

(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2012-26837

(P2012-26837A)

(43) 公開日 平成24年2月9日(2012.2.9)

(51) Int.Cl.

G01N 15/14 (2006.01)

F I

G O 1 N 15/14

D

テーマコード (参考)

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 18 頁)

(21) 出願番号 特願2010-164861 (P2010-164861)
 (22) 出願日 平成22年7月22日 (2010.7.22)

(71) 出願人 000002185
 ソニー株式会社
 東京都港区港南1丁目7番1号
 (74) 代理人 100112874
 弁理士 渡邊 薫
 (72) 発明者 外石 満
 東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株
 式会社内
 (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
 (72) 発明者 高崎 浩司
 東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株
 式会社内

最終頁に続く

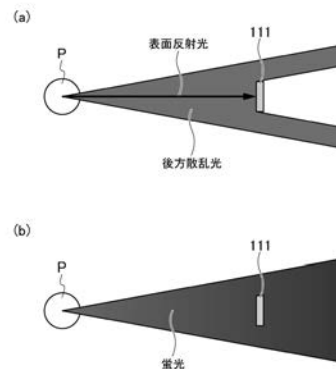
(54) 【発明の名称】 微小粒子測定装置

(57) 【要約】

【課題】 必要とする光成分、特に後方散乱光と蛍光を高効率に取得する微小粒子分析装置を提供すること。

【解決手段】 光を照射された微小粒子から発生する光を光検出器に導光する光学経路上に、複数の領域に分割された光学フィルタを備え、該光学フィルタは、微小粒子からの反射光と不要な散乱光成分を遮断し、蛍光を透過する波長選択性を有する第1領域と、少なくとも該領域の周囲に配され、必要な散乱光成分を透過する波長選択性のない第2領域と、を有する、微小粒子測定装置。

【選択図】 図2



P 微小粒子
 111 第1領域のフィルタ

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

光を照射された微小粒子から発生する光を光検出器に導光する光学経路上に、複数の領域に分割された光学フィルタを備え、

該光学フィルタは、微小粒子からの反射光と不要な散乱光成分を遮断し、蛍光を透過する波長選択性を有する第 1 領域と、

少なくとも該領域の周囲に配され、必要な散乱光成分を透過する波長選択性のない第 2 領域と、を有する、微小粒子測定装置。

【請求項 2】

前記波長選択性のない第 2 領域の貫通部分に前記波長選択性を有する第 1 領域を配する、請求項 1 記載の微小粒子測定装置。

10

【請求項 3】

前記波長選択性を有する第 1 領域の外周に該第 1 領域を支持するフレームを備えるとともに、前記波長選択性のない第 2 領域が中空である、請求項 1 又は 2 記載の微小粒子測定装置。

【請求項 4】

前記光学フィルタは、前記波長選択性を有する第 1 領域の周囲に配された波長選択性のない第 2 領域の周囲に、さらに波長選択性を有する第 3 領域を有する、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載の微小粒子測定装置。

【請求項 5】

前記光学経路上に、蛍光・後方散乱光検出器に蛍光および後方散乱光を導光する光ファイバーを備え、

前記複数の領域に分割された光学フィルタを、該光ファイバーによって前記光学フィルタを透過した光が受光されるように配置する、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載の微小粒子測定装置。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、微小粒子測定装置に関する。より詳しくは、微小粒子の特性を光学的に分析する微小粒子分析装置に関する。

30

【背景技術】

【0002】

従来、フローセル内やマイクロチップ上に形成された流路内を通流する微小粒子に光を照射し、微小粒子からの散乱光や、微小粒子そのもの或いは微小粒子に標識された蛍光物質から発生する蛍光を検出して、微小粒子の光学特性を測定する微小粒子測定装置が用いられている。

先行技術文献 1 には、より高感度に計測するため、検出光受光用光ファイバを有する検体識別装置が開示されている。この装置では、検体からの後方散乱光の受光量変動を測定することにより、検体の状態（透過率、吸収等）を検出することができる。

【先行技術文献】

40

【特許文献】

【0003】

【特許文献 1】国際公開第 2005 / 103642 号パンフレット

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

従来の微小粒子検出装置において、最適な散乱取得角度を得るためには、蛍光と散乱光を検出する光学検出系内に散乱光用電子倍增管や蛍光用電子倍增管に反射光成分が入射しないように、反射光を遮光するマスクを入れる必要がある。しかしながら、そのマスクによって蛍光などの必要な光成分も必要以上に遮断され、必要とする光成分の感度が劣化す

50

るという問題があった。尚、このような従来使用されていたマスクを、以下、「通常（従来）のマスク」という。

【0005】

そこで、本発明は、必要な光成分、特に後方散乱光と蛍光をより効率的に取得する微小粒子分析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】

【0006】

本発明は、光を照射された微小粒子から発生する光を光検出器に導光する光学経路上に、複数の領域に分割された光学フィルタを備え、該光学フィルタは、微小粒子からの反射光と不要な散乱光成分を遮断し、蛍光を透過する波長選択性を有する第1領域と、少なくとも該領域の周囲に配され、必要な散乱光成分を透過する波長選択性のない第2領域と、を有する、微小粒子測定装置を提供するものである。

これにより、前記第1領域で、微小粒子からの反射光や不要な散乱光成分をカットしつつ、必要な光成分の一つである蛍光を透過させることが可能となる。かつ、前記第2領域で、蛍光および必要な散乱光成分（例えば、後方散乱光）を通過させることも可能となる。

【0007】

また、本発明は、前記波長選択性のない第2領域の貫通部分に前記波長選択性を有する第1領域を配するのが好適である。

また、本発明は、前記波長選択性を有する第1領域の外周に該第1領域を支持するフレームを備えるとともに、前記波長選択性のない第2領域が中空であるのが好適である。

これにより、第1領域と第2領域との界面での屈折率が異なるのを低減できる。

【0008】

また、本発明は、前記光学フィルタは、前記波長選択性を有する第1領域の周囲に配された波長選択性のない第2領域の周囲に、さらに波長選択性を有する第3領域を有するのが好適である。前記第1領域でビーム系の中心をカットするのに加えて、この第3領域により、ビーム系の外側も必要に応じてカットすることが可能となる。よって、所望の角度からの後方散乱光を得ることが可能となる。

