



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102346145 A

(43) 申请公布日 2012. 02. 08

(21) 申请号 201110199688. 7

(22) 申请日 2011. 07. 15

(30) 优先权数据

2010-164861 2010. 07. 22 JP

(71) 申请人 索尼公司

地址 日本东京

(72) 发明人 外石满 濑尾胜弘 高崎浩司

山田晋司 福本敦

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

代理人 余刚 吴孟秋

(51) Int. Cl.

G01N 21/64 (2006. 01)

G01N 21/65 (2006. 01)

G01N 21/15 (2006. 01)

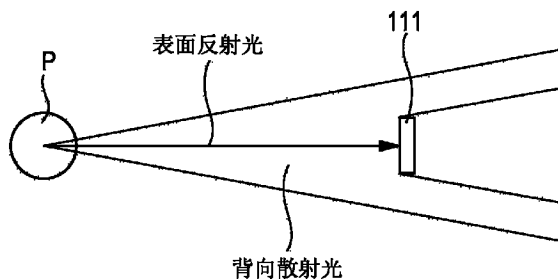
权利要求书 1 页 说明书 9 页 附图 9 页

(54) 发明名称

微粒测定装置

(57) 摘要

本发明公开了一种微粒测定装置。该微粒测定装置包括滤光器,该滤光器被分成多个区域且设置在光路上,在该光路上从用光照射的微粒发出的光被引导至光检测器。在该微粒测定装置中,该滤光器包括:具有波长选择性的第一区域,该第一区域通过波长选择性来阻断来自微粒的反射光及不需要的散射光分量并且透射荧光;以及第二区域,至少设置在该第一区域周围且不具有波长选择性,以透射需要的散射光分量。



1. 一种微粒测定装置,包括:

滤光器,被分割成多个区域,且被设置在用光照射微粒而从所述微粒发出的光被引导至光检测器的光路上;其中,

所述滤光器包括:

具有波长选择性的第一区域,所述第一区域通过所述波长选择性来阻断来自微粒的反射光和不需要的散射光分量并且透射荧光,以及

第二区域,设置在至少所述第一区域的周围并且不具有波长选择性,以透射需要的散射光分量。

2. 根据权利要求1所述的微粒测定装置,其中,具有所述波长选择性的第一区域设置在不具有波长选择性的第二区域的穿透部分中。

3. 根据权利要求1所述的微粒测定装置,其中,支撑所述第一区域的框架设置在具有波长选择性的所述第一区域的外周上,并且不具有波长选择性的所述第二区域为中空的。

4. 根据权利要求1所述的微粒测定装置,其中,所述滤光器还包括具有波长选择性、并且设置在所述第二区域的周围的第三区域,所述第二区域被设置在具有波长选择性的所述第一区域的周围且不具有波长选择性。

5. 根据权利要求1所述的微粒测定装置,还包括:

光纤,将荧光及后向散射光引导至荧光和后向散射光检测器,且被设置在所述光路上;其中

分割成所述多个区域的所述滤光器被设置成使得透过所述滤光器的光由所述光纤所接收。

微粒测定装置

技术领域

[0001] 本发明涉及微粒测定装置。具体地,本发明涉及光学分析微粒的特性的微粒分析装置。

背景技术

[0002] 已经使用了这样的微粒测定装置,其将光照射至在形成于流动池中或形成于微芯片上的流动路径中流动的微粒,以检测来自微粒的散射光或从微粒或从标记于微粒上的荧光物质发射的荧光以及测定微粒的光学特性。

[0003] 国际公开第 W02005/103642 号公开了一种样品识别装置,其包括被检测光接收光纤,从而以较高灵敏度测定特性。此装置测定从样品发射的后向散射光的接收光量的波动,能够检测样品的状态(透射率、吸收率等)。

发明内容

[0004] 在现有技术的微粒检测装置中,为了获得最佳散射角,需要在检测荧光和散射光的光学检测系统中设置遮板。该遮板阻断反射光以防止反射光分量进入散射光电子倍增管或荧光电子倍增管中。然而,需要的光分量,诸如荧光,也不必要地被该遮板所阻断,因此不利地降低了需要的光分量的灵敏度。这里,现有技术中已使用的遮板在下文中被称为“普通(现有技术)遮板”。

[0005] 期望提供一种高效地获得需要的光分量(特别地,后向散射光和荧光)的微粒分析装置。

[0006] 根据本发明的实施方式,提供了一种微粒测定装置,包括滤光器,被分成多个区域且设置在用光照射微粒而从该微粒发出的光被引导至光检测器的光路上。在该微粒测定装置中,该滤光器包括:具有波长选择性的第一区域,该第一区域通过该波长选择性来阻断来自微粒的反射光及不需要的散射光分量并且透射荧光;以及第二区域,设置在至少第一区域周围且不具有波长选择性,以透射需要的散射光分量。

[0007] 因此,可切断来自微粒的反射光和不需要的散射光分量,并且作为需要的光分量之一的荧光可通过该第一区域透射。此外,荧光和需要的散射光分量(例如,后向散射光)可通过该第二区域透射。

[0008] 在本发明的实施方式中,具有波长选择性的第一区域优选设置在不具有波长选择性的第二区域的穿透部分中。

[0009] 在本发明的实施方式中,较佳的是支撑第一区域的框架设置于具有波长选择性的第一区域的外周上,且不具有波长选择性的第二区域为中空的。

[0010] 因此,可减少第一区域和第二区域在它们的界面上的折射率的差异。

[0011] 在本发明的实施方式中,优选的是该滤光器还包括在第二区域周围具有波长选择性的第三区域,该第二区域设置在具有波长选择性的第一区域周围且不具有波长选择性。光束系统的中心可被第一区域切断,此外,该光束系统的外部可根据需要被第三区域切断。

因此,可获得来自期望的角度的后向散射光。

[0012] 在本发明的实施方式中,优选的是将荧光和后向散射光引导至荧光和后向散射光检测器的光纤被设置在光路上并且设置了被分成多个区域的滤光器,使得透过该滤光器的光被该光纤所接收。因此,可以以高灵敏度检测后向散射光和荧光。

[0013] 根据本发明的实施方式,提供了高效地获得后向散射光和荧光的微粒分析装置。

附图说明

[0014] 图 1 示出了根据本发明的实施方式的微粒分析装置的光路;

[0015] 图 2A 和图 2B 示出了在根据本发明实施方式的具有滤光器的微粒分析装置中,从被激光束照射的微粒发出的反射光、后向散射光和荧光;

[0016] 图 3 示出了对根据本发明实施方式的微粒分析装置设置的滤光器的第一区域的透射光谱;

[0017] 图 4A 至图 4D 示出了对根据本发明实施方式的微粒分析装置设置的滤光器(上表面方向)的实例,图 4A 示出了第一区域具有圆形形状的情况,图 4B 示出了第一区域具有方形形状的情况,图 4C 示出了第一区域至第三区域均具有圆形形状的情况,而图 4D 示出了第一区域至第三区域均具有方形形状的情况;

[0018] 图 5A 至图 5C 示出了对根据本发明实施方式的微粒分析装置设置的滤光器的水平方向上的截面的实例,图 5A 示出了第一区域的(平面)滤波器的下部接合在第二区域的(平面)滤波器的上部上的情况,图 5B 示出了第一区域的(平面)滤波器设置在第二区域的(平面)滤波器的穿透部分中且第一区域的(平面)滤波器的上表面比第二区域的(平面)滤波器的上表面更突出的情况,以及图 5C 示出了第一区域设置在第二区域的(平面)滤波器的穿透部分中且第一区域和第二区域的上表面和下表面齐平的情况;

[0019] 图 6 示出了对根据本发明的实施方式的微粒分析装置设置的滤光器,并示出第一区域的(平面)滤波器由圆柱框架支撑且第二区域为中空的情况;

[0020] 图 7A 和图 7B 示出了根据本发明的变形例的滤光器(反射型滤光器)的实例,图 7A 示出了当使用反射型滤光器时反射光、后向散射光和荧光的流路径,而图 7B 示出了本发明的变形例的反射型滤光器的第一区域的透射光谱;

