

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2013 年 9 月 26 日(26.09.2013)



(10) 国際公開番号
WO 2013/140924 A1

- (51) 国際特許分類:
G02B 21/00 (2006.01) *G02B 21/02* (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/054144
- (22) 国際出願日: 2013 年 2 月 20 日(20.02.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2012-063445 2012 年 3 月 21 日(21.03.2012) JP
- (71) 出願人: シャープ株式会社(SHARP KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒5458522 大阪府大阪市阿倍野区長池町 2 2 番 2 2 号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 渡邊 由紀夫(WATANABE, Yukio).
- (74) 代理人: 米津 潔, 外(YONETSU, Kiyoshi et al.); 〒5458522 大阪府大阪市阿倍野区長池町 2 2 番 2 2 号 シャープ株式会社内 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,

BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

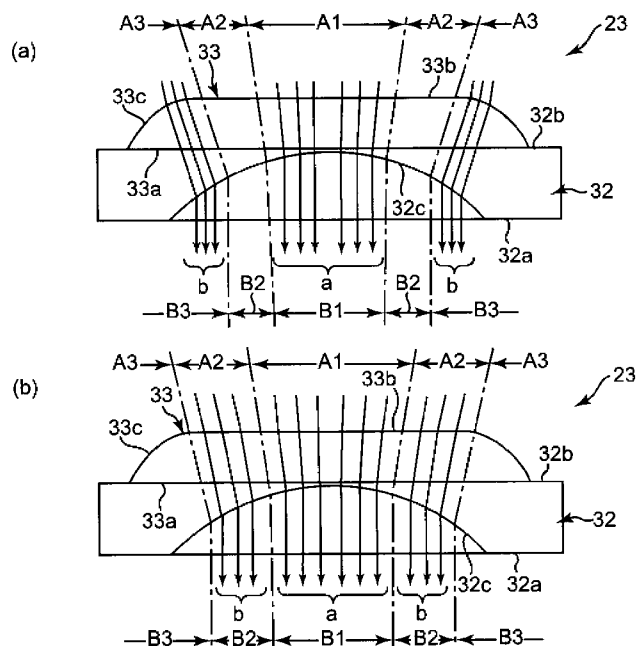
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーロピア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ユーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: OPTICAL UNIT, FLUORESCENCE DETECTION DEVICE, AND FLUORESCENCE DETECTION METHOD

(54) 発明の名称: 光学ユニット、蛍光検出装置、および、蛍光検出方法



(57) Abstract: By the present invention, even when the distance from an objective lens to a sample varies, the distribution of light from the sample can be detected with good precision. A first lens (23) for forming light from an objective lens into a parallel beam is configured from a concave lens part (32) in which a concave surface (32c) is formed at the center of a flat surface (32a), and a convex lens part (33) in which a convex surface (33c) is formed on the periphery of a flat surface (33b). First and second regions for causing light to diverge through the flat surface (33b) and the concave surface (32c), and a third region for focusing light through the convex surface (33c) and the concave surface (32c) are furthermore provided. When a sample is sealed in a substrate for two-dimensional electrophoresis and mounted on a sample stage, light that is totally reflected by a lateral surface of the objective lens is incident on the second region, and when the sample is mounted directly on the sample stage, the light is incident on the third region. As a result, in any case, light beams of light (d) emitted from the first lens (23) are substantially parallel to each other and also substantially

parallel to the optical axis.

(57) 要約:

[続葉有]



対物レンズからサンプルまでの距離が異なっても上記サンプルからの光の分布を精度良く検出可能にする。対物レンズからの光を平行光にする第1レンズ23を、平面32aの中心部に凹曲面32cが形成された凹レンズ部32と、平面33bの周囲に凸曲面33cが形成された凸レンズ部33とで構成する。さらに、平面33bと凹曲面32cとを通過して光を発散させる第1,第2領域と、凸曲面33cと凹曲面32cとを通過して光を集光させる第3領域とを設ける。そして、サンプルを二次元電気泳動用基板中に封入してサンプル台に載置した場合は、上記対物レンズの側面で全反射された光を第2領域に入射させる一方、サンプルをサンプル台上に直接載置した場合は、上記光を第3領域に入射させる。その結果、何れの場合にも、第1レンズ23から出射される光dの各光線は、互いに略平行であって且つ光軸に対しても略平行になる。

明 細 書

発明の名称：

光学ユニット、蛍光検出装置、および、蛍光検出方法

技術分野

[0001] この発明は、光学ユニット、この光学ユニットを備えた蛍光検出装置、および、上記光学ユニットを用いた蛍光検出方法に関する。

背景技術

[0002] 従来より、生化学分野や分子生物学分野において、蛍光色素を標識物質として利用した蛍光検出システムが広く用いられている。この蛍光検出システムを用いることによって、遺伝子配列、遺伝子の変異・多型解析、タンパク質の分離および同定等の評価を行うことができ、薬等の開発に利用されている。

[0003] 上述のような蛍光標識を利用した評価方法としては、電気泳動によってタンパク質等の生物学的化合物をゲル内に分布させ、その生物学的化合物の分布を蛍光検出により取得するという方法がよく用いられている。上記電気泳動では、緩衝液等の溶液中に電極を設置しておき、直流電流を流すことによって上記溶液中に電場勾配を生じさせる。このとき、上記溶液中に電荷を有するタンパク質やDNA(Deoxyribonucleic acid:デオキシリボ核酸)やRNA(ribo nucleic acid:リボ核酸)がある場合に、プラス電荷を有する分子は陰極に、マイナス電荷を有する分子は陽極に引き寄せられ、生体分子の分離を行うことができる。

[0004] 上記電気泳動を用いた評価方法の一つである二次元電気泳動は、2種類の電気泳動法を組み合わせることによって、ゲル内に生体分子を2次的に分布させる評価方法であり、プロテオーム解析を行う上で最も有効な方法であると考えられている。

[0005] 上記電気泳動の組み合わせとしては、例えば、一次元目としての「個々のタンパク質の等電点の違いを利用する等電点電気泳動」と、二次元目として

の「タンパク質の分子量で分離を行う SDS - PAGE (ドデシル硫酸ナトリウム - ポリアクリルアミドゲル電気泳動)」との 2 種類が主に用いられる。こうして分離された上記生体分子としてのタンパク質に対して、蛍光色素は電気泳動前あるいは電気泳動後に付与される。

[0006] さらに、上述のようにして作製された上記生体分子(タンパク質)が二次元的に分布されたゲル支持体に励起光を照射し、発生した蛍光強度を取得して、それに基づいて蛍光分布(タンパク質分布)画像を表示させる画像読取装置が、生化学や分子生物学の分野で広く普及している。

[0007] また、上記生体分子の二次元分布を保持する方法としては、上記ゲル内に保持するだけでなく、上記ゲル内にタンパク質を分離させた後に、電気泳動や毛細管現象を利用して上記ゲルからメンブレンに転写させる方法も行われる。その場合には、上記ゲル支持体を用いた画像読取の場合と同様に、上記メンブレンである転写支持体上の蛍光分布を画像読取装置によって画像化することができる。

[0008] 上述したような生体分子が二次元的に分布されたゲル支持体や転写支持体から生体分子分布画像を読み取る画像読取装置として、特開平 10 - 3134 号公報(特許文献 1)に開示された画像読み取り装置がある。

[0009] 上記従来の画像読み取り装置では、中央部に孔が形成されたミラーを主走査方向に移動される光学ヘッドに搭載し、蛍光物質によって標識された変性 DNA の電気泳動が記録された転写支持体に対して、光源からの上記蛍光物質の波長に応じた波長のレーザ光(励起光)を上記ミラーの孔を通過させて照射する。そして、上記転写支持体中の蛍光色素が励起されて発せられた蛍光が上記ミラーの上記孔の周囲で反射され、マルチプライヤによって光電変換されて検出される。こうして、ラインバッファに、1 ライン分の画像データが記憶される。以下、上記主走査方向に直交する副走査方向に上記光学ヘッドを移動させながら上記動作を繰り返すことにより、画像処理装置によって二次元の可視画像(蛍光画像)を得るようにしている。

[0010] 上述のように、上記従来の画像読み取り装置においては、ダイクロイック

ミラーを用いることなく励起光を転写支持体に照射するため、ダイクロイックミラーを通して励起光を照射する方式に比して、強い励起エネルギーを上記転写支持体に付与することができ、光電検出される信号(画像情報)のS/Nを向上できる。

[0011] しかしながら、微弱な蛍光を検出するに当たっては、さらなるS/Nの向上が求められる。そこで、上記従来の画像読み取り装置よりもさらに検出信号のS/Nを向上させた光学式ヘッド方式の画像読取装置として、特開2000-162126号公報(特許文献2)に開示された画像情報読取装置がある。

[0012] この画像情報読取装置においては、中央部に孔が形成されたミラーを主走査方向に移動される光学ヘッドに搭載し、蛍光色素で標識された生体由来物質が分布する転写支持体に対して、レーザ光源からの上記蛍光色素を励起する波長のレーザ光を、上記ミラーの孔を通過させて上方に照射する。そして、上記転写支持体中の蛍光色素が励起されて下方に発せられた蛍光が上記ミラーに至る。一方、上記転写支持体の上方に出射された蛍光は凹面鏡の内面で反射されて下方に向かい、上記転写支持体を透過して、上記光学ヘッドにおける上記ミラーに至る。こうして、上記ミラーに至った両蛍光は上記ミラーの上記孔の周囲で反射され、マルチプライヤによって光電変換されて検出される。こうして、ラインバッファに、1ライン分の画像データが記憶される。以下、上記主走査方向に直交する副走査方向に上記光学ヘッドを移動させながら上記動作を繰り返すことにより、画像処理装置によって二次元の可視画像(蛍光画像)を得るようにしている。

[0013] こうして、上記マルチプライヤによって検出される蛍光の光量を増大して、光電検出される信号(画像情報)のS/Nを向上することができる。

[0014] しかしながら、上記従来の画像情報読取装置には、以下のような問題がある。

[0015] すなわち、上記転写支持体の上方に配置された上記凹面鏡も、上記光学ヘッドの上記主捜査方向および上記副走査方向への移動と同期して同じ方向に移動させる必要があり、上記凹面鏡の移動機構が複雑になるという問題があ

る。

[0016] また、上記蛍光は上記転写支持体から広い角度で出射されるため、上記蛍光を効率よく検出するには広い角度で出射された蛍光を上記マルチプライヤに集光する必要がある。ここで、広角度で放出される蛍光をなるべく高効率に捕集する方法としては、高いNA(開口数: numerical aperture)の対物レンズを使用する方法があるが、レンズ素子が大型化してしまう。

[0017] その場合には、蛍光を捕集する対物レンズの大型化に伴って、蛍光を上記マルチプライヤまで導く間に設置される反射ミラー、レーザ光カットフィルタおよび集光レンズ等の光学素子も大型化する。そのため、光学ヘッドを含む光学系を走査させる画像読取装置では、光学素子の大型化に伴って全体のサイズが大きくなるという問題がある。特に、上記マルチプライヤを含む検出系の全体を上記光学ヘッドに搭載して走査させる場合には、走査部の重量が重くなり、高速で走査することができなくなることが懸念される。

[0018] さらに、上記生体分子(タンパク質)が二次元的に分布されたゲル支持体や、上記ゲル支持体のパターンをメンブレンに転写させた転写支持体を、直接ガラス板上に載置して生体分子分布画像を読み取る第1の場合と、上記生体分子(タンパク質)が二次元的に分布されたゲル支持体を、二次元電気泳動用基板中に封入した状態でガラス板上に載置して生体分子分布画像を読み取る第2の場合とでは、対物レンズから二次元分布の支持体までの距離が、上記二次元電気泳動用基板における封入された上記支持体より下側の厚みの分だけ異なり、上記第2の場合の方が上記第1の場合に比して長くなる。

[0019] したがって、上記対物レンズを含む光学系の光軸方向の位置を上記第1の場合に最適のように設定した場合には、上記第2の場合には上記ゲル支持体からの蛍光が上記マルチプライヤに集光されなくなると言う問題がある。特に、高い開口数NAの対物レンズを使用する場合には、上記対物レンズの外周部において上述の問題が顕著になる。

