

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2007-93277

(P2007-93277A)

(43) 公開日 平成19年4月12日(2007.4.12)

(51) Int. Cl.		F I		テーマコード (参考)
GO 1 N 21/64 (2006.01)		GO 1 N 21/64	Z	2GO43
GO 1 N 21/49 (2006.01)		GO 1 N 21/49	Z	2GO59

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願2005-279986 (P2005-279986)	(71) 出願人	504173471 国立大学法人 北海道大学 北海道札幌市北区北8条西5丁目8番地
(22) 出願日	平成17年9月27日 (2005.9.27)	(71) 出願人	000000376 オリンパス株式会社 東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号
		(74) 代理人	100058479 弁理士 鈴江 武彦
		(74) 代理人	100091351 弁理士 河野 哲
		(74) 代理人	100088683 弁理士 中村 誠
		(74) 代理人	100108855 弁理士 蔵田 昌俊

最終頁に続く

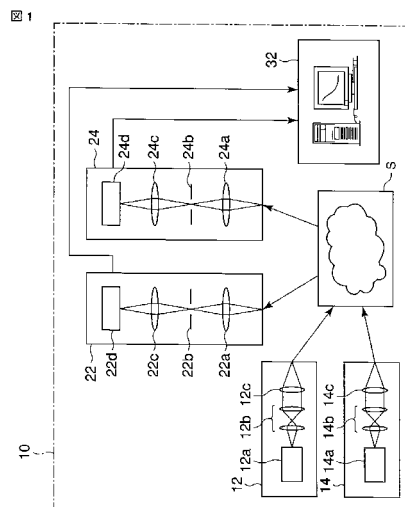
(54) 【発明の名称】 光信号解析装置

(57) 【要約】

【課題】 二点間における分子の移動を観察し得る光信号解析装置を提供する。

【解決手段】 光信号解析装置10は、第一光照射部12と、第二光照射部14と、第一受光部22と、第二受光部24と、データ解析部32とを備えている。第一光照射部12は試料S内の第一測定点に励起光を照射する。また第二光照射部14は第一測定点とは異なる試料S内の第二測定点に励起光を照射する。第一受光部22は第一測定点から発せられた光を受光し、第一測定点からの光の揺らぎに対応する揺らぎ信号を出力する。また第二受光部24は第二測定点から発せられた光を受光し、第二測定点からの光の揺らぎに対応する揺らぎ信号を出力する。データ解析部32は、第一受光部22と第二受光部24から出力される二つの揺らぎ信号に基づいて、第一測定点と第二測定点の間の点間相互相関関数の推定を行なう。

【選択図】 図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

試料内の二つの測定点からの光を検出する光検出手段と、
前記光検出手段により検出された前記二つの測定点からの光の揺らぎに対応する二つの揺らぎ信号を利用して、前記二つの測定点間における分子の移動ベクトルを解析する解析手段と、

を具備することを特徴とする光信号解析装置。

【請求項 2】

前記光検出手段は、前記二つの測定点から発せられる光をそれぞれ受光する二つの受光素子（光検出器）を有することを特徴とする請求項 1 に記載の光信号解析装置。

10

【請求項 3】

励起光を前記測定点に照射する励起光照射手段をさらに有することを特徴とする請求項 1 に記載の光信号解析装置。

【請求項 4】

前記光検出手段が検出する光は、蛍光・燐光・反射光・散乱光のいずれかであることを特徴とする請求項 1 に記載の光信号解析装置。

【請求項 5】

前記解析手段は、前記二つの揺らぎ信号に対して相互相関関数を推定する、または前記二つの揺らぎ信号を再構成した信号に対して相互相関関数を推定することを特徴とする請求項 1 に記載の光信号解析装置。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、光信号解析装置に関する。