【0009】

また、本発明は、前記光学経路上に、蛍光・後方散乱光検出器に蛍光および後方散乱光を導光する光ファイバーを備え、前記複数の領域に分割された光学フィルタを、該光ファイバーによって前記光学フィルタを透過した光が受光されるように配置するのが好適である。これにより、後方散乱光及び蛍光を高感度に検出できる。

【発明の効果】

【0010】

本発明によれば、後方散乱光と蛍光とを効率的に取得する微小粒子分析装置が提供される。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】本発明に係わる微小粒子分析装置の光学経路を説明するための模式図である。

【図2】本発明に係わる光学フィルタを備えた微小粒子分析装置において、レーザーを照射した微小粒子から発せられる反射光、後方散乱光及び蛍光を示した模式図である。

【図3】本発明に係わる微小粒子分析装置に備える光学フィルタの第1領域の透過スペクトラムを示す図である。

【図4】本発明に係わる微小粒子分析装置に備える光学フィルタの実施形態（上面方向）の例示を示す。（a）第1領域が円形状である場合、（b）第1領域が四角形状である場合、（c）第1～第3の各領域が円形状である場合、（d）第1～第3の各領域が四角形状である場合。

【図5】本発明に係わる微小粒子分析装置に備える光学フィルタの左右方向の断面図の例示を示す。（a）第2領域の（平面）フィルタの上部に第1領域の（平面）フィルタの下

10

20

30

40

50

部が接合する場合、(b)第2領域の(平面)フィルタの貫通部分に第1領域の(平面)フィルタが配され、第2領域の(平面)フィルタの上面よりも第1領域の(平面)フィルタの上面が突出する場合、(c)第2領域の(平面)フィルタの貫通部分に第1領域が配され、第1領域と第2領域の上下面が面一である場合。

【図6】本発明に係わる微小粒子分析装置に備える光学フィルタの例示を示す。第1領域の(平面)フィルタが円筒状のフレームによって支持され、第2領域が中空である場合。

【図7】本発明の光学フィルタの変形実施形態の一例(反射型光学フィルタ)を示す図である。(a)反射型光学フィルタによる反射光、後方散乱光及び蛍光の流路を示す図である。(b)本発明の反射型光学フィルタの第1領域の透過スペクトラムを示す図である。

【図8】(a)通常(従来)のマスクを備える微小粒子分析装置；(b)本発明に係わる異なる透過波長の領域を有するマスクを備える微小粒子分析装置；(c)マスクを備えない微小粒子分析装置による蛍光感度の測定結果を示す図である。

【図9】(a)通常(従来)のマスクを備える微小粒子分析装置；(b)本発明に係わる異なる透過波長の領域を有するマスクを備える微小粒子分析装置による後方散乱の測定結果を示す図である。

【図10】通常(従来)のマスクを備えた微小粒子分析装置において、レーザーを照射した微小粒子から発せられる反射光、後方散乱光及び蛍光を示した模式図である。

【発明を実施するための形態】

【0012】

以下、本発明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、本発明の代表的な実施形態の一例を示したものであり、これにより本発明の範囲が狭く解釈されることはない。尚、説明は以下の順に行う。

1. 微小粒子測定装置の装置構成

(1) 光学検出手段

(1-1) FL・BS集光系 - 光学フィルタ

2. 微小粒子測定装置の動作

3. 変形例

(1) 反射型光学フィルタ

(2) 反射型光学フィルタを備えた場合の動作

【0013】

< 1. 微小粒子測定装置の構成 >

図1は、本発明に係わる微小粒子測定装置の概略構成、特に光学検出系(光学流路)を模式的に示す図である。

当該微小粒子装置は、フローセルやマイクロチップなどの流路系、このフローセル内やマイクロチップ上に形成された流路内を通過する微小粒子Pからの複数の蛍光、後方散乱光、前方散乱光などの光成分を検出する光学検出手段などを備えている。尚、当該微小粒子測定装置は、必要に応じて測定後の微小粒子Pを回収や分離するソート手段を備えていてもよい。

【0014】

(1) 光学検出手段

図1に示すように、前記光学検出手段は、光学照射系101、蛍光・後方散乱光集光系102、前方散乱光検出系103、および蛍光・後方散乱光検出系104から構成されている。これによって、光が照射された微小粒子から発生する光成分を各光検出器に導入し、所望の光成分を検出、測定することが可能となる。

【0015】

前記光学照射系101は、光(励起光)を照射する光源(1~4)1、この光源1からの光を平行光とする集光レンズ2、更に光を同軸上に配置するダイクロイックミラー3などを備えている。

前記光学照射系101より照射された光(励起光)は、蛍光・後方散乱光(以下、「FL・BS」ともいう)集光系内にあるハーフミラー4及び対物レンズ5を透過し、流路6

10

20

30

40

50

内を通流する微小粒子Pに照射される。このとき、微小粒子Pから蛍光および必要な散乱光成分と共に反射光が発せられ、また不要な散乱光成分も発せられる。

ここで、蛍光および必要な散乱光成分は、微小粒子Pの光学的情報(特性)を得る上で重要な光成分である。当該必要な散乱光成分としては、例えば、後方散乱光、側方散乱光などが挙げられる。また、不要な散乱光成分は、照射された光(励起光)が流路系や基板又は細胞などに当たることにより生じるものである。

【0016】

尚、本発明において、「微小粒子」には、細胞や微生物、リボソーム等の生体関連微小粒子、およびラテックス粒子やゲル粒子、工業用粒子等の合成粒子などが広く含まれているものとする。

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。対象とする細胞には、動物細胞(血球系細胞など)および植物細胞が含まれる。対象とする微生物には、大腸菌等の細菌類、タバコモザイクウイルス等のウイルス類、イースト菌等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や金属等であってもよい。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、アルミ等が含まれる。

