

(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10月3日(03.10.2013)



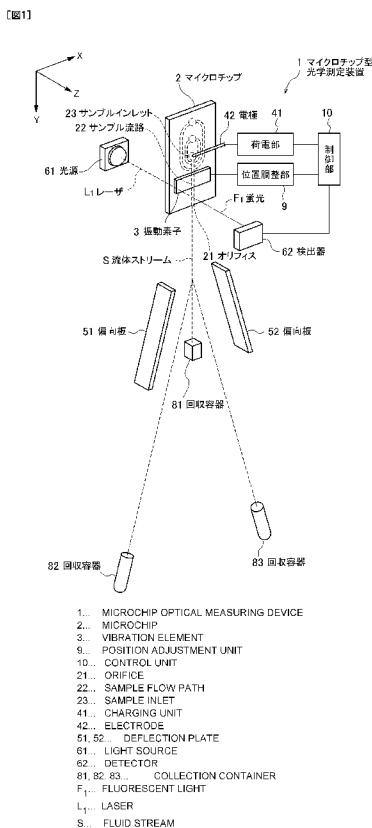
(10) 国際公開番号  
WO 2013/145836 A1

- (51) 国際特許分類:  
G01N 15/14 (2006.01) G01N 21/64 (2006.01)  
G01N 21/49 (2006.01) G01N 37/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/051800
- (22) 国際出願日: 2013年1月28日(28.01.2013)
- (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 2012-080472 2012年3月30日(30.03.2012) JP
- (71) 出願人: ソニー株式会社(SONY CORPORATION)  
[JP/JP]; 〒1080075 東京都港区港南1丁目7番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 村木 洋介(MURAKI Yosuke); 〒1080075 東京都港区港南1丁目7番1号ソニー株式会社内 Tokyo (JP). 大塚 史高(OTSUKA Fumitaka); 〒1080075 東京都港区港南1丁目7番1号ソニー株式会社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 渡邊 薫(WATANABE Kaoru); 〒1080074 東京都港区高輪2丁目20番29号サクセス泉岳寺ビル3階薫風国際特許事務所 Tokyo (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, JP, 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), ユーロシヤ (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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,

[続葉有]

(54) Title: MICROCHIP OPTICAL MEASURING DEVICE AND OPTICAL POSITION ADJUSTMENT METHOD FOR SAID DEVICE

(54) 発明の名称: マイクロチップ型光学測定装置及び該装置における光学位置調整方法



(57) Abstract: Provided is a microchip optical measuring device that is capable of automatically adjusting, in a highly accurate manner, the position of a microchip relative to the optical axis of a laser. The microchip optical measuring device is provided with: an irradiation detection unit that detects light produced by projecting a laser on a microchip; a position adjustment unit that changes the relative position of the microchip with respect to the irradiation detection unit; and a control unit that outputs, to the position adjustment unit, a signal to move toward a position where an integrated value or average value of the detected intensity of the aforementioned light in a predetermined region becomes large.

(57) 要約: レーザの光軸に対するマイクロチップの位置調整を自動で高精度に行うことが可能なマイクロチップ型光学測定装置を提供すること。マイクロチップにレーザを照射して発生する光を検出する照射検出部と、該照射検出部に対する前記マイクロチップの相対位置を変更する位置調整部と、予め設定された領域において前記光の検出強度の積算値又は平均値が大きくなる位置への移動信号を前記位置調整部に出力する制御部と、を備えるマイクロチップ型光学測定装置。

WO 2013/145836 A1

NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI 添付公開書類:  
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, — 国際調査報告 (条約第 21 条(3))  
NE, SN, TD, TG).

## 明 細 書

発明の名称：

マイクロチップ型光学測定装置及び該装置における光学位置調整方法

### 技術分野

[0001] 本技術は、マイクロチップ型光学測定装置及び該装置における光学位置調整方法に関する。より詳しくは、マイクロチップの光学位置を自動で最適化し、高精度な測定を可能とするマイクロチップ型光学測定装置等に関する。

### 背景技術

[0002] 細胞などの微小粒子の特性を光学的に測定する微小粒子測定装置（例えばフローサイトメータ）が知られている。

[0003] フローサイトメータでは、フローセル又はマイクロチップに形成された流路に細胞を含むサンプル液を送液し、流路内を通流する細胞にレーザを照射して細胞から発生する蛍光又は散乱光を検出器で検出することにより、細胞の光学特性を測定している。また、フローサイトメータでは、光学特性の測定の結果、所定の条件を満たすと判定されたポピュレーション（群）を、細胞中から分別回収することも行われている。

[0004] 例えば、特許文献1には、マイクロチップ型のフローサイトメータとして、「微小粒子を含む液体が通流される流路と、この流路を通流する液体をチップ外の空間に排出するオリフィスと、が配設されたマイクロチップと、オリフィスにおいて液体を液滴化して吐出するための振動素子と、吐出される液滴に電荷を付与するための荷電手段と、流路を通流する微小粒子の光学特性を検出する光学検出手段と、チップ外の空間に吐出された液滴の移動方向に沿って、移動する液滴を挟んで対向して配設された対電極と、対電極間を通過した液滴を回収する二以上の容器と、を備える微小粒子分取装置」が開示されている。

### 先行技術文献

### 特許文献

[0005] 特許文献1：特開2010-190680号公報

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0006] 微小粒子の光学特性を正確に測定するため、微小粒子測定装置では、フローセル又はマイクロチップに形成された流路内の微小粒子の通流位置と、レーザの光軸と、を高精度に位置合わせする必要がある。この位置合わせは、従来、キャリブレーション用の粒子（キャリブレーションビーズ）を用いてユーザが手動で行っており、習熟を要し、信頼性や安定性に問題があった。特に、マイクロチップ型の微小粒子測定装置では、マイクロチップの交換の都度あるいは分析の都度に光学位置調整が必要となり、非常に煩雑であった。

[0007] そこで、本技術は、レーザの光軸に対するマイクロチップの位置調整を自動で高精度に行うことが可能なマイクロチップ型光学測定装置を提供することを主な目的とする。

### 課題を解決するための手段

[0008] 上記課題解決のため、本技術は、マイクロチップにレーザを照射して発生する光を検出する照射検出部と、該照射検出部に対する前記マイクロチップの相対位置を変更する位置調整部と、予め設定された領域において前記光の検出強度の積算値又は平均値が大きくなる位置への移動信号を前記位置調整部へ出力する制御部と、を備えるマイクロチップ型光学測定装置を提供する。

このマイクロチップ型光学測定装置において、前記制御部は、前記検出位置と前記光の検出強度の積算値又は平均値の関係が、予め記憶された確率分布に従うと仮定し、該確率分布における分布パラメータを確率統計的手法に基づいて推定することで、該推定により前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となる位置への移動信号を生成してもよい。前記制御部は、前記レーザの照射プロファイルに応じて前記確率分布を選択してもよい。

また、前記制御部は、予め設定された複数点において前記光の検出強度の

積算値又は平均値の変動係数が最小となる位置への移動信号を前記位置調整部に出力してもよい。

また、前記制御部は、予め設定された複数のエリア内で前記検出強度の積算値のエリア平均が最大となるエリアへの移動信号を前記位置調整部に出力してもよい。

また、前記制御部は、前記予め設定された複数点において前記検出強度の積算値が最大となる位置への移動信号を前記位置調整部に出力してもよい。

また、前記制御部は、前記エリア平均が最大となるエリア内において前記検出強度の積算値が最大となる第一の最適位置、又は前記エリア平均が最大となるエリア内において前記変動係数が最小となる第二の最適位置への移動信号を前記位置調整部に出力してもよい。

また、前記制御部は、前記第一の最適位置と前記第二の最適位置が異なる場合に、前記第二の最適位置への移動信号を前記位置調整部に出力してもよい。

このマイクロチップ型光学測定装置は、マイクロチップ型微小粒子測定装置として構成できる。

[0009] また、本技術は、レーザ照射によりマイクロチップから発生する光をマイクロチップ上の複数の位置から検出する手順と、予め設定された領域のうち前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となる位置を特定する手順と、を含む光学位置調整方法を提供する。

前記位置を特定する手順では、前記検出位置と前記光の検出強度の積算値又は平均値の関係が予め記憶された確率分布に従うと仮定し、該確率分布における分布パラメータを確率統計的手法に基づいて推定することで、該推定により前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となる位置を特定してもよい。

また、この光学位置調整方法は、前記確率分布により前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となると推定された位置から所定の位置までの前記光の検出強度の積算値又は平均値を一次元の分布であると仮定し、該一次元

の分布により前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となる位置を特定する手順を含んでもよい。

また、前記位置を特定する手順では、前記位置を、予め設定された複数点において前記光の検出強度の積算値又は平均値の変動係数が最小となる位置としてもよい。

また、この光学位置調整方法は、予め設定された複数のエリア内で前記光の検出強度の積算値のエリア平均が最大となる位置を特定する手順を含んでもよい。

また、この光学位置調整方法は、前記エリア平均が最大となるエリア内において前記検出強度の積算値が最大となる第一の最適位置を特定する手順を含んでもよい。

また、前記変動係数が最小となる位置を特定する前記手順は、前記エリア平均が最大となるエリア内において前記変動係数が最小となる第二の最適位置を特定する手順であってもよい。

また、この光学位置調整方法は、前記レーザに対する前記マイクロチップの相対位置を、前記第一の最適位置又は前記第二の最適位置に設定する手順を含んでもよい。

更に、本技術は、レーザ照射によりマイクロチップから発生する光をマイクロチップ上の複数の位置から検出する手順と、前記光の検出強度の積算値のエリア平均がより大きくなる位置を特定する手順と、前記エリア平均がより大きくなるエリア内において前記検出強度の積算値又は平均値がより大きくなる第一の最適位置を特定する手順と、前記エリア平均がより大きくなるエリア内において前記検出強度の積算値又は平均値の変動係数がより小さくなる第二の最適位置を特定する手順と、前記レーザに対する前記マイクロチップの相対位置を、前記第一の最適位置又は前記第二の最適位置に設定する手順と、を含むマイクロチップ型光学測定装置における光学位置調整方法も提供する。

[0010] 本技術において、「微小粒子」には、細胞や微生物、リポソームなどの生

体関連微小粒子、あるいはラテックス粒子やゲル粒子、工業用粒子などの合成粒子などが広く含まれるものとする。

生体関連微小粒子には、各種細胞を構成する染色体、リポソーム、ミトコンドリア、オルガネラ(細胞小器官)などが含まれる。細胞には、動物細胞(血球系細胞など)および植物細胞が含まれる。微生物には、大腸菌などの細菌類、タバコモザイクウイルスなどのウイルス類、イースト菌などの菌類などが含まれる。さらに、生体関連微小粒子には、核酸やタンパク質、これらの複合体などの生体関連高分子も包含され得るものとする。また、工業用粒子は、例えば有機もしくは無機高分子材料、金属などであってもよい。有機高分子材料には、ポリスチレン、スチレン・ジビニルベンゼン、ポリメチルメタクリレートなどが含まれる。無機高分子材料には、ガラス、シリカ、磁性体材料などが含まれる。金属には、金コロイド、アルミなどが含まれる。これら微小粒子の形状は、一般には球形であるのが普通であるが、非球形であってもよく、また大きさや質量なども特に限定されない。

### 発明の効果

[0011] 本技術により、レーザの光軸に対するマイクロチップの位置調整を自動で高精度に行うことが可能なマイクロチップ型光学測定装置が提供される。

### 図面の簡単な説明

[0012] [図1]マイクロチップ型フローサイトメータとして構成された本技術に係るマイクロチップ型光学測定装置1(フローサイトメータ1)の構成を説明するための図である。

[図2]フローサイトメータ1に搭載可能なマイクロチップ2の一例の構成を説明するための図である。

[図3]マイクロチップ2のオリフィス21の構成を説明するための図である。

[図4]フローサイトメータ1における光学位置の最適化のための第1実施形態の制御ステップを説明するためのフローチャートである。

[図5]第1実施形態の原点・基準点移動ステップ $S_1$ ～エリア平均値最大位置判定ステップ $S_3$ における制御を説明するための図である。

[図6]第1実施形態のエリア平均最大位置移動ステップ $S_4$ ～積算値最大位置判定ステップ $S_6$ における制御を説明するための図である。

[図7]第1実施形態の変動係数判定ステップ $S_7$ における制御を説明するための図である。

[図8]フローサイトメータ1における光学位置の最適化のための第2実施形態の制御ステップを説明するためのフローチャートである。

[図9]第2実施形態の粗調整ステップ $S_{21}$ における制御を説明するための図である。

[図10]第2実施形態の粗調整ステップ $S_{21}$ において仮定した確定分布を説明するための図である。

[図11]第2実施形態の第1微調整ステップ $S_{22}$ における制御を説明するための図である。

[図12]第2実施形態の第2微調整ステップ $S_{23}$ における制御を説明するための図である。

[図13]第2実施形態の微々調整ステップ $S_{24}$ における制御を説明するための図である。

### 発明を実施するための形態

[0013] 以下、本技術を実施するための好適な形態について図面を参照しながら説明する。なお、以下に説明する実施形態は、本技術の代表的な実施形態の一例を示したものであり、これにより本技術の範囲が狭く解釈されることはない。説明は以下の順序で行う。

#### 1. マイクロチップ型光学測定装置

- (1) 照射検出部
- (2) 位置調整部
- (3) 振動素子
- (4) 荷電部
- (5) 偏向板

- (6) 回収容器
- (7) 制御部等
- (8) マイクロチップ

## 2. 本技術の第1実施形態のマイクロチップ型光学測定装置における光学位置の最適化制御

- (1) 原点・基準点移動ステップ  $S_1$
- (2) 信号取得ステップ  $S_2$
- (3) エリア平均値最大位置判定ステップ  $S_3$
- (4) エリア平均最大位置移動ステップ  $S_4$
- (5) 信号取得ステップ  $S_5$
- (6) 積算値最大位置判定ステップ  $S_6$
- (7) 変動係数判定ステップ  $S_7$
- (8) 位置最適化ステップ  $S_8$

## 3. 本技術の第2実施形態のマイクロチップ型光学測定装置における光学位置の最適化制御

- (1) 粗調整ステップ  $S_{21}$ 
  - (1-1) 格子状信号取得ステップ  $S_{211}$
  - (1-2) 二次元分布パラメータ推定ステップ  $S_{212}$
  - (1-3) 最大位置移動ステップ  $S_{213}$
- (2) 第1微調整ステップ  $S_{22}$ 
  - (2-1) 直線状信号取得ステップ  $S_{221}$
  - (2-2) 一次元分布パラメータ推定ステップ  $S_{222}$
  - (2-3) 最大位置移動ステップ  $S_{223}$
- (3) 第2微調整ステップ  $S_{23}$ 
  - (3-1) 直線状信号取得ステップ  $S_{231}$
  - (3-2) 一次元分布パラメータ推定ステップ  $S_{232}$
  - (3-3) 最大位置移動ステップ  $S_{233}$
- (4) 微々調整ステップ  $S_{24}$