【背景技術】

【0002】

例えば、「"New Concept in Correlator Design", Klaus Sch-tzel, Inst. Phys. Conf. Ser. No. 77, P175, 1985」と「"Noise on Multiple-Tau Photon Correlation Data", Klaus Sch-tzel, SPIE Vol. 1430, P109, Photon Correlation Spectroscopy: Multicomponent Systems, 1991」と「"Photon Correlation Measurements at Large Lag Times", Klaus Sch-tzel et al., Journal of Modern Optics, Vol. 35, No.4, P711, 1988」は、光信号解析方法を開示している。これらの光信号解析方法において、自己相関関数や相互相関関数などを推定する場合には、一回の測定で一個所だけの測定点から得た蛍光の強度の連続測定信号を用いるか、複数の測定点を時間で繰り返し切り替えながら測定した複数点時系列混合信号を用いる。解析アルゴリズムとしては、マルチプル方式の計算手法またはテーブル検索方式がある。測定点が一個所だけの場合、一般方式または単一測定点マルチプル方式というアルゴリズムを解析に用いる。つまり、単一測定点マルチプル方式の計算手法は、チャンネル計算やデータ再構成などのデータ処理過程を経て測定点における自己相関関数または相互相関関数を推定する。また、一回に複数の測定点を測定する場合、一般方式またはテーブル検索方式というアルゴリズムを解析に用いる。つまり、テ

30

40

【非特許文献 1】"New Concept in Correlator Design", Klaus Sch-tzel, Inst. Phys. Conf. Ser. No. 77, P175, 1985

【非特許文献 2】"Noise on Multiple-Tau Photon Correlation Data", Klaus Sch-tzel, SPIE Vol. 1430, P109, Photon Correlation Spectroscopy: Multicomponent Systems, 1991

【非特許文献 3】"Photon Correlation Measurements at Large Lag Times", Klaus Sch-tzel et al., Journal of Modern Optics, Vol. 35, No.4, P711, 1988

50

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

しかし、一点の測定点における自己相関関数と相互相関関数の推定は、分子のミクロ領域による比較的小さい拡散速度を有する分子拡散を観察するものである。実際の応用において、例えば分子が細胞の核膜を通過する場合、分子拡散速度は遅く、拡散時間は長い。また、シグナルの伝達、ある方向への分子移動の影響などは、一点のみの観察による自己相関相互相関では観察不可能である。

【0004】

つまり、従来技術では、観察領域は一点の測定点（コンフォカボリューム）に限定されている。また、二点間における分子の移動は観察できない。さらに、遅い分子拡散は観察不可能である。

【0005】

本発明は、このような実状を考慮して成されたものであり、その目的は、二点間における分子の移動を観察し得る光信号解析装置を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明による光信号解析装置は、試料内の二つの測定点から発せられる光を検出する光検出手段と、前記光検出手段により検出された前記二つの測定点からの光の揺らぎに対応する揺らぎ信号を利用して、前記二つの測定点間における分子の移動ベクトルを解析する解析手段とを備えていることを特徴とする。

【発明の効果】

【0007】

本発明によれば、二点間における分子の移動を観察し得る光信号解析装置が提供される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

以下、図面を参照しながら本発明の実施形態について説明する。

【0009】

図1は、本発明の実施形態による光信号解析装置を概略的に示している。光信号解析装置10は、第一光照射部12と、第二光照射部14と、第一受光部22と、第二受光部24と、データ解析部32とを備えている。

【0010】

第一光照射部12は光源12aとコリメートレンズ12bと集光レンズ12c等を有し、試料S内の第一測定点に励起光を照射する。また第二光照射部14は光源14aとコリメートレンズ14bと集光レンズ14c等を有し、第一測定点とは異なる試料S内の第二測定点に励起光を照射する。

【0011】

第一受光部22は集光レンズ22aとピンホール22bと結像レンズ22cと光検出器22d等を有し、第一測定点から発せられた光を受光する。より詳しくは、ピンホール22bは第一測定点と共役な位置に配置されており、結像レンズ22cはピンホール22bの像を光検出器22dに投影する。従って光検出器22dには第一測定点から発せられた光だけが選択的に入射する。光検出器22dは、入射した光の強度を反映した連続測定信号すなわち第一測定点からの光の揺らぎに対応する揺らぎ信号を出力する。また第二受光部24は集光レンズ24aとピンホール24bと結像レンズ24cと光検出器24d等を有し、第二測定点から発せられた光を受光する。より詳しくは、ピンホール24bは第一測定点と共役な位置に配置されており、結像レンズ24cはピンホール24bの像を光検出器24dに投影する。従って光検出器24dには第二測定点から発せられた光だけが選択的に入射する。光検出器24dは、入射した光の強度を反映した連続測定信号すなわち第二測定点からの光の揺らぎに対応する揺らぎ信号を出力する。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 2 】