上記微小粒子の形状は、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。

【0017】

前記前方散乱(以下、「FS」ともいう)検出系103は、FS集光レンズ7、前方散乱光を所望の角度成分でカットするFSマスク8、所望の波長成分のみを透過するバンドパスフィルタ9、透過した光を検出するFS光学検出器10を備えている。

【0018】

前記蛍光・後方散乱光集光系102は、微小粒子Pからの光成分を集光する対物レンズ5、これら光成分を表面で反射させるハーフミラー4、この光成分が導光される複数の領域に分割された光学フィルタ11、およびFL・BS集光レンズ12を備えている。

ここで、当該複数の領域に分割された光学フィルタ(以下、「光学フィルタ」や「ノッチフィルタマスク」ともいう)11は、ハーフミラー4で反射された光成分から反射光および不要な散乱光成分を遮断(低減)し、必要な光成分(例えば、蛍光および後方散乱光)を透過させるためのものである。また、FL・BS集光レンズ12は、必要な光成分を光ファイバー13に導光するためのものである。

【0019】

前記蛍光・後方散乱検出系104は、光ファイバー13から出た光成分の蛍光および後方散乱光を検出するように構成されている。

具体的には、光ファイバー13からの光成分を平行光とするFL・BS集光レンズ14、この平行光のうちの後方散乱光を反射し、蛍光を透過するノッチフィルタ15と、後方散乱光を検出するBS光学検出器16が備えられている。さらに、ノッチフィルタ15で透過した蛍光成分のうち所望の波長成分を透過し、その他の波長成分を反射させるFLダイクロックミラー17、この所望の波長成分をさらに選択するFLバンドパスフィルタ18, 20、および所望の波長成分を検出する光学電子増倍管19, 21が備えられている。

なお、必要に応じて、ノッチフィルタマスク、ダイクロックミラー、バンドパスフィルタ、光学電子増倍管および光学検出器を増減してもよい。

【0020】

尚、上述のした微小粒子測定装置の光学照射系101、前方散乱光検出系103、および蛍光・後方散乱検出系104は、従来公知の微小粒子測定装置と同様の構成とすること

10

20

30

40

50

ができる。

【0021】

(1-1) FL・BS集光系 - 光学フィルタ

図2～6を参照して、以下に、本発明に係わる微小粒子測定装置におけるFL・BS集光系102およびこれに備えられている光学フィルタ11について説明する。

【0022】

まず、前記光学フィルタ11について説明する。

前記光学フィルタ11は、微小粒子Pよりの光成分からの反射光および不要な散乱光成分を低減すると共に、蛍光成分および必要な散乱光成分（特に後方散乱光成分）を高効率に得るためのものである。このため、当該光学フィルタ11の略中心部分には、微小粒子Pよりの（表面）反射光および不要な散乱光成分が入射する第1領域111のフィルタが配されており（例えば、図2参照）、当該第1領域111のフィルタは特定の波長選択性を有する。この特定の波長選択性によって、反射光および不要な散乱光成分を遮断（低減）しつつ、かつ蛍光成分を透過させることが可能となる。

前記第1領域111のフィルタは、不必要な所望の光成分のみを高精度に反射させ、必要な光成分を透過させることが可能となるような透過スペクトラムを有していればよい。より具体的には、一般的に入射光や反射光の波長は蛍光波長よりも低いことから、低い波長を透過させないフィルタが好ましい。

例えば、図3に示すように、前記第1領域111の特定の波長選択性を有するフィルタは、488nm付近、具体的には480～500nmという特定の波長成分のみを透過させないものが好適である。当該波長選択性を有するフィルタは、当該特定の波長成分のみを他の透過成分に対して5桁透過率が低い特性を有するように調製するのが好適である。これにより、反射光および不要な散乱光成分を遮断（低減）しつつ、かつ蛍光成分を高精度に透過させるので、蛍光の光量を高効率に取得することが可能となる。

【0023】

ここで、従来のマスクを用いた場合の微小粒子Pから発せられる反射光、後方散乱光および蛍光を示した模式図を図10に示す。このように、通常のマスクによって、表面反射光と共に蛍光も遮断されることとなる。これにより光検出器に入る蛍光の光量が少なくなり、この蛍光感度が劣化してしまう。

これに対し、図2(a)に示すように、前記第1領域111のフィルタは、上述のように特定の波長選択性を有するので、微小粒子Pからの伝播角の小さい反射光と不要な散乱光成分とを遮断しつつ、蛍光を透過させる。しかも、図2(b)に示すように、後方散乱光や蛍光は原理的に反射光成分よりも伝播角が大きくなるので、前記第1領域111のフィルタの周囲を、必要な光成分（後方散乱光成分や蛍光成分）が通過することとなる。これにより、光学検出系に入る蛍光の光量のロスが低減できる。さらに、後方散乱光も取得することができるので、後方散乱光と蛍光とを同時に高効率に取得することも可能となる。加えて、微小粒子測定装置に前記光学フィルタをセットするだけでよく、複雑な構成も必要としない。これにより、後方散乱光および蛍光を高効率に取得できる光学検出系および微小粒子測定装置をシンプルかつコンパクトに実現することも可能となる。

【0024】

図4および図5に、前記特定の波長選択性を有する第1領域と、少なくとも該領域の周囲に配された前記波長選択性のない第2領域を有する前記光学フィルタ11を例示するが、前記光学フィルタ11の形状や構造はこれに限定されるものではない。

まず、図4(a)および(b)に示すような前記特定の波長選択性を有する第1領域111のフィルタと、該領域の周囲に配された前記波長選択性のない第2領域112のフィルタを有する前記光学フィルタ11について説明する。

前記光学フィルタ11は、第1領域111のフィルタと第2領域112のフィルタを有し、前記光学フィルタの略中央付近に、第1領域111のフィルタが配置されている。当該略中央付近とは、反射光や不要な散乱光成分などの光成分が入射される部分である。