[0014] 1. マイクロチップ型光学測定装置

図1は、マイクロチップ型フローサイトメータとして構成された本技術に係るマイクロチップ型光学測定装置1（以下「フローサイトメータ1」とも称する）の構成を説明する模式図である。また、図2及び図3は、フローサイトメータ1に搭載可能なマイクロチップ2の一例を示す。図2Aは上面模式図、BはA中P-P断面に対応する断面模式図を示す。また、図3は、マイクロチップ2のオリフィス21の構成を模式的に説明する図であり、Aは上面図、Bは断面図、Cは正面図を示す。図3Bは、図2A中P-P断面に対応する。

[0015] (1) 照射検出部

フローサイトメータ1は、マイクロチップ2にレーザ $L_1$ を照射する光源61と、レーザ $L_1$ の照射により発生する検出対象光を検出する検出器62とを含んでなる照射検出部を備える。マイクロチップ2に対するレーザ $L_1$ の照射方向（レーザ $L_1$ の光軸）を図1中Z軸正方向で示す。光源61は、LD、LEDなどであってよい。

[0016] レーザ $L_1$ は、マイクロチップ2のサンプル流路22を通流する細胞に照射される。検出器62は、細胞によるレーザ $L_1$ の散乱光、及び、細胞又は細胞に標識された蛍光色素がレーザ $L_1$ により励起されて生じる蛍光を検出する。図1中、サンプル流路22を通流する細胞から発生する蛍光を符合 $F_1$ で示す。

[0017] 照射検出部は、光源61から出射されたレーザ $L_1$ を細胞に導光して集光するための集光レンズやダイクロイックミラー、バンドパスフィルター等からなる照射系を含む。また、照射検出部は、レーザ $L_1$ の照射によって細胞から発生する検出対象光を集光して検出器62に導光する検出系によって構成される。検出系は、例えば、PMT (photo multiplier tube) や、CCDやCMOS素子等のエリア撮像素子などによって構成される。

[0018] 照射検出部の検出系により検出される検出対象光は、レーザ $L_1$ の照射によ

って細胞から発生する光であって、例えば、前方散乱光や側方散乱光、レイリー散乱やミー散乱等の散乱光や蛍光などとすることができる。蛍光は、細胞又は細胞に標識された蛍光色素から発生するものであってよい。これらの検出対象光は電気信号に変換され、細胞の光学特性判定及び後述する光学位置の自動調整のために利用される。

[0019] (2) 位置調整部

フローサイトメータ 1 は、照射検出部に対するマイクロチップ 2 の相対位置を変更する位置調整部 9 を備える。位置調整部 9 は、マイクロチップ 2 の位置及び／又は照射検出部の位置を、レーザ  $L_1$  の光軸に対する垂直平面 (X-Y 平面) 上で移動させる。これにより、位置調整部 9 は、レーザ  $L_1$  の光軸に対するマイクロチップ 2 の位置を調整して、レーザ  $L_1$  がサンプル流路 2 2 内の細胞の通流位置に照射されるように最適化する。

[0020] 位置調整部 9 は、マイクロチップ 2 の位置、又は、光源 6 1 及び検出器 6 2 を含む照射検出部の位置の少なくとも一方を、X 軸方向及び Y 軸方向に移動可能なものであればよい。位置調整部 9 は、例えばステッピングモータなどにより構成される。なお、位置調整部 9 は、照射検出部に対するマイクロチップ 2 の相対位置を Z 軸方向 (レーザ  $L_1$  の焦点方向) においても移動させるものであってよい。

[0021] (3) 振動素子

フローサイトメータ 1 は、マイクロチップ 2 に形成されたオリフィス 2 1 に振動を印加して、オリフィス 2 1 から排出される、細胞を含むサンプル液とシース液との層流を液滴化して吐出させる振動素子 3 を備える。振動素子 3 は、例えば piezo 素子とできる。吐出された液滴は、流体ストリーム S となって図中矢印 Y 軸正方向に射出される。なお、フローサイトメータ 1 において、マイクロチップ 2 は交換可能に搭載されるものである。

[0022] フローサイトメータ 1 において、振動素子 3 は、マイクロチップ 2 と一体に構成されたものであってもよく、搭載されたマイクロチップ 2 と接触可能なように装置側に配設されたものであってもよい。

## [0023] (4) 荷電部

オリフィス 2 1 から吐出される液滴は、荷電部 4 1 によって正又は負の電荷を付与される。液滴のチャージは、荷電部 4 1 と電氣的に接続され、マイクロチップ 2 に設けられたサンプルインレット 2 3 に挿入されている電極 4 2 によって行われる。なお、電極 4 2 は、マイクロチップ 2 のいずれかの箇所、流路を送液されるサンプル液又はシース液に電氣的に接触するように挿入されていけばよいものとする。

[0024] フローサイトメータ 1 では、振動素子 3 の駆動電圧の周波数と、荷電部 4 1 の電圧（チャージ電圧）の切り換えタイミングと、を同期させることにより、オリフィス 2 1 から吐出される液滴の一部にプラス又はマイナスのいずれかの電荷を付与する。一部の液滴は、電荷を付与されず、チャージなしとされていてもよい。

## [0025] (5) 偏向板

さらに、フローサイトメータ 1 は、流体ストリーム S を挟んで対向して配置された一对の偏向板 5 1, 5 2 を備える。偏向板 5 1, 5 2 は、液滴に付与された電荷との間に作用する電氣的な力によって流体ストリーム S 中の各液滴の進行方向を変化させる。偏向板 5 1, 5 2 は、通常使用される電極であってよい。図 1 中、偏向板 5 1, 5 2 の対向方向を X 軸方向によって示す。

## [0026] (6) 回収容器

偏向板 5 1, 5 2 の間を通過した流体ストリームは、回収容器 8 1、回収容器 8 2 又は回収容器 8 3 のいずれかに受け入れられる。例えば、偏向板 5 1 を正、偏向板 5 2 を負に帯電させる場合、荷電部 4 1 により負にチャージされた液滴は回収容器 8 2 に、正にチャージされた液滴は回収容器 8 3 にそれぞれ回収される。また、荷電部 4 1 によりチャージされていない液滴は、偏向板 5 1, 5 2 からの電氣的な作用力を受けずに真っ直ぐ飛行し、回収容器 8 1 に回収される。フローサイトメータ 1 では、各液滴に含まれる細胞の特性に応じて該液滴の進行方向を制御することで、所望の特性を有する目的

細胞とそれ以外の非目的細胞とを別々の回収容器に回収できる。

[0027] 回収容器 8 1, 8 2, 8 3 は、実験用として汎用のプラスチック製チューブあるいはガラス製チューブであってよい。これらの回収容器は、交換可能にフローサイトメータ 1 に配置されるものであることが好ましい。また、回収容器のうち非目的細胞を受け入れるものには、回収した液滴の排液路を接続してもよい。なお、フローサイトメータ 1 において、配置される回収容器の数は特に限定されないものとする。回収容器を 3 つよりも多く配置する場合には、各液滴が、偏向板 5 1, 5 2 との間の電気的な作用力の有無及びその大小によっていずれか一つの回収容器に誘導され、回収されるようにする。

[0028] (7) 制御部等

フローサイトメータ 1 は、上述の構成に加え、通常のフローサイトメータが備える、細胞の光学特性判定のためのデータ解析部、サンプル液及びシース液を貯留するタンク部及びこれらの各構成を制御するための制御部 1 0 などを備える。

[0029] 制御部 1 0 は、CPU、メモリ及びハードディスクなどを備える汎用のコンピュータによって構成でき、ハードディスク内には OS と次に説明する制御ステップを実行するプログラムなどが格納されている。

[0030] 制御部 1 0 は、予め設定された領域のうち、レーザー  $L_1$  の照射によりマイクロチップから発生する光の検出強度の積算値又は平均値がより大きくなる（好ましくは最大値となる）位置であって、ばらつきが少なくなる位置への移動信号を位置調整部 9 に出力する。

[0031] (8) マイクロチップ

マイクロチップ 2 は、サンプル流路 2 2 が形成された基板層 2 a、2 b が貼り合わされてなる。基板層 2 a、2 b へのサンプル流路 2 2 の形成は、金型を用いた熱可塑性樹脂の射出成形により行うことができる。熱可塑性樹脂には、ポリカーボネート、ポリメタクリル酸メチル樹脂 (PMMA)、環状ポリオレフィン、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリプロピレン及びポリジ

メチルシロキサン（PDMS）などの従来マイクロチップの材料として公知のプラスチックを採用できる。

[0032] サンプル液は、サンプルインレット23に導入され、シースインレット24に導入されるシース液と合流して、サンプル流路22を送液される。シースインレット24から導入されたシース液は、2方向に分かれて送液された後、サンプルインレット23から導入されたサンプル液との合流部において、サンプル液を2方向から挟み込むようにしてサンプル液に合流する。これにより、合流部において、シース液層流の中央にサンプル液層流が位置された3次元層流が形成される。

[0033] 符号25は、サンプル流路22に詰まりや気泡が生じた際に、サンプル流路22内に負圧を加えて流れを一時的に逆流させて詰まりや気泡を解消するための吸引流路を示す。吸引流路25の一端には、真空ポンプ等の負圧源に接続される吸引アウトレット251が形成され、他端は連通口252においてサンプル流路22に接続している。

[0034] 3次元層流は、送液方向に対する垂直断面の面積が送液方向上流から下流へ次第にあるいは段階的に小さくなるように形成された絞込部261（図2参照）、262（図3参照）において層流幅を絞り込まれる。その後、3次元層流は、流路の一端に設けられたオリフィス21から排出される。

[0035] サンプル流路22の絞込部261と絞込部262との間では、細胞の特性検出が行われる。照射検出部によって、サンプル流路22中を3次元層流の中心に一直線に配列して送流される細胞に対してレーザー $L_1$ が照射され、細胞から発生する蛍光 $F_1$ 及び散乱光が検出される（図2参照）。

[0036] サンプル流路22のオリフィス21への接続部は、直線状に形成されたストレート部27とされている。ストレート部27は、オリフィス21から流体ストリームSをY軸正方向に真っ直ぐ射出するために機能する。

[0037] オリフィス21から排出される3次元層流は、振動素子31によりオリフィス21に印加される振動によって液滴化され、流体ストリームSとして射出される（図1参照）。オリフィス21は基板層2a、2bの端面方向に開

口しており、その開口位置と基板層端面との間には切欠部 2 1 1 が設けられている。切欠部 2 1 1 は、オリフィス 2 1 の開口位置と基板端面との間の基板層 2 a、2 b を、切欠部 2 2 1 の径 L がオリフィス 2 1 の開口径 l よりも大きくなるように切り欠くことによって形成されている（図 3 C 参照）。切欠部 2 1 1 の径 L は、オリフィス 2 1 から吐出される液滴の移動を阻害しないように、オリフィス 2 1 の開口径 l よりも 2 倍以上大きく形成することが望ましい。

[0038] 2. 本技術の第 1 実施形態のマイクロチップ型光学測定装置における光学位置の最適化制御

図 4 は、フローサイトメータ 1 におけるマイクロチップ 2 の光学位置の最適化のための制御ステップを説明するフローチャートである。制御ステップは、「原点・基準点移動ステップ  $S_1$ 」、「信号取得ステップ  $S_2$ 」、「エリア平均値最大位置判定ステップ  $S_3$ 」、「エリア平均最大位置移動ステップ  $S_4$ 」、「信号取得ステップ  $S_5$ 」、「積算値最大位置判定ステップ  $S_6$ 」、「変動係数判定ステップ  $S_7$ 」及び「位置最適化ステップ  $S_8$ 」の手順を含む。以下、各手順について説明する。

[0039] (1) 原点・基準点移動ステップ  $S_1$

ユーザにより分析の開始信号が入力されると、制御部 1 0 は位置調整部 9 へ移動信号を出力し、位置調整部 9 が照射検出部に対するマイクロチップ 2 の相対位置を予め設定された初期位置（図 5、原点 O を参照）に移動させる。相対位置が原点 O にあるとき、照射検出部から出射されたレーザ  $L_1$  はマイクロチップ 2 上の原点 O に照射される。相対位置の変更は、マイクロチップ 2 の位置、又は、光源 6 1 及び検出器 6 2 を含む照射検出部の位置の少なくとも一方を、X 軸方向及び Y 軸方向に移動することによって行い得るが、以下ではマイクロチップ 2 の位置を移動する場合を例に説明する。

[0040] 次に、制御部 1 0 は、サンプル液及びシース液を貯留するタンク部のポンプを駆動して、マイクロチップ 2 のサンプルインレット 2 3 及びシースインレット 2 4 へのサンプル液及びシース液の送液を開始する。サンプル液には

、キャリブレーション用のビーズが含まれていることが好ましい。さらに、制御部10は、振動素子3によるオリフィス21への振動印加を開始する。これにより、オリフィス21から射出されるサンプル液及びシース液の3次元層流が液滴化して吐出され、流体ストリームSが発生する。

[0041] サンプル液及びシース液の送液開始後、制御部10は、位置調整部9へ移動信号を出力し、位置調整部9がマイクロチップ2の位置を原点Oから基準点D<sub>0</sub>に移動させる(図5矢印参照)。照射検出部に対するマイクロチップ2の相対位置が基準点D<sub>0</sub>にあるとき、照射検出部から出射されたレーザーL<sub>1</sub>はマイクロチップ2上の基準点D<sub>0</sub>に照射される。

[0042] 基準点D<sub>0</sub>は、マイクロチップ2の細胞の特性検出が行われるべき位置(すなわち、以下に説明するステップにより決定される最適位置)の近傍に予め設定される。より具体的には、基準点D<sub>0</sub>は、サンプル流路22の絞込部261と絞込部262との間(図3参照)の近傍とされる。

[0043] (2) 信号取得ステップS<sub>2</sub>

本ステップS<sub>2</sub>では、照射検出部により、基準点D<sub>0</sub>を含むマイクロチップ2上の複数の位置から発生する蛍光又は散乱光(以下、単に「蛍光」と称する)の検出が行われる。本ステップS<sub>2</sub>において、蛍光の検出が行われるマイクロチップ2上の位置を図5中符号Dにより示す。図では、基準点D<sub>0</sub>を含めて24箇所の検出位置Dを設定し、X軸方向の配列数M<sub>1</sub>を8列、Z軸方向の配列数N<sub>1</sub>を3列に配列した検出位置Dからの蛍光を検出する場合を例に示した。

[0044] 検出位置Dが設定される領域にはサンプル流路22が含まれるようにされ、この限りにおいて検出位置Dの数及び配列態様は特に限定されず任意に設定される。検出位置Dは、図に示すようにX軸方向及びZ軸方向に格子状に配列されることが好ましい。この場合、検出位置DのX軸方向及びZ軸方向の配列間隔W及びHは、サンプル流路22の流路幅(流路径)とX軸方向及びZ軸方向における検出位置Dの配列数M<sub>1</sub>、N<sub>1</sub>に応じて適宜設定され得る。サンプル流路22の流路幅が70~100μm程度であり、8、N<sub>1</sub>が3で

