

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2016-197111

(P2016-197111A)

(43) 公開日 平成28年11月24日(2016.11.24)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 15/14 (2006.01)	GO 1 N 15/14 D	2 G 0 4 3
GO 1 N 21/53 (2006.01)	GO 1 N 15/14 C	2 G 0 5 9
GO 1 N 21/64 (2006.01)	GO 1 N 21/53 B	4 B 0 2 9
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 21/64 Z	
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 O 1	
審査請求 有 請求項の数 8 O L (全 9 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-117856 (P2016-117856)	(71) 出願人	000002185
(22) 出願日	平成28年6月14日 (2016. 6. 14)		ソニー株式会社
(62) 分割の表示	特願2012-62192 (P2012-62192) の分割	(74) 代理人	100112874
原出願日	平成24年3月19日 (2012. 3. 19)		弁理士 渡邊 薫
		(72) 発明者	瀬尾 勝弘
			東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株 式会社内
		Fターム(参考)	2G043 AA03 AA06 BA16 CA04 DA05 EA01 EA14 GA01 GA07 GB01 HA01 HA03 HA05 2G059 AA05 AA10 BB04 BB13 CC16 DD12 EE02 EE07 JJ11 JJ13 JJ17 4B029 AA07 BB01 FA01

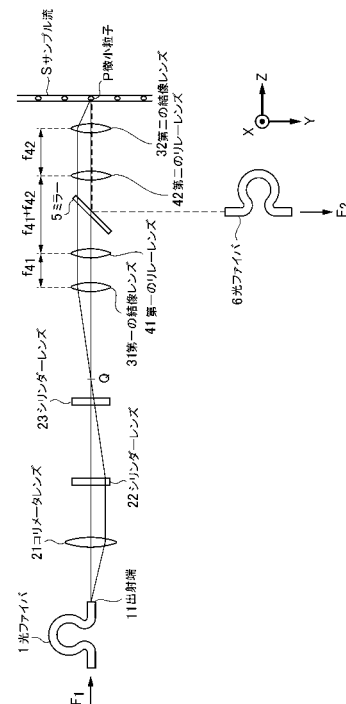
(54) 【発明の名称】 微小粒子測定装置

(57) 【要約】

【課題】 所望の大きさを有するビームスポットを形成可能な微小粒子測定装置の提供。

【解決手段】 光源と、前記光源から出射されたレーザのビームスポットを微小粒子に結像させる第一の結像レンズと第二の結像レンズとからなる結像レンズ系と、前記第一の結像レンズと前記第二の結像レンズとの間に配置された第一のリレーレンズと第二のリレーレンズとからなるリレーレンズ系と、前記第二のリレーレンズと前記第二の結像レンズとの間に配置された光学フィルタと、前記レーザの照射により前記微小粒子から発生する蛍光又は散乱光を検出する検出器と、前記光学フィルタと前記検出器との間に配置された光ファイバと、を備え、前記検出器は、前記光学フィルタ及び光ファイバを介して前記蛍光又は散乱光を検出する微小粒子測定装置を提供する。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

光源と、

前記光源から出射されたレーザのビームスポットを微小粒子に結像させる第一の結像レンズと第二の結像レンズとからなる結像レンズ系と、

前記第一の結像レンズと前記第二の結像レンズとの間に配置された第一のリレーレンズと第二のリレーレンズとからなるリレーレンズ系と、

前記第二のリレーレンズと前記第二の結像レンズとの間に配置された光学フィルタと、

前記レーザの照射により前記微小粒子から発生する蛍光又は散乱光を検出する検出器と

10

、

前記光学フィルタと前記検出器との間に配置された光ファイバと、を備え、

前記検出器は、前記光学フィルタ及び光ファイバを介して前記蛍光又は散乱光を検出する微小粒子測定装置。

【請求項 2】

前記光学フィルタは、前記蛍光又は前記散乱光を反射するミラーである請求項 1 記載の微小粒子測定装置。

【請求項 3】

前記光源から出射された前記レーザを伝送する光ファイバと、

該光ファイバから出射される前記レーザの前記ビームスポットを形成するレンズ系と、を備える請求項 1 又は 2 記載の微小粒子測定装置。

20

【請求項 4】

前記ビームスポットを形成するレンズ系は、コリメータレンズと一對のシリンダーレンズを含む請求項 3 記載の微小粒子測定装置。

【請求項 5】

前記微小粒子は、流路内を流れるサンプル流に含まれる細胞である請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の微小粒子測定装置。