[0021] 图 8A 示出了用设置有普通(现有技术)遮板的微粒分析装置获得的荧光灵敏度的测定结果;

[0022] 图 8B 示出了用设置有根据本发明实施方式的具有不同透射波长区域的遮板的微粒分析装置获得的荧光灵敏度的测定结果;

[0023] 图 8C 示出了用未设置遮板的微粒分析装置获得的荧光灵敏度的测定结果;

[0024] 图 9A 示出了用设置有普通(现有技术)遮板的微粒分析装置获得的后向散射光的测定结果;

[0025] 图 9B 示出了用设置有根据本发明实施方式的具有不同透射波长区域的遮板的微粒分析装置获得的后向散射光的测定结果;

[0026] 图 10A 和图 10B 示出了在设置有普通(现有技术)遮板的微粒分析装置中从被激光束照射的微粒发出的反射光、后向散射光及荧光。

具体实施方式

[0027] 以下将参考附图描述本发明的优选实施方式。这里,应注意,以下所述实施方式是本发明的实施方式的主要实例,并且本发明的范围并不由于这些实施方式而限制性地解释。将以下面的顺序进行说明。

[0028] 1. 微粒测定装置的结构

[0029] (1) 光学检测单元

[0030] (1-1)FL/BS 聚光系统 - 滤光器

[0031] 2. 微粒测定装置的操作

[0032] 3. 变形例

[0033] (1) 反射型滤光器

[0034] (2) 在设置反射型滤光器情况下的操作

[0035] <1. 微粒测定装置的结构 >

[0036] 图 1 示意性地示出了根据本发明实施方式的微粒测定装置的结构,并且特别示出了光学检测系统(光学流路)。

[0037] 该微粒测定装置包括诸如流动池和微芯片的流路系统,以及光学检测单元,该光学检测单元检测从在流动池中形成或在微芯片上形成的流路中流动的微粒 P 发出的以荧光、后向散射光及前向散射光为例的多种光分量。这里,如有必要,该微粒测定装置可包括回收和分离测定后的微粒 P 的分类单元。

[0038] (1) 光学检测单元

[0039] 如图 1 所示,光学检测单元由光学照射系统 101、荧光和后向散射光聚光系统 102、前向散射光检测系统 103 以及荧光和后向散射光检测系统 104 构成。因此,从用光照射的微粒发出的光分量可被引入各光检测器,以检测和测定期望的光分量。

[0040] 光学照射系统 101 包括:照射光(激发光)的光源($\lambda 1$ 至 $\lambda 4$)1、分别将来自光源 1 的光转换成平行光的聚光透镜 2 以及将光设置在同一轴上的二向色镜 3。

[0041] 从光学照射系统 101 发出的光(激发光)穿过包括在荧光和后向散射光(以下也称为 FL/BS)聚光系统中的半透镜 4 和物镜 5,从而被照射至在流路径 6 中流动的微粒 P。此时,不仅荧光和所需的散射光分量,而且反射光和不需要的散射光分量都从微粒 P 发出。

[0042] 这里,荧光和需要的散射光分量是用于获得微粒 P 的光学信息(特性)的重要光分量。例如,需要的散射光分量为后向散射光和侧向散射光。在照射光(激发光)射中流路径系统、基板、电池等时产生不需要的散射光分量。

[0043] 在本发明的实施方式中,“微粒”广泛地包括诸如细胞、微生物的生物相关微粒,以及诸如乳胶粒子、凝胶粒子和工业粒子的合成粒子等。

[0044] 生物相关微粒包括构成各种细胞的染色体、脂质体、线粒体、细胞器等。对象细胞包括动物细胞(血细胞等)、植物细胞等。对象微生物包括细菌(诸如大肠杆菌)、病毒(诸如烟草花叶病毒)、真菌(诸如酵母真菌)等。此外,生物相关微粒还可包括生物相关聚合物,诸如核酸、蛋白质以及核酸和蛋白质的复合物。

[0045] 例如,工业粒子可为有机/无机聚合物材料、金属等。有机聚合物材料包括聚苯乙烯、苯乙烯-二乙烯苯、聚甲基丙烯酸甲酯等。无机聚合物材料包括玻璃、石英、磁性体材料等。金属包括金胶体、铝等。

[0046] 虽然上述微粒的形状通常为球形,但它也可为非球形,且不对大小、质量等进行特别限制。

[0047] 前向散射光(下文中也称为FS)检测系统103包括FS聚光透镜7、以期望的角度分量切断前向散射光的FS遮板8、仅透射期望的波长分量的带通滤波器9以及检测所透射的光的FS光检测器10。

[0048] 荧光和后向散射光聚光系统102包括:物镜5,其会聚来自微粒P的光分量;半透镜4,其将这些光分量在其表面上进行反射;滤光器11,其被分割为多个区域,光分量被引导至该多个区域;以及FS/BS聚光透镜12。

[0049] 这里,被分割成多个区域的滤光器(下文中称为陷波滤波器遮板(notch filter mask)以及滤光器)11阻断(减少)来自半透镜4所反射的光分量的反射光及不需要的散射光分量,并且透射需要的光分量(例如,荧光及后向散射光)。FL/BS聚光透镜12将需要的光分量引导至光纤13。

[0050] 荧光和后向散射光检测系统104检测从光纤13接收的光分量的荧光和后向散射光。

[0051] 具体地,荧光和后向散射光检测系统104包括:FL/BS聚光透镜14,其将来自光纤13的光分量转换成平行光;陷波滤波器15,其反射平行光的后向散射光并透射荧光;以及BS光检测器16,其检测后向散射光。荧光和后向散射光检测系统104还包括:FL二向色镜17,透射透过陷波滤波器15的荧光分量中的期望波长分量并且反射其他波长分量;FL带通滤波器18和20,其进一步选择期望的波长分量;以及光学电子倍增管19和21,其检测期望的波长分量。

[0052] 这里,可根据需要来增加或减少陷波滤波器遮板、二向色镜、带通滤波器、光学电子倍增管和光检测器的数目。

[0053] 上述微粒测定装置的光学照射系统101、前向散射光检测系统103以及荧光及后向散射光检测系统104可具有与现有技术的微粒测定装置的那些系统有相同的结构。

[0054] (1-1)FL/BS聚光系统-滤光器

[0055] 以下参考图2A至图6描述在根据本发明实施方式的微粒测定装置中的FL/BS聚光系统102和对FL/BS聚光系统102设置的滤光器11。

[0056] 首先描述滤光器11。

[0057] 滤光器11用于减少来自微粒P的光分量的反射光和不需要的散射光分量,并且以较高的效率获得荧光分量和需要的散射光分量(特别地,后向散射光分量)。因此,在滤光器11的近似中心部分设置第一区域111的滤波器,来自微粒P的反射光和不需要的散射光分量入射在该第一区域(表面)上(例如,参考图2A和图2B)。第一区域111的滤波器具有特定波长选择性。由于该特定波长选择性,可阻断(减少)反射光和不需要的散射光分量,并且可透射荧光分量。

[0058] 使第一区域111的滤波器具有使得该滤波器可以高精度地仅反射预期的不必要的光分量并且可透射需要的光分量的透射光谱就足够了。更具体地,由于入射光和反射光的波长通常比荧光波长更小,所以适宜使用不透射低波长分量的滤波器。

[0059] 例如,如图3中所示,优选使用仅不透射波长为约488nm(具体地,480nm至500nm)的特定波长分量的滤波器作为第一区域111的具有特定波长选择性的滤波器。有利的是制

备具有如下特性的这种滤波器作为具有波长选择性的滤波器,即,关于特定波长分量的透射仅比关于其他分量的透射低 5 位数。因此,该滤波器可阻断(减少)反射光和不需要的散射光分量并且高精度地透射荧光分量,从而能够高效地获得更高的荧光光量。

[0060] 图 10A 和图 10B 示出当使用现有技术的遮板时从微粒 P 发出的反射光、后向散射光和荧光。因此,荧光和表面反射光被该普通遮板所阻断。因此,减少了入射在光检测器上的荧光的光量,并且使荧光感光度劣化。