ある場合、配列間隔 $W$ 及び $H$ は、例えばそれぞれ $25$ 、 $75\ \mu\text{m}$ に設定される。

[0045] 蛍光の検出は、一つの検出位置 $D$ について一定時間行われる。一定時間に検出された蛍光は積算されて電気信号に変換され制御部 $10$ に出力される。蛍光の検出は、レーザ $L_1$ を $X$ 軸方向及び $Z$ 軸方向に走査して各検出位置 $D$ に順次照射して、発生する蛍光を検出することによって行い得る。あるいは、レーザ $L_1$ の照射により各検出位置 $D$ から蛍光をエリア撮像素子によって一括検出してもよい。

[0046] (3) エリア平均値最大位置判定ステップ $S_3$

本ステップ $S_3$ では、制御部 $10$ は、各検出位置 $D$ について検出強度の積算値のエリア平均を算出し、エリア平均がより大きくなる検出位置 $D$ 、好ましくは最大値となる検出位置 $D$ を自動判定する。

[0047] 「エリア平均」とは、一つの検出位置 $D$ と、それから所定の距離範囲内にある複数の検出位置 $D$ と、で得られた検出強度の積算値の平均を意味する。図5では、エリア平均を、一つの検出位置 $D_1$ と、検出位置 $D_1$ から $X$ 軸方向に $2W$ 、 $Z$ 軸方向に $2H$ の距離範囲内にある検出位置 $D_2\sim D_9$ と、で得られた検出強度の積算値の平均とする場合を示した。

[0048] 一つの検出位置 $D$ からどれくらいの距離範囲内をエリア平均として設定するかは、サンプル流路 $22$ の流路幅（流路径）、配列間隔 $W$ 及び $H$ に応じて適宜決定され得るものとする。

[0049] 制御部 $10$ は、各検出位置 $D$ について算出されたエリア平均を比較し、エリア平均がより大きくなる検出位置 $D$ 、好ましくは最大値となる検出位置 $D$ を決定する。ここでは、検出位置 $D_1$ においてエリア平均が最大値となるものとして説明する。

[0050] 蛍光はキャリブレーションビーズ又は細胞が通流されるサンプル流路 $22$ で強く発生するため、エリア平均が最大値となる検出位置 $D_1\sim D_9$ を結んで形成される領域 $R_1$ 内には、サンプル流路 $22$ が位置するものとみなし得る。

[0051] (4) エリア平均最大位置移動ステップ $S_4$

エリア平均が最大値となる検出位置 $D_1$ が特定されると、制御部10は、位置調整部9へ移動信号を出力し、位置調整部9がマイクロチップ2の位置を基準点 $D_0$ から検出位置 $D_1$ に移動させる（図6矢印参照）。

[0052] (5) 信号取得ステップ $S_5$

本ステップ $S_5$ では、照射検出部により、エリア平均が最大値となる領域 $R_1$ 内の複数の位置から発生する蛍光の検出が行われる。本ステップ $S_5$ における蛍光の検出位置 $D$ を図6の拡大図中に示す。図では、エリア平均が最大値となる検出位置 $D_1$ を含めてX軸方向に $M_2$ 列、Z軸方向に $N_2$ 列配列した（ $M_2 \times N_2$ ）の検出位置 $D$ から蛍光を検出する場合を例に示した。

[0053] 検出位置 $D$ のX軸方向及びZ軸方向の配列間隔 $w$ 及び $h$ は、サンプル流路22の流路幅（流路径）とX軸方向及びZ軸方向における配列数 $M_2$ 及び $N_2$ に応じて適宜設定され得る。配列数 $M_2$ 、 $N_2$ は、例えばそれぞれ11、7個とされる。列間隔 $w$ 及び $h$ は、例えばそれぞれ5、25 $\mu\text{m}$ に設定される。なお、本ステップ $S_5$ においても、検出位置 $D$ の数及び配列態様は特に限定されないものとする。

[0054] 蛍光の検出は、一つの検出位置 $D$ について一定時間行われる。一定時間に検出された蛍光は電気信号に変換され制御部10に出力される。蛍光の検出は、レーザ $L_1$ をX軸方向及びZ軸方向に走査して各検出位置 $D$ に順次走査し、発生する蛍光を検出する。あるいは、エリア撮像素子によって、レーザ $L_1$ の照射により各検出位置 $D$ から蛍光を一括検出してもよい。

[0055] (6) 積算値最大位置判定ステップ $S_6$

本ステップ $S_6$ では、制御部10は、各検出位置 $D$ について、検出強度の積算値又は平均値のどちらか一方又は両方と、それらの変動係数（CV値）とを算出する。以下では、検出強度の積算値とそのCV値とを用いた処理を例に説明する。

[0056] 制御部10は、各検出位置 $D$ について算出された検出強度の積算値を比較し、積算値がより大きくなる検出位置 $D$ 、好ましくは最大値となる検出位置 $D$ （第一の最適位置）を決定する。ここでは、検出位置 $D_{11}$ において積算値

が最大値となるものとして説明する（図6参照）。

[0057] (7) 変動係数判定ステップ $S_7$

次に、制御部10は、積算値が最大値となる検出位置 $D_{11}$ と隣接する検出位置 $D_{12} \sim D_{19}$ との間でCV値を比較し、検出位置 $D_{11}$ に比してより小さいCV値を与える検出位置D（第二の最適位置）の存在の有無を自動判定する（図7参照）。

[0058] (8) 位置最適化ステップ $S_8$

ステップ $S_7$ において、積算値が最大値となる検出位置 $D_{11}$ に比してより小さいCV値を与える検出位置Dが、検出位置 $D_{11}$ と隣接する検出位置 $D_{12} \sim D_{19}$ のいずれにもみつからなかった場合、制御部10は、マイクロチップ2の位置を検出位置 $D_1$ から検出位置 $D_{11}$ に移動させる。このとき、積算値が最大値となる検出位置（第一の最適位置）とCV値が最小値となる検出位置（第二の最適位置）はいずれも検出位置 $D_{11}$ で一致している。

[0059] また、ステップ $S_7$ において、検出位置 $D_{12} \sim D_{19}$ のいずれかに検出位置 $D_{11}$ に比してより小さいCV値を与える検出位置Dが見つかった場合、制御部10は、マイクロチップ2の位置を検出位置 $D_1$ から当該検出位置D（例えば検出位置 $D_{18}$ ）に移動させる。このとき、積算値が最大値となる検出位置（第一の最適位置）とCV値が最小値となる検出位置（第二の最適位置）は不一致である。

[0060] 積算値が最大値となる検出位置 $D_{11}$ は、蛍光が最も強く発生する位置であり、サンプル流路22のキャリブレーションビーズ又は細胞の通流位置とみなすことができる。すなわち、照射検出部に対するマイクロチップ2の相対位置が検出位置 $D_{11}$ にあるとき、照射検出部から出射されたレーザ $L_1$ はサンプル流路22のキャリブレーションビーズ等の通流位置に照射されることとなる。

[0061] 例外的に、積算値が最大値となる検出位置 $D_{11}$ が、サンプル流路22のキャリブレーションビーズ等の通流位置ではないにもかかわらず、蛍光強度の積算値が最大値となる場合がある。例えば、検出位置 $D_{11}$ がマイクロ流路22

の流路壁に一致する場合には、蛍光の反射や散乱などによって異常に高い蛍光強度が散発的に検出されてしまう場合がある。この場合、当該位置において検出される蛍光強度にばらつきが生じ、蛍光強度の積算値のCV値が大きくなる。

[0062] 検出位置 $D_{11}$ がマイクロ流路22の流路壁に一致する場合などでは、検出位置 $D_{11}$ と隣接する検出位置のうちより小さなCV値を与える検出位置 $D_{18}$ が、サンプル流路22のキャリブレーションビーズ等の通流位置とみなすことができる。すなわち、照射検出部に対するマイクロチップ2の相対位置が検出位置 $D_{18}$ にあるとき、照射検出部から出射されたレーザー $L_1$ はサンプル流路22のキャリブレーションビーズ等の通流位置に照射されることとなる。

[0063] 以上のように、フローサイトメータ1では、レーザー $L_1$ の照射によりマイクロチップ2から発生する蛍光の検出強度の積算値あるいは平均値がより大きくなる位置又はCV値がより小さくなる位置に、レーザー $L_1$ に対するマイクロチップ2の相対位置を設定する。これにより、フローサイトメータ1では、マイクロチップ2のサンプル流路22の細胞の通流位置と、レーザー $L_1$ の光軸と、を自動で高精度に位置決めし、簡便に高精度な測定を行うことが可能とされている。

[0064] また、フローサイトメータ1では、蛍光検出強度の積算値のエリア平均がより大きくなる位置を特定する粗調整（ステップ $S_2 \cdot S_3$ ）と、エリア平均がより大きくなる領域内において積算値あるいは平均値がより大きくなる位置又はCV値がより小さくなる位置を特定する微調整（ステップ $S_5 \sim S_7$ ）との2段階の手順によって、マイクロチップ2の光学位置を最適化している。これにより、マイクロチップ2の光学位置の最適化を小さい処理負荷で迅速に行うことが可能とされている。

[0065] 3. 本技術の第2実施形態のマイクロチップ型光学測定装置における光学位置の最適化制御

図8は、フローサイトメータ1における光学位置の最適化のための第2実施形態の制御ステップを説明するためのフローチャートである。本実施形態

の制御ステップは、「原点・基準点移動ステップ $S_1$ 」、「粗調整ステップ $S_{21}$ 」、「第1微調整ステップ $S_{22}$ 」、「第2微調整ステップ $S_{23}$ 」及び「微々調整ステップ $S_{24}$ 」の手順を含む。以下、各手順について説明する。なお、原点・基準点移動ステップ $S_1$ は、第1実施形態の原点・基準点移動ステップ $S_1$ と比べ、基準点 $D_0$ （図5再参照）が後述する図9に示す基準点 $P_0$ に相当すること以外は、実質的に同様の工程であるため、ここではその説明は省略する。

[0066] (1) 粗調整ステップ $S_{21}$

図9は、本実施形態の粗調整ステップ $S_{21}$ における制御を説明するための図である。

粗調整ステップ $S_{21}$ は、「格子状信号取得ステップ $S_{211}$ 」、「二次元分布パラメータ推定ステップ $S_{212}$ 」、「最大位置移動ステップ $S_{213}$ 」の手順を含む。以下、各手順について説明する。

[0067] (1-1) 格子状信号取得ステップ $S_{211}$

本ステップ $S_{211}$ では、照射検出部により、予め設定された複数の検出位置 $D_{21}$ からの蛍光の検出が行われる（図9A参照）。本ステップ $S_{211}$ において、蛍光の検出が行われるマイクロチップ2上の位置を図9A中符号 $D_{21}$ により示す。図9Aでは、基準点 $P_0$ を中心として、X軸方向に6列、Z軸方向に7列に配列した検出位置 $D_{21}$ からの蛍光を検出する場合を例に示した。

[0068] 検出位置 $D_{21}$ が設定される領域にはサンプル流路22が含まれるようにされ、この限りにおいて検出 $D_{21}$ の数及び配列態様は特に限定されず任意に設定される。検出位置 $D_{21}$ は、図9Aに示すようにX軸方向及びZ軸方向に格子状に配列されることが好ましい。この場合、検出位置 $D_{21}$ のX軸方向及びZ軸方向の配列間隔 $W_2$ 及び $H_2$ は、サンプル流路22の流路幅（流路径）とX軸方向及びZ軸方向における検出位置 $D_{21}$ の配列数 $M_3$ 、 $N_3$ に応じて適宜設定され得る。配列間隔 $W_2$ 及び $H_2$ は、例えばそれぞれ $62.5$ 、 $125\mu\text{m}$ に設定される。蛍光の検出については、第1の実施形態の信号取得ステップ $S_2$ と実質的に同様にして行われる。

[0069] (1-2) 二次元分布パラメータ推定ステップ  $S_{212}$

本ステップ  $S_{212}$  では、制御部 10 は、各検出位置  $D_{21}$  と蛍光の検出強度の積算値又は平均値の関係が、二次元の確率分布に従うと仮定する。そして、ステップ  $S_{211}$  において取得される検出位置及び検出強度と、照射位置及び照射強度の関係を表すレーザの照射プロファイルとについて、各検出位置における検出強度は、対応する照射位置における照射強度と相関関係を有する。そのため、仮定される確率分布は、レーザの照射プロファイルに応じて選択することが好ましい。

[0070] 例えば、照射プロファイルが、後述する図 10A に示すようなトップハットビーム形状である場合には、制御部 10 は確率分布モデルとして一様分布を仮定することができる。

一方、照射プロファイルが、後述する図 10B に示すようなガウシアンビーム形状の場合には、確率分布モデルとして正規分布を仮定することができる。このように、確率分布をレーザの照射プロファイルに応じて選択することで、装置のレーザの光学特性に応じて高速かつ高精度に光学位置を調整することができる。

[0071] また、制御部 10 は、各検出位置  $D_{21}$  と蛍光の検出強度の積算値又は平均値の関係が二次元の確率分布に従うと仮定するとき、確率分布における分布パラメータを確率統計情報に基づいて、確率統計的手法により推定する。例えば、制御部 10 は、各積算値又は平均値について、最尤推定法により分布パラメータ（平均（分布の中心位置）や分散（分布の広がり）等）を推定することができる。

[0072] この最尤推定法では、検出強度と検出位置との関係を二次元正規分布にあると推定する場合、制御部 10 に予め記憶された確率分布モデルに基づいて、二次元正規分布の中心位置（検出強度が最大である位置）がどの位置にあるときに、尤度が最大化するかを推定することができる。この最尤推定法によれば、検出強度のデータが少ない場合であっても、精度よく検出強度が最大となる位置（レーザ  $L_1$  の光軸中心位置）を推定することができる。

[0073] (1-3) 最大位置移動ステップ  $S_{213}$

本ステップ  $S_{213}$  では、制御部 10 は、確率分布推定ステップ  $S_{212}$  で推定された確率分布において、検出強度の積算値又は平均値がより大きな、好ましくは最大値となる位置  $P_1$  への移動信号を位置調整部 9 に出力する。これにより、図 9C に示すように、位置調整部 9 は、マイクロチップ 2 の位置を基準点  $P_0$  から位置  $P_1$  に移動させる。

[0074] ここで、図 10 を参照しながら最大位置の算出方法について説明する。図 10 は二次元の確率分布を一方向から見た状態を示す図である。図 10A では、トップハット分布（一様分布）を示す。確率分布をトップハット分布と推定する場合、図 10A 中のエッジ E1 とエッジ E2 の中心位置を検出強度が最大の位置と制御部 10 は判定する。