先行技術文献

特許文献

[0020] 特許文献1：特開平 1 0 - 3 1 3 4 号公報

特許文献2：特開 2 0 0 0 - 1 6 2 1 2 6 号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0021] そこで、この発明の課題は、対物レンズから測定対象物までの距離が異なっても上記測定対象物からの光の分布を精度良く検出することが可能な光学ユニット、この光学ユニットを備えた蛍光検出装置、および、上記光学ユニットを用いた蛍光検出方法を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0022] 上記課題を解決するため、この発明の光学ユニットは、
測定対象物からの光を集光する対物レンズ素子と、
上記対物レンズ素子によって集光された光を実質的に平行光に変換する変換レンズと
を備え、
上記対物レンズ素子は、周辺部分に位置すると共に、側面での全反射によって光を集光する全反射部を含んでおり、
上記変換レンズは、
上記対物レンズ素子の上記全反射部からの光が入射される領域を、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離に応じて複数有しており、
上記複数の領域を含む総ての箇所に入射された上記対物レンズ素子からの光を、光軸に対して実質的に平行な上記平行光に変換するようになっていることを特徴としている。

[0023] 上記構成によれば、測定対象物からの光を集光する対物レンズ素子は、周辺部分に、側面での全反射によって光を集光する全反射部を有している。また、上記対物レンズ素子によって集光された光を実質的に平行光に変換する変換レンズは、上記全反射部からの反射光が入射される領域を、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離に応じて複数有している。したがって、例えば、上記測定対象物がサンプル台上に直接載置されている場合と、

上記測定対象物が基板内に封入されて上記サンプル台上に載置されている場合とには、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離の変化の影響を受けやすい上記対物レンズ素子の上記全反射部からの全反射光は、上記変換レンズにおける異なる領域に入射される。

[0024] その場合でも、上記変換レンズは、上記異なる領域に入射された何れの光をも光軸に対して実質的に平行な上記平行光に変換するようになっている。

[0025] すなわち、上記対物レンズ素子の全反射部によって通常の凸レンズでは集光できないような大きな放射角度の光をも集光する場合であって、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離が例えば上記基板の厚みに応じた分だけ異なる場合であっても、上記変換レンズからは、同じように光軸に対して実質的に平行な平行光が出射される。そのため、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離の変化に拘わらず、上記変換レンズよりも後段の検出光学系での動作を精度良く行うことが可能になる。

[0026] また、1実施の形態の光学ユニットでは、

上記変換レンズにおける上記複数の領域に入力される上記対物レンズ素子の上記全反射部からの光は、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離に応じて異なる広がり角度を有しており、

上記変換レンズにおける上記複数の領域の夫々は、入射された上記異なる広がり角度を有する光を、上記広がり角度が実質的に0度の光に変換するようになっている。

[0027] この実施の形態によれば、上記変換レンズは、上記異なる領域に入射された何れの光をも広がり角度が実質的に0度の光に変換するようになっている。したがって、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離が異なる場合であっても、上記変換レンズの上記各領域からは、夫々の領域における中心光線のみならず全体の光線が光軸に対して略平行な光が出射される。そのため、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離の変化に拘わらず、上記変換レンズよりも後段の検出光学系での動作をさらに精度良く行うことが可能になる。

- [0028] また、1実施の形態の光学ユニットでは、
上記変換レンズにおける上記複数の領域の夫々は、
入射される光の上記広がり角度が集束を表す角度である場合には、入射面の曲率と出射面の曲率との合計が入射光を発散させる曲率である一方、入射される光の上記広がり角度が発散を表す角度である場合には、入射面の曲率と出射面の曲率との合計が入射光を集束させる曲率である。
- [0029] この実施の形態によれば、上記変換レンズにおける上記複数の領域の夫々は、入力される光が集束光である場合には入射光を発散させる一方、入力される光が発散光である場合には入射光を集束させるようにしている。したがって、入射される光の上記広がり角度が集束を表す角度の場合であっても、発散を表す角度の場合であっても、上記広がり角度が実質的に0度の光に変換することが可能になる。
- [0030] また、1実施の形態の光学ユニットでは、
上記対物レンズ素子は、中央部分に位置すると共に、屈折によって光を集光する屈折部を有しており、
上記変換レンズは、上記対物レンズ素子の上記全反射部からの光が入射される上記領域を周辺部分に有している。
- [0031] 上記変換レンズへの入射光の入射位置に対する上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離の変化の影響は、上記対物レンズ素子における中央部の屈折部からの出射光よりも周辺部分の上記全反射部からの出射光の方が大きい。
- [0032] この実施の形態によれば、上記変換レンズにおいて、上記対物レンズ素子の上記全反射部からの光が入射される上記領域は、周辺部分に設けられている。したがって、上記変換レンズの中央部分に入射される上記対物レンズ素子の上記屈折部からの出射光は、上記領域を介さずに実質的に平行な平行光に変換される。これに対して、上記変換レンズの周辺部分に入射される上記対物レンズ素子の上記全反射部からの出射光は、上記領域によって実質的に平行な平行光に変換される。こうして、上記対物レンズ素子からの総ての出

射光を、実質的に平行な平行光に変換することができる。

[0033] また、1実施の形態の光学ユニットでは、

上記対物レンズ素子における上記全反射部は、光軸に対して同心円状の形状を有しており、

上記変換レンズにおける上記複数の領域は光軸に対して同心円状の形状を有している。

[0034] この実施の形態によれば、上記測定対象物上の光源が点光源の場合に、上記対物レンズ素子の上記全反射部からの出射光を、実質的に平行な平行光により正確に変換することが可能になる。

[0035] また、1実施の形態の光学ユニットでは、

上記測定対象物は、光透過性を有するサンプル台上に積載され、

上記対物レンズ素子および上記変換レンズは、上記サンプル台における上記測定対象物が積載される面とは反対側の面に対向して配置されており、

上記対物レンズ素子は、上記測定対象物から発せられた光を上記サンプル台を介して集光するようになっている。

[0036] この実施の形態によれば、上記測定対象物は光透過性のサンプル台上に積載され、上記対物レンズ素子は上記測定対象物からの光を上記サンプル台を介して集光するので、例えば、上記測定対象物を上記サンプル台上に直接載置する場合と、上記測定対象物を基板内に封入して上記サンプル台上に載置する場合とでは、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離が異なることになる。その場合であっても、同じように、上記変換レンズからは光軸に対して実質的に平行な平行光が出射される。そのため、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離の変化に拘わらず、上記変換レンズよりも後段の検出光学系での動作を精度良く行うことが可能になる。

[0037] また、この発明の蛍光検出装置は、

蛍光を励起する励起光を測定対象物に照射する光源部と、

上記励起光の照射に基づいて上記測定対象物から発せられた蛍光が入射されると共に、この入射された蛍光を実質的に平行な蛍光に変換する上記この

発明の光学ユニットと、

上記光学ユニットからの実質的に平行な蛍光が入射されると共に、上記励起光の波長と同等の波長成分の光を減光する波長フィルタと、

上記波長フィルタからの蛍光を検出する光検出素子とを備え、

上記光学ユニットの上記対物レンズ素子は、上記光源部からの上記励起光を透過させる励起光透過部を中央部分に有しており、上記光源部からの上記励起光を上記励起光透過部を介して上記測定対象物に照射させると共に、上記測定対象物からの蛍光を集光するようになっていることを特徴としている。

[0038] 上記構成によれば、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離の変化に拘わらず光軸に対して実質的に平行な平行光を出射できる上記この発明の光学ユニットを備え、この光学ユニットの上記対物レンズ素子は、光源部からの励起光を中央部の励起光透過部を介して上記測定対象物に照射させると共に、上記測定対象物から発せられた蛍光を集光するようにしている。したがって、上記光学ユニットの上記変換レンズからは、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離の変化に拘わらず光軸に略平行な蛍光が出射されて、後段の波長フィルタに入射される。

[0039] その結果、上記波長フィルタによる上記励起光の波長と同等の波長成分を有する迷光のカットを、精度良く行うこと可能になる。

[0040] また、この発明の蛍光検出方法は、

光源部から、蛍光を励起する励起光を出射し、

上記光源部からの励起光を、上記この発明の光学ユニットにおける上記対物レンズ素子の中央部分を透過させて、測定対象物に照射し、

上記励起光の照射に基づいて上記測定対象物から発せられた蛍光を、上記対物レンズ素子で集光し、

上記光学ユニットにおける上記変換レンズによって、上記対物レンズ素子で集光された蛍光を実質的に平行光に変換し、

波長フィルタによって、上記変換レンズで変換された実質的に平行な蛍光から上記励起光の波長と同等の波長成分の光を減光し、

光検出素子によって、上記波長フィルタからの蛍光を検出することを特徴としている。

[0041] 上記構成によれば、対物レンズ素子と測定対象物との間の距離の変化に拘わらず光軸に対して実質的に平行な平行光を出射できる上記この発明の光学ユニットを備え、この光学ユニットの上記対物レンズ素子の中央部を光源部からの励起光を透過させて上記測定対象物に照射させると共に、上記測定対象物から発せられた蛍光を上記対物レンズ素子で集光するようにしている。したがって、上記光学ユニットの上記変換レンズからは、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離の変化に拘わらず光軸に略平行な蛍光が出射されて、後段の波長フィルタに入射される。

[0042] その結果、上記波長フィルタによる上記励起光の波長と同等の波長成分を有する迷光のカットを、精度良く行うことが可能になる。

発明の効果

[0043] 以上より明らかなように、この発明の光学ユニットは、対物レンズ素子の周辺部分には全反射によって光を集光する全反射部を設け、変換レンズには、上記全反射部からの光が入射される領域を、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離に応じて複数設けて、上記変換レンズは、上記異なる領域に入射された何れの光をも光軸に対して実質的に平行な上記平行光に変換するようになっている。したがって、上記対物レンズ素子の全反射部によって通常の凸レンズでは集光できないような大きな放射角度の光をも集光する場合であって、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離が例えば上記測定対象物が封入された基板の厚みに応じた分だけ異なる場合であっても、上記変換レンズから、光軸に対して実質的に平行な平行光を出射させることができる。その結果、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離の変化に拘わらず、上記変換レンズよりも後段の検出光学系での動作を精度良く行うことが可能になる。

[0044] また、この発明の蛍光検出装置および蛍光検出方法は、対物レンズ素子と測定対象物との間の距離の変化に拘わらず光軸に対して実質的に平行な平行光を出射できる上記この発明の光学ユニットを備え、この光学ユニットにおける上記対物レンズ素子の中央部分を光源部からの励起光を透過させて上記測定対象物に照射させると共に、上記測定対象物から発せられた蛍光を上記対物レンズ素子で集光するようにしている。したがって、上記光学ユニットの上記変換レンズからは、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離の変化に拘わらず光軸に略平行な蛍光が出射されて、後段の波長フィルタに入射される。

[0045] その結果、上記波長フィルタによる上記励起光の波長と同等の波長成分を有する迷光のカットを、精度良く行うことができる。

図面の簡単な説明

[0046] [図1]この発明の光学ユニットを備えた蛍光検出装置における外観図である。

[図2]図1におけるサンプル台の下部に設置された走査ステージの外観図である。

[図3]図2における第2ステージ上に載置される走査モジュールの断面図である。

[図4]図3における対物レンズの斜視図である。

[図5]上記対物レンズの断面図である。

[図6]図3において第1レンズを通常の凹レンズに置き換えた場合の対物レンズから第2レンズまでの光線図である。

[図7]図6においてサンプルを二次元電気泳動用基板中に封入した場合の光線図である。

[図8]図3における第1レンズの斜視図である。

[図9]上記第1レンズの断面図である。

[図10]点光源と見かけ上の光源とのずれの距離 Δ の説明図である。

[図11]上記対物レンズの筒状体の上端面の点から入射される光の光路を示す図である。

[図12]図3においてサンプルを二次元電気泳動用基板中に封入した場合の対物レンズからピンホールまでの光線図である。

[図13]図12においてサンプルを直接載置した場合の光線図である。

発明を実施するための形態

[0047] 以下、この発明を図示の実施の形態により詳細に説明する。

[0048] 図1は、本実施の形態の光学ユニットを備えた蛍光検出装置における外観図である。本蛍光検出装置1は、筐体を成す本体2と、本体2の上面を覆う蓋体3とで、大まかに構成されている。本体2の上面には、ガラスでなるサンプル台4が設けられており、サンプル台4上には例えば蛍光物質によって標識された生体由来物質が分布するゲル支持体やメンブレン等の転写支持体(共に図示せず)がサンプル(測定対象物)としてセットされる。