[0061] 相反,如图 2A 所示,第一区域 111 的滤波器具有上述特定波长选择性,使得该滤波器在阻断来自微粒 P 的反射光(其传播角小)和不需要的散射光分量的同时透射荧光。此外,如图 2B 所示,后向散射光和荧光的传播角在理论上比反射光分量的传播角更大,因此需要的光分量(后向散射光分量和荧光分量)穿过第一区域 111 的滤波器的周围。因此,可减少入射到光检测器上的荧光的光量上的损失。此外,也可获得后向散射光,使得可同时高效地获得后向散射光和荧光。此外,在微粒测定装置上安装滤光器就足够了,且因此微粒测定装置不用必须具有复杂的构成。因此,可高效地获得后向散射光和荧光的光检测器及微粒测定装置可简单且紧凑地实现。

[0062] 图 4A 至图 5C 示出了滤光器 11 的实例,该滤光器包括具有上述特定波长选择性的第一区域以及至少设置在该第一区域周围且不具有波长选择性的第二区域。然而,滤光器 11 的形状和构成并不限于这些实例。

[0063] 首先,描述如图 4A 和图 4B 所示的包括具有特定波长选择性的第一区域 111 的滤波器及设置在第一区域 111 周围且不具有波长选择性的第二区域 112 的滤波器的滤光器 11。

[0064] 滤光器 11 包括第一区域 111 的滤波器和第二区域 112 的滤波器。第一区域 111 的滤波器设置在滤光器的近似中心上。该近似中心是诸如反射光和不需要的散射光分量的光分量入射在其上的部分。

[0065] 第一区域 111 的滤波器具有特定波长选择性,滤波器通过该波长选择性阻断来自微粒 P 的反射光和不需要的散射光分量并且透射荧光。

[0066] 第二区域 112 的滤波器不具有特定波长选择性并且透射荧光和需的散射光分量。这里,不是上述用于第一区域 111 中的滤波器(光学材料),而是透射后向散射光和荧光的滤波器(例如,玻璃等)可用作不具有特定波长选择性的滤波器。

[0067] 图 5A 至图 5C 示出在图 4A 的滤光器的水平方向上的截面的实例。然而,滤光器的结构并不限于这些实例。

[0068] 在图 5A 所示的滤光器 11 中,第一区域 111 的滤波器接合在第二区域 112 的滤波器的上表面的近似中心上。在接合滤波器过程中,适宜使用不抑制第一区域 111 和第二区域 112 的滤波器的光学特性的粘合剂或光固化树脂。此外,适宜在图 5A 所示的接合型滤光器中的第二区域 112 的滤波器的表面上进行防反射 (AR) 涂布以防止在可见光范围内的反射。

[0069] 在图 5B 和图 5C 所示的滤光器 11 中,在第二区域 112 的滤波器的近似中心上形成通孔或非通孔,并且第一区域 111 的滤波器被安装或被插入从而被设置在该通孔或该非通孔中。此外,如图 5B 所示第一区域 111 的滤波器可从第二区域 112 的滤波器的上表面及/或下表面突出。此外,如图 5C 所示,第一区域 111 的滤波器可形成为与第二区域 112 的滤

波器的上表面及 / 或下表面是齐平的。这里,第一区域 111 的滤波器和第二区域 112 的滤波器可在水平方向或高度方向上层叠。

[0070] 如图 5B 和图 5C 中所示,通过形成一个区域设置在其他区域的通孔中的滤光器,可减少在图 5A 所示的滤光器的情形下由于界面上的不同折射率而容易出现的滤波器性能劣化。

[0071] 图 4C 和图 4D 所示的滤光器 11 还包括在第二区域周围且具有波长选择性的第三区域,该第二区域设置在具有特定波长选择性的第一区域周围且不具有特定波长选择性。

[0072] 在图 4C 和图 4D 所示的滤光器 11 中,具有特定波长特性的第三区域 113 的滤波器还设置在第二区域 112 的滤波器周围,该第二区域的滤波器设置在第一区域 111 的滤波器周围。后向散射光通常具有与粒子大小相关的角度依存性,并且存在需要仅获得具有期望的角度分量的散射光的情况。在该情况下,通过利用图 4C 和图 4D 所示的滤光器 11 的结构,光束系统的中心可被第一区域 111 的滤波器切断,此外,光束系统的外边也可被第三区域 113 的滤波器切断。因此,可获得来自期望的角度的后向散射光。

[0073] 此时,优选将第一区域 111 的宽度 L、第二区域 112 的宽度 M 和第三区域 113 的宽度 N 分别设定为相距中心 0mm 至 4mm、4mm 至 6mm 和 6mm 至 8mm 以获得期望的后向散射光。

[0074] 这里,宽度 L 为第一区域 111 的半径距离。宽度 M 是按从第一区域 111 的中心到第二区域 112 的外周的距离 - 宽度 L 计算而获得。宽度 N 是按从第一区域 111 的中心到第三区域 113 的外周的距离 - (宽度 L + 宽度 M) 而获得。在多边形的情况下,宽度取决于从中心到外侧的距离 (垂线长度)。

[0075] 图 4C 和图 4D 中所示的滤光器 11 可通过接合或安装上述各区域的滤波器而形成。

[0076] 通过组合至少两种具有彼此不同波长特性的光学材料 (滤波器) (诸如具有特定波长特性的光学材料及不具有波长特性的光学材料) 足以制备上述滤光器。

[0077] 用于形成其中使用了两种或两种以上具有彼此不同光学特性的光学材料的滤光器的方法不受特别限制,使得可以使用用于形成光子晶体的方法,例如蚀刻方法 (例如,半导体光刻方法),以及上述方法。用于形成光子晶体的方法是优选的,因为也容易形成使各个区域层叠的滤光器 11。

[0078] 此外,可使用如图 6 中所示的滤光器 11,该滤光器包括第一区域 111 的滤波器和经由单条或多条线 121 支撑第一区域 111 的滤波器的圆柱框架 120。此外,优选地,第一区域 111 的滤波器设置在框架 120 的近似中心,并且位于第一区域周围且中空的空间 115 用作第二区域。通过采用这种简单结构,可减少由于滤波器材料的差异而容易出现的性能劣化。

[0079] 将滤光器 11 设置于如上所述的 FL/BS 聚光系统。优选地,滤光器 11 设置在光纤 13 之前,光纤 13 将荧光和后向散射光引导至 FL/BS 光学检测系统 (荧光和后向散射光检测器)。具体地,优选设置滤光器使得光纤可接收透过滤光器的光。

[0080] 通过采用这种结构,荧光的光量损失可比在滤光器 11 被设置在 FL/BS 光学检测系统中的情况下减少得更多。

[0081] <2. 微粒测定装置的操作 >

[0082] 以下参考图 1 描述设置有上述滤光器的微粒测定装置的操作。

[0083] 来自光学照射系统 101 中的多个不同波长的各激光光源 1 的光束 (激发光) 通过对应的聚光透镜 2 被转换成平行光,以通过二向色镜 3 设置在同一轴上。光束 (激发光)

经过 FL/BS 聚光系统 102 的半透镜 4 和物镜 5, 以被照射至流路 6 中的微粒 P。然后, 从微粒 P 发出的荧光、需要的散射光分量 (前向散射光、后向散射光等) 和反射光, 并且也生成不需要的散射光分量和反射光。

[0084] 此时微粒 P 的前向散射光在 FS 检测系统 103 中经 FS 聚光透镜 7、FS 遮板 8 和 FS 带通滤波器 9 被引导至 FS 光检测器 10。

[0085] 来自微粒 P 的反射光、荧光和需要的散射光分量 (后向散射光等) 和不需要的散射光分量经过 FL/BS 聚光系统 102 的聚光透镜 5, 并且被半透镜 4 反射, 从而穿过陷波滤波器遮板 (光学遮板) 11。此时, 在光分量的中心上的反射光、不需要的散射光分量和前向散射光被阻断, 而荧光分量被位于陷波滤波器遮板 11 的近似中心上的第一区域 111 的滤波器所透射。此外, 因为后向散射光和荧光具有比反射光分量更大的传播角, 所以后向散射光和荧光穿过设置在第一区域 111 的滤波器周围的第二区域 112 的滤波器。因此, 透过陷波滤波器遮板 11 的后向散射光和荧光穿过 FL/BS 聚光透镜 12 以耦合至光纤 13。

