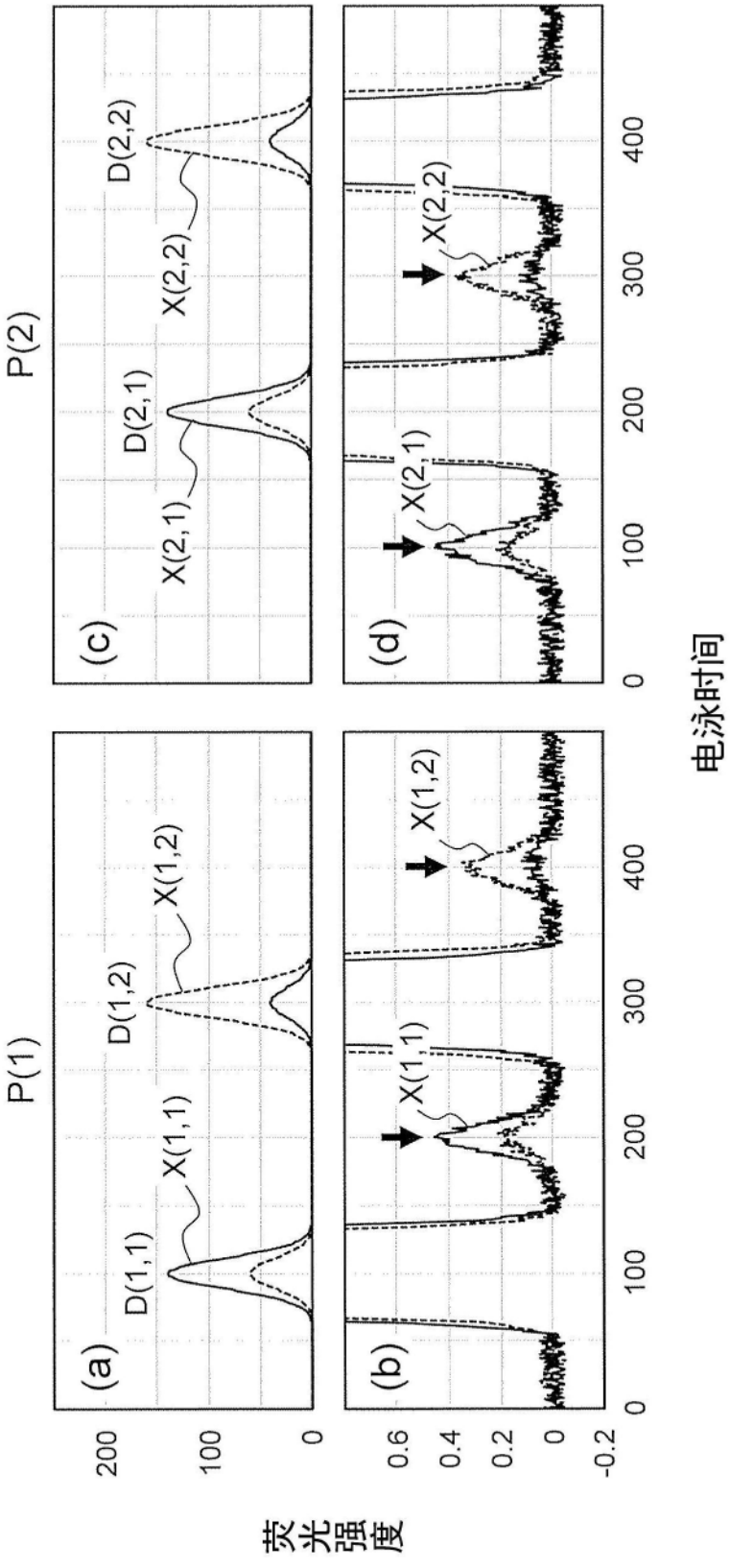

P(1)
P(2)
(a)
(b)
(c)
(d)
D(1,1)
X(1,1)
D(1,2)
X(1,2)
D(2,1)
X(2,1)
D(2,2)
X(2,2)
200
100
0
0.6
0.4
0.2
0
-0.2
0
100
200
300
400
荧光强度
电泳时间

图11

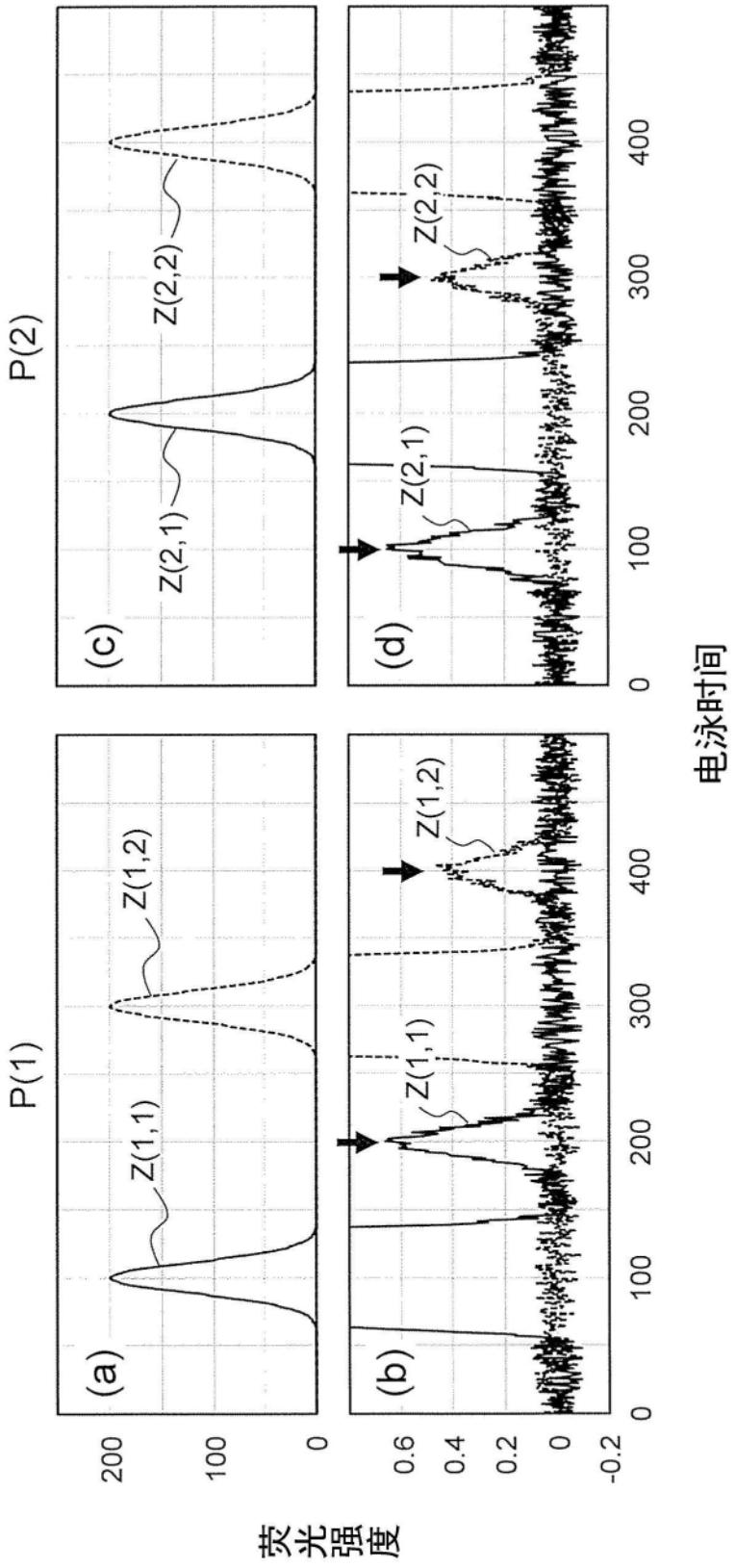

P(1)
P(2)
(a)
(b)
(c)
(d)
Z(1,1)
Z(1,2)
Z(2,1)
Z(2,2)
200
100
0
0.6
0.4
0.2
0
-0.2
0
100
200
300
400
荧光强度
电泳时间

图12

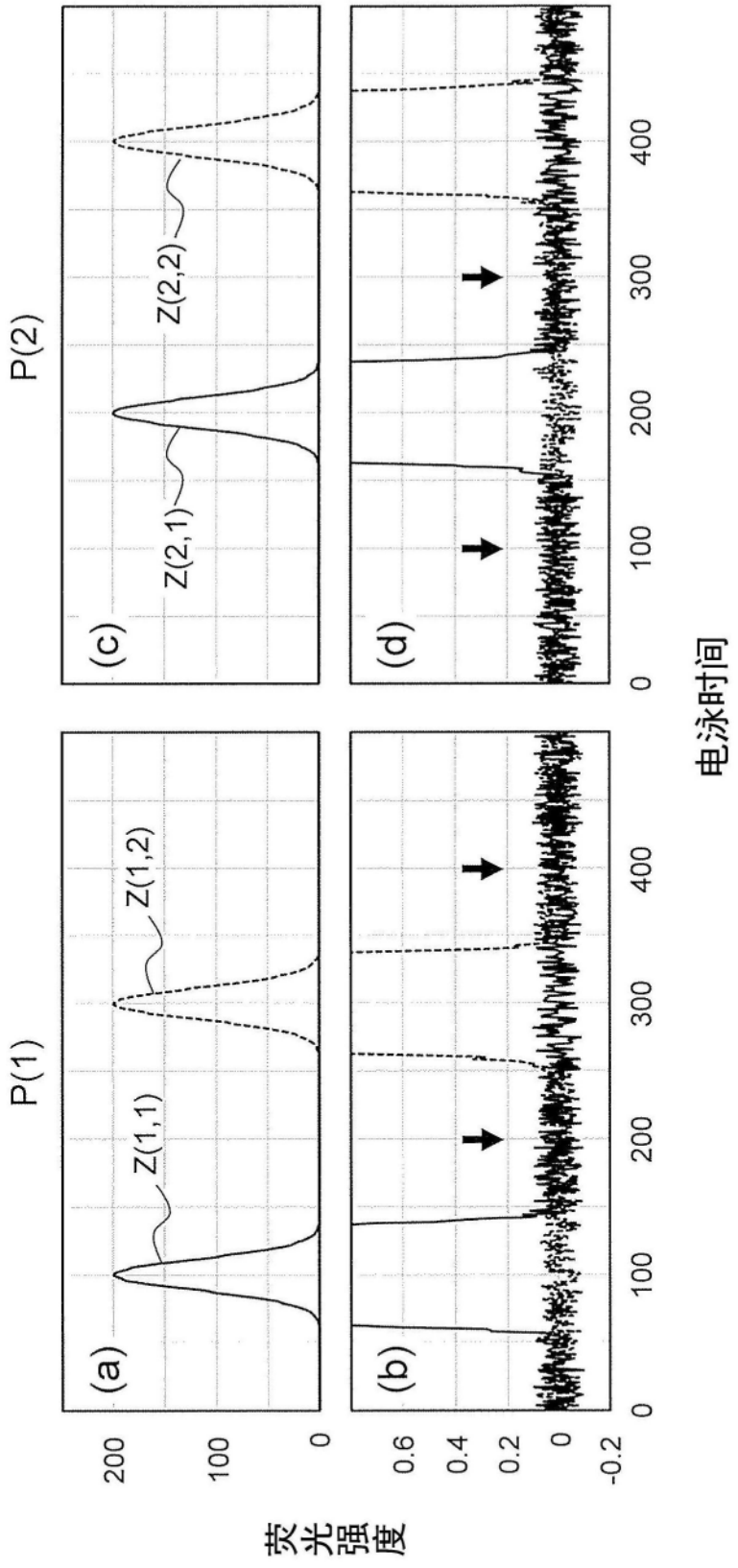

P(1)
P(2)
(a)
(b)
(c)
(d)
Z(1,1)
Z(1,2)
Z(2,1)
Z(2,2)
200
100
0
0.6
0.4
0.2
0
-0.2
0
100
200
300
400
荧光强度
电泳时间