[0075] 一方、図 10B では、ガウシアン分布を示す。確率分布をガウシアン分布と推定する場合、図 10B に示すように、検出強度の積算値又は平均値の極大値  $b$  を有する位置を傾きが 0 の位置（傾き  $a$ ）とすることができる。フローサイトメータ 1 では、レーザの光学プロファイルがガウシアン分布であることが好ましく、この場合、複数の検出強度の積算値又は平均値の分布をガウシアン分布とすることができる。

[0076] このように、粗調整ステップ  $S_{21}$  では、複数の検出位置  $D_{21}$  における光の検出強度の積算値又は平均値を特定の二次元の確率分布と推定し、該確率分布において、より大きな、好ましくは最大値を有する位置にマイクロチップ 2 を移動させることができる。

[0077] 以上のように、本実施形態の光学位置調整方法によれば、各検出位置  $D_{21}$  の検出強度の確率分布を推定することで、検出位置  $D_{21}$  の数を増やさずに、マイクロチップ 2 の位置調整の精度を向上させることができる。

[0078] (2) 第 1 微調整ステップ  $S_{22}$

図 11 は、本実施形態の第 1 微調整ステップ  $S_{22}$  における制御を説明するための図である。第 1 微調整ステップ  $S_{22}$  は、「直線状信号取得ステップ  $S_{221}$ 」、「一次元分布パラメータ推定ステップ  $S_{222}$ 」及び「最大位置移動ステ

ップ $S_{223}$ 」の手順を含む。以下、各手順について説明する。

[0079] (2-1) 直線状信号取得ステップ $S_{221}$

本ステップ $S_{221}$ では、粗調整ステップ $S_{21}$ で設定された位置 $P_1$ を中心に、X軸方向に配列した複数の検出位置 $d_{22}$ からの蛍光の検出が行われる(図11A)。検出される間隔 $W_{22}$ 及び検出位置 $d_{22}$ の配列数は適宜設定され得る。図11Aでは、位置 $P_1$ を中心として、X軸方向に検出位置 $d_{22}$ が19個配列される場合を例に示した。蛍光の検出については、第1の実施形態の信号取得ステップ $S_2$ と実質的に同様にして行われる。

[0080] (2-2) 一次元分布パラメータ推定ステップ $S_{222}$

本ステップ $S_{222}$ では、制御部10は、各検出位置 $d_{22}$ と蛍光の検出強度の積算値又は平均値の関係がメモリ等に記憶された一次元の分布に従うと仮定する。例えば、図11Bに示す検出強度のデータが得られた場合には、制御部10は、一次元の分布をN次多項式モデルとし、最小二乗法に基づいて最大値を算出することができる。一次元の分布を正規分布とするよりも、N次多項式モデルとすることで、このフローサイトメータ1を構成する各部品的设计ばらつき等による光学プロファイルの分布のばらつきに精度よく対応させることができる。

[0081] ここで、分布をN次多項式モデルとする場合、次数については、高い程精度が上がる一方で、高すぎると各検出位置 $d_{22}$ の検出強度の誤差による影響を受けやすくなるため、例えば、4次とすることが好ましい。

[0082] (2-3) 最大位値移動ステップ $S_{223}$

本ステップ $S_{223}$ では、制御部10は、一次元パラメータ推定ステップ $S_{222}$ で仮定された一次元の分布において、検出強度の積算値又は平均値がより大きな、好ましくは最大値となる位置 $P_2$ への移動信号を位置調整部9に出力する。これにより、図11Cに示すように、位置調整部9は、マイクロチップ2の位置を位置 $P_1$ から位置 $P_2$ に移動させる。なお、図11Cに示す位置 $P_2$ は、検出位置 $d_{22}$ 上にある場合を例に示したが、位置 $P_2$ は、2つの検出位置 $d_{22}$ の間にあってもよい。

[0083] このように、第1微調整ステップ $S_{22}$ では、粗調整ステップ $S_{21}$ で調整されたマイクロチップ2の位置をより精度よく調整することができる。特に、マイクロチップ2の位置調整は、一方向に配列した検出位置 $d_{22}$ の検出強度に基づいて行われる。そのため、複数方向に、例えば、格子状に配列した検出位置の強度に基づいて位置調整を行うよりも、検出するデータ数を少なくすることができる。従って、検出位置 $d_{22}$ の間隔を狭くすることで、配列数を増やし、データの精度を上げて、二次元でデータを取得する場合と比較してデータ検出時間の増大を抑制することができる。

[0084] (3) 第2微調整ステップ $S_{23}$

図12は、本実施形態の第2微調整ステップ $S_{23}$ における制御を説明するための図である。第2微調整ステップ $S_{23}$ は、「直線状信号取得ステップ $S_{231}$ 」、「一次元パラメータ推定ステップ $S_{232}$ 」及び「最大位置移動ステップ $S_{233}$ 」の手順を含む。

[0085] 図12A~Cに示すように、本ステップ $S_{23}$ における制御は、図11A~Cを参照しながら説明した第1微調整ステップ $S_{22}$ における制御と比べ、X軸方向に配列した検出位置 $d_{22}$ の検出強度に基づいて位置 $P_1$ から $P_2$ にマイクロチップ2をX軸方向に移動させる代わりに、位置 $P_2$ を中心にY軸方向に配列した検出位置 $d_{23}$ の検出強度に基づいて位置 $P_2$ から $P_3$ にマイクロチップ2をY軸方向に移動させる点以外は、実質的に同様である。そのため、ここでは、その説明は省略する。

[0086] ここで、第1微調整ステップ $S_{22}$ では、X軸方向（マイクロチップ2の流れ幅方向）で位置調整をし、第2微調整ステップ $S_{23}$ では、Z軸方向（レーザL1の焦点方向）で位置調整をする。このZ軸方向はX軸方向と比較して光学プロファイルの広がりより大きい（広い範囲で蛍光の検出強度が大きい）ため、上述した粗調整ステップ $S_{21}$ で行われる処理により、X軸方向よりもZ軸方向の位置調整が精度良く行われている可能性が高い。そのため、粗調整ステップ $S_{21}$ でより精度良く位置調整が行われたZ軸方向をまず固定してから、X軸方向のマイクロチップ2の位置調整を行うことが好ましい。

従って、第1微調整ステップ $S_{21}$ と、第2微調整ステップ $S_{22}$ とは、この順で行われることが好ましい。

[0087] 第2微調整ステップ $S_{23}$ では、第1微調整 $S_{22}$ で微調整した方向とは異なる方向にマイクロチップ2の位置を調整することで、より精度良く位置合わせすることができる。

[0088] (4) 微々調整ステップ $S_{24}$

図13は、本実施形態の第2微調整ステップ $S_{23}$ における制御を説明するための図である。微々調整ステップ $S_{24}$ は、「信号取得ステップ $S_{241}$ 」、「積算値最大位置判定ステップ $S_6$ 」、「変動係数判定ステップ $S_7$ 」及び「位置最適化ステップ $S_8$ 」の手順を含む。

[0089] 図13Aに示すように、まず、信号取得ステップ $S_{241}$ では、第2微調整ステップ $S_{23}$ で設定された位置 $P_3$ を中心に複数の検出位置 $d_{24}$ において蛍光の検出が行われる。図13Aでは、X軸方向の配列数 $M_4$ を11列、Z軸方向の配列数 $N_1$ を3列にする場合を例に示した。蛍光の検出については、第1の実施形態の信号取得ステップ $S_2$ と実質的に同様にして行われる。

[0090] 次に、信号取得ステップ $S_{241}$ で蛍光の検出がされた後、積算値最大位置判定ステップ $S_6$ 、変動係数判定ステップ $S_7$ 、位置最適化ステップ $S_8$ は、実質的に第1の実施形態の制御ステップにおける、積算値最大位置判定ステップ $S_6$ 、変動係数判定ステップ $S_7$ 、位置最適化ステップ $S_8$ と同様にして行われる(図13B、図13Cも参照)。

[0091] このようにして、マイクロチップ2はより最適な位置に移動される(図13C中、 $P_3$ から $P_4$ への移動)。

[0092] なお、本実施形態では、「粗調整ステップ $S_{21}$ 」、「第1微調整ステップ $S_{22}$ 」、「第2微調整ステップ $S_{23}$ 」及び「微々調整ステップ $S_{24}$ 」の順に各工程を説明したが、例えば、「粗調整ステップ $S_{21}$ 」、「第1微調整ステップ $S_{22}$ 」及び「第2微調整ステップ $S_{23}$ 」を複数回繰り返し行ってもよい。また、「粗調整ステップ $S_{21}$ 」、「第1微調整ステップ $S_{22}$ 」及び「第2微調整ステップ $S_{23}$ 」のみを1又は複数回行い、「微々調整ステップ $S_{24}$ 」

を省略してもよい。

[0093] 以上のように、本実施形態の光学位置調整方法によれば、各検出位置と検出強度の関係が特定の確率分布モデルに従うと仮定し、その分布パラメータを確率統計的手法に基づき推定することで、検出位置の数を増やさずに、短時間の処理でマイクロチップ2の位置を精度良く調整することができる。

[0094] 本技術に係るマイクロチップ型光学測定装置には、微小粒子測定装置（フローサイトメータ）以外にも、マイクロチップに形成された領域に導入された測定対象物を光学的に測定する装置が広く含まれるものとする。また、本技術に係る光学位置調整方法は、微小粒子測定装置（フローサイトメータ）以外にも、マイクロチップに形成された領域に導入された測定対象物を光学的に測定する装置全般に広く適用できるものとする。

[0095] 本技術に係るマイクロチップ型光学測定装置は以下のような構成もとることができる。

(1) マイクロチップにレーザを照射して発生する光を検出する照射検出部と、

該照射検出部に対する前記マイクロチップの相対位置を変更する位置調整部と、

予め設定された領域において前記光の検出強度の積算値又は平均値が大きくなる位置への移動信号を前記位置調整部に出力する制御部と、を備えるマイクロチップ型光学測定装置。

(2) 前記制御部は、前記光の検出位置と前記光の検出強度の積算値又は平均値の関係が、予め記憶された確率分布に従うと仮定し、該確率分布における分布パラメータを予め記憶された確率統計的手法に基づいて推定することで、該推定により前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となる位置への移動信号を生成する前記(1)記載のマイクロチップ型光学測定装置。

(3) 前記制御部は、前記レーザの照射プロファイルに応じて前記確率分布を仮定する前記(2)記載のマイクロチップ型光学測定装置。

(4) 前記制御部は、予め設定された複数点において前記光の検出強度の積

算値又は平均値の変動係数が最小となる位置への移動信号を前記位置調整部  
に出力する前記（１）～（３）のいずれかひとつに記載のマイクロチップ型  
光学測定装置。

（５）前記制御部は、予め設定された複数のエリア内で前記検出強度の積算  
値のエリア平均が最大となるエリアへの移動信号を前記位置調整部に出力す  
る前記（４）に記載のマイクロチップ型微小粒子分取装置。

（６）前記制御部は、前記予め設定された複数点において前記検出強度の積  
算値が最大となる位置への移動信号を前記位置調整部に出力する前記（５）  
に記載のマイクロチップ型光学測定装置。

（７）前記制御部は、前記エリア平均が最大となるエリア内において前記検  
出強度の積算値が最大となる第一の最適位置、又は前記エリア平均が最大と  
なるエリア内において前記変動係数が最小となる第二の最適位置への移動信  
号を前記位置調整部に出力する前記（６）に記載のマイクロチップ型光学測定  
装置。

（８）前記制御部は、前記第一の最適位置と前記第二の最適位置が異なる場  
合に、前記第二の最適位置への移動信号を前記位置調整部に出力する上記（  
７）に記載のマイクロチップ型微小粒子分取装置。

（９）マイクロチップ型微小粒子測定装置である上記（１）～（８）に記載の  
マイクロチップ型光学測定装置。

[0096] また、本技術に係るマイクロチップ型光学測定装置における光学位置調整  
方法以下のような構成もとることができる。

（１）レーザ照射によりマイクロチップから発生する光をマイクロチップ上  
の複数の位置から検出する手順と、

予め設定された複数点が存在する領域のうち前記光の検出強度の積算値又  
は平均値が最大となる位置を特定する手順と、を含む光学位置調整方法。

（２）前記位置を特定する手順では、前記光の検出位置と前記光の検出強度  
の積算値又は平均値の関係が予め記憶された確率分布に従うと仮定し、該確  
率分布における分布パラメータを予め記憶された確率統計的手法に基づいて

推定することで、該推定により前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となる位置を特定する前記（１）記載の光学位置調整方法。

（３）前記位置を特定する手順では、前記確率分布を二次元分布とする前記（２）記載の光学位置調整方法。

（４）前記確率分布により前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となると推定された位置から所定の位置までの前記光の検出強度の積算値又は平均値の関係が一次元の分布に従うと仮定し、該一次元の分布により前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となる位置を特定する手順を含む前記（３）記載の光学位置調整方法。

（５）前記位置を特定する手順では、前記位置を、予め設定された複数点において前記光の検出強度の積算値又は平均値の変動係数が最小となる位置とする前記（１）～（４）のいずれか１つに記載の光学位置調整方法。

（６）予め設定された複数のエリア内で前記光の検出強度の積算値のエリア平均が最大となる位置を特定する手順を含む前記（５）記載の光学位置調整方法。

（７）前記エリア平均が最大となるエリア内において前記検出強度の積算値が最大となる第一の最適位置を特定する手順を含む前記（６）記載の光学位置調整方法。

（８）前記変動係数が最小となる位置を特定する前記手順は、前記エリア平均が最大となるエリア内において前記変動係数が最小となる第二の最適位置を特定する手順である前記（７）記載の光学位置調整方法。

（９）前記レーザに対する前記マイクロチップの相対位置を、前記第一の最適位置又は前記第二の最適位置に設定する手順を含む前記（８）記載の光学位置調整方法。

（１０）前記第一の最適位置と前記第二の最適位置が異なる場合に、前記相対位置を前記第二の最適位置に設定する前記（９）記載の光学位置調整方法。

（１１）レーザ照射によりマイクロチップから発生する光をマイクロチップ

上の複数の位置から検出する手順と、

前記光の検出強度の積算値のエリア平均がより大きくなる位置を特定する手順と、

前記エリア平均がより大きくなるエリア内において前記検出強度の積算値又は平均値がより大きくなる第一の最適位置を特定する手順と、

前記エリア平均がより大きくなるエリア内において前記検出強度の積算値又は平均値の変動係数がより小さくなる第二の最適位置を特定する手順と、

前記レーザに対する前記マイクロチップの相対位置を、前記第一の最適位置又は前記第二の最適位置に設定する手順と、を含むマイクロチップ型光学測定装置における光学位置調整方法。