[0086] 从光纤 13 出来的后向散射光和荧光被 FL/BS 聚光透镜 14 转换成平行光, 并且后向散射光通过仅反射后向散射光的陷波滤波器 15 而引导至 BS 光检测器 16, 从而被 BS 光检测器 16 所检测。此外, 荧光穿过陷波滤波器 15、FL 二向色镜 17, 然后穿过 FL 带通滤波器 18, 因此在荧光分量之中选择期望的波长分量, 并且光学电子倍增管 19 检测所选择的分量。此外, 荧光穿过陷波滤波器 15、FL 二向色镜 17, 然后穿过 FL 带通滤波器 20, 因此荧光分量的期望的波长分量被进一步选择, 并且光学电子倍增管 21 以相同方式检测所选择的分量。

[0087] <3. 变形例 >

[0088] (1) 反射型滤光器

[0089] 设置到 FL/BS 聚光系统 102 的滤光器 11 可变更为图 7A 所示的反射型滤光器 40。

[0090] 反射型滤光器 40 包括具有特定波长选择性的第一区域 30 和设置在第一区域 30 周围且不具有波长选择性的第二区域 31。第一区域 30 具有波长选择性, 第一区域 30 通过该波长选择性透射来自微粒 P 的反射光和不需要的散射光分量并且反射荧光。第二区域 31 不具有波长选择性且反射需要的光分量 (例如, 来自微粒 P 的荧光和诸如后向散射光分量的需要的散射光分量)。

[0091] 更具体地, 反射型滤光器 40 包括在其近似中心上的带通滤波器 30 和在其两端上的反射镜 31。带通滤波器 30 透射来自微粒 P 的反射光和不需要的散射光分量并且反射荧光。

[0092] 图 7B 示出了带通滤波器 30 的透射光谱的实例。

[0093] 反射型滤光器的第一区域的滤波器具有使得第一区域的滤波器可高精度地仅透射期望的不需要的光分量并且以与上述滤光器的第一区域 111 的滤波器的特性相反的方式反射所需的光分量的光谱。具体地, 带通滤波器 30 (第一区域的滤波器) 具有与滤光器 11 的第一区域 111 的滤波器的透射光谱相反的波长选择性, 例如, 带通滤波器 30 透射波长约 488nm (具体地, 480nm 至 500nm) 的光分量并且反射其他波长的光分量。

[0094] 另一方面, 反射镜 31 反射整个波长范围内的光分量, 即不具有波长选择性。

[0095] 通过采用反射型滤光器 40, 因为反射的分量用作荧光分量等, 所以光利用率变得比滤光器 11 的光利用率更高。

[0096] 设置有反射型滤光器 40 的 FL/BS 聚光系统 102 构造成使得被反射型滤光器 40 反射的光分量（例如，后向散射光和荧光分量）被光纤 13 所接收就足够了。例如，反射后向散射光和荧光的反射镜可设置在 FL/BS 聚光系统 102 中的聚光透镜 12 之前，或可改变光纤 13 的受光部的位置。

[0097] (2) 在设置反射型滤光器的情况下的操作

[0098] 如图 7A 所示，来自微粒 P 的光分量（反射光、后向散射光和荧光）和不需要的散射光分量被引导至反射型滤光器 40。因为反射光的传播角在这些分量之中较小，所以反射光经过位于反射型滤光器 40 的近似中心上的带通滤波器 30（第一区域）。因为后向散射光的传播角较大，所以后向散射光照射在反射型滤光器 40 的反射镜的整个表面上。此时，后向散射光经过位于该近似中心上的带通滤波器 30（第一区域），并且被设置在带通滤波器 30 周围的反射镜 31（第二区域）反射。因为荧光的传播角较大，所以荧光照射在反射型滤光器 40 的反射镜的整个表面上。此时，荧光被位于该近似中心上的带通滤波器 30（第一区域）并且被设置在带通滤波器 30 周围的反射镜 31（第二区域）反射。

[0099] 被反射的荧光和后向散射光经过反射镜（未示出）被引导至光纤 13。

[0100] 不对反射型滤光器 40 的形状和构造进行特别限制，只要能反射所需的光分量（例如，荧光和诸如后向散射光分量的所需的散射光分量）即可。然而，与滤光器 11 的形状和配置相同的形状和结构是优选的。例如，图 4A 至图 5C 所示的形状和结构是优选的。此时，反射型滤光器 40 的表面（来自微粒 P 的光分量和不需要的散射光分量照射在该表面上）形成是齐平的，以高效反射荧光和后向散射光。

[0101] [实施例]

[0102] 以下描述当使用滤光器 11 时的有利效果。

[0103] 制造例 1 :对根据本发明实施方式的微粒测定装置设置的滤光器

[0104] 具有波长特性的第一区域的滤波器具有图 3 所示的光谱。第一区域的滤波器具有这样的特性，即，关于期望波长（488nm）分量的透射仅比关于其他透射分量的透射低五位数。

[0105] 市售盖玻片用作不具有波长特性的第二区域的滤波器，并且用于防止可见光范围内的反射的 AR 涂层被涂布于该盖玻片。

[0106] 第一区域的滤波器被切下以具有 4mm 至 5mm 的半径并且接合在第二区域的滤波器上，从而制造具有图 4A 和图 5A 所示的形状及结构的陷波滤波器遮板。

[0107] 试验例 1 :通过各微粒测定装置的荧光感光度的测定

[0108] 在以下实验中，使用八种具有彼此不同亮度的珠子，并且荧光通过利用波长为 488nm 的激发光照射珠子而获得。比较如图 8A 所示使用共用遮板时、如图 8B 所示使用陷波滤波器遮板时以及如图 8C 所示不使用遮板时的直方图的峰值。

[0109] 这里，在该实验中，八个珠子的直方图的峰值全部独立存在的状态为具有高灵敏度的状态。具有最低强度的峰值（最左峰值）为没有附着荧光物质的珠子的峰值，因此该分量为噪音分量。因此，该噪音分量和其他峰值完全分离的状态为具有高灵敏度的优选状态。

[0110] 在图 8A 和图 8B 的实验中，使用其一边为 4.5mm 的具有相同大小的遮板。

[0111] 在图 8A 的实验中，使用普通遮板时，从右侧开始的第六峰值、第七峰值及第八峰值

彼此连接,但当在图 8B 的实验中使用陷波滤波器遮板时,第七峰值和第八峰值彼此分离。这具有与在图 8C 的实验中不使用遮板时几乎相同的特性。因此,可确定当使用陷波滤波器遮板时荧光的光量没有损失。

[0112] 试验例 2:通过各微粒测定装置进行的散射光的测定

[0113] 使用分成三种细胞的血液样本。前向散射光和后向散射光的信号根据细胞大小和细胞复杂性而变化。当然,当没有优化后向散射光的遮板大小或遮板的消光比较低时,特性劣化。

[0114] 在使用上述图 9A 和图 9B 所示的各遮板的实验中,使用其一边为 4.5mm 的相同大小的遮板。

[0115] 当如图 9B 中所示使用陷波滤波器遮板时,获得与如图 9A 中所示当中心光被普通遮板完全阻断时获得的结果几乎相同的结果。

[0116] 根据上述两个测试,确定出用在根据本发明实施方式的装置中的滤光器(区域分割滤波器)用作与预定波长相关的滤波器,并且在荧光等的光数量无任何损失的情况下阻断这些波长。

[0117] 本申请包括于 2010 年 7 月 22 日向日本专利局提交的日本在先专利申请 JP 2010-164861 中所公开的主题,其全部内容结合于此作为参考。

