



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101424612 B

(45) 授权公告日 2013. 08. 28

(21) 申请号 200810173297. 6

(22) 申请日 2008. 10. 31

(30) 优先权数据

2007-285671 2007. 11. 02 JP

(73) 专利权人 索尼株式会社

地址 日本东京

(72) 发明人 古木基裕 今西慎吾 筱田昌孝

铃木明俊 三宅和司

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

代理人 余刚 吴孟秋

(51) Int. Cl.

G01N 15/00 (2006. 01)

G01N 21/00 (2006. 01)

G01N 33/483 (2006. 01)

(56) 对比文件

JP 特开 2003-247981 A, 2003. 09. 05,

WO 2004/025266 A2, 2004. 03. 25, 全文.

CN 1735466 A, 2006. 02. 15, 全文.

JP 特开 2002-195949 A, 2002. 07. 10, 全文.

US 4175662, 1979. 11. 27, 全文.

US 2002/0126276 A1, 2002. 09. 12, 全文.

审查员 金伟华

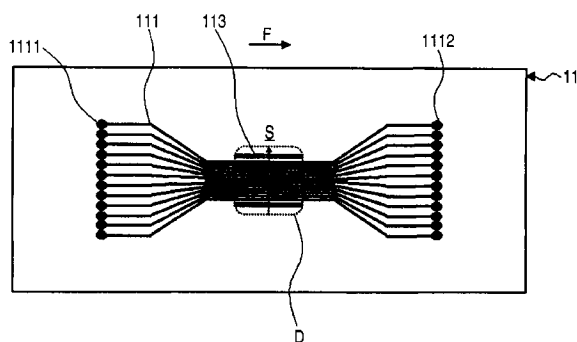
权利要求书1页 说明书11页 附图5页

(54) 发明名称

微粒测量方法、用于测量的基板、以及测量装置

(57) 摘要

本发明披露了一种能够获得高测量精度的微粒测量方法、用于测量的基板以及测量装置。所述微粒测量方法通过用光扫描样品流体通道而对引入到以预定距离设置在基板上的多个样品流体通道中的微粒进行光学测量。该方法包括：用光顺序照射至少两个或更多个与样品流体通道一起设置的参考区域；检测由参考区域引起的在光中发生的光学特性的变化；以及控制光对样品流体通道的发射时间。



1. 一种微粒测量方法,通过用光扫描样品流体通道而对引入到以预定距离设置在基板上的多个样品流体通道中的微粒进行光学测量,所述方法包括以下步骤:

用所述光顺序照射与所述样品流体通道一起设置的至少两个或更多个参考区域;

检测由所述参考区域引起的在所述光中发生的光学特性的变化;以及

控制所述光对所述样品流体通道的发射时间,

其中,所述控制是基于由所述参考区域之一引起的光学特性变化的检测时间和由另一个所述参考区域引起的光学特性变化的检测时间之间的时间差以及样品流体通道的数量。

2. 根据权利要求 1 所述的微粒测量方法,

其中,所述参考区域是用于参考的微粒或 / 和用于参考的荧光物质被引入其中的参考流体通道,以及

所述光学特性的变化是由所述用于参考的微粒或 / 和所述用于参考的荧光物质引起的。

3. 一种微粒测量装置,通过用光扫描样品流体通道而对引入到以预定距离设置在基板上的多个样品流体通道中的微粒进行光学测量,所述装置包括:

光照射部,用所述光顺序照射与所述样品流体通道一起设置的至少两个或更多个参考区域;

光检测部,检测由所述参考区域引起的在所述光中发生的光学特性的变化;以及

光控制部,基于所述光检测部的输出,控制所述光对所述样品流体通道的发射时间,

其中,所述参考区域是用于参考的微粒或 / 和用于参考的荧光物质被引入其中的参考流体通道,以及

所述光学特性的变化是由所述用于参考的微粒或 / 和所述用于参考的荧光物质引起的。

微粒测量方法、用于测量的基板、以及测量装置

[0001] 与相关申请的交叉参考

[0002] 本发明包含于 2007 年 11 月 2 日向日本专利局提交的日本专利申请 JP2007-285671 涉及的主题,将其全部内容并入本文作为参考。

技术领域

[0003] 本发明涉及微粒测量方法、用于微粒测量的基板、以及微粒测量装置。更具体地说,本发明涉及一种微粒测量方法,该方法能够控制将光发射到微粒被引入其中的样品流体通道的时间。

背景技术

[0004] 在相关技术领域,为了区分微粒,例如包括细胞、微生物以及脂质体的生物微粒,或包括胶乳颗粒、凝胶颗粒以及工业颗粒的合成颗粒,已使用了将微粒分散液引入到流体通道中并对引入到流体通道中的微粒进行光学测量的装置。

[0005] 作为一个例子,有一种根据大小或形状来区分合成颗粒的颗粒分析仪。该颗粒分析仪通过在氦(He)等离子体中逐一地激发和发射微粒来进行微粒的光谱检测,从而测量微粒的元素组成或直径以及颗粒数量。

[0006] 此外,对于生物微粒,广泛进行使用流式细胞术(流式细胞仪)的光学测量。流式细胞术是一种测量待测微粒(如细胞或微珠)的大小或结构的技术,其中通过使微粒流到流动室中的鞘液的层流中部,借助于光学检测单元将光照射到微粒上,然后检测由微粒产生的散射光或荧光。

[0007] 近年来,在开发一种用于对在流体通道内的微粒进行上述光学测量的微芯片,其中流体通道通过利用半导体工业的精细加工技术设置在由玻璃或塑料形成的基板上。

[0008] 使用这样的微芯片的分析系统称作 μ -TAS(微型全分析系统)、芯片实验室(lab on chip)、或生物芯片,并且作为一种能够改善微粒的光学测量的速度、集成化、或测量装置的小型化的技术已经引起了关注。在 μ -TAS 的情况下,特别期望应用于贵重微量样品或许多样品的生物分析,因为可以利用少量样品进行分析,或可以一次性使用微芯片。

[0009] JP-T-2005-538727 披露了一种微芯片(参照该文献中图 17 的颗粒分类系统 1700),用于对流体通道中的微粒进行光学测量和分类。该颗粒分类系统 1700 包括多个平行操作的分类模块 1701(样品流体通道)。在该颗粒分类系统 1700 中,将样品从输入区 1710 引入到每个分类模块 1701 中并在检测区 1720 同时测量颗粒的预定特性。因此,可以实现颗粒的高速测量和分类。

发明内容

[0010] 在多个样品流体通道设置在基板上并同时进行微粒的光学测量的情况下(如在 JP-T-2005-538727 中披露的微芯片),用于测量的光对每个样品流体通道扫描和照射被认为是有效的。

[0011] 在通过分别独立地将光照射到每个样品流体通道来进行测量的情况下,每个样品流体通道都需要光源和用于将光从光源引导到样品流体通道的光学系统。相反,通过用光扫描和照射多个样品流体通道,就可以用单个光源和单个光学系统进行测量。在这种情况下,因为装置的构造被简化,所以可以降低装置的制造成本。

[0012] 因此,期望提供一种当通过用光扫描样品流体通道而对引入到设置在基板上的多个样品流体通道中的微粒进行光学测量时,能够获得高测量精度的测量方法、用于测量的基板、以及测量装置。

[0013] 根据本发明的一种实施方式,通过用光扫描样品流体通道而对引入到以预定距离设置在基板上的多个样品流体通道中的微粒进行光学测量的微粒测量方法,包括以下步骤:用光顺序照射至少两个或更多个与样品流体通道一起提供的参考区域;检测由于参考区域引起的在光中发生的光学特性的变化;以及控制光对样品流体通道的发射时间。

[0014] 在该微粒测量方法中,光对样品流体通道的发射时间是基于由参考区域之一引起的光学特性变化的检测时间和由另一个参考区域引起的光学特性变化的检测时间之间的时间差,以及样品流体通道的数量来控制的。

[0015] 在该微粒测量方法中,参考区域可以是其中引入了用于参考的微粒或/和用于参考的荧光物质的参考流体通道。在这种情况下,可以通过检测由用于参考的微粒或/和用于参考的荧光物质引起的光学特性的变化来控制光对样品流体通道的发射时间。