### 符号の説明

[0097] 1 : マイクロチップ型光学測定装置、 2 : マイクロチップ、 21 : オリフィス、 22 : サンプル流路、 23 : サンプルインレット、 3 : 振動素子、 41 : 荷電部、 42 : 電極、 51, 52 : 偏向板、 61 : 光源、 62 : 検出器、 81, 82, 83 : 回収容器、 9 : 位置調整部、 10 : 制御部、 D : 検出位置、  $F_1$  : 蛍光、  $L_1$  : レーザ

## 請求の範囲

- [請求項1]           マイクロチップにレーザを照射して発生する光を検出する照射検出部と、
- 該照射検出部に対する前記マイクロチップの相対位置を変更する位置調整部と、
- 予め設定された領域において前記光の検出強度の積算値又は平均値が大きくなる位置への移動信号を前記位置調整部に出力する制御部と、
- を備えるマイクロチップ型光学測定装置。
- [請求項2]           前記制御部は、前記光の検出位置と前記光の検出強度の積算値又は平均値の関係が予め記憶された確率分布に従うと仮定し、該確率分布における分布パラメータを確率統計的手法に基づいて推定することで、該推定により前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となる位置への移動信号を生成する請求項1記載のマイクロチップ型光学測定装置。
- [請求項3]           前記制御部は、前記レーザの照射プロファイルに応じて前記確率分布を選択する請求項2記載のマイクロチップ型光学測定装置。
- [請求項4]           前記制御部は、予め設定された複数点において前記光の検出強度の積算値又は平均値の変動係数が最小となる位置への移動信号を前記位置調整部に出力する請求項1記載のマイクロチップ型光学測定装置。
- [請求項5]           前記制御部は、予め設定された複数のエリア内で前記検出強度の積算値のエリア平均が最大となるエリアへの移動信号を前記位置調整部に出力する請求項4記載のマイクロチップ型光学測定装置。
- [請求項6]           前記制御部は、前記予め設定された複数点において前記検出強度の積算値が最大となる位置への移動信号を前記位置調整部に出力する請求項5記載のマイクロチップ型光学測定装置。
- [請求項7]           前記制御部は、前記エリア平均が最大となるエリア内において前記検出強度の積算値が最大となる第一の最適位置、又は前記エリア平均が最大となるエリア内において前記変動係数が最小となる第二の最適

位置への移動信号を前記位置調整部に出力する請求項 6 記載のマイクロチップ型光学測定装置。

[請求項8] 前記制御部は、前記第一の最適位置と前記第二の最適位置が異なる場合に、前記第二の最適位置への移動信号を前記位置調整部に出力する請求項 7 記載のマイクロチップ型微小粒子分取装置。

[請求項9] マイクロチップ型微小粒子測定装置である請求項 8 記載のマイクロチップ型光学測定装置。

[請求項10] レーザ照射によりマイクロチップから発生する光をマイクロチップ上の複数の位置から検出する手順と、  
予め設定された領域のうち前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となる位置を特定する手順と、を含むマイクロチップ型光学測定装置における光学位置調整方法。

[請求項11] 前記位置を特定する手順では、前記光の検出位置と前記光の検出強度の積算値又は平均値の関係が予め記憶された確率分布に従うと仮定し、該確率分布における分布パラメータを確率統計的手法に基づいて推定することで、該推定により前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となる位置を特定する請求項 10 記載の光学位置調整方法。

[請求項12] 前記位置を特定する手順では、前記確率分布を二次元分布とする請求項 11 記載の光学位置調整方法。

[請求項13] 前記確率分布により前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となると推定された位置から所定の位置までの前記光の検出強度の積算値又は平均値の関係が予め記憶された一次元の確率分布に従うと仮定し、該確率分布における分布パラメータを確率統計的手法に基づいて推定することで、該推定により前記光の検出強度の積算値又は平均値が最大となる位置を特定する手順を含む請求項 12 記載の光学位置調整方法。

[請求項14] 前記位置を特定する手順では、前記位置を、予め設定された複数点において前記光の検出強度の積算値又は平均値の変動係数が最小とな

る位置とする請求項 10 記載の光学位置調整方法。

[請求項15] 予め設定された複数のエリア内で前記光の検出強度の積算値のエリア平均が最大となる位置を特定する手順を含む請求項 14 記載の光学位置調整方法。

[請求項16] 前記エリア平均が最大となるエリア内において前記検出強度の積算値が最大となる第一の最適位置を特定する手順を含む請求項 15 記載の光学位置調整方法。

[請求項17] 前記変動係数が最小となる位置を特定する前記手順は、前記エリア平均が最大となるエリア内において前記変動係数が最小となる第二の最適位置を特定する手順である請求項 16 記載の光学位置調整方法。

[請求項18] 前記レーザに対する前記マイクロチップの相対位置を、前記第一の最適位置又は前記第二の最適位置に設定する手順を含む請求項 17 記載の光学位置調整方法。

[請求項19] 前記第一の最適位置と前記第二の最適位置が異なる場合に、前記相対位置を前記第二の最適位置に設定する請求項 18 記載の光学位置調整方法。

[請求項20] レーザ照射によりマイクロチップから発生する光をマイクロチップ上の複数の位置から検出する手順と、

前記光の検出強度の積算値のエリア平均が最大となる位置を特定する手順と、

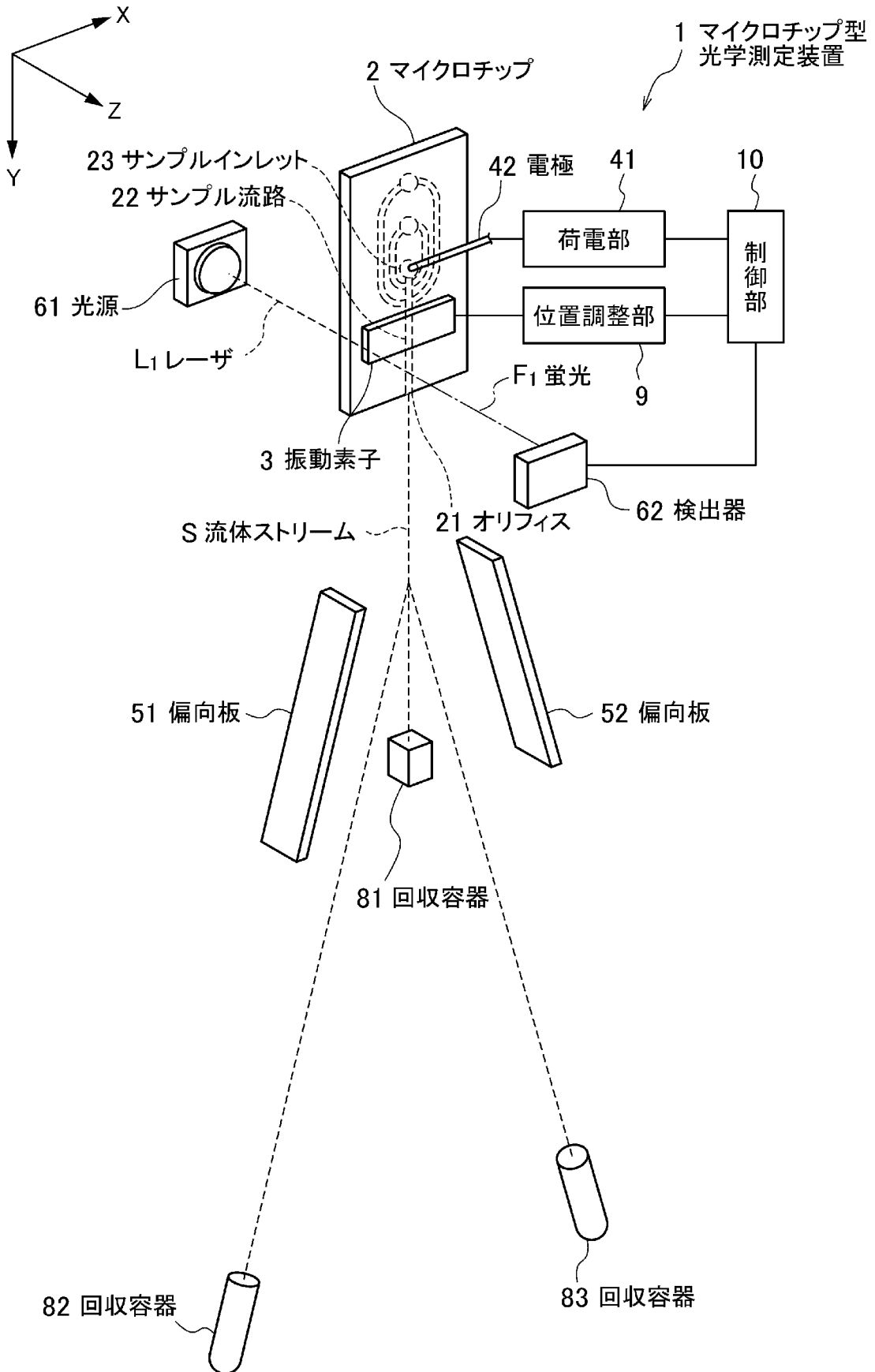
前記エリア平均が最大となるエリア内において前記検出強度の積算値又は平均値が最大となる第一の最適位置を特定する手順と、

前記エリア平均が最大となるエリア内において前記検出強度の積算値又は平均値の変動係数が最小となる第二の最適位置を特定する手順と、

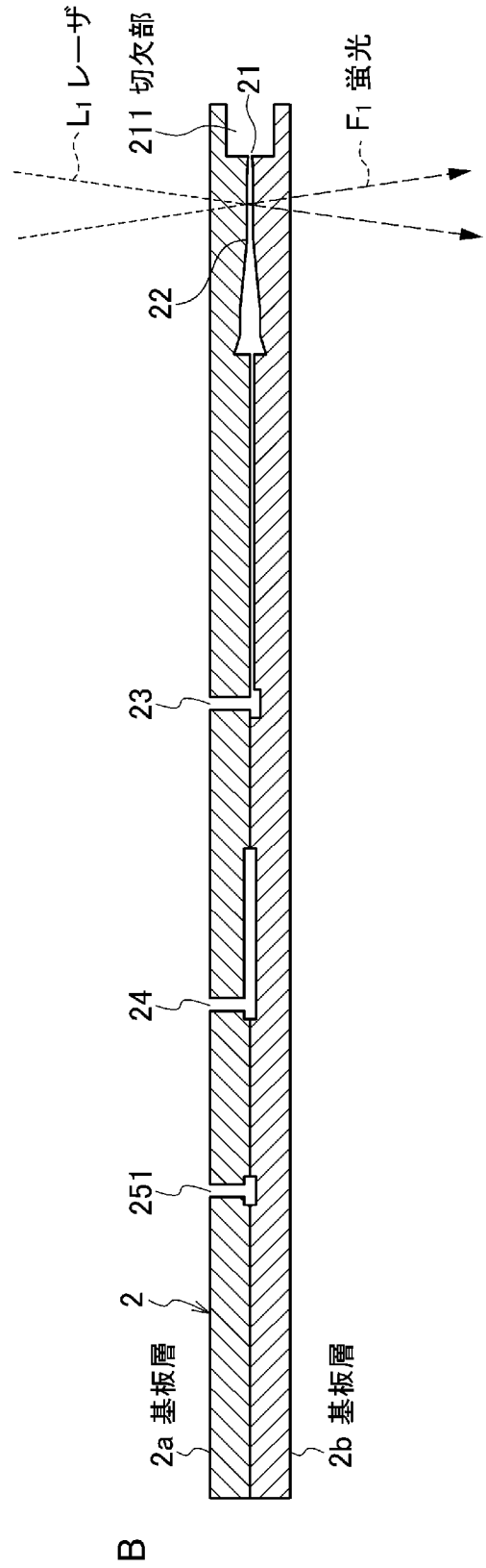
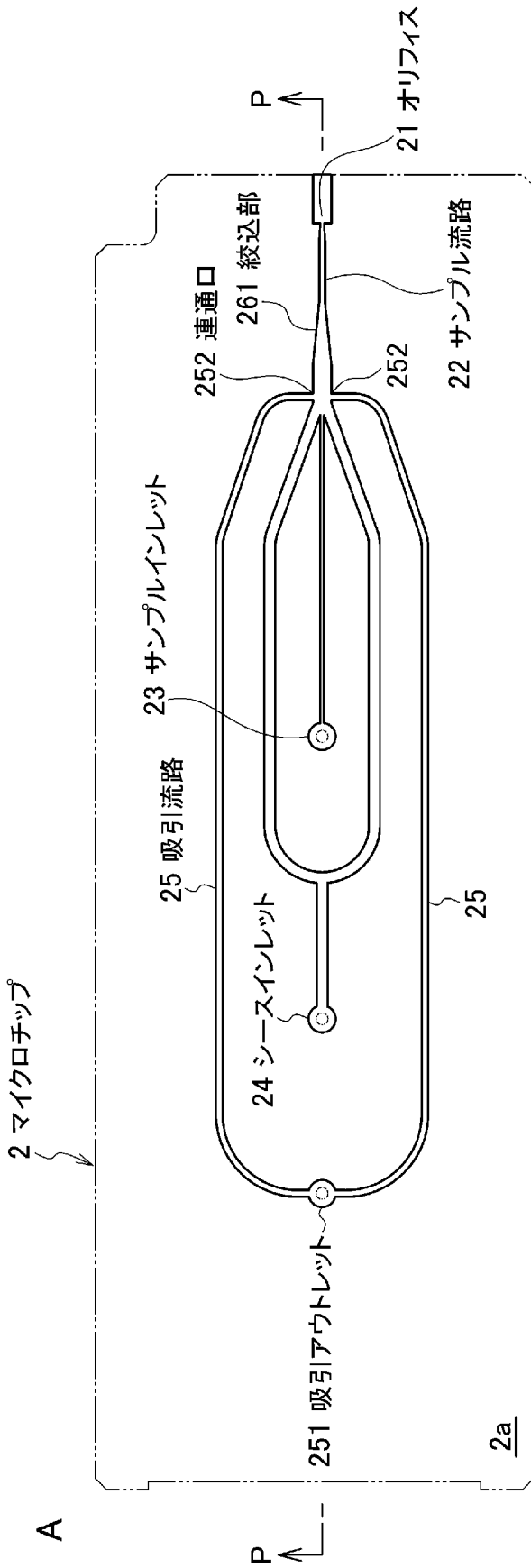
前記レーザに対する前記マイクロチップの相対位置を、前記第一の最適位置又は前記第二の最適位置に設定する手順と、を含むマイクロチップ型光学測定装置における光学位置調整方法。