これまでの説明から分かるように、第一受光部 2 2 と第二受光部 2 4 は、試料内の二つの測定点から発せられる光を検出する光検出手段を構成している。また第一光照射部 1 2 と第二光照射部 1 4 は、励起光を二つの測定点に照射する励起光照射手段を構成している。

【 0 0 1 3 】

データ解析部 3 2 は例えばパーソナルコンピュータで構成され、二つの光検出器 2 2 d と 2 4 d から出力される二つの揺らぎ信号に対して自己相関関数と相互相関関数を推定する。すなわちデータ解析部 3 2 は、第一測定点と第二測定点のそれぞれにおける自己相関関数の推定を行なうとともに、第一測定点と第二測定点の間の相互相関関数の推定を行なう。図 2 は第一測定点からの光の揺らぎに対応する揺らぎ信号を示し、図 3 は第二測定点からの光の揺らぎに対応する揺らぎ信号を示している。データ解析部 3 2 は、これら二つの揺らぎ信号に基づいて、下記の (1) 式の解析式を用いて第一測定点 P 1 の自己相関関数の推定を行ない、下記の (2) 式の解析式を用いて第二測定点 P 2 の自己相関関数の推定を行ない、下記の (3) 式の解析式を用いて第一測定点 P 1 と第二測定点 P 2 の間の相互相関関数の推定を行なう。

10

【 数 1 】

$$C(\tau) = \frac{(\sum D_{P1}(t)D_{P1}(t+\tau))/N_{P1P1}}{((\sum D_{P1}(t))/N_{P1})((\sum D_{P1}(t))/N_{P1})} \quad \dots(1)$$

20

【 0 0 1 4 】

【 数 2 】

$$C(\tau) = \frac{(\sum D_{P2}(t)D_{P2}(t+\tau))/N_{P2P2}}{((\sum D_{P2}(t))/N_{P2})((\sum D_{P2}(t))/N_{P2})} \quad \dots(2)$$

【 0 0 1 5 】

【 数 3 】

$$C(\tau) = \frac{(\sum D_{P1}(t)D_{P2}(t+\tau))/N_{P1P2}}{((\sum D_{P1}(t))/N_{P1})((\sum D_{P2}(t))/N_{P2})} \quad \dots(3)$$

30

【 0 0 1 6 】

上記の (1) 式 ~ (3) 式中、 $D_{P1}(t)D_{P1}(t+\tau)$ と $D_{P2}(t)D_{P2}(t+\tau)$ と $D_{P1}(t)D_{P2}(t+\tau)$ はそれぞれデータ間の積和計算を示し、 $\sum D_{P1}(t)$ と $\sum D_{P2}(t)$ はそれぞれ測定点 P 1 と P 2 のデータ総和を、 N_{P1P1} と N_{P2P2} と N_{P1P2} はそれぞれデータ間の積和計算の回数を、 N_{P1} と N_{P2} は測定点 P 1 と P 2 のデータ総和計算の回数を示している。 τ は遅延時間を示し、所定の時間幅の整数倍をとる。

40

【 0 0 1 7 】

図 4 は、データ解析部 3 2 による解析処理のフローチャートを示している。計算アルゴリズムを適用させる手順はステップ S 0 ~ S 1 4 の通りである。

【 0 0 1 8 】

[ステップ S 0]

試料についての測定データとして、二つの測定点 P 1 と P 2 における連続測定信号すなわち二つの測定点 P 1 と P 2 の光の揺らぎ信号を取得する。取得した二つの測定点 P 1 と P 2 の連続測定信号はそれぞれ図 2 と図 3 に示した通りである。

【 0 0 1 9 】

[ステップ S 1 と S 2]