[0016] 此外,根据本发明的另一个实施方式,提供了用于微粒测量的基板,其中多个样品流体通道以预定距离设置,并且通过用光扫描样品流体通道对引入到样品流体通道中的微粒进行光学测量,所述基板包括至少两个或更多个能够引起照射光的光学特性变化的参考区域,并且参考区域与样品流体通道一起设置。

[0017] 此外,根据本发明的又一实施方式,提供了一种微粒测量装置,其通过用光扫描样品流体通道而对引入到以预定距离设置在基板上的多个样品流体通道中的微粒进行光学测量,该装置包括:光照射部,用光顺序照射至少两个或更多个与样品流体通道一起设置的参考区域;光检测部,检测由于参考区域引起的在光中发生的光学特性的变化;以及光控制部,基于光检测部的输出,控制光对样品流体通道的发射时间。

[0018] 在本发明中,“微粒”的实例包括各种类型的微粒,例如包括细胞、微生物以及脂质体的生物微粒,或包括胶乳颗粒、凝胶颗粒以及工业颗粒的合成颗粒。细胞的实例包括动物细胞(例如,血细胞)和植物细胞。微生物的实例包括细菌如大肠杆菌,病毒如烟草花叶病毒,真菌如酵母菌等。生物高分子物质的实例包括构成各种细胞的染色体、脂质体、线粒体、细胞器等。此外,工业颗粒可以是,例如,有机高分子材料、无机高分子材料、或金属。有机高分子材料的实例包括聚苯乙烯、苯乙烯二乙烯苯、聚甲基丙烯酸甲酯等。无机高分子材料的实例包括玻璃、硅石、磁性材料等。金属的实例包括金胶体、铝等。通常,这样的微粒为球形。然而,微粒也可以为非球形。此外,大小或质量也没有特别的限制。

[0019] 此外,假定“参考区域”是指这样的区,其中照射用于微粒的光学测量的光以引起光的光学特性变化。此外,假定本文提及的“光学特性的变化”包括由光的漫射、衍射、偏转、吸收等引起的波长变化、偏转变化、以及强度变化。在广义上,假定“光学特性的变化”进一步包括这样的变化,其中照射光被吸收以发射具有不同波长的荧光。类似地,假定“用于参考的微粒”和“用于参考的荧光物质”的实例包括各种类型的引起光的光学特性的上述变化

的物质。

[0020] 根据本发明的实施方式,提供了一种当通过用光扫描样品流体通道而对引入到设置在基板上的多个样品流体通道中的微粒进行光学测量时,能够获得高测量精度的测量方法、用于测量的基板、以及测量装置。

附图说明

[0021] 图 1 是示出了根据本发明实施方式的微粒测量装置的构造的示意图;

[0022] 图 2 是示出了根据本发明实施方式的基板的构造的示意图(顶视图);

[0023] 图 3 是示意性地示出了基板的检测区的放大图(顶视图);

[0024] 图 4 是示意性地示出了样品流体通道和参考流体通道对测量光的扫描线样以倾斜而不是直角交叉的状态附着的基板的检测区的放大图(顶视图);

[0025] 图 5 是示意性地示出了在通过将测量光束照射到样品流体通道来进行测量的情况下,基板的检测区的放大图(顶视图);

[0026] 图 6 是示意性地示出了根据另一实施方式的基板的检测区的放大图(顶视图);

[0027] 图 7 是示出了根据另一实施方式的基板的构造的示意图(顶视图);

[0028] 图 8 是示意性地示出了图 7 所示的基板的检测区的放大图(顶视图);以及

[0029] 图 9 是示出了利用光控制部对测量光的发射时间进行控制的控制步骤的流程图。

具体实施方式

[0030] 在下文,将参照附图描述本发明的优选实施方式。此外,以下描述的实施方式是本发明的代表性实施方式的实施例,但并不限制本发明的范围。

[0031] 图 1 是示出了根据本发明实施方式的微粒测量装置的构造的示意图。

[0032] 在该附图中,由符号 1 指示的微粒测量装置包括:用于微粒测量的基板 11(在下文中,简称为“基板 11”),其中设置有样品流体通道 111,通过该样品流体通道可以引入微粒(样品);激光源 12,发射用于微粒光学测量的激光 L_1 (参考附图中的黑色箭头);扫描部 13,用激光 L_1 扫描在基板 11 上的每个样品流体通道 111;物镜 14,用于将激光 L_1 聚光到样品流体通道 111 的预定位置;以及准直镜 15,用于使来自激光源 12 的激光 L_1 变成平行光束。

[0033] 包括激光源 12、扫描部 13、物镜 14、以及准直镜 15 的光检测部进一步包括检测器 16,用于检测待检测的光 L_2 (参考附图中的阴影线箭头),所述光 L_2 通过用测量光 L_1 照射样品流体通道 111,从而由引入到样品流体通道 111 中的微粒产生。

[0034] 通过根据待测量的微粒和测量目的选择不同的波长,优选使用激光 L_1 (在下文中,称作“测量光 L_1 ”)。作为激光源 12,可以适当地选择和使用已知光源,如使用氩、氦等的气体激光器,半导体激光器(LD),以及发光二极管(LED)。

[0035] 例如,为了测量微粒的元素组成,选择波长对应于每种元素的吸收波长的测量光 L_1 。此外,在测量用多种荧光染料标记的微粒的荧光的情况下,使用波长对应于每种荧光染料的激发波长的测量光 L_1 。

[0036] 扫描部 13 被布置成在由激光源 12 发射的测量光 L_1 的光路上的多面镜或电流镜(galvano mirror)、声光元件、电光元件等,并以预定周期用测量光 L_1 扫描样品流体通道

111。例如,在二向色镜的情况下可以以约 1kHz 的周期进行扫描,而在 24 面体多面镜的情况下则以约 20kHz 的周期进行扫描。优选通过远心光学系统进行测量光 L_1 的照射,其中测量光 L_1 垂直照射到样品流体通道 111 并且在每个样品流体通道 111 的成像表面上的测量光 L_1 的光点宽度是固定的。

[0037] 检测器 16 检测和放大由微粒产生的待检测光 L_2 ,将待检测光 L_2 转换成电信号,并将待检测光 L_2 输出至分析部(未示出)。基于输入电信号,分析部分析微粒的光学特性并输出测量结果。在图 1 中,示出了通过分光计 17 并使用多通道光电倍增管(PMT)作为检测器 16 来格栅化(grating)待检测的光 L_2 以及检测每个波长的待检测光 L_2 的一种情况。

[0038] 根据待测量的微粒和测量目的,用于分析微粒的光学特性的参数可以是散射光(如用于测量微粒大小的前向散射光或侧向散射光)、荧光、以及用于测量结构的瑞利散射或米氏散射。此外,荧光可以是相干荧光或可以是非相干荧光。

[0039] 此外,在 JP-T-2005-538727 中披露的用于基于测量结果进行微粒的分类(分离)的构成元件可以设置在微粒测量装置 1 中。虽然本文略去详细说明,但提供了与样品流体通道 111 连通的用于分离的流体通道,以便在进行分离时从流过样品流体通道 111 的微粒分类和回收具有期望光学特性的微粒。此外,在基板 11 上设置了驱动构件(制动器),用于控制在样品流体通道 111 和用于分离的流体通道之间的连接部分中的微粒的流动方向。基于来自分析部的分离信号,通过控制驱动构件来进行分离。

[0040] 除上述构造之外,根据本发明的实施方式的微粒测量装置 1 还包括光控制部 18,控制将测量光 L_1 发射到样品流体通道 111 的时间。基于检测器 16 输出的电信号,通过控制激光源 12,光控制部 18 控制扫描和照射每个流体通道 111 的测量光 L_1 的发射时间。此外,虽然分析部和光控制部 18 被描述为分开的构件,但不用说,分析部和光控制部 18 可以形成一个构件。

[0041] 图 2 是示出了根据本发明实施方式的基板 11 的构造的示意图(顶视图)。

[0042] 在由符号 11 指示的基板上,以预定距离设置微粒可被引入其中的样品流体通道 111。在图 1 和 2 中,示出了在基板 11 上设置总共 12 个样品流体通道 111 的情况。然而,设置的样品流体通道 111 的数量可以是两个以上的任何数量。

[0043] 基板 11 由允许测量光 L_1 透射通过并对于测量光 L_1 具有低波长色散和小的光学误差的材料形成,如玻璃或各种类型的塑料(PP、PC、COP、PDMS)。