图13

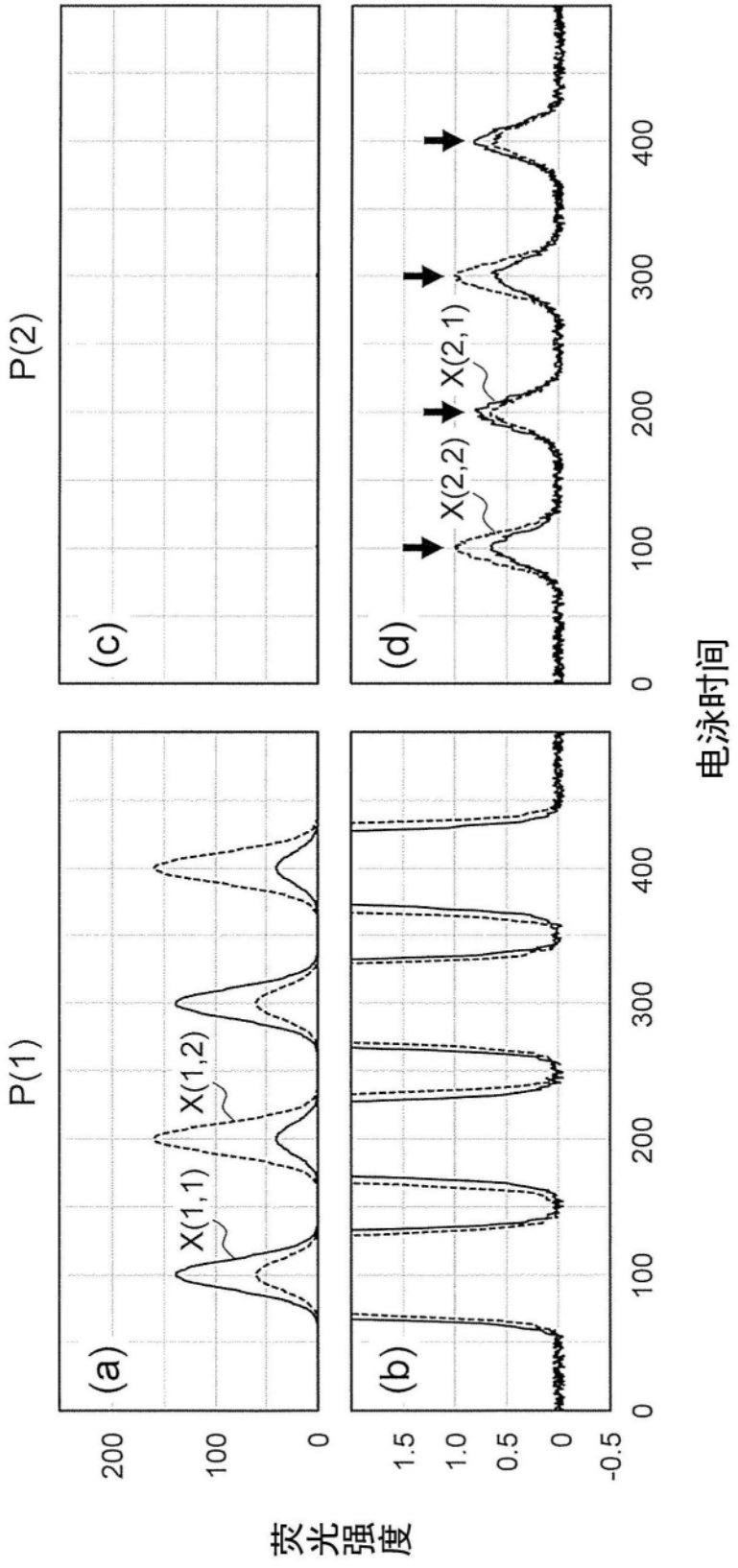

P(1)
P(2)
(a)
(b)
(c)
(d)
X(1,1)
X(1,2)
X(2,1)
X(2,2)
荧光强度
电泳时间
200
100
0
1.5
1.0
0.5
0
-0.5
0
100
200
300
400

图14

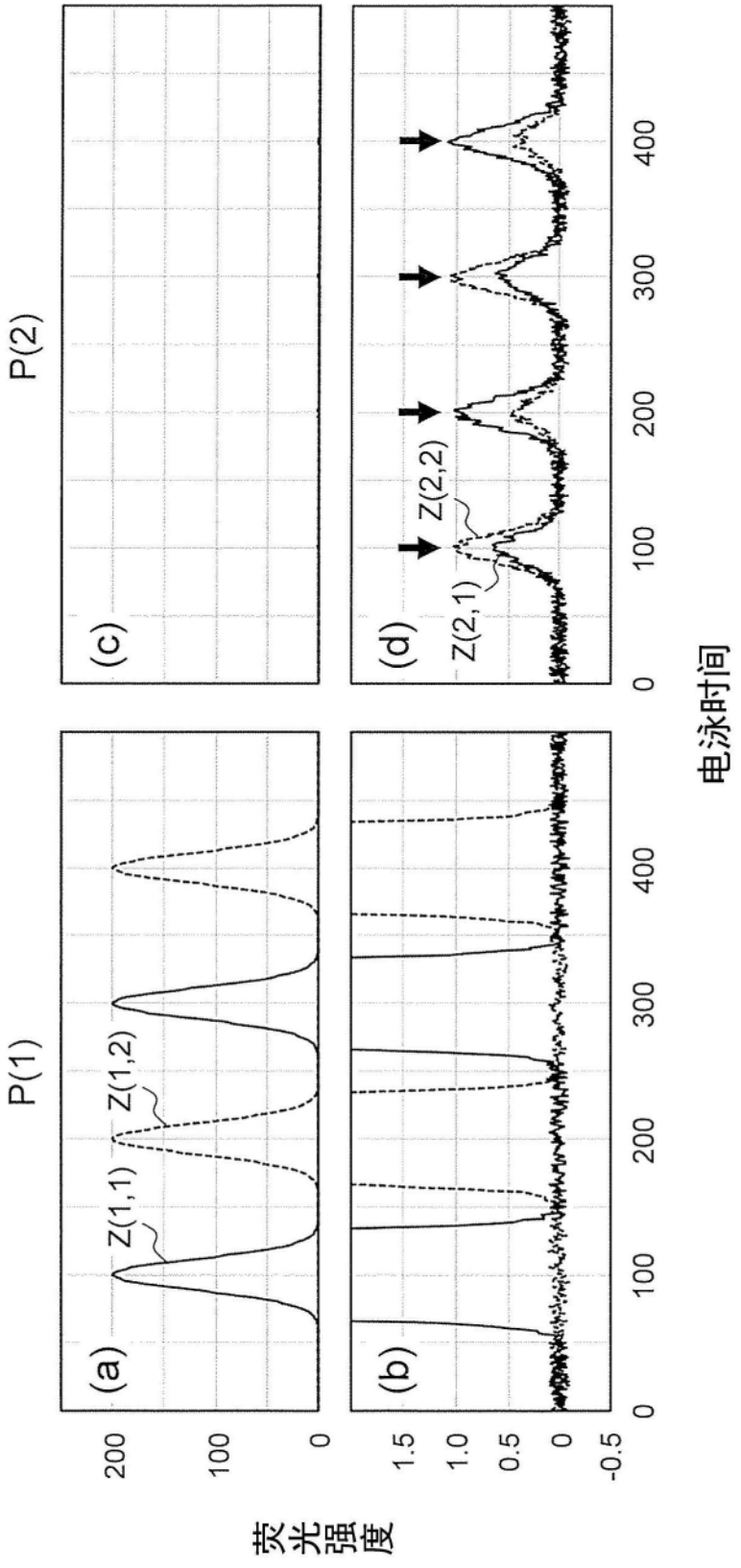

P(1)
P(2)
(a)
(b)
(c)
(d)
Z(1,1)
Z(1,2)
Z(2,1)
Z(2,2)
200
100
0
1.5
1.0
0.5
0
-0.5
0
100
200
300
400
荧光强度
电泳时间