[0118] 本领域的技术人员应当理解,根据设计需求和其他因素,可以进行各种修改、组合、子组合和变形,均应包括在所附权利要求或其等同物的范围之内。

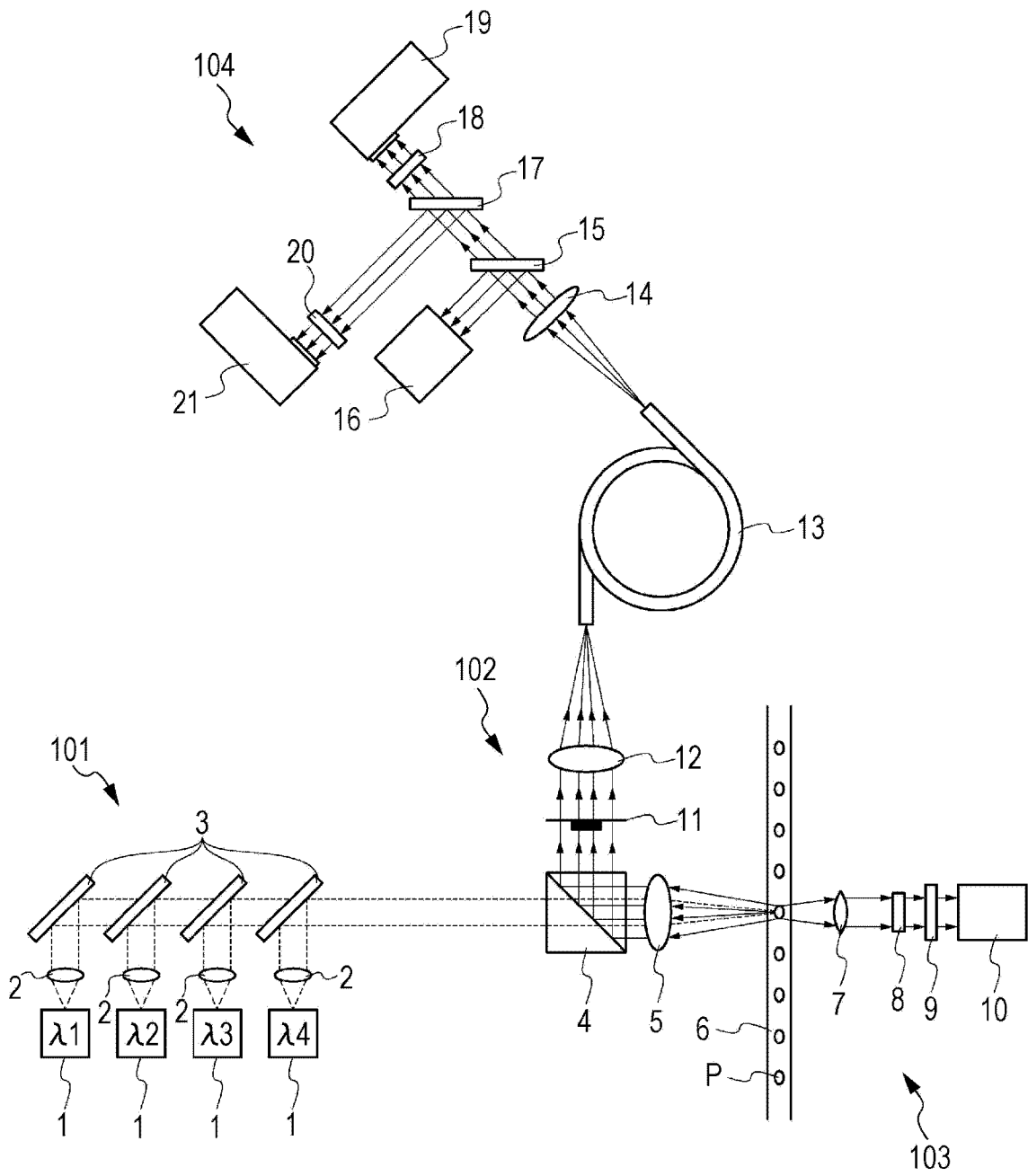


图 1

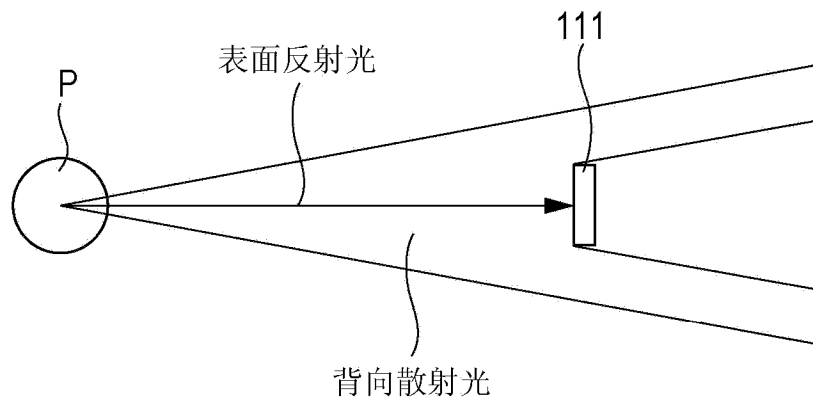


图 2A

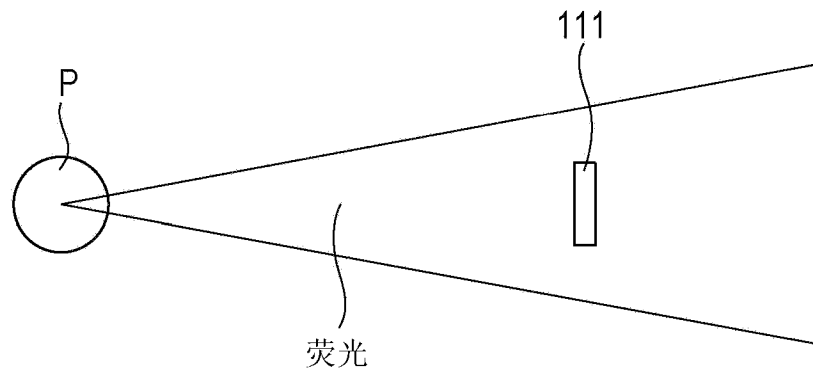


图 2B

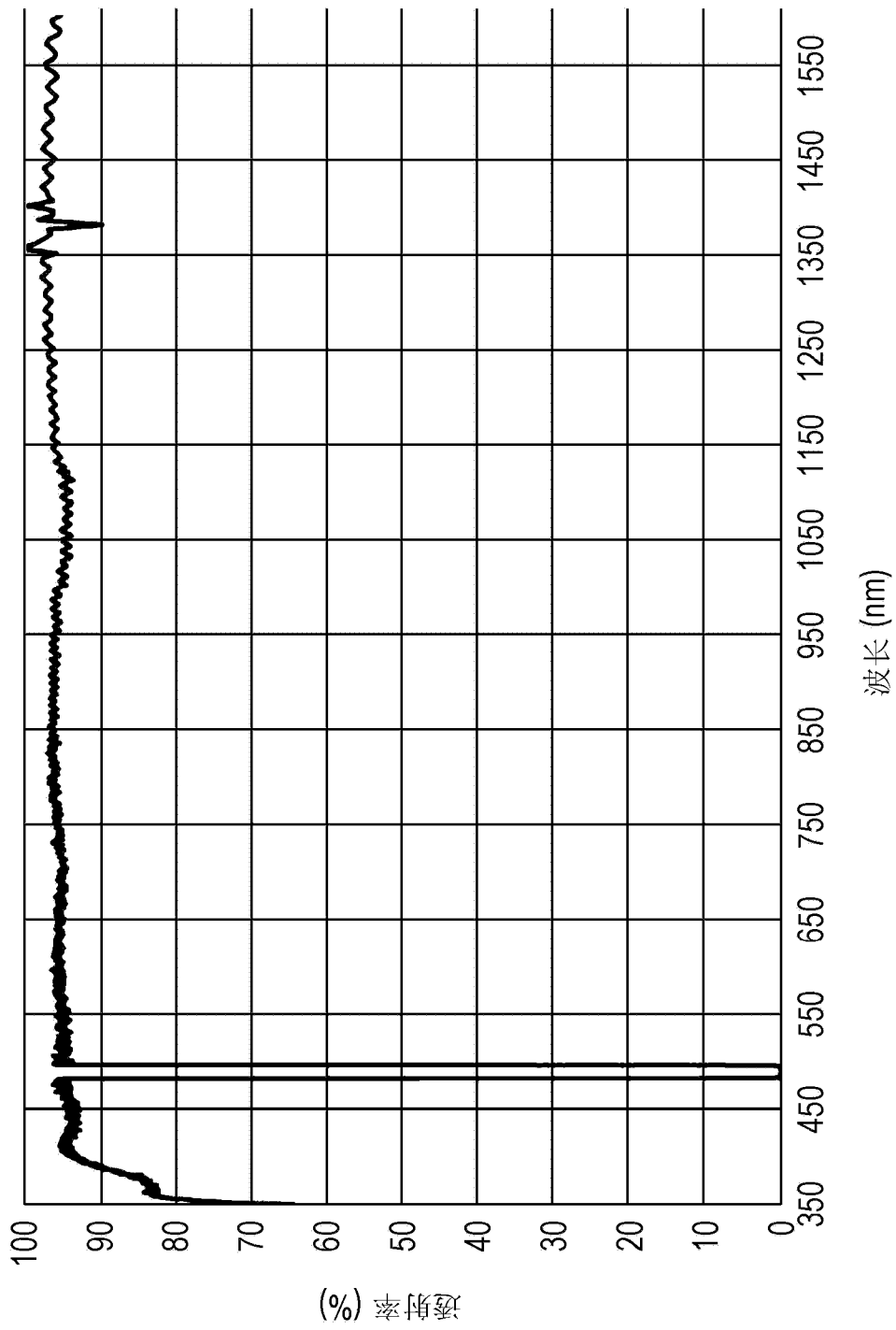


图 3