[0049] そして、上記サンプル台4の下側には光学系が配置されており、サンプル台4上にセットされたサンプルに対して、光照射光学系によってサンプル台4を通して下方から励起光を照射し、サンプル台4を透過してくるサンプルからの蛍光を検出光学系によって検出する。上記検出光学系はPC(Personal computer: パーソナルコンピュータ)5等の外部端末と接続されており、PC5から測定条件の制御等を行う。さらに、PC5によって、検出データに基づいてサンプルの蛍光画像を作成し、内蔵する表示画面に上記作成した蛍光画像等を表示する。

[0050] 図2は、上記サンプル台4の下部に設置された走査ステージ6の外観図を示す。この走査ステージ6は、基準となる第1ステージ7と第1ステージ7の上に載置された第2ステージ8とで構成されている。そして、第2ステージ8の上に走査モジュール9が載置されている。上記蛍光を検出する上記検出光学系は走査モジュール9の中に格納されている。

[0051] 上記走査ステージ6を構成する第1ステージ7には、第1走査方向に延在すると共に、一定の間隔で互に対向する2本のガイドレール10a, 10bが配設されている。また、第2ステージ8は、第1ステージ7のガイドレール10aによって案内されて上記第1走査方向に往復動する第1ガイド部材11

と、ガイドレール 10b によって案内されて上記第 1 走査方向に往復動する第 2 ガイド部材 12 とを有している。

[0052] 上記第 2 ステージ 8 を構成する第 1 ガイド部材 11 と第 2 ガイド部材 12 との間には、上記第 1 走査方向に直交する第 2 走査方向に延在すると共に、一定の間隔で互いに対向する 2 本のガイドレール 13a, 13b が配設されている。また、上記走査モジュール 9 は、ガイドレール 13a によって案内されて上記第 2 走査方向に往復動する第 1 ガイド部材 14 と、ガイドレール 13b によって案内されて上記第 2 走査方向に往復動する第 2 ガイド部材 15 とを有している。

[0053] 上記構成を有する走査ステージ 6 による走査方法は、先ず、上記第 2 ステージ 8 の第 1 ガイド部材 11 と第 2 ガイド部材 12 とがガイドレール 10a, 10b によって案内されて上記第 1 走査方向に移動して、第 2 ステージ 8 の第 1 ステージ 7 に対する位置決めが行われる。そうした後に、走査モジュール 9 の第 1 ガイド部材 14 と第 2 ガイド部材 15 とがガイドレール 13a, 13b によって案内されて上記第 2 走査方向に移動して、走査モジュール 9 の第 2 ステージ 8 に対する位置決めが行われる。以後、上記動作を繰り返すことによって、サンプル 16 上を二次元に走査するのである。

[0054] すなわち、本実施の形態においては、上記第 1 走査方向への移動手段を、ガイドレール 10a, 10b と第 1, 第 2 ガイド部材 11, 12 とで構成し、上記第 2 走査方向への移動手段を、ガイドレール 13a, 13b と第 1, 第 2 ガイド部材 14, 15 とで構成しているのである。

[0055] また、具体的な説明は省略するが、上記筐体を成す本体 2 のサンプル台 4 下部における走査ステージ 6 よりも更に下側には、第 2 ステージ 8 の第 1, 第 2 ガイド部材 11, 12 を上記第 1 走査方向に、走査モジュール 9 の第 1, 第 2 ガイド部材 14, 15 を上記第 2 走査方向に移動させるためのモータ, 駆動ベルト, ボールねじ, 歯車, 制御基板, 電源および配線等の駆動部が設置されている。

[0056] 図 3 は、上記第 2 ステージ 8 の上に載置される走査モジュール 9 の概略構

成を示す縦断面図である。図3において、走査モジュール9内の上部には、サンプル台(ガラス)4の近傍に位置して、サンプル台4上にセットされたサンプル16からの蛍光を集光する対物レンズ17を配置している。さらに、対物レンズ17の光軸と励起光の光源18の光軸とが直交する位置には、光源18から出射されて複数のレンズでなるレンズ群19で集光されたレーザー光等の励起光を対物レンズ17に入射するように反射させる反射ミラー20を配置している。

[0057] 上記対物レンズ17はレンズホルダ21内に収納されており、レンズホルダ21はステッピングモータ等の駆動部22によって、対物レンズ17の光軸方向に移動可能になっている。こうして、対物レンズ17は、レンズホルダ21と共に上記光軸方向に移動可能になっている。

[0058] また、上記対物レンズ17の光軸上における反射ミラー20の下方には、反射ミラー20側から順に、対物レンズ17によって集光されたサンプル16からの蛍光を平行光に変換する第1レンズ23、励起光カット用の波長フィルタ24、波長フィルタ24を通過した蛍光を集光する第2レンズ25、および、第2レンズ25を通過した蛍光の迷光をカットするピンホール26が配置されている。さらに、対物レンズ17の光軸上におけるピンホール26の下方には、ピンホール26を通過した蛍光を検出する検出器27が配置されている。

[0059] すなわち、本実施の形態においては、上記第1レンズ23によって、特許請求の範囲における上記変換レンズを構成しているのである。

[0060] 上記構成を有する走査モジュール9において、光源18から出射された励起光は、レンズ群19で集束され、次いで反射ミラー20によって反射されて、対物レンズ17およびサンプル台4を通過し、サンプル16における下面上の一点に集光される。その場合、反射ミラー20の長手方向(レンズ群19の光軸に直交する方向)の長さは短く、上記長手方向に直交する方向の幅は狭くなっており、光源18からの励起光は対物レンズ17の光軸付近(励起光透過部)のみを通過するようになっている。

- [0061] すなわち、本実施の形態においては、上記光源 18、レンズ群 19 および反射ミラー 20 によって、特許請求の範囲における上記光源部を構成しているのである。
- [0062] 上記蛍光は、サンプル 16 における上記励起光が照射された部分から周囲に等方的に出射される。そして、出射された蛍光のうちのガラスで成るサンプル台 4 を透過して対物レンズ 17 に入射した成分が、対物レンズ 17、第 1 レンズ 23、波長フィルタ 24、第 2 レンズ 25 およびピンホール 26 を通過して、検出器 27 によって検出される。そして、検出器 27 からの検出信号は、内蔵される A/D 変換器(図示せず)等によって A/D 変換等の処理が施された後に、PC 5 へ送出される。こうして、サンプル 16 上の各測定点での蛍光強度の分布が内部メモリ等に記録される。
- [0063] ここで、上述したように、上記対物レンズ 17 を通過した蛍光は、集束光となって第 1 レンズ 23 の方向に導かれる。そして、第 1 レンズ 23 によって実質的に光軸と平行な光になるように屈折される。また、第 2 レンズ 25 は蛍光を集光する。また、ピンホール 26 は空間的に迷光をカットするために配置される。尚、励起光カット用の波長フィルタ 24 は、例えば回転フォールド(図示せず)等に配置されて、励起光の波長に応じて他の波長のフィルタと交換可能になっている。
- [0064] 以下、上記対物レンズ 17 に付いて、詳細に説明する。
- [0065] 図 4 は、上記対物レンズ 17 の斜視図を示す。但し、図 4 (a)は、反射ミラー 20 側から見た斜視図である。図 4 (b)は、サンプル台 4 側から見た斜視図である。さらに、図 5 は、対物レンズ 17 の縦断面図である。
- [0066] 図 4 および図 5 から分かるように、上記対物レンズ 17 は灰皿を伏せたような形状を有している。そして、光軸を含む中央部分は、上記光軸に沿って球面状に突出する上凸面 28a と下凸面 28b とを含んで、通常の凸レンズの機能(屈折のみで光を偏向)を有する凸レンズ部 28 となっている。そして、図 5 に示すように、サンプル 16 から出射された蛍光のうち、放射角度の小さい蛍光 a は、この凸レンズ部 28 の部分を通過して検出器 27 に向かって

集光される。

- [0067] 上記対物レンズ 17 における凸レンズ部 28 の周囲は、下方に向かって開いた円錐台形状の筒状体 29 となっている。そして、サンプル 16 から出射された蛍光のうち、凸レンズ部 28 に入りきらないような放射角度の大きい蛍光 b は、筒状体 29 の上端面 29a から筒状体 29 内に入射し、筒状体 29 の側面 29b で全反射されて光軸側に偏向され、筒状体 29 の下端面 29c から検出器 27 に向かって出射される。
- [0068] すなわち、本実施の形態においては、上記凸レンズ部 28 で特許請求の範囲における上記屈折部を構成し、筒状体 29 で上記全反射部を構成しているのである。
- [0069] 以上のごとく、上記サンプル 16 から出射された蛍光のうち、凸レンズ部 28 に入りきらないような放射角度の大きい蛍光を、筒状体 29 の側面 29b で全反射させることによって、通常の凸レンズでは集光できないような大きな放射角度の光をも集めることができる。そのため、検出器 27 の感度アップを図ることができる。
- [0070] また、本蛍光検出装置 1 の対物レンズを上記対物レンズ 17 と同等の NA を通常の凸レンズで実現するよりも、レンズ素子自体をコンパクトに形成することができるのである。
- [0071] ところで、上記波長フィルタ 24 としてカットオフが急峻な干渉フィルタを用いるために、波長フィルタ 24 への入射光を光軸に平行な平行光にする必要がある。そこで、対物レンズ 17 を通過して集光された蛍光を、第 1 レンズ 23 によって平行光に近い状態にして波長フィルタ 24 へ入射するようにしている。ここで、対物レンズ 17 によって平行光にすることも可能ではある。しかしながら、その場合には、蛍光のビーム径が大きくなってしまい、第 1 レンズ 23 以下の光学素子の大型化を招くことになる。
- [0072] したがって、上述したような、中央部分に凸レンズ部 28 を有すると共に、凸レンズ部 28 の周囲に円錐台形状の筒状体 29 を有する対物レンズ 17 を用いることによって、第 1 レンズ 23、波長フィルタ 24 および第 2 レンズ

25の各光学素子の小型化を図ることができ、走査モジュール9の小型・軽量化を図ることができるのである。

[0073] ここで、上記対物レンズ17を通過して集光された蛍光を、平行光に近い状態にして波長フィルタ24へ入射するための第1レンズ23を、唯一つの曲面を有する通常の凹レンズ30によって構成した場合には、サンプル16から発せられて対物レンズ17から第2レンズ25までを通過する蛍光の光線図は図6に示すようになる。この場合、駆動部22によって、対物レンズ17の位置を、サンプル台(ガラス)4上に直接載置されたサンプル16(上記ゲル支持体や上記転写支持体)の位置に焦点を結ぶように設定した場合に、対物レンズ17の凸レンズ部28を通過した光と筒状体29を通過した光とが略同じ位置(ピンホール26の穴の位置)に集光されるように、対物レンズ17の形状が最適化されているものとする。

[0074] ところが、図6に示すように形状が最適化された対物レンズ17を用いて、図7に示すように、サンプル16であるゲル支持体が二次元電気泳動用基板31中に封入されてサンプル台(ガラス)4上に載置された状態で、サンプル16からの蛍光を検出する場合には、対物レンズ17からサンプル16までの距離が、二次元電気泳動用基板31における封入されたサンプル16より下側部分31aの厚み t の分だけ、図6の場合よりも長くなる。したがって、対物レンズ17の位置を二次元電気泳動用基板31における封入されたサンプル16の位置に焦点を結ぶように設定しても、対物レンズ17の凸レンズ部28を通過した光と筒状体29を通過した光とが、ピンホール26の穴の位置に集光されることがない。さらに、波長フィルタ24への入射光の入射角度も光軸に対して平行ではなく、迷光カットの性能が悪くなる。

[0075] これは、上記二次元電気泳動用基板31における封入されたサンプル16より下側部分31aの影響によって、対物レンズ17の中央の凸レンズ部28とその周囲の筒状体29とで収差の発生量や光路長の変化量が異なるために生ずるものである。

[0076] そこで、本実施の形態においては、このような問題に対処するために、対

物レンズ 17 および第 1 レンズ 23 の形状に、以下のような創意工夫を凝らしている。

[0077] 図 8 は、上記第 1 レンズ 23 の斜視図を示す。但し、図 8 (a) は、波長フィルタ 24 側から見た斜視図である。さらに、図 8 (b) は、反射ミラー 20 側から見た斜視図である。また、図 9 は、第 1 レンズ 23 の縦断面図を示す。但し、図 9 (a) は、サンプル 16 をサンプル台 4 上に直接載置した場合(以下、「第 1 の場合」という)の蛍光の光線図を含んでいる。さらに、図 9 (b) は、サンプル 16 を二次元電気泳動用基板 31 中に封入してサンプル台 4 上に載置した場合(以下、「第 2 の場合」という)の蛍光の光線図を含んでいる。