前記第1領域111のフィルタは、微小粒子Pからの反射光と不要な散乱光成分とを遮

10

20

30

40

50

断し、蛍光を透過するという特定の波長選択性を有する。

また、第2領域112のフィルタは、特定の波長選択性のないものであり、蛍光および必要な散乱光成分を透過する。ここで、特定の波長選択性のないフィルタとは、上記第1領域111に使用されるフィルタ(光学材料)ではなく、後方散乱光や蛍光が透過するもの(例えばガラスなど)であればよい。

【0025】

さらに、図5に、上記図4(a)の前記光学フィルタの左右方向の断面図の例示を示すが、これに限定されるものではない。

図5(a)に示すような前記光学フィルタ11は、第2領域112のフィルタの上面かつ略中央付近で、第1領域111のフィルタが接合しているものである。当該接合の際には、第1領域111や第2領域112のフィルタの光学的な特性を阻害しないような接着剤や光硬化樹脂を用いるのが好適である。さらに、可視域においての反射を防ぐため、図5(a)に示すような接合するタイプの前記光学フィルタにおいて、第2領域112のフィルタ表面にARコート(Anti Reflection Coating)を施すのが好適である。

【0026】

また、図5(b)および(c)に示すような前記光学フィルタ11は、第2領域112のフィルタの略中央付近に貫通穴又は未貫通穴を形成し、当該貫通穴又は未貫通穴に第1領域111フィルタを嵌合や挿入などによって配する。さらに、図5(b)に示すように第1領域111のフィルタが、第2領域112のフィルタの上面及び/又は下面より突出してもよい。また、図5(c)に示すように第1領域111のフィルタが、第2領域112のフィルタの上面及び/又は下面と、面一になるようにしてもよい。なお、第1領域111のフィルタと第2領域フィルタとを左右方向や高さ方向で積層構造としてもよい。

図5(b)や(c)に示すような一方の領域の貫通穴に他方の領域を配する光学フィルタを形成することによって、図5(a)に示すような光学フィルタの場合に界面の屈折率が異なることによって生じやすいフィルタの性能劣化を低減することが可能となる。

【0027】

さらに、図4(c)や(d)に示すような前記光学フィルタ11は、前記特定の波長選択性を有する第1領域の周囲に配された特定の波長選択性のない第2領域の周囲に、さらに波長選択性を有する第3領域を有するものである。

【0028】

図4(c)および(d)に示すような前記光学フィルタ11は、上記第1領域111のフィルタの周囲に配された上記第2領域112のフィルタの周囲に、更に特定の波長特性を有する第3領域113のフィルタを配するものである。一般的に後方散乱光は粒子サイズに対する角度依存性があり、所望の角度成分のみの散乱光を取得する必要がある場合もある。このような場合に、図4(c)および(d)に示すような光学フィルタ11の構造を採用することにより、第1領域111のフィルタでビーム系の中心をカットするだけでなく、その外側も第3領域113のフィルタでカットすることが可能となる。これにより、所望の角度からの後方散乱光を得ることが可能となる。

このとき、第1領域111の幅Lと、第2領域112の幅Mと、第3領域113の幅Nとの各幅は、それぞれ、中心から0~4mm:4~6mm:6~8mmとするのが、所望の後方散乱光を得るため好適である。

ここで、幅Lは、第1領域111の半径の距離である。幅Mは、第1領域111の中心から第2領域112の外周までの距離-幅Lである。幅Nは、第1領域111の中心から第3領域113の外周までの距離-(幅L+幅M)である。尚、多角形の場合には、中心から外辺までの距離(垂線の長さ)を基準とする。

尚、図4(c)および(d)に示すような光学フィルタ11は、上述のように各領域のフィルタを接合や嵌合などを行うことによって形成することが可能である。

【0029】

上述のような前記光学フィルタは、特定の波長特性を有する光学材料や波長特性のない光学材料などといった異なる波長特性を有する光学材料(フィルタ)を少なくとも2種以

10

20

30

40

50

検出される。

【 0 0 3 3 】

< 3 . 変形例 >

(1) 反射型光学フィルタ

F L ・ B S 集光系 1 0 2 に備えられている前記光学フィルタ 1 1 を、図 7 に示す反射型光学フィルタ 4 0 に変更してもよい。

当該反射型光学フィルタ 4 0 は、特定の波長選択性を有する第 1 領域 3 0 と、該領域の周囲に配され、波長選択性のない第 2 領域 3 1 とを有する。第 1 領域 3 0 は、微小粒子 P からの反射光と不要な散乱光成分を透過し、蛍光を反射させるような特定の波長選択性を有する。また、第 2 領域 3 1 は、必要な光成分（例えば、微小粒子 P からの蛍光や後方散乱光などの必要な散乱光成分）を反射させる波長選択性のない第 2 領域を有する。

より詳細に説明すると、前記反射型光学フィルタ 4 0 は、その略中央部分にバンドパスフィルタ 3 0、かつそのバンドパスフィルタ 3 0 の両端にミラー 3 1 を有する。当該バンドパスフィルタ 3 0 は、微小粒子 P からの反射光、また不要な散乱光成分を透過させ、かつ蛍光を反射させるものである。

当該バンドパスフィルタ 3 0 の透過スペクトラムの一例を、図 7 (b) に示す。

前記反射型光学フィルタの第 1 領域のフィルタは、上述した前記光学フィルタの第 1 領域 1 1 1 のフィルタの特性とは逆に、所望の不必要な光成分のみを高精度に透過させ、必要な光成分を反射させることが可能となるようなスペクトラムを有する。具体的には、バンドパスフィルタ 3 0 (第 1 領域のフィルタ) は、前記光学フィルタ 1 1 の第 1 領域 1 1 1 のフィルタの透過スペクトラムとは逆の波長選択性を有しており、例えば、4 8 8 付近、具体的には 4 8 0 ~ 5 0 0 n m が透過するのみでこれ以外の波長は反射する。