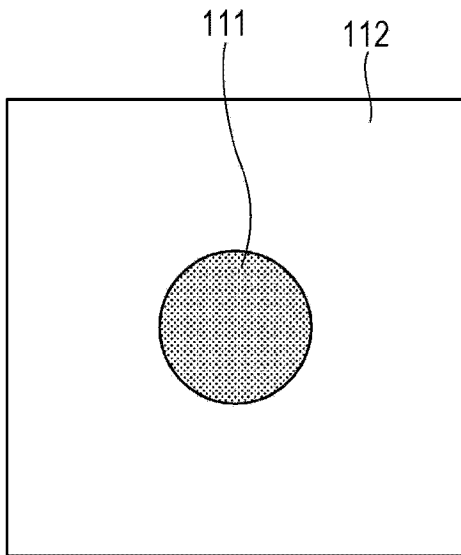


图 4A

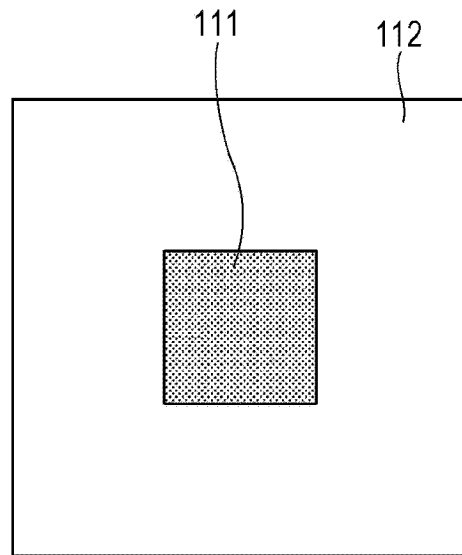


图 4B

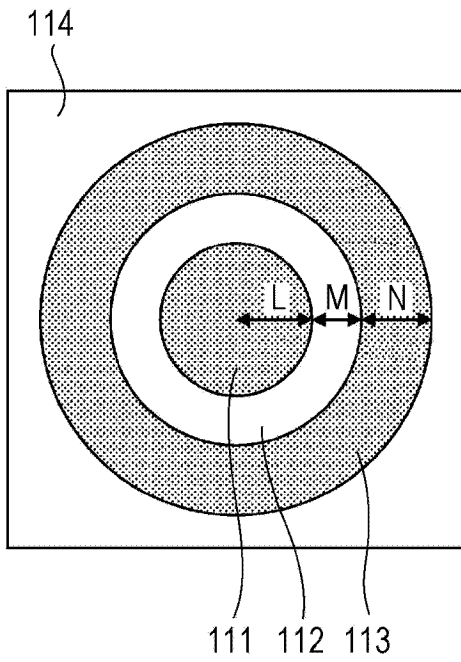


图 4C

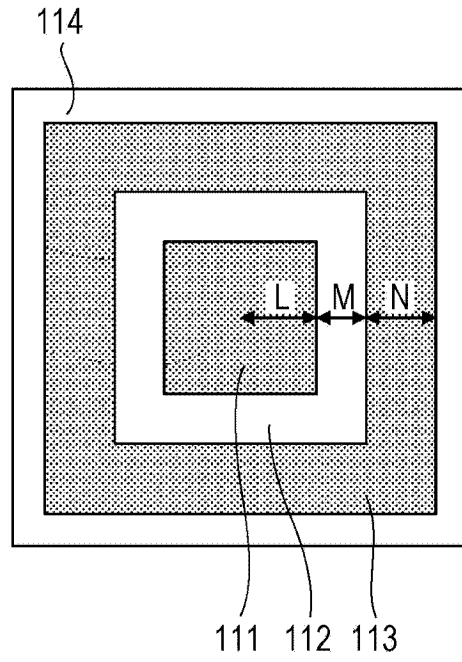


图 4D

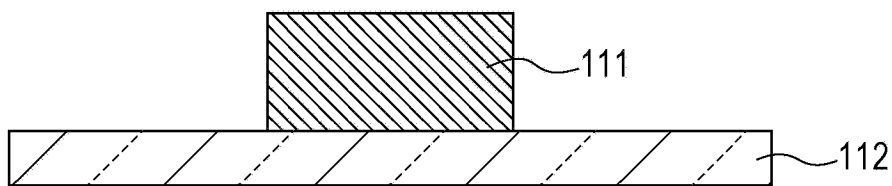


图 5A

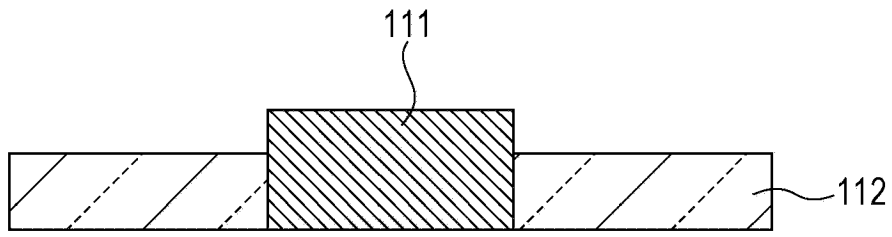