[0044] 当使用玻璃作为基板 11 的材料时,通过湿式蚀刻或干式蚀刻而转印(transfer)流体通道(样品流体通道 111 和后面所要描述的参考流体通道 112)。此外,当使用塑料作为基板 11 的材料时,通过纳米压印或模塑来形成流体通道。因此,可以以预定距离形成具有均匀宽度的流体通道,具有 $5\mu\text{m}$ 或更小误差的精度。

[0045] 将包含待测量微粒的分散溶剂从样品入口 1111(其设置在样品流体通道 111 的一端)引入到每个样品流体通道 111 中。

[0046] 在这种情况下,通过流动系统(未示出),可以将微粒逐一地排列在样品流体通道 111 内。该流动系统被配置为包括:用来发送作为层流的包含微粒的分散溶剂的喷嘴;以及用来仅发送作为层流的溶剂的喷嘴。通过这两个喷嘴,在溶剂层流(鞘流)的中部产生分散溶剂的层流。另外,当发送包含微粒的分散溶剂时,通过将小压力差施加于喷嘴,可以将微粒逐一地排列在层流中。因此,可以通过将测量光 L_1 照射到逐一排列在样品流体通道 111

中部的微粒上来进行光学测量。

[0047] 引入到样品流体通道 111 中的微粒以附图中由箭头 F 所指的方向流过样品流体通道 111, 并在检测区 D (参照附图中的点线) 照射测量光 L_1 。在照射以后, 使微粒在箭头 F 所指的方向进一步流动, 然后从设置在样品流体通道 111 的另一端的样品出口 1112 排出基板 11。

[0048] 通过使扫描部 13 用激光源 12 发射的测量光 L_1 扫描每个样品流体通道 111, 来进行测量光 L_1 的照射 (参照图 1)。在图 2 中, 点箭头 S 指出测量光 L_1 的扫描线。将在假定测量光 L_1 从图 2 中基板 11 的下方向上方扫描的情况下进行说明。此外, 并不需要在扫描线 S 上的一个方向进行扫描, 而可以是以双向 (往返) 方式进行。

[0049] 在基板 11 中, 参考流体通道 112 设置在样品流体通道 111 的外侧, 以使得在测量光 L_1 扫描中可以在适当时间将测量光 L_1 发射到样品流体通道 111。

[0050] 参考流体通道 112 设置在测量光 L_1 的扫描方向 S 上的样品流体通道 111 的两端, 并且每个参考流体通道 112 和与其相邻的样品流体通道 111 之间的排列距离等于样品流体通道 111 之间的预定距离。

[0051] 将用于参考的微粒和 / 或用于参考的荧光物质引入到参考流体通道 112 中。用于参考的微粒和用于参考的荧光物质并没有特别限制, 只要当照射测量光 L_1 时它们可以改变测量光 L_1 的光学特性, 并且可以使用通常使用的微珠或荧光染料。这里, “光学特性的变化” 包括由测量光 L_1 的漫射、衍射、偏转、吸收等引起的波长变化、偏转变化、以及强度变化。在广义上, “光学特性的变化” 进一步包括照射光被吸收以发射具有不同波长的荧光的变化。

[0052] 例如, 当微珠作为用于参考的微粒被引入到参考流体通道 112 中时, 测量光 L_1 的光学特性会由于微珠引起的漫射而发生变化。此外, 当具有作为激发波长的测量光 L_1 的波长的荧光物质作为用于参考的荧光物质被引入到参考流体通道 112 中时, 通过测量光 L_1 的照射产生具有不同波长 (发射波长) 的荧光。

[0053] 将包含用于参考的微粒的分散溶剂或 / 和包含用于参考的荧光物质的溶液从设置在参考流体通道 112 的一端的参考物质入口 1121 引入到参考流体通道 112 中。通过设置在另一端的参考物质出口 (未示出) 排出送到基板 11 外侧的溶剂或溶液, 可以在测量期间连续地进行上述引入。此外, 如图 2 所示, 可以封闭参考流体通道 112 的另一端并且可以一次性注入和填充溶剂或溶液。

[0054] 此外, 可以预先将用于参考的微粒和用于参考的荧光物质引入到参考流体通道 112 中。例如, 在制造基板 11 时, 可以将用于参考的微粒和用于参考的荧光物质填充到参考流体通道 112 内, 而无需设置参考物质入口 1121。此外, 可以使用单种物质或多种物质组合作为各个用于参考的微粒和用于参考的荧光物质, 并且用于参考的微粒和用于参考的荧光物质两者均可以被引入到参考流体通道 112 中。

[0055] 这样的由用于参考的微粒或 / 和用于参考的荧光物质引起的测量光 L_1 的光学特性的变化可以通过与用于待检测光 L_2 相同的检测系统加以检测, 其中待检测光 L_2 由样品流体通道 111 中的微粒产生。

[0056] 具体地说, 通过将测量光 L_1 照射到用于参考的微粒或 / 和用于参考的荧光物质上所产生的光通过物镜 14 聚光, 穿过扫描部 13 和分光计 17, 通过检测器 16 加以检测, 并被转换成电信号 (参照图 1)。

[0057] 然后,通过接收电信号的输出、检测测量光 L_1 的光学特性的变化、以及控制激光源 12,光控制部 18 控制测量光 L_1 对样品流体通道 111 的发射时间。

[0058] 根据所要使用的用于参考的微粒和用于参考的荧光物质,对作为用于检测光学特性变化的参数的波长、偏转角、强度等进行设置。例如,在上述实例中检测由微珠引起的漫射,其中微珠用作用于参考的微粒。此外,在使用用于参考的荧光物质的情况下,进行对应于发射波长的荧光的检测。

[0059] 在下文中,将对利用光控制部 18 来控制测量光 L_1 的发射时间进行具体地描述。

[0060] 图 3 是示意性地示出了基板 11 的检测区 D 的放大图(顶视图)。

[0061] 在该附图中,符号 L_1 表示在样品流体通道 111(反应区 D)的成像表面上的测量光 L_1 的激光光斑。测量光 L_1 从附图中的下侧向上在扫描线 S 上扫描,并照射到参考流体通道 112、各个样品流体通道 111、以及参考流体通道 112。

[0062] 以图中符号 1 所表示的预定距离来排列样品流体通道 111 和参考流体通道 112。

[0063] 将用于参考的微粒或 / 和用于参考的荧光物质引入到参考流体通道 112 中,并且当测量光 L_1 被照射到参考流体通道 112 时,用于参考的微粒或 / 和用于参考的荧光物质会改变测量光 L_1 的光学特性。

[0064] 光控制部 18 根据检测器 16 输出的电信号检测出光学特性的变化,从而计算在两参考流体通道 112 之间测量光 L_1 扫描所需要的时间 T。

[0065] 具体地说,假定当由一个参考流体通道 112 引起的光学特性变化被检出时的时间是时间 0,则获得直到由另一个参考流体通道 112 引起的光学特性变化被检出的时间 T。在图 3 中,当由位于附图下侧的参考流体通道引起的光学特性变化被检出时的时间是时间 0,而当由上部参考流体通道引起的相同变化被检出时的时间是时间 T。

[0066] 然后,利用获得的时间 T 基于下式 (1),光控制部 18 计算测量光 L_1 的发射时间。

[0067] $t_k = 0 + k \times T / (m+1) \dots (1)$

[0068] 这里,“m”表示样品流体通道 111 的数量,而“ t_k ”表示第 k 次照射样品流体通道 111 的测量光 L_1 对样品流体通道 111 的发射时间。此外,根据待使用的基板 11,样品流体通道 111 的数量 m 可以预先设置和存储在测量装置 1 的光控制部 18 中。

[0069] 具体地说,在图 3 中(样品流体通道 111 的数量 m 是 12),从位于附图下侧的样品流体通道 111 开始顺序地在时间 $T/13$ 、 $2T/13$ 、 $3T/13$ 、 $4T/13$ 、 $5T/13$ 、 $6T/13$ 、 $7T/13$ 、 $8T/13$ 、 $9T/13$ 、 $10T/13$ 、 $11T/13$ 、以及 $12T/13$ 发射测量光 L_1 。在各个时间测量光 L_1 的发射时间非常短,例如,约 $1 \mu s$ 。