一方、当該ミラー 3 1 は、全波長域の光成分が反射するものであり、いわゆる波長選択性のないものである。

前記反射型光学フィルタ 4 0 を採用することにより、蛍光成分などは反射成分を使うため、前記光学フィルタ 1 1 よりも光の利用率がよくなる。

【 0 0 3 4 】

そして、前記反射型光学フィルタ 4 0 を備えた F L ・ B S 集光系 1 0 2 は、前記反射型光学フィルタ 4 0 にて反射された光成分（例えば、後方散乱光および蛍光成分など）が光ファイバー 1 3 に受光されるように、構成されていけばよい。例えば、F L ・ B S 集光系 1 0 2 内に、後方散乱光および蛍光を反射するミラーを集光レンズ 1 2 の前に設けてもよいし、或いは、光ファイバー 1 3 の受光部の配置を変更してもよい。

【 0 0 3 5 】

(2) 反射型光学フィルタを備えた場合の動作

図 7 に示すように、微小粒子 P からの光成分（反射光、後方散乱光、蛍光）や不要な散乱光成分は、反射型光学フィルタ 4 0 に導光される。このうちの反射光は、伝搬角が小さいので、前記反射型光学フィルタ 4 0 の略中央部分にあるバンドパスフィルタ 3 0 (第 1 領域) を透過する。後方散乱光は、伝播角が広いので、前記反射型光学フィルタ 4 0 のミラー全面に当たり、このとき略中央部分のバンドパスフィルタ 3 0 (第 1 領域) を透過し、この周囲にあるミラー 3 1 (第 2 領域) によって反射する。蛍光は、伝播角が広いので、前記反射型光学フィルタ 4 0 のミラー全面に当たり、このとき略中央部分のバンドパスフィルタ 3 0 (第 1 領域) およびこの周囲にあるミラー 3 1 (第 2 領域) によって反射する。

反射した蛍光および後方散乱光は、反射ミラーなど（図示せず）を経て、光ファイバー 1 3 に導光される。

【 0 0 3 6 】

なお、前記反射型光学フィルタ 4 0 の形状や構造は、必要な光成分（例えば、蛍光および後方散乱光などの必要な散乱光成分）を反射させることができれば特に限定されないが、前記光学フィルタ 1 1 と同じ形状や構造とするのが好適である。例えば、上述した図 4 および 5 に示すようなものが挙げられる。このとき、前記反射型光学フィルタ 4 0 の微小

10

20

30

40

50

粒子 P からの光成分や不要な散乱光成分が当たる面は、蛍光および後方散乱光を効率よく反射させるため、面一とするのが好適である。

【実施例】

【0037】

前記光学フィルタ 11 を用いたときの効果を下記に示す。

製造例 1：本発明の微小粒子測定装置に備える光学フィルタ

波長特性を有する第 1 領域のフィルタは、図 3 に示すようなスペクトラムを有していた。この第 1 領域のフィルタは、所望の 488 nm の波長成分のみを他の透過成分に対して 5 桁透過率の低い特性を有していた。

また、波長特性のない第 2 領域のフィルタは、市販のカバーガラスを用い、可視域において反射を防ぐ AR コートをした。

上記第 1 領域のフィルタを半径 4 ~ 5 mm にカットし、上記第 2 領域のフィルタの上に貼り付けて、図 4 (a) および図 5 (a) のような形状および構造を有するノッチフィルタマスクを作製した。

【0038】

試験例 1：各微小粒子測定装置による蛍光感度の測定

下記の実験は、8 種類の異なる明るさを持ったビーズを用いて、488 nm の励起光で蛍光を取得し、そのときのピークを、図 8 (a) 通常のマスキ、(b) ノッチフィルタマスク、(c) マスクを用いない時を比較した。

ここで、本実験では、8 つのビーズでのヒストグラムのピークが全て独立して存在する状態であれば感度が高い状態といえる。強度の一番弱いピーク（一番左側）は蛍光体が付着していないビーズのため、この成分はノイズ成分となる。よってこのノイズ成分と他のピークとが完全に離れている状態が感度の高い状態で望ましい。

上記 (a) と (b) の実験では、同じ一辺 4 . 5 mm のサイズのマスキを用いた。

(a) の通常のマスキを用いたときには、右から 6 , 7 , 8 番目のピークが繋がっていたのに対して、(b) のノッチフィルタマスクを用いたときには、7 - 8 個目のピークが分離していた。(c) のマスキなしの時とほぼ変わらない特性であることから、ノッチフィルタマスクを用いたときは、蛍光の光量のロスがないことが確認できた。

【0039】

試験例 2：各微小粒子測定装置による散乱の測定

血液のサンプルを 3 種類の細胞に分けたもので、そのサイズと、細胞の複雑さによって前方散乱光と後方散乱光の信号が変化する。当然後方散乱光のマスキのサイズが最適化されていなかったり、マスキの消光比が悪いと、特性は劣化した。

上述のような (a) と (b) の各マスキを用いた実験では、同じ一辺 4 . 5 mm のサイズのマスキを用いた。

(a) の通常のマスキを用いたときのような、完全に中央の光をブロックしたときとほぼ同じ結果が、(b) のノッチフィルタマスクを用いたときにも得られている。

【0040】

以上のこれら 2 つの実験から、本発明の装置に用いる前記光学フィルタ（領域分割フィルタ）が、蛍光などの光量のロスがないにも拘らず、所定の波長に関してはフィルタとして機能して遮断していることが確認できた。

【産業上の利用可能性】

【0041】

本発明に係わる微小粒子測定装置は、特定の波長選択性を有する領域と波長選択性のない領域とを組み合わせた領域分割の光学フィルタを用いることにより、微小粒子から発生する反射光や不要な散乱光成分を遮断し、後方散乱光の光量を低減させることなく、かつ蛍光の光量のロスを低減する。よって、本発明に係わる微小粒子測定装置は、散乱光と蛍光の何れをも高効率で取得することができる。さらに後方散乱光および蛍光を高効率に取得できる光学検出系をシンプルかつコンパクトに形成することも可能となる。