【請求項 6】

前記微小粒子は、マイクロチップ中の流路を流れるサンプル流に含まれる細胞である請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の微小粒子測定装置。

【請求項 7】

30

前記細胞に結像されるビームスポットは、前記サンプル流の送液方向と直交する幅方向に幅広な楕円形状を有している請求項 5 又は 6 に記載の微小粒子測定装置。

【請求項 8】

前記細胞に結像されるビームスポットは、前記サンプル流の送液方向と直交する幅方向の前記サンプル流の長さと同等もしくは長く形成される請求項 5 又は 6 に記載の微小粒子測定装置。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

40

本技術は、微小粒子測定装置に関する。より詳しくは、微小粒子に均一な強度でレーザを照射するために十分な大きさのビームスポットを形成可能な微小粒子測定装置に関する。

【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

50

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。

10

【0005】

フローサイトメータでは、流路を通流する細胞に均一な強度でレーザを照射するため、流路に集光されるレーザのビームスポットを、スポット径が流路幅に対して十分な大きさとなるように形成している。ビームスポットを流路幅に対して十分に大きく形成することで、各細胞が流路中の通流位置に依らずにビームスポットを通過するようになるため、全ての細胞に均一な強度のレーザを照射できる。

【0006】

特許文献2には、光源からの光を、複数領域に分割された位相段差素子を透過させて、微小粒子が通流するサンプル流に集光する光照射系を備えた微小粒子測定装置が開示されている。この微小粒子装置では、位相段差素子の各領域を透過する光の波面間に位相差を生じさせることにより、広範囲に均一な強度分布を有するビームスポットを形成し、サンプル流中の微小粒子に照射されるレーザの実効強度を均一化させている。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【特許文献1】特開2010-190680号公報

【特許文献2】特開2012-26754号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

30

【0008】

微小粒子測定装置において、スポット径が大きいビームスポットを形成するためには、ビームスポットの結像レンズの開口数（NA）を小さくする必要がある。特に、レーザの波長に対してスポット径を大きくしたい場合には、NAは極めて小さくなる。

【0009】

光源から出射されたレーザのビームスポットを一对の結像レンズで形成する場合、上記の事情のため、2つの結像レンズ間の距離がそれぞれの結像レンズの焦点距離の和とされることが、良好な結像のための条件となる。しかし、それぞれの結像レンズの焦点距離が小さい場合には、2つの結像レンズを接触して配置させたとしても結像レンズ間の距離が焦点距離の和よりも大きくなってしまい、上記の条件を満たすことができない。このため、従来の微小粒子測定装置では、NAが小さい結像レンズを用いて所望のスポット径を有するビームスポットを形成することは困難であった。

40

【0010】

そこで、本技術は、所望の大きさを有するビームスポットを形成可能な微小粒子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】

【0011】

上記課題解決のため、本技術は、光源と、前記光源から出射されたレーザのビームスポットを微小粒子に結像させる第一の結像レンズと第二の結像レンズとからなる結像レンズ系と、前記第一の結像レンズと前記第二の結像レンズとの間に配置された第一のリレーレ

50

ンズと第二のリレーレンズとからなるリレーレンズ系と、前記第二のリレーレンズと前記第二の結像レンズとの間に配置された光学フィルタと、前記レーザの照射により前記微小粒子から発生する蛍光又は散乱光を検出する検出器と、前記光学フィルタと前記検出器との間に配置された光ファイバと、を備え、前記検出器は、前記光学フィルタ及び光ファイバを介して前記蛍光又は散乱光を検出する微小粒子測定装置を提供する。