图15

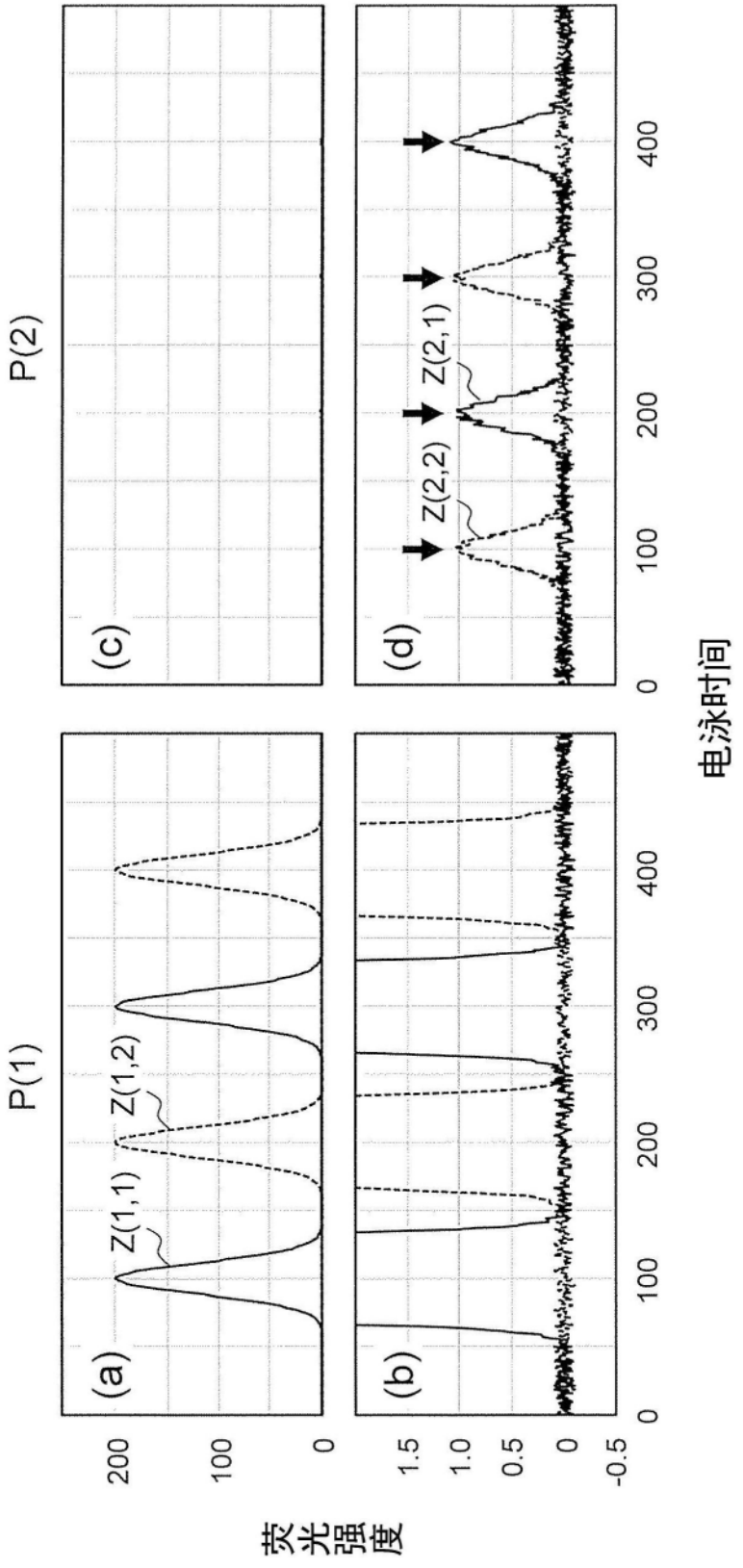

P(1)
P(2)
(a)
(b)
(c)
(d)
Z(1,1)
Z(1,2)
Z(2,2)
Z(2,1)
200
100
0
1.5
1.0
0.5
0
-0.5
0
100
200
300
400
荧光强度
电泳时间

图16

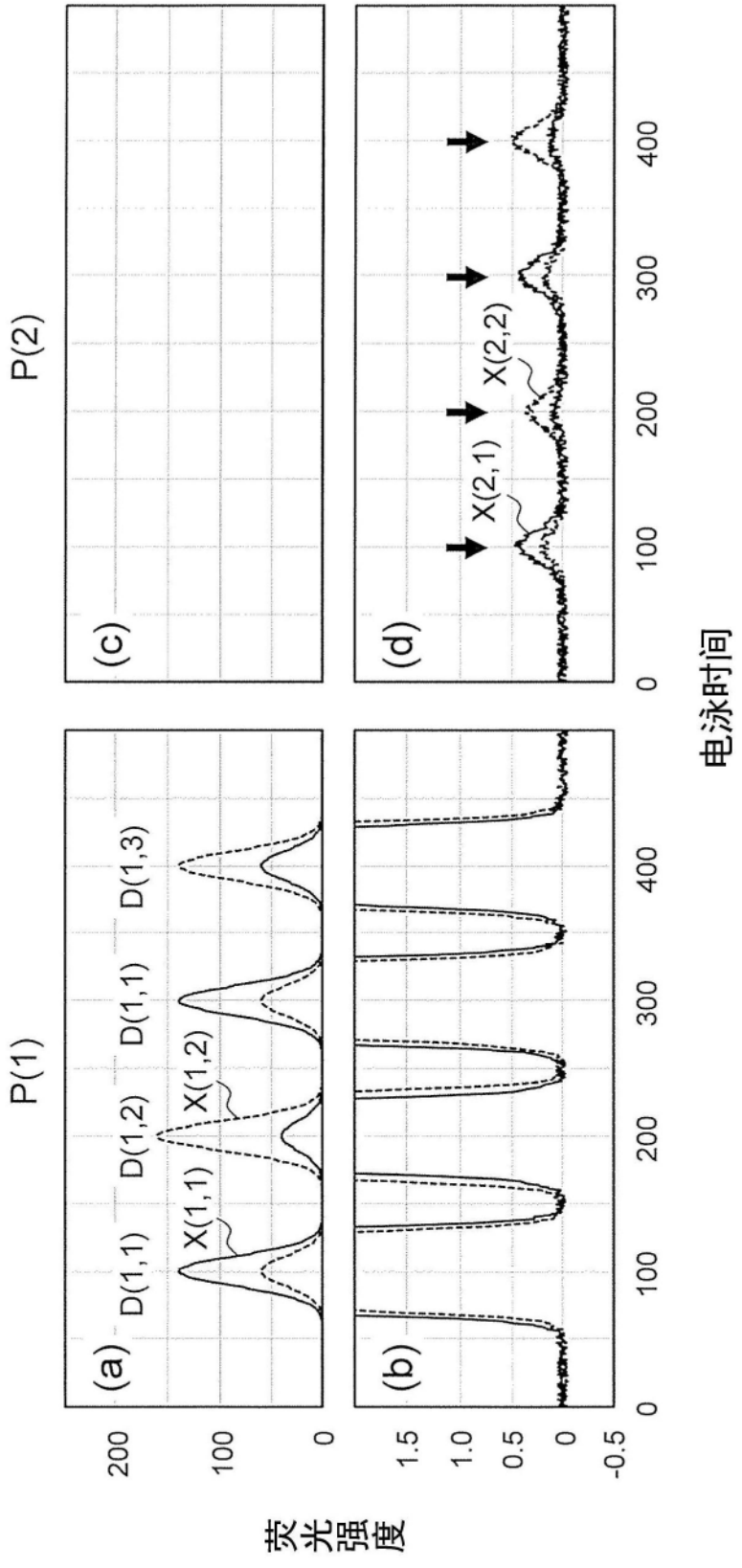

P(1)
P(2)
(a)
(b)
(c)
(d)
D(1,1)
X(1,1)
D(1,2)
X(1,2)
D(1,1)
D(1,3)
X(2,1)
X(2,2)
200
100
0
1.5
1.0
0.5
0
-0.5
0
100
200
300
400
荧光强度
电泳时间

图17

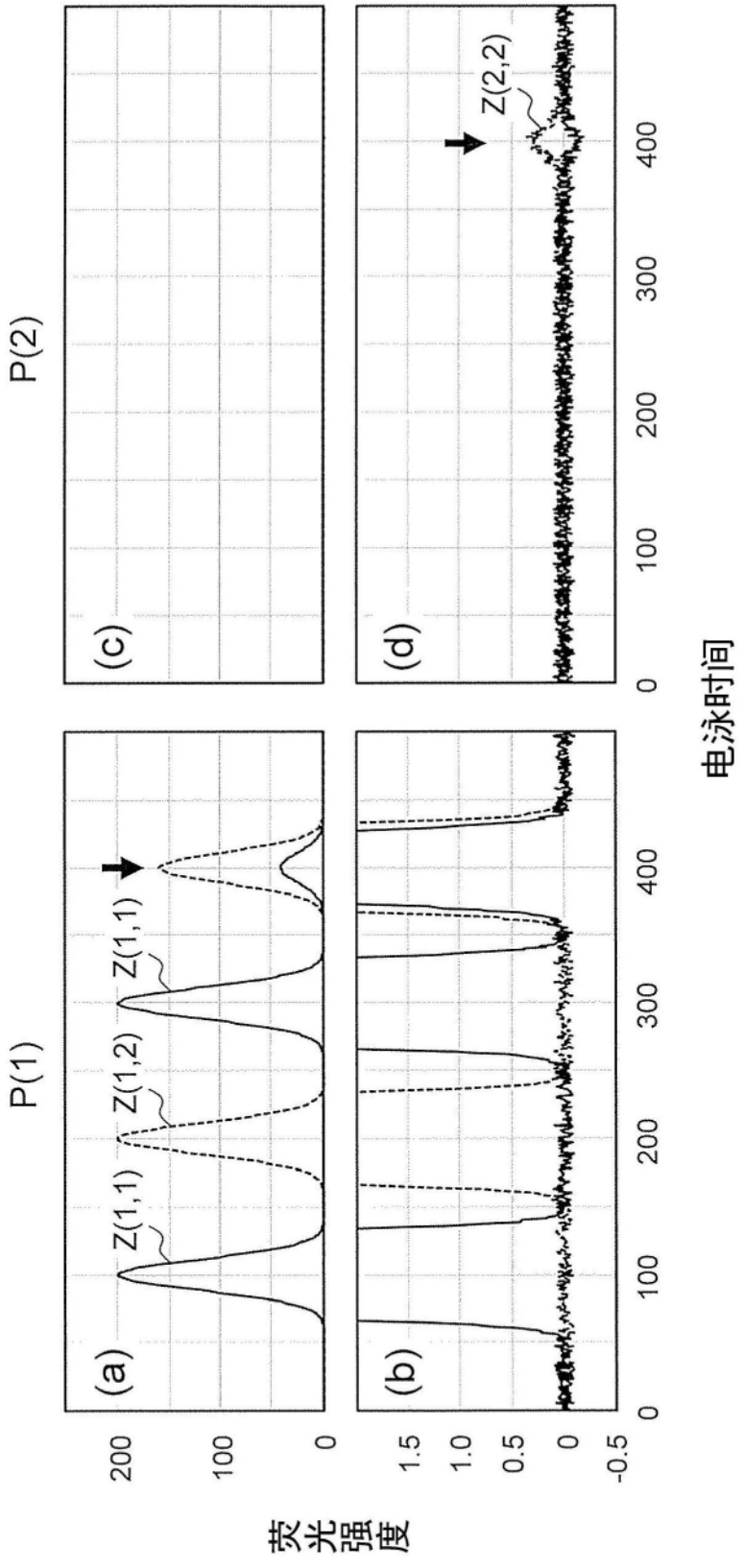

P(1)
P(2)
(a)
(b)
(c)
(d)
Z(1,1)
Z(1,2)
Z(1,1)
Z(2,2)
200
100
0
1.5
1.0
0.5
0
-0.5
0
100
200
300
400
荧光强度
电泳时间