[0070] 如上所述,由于样品流体通道 111 和参考流体通道 112 以预定的相等距离 1 排列,因此每个计算的时间可以看作是测量光 L_1 的激光点的中心与每个样品流体通道 111 在其宽度方向的中央一致的时间。

[0071] 因此,通过定时发射测量光 L_1 ,测量光 L_1 可以在适当的时间照射到每个样品流体通道 111,而在激光光斑位于槽脊(基板的流体通道之间的区域)的情况下或在激光光斑的中心偏离样品流体通道 111 的中央的情况下无需进行不必要的测量光 L_1 照射。

[0072] 因此,在根据本发明的实施方式的微粒测量装置 1 中,通过检测由设置在基板上的参考流体通道引起的测量光 L_1 的光学特性变化,可以控制测量光 L_1 对每个样品流体通道 111 的发射时间。因此,即使连接于微粒测量装置 1 的基板 11 的位置偏离,通过在适当的时

间用测量光 L_1 照射每个样品流体通道 111, 仍然可以获得高测量精度。

[0073] 图 4 示出了样品流体通道 111 和参考流体通道 112 以倾斜于测量光 L_1 的扫描线 S 而没有成直角交叉状态附着的基板 11。图 4 是示意性地示出了检测区 D 的放大图。

[0074] 如上所述, 通过蚀刻、纳米压印等, 可以以相等距离在基板上形成流体通道, 具有 $5\mu\text{m}$ 或更小误差的精度。为此, 只要使用设计成具有相同大小、相同宽度或数量的流体通道等的基板, 就可以唯一地确定测量光对基板上的样品流体通道的照射时间。然而, 在这种情况下, 当如图 4 所示, 基板的连接位置发生偏离时, 测量光不可能在适当的时间照射到样品流体通道。因此, 不可能获得精确的测量结果。

[0075] 另一方面, 在根据本发明实施方式的微粒测量装置 1 中, 即使样品流体通道 111 和参考流体通道 112 以偏离垂直方向或倾斜于扫描线 S (如图 4 所示), 通过基于在参考流体通道 112 之间扫描测量光 L_1 所需要的时间 T 计算测量光 L_1 的发射时间, 仍然可以在适当的时间照射测量光 L_1 。

[0076] 此外, 在根据本发明实施方式的微粒测量装置 1 中, 在激光光斑位于槽脊的情况下或在激光光斑的中心偏离样品流体通道 111 的中央的情况下, 并不照射不必要的测量光 L_1 。因此, 当通过将多个测量光束照射到样品流体通道 111 来进行测量时, 通过抑制光束之间的干涉 (串扰), 可以获得高测量灵敏度。

[0077] 图 5 是示意性地示出了在通过将多个测量光束照射到样品流体通道 111 进行测量时的检测区 D 的放大图。在该附图中, 符号 L_1 、 L_{1-2} 以及 L_{1-3} 表示在样品流体通道 111 (反应区 D) 的成像表面上的每个测量光的激光光斑。

[0078] 例如, 在测量由多种荧光染料标记的微粒的荧光特性的情况下, 通过利用多个激光光源将多个测量光束照射到微粒上, 其中激光光源发射波长对应于各种荧光染料的激发波长的光。虽然图 5 示出了使用三种测量光束 L_1 、 L_{1-2} 以及 L_{1-3} 的情况, 但可以根据需要任意设定测量光束的数量。例如, 测量光束 L_1 、 L_{1-2} 以及 L_{1-3} 可以分别具有 405nm、473nm 以及 658nm 的波长。

[0079] 测量光束 L_1 、 L_{1-2} 以及 L_{1-3} 分别通过扫描线 S_1 、 S_2 以及 S_3 扫描, 并且将测量光束照射到样品流体通道 111。借助于图 1 所示的扫描来自每个激光光源的光的扫描部 13, 可以连同测量光束 L_1 一起扫描测量光束 L_{1-2} 和 L_{1-3} 。可替换地, 可以通过分开的设置用于测量光束 L_{1-2} 和 L_{1-3} 的扫描部来扫描测量光束 L_{1-2} 和 L_{1-3} 。为了使装置的构造简单, 优选通过同一扫描部一起扫描测量光束 L_1 、 L_{1-2} 以及 L_{1-3} 。

[0080] 在如上所述的通过扫描三个测量光束 L_1 、 L_{1-2} 以及 L_{1-3} 来进行测量的情况下, 当通过照射各种测量光而同时由不同样品流体通道 111 产生待检测的光束时, 由于待检测的光束之间的串扰可能会产生噪声。这可能会降低测量灵敏度。

[0081] 例如, 在从图 5 所示的位置扫描测量光束 L_1 、 L_{1-2} 以及 L_{1-3} 的情况下, 发射所有测量光束 L_1 、 L_{1-2} 以及 L_{1-3} 时, 待检测的光束 L_2 、 L_{2-2} 以及 L_{2-3} 分别通过在样品流体通道 111 中的微粒照射测量光束而产生。因此, 会发生待测量的光束之间的串扰。

[0082] 为了避免串扰, 由每个样品流体通道 111 产生的待检测光需要通过单独的检测器加以检测。然而, 在这种情况下, 由于装置的构造变得复杂, 因此会出现制造成本方面的问题。

[0083] 因此, 只要待检测的光可以由微粒产生并且所产生的待检测光可以加以检测, 则

优选通过缩短每个测量光束 L_1 、 L_{1-2} 以及 L_{1-3} 的发射时间来避免待测量的光束同时由不同的样品流体通道 111 产生。

[0084] 在根据本发明实施方式的微粒测量装置 1 中,当测量光的激光光斑的中心与每个样品流体通道 111 在其宽度方向的中央一致时,则发射测量光。例如,在图 5 中,仅发射测量光束 L_1 ,其激光光斑的中心位于样品流体通道 111 在宽度方向的中央,而不发射测量光束 L_{1-2} 和 L_{1-3} ,其激光光斑的中心偏离样品流体通道 111 的中央。

[0085] 因此,在微粒测量装置 1 中,可以避免待测量的光束同时由不同的样品流体通道 111 产生并且抑制待测量的光束之间串扰的发生。因此,可以获得高测量灵敏度。

[0086] 另外,在通过分开设置的扫描部扫描具有不同波长的测量光束 L_1 、 L_{1-2} 以及 L_{1-3} 的情况下,必须将用于参考的微粒或 / 和用于参考的荧光物质(其可以引起每种波长的不同的光学特性变化)引入到参考流体通道 112 中,以便在光控制部 18 中分别检测每个测量光束的特性变化,并控制每个发射时间。

[0087] 图 6 是示意性地示出了根据另一个实施方式的基板 11 的检测区 D 的放大图(顶视图)。

[0088] 在图 6 中,符号 L_1 表示在样品流体通道 111(反应区 D)上的成像表面上的测量光 L_1 的激光光斑。类似于图 3,以由附图中的符号 1 所表示的预定距离来排列样品流体通道 111 和参考流体通道 112。

[0089] 然而,在图 6 中,参考流体通道 112 在测量光 L_1 的扫描方向 S 被设置在样品流体通道 111 的一侧,以致彼此相邻。

[0090] 在这种情况下,利用获得的时间 T,基于下式(2),光控制部 18 计算测量光 L_1 的发射时间。

[0091]
$$t_k = 0 + (k+1) \times T / (m+1) \dots (2)$$

[0092] 这里,“m”表示样品流体通道 111 的数量,而“ t_k ”表示第 k 次照射样品流体通道 111 的测量光 L_1 对样品流体通道 111 的发射时间。

[0093] 如前所述,在利用来自检测器 16 的电信号,光控制部 18 检测和计算由参考流体通道 112 引起的光学特性变化的情况下,假定当由一个参考流体通道 112 引起的光学特性变化被检出时的时间是时间 0,则时间 T 表示直到由另一个参考流体通道 112 引起的光学特性变化被检出的时间。即,时间 T 相当于在参考流体通道 112 之间测量光 L_1 被扫描所需要的时间。

[0094] 具体地说,在图 6 中(样品流体通道 111 的数量 m 是 12),将测量光 L_1 发射到每个样品流体通道 111 时的时间从位于附图下侧的样品流体通道 111 开始依次为时间 $2T/13$ 、 $3T/13$ 、 $4T/13$ 、 $5T/13$ 、 $6T/13$ 、 $7T/13$ 、 $8T/13$ 、 $9T/13$ 、 $10T/13$ 、 $11T/13$ 、 $12T/13$ 、以及 $13T/13$ 。