前記光学フィルタは、前記蛍光又は前記散乱光を反射するミラーであってもよい。

前記微小粒子測定装置は、前記光源から出射された前記レーザを伝送する光ファイバと、該光ファイバから出射される前記レーザの前記ビームスポットを形成するレンズ系と、を備えてもよい。

前記ビームスポットを形成するレンズ系は、コリメータレンズと一对のシリンダーレンズを含んでもよい。

前記微小粒子は、流路内を流れるサンプル流に含まれる細胞であってもよい。

前記微小粒子は、マイクロチップ中の流路を流れるサンプル流に含まれる細胞であってもよい。

前記細胞に結像されるビームスポットは、前記サンプル流の送液方向と直交する幅方向に幅広な楕円形状を有していてもよい。

前記細胞に結像されるビームスポットは、前記サンプル流の送液方向と直交する幅方向の前記サンプル流の長さと同等もしくは長く形成されてもよい。

【0012】

本技術において、「微小粒子」には、細胞や微生物、リボ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、リボソーム、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】

【0013】

本技術により、所望の大きさを有するビームスポットを形成可能な微小粒子測定装置が提供される。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】本技術に係る微小粒子測定装置の照射系及び検出系の構成を説明するための図である。

【図2】微小粒子を含むサンプル流に結像されるビームスポットの好適な大きさ及び形状の一例を説明する図である。

【発明を実施するための形態】

【0015】

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. 照射系
2. 検出系

10

20

30

40

50

【 0 0 1 6 】

1. 照射系

図 1 は、本技術に係る微小粒子測定装置の照射系及び検出系の構成を説明する模式図である。

【 0 0 1 7 】

不図示の光源から出射された光（図 1 中実線参照）は、光ファイバ 1 によって伝送され、コリメータレンズ 2 1、シリンダーレンズ 2 2 及びシリンダーレンズ 2 3 とからなるレンズ系 2 に入射する。図中矢印 F_1 は、光源から光ファイバ 1 への光の入射方向を示す。光源には、従来公知のものを使用すればよいが、例えばレーザ又は LED を好適に用いることができる。また、光源には、互いに異なる波長の光を放射する複数の光源を組み合わせ用いてもよい。

10

【 0 0 1 8 】

レンズ系 2 は、光学経路上の符号 Q で示す位置に、光ファイバ 1 の出射端 1 1 から出射した光（以下「レーザ」とも称する）のビームスポットを形成する。コリメータレンズ 2 1 は、点光源となる出射端 1 1 から出射したレーザを平行光とする。シリンダーレンズ 2 2 及びシリンダーレンズ 2 3 は、互いに直交する方向にレンズパワーを有しており、ビームスポットを所定の大きさ及び形状で形成するために機能する（詳しくは後述する）。

【 0 0 1 9 】

符号 Q で示す位置に形成されたビームスポットは、第一の結像レンズ 3 1 及び第二の結像レンズ 3 2 からなる結像レンズ系 3 により、微小粒子 P を含むサンプル流 S に対して結像される。サンプル流 S は、フローセル又はマイクロチップに形成された流路を送液されるサンプル液の流れである。光ファイバ 1 の出射端 1 1 からサンプル流 S までのレーザの進行方向を図中 Z 軸正方向で、サンプル流 S の送流方向を図中 Y 軸正方向で示す。

20

【 0 0 2 0 】

本技術に係る微小粒子測定装置において、光ファイバ 1、レンズ系 2 及び結像レンズ系 3 は、光源から出射されたレーザを微小粒子 P に照射するための照射系を構成する。ただし、光ファイバ 1 は、照射系の必須の構成となるものではない。