图18

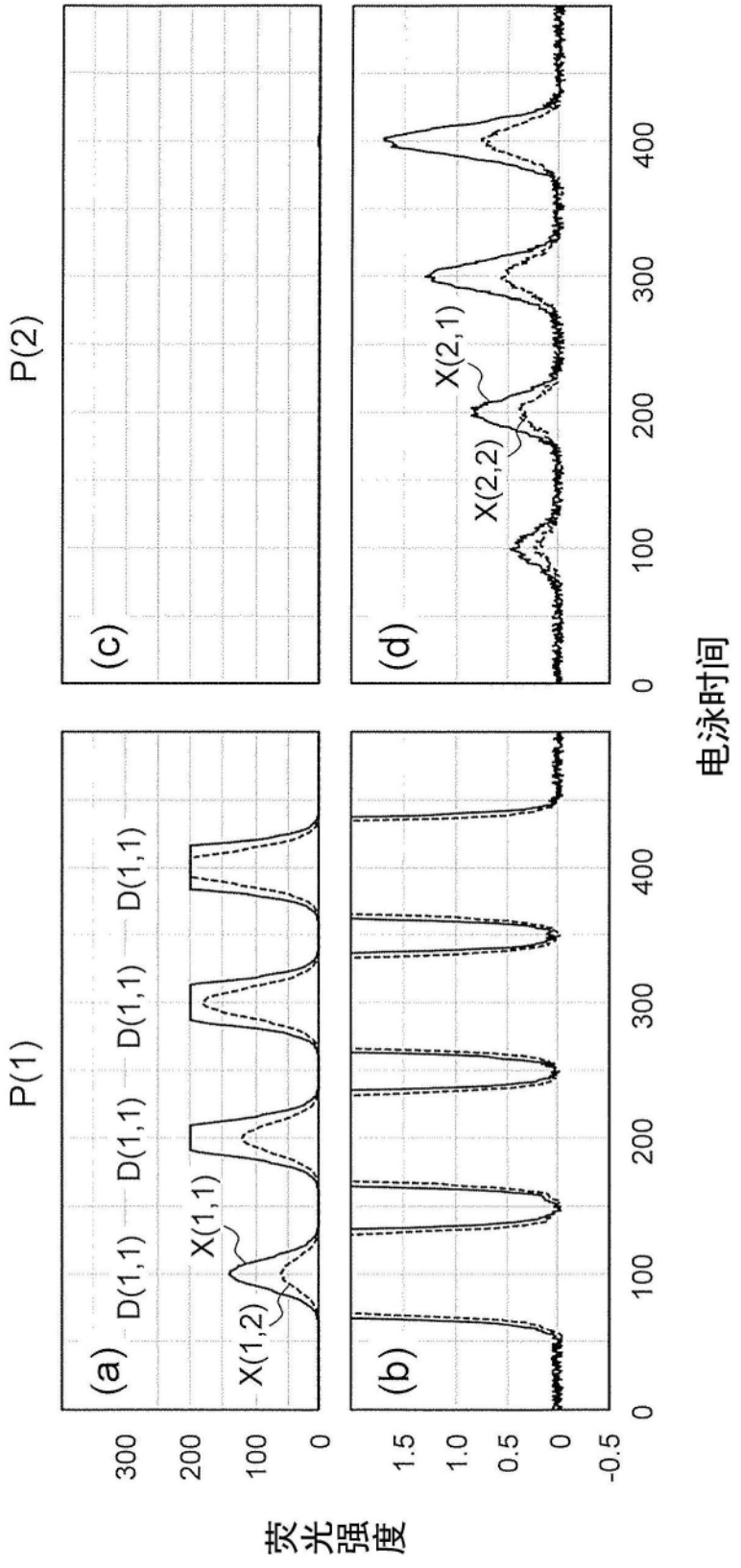

P(1)
P(2)
(a)
(b)
(c)
(d)
D(1,1)
D(1,1)
D(1,1)
D(1,1)
X(1,1)
X(1,2)
X(2,1)
X(2,2)
300
200
100
0
1.5
1.0
0.5
0
-0.5
0
100
200
300
400
荧光强度
电泳时间

图19

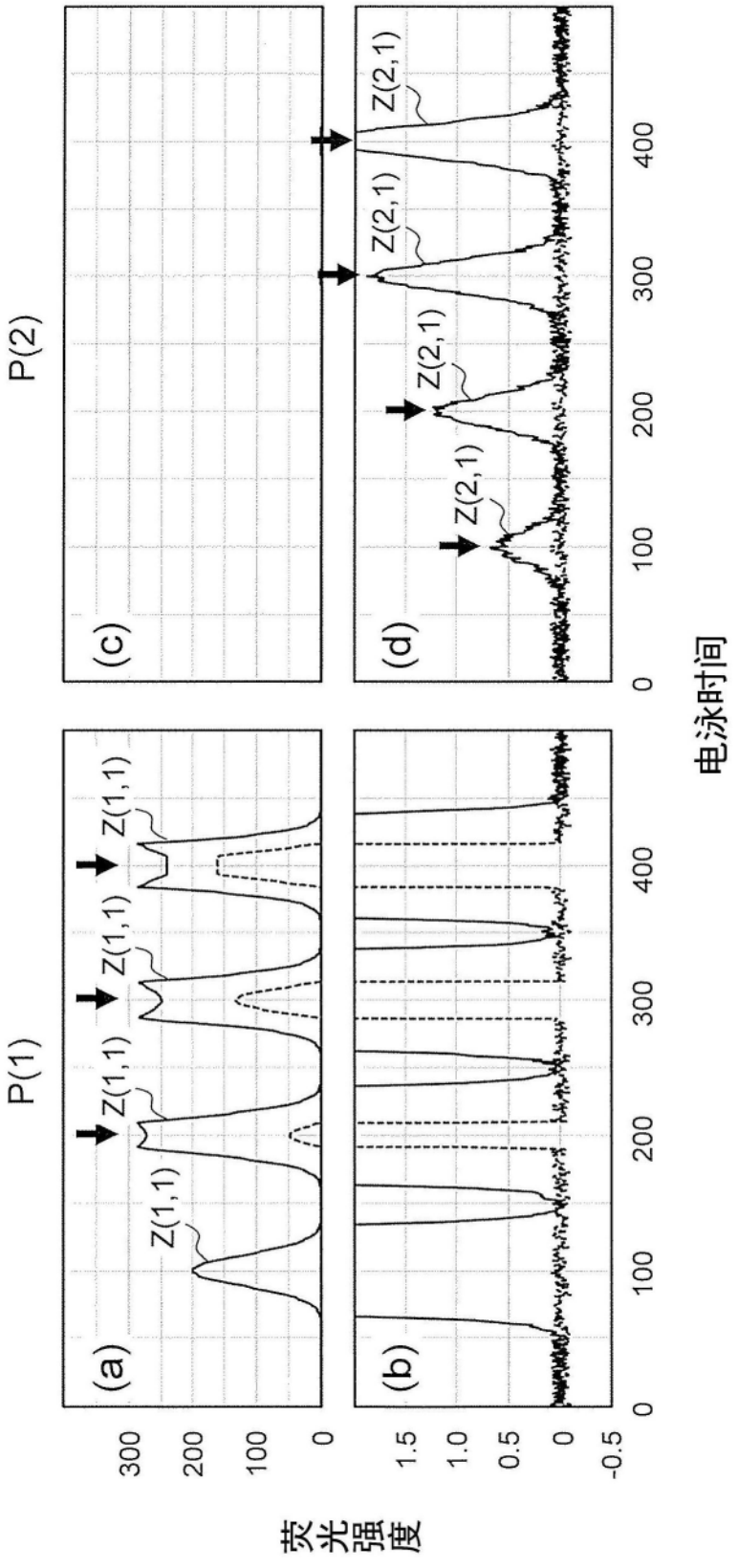


图20

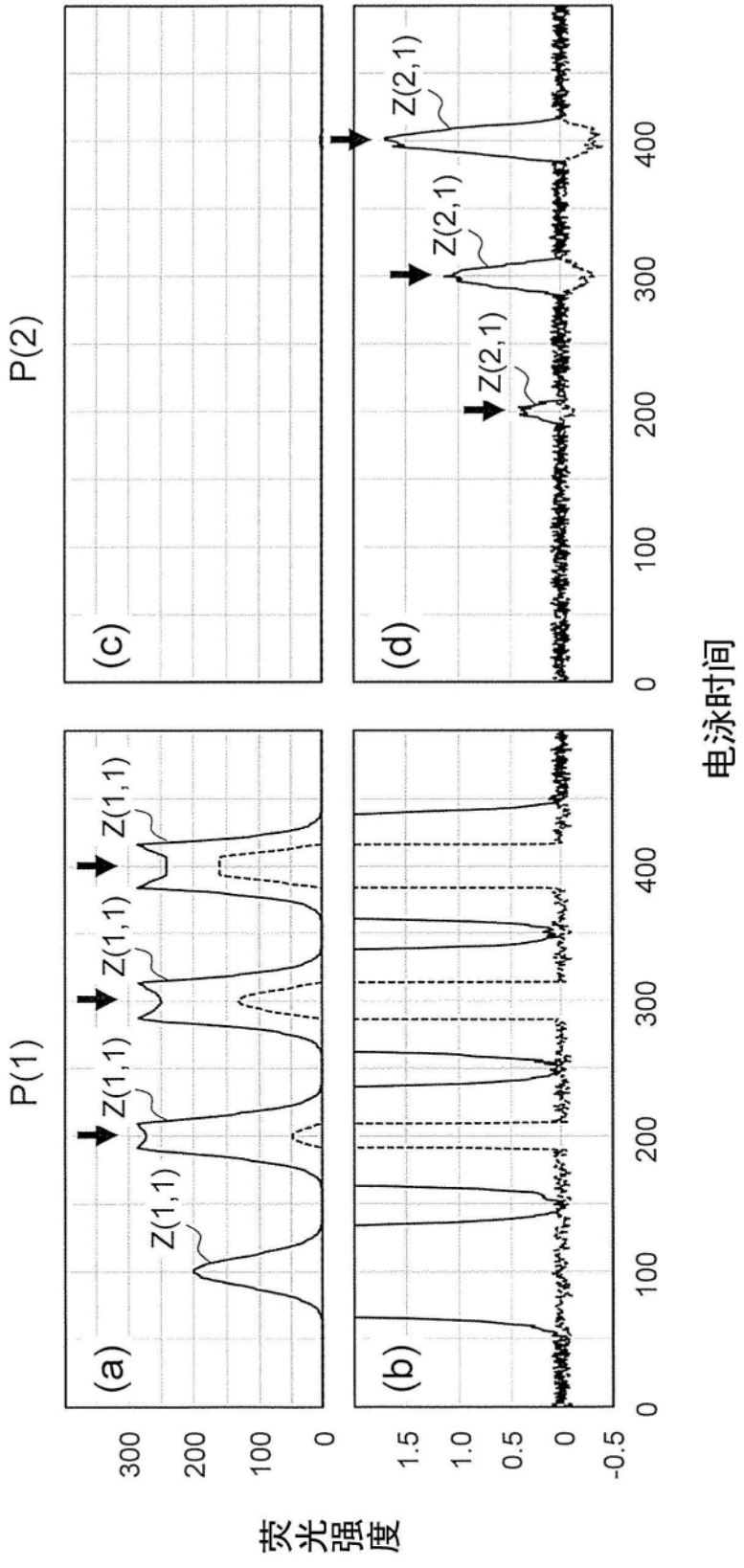

P(1)
P(2)
(a)
(b)
(c)
(d)
Z(1,1)
Z(2,1)
荧光强度
电泳时间
300
200
100
0
1.5
1.0
0.5
0
-0.5
0
100
200
300
400