[0078] 図 8 および図 9 から分かるように、上記第 1 レンズ 23 は、互いに対向する二つの平面 32a, 32b のうちの平面 32a に凹曲面 32c が形成された凹レンズ部 32 と、互いに対向する二つの平面 33a, 33b のうちの平面 33b の周囲のみに形成された傾斜部に凸曲面 33c が形成された凸レンズ部 33 とを、凸レンズ部 33 の平面 33a と凹レンズ部 32 の平面 32b とを互いに対向させて積層した構成を有している。

[0079] そして、図 9 に示すように、上記サンプル 16 から出射された蛍光のうち、対物レンズ 17 の凸レンズ部 28 を通過した蛍光 a は、上記第 1 の場合も上記第 2 の場合も、共に、凸レンズ部 33 における平面 33b と、凹レンズ部 32 における凹曲面 32c とを通過するようになっている。

[0080] これに対して、上記サンプル 16 から出射された蛍光のうち、対物レンズ 17 の筒状体 29 で全反射された蛍光 b は、上記第 1 の場合には、図 9 (a) に示すように、凸レンズ部 33 における凸曲面 33c と、凹レンズ部 32 における凹曲面 32c とを通過するようになっている。また、上記第 2 の場合には、図 9 (b) に示すように、凸レンズ部 33 における平面 33b と、凹レンズ部 32 における凹曲面 32c とを通過するようになっている。

[0081] 尚、上記第 1 レンズ 23 は、凹レンズ部 32 と凸レンズ部 33 とを互いに密着させて単に積層して形成しても良いし、凹レンズ部 32 と凸レンズ部 33 とを接着して形成しても良い。あるいは、凹レンズ部 32 と凸レンズ部 33

3とを一体に構成しても良い。

[0082] 本実施の形態における測定対象は、光源18から出射され、レンズ群19で集束され、反射ミラー20で反射されて、サンプル16における下面上の一点に集光された励起光のスポット内の蛍光部分である。したがって、点光源とみなすことができる。そして、点光源の場合、図10に示すように、屈折率Nで厚さdの光透過板34の表面上の点光源Pから入射角 θ' で光透過板34内に入射された光は、光透過板34の裏面で屈折されて出射角 θ で出射される。その場合に、光透過板34の裏面から出射される光は、恰も光透過板34内の点P'を光源として出射されたように見える。そして、点光源Pと見かけ上の光源P'の間には距離 Δ のずれが生ずる。この場合の上記ずれの距離 Δ は、

$$\Delta = d \{ 1 - (\cos \theta / N \sin \theta') \}$$

と表される。したがって、上記ずれの距離 Δ は、光透過板34の厚さdが大きく、入射角 θ' が小さい程、大きくなる。つまり、サンプル16をサンプル台4上に直接載置する上記第1の場合よりも、サンプル16を二次元電気泳動用基板31中に封入してサンプル台4上に載置する上記第2の場合の方が上記ずれの距離 Δ は大きい。また、対物レンズ17の凸レンズ部28を通過した蛍光aよりも、対物レンズ17の筒状体29で全反射された蛍光bの方が上記ずれの距離 Δ は小さい。逆に言えば $(d - \Delta)$ の値が大きい。尚、 $(d - \Delta)$ は、光透過板34がある場合とない場合との光源の移動距離($=d$)と、光透過板34がある場合とない場合との見かけ上の光源の移動距離($=\Delta$)との差を意味している。

[0083] 図11は、上記対物レンズ17の筒状体29で全反射される上記 $(d - \Delta)$ の値が大きい蛍光bのうち、筒状体29の上端面29aの点Qから筒状体29内に入射される光の光路を示す。ここで、光路L1は上記「第1の場合」の光路であり、光路L2は上記「第2の場合」の光路である。

[0084] 上述したように、上記「第1の場合」よりも上記「第2の場合」の方が上記ずれの距離 Δ は大きい。そして、上記「第2の場合」には、駆動部22に

よって対物レンズ 17 を光軸方向に二次元電気泳動用基板 31 の下側部分 31a の厚み t だけサンプル 16 側に移動させるため、対物レンズ 17 の凸レンズ部 28 を通過した蛍光 a に対する上記ずれの距離 Δ の影響はキャンセルされるが、筒状体 29 で全反射された蛍光 b に対する影響は残る。その場合、上記「第 1 の場合」に点 Q に入射する光の見かけ上の光源 $P'1$ は、上記「第 2 の場合」に点 Q に入射する光の見かけ上の光源 $P'2$ よりも、対物レンズ 17 の上端から遠い位置にある。そのため、上記「第 2 の場合」の方が、上記「第 1 の場合」よりも、点 Q での入射角 α および屈折角 β は大きく ($\alpha_2 > \alpha_1, \beta_2 > \beta_1$)、筒状体 29 の側面 29b での反射角 δ は小さく ($\delta_2 < \delta_1$) なる。

[0085] その結果、上述したように、図 6 に示すように、上記「第 1 の場合」において、対物レンズ 17 の筒状体 29 を通過した光がピンホール 26 の穴の位置に集光されるように形状が最適化された対物レンズ 17 を上記「第 2 の場合」に用いると、図 11 に示すように、側面 29b での全反射光 $L2$ が上記「第 1 の場合」の全反射光 $L1$ よりも光軸側に寄ることになる。したがって、図 7 に示すように、波長フィルタ 24 への入射光の入射角度が光軸に対して平行ではなく、ピンホール 26 の穴の位置に集光されることもないのである。

[0086] そこで、本実施の形態においては、先ず、上記「第 2 の場合」の側面 29b での全反射光 $L2$ が、凸レンズ部 28 を通過した光と平行になって波長フィルタ 24 に入射されるようにする。その上で、上記「第 1 の場合」の側面 29b での反射光 $L1$ も、凸レンズ部 28 を通過した光と平行になって波長フィルタ 24 に入射されるようにするのである。

[0087] すなわち、先ず、図 12 および図 9 (b) に示すように、上記「第 2 の場合」において、サンプル 16 からの蛍光のうち、対物レンズ 17 における凸レンズ部 28 で屈折された蛍光 a が、第 1 レンズ 23 における平面 33b の領域 $A1$ および凹曲面 32c の領域 $B1$ を通る第 1 領域に入射され、且つ側面 29b で全反射された蛍光 b が、第 1 レンズ 23 における平面 33b の領域 $A2$ およ

び凹曲面 3 2 c の領域 B 2 を通る第 2 領域に入射される条件 1 を満たすように、対物レンズ 1 7 における反射面(側面) 2 9 b の角度や全反射光が通過する面の曲率等と、第 1 レンズ 2 3 の形状とを設定する。

[0088] そうすることにより、上記第 1 レンズ 2 3 の凸レンズ部 3 3 は、単にガラス板と同等に機能することになる。したがって、集光されつつ凸レンズ部 3 3 の平面 3 3 b に入射された蛍光 a, b の各光線は、屈折されて光軸により平行になると共に、発散されて互いにより平行に(広がり角度がより 0 度に近く)なる。そして、蛍光 a, b の各光線は、さらに凹レンズ部 3 2 の凹曲面 3 2 c を通過することによって、光軸と実質的に平行(広がり角度が実質的に 0 度)となる。すなわち、第 1 レンズ 2 3 に入射された蛍光 b は、トータルとして発散の作用を受けるのである。

[0089] より具体的に説明すれば、上記対物レンズ 1 7 の筒状体 2 9 で全反射された集束光が第 1 レンズ 2 3 の上記第 2 領域に入射される場合には、先ず、光軸により平行な光に屈折させるように上記第 2 領域における入射面(平面 3 3 b の A 2)の光軸に対する傾斜角と出射面(凹曲面 3 2 c の B 2)の光軸に対する傾斜角とを設定する。次に、広がり角度をより 0 度に近付けるために、上記第 2 領域における入射面(平面 3 3 b の A 2)の曲率と出射面(凹曲面 3 2 c の B 2)の曲率との合計が入射光を発散させる曲率になるように設定するのである。この場合、平面 3 3 b の A 2 の曲率は「0」であるから、凹曲面 3 2 c の B 2 の曲率を発散させる曲率にして、合計の曲率を入射光を発散させる曲率に設定するのである。

[0090] その結果、上記凹曲面 3 2 c の領域 B 1 の傾斜角および曲率と、領域 B 2 の傾斜角および曲率とを、夫々最適に設定することによって、第 1 レンズ 2 3 に入射された蛍光 a, b は、光軸と略平行な光に変換されるのである。

[0091] 次に、図 1 3 および図 9 (a)に示すように、上記「第 1 の場合」において、サンプル 1 6 からの蛍光のうちの、対物レンズ 1 7 の側面 2 9 b で全反射された蛍光 b が、一旦集光された後に、第 1 レンズ 2 3 における凸曲面 3 3 c の領域 A 3 および凹曲面 3 2 c の領域 B 3 を通る第 3 領域に入射される条件 2 を満

たすように、対物レンズ 17 の反射面(側面) 29b の角度や全反射光が通過する面の曲率等と、第 1 レンズ 23 の形状とを設定する。

[0092] この場合、上記対物レンズ 17 における凸レンズ部 28 で屈折された蛍光 a は、対物レンズ 17 とサンプル 16 との間の距離の変化の影響を受け難いため、上記「第 2 の場合」と同様に、第 1 レンズ 23 における平面 33b の領域 A1 および凹曲面 32c の領域 B1 を通る第 1 領域に入射されるのである。

[0093] そうすることによって、上記第 1 レンズ 23 の凸レンズ部 33 は、凸レンズと同等に機能することになる。したがって、発散しつつ凸レンズ部 33 の凸曲面 33c に入射された蛍光 b の光束は、屈折されて光軸により平行になると共に、集光されて互いにより平行に(広がり角度がより 0 度に近く)なる。そして、蛍光 b の各光線は、さらに凹レンズ部 32 の凹曲面 32c を通過して、光軸と実質的に平行(広がり角度が実質的に 0 度)となる。すなわち、第 1 レンズ 23 に入射された蛍光 b は、トータルとして集光の作用を受けるのである。

[0094] より具体的に説明すれば、上記対物レンズ 17 の筒状体 29 で全反射されて一旦集束された後に、発散された発散光が第 1 レンズ 23 の上記第 3 領域に入射される場合には、先ず、光軸により平行な光に屈折させるように上記第 3 領域における入射面(凸曲面 33c の A3)の光軸に対する傾斜角と出射面(凹曲面 32c の B3)の光軸に対する傾斜角とを設定する。次に、広がり角度をより 0 度に近付けるために、上記第 3 領域における入射面(凸曲面 33c の A3)の曲率と出射面(凹曲面 32c の B3)の曲率との合計が入射光を集束させる曲率になるように設定するのである。この場合、凸曲面 33c の A3 の曲率は「入射光を集束させる曲率」であり、凹曲面 32c の B3 の曲率は「入射光を発散させる曲率」であるから、凹曲面 32c の B3 の曲率を凸曲面 33c の A3 の曲率よりも小さくして、合計の曲率を入射光を集束させる曲率に設定するのである。

[0095] その結果、上記凸曲面 33c における領域 A3 の傾斜角および曲率と、凹曲面 32c における領域 B3 の傾斜角および曲率とを最適に設定することによっ

て、第1レンズ23に入射された蛍光bは、光軸と略平行な光に変換されるのである。

[0096] ここで、上記第1レンズ23の上記第1～第3領域における入射面と出射面との曲率を「0」とした場合、つまり上記各領域を三角プリズムの一部で構成した場合には、入射面と出射面とが成す角度によって入射される光の上記広がり角度をある程度までは改善することはできるが、上記広がり角度を実質的に0度に制御することができない。そこで、本実施の形態においては、上述したように、上記各領域における入射面と出射面とのうちの少なくとも何れか一方の曲率を「0」以外の曲率に設定して、合計の曲率が入射光を集束あるいは発散させる曲率になるようにするのである。

[0097] 上述したように、本実施の形態においては、上記対物レンズ17における反射面(側面)29bの角度や全反射光が通過する面の曲率等と、第1レンズ23における凸曲面33cの領域A3と凹曲面32cの領域B1～B3との傾斜角および曲率を含む形状とを、上記条件1および条件2を満たすように設定している。したがって、サンプル16をサンプル台4上に直接載置した「第1の場合」と、サンプル16を二次元電気泳動用基板31中に封入してサンプル台4上に載置した「第2の場合」との何れにおいても、対物レンズ17の凸レンズ部28で屈折された蛍光aと側面29bで全反射された蛍光bとの各光線を、第1レンズ23から出射される際に光軸に略平行にすることができる。したがって、波長フィルタ24による迷光のカットを精度良く行うことが可能になるのである。