【 0 0 2 1 】

第一の結像レンズ 3 1 及び第二の結像レンズ 3 2 との間には、第一のリレーレンズ 4 1 及び第二のリレーレンズ 4 2 とからなるリレーレンズ系 4 が配置されている。結像レンズ系 3 とリレーレンズ系 4 は、いわゆる「4 f 光学系」を構成しており、第一の結像レンズ 3 1、第一のリレーレンズ 4 1、第二のリレーレンズ 4 2 及び第二の結像レンズ 3 2 は以下のような位置関係を有して配置されている。すなわち、第一のリレーレンズ 4 1 は、第一の結像レンズ 3 1 との間の距離が第一のリレーレンズ 4 1 の焦点距離 f_{41} に等しい位置に配されている。第二のリレーレンズ 4 2 は、第一のリレーレンズ 4 1 との間の距離が第一のリレーレンズ 4 1 の焦点距離 f_{41} と第二のリレーレンズ 4 2 の焦点距離 f_{42} との和（ $f_{41} + f_{42}$ ）に等しい位置に配されている。また、第二のリレーレンズ 4 2 は、第二の結像レンズ 3 2 との間の距離が第二のリレーレンズ 4 2 の焦点距離 f_{42} に等しい位置に配されている。

30

40

【 0 0 2 2 】

4 f 光学系によるビームスポットのスポット径の変換倍率 M は、第一のリレーレンズ 4 1 の焦点距離 f_{41} と第二のリレーレンズ 4 2 の焦点距離 f_{42} とを用いて「 $M = f_{42} / f_{41}$ 」の式で表される。従って、符号 Q で示す位置に形成されたビームスポットは、結像レンズ系 3 及びリレーレンズ系 4 とからなる 4 f 光学系によってスポット径が M 倍に変換されたビームスポットとしてサンプル流 S に結像される。

【 0 0 2 3 】

第一のリレーレンズ 4 1 の焦点距離 f_{41} と第二のリレーレンズ 4 2 の焦点距離 f_{42} が等しく、かつ第一の結像レンズ 3 1 及び第二の結像レンズ 3 2 の焦点距離も等しい場合、符号 Q で示す位置に形成されたビームスポットと等倍のビームスポットがサンプル流 S

50

に結像される。

【 0 0 2 4 】

従って、互いに直交する方向にレンズパワーを有するシリンダーレンズ 2 2 及びシリンダーレンズ 2 3 によって、所望の大きさ及び形状のビームスポットを符号 Q で示す位置に形成しておけば、同じ大きさ及び形状のビームスポットをサンプル流 S に照射できる。また、この際、4 f 光学系では収差を小さく抑えることもできる。

【 0 0 2 5 】

図 2 に、微小粒子 P を含むサンプル流 S に結像されるビームスポットの好適な大きさ及び形状の一例を示す。

【 0 0 2 6 】

サンプル流 S に結像されるビームスポット B は、サンプル流 S の幅方向に幅広な形状を有していることが好ましい。また、ビームスポット B は、同方向のスポット径がサンプル流 S の幅と同等かそれよりも大きくされていることが好ましい。具体的には、サンプル流 S の送液方向を Y 軸正方向、これに直交するサンプル流 S の幅方向を X 軸方向とすると、ビームスポット B は、X 軸方向のスポット径 W が Y 軸方向のスポット径 H よりも大きくされた楕円形状を有していることが好ましい。また、ビームスポット B のスポット径 W は、サンプル流 S の幅 w 以上の長さとしてされていることが好ましい。なお、幅 w は、サンプル流 S が送液されるフローセル又はマイクロチップの流路の幅に対応する。

【 0 0 2 7 】

このような大きさ及び形状としたビームスポット B をサンプル流 S に結像させることで、サンプル流 S 中の微小粒子 P が通流位置に依らずにビームスポット B を通過することとなるため、全ての微小粒子 P に対して均一な強度のレーザを照射できる。

【 0 0 2 8 】

ビームスポット B の成形は、シリンダーレンズ 2 2 に X 軸方向のレンズパワーを、シリンダーレンズ 2 3 に Y 軸方向のレンズパワーを付与し、符号 Q で示す位置に形成されるビームスポットの X 軸方向及び Y 軸方向のスポット径を調整することによって行い得る。