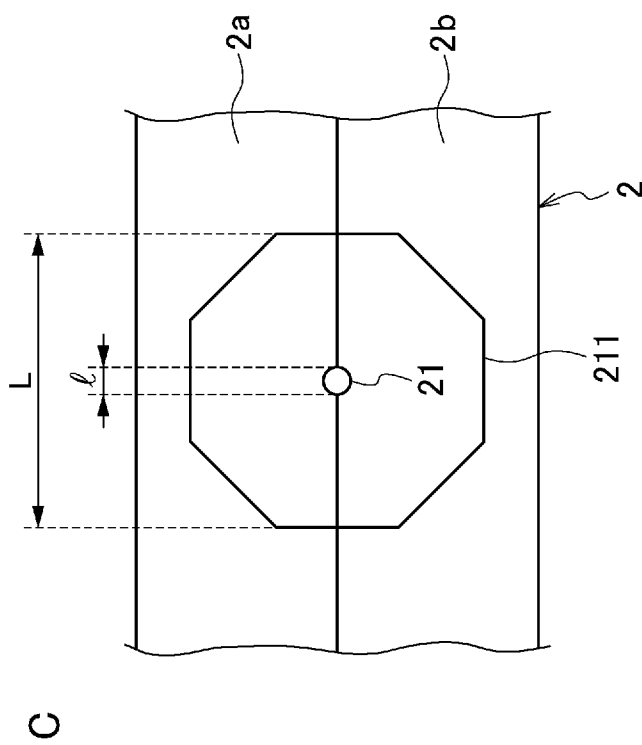
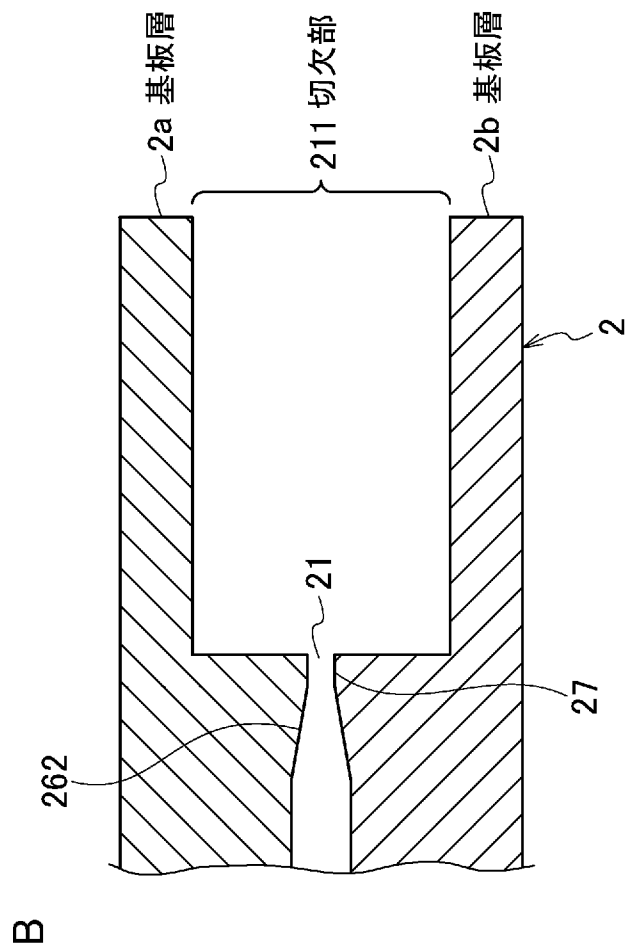
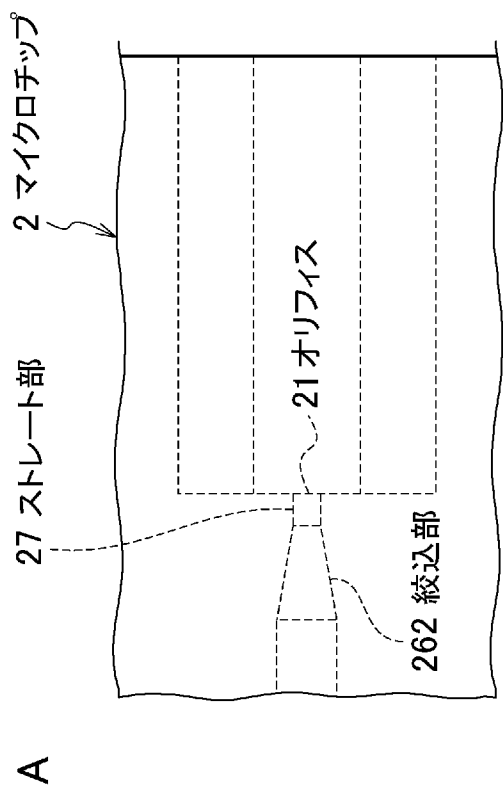
[図1]



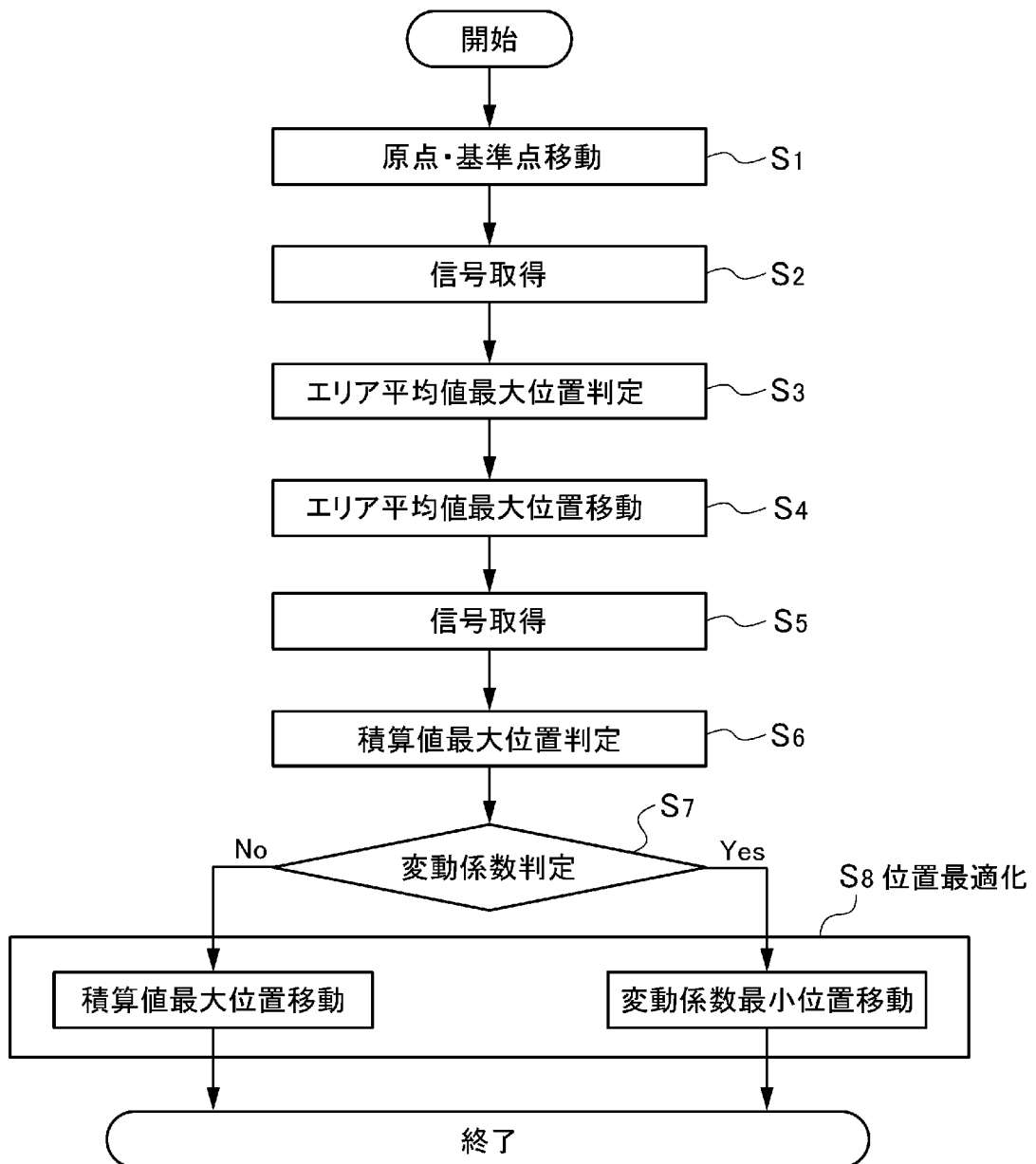
[図2]



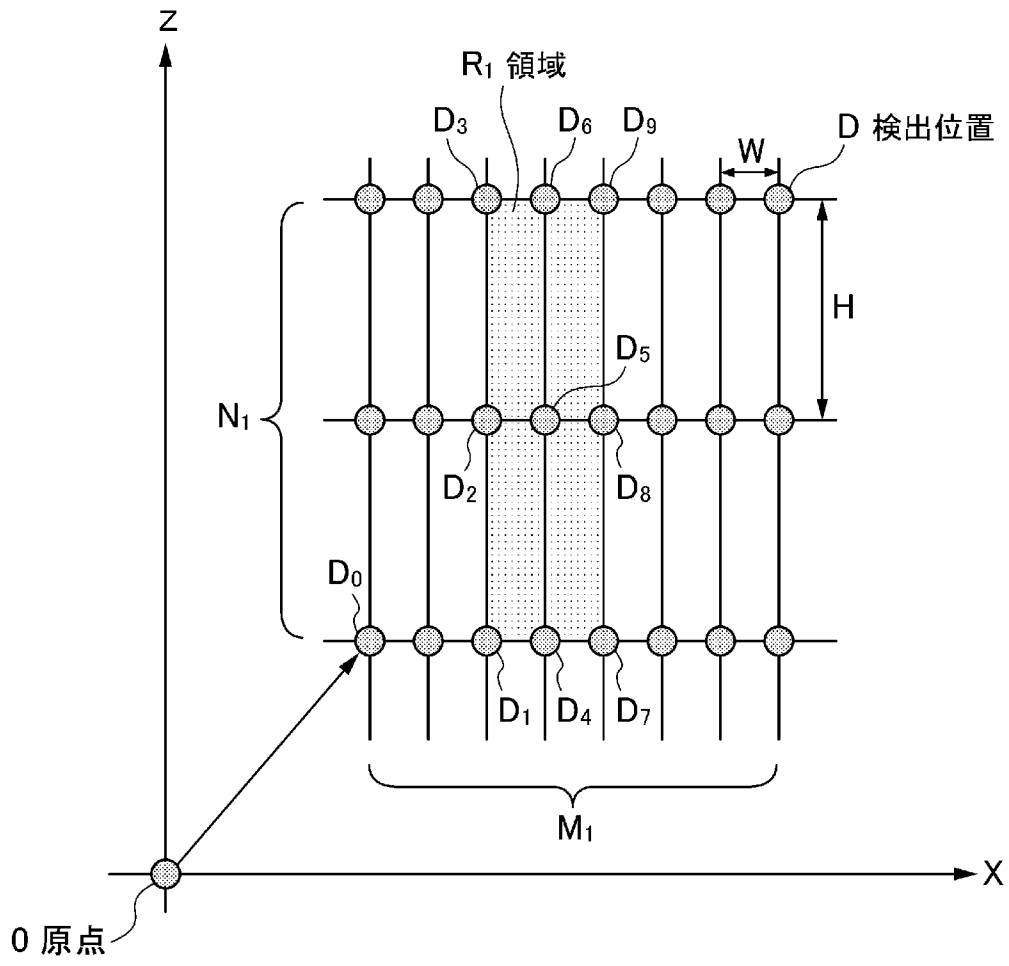
[図3]



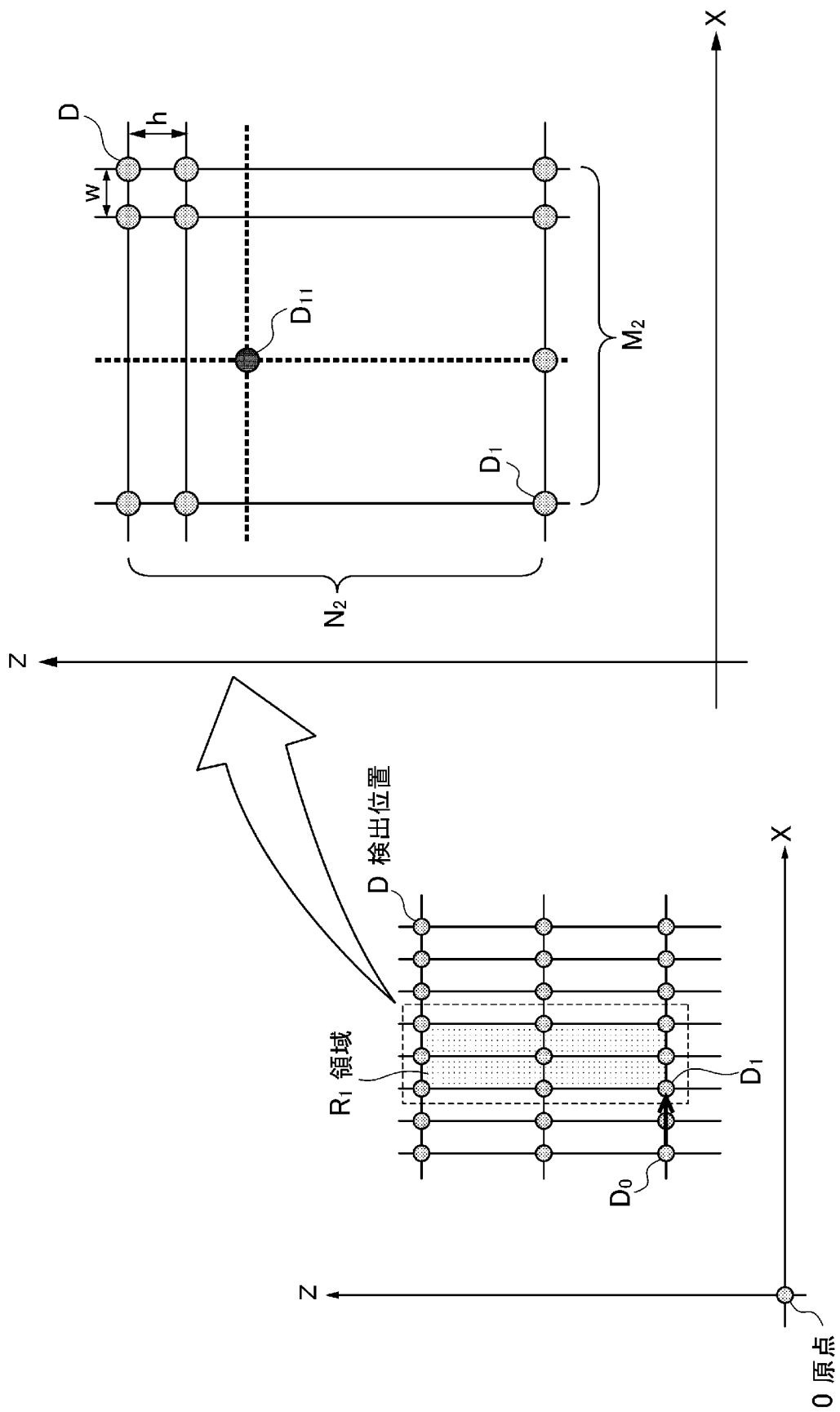
[図4]