图21

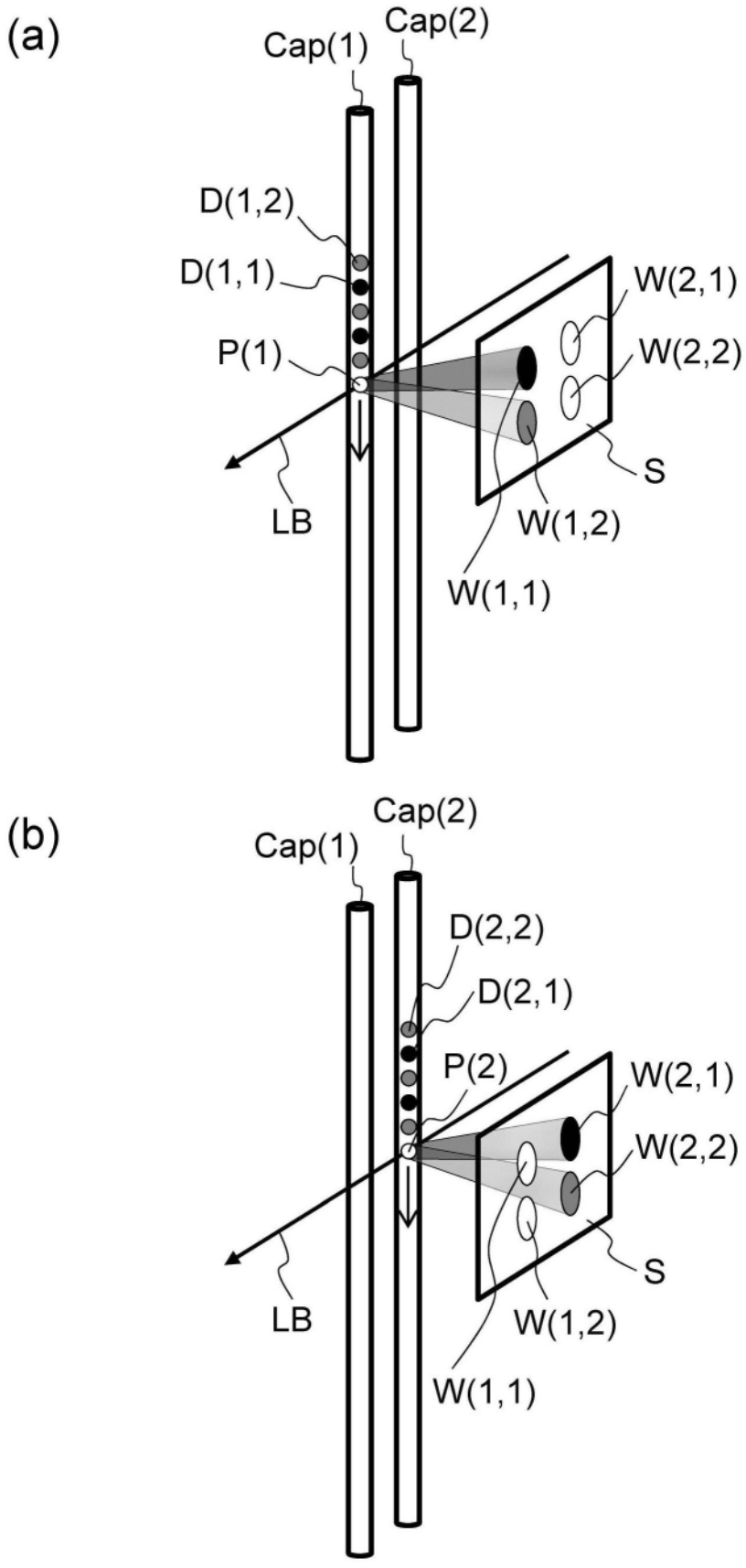

(a)
Cap(1)
Cap(2)
D(1,2)
D(1,1)
P(1)
W(2,1)
W(2,2)
S
LB
W(1,2)
W(1,1)
(b)
Cap(2)
Cap(1)
D(2,2)
D(2,1)
P(2)
W(2,1)
W(2,2)
S
LB
W(1,2)
W(1,1)