图 5B

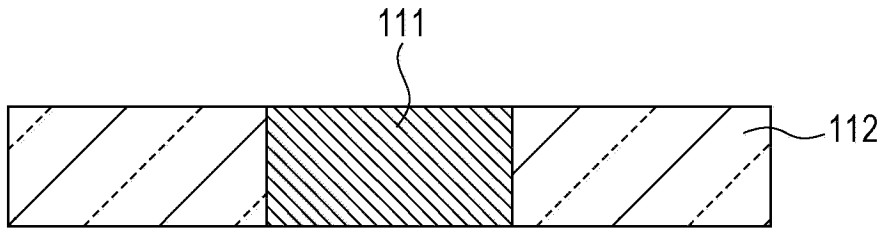


图 5C

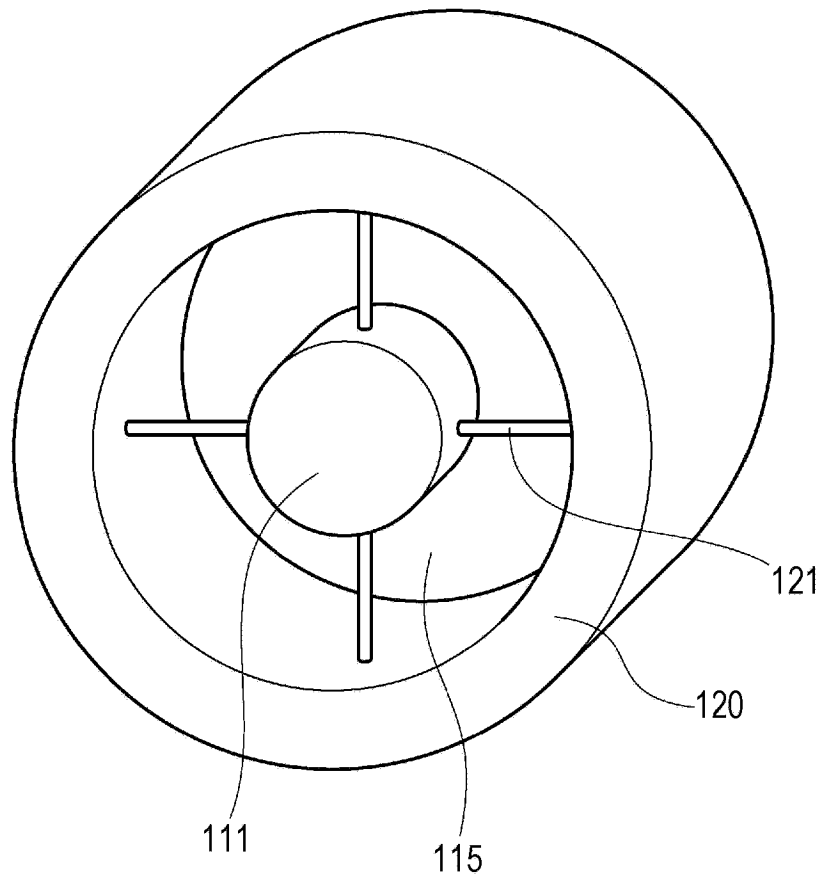


图 6

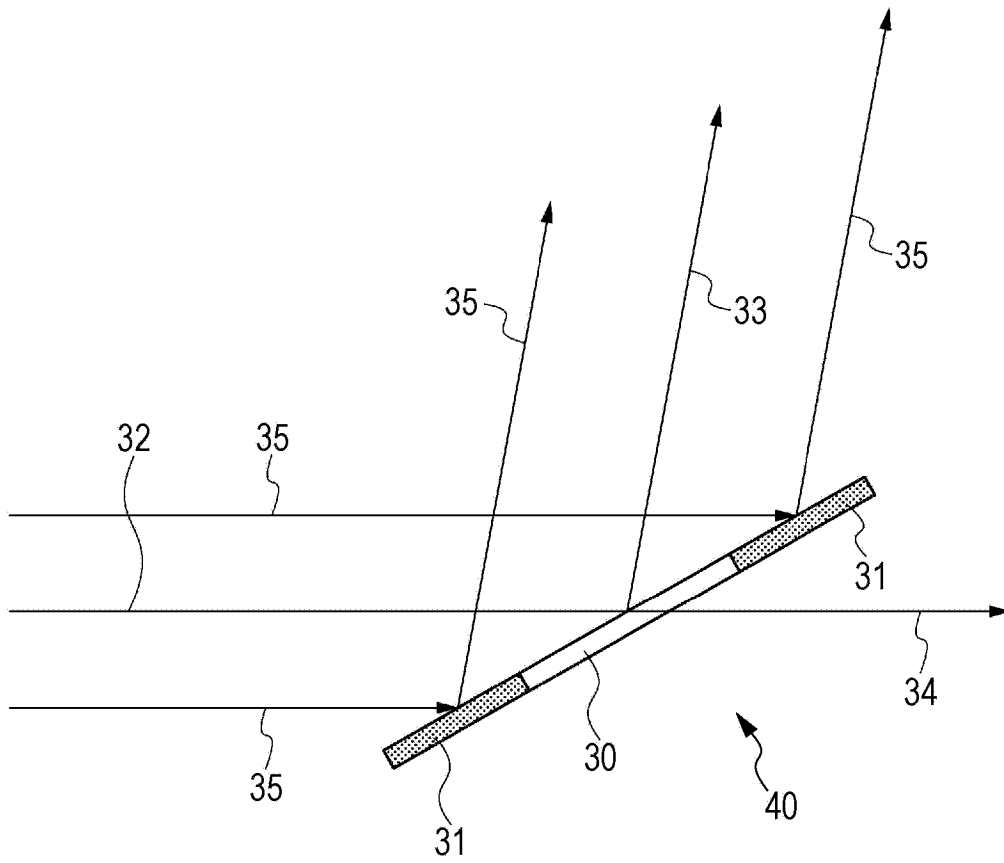


图 7A

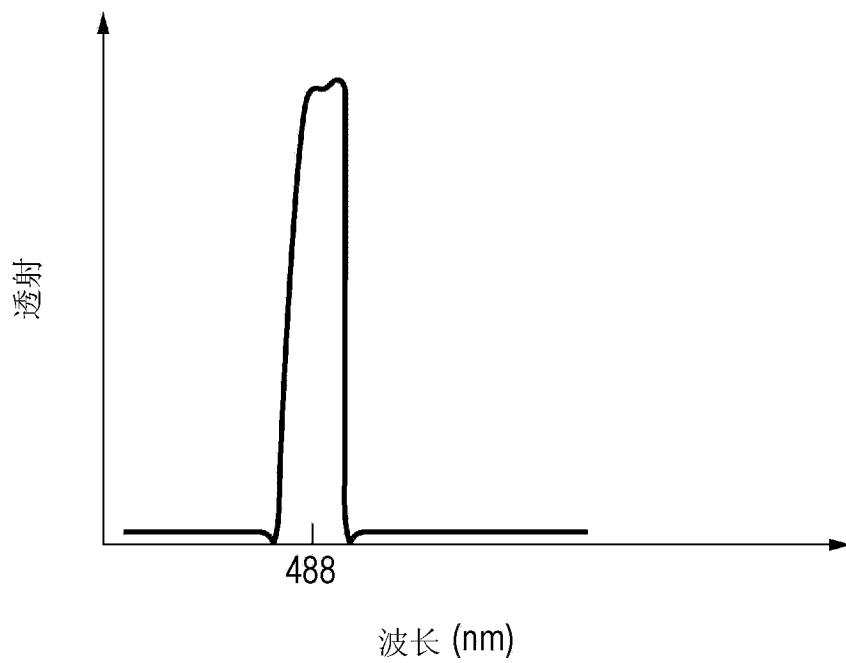


图 7B

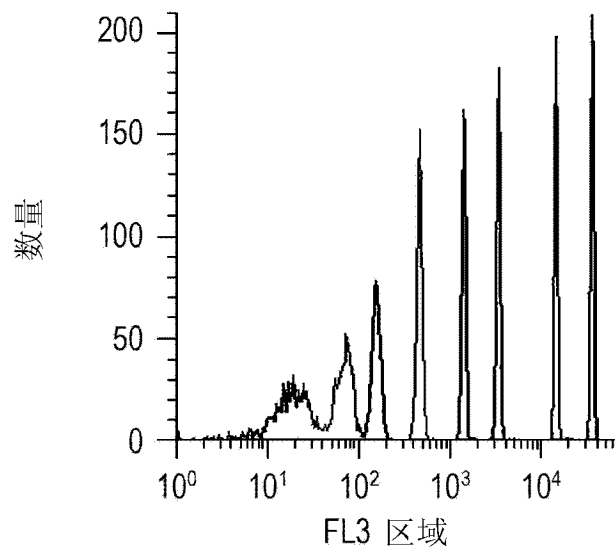


图 8A