[0098] 上記対物レンズ17の筒状体29から上記「第1の場合」と上記「第2の場合」とで異なる反射角および広がり角度で全反射されてくる光を、第1レンズ23によって光軸に略平行に且つ広がり角度を略0に変換するには、第1レンズ23の「傾斜角度」と「曲率」とを同時に適切な値に設定する必要がある。ところが、図6や図7に示すような唯一つの曲面を有する通常の凹レンズ30では、傾斜角度と曲率とを同時に適切な値に設定することは非常に困難である。

[0099] そこで、本実施の形態においては、上記第1レンズ23の上記第2領域と上記第3領域との両領域において、入射面と出射面との両面を利用することによって、傾斜角度と曲率とを同時に適切な値に設定するようにしている。すなわち、各領域における「傾斜角度」と「曲率」とは入射面と出射面とのトータル値が重要となる。そこで、第1に、上記第2領域の入射面A2と上記第3領域の入射面A3とで「傾斜角度」と「曲率」との両方が異なるように設定する。そして、第2に、上記第2領域の出射面B2と上記第3領域の出射面B3とで「傾斜角度」と「曲率」との両方が異なるように設定する。こうすることによって、両領域において入射面と出射面との両面を利用することができ、「傾斜角度」および「曲率」の設計自由度を増加させることができるのである。

[0100] 以上のごとく、本実施の形態においては、第1走査方向と第2走査方向とに二次元走査を行う走査モジュール9には、対物レンズ17で集光された蛍光を実質的に平行光にする第1レンズ23、励起光カット用の波長フィルタ24、蛍光を集光する第2レンズ25、迷光をカットするピンホール26、および、蛍光を検出する検出器27でなる検出光学系が、一体に収納されている。

[0101] そして、上記対物レンズ17を、中央部分に凸レンズ部28を有すると共に、凸レンズ部28の周囲に円錐台形状の筒状体29を有するように構成している。したがって、サンプル16から出射された蛍光のうち、凸レンズ部28に入りきらないような放射角度の大きい蛍光bを、筒状体29の側面29bで全反射させて集光することができ、通常の凸レンズでは集光できないような大きな放射角度の光をも集めることができる。その結果、上記蛍光の集光率を高めることができ、対物レンズ17の光軸上に配置されたプリズム20で遮られて検出器27によって検出されない蛍光の存在によるS/Nの低下を防止して、高感度な蛍光情報読み取り装置を実現することができる。

[0102] したがって、本実施の形態によれば、上記従来の画像情報読取装置のように、サンプル16の上方に出射された蛍光を下方に反射するための上記凹面

鏡を設ける必要がなく、走査モジュール 9 の移動と同期して上記凹面鏡を同じ方向に移動させる必要がない。そのために、上記二次元走査の走査機構が複雑になることはないのである。

[0103] さらに、上記大きな放射角度の蛍光 b を高い N A の通常の凸レンズで集光する場合よりも対物レンズ 17 を小型に構成することができる。また、対物レンズ 17 は、サンプル 16 からの蛍光を集光して第 1 レンズ 23 に入射するので、蛍光を検出器 27 に導く光路上に設置される第 1 レンズ 23、波長フィルタ 24 および第 2 レンズ 25 等の光学素子をも小型にすることが可能になる。

[0104] また、上記対物レンズ 17、第 1 レンズ 23、波長フィルタ 24 および第 2 レンズ 25 等の光学素子を小型にすることにより、上記光照射光学系および上記検出光学系を搭載している走査モジュール 9 の重量を軽くすることができる。したがって、上記走査機構の構成を簡素化すると共に、軽量化を図って、走査モジュール 9 の高速走査を可能にすることができる。したがって、サンプル 16 における異なる複数の位置での二次元の蛍光分布を高速に検出することが可能になる。

[0105] また、上記第 1 レンズ 23 を、平面 32a の中心部に凹曲面 32c が形成された凹レンズ部 32 と、平面 33b の周囲に凸曲面 33c が形成された凸レンズ部 33 とを有する形状に構成している。そして、中心部から外側に向かって上記第 1 領域と、上記第 2 領域と、上記第 3 領域とを設けている。

[0106] ここで、上記第 1 領域および上記第 2 領域は、凸レンズ部 33 の平面 33b と凹レンズ部 32 の凹曲面 32c を通る領域でなると共に、入射された光束を光軸により平行にし、且つトータルとして発散させる領域である。また、上記第 3 領域は、凸レンズ部 33 の凸曲面 33c と凹レンズ部 32 の凹曲面 32c とを通る領域でなると共に、入射された光束を光軸により平行にし、且つトータルとして集光させる領域である。

[0107] そして、図 10 および図 11 で説明したように、見かけ上の光源 P' 2 が対物レンズ 17 の上端部から近い位置にあるので対物レンズ 17 での全反射後

の光路L 2が光軸側(中心側)に因りやすい上記「第2の場合」には、対物レンズ17で全反射された蛍光bを、第1レンズ23の上記第2領域に入射させるようにするのである。その場合、上記第2領域は入射された光線を光軸により平行にし、且つトータルとして発散させる領域である。そのために、対物レンズ17で全反射された光を集光するようにすれば、第1レンズ23の上記第2領域から出射される蛍光bの各光線は、互いに略平行で且つ光軸に対しても略平行になるのである。

[0108] さらに、上記「第1の場合」には、対物レンズ17で全反射された蛍光bを、第1レンズ23の上記第3領域に入射させるようにする。その場合、上記第3領域は入射された光線を光軸により平行にし、且つトータルとして集光させる領域である。そのため、対物レンズ17で全反射されて第1レンズ23に入射される光を発散するようにすれば、第1レンズ23の上記第3領域から出射される蛍光bの各光線は、互いに略平行で且つ光軸に対しても略平行になるのである。

[0109] ここで、上記対物レンズ17で全反射された光を発散するように第1レンズ23に入射させるには、図13に示すように、対物レンズ17で全反射された光を、第1レンズ23に入射される前に一旦集光させればよい。

[0110] 以上のごとく、上記「第2の場合」には、上記対物レンズ17で全反射された光を、集光させつつ、第1レンズ23の上記第2領域に入射できるように、且つ、上記「第1の場合」には、対物レンズ17で全反射された光を、一旦集光させた後に発散させつつ、第1レンズ23の上記第3領域に入射できるように、対物レンズ17における反射面(側面)29bの角度や全反射光が通過する面の曲率等と、第1レンズ23の凸曲面33cおよび凹曲面32cの傾斜角および曲率を含む形状とを設定するのである。

[0111] したがって、本実施の形態においては、サンプル16をサンプル台4上に直接載置した場合と、サンプル16を二次元電気泳動用基板31中に封入してサンプル台4上に載置した場合とのごとく、対物レンズ17から見かけ上の光源P'までの距離が異なる場合であっても、対物レンズ17の側面29b

で全反射された蛍光bを第1レンズ23から出射される際に光軸に略平行にすることができる。したがって、波長フィルタ24による迷光のカットを精度良く行うことが可能になる。

[0112] さらに、上記対物レンズ17の凸レンズ部28で屈折された蛍光aと側面29bで全反射された蛍光bとを、第1レンズ23を介してピンホール26の穴の位置に集光することができる。したがって、対物レンズ17から見かけ上の光源P'までの距離が異なる場合であっても、集光状態を一定にして、安定した検出器27による蛍光の検出を行うことが可能になる。

[0113] すなわち、本実施の形態によれば、中央部分に凸レンズ部28を有すると共に、凸レンズ部28の周囲に円錐台形状の筒状体29を有する対物レンズ17を用いて、サンプル16から出射された蛍光のうち、通常の凸レンズでは集光できないような大きな放射角度の蛍光をも集光して、上記蛍光の集光率を高める場合において、対物レンズ17から見かけ上の光源P'までの距離が異なっても、精度良く且つ安定して蛍光の検出を行うことができるのである。

[0114] 尚、上述したように、本実施の形態においては、上記第1レンズ23に、対物レンズ17の筒状体29で全反射された光が入射される領域として、上記第2領域と第3領域との二つの領域を設けている。しかしながら、この発明は、二つの領域に限定されるものではなく、対物レンズ17とサンプル16との間の距離の変化数に応じて、三つ以上の領域を設けても差し支えない。

符号の説明

[0115] 1…蛍光検出装置、
4…サンプル台、
5…PC、
6…走査ステージ、
9…走査モジュール、
16…サンプル、

17…対物レンズ、
18…光源、
19…レンズ群、
20…反射ミラー、
21…レンズホルダ、
22…駆動部、
23…第1レンズ、
24…波長フィルタ、
25…第2レンズ、
26…ピンホール、
27…検出器、
28, 33…凸レンズ部、
29…筒状体、
31…二次元電気泳動用基板、
32…凹レンズ部、
32a, 32b, 33a, 33b…平面、
32c…凹曲面、
33c…凸曲面。

請求の範囲

[請求項1]

測定対象物からの光を集光する対物レンズ素子と、
上記対物レンズ素子によって集光された光を実質的に平行光に変換する変換レンズと
を備え、
上記対物レンズ素子は、周辺部分に位置すると共に、側面での全反射によって光を集光する全反射部を含んでおり、
上記変換レンズは、
上記対物レンズ素子の上記全反射部からの光が入射される領域を、
上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離に応じて複数有しており、
上記複数の領域を含む総ての箇所に入射された上記対物レンズ素子からの光を、光軸に対して実質的に平行な上記平行光に変換するようになっている
ことを特徴とする光学ユニット。

[請求項2]

請求項1に記載の光学ユニットにおいて、
上記変換レンズにおける上記複数の領域に入力される上記対物レンズ素子の上記全反射部からの光は、上記対物レンズ素子と上記測定対象物との間の距離に応じて異なる広がり角度を有しており、
上記変換レンズにおける上記複数の領域の夫々は、入射された上記異なる広がり角度を有する光を、上記広がり角度が実質的に0度の光に変換するようになっている
ことを特徴とする光学ユニット。

[請求項3]

請求項2に記載の光学ユニットにおいて、
上記変換レンズにおける上記複数の領域の夫々は、
入射される光の上記広がり角度が集束を表す角度である場合には、入射面の曲率と出射面の曲率との合計が入射光を発散させる曲率である一方、入射される光の上記広がり角度が発散を表す角度である場合

には、入射面の曲率と出射面の曲率との合計が入射光を集束させる曲率である

ことを特徴とする光学ユニット。

[請求項4] 請求項1から請求項3までの何れか一つに記載の光学ユニットにおいて、

上記対物レンズ素子は、中央部分に位置すると共に、屈折によって光を集光する屈折部を有しており、

上記変換レンズは、上記対物レンズ素子の上記全反射部からの光が入射される上記領域を周辺部分に有している

ことを特徴とする光学ユニット。

[請求項5] 請求項1から請求項4までの何れか一つに記載の光学ユニットにおいて、

上記対物レンズ素子における上記全反射部は、光軸に対して同心円状の形状を有しており、

上記変換レンズにおける上記複数の領域は、光軸に対して同心円状の形状を有していることを特徴とする光学ユニット。

[請求項6] 請求項1から請求項5までの何れか一つに記載の光学ユニットにおいて、

上記測定対象物は、光透過性を有するサンプル台上に積載され、

上記対物レンズ素子および上記変換レンズは、上記サンプル台における上記測定対象物が積載される面とは反対側の面に対向して配置されており、

上記対物レンズ素子は、上記測定対象物から発せられた光を上記サンプル台を介して集光するようになっている

ことを特徴とする光学ユニット。

[請求項7] 蛍光を励起する励起光を測定対象物に照射する光源部と、

上記励起光の照射に基づいて上記測定対象物から発せられた蛍光が入射されると共に、この入射された蛍光を実質的に平行な蛍光に変換

する請求項 1 から請求項 6 までの何れか一つに記載の光学ユニットと、

上記光学ユニットからの実質的に平行な蛍光が入射されると共に、
上記励起光の波長と同等の波長成分の光を減光する波長フィルタと、
上記波長フィルタからの蛍光を検出する光検出素子と
を備え、

上記光学ユニットの上記対物レンズ素子は、上記光源部からの上記
励起光を透過させる励起光透過部を中央部分に有しており、上記光源
部からの上記励起光を上記励起光透過部を介して上記測定対象物に照
射させると共に、上記測定対象物からの蛍光を集光するようになって
いる