[0095] 因此,在参考流体通道 112 沿着测量光 L_1 的扫描方向 S 以预定距离 1 排列的条件下,可以任意设定参考流体通道 112 的排列位置。在这种情况下,通过根据参考流体通道 112 的排列位置适当的更改发射时间的计算公式(式(1)和(2)),则当测量光 L_1 的激光光斑的中心与每个样品流体通道 111 在宽度方向的中央一致时可以发射测量光 L_1 。

[0096] 此外,参考流体通道 112 的数量并不总是需要为两个。例如,也可以使用三个以上的参考流体通道 112。同样在这种情况下,发射时间的计算公式(式(1)和(2))优选根据参考流体通道 112 的排列位置和数量进行更改。

[0097] 图 7 是示出了根据另一个实施方式的基板 11 的构造的示意图（顶视图）。图 8 是示意性地示出了基板 11 的检测区 D 的放大图（顶视图）。

[0098] 类似于图 2, 样品流体通道 111 以预定距离 1 设置在由符号 11 表示的基板上（参照图 8）。将微粒引入到样品流体通道 111 中的方法、测量光 L_1 的扫描方向 S 等类似于图 2 中描述的那些。

[0099] 然而, 在图 7 中, 代替参考流体通道 112, 参考区域 113 设置在样品流体通道 111 的外侧, 作为一种用于在扫描测量光 L_1 时在适当时间将测量光 L_1 发射到各个样品流体通道 111 的构造。

[0100] 将参考区域 113 设置在测量光 L_1 的扫描方向 S 上的样品流体通道 111 的两侧, 并且在每个参考区域 113 和与其相邻的样品流体通道 111 之间的排列距离等于样品流体通道 111 之间的预定距离 1 (参照图 8)。

[0101] 类似于参考流体通道 112, 参考区域 113 是这样的区域, 其中通过照射测量光 L_1 , 不仅可以发生由测量光 L_1 的漫射、衍射、偏转、吸收等引起的波长变化、偏转变化以及强度变化, 而且可以发生照射光被吸收从而发射具有不同波长的荧光的变化。

[0102] 这样的可以引起测量光 L_1 的光学特性变化的区域可以通过在基板 11 的表面上固定能够漫射、衍射、偏转以及吸收测量光 L_1 的物质而形成。例如, 该区域可以通过使用以下方法来形成: 通过溅射或气相沉积来形成金属膜或介电膜, 或固定荧光物质或着色物质。

[0103] 可替换地, 该区域还可以通过基板 11 表面的精细结构来形成。该精细结构通过基板表面的细槽 (fine groove) 或槽埋置 (pitembedding) 而形成。在这种情况下, 通过使分开设置的扫描部扫描多个具有不同波长的测量光束来进行测量是有用的, 如图 5 中详细描述, 因为测量光产生对应于波长的不同的反射角或传输衍射角, 从而可以单独地检测每个测量光束的特性变化。

[0104] 还可以通过图案化来形成金属膜、介电膜以及精细结构。因此, 即使芯片不干净, 仍然可以获得多个信号图象 (signal pattern), 因为设置了多个图象。因此, 用于光盘等的纠错变成可能, 或可以代替能够规定更精确的位置的地址。

[0105] 在参考区域 113 沿着测量光 L_1 的扫描方向 S 以预定距离 1 排列的条件下, 可以任意地设定参考区域 113 的排列位置和数量, 这类似于针对参考流体通道 112 所描述的。在这种情况下, 根据排列位置和数量, 通过适当更改发射时间的计算公式 (式 (1) 和 (2)), 可以在适当的时间发射测量光 L_1 。

[0106] 接着, 基于图 9 所示的流程图同时参照图 3 的实例, 将描述利用光控制部 18 的测量光 L_1 的发射时间的控制步骤。

[0107] 首先, 在开始测量以后的第一次扫描中, 扫描测量光 L_1 以获得测量光 L_1 的照射时间 (步骤 1a)。在这种情况下, 优选的是, 不检测通过测量光 L_1 的照射由微粒产生的待检测光 L_2 。

[0108] 在该第一次扫描 (步骤 1a) 中, 光控制部 18 连续地发射测量光 L_1 。因此, 以参考流体通道 112、各个样品流体通道 111、以及参考流体通道 112 的次序 (从图 3 的下侧向上) 顺序地照射测量光 L_1 。

[0109] 光控制部 18 检测由测量光 L_1 照射到参考流体通道 112 所引起的测量光 L_1 的光学特性变化, 并获得在参考流体通道 112 之间扫描测量光 L_1 所需要的时间 T_1 。在图 3 中, 假

定由下部参考流体通道 112 引起的光学特性变化被检出时的时间是时间 0, 由上部参考流体通道 112 引起的相同变化被检出时的时间是时间 T_1 。

[0110] 然后, 在步骤 1b 中, 利用获得的时间 T_1 , 基于下式 (1), 光控制部 18 计算测量光 L_1 的发射时间。

[0111] $t_k = 0 + k \times T / (m+1) \dots (1)$

[0112] 这里, “m” 表示样品流体通道 111 的数量, 而 “tk” 表示第 k 次照射样品流体通道 111 的测量光 L_1 对样品流体通道 111 的发射时间。

[0113] 然后, 在第二次扫描中, 通过新设定光学特性变化 (其由位于图 3 下侧的参考流体通道 112 所引起) 被检测时的时间为时间 0, 光控制部 18 使测量光 L_1 在各个获得的时间进行发射 (步骤 2a)。

[0114] 具体地说, 在图 3 中 (样品流体通道 111 的数量 m 是 12), 从下部样品流体通道 111 开始顺序地在时间 $T_1/13$ 、 $2T_1/13$ 、 $3T_1/13$ 、 $4T_1/13$ 、 $5T_1/13$ 、 $6T_1/13$ 、 $7T_1/13$ 、 $8T_1/13$ 、 $9T_1/13$ 、 $10T_1/13$ 、 $11T_1/13$ 、以及 $12T_1/13$ 发射测量光 L_1 。因此, 在各个样品流体通道 111 进行微粒的测量。

[0115] 为了获得在第二次扫描中的时间 0, 在第一次扫描结束以后, 在第二次扫描开始时, 光控制部 18 保持发射测量光 L_1 。然后, 在将测量光 L_1 照射到下部参考流体通道 112 并检测光学特性变化从而获得时间 0 以后, 通过仅在各个上述时间发射测量光 L_1 , 光控制部 18 进行第二次扫描。

[0116] 此外, 光控制部 18 在第二次扫描中获得测量光 L_1 在参考流体通道 112 之间扫描所需要的时间 T_2 (步骤 2a)。

[0117] 为此, 在时间 $12T_1/13$ 发射测量光 L_1 到最后的样品流体通道 111 以后, 光控制部 18 保持发射测量光 L_1 。因此, 光控制部 18 检测当测量光 L_1 照射到上部参考流体通道 112 时发生的光学特性变化, 并获得时间 T_2 。

[0118] 随后, 基于在第 (N-1) 次扫描中获得的时间 T_{N-1} (步骤 (N-1)a), 光控制部 18 类似地计算用于第 N 次扫描的测量光 L_1 的发射时间 (步骤 (N-1)b), 并根据计算的发射时间进行第 N 次扫描 (步骤 Na)。

[0119] 因此, 在微粒测量装置 1 中, 通过控制每次扫描的测量光 L_1 的发射时间, 每当测量光 L_1 的激光光斑的中心与各个样品流体通道 111 在宽度方向的中央一致时, 发射测量光 L_1 , 从而可以进行扫描。

[0120] 在测量光 L_1 的扫描周期中发生偏离的情况下, 这是特别有效的。如上文对图 1 的描述, 通过扫描部 13 用测量光 L_1 扫描样品流体通道 111, 其中扫描部 13 包括二向色镜或多面镜、电流镜、声光元件、电光元件等, 并设置在从激光源 12 发射的测量光 L_1 的光路中。在二向色镜的情况下, 可以以约 1kHz 的周期进行扫描, 而在 24 面体多面镜的情况下, 则可以以约 20kHz 的周期进行扫描。由于驱动装置的不稳定性, 即使可以高精度地控制每个扫描周期, 但技术上也难以保持完美的固定周期。