图22

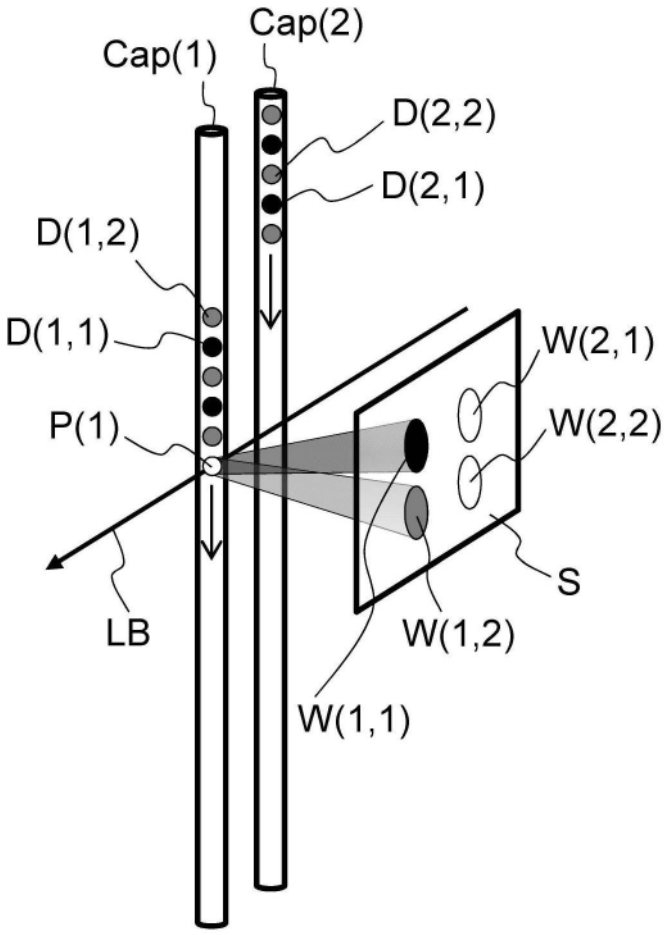


图23

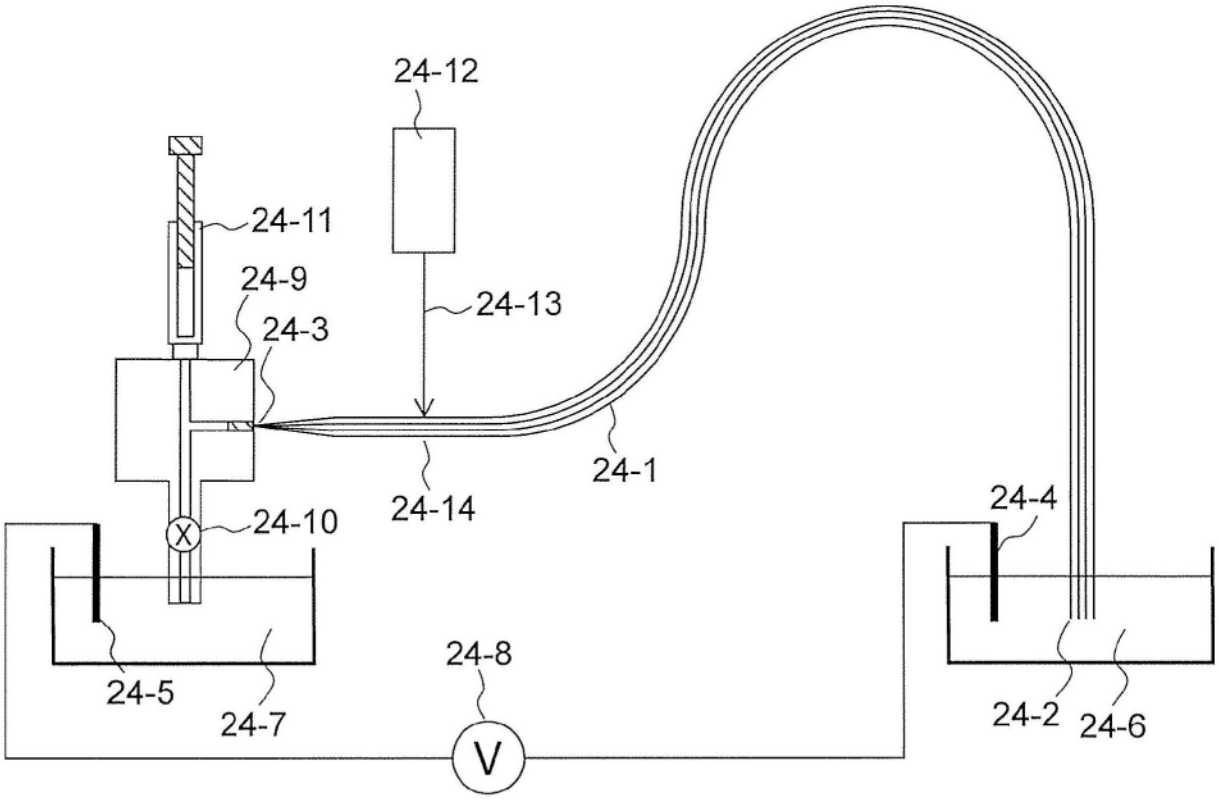


图24

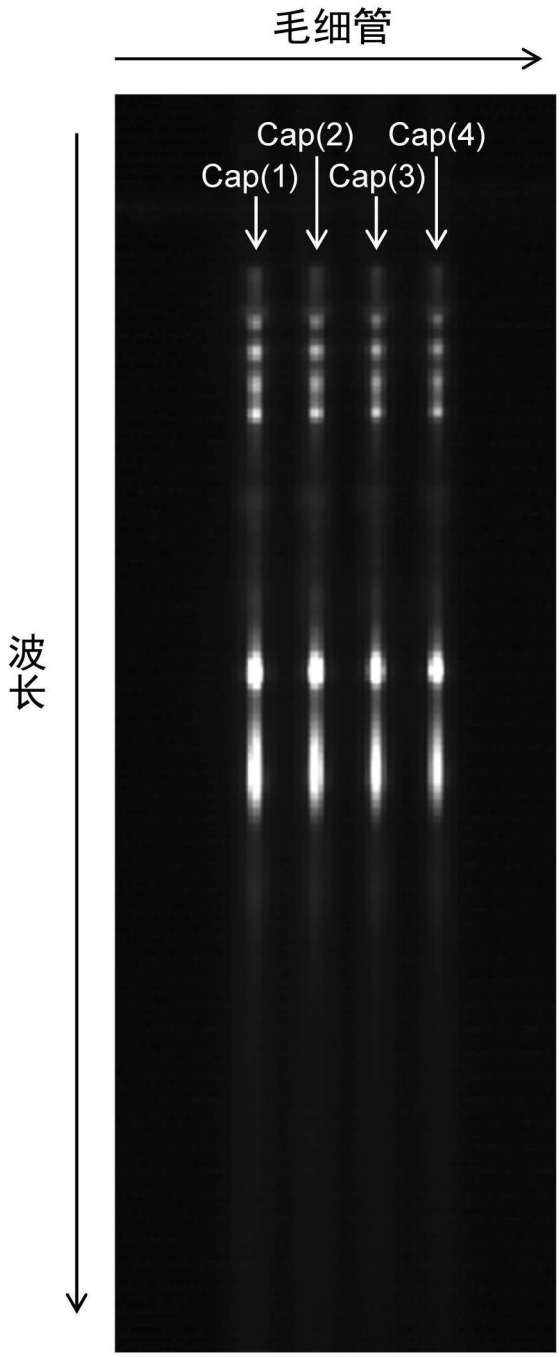


图25

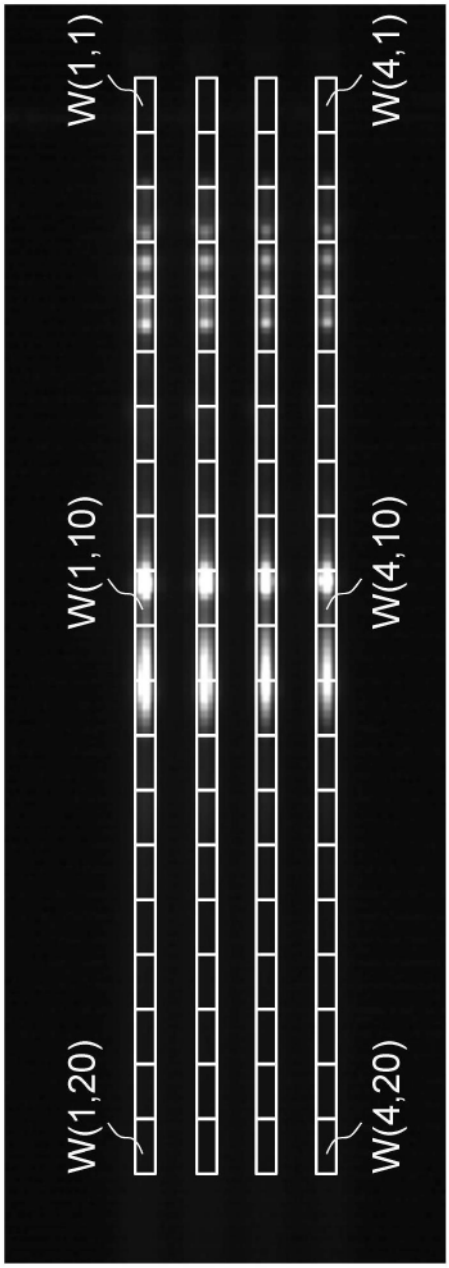


图26

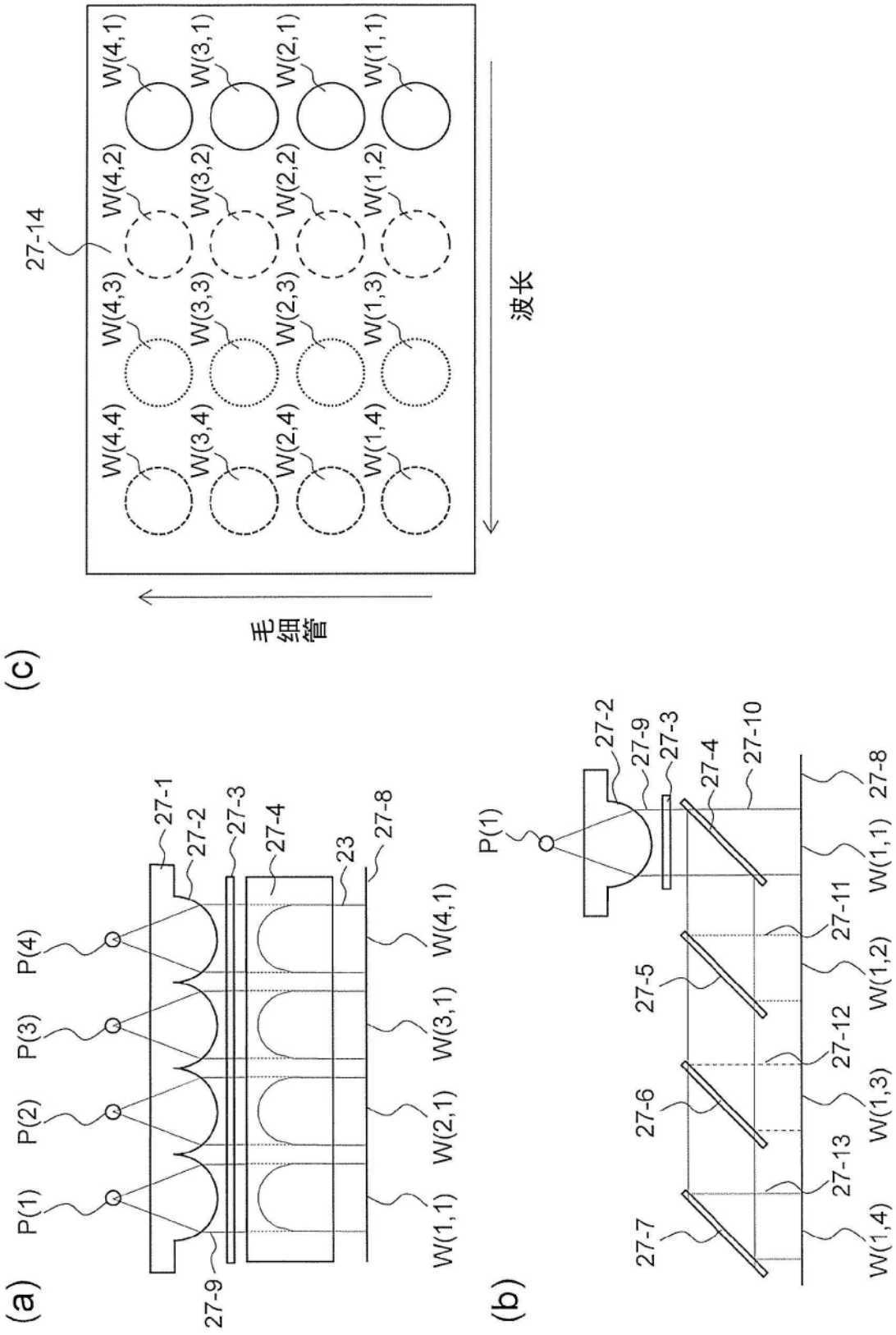

(c)
27-14
W(4,1)
W(3,1)
W(2,1)
W(1,1)
W(4,2)
W(3,2)
W(2,2)
W(1,2)
W(4,3)
W(3,3)
W(2,3)
W(1,3)
W(4,4)
W(3,4)
W(2,4)
W(1,4)
波长
毛细管
(a)
P(1)
P(2)
P(3)
P(4)
27-1
27-2
27-3
27-4
23
27-8
27-9
W(1,1)
W(2,1)
W(3,1)
W(4,1)
(b)
P(1)
27-2
27-9
27-3
27-4
27-10
27-8
27-11
27-5
27-12
27-6
27-13
27-7
W(1,1)
W(1,2)
W(1,3)
W(1,4)