50

データの総和を計算する。つまり、測定点 P 1 と P 2 の連続測定データ（ステップ S 0 における連続測定信号をデジタル化したもの） I_{P1} と I_{P2} に対して、一定の遅延時間間隔のままの測定点 P 1 と P 2 のそれぞれのデータ総和を計算する。または、遅延時間を一定の時間間隔で増やしなが、言い換えれば所定の時間幅の数倍を増やしなが、各遅延時間間隔における測定点 P 1 と P 2 のそれぞれのデータを再構成し、その総和を計算する。つまり、ステップ S 1 において、測定点 P 1 の連続測定データ I_{P1} に対して、読み込んだ測定点 P 1 のすべてデータの和計算 = 総和計算（あるいは再構成データの総和計算）を行なう。すなわち上記の（1）式～（3）式中の $D_{P1}(t)$ を算出する。またステップ S 2 において、同様に測定点 P 2 の連続測定データ I_{P2} に対して、読み込んだ測定点 P 2 のすべてデータの和計算 = 総和計算を行なう。すなわち上記の（1）式～（3）式中の $D_{P2}(t)$ を算出する。

10

【0020】

[ステップ S 3 と S 4]

読み込みデータ数をカウントする。つまり、測定点 P 1 と P 2 の連続測定データ I_{P1} と I_{P2} に対して、各遅延時間における測定点 P 1 と P 2 のそれぞれのデータ総和回数を計算する。より詳しくは、ステップ S 3 において、測定点 P 1 の連続測定データ I_{P1} に対して、ステップ S 1 において行なう総和計算の回数を計算する。すなわち上記の（1）式～（3）式中の N_{P1} を算出する。またステップ S 4 において、同様に測定点 P 2 の連続測定データ I_{P2} に対して、ステップ S 2 において行なう総和計算の回数を計算する。すなわち上記の（1）式～（3）式中の N_{P2} を算出する。

20

【0021】

[ステップ S 5 と S 6]

同じ測定点におけるデータ間の積和計算を行なう。ステップ S 5 において、測定点 P 1 の連続測定データ I_{P1} に対して、すべての遅延時間について、図 5 に示されるように、同じ遅延時間を有するデータ間の掛け算をし、その和を算出する。すなわち上記の（1）式中の $D_{P1}(t)D_{P1}(t+)$ を算出する。なお図 5 は、遅延時間 = 2（所定の時間幅の 2 倍）の場合のデータ間の積算を模式的に示している。またステップ S 6 において、測定点 P 2 の連続測定データ I_{P2} に対して、同様な計算処理を行なう。すなわち上記の（2）式中の $D_{P2}(t)D_{P2}(t+)$ を算出する。

30

【0022】

[ステップ S 7 と S 8]

同じ測定点におけるデータ積和計算の回数をカウントする。ステップ S 7 において、上記のステップ S 5 の計算と同時に積和計算の回数を計算する。すなわち上記の（1）式中の N_{P1P1} を算出する。またステップ S 8 において、上記のステップ S 6 の計算と同時に積和計算の回数を計算する。すなわち上記の（2）式中の N_{P2P2} を算出する。

【0023】

[ステップ S 9]

異なる測定点間のデータの積和計算を行なう。つまり、測定点 P 1 のデータと測定点 P 2 のデータとの積和計算を行なう。より詳しくは、測定点 P 1 と P 2 の連続測定データ I_{P1} と I_{P2} に対して、すべての遅延時間について、図 6 に示されるように、同じ遅延時間を有する測定点 P 1 のデータと測定点 P 2 のデータとの掛け算をし、その和を算出する。すなわち上記の（3）式中の $D_{P1}(t)D_{P2}(t+)$ を算出する。なお図 6 は、遅延時間 = 1（所定の時間幅の 1 倍）の場合のデータ間の積算を模式的に示している。

40

【0024】

[ステップ S 10]

異なる測定点間のデータ積和計算の回数をカウントする。つまり、上記のステップ S 9 の計算と同時に積和計算の回数を計算する。すなわち上記の（3）式中の N_{P1P2} を算出する。

【0025】

[ステップ S 11]