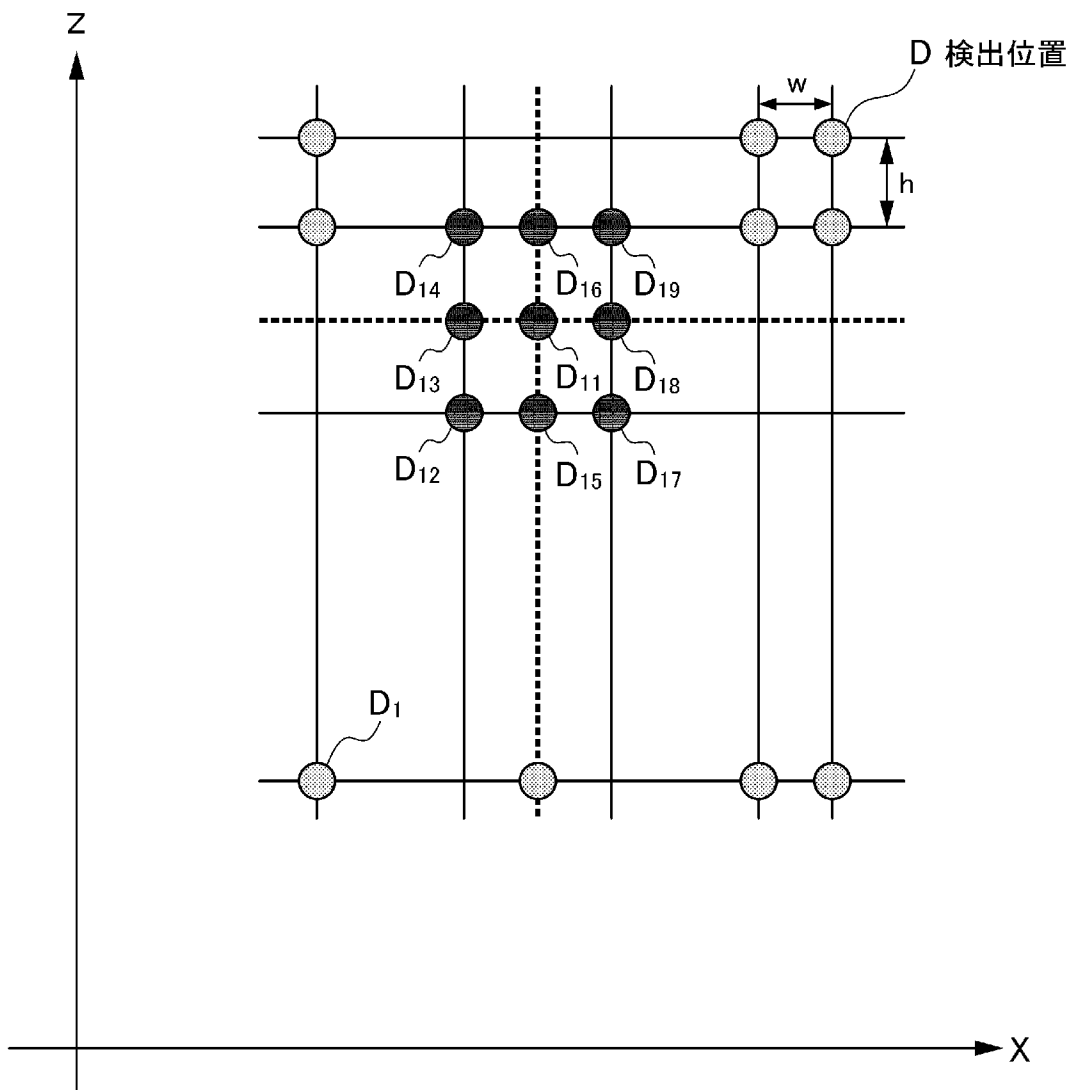
[図5]



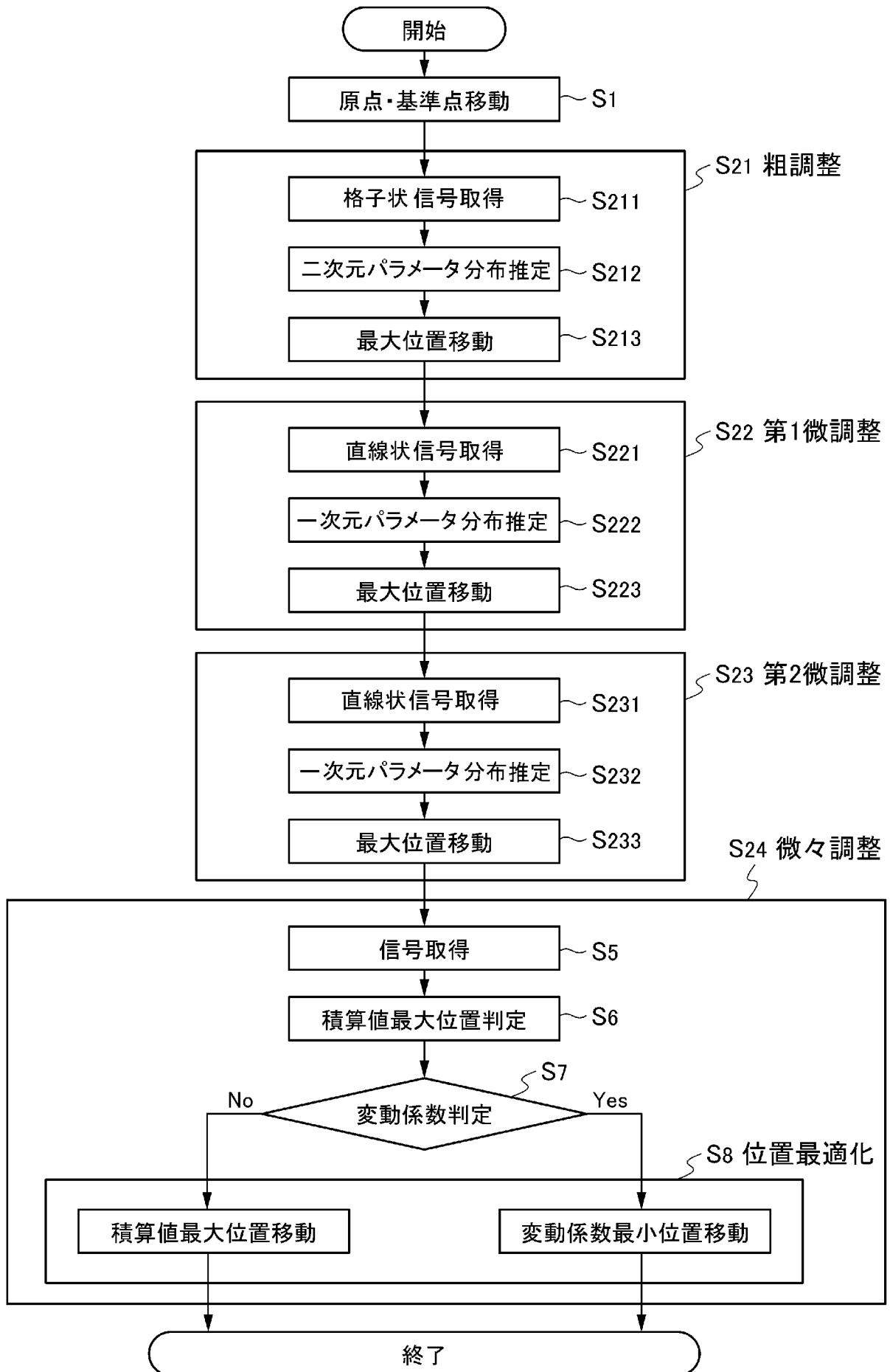
[図6]



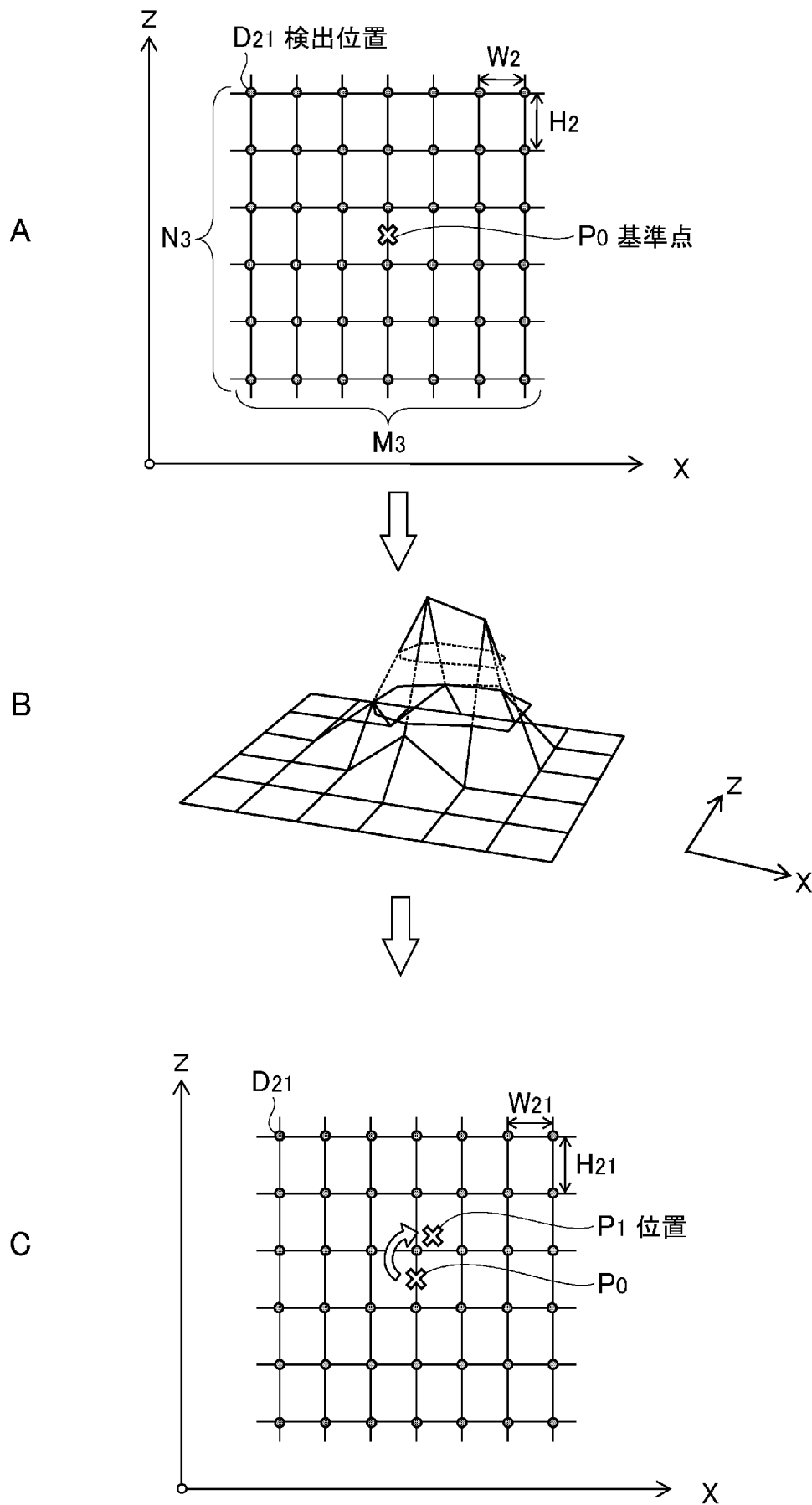
[図7]



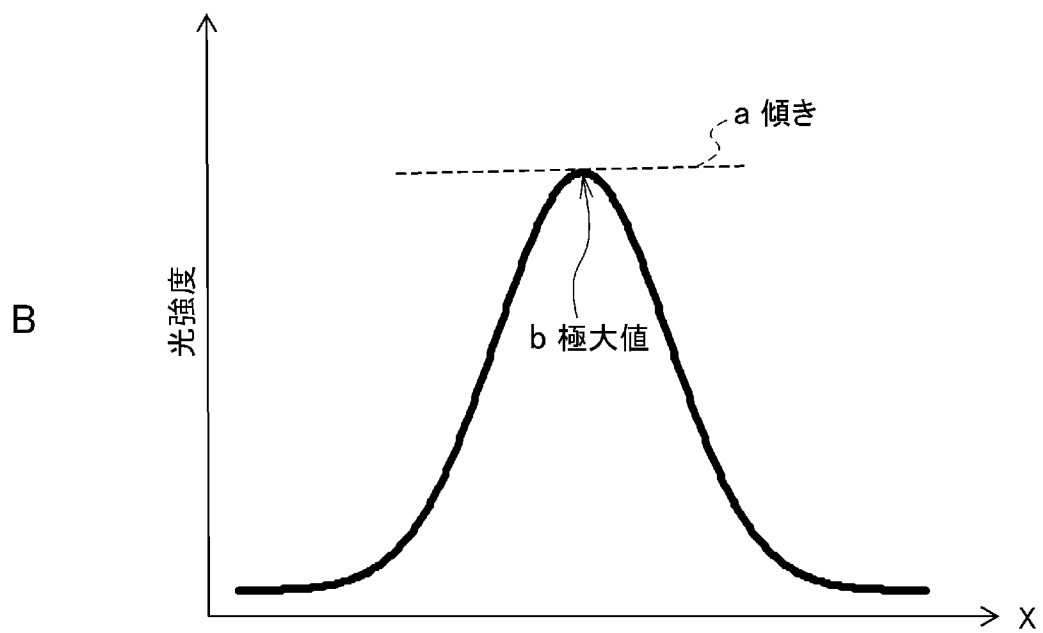
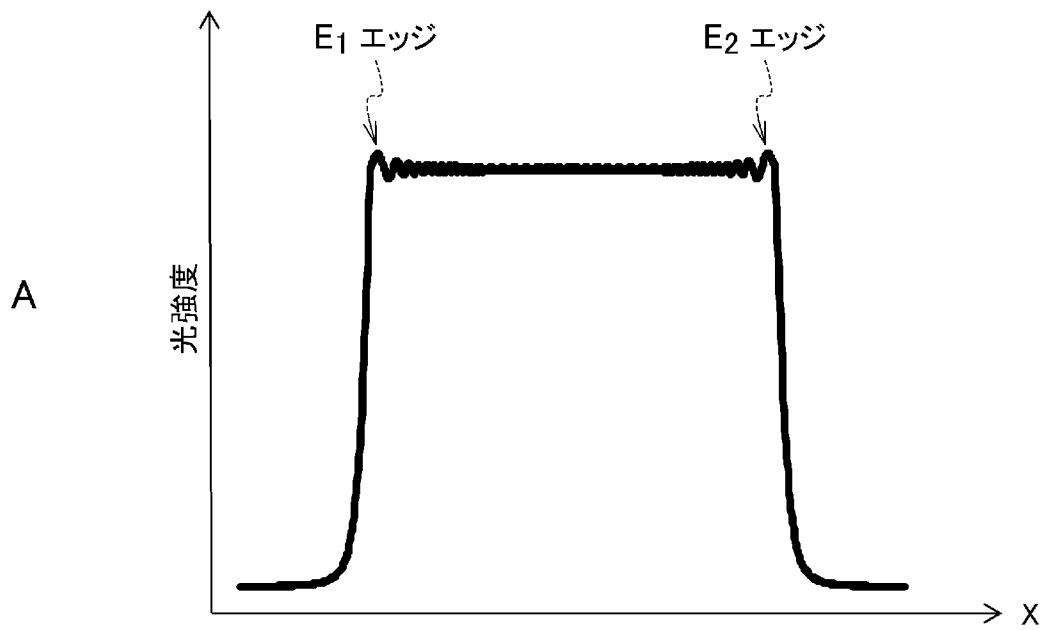
[図8]