ことを特徴とする蛍光検出装置。

[請求項 8]

光源部から、蛍光を励起する励起光を出射し、

上記光源部からの励起光を、請求項 1 から請求項 6 までの何れか一
つに記載の光学ユニットにおける上記対物レンズ素子の中央部分を透
過させて、測定対象物に照射し、

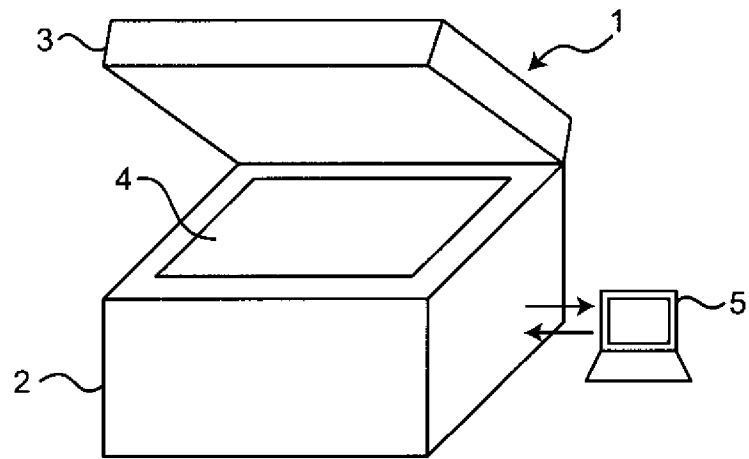
上記励起光の照射に基づいて上記測定対象物から発せられた蛍光を
、上記対物レンズ素子で集光し、

上記光学ユニットにおける上記変換レンズによって、上記対物レン
ズ素子で集光された蛍光を実質的に平行光に変換し、

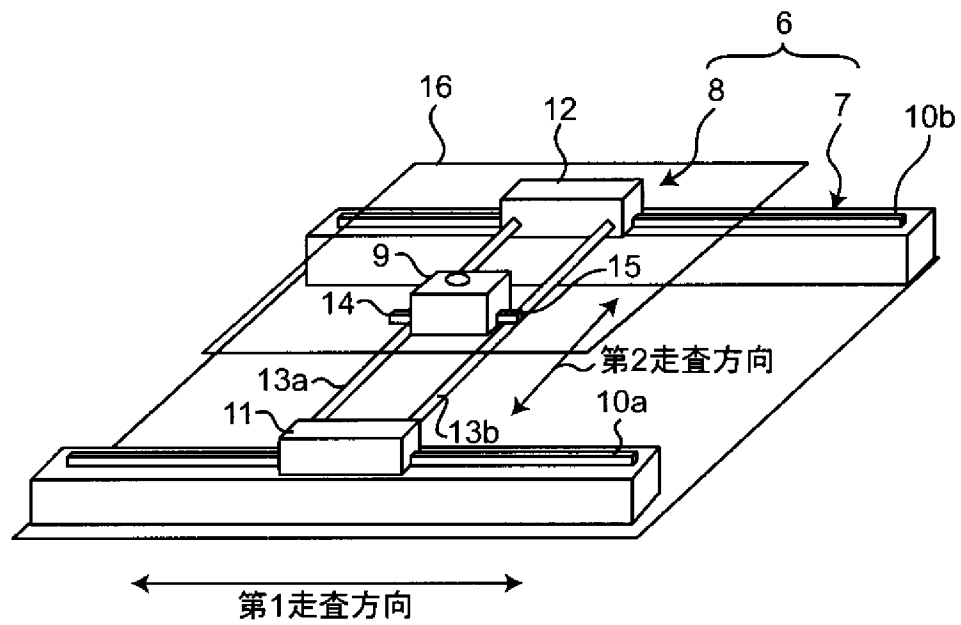
波長フィルタによって、上記変換レンズで変換された実質的に平行
な蛍光から上記励起光の波長と同等の波長成分の光を減光し、

光検出素子によって、上記波長フィルタからの蛍光を検出する
ことを特徴とする蛍光検出方法。

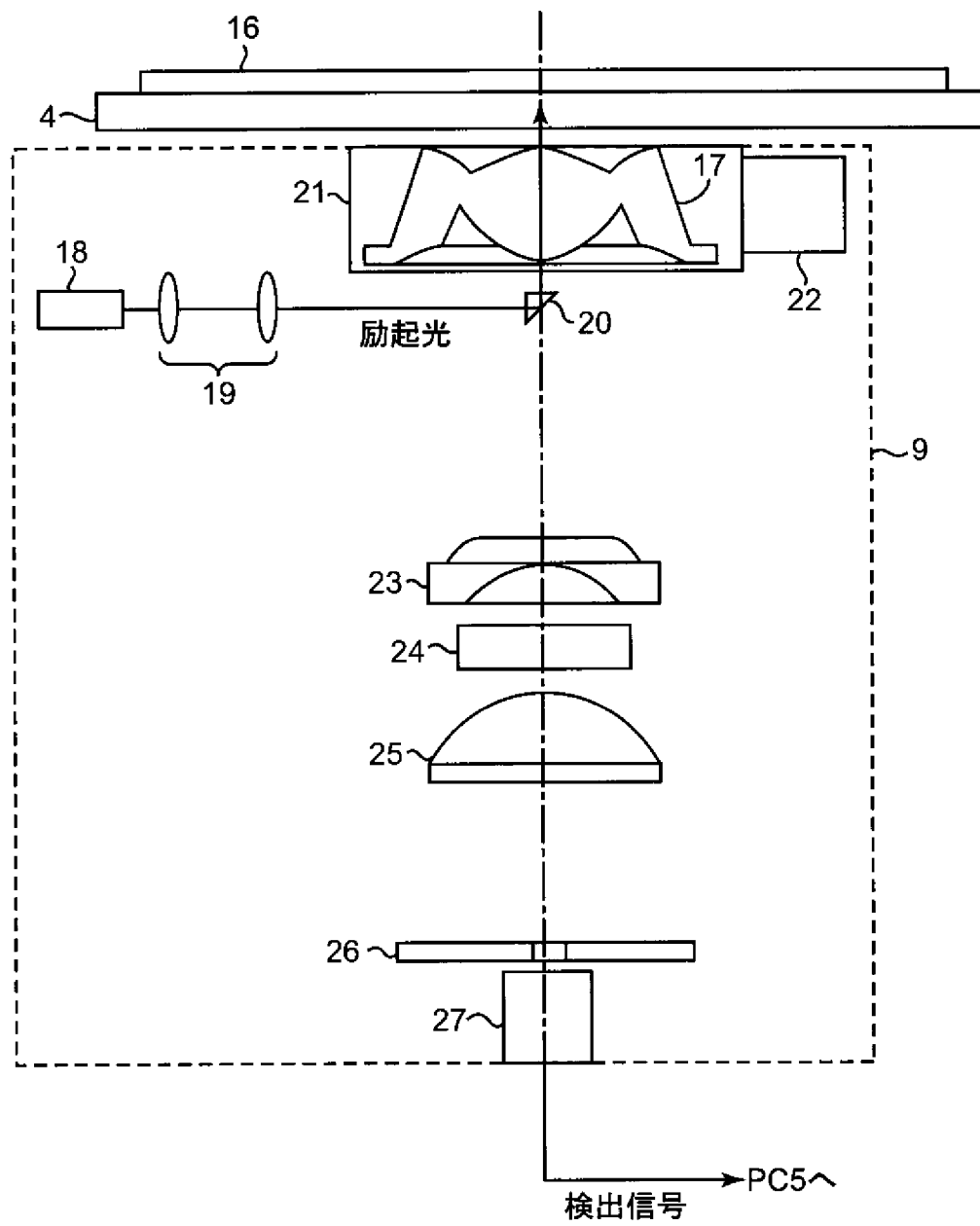
[図1]



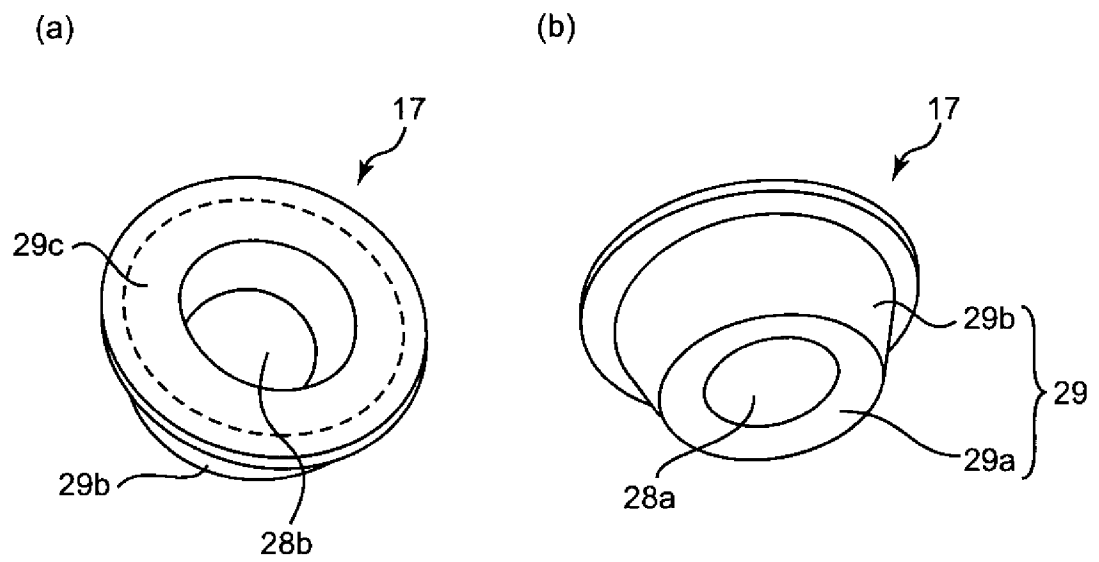
[図2]



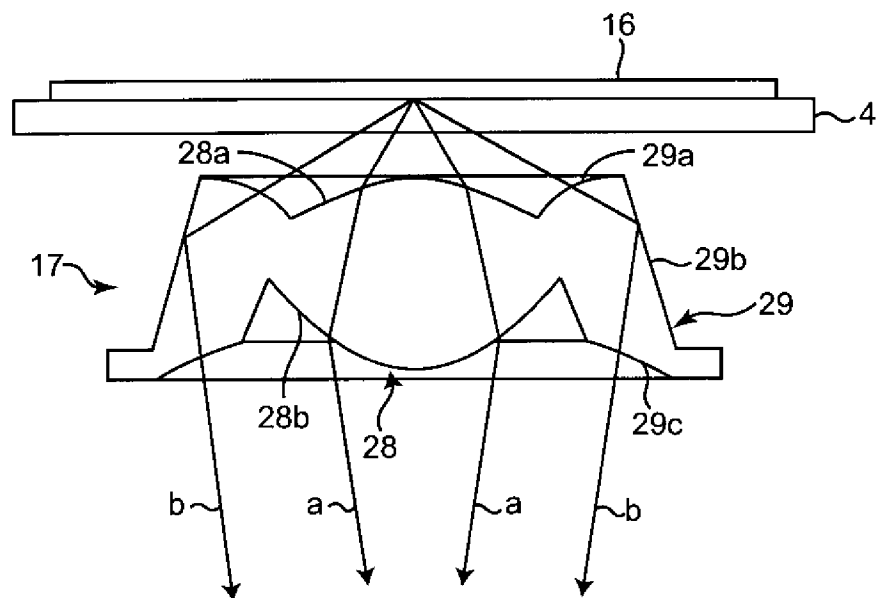
[図3]