50

データの総合計算を行なう。つまり、上記の諸計算データに基づいて、二つの測定点 P 1 と P 2 のそれぞれの自己相関関数の解析と二つの測定点 P 1 と P 2 の点間相互相関関数の推定を行なう。より詳しくは、P 1 P 1 と P 2 P 2 と P 1 P 2 の各相関方向についてそれぞれ異なる解析式を用いて相関関数を推定する。その際、P 1 P 1 については $(S 5 / S 7) / (S 1 / S 3)^2$ の計算式を用い、P 2 P 2 については $(S 6 / S 8) / (S 2 / S 4)^2$ の計算式を用い、P 1 P 2 については $(S 9 / S 10) / (S 1 / S 3)(S 2 / S 4)$ の計算式を用いる。

【0026】

[ステップ S 1 2]

各最終計算結果に基づいて、点間相互相関関数のカーブ表示などの処理を行なう。

10

【0027】

これまでの説明から分かるように、本実施形態の光分析装置では、異なる二つの測定点 P 1 と P 2 に対して相互相関関数の推定を行なっている。P 1 P 2 への解析結果において、相関が高ければ、同一分子が測定点 P 1 から測定点 P 2 へ移動する確率が高いと推定でき、逆に相関が低ければ測定点 P 1 を通った分子が測定点 P 2 を通る確率が低く、その他方向への分子移動が多いと推定できる。つまり、本実施形態の光分析装置によれば、二つの測定点 P 1 と P 2 の間における分子の移動を観察できる。また、複数セットの二つの測定点間の相関性を検討することで、分子移動のベクトルを推定することが可能である。

【0028】

これまで、図面を参照しながら本発明の実施形態を述べたが、本発明は、これらの実施形態に限定されるものではなく、その要旨を逸脱しない範囲において様々な変形や変更が施されてもよい。

20

【0029】

例えば、上述した実施形態による光信号解析装置は蛍光を検出しているが、検出対象光は蛍光に限定されるものではなく、ほかの光、例えば燐光や反射光や散乱光などであってもよい。

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図 1】本発明の実施形態による光信号解析装置を概略的に示している。

【図 2】第一測定点からの光の揺らぎに対応する揺らぎ信号を示している。

30

【図 3】第二測定点からの光の揺らぎに対応する揺らぎ信号を示している。

【図 4】データ解析部による解析処理のフローチャートを示している。

【図 5】ステップ S 5 の処理におけるデータ間の積算を模式的に示している。

【図 6】ステップ S 9 の処理におけるデータ間の積算を模式的に示している。

【符号の説明】

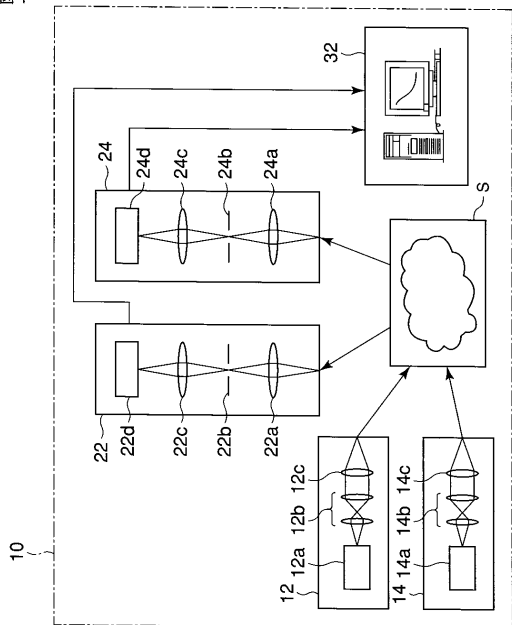
【0031】

1 0 ... 光信号解析装置、1 2 ... 第一光照射部、1 2 a ... 光源、1 2 b ... コリメートレンズ、1 2 c ... 集光レンズ、1 4 ... 第二光照射部、1 4 a ... 光源、1 4 b ... コリメートレンズ、1 4 c ... 集光レンズ、2 2 ... 第一受光部、2 2 a ... 集光レンズ、2 2 b ... ピンホール、2 2 c ... 結像レンズ、2 2 d ... 光検出器、2 4 ... 第二受光部、2 4 a ... 集光レンズ、2 4 b ... ピンホール、2 4 c ... 結像レンズ、2 4 d ... 光検出器、3 2 ... データ解析部、I_{P 1} ... 連続測定データ、I_{P 2} ... 連続測定データ、P 1 ... 第一測定点、P 2 ... 第二測定点。