图27

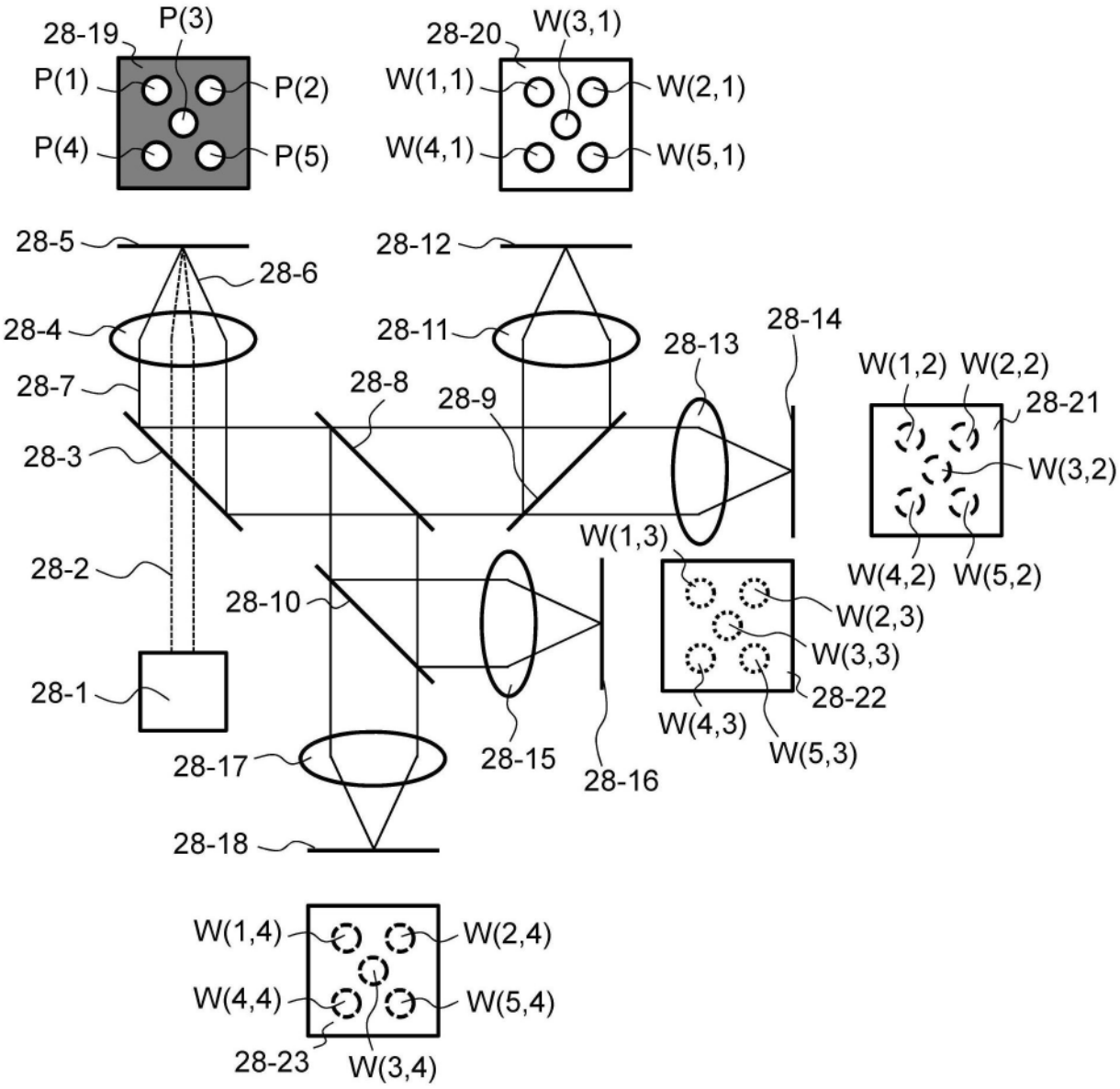

28-19
P(3)
P(1)
P(2)
P(4)
P(5)
28-20
W(3,1)
W(1,1)
W(2,1)
W(4,1)
W(5,1)
28-5
28-6
28-12
28-4
28-11
28-14
28-13
W(1,2)
W(2,2)
28-7
28-8
28-9
28-21
28-3
W(3,2)
W(1,3)
28-2
28-10
W(2,3)
W(3,3)
28-1
28-22
W(4,3)
W(5,3)
28-17
28-15
28-16
28-18
W(1,4)
W(2,4)
W(4,4)
W(5,4)
28-23
W(3,4)

图28

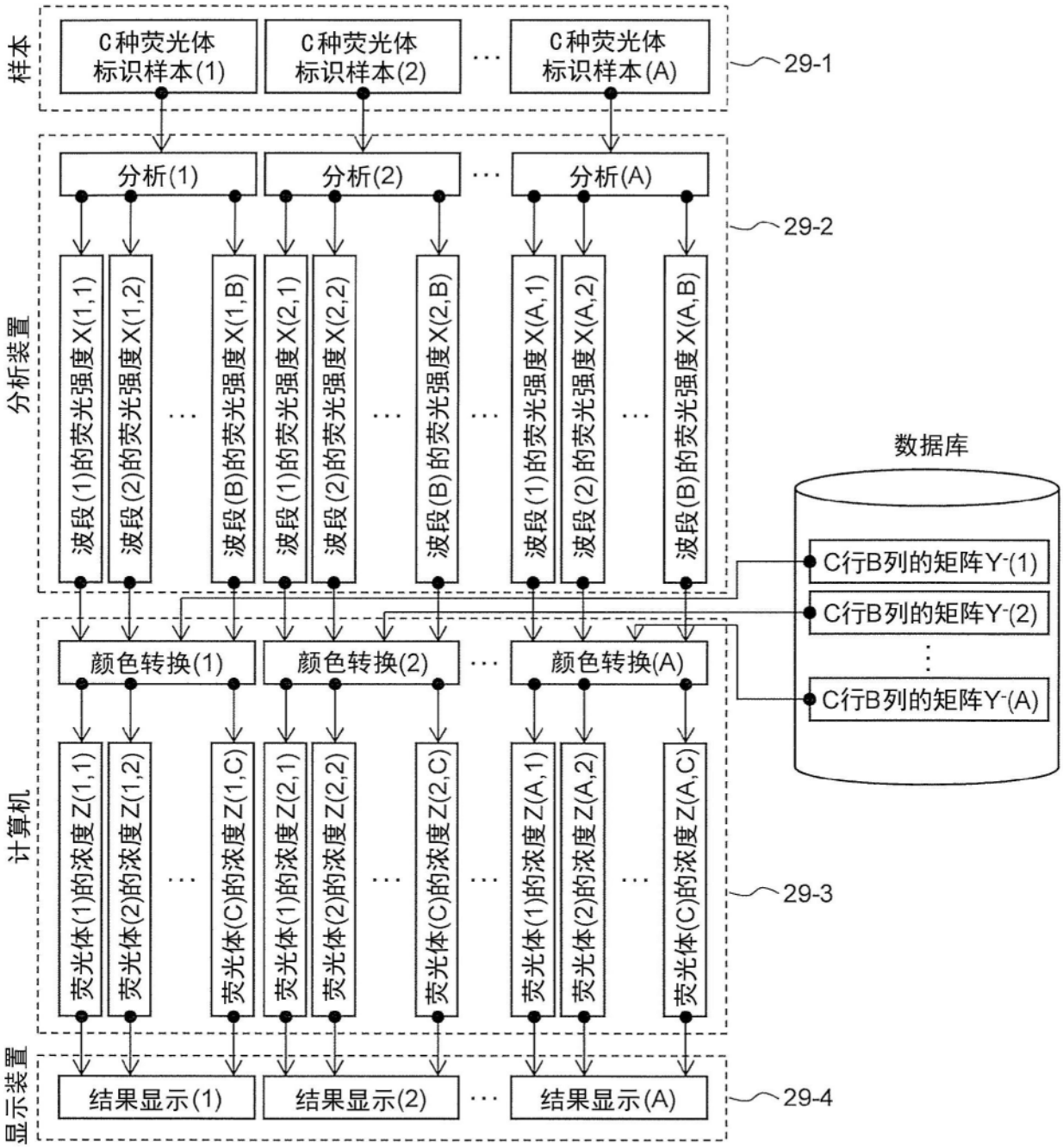

样本
C种荧光体标识样本(1)
C种荧光体标识样本(2)
C种荧光体标识样本(A)
29-1
分析装置
分析(1)
分析(2)
分析(A)
29-2
波段(1)的荧光强度X(1,1)
波段(2)的荧光强度X(1,2)
波段(B)的荧光强度X(1,B)
波段(1)的荧光强度X(2,1)
波段(2)的荧光强度X(2,2)
波段(B)的荧光强度X(2,B)
波段(1)的荧光强度X(A,1)
波段(2)的荧光强度X(A,2)
波段(B)的荧光强度X(A,B)
数据库
C行B列的矩阵Y-(1)
C行B列的矩阵Y-(2)
C行B列的矩阵Y-(A)
计算机
颜色转换(1)
颜色转换(2)
颜色转换(A)
荧光体(1)的浓度Z(1,1)
荧光体(2)的浓度Z(1,2)
荧光体(C)的浓度Z(1,C)
荧光体(1)的浓度Z(2,1)
荧光体(2)的浓度Z(2,2)
荧光体(C)的浓度Z(2,C)
荧光体(1)的浓度Z(A,1)
荧光体(2)的浓度Z(A,2)
荧光体(C)的浓度Z(A,C)
29-3
显示装置
结果显示(1)
结果显示(2)
结果显示(A)
29-4

图29

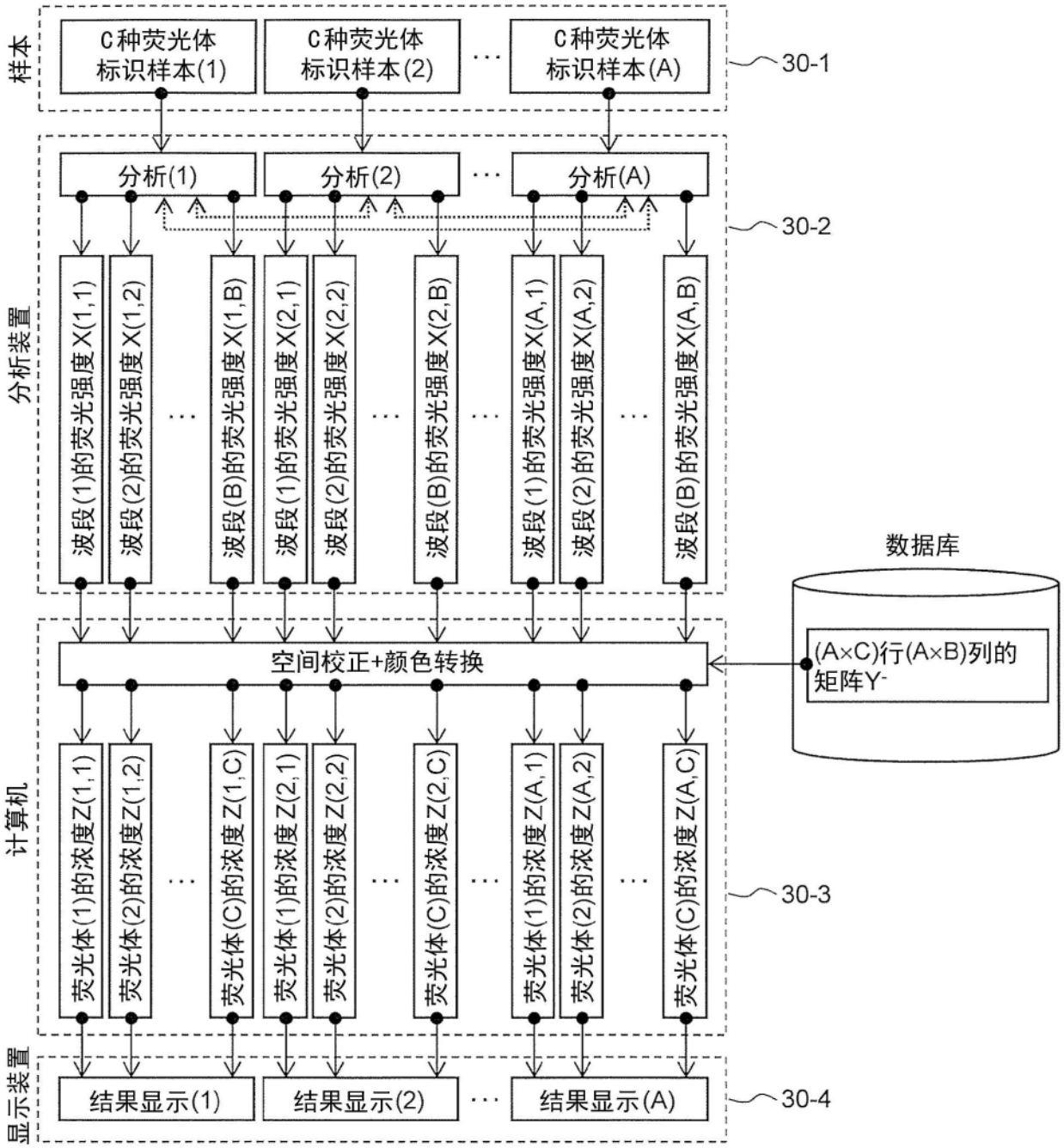

样本
C种荧光体标识样本(1)
C种荧光体标识样本(2)
C种荧光体标识样本(A)
30-1
分析装置
分析(1)
分析(2)
分析(A)
30-2
波段(1)的荧光强度X(1,1)
波段(2)的荧光强度X(1,2)
波段(B)的荧光强度X(1,B)
波段(1)的荧光强度X(2,1)
波段(2)的荧光强度X(2,2)
波段(B)的荧光强度X(2,B)
波段(1)的荧光强度X(A,1)
波段(2)的荧光强度X(A,2)
波段(B)的荧光强度X(A,B)
数据库
(A×C)行(A×B)列的矩阵Y-
空间校正+颜色转换
计算机
荧光体(1)的浓度Z(1,1)
荧光体(2)的浓度Z(1,2)
荧光体(C)的浓度Z(1,C)
荧光体(1)的浓度Z(2,1)
荧光体(2)的浓度Z(2,2)
荧光体(C)的浓度Z(2,C)
荧光体(1)的浓度Z(A,1)
荧光体(2)的浓度Z(A,2)
荧光体(C)的浓度Z(A,C)
30-3
显示装置
结果显示(1)
结果显示(2)
结果显示(A)
30-4