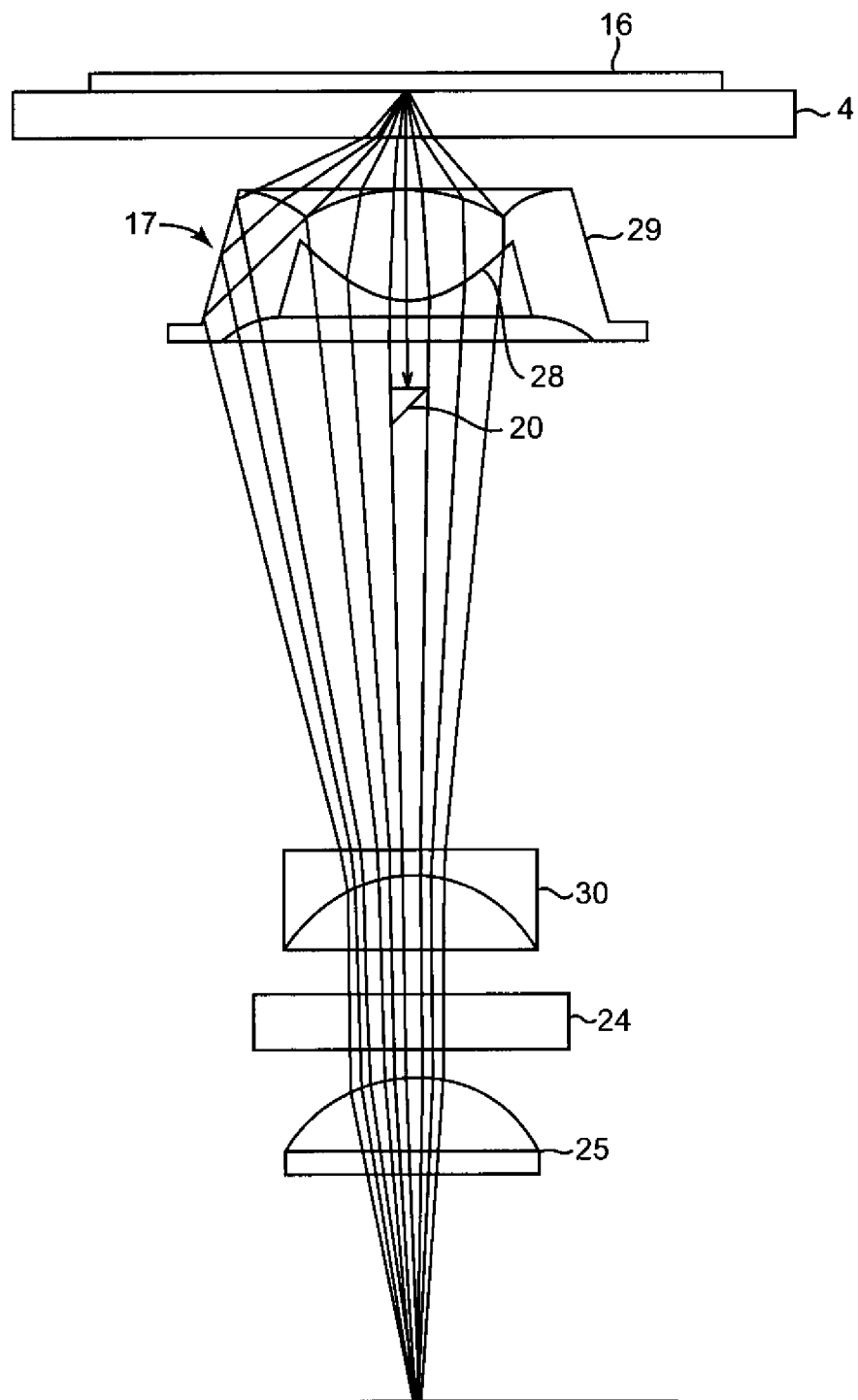
[図4]



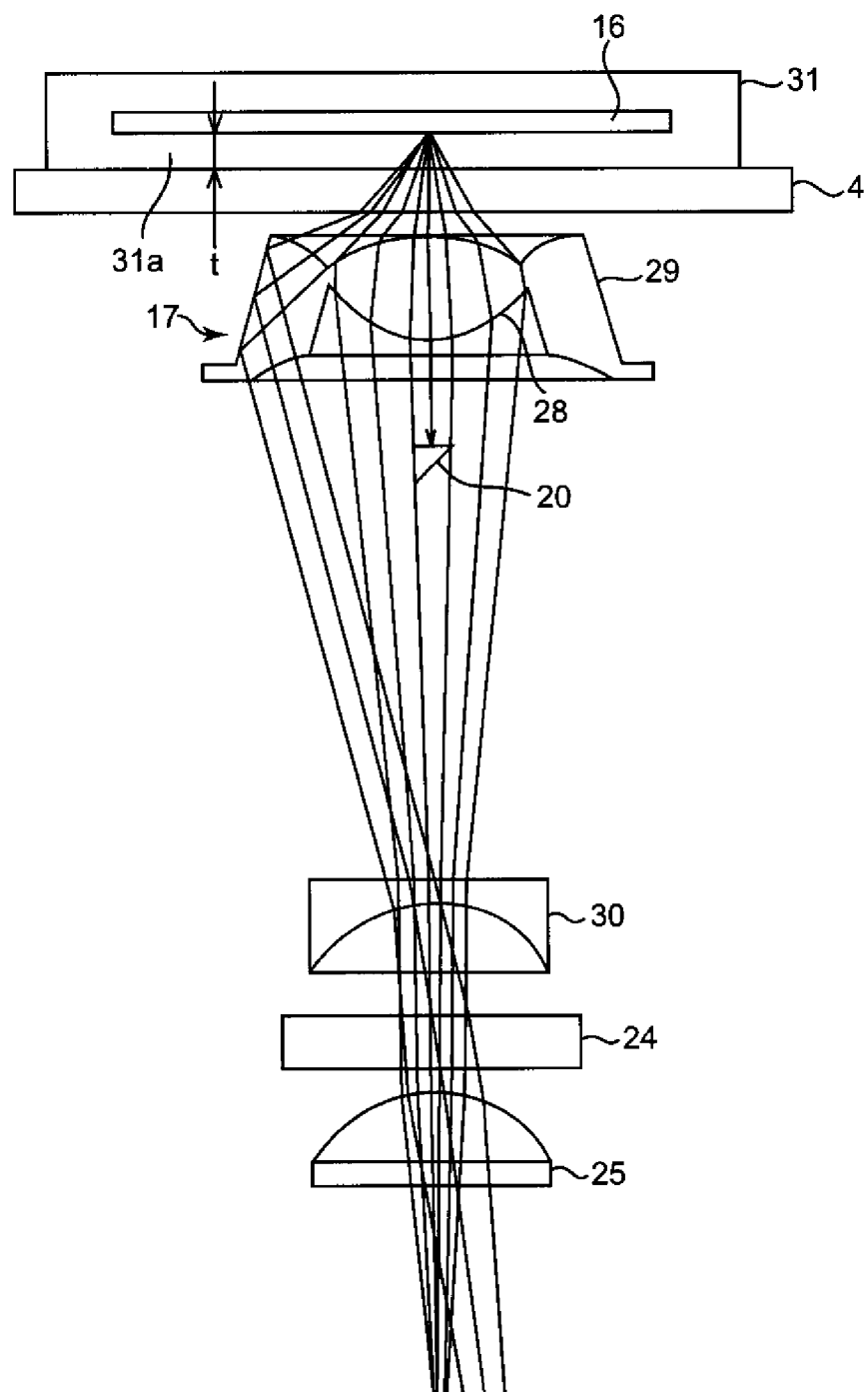
[図5]



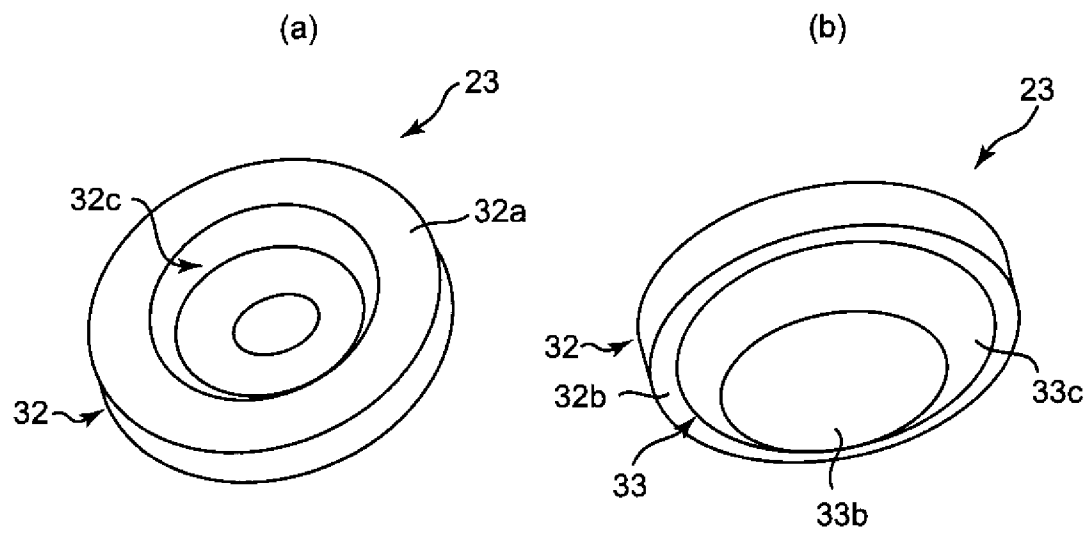
[図6]



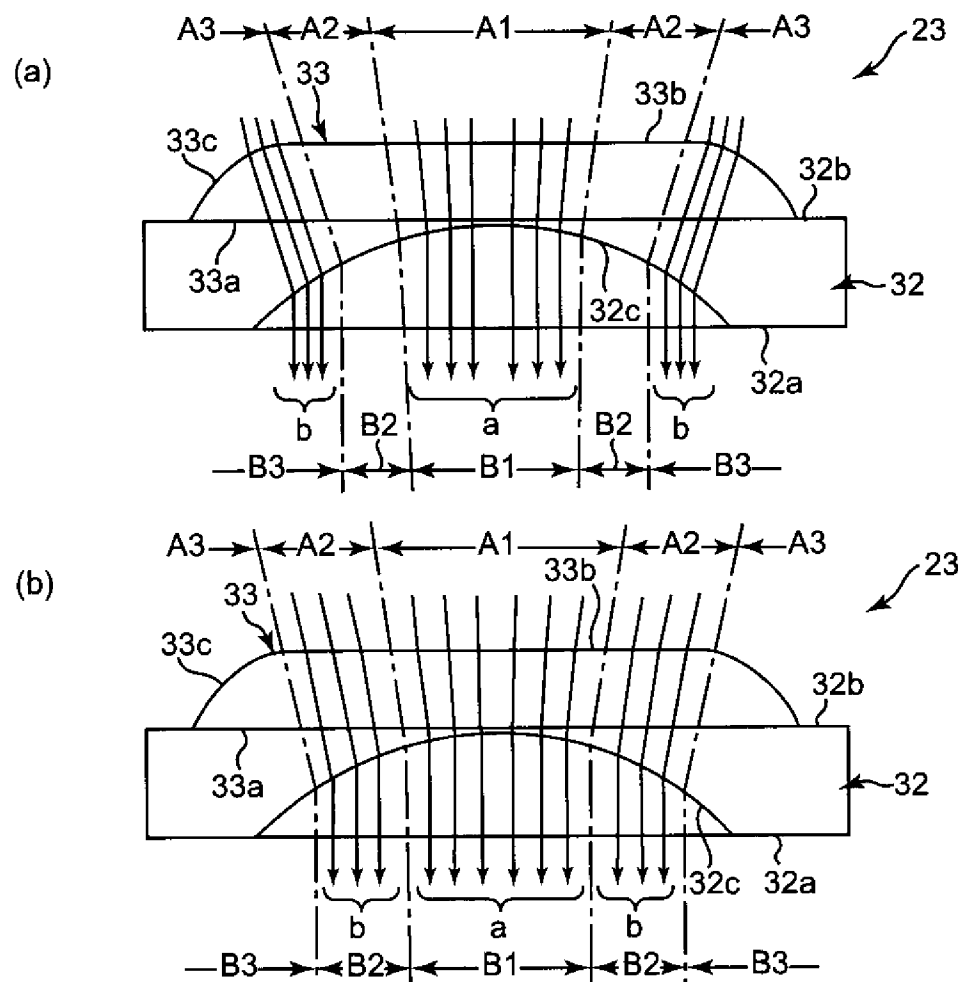
[図7]