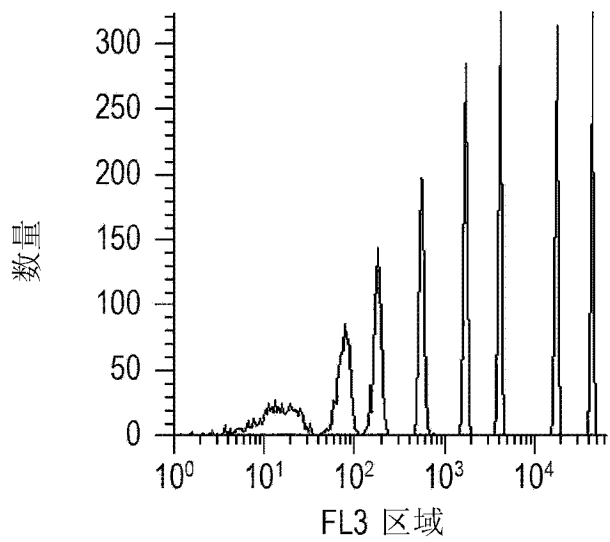


图 8B

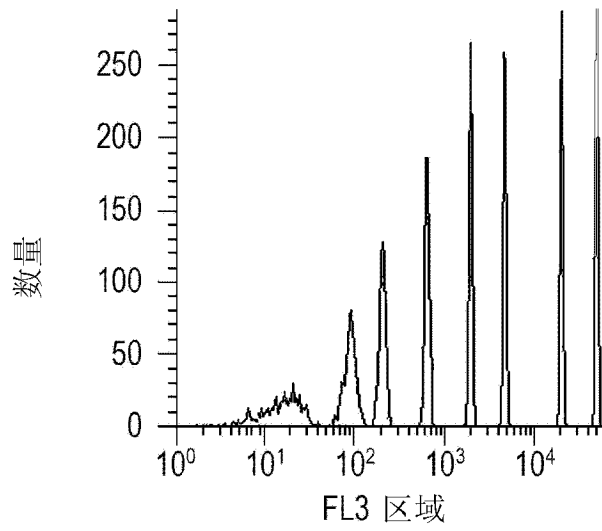


图 8C

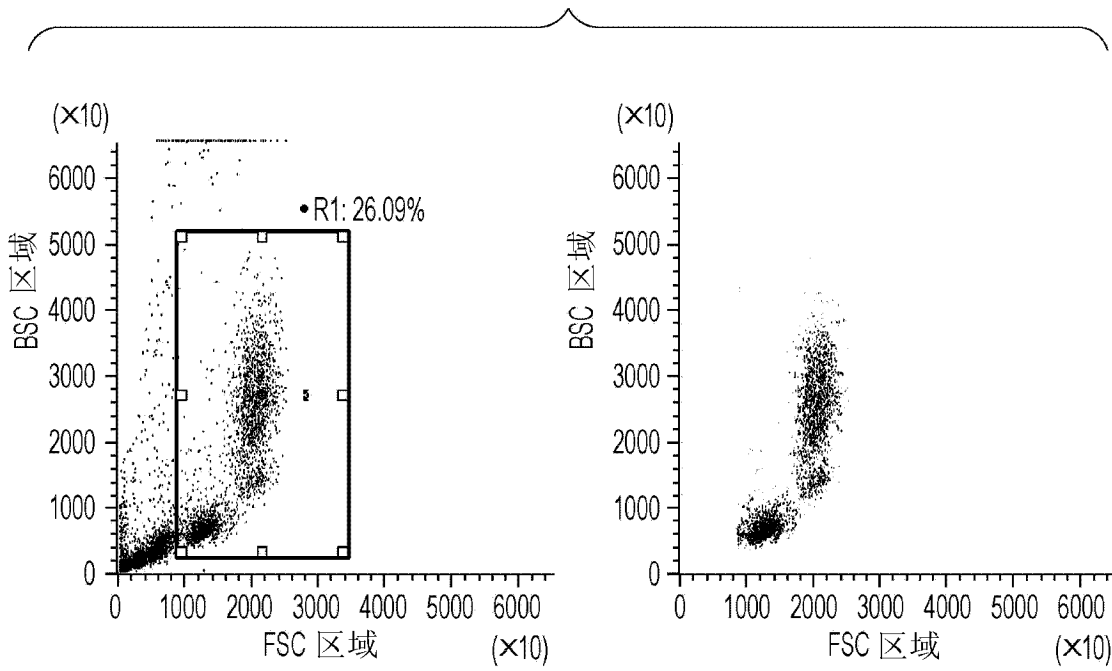


图 9A

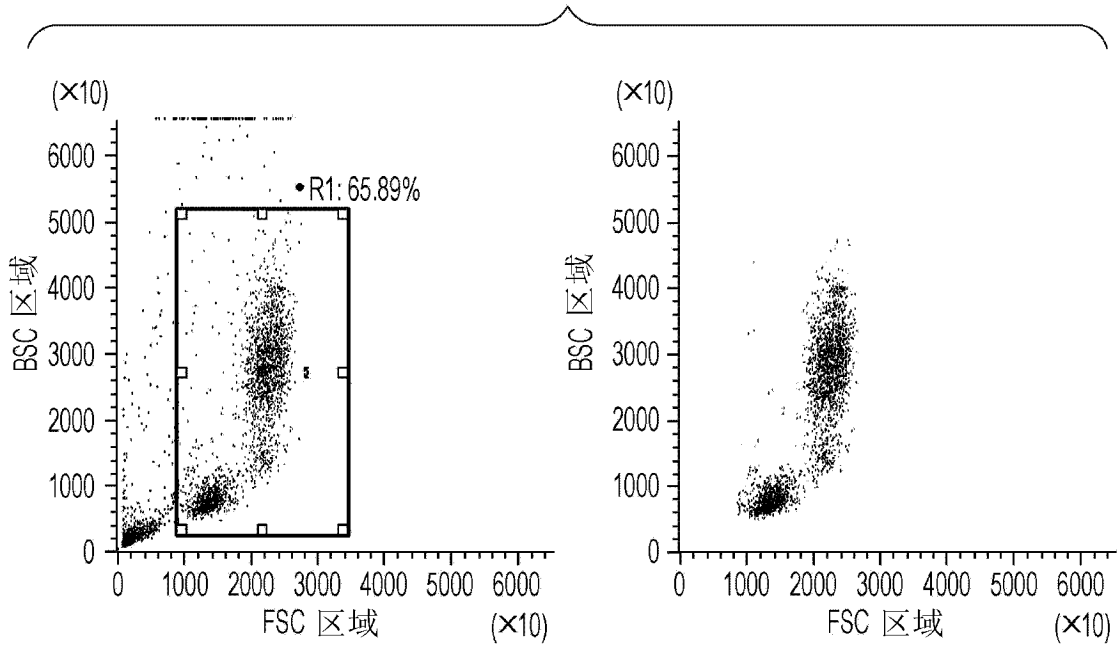


图 9B

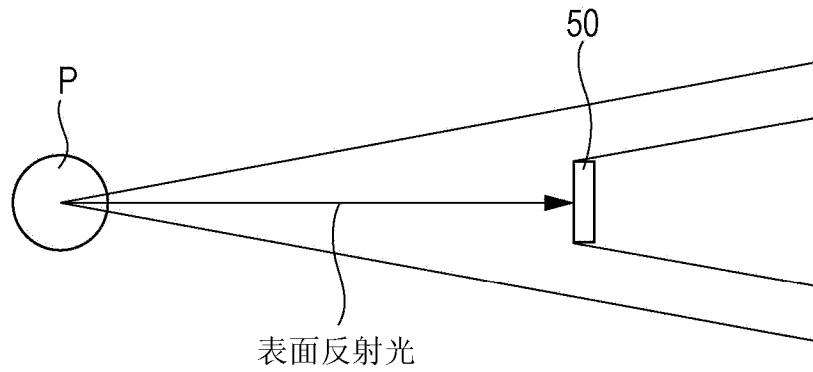


图 10A

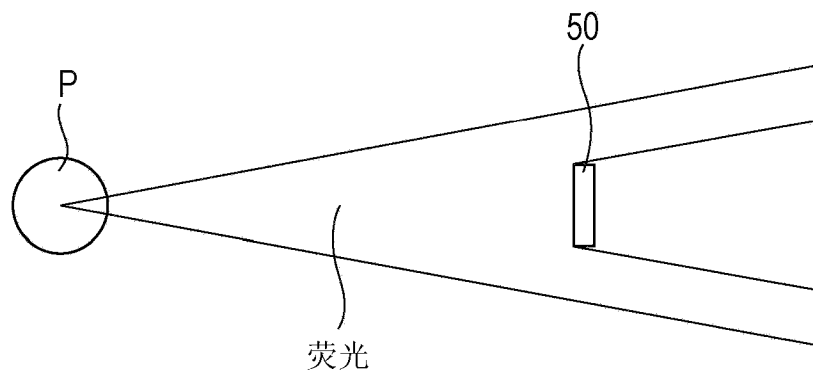


图 10B