【符号の説明】

10

20

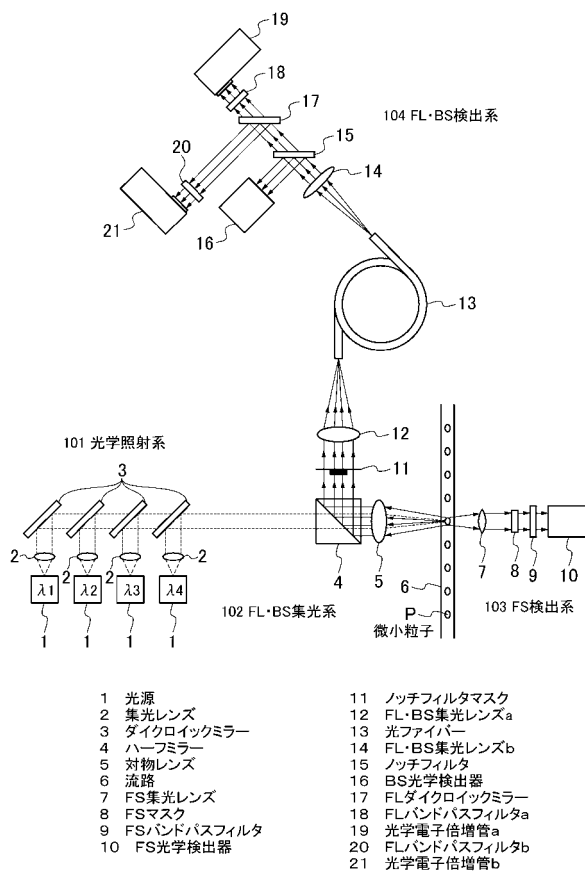
30

40

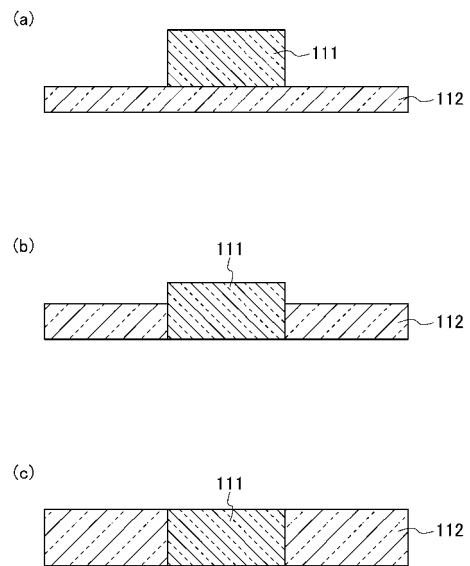
50

- 【 0 0 4 2 】
- 1 1 光学フィルタ
- 1 1 1 第 1 領域
- 1 1 2 第 2 領域
- 1 1 3 第 3 領域
- 1 1 4 第 4 領域
- 3 0 バンドパスフィルタ
- 3 1 ミラー
- 4 0 反射型光学フィルタ
- 1 0 1 光学照射系
- 1 0 2 蛍光・後方散乱光集光系
- 1 0 3 前方散乱検出系
- 1 0 4 蛍光・後方散乱光検出系