[0121] 因此, 在预先设定的发射时间 (作为固定值) 将测量光 L_1 照射到各个样品流体通道 111 的情况下, 当在测量过程中在扫描部 13 的扫描周期发生偏离时, 在不适当的时间发射测量光 L_1 (当测量光 L_1 的激光光斑位于槽脊 (基板的流体通道之间的区域) 或位于偏离样品流体通道 111 中央的位置时), 因此不可能获得精确的测量结果。

[0122] 另一方面,在根据本发明实施方式的微粒测量装置 1 中,基于在第 (N-1) 次扫描中获得的时间 T_{N-1} ,光控制部 18 在 N 次扫描中控制测量光 L_1 对各个样品流体通道 111 的发射时间。因此,即使在测量过程中扫描部 13 的扫描周期发生偏离,在测量光 L_1 的激光光斑的中心与各个样品流体通道 111 在宽度方向的中央一致的条件下,总是可以发射测量光 L_1 。因此,可以获得精确的测量结果。

[0123] 作为一个实例,虽然已利用示于图 3 的基板 11 描述了利用光控制部 18 的测量光 L_1 发射时间的控制步骤,但相同的控制也可以在图 6 所示的根据另一实施方式的基板 11 上进行。

[0124] 根据本发明实施方式的微粒测量方法可以用于诸如细胞、微生物以及脂质体的生物微粒,或诸如胶乳颗粒、凝胶颗粒以及工业颗粒的合成颗粒的光学测量。

[0125] 本领域的普通技术人员应当理解,可以根据设计要求和其它因素进行各种变更、组合、子组合以及变化,只要它们在所附权利要求书的范围内或其等同范围内。

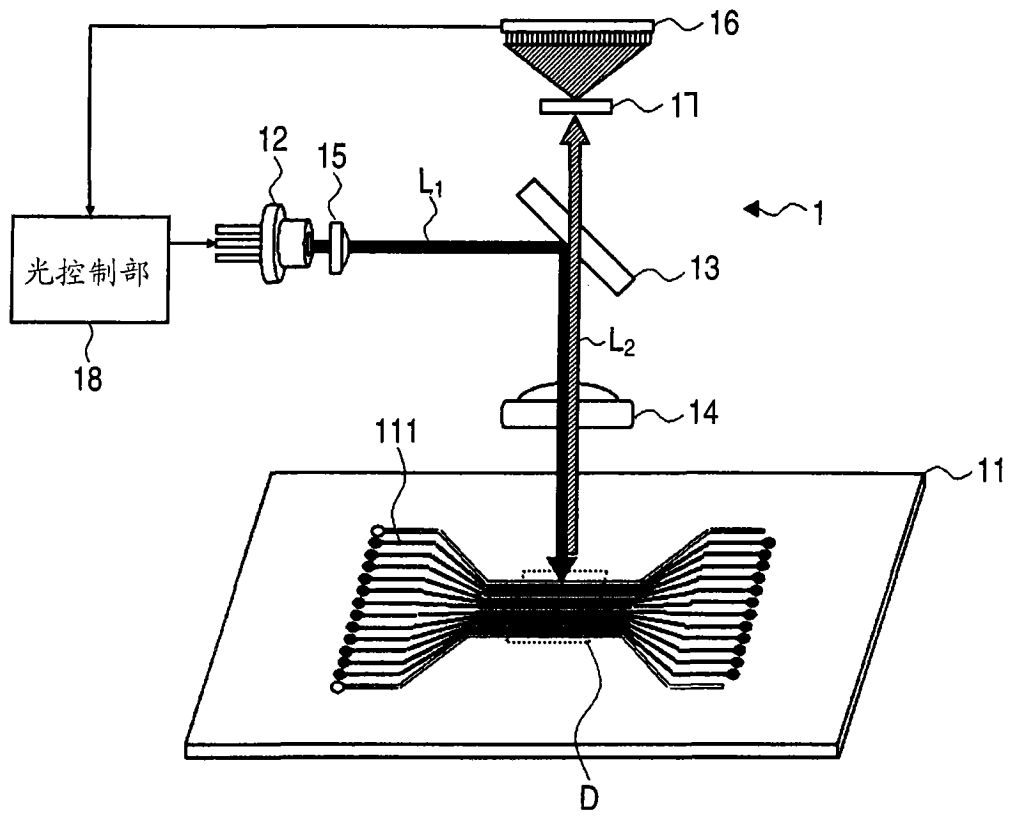


图 1