【 0 0 2 9 】

符号 Q で示す位置に形成されたビームスポットを等倍でサンプル流 S に結像させる場合には、Q で示す位置に形成されるビームスポットの X 軸方向及び Y 軸方向のスポット径が、上述した好適な大きさ及び形状を満たすようにレーザパワーを設定すればよい。

【 0 0 3 0 】

また、符号 Q で示す位置に形成されたビームスポットを非等倍（倍率 M、M は 1 ではない）でサンプル流 S に結像させる場合には、Q で示す位置に形成されるビームスポットの X 軸方向及び Y 軸方向のスポット径が、M 倍後に上述した好適な大きさ及び形状を満たすようにレーザパワーを設定すればよい。

【 0 0 3 1 】

シリンダーレンズ 2 2 及びシリンダーレンズ 2 3 の収束光の N A は、例えばそれぞれ 0 . 0 0 1 / π 、0 . 0 1 / π とされる。この場合、レーザの波長が 0 . 5 μ m とすると、Q で示す位置には X 軸方向及び Y 軸方向のスポット径がそれぞれ 1 0 0 , 1 0 μ m のビームスポットが形成される。

【 0 0 3 2 】

2 . 検出系

レーザの照射により微小粒子 P から発生する蛍光及び後方散乱光（図 1 中点線参照）は、ミラー 5 により反射され、光ファイバ 6 によって不図示の検出器に伝送される。ミラー 5 及び光ファイバ 6 は、微小粒子 P から発生する検出対象光を検出するための検出系を構成する。ただし、光ファイバ 6 は、検出系の必須の構成となるものではない。

【 0 0 3 3 】

結像レンズ系 3 の間にリレーレンズ系 4 を配置した 4 f 光学系では、結像レンズ系 3 のみを配した場合に比べて、第一の結像レンズ 3 1 及び第二の結像レンズ 3 2 との間の距離を長くとることができる。このため、図に示すように、第一のリレーレンズ 4 1 と第二の

10

20

30

40

50

リレーレンズ 4 2 との間にミラー 5 等の光学フィルタを挿入することが容易である。

【 0 0 3 4 】

ミラー 5 により反射された蛍光等を検出する検出器には、PMT (photo multiplier tube) や、フォトダイオードや、CCD や CMOS 素子等のエリア撮像素子などが採用される。検出される蛍光は、レーザの照射によって、微小粒子 P 又は微小粒子 P に標識された蛍光色素から発生するものであってよい。検出された蛍光等は電気信号に変換され、微小粒子 P の光学特性判定のために利用される。

【 0 0 3 5 】

本技術に微小粒子測定装置では、上述のように、サンプル流 S 中の微小粒子 P にその通流位置に依らずに均一な強度のレーザを照射できるため、微小粒子 P の光学特性を正確に測定することが可能である。

10

【 0 0 3 6 】

ミラー 5 は、結像レンズ系 3 及びリレーレンズ系 4 からなる 4 f 光学系内の任意の位置に挿入できる。例えば、ミラー 5 は、第一の結像レンズ 3 1 と第一のリレーレンズ 4 1 との間、又は、第二のリレーレンズ 4 2 と第二の結像レンズ 3 2 との間に配置してもよい。また、ミラー 5 に替えて、レーザを分波するスプリッタ等の光学フィルタを挿入してもよい。スプリッタを配置し、分波されるレーザを検出する検出器を設けることで、光源から出射されるレーザの光量をモニターすることができる。

【 0 0 3 7 】

なお、図に示していないが、本技術に係る微小粒子測定装置は、レーザの照射により微小粒子 P から発生する前方散乱光を検出するための構成を設けることもできる。

20

【 0 0 3 8 】

本技術に係る微小粒子測定装置は以下のような構成もとることができる。

(1) 光源から出射されたレーザのビームスポットを微小粒子に対して結像させる光学経路上に、4 f 光学系を備える微小粒子測定装置。

(2) 前記 4 f 光学系は、前記ビームスポットの結像レンズ系を構成する第一の結像レンズと第二の結像レンズとの間に配置されたリレーレンズ系であり、該リレーレンズを構成する第一のリレーレンズは、前記第一の結像レンズとの間の距離が前記第一のリレーレンズの焦点距離に等しい位置に配され、前記リレーレンズを構成する第二のリレーレンズは、前記第一のリレーレンズとの間の距離が前記第一のリレーレンズの焦点距離と前記第二のリレーレンズの焦点距離との和に等しい位置であり、かつ、前記第二の結像レンズとの間の距離が前記第二のリレーレンズの焦点距離に等しい位置に配された上記 (1) 記載の微小粒子測定装置。