【 図 1 】

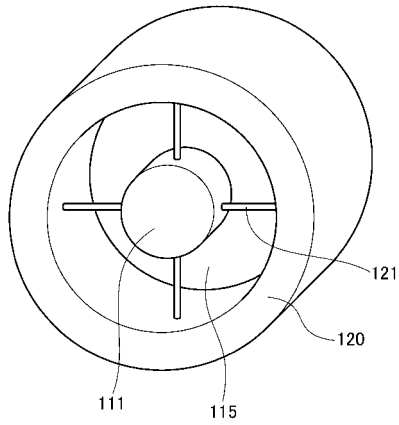


【 図 5 】



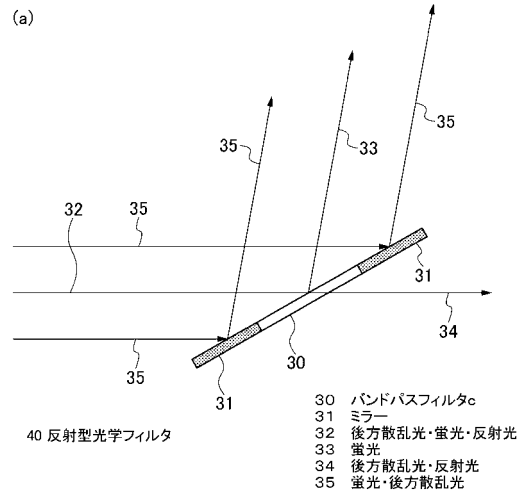
111 第1領域
 112 第2領域

【 図 6 】

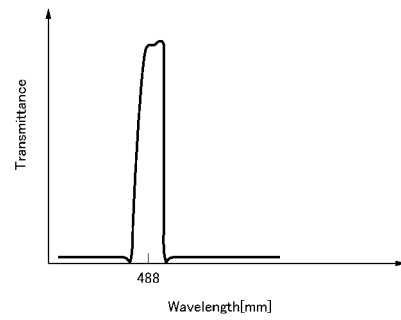


- 111 第1領域
- 115 空間
- 120 フレーム
- 121 ワイヤ

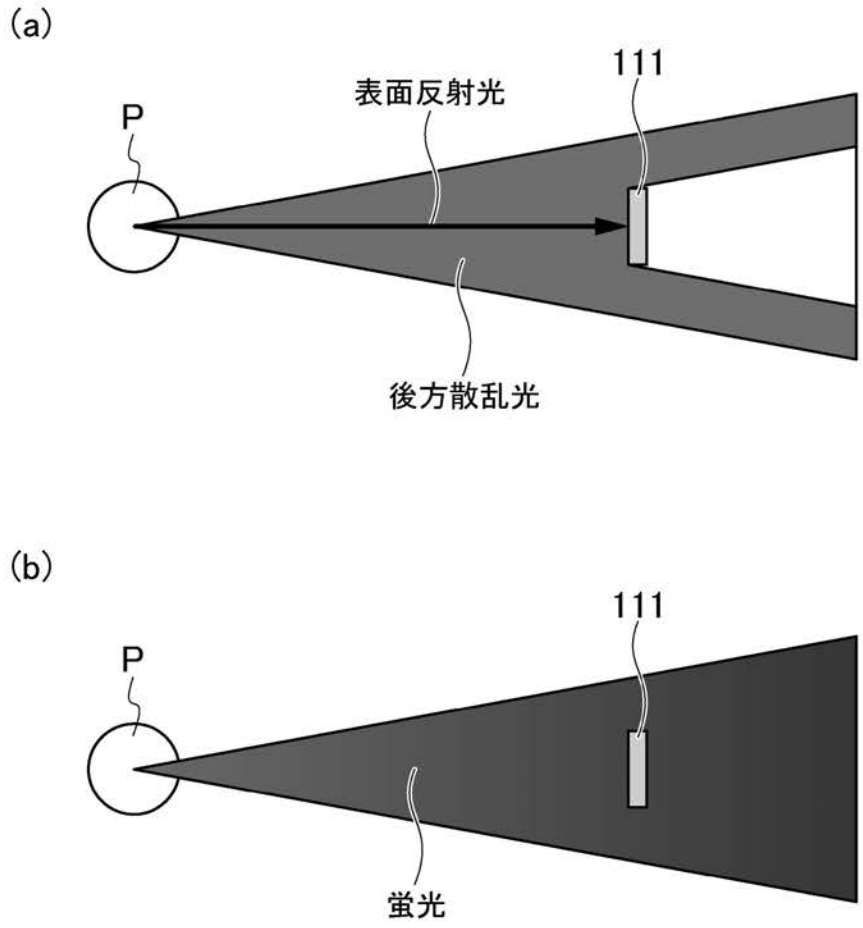
【 図 7 】



(b)