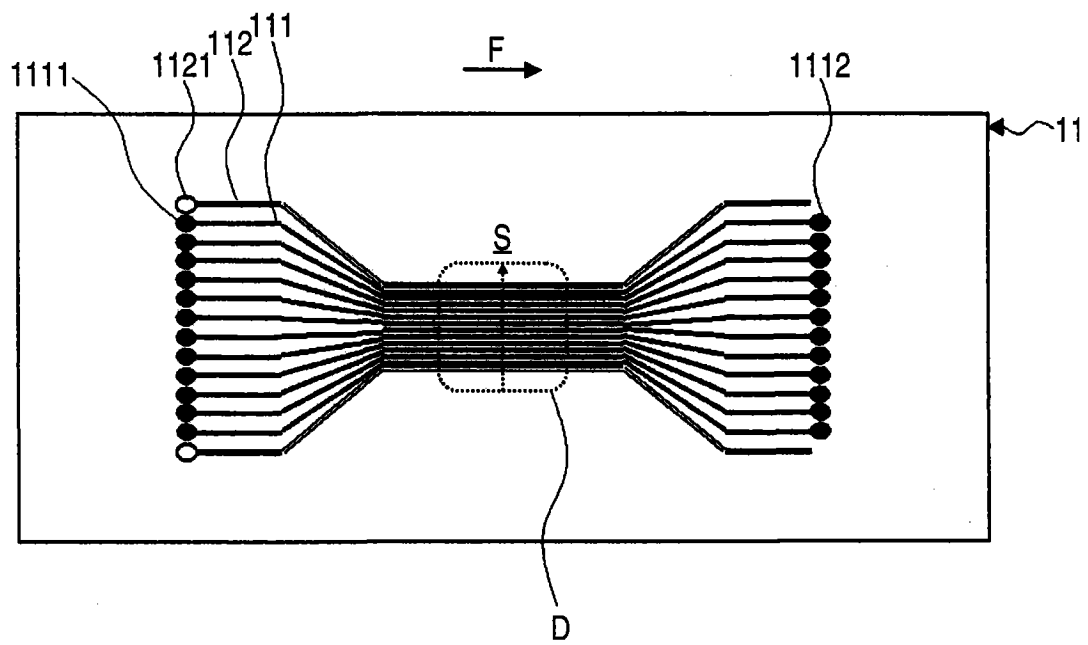


图 2

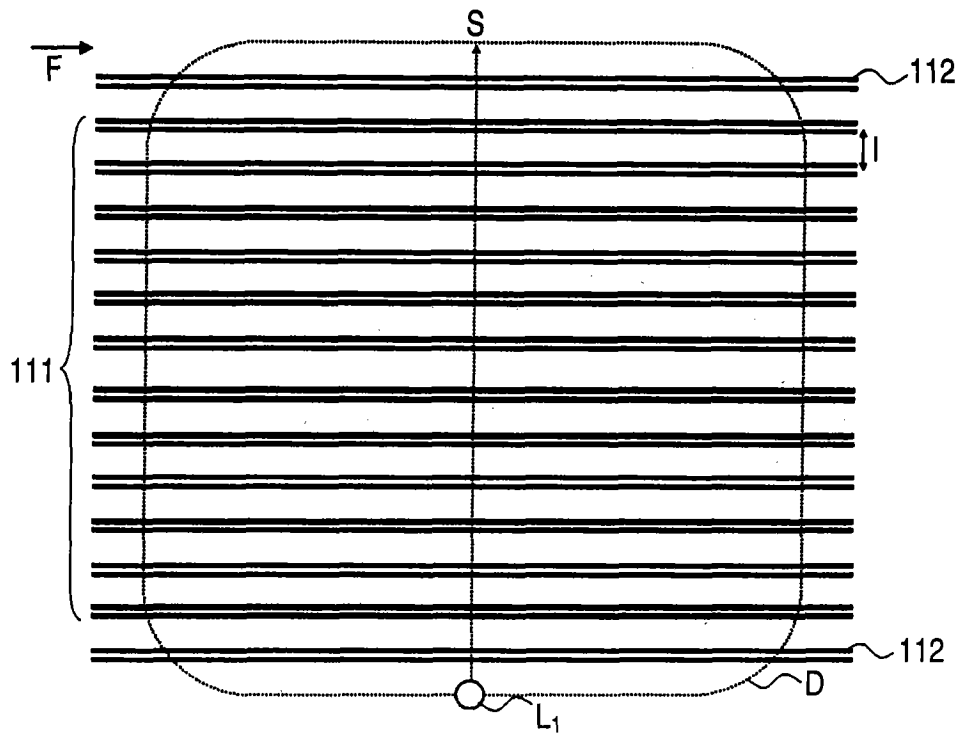


图 3

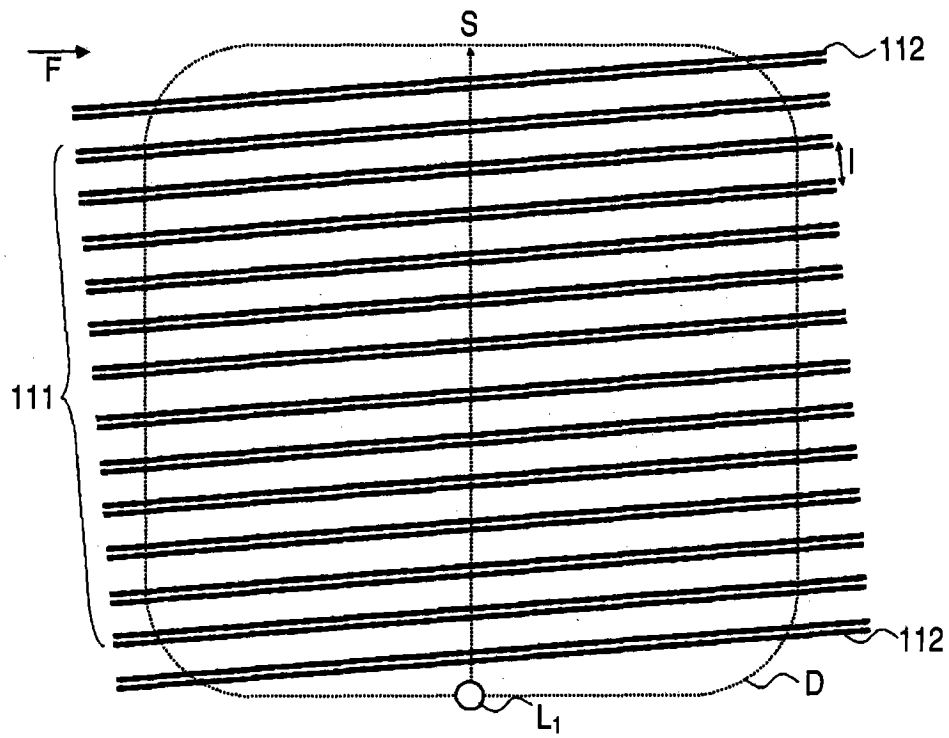


图 4

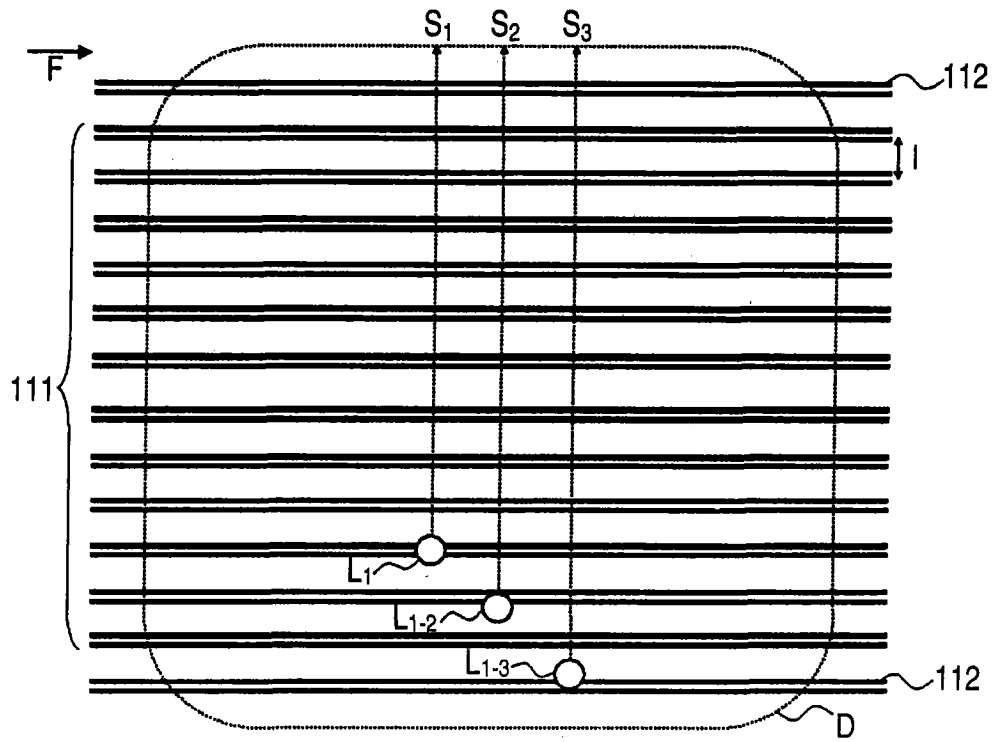


图 5

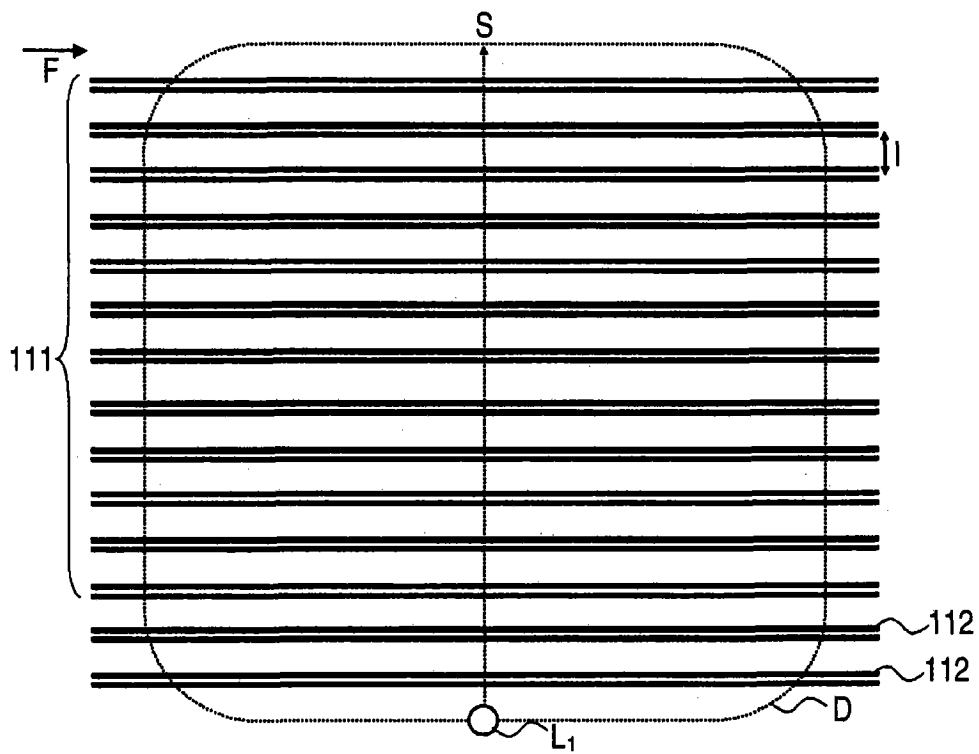


图 6

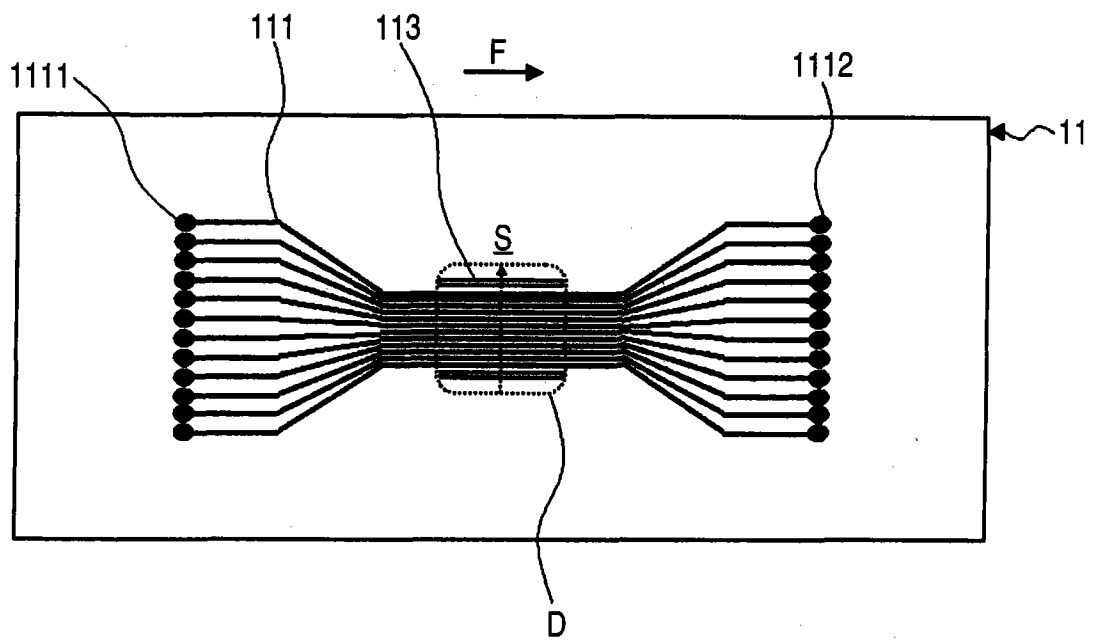


图 7

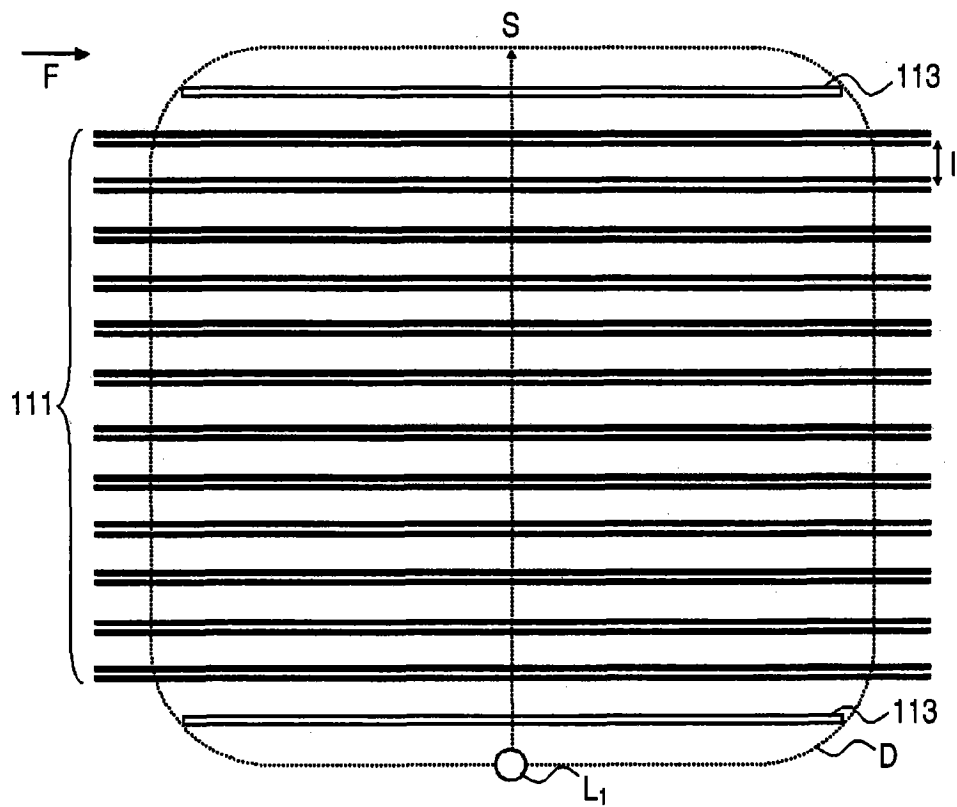


图 8

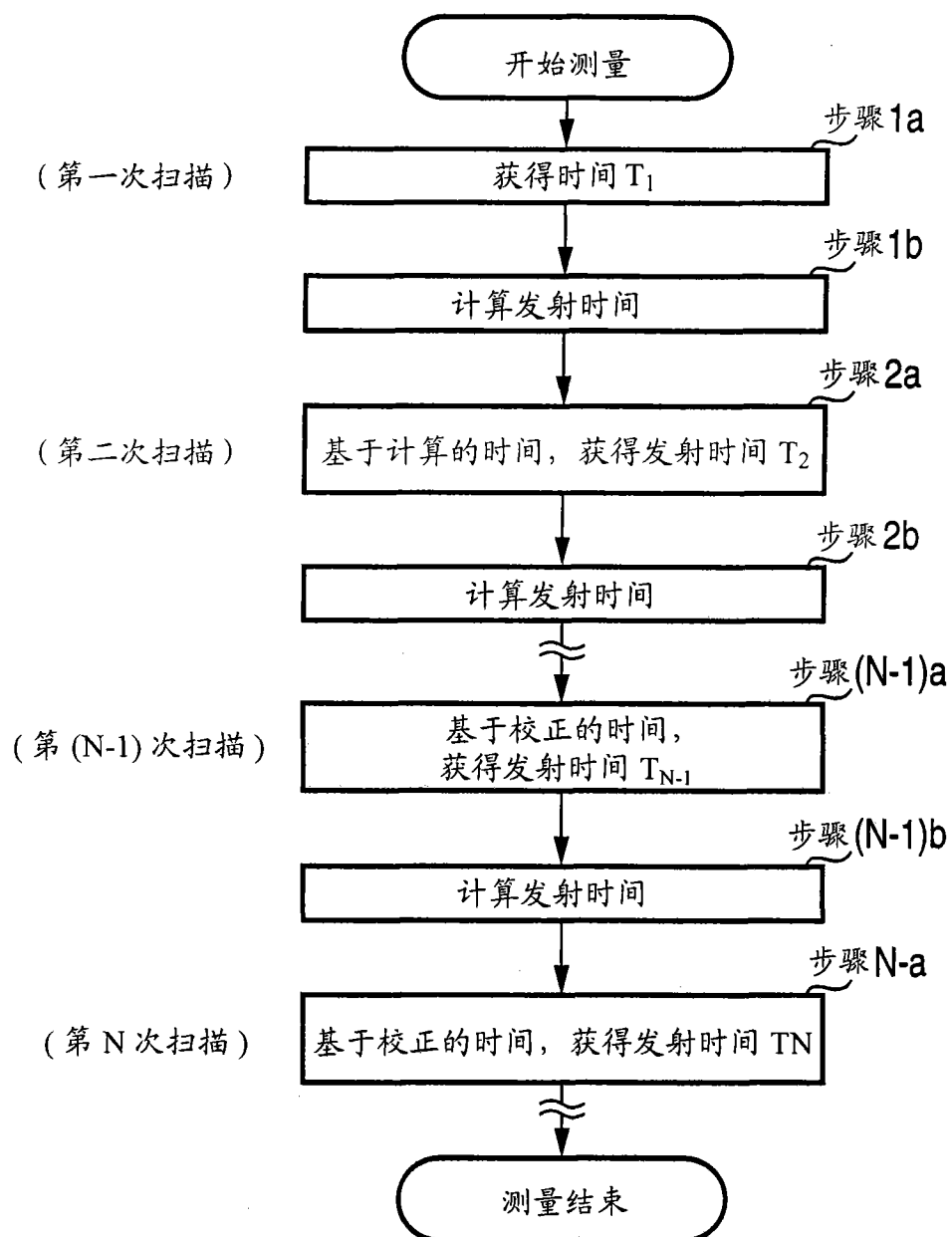


图 9