图30

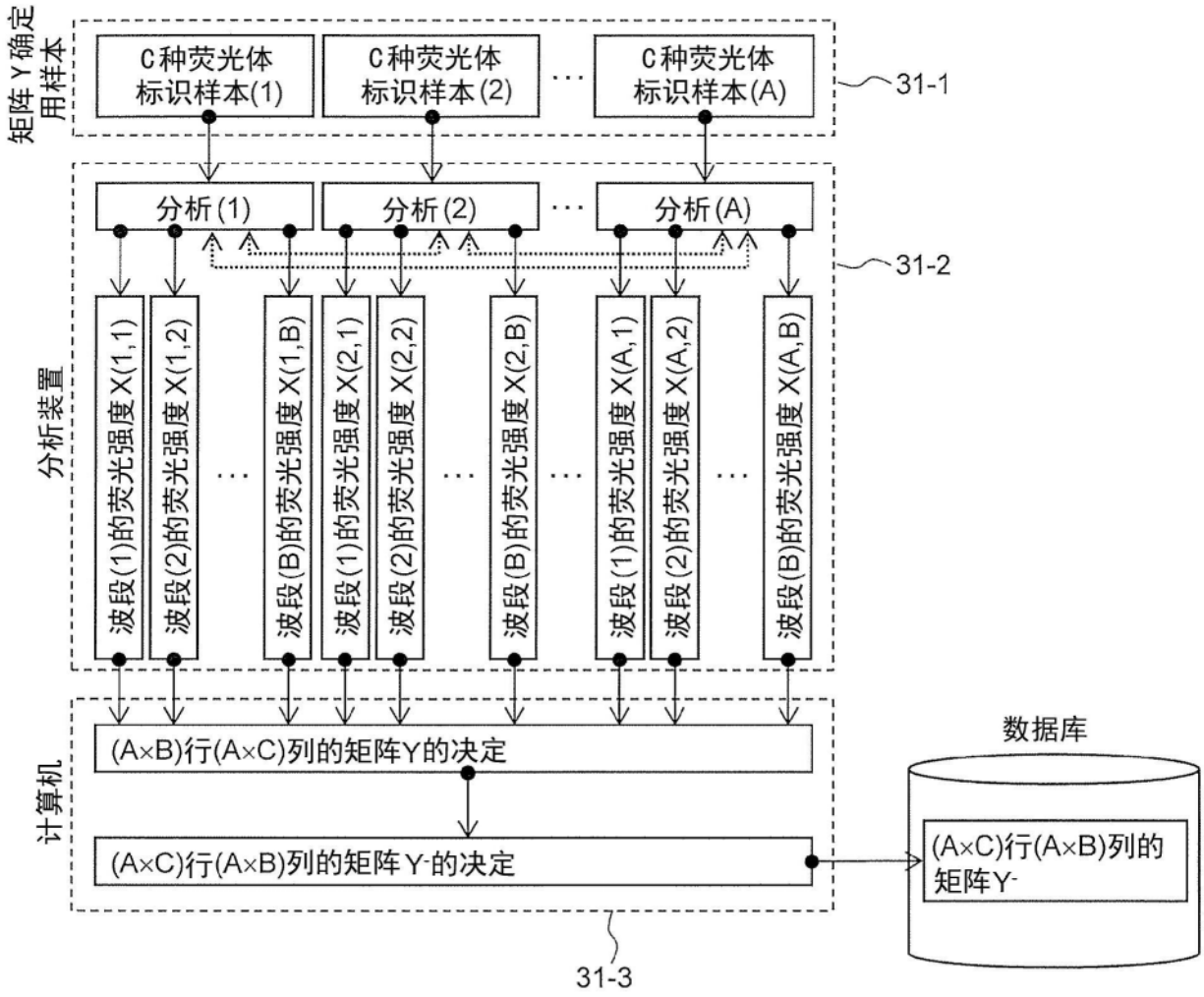

矩阵Y确定用样本
C种荧光体标识样本(1)
C种荧光体标识样本(2)
C种荧光体标识样本(A)
31-1
分析(1)
分析(2)
分析(A)
31-2
分析装置
波段(1)的荧光强度X(1,1)
波段(2)的荧光强度X(1,2)
波段(B)的荧光强度X(1,B)
波段(1)的荧光强度X(2,1)
波段(2)的荧光强度X(2,2)
波段(B)的荧光强度X(2,B)
波段(1)的荧光强度X(A,1)
波段(2)的荧光强度X(A,2)
波段(B)的荧光强度X(A,B)
计算机
(A×B)行(A×C)列的矩阵Y的决定
(A×C)行(A×B)列的矩阵Y-的决定
31-3
数据库
(A×C)行(A×B)列的矩阵Y-

图31

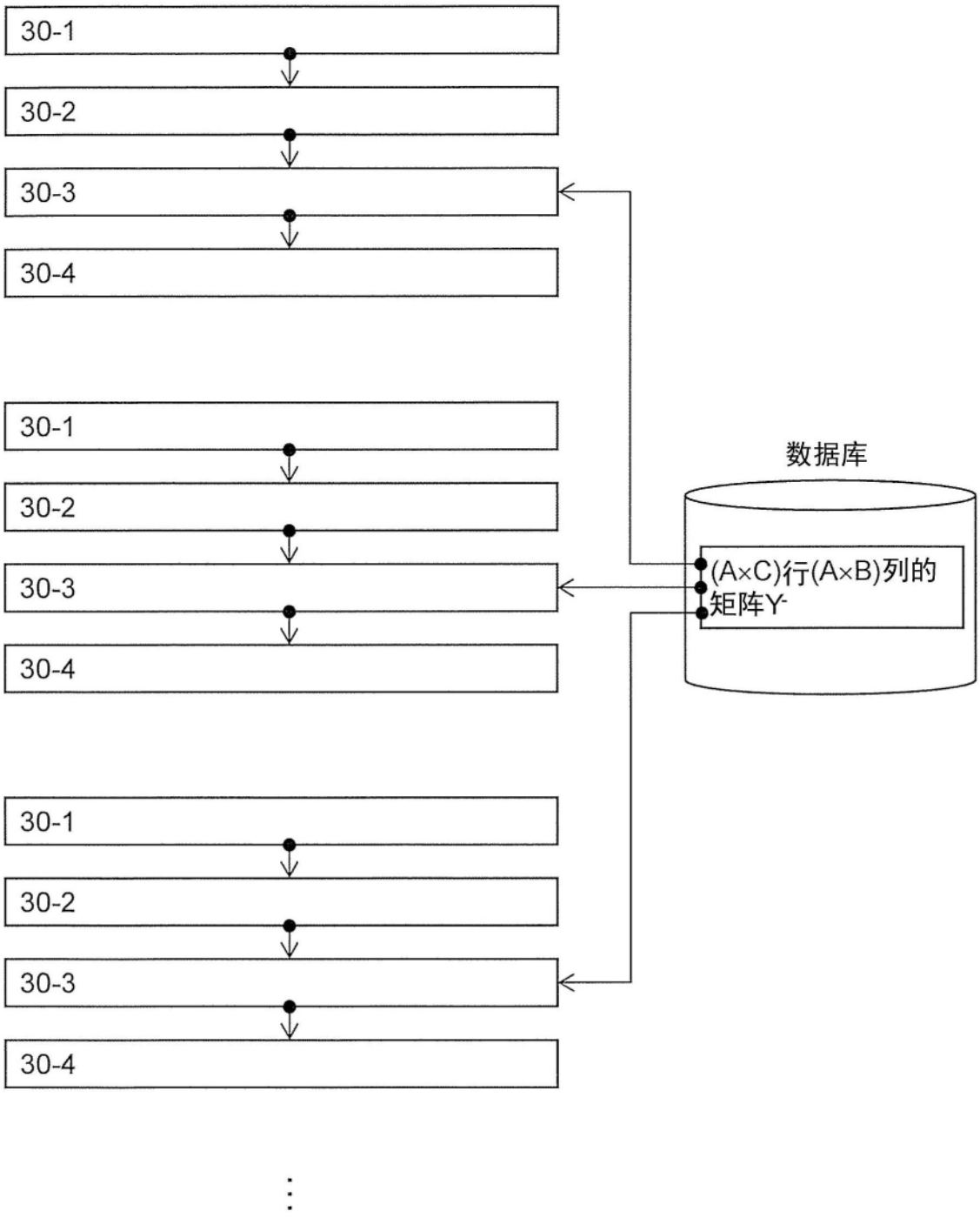


图32

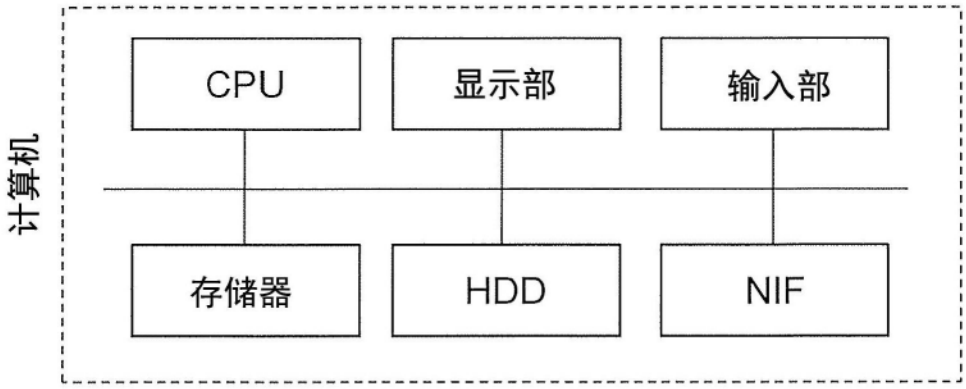


图33