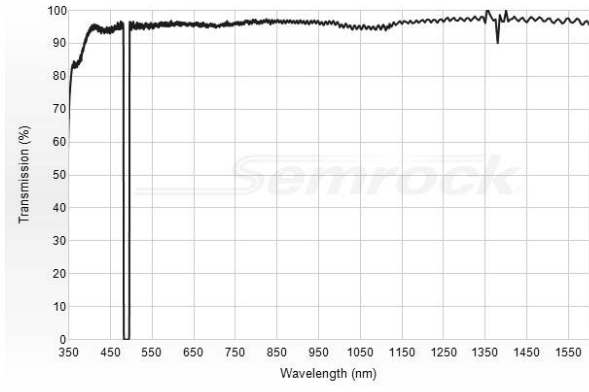


【 図 2 】

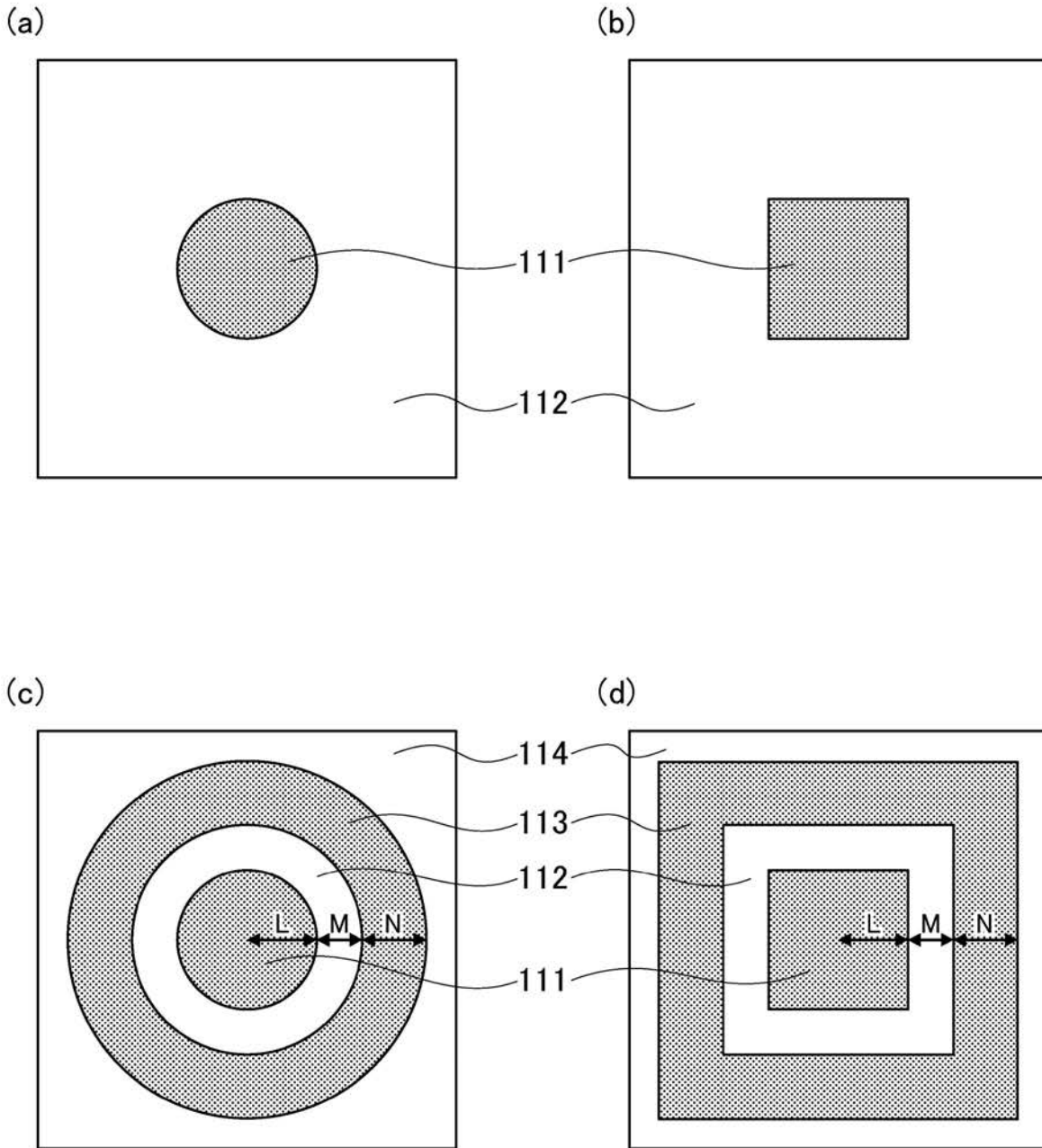


P 微小粒子
111 第1領域のフィルタ

【 図 3 】



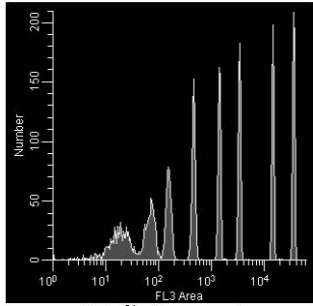
【 図 4 】



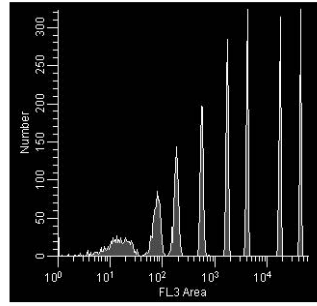
111 第1領域
112 第2領域
113 第3領域
114 第4領域

L,M,N 各領域の幅

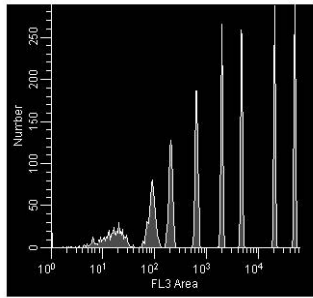
【 図 8 】



(a)通常のマスク

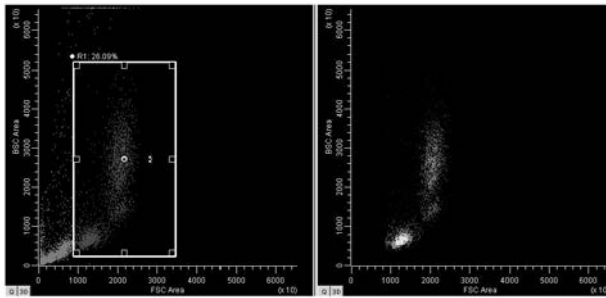


(b)ノッチフィルタマスク

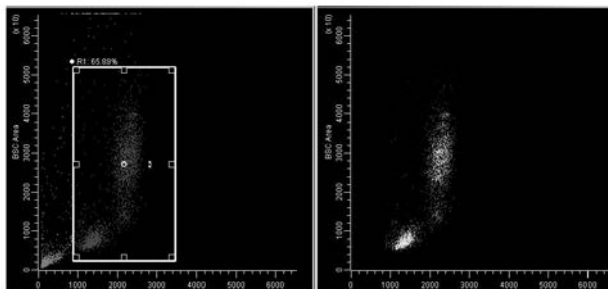


(c)マスクなし

【 図 9 】

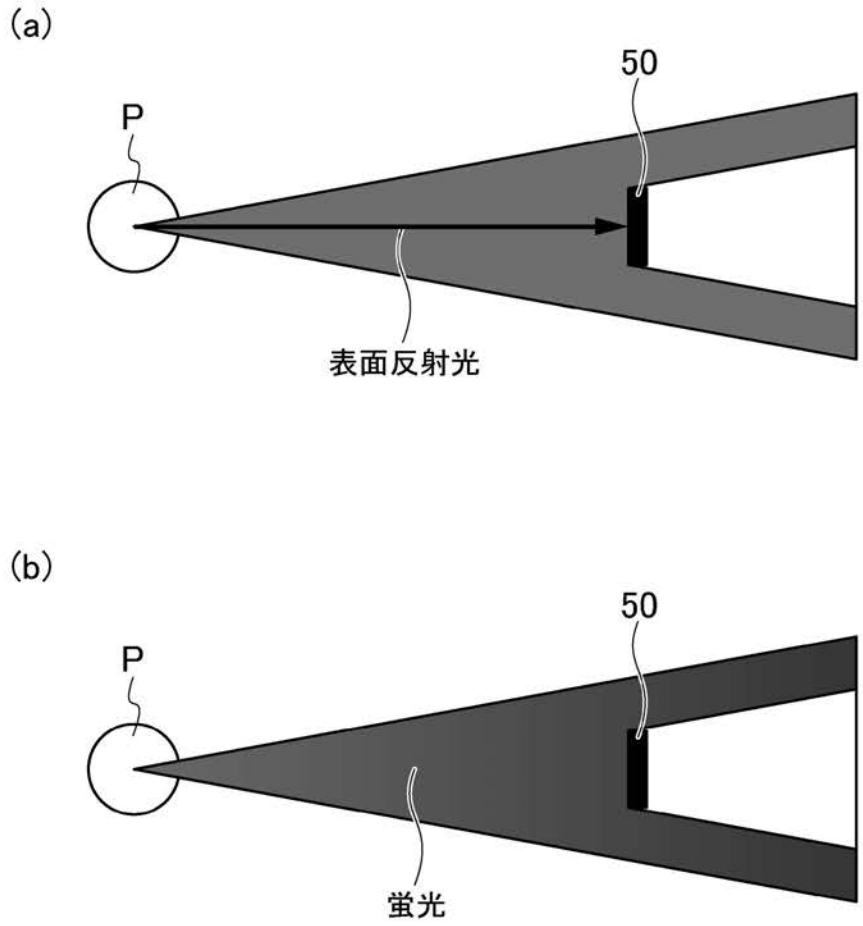


(a)通常のマスク



(b)ノッチフィルタマスク

【図 10】



P 微小粒子
50 マスク

フロントページの続き

- (72)発明者 山田 晋司
東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株式会社内
- (72)発明者 福本 敦
東京都港区港南1丁目7番1号 ソニー株式会社内