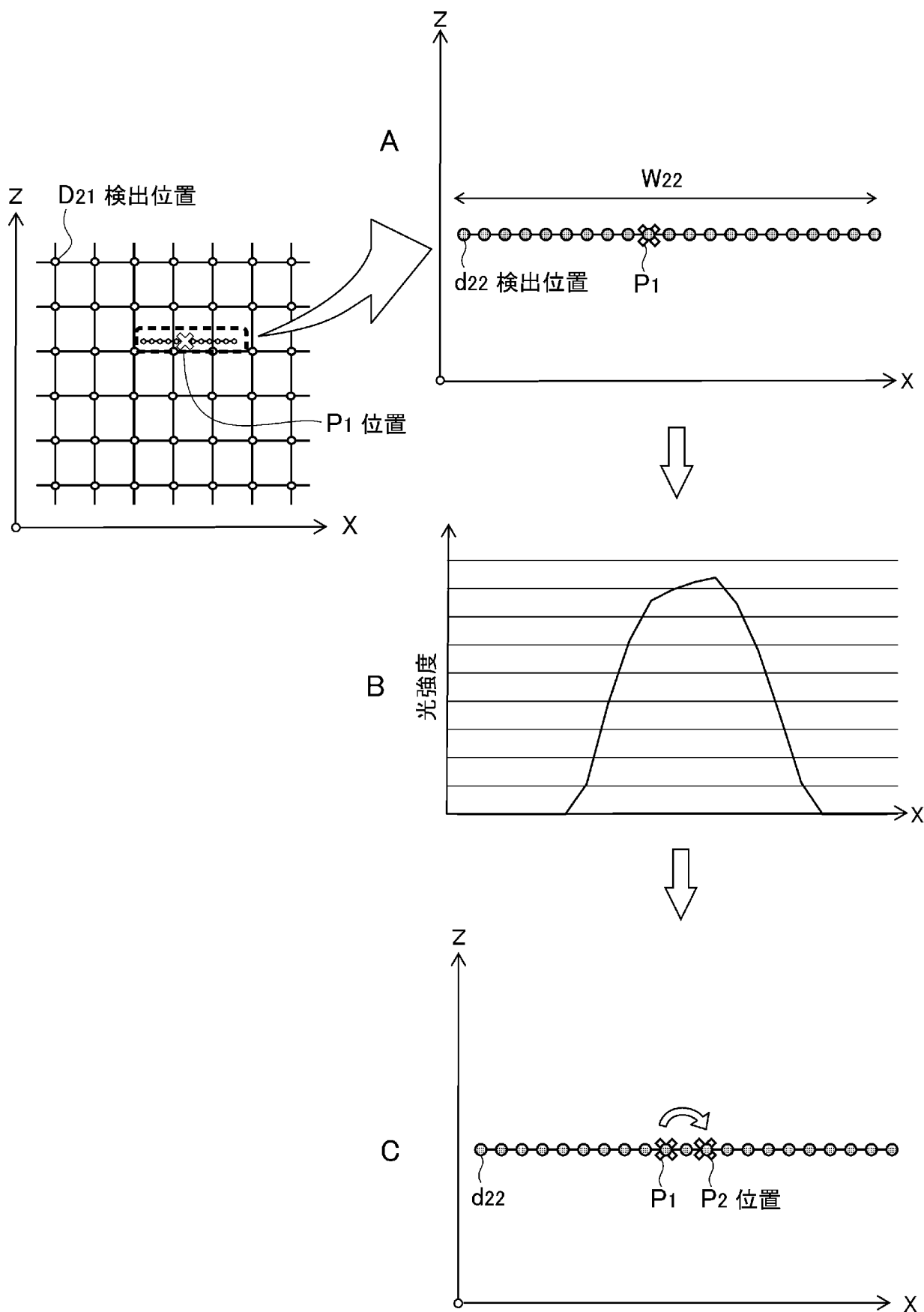
[図9]



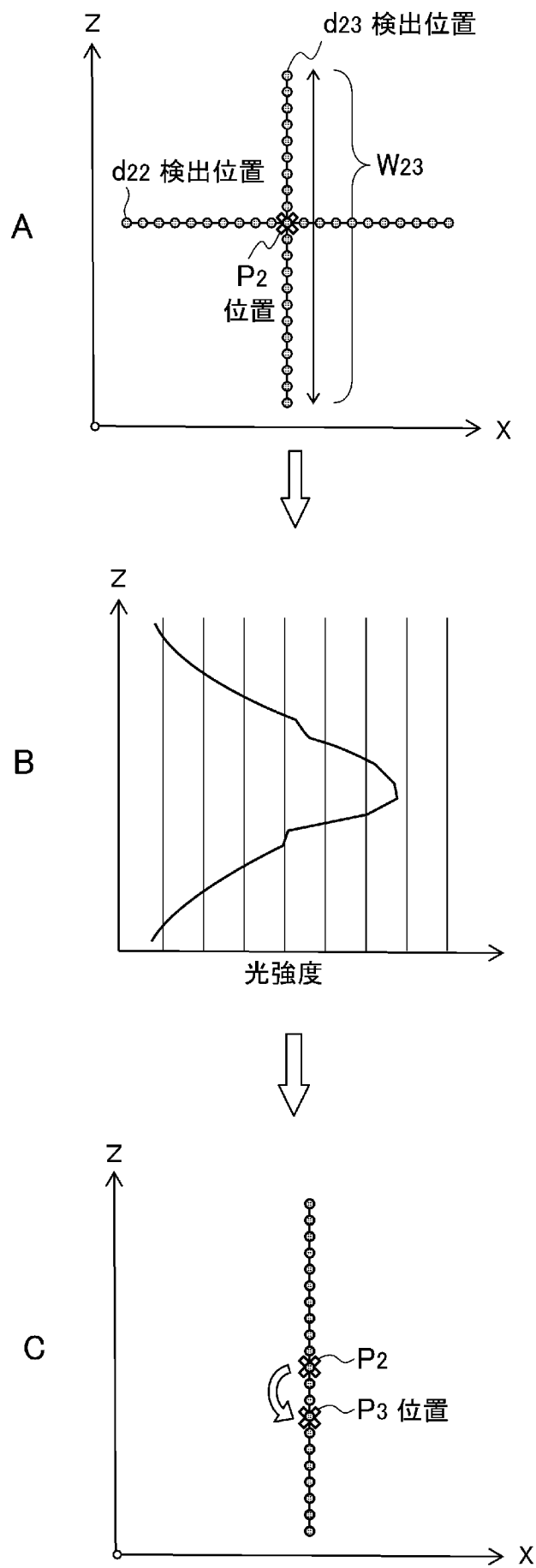
[図10]



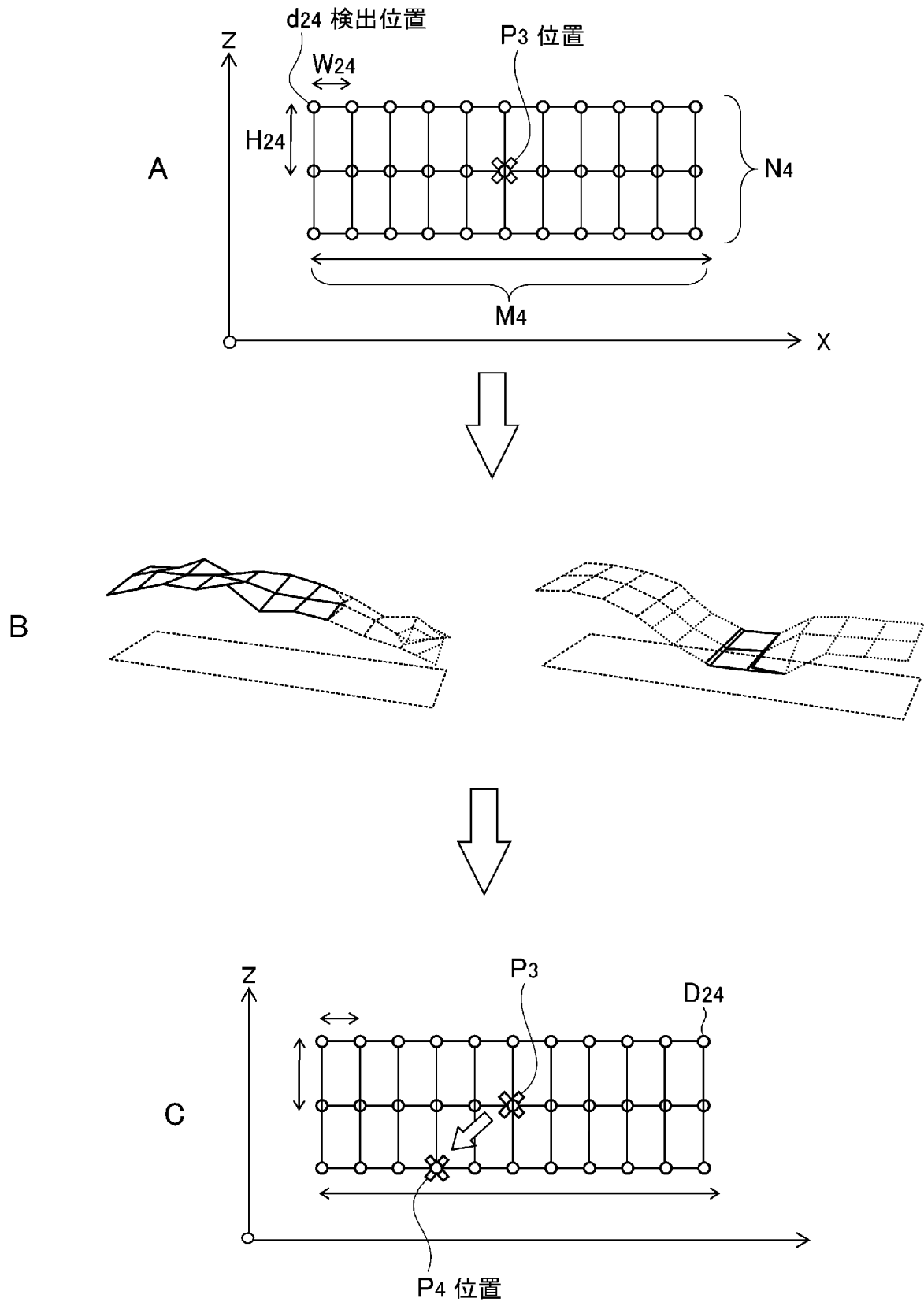
[図11]



[図12]



[図13]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/051800

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N15/14(2006.01)i, G01N21/49(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i, G01N37/00(2006.01)n

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)

G01N15/00-15/14, G01N21/00-21/01, G01N21/17-21/61, G01N21/64, G01N37/00

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.
X Y	JP 2010-286292 A (Sony Corp.), 24 December 2010 (24.12.2010), paragraphs [0012] to [0015], [0028], [0033] to [0051]; fig. 1 to 3 & US 2010/0315639 A1 & CN 101923036 A	<u>1, 10</u> 2-9, 11-20
Y	JP 4805417 B1 (The Furukawa Electric Co., Ltd.), 02 November 2011 (02.11.2011), paragraph [0009] (Family: none)	2-3, 11-13
Y	JP 2004-257756 A (Nihon Kohden Corp.), 16 September 2004 (16.09.2004), paragraphs [0043] to [0053] (Family: none)	4-9, 14-20

 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

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
15 February, 2013 (15.02.13)Date of mailing of the international search report  
05 March, 2013 (05.03.13)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/051800

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2012-047464 A (Sony Corp.), 08 March 2012 (08.03.2012), entire text; all drawings & CN 102401776 A	1-20
A	JP 64-012245 A (Canon Inc.), 17 January 1989 (17.01.1989), page 3, lower left column, lines 6 to 15 (Family: none)	1-20
A	JP 62-036542 A (Canon Inc.), 17 February 1987 (17.02.1987), fig. 2 (Family: none)	1-20
A	JP 2006-242849 A (Mitsui Engineering & Shipbuilding Co., Ltd.), 14 September 2006 (14.09.2006), entire text; all drawings (Family: none)	1-20
A	JP 9-189653 A (Horiba, Ltd.), 22 July 1997 (22.07.1997), paragraphs [0011], [0013]; fig. 3, 5 & DE 19700379 A	1-20

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
 Int.Cl. G01N15/14(2006.01)i, G01N21/49(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i, G01N37/00(2006.01)n

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 (IPC))  
 Int.Cl. G01N15/00-15/14, G01N21/00-21/01, G01N21/17-21/61, G01N21/64, G01N37/00

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 1922-1996年  
 日本国公開実用新案公報 1971-2013年  
 日本国実用新案登録公報 1996-2013年  
 日本国登録実用新案公報 1994-2013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
X Y	JP 2010-286292 A (ソニー株式会社) 2010.12.24, [0012]-[0015], [0028], [0033]-[0051], 図 1-3 & US 2010/0315639 A1 & CN 101923036 A	1, 10 2-9, 11-20
Y	JP 4805417 B1 (古河電気工業株式会社) 2011.11.02, [0009] (ファミリーなし)	2-3, 11-13
Y	JP 2004-257756 A (日本光電工業株式会社) 2004.09.16, [0043]-[0053] (ファミリーなし)	4-9, 14-20

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。

<p>* 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</p>	<p>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                  「&amp;」 同一パテントファミリー文献</p>
--	---

国際調査を完了した日 15.02.2013	国際調査報告の発送日 05.03.2013
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 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) 島田 英昭 電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) . 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 2012-047464 A (ソニー株式会社) 2012. 03. 08, 全文全図 & CN 102401776 A	1-20
A	JP 64-012245 A (キヤノン株式会社) 1989. 01. 17, 第3頁左下欄第 6-15行 (ファミリーなし)	1-20
A	JP 62-036542 A (キヤノン株式会社) 1987. 02. 17, 図2 (ファミリー なし)	1-20
A	JP 2006-242849 A (三井造船株式会社) 2006. 09. 14, 全文全図 (フ ァミリーなし)	1-20
A	JP 9-189653 A (株式会社堀場製作所) 1997. 07. 22, [0011], [0013], 図3, 5 & DE 19700379 A	1-20