30

(3) 前記第一の結像レンズと前記第一のリレーレンズとの間、前記第一のリレーレンズと前記第二のリレーレンズとの間及び前記第二のリレーレンズと前記第二の結像レンズとの間から選択される一以上の位置に、光学フィルタが配置された上記 (2) 記載の微小粒子測定装置。

(4) 前記光学フィルタは、前記レーザの照射により前記微小粒子から発生する蛍光又は散乱光を反射するミラー、又は、前記レーザを分波するスプリッタである上記 (3) 記載の微小粒子測定装置。

40

(5) 前記ミラーにより反射された前記蛍光又は前記散乱光を検出する検出系を備える上記 (4) 記載の微小粒子測定装置。

(6) 前記光源から出射された前記レーザを伝送する光ファイバと、該光ファイバから出射される前記レーザの前記ビームスポットを形成するレンズ系と、を備える上記 (1) ~ (5) のいずれかに記載の微小粒子測定装置。

(7) 前記ビームスポットを形成するレンズ系は、コリメータレンズと一対のシリンダーレンズを含む上記 (6) 記載の微小粒子測定装置。

【 符号の説明 】

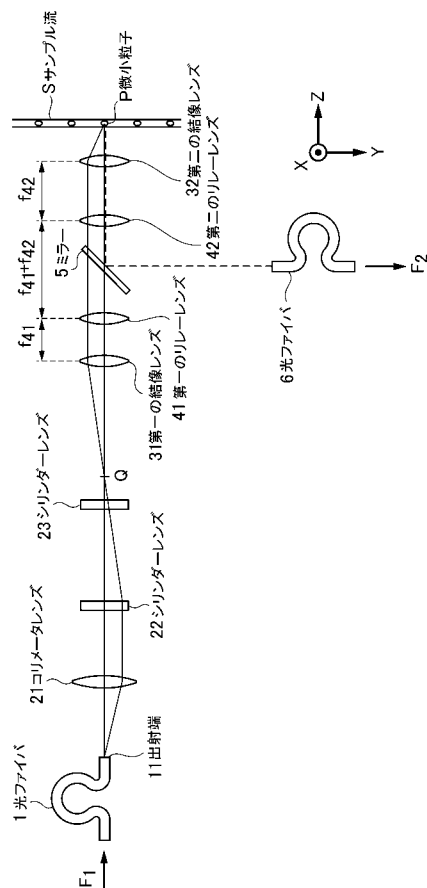
【 0 0 3 9 】

1 : 光ファイバ、 2 1 : コリメータレンズ、 2 2 : シリンダーレンズ、 2 3 : シリンダー

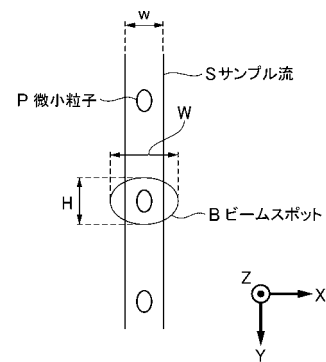
50

レンズ、3 1 : 第一の結像レンズ、3 2 : 第二の結像レンズ、4 1 : 第一のリレーレンズ、
 4 2 : 第二のリレーレンズ、5 : ミラー、6 : 光ファイバ、P : 微小粒子、S : サンプル
 流

【 図 1 】



【 図 2 】



フロントページの続き

(51) Int.Cl.

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 M 1/34

A