40

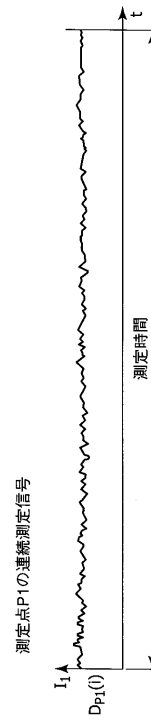
【 図 1 】

図 1



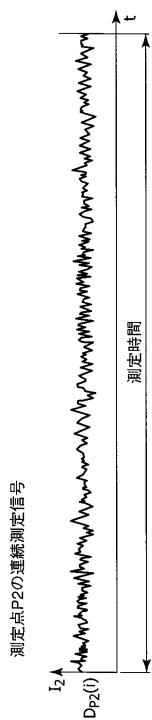
【 図 2 】

図 2



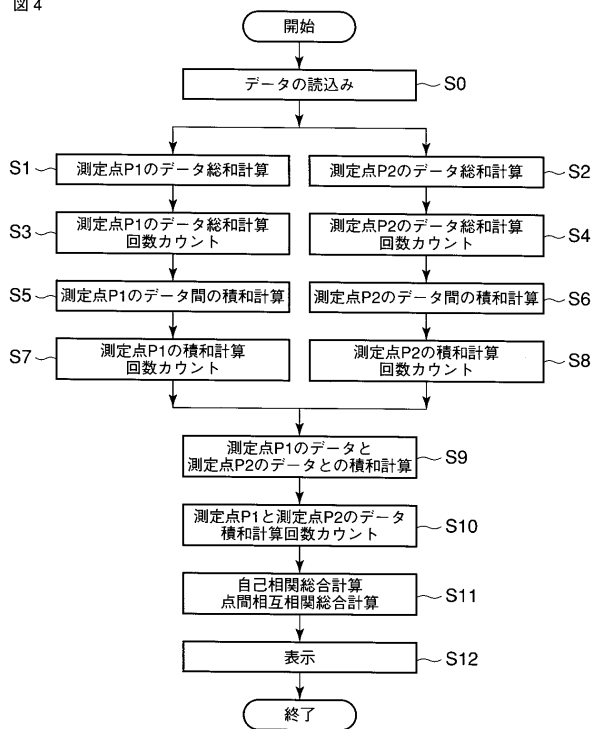
【 図 3 】

図 3

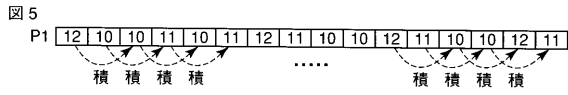


【 図 4 】

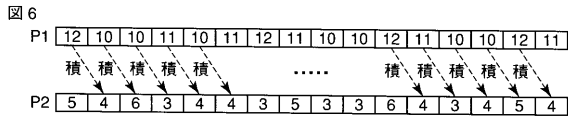
図 4



【 図 5 】



【 図 6 】



フロントページの続き

(74)代理人 100075672

弁理士 峰 隆司

(74)代理人 100109830

弁理士 福原 淑弘

(74)代理人 100084618

弁理士 村松 貞男

(74)代理人 100092196

弁理士 橋本 良郎

(72)発明者 金城 政孝

北海道札幌市北区北8条西5丁目8番地 国立大学法人北海道大学電子科学研究所内

(72)発明者 鈴木 明美

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号 オリパス株式会社内

Fターム(参考) 2G043 AA03 BA16 EA01 EA14 FA03 HA01 LA01 NA01 NA02

2G059 AA05 BB14 EE02 FF04 GG03 JJ11 JJ30 KK03 MM01