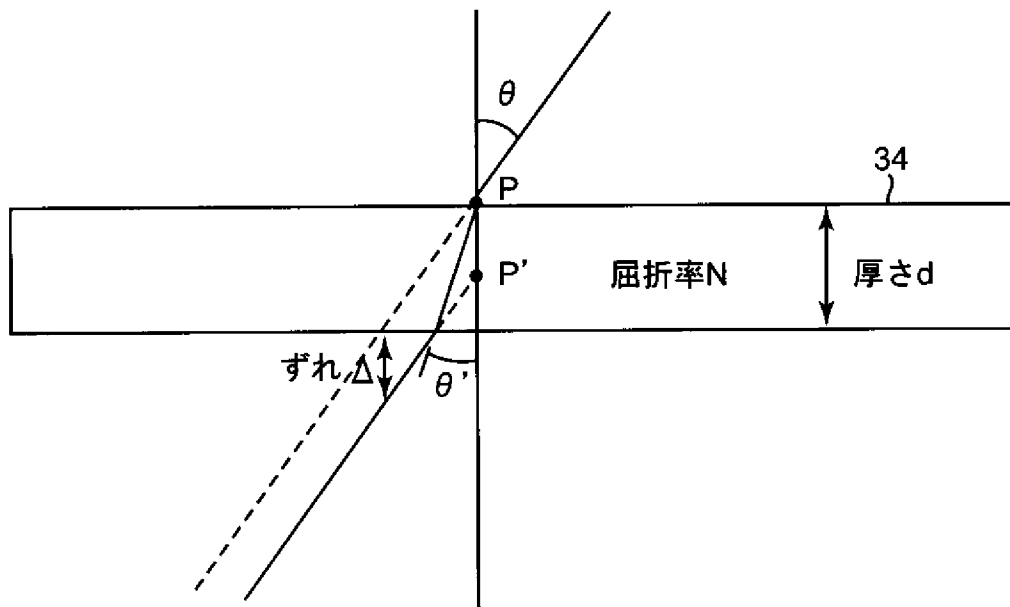
[図8]



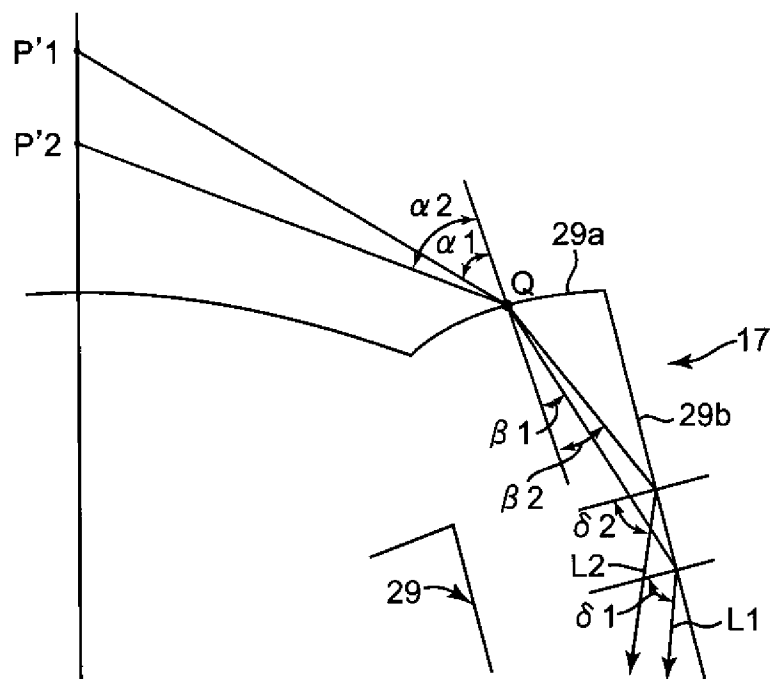
[図9]



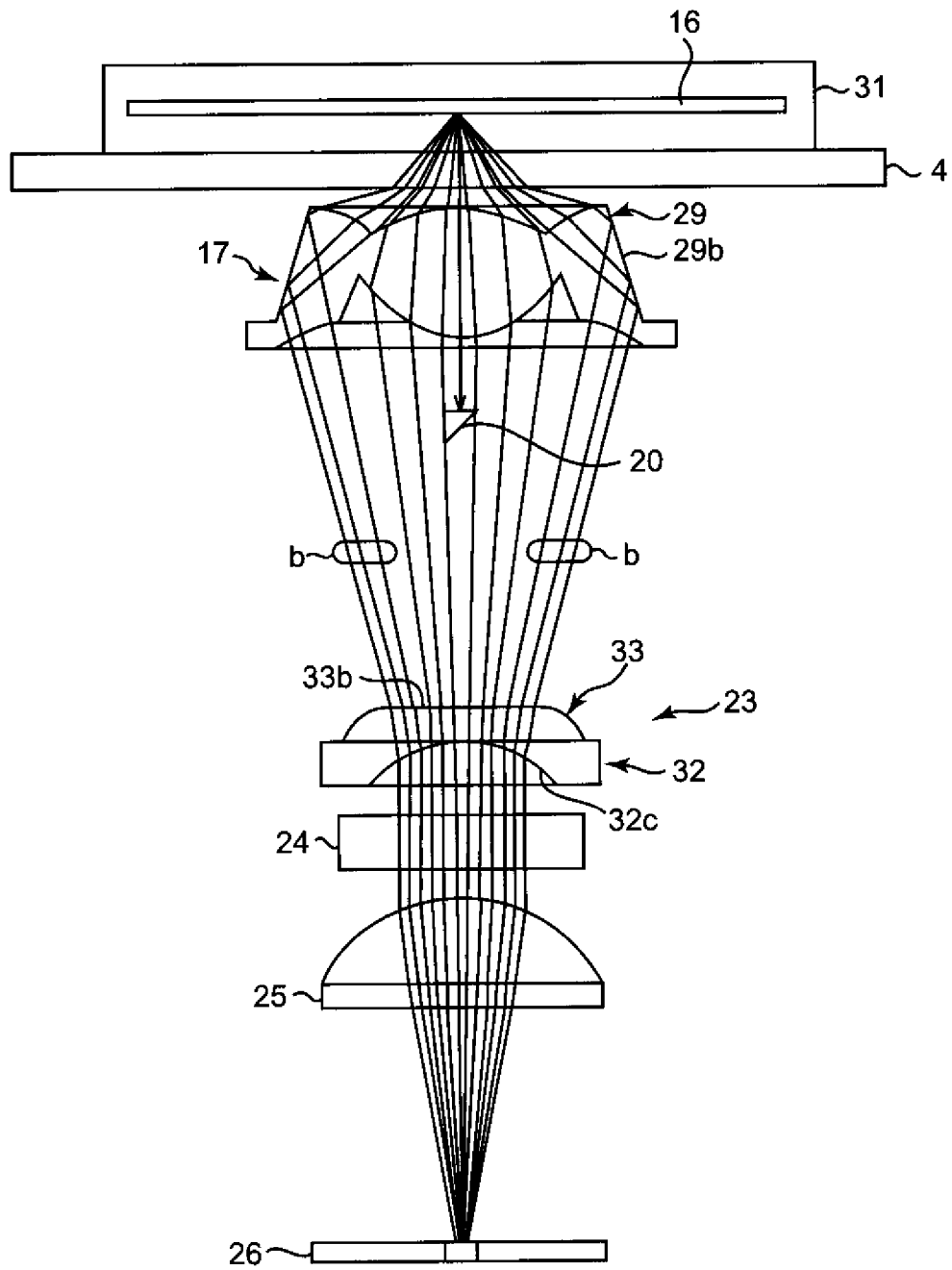
[図10]



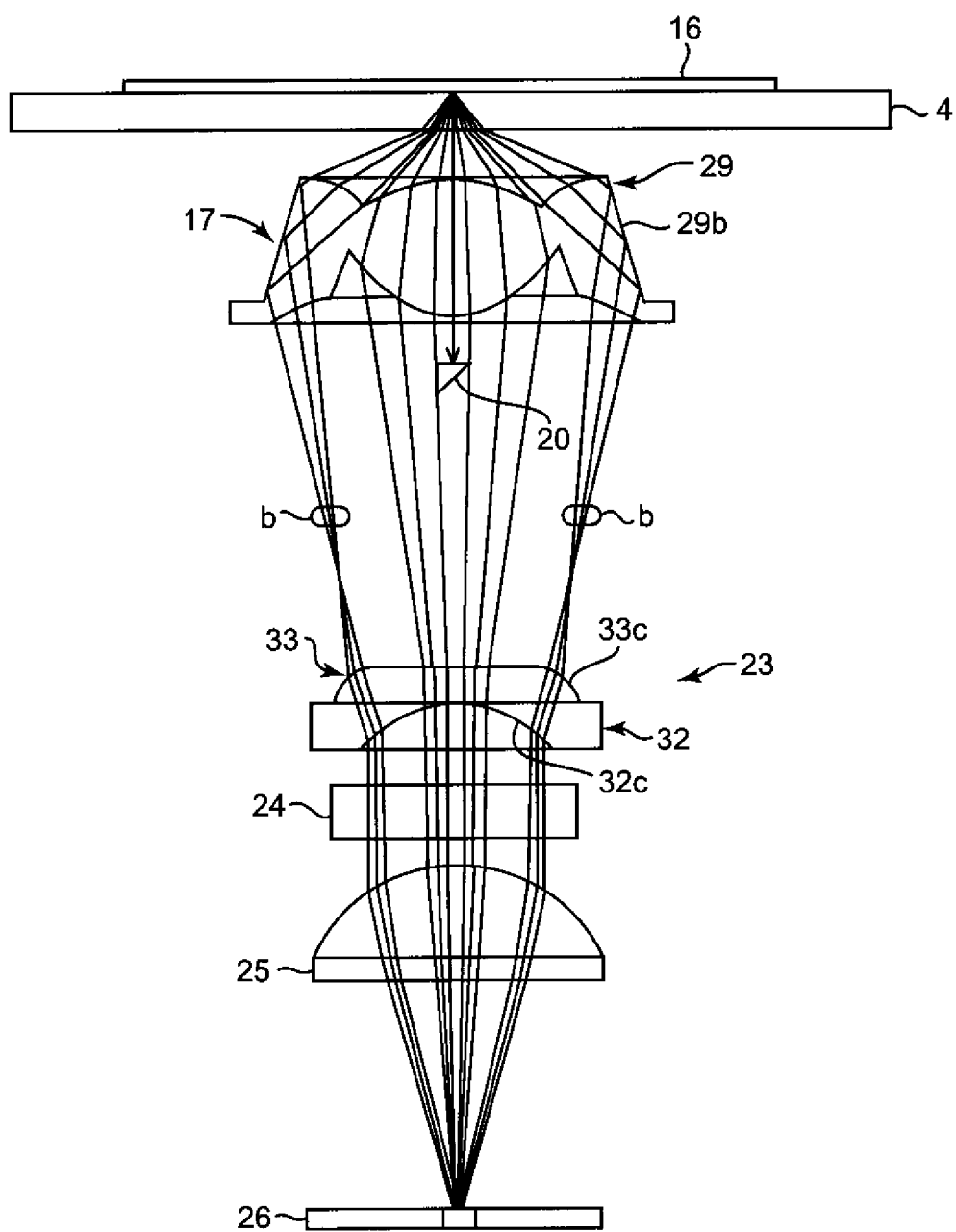
[図11]



[図12]



[図13]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/054144

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G02B21/00(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i, G02B21/02(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G02B21/00, G01N21/64, G02B21/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2013

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2013 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2013

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2007-248063 A (Hitachi, Ltd.), 27 September 2007 (27.09.2007), entire text; all drawings & US 2007/0210269 A1	1-8
A	JP 07-083900 A (Canon Inc.), 31 March 1995 (31.03.1995), entire text; all drawings (Family: none)	1-8
A	JP 2001-074657 A (Fuji Photo Film Co., Ltd.), 23 March 2001 (23.03.2001), entire text; all drawings (Family: none)	1-8



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

07 May, 2013 (07.05.13)

Date of mailing of the international search report

21 May, 2013 (21.05.13)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. G02B21/00(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i, G02B21/02(2006.01)i			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C）） Int.Cl. G02B21/00, G01N21/64, G02B21/02			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1 9 2 2 - 1 9 9 6 年 日本国公開実用新案公報 1 9 7 1 - 2 0 1 3 年 日本国実用新案登録公報 1 9 9 6 - 2 0 1 3 年 日本国登録実用新案公報 1 9 9 4 - 2 0 1 3 年			
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	
A	JP 2007-248063 A（株式会社日立製作所）2007.09.27, 全文、全図 & US 2007/0210269 A1	1-8	
A	JP 07-083900 A（キヤノン株式会社）1995.03.31, 全文、全図（ファミリーなし）	1-8	
A	JP 2001-074657 A（富士写真フイルム株式会社）2001.03.23, 全文、全図（ファミリーなし）	1-8	
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 0 7 . 0 5 . 2 0 1 3		国際調査報告の発送日 2 1 . 0 5 . 2 0 1 3	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（I S A / J P） 郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官（権限のある職員） 菊岡 智代 電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 7 1	2 V 